

在心血管病临床试验中生物标志物的作用

王继贵

在心脏病学中, 临床试验在发展新的治疗和治疗策略过程中是必要的, 大范围的随机化临床试验的结果, 在 CVD 的监护中导致显著的进展, 对于更好地理解 CVD 的自然史, 危险因素和并发症密切相关。许多临床试验依赖生物标志物测定[即 LDL 胆固醇、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)或肌钙蛋白(cTn)试验], 以选择病人或终点定义。因此, 临床试验和生物标志已经和将继续纠缠在一起而解不开。

一、理想的生物标志物应具备的条件

美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)生物标志物定义工作组, 对生物标志物的定义为“客观测定和评价的一个特性作为正常生物过程、病理过程或治疗干预的药理学反应的一个指征”^[1]。Morrow 等^[2]报告理想的新的生物标志物应具备以下条件: (1) 临床医师可用于常规测定: 即有准确和可重现的分析方法, 容易测定、方法快速, 可成批分析, 分析前的问题(包括稳定性)已有评价及有合理的价格。(2) 可为临床提供新的信息: 即有多个研究报告, 在感兴趣的水平生物标志物和疾病后果有很强的一致性的关联, 对现有试验能提供新的信息或改善其价值, 在多个研究中确定了其决定限、评价资料应包括来自于基于社区人群的研究。(3) 可帮助临床医师处理患者: 即其分析特性优于现有的诊断试验, 可指导治疗分类法和监测强化医疗及改善病人的医疗。后者包括可早期检测亚临床疾病, 能诊断急性或慢性综合征, 可用于危险性分层, 可监测疾病预后或对治疗的反应及可用于选择患者。

从最严格的术语解释“生物标志物”, 在心血管领域, 常常指的是血中的循环分子。

二、心肌坏死的生物标志物

过去几年, 基于血液的生物标志物在临床试验中起着重要作用的数量正在不断增加。例如 cTn、hsCRP、B 型钠尿肽(BNP)及 N-末端 pro-BNP(NT-Pro BNP), 它们正在广泛地并入临床试验和临床实

践工作中, 对诊断、预后、危险性分层、治疗反应的监测以及我们对疾病机制的认识都有了很大的改善。

过去诊断心肌梗死(MI)的金标准是肌酸激酶同工酶(CK-MB)。以前乳酸脱氢酶的心肌部分(LDH-H), 甚至谷草转氨酶(AST)都被用于诊断 MI。在 1992 年已确定 cTn 是一种调节有收缩性的蛋白质^[3], 在正常人的血清中不会发现, 在循环中检测它的存在已显示对心肌细胞损伤是一种敏感和特异的标志。在不稳定心绞痛的病人中常增加, 这种增加同将来重要的心脏事件的发生增加有关。

早期的临床试验: TACTICS-TIMI 18 试验, 是用艾卡特(Aggrastat, 一种抗血小板聚集药, 系糖蛋白 II b/III a 抑制剂)治疗心绞痛及在 MI 时用侵入性及保守策略溶栓时确定其治疗费用^[4], 该试验是用肌钙蛋白 T(cTnT)选择病人, 在有 cTnT 浓度增加的病人中, 试验评价、区分治疗的效益, 终点效果为病人死亡或在 30 天时发生 MI。早期侵入性治疗组终点发生率为 7.4%, 保守治疗组为 16.2%, $P < 0.001$ 。临床试验验证在 ACS 的病人中从早期侵入性治疗中获得大量的效益。

Kastrati 等^[5]在 ISAR-REACT 2(冠脉内支架和抗血栓形成治疗法快速早期用于冠脉治疗作用的试验 2)临床试验中报告, cTn 是心肌坏死的一个标志, 其诊断敏感度比 CK-MB 更好一些, 由于 cTn 具有更大的心肌特异性以及它对预后的影响, 现在 cTn 已取代 CK-MB 作为 ACS 患者诊断和危险性分层的选择的生物标志物。

三、炎症的生物标志物

炎症过程已广泛地涉及在动脉粥样硬化和 ACS 的发病机制中, 病理研究已证实在动脉粥样硬化斑块中有一个活动性局部炎性过程。在冠状动脉疾病(CAD)的患者中有更系统的炎性过程, 由 CRP、白介素-6、血清淀粉样蛋白 A、CD40 配体以及炎症小瀑布中的其他蛋白质浓度增加即可证实。这些生物标志物中, CRP 是研究最多的。Sabatine 等^[6]在非 ST 段升高的 ACS 患者中, 研究了 cTn、CRP、BNP, 每一种

均能提供可靠的信息。简单的多标志物策略,基于出现升高的生物标志物数分类患者,在短期和长期广泛的范围内,对主要的心脏事件均能作危险性分层。

在 Tex CAPS 临床试验^[7] (Texas 冠状动脉粥样硬化预防研究)中发现:CRP 水平升高同冠脉事件的危险性增加有关,即使没有高脂血症。他汀治疗可以降低 CRP 水平,测定 CRP 浓度用于他汀的治疗靶。随后,Jialal 等^[8]在随机化的试验中研究了辛伐他汀、普伐他汀和阿托伐他汀治疗对 hs - CRP 水平的影响,发现这 3 种他汀均能显著降低 hs - CRP 水平,这个资料支持这些药物的抗炎效应。对 CVD 时的炎症假设提供了有力的支持。

四、神经激素活化的生物标志物

BNP 是一种神经激素,由心室心肌在对扩张及压力过载起反应时产生,它的水浆浓度同压力大小和(或)体积过载相关。对 BNP 和 NT - Pro BNP 两个生物标志物,在临床试验中已得到广泛研究。在 REDHOT 试验(快速急诊科心力衰竭门诊患者试验)研究^[9]中证实,BNP 水平同慢性心力衰竭(CHF)的严重性及预后相关,在急诊医学中,BNP 水平可帮助临床医师识别 CHF 的严重性和评价预后,可指导临床医师对门诊 CHF 病人作治疗决定及监测治疗反应。

在 PROTECT 试验(Pro - BNP 慢性心力衰竭专科门诊治疗试验)研究中^[10],在 CHF 患者中连续测定 NT - Pro BNP 浓度的改变,发现 NT - Pro BNP 水平与预后相平行,用 NT - Pro BNP 浓度指导 CHF 病人的治疗,将优于标准的 CHF 治疗法,在指导 CHF 门诊病人的治疗中,对这个生物标志物起到了精炼的作用。

五、新生物标志物

当前,在利用 CVD 危险因素新标志物中的兴趣正在不断增加,对于一个新的生物标志物,需要评价它的实用价值。Hlatky 等^[11]在综述中介绍了危险性评价的现代概念及对危险性评价方法关键性评估建议的标准。首先,需要一个完好的研究设计,新标志物的研究应报告它提供的预后信息比标准危险因素标志物增加到多大程度。应当报告新标志物的鉴别力及准确度。应当评价新标志物的临床价值,即它对病人的处理效力及后果。一个新的标志物的评价应当是由多中心评价,最后还要讲究成本效益。

在发展一种生物标志物时,推荐多组分析体系用于临床实践,这种同时检查多种生物标志物的概念,随后演变成用生物标志物多维危险性分层。在 CVD 和 ACS 的发病机制研究中被认为是积极的。联合

cTn(心肌坏死)、hs CRP(炎症)及 BNP/NT - Pro BNP(神经激素活化),在临床试验中证明能增加诊断和预后信息。此外,染色体组学、蛋白质组学及代谢物组学的演变和可利用性,已加速鉴别一般认定的新的生物标志物,用于临床诊断和危险性分层。截至 2010 年,已发现的新生物标志物尚有:ST2(一种白介素 - 1 受体家族成员,在对 MI 起反应时释放)、和肽素(copeptin,在同 cTn 一起测定时,可改善 AMI 的诊断敏感度)以及生长分化因子 15(可以帮助选择侵入治疗的患者)^[12]。这些新的生物标志物在应用到临床实践常规工作之前,尚需多中心临床试验评价其临床应用价值。

六、展 望

在新生物标志物演变及带它们进入临床应用产生的证据中,临床试验已起着重要的作用。在临床操作中,生物标志物也起作关键性的作用,包括人群选择、终点定义。在这方面,生物标志物和临床试验将继续解不开地纠缠在一起,临床试验离不开生物标志物作为判断标准,生物标志物也离不开临床试验提供的证据进入常规实践,在临床试验的环境中,常规生物标志物结合使用先进的分析平台,用于新生物标志物的发现,通过用尖端的生物信息学工具和先进的技术用于数据分析,最终将引领新的生物标志物进入临床应用。

参考文献

- 1 Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definition and conceptual framework[J]. Clin Pharmacol Ther, 2001, 69(3): 89 - 95
- 2 Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers[J]. Circulation, 2007, 115(8): 949 - 952
- 3 Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt TJ, *et al.* The prognostic Value of serum troponin T in unstable angina[J]. N Engl J Med, 1992, 327(3): 146 - 150
- 4 Morrow DA, Cannon CP, Rifai N, *et al.* for the TACTICS - TIMI 18 Investigators. Ability of minor elevations of troponin I and T to predict benefit from an early invasive strategy in patients with unstable angina and non - ST elevation myocardial infarction: results from a randomized trial[J]. JAMA, 2001, 286(19): 2405 - 2412
- 5 Kastrati A, Mehilli J, Neumann FJ, *et al.* For the intracoronary stenting and antithrombotic regimen: rapid early action for coronary treatment 2 (ISAR - REACT 2) trial investigators. Abciximab in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention after clopidogrel pretreatment: the ISAR - REACT 2 randomized trial[J]. JAMA, 2006, 295(13): 1531 - 1538
- 6 Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, *et al.* Multimarker approach

- to risk stratification in non - ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C - reactive protein, and B - type natriuretic peptide[J]. *Circulation*, 2002,105(15):1760 - 1763
- 7 Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, *et al.* For the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. Measurement of C - reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(26):1959 - 1965
- 8 Jialal I, Stein D, Balis D, *et al.* Effect of hydroxymethyl glutaryl co-enzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C - reactive proteins levels[J]. *Circulation*, 2001, 103(15):1933 - 1935
- 9 Maisel A, Hollander JE, Guss D, *et al.* and the REDHOT Investigators. Primary results of the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial(REDHOT): a multicenter study of B - type natriuretic peptide levels, emergency department decision making and outcomes in patients presenting with shortness of breath[J]. *J Am Coll*

Cardiol, 2004, 44(6):1328 - 1333

- 10 Bhardwaj A, Rehman SV, Mohammed A, *et al.* Design and methods of the Pro - B Type Natriuretic Peptide Outpatient Tailored Chronic Heart Failure Therapy(PROTECT) Study[J]. *Am Heart J*, 2010, 159(4):532 - 538
- 11 Hlatky MA, Greenland P, Arnett DK, *et al.* on behalf of the American Heart Association Expert Panel on Subclinical Atherosclerotic Diseases and Emerging Risk Factors and the Stroke Council. Criteria for evaluation of novel markers of cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2009, 119(17):2408 - 2416
- 12 Hochholzer W, Morrow DA, Giugliano RP. Novel biomarkers in cardiovascular disease: update 2010[J]. *Am Heart J*, 2010, 160(4):583 - 594

(收稿日期:2013 - 03 - 14)

(修回日期:2013 - 04 - 07)

S100A8 和 S100A9 在妇科恶性肿瘤中的表达和临床意义

王 颖 陈苗苗 朱雪琼

S100A9(calgranulin B,MRP 14)是钙离子结合蛋白 S100 蛋白家族的成员,其基因位于人染色体 1q21,通常与 S100A8(calgranulin A,MRP8)通过化学结合形成特殊的异二聚体^[1]。S100A8 和 S100A9 最初是粒细胞分泌而被发现的,在后来的研究中发现 S100A8 和 S100A9 作为炎症介质在急、慢性炎症反应中表达升高。近年来,越来越多的研究发现 S100A8 和 S100A9 在大多数的恶性肿瘤细胞中表达上调,其表达还和肿瘤的形成、浸润、转移、及化疗耐药等相关,尤其是炎症相关性癌^[2]。本文就 S100A8 和 S100A9 蛋白在妇科恶性肿瘤中的表达、在早期诊断、预测肿瘤转移和预后等中的临床意义进行综述。

一、S100A8 和 S100A9 在宫颈癌中的表达和意义

1. S100A8 和 S100A9 在宫颈癌癌变中的表达变化:S100A8 mRNA 在宫颈鳞癌组织中的表达高于正常宫颈组织^[3]。但关于 S100A9mRNA 和蛋白在宫颈鳞癌中的表达变化,报道结果不一^[4-6]。Qin 等^[4]采用基因表达系列分析,发现 S100A9mRNA 在宫颈鳞癌组织中的表达低于正常宫颈组织,并经实时定量聚合酶链反应证实。而大部分的研究却表明,S100A9

在宫颈鳞癌中的表达上调。国外学者 Chao 等^[5]采用含有 7334 经过验证序列的人类 cDNA 的基因芯片研究 30 例宫颈癌 I ~ II 期行根治性子宫切除术患者,发现 S100A9mRNA 在宫颈鳞癌中的表达较癌旁正常宫颈组织上调,其上调经过实时定量聚合酶链反应技术进一步得到验证。但是这些研究未对 S100A9 蛋白在宫颈鳞癌组织中的表达进行研究,在笔者的前期实验中,采用二维凝胶电泳分离宫颈鳞癌和癌旁正常宫颈组织的差异蛋白,然后采用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱进行蛋白鉴定,发现 S100A9 蛋白在宫颈鳞癌中的表达明显高于癌旁的正常宫颈组织,并经免疫印迹方法进一步证实^[6]。

Zhu 等^[7]的研究表明,S100A9 的表达在正常宫颈组织、CIN、宫颈鳞癌进展的过程中其表达逐渐下降,其表达与宫颈鳞癌的淋巴结转移和分期呈负相关,S100A9 阳性表达的宫颈鳞癌 5 年生存率明显高于 S100A9 阴性表达的宫颈鳞癌。COX 比例风险分析提示 S100A9 为宫颈鳞癌发生的保护因素。但是,Koskimaa 等^[8]发现 S100A9 在宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia,CIN)中高表达,随后,在 120 例 CIN 中进一步研究,发现 S100A9 的表达和 CIN 的级别呈正相关,认为 S100A9 可作为评估 CIN