维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)09-0998-04

儿童心肌损伤心肌标志物测定方法的发展

陈华琼 综述

(重庆医科大学儿童医院儿研所,重庆 400014)

【中国图书分类法分类号】542.22 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-02-27

儿童心肌损伤在临床上较为常见,如病毒性心肌炎,川崎病致心肌损伤,重症肺炎致心肌损伤,肠道病毒感染致心肌损伤,白血病细胞侵润致心肌损伤等。早期诊断心肌损伤对患儿的治疗及预后都有重要意义。

理想的心肌损伤生化标志物应具有高度临床敏感性和特异性;心肌损伤后升高出现早且持续异常的时间长;检测方便;检测时间短。迄今为止,尚无一标志物完全符合这些要求。1954 年 Karman 发现急性心肌梗死患者血清谷草转氨酶(AST)升高,为其血清酶标志物。直到 1997 年前诊断心肌损伤的实验室检查主要是血清酶学指标,如 AST、肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)、α-羟丁酸脱氢酶(α-HBDH)、乳酸脱氢酶(LD)及同工酶(LD1、LD2),而且将肌酸激酶同工酶(CK-MB)作为心肌损伤的金指标。随着医学科学的发展,逐渐认识到大部分血清酶学指标特异性很差,除 CK-MB 外都建议不再使用,而心肌肌钙蛋白(CTn)的应用逐渐引起重视,大有取代 CK-MB 的金指标地位之势,它是灵敏度、特异性都更好的心肌标志物,近 10 年来陆续还发现了其它心肌标志物:肌红蛋白 (Myo)、糖原磷酸化酶 BB (GPBB)以及可能可以替代或增进肌红蛋白特异性的标志物如心脏脂肪酸结合蛋白(H-FABP)、碳酸酐酶同工酶Ⅲ(CAⅢ)等,但除 Myo 外这些标志物的应用价值尚比不上 CTn 和 CK-MB。现在临床上应用最为普遍的是肌钙蛋白,肌红蛋白,肌酸激酶同工酶-MB,并根据其在血清中出现的早晚和在诊断心肌损伤中的作用分为早期标志物 (Myo、CK-MB 及 CK-MB 异型)和晚期标志物-确定性标志物(CTn)[1]。

1 肌酸激酶同工酶(CK-MB)

1.1 肌酸激酶同工酶(CK-MB)的生物学特性

肌酸激酶同工酶由 M 和 B 两个亚基构成,形成 CK-MM、CK-MB、CK-BB 三种同工酶,其中 CK-MB 大量存在于心肌,分子量 86000,血中半衰期为(12±4)h。在心肌受损后 4~8h 血清中升高,12~20h 达到峰值,2~3 天返回正常。20 世纪 70 年代,研究认为 CK-MB 与当时其它血清酶标志物相比,敏感性、特异性都较高,是早期诊断心肌损伤的"金指标"。80 年代中期测定方法由电泳法、离子交换柱层析法、免疫抑制法发展到了酶的质量分析法,测定方法的敏感性和特异性明显提高。但随着研究的深入,发现 CK-MB 在<4 岁正常儿童骨骼肌中有表达,而心肌细胞中的 CK、CK-MB 与骨骼肌有 12%的同源性,在某些骨骼肌疾病时也会升高,故认为缺乏特异性[2,3]。

1.2 肌酸激酶同工酶(CK-MB)的检测方法

CK-MB 的检测方法主要有电泳、柱层析、免疫抑制、免疫沉淀以及其他免疫方法。现临床 CK-MB 的测定方法主要有免疫抑制速率法和酶的质量分析法,专家均推荐以后法替代前法[4],但国内报道文献多以前法测之[2,5-7]。

1.2.1 琼脂糖凝胶电泳法 在 pH8.0 的 Tris-巴比妥缓冲液中,CK-BB 迁移速度最快,CK-MB 居中,CK-MM 最慢。电泳后进行一系列酶促反应,根据底物的不同,产生 NADPH 或紫红色甲臜,用荧光密度计或用光密度计扫描定量。

1.2.2 离子交换柱层析法 当血清通过阴离子交换剂 DEAE—sephadexA 50h,酶蛋白阴离子被吸附于阴离子交换剂上。各 CK 同工酶被吸附的能力不同。被含不同浓度氯化钠的 Tris 缓冲液分步洗脱到不同管中,然后测定各管的 CK 酶活力。

1.2.3 免疫抑制速率法 采用抗 CK-M 抗体与待测血清结合,抑制 M 亚基活性,由于正常人血清中的 CK-BB 含量很微,测定 B 亚基活性,乘以 2,即为 CK-MB 的活性。但由于其设计原理的缺陷,在 CK-BB 含量较高及有巨 CK 时,其测定的 CK-MB 结果都会偏高。

1.2.4 质量测定法 1985 年,Chan 等首先报道了 CK-MB 质量分析的方法。CK-MB 质量分析方法采用抗 CK-M 抗体和抗 CK-B 抗体或采用 CK-MB 抗体,测定其蛋白浓度(μg/L),避免了活力测定方法中可能遇到(如巨 CK 等)的干扰。适合于自动化分析,具有高度的灵敏性(最低检测限<1μg/L)和准确性,测定时间短(最快仅需 7min),明显优于其他分析测定 CK-MB 的方法。为使 CK-MB 质量分析标准化,AACC 成立了专门的标准化委员会,最近已研制成功采用重组基因技术的 CK-MB 参考材料(Rck-2)。

作者介绍:陈华琼(1964-),女,副主任技师,
主要研究方向:生化检验。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 CK-MB 异型

已知血清中有两种异型,既 CK-MB1,或 CK-MB_2。因为血浆中 CK-MB 绝对水平低,少量组织型(MB_2)释放,将导致 MB_2/MB_1 比率显著改变。若以血浆 MB_2 活性 >1.0U/L,MB_2/MB_1 比率 >1.5 为界值,在心肌损伤后 2~4h 诊断敏感度为 59%,4~6h 敏感度为 92%。Robertsm 报告 AMI 患者以 MB_2 活性 >1.0U/L,MB_2/MB_1 比率 >1.5 为标准,在症状发作 6h 内 CK-MB 异型诊断敏感度为 96.6%,而常规 CK-MB 试验仅为 48%。其敏感性和特异性都较高,但异型 CK-MB 尚无简单可靠的测定方法,不便于临床常规开展。

3 心肌肌钙蛋白(CTn)

3.1 心肌肌钙蛋白(CTn)的生物学特性

是横纹肌收缩的重要调节蛋白,由 3 个亚基组成:肌钙蛋白 C(CTnC)、肌钙蛋白 T(CTnT)、肌钙蛋白 I(CTnI)。骨骼肌和心肌中的 CTnC 是相同的,对心肌损伤的诊断没有意义。CTnI 分子量为 21000,CTnT 分子量为 37000,CTnI 和 CTnT 分别有 3 种亚型:快骨骼肌亚型、慢骨骼肌亚型和心肌亚型,其表达分别受不同的基因调控。在心肌细胞膜完整的状态下,CTnI、CTnT 不能透过细胞膜进入血循环,故在健康人血内不含或含极低量的 CTnI、CTnT,当心肌细胞因为各种原因受到损伤,发生细胞膜破损时,约 4~12h 血中出现升高,对心肌损伤的敏感性和特异性都较高,故是目前诊断心肌损伤的确定标志物。与肌红蛋白、CK 以及 CK-MB 不同,CTn 特异性高[8],一但 CTnT 或 CTnI 测得阳性结果,其增高表明存在心肌损伤。

3.2 CTnT 的检测方法

CTnT 在血中正常含量很低,在正常人血浆中的浓度低于 0.18μg/L,高于 0.5μg/L 即提示心肌细胞损伤,因此测定方法应需很低的可测限和较高的灵敏度。

3.2.1 第 1 代 CTnT ELISA 分析法 第 1 代 CTnT ELISA 分析法商品化试剂于 1992 年进入市场,其固相采用链霉亲和素 (Strptavidn SA) 包被的聚苯乙烯管,第一单抗用生物素(biotinB)标记,通过 B_SA 反应间接包被在固相上,第二抗体用辣根过氧化物酶标记,两者与标本中的 CTnT 形成双抗夹心,整个反应需要 90min 完成,其敏感性较最早的 ELISA 法高 5 倍,并且由于全部采用单抗,其检测结果重复性较高。但临床资料表明,患有严重骨骼肌损伤的病人和晚期肾病的病人 CTnT 会产生假阳性。这是由于检测方法的交叉反应和 CTnT 在骨骼肌中的重表达所致。

3.2.2 第 2 代 CTnT ELISA 分析法 第 2 代 CTnT ELISA 商品化试剂于 1997 年问世,它具有更高的敏感性和特异性,该法不会因为 CTnT 在晚期肾脏病病人骨骼肌中的重表达而产生假阳性,从而排除了分析法的交叉反应。并且其检测时间由原来的 90min 降低到 45min,目前临床已由第 2 代取代了第 1 代。

3.2.3 第 3 代 CTnT ELISA 分析法 第 3 代 CTnT 分析法生产试剂也于最近进入市场,它运用重组人基因代替了第 2 代分析法中的牛血清,其灵敏度和特异性均优于第 2 代,并且分析时间更快,缩短到 20min 以内。

3.2.4 CTnT 的快速检测法 用于检测 CTnT 的快速诊断试剂盒已经问世,金免疫层析法是目前较理想的快速测定试验,以德国 Bhoehringer Mannheim公司的 CARDIAC_T 实验板为例,试验为两种特异的单克隆抗体,一种金标记,一种生物素标记,抗体与标本中的 CTnT 形成夹心复合物,测定区形成红色色带为阳性,并可根据色带深度,通过光学系统,可以定量测定 CTnT。该法与 CTnT ELISA 法之间有较好的相关性。

3.3 CTnI 的检测方法

CTnI 的测定始于 20 世纪 80 年代中期,最早使用多克隆抗体检测的放射免疫法,随后相继出现了运用单克隆抗体检测的各种不同的方法。若实验中所用的抗体为多克隆抗体,会交叉反应,且灵敏性差。单克隆双抗体夹心放免法和双抗体夹心 ELISA 法使测定灵敏度大大提高,测定低限为 0.1~0.2μg/L,目前 CTnI 测定多采用化学发光法,该法提高了测定的精确度和敏感性。

3.3.1 CTnI 的夹心免疫放射法 该法测定的原理是先将待测血清与一定量兔抗 CTnI 抗体混合,孵育,然后加入 ^{125}I 标记的 CTnI,与待测血清中的 CTnI 竞争抗 CTnI 抗体,形成抗原抗体复合物,该复合物与再次加入的猴抗 IgG 结合形成沉淀,离心除去上清液,测定沉淀物的放射强度,根据标准曲线求得 CTnI 的浓度。该法最低检测限为 10μg/L,由于使用的是多抗,交叉反应在 CTnI 的浓度为 20mg/L 时可达 25%,且操作复杂,其临床应用受到限制。

3.3.2 CTnI 的夹心酶联免疫法 该法是以包被固相载体的特异性抗体为第一抗体,加入待测血清后,再加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的特异性的第二抗体,形成双夹心,孵育后冲洗分离,加入酶的可显色底物,测定酶的催化活性,与标准曲线对照计算 CTnI 的浓度,其检测低限为 0.1~0.2μg/L。目前,此法已成为 CTnI 检测较成熟的方法。

3.3.3 化学发光法 该法应用双抗体一步夹心免疫分析法,以化学发光剂为底物,用单克隆抗 CTnI 的 IgG 抗体包被的磁性微粒为固相载体,增加了吸附表面积,可在磁场中与液体分离,简化了操作步骤,其最底检出浓度为 0.03ug/L,CV<5%。

3.3.4 酶联荧光分析法(ELFA) 该法是采用一步免疫荧光法,以连接 ALP 的抗 CTnI 单克隆抗体包被的固相载体(SPR),在血清样品被吸入 SPR 管内与包被的 CTnI 抗体结合,并固定于 SPR 内壁形成夹心,未结合的 CTnI 通过洗涤被除去。底物在 ALP 催化下生成荧光产物,检测荧光强度,与标准曲线比较计算血清 CTnI 的浓度。其检测范围为 0.1~50μg/L,CV<5%,交叉反应在 60μg/L 时只有 1.6%。

3.3.5 飞行质谱法 该技术将蛋白质芯片和质谱技术相结

维普资讯 http://www.cqvip.com

合,集样品分离、纯化、检测和数据分析为一体。其原理是用化学或生物学方法在载体表面制作点状芯池,形成表面芯片探针,检测时样品中蛋白质与特定探针结合后,洗去非特异性结合物质,再加入能量吸收剂,自然干燥后上机检测。飞行质谱法目前未能全面推开的重要原因是缺乏标准统一的软件,可以预见一旦标准检测条件确立,资料库建立并成熟后,必将成为临床常规诊断的重要工具。

3.3.6 肌钙蛋白乳胶增强免疫比浊定量测定法 此方法是一种自动乳胶免疫比浊法。将特异抗体结合于乳胶颗粒表面,标本与乳胶试剂在缓冲液中混合,标本中的 CTnI 与乳胶颗粒表面抗体结合,使相邻的胶乳颗粒彼此交联,在 600mm 附近测量溶液浊度的增加,其增加的程度与标本中的 CTnI 含量相关。经回收、线性试验,不精密度:<10%。

3.3.7 CTnI 的固相免疫层析法(金标免疫法) 该法是一种定性检测 CTnI 的方法,实验装置中包括一个包被了 CTnI 抗体的膜体,膜条为包含一个显示窗以及一个加样孔,显示窗上半部为对照区,下半部为试验区,若显示窗内有两条明显的粉红色或紫色线条说明有 CTnI 存在,检测时间 15min。该法标本用量少,简便快速,但结果只能定性,并受主观因素影响。近年又研究开发了一种利用光度计及荧光分光光度计辅助检测的方法,具有广阔的应用前景。

3.4 CTnT 和 CTnI 的临床意义

两者对心肌损伤的诊断都有敏感性高,特异性强,持续时间长等优点。但是许多临床研究发现,在升高倍数和持续时间上 CTnT 优于 CTnI,因为 CTnT 在正常人血中含量很低,在心肌细胞中含量高,如果少量释放,血清中的 CTnT 含量可数倍甚至数十倍升高,而 CTnI 为 10~20 倍,CTnT 在血液和淋巴液中消除速率慢,CTnT 较 CTnI 持续时间长,但是 CTnT 与骨骼肌会发生交叉反应,严重骨骼肌受损的患者 CTnT 可出现假阳性反应,并且肾功能衰竭和多发性肌炎的患者 CTnT 也会升高,但 CTnI 与骨骼肌无交叉反应,故在诊断特异性上 CTnI 优于 CTnT。CTn 被认为是目前最有心脏特异性的心肌受损生化标志物,在心肌坏死的新标志物中,CTn 具有最宽的诊断窗口,目前 CTn 检测试剂生产厂商生产的试剂测定 CTn 结果间存在很大的差异,最大的可相差 30 倍,这对临床工作的开展带来很大的不便,所以寻找一种标准化方法已非常必要,CTn 测定的标准化问题主要包括:建立优化和标准的方法,开发和评估参考品以及最后测出合适的参考范围和判断值。

4 肌红蛋白(Myo)

4.1 肌红蛋白(Myo)的生物学特性

存在于心肌及骨骼肌细胞中,分子量 17500,由于其分子量小,在心肌损伤发生后 1~4h 既可在血中检出,6~7h 达峰值,是目前代表心肌损伤升高最早的标志物之一,具有高度敏感性,但无心肌特异性,其阴性有助于排除心肌损伤的诊断。提高 Myo 临床应用价值的方法①与一种骨骼肌特异的标志物(如 CAⅢ)联合检测,计算 Myo/CAⅢ比值,心肌损伤时此比值升高。②联合检测一种心肌特异标志物③连续检测 Myo,当每小时变化在 20μg/l 以上,即有意义。

4.2 肌红蛋白(Myo)检测方法测定原理基本同肌钙蛋白(CTnI)

4.2.1 免疫放射法(RIA)

4.2.2 酶联免疫法(ELISA)

4.2.3 肌钙蛋白乳胶增强免疫比浊定量测定法:其最低检出浓度可达 1.0ng/L,该法快速、灵敏、简便、准确,但在 TG>5.0mmol/L 或 Hb>500mg/L 会对实验造成干扰。

4.2.4 免疫层析测定法(金标免疫法)

4.2.5 夹心滴金测定法(DiGFA)

4.2.6 光激化发光免疫测定法[9] 使用针对 Myo 不同表位的两株单克隆抗体,一株包被发光微粒,另一株进行生物素化,二者等量混合,加入白色不透明微孔板中,加入校准品或样品并孵育,然后再加入包被有链霉亲合素的感光微粒,在化学发光仪中检测光信号,计算样品中 Myo 的浓度。此法最低检出浓度可达 1.36ng/L,但 Hb>2.6g/L,TB>342μmol/L,TG>11.3mmol/L 会对测定造成明显影响。

心肌损伤标志物的测定分析必须达到一定的精密度。测定心脏肌钙蛋白的总不精密度应≤10%。如大于 10%则说明所用的方法不好,测定结果容易引起临床诊断的假阳性或假阴性。同样,肌红蛋白测定在决定限的不精密度≤5.6%,CK-MB 应≤9.3%[1]。血浆与血清的分析结果是不同的,两者之间有时不能换算,尤其是 cTnI[1]。

对于 CTnI、CTnT 测定,全国尚未完全标准化以及质控手段的不完善,没有一个统一的操作规程,文献报道的方法很多,有的用放免法[10,11]、金标法[7],酶联免疫法[2,12,13],也有的用化学发光免疫分析[5,6]等,所测结果间无可比性,卫生管理部门应组织专家制定统一标准的操作规程。

5 心肌标志物在儿科的应用

在肺炎患儿中,单纯肺炎 CTnI 不增高,肺炎心衰、先心伴肺炎心衰 CTnI 均增高,而且先心伴肺炎心衰增高更明显,CTnI 随着患儿病情的加重而增高,可作为病情轻重的指标,CK-MB 在单纯肺炎组、肺炎心衰组、先心肺炎心衰组均有部分增高,差异无显著性,故作为心肌受损的指标特异性不强[6]。

CTnI 在病毒性心肌炎,川畸病均有升高,敏感性、特异性高于 CK-MB[3]。血清 CTnI 是诊断儿童病毒性心肌炎的特异并敏感的实验室指标[14]。CTnI 在病毒性心肌炎所致心肌受损时,呈现持续升高,且灵敏度高和特异性强[5,15]。在 VMC 诊断中应采用 3 项联合检测作为诊断依据,方能达到早期确诊的目的[7]。在一般心肌炎患儿中 CTnI 随病情的好转而下降,随病情的复发而升高[11]。

维普资讯 http://www.cqvip.com

肺炎支原体已成为下呼吸道感染的主要病原之一。重症多并发有肺外脏器受累,其中心肌受累病例并不少见。肺炎支原体(MPP)感染可致心肌损伤,早期血清 CTnI 增高,其发病机制与免疫损伤有关。MPP 并心肌损害血清 CTnI 及 CK-MB 检测结果均高于正常,说明血清 CTnI 及 CK-MB 均为检测 MPP 并心肌损害有效指标。MPP 并心肌损害组血清 CTnI 及 CK-MB 阳性率分别为 97%和 89%[5,10]。

白血病儿童化疗前 CTnI 含量高,白血病患儿经化疗诱导缓解后 CTnI 值虽不能完全正常,但也随之有所下降[16]。

参 考 文 献

[1] 中华医学会检验学会文件.心肌损伤标志物的应用准则[J]. 中华检验医学杂志,2002;25(3):185-189.

[2] 张景丹,王蕴慧. 常见心肌损伤诊断中三种实验指标的比较[J]. 中华临床医学研究杂志,2005;11(17):2443-2444.

[3] 孟 浦,周东风. 血清肌钙蛋白 -I 检测诊断小儿心肌炎价值初探[J]. 临床儿科杂志,1999;17(4):209-210.

[4] 李秀伟, 姜 坤. 肌红蛋白和肌钙蛋白 I 两种试剂盒对急性心肌梗塞的早期诊断价值[J]. 中国微循环,2002;6(1):28-31.

[5] 钱卫疆,赵 方,刘 瑞,等. 心肌肌钙蛋白 I 检测在支原体肺炎患儿并心肌损伤诊断价值探讨[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2005;26(4):368-369.

[6] 韦 丹. 婴幼儿肺炎并发心力衰竭时 CTnI 及心功能测定[J]. 临床儿科杂志,2004;22(3):152-153.

[7] 王 谦,郭 珊,孙文萱. 心肌肌钙蛋白、肌酸激酶同工酶、肌红蛋白在病毒性心肌炎诊断中的价值[J]. 实用儿科临床杂志,2006;21(1):50-51.

[8] 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.

[9] Le Moigne F,Beauvieux MC,Derache P,et al. Determination of myoglobin:comparative evaluation of the new automated VIDAS assay with two other immunoassays[J]. Clin Biochem,2002;35:255-262.

[10] 杨丽芳,乔 荆,康 华,等. 肺炎支原体感染致心肌损伤患儿血清肌钙蛋白 I 及免疫功能研究[J]. 实用儿科临床杂志,2003;18(11):879-880.

[11] 祝赛敏. 急性病毒性心肌炎患者血清肌钙蛋白 I 变化的临床意义(附 23 例报告)[J]. Jonrnal of Chinese Physician,2002;2(8):490.

[12] 欧阳耀灵,陈远洋,胡 钢,等.病毒性心肌炎实验室诊断分析[J]. 华中医学杂志,2004;28(1):34-35.

[13] 黎 赛,莫丽亚,张新萍,等. 婴幼儿支气管肺炎血清心肌肌钙蛋白 I 的变化[J]. 医学临床研究,2004;21(8):945-946.

[14] 李爱萍,徐玉霞,韩 青,等. 儿童病毒性心肌炎血清心肌肌钙蛋白的变化[J]. 中国现代医学杂志,2002;12(1):13-14.

[15] Bodor GS,Porter S,Landt Y,et al. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction[J]. Clin chem,1992;38(11):2203-2206.

[16] 刘笑梅, 黄益萍. 小儿白血病心肌钙蛋白 RIA 及其临床意义[J]. 放射免疫学杂志,1997;10(2):81-82.

[17] 葛 亮,蔡 新. 肌钙蛋白 I 定性与定量方法测定结果比较[J]. 中华现代临床医学杂志,2004;2(3):259-260.

[18] Liabakk NB,Nustad K,Espevik T. A rapid and sensitiye immunoassay for tumornecrosis factor using magnetic monodisperse polymer particles[J]. J Immumol Methods,1990;134:253-259.

[19] Hirsch R,Landt Y,Parterters,et al. Cardiac troponin I in pediatrics:normal values and potential use in the assessent of cardiac injury[J]. Pediatric,1997;130:872-877.

[20] 苏哲坦. 临床拟诊心肌炎病人测定心脏肌钙蛋白 T 的意义[J]. 心肌病进展,1998;19(2):124.

[21] 王德臣,王秀丽. 重症病毒性心肌炎 30 例临床分析[J]. 河南职工医院学报,2004;16(3):274-275.

[22] 吴铁吉. 病毒性心肌炎诊断标准 (修订草案)[J]. 中华儿科杂志,2000;38(2):75.

[23] 肖燕青,蒋斌华. 血清肌红蛋白比浊法测定试剂的评价及初步临床应用[J]. 江西医学检验,2001;19(2):73-76.

(上接第 997 页)

例少,病因不明,且预后较差,严重影响患儿健康。在病因学及防治方面,还有待积累病例,进行深入研究。

参 考 文 献

[1] 曹采方,主编.牙周病学[M]. 第 1 版,北京:人民卫生出版社,2000.128-129.

[2] Page RC,Bowen T,Alumn L,et al. Prepubertal periodontitis.I. Definition of a clinical entity[J]. J Periodontol,1983;54(5):257.

[3] 胡曼石. 免疫与龈炎牙周病 (综述)[J]. 国外医学口腔分册,1983;10(1):11.

[4] Hart TC,Hart PS,Michalec MD,et al. Localisation of a gene for prepuberty periodontitis to chromosome 11q14 and identification of a cathepsin C gene mutation[J]. J Med Genet,2000;37:95-101.

[5] Hewitt C,McCormick D,Linden G,et al. The role of cathepsin C in Papillon Lefè vre syndrome,prepubertal periodontitis,and aggressive periodontitis[J]. Hum Mutation,2004;23:222-228.

[6] Dosumu OO,Dosumu EB,Arowojolu MO,et al. Rehabilitative management offerd Nigerian localized and generalized aggressive periodontitis patients[J]. J Contemp Dent Pract,2005;6(3):40-52.

[7] Califano JV. Position paper:periodontal diseases of children and adolescents[J]. J Periodontol,2003;74(11):1696-1704.