**参考文献：**

[1] 肖计划，许秀峰.“应付方式问卷”效度与信度研究[J]. 中国心理卫生杂志，1996，10(4)：164－168.
[2] 汪向东，王希林，马弘. 心理卫生评定量表手册：增订版[M]. 北京：中国心理卫生杂志社，1993：40－42.
[3] 童辉杰. 对20年来有关大学生心理健康研究的质疑与验证[J]. 思想理论教育，2007，(9)：81－83.
[4] 刘瑾辉. 应用SCL-90对427例大学生心理健康状况的分析及对策探讨[J]. 国家林业局管理干部学院学报，2009，(1)：31－35.
[5] 孙海娅. 463名护理专业大学生心理健康状况的调查[J]. 中国校医，2010，24(8)：580－581.
[6] 金艾裙，苏国红. 安徽省大学生心理健康现状调查及思考[J]. 皖西学院学报，2010，26(2)：120－123.
[7] Hinrichsen H, Wright F, Waller G, *et al*. Social anxiety and coping strategies in the eating disorders[J]. Eat Behav, 2003, 4(2): 117－126.
[8] 薛朝霞，卢莉，梁执群. 大学新生生活应激调查研究[J]. 中国健康心理学杂志，2009，17(1)：4－5.
[9] 胡光涛，冯正直，王军，等. 执行维稳任务军人个性、应对方式、状态－特质焦虑与心理健康的相关性研究[J]. 第三军医大学学报，2010，32(19)：2118－2120.
[10] 张小远，俞守义，赵久波，等. 独生子女与非独生子女大学生心理健康状态和素质的对照研究[J]. 南方医科大学学报，2007，27(4)：482－484.

（收稿：2011-01-25 修回：2011-03-08）
（编辑 张 维）

文章编号：1000-5404(2011)11-1197-03

短篇论著

# 原发性高血压患者血清apelin水平变化及临床意义

李庆辉[1,2]，杨天伦[1]，谭碧峰[3]，周 环[1]（410008 长沙，中南大学湘雅医院心内科[1]；410128 长沙，湖南农业大学医院心内科[2]；418000 湖南 怀化，怀化医学高等专科学校附属怀化市第三人民医院心内科[3]）

**【摘要】 目的** 观察原发性高血压(essential hypertension，EH)患者血清apelin-13水平的变化，并探讨apelin-13在EH中的作用及相关影响因素。**方法** 选取EH患者35例和健康人32例，用酶联免疫吸附法测定两组血清apelin-13的水平，并测定血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、空腹血糖(FPG)、脂联素(APN)等指标进行分析。**结果** ①EH患者血清apelin-13浓度显著低于健康对照组[(17.61±6.52) pg/ml *vs* (29.58±15.19) pg/ml；$P<0.01$]；②经多元线性回归分析显示，EH患者血清apelin-13与收缩压呈显著负相关，与APN、HDL-C呈正相关。**结论** EH患者血清apelin-13水平降低，并与HDL-C呈正相关和收缩压呈负相关，提示apelin-13可能通过影响血脂代谢而参与高血压的病理生理过程。

**【关键词】** 高血压病；apelin-13；脂联素；脂肪细胞因子
**【中图法分类号】** R544.1；R446.62 **【文献标志码】** A

原发性高血压病(essential hypertension，EH)是严重威胁人类健康的世界性公共卫生问题[1]。apelin是日本学者Tatemoto等[2]于1998年利用“孤儿受体策略”提取并纯化的一种新的心血管活性多肽，具有循环激素、旁/自分泌功能。其受体是G蛋白耦联受体-血管紧张素Ⅱ1型(AT1)受体相关的受体蛋白(APJ)。研究发现[3]：apelin是由脂肪细胞分泌的一种脂肪细胞因子，具有降压、抗炎、抗动脉硬化、扩张血管、增强心肌收缩力等多种生物学效应。目前，apelin在EH发生、发展中的具体作用机制尚不明确。本实验旨在研究EH患者及健康人血清apelin-13水平的变化，初步探讨apelin-13在EH中的作用及其相关影响因素。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

入选标准：原发性高血压诊断标准参照《2005年中国高血压防治指南》非同日收缩压(SBP)≥140 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)和(或)舒张压(DBP)≥90 mmHg，或正在接受抗高血压药物治疗。排除标准：继发性高血压；3级高血压；严重肝、肾功能损害者；严重充血性心力衰竭；冠心病；糖尿病；血液系统疾病；妊娠及哺乳期妇女；高钾血症；慢性结缔组织病；肿瘤；脑血管疾病；年龄>70岁者。

选择2009年7月至2010年1月在中南大学湘雅医院心内科门诊及住院并确诊为原发性高血压的患者35例，其中3例中途失访未列入统计。故实际纳入研究者为32例(EH组)，男性15例，女性17例，年龄(56±10)岁。所有入选患者近2周未服用调脂药物及抗炎类药物。健康组为同期我院健康体检中心体检者32例，男性14例，女性18例，年龄(53±9)岁。无冠心病、高血压、糖尿病及肝、肾疾病史；体格检查、肝肾功能、血脂、电解质、血糖、心电图、胸片和心脏B超等检查均正常。以上入选者均为自愿参加本研究工作并签署知情同意书，两组间年龄、性别具有可比性($P>0.05$)。

### 1.2 方法

1.2.1 临床参数及检验方法 测量身高、体质量、腰围、臀围，计算体质量指数(BMI)及腰臀比，血压测量采用标准汞柱式

【通信作者】 杨天伦，电话：(0731)84327250，E-mail：tianluny@163.com

表1 两组一般资料及检测指标比较($n=32$, $\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 男/女 | 年龄(岁) | BMI(kg/m$^2$) | 腰臀比 | SBP(mmHg) | DBP(mmHg) | FPG(mmol/L) | TG(mmol/L) | TC(mmol/L) | HDL-C(mmol/L) | LDL-C(mmol/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| EH组 | 15/17 | 56±10 | 23.98±1.32$^b$ | 0.96±0.05$^b$ | 147.6±5.4$^a$ | 90.1±6.6$^a$ | 4.93±0.67 | 2.10±0.58 | 4.39±0.48$^b$ | 1.86±0.34 | 1.92±0.10$^b$ |
| 健康组 | 14/18 | 53±9 | 20.47±1.82 | 0.89±0.07 | 110.1±7.1 | 71.8±7.1 | 4.81±0.47 | 2.06±0.35 | 3.99±0.72 | 1.95±0.17 | 1.56±0.23 |

a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与健康组比较

血压计以Korotkoff法非同日2次或2次以上测定(坐位)双上臂血压并询问病史。同时空腹采静脉血测定血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、空腹血糖(FPG)等生化指标。

1.2.2 酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清apelin-13和APN含量 两组对象均取清晨空腹静脉全血3 ml,置于含抑肽酶40 μl的试管中,混匀,4 ℃,3 000 r/min,离心10 min,分离血清,置于-70℃低温冰箱中待测。apelin-13和APN试剂盒由美国Phoenix Pharmaceu- ticals Inc提供,批内差异<3.5%,批间差异<9.5%,检测方法严格按试剂盒说明书要求进行。

1.3 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示,应用SPSS 17.0统计软件,非正态分布数据正态化(自然对数转化法)后进入分析,正态分布资料的组间比较采用$t$检验,apelin-13和APN与各检验参数间的关系判定采用pearson相关分析及多元线性逐步回归分析。

## 2 结果

2.1 两组一般临床资料比较

EH组腰臀比、BMI明显高于健康对照组,提示肥胖是高血压的危险因素,并参与了高血压的发生发展。两组间TG、HDL-C、FPG差异无统计学意义,EH组TC、LDL-C较健康对照组增高($P<0.05$),提示高血压患者多存在脂代谢紊乱。见表1。

2.2 两组血清apelin-13和APN水平比较

EH组血清apelin-13显著低于健康对照组[(17.61±6.52) *vs* (29.58±15.19) pg/ml,$P<0.01$];血清APN显著低于健康对照组[(197.55±54.48) *vs* (248.29±35.32) μg/L,$P<0.01$]。

2.3 两组血清apelin-13及APN与血脂的相关性分析

经Pearson相关分析发现,EH患者血清apelin-13与HDL-C呈显著正相关($r=0.412$,$P=0.007$),APN则与TG呈显著负相关($r=-0.532$,$P=0.029$),而在健康对照组中apelin-13和APN与血脂无相关性。

2.4 EH患者血清apelin-13影响因素的多元线性回归分析

将EH患者apelin-13(取对数值)作为因变量,以BMI($X_1$)、SBP($X_2$)、DBP($X_3$)、MAP($X_4$)、TC($X_5$)、TG($X_6$)、HDL-C($X_7$)、LDL-C($X_8$)、FPG($X_9$)及APN($X_{10}$)为自变量,校正性别、年龄因素后做多元线性回归分析,得直线回归方程:$\lg apelin\text{-}13 = -20.884 - 0.078X_2 + 7.785X_7 + 1.674X_{10}$(偏回归系数经t检验,均$P<0.05$)。结果显示,在EH患者中SBP、APN、HDL-C水平是血清apelin-13的重要影响因素。

## 3 讨论

心血管活性调节因子的异常与高血压发生、发展的关系十分密切[4]。apelin是孤儿G蛋白耦联受体APJ的天然配体,apelin-APJ的mRNA及蛋白广泛分布于哺乳动物和人的多种组织中。有研究表明,心内膜和血管内皮系系产生apelin的主要组织,尤其是大血管的内皮细胞及血管平滑肌细胞[5]。目前已证实经纯化的apelin活性多肽片段有:长肽apelin-36,-31,-28,短肽apelin-19,-17,-13,-12,其中apelin-13与EH关系密切[3,6]。研究表明[7-8],apelin可以扩张血管并参与血压的调控。其对血压的调控主要有以下2种机制:①中枢机制:apelin作为一种利尿神经肽,在室上核及室旁核内均有表达,它可以作用于血管加压素神经元的特异性受体,通过抑制精氨酸血管加压素(arginine vasopressin, AVP)神经元的活性及AVP的释放,从而调节血压及维持体液平衡。②血管的自身调节作用:apelin对血管的舒缩具有双向调节作用。本研究结果发现,EH患者BMI、腰臀比、TC、LDL-C明显高于健康组($P<0.05$),提示肥胖尤其是中心型肥胖是高血压的危险因素,EH患者apelin-13和APN水平显著低于健康人群($P<0.01$),推测高血压患者血清apelin-13和APN水平降低可能与肥胖时脂肪细胞对apelin-13和APN的表达降低有关。

本研究发现EH患者血清apelin与APN呈正相关,提示apelin可能通过影响脂肪细胞因子的平衡而促进了高血压病的发生、发展。国外研究表明[9],EH患者血浆APN水平显著降低,低APN血症为高血压的独立危险因素($P<0.001$)。然而,是否apelin与APN在高血压病的发生中存在协同作用?仍然有待进一步研究证实。本研究相关分析发现,EH患者血清apelin-13与HDL-C呈显著正相关($P<0.01$),而APN与TG呈负相关($P<0.05$),但在健康对照组中却没有观察到这些相关性,这说明在血压升高的情况下,apelin与脂代谢紊乱的发生具有一定关系。

## 参考文献:

[1] Kearney P M, Whelton M, Reynolds K, *et al*. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data[J]. Lancet, 2005, 365(9455): 217-223.

[2] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, *et al*. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 251(2): 471-476.

[3] Maguire J J, Kleinz M J, Pitkin S L, *et al*. [Pyr1]apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in human heart: vasoactive mecha-

nisms and inotropic action in disease [J]. Hypertension, 2009, 54 (3): 598 - 604.
[4] 龚永生,范小芳,高钰琪, 等. 缺氧致大鼠心肺组织中 apelin 的表达降低[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(11): 1188 - 1190.
[5] Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, *et al*. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo[J]. J Biol Chem, 2004, 279(25): 26274 - 26279.
[6] Kalea A Z, Batlle D. Apelin and ACE2 in cardiovascular disease[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2010, 11(3): 273 - 282.
[7] Azizi M, Iturrioz X, Blanchard A, *et al*. Reciprocal regulation of plasma apelin and vasopressin by osmotic stimuli [J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19(5): 1015 - 1024.
[8] Jia Y X, Lu Z F, Zhang J, *et al*. Apelin activates L-arginine/nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in rat aortas [J]. Peptides, 2007, 28(10): 2023 - 2029.
[9] Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T, *et al*. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension[J]. Am J Hypertens, 2003, 16(1): 72 - 75.

(收稿:2010-11-03;修回:2010-11-29)
(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2011)11-1199-03

短篇论著

# 双重免疫组化技术检测乳腺癌 STAT5 和 ER 相关表达的意义

刘华庆[1],匡晓燕[2] (563003 贵州 遵义,遵义医学院附属医院病理科[1];563002 贵州 遵义,遵义医药高等专科学校病理教研室[2])

**【摘要】** **目的** 优化双重免疫组织化学技术,检测乳腺癌中 STAT5 和 ER 蛋白表达的相关性,并分析两者联合检测在乳腺癌治疗方案的制定及预后评估中的参考意义。**方法** 用不同染色顺序优化双重免疫组织化学技术,并用优化的方法检测 50 例乳腺癌组织中 STAT5 和 ER 蛋白的共表达。**结果** 染色顺序为 STAT5→NBT/BCIP 显色→ER→DAB 显色者阳性对比明显,双标记效果理想;乳腺癌肿瘤细胞 STAT5-ER 双标记阳性率、ER 单标记阳性率均高于 STAT5 单标记阳性率,差异有显著性($P<0.05$),而双标记阳性率和 ER 单标记阳性率比较无显著性差异。**结论** 应用优化的双重免疫组织化学技术检测乳腺癌组织中 STAT5 和 ER 的相关表达,有助于指导临床预测乳腺癌的内分泌治疗反应及其预后。

**【关键词】** 双重免疫组织化学;乳腺癌;STAT5;ER
**【中图法分类号】** R730.43;R737.9 **【文献标志码】** A

多种生物标记物的异常表达在乳腺癌的发生、演进中具有重要作用,如 ER、PR、HER2、Ki-67、P53、nm23 等。本研究应用优化的双重免疫组织化学技术,检测乳腺癌组织中信号转导子和转录激活子 5(signal transducers and activator of transcription-5, STAT5)和 ER 蛋白的共表达,为重要肿瘤标记物的检测提供有效的技术手段,并为乳腺癌临床病情评估、预后判断及用药提供参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 标本及实验材料

50 例原发性乳腺浸润性导管癌石蜡包埋组织,均取自 2010 年 1 月 - 2010 年 6 月遵义医学院附属医院病理科临床送检标本。STAT5 兔抗人多克隆抗体为美国 Santa Cruz 公司进口产品,ER(SP1)兔抗人单克隆抗体以及双染检测试剂盒、DAB 显色剂、NBT/BCIP 显色剂购于北京中杉金桥公司。

### 1.2 双重免疫组织化学染色

石蜡切片 4 μm,脱蜡至水洗,高压抗原修复,冷却后水洗,3% $H_2O_2$ 10 min,PBS 洗 3 次 ×5 min;分别加一抗 ER(1∶100)、STAT5(1∶100)。预实验将切片分 4 组:①加 ER→DAB 显色→STAT5→NBT/BCIP 显色;②加 ER→NBT/BCIP 显色→STAT5→DAB 显色;③加 STAT5→DAB 显色→ER→NBT/BCIP 显色;④加 STAT5→NBT/BCIP 显色→ER→DAB 显色。镜下控制显色,水洗;常规脱水、透明、封固。预实验成功后,选用最佳结果的 1 组大批实验,用已知阳性的乳腺癌标本作阳性对照,用 PBS 代替一抗作空白对照。两个指标还需分别单独做免疫组织化学,即抗原修复后的切片分别加 ER/STAT5→二抗→DAB 显色。

### 1.3 阳性结果判断

双重免疫组织化学染色可观察到 3 种不同着色特征的细胞[1]:仅 STAT5 阳性即 S 型,细胞核呈蓝黑色;仅 ER 阳性即 E 型,细胞核呈棕黄色;STAT5-ER 共表达阳性即 SE 型,细胞核呈黄蓝色。每张切片在高倍镜(400 ×)下选择 5 个代表性视野,各视野观察 100 个肿瘤细胞,双标记阳性细胞百分数即计 SE 型细胞所占比率。SE 型细胞所占百分比 < 25% 为双标记阴性(-),25% ~50% 为双标记弱阳性(+),51% ~75% 为双标记中度阳性(++),> 75% 为双标记强阳性(+++)[2]。单标记染色 STAT5 和 ER 阳性位于细胞核呈棕黄色,阳性细胞所占的比率即为 STAT5、ER 蛋白表达阳性细胞百分数。以阳性细胞所占百分比 < 5% 为阴性或(-),5% ~25% 为弱阳性(+),26% ~75% 为阳性(++),> 75% 为强阳性(+++)。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS 12.0 统计软件进行 $\chi^2$ 检验,α 取 0.05。

## 2 结果

①组 ER 棕黄色阳性被 STAT5 蓝黑色覆盖,双标记对比不明显;②组 ER 阳性蓝黑色较强,STAT5 棕黄色偏弱,两者对比不明显;③组 STAT5 阳性棕黄色被 ER 阳性蓝黑色覆盖,双标

【通信作者】 刘华庆,电话(0852)8608053,Email:liuhuaqing818@163.com