

- 17 Delbeke D, Edward RC, Guiberteau MJ, et al. Procedure guideline for SPECT/CT imaging I.0. J Nucl Med, 2006, 47(7): 1227-1234.
- 18 Lerman H, Metser U, Liovshitz G, et al. Lymphoscintigraphic sentinel node identification in patients with breast cancer: the role of SPECT-CT. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2006, 33(3): 329-337.
- 19 Schillaci O, Danieli R, Manni C, et al. Technetium-99m-labelled red blood cell imaging in the diagnosis of hepatic haemangiomas: the role of SPECT/CT with a hybrid camera. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31(7): 1011-1015.

(收稿日期: 2006-11-06)

抵抗素研究进展及其在肿瘤核医学中的应用

陈仲 韩佩珍

【摘要】 抵抗素是脂肪细胞分泌的一种多肽类细胞因子, 是肥胖与胰岛素抵抗和糖尿病联系的纽带, 其在体内分布广泛, 但现阶段研究还存在很大的争议。目前, 抵抗素的检测方法主要是酶联免疫吸附分析、相对定量实时聚合酶链反应技术、放射免疫分析和蛋白质印迹法。乳腺癌患者血清抵抗素水平为(5.23±6.90)mg/L, 明显高于对照组的(1.46±2.00)mg/L。通过对抵抗素在肿瘤核医学中的应用研究, 可进一步研究其与乳腺癌在分子水平上的关系。

【关键词】 酶联免疫吸附测定; 聚合酶链反应; 放射免疫测定; 印迹法, 蛋白质; 抵抗素

【中图分类号】 Q503 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)03-0138-03

Progress of study on resistin and its application in tumor nuclear medicine

CHEN Zhong, HAN Pei-zhen

(Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

【Abstract】 Resistin, a peptide cell factor secreted by fat cells, has wide distribution in human body and multiple functions. Although resistin probably is a bridge connecting obesity to insulin resistance and diabetes, there are lots of controversies and disconformations among recent studies. So far, the detection method of resistin is enzyme linked immunosorbent assay, relative quantitative real-time PCR, radioimmunoassay and Western blotting. There was a statistically significant difference in serum resistin levels between the groups (breast cancer group 5.23±6.90 mg/L vs. control 1.46±2.00 mg/L). The studies of resistin in application in tumor nuclear medicine will investigate the relationship of resistin and breast cancer further in the molecular level.

【Key words】 Enzyme-linked immunosorbent assay; Polymerase chain reaction; Radioimmunoassay; Blotting, western; Resistin

抵抗素是脂肪细胞分泌的一种多肽类细胞因子。Steppan 等^[1]于 2001 年在研究胰岛素增敏剂噻唑烷二酮衍生物的作用机制时发现, 一种由脂肪细胞特异分泌的富含半胱氨酸的蛋白质具有抵抗胰岛素的作用, 将其命名为抵抗素(resistin)。抵抗素是联系肥胖与胰岛素抵抗、糖尿病的一个纽带, 但其生物学功能以及与肥胖、胰岛素抵抗、2 型糖尿病的关系尚有待进一步研究。

1 抵抗素的分布

抵抗素首先是作为脂肪细胞因子提出的, 后来的研究对抵抗素的这种来源和分布都提出了质疑。Savage 等^[2]从严重的胰岛素抵抗患者的脂肪细胞中没有检测出抵抗素的 mRNA, Nagaev 等^[3]也得到同样的实验结果。Patel 等^[4]利用实时定量聚合酶链反应(pol-ymerase chain reaction, PCR)分析方法对人体多个组织的抵抗素 mRNA 进行检测发现, 骨髓具有高水平抵抗素表达, 肺部的表达量居次, 仅为骨髓的十分之一, 胎盘、胎儿、脾脏有少量表达。

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所天津市分子核医学重点实验室

通讯作者: 韩佩珍(E-mail: peggyhan_5@hotmail.com)

还有文献显示, 抵抗素在肾上腺、垂体、脾脏、骨骼肌和胰腺等部位表达^[6,7]。有试验结果表明, 单核巨噬细胞分泌抵抗素, 并且可能是人体抵抗素最大的来源^[8]。

2 抵抗素的生物学作用

Steppan 等^[1]研究发现, 血液中的抵抗素水平在饮食性或遗传性肥胖小鼠中呈现升高现象。另外, 在饮食诱导的胰岛素抵抗小鼠模型中, 抵抗素抗体 IgG 可以促进脂肪细胞对葡萄糖的摄取, 而抵抗素抑制该作用。这些均提示抵抗素在葡萄糖代谢中具有抵抗胰岛素的作用。但在后来的研究中, 却得到了抵抗素在胰岛素抵抗中不起作用的结果。Way 等^[9]首次证明了实验性肥胖鼠抵抗素表达有严重缺陷, 在遗传型肥胖鼠脂肪组织中的抵抗素 mRNA 表达均降低。Maebuchi 等^[10]对小鼠脂肪组织的抵抗素水平进行了定量测试, 并分析了与胰岛素抵抗的相关性发现, 在高脂饮食小鼠和遗传肥胖小鼠中, 脂肪组织的抵抗素呈低水平, 进而得出抵抗素在胰岛素抵抗中不起作用的结论。Nagaev 等^[4]用实时定量 PCR 方法证实了抵抗素在离体的人体脂肪细胞和肌肉中的表达与胰岛素抵抗和 2 型糖尿病无关。因此, 抵抗素在胰岛素抵抗和 2 型糖尿病中的作用还有待进一步的研究。

抵抗素具有抑制脂肪组织形成的作用。Kim 等^[11]使用 3T3-L1 细胞系做体外实验结果显示, 抵抗素可以抑制前脂肪细胞向成熟脂肪细胞的分化, 在无抵抗素的培养基中, 前脂肪细胞可以分化为含有大量脂肪的成熟脂肪细胞, 而加入抵抗素的培养基中并未出现广泛的脂肪转化, 同时这些脂肪细胞的标志物的表达, 如过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 、脂肪酰合成酶等比无抵抗素的对照组低 80%, 提示抵抗素可能是一种抑制脂肪组织形成的反馈信号, 脂肪和肌肉细胞可能是抵抗素的靶细胞。

在某些炎症反应中发现, 抵抗素的浓度与炎症标志物具有相关性^[12], 炎症患者血清中的抵抗素含量明显高于正常人, 这可能是由于炎性细胞激酶对抵抗素的生成具有直接作用。

Krassas 等^[13]研究表明, 甲状腺功能亢进患者的抵抗素浓度升高与体质量、腰围、脂肪含量以及体质量指数无相关性。甲状腺功能亢进性弥漫性

毒性甲状腺肿(Graves'病)为临床上最多见, 已有研究表明, 细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)及其配体淋巴细胞功能相关抗原 1 在 Graves'病的发病过程中发挥积极的协同作用, Graves'病患者的甲状腺细胞、纤维母细胞等能够自发表达 ICAM-1, 患者血清 ICAM-1 浓度明显高于正常人^[14]。Graves'患者抵抗素浓度升高的原因可能是抵抗素上调 ICAM-1 的表达, 而 ICAM-1 对 Graves'的发病起到关键作用。

3 抵抗素在肿瘤核医学中的应用

受体显像是分子核医学的重要组成部分, 可从受体的水平研究肿瘤分子生物学特征。由于影像技术的发展, 核医学将从功能、代谢、受体、基因等多种角度在肿瘤的早期诊断乃至治疗中发挥作用。Kang 等^[15]的研究表明, 乳腺癌患者血清抵抗素水平明显高于对照组, 乳腺癌患者血清抵抗素的质量浓度为 $(5.23 \pm 6.90) \text{mg/L}$, 对照组为 $(1.46 \pm 2.00) \text{mg/L}$, 差异显著表现出抵抗素与乳腺癌的强关联。利用 ¹²⁵I 标记的抵抗素制成受体显像剂, 可发现抵抗素受体在体内以及肿瘤细胞表面的分布规律, 进一步研究抵抗素与乳腺癌在分子水平上的关系, 从而可为乳腺癌的检测及其发病机制的研究提供新的研究位点。

3.1 抵抗素的检测方法

3.1.1 酶联免疫吸附分析(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)

ELISA 是目前临床应用的检测方法之一, 其主要特点是可以定量分析, 灵敏度高 (6ng/L)、快速(孵育时间只需要 4 h)、取样方便(可以使用血清、血浆以及细胞培养液)。ELISA 板的每个孔上都包被有抵抗素单克隆抗体, 加入样品, 孵育后洗涤。加入生物素化的人抵抗素抗体, 再加入连有辣根过氧化物酶的链霉亲和素进行放大反应, 使用过氧化氢尿素溶液作为底物就可以进行显色反应。最后在酶标仪上进行测定, 并通过不同质量浓度的重组抵抗素标准品 ($20 \sim 1000 \text{ng/L}$) 进行校正, 即可对样品进行定量分析^[16]。

3.1.2 相对实时定量 PCR

相对实时定量 PCR 是一种在基因水平上的检测方法。提取总 RNA, 进行逆转录 PCR, 在反应体系中加入针对抵抗素和一个对照基因(通常选用

一个管家基因)的 PCR 引物和 Taq Man 探针, 利用荧光信号的变化实时检测 PCR 扩增反应中每一个循环扩增产物的变化, 通过目的基因与对照基因进行比较便可获得相对于对照基因的定量^[4]。

3.1.3 放射免疫分析

放射免疫分析也是一种定量检测抵抗素蛋白的方法。其原理是利用 ¹²⁵I-抵抗素作为竞争剂与样品竞争反应体系中的抵抗素抗体, 终止反应后利用 γ 计数器检测体系中的 ¹²⁵I, 再利用标准品做成的标准曲线进行校正, 可以得到样品中抵抗素的含量^[17], 其灵敏度可以达到 0.78mg/L。

3.1.4 蛋白印迹

蛋白印迹主要用于血清样品和脂肪样品的定性和半定量分析。首先对样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳结束后在转移电泳槽内将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜或其他类型膜上, 然后进行一抗、二抗的放大反应, 最后进行显色或发光反应, 检测其信号方可对样品进行定性和比较^[18]。

4 问题与展望

抵抗素研究中还有很多问题存在争议, 例如抵抗素与肥胖和胰岛素抵抗的关系、抵抗素对人与鼠作用的异同、抵抗素与肿瘤的关系等。抵抗素的分布、体内代谢及受体信号转导机制也尚不明确。但是, 抵抗素为肥胖、糖尿病及肿瘤的研究提供了新的方向。

参 考 文 献

- 1 Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 2001, 409(6818): 307-312.
- 2 Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, et al. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science*, 2004, 304(5674): 1154-1158.
- 3 Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, et al. Resistin/ Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator - activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes*, 2001, 50(10): 2199-2202.
- 4 Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 285(2): 561-564.
- 5 Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300(2): 472-476.
- 6 Nogueiras R, Callego R, Gualillo O, et al. Resistin is expressed in different rat tissues and is regulated in a tissue and gender specific manner. *FEBS Lett*, 2003, 548(1-3): 21-27.
- 7 Minn AH, Patterson NB, Pack S, et al. Resistin is expressed in pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(2): 641-645.
- 8 Jung HS, Park KH, Cho YM, et al. Resistin is secreted from macrophages in atherosclerosis and promotes atherosclerosis. *Cardiovasc Res*, 2006, 69(1): 76-85.
- 9 Way JM, Gorgün CZ, Tong Q, et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem*, 2001, 276(28): 25651-25653.
- 10 Maebuchi M, Machidori M, Urade R, et al. Low resistin levels in adipose tissues and serum in high-fat fed mice and genetically obese mice: development of an ELISA system for quantification of resistin. *Arch Biochem Biophys*, 2003, 416(2): 164-170.
- 11 Kim KH, Lee K, Moon YS, et al. A cysteine-rich adipose tissue specific secretor factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2001, 276(14): 11252-11256.
- 12 Stejskal D, Adamovská S, Bartek J, et al. Resistin-concentrations in persons with type2 diabetes mellitus and in individuals with acute inflammatory disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2003, 147(1): 63-69.
- 13 Krassas GE, Pontikides N, Loutis K, et al. Resistin levels in hyperthyroid patients before and after restoration of thyroid function: relationship with body weight and body composition. *Eur J Endocrinol*, 2005, 153(2): 217-221.
- 14 张志友. 细胞间黏附分子-1 与自身免疫性甲状腺疾病. 国外医学内分泌学分册, 2000, 20(4): 175-178.
- 15 Kang JH, Yu BY, Youn DS. Relationship of serum adiponectin and resistin levels with breast cancer risk. *J Korean Med Sci*, 2007, 22(1): 117-121.
- 16 Fujinami A, Obayashi H, Ohta K, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta*, 2004, 339(1-2): 57-63.
- 17 Rajala MW, Qi Y, Patel HR, et al. Related articles, regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes*, 2004, 53(7): 1671-1679.
- 18 Pravenec M, Kazdová L, Landa V, et al. Transgenic and recombinant resistin impair skeletal muscle glucose metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *J Biol Chem*, 2003, 278(46): 45209-45215.

(收稿日期: 2007-01-25)