

s100-β 蛋白检测对神经系统损伤早期诊断临床应用进展

彭艳君 单建丽

(香河县人民医院 河北廊坊 065400)

【摘要】 S100β 蛋白属于一种典型的小分子Ca结合蛋白, 脑内胶质细胞当中表达绝大部分的S100β。正常状态下人体血清当中的S100β 水平较低, 当人体神经系统发生损伤后, S100β 穿越血脑屏障进入外周血, 使得血液中的S100β 蛋白含量显著上升。鉴于此临床中通过检测S100β 含量水平判断患者的神经损伤严重程度, 以此为早期临床诊断提供依据。

【关键词】 S100β; 神经系统; 血清检测; 血脑屏障

Progress of clinical application of s100-β protein detection for early diagnosis of nervous system injury

Peng Yanjun, Shan Jianli

Xianghe County People's Hospital, Hebei Langfang 065400

[Abstract] S100 β protein belongs to a typical small molecule Ca binding protein. Most of S100 β is expressed in glial cells in the brain. In the normal state, the level of S100 β in the human serum is relatively low. When the human nervous system is damaged, S100 β crosses the blood-brain barrier and enters the peripheral blood, making the content of S100 β protein in the blood increases significantly. In view of the severity of nerve damage judged by detecting S100 β content level in this clinic, so as to provide a basis for early clinical diagnosis.

[Key words] S100 β; nervous system, serum test; blood-brain barrier

引言:

S100蛋白是一类能与钙和锌相结合的蛋白质家族, S100家族具备结合Ca、Zn的能力, 其中Ca²⁺参与细胞的增殖、分化、凋亡, 此外还参与到肌肉收缩与基因表达等环节中。

作为S100蛋白家族当中活跃度最高的成分, S100β的出现标志着星形胶质细胞被激活, 与Ca²⁺特异性结合, 在此过程中多种类型的酶被激活, 蛋白彼此间的作用被调节。S100β在一定程度上决定神经系统的生长发育效果, 表现为S100β有助于促进神经轴突生长、促进神经胶质细胞增生。当脑神经出现损伤后, S100β在急性胶质细胞反应的作用下促进神经元分化、合成分泌血浆钙支持损伤的脑神经修复, 鉴于此临床中认为S100β蛋白是脑神经损伤及修复预后效果判断的标志物。

1 s100-β 蛋白的生物学特性

半胱氨酸残基形成的二硫键为两个β亚单位合成S100β创造条件, 脑内胶质细胞当中存在的S100β蛋白约占总数的96%, 被临床中认定为大脑特异性蛋白。S100β不仅具有较高的活跃度, 还参与到神经胶质细维持Ca稳态当中, 在一定程度上会影响学习记忆。

常人血清中的S100β蛋白含量<0.2μg/L, 因为含量过少, 所以临床中测定难度较大。

脑损伤患者的神经胶质细胞膜处于破损状态, 此时血清中的S100β蛋白被释放到细胞外间隙中, 以受损的血脑屏障为途径运动至脑脊液、血液当中。S100β蛋白过量表达会产生神经毒作用, 表现为加重患者神经系统炎症、增加神经系统功能紊乱程度, 使Ca自动平衡调节能力下降, 最终造成细胞死亡。人体血清S100β蛋白的实际含量与神经疾病的临床观察与治疗预后效果存在一定关系, 因此临床治疗神经损伤患者时, 高度重视S100β蛋白的检测。

2 s100-β 蛋白检测方法

2.1 放射免疫分析法

运用放射免疫分析法(RIA)又称竞争性饱和分析法检测S100β, 以标记同位素、未标记抗原同抗之间出现的竞争性抑制反应放射性同位素为依据。放射免疫分析法检测S100β的质量单位可精确到ng-pg 组间变异系数5%、组内变异系数10%。

Gazzolo D等(2002)在研究中将RIA法作为宫内胎儿发育缓慢的检测方式, 检测依据为孕妇脐带血中的S100β含量。该研究中将存在宫内胎儿发育缓慢的孕妇脐带血S100β含量与正常的孕妇脐带血S100β含量进行对比, 结果显示存在宫内胎儿发育缓慢的孕妇脐带血S100β含量明显高于正常孕妇, 由此断定胎儿脑神经发生损伤。

尽管RIA在一段时期内成为相关临床研究的重要方式,

但是经过长期实践发现该方法存在一系列不足, 表现为:

(1) 仅有存在免疫反应性的物质适用该方法, 并不能有效检测无免疫反应性的物质;

(2) 对实验条件存在严格的要求, 需要对影响实验试剂稳定性的因素进行控制;

(3) 并非所有的被测物、标准物均参与反应, 获得的测定值是一种相对量而非绝对量;

(4) RIA 存在一定的放射线放射性和污染性, 对实验者、环境并不友好。

2.2 免疫放射测定

为避免 RIA 存在的一系列不足, 免疫放射测定法 (IRMA) 由此诞生, IRMA 测定 S100 β 的过程中, 使用过量的标记抗体与所有抗原相结合, 吸附处理后将游离态标记抗体去除, 对剩余的抗体的放射性强度进行测定, 通过分析测定结果即可明确待测抗原含量。

陈敬信等^[1] (2022) 在研究中使用 IRMA 分别检测人体血清、脑脊液当中含有 S100 β 的量, 检测灵敏度 0.13 μ g/L, 高值 CV5%、低值 CV10%。研究中进一步使用 IRMA 对 S100 β 的特异性进行检测, 检测结果显示线性介于 0-20 μ g/L, 由此证明使用 IRMA 对人体体液当中含有的 S100 β 量进行检测具有可靠性。尽管 IRMA 相比 RIA 具有更为突出的优势, 但是仍存在一系列不足:

(1) 因为放射性同位素会发生衰变, 所以在每一次进行 IRMA 测定 S100 β 时, 需要同时做出标记抗原或抗体的曲线, 由此延长了报告得出时间;

(2) 放射性同位素同样会对环境造成污染, 因此实验人员需要在实验过程中佩戴防护装备, 增加了实验环节的繁琐性。

2.3 电化学检测法

南京医科大学第一附属医院联合南京大学生物化学开发了 S100 β

电化学检测法 (ECLIA), 电化学检测 S100 β 时不再依赖于抗体、抗原的相互作用, 而是使用脢作为抗体。电化学检测 S100 β 的精度达到 0.1nM、回收率无限趋近于 100%。电化学检测 S100 β 的优势体现在: 多肽取代抗体, 支持合理理想型结构。检测蛋白的目标配体可修改。

2.4 磁珠量子点检测法

磁珠量子点检测法 (MB-QD) 在生物医学中具有广泛的适用范围, 磁珠具有一定的生物功能化, 支持分选细胞、生物分离、靶向给药、免疫测定, 可捕获低浓度样品浓度, 使用无机半导体纳米粒子——量子点 (QDs), 支持广泛吸收光谱且具备狭窄发射峰, 有效抵抗光致漂白、高量子产率。

代晨等^[2] (2019) 在研究中使用表面功能化量子点偶联磁珠标记捕获物, 以抗体、分析物的结合绑定信号作为转导

探针的方式, 由此实现对捕获物的定量分析。使用 MB-QD 检测人体血清中含有的 S100 β 存在一系列特点:

(1) 展现出高度的特异性;

(2) 在磁珠的作用下实验进程加快, 样品混合、洗涤步骤相对简单, 实验全过程耗时约为 1h;

(3) 支持 G 蛋白与抗体在 QDs 上偶联, 以此保证抗体拥有足够的稳定性、功能性;

(4) S100 β 检测临界值范围最大值为 10ng/ml、最小值为 10pg/ml;

(5) MBs 复合物释放的 QDs 有助于防止磁珠发生光散射, 为实验敏感性的提升提供支持。

3 神经系统损伤临床早期诊断临床应用 s100- β 蛋白检测

3.1 血清中脑源性神经营养因子

马菲等^[3] (2019) 在研究中通过检测孤独症患儿血清中的 S100 β 蛋白判断患儿血清中存在的脑源性神经营养因子。该研究中选取漯河市残疾人康复中心参加训练的患儿 35 例作为研究对象, 将研究对象全部化为观察组样本, 另选取 35 例健康儿童作为对照组。研究中依据《精神疾病诊断和统计手册》第 5 版制定孤独症儿童诊断标准, 并在 8:00 采集各组别患儿 1 的肘静脉血, 控制采血量 3.0mL。室温环境下静置 1h 后对血样进行离心处理, 控制离心机转速为 3000r/min、持续离心 15min。离心结束后将血清分离并将其保存在恒温-20 $^{\circ}$ C 环境中, 要求保存的血样未发生溶血。

该研究结果显示, 观察组血清 BD-NF 水平相比对照组明显上升, 对比存在显著差异 ($P<0.05$)。观察组内部孤独症严重程度不同的患儿 BD-NF 水平彼此间对比无显著差异 ($P>0.05$), 由此进一步认定 BD-NF 水平与儿童发生孤独症存在密切关系。研究中发现观察组与对照组的 S100 β 水平无显著差异, 且孤独症严重程度不同的患儿彼此间 S100 β 水平、BD-NF 水平对比无显著差异 ($P>0.05$)。该研究中进一步指出, S100 β 水平与脑损伤修复存在一定的联系, 且 S100 β 水平与脑损伤修复存在相关性, 临床中通常将脑脊液、血清中的 S100 β 水平作为判断脑组织损伤的指标。Al-Ayadhi 等 (2012) 在研究中指出, 孤独症患儿血清 S100 β 与其病情严重程度并不存在相关性, 本次研究中同样未发现孤独症患儿血清 S100 β 蛋白水平与其病情严重程度存在相关性, 研究中推测是研究样本数不足导致。

3.2 反应蛋白与认知功能障碍

何琦^[4] (2023) 年在研究中选取 2021 年 2 月至 2023 年 2 月期间在南昌大学第一附属医院就诊的认知功能障碍患者作为研究对象, 按照认知功能障碍严重程度的不同, 将其

进一步分为认知功能严重下降的 AD 组、认知功能轻度减退的 MCI 组,另选取认知功能正常的人群作为 HC 组。对各组别患者的一般信息资料进行收集,包括文化程度、年龄、身高、体重、性别等,对患者病史与不良生活史进行分析,包括无高血压、糖尿病、心血管疾病、吸烟酗酒等。在 6:00 至 8:00 对患者进行空腹抽血,在免疫层析法的支持下测定患者血清的 S100 β 浓度。该研究结果显示, D 组和 HC 组血清中的 S100 β 水平差异显著 ($P < 0.05$), AD 组、MCI 组、HC 组血清 CRP 水平对比无显著差异 ($P > 0.05$)。由此认定认知功能障碍患者的血清 S100 β 蛋白水平与其认知功能成反比,而血清 CRP 水平与认知功能评估无直接关系。

研究中指出, S100 β 蛋白是一种 Ca 结合蛋白,尽管人体脑组织含有 S100 β 蛋白的浓度相对较低,但是存在大量的促存活和分化因子,是神经突延伸同时保护神经元在发育过程中受到氧化应激影响。当 S100 β 蛋白含量水平上升,相应地会促进炎症因子发育,同时对神经元中晚期糖基化终产物 (RAGE) 受体产生刺激作用,产生大量的活性氧,加速细胞凋亡的同时上调促炎细胞因子水平。S100 β 在高浓度环境下使 NO 合酶水平上调,在 S100 β 与细菌内毒素、IFN- γ 的协同作用对小胶质细胞产生刺激并释放 NO,增强了参与小胶质细胞的活化程度。尽管正常状态下人体脑组织中的 S100 β 蛋白处于极低水平,可以直接穿越血脑屏障,但是当人体神经出现炎症反应时,血脑屏障的通透性会增加,相应的脑脊液中含有的 S100 β 会进入外周血,因此临床中对比正常状况下与患者血液中 S100 β 蛋白的水平,判断患者是否发生血脑屏障受损。

不仅是人体脑组织的星形胶质细胞能够释放 S100 β 蛋白,部分非神经组织细胞同样能够合成并释放 S100 β 蛋白,常见的可合成 S100 β 蛋白的非神经组织包括软骨细胞、树突细胞、Leydig 细胞、骨骼肌卫星细胞等,由此解释了人体

在完成剧烈运动后、发生病理性骨质损伤时,仍表现为 S100 β 水平升高。学术界部分观点认为,人体血液中的 S100 β 含量上升并非直接证明人体脑组织中的 S100 β 水平上升,进而对 S100 β 蛋白完成通过血脑屏障产生质疑。通过对人体血液中的 S100 β 蛋白浓度进行测定,并以此为依据判断人体脑脊液当中的 S100 β 水平会增加结果与实际值之间存在的偏差。石磊^[4]等 (2023) 在研究中指出,人体外周血当中的 S100 β 蛋白含量与脑脊液当中的 S100 β 蛋白含量成正比,付劭静等^[6] (2022) 在研究中指出,AD 患者血清中的 S100 β 蛋白水平与脑功能彼此间呈现反向相关,重度 AD 患者血清中的 S100 β 蛋白浓度上升,相应的轻度 AD 患者血清 S100 β 蛋白浓度下降,认定 S100 β 水平与认知评估成反比。该研究中进一步指出,根据大脑中 A β 低聚物自身免疫应答可判断 AD 的轻重程度, S100 β 蛋白浓度与 AD 中晚期即中度进程发展几乎一致。

结束语

RIA、IEMA、MB-QD、ECLIA 是现阶段临床中检测血清中 S100 β 蛋白的常用方式,不同学者在研究中运用不同方法对患者体内的 S100 β 蛋白含量进行检测。部分研究结果显示, S100 β 蛋白含量与患者症状无关,本次研究认为,之所以马菲的研究结果显示患儿的 S100 β 蛋白含量与其症状无关,是因为引发孤独症的主要原因是脑功能障碍而非脑神经损伤,因此仅可证明 S100 β 蛋白含量与脑功能障碍无关。部分研究结果表明,人体 S100 β 蛋白含量与神经功能损伤有关,例如何琦的研究结果显示 S100 β 蛋白含量与认知功能障碍成反比,由此展现出 S100 β 蛋白含量检测在临床中诊断神经损伤中的应用价值。

参考文献:

- [1]陈敬信,王小玲. IRMA 及 SP 免疫组化染色检测在结肠癌诊断中的意义[J]. 贵州医药, 2022, 46 (12): 1940-1941.
- [2]代晨,王琦,江继鹏,等. 基于纳米磁微粒化学发光技术的 S100B 蛋白新型检测试剂和仪器的研究[J]. 医疗卫生装备, 2019, 40 (03): 15-18+22.
- [3]马菲,任亮,陈素环. 孤独症儿童血清中脑源性神经营养因子和 S100B 蛋白的检测及意义[J]. 中国中西医结合儿科学, 2019, 11 (3): 251-253.
- [4]何琦. 血清 S100 β 蛋白和 C 反应蛋白与认知功能障碍相关性研究[D]. 南昌大学, 2023.
- [5]石磊, 窦超, 徐天阳, 等. 外周血 NFL、S100 β 水平与脑出血患者血脑屏障指数及认知功能的关系[J]. 临床医学, 2023, 43 (09): 13-16.
- [6]付劭静, 杨月明, 周延华, 等. 阿尔茨海默症患者血清缓激肽、s100 β 蛋白和 A β 1-42 表达水平及与患者神经功能、认知功能的关系[J]. 河北医药, 2022, 44 (15): 2245-2249.