

文章编号: 1001-098X(2003)05-0212-04

## 心肌肌钙蛋白 I 的临床应用及检测方法进展

赵保健

**摘要:** cTnI (心肌肌钙蛋白 I) 是心肌肌钙蛋白的一种亚型, 正常人血液中含量很低, 当心肌细胞损伤时, cTnI 在血液中的含量迅速升高。近年来随着 cTnI 检测方法的不断改进, cTnI 已成为最具有临床价值的心肌损伤标志物之一, 被广泛应用于心脏疾患的临床诊断和检测。

**关键词:** 心肌肌钙蛋白 I; 心肌损伤; 酶联免疫分析; 化学发光免疫分析

**中图分类号:** R446.62 **文献标识码:** A

### The clinical utilization and development of assay for cardiac troponin I

ZHAO Bao-jian

(The Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

**Abstract:** Cardiac troponin I(cTnI) is one of the subunits of cardiac troponin. Only a small amount of cTnI can be found in normal serum. Its concentration increases rapidly when myocardial cells is damaged. With the gradually improvement of analytical methods of cTnI, it has been extensively used to help clinical diagnosis and monitor the therapeutic efficacy of cardiac diseases

**Key words:** cardiac troponin I; myocardial injury; enzyme-linked immunosorbent assay; chemiluminoimmunoassay

cTnI (心肌肌钙蛋白 I) 是心肌肌钙蛋白复合物的亚单位, 存在于心肌肌原纤维细肌丝上, 相对分子质量为 24 000, 是心肌细胞特有的结构蛋白。cTnI 约有 3% 游离于细胞质中, 97% 与 cTnT (心肌肌钙蛋白 T)、cTnC (心肌肌钙蛋白 C) 结合成肌钙蛋白复合物<sup>[1,2]</sup>。在正常情况下, 血液中 cTnI 的含量很低, 当一些病变引起心肌细胞损伤时, cTnI 迅速弥散入血液中, 致使血液中 cTnI 的含量迅速升高。很多研究表明<sup>[3]</sup>, cTnI 是一种反映心肌细胞损伤高度灵敏与特异的标志物。

#### 1 cTnI 在临床中的应用

##### 1.1 在 AMI (急性心肌梗死) 中的应用

收稿日期: 2003-05-22

**作者简介:** 赵保健(1978-), 男, 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所(天津, 300192) 硕士研究生, 主要从事抗体制备研究。

**审校者:** 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 张春明

WHO (世界卫生组织) 规定, 诊断 AMI 必须至少满足以下条件中的两条: (1) 典型的临床表现; (2) 心电图的进行性变化; (3) 与心脏有关的酶谱的变化。近年来临床心血管研究表明, cTnI 能高度特异敏感地反映心肌损伤和坏死程度, 对 AMI、心绞痛、心肌功能评估具有很高的诊断价值。它具有以下特点: ① 出现时间早: AMI 发生后 cTnI 很快释放到血液中, 4~6h 即可检测到, 因此可作为 AMI 早期诊断指标。② 敏感性高: 心肌轻微损伤时血液中 cTnI 含量即明显升高。③ 特异性强: 研究表明, 在胚胎发育过程中的骨骼肌、患病骨骼肌和再生的骨骼肌中都没有发现 cTnI 的表达; 在骨骼肌的遗传性病变、长跑运动员的骨骼肌以及骨骼肌再生的各个阶段, 也都没有发现 cTnI 的表达, 也未探测到 cTnI mRNA<sup>[4]</sup>。LDH (乳酸脱氢酶)、CK-MB (肌酸激酶同工酶) 探测 AMI 的灵敏度比较高, 但特异性较低, 因其广泛分布于体内, 许多疾病都可导致它们的升高; cTnT 是心肌细胞

特有的结构蛋白,但它与 sTnT(骨骼肌肌钙蛋白 T)仅有 6~11 个氨基酸的区别,同源性很高,容易发生交叉反应,而且在胚胎与再生的骨骼肌中都发现了 cTnT 的表达<sup>[5]</sup>;而 cTnI 与 sTnI(骨骼肌肌钙蛋白 I)同源性很低,因此特异性更高。<sup>④</sup>在血液中持续时间长:AMI 发生后 cTnI 很快释放至血液中,4~6h 开始升高,18~24h 达到高峰,在 7 日内维持较高浓度;而 LDH、CK-MB 等指标两三日内回落至正常。此外,AMI 患者溶栓治疗后血液中 cTnI 持续升高,预示再通率低,表明 cTnI 也可以作为判断溶栓疗效的一项指标<sup>[6]</sup>。因此,cTnI 不仅可以早期诊断 AMI、心绞痛等,还可作为回顾诊断和动态诊断指标。

### 1.2 在轻微心肌缺血性损伤中的应用

Apple FS 等<sup>[7]</sup>研究发现,在轻微的心肌缺血性损伤患者中,cTnI 在 0~6h 迅速升高,并可维持较长时间,而 CK-MB 在 7~12h 才出现迅速增长;在 6h 内,两者的敏感性都小于 40%,然而在 7~36h,cTnI 的敏感性达到 100%,而 CK-MB 的敏感性则为 61%~81%,表明 cTnI 在轻微的心肌缺血性损伤中比 CK-MB 更灵敏。Wu AHB 等<sup>[7]</sup>也报道,在轻微的心肌缺血性损伤和一些心脏缺血性病变中,CK-MB 与肌红蛋白并不升高,心电图变化不明显,而 cTnI 在血液中含量明显升高。

### 1.3 在 UAP(不稳定性心绞痛)中的应用

UAP 是冠状动脉病变处于急骤变化中的一种表现,有些患者可发展为 AMI。cTnI 在 UAP 患者血液中主要的存在形式与 AMI 患者一样为 cTnI-cTnC 复合物,但在血清中含量要低<sup>[8]</sup>。Olatidoye AG 等<sup>[9]</sup>对 123 例 UAP 患者进行研究,在远期预后方面,cTnI 敏感性为 63%,特异性为 92%。另外有研究发现,在 UAP 患者中,cTnI 升高的患者由心脏病变引起的死亡率比 cTnI 正常的患者高 5 倍(4~6 周内)<sup>[7]</sup>。因此,cTnI 不仅可用来诊断 UAP,还可作为 UAP 风险分级的重要参考。

### 1.4 在手术中的应用

射频消融术是一种治疗心率失常的有效方法,但该方法会不可避免地造成心肌轻微的局部损伤。Rey JMD 等<sup>[10]</sup>研究发现,cTnI 诊断这种损伤的敏感性为 92%,而 CK-MB 敏感性为 63%。PTCA(经皮腔冠状动脉成形术)后,常有心肌蛋白的释放,预示轻微的心肌损伤。Ricchiuti V 等<sup>[11]</sup>对 83

例 PTCA 患者追踪调查发现,60% 患者的 cTnI 升高,cTnI 升高的患者 30d 内预后较差。

手术期间心肌梗死占急性手术与择期手术死亡原因的一半以上,尽管麻醉与外科护理有了很大的提高,这个比例仍未下降,其中一个原因是难以在术后早期诊断心肌梗死的发生(手术后心肌梗死的临床症状 75% 不典型,心电图常常很复杂而难以解释,没有典型的 Q 波出现;CK-MB 受多种因素的影响,变化不一,也难以用于诊断)。Haggart PC 等<sup>[12]</sup>对 59 例心肌梗死患者进行跟踪调查发现,在 cTnI 升高的患者中,急诊手术患者一半以上发生了心肌梗死,择期手术患者 1/4 以上发生了心肌梗死;而 CK-MB 升高的患者中,仅有不到 1/5 发生了心肌梗死。因此,cTnI 可作为诊断手术导致心肌损伤的重要指标。

## 2 cTnI 检测方法的研究进展

### 2.1 RIA(放射免疫分析)法

1987 年,Cummins B 等首次用 RIA 的方法,检测了血中的 cTnI 含量。该方法使用 cTnI 的多克隆抗体,最低检测值为 10 $\mu$ g/L,与 sTnI 的交叉反应率约为 2%,并且 24~36h 后才能看到结果。由于更先进的方法出现,RIA 法已很少用于 cTnI 的检测。

### 2.2 ELISA(酶联免疫分析)法

1992 年,Bodor GS 等建立了 cTnI 的 ELISA 方法。1993 年,Larue C 等对 cTnI 的 ELISA 法进行改进,全部反应仅需 30min,最低检测值为 0.2 $\mu$ g/L,与 sTnI 没有交叉反应,灵敏度与特异性得到进一步提高。

### 2.3 发光免疫分析方法

为了提高灵敏度,cTnI 的检测方法现多采用发光免疫分析的技术。它们以微粒为载体,把抗体与小分子颗粒结合,提高抗体的捕捉能力,例如,用树脂<sup>[9]</sup>、磁性微粒<sup>[13]</sup>、聚苯乙烯珠<sup>[15]</sup>等作为载体,灵敏度均明显提高。

最近,Geiger DU 等<sup>[13]</sup>用全自动微粒子化学发光免疫分析仪将 AMPPD [3-(2'-螺金刚烷)-4'-甲氧基-4-(3'-磷酸基)-苯基-1,2-环氧乙烷]作为发光底物与二抗连接的碱性磷酸酶作用引起化学发光,通过检测发光信号强度来检测血液中 cTnI 的含量。它使用两种鼠源性单抗,一种针对 cTnI

41~49 氨基酸序列, 作为捕获抗体, 另一种针对 cTnI 24~40 氨基酸序列, 与碱性磷酸酶连接作为标记抗体, 检测全血样本, 时间为 12min, 检测范围为 0.01~100 $\mu\text{g/L}$ 。研究表明, cTnI 的翻译后修饰、抗鼠抗体 C(针对鼠源单抗)、风湿因子、常用药物等对检测结果都无影响。在非 AMI 患者中间, 当 cTnI 含量大于 0.04 $\mu\text{g/L}$  时, 发现 99% 的患者有心肌损伤(不稳定性心绞痛、充血性心力衰竭、外伤或肾病晚期引起的心脏疾患等)。

### 3 关于 cTnI 检测方法的标准化

起初, 检测 cTnI 所使用的单抗主要是针对游离的 cTnI, 并且认为针对 cTnI N 端的单抗具有更强的特异性<sup>[45]</sup>。随着对 cTnI 研究的深入, 发现 cTnI 主要以 cTnI-cTnC 复合物的形式释放至血液中, 游离的 cTnI、cTnI-cTnT 复合物和 cTnT-cTnI-cTnC 复合物都很少<sup>[46]</sup>, 并且存在着翻译后修饰的多种形式<sup>[47]</sup>; 另外, cTnI 释放到血液后, N 端与 C 端很快被降解, 而 30~110 氨基酸序列相对比较稳定, 因此 cTnI 进入血循环一段时间后血液中的 cTnI 实际上是由降解物组成的一系列混合物<sup>[48]</sup>。这些发现表明, 检测 cTnI 使用的抗体必须尽可能地结合血液中 cTnI 的各种形式。1992 年, Larue C 等<sup>[49]</sup>建立了 cTnI 的单克隆抗体图谱, 为 cTnI 抗体的选择奠定了基础。他们采用肽序列分析的方法, 首先根据已知的牛 cTnI 与 sTnI 氨基酸序列合成了一系列多肽片段, 然后加入 cTnI 的单体, 用 RIA 法进行检测, 发现在 28 种单抗中有 10 种与 sTnI 有交叉反应, 另外 18 种具有高度的特异性, 它们至少定位于 cTnI 的 6 个不同的部位。

这一系列研究发现都促进了 cTnI 检测方法的发展, 但是同时由于各种检测方法采用的抗体以及反应试剂的不同, 导致它们之间有很大的差异。Qin WS 等<sup>[2]</sup>对检测 cTnI 的方法进行了比较, 发现检测结果有 5~9 倍的差异, 并指出采用针对 cTnI 稳定区域的抗体、统一的标准与参照体系可缩小这种差异。Katrukha AG 等<sup>[20]</sup>发现, 用天然的肌钙蛋白复合物作为参照标准, 可将各种方法之间的差异从超过 10 倍缩小到 1.4 倍左右。因此, Wu AHB 等<sup>[24]</sup>指出, 检测 cTnI 应使用 cTnI 中稳定的具有心脏特异性的氨基酸序列的抗体, 应该能识别血液中 cTnI 的各种形式, 并不受肝素、特异性抗

体、常用药物、风湿因子、血液成分等的影响, 还应该具有较低的误差。

### 4 结语

现在的 cTnI 检测技术已趋于成熟, 灵敏度与特异性都很高。cTnI 作为检测心肌损伤高度特异与灵敏的指标, 已广泛应用于临床诊断、风险分级与疗效观察。目前面临的主要问题是 cTnI 检测的标准化, 包括抗体、参照物和试剂等许多方面需要建立统一的标准。随着这方面研究的深入, 以及更好的抗体的出现与抗体标记技术的进步, cTnI 会有更广泛的应用前景。

### 参考文献:

- [1] Jaffe AS, Landt Y, Parvin CA, et al. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction [J]. *Clin Chem*, 1996, 42: 1770-1776.
- [2] Qin WS, Ling MF, Zhang XC, et al. Degradation of cardiac troponin I in serum complicates comparisons of cardiac troponin I assays[J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 1018-1025.
- [3] Apple FS, Falahati A, Paulsen PR, et al. Improved detection of minor ischemic myocardial injury with measurement of serum cardiac troponin I[J]. *Clin Chem*, 1997, 43: 2047-2051.
- [4] Apple FS. Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase-MB[J]. *Clin Chim Acta*, 1999, 284: 151-159.
- [5] Mair J. Cardiac troponin I and troponin T: are enzymes still relevant as cardiac markers?[J]. *Clin Chim Acta*, 1997, 257: 99-115.
- [6] Matetzky S, Sharir T, Domingo M, et al. Elevated troponin I level on admission is associated with adverse outcome of primary angioplasty in acute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2000, 102: 1611-1616.
- [7] Wu AHB. Cardiac markers: from enzymes to proteins, diagnosis to prognosis, laboratory to bedside[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 1999, 29: 18-23.
- [8] Giuliani I, Bertinchant JP, Lopez M, et al. Determination of cardiac troponin I forms in the blood of patients with unstable angina pectoris[J]. *Clin Biochem*, 2002, 32: 111-117.
- [9] Olatidoye AG, Wu AHB, Yue-jin feng, et al. Prognostic role of troponin T versus I in unstable angina pectoris for cardiac events with meta-analysis comparing published studies [J]. *Am J Cardiol*, 1998, 81: 1405-1410.
- [10] Rey JMD, Madrid AH, Valina JM, et al. Cardiac troponin I and minor cardiac damage: biochemical markers in a clinical model of myocardial lesions[J]. *Clin Chem*, 1998, 454: 2270-2277.

- [11] Ricchiuti V, Shear WS, Henry TD, et al. Monitoring plasma cardiac troponin I for the detection of myocardial injury after percutaneous transluminal coronary angioplasty[J]. *Clin Chim Acta*, 2000, 302: 161-170.
- [12] Haggart PC, Adam DJ, Ludman PF, et al. Comparison of cardiac troponin I and creatine kinase ratios in the detection of myocardial injury after aortic surgery[J]. *Br J Surg*, 2001, 88: 1196-1200.
- [13] Geiger DU, Wu AHB, Apple FS, et al. Multicenter evaluation of an automated assay for troponin I [J]. *Clin Chem*, 2002, 48: 869-876.
- [14] Heeschen C, Goldmann BU, Langenbrink I, et al. Evaluation of a rapid whole blood ELISA for quantification of troponin I in patients with acute chest pain[J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 1789-1796.
- [15] Hafner G, Peetz D, Erbes H, et al. Comparison of diagnostic performance of cardiac troponin I on the IMMULITE system with other automated troponin I assays in minor myocardial damage[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2001, 61: 227-236.
- [16] Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex [J]. *Clin Chem*, 1997, 43: 1379-1385.
- [17] Bunk DM, Dalluge JJ, Welch MJ. Heterogeneity in human cardiac Troponin I standards[J]. *Anal Biochem*, 2000, 284: 191-200.
- [18] Katrukha AG, Bereznikova AV, Filatov VL, et al. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection[J]. *Clin Chem*, 1998, 44: 2433-2440.
- [19] Larue C, Defacque-Iacquement H, Calzolari C, et al. New monoclonal antibodies as probes for human cardiac troponin I: epitopic analysis with synthetic peptides [J]. *Mol Immunol*, 1992, 29, 271-278.
- [20] Katrukha AG, Bereznikova AV, Pettersson K, et al. New approach to standardization of human cardiac troponin I (cTnI)[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 1999, 59(Suppl 230): 124-127.
- [21] Wu AHB, Apple FS, Warshaw MM, et al. National Academy of Clinical Biochemistry standards of laboratory practice: recommendations for the use of cardiac makers in coronary artery diseases. Vol.5 [M]. Washington, DC: National Academy of Clinical Biochemistry, 1999. 44.

(上接第 207 页)

- II. In vivo biodistribution study in a solid tumor model [J]. *Drug Deliv*, 2000, 7: 15-19.
- [16] Bennis JM, Kim SW. Tailoring new gene delivery for specific targets[J]. *J Drug Target*, 2000, 8: 1-9.
- [17] Sudimark J, Lee RJ. Targeted drug delivery via the folate receptor[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2000, 41: 147-162.
- [18] Alexiou C, Arnold W, Klein RJ, et al. Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 6641-6648.
- [19] Panyam J, Zhou WZ, Prabha S, et al. Rapid endo-lysosomal escape of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery[J]. *FASEB J*, 2002, 16: 1217-1226.
- [20] Zhou R, Mazurchuk R, Straubinger RM. Antivasculature effects of doxorubicin-containing liposomes in an intracranial rat brain tumor model[J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 2561-2566.
- [21] Raucher D, Chilkoti A. Enhanced uptake of a thermally responsive polypeptide by tumor cells in response to its hyperthermia-mediated phase transition[J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 7163-7170.
- [22] Bourdon O, Mosqueira V, Legrand P, et al. A comparative study of the cellular uptake, localization and phototoxicity of meta-tetra(hydroxyphenyl) chlorin encapsulated in surface-modified submicronic oil/water carriers in HT29 tumor cells[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2000, 55: 164-171.
- [23] Miyata T, Uragami T, Nakamae K. Biomolecule-sensitive hydrogels[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2002, 54: 79-98.
- [24] Kim JJ, Park K. Modulated insulin delivery from glucose-sensitive hydrogel dosage forms[J]. *J Control Release*, 2001, 77: 39-47.
- [25] Kwok CS, Mourad PD, Crum IA, et al. Self-assembled molecular structures as ultrasonically-responsive barrier membranes for pulsatile drug delivery [J]. *J Biomed Mater Res*, 2001, 57: 151-164.
- [26] Phillips WT, Klipper R, Goins B. Novel method of greatly enhanced delivery of liposomes to lymph nodes [J]. *J Pharmcol Exp Ther*, 2000, 295: 309-313.
- [27] Goins B, Phillips WT, Klipper R. Blood-pool imaging using technetium-99m- labeled liposomes[J]. *J Nucl Med*, 1996, 37: 1374-1379.
- [28] Dams ETM, Oyen WJG, Boerman OC, et al. Tc-99m-PEG-liposomes for the scintigraphic detection of infection and inflammation: Clinical evaluation[J]. *J Nucl Med*, 2000, 41: 622-630.
- [29] Kostarelos K, Emfietzoglou D. Liposomes as carriers of radionuclides: from imaging to therapy [J]. *J Liposome Res*, 1999, 9: 429-460.