



Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies



Johannes Schmid, MD,^{a,b} Laura Liesinger, MS,^{c,d} Ruth Birner-Gruenberger, MS, PhD,^{c,d} Tatjana Stojakovic, MD,^e Hubert Scharnagl, PhD,^e Benjamin Dieplinger, MD,^f Martin Asslaber, MD,^c Roman Radl, MD,^g Meinrad Beer, MD,^h Malgorzata Polacin, MD,^h Johannes Mair, MD,ⁱ Dieter Szolar, MD,^b Andrea Berghold, MS, PhD,^j Stefan Quasthoff, MD,^k Josepha S. Binder, MD,^a Peter P. Rainer, MD, PhD^a

译：王楠 校对：奚苏静

骨骼肌病患者可出现心肌肌钙蛋白T升高

在条纹肌中，肌钙蛋白复合物与原肌球蛋白结合，负责肌动蛋白与肌球蛋白横桥周期的精密调控。肌钙蛋白复合物由三个亚基组成，分别是肌钙蛋白 I (TnI)，肌钙蛋白 C (TnC) 和肌钙蛋白 T (TnT)。其中 TnI 负责抑制肌动蛋白与肌球蛋白的横桥周期；TnT 负责与原肌球蛋白的结合；TnC 与钙离子作用从而改变复合物构象促进肌动蛋白和肌球蛋白的相互组用。TnI 和 TnT 具有组织特异性，具体可分为心肌型和骨骼肌型，这使得不同组织的肌钙蛋白复合物各具备特异的生理学功能。也正是因为该特异性，心肌肌钙蛋白 I 和 T 被广泛用于急性冠状动脉综合征的诊断。

肌钙蛋白检测的应用始于 20 世纪 90 年代，随后肌钙蛋白即被选为心肌坏死诊断的金标准标志物。从 2000 年心肌梗死 (MI) 第一代定义到 2012 年心肌梗死第三代全球定义，肌钙蛋白检测已经成为 MI 检测的基石。因此，肌钙蛋白试剂必须具备高敏感性及高特异性。然而，非心源性的因素如慢性肾病也可能导致肌钙蛋白升高，可解释为肾病相关的亚临床心脏损伤或 cTn 经肾脏清除减少。另外，骨骼肌疾病的肌钙蛋白 T 升高目前仍然没有研究透彻，尽管上一代 cTnT 试剂的特异性问题已经通过改变抗体得到了解决，但是新一代 cTnT 试剂可能又遇到了新的骨骼肌疾病的特异性问题。这些患者的 cTnT 升高往往会造成过度诊断。

关于 cTnT 的非特异性升高，目前主要存在以下三种可能的解释。首先，对于一些临床症状不显著的患者，试剂可能会检出微量 cTnT；其次，病变的骨骼肌可能发生了心肌肌钙蛋白 T 的再表达；最后，试剂可能与其他亚型的 TnT 存在交叉反应导致假阳性结果的产生。

在本研究中，研究者对肌肉疾病患者的心脏损伤进行了深入分析，其中包括骨骼肌病变分析和 cTnT 检测、cTnI 检测及其他生物标志物检测。在体外研究中，研究者发现 cTnT 的抗体不仅可以与肌病患者及健康人的骨骼肌样本发生反应，同时还与添加了骨骼肌样本的正常人血清反应。而通过质谱分析发现，这些样本中仅存在骨骼肌亚型的肌钙蛋白。

材料与方法：

患者人群：

先天及后天神经肌肉疾病患者共 92 例。患者诊断的详细信息请参见原文。

实验室检查：

hs-cTnT、CK、CKMB、NT-proBNP、天冬氨酸转氨酶和肌红蛋白均由罗氏提供，hs-cTnI 由雅培提供。

影像学检查：
ECG 血管造影。

肌肉样本：
由患者提供。

蛋白质组学：
Western blot 分析 (cTnT 和 cTnI 特异性抗体由罗氏提供，抗原表位与其在试剂盒中所使用的抗体相同)，对于 WB 阳性的样本进一步使用 LC-MS/MS 进行分析。

肌肉样本的肌钙蛋白检测：
向健康人血浆中添加骨骼肌、心肌和肝脏组织后进行 cTnI、cTnT 和肌红蛋白检测。

统计学分析：
首先，将有严重心脏病史的患者进行排除。随后，将其余患者分为 6 组：肌强直性营养不良组、营养不良型肌病组、非营养不良型肌病组、炎症性肌病组、神经主导性疾病组和其他肌病组。分组后根据患者心脏损伤情况进行进一步分层。
更多统计学信息请参见原文。

结果分析
患者特征：
本研究对 92 例患者进行了基础检查。其中，83 例患者接受了 CMR 影像学检查，38 例患者进行了冠状动脉 CTA 检查。由于肌肉病变无法确诊及严重心脏病史，共 18 例患者被排除。最终 74 例患者参与了该研究，平均年龄为 46.314 岁，cTnT 平均值为 24ng/L，cTnI 平均值为 4ng/L，肾小球滤过率平均值为 111.3 ± 27.4 ml/min/1.73 m²。具体信息请参见 table 1。

TABLE 1 Patient Characteristics and Laboratory Results Classified According to Myopathy Group						
	Dystrophic Myopathy (n = 22)	Myotonic Dystrophy (n = 31)	Nondystrophic Myotonia (n = 7)	Inflammatory (n = 9)	Primarily Neurogenic (n = 3)	Other Myopathies (n = 2)
Female	36.4 (8)	58.1 (18)	71.4 (5)	44.4 (4)	0.0 (0)	50.0 (1)
Age, yrs	44.1 ± 15.5	46.7 ± 13.4	46.6 ± 10.9	54.7 ± 14.2	29.0 ± 7.2	51.0 ± 0.0
BMI, kg/m ²	23.7 ± 4.1	26.8 ± 7.1	27.7 ± 5.3	28.4 ± 4.0	23.3 ± 2.7	29.7 ± 0.4
cTnT, ng/l	52 (18-145)	24 (11-36)	3 (3-6)	26 (18-247)	65 (19-67)	19 (12-26)
cTnT >14 ng/l	81.8 (18)	71.0 (22)	0.0 (0)	77.8 (7)	100.0 (3)	50.0 (1)
cTnI, ng/l	5 (2-9)	5 (3-7)	3 (2-4)	4 (3-6)	2 (2-2)	3 (2-3)
cTnI >26 ng/l	9.1 (2)	3.2 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
NT-proBNP, ng/l	70 (37-201)	61 (28-155)	66 (41-215)	57 (37-83)	9 (7-24)	74 (23-124)
CK, U/l	621 (234-1,040)	309 (208-432)	60 (40-298)	405 (186-1,105)	1,190 (232-3,730)	1,812 (541-3,083)
CK-MB, U/l	37 (20-60)	15 (13-19)	12 (10-15)	23 (20-44)	45 (19-75)	48 (26-70)
Myoglobin, µg/l	156.5 (64.4-227.5)	81.4 (55.7-120.7)	24.1 (21.0-60.8)	149.0 (49.9-252.2)	196.6 (40.8-483.3)	187.4 (83.6-291.2)
eGFR, ml/min/1.73 m ²	125.8 ± 39.6	105.6 ± 15.7	91.2 ± 15.7	100.6 ± 17.1	126.8 ± 13.5	116.4 ± 7.2
Values are % (n), mean ± SD, or median (interquartile range). BMI = body mass index; CK = creatine kinase; CK-MB = creatine kinase-myocardial band; cTnI = cardiac troponin I; cTnT = cardiac troponin T; eGFR = estimated glomerular filtration rate; NT-proBNP = N-terminal pro-B-type natriuretic peptide.						

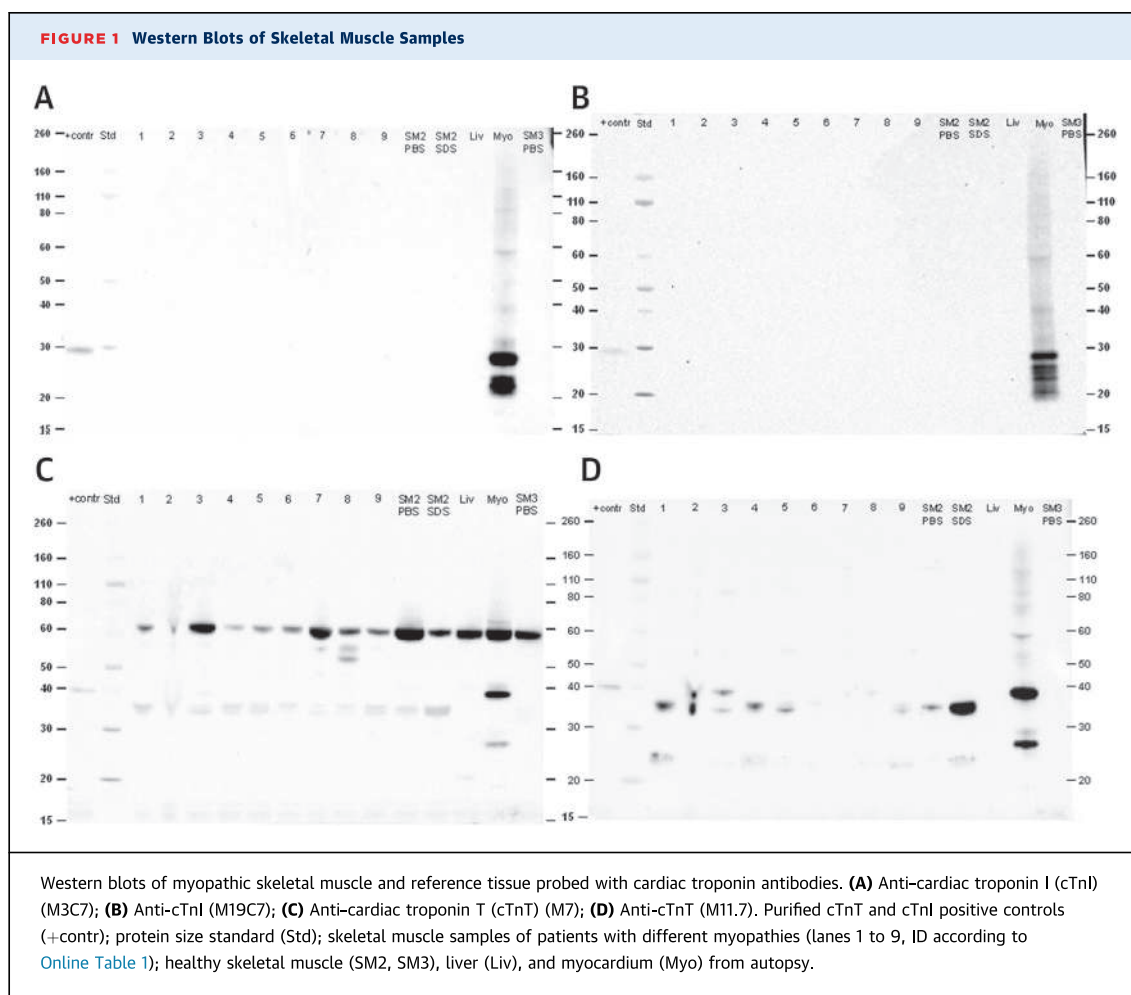
骨骼肌病变患者cTnT检测：
结果显示69%的患者的cTnT均高于试剂的cut-off值，而cTnI值升高的占比却仅为4%。两种肌钙蛋白检测均正常的患者占比30%，而cTnT单独升高的患者却占66%。根据相关心梗指南，72例患者中由于cTnT升高可被诊断为心梗的患者占比30.1%。
血液中的CK水平可以反映肌细胞损伤，临床上可用于反映肌病活动程度。本次检测中，78%的患者均出现了CK升高。同时CK、肌红蛋白和天冬氨酸转移酶均与cTnT呈现出很强的相关性。而cTnI与cTnT的相关性却较差。

肌病的患者的心脏损伤：
本研究通过使用CMR、冠状动脉CT和ECG对有心脏病史和严重心脏病的患者进行排除。根据筛查结果来看，具有心脏疾病表征的患者占比为23%（如table 2所示），其中心脏畸形为主要疾病，且主要出现在营养不良型肌病组中。
对于心脏损伤的患者，cTnI、NT-proBNP和cTnT均明显升高，而在无心脏疾病患者中cTnT显著升高的患者比率却依然很高（67%）。

骨骼肌样本的肌钙蛋白WB检测：

研究者分别使用了cTnI和cTnT抗体对肌病患者和健康人群骨骼肌样本进行了WB分析。当使用cTnI抗体进行分析时，仅心肌出现了阳性条带；而用cTnT抗体进行分析时，每条电泳道均出现了1到3条条带（结果如图1所示）。这些条带不仅出现在肌病患者骨骼肌样本中，同样也出现在了

健康人的对照样本中。此外，Roche cTnT试剂中的M7抗体在所有样本中（包括肝脏组织）均可检出一条很强的额外的分子量约为60KDa的阳性条带。但是，该条带不会被Roche cTnT试剂中的另一株单抗M11.7识别。因此，在临床上不会被检测试剂检出（双抗体夹心）。此外，在心肌组织中，单抗M7和M11.7均可检出典型的阳性条带。



cTnT抗体WB分析阳性条带的骨骼肌TnT质谱分析：

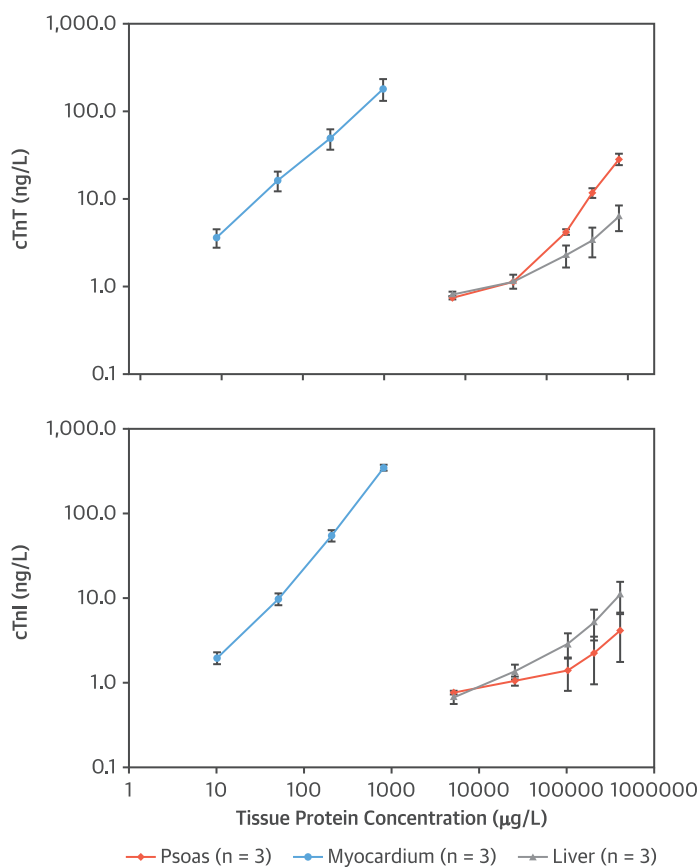
对cTnT抗体WB分析的阳性条带进行质谱分析。结果显示，所有样本中均存在慢型骨骼肌肌钙蛋白T。而快型骨骼肌肌钙蛋白则存在于13例样本中（样本总数为14）。没有数据显示，cTnT存在于上述骨骼肌样本中。另外，单抗M7检出的60KDa的条带中并无肌钙蛋白亚型。

升高。而随着添加的骨骼肌蛋白的浓度的提高，cTnT结果出现了显著的升高，而cTnI的浓度依然低于cut-off值。

添加了健康人骨骼肌样本的血浆的**cTnT**检测：

为了考察骨骼肌蛋白是否也会导致临床免疫检测试剂的假阳性，研究者将人心肌和骨骼肌分别添加至正常人血浆中，然后对血浆进行了cTnI、cTnT和肌红蛋白检测。

随着添加的心肌蛋白浓度的提高，cTnI和cTnT均呈现线性

FIGURE 2 Simulation of Rhabdomyolysis

Measured cTnT and cTnI concentrations in plasma samples spiked with increasing concentrations of skeletal muscle, myocardium, or liver homogenates (mean $\pm$ SEM). Abbreviations as in Figure 1.

启示与讨论：

本研究显示，神经肌肉紊乱患者会出现cTnT血清浓度升高，而cTnI却依然维持正常状态。根据相关急性心梗临床指南，根据cTnT的检测结果，本研究中大部分的骨骼肌患者将会被诊断为心梗。尽管骨骼肌疾病非常罕见，这cTnT检测对于骨骼肌患者AMI诊断应用方面仍受了严重限制。

根据不同骨骼肌疾病，本研究将患者分为了6组。其中，非营养不良型肌强直病是唯一一组cTnI和cTnT均在正常水平的分组，因为该疾病几乎不会出现肌肉降解。对于神经主导性肌肉疾病组，所有患者均出现了cTnT升高，而cTnI正常，该类型疾病几乎不会出现心脏损伤。对于剩余的其他分组，则会出现一些心脏损伤的情况。根据本研究的筛查结果来看，心脏畸形是一种较为普遍的已知的心脏损伤，尤其在肌肉营养不良型疾病中。尽管，在一些患有心脏疾病的肌病患者中会出现cTnT升高的情况，但是在无心脏损伤的情况下，患者也会出现cTnT升高，且所占比例也相当之高。相比之下，cTnI在患有心脏疾病的肌病患者中的浓度要

远高于无心脏疾病的患者。

CK和肌红蛋白常用于监测肌病程度，因此这两种标志物在大部分肌病患者中均会出现显著升高。而在这些患者中，cTnT浓度也与CK和肌红蛋白高度相关。如果cTnT的升高是由心肌细胞坏死所引起，那么cTnI也会出现升高。然而，仅有极少数患者出现了cTnI升高，且cTnI水平与CK和肌红蛋白无相关性。换言之，cTnT与特异性较差的CK和肌红蛋白的相关性更好（这两种标志物主要来源于肌病患者的骨骼肌），而与心肌特异性的cTnI的相关性较差。这提示，这些患者的骨骼肌是导致cTnT升高的主要源头。

已经有若干研究报道过肌病患者的cTnT升高，尽管其中一些研究称cTnT升高可反映患者的心脏损伤情况，但是仍有一些研究对于cTnT的特异性提出了质疑。实际上，特异性问题普遍存在于初代cTnI和cTnT试剂，但是随着抗体的优化这些问题得了显著改善。然而，仍有一些研究发现骨骼肌患者出现了cTnT升高，涉及的试剂包括了新一代的cTnT试剂。

尽管研究显示肌病患者cTnT升高极有可能源于骨骼肌，但是确切的发生机制仍然没有研究透彻。之前已有研究用WB分析对于cTnT与肌病患者骨骼肌的反应进行了分析，结果均为阳性。但是Ricchiuti等人的研究发现两个抗体产生的条带分子量不一样，而Jaffe等人的

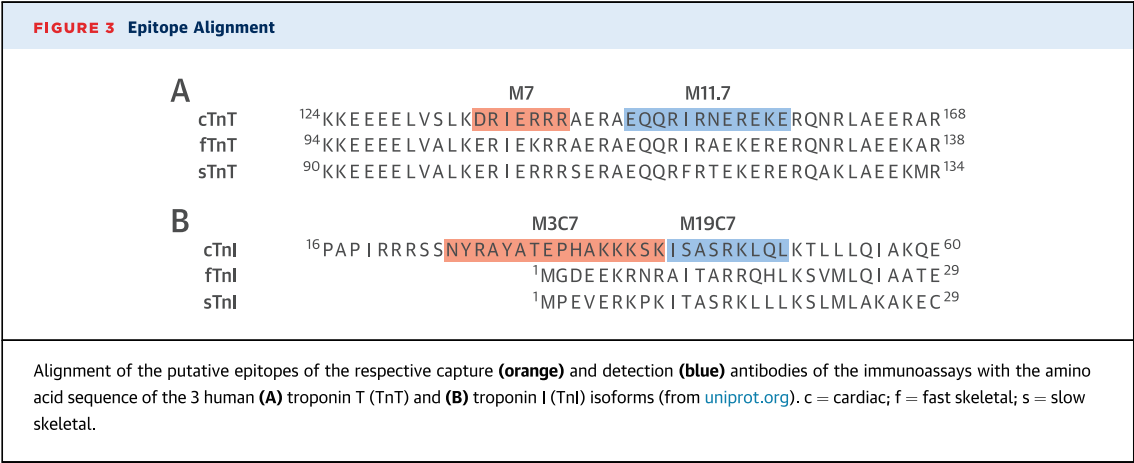
研究则显示两个抗体出现了相同的条带。

本研究中的WB结果显示，两个抗体产生的条带是一致的。同时还发现，在健康人骨骼肌中也可以检测到与其实验组相一致的条带。后续的质谱分析结果显示，这些条带中仅含有骨骼肌TnT，而不含有cTnT。以上研究数据提示，这些患者的cTnT升高是由于试剂的交叉反应导致而非cTnT的再表达。

后续，本研究进一步对添加了健康骨骼肌的健康人血浆进行cTnT免疫检测。结果显示，cTnT依然出现了线性升高。这说明骨骼肌TnT不仅可以在WB中被检出，还可以被临床应用的cTnT免疫检测试剂所检出。而cTnI则不会受到骨骼肌的影响。

尽管检测试剂与骨骼肌肌钙蛋白的交叉反应率很低，但是由于人体骨骼肌含量是心肌含量的100倍以上，以及肌病患者经常会出现严重的骨骼肌损伤从而导致骨骼肌肌钙蛋白的浓度极度升高。因此，对于试剂的特异性必须予以高度重视。由于3种TnT亚型的氨基酸序列高度同源，因此抗体

的识别位点对于试剂的特异性至关重要。如图 3 所示，单抗 M7 的识别位点区域，恰好是 3 中 TnT 亚型氨基酸序列高度同源的区域。



另一种对于肌病患者 cTnT 升高的解释是患者骨骼肌中 cTnT 或胎儿 TnT 的再表达。因为，近期有一些研究在肌病患者骨骼肌中检测到了 cTnT 的 RNA。但是，究竟有多少 RNA 被最终翻译成蛋白却仍然未知。在本研究中，WB 分析的结果表明，cTnT 抗体与肌病患者骨骼肌蛋白和健康人骨骼肌蛋白的阳性结果并无差异。同时，添加了正常人骨骼肌血浆的 cTnT 免疫检测结果也是阳性。这些结果均进一步支持了抗体存在交叉反应导致了假阳性产生的假说。而这些反应均源于骨骼肌而非心肌。

总结：

肌病患者出现血清 cTnT 升高的情况普遍存在，而 cTnI 却多维持在正常范围。本研究通过对患者心脏功能评估及 cTnT 与骨骼肌损伤标志物相关性分析发现，cTnT 在肌病患者中的升高是由骨骼肌介导的。cTnT 抗体与肌病患者及正常人骨骼肌均可发生反应，因此对于临床上出现 cTnT 升高的情况，患者是否存在骨骼肌相关疾病应予以重视。对于肌病患者，结合现有指南，cTnT 水平的连续变化需要结合临床症状、ECG 及影像学检查进行联合分析。