

C 反应蛋白的检测与临床应用进展

王 凡 综述, 蒋红君 审校(云南省第一人民医院检验科, 云南昆明 650032)

【关键词】 C 反应蛋白; 检测方法; 临床应用

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.051 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)14-1761-03

C 反应蛋白(CRP)是人体急性时相蛋白(APP)中最主要、最敏感的标志物之一。在临床上常作为一种检测感染过程和自身免疫疾病的工具,如病毒与细菌的鉴别诊断、疾病治疗监测、系统性红斑狼疮(SLE)等。曾经由于长期没有灵敏的检测手段,因此在临床上并没有受到重视。近年来,随着研究的不断深入和 CRP 检测手段的不断改善,特别是运用高敏感方法测出的超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)可作为冠状动脉疾病(CVD)的一种独立危险因素,也可作为心血管疾病和动脉硬化的预测指标^[1],CRP 已逐渐引起临床的重视。现对 CRP 的生物化学特征、检测方法及应用等进行综述如下。

1 CRP 的生物化学特征

1.1 CRP 的发现 CRP 是 1930 年由 Tillet 和 Francis 发现的肺炎患者血清中一种与肺炎球菌(现称肺炎链球菌)非特异性的菌体多糖成分 C-多糖(CPS)发生沉淀反应的物质。1941 年 Macleod 和 Avery、Abermthy 和 Avery 先后证实这是一种急性感染时出现的蛋白质,与 CPS 的絮状沉淀反应依赖于 Ca 离子的存在。

1.2 CRP 的来源与分布 CRP 主要由肝细胞在白细胞介素 6、白细胞介素 1、肿瘤坏死因子 α 刺激下合成,炎性反应局部巨噬细胞也可少量产生。正常合成率 1~10 mg/d 急性炎症反应时每天合成大于 1 g。CRP 不能通过胎盘,在体内分布甚广,除血液外,胸腔积液、腹水、心包液、关节液中均可测出。

1.3 CRP 的结构 CRP 是由 5 个完全相同的非糖基化单体以非共价键联结形成结构对称的盘状五聚体^[2]。每个单体相对分子质量 23 017,在它的一侧有胆碱磷酸和钙的结合部位,另一侧则有 Clq、FcRI 和 FcRII 的结合部位。CRP 的总相对分子质量大约(11~14)万,有高度抵制蛋白水解作用,CRP 沉降系数为 6.5~7.5,等电点为 5.5,不耐热,60℃、30 min 即被破坏,分子代谢周期的半衰期为 19 h,在健康人血清中含量极微。CRP 这种特征性的五聚体结构使其归于五聚素家族。CRP 基因位于 1 号染色体长臂,基因组长 215 kb,有 2 个外显子,中间由一个内含子隔开,编码 206 个氨基酸残基。

1.4 CRP 的功能 作为有免疫防御特性的钙结合蛋白,CRP 的主要生物学功能是在 Ca²⁺ 存在下与磷酸胆碱、DNA、组蛋白等结合,还可与凋亡坏死细胞膜脂质双层结构破坏时暴露的磷脂或外部侵入的细菌、真菌、寄生虫的细胞壁磷酸胆碱结合,激活补体,调理吞噬功能,促使内源性或外源性配体物质的清除。

1.5 CRP 的分类 CRP 和 hs-CRP 是同一种蛋白质,但由于普通 CRP 方法的检测下限(敏感度)有限,不能测到较低的含量水平,而健康个体的 CRP 含量又很低。为了检测到亚健康个体的 CRP,出现了一些检测敏感度更高的检测方法和试剂,这就是超敏 CRP,即 hs-CRP。即检测方法具有能检测到小于或等于 0.3 mg/L 的 CRP 的能力。

2 常用检测方法

目前,CRP 的检测方法一般分为定性和定量两类。常用的检测方法有免疫扩散法、乳胶凝集试验、放射免疫法测定(RIA)及酶联免疫吸附试验(ELISA)等。

2.1 ELISA 法 该检测采用双抗夹心法,将检测缓冲液和血液样本在检测瓶中进行混合,荧光标记缓冲液中的抗-CRP 抗体和血液中的 CRP 抗原结合形成抗原抗体复合物,当混合样品被放到检测板的样本上并且通过毛细血管作用扩散到硝化纤维基质的测试带上,该复合物被测试带上的抗-CRP 抗体所捕获,荧光抗体的信号强度反映了被捕获的 CRP 数量,经过免疫荧光分析仪的检测,能够反映出血中 CRP 的浓度。ELISA 法的灵敏度可以达到 0.007 mg/L(hs-CRP)。

2.2 免疫散射比浊法 其原理是包被抗 CLIP 单克隆抗体的胶乳颗粒与血清中 CRP 起凝集反应,引起光散射强度改变,通过散射比浊法测定散射光强度取决于 CRP 含量,根据标准液浓度计算出血清中 CRP 含量。该方法的灵敏度在 3 mg/L 以上。

2.3 乳胶增强免疫散射法 本法是利用抗原抗体反应原理测定血清中 CRP 的含量。样品中 CRP 抗原的与包被的胶乳颗粒上的抗人 CRP 抗体形成免疫复合物,产生的浊度与样品中的 CRP 含量成正比,用比浊法进行测定,从而求得样品中的 CRP 的含量。其方法的灵敏度可达到 0.15 mg/L。

3 CRP 的临床应用

3.1 CRP 与炎症反应 急性炎症反应时 CRP 每天合成 1 g,在感染发生后 6~8 h 开始升高,24~48 h 达到高峰,比正常值高几百倍甚至上千倍,升高的幅度与感染的程度呈正相关,在疾病治愈后,其含量急速下降,1 周内可恢复正常。病毒感染时 CRP 不增高(除了一些严重侵袭导致组织损伤的病毒,如腺病毒、疱疹病毒);外科损伤患者血中 CRP 水平 8~10 h 可增加 10 倍;一般新生儿血清 CRP<2 mg/L,大于此值即与细菌感染的严重程度有关,儿童和成人小于或等于 10 mg/L,10~99 mg/L 提示局灶性或浅表性感染,大于或等于 100 mg/L 提示败血症或侵袭性感染等。临床上 CRP 一般作为鉴别细菌或病毒感染的首选指标,用于自身免疫性及感染性疾病的诊断与监测,以及抗生素疗效观察等。

3.2 CRP 与 2 型糖尿病之间的关系 近来研究发现 CRP 是发展为 2 型糖尿病的重要预测因子^[3-5],CRP 水平平均每增加一个标准差,发展为 2 型糖尿病的危险比增加 1.55,而且对糖尿病的未来风险预测和临床治疗有效性的评估有一定的价值。CRP 与 2 型糖尿病关系非常密切,研究揭示,CRP 在新发现的糖尿病或已诊断为糖尿病的患者中明显升高,而在非糖尿病或仅伴有空腹血糖异常者中正常。糖尿病患者无论是治疗前还是治疗后^[6,7],血清 CRP 水平均较健康人高,所以,CRP 在 2 型

糖尿病的临床应用前景值得重视。

3.3 CRP 与高血压患者的关系 高血压患者 CRP 水平显著高于健康人^[8], 提示高血压患者血管内皮损伤, 动脉壁存在炎症反应。随着血压水平升高, CRP 浓度也升高, I、II 级高血压之间 CRP 浓度差异无统计学意义, 但 I、II 级与 III、IV 级比较差异均有统计学意义, 提示 CRP 浓度可相应地反映高血压患者血压水平。

3.4 CRP 与消化系统疾病的关系 CRP 含量增加程度^[9]与肝组织的炎症反应、坏死程度成正比, 急性黄疸性肝炎和肝炎恢复期, 肝癌组大于肝硬化组和肝炎组。在急性坏死性胰腺炎诊断中^[10], 血淀粉酶 4 h 开始升高, 高峰时间 36 h, 阳性率仅 31.4%, 而 CRP 2 h 开始升高, 16 h 达高峰, 阳性率达 91%。

3.5 CRP 与风湿病 血清 CRP < 10 mg/L 有利于 SLE 和骨关节炎的诊断, CRP > 10 mg/L 则有利于类风湿关节炎和强直性脊柱炎的诊断^[11]。无论 SLE 病情活动及活动程度如何, CRP 含量无明显变化, SLE 患者 CRP 显著升高强烈提示并发了细菌感染, 而与病情活动程度无关。

3.6 CRP 与脑血管疾病的关系 急性脑血管疾病发病^[12]早期血清 CRP 水平明显升高, 病情轻、中、重的程度不同与 CRP 的水平比较差异有统计学意义, 并随病情加重而逐渐升高。CRP 水平高的脑出血、脑梗死范围较大, 病灶多累及脑干、脑室, 易出现水肿, 易导致脑疝形成及多脏器衰竭死亡。

4 hs-CRP 的临床应用

CRP 与心血管事件的关系运用乳胶凝集比浊法或速率散射比浊法等敏感方法测出的较低浓度的血清 CRP 称为 hs-CRP。hs-CRP 已是公认的预测未来心血管事件(急性冠状动脉综合征、心肌梗死、卒中等)发生危险性的有效指标。

实验室和临床数据已证实, 动脉粥样硬化并不是一种简单的脂质沉积疾病。炎症反应在动脉粥样硬化的起始和进展过程中也扮演着一个关键性的角色。在动脉壁的粥样硬化中主要有单核细胞、T 淋巴细胞的大量浸润。在斑块的表面即斑块最脆弱的位置, 炎症反应细胞大量渗入, 使斑块不稳定而爆裂。此过程中的细胞因子引起肝脏合成 CRP 增加。CRP 在动脉粥样硬化的形成和发展中有以下几个方面的作用^[13]: (1) 调节巨噬细胞摄取低密度脂蛋白胆固醇有助于泡沫细胞的形成; (2) 刺激巨噬细胞产生血栓前组织因子; (3) 激活粥样斑块内的补体系统, 导致斑块不稳定, 增强不稳定斑块的血管活性; (4) 诱导粘附分子表达; (5) 致敏内皮细胞, 产生 CD4⁺T 细胞介导的细胞毒作用造成损坏, CRP 水平升高与内皮细胞功能衰竭和动脉粥样硬化的进程相关。

在没有炎症的情况下, 心血管疾病的超敏 CRP 的风险指数报告推荐如下。低风险: < 1.0 mg/L; 中度风险: 1.0 ~ 3.0 mg/L; 高风险: > 3.0 mg/L。如果 hs-CRP > 10 mg/L, 表明可能存在其他感染, 应在其他感染控制以后重新采集标本检测。

CRP 升高的患者, 其心脏病发作、卒中、猝死及血管疾病的危险性增加^[14]。当 hs-CRP > 2.1 mg/L 时: (1) 初发心肌梗死危险度增加 3 倍; (2) 发生缺血卒中危险度增加 2 倍; (3) 发生严重外周动脉血管性疾病危险度增加 4 倍。急性心肌局部缺血患者可见 CRP 增高, 随后心肌梗死, 峰值在症状发作后 36 ~ 96 h, CRP > 15 mg/L 是不稳定型心绞痛患者 90 d 内病情恶化的强有力预测因子。

虽然 CRP 的浓度值在患者急性冠状动脉综合征的患者中

已经被证明具有预兆的作用, 高敏感度 CRP 测定方法最有前途的应用是在早期预防中。CRP 可以在低冠状动脉疾病发生率的人群中(例如: 没有高血压、高脂血症、冠心病家族史或者糖尿病史的个体以及不吸烟者), 预测将来发生冠状动脉疾病的可能性^[15-16]。事实上, 当妇女低密度脂蛋白胆固醇(LDL-CHO)浓度低于 1 300 mg/L 并且 CRP 浓度增加时, 患冠状动脉的疾病概率是 LDL-CHO 浓度低于 1 300 mg/L 并且 CRP 浓度比较低的妇女的 3 倍^[17-18]。

CRP 是第 1 个被认识的急性时相反应蛋白, 作为急性时相反应一个极灵敏的指标^[12], 血浆中 CRP 浓度在炎症反应感染、2 型糖尿病、高血压、消化系统疾病、风湿病、心脑血管疾病等病程中均会显著升高。但 CRP 是非特异性指标, 主要用于结合临床病史鉴别诊断感染类型、监测病程等, 如与尿酸、纤维蛋白原、血脂、血浆同型半胱氨酸、胰岛素抵抗指数、收缩压、空腹血糖、糖化血红蛋白等同时测定, 其在各相关疾病中的应用价值将大大提高。

CRP 可以作为冠心病的一个危险因子, 判断冠心病患者的预后。在排除引起 CRP 增高的其他因素, 如各种慢性炎症、免疫性疾病等, CRP 测定在冠心病尤其是急性冠状动脉综合征的早期诊断和预后判断上具有重要意义, 是一个具有新意和前途的指标, 值得临床推广使用。

参考文献

- [1] Duclos TW. Function of creactive protein[J]. *Ann*, 2000, 32(4): 274-278.
- [2] Volanakis JE. Human C-reactive protein; expression, structure, and function[J]. *Mol Immunol*, 2001, 38(2-3): 189-196.
- [3] Spranger J, Kroke A, Mohlig M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population based European prospective investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study[J]. *Diabetes*, 2003, 52(3): 812-817.
- [4] Taniguchi A, Nagasaka S, Fukushima M, et al. C-reactive protein and insulin resistance in non-obese Japanese type 2 diabetic patients[J]. *Metabolism*, 2002, 51(12): 1578-1581.
- [5] 李卫平, 黎文, 杨桃. 2 型糖尿病及糖尿病肾病患者 C 反应蛋白水平观测[J]. *中国基层医药*, 2005, 12(6): 649-650.
- [6] Ford ES. Body mass index, diabetes and C-reactive protein among US adults[J]. *Diabetes Care*, 1999, 22: 1971-1977.
- [7] 高桂琴, 李敬会, 黄明炜, 等. 超敏 C 反应蛋白、血小板活化与 2 型糖尿病血管并发症的临床探讨[J]. *中国微循环*, 2004, 8(5): 351-356.
- [8] 吕萍, 李白成, 孙蓓, 等. C 反应蛋白与高血压关系探讨[J]. *广东医学*, 2003, 24(3): 256-257.
- [9] 杨平. 肝病患者血清 C 反应蛋白的检测及其临床意义[J]. *川北医学院学报*, 2003, 18(1): 107-109.
- [10] 刘百歌, 周丹, 于雅亭. c 反应蛋白测定在急性胰腺炎诊断中的意义[J]. *吉林医学*, 1998, 19(2): 67-68.

- [11] Arroyo-Espliguero R, Avanzas P, Cosin-Sales J, et al. C-reactive protein elevation and disease activity in patients with coronary artery disease[J]. Eur Heart J, 2004, 25(5): 401-408.
- [12] Sano T, Tanaka A, Namba M, et al. C-reactive protein and lesion morphology in patients with acute myocardial infarction[J]. Circulation, 2003, 108(3): 282-285.
- [13] Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J, et al. Multiple complex stenoses high neutrophil count and C-reactive protein level in patients with chronic stable angina [J]. Atherosclerosis, 2004, 175(1): 151-157.
- [14] Yamnguehi H, Homma Y, Hando S, et al. Biochemical marker of vasospastic coronary artery disease[J]. NutrMetab Cardiovasc Dis, 2003, 13(6): 361-371.
- [15] Sabatine M S, Morrow DA, Jablonski KA, et al. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/ American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease[J]. Circulation, 2007, 115(12): 1528-1536.
- [16] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease[J]. N Engl Med, 2005, 352(4): 1685-1695.
- [17] Kidker PM, Rifai N, Rose L, et al. Comparison protein and cholesterol levels in the of low-density lipoprotein prediction first cardiovascular events[J]. N Engl Med 2002, 347(20): 1557-1565.
- [18] 张新军, 章茂顺. C 反应蛋白作为急性冠脉综合征的危险预测因子[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 2002, 23(3): 173-175.

(收稿日期: 2011-02-01)

全程 C 反应蛋白的检测与临床应用

宫春飞 综述, 许会彬 审校(解放军第八十八医院检验科, 山东 泰安 271000)

【关键词】 C 反应蛋白; 超敏 C 反应蛋白; 心血管疾病; 感染

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.052 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)14-1763-02

1930 年 Tillet 和 Francis 首次在急性大叶性肺炎患者的血清中发现了一种能在 Ca^{2+} 存在时与肺炎球菌细胞壁中的荚膜多糖(C 多糖)形成复合物的物质, 命名为 C 反应素。1941 年 Abernethy Avery 和 Macleod Avery 等测知它是一种蛋白质, 故称为 C 反应蛋白(CRP)^[1]。CRP 主要是在白细胞介素-6(IL-6)的调节下由肝脏产生并分泌的一种蛋白质, 脂肪组织中的一些细胞因子也可以诱导肝脏产生 CRP。CRP 由 5 个相同亚单位形成环状的五聚体, 相对分子质量为 $(115 \sim 140) \times 10^3$ 。健康人体内 CRP 的含量非常低, 90% 的正常人血清 $CRP < 1.0 \text{ mg/L}$ 。但在感染、创伤、手术、组织坏死、急性炎症等应激状态下, CRP 的浓度可急剧升高。在炎症或急性组织损伤后 4~6 h 内, CRP 的合成迅速增加, 36~50 h 达高峰, 峰值可为正常值的 100~1 000 倍。经积极合理治疗后, 3~7 d 迅速降至正常水平。

1 C 反应蛋白的检测

以往 CRP 的检测基于免疫透射比浊和免疫散射比浊方法, 检测能力在 3 mg/L 以上。近年来, 随着分子生物学和免疫学的发展, 免疫荧光法等技术的应用大大提高了分析的灵敏度(检测低限为 0.005 mg/L), 应用这些高灵敏度的方法所测定的 CRP 称为超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)。

本文所提到的全程 CRP 的检测是指常规 CRP 加 hs-CRP。CRP 和 hs-CRP 在化学本质上没有区别, 是同一种物质, 只是检测方法不同。二者的不同点在于: CRP 主要用于儿童或成人的细菌或病毒感染、各种炎症过程、组织坏死与组织损伤(如外科手术)及其恢复期的筛查、监测、病情评估与药物疗效判断; hs-CRP 主要用于诊断和检测心血管事件的发生、发展; 新生儿的细菌、病毒感染、各种炎症过程的筛查、监测、评估与药物疗效判断。

2 CRP 的临床应用

CRP 的主要生物学功能是通过与配体(凋亡与死亡的细

胞, 或入侵的细菌、真菌、寄生虫等磷酰胆碱)结合, 激活补体和单核吞噬细胞系统, 将载有配体的病理物质或病原体清除。当发生各种感染性疾病时, 其组织损伤物质及炎症物质大量进入血液循环产生免疫反应, 刺激各种细胞因子, 通过相应的细胞因子介导刺激肝脏合成 CRP, 导致机体反应的 CRP 升高^[2]。C 反应蛋白通常在细菌感染后升高, 细菌感染时炎性细胞浸润并释放内源性递质刺激肝细胞加速合成 CRP。CRP 含量与炎症呈同步变化, 感染早期血清 CRP 水平即迅速升高, 升高程度与感染严重程度呈正相关^[3], 而病毒感染时其血清浓度变化不大或基本保持不变, 所以 CRP 的检测可以作为细菌性感染与病毒性感染的鉴别诊断。新生儿期感染性疾病缺乏特异性表现, 特别是新生儿败血症时, 其培养阳性率低, 病原菌在分离、培养时间长, 从而使早期诊断受到限制。血清 CRP 的迅速增加与炎症发生和组织损伤、修复过程有关, CRP 可作为新生儿感染性疾病早期诊断的客观指标^[4]。

CRP 还可用于抗生素疗效的动态观察。由于 CRP 不受贫血、抗炎药物和激素因素的影响, 具有细菌感染时迅速增高、治疗有效时迅速下降的特点, 可指导细菌性感染患儿抗生素的使用, 结合临床病史有助于随访病程^[5]。CRP 对于鉴别肺炎和支气管炎有很大意义; 急性支气管炎多源于病毒感染, 很少导致 CRP 浓度显著升高, 可减少对非细菌性支气管炎作抗生素治疗。近年国内外诸多文献报道 CRP 可用于鉴别细菌/病毒感染并指导抗生素使用^[6]。

据报道, CRP 水平与代谢综合征有密切关系^[7]。代谢综合征中的代谢异常均是以动脉粥样硬化为基础的心血管病的危险因素^[8]。许多研究表明, 炎症在动脉粥样硬化发生、发展过程中起着重要的作用, 并在一定程度上决定着粥样斑块的稳定性和自然进程^[9]。CRP 是一种急性反应时相蛋白, 可在炎症反应时显著升高, 是反映炎症反应存在及活动的重要指标,