

- radiation: artificial neural networks inference from atomic bomb survivors[J]. J Radiat Res, 2013; 1 - 16
- 8 Gliki G, Ebnet K, Aurrand - Lions M, *et al.* Spermatid differentiation requires the assembly of a cell polarity complex downstream of junctional adhesion molecule - C[J]. Nature, 2004, 431 (7006) : 320 - 324
  - 9 Colpi GM, Contalbi GF, Nerva F, *et al.* Testicular function following chemo - radiotherapy[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2004, 113 (Suppl 1) : S2 - 6
  - 10 Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery[J]. J Natl Cancer Inst Monogr, 2005, 34 : 12 - 17
  - 11 Li HY, Zhang H. Proteome analysis for profiling infertility markers in male mouse sperm after carbon ion radiation[J]. Toxicology, 2013, 306: 85 - 92
  - 12 Kumar D, Salian SR. Semen abnormalities, sperm DNA damage and global hypermethylation in health workers occupationally exposed to ionizing radiation[J]. PLoS One, 2013, 8(7) : e69927
  - 13 Verstegen J, Ouada MI, Onclin K, *et al.* Computer assisted semen analyzers in andrology research and practice[J]. Theriogenology, 2002, 57: 149
  - 14 Woon JH, Shin SC, Kang YM, *et al.* Sperm abnormalities in high - and low - dose - rate Gamma - irradiated Korean dark - striped field mice, *Apodemus agrarius coreae* [J]. Radiat Prot Dosimetry, 2011, 146(1 - 3) : 280 - 282
  - 15 Kamiguchi Y, Tateno H, Mikamo K. Types of structural chromosome aberrations and their incidences in human spermatozoa X - irradiated in vitro[J]. Mutat Res, 1990, 228(2) : 133 - 140
  - 16 Adiga SK, Upadhy D, Kalthur G, *et al.* Transgenerational changes in somatic and germ line genetic integrity of first - generation offspring derived from the DNA damaged sperm [J]. Fertil Steril, 2010, 93 : 2486 - 2490
  - 17 Barratt CL, Aitken RJ, Björndahl L, *et al.* Sperm DNA: organization, protection and vulnerability: from basic science to clinical applications - a position report[J]. Hum Reprod, 2010, 25 : 824 - 838
  - 18 Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, *et al.* Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post - implantation embryo development in ART[J]. Hum Reprod, 2006, 21 : 2876 - 2881
  - 19 Adiga SK, Upadhy D, Kalthur G, *et al.* Transgenerational changes in somatic and germ line genetic integrity of first - generation offspring derived from the DNA damaged sperm [J]. Fertil Steril, 2010, 93 : 2486 - 2490
  - 20 Kaya V, Yazkan R, Ylldrlm M, *et al.* The relation of radiation - induced pulmonary fibrosis with stress and the efficiency of antioxidant treatment: an experimental study[J]. Med Sci Monit, 2014, 20: 290 - 296

(收稿日期: 2014 - 03 - 04)

(修回日期: 2014 - 03 - 20)

## 创伤性脑损伤生物学标志物的研究进展

王 杨 温明哲 马延斌

[中图分类号] R6

[文献标识码] A

近年来由于车祸、高空坠落等意外事故导致的创伤逐渐增多,创伤性脑损伤(tramatic brain injury, TBI)的发生率不断上升,已成为导致青壮年死亡或永久性残疾的重要因素,是医疗卫生领域严重的世界性问题。根据流行病学调查显示,美国每年大约 170 万人罹患 TBI,其中约有 27.5 万人接受住院治疗,5.2 万人死亡,12.4 万人遗留长期损伤或者永久残疾<sup>[1]</sup>。对于创伤性脑损伤的预后评估是神经外科多年来一直探讨的问题。近年来发现脑损伤生物学标志物可以用来特异性的评估脑损伤状况,受到广泛关注。

### 一、临床脑外伤评估的现状

格拉斯哥昏迷评分(Glasgow coma scale, GCS)和格拉斯哥预后评分(Glasgow outcome scale, GOS)因评分方法简单实用,在国际上得到广泛应用,但其对神经损伤的量化评估尚显不足。用于 TBI 预后评估的影像学方法主要包括非 MRI 技术(CT、PET 等)及新型 MRI 技术(DWI、DTI 等)。虽然临床上 CT 和磁共振弥散成像等影像学检查对于颅脑外伤程度的临床评估准确率已有极大提高,但对于弥漫性及轻度颅脑损伤诊断的敏感度和特异性均不高,对 TBI 程度上的评估也缺乏精确、量化的指标。当前轻度创伤性脑损伤(mTBI)即出现一定神经功能、认知或行为的症状,而无阳性的影像学表现,在临床上引起广泛关注<sup>[2]</sup>。其原因在于<sup>[3]</sup>:①mTBI 的表现具有主观和非特异性,易与心理疾病混淆;②mTBI 患者经治疗后常

基金项目:上海交通大学医学院科技基金资助项目(12XJ10029)

作者单位:201900 上海交通大学医学院附属第三人民医院神经外科

通讯作者:马延斌,电子邮箱:mybj1026@aliyun.com

取得临床上的完全康复,早期发现症状及不断进展的认知和神经心理障碍有一定的困难;③由于 mTBI 所造成的死亡和严重残疾罕见,因此临床上常用的预后评估手段对于 mTBI 造成的认知和行为障碍评估不甚敏感。

## 二、生物学标志物在 TBI 评估中的意义

在临床上有多种生物学标志物已经应用于疾病的诊断指导及预后判断,如淀粉酶用于胰腺炎,肌钙蛋白用于心肌梗死,甲胎蛋白用于肝癌,其原因就在于这些标志物能够反映器官功能和损害,对病情严重程度判断及治疗指导提供了依据。然而临床上 TBI 仍缺乏一个理想的生物学标志物。目前虽然在基因、分子水平通过大量的动物模型、临床标本等对 TBI 的研究已经取得了相当的成果,但是对于其致病机制及早期诊断、有效干预治疗、预后评估仍不令人满意。因此寻找到敏感度和特异性均较好的生物学标志物对于 TBI 来说有着重要意义。理想的生物学标志物需要满足<sup>[4]</sup>:①对脑损伤的特异性和敏感度高;②能反映损伤的严重程度;③在体液中快速表达;④能反映损伤机制;⑤能监测疾病的进展及对治疗的反应;⑥能对预后进行评估。已经发现了几种具有临床潜力的生物学标志物,根据脑外伤损伤过程及机制,可以归结为神经炎症反应标志物、神经元胞体损伤标志物、骨架蛋白损伤标志物、细胞死亡标志物等。

## 三、几种生物学标志物的研究进展

1. 钙结合蛋白 B (S100B):S100B 蛋白是近年来发现的能反映颅脑损伤程度及预后,并且在颅脑损伤整个病理生理级联反应过程中都起重要作用的一种蛋白,因其能溶于 100% 硫酸铵溶液而得名,是一种相对分子质量为 21kDa 的酸性钙结合蛋白,主要分布于神经胶质细胞和 Schwann 细胞,在黑素细胞、软骨细胞和脂肪细胞,甚至长骨骨髓也有分布。其基因表达水平和细胞分化增殖有关,并参与神经冲动、腺体分泌等活动。已经证实 S100B 蛋白可以与神经元、少突胶质细胞、炎性细胞结合发挥广泛而复杂的细胞内外调节作用。S100B 被认为是评估轻型、重型 TBI 最有希望的标志物。已知生理条件下 S100B 不能透过血脑屏障,在 TBI 时由被活化的神经胶质细胞释放到细胞外间隙中的 S100B,可能通过受损的血脑屏障或脑脊液循环进入血循环。尽管这一过程机制有待进一步研究,但 S100B 蛋白已成为目前公认的血脑屏障破坏的一个标志蛋白。血中 S100B 的水平可反映脑细胞直接损伤的程度、范围及血脑屏障被破坏的

程度,包括早期的直接损伤及之后的继发性损害<sup>[5]</sup>。

已有研究证实 S ~ 100B 与 TBI 损伤程度及进展都有相关性,颅脑外伤死者与存活者之间更是有明显差异<sup>[6]</sup>。Thelin 等<sup>[7]</sup>回顾性研究了 265 例 NICU 的 TBI 患者后发现早期 12h 内血清 S100B 对病情的预测价值有限,12h 后的预测价值大幅增加,并且在 36h 内仍可以保持较高的预测价值。有研究提示<sup>[6,7]</sup>:①颅脑外伤后 S100B 蛋白低于 0.2 μg/L 或检测不到,提示脑损伤轻微;②伤后血清 S100B 蛋白含量为 0.3 ~ 1.6 μg/L,预后相对较好;③伤后血清 S100B 蛋白含量为 1.1 ~ 4.9 μg/L,预后较差,有致死性结局;④伤后早期 S100B 蛋白即明显升高,12h 后降至正常,说明存在原发性脑损害但预后良好;⑤伤后 S100B 蛋白下降后又升高或持续高值说明存在继发性脑损害(缺氧、低灌注等二次脑损害)。需要注意的是由于 S100B 蛋白存在颅外来源,未发现颅脑损伤的多发伤患者早期血清 S100B 蛋白也会升高的。但不能否认 S100B 仍旧拥有不可忽视的临床潜力,有待进一步研究的是其血清浓度,特别是多发伤患者的血清浓度,进一步验证能否真实反映颅脑损伤情况。

2. 神经胶质纤维酸性蛋白:神经胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein, GFAP)是一种中间丝蛋白,大量存在于中枢神经系统的星形胶质细胞骨架中,目前尚未发现中枢神经系统以外组织中发现,因此 GFAP 有着很高的特异性,在多发伤时,其检测作用尤为突出。GFAP 不仅可以确定损伤的严重程度,还可以评估预后及病死率,甚至对于颅内压的变化也有预测意义。Honda 等<sup>[8]</sup>通过对 37 例重型 TBI 患者血清 GFAP 变化的检测,发现 GFAP 与脑损伤存在正相关性,第 1 天检测的特异性高达 100%,敏感度为 88.9%,特异性明显高于 S100B 及神经特异性烯醇酶。这与之前的相关研究结果近似<sup>[9]</sup>。

最近一项关于 108 名 TBI 患者的前瞻性群组研究提示,轻中度 TBI 患者血清中 GFAP 的裂解产物(GFA - BDP)会在 1h 内增高,并且预测血清 GFAP - BDP 还能够将 TBI 患者、GCS15 分的 mTBI 患者及 CT 阴性的 TBI 患者同正常对照组区别出来,其曲线下面积分别达到了 0.90、0.88 及 0.79<sup>[10]</sup>。Hemly 等<sup>[11]</sup>通过研究证明了 GFAP 对于 TBI 有 100% 的特异性和较高的敏感度。有研究表明,血清 GFAP 在大于 1.5ng/ml 时常提示预后不良甚至死亡<sup>[2]</sup>。由于 GFAP 特异性存在于星形胶质细胞中,尚未发现颅外

来源,及大量研究中表现出的诊断优势,因此,GFAP的临床应用潜力巨大。

3. 神经元特异性烯醇酶:神经特异性烯醇酶(neuron specific enolase, NSE)是一种参与糖酵解的烯醇酶,参与细胞内氯离子水平调节,最初认为NSE是只存在于神经元中,但最近的研究表明少突胶质细胞、血小板及红细胞中均有表达<sup>[2]</sup>。NSE通常在颅脑外伤后6h内可以检测到,半衰期约24h,其浓度与损伤严重程度相关。Guzel等<sup>[12]</sup>通过对169名TBI患者的研究提示血液和脑脊液中的NSE均可以作为TBI的生物学标志物,并且在死亡患者血清中NSE浓度很高。近年来发现小细胞肺癌、神经内分泌肿瘤及缺血性卒中等疾病中,血清NSE浓度亦显著增高,因此血清NSE在TBI中的应用价值不高<sup>[2]</sup>。但Böhmer等<sup>[13]</sup>通过实验证明,脑脊液中的NSE有作为TBI生物标志物的潜力,能对脑外伤后的病情发展进行预测。同S100B一样,颅外来源使得NSE能否真正反映颅脑损伤情况有待进一步验证。

4. 泛素碳末端水解酶L1:泛素碳末端水解酶L1(ubiquitin cterminal hydrolase - L1, UCH - L1)又称蛋白基因产物9.5,是脑中含量最丰富的蛋白质之一,大约占脑可溶蛋白的2%,蛋白质印迹分析发现UCH - L1在所有脑区均有表达。免疫组化显示,UCH - L1高度特异性地分布于神经元<sup>[3]</sup>。近年来UCH - L1作为一种新的潜在脑损伤生物标志物逐渐受到关注,其具有两个显著的特点:①大量存在于脑组织中;②相对分子质量相对较小。研究表明,脑脊液和血清中的UCH - L1在重型TBI后几天内即开始增高,并且死亡者中含量较存活者更高<sup>[14]</sup>。Berger等<sup>[15]</sup>研究发现儿童中、重型TBI后血清UCH - L1浓度增高,但mTBI患儿血清UCH - L1浓度不增高。而一项近期关于86名mTBI患者的研究表明,早期CT有阳性发现的mTBI患者血清UCH - L1浓度是增高的,但是该研究没有明确血清UCH - L1浓度变化是否与mTBI不完全康复有关<sup>[16]</sup>。Mondello等<sup>[17]</sup>研究发现重型TBI患者血清UCH - L1浓度显著高于正常对照组,与GCS和CT表现相关性强。局部损伤的TBI患者血清UCH - L1浓度低于弥漫性损伤者。多因素Logistic回归显示血清UCH - L1水平是病死率的独立预测因素,并可预测伤后6个月的病死率<sup>[17]</sup>。

5. 微管相关蛋白Tau: Tau蛋白是一种在神经细胞内分布的微管相关蛋白(microtubule associated proteins, MAP),分为低分子质量(45 ~ 68kDa)和高分子

质量(120kDa),分别分布于神经元的轴突和周围神经系统。研究表明,原发性脑损伤和继发性脑损伤可导致大量神经细胞坏死,使得Tau蛋白大量释放入CSF,在重度脑外伤后的初始阶段,脑脊液中的Tau蛋白水平与脑外伤的病情发展有一定的相关性。而一项关于39例重型TBI患者研究发现,检测脑脊液中Tau蛋白水平能反映患者轴索损伤的程度及评估1年后转归。但Tau蛋白在不同程度的脑外伤中并非都有意义, Ma等通过研究发现, Tau蛋白浓度升高对于mTBI没有临床意义。因此对于Tau的进一步研究关于何种情况下能够作为TBI合适的标志物。

6. 髓鞘碱性蛋白:髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)是中枢神经系统髓鞘的主要蛋白质,主要分布于中枢神经系统少突胶质细胞及神经细胞膜中,参与组成神经鞘膜,并维持其稳定性,是近年来研究较少的标志物。由于TBI后血脑屏障和细胞膜完整性被破坏,MBP即进入血液循环。Gyorgy等通过研究发现血清MBP在伤后48 ~ 72h后达到高峰,这与之前文献报道的结果相接近,而后续的一项检测98例小儿TBI血清及CSF中MBP的浓度预测脑损伤的研究发现MBP的敏感度为36%,特异性为100%。虽然有研究表明,MBP可与NSE、S100B联合预测小儿TBI预后,但MBP能否真正应用于TBI评估仍有争议<sup>[18]</sup>。除了上述6种标志物外,尚有炎性标志物(白细胞介素、肿瘤坏死因子等)、膜收缩蛋白及其降解产物(spectrin and its breakdown products, SBDPs)、载脂蛋白E(apolipoprotein E)等亦受到关注<sup>[19]</sup>。

近年来关于TBI生物学标志物已开展了大量研究,但在临床上的真正应用还未见报道。通常TBI生物标志物的发现多数源自动物实验模型,或是通过以往动物实验结果进行推测,从而得出可能有潜力的标志物。对于已通过动物实验得出可能有潜力的生物学标志物,应在临床上通过患者的样本检测进行筛选,以确定其应用的可能性。迄今为止已经发现了几种在TBI的评估方面有一定的意义的生物学标志物,但面临的主要问题是每个标志物都有其自身的优点和不足,及其对应脑损伤程度的体液浓度并没有统一的标准,仍需要开展大量、反复的实验进一步验证。

#### 参考文献

- 1 Lei J, Gao G, Jiang J. Acute traumatic brain injury: is current management evidence based? An empirical analysis of systematic reviews [J]. J Neurotrauma, 2013, 30(7): 529 - 537
- 2 Jeter CB, Hergenroeder GW, Hylin MJ, et al. Biomarkers for the di-

- agnosis and prognosis of mild traumatic brain injury/concussion[J]. J Neurotrauma,2013,30(8):657-670
- 3 Diaz - Arrastia R, Wang KK, Papa L, *et al.* Acute biomarkers of traumatic brain injury: relationship between plasma levels of ubiquitin C - terminal hydrolase - L1 and glial fibrillary acidic protein[J]. J Neurotrauma,2014,31(1):19-25
  - 4 Papa L, Ramia MM, Kelly JM,*et al.* Systematic review of clinical research on biomarkers for pediatric traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma,2013,30(5):324-338
  - 5 Bellander BM, Olafsson IH, Ghatan PH, *et al.* Secondary insults following traumatic brain injury enhance complement activation in the human brain and release of the tissue damage marker S100B[J]. Acta Neurochir;Wien,2011,153(1):90-100
  - 6 Rainey T, Lesko M, Sacho R, *et al.* Predicting outcome after severe traumatic brain injury using the serum S100B biomarker: results using a single (24h) time - point[J]. Resuscitation,2009,80(3):341-345
  - 7 Thelin EP, Johannesson L, Nelson D, *et al.* S100B is an important outcome predictor in traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma,2013,30(7):519-528
  - 8 Honda M, Tsuruta R, Kaneko T,*et al.* Serum glial fibrillary acidic protein is a highly specific biomarker for traumatic brain injury in humans compared with S - 100B and neuron - specific enolase[J]. J Trauma,2010,69(1):104-109
  - 9 Lumpkins KM, Bochicchio GV, Keledjian K, *et al.* Glial fibrillary acidic protein is highly correlated with brain injury[J]. J Trauma,2008,65(4):778-782
  - 10 Papa L, Lewis LM, Falk JL,*et al.* Elevated levels of serum glial fibrillary acidic protein breakdown products in mild and moderate traumatic brain injury are associated with intracranial lesions and neurosurgical intervention[J]. Ann Emerg Med,2012,59(6):471-483
  - 11 Helmy A, Carpenter KL, Menon DK, *et al.* The cytokine response to human traumatic brain injury: temporal profiles and evidence for cerebral parenchymal production[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2011;31(2):658-670
  - 12 Guzel A, Er U, Tatli M, *et al.* Serum neuron - specific enolase as a predictor of short - term outcome and its correlation with Glasgow Coma Scale in traumatic brain injury[J]. Neurosurg Rev,2008,31(4):439-444
  - 13 Böhmer hmer AE, Oses JP, Schmidt AP, *et al.* Neuron - specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury[J]. Neurosurgery,2011,68(6):1624-1630
  - 14 Brophy GM, Mondello S, Papa L, *et al.* Biokinetic analysis of ubiquitin C - terminal hydrolase - L1 (UCH - L1) in severe traumatic brain injury patient biofluids[J]. J Neurotrauma,2011,28(6):861-870
  - 15 Berger RP, Hayes RL, Richichi R, *et al.* Serum concentrations of ubiquitin C - terminal hydrolase - L1 and  $\alpha$  II - spectrin breakdown product 145 kDa correlate with outcome after pediatric TBI[J]. J Neurotrauma,2012,29(1):162-167
  - 16 Papa L, Lewis LM, Silvestri S, *et al.* Serum levels of ubiquitin C - terminal hydrolase distinguish mild traumatic brain injury from trauma controls and are elevated in mild and moderate traumatic brain injury patients with intracranial lesions and neurosurgical intervention[J]. J Trauma Acute Care Surg,2012,72(5):1335-1344
  - 17 Mondello S, Papa L, Buki A,*et al.* Neuronal and glial markers are differently associated with computed tomography findings and outcome in patients with severe traumatic brain injury: a case control study [J]. Crit Care,2011,15(3):R156
  - 18 Berger RP, Bazaco MC, Wagner AK, *et al.* Trajectory analysis of serum biomarker concentrations facilitates outcome prediction after pediatric traumatic and hypoxicemic brain injury[J]. Dev Neurosci,2010,32(5-6):396-405
  - 19 Feala JD, Abdulhameed MD, Yu C,*et al.* Systems biology approaches for discovering biomarkers for traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma,2013,30(13):1101-1106 (收稿日期:2014-03-06)  
(修回日期:2014-03-28)

## 肿瘤过继性细胞免疫治疗

陈勇伟 王 坚

**摘 要** 目前,肿瘤的细胞免疫治疗成为国内外研究的热点问题。其中,在过继性细胞免疫治疗(adoptive cellular immunotherapy, ACI)研究方面取得了很大成效。随着对人类免疫系统的认识和肿瘤发生机制的深入研究,肿瘤的免疫治疗的疗效不断得到提高,特别是在过继性细胞免疫治疗中,利用近代的转基因技术和细胞培养技术等,使得利用细胞免疫疗法彻底治愈肿瘤成为可能,本文将就肿瘤和免疫的关系、过继性细胞免疫治疗存在的优缺点及研究进展做一综述。

作者单位:524000 湛江,广东医学院附属医院泌尿外科

通讯作者:王坚,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:zj\_wangjian@126.com