



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

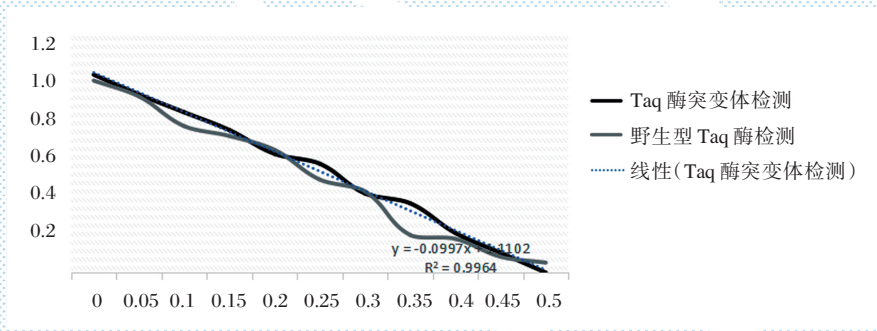
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022年2月 第14卷 第2期 总第90期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 2 February 2022



图(193) 样本检测曲线

Figure(193) Sample detection curve

中山大学 主管

中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)

中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

中国期刊全文数据库全文必录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

中文生物医学期刊文献数据库 CMCC 收录期刊

中国生物医学期刊引文数据库 CMCI 收录期刊

中国学术期刊影响因子年报统计源期刊

ISSN 1674-6929



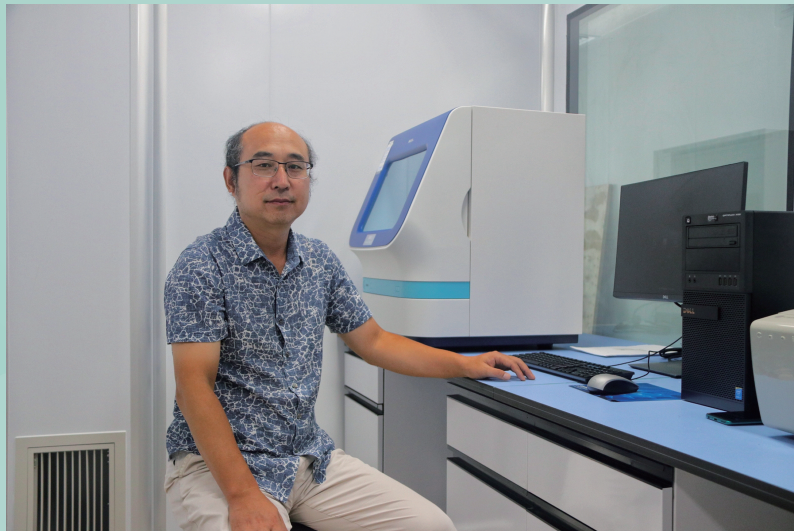
分子诊断与治疗杂志

二〇二二年二月

第十四卷 第二期

中山大学

杨立业



杨立业, 1970年1月出生。1997年毕业于中国医科大学, 获硕士学位; 2002年毕业于苏州大学医学院, 获博士学位。2003年至2005年在汕头大学医学院进行博士后研究工作。

主任医师, 汕头大学医学院/南方医科大学硕士研究生导师。

现任阳江市人民医院精准医学检测中心主任, 并担任广东省医学会检验分会委员, 广东省医学会医学遗传学分会委员, 广东省肝病学会检验分会委员等学术职务。担任《分子诊断与治疗杂志》编辑委员会委员, World Journal of Clinical Pediatrics 编委, “Cancer Epidemiology”、“Plos One”、“Cell Biology International”等杂志的审稿专家学术职务。

长期从事分子诊断研究工作, 研究内容包括血红蛋白病、地中海贫血、G6PD缺乏症、HPV的分子流行病学和新生儿黄疸等。主持国家自然科学基金1项, 中国博士后基金1项, 广东省自然科学基金2项, 广东省扬帆计划(高层次人才培养)1项; 参与国家自然科学基金3项, 广东省社会发展计划项目4项, 广东省自然科学基金2项, 广东省医学科学技术研究基金12项。申请国家专利11项, 其中9项获得授权。获得广东省科技进步二等奖、三等奖各1项, 市级科技进步一等奖4项, 潮汕国瑞科技奖1项。发表论文100余篇, 其中SCI收录50多篇, Medline收录60多篇, 中华医学会系列杂志20余篇, 核心期刊41篇, 国内发表论文被引用超过1000余次, 国外发表论文被引用超过1000次。培养研究生10多名。指导的2篇研究生论文获得2010年和2012年广东省科协南粤科技创新优秀学术论文三等奖。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 2 月 第 14 卷 第 2 期 总第 90 期 Monthly Volume 14 Number 2 February 2022

主管 中山大学
主办 《中国家庭医生》杂志社有限公司
承办 广州达安基因股份有限公司

总编辑 张翼鹏
顾问 申子瑜
主编 李明
编辑部主任 蒋析文
编辑部副主任 刘悦
编辑部 《分子诊断与治疗杂志》编辑部
编辑 李晓兰 李彩珍 莫源浩
出版 《中国家庭医生》杂志社有限公司

地址 广州市天河区天河北路 179 号祥龙大厦 11 楼 (510620)
电话 (020) 32290789-206, 32290789-201
电子邮箱 jmdt@vip.163.com
刊号 ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
邮发代号 46-283
发行单位 广东省报刊发行局
发行范围 国内外公开发售
广告发布登记通知书 440100190057
印刷 天意有福科技股份有限公司
出版日期 2022 年 2 月 18 日
定价 RMB 15.00 元

Responsible Institution Sun Yat-sen University
Sponsor China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.
Organizer Daan Gene Co., Ltd.
Editor in Chief ZHANG Yipeng
Consultant SHEN Ziyu
Editor in Chief LI Ming
Managing Director JIANG Xiwen
Associate Editor LIU Yue
Editorial Office <JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office
Editors LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao
Editing China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.

Add 11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620
Tel (020) 32290789-206, 32290789-201
E-mail jmdt@vip.163.com
CSSN ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
Printing TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date 2022.2.18
Price RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

CERTIFICATE OF SOURCE JOURNAL
FOR CHINESE SCIENTIFIC AND TECHNICAL PAPERS AND CITATIONS

分子诊断与治疗杂志

经过多项学术指标综合评定及同行专家
评议推荐，贵刊被收录为“中国科技核心期
刊”（中国科技论文统计源期刊）。

特颁发此证书。

中国科学院信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038 www.istic.ac.cn

2021年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年2月 第14卷 第2期

目次

述评

血清HBV RNA检测的临床意义及方法学进展 王丽娟 许宏涛(181)

论著

- CD4⁺、CD8⁺和CD4⁺/CD8⁺检测在结核病合并HIV患者中的变化及临床意义
..... 李解军 宋继军 陈春光(185)
- TGF- β 1 509基因和动脉粥样硬化性脑梗塞的易感性的关联研究
..... 谢思 刘丽燕 石玉玲等(189)
- 支气管哮喘患儿治疗前后BNP、PCT及IL-6检测的临床意义..... 张祥 李立学 陈雅祺等(193)
- 不同DNA聚合酶突变体与野生型检测性能的比较分析..... 孙梅 葛丽娜 谢龙等(197)
- HMGB-1、S100B与RAGE对创伤性颅脑损伤术后颅内感染的诊断价值
..... 马欢欢 李元垒 付云等(201)
- mSEPT9和CEA在结直肠癌诊断与术后评估及复发监测中的价值
..... 高娟娟 黎阳 王中林等(205)
- Ki-67、nm23和PTEN在CMM中的表达及与淋巴结转移的关系 姚明 杨灿 林永丽(210)
- 寻常型银屑病患者VEGF、IFN- γ 和S100A12的表达及与疾病活动性的相关性
..... 董晓龙 王晓阳 徐宏俊等(214)
- 不同麻醉方式对剖宫产产妇母脐血IMA、IL-2及IL-6水平的影响
..... 王桃 赵翠英 田永凤(218)
- MiR-206调控DDX3X促进胰腺癌不良预后及其机制的分析
..... 段怡平 陈梁玥 朱翠雯等(222)
- 术前LSR、NLR及PLR检测评估结直肠癌预后的应用价值 赵贺 王冲 张文静等(228)
- CLEC4G与CD34及肝细胞癌侵袭转移之间的关系
..... 唐满玲 蒋最明 顾敏等(232)
- PCT、IL-8、FGF21水平在社区获得性肺炎患者病情和预后评估中的应用
..... 付会文 赵智东 郭安等(237)
- Gustilo III型开放性骨折患者术后感染病原菌及炎症因子和免疫指标改变分析
..... 吴兴源 张国如 陈尉等(241)
- NLR、PLR对结肠癌根治术后手术部位感染的预测价值..... 张文静 田红梅 王冲等(245)
- 甘油三酯血症性胰腺炎病情严重程度的预测价值 薛祥 谢东辉 黄昌保等(249)
- 髌部骨折术后患者血液凝血四项、D-二聚体水平与感染及血栓发生的关系
..... 王蕾 魏亚楠 杨玉山等(253)

联合 uCr、Cys-C、uMA 检测在多发性骨髓瘤合并早期肾脏损害中的诊断
 张爽 朱新霞 冯婉荣 等(258)

踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 变化与疼痛和水肿的相关性
 娄磊 许和贵 苏攀(262)

RTS 评分、D-乳酸、DAO 在创伤性骨折并休克中的评估意义 丁丁 赵志坚 陈坤峰(266)

CRP 联合血清免疫球蛋白 G 在银屑病患者中的表达及治疗价值
 郭颖 张宇虹 吴军阳 等(270)

血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 对 COPD 急性发作并发肺部感染的诊断价值
 闫秀文 赵艺璞 李亚军 等(274)

Gal-3、BNP 及 LVEF 在心力衰竭患者中的变化及临床意义 岳洪峰 张占纺 邸玉青 等(278)

UPPP 治疗 OSAHS 效果及对 ET-1、HIF-1 α 、IL-18 和咽喉反流症状的影响 韩勇 张强(282)

CTCs、LMR、HER-2 在食管鳞癌根治性放疗中的动态变化及临床意义
 黄俊娟 徐秀鹏 唐丕斌 等(286)

全膝关节置换术对 KOA 患者血清 SOD、Hb 和 IL-6 水平的影响 延净德 胡彬 闫磊 等(291)

TM 水平在冠心病患者冠状动脉旁路移植术围术期改变及与动脉硬化指数的关系
 马杰 马千里 廖红娟 等(295)

2 型糖尿病患者外周血 miR-183 表达水平与足细胞标志物表达及白蛋白尿短期进展的关系
 张秀云 侯凤英 刘美 等(299)

T2WI 联合 ADC 值诊断前列腺癌的价值及与危险程度、PSA 的关系
 王晴晴 代志清 刘高峰(304)

78 例新生儿坏死性小肠结肠炎临床特征分析 杨静 刘璜 杨立(319)

血清学指标及溶血三项试验对新生儿溶血病早期诊断的价值 薛松 徐诗雅 孙会丽(312)

复方丹参滴丸对老年冠心病心绞痛 sCD40L、Lp-PLA2 水平的影响
 李耀征 白保强 马向阳 等(317)

食管测压联合食管 PH-阻抗监测对非典型症状 GERD 的诊断价值 古岳 雷鸽 范筱(321)

MIF、Vaspin 及 Endocan 与稳定型心绞痛合并高血压发生 MACE 的相关性
 王尚明 马丽英 杨璐(325)

卒中患者静脉溶栓转归的影响因素及 MPV 与 RDW 对其预测价值 花军 李虎(329)

老年 2 型糖尿病患者血浆纤维蛋白原、糖化血红蛋白与糖尿病病程的相关性
 陈静娴 孙洁 范文辉(333)

同源重组修复检测的评价 许骏 曲守方 黄传峰 等(338)

NAT2 基因多态性与异烟肼药物性肝损伤的相关性分析 张淑英 唐媛媛 裴景亮(342)

自身免疫性肝炎临床特点分析及血清相关抗体检测水平分析 李应 庞源源 陈虹余(346)

HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 在胎膜早破患者体内变化意义研究 周玲 符梅沙 喻灿阳(350)

综 述

病原宏基因组高通量测序中无菌部位临床标本的处理办法 梁志坤 孙荣同 吴轶兰 等(354)

专家风采

杨立业 (封二)

实验室巡礼

阳江市人民医院精准医学检测中心 (封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 2 February 2022

CONTENTS

COMMENTS

- Clinical detection of HBV RNA in serum
WANG Lijuan, XU Hongtao (181)

ORIGINAL ARTICLES

- Changes and clinical significance of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ detection in tuberculosis patients with HIV
LI Jiejun, SONG Jijun, CHEN Chunguang (185)
- Study on transforming growth factor- β 1 promoter Polymorphism C-509T in atherothrombotic cerebral infarction
XIE Si, LIU Liyan, SHI Yuling, LI Cui, LIANG Shuhui, DENG Rihui (189)
- Clinical significance of detection of BNP, PCT and IL-6 before and after treatment in children with bronchial asthma
ZHANG Xiang, LI Lixue, CHEN Yaqi, WANG Pingkang (193)
- Comparative analysis of different DNA polymerase mutants and wild-type detection performance
SUN Mei, GE Lina, XIE Long, SONG Yu, LIN Ziyu, CONG Haiyan, LIU Peng, ZHANG Huanhu, CHI Xiangyu, WANG Mingyi (197)
- Diagnostic value of HMGB-1, S100B and RAGE for intracranial infection after traumatic brain injury
MA Huanhuan, LI Yuanlei, FU Yun, LIU Guowei, HE Wenlong (201)
- Value of mSEPT9 and CEA in diagnosis, postoperative evaluation and recurrence monitoring of colorectal cancer
GAO Juanjuan, LI Yang, WANG Zhonglin, FENG Ai, LI Na, HUI Lingyun (205)
- The relationship between the expression of Ki-67, nm23 and PTEN in CMM and lymph node metastasis
YAO Ming, YANG Can, LIN Yongli (210)
- Expression of VEGF, IFN- γ and S100A12 in patients with psoriasis vulgaris and their correlation with disease activity
DONG Xiaolong, WANG Xiaoyang, XU Hongjun, YAO Xinyu (214)
- Effects of different anesthesia methods on the levels of IMA, IL-2 and IL-6 in the cord blood of mothers with cesarean section
WANG Tao, ZHAO Cuiying, TIAN Yongfeng (218)
- MiR-206 regulates DDX3X to promote poor prognosis of pancreatic cancer
DUAN Yiping, CHEN Liangyue, ZHU Cuiwen, MA Tiantian, LI Dongxu, LIU Jiakuai, ZHAO Yunchang, ZHU Guangting, YU Mingxia (222)
- The value of preoperative LSR, NLR and PLR detection in evaluating the prognosis of colorectal cancer
ZHAO He, WANG Chong, ZHANG Wenjing, SHAO Silun (228)
- Relationship between CLEC4G and CD34 and metastasis in patients with hepatocellular carcinoma
TANG Manling, JIANG Zuiming, GU Min, YANG Yaoyong, XIE Zhiqin, HUANG Meiyuan, CHEN Xiang (232)
- Application of PCT, IL-8 and FGF21 levels in the evaluation of condition and prognosis of patients with community-acquired pneumonia
FU Huiwen, ZHAO Zhidong, GUO An, LIN Huaiyin (237)
- Analysis of the changes of pathogenic bacteria, inflammatory factors and immune indicators in patients with Gustilo type III open fractures after operation
WU Xingyuan, ZHANG Guoru, CHEN Wei, PAN Huilong, DU Xiupan (241)
- Predictive value of NLR and PLR for surgical site infection after radical resection of colon cancer
ZHANG Wenjing, TIAN Hongmei, WANG Chong, MA Ling (245)
- The predictive value of NLR and CRP in the severity of acute hypertriglyceridemia pancreatitis
XUE Xiang, XIE Donghui, HUANG Changbao, WANG Lizong (249)
- The relationship between coagulation four indices, D-dimer level changes and infection, thrombosis in postoperative patients with hip fracture
WANG Lei, WEI Yanan, YANG Yushan, YAN Xiaohui (253)
- Combined detection of uCr, Cys-C and uMA in the diagnosis of multiple myeloma complicated with early renal damage
ZHANG Shuang, ZHU Xinxia, FENG Wanrong, XUE Nanqian, CUI Guowang, CUI Jinyan (258)

Correlation of serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α with pain and edema in patients with bone marrow edema caused by bone contusion around ankle joint <i>LOU Lei, XU Hegui, SU Pan</i>	(262)
The evaluation significance of RTS score, D-lactic acid and DAO in traumatic fracture and shock <i>DING Ding, ZHAO Zhijian, CHEN Kunfeng</i>	(266)
Expression of CRP combined with serum immunoglobulin G in patients with psoriasis and its therapeutic guidance value <i>GUO Ying, ZHANG Yuhong, WU Junyang, XU Xia, LI Wei</i>	(270)
Analysis of the diagnostic value of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT in acute COPD with pulmonary infection <i>YAN Xiuwen, ZHAO Yipu, LI Yajun, SHI Chang</i>	(274)
Changes and clinical significance of galectin-3, B-type natriuretic peptide and left ventricular ejection fraction in patients with heart failure <i>YUE Hongfeng, ZHANG Zhanfang, DI Yuqing, LIU Chunling, MA Sulin, WEN Xue</i>	(278)
Effect of UPPP on the treatment of OSAHS and its influence on ET-1, HIF-1 α , IL-18, and throat reflux symptoms <i>HAN Yong, ZHANG Qiang</i>	(282)
Dynamic changes and clinical significance of CTCs, LMR and HER-2 in radical radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma <i>HUANG Junjuan, XU Xiupeng, TANG Pibin, ZHU Huaiping</i>	(286)
Effect of total knee arthroplasty on serum SOD, Hb and IL-6 levels in KOA patients <i>YAN Jingde, HU Bin, YAN Lei, LIU Yawei, SHA Yu</i>	(291)
The relationship between TM level in the perioperative period of coronary artery bypass grafting and arteriosclerosis index in patients with coronary heart disease <i>MA Jie, MA Qianli, LIAO Hongjuan, ZHANG Yan, AN Jing Hui</i>	(295)
Relationship between miR-183 expression in peripheral blood and podocyte markers, short-term progression of albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus <i>ZHANG XiuYun, HOU FengYing, LIU Mei, HU WenJing, WANG Mai, LEI Min</i>	(299)
Value of T2WI combined with ADC value in diagnosis of prostate cancer and its relationship with risk level and PSA <i>WANG Qingqing, DAI zhiqing, LIU Gaofeng</i>	(304)
Analysis of clinical features of 78 cases of neonatal necrotizing enterocolitis <i>YANG Jing, LIU Ying, YANG Li</i>	(309)
Value of serological indicators and three tests of hemolysis on the early diagnosis of neonatal hemolysis <i>XUE Song, XU Shiya, SUN Huili</i>	(312)
Effects of Compound Danshen Dropping Pills on the Levels of sCD40L and Lp-PLA2 in Elderly Patients with Coronary Heart Disease and Angina Pectoris <i>LI Yaozheng, BAI Baoqiang, MA Xiangyang, SUN Yaqin</i>	(317)
Value of high resolution esophageal manometry combined with 24-hour esophageal pH impedance monitoring in diagnosis and evaluation of atypical GERD <i>GU Yue, LEI Ge, FAN Xiao</i>	(321)
Correlation of MIF, Vaspin, Endocan with main MACE in SAP combined with hypertension <i>WANG Shangming, MA Liying, YANG Lu</i>	(325)
Influencing factors of the outcome of intravenous thrombolysis in stroke patients and the predictive value of MPV and RDW <i>HUA Jun, LI Hu</i>	(329)
Correlation between plasma fibrinogen, glycosylated hemoglobin and the course of diabetes in elderly patients with type 2 diabetes <i>CHEN Jingxian, SUN Jie, FAN Wenhui</i>	(333)
Evaluation of homologous recombination repair detection <i>XU Jun, QU Shoufang, HUANG Chuanfeng, HUANG Jie</i>	(338)
Polymorphisms of NAT2 related to Isoniazid-induced liver injury in tuberculosis patients <i>ZHANG Shuying, TANG Yuanyuan, PEI Jingliang</i>	(342)
Analysis of clinical features of autoimmune hepatitis and detection of serum related antibodies <i>LI Ying, PANG Yuanyuan, CHEN Hongyu</i>	(346)
Significance of HBD-2, pgrmc1 and HIF 1 α in patients with premature rupture of membranes <i>ZHOU Ling, FU Meisha, YU Canyang</i>	(350)

REVIEWS

Treatment of clinical specimens of sterile parts in pathogenic metagenomics high-throughput sequencing <i>LIANG Zhikun, SUN Rongtong, WU Yilan, WANG Lin, TANG Cuiyan</i>	(354)
--	-------

血清HBV RNA检测的临床意义及方法学进展

王丽娟 许宏涛*

[摘要] 乙型肝炎病毒(HBV)在细胞内产生多种不同类型的RNA,其中前基因组RNA(pgRNA)主要参与病毒的逆转录及翻译过程。HBV RNA被认为是评价HBV感染者肝组织内共价闭环状DNA(cccDNA)的转录活性及存在水平的新兴生物标志物,cccDNA在受感染细胞的细胞核中持续存在,最终导致HBV感染无法被彻底治愈。近年HBV RNA检测的临床意义越来越被广大学者所认知,本文综述了HBV RNA检测的临床意义及常用的HBV RNA检测方法,并进行了展望。

[关键词] 血清HBV RNA; cccDNA; CHB; PCR技术

Clinical detection of HBV RNA in serum

WANG Lijuan, XU Hongtao*

(Department of Laboratory Medicine, Beijing Hospital/National Center of Gerontology/Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China, 100730)

[ABSTRACT] Hepatitis B virus (HBV) produces many different types of RNA in cells, among which pregenomic RNA (pgRNA) is mainly involved in the reverse transcription and translation of viruses. HBV RNA has been considered as an emerging biomarker to evaluate the transcriptional activity and presence level of covalently closed circular DNA (cccDNA) in liver tissue of HBV infected patients, which persists in the nucleus of infected cells and ultimately leads to HBV infection that cannot be completely cured. In recent years, the clinical significance of HBV RNA detection has been recognized by many scholars. This article reviews the clinical significance of HBV RNA detection and the commonly used HBV RNA detection methods, and gives the prospect.

[KEY WORDS] Serum HBV RNA; cccDNA; CHB; PCR technology

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起肝纤维化、肝硬化、肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)、慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝衰竭等肝脏疾病。据WHO统计,全球约有2.57亿人感染HBV,每年约有88万人死于CHB相关并发症,南非和东亚地区的发病率最高^[1]。虽然有多种抗HBV药物和乙肝疫苗,但CHB无法被彻底治愈,需要长期抗HBV药物治疗,最终导致患者可能对抗HBV药物产生耐药性。

1 HBV RNA的生命起源及临床意义

HBV是一种双链DNA病毒,首先HBV与其

功能性受体(牛磺胆酸钠协同转运多肽)结合并被内吞入宿主肝细胞,然后释放含有松弛环状DNA(relaxed circular DNA, rcDNA)的核衣壳至细胞质中,最后部分rcDNA通过核孔复合体进入细胞核,rcDNA被修复为稳定的共价闭环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA),cccDNA以微染色体形式存在^[2]。cccDNA长期存在于HBV侵犯的肝细胞内,导致CHB患者停药后易复发及CHB的慢性化,很难彻底清除HBV及实现CHB的功能性治愈。cccDNA转录出3.5 kb的前基因组RNA(pgRNA)及3.5 kb的前核心RNA(pcRNA)、2.4 kb和2.1 kb的乙肝表面抗原(HBsAg)RNA、

基金项目:十三五重点研发计划(2018YFC2000505);北京医院课题(BJ-2020-025);首都临床特色应用研究(Z181100001718172)

作者单位:北京医院检验科/国家老年医学中心/中国医学科学院老年医学研究院,北京100730

*通信作者:许宏涛, E-mail: taotao200703@sina.com

0.7 kb 的乙肝病毒 X 蛋白(HBx)RNA。pcRNA 被翻译成乙肝 e 抗原(HBeAg), pgRNA 被翻译成核心蛋白和病毒聚合酶, 2.4 kb 转录物产生大表面蛋白, 0.7 kb 转录物产生 HBs, 2.1 kb 转录物产生中小表面蛋白^[3]。在细胞质中, pgRNA 和病毒聚合酶一起与核心蛋白结合形成核衣壳, 在病毒核衣壳内进行逆转录产生 rcDNA, 含有 rcDNA 的成熟核衣壳有两种存在形式: 一种是被运回细胞核形成 cccDNA, 另一种是与细胞多泡体处的病毒包膜结合, 分泌后代病毒颗粒^[4]。

1.1 血清 HBV RNA 监测 cccDNA 的转录活性及评价抗 HBV 药物的疗效

早在 1996 年就有学者发现 CHB 患者血清中存在 HBV RNA, HBV RNA 可作为 CHB 患者在核苷(酸)类似物(nucleos(t)ide analogues, NAs)和聚乙二醇干扰素 α (pegylated interferon, PEG-IFN- α)治疗期间潜在的生物标志物^[5], 在疾病诊断、监测和预后中具有重大的临床意义。HBV RNA 仅由 HBV cccDNA 转录产生, 因此肝细胞内 HBV RNA 的载量能精确地反映出 cccDNA 的转录活性及复制状态。由于 NAs 或 PEG-IFN- α 通过抑制 HBV 逆转录酶抑制 HBV pgRNA 的反转录过程, 从而 NAs 或 PEG-IFN- α 可以有效降低 CHB 患者血清中的 HBV DNA 水平, NAs 或 PEG-IFN- α 并不影响 cccDNA 到 HBV RNA 转录的过程。有研究者对 136 名 CHB 患者接受 PEG-IFN- α 及 130 名 CHB 患者接受 PEG-IFN- α 和拉米夫定治疗的第 0、12、24 和 52 周进行研究, 所有患者的 HBV RNA 水平在治疗期间都逐渐下降, 与 PEG-IFN- α 单药治疗相比, NAs 和 Peg-IFN 联合治疗 HBV RNA 下降更明显^[6]。

1.2 血清 HBV RNA 指导 CHB 患者安全用药

HBV DNA 低于检测下限(Lower Limit of Detection, LLD)仅说明病毒逆转录受到抑制, 不能作为临床用药的指标。CHB 患者长期接受 NAs 治疗后, 血清检测不到 HBV DNA, 应检测血清 HBV RNA。若 CHB 患者血清中检测到 HBV RNA, 加用 PEG-IFN- α ; 若未检测到 HBV RNA, 则应将 NAs 治疗转为 PEG-IFN- α 治疗^[7]。在抗 HBV 药物治疗过程中, HBV RNA 的变化反映出患者的恢复程度, HBV RNA 对 CHB 患者安全停药有指导性意义^[8-9]。由于每个研究者的检测方法不一定相同, 研究标本少, HBV RNA 是否可以作为停用抗病毒药物的指标, 目前还需要大量样本证实。

1.3 血清 HBV RNA 预测停药后病毒反弹的风险

NAs 不能直接抑制 cccDNA, 导致很多 CHB 患者停药后易复发。HBV RNA 水平是停止 NAs 治疗后, 预测 HBV 持续低水平复制的指标^[10]。Xie Y^[11] 等随访调查发现, HBV RNA 载量低于检测线的 CHB 患者停用 NAs 后病毒学复发风险较低。Fan R 等^[12]对 NAs 治疗结束的 CHB 患者分析表明, HBV RNA 阴性的 CHB 患者停药反弹风险低而 HBV RNA 阳性的 CHB 患者反弹风险高。Xia M 等^[13]对停止 NAs 治疗的 HBV 感染者研究发现, 治疗结束时 HBV RNA 水平 $\geq 20\ 000$ 拷贝/mL 的患者, 第 6 年全部发生生化复发, 而 HBV RNA 水平 $< 1\ 000$ 拷贝/mL 的患者中仅有 23.8% 的人发生生化复发, HBV RNA 水平可预测停止 NAs 治疗后的生化复发(HBV DNA $> 2\ 000$ IU/mL 和丙氨酸转氨酶 $>$ 正常上限的 2 倍)。

1.4 HBV RNA 是 HBeAg 血清学转换的预测指标

抗病毒治疗期间, HBV RNA 的动态变化可预测 HBeAg 血清学转换, 研究者将 30 名 HBeAg 阳性、非肝硬化的 CHB 患者分为两组: SR 组(出现 HBeAg 血清转换的患者, $n=9$), NSR 组(未出现 HBeAg 血清转换的患者, $n=21$), 所有患者在治疗 48 周期间, HBeAg 都呈现出逐渐下降的趋势, 但 SR 组的 HBV RNA 水平比 NSR 组下降的幅度大, 在第 48 周时, SR 组的血清 HBV RNA 水平显著低于 NSR 组^[14]。Yu XQ 等^[15]对长期进行抗 HBV 治疗的 178 例 CHB 患者(122 例接受恩替卡韦治疗, 56 例接受 PEG-IFN- α 治疗)研究发现, 基线时低载量的 HBV RNA 与 HBeAg 血清学转换相关, HBeAg 阴性感染期的 HBV RNA 水平显著低于 HBeAg 阳性感染期的水平。恩替卡韦治疗组显示, 第 4 周的 HBV RNA 水平是预测血清学转换的最佳指标, 而 PEG-IFN- α 治疗组显示, 第 24 周的 HBV RNA 水平最能预测 HBeAg 血清学转换。基线时的 HBV RNA 载量可以预测不同抗 HBV 药物治疗期间 HBeAg 血清学的转换。

2 HBV RNA 的检测方法

血清学检测 HBV RNA 替代肝细胞检测 HBV cccDNA 具有重大意义。cccDNA 检测需要通过肝组织活检完成, 肝组织活检属于有创性检查, 获取新鲜肝细胞难度大, 取材部位及大小与结果密切相关, 标本合格率低, 并给患者带来多种风险, 如:

疼痛、出血、感染,而血清检测 HBV RNA 创伤性小、易于采集、保存、可重复性检测。近几年,血清 HBV RNA 的检测方法广泛得到国内外临床研究者的关注。HBV RNA 检测方法主要包括 cDNA 末端扩增(rapid amplification of eDNA ends, RACE)、荧光核酸恒温扩增试验(simultaneous amplification testing, SAT)、定量反转录-聚合酶链反应(quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)、逆转录液滴数字聚合酶链反应(reverse transcriptase droplet digital Polymerase Chain Reaction, RT-ddPCR)及 QuantiGene 测定技术。

2.1 RACE 技术

1988年,有学者基于 PCR 扩增原理而获得完整基因的方法,发明一项研究基因的新技术,把它命名为“RACE”,包括 3'RACE 和 5'RACE 两个部分。目前,国内应用最广泛的试剂为 SMARTTM RACE。虽然 3'RACE 技术利用只有 RNA 有 poly A 尾而 DNA 没有 poly A 尾的原理去除了 HBV DNA 对检测结果的干扰,但是 RACE 技术只能检测出带有 poly A 尾的 HBV RNA,而不具有 poly A 尾的 HBV RNA 则被忽略。有研究者发现血清中存在着大量 poly A 尾缺失的 HBV RNA,应用 RACE 技术,此部分缺失 poly A 尾的 HBV RNA 有可能出现漏检^[16-17]。

2.2 SAT 技术

SAT 是将核酸恒温扩增和实时荧光检测相结合的一种新型分子检测技术,定量或定性检测样本中存在的特异性 HBV RNA 片段。该技术对仪器要求简单、反应条件和操作简单,具有快速(30 分钟可获得约 100 亿个拷贝)、敏感性高、特异性强、低污染等优势,可作为临床检测患者感染 HBV 的诊断依据^[18]。2021 年 3 月 15 日,我国有生物公司推出一种以 RNA 捕获探针法为原理的 HBV RNA 检测试剂盒,利用全自动核酸检测分析系统(AutoSAT)实现了从 HBV DNA 到 HBV RNA 检测靶标的创新,更好的监测乙肝患者用药疗效。RNA 提取、扩增和检测全部在 AutoSAT 系统上进行,HBV-SAT 试剂检测 HBV RNA 的检测限(Limit of Detection, LOD)值为 100 copies/mL。Liu Y 等^[19]学者采用 SAT 法结合自动化 Auto SAT 系统对 291 名未接受治疗的 HBV 感染者进行了 HBV RNA 定量检测,结果表明,HBV 病毒在慢性 HBV 感染的自然病程中表现出不同的复制水平。血清中 HBV RNA 存在的水平为临床大夫预测 HBV 患

者的感染程度提供了依据。

2.3 qRT-PCR 技术

qRT-PCR 技术用针对 HBV RNA 靶向 X 区设计的特异性引物和一条 TaqMan 探针结合反应进行 HBV RNA 的定量检测,为了避免 DNA 污染,需要对从血清中提取的核酸进行 DNase 处理^[20]。有研究指出,qRT-PCR 方法是检测 HBV RNA 的常用方法^[21]。Xiang Y^[22]等利用 qRT-PCR 技术对 149 例 HBsAg 和 HBsAb 共阳性患者的 HBV RNA 进行检测,实现了对大量样本的快速、定量分析。对于含有不同病毒载量的样本,qRT-PCR 与 SAT 技术检测 HBV RNA 具有一定的差异性,当样本中病毒载量少时,SAT 技术检出 RNA 的阳性率可能高于 qRT-PCR 技术,当样本中病毒载量多时,两种检测技术具有较好的一致性^[23]。

2021 年 3 月,国内有公司推出以 PCR-荧光探针法为原理的 HBV RNA 检测试剂盒。此试剂盒的 LLD 值为 50 copies/mL,线性范围为 $10^2 \sim 10^9$ IU/mL,内标和样本一起参与提取和扩增,使结果具有更高的准确度、可信度。qRT-PCR 技术是一种简单、快速、灵敏度高、特异性强、低成本的检测方法,但对扩增仪器要求较高。

2.4 RT-ddPCR 技术

RT-ddPCR 是一种绝对定量的逆转录数字 PCR 技术,首先将样品分成数千个纳升的液滴,一部分液滴不含 HBV RNA 分子,其他液滴包含一个或多个 HBV RNA 分子。通过 RT-PCR 扩增每个液滴,根据泊松分布中荧光区与非荧光分区比例,得出样品中 HBV RNA 的原始浓度。每个液滴都有一个特定的反应区域,可防止每个反应器之间的交叉污染。由于 ddPCR 仪器部件结构复杂,后来一种太阳能数字 PCR 检测装置问世,用于绝对定量检测血清中的 HBV RNA。便携式快速检测方法是分子检测中越来越受关注的领域之一。RT-ddPCR 的绝对定量不需要校准曲线,在低病毒载量的 HBeAg 阴性感染者中,RT-ddPCR 技术可以提高血清 HBV RNA 检测的灵敏度和特异性,RT-ddPCR 优于 qRT-PCR 技术^[24-25]。有研究者利用这种方法在 preC/C 和聚合酶编码区域内扩增引物检测 HBV RNA,RT-ddPCR 技术为监测接受联合治疗的肝炎感染者提供一种很有前景的方法,有望成为临床实验室中强大的检测方法之一^[26]。

2.5 QuantiGene 测定

QuantiGene 测定是一种核酸探针信号放大检测技术,无需 cDNA 合成或 PCR 扩增,直接获取样本中 HBV RNA 的含量。将样本裂解后,使用 HBV RNA X 区杂交的基因型 D 特异性探针(Affymetrix),通过探针杂交与信号放大得到 HBV RNA 的具体含量。QuantiGene®Plex 2.0 平台将支链 DNA (branched DNA bDNA) 与液态芯片(Luminex/xMAP)磁珠捕获技术相结合,能同时测量多达 80 个基因^[27]。此方法对样本类型要求低,如:细胞、血液、组织匀浆。

3 展望

当前,用于抗病毒治疗疗效的评价主要是检测血清 HBV DNA,但 HBV 感染者的 HBV DNA 低于 LLD,仅说明 HBV 逆转录受到抑制,不能作为临床诊断与停药的指标。HBV RNA 和 HBV DNA 同时为阴性可能作为 CHB 患者的安全停药规则,但需要大量临床样本来验证。

肝细胞内 cccDNA 持续存在是 HBV 感染者久治不愈和潜在复发的原因。联合检测血清 HBV DNA、HBV RNA、HBeAg、HBsAg 水平可能是预测 CHB 患者停止 NAs 或 PEG-IFN- α 治疗后 HBV 能否再激活的最佳方法。但是目前国内外还没有血清 HBV RNA 检测的标准化方法及相应的标准品。由于血清 HBV RNA 分子结构高度复杂,血清检测 HBV RNA 在疾病诊断和治疗中的意义还需要进一步研究,同时更好地开发准确可靠的血清 HBV RNA 的检测方法、使不同实验室 HBV RNA 检测结果具有可比性是 HBV RNA 检测能够真正走入临床实验室的基础。血清 HBV RNA 对 NAs 和 PEG-IFN- α 长期治疗效果及安全停药的预测、新的抗病毒靶点的探索及抗病毒药物的开发具有重要意义。HBV 导致 HCC 的机制仍不清楚,正在深入研究中,有研究表明,患有 HCC 的男女比例为 5:1 到 7:1,可能与男性睾酮水平升高有关,性激素在 HCC 中的作用机制有待完善。未来需要对 HBV 核心抗原(HBcrAg)、HBsAg 预测 HCC 复发的敏感性和特异性进一步研究。

参考文献

[1] Valery PC, Laversanne M, Clark PJ, et al. Projections of primary liver cancer to 2030 in 30 countries worldwide[J]. *Hepatology*, 2018, 67(2): 600-611.

- [2] Tu T, Zhang H, Urban S. Hepatitis B Virus DNA Integration: In Vitro Models for Investigating Viral Pathogenesis and Persistence[J]. *Viruses*, 2021, 13(2): 180.
- [3] Shen S, Xie Z, Cai D, et al. Biogenesis and molecular characteristics of serum hepatitis B virus RNA [J]. *PLoS Pathog*. 2020, 16(10): e1008945.
- [4] Diogo Dias J, Sarica N, Neuveut C. Early Steps of Hepatitis B Life Cycle: From Capsid Nuclear Import to cccDNA Formation[J]. *Viruses*, 2021, 13(5): 757.
- [5] Gao Y, Li Y, Meng Q, et al. Serum Hepatitis B Virus DNA, RNA, and HBsAg: Which Correlated Better with Intrahepatic Covalently Closed Circular DNA before and after Nucleos (t) ide Analogue Treatment? [J]. *Clin Microbiol*, 2017, 55(10): 2972-2982.
- [6] van Campenhout MJH, van Bömmel F, Pfefferkorn M, Fischer J, et al. Serum hepatitis B virus RNA predicts response to peginterferon treatment in HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. *J Viral Hepat*, 2020, 27(6): 610-619.
- [7] Lu FM, Wang J, Chen XM, et al. The potential use of serum HBV RNA to guide the functional cure of chronic hepatitis B [J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*, 2017, 25(2): 105-110.
- [8] Seto WK, Liu KS, Mak LY, et al. Role of serum HBV RNA and hepatitis B surface antigen levels in identifying Asian patients with chronic hepatitis B suitable for entecavir cessation[J]. *Gut*, 2021, 70(4): 775-783.
- [9] 姜明霞,于俊洲,王卫东,等.核苷(酸)类药物抗病毒过程中 HBVRNA 变化临床意义的研究[J]. *中国医学创新*, 2021, 18(16): 136-139.
- [10] van Bömmel F, Berg T. Risks and Benefits of Discontinuation of Nucleos (t) ide Analogue Treatment: A Treatment Concept for Patients With HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B[J]. *Hepatol Commun*, 2021, 5(10): 1632-1648.
- [11] Xie Y, Li M, Ou X, et al. HBeAg-positive patients with HBsAg < 100 IU/mL and negative HBV RNA have lower risk of virological relapse after nucleos (t) ide analogues cessation [J]. *J Gastroenterol*, 2021, 56(9): 856-867.
- [12] Fan R, Peng J, Xie Q, et al. Chronic Hepatitis B Study Consortium. Combining Hepatitis B Virus RNA and Hepatitis B Core-Related Antigen: Guidance for Safely Stopping Nucleos (t) ide Analogues in Hepatitis B e Antigen - Positive Patients With Chronic Hepatitis B[J]. *J Infect Dis*, 2020, 222(4): 611-618.
- [13] Xia M, Chi H, Wu Y, et al. Serum hepatitis B virus RNA level is associated with biochemical relapse in patients with chronic hepatitis B infection who discontinue nucleos (t) ide analogue treatment [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2021, 54(5): 709-714.
- [14] Wang X, Chi X, Wu R, et al. Serum HBV RNA correlated with intrahepatic cccDNA more strongly than other HBV markers during peg-interferon treatment[J]. *Virology*, 2021, 18(1): 4.

· 论 著 ·

CD4⁺、CD8⁺和 CD4⁺/CD8⁺检测在结核病合并 HIV 患者中的变化及临床意义

李解军* 宋继军 陈春光

[摘要] 目的 分析 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺检测在结核病合并人类免疫缺陷病毒(HIV)患者中的变化及临床意义。方法 收集郑州市第六人民医院2017年12月至2020年12月收治的559例结核病患者的临床资料,根据患者是否合并HIV感染分为合并组(结核病合并HIV, n=48)与未合并组(未合并HIV, n=511),根据不同HIV病毒载量对合并组进行分组: I组 <10³copies/mL; II组 40~10³copies/mL; III组 >10³copies/mL。比较两组及不同HIV病毒载量患者CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平变化情况; Pearson法分析上述因子与HIV病毒载量的相关性。绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺对结核病合并HIV的诊断价值。结果 合并组CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平明显低于未合并组,CD8⁺水平显著高于未合并组,差异均有统计学意义(P<0.05)。CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平: I组>II组>III组; CD8⁺: I组<II组<III组,差异均有统计学意义(P<0.05)。相关性分析结果显示,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺与HIV病毒载量呈显著负相关(P<0.05),CD8⁺与HIV病毒载量呈正相关关系(P<0.05)。ROC曲线结果显示,CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺联合检测诊断结核病合并HIV的曲线下面积(AUC)为0.815,明显高于单独诊断(P<0.05)。结论 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺在结核病合并HIV呈异常表达,且与HIV病毒载量具有一定相关性,通过检测患者CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平有利于结核病合并HIV感染早期诊断。

[关键词] CD4⁺; CD8⁺; CD4⁺/CD8⁺; 结核病; 人类免疫缺陷病毒

Changes and clinical significance of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ detection in tuberculosis patients with HIV

LI Jiejun*, SONG Jijun, CHEN Chunguang

(The Sixth People's Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the Changes and clinical significance of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ detection in tuberculosis patients with human immunodeficiency virus (HIV). **Methods** The clinical data of 559 tuberculosis patients admitted to Zhengzhou Sixth People's Hospital from December 2017 to December 2020 were collected. According to whether the patients are combined with HIV infection, they are divided into the combined group (tuberculosis combined with HIV, n=48) and the non-combined group (non-merged HIV, n=511), The level changes of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ in the two groups and those patients with different HIV viral loads were compared; Pearson's method was used to analyze the correlation between above factors and HIV viral load. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drew to analyze the diagnostic value of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ to tuberculosis with HIV. **Results** The CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ levels in the combined group were significantly lower than those in the non-combined group, and the CD8⁺ level was significantly higher than that in the non-combined group, and the differences were statistically significant (P<0.05). CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ levels: group I > group II > group III; CD8⁺ level: group I < group II < group III, the difference was statistically significant (P<0.05). The results of correlation analysis showed that CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and HIV viral load were significantly negatively correlated (P<0.05), and CD8⁺ and HIV viral load were positively correlated (P<0.05). The ROC curve results showed that the area under curve (AUC) of the

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019020836)

作者单位:郑州市第六人民医院,河南,郑州 450000

*通信作者:李解军, E-mail: lj1978l@163.com

combined detection of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ in the diagnosis of tuberculosis with HIV was 0.815, which was significantly higher than that of the single diagnosis ($P<0.05$). **Conclusion** CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ are abnormally expressed in tuberculosis complicated with HIV, and have a certain correlation with HIV viral load. Detection of the patient's CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ levels is beneficial to the early diagnosis of tuberculosis complicated with HIV infection.

[KEY WORDS] CD4⁺; CD8⁺; CD4⁺/CD8⁺; Tuberculosis; Human immunodeficiency virus

我国目前结核病疫情仍较为严重,全国约450万人存在有活动性肺结核^[1]。随着经济发展、人们生活方式的改变,人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)感染发生率不断增加,结核菌合并HIV双重感染的发病率亦呈上升趋势,对人类健康造成严重威胁^[2]。但目前有关结核病合并HIV的发病机制尚未十分明确,一般认为结核病患者感染HIV后,机体CD4⁺T数量减少,细胞免疫功能受损。亦有报道认为CD8⁺T细胞抗病毒活性丧失或诱发机体自发性免疫系统疾病,进而使各种机会性感染风险增高^[3]。临床中常通过检测T淋巴细胞亚群来反映机体免疫功能情况,故对T淋巴细胞亚群的检测有助于观察结核病合并HIV患者免疫状况^[4]。本研究就CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺检测在结核病合并HIV患者中的诊断价值及与HIV病毒载量的相关性进行分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取郑州市第六人民医院2017年12月至2020年12月收治的559例结核患者的临床资料。纳入标准:①均符合结核病相关诊断标准^[5];②年龄18~70岁;③首次发病,且具有完整的临床资料;④依从性良好,配合完成研究者。排除标准:①合并其他脏器病变或其他系统严重疾病;②心、肝、肾等脏器功能严重不全;③孕妇、精神病等特殊人群。166例患者中,合并HIV者48例(合并组),未合并HIV者511例(未合并组)。合并组男32例,女16例,平均年龄(40.87±11.25)岁。未合并组男341例,女170例,平均年龄(41.63±12.14)岁。两组资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经过院医学伦理委员会通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

清晨抽取两组患者2 mL空腹外周静脉血,加入抗凝管中,24 h内进行染色处理,在另一抗凝管中加入20 μL T淋巴细胞亚群试剂与50 μL抗凝全血,充分混匀,暗置15 min,加入10倍稀释FACS溶

血素450 μL,温室暗处静置反应15 min。1 h内采用美国BD公司生产的流式细胞仪进行检测T淋巴细胞亚群CD4⁺、CD8⁺、并计算CD4⁺/CD8⁺比值,试剂为原装配套试剂,详细操作严格按照说明书执行。

1.3 病毒载量检测及分组

采用全自动病毒载量仪检测血浆中病毒载量,并对合并组进行分组:I组 $<10^3$ copies/mL; II组40– 10^3 copies/mL; III组 $>10^3$ copies/mL^[6]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较行 F 检验;各参数间相关性分析采用Pearson法;采用ROC曲线分析CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺对结核病合并HIV的诊断价值;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平比较

合并组CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平明显低于未合并组,CD8⁺水平显著高于未合并组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)
合并组	48	22.54±5.62	62.67±6.76	0.34±0.03
未合并组	511	31.84±8.24	41.36±5.62	1.56±0.13
<i>t</i> 值		7.651	24.657	64.807
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同HIV病毒载量患者CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平比较

CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平:I组>II组>III组; CD8⁺: I组<II组<III组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺与HIV病毒载量相关性分析

CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺与HIV病毒载量呈显著负相关($r=-0.542$ 、 -0.634 , $P=0.021$ 、 0.012), CD8⁺与HIV病毒载量呈正相关关系($r=0.521$, $P=0.029$)。

表2 不同 HIV 病毒载量患者 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ levels in patients with different HIV viral loads ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)
I组	19	30.64±6.57	53.64±6.24	0.58±0.16
II组	13	24.63±4.26 ^a	64.24±7.72 ^a	0.25±0.05 ^a
III组	16	11.22±1.62 ^{ab}	72.11±8.96 ^{ab}	0.14±0.03 ^{ab}
F值		72.970	25.820	82.050
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:^a与 I 组比较,^b与 II 组比较,P<0.05。

2.4 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺对结核病合并 HIV 的诊断价值

ROC 曲线结果显示,CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺联合检测诊断结核病合并 HIV 的下曲线面积(AUC)为 0.815,明显高于单独诊断(P<0.05)。见表 3 及图 1。

表3 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺对结核病合并 HIV 的诊断价值

Table 3 The diagnostic value of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ on tuberculosis with HIV

预测因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P 值
CD4 ⁺	0.783	0.679~0.887	0.732	0.766	<0.001
CD8 ⁺	0.703	0.582~0.823	0.682	0.712	0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.805	0.709~0.900	0.745	0.781	<0.001
三者联合	0.815	0.720~0.910	0.876	0.902	<0.001

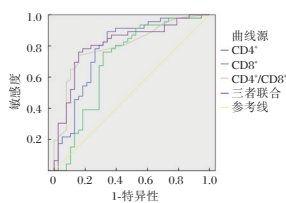


图1 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺单项及联合诊断 ROC 曲线图
Figure 1 The ROC curve of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ single and combined diagnosis

3 讨论

结核病是艾滋病常见的细菌性机会性感染,该类患者体内的单核细胞对 HIV 有更强的亲和力,可增加其易感性,结核分枝杆菌还可促进 HIV 的转录复制,加速 HIV 在淋巴细胞之间的传播^[7]。近年来随着人们生活方式改变、社会经济不断发展,结核病并 HIV 的发病率呈逐渐上升趋势,对患者身体健康、生活质量造成严重影响^[8-9]。如何评估该类患者病情严重程度及疾病进展情况,进行有效治疗,减少死亡率是目前临床研究重点之一。

CD4⁺细胞是 T 淋巴细胞亚群之一,同时也是 HIV 感染人体的主要靶细胞,可通过直接或分泌肿瘤坏死因子、干扰素等细胞因子抑制病毒复制^[10]。当机体发生免疫病理改变时,CD4⁺细胞数量会明显减少、细胞功能受损。机体异常免疫改变还表现在 CD8⁺细胞表达增高^[11]。CD8⁺细胞具有很好的监控和杀伤功能。Nasi 等^[12]发现,在 HIV 感染早期,患者 CD8⁺表达常高于正常人,且免疫功能亦会出现异常。CD4⁺/CD8⁺比值则是重要的免疫状态检测指标,在正常人群中 CD4⁺/CD8⁺比值为 0.7~2.8,当<0.20 时,HIV 感染者机会性感染率会明显增高^[13]。本研究中,与未合并组相比,合并组患者 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平更低,CD8⁺水平更高。说明结核病患者感染 HIV 后,免疫系统会受到损害。

HIV 病毒载量是病毒的负荷,即机体内复制的病毒数量^[14]。国内外大量研究指出,随着疾病的不断进展,患者血浆病毒载量水平会不断增高,推测其原因可能是由于 HIV 病毒进入机体后侵犯 T 淋巴细胞,复制装配越来越多的病毒进一步侵犯更多的 T 淋巴细胞,进而产生级联放大效应^[15]。本研究发现,随 HIV 病毒载量不断增高,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平呈逐渐下降趋势,CD8⁺水平呈增高趋势。相关性分析发现,上述 T 淋巴细胞亚群与 HIV 病毒载量具有一定相关性。说明 T 淋巴细胞免疫激活状况可一定程度上反映血浆病毒载量的变化情况。推测其原因可能是由于病毒复制水平的升高与细胞激活是一个相互促进的关系,当病毒复制速率加快,产生的病毒抗原亦会增多,可为 T 淋巴细胞激活提供更多的刺激信号;而 T 淋巴细胞异常激活可为病毒复制提供更多的宿主细胞,进而加快病毒复制^[16]。本研究 ROC 曲线分析结果显示,CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺均可有效诊断结核病合并 HIV,且联合检测诊断效能更佳,说明三者联合检测可作为诊断结核病合并 HIV 的重要依据。

综上所述,CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺在结核病合并 HIV 呈异常表达,且与 HIV 病毒载量具有一定相关性,通过检测患者 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平有利于结核病合并 HIV 感染早期诊断。

参考文献

[1] 范桂权, 胥富波, 漆俊, 等. HIV 感染合并结核病的临床特征及相关影响因素分析[J]. 传染病信息, 2018, 31(6): 74-77.

- [2] 彭亚柏, 朱秀云, 刘赛云, 等. 不同基因型 HCV 感染患者重叠 HBV 或 HIV 感染的病毒学特征[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7):861-863.
- [3] Sachsenberg N, Perelson AS, Yerly S, et al. Turnover of CD4+ and CD8+ T Lymphocytes in HIV-1 Infection as Measured by Ki-67 Antigen[J]. J experim med, 2018, 187(8):295-303.
- [4] 徐晨, 蒋安, 杨翰君. HIV 阳性的恶性肿瘤患者放疗期间 T 细胞亚群的检测[J]. 中国皮肤性病杂志, 2018, 32(6):658-661.
- [5] 赵楠戈, 张建平, 张婷婷, 等. $\gamma\delta$ T, CD4+CD25+T 细胞在 HIV 感染者/AIDS 患者外周血的表达及其相关性研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2021, 41(7):524-530.
- [6] Chiacchio T, Petruccioli E, Vanini V, et al. Impact of anti-retroviral and tuberculosis therapies on CD4+ and CD8+ HIV/ M. tuberculosis-specific T-cell in co-infected subjects[J]. Immunol Lett, 2018, 198(9):33-43.
- [7] 张洁云, 张影, 杨倩婷, 等. 结核患者治疗过程中外周血 T 细胞和 B 细胞亚群的动态变化[J]. 中国热带医学, 2019, 19(7):104-106.
- [8] 葛亮, 王晓丽, 宋文, 等. 新疆地区 HIV/AIDS 患者与合并感染 HCV 患者间病毒载量和 T 淋巴细胞亚群相关分析[J]. 重庆医科大学学报, 2020, 45(8):96-99.
- [9] Verboeket SO, Wit FW, Eveline V, et al. HIV-negative Men Who Have Sex with Men have higher CD8⁺T-cell Counts and Lower CD4⁺/CD8⁺ T-cell Ratios compared to HIV-negative Heterosexual Men[J]. J Infect Dis, 2020, 59(2):1423-1428.
- [10] 杜炜, 潘克女, 左中宝, 等. HIV/AIDS 患者外周血 T 淋巴细胞亚群与血清 HIV RNA 病毒载量的相关性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(18):62-64.
- [11] 杜艳妮, 闫铄, 张紫欣, 等. 艾滋病合并肺孢子菌肺炎 CT 影像与 CD4⁺T 淋巴细胞及血浆 HIV 病毒载量相关性分析[J]. 实用放射学杂志, 2019, 35(2):200-203.
- [12] Nasi M, Pecorini S, Biasi SD, et al. Altered expression of PYCARD, IL-1 β , IL-18 and NAIP in successfully treated HIV+ patients with low CD4/CD8 ratio [J]. J Infect Dis, 2018, 51(5):1164-1171.
- [13] 金玮韵, 何太雯, 李骏. 男性 HIV/AIDS 患者中 HIV 病毒载量, CD4⁺T 淋巴细胞数目与 CMV 感染的相关性[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(3):39-41.
- [14] 曹汴川, 黄喆, 肖科, 等. 获得性免疫缺陷综合征患者合并机会性感染的淋巴细胞亚群和 HIV-1 病毒载量的特点分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(5):481-486.
- [15] 王琼, 余龙凤, 范惠君. 新发活动性肺结核患者治疗前后表达干扰素- γ 的 CD4⁺, CD8⁺T 细胞百分比变化及意义[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(10):1907-1909.
- [16] 李婕, 李怡, 冯瑞琳, 等. 昆明 HIV 感染吸毒者 CD4⁺T 淋巴细胞水平与 CD4/CD8 比值调查分析[J]. 国际病毒学杂志, 2019, 26(3):157-160.

(上接第 184 页)

- [15] Yu XQ, Wang MJ, Yu DM, et al. Comparison of Serum Hepatitis B Virus RNA Levels and Quasispecies Evolution Patterns between Entecavir and Pegylated-Interferon Monotherapy in Chronic Hepatitis B Patients[J]. J Clin Microbiol, 2020, 58(9):e00075-20.
- [16] 王雪刚, 张新枝, 杨澍, 等. 两种检测 HBV RNA 方法在核苷(酸)类似物经治和初治慢性乙型肝炎患者中的相关性和一致性评价[J]. 肝脏, 2020, 25(7):736-742.
- [17] Shen S, Xie Z, Cai D, et al. Biogenesis and molecular characteristics of serum hepatitis B virus RNA [J]. PLoS Pathog, 2020, 16(10):e1008945.
- [18] 张缈曲, 张琪然, 张寒悦, 等. 一种新型乙型肝炎病毒 RNA 定量检测方法的临床检测性能评估[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(12):782-785.
- [19] Liu Y, Jiang M, Xue J, et al. Serum HBV RNA quantification: useful for monitoring natural history of chronic hepatitis B infection[J]. BMC Gastroenterol, 2019, 19(1):53.
- [20] Liu S, Zhou B, Valdes JD, et al. Serum Hepatitis B Virus RNA: A New Potential Biomarker for Chronic Hepatitis B Virus Infection[J]. Hepatology, 2019, 69(4):1816-1827.
- [21] D'Arienzo V, Magri A, Harris JM, et al. A PCR assay to quantify patterns of HBV transcription[J]. J Gen Virol, 2021, 102(3):001373.
- [22] Xiang Y, Yang Y, Chen P, et al. Analysis of serum hepatitis B virus RNA levels among HBsAg and HBsAb copositive patients and its correlation with HBV DNA[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(40):e27433.
- [23] 黄晨璐, 许伟, 胡乾坤, 等. 实时荧光核酸恒温扩增试验和定量反转录-聚合酶链反应对血清乙型肝炎病毒 RNA 定量检测的一致性评价[J]. 微生物与感染, 2020, 15(3):158-165.
- [24] Kojabad AA, Farzanehpour M, Galeh HEG, et al. Droplet digital PCR of viral DNA/RNA, current progress, challenges, and future perspectives [J]. J Med Virol, 2021, 93(7):4182-4197.
- [25] Limothai U, Chuaypen N, Poovorawan K, et al. Reverse transcriptase droplet digital PCR vs reverse transcriptase quantitative real-time PCR for serum HBV RNA quantification [J]. J Med Virol, 2020, 92(12):3365-3372.
- [26] Vachon A, Osiowy C. Novel Biomarkers of Hepatitis B Virus and Their Use in Chronic Hepatitis B Patient Management [J]. Viruses, 2021, 21, 13(6):951.
- [27] erbist B, Adriaensen E, Keersmaekers V, et al. Analyzing magnetic bead QuantiGene[®] Plex 2.0 gene expression data in high throughput mode using QGprofiler [J]. BMC Bioinformatics, 2019, 20(1):378.

TGF- β 1 509 基因和动脉粥样硬化性脑梗塞的易感性的关联研究

谢思¹ 刘丽燕³ 石玉玲² 李翠¹ 梁淑慧¹ 邓日辉^{1*}

[摘要] 目的 探讨生长转化因子(TGF- β 1 509)基因与动脉粥样硬化性脑梗塞的相关性。方法 选取2018年6月至2019年12月在广州中医药大学第一附属医院内科住院的96例动脉粥样硬化性脑梗塞患者作为动脉粥样硬化性脑梗塞组与110例健康献血员作为健康对照组。采用PCR-RFLP(聚合酶链反应-限制性片段长度多态性)方法检测TGF- β 1 509基因型及等位基因,并计算该位点基因型和等位基因在动脉粥样硬化性脑梗塞患者与健康对照组的分布频率,运用 χ^2 检验比较各组TGF- β 1基因启动子C-509T基因型频率及等位基因频率差异有无统计学意义。结果 TGF- β 1基因启动子-509位点可见三种基因型:CC型有两条带,分别为229 bp、190 bp,TT型仅有一条带,为419 bp,而CT型则可见229 bp、190 bp、419 bp三条带。动脉粥样硬化性脑梗塞组的等位基因频率和基因型频率的分布不符合Hardy-Weinberg平衡;健康对照组的等位基因频率和基因型频率的分布符合Hardy-Weinberg平衡。动脉粥样硬化性脑梗塞组的TGF- β 1基因启动子C-509基因型频率中TT型为58%、TC型为27%、CC型为15%;健康对照组上述基因型频率分别是45%、44%、15%。两组基因型频率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。动脉粥样硬化性脑梗塞组TT型基因频率高于健康对照组,TC型基因频率低于健康对照组,TT型在两组抽样样本中分布频率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),TC型和CC型则在两组抽样样本中分布频率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);动脉粥样硬化性脑梗塞组和健康对照组TGF- β 1 509T等位基因频率分别为71.88%和64.55%,两组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 TGF- β 1 509基因与动脉粥样硬化性脑梗塞的易感性相关联。

[关键词] TGF- β 1 509 基因;动脉硬化;脑梗塞

Study on transforming growth factor- β 1 promoter Polymorphism C-509T in atherothrombotic cerebral infarction

XIE Si¹, LIU Liyan³, SHI Yuling², LI Cui¹, LIANG Shuhui¹, DENG Rihui^{1*}

(1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China, 510405; 2. Department of Clinical Laboratory, Southern Theater General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Guangzhou, Guangdong, China, 510010; 3. Shanghai xinchao Medical Laboratory, Shanghai, China, 201321)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlations of transforming growth factor (TGF)- β 1 promoter C-509T phenotype and the mechanism of atherothrombotic cerebral infarction, and the relationship between TGF- β 1 gene promoter polymorphism C-509T and the atherothrombotic cerebral infarction. **Methods** A total of 96 patients with atherosclerotic cerebral infarction who were hospitalized in the Department of Internal Medicine of the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine from June 2018 to December 2019 were selected as the atherosclerotic cerebral infarction group and 110 healthy blood donors as healthy controls Group. PCR - RFLP (polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism) method was used to detect the genotype and allele of TGF- β 1 509, and to calculate the genotype and allele of this locus in atherosclerotic cerebral infarction For the distribution frequency of patients and healthy

基金项目:广东省科学技术厅科技计划项目(2017ZC0142)

作者单位:1. 广州中医药大学第一附属医院检验科,广东,广州 510405

2. 中国人民解放军南部战区总医院检验科,广东,广州 510010

3. 上海芯超医学检验所,上海 201321

*通信作者:邓日辉, E-mail: drh200200806@126.com

control groups, the chi-square χ^2 test was used to compare whether there was a statistically significant difference in the genotype frequency and allele frequency of the *TGF- β 1* gene promoter *C-509T* among the groups.

Results Three genotypes can be seen at the -509 position of the *TGF- β 1* gene promoter: CC type has two bands, 229 bp, 190 bp respectively, TT type has only one band, which is 419 bp, and CT type has 229 bp, 190 bp, and 419 bp. three bands. The distribution of allele frequencies and genotype frequencies in the atherosclerotic cerebral infarction group did not meet the Hardy-Weinberg balance; the distribution of allele frequencies and genotype frequencies in the healthy control group meets Hardy-Weinberg balance. In the atherosclerotic cerebral infarction group, the frequency of the *C-509* genotype of the *TGF- β 1* gene promoter was 58% for the TT type, 27% for the TC type, and 15% for the CC type; the frequency of the above-mentioned genotypes in the healthy control group was 45%, 44%, 15%. There was a statistically significant difference in the frequency of genotype between the two groups ($P<0.05$). The frequency of TT type gene in the atherosclerotic cerebral infarction group was higher than that in the healthy control group, and the frequency of TC type gene was lower than that in the healthy control group. There was a statistically significant difference in the distribution frequency of TT type in the two sampling samples ($P<0.05$). There was no significant difference in the distribution frequencies of TC type and CC type in the two groups of sampling samples ($P>0.05$). The allele frequencies of *TGF- β 1 509T* in the atherosclerotic cerebral infarction group and the healthy control group were 71.88% and 64.55%, respectively, and there was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). **Conclusions** This study indicates that the *TGF- β 1* promoter polymorphism *C-509T* is associated with the mechanism of atherothrombotic cerebral infarction.

[KEY WORDS] *TGF- β 509* gene; Atherothrombotic; Cerebral infarction

动脉粥样硬化是脑梗塞患者发生以及复发的重要危险因素^[1]。机体处于正常状态下凝血、抗凝及纤溶功能处于一定动态的平衡,纤溶以及抗凝功能异常或凝血功能异常时,从而促进脑内外动脉内斑块的形成、血栓的形成。动脉粥样硬化性脑梗死是临床常见病和多发病,其致死率、致残率高^[2-4],严重危害人们的健康,影响人们的生活质量与劳动能力。但其发病机制目前尚未明确,也尚未有公认确切有效的治疗手段。动脉硬化性脑梗死的发病机制复杂,主要包括环境因素和遗传因素两个方面,而遗传因素方面起着关键的作用^[5]。其中尤以颈动脉粥样硬化是造成脑梗死的主要原因及重要因素^[6]。有关研究表明^[7],血清转化生长因子- β 1 (Transforming Growth Factor, *TGF- β 1*) 是血管生成调节因子的一种,既能激活缺血处内皮细胞,又能改善脑部血管的微循环。血清转化生长因子 *TGF- β 1* 基因在动脉粥样硬化性脑梗塞的发病机制中起重要的作用, *TGF- β 1* 基因变异对动脉粥样硬化性脑梗塞的发生发展及动脉粥样硬化性脑梗塞事件的发生有重要的相关性,目前尚未见 *TGF- β 1* 基因型别与动脉粥样硬化性脑梗塞相关联的报道。 *TGF- β 1* 基因型别与动脉粥样硬化的关系,以期了解遗传因素在动脉粥样硬化发病中可能产生的作用和临床意义,为临床提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2019年12月在广州中医药大学第一附属医院内科住院的96例动脉粥样硬化性脑梗患者作为动脉粥样硬化性脑梗塞组,所有患者均具有颈动脉系统脑梗死的临床特征,并通过头颅CT和/或头颅MRI确诊,除外栓塞性、低血容量性、感染性、血管畸形等引起的脑梗死、无症状性脑梗死和脑出血;110例健康献血员为健康对照组。所有研究对象纳入标准均除外免疫性疾病、甲状腺疾病、糖尿病、感染性疾病、慢性阻塞性肺疾病、肝肾功能不全、肝肾功能衰竭、血液疾病、肿瘤、阻塞性肝胆疾患、房颤、心力衰竭、先天性发育异常者等疾病以及无法配合治疗者,并排除长期服用影响血脂浓度的药物,以及近6月来服用各类降脂药者。两组年龄、性别、民族、身高及体重比较,差异无统计学意义($P>0.05$);入组患者对本研究知情;研究经院伦理委员会审核通过。

1.2 实验仪器与试剂

两台PCR仪器分别为GeneAmp PCR System 9700(美国ABI公司)、E-CyclerTM96(上海博奥生物有限公司),DNA快速提取试剂盒(南京中科拜尔D180050T),TaqDNA聚合酶(上海申能博彩C10966-25250 mL),Eco81 I(宝生生物ER0271 500 U),DYCP-

31DN型电泳仪(北京六一生物科技有限公司)。

1.3 实验方法

①PCR反应:TGF启动子基因位点的基础引物 T1: 5'-CAGACTCTAGAGACTGTCAG-3'; T2: 5'-GTCACCAGAGAAAGAGGA-3'。PCR反应总体积 30 μ L, 模板 DNA 1 μ L, 10 X Buffer 3 μ L, Taq 酶 1 μ L (5 U/ μ L, 引物分别为 1 μ L (20 pmol), dNTP 1 μ L (10 mM), MgCl₂ (25 mM) 1 μ L, dH₂O 补足至 30 μ L。PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后以下列温度和时间循环 30 次: 94 $^{\circ}$ C 45 s、58 $^{\circ}$ C 45 s、72 $^{\circ}$ C 45 s。末次循环后继续于 72 $^{\circ}$ C 延伸 6 min, PCR 扩增反应完毕。②PCR 产物的限制性内切酶酶切反应: PCR 扩增产物 15 μ L, 加入 Eco81 I 内切酶 0.5 μ L (10 U/ μ L), 10 \times M buffer 2 μ L, 用双蒸水补足至 20 μ L, 混匀, 37 $^{\circ}$ C 水浴过夜。③酶切结果检测: 2.5% 琼脂糖凝胶 (含有 EB 0.5 μ g/mL) 电泳检测酶切结果。电泳条件: 0.5 \times TBE 电泳缓冲液, 以 DNA Markers 作为 DNA 片段的标准对照物; 于室温恒压 100 V 下在 2.5% 琼脂糖凝胶上电泳 30 min 左右; 紫外反射投射仪观察结果并记录电泳结果。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 组间基因型及等位基因频率的比较采用 χ^2 检验; 基因频率采用基因计数法计算; 分别计算病人组和健康对照组不同基因频率的预期值, 并用 χ^2 检验计算其等位基因频率和基因型频率的分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡, 检验其群体的代表性; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

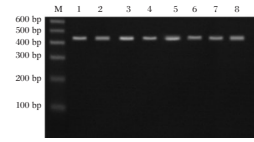
2 结果

2.1 两组的扩增片段及酶切结果

动脉粥样硬化性脑梗塞组以及健康对照组的样本经 PCR 扩增后产物均为 419 bp 的片段, 将其扩增产物经限制性内切酶 Eco81 I 消化后, TGF- β 1 基因启动子-509 位点可见三种基因型: CC 型有两条带, 分别为 229 bp、190 bp, TT 型仅有一条带, 为 419 bp, 而 CT 型则可见 229 bp、190 bp、419 bp 三条带。见图 1。

2.2 TGF- β 1 509 基因表型频率的 Hardy-Weinberg 平衡定律的比较

动脉粥样硬化性脑梗塞组的等位基因频率和基因型频率的分布不符合 Hardy-Weinberg 平衡; 健康对照组的等位基因频率和基因型频率的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。见表 1~2。



注: M, DL1000 DNA marker; 1~8, TT 型, 419 bp。

图 1 PCR 扩增产物琼脂糖电泳图

Figure 1 Agarose electrophoresis of PCR amplification products

表 1 TGF- β 1 509 基因表型频率的 Hardy-Weinberg 平衡定律

Table 1 Hardy Weinberg equilibrium law of phenotype frequency of TGF- β 1 509 gene

组别	χ^2_{TT}	χ^2_{TC}	χ^2_{CC}	P 值
动脉粥样硬化性脑梗塞组	0.826	4.228	5.413	<0.05
健康对照组	0.219	0.798	0.101	>0.05

表 2 病人组和健康对照组基因型频率的比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of genotype frequency between patient group and control group [$n(\%)$]

组别	TT	TC	CC
动脉粥样硬化性脑梗塞组	56(58)	26(27)	14(15)
健康对照组	49(45)	44(44)	17(15)
χ^2 值		$\chi^2=4.429$	
P 值		$P < 0.05$	

2.3 TGF- β 1 509 基因型频率及等位基因频率的比较

动脉粥样硬化性脑梗塞组三种基因型(TT 型、TC 型、CC 型)频率高于健康对照组差异有统计学意义($P < 0.05$), 动脉粥样硬化性脑梗塞组和健康对照组 TGF- β 1 509 基因型频率见表 2; 动脉粥样硬化性脑梗塞组 TT 型基因频率高于健康对照组, TC 型基因频率低于健康对照组, TT 型在两组抽样样本中分布频率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), TC 型和 CC 型则在两组抽样样本中分布频率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 3; 动脉粥样硬化性脑梗塞组高于健康对照组 TGF- β 1 509T 等位基因频率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 3 两组 TGF- β 1 509 基因 Eco81 I 多态性的分布 [$n(\%)$]

Table 3 Distribution of Eco81 I polymorphism in TGF- β 1 509 gene in 2 groups [$n(\%)$]

组别	n	TT	TC	CC
动脉粥样硬化性脑梗塞组	96	56(58.3)	26(27.1)	14(14.6)
对照组	110	49(44.5)	44(40.0)	17(15.5)
χ^2 值		3.890	3.810	0.030
P 值		<0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

动脉硬化性脑梗塞是遗传因素和环境因素共同作用的疾病, 其发病机制复杂, 脑梗塞具有高度

表4 两组等位基因频率的比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of allele frequencies between 2 groups

[n(%)]		
组别	T(+)	T(-)
动脉粥样硬化性脑梗塞组	138(71.88)	54(28.12)
健康对照组	142(64.55)	78(35.45)
χ^2 值	2.53	
P值	>0.05	

动态性,其高危因素是颈动脉粥样病变并且出现斑块,另外,脑梗塞还与人们日常生活习惯相关,对于长期饮食处于高脂、高盐状态并且不进行体育锻炼者,发生脑梗塞的机率显著上升,同时患者血液中血小板不断聚集,进而作用于脑部血液循环,局部脑供血不足、血流中断或者血液的灌注出现异常,损伤局部的脑组织,从而诱发脑梗塞的发生,危害人们健康的常见病、多发病,其发病率、患病率、致残率均很高。尤其近年来,随着世界各国人口老龄化加剧,脑梗塞发病率呈逐渐上升趋势,是致死亡、致残疾的首要疾病之一,而且复发几率相对较高,相当影响预后^[8-9],家庭负担显著增高。目前研究表明脑梗死的主要机制为颈动脉斑块变厚从而导致血管变窄同时斑块脱落于血管从引起微循环血栓^[10]。静脉溶栓是临床治疗动脉硬化性脑梗塞常用方法,视黄醇结合蛋白(Retinol binding protein, RBP)、同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)、脂蛋白a(Lipoprotein a, Lp a)与急性脑梗死静脉溶栓患者神经缺损程度和静脉溶栓后血管再通情况有关^[11]。*TGF- β 1*主要是由淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞及血管内皮细胞等产生的具有免疫活性的分子。同时人中枢神经系统内尤其脑组织中的少突胶质细胞、神经元、小胶质细胞以及星形细胞等也能产生*TGF- β 1*^[12]。有研究表明,TGF的血清分泌量与动脉粥样硬化相关,特别是与动脉粥样硬化的病情控制程度有关,但均限于血清学检测^[13-14]。采用DNA技术直接检测其基因的变异,能更准确地反映动脉粥样硬化性脑梗塞的程度或预后情况。

动脉粥样硬化属血管壁细胞遭受各种有害物质刺激的慢性炎症过程,在管壁上动脉粥样(AS)斑块周围,存在大量炎性细胞浸润。此外,体内各种拮抗炎症作用的细胞因子,如白介素-10与*TGF- β 1*,在AS过程中发挥重要作用,其中细胞因子*TGF- β 1*能调节AS局部免疫-炎症反应的平衡,是重要的稳定斑块的细胞因子^[15]。人*TGF- β 1*基因定位于19q13,目前已发现常见的基因多态性位点有多个,其中一

个*C-509T*则位于启动子区,且*C-509T*和*TGF- β 1*血清水平有关,但具体的原因和机制目前尚不清楚。

本实验结果显示提示*TGF- β 1*基因启动子*C-509*多态性和动脉粥样硬化性脑梗塞表型可能有一定的相关性。本实验还发现健康对照组的等位基因频率和基因型频率的分布符合Hardy-Weinberg平衡,但动脉粥样硬化性脑梗塞组的等位基因频率和基因型频率的分布不符合Hardy-Weinberg平衡,原因可能是某些因素如杂合子优势或负性选型婚配造成杂合子频率增加。

本研究表明*TGF- β 1*基因启动子-509与动脉粥样硬化性脑梗塞表型有一定的相关性,但是目前尚无证据认为是引起动脉粥样硬化性脑梗塞发病的主要原因。动脉粥样硬化性脑梗塞的发生可能是与其他炎症介质,细胞因子及环境因素共同作用的结果。

参考文献

- [1] 王欢, 吴云, 梁庆成. 脑小血管病研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(8):990-993.
- [2] 刘培. 改良留置胃管联合中医康复护理对脑梗塞早期吞咽功能障碍患者营养状态的改善[J]. 黑龙江科学, 2020, 11(18):50-51.
- [3] Moussaddy A, Demchuk AM, Hill MD. Thrombolytic therapies for ischemic stroke: Triumphs and future challenges[J]. Neuropharmacology, 2018, 134(Pt B):272-279.
- [4] Sarkar S, Chakraborty D, Bhowmik A, et al. Cerebral ischemic stroke: cellular fate and therapeutic opportunities[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2019, 24:435-450.
- [5] 赵博. 转化生长因子 β 1的基因型多态性与汉族人群急性冠状动脉综合征的相关性[J]. 新疆医科大学, 2013, 6(2):75-77.
- [6] 董大伟, 袁定新, 王建民, 等. 动脉粥样硬化性脑梗死发病机制的特征及远期预后[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2013, 34(6):640-645.
- [7] 苗玉梅. 冠心病患者血清转化生长因子- β 1与肝细胞生长因子的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(23):6730-6731.
- [8] Liang Y, Wu J, Liu J, et al. The Clinical Implications of Thrombelastography in the Diagnosis of Acute Cerebral Infarction[J]. Clin Lab, 2018, 64(1):147-152.
- [9] 段圣杰, 尚进林, 琚小红, 等. 急性脑梗死患者血清内皮素、IL-10及hs-CRP水平与神经功能缺损的相关性研究[J]. 中华生物医学工程杂志, 2018, 24(2):116-120.
- [10] Lu Z, Zhang Y, Maimaiti Y, et al. Variants on chromosome 9p21 confer risks of noncardioembolic cerebral infarction and carotid plaque in the Chinese Han population[J]. J Atheroscler Thromb, 2015, 22(10):1061-1070.

· 论 著 ·

支气管哮喘患儿治疗前后BNP、PCT及IL-6检测的临床意义

张祥 李立学 陈雅祺 王平康*

[摘要] **目的** 探讨支气管哮喘患儿治疗前后血浆B型脑钠肽(BNP)、降钙素原(PCT)及白细胞介素-6(IL-6)检测的临床意义。**方法** 选取2019年2月至2021年1月简阳市人民医院收治的152例小儿支气管哮喘患者为研究组,选取同期139例健康体检儿童为对照组。比较研究组治疗前后与对照组BNP、PCT及IL-6水平;比较支气管哮喘患者治疗前后肺功能包括第1秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV1)、呼气峰值流速占预计值百分比(PEF)、1秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV1/FVC);分析支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与肺功能指标的相关性。**结果** BNP、PCT及IL-6水平:研究组治疗前>研究组治疗后>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。支气管哮喘患者治疗前FVC1、PEF、FEV1/FVC明显低于治疗后,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与FVC1、PEF、FEV1/FVC值呈负相关关系($P<0.05$)。**结论** 临床可通过检测支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平的变化了解患者的病情变化及进行预后判断。

[关键词] 支气管哮喘;BNP;PCT;IL-6

Clinical significance of detection of BNP, PCT and IL-6 before and after treatment in children with bronchial asthma

ZHANG Xiang, LI Lixue, CHEN Yaqi, WANG Pingkang*

(Department of Pediatrics, Jianyang People's Hospital, Jianyang, Sichuan, China, 641400)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical significance of plasma B-type brain natriuretic peptide (BNP), procalcitonin (PCT) and interleukin-6 (IL-6) test before and after treatment in children with bronchial asthma. **Methods** A total of 152 pediatric bronchial asthma patients admitted to Jianyang People's Hospital from February 2019 to January 2021 were selected as the study group; 139 healthy children during the same time period were selected as the control group. Compared the levels of BNP, PCT and IL-6 in the study group before and after treatment with those in the control group; compared lung function in patients with bronchial asthma before and after treatment, including forced expiratory volume in one second (FEV1), peak expiratory flow rate as a percentage of expected value (PEF), the percentage of forced vital capacity occupied by the forced expiratory volume in 1 second (FEV1/FVC); analyzed the correlation between BNP, PCT and IL-6 levels and lung function indexes in patients with bronchial asthma. **Results** BNP, PCT and IL-6 levels: before treatment in the study group> after treatment in the study group and the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). FVC1, PEF, FEV1/FVC before treatment in patients with bronchial asthma were significantly lower than after treatment, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of BNP, PCT and IL-6 in patients with bronchial asthma were negatively correlated with the values of FVC1, PEF, FEV1/FVC ($P<0.05$). **Conclusion** Clinically, the changes in BNP, PCT and IL-6 levels in patients with bronchial asthma can be used to understand the changes in the patient's condition and judge the prognosis.

[KEY WORDS] Bronchial asthma; BNP; PCT; IL-6

基金项目:四川省医学科研课题计划(S19031)

作者单位:简阳市人民医院儿科,四川,简阳 641400

*通信作者:王平康, E-mail: zhangxiang8204@126.com

支气管哮喘属于呼吸系统较为常见的一类慢性疾病,可逆性气道阻塞、气道的高反应性以及重塑性为支气管哮喘的主要特征^[1]。据不完全统计,我国14岁以下儿童的支气管哮喘发病率约为4.63%,且目前发病率呈不断增长的趋势^[2]。支气管哮喘患者因气流受限常引起喘息、气促、咳嗽、胸闷甚至呼吸困难等症状反复发作,大部分患者经过治疗后可缓解或自行缓解,但病情得不到及时有效的控制时,会对患者的身体造成严重损害^[3-4]。据报道,机体的免疫系统功能和炎症细胞因子涉及支气管哮喘的发病过程^[5]。本研究就支气管哮喘患儿治疗前后血浆B型脑钠肽(B-type brain natriuretic peptide, BNP)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)及白细胞介素-6(Interleukin, IL-6)检测的临床意义进行分析,旨在为临床诊断和治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年2月至2021年1月简阳市人民医院收治的152例小儿支气管哮喘患者作为研究组。其中男97例,女55例,平均年龄(6.71±1.42)岁。纳入标准:皆满足中华医学会儿科学会《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》中关于支气管哮喘的标准^[6],并结合实验室检查、影像学检查明确诊断。排除标准:①合并血液系统疾病、免疫系统疾病、恶性肿瘤者;②伴随严重心、肺、肝、肾功能不全者;③存在过敏家族史者;④精神疾病或存在相关家族史者;⑤存在感染性疾病者。另选取同时间段进行体检的139例健康儿童作为对照组,其中男82例,女57例,平均年龄(7.03±1.48)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会通过,患者监护人均自愿参加本次研究,并签署相关协议书。

1.2 方法

研究组于入院后第2d及治疗结束后、对照组为体检当日抽取空腹静脉血5 mL,离心(3 000 rpm, 12 min, $r=8$ cm)后取分离血清,置于-80℃冰箱中保存待检。使用罗氏化学发光仪(E170 SOP)及其配套试剂盒检测PCT、IL-6水平;使用西门子全自动化学发光免疫分析仪(ADVIA Centaur XP)及其配套试剂盒检测BNP水平;具体方法均严格按照操作说明书执行。

采用德国耶格肺功能仪(MasterScreen PFT System)检测支气管哮喘患者治疗前后肺功能,包括第1秒用力呼气容积占预计值百分比(Forced expiratory volume in one second, FEV₁)、呼气峰值流速占预计值百分比(Peak expiratory flow, PEF)、1秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比[FEV₁/ (Forced vital capacity, FVC)]。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验;支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与肺功能指标的相关性使用Pearson相关系数分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组治疗前后与对照组BNP、PCT及IL-6水平比较

BNP、PCT及IL-6水平:研究组治疗前>研究组治疗后>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 研究组治疗前后与对照组BNP、PCT及IL-6水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of BNP, PCT and IL-6 levels between the study group and the control group before and after treatment ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	BNP(pg/mL)	PCT(μg/mL)	IL-6(pg/mL)
对照组	139	29.64±5.33 ^a	0.39±0.12 ^a	99.46±21.33 ^a
研究组治疗前	152	61.22±19.63	1.25±0.37	195.42±51.33
研究组治疗后	152	31.74±6.72 ^a	0.43±0.13 ^a	102.74±19.38 ^a
<i>F</i> 值		297.16	614.49	377.47
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与研究组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.2 支气管哮喘患者治疗前后FVC₁、PEF、FEV₁/FVC比较

支气管哮喘患者治疗前FVC₁、PEF、FEV₁/FVC明显低于治疗后,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 支气管哮喘患者治疗前后FVC₁、PEF、FEV₁/FVC比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of FVC₁, PEF, FEV₁/FVC before and after treatment in patients with bronchial asthma ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	FEV ₁ (L)	PEF(L)	FEV ₁ /FVC(%)
治疗前	152	1.28±0.33	3.07±0.31	71.43±11.52
治疗后	152	1.84±0.56	3.88±0.35	84.27±9.65
<i>t</i> 值		10.622	21.359	10.534
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与肺功能指标的相关性分析

Pearson 相关系数分析显示,支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与FVC1、PEF、FEV1/FVC值呈负相关关系($P<0.05$)。见表3及图1。

表3 支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与肺功能指标的相关性分析

Table 3 Analysis of the correlation between BNP, PCT and IL-6 levels and lung function indicators in patients with bronchial asthma

指标	FEV1		PEF		FEV1/FVC	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
BNP	-0.654	<0.001	-0.853	<0.001	-0.833	<0.001
PCT	-0.675	<0.001	-0.765	<0.001	-0.796	<0.001
IL-6	-0.824	<0.001	-0.721	<0.001	-0.695	<0.001

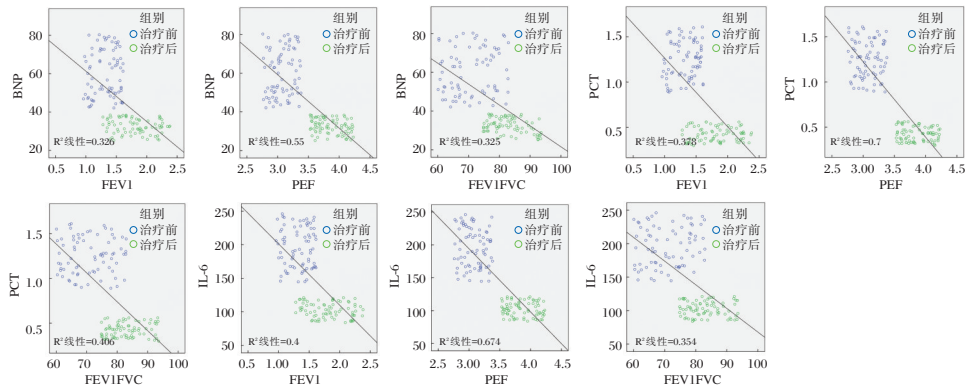


图1 支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与肺功能指标的相关性分析

Figure 1 Correlation analysis of BNP, PCT and IL-6 levels and lung function indexes in patients with bronchial asthma

116个氨基酸组成,是无激素活性糖蛋白的一种^[14]。正常情况下,PCT的表达主要局限于甲状腺和肺的神经内分泌细胞中,而在感染状态下,PCT可在各个组织、器官大量形成并释放进入血液循环^[15]。Ting等^[16]研究表明,血清PCT半衰期较短,约为25~30h,可以快速反映治疗效果,为临床评估预后提供有效参考。白细胞介素由多种细胞产生,与血细胞生长因子同属于细胞因子。IL-6是活化的T细胞和成纤维细胞产生的淋巴因子,能够诱导抗原刺激的B淋巴细胞成熟,同时其与集落刺激因子协同,促进原始骨髓源细胞的生长和分化,增强自然杀伤细胞的裂解功能^[17-18]。Chan等^[19]研究显示,IL-6是炎症介质网络的关键成分,在生理情况下可参与免疫应答,而在病理情况下,IL-6表达的上升可造成免疫病理的受损。

本研究结果显示,BNP、PCT及IL-6水平:研究组治疗前>研究组治疗后>对照组,这与既往研

3 讨论

支气管哮喘起病急,患者发病后很快出现喘息、呼吸、心率加快、呼吸困难等症状,长期反复发作易导致气道增厚、狭窄,危害患者生命安全^[7-8]。研究显示,支气管哮喘的患病率呈逐渐上升趋势,已成为社会关注的热点^[9]。而关于支气管哮喘发生的病理生理关系尚不明确,相关研究指出多种细胞因子、炎症介质在支气管哮喘的发病中发挥着重要作用^[10-11]。

BNP是由心肌细胞合成及分泌,对血压调节及水电解质的维持具有十分重要的作用^[12]。同时,BNP还是肾素-血管紧张素-醛固酮中特有的拮抗剂,对血管收缩、水钠潴留、交感神经兴奋具有促进作用^[13]。PCT是血清降钙素的前肽物质,由

究结果相似^[20],可见BNP、PCT及IL-6水平变化与支气管哮喘患者病情进展关系密切。分析其中原因可能为,由于支气管哮喘发作时会加剧心室负荷,从而促使BNP合成增加。而PCT及IL-6水平的上升可能是由于患者受到细菌、病毒或者其他刺激物的侵害,引起机体的炎症反应,使得单核细胞的激活,致使PCT及IL-6的分泌增加。本研究结果还显示,治疗前FVC1、PEF、FEV1/FVC值明显低于治疗后,说明支气管哮喘患者的肺功能存在明显的降低情况,考虑为患者气道的高反应性引起肺通气的障碍所致。相关性分析显示,支气管哮喘患者BNP、PCT及IL-6水平与FVC1、PEF、FEV1/FVC值呈负相关关系,提示BNP、PCT及IL-6与支气管哮喘患者肺功能的变化有关,究其原因可能是当BNP、PCT及IL-6为高表达时,会引起气道黏液分泌增加,造成气道阻塞,使得患者肺通气功能下降。

综上所述,BNP、PCT及IL-6均可反映小儿支气管哮喘患者的气道炎症情况,通过检测上述指标水平的变化有利于了解患者的病情变化和判断预后。

参考文献

- [1] 许巍,张长皓,申昆玲.学龄期支气管哮喘患儿身体活动水平调查[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(12):937-940.
- [2] 王雪玉,陈雅祺,张敏,等.孟鲁司特钠联合玉屏风颗粒治疗小儿支气管哮喘的临床观察[J].儿科药学杂志,2019,25(4):31-34.
- [3] 张国伟,林志强,庄锡彬.沙丁胺醇注射液联合硫酸镁注射液雾化吸入治疗支气管哮喘的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2019,35(2):99-101.
- [4] 买智涛,姜明明,万善志.FeNO联合血清ECP,IgE检测对支气管哮喘的临床诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):625-628+633.
- [5] 刘世刚,李萌,张九卿,等.基于小分子代谢标志物探讨支气管哮喘寒热证型的辨证特点[J].北京中医药大学学报,2019,42(12):1043-1048.
- [6] 杨爱君.《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)》解读[J].中国医刊,2018,53(3):253-257.
- [7] 殷菊,高琦,刘婷婷,许巍,申昆玲.儿童支气管哮喘相关死亡的现状与危险因素[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(6):447-452.
- [8] Ray A, Camiolo M, Fitzpatrick A, et al. Are We Meeting the Promise of Endotypes and Precision Medicine in Asthma? [J]. *Physiol Rev*, 2020, 10(1):467-469.
- [9] Valérie S, Anne B, Rachel N, et al. Association between asthma, rhinitis, and conjunctivitis multimorbidities with molecular IgE sensitization in adults [J]. *Allergy*, 2019, 74(4):388-391.
- [10] 郭方,郭红,蔡玮,等.支气管哮喘合并肺部感染患者PCT、炎症指标检测及其病原菌分析[J].海南医学,2019,30(18):2341-2344.
- [11] Ruman CM, Guignard IR, Paolo E, et al. Prevalence and risk factors of lactic acidosis in children with acute moderate and severe asthma, a prospective observational study [J]. *Europ J Pediatr*, 2021, 180(4):1328-1336.
- [12] Patolia S, Hammoudeh F, Vadde R, et al. B Type Natriuretic Peptide as a Prognostic Marker in Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Asthma and Pneumonia [J]. *Strength Condit J*, 2014, 4(5):1106-1114.
- [13] Semenov AG. In-Depth Analysis of Molecular Heterogeneity of Circulating N-Terminal pro-BNP: Does Detailed Characterization of Analyte Structure Really Matter for Its Diagnostic Use? [J]. *Clin Chem*, 2020, 66(9):1131-1133.
- [14] Cui N, Zhang HW, Chen Z, et al. Prognostic significance of PCT and CRP evaluation for adult ICU patients with sepsis and septic shock: retrospective analysis of 59 cases [J]. *J Int Med Res*, 2019,47(4):358-364.
- [15] Mewes JC, Pulia MS, Mansour MK, et al. The cost impact of PCT-guided antibiotic stewardship versus usual care for hospitalised patients with suspected sepsis or lower respiratory tract infections in the US: A health economic model analysis [J]. *Plos One*, 2019, 14(4):1248-1253.
- [16] Ting L, Ruiyun L, Yue C, et al. Metabonomic analysis of plasma biochemical changes in pyrexia rats after treatment with Gegenqinlian decoction, aspirin and itraconazole by UHPLC-FT-ICR-MS [J]. *J Pharmaceut Anal*, 2020, 10(6):581-587.
- [17] 何雯,毕良学,王宁玲.支气管哮喘患儿白介素、TNF- α 与肺功能及免疫功能的关系研究[J].临床输血与检验,2020,22(6):638-642.
- [18] Noman A, Parag RR, Rashid MI, et al. Chemotherapeutic resistance of head and neck squamous cell carcinoma is mediated by EpCAM induction driven by IL-6/p62 associated Nrf2-antioxidant pathway activation [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8):663-668.
- [19] Chan P, Chu HH, Jin HK, et al. Clinical Significance of the Initial and Best Responses after Chemoembolization in the Treatment of Intermediate - Stage Hepatocellular Carcinoma with Preserved Liver Function [J]. *J Vas Interv Radiol*, 2020, 31(12):448-451.
- [20] Gregorio T, Albuquerque I, V Neves, et al. NT-pro-BNP correlates with disease severity and predicts outcome in cerebral haemorrhage patients: Cohort study [J]. *J Neurol Sci*, 2019, 57(12):1253-1258.

(上接第192页)

- [11] 何可,吕友梅,鲁兵,等.急性脑梗死静脉溶栓患者RBP、Hcy、Lpa与NIHSS评分关系及预测血管再通的效能[J].分子诊断与治疗,2021,13(10):1560-1564.
- [12] Pang L, Ye W, Che XM, et al. Reduction of inflammatory response in the mouse brain with adenoviral-mediated transforming growth factor- β 1 expression [J]. *Stroke*, 2001, 32(2):544-552.
- [13] 陈慧生,张七一,王云英.转化生长因子- β 1基因多态性及其血清水平与高血压肾损害的关系[J].临床内科杂志,2007,24(1):57-59.
- [14] 薛超,李幼姬,王一鸣等.383例汉族正常人群TGF- β 1基因启动子区-509C/T单核苷酸多态性分析[J].中国实验诊断学,2006,10(10):1113-1115.
- [15] 谢晓繁,蔡景宁,邹晓.转化生长因子- β 1-509/T位点多态性与瘢痕疙瘩的关系研究[J].中国临床医学杂志,2015,7:64-67.

不同DNA聚合酶突变体与野生型检测性能的比较分析

孙梅¹ 葛丽娜² 谢龙³ 宋宇¹ 林子钰¹ 丛海燕¹ 刘鹏¹ 张焕虎¹ 迟翔宇⁴ 王明义^{1*}

[摘要] 目的 将Taq DNA聚合酶(Taq酶)不同的突变体与其野生型进行对比,分析二者扩增性能及聚合性能的差异,探讨突变型Taq酶在乙型、丙型肝炎病毒患者临床检测中的性能优势。方法 提取DNA构建突变库,逐步筛选出热稳定性提高且扩增效率较高的突变体;选取威海市立医院2020年1月至2021年8月收治的乙型肝炎病毒表面抗原阳性样本30例、丙型肝炎HCV RNA阳性样本30例,通过PCR-荧光探针法应用Taq酶突变体与野生型进行性能检测。结果 在同等PCR循环次数下,Taq酶突变体CT值均低于野生型,即突变体的扩增效率高于野生型;对临床样本进行3次重复检测,突变体标准曲线的相关系数为0.99;将Taq酶突变体进行重复检测,批内及批间的检测浓度对数值的变异系数(CV%)均小于5%。结论 不同DNA聚合酶的突变体与野生型相比具有较高的扩增活性及扩增效率,灵敏度及特异性的优势也较为显著。这一特性为进一步研究开发扩增效率更高的DNA聚合酶,推动现代分子生物检测技术、辅助乙肝及丙肝病毒临床检测的发展打下基础。

[关键词] DNA聚合酶;突变体;野生型;扩增效能

Comparative analysis of different DNA polymerase mutants and wild - type detection performance

SUN Mei¹, GE Lina², XIE Long³, SONG Yu¹, LIN Ziyu¹, CONG Haiyan¹, LIU Peng¹, ZHANG Huanhu¹, CHI Xiangyu⁴, WANG Mingyi^{1*}

(1. Weihai Municipal Hospital Central Laboratory, Weihai, Shandong, China, 264200; 2. School of Laboratory Medicine, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, China, 116044; 3. Research Center of Medical and Pharmaceutical Bioengineering, Ministry of Health, National and Regional Joint Engineering Laboratory for Clinical Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Province Nucleic Acid Molecular Diagnostics Engineering Technology Research Center, Guangdong Provincial Clinical Medical Molecular Diagnostics Engineering Technology Center, DAAN Gene Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong, 510665; 4. Weihai Weigao Biotechnology Co., LTD., Weihai, Shandong, China, 264200)

[ABSTRACT] **Objective** To compare different mutants of Taq DNA polymerase (Taq enzyme) with their wild type, and analyze the differences in amplification and polymerization performance between them, to explore the advantages of mutant Taq enzyme in clinical detection of hepatitis B and C virus patients. **Methods** DNA was extracted to construct a mutation library, and the mutants with higher thermal stability and amplification efficiency were gradually screened. Thirty hepatitis B virus surface antigen positive samples and 30 hepatitis C HCV RNA positive samples were selected from Weihai Municipal Hospital from January 2020 to August 2021. The performance of Taq mutant and the wild type were detected by PCR - fluorescence probe method. **Results** Under the same NUMBER of PCR cycles, CT values of Taq mutants were lower than those of the wild type, that is, the amplification efficiency of Taq mutants was higher than that of the wild type. The

基金项目:国家科技重大专项(2018ZX10732401)

作者单位:1. 威海市立医院中心实验室, 山东, 威海 264200

2. 大连医科大学检验医学院, 辽宁, 大连 116044

3. 卫生部医药生物工程技术创新研究中心, 临床医学分子诊断国家地方联合工程实验室, 广东省核酸分子诊断工程技术研究中心, 广东省临床医学分子诊断工程技术中心, 广州达安基因股份有限公司, 广东, 广州 510665

4. 威海威高生物科技有限公司, 山东, 威海 264200

*通信作者:王明义, E-mail: wangmingyi1973@outlook.com

correlation coefficient of the mutant standard curve was 0.99 after repeated testing of clinical samples for three times. The coefficient of variation (CV%) of Taq mutants was less than 5%. **Conclusion** Compared with the wild type, the mutants of different DNA polymerases have higher amplification activity and amplification efficiency, and the advantages of sensitivity and specificity are also more significant. This feature lays the foundation for further research and development of DNA polymerases with higher amplification efficiency, and to promote the development of modern molecular biological detection technology and auxiliary clinical detection of hepatitis B and C viruses.

[KEY WORDS] DNA polymerase; Mutant; Wild type; Amplification efficiency

Taq DNA 聚合酶(Taq DNA polymerase)是一种来源于耐热性细菌 *Thermus aquaticus* 的耐热性 DNA 聚合酶,分子量 94 KDa,在镁离子存在的条件下,其最适反应温度为 75~80℃,在 95℃下的活性半衰期为 40 min,具有 5'-3'核酸外切酶活性^[1]。由于其具有耐高温的特性,因此广泛用于聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR),是核酸扩增、检测等反应的首选用酶^[1]。然而,这些原有的 DNA 聚合酶不能有效的对特定 DNA 片段进行修饰,导致野生型 Taq 酶无法完全满足实际应用的需求^[2]。为使其更加适应特定技术的使用,应用蛋白质定向进化技术,对针对 Taq 酶的聚合酶活性结构域构建随机突变库,通过逐步添加筛选压力,使不适合的突变自然淘汰,具有优势性状的突变逐步积累,最终筛选出一系列对 Taq 酶扩增性能、聚合性能有关键作用的氨基酸位点及其突变,并得到高扩增性能的 Taq 酶突变体^[3-5]。乙型、丙型肝炎病毒属于感染性疾病,以往临床在对乙型肝炎病毒携带者进行疾病检测的过程中,主要选择血清学标志法^[6]。本研究将改造后的 Taq DNA 聚合酶突变体作为新型 PCR 检测手段,探究其在扩增效率、灵敏度及特异性等方面与野生型存在的差异。

1 材料与方法

1.1 Taq DNA 聚合酶突变体及野生型的构建及筛选

1.1.1 实验仪器与试剂

PCR 反应体系(10* Titanium Taq buffer、dGTP、50*Diversify dNTP Mix、TMu-F 引物、Titanium Taq、ddH₂O、dNTPS、缓冲液、随机引物、纯水)(中山大学达安基因股份有限公司);振荡仪(XH-B 旋涡混合器,江苏康健医疗用品公司,型号:171006);ABI7300 荧光定量 PCR 仪(上海艾研生物科技有限公司)。

1.1.2 DNA 提取

取全血 1 mL 至干燥玻璃试管,加入 1 mL 生理盐水轻摇混匀。将稀释好的全血用移液器缓慢加

入至含有淋巴细胞分离液的试管中;2 000 rpm/min 离心半径 42.5 mm 离心 20 min;吸取白细胞层,加入 1.5 mL 离心管,12 000 rpm 离心 5 min;去上清,沉淀中加入 50 μL DNA 提取液充分混匀,100℃恒温处理 10 min;12 000 rpm 离心 5 min 备用。

1.1.3 Taq 酶野生型的构建

采用不对称 PCR 法构建 Taq 酶突变体,用不等量的非限制引物与限制性引物进行 PCR 扩增,产生大量的单链 DNA(ssDNA)。通过凝胶电泳分离和纯化扩增的单链 DNA 片段,该产物即为 Taq 酶野生型基因序列。

1.1.4 Taq 酶突变体的构建及高通量筛选

在野生型 DNA 聚合酶基础上进行突变(突变位点见表 1),得到产物为 Taq 酶突变体。将 Taq 酶突变体进行 PCR 扩增,程序如下:95℃ 5 min,20 次循环 X(95℃ 30 s、62℃ 30 s、72℃ 2 min)72℃ 5 min、4℃。PCR 产物用 DNA 产物纯化回收试剂盒纯化,然后重新连接 pET28a 表达载体。保持上述相同反应条件进行 4 轮筛选后,将所得的 Taq 酶突变体转化子进入高通量筛选。

表 1 各型 Taq 酶突变体突变位点

Table 1 Mutant sites of various types of Taq enzyme mutants

突变体编号	突变氨基酸
Taq 突变体 1	E507A、K508L、E734E、F749K
Taq 突变体 2	K508L、V453A、R737K
Taq 突变体 3	E734G
Taq 突变体 4	F749G、K508L、L764K
Taq 突变体 5	E507Q、T757S
Taq 突变体 6	H785G
Taq 突变体 7	S624T、F749V
Taq 突变体 8	E734F、F749V
Taq 突变体 9	K508L、R737W、Y672R

1.1.5 Taq 酶野生型及突变型混合酶的制备

将上述制备的 Taq 酶突变体与野生型 Taq 酶按设定比例,每个混合酶的浓度均为 10 U/μL,见表 2。配制的混合酶中,每个混合酶的浓度均为 10 U/μL。按抗体活力:Taq 酶活=1:1 的

表2 各型混合酶配置比例

组别	Taq 酶突变体 (U/ μ L)	野生型 Taq 酶 (U/ μ L)
混合酶 1	9	1
混合酶 2	8	2
混合酶 3	7	3
混合酶 4	6	4
混合酶 5	5	5
混合酶 6	4	6
混合酶 7	3	7
混合酶 8	2	8
混合酶 9	1	9

比例加入抗 Taq 酶抗体(深圳菲鹏生物技术有限公司, MD010), 37℃孵育 30 min, -20℃保存。

1.1.6 TaqMan 探针定量多聚酶链反应技术检测基因单点突变

使用 TaqMan 探针的实时荧光定量多聚酶链反应(FQ-PCR)技术, 针对上述野生型 Taq 酶突变位点, 分别用特异引物和非特异引物进行 FQ-PCR 检测, 通过两次反应 Ct 值大小的比较及两者差值 Δ Ct 的大小, 判断该突变位点是野生型纯合子、突变型纯合子和杂合子三者之一。

1.1.7 有效性判断

野生型模板临界质控品和突变型模板临界质控品均分别检测为野生型纯合子和突变型纯合子; 对每一样品, 用 PCR 反应液 A 和 PCR 反应液 B 同时进行 FQ-PCR 检测, 两者 Ct 值相减得到 Δ Ct, Δ Ct 绝对值大于等于纯合子阈值或小于等于杂合子阈值表示对该样品的检测有效。若不在上述范围内, 说明被检样品的检测无效。

1.2 临床标本的选择

选择威海市立医院 2020 年 1 月至 2021 年 8 月收治的乙型肝炎病毒表面抗原阳性样本 30 例、丙型肝炎 HCVRNA 阳性样本 30 例。

1.2.1 标本处理

全血: 用一次性无菌注射器抽取受检者静脉血 2 mL, 注入含 EDTA(乙二胺四乙酸二钠)或枸橼酸钠抗凝剂的玻璃管, 立即轻轻颠倒玻璃管混合 5~10 次, 使抗凝剂与静脉血充分混合, 密闭送检。血浆: 全血离心后取上层清液, 标本立即检测或保存于 -20℃待测。

1.2.2 标本检测

使用乙肝(广州达安基因股份有限公司, 国械注准 20173404069)、丙肝病毒检测试剂盒(PCR-荧光探针法)(广州达安基因股份有限公司, 国械注准 20153402100), 用以上各种混合酶各 5 U 替代试剂

盒中的反应液 B, 以野生型及对应的 Taq 酶突变体为阴性对照组, 对上述血液样本进行检测。

2 结果

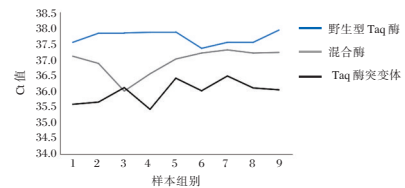
2.1 扩增效能检测

将野生型 Taq 酶、混合酶、Taq 酶突变体分别用于上述临床样本进行 PCR 检测。当 Taq 酶突变体与野生型 Taq 酶按不同比例混合后, Ct 值未出现下降, 其中个别组 Ct 值反而有所增加。见表 3、图 1。

表3 Taq 酶突变体与野生型 Taq 酶、混合酶 Ct 值

Table 3 Ct value distribution of Taq enzyme mutant and wild-type Taq enzyme and mixed enzyme

组别	CT 值	组别	CT 值	组别	CT 值
野生型 Taq 酶 1	37.56	混合酶 1	37.12	Taq 酶突变体 1	35.59
野生型 Taq 酶 2	37.85	混合酶 2	36.89	Taq 酶突变体 2	35.66
野生型 Taq 酶 3	37.86	混合酶 3	36.01	Taq 酶突变体 3	36.72
野生型 Taq 酶 4	37.88	混合酶 4	35.56	Taq 酶突变体 4	35.43
野生型 Taq 酶 5	37.89	混合酶 5	37.03	Taq 酶突变体 5	36.24
野生型 Taq 酶 6	37.37	混合酶 6	37.22	Taq 酶突变体 6	36.02
野生型 Taq 酶 7	37.56	混合酶 7	37.32	Taq 酶突变体 7	36.49
野生型 Taq 酶 8	37.56	混合酶 8	37.22	Taq 酶突变体 8	36.11
野生型 Taq 酶 9	37.95	混合酶 9	37.24	Taq 酶突变体 9	36.05



注: 横坐标表示样本组别, 纵坐标表示 Ct 值大小。

图1 Taq 酶突变体与野生型 Taq 酶、混合酶 Ct 值分布
Figure 1 Ct value distribution of Taq enzyme mutant and wild-type Taq enzyme and mixed enzyme

2.2 灵敏度检测(最低检出限及定量限)

采用梯度稀释的方法, 对临床样本进行 3 次重复检测, 以检出率为 100% 作为最低检出限; 标准曲线的相关系数为 0.99。见图 2。

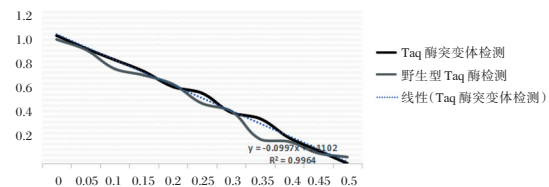


图2 样本检测曲线

Figure 2 Sample detection curve

2.3 精密度检测

将上述九种 Taq 酶突变体进行重复检测, 批内及批间的检测浓度对数值的变异系数(CV%)均小于 5%。见表 4。

表4 Taq 酶突变体重复检测 Ct 值
Table 4 Taq enzyme mutant repeated detection Ct value

组别	Ct 值 1	Ct 值 2	Ct 值 3
Taq 酶突变体 1	35.59	35.43	35.56
Taq 酶突变体 2	35.66	35.58	35.66
Taq 酶突变体 3	36.72	35.62	36.74
Taq 酶突变体 4	35.43	35.50	36.46
Taq 酶突变体 5	36.24	36.20	36.21
Taq 酶突变体 6	35.41	35.42	35.42
Taq 酶突变体 7	36.21	36.20	36.23
Taq 酶突变体 8	36.70	36.72	36.70
Taq 酶突变体 9	35.62	35.59	36.60

2.4 临床特异性分析

应用 Taq 酶突变体及野生型 Taq 酶对另外 10 份与感染部位相同或感染症状相似的病毒或临床 HBV、HCV 阴性样本的其他病毒: 人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV)、丁型肝炎病毒 (Hepatitis D Virus, HDV)、戊型肝炎病毒 (Hepatitis E Virus, HEV)、EB 病毒 (Epstein-Barr Virus, EBV)、人巨细胞病毒 (Human Cytomegalovirus, HCMV)、梅毒螺旋体 (*Treponema Pallidum*, TP)、单纯疱疹病毒 1 型 (Herpes Simplex Virus type-1, HSV-1)、单纯疱疹病毒 2 型 (Herpes Simplex Virus type-2, HSV-2)、腺病毒 (Adenovirus, ADV)、甲型肝炎病毒 (Hepatitis A Virus, HAV) 进行检测, 结果均测试为阴性。

3 讨论

近年来, 乙型肝炎及丙型肝炎属于两种较为普遍的传染病, 严重危害着人们的健康。除了普通的血清学标志检测方法, 实时荧光定量 PCR 在乙肝及丙肝的诊断、治疗及愈后监测等临床领域也已逐渐广泛应用^[7]。随着 PCR 技术不断发展, 对灵敏度、精确度及特异性等方面的要求越来越高, 普通 PCR 已无法完全满足临床标本检测的实际需求^[8]。因此, 研究通过定向进化技术, 从随机突变库中筛选出对 Taq 酶活性具有高度相关性的氨基酸位点及突变方式, 选择其中具有协同效应的突变位点, 积累出最适应所添加筛选条件的的优势性状, 使所得突变体数量达到定点突变的 10^5 倍, 通过该方法得到所有突变体中的最优个体^[9-11]。本研究所得结果可见, 特定的突变型 DNA 聚合酶与野生型 DNA 聚合酶相比, PCR 检测突变组 Ct 值下降, 表现出较为优异的 PCR 扩增效率; 野生型 DNA 聚合酶和特定的突变型 DNA 聚合酶混合, 也表现出显著的协同效果^[9], 本研究中两种不同类型的 Taq 酶表

现出不同的扩增活性和 PCR 性能也证明了这一点。同时, 研究应用 Taq 酶突变体对乙肝、丙肝病毒样本进行重复检测, 所得精密度结果符合检测要求; 且结果可在最低检出限内检测出阳性, 均满足最低检出限要求, 说明 Taq 酶突变体的应有有效且该方法的灵敏度明显高于野生型 Taq 酶。

综上所述, 对于乙型及丙型病毒选择实时荧光定量 PCR 的方法进行临床检测, 可获得更为显著的测定结果。同时提高 Taq 酶的 DNA 聚合活性及持续延伸能力, 大幅度增加了 PCR 临床检测的扩增效率, 可为 Taq 酶的性能改造指出新的方向, 进而为病毒性肝炎患者临床治疗方案的研究提供可靠依据。

参考文献

- [1] Qi R, Otting G. Mutant T4 DNA polymerase for easy cloning and mutagenesis[J]. PLoS One, 2019, 14(1): e0211065.
- [2] Randrianjatovo-Gbalou I, Rosario S, Sismeiro O, et al. Enzymatic synthesis of random sequences of RNA and RNA analogues by DNA polymerase theta mutants for the generation of aptamer libraries[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(12): 6271-6284. d
- [3] Tellier-Lebegue C, Dizet E, Ma E, et al. The translesion DNA polymerases Pol ζ and Rev1 are activated independently of PCNA ubiquitination upon UV radiation in mutants of DNA polymerase δ [J]. PLoS Genet, 2017, 13(12): e1007119.
- [4] Lawler JL, Coen DM. HSV-1 DNA polymerase 3'-5' exonuclease-deficient mutant D368A exhibits severely reduced viral DNA synthesis and polymerase expression [J]. J Gen Virol. 2018, 99(10): 1432-1437.
- [5] Samson C, Legrand P, Tekpinar M, et al. Structural Studies of HNA Substrate Specificity in Mutants of an Archaeal DNA Polymerase Obtained by Directed Evolution [J]. Biomolecules, 2020, 10(12): 1647.
- [6] 杜锴. 实时荧光定量 PCR 法检测乙肝病毒 DNA 的价值分析与研究[J]. 中国现代药物应用, 2017, 11(1): 55-57.
- [7] 蒋析文, 刘霁珊, 陈巍. Taq DNA 聚合酶 5'~3' 外切活性对荧光定量 PCR 的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(2): 170-174+243.
- [8] 杨秀丽, 李振勤, 刘晓荣, 等. 实时荧光定量 PCR 法检测乙肝病毒 DNA 的价值分析与研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(A1): 217+220.
- [9] 高鑫, 朱武洋, 卢学新. 实时荧光定量 PCR 在病毒检测中的应用[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(7): 660-667.
- [10] 阙金亚, 余红, 刘峰. 荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 与 ELISA 方法测定乙肝五项指标相关性分析[J]. 系统医学, 2018, 3(16): 32-33+39.
- [11] 杨蕊西, 刘茗心, 陈冷忻, 等. 替诺福韦酯挽救治疗 HBV DNA 聚合酶区 204 位点突变的经治慢性乙型肝炎患者疗效及安全性分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2019, 22(3): 349-352.

HMGB-1、S100B与RAGE对创伤性颅脑损伤术后颅内感染的诊断价值

马欢欢 李元垒 付云 刘国伟 何文龙*

[摘要] **目的** 探讨高迁移率蛋白-1(HMGB-1)、S100B、晚期糖基化终产物受体(RAGE)对创伤性颅脑损伤(TBI)患者术后发生颅内感染的诊断价值。**方法** 选取2014年9月至2020年9月新乡市中心医院收治的208例TBI患者,根据术后有无感染分为感染组49例、未感染组159例。分析感染组患者原菌分布情况及构成比,统计主要革兰阳性菌对抗菌药物的耐药率;分析患者术后发生颅内感染危险的相关因素,并评估联合HMGB-1、S100B、RAGE的诊断价值。**结果** 感染组49例患者均检出病原菌,其中革兰阳性菌42株(85.71%)、革兰阴性菌7株(14.29%)。表皮葡萄球菌对青霉素、苯唑西林口头孢类常用抗菌药物耐药性高,均>50.00%;金黄色葡萄球菌、头葡萄球菌对青霉素及头孢类常用抗菌药物耐药性高,均>50.00%。感染组HMGB-1、S100B、RAGE水平高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。手术时间 ≥ 4 h、有切口脑脊液侧漏、术前GCS评分 ≥ 8 分、HMGB-1异常升高、S100B异常升高、RAGE异常升高为TBI患者术后发生颅内感染的危险因素($P<0.05$)。三者联合(HMGB-1+S100B+RAGE)检测敏感度(0.911)、特异度(0.985)、AUC(0.988),均显著高于单一指标检测($P<0.05$)。208例患者中有55例(26.44%)预后不良,153例(73.56%)预后良好。预后良好组HMGB-1、S100B、RAGE水平均低于预后不良组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 临床可对TBI患者进行HMGB-1、S100B、RAGE联合检测,以预测颅内感染、评估预后。

[关键词] TBI; 颅内感染; 耐药性; HMGB-1; S100B; RAGE

Diagnostic value of HMGB-1, S100B and RAGE for intracranial infection after traumatic brain injury

MA Huanhuan, LI Yuanlei, FU Yun, LIU Guowei, HE Wenlong*

[Department of Critical Care, Xinxiang Central Hospital (The Fourth Clinical College of Xinxiang Medical College), Xinxiang, Henan, China, 453000]

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of high mobility protein-1 (HMGB-1), S100B and receptor for advanced glycation end products (RAGE) in postoperative intracranial infection in patients with traumatic brain injury (TBI). **Methods** A total of 208 TBI patients admitted to Xinxiang Central Hospital from September 2014 to September 2020 were selected and divided into an infection group of 49 cases and a non-infection group of 159 cases according to the presence or absence of postoperative infection. The distribution and composition ratio of the original bacteria in the infection group were analyzed, and the resistance rate of major Gram-positive bacteria to antibiotics was calculated. The risk factors of postoperative intracranial infection were analyzed, and the diagnostic value of combined HMGB-1, S100B and RAGE was evaluated. **Results** Pathogenic bacteria were detected in all 49 patients in the infection group, including 42 gram-positive bacteria (85.71%) and 7 gram-negative bacteria (14.29%). Staphylococcus epidermidis was highly resistant to common antibiotics such as penicillin and oxacillin oral cephalosporins, all >50.00%. Staphylococcus aureus and Staphylococcus cephalococcus were highly resistance to penicillin and

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200954)

作者单位:新乡市中心医院(新乡医学院第四临床学院)重症科五区,河南,新乡 453000

*通信作者:何文龙, E-mail:hw19992@163.com

cephalosporins, both >50.00%. The levels of HMGB-1, S100B, RAGE in the infected group were higher than those in the uninfected group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Operation time ≥ 4 h, incision cerebrospinal fluid leakage, preoperative GCS score ≥ 8 points, abnormal increase of HMGB-1, S100B and RAGE were the risk factors for postoperative intracranial infection in patients with severe traumatic brain injury ($P<0.05$). The three combined (HMGB-1 + S100B + RAGE) detection sensitivity (0.911), specificity (0.985), AUC (0.988) were significantly higher than the single indicator detection ($P<0.05$). Among the 208 patients, 55 (26.44%) had poor prognosis and 153 (73.56%) had good prognosis. The levels of HMGB-1, S100B and RAGE in the good prognosis group were lower than those in the poor prognosis group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of HMGB-1, S100B and RAGE can be performed in TBI patients to predict intracranial infection and evaluate prognosis.

[KEY WORDS] TBI; Intracranial infection; Drug resistance; HMGB-1; S100B; RAGE

全球每年大约有5 000万人发生创伤性脑损伤(traumatic brain injury, TBI)^[1],开颅手术是挽救患者生命的主要干预手段。术后颅内感染是常见的并发症,明确引起患者术后颅内感染的相关危险因素,尽早制定预防计划,对降低TBI患者术后颅内感染意义重大。高迁移率蛋白-1(High-mobility group box-1, HMGB-1)是单核巨噬细胞中的核蛋白,参与创伤性疾病、感染性疾病发生、发展的过程。S100B是一种主要表达于神经系统的蛋白,在出现血脑屏障受损后可进入血液^[2]。已有研究报告,在TBI患者中,S100B水平急剧升高^[3]。近年最新研究指出,晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end product, RAGE)对颅内感染有较好的诊断价值^[4]。本研究旨在分析联合HMGB-1、S100B与RAGE检测在患术后发生颅内感染中的预测价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2014年9月至2020年9月新乡市中心医院收治的208例TBI患者。纳入标准:①临床资料、影像资料无缺损;②均符合TBI诊断标准^[5];③所有患者入院后即在急诊手术室进行开颅手术治疗。排除标准:①精神障碍者、阿尔兹海默症者;②合并心、肝、肾等重要器官严重疾病者;③凝血功能障碍、麻醉药物过敏者;④血液系统疾病者入院时已合并感染者;⑤合并颅内占位、癫痫等疾病者。根据术后有无感染分为感染组49例、未感染组159例。感染组:男33例,女16例;平均年龄(52.11 \pm 3.19)岁;车祸伤31例,打击伤14例,坠落伤4例。未感染组:男107例,女52例;平均年龄(50.16 \pm 3.22)岁;车祸伤106例,打击伤36例,坠落

伤17例。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 病原菌分布及耐药性分析

感染组患者行腰椎穿刺,留取3 mL脑脊液标本进行细菌培养,观察感染组病原菌分布及构成比,并对脑脊液检出的病原菌进行药物耐药性的检测。病原学培养及菌株分离鉴定依照本院检验科相关操作规范进行。

1.2.2 资料收集

记录研究对象的一般资料包括年龄、性别、手术时间、气管切开机械通气、入院格拉斯哥昏迷指数(Glasgow Coma scale, GCS)评分^[6]等。

1.2.3 MGB-1、S100B与RAGE

两组于入院后次日8:00空腹抽取静脉血3 mL,以4 000 r/min($r=10$ cm)离心10 min,分离血清,以枸橼酸盐抗凝血标本,存储于-70℃的冰箱冷冻待测。使用酶联免疫吸附法测定血清HMGB-1、S100B与RAGE水平,试剂盒购自贝克曼库尔特商务(中国)有限公司,具体操作步骤参见试剂盒说明书。MGB-1>187 ng/mL视为异常升高^[7];S100B>0.89 ng/m;视为异常升高^[8];RAGE>127 ng/mL视为异常升高^[9]。

1.3 随访

对两组患者随访6个月,随访方式包括患者自行来院复查或电话随访,随访截止时间2021年3月。预后良好标准^[6]:GCS评分 ≥ 12 分为预后良好,GCS评分<12分为预后不良。

1.4 统计学分析

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料采用

$n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用 Logistic 回归模型分析危险因素;采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估诊断价值;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 脑脊液培养病原菌分布情况及构成比

感染组 49 例患者均检出病原菌,其中革兰阳性菌 42 株(85.71%)、革兰阴性菌 7 株(14.29%)。见表 1。

表 1 脑脊液培养病原菌分布情况及构成比

Table 1 Distribution and composition ratio of pathogenic bacteria in cerebrospinal fluid culture

病原菌	株数	构成比(%)
革兰阳性菌	42	85.71
表皮葡萄球菌	19	38.79
金黄色葡萄球菌	10	20.41
头葡萄球菌	7	14.29
尿肠球菌	4	8.16
凝固酶阴性葡萄球菌	2	4.08
革兰阴性菌	7	14.29
铜绿假单胞菌	5	10.20
纹带棒状杆菌	2	4.08
总计	49	100.00

2.2 主要革兰阳性菌对抗菌药物的耐药率

表皮葡萄球菌对青霉素、苯唑西林、头孢类常用抗菌药物耐药性高,均 $>50.00\%$;金黄色葡萄球菌、头葡萄球菌对青霉素及头孢类常用抗菌药物耐药性高,均 $>50.00\%$ 。见表 2。

2.3 感染及非感染组 HMGB-1、S100B、RAGE 水平比较

感染组 HMGB-1、S100B、RAGE 水平高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 引发 TBI 患者术后发生颅内感染的因素分析

手术时间 ≥ 4 h、有切口脑脊液侧漏、术前 GCS

表 2 主要革兰阳性菌对抗菌药物的耐药率

Table 2 Resistance rate of major gram-positive bacteria to antibacterial drugs

抗菌药物	表皮葡萄球菌 (n=19)		金黄色葡萄球菌 (n=10)		头葡萄球菌 (n=7)	
	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)
青霉素	15	78.95	7	70.00	6	85.71
苯唑西林	14	73.68	3	30.00	3	42.86
万古霉素	0	0.00	0	0.00	1	14.29
亚胺培南	2	10.53	1	10.00	0	0.00
头孢曲松	12	63.16	6	60.00	5	71.43
头孢唑啉	11	57.89	5	50.00	6	85.71
头孢唑林	10	52.63	4	21.05	5	71.43

评分 ≥ 8 分、HMGB-1(异常升高)、S100B(异常升高)、RAGE(异常升高)为严重 TBI 患者术后发生颅内感染的危险因素($P<0.05$)。见表 4。

2.5 联合 HMGB-1、S100B、RAGE 检测对 TBI 患者术后发生颅内感染的预测价值

三者联合(HMGB-1+S100B+RAGE)检测灵敏度(0.911)、特异度(0.985)、AUC(0.988),均显著高于单一指标检测($P<0.05$)。见表 5 及图 1。

表 5 联合 HMGB-1、S100B、RAGE 检测对 TBI 患者术后发生颅内感染的预测价值

Table 5 Predictive Value of HMGB-1、S100B、RAGE combined detection of intracranial infection after surgery with TBI patients

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P 值
HMGB-1	0.775	0.866	0.961	0.924~0.910	0.641	<0.05
S100B	0.784	0.793	0.925	0.681~0.902	0.577	<0.05
RAGE	0.884	0.865	0.824	0.713~0.935	0.749	<0.05
三组者联合检测	0.911	0.985	0.988	0.001~1.000	0.896	<0.05

2.6 不同 HMGB-1、S100B、RAGE 水平的患者预后情况分析

随访结果显示:208 例患者中有 55 例

表 4 引发 TBI 患者术后发生颅内感染的相关因素分析

Table 4 Analysis of related factors of intracranial infection in patients with TBI brain injury after surgery

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95%CI	P 值	OR 值	95%CI	P 值
年龄(岁)(≥ 65 vs <65)	1.304	1.315~1.589	0.009	1.425	0.488~1.774	0.625
性别(男 vs 女)	1.358	0.392~1.581	0.664	-	-	-
手术时间(h)(≥ 4 vs <4)	1.354	1.124~1.887	0.014	1.239	1.198~1.883	0.028
切口脑脊液侧漏(有 vs 无)	1.254	1.016~1.774	0.027	1.362	1.304~1.744	0.035
气管切开机械通气(有 vs 无)	1.344	1.285~1.837	0.021	1.480	0.571~1.569	0.421
术前 GCS 评分(分)(≥ 8 vs <8)	1.321	1.290~1.943	0.031	1.362	1.249~1.774	0.022
HMGB-1(ng/mL)(异常升高 vs 正常)	1.281	1.147~1.894	0.028	1.358	1.124~1.785	0.039
S100B(ng/mL)(异常升高 vs 正常)	1.308	1.145~1.794	0.018	1.324	1.395~1.741	0.025
RAGE(ng/mL)(异常升高 vs 正常)	1.441	1.138~1.893	0.013	1.307	1.214~1.758	0.022

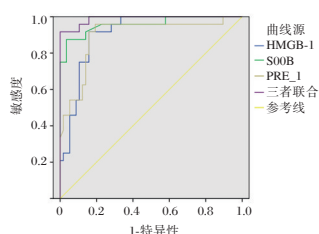


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

(26.44%)预后不良,153例(73.56%)预后良好。预后良好组 HMGB-1、S100B、RAGE 水平低于预后不良组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表6。

表6 不同HMGB-1、S100B、RAGE水平的患者预后分析($\bar{x}\pm s$)Table 6 Analysis of the prognosis of patients with different levels of HMGB-1, S100B and RAGE ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HMGB-1 (ng/mL)	S100B (ng/mL)	RAGE (ng/mL)
预后良好组	153	150.42±29.77	0.55±0.14	104.25±40.33
预后不良组	55	232.67±59.72	1.42±0.47	190.81±27.46
χ^2 值		13.125	20.570	14.726
P值		<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

TBI患者由于暴露于各种危险因素,易在术后发生颅内感染,不利于患者预后。本研究重点分析TBI患者术后颅内感染的临床特点和危险因素,为早期临床识别和预防提供参考信息,以减少颅内感染的发生率,提高患者生存率和改善预后。

本研究发现TBI患者术后颅内感染最有可能感染的病原菌为革兰阳性菌,占85.71%,其次为革兰阴性,占14.29%。对患者主要革兰阳性菌抗菌药物耐药率进行检测,发现表皮葡萄球菌对青霉素、苯唑西林口服类常用抗菌药物耐药性高。这一研究结果与Brennan等人^[10]所得结果相符。提示临床可针对性使用对葡萄球菌有效的广谱抗生素治疗发生颅内感染的TBI患者。

既往研究报道,可通过对TBI患者进行相关血清炎症指标检测,以诊断颅内感染^[11]。HMGB-1是炎症级联反应中重要的启动和促进者,已有研究证实,其在正常情况下存在于细胞核中,当中性粒细胞、单核/巨噬细胞等受到致炎细胞因子刺激时, HMGB-1水平急剧升高,分泌至细胞外,发挥促炎作用^[12]。S100B主要表达于中枢神经系统中的胶质细胞内,近年相关研究报道显示, S100B在颅脑外伤、急性脑卒中、中枢神经系统感染等疾病的

发生、发展过程中发挥重要作用, S100B可作为脑组织损伤和血脑屏障破坏的标记分子^[13]。RAGE是HMGB-1的主要配体, HMGB-1水平上调时, RAGE水平随之升高,并会启动正反馈级联反应^[14]。本次研究结果显示,感染组HMGB-1、S100B、RAGE水平高于未感染组,推测HMGB-1、S100B、RAGE可能对TBI患者颅内感染具有诊断价值。

本次研究发现,手术时间 ≥ 4 h、有切口脑脊液侧漏、术前GCS评分 ≥ 8 分、HMGB-1(异常升高)、S100B(异常升高)、RAGE(异常升高)为TBI患者术后发生颅内感染的危险因素,证实HMGB-1、S100B、RAGE表达异常会增加TBI患者发生颅内感染的风险。ROC曲线显示:三者(HMGB-1+S100B+RAGE)联合检测灵敏度、特异度、AUC均显著高于单一指标检测,说明可通过监测TBI患者HMGB-1、S100B、RAGE水平变化,对其颅内感染情况进行预测,三者可作为TBI患者发生颅内感染的潜在预测指标。

刘晓刚等学者^[15]研究发现,预后良好的TBI患者RAGE水平显著低于预后不良患者,认为RAGE水平与颅内感染患者预后存在显著联系。本研究分析,预后良好组HMGB-1、S100B、RAGE水平均低于预后不良组,与上述结果基本相符。可以看出, HMGB-1、S100B、RAGE与TBI患者预后有着密切关系,提示临床医师需对TBI患者术后感染早期进行准确的判断,并控制HMGB-1、S100B、RAGE水平,实施积极、有效的抗感染治疗,以促进患者预后。

综上所述, TBI患者颅内感染病原菌主要以革兰阳性菌为主,临床可依据主要病原菌对患者进行针对性的抗感染治疗,并加强HMGB-1、S100B、RAGE联合检测,以有效评估预后。

参考文献

- [1] 顾宇丹, 费雅雅, 秦殊, 等. 刺激性干预在老年创伤性颅脑损伤昏迷患者中的应用[J]. 中华护理杂志, 2020, 55(2):228-231.
- [2] 洪明, 赵蕾蕾, 陈国金. 血清HMGB1, IGF-1, ficolin-3在重症颅脑损伤患者中的表达及预后价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1):101-106.
- [3] Zhang C, Gu X, Zhao G, et al. Extracellular HMGB-1 activates inflammatory signaling in tendon cells and tissues [J]. Ther Adv Chronicis, 2020, 11(4):20-27.
- [4] 王林国, 皇甫学勤, 陶波, 等. 急性重型颅脑损伤后急性肺损伤高危因素分析[J]. 浙江临床医学, 2020, 22(2):217-218.

mSEPT9和CEA在结直肠癌诊断与术后评估及复发监测中的价值

高娟娟¹ 黎阳² 王中林³ 冯艾³ 李娜³ 惠凌云^{3*}

[摘要] 目的 探讨血浆 *Septin9* 基因甲基化(mSEPT9)和癌胚抗原(CEA)检测对结直肠癌(CRC)实验室诊断、手术治疗效果评价及肿瘤复发监测的临床应用价值。方法 以2017年6月至2020年1月在西安交通大学第一附属医院确诊为CRC的243例患者为病例组,其中CRC根治治疗术前的119例为术前组,根治治疗术后的99例为术后组,根治治疗后复发的25例为术后复发组,以同期的81例健康体检人员为对照组。所有入组人员均采用荧光定量PCR法检测血浆mSEPT9,采用电化学发光法检测CEA。通过比较四个组mSEPT9与CEA检测结果的差异,评价其在CRC患者中的临床应用价值。结果 在CRC术前组,随着肿瘤分期的进展mSEPT9阳性率增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与隆起型肿瘤比较,溃疡型和浸润型肿瘤mSEPT9的阳性率较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与健康对照组比较,mSEPT9和CEA在CRC术前组的阳性率显著升高,差异有统计学意义($P<0.001$)。mSEPT9在术前组的检测阳性率高于CEA,差异有统计学意义($P<0.05$);mSEPT9在术后组的检测阴性率高于CEA,差异有统计学意义($P<0.05$);mSEPT9在术后复发组的检测阳性率高于CEA,差异无统计学意义($P>0.05$)。CRC术后复发组mSEPT9和CEA检测的AUC分别为0.955和0.857,两项联合检测的灵敏度可达100%。结论 mSEPT9作为CRC诊断、手术治疗效果评估及肿瘤复发监测的分子诊断指标均优于CEA。mSEPT9与CEA二者联合检测,可提高肿瘤复发监测的灵敏度。

[关键词] 结直肠癌; mSEPT9; CEA; 辅助诊断; 复发监测

Value of mSEPT9 and CEA in diagnosis, postoperative evaluation and recurrence monitoring of colorectal cancer

GAO Juanjuan¹, LI Yang², WANG Zhonglin³, FENG Ai³, LI Na³, HUI Lingyun^{3*}

(1. Biobank, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shanxi, China, 710061; 2. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Central Hospital, Xi'an, Shanxi, China, 710004; 3. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shanxi, China, 710061)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the clinical application of plasma methylated *Septin9* (mSEPT9) and carcinoembryonic antigen (CEA) in diagnosis, postoperative evaluation and recurrence monitoring of colorectal cancer (CRC). **Methods** The 243 patients diagnosed with CRC in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from June 2017 to January 2020 were selected as the case group. Of which 119 patients who did not receive CRC eradication treatment were the preoperative group, 99 cases who underwent eradication treatment were the postoperative group, and 25 cases who had recurrence after eradication treatment were the postoperative recurrence group. And 81 healthy physical examiners during the same period were the control group. All participants were tested for mSEPT9 and CEA. By comparing the results of mSEPT9 and CEA test among CRC cases and healthy controls, the clinical value of the two makers in CRC patients was evaluated. **Results** In the preoperative group of CRC, the positive rate of mSEPT9 increased

基金项目:西安交通大学第一附属医院临床研究课题(XJTU1AF-CRF-2017-014)

作者单位:1.西安交通大学第一附属医院生物样本信息资源中心,陕西,西安710061

2.西安市中心医院检验科,陕西,西安710004

3.西安交通大学第一附属医院检验科,陕西,西安710061

*通信作者:惠凌云, E-mail: xlyscy@163.com

significantly with the progress of tumor stage ($P<0.05$). And the positive rates of mSEPT9 in ulcerative and invasive tumors were higher than that of protruded-type tumors ($P<0.05$). Compared with the healthy control group, the positive rates of mSEPT9 and CEA in the preoperative-CRC group significantly increased ($P<0.001$). Moreover, the positive rate of mSEPT9 in the preoperative group was higher than that of CEA ($P<0.05$); the negative rate of mSEPT9 among postoperative cases was significantly higher than that of CEA ($P<0.05$); the positive rate of mSEPT9 in the postoperative recurrence group was higher than that of CEA, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$). In addition, in the postoperative recurrence group, the AUC of mSEPT9 and CEA were 0.955 and 0.857, respectively, and the sensitivity of the two combined detection was up to 100%. **Conclusion** mSEPT9 is better than CEA as a molecular diagnostic indicator for CRC diagnosis, surgical treatment effect evaluation and tumor recurrence monitoring. The combined detection of mSEPT9 and CEA can improve the sensitivity of tumor recurrence monitoring.

[KEY WORDS] Colorectal cancer; mSEPT9; CEA; Auxiliary diagnosis; Recurrence monitoring

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)是最常见的消化道恶性肿瘤之一。2020年我国CRC发病率居恶性肿瘤谱第二位,死亡率位居第五位^[1]。30%~50%的CRC患者在治疗后出现复发和转移,这是CRC患者最主要的死亡原因^[2]。CRC常用的实验室检查^[3]包括粪便免疫化学实验和血清癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)检测,其作为CRC早期筛查和复发监测指标均存在灵敏度不高、器官特异性不强的弊端^[4-5]。DNA甲基化与多种肠道疾病的发生密切相关。Septin9基因甲基化(Methylated Septin9, mSEPT9)存在于90%以上的CRC肿瘤组织中,通过检测外周血中Septin9基因是否发生甲基化可判断CRC的发生风险^[6-8]。目前,mSEPT9作为CRC诊断指标得到了一致认可,而手术治疗是早期CRC患者获得根治的唯一模式,外科手术水平可决定肿瘤患者的预后。然而,鲜有文献报道将mSEPT9作为手术治疗效果的评价指标;CRC复发转移严重威胁患者的生存时间和质量,选择高灵敏的实验室复发监测指标至关重要,能否建立联合诊断模式提高检验效能,本研究将围绕以上问题深入探讨。

1 方法

1.1 研究对象

以2017年6月至2020年1月西安交通大学第一附属医院确诊的243例CRC患者为研究对象。纳入标准:依据美国癌症联合委员会/国际抗癌联盟(AJCC/UICC)结直肠癌TNM分级系统(2017年第8版)^[9],经结肠镜内窥镜及组织病理学确诊为CRC,同时在疾病不同时期同步检测mSEPT9和CEA;排除标准:患有其他恶性肿瘤,或患有其他严重影响身体机能的重大疾病。纳入的CRC患者

包括:119例均未进行手术或抗肿瘤治疗的术前患者(术前组);99例术后患者(术后组),均于术后14~21天内检测本研究指标;25例术后复发患者(术后复发组),均经影像学确诊肿瘤复发或转移。并以同期在医院体检的81名健康人员(身体健康无肿瘤等相关恶性疾病)作为健康对照组。共纳入病例243例,年龄(59.95 ± 11.56)岁,其中男性140名,女性103名;健康对照组年龄(55.09 ± 10.53)岁,其中男性52名,女性29名。病例组与健康对照组的性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组年龄比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

表1 研究对象的基本特征 [n(%)]

基本特征	病例组 (n=243)	健康对照组 (n=81)	χ^2 值	P值	
年龄(岁)	<60	107(44.0)	57(70.4)	16.859	<0.001
	≥60	136(56.0)	24(29.6)		
性别	男	140(57.6)	52(64.2)	1.091	0.596
	女	103(42.4)	29(35.8)		

1.2 研究方法

1.2.1 检测试剂与仪器

mSEPT9检测:采用博尔诚(北京)科技有限公司生产的Septin9基因甲基化检测试剂盒(PCR荧光探针法,30人份/盒),包括博尔诚血浆处理试剂盒和PCR试剂盒;利用美国ABI公司生产的7500型实时荧光定量PCR仪进行检测。

CEA检测:采用罗氏诊断公司(瑞士)生产的癌胚抗原测定试剂盒(电化学发光法, Elecsys CEA, 300测试/盒);利用罗氏公司(瑞士)生产的cobas 8000 e 801全自动化学发光免疫分析仪进行检测,参考区间为0~5 ng/L,检测值>5 ng/L为阳性结果。

1.2.2 血样采集与制备

清晨空腹状态下采集外周静脉血2支,一支3 mL未抗凝处理,分离血清并于当日检测CEA;另一支10 mL注入EDTA抗凝管中,在采血4 h内离心10 min (2 150*g)分离血浆,经二次离心后获得3.5 mL血浆置-80℃冰箱,并于两周内完成mSEPT9检测。

1.2.3 mSEPT9检测

主要操作步骤:血浆DNA提取、亚硫酸盐转化、亚硫酸盐转化的DNA(Bis DNA)结合、Bis DNA洗涤和PCR扩增。以人类管家基因ACTB(β -actin)作为内参照,评估检测中DNA量是否足够,每批次试验同步阴性和阳性质控品检测。根据扩增循环数(Cycle threshold,Ct)分析结果。

结果判读:同步检测质控品结果满意的条件下,样本检测Ct值 \leq 41.0,ACTB的Ct值 \leq 32.1为阳性结果;样本检测Ct值 $>$ 41.0或无Ct值,ACTB的Ct值 \leq 32.1为阴性结果;ACTB的Ct值 $>$ 32.1为无效检测。由西安交通大学第一附属医院检验科完成检测。

1.2.4 统计学分析

采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。计数资料采用n(%)表示,采用 χ^2 检验或Fisher's exact test。采用受试者工作特征(ROC)曲线和曲线下面积(AUC)比较两种检测方法对疾病的鉴别能力。所有检验均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 mSEPT9检测的影响因素

在不同性别、年龄段、肿瘤分化程度和肿瘤位置的CRC术前组患者中,mSEPT9检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与I~II期肿瘤比较,III~IV期肿瘤mSEPT9检测的阳性率增加,差异有统计学意义($P<0.05$);溃疡型和浸润型肿瘤的mSEPT9阳性率高于隆起型肿瘤,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。与隆起型肿瘤比较,溃疡型肿瘤中III~IV期的比例较高,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同肿瘤类型病例中,肿瘤分期和肿瘤分化程度中的比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

2.2 mSEPT9和CEA检测结果在CRC术前组与健康对照组的比较

CRC术前组与健康对照组的mSEPT9和CEA检测结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表2 CRC术前组mSEPT9检测的影响因素分析 [n(%)]

Table 2 Influencing factors of mSEPT9 among preoperative CRC patients [n(%)]

特征	mSEPT9		χ^2 值	P值	
	阳性 (n=92)	阴性 (n=27)			
性别	男	56 (60.9)	12 (44.4)	2.300	0.129 ^a
	女	36 (39.1)	15 (55.6)		
年龄(岁)	<60	38 (41.3)	11 (40.7)	0.003	0.958 ^a
	\geq 60	54 (58.7)	16 (59.3)		
肿瘤分期	I~II期	44 (47.8)	19 (73.1)	5.194	0.023 ^a
	III~IV期	48 (52.2)	7 (26.9)		
肿瘤分化程度	高分化	10 (10.9)	5 (18.5)	0.359 ^b	
	中分化	67 (72.8)	16 (59.3)		
	低分化	15 (16.3)	6 (22.2)		
肿瘤类型	隆起型	9 (9.8)	8 (29.6)	0.034 ^b	
	溃疡型	66 (71.7)	17 (63.0)		
	浸润型	17 (18.5)	2 (7.4)		
肿瘤位置	直肠	40 (43.5)	15 (55.6)	1.225	0.268 ^a
	结肠	52 (56.5)	12 (44.4)		

注:^a χ^2 检验;^bFisher's exact test。

表3 CRC术前组肿瘤类型与肿瘤分期及肿瘤分化程度的关系 [n(%)]

Table 3 The relationship between tumor type and tumor stage and tumor differentiation in preoperative group of CRC [n(%)]

肿瘤特征	肿瘤类型			P值	
	隆起型	溃疡型	浸润型		
肿瘤分期	I~II期	11(64.7)	40(48.8)	12(63.2)	0.316 ^a
	III~IV期	6(35.3)	42(51.2)	7(36.8)	
肿瘤分化程度	高分化	3(17.6)	9(10.8)	3(15.8)	0.582 ^b
	中分化	11(64.7)	61(73.5)	11(57.9)	
	低分化	3(17.6)	13(15.7)	5(26.3)	

注:^a χ^2 检验;^bFisher's exact test。

表4 mSEPT9和CEA检测结果在CRC术前与健康对照组比较 [n(%)]

Table 2 Distribution of mSEPT9 and CEA among preoperative CRC patients and healthy subjects [n(%)]

组别	mSEPT9		CEA	
	阳性	阴性	阳性	阴性
术前组	92 (77.3)	27 (22.7)	60 (50.4)	59 (49.6)
对照组	4 (4.9)	77 (95.1)	7 (8.6)	74 (91.4)
χ^2 值	101.136		37.760	
P值	<0.001		<0.001	

2.3 mSEPT9和CEA检测结果在CRC术前、术后及术后复发组的比较

CRC术前、术后及术后复发组mSEPT9的阳性率分别为77.3%、26.3%和96.0%;CEA的阳性率分别为50.4%、33.3%和80.0%。mSEPT9在术前组的检测阳性率高于CEA,差异有统计学意义($P<$

0.05); mSEPT9 在术后组的检测阴性率高于 CEA, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); mSEPT9 在术后复发组的检测阳性率高于 CEA, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 5、图 1。

表 5 mSEPT9 和 CEA 检测结果在 CRC 患者术前、术后及术后复发组间比较 [n(%)]

Table 5 Distribution of mSEPT9 and CEA among preoperative, postoperative, and recurrent CRC patients [n(%)]

组别	mSEPT9		CEA		χ^2 值	P 值
	阳性	阴性	阳性	阴性		
术前组	92(77.3)	27(22.7)	60(50.4)	59(49.6)	4.079	0.043 ^a
术后组	26(26.3)	73(73.7)	33(33.3)	66(66.7)	4.408	0.036 ^a
术后复发组	24(96.0)	1(4.0)	20(80.0)	5(20.0)		>0.999 ^b
χ^2 值	74.171		18.912			
P 值	<0.001 ^a		<0.001 ^a			

注: ^a χ^2 检验; ^bFisher's exact test。

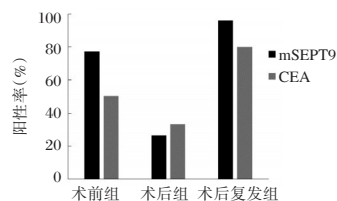


图 1 mSEPT9 与 CEA 在 CRC 手术前、后及术后复发组中的阳性率

Figure 1 The positive rates of mSEPT9 and CEA in preoperative, postoperative, and recurrent CRC patients

2.4 mSEPT9、CEA 及联合诊断在 CRC 术后复发中的检测效能评价

CRC 术后复发组 mSEPT9 检测灵敏度为 96%, CEA 为 80%, 两项联合检测为 100%。在 CRC 复发组中, mSEPT9 单项的 AUC 达 0.955, CEA 则为 0.857, 两项联合检测的 AUC 为 0.932。见表 6、图 2。

表 6 CRC 术后复发组 mSEPT9、CEA 及两项联合检测的检验效能

Table 6 The efficacy of mSEPT9, CEA and the combined tests for CRC recurrence monitoring

检测方法	敏感性	特异性	AUC	95%CI	P 值
mSEPT9	0.96	0.95	0.955	0.903-1.008	<0.001
CEA	0.80	0.91	0.857	0.758-0.955	<0.001
mSEPT9+CEA	1.00	0.86	0.932	0.885-0.979	<0.001

3 讨论

CRC 术后患者较高的转移复发率是导致其死亡率高的主要原因^[10]。因此, 简单快捷、灵敏度高的实验室检测方法, 有助于早期诊断 CRC 和及时发现复发患者, 具有重要的临床意义。

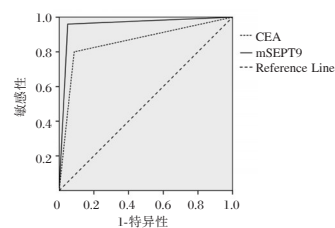


图 2 ROC 曲线

Figure 2 ROC curve

本研究显示, 在 CRC 术前组中, mSEPT9 检测阳性率为 77.3%; 而 CEA 的检出率仅为 50.4%, 因此, mSEPT9 作为 CRC 分子水平诊断指标优于 CEA。在对 mSEPT9 检测结果的影响因素分析中, 发现 mSEPT9 阳性检出率与 CRC 的肿瘤类型有关, 浸润型和溃疡型肿瘤的 mSEPT9 阳性率高于隆起型, 进一步分析发现, 溃疡型肿瘤 TNM 分期高于隆起型肿瘤, 但差异无统计学意义。这可能是浸润型和溃疡型肿瘤生长过程中更易引起脉管侵犯, 进而导致甲基化程度增加。同时, mSEPT9 在 CRC 中晚期检测灵敏度高于早期, 随着肿瘤进展其阳性率逐渐升高。因此, 建议根据 CRC 患者 mSEPT9 检测结果、肿瘤类型及肿瘤分期制定个性化分级管理方案, 将获得较好的治疗效果。

既往研究发现, CRC 患者术后 mSEPT9 由阳性转成阴性^[11-12]。本研究的术后组与术前组比较发现, 术后组 CEA 阳性率从 50.4% 降低到 33.3%, 而 mSEPT9 的阳性率从 77.3% 降到 22.7%, 提示手术切除实体瘤后, mSEPT9 比 CEA 更早转阴。且 mSEPT9 在术后复发组的阳性率达 96%。因此, mSEPT9 作为分子水平的肿瘤标志物, 其检测结果与肿瘤发生、手术清除以及肿瘤侵袭复发的变化过程有较高的一致性, 其灵敏度优于 CEA。另有研究表明, 术后血浆 mSEPT9 持续阳性与即将发生的复发或转移(1 年内) 高度相关^[6]。对术后 mSEPT9 检测持续阳性患者应视为高危人群进行有效监管, 增加随访、检查频次, 以便尽早发现不良转归患者, 确定下一步治疗方案。

术后 CEA 持续升高一般提示预后不良, 此类患者有较高的复发风险^[13-14]。本研究显示, 在 CRC 复发组, CEA 阳性率为 80%, AUC 为 0.855; 而 mSEPT9 的阳性率达 96.0%, AUC 值达 0.955。mSEPT9 作为 CRC 复发预测指标检验效能优于 CEA。将两项联合检测, 灵敏度可达 100%。由此可见, mSEPT9 和 CEA 联合检测可提高肿瘤复发

检测的灵敏度。本研究不足之处在于纳入的样本量有限,还有待更大样本量的验证。

综上所述,在CRC患者手术治疗效果评价中,mSEPT9灵敏度优于CEA;在肿瘤复发监测中,mSEPT9同样显示了较满意的诊断效能,二者联合检测可提高肿瘤复发预测的灵敏度,具有重要的临床应用价值。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [2] Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, et al. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(Suppl 6):64-72.
- [3] 梁媛紫, 徐军发, 黄华艺. 无创性结直肠癌生物标志物概要 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(1):1-8.
- [4] Young GP, Symonds EL, Allison JE, et al. Advances in fecal occult blood tests: the FIT revolution [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(3):609-622.
- [5] Wu D, Zhou G, Jin P, et al. Detection of colorectal cancer using a simplified SEPT9 gene methylation assay is a reliable method for opportunistic screening [J]. *J Mol Diagn*, 2016, 18(4):535-545.
- [6] Fu B, Yan P, Zhang S, et al. Cell-free circulating methylated SEPT9 for noninvasive diagnosis and monitoring of colorectal cancer [J]. *Dis Markers*, 2018, 2018:6437104.
- [7] Song L, Li Y. SEPT9: a specific circulating biomarker for colorectal cancer [J]. *Adv Clin Chem*, 2015, 72:171-204.
- [8] Hu J, Hu B, Gui YC, et al. Diagnostic value and clinical significance of methylated SEPT9 for colorectal cancer: a meta-analysis [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:5813-5822.
- [9] Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to Build a Bridge from a Population-Based to a More "Personalized" Approach to Cancer Staging [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(2):93-99.
- [10] Wu C, Li M, Meng H, et al. Analysis of status and countermeasures of cancer incidence and mortality in China [J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(5):640-647.
- [11] Lee HS, Hwang SM, Kim TS, et al. Circulating methylated septin 9 nucleic Acid in the plasma of patients with gastrointestinal cancer in the stomach and colon [J]. *Transl Oncol*, 2013, 6(3):290-296.
- [12] Zhang M, He Y, Zhang X, et al. A pooled analysis of the diagnostic efficacy of plasmic methylated septin-9 as a novel biomarker for colorectal cancer [J]. *Biomed Rep*, 2017, 7(4):353-360.
- [13] Nikolaou S, Qiu S, Fiorentino F, et al. Systematic review of blood diagnostic markers in colorectal cancer [J]. *Tech Colo-proctol*, 2018, 22(7):481-498.
- [14] Gulhati P, Yin J, Pederson L, et al. Threshold change in CEA as a predictor of non-progression to first-Line systemic therapy in metastatic colorectal cancer patients with elevated CEA [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2020, 112(11):1127-1136.
- [5] Tülay K, Dilber B, Yaman SZ, et al. HMGB-1, TLR4, IL-1R1, TNF- α , and IL-1 β : novel epilepsy markers? [J]. *Epileptic Disord*, 2020, 22(2):56-59.
- [6] Santos G, Barateiro A, Brites D, et al. S100B Impairs Oligodendrogenesis and Myelin Repair Following Demyelination Through RAGE Engagement [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 58(12):66-69.
- [7] Lee JD, McDonald TS, Fung J, et al. Absence of Receptor for Advanced Glycation End Product (RAGE) Reduces Inflammation and Extends Survival in the hSOD1G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(5):1-13.
- [8] Ma J, Zhou Y, Li W, et al. Association between Plasma HMGB-1 and Silicosis: A Case-Control Study [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12):31-35.
- [9] Rosciszewski G, Cadena V, Auzmendi J, et al. Detrimental Effects of HMGB-1 Require Microglial-Astroglial Interaction: Implications for the Status Epilepticus-Induced Neuroinflammation [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13(3):380-384.
- [10] Brennan PM, Murray GD, Teasdale GM. A practical method for dealing with missing Glasgow Coma Scale verbal component scores [J]. *J Neurosurg*, 2020, 135(1):1-6.
- [11] 韩雨薇, 王晨辰, 李晓明. 齐墩果酸调节 HMGB1/TLR4/NF- κ B 介导的炎症通路减轻蛛网膜下腔出血后的早期脑损伤 [J]. *实用药物与临床*, 2020, 22(1):5-9.
- [12] Sun K, Xia H. Serum levels of NLRP3 and HMGB-1 are associated with the prognosis of patients with severe blunt abdominal trauma [J]. *Clinics (São Paulo, Brazil)*, 2019, 74(1):729-733.
- [13] Gannon JM, Kelly DL, Besch A, et al. Racial Differences in S100b Levels in Persons with Schizophrenia [J]. *Psychiatric Quarterly*, 2020, 91(2):536-537.
- [14] Arora P, Sagar R, Mehta M, et al. Serum S100B levels in patients with depression [J]. *Indian J Psychiatry*, 2019, 61(1):70-76.
- [15] 刘晓刚, 王二玲, 冯娟, 等. 重型颅脑损伤术后颅内感染脑脊液中不同指标和炎症因子水平分析 [J]. *创伤外科杂志*, 2020, 22(6):419-423.

(上接第 204 页)

Ki-67、nm23 和 PTEN 在 CMM 中的表达及与淋巴结转移的关系

姚明* 杨灿 林永丽

[摘要] 目的 探讨 Ki-67、肿瘤转移抑制基因 23(nm23) 和第 10 号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因(PTEN) 在皮肤黑色素瘤(CMM) 中的表达及与淋巴结转移的关系。方法 选取 2017 年 1 月至 2020 年 1 月河南省驻马店市中心医院收治的 207 例 CMM 患者, 将病灶标本设为研究组, 并选取距癌组织 3 cm 处的癌旁组织作为对照组。比较两组 Ki-67、nm23 和 PTEN 的表达水平, 分析影响 CMM 患者淋巴结转移的单因素、多因素。结果 研究组 Ki-67 的阳性表达高于对照组, nm23、PTEN 阳性表达低于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。转移组 Ki-67、nm23、PTEN 阳性表达低于未转移组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。年龄、性别、吸烟等为非影响患者淋巴结转移的因素($P>0.05$), 临床分期、Ki-67、nm23 及 PTEN 为影响患者淋巴结转移的单因素($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归模型分析结果显示, 临床分期、Ki-67、nm23 和 PTEN 为影响患者淋巴结转移的独立危险因素($P<0.05$)。结果 Ki-67、nm23 和 PTEN 在 CMM 患者中的表达水平存在差异, 通过检测其水平能为临床预后及治疗提供新的思路与依据。

[关键词] Ki-67; nm23; PTEN; 皮肤黑色素瘤; 淋巴结转移

The relationship between the expression of Ki-67, nm23 and PTEN in CMM and lymph node metastasis

YAO Ming*, YANG Can, LIN Yongli

(Department of Dermatology, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian, Henan, China, 463000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of Ki-67, tumor non-metastasis 23 (nm23) antigen and phosphate and tension homology deleted on chromosome ten (PTEN) in cutaneous malignant melanoma (CMM) and lymph node metastasis. **Methods** The clinical data of 207 CMM patients admitted to Zhumadian Central Hospital in Henan Province from January 2017 to January 2020 were selected. And the lesion specimens were set as the study group, and normal tissues 3 cm away from the cancer tissue were selected as the control group. The expression levels of Ki-67, nm23 and PTEN were compared between the two groups, and the single and multiple factors affecting lymph node metastasis of CMM patients were analyzed. **Results** The positive expression of Ki-67 in the study group was higher than that in the control group, but the positive expressions of nm23 and PTEN in the study group was lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expressions of Ki-67, nm23, PTEN in the metastasis group were lower than those in the non-metastasis group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Age, gender, smoking, etc. were non-influencing factors of lymph node metastasis ($P>0.05$), while clinical stage, Ki-67, nm23 and PTEN were the single factors affecting lymph node metastasis ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression model analysis showed that clinical stage, Ki-67, nm23 and PTEN were

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2017 T12103)

作者单位:河南省驻马店市中心医院皮肤科,河南,驻马店 463000

*通信作者:姚明, E-mail:34613083@qq.com

independent risk factors for lymph node metastasis ($P<0.05$). **Conclusion** There are differences in the expression levels of Ki-67, nm23 and PTEN in CMM patients, and the detection of their levels can provide new ideas and basis for clinical prognosis and treatment.

[KEY WORDS] Ki-67; nm23; PTEN; Skin melanoma; Lymph node metastasis

黑色素瘤(Malignant melanoma, MM)是由于黑色素细胞异常增生所形成的,属于恶性肿瘤,多于皮肤及黏膜组织发生,可通过淋巴结等进行转移或播散。其中以皮肤黑色素瘤(cutaneous malignant melanoma, CMM)最为常见,据统计黑色素瘤中90%左右为CMM^[1]。临床对于CMM的发病机制尚不完全明确,研究者认为其与外在刺激、遗传等因素有关,其可见于各年龄段人群,多见于中老年人群。临床对CMM的治疗主要以手术为主,早诊断和早治疗是治疗CMM的关键,越早治疗治愈的几率越大,但多数患者在确诊时已失去最佳治疗时间^[2]。有研究认为Ki-67、肿瘤转移抑制基因23(non-metastasis23, nm23)和第10号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白基因(phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)与CMM的发展以及淋巴结转移有着密切联系^[3]。基于此,本研究对Ki-67、nm23抗原和PTEN在CMM中的表达与淋巴结转移的关系进行研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年1月至2020年1月河南省驻马店市中心医院收治的207例CMM患者,将病灶标本设为研究组,并选取距癌组织3 cm处的癌旁组织作为对照组。其中男112例,女95例;平均年龄(57.42±8.78)岁;发生淋巴结转移94例;根据国际抗癌联盟(International Union Against Cancer, UICC)TNM临床分期标准^[4]: I期51例、II期58例、III期55例、IV期43例。纳入标准:①经病理、CT等检测证实,患者均符合CMM诊断标准^[5];②在本院医治且临床资料齐全,无缺损或丢失;③本研究经医院伦理委员会批准且患者及家属均知情并同意本研究。排除标准:①患有其它恶性肿瘤者;②患有精神障碍,无法配合治疗者;③已接受治疗者;④中途退出研究者。

1.2 检测方法

对所有患者进行标本采集,进行石蜡包埋和切片处理待检。临用前使用二甲苯、乙醇进行脱

蜡、脱水处理后,将标本浸泡于3%双氧水中20 min,封闭其内源性过氧化物酶活性。高压枸橼酸盐抗原修复,温水清洗后使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)清洗3次,每次5 min,同时在其中滴正常羊血清用以阻断非特异性的结合,放入37℃孵育箱30 min。添加一抗兔抗人Ki-67多克隆抗体(1:400)、鼠抗人nm23单克隆抗体(1:400)、鼠抗人PTEN单克隆抗体(1:400),4℃过夜,PBS洗再次清洗,滴加生物素标记Ki-67、nm23、PTEN二抗,37℃孵育10 min,在第三次PBS清洗后,滴加过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液孵育10 min,使用二氨基联苯胺进行荧光显色,苏木素复染,脱水、干燥后使用中性树脂封片,用PBS代替一抗作为阴性对照。

1.3 判定标准^[6]

分别由两名经验丰富医生根据阳性细胞百分比及染色情况判定Ki-67、nm23和PTEN表达:0分:无阳性细胞;1分:阳性细胞<10%,2分:阳性细胞10%~50%,3分:阳性细胞>50%。染色情况判定:0分:无色,1分:淡黄色,2分:棕黄色,3分:棕褐色。总积分:上述2项评分的乘积,阴性为3分及以下,阳性为4分及以上。

1.4 随访

所有患者均于治疗后以复查、上门、电话等方式进行为期1年随访,随访时间截止至2021年1月,当发现患者出现淋巴结转移时停止随访。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析影响CMM患者淋巴转移的因素,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

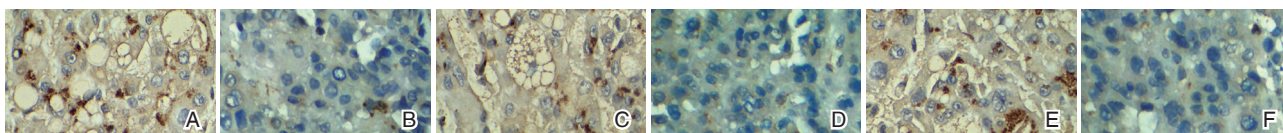
2.1 两组Ki-67、nm23和PTEN的表达情况比较

研究组Ki-67的阳性表达高于对照组,nm23、PTEN阳性表达低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1、图1。

表1 两组 Ki-67、nm23 和 PTEN 的表达情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of the expression of Ki-67, nm23 and PTEN between the two groups [n(%)]

组别	n	Ki-67		nm23		PTEN	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
研究组	207	164(79.23)	43(20.77)	71(34.30)	136(65.70)	84(40.58)	123(59.42)
对照组	207	52(25.12)	155(74.88)	112(54.11)	95(45.89)	185(89.37)	22(10.63)
χ^2 值		121.428		16.463		108.274	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A、B为Ki-67在癌组织及癌旁组织中的表达。C、D为nm23在癌组织及癌旁组织中的表达。E、F为PTEN在癌组织中的表达。

图1 Ki-67、nm23、PTEN在不同组织中的表达(SP, ×400)

Figure 1 The expression of Ki-67, NM23, PTEN in different tissues (SP, ×400)

2.2 转移组以及未转移组 Ki-67、nm23 和 PTEN 的表达情况比较

通过整理随访资料得:未出现淋巴转移者166例,出现淋巴转移者41例。转移组 Ki-67、nm23、PTEN 阳性表达低于未转移组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 影响 CMM 患者淋巴转移的单因素分析

年龄、性别、吸烟等为非影响患者淋巴结转移的因素($P>0.05$);临床分期、Ki-67、nm23 和 PTEN 为影响患者淋巴结转移的单因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 影响 CMM 患者淋巴转移的多因素分析

多因素 Logistic 回归模型分析结果显示,临床分期、Ki-67、nm23 和 PTEN 为影响患者淋巴结转移的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

CMM 可分为肢端雀斑样、浅表扩散型、结节型以及恶性雀斑样黑色素瘤四种类型,其可于任何部位发生,以曝光区最为常见,其次便是长期受到外部刺激的部位,临床多表现为出血、瘙痒、压痛、溃疡等症状。CMM 具有发病隐匿、发展迅速的特点,且易出现转移,相比于其他恶性肿瘤预后差,患者死亡率

较高,近年来发病率呈不断上升趋势^[7-8]。但由于我国大部分患者对于 CMM 的了解甚少且不够重视,导致多数患者在就诊时已发展为晚期,手术治疗欠佳,患者预后较差,因此早期诊断显得十分重要。

研究数据显示,CMM 的发生发展与抑癌基因的失活、突变及细胞异常增殖密切相关^[9]。Ki-67 是一种与细胞增殖密切相关的核内蛋白,普遍存在于人类增生细胞核中,具有半衰期短的特点,与细胞周期关系密切,还与恶性肿瘤的发展、转移和预后密切相关,当其表达过度时可反映肿瘤细胞增殖活性过度^[10]。nm23 位于染色体,其蛋白质产物核苷二磷酸激酶对于癌细胞株的运动能力和转移潜能具有抑制作用,被认为属于癌转移抑制基因。PTEN 属于抑癌基因,具有磷酸酶活性,其通过发挥磷酸酶活性,减弱磷酸根活性,阻断细胞内的信号转导通路,从而抑制细胞转化,对肿瘤发生、发展起负性调控作用^[11]。有研究认为 Ki-67、nm23 和 PTEN 与 CMM 具有一定的关系^[12]。本研究发现 Ki-67 在 CMM 组织中的阳性表达高于癌旁组织,而 nm23、PTEN 阳性表达在 CMM 组织中低于癌旁组织,这与既往研究结果相似^[13]。有研究认为 PTEN、nm23 属于抑癌基因,参与调节细胞的

表2 两组 Ki-67、nm23 和 PTEN 的表达情况比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of the expression of Ki-67, nm23 and PTEN between the two groups [n(%)]

组别	n	Ki-67		nm23		PTEN	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
转移组	41	38(92.68)	3(7.32)	6(14.63)	35(85.37)	4(9.76)	37(90.24)
未转移组	166	126(75.90)	40(24.10)	65(39.16)	101(60.84)	80(48.19)	86(51.81)
χ^2 值		5.625		8.774		20.145	
P 值		0.018		0.003		<0.001	

表3 影响CMM患者淋巴转移的单因素分析 [n(%)]
Table 3 Analysis of single factors affecting the lymph node metastasis of patients with CMM [n(%)]

变量	转移组 (n=41)	未转移组 (n=166)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)	≥60	15(36.59)	3.294	0.070
	<60	26(63.41)		
性别	男	23(56.10)	0.170	0.680
	女	18(43.90)		
吸烟	有	15(36.59)	2.589	0.108
	无	26(63.41)		
喝酒	有	28(68.29)	2.658	0.103
	无	13(31.71)		
家族史	有	22(53.66)	1.758	0.185
	无	19(46.34)		
发病部位	头颈部	15(36.59)	4.478	0.107
	躯干部	16(39.02)		
	四肢	10(24.39)		
临床分期	I+II+III 期	14(34.15)	63.133	<0.001
	IV 期	27(65.85)		
Ki-67	阳性	38(92.68)	5.625	0.018
	阴性	3(7.32)		
nm23	阳性	6(14.63)	8.774	0.003
	阴性	35(85.37)		
PTEN	阳性	4(9.76)	20.145	<0.001
	阴性	37(90.24)		

表4 影响CMM患者淋巴转移的多因素分析
Table 4 Analysis of multiple factors affecting the lymph node metastasis of patients with CMM

组别	回归系数	标准误差	Wald χ^2 值	OR	95%CI	P 值
临床分期(I 期+II 期+III 期 vs IV 期)	0.713	0.296	7.359	2.040	1.142~3.644	<0.001
Ki-67(阳性 vs 阴性)	0.685	0.236	6.364	1.984	1.249~3.150	<0.001
nm23(阴性 vs 阳性)	0.538	0.196	6.196	1.713	1.166~2.515	<0.001
PTEN(阴性 vs 阳性)	0.698	0.213	6.281	1.984	1.324~3.051	<0.001

正常生长和发育,可作用于细胞周期蛋白,对细胞转化进行抑制,并调控细胞周期,促进细胞凋亡,从而抑制肿瘤发生、发展,侵袭和转移;而Ki-67是一种与细胞增殖密切相关的核内蛋白,其会在细胞增殖时强烈表达^[14]。本研究发现Ki-67在转移组的阳性表达高于未转移组,nm23、PTEN在转移组的阳性表达低于未转移组,这与既往研究结果相似^[15]。淋巴结转移为预后不良表现之一,主要在患者治疗后出现,早期查体是发现淋巴结转移的主要手段。谢坤鹏等认为转移相关基因nm23、p53和S100A4的表达可能在黑色素瘤的侵袭及转移中发挥着重要作用,可能成为临床诊治黑色素瘤淋巴结转移的重要参考指标^[16]。本研究结果显示,临床分期、Ki-67、nm23和PTEN为影响患者发

生淋巴结转移的因素,这与谢坤鹏等部分研究结果相似。提示当Ki-67、nm23和PTEN发生变化时,可能影响患者发生淋巴结转移,临床可根据其变化判断淋巴结转移情况。

综上所述,Ki-67、nm23和PTEN在CMM患者中及淋巴结转移中的表达水平存在差异,通过检测其水平能为临床预后及治疗提供新的思路与依据。

参考文献

- [1] 雷雅丽,朱峰. 皮肤恶性黑色素瘤组织中MMP-9和Tiam1和Nm23-h1和Caveolin-1的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2019,26(11):1165-1168.
- [2] Antunes L, Cartell A, Farias C, et al. Tropomyosin-Related Kinase Receptor and Neurotrophin Expression in Cutaneous Melanoma Is Associated with a Poor Prognosis and Decreased Survival[J]. Oncology, 2019, 97(1):1-12.
- [3] 安晓颖,李晓霞,陈宁,等. BAP1、Ki-67表达与老年肺腺癌患者肿瘤侵袭及预后的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(5):661-665.
- [4] Fogli S, Polini B, Carpi S, et al. Identification of plasma microRNAs as new potential biomarkers with high diagnostic power in human cutaneous melanoma [J]. Tumour Biol, 2017,39(5):10-16.
- [5] 赵滨,阴亚坤. 皮肤黑色素瘤中PITX1表达及其与临床病理特征和预后的关系[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2020,19(1):20-24.
- [6] Ross CL, Kaushik S, Valdes-Rodriguez R, et al. MicroRNAs in Cutaneous Melanoma: Role as Diagnostic and Prognostic Biomarkers: MicroRNAs as Biomarkers in Melanoma [J]. J Cell Physiol, 2018,233(7):26-29.
- [7] 邓园欣,孔燕,毛丽丽,等. 66例晚期黑色素瘤患者组织中磷酸化视网膜细胞瘤蛋白表达水平分析及其临床意义评价[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019,26(8):882-887.
- [8] Pópulo H, Rui B, Sampaio C, et al. SDHD promoter mutations are rare events in cutaneous melanomas but SDHD protein expression is downregulated in advanced cutaneous melanoma[J]. Plos One, 2017,12(6):18-19.
- [9] 王萍,陆捷洁. 黑色素瘤中细胞凋亡抑制蛋白Survivin和MEF2D的表达及意义[J]. 中国现代医学杂志, 2019,29(2):33-37.
- [10] Zager JS, Gastman BR, Leachman S, et al. Performance of a prognostic 31-gene expression profile in an independent cohort of 523 cutaneous melanoma patients [J]. BMC Cancer, 2018,18(1):23-30.
- [11] 宋毓平,张庆华,龚丹妮,等. MUC16突变在皮肤恶性黑色素瘤患者预后中的作用分析[J]. 重庆医学, 2019,48(19):3333-3336.
- [12] Watt K, Tyryshkin K, Renwick N, et al. Distinguishing Tumor and Stromal Sources of MicroRNAs Linked to Metastasis in Cutaneous Melanoma[J]. Translat oncol, 2020,13(9):8-10.

寻常型银屑病患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达及与疾病活动性的相关性

董晓龙^{1*} 王晓阳² 徐宏俊³ 姚新宇⁴

[摘要] **目的** 分析寻常型银屑病患者血管内皮生长因子(VEGF)、干扰素- γ (IFN- γ)和 S100A12 的表达及与疾病活动性的相关性。**方法** 选取 2019 年 8 月至 2020 年 8 月航空总医院收治的 88 例寻常型银屑病患者设为观察组,其中进行期 31 例,静止期 28 例,退行期 29 例,根据患者病情严重程度按照银屑病皮损面积及严重程度指数(PASI)积分法分为:轻度(<10 分)36 例、中重度(≥ 10 分)52 例。选取 85 例同期在本院行健康体检者作为对照组。比较不同人群中 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平,并分析 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与疾病活动性的相关性。**结果** 观察组中 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。轻度组中 VEGF、IFN- γ 及 S100A12 表达水平明显低于中重度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同时期寻常型银屑病患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平:进行期>静止期>退行期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析结果显示,VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与 PASI 评分均为正相关($r = 0.511, r = 0.675, r = 0.431, P$ 均 < 0.05)。**结论** VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与寻常型银屑病发生、发展密切相关,监测三者水平变化可评估患者疾病严重程度。

[关键词] 寻常型银屑病; VEGF; IFN- γ ; S100A12; 疾病活动性

Expression of VEGF, IFN- γ and S100A12 in patients with psoriasis vulgaris and their correlation with disease activity

DONG Xiaolong^{1*}, WANG Xiaoyang², XU Hongjun³, YAO Xinyu⁴

(1. Department of Skin Laser Beauty Center, Aviation General Hospital, Beijing, China, 100012; 2. Department of Dermatology and Venereology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100029; 3. Department of Dermatology and Venereology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100095; 4. Department of Dermatology and Venereology, Peking University First Hospital, Beijing, China, 100034)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), Interferon- γ (IFN- γ) and S100A12 in patients with psoriasis vulgaris and their correlation with disease activity. **Methods** The 88 patients with psoriasis vulgaris admitted to our hospital from August 2019 to August 2020 were selected as the observation group, of which 31 patients were in the progressive stage, 28 patients were in the stationary stage, and 29 patients were in the degenerative stage. According to the disease activity of the patients, the Psoriasis area and severity index (PASI) integration method, they were divided into: mild group (<10 points) 36 cases, moderate-severe group (≥ 10 points) 52 cases. The expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in different groups were compared, and the correlation between levels of VEGF, IFN- γ and

基金项目:北京中医药科技发展资金项目(QN2019-12)

作者单位:1.航空总医院皮肤激光美容中心,北京 100012

2.首都医科大学附属北京安贞医院皮肤性病科,北京 100029

3.首都医科大学附属北京友谊医院皮肤性病科,北京 100095

4.北京大学第一医院皮肤性病科,北京 100034

*通信作者:董晓龙, E-mail: dermatology55@163.com

S100A12 and disease activity was analyzed. **Results** The expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in the mild group were significantly lower than those in the moderate-severe group ($P < 0.05$). There were differences in the expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in patients with psoriasis vulgaris at different stage ($P < 0.05$). The levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 were the highest in patients at the progressive stage, and were the lowest at the degenerative stage. The expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in patients with psoriasis vulgaris in different periods: progressive stage > stationary stage > degenerative stage, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis results showed that VEGF, IFN- γ and S100A12 were positively correlated with PASI scores ($r = 0.511$, $r = 0.675$, $r = 0.431$, all $P < 0.05$). **Conclusion** VEGF, IFN- γ and S100A12 are closely related to the occurrence and development of psoriasis vulgaris. Monitoring the changes in the three levels can evaluate the severity of the disease.

[KEY WORDS] Psoriasis vulgaris; VEGF; IFN- γ ; S100A12; Disease activity

银屑病是临床中常见的慢性炎症性皮肤病,在我国的发病率约为0.47%,在银屑病的分型中以寻常型银屑病最为多见,约占银屑病患者总数的90%以上,患者中以男性较为多见^[1]。目前银屑病发病机制尚未明确,临床认为与遗传、免疫、环境等因素有关,此病病程缓慢,易复发。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)为目前临床中发现最强的促血管生成因子,可促进血管内皮细胞分裂增殖,并增加血管通透性^[2]。钙结合蛋白S100A12属于促炎性因子,可与晚期糖基化终产物受体结合从而发挥激活趋化活性、细胞内信号的级联反应^[3]。有研究发现将干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ)注射于银屑病患者皮下组织后,银屑病患者非皮损区出现银屑病样损害,而原有的皮损则有加重趋势,认为IFN- γ 在银屑病发生中存在一定作用^[4]。本研究将通过了解寻常型银屑病患者VEGF、IFN- γ 和S100A12的表达情况,分析三者与寻常型银屑病活动性的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年8月至2020年8月航空总医院收治的88例寻常型银屑病患者设为观察组。纳入标准:①均符合《中国临床皮肤病学》中相关诊断标准^[5];②在3个月内未使用免疫抑制剂、糖皮质激素等对本研究有影响的药物。排除标准:①不配合本研究者;②严重肝肾功能不全;③先天性心脏病、免疫系统疾病者;④3周内有用外用药物治疗者。研究组男59例,女29例,平均年龄(36.59 \pm 6.57)岁,平均病程(3.56 \pm 1.25)年;进行期31例,静止期28例,退行期29例;根据患者病情严重程度

按照银屑病皮损面积及严重程度指数(Psoriasis area and severity index, PASI)积分法^[6]分为:轻度(<10分)36例,中重度(≥ 10 分)52例。选取85例同期在本院行健康体检者作为对照组,男51例,女34例,平均年龄(36.28 \pm 6.10)岁,入选者身体健康,无银屑病或其他影响本研究疾病。两组一般资料比较无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

所有入选者在清晨抽取空腹静脉血5 mL,使用离心机离心(3 000 rpm, 12 min, $r = 8$ cm)后保存备用。使用酶联免疫吸附法检测VEGF、S100A12,仪器为美国Bio Tek公司提供的ELX800酶标仪,试剂为上海瑶韵生物科技有限公司提供。使用夹心酶联免疫法检测IFN- γ ,检测仪器由美国贝克曼库尔特公司提供,型号为MULTIKAN ASCENT,试剂为仪器所配套。

1.3 统计学方法

采用SPSS 28.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,两两间比较使用 t 检验,多组间比较使用方差检验;VEGF、IFN- γ 和S100A12与其疾病活动性的相关性使Pearson检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群中VEGF、IFN- γ 和S100A12的表达水平比较

观察组中VEGF、IFN- γ 和S100A12的表达水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 不同人群中 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in different populations ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)	S100A12(ng/mL)
对照组	85	180.23 \pm 22.23	188.23 \pm 12.12	71.26 \pm 6.19
观察组	88	275.57 \pm 22.16	251.47 \pm 12.47	171.61 \pm 10.42
t 值		28.246	18.735	76.673
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同病情程度患者中 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平比较

轻度组中 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平明显低于中重度组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表2 不同病情程度患者中 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in patients with different disease levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)	S100A12(ng/mL)
轻度组	36	200.98 \pm 23.24	199.44 \pm 10.63	156.23 \pm 10.87
中重度组	52	327.21 \pm 23.16	287.49 \pm 10.88	182.26 \pm 10.77
t 值		25.102	37.675	11.105
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 疾病不同时期患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平比较

不同时期寻常型银屑病患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平: 进行期 > 静止期 > 退行期, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表3 疾病不同时期患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the expression levels of VEGF, IFN- γ and S100A12 in patients at different stages of the disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)	S100A12(ng/mL)
进行期	31	381.56 \pm 24.20	287.25 \pm 12.66	201.32 \pm 13.51
静止期	28	235.20 \pm 23.47 ^a	241.26 \pm 10.47 ^a	179.56 \pm 12.57 ^a
退行期	29	201.26 \pm 20.88 ^{ab}	223.11 \pm 10.22 ^{ab}	132.20 \pm 10.42 ^{ab}
F 值		527.35	262.05	246.72
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与进行期比较, ^a $P < 0.05$; 与进展期比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.4 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与 PASI 评分相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示, VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与 PASI 评分均为正相关 ($r = 0.511, r = 0.675, r = 0.431, P$ 均 < 0.05)。见图 1。

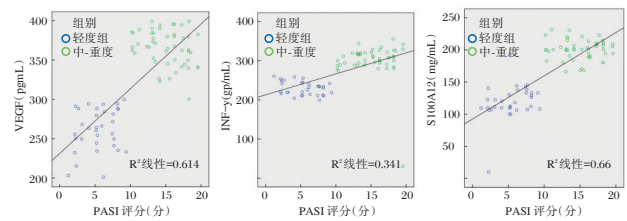


图1 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与 PASI 评分相关性散点图

Figure 1 Scatter plot of the correlation between VEGF, IFN- γ and S100A12 and PASI score

3 讨论

寻常型银屑病常在头皮、躯干、四肢出现覆有较厚鳞屑的大片红色斑块, 刮除鳞屑后可见淡红色薄膜和点状出血^[7]。临床中常将此病分为进行期、静止期、退行期, 此病对患者日常生活造成了严重的不良影响^[8]。探究寻常型银屑病的相关影响因素, 可有助于临床采取针对性的治疗措施, 对其临床治疗意义重大。

VEGF 在角质形成细胞中产生, 作为促血管生成因子, 可直接作用于内皮细胞上的 VEGF 受体, 从而激活酪氨酸激酶, 促进血管内皮细胞增生, 并参与血管的迁移和新生^[9]。VEGF 可趋化炎症细胞、内皮细胞, 促进血管新生和炎症进展的关键性因子^[10]。目前临床中已有相关数据表明 VEGF 抑制剂对银屑病有潜在的治疗作用, 但仍需深入推广研究^[11]。多数学者认为银屑病发病与 T 细胞活化密切相关^[12]。

IFN- γ 由活化的 T 细胞和天然杀伤细胞产生, 可促进炎症细胞浸润以及表皮细胞增殖, 促使角质细胞形成, 释放出白介素 6 (Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor, TNF- α)、白介素 8 (Interleukin-8, IL-8) 因子, 导致 T 细胞活化效应, 使得银屑病在一定时期内出现进行性发展^[13]。有研究显示, IFN- γ 与银屑病皮损中 KC 异常增生以及炎症细胞浸润有密切关系, 对患者病情活动程度评估具有一定的参考价值^[14]。同时也有研究发现, IFN- γ 在寻常型银屑病患者不同时期中表达存在差异, 与本研究结果相似^[15]。

S100A12 基因位于染色体 1q21 的 S100 基因簇上, 属于重要的促炎性因子, 在中性粒细胞、单核细胞、平滑肌细胞等细胞中表达。以往研究发现, S100A12 的促炎效应与趋化活性、细胞内信号级联反应有关, 可促进各类细胞因子产生, 从而引起机

体氧化应激反应^[16]。也有研究发现,S100A12通过与细胞的表面受体 RAGE 结合发生活化细胞因子样效应,从而激活细胞内核转录因子 KB,促进 TNF- α 、白细胞介素、血管粘附因子、细胞间黏附分子-1 的分泌与表达,对角质层细胞造成刺激;趋化 T 细胞在患者表皮内聚集,使血管通透性降低,导致白细胞或其他炎症细胞大量聚集,加重患者皮肤炎症反应^[17]。

本研究发现,观察组患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 表达水平明显高于对照组,且随着银屑病患者 PASI 评分加重 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 表达水平也随之增加,进行期患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 表达水平也明显高于静止期和退行期。VEGF、IFN- γ 和 S100A12 三者表达水平与患者 PASI 评分均为正相关提示 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与银屑病之间关系密切,可为患者病情评估提供参考。

综上所述,VEGF、IFN- γ 和 S100A12 与寻常型银屑病发生、发展密切相关,监测三者水平变化可评估患者疾病严重程度,同时可为临床治疗寻常型银屑病提供新思路。

参考文献

- [1] 陈怡,朱颜俊,树瑜. TPG 对 HaCaT 细胞增殖、凋亡、细胞周期及 miR-320/RASA1 表达的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9): 1246-1250.
- [2] 殷洪敏,黄敏. 血清 VEGF、PDGF-BB、CTGF 水平与肝硬化患者肝功能分级的关系[J]. 热带医学杂志, 2020, 20(7): 954-958+976.
- [3] 丁文,赵西博. 紫丹银屑胶囊联合窄谱中波紫外线治疗寻常型银屑病疗效及对 VEGF 水平、PASI 评分的影响[J]. 中国中西医结合皮肤性病学期刊, 2019, 18(6): 76-79.
- [4] 常菁华,王剑颺. 银屑病代谢综合征患者 TNF 抑制剂治疗前后生化指标的变化[J]. 检验医学, 2019, 34(6): 530-533.
- [5] 赵辨. 中国临床皮肤病学[M]. 江苏:江苏科学技术出版社, 2010.
- [6] 乔菊,高祎濛,李峰,等. 银屑病患者外周血 TNF- α 、IL-17A、IL-23、IL-36 γ 表达水平及临床意义[J]. 中国皮肤性病学期刊, 2019, 33(3): 36-40.
- [7] 何斌,林中方. 走罐法对寻常型银屑病血瘀证患者血清肿瘤坏死因子 α 和血管内皮生长因子水平的影响及其临床疗效分析[J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(1): 64-68.
- [8] 周少珠,何炜蔓,程贞,等. 血清钙结合蛋白 S100A12、脂联素及 IL-17 与稳定期 COPD 患者严重程度及肺功能的相关性[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(21): 56-60.
- [9] 陈萍,李丽,李玉蕊. 走罐疗法治疗寻常型银屑病血瘀证的疗效及对血清 TNF- α 和 VEGF 水平的影响[J]. 中医药信息, 2019, 36(2): 88-91.
- [10] Borsky P, Fiala Z, Andrys C, et al. Alarmins HMGB1, IL-33, S100A7, and S100A12 in Psoriasis Vulgaris[J]. Med Inflamm, 2020, 20(12): 1-7.
- [11] 张薇,曾波,王炎,等. 富含半胱氨酸蛋白 61 在寻常型银屑病患者皮损中的表达与作用机制[J]. 西部医学, 2020, 32(2): 118-123.
- [12] 郑锦仁,李静,赵淑珍. 寻常性银屑病患者血清 IL-17 和 IL-22 的水平与皮损面积和严重程度指数的相关性[J]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(2): 157-158.
- [13] Feldman SR, Gomez B, Meng X, et al. Secukinumab Rapidly Improves EQ-5D Health Status in Patients With Psoriasis: Pooled Analysis From Four Phase 3 Trials[J]. J Dermatol Treatm, 2019, 10(3): 1-21.
- [14] 马燕,甄莉,白洁. 复方青黛胶囊对寻常型银屑病患者外周血 Th17 细胞因子及 JAK3 基因表达的影响[J]. 贵州医药, 2019, 43(2): 12-15.
- [15] Berghe N, Keyser ED, Soenen R, et al. Clinical response correlates with 4-week postinjection ustekinumab concentrations in patients with moderate-to-severe psoriasis[J]. Brit J Dermatol, 2020, 182, 14(3): 107-109.
- [16] 苏华振,魏明. 寻常型银屑病皮损中 Notch1 表达及对体外培养 HaCaT 细胞的影响[J]. 中国医药生物技术, 2019, 14(5): 412-420.
- [17] Lada G, Talbot PS, Warren RB, et al. P.322 Depression, suicidality, and inflammation in psoriasis and the role of psoriatic arthritis: a cross-sectional study[J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2021, 44(5): S55-S56.
- [13] 马玲,曾凡业,高昌杰. 老年皮肤恶性黑色素瘤病人基质金属蛋白酶、内皮生长因子及相关血清因子水平分析[J]. 实用老年医学, 2019, 33(11): 1101-1103, 1107.
- [14] Choi JW, Kim YJ, Yun K A, et al. The prognostic significance of VISTA and CD33-positive myeloid cells in cutaneous melanoma and their relationship with PD-1 expression[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 16-20.
- [15] 张鑫鑫,方艳,徐立斌,等. 术前¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖 PET-CT 诊断四肢及躯干皮肤黑色素瘤淋巴结转移的应用价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(5): 372-378.
- [16] 徐宇,朱蕙燕,陈勇,等. 前哨淋巴结活检在中国皮肤和肢端恶性黑色素瘤患者诊治中的临床意义[J]. 中国癌症杂志, 2018, 28(11): 819-826.

(上接第 213 页)

不同麻醉方式对剖宫产产妇母脐血 IMA、IL-2 及 IL-6 水平的影响

王桃^{1*} 赵翠英² 田永凤¹

[摘要] 目的 研究不同麻醉方式对剖宫产产妇母脐血中缺血修饰白蛋白(IMA)、白介素-2(IL-2)、白介素-6(IL-6)水平的影响。方法 选取2019年4月至2021年4月于南阳市卧龙区妇幼保健院进行剖宫产手术的113例产妇,根据不同麻醉方式分为硬腰联合麻醉组($n=63$,硬腰联合麻醉)和全身麻醉组($n=50$,全身麻醉),比较两组麻醉效果、麻醉相关指标(麻醉起效时间、麻醉用药总剂量、清醒时间)、母脐血中 IMA、IL-2、IL-6 水平及不良反应。结果 硬腰联合麻醉组优良率(93.65%)高于全身麻醉组(78.00%),麻醉起效时间、麻醉用药总剂量均少于全身麻醉组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组清醒时间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组母血 IMA、IL-2、IL-6 比较:术中 30 min 患者 IMA、IL-6 升高,且全身麻醉组高于硬腰联合麻醉组,IL-2 下降,且全身麻醉组低于硬腰联合麻醉组,差异具有统计学意义($P<0.05$);两组脐血 IMA、IL-2、IL-6 比较:全身麻醉组 IMA、IL-6 高于硬腰联合麻醉组,IL-2 低于硬腰联合麻醉组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。硬腰联合麻醉组不良反应率(4.76%)低于全身麻醉组(16.00%),差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 不同麻醉方式对剖宫产产妇母脐血中 IMA、IL-2、IL-6 的影响存在一定差异,相比全身麻醉,硬腰联合麻醉效果更为明显,对机体产生的应激反应更小,安全性更高。

[关键词] 麻醉方式;剖宫产;母脐血; IMA; IL-2; IL-6

Effects of different anesthesia methods on the levels of IMA, IL-2 and IL-6 in the cord blood of mothers with cesarean section

WANG Tao^{1*}, ZHAO Cuiying², TIAN Yongfeng¹

(1. Department of Anesthesiology, Maternal and Child Health Hospital of Wolong District, Nanyang, Henan, China, 473000; 2. Department of Anesthesiology, Nanyang Orthopedic Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effects of different anesthesia methods on ischemia modified albumin (IMA), interleukin-2 (IL-2) and interleukin-6 (IL-6) in maternal cord blood of cesarean section women. **Methods** A total of 113 puerperae who underwent cesarean section at the Maternal and Child Health Hospital of Wolong District, Nanyang City from April 2019 to April 2021 were selected. According to different anesthesia methods, they were divided into the study group ($n=63$, Combined spinal-epidural anesthesia) and the control group ($n=50$, general anesthesia), anesthesia effect, anesthesia-related indicators [including anesthesia onset time, total anesthetic dose, awake time], IMA, IL-2, IL-6 levels in maternal cord blood and adverse reactions of the two groups were compared. **Results** The excellent and good rate in the study group (93.65%) was significantly higher than that in the control group (78.00%), the onset time of anesthesia, and the total dose of anesthesia drugs were all lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the awake time between the two groups ($P>0.05$). Comparison of maternal blood IMA, IL-2, and IL-6 between the two groups: IMA and IL-6 increased in the 30

基金项目:河南省中医药科学研究项目(2019ZY3026)

作者单位:1. 南阳市卧龙区妇幼保健院麻醉科,河南,南阳 473000

2. 南阳市骨科医院麻醉科,河南,南阳 473000

*通信作者:王桃, E-mail: wt615254@126.com

min intraoperative patients, and the general anesthesia group was higher than the epidural anesthesia group, IL-2 decreased, and the general anesthesia group was lower. In the epidural anesthesia group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The adverse reaction rate in the epidural anesthesia group (4.76%) was lower than that in the general anesthesia group (16.00%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$).

Conclusion There are certain differences in the effects of different anesthesia methods on IMA, IL-2, and IL-6 in maternal cord blood of cesarean section women, compared with general anesthesia, the combined spinal-epidural anesthesia is more obvious and the stress response to the body is less and higher security.

[KEY WORDS] Anesthesia; Cesarean section; Maternal cord blood; IMA; IL-2; IL-6

麻醉是一种通过药物或其他方法使得患者整体或局部暂时失去感觉以达到无痛治疗的方式,为临床手术等治疗提供了基础条件^[1]。目前,临床上最常用的麻醉方式主要有全身麻醉及硬腰联合麻醉两种^[2]。近年来,由于胎儿窘迫、胎位不正等原因,产妇容易出现难产等情况,对母体及胎儿造成了严重影响,剖宫产是临床上解决难产的有效措施和常规手术^[3-4]。而手术过程中麻醉方式的选择是否会给新生儿及产妇造成影响,一直是医疗界和家属极为关注的问题。有学者发现,全身麻醉下患者的生命体征波动幅度较大,会有较强的应激反应,而硬腰联合麻醉下患者的生命体征相对稳定,机体应激反应较轻^[5]。缺血修饰白蛋白(Ischemia modified albumin, IMA)是一个能够反应机体缺氧状态的敏感指标,新生儿或产妇处于缺氧状态时 IMA 水平上升;白介素-2 (Interleukin-2, IL-2)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 是重要的炎性应激指标,手术创伤可引起明显的应激反应,导致 IL-6、IL-2 出现异常上升或下降^[6]。本研究主要分析不同麻醉方式对剖宫产产妇母脐血中 IMA、IL-2、IL-6 水平的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 4 月至 2021 年 4 月于南阳市卧龙区妇幼保健院进行剖宫产手术的 113 例产妇,根据不同麻醉方式分为硬腰联合麻醉组($n=63$,硬腰联合麻醉)和全身麻醉组($n=50$,全身麻醉),其中硬腰联合麻醉组产妇平均年龄(30.47 ± 5.79)岁;平均孕周(37.95 ± 1.23)w。全身麻醉组产妇平均年龄(29.47 ± 5.68)岁;平均孕周(38.24 ± 1.18)w。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①所有产妇年龄均 ≥ 18 岁;②病历资料完整无缺损;③均为剖宫产产妇;④患者及家属均知晓本次研究内容并签字同意。排除标准:①合并凝血功能异常或有出血倾向疾病的产妇;

②合并妊娠期糖尿病的产妇;③有肝肾等严重脏器功能异常者;④存在免疫功能缺陷或感染疾病者;⑤合并精神疾病者;⑥有手术禁忌症者。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 麻醉方式

两组均在术前常规禁食禁饮,进入手术室予以面罩给氧,密切关注患者生命体征以及血氧饱和度变化,待患者生命体征平稳后行麻醉。

全身麻醉组产妇予以全身麻醉:①麻醉诱导:静脉注射瑞芬太尼(生产厂家:江苏恩华药业股份有限公司;批准文号:国药准字 H20143314;规格:1 mg/瓶)1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,注意注射时间需 ≥ 1 min,完成注射瑞芬太尼 30 s 后再依次注射异丙酚(生产厂家:西安力邦制药有限公司;批准文号:国药准字 X19990281;规格:10 mL/瓶)1.5 mg/kg、阿曲库铵(生产厂家:江苏恒瑞医药股份有限公司;批准文号:国药准字 H20171002;规格:25 mg/支)0.6 mg/kg。诱导充分时行气管插管。②麻醉维持:静脉注射瑞芬太尼 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 及异丙酚 4 mg/kg/h,间断静脉注射阿曲库铵 0.3 mg/kg。

硬腰联合麻醉组产妇予以硬腰联合麻醉:产妇取侧卧位,选产妇 L2~L3 椎间隙为硬膜外穿刺点,常规给予消毒使用 18 号硬膜外穿刺针进行穿刺,穿刺成功后向头侧置 3 cm,缓慢注入 0.5% 布比卡因(生产厂家:湖南正清制药集团股份有限公司;批准文号:国药准字 H43021020;规格:25 mg/支)10 mg,将腰麻针退出,往头端置入 3~5 cm 的硬腰联合导管,以备术中追加局部麻醉药物,术中将根据麻醉平面控制在 T6 以下。

1.3 标本采集

①母血采集:于剖宫产前待产妇禁食 8 h 后和术中 30 min 分别抽取受试者外周静脉血 3 mL,抽血后将标本使用 EDTA- Na_2 抗凝处理后 3 000 r/min 离心 15 min (离心半径 8 cm),取上清液备用;②脐带血采集:待胎儿娩出后夹闭脐带后抽取脐带血

3 mL, 抽血后将标本使用乙二胺四乙酸钠抗凝处理后置于 3 000 r/min 的离心机(半径 8 cm)离心 15 min, 取上清液备用。

1.4 观察指标

1.4.1 麻醉效果^[7]

①优:麻醉后患者腹部肌肉松软,无不适症状、术中及术后无尿潴留等不良事件发生;②良:麻醉后患者腹部肌肉较松软,有轻微不适症状;③差:麻醉后患者疼痛较明显,手术需辅助其他药物进行。总优良率=[(优+良)/总例数]×100%。

1.4.2 麻醉相关指标

麻醉相关指标包括麻醉起效时间、麻醉用药总剂量、清醒时间。

1.4.3 IMA、IL-2、IL-6 水平

采用酶联免疫吸附法检测产妇母脐血中的 IMA、IL-2、IL-6 水平,试剂盒购自欣博盛生物科技有限公司。

1.4.4 不良反应

不良反应包括低血压、心动过缓、尿潴留、大小便失禁等。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示计量资料,采用 *t* 检验;以 $n(\%)$ 表示计数资料,采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组麻醉效果比较

硬腰联合麻醉组临床总优良率显著高于全身麻醉组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组麻醉相关指标比较

两组清醒时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);硬腰联合麻醉组麻醉起效时间、麻醉用药总剂量均少于全身麻醉组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组麻醉效果比较 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	优	良	差	总优良率
硬腰联合麻醉组	63	45(71.43)	14(22.22)	4(6.35)	59(93.65)
全身麻醉组	50	21(42.00)	18(36.00)	11(22.00)	39(78.00)
χ^2 值					5.931
<i>P</i> 值					0.015

表 2 两组麻醉相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	麻醉起效时间(min)	麻醉用药总剂量(mg)	清醒时间(h)
硬腰联合麻醉组	63	1.91±0.83	7.36±1.63	2.35±1.01
全身麻醉组	50	6.37±1.15	12.81±4.59	2.31±1.53
<i>t</i> 值		23.927	8.762	0.167
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.868

2.3 两组 IMA、IL-2、IL-6 水平比较

术前两组母血 IMA、IL-2、IL-6 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);术中 30 min 患者 IMA、IL-6 水平升高,且全身麻醉组高于硬腰联合麻醉组,IL-2 水平下降,且全身麻醉组低于硬腰联合麻醉组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组脐血 IMA、IL-2、IL-6 水平比较:全身麻醉组 IMA、IL-6 水平高于硬腰联合麻醉组,IL-2 水平低于硬腰联合麻醉组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3~4。

2.4 两组不良反应情况比较

硬腰联合麻醉组不良反应率(4.76%)明显低于全身麻醉组(16.00%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

近年来,我国剖宫产率明显升高,麻醉是保证母婴安全并满足手术要求的重要条件^[8-9]。在临床中,剖宫产手术的进行时间短,全程约 30 min 左右,麻醉需要达到迅速、止痛效果确切、及时良好

表 3 两组母血 IMA、IL-2、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IMA(ng/mL)		IL-2(pg/mL)		IL-6(pg/mL)	
		术前	术中 30 min	术前	术中 30 min	术前	术中 30 min
硬腰联合麻醉组	63	3.88±0.75	4.11±0.54 ^a	304.51±20.95	260.15±8.15 ^a	398.48±45.15	609.87±82.51 ^a
全身麻醉组	50	3.76±0.67	4.87±0.62 ^a	299.89±21.47	224.65±7.48 ^a	388.59±39.74	715.51±80.76 ^a
<i>t</i> 值		0.885	6.958	1.152	23.842	1.219	6.823
<i>P</i> 值		0.378	<0.001	0.252	<0.001	0.226	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组脐血 IMA、IL-2、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of cord blood IMA, IL-2 and IL-6 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IMA (ng/mL)	IL-2 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
硬腰联合麻醉组	63	3.21±0.69	357.36±9.63	412.35±45.01
全身麻醉组	50	3.98±0.77	326.81±9.59	538.31±48.53
t 值		5.597	16.780	14.272
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表5 两组不良反应情况比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of adverse reactions between 2 groups [n(%)]

组别	n	低血压	心动 过缓	尿潴留	大小便 失禁	不良 反应率
硬腰联合麻醉组	63	1(1.59)	1(1.59)	0(0.00)	1(1.59)	3(4.76)
全身麻醉组	50	3(6.00)	2(4.00)	1(2.00)	3(6.00)	8(16.00)
χ^2 值						4.007
P 值						0.045

松弛患者肌肉的效果^[10]。相关研究指出,麻醉处理及药物均直接作用于胎儿和产妇,分娩中的麻醉镇痛效果能够有效抑制患者的应激反应,促进孕妇胎盘的供氧及血流量^[11-12]。因此,临床上对麻醉处理及药物的选择具有颇高的要求。

据国外相关文献报道,多数患者在手术时受到创伤,机体免疫功能明显抑制,从而出现 IL-2 水平下降等情况^[13]。机体在发生促炎性应答的同时,也存在着抗炎性应答以维持细胞因子平衡,从而限制促炎性应答产生过度损伤,术后患者的 IL-6 水平会出现异常升高^[14-15]。IMA 是近年发现的人血清白蛋白代谢产物,与人机体中的白蛋白为负相关,机体发生缺血缺氧时 IMA 呈现上升趋势,能够反映体内早期的氧化应激程度,是早期心肌缺血、缺氧的敏感指标^[16-17]。也有研究发现在孕妇妊娠早期 IMA 的表达会增强,推测与孕妇的生理性氧化应激具有一定联系^[18]。

本研究结果显示,术中 30 min 两组患者母血 IMA、IL-6 水平升高,且全身麻醉组高于硬腰联合麻醉组,IL-2 水平下降,且全身麻醉组低于硬腰联合麻醉组;两组脐血 IMA、IL-2、IL-6 水平比较结果中,全身麻醉组 IMA、IL-6 水平高于硬腰联合麻醉组,IL-2 水平低于硬腰联合麻醉组。这一结果说明了较全身麻醉,硬腰联合麻醉可以减轻患者的应激反应,在一定程度上对患者的免疫功能进行调节,对 IMA、IL-2、IL-6 水平影响较小。进一步研究发现,硬腰联合麻醉组的麻醉效果明显优于全身麻醉组,考虑与全身麻醉下机体氧化应激反应强

有关。采用硬腰联合麻醉在一定程度上可促进药物起效时间并减少药物使用总剂量,在肌肉充分松弛的情况下,对产妇呼吸循环影响小,具有起效快、可靠性强、可控性强、阻滞完善等优点。本文中,硬腰联合麻醉组麻醉起效时间、麻醉用药总剂量均少于全身麻醉组,但在麻醉相关指标比较中,两组清醒时间比较差异无统计学意义,这一结果与国外相关文献报道相符合^[19-20]。且硬腰联合麻醉手术产妇术后的不良反应发生情况要低于全身麻醉,说明其具有较高安全性。

综上所述,不同麻醉方式对剖宫产产妇母血中 IMA、IL-2、IL-6 水平的影响存在一定差异,相比全身麻醉,硬腰联合麻醉的麻醉效果更为明显,起效时间更快,并且对患者机体产生的应激反应更小,具有一定安全性,值得在临床上推广使用。

参考文献

- [1] 丰陈. 不同麻醉方式治疗高危剖宫产产妇的疗效观察[J]. 中国性科学, 2019, 28(12): 52-55.
- [2] Annkatrin R, Christoph A, Karl B, et al. Analysis of different types of anesthesia in descemet membrane endothelial keratoplasty[J]. *Internat Ophthalmol*, 2020, 40(1): 541-545.
- [3] 包特博沁, 牛玲霞, 聂冰清, 等. 不同麻醉方式对合并前置胎盘伴植入二胎剖宫产母婴结局的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 38(11): 1367-1370.
- [4] 作晓峰, 王冉, 李宛玲. 剖宫产产妇术后感染患者血清 TNF- α 、PCT、IL-1 β 水平的变化及其意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(4): 507-510.
- [5] Takahiko K, Tetsuro K, Eri U, et al. Association between the choice of anesthesia method and reactivity to chemotherapy in children with acute lymphocytic leukemia: a preliminary retrospective cohort study[J]. *JA Clin Rep*, 2019, 5(1): 1-3.
- [6] 贺端端, 张华, 张江超, 等. 不同麻醉方案椎管内麻醉用于剖宫产手术的比较研究[J]. *中国微创外科杂志*, 2020, 20(1): 4-9.
- [7] 张玉洁, 祁志荣, 张雪英. 不同麻醉方式下经阴道分娩或剖宫产产后早期母乳喂养效果观察[J]. *中国医刊*, 2019, 54(8): 890-892.
- [8] 贾爱, 罗启鹏, 李轶楠, 等. 快通道麻醉对法洛四联症根治术患儿围术期康复的影响[J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2020, 20(2): 3281-3285.
- [9] Viktor Z K, Laszlo H. Surgical management of cauda syndrome in third trimester of pregnancy focusing on spinal anesthesia and right lateral positioning during surgery as possible practices[J]. *Eur Spine J*, 2018, 27(3): 483-488.
- [10] 顾振华, 张治萍, 曹瑞谨. 不同麻醉方法在妊娠期糖尿病产妇行剖宫产手术中的麻醉效果比较[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(9): 1192-1195.

(下转第 227 页)

MiR-206 调控 DDX3X 促进胰腺癌不良预后及其机制的分析

段怡平¹ 陈梁玥¹ 朱翠雯¹ 马甜甜¹ 李东旭¹ 柳家翠¹ 赵允畅² 朱光庭² 喻明霞^{1*}

[摘要] 目的 研究 *miR-206* 在胰腺癌(PAAD)中表达和关键靶基因预测,分析靶基因 *DDX3X* 在 PAAD 中表达及突变与预后的关系,研究其在 PAAD 恶性进展中的分子机制。方法 利用 TCGA 公共数据集进行生物信息学分析,比较 *miR-206* 在 PAAD 样本和正常样本的表达差异。通过 starBase、TargetScan 和 miRDB 在线数据库对 PAAD 中 *miR-206* 的靶基因进行预测,并用韦恩图整合了重叠基因。PPI 分析获得评分最高模块的基因,确定关键候选靶基因。利用卡方检验分析 *DDX3X* 与患者肿瘤远处转移的关系。通过 Kaplan-Meier 法分析 *DDX3X* 在 PAAD 中的预后价值。利用 KEGG 和 GO 分析探索 *DDX3X* 参与的分子通路。结果 与正常组织比较,*miR-206* 在 PAAD 组织表达下调,差异有统计学意义($P<0.05$); 筛选出 369 个基因作为 *miR-206* 的潜在靶标;PPI 评分最高模块中的 14 个靶基因作为 *miR-206* 在 PAAD 起关键调控作用的候选基因;靶基因 *DDX3X* 在 PAAD 的突变率为 1.1%,与患者不良预后的高风险有关。*DDX3X* 在 PAAD 组织中表达显著上调,差异有统计学意义($P<0.05$),且 *DDX3X* 高表达与 PAAD 患者差的总体生存率相关($HR=1.6, P<0.05$);*DDX3X* 与远处转移显著相关($P<0.05$);*DDX3X* 高表达与较差的 OS 有关($HR=1.61, 95\% CI: 1.05\sim 2.48, Logrank P<0.05$)。靶基因 *DDX3X* 的 GO 分析发现其可能在蛋白磷酸化、核斑点和转录共激活因子活性等中发挥重要作用;在 KEGG 数据集中,对靶基因 *DDX3X* 显著富集的信号通路分析预测,其主要参与了细胞周期、胰腺癌和调节干细胞多能性、TGF- β 、FoxO、MAPK 等信号通路的调控,大多与肿瘤相关信号通路有关($P<0.05$)。结论 *MiR-206* 的低表达水平使 *DDX3X* 在 PAAD 中显著上调,可通过多条分子通路调控 PAAD 的发生发展,*DDX3X* 可作为 PAAD 潜在的新型标志物。

[关键词] 胰腺癌; *MiR-206*; TCGA; 预后; *DDX3X*

MiR-206 regulates *DDX3X* to promote poor prognosis of pancreatic cancer

DUAN Yiping¹, CHEN Liangyue¹, ZHU Cuiwen¹, MA Tiantian¹, LI Dongxu¹, LIU Jiacui¹, ZHAO Yunchang², ZHU Guangting², YU Mingxia^{1*}

(1. Department of Laboratory Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. Second Clinical College, Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** To study the expression of *miR-206* and the prediction of the target genes in pancreatic carcinoma (PAAD), analyze the relationship between the expression and mutation of target gene *DDX3X* in PAAD and prognosis, and study the molecular mechanism of *miR-206* in the malignant progression

基金项目:国家自然科学基金(81472033);湖北省医学青年后备人才(青年拔尖人才)(HB20200409);湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019M203);武汉市应用基础研究(2017060201010171);湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H0028);武汉大学医学部教学研究项目(No.2020048);武汉大学中南医院转化医学及交叉学科研究联合基金资助项目(ZNJC202010);武汉大学中南医院科技创新培育基金(cxy2019051、cxy2018031);武汉大学大学生创新项目(202110486085、W2021303003、W2020303005、W2020301001、MS2017045、S2018301747)

作者单位:1. 武汉大学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

2. 武汉大学第二临床学院,湖北,武汉 430071

*通信作者:喻明霞, E-mail: dewrosy520@163.com

of PAAD. **Methods** Bioinformatics analysis was performed using the TCGA public data set to compare the expression differences of *miR-206* in PAAD samples and normal samples. Target genes of *miR-206* in PAAD were predicted by starBase, TargetScan and miRDB online databases, and overlapping genes were integrated with the Venn diagram. PPI analysis was performed to obtain the genes with the highest scoring modules and identify key candidate target genes. The Chi-square test was used to analyze the relationship between *DDX3X* and distant metastasis. The prognosis value of *DDX3X* in PAAD was analyzed by the Kaplan-Meier method. Molecular pathways involved in *DDX3X* were explored using KEGG and GO analysis. **Results** Compared with normal tissues, the expression of *miR-206* was down-regulated in PAAD tissues, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). 369 genes were screened as potential targets of *miR-206*. 14 target genes in the module with the highest PPI score were selected as candidate genes for *miR-206* to play a regulatory role in PAAD. The mutation rate of the target gene *DDX3X* in PAAD was 1.1%, which was associated with a high risk of poor outcome. The expression level in PAAD samples was significantly increased ($P<0.05$) and correlated with poor overall survival (OS) (HR=1.6, $P<0.05$) and distant metastasis ($P<0.05$), which can be used as a *miR-206* novel targets with regulatory roles in PAAD. The GO analysis of the target gene *DDX3X* revealed that it may play an important role in protein phosphorylation, nuclear speckle and transcriptional coactivator activity. The results of KEGG analysis suggest that *DDX3X* may be involved in cell cycle, pancreatic cancer, regulation of stem cell pluripotency, TGF- β , FoxO, MAPK, and other signaling pathways, and affect the progression of PAAD patients. **Conclusion** The low expression of *miR-206* significantly up-regulated *DDX3X* level in PAAD, which can regulate the occurrence and development of PAAD through multiple molecular pathways, and *DDX3X* can be used as a potential novel marker of PAAD.

[KEY WORDS] PAAD; *MiR-206*; TCGA; Prognosis; *DDX3X*

胰腺癌(Pancreatic adenocarcinoma, PAAD)作为恶性程度很高的肿瘤之一,死亡率位居我国肿瘤的前10位,PAAD的发病仍在逐年增加,存活率在所有肿瘤中最低,仅为9%^[1-2]。对于那些肿瘤仅局限于胰腺的患者来说,生存率更高,因为目前手术切除是唯一的治愈机会。然而80%~85%的患者表现为不可切除的晚期肿瘤。此外,PAAD对大多数化疗药物反应很差,因此PAAD患者的预后很差^[3]。PAAD的发病机制尚未阐明,深入研究对改善PAAD的预后具有重要意义。MicroRNAs(miRNAs)是一个小非编码RNAs家族,大约有22个核苷酸,可以通过沉默多个mRNA并在转录后调节各种癌基因或肿瘤抑制基因的表达来发挥其作用^[4]。miRNA生物发生相关因子的缺失表达或突变可能导致miRNA加工、稳定性和靶向性的改变,它们通过控制肿瘤抑制基因和癌基因的表达在肿瘤中发挥作用^[5]。骨髓间充质干细胞来源的外泌体中*miR-206*可以通过靶向*TRA2B*转移到骨肉瘤细胞中,抑制肿瘤进展^[6]。*MiR-206*在非小细胞肺癌中低表达,抑制了A549细胞系的增殖、迁移和入侵^[7]。*MiR-206*在PAAD中参与了转录因子-miRNA-mRNA调节和长非编码RNA-miRNA-mRNA调控网络,抑制肿瘤细胞的功能^[8]。PAAD

细胞中*miR-206*的重新表达足以抑制肿瘤血管和淋巴管的形成,从而导致肿瘤生长和进展的显著延迟^[9]。本研究基于TCGA和生物信息学分析,探讨*miR-206*及其靶基因*DDX3X*在PAAD中的表达和预后价值,以及预测其可能的分子机制。

1 资料与方法

1.1 来自TCGA数据库资料的预处理

TCGA是一个包含有30多种人类肿瘤大量研究结果的高通量数据库,通过TCGA数据库在线分析工具(<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/web/GEDS/>),获得了来自TCGA数据库多种类型的人类肿瘤组织和邻近正常组织的*miR-206*表达谱,包括PAAD等。

1.2 *MiR-206*靶基因预测及数据筛选

*MiR-206*的靶向基因通过3个在线数据库同时进行预测,包括starBase在线数据库(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)、TargetScan(<http://www.targetscan.org/>)和miRDB(<http://www.mirdb.org/>)数据库。为了提高预测结果的准确性,研究选择在3个数据库中都重叠的靶基因。用韦恩图(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)对来自3个预测软件的靶基因进行整合。

1.3 重叠靶基因 PPI 分析鉴定 PAAD 关键候选基因

利用基因的相互作用搜索工具 STRING (<https://string-db.org/>)进行检索并下载基因互作数据文件。此外, Cytoscape 的 MCODE 插件(<http://www.cytoscape.org/>)用于对 *miR-206* 的互作节点 ≥ 3 的 258 个重叠靶基因进行 PPI 分析, 选取打分最高模块中的节点基因作为关键候选基因。

1.4 关键候选靶基因的突变和预后分析

在线数据库 cBioPortal (<http://www.cbioportal.org/>)提供了来自 TCGA 数据库的癌症基因组学资源, 使用 cBioPortal 查询 PPI 获得的 PAAD 关键 hub 基因的突变情况。用 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析 *miR-206* 的 14 个靶基因在 PAAD 的预后价值。

1.5 靶基因 *DDX3X* 在 PAAD 中的表达、预后和临床病理特征的相关性分析

根据 PPI 分析所获取的 PAAD 中关键 hub 基因的突变情况, 研究使用 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析基因 *DDX3X* 的表达和预后意义。利用 TNMplot 在线数据库(<https://tnmplot.com/analysis/>)验证 *DDX3X* 的表达结果, 同时分析 *DDX3X* 表达与远处转移的相关性。Kaplan-Meier Plotter 数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)用于验证 *DDX3X* 的生存分析结果。

1.6 靶基因 *DDX3X* 的 GO 分析

为进一步揭示靶基因 *DDX3X* 在 PAAD 中发挥的生物功能, 利用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>)对在 PAAD 中与 *DDX3X* 作用相似度 $>75\%$ 的 165 个基因进行基因本体(GO)富集分析。根据基因富集数量 ≥ 10 , 且基因富集倍数(Fold Enrichment) >2 , 筛选出前 10 个生物学功能作表格。

1.7 靶基因 *DDX3X* 的信号通路富集分析

在 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)下载靶基因 *DDX3X* 信号通路富集的数据, 利用 Excel 对数据进行整理。同时, 使用 R 语言中的 clusterProfiler 包对 *DDX3X* 基因富集进行分析。

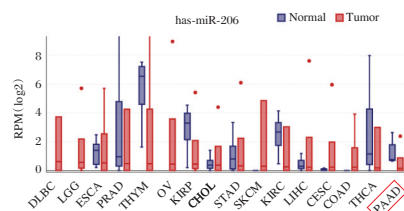
1.8 统计学分析

使用 R 4.1.1 软件进行统计学分析; 使用 Mann-Whitney U 检验分析 *DDX3X* 在 PAAD 样本和正常组织样本中的表达差异; 将 PAAD 患者的远处转移等临床指标进行量化赋值, 生存分析采用 Kaplan-Meier 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *MiR-206* 在 PAAD 组织中的表达

MiR-206 的表达谱显示它在一些人类肿瘤中过表达, 如肝癌和结直肠癌等, 即 *miR-206* 在癌组织中的表达高于邻近的正常组织。同时, *miR-206* 对部分癌症又具有抑癌作用, 其中就包括有 PAAD, 与正常组织比较, *miR-206* 在 PAAD 组织表达下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。



注: 来自 TCGA 数据库的 *miR-206* 的表达谱, 与正常组织比较, *miR-206* 在 PAAD 组织表达下调, 图中标有红色框线的为本文研究的肿瘤类型。

图 1 *MiR-206* 在人类肿瘤中的表达分析

Figure 1 The expression of *miR-206* in human tumors

2.2 *MiR-206* 目标基因预测及数据筛选

StarBase 预测数据库共鉴定出 1 100 个目标基因, TargetScan 在线数据库和 miRDB 数据库分别分析预测了 199 个靶基因和 291 个靶基因。在三个不同的预测软件中, 共有 1 590 个基因被预测为 *miR-206* 的靶向基因。同时在 3 个数据库 (starBase、TargetScan 和 miRDB) 被分析为目标基因的重叠部分共 369 个基因, 被确定作为 *miR-206* 的潜在靶标。见图 2。

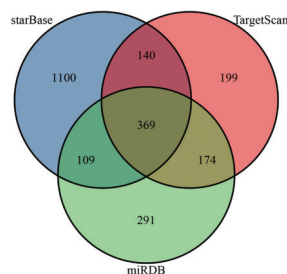


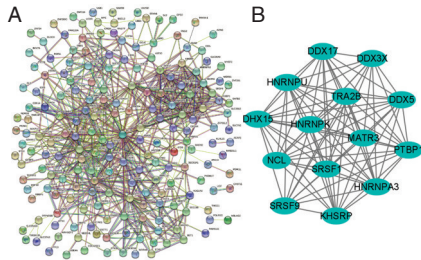
图 2 来自 3 个预测软件的预测目标基因之间整合的维恩图

Figure 2 Venn diagram of integration between predicted target genes from 3 prediction databases

2.3 重叠靶基因 PPI 分析鉴定 PAAD 关键候选基因

MiR-206 的 369 个潜在靶基因在 STRING 和 Cytoscape MCODE 构建 PPI 网络分析, 见图 3A。PPI 评分最高的模块包含 14 个关键节点基因, 14

个靶基因分别是 *SRSF1*、*SRSF9*、*NCL*、*HNRNPK*、*TRA2B*、*DDX17*、*HNRNPA3*、*MATR3*、*DDX3X*、*DHX15*、*KHSRP*、*DDX5*、*PTBP1*、*HNRNPU*。见图3B。



注:A为在STRING数据库中,258个靶基因的PPI分析结果;B为PPI网络中评分最高模块的14个目标基因。

图3 重叠靶基因蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析
Figure 3 Protein-protein interaction (PPI) network analysis of overlapping target genes

2.4 MiR-206在PAAD中最重要14个节点基因的突变

来自cBioPortal数据库的结果显示,最关键的14个候选基因中有5个基因在PAAD中的突变率较高,其中靶基因*DDX3X*的突变率为1.1%,见图4A。此外,对14个候选基因在PAAD中的预后价值进行了评估,结果显示靶基因*DDX3X*与PAAD患者不良预后的高风险有关,见图4B。



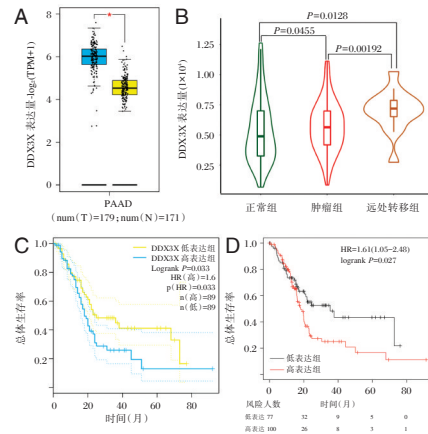
注:A为在cBioPortal数据库中,14个关键靶基因在PAAD的突变情况;B为14的关键候选基因在PAAD的OS。

图4 关键候选靶基因的突变和预后意分析
Figure 4 Mutations and prognosis intent analysis of key candidate target genes

2.5 靶基因*DDX3X*在PAAD中的表达、预后和临床病理特征的相关性分析

GEPIA数据库分析结果显示,*DDX3X*在PAAD组织中表达显著上调,差异有统计学意义($P < 0.05$),且*DDX3X*高表达与PAAD患者差的总体生存率相关($HR=1.6, P < 0.05$),见图5A、图5C。TNMplot在线数据库验证了*DDX3X*与远处转移显著相关($P < 0.05$),见图5B。Kaplan Meier-plotter在线数据库分

析结果显示*DDX3X*高表达与较差的OS有关($HR=1.61, 95\% CI: 1.05 \sim 2.48, Logrank P < 0.05$),见图5D。



注:A为GEPIA数据库,*DDX3X*在PAAD高表达;B为在TNMplot数据库中,*DDX3X*高表达与PAAD患者远处转移有关;C为GEPIA数据库,*DDX3X*在PAAD的OS;D为Kaplan-Meier Plotter数据库*DDX3X*表达与PAAD患者的OS有关。

图5 MiR-206关键靶基因*DDX3X*在PAAD中的表达和预后意义

Figure 5 The expression and prognosis of the key target gene *DDX3X* of miR-206 in PAAD

2.6 靶基因*DDX3X*在PAAD中的GO分析

在DAVID数据库中,对靶基因*DDX3X*的GO分析发现其在PAAD发生发展过程中发挥重要作用。在生物学过程(Biological process, BP)方面,主要在蛋白磷酸化和DNA诱导型的转录正向调节过程显著富集;在细胞组成(Cellular component, CC)上,重叠目标基因参与了核斑点和核质等组成成分的调控;潜在靶基因*DDX3X*在转录共激活因子活性、连接酶活性、泛素-蛋白转移酶活性、染色质结合、RNA结合和多聚(A)RNA结合等分子功能(Molecular function, MF)中发挥重要作用。见表1。

2.7 关键靶基因*DDX3X*在PAAD中的信号通路富集分析

在KEGG数据集中,对靶基因*DDX3X*显著富集的信号通路分析预测,其主要参与了细胞周期、胰腺癌和调节干细胞多能性、TGF- β 、FoxO、MAPK等信号通路的调控,大多与肿瘤相关信号通路有关($P < 0.05$)。见图6。

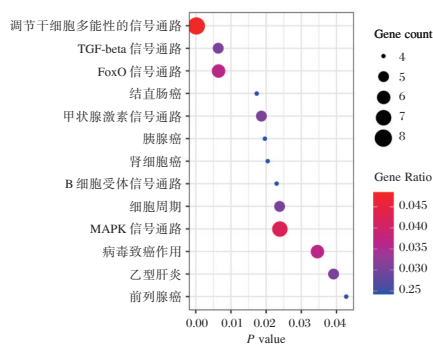
3 讨论

MiRNA是内源性的非编码小RNA,存在于人类染色体的不同位置,通过RNA干扰途径在转录后水平上作为基因表达的主要调控因子发挥作用^[10]。

表1 靶基因 *DDX3X* 在 PAAD 的 GO 分析Table 1 GO analysis of target gene *DDX3X* in PAAD

类别	术语	名称	基因数	富集倍数	P 值
BP	GO:0006468	蛋白磷酸化	11	2.74	6.89E-03
BP	GO:0045893	转录的正向调节, DNA 诱导型	12	2.64	5.66E-03
CC	GO:0016607	核斑点	10	5.81	5.67E-05
CC	GO:0005654	核质	59	2.48	1.14E-11
MF	GO:0003713	转录共激活因子活性	10	4.51	3.79E-04
MF	GO:0016874	连接酶活性	10	4.14	6.99E-04
MF	GO:0004842	泛素-蛋白转移酶活性	11	3.74	7.26E-04
MF	GO:0003682	染色质结合	12	3.43	7.51E-04
MF	GO:0003723	RNA 结合	15	3.07	3.76E-04
MF	GO:0044822	多聚(A)RNA 结合	30	2.97	1.87E-07

注: $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

图6 靶基因 *DDX3X* 在 PAAD 的信号通路富集分析Figure 6 Signal pathway enrichment analysis of target gene *DDX3X* in PAAD

这些 miRNA 与目标 mRNA 的 3'-非翻译区(UTR)、编码区或 5'-UTR 结合,并抑制翻译或促进 mRNA 降解^[11]。在细胞质中,成熟的 miRNA 是通过 RNase III 核酸内切酶和 Dicer/HIV-1 TAR RNA 结合蛋白等作用从 pre-miRNA 产生的,在这两条链中,一条链通常被降解,而另一条链被整合到 RNA 诱导的沉默复合物(RISC)中,导致 mRNA 降解或翻译抑制^[12]。

MiR-206 被证实在肺癌中的表达是失调的,参与肺肿瘤细胞凋亡、增殖、迁移、侵袭、血管生成、耐药性和癌症治疗,涉及 MET、EGFR、STAT3/HIF-1 α /VEGF 信号通路等多种分子通路^[13]。*MiR-206* 在原发性铂耐药性上皮性卵巢癌中高表达,通过下调 *Cx43* 表达促进铂耐药性,从而为患者预后和铂耐药性的生物标志物预测提供证据^[14]。*MiR-206* 可能通过抑制 *MUC1* 的表达发挥抗肿瘤活性,这可能是治疗胃癌的有效和潜在靶点^[15]。MiRNAs 通常抑制靶基因的表达,其表达水平降低时可调控癌基因高表达,促进肿瘤的发生发展,提示患者的不良预后。

本研究中,基于来自 TCGA 数据集的验证,通过比较肿瘤组织与正常组织的 miRNA 表达谱,确定了异常表达的 *miR-206* 与 PAAD 有关。此外,研究发现 PAAD 的突变位点和预后意义,同时通过 GO 分析和 KEGG 通路注释发现靶基因 *DDX3X* 参与了 PAAD 发生发展过程的调控。*MiR-206* 的新靶标 *DDX3X* 可能作为治疗 PAAD 患者的新型标志物和潜在治疗靶点。

DDX3X 是 DEAD-box 解旋酶家族的成员,参与双链 RNA 解螺旋^[16]。事实上,已经发现 *DDX3X* 的体细胞突变在多种癌症患者中普遍存在^[17]。在 PAAD 干细胞中,*PAF1* 与 *DDX3X* 和 *PHF5A* 相互作用以调节其他调控干细胞表达的基因,在 *DDX3X* 表达抑制的肿瘤细胞系中,肿瘤干细胞的自我更新能力降低,可能针对 *PAF1-PHF5A-DDX3X* 复合物开发减缓或抑制胰腺癌进展的策略^[18]。Lin 等人^[19]证实 *DDX3X* 在 RCC 中被表观遗传抑制,且显示 *DDX3X* 低表达的癌症患者与不利的 OS 和肿瘤淋巴结转移(TNM)分期相关。*DDX3X* 的缺失导致 DNA 修复因子的表达降低,促进了未修复 DNA 的进一步损伤和肝脏 DNA 复制应激的积累,最终导致了自发性肝脏肿瘤和 DEN-诱导肝细胞癌的发生^[20]。但仍未有研究探讨 *DDX3X* 在 PAAD 的预后价值、靶向基因和分子机制。本文研究结果提示,可通过检测 *DDX3X* 突变情况和表达水平,以判断能否成为合适的治疗靶点,从而有效治疗 PAAD 患者。

综上所述,*miR-206* 可抑制靶基因的表达而抑制肿瘤的发生,其在 PAAD 中表达下调导致癌基因过表达。*DDX3X* 是 *miR-206* 在 PAAD 的关键靶基因,其过表达和突变与患者较差的 OS 及肿瘤的远处转移有关。*DDX3X* 主要参与蛋白磷酸化和 DNA 诱导型的转录正向调节过程等生物学功能以及细胞周期、胰腺癌和调节干细胞多能性、TGF- β 、FoxO、MAPK 等信号通路的调控。本文提示 *miR-206* 通过调控 *DDX3X* 在 PAAD 发生发展中发挥着重要作用,*DDX3X* 可能成为治疗 PAAD 患者潜在的新型分子靶标。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [2] 张春风, 乌云高娃, 赵丽娟, 等. Laptm4b 在胰腺癌中的表达与其侵袭、转移及预后的关系 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(8): 1276-1280.

- [3] Vincent A, Herman J, Schulick R, et al. Pancreatic cancer [J]. *Lancet*, 2011,378(9791):607-620.
- [4] Zhang X, Xie K, Zhou H, et al. Role of non-coding rnas and rna modifiers in cancer therapy resistance [J]. *Mol Cancer*, 2020,19(1):47.
- [5] Mishra S, Yadav T, Rani V. Exploring mirna based approaches in cancer diagnostics and therapeutics [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016,98:12-23.
- [6] Zhang H, Wang J, Ren T, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal *miR-206* inhibits osteosarcoma progression by targeting *tra2b* [J]. *Cancer Lett*, 2020,490:54-65.
- [7] Liao M, Peng L. *MiR-206* may suppress non-small lung cancer metastasis by targeting *coro1c* [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2020,25:22.
- [8] Ye S, Yang L, Zhao X, et al. Bioinformatics method to predict two regulation mechanism: Tf-mirna-mrna and lncrna-mirna-mrna in pancreatic cancer [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014,70(3):1849-1858.
- [9] Keklikoglou I, Hosaka K, Bender C, et al. MicroRNA-206 functions as a pleiotropic modulator of cell proliferation, invasion and lymphangiogenesis in pancreatic adenocarcinoma by targeting *anxa2* and *kras* genes [J]. *Oncogene*, 2015,34(37):4867-4878.
- [10] Kabekkodu SP, Shukla V, Varghese VK, et al. Clustered mirnas and their role in biological functions and diseases [J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2018,93(4):1955-1986.
- [11] Lytle JR, Yario TA, Steitz JA. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5'utr as in the 3'utr [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007,104(23):9667-9672.
- [12] Chhabra R, Adlakha YK, Hariharan M, et al. Upregulation of mir-23a-27a-24-2 cluster induces caspase-dependent and -independent apoptosis in human embryonic kidney cells [J]. *PLoS One*, 2009,4(6):e5848.
- [13] Pan JY, Sun CC, Bi ZY, et al. *MiR-206/133b* cluster: A weapon against lung cancer? [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017,8:442-449.
- [14] Yu X, Zhang X, Wang G, et al. *MiR-206* as a prognostic and sensitivity biomarker for platinum chemotherapy in epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2020,20(1):534.
- [15] Deng M, Qin Y, Chen X, et al. *MiR-206* inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by targeting the *muc1* gene [J]. *Onco Targets Ther*, 2019,12:849-859.
- [16] Song H, Ji X. The mechanism of rna duplex recognition and unwinding by dead-box helicase *DDX3X* [J]. *Nat Commun*, 2019,10(1):3085.
- [17] Lin TC. *DDX3X* multifunctionally modulates tumor progression and serves as a prognostic indicator to predict cancer outcomes [J]. *Int J Mol Sci*, 2019,21(1):281.
- [18] Karmakar S, Rauth S, Nallasamy P, et al. Rna polymerase ii-associated factor 1 regulates stem cell features of pancreatic cancer cells, independently of the paf1 complex, via interactions with *phf5a* and *ddx3* [J]. *Gastroenterology*, 2020,159(5):1898-1915.e1896.
- [19] Lin TC. *DDX3X* is epigenetically repressed in renal cell carcinoma and serves as a prognostic indicator and therapeutic target in cancer progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(8):2881.
- [20] Chan CH, Chen CM, Lee YW, et al. DNA damage, liver injury, and tumorigenesis: Consequences of *DDX3X* loss [J]. *Mol Cancer Res*, 2019,17(2):555-566.

(上接第221页)

- [11] Rong C, Yuan Z, Lei H, et al. Safety and efficacy of different anesthetic regimens for parturients with COVID-19 undergoing Cesarean delivery: a case series of 17 patients Sécurité et efficacité de différents modes d'anesthésie pour des parturientes infectées par la COVID-19 accouchant par césarienne: une série de 17 cas [J]. *Can J Anesth*, 2020,67(6):655-663.
- [12] 欧英余,杨丽杰,崔宇,等. 剖宫产术全身麻醉过程中麻醉深度变化、术中外显记忆及内隐记忆存在情况研究 [J]. *临床军医杂志*, 2021,49(8):887-889.
- [13] 武建利,陈思宇,朱启英. 剖宫产术中麻醉意外并发症及处置 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2019,35(2):148-151.
- [14] Bhavani SK, Lynn C, Anton C, et al. Use of a novel non-invasive respiratory monitor to study changes in pulmonary ventilation during labor epidural analgesia [J]. *J Clin Monit Comput*, 2020,34(3):567-574.
- [15] 窦豆,张红,冯艺,等. 妊娠合并血液病导致血小板减少行剖宫产术采用不同麻醉方式的产妇和胎儿预后:一项单中心12年回顾性研究 [J]. *实用医学杂志*, 2021,37(13):1719-1722.
- [16] 张延荣,代思思,高晓薇,等. 麻醉因素对中重度肺动脉高压产妇剖宫产术预后的影响 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2019,38(1):14-17.
- [17] Huiqian Z, Fang G, Baohua L, et al. The effects of epidural analgesia using low-concentration local anesthetic during the entire labor on maternal and neonatal outcomes: a prospective group study [J]. *Archiv Gynecol Obstet*, 2020,301(1):1153-1158.
- [18] 杨晓燕. 不同麻醉方式对前置胎盘行剖宫产患者血流动力学指标的影响 [J]. *中国性科学*, 2021,30(3):73-75.
- [19] 蒋燕,黄瀚. 全身麻醉对剖宫产产妇与新生儿医疗结局影响的研究进展 [J]. *局解手术学杂志*, 2021,30(3):267-270.
- [20] 李丹阳,杜勇俊,冀晓慧,等. 不同麻醉方式对剖宫产后腰骶痛的影响 [J]. *中国妇幼保健*, 2020,35(22):4379-4382.

术前 LSR、NLR 及 PLR 检测评估结直肠癌预后的应用价值

赵贺^{1*} 王冲¹ 张文静¹ 邵思论²

[摘要] 目的 探讨术前谷丙转氨酶(ALT)/谷草转氨酶(AST)比值(LSR)、中性粒细胞(NEU)/淋巴细胞计数(LYM)比值(NLR)及血小板计数(PLT)与LYM比值(PLR)检测在评估结直肠癌预后中的应用价值。方法 选取2015年3月至2018年2月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的92例结直肠癌患者作为观察组,选取同期本院97例健康体检者作为对照组。比较两组LSR、NLR、PLR水平,通过受试者工作特征曲线(ROC)确定三项指标对结直肠癌患者预后判断的最佳截断值,分析三者与结直肠癌患者病理参数、预后的关系。结果 观察组LSR、NLR、PLR水平均高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。以总生存时间(OS)为终点,通过ROC曲线计算LSR、NLR、PLR cut-off值分别为2.49、3.31、139.22;灵敏度分别为0.815、0.855、0.797;特异度分别为0.787、0.823、0.785;AUC分别为0.791、0.865、0.745。LSR \geq 2.49、NLR \geq 3.31、PLR \geq 139.22的患者中-低分化、Ⅲ~Ⅵ期、肿瘤直径 >3 cm的占比高于LSR $<$ 2.49、NLR $<$ 3.31、PLR $<$ 139.22的患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。92例结直肠癌患者随访期间内死亡38例,生存率为58.70%(54/92)。LSR \geq 2.49、NLR \geq 3.31、PLR \geq 139.22的患者死亡率均高于LSR $<$ 2.49、NLR $<$ 3.31、PLR $<$ 139.22的患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 LSR、NLR、PLR是评估结直肠癌患者预后的有效参考指标,临床可通过联合三者检测辅助临床诊断及治疗。

[关键词] LSR; NLR; PLR; 结直肠癌

The value of preoperative LSR, NLR and PLR detection in evaluating the prognosis of colorectal cancer

ZHAO He^{1*}, WANG Chong¹, ZHANG Wenjing¹, SHAO Silun²

(1. Department of Colorectal Oncology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038; 2. Department of Outpatient Blood Collection Room, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value of preoperative alanine transaminase (ALT)/aspartate transaminase (AST) ratio (LSR), neutrophil (NEU)/lymphocyte count (LYM) ratio (NLR), platelet count (PLT) to lymphocyte (LYM) ratio (PLR) detection in evaluating the prognosis of colorectal cancer. **Methods** 92 patients with colorectal cancer admitted to Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from March 2015 to February 2018 were selected as the observation group, and 97 healthy patients in the hospital during the same period were selected as the control group. The LSR, NLR, and PLR levels of the two groups were compared, and the receiver operating characteristic curve (ROC) was used to determine the optimal cut-off value of the three indicators for the prognosis of patients with colorectal cancer. The relationship between the three and the pathological parameters and prognosis of colorectal cancer patients

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7202025)

作者单位:1.首都医科大学附属北京世纪坛医院结直肠肿瘤外科,北京 100038

2.首都医科大学附属北京世纪坛医院门诊采血室,北京 100038

*通信作者:赵贺, E-mail:zhaoh@bjsjth.cn

was analyzed. **Results** The levels of LSR, NLR, and PLR in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Taking the overall survival time (OS) as the end point, the cut-off values of LSR, NLR and PLR calculated by ROC curve were 2.49, 3.31 and 139.22, respectively. The sensitivity were 0.815, 0.855, and 0.797; the specificity were 0.787, 0.823, 0.785, respectively. The AUCs were 0.791, 0.865, 0.745, respectively. The AUCs were 0.791, 0.865, and 0.745, respectively. The proportion of patients with $LSR\geq 2.49$, $NLR\geq 3.31$, and $PLR\geq 139.22$ was higher than that of patients with $LSR<2.49$, $NLR<3.31$, and $PLR<139.22$. The proportion of patients with moderate to poorly differentiated, stage III~VI, and tumor diameter>3 cm was higher than that of patients with $LSR<2.49$, $NLR<3.31$, and $PLR<139.22$. The difference was statistically significant. Academic significance ($P<0.05$). Among 92 patients with colorectal cancer, 38 died during the follow-up period, and the survival rate was 58.70% (54/92). The mortality of patients with $LSR\geq 2.49$, $NLR\geq 3.31$, $PLR\geq 139.22$ was higher than that of patients with $LSR<2.49$, $NLR<3.31$, $PLR<139.22$, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** LSR, NLR, and PLR are effective reference indicators for evaluating the prognosis of patients with colorectal cancer. The combination of the three can be used to assist clinical diagnosis and treatment.

[KEY WORDS] LSR; NLR; PLR; Colorectal cancer

近年随着结直肠癌外科技术、辅助治疗的发展,结直肠癌生存率得到一定提高,但预后仍不理想,对结直肠癌尽早诊治是延长患者生存时间的关键^[1-2]。研究报道,谷丙转氨酶(Alanine transaminase, ALT)/谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)比值(Alanine aminotransferase/Aspartate aminotransferase ratio, LSR)是肝损伤的重要预测指标^[3],目前LSR与结直肠癌的相关研究较少。中性粒细胞(Neutrophil, NEU)/淋巴细胞计数(Lymphocyte, LYM)比值(Neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)是全身炎症反应的观察指标,可监测机体抗肿瘤及免疫之间的动态平衡^[4]。血小板计数(Platelet count, PLT)与LYM比值(Platelet to lymphocyte ratio, PLR)与多种恶性肿瘤患者的预后密切相关^[5-6]。本研究旨在探讨术前联合LSR、NLR及PLR检测在评估结直肠癌预后中的应用价值,现研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年3月至2019年2月首都医科大学附

属北京世纪坛医院收治的92例结直肠癌患者作为观察组。纳入标准:①均经影像学(MRI或CT)检查、术后病理检查确诊为结直肠癌^[7];②入院后即进行肿瘤根治术治疗;③可配合医护人员完成随访。排除标准:①纳入研究前一个月有激素药物服用史者;②合并其他恶性肿瘤者;③患有重大器官功能衰竭、传染疾病、精神疾病者。选取同期本院97例健康体检者作为对照组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究已获得医学伦理委员会批准,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

观察组患者在术前1天、对照组于体检当日清晨抽取空腹静脉血4 mL,置于肝素锂抗凝管中,在低温离心机中离心(3 000 r/min, 15 min, 离心半径10 cm),取400 μ L血浆送血常规等实验室检查。采用日本希斯美康公司生产的全自动血液分析仪(型号SX-5001)检测ALT、AST、NEU、LYM、PLT,计算LSR、NLR、PLR。

1.3 随访

对观察组患者随访2年(随访方式:以电话随访结合患者门诊复查为主;随访截止时间:2021年

表1 两组一般资料比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $n(\%)$]

Table 1 Comparison of general information between the two groups [$(\bar{x}\pm s)$, $n(\%)$]

组别	n	性别		平均年龄 (岁)	肿瘤分期		分化程度	
		男	女		I~II	III~VI	高分化	中-低分化
观察组	92	67(72.83)	25(27.17)	41.74 \pm 4.52	45(48.91)	47(51.09)	39(42.39)	53(57.61)
对照组	97	69(71.13)	28(28.87)	42.09 \pm 4.76				
t/ χ^2 值			0.067	0.493				
P值			0.796	0.623				

2月),记录患者总生存时间(Overall Survival, OS)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(Receiver operating characteristic curve, ROC)确定三项指标对结直肠癌患者预后判断的最佳截断值;Kaplan-Meier 生存分析 LSR、NLR、PLR 表达对结直肠癌患者预后生存的影响,使用 log-rank 法进行检验;以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 LSR、NLR、PLR 水平比较

观察组 LSR、NLR、PLR 水平均高于对照组,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 两组 LSR、NLR、PLR 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of LSR, NLR and PLR levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LSR	NLR	PLR
观察组	92	4.92±1.28	4.51±1.33	173.68±36.98
对照组	97	2.36±0.77	2.52±0.58	95.23±25.59
<i>t</i> 值		16.760	13.451	17.033
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 LSR、NLR、PLR 的 ROC 曲线

以 OS 为终点,通过 ROC 曲线计算 LSR、NLR、PLR cut-off 值分别为 2.49、3.31、139.22;灵敏度分别为 0.815、0.855、0.797;特异度分别为 0.787、0.823、0.785;AUC 分别为:0.791、0.865、0.745。见图 1。

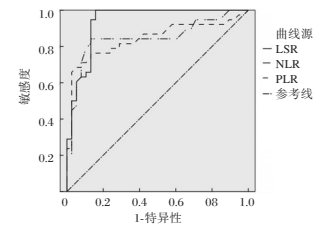


图 1 LSR、NLR、PLR 的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of LSR, NLR, PLR

2.3 LSR、NLR、PLR 水平与病理参数的关系

根据三项指标 cut-off 值将患者分为高 LSR 组(≥ 2.49)、低 LSR 组(< 2.49),高 NLR 组(≥ 3.31)、低 NLR 组(< 3.31),高 PLR 组(≥ 139.22)、低 PLR 组(< 139.22)。LSR ≥ 2.49 、NLR ≥ 3.31 、PLR ≥ 139.22 的患者中-低分化、III~VI 期、肿瘤直径 > 3 cm 的占比高于 LSR < 2.49 、NLR < 3.31 、PLR < 139.22 的患者,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

2.4 随访结果分析及不同 LSR、NLR、PLR 水平的患者预后情况

92 例结直肠癌患者随访期间内死亡 38 例,生存率为 58.70% (54/92)。LSR ≥ 2.49 、NLR ≥ 3.31 、PLR ≥ 139.22 的患者死亡率均高于 LSR < 2.49 、NLR < 3.31 、PLR < 139.22 的患者,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4 及图 2。

3 讨论

结直肠癌具有高发病率及高致死率,国内结直肠癌的发病率中居于恶性肿瘤第三位,仅次于肺癌、胃癌^[8]。国外研究显示,恶性肿瘤患者机体存在持续性感染、慢性炎症,而炎症反应会改

表 3 LSR、NLR、PLR 水平与病理参数的关系 [*n*(%)]

Table 3 The relationship between LSR, NLR, PLR levels and pathological parameters [*n*(%)]

病理参数	LSR		χ^2 值	<i>P</i> 值	NLR		χ^2 值	<i>P</i> 值	PLR		χ^2 值	<i>P</i> 值	
	<2.49 (<i>n</i> =41)	≥ 2.49 (<i>n</i> =51)			<3.31 (<i>n</i> =37)	≥ 3.31 (<i>n</i> =55)			<139.22 (<i>n</i> =44)	≥ 139.22 (<i>n</i> =48)			
性别	男	28(68.29)	29(56.86)	1.260	0.262	24(64.86)	33(60.00)	0.222	0.637	26(59.09)	31(64.58)	0.294	0.588
	女	13(31.71)	22(43.14)			13(35.14)	22(40.00)			18(40.91)	17(35.42)		
年龄(岁)	>65	12(29.27)	18(35.29)	0.376	0.540	11(29.73)	19(34.55)	0.233	0.629	14(31.82)	16(33.33)	0.024	0.877
	≤ 65	29(70.73)	33(64.71)			26(70.27)	36(65.45)			30(68.18)	32(66.67)		
肿瘤分类	结肠癌	15(36.59)	24(47.06)	1.021	0.312	13(35.14)	26(47.27)	1.334	0.248	17(38.64)	22(45.83)	0.487	0.485
	直肠癌	26(63.41)	27(52.94)			24(64.86)	29(52.73)			27(61.36)	26(47.27)		
分化程度	中-低分化	13(31.71)	31(60.78)	7.701	0.006	10(27.03)	34(61.82)	10.730	<0.001	14(31.82)	30(62.50)	8.661	0.003
	高分化	28(68.29)	20(39.22)			27(72.97)	21(38.18)			30(68.18)	18(37.50)		
临床分期	I~II	32(78.05)	13(25.49)	25.126	<0.001	29(78.38)	16(29.09)	21.504	<0.001	30(68.18)	15(31.25)	12.531	<0.001
	III~VI	9(21.95)	38(74.51)			8(15.69)	39(70.91)			14(31.82)	33(68.75)		
肿瘤直径(cm)	>3	12(27.27)	38(74.51)	18.750	<0.001	10(19.61)	40(72.73)	18.620	<0.001	16(36.36)	34(70.83)	10.994	<0.001
	≤ 3	29(70.73)	13(25.49)			27(52.94)	15(27.27)			28(63.64)	14(29.17)		

表4 随访结果分析及不同LSR、NLR、PLR水平的患者预后情况 [n(%)]

Table 4 Analysis of follow-up results and prognosis of patients with different levels of LSR, NLR, and PLR [n(%)]

组别	n	LSR		NLR		PLR	
		<2.49(n=41)	≥2.49(n=51)	<3.31(n=37)	≥3.31(n=55)	<139.22(n=44)	≥139.22(n=48)
生存	54	31(75.61)	23(45.10)	29(78.38)	25(45.45)	31(70.45)	23(47.92)
死亡	38	10(24.39)	28(54.90)	8(21.62)	30(54.55)	13(29.55)	25(52.08)
χ ² 值		8.728		9.890		4.810	
P值		0.003		0.002		0.028	

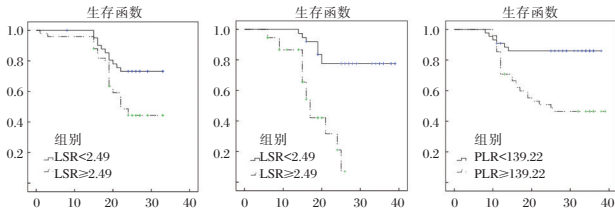


图2 不同LSR、NLR、PLR水平的患者生存曲线分析

Figure 2 Analysis of survival curve of patients with different LSR, NLR and PLR levels

变肿瘤微环境,对肿瘤发生及进展起到一定促进作用^[9]。

LSR、NLR、PLR这三项指标分别代表了丙转氨酶与谷草转氨酶、中性粒细胞与淋巴细胞、血小板与淋巴细胞之间的平衡,能较好地反映机体的炎症状态^[10-11]。LSR、NLR、PLR与结直肠癌发展的机制尚不清楚,但近年最新研究报道,LSR、NLR等生化标志物水平升高可能与结直肠癌患者预后不良有关^[12]。本研究中,观察组LSR、NLR、PLR水平均高于对照组,提示在结直肠癌患者血清中LSR、NLR、PLR的表达异常,与李超等^[13]人所得结果相符。

本研究以OS为终点,绘制ROC曲线,得出:LSR、NLR、PLR cut-off值分别为2.49、3.31、139.22。根据三项指标cut-off值将患者分组,LSR≥2.49、NLR≥3.31、PLR≥139.22的患者中-低分化、Ⅲ~Ⅵ期、肿瘤直径>3 cm的占比高于LSR<2.49、NLR<3.31、PLR<139.22的患者。可见分化程度越低,临床分期越晚,肿瘤直径越大的结直肠癌患者,LSR、NLR、PLR水平更高。可以推测,LSR、NLR、PLR水平与结直肠癌患者疾病进展风险有关,三者可作为评估结直肠患者疾病进展的标志物。谷丙转氨酶和谷草转氨酶都是肝脏重要的酶类,参与细胞多种生化代谢途径。近年研究发现LSR升高是导致结直肠癌患者无复发生存率的独立预测因子之一,且其还与胰腺癌、胆囊癌等多种恶性肿瘤相关^[14]。NLR水平升高,提示机体中性粒细胞水平增高,淋巴细胞水平下降,表明肿瘤往增殖、转移方向发

展,影响患者预后。血小板可分泌P选择素黏附因子,促使炎性细胞和内皮细胞发生致密的黏附,并分泌血管内皮生长因子,诱导内皮细胞迁移,促进肿瘤转移。

本研究对92例结直肠癌患者随访两年,结果显示:访期间内死亡38例,生存率为58.70%(54/92)。LSR≥2.49、NLR≥3.31、PLR≥139.22的患者死亡率均高于LSR<2.49、NLR<3.31、PLR<139.22的患者。可见三者与结直肠癌患者预后密切相关。主要为LSR、NLR、PLR均与参与细胞增殖和凋亡平衡,在结直肠癌发生、进展、侵袭中发挥重要作用,致使患者预后不良。

也有学者解释,在非感染性疾病出现的状态下,LSR、NLR、PLR在机体内呈高表达,会引起组织持续性损伤,而三者表达水平异常可能为癌症发生的促炎因子激活提供有利条件,会促进癌细胞侵袭、转移,导致患者预后不良^[15]。

综上所述,LSR、NLR、PLR是评估结直肠癌患者预后的有效参考指标,联合三项指标检测可能作为一种筛查结直肠癌的新的血液学方法,对临床诊断及治疗结直肠癌有重要意义。

参考文献

- [1] 王世焄,胡欢,王亚运,等.术前炎症相关标志物对结直肠癌诊断及预后的价值[J].中国普外基础与临床杂志,2019,26(10):110-114.
- [2] 吕智豪,刘华熙,郭昌,等.联合检测肿瘤标志物与炎症指标对结直肠癌的诊断价值[J].中国现代医学杂志,2020,30(1):62-68.
- [3] 赵鹏跃,李松岩,杨星朋,等.术前谷草转氨酶,谷丙转氨酶及二者比值与直肠癌不良预后关系研究[J].胃肠病学和肝病学杂志,2020,29(11):40-44.
- [4] 张洪海,孙玉,生守鹏,等.血小板与淋巴细胞比值、中性粒细胞与淋巴细胞比值对肝细胞癌射频消融术后长期存活患者的预后评估价值[J].临床肝胆病杂志,2019,35(5):87-93.
- [5] 彭维忠,杨浩洁,张克兰,等.术前外周血NLR和PLR在结直肠癌预后评估中的价值[J].中国免疫学杂志,2019,35(4):471-475.

CLEC4G与CD34及肝细胞癌侵袭转移之间的关系

唐满玲¹ 蒋最明¹ 顾敏¹ 杨耀永¹ 谢智钦² 黄美国³ 陈祥^{1*}

[摘要] **目的** 探讨C型凝集素结构域家族4成员G(CLEC4G)与肿瘤血管生成标记物CD34之间的表达相关性及其与肝细胞癌(HCC)侵袭转移间的关系。**方法** 收集2019年1月至2019年12月在株洲市中心医院经外科手术切除的40例HCC标本及相应术前血清标本分为转移组和非转移组,同时收集30例健康体检者血清标本,实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测CLEC4G、CD34的mRNA水平,免疫组织化学法(IHC)检测CLEC4G、CD34蛋白水平。酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清CLEC4G的含量;采用ROC曲线分析血清CLEC4G对HCC转移的预测价值;定义高于均值水平为高表达,低于均值水平为低表达,采用 χ^2 检验分析CLEC4G水平与患者临床资料之间的相关性。**结果** qRT-PCR、IHC检测结果均显示CLEC4G与CD34之间存在明显负相关关系($R=-0.89, P<0.001; R=-0.817, P<0.05$);健康对照组血清CLEC4G含量为(479.4±30.7) pg/mL, HCC非转移组为(303.0±22.1) pg/mL, 转移组为260.3±26.6 pg/mL, 转移组与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$), 转移组与非转移组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);血清CLEC4G对预测HCC转移具有较高的价值, AUC值为0.833(特异性:0.938;敏感性:0.667);血清CLEC4G含量与HCC患者性别、年龄、HBV感染等无相关性,与患者肿瘤大小($P=0.023$)、肿瘤分期($P=0.046$)、侵袭转移($P=0.008$)有关。**结论** CLEC4G与CD34的表达在HCC侵袭转移中呈负相关关系, CLEC4G低表达与HCC侵袭转移密切相关,对预测HCC转移有较高的临床应用价值。

[关键词] 癌;肝细胞;肝窦内皮细胞;CLEC4G;CD34

Relationship between CLEC4G and CD34 and metastasis in patients with hepatocellular carcinoma

TANG Manling¹, JIANG Zuiming¹, GU Min¹, YANG Yaoyong¹, XIE Zhiqin², HUANG Meiyuan³, CHEN Xiang^{1*}
(1. Laboratory Medicine Centre, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou, Hunan, China, 412007; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou, Hunan, China, 412007; 3. Department of Pathology, Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou, Hunan, China, 412007)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of CLEC4G - a member of the C-type lectin domain family, and CD34 - a tumor angiogenesis marker, and its relationship with the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** 40 patients with HCC were collected from January 2019 to December 2019 in Zhuzhou Central Hospital and divided into the metastasis group and the non - metastasis group. Serum samples of 30 healthy subjects were collected during the same period. The mRNA levels of CLEC4G and CD34 were detected by real - time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT - PCR). Besides, the protein levels of CLEC4G and CD34 were detected by immunohistochemistry (IHC). The content of CLEC4G in serum was detected by enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA). In addition, the predictive value of serum CLEC4G in HCC metastasis was analyzed by ROC curve. The level above the mean was defined as high expression, and the level below the mean was defined as low expression, and the χ^2 test was used to analyze the correlation between the level of

基金项目:2020年株洲市卫生人才“135”工程专项资金

作者单位:1. 株洲市中心医院检验医学中心, 湖南, 株洲 412007

2. 株洲市中心医院肝胆外科, 湖南, 株洲 412007

3. 株洲市中心医院病理科, 湖南, 株洲 412007

*通信作者:陈祥, E-mail:chenxiangx8@163.com

CLEC4G and the clinical data of patients. **Results** The results of qRT-PCR and IHC showed that there was a significant negative correlation between CLEC4G and CD34 ($R=0.89$, $P<0.05$; $R=-0.817$, $P<0.05$). Especially in the tissues with higher expression of CD34, there was lower expression of CLEC4G. The content of serum CLEC4G was (260.3 ± 26.6) pg/mL in the HCC metastasis group and (303.0 ± 22.1) pg/mL in the non-metastasis group. The difference between the metastasis group and the healthy control group was statistically significant ($P<0.05$). The difference between the metastasis group and the non-metastasis group was statistically significant ($P<0.05$). Serum CLEC4G has a high value in predicting HCC metastasis, with an AUC value of 0.833 (specificity: 0.938; sensitivity: 0.667). Serum CLEC4G levels were not correlated with gender, age, and HBV infection in HCC patients, but were correlated with tumor size ($P=0.023$), tumor stage ($P=0.046$), and invasion and metastasis ($P=0.008$). **Conclusion** The expressions of CLEC4G and CD34 were negatively correlated with the invasion and metastasis of HCC, and the low expression of CLEC4G was closely related to the invasion and metastasis of HCC, and had a high clinical value in predicting the metastasis of HCC.

[KEY WORDS] Carcinoma; Hepatocellular; Liver sinusoidal endothelial cells; CLEC4G; CD34

肝窦内皮细胞 (Liver sinusoidal endothelial cells, LSECs) 是肝脏独特的、高度特化的细胞群,是肝脏最丰富的非实质细胞。LSECs 不仅在肝窦内形成屏障,且具有重要的生理和免疫学功能,包括滤过、内吞、抗原提呈和白细胞募集等^[1]。LSECs 毛细血管化即 LSECs 独特且高度特化的表型消失,细胞变成了普通的毛细血管内皮细胞^[2]。大量研究表明, LSECs 毛细血管化与肝再生、肝纤维化、脂肪肝、肝癌等密切相关^[3-4], LSECs 毛细血管化在肝脏病理过程中发挥重要作用,甚至成为疾病发生发展的关键把控者。C 型凝集素结构域家族 4 成员 G (C-type lectin domain family 4 member G, CLEC4G) 是 LSECs 细胞膜上的一种表面凝集素,在介导免疫调节和调节病毒感染方面发挥重要作用^[2]。在前期的研究中,笔者发现 CLEC4G 随着肝脏疾病进程的恶化,其表达逐步减少, CLEC4G 被发现可能是参与 LSECs 毛细血管化进程的负性调控分子^[5]。LSECs 毛细血管化与 HCC 侵袭转移息息相关,分化簇抗原 (Cluster of Differentiation 34, CD34) 作为一种血管标记物,其阳性表达可刺激肿瘤组织中脉管的增加,促进肿瘤的转移、浸润,在临床病理诊断中广泛使用^[6]。因此,本研究旨在探究 CLEC4G 与 CD34 之间的表达相关性,阐明 CLEC4G 是否与 HCC 侵袭转移之间存在联系,为肝脏疾病发生发展的生物学行为提供更多依据,也为针对 LSECs 独特结构及功能以逆转肝脏疾病进程提供新的靶点。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2019 年 1 月至 2019 年 12 月在株洲市中心

医院经外科手术切除的 40 例 HCC 癌组织和相应的术前血清标本,纳入标准:①肝细胞癌且有手术指针;②未接受放射或化学治疗。排除标准:①心、肝、肾等重要器官严重疾病者;②合并其他器官严重创伤者、全身感染性疾病者;③治疗依从性不佳者。收集与 HCC 组年龄和性别相当的 30 例健康体检者血清标本,本研究通过本院临床试验伦理委员会批准所有研究对象均对研究知情,并签署知情同意书。

1.2 酶联免疫吸附试验 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

人 C 型凝集素域家族 4 成员 G ELISA 检测试剂盒购自上海江莱生物,货号:JL48366-96T。实验设置标准品孔、样品孔、空白孔,严格按照说明书操作,450 nm 波长处检测各孔的吸光度,酶标仪厂家为 Rayto,型号 RT-6100,根据标准曲线换算成最终浓度。

1.3 组织 RNA 提取及 qRT-PCR 检测

先预冷研钵,切取黄豆大小的肿块于研钵内,反复加入液氮,将肿块研磨成细粉状,加入 1 mL Trizol,吹打混匀,吸入至离心管中,按 TriZol 说明书提取得到总 RNA,操作设定转速为 13 000 rpm,离心 10 min,离心半径为 20 cm。将 1 μ g RNA 进行逆转录,以 GAPDH 为内参基因进行 qRT-PCR 检测, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 CLEC4G、CD34 的相对 mRNA 表达水平。见表 1。

1.4 免疫组织化学法 (Immunohistochemistry, IHC) 及染色评分

制作厚度为 7~10 μ m 的石蜡切片,60 $^{\circ}$ C 放置 20 min,随即二甲苯 I 浸泡 45 s,二甲苯 II 浸泡 45 s,然后在无水乙醇 I、无水乙醇 II、90%乙醇、80%乙

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
CLEC4G	ACAGTCCTTTGGGCTGTGAT	TTTGTCTCAGCAGGTCGT
CD34	ATGTAAGTAATAAATGTCCAGACAGAACA	TAAGTAATGTCAACAGAATGATCAGAACA
GAPDH	GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	GGCTGTTGTCACTTCTCATGG

醇、双蒸水中各浸泡 30 s。0.3% Triton X-100 浸泡切片 20 min, 磷酸盐缓冲液 (Phosphate Buffered Saline, PBS) 浸洗后在柠檬酸盐修复液中浸泡进行抗原修复, 3% 过氧化氢封闭内源性过氧化氢酶。PBS 浸洗 3 次。封闭液室温浸泡切片 1 h, PBS 浸洗切片, 用 PBS 1:200 稀释 CLEC4G 蛋白抗体 (抗体货号: ab181196), 1:100 稀释 CD34 蛋白抗体 (抗体货号: ZA-0550), 4℃ 孵育组织切片过夜。浸洗后加入相应二抗溶液覆盖切片, 室温孵育 30 min, 浸洗后二氨基联苯胺染色 2 min, 苏木素复染 2 min。将组织切片脱水, 封片后显微镜观察。由两名病理医师根据阳性细胞百分比 (positive rate, PR) 和染色强度 (staining intensity, SI) 对切片进行免疫组化评分, 评分细则参照文献^[7]。PR 评分为 0 (<5%)、1 (6~25%)、2 (25~50%)、3 (50~75%)、4 (>75%)。SI 分为: 0 (未染色)、1 (弱染色)、2 (适度染色)、3 (强染色)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析; 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用成组 *t* 检验; 计数资料以 *n* (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验。两者相关性采用斯皮尔曼相关分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CLEC4G 与 CD34 之间的相关性

qRT-PCR 检测显示, 肿块中 CLEC4G 与 CD34 的 mRNA 水平存在显著负相关关系 ($R = -0.89$, $P < 0.05$); IHC 检测显示, 肿块中二者的蛋白水平存在显著负相关关系 ($R = -0.817$, $P < 0.05$), 见图 1。IHC 评价 CLEC4G 与 CD34 的表达和分布, 结果显示, CD34 表达显著增加的组织块中, CLEC4G 表达显著减少。见图 2。

2.2 ELISA 检测血清中 CLEC4G 的含量

健康对照组血清 CLEC4G 含量为 (479.4 ± 30.7) pg/mL, 转移组 CLEC4G 含量为 (260.3 ± 26.6) pg/mL, 非转移组 CLEC4G 含量为 (303.0 ± 22.1) pg/mL, 转移组血清 CLEC4G 含量较非转移组明显减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3。

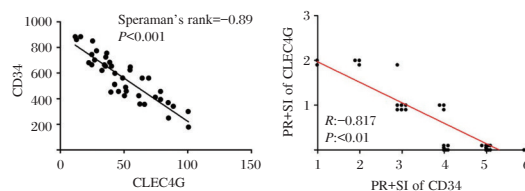


图1 CLEC4G 与 CD34 表达之间的相关性

Figure 1 Correlation between CLEC4G and CD34 expression

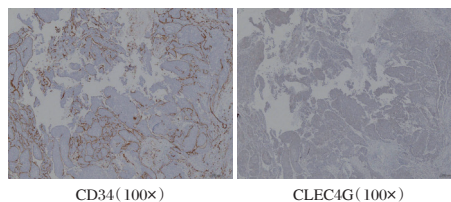
图2 CLEC4G 与 CD34 免疫组化表达图
(免疫组化染色, ×100)

Figure 2 Immunohistochemical expression of CLEC4G and CD34 (Immunohistochemistry, ×100)

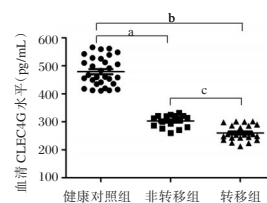
注: 与非转移组比较, ^a $P < 0.001$; 与转移组比较, ^b $P < 0.001$; 转移组与非转移组比较, ^c $P < 0.001$ 。

图3 3组中血清 CLEC4G 含量比较

Figure 3 Comparison of serum CLEC4G levels in 3 groups

2.3 血清 CLEC4G 水平对 HCC 转移的预测价值

CLEC4G 对预测 HCC 转移的 AUC 值为 0.883, 最佳 Cut-off 值为 264.34 pg/mL (特异性: 93.8%; 敏感性: 66.7%)。见图 4。

2.4 CLEC4G 表达与 HCC 患者临床病理参数之间的关系

定义高于均值水平为高表达, 低于均值水平为低表达, 卡方检验分析 CLEC4G 与 HCC 各临床参数之间的相关性, 结果显示, 血清 CLEC4G 含量与 HCC 患者性别、年龄、HBV 感染等无相关性 ($P > 0.05$), 血清 CLEC4G 含量与肿瘤大小、分期、血管侵袭相关 ($P < 0.05$)。见表 2。

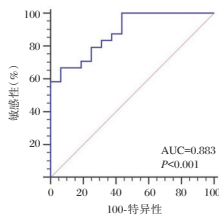


图4 血清 CLEC4G 对 HCC 转移的预测价值

Figure 4 Predictive value of serum CLEC4G for HCC metastasis

表2 CLEC4G 水平与 HCC 患者临床参数之间的相关性 [n(%)]

Table 2 Correlation between CLEC4G level and clinical parameters of HCC patients [n(%)]

临床病理参数	CLEC4G 低水平	CLEC4G 高水平	χ^2 值	P 值
年龄(岁)	≤55	8(20.0)	0.264	0.608
	>55	17(42.5)		
性别	男性	18(45.0)	0.127	0.722
	女性	7(17.5)		
甲胎蛋白	≤20 ng/mL	10(25.0)	0.171	0.680
	>20 ng/mL	15(37.5)		
乙型肝炎病毒	阴性	11(27.5)	0.061	0.804
	阳性	14(35.0)		
肿瘤最大径(cm)	≤5	6(15.0)	5.184	0.023
	>5	19(47.5)		
肿瘤数目(个)	1	16(40.0)	0.029	0.864
	≥2	9(22.5)		
组织分级	I~II级	12(30.0)	0.242	0.622
	III~IV级	13(32.5)		
肿瘤分期	I期	7(17.5)	4.000	0.046
	II~III期	18(45.0)		
血管侵袭	否	6(15.0)	7.111	0.008
	是	19(47.5)		

3 讨论

LSECs 是肝脏重要的非实质细胞,与肝细胞、肝星状细胞(Hepatic stellate cell, HSC)和库普弗细胞(Kupffercell, KC)之间精确地相互联系在维持肝脏整体内稳态方面发挥着重要作用^[8]。LSECs 有独特的窗孔结构,容易在各种损伤因素包括压力、药物、毒物、酒精、病毒等的作用失去其窗孔结构,并伴随出现内皮下基底膜,类似于毛细血管,导致 LSECs 毛细血管化。LSECs 毛细血管化为许多肝脏疾病的始动环节,会进一步导致 LSEC 功能改变,主要表现为分泌多种促炎细胞因子,介导肝脏炎症反应、激活 HSC、KC 等细胞,参与血管再生、细胞外基质生成以及诱发肝脏微循环障碍,最终导致肝纤维化,甚至肝细胞

癌的发生^[9-11]。虽然 LSECs 发生毛细血管化的机制尚未明确,但较多的研究发现这一过程是多基因调控的结果,比如 LYVE-1、CD32b、stabilin-2 等的表达下调;CD34、CD31、内皮素-1 等表达增加^[12-13]。在前期的研究中,笔者初步发现 LSECs 表面凝集素 CLEC4G 是参与 LSECs 毛细血管化进程的负性调控分子,CLEC4G 会随着肝脏疾病进程的恶化而表达逐渐减少,尤其在瘤体中央,CLEC4G 表达甚微^[5]。

LSECs 毛细血管化形成的脉管与瘤体侵袭转移密切相关。CD34、VEGF、内皮素-1 等作为血管生成标记物,已被广泛研究^[14]。在本研究中,只选取 CD34 作为关联研究。研究发现,CLEC4G 与血管生成标记物 CD34 无论是在 mRNA 水平还是蛋白水平均存在明显负相关关系,CD34 表达丰富的组织中,CLEC4G 表达甚微。由于 CD34 是瘤体侵袭转移的正性调控基因,因此,推测 CLEC4G 可能是瘤体侵袭转移的负性调控基因。与推测一致的是,CLEC4G 在肝细胞癌出现侵袭转移患者的血清中含量显著降低,并且临床资料分析血清 CLEC4G 含量与肿瘤血管侵袭、肿瘤大小、肿瘤分期均有关。这些结果初步表明肝脏低表达 CLEC4G 与瘤体侵袭转移密切相关。研究的下一步计划将设计体外侵袭转移实验和体内肝转移模型去探究 CLEC4G 在肝细胞癌转移中的作用和机制。另外,LSEC 在清道夫受体、Toll 样受体的辅助下调节炎症和免疫反应,参与炎症部位白细胞的募集等^[15],CLEC4G 很有可能参与其中,阐明 CLEC4G 在肿瘤与 LSECs 和肝星状细胞等细胞之间的串扰作用具有重要的研究价值,这些均是本研究需要完善的地方。Zuo 等^[16]发现 CLEC4G 具有促进结肠癌肝转移的现象,这也许与 CLEC4G 在不同细胞上,肝内和肝外转移不同模式下发挥不同作用有关,结合前期研究,可以丰富 CLEC4G 在瘤体侵袭转移方面的作用。最后,本研究发现血清 CLEC4G 是一个潜在的预测 HCC 侵袭转移的分子,且具有较高的特异性和灵敏性。由于本研究收集的临床样本数量有限,尚需扩大样本进一步验证 CLEC4G 的最佳 Cut-off 值。

综上所述,本研究的发现将有助于明确 LSECs 毛细血管化形成机理和肝内微血管功能、微循环改变与肝纤维化、肝细胞癌发生、发展间的联系。CLEC4G 参与 LSECs 毛细血管化和作为潜

在的瘤体侵袭转移负性调控分子,也许对慢性肝脏疾病的早期发现和早期干预具有重要价值,能为将来更有效的慢性肝病治疗找到新的契机。

参考文献

- [1] Wilkinson AL, Qurashi M, Shetty S. The Role of Sinusoidal Endothelial Cells in the Axis of Inflammation and Cancer Within the Liver[J]. *Front Physiol*, 2020, 11:990.
- [2] Yang Z, Li Q, Wang X, et al. C-type lectin receptor LSECtin-mediated apoptotic cell clearance by macrophages directs intestinal repair in experimental colitis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115:11054-11059.
- [3] 邓秀秀,李晖,张泽凤,等.肝窦内皮细胞调控肝脏微环境影响肝纤维化的研究进展[J]. *中华肝脏病杂志*, 2020, 28(4):357-360.
- [4] Feng YX, Li W, Wen XD, et al. Sinusoidal Endothelial Cell Progenitor Cells Promote Tumour Progression in Patients with Hepatocellular Carcinoma [J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020:8819523.
- [5] 唐满玲,陈祥,谢智钦,等. CLEC4G在肝脏疾病中的表达及其与肝细胞肝癌的相关性研究[J]. *国际外科学杂志*, 2020, 47(3):164-168.
- [6] Choi WT, Kakar S. Immunohistochemistry in the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2017, 46(2):311-325.
- [7] Yu J, Ren X, Chen Y, et al. Dysfunctional activation of neutrotensin/IL-8 pathway in hepatocellular carcinoma is associated with increased inflammatory response in microenvironment, more epithelial mesenchymal transition in cancer and worse prognosis in patients[J]. *PLoS One*, 2013, 8:e56069
- [8] Natarajan V, Harris EN, Kidambi S. SECs (Sinusoidal Endothelial Cells), Liver Microenvironment, and Fibrosis [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017:4097205.
- [9] 王凯,高帅.原发性肝癌的分子诊断标记物研究进展[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(1):1-5+38+133
- [10] Gracia-Sancho J, Marrone G, Fernández-Iglesias A. Hepatic microcirculation and mechanisms of portal hypertension [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(4):221-234.
- [11] 叶向阳,邱荣仙,何雄志,等. APRI和FIB4在慢性丙型肝炎肝纤维化诊断中的应用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(12):1657-1660.
- [12] Géraud C, Mogler C, Runge A, et al. Endothelial transdifferentiation in hepatocellular carcinoma: loss of Stabilin-2 expression in peri-tumourous liver correlates with increased survival[J]. *Liver Int*, 2013, 33(9):1428-1440.
- [13] Yokomori H, Ando W, Yoshimura K, et al. Increases in endothelial caveolin-1 and cavins correlate with cirrhosis progression[J]. *Micron*, 2015, 76:52-61.
- [14] 张继红,黄春龙,毛帅,等. CD34、VEGF和内皮素-1在肝细胞癌肝内转移中的作用[J]. *中华普通外科杂志*, 2019, 4(11):932-935.
- [15] Pandey E, Nour AS, Harris EN. Prominent Receptors of Liver Sinusoidal Endothelial Cells in Liver Homeostasis and Disease[J]. *Front Physiol*, 2020, 11:873.
- [16] Zuo Y, Ren S, Wang M, et al. Novel roles of liver sinusoidal endothelial cell lectin in colon carcinoma cell adhesion, migration and in-vivo metastasis to the liver[J]. *Gut*, 2013, 62(8):1169-1178.

(上接第231页)

- [6] 高翔,刘志宇,王梁,等.术前中性粒细胞与淋巴细胞比值和血小板与淋巴细胞比值对非肌层浸润性膀胱癌的预后评估价值[J]. *中国医科大学学报*, 2019, 48(7):23-25.
- [7] 中华医学会放射学分会医学影像大数据与人工智能工作委员会,中华医学会放射学分会腹部学组,中华医学会放射学分会磁共振学组.结直肠癌CT和MRI标注专家共识(2020)[J]. *中华放射学杂志*, 2021, 55(2):111-116.
- [8] 赵梅,张志宏,郭忠燕,等.直肠癌患者外周血中 Galectin-3 mRNA, MUC1 mRNA 的表达及临床意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(4):310-314.
- [9] Guo Z, Yang Z, Li D, et al. Colorectal cancer with invasive micropapillary components (IMPCs) shows high lymph node metastasis and a poor prognosis: A retrospective clinical study [J]. *Medicine*, 2020, 99(21):202-208.
- [10] 李东,盛伟伟,史晓洋,等.术前NLR-PLR评分与结直肠癌临床病理特征及预后关系的研究[J]. *中华消化外科杂志*, 2020, 19(3):308-314.
- [11] 李曦颖,黄礼年.动态监测NLR,PLR变化与晚期肺腺癌一线化疗疗效及预后关系[J]. *蚌埠医学院学报*, 2020, 45(11):40-44.
- [12] Ikeda A, Nagayama S, Sumazaki M, et al. Colorectal Cancer-Derived CAT1-Positive Extracellular Vesicles Alter Nitric Oxide Metabolism in Endothelial Cells and Promote Angiogenesis[J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19(5):20-27.
- [13] 李超,吴允孚,刘军.中性粒细胞/淋巴细胞,血小板/淋巴细胞预测心肺复苏术自主循环恢复患者预后的价值[J]. *徐州医学院学报*, 2019, 39(12):893-898.
- [14] Sequeira D, Baptista PV, Valente R, et al. Cu(I) complexes as new antiproliferative agents against sensitive and doxorubicin resistant colorectal cancer cells: synthesis, characterization, and mechanisms of action[J]. *Dalton T*, 2021, 50(3):14-19.
- [15] Caspi M, Wittenstein A, Kazelnik M, et al. Therapeutic targeting of the oncogenic Wnt signaling pathway for treating colorectal cancer and other colonic disorders [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2020, 169(33):451-455.

· 论 著 ·

PCT、IL-8、FGF21 水平在社区获得性肺炎患者病情和预后评估中的应用

付会文^{1*} 赵智东² 郭安³ 林怀印⁴

[摘要] 目的 探究降钙素原(PCT)、白细胞介素-8(IL-8)、成纤维细胞生长因子 21(FGF21)在评估社区获得性肺炎(CAP)患者病情及预后中的应用。方法 选河北省衡水市第二人民医院感染性疾病科2018年10月至2021年3月收入社区获得性肺炎患者118例,根据肺炎 curb-65 评分标准分为低危(50例)、中危(40例)、高危组(28例);根据其治疗后临床情况分为预后不良、预后良好组,分别为35例、83例;比较治疗前不同病情患者 PCT、IL-8、FGF21 水平及治疗后不同预后患者 PCT、IL-8、FGF21 水平差异,分析 PCT、IL-8、FGF21 与病情及预后联系。结果 PCT、IL-8 及 FGF21 水平比较:低危组<中危组<高危组,差异有统计学意义($P<0.05$);PCT、IL-8 及 FGF21 水平与 CAP 患者病情呈正相关性($r=0.889$ 、 0.402 、 0.874 , $P<0.05$);预后不良组 PCT、IL-8 及 FGF21 水平均显著高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$);PCT、IL-8 及 FGF21 单独预测预后不良灵敏度为 85.7%、54.3%、85.7%,联合预测预后不良灵敏度为 97.1%。结论 PCT、IL-8、FGF21 水平可用于 CAP 患者病情及预后评估,PCT、IL-8、FGF21 与患者病情严重程度呈正相关性,病情越严重 PCT、IL-8、FGF21 水平越高,三者联合时预测预后不良更精准。

[关键词] 降钙素原;白细胞介素-8;成纤维细胞生长因子 21;社区获得性肺炎

Application of PCT, IL-8 and FGF21 levels in the evaluation of condition and prognosis of patients with community-acquired pneumonia

FU Huiwen^{1*}, ZHAO Zhidong², GUO An³, LIN Huaiyin⁴

(1. Department of Infectious Diseases, Hengshui Second people's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 2. Respiratory Medicine, Hengshui Second people's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 3. ICU, Hengshui Second people's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 4. Medical Neurology, Hengshui Second people's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application of procalcitonin (PCT), interleukin-8 (IL-8) and fibroblast growth factor 21 (FGF21) in evaluating the condition and prognosis of patients with community-acquired pneumonia (CAP). **Methods** A total of 118 patients with community-acquired pneumonia from the Department of Infectious Diseases of the Second People's Hospital of Hengshui City, Hebei Province from October 2018 to March 2021 were selected. According to the curb-65 score of pneumonia, they were divided into low-risk (50 cases), intermediate-risk (40 cases), and high-risk groups (28 cases). According to the clinical situation after treatment, they were divided into the poor prognosis group and the good prognosis group, 35 cases and 83 cases respectively. The levels of PCT, IL-8 and FGF21 in patients with different conditions before treatment and the levels of PCT, IL-8 and FGF21 in patients with different prognosis after treatment were

基金项目:衡水市科技计划项目(2017014040Z)

作者单位:1. 河北省衡水市第二人民医院感染性疾病科,河北,衡水 053000

2. 河北省衡水市第二人民医院呼吸科,河北,衡水 053000

3. 河北省衡水市第二人民医院重症医学科,河北,衡水 053000

4. 河北省衡水市第二人民医院神经内科,河北,衡水 053000

*通信作者:付会文, E-mail:fr325123@163.com

compared, and the relationship between PCT, IL-8 and FGF21 and condition and prognosis was analyzed.

Results The levels of PCT, IL-8 and FGF21 in the low-risk group < the medium risk group < the high-risk group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of PCT, IL-8 and FGF21 were positively correlated with the condition of CAP patients ($r = 0.889, 0.402, 0.874, P < 0.05$). The levels of PCT, IL-8 and FGF21 in the poor prognosis group were significantly higher than those in the good prognosis group ($P < 0.05$). The sensitivity of PCT, IL-8 and FGF21 to predict poor prognosis alone was 85.7%, 54.3% and 85.7%, and the sensitivity of combined prediction of poor prognosis was 97.1%. **Conclusion** The levels of PCT, IL-8, and FGF21 can be used to evaluate the condition and prognosis of CAP patients. PCT, IL-8, and FGF21 are positively correlated with the severity of the patient's disease. The more severe the disease, the higher the levels of PCT, IL-8, and FGF21. The combination of the above three is more accurate in predicting poor prognosis.

[KEY WORDS] PCT; IL-8; FGF21; Community acquired pneumonia

社区获得性肺炎(Community Acquired Pneumonia, CAP)是指经院外感染源感染肺部实质炎症的情况,包括从社区感染或处于感染潜伏期时住院后发病的肺炎^[1]。CAP多为急性发病,细菌、支原体、衣原体及病毒均可诱发该病,肺炎链球菌是其主要致病菌,CAP可通过空气、飞沫、血液等途径传播,吸烟或免疫功能较差者感染CAP概率更大。CAP常见症状有咳嗽、不明原因发热、不规则寒战。感染不同病原体患者有不同表现,除全身症状外,胸部、肺外症状也较为常见^[2]。此外,不同病情CAP患者具体表征也可不同,对重症CAP患者而言,该病死亡率可达50%。为保障患者生命安全,对CAP病情及预后进行快速评估,并根据不同病情实施不同级别干预手段意义重大^[3]。降钙素原(procalcitonin, PCT)、白细胞介素-8(Interleukin-8, IL-8)、成纤维细胞生长因子21(Recombinant Fibroblast Growth Factor 21, FGF21)均与机体免疫反应有一定联系,但目前尚未有研究将上述三项生物标志物与CAP病情及预后联系。本文将探讨PCT、IL-8、FGF21水平在评估CAP病情及预后中的应用。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选河北省衡水市第二人民医院感染性疾病科2018年10月至2021年3月入院社区获得性肺炎患者118例,根据英国胸科协会改良肺炎评分(confusion, uremia, respiratory, BP, age 65 years, CURB-65评分)^[4]分为低危(50例)、中危(40例)、高危组(28例)。低危组男27例、女23例;年龄平均(47.08±12.06)岁;病程平均(14.82±5.43)d。中危组男21例、女19例;年龄平均(46.53±14.61)岁;病程平均(16.23±5.47)d。高危组男15例、女13例;年

龄平均(46.71±12.69)岁;病程平均(15.71±5.03)d。三组基线比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

纳入标准:①入院确诊CAP患者;②年龄范围处于25~85岁;③因肺炎链球菌感染引发CAP;④入院后检测PCT、IL-8及FGF21水平,检测结果清晰;⑤入院前未自行服用抗生素、免疫抑制等其他治疗手段;⑥充分了解研究利弊,属知情参与。排除标准:①合并免疫功能障碍、恶性肿瘤、严重精神病、心脑血管疾病;②近2个月存在开放性手术;③除CAP外有其他感染性疾病;④临床资料缺失或中途退出研究;⑤不接受临床转归情况调查。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 诊断标准

以《社区获得性肺炎诊断和治疗指南》为导向拟定诊断标准^[5]:①体征表现有咳嗽或咳痰、持续呼吸道症状或加重、有浓痰或脓血痰,可伴有胸痛;②叩诊可闻浊音或湿性啰音、存在语颤增强、呼吸音减弱,可伴有胸腔积液;③CT可见小叶实变、四周磨玻璃样改变、支气管壁增厚或小叶中央实变,磨玻璃影包绕;④X线显示肺部受累,表现为有阴影沿气管分布,类斑片状或模糊状,提示肺纹理增粗且增厚。

1.3 方法

治疗前于清晨空腹时静脉采血6 mL,枸橼酸钠(5%浓度)抗凝。3 000 r/min高速离心15 min,取上层液置于-50℃低温环境保存,12 h内完成检验。以酶联免疫吸附法测IL-8、FGF21,试剂盒选自武汉赛培生物科技有限公司。选常规干燥管收集同时段静脉血2 mL,采用全自动生化免疫分析仪(美国Johnson公司,型号VITROS)以免疫发光法测PCT。入院后予抗菌治疗,阿莫西林(中山市力恩普制药有限公司,国药准字H20033210)0.5 g/次,温水送服,3次/d,左氧氟沙星(华润双鹤利民

药业(济南)有限公司,国药准字H20044927)100 mg/次,温水送服,3次/d,连续服用7 d。治疗后一个月记录临床转归情况。

1.4 观察指标

①肺炎 curb-65 评分标准^[6],含5项[有意识障碍、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)>7 mol/L、呼吸频率超过30次/min、收缩压(Systolic blood pressure, SBP)小于90 mmHg或舒张压(Diastolic blood pressure, DBP)小于60 mmHg、年龄超过65岁],每项记1分,总分最高不超过5分。0~1分属于低危、2分属于中危、3~5分属于高危。②预后情况,以治疗后1个月临床转归情况判断预后,死亡为预后不良,存活为预后良好。③PCT、IL-8及FGF21水平,治疗前测患者PCT、IL-8及FGF21水平,分析其与病情相关性评估预后的价值。

1.5 统计学处理

用SPSS 22.0软件处理分析统计数据。计数资料用n(%)表示,采用 χ^2 检验;计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行t检验;采用Pearson相关性分析PCT、IL-8及FGF21水平与CAP病情相关性,建立受试者工作特征曲线(ROC)探究PCT、IL-8及FGF21对预后不良的预测价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组PCT、IL-8及FGF21水平比较

PCT、IL-8及FGF21水平比较:低危组<中危组<高危组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 3组PCT、IL-8及FGF21水平比较 $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	PCT(ng/mL)	IL-8(pg/mL)	FGF21(pg/mL)
低危组	50	4.36±1.40	210.61±145.79	195.28±30.17
中危组	40	8.62±2.57 ^a	298.32±182.33 ^a	254.32±35.79 ^a
高危组	28	19.31±3.77 ^{ab}	401.23±201.54 ^{ab}	367.07±40.56 ^{ab}
F值		315.402	11.083	219.236
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与低危组比较,^a $P<0.05$;与中危组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 PCT、IL-8及FGF21水平与CAP患者病情相关性分析

PCT、IL-8及FGF21水平与CAP患者病情呈正相关性($r_1=0.889, r_2=0.402, r_3=0.874, P<0.05$)。

2.3 CAP患者预后不良情况比较

据治疗后1个月临床转归情况分析,35例死亡,83例存活,预后不良概率为29.66%。预后不良组PCT、IL-8及FGF21水平均显著高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 CAP患者预后不良情况比较 $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	PCT(ng/mL)	IL-8(pg/mL)	FGF21(pg/mL)
预后不良组	35	15.36±6.40	399.52±189.25	323.88±72.28
预后良好组	83	6.82±4.41	237.53±165.02	227.46±56.56
t值		8.357	4.660	7.768
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 PCT、IL-8及FGF21单独与联合预测预后不良ROC曲线分析

PCT、IL-8及FGF21联合预测预后不良灵敏度为97.1%,特异度为78.3%,AUC为0.929优于单一检测($P<0.05$)。见表3、图1。

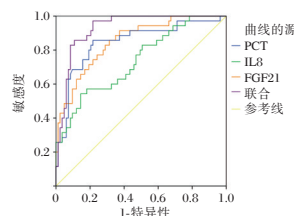


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

CAP属全球第六死亡原因,多发于冬春交接之际。据流行病学调查显示,CAP患病概率约占总人口的12%,在全球范围内均有较高死亡率^[7]。对于多数年轻CAP患者而言,病后症状较少,几乎未有并发症^[8]。诊断、治疗及时情况下,发病初期即可取得较好疗效。但对中老年群体而言,机体

表3 PCT、IL-8及FGF21单独与联合预测预后不良价值

Table 3 Poor prognosis predicted by PCT, IL-8 and FGF21 alone and in combination

项目	AUC	SE	约登指数	cut-off值	敏感度	特异度	95%CI	P值
PCT	0.846	0.043	0.640	8.630	0.857	0.783	0.762~0.929	0.000
IL-8	0.738	0.050	0.398	419.25	0.543	0.855	0.639~0.837	0.000
FGF21	0.853	0.037	0.544	244.385	0.857	0.687	0.781~0.926	0.000
联合	0.929	0.023	0.754	0.827	0.971	0.783	0.884~0.974	0.000

随着年龄增大器官、免疫功能逐步下降,合并基础代谢类疾病较多,更易感染CAP^[9]。此外,多数老年群体营养状态不稳定,患病后表征缺乏典型性,病情进展较快,且在CAP治疗过程中对抗生素敏感性较低,难以控制感染情况,治疗、病情评估不及时则预后差,病死率高^[10]。单个指标可受其他因素影响变化,如炎症指标水平可在机体组织损伤、感染或有原发肿瘤时改变,将单个指标变化作为疾病评估手段特异性较差^[11]。

PCT作为在CAP患者体内显著升高的炎症标志物,是内分泌激素的前体,正常情况由甲状腺细胞生成^[12]。有研究证实,PCT在局部感染时变化不明显,而在全身感染时出现显著升高,该变化会随着感染程度加深而加重^[13]。在本研究中,对不同病情患者PCT测量时可发现,高危患者PCT水平显著高于其他两类患者,与病情严重程度呈正相关性。

IL-8属细胞因子标志物,可较为精准鉴别细菌感染与非细菌感染。在关于细菌性肺炎的病情诊断研究中,以酶联免疫吸附法测定IL-8诊断敏感性为82.5%,特异度为78.9%。在评估呼吸窘迫综合症预后研究中,IL-8凭借其促中性粒细胞活化、诱导变性能力取得较为精准结果。IL-8主要产生与单一巨噬细胞,其他细胞在特点情况下也可适当分泌,当中性粒细胞变性后,可导致机体表现炎症反应,实现杀菌作用。在对慢性阻塞性肺病^[14]病情进行评估时,IL-8随着病情加重逐渐升高。通过对IL-8评估CAP患者预后情况进行研究,发现其预测预后不良敏感度较低,仅有54.3%。推测可能因为细胞因子受年龄、基础疾病等状态影响,患者个体差异较大,在未行动态监测情况下结果有一定偏差。

FGF21属成纤维细胞生长因子家族,可促进机体发育,在创伤修复方面也有显著效果。FGF21主要于肝脏表达,在脂肪上发挥作用,实现代谢调控^[15]。多数情况下,FGF21被用于糖尿病及肥胖研究。但由于FGF21可在降低免疫系统影响提高T细胞产生的同时,引起自分泌与内分泌调节作用,降低应激反应,保护机体细胞免受代谢伤。

本研究不足之处在于纳入样本不足,高危组病例较少,预后研究时间短且未对死亡做多因素分析,无法排除除CAP外引起的死亡。因此,本研究有待大样本、长时间且更全面研究证实。

综上所述,PCT、IL-8、FGF21水平可用于CAP患者病期及预后评估,PCT、IL-8、FGF21与患者病情严重程度呈正相关性,且三者联合时预测预后不良更精准。

参考文献

- [1] Lefamulin (Xenleta) for community-acquired bacterial pneumonia[J]. *Med Lett Drugs Ther*, 2019, 61(1581):145-148.
- [2] 米婷,孙婧婧,秦妮,等. CT平扫联合PCT,CRP检测对ICU社区获得性肺炎诊断及预后评估的可行性分析[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2019, 17(12):52-55.
- [3] Cohen SM, Lee HJ, Leiman DA, et al. Associations between Community-Acquired Pneumonia and Proton Pump Inhibitors in the Laryngeal/Voice - Disordered Population [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2019, 160(3):519-525.
- [4] 李亦东,朱碧媛,陈英俊. 基于中医证型分型的社区获得性肺炎CURB-65评分差异及与炎症指标的相关性[J]. *广东医学*, 2019, 40(5):694-697.
- [5] 黄文杰. 社区获得性肺炎的诊治现状[J]. *医学临床研究*, 2020, 37(2):3.
- [6] 陈婷,周小妹,姚莉,等. 血浆血管生成素-2,白细胞介素-8在重症社区获得性肺炎疾病严重程度及其预后评估中的价值[J]. *安徽医药*, 2020, 24(3):488-491.
- [7] 祝体红,赵勇,许玉峰. 血清PCT、 α 1-AT、HMGB1水平对新生儿细菌性肺炎的鉴别诊断[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(8):1264-1267.
- [8] 钟伯年,彭明,钟秀平. 血浆纤维蛋白原在社区获得性肺炎临床治疗中的应用价值[J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(3):412-415.
- [9] 李鑫,刘剑波,韩校鹏,等. 血小板与淋巴细胞比值评估社区获得性肺炎预后的价值研究[J]. *中国全科医学*, 2019, 22(6):659-663.
- [10] 张涛,李娟. 血清suPAR及多配体蛋白聚糖4水平与社区获得性肺炎严重程度和预后的相关性研究[J]. *中国医刊*, 2020, 55(2):195-199.
- [11] 蒋桂云. 血清降钙素原和半乳糖凝集素-3联合检测在社区获得性肺炎病死率评估中的意义[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(7):971-973.
- [12] 于长锁,张金伟. 胸部CT联合血清中PCT,SAA水平检测对社区获得性肺炎病情的评价价值[J]. *中国数字医学*, 2020, 15(3):126-128.
- [13] 陈淑琴,李宇青,冯高华,等. 血清NT-proBNP与PCT在医院获得性肺炎病情及预后评估中的应用[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(3):342-345.
- [14] 丁巍,王文艺,邬超,等. 慢性阻塞性肺疾病肺感染患者血清细胞因子及肺功能指标变化情况[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(5):586-588.
- [15] 任义,卢斐,陆芳洁,等. 中性粒细胞淋巴细胞比值联合临床肺部感染评分在呼吸机相关性肺炎预后评估价值[J]. *解放军预防医学杂志*, 2020, 38(8):80-83.

· 论 著 ·

Gustilo III型开放性骨折患者术后感染病原菌及炎症因子和免疫指标改变分析

吴兴源¹ 张国如¹ 陈尉¹ 潘辉龙¹ 杜秀藩^{2*}

[摘要] **目的** 探讨 Gustilo III型开放性骨折患者术后感染病原菌及炎症因子和免疫指标改变。**方法** 选取2018年2月至2021年3月在三亚中心医院(海南省第三人民医院)骨科接受治疗的92例 Gustilo III型开放性骨折患者为研究对象。依据患者术后感染发生情况,将术后发生感染者纳入感染组($n=30$),术后未发生感染者纳入未感染组($n=62$)。观察 Gustilo III型开放性骨折患者术后感染病原菌分布情况,比较两组患者炎症因子、免疫指标的差异。**结果** 30例患者中共检测出30株病原菌,其中革兰阳性菌占比最大,为60.00%,革兰阴性菌占33.33%,真菌占比6.67%;感染组IL-4、IL-6、TNF- α 水平均高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$);感染组CD3+、CD4+、CD4+/CD8+水平均较未感染组低,CD8+水平较未感染组高,差异有统计学意义($P<0.05$);感染组SAA水平高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$);Spearman相关分析表明,IL-4、IL-6、TNF- α 、CD8+、SAA水平与术后感染呈负相关($P<0.05$),CD3+、CD4+、CD4+/CD8+与术后感染呈正相关($P<0.05$)。**结论** Gustilo III型开放性骨折患者术后感染以革兰阳性菌为主,与炎症因子和T淋巴细胞亚群有着密切关系。

[关键词] Gustilo III型;开放性骨折;术后感染;病原菌;炎症因子;免疫指标

Analysis of the changes of pathogenic bacteria, inflammatory factors and immune indicators in patients with Gustilo type III open fractures after operation

WU Xingyuan¹, ZHANG Guoru¹, CHEN Wei¹, PAN Huilong¹, DU Xiupan^{2*}

[Osteoarthrosurgery, Sanya Central Hospital (The Third People's Hospital of Hainan) SanYa, HaiNan, China, 572000; 2. Sports Medicine, Hainan Provincial People's Hospital, HaiKou, HaiNan, China, 570311]

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the postoperative infection of pathogenic bacteria, inflammatory factors and immune indicators in patients with Gustilo type III open fracture. **Methods** A total of 92 patients with Gustilo type III open fractures who were treated in the Orthopedics Department of Sanya Central Hospital (The Third People's Hospital of Hainan) from February 2018 to March 2021 were selected as the research objects. According to the incidence of postoperative infection of patients, postoperative infections were included in the infection group ($n=30$), and those without postoperative infection were included in the uninfected group ($n=62$). The distribution of infectious pathogens in patients with Gustilo type III open fractures was observed, and the differences in inflammatory factors and immune indicators between the two groups were compared. **Results** A total of 30 pathogenic bacteria were detected in 30 patients, among which gram-positive bacteria accounted for the largest proportion of 60.00%, gram-negative bacteria accounted for 33.33%, and fungi accounted for 6.67%; The levels of IL-4, IL-6, and TNF- α in the infection group were higher than those in the uninfected group ($P<0.05$). The levels of CD3+, CD4+, CD4+/CD8+ in the infected group were lower than those in the uninfected group, and the level of CD8+ was higher than that in the uninfected group, with

基金项目:海南省卫生厅课题(20A200467)

作者单位:1. 三亚中心医院(海南省第三人民医院)骨关节外科,海南,三亚 572000

2. 海南省人民医院运动医学科,海南,海口 570311

*通信作者:杜秀藩, E-mail:hpdbj582@163.com

statistical significance ($P<0.05$). The level of SAA in the infected group was higher than that in the uninfected group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that IL-4, IL-6, TNF- α , CD8+, and SAA levels were negatively correlated with postoperative infection ($P<0.05$), and CD3+, CD4+, CD4+/CD8+ were positively correlated with postoperative infection ($P<0.05$). **Conclusion** Postoperative infection in patients with Gustilo type III open fractures is dominated by Gram-positive bacteria, which are closely related to inflammatory factors and T lymphocyte subsets.

[KEY WORDS] Gustilo type III; Open fractures; Postoperative infection; Pathogenic bacteria; Inflammatory factors; Immune indicators

开放性骨折为创伤骨科常见疾病,且随着现代交通发达,开放性骨折发病率呈上升趋势^[1]。为较好辨别开放性骨折严重与否,国外学者依据患者软组织损伤程度分为I型、II型、III型,给诊断带来针对性。随着医疗技术的完善,Gustilo^[2]发现此分类存在许多不足之处,因此将其加以改善,Gustilo III型得以细化,逐渐成为临床常用评估开放性骨折指标之一^[3]。III型开放性骨折通常伴有软组织广泛损伤,包括皮肤、皮瓣撕裂伤,极易引起软组织坏死等严重并发症,对患者影响极大。临床常给予骨折复位治疗,同时及时清创、修复,但因其损伤范围较大,创伤较严重,患者术后易发生感染^[4]。术后感染患者通常早期无明显症状,当患者因创口感染情况发觉时,已延误治疗时期。因此,寻找早期诊断患者术后感染的针对性指标极具意义。本研究以Gustilo III型开放性骨折患者为研究对象,对其术后感染病原菌及炎症因子和免疫指标改变进行分析,为临床诊治提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年2月至2021年3月在三亚中心医院(海南省第三人民医院)骨科接受治疗的92例Gustilo III型开放性骨折患者为研究对象。依据患者术后感染发生情况,将术后发生感染者纳入感染组($n=30$),术后未发生感染者纳入未感染组($n=62$)。其中感染组中男18例,女12例;平均年龄为(41.23 \pm 7.59)岁;受伤类型:交通事故9例,坠落伤14例,摔伤7例;Gustilo III型:13例为a型,14例为b型,3例为c型;未感染组中男32例,女30例;平均年龄为(41.69 \pm 7.47)岁;受伤类型:交通事故28例,坠落伤26例,摔伤8例;Gustilo III型:23例为a型,24例为b型,15例为c型。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究符合赫尔辛基宣言。

术后感染标准^[5]:经病原菌培养为阳性即可判断;入院创面脓性分泌物明显,经病原菌培养阴性者同样为感染。

纳入标准:①经临床诊断,患者符合开放性骨折相关诊断标准^[6];②符合Gustilo III型诊断标准^[7];③病情稳定,意识清醒;④可以有效配合沟通;⑤年龄在18岁以上;⑥患者及家属已知情同意,并签字。排除标准:①合并严重器质性病变;②患者凝血功能异常;③伴有恶性肿瘤;④合并其他感染者;⑤中途转院治疗或退出研究。

1.2 方法

感染组患者根据药敏试验结果选择合理抗菌药物治疗,未感染组预防性抗菌治疗3 d。

细菌培养和药敏试验:收集感染组患者创口分泌物进行细菌培养,采用全自动细菌鉴定仪(生产厂家:广东环凯生物科技有限公司)鉴定细菌菌落。采用纸片扩散法进行药敏试验,药敏纸片来自上海金穗生物科技有限公司。

炎症因子和免疫指标的检测:于患者手术后抽取两组患者空腹静脉血5 mL,以3 000 r/min离心, $r=13.5$ cm,20 min后将血清分离,放置于-80 $^{\circ}$ C环境中保存。采用酶联免疫吸附法检测白细胞介素-4(Interleukin-4, IL-4)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis factor- α , TNF- α)、血清淀粉样蛋白A(Serum amyloid A, SAA),试剂盒购于上海继锦化学科技有限公司,相关操作严格遵守说明书规范。采用流式细胞仪(生产厂家:苏州陶迈森科学仪器有限公司)对两组患者淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)进行测定,试剂盒为仪器配套,相关操作严格遵守说明书规范。

1.3 统计学方法

数据采用SPSS 22.0软件分析,计数数据采用 $n(\%)$ 表示,组间行 χ^2 检验;计量数据采用($\bar{x}\pm s$)表示,两组组间比较独立样本行 t 检验;相关性分析采用Spearman相关;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者术后感染病原菌分布情况

92例Gustilo III型开放性骨折患者中,有30例患者术后感染,感染率为32.61%;30例患者中共检测出30株病原菌,其中革兰阳性菌占比最大,为60.00%,革兰阴性菌占33.33%,真菌占比6.67%。见表1。

表1 患者术后感染病原菌分布情况

Table 1 Distribution of pathogenic bacteria in patients after surgery

病原菌	株数(n=30)	构成比(%)
革兰阳性菌	18	60.00
肠球菌属	11	36.67
金黄色葡萄球菌	4	13.33
表皮葡萄球菌	3	10.00
革兰阴性菌	10	33.33
阴沟肠杆菌	1	3.33
大肠埃希菌	1	3.33
铜绿假单胞菌	6	20.00
鲍氏不动杆菌	2	6.67
真菌	2	6.67
白假丝酵母	1	3.33
光滑假丝酵母	1	3.33

2.2 两组患者炎症因子比较

感染组IL-4、IL-6、TNF- α 水平均高于未感染组,比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组患者炎症因子比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of inflammatory factors between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-4 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (μ g/L)
感染组	30	25.72 \pm 5.69	19.86 \pm 4.16	0.79 \pm 0.21
未感染组	62	9.19 \pm 2.34	8.64 \pm 1.23	0.16 \pm 0.05
t值		19.763	19.635	22.462
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 两组免疫指标比较

感染组CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺水平均较未感染组低,CD₈⁺水平较未感染组高,比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组免疫指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of immune indicators between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD ₃ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ (%)	CD ₈ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺
感染组	30	45.19 \pm 5.74	28.75 \pm 4.64	36.39 \pm 3.18	0.96 \pm 0.13
未感染组	62	67.31 \pm 5.16	49.21 \pm 4.85	23.27 \pm 3.45	1.78 \pm 0.34
t值		18.578	19.233	17.529	12.737
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 两组SAA水平比较

感染组SAA水平(64.78 \pm 6.29)显著高于未感染组(9.65 \pm 2.24),比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。

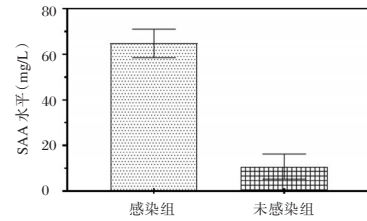


图1 两组SAA水平比较

Figure 1 Comparison of SAA levels between the two groups

2.5 炎症因子、免疫指标、SAA与术后感染的相关性分析

将炎症因子、免疫指标、SAA水平做Spearman相关分析,Spearman相关分析表明,IL-4、IL-6、TNF- α 、CD₈⁺、SAA水平与术后感染呈负相关($P < 0.001$),CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺与术后感染呈正相关($P < 0.001$)。见表4。

表4 炎症因子、免疫指标、SAA与术后感染的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of inflammatory factors, immune indexes, SAA and postoperative infection

项目	术后感染	
	r值	P值
IL-4	-0.812	<0.001
IL-6	-0.812	<0.001
TNF- α	-0.818	<0.001
CD ₃ ⁺	0.809	<0.001
CD ₄ ⁺	0.810	<0.001
CD ₈ ⁺	-0.804	<0.001
CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺	0.803	<0.001
SAA	-0.812	<0.001

3 讨论

开放性骨折为常见外伤性骨折,交通事故、高处坠落及外界暴力等均为其主要类型。Gustilo III型较为严重,患者不仅表现有严重骨折,软组织、血管同时存在较大创伤,伤口污染严重^[8]。Gustilo III型开放性骨折患者术后极易发生感染,如未及时采取治疗措施,可导致骨髓炎的发生,严重者反复感染、发作,对患者健康造成严重影响,同时给家庭带来沉重负担^[9]。因此分析Gustilo III型开放性骨折患者术后感染发生的危险因素成为关键。有研究表明,术后感染是否发生及严重程度与入侵病原菌的种类、数量、清创时间、软组织损伤等

因素有着密切关系^[10]。因此若对 Gustilo III 型开放性骨折患者未进行彻底清创,或违反无菌原则,则患者术后极易发生感染或坏死。

有研究表明,我国开放性骨折术后感染发生率为 13.0%~18.0%^[11]。本研究对 92 例 Gustilo III 型开放性骨折患者进行研究,发现发生术后感染的有 30 例,占比 32.61%,较既往报道高,可能与样本量大小、Gustilo 分型及病情严重程度有关。本研究对 30 例发生术后感染患者病原菌分布情况进行研究,共检测出 30 株病原菌,其革兰阳性菌占比最大,为 60.00%,革兰阴性菌占 33.33%,真菌占比 6.67%。有文献报道,开放性骨折感染患者主要病原菌为粪肠球菌、金黄色葡萄球菌及铜绿假单胞菌。另有研究表明,鲍氏不动杆菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌为其主要病原菌^[12]。病原菌分布较为复杂,使其耐药机制复杂。本研究中肠球菌属、金黄色葡萄球菌及铜绿假单胞菌为主要病原菌。本研究因所检测出病原菌较少,所以未分析其对抗菌药物的耐药性。从炎症因子来看,感染组 IL-4、IL-6、TNF- α 水平均高于未感染组。从 SAA 水平来看,感染组 SAA 水平高于未感染组。从免疫指标来看,感染组 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺ 水平均较未感染组低,CD₈⁺ 水平较未感染组高。说明发生术后感染患者体内有大量炎症。SAA 由肝细胞合成,在慢性或急性炎症反应中呈高表达,且远高于健康值水平。而 IL-4、IL-6、TNF- α 等炎症因子将促进 SAA 的大量合成^[13]。有研究表明,相较于 C-反应蛋白,SAA 水平在大多感染疾病中显著更高^[14]。在本研究中,IL-4、IL-6、TNF- α 、SAA 水平在感染组中显著更高,因此临床可依据 IL-4、IL-6、TNF- α 、SAA 水平高低辨别 Gustilo III 型开放性骨折患者是否发生术后感染。T 细胞介导的免疫过程发挥重要抗感染作用,其主要组成部分为辅助性 T 细胞(CD₃⁺、CD₄⁺)和抑制性细胞(CD₈⁺),两者在机体保持免疫平衡状态,当平衡失调时易导致免疫功能紊乱^[15]。本研究感染组中 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺ 水平下降,CD₈⁺ 水平升高,说明患者体内出现平衡失调,引起免疫功能紊乱,发生感染。因此,临床中应密切监测 Gustilo III 型开放性骨折患者 T 细胞亚群,及时判断是否发生术后感染,以便作出相应处理。本研究中进一步分析炎症因子、免疫功能相关指标与患者术后感染发生的关系,Spearman 相关分析表明,IL-4、IL-6、TNF- α 、CD₈⁺、SAA 水平与术后感染呈负相关,CD₃⁺、

CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺ 与术后感染呈正相关。说明 Gustilo III 型开放性骨折患者术后感染与炎症因子、免疫指标有着密切关系,临床上应加强监测,早发现早诊断早治疗,以改善患者预后^[16]。

综上所述,Gustilo III 型开放性骨折患者术后感染病原菌分布以革兰阳性菌为主,占比 60.00%;其炎症因子水平显著升高,CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺ 均显著下降,CD₈⁺ 显著上升,使得感染发生;炎症因子与 T 淋巴细胞亚群与术后感染的发生息息相关。本研究局限性:样本量较小,未来将扩大样本量,进一步全面、深入分析,予以验证完善。

参考文献

- [1] Spierings KE, Min M, Nooijen LE, et al. Managing the open calcaneal fracture: A systematic review[J]. *Foot Ankle Surg*, 2019, 25(6): 707-713.
- [2] 徐朝健,田志,冯毅,等. Gustilo III 型开放性胫腓骨骨折创面细菌分布特征及其治疗策略[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2020, 35(2): 194-196.
- [3] 芮永军,吴永伟,刘军,等. 早期内固定联合穿支血管蒂皮瓣治疗前臂 Gustilo III B、III C 型开放性骨折伴软组织缺损[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2018, 20(8): 648-653.
- [4] 林尊文,危文波,邹帆,等. 游离股前外侧皮瓣在修复小腿 Gustilo III 型开放性骨折后皮肤软组织缺损中的应用[J]. *中华显微外科杂志*, 2018, 41(1): 18-21.
- [5] 辛晓林,张林峰,王顺利,等. Ilizarov 技术治疗胫骨骨折术后感染、骨缺损的疗效[J]. *临床骨科杂志*, 2018, 21(2): 193-195.
- [6] 中华医学会骨科学分会创伤骨科学组,中华医学会骨科学分会外固定与肢体重建学组,中国医师协会创伤外科医师分会创伤感染专业委员会,等. 中国开放性骨折诊断与治疗指南(2019 版)[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2019, 21(11): 921-928.
- [7] 张立,余雪,于佳,等. Masquelet 技术联合皮肤牵张技术治疗 Gustilo III 型开放性骨折的疗效分析[J]. *创伤外科杂志*, 2020, 22(10): 772-775.
- [8] Ricci JA, Abdou SA, Stranix JT, et al. Reconstruction of Gustilo Type III C Injuries of the Lower Extremity[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2019, 144(4): 982-987.
- [9] Hand TL, Hand EO, Welborn A, et al. Gram-Negative Antibiotic Coverage in Gustilo-Anderson Type-III Open Fractures[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2020, 102(16): 1468-1474.
- [10] 贾丙申,于鹏,周立义,等. Gustilo III 型开放性骨折术后医院感染危险因素及负压封闭引流技术的疗效评价[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(19): 4488-4491.
- [11] 王成龙,罗岳,李存宽. 上肢开放性骨折术后医院感染发生情况分析[J]. *华南预防医学*, 2019, 45(5): 419-422+500.

NLR、PLR对结肠癌根治术后手术部位感染的预测价值

张文静^{1*} 田红梅² 王冲¹ 马玲¹

[摘要] **目的** 观察中性粒细胞淋巴细胞比值(NLR)、血小板淋巴细胞比值(PLR)对结肠癌根治术后手术部位感染(SSI)的预测价值。**方法** 选取2018年1月至2021年1月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的96例结肠癌根治术患者,将术后发生SSI的19例患者纳入感染组,余77例纳入未感染组,观察两组患者术前基线实验室检查资料,比较两组患者NLR、PLR水平,采用logistics回归分析影响患者发生SSI的危险因素,采用ROC曲线分析术前NLR、PLR对结肠癌根治术后SSI的预测价值。**结果** 感染组患者NLR、PLR水平高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者中性粒细胞计数(NEUT)、淋巴细胞计数(TLC)、血小板计数(PLT)、血红蛋白(HB)水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。logistics回归分析显示,NLR、PLR水平均是影响结肠癌术后SSI发生的影响因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,术前NLR、PLR水平用于评估结肠癌根治术后SSI患者诊断价值的AUC分别为0.722、0.681。**结论** NLR、PLR水平与结肠癌根治术后SSI发生密切相关,术前重视其水平对结肠癌根治术后SSI的发生具有一定的预测价值。

[关键词] 结肠癌根治术;手术部位感染;中性粒细胞淋巴细胞比值;血小板淋巴细胞比值

Predictive value of NLR and PLR for surgical site infection after radical resection of colon cancer

ZHANG Wenjing^{1*}, TIAN Hongmei², WANG Chong¹, MA Ling¹

(1. Department of Colorectal Oncology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038; 2. Department of Nursing, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To observe the predictive value of neutrophil lymphocyte ratio (NLR) and platelet lymphocyte ratio (PLR) for surgical site infection (SSI) after radical resection of colon cancer. **Methods** 96 patients undergoing radical resection of colon cancer admitted to Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University were selected from January 2018 to January 2021. 19 cases with postoperative SSI were included in the infected group, and the remaining 77 cases were enrolled as the non-infected group. Preoperative baseline laboratory examination data were observed in the two groups of patients, and the levels of NLR and PLR were compared between the two groups. Logistics regression analysis was used to analyze the risk factors affecting patients with SSI, and the ROC curve was applied to analyze the predictive value of preoperative NLR and PLR on SSI after radical resection of colon cancer. **Results** The levels of NLR and PLR in the infected group were higher than those in the non-infected group ($P<0.05$). There were no statistically significant differences in the levels of neutrophil count (NEUT), lymphocyte count (TLC), platelet count (PLT) and hemoglobin (HB) between the two groups ($P>0.05$). Logistics regression analysis showed that NLR and PLR were the influencing factors for SSI after colon cancer surgery ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC values of preoperative NLR and PLR in assessing diagnostic value on SSI after radical resection of

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7202025)

作者单位:1.首都医科大学附属北京世纪坛医院结直肠肿瘤外科,北京 100038

2.首都医科大学附属北京世纪坛医院护理部,北京 100038

*通信作者:张文静, E-mail: zhangwenjing3463@bjsjth.cn

colon cancer were 0.722 and 0.681 respectively. **Conclusion** The levels of NLR and PLR are closely related to the occurrence of SSI after radical resection of colon cancer. Preoperative attention to their levels has certain predictive value on the occurrence of SSI after radical resection of colon cancer.

[KEY WORDS] Radical resection of colon cancer; Surgical site infection; Neutrophil lymphocyte ratio; Platelet lymphocyte ratio

结肠癌是消化系统常见恶性肿瘤,严重威胁患者的生命安全,近年来发病率呈上升趋势^[1]。目前临床多以手术治疗为主,可有效改善患者临床症状,延缓病情进展,但术后并发症的发生对临床疗效、生活质量及疾病转归具有严重影响。我国一项关于肿瘤流行病学研究显示,结肠癌发病率位居第4位,死亡率位居第5位^[2]。手术部位感染(Surgical site infection, SSI)如吻合口瘘、腹部或会阴部切口感染、腹腔感染等均是结肠癌手术常见并发症,可严重影响患者预后,严重者甚至可造成死亡。提高对 SSI 的术前预测能力,并干预其相关危险因素,对降低 SSI 的发生率、改善患者预后具有十分重要的意义。中性粒细胞淋巴细胞比值(Neutrophil lymphocyte ratio, NLR)、血小板淋巴细胞比值(Platelet lymphocyte ratio, PLR)是临床常见炎症评价指标,其水平高低与多种肿瘤患者的临床结局关系密切^[3]。基于此,本次研究将通过分析结肠癌根治术患者临床资料,探讨术前 NLR、PLR 对结肠癌根治术后 SSI 的预测价值,结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2021年1月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的96例结肠癌根治术患者。纳入标准:①所有患者均符合结肠癌诊断标准^[4],行结肠癌根治术,且经术后病理学证实,分期不限;②临床资料完整;③对本次研究知情且签字同意者。排除标准:①伴有其他恶性肿瘤或结肠癌复发在手术者;②术前存在全身或局部感染;③临床资料不完整者。以2017年版《美国疾病预防控制中心手术部位感染预防指南》^[5]为依据,将术后发生 SSI 的19例患者纳入感染组,余77例纳入未感染组,两组一般资料见表1。本研究经院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

所有患者均在入院后采集空腹静脉血5 mL,3 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm)后分离血清置于-80℃冰箱备检。采用 Sysmex XE-500 全自

表1 两组患者临床资料比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 1 Comparison of clinical data between 2 group

临床资料		$[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$		χ^2/t 值	P值
		感染组 (n=19)	未感染组 (n=77)		
性别(例)	男	17(89.47)	46(59.74)	5.972	0.014
	女	2(10.53)	31(40.26)		
年龄(岁)		58.13±10.34	59.21±11.42	0.376	0.708
新辅助治疗(例)	是	3(15.79)	18(23.38)	0.513	0.473
	否	16(84.21)	59(76.62)		
手术方式(例)	腹腔镜	15(78.95)	62(80.52)	0.024	0.878
	开腹	4(21.05)	15(19.48)		
TNM分期(例)	I	5(26.32)	18(23.38)	0.305	0.761
	II	5(26.32)	21(27.27)		
	III	6(31.58)	23(29.87)		
	IV	3(15.79)	15(19.48)		

动血细胞分析仪及其配备试剂盒(日本希森美康公司生产)于采血后2小时内检测患者血常规血小板计数(platelet count, PLT)、血红蛋白(hemoglobin, HB)、中性粒细胞计数(Neutrophil count, NEUT)、淋巴细胞计数(total lymphocyte count, TLC)水平。然后 NEUT、TLC、PLT 水平计算 NLR、PLR。比较两组患者术前 NEUT、TLC、PLT、HB、NLR、PLR 水平差异,分析术前 NLR、PLR 对结肠癌根治术后 SSI 的影响及预测价值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用 logistics 回归分析影响患者发生 SSI 的危险因素,绘制受试者工作特征曲线(ROC)并计算曲线下面积评估术前 NLR、PLR 对结肠癌根治术后 SSI 的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染组与未感染组患者血常规、NLR、PLR 水平比较

感染组患者 NLR、PLR 水平高于未感染组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者 NEUT、TLC、PLT、HB 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 感染组与未感染组患者血常规、NLR、PLR水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of blood routine, NLR and PLR between infected group and non-infected group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NEUT($\times 10^9/L$)	TLC($\times 10^9/L$)	PLT($\times 10^9/L$)	HB(g/L)	NLR	PLR
感染组	19	3.96 \pm 1.01	1.48 \pm 0.44	248.85 \pm 53.41	138.56 \pm 18.55	2.76 \pm 0.51	189.59 \pm 58.44
未感染组	77	3.64 \pm 1.20	1.72 \pm 0.69	235.58 \pm 62.15	134.42 \pm 19.63	2.38 \pm 0.46	147.63 \pm 61.46
t值		1.071	1.442	0.855	0.832	3.156	2.690
P值		0.287	0.153	0.395	0.408	0.002	0.009

2.2 结肠癌术后 SSI 影响因素的 logistics 回归分析

将结肠癌患者术后是否感染为因变量,以 NLR、PLR 水平为自变量进行 logistics 回归分析,结果显示,NLR、PLR 水平均是影响结肠癌术后 SSI 发生的影响因素($P < 0.05$)。见表 3。

表3 结肠癌术后 SSI 的 logistics 回归分析

Table 3 Logistics regression analysis of SSI after colon cancer surgery

相关因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
NLR	0.859	0.352	5.955	2.361	1.184~4.706	0.015
PLR	0.478	0.231	4.282	1.613	1.026~2.536	0.039

2.3 术前 NLR、PLR 水平对结肠癌术后 SSI 的诊断

价值 ROC 曲线显示,NLR、PLR 诊断结肠癌术后 SSI 的敏感性分别为 87.89%、78.95%,术前 NLR、PLR 水平对结肠癌术后 SSI 具有一定的参考价值。见表 4、图 1。

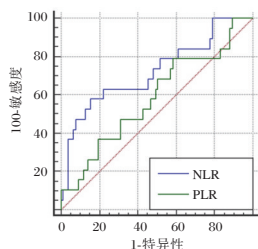


图1 术前 NLR、PLR 水平诊断结肠癌术后 SSI 的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curves of preoperative NLR and PLR levels in the diagnosis of SSI after colon cancer surgery

3 讨论

近年来,随着我国居民饮食结构及生活方式的改变,消化道恶性肿瘤居高不下,且有上升趋势。结肠癌是临床常见的消化道恶性肿瘤,具有较高的死亡率^[6]。目前手术是该病主要治疗方式,且临

床对于符合手术指征患者均推荐尽早手术治疗。但由于肠道菌群复杂,加之患者可能存在其他基础疾病等,导致患者发生 SSI 的概率较高,对患者预后具有严重影响^[7]。本次研究中,结肠癌根治术后 SSI 发生率为 19.79%,以吻合口瘘和切口感染为主,可见结肠癌术后 SSI 发生率较高。即使在临床治疗过程中采取多种干预措施预防 SSI 的发生,但其有效性目前尚无相关循证医学证据证明。术前采取有效措施预测 SSI 发生风险,帮助医生选择更加合适的手术方法及手术时间,确保手术安全并提高患者预后十分必要。有学者指出,CD64 指数、可溶性髓系细胞触发受体 1 (Soluble myeloid cell trigger receptor 1 sTREM-1)、C-反应蛋白/白蛋白(C-reactive protein/albumin, CRP/Alb) 比值三者联合检测对结肠癌术后 SSI 具有较好的诊断效果,但该检测方法普适性不高,无法为低级别医院提供参考价值^[8]。

相关研究显示,恶性肿瘤的发生发展与慢性炎症密切相关,肿瘤的炎性反应与患者的免疫功能是相互关联的动态过程,炎性反应可打破这样的动态平衡,加速肿瘤的发展进程^[9]。当患者机体发生感染后,炎症反应被激活并大量分泌及释放,血清中炎症因子水平会随之升高^[10]。中性粒细胞是对抗炎症的第一道天然免疫防御,能够引起组织损伤,对上皮细胞、巨噬细胞等免疫细胞提供信号;淋巴细胞是抗肿瘤免疫的重要组成部分,起免疫监视作用,可以特异性识别而直接杀伤肿瘤或释放一系列细胞因子激活抗肿瘤免疫,淋巴细胞减少提示机体免疫力下降,抗肿瘤能力减弱。因此 NLR、PLR 是机体相关的炎性指标,可有效反映患者机体的免疫活性。有研究发现持续的炎性反应可通过减弱患者免疫应答能力,促进病情进展^[11]。NLR 是机体抗肿瘤性炎性反应与促瘤性炎性反应的平衡指标,可以

表4 术前 NLR、PLR 水平对结肠癌术后 SSI 的诊断价值分析

Table 4 Diagnostic value of preoperative NLR and PLR on SSI after colon cancer surgery

指标	AUC	截断点	SE 值	95%CI	约登指数	敏感性	特异性	P 值
NLR	0.722	>2.831	0.073	0.621~0.808	0.540	87.89	74.58	<0.001
PLR	0.681	>131.306	0.076	0.579~0.684	0.305	78.95	61.56	<0.001

综合反映肿瘤患者体内炎症和免疫状态^[12]。PLR代表血小板与淋巴细胞之间的平衡,能够更好地反映机体的炎症状态。高水平的NLR及PLR可能是全身或局部炎症反应的标志,可为肿瘤的进展与转移提供一个有利的微环境^[13]。Pedrazzani等^[14]观察NLR、PLR对结直肠癌患者的预后作用,结果显示只有NLR是影响患者预后的预测指标,而PLR则无明显相关性。Kse等^[15]也证实NLR与结直肠癌患者预后密切相关。Ht等^[16]研究也表明NLR可作为预测结直肠癌术后并发症的指标。本次研究结果显示,结肠癌根治术后发生SSI患者NLR、PLR水平明显高于未发生SSI患者。进一步采用ROC曲线分析结果显示,NLR预测结直肠癌术后SSI的AUC为0.722,灵敏度和特异度分别为87.89%、74.58%,PLR预测结直肠癌术后SSI的AUC为0.681,灵敏度和特异度分别为78.95%、61.56%,提示术前NLR和PLR对结肠癌根治术后SSI的发生有一定预测价值。

综上所述,NLR、PLR水平与结肠癌根治术后SSI发生密切相关,高水平的NLR、PLR可能可作为预测结肠癌根治术后SSI的指标。

参考文献

- [1] 陆峰,刘成宸,陈威鹏,等.小脑锌指结构5在结肠癌中的蛋白表达及预后评估价值[J].江苏大学学报(医学版),2018,28(5):444-446.
- [2] 王嘉源,董卫国.结肠癌靶向治疗研究[J].胃肠病学和肝病杂志,2020,29(7):721-725.
- [3] Wang D, Hou X, Hu K, et al. Verification of Pre-treatment NLR and PLR on the Prognosis of Patients with Locally Advanced Cervical Cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biology Phys, 2020,108(3):498.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.中国结直肠癌诊疗规范(2020年版)[J].中华外科杂志,2020,58(8):561-585.
- [5] Berrios-torres SI, Umscheid CA, Bratzler DW, et al. Centers for disease control and prevention guideline for the prevention of surgical site infection, 2017 [J]. JAMA Surg, 2017, 152(8): 784-791.
- [6] 杨秀成,于琼,巩林强,等.结肠癌血清IGF1水平及肿瘤组织中VEGFC,VEGFR3表达与淋巴结转移的相关性研究[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(3):381-385.
- [7] Kay D, Bhakta A, Patel JA, et al. Novel Technique to Reduce the Incidence of SSI after Colorectal Surgery [J]. Am surg, 2019, 85(7):695-699.
- [8] 张莉,李昌平. CD64指数和可溶性髓系细胞触发受体1对结肠癌术后感染的诊断价值[J].中华医院感染学杂志2019,29(14):2162-2166.
- [9] 牛志强,莱智勇,高明,等.全身炎症反应指数评估消化系统恶性肿瘤患者预后的研究进展[J].国际外科学杂志,2021,48(2):132-136.
- [10] Yang J, tongsen Z, Yanqiao Z. Research progress on the mechanism of Gankyrin in inflammation related cancer [J]. Modern Oncol, 2019, 27(7): 156-160.
- [11] 龚根强,杨凌玲.胃癌根治术后炎症反应状态延长与胃癌患者不良预后的相关性研究[J].实用肿瘤杂志,2019,34(1):52-56.
- [12] 于涛,范婉,梁飞新.中性粒细胞产生活性氧在肿瘤发生发展中作用的研究进展[J].医学研究生学报,2019,32(2):206-210.
- [13] 李东,盛伟伟,史晓洋,等.术前NLR-PLR评分与结直肠癌临床病理特征及预后关系的研究[J].中华消化外科杂志,2020,19(3):308-314.
- [14] Pedrazzani C, Mantovani G, Fernandes E, et al. Assessment of neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio and platelet count as predictors of long-term outcome after R0 resection for colorectal cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):1494.
- [15] Kse N, Yldrm T, Akn F, et al. Prognostic role of NLR, PLR, and LMR in patients with pulmonary embolism [J]. Bosnian J Basic Med Sci, 2020, 20(2):248-253.
- [16] Ht A, Spd A, Jh B, et al. Prognostic value of changes in neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) for patients with cervical cancer undergoing definitive chemoradiotherapy (dCRT) - ScienceDirect[J]. Clin Chim Acta, 2020, 510: 711-716.
- [12] 谢承成,陈南,吴迪.开放性骨折术后创面感染的病原菌及耐药性分析[J].实用骨科杂志,2018,24(8):682-686.
- [13] 胡彦彬,王振东,赵强,等.FGF18与骨性关节炎患者血清炎症细胞因子、脂肪细胞因子及骨关节严重程度的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):639-642.
- [14] 季孝,刘思宇.降钙素原、C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A联合检测对婴幼儿细菌感染性疾病早期诊断的价值[J].中国卫生检验杂志,2018,28(8):967-969.
- [15] 关炳星,张倩,马立良,等.脓毒症患者血清HMGB1、IGF-1水平变化及与T淋巴细胞亚群、预后的关系研究[J].现代生物医学进展,2020,20(10):1984-1987+1965.
- [16] 陈思凯,邢金明,蒋华,叶承锋. Gustilo III型开放性骨折患者术后感染与血清SAA、 β -防御素-3水平的研究[J].中华医院感染学杂志,2020,30(7):1030-1033.

(上接第244页)

NLR与CRP对急性甘油三酯血症性胰腺炎病情严重程度预测价值的预测价值

薛祥 谢东辉* 黄昌保 汪利宗

[摘要] 目的 探讨NLR与CRP对急性高甘油三酯血症性胰腺炎(AHTGP)病情严重程度的预测价值。方法 选取2020年1月至2021年9月皖南医学院弋矶山医院急诊内科收治的94例AHTGP患者,依据其病情严重程度分为MAP组47例,MSAP组30例,SAP组17例。分析AHTGP患者病情严重程度的影响因素及NLR与CRP对其预测价值。结果 APACHE II评分、MCTSI评分、TC、TG、CRP、NLR、PLR增高均为AHTGP患者病情严重的危险因素($P<0.05$),血清钙增高为AHTGP患者病情严重的保护因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,NLR、CRP及两项联合预测患者AHTGP患者病情严重程度AUC分别为0.865、0.872、0.904,可知,两项联合指标预测价值高于单项指标,其敏感度、特异度为1.000、0.753。结论 NLR与CRP为AHTGP病情严重程度的影响因素,对其具有一定预测价值。

[关键词] NLR; CRP; 急性高甘油三酯血症性胰腺炎; 预测价值

The predictive value of NLR and CRP in the severity of acute hypertriglyceridemia pancreatitis

XUE Xiang, XIE Donghui*, HUANG Changbao, WANG Lizong

(Department of Emergency, Yijishan Hospital, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the predictive value of NLR and CRP in the severity of acute hypertriglyceridemia pancreatitis (AHTGP). **Methods** A total of 94 AHTGP patients admitted to the emergency department of Yijishan Hospital, Wannan Medical College from January 2020 to September 2021 were selected and divided into the MAP group ($n=47$), the MSAP group ($n=30$) and the SAP group ($n=17$) according to their severity. The influencing factors of disease severity in AHTGP patients and the predictive value of NLR and CRP were analyzed. **Results** APACHE II score, MCTSI score, increased TC, TG, CRP, NLR, and PLR were all risk factors for severe disease in patients with AHTGP ($P<0.05$). Increased serum calcium was a protective factor for severe disease in AHTGP patients ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of NLR, CRP and the two combined to predict the severity of AHTGP patients were 0.865, 0.872, and 0.904, respectively. The predictive value of the two combined indicators was higher than that of the single indicator, and their sensitivity and specificity were 1.000 and 0.753. **Conclusion** NLR and CRP are the influencing factors of the severity of AHTGP, and have certain predictive value.

[KEY WORDS] NLR; CRP; Acute hypertriglyceridemia pancreatitis; Predictive value

急性胰腺炎(Acute pancreatitis, AP)为临床常见消化系统疾病,因多种原因引起胰腺组织自身消化,导致机体多项器官发生严重功能障碍,突发性上腹部疼痛为其主要症状,伴有恶心、呕吐

等^[1]。随着人们生活水平上升,饮食习惯的改变,高脂血症患病人群逐年增长,与胆石症、酒精并列为AP的发病原因。大量研究表明与其他类型急性胰腺炎比较,急性高甘油三酯血症性胰腺炎

基金项目:弋矶山医院引进人才专项科研基金(YR201906)

作者单位:皖南医学院弋矶山医院急诊科,安徽,芜湖241000

*通信作者:谢东辉, E-mail:xdh17730141737@163.com

(acute hypertriglyceridemic pancreatitis, AHTGP)病情更为严重,患者预后相对较差^[2]。因此,探讨有效评估 AHTGP 病情变化的指标极具临床意义。既往研究表明急性胰腺炎患者中炎症因子发挥主导作用,早期炎症反应可有效反应脏器受损程度^[3]。中性粒细胞与淋巴细胞比值(Neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)、C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)均为炎症反应标志物。谢文秀等^[4]通过研究 NLR、CRP 与 AP 的关系,发现其对 AP 病情发展具有预测价值。但关于其与 AHTGP 的关系,临床研究甚少。本研究以 AHTGP 患者为研究对象,探讨 NLR 与 CRP 对 AHTGP 病情严重程度的预测价值。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2021 年 9 月皖南医学院附属弋矶山医院急诊内科收治的 94 例 AHTGP 患者进行分析,其中男性 54 例,女性 40 例,平均年龄为(51.26±7.84)岁。依据其病情严重程度^[5]分为轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)、中重症急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)及重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),MAP 组 47 例,MSAP 组 30 例,SAP 组 17 例。本研究已通过本单位伦理委员会批准。

纳入标准:①符合 AHTGP 诊断及分类标准^[6];②均为首次发病;③年龄≥18 岁;④临床资料完整。⑤发病时间在 24 h 内。⑥患者或其家属签署知情同意书。排除标准:①合并严重脏器病变;②慢性胰腺炎;③合并自身免疫病;④合并恶性肿瘤;⑤由其他病因所致急性胰腺炎;⑥近期使用过激素类药物;⑦排合并感染类疾病。

AHTGP 诊断标准^[6]:在 AP 诊断上,TG 水平在 5.65~11.3 mmol/L,或超过 11.3 mmol/L 且血清呈乳糜状。MAP 诊断:脏器未出现衰竭,无其他并发症,符合 AP 诊断标准。MSAP 诊断:脏器功能短暂性障碍,胰腺周围脓肿,或各项评分超出范围值,急性生理与慢性健康评分(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)^[7]在 8 分以上,改良 CT 严重指数(modified computed tomography severity index, MCTSI)^[8]在 4 分以上。SAP 脏器发生持续性障碍,改良 Marshall 评分在 2 分以上。

1.2 方法

收集患者临床资料,包括性别、年龄、体质量指数(BMI)、基础疾病、吸烟史、饮酒史、APACHE II 评分、MCTSI 评分等。采集所有患者空腹静脉血 5mL,放置于抗凝真空管中,检查患者入院时白细胞计数(WBC)、中性粒细胞计数(N)、淋巴细胞计数(L)、血清钙水平,计算出患者中性粒细胞比值(NLR)及血小板与淋巴细胞比值(PLR),CRP 采用化学发光免疫分析法检测,试剂盒购自武汉明德生物科技股份有限公司;采用氧化酶法测定总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG),检测使用全自动生化分析仪(生产厂家:基蛋生物科技股份有限公司)及配套试剂。

1.3 统计学分析

数据采用 SPSS 22.0 软件分析,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验或 Fisher 精确检验;正态分布计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间行单因素方差分析;采用单因素分析、多因素 Logistic 回归分析 AHTGP 患者病情严重程度的影响因素;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 NLR 与 CRP 对 AHTGP 病情严重程度的预测价值以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AHTGP 患者病情严重程度的单因素分析

单因素分析显示,性别、年龄、BMI、基础疾病(高血压、糖尿病、脂肪肝)、吸烟史、饮酒史与 AHTGP 患者病情严重程度无关($P > 0.05$),而 APACHE II 评分、MCTSI 评分、TC、TG、CRP、NLR、PLR、血清钙与 AHTGP 患者病情严重程度有关($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 AHTGP 患者病情严重程度的多因素分析

以 AHTGP 患者病情严重程度作为因变量(1=AHTGP 轻型,2=AHTGP 中重型,3=AHTGP 重型),以 APACHE II 评分、MCTSI 评分、TC、TG、CRP、NLR、PLR、血清钙等作为协变量纳入多因素 Logistic 回归分析模型,有序多分类回归分析显示,APACHE II 评分增高、MCTSI 评分增高、TC 增高、TG 增高、CRP 增高、NLR 增高、PLR 增高均为 AHTGP 患者病情严重的危险因素($P < 0.05$),血清钙增高为 AHTGP 患者病情严重的保护因素($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 NLR 与 CRP 预测 AHTGP 中重型及以上的价值

根据 AHTGP 患者病情严重程度,划分为

表1 AHTGP患者病情严重程度的影响因素 [n(%), (x̄±s)]
Table 1 Influencing factors of the severity of AHTGP patients [n(%), (x̄±s)]

观察指标		MAP组(n=47)	MSAP组(n=30)	SAP组(n=17)	χ^2 /F/Fisher值	P值
性别	男	25	18	11	0.795	0.672
	女	22	12	6		
年龄(岁)		50.49±7.13	52.38±7.52	52.19±7.89	0.795	0.373
BMI(kg/m ²)		28.24±3.13	28.49±3.68	28.78±3.45	1.222	0.224
基础疾病	高血压	18	12	8	0.401	0.818
	糖尿病	11	9	7	1.961	0.375
	脂肪肝	15	12	8	1.369	0.504
	吸烟史	14	7	5	0.413	0.813
	饮酒史	46	29	16	1.180 ^a	0.758
APACHE II评分(分)		2.48±0.34	9.56±2.37	15.85±3.19	341.703	<0.001
MCTSI评分(分)		2.12±0.62	4.29±1.17	8.39±2.08	178.257	<0.001
实验室检查	TC(mmol/L)	9.13±1.87	11.32±2.24	13.53±3.47	23.980	<0.001
	TG(mmol/L)	20.12±5.57	21.96±6.34	29.45±7.85	13.923	<0.001
	CRP(mmol/L)	8.53±1.71	18.78±5.19	22.09±4.68	114.938	<0.001
	NLR	4.52±1.09	7.86±1.53	11.83±3.67	95.169	<0.001
	PLR	117.15±20.83	132.47±22.85	151.33±36.24	12.471	<0.001
	血清钙(mmol/L)	2.56±0.62	2.11±0.58	2.01±0.23	9.110	<0.001

注:a为Fisher值。

表2 AHTGP患者病情严重程度的多因素分析

Table 2 Multivariate analysis of the severity of AHTGP patients

变量名	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
[MAP组]	2.817	0.736	14.656	16.727	1.375~4.259	<0.001
[MSAP组]	4.597	0.836	30.224	99.186	2.958~6.236	<0.001
APACHE II评分	2.052	0.491	17.493	7.783	1.090~3.013	<0.001
MCTSI评分	6.157	4.549	15.794	472.009	3.121~9.194	<0.001
TC	0.515	0.097	28.087	1.674	0.325~0.706	<0.001
TG	0.128	0.031	16.737	1.137	0.067~0.190	<0.001
CRP	0.401	0.065	38.099	1.493	0.274~0.528	<0.001
NLR	1.029	0.166	38.506	2.798	0.704~1.354	<0.001
PLR	0.038	0.009	18.967	1.039	0.021~0.055	<0.001
血清钙	-1.307	0.371	12.413	0.271	-2.035~0.580	<0.001

AHTGP轻型与AHTGP中重型及以上。采用ROC曲线分析NLR、CRP预测AHTGP中重型及以上的价值。分析显示,NLR、CRP预测患者AHTGP患者中重型及以上AUC分别为0.865、0.872,具有一定准确性;其敏感度、特异度分别为:NLR为0.765、0.961,CRP为1.000、0.468,具有一定预测价值。

将NLR、CRP纳入Logistic回归模型,通过回归系数得出联合检测的数值计算公式为:联合检测=CRP+(1.029/0.401)*NLR,统计分析得出联合数据。进一步ROC曲线显示,联合检测预测AUC为0.904,敏感度、特异度为1.000、0.753。见表3、图1。

3 讨论

急性胰腺炎属于临床危重疾病,部分患者因病情进展迅速而病死率增加^[9]。目前,关于急性胰

表3 NLR、CRP预测AHTGP中重型及以上的价值

Table 3 NLR and CRP predict the value of AHTGP medium-heavy and above

检验项目	AUC	S.E.	95%CI	敏感度	特异度	约登指数	P值
NLR	0.865	0.070	0.728 1.000	0.765	0.961	<0.001	0.726
CRP	0.872	0.037	0.801 0.944	1.000	0.468	<0.001	0.481
两项联合	0.904	0.044	0.818 0.990	1.000	0.753	<0.001	0.753

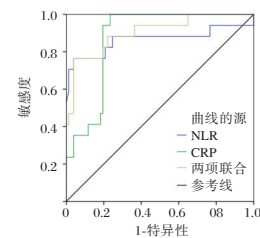


图1 NLR、CRP预测AHTGP中重型及以上的价值

Figure 1 NLR and CRP predict the value of AHTGP medium-heavy and above

腺炎发病机制,临床尚未明确。既往相关文献报道,急性胰腺炎的发生有着各种因素参与,胰酶外溢、自身消化、胰腺功能出现障碍及自身氧化应激等为主要学说^[10]。随着对急性胰腺炎深入研究,炎性因子、中性粒细胞激活等学说被认为是急性胰腺炎发生发展的主要原因^[11]。炎性因子的入侵导致患者机体脏器损伤加重,最终造成全身脏器衰竭。大量研究表明,AHTGP发病机制为体内过量甘油三酯堆积,经胰腺水解,使得胰蛋白酶激活引起胰腺细胞损伤^[12]。

临床上常用评分系统来评估急性胰腺炎病情严重程度。李曼等^[13]认为APACHE II评分、MCTSI评

分均为评价急性胰腺炎病情严重程度的标准。APACHE II评分、MCTSI评分越高,患者病情越严重。但此类评分系统内有多项实验室检查,无法短时间内获取,因此探寻更方便的指标极具临床价值。CRP为炎性反应标志物,主要在肝脏产生并分泌而来,与机体炎症反应息息相关^[14]。有研究表明,发病后24 h内血清CRP会急剧上升,且随着患者病情严重程度而上升。NLR为中性粒细胞与淋巴细胞绝对计数的比值,中性粒细胞为白细胞重要组成部分,中性粒细胞在AP患者体内因趋化因子的影响,在胰腺局部聚集,与内皮细胞粘附引起微静脉瘀滞,血栓形成,使得胰腺循环障碍加重^[15]。大量研究表明,急性胰腺炎患者通常淋巴细胞数目减少,淋巴细胞数目减少与疾病严重程度密切相关^[16]。本文通过对AHTGP患者病情严重程度的影响因素进行研究,发现性别、年龄、BMI、基础疾病(高血压、糖尿病、脂肪肝)、吸烟史、饮酒史与AHTGP患者病情严重程度无关,而APACHE II评分、MCTSI评分、TC、TG、CRP、NLR、PLR、血清钙等可能与AHTGP患者病情严重程度有关。TC、TG均为血脂相关指标,与AHTGP患者体内血脂水平密切相关。CRP、NLR、PLR、血清钙均为全血反应指标,可较好反应AHTGP炎症情况。本文进一步将APACHE II评分、MCTSI评分、TC、TG、CRP、NLR、PLR、血清钙等作为协变量纳入多因素Logistic回归分析模型,有序多分类回归分析显示,APACHE II评分增高、MCTSI评分增高、TC增高、TG增高、CRP增高、NLR增高、PLR增高均为AHTGP患者病情严重的危险因素,血清钙增高为AHTGP患者病情严重的保护因素。分析原因如下:SAP组APACHE II、MCTSI评分显著高于MAP组、MSAP组,说明AHTGP患者病情严重者,其APACHE II、MCTSI评分相对较高。已有研究表明,TG水平超过11.3 mmol/L时,发生AHTGP概率更大,且TG水平升高者患者病情越危重,预后相对较差。因此临床应加强TC、TG指标的监测,及时发现异常,采取降脂治疗,抑制疾病的发展。NLR为机体系统性炎症的表现,其对AP患者病情加重及病死方面,较白细胞、中性粒细胞计数及淋巴细胞计数更为敏感。有文献报道,SAP患者中NLR通常于起病48 h内急剧升高,可反应患者预后不良。PLR可有效反应患者机体血栓形成、全身炎症反应情况,为多种恶性肿瘤的危险因素之一^[17]。安铁峰等^[18]指出血清钙可反映AHTGP患者病情严重程度,可能机制为AHTGP患者病情加重,其体内游离脂肪

酸大量释放,钙盐的形成导致低钙血症。血清钙随着AHTGP病情加重而下降显著,血清钙下降可反映患者全身炎症反应。

ROC曲线分析显示,NLR、CRP及两项联合预测患者AHTGP患者病情严重程度AUC分别为0.865、0.872、0.904,可知,两项联合指标预测价值高于单项指标,其敏感度、特异度为1.000、0.753。说明NLR、CRP可作为AHTGP患者病情严重程度的预测指标,因此临床上应加强检测,对于异常患者,及时干预,有利于病情控制。

综上所述,NLR与CRP为AHTGP病情严重程度的影响因素,对AHTGP病情变化具有一定预测价值,值得在临床推广。

参考文献

- [1] Garg PK, Singh VP. Organ Failure Due to Systemic Injury in Acute Pancreatitis [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156 (7): 2008-2023.
- [2] Sun YM, Gao F, Chen X, et al. The relationship between triglyceride level and the severity of acute hypertriglyceridemic pancreatitis in Chinese patients [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2020, 31(9):633-639.
- [3] 乐杨桦,曹友德.炎症反应与免疫抑制在急性胰腺炎中作用的研究进展[J].标记免疫分析与临床,2019,26(1):173-176.
- [4] 谢文秀,张春燕,常艳,等.血液相关标志物与急性胰腺炎病情严重程度的相关性研究[J].中国临床医生杂志,2020,48(11):1285-1288.
- [5] 聂兰,吴清明,徐娅,等.早期预测急性胰腺炎病情严重程度的研究进展[J].华南国防医学杂志,2019,33(6):437-439+443.
- [6] 《高甘油三酯血症性急性胰腺炎诊治急诊专家共识》专家组.高甘油三酯血症性急性胰腺炎诊治急诊专家共识[J].中国全科医学,2021,24(30):3781-3793.
- [7] Li M, Xing XK, Lu ZH, et al. Comparison of Scoring Systems in Predicting Severity and Prognosis of Hypertriglyceridemia-Induced Acute Pancreatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2020, 65 (4): 1206-1211.
- [8] 中华医学会外科学分会胰腺外科学组.急性胰腺炎诊治指南(2014版)[J].中华消化外科杂志,2015,14(1):1-5.
- [9] Garg PK, Singh VP. Organ Failure Due to Systemic Injury in Acute Pancreatitis [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156 (7): 2008-2023.
- [10] 李方平,温剑,胡迎春,等.Kupffer细胞通过Toll样受体4信号通路调控组织因子及组织因子相关微粒表达诱导急性胰腺炎的发生[J].中国普外基础与临床杂志,2018,25(7):784-791.
- [11] 刘子衿,刘子雨,张玫.载脂蛋白与急性高脂血症性胰腺炎预后的相关性分析[J].中华全科医师杂志,2019,18(11):1070-1074.

(下转第257页)

· 论 著 ·

髋部骨折术后患者血液凝血四项、D-二聚体水平与感染及血栓发生的关系

王蕾^{1*} 魏亚楠² 杨玉山¹ 严晓慧³

[摘要] 目的 探讨髋部骨折术后患者血液凝血四项、D-二聚体水平的变化,及其与感染和血栓发生的关系。方法 收集2018年12月至2020年1月平煤神马医疗集团总医院髋部骨折手术患者318例,其中术后感染(感染组)17例,未感染(未感染组)301例。同期收集健康体检者60例作为对照组。记录感染组患者手术结束时(T0)、术后感染时(T1)、感染控制后(T2)及未感染组T0、对照组凝血四项和D-二聚体(D-D)水平,术后血栓发生情况,分析血栓发生及未发生患者T0时凝血四项、D-二聚体水平差异,并绘制ROC曲线分析相关指标对血栓发生的预测价值。结果 感染组、未感染组T0时及对照组TT、FIB、D-D水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),且感染组、未感染组T0时以上指标均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。感染组T0、T1、T2时间点TT、FIB、D-D水平均呈现先升高后降低趋势($P<0.05$),T1、T2时明显高于T0时,T1时明显高于T2时,差异有统计学意义($P<0.05$)。感染组血栓发生率为58.82%(10/17),未感染组血栓发生率为1.33%(4/301),感染组血栓发生率明显高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.001$)。T0时血栓发生与未发生患者PT、APTT、TT、FIB、D-D差异均有统计学意义($P<0.05$)。感染、T0时FIB、D-D是髋部骨折术后患者血栓发生的独立影响因素($P<0.05$)。FIB、D-D二者联合检测预测的AUC为0.820(0.740~0.909),较单一指标预测的AUC均有明显提高($P<0.05$)。结论 髋部骨折术后感染与凝血功能状态密切相关,且感染、FIB、D-D水平升高均是血栓形成的独立危险因素,积极防控术后感染,可能对维持机体凝血功能的稳定性,预防血栓发生具有重要意义。而加强FIB、D-D水平监测,有助于血栓形成的早期筛查与诊断。

[关键词] 髋部骨折;感染;血栓;凝血;D-二聚体

The relationship between coagulation four indices, D-dimer level changes and infection, thrombosis in postoperative patients with hip fracture

WANG Lei^{1*}, WEI Yanan², YANG Yushan¹, YAN Xiaohui³

(1. Department of Limb Orthopedics, General Hospital of Pingmei Shenma Medical Group, Pingdingshan, Henan, China, 467000; 2. Zone 3, Department of Orthopedics of Limbs, General Hospital of Pingmei Shenma Medical Group, Pingdingshan, Henan, China, 467000; 3. Department of Orthopedics of Limbs, General Hospital of Pingmei Shenma Medical Group, Pingdingshan, Henan, China, 467000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes of coagulation four indices and D-dimer levels in patients with hip fracture, and their relationship with the incidence of infection and thrombosis. **Methods** A total of 318 patients with hip fracture surgery in Pingmei Shenma Medical Group General Hospital from December 2018 to January 2020 were collected, including 17 cases with postoperative infection (infection group) and 301 cases without infection (non-infection group). During the same period, 60 healthy subjects were collected as the control group. The levels of coagulation four items and D-dimer (DD) in the infection

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018063211)

作者单位:1.平煤神马医疗集团总医院四肢骨科二区,河南,平顶山467000

2.平煤神马医疗集团总医院四肢骨科三区,河南,平顶山467000

3.平煤神马医疗集团总医院四肢骨科一区,河南,平顶山467000

*通信作者:王蕾, E-mail:2523785179@qq.com

group were recorded at the end of surgery (T0), postoperative infection (T1), after infection control (T2), and in the non-infected group at T0 and in the control group. The incidence of thrombosis was analyzed, and the differences in the levels of four coagulation items and D-dimer at T0 between patients with and without thrombosis were analyzed, and ROC curves were drawn to analyze the predictive value of relevant indicators for thrombosis. **Results** There were statistically significant differences in TT, FIB and D-D levels between the infected and uninfected groups and the control group ($P<0.05$), and the above indicators in the infected and uninfected groups were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). In the infection group, the levels of TT, FIB, and DD at time points T0, T1, and T2 showed a trend of first increasing and then decreasing ($P<0.05$) and those at T1 and T2 were significantly higher than those at T0, and those at T1 were significantly higher than those at T2 ($P<0.05$). The incidence of thrombosis in the infected group was significantly higher than that in the uninfected group ($P<0.001$). There were statistically significant differences in PT, APTT, TT, FIB and D-D between patients with and without thrombosis at T0 ($P<0.05$). Infection, FIB and D-D at T0 were independent significant influencing factors for thrombosis in patients with hip fracture ($P<0.05$). The AUC of FIB and D-D predicted AUC of the combined detection was 0.820 (0.740-0.909), which was significantly higher than that of the single indicator ($P<0.05$). **Conclusion** Postoperative infection of hip fracture is closely related to the state of coagulation function. In addition, infection, elevated FIB and D-D levels are independent risk factors for thrombosis. Active prevention and control of postoperative infection may be of great significance for maintaining the stability of the body's coagulation function and preventing thrombosis. Strengthening the monitoring of FIB and D-D levels is helpful for the early screening and diagnosis of thrombosis.

[KEY WORDS] Hip fracture; Infection; Thrombosis; Coagulation; D-dimer

近年来,髋部骨折发生率明显升高且每年以0.60%速度递增^[1]。髋部骨折可采取内科保守干预和手术治疗,但前者易诱发髋内翻、伤肢外旋等不良结局且高龄人群长期卧床易合并褥疮、坠积性肺炎等不良事件,不利于患者术后康复,死亡率高达34.60%^[2-3]。手术能快速解决骨折及其并发症问题,但术后感染、血栓形成等严重并发症也对预后造成不利影响。目前有关髋部骨折术后感染患者血液凝血状态与血栓发生相关性的研究甚少。本研究对比分析髋部骨折术后感染者及未感染者血液凝血状态、血栓发生的差异,并明确感染、血液凝血状态及血栓发生的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年12月至2020年1月医院髋部骨折手术患者318例,纳入标准:①符合髋部骨折标准和手术适应症^[4]。②住院时间超过72 h。③心肺肝肾功能正常。④具备一定理解力、执行力和沟通力。⑤术后主动进行肢体锻炼。⑥按照中华医学会骨科分会指南有关骨科髋部手术规范预防量抗凝。⑦手术记录、麻醉记录完整。排除标准:①精神疾病、意识障碍。②术前血栓已形

成且D-二聚体等凝血指标异常。③近两周使用低分子肝素、纤维蛋白原溶解剂。④合并血友病等疑似和存在凝血功能障碍相关的遗传性疾病。参考《中国骨折内固定术后感染诊断与治疗专家共识(2018版)》^[5]中感染诊断标准,根据术后是否发生感染分为感染组17例和未感染组301例。另外选取60例健康体检者作为对照组。三组在年龄、性别、BMI等指标方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究所有入试者均知情同意,并经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

凝血四项[凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)]和D-二聚体(D-D)水平检测:感染患者手术结束时(T0)、术后感染时(T1)、感染控制后(T2),未感染患者T0时,对照组清晨空腹抽取研究对象肘部静脉血5 mL,置于抗凝剂分离胶真空采集管(VACUETTE, Austria)。常温下混合均匀,采用台式高速离心机(德国Eppendorf,型号Centrifuge5417R)以3 500 r/min速度离心5~10 min,离心半径为6 cm,留取上层液待检测或置于-80℃冰箱保存。采用血液凝固分析仪(法国SATAGO公司,型号STA-R Evolution),利用免疫比浊法测定,试剂盒由法国SATAGO公司提供。

表1 三组基线资料的比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of baseline data among the three groups [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

项目	感染组(n=17)	未感染组(n=301)	对照组(n=60)	χ^2/F	P值
性别				0.206	0.902
男	12(70.59)	203(67.44)	42(70.00)		
女	5(29.41)	98(32.56)	18(30.00)		
年龄(岁)	75.00±3.65	74.50±2.00	74.00±2.50	(1.897)	0.152
BMI(kg/m ²)	21.50±1.20	21.14±1.10	21.40±1.85	(1.598)	0.204
基础疾病					
高血压	3(17.65)	34(11.30)	7(11.67)	0.631	0.729
2型糖尿病	4(23.53)	45(14.95)	9(15.00)	0.918	0.632
吸烟史	6(35.29)	78(25.91)	16(24.24)	0.729	0.695
手术时间				0.000	0.999
≥2 h	10(58.82)	177(58.80)			
<2 h	7(41.18)	124(41.20)			
麻醉方法				0.138	0.710
全身麻醉	15(88.24)	266(88.37)			
持续硬膜外麻醉	2(11.76)	35(11.63)			
假体固定类型				0.084	0.772
骨水泥型	3(17.65)	52(17.28)			
生物型	14(82.35)	249(82.72)			
下床活动时间(w)	6.20±1.10	6.14±1.15		[0.210]	0.834

血栓检测:采用彩色多普勒超声诊断仪(HIT-ACHI,日本日立公司)或肺动脉CT血管造影(美国GE,型号CT325)测定。彩色多普勒超声诊断血栓标准:血管腔内有实质性回声;静脉血管腔不能被压瘪或部分压瘪;缺乏自主性或激惹性血流;血流频谱不随呼吸发生改变;侧支静脉管径由于血流增多而增宽^[6]。肺动脉CT血管造影诊断血栓标准:肺动脉闭塞,管径大于邻近血管;血管长轴图像形成球币征,血管纵轴图像形成轨道征;血管腔内周围充盈缺损,与动脉管壁形成锐角^[7]。

1.3 统计学分析

使用SPSS 23.0进行研究资料分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,两组间比较行t检验,多组间的比较为单因素方差分析+两两比较LSD-t检验。计数

资料采用n(%)表示,行 χ^2 检验。影响因素的综合分析为多因素非条件Logistic回归,采用逐步后选法。预测价值分析为ROC分析。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组研究对象凝血四项及D-D水平比较

感染组、未感染组T0时及对照组TT、FIB、D-D水平差异有统计学意义(P<0.05),且感染组、未感染组T0时以上指标均明显高于对照组(P<0.05)。感染组T0、T1、T2时间点TT、FIB、D-D水平均呈现先升高后降低趋势(P<0.05),T1、T2时明显高于T0时,T1时明显高于T2时,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表2~3。

表2 感染组、未感染组T0时及对照组PT、APTT、TT、FIB和D-D水平比较

Table 2 Comparison of PT, APTT, TT, FIB and D-D levels between the infected group, the uninfected group at T0 and the control group

组别	n	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	D-D(μ g/L)
感染组	17	11.76±1.31	29.27±5.09	17.23±1.94 ^a	3.79±0.61 ^a	570.45±37.68 ^a
未感染组	301	11.99±1.40	29.81±5.06	17.24±1.98 ^a	3.72±0.48 ^a	564.96±32.19 ^a
对照组	60	12.12±1.29	29.40±5.01	15.27±1.44	2.93±0.42	164.68±27.96
F值		0.492	0.235	27.019	69.928	3999.802
P值		0.612	0.790	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,*P<0.05。

表3 感染组不同时间点PT、APTT、TT、FIB和D-D水平变化

Table 3 Changes of PT, APTT, TT, FIB and D-D levels at different time points in the infected group

时间	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	D-D(μ g/L)
T0	11.76±1.31	29.27±5.09	17.23±1.94	3.79±0.61	570.45±37.68
T1	11.42±0.68	29.05±4.97	27.15±2.10 ^a	4.60±0.49 ^a	875.26±54.01 ^a
T2	11.75±1.07	29.34±5.05	21.18±1.98 ^{ab}	3.53±0.55 ^{ab}	618.27±41.38 ^{ab}
F值	0.254	0.118	38.647	29.864	49.367
P值	0.741	0.879	<0.001	<0.001	<0.001

注:与T0比较,*P< α' ;与T1比较,^bP< α' 。 α' 为Bonferroni校正后的检验水准=0.05/3=0.017,3为时间维度上精细比较的次数。

2.2 感染与未感染组患者血栓发生情况

感染组血栓发生 10 例,发生率为 58.82% (10/17),未感染组血栓发生 4 例,发生率为 1.33% (4/301),感染组血栓发生率明显高于未感染组,差异有统计学意义($\chi^2=113.093, P<0.001$)。

2.3 血栓发生与未发生患者凝血四项及 D-D 水平比较

在 T0 时间点血栓发生与未发生患者 PT、APTT、TT、FIB、D-D 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 血栓发生组与未发生血栓的感染患者凝血四项及 D-D 水平比较

Table 4 Comparison of four coagulation items and D-D levels between the thrombosis group and the infected patients without thrombosis

组别	n	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	D-D($\mu\text{g/L}$)
血栓发生患者	14	11.72±1.60	29.13±5.18	24.12±3.40	4.47±0.17	863.10±53.00
未发生血栓患者	304	13.24±1.71	32.92±5.37	19.40±3.45	4.05±0.14	637.57±43.73
t 值		3.260	2.586	5.008	10.870	18.688
P 值		0.001	0.010	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 髋部骨折术后患者血栓发生影响因素分析

建立非条件 Logistic 回归模型,以髋部骨折术后患者血栓发生状况为应变量,以前述单因素分析(表 3 指标及感染情况)中 $P<0.10$ 的因素为自变量,采用逐步后退法,结果显示,感染、T0 时 FIB、D-D 指标是髋部骨折术后患者血栓发生的独立影响因素。见表 5。

表 5 髋部骨折术后感染患者血栓发生指标 Logistic 模型

Table 5 Logistic model of thrombosis indicators in patients with postoperative infection of hip fracture surgery

因素	赋值说明	回归系数	标准误差	Wald	OR 值	95%CI	P 值
感染	1=有, 0=无	1.037	0.288	12.967	2.821	1.604~4.961	<0.001
FIB	1= ≥ 4.3 g/L, 0=否	0.299	0.132	5.111	1.349	1.041~1.749	0.023
D-D	1= ≥ 780 $\mu\text{g/L}$, 0=否	0.578	0.163	12.590	1.782	1.295~2.452	<0.001

2.5 T0 时 FIB、D-D 水平对髋部骨折术后血栓发生的预测价值

结果显示,T0 时 FIB、D-D 水平预测髋部骨折术后血栓发生的 AUC 均具有较高预测价值(AUC>0.7)。而 T0 时 FIB、D-D 联合检测预测术后血栓发生的 AUC 较单一指标预测有明显提高($P<0.05$)。见表 6,图 1。

表 6 FIB、D-D 水平对髋部骨折术后血栓发生预测的效能参数

Table 6 Efficacy parameters of FIB and D-D levels in predicting thrombosis after hip fracture surgery

指标	AUC(95%CI)	阈值	灵敏度	特异度	约登指数
FIB	0.703(0.508~0.973)	4.3 g/L	0.723	0.702	0.425
D-D	0.774(0.608~0.985)	780 $\mu\text{g/L}$	0.785	0.771	0.556
联合应用	0.820(0.740~0.909)		0.823	0.818	0.641

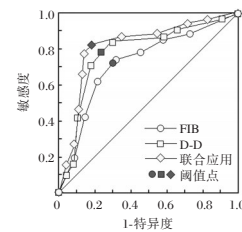


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

研究表明,髋部骨折可造成下肢水肿致静脉受压或损伤,引起静脉内血流速度下降、血管内膜广泛性损伤,使得机体凝血机制被激活;且骨折诱发的出血造成血容量下降致患者静脉血流量减少,共同造成髋部骨折术后血液黏稠度显著升高^[8]。同时,髋部手术术中较重的牵拉、骨水泥植入等操作均可直接或间接地损伤血管内皮,致内皮细胞胶原纤维过度暴露而启动凝血机制,导致患者处于血液高凝状态(高凝状态是血液有形成分或无形成分的生物化学及流变学的病理性改变,是血栓发生的核心因素与关键环节,即血栓前状态^[9-10]),增加血栓形成风险。另外术后感染也已被视为血栓发生的高危风险因素^[11]。目前研究初步表明,凝血四项检测可以反映凝血系统功能及血液黏稠度、血流形态,D-D 是体内继发性纤溶亢进的特异性分子标记物,均为反映机体凝血状态的有效指标^[12]。

本研究中,术后感染者血栓发生率(58.82%)明显高于术后未感染者(1.33%),提示术后感染与血栓发生密切相关,与文献报道一致^[13-14]。同时骨折患者术后 TT、FIB、D-D 水平显著高于健康人群,且术后感染者显著高于未感染者,表明髋部骨折术

后患者常处于血液高凝状态,尤其是感染患者;而随着感染被控制,患者TT、FIB、D-D水平随之下降。可能与感染可诱发机体大量产生白介素-6、肿瘤坏死因子- α 等炎性介质和细胞因子致血管内皮功能受损,引起环氧化酶活化,促进了花生四烯酸代谢致血栓素2(TXA₂)生成增加^[15],从而造成患者处于血液高凝状态有关。这可能也是感染导致血栓形成的主要原因。而本研究也证实,感染、FIB、D-D水平升高均是术后血栓发生的独立危险因素。因此,应积极减少髋部骨折术后患者感染危险因素,从而降低血栓发生率,而加强FIB、D-D水平监测可能对术后血栓发生具有一定的预测价值。

本研究进一步绘制了FIB、D-D检测预测髋部骨折术后血栓发生的ROC曲线,结果提示D-D检测对髋部骨折术后血栓发生具有较好的预测价值,且联合检测能进一步提高血栓发生的预测效能,更有利于早期临床筛查及诊断。

综上所述,髋部骨折术后感染与凝血功能状态密切相关,且感染、FIB、D-D水平升高均是血栓形成的独立危险因素,积极防控术后感染,可能对维持机体凝血功能的稳定性,预防血栓发生具有重要意义。而加强FIB、D-D水平监测,有助于血栓形成的早期筛查与诊断。

参考文献

- [1] Roberts KC, Brox WT, Jevsevar DS, et al. Management of hip fractures in the elderly [J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 2015, 23(2): 131-137.
- [2] 付亚辉,王鹏飞,王宝辉,等.老年髋部骨折患者围手术期深静脉血栓形成的发生规律及血浆D-二聚体的变化特点[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2016, 18(8): 668-672.
- [3] Minami CA, Bilimoria KY. Are higher hospital venous thromboembolism rates an indicator of better quality? *Evaluation of the validity of a hospital quality measure* [J]. *Adv Surg*, 2015, 49(1): 185-204.
- [4] 胥少汀,葛宝丰,徐印坎.实用骨科学[M].第4版.北京:人民军医出版社,2012:1046-1057.
- [5] 中华医学会骨科学分会创伤骨科学组,中华医学会骨科学分会外固定与肢体重建学组,中国医师协会创伤外科医师分会创伤感染专家委员会,等.中国骨折内固定术后感染诊断与治疗专家共识(2018版)[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2018, 20(11): 929-936.
- [6] 尚昆,王鹏飞,付亚辉,等.超声联合凝血检测对老年髋部骨折患者术后深静脉血栓形成的预测价值[J]. *陕西医学杂志*, 2018, 47(3): 302-304.
- [7] 陈君坤.肺栓塞CT血管造影的诊断标准和误诊分析[J]. *医学研究生学报*, 2006, 19(7): 661-663, 668.
- [8] 陈黎敏,何燕,沈碧玉.骨科手术患者术中并发下肢深静脉血栓的危险因素与预防对策[J]. *现代中西医结合杂志*, 2015, 24(7): 790-793.
- [9] Lovich-Sapola J, Smith CE, Brandt CP. Postoperative pain control [J]. *Surg Clin North Am*, 2015, 95(2): 301-318.
- [10] Roselli M, Ferroni P, Riondino S, et al. Functional impairment of activated protein C in breast cancer-relationship to survival outcomes[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(6): 1450-1457.
- [11] WATANABLE Y, ONO K, SAKAKURA K, et al. Ambulant treatment for a very elderly patient with acute deep vein thrombosis in a rural area: A case report [J]. *J Rural Med*, 2017, 12(2): 149-152.
- [12] 张蕴鑫,刘建龙,贾伟. P-选择素、溶酶体颗粒蛋白、血小板活化因子和血浆D-二聚体水平与下肢深静脉血栓形成的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(5): 1221-1223.
- [13] Mavrogenis AF, Panagopoulos GN, Megaloikononimos PD, et al. Complications After Hip Nailing for Fractures [J]. *Orthopedics*, 2016, 39(1): 108-116.
- [14] 蔡存会.探讨hs-CRP、Fg、ALP与WBC水平联合检测在髋伤术后感染患者中的临床价值[J]. *实验与检验医学*, 2019, 37(1): 85-92.
- [15] 李鹏,张征凯,刘玉珂.骨转换生化标志物在老年骨质疏松合并髋部骨折患者中的变化及其临床意义[J]. *实验与检验医学*, 2019, 37(4): 669-671.
- [12] 高岩,蓝宇,王叶,等.高甘油三酯血症性急性胰腺炎严重程度早期预测指标分析[J]. *山东医药*, 2019, 59(35): 52-54.
- [13] 李曼,邢小康,郭丰,等.6种评分系统和4个实验室检查指标对重症急性胰腺炎预后的评估作用[J]. *中华消化杂志*, 2018, 38(10): 673-677.
- [14] 郑蕾,李琦.早期血清C反应蛋白、降钙素原检测对感染性胰腺坏死的预测价值[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2021, 31(15): 73-75.
- [15] 刘蕾,易琴,聂甜,等.NHL化疗患者NLR、PLR、RDW变化及对肺部感染的预测价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(11): 1800-1804.
- [16] 余志武,梁椅夏,黄莉,等.腺病毒肺炎白细胞、C反应蛋白及降钙素原的对比分析[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(5): 670-672.
- [17] 刘序友,朱永建,叶国荣,等.高甘油三酯血症性急性胰腺炎炎症指标特征及影响因素分析[J]. *新医学*, 2018, 49(11): 816-820.
- [18] 安铁峰,王文科,赵宁,等.血钙、D-二聚体、血糖对高甘油三酯血症性急性胰腺炎预后的影响[J]. *内科急危重症杂志*, 2019, 25(3): 213-215+231.

(上接第252页)

联合 uCr、Cys-C、uMA 检测在多发性骨髓瘤合并早期肾脏损害中的诊断

张爽¹ 朱新霞¹ 冯婉荣¹ 薛南茜¹ 崔国旺² 崔金艳^{1*}

[摘要] 目的 分析联合尿肌酐(uCr)、血清胱抑素-C(Cys-C)、尿微量白蛋白(uMA)检测在多发性骨髓瘤(MM)合并早期肾脏损害中的诊断价值。方法 收集保定市第二中心医院2017年1月至2021年1月收治的123例MM患者,其中合并肾脏损伤者39例(合并肾脏损伤组,CCr≤80 mL/min),未合并肾脏损伤者84例(未合并肾脏损伤组,CCr>80 mL/min)。比较两组uCr、Cys-C及uMA水平变化情况,分析上述因子与内生肌酐清除率(CCr)的相关性。绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析uCr、Cys-C及uMA对MM合并早期肾脏损伤的诊断价值。结果 合并肾脏损伤组uCr水平明显低于未合并肾脏损伤组,Cys-C、uMA水平高于未合并肾脏损伤组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。相关性分析显示,uCr与CCr呈正相关($P<0.05$),Cys-C、uMA与CCr均呈显著负相关($P<0.05$)。在CCr 50~80 mL/min时,Cys-C与CCr相关性优于uCr、uMA。ROC曲线分析结果显示,uCr、Cys-C及uMA联合检测MM合并早期肾脏损伤的下曲线下面积(Area under curve, AUC)、敏感度、特异度均明显高于单一检测($P<0.05$)。结论 uCr、Cys-C及uMA与MM合并早期肾脏损伤患者肾功能损伤程度密切相关,综合检测各项指标可提高对MM早期肾脏损伤的诊断价值。

[关键词] 多发性骨髓瘤;尿微量白蛋白;血清胱抑素-C;尿肌酐;肾脏损伤

Combined detection of uCr, Cys-C and uMA in the diagnosis of multiple myeloma complicated with early renal damage

ZHANG Shuang¹, ZHU Xinxia¹, FENG Wanrong¹, XUE Nanqian¹, CUI Guowang², CUI Jinyan^{1*}

(1. Department of Hematology and Nephrology, Baoding Second Central Hospital, Baoding, Hebei, China, 072750; 2. Department of Cardiology, Baoding Second Central Hospital, Baoding, Hebei, China, 072750)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the value of combined detection of urinary creatinine (uCr), serum cystatin-C (Cys-C) and urinary microalbumin (uMA) in the diagnosis of multiple myeloma (MM) combined with early renal damage. **Methods** The clinical data of 123 patients with MM admitted to Baoding Second Central Hospital from January 2017 to January 2021 were collected, including 39 patients with renal injury (combined kidney injury group, $CCr \leq 80$ mL/min), and those without renal injury 84 cases (no kidney injury group, $CCr > 80$ mL/min). The changes in the levels of uCr, Cys-C and uMA were compared between the two groups. The correlation between the above factors and the endogenous creatinine clear rate (CCr) was analyzed. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the value of uCr, Cys-C and uMA in the diagnosis of MM combined with early kidney injury. **Results** The level of uCr in the group with kidney injury was significantly lower than that in the group without kidney injury, and the levels of Cys-C and uMA were higher than those in the group without kidney injury. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that uCr was positively correlated with CCr ($P < 0.05$), and both Cys-C and

基金项目:河北省卫计委医学科学研究重点课题(20170236)

作者单位:1. 保定市第二中心医院血液肾病科,河北,保定 072750

2. 保定市第二中心医院心内科,河北,保定 072750

*通信作者:崔金艳, E-mail: 13933287491@139.com

uMA were significantly negatively correlated with CCr ($P<0.05$). The correlation between Cys-C and CCr was better than that of uCr and uMA when CCr was 50~80 mL/min. The ROC curve analysis results showed that the area under curve (AUC), sensitivity, and specificity of the combined detection of uCr, Cys-C and uMA in the diagnosis of MM combined with early kidney damage were significantly higher than those of single detection.

Conclusion uCr, Cys-C and uMA are closely related to the degree of renal function damage in patients with MM combined with early renal injury. Comprehensive detection of various indicators can improve the diagnostic value of early renal injury combined with MM.

[KEY WORDS] Multiple myeloma; Urine microalbumin; Serum cystatin-C; Urine creatinine; Kidney injury

多发性骨髓瘤(Multiple myeloma, MM)是一种常见的恶性浆细胞病,约占血液系统恶性肿瘤的10%^[1]。早期MM由于临床表现无特异性,极易漏诊或误诊,导致大部分患者确诊时已涉及多脏器、组织受累。以免疫球蛋白轻链与多糖复合物沉淀于组织器官中引发的淀粉样变性是MM最为严重的并发症,受累组织广泛,其中肾脏淀粉样变导致的慢性肾脏损伤、肾功能不全是导致MM患者死亡的重要原因^[2-3]。早期发现并有效干预MM相关肾损伤具有重要意义。相关报道发现,血清胱抑素-C(Cystatin-C, Cys-C)、尿微量白蛋白(Urinary microalbumin, uMA)、尿肌酐(Urinary creatinine, uCr)等小分子代谢物在评估肾小球损伤程度中具有重要价值^[4]。本研究将比较MM合并肾脏损伤与未合并者uCr、Cys-C、uMA水平情况,探讨上述因子联合检测在MM合并早期肾脏损伤中的诊断价值,以期为临床诊治提供可靠指导意见。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集保定市第二中心医院2017年1月至2021年1月收治的123例MM患者。纳入标准:①均符合MM相关诊断标准^[5];②临床相关资料齐全;③未合并其他肾脏疾病;④沟通、意识无障碍者。排除标准:①存在血液系统疾病、泌尿系统感染;②非MM引发的肾脏疾患;③存在自身免疫性疾病、内分泌代谢性疾病。其中,合并肾脏损伤者39例(合并肾脏损伤组,内生肌酐清除率^[6](Creatinine clear rate, CCr) ≤ 80 mL/min),未合并肾脏损伤者84例(未合并肾脏损伤组,CCr >80 mL/min)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。两组患者性别、年龄、肿

瘤分期等资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

Table 1 Comparison of general information between the two groups $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

组别	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	肿瘤分期		
				I期	II期	III期
合并肾脏损伤组	39	23/16	61.53 \pm 9.64	9(23.08)	12(30.77)	18(46.15)
未合并肾脏损伤组	84	51/33	60.84 \pm 8.87	21(25.30)	26(30.95)	37(44.05)
t/χ^2 值		0.034	0.391		1.015	
P值		0.854	0.697		0.602	

1.2 方法

于入院次日清晨空腹抽取所有患者5 mL外周静脉血,以3 000 r/min离心,离心半径10 cm,处理后留取沉淀物,置于-80℃低温保存待检。采用日立牌7180全自动生化分析仪检测Cys-C。

采集两组患者治疗前的新鲜中段晨尿,采用酶联免疫吸附法检测尿液uCr、uMA水平,试剂盒购自美国R&D公司,详细操作严格按照说明书执行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行分析,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;各参数间相关性分析采用Pearson法;采用ROC曲线分析uCr、Cys-C及uMA对MM合并早期肾脏损伤的诊断价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组uCr、Cys-C及uMA水平比较

合并肾脏损伤组uCr水平明显低于未合并肾脏损伤组,Cys-C、uMA水平高于未合并肾脏损伤组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组 uCr、Cys-C 及 uMA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of the levels of uCr, Cys-C and uMA between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	uCr(mmol/L)	Cys-C(mg/L)	uMA(mg/L)
合并肾脏损伤组	39	9.87±2.65	2.97±0.64	45.84±12.63
未合并肾脏损伤组	84	16.98±3.31	1.26±0.21	25.14±5.16
t 值		11.769	21.234	12.921
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 肾功能损伤患者在不同 CCr 时与 uCr、Cys-C 及 uMA 相关性

uCr 与 CCr 呈正相关($P<0.05$), Cys-C、uMA 与 CCr 均呈显著负相关($P<0.05$)。见表 3。

表3 患者在不同 CCr 时与 uCr、Cys-C 及 uMA 相关性

Table 3 The correlation of patients with uCr, Cys-C and uMA at different CCr

指标	CCr <50 mL/min		CCr 50~80 mL/min	
	r 值	P 值	r 值	P 值
uCr	0.614	<0.001	0.521	<0.001
Cys-C	-0.521	<0.001	-0.642	<0.001
uMA	-0.634	<0.001	-0.543	<0.001

注:肾功能不全失代偿期:CCr<50 mL/min;肾功能不全代偿期:CCr 50~80 mL/min;肾功能正常期:>80 mL/min。

2.3 uCr、Cys-C 及 uMA 对 MM 合并早期肾脏损伤的诊断价值

ROC 曲线分析结果显示, uCr、Cys-C 及 uMA 联合检测 MM 合并早期肾脏损伤的下曲线面积(AUC)、敏感度、特异度均明显高于单一检测($P<0.05$)。见表 4 与图 1。

表4 uCr、Cys-C 及 uMA 对 MM 合并早期肾脏损伤的诊断价值

Table 4 The diagnostic value of uCr, Cys-C and uMA in MM with early renal injury

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95%CI	P 值
uCr	0.763	0.793	0.696	0.565~0.828	0.005
Cys-C	0.745	0.782	0.694	0.571~0.818	0.005
uMA	0.702	0.754	0.661	0.529~0.793	0.021
三者联合	0.893	0.901	0.715	0.590~0.839	0.002

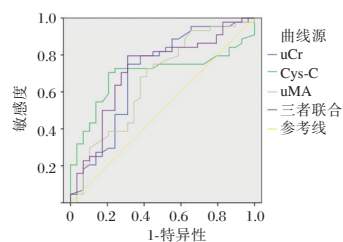


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

MM 是骨髓浆细胞异常增生的恶性疾病,国内血液系统恶性肿瘤中,MM 发病率仅次于白血病与非霍奇金淋巴瘤,位居第三^[7]。相关报道发现,约 48% MM 患者诊断时发现血清肌酐升高,其中约 8% 患者会进展为不可逆性肾衰竭^[8]。MM 患者合并肾脏疾病是多种因素共同作用的结果,主要表现为轻链蛋白及高尿酸血症、高钙等因素损害肾小球、肾小管。肾功能损伤既是 MM 重要的临床表现,亦是该病最为严重的并发症之一,同时也是影响 MM 患者预后的重要因素^[9]。MM 合并肾脏损伤患者经合理治疗后,约 50% 患者受损肾功能可获得不同程度的恢复^[10]。故早期发现 MM 的肾脏损伤对改善患者预后、延长其生存期具有重要意义。

uCr 主要来自血液经肾小球过滤后随尿液排出的肌酐,可测定血液经过肾滤过排出的肌酐含量^[11]。Gomes 等^[12]发现,当患者合并急性或慢性肾功能不全时,uCr 水平会明显降低。本研究中,与未合并肾脏功能损伤患者相比,合并肾脏损伤患者 uCr 水平更低,与上述报道相符。推测其原因可能是由于 MM 合并肾脏损伤患者肾小球滤过功能降低,导致尿微量清蛋白漏出,uCr 排出减少^[13]。但在重度充血性心力衰竭、贫血、肌营养不良患者中均可见 uCr 水平降低,故仅依靠单一 uCr 水平评估 MM 患者是否合并肾脏损伤的敏感性较低,需结合其他临床指标^[14]。

Cys-C 是一种低分子量非糖化碱性蛋白质,主要存在于人体体液中。Cys-C 分泌量较为恒定,几乎不易受患者肌肉量、饮食、性别及年龄等因素的影响^[15]。与肌酐相比,Cys-C 分子量更大,且带正电荷,故更易反映早期肾小球滤过膜通透性。Cys-C 经由肾小球自由滤过,在近曲小管被重吸收并降解,肾脏是清除循环中 Cys-C 的唯一器官,故 Cys-C 血清浓度主要由个体的肾小球滤过率决定。国内外众多研究者推崇 Cys-C 为评估肾小球滤过功能的首选指标^[16-17]。微量白蛋白(Microalbumin, MA)是一种中等分子量蛋白,肾脏功能正常时,MA 无法通过肾小球滤过膜;但当肾小球受损而发生通透性增加时,MA 会被滤出,随尿液排出,产生 uMA。uMA 是临床诊断慢性肾脏病的良好指标^[18]。汤然等人^[19]发现,uMA 诊断患者合并早期

肾功能损伤的异常检出率显著高于血清肌酐。本研究中,合并肾脏损伤组 Cys-C、uMA 水平明显高于未合并肾脏损伤组,说明检测 Cys-C、uMA 水平可能有助于发现 MM 合并肾脏损伤患者。但经相关性分析发现,当肾功能不全代偿期即 CCr 为 50~80 mL/min 时,Cys-C 与 CCr 的相关性优于 uMA、uCr 与 CCr 的相关性,可见 MM 患者肾脏受损早期 Cys-C 测定较 uMA、uCr 更为敏感。但当 CCr<50 mL/min 时,CCr 的相关性较 uMA、uCr 差,提示 MM 肾脏损伤终末期 Cys-C 缺乏良好表现。本研究对 uCr、Cys-C 及 uMA 作 ROC 曲线分析,结果显示,联合检测 uCr、Cys-C 及 uMA 的 AUC 明显高于各项单一检测,可见三者联合检测对 MM 合并肾脏损伤的诊断效能强于各项指标单独检测。然而本研究存在一定不足,如样本量纳入偏少、尚未对不同 MM 分期间各因子水平进行对比等,结果可能存在一定偏倚,后续有待扩大样本量进一步深入研究。

综上所述,uCr、Cys-C 及 uMA 与 MM 合并早期肾脏损伤患者肾功能损伤程度密切相关,综合检测各项指标可提高对 MM 早期肾脏损伤的诊断价值。

参考文献

- [1] 李海燕. CysC, α 1-MG 及 β 2-MG 在慢性阻塞性肺疾病患者的检测价值及与缺氧所致肾损伤的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4):516-519.
- [2] Mikhael J, Singh E, Rice MS. Real-world renal function among patients with multiple myeloma in the United States [J]. *Blood Canc J*, 2021, 11(5):1489-1490.
- [3] 姜倩倩, 吴小燕, 王白莹. 多发性骨髓瘤合并肾损伤患者的临床特点及危险因素分析[J]. 中华肾脏病杂志, 2020, 35(2):123-130.
- [4] Sado M, Takano K, Kurata K, et al. Gitelman syndrome with transient renal tubular damage in early childhood [J]. *Pediatr Internat*, 2021, 76(1):114-116.
- [5] 钟华, 戚龙, 王少清. 老年慢性肾脏病患者衰弱现状及康复策略[J]. 保健医学研究与实践, 2019, 16(2):8-12.
- [6] Nee R, Fisher E, Yuan CM, et al. Pre-End-Stage Renal Disease Care and Early Survival among Incident Dialysis Patients in the US Military Health System [J]. *Am J Nephrol*, 2017, 45(6):464-472.
- [7] 张蕴玉, 彭静, 宋志刚, 等. 胱抑素 C 与 β 2-微球蛋白在多发性骨髓瘤病情及近期疗效评估中的应用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2019, 46(10):590-594.
- [8] Ball S, Anwer F, Behera TR, et al. Risk of Renal Toxicities with Carfilzomib in Patients with Multiple Myeloma: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials - ScienceDirect [J]. *Clin Lymph Myel Leukem*, 2019, 19(10):147-149.
- [9] 杨敏. 多发性骨髓瘤患者血清 Cys-C, Urea, Scr 及 β 2-MG 水平检测及其临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(3):152-156.
- [10] Nezu M, Souma T, Lei Y, et al. Transcription factor Nrf2 hyperactivation in early-phase renal ischemia-reperfusion injury prevents tubular damage progression [J]. *Kidn Internat*, 2017, 91(2):387-401.
- [11] 李凯. 流式细胞术检测在多发性骨髓瘤中对骨髓细胞表面免疫表型的鉴别诊断价值[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(10):1215-1216.
- [12] Gomes H, Cabral A, Andrade SP, et al. Cystatin C as an indicator of renal damage in pre-eclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2020, 39(1):1-6.
- [13] 邵雯, 周晓霜. 合并肾功能损害的多发性骨髓瘤患者临床特征分析[J]. 临床肾脏病杂志, 2020, 20(4):24-28.
- [14] 钟凯丽. 胱抑素 C, 血肌酐联合尿肌酐, 尿素氮检测对代谢综合征患者早期肾损伤的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(21):3204-3207.
- [15] 吕佳, 贺扬欣, 王锦程, 等. 多发性骨髓瘤伴肾损害患者肾脏病理及细胞遗传学检查的回顾性分析[J]. 中国实验血液学杂志 2020, 28(4):1272-1277.
- [16] Agampodi SB, Amarasinghe GS, Naotunna P, et al. Early renal damage among children living in the region of highest burden of chronic kidney disease of unknown etiology (CK-Du) in Sri Lanka [J]. *Bmc Nephrol*, 2018, 19(1):115.
- [17] 陈国新, 申学基, 陈二洪. 5 项指标联合检测在 2 型糖尿病早期急性肾损伤中的诊断价值及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(7):33-36.
- [18] 何旭春, 陈加弟. 常规核型分析结合荧光原位杂交技术检测多发性骨髓瘤遗传学异常的临床应用价值[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(2):183-185.
- [19] 汤然, 赵祎, 钟玉萍, 等. 肾功能指标联合检测对多发性骨髓瘤肾功能不全诊断价值的分析[J]. 癌症进展, 2019, 17(11):101-103.

勘误声明

《分子诊断与治疗杂志》2021 年 10 月第 13 期第 10 期总第 86 期 1611 页《sESLT、sICAM-1 及 STAT1 在小儿支气管哮喘中的表达及临床意义》基金项目应为:无。

踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 变化与疼痛和水肿的相关性

娄磊^{1*} 许和贵² 苏攀¹

【摘要】目的 探讨踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者血清缺氧诱导因子1 α (HIF-1 α)、基质金属蛋白酶3(MMP-3)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)变化与疼痛和水肿的相关性。**方法** 随机选取河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)50例踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者(骨髓水肿组)与50例踝关节周围软组织损伤(无骨髓水肿组),检测血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平,以视觉模拟评分法(VAS)对疼痛程度进行评估。**结果** 骨髓水肿组患者血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平高于无骨髓水肿组,差异有统计学意义($P<0.05$);骨髓水肿组患者VAS评分高于无骨髓水肿组,差异有统计学意义($P<0.05$);Spearman相关分析显示,骨髓水肿组与无骨髓水肿组患者血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平与VAS评分之间均有正相关性(骨髓水肿组 $r=0.546, 0.623, 0.651$,无骨髓水肿组 $r=0.476, 0.512, 0.534, P<0.05$),骨髓水肿组患者血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 、VAS与ROIA之间均无相关性($P>0.05$)。**结论** 踝关节周围骨挫伤患者骨髓水肿患者表现为血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平的升高,疼痛程度加重,但水肿程度与血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平及疼痛程度均无关,疼痛可能与血清HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 的升高有关。

【关键词】 踝关节周围骨挫伤;骨髓水肿;缺氧诱导因子1 α ;基质金属蛋白酶3;肿瘤坏死因子 α

Correlation of serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α with pain and edema in patients with bone marrow edema caused by bone contusion around ankle joint

LOU Lei^{1*}, XU Hegui², SU Pan¹

(1. Foot and Ankle Surgery Center of Henan Luoyang Orthopedic Hospital, Luoyang, Henan, China, 471000;

2. Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou, China, 550002)

【ABSTRACT】Objective To explore the correlation of serum hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α), Matrix metalloproteinase 3 (MMP-3), tumor necrosis factor α (TNF- α) with pain and edema in patients with bone marrow edema caused by bone contusion around ankle joint. **Methods** 50 patients with bone marrow edema caused by bone contusion around ankle joint (bone marrow edema group) and soft tissue injury around ankle joint (non- bone marrow edema group), serum levels of HIF-1 α , MMP-3 and TNF- α were detected, visual analogue scale (VAS) was used to evaluate the pain. **Results** The serum levels of HIF-1 α , MMP-3 and TNF- α in the patients with bone marrow edema were higher than those in the group without bone marrow edema, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The VAS score of the patients with bone marrow edema was higher than that of the patients without bone marrow edema, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that there was a positive correlation between serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α levels and VAS score in bone marrow edema group and non- bone marrow edema group (the bone marrow edema group: $r=0.546, 0.623, 0.651$, the non- bone marrow edema group: $r=0.476, 0.512, 0.534, P<0.05$). There was no correlation between serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α ,

基金项目:2018年洛阳市医疗卫生计划项目(洛阳市科技计划项目)(183004A)

作者单位:1.河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)足踝外科中心,河南,洛阳471000

2.贵州中医药大学第一附属医院骨科,贵州,贵阳550002

*通信作者:娄磊, E-mail: sanshishi216@163.com

VAS and ROIA in bone marrow edema group ($P>0.05$). **Conclusion** Patients with bone contusion around the ankle joint with bone marrow edema showed increased levels of serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α , and increased pain, but the degree of edema was closely related to the levels of serum HIF-1 α , MMP-3, and TNF- α . The degree of pain is irrelevant, and the pain may be related to the increase of serum HIF-1 α , MMP-3 and TNF- α .

[KEY WORDS] Bone contusion around ankle joint; Bone marrow edema; Hypoxia-inducible factor 1 α ; Matrix metalloproteinase 3; TNF- α

踝关节周围骨挫伤是踝关节在受到间接或者直接暴力作用下出现骨小梁的断裂、松质骨轻微压缩^[1],部分患者会出现骨髓水肿及出血,患者多会表现为踝关节周围区域疼痛,踝关节功能一定程度受限。踝关节周围骨挫伤又被称为隐匿性骨折、微骨折或踝关节骨小梁骨折,如不能得到及时治疗会导致踝关节发生软骨退变,发展为创伤性关节炎,影响到生活质量。研究发现^[2-3],骨挫伤后骨髓水肿的发生机制较为复杂,大多数认为是缺血性损伤所致,因为缺血性损伤后的反应性充血再灌注可导致间接水肿,同时缺血缺氧后的组织细胞炎症反应也可能是引起水肿发生的原因。缺氧诱导因子 1 α (Hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) 在组织缺血下会出现表达升高,在炎症反应中起到重要作用^[4-5];基质金属蛋白酶 3 (Matrix metalloproteinase 3, MMP-3) 研究显示可参与骨关节炎进程^[6-7],是触发致痛因子释放的物质之一;肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF- α) 是促炎因子,研究显示 TNF- α 有促进前列腺素释放进而引起疼痛发生的作用^[8];因此, HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 可能与患者的疼痛发生有关,但是是否与骨髓水肿有关,临床相关研究较少。本研究将探讨踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 变化与疼痛和水肿的相关性报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

随机选取 2021 年 1 月至 10 月期间在河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)诊治的 50 例踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者(骨髓水肿组)及 50 例踝

关节周围软组织损伤患者(无骨髓水肿组),骨髓水肿组中男 30 例、女 20 例,平均年龄为(37.34 \pm 8.54)岁,受伤部位:左踝 31 例、右踝 19 例,受伤原因:扭伤 30 例、压砸伤 20 例,受伤至就诊时间平均为(32.56 \pm 9.05)h,骨髓水肿兴趣区面积(Region of interest area, ROIA)平均为(231.11 \pm 34.94)mm²;无骨髓水肿组其中男 28 例,女 22 例,平均年龄(37.26 \pm 8.67)岁,受伤部位:左踝 28 例、右踝 22 例,受伤原因:扭伤 30 例、压砸伤 20 例,受伤至就诊时间平均为(33.01 \pm 9.13)h。两组患者的性别、年龄、受伤部位及受伤原因等比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。本研究患者均知情同意。本研究经医院伦理委员会批准。

纳入标准:①X 线或 CT 检查未发现明显异常,经 MRI 检查诊断为踝关节周围骨挫伤骨髓水肿或踝关节周围软组织损伤。②均有近期外伤史。③有踝关节周围肿胀、压痛等表现。排除标准:①合并有其他部位的挫伤或者骨折。②开放性的踝关节损伤。③合并下肢其他部位软组织损伤。④合并有痛风性关节炎、类风湿性关节炎、骨关节炎等其他骨关节病变者。⑤合并有急慢性感染性疾病。⑥合并有结缔组织病、肿瘤、缺血缺氧性疾病。⑦合并有全身重大脏器疾病者。⑧合并有精神疾病者。⑨妊娠或哺乳期妇女。

1.2 方法

1.2.1 血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 检测方法

患者入院后采静脉血(加有抗凝剂)5 mL,离心半径 7 cm,3 000 r/min 离心 15 min 分离取得血清,以酶联免疫吸附测定血清炎症因子 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平, HIF-1 α 检测试剂盒购自广州

表 1 两组患儿一般资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison of baseline data between 2 groups [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

组别	n	性别		受伤部位		受伤原因		年龄	受伤至就诊时间
		男	女	左踝	右踝	扭伤	压砸伤		
无骨髓水肿组	50	30(60)	20(40)	31(62)	19(38)	30(60)	20(40)	37.34 \pm 8.54	32.56 \pm 9.05
骨髓水肿组	50	28(56)	22(44)	28(56)	22(40)	30(60)	20(40)	37.26 \pm 8.67	33.01 \pm 9.13
χ^2 值		0.614		0.372		0.000		0.047	0.248
P 值		0.685		0.542		1.000		0.963	0.805

艾斯科技公司, MMP-3 和 TNF- α 检测试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司, 具体操作根据试剂说明书进行, 检测仪器为美国 Molecular Devices Flex-Station 3 多功能酶标仪。

1.2.2 疼痛程度的评估方法^[12]

由同一名医师采用视觉模拟评分法(Visual analogue scale, VAS)对患者疼痛程度进行评估^[12], 分值范围 0~10 分, 0 分表示无痛, 10 分表示最剧烈疼痛, 由患者根据自己疼痛程度进行自评, 1~3 分为轻度疼痛, 4~6 分为中度疼痛, 7~10 分为重度疼痛。

1.2.3 骨髓水肿 ROIA 的测量方法^[13]

患者仰卧位, 踝关节外旋 15°~20°, 屈曲 5°~10°, 采取德国西门子 1.5T MRI 对踝关节的冠状位、矢状位、轴位进行扫描, 扫描参数: 层距 2.0, 层厚 4 mm, T1WZ: TR505 ms, TE21 ms; T2WZ: TR4920 ms, TE90 ms, 在矢状面上测量 T1、T2 加权像压脂信号上的骨髓水肿范围, 此骨髓水肿范围最大区即为 ROIA。

1.3 统计学方法

统计软件采用 SPSS 19.0 统计学软件。计量资料服从正态分布以($\bar{x} \pm s$)表示, 进行 *t* 检验; 计数资料以 *n*(%)表示, 进行卡方检验; 相关资料采用 Spearman 相关性检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平比较

骨髓水肿组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平高于无骨髓水肿组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 两组患者疼痛程度比较

骨髓水肿组患者 VAS 评分高于无骨髓水肿组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平与 VAS 评分的相关性

Spearman 相关分析显示骨髓水肿组与无骨髓水肿组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平与 VAS 评分之间均有正相关性($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 骨髓水肿患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 、VAS 与 ROIA 的相关性

Spearman 相关分析显示骨髓水肿组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 、VAS 与 ROIA 均无关($P > 0.05$)。见表 5。

表 2 两组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum HIF-1 α , MMP-3 and TNF- α between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HIF-1 α (pg/mL)	MMP-3 (μ g/L)	TNF- α (ng/L)
无骨髓水肿组	50	235.34 \pm 35.22	33.94 \pm 3.48	23.86 \pm 5.15
骨髓水肿组	50	502.45 \pm 74.76	45.21 \pm 5.17	16.65 \pm 4.07
<i>t</i> 值		22.855	12.787	7.767
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 3 两组患者 VAS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum VAS between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	VAS 评分(分)
无骨髓水肿组	50	6.32 \pm 1.56
骨髓水肿组	50	4.50 \pm 1.03
<i>t</i> 值		6.884
<i>P</i> 值		<0.001

表 4 两组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平与 VAS 评分的相关性

Table 4 Correlation between serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α levels and VAS scores in 2 groups

	指标	VAS 评分	
		<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
骨髓水肿组	HIF-1 α	0.546	<0.05
	MMP-3	0.623	<0.05
	TNF- α	0.651	<0.05
无骨髓水肿组	HIF-1 α	0.476	<0.05
	MMP-3	0.512	<0.05
	TNF- α	0.534	<0.05

表 5 骨髓水肿患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 、VAS 与 ROIA 的相关性

Table 5 Correlation between serum HIF-1 α , MMP-3, TNF- α , VAS and ROIA in the bone marrow edema group

指标	ROIA 面积	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
HIF-1 α	0.004	>0.05
MMP-3	0.083	>0.05
TNF- α	0.073	>0.05
VAS	0.042	>0.05

3 讨论

踝关节是人体重要的活动关节, 承受着人体大部分的重量, 解剖结构也较为复杂, 常在走路、下楼梯等活动时导致损伤, 导致踝关节周围骨挫伤的形成。踝关节周围骨挫伤的病理基础在微观上可表现为骨小梁的断裂、骨髓的出血及水肿^[1], 在水肿和出血吸收后骨髓结构也会逐渐恢复正常。骨髓水肿是踝关节周围骨挫伤的主要病理变化之一, 其形成原因是在外力作用下骨皮质骨折, 骨髓内血管受压影

响到毛细血管通透性,细胞液外渗,组织间隙出现水肿,因此骨髓局部可出现出血及水肿等表现。

踝关节周围骨挫伤时肿胀及疼痛踝关节扭伤后的常见临床表现,其疼痛的发生研究显示主要与多种炎症因子有关^[5,9],如 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 等均与疼痛症状有关。HIF-1 α 在血管生成过程中具有重要的调控作用,踝关节周围骨挫伤后局部组织微环境处于缺氧状态,此时受到低氧环境的影响 HIF-1 α 的表达会上调^[10-11],调节局部组织的血液和气体交换的营养供给,在有局部创伤发生时局部微环境中的 HIF-1 α 升高,有促进血供增加的作用。MMP-3 作为含有金属离子的蛋白酶,具有调节人体多种反应的作用,几乎能对细胞外基质起到全部降解的作用,能参与到细胞的增殖、分化的过程,在软骨细胞的合成中也起到重要作用,因此能参与创伤后软骨细胞的修复^[12-13]。TNF- α 在炎症反应时可出现表达上调,在骨损伤或者关节炎时 TNF- α 水平会升高,其作用主要是与不同受体结合通过影响相应的信号通路促进表皮成纤维细胞及滑膜细胞产生胶原^[14-16],促进骨的吸收,抑制软骨细胞的合成和蛋白多糖的吸收。HIF-1 α 及 TNF- α 等均与 HIF-1 α 信号通道有关,因此在踝关节周围骨挫伤发生时局部低氧环境时导致上述因子表达上调的主要原因,而上述因子可引发前列腺素、白细胞介素-6 等多种致痛因子的大量产生有关。Spearman 相关分析显示,骨髓水肿组与无骨髓水肿组患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平与 VAS 评分之间均有正相关性,进一步提示踝关节周围骨挫伤患者的局部水肿发生和疼痛均与 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 表达有关,而且疼痛程度也与 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 表达水平密切相关。本研究结果显示血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 、VAS 与 ROIA 之间均无相关性,提示踝关节周围骨挫伤患者骨髓水肿的发生虽然与 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 有关,但是并不会影响到骨髓水肿的严重程度。考虑到踝关节周围骨挫伤患者的骨髓水肿及疼痛程度与 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 有关,对于因怀孕等原因无法进行 X 线检测的人群,是否能够在临床上如遇到踝关节周围骨挫伤的情况下通过患者疼痛程度与预测血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 的水平高低,或者可通过检测 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平去预测是否有骨髓水肿,去判断患者的病情严重程度,对患者起到辅助诊断作用,但是因 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 与骨髓水肿严重程度无关,

因此只能做参考,并不能作为判断水肿严重程度的指标。但是由于本研究样本量较小,研究结果尚需更大样本量数据去支持,而且患者在发生踝关节损伤后活动度是否也会影响到疼痛程度及局部组织中 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 表达水平的变化,也值得进一步进行深入研究。

综上所述,踝关节周围骨挫伤患者骨髓水肿患者表现为血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平的升高,疼痛程度加重,但水肿程度与血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 水平及疼痛程度均无关,患者疼痛可能与血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 升高有关。

参考文献

- [1] 何亚军,李松军.骨髓水肿与踝关节周围骨挫伤相关研究进展[J].新医学,2020,51(9):658-662.
- [2] Booz C, Nöske J, Lenga L, et al. Color-coded virtual non-calcium dual-energy CT for the depiction of bone marrow edema in patients with acute knee trauma: a multireader diagnostic accuracy study[J]. Eur Radiol, 2020, 30(1):141-150.
- [3] Ghasemi R A, Sadeghi S, Rahimee N, et al. Technologies in the treatment of bone marrow edema syndrome [J]. Orthop Clin, 2019, 50(1):131-138.
- [4] Kaihara K, Nakagawa S, Arai Y, et al. Sustained Hypoxia Suppresses Joint Destruction in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis via Negative Feedback of Hypoxia Inducible Factor-1 α [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8):3898.
- [5] 李会娟,曾莉,卿山林,等.血清 HIF-1 α 水平与慢性肾小球肾炎患者病情严重程度的相关性分析[J].热带医学杂志,2020,20(6):799-802.
- [6] Tuncer T, Kaya A, Gulkesen A, et al. Matrix metalloproteinase-3 levels in relation to disease activity and radiological progression in rheumatoid arthritis[J]. Adv Clin Exp Med, 2019, 28(5):665-670.
- [7] Hattori Y, Kida D, Kaneko A. Steroid therapy and renal dysfunction are independently associated with serum levels of matrix metalloproteinase-3 in patients with rheumatoid arthritis [J]. Mod Rheumatol, 2018, 28(2):242-248.
- [8] Jin Y, Smith C, Hu L, et al. LY3127760, a selective prostaglandin E4 (EP4) receptor antagonist, and celecoxib: a comparison of pharmacological profiles[J]. Clin Transl Sci, 2018, 11(1):46-53.
- [9] 杨建强,张菊英,罗浩杰,连炜炜,郝阳阳,孙慧.五指疼痛评估法在老年带状疱疹患者疼痛评估中的应用[J].中国麻风皮肤病杂志,2018,34(7):424-426.
- [10] 孙明慧,吴虹,卜妍红,等.介导缺氧诱导因子-1 α 表达的相关信号通路在类风湿性关节炎中的研究进展[J].中国药理学通报,2019,35(9):1197-1202.

RTS评分、D-乳酸、DAO在创伤性骨折并休克中的评估意义

丁丁* 赵志坚 陈坤峰

[摘要] **目的** 分析修正创伤分数(RTS)评分、D-乳酸、二胺氧化酶(DAO)在创伤性骨折并休克中的评估意义。**方法** 收集商丘市第一人民医院2018年4月至2020年12月收治的174例创伤性骨折患者,其中并发休克者93例(研究组),未并发休克者81例(对照组)。比较两组RTS评分及D-乳酸、DAO水平。分析创伤性骨折并休克患者预后情况,比较不同预后患者RTS、APACHE II评分及D-乳酸、DAO水平;采用Pearson法分析上述因子与APACHE II评分相关性。绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析RTS评分、D-乳酸、DAO水平对创伤性骨折并休克患者预后的评估价值。**结果** 研究组RTS评分及D-乳酸、DAO水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。93例并发休克患者中,预后死亡30例(死亡组),预后生存63例(生存组)。死亡组RTS、APACHE II评分及D-乳酸、DAO水平均显著高于生存组,差异有统计学意义($P<0.05$)。相关性分析结果显示,RTS评分、D-乳酸、DAO水平与APACHE II评分均呈正相关关系($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,三者联合评估的AUC、敏感度、特异度分别为0.893、0.889、0.912,均明显高于单一检测($P<0.05$)。**结论** 创伤性骨折并休克患者RTS评分明显增高,D-乳酸、DAO水平呈异常表达,且与APACHE II具有一定相关性,可作为临床评估患者病情、预后的辅助指标。

[关键词] RTS评分; D-乳酸; 二胺氧化酶; 创伤性骨折

The evaluation significance of RTS score, D-lactic acid and DAO in traumatic fracture and shock

DING Ding*, ZHAO Zhijian, CHEN Kunfeng

(Department of Emergency Traumatology, the First People's Hospital of Shangqiu City, Shangqiu, Henan, China, 476100)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the evaluation significance of Revised trauma score (RTS) score, D-lactic acid, and Diamine oxidase (DAO) in traumatic fracture and shock. **Methods** The clinical data of 174 traumatic fracture patients admitted to the First People's Hospital of Shangqiu City from April 2018 to December 2020 were collected, including 93 patients with shock (study group) and 81 patients without shock (control group). The RTS scores, D-lactic acid and DAO levels between the two groups were compared. The prognosis of patients with traumatic fracture and shock was analyzed, and the RTS, APACHE II score, D-lactic acid and DAO levels of patients with different prognosis were compared. Pearson method was used to analyze the correlation between the above factors and APACHE II score. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the evaluation value of RTS score, D-lactic acid, and DAO level on prognosis of patients with traumatic fracture and shock. **Results** The RTS score, D-lactic acid and DAO levels of the study group were significantly higher than those of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Among the 93 patients with shock, 30 died (death group), and 63 survived (survival group). The RTS, APACHE II scores, D-lactic acid and DAO levels in the death group were significantly

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20190912)

作者单位:商丘市第一人民医院急诊创伤外科,河南,商丘 476100

*通信作者:丁丁, E-mail:11068196@qq.com

higher than those in the survival group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Correlation analysis results showed that RTS score, D-lactic acid, DAO level were positively correlated with APACHE II score ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the area under curve (AUC), sensitivity, and specificity of the three combined examinations in assessing the prognosis of patients with traumatic fractures and shock were significantly higher than those of a single test. **Conclusion** The RTS score of patients with traumatic fracture and shock significantly increases, and the levels of D-lactate and DAO are abnormally expressed, and have some correlation with APACHE II, which can be used as auxiliary indicators in clinical evaluation of the patient's condition and prognosis.

[KEY WORDS] RTS score; D-lactic acid; Diamine oxidase; Traumatic fracture

创伤性骨折是临床外科常见的一种骨折类型,主要为四肢、盆骨骨折等,患者体内脏器易受到严重损伤伴严重出血、剧烈疼痛等,进而导致机体代谢失调,发生创伤性休克^[1]。而创伤性骨折患者并发休克后,机体会出现一系列反应,引起全身炎症反应综合征、多脏器功能障碍、衰竭等,最终死亡^[2]。早期评估患者病情及预后,并据此对患者给予针对性治疗尤其重要。修正创伤分数(Revised trauma score, RTS)评分是评估患者脑、心、肺等损伤程度的有效指标,可预测创伤患者死亡率^[3]。D-乳酸属于细菌发酵代谢的产物,而二胺氧化酶(Diamine oxidase, DAO)则是一种细胞内酶,具有高度活性。国内外相关报道指出, D-乳酸、DAO在创伤失血性休克中具有重要意义^[4-5]。本研究将比较创伤性骨折并休克与未并休克 RTS 评分、D-乳酸、DAO 水平,并探讨上述因子在创伤性骨折并休克患者预后评估中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集商丘市第一人民医院 2018 年 4 月至 2020 年 12 月收治的 174 例创伤性骨折患者的临床资料。纳入标准:①均符合创伤性骨折相关诊断标准^[6];②有明确外伤史;③具有完整的临床资料;④依从性良好,配合完成研究者。排除标准:①病理性、骨质疏松性骨折;②存在头、胸腹、内脏等外伤者;③创伤前存在严重感染性疾病者。其中,并发休克者 93 例(研究组),未并发休克者 81 例(对照组)。两组资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 病情评估

入院 24 h 后,采用急性生理学与慢性健康状况评分 II (Acute physiology and chronic health II,

表 1 两组资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison \bar{X} of two groups of data ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	受伤至入院时间(h)
研究组	93	56/37	37.25±6.01	3.51±0.69
对照组	81	47/34	38.36±7.24	3.68±0.72
t/ χ^2 值		0.086	1.105	1.589
P 值		0.769	0.271	0.114

APACHE II)^[7]对患者病情进行评估,共 71 分,分数越高,患者病情约严重。

1.2.2 D-乳酸、DAO 检测

空腹抽取所有患者 5 mL 静脉血,置入无热原离心管中,利用灭菌铝箔将封管口封闭,3 000 r/min 离心 10 min,离心半径为 10 cm,处理后留取沉淀物,置于-80℃低温保存待检。采用光度法检测 D-乳酸,采用比色法检测 DAO 水平。

1.2.3 RTS 评分

RTS 评分^[8]:由院前格拉斯哥昏迷量表(Glasgow Coma Scale, GCS)、呼吸评率及收缩压加权计算得出,分数越高,患者病情越重。

1.3 预后分组

分析研究组预后情况,并根据最终结局分为生存组(病情平稳后转出重症监护室)与死亡组(死亡患者),比较两组 RTS、APACHE II 评分及 D-乳酸、DAO 水平。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;各参数间相关性分析采用 Pearson 法;采用 ROC 曲线分析 RTS 评分、D-乳酸、DAO 水平对创伤性骨折并休克患者预后的评估价值;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 RTS 评分及 D-乳酸、DAO 水平比较

研究组 RTS 评分及 D-乳酸、DAO 水平均显著高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表2 两组RTS评分及D-乳酸、DAO水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of RTS scores and D-lactic acid and DAO levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RTS评分(分)	D-乳酸(mg/L)	DAO(mg/mL)
对照组	81	6.34±1.64	60.91±12.24	50.58±11.29
研究组	93	9.94±2.25	109.64±21.96	77.36±15.47
t值		11.905	37.180	12.87
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 创伤性骨折并休克不同预后患者RTS、APACHE II评分及D-乳酸、DAO水平

93例患者中,预后死亡30例(死亡组),预后生存63例(生存组)。死亡组RTS、APACHE II评分及D-乳酸、DAO水平均显著高于生存组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 创伤性骨折并休克不同预后患者RTS、APACHE II评分及D-乳酸、DAO水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 RTS, APACHE II score and D-lactic acid and DAO levels in patients with different prognosis of traumatic fracture and shock ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RTS评分(分)	APACHE II评分(分)	D-乳酸(mg/L)	DAO(mg/mL)
死亡组	30	14.05±2.65	25.67±3.51	153.57±33.54	111.25±19.65
生存组	63	7.98±1.23	17.34±3.12	88.72±21.96	61.22±15.47
t值		15.135	11.557	11.153	13.334
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 RTS评分、D-乳酸、DAO水平与APACHE II评分的相关性

相关性分析结果显示,RTS评分、D-乳酸、DAO水平与APACHE II评分均呈正相关关系($r=0.553, 0.504, 0.645, P=0.026, 0.031, 0.012$)。

2.4 RTS评分、D-乳酸、DAO水平对创伤性骨折并休克患者预后的评估价值

ROC曲线分析结果显示,三者联合评估的AUC、敏感度、特异度分别为0.893、0.889、0.912,均明显高于单一检测($P<0.05$)。见表4与图1。

表4 RTS评分、D-乳酸、DAO水平对创伤性骨折并休克患者预后的评估价值

Table 4 The evaluation value of RTS score, D-lactic acid and DAO levels on the prognosis of patients with traumatic fracture and shock

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95%CI	P值
RTS评分	0.752	0.782	0.790	0.692~0.887	<0.001
D-乳酸	0.766	0.791	0.798	0.699~0.896	<0.001
DAO	0.801	0.794	0.838	0.734~0.942	<0.001
三者联合	0.889	0.912	0.893	0.823~0.964	<0.001

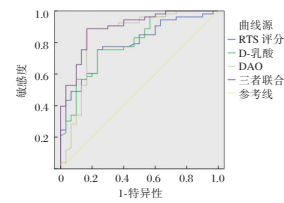


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

创伤性休克是一种机体代谢失调综合征,主要因严重创伤所致。近年来,随着交通、安全事故等的增多,创伤性骨折伴休克的发病率逐渐增多^[7]。创伤性骨折患者发生休克后,若在短时间内进行及时有效治疗,患者生存率会大大提升,但休克救治时间窗较短,超过救治时间窗,死亡风险极大^[9]。有效判断创伤性骨折并休克患者病情、准确评估患者预后具有重要意义。相关报道指出,在发生创伤性休克后,RTS评分及血浆中D-乳酸、DAO水平等多种指标水平会发生异常变化,提示或可通过相关评分、检测部分血浆指标水平对患者病情、预后进行评估^[10]。

RTS评分是目前国内评估患者创伤的常用评分,具有简易、快速的特征,且有一定准确度^[11]。Traynor等^[12]发现,RTS评分可预测创伤患者的病死率,RTS≤7分者需转移至1级创伤中心。D-乳酸是体内葡萄糖无氧代谢的产物,正常情况下,D-乳酸呈低表达;但在缺血状态下,组织有氧代谢减少,无氧代谢增加,D-乳酸水平急剧上升甚至出现酸中毒^[13-14]。刘海^[15]通过大鼠研究发现,D-乳酸在创伤失血性休克患者中呈高表达。当肠道发生急性缺血等损伤导致肠黏膜绒毛脱落、通透性增加时,将导致大量D-乳酸产生,并通过受损黏膜进入血液。故临床常通过检测D-乳酸水平来评估机体缺氧情况、肠黏膜损伤程度及通透性变化,进而间接反映机体休克程度^[16]。DAO是具有高度活性的细胞内酶,在小肠黏膜上层绒毛中含量高,当肠黏膜细胞受损后,DAO释放进入血液,因此DAO水平可反映肠壁组织结构的完整性,进而提示肠道机械屏障受损程度及完整性^[17]。Duru等^[18]通过对创伤性休克大鼠患者进行研究,结果显示创伤性休克大鼠DAO水平明显高于正常大鼠,与本研究结果类似。

APACHE II评分是目前临床上重症监护病房应用最广泛、权威的危重病病情评估系统。本研究结果显示,创伤性并休克死亡患者APACHE II评

明显高于存活者,与Boehm等^[19]报道相符。进一步分析显示,RTS评分、D-乳酸、DAO水平与APACHE II评分均呈正相关,说明RTS评分、D-乳酸、DAO水平与创伤性骨折并休克患者的预后情况密切相关。ROC结果显示,RTS评分、D-乳酸、DAO三者联合可更有效评估创伤性骨折并休克患者预后。

综上所述,创伤性骨折并休克患者RTS评分明显增高,D-乳酸、DAO水平呈异常表达,且与APACHE II具有一定相关性,可作为临床评估患者病情、预后的辅助指标。

参考文献

- [1] 陈昌礼, 银保, 徐德兴, 等. D-D, FIB 及 PAI-1 在创伤性脊柱骨折表达及术后静脉血栓的预测[J]. 分子诊断与治疗杂志 2021, 13(1): 43-46.
- [2] 严晓薇, 滑立伟, 李小东, 等. 不同液体复苏策略在创伤性休克伴创伤性凝血功能异常患者中的应用研究[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2019, 22(1): 71-75.
- [3] Eastridge BJ, Holcomb JB, Shackelford S. Outcomes of traumatic hemorrhagic shock and the epidemiology of preventable death from injury[J]. *Transfusion*, 2019, 59(S2):1423-1428.
- [4] 魏庆宇, 邹永根, 杨杰翔, 等. 双下肢近端绑扎止血带在创伤骨折伴失血性休克中的临床应用[J]. 创伤外科杂志, 2019, 21(2): 19-24.
- [5] Fujiwara G, Okada Y, Ishii W, et al. Association of skull fracture with in-hospital mortality in severe traumatic brain injury patients[J]. *Am J Emerg Med*, 2021, 46(1): 39-51.
- [6] 夏长兴, 江从兵, 周永江, 等. 血浆 D-二聚体、CRP 及血乳酸在急诊创伤性休克患者中的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(13): 181-184.
- [7] 肖四海, 宋巧凤, 王晓玲, 等. 心肌梗死患者心肌酶谱, 急性生理和慢性健康评分与预后的相关性分析[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(12): 1438-1440.
- [8] 汪海洲, 庄鑫. 不同院前创伤评分对创伤性脑损伤患者伤后 24h 死亡的预测价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(11): 42-45.
- [9] Cardinale M, Cungi PJ, Esnault P, et al. Impact of high-dose norepinephrine during intra-hospital damage control resuscitation of traumatic haemorrhagic shock: A propensity score analysis[J]. *Injury*, 2020, 51(5): 1164-1171.
- [10] 丁春龙, 王玉海, 杨理坤, 等. 血清 D-乳酸, 细菌内毒素及二胺氧化酶在创伤性颅脑损伤后肠道黏膜屏障功能评估中的作用[J]. 中华神经外科杂志, 2019, 35(12): 1258-1261.
- [11] Gludovacz E, Schuetzenberger K, Resch M, et al. Human diamine oxidase cellular binding and internalization in vitro and rapid clearance in vivo are not mediated by N-glycans but by heparan sulfate proteoglycan interactions [J]. *Glycobiology*, 2020, 31(5): 1574-1576.
- [12] Traynor MD, Louis ES, Hernandez MC, et al. Comparison of the Pediatric Resuscitation and Trauma Outcome (PRES-TO) Model and Pediatric Trauma Scoring Systems in a Middle-Income Country[J]. *World J Surg*, 2020, 28(4): 409-411.
- [13] 梁东平, 梁妙翎. 多项血生化指标连续性检测在创伤骨折后的临床应用价值分析[J]. 临床检验杂志(电子版), 2018, 7(4): 37-38.
- [14] Vuosku J, Muilu-Mkel R, Avia K, et al. Thermospermine Synthase (ACL5) and Diamine Oxidase (DAO) Expression Is Needed for Zygotic Embryogenesis and Vascular Development in Scots Pine[J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10(3): 1600.
- [15] 刘海, 彭晓静, 郭平选, 等. 创伤失血性休克大鼠血清 D-乳酸、二胺氧化酶和内毒素的变化及其对肠黏膜损伤的意义[J]. 西部医学, 2019, 31(3): 370-373.
- [16] 张永, 刘宇, 张建, 等. 深低温假死技术在创伤失血性休克中应用及对外周血冷诱导 RNA 结合蛋白表达影响[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(12): 7-9.
- [17] 刘双庆, 余飞, 张为, 等. 血乳酸, 随机血糖联合 RTS 评分系统在创伤失血性休克中的预测价值[J]. 中华急诊医学杂志, 2020, 29(12): 1601-1605.
- [18] Duru IC, Ylin En A, Belanov S, et al. Transcriptomic time-series analysis of cold- and heat-shock response in psychrotrophic lactic acid bacteria[J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 1-16.
- [19] Boehm T, Reiter B, Ristl R, et al. Massive release of the histamine-degrading enzyme diamine oxidase during severe anaphylaxis in mastocytosis patients[J]. *Allergy*, 2019, 15(1): 257.

(上接第 265 页)

- [11] 李昭, 王学彬. 缺氧诱导因子-1 α 在风湿性疾病中的研究进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2018, 22(1): 54-57.
- [12] 菅永志, 叶林, 李跃军, 等. β -catenin 和 MMP-3 在骨性关节炎软骨组织中的表达及临床意义[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2019, 37(6): 770-779.
- [13] 李勤学, 李传静, 王锋. 慢病毒介导 siRNA 沉默 MMP-3 对大鼠创伤性骨性关节炎模型软骨退变的影响[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 40(6): 33-38.
- [14] 赖爱云, 徐健, 陶丽. 血清、滑液中肿瘤坏死因子- α 在痛风性关节炎中的表达及临床意义[J]. 中国医药导报, 2018, 15(18): 60-63.
- [15] 王瑞松, 崔永胜, 卿忠, 等. 肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导因子在骨关节炎软骨退行性改变的机制研究[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2019, 30(2): 141-143.
- [16] 朱克强, 王晨, 惠晓艳, 等. 肿瘤坏死因子 α 在痛风性关节炎发病机制中的作用研究进展[J]. 浙江医学, 2020, 42(6): 638-641.

CRP联合血清免疫球蛋白G在银屑病患者中的表达及治疗价值

郭颖¹ 张宇虹^{1*} 吴军阳¹ 许霞¹ 李巍²

[摘要] 目的 探讨C反应蛋白(CRP)联合血清免疫球蛋白G在银屑病患者中的表达及治疗价值。方法 选择2018年4月至2021年7月昆山市第一人民医院收治的银屑病患者116例为观察组,患者均采用复方甘草酸苷联合窄谱中波紫外线(NB-UVB)方案治疗;选择同期健康体检者54例为对照组。采用免疫比浊法测定两组CRP水平;采用全自动生化分析仪测定血清免疫球蛋白G水平,比较两组CRP和血清免疫球蛋白G表达差异并分析其治疗价值。结果 观察组CRP、血清免疫球蛋白G水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);稳定期患者、点滴型患者CRP、血清免疫球蛋白G水平低于进展期与斑块型,差异有统计学意义($P<0.05$);重度银屑病患者CRP、血清免疫球蛋白G高于轻度与中度患者差异有统计学意义($P<0.05$);116例银屑病患者治疗后92例预后良好,24例治疗预后差。预后良好患者CRP、血清免疫球蛋白G水平低于预后差,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 CRP联合血清免疫球蛋白G在银屑病患者中呈高表达,且在不同临床分期、银屑病类型及严重程度中存在差异。

[关键词] C反应蛋白;血清免疫球蛋白G;银屑病;窄谱中波紫外线;复方甘草酸苷;指导价值

Expression of CRP combined with serum immunoglobulin G in patients with psoriasis and its therapeutic guidance value

GUO Ying¹, ZHANG Yuhong^{1*}, WU Junyang¹, XU Xia¹, LI Wei²

(1. Department of Dermatology, The First People's Hospital of Kunshan, Kunshan, Jiangsu, China, 215300;

2. Department of Dermatology, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu, China, 215000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of C-reactive protein (CRP) combined with serum immunoglobulin G in patients with psoriasis and its therapeutic guidance value. **Methods** From April 2018 to July 2021, 116 patients with psoriasis who were admitted to The First People's Hospital of Kunshan were selected as the observation group, and the patients were treated with compound glycyrrhizin combined with narrow-band UVB (NB-UVB) regimen; 54 healthy subjects were selected as the control group. The levels of CRP in the two groups were measured by immunoturbidimetry; the levels of serum immunoglobulin G were measured by automatic biochemical analyzer. **Results** The levels of CRP and serum immunoglobulin G in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$); the levels of CRP and serum immunoglobulin G in patients with stable stage and drip type were lower than those in advanced stage and plaque type ($P<0.05$). CRP and serum immunoglobulin G in patients with severe psoriasis were higher than those in patients with mild and moderate psoriasis ($P<0.05$). Of the 116 patients with psoriasis, 92 had a good prognosis and 24 had a poor prognosis after treatment. The CRP and serum immunoglobulin G levels in patients with good prognosis were lower than those with poor prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** CRP combined with serum immunoglobulin G is highly expressed in patients with psoriasis, and there are differences in different

基金项目:苏州科技计划项目(sys2018076)

作者单位:1.昆山市第一人民医院皮肤科,江苏,昆山215300

2.苏州大学附属儿童医院皮肤科,江苏,苏州215000

*通信作者:张宇虹, E-mail: zhangyuhongqq@163.com

clinical stages, types and severity of psoriasis.

[KEY WORDS] C-reactive protein; Serum immunoglobulin G; Psoriasis; Narrow-spectrum UVB; Compound glycyrrhizin; Guiding value

银屑病是一种由环境因素刺激、多基因遗传控制、免疫介导的皮肤病,典型表现为鳞屑性红斑或斑块,局限于一处或全身广泛分布^[1]。顾梅研究表明^[2]:银屑病是由遗传因素、环境因素共同作用引起,且不同因素能相互作用及影响。由于银屑病类型较多,部分患者可累及全身皮肤、头皮及关节,导致临床诊疗难度较大。C反应蛋白(C reactive protein, CRP)是临床用于评价自身免疫性疾病活动的常用实验室指标,在银屑病、系统性红斑狼疮及类风湿性关节炎等多种自身免疫学疾病的活动中呈明显升高水平,能辅助临床诊断,指导患者临床治疗^[3-4]。而血清免疫球蛋白G是血液中免疫球蛋白的主要成分,占血清中免疫球蛋白总量的3/4,其表达水平能反映机体的体液免疫功能^[5-6]。本研究探讨CRP联合血清免疫球蛋白G在银屑病患者中的表达及治疗指导价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2018年4月至2021年7月昆山市第一人民医院收治的银屑病患者116例为观察组,男73例,女43例,年龄平均(41.39±4.61)岁;起病时间平均(3.51±0.49)月;体重指数(BMI)平均(24.17±4.26)kg/m²;患者中,稳定期71例,进展期45例;银屑病类型:斑块型68例,点滴型48例;疾病严重程度:轻度51例,中度43例,重度22例;选择同期健康体检者54例为对照组,男33例,女21例,年龄平均(41.43±4.64)岁;BMI平均(24.34±4.31)kg/m²。两组临床资料比较差异无统计意义($P>0.05$)。

纳入标准:①符合中华医学会中关于银屑病诊断标准^[7],且患者均得到确诊;②均行复方甘草酸苷、窄谱中波紫外线(NB-UVB)方案治疗,患者均可耐受;③均能配合完成CRP及血清免疫球蛋白G测定。排除标准:①精神异常、凝血功能异常或伴有其他系统性疾病者;②妊娠期、哺乳期或近1个月紫外线照射者;③合并其他皮肤疾病、恶性肿瘤及急慢性感染者。本研究均获得医院伦理委员会批准,所有入试者及家属均签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

入组银屑病患者均给予复方甘草酸苷联合NB-UVB方案治疗,方法如下:采用德国Waldmann公司生产的UV100L型NB-UVB治疗,首次剂量为0.6 J/cm²,机器自动调制治疗时间,隔日照射1次,治疗过程中如皮肤未出现红斑,则增加20.0%剂量;对于无明显瘙痒且边界清楚的红斑,则维持原剂量;对于出现明显红斑、水肿者,需暂停治疗,常规给予复方炉甘石洗剂局部治疗,待症状消退后重新开始治疗(治疗剂量为首剂量的50.0%)。同时,治疗期间每次口服氯雷他定片(北京双鹭药业股份有限公司,国药准字H20030208,规格:10 mg)5 mg,每天1次;每次取复方甘草酸苷注射液(秋山片剂株式会社,国药准字J20130077,规格:20 mL)40 mL,混合250 mL浓度为0.9%氯化钠注射液中,静滴,每天2次,连续治疗2周^[8-9]。

1.2.2 检测及预后评估方法

①血液标本采集。观察组收治后次日取外周空腹血3 mL,对照组于健康体检当天取外周空腹血3 mL,离心30 min,速度为4 500 rpm,离心半径60 cm,血清分离后置于低温下,备用。②采用免疫比浊法测定两组CRP水平;采用全自动生化分析仪(型号:008AS,购自于日立医疗器械公司)测定血清免疫球蛋白G水平,试剂盒购自于贝克曼海尔施生物工程公司(海尔施生物工程公司),上述所有操作严格遵循仪器与试剂盒说明书完成,比较两组CRP和血清免疫球蛋白G表达差异并分析其治疗指导价值^[10]。③治疗效果判定^[11-12]:所有患者均完成2周治疗,参考银屑病皮损严重指数(PASI)进行评估。痊愈:PASI评分下降90.0%以上;显效:PASI下降60.0%~90.0%;有效:PASI评分下降20.0%~60.0%;无效:治疗方案无效或病情加重。对于痊愈、显效及有效视为预后良好,无效视为预后差。

1.3 统计分析

采用SPSS 24.0软件处理,计数资料行 χ^2 检验,采用 $n(\%)$ 表示,计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,两组间行 t 检验,多组间比较采用 F 检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

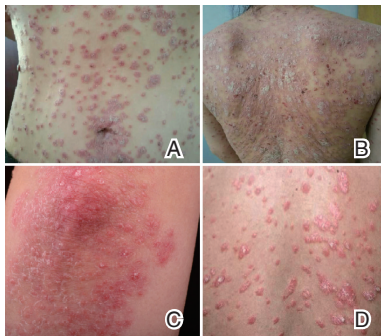
2.1 两组 CRP、血清免疫球蛋白 G 比较

观察组银屑病患者 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平高于对照组健康体检者,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1 和图 1。

表 1 两组 CRP、血清免疫球蛋白 G 比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of CRP and serum immunoglobulin G between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CRP(mg/L)	血清免疫球蛋白 G(g/L)
观察组	116	42.49±5.71	13.23±2.14
对照组	54	3.46±0.42	3.16±0.69
t 值		7.391	6.434
P 值		0.000	0.000



注:A 图为点滴状银屑病图片; B 图为斑块状银屑病图片; C 图为斑块状进展期图片; D 图为点滴状进展期图片。

图 1 典型病例图片

Figure 1 Typical case picture

2.2 观察组不同状态下 CRP、血清免疫球蛋白 G 比较

稳定期患者、点滴型患者 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平低于进展期与斑块型 ($P<0.05$); 重度银屑病患者 CRP、血清免疫球蛋白 G 高于轻度与中度患者 ($P<0.05$); 中度 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平高于轻度,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

2.3 银屑病不同预后 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平比较

116 例银屑病患者治疗后 92 例预后良好(其中:痊愈 57 例,显效 31 例,有效 4 例),24 例治疗预后差。预后良好患者 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平低于预后差 ($P<0.05$)。见表 3。

表 2 观察组不同状态下 CRP、血清免疫球蛋白 G 比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of CRP and serum immunoglobulin G under different conditions in the observation group ($\bar{x}\pm s$)

指标	疾病状态		银屑病类型		疾病严重程度		
	稳定期(n=71)	进展期(n=45)	斑块型(n=68)	点滴型(n=48)	轻度(n=51)	中度(n=43)	重度(n=22)
CRP(mg/L)	34.13±4.31	55.68±9.29 [#]	50.17±6.73	31.61±5.13 [#]	14.39±2.14	41.79±3.97 [#]	109.00±15.53 [#]
血清免疫球蛋白 G(g/L)	8.47±0.89	10.74±3.25 [#]	15.24±3.22	10.38±0.86 [#]	6.58±0.84	12.63±1.63 [#]	24.08±6.39 [#]

注:[#]表示差异有统计学意义, $P<0.05$ 。

表 3 银屑病不同预后 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of CRP and serum immunoglobulin G levels in different prognosis of psoriasis ($\bar{x}\pm s$)

治疗预后	n	CRP(mg/L)	血清免疫球蛋白 G(g/L)
预后良好	92	12.16±1.63	6.34±0.81
预后差	24	158.76±15.39	39.64±3.36
t 值		29.835	18.582
P 值		0.000	0.000

3 讨论

银屑病属于临床上发生率较高的慢性复发性炎症性皮肤病,其病理特点为细胞过度增殖、分化异常、角化不全,导致表皮角质形成,患者表皮与真皮之间具有炎性细胞浸润,并且在真皮乳头层中微血管发生扩张、增生及迂曲^[13]。张莉研究表明^[14]:炎性因子在银屑病中发挥了重要作用,且发病后常伴有微血管变化,可直接参与疾病的发生、发展。自身免疫应答紊乱及慢性炎症反应激活是银屑病的基本病理变化,该变化常伴有多种细胞因子的分泌异常。CRP 是机体非特异性炎症反应的敏感标志物之一,其表达水平升高提示机体内存在慢性炎症、感染、组织损伤或自身免疫疾病,其变化不受个体差异、机体状态和治疗药物的影响。彭嘉丽一项研究表明^[15]:血清 CRP 水平是银屑病患者较为稳定的生物学标志物。本研究中,观察组 CRP、血清免疫球蛋白 G 水平高于对照组,从本研究结果看出,CRP 在银屑病患者中呈高表达,主要是由于银屑病患者伴有全身炎症,尤其是皮损广泛、严重或有累及的患者,其血清 CRP 明显升高,与既往研究结果相符。

免疫球蛋白 G 是血清中免疫球蛋白的主要成分,占血清中免疫球蛋白总量的 3/4^[16]。因此,血清免疫球蛋白 G 表达水平能反映机体的体液免疫功能状态。对于正常人而言,免疫球蛋白含有两条重链与两条轻链,经二硫键联结而成的完整分子,人体淋巴系统每天能产生游离轻链 500 mg,由于轻链分子量小,小分子蛋白质能通过肾小球基底膜滤过,在肾小管中能被重吸收回血循环中。对于正常人而言,尿液中轻链含量相对较低,对于尿液中游离的轻链

升高时,提示肾小管重吸收小分子蛋白功能损害^[17]。因此,血清免疫球蛋白G能直接参与银屑病的发生、发展。本研究中,稳定期患者、点滴型患者CRP、血清免疫球蛋白G水平低于进展期与斑块型;重度银屑病患者CRP、血清免疫球蛋白G高于轻度与中度患者,从本研究结果看出,CRP与血清免疫球蛋白G在银屑病患者中均呈高表达,其表达水平能反映银屑病状态、疾病严重程度及银屑病类型。

目前,临床上对于银屑病的治疗以药物治疗与非药物联合干预为主,本研究中以常用药复方甘草酸苷与NB-UVB联合方案干预。NB-UVB是银屑病患者中常用的物理手段,借助窄谱中波紫外线杀伤皮损中的炎症细胞、免疫细胞,避免DNA吸收峰值,降低DNA突变的风险。屠远辉研究表明^[18]:NB-UVB用于银屑病患者中能较好的控制病情,且多数患者能从中受益。而复方甘草酸苷属于常用的中成药,主要由甘草甜素、甘草酸单胺盐、甘氨酸和盐酸半胱氨酸为主要成分,能显著抑制炎症反应、调节免疫应答功能,能减少炎症细胞和免疫细胞在皮损中的浸润,从而能减轻皮损症状^[19]。本研究中,116例银屑病患者治疗后92例预后良好,24例治疗预后差。预后良好患者CRP、血清免疫球蛋白G水平低于预后差,从本研究结果看出,复方甘草酸苷与NB-UVB联合方案干预银屑病多数患者能从中受益,有助于降低CRP、血清免疫球蛋白G水平,发挥不同治疗方法优势。因此,临床上银屑病患者应加强CRP联合血清免疫球蛋白G测定,辅助临床诊断,评估患者预后,善于根据测定结果调整治疗方案,提高患者治疗效果,促进患者康复。

综上所述,CRP联合血清免疫球蛋白G在银屑病患者中呈高表达,且在不同临床分期、银屑病类型及严重程度中存在差异,可指导临床治疗,值得推广应用。

参考文献

- [1] 郭欣,谭淳予,马玲,等. 甲氨蝶呤联合美洛昔康治疗类风湿关节炎患者对免疫功能及血清ESR, CPR, CCP, RF水平的影响[J]. 西部医学, 2020, 32(12): 1759-1762.
- [2] 顾梅. 糖皮质激素联合不同剂量人免疫球蛋白对重症药疹患者血清TNF- α , IL-6及CRP的影响[J]. 医学临床研究, 2020, 37(7): 1051-1053.
- [3] 杜聃峰,汪睿志. 复方甘草酸苷联合NB-UVB治疗寻常性银屑病的疗效及对细胞因子和增殖基因的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(3): 307-310.
- [4] Liu J, Qu Z, Chen H, et al. Increased levels of circulating class-switched memory B cells and plasmablasts are associated with serum immunoglobulin G in primary focal segmental glomerulosclerosis patients[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98(4): 107839.
- [5] 吴丹,刘敏,王晓哲. 转录活化因子3,肿瘤转移相关蛋白1,低氧诱导因子-1 α 在银屑病患者中的表达及意义[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(1): 134-137.
- [6] 赵文青. 清热凉血解毒汤治疗血热型寻常性银屑病疗效及对外周炎症因子的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(18): 2006-2009.
- [7] 宋颖,朱世文,王晓馨. 不同剂量雷公藤多苷对寻常型银屑病样小鼠血清炎症因子的影响[J]. 安徽医药, 2021, 25(10): 1934-1938.
- [8] Winter AK, Wesolowski AP, Mensah KJ, et al. Revealing Measles Outbreak Risk With a Nested Immunoglobulin G Serosurvey in Madagascar[J]. *Am J Epidemiol*, 2021, 187(10): 2219-2226.
- [9] 李珺莹,聂振华,张理涛. 银屑病相关的MicroRNA和细胞因子反馈表达网络的研究现状[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2020, 19(4): 381-384.
- [10] 庞晓文,张萍,刘雯,等. 尿酸相关代谢和免疫调控因子在银屑病发病中的作用和意义[J]. 空军医学杂志, 2020, 36(3): 241-244.
- [11] 杨雪圆,蔡宛灵,贺冬,等. 清热凉血法治疗银屑病临床疗效及对炎症细胞因子影响的Meta分析[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(19): 1492-1500.
- [12] M Malińska, Wojciechowska B, M Mańczak, et al. Correction to: Serum immunoglobulin G4 in Sjgren's syndrome: a pilot study[J]. *Rheumatol Intern*, 2020, 40(4): 563-563.
- [13] 袁旭,邵帅,王刚. 中性粒细胞胞外诱捕网通过活化角质形成细胞黑素瘤缺乏因子2炎症小体参与银屑病发生发展[J]. 中华皮肤科杂志, 2020, 53(5): 324-329.
- [14] 张莉,陈利红,李霞,等. IL-17A单克隆抗体治疗诱导期对寻常性银屑病患者血清细胞因子的影响[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2020, 34(11): 1249-1254.
- [15] 彭嘉丽,马小平,刘洋,等. IA免疫吸附疗法对银屑病患者临床疗效和作用机制分析[J]. 四川医学, 2020, 41(12): 1276-1280.
- [16] 金墨,李聪慧,程杨,等. 长链非编码RNANEAT1在银屑病中的表达及其与疾病活动度和炎症因子水平的关联分析[J]. 福建医科大学学报, 2020, 54(1): 8-12, 28.
- [17] Cyrielle, Parmentier, Jean-Daniel, et al. Immunoglobulin serum levels in rituximab-treated patients with steroid-dependent nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2020, 35(3): 455-462.
- [18] 屠远辉,吴涛,刘爱民,等. 修美乐联合麻防犀角地黄汤对中重度斑块型银屑病的临床疗效及相关免疫炎症指标的影响[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(5): 57-59.
- [19] Yu Y, Chen Z, Wang Y, et al. Infliximab modifies regulatory T cells and co-inhibitory receptor expression on circulating T cells in psoriasis[J]. *Internat Immunopharmacol*, 2021, 96(1): 107722.

血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 对 COPD 急性发作并发肺部感染的诊断价值

闫秀文* 赵艺璞 李亚军 时畅

[摘要] **目的** 探讨血清 P-选择素糖蛋白配体 1(PSGL-1)、膜联蛋白 A1(ANXA1)、降钙素原(PCT)对慢性阻塞性肺疾病(COPD)急性发作并发肺部感染的诊断价值。**方法** 选取 2018 年 9 月至 2021 年 8 月 河南省人民医院收治的 102 例 COPD 急性发作患者为研究组,并以同期 30 例健康体检者为对照组。入院后研究组患者均进行胸部 CT 扫描确定肺部感染情况,并同期进行血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平、临床肺部感染评分(CPIS)的检测。对照组亦进行血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平的检测。分析研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平与 COPD 急性发作并发肺部感染及 CPIS 的关系,并分析研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平对 COPD 急性发作并发肺部感染的诊断价值。**结果** 研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平均较对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组肺部感染发生率为 28.43%(29/102)。与无肺部感染患者比较,发生肺部感染患者的血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平、CPIS 均较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic 多元回归分析结果显示,血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平均为 COPD 急性发作患者并发肺部感染的危险因素($P<0.05$)。Pearson 线性相关分析结果显示,研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平与 CPIS 均呈正相关($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平单独和联合诊断急性发作并发肺部感染的准确性均较高,其中以血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平联合诊断急性发作并发肺部感染的敏感度、特异度以及准确性最高($P<0.05$)。**结论** COPD 急性发作患者的血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平较高且与肺部感染发生及其严重程度均相关,血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平联合检测可用于 COPD 急性发作并发肺部感染的诊断。

[关键词] P-选择素糖蛋白配体 1;膜联蛋白 A1;降钙素原;慢性阻塞性肺疾病;肺部感染

Analysis of the diagnostic value of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT in acute COPD with pulmonary infection

YAN Xiuwen*, ZHAO Yipu, LI Yajun, SHI Chang

(Department of respiratory and critical care medicine, Henan Provincial People's Hospital, Henan Key Laboratory of nursing medicine, people's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450003)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of serum P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1), annexin A1 (ANXA1) and procalcitonin (PCT) in the diagnosis of acute COPD with pulmonary infection. **Methods** A total of 102 patients with acute exacerbation of COPD who were admitted from September 2018 to August 2021 were selected as the study group, and 30 healthy patients had physical check-ups during the same period were selected as the control group. After admission, all patients in the study group underwent chest CT scans to determine their lung infections. At the same time, in the study group, serum PSGL-1, ANXA1, PCT levels, and clinical lung infection score (CPIS) were tested. The control group was also tested for serum PSGL-1, ANXA1, and PCT levels. The relationship between serum PSGL-1, ANXA1, PCT levels in the study group with acute COPD with pulmonary infection and CPIS were analyzed, and the value of serum PSGL-1, ANXA1, PCT levels in the diagnosis of acute COPD with pulmonary infection was analyzed. **Results**

基金项目: 2018 年度河南省医学科技攻关计划项目(2018093213)

作者单位: 河南省人民医院呼吸与危重症医学科, 河南省护理医学重点实验室, 郑州大学人民医院, 河南, 郑州 450003

*通信作者: 闫秀文, E-mail: yucheny6@163.com

The levels of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The incidence of pulmonary infection in the study group was 28.43% (29/102). Compared with patients without pulmonary infection, the levels of serum PSGL-1, ANXA1, PCT and CPIS in patients with pulmonary infection were higher, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic multiple regression analysis showed that serum PSGL-1, ANXA1, and PCT levels were all risk factors for acute COPD with pulmonary infection ($P<0.05$). The results of Pearson linear correlation analysis showed that the serum PSGL-1, ANXA1, PCT levels in the study group were positively correlated with CPIS ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that serum PSGL-1, ANXA1, PCT levels alone and in combination had higher accuracy in diagnosing acute attack complicated with pulmonary infection. The sensitivity, specificity and accuracy of infection were the highest ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT in patients with acute COPD are relatively high and related to the occurrence and severity of lung infections. The combined detection of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT levels can be used for the diagnosis of acute exacerbation of COPD complicated by pulmonary infection.

[KEY WORDS] P-selectin glycoprotein ligand 1; Annexin A1; Procalcitonin; Chronic obstructive pulmonary disease; Acute exacerbation; Pulmonary infection

慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)为常见呼吸系统疾病,其急性加重可严重影响患者生活,加重患者经济负担和增加患者死亡的发生^[1]。COPD患者的气道分泌物增加和气道内气流受限,可导致肺部炎症等的发生,16~36%的COPD急性加重患者可存在社区获得性肺炎,而合并肺炎可增加患者住院天数和影响其治疗效果,且部分患者入院时因合并呼吸衰竭等因素而无法配合影像学检查^[2]。因此,探寻实验室检查指标进行COPD合并肺炎的初步判断和指导其治疗具有重要意义。P-选择素糖蛋白配体1(P-selectin glycoprotein ligand 1, PSGL-1)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)均已被证实与炎症感染密切相关,膜联蛋白A1(annexin a1, ANXA1)已是重要炎症调控蛋白之一^[3-4]。因此,血清PSGL-1、ANXA1、PCT对COPD急性发作并发肺部感染可能具有初步判断价值,但目前相关研究仍较少。因此,本研究检测了COPD急性发作患者的血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平,分析了其与COPD急性发作患者肺部感染发生状况及其肺部感染严重程度的关系,旨在为COPD急性发作患者肺部感染的防治提供实验室参考数据,具体的研究结果现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年9月至2021年8月河南省人民医院收治的102例COPD急性发作患者为研究组,患者曾经症状、生命体征、胸部CT、肺功能等检查确诊COPD^[5],在短期内出现咳嗽、咳痰、气短、喘

息等症状的明显加重和痰量的增加,部分患者存在发热症状,患者无恶性疾病,无支气管扩张、肺癌或肺结核,无自身免疫系统疾病或免疫抑制剂干预病史,无长期抗菌药物用药史,非孕期或哺乳期,精神状态正常。并以同期30例健康查体者为对照组。所有入试者均签署同意书。本实验经医院伦理委员会批准。研究组和对照组基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 研究组和对照组基线资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]
Table 1 Comparison of baseline data between study group and control group [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

组别	<i>n</i>	性别(男/女)	年龄(岁)	COPD病程(年)
研究组	102	69/33	67.55±8.95	7.56±2.87
对照组	30	19/11	66.89±9.42	7.71±2.49
χ^2/t 值		0.194	0.351	0.259
<i>P</i> 值		0.660	0.726	0.796

1.2 观察指标和检测方法

①研究组患者入院后均进行胸部CT扫描,结合患者情况,确定肺部感染情况,肺部感染诊断标准为^[6]:体温高于38℃、白细胞计数高于 $10\times 10^9/L$ 、双肺啰音、存在咳嗽咳痰症状、X线片显示肺部炎性改变且痰培养见致病菌。②研究组患者入院后均由主治医师采用临床肺部感染评分(CPIS)^[7]进行肺部感染严重程度的评估,CPIS评分评价内容包括体温、白细胞计数、分泌物(24h吸出物性状数量)、气体交换指数(PaO_2/FiO_2)、X线胸片浸润恶化、气道吸出物细菌培养等6个方面,每个方面分值0分~2分,总分0分~12分,分值越高,提示患者病情越严重。

③研究组患者入院后和对照组入组后均取空腹静脉血 3 mL 进行血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平的检测,将获取的血液标本置于抗凝管中,约 20 min 后上离心机,5 000 r/min 转速、5 cm 半径、4℃离心处理 10 min,待分层后取上层血清,在 -20℃低温冰箱冷藏待测,检测前半小时取出复温,检测采用日立 7010 型全自动生化分析仪,检测试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司,检测均由同一相关操作经验丰富检验科医师参照相关说明书进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件,计数资料用 $n(\%)$ 表示,比较采用卡方检验,计量资料均符合正态分布用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,采用 t 检验,采用 Logistic 多元回归分析模型分析研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平与 COPD 急性发作并发肺部感染的关系;采用 Pearson 线性相关法分析研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平与 COPD 急性发作患者 CPIS 的关系;并采用受试者操作特性曲线(ROC)分析研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平对 COPD 急性发作并发肺部感染的诊断价值; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组和对照组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平比较

与对照组比较,研究组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平均较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 研究组和对照组血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT levels between the study group and the control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PSGL-1(U/mL)	ANXA1(μ g/L)	PCT(μ g/L)
研究组	102	266.98±68.55	269.75±37.89	9.06±3.06
对照组	30	202.94±59.46	225.12±32.51	0.26±0.04
<i>t</i> 值		9.916	6.511	15.700
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 研究组肺部感染发生状况及不同肺部感染发生状况患者的血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平、CPIS 比较

研究组肺部感染发生率为 28.43%(29/102)。与无肺部感染患者比较,发生肺部感染患者的血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平、CPIS 均较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 研究组不同肺部感染发生状况患者的血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平、CPIS 比较

Table 3 Comparison of serum PSGL-1, ANXA1, PCT levels and CPIs in patients with different pulmonary infection conditions in the study group

组别	<i>n</i>	PSGL-1(U/mL)	ANXA1(μ g/L)	PCT(μ g/L)	CPIS(分)
肺部有感染组	29	312.85±70.89	305.26±45.66	15.12±3.85	7.56±2.11
肺部无感染组	73	248.76±62.44	255.65±34.52	6.65±2.13	3.24±1.06
<i>t</i> 值		4.498	5.952	14.169	13.727
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平对 COPD 急性发作患者并发肺部感染的影响分析

Logistic 多元回归分析结果显示,血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平均为 COPD 急性发作患者并发肺部感染的危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平对 COPD 急性发作患者并发肺部感染的影响分析

Table 4 Effect of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT levels on pulmonary infection in patients with acute attack of COPD

血清指标	β 值	SE 值	Wald 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
PSGL-1(U/mL)	1.442	0.355	4.062	9.574	2.524~12.438	0.000
ANXA1(μ g/L)	1.211	0.319	3.831	8.126	2.502~13.556	0.000
PCT(μ g/L)	1.520	0.346	4.331	9.078	2.511~12.682	0.002

2.4 血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平与 COPD 急性发作患者 CPIS 的关系分析

Pearson 线性相关分析结果显示,血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平与 COPD 急性发作患者 CPIS 均呈正相关($r=0.828, 0.789, 0.876, P < 0.05$)。

2.5 血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平单独和联合诊断急性发作并发肺部感染的价值分析

ROC 曲线分析结果显示,血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平单独和联合诊断急性发作并发肺部感染的准确性均较高,其中以血清 PSGL-1、ANXA1、PCT 水平联合诊断急性发作并发肺部感染的敏感度、特异度以及准确性最高。见表 5 和图 1。

3 讨论

近年来随着人口老龄化的不断发展,COPD 等老年相关疾病的发生不断增加,已成为老年人群的重要医疗问题。COPD 患者的气流受限呈现不可逆发展,可明显影响患者呼吸功能,且 COPD 患者多数为老年人群,其免疫功能不佳且呼吸功能减退,病原体入侵后极易出现肺部感染,感染后患

表5 血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平单独和联合诊断急性发作并发肺部感染的价值

Table 5 Value of serum PSGL-1, ANXA1 and PCT levels alone and in combination for the diagnosis of acute attack complicated with pulmonary infection

血清指标	临界值	敏感度	特异度	准确性
PSGL-1(U/mL)	334.56	0.76	0.82	0.80
ANXA1(μ g/L)	318.74	0.83	0.88	0.87
PCT(μ g/L)	15.29	0.86	0.90	0.89
三者联合	0.429	0.93	0.96	0.95

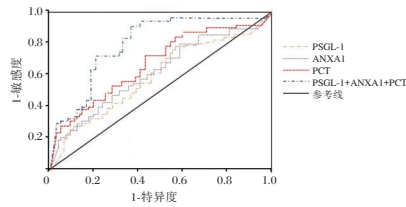


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

者的肺部肺间质、肺泡腔、终末气道等多个部位均可出现炎症,进一步影响其呼吸功能状况,加重治疗困难程度和影响疗效^[8]。COPD患者多数为高龄患者,其本身身体素质较差,且肺部感染后症状不明显,极易发生漏诊误诊而导致患者错失最佳治疗时间,影响疗效和预后^[9]。本研究中的COPD急性发作患者中,28.43%的患者亦存在不同程度的肺部感染,可加重其治疗困难程度而影响疗效。因此,采取有效措施对COPD患者肺部感染进行及时诊治十分必要。胸部CT等在COPD患者肺部感染诊断中的应用较多,但由于COPD患者中部分存在呼吸衰竭或心力衰竭,其影像学检查无法配合顺利进行^[10]。

PCT是细菌引发呼吸系统验证反应时较好的诊断标志物,其在合并细菌感染的早期判断中可增加诊断的准确性,且被既往研究认为其较之高敏C反应蛋白可更准确地反应感染程度和器官功能障碍,但其对感染诊断的特异度较低^[11-12]。PSGL-1主要分布于白细胞表面,为P-选择素配体,与P-选择素结合后可形成血小板-白细胞聚集体而刺激炎症反应,且其在内皮细胞表达后促进血流内多形核粒细胞在内皮上的移位而介导内皮损伤,是炎症启动和维持的重要因子^[13]。ANXA1在人体多数组织细胞表达,在单核细胞和粒细胞中呈强阳性表达,参与中性粒细胞/单核细胞、炎症代谢产物以及血管内皮细胞的粘附过程,是严重的炎症调控蛋白^[14-15]。因此,COPD患者出现肺部炎症时PCT、PSGL-1、ANXA1亦可能升高,而PCT、

PSGL-1、ANXA1水平的检测可能用于COPD患者肺部感染的诊断,但目前相关研究甚少。

本研究结果提示COPD急性发作患者炎症反应明显,而肺部感染可进一步导致其血清PCT、PSGL-1、ANXA1水平的升高,而Logistic多元回归分析结果显示,血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平均为COPD急性发作患者并发肺部感染的危险因素,Pearson线性相关分析结果证实了血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平与COPD急性发作患者肺部感染的发生及其严重程度相关,可能用于其肺部感染的早期诊断,进一步的ROC曲线分析证实了血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平诊断急性发作并发肺部感染的可行性,其中三者联合检测进行COPD急性发作并发肺部感染诊断的价值更高。在COPD急性发作疑似肺部感染患者,尤其是合并呼吸衰竭等无法进行影像学检查诊断的患者中,可通过抽血进行血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平等的检测进行肺部感染情况的初步判断和指导肺部感染早期治疗,以期改善疗效和预后。

综上所述,血清PSGL-1、ANXA1、PCT水平在COPD急性发作患者中的水平升高且与其肺部感染密切相关,三者联合检测可早期判断COPD急性发作患者的肺部感染的状况,指导其肺部感染早期干预。

参考文献

- [1] Seys LJM, Widagdo W, Verhamme FM, et al. DPP4, the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Receptor, is Upregulated in Lungs of Smokers and Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients [J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(1):45-53.
- [2] 张洁,陈苗,耿直,等.纤维支气管镜肺泡灌洗术对老年COPD患者合并重症肺部感染血氧指标及预后的影响[J].中华医院感染学杂志,2019,29(4):531-534.
- [3] 龙邦盛,王振贤,林莉娟,等.PCT和乳酸水平对伴心肌损伤脓毒症患者28天存活率的预测价值[J].中南医学科学杂志,2019,47(6):601-605.
- [4] 刘德义,马胜喜,赵振波,等.慢性阻塞性肺疾病并发感染患者PSGL-1和IL-6与ANXA1的表达[J].中华医院感染学杂志,2020,30(14):2148-2153.
- [5] 李海玲,李凡.GOLD 2017更新要点解读及其对中国慢性阻塞性肺疾病分级诊疗的启示[J].中国全科医学,2017,20(18):2171-2175.
- [6] 米娟,裴理辉,李君,等.胸部X线联合CT检查对肺部感染早期筛查的诊断意义[J].中华医院感染学杂志,2016,26(13):2963-2965.

(下转第281页)

Gal-3、BNP及LVEF在心力衰竭患者中的变化及临床意义

岳洪峰* 张占纺 邱玉青 刘春玲 马苏林 闻学

[摘要] 目的 分析半乳糖凝集素-3(Gal-3)、B型钠尿肽(BNP)及左室射血分数(LVEF)在心力衰竭患者中的变化及临床意义。方法 选取2017年3月至2020年3月北京核工业医院收治的102例心力衰竭患者设为研究组,另选取同期91例行心功能检查的健康体检者作为健康组。比较两组以及不同NYHA心功能分级心力衰竭患者的Gal-3、BNP及LVEF水平,分析影响心力衰竭患者预后的单因素、多因素。结果 研究组Gal-3、BNP水平明显高于健康组,LVEF低于健康组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。Gal-3、BNP水平:Ⅱ级<Ⅲ级<Ⅳ级,LVEF值:Ⅱ级>Ⅲ级>Ⅳ级,差异有统计学意义($P<0.05$)。年龄、性别、心率、高血压等非影响心力衰竭患者预后的单因素($P>0.05$),心功能分级、Gal-3、BNP及LVEF为影响心力衰竭患者预后的单因素($P<0.05$)。多因素Logistic回归模型分析结果显示,心功能分级、Gal-3、BNP及LVEF为影响心力衰竭患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 Gal-3、BNP、LVEF作为影响心力衰竭预后的因素,其在不同级别心力衰竭中有着不同表达,临床可根据其水平变化作为心力衰竭的诊断和预后判断的参考依据。

[关键词] 半乳糖凝集素-3; B型钠尿肽; 左心室射血分数; 心力衰竭

Changes and clinical significance of galectin-3, B-type natriuretic peptide and left ventricular ejection fraction in patients with heart failure

YUE Hongfeng*, ZHANG Zhanfang, DI Yuqing, LIU Chunling, MA Sulin, WEN Xue

(The Second Department of Internal Medicine, Beijing Nuclear Industry Hospital, Beijing, China, 102413)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes and clinical significance of galectin-3 (Gal-3), B-type natriuretic peptide (BNP) and left ventricular ejection fraction (LVEF) in patients with heart failure. **Methods** The clinical data of 102 patients with heart failure treated in this hospital from March 2017 to March 2020 were collected and set as the study group. Another 91 patients who had a physical examination of cardiac function at the same period were selected as the healthy group. The Gal-3, BNP and LVEF between the two groups and the Gal-3, BNP and LVEF of patients with different grading in NYHA cardiac function were compared. At the same time, single and multiple factors affecting the prognosis of patients with heart failure were analyzed. **Results** The Gal-3 and BNP levels in the study group were significantly higher than those in the healthy group, while the LVEF was lower than that in the healthy group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The higher the level of cardiac function was, the higher the levels of Gal-3 and BNP were, and the lower the LVEF value was, the difference is statistically significant ($P<0.05$). Age, gender, heart rate, hypertension and other factors did not affect the prognosis of patients with heart failure ($P>0.05$), while cardiac function class, Gal-3, BNP and LVEF were the single factors affecting the prognosis of patients with heart failure ($P<0.05$). The results of multivariate logistic regression model analysis showed that the classification of heart function, Gal-3, BNP and LVEF were independent risk factors affecting the prognosis of

基金项目:北京市科技计划项目(20170228)

作者单位:北京核工业医院内二科,北京 102413

*通信作者:岳洪峰, E-mail: yhfssx123@163.com

patients with heart failure ($P<0.05$). **Conclusion** Gal-3, BNP, and LVEF are factors that affect the prognosis of heart failure, and they have different expressions in different grades of heart failure. Clinically, the changes in their levels can be used as a reference for the diagnosis and prognosis of heart failure.

[KEY WORDS] Galectin-3; B-type natriuretic peptide; Left ventricular ejection fraction; Heart failure

心力衰竭是由于患者心脏舒张和(或)收缩功能出现问题,导致患者心脏循环出现障碍而形成的^[1]。心力衰竭具有高发病率、高病死率、预后不佳的特点,临床认为尽早治疗是改善患者病情、降低死亡率的关键^[2]。目前临床上常用于评价心力衰竭的指标有超声心动图、X线胸片等检查,但其会受到多因素影响导致检测结果出现偏差,具有一定的局限性^[3]。有研究认为半乳糖凝集素-3(galectin-3, Gal-3)、B型钠尿肽(B-type natriuretic peptide, BNP)及左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)与心力衰竭发生发展有着一定的关系,其水平变化可为临床判断心力衰竭提供参考依据^[4]。为准确评估患者病情,为临床治疗提供有效的参考,本文就Gal-3、BNP及LVEF在心力衰竭患者中的变化及临床意义进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年3月至2020年3月北京核工业医院收治的102例心力衰竭患者设为研究组。男55例,女47例;平均年龄为(65.23±6.08)岁;根据美国纽约心脏病学会心功能分级标准(New York Heart Association, NYHA)分级^[5]:Ⅱ级34例、Ⅲ级31例、Ⅳ级37例;纳入标准:①经临床、X片实验室等检查,患者均符合2014版《中国心力衰竭诊断和诊疗指南》中心力衰竭的诊断标准^[6];②所有患者的临床资料均完整。排除标准:①存在恶性肿瘤者;②存在精神疾病无法配合本研究或依从性差者;③中途退出研究者。另选取91例同期行心功能检查的健康体检者作为健康组,其中男49例,女42例,平均年龄为(66.11±6.15)岁。两组基本资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 检测方法

收集所有参与研究者早晨空腹静脉血5 mL,使用离心机3 000 r/min($r=10$ cm)分离血清,10 min后取出低温保存。采用酶联免疫吸附法^[7](enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测Gal-3、

BNP水平,试剂盒均购自上海恒远生物科技有限公司,严格按照使用说明进行操作检测。使用Philips IE33“心悦”超声诊断仪,S5-1探头,频率设置为2.5~3.5 MHz,对左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)进行二维超声检查。

1.3 随访

所有患者自出院后一年内进行电话随访,随访截止时间为2021年3月,确认患者预后,调查并记录患者存活、手术或死亡情况。根据患者是否有临床事件^[8](复发、手术、心衰加重、死亡等)进行分组,当患者发生临床事件时停止随访。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析影响力衰竭患者预后的独立危险因素;以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组Gal-3、BNP及LVEF比较

研究组Gal-3、BNP水平高于健康组,LVEF低于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组Gal-3、BNP及LVEF比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Gal-3(ng/L)	BNP(ng/L)	LVEF(%)
研究组	102	188.58±29.13	343.59±40.26	42.53±7.86
健康组	91	76.58±16.85	52.39±11.96	58.26±7.12
t 值		32.182	66.417	14.505
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同NYHA心功能分级患者Gal-3、BNP及LVEF比较

Gal-3、BNP水平:Ⅱ级<Ⅲ级<Ⅳ级,LVEF值:Ⅱ级>Ⅲ级>Ⅳ级,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 影响力衰竭患者预后的单因素分析

对患者进行为期一年的随访发现,44例患者发生临床事件,58例患者未发生临床事件。对心力衰竭患者的预后影响进行单因素分析,结果发现年龄、性别、心率、高血压等为非影响因素($P>$

表2 不同NYHA心功能分级的Gal-3、BNP及LVEF比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Gal-3, BNP and LVEF of different NYHA cardiac function classifications ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Gal-3(ng/L)	BNP(ng/L)	LVEF(%)
Ⅱ级	34	148.56±25.79 ^{ab}	297.48±25.63 ^{ab}	52.44±6.62 ^{ab}
Ⅲ级	31	176.58±28.36 ^c	335.56±33.18 ^c	43.46±5.35 ^c
Ⅳ级	37	235.41±32.56	392.69±42.85	32.64±4.89
F值		82.300	66.990	108.220
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与Ⅲ级相比,^a $P<0.05$ 。与Ⅳ级相比,^b $P<0.05$ 。与Ⅳ级相比,^c $P<0.05$ 。

0.05),心功能分级、Gal-3、BNP及LVEF为影响心力衰竭患者预后的单因素($P<0.05$),见表3。

表3 影响心力衰竭患者预后的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 3 Analysis of single factors affecting the prognosis of patients with heart failure [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

变量	临床事件组 (n=44)	未发生事件组 (n=58)	χ^2/t 值	P值
年龄(岁)	57.93±6.61	56.36±6.32	1.218	0.226
性别			2.233	0.135
	男 20(45.45)	35(60.34)		
	女 24(54.55)	23(39.66)		
心功能分级			8.811	0.012
	Ⅱ级 10(22.73)	24(41.38)		
	Ⅲ级 11(25.00)	20(34.48)		
	Ⅳ级 23(52.27)	14(24.14)		
心率(次·min ⁻¹)	70.91±22.85	76.85±18.29	1.458	0.148
高血压			0.078	0.777
	有 24(54.55)	30(51.72)		
	无 20(45.45)	28(48.28)		
糖尿病			0.844	0.358
	有 21(47.73)	33(56.90)		
	无 23(52.27)	25(43.10)		
冠心病			1.883	0.170
	有 25(56.82)	25(43.10)		
	无 19(43.18)	33(56.90)		
Gal-3(ng/L)	213.56±31.52	169.63±17.83	8.908	<0.001
BNP(ng/L)	386.49±42.19	311.05±11.79	12.984	<0.001
LVEF(%)	38.72±6.61	45.40±6.12	5.274	<0.001

2.4 影响心力衰竭患者预后的多因素分析

多因素 Logistic 回归模型分析结果显示,心功能分级、Gal-3、BNP及LVEF为影响心力衰竭患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表4 影响心力衰竭患者预后的多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors affecting the prognosis of patients with heart failure

指标	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
心功能分级(Ⅱ级 vs Ⅲ级 vs Ⅳ级)	0.598	0.263	6.515	1.818	1.086~3.044	<0.001
Gal-3(ng/L)	0.632	0.296	6.580	1.881	1.053~3.361	<0.001
BNP(ng/L)	0.756	0.286	7.560	2.130	1.216~3.731	<0.001
LVEF(%)	0.659	0.256	6.501	1.933	1.170~3.192	<0.001

3 讨论

心力衰竭是因心室发生泵血功能障碍或充盈功能降低,导致机体正常代谢所需的血量无法被满足,致使身体组织及器官血液灌注不足,继而出现体循环淤血,诱发心脏循环障碍等一系列临床症状^[9]。心力衰竭也是众多心血管疾病发展到最后的临床综合症群,据统计其患病率呈上升趋势^[10]。心力衰竭临床表现有呼吸困难、乏力等,其病因复杂且发病率高,如治疗不及时,患者临床症状加重,严重时危及生命。早诊早治及准确的预后评估可有效减少患者死亡率。临床上诊断心力衰竭主要是根据患者体征、症状及X线检查进行判断,但由于早期症状体征表现不明显,易影响临床诊断^[11]。临床上BNP与心力衰竭的发生密切相关,并已被广泛应用于心衰的诊断、疗效评估和预后评价^[12]。但由于多种病理生理学机制参与了心力衰竭发生发展,单凭一种方法对心力衰竭病情进行评估,缺少客观标准,同时也缺少比较,无法准确判断检测结果的对错,也无法为心力衰竭的治疗提供准确的参考^[13]。

BNP是由心室肌细胞分泌,可调节人体体液、血压及钠平衡。当心室功能不全时,心肌扩张,BNP会快速合成释放调节心脏功能,因此其可作为患者心力衰竭的重要标志之一,其具有较高的敏感性及特异性^[14]。Gal-3作为一种新型的心力衰竭生物学标志物,对心力衰竭发展有调控作用, Gal-3水平越高可能预示患者心功能越差^[15]。左心室射血分数可反映有功能心肌细胞的数量和收缩能力,左心室射血分数越低,表明有功能的心肌细胞数量越少,心肌纤维化和坏死的比例越大,心室重构越明显,心脏收缩功能越差^[16]。王剑锋等人^[17]研究认为Gal-3表达水平与慢性心力衰竭患者心功能有关。本研究结果显示Gal-3、BNP水平在心力衰竭患者中的表达高于健康者,而LVEF水平低于健康者。李丹等人^[18]研究结果证实,患者心功能等级越高,其血清Gal-3、BNP水平越高,LVEF水平越低,三种指标对心力衰竭诊断和预后判断有重要的临床意义。本文结果显示,随着心功能级别的增加, Gal-3、BNP的水平逐渐升高,LVEF水平逐渐下降,由此可知Gal-3、BNP水平与心功能级别有着紧密的关系。本研究发现Gal-3、BNP、LVEF是影响心力衰竭患者预后的因素,分析其中缘由:当Gal-3、BNP、LVEF水平出现升高时,导致患者心力衰竭

逐渐加重,从而导致患者预后不良。

综上所述,Gal-3、BNP、LVEF作为影响心力衰竭预后的因素,其在不同级别心力衰竭中有着不同表达,临床可根据其水平变化作为心力衰竭的诊断和预后判断的参考依据。

参考文献

- [1] 许卓帆,郑韶欣,叶贤区,等.慢性心力衰竭患者血清sST2、Galectin-3水平变化及临床意义[J].中国循证心血管医学杂志,2020,12(1):47-49,53.
- [2] Zhang X, Karunathilaka N, Senanayake S, et al. The potential prognostic utility of salivary galectin-3 concentrations in heart failure[J]. Clin Res Cardiol, 2020,109(6):3-8.
- [3] 张晔,李银福,史雷忠,等.慢性心力衰竭患者中血清galectin-3、PTX-3水平的变化及其与预后的关系[J].心血管康复医学杂志,2019,28(3):289-292.
- [4] Fu H, Bai R. Galectin-3 and Acute Heart Failure: Genetic Polymorphisms, Plasma Concentration, Myocardium Fibrosis and Outcome[J]. J Am Coll Cardiol, 2020,75(11):84-97.
- [5] Ashizawa N, Furuya S, Katsutoshi S, et al. Clinical Significance of Dynamic Neutrophil-Lymphocyte Ratio Changes in Patients With Colorectal Cancer[J]. Anticancer Res, 2020,40(4):2311-2317.
- [6] 陈蓉,郭俊芳,尹春阳,等.血浆B型钠尿肽水平对慢性心力衰竭的早期诊断价值研究[J].中国全科医学,2019,22(2):50-52.
- [7] Piguillem S V, Gamella M, Pablo G, et al. Easily Multiplexable Immunoplatfrom to Assist Heart Failure Diagnosis through Amperometric Determination of Galectin-3[J]. Electroanalysis, 2020,32(12):2-11.
- [8] 张晓丹,赵红丽,金忠志刚,等.可溶性ST2与半乳糖凝集素-3对缺血性心脏病患者心力衰竭评估价值分析[J].心血管康复医学杂志,2020,29(1):1-4.
- [9] Yokoyama S, Kawakami R, Tobiume A, et al. Time Course Changes in Urinary Angiotensinogen and Circulating N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide in Patients Hospitalized with Acute Heart Failure[J]. Intern Med, 2020,59(22):2839-2847.
- [10] 白兴合,代玉川,刘平,等.慢性心力衰竭合并糖尿病患者血浆BNP、CRP和HbA1c的表达及与心功能分级的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):119-122+127.
- [11] Ruocco G, Evangelista I, Franci B, et al. Combination of ST2 and B-type natriuretic peptide in diabetic patients with acute heart failure: relation with ventricular stiffness and outcome[J]. J Cardio Med, 2019,20(2):24-59.
- [12] 杨萍,刘培晶,丁澍,等.Hs-cTnT、sST2联合BNP评估射血分数降低的慢性心力衰竭的临床意义[J].江苏大学学报(医学版),2019,29(5):414-418.
- [13] Grodin JL, Liebo MJ, Butler J, et al. Prognostic Implications of Changes in Amino-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide in Acute Decompensated Heart Failure: Insights from ASCEND-HF[J]. J Card Fail, 2019,25(9):10-16.
- [14] Tominaga M, Kawai M, Minai K, et al. Association between plasma B-type natriuretic peptide and anaemia in heart failure with or without ischaemic heart disease: a retrospective study[J]. BMJ Open, 2019,9(3):29-24.
- [15] 王赛男,陈列.三种左心室射血分数心力衰竭患者的临床特点比较以及近中期预后探讨[J].解放军预防医学杂志,2019,37(4):61-62.
- [16] Yamamoto M, Seo Y, Ishizu T, et al. Different Impact of Changes in Left Ventricular Ejection Fraction Between Heart Failure Classifications in Patients With Acute Decompensated Heart Failure[J]. Circ J, 2019,83(3):12-18.
- [17] 王剑锋,凌华.慢性心力衰竭患者血清可溶性细胞间黏附分子-1和半乳糖凝集素-3的表达及其临床意义[J].中华全科医学,2020,18(12):2040-2042+2143.
- [18] 李丹,黄纪卫,王蔚,等.心力衰竭患者血清半乳糖凝集素-3和脑钠肽表达水平及其诊断和预后价值[J].疑难病杂志,2017,16(5):437-440.

(上接第277页)

- [7] 张涛,王益兵,杨志海,等.肺保护性通气对全麻轻中度COPD老年患者围术期肺部感染的影响[J].中华医院感染学杂志,2019,29(7):1056-1059.
- [8] 潘燕蝶,潘小丹,李洁,等.慢性阻塞性肺疾病继发肺部感染的炎性因子及TLR7/IL-23/IL-17信号通路作用[J].中华医院感染学杂志,2020,30(7):994-998.
- [9] Kim HJ, Kim YS, Kim KH, et al. The microbiome of the lung and its extracellular vesicles in nonsmokers, healthy smokers and COPD patients[J]. Exp Mol Med, 2017,49(4):e316.
- [10] 文国郦,苏春晓,魏丽莎,等.心力衰竭患者合并COPD急性发作期肺部感染病原菌与影响因素分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(3):362-364+376.
- [11] 李朝晖,李复红,韩蓓,等.慢性阻塞性肺部疾病合并肺部感染患者CRP、PCT、TLR4的表达及其临床意义[J].海南医学,2020,31(13):1655-1658.
- [12] 唐海成,柏宏坚.血清降钙素原与肺部感染评分在慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中的临床意义[J].中华肺部疾病杂志(电子版),2018,11(2):216-218.
- [13] Cleary SJ, Hobbs C, Amison RT, et al. LPS-induced Lung Platelet Recruitment Occurs Independently from Neutrophils, PSGL-1, and P-Selectin[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2019,61(2):232-243.
- [14] 李丹,郑裕鹏,邱玉杏,等.HNL、ANXA1 mRNA表达水平与COPD合并肺部感染病原菌分布及药物敏感性的关系[J].热带医学杂志,2019,19(10):1233-1236.
- [15] de Jong R, Leoni G, Drechsler M, et al. The advantageous role of annexin A1 in cardiovascular disease[J]. Cell Adh Migr, 2017,11(3):261-274.

UPPP 治疗 OSAHS 效果及对 ET-1、HIF-1 α 、IL-18 和咽喉反流症状的影响

韩勇¹ 张强^{2*}

[摘要] **目的** 研究悬雍垂腭咽成形术(UPPP)治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者的临床效果及对内皮素-1(ET-1)、缺氧诱导因子1 α 多肽(HIF-1 α)、白介素18(IL-18)、咽喉反流症状的影响。**方法** 选取2017年1月至2020年1月于重庆市大足区人民医院就诊的98例OSAHS患者,根据治疗方案的差异分为通气组和UPPP组各49例。其中通气组采用鼻通气手术,UPPP组患者采用UPPP。比较两组术后1周ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平及6个月临床疗效、临床症状[鼻阻力、鼻塞视觉模拟(VAS)、白天嗜睡主观评分Epworth嗜睡量表(ESS)]、咽喉反流症状,观察术后并发症发生情况。**结果** 术后1周,两组ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平均显著降低,且UPPP组显著低于通气组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后6个月,UPPP组有效率显著高于通气组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后6个月,两组鼻阻力值、VAS及ESS评分均显著降低,且UPPP组显著低于通气组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后6个月,UPPP组患者咽喉反流症状、体征评分均显著低于通气组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组均无鼻腔粘连、鼻咽闭锁不全、鼻中隔穿孔、开放性鼻音等术后并发症。**结论** UPPP治疗能改善OSAHS患者血清炎症指标及咽喉反流症状,且临床有效率较高。

[关键词] UPPP; OSAHS; ET-1; HIF-1 α ; IL-18; 咽喉反流

Effect of UPPP on the treatment of OSAHS and its influence on ET-1, HIF-1 α , IL-18, and throat reflux symptoms

HAN Yong¹, ZHANG Qiang^{2*}

(1. Department of Otorhinolaryngology, the People's Hospital of Dazu, Chongqing, China, 402360;
2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the People's Hospital of Dazu, Chongqing, China, 402360)

[ABSTRACT] **Objective** To study the clinical effects of uvulopalatopharyngoplasty (UPPP) in the treatment of obstructive sleep apnea-hyperpnoea syndrome (OSAHS), and its influence on endothelin-1 (ET-1), hypoxia-inducible factor 1 α polypeptide (HIF-1 α), interleukin 18 (IL-18), and throat reflux symptoms. **Methods** A total of 98 patients with OSAHS who were treated in Dazu District People's Hospital of Chongqing from January 2017 to January 2020 were selected and divided into ventilation group and UPPP group with 49 cases in each group according to the difference in treatment plan. The levels of ET-1, HIF-1 α , and IL-18 at 1 week after operation, as well as the clinical efficacy, clinical symptoms [nasal resistance, visual analogue (VAS) of nasal obstruction, and subjective score of daytime sleepiness Epworth Sleepiness Scale (ESS)], laryngopharyngeal reflux symptoms at 6 months after operation were compared between the two groups. The postoperative complications were observed. **Results** One week after operation, ET-1, HIF-1 α , IL-18 levels in the two groups were significantly reduced, the UPPP group was significantly lower than the venting group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Six months after operation, the effective rate in the UPPP group was significantly higher than that in the ventilation group, and the difference

作者单位:1. 重庆市大足区人民医院耳鼻喉科,重庆 402360

2. 重庆市大足区人民医院呼吸与危重症医学科,重庆 402360

*通信作者:张强, E-mail:469033880@qq.com

was statistically significant ($P<0.05$). The nasal resistance, VAS and ESS score of the two groups were significantly decreased, the UPPP group was significantly lower than the venting group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Six months after operation, the symptoms and signs of laryngopharyngeal reflux in the UPPP group were significantly lower than those in the ventilation group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** UPPP treatment can improve serum inflammatory indicators and laryngopharyngeal reflux symptoms in patients with OSAHS, and the clinical efficacy rate is high.

[KEY WORDS] UPPP; OSAHS; ET-1; HIF-1 α ; IL-18; Throat reflux

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(Obstructive sleep apnea and hypopnea syndrome, OSAHS)是仅次于失眠的第二大睡眠疾病,可以简单理解为上气道堵塞造成的间歇。OSAHS发生会引起反复发作的夜间低氧,进而对全身脏器产生慢性损伤,甚至出现夜间猝死^[1]。OSAHS好发于儿童以及中老年人,后者发病率较高,约为3%左右^[2]。悬雍垂腭咽成形术(Uvulopalatopharyngoplasty, UPPP)自1981年发明以来,开辟了外科手术治疗OSAHS的新途径,经过多位学者的改良,现在临床应用较多。OSAHS患者常伴有鼻腔、鼻咽部、舌根等多部位阻塞,机体常处于缺氧状态。既往研究报道,在低氧条件下,多种炎症因子均会被激活或聚集^[3]。内皮素-1(Endothelin 1, ET-1)、缺氧诱导因子1 α 多肽(Hypoxia-Inducible Factor 1-Alpha, HIF-1 α)、白介素18(interleukin-18, IL-18)水平为临床用于评估炎症水平的常用指标,既往文献报道三者 OSAHS 患者血清中表达异常^[4]。本研究旨在分析 UPPP 治疗 OSAHS 效果及对 ET-1、HIF-1 α 、IL-18、咽喉反流症状的影响,以期临床治疗 OSAHS 提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象

选择2017年1月至2020年1月间重庆市大足区人民医院收治的98例OSAHS患者。纳入标准:符合OSAHS临床诊断标准者^[5];经保守治疗后无效者;精神状态及沟通正常;同意参与本研究。排除标准:合并凝血功能、免疫系统疾病者;存在其他呼吸疾病者;其他原因引起的失眠。根据治

疗方案差异分为通气组、UPPP组各49例,两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。本研究经院伦理委员会审核通过。

1.2 方法

术前均采用气管插管全身麻醉,全身麻醉后取平卧位开始手术。通气组:针对不同患者采用不同鼻通气手术,鼻中隔偏曲患者采用矫正术,肥厚性鼻炎及变应性鼻炎采用等离子射频消融术,存在鼻息肉者予以切除。UPPP组:沿悬雍垂两侧确定手术位置,钝性分离软腭黏膜,切除扁桃体和黏膜多余脂肪;然后切开软腭咽面黏膜,切除部分悬雍垂头部黏膜。缝合扁桃体窝、软腭黏膜,再造悬雍垂两侧前后对位缝合,术后可见悬雍垂向前上翘起,双侧再次成型后咽腔前后左右径均增大。术后监护12~24h,并给予抗生素和止血药,进行咽部雾化吸入。

1.3 临床疗效^[6]

痊愈:呼吸暂停低通气指数(Apnea and hypopnea index, AHI) <5 次/h;显效:AHI值降低 $\geq 50\%$;有效:AHI值降低 $<50\%$ 且AHI值 <20 次/h;无效:未达到以上标准;总有效率=(痊愈+显效+有效) $\times 100\%$ 。于术后6个月评估。

1.4 观察指标

1.4.1 ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平

两组于术前、术后1周抽取空腹肘静脉血4 mL, 3 500 r/min($r=10$ cm)离心10 min分离血浆。采用酶联免疫吸附实验检测ET-1、HIF-1 α 、IL-18,试剂盒由上海谷研实业有限公司提供,检测仪器为DXI800美国贝克曼库尔特全自动免疫分析仪。

表1 两组患者资料比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of patient data between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	男/女(例)	年龄(岁)	体重指数(kg/m ²)	通气指数(次/h)	病程(年)	最低血氧饱和度(%)	中度/重度(例)
UPPP组	29/20	40.33 \pm 6.72	28.41 \pm 2.53	32.10 \pm 11.26	4.13 \pm 2.24	75.31 \pm 3.58	26/23
通气组	31/18	40.28 \pm 6.49	27.96 \pm 2.43	31.92 \pm 11.07	4.27 \pm 2.51	75.43 \pm 3.62	27/22
χ^2/t 值	0.172	0.037	0.898	0.080	0.291	0.165	0.041
P 值	0.678	0.970	0.372	0.937	0.771	0.869	0.839

1.4.2 临床症状

鼻阻力测量方法:鼻腔收敛后,采用英国GM公司NR6型鼻阻力仪进行前鼻主动测压法测量,在压差为150 Pa时检测偏曲侧和宽敞侧鼻腔,术前及术后1 d各进行1次。结果以对应的鼻阻力值来表示,记录吸气及呼气时偏曲侧与双侧总鼻阻力值^[7]。鼻塞视觉模拟(Visual Analogue Scale/Score, VAS)^[8]评分评估疼痛程度,总分0~10分,得分越高表明疼痛情况越严重。白天嗜睡主观评分Epworth嗜睡量表(Epworth sleepiness scale, ESS)^[9],统计患者在阅读、看电视、安静坐着、坐车、躺着休息等情况下打瞌睡的可能性,每项0~3分,7分以上表示嗜睡。

1.4.3 咽喉反流

咽喉反流症状通过反流症状指数量表(reflux symptom index, RSI)^[10]和反流体征评分量表(reflux finding score, RFS)^[11]评估。前者共9项目,每项计分0~5分,总分0~45分,得分>13代表存在咽喉反流;后者共8项目,每个项目0~2分,总分0~16分,总得分>7分表示存在咽喉反流。

1.4.4 并发症

观察两组术后并发症发生情况,并发症包括:无鼻腔粘连、鼻咽闭锁不全、鼻中隔穿孔、开放性鼻音等。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$),采用 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平比较

术前,两组ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。术后1周,上述指标水平均显著降低,且UPPP组显著低于通气组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the levels of ET-1, HIF-1 α and IL-18 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	ET-1(pg/mL)		HIF-1 α (pg/mL)		IL-18(pg/mL)	
		术前	术后1周	术前	术后1周	术前	术后1周
UPPP组	49	49.16 \pm 6.33	22.32 \pm 5.31 ^a	43.35 \pm 7.26	22.83 \pm 4.17 ^a	60.16 \pm 8.21	42.34 \pm 4.31 ^a
通气组	49	49.51 \pm 6.47	32.30 \pm 6.81 ^a	44.09 \pm 7.22	30.54 \pm 5.26 ^a	59.56 \pm 8.03	49.40 \pm 5.52 ^a
t 值		0.271	8.090	0.506	8.040	0.366	7.057
P 值		0.787	<0.001	0.614	<0.001	0.715	<0.001

注:与术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组临床疗效比较

通气组总有效率显著低于UPPP组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组疗效比较 $[n(\%)]$

Table 3 Comparison of efficacy between the two groups

组别	n	$[n(\%)]$				总有效
		痊愈	显效	有效	无效	
UPPP组	49	3(6.12)	31(63.27)	12(24.49)	3(6.12)	46(93.88)
通气组	49	1(2.04)	28(57.14)	10(20.41)	10(20.41)	39(79.59)
χ^2 值						4.346
P 值						0.037

2.3 两组临床症状比较

术前,两组鼻阻力值、VAS及ESS评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。术后6个月,两组鼻阻力值、VAS及ESS评分均显著降低,且UPPP组显著低于通气组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组咽喉反流比较

术前,两组咽喉反流评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。术后6个月,两组咽喉反流评分均显著降低,且UPPP组显著低于通气组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

2.5 两组术后并发症比较

两组均无鼻腔粘连、鼻咽闭锁不全、鼻中隔穿孔、开放性鼻音等术后并发症。

3 讨论

以7 h睡眠时间为范围,患者有30次以上的呼吸暂停或低通气,即判断为OSAHS^[12]。临床治疗OSAHS,常通过对患者鼻及鼻咽部异常结构组织进行手术纠正,进而降低其鼻腔阻力,提升患者的睡眠质量。UPPP是现临床治疗OSAHS患者常用的手术方式,该项手术通过扩大咽腔直径,降低OSAHS患者睡眠期间上呼吸道的阻力,保障患者睡眠期间气体顺利进入呼吸道,从而减轻OSAHS临床症状^[13]。

表4 两组临床症状比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of clinical symptoms between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	鼻阻力(kPa·s/L)		VAS(分)		ESS(分)	
		术前	术后6个月	术前	术后6个月	术前	术后6个月
UPPP组	49	0.76±0.21	0.38±0.11 ^a	5.34±1.26	2.03±1.06 ^a	11.24±3.48	4.16±1.20 ^a
通气组	49	0.75±0.19	0.45±0.12 ^a	5.29±1.31	2.74±1.23 ^a	11.57±3.42	5.23±1.54 ^a
t值		0.247	3.010	0.193	4.306	0.473	3.836
P值		0.805	0.003	0.848	<0.001	0.637	<0.001

注:与术前比较,^aP<0.05。

表5 两组患者咽喉反流比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of throat reflux between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	反流症状评分		反流体征评分	
		术前	术后6个月	术前	术后6个月
UPPP组	49	15.23±3.45	4.20±1.32 ^a	8.24±2.07	1.72±0.56 ^a
通气组	49	15.67±3.74	5.01±1.54 ^a	8.33±2.09	2.43±0.71 ^a
t值		0.605	2.795	0.214	5.496
P值		0.546	0.006	0.831	<0.001

注:与术前比较,^aP<0.05。

有研究表明,OSAHS病情后续进展与患者血清炎症指标相关,OSAHS患者由于睡眠期间会多次出现呼吸暂停,进而因低血氧影响导致机体炎症水平升高^[13]。ET-1为反映血管损伤的标志物,高水平ET-1可通过刺激氨基酸兴奋,刺激下丘脑-肾上腺皮质分泌增多,加重认知功能障碍。高华等人^[14]报道,低氧情况下,ET-1可在多种疾病的发病过程中发挥作用。有学者对缺血、缺氧的大鼠进行研究,发现大鼠慢性反复缺血及缺氧的过程中,低氧反应相关基因的转录表达增加,HIF-1 α 、IL-18水平明显升高,且二者水平与大鼠缺血缺氧程度之间有显著相关性^[15]。本研究中,术后1周两组ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平均显著降低,且UPPP组显著低于通气组,与张凤英等人^[16]所得结果相符。分析其原因可能为,OSAHS患者经UPPP手术治疗后,呼吸阻力减小,患者鼻粘膜肿胀得到缓解,呼吸阻力减小,呼吸道内ET-1、HIF-1 α 、IL-18水平因而显著改善。

本次研究发现,通气组总有效率(79.59%)显著低于UPPP组(93.88%)。可见UPPP组治疗OSAHS疗效更高。OSAHS患者存在长期的打鼾、缺氧,在患者打鼾的过程中产生的力学震荡及异常压力均会导致气道管径缩小,导致气道阻力加大^[17]。同时长期经口呼吸会形成较大的鼾声,导致舌根后缩、颏舌肌功能下降、咬合关系紊乱发生,加重OSAHS临床症状。UPPP术使OSAHS患者咽腔前后左右径增大,有利于改善舌根肥大引起的咽部不适,改善经口呼吸的习惯,治疗疗效更

佳。两组患者经过治疗后,鼻阻力值、VAS及ESS评分均得到降低,但UPPP组上述指标显著低于通气组,与既往研究结果一致^[18]。可见两种治疗方案均可增加OSAHS患者呼吸气流通过,但UPPP组临床症状改善更好。可能原因为:术中将患者咽腔扩大,能提升血液中氧气水平,促进呼吸中枢恢复。

国外研究报道,胃内容物反流与患者OSAHS的发生、发展密切相关,反流胃内容物反流会刺激呼吸道粘膜,导致OSAHS患者临床症状加重^[19]。本研究结果显示,术后6个月两组反流症状评分、反流体征评分均下降,但UPPP组上述评分均显著低于通气组。表明UPPP术治疗OSAHS能降低患者咽喉反流症状,减少咽喉黏膜刺激,降低患者睡眠期间胸腔及食管内负压,使患者睡眠质量提升。本次研究中,两组均无并发症发生,可见将UPPP运用于OSAHS患者的治疗中安全性较高。

综上所述,UPPP手术治疗OSAHS患者,能缓解OSAHS患者血清炎症水平,改善患者咽喉反流症状,且临床有效率较高。

参考文献

- [1] 赵淑玲,张杰.分阶段互动式干预对行悬雍垂腭咽成形术的阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者康复效果、生活质量及并发症的影响[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(3):104-107.
- [2] 胡俊,殷梅.阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征致心律失常的机制和治疗进展[J].临床肺科杂志,2019,24(9):171-176.
- [3] Bronwyn C, Gong S, Paul G, et al. Aromatic compound-degrading taxa in an anoxic coal seam microbiome from the Surat Basin, Australia[J]. Fems Microbiol Ecol, 2021,47(5):5-9.
- [4] 楚亚萍,屠春林,崔玉娟,等.高血压伴OSAHS患者血AT1受体自身抗体水平与呼吸暂停低通气指数的关系[J].湖南师范大学学报(医学版),2019,67(2):70-74.
- [5] 黄志红,郭伟强,危香莲,等.Hcy联合颈动脉超声在脑卒中高危人群OSAHS筛查中的作用[J].中国动脉硬化杂志,2019,27(8):690-693.

(下转第290页)

CTCs、LMR、HER-2在食管鳞癌根治性放疗中的动态变化及临床意义

黄俊娟¹ 徐秀鹏² 唐丕斌¹ 朱怀平^{1*}

[摘要] 目的 探究循环肿瘤细胞(CTCs)、淋巴细胞与单核细胞比值(LMR)、人表皮生长因子受体-2(HER-2)在食管鳞癌根治性放疗中的动态变化及临床意义。方法 选取东营市东营区人民医院2017年3月到2020年3月88例食管鳞癌患者作为研究对象,均行根治性放疗,于根治性放疗结束后4周评估疗效,分为有效组($n=60$)与无效组($n=28$)。比较两组、不同临床分期患者放疗前、放疗结束时CTCs、LMR、HER-2变化情况,分析各指标及差值与临床分期、疗效的关系,并评价放疗前CTCs、LMR、HER-2对疗效的预测价值。结果 有效组放疗结束时CTCs、HER-2水平低于放疗前,LMR水平高于放疗前,差异均有统计学意义($P<0.05$);无效组放疗前、放疗结束时CTCs、HER-2水平高于有效组,LMR水平低于有效组,放疗前与放疗结束时各指标差值低于有效组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同临床分期患者放疗结束时CTCs、HER-2水平低于放疗前,LMR高于放疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),IV期患者放疗前、放疗结束时CTCs、HER-2高于III期患者,LMR水平低于III期患者,放疗前与放疗结束时各指标差值低于III期患者,差异有统计学意义($P<0.05$);放疗前、放疗结束时CTCs、HER-2与临床分期存在正相关关系,与疗效间存在负相关关系,LMR及各指标差值与临床分期存在负相关关系,与疗效间存在正相关关系($P<0.05$);放疗前CTCs、LMR、HER-2预测疗效的AUC均 >0.7 ,联合预测的AUC最大,为0.826($P<0.05$)。结论 CTCs、LMR、HER-2与食管癌患者临床分期、根治性放疗疗效密切相关,且放疗前各指标在预测疗效方面具有较高价值。

[关键词] 食管鳞癌;根治性放疗;循环肿瘤细胞;淋巴细胞与单核细胞比值;人表皮生长因子受体-2

Dynamic changes and clinical significance of CTCs, LMR and HER-2 in radical radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma

HUANG Junjuan¹, XU Xiupeng², TANG Pibin¹, ZHU Huaiping^{1*}

(1. Department of Gastroenterology, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000; 2. Endoscopy Room, Dongying Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dongying, Shandong, China, 257000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the dynamic changes and clinical significance of circulating tumor cells (CTCs), lymphocyte to monocyte ratio (LMR), and human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2) in radical radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. **Methods** A total of 88 patients with esophageal squamous cell carcinoma from March 2017 to March 2020 in Dongying District People's Hospital of Dongying City were selected as the research subjects. All patients underwent radical radiotherapy, and the curative effect was evaluated 4 weeks after the end of radical radiotherapy, and they were divided into an effective group ($n=60$) and an ineffective group ($n=28$). The changes of CTCs, LMR and HER-2 before and after radiotherapy were compared between the two groups and patients with different clinical stages, and the

基金项目:山东省高等学校科技计划项目(J111F99)

作者单位:1.山东省东营市东营区人民医院,消化内科,山东,东营257000

2.东营市中医院内窥镜室,山东,东营257055

*通信作者:朱怀平, E-mail: junjuanfeihao@163.com

relationship between each index and the difference with clinical stage and efficacy was analyzed. The predictive value of CTCs, LMR and HER-2 before radiotherapy on the efficacy was also evaluated. **Results** At the end of radiotherapy, the levels of CTCs and HER-2 in the effective group were lower than those before radiotherapy, and the level of LMR was higher than that before radiotherapy, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of CTCs and HER-2 before and at the end of radiotherapy in the ineffective group were higher than those in the effective group, and the LMR levels were lower than those in the effective group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). At the end of radiotherapy, the levels of CTCs and HER-2 in patients with different clinical stages were lower than those before radiotherapy, and the LMR was higher than that before radiotherapy ($P<0.05$). CTCs and HER-2 of stage IV patients were higher than those of stage III before and at the end of radiotherapy, LMR was lower than that of stage III patients, and the difference between the indicators before and at the end of radiotherapy was lower than that of stage III patients ($P<0.05$). Before radiotherapy and at the end of radiotherapy, CTCs and HER-2 have a positive correlation with the clinical period, and a negative correlation with the curative effect. The difference of LMR and various indicators has a negative correlation with the clinical period, and there is a positive correlation with the curative effect ($P<0.05$). The AUCs of CTCs, LMR and HER-2 before radiotherapy to predict the efficacy were all >0.7 , and the AUC of the combined prediction was the largest, which was 0.826 ($P<0.05$). **Conclusion** CTCs, LMR, HER-2 are closely related to the clinical staging of patients with esophageal cancer and the curative effect of radical radiotherapy, and the difference between the indicators before and at the end of radiotherapy has a high value in predicting the curative effect.

[KEY WORDS] Esophageal squamous cell carcinoma; Radical radiotherapy; CTCs; LMR; HER-2

食管鳞癌是临床常见恶性肿瘤,资料显示,超过50%的食管鳞癌患者确诊时因分期较晚或基础疾病严重而失去手术机会,根治性放疗成为主要的治疗方法,但部分患者存在放疗抵抗,放疗效果较差,确定预测根治性放疗患者获益的分子标志物有重要临床意义^[1]。新近研究^[2-3]指出,循环肿瘤细胞(Circulating tumor cells, CTCs)是实体肿瘤原发灶或转移灶中释放到血液循环的肿瘤细胞,淋巴细胞与单核细胞比值(lymphocyte/monocyte ratio, LMR)是反映全身炎症反应的评价指标,二者均可作为预测食管鳞癌预后的标志物。此外,人表皮生长因子受体-2(Human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)被证实可作为预测食管癌同步放化疗敏感性的辅助指标^[4]。但上述指标在食管鳞癌根治性放疗中的表达情况及临床意义鲜有研究报道,本研究尝试对此进行探究,旨在为临床治疗本病提供参考。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取东营市东营区人民医院2017年3月到2020年3月88例食管鳞癌患者作为研究对象,均行根治性放疗,于根治性放疗结束后4周评估疗效,分为有效组($n=60$)与无效组($n=28$)。两组性别、年龄、体质量指数(Body mass index, BMI)、吸烟史、饮酒史、合并症等比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 选例标准

纳入标准:①符合食管癌诊断标准^[5],并经病理诊断为鳞状细胞癌(图1);②肿瘤无远处转移;③卡氏功能状态评分 ≥ 70 分;④初次检出,临床分期III~IV期;⑤自主行为能力良好,无沟通交流障碍;⑥无放疗禁忌;⑦患者及家属知晓本研究,已签署同意书。

表1 两组一般资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of general data between the two groups [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	吸烟史(有/无)	饮酒史(有/无)	合并症		
							高血压	糖尿病	高脂血症
无效组	28	18/10	62.38±4.80	22.18±1.55	17/11	20/8	5(17.86)	3(10.71)	7(25.00)
有效组	60	35/25	60.94±5.02	22.76±1.46	32/28	41/19	8(13.33)	5(8.33)	12(20.00)
χ^2/t 值		0.282	1.271	1.702	0.422	0.086	0.055	0.001	0.282
P值		0.595	0.207	0.092	0.516	0.769	0.815	0.971	0.595

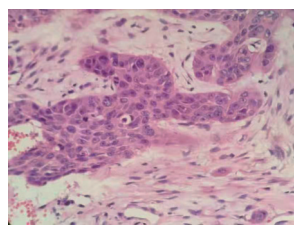


图1 鳞状细胞癌病理图(HE, ×400)

Figure 1 pathology of squamous cell carcinoma (HE, ×400)

排除标准:①合并其他原发恶性肿瘤者;②凝血功能异常或有出血倾向者;③合并胃溃疡、胃肠道息肉等其他消化系统疾病者;④急慢性感染、骨折等其他可能引起炎症疾病者;⑤自身免疫性疾病患者。

1.3 方法

根治性放疗及疗效评估方法^[6]:所有患者均行根治性放疗,根据剂量体积直方图和等剂量曲线图确定最佳治疗计划,采用德国西门子生产的Oncor expression直线加速器(6 M-X射线),配合Varian Millennium 80叶多叶准直器进行分离,要求覆盖95%计划靶区体积的处方剂量为56~66 Gy,1.8~2.0 Gy/次,5次/周。危及器官限量:心脏V50≤50%,V60≤30%;双肺V20≤30%,V30≤20%,V50≤60%;脊髓最大剂量≤45 Gy。根治性放疗结束后4周行疗效评估,参照实体肿瘤疗效评价标准评估^[7],分为完全缓解、部分缓解、稳定、疾病进展4个等级,将完全缓解、部分缓解定义为有效,稳定、疾病进展定义为无效。

实验室指标检测方法:分别于放疗前、放疗结束时采集患者空腹静脉血6 mL,取2 mL血液标本离心处理(转速3 500 r/min,半径5 cm,时间5 min)取血清,采用酶联免疫吸附法测定血清HER-2水平,试剂盒购于上海西唐生物科技有限公司。取2 mL血液标本采用Sysmex XE-5000五分类全自动血细胞分析仪与配套试剂检测淋巴细胞、单核细胞,计算LMR。取2 mL血液标本抗凝处理后CanPatrol™ CTC-二代富集技术分离CTCs,操作严格按照产品说明书进行,通过直径8 μm纳米膜分离和富集CTCs,然后用RNA-ISH技术对所得CTCs细胞进行标记鉴定。

1.4 统计学方法

数据处理采用SPSS 22.0软件,计数资料以n(%)描述,采用 χ^2 检验,计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,两组间比较采用独立样本t检验,相关性分析采用Spearman相关系数模型,预测效能分析采用受试者工作特征(ROC)曲线; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组放疗前后CTCs、LMR、HER-2水平比较

无效组放疗前后CTCs、LMR、HER-2水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);有效组放疗结束时CTCs、HER-2水平均较放疗前低,LMR水平较放疗前高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);无效组放疗前、放疗结束时CTCs、HER-2水平均较有效组高,LMR水平较有效组低,放疗前与放疗结束时差值绝对值低于有效组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组放疗前后CTCs、LMR、HER-2水平变化情况($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of CTCs, LMR and HER-2 before and after radiotherapy in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	n	放疗前	放疗结束时	差值
CTCs	无效组	28	23.49±5.36	21.72±6.41	1.77±0.58
	有效组	60	19.35±3.22	12.57±3.55 ^a	6.78±2.25
	t值		4.504	8.613	11.571
	P值		<0.001	<0.001	<0.001
LMR	无效组	28	3.02±0.75	3.20±0.52	0.18±0.06
	有效组	60	3.76±0.86	4.39±0.67 ^a	0.63±0.21
	t值		3.910	8.296	11.099
	P值		<0.001	<0.001	<0.001
HER-2(ng/mL)	无效组	28	27.17±6.38	25.05±5.74	2.12±0.70
	有效组	60	23.04±4.06	15.68±4.17 ^a	7.36±2.42
	t值		3.677	8.675	11.210
	P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与本组放疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 不同临床分期患者放疗前后CTCs、LMR、HER-2水平及其差值比较

不同临床分期患者放疗结束时CTCs、HER-2水平均较放疗前低,LMR水平较放疗前高,差异有统计学意义($P < 0.05$),IV期患者放疗前、放疗结束时CTCs、HER-2水平均较III期患者高,LMR水平均较III期患者低,放疗前与放疗结束时差值均较III期患者低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.3 放疗前后CTCs、LMR、HER-2及其差值与临床分期、疗效的关系

放疗前、放疗结束时CTCs、HER-2与临床分期呈正相关,与疗效呈负相关,LMR及各指标差值与临床分期呈负相关,与疗效呈正相关($P < 0.05$)。见表4。

2.4 放疗前CTCs、LMR、HER-2对疗效的预测价值

以无效组为阳性样本,有效组为阴性样本,绘制ROC曲线,结果显示,放疗前CTCs、LMR、HER-2预测疗效的AUC为0.793、0.724、0.753,放疗前各指标联合预测疗效的AUC为0.826,95%CI为0.748~0.903,敏感性为68.3%,特异性为90.5%,优于各指标单独预测价值。见图2。

表3 不同临床分期患者放疗前后 CTCs、LMR、HER-2 及其差值 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 CTCs, LMR, HER-2 and their differences before and after radiotherapy in patients with different clinical stages ($\bar{x} \pm s$)

指标	临床分期	n	放疗前	放疗结束时	差值
CTCs	Ⅳ期患者	40	22.87±5.02	19.34±3.95*	3.53±1.12
	Ⅲ期患者	48	18.84±3.75	12.26±3.32*	6.58±2.09
	t 值		4.306	9.678	8.286
	P 值		<0.001	<0.001	<0.001
LMR	Ⅳ期患者	40	3.17±0.78	3.54±0.36*	0.37±0.12
	Ⅲ期患者	48	3.81±0.66	4.40±0.42*	0.59±0.18
	t 值		4.170	10.198	6.601
	P 值		<0.001	<0.001	<0.001
HER-2 (ng/mL)	Ⅳ期患者	40	26.19±4.27	22.86±4.39*	3.33±1.10
	Ⅲ期患者	48	22.82±3.50	15.16±3.77*	7.66±2.54
	t 值		4.069	8.852	10.020
	P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与放疗前比较,*P<0.05。

表4 放疗前后 CTCs、LMR、HER-2 及其差值与临床分期、疗效的关系

Table 4 The relationship between CTCs, LMR, HER-2 and their difference before and after radiotherapy and clinical stage and efficacy

时间	项目	临床分期		疗效	
		r 值	P 值	r 值	P 值
放疗前	CTCs	0.671	<0.001	-0.703	<0.001
	LMR	-0.602	<0.001	0.658	<0.001
	HER-2	0.584	<0.001	-0.611	<0.001
放疗结束时	CTCs	0.749	<0.001	-0.814	<0.001
	LMR	-0.665	<0.001	0.751	<0.001
	HER-2	0.708	<0.001	-0.805	<0.001
差值	CTCs	-0.782	<0.001	0.839	<0.001
	LMR	-0.731	<0.001	0.812	<0.001
	HER-2	-0.695	<0.001	0.826	<0.001

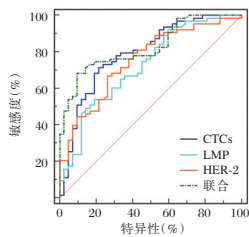


图2 放疗前 CTCs、LMR、HER-2 对疗效的预测价值

Figure 2 Predictive value of CTCs, LMR and HER-2 before radiotherapy

3 讨论

目前,食管癌的临床研究逐渐转向提高根治性放疗的敏感性,并积极寻找相关靶指标。本研究以食管鳞癌患者根治性放疗疗效为切入点,通过对比不同疗效患者治疗前后 CTCs 水平,发现疗效为有效患者的放疗前后 CTCs 均明显低于无效

患者,且有效患者的放疗前后 CTCs 变化差值较大,提示 CTCs 与食管鳞癌患者根治性放疗疗效有关。CTCs 是外周血中的各类肿瘤细胞的总称,多由原发肿瘤部位、复发或转移病灶脱落进入血液循环,参与肿瘤特异性相关的抗原蛋白质和遗传变异表达^[8-9]。贾争艳等^[10]研究发现,食管鳞癌患者外周血中 CTCs 明显增加,可作为预测放化疗短期疗效的标志物。与本研究结果相符。

相关研究显示,炎症在肿瘤的早期即发挥作用,可引起多种促炎细胞因子和炎症介质的异常释放,进而通过促进新生血管生成、影响 DNA 损伤及其修复、抑制细胞凋亡等调控恶性细胞的增殖和转移^[11]。LMR 是一个复合型指标,可反映机体抗肿瘤免疫功能与肿瘤炎症反应之间的平衡状态,其中淋巴细胞可以直接杀灭肿瘤细胞,抑制肿瘤的局部浸润及远处转移,单核细胞是机体防御系统的一个重要组成部分,当机体发生炎症或肿瘤等疾病均可引起单核细胞增加^[12-13]。本研究中,根治性放疗有效的患者放疗后 LMR 明显高于放疗前,且高于根治性放疗无效患者,提示 LMR 水平变化与食管鳞癌患者根治性放疗疗效有关。放疗有效患者机体抗肿瘤作用增强、肿瘤炎症反应减弱,从而引起 LMR 水平升高。杨柳等^[14]报道显示,高 LMR 水平食管癌患者的 5 年生存率明显高于低 LMR 水平患者,LMR 水平越高提示机体抗肿瘤能力越强。支持本研究结果结论。本研究还发现,疗效为有效的患者放疗前后 HER-2 同样发生明显变化,且变化水平低于无效患者,与国内相关研究^[15]结果一致。HER-2 与相应的配体结合可激活转路信号转导与活化蛋白通路等多种信号通路,HER-2 过表达可导致细胞增殖失控,促进肿瘤细胞增殖、浸润和转移。本研究通过相关性进一步说明各指标水平与食管癌的发生发展密切相关。且放疗前后各指标及其差值与放疗疗效密切相关,但需注意的是,放疗会大量杀死肿瘤细胞,短期内机体的各项指标可能出现一过性的降低,随后可能会回升,因此用治疗后值预测疗效存在一定局限性,故本研究经采用治疗前数据预测疗效,而通过 ROC 曲线分析发现,放疗前 CTCs、LMR、HER-2 预测疗效的 AUC 均在 0.7 以上,具有较高预测效能,特别是各指标联合预测的 AUC 达到 0.826,可为临床预测食管癌根治性放疗疗效提供更准确数据参考。

综上所述,CTCs、LMR、HER-2 与食管癌患者临床分期、根治性放疗疗效密切相关,且放疗前各

指标在预测疗效方面具有较高价值。但本研究仍存在一定不足,如本研究仅检测了放疗前、放疗结束时指标的水平变化,可能会存在一定偏倚,应在放疗两周后再做一次检测,以更可靠地反映指标变化情况对疗效的影响。

参考文献

- [1] 张东成,汪浩.NLR/PA、NLR/Alb和NLR在食管鳞癌根治性放疗近期疗效预测中的价值[J].山东医药,2020,60(25):66-68.
- [2] Yang W, Han Y, Zhao X, et al. Advances in prognostic biomarkers for esophageal cancer [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(2): 109-119.
- [3] 汪婷婷,刘连科.术前LMR、PLR对食管鳞状细胞癌术后早期复发的预测价值[J].国际肿瘤学杂志,2020,47(8):467-471.
- [4] 易诗琼,宋燕,胡欣,等.PTK7、HER-2、Mcm5蛋白在食管鳞癌组织中的表达水平及其临床预后价值研究[J].海南医学院学报,2019,25(15):1141-1144+1151.
- [5] European Society for Medical Oncology. Oesophageal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J].Ann Oncol, 2016,27(suppl 5):v50-v57.
- [6] Yıldız Çeltek N, Süren M, Demir O, et al. Karnofsky Performance Scale validity and reliability of Turkish palliative cancer patients[J].Turk J Med Sci, 2019, 49(3):894-898.
- [7] 杨学宁,吴一龙.实体瘤治疗疗效评价标准-RECIST[J].循证医学,2004,4(2):85-90.
- [8] 常立伟,杨东炜,刘东辰.血CTCs、cfDNA检测在乳腺癌中的应用[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(10):1298-1302.
- [9] Maly V, Maly O, Kolostova K, et al. Circulating Tumor Cells in Diagnosis and Treatment of Lung Cancer [J]. In Vivo, 2019, 33(4): 1027-1037.
- [10] 贾争艳,吴小源,刘杨,等.扩散加权成像和循环肿瘤细胞对食管鳞癌患者放化疗短期疗效的预测价值[J].放射学实践,2020,35(3):372-379.
- [11] 陈楠楠,戴德.慢性炎症在恶性肿瘤中的作用研究进展[J].中国医学创新,2020,17(14):169-172.
- [12] 杨艳.炎症指标联合肿瘤标志物对食管癌的诊断价值[J].泰州职业技术学院学报,2019,19(6):46-49.
- [13] Tang Y, Hu HQ, Tang FX, et al. Combined Preoperative LMR and CA125 for Prognostic Assessment of Ovarian Cancer [J]. J Cancer, 2020, 11(11): 3165-3171.
- [14] 杨柳,卢高峰,刘宗文,等.NLR、LMR和PLR与食管鳞癌患者预后的关系[J].安徽医科大学学报,2018,53(3):415-419.
- [15] 薛良军,冯艳,汪楠.miR-20a及HER-2表达对食管癌同步放化疗疗效的预测[J].临床肿瘤学杂志,2019,24(12):1099-1103.
- [6] 董维刚,郭宏庆,保国华,等.鼻腔扩容技术联合悬雍垂腭咽成形术对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者认知功能影响的探讨[J].中国内镜杂志,2013,19(2):139-140.
- [7] 陈平,张欣,张红茹,等.鼻阻力测定及鼻声反射评估鼻内镜手术通气功能的研究进展[J].国际耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,43(6):369-372.
- [8] Schalek P, Guha A, T Ondrová, et al. Total and Unilateral Peak Nasal Inspiratory Flow and Unilateral Visual Analogue Scale: Rationale in Indication and Outcomes of Septoplasty? [J]. J Craniofac Surg, 2019, 30(7): 1-3.
- [9] Gronewold J, Lenuck MC, Gülderen I, et al. Developing an Alternative Version of the Epworth Sleepiness Scale to Assess Daytime Sleepiness in Adults with Physical or Mental Disabilities [J]. Gerontology, 2020, 15(20): 7-11.
- [10] Lechien JR, Bobin F, V Muls, et al. Validity and reliability of the reflux symptom score [J]. Laryngoscope, 2020, 130(3):44-47.
- [11] 雷飞,李桃美,谭璐,等.阻塞性睡眠呼吸暂停患者CPAP治疗前后客观嗜睡与认知功能的关系[J].中华医学杂志,2019,99(28):2182-2186.
- [12] 来育斌,胡鹏刚,张昌明,等.改良悬雍垂腭咽成形术同期联合鼻甲骨骨折外移治疗伴有鼻阻的OSAHS患者疗效分析[J].山西医药杂志,2020,49(8):85-87.
- [13] 汤智平,吴志明,李文波,等.蝶内酯对减轻OSA患者改良悬雍垂腭咽成形术后咽部水肿和并发症的效果分析[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2020,34(1):49-52.
- [14] 高华,杨嘉君,张新华.miR-19b-3p、MnSOD、NO/ET-1与脑梗死后血管性痴呆预测效能[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(6):865-868,872.
- [15] 胡琳弘,陈文佳,白冰,等.血管生成素1改善糖尿病大鼠肾脏缺氧状态的研究[J].中国糖尿病杂志,2019,27(11):10-12.
- [16] 张凤英,牛金明,杨树芹,等.阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征血清IL-18及HIF-1 α 水平变化及临床意义[J].中华保健医学杂志,2019,21(1):13-16.
- [17] 修世国,于丹丹,王伊梦,等.同期行改良悬雍垂腭咽成形术和鼻中隔成形术治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的可行性[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2017,52(8):592-596.
- [18] 丹静静,陶树东,阎朝晖.悬雍垂腭咽成形术对OSAHS患者咽喉反流的影响[J].听力学及言语疾病杂志,2020,28(1):53-56.
- [19] Arriola-Villalobos P, Benito-Pascual B, Peraza-Nieves J, et al. Corneal Topographic, Anatomic, and Biomechanical Properties in Severe Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome [J]. Cornea, 2020, 39(1): 88-91.

(上接第285页)

全膝关节置换术对 KOA 患者血清 SOD、Hb 和 IL-6 水平的影响

延净德* 胡彬 闫磊 刘亚伟 沙宇

[摘要] 目的 分析全膝关节置换术对膝关节骨性关节炎(KOA)患者血清超氧化物歧化酶(SOD)、血红蛋白(Hb)、白介素细胞6(IL-6)水平的影响。方法 选取2019年8月至2020年9月河南省直第三人民医院收治的98例KOA患者,根据不同的治疗方案分为A组($n=48$,传统药物治疗)与B组($n=50$,全膝关节置换术治疗)。比较两组患者治疗效果、治疗前后血清超氧化物歧化酶(SOD)、血红蛋白(Hb)、白介素细胞6(IL-6)水平、膝关节KSS评分、影像学指标及关节活动度测定值。结果 治疗后,B组患者的优良率为94.00%,显著高于A组的68.75%,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,B组SOD水平高于A组,IL-6、Hb水平低于A组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,B组膝关节KSS评分高于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,B组患者胫股角、髌韧带比值、关节活动度ROM屈、伸值均高于A组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 全膝关节置换术对KOA患者治疗效果佳,可提升SOD表达、降低IL-6水平,从而促进患者恢复,但治疗后患者Hb下降,需引起临床重视,采取一定措施避免患者术中及术后失血过多,影响治疗效果。

[关键词] 全膝关节置换术; KOA; SOD; Hb; IL-6

Effect of total knee arthroplasty on serum SOD, Hb and IL-6 levels in KOA patients

YAN Jingde*, HU Bin, YAN Lei, LIU Yawei, SHA Yu

(Department of Orthopedics, Henan Provincial Third People's Hospital (Eastern District), Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of total knee arthroplasty on serum superoxide dismutase (SOD), hemoglobin (Hb) and interleukin 6 (IL-6) levels in patients with knee osteoarthritis (KOA). **Methods** A total of 98 KOA patients admitted to the Third People's Hospital of Henan Province from August 2019 to September 2020 were selected and divided into group A ($n=48$, traditional drug treatment) and group B ($n=50$, total knee arthroplasty). The treatment effect, serum superoxide dismutase (SOD), hemoglobin (Hb), interleukin-6 (IL-6) levels, knee KSS score, imaging indexes and joint range of motion were compared between the two groups before and after treatment. **Results** After treatment, the excellent and good rate in group B was 94.00%, which was significantly higher than 68.75% in group A, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the level of SOD in group B were higher than that in group A, and the levels of IL-6 and Hb were lower than those in group A, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the knee KSS score in group B was higher than that in group A, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the tibiofemoral angle, patellar ligament ratio, Rom flexion and extension of joint activity in group B were significantly higher than those in group A, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Total knee arthroplasty has a good therapeutic effect on KOA patients, which can increase the expression of SOD and reduce IL-6 levels, thereby promoting the recovery of

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019020526)

作者单位:河南省直第三人民医院(东区)骨科,河南,郑州 450000

*通信作者:延净德, E-mail: yanjde24@163.com

the patients. However, the patient's Hb decreases after treatment, which needs to be paid attention to, and certain measures should be taken to avoid the patient's intraoperative and postoperative excessive blood loss after the treatment, which will affect the treatment effect.

[KEY WORDS] Total knee arthroplasty; KOA; SOD; Hb; IL-6

膝关节骨性关节炎(Knee osteoarthritis, KOA)是以膝关节软骨退变和骨质增生为特征性疾病,细胞、基质及润滑液的性质改变均可以引起KOA。KOA多见于中老年人,有研究显示我国整体患病率约为8%,对于60岁以上的重型患者,女性患者发病率略高^[1]。

临床对于早期KOA患者多采用药物保守治疗,药物治疗对于缓解患者的临床症状有一定的效果,但是对于病情严重及晚期患者治疗效果并不佳。研究显示,全膝关节置换术可从根本上减轻KOA患者疼痛症状及炎症反应,手术效果的优良率高达80%,为重度KOA患者提供了良好的治疗方式^[2]。相关研究显示,全膝关节置换术可对KOA患者血清超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、白介素细胞6(Interleukin 6, IL-6)水平产生一定的影响^[3]。本研究将探讨全膝关节置换术在KOA中的治疗效果以及对患者血清SOD、Hb和IL-6水平的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年8月至2020年9月河南省直第三人民医院收治的98例KOA患者。纳入标准:①均符合膝关节骨性关节炎的诊断标准^[4],且病情发展为中、重度患者;②患者或家属签署知情同意书;③临床资料完整。排除标准:①严重骨质疏松;②对本研究药物过敏;③代谢性骨病;④妊娠期患者。

根据不同的治疗方案将患者分为A组($n=48$,传统药物治疗)与B组($n=50$,全膝关节置换术治疗)。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

A组患者采用止痛药、抗炎药糖皮质激素等治疗。B组患者接受全膝关节置换术治疗^[5]。

1.2.2 检测方法

在治疗前与治疗7 d抽取患者外周静脉血各5 mL,静置10 min,离心机分离10 min,转速为3 000 r/min,离心半径为10 cm,保存于-60℃冰箱待测。采用比色法检测SOD水平,采取酶联免疫吸附法Hb、IL-6水平,试剂盒均购自上海森雄科技实业有限公司,所有步骤均严格参考操作说明书进行。

1.3 观察指标

1.3.1 两组治疗效果比较

治疗后3个月进行临床疗效评估^[6]:①临床痊愈:临床症状消失,关节活动恢复正常,无压痛。②好转:症状减轻,活动功能改善,能进行正常的工作。③无效:治疗后膝关节骨性关节炎症状无明显改善或反而加重。

1.3.2 两组治疗前后膝关节评分法(knee society score, KSS)^[7]比较

分别于治疗前、治疗后第3、6个月使用KSS对患者膝关节情况进行评估,满分为100分,得分越高代表患者治疗效果越好。

1.3.4 两组治疗前后影像学指标及关节活动度测定值比较

影像学指标:在手术前后进行X线检查,拍摄患者双下肢站立位的全长平片及术侧膝关节正侧位片;胫股角、髌韧带比值测量:要求在治疗前后患者分别将关节活动到最大活动度,维持姿势不动进行平片拍摄,使用相关软件测量患者关节活动度^[8]。

表1 两组患者一般资料情况 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 General information of two groups of patients [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	男/女	平均年龄	平均病程	病变部位		
					左膝	右膝	双膝
A组	48	23/25	75.24±5.59	6.82±1.55	25(52.08)	18(37.50)	5(10.42)
B组	50	24/26	75.28±5.39	6.86±1.65	24(48.00)	20(40.00)	6(12.00)
t/χ^2 值		0.707	0.027	0.123	0.163	0.064	0.061
P 值		0.400	0.978	0.901	0.686	0.799	0.803

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 行 χ^2 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗效果比较

治疗后, B 组患者的总有效率为 94.00%, 显著高于 A 组的 68.75%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组治疗效果比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of treatment effects between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	痊愈	好转	无效	总有效率
A 组	48	20 (41.67)	13 (27.08)	15 (31.25)	33 (68.75)
B 组	50	36 (72.00)	11 (22.00)	3 (6.00)	47 (94.00)
χ^2 值					10.414
P 值					0.001

2.2 两组治疗前后血清 SOD、Hb、IL-6 水平比较

治疗后, B 组 SOD 水平高于 A 组, IL-6、Hb 水平低于 A 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 两组治疗前后膝关节 KSS 评分比较

治疗后 3、6 个月, B 组膝关节 KSS 评分高于 A 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组治疗前后影像学指标及关节活动度测定值比较

治疗后, B 组患者胫股角、髌韧带比值、关节活动度 ROM 屈、伸值高于 A 组, 差异均有统计学意

义 ($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

随着老龄化逐渐加重, KOA 发病率也呈逐渐上升趋势。KOA 可导致患者膝关节功能障碍, 严重影响患者生活质量。全膝关节置换术可改善膝关节的功能, 在临床上得到广泛的认可。研究显示, 全膝关节置换术治疗 KOA, 不仅可以增强关节稳定性, 还可降低患者疼痛感, 是晚期及膝关节损伤严重的 KOA 患者最佳的治疗方法^[9]。本文研究结果中, A 组患者治疗后优良率显著低于 B 组, 说明传统药物治疗远不及全膝关节置换术治疗, 提示全膝关节置换术作为 KOA 患者临床治疗方法效果较好。

在健康机体内, SOD 的活性水平与氧自由基的产生和消除之间维持着动态平衡, 以保护细胞结构的完整性, 使机体免受氧自由基的损害^[10]。研究证实, KOA 的发病过程中存在着自由基清除剂的损伤, KOA 患者 SOD 表达水平呈现升高状态^[11]。国内学者也发现, KOA 患者血清中 SOD 水平呈明显上升趋势, 且随着患者关节损伤的严重程度增加而升高, SOD 水平可以反映膝骨关节炎的严重程度^[12]。IL-6 产生于淋巴细胞或非淋巴细胞, 作用于多种靶细胞, 参与炎症反应。以往研究显示, KOA 患者血液及关节液中 IL-6 水平明显升高, 在对症治疗后 IL-6 水平明显降低^[13]。也有研究发现, IL-6 对 KOA 患者预后情况有一定的参考价值^[14]。本研究中, 治疗后两组 SOD 水平均升高,

表 3 两组治疗前后血清 SOD、Hb、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum SOD, Hb and IL-6 levels before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD (nU/mL)		Hb (g/L)		IL-6 (ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组	48	5.45±0.74	12.03±1.23 ^a	120.25±7.44	87.25±9.56 ^a	3.79±0.87	3.22±0.49 ^a
B 组	50	5.62±0.81	18.05±1.29 ^a	121.02±6.32	81.98±10.65 ^a	3.84±0.83	2.25±0.29 ^a
t 值		1.083	23.625	0.553	0.574	0.291	11.983
P 值		0.281	<0.001	0.582	0.011	0.772	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^a $P < 0.05$ 。

表 4 两组治疗前后膝关节 KSS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of KSS scores of knee joints between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	胫股角 (°)		髌韧带比值		ROM 屈 (°)		ROM 伸 (°)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组	48	181.78±1.18	152.01±0.52 ^a	0.14±0.22	0.55±0.08 ^a	30.28±10.05	58.25±11.35 ^a	1.37±0.52	2.15±0.14 ^a
B 组	50	181.98±1.21	174.65±0.89 ^a	0.13±0.12	1.12±0.07 ^a	32.09±10.21	102.98±12.11 ^a	1.40±0.19	3.39±0.22 ^a
t 值		0.828	152.936	0.281	37.579	0.884	18.871	0.382	33.133
P 值		0.410	<0.001	0.779	<0.001	0.379	<0.001	0.703	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^a $P < 0.05$, 与同组治疗后 3 个月比较, ^b $P < 0.05$ 。

表5 两组治疗前后影像学指标及关节活动度测定值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of the measured values of imaging indexes and joint range of motion between the two groups of patients before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	治疗前	治疗后3个月	治疗后6个月
A组	48	34.98±13.52	55.74±7.98 ^a	68.79±8.51 ^{ab}
B组	50	35.26±11.98	66.89±8.79 ^a	78.35±6.87 ^{ab}
t值		0.109	6.566	6.131
P值		0.914	<0.001	<0.001

注:与同组治疗前比较,*P<0.05。

IL-6水平平均下降,且B组治疗后SOD水平高于A组,IL-6水平低于A组。说明全膝关节置换术可增加SOD的活性,有效清除影响机体的多余的氧自由基,抑制氧自由基对软骨细胞及基质的损害;并改善局部的微循环,调整毛细血管的通透性,使血液通畅,改善组织的缺血、缺氧状态,促进局部炎症物质的吸收,从而降低IL-6水平^[15]。Hb是红细胞内运输氧气的特殊蛋白质,对于反映人体内血细胞状况具有重要意义。本研究中,治疗后两组患者Hb水平均有一定程度降低,而B组降低程度更明显,分析可能与手术治疗时失血有关。以往研究显示,在全膝关节置换手术中多数患者不能达到满意的控制出血的效果,由于术中剥离大面积肌肉组织,出血量在400 mL左右,而置换后肌肉及骨组织渗血量在350 mL左右^[16]。建议在术后使用冰敷,以降低组织温度及代谢,减慢血流速度,减少出血量并抑制炎症的扩散。耿霄等人^[17]研究认为,全膝关节置换术治疗KOA患者的手术效果优于传统药物治疗,其对于降低膝关节疼痛感、促进膝关节功能恢复有一定的作用。本研究中,治疗后B组膝关节KSS评分、胫股角、髌韧带比值、关节活动度ROM屈、伸值均高于A组,说明全膝关节置换术可有效改善患者膝关节功能,增加关节活动度,促进患者恢复。

综上所述,全膝关节置换术对KOA患者治疗效果佳,可提升SOD表达、降低IL-6水平,促进患者恢复,但治疗后患者Hb下降,需引起临床重视,采取一定措施避免患者术中及术后失血过多,影响治疗效果。

参考文献

[1] 魏增永,王波,罗建成,等.全膝关节置换术在膝关节骨性关节炎治疗中的应用效果及对血清SOD,NO,TNF- α 水平的影响[J].现代生物医学进展,2019,19(23):4516-4519.

[2] Benner RW, Shelbourne KD, Bauman SN, et al. Knee Os-

teoarthritis[J]. Orthop Clin North Am, 2019, 50(4):51-53.

[3] 刘韬,杨建惠,吴敏艳.膝关节单髁置换术与全膝关节置换术治疗单间室膝骨关节炎近中期疗效[J].山西医药杂志,2019,48(14):1703-1704.

[4] Garza JR, Campbell RE, Tjoumakaris FP, et al. Clinical Efficacy of Intra-articular Mesenchymal Stromal Cells for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Double-Blinded Prospective Randomized Controlled Clinical Trial [J]. Am J Sports Med, 2020, 48(3):588-598.

[5] 王晓磊,武晔,姜淑华,等.通痹胶囊联合针刺治疗膝骨关节炎[J].国际中医中药杂志,2019,41(2):141-145.

[6] 赵光辉,王东峰,惠曙国,等.成人骨节病与骨性关节炎患者膝关节影像学参数比较[J].中国骨与关节损伤杂志,2021,36(4):402-404.

[7] Baria MR, Vasileff WK, J Borchers, et al. Treating Knee Osteoarthritis With Platelet-Rich Plasma and Hyaluronic Acid Combination Therapy: A Systematic Review [J]. Am J Sports Med, 2021, 45(2):363-364.

[8] 吴阳,张兵,焦龙兵,等.关节镜联合康复支具治疗膝关节炎的疗效及对NO,IL-6,MMP-3,VEGF水平的影响[J].医学临床研究,2019,36(2):234-236.

[9] 尹二成,程旭光,张峰,等.全膝关节置换术与单髁置换术治疗膝关节炎的疗效[J].临床骨科杂志,2020,23(4):810-813.

[10] 薛延,汪永利,娄思权,等.蓝湾高纯度硫酸氨基葡萄糖治疗膝关节炎的有效性和安全性研究[J].中国骨与关节损伤杂志,2019,34(1):47-54.

[11] 陈建华,刘建东,张镇城.超声定位下神经阻滞麻醉结合浸润麻醉用于行全膝关节置换术的膝关节炎患者中的临床效果观察[J].临床和实验医学杂志,2020,19(5):556-559.

[12] Bilbao A, García-Pérez L, Arenaza JC, et al. Psychometric properties of the EQ-5D-5L in patients with hip or knee osteoarthritis: reliability, validity and responsiveness [J]. Qual Life Res, 2018, 27(5):1-12.

[13] 胡彦彬,王振东,赵强,等.FGF18与骨性关节炎患者血清炎症细胞因子,脂肪细胞因子及骨关节严重程度的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):639-642.

[14] Chou S, Shih C. Efficacy of different platelet-rich plasma injections in the treatment of mild-moderate knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis [J]. Int J Clin Pract, 2021, 75(6):5-6.

[15] Weinstein SM, Poultsi De SL, Baaklini LR, et al. Postoperative delirium in total knee and hip arthroplasty patients: a study of perioperative modifiable risk factors [J]. Br J Anaesth, 2018, 120(5):999-1020.

[16] 杨登峰,杨伟兵,王志远,等.全膝关节置换术后隐性失血的多因素 Logistic 回归分析[J].疑难病杂志,2019,18(2):179-182.

[17] 耿霄,李杨,田华.围手术期心理状态及干预对人工膝关节置换术后效果及满意度的影响[J].中华医学杂志,2018,98(45):3722-3724.

TM水平在冠心病患者冠状动脉旁路移植术围术期改变及与动脉硬化指数的关系

马杰 马千里* 廖红娟 张焱 安景辉

[摘要] **目的** 探讨血栓调节蛋白(TM)水平在冠心病(CHD)患者冠状动脉旁路移植术(CAGB)围手术期改变及与动脉硬化指数的关系。**方法** 选取2021年1月至2021年9月河北医科大学第二医院心外科收治的150例行CAGB的冠心病患者为研究对象,依据其入院后动脉硬化指数(AI)分为正常组118例(AI值<4)和增高组32例(AI值≥4)。比较两组TM水平变化,比较不同冠状动脉旁路移植术TM水平变化,分析TM与AI之间的关系。**结果** 两组TM水平在术前、麻醉后即刻、术后6、12、24 h AI增高组TM水平显著高于AI正常组,差异有统计学意义($P<0.05$);术后7 d,两组水平均上升但OPCABG组TM水平显著低于CCABG组,差异有统计学意义($P<0.05$);Spearman相关分析表明,围术期患者TM与AI呈正相关($r=0.551, P<0.001$);多因素Logistic回归分析显示,TC水平升高、HDL水平过低、有高血压、TM水平升高、LVEF<35%等为AI值增高的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** TM水平在行CAGB围术期的CHD患者中有增高趋势,为AI值增高的危险因素。

[关键词] 血栓调节蛋白;冠心病;冠状动脉旁路移植术;动脉硬化指数

The relationship between TM level in the perioperative period of coronary artery bypass grafting and arteriosclerosis index in patients with coronary heart disease

MA Jie, MA Qianli*, LIAO Hongjuan, ZHANG Yan, AN Jing Hui

(Department of Cardiac Surgery, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the perioperative changes of TM level in patients with coronary artery disease (CHD) after coronary artery bypass grafting (CAGB) and its relationship with arteriosclerosis index. **Methods** From January 2021 to September 2021, 150 patients with coronary heart disease underwent CAGB who were admitted to the Department of Cardiac Surgery of the Second Hospital of Hebei Medical University were selected as the research objects. According to their arteriosclerosis index (AI) after admission, they were divided into the normal group of 118 patients (AI value <4) and 32 cases in the increased group (AI value ≥ 4). The changes of TM levels in the two groups were compared, and the changes of TM levels in different coronary artery bypass grafting were compared, and the relationship between TM and AI was analyzed. **Results** The levels of TM in the two groups before surgery, immediately after anesthesia, and at 6, 12, and 24 h after surgery in the AI-increased group were significantly higher than those in the AI-normal group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). On the 7th day after operation, the levels of both groups increased, but the level of TM in the OPCABG group was significantly lower than that in the CCABG group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that TM was positively correlated with AI in perioperative patients ($r=0.551, P<0.001$). Multivariate

基金项目:河北省卫生健康委医学科学研究课题计划(20160548)

作者单位:河北医科大学第二医院心脏外科,河北,石家庄 050000

*通信作者:马千里, E-mail: ql11190828@Sina.com

logistic regression analysis showed that elevated TC levels, low HDL levels, hypertension, elevated TM levels, and LVEF<35% were independent risk factors for increased AI values ($P<0.05$). **Conclusion** TM levels tend to increase in CHD patients undergoing CABG perioperative period, which is a risk factor for increased AI value.

[KEY WORDS] TM; Coronary heart disease; Coronary artery bypass grafting; Arteriosclerosis index; Relationship

冠心病(Coronary atherosclerotic heart disease, CHD)为临床常见缺血性心脏病,主要为冠状动脉粥样硬化导致管腔狭窄,心肌缺血出现胸闷等不适表现,胸痛为其典型症状^[1]。流行病学显示,城市15岁以上人群患冠心病概率约为12.4%,而60岁以上冠心病患病率为30%左右^[2]。随着人们生活习惯的变化,冠心病发病率和死亡率呈上升趋势,目前因冠心病而死亡人群超过70万/年。手术治疗为其主要手段,冠状动脉旁路移植术(Coronary artery bypass grafting, CABG)常用于患者严重冠脉狭窄情况^[3]。尽管CABG在临床运用广泛,可显著改善患者症状,但因其需行体外循环,常导致患者凝血功能障碍、炎症反应等并发症。血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)主要在血管内皮细胞表面分布,其特点为抗炎性因子、抗凝血、抗纤溶。大量研究表明, TM水平可反应血管内皮细胞损伤程度^[4]。本研究对TM水平在冠心病患者冠状动脉旁路移植术围手术期改变及与动脉硬化指数的关系进行分析,以为临床治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2021年9月河北医科大学第二医院心外科收治的150例行CABG的冠心病患者为研究对象,依据其入院后动脉硬化指数^[5](Arteriosclerosis index, AI)分为正常组118例(AI值<4)和增高组32例(AI值 ≥ 4)。入组标准:①符合冠心病相关诊断标准^[6];②近期未进行心脏手术;③患者精神正常,能够有效配合;④临床资料完整;⑤近期未服用过心律失常类药物者。⑥所有入试者及家属均知情并签署同意书。排除标准:①合并恶性肿瘤;②合并其他严重脏器功能损伤;③未进行过化疗;④现阶段使用抗感染药物;⑤生存期<6个月;⑥中途转院或退出治疗。其中男性114例,女性36例,平均年龄为(59.12 \pm 9.87)岁。本研究符合赫尔辛基宣言。

冠心病诊断标准^[6]:①典型心绞痛表现;②心肌梗塞而无重度主动脉瓣狭窄、关闭不全;③静息状态下心电图显示明显心肌缺血表现;④心电图二级梯双倍运动测验阳性。见图1。

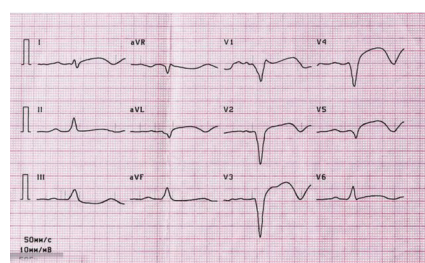


图1 冠心病患者心电图

Figure 1 Electrocardiogram of patients with coronary heart disease

1.2 方法

所有患者均给予心电图、血生化检查及冠状动脉造影检查。①TM水平检测:采集所有患者空腹静脉血5 mL,放置于抗凝真空管中,以3 000 r/min进行离心20 min,离心半径为10 cm,分离出血浆后,放置于80℃冰箱中保存。血浆TM水平检测采用酶联免疫吸附法检测,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。②血生化检查:采集空腹静脉血后,采用氧化酶法测定总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(HDL, High density lipoprotein),采用直接测定法测定患者低密度脂蛋白(LDL, low density lipoprotein),检测使用全自动生化分析仪(生产厂家:基蛋生物科技股份有限公司)及配套试剂。③动脉硬化指数(AI)计算方法^[7]:AI=[总胆固醇(TC)高密度脂蛋白(HDL)]/高密度脂蛋白(HDL),其正常值为<4,若 ≥ 4 ,则已发生动脉硬化。④左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)为每搏搏出量占心室舒张期容积的百分比,采用Teichholtz公式测量^[8]。依据患者不同冠状动脉旁路移植术分为非体外循环冠状动脉旁路移植术(Off-pump coronary artery bypassgrafting,

OPCABG)和体外冠状动脉旁路移植术(Conventional coronary artery by-pass grafting, CCABG),最后统计得出 OPCABG 组 76 例,CCABG 组 74 例。

1.3 统计学分析

数据采用 SPSS 22.0 软件分析,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验;正态分布计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本 t 检验或重复测量分析,两两成对比较行 LSD_t 检验;相关性分析采用 Spearman 相关,影响因素采用多因素 logistic 回归

分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组围手术期 TM 水平比较

与术前比较,两组 TM 水平在麻醉后即刻、术后 6、12 h 均呈上升趋势,术后 24 h 呈下降趋势,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),术前、麻醉后即刻、术后 6 h、12 h、24 h AI 增高组 TM 水平显著高于 AI 正常组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 2。

表 1 两组围手术期 TM 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of TM levels in the perioperative period between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	术前	麻醉后即刻	术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h	F 值	P 值
AI 增高组	118	3.38±0.98	3.58±1.18 ^a	4.12±1.31 ^b	4.43±1.42 ^c	3.42±1.12 ^d	5.810	<0.001
AI 正常组	32	2.32±0.21	2.44±0.65 ^a	2.21±0.63 ^b	2.35±0.76 ^c	2.18±0.68 ^d		
t 值		-6.556	5.245	7.987	7.970	4.569		
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

注:^a示与术前比较,^b示与麻醉后即刻比较,^c示与术后 6 h 比较,^d示与术后 12 h 比较,均 $P < 0.05$ 。

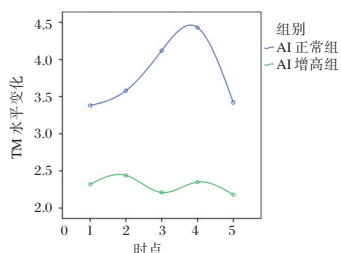


图 2 两组围手术期 TM 水平比较

Figure 2 Comparison of TM levels in the perioperative period between the two groups

2.2 不同冠状动脉旁路移植术 TM 水平比较

术前,两组 TM 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);术后 7 d,两组水平均上升但 OPCABG 组 TM 水平显著低于 CCABG 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同冠状动脉旁路移植术 TM 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of TM levels in different coronary artery bypass grafting ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	术前	术后 7 d
OPCABG 组	76	2.56±0.31	13.21±4.91
CCABG 组	74	2.54±0.29	15.98±5.64
t 值		0.408	3.211
P 值		0.684	0.002

2.3 患者 AI 值增高的单因素分析

单因素分析显示,性别、年龄、BMI、TG、LDL 及血浆灌注量与 AI 增高无关 ($P > 0.05$),而 TC、HDL、高血压及 LVEF<35% 与 AI 增高有关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 患者 AI 值增高的单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 3 Single factor analysis of patients with increased AI value [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

项目	AI 正常组 (n=118)	AI 增高组 (n=32)	t/ χ^2 值	P 值
性别(例,%)			2.949	0.086
男	86(72.88)	28(87.50)		
女	32(27.12)	4(12.50)		
年龄(岁)	58.12±10.87	56.13±11.25	1.345	0.179
BMI(kg/m ²)	26.12±6.89	25.31±7.46	1.810	0.071
TC(mmol/L)	4.87±1.14	5.96±1.42	4.452	<0.001
TG(mmol/L)	1.82±0.58	1.65±0.11	1.646	0.102
LDL(mmol/L)	2.29±0.76	2.36±0.65	0.476	0.635
HDL(mmol/L)	1.78±0.59	1.32±0.43	4.119	<0.001
高血压			9.531	0.002
有	56(47.46)	25(78.13)		
无	62(52.54)	7(21.87)		
血浆输注量/mL			0.058	0.810
≤600	32(27.12)	8(25.00)		
>600	86(72.88)	24(75.00)		
LVEF<35%			13.491	<0.001
是	49(41.53)	25(78.13)		
否	69(58.47)	7(21.88)		

2.4 TM 水平变化与 AI 值的相关性

Spearman 相关分析,围术期患者 TM 与 AI 呈正相关 ($r=0.551$, $P < 0.05$)。

2.5 患者 AI 值增高的多因素分析

以 AI 值增高作为因变量(1=AI 正常组,2=AI 增高组),以 TC、HDL、高血压、TM 及 LVEF<35% 等作为自变量纳入多因素 Logistic 回归分析模型,结果显示,TC 水平升高、HDL 水平过低、有高血压、TM 水平升高、LVEF<35% 等为 AI 值增高的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

表4 患者AI值增高的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of the increased AI value of patients

变量名	β 值	S.E. 值	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
TC	0.726	0.182	15.852	2.067	1.446-2.954	<0.001
HDL	1.580	0.435	13.180	2.261	2.628-14.114	<0.001
高血压(1有,2无)	1.375	0.466	8.716	3.954	1.587-9.850	0.003
TM	1.345	0.268	25.248	3.839	2.271-6.487	<0.001
LVEF<35%(1是,2否)	1.615	0.467	11.981	5.029	2.015-12.552	0.001

3 讨论

冠状动脉主要向心脏提供血液,若胆固醇及其他沉积物组成的斑块积聚于动脉壁,则易导致冠状动脉逐渐狭窄,闭塞,引起冠心病的发生,随着病情进展,心肌能力减弱,心脏无法正常泵血,引发心力衰竭,对人类生命健康造成严重威胁^[9]。对于CHD治疗,临床根据患者病情程度,采取药物治疗、手术治疗及中医治疗等方式^[10]。PCI(经皮冠脉介入治疗)及CABG为临床常用方式,其中CABG效果较为显著,可明显缓解患者心绞痛症状,但创伤仍较大,行CABG患者术后易发生心力衰竭、心律失常等不良事件,影响患者预后^[11]。此外因体外设备的介入,使得机体免疫系统激活,大量炎症因子增加,引起全身炎症反应。炎症因子使得毛细血管通透性增大,血管内皮损伤的加重,引发各种围手术期并发症^[12]。

动脉硬化指数(AI)为国际医学界制定指标,可衡量动脉硬化程度,因其操作简单、方便有效,近年来被人们广泛关注^[13]。国外大量研究证实,AI值增高与冠状动脉粥样硬化具有良好相关性^[14]。本研究结果说明AI增高组中TM水平相对较高,且随着时点的变化而增高,在术后24h时呈现下降趋势。本研究结果显示,术后7d,两组水平均上升但OPCABG组TM水平显著低于CCABG组,说明OPCABG对CHD患者血液流动力学稳定具有维持作用,能够减小其血管张力。TM是维持内皮细胞表面抗凝的关键分子,当血管内皮细胞发生创伤时,由中性粒细胞分泌的金属蛋白酶与TM发生作用,引起TM脱落,大量TM进入血液,进一步加重患者创伤^[15]。本研究分析AI值增高的影响因素,单因素分析显示,性别、年龄、BMI、TG、LDL及血浆灌注量与AI增高无关,而TC、HDL、高血压及LVEF<35%与AI增高有关。进一步将TM水平做Spearman相关分析,Spearman相关分析表明,围术期患者TM与AI呈正相关,说明TM水平与AI值有着密切关系。TM

的产生受多种因素调节,血管剪切力尤为重要。因剪切力的影响,血管内KLF2(锌指样转录因子2)呈高表达,因此增强TM表达。本研究中TM在AI增高组水平更高,且与AI值具有一定相关性,可能为:AI值增高患者已发生动脉硬化,动脉硬化加重患者心肌缺血,使得患者病情加重,动脉血液动力学不稳定,炎症反应时间长,内皮损伤更严重,因此TM水平增高^[16]。本研究以AI值增高作为因变量(1=AI正常组,2=AI增高组),以TC、HDL、高血压、TM及LVEF<35%等作为自变量纳入多因素Logistic回归分析模型,结果显示,TC水平升高、HDL水平升高、有高血压、TM水平升高、LVEF<35%等为AI值增高的独立危险因素,这与既往研究相同^[17]。分析如下:血液中胆固醇过高会增加动脉粥样硬化形成的风险,而高密度脂蛋白(HDL)为“好”胆固醇,因此TC水平升高、HDL水平过低,均会加重动脉粥样硬化程度,引起AI值增高。国内有相关文献报道AI可作为高血压人群的预测心血管疾病病死率的重要指标^[18]。高血压人群血液对血管壁造成的压力值持续过高,因此加重冠脉缺血症状。正常情况下,LVEF正常范围为50%以上,当LVEF<35%时,提示心功能不全,心肌收缩力下降,则加重心脏缺血,易致TM水平增高,引发AI值增高。

综上所述,行CABG的CHD患者围手术期TM水平呈上升趋势,到达峰值后,出现下降,且与动脉硬化指数息息相关,TM水平上升为动脉硬化指数增高的危险因素。本研究局限性:样本量较少,未来将扩大样本量,予以验证完善。

参考文献

- [1] Farouq L, Guimaraes L, Wintzer Wehkind J, et al. Coronary Artery Disease and Transcatheter Aortic Valve Replacement: JACC StateoftheArt Review [J]. J Am Coll Cardiol. 2019, 74(3): 362-372.
- [2] 冠心病中医临床研究联盟. 基于临床流行病学调查的冠心病心绞痛中医证候诊断建议[J]. 中医杂志, 2018, 59(22): 1977-1980.

(下转第303页)

· 论 著 ·

2型糖尿病患者外周血 miR-183 表达水平与足细胞标志物表达及白蛋白尿短期进展的关系

张秀云 侯凤英 刘美 胡文静 王麦 雷敏*

[摘要] **目的** 研究2型糖尿病(T2DM)患者外周血 miR-183 表达水平与足细胞标志物表达及白蛋白尿短期进展的关系。**方法** 选择2019年1月至2021年6月期间连续2次在石家庄市第二医院住院治疗的86例T2DM患者作为T2DM组,另取同期体检的70例健康志愿者作为对照组。检测对照组志愿者及T2DM组患者第1次住院时的外周血 miR-183 表达水平及尿PCX、nephlin含量,根据T2DM组第1次住院时的24h尿白蛋白水平分为无白蛋白尿、微量白蛋白尿、大量白蛋白尿,根据T2DM组第2次住院时的24h尿白蛋白水平分为白蛋白尿未进展和进展。**结果** T2DM组患者外周血 miR-183 的表达水平低于对照组,尿PCX、nephlin含量高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。且 miR-183 的表达水平与PCX、nephlin含量呈负相关($P<0.05$);T2DM组中随着患者的尿白蛋白水平增加,外周血 miR-183 的表达水平降低,尿PCX、nephlin含量增加($P<0.05$);T2DM组中白蛋白尿进展患者外周血 miR-183 的表达水平低于白蛋白尿未进展患者,高血压比例、血肌酐(Scr)水平、尿PCX含量高于蛋白尿未进展患者,差异有统计学意义($P<0.05$);经logistic回归分析,miR-183和高血压是T2DM患者白蛋白尿短期进展的影响因素;经ROC曲线分析,miR-183对T2DM患者白蛋白尿进展具有预测价值。**结论** T2DM患者外周血 miR-183 表达降低与白蛋白尿及足细胞损害的加重、白蛋白尿短期进展有关。

[关键词] 2型糖尿病;白蛋白尿;miR-183;足细胞;短期进展

Relationship between miR-183 expression in peripheral blood and podocyte markers, short-term progression of albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus

ZHANG XiuYun, HOU FengYing, LIU Mei, HU WenJing, WANG Mai, LEI Min*

(Department of Nutrition, Shijiazhuang Second Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050051)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between the expression of miR-183 in peripheral blood and podocyte markers, short-term progression of albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** 86 T2DM patients hospitalized in Shijiazhuang Second Hospital for 2 consecutive times from January 2019 to June 2021 were selected as the T2DM group, and 70 healthy volunteers who underwent physical check-up in the same period were selected as the control group. The expression level of miR-183 in peripheral blood and the contents of PCX and nephlin in urine of volunteers in the control group and patients in T2DM group at the first hospitalization were detected. According to the 24h urinary albumin level in T2DM group at the first hospitalization, they were divided into non albuminuria, microalbuminuria and macroalbuminuria. According to the 24 h urinary albumin level in T2DM group at the second hospitalization, they were divided into non progress and progress of albuminuria. **Results** The expression level of miR-183 in peripheral blood in the T2DM group was lower than that in the control group, and the contents of PCX and nephlin in urine were higher than those in the control group ($P<0.05$) and the expression level of miR-183 was negatively correlated with the contents of PCX and nephlin. In the T2DM group, with the increase of urinary albumin level, the expression

基金项目:2020年度河北省医学科学研究重点科技项目(20200141)

作者单位:石家庄市第二医营养科,河北,石家庄 050051

*通信作者:雷敏, E-mail:leimin8@sina.com

level of miR-183 in peripheral blood decreased, and the contents of urinary PCX and nephrin increased ($P < 0.05$). In the T2DM group, the expression level of miR-183 in peripheral blood of patients with albuminuria progression was lower than that of patients without albuminuria progression, and the proportion of hypertension, the level of serum creatinine (Scr), the content of urinary PCX were higher than those of patients without albuminuria progression ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that miR-183 and hypertension were the influencing factors of short-term progression of albuminuria in T2DM patients. The ROC curve analysis showed that miR-183 had predictive value for the progress of albuminuria in T2DM patients.

Conclusion The decreased expression of miR-183 in peripheral blood in T2DM patients is related to the aggravation of albuminuria and podocyte damage and the short-term progression of albuminuria.

[KEY WORDS] Type 2 diabetes mellitus; Albuminuria; miR-183; Podocytes; Short term progress

2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)是常见的内分泌代谢性疾病,在病程中会出现多种并发症。糖尿病肾病是T2DM常见的微血管并发症之一,以白蛋白尿为主要临床特征,随着病情发展会出现白蛋白尿的进展及肾功能的损害^[1-2]。足细胞是肾小球滤过屏障的组成部分,T2DM患者体内持续存在的高糖环境会导致足细胞发生损害,进而造成肾小球滤过屏障损害及蛋白尿的发生。近些年的研究认为微小RNA(microRNA, miR)在高糖引起足细胞损害中起重要作用^[3],李媛的细胞实验证实高糖显著抑制足细胞中miR-183的表达、过表达miR-183减轻高糖诱导的足细胞损害^[4],提示miR-183可能参与T2DM发病过程中白蛋白尿的产生。本研究具体分析了T2DM患者外周血miR-183表达水平与足细胞标志物及白蛋白尿短期进展的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2019年1月至2021年6月期间石家庄市第二医院连续2次住院治疗的86例T2DM患者作为T2DM组,纳入标准:①符合T2DM的诊断标准^[5];②2次住院的资料完整;③第一次入院时留取外周血样本及尿液样本用于本研究的检测。排除标准:①合并糖尿病急性并发症的患者;②其他类型糖尿病的患者;③有肾毒性药物治疗病史的患者;④合并自身免疫性疾病、恶性肿瘤的患者。另取同期体检的70例健康志愿者作为对照组。T2DM组中男性48例、女性38例,年龄(62.31 ± 9.39)岁, BMI(23.48 ± 5.12) kg/m^2 ;对照组中男性38例、女性32例,年龄(60.92 ± 9.22)岁, BMI(23.17 ± 4.58) kg/m^2 。两组间一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有入试者均签署同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 T2DM患者白蛋白尿的评估

T2DM组患者2次住院时均进行24h尿白蛋白水平,评估第1次入院时的白蛋白尿程度,方法如下^[5]:24h尿白蛋白 < 30 mg为无白蛋白尿,30~300mg为微量白蛋白尿, > 300 mg为大量白蛋白尿。根据第2次入院与第1次入院24h尿白蛋白水平、肌酐(Scr)的变化评估白蛋白尿进展情况,无白蛋白尿进展至微量或大量白蛋白尿、微量白蛋白尿进展至大量蛋白尿、大量白蛋白尿患者出现Scr翻倍均判断为白蛋白尿进展。

1.3 外周血miR-183表达水平的检测

T2DM组患者第1次入院时和对照组体检时采集外周静脉血3mL。采用全血RNA提取试剂盒(北京天根公司)分离外周血RNA,采用miR cDNA第一链合成试剂盒合成将miR反转录为cDNA,采用miR荧光定量检测试剂盒与miR-183或U6的特异性引物配置PCR反应体系,miR-183的上游引物:5'-TAGCTAGCTAGTTAGCTA-3'、下游引物:试剂盒内通用引物,U6的上游引物:5'-ATG-CATGACGATGCTAGCT-3'、下游引物:5'-ATCG-GATATTAGCTAGCT-3')。在PCR仪(ABI 7500型)上进行荧光定量PCR反应、得到反应的循环曲线及循环阈值,以U6为内参、计算miR-183的表达水平。

1.4 尿足细胞标志物含量的检测

T2DM组患者第1次入院时取晨尿10mL,对照组体检时取晨尿10mL,半径2.5cm、800 \times g离心5min,取上清采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海西唐公司)检测PCX、nephrin的含量,同时检测肌酐含量,计算每 μmol 肌酐中PCX、nephrin的含量。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件录入数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验、多组间比较采用单因素方差分析,白蛋白尿进展的

影响因素采用 logistic 回归分析,白蛋白尿的预测采用 ROC 曲线分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 T2DM 组与对照组外周血 miR-183 表达水平及尿足细胞标志物含量的比较

T2DM 组患者外周血 miR-183 的表达水平低于对照组,尿 PCX、nephlin 含量高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 T2DM 组与对照组外周血 miR-183 表达水平及尿足细胞标志物含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-183	PCX(ng/ μ mol)	nephlin(ng/ μ mol)
T2DM 组	86	0.72 \pm 0.19	12.13 \pm 2.94	12.36 \pm 3.42
对照组	70	1.00 \pm 0.25	9.12 \pm 2.03	8.58 \pm 1.85
t 值		7.945	7.269	8.308
P 值		0.000	0.000	0.000

2.2 T2DM 组中不同白蛋白尿程度患者外周血 miR-183 表达水平及尿足细胞标志物含量的比较

T2DM 组中大量白蛋白尿、微量白蛋白尿患者的外周血 miR-183 的表达水平低于无白蛋白尿患者,尿 PCX、nephlin 含量高于无白蛋白尿患者($P<0.05$),且大量白蛋白尿患者的外周血 miR-183 的表达水平低于微量白蛋白尿患者,尿 PCX、nephlin 含量高于微量白蛋白尿患者($P<0.05$)。见表 2。

表 2 T2DM 组中不同白蛋白尿程度患者外周血 miR-183 表达水平及尿足细胞标志物含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-183	PCX(ng/ μ mol)	nephlin(ng/ μ mol)
无白蛋白尿	32	0.98 \pm 0.19	9.51 \pm 2.21	8.77 \pm 1.96
微量白蛋白尿	34	0.76 \pm 0.18 ^a	12.21 \pm 2.68 ^a	12.19 \pm 2.68 ^a
大量白蛋白尿	20	0.49 \pm 0.13 ^{ab}	19.61 \pm 3.85 ^{ab}	18.13 \pm 4.01 ^{ab}
F 值		24.922	26.844	30.128
P 值		0.000	0.000	0.000

注:与无白蛋白尿患者比较,^a $P<0.05$;与微量白蛋白尿患者比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 T2DM 组外周血 miR-183 表达水平与尿足细胞标志物含量的相关性

T2DM 组外周血 miR-183 表达水平与尿 PCX、nephlin 含量呈负相关,相关系数分别为($r_1=-0.476$ 、 $r_2=-0.300$, $P<0.05$)。

2.4 T2DM 组白蛋白尿短期进展与临床资料、miR-183 表达水平、尿足细胞标志物的关系

T2DM 组中白蛋白尿短期进展患者的外周血 miR-183 的表达水平低于白蛋白尿未进展患者,高血压比例、Scr 水平、尿 PCX 含量高于白蛋白尿未进展患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 T2DM 组白蛋白尿短期进展与临床资料、miR-183 表达水平、尿足细胞标志物的关系 [(n)%, ($\bar{x} \pm s$)]

指标	短期进展患者 (n=18)	未进展患者 (n=68)	χ^2/t 值	P 值
性别(男/女)	11/7	37/31	0.259	0.611
年龄(岁)	62.55 \pm 12.95	61.48 \pm 10.73	0.360	0.720
高血压	13(72.22)	28(41.18)	5.499	0.019
糖尿病病程(年)	4.01 \pm 0.93	3.88 \pm 0.75	0.621	0.536
HbA1c(%)	7.24 \pm 2.09	7.09 \pm 1.68	0.320	0.750
FBG(mmol/L)	7.69 \pm 2.13	7.22 \pm 1.85	0.928	0.356
TC(mmol/L)	3.31 \pm 0.94	3.01 \pm 0.85	1.302	0.196
TG(mmol/L)	1.93 \pm 0.52	1.88 \pm 0.34	0.492	0.624
Scr(μ mol/L)	91.31 \pm 17.95	82.62 \pm 13.48	2.262	0.026
miR-183	0.50 \pm 0.09	0.76 \pm 0.16	6.604	0.000
PCX ng/ μ mol)	13.38 \pm 2.52	11.80 \pm 2.98	2.061	0.042
Nephlin ng/ μ mol)	12.58 \pm 3.59	12.30 \pm 3.40	0.307	0.760

2.5 T2DM 患者白蛋白尿短期进展影响因素的 logistic 回归分析

以 T2DM 患者是否发生白蛋白尿短期为因变量,以 2.4 中分析有统计学意义的 miR-183、高血压、Scr、PCX 为自变量,在 logistic 回归模型中进行分析可知:miR-183 和高血压是 T2DM 患者白蛋白尿短期进展的影响因素。

外周血 miR-183 表达水平预测 T2DM 患者白蛋白尿短期的 AUC 为 0.935 (95% CI: 0.884~0.986),预测的最佳截断值为 0.618,对应的灵敏度为 88.24%、特异性为 94.44%, $P<0.05$ 。见表 4、图 1。

表 4 T2DM 患者白蛋白尿短期进展影响因素的 logistic 回归分析

因素	β 值	OR 值	95%CI	Wald 值	P 值
miR-183	-0.512	0.737	0.503~0.931	6.182	0.003
高血压	0.625	1.741	1.312~2.484	5.474	0.010
Scr	0.409	1.302	0.923~2.121	2.011	0.132
PCX	0.714	1.221	0.794~2.574	1.581	0.198

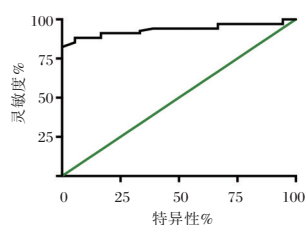


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

糖尿病肾病是常见的糖尿病慢性并发症之一,也是目前导致终末期肾脏病的常见病因之一。白蛋白尿是糖尿病肾病的重要临床特征之一,随着病程延长和病情进展,白蛋白尿逐步加重,当发展为大量白蛋白尿后、糖尿病肾病进展至终末期肾病的风险高且治疗难度大。因此,在糖尿病肾病的早期准确评估病情、预测白蛋白尿进展的风险能够为疾病的精准治疗、重点防治提供依据。

糖尿病肾病发病早期的主要病理改变是肾小球滤过屏障的损害,表现为基底膜增厚、系膜基质增生^[6]。足细胞是肾小球滤过屏障的重要组成部分之一,参与肾小球毛细血管壁外层的构成、决定了滤过屏障对大分子的通透性。在T2DM的发病过程中,患者体内的高糖环境作用于足细胞会导致细胞损害,足细胞及其相关蛋白脱落并随尿液排出^[7]。PCX及nephryn是常用的足细胞标志物,已有研究证实糖尿病肾病患者尿液中上述两种足细胞标志物的含量增加且随着白蛋白尿的加重,尿液中两种足细胞标志物的含量也呈增加趋势^[8-10]。本研究结果表明足细胞损害、足细胞标志物随尿液排泄增加与白蛋白尿的产生及加重有关。

近些年关于糖尿病发病过程中足细胞损害的基础研究认为miR的异常表达与足细胞的损害密切相关。在高糖诱导足细胞损害的细胞模型中,包括miR-183在内的多种miRs表达发生改变^[4, 11-12]。miR是一类在转录后水平发挥基因表达调控作用的非编码小分子RNA,参与细胞存活、增殖、凋亡、分化等多个生物学过程的调控,也能在不同的病理生理过程中释放进入血液循环、造成外周血中相应miR表达的变化并成为诊断疾病、评估病情的标志物。根据国内李媛的细胞实验研究结果,miR-183的低表达与高糖诱导的足细胞损害有关^[4],但miR-183在糖尿病肾病、糖尿病患者

白蛋白尿发生发展中的作用尚不清楚。

本文以miR-183作为外周血标志物,对T2DM患者展开研究。首先,T2DM患者的外周血miR-183表达水平低于对照组,造成这一结果的可能原因是T2DM患者体内的高糖环境对miR-183的表达具有抑制作用。第二,随着T2DM患者白蛋白尿水平的增加,外周血中miR-183的表达水平降低,造成这一结果的可能原因是目前已知miR-183具有广泛的细胞保护作用^[13-14],T2DM患者体内miR-183表达降低会造成足细胞损害加重、白蛋白尿水平增加。第三,通过相关性分析证实miR-183表达水平与足细胞标志物PCX及nephryn含量呈负相关,这为miR-183表达降低加重足细胞损害提供了临床证据。以上结果表明T2DM发病过程中miR-183表达降低与白蛋白尿及足细胞损害的加重有关。

糖尿病肾病患者白蛋白尿的进展与预后不良、终末期肾脏病发病风险增加密切相关。因此,早期评估白蛋白尿进展的风险、筛查可能发生白蛋白尿进展的高危人群对指导临床治疗具有积极意义。已有研究证实,高血压是T2DM患者白蛋白尿进展的危险因素之一,可能原因是高血压会造成肾小球硬化、影响肾功能、加重白蛋白尿^[15-16]。本研究对T2DM患者白蛋白尿的进展情况进行了随访,86例患者中共18例发生了白蛋白尿进展、发生率为20.93%,与既往关于白蛋白尿进展发生率的报道相似^[15-16]。经组间比较及logistic回归分析可知:高血压及miR-183是T2DM患者白蛋白尿进展的影响因素;经ROC曲线分析证实:外周血miR-183的表达水平对白蛋白尿进展具有预测价值。

综上所述,T2DM患者外周血miR-183表达降低与白蛋白尿及足细胞损害的加重、白蛋白尿短期进展有关。未来,miR-183一方面有望成为研究糖尿病肾病发病机制及足细胞损害分子机制的靶分子,另一方面也有望成为评估白蛋白尿进展风险的分子标志物。

参考文献

- [1] Hou JH, Zhu HX, Zhou ML, et al. Changes in the Spectrum of Kidney Diseases: An Analysis of 40, 759 Biopsy-Proven Cases from 2003 to 2014 in China [J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2018, 4(1):10-19.
- [2] Palygin O, Spires D, Levchenko V, et al. Progression of diabetic kidney disease in T2DN rats [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 317(6):F1450-F1461.

- [3] Ishii H, Kaneko S, Yanai K, et al. MicroRNAs in Podocyte Injury in Diabetic Nephropathy[J]. *Front Genet*, 2020, 25(11): 993.
- [4] 李媛, 孙爱东, 许聿新, 等. miR-183 靶向 Orai1 基因影响高糖诱导的足细胞增殖和凋亡[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(20): 4482-4487.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2017年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4): 292-344.
- [6] Tziastoudi M, Stefanidis I, Zintzaras E. The genetic map of diabetic nephropathy: evidence from a systematic review and meta-analysis of genetic association studies[J]. *Clin Kidney J*, 2020, 13(5): 768-781.
- [7] Zhang T, Chi Y, Kang Y, et al. Resveratrol ameliorates podocyte damage in diabetic mice via SIRT1/PGC-1 α mediated attenuation of mitochondrial oxidative stress[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 5033-5043.
- [8] Musa N, Ramzy T, Hamdy A, et al. Assessment of urinary podocalyxin as a marker of glomerular injury in obesity-related kidney disease in children and adolescents with obesity compared to urinary albumin creatinine ratio[J]. *Clin Obes*, 2021, 11(4): e12452.
- [9] Kostovska I, Trajkovska KT, Cekovska S, et al. Role of urinary podocalyxin in early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. *Rom J Intern Med*, 2020, 58(4): 233-241.
- [10] 崔萌, 孙建平, 周丽敏, 等. 尿液生物学标记物在早期糖尿病肾病的研究进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2016, 17(3): 263-265.
- [11] Ding X, Jing N, Shen A, et al. MiR-21-5p in macrophage-derived extracellular vesicles affects podocyte pyroptosis in diabetic nephropathy by regulating A20[J]. *J Endocrinol Invest*, 2021, 44(6): 1175-1184.
- [12] Huang H, Liu H, Tang J, et al. M2 macrophage-derived exosomal miR-25-3p improves high glucose-induced podocytes injury through activation autophagy via inhibiting DUSP1 expression[J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(12): 2651-2662.
- [13] Zhou Q, Zhang L, Zhou Q, et al. MicroRNA-183-5p protects human derived cell line SH-SY5Y cells from mepivacaine-induced injury[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 3177-3187.
- [14] Zhou Y, Xiao S, Li C, et al. Extracellular Vesicle-Encapsulated miR-183-5p from Rhynchophylline-Treated H9c2 Cells Protect against Methamphetamine - Induced Dependence in Mouse Brain by Targeting NRG1[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 26(2021): 2136076.
- [15] 王婷婷, 李明杰, 林宁, 等. 血清高尿酸水平与住院糖尿病患者白蛋白尿短期进展的关系研究[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2019, 39(7): 754-758.
- [16] 庄苹, 杨锦, 郑蛟, 等. 血清 miR-200c 表达与 2 型糖尿病患者白蛋白尿短期进展的相关性研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(2): 199-202+216.

(上接第 298 页)

- [3] Shaefi S, Mittel A, Loberman D, et al. OffPump Versus On-Pump Coronary Artery Bypass Grafting A Systematic Review and Analysis of Clinical Outcomes[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2019, 33(1): 232-244.
- [4] 赵俊丽, 朱君君, 邵霞, 等. 血液透析患者颈动脉中膜厚度与血栓调节蛋白、炎症因子及心血管疾病的关联[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2018, 27(1): 24-28.
- [5] 李林芝, 常颖. 平均血小板体积/血小板计数、载脂蛋白 B/A1 与高血压患者动态动脉硬化指数的相关性[J]. *中华高血压杂志*, 2019, 27(5): 471-473.
- [6] 夏欣. 冠状动脉血管成像检查与冠状动脉造影诊断冠心病的效果分析及其与 C 反应蛋白的相关性[J]. *实用医院临床杂志*, 2018, 15(1): 145-148.
- [7] 朱明娜, 张丽华, 蒋友旭, 等. 高血压患者动态动脉硬化指数与射血分数保留性心力衰竭严重程度的相关性研究[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(20): 2568-2572.
- [8] 姚宏英, 杨胜利, 杨勇, 等. 超声心动图评价慢性心力衰竭患者右心室功能障碍及其与左心室射血分数的关系[J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46(3): 285-287.
- [9] 郑耐心, 唐国栋, 田正凤. 急性冠脉综合征患者 UA、NLRP3 水平与冠脉 SYN⁺ TAX 评分、斑块稳定性的相关性研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(6): 773-776.
- [10] 刘于庭, 马欢, 尹晗, 等. 冠心病介入治疗患者非高密度脂蛋白胆固醇达标情况与预后的关系研究[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(19): 2435-2440+2445.
- [11] 席雷, 王正清, 刘志刚, 等. 体外循环对冠状动脉旁路移植术后患者早期急性肾损伤的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(12): 1142-1147.
- [12] 高峰, 胡杰, 陈兴澎. 右美托咪定联合甲氧明在非体外循环冠状动脉旁路移植术中的应用[J]. *中国微创外科杂志*, 2019, 19(5): 16-19+28.
- [13] 辛苏萍, 李波. 中青年与老年 2 型糖尿病患者非高密度脂蛋白胆固醇、动脉硬化指数的对比分析[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2018, 26(4): 97-99+102.
- [14] 谭静, 李静, 张迎花, 等. 冠状动脉早期粥样硬化症患者冠状动脉钙化的影响因素分析[J]. *首都医科大学学报*, 2020, 41(6): 978-981.
- [15] 赵雨辰, 王城, 徐东辉, 等. 不同冠状动脉旁路移植术式对老年冠心病患者血栓调节蛋白及心肌力学特性的影响[J]. *西部医学*, 2020, 32(3): 374-378.
- [16] 刘玉珊. 心外膜脂肪定量及可溶性血栓调节蛋白与冠心病病变程度相关性分析[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(1): 44-46+86.
- [17] 吕晶, 王俊华. 桡动脉冠状动脉旁路移植术患者血浆血栓调节蛋白水平与早期预后的相关性分析[J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24(18): 22-25.
- [18] 邱晓静, 温晓丽, 李俊玲, 等. 高血压合并冠心病患者晨峰血压及冠脉病变程度关系[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(3): 312-314.

T2WI联合ADC值诊断前列腺癌的价值及与危险程度、PSA的关系

王晴晴* 代志清 刘高峰

[摘要] 目的 探讨T2WI联合ADC值对前列腺癌(PCa)的诊断价值及与危险程度、前列腺癌特异性抗原(PSA)的关系。方法 分析2016年2月至2021年8月安徽省濉溪县医院经病理诊断确诊的60例PCa患者(研究组)及同期20例良性前列腺增生(BPH)患者(对照组)影像检查资料。依据Gleason分级标准将60例PCa患者分为低分化组(Gleason评分>6分32例),高分化组(Gleason评分≤6分28例)。比较研究组与对照组、低分化组与高分化组T2WI检查参数、ADC值及PSA水平;分析T2WI检查参数、ADC值与PCa病理分化程度及PSA的相关性;运用受试者工作特征(ROC)曲线分析T2WI检查参数、ADC值及联合预测因子对PCa的预测价值。结果 研究组垂直方向灰度不均匀性(Vertl-GLNU)、水平方向灰度不均匀性(Horzl-GLNU)、135度方向灰度不均匀性(135dgr-GLNU)、45度方向灰度不均匀性(45dgr-GLNU)及ADC值均显著低于对照组,血清PSA水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。PCa低分化组Vertl-GLNU、Horzl-GLNU、135dgr-GLNU、45dgr-GLNU及血清PSA显著高于PCa高分化组,ADC值显著低于PCa高分化组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Pearson分析得出Vertl-GLNU、135dgr-GLNU、45dgr-GLNU与PCa分化程度呈负相关,与血清PSA均成显著正相关,ADC值与PCa分化程度成显著正相关($P<0.05$)。ROC曲线分析得出Vertl-GLNU、Horzl-GLNU、135dgr-GLNU、45dgr-GLNU、ADC值及联合预测因子6个项目对PCa均具有良好预测价值,且联合预测因子对PCa的预测价值更高。结论 T2WI检查参数联合ADC值对PCa具有较好诊断价值,且T2WI检查参数与肿瘤分化程度及PSA呈正相关,ADC值与与肿瘤分化程度及PSA呈正相关呈负相关。

[关键词] 前列腺癌;表观弥散系数;分化程度;前列腺癌特异性抗原

Value of T2WI combined with ADC value in diagnosis of prostate cancer and its relationship with risk level and PSA

WANG Qingqing*, DAI zhiqing, LIU Gaofeng

(Magnetic Resonance Unit, Suixi Hospital, Suixi, Anhui, China, 235100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of T2WI combined with ADC value in prostate cancer (PCA) and its relationship with risk and prostate cancer specific antigen (PSA). **Methods** The imaging data of 60 patients with PCA (Research Group) and 20 patients with benign prostatic hyperplasia (BHP: Control group) diagnosed by pathology in Suixi County Hospital of Anhui Province from February 2016 to August 2021 were analyzed. The subjects were divided into the research group and the control group. According to Gleason grading standard, 60 patients with PCA were divided into the low differentiation group (Gleason score >6 in 32 cases) and the high differentiation group (Gleason score ≤6 in 28 cases). T2WI parameters, ADC value and PSA level were compared between the PCA group and the BPH group, the low differentiation group and the high differentiation group. Pearson was used to analyze the correlation between T2WI examination parameters, ADC value and PCA pathological differentiation and PSA. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of T2WI examination

基金项目:2020年度安徽省自然科学基金项目(2008085J16)

作者单位:安徽省濉溪县医院磁共振室,安徽,濉溪235100

*通信作者:王晴晴, E-mail: wangqing860313@163.com

parameters, ADC value and joint predictors on PCA. **Results** Group Vertical grayscale non-uniformity (Vertl-GLNU), horizontal grayscale non-uniformity (Horzl-GLNU), 135-degree grayscale non-uniformity (135dgr-GLNU), 45-degree grayscale non-uniformity (45dgr-GLNU) and ADC values were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$), and serum PSA levels were significantly higher than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). PCA poorly differentiated group Vertl-GLNU, Horzl-GLNU, 135dgr-GLNU, 45dgr-GLNU and serum PSA were significantly higher than PCA well differentiated group. The ADC value was significantly lower than that of the PCA well-differentiated group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Pearson analysis showed that Vertl-GLNU, 135dgr-GLNU, and 45dgr-GLNU were negatively correlated with the degree of PCA differentiation, significantly positively correlated with serum PSA, and the ADC value was significantly positively correlated with the degree of PCA differentiation ($P<0.05$). ROC curve analysis shows that vertl glnu, horzl glnu, 135dgr glnu, 45dgr glnu, ADC value and combined predictor have good predictive value for PCA, and the combined predictor has higher predictive value for PCA. **Conclusion** T2WI parameters combined with ADC value have good diagnostic value for PCA. T2WI parameters were positively correlated with tumor differentiation and PSA, and ADC value was negatively correlated with tumor differentiation and PSA.

[KEY WORDS] Prostate cancer; Apparent dispersion coefficient; Degree of differentiation; Prostate cancer specific antigen

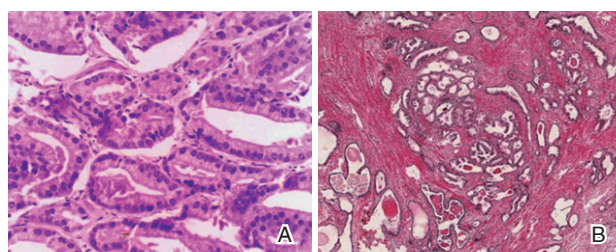
前列腺癌(Prostatic cancer, PCa),好发于50岁以上中老年人群,且发病率随年龄增长而递增^[1]。早期PCa无特殊症状,多数患者被确诊时已到晚期,失去手术根治机会。目前,运用直肠指诊断、经直肠前列腺超声、血清前列腺癌特异性抗原(Prostate cancer specific antigen, PSA)等检查可对PCa作出初步诊断。但部分患者病情隐匿,常规检查容易出现漏诊现象。核磁共振(Nuclear magnetic resonance, MRI)具有较好空间分辨率与组织分辨率,故在PCa的诊断拥有独特优势^[2-3]。MRI扩散加权成像(Diffusion weighted imaging, DWI)是一种通过反应组织内水分子扩散情况而诊断疾病的新型无创检查技术,可从分子层面反应病变性质,对PCa组织结构病变具有较高敏感性^[4]。但DWI图像无法清晰显示组织器官结构。相对于DWI检查, T2加权成像(T2-weighted imaging, T2WI)序列检查可获得病灶与邻近组织关系及组织内部成分等信息,对疾病病理分期颇有助益^[5]。本研究分析T2WI检查参数联合表观扩散系数(Apparent diffusion coefficient, ADC)值对PCa的诊断价值,同时分析各参数、ADC值与PCa分化程度、PSA的关系。旨在为PCa诊断及术前病理分期提供有效影像诊断方法。

1 一般资料与方法

分析2016年6月至2021年6月安徽省濉溪县医院经病理诊断确诊的60例PCa者(研究组)及同期20例良性前列腺增生(Benign prostatic hyper-

plasia, BPH)患者(对照组)影像检查资料。同时依据Gleason分级(Gleason grading)标准^[6]将80例PCa患者分为低分化组(Gleason评分 >6 分32例),高分化组(Gleason评分 ≤ 6 分28例)。PCa组年龄平均(69.75 ± 9.84)岁;病理确诊方式^[7]38例行超声下穿刺、22例行前列腺根治切除术。BPH组年龄平均(68.97 ± 10.12)岁;病理确诊方式:11例行超声下穿刺,9例行前列腺根治切除术。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①经术后病理证实或穿刺活检确诊为PCa或BPH患者。见图1。②在术前或穿刺活检前均接受MRI检查。③无MRI禁忌症。④影像资料完整、病灶显示清晰,图像无明显运动伪影。⑤在进行MRI检查前,未接受放、化疗或内分泌治疗。⑥被确诊的PCa且有明确Gleason病理分级评分结果。所有入试者均签署知情同意书。



注:图a为为高分化型PCa, HE, $\times 210$; 图b为为结节型BPH, HE $\times 200$ 。

图1 术后PCa及BPH病理组织学涂片

Figure 1 histopathological smear of PCA and BPH after operation

2.2 PCa 低分化组与PCa 高分化组 T2WI 检查参数、ADC 值及血清 PSA 水平比较

PCa 低分化组 Vertl - GLNU、Horzl - GLNU、

135dgr-GLNU、45dgr-GLNU、血清 PSA 水平均显著高于 PCa 高分化组, ADC 值显著低于 PCa 高分化组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 PCa 低分化组与 PCa 高分化组 T2WI 检查参数、ADC 值及血清 PSA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of t2wI test parameters, ADC value and serum PSA level between PCA poorly differentiated group and PCA highly differentiated group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	T2WI 检查参数				ADC 值 ($10^{-3} \text{mm}^2/\text{s}$)	PSA (ng/mL)
		Vertl-GLNU	Horzl-GLNU	135dgr-GLNU	45dgr-GLNU		
PCa 低分化组	32	46.90±9.39	48.39±9.48	61.90±7.06	61.55±7.06	0.54±0.19	85.26±17.52
PCa 高分化组	28	26.88±9.27	26.40±8.16	32.20±1.64	31.89±1.73	1.05±0.16	40.23±17.38
t 值		8.286	9.547	21.737	21.652	-10.961	9.928
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 T2WI 检查参数、ADC 值与 PCa 分化程度及 PSA 相关性

Vertl - GLNU、135dgr - GLNU、45dgr - GLNU 与 PCa 分化程度呈负相关, 与血清 PSA 均成显著正相关, ADC 值与 PCa 分化程度成显著正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 T2WI 检查参数、ADC 值与 PCa 分化程度及 PSA 相关性

Table 3 Correlation between t2wI examination parameters, ADC value and PCA differentiation degree and PSA

项目	n	PCa 分化程度		PSA	
		r 值	P 值	r 值	P 值
Vertl-GLNU	60	-0.736	<0.001	0.982	0.001
Horzl-GLNU	60	-0.782	<0.001	0.981	0.001
135dgr-GLNU	60	-0.944	<0.001	0.857	0.001
45dgr-GLNU	60	-0.943	<0.001	0.858	0.001
ADC 值	60	-0.821	0.002	-0.386	0.002

2.4 T2WI 灰度不均匀性参数、ADC 值对 PCa 的预测价值

Vertl - GLNU、Horzl - GLNU、135dgr - GLNU、45dgr-GLNU、ADC 值及联合预测因子 6 个项目对 PCa 均具有良好预测价值, 且联合预测因子对 PCa 的预测价值更高。见表 4、图 3。

表 4 T2WI 灰度不均匀性参数、ADC 值对 PCa 的预测价值

Table 4 prediction value of t2wI gray nonuniformity parameter and ADC value to PCA

项目	n	AUC	标准误	Cut-off	95%CI	最佳界值	敏感度	特异度	P 值
Vertl-GLNU	80	0.940*	0.018	51.640	0.905~0.974	0.825	0.900	0.925	0.000
Horzl-GLNU	80	0.925*	0.020	51.600	0.886~0.964	0.775	0.887	0.887	0.000
135dgr-GLNU	80	0.800*	0.034	66.710	0.732~0.867	0.513	0.525	0.988	0.000
45dgr-GLNU	80	0.812*	0.033	64.230	0.747~0.868	0.583	0.550	1.000	0.000
ADC 值	80	0.847*	0.030	0.830	0.789~0.905	0.533	0.588	0.988	0.000
联合预测因子	80	0.991	0.008	0.390	0.974~1.007	0.983	0.950	1.000	0.000

注: 与联合预测因子比较 * $P < 0.05$ 。

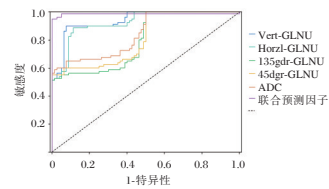


图 3 T2WI 灰度不均匀性参数、ADC 值对 PCa 预测的 ROC 曲线

Figure 3 ROC curve of t2wI gray nonuniformity parameter and ADC value to PCA prediction

3 讨论

目前 MRI 被广泛运用于 PCa 的诊断中, 但研究发现常规 MRI 在鉴别前列腺良恶性病变中, 易出现影像交叉、重叠及影像复杂多样的特点^[8-9]。因此本研究通过 T2WI 象素灰度的分布状态及 ADC 值对肿瘤良恶性及分化程度进行鉴别。

本研究结果表明, 研究组 T2WI 灰度不均匀性参数、ADC 值均显著低于对照组。分析原因为, T2WI 灰度不均匀性值越大代表灰度分布越不均匀。研究组由于癌性组织增生, 导致腺体内小叶结构破坏。肿瘤细胞密集, 细胞核增大, 核浆比例增高, 细胞内外间隙变小, 因此前列腺体逐渐被癌细胞紧密排列的条索状与片状代替, 病灶实质成分较多, 且实质成分比较均匀。因此 T2WI 呈灰度

较均匀分布。BHN增生较复杂,主要由涉及胶原纤维、成纤维细胞等间质成分,各间质纤维比例存在较大差异,因此病变实质呈不均匀状态。而ADC值是反应水分子弥散能力的检查参数。ADC值越大水分子弥散能力越强^[10]。PCa患者大量增生的癌细胞紧密排列,导致细胞间隙变小,水分子弥散受限,因此ADC值减小。而BHN虽然也存在增生情况,但BHN只涉及纤维细胞等间质成分增生,前列腺细胞数量在单位体积内变化较小,因此对水分子弥散运动影响较小^[11-12]。

ROC曲线分析得出T2WI灰度不均匀性参数、ADC值对PCa均具有较好预测价值,但联合预测因子对PCa的预测效能更高。分析原因为,70%左右的前列腺癌来源于前列腺外周带,而外周带信号因患者年龄增长而降低。T2WI序列图像对部分病灶边界显示欠佳。而ADC值虽可灵敏反应组织微观病变,但显示病灶边界及定位病灶功能欠佳,且空间分辨率较低。因此联合检测因子诊断价值较高。

本研究结果还显示,PCa低分化组T2WI灰度不均匀性参数显著高于PCa高分化组,而ADC值显著低于PCa高分化组,且T2WI灰度不均匀性参数与PCa分化程度成负相关,即参数值越大肿瘤分化程度越低,同时与血清PSA成正相关。而ADC值肿瘤分化程度正相关,即ADC值越低肿瘤分化程度越低。分析原因为,肿瘤分化程度越低代表恶性程度越高,与正常组织差异性越大^[13]。因此T2WI图像灰度不均匀性参数因病灶内部粗糙、复杂、缺乏统一性而升高^[14]。肿瘤恶性程度越高,T2WI图像灰度不均匀性均值越大,故PCa低分化组T2WI灰度不均匀参数显著高于BHN组,且Vertl-GLNU、I35dgr-GLNU、45dgr-GLNU与PCa分化度成反比。同样PCa分化程度越低,肿瘤细胞增殖越多,细胞排列愈紧密,组织间隙愈小,且不规则,水分子弥散运动因此受到限制^[15],因此PCa低分化组ADC值显著低于高分化组。ADC值越低,水分子弥散能力越弱,肿瘤分化程度越低,因此ADC与肿瘤分化程度成正相关关系。

血清PSA为PCa肿瘤标志物之一。研究表明,当癌细胞增生浸润间质时,间质量容积随之增大,并向血液释放PSA,且血液中PSA水平因肿瘤癌细胞增多、恶性度增高而升高。因此PCa低分化组PSA显著高于PCa高分化组。因T2WI图像灰度不均匀性均值随肿瘤恶性度增高而增高,PSA水平亦因肿瘤恶性度增加而升高,由此推断二者

存在正相关关系。而ADC值越高代表弥散能力越强,组织恶性度越低,因此推断ADC值与PSA存在负相关关系。但本研究可能因样本量太少,未得出相关结论。

综上所述:T2WI检查参数联合ADC值对PCa具有较好诊断价值,且T2WI检查参数与肿瘤分化程度及PSA呈正相关,ADC值与与肿瘤分化程度及PSA呈正相关呈负相关。

参考文献

- [1] 赵醒艳. ADC值和标化ADC值对前列腺癌患者盆腔转移性淋巴结的诊断价值[J]. 临床放射学杂志, 2019,38(1):122-125.
- [2] 董浩,卢光明. 基于T2WI联合扩散加权成像影像组学对高侵袭性前列腺癌的诊断价值[J]. 实用放射学杂志, 2020,36(8):1273-1276.
- [3] 陈芬,骆华春,傅志超,等. DWI对前列腺癌的诊断价值及ADC平均值与其危险程度的相关性分析[J]. 医疗卫生装备, 2018,39(11):57-59+73.
- [4] 李飞宇,王霄英,许玉峰,等. 良性前列腺增生的ADC值定量分析[J]. 实用放射学杂志, 2007,23(5):661-664.
- [5] 任静,刘燕丽,常英娟,等. 3.0T磁共振DWI结合T2WI鉴别前列腺移行区的良恶性结节[J]. 实用放射学杂志, 2011,27(8):1208-1212.
- [6] 张沂,张鑫,王睿,等. MRI纹理分析对前列腺癌及Gleason分级的诊断价值[J]. 国际医学放射学杂志, 2019,42(3):264-268.
- [7] 中华医学会病理学分会泌尿与男性生殖系统疾病病理学组. 前列腺癌规范化标本取材及病理诊断共识(2021版)[J]. 中华病理学杂志, 2021,50(9):994-1001.
- [8] 黄晓莹,胡亚萍,张婷玉,等. T2WI、DWI及DCE-MRI联合诊断前列腺癌的效果分析[J]. 天津医科大学学报, 2020,26(4):358-361.
- [9] 沈力,徐圆,叶靖,等. 基于MRI T2WI图像的游程矩阵纹理分析联合ADC值对前列腺癌分化程度的评估[J]. 临床放射学杂志, 2020,39(1):102-106.
- [10] 许晴,王守安,征锦,等. 高b值扩散加权成像对前列腺癌侵袭性的诊断价值[J]. 实用放射学杂志, 2019,35(4):589-592.
- [11] Giganti F, Pecoraro M, Fierro D, et al. DWI and PRECISE criteria in men on active surveillance for prostate cancer: A multicentre preliminary experience of different ADC calculations[J]. Magn Reson Imaging, 2020 67(4):50-58.
- [12] Zhang JW, Liu JJ, Huang T, et al. [Multi-modality MRI parameters correlate with the expression of the P504s protein in prostate cancer][J]. Zhonghua Nan Ke Xue, 2019,25(7):619-625.
- [13] 吕京,许桂峰,陈洪杰,等. 乳腺癌化疗患者抑郁发生情况及其影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2020,46(6):706-708.
- [14] Sang Y, Wang X, Yu P, et al. Prostatic aspirated cellular RNA analysis enables fast diagnosis and staging of prostate cancer [J]. Transl Oncol, 2021,14(1):100963.
- [15] 谢金珂,闵祥德,李拔森,等. 基于T2WI、表观扩散系数图的纹理分析鉴别低、高级别前列腺癌的价值[J]. 中华放射学杂志, 2020,54(12):1191-1196.

78例新生儿坏死性小肠结肠炎临床特征分析

杨静 刘瑛 杨立*

[摘要] **目的** 分析新生儿坏死性小肠结肠炎(NEC)发病特点及危险因素。**方法** 分析2016年3月至2020年6月北京市通州区妇幼保健院收治的78例NEC新生儿,以及同期收治的100例非NEC患儿,了解不同胎龄发病时间规律,以及对两组的围产资料及新生儿合并疾病进行单因素筛查分析,通过logistic回归分析NEC的高危因素。**结果** 78例NEC患儿足月新生儿发病时间中位数是3天,大部分发病在7天内,早产儿发病时间于矫正胎龄(34 ± 1.49)周,中位数是7.5天。两组早产风险产前激素应用比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.218 P<0.05$),败血症统计分析两组差异P接近0.05($\chi^2=3.574 P=0.059$),再进行logistic二元回归分析,显示败血症是NEC发生的危险因素(OR:13.623,95%CI:1.496~124.085, $P<0.05$),早产风险的母亲产前应用激素对早产儿发生NEC有保护作用(OR:0.405,95%CI:0.188~0.873, $P<0.05$)。**结论** 本研究发现足月儿NEC发病时间较早产儿较早,而且基本符合胎龄越小,发病时间越晚的规律。新生儿合并败血症是发生NEC的危险因素,早产风险的母亲产前应用激素对NEC发病有保护作用。

[关键词] 坏死性小肠结肠炎;危险因素;败血症;产前应用激素

Analysis of clinical features of 78 cases of neonatal necrotizing enterocolitis

YANG Jing, LIU Ying, YANG Li*

(Tongzhou Maternal & Child Health Hospital of Beijing, Beijing, China, 100101)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the characteristics and risk factors of neonatal necrotizing enterocolitis (NEC). **Methods** Retrospective analysis was conducted on 78 cases of NEC neonates admitted to our hospital from March 2016 to June 2020, and 100 cases of non-NEC infants during the same period with no statistical difference in general clinical conditions. The regularity of onset time at different gestational ages was studied, and the perinatal data and neonatal comorbidities of the two groups were analyzed by single factor screening. The risk factors of NEC were analyzed by logistic regression. **Results** The median onset time of full-term neonates in 78 NEC children was 3 days, most of which occurred within 7 days. The onset time of premature infants was 34 weeks \pm 1.49 weeks of corrected gestational age, with a median of 7.5 days. There were statistically significant differences in prenatal hormone use between the two groups ($\chi^2=4.218 P<0.05$), and the statistical analysis of sepsis showed that the difference between the two groups was close to P value of 0.05 ($\chi^2=3.574 P=0.059$). Logistic binary regression analysis showed that sepsis was a risk factor for the occurrence of NEC (OR: 13.623, 95% CI: 1.496-124.085, $P<0.05$), and prenatal steroids use in mothers at risk of premature birth had protective effect for the occurrence of NEC (OR: 0.405, 95% CI: 0.188-0.873, $P<0.05$). **Conclusion** This study found that the onset time of NEC in term infants was earlier than that in preterm infants, and basically conformed to the rule that the younger the gestational age, the later the onset time. Neonatal sepsis is a risk factor for the occurrence of NEC, and prenatal use of hormones in mothers at risk of premature delivery has a protective effect on the occurrence of NEC.

[KEY WORDS] Necrotizing enterocolitis; Risk factors; Sepsis; Prenatal steroids

基金项目:北京市卫生健康委员会北京市卫生健康科技成果和适宜技术推广项目(BHTPP202019)

作者单位:北京市通州区妇幼保健院儿科,北京 100101

*通信作者:杨立, E-mail: yangli6121@163.com

坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是新生儿最常见的胃肠道急症之一,多见于早产儿,以及有基础疾病的足月新生儿。其特征为肠粘膜缺血性坏死,并伴炎症、肠道产气微生物侵袭以及气体进入肌层和门静脉系统。在我国,由此病导致的新生儿病死率较高,存活的患儿可出现长期的胃肠道后遗症,如短肠综合征、肠狭窄等。有报道统计NEC在活产儿中的发病率为1%~3%^[1],在极低出生体重(very low birth weight, VLBW, 出生体重<1 500 g)婴儿中为4.5%~8.7%,病死率为20%~30%^[2-3]。坏死性小肠结肠炎发病率及死亡率随胎龄和出生体重的增加而降低。随着生殖技术发展及围产医学能力提高,低出生体重及早产儿的出生率逐年增加,NEC的发生率及死亡率也呈居高不下的水平。通过不断对NEC深入研究,目前对其病因及危险因素仍未完全明了,本研究对NEC患儿进行病例特点及危险因素分析,期望能提高临床医生对NEC病例的早期识别能力,及时采取有效的干预措施,提高NEC患儿的存活率及生存质量。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将2016年3月至2020年6月在北京市通州区妇幼保健院新生儿病区收治的患儿中被诊断为NEC病例78例作为观察组,收集其胎龄、性别、入院体质量临床基本资料,将同时期入院的非NEC患儿中随机抽取100例作为对照组,排除有严重的先天畸形、遗传代谢性疾病患儿,同样收集以上一般资料。两组患者的临床基本资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1,本研究已通过单位伦理委员会批准。所有患儿家属均签署同意书。

表1 两组资料基本情况比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison of basic information between the two groups [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

组别	n	胎龄(w)	性别,男(%)	入院体质量(g)
观察组	78	34.9±3.1	44(56.4)	2456±715
对照组	100	35.6±3.2	56(56.0)	2391±659
χ^2/t 值		-1.621	0.003	0.624
P 值		0.108	0.956	0.534

1.2 NEC的诊断标准^[4]

采取修正的BELL-NEC分级标准^[4]进行诊断及临床分期。

1.3 观察指标

采集两组患儿临床资料,包括围产期资料及新生儿合并疾病情况,如性别、胎龄、入院体质量、有早产风险的母亲产前应用激素、分娩方式、妊娠期高血压、妊娠期糖尿病、呼吸窘迫综合征、红细胞增多症、输血、贫血、新生儿窒息、感染性肺炎、败血症、动脉导管未闭、血小板减少。

1.4 统计学方法

采用SPSS 23.0软件进行统计分析。计量资料符合正态分布者以($\bar{x}\pm s$)形式表示,不符合正态分布者以中位数表示,组间比较应用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 形式表示,用 χ^2 检验。进一步采用Logistics回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NEC观察组病例特点分析

2.1.1 发病时间分析

足月新生儿发病时间最早于生后1天,最晚于生后10天,中位数是3天,大部分发病在7天内,早产儿发病时间于矫正胎龄(34 ± 1.49)周,中位数是7.5天,基本遵循胎龄越小,发病时间越晚的规律。足月儿发病时间较早产儿较早发病。见图1。

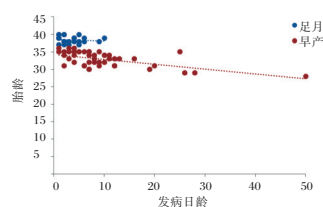


图1 78例NEC患儿发病日龄散点图

Figure 1 Scatter plot of 78 children with NEC at onset

2.1.2 临床症状特点

临床表现存在较大差异性,除了典型的胃肠道症状外,亦可表现为全身非特异性表现。78例NEC患儿中最常见的症状是:腹胀62例(79.4%)、呕吐40例(51.2%)、便血44例(56.4%)、体温不稳定12例(15.3%)、精神反应差14例(17.9%)、呼吸暂停10例(12.8%)、皮肤花12例(15.3%)。见图2。

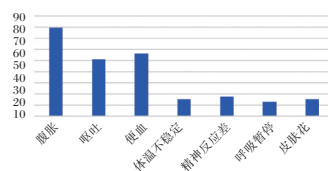


图2 78例NEC患儿临床表现形式

Figure 2 clinical manifestations of 78 children with NEC

2.2 两组资料比较

在两组临床一般资料水平保持一致的情况下,即明确出生体质量、性别、胎龄统计分析具有可比性,分析其他围产资料及新生儿合并疾病是否为NEC高危因素。经过单因素筛查,NEC组早产风险产前激素比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组围产资料比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of perinatal data between the two groups [n(%)]

临床资料	观察组 (n=78)	对照组 (n=100)	χ^2/t 值	P值
自娩	39(50)	49(49)	0.018	0.895
早产风险产前激素 ^b	10/52 ^a (19.2)	22/67 ^a (33.8)	4.218	0.040
宫内窘迫	10(12.8)	6(6.0)	2.492	0.114
妊娠期高血压	9(11.5)	10(10.0)	0.013	0.910
妊娠期糖尿病	15(19.2)	24(24.0)	0.583	0.445
呼吸窘迫综合征	9(11.5)	20(20.0)	2.301	0.129
红细胞增多症	5(6.4)	3(3.0)	0.526	0.468
贫血	15(19.2)	17(17.0)	0.148	0.701
输血	3(3.8)	2(2.0)	0.080	0.778
新生儿窒息	5(6.4)	2(2.0)	1.240	0.266
感染性肺炎	12(15.3)	11(11.0)	0.749	0.387
合并败血症	6(7.7)	1(1.0)	3.574	0.059
动脉导管未闭	6(7.7)	3(3.0)	2.115	0.146
血小板减少	4(5.1)	1(1.0)	1.432	0.231

备注:与对照组中的早产儿比较,^a $P<0.05$;^b表示各组早产患儿中产前激素应用比例。

2.3 NEC高危因素的多因素回归分析

对有早产风险的母亲产前应用激素、合并败血症2个因素进行logistic二元回归分析,显示败血症是NEC发生的独立危险因素,早产风险的母亲产前应用激素对早产儿是保护因素。见表3。

表3 NEC危险因素二元logistic回归分析

Table 3 Binary logistic regression analysis of NEC risk factors

临床资料	β 值	S.B.值	Wald χ^2	P值	OR值	95%CI
产前激素	-0.904	0.392	5.325	0.021	0.405	0.188~0.873
败血症	2.612	1.127	5.369	0.02	13.623	1.496~124.085

3 讨论

新生儿坏死性小肠结肠炎多发生于早产儿,胎龄不同发病时间有所不同,本研究发现,足月新生儿发病时间最早于生后1天,中位数是3天,早产儿发病时间于矫正胎龄(34 ± 1.49)周,中位数为7.5天,足月儿发病时间较早产儿较早,且基本遵循胎龄越小,发病越晚的规律。

NEC临床特点既可表现为典型的胃肠道症状,也可以表现为全身非特异性征象,不同胎龄患

儿临床表现会有差异性,本研究发现足月儿以消化道症状为主要临床表现,早产儿较足月儿更容易表现为全身症状和喂养不耐受。

从1964年首次报道本病,到目前为止,病因及发病机制仍未完全明确,大量研究认为NEC是尚不成熟的胃肠道对多种有害因素所产生的最终反映,是由多种因素综合作用所致^[5-6]。小胎龄及极低出生体重是NEC发生的独立危险因素,因为早产儿胃肠道发育不成熟,分泌胃酸及胰液减少,引起肠蠕动缓慢,细菌在胃肠道内繁殖,产生毒素,破坏肠道屏障引发NEC^[7]。其他因素包括有感染及其炎症反应、缺氧缺血、喂养不当、血管内置管和免疫因素等^[8]。通过影响肠道血液供应,出现局部黏膜缺血,肠道蠕动功能减弱,食物积聚,菌群紊乱,有害微生物乘虚而入,导致肠壁缺血缺氧、炎症损伤,最后出现肠粘膜出血、糜烂和坏死病理性改变。

本研究显示伴发败血症是NEC的危险因素,这与国外的研究结论一致^[9]。当败血症或其他严重感染时,微生物产生的毒素可以对肠道黏膜造成直接损失,或通过激活免疫细胞产生细胞因子,引起血管通透性的改变和组织损伤,使微血管中血小板和白细胞的聚集,血流淤滞加重肠道黏膜损害,同时肠道内病菌的过度繁殖也可直接损伤肠道^[10-11]。另外,NEC患儿肠壁完整性遭到破坏,肠道屏障受损,菌群紊乱,肠道致病菌占优势,菌群移位,其毒素或抗原损害肠壁上皮细胞,易伴发肠源性败血症^[12]。无论是考虑败血症引发的NEC,还是NEC随之出现的败血症,感染、肠壁炎症是其发病关键。而且伴发败血症的NEC往往病情重,肠穿孔发生率增加,死亡率明显升高^[13]。

早产风险的母亲产前应用激素对早产儿有保护作用,这和一项Cochrane系统评价关于具有早产风险的产妇产前使用糖皮质激素可减少早产儿RDS的发生,同时还降低了NEC的发生风险^[14]相一致。大量的试验结果表明,糖皮质激素对胎儿器官包括对胃肠道系统有促成成熟作用。Bortolin等^[15]也证实产前给予皮质激素可以减少大分子物质从肠粘膜吸收,减轻肠坏死,降低死亡率。本研究采用的产前激素方案是对妊娠24~34周有发生早产风险的孕妇给予单疗程的糖皮质激素治疗,临近早产的7天内开始,包括早产前的24h,地塞米松5mg/次,12h1次,肌肉注射,共4次。

综上,本研究显示,NEC患儿中,足月儿发病时间较早产儿较早,而且胎龄越小, (下转第316页)

血清学指标及溶血三项试验对新生儿溶血病早期诊断的价值

薛松* 徐诗雅 孙会丽

[摘要] **目的** 探究溶血三项试验和血清总胆红素、血红蛋白(Hb)、网织红细胞百分比(Ret%)检测对新生儿溶血病(HDN)早期诊断的价值。**方法** 选取2017年7月至2021年7月安徽医科大学附属阜阳医院新生儿科收治的疑似新生儿溶血病患者256例的样本,均进行红细胞系统血型抗体致新生儿溶血病检测,并检测其血清总胆红素、Hb及Ret%含量,分析溶血三项试验和血清总胆红素检测对新生儿溶血病早期诊断的价值。**结果** 256例送检标本中,HDN阳性77例,阳性率为30.08%。直抗试验A-HDN阳性的发生率高于B-HDN($P<0.05$),ABO-HDN患儿中游离试验及放散试验阳性结果差异无统计学意义($P>0.05$)。另统计中发现Rh(D)母婴血型不合4例,直抗试验和放散试验结果均为阳性,并最终都确诊为新生儿Rh-HDN。77例HDN患儿直抗试验阳性40.26%,游离试验阳性96.10%,放散试验阳性为100%;游离试验与放散试验同为阳性占58.44%,直抗试验与放散试验同为阳性占2.60%,放散试验阳性者1.3%,阳性率比较组合2>组合1>组合3>组合4。ROC曲线显示,血清总胆红素、Hb及Ret%预测HDN阳性的AUC分别为0.762、0.809、0.836。**结论** 抗体放散试验对HDN的敏感度最高,ABO血型不合者血型A-HDN的发生率要高于血型B;且联合血清学指标检测利于HDN的早期诊断及治疗。

[关键词] 新生儿溶血病;直接抗人球蛋白试验;游离试验;放散试验;总胆红素

Value of serological indicators and three tests of hemolysis on the early diagnosis of neonatal hemolysis

XUE Song*, XU Shiya, SUN Huili

(Department of Blood Transfusion, Fuyang Hospital, Anhui Medical University, Fuyang, Anhui, China, 236000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the value of the three hemolysis tests and serum total bilirubin, hemoglobin (Hb), reticulocyte percentage (Ret%) testing for the early diagnosis of neonatal hemolysis (HDN). **Methods** Samples from 256 children with suspected hemolytic disease of the newborn who were admitted to the Department of Neonatology, Fuyang Hospital Affiliated to Anhui Medical University from July 2017 to July 2021 were all tested for hemolytic disease of the newborn caused by blood group antibodies of the erythrocyte system, and their serum levels were detected. Contents of bilirubin, Hb and Ret%, analysis of the value of three hemolytic tests and detection of serum total bilirubin in the early diagnosis of hemolytic disease of the newborn. **Results** Among the 256 samples submitted, 77 were HDN positive, with a positive rate of 30.08%. The incidence of A-HDN positive in direct antibody test was higher than that of B-HDN ($P<0.05$). There was no significant difference in the positive results of free test and emission test among children with ABO-HDN ($P>0.05$). In addition, 4 cases of Rh (D) maternal and infant blood group incompatibility were found in the statistics, and the results of direct resistance test and emission test were positive, and all of them were finally diagnosed as neonatal Rh-HDN. 40.26% of the 77 children with HDN were positive in the direct resistance test, 96.10% in the free test, and 100% in the emission test; 58.44% were both positive in the free

基金项目:安徽省公益性研究联动计划项目(15011d04060)

作者单位:安徽医科大学附属阜阳医院输血科,安徽,阜阳236000

*通信作者:薛松, E-mail: xheroin@163.com

test and the emission test, 2.60% were both positive in the direct resistance test and the emission test, 1.3% were positive in the emission test, and the positive rate was compared to combination 2 > combination 1 > combination 3 > combination 4. The ROC curve showed that the AUCs of serum total bilirubin, Hb and Ret% for predicting HDN positivity were 0.762, 0.809 and 0.836, respectively. **Conclusion** Antibody release test has the highest sensitivity to HDN, the incidence of A-HDN in ABO incompatibility than B; and combined serological test is conducive to the early diagnosis and treatment of HDN. Detection of serum total bilirubin is beneficial to the early diagnosis and treatment of HDN.

[KEY WORDS] Hemolytic disease of the newborn; Direct anti-human globulin test; free test; release test; total bilirubin

新生儿溶血症(hemolytic disease of the newborn, HDN)为免疫性溶血性疾病,其致病原因为母婴血型不合而起,黄疸、贫血、肝脾肿大及水肿为HDN的主要临床表现^[1]。其机制主要为:胎儿红细胞进入母体循环中,促使母体体内相应的IgG抗体产生,并作用于胎儿红细胞,进一步使胎儿免疫系统中的红细胞清除而导致的溶血现象^[2]。血清学诊断为HDN的有效诊断方式,主要体现为溶血三项实验(直接抗人球蛋白试验、游离抗体试验及放散试验)。近年来的研究中溶血三项试验对新生儿HDN的早期诊断的报道已较多,但可能受限于样本量及地区差异,所得出的结果不一^[3]。且血清总胆红素分为直接胆红素及间接胆红素两种,其对新生儿黄疸、溶血病等疾病的早期诊断的作用已得到临床证实^[4]。为进一步提高HDN的早期诊断,本研究探讨溶血三项试验和血清总胆红素检测对新生儿溶血病早期诊断的价值,结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年7月至2021年7月安徽医科大学附属阜阳医院新生儿科收治的疑似新生儿溶血病患者送检标本256例进行红细胞系统血型抗体致新生儿溶血病检测。纳入标准:①母婴ABO血型不合;②新生儿出现高胆红素血症;③放散试验阳性。排除标准:①合并其他先天性发育畸形疾病;②患儿家属不同意参与本研究。入选患儿中男、女各129、127例,年龄0 h~33 d。本研究经院医学委员会批准,研究患儿家属均签署知情同意书。

1.2 检测方法

1.2.1 主要仪器及试剂

ABO正反定型及RhD血型定型试剂卡(柱凝集法)、抗人球蛋白检测卡(柱凝集法)均由奥森多临床诊断(英国)有限责任公司提供;人ABO血型反定型

用红细胞试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司); ORTHO™ Workstation 血型及配血离心孵育工作组(奥森多临床诊断(英国)有限责任公司); HH-S2 数显恒温水浴锅(江苏金怡仪器科技有限公司)、DT5-6 库专用离心机(北京时代北利离心机有限公司)。

1.2.2 方法

采集256例疑似新生儿溶血病患者静脉血3 mL,参照《全国临床检验操作规程》^[5],采用微柱凝胶技术行血型血清检测。检查前需确定母亲及患儿血型,并对母婴血型不合的患儿进行溶血三项试验,其中放散试验采用热放散试验检测,患儿的血清总胆红素用生化仪检测、Hb及Ret%用细胞分析仪进行检测。

1.2.3 结果判定^[6]

①阳性:表现为通过离心试剂卡红细胞留置于微柱上端或分布于凝胶柱体中,②阴性:表现为通过离心试剂卡红细胞沉降至微柱底部。

1.3 分组

根据HDN诊断标准^[7](母婴血型不合,释放试验或直抗试验提示阳性),将确诊的HDN患儿按照溶血三项试验阳性结果进行分组。组合1:新生儿溶血三项试验均为阳性;组合2:游离试验与放散试验阳性;组合3:直抗试验与放散试验同为阳性;组合4:放散试验阳性。

1.4 统计学处理

采用统计软件SPSS 22.0处理数据,计数资料用n(%)表示,行 χ^2 检验;符合正态分布的血清总胆红素的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本t检验;预测价值评估采用ROC曲线分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HDN 血型分布结果

256例送检样本中,确诊的77例HDN患儿中,

其中直抗试验 A-HDN 阳性的发生率高于 B-HDN, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), ABO-HDN 患儿中游离试验及放散试验阳性结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。另统计中发现 Rh(D) 母婴血型不合 4 例, 直抗试验和放散试验结果均为阳性, 并最终都确诊为新生儿 Rh-HDN。见表 1。

表 1 77 例 ABO HDN 结果比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of 77 ABO HDN results [n(%)]

血型	例数	直抗试验	游离试验	放散试验
A 型	46	25(54.35)	45(97.83)	46(100.00)
B 型	31	6(19.35)	29(93.55)	31(100.00)
χ^2 值		9.429	0.905	0.000
P 值		0.002	0.341	1.000

2.2 溶血三项试验结果

256 例送检标本中, HDN 阳性 77 例 (30.08%)。77 例 HDN 患儿直抗试验阳性 40.26% (31/77), 游离试验阳性 96.10% (74/77), 放散试验阳性为 100%; 直抗试验、游离试验与放散试验三项全阳性占 37.66%, 游离试验与放散试验同为阳性占 58.44%, 直抗试验与放散试验同为阳性占 2.60%, 放散试验阳性者 1.3%, 阳性率比较组合 2 > 组合 1 > 组合 3 > 组合 4, 组合 2 阳性率与其他各组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 溶血三项试验结果 [n(%)]

Table 2 Results of three tests for hemolysis [n(%)]

组别	直抗试验	游离试验	放散试验	阳性数 (%)
组合 1	+	+	+	29(37.66)
组合 2	-	+	+	45(58.44) ^a
组合 3	+	-	+	2(2.60) ^{ab}
组合 4	-	-	+	1(1.30) ^{abc}
χ^2 值				89.456
P 值				<0.001

注: 与组合 1 比较, ^a $P < 0.05$; 与组合 2 比较, ^b $P < 0.05$, 与组合 3 比较, ^c $P < 0.05$ 。

2.3 不同时间新生儿溶血病患病率

年龄 < 3 d 的患儿 HDN 发生率显著高于年龄 ≥ 3 d 的患儿, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而年龄 < 3 d 的 HDN 患儿血清总胆红素显著低于年龄 ≥ 3 d 的 HDN 患儿 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同时间新生儿 HDN 患病率比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the prevalence of neonatal HDN at different times ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	阳性例数 (n)	阳性率 (%)	血清总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)
年龄 < 3 天	157	59	37.60	163.95 \pm 93.11
年龄 ≥ 3 天	99	18	18.18	283.49 \pm 125.50
χ^2 值			10.863	-4.380
P 值			0.001	<0.001

2.4 HDN 患儿血清总胆红素、Hb 及 Ret% 比较

结果显示, HDN 阳性患儿的血清总胆红素、Ret% 值均显著高于 HDN 阴性患儿, Hb 显著低于 HDN 阴性患儿 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 HDN 患儿血清总胆红素、Hb 及 Ret 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum total bilirubin, Hb and Ret in children with HDN ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	Hb (g/L)	Ret (%)
HDN 阳性	77	191.89 \pm 112.84	151.21 \pm 12.56	5.21 \pm 1.24
HDN 阴性	479	101.42 \pm 30.12	168.49 \pm 13.85	3.55 \pm 1.01
t 值		9.956	9.408	11.237
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 血清总胆红素、Hb 及 Ret% 对新生儿溶血病早期诊断的价值

以 HDN 患儿疾病类型为状态变量, 以 HDN 阳性为参照, 以血清总胆红素、Hb 及 Ret% 为检验指标联合绘制 ROC 曲线, 结果显示, 血清总胆红素、Hb 及 Ret% 预测 HDN 阳性的 AUC 分别为 0.762、0.809、0.836。见表 5, 图 1。

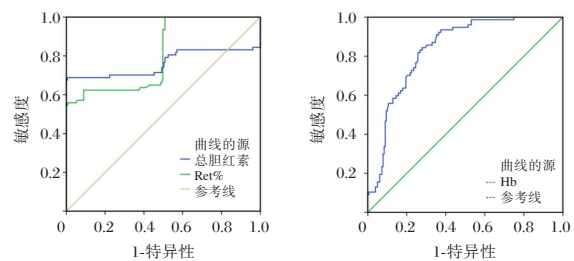


图 1 血清总胆红素、Hb 及 Ret% 对新生儿溶血病早期诊断的价值

Figure 1 The value of serum total bilirubin, Hb and Ret% in the early diagnosis of hemolytic disease of the newborn

表 5 血清总胆红素、Hb 及 Ret% 对新生儿溶血病早期诊断的价值

Table 5 The value of serum total bilirubin, Hb and Ret% in the early diagnosis of hemolytic disease of the newborn

检验项目	AUC	标准误	95%CI	最佳临界值	约登指数	敏感度	特异度	P 值
血清总胆红素	0.762	0.044	0.676-0.848	141.53	0.677	0.688	0.989	0.000
Hb	0.809	0.030	0.750-0.869	164.46	0.561	0.935	0.626	0.000
Ret	0.836	0.025	0.787-0.885	3.12	0.492	1.000	0.492	0.000

3 讨论

溶血三项试验为目前临床 HDN 诊断的有效方法,其中放散试验及直接抗人球蛋白试验为患儿红细胞上结合的血型抗体的检测方法,可作为 HDN 确诊的方法之一。游离抗体试验为患儿血清中来自母体的血型抗体,不作为诊断依据。HDN 为多种原因作用的结果,其中母婴 ABO 血型不合最为常见。临床指出,当母亲为 Rh 抗原阴性时,胎儿为 Rh 抗原阳性,此则提示母婴 Rh 血型系统不合^[8]。且已有资料显示,存在于胎儿红细胞膜上的 Rh 抗原,其数量可随妊娠时间的延长而不断增加,故患病风险也随之增加^[9]。另研究指出,Rh-HDN 好发于多胎及多次输血后的孕产妇,其发生率较 ABO 型少,但一旦发生,溶血程度更加严重^[10]。本研究中结果显示 Rh(D)母婴血型不合 4 例,直抗试验和放散试验结果均为阳性,并最终都确诊为新生儿 Rh-HDN,提示 Rh-HDN 溶血三项试验中的直抗和放散试验阳性率要高于 ABO-HDN 溶血三项试验中的直抗试验和放散试验阳性率。

游离抗体试验主要用于检测胎儿血清中 IgG 类抗体,利于患儿 HDN 疾病的观察及治疗。本研究中,游离试验阳性率为 96.10%,提示游离试验检测的敏感性高。但本研究中,HDN 患儿游离抗体检测也存在阴性结果,其可能与母体 IgG 进入胎儿体内的量有关。另放散试验为 HDN 的确诊依据,其检测阳性提示患儿红细胞被母体 IgG 抗 A、B 抗体致敏。本研中,经溶血三项试验检测后,放散试验阳性为 100%;对本研究中 HDN 结果进行组合,结果显示游离试验与放散试验同为阳性的阳性率显著高于其他各组合,而确诊的 Rh-HDN 的直抗试验和放散试验结果均为阳性。提示,溶血三项试验对新生儿 HDN 的早期诊断价值高。

已有研究指出,HDN 的致病原因与母亲体内 IgG 血型免疫抗体的种类及胎儿红细胞表面抗原有关,而 IgG 抗体可经胎盘进入到胎儿体内中,进一步造成溶血现象^[11]。而 O 型血人体中包含 IgG 抗 A 及 IgG 抗 B 抗体,ABO-HDN 在怀有 A 型或 B 型胎儿的 O 型母亲中的发生率高,故临床认为对于 O 型产妇的 A、B 型婴儿进行 HDN 检测十分必要。且临床资料指出,因抗-A 引起 HDN 高于抗-B,且胎儿红细胞上 A 位点也多于 B 位点,因此对于 ABO 血型不合者血型 A-HDN 的发生率要高于

血型 B^[12]。本研究中,直抗试验 A-HDN 阳性的发生率高于 B HDN,ABO-HDN 患儿中游离试验及放散试验阳性结果差异无统计学意义。

ABO-HDN 患儿相对比较常见,临床主要表现为黄疸、血红胆红素的升高、贫血及水肿等。血清总胆红素主要受由体内衰老的红细胞裂解影响,其经裂解后可促进大量的血红蛋白释放,促使机体中总胆红素水平显著升高,可分为直接胆红素及间接胆红素两种。已有研究指出,ABO-HDN 的发生为短时间内大量红细胞的破坏而起,其可造成红细胞数量急剧减少,进而刺激骨髓造血,致使其增生,进一步造成外周血中网织红细胞增加^[13]。本研究中,HDN 阳性患儿的血清总胆红素、Ret% 值均显著高于 HDN 阴性患儿,Hb 显著低于 HDN 阴性患儿。且 ROC 曲线显示,血清总胆红素、Hb 及 Ret% 预测 HDN 阳性的 AUC 分别为 0.762、0.809、0.836,均具有一定准确性。该结果提示血清总胆红素、Hb 及 Ret% 对 ABO-HDN 具有一定的诊断价值。因此对于可疑 HDN 的患儿应尽早进行溶血三项试验和血清总胆红素测定,以明确新生儿 HDN 严重程度,为 HDN 的临床早期诊断及治疗方案的确 定提供参考。另本研究中,年龄<3d 的患儿 HDN 发生率显著高于年龄≥3 天的患儿,但血清总胆红素显著低于年龄≥3 天的 HDN 患儿。该结果与杨军^[14]等研究人员的结果:日龄≤3 天的 HDN 新生儿血清总胆红素高于日龄>3 d 的新生儿的结论存在一定的差异性。分析原因为:送检时间越迟,ABO-HDN 阳性率越低、胆红素水平显著升高,有可能是新生儿血液中被致敏的红细胞随出生时间的延长通过单核巨噬细胞系统代谢破坏,导致溶血三项阳性率降低;同时由于大量红细胞被破坏超出了肝脏处理胆红素的能力,导致胆红素水平逐渐升高。

综上所述,放散试验对新生儿 HDN 的敏感度最高,ABO 血型不合者血型 A-HDN 的发生率要高于血型 B;且联合血清学指标检测利于新生儿 HDN 的早期诊断及治疗。临床可根据检测结果,针对性的加强早期诊断及治疗,以促进新生儿的早期康复。

参考文献

- [1] Vats K, Watchko JF. Coordinating Care Across the Perinatal Continuum in Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn: The Timely Handoff of a Positive Maternal Anti-Erythrocyte Antibody Screen[J]. J Pediatr, 2019, 214: 212-216.

- [2] Ree I, Oever R, Jansen L, et al. School performance and behavioral functioning in children after intrauterine transfusions for hemolytic disease of the fetus and newborn [J]. *Early Hum Dev*, 2021, 157(7):105381.
- [3] 张燕利. 新生儿溶血病血清学检测对新生儿黄疸的诊断价值[J]. *临床检验杂志(电子版)*, 2019, 8(1):63-65.
- [4] 薛怀建, 王丹, 盛玮. NPY、TSB/ALB、LDH对新生儿高胆红素血症脑病预测效能[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(8):1337-1340.
- [5] 许根友. 学习《全国临床检验操作规程》(第3版)第一篇对检验工作的实际意义[J]. *临床血液学杂志(输血与检验版)*, 2010, 23(6):759-760.
- [6] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2002:224-225.
- [7] 余忠清, 梁涛, 胡丽华. 新生儿溶血病临床研究进展[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5(12):3554-3556.
- [8] Alshehri AA, Jackson DE. Non-Invasive Prenatal Fetal Blood Group Genotype and Its Application in the Management of Hemolytic Disease of Fetus and Newborn: Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Transfus Med Rev*, 2021, 35(2):85-94.
- [9] 卢春柳, 苏建聪, 黄剑, 等. 广西孕产妇RhD阴性血型抗D抗体产生与新生儿溶血病的相关性分析[J]. *临床输血与检验*, 2019, 21(4):345-347.
- [10] Moosavi M, Ma Y, Baez J, et al. Resolving Blocked Antigen Phenomenon in Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn Due to Anti-K[J]. *Transfus Med Rev*, 2020, 34(2):124-127.
- [11] 姚超峰. 脐带血血清总胆红素检测在新生儿ABO溶血病早期诊治中的临床价值[J]. *河北医学*, 2018, 24(5):730-734.
- [12] 杨蛟, 努尔亚·热加甫, 阿依加马力·木合台尔. 血型、血清检测与高胆红素血症患儿ABO新生儿溶血病的相关性研究[J]. *贵州医药*, 2019, 43(4):628-629.
- [13] 褚秀清. 联合检测溶血三项和血清中总胆红素水平对由ABO-新生儿溶血病引起高胆红素血症的早期诊断价值[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(4):677-679.
- [14] 杨军, 刘莺燕, 刘小平, 等. 脐带血总胆红素水平早期诊断新生儿溶血病的临床价值[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(7):973-976.

(上接第311页)

发病时间越晚。新生儿伴发败血症是NEC的危险因素, 早产风险的母亲产前规范应用激素对NEC发病有保护作用。

参考文献

- [1] Kosloske AM. Epidemiology of necrotizing enterocolitis [J]. *Acta Paediatr Suppl*, 1994, 396(Suppl 396):2-7.
- [2] Jiang S, Yan W, Li S, et al. Mortality and Morbidity in Infants <34 Weeks' Gestation in 25 NICUs in China: A Prospective Cohort Study [J]. *Front Pediatr*, 2020, 8:33.
- [3] Eaton S, Rees CM, Hall NJ. Current Research on the Epidemiology, Pathogenesis, and Management of Necrotizing Enterocolitis [J]. *Neonatology*, 2017, 111(4):423-430.
- [4] Walsh MC, Kliegman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis: a practitioner's perspective [J]. *Pediatr Rev*, 1988, 9(7):219-226.
- [5] Avery ME, Fletcher BD, Williams RG. The lung and its disorders in the newborn infant. *Major Probl Clin Pediatr*, 1981, 14th Edition: 1-367.
- [6] Bhatia J. Strategies to prevent necrotizing enterocolitis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(20):2759-2765.
- [7] 蔺小培, 顾志成. NEC发病机制及诊断方法的研究进展 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2013(4):610-612.
- [8] Stout G, Lambert DK, Baer VL, et al. Necrotizing enterocolitis during the first week of life: a multicentered case-control and cohort comparison study [J]. *J Perinatol*, 2008, 28(8):556-560.
- [9] Stout G. Necrotizing enterocolitis during the first week of life: a multicentered case-control and cohort comparison study [J]. *J Perinatol*, 2008, 28(8):556-560.
- [10] Baucells BJ, Mercadal Hally M, Álvarez Sánchez AT, et al. Asociaciones de probióticos para la prevención de la enterocolitis necrosante y la reducción de la sepsis tardía y la mortalidad neonatal en recién nacidos pretérmino de menos de 1.500g: una revisión sistemática [Probiotic associations in the prevention of necrotizing enterocolitis and the reduction of late-onset sepsis and neonatal mortality in preterm infants under 1,500g: A systematic review] [J]. *An Pediatr (Barc)*, 2016, 85(5):247-255.
- [11] Anand RJ, Leaphart CL, Mollen KP, et al. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis [J]. *Shock*, 2007, 27(2):124-133.
- [12] Bizzarro MJ, Ehrenkranz RA, Gallagher PG. Concurrent bloodstream infections in infants with necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr*, 2014, 164(1):61-66.
- [13] Roberts D, Brown J, Medley N, et al. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 3(3):CD004454.
- [14] Bortolin L, Boer M, Christiansen S, et al. Efectos de la administración de glucocorticoides prenatales en el desarrollo de la enterocolitis necrosante en neonatos de rata wistar [Effects of prenatal steroids in the development of necrotizing enterocolitis in Wistar rat neonates] [J]. *Arch Argent Pediatr*, 2011, 109(1):24-29.
- [15] Bortolin L, et al. [Effects of prenatal steroids in the development of necrotizing enterocolitis in Wistar rat neonates]. *Arch Argent Pediatr*, 2011, 109(1):24-9.

· 论 著 ·

复方丹参滴丸对老年冠心病心绞痛 sCD40L、Lp-PLA2 水平的影响

李耀征* 白保强 马向阳 孙亚勤

[摘要] **目的** 分析丹参滴丸治疗老年冠心病心绞痛(AP)对血脂代谢和溶 CD40 配体(sCD40L)、脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)水平的影响。**方法** 选取2020年2月至2021年2月在马店市中心医院收治的96例AP患者,将患者随机分成对照组和观察组各48例。对照组采用阿托伐他汀治疗,观察组在此基础上联合复方丹参滴丸治疗。两组患者均治疗1个月,观察两组患者临床疗效。酶法检测血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG);直接法检测低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平;彩色多普勒超声检测患者左室射血分数(LVEF)、心脏指数(CI)、左心室收缩末期内径(LVSD)及左心室舒张末期内径(LVDD);酶联免疫法检测血清可溶 CD40 配体(sCD40L)、脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)、C反应蛋白(CRP)、白介素6(IL-6)。**结果** 观察组治疗后总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,观察组 TC、TG 和 LDL-C 水平低于对照组, HDL-C 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,观察组 LVEF、CI 水平高于对照组, LVDD、LVSD 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,观察组 Lp-PLA2、sCD40L、CRP 和 IL-6 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组患者总不良反应比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 阿托伐他汀联合复方丹参滴丸治疗老年 AP 可有效改善患临床疗效,降低炎症因子水平,改善心功能。

[关键词] 冠心病心绞痛;阿托伐他汀;复方丹参滴丸;血脂代谢

Effects of Compound Danshen Dropping Pills on the Levels of sCD40L and Lp-PLA2 in Elderly Patients with Coronary Heart Disease and Angina Pectoris

LI Yaozheng*, BAI Baoqiang, MA Xiangyang, SUN Yaqin

(Department of Cardiology, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian, Henan, China, 463000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of compound Danshen dripping pills on levels of soluble CD40 ligand (sCD40L) and lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) in the elderly patients with coronary heart disease and angina pectoris (AP). **Methods** A total of 96 patients with AP admitted to Zhumadian Central Hospital were enrolled between February 2020 and February 2021. They were divided into the control group and the observation group by random number table method, 48 cases in each group. The control group was treated with atorvastatin, while the observation group was additionally treated with compound Danshen dripping pills. Both groups were treated for 1 month. The clinical curative effect in both groups was observed. The levels of serum total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) were detected by enzyme method. The levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected by direct method. The left ventricular ejection fraction (LVEF), cardiac index (CI), left ventricular end systolic diameter (LVSD) and left ventricular end diastolic diameter (LVDD) were detected by color Doppler ultrasound. The levels of serum sCD40L, Lp-PLA2, C-reactive protein (CRP) and interleukin 6 (IL-6) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The total effective rate in the

基金项目:河南省攻关计划项目(202004237)

作者单位:驻马店市中心医院心血管内二科,河南,驻马店 463000

*通信作者:李耀征, E-mail:liyaozheng2021@163.com

observation group after treatment was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of TC, TG and LDL-C in the observation group were lower than those in the control group, and the levels of HDL-C were higher than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). After treatment, the levels of LVEF and CI in the observation group were higher than those in the control group, while the levels of LVDD and LVSD in the observation group were lower than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). After treatment, the levels of Lp-PLA2, sCD40L, CRP and IL-6 in the observation group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in total incidence of adverse reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Atorvastatin combined with compound Danshen dripping pills can effectively improve the clinical efficacy of elderly patients with AP, reduce the level of inflammatory factors, and improve cardiac function.

[KEY WORDS] Coronary heart disease and angina; Atorvastatin; Compound Danshen dripping pill; Blood lipid metabolism

冠心病是由于冠状动脉粥样硬化导致心肌缺血、缺氧的心脏病^[1]。心绞痛是冠心病常见的临床类型之一,好发于男性,多数为中老年患者。冠心病心绞痛(Angina pectoris, AP)死亡率位居心血管疾病中第一位,且其发病率常年居高不下^[2]。当前,大量研究证实高脂血症与心绞痛发生有关,临床治疗AP以降脂为主^[3]。目前西医药物治疗冠心病以抗血小板、扩冠等为主,介入治疗、外科手术等为辅,但对于存在脂质代谢的患者而言,常规的西医药物治疗不能有效地调节血脂代谢、控制疾病慢性进展及心脏不良事件的发生^[4]。有研究表明,中医药对减轻冠心病临床症状、缓解疾病发展进程、改善患者预后、提高患者生活质量有良好帮助^[5]。AP属于中医学“胸痹”“心痛”范畴,其中复方丹参滴丸作为一种中药制剂,有活血化瘀、理气止痛的功效,具有安全性高、效果可靠等优势。本研究旨在观察阿托伐他汀联合复方丹参滴丸治疗老年冠心病合并心绞痛临床疗效及其对血脂代谢水平的影响,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年2月至2021年2月马店市中心医院收治的96例AP患者作为研究对象。纳入标准:符合《心血管系统药物临床研究指导原则》中AP诊断标准^[6];入组前未接受过治疗;临床资料完整者;自愿参与本次研究。排除标准:合并严重的心肝肾等重要脏器并发症、糖尿病;语言或精神障碍的患者;不稳定型心绞痛患者;对本次研究所使用药物过敏者。将患者随机分成对照组和观察

组,每组48例。两组患者年龄、性别、病程等基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究已获得院伦理委员会的批准。

表1 两组患者一般资料 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison general data between the two groups [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

组别	<i>n</i>	男	女	平均年龄(岁)	冠心病平均病程(年)
观察组	48	36(75.00)	12(25.00)	63.54±5.64	3.98±1.43
对照组	48	32(66.67)	16(33.33)	62.23±5.21	4.12±1.56
t/χ^2 值		0.807		1.182	0.458
<i>P</i> 值		0.369		0.240	0.648

1.2 治疗方法

两组患者均给予抗血小板、抑制重塑、预防猝死等治疗。对照组给予阿托伐他汀片(商品名:立普妥,生产厂家:辉瑞制药有限公司,国药准字C14202003390)治疗,20 mg/d;心绞痛发作时舌下含服硝酸甘油片(山东信谊制药有限公司,国药准字H37021445),每次0.3~0.6 mg,连续治疗1个月。观察组在对照组的基础上给予复方丹参滴丸(商品名:天士力复方丹参滴丸,生产厂家:天津天士力制药股份有限公司,国药准字Z10950111),每次10粒,每日3次,连续治疗1个月。

1.3 疗效评价^[7]

临床疗效:显效:临床症状消失,心电图导联ST段恢复为正常,且T波变为正常;有效:临床症状缓解,心电图ST段回升0.05 mV以上,主要导联T波变浅50%以上,但未恢复正常;无效:治疗后临床症状未消失,且心电图未所变化。总有效率为显效率与有效率之和。

1.4 检测方法

患者治疗前后,取清晨空腹静脉血2 mL,离心

取上清液,采用酶法检测血清中总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG),直接法检测低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein, HDL-C)水平。采用彩色多普勒超声检测心功能指标,包括左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、心脏指数(cardiac index, CI)、左心室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter, LVSD)及左心室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVDD)等。采用酶联免疫法检测血清可溶 CD40 配体(soluble CD40 ligand, sCD40L)、脂蛋白相关磷脂酶 A2(lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2)、C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)、白介素 6(interleukin, IL-6),试剂盒均购自上海基免实业有限公司,操作严格遵守说明书进行。

1.5 不良反应观察

比较两组患者治疗期间出现不良反应,包括头痛、眩晕、胃肠道不适等。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件分析实验所得数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

治疗后,观察组总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者临床疗效比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of clinical curative effect between 2 groups [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	48	36(75.00)	11(22.92)	1(2.08)	97.91
对照组	48	30(62.50)	13(27.08)	5(10.42)	89.58
χ^2 值					2.844
P 值					0.092

2.2 两组治疗前后血脂水平比较

两组患者治疗前血脂水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组患者治疗后 TC、TG 和 LDL-C 水平均下降, HDL-C 水平均升高($P < 0.05$)。治疗后,观察组 TC、TG 和 LDL-C 水平低于对照组, HDL-C 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 两组患者治疗前后心脏功能参数比较

两组患者治疗前心脏功能参数比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组患者治疗后 LVEF、CI 水平均上升, LVDD、LVSD 水平均下降差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组患者血清 sCD40L、Lp-PLA2 水平比较

治疗前,两组患者血清 Lp-PLA2、sCD40L、CRP 和 IL-6 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,观察组患者血清 Lp-PLA2、sCD40L、CRP 和 IL-6 明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

2.5 两组患者在治疗期间不良反应比较

两组患者在治疗期间不良反应比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 6。

表 3 两组患者治疗前后血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 3 Comparison of blood lipid level between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TC		TG		LDL-C		HDL-C	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	48	5.78±0.51	4.55±0.39	1.92±0.38	1.33±0.23	3.79±0.82	3.79±0.82	1.34±0.31	1.34±0.31
对照组	48	5.64±0.48	3.57±0.35	1.88±0.35	1.56±0.26	3.68±0.76	3.68±0.76	1.36±0.28	1.36±0.28
t 值		1.088	10.976	0.536	4.590	0.682	0.682	0.332	0.332
P 值		0.279	<0.001	0.593	<0.001	0.497	0.497	0.741	0.741

表 4 两组患者治疗前后心功能参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of cardiac function parameters between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEF(%)		LVDD(cm)		LVSD(mm)		CI(L·min ⁻¹ ·m ⁻²)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	48	40.85±3.85	51.01±4.23	5.76±0.54	4.22±0.43	47.03±3.68	37.44±3.32	3.12±0.64	3.64±0.55
对照组	48	40.21±4.01	47.23±3.68	5.88±0.66	5.01±0.51	46.94±3.54	40.23±3.17	3.24±0.60	4.01±0.58
t 值		0.798	4.671	0.975	8.205	0.122	4.211	0.948	3.207
P 值		0.427	<0.001	0.332	<0.001	0.903	<0.001	0.346	0.001

表5 两组患者血清sCD40L、Lp-PLA2水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of serum sCD40L and Lp-PLA2 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Lp-PLA2(mg/L)		sCD40L(ng/L)		CRP(mg/L)		IL-6(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	48	263.42±31.57	263.42±31.57	468.24±36.28	284.45±14.65	6.84±1.55	3.22±0.51	9.86±1.47	3.35±1.12
对照组	48	261.56±31.13	261.56±31.13	461.53±36.33	358.21±15.32	6.79±1.52	4.87±0.46	9.91±1.49	5.01±1.15
t值		0.291	0.291	0.444	24.108	0.159	16.645	0.165	7.164
P值		0.771	0.771	0.658	<0.001	0.874	<0.001	0.868	<0.001

表6 两组患者在治疗期间不良反应比较[n(%)]

Table 6 Comparison of adverse reactions between the two groups during treatment [n(%)]

组别	n	头痛	眩晕	胃肠道不适	总不良反应率
观察组	48	0(0.00)	1(2.08)	1(2.08)	2(4.16)
对照组	48	1(2.08)	0(0.00)	2(4.16)	3(6.25)
χ^2 值					0.211
P值					0.646

3 讨论

AP危险因素众多,其发作主要由于血脂代谢紊乱引起内皮功能下降,LDL-C通过受损的内皮进入管壁内膜,在巨噬细胞分泌的很多生长因子和促炎介质的作用下逐渐形成脂质条纹,继而演变成纤维脂肪病变及纤维斑块,从而导致冠脉管腔狭窄甚至闭塞。若AP发作频繁,未及时采取有效的控制手段,容易发展成急性心肌梗死,引发死亡^[7]。由此可见,血脂代谢异常是AP发作重要诱因,应以调节血脂代谢为本病主要治疗原则。

本研究结果提示阿托伐他汀联合复方丹参滴丸可改善改善AP患者血脂代谢。复方丹参滴丸主要成分为丹参、三七、冰片,具有活血化瘀、理气止痛的作用,临床上常用于气滞血瘀所致的憋闷、心绞痛等^[8]。既往研究显示,阿托伐他汀钙片联合复方丹参滴丸治疗方案可降低糖尿病视网膜病变合并高血脂患者TG、TC、LDL-C水平,提高HDL-C水平,有效改善血脂^[9]。亦有研究显示,阿托伐他汀钙片联合复方丹参滴丸可有效稳定颈动脉粥样硬化患者血脂水平,减少斑块形成^[10]。这些研究均表明阿托伐他汀钙片联合复方丹参滴丸对调节血脂有良好的作用,与本文研究基本相符。

AP患者冠脉狭窄,影响患者心脏功能。本文通过检查心脏功能参数,结果显示,两组患者治疗后LVEF、CI水平均上升,LVDD、LVSD水平均下降;观察组LVEF、CI增加幅度大于对照组,LVEF、CI减小幅度大于对照组。LVEF是判断心力衰竭类型的重要指征之一;临床上CI是心脏变化的指

标,用于检测心脏是否存在异常^[11]。本文研究结果显示,阿托伐他汀联合复方丹参滴丸治疗AP患者可有效改善患者心脏功能,降低患者心绞痛频率。既往研究显示,阿托伐他汀钙片联合复方丹参滴丸可提高冠心病并高脂血症患者LVEF、CO、CI水平,降低LVEDD水平,有效改善患者心功能状态^[12]。亦有研究显示,复方丹参滴丸联合阿伐他汀可有效改善冠心病合并高脂血症患者心功能^[13]。这些研究均表明阿托伐他汀钙片联合复方丹参滴丸能有效改善病患心功能,与本文研究基本相符。

本研究结果显示,观察组患者治疗后血清Lp-PLA2、sCD40L、CRP和IL-6水平明显低于对照组。冠心病患者血清Lp-PLA2水平与纤维脂质斑块纤维帽厚度相关,可有效评估患者冠状动脉粥样硬化斑块状态^[14]。sCD40L是趋化相关因子,能够通过诱导下游趋化因子的富集,最终促进AP患者病情发展。既往研究显示,冠心病采取临床治疗后,sCD40L水平明显下降,并且其表达水平与患者炎症反应有关^[15]。本研究结果提示,采用阿托伐他汀联合复方丹参滴丸治疗AP患者可有效降低患者炎症水平。

综上所述,采用阿托伐他汀联合复方丹参滴丸治疗AP患者具有显著的效果,可调节血脂水平、增强心脏功能、抑制炎症反应,具有一定的安全性,可在临床治疗中推广应用。

参考文献

- [1] 孙慧,花继平.美托洛尔联合心脉通胶囊对老年冠心病患者血脂、心功能及血液流变学的影响分析[J].中南医学科学杂志,2020,48(1):18-21.
- [2] Liu L, He X, Feng Y. Coronary heart disease and intestinal microbiota[J]. Coron Artery Dis, 2019, 30(5):384-389.
- [3] Stewart J, McCallin T, Martinez J, et al. Hyperlipidemia [J]. Pediatr Rev, 2020, 41(8):393-402.
- [4] Tian Y, Deng P, Li B, et al. Treatment models of cardiac rehabilitation in patients with coronary heart disease and related factors affecting patient compliance[J]. Rev Card Med, 2019, 20(1):27-33.

· 论 著 ·

食管测压联合食管 PH-阻抗监测对非典型症状 GERD 的诊断价值

古岳* 雷鸽 范筱

[摘要] **目的** 探讨高分辨率食管测压联合 24 小时食管 PH-阻抗监测对非典型症状胃食管反流病(GERD)的诊断价值。**方法** 选取 2018 年 7 月至 2020 年 7 月以南阳市第二人民医院收治的非典型症状 GERD 患者 150 例(病例组),对照组 150 例(同期健康体检者)。病例组其中糜烂性食管炎(EE)组 32 例、非糜烂性反流病(NERD)组 118 例,对照组(同期健康体检者),均行高分辨率食管测压、24 小时食管 PH 阻抗监测,收集纳入患者电子胃镜检查结果,比较探讨高分辨率食管测压联合 24 小时食管 PH-阻抗检测对非典型症状 GERD 的诊断及评估价值。**结果** 三组收缩前沿速度(CFA)、远端收缩积分(DIC)依次递增,差异有统计学意义($P<0.05$),其中 EE 组、NERD 组 CFA、DIC 低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),且 EE 组 CFA、DIC 低于 NERD 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。EE 组、NERD 组、对照组 pH<4 次数/次、最长反流时间指标中上、下电极参数均依次递减,差异有统计学意义($P<0.05$),其中 EE 组、NERD 组上述指标均明显高于对照组,且 EE 组各指标参数均明显高于 NERD 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。病例组(EE 组+NERD 组)和对照组分别采用联合检测法(高分辨率食管测压联合 24 小时食管 PH 阻抗监测)诊断试验评估,灵敏度=83.58%、特异度=90.36%,准确率=87.33%,kappa 值=0.743。**结论** 高分辨率食管测压联合 24 小时食管 PH 阻抗监测对非典型症状 GERD 的诊断准确性较高,且优于单用传统 DH-Meester 积分法分析 24 小时 PH-DeM,且一定程度上辅助性的提高了对非典型症状 GERD 的诊断的准确性,为非典型症状 GERD 的及时诊断和治疗提供参考。

[关键词] 高分辨率食管测压; 24 小时食管 PH-阻抗监测; GERD; 24 小时 PH-DeM 法

Value of high resolution esophageal manometry combined with 24-hour esophageal pH impedance monitoring in diagnosis and evaluation of atypical GERD

GU Yue*, LEI Ge, FAN Xiao

(Department of Gastroenterology, Nanyang Second People's Hospital, Nanyang, Henan, China, 73000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of high - resolution esophageal manometry combined with 24 - hour esophageal pH impedance monitoring in patients with atypical GERD. **Methods** From July 2018 to July 2020, 150 patients with GERD with atypical symptoms (case group) and 150 healthy people (control group) were enrolled. case group, including 32 erosive esophagitis (EE) and non erosive reflux disease (non erosive esophagitis), 118 cases of NERD (group B) and the control group (Group C). The results of electronic gastroscopy were collected and compared to explore the diagnostic and evaluation value of high - resolution esophageal manometry combined with 24 - hour esophageal pH impedance test in patients with atypical symptoms of GERD. **Result** The CFA and DIC of the EE group, NERD group and the control group increased sequentially, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The CFA and DIC of the EE group and the NERD group were lower than those of the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$), and the CFA and DIC of the EE group were lower than those of the NERD

基金项目:2018 年河南省医学科技攻关计划 (2018020985)

作者单位:南阳市第二人民医院消化内科,河南,南阳 473000

*通信作者:古岳, E-mail:dvvh4@163.com

group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). In the EE group, NERD group, and control group, pH <4 times/time, and the parameters of the longest reflux time in the upper and lower electrode parameters decreased in sequence, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Among them, the above indexes of EE group and NERD group were significantly higher than those of the control group. And each index parameter of EE group was significantly higher than that of NERD group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The case group (EE group + NERD group) and the control group were evaluated by the combined detection method (high-resolution esophageal pressure measurement combined with 24-hour esophageal PH impedance monitoring) diagnostic test, sensitivity=83.58%, specificity = 90.36%, accuracy = 87.33%, kappa value = 0.743. **Conclusion** High-resolution esophageal manometry combined with 24-hour esophageal PH impedance monitoring has a higher diagnostic accuracy for atypical GERD, and is better than traditional DH-Meester integral analysis of 24-hour PH-DeM alone. The accuracy of the diagnosis of GERD with atypical symptoms is improved, and reference is provided for the timely diagnosis and treatment of GERD with atypical symptoms.

[KEY WORDS] High resolution esophageal manometry; 24-hour esophageal pH impedance monitoring; GERD; 24-hour ph-dem method

胃食管反流病(Gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃十二指肠内容物反流入食管引起烧心等症的消化道疾病,其典型症状是烧心和反流、反酸^[1]。但是,部分确诊GERD患者并无典型症状,仅表现为咽喉、气道、食管邻近组织损害等食管外症状,以致及时诊断与治疗存在一定困难。本文旨在探讨高分辨率食管测压联合24小时食管PH-阻抗监测对非典型症状GERD的诊断及评估价值。

1 资料与方法

1.1 研究资料

选取2018年7月至2020年7月以南阳市第二人民医院收治的非典型症状GERD患者150例(病例组),其中糜烂性食管炎(Erosive esophagitis, EE)组32例、非糜烂性反流病(non-erosive esophagitis, NERD)组118例,选择对照组150例(同期健康体检者,均高分辨率食管测压、24小时食管PH阻抗监测),且均有完整的临床资料,包括知情同意书。病例组男性85例、女性65例,平均年龄(46 ± 4.5)岁;对照组150例(同期健康体检者),男性80例、女性70例,平均年龄(47 ± 3.5)岁,两组研究对象年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。病例组纳入标准^[2]:①结合经电子胃镜(Olympus260)检查结果确诊非典型症状GERD,即:反复的上腹部不适、上腹部疼痛、上腹部饱胀、咽痛、咽部不适、恶心、呕吐、嗝气等;②一周以内无使用胃肠道动力药物、抑酸药物;③所有患者及

其家属谈话并签署知情同意书。④获得本院伦理委员会授权批准。排除标准^[2]:①严重心肺疾病;②巴雷特食管;③腹部手术史;④妊娠期妇女或无法耐受检查者。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

采集纳入患者的临床资料,包括性别、年龄,分析比较病例组和对照组24小时食管pH-阻抗检测和食管测压值。以2018年7月至2020年7月南阳市第二人民医院消化内科就诊具有非典型胃食管反流症状的患者,根据消化胃镜检查结果、24小时pH-阻抗监测结果,将150例入选患者分为EE组与非糜烂性反流病组(NERD组),所有患者均行高分辨食管内压力阻抗联合测定,24小时PH-DeM法检测;另选择胃镜检查正常的无症状健康志愿者(对照组),行高分辨食管压力阻抗联合测定。

1.2.2 检测方法

①采用Givening Imaging公司ManoScan360™高分辨率测压仪。接受检查前禁食6h,将测压已校正电极自一侧鼻孔插入患者下食管括约肌,固定同时记录插入深度,嘱患者做说话或吞咽动作,以干扰食管括约肌,同时采集静息压力数据。之后采集吞咽数据,将5mL清水注入口腔,嘱患者每次只进行一次吞咽动作,采集10次,观察高分辨率食管测压指标,即:收缩前沿速度(contractile front velocity, CFA)、远端收缩积分(distal contractile index, DIC)②采用便携式pH记录仪监测24小时食管pH值:从患者鼻腔插入一pH监测电极(已

校正)至食管,放在下食管括约肌(LES)上5 cm处并固定,体外与记录仪连接,连续监测24小时,完成后将记录仪所记录的资料输入电脑进行分析。

③24小时PH-DeM法:采用传统DeMeester积分法分析24小时PH-DeM,DeM积分大于或等于14.87分或症状指数大于或等于50%为监测阳性,同时根据阻抗系数特点分析阻抗。

1.3 观察指标

各组受试对象高分辨率食管测压检测CFA、DIC变化情况,pH记录仪监测24小时食管pH-阻抗监测指标PH值<4次数、最长反流时间。

1.4 统计学方法

采用SPSS(PASW)17.0统计学软件进行数据处理;计数资料采用n(%)表示,χ²检验;计量资料采用(̄x±s)表示,组间采用t检验,多组间采用单因素方差分析Kappa一致性分析,Kappa≥0.75两者一致性较好;0.75>Kappa≥0.4两者一致性一般;Kappa<0.4两者一致性较差。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组患者CFA、DIC水平比较

EE组、NERD组、对照组三组CFA、DIC依次递增,差异有统计学意义(P<0.05),其中EE组、NERD组CFA、DIC低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05),且EE组CFA、DIC低于NERD组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 EE组、NERD组、对照组患者CFA、DIC水平比较(̄x±s)

Table 1 Comparison of CFA and DIC levels in EE group, NERD group and control group (̄x±s)

组别	例数	CFA/(cm·s ⁻¹)	DIC(mmHg·s·cm)
EE组	32	1.16±0.22 ^{ab}	227.0±40.26 ^{ab}
NERD组	118	1.68±0.26 ^a	356±62.06 ^a
对照组	150	3.48±0.60	1759±658.01
F值		160.445	186.330
P值		0.001	0.000

注:与对照组比较,^aP<0.05;与NERD组比较,^bP<0.05

2.2 三组患者24小时食管pH-阻抗监测指标水平比较

EE组、NERD组、对照组pH<4次数/次、最长反流时间指标中上、下电极参数均依次递减,差异有统计学意义(P<0.05),其中EE组、NERD组上述指标均明显高于对照组,且EE组各指标参数均明显高于NERD组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 3组患者24小时食管pH-阻抗监测指标水平比较(̄x±s)

Table 2 Comparison of 24-hour esophageal pH-impedance monitoring index levels of patients in EE group, NERD group and control group (̄x±s)

组别	n	pH<4次数/次		最长反流时间/min	
		上电极	下电极	上电极	下电极
EE组	32	28.46±5.88 ^{ab}	98.00±9.98 ^{ab}	1.68±0.88 ^{ab}	13.88±5.02 ^{ab}
NERD组	118	38.22±8.87 ^a	78.80±12.64 ^a	0.86±0.52 ^a	9.06±3.86 ^a
对照组	150	8.02±1.04	22.46±4.08	0.11±0.06	0.49±0.21
F值		342.002	426.006	70.001	169.501
P值		0.000	0.000	0.001	0.001

注:与对照组比较,^aP<0.05;与NERD组比较,^bP<0.05。

2.3 病例组24小时PH-DeM法与联合检测法诊断价值评估

病例组(EE组+NERD组)和对照组分别采用联合检测法(高分辨率食管测压联合24小时食管PH阻抗监测)诊断试验评估,灵敏度=83.58%、特异度=90.36%,准确率=87.33%,kappa值=0.743。见表3。

表3 病例组24小时PH-DeM法与联合检测法诊断价值评估

Table 3 Evaluation of the diagnostic value of the 24-hour PH-DeM method and the combined detection method in the case group

联合检测法	24小时PH-DeM法(参考诊断标准)		合计
	患者(+)	未患者(+)	
阳性	112(真阳性)	16(假阳性)	128
阴性	22(假阴性)	150(真阴性)	172
合计	134	166	300

3 讨论

GERD是由多种因素造成的以LES功能障碍为主的胃食管动力障碍性疾病,直接损伤因素是胃酸、胃蛋白酶及胆汁等反流物^[3],引起相关的症状和系列并发症^[4]。目前,GERD发病机制仍未完全明确,患者临床表现症状多样^[5]。

分辨率食管测压反映连续监测压力数据,本研究提示,EE、NERD患者CFA、DIC水平均较低,且EE患者CFA、DIC水平则低于NERD患者,说明两组人群食管动力存在明显差异,存在LES功能障碍。这和相关研究相符^[6]。

胃内容物、胃酸酸度、胃内容物反流时间、胃酸与黏膜接触次数等是造成食管黏膜损害的重要因素,部分患者临床表现可能存在不同症状^[7]。24小时食管PH-阻抗监测动态反应食管酸度暴露时间、程度,以评估GERD发生与酸反流的相关关

系。研究显示,胃食管反流病患者食管反流明显多于健康对照人群^[8]。本文数据显示,EE、NERD患者pH<4次数/次、最长反流时间指标中上、下电极参数均较高,且EE患者上述指标参数均高于NERD患者,和相关研究相符^[9]。

诊断试验评估是评价人群筛检效果的重要方法,可体现生物学效果和社会经济效果等方面^[10]。确定或排除疾病的试验方法称为诊断试验(Diagnostic test),包括各种实验室检验和器械检查,是医学权威诊断之一,包括对许多诊断试验的评价^[11]。本文数据提示,高分辨率食管测压联合24小时食管PH阻抗监测与24小时PH-DeM法间灵敏度、特异度、准确率值均在80%以上,且两者一致性较好,说明高分辨率食管测压联合24小时食管PH-阻抗监测对非典型症状GERD的诊断提高了诊断试验的效率和准确性,具有重要辅助诊断和评估价值。

综上所述,高分辨率食管测压联合24小时食管PH-阻抗监测对非典型症状GERD的诊断有重要价值,一定程度上辅助性的提高了对非典型症状GERD的诊断的准确性,为非典型症状GERD的及时诊断和治疗提供一定参考。

参考文献

[1] Wang YJ, Lang XQ, Wu D, et al. Salivary Pepsin as an Intrinsic Marker for Diagnosis of Sub-types of Gastroesophageal Re-

flux Disease and Gastroesophageal Reflux Disease-related Disorders[J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2020, 26(1):74-84.

- [2] 袁耀宗,汪菁峰.重视非典型性胃食管反流病的临床与基础研究[J]. *中华消化杂志*, 2005, 25(9):513-514.
- [3] Fass OZ, Mashimo H. The Effect of Bariatric Surgery and Endoscopic Procedures on Gastroesophageal Reflux Disease [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2021, 27(1):35-45.
- [4] Sawada A, Fujiwara Y, Sifrim D. Belching in Gastroesophageal Reflux Disease: Literature Review [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(10):3360.
- [5] 尹宏,陈庆春,苏艳蓉,等.重症高血压脑出血并发应激性胃溃疡影响因素及GAS、MTL、SS、CCK-8、VIP水平变化意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(2):156-160.
- [6] 刘涛,李睿,龚琳,等.胃幽门螺杆菌感染后Semaphorin 5A致胃癌可能机制的研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(3):189-193.
- [7] 郭子皓,陈婧,郭宝娜,等.唾液胃蛋白酶检测对胃食管反流病的诊断价值[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2019, 28(11):1229-1232.
- [8] 游婷,王雯,王蓉,等.唾液胃蛋白酶对胃食管反流病食管外表现的诊断价值研究[J]. *中华胃食管反流病电子杂志*, 2020, 7(1):42-46.
- [9] 赵本田,蒋海涛,王玲,等.典型症状与非典型症状胃食管反流病患者食管动力及反流特点临床研究[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(15):1904-1909.
- [10] 叶林昌,陈秀娥,张华娟,等.唾液胃蛋白酶及胆汁酸检测在胃食管反流病中的诊断价值[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(18):1414-1418.
- [11] 陈立柱,刘嘉.胃食管反流病相关检验项目及诊断研究[J]. *中国医学装备*, 2019, 16(2):140-144.

(上接第320页)

- [5] 刘金龙,张永和.中药对冠心病的治疗作用及其机制探究[J]. *长春中医药大学学报*, 2019, 35(3):187-190.
- [6] 中国中西医结合学会心血管病专业委员会.麝香保心丸治疗冠心病心绞痛中国专家共识[J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(2):145-153.
- [7] 何伟华.复方丹参滴丸联合阿托伐他汀钙治疗阵发性心房颤动患者的分析[J]. *饮食保健*, 2020, 29(7):68-69.
- [8] 白津宇,周静,高峰,等.盾叶冠心宁片与复方丹参滴丸治疗冠心病稳定型心绞痛临床疗效比较[J]. *广州医药*, 2020, 51(1):75-78+96.
- [9] 汤敏,史小英,王维萍,等.阿托伐他汀联合复方丹参滴丸治疗DR伴高血脂的临床研究[J]. *西南国防医药*, 2018, 28(2):143-146.
- [10] Zhang Z, Xu MH, Wei FJ, et al. Clinical study of different doses of atorvastatin combined with febuxostat in patients with gout and carotid atherosclerosis [J]. *Pak J Med Sci*, 2020, 36(6):1334-1338.

- [11] Ference BA, Kastelein JJP, Ray KK, et al. Association of Triglyceride-Lowering LPL Variants and LDL-C-Lowering LDLR Variants With Risk of Coronary Heart Disease [J]. *JAMA*, 2019, 321(4):364-373.
- [12] 谢凯,曾盛芝,赖晓文等.复方丹参滴丸联合阿托伐他汀治疗冠心病并高血脂血症对患者心功能的影响[J]. *医药前沿*, 2018, (25):20-21.
- [13] Liu D, Shen T, Ren C, et al. The effects of atorvastatin and rosuvastatin on exercise tolerance in patients with coronary heart disease [J]. *Exp Pert Opin Drug Saf*, 2020, 19(9):1203-1208.
- [14] Chang JG. PLAC Test for Lp-PLA2 Activity to Predict Coronary Heart Disease [J]. *Am Fam Physician*, 2020, 101(1):44-46.
- [15] 赵雷.冠心病患者氯吡格雷治疗后sCD40L水平的变化及其意义[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2018, 15(1):76-79.

MIF、Vaspin 及 Endocan 与稳定型心绞痛合并高血压发生 MACE 的相关性

王尚明^{1*} 马丽英² 杨璐¹

[摘要] 目的 分析巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、内皮细胞特异分子-1(Endocan)、脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(Vaspin)水平与稳定型心绞痛(SAP)合并高血压发生主要不良心血管事件(MACE)的相关性。方法 选取2020年1月至2021年1月唐山弘慈医院收治的124例SAP合并高血压患者临床资料(观察组),另选取115例单纯SAP(对照组)。比较两组MIF、Vaspin、Endocan水平;比较两组MACE发生率;分析影响MACE发生的危险因素。结果 观察组患者MIF、Endocan水平明显高于对照组,Vaspin水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组MACE总发生率为29.03%,明显高于对照组的5.22%,差异有统计学意义($P<0.05$)。发生MACE与未发生MACE者性别、年龄、HDL-C、cTnl、Gensini积分中比较差异无统计学意义($P>0.05$),发生MACE患者FPG、TG、TC、LDL-C、MIF、Endocan水平明显高于未发生MACE组,Vaspin低于未发生MACE组,差异有统计学意义($P<0.05$)。经Logistic分析发现,FPG、TG、TC、LDL-C、MIF、Endocan、Vaspin为影响SAP合并高血压患者发生MACE的独立危险因素($P<0.05$)。结论 MIF、Vaspin、Endocan水平与SAP合并高血压发生MACE密切相关,或可作为预测MACE发生的新型分子标志物,对患者预后风险也有重要的参考价值。

[关键词] MIF; Vaspin; Endocan; 稳定型心绞痛合并高血压; 不良心血管事件

Correlation of MIF, Vaspin, Endocan with main MACE in SAP combined with hypertension

WANG Shangming^{1*}, MA Liying², YANG Lu¹

(1. The Second Department of Cardiology, Tangshan Hongci Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000;

2. Department of Respiratory Medicine, Tangshan Hongci Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation of macrophage migration inhibition control factor (MIF), endothelial cell specific molecule - 1 (Endocan), visceral adipose tissue - derived serine protease inhibitor (Vaspin) levels and major adverse cardiovascular events (MACE) in stable angina pectoris (SAP) combined with hypertension. **Methods** The clinical data of 124 SAP patients with hypertension admitted to Tangshan Hongci Hospital from January 2020 to January 2021 were selected (observation group), and 115 patients with simple SAP were selected (control group). The levels of MIF, Vaspin and Endocan were compared between the two groups. The incidence of MACE was compared between the two groups. The risk factors affecting the occurrence of MACE were analyzed. **Results** The MIF and Endocan levels in the observation group were significantly higher than those in the control group, while the vaspin level was significantly lower than that in the control group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The total incidence of MACE in the observation group was 29.03%, which was significantly higher than 5.22% in the control group ($P<0.05$). There was no significant difference in gender, age, HDL-C, cTnl, Gensini score between MACE and non-MACE parents ($P>0.05$). The levels of FPG, TG, TC, LDL-C, MIF, and Endocan

基金项目:河北省科技计划(192777128)

作者单位:1.唐山弘慈医院心内二科,河北,唐山 063000

2.唐山弘慈医院呼吸内科,河北,唐山 063000

*通信作者:王尚明, E-mail: wangshangming2014@163.com

in MACE patients were significantly higher than those in the MACE-free group, and vaspin was lower than those in the MACE-free group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic analysis showed that FPG TG, TC, LDL-C, MIF, Endocan, and vaspin were independent risk factors for MACE in patients with SAP and hypertension ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of MIF, vaspin, and Endocan are closely related to the occurrence of MACE in SAP with hypertension. They can be used as new molecular markers to predict the occurrence of MACE, and also have important reference value for the prognosis risk of patients.

[KEY WORDS] MIF; Vaspin; Endocan; Stable angina with hypertension; Adverse cardiovascular events

稳定型心绞痛(Stable angina pectoris, SAP)是临床中冠心病患者常见的表现类型之一。有研究发现,高血压是SAP发病的独立危险因素^[1]。SAP合并高血压发病率呈逐年递增的趋势,严重影响中老年人生命健康及生活质量,早期对患者进行干预治疗尤为重要。巨噬细胞迁移抑制因子(Macrophage migration inhibition Control factor, MIF)是具有高度保守系列的多效炎性趋化因子,可促进巨噬细胞吞噬氧化低密度脂蛋白所形成的泡沫细胞,从加速斑块形成和破损^[2]。内皮细胞特异分子-1(endothelial cell specific molecule-1, Endocan)、脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor, Vaspin)是目前临床中发现的与血管内皮功能障碍相关的新型标志物,在SAP合并高血压诊断中具有一定的使用价值^[3-4]。本研究将通过了解MIF、Vaspin、Endocan在SAP合并高血压患者中的表达情况,分析三者与患者发生不良心血管事件(Adverse cardiovascular events, MACE)的相关性,以期为患者预后评估提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2021年1月唐山弘慈医院收治的124例SAP合并高血压患者临床资料(观察组),其中男69例,女55例,平均年龄(60.80 ± 3.25)岁。纳入标准:①符合《非ST段抬高型急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南》中相关诊断标准^[5];②既往存在明确高血压病史;③临床资料完整。排除标准:①有冠脉旁路移植手术、介入等治疗者;②为变异型心绞痛、肺源性心脏病、先天性心脏病等所导致的心绞痛或非心源性胸痛者;③合并活性炎症或其他器官功能障碍者;④未能完成随访者。另选取同期收治的115例单纯SAP患者(对照组),其中男67例,女48例,平均年龄(59.88 ± 3.74)岁。两组一般资料比较差异无统计

学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 MIF、Vaspin、Endocan检测方法

两组患者在入院后次日清晨行空腹静脉抽血检查,均抽取3 mL血液,并使用3 000 r/min离心机(离心半径为10 cm)离心10 min,获取上清液待检。使用酶联免疫法检测MIF、Vaspin、Endocan,其中MIF试剂盒为上海江莱生物科技有限公司所提供;Vaspin、Endocan试剂盒为上海酶联生物有限公司提供。操作均由本院检验科人员完成。

1.2.2 基线资料收集

收集观察组患者基线资料,包括实验室指标[(空腹血糖(Fasting blood glucose, FPG)、三酰甘油(Triacylglycerol, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin, cTnI)等指标,均使用日立全自动7600生化分析仪进行检测]、Gensini积分等。

1.2.3 MACE发生情况

随访从2021年2月1日起,截止至2021年10月31日,通过电话、回院复查、短信等方式随访,了解患者在此期间发生MACE情况^[6],包括:心律失常、心力衰竭、不稳定型心绞痛、非致死性心肌梗死、心源性死亡等。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件建立数据库,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,采用多因素条件Logistic回归模型进行相关因素分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组MIF、Vaspin、Endocan比较

观察组患者MIF、Endocan水平明显高于对照

组, Vaspin 水平明显低于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组 MIF、Vaspin、Endocan 比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of MIF, Vaspin and Endocan in different populations ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	MIF (ng/mL)	Vaspin (ng/mL)	Endocan (ng/mL)
对照组	115	1.62±0.55	4.36±0.87	2.15±0.15
观察组	124	4.41±1.49	2.84±0.69	4.08±1.62
t 值		18.918	15.018	12.723
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组患者 MACE 发生率比较

观察组 MACE 总发生率为 29.03%, 明显高于对照组的 5.22%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组患者 MACE 发生率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of the incidence of MACE between the two groups [$n(\%)$]

MACE 事件	观察组 (n=124)	对照组 (n=115)	χ^2 值	P 值
心律失常	4(3.23)	1(0.87)		
心力衰竭	4(3.23)	0(0.00)		
不稳定型心绞痛	25(20.16)	5(4.35)		
非致死性心肌梗死	3(2.42)	0(0.00)		
心源性死亡	0(0.00)	0(0.00)		
合计	36(29.03)	6(5.22)	23.36	0.001

2.3 观察组发生与未发生 MACE 组患者基线资料比较

124 例患者均未失访, 其中发生 MACE 36 例, 未发生 MACE 88 例, 发生 MACE 与未发生 MACE 者性别、年龄、HDL-C、cTnI、Gensini 积分中比较差异无统计学意义($P>0.05$), 发生 MACE 患者 FPG、TG、TC、LDL-C、MIF、Endocan 水平明显高于未发生 MACE 组, Vaspin 低于未发生 MACE 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 影响 SAP 合并高血压患者发生 MACE 多因素分析

将表3中统计有意义的因素代入条件 Logistic

表3 观察组发生与未发生 MACE 组患者基线资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of baseline data of patients in the observation group with and without MACE group ($\bar{x}\pm s$)

基线资料	发生 MACE (n=36)	未发生 MACE (n=88)	χ^2/t 值	P 值
性别(男/女)	21/15	48/40	0.068	0.793
年龄(岁)	61.35±3.21	60.58±3.16	1.226	0.225
FPG(mmol/L)	5.97±1.57	4.82±1.20	4.299	<0.001
TG(mmol/L)	1.82±0.11	1.06±0.31	14.316	<0.001
TC(mmol/L)	5.26±0.58	4.11±0.36	13.373	<0.001
HDL-C(mmol/L)	1.16±0.22	1.21±0.14	1.514	0.132
LDL-C(mmol/L)	3.89±0.58	2.63±0.55	11.397	<0.001
cTnI(μ g/L)	4.16±0.58	4.09±0.87	0.443	0.658
MIF(ng/mL)	5.90±1.57	3.81±1.62	6.578	<0.001
Vaspin(ng/mL)	1.03±0.15	3.59±1.58	9.680	<0.001
Endocan(ng/mL)	5.16±1.85	3.64±0.81	6.380	<0.001
Gensini 积分	23.14±3.25	22.61±3.11	0.850	0.396

回归模型分析中发现, FPG、TG、TC、LDL-C、MIF、Endocan、Vaspin 为影响 SAP 合并高血压患者发生 MACE 的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

易损斑块形成、血管内慢性炎症反应是引起冠状动脉粥样硬化的病理基础。研究发现, 在易损/破裂斑块中的炎性细胞活化程度明显升高, 炎性细胞在冠状动脉粥样硬化的病理过程中有着重要的作用, 可促进动脉粥样化的形成, 参与冠心病的发生、发展^[7]。MIF 为多效炎性趋化因子样细胞因子, 在正常情况下 MIF 极少表达, 在缺氧、缺血、氧化低密度脂蛋白等因素影响下其表达可明显上调^[8]。以往研究通过前瞻性分析发现 MIF 表达水平可为冠心病患者心功能情况评估提供参考^[9]。本研究结果发现, MIF 在 SAP 合并高血压患者中表达明显高于单纯 SAP 者, 而发生 MACE 患者中其表达也明显增加, MIF 是影响 SAP 合并高血压发生 MACE 的独立危险因素, 提示外周血 MIF 表达水平可能可为 SAP 合并高血压的风险程度评估提供参考。

表4 影响 SAP 合并高血压患者发生 MACE 多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors affecting the occurrence of MACE in patients with SAP and hypertension

代表意义	赋值	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
FPG	0=<5.97 (mmol/L); 1= \geq 5.97 (mmol/L)	0.369	0.157	7.985	1.446	1.063~1.967	<0.001
TG	0=<1.82 (mmol/L); 1= \geq 1.82 (mmol/L)	0.399	0.178	7.596	1.490	1.051~2.112	<0.001
TC	0=<5.26 (mmol/L); 1= \geq 5.26 (mmol/L)	0.442	0.189	6.031	1.555	1.074~2.253	0.001
LDL-C	0=<3.89 (mmol/L); 1= \geq 3.89 (mmol/L)	0.516	0.221	4.165	1.675	1.107~2.533	0.023
MIF	0=<5.90 (ng/mL); 1= \geq 5.90 (ng/mL)	0.509	0.201	4.331	1.663	1.121~2.466	0.018
Vaspin	0= \geq 1.03 (ng/mL); 1=<1.03 (ng/mL)	0.462	0.136	5.169	1.587	1.215~2.072	0.002
Endocan	0=<5.16 (ng/mL); 1= \geq 5.16 (ng/mL)	0.336	0.118	9.874	1.399	1.110~1.763	<0.001

以往研究发现, Vaspin 对多种信号通路均有抑制作用, 可减少血管细胞黏附作用, 降低内皮细胞甲基乙二醛诱导的细胞凋亡以及活性氧的产生, 达到抑制炎症反应的目的^[10]。也有研究显示, Vaspin 可保护血管内皮细胞, 减轻血管内皮功能障碍, 并抑制 p38/hsp27 信号通路, 避免平滑肌细胞迁徙, 从而防治冠心病患者病情进展^[11]。本研究结果显示, Vaspin 在 SAP 合并高血压中表达明显降低, 在发生 MACE 患者中其表达水平也明显低于未发生 MACE 者, Vaspin 为影响 SAP 合并高血压患者发生 MACE 的独立危险因素, 提示 Vaspin 可能参与心血管疾病的发生与发展过程中, 其低表达可能为心血管疾病发生的危险因素。分析原因, 可能与 Vaspin 表达降低后, 对促炎介质和内皮细胞凋亡的抑制作用减弱, 导致内屏功能紊乱, 活性氧、促炎介质增多, 进一步降低动脉血管壁弹性, 从而促使疾病进展有关^[12-13]。

近年研究发现, 内皮功能正常情况下 Endocan 表达在正常范围内, 在内皮细胞受损及新生血管形成后 Endocan 表达可明显增加^[14]。周福亮等人^[15]研究显示, Endocan 是内皮功能障碍的独立炎症反应标志物, 是心血管发生的危险因素标志物。以往研究也发现, Endocan 在急性冠脉综合征患者血清中表达明显升高, 且与患者冠脉的病变支数为正相关^[16]。也有研究发现, 高血压患者血清中 Endocan 表达明显高于健康人, 且在降压治疗后 Endocan 水平降低^[17]。本研究中, Endocan 在 SAP 合并高血压患者表达水平升高, 且发生 MACE 者中 Endocan 表达水平也为明显上升趋势, 提示 Endocan 表达与患者内皮功能紊乱密切相关, 可能与促炎介质、生长因子、氧自由基的产生导致 Endocan 表达增加, 影响患者内皮功能, 促进动脉粥样硬化发展有关。进一步危险因素分析显示, Endocan 是影响 SAP 合并高血压患者发生 MACE 的独立危险因素, 提示 Endocan 水平升高可能预示着患者预后不良。

综上所述, MIF、Vaspin、Endocan 水平与 SAP 合并高血压发生 MACE 密切相关, 或可作为预测 MACE 发生的新型分子标志物, 对患者预后风险评估也有重要的参考价值。

参考文献

[1] 贾梅, 刘志跃, 杨永茂, 等. 尿酸酸与冠心病患病及冠脉病变程度的相关性研究[J]. 内蒙古医科大学学报, 2019, 41(6):589-591.

- [2] 黄冠, 林文松, 赵海燕, 等. MIF 对结肠癌细胞周期和侵袭力的影响[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(6):719-722.
- [3] 罗才福, 沈春莲, 何显荣, 等. 中青年高血压合并不稳定型心绞痛病人动态血压、脉压指数与 MMP-9、hs-CRP 的相关性分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(12):1875-1878.
- [4] Yu D, Huang B, Wu B, et al. Association of serum vaspin, apelin, and visfatin levels and stroke risk in a Chinese case-control study[J]. *Medicine*, 2021, 100(12):78-80.
- [5] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 非 ST 段抬高型急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南(2016)[J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(5):359-376.
- [6] 董茜, 韩晓涛, 陈永福, 等. 不同类型冠心病患者血清 Hcy, TBIL, hs-CRP, 尿酸的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(9):1669-1672.
- [7] 张萍. 心脏康复训练对不稳定型心绞痛患者介入治疗后近期心功能及预后的影响[J]. 岭南心血管病杂志, 2019, 25(4):439-442.
- [8] 孙文锦, 其布热. 血浆巨噬细胞移动抑制因子水平变化与 ST 段抬高型心肌梗死患者多因素相关性分析及远期预后[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2020, 15(2):196-200.
- [9] 刘兵华, 王思尧, 李莉. 血清巨噬细胞迁移抑制因子在冠心病患者中表达水平及与病变严重程度的相关性研究[J]. 心肺血管病杂志, 2019, 38(2):137-141.
- [10] Kurowska P, Mlyczyńska E, Dawid M, et al. Role of vaspin in porcine ovary: effect on signaling pathways and steroid synthesis via GRP78 receptor and protein kinase A[J]. *Biol Reprod*, 2020, 102(6):117-118.
- [11] Bongrani A, Mellouk N, Ramé C, et al. Vaspin, a novel adipokine in woman granulosa cells physiology and PCOS pathogenesis?[J]. *J Endocrinol*, 2021, 249(1):189-190.
- [12] 刘秋梅, 张爱文, 金凤表, 等. 血清内皮细胞特异分子-1、脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂水平对微血管性心绞痛诊断的临床价值[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(4):47-52.
- [13] Sayed KS, Said ER, Mohammed FN, et al. Down-regulation of tissue levels of serine protease inhibitor (vaspin) in psoriasis vulgaris patients: a possible mechanism of narrowband ultraviolet B radiation[J]. *Arch Dermatol Res*, 2019, 311(8):637-641.
- [14] 柳书可, 徐维, 刘美英, 等. MicroRNA, Apelin, Galectin-3 和 Endocan 等血清学指标与动脉粥样硬化斑块稳定性关系的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(5):88-92.
- [15] 周福亮, 贾大林. 内皮细胞特异分子-1 在心血管疾病中的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2018, 24(5):554-557.
- [16] 王正飞, 杨龙, 兰占占, 等. 血清 CTRP1, 尿酸水平在冠心病临床诊断中的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10):1353-1356.
- [17] Yldrm E, Turkler C, Demir E, et al. Umbilical arterial endocan levels can predict early neonatal pneumonia: A prospective case control study[J]. *Early Human Dev*, 2020, 142(3):104-105.

卒中患者静脉溶栓转归的影响因素及MPV与RDW对其预测价值

花军* 李虎

[摘要] 目的 探究卒中患者静脉溶栓转归的影响因素及MPV与RDW对其预测价值。方法 选取2019年1月至2020年12月淮南东方医院集团总院神经内科收取的卒中患者102例,采用静脉溶栓治疗。六个月后使用MRS评分,分为转归良好组($MRS \leq 1$ 且 ≥ 0)76例,转归不良组($MRS \geq 2$ 分)26例;分析转归的单因素影响;采用最佳刻度分析卒中静脉溶栓后转归的多因素影响;ROC曲线分析RDW、MPV对该病预测价值。**结果** 治疗前,两组性别、年龄、吸烟史、饮酒史、冠心病、高血压、SBP、WBC、Hb、PLT比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后,转归良好组DBP、高血脂、NIHSS评分、RDW、MPV较于转归不良组明显更低,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。ROC曲线分析显示,RDW、MPV、二者联合诊断均具有预测价值($P < 0.05$),高血脂、DBP、RDW、MPV均为影响卒中转归的不良因素($P < 0.05$);转归良好组高血脂、NIHSS评分、RDW、MPV较于转归不良组明显更低,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** RDW、MPV均可以作为预测卒中患者静脉溶栓转归的指标。

[关键词] 卒中;静脉溶栓;MPV;RDW;影响因素

Influencing factors of the outcome of intravenous thrombolysis in stroke patients and the predictive value of MPV and RDW

HUA Jun*, LI Hu

(Department of Neurology, Huainan Eastern Hospital Group, Huainan, Anhui, China, 232000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the factors influencing the outcome of intravenous thrombolysis in stroke patients and the predictive value of MPV and RDW. **Methods** 102 cases of stroke patients collected from the Department of Neurology of Huainan Oriental Hospital Group from January 2019 to December 2020 were selected and treated with intravenous thrombolysis. Six months later, the MRS score was divided into 76 good patients ($MRS \leq 1$ and ≥ 0) and 26 poor patients ($MRS \geq 2$); the univariate effect of transposition; multivariate effect of regression after stroke vein thrombolysis and the predictive value of RDW, MPV on ROC curve. **Results** Before treatment, gender, age, smoking history, alcohol history, CHD, hypertension, SBP, WBC, Hb and PLT were not significant ($P > 0.05$). After treatment, DBP, hyperlipidemia, NIHSS score, RDW and MPV in the good outcome group were significantly lower than those in the poor outcome group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that RDW, MPV and combined diagnosis had predictive value ($P < 0.05$), and hyperlipidemia, DBP, RDW and MPV were adverse factors affecting stroke outcome ($P < 0.05$); hyperlipidemia, NIHSS score, RDW and MPV were significantly lower than those those in the poor outcome group ($P < 0.05$). **Conclusion** Both RDW and MPV can be used as indicators to predict intravenous thrombolytic regression in stroke patients.

[KEY WORDS] Stroke; Intravenous thrombolysis; MPV; RDW; Influencing factors

基金项目:2016年安徽省卫生和计划生育委员会科研计划项目(2016QK082)

作者单位:淮南东方医院集团总院神经内科,安徽,淮南232000

*通信作者:花军, E-mail: hj19355400905@163.com

卒中是指由于某些原因导致脑血管破裂或堵塞,引起一系列相应脑部神经功能障碍、脑部血液供应障碍,脑部血液供应障碍导致局部脑部组织缺血、缺氧性坏死而出现的疾病,以偏瘫、言语不能、大小便障碍、意识障碍为症状表现^[1]。该病早期患者会出现头晕恶心的症状,但因为患者缺乏疾病意识导致就诊时间延误且伴随着极高的复发风险。因此,早期预测卒中并积极配合治疗干预,将有助于卒中患者的减少脑血管损伤,减少不良预后及病死。有关文献报道,尽管静脉溶栓能有效治疗部分卒中患者,但病死率依旧高达40%,且对影响因素尚未达成共识^[2]。基于此,本研究探讨卒中患者静脉溶栓转归的影响因素及血小板平均体积(mean platelet volume, MPV)与红细胞分布宽度(Red blood cell distribution width, RDW)对其预测价值,以期为临床提供参考。报告如下。

1 资料与方

1.1 一般资料

选取2019年1月至2020年12月淮南东方医院集团总院神经内科收取的卒中患者102例,采用静脉溶栓治疗。六个月后使用MRS评分,分为转归良好组(MRS ≤ 1 且 ≥ 0)76例,转归不良组(MRS ≥ 2 分)26例。均符合根据《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》^[3]、“北京大学卒中论坛第五十次会议纪要”^[4]拟定的诊断标准:①局灶性神经功能缺损症状,如头晕头疼,一侧肢体的偏瘫,口角的歪斜、构音障碍,肢体的乏力,肢体麻木,恶心,呕吐语言不清和饮水呛咳等症状。②通过头部CT,脑彩超或脑磁共振,检测脑部的梗塞的部位以梗死大小。③查体发现患者肌力下降或患者的视野缺损,尤其是一侧肌力出现下降,高度提示有脑的损伤。④急性起病。⑤症状体征持续24小时以上。

1.2 纳入标准

确证为卒中患者;年龄18~85岁;有自我意识并接受静脉溶栓治疗签署手术同意书;依从性好。排除标准:严重的脑部损伤;患有重大基础性疾病;妊娠期女性。本研究通过本院伦理委员会批准。

1.3 方法

所有患者均采用静脉溶栓治疗。在卒中发病4.5 h以内使用组织纤溶酶原激活剂(上海恒心堂医药有限公司)进行静脉溶栓治疗,剂量为0.9 mg/kg, ≤ 90 mg/kg, 10%剂量先在1 min内静脉推

注,剩下90%剂量在60 min内静脉滴入。在溶栓24 h后记录心电图、脑电波、心率等生命体征变化,复查脑磁共振排除蛛网膜下腔出血,给予脑细胞保护剂等药物治疗,患者出院后使用药物治疗、服从医嘱且医院电话随访到三个月。

1.4 观察指标

①NIHSS(美国国立卫生研究院中风量表)评分^[5]:用于评估卒中严重程度,该量表共42分,得分越高提示病情越严重。②MRS(改良Rankin量表)评分^[6]:用于患者卒中转归情况,mRS评分 ≤ 1 且 ≥ 0 定义为转归良好组, ≥ 2 分定义为转归不良组。③血压:治疗24小时后,每日测量血压次并取平均值,血压正常范围收缩压(systolic blood pressure, SBP)小于等于140 mmHg,舒张压(diastolic pressure, DBP)小于等于90 mmHg。④血常规:分别采集住院前与出院后3 mL空腹静脉血,分离血清,使用血液自动分析仪(美国贝克曼库尔特公司)检测白细胞计数(White blood cell count, WBC)、血红蛋白浓度(hemoglobin concentration, Hb)、血小板计数(platelet count, PLT)、红细胞分布宽度(Red blood cell distribution width, RDW)水平、血小板平均体积(mean platelet volume, MPV)水平。

1.5 统计学处理

采用软件统计SPSS 22.0处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用最佳刻度分析卒中静脉溶栓后转归的影响因素;ROC曲线分析RDW、MPV对其预测价值; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 静脉溶栓治疗转归的单因素分析

治疗前,两组性别、年龄、吸烟史、饮酒史、冠心病、高血压、SBP、WBC、Hb、PLT比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后,转归良好组DBP、高血脂、NIHSS评分、RDW、MPV较于转归不良组明显更低,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表1。

2.2 静脉溶栓治疗转归的多因素最佳刻度分析

分析结果显示,高血脂、DBP、RDW、MPV均为影响卒中转归的不良因素。见表2。

2.3 RDW、MPV预测静脉溶栓转归的价值分析

将RDW、MPV纳入二元Logistic回归模型行统计分析,得到两项指标回归的预测概率,即两项联合

表1 静脉溶栓治疗转归的单因素分析 [n(%), $\bar{x} \pm s$]
Table 1 Single factor analysis of the outcome of intravenous thrombolytic therapy [n(%), $\bar{x} \pm s$]

因素	转归良好组 (n=76)	转归不良组 (n=26)	χ^2/t 值	P值
性别	男 50(65.78) 女 26(34.21)	16(61.53) 10(38.46)	0.153	0.695
年龄(岁)	61.18±8.58	61.04±8.52	0.075	0.940
吸烟史	有 25(32.89) 无 51(67.11)	6(23.07) 20(76.92)	0.883	0.374
饮酒史	有 17(22.37) 无 59(77.63)	7(26.92) 19(73.07)	0.223	0.636
冠心病	有 16(21.05) 无 60(78.95)	9(34.62) 17(65.38)	1.926	0.165
糖尿病	有 21(27.63) 无 55(72.36)	12(46.15) 14(53.84)	3.037	0.081
高血压	有 49(64.44) 无 27(35.52)	21(80.76) 5(19.23)	2.389	0.122
高血脂	有 56(73.68) 无 20(26.32)	11(42.30) 15(56.69)	8.462	0.004
DBP(mmHg)	78.24±5.56	80.76±5.14	-2.032	0.045
SBP(mmHg)	130.45±10.86	130.42±10.09	0.012	0.99
WBC($\times 10^9/L$)	6.26±1.22	6.45±1.09	-0.703	0.483
Hb(g/L)	134.49±12.23	136.82±11.74	-0.847	0.399
PLT($\times 10^9/L$)	218.63±64.67	204.17±61.98	0.994	0.322
NIHSS 评分(分)	4.51±1.09	6.14±1.89	-4.165	0.000
RDW(%)	12.13±1.21	14.14±1.74	-5.455	0.000
MPV(fl)	10.14±1.01	11.19±1.56	-3.308	0.001

表2 静脉溶栓治疗转归的多因素最佳刻度分析
Table 2 Multivariate optimal scale analysis of stroke outcome

因素	β 值	S.E.值	df值	F值	P值
高血脂	0.246	0.085	1	8.435	0.005
DBP(mmHg)	-0.129	0.089	1	2.108	0.150
NIHSS 评分(分)	0.143	0.085	1	2.810	0.097
RDW(%)	0.201	0.094	1	4.554	0.035
MPV(fl)	0.201	0.094	1	23.124	0.000

指标。再建立 ROC 曲线,分析结果显示,RDW、MPV 及两项联合指标的 ROC 曲线下面积 AUC 分别为 0.842、0.771、0.853。由此可得,两项联合指标价值明显更高,当取 cut-off 时,其敏感度、特异度分别为 69.2%、89.5%。见表 3、图 1。

3 讨论

卒中是由脑部血液循环障碍,导致以局部神经功能缺失为特征的一组疾病。脑卒中具有经济

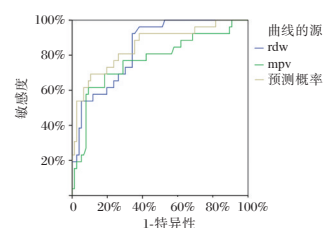


图1 RDW、MPV 及联合指标的 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve of RDW, MPV and combined indicators

负担重的特点。有研究表明卒中复发率占 27%,门诊卒中患者约 40%是二次以上复发。此病会严重影响患者生活质量,给家庭和社会造成巨大负担。脑卒中给患者带来的危害有四肢麻木、行走困难甚至无法说话、恶心呕吐或血压波动、全身明显乏力、肢体软弱无力等。其次卒中还会给患者带来行为障碍,跌倒、视觉缺失等;有的患者还会出现抑郁、焦虑的表现^[7]。目前,采用最多的干预治疗是静脉溶栓^[8]。及时溶栓治疗能够在早期改善血流供应,减轻不可逆性缺血性损伤,改善疾病转归,探究影响静脉溶栓转归效果的影响因素对脑卒中的预后具有一定的预测意义。

分析结果显示,高血脂、DBP、RDW、MPV 均为影响卒中转归的不良因素,提示发病时基线血脂、DBP、RDW、MPV 水平增高有可能预示静脉溶栓后转归不良。研究指出,缺血性卒中患者常合并脂质代谢紊乱,血脂升高缩短红细胞寿命,使红细胞更新速度加快,致 RDW 增高^[9]。而 MPV 与 RDW 又为检测血小板的重要指标,在人体小血管破裂时,血小板聚集可以形成血小板栓堵住破裂伤口,从而达到止血的功效^[10]。并且由于对毛细血管的营养支持,可降低毛细血管脆性,预防出血^[11]。除了黏附帮助止血,保护细胞内皮光滑完整外,同时还具有聚集作用。当皮肤有破口或者血管有破损时,血小板聚集到一起形成血凝块帮助止血,可释放各种促凝血因子,加强凝血过程。血小板形成血凝块后可黏附在伤口,血凝块进一步收缩,形成血清保护创面,加快伤口的愈合、止

表3 RDW、MPV 预测静脉溶栓转归的效能分析

Table 3 Analysis of the efficacy of RDW and MPV in diagnosing stroke outcome

检验结果变量	AUC	S.E.值	95%CI	cut-off 值	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	P 值
RDW(%)	0.842	0.040	0.763~0.920	12.485	0.581	92.3	65.8	<0.001
MPV(fl)	0.771	0.059	0.656~0.886	11.110	0.523	61.5	90.8	<0.001
联合预测	0.853	0.046	0.763~0.943	0.313	0.587	69.2	89.5	<0.001

血速度。MPV是血小板活化的一个重要指标。水平升高则血小板体积增大,活性增强,能够判断出血倾向和造血功能的变化,MPV水平升高,与心血管疾病患者的死亡率增高和预后不良具有较强的相关性。研究指出,脑卒中患者中血小板活化增加,既会促进血栓栓塞,也可通过免疫和炎症机制促进疾病的发生发展^[12]。其原理为:血小板的凝血因子增高在血栓形成中起到了重要的作用,而凝血因子增高会造成纤维蛋白原浓度增高有利于血栓形成的机制,包括增高血浆和全血黏度,改变血液流动及增高对血管内皮的切变应力,与LDL结合促进动脉粥样硬化^[13]。当血小板释放出ADP、5-HT,使PLT的聚集性和反应性增高,血液黏度增高,血液流动减少,不利灌注,造成大脑缺血,有利于致血栓形成^[14]。在体内,血栓形成的常见部位是血管狭窄、弯曲、分叉等地方。RDW主要反映红细胞大小的畸变水平,在临床上多用于诊断、鉴别贫血。本研究结果显示,转归良好的患者体内RDW小于转归不良患者的,提示RDW的上升与脑卒中的疾病严重程度存在一定关联,与相关研究结果相似^[15]。分析其原因可能为:在心肌梗死巨球蛋白血症、肿瘤等疾病中,血液循环中可见巨大的成堆红细胞聚集体,它们在微循环中起到类似血小板聚集体的作用,影响微循环的正常血液灌注^[16]。全血黏度主要取决于红细胞。红细胞数量的增高以及可变形能力的下降均可使全血黏度增高^[17]。血液黏度增高时,致使血流阻力增高,流动速度缓慢,造成组织缺血、缺氧、从而使组织中各种代谢产物堆积^[18]。促进血小板黏附、聚集和释放;红细胞促进血小板黏附和聚集,有利于止血和血栓形成,即红细胞与血小板的碰撞,加强了血小板向血管内壁的输送速度与频率。红细胞数量增多,可变形能力下降时,这种作用就越大^[19]。由此可见,MVP与RDW水平的升高与卒中转归有关,可作为预测卒中的指标。本研究表明,RDW、MPV、二者联合预测卒中转归的预测效能由高到低依次为联合检测、RDW、MPV。

综上所述,高血脂、DBP、RDW、MPV均为影响卒中转归的不良因素;MVP、RDW、联合预测均可作为卒中转归的预测指标,值得临床应用。但本研究样本数量较小,同时缺乏长期随访观察,故还有待进一步开展大样本、远期观察的研究检验。

参考文献

- [1] 范鸿飞,孙雅丽.卒中单元管理联合重组组织型纤溶酶原激活剂静脉溶栓治疗急性脑梗死的临床疗效及安全性研究[J].实用心脑血管病杂志,2021,29(1):109-113.
- [2] 郑海燕,路屹,骆嵩.阿替普酶静脉溶栓后急性缺血性脑卒中患者早期疗效与长期预后的影响因素分析[J].安徽医学,2021,42(2):157-161.
- [3] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [4] 韩金涛.北京大学卒中论坛第五十次会议纪要[J].中华脑血管病杂志(电子版),2020,14(3):185-187.
- [5] Kim P, Langheinrich K, Cristiano B, et al. Low thalamostriate venous quantitative susceptibility measurements correlate with higher presenting NIH stroke scale score in emergent large vessel occlusion stroke [J]. J Int Med Res, 2019, 48(1):300060519832462.
- [6] Kim T J, Ji S L, Oh M S, et al. Predicting Functional Outcome Based on Linked Data After Acute Ischemic Stroke: S-SMART Score[J]. Transl Stroke Res, 2020, 11(5-6):1296-1305.
- [7] 申香,李敏,胡艳丽.急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓24h内出血情况及不同出血部位血压水平差异性分析[J].齐鲁护理杂志,2021,27(9):95-98.
- [8] 闫伟民,张慧兰,吴雪梅.静脉溶栓治疗急性缺血性脑卒中的效果及并发症危险因素分析[J].中国药物与临床,2021,21(4):576-579.
- [9] 何珊,龚细礼,张承花.急性缺血性卒中静脉溶栓后颅内出血转化因素分析[J].湖南师范大学学报(医学版),2021,18(2):94-97.
- [10] 覃奇雄,梁志坚.急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓后血压变异性与预后相关性的研究进展[J].中国全科医学,2021,24(3):376-380.
- [11] 吕洋,高思山,滕继军.高龄急性缺血性脑卒中患者重组组织型纤溶酶原激活剂静脉溶栓的有效性和安全性分析[J].中国医师杂志,2021,23(3):440-443.
- [12] 薛娟娟,路蔚,夏晓爽,等.红细胞分布宽度对急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓转归的预测价值[J].天津医药,2020,48(4):49-53.
- [13] 许超,王鹏,李冬辉,等.急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓治疗的临床预后及相关影响因素分析[J].浙江医学,2020,42(5):469-472,476.
- [14] 张皓春,陈忠,文泽贤,等.急性脑梗死患者外周血miR-497表达与炎症氧化应激的关系及对预后的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):4.
- [15] 卓子良,聂志余,刘渊华,等.急性缺血性卒中患者脑小血管病总负荷与静脉溶栓治疗转归的关系研究[J].中国卒中杂志,2020,15(7):734-739.
- [16] 罗晴蓉,李运飞,边林,等.急性缺血性脑卒中静脉阿替普酶溶栓后出血转化的危险因素及预测模型[J].中国实用神经疾病杂志,2020,23(18):1652-1656.

· 论 著 ·

老年2型糖尿病患者血浆纤维蛋白原、糖化血红蛋白与糖尿病病程的相关性

陈静娴* 孙洁 范文辉

【摘要】目的 分析老年2型糖尿病患者血浆纤维蛋白原、糖化血红蛋白与糖尿病病程的相关性。方法 选择2019年1月至2021年5月期间安徽省马鞍山市人民医院进行治疗的老年2型糖尿病患者126例患者,将患者依据糖尿病病程四分位数分为A组(<2年, $n=33$)、B组(2~7.9年, $n=35$)、C组(8~13.9年, $n=32$)、D组(≥ 14 年, $n=26$)。比较各组一般资料及临床治疗情况、实验室检查结果,并Logistic多因素分析老年2型糖尿病病程较长相关因素,ROC曲线分析各危险因素与老年2型糖尿病病程的相关性。结果 患者年龄、收缩压水平、高血压和冠心病合并率、口服降糖药和胰岛素使用率为C组和D组>A组和B组,体质量指数为C组和D组<A组和B组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血浆纤维蛋白原、高密度脂蛋白胆固醇、肌酐、空腹血糖、糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、丙氨酸氨基转移酶、甘油三酯水平为C组和D组>A组和B组,空腹C肽水平为C组和D组<A组和B组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血浆纤维蛋白原 ≥ 3 g/L、高密度脂蛋白胆固醇 ≥ 1.20 mmol/L、糖化血红蛋白 $\geq 8.00\%$ 、尿微量白蛋白 > 20 mg/dL、甘油三酯 ≥ 1.80 mmol/L、空腹C肽 ≤ 1.80 ng/mL为老年2型糖尿病病程较长的危险因素($P<0.05$)。血浆纤维蛋白原、高密度脂蛋白胆固醇、糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、甘油三酯老年2型糖尿病病程存在正相关($P<0.05$),空腹C肽与老年2型糖尿病病程存在负相关($P<0.05$)。结论 血浆纤维蛋白原、高密度脂蛋白胆固醇、糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、甘油三酯、空腹C肽与老年2型糖尿病病程存在相关性,其水平异常为老年2型糖尿病病程较长的危险因素。

【关键词】 糖尿病; 老年; 病程; 纤维蛋白原; 糖化血红蛋白

Correlation between plasma fibrinogen, glycosylated hemoglobin and the course of diabetes in elderly patients with type 2 diabetes

CHEN Jingxian*, SUN Jie, FAN Wenhui

(Cadre ward, Maanshan People's Hospital of Anhui, Maanshang, Anhui, China, 243000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the correlation between plasma fibrinogen, glycosylated hemoglobin and the course of diabetes in elderly patients with type 2 diabetes. **Methods** A total of 126 elderly patients with type 2 diabetes who came to the People's Hospital of Ma'anshan City, Anhui Province for treatment from January 2019 to May 2021 were selected. The patients were divided into group A (<2 years, $n=33$), group B (2-7.9 years, $n=35$), group C (8-13.9 years, $n=32$), group C (8-13.9 years, $n=32$), and group D (≥ 14 years, $n=26$) according to the quartile of diabetes duration. The general data, clinical treatment and laboratory test results of each group were compared. Logistic multivariate analysis was performed to analyze the factors related to the longer course of type 2 diabetes in the elderly. ROC curve analysis was performed to analyze the correlation between each risk factor and the course of type 2 diabetes in the elderly. **Results** The age, systolic blood pressure level, the combined rate of hypertension and coronary heart disease, oral hypoglycemic agents and insulin use rate were group C and group D>group A and group B, body mass index was group C and group D <group A and group B, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Plasma

基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(1804h08020296)

作者单位:安徽省马鞍山市人民医院干部病房,安徽,马鞍山 243000

*通信作者:陈静娴, E-mail: zfz200205@163.com

fibrinogen, high-density lipoprotein cholesterol, creatinine, fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, urine microalbumin, alanine aminotransferase, triglyceride levels were group C and group D > group A and group B. The level of fasting C-peptide in groups C and D was less than that in groups A and B, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Plasma fibrinogen ≥ 3 g/L, high-density lipoprotein cholesterol ≥ 1.20 mmol/L, glycosylated hemoglobin $\geq 8.00\%$, urine microalbumin ≥ 20 mg/dL, triglyceride ≥ 1.80 mmol/L, fasting C-peptide ≤ 1.80 ng/L was the risk factor for the longer course of type 2 diabetes in the elderly ($P < 0.05$). Plasma fibrinogen, high-density lipoprotein cholesterol, glycosylated hemoglobin, urinary microalbumin, and triglyceride were positively correlated with the course of type 2 diabetes in the elderly ($P < 0.05$), and fasting C-peptide was negatively correlated with the course of type 2 diabetes in the elderly ($P < 0.05$). **Conclusion** Plasma fibrinogen, high-density lipoprotein cholesterol, glycosylated hemoglobin, urine microalbumin, triglyceride, fasting C-peptide are correlated with the course of type 2 diabetes in the elderly, and their abnormal levels are risk factors for the longer course of type 2 diabetes in the elderly.

[KEY WORDS] Diabetes; Old age; Course of disease; Fibrinogen; Glycosylated hemoglobin

2型糖尿病是临床常见的慢性代谢疾病,多发于35~40岁的人群,患者主要表现出频尿、烦渴、多食、酸痛、疲倦、不明原因体重减轻,胰岛素抵抗和高血糖等临床特征,影响患者的正常生活^[1]。有研究指出^[2],近年来随着人们生活方式的变化和生活水平的提高,全球范围内糖尿病的发病率逐年升高,已经成为威胁人类健康的基础疾病之一。糖尿病作为慢性终身性疾病之一,具有病程较长的特点,随着病情的进展会对多系统造成损伤,造成一系列并发症,甚至危及生命,因此积极了解2型糖尿病患者病程情况及影响因素,对于改善患者生活质量有重要意义^[3]。血浆纤维蛋白原是临床常用的了解机体凝血功能和纤溶系统活力的指标,其对于血小板聚集、血栓形成和止血等均有调控作用,糖尿病患者机体为高凝状态,因此凝血潜能较强,此时血浆纤维蛋白原水平变化明显^[4]。糖化血红蛋白是血红蛋白和血液中葡萄糖结合产生的不可逆产物,其水平与血糖变化不相关,因此临床中期是衡量糖尿病患者血糖水平的重要指标,能够帮助糖尿病患者控制血糖,评估预后^[5]。本文分析了老年2型糖尿病患者血浆纤维蛋白原、糖化血红蛋白与糖尿病病程的相关性,以期能为今后临床治疗提供指导。现分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年1月至2021年5月期间来安徽省马鞍山市人民医院进行治疗的老年2型糖尿病126例患者展开研究。其中男66例、女60例,年龄平均(78.96±6.87)岁。体质量指数平均(24.04±3.74)kg/m²,病程平均(9.84±2.88)年。将患者依据糖尿病病

程四分位数分为A组(<2年, n=33)、B组(2~7.9年, n=35)、C组(8~13.9年, n=32)、D组(≥14年, n=26)。

纳入标准:①经临床确诊为糖尿病的患者^[6];②年龄超过60岁的患者;③未合并糖尿病急性并发症的患者;④各项资料均完整的患者。排除标准:①合并重度肝肾功能不全的患者;②合并出血性疾病、恶性肿瘤的患者;③近3个月内发生严重创伤、感染或外科手术的患者;④临床资料不完整或失访的患者。所有患者家属均签署知情同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 糖尿病诊断标准^[6]

参照《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》^[6]中相关标准,空腹血糖 ≥ 7 mmol/L。

1.3 方法

①比较各组一般资料及临床治疗情况:包括年龄、性别、糖尿病起病年龄、体质指数、收缩压、舒张压、吸烟史、饮酒史、合并症、临床治疗。②实验室检查结果:包括血浆纤维蛋白原(全自动凝血仪法)、胆固醇(全自动生化分析仪)、甘油三酯(全自动生化分析仪)、高密度脂蛋白胆固醇(全自动生化分析仪)、低密度脂蛋白胆固醇(全自动生化分析仪)、丙氨酸氨基转移酶(赖氏法)、肌酐(终点比色法)、空腹血糖(葡萄糖氧化酶法)、糖化血红蛋白(高压液相离子交换层析分离法)、尿素氮(酸碱滴定实验)、餐后2h血糖(全自动生化分析仪)、空腹C肽(全自动化学发光仪)、尿酸(尿酸仪)、估算肾小球滤过率^[7][男性 $Ccr = (140 - \text{年龄}) \times \text{体重}(\text{kg}) \times 1.23 / \text{血肌酐}(\mu\text{mol/L})$ 女性 $Ccr = (140 - \text{年龄}) \times \text{体重}(\text{kg}) \times 1.03 / \text{血肌酐}(\mu\text{mol/L})$]、尿微量白蛋白(全自动生化分析仪)、白细胞计数(白细胞吞

噬功能试验)、红细胞计数(手工显微镜法)、血红蛋白(高压液相离子交换层析分离法)、血小板计数(血细胞分析仪法)。

1.4 统计学方法

采用SPSS 24.0软件包分析数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较为 F 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料及临床治疗情况比较

患者年龄、收缩压水平、高血压和冠心病合并率、口服降糖药和胰岛素使用率为C组和D组>A组和B组,体质指数为C组和D组<A组和B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组一般资料及临床治疗情况比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

分组	A组(n=33)	B组(n=35)	C组(n=32)	D组(n=26)	χ^2/F 值	P值
年龄(岁)	74.26±4.04	74.59±4.33	81.12±4.06 ^a	82.25±5.12 ^a	2.396	0.031
性别						
男	17(51.52)	18(51.43)	17(53.13)	14(53.85)	1.854	0.071
女	16(48.48)	17(48.57)	15(46.87)	12(46.15)		
糖尿病起病年龄(岁)	46.54±5.63	47.95±4.77	46.96±4.76	47.08±5.22	3.417	0.054
体质指数(kg/m ²)	24.56±1.92	24.22±1.61	23.36±1.07 ^a	23.55±1.48 ^a	2.767	0.008
收缩压(mmHg)	131.56±8.69	134.55±10.59	137.46±8.94 ^a	139.08±9.64 ^a	2.317	0.035
舒张压(mmHg)	79.96±11.26	78.69±10.59	78.70±8.61	77.12±9.66	1.663	0.096
吸烟史						
是	7(21.21)	7(20.00)	6(18.75)	4(15.38)	2.317	0.065
否	26(78.79)	28(80.00)	26(81.25)	22(84.62)		
饮酒史						
是	5(15.15)	4(11.43)	3(9.38)	2(7.69)	1.712	0.079
否	28(84.85)	31(88.57)	29(90.62)	24(92.31)		
合并症						
高血压	14(42.42)	21(60.00)	22(68.75) ^a	18(69.23) ^a	7.854	0.013
冠心病	1(3.03)	3(8.57)	3(9.38) ^a	3(11.54) ^a	6.158	0.029
高血脂	9(27.27)	8(22.86)	8(25.00)	5(19.23)	3.158	0.057
动脉粥样硬化	28(84.85)	29(82.86)	27(84.38)	22(84.61)	1.827	0.074
临床治疗						
口服降糖药	21(63.64)	29(82.86)	28(87.50) ^a	22(84.62) ^a	6.389	0.027
胰岛素	9(27.27)	13(37.14)	15(46.88) ^a	17(65.38) ^a	4.612	0.043
抗血小板聚集药	30(90.91)	32(91.43)	30(93.75)	24(92.31)	1.649	0.082

注:与A组、B组相比,^a $P < 0.05$ 。

2.2 各组实验室检查结果比较

血浆纤维蛋白原、高密度脂蛋白胆固醇、肌酐、空腹血糖、糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、丙氨酸氨基转移酶、甘油三酯水平为C组和D组>A组和B组,空腹C肽水平为C组和D组<A组和B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 老年2型糖尿病病程较长相关因素的Logistic多因素分析

ROC曲线分析获得各因素cut off值,并进一步行多因素分析,血浆纤维蛋白原 ≥ 3 g/L、高密度脂蛋白胆固醇 ≥ 1.20 mmol/L、糖化血红蛋白 $\geq 8.00\%$ 、尿微量白蛋白 > 20 mg/dL、甘油三酯 ≥ 1.80 mmol/L、空腹C肽 ≤ 1.80 ng/mL为老年2型糖尿病病程较长的危险因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 各危险因素与老年2型糖尿病病程较长的相关性

血浆纤维蛋白原、高密度脂蛋白胆固醇、糖化

血红蛋白、尿微量白蛋白、甘油三酯老年2型糖尿病病程存在正相关($P < 0.05$),空腹C肽与老年2型糖尿病病程存在负相关($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

随着糖尿病患者病程的延长,经现代医疗的有效控制,患者的生存期延长,糖尿病微血管病变的发病人数也日主增多,目前糖尿病微血管并发症已经成为糖尿病患者失明、慢性肾病、糖尿病足发生的主要原因。有学者指出^[8],血糖控制水平、糖尿病病程、年龄等均是糖尿病患者发生微血管病变的主要原因,部分患者甚至在临床诊断糖尿病前就已经发生神经病变,因此积极了解糖尿病患者的病程具有重要的临床意义。

血浆纤维蛋白原是由肝细胞合成和分泌的糖蛋白,其不仅是血液内重要的凝固蛋白和炎症标志物,还是血小板聚集和血液黏度的重要决定因

表2 各组实验室检查结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of laboratory test results of each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	A组(n=33)	B组(n=35)	C组(n=32)	D组(n=26)	F值	P值
血浆纤维蛋白原(g/L)	2.87±0.15	3.00±0.29	3.45±0.29 ^a	3.50±0.18 ^a	3.098	0.002
胆固醇(mmol/L)	4.66±1.08	4.74±0.78	4.59±0.45	4.62±0.32	1.931	0.061
甘油三酯(mmol/L)	1.72±0.26	1.70±0.27	1.92±0.16 ^a	1.90±0.20 ^a	2.479	0.027
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.08±0.19	1.10±0.24	1.20±0.37 ^a	1.25±0.20 ^a	2.037	0.044
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.00±1.01	2.93±0.97	2.89±0.91	2.95±1.03	1.652	0.098
丙氨酸氨基转移酶(mmol/L)	18.53±5.25	18.77±3.93	19.78±5.41 ^a	19.73±6.11 ^a	2.793	0.007
肌酐(μ mol/L)	63.45±10.46	67.46±12.52	86.50±15.39 ^a	94.45±15.63 ^a	2.801	0.006
空腹血糖(mmol/L)	7.36±2.62	7.06±2.46	9.82±2.49 ^a	10.02±2.58 ^a	2.559	0.014
糖化血红蛋白(%)	6.63±2.79	6.01±2.15	10.71±1.28 ^a	10.83±1.26 ^a	2.317	0.035
尿素氮(mmol/L)	5.02±1.41	5.04±1.32	5.09±1.46	5.04±1.78	1.671	0.094
餐后2h血糖(mmol/L)	16.58±3.07	16.89±3.11	16.56±3.46	17.04±4.16	1.915	0.067
空腹C肽(ng/mL)	2.06±0.33	2.09±0.41	1.78±0.22 ^a	1.70±0.26 ^a	2.557	0.015
尿酸(μ mol/L)	302.56±24.65	306.44±30.49	309.56±33.78	302.55±37.95	1.689	0.088
估算肾小球滤过率(%)	98.56±16.23	99.45±19.56	94.22±12.26	98.16±10.63	1.806	0.078
尿微量白蛋白(mg/dL)	17.85±5.63	18.24±3.26	25.46±3.16 ^a	26.5±3.46 ^a	2.517	0.019
白细胞计数($\times 10^9/L$)	7.21±1.32	7.40±1.56	7.30±1.75	7.35±1.88	1.912	0.068
红细胞计数($\times 10^{12}/L$)	4.56±0.36	4.60±0.41	4.54±0.22	4.60±0.31	1.615	0.191
血红蛋白(g/L)	139.56±17.18	140.33±20.65	137.45±21.65	136.66±20.66	1.676	0.092
血小板计数($\times 10^9/L$)	253.69±19.38	260.45±22.36	278.95±34.26	268.24±36.67	1.941	0.058

注:与A组、B组相比,^a $P < 0.05$ 。

表3 老年2型糖尿病病程较长相关因素的Logistic多因素分析

Table 3 Logistic multivariate analysis of factors related to the longer course of type 2 diabetes in the elderly

因素	赋值	Beta值	SE值	Wald值	OR值	95%CI	P值
血浆纤维蛋白原	1= ≥ 3 g/L 0= < 3 g/L	0.552	0.245	5.047	1.737	2.397-4.184	0.024
高密度脂蛋白胆固醇	1= ≥ 1.20 mmol/L 0= < 1.20 mmol/L	1.259	0.540	5.417	3.522	2.025-3.987	0.019
糖化血红蛋白	1= ≥ 8.00 % 0= < 8.00 %	1.301	0.346	14.111	3.673	2.017-4.812	0.001
尿微量白蛋白	1= > 20 mg/dL 0= ≤ 20 mg/dL	0.833	0.379	4.814	2.301	2.485-4.128	0.028
甘油三酯	1= ≥ 1.80 mmol/L 0= < 1.80 mmol/L	0.689	0.340	4.096	1.993	2.593-3.717	0.042
空腹C肽	1= ≤ 1.80 μ g/ng/mL 0= > 1.80 ng/mL	1.084	0.474	5.228	2.957	1.487-3.981	0.022

表4 各危险因素与老年2型糖尿病病程较长的相关性

Table 4 Correlation between various risk factors and the longer course of type 2 diabetes in the elderly

相关性	血浆纤维蛋白原	高密度脂蛋白胆固醇	糖化血红蛋白	尿微量白蛋白	甘油三酯	空腹C肽
r值	0.608	0.575	0.834	0.484	0.741	-0.324
P值	0.038	0.022	0.011	0.035	0.021	0.008

素,与各血管事件有密切关系^[9]。随着糖尿病病程的延长,患者机体糖代谢紊乱情况严重,长期的代谢紊乱会促使机体产生糖基化终产物,促进机体释放炎症因子,造成机体纤溶系统和凝血功能失衡,导致血浆纤维蛋白原水平升高,通过与纤维蛋白原受体结合进而导致血小板粘聚性升高,增大血液黏度,促进血液高凝^[10]。同时纤维蛋白原为血栓形成的前体物质,随着糖尿病患者病程的延

长,患者微血管和大血管并发症升高,机体易发微循环障碍,出现活性氧簇,诱发氧化应激和炎症级联反应,形成微血栓,进一步导致纤维蛋白原升高,促进糖尿病血管并发症的发生,形成恶性循环,因此血浆纤维蛋白原升高预示着糖尿病病程的延长^[11]。高密度脂蛋白胆固醇是肝脏合成的抗动脉粥样硬化脂蛋白,能够将胆固醇由肝外组织转运至肝脏内代谢,并由胆汁排除体外,因此高密度脂蛋白胆固醇水平的高低与心血管病风险存在负相关,其能够通过促进胆固醇逆向转运而发挥抗炎、抗氧化机制,进而达到抗动脉粥样硬化的效果,改善血液高凝,避免机体微循环障碍,因此高密度脂蛋白胆固醇提示糖尿病病程较长^[12]。糖化血红蛋白能够有效反应患者近3个月内的血糖水平,且其水平高于用药和进食等因素无关,能够客观反映出血糖水平

和变化趋势,对于临床指导血糖控制有重要意义,因此良好的血糖控制能够有效延缓和预防糖尿病微血管并发症的发生和发展,而糖化血红蛋白水平升高提示血糖控制较差,病程较长^[13]。人体正常尿液内尿微量白蛋白的含量极低,尿蛋白是造成小管间质缺氧和慢性肾病进展至终末期肾衰竭的主要危险因素之一,因此尿微量白蛋白水平升高提示糖尿病患者出现系统损伤,病程较长^[14]。甘油三酯是脂质的组成部分,部分糖尿病患者随病情进展会发生脂质类物质代谢功能障碍,且多数患者血液内甘油三酯类物质和胆固醇无法通过正常途径排出体外,因此其水平升高提示患者病程较长,病情较重^[15]。空腹C肽为胰岛β细胞分泌而来,其不易被肝脏降解,因而可准确反映胰岛细胞功能,空腹C肽水平降低,说明胰岛分泌功能减弱,患者可能伴随较长的病程^[16]。

综上所述,血浆纤维蛋白原、高密度脂蛋白胆固醇、糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、甘油三酯、空腹C肽与老年2型糖尿病病程存在相关性,其水平异常为老年2型糖尿病病程较长的危险因素。

参考文献

- [1] Lallukka BS, Isokuortti E, Luukkonen PK, et al. Natural Course of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Type 2 Diabetes in Patients With Human Immunodeficiency Virus With and Without Combination Antiretroviral Therapy - associated Lipodystrophy: A 16-Year Follow-up Study [J]. Clin Infect Dis, 2020, 70(8): 1708-1716.
- [2] Zhyzhneuskaya SV, Ahmad AM, Peters C, et al. Time Course of Normalization of Functional β-Cell Capacity in the Diabetes Remission Clinical Trial After Weight Loss in Type 2 Diabetes [J]. Diabet Care, 2020, 43(4): 813-820.
- [3] Minukhina DV, Babadjan VD, Minukhin DV, et al. Time course of endothelial dysfunction and atherothrombosis markers in patients with acute myocardial infarction with st segment elevation and type 2 diabetes mellitus depending on reperfusion therapy approach [J]. Wiadom Lek, 2020, 73(1): 123-127.
- [4] Bryk AH, Zetl K, Wiśniewski JR, et al. Glycation and acetylation sites on fibrinogen in plasma fibrin clot of patients with type 2 diabetes: Effects of low-dose acetylsalicylic acid [J]. Thromb Res, 2021, 198(2): 93-98.
- [5] Lin YX, Zhang YZ, Shen XM, et al. Influence of glucose, insulin fluctuation, and glycosylated hemoglobin on the outcome of sarcopenia in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. J Diabetes Its Complicatins, 2021, 35(6): 107926.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 315-409.
- [7] 李浩源, 孙叶丽, 周萍. 肾小球滤过率评估公式的优缺点及适用性[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(11): 1494-1498.
- [8] Akkus G, Izol V, Fesih O, et al. Possible role of the receptor of advanced glycation end products (RAGE) in the clinical course of prostate neoplasia in patients with and without type 2 diabetes mellitus [J]. Int J Clin Pract, 2021, 75(3): e13723.
- [9] Kenneth I, Arpita B, Amalie A, et al. 505-P: Relationship between Plasma CRP and Fibrinogen Measured Using Dried Blood Samples and Vascular Complications in Type 2 Diabetes [J]. Diabetes, 2020, 69(3): 171-178.
- [10] 张会娟. 妊娠糖尿病患者妊娠期间凝血功能指标的动态变化及临床意义[J]. 血栓与止血学, 2021, 27(1): 120-121.
- [11] Harrison ML, Wolfe AS, Fordyce J, et al. The additive effect of type 2 diabetes on fibrinogen, von Willebrand factor, tryptophan and threonine in people living with HIV [J]. Amino Acids, 2019, 51(5): 783-793.
- [12] 姚伟列, 颜雅青, 欧典强, 等. 三酰甘油/高密度脂蛋白胆固醇比值与糖尿病并发症的关系研究进展[J]. 中国全科医学, 2021, 24(17): 2224-2229.
- [13] Wan KS, Moy FM, Mustapha FI, et al. Changes in body mass index, glycosylated hemoglobin A1C, blood pressure, and LDL-cholesterol among type 2 diabetes patients in Malaysia: A population-based longitudinal study [J]. J Diabetes, 2021, 17(7): 1111-1117.
- [14] 张赞贤, 芦晶晶, 李星, 等. 尿微量蛋白/肌酐比值在2型糖尿病大血管病变中的临床意义[J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(5): 545-549.
- [15] 赵红梅, 孙田歌, 黄新梅, 等. 妊娠前体重指数、妊娠年龄及妊娠早期甘油三酯水平对妊娠期糖尿病的预测价值[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(3): 166-168.
- [16] 甘明珠. 甘精胰岛素联合阿卡波糖对绝经期糖尿病患者糖脂代谢、空腹C肽、血管内皮功能及炎症因子的影响[J]. 海军医学杂志, 2020, 41(5): 552-556+560.
- [17] 李治璋, 孔玉明, 王佳辉, 等. 红细胞分布宽度与急性缺血性卒中静脉溶栓患者发病严重程度及预后的关系研究[J]. 中国卒中杂志, 2020, 15(7): 747-752.
- [18] 杨苗娟, 曾思琳, 徐铅辉, 等. 脑小血管病总负荷评分与静脉溶栓治疗急性缺血性卒中患者1年预后相关性研究[J]. 中国卒中杂志, 2020, 15(6): 655-661.
- [19] 王鹏飞, 乔海霞, 王瑞鹏, 等. 冠心病患者MPV、RDW、hs-CRP表达水平及与冠脉Gensini积分相关性的分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(11): 1630-1633.

(上接第332页)

同源重组修复检测的评价

许骏¹ 曲守方² 黄传峰^{2*} 黄杰^{2*}

[摘要] **目的** 使用人实体瘤多基因突变联合检测试剂盒,对国家参考品进行同源重组修复基因(HRR)检测,评价试剂盒的HRR检测能力。**方法** 使用超声打断仪将参考品基因组DNA打断到180~220 bp。将片段化DNA进行末端修复、加接头和PCR扩增等步骤后制备文库;然后杂交捕获后获得文库;最后使用NextSeq550Dx测序仪进行测序。**结果** 国家参考品标示的BRCA基因突变位点以及突变的外显子位置均能准确检出,而且没有检出其他非标示的致病性或疑似致病性突变位点。试剂盒虽然对部分BRCA基因突变位点的解读结果与标示的解读结果有差异,但是解读结果也符合国家参考品的准确性要求。试剂盒未对其他的HRR基因突变进行解读。**结论** HRR检测对BRCA基因突变按照BRCA基因解读规则进行解读,对其他的HRR基因突变的解读结果需要制定相应的解读规则。

[关键词] 同源重组修复;同源重组缺陷;聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂;胚系突变;体细胞突变

Evaluation of homologous recombination repair detection

XU Jun¹, QU Shoufang², HUANG Chuanfeng^{2*}, HUANG Jie^{2*}

(1. Department of Neurosurgery, China - japan friendship hospital, Beijing, China, 100029; 2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050)

[ABSTRACT] **Objective** To detect homologous recombinant repair genes (HRR) in national material reference using the human solid tumor multi-gene mutation detection kit and evaluate the detection capability. **Methods** Genomic DNA was interrupted to about 180-220 bp by ultrasonic interrupter. The fragment DNA was prepared by terminal repair, splicing and PCR amplification. Then the library was obtained after hybridization and capture. Finally, NextSeq550Dx sequencer was used for sequencing. **Results** The mutation sites and exon positions of BRCA gene marked by national reference materials can be accurately detected, and no other non marked pathogenic or suspected pathogenic mutation sites have been detected. Although the interpretation results of some BRCA gene mutation sites by the kit are different from the labeled interpretation results, but the interpretation results also meet the accuracy requirements of national reference materials. The kit does not interpret other HRR gene mutations. **Conclusion** BRCA gene mutations should be interpreted according to BRCA gene interpretation rules, while the interpretation of other HRR gene mutations requires the formulation of corresponding interpretation rules.

[KEY WORDS] Homologous recombination repair; Homologous recombination deficiency; Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor; Germline mutation; Somatic mutation

同源重组修复(homologous recombination repair, HRR)是DNA双链断裂(double strand break, DSB)修复的重要方式^[1],其中最重要基因为乳腺

癌易感基因(breast cancer susceptibility gene, BRCA)。BRCA基因与其他ATM、RAD51、PALB2等基因相互作用,形成DNA损伤修复的复杂系

作者单位:1. 中日友好医院神经外科,北京100029

2. 中国食品药品检定研究院,北京100050

*通信作者:黄传峰, E-mail:huangchf@nifdc.org.cn; 黄杰, E-mail:jhuang5522@126.com

注:许骏和曲守方共为第一作者

统。同源重组修复突变与乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌以及胰腺导管癌等发病相关^[2-3]。同源重组修复相关基因的胚系突变、体细胞突变、基因组稳定性及基因的表现遗传修饰等导致同源重组缺陷(homologous recombination deficiency, HRD)^[4]。聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(Poly (ADP-ribose) polymerase, PARP)在多种DNA损伤反应中发挥作用。PARP1和PARP2参与多种DNA修复过程的调控,包括DNA单链断裂(single strand break, SSB)修复和双链断裂修复。PARP抑制剂在同源重组修复缺陷的细胞中可导致合成致死。研究报道HRR突变的多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)患者,可在PARP抑制剂治疗中获益。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准PARP抑制剂奥拉帕利(Olaparib)用于治疗既往使用恩杂鲁胺(enzalutamide)或阿比特龙(abiraterone)治疗失败且同源重组修复基因突变(胚系和/或体系)的转移性去势抵抗性前列腺癌(metastatic castration-resistant prostate cancer, mCRPC)^[5-6]。美国FDA批准FoundationOne CDx和BRAC Analysis CDx作为奥拉帕利的前列腺癌适应症伴随诊断方案,用于检测存在的同源重组修复相关基因突变情况。国内有多家公司开展基于高通量测序法的同源重组修复基因检测,而且同源重组修复基因检测项目是包含在大panel试剂盒的检测项目中。目前中国食品药品检定研究院研制了BRCA基因突变国家参考品^[7]。本研究使用BRCA基因突变国家参考品,对panel试剂盒的同源重组修复基因检测进行评价。

1 材料与方法

1.1 样本

BRCA基因突变国家参考品,由中国食品药品检定研究院(简称中检院)提供。

1.2 试剂

人实体瘤多基因突变联合检测试剂盒(高通量测序法)由广州燃石医学检验所有限公司提供; Qubit dsDNA HS Assay Kits, 500 Assays/盒, 批号: 2200356, 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; DNA 1000 Kit, 300 Test/盒, 批号: YG15BK10, 购自美国 Agilent Technologies 公司; NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2.5, 300 Cycles/盒, 批号: A147519, 购自美国 Illumina 公司。

1.3 仪器

片段化仪,型号:M220,购自美国 Covaris 公司;荧光计,型号:Qubit3.0,购自美国 Life Technology 公司;生物分析仪,型号:2100,购自美国安捷伦科技有限公司;基因测序仪,型号:NextSeq 550Dx,购自美国 Illumina 公司。

1.4 检测

按照人实体瘤多基因突变联合检测试剂盒(高通量测序法)的说明书进行操作。使用M220片段化仪将国家参考品基因组DNA超声打断到180~220 bp。将片段化DNA进行末端修复和3'端加A、接头连接及产物纯化、预文库扩增及纯化、杂交反应和捕获反应后,获得终文库。使用Qubit荧光计和Qubit dsDNA HS Assay Kits对预文库和终文库进行定量。使用2100生物分析仪和DNA 1000 Kit检测预文库和终文库片段大小,终文库主要片段长度要求分布在200~1000 bp范围内。然后根据数据分配的需要,混合样本文库DNA。使用NextSeq 550Dx测序仪和NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2.5,将混合文库进行上机测序。将测序获得的序列信息数据传输至人实体瘤多基因突变测序数据分析软件,进行数据比对,最后获得同源重组修复基因判读结果。

1.5 结果判读

根据试剂盒说明书中同源重组修复基因阳性判断标准进行分析。非热点点突变:突变频率(allele frequency, AF) $\geq 2.5\%$;支持突变的所有独特片段数(total_count) ≥ 5 条reads且双端测序均支持突变的独特片段数(pair_count) ≥ 3 条reads或者total_count ≥ 8 条reads。非热点插入缺失突变为突变频率(AF) $\geq 2.0\%$;支持突变的所有独特片段数(total_count) ≥ 5 条reads且双端测序均支持突变的独特片段数(pair_count) ≥ 3 条reads或者total_count ≥ 6 条reads。

1.6 突变解读

试剂盒仅对BRCA1/BRCA2基因检出的体细胞及胚系突变结果进行解读。根据美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南建议的5类临床等级判读规则及其他BRCA变异解读数据库的权威解读结果^[8-10],对相关突变给出系统自动化判读结果,包括致病突变(Class 5)、疑似致病突变(Class 4)、意义未明变异(Class 3)、疑似良性变异(Class 2)和良性变异(Class 1)。试剂盒对其他的

HRR 基因突变位点不进行解读。

2 结果

按照国家参考品说明书中的判定标准,对解读结果进行评判。结果显示试剂盒能准确检出国家参考品样本中 *BRCA* 基因突变位点。而且没有检出其他非标示的致病性或疑似致病性突变位点。试剂盒对部分位点的解读结果与标示解读结果有差异,如在 *BRCA2*_pT3030fs_4 样本中对 *BRCA1* 基因

p.Asn810Thr 的解读为 Likely benign, 参考品的标示结果为 VUS; *BRCA2*_pT582P_6 样本中对 *BRCA2* 基因 p.Thr582Pro 的解读为 Benign, 参考品的标示结果为 likely benign; *BRCA1*_c3800TG_pLeu1267Ter_18 和 *BRCA1*_c5156delT_21 样本中对 *BRCA1* 基因的 p.Leu1267Ter 和 p.Val1719GlyfsTer11 解读均为 Pathogenic, 参考品的标示结果为 Likely Pathogenic, 见表 1。试剂盒对国家参考品其他的 *HRR* 基因给出检测的突变位点,未给出该位点的解读结果,见表 2。

表 1 国家参考品的 *BRCA* 基因结果

Table 1 The *BRCA* gene test of national material reference

序号	样本名称	突变基因	外显子	突变结果	突变 reads 支持数	突变频率	解读结果
1	<i>BRCA1</i> _K1183R_1	<i>BRCA1</i>	10	p.K1183R	325	0.489	Benign
		<i>BRCA1</i>	10	p.D435Y	338	0.521	VUS
		<i>BRCA2</i>	11	p.N1784fs	136	0.416	Pathogenic
2	<i>BRCA2</i> _V2466A_2	<i>BRCA2</i>	14	p.V2466A	314	1.000	Benign
		<i>BRCA2</i>	18	p.I2675fs	135	0.462	Pathogenic
		<i>BRCA1</i>	12	p.R1443*	327	0.488	Pathogenic
3	<i>BRCA1</i> _R1443STOP_3	<i>BRCA2</i>	11	p.K1691fs	174	0.452	Pathogenic
		<i>BRCA2</i>	11	p.N1784fs	157	0.485	Pathogenic
		<i>BRCA2</i>	23	p.T3033fs	122	0.419	Pathogenic
4	<i>BRCA2</i> _pT3030fs_4	<i>BRCA1</i>	10	p.N810T	314	0.489	Likely_benign
5	<i>BRCA1</i> _K1780_splic_5	<i>BRCA1</i>	19	c.5277+1G>A	219	0.466	Pathogenic
6	<i>BRCA2</i> _pT582P_6	<i>BRCA2</i>	10	p.T582P	285	0.966	Benign
7	<i>BRCA2</i> _pR2318_7	<i>BRCA2</i>	13	p.R2318*	63	0.414	Pathogenic
8	<i>BRCA2</i> _pT3357R_8	<i>BRCA2</i>	27	p.T3357R	265	0.452	VUS
9	<i>BRCA1</i> _c981_982delAT_9	<i>BRCA1</i>	10	p.C328fs	268	0.517	Pathogenic
10	<i>BRCA2</i> _c5718_5719delCT_10	<i>BRCA2</i>	11	p.L1908fs	228	0.506	Pathogenic
11	<i>BRCA2</i> _c3109CT_11	<i>BRCA2</i>	11	p.Q1037*	132	0.524	Pathogenic
12	<i>BRCA2</i> _c988delA_20	<i>BRCA1</i>	10	p.E1112fs	273	0.503	Pathogenic
13	<i>BRCA2</i> _c5171delT_pIle1724Lysfs_13	<i>BRCA2</i>	11	p.I1724fs	133	0.468	Pathogenic
14	<i>BRCA2</i> _c9274_9277delTATT_pTyr3092Cysfs_14	<i>BRCA2</i>	25	p.Y3092fs	137	0.471	Pathogenic
15	<i>BRCA2</i> _c6445_6446delAT_pIle2149Terfs_15	<i>BRCA2</i>	11	p.I2149fs	137	0.527	Pathogenic
		<i>BRCA1</i>	2	p.M18V	196	0.510	VUS
16	<i>BRCA2</i> _c3883CT_pGln1295Ter_16	<i>BRCA2</i>	11	p.Q1295*	81	0.411	Pathogenic
17	<i>BRCA1</i> _c5470_5477delATTGGGCA_pIle1824Aspfs_17	<i>BRCA1</i>	23	p.I1824fs	248	0.425	Pathogenic
18	<i>BRCA1</i> _c3800TG_pLeu1267Ter_18	<i>BRCA1</i>	10	p.L1267*	220	0.474	Pathogenic
19	<i>BRCA</i> _Normal_19	NA	NA	NA	NA	NA	Benign
20	<i>BRCA2</i> _c988delA_20	<i>BRCA2</i>	10	p.I332fs	113	0.485	Pathogenic
21	<i>BRCA1</i> _c5156delT_21	<i>BRCA1</i>	18	p.V1719fs	342	0.500	Pathogenic
22	<i>BRCA2</i> _c275dupA_22	<i>BRCA2</i>	3	p.S93fs	167	0.511	Pathogenic
23	<i>BRCA1</i> _c4013delA_23	<i>BRCA1</i>	10	p.K1338fs	281	0.488	Pathogenic
24	<i>BRCA1</i> _c68_69delCT_24	<i>BRCA1</i>	2	p.E23fs	207	0.494	Pathogenic
25	<i>BRCA2</i> _EX21_27Del_25	<i>BRCA2</i>	20~27del	/	/	/	/

注:“NA”表示未检出 *BRCA* 基因致病性或可能致病性变异。“/”表示试剂盒不能检出 *BRCA* 基因杂合缺失突变。

3 讨论

目前 *HRR* 突变的检测是使用高通量测序技术对患者肿瘤组织或血液样本进行检测,其中肿瘤组织样本和血浆样本可以评估 *HRR* 基因是否存在体系或胚系突变。美国国家综合癌症网络美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)前列腺癌(2020版)指南^[11]和中

国内前列腺癌患者基因检测专家共识^[12]推荐进行 *BRCA1*、*BRCA2*、*ATM*、*BARD1*、*BRIP1*、*CDK12*、*CHEK1*、*CHEK2*、*FANCL*、*PALB2*、*RAD51B*、*RAD51C*、*RAD51D*、*RAD54L* 等 *HRR* 相关基因检测。不同公司的大 panel 所包含的 *HRR* 基因各不相同,根据标准与指南及其他国内外解读相关文献制定各自的 *BRCA* 基因解读规则。按照美国医学遗传学与基因组学学会:美国医学遗传学与基

表2 国家参考品的其他HRR基因检测结果

Table 2 The other HRR gene test of national material reference

序号	样本名称	突变基因	染色体	突变结果	突变 reads 支持数	突变频率(%)
1	BRCA1_K1183R_1	<i>RAD54L</i>	1	p.R738H	268	47.69
		<i>ATM</i>	11	p.Q1128R	1100	48.69
		<i>ATM</i>	11	p.L2332P	1295	49.92
		<i>RAD51B</i>	14	p.S241P	634	46.82
		<i>ATM</i>	11	p.A1127V	810	45.84
2	BRCA2_V2466A_2	<i>PALB2</i>	16	p.T226S	1355	48.78
		<i>CDK12</i>	17	p.P250H	1239	51.65
		<i>BRIP1</i>	17	p.I1218M	1197	31.28
		<i>BRIP1</i>	17	c.2098-11C>T	2040	67.17
		<i>CHEK2</i>	22	p.L355P	981	49.27
		<i>RAD54L</i>	1	p.S445Y	1156	47.89
3	BRCA1_R1443STOP_3	<i>RAD54L</i>	1	p.V541I	655	51.01
		<i>ATM</i>	11	p.L1328S	98	4.57
		<i>ATM</i>	11	p.Q2243R	1117	51.26
		<i>RAD51D</i>	17	c.903+9G>A	353	43.96
4	BRCA2_pT3030fs_4	<i>ATM</i>	11	p.S707P	618	47.83
		<i>BRIP1</i>	17	p.D184Y	1117	47.37
5	BRCA1_K1780_splic_5	<i>PALB2</i>	16	p.D277N	460	16.56
		<i>BRIP1</i>	17	p.V193I	826	48.19
6	BRCA2_pT582P_6	<i>RAD54L</i>	1	c.477+18_477+19delinsAT	361	31.39
7	BRCA2_pR2318_7	<i>BRIP1</i>	17	p.T324=	1609	45.80
		<i>RAD54L</i>	1	p.R587W	168	24.78
8	BRCA2_pT3357R_8	<i>ATM</i>	11	p.K482Q	935	36.47
		<i>PALB2</i>	16	p.D277N	547	29.47
		<i>RAD54L</i>	1	p.N60S	1172	49.72
9	BRCA2_c5171delT_pIle1724Lysfs_13	<i>RAD54L</i>	1	p.N60S	1172	49.72
10	BRCA2_c9274_9277delTATT_pTyr3092Cysfs_14	<i>BARD1</i>	2	p.F387C	1556	49.95
11	BRCA2_c6445_6446delAT_pIle2149Terfs_15	<i>CHEK2</i>	22	p.D488N	121	25.21
12	BRCA2_c3883CT_pGln1295Ter_16	<i>ATM</i>	11	p.P292=	855	50.44
13	BRCA2_c275dupA_22	<i>FANCL</i>	2	p.D208N	1072	49.15
14	BRCA1_c4013delA_23	<i>CHEK2</i>	22	p.H371Y	728	50.31
15	BRCA2_EX21_27Del_25	<i>RAD54L</i>	1	c.477+18_477+19delinsAT	529	51.01
		<i>ATM</i>	11	c.6452+17A>G	743	51.89

基因组学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)ACMG解读规则,将胚系 *BRCA1/2* 基因变异按照风险程度由高至低分为5类:致病性(5类)、可能致病性(4类)、意义未明(3类)、可能良性(2类)和良性(1类);对于体细胞 *BRCA1/2* 变异的解读规则,一般参考肿瘤变异的解读规则^[13]。*BRCA* 基因的检测数据主要是国外人群的数据,中国人群乃至整个黄种人群的数据相对较少,而中国人群的 *BRCA* 基因变异不同于其他种族人群,因此需要建立中国人群的数据库。中国食品药品检定研究院研制了 *BRCA* 基因突变国家参考品,包括25个临床样本或细胞系样本,是基因组DNA,包括 *BRCA1/2* 基因的一些突变位点和致病性、可能致病性、意义未明、可能良性和良性等5类变异类型,用于 *BRCA* 基因突变检测试剂盒的性能评价。根据国家参考品解读结果的评判要求,以是否会对临床决策造成影响作为最终的判定依据。例如 Class 5 和 Class 4 对于临床决策是不存在差异的,如果 Class 4

解读为 Class 5 则不是解读错误;如果 Class 2 解读为 Class 5 或 Class 4 则是解读错误。检测结果显示 *BRCA2_pT3030fs_4* 参考品的 p.Asn810Thr 位点的解读结果为可能良性(Class 2),虽然与标示结果的意义未明(Class 3)不一致,但是并不纳入解读错误。因此所有突变位点的解读结果均正确,符合国家参考品的规定。中国食品药品检定研究院也建立了 *BRCA* 数据库,是样本测序结果的 VCF 文件,包括 *BRCA1/2* 基因 750 个位点突变和 5 类变异类型,用于评价 *BRCA* 基因突变检测试剂盒的生物分析软件的分析和解码性能。*BRCA* 基因突变国家参考品和数据库对 *BRCA* 基因检测和解读的准确性提供了有力的技术支持^[14-15]。但是对于其他 HRR 基因的研究证据有限,其他 HRR 基因突变的临床意义的解读仍存在争议。因此对于其他 HRR 基因突变的注释仍然是挑战。不同公司的 panel 提供的 HRR 基因解读结果的准确性不能保证,亟需建立和制定相关 HRR 基因的解读规则,推动 HRR 基因检测的发展。(下转第 345 页)

NAT2 基因多态性与异烟肼药物性肝损伤的相关性分析

张淑英¹ 唐媛媛¹ 裴景亮^{2*}

【摘要】目的 分析抗结核治疗肝损害患者 NAT2 的基因多态性,探讨 NAT2 基因多态性与异烟肼药物性肝损害之间的分子机制,为肝损害的防治提供参考。**方法** 选取潍坊市第二人民医院 2019 年 11 月至 2020 年 12 月期间诊断为肺结核并行规范化治疗的 235 例病例,将抗结核药物治疗 6 个月内发生肝损伤的结核病初治的 115 例患者作为病例组,抗结核治疗 6 个月内未发生肝损伤的结核病初治的 120 例患者作为对照组。采用 MGB 探针设计检测患者 NAT2 的基因多态性。观察异烟肼药物致肝损伤与 NAT2 基因的不同单核苷酸多态性之间的关系,比较病例组和对照组中 NAT2 基因多态性的分布规律。**结果** 病例组与对照组在年龄、性别、吸烟、饮酒上比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。病例组在 rs1041983 (282C>T)、rs1801280 (341T>C)、rs1799930 (590G>A)、rs1799931 (857G>A) 的基因突变型比例明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。NAT2 基因突变型检测诊断结核药物致肝损伤时灵敏度为 76.5% (88/115),特异性为 77.5% (93/120),阳性预测值为 76.5% (88/115),阴性预测值为 77.5% (93/120)。**结论** NAT2 基因多态性可以作为异烟肼药物引发的肝损伤的分子标记。

【关键词】 结核;异烟肼药物性肝损伤;NAT2;基因多态性

Polymorphisms of NAT2 related to Isoniazid-induced liver injury in tuberculosis patients

ZHANG Shuying¹, TANG Yuanyuan¹, PEI Jingliang^{2*}

(1. Department of Laboratory Medicine, Weifang Second People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 261000; 2. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang, Shandong, China, 261000)

【ABSTRACT】Objective To analyze the molecular mechanism of NAT2 in patients with Isoniazid-induced liver injury treated with antituberculosis therapy and to explore the relationship between polymorphisms of NAT2 and liver injury. **Methods** A total of 235 cases diagnosed with pulmonary tuberculosis and receiving standardized treatment from November 2019 to December 2020 in the Second People's Hospital of Weifang City were selected, a total of 115 newly-treated tuberculosis patients with liver injury within 6 months of anti-tuberculosis drug treatment were selected as the case group, and 120 newly-treated tuberculosis patients without liver injury within 6 months of anti-tuberculosis treatment were selected as the control group. The MGB probe was designed to detect polymorphism in patients with NAT2. To observe the relationship between isoniazid-induced liver injury and different single nucleotide polymorphisms of NAT2 gene, and to compare the distribution of NAT2 gene polymorphisms in case group and control group. **Results** There was no significant difference between the case group and the control group in age, gender, smoking and drinking ($P>0.05$). The mutation rates of rs1041983 (282C>T), rs1801280 (341T>C), rs1799930 (590G>A), rs1799931 (857G>A) in the case group were significantly higher than those in the Control Group ($P<0.05$). The sensitivity of NAT2 gene mutation detection in the diagnosis of liver injury caused by tuberculosis drugs was 76.5% (88/115), the

基金项目:山东省潍坊市科研项目(wfws jk-2019-165)

作者单位:1.潍坊市第二人民医院检验科,山东,潍坊 261000

2.潍坊医学院附属医院检验科,山东,潍坊 261000

*通信作者:裴景亮, E-mail: 13505360413@163.com

specificity was 77.5% (93/120), the positive predictive value was 76.5% (88/115), and the negative predictive value was 77.5% (93/120). **Conclusion** Polymorphisms of NAT2 can be used as a molecular marker of Isoniazid-induced liver injury in tuberculosis patients.

[KEY WORDS] tuberculosis; Isoniazid-induced liver injury; NAT2; gene polymorphisms

中国是结核病高发国家之一,结核病仍然是威胁公众健康的重大问题^[1]。目前的标准用药为异烟肼、利福平、吡嗪酰胺等一线药物的联合使用,这些药物都具有潜在的肝毒性^[2],其引发的肝损伤发生率约为2.55%~11.9%^[3-4],对结核病的控制提出了新的挑战。N-乙酰基转移酶2(N-acetyltransferase 2, NAT2)是最重要的抗结核药物的代谢基因,NAT2存在几十种等位基因型,不同的基因型,表达产物的活性存在差异,表现为机体对抗结核药物导致肝损伤的易感性不同。本研究选取rs1801279(191G>A)、rs1041983(282C>T)、rs1801280(341T>C)、rs1799930(590G>A)、rs1799931(857G>A)五个SNP位点,目的是评估NAT2基因的单核苷酸多态性与异烟肼药物致肝损伤风险之间的关系,寻找抗结核药物导致肝损伤的易感基因位点,作为预防抗结核药物性肝损伤的分子标记。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

收集山东省潍坊市第二人民医院2019年11月至2020年12月期间诊断为肺结核的病例235例,所有病例均通过广州达安基因股份有限公司结核分枝杆菌荧光定量PCR检测试剂盒的检测,结果为阳性。病例组为经抗结核药物治疗6个月内发生肝损伤的结核病初治患者共115例,对照组为经抗结核治疗6个月内未发生肝损伤的结核病初治患者,共120例。药物性肝损伤诊断标准为^[3]:丙氨酸氨基转移酶(Alanine Transaminase, ALT)数值大于2倍正常值上限或结合胆红素大于2倍正常值上限;或天冬氨酸氨基转移酶(Aspartate Transaminase, AST)数值、碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP)和总胆红素(Total Bilirubin, TBIL)同时升高,且至少一项指标大于2倍正常值上限^[3]。纳入标准:①有服药前后完整的肝功能检测值和用药信息;②所有病例抗结核药物治疗前没有合并肝炎等其他病毒感染,以及其他因素所致肝损害。排除标准:同时服用肝脏保护药品的患者。研究经过院

伦理委员会批准,并获得所有参与者的知情同意并签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 肝功能指标监测

所有病例进行6个月的随访,评价药物对肝脏的影响。在开始前和开始治疗后的每个月进行ALT、AST、TBIL、ALP、HBsAg、HCV-IgM检测。ALT、AST、ALP检测采用连续监测法,TBIL检测采用重氮法,仪器为OLIMPUS5400全自动生化分析仪及配套试剂。HBsAg、HCV-IgM检测采用酶联免疫方法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA),实验过程严格质量控制。

1.2.2 基因型检测

所有病例采集1 mL EDTA-K₂抗凝血,提取基因组DNA,-70℃保存备用。NAT2*4、NAT2*5、NAT2*6、NAT2*7、NAT2*13基因序列在NCBI检索,使用Oligo 7设计引物和探针,探针采用MGB方法设计,扩增长度设计为70~150 bp。检测仪器为ABI7500实时荧光定量分析仪,反应体系为40 μL,内含200 mM dNTP,100 nM引物,1.5 mM MgCl₂,1U Taq DNA聚合酶。PCR反应条件为95℃,5 min;95℃,15 s,60℃,45 s做50个循环,在60℃时收集荧光信号;60℃,5 min结束。根据标记探针发射波长的不同设置不同的基因型。

1.2.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件进行分析;计数资料以n(%)表示,采用卡方检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验;以P<0.05差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般情况比较

病例组与对照组在年龄、性别、吸烟、饮酒上比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表1。

2.2 NAT2基因型在病例组和对照组中的分布分析

病例组在rs1041983(282C>T)、rs1801280(341T>C)、rs1799930(590G>A)、rs1799931(857G>A)的基因突变型比例明显高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表1 两组一般情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of general conditions between the two groups [n(%)]

一般资料	病例组 (n=115)	对照组 (n=120)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	45.3±22.3	47.32±21.36	0.335	0.685
性别	男	62(53.9)	0.131	0.737
	女	53(46.1)		
吸烟	是	41(35.7)	1.042	0.354
	否	74(64.3)		
饮酒	是	48(41.7)	0.304	0.521
	否	67(58.3)		

表2 NAT2不同基因型的分布情况 [n(%)]

Table 2 Distribution of genotype frequency on NAT2 gene [n(%)]

NAT 基因型	病例组 (n=115)	对照组 (n=120)	χ^2 值	P值
rs1801279	GG	104(90.4)	0.134	0.752
	AG	11(9.6)		
rs1041983	CC	41(35.7)	13.521	0.015
	CT	48(41.7)		
	TT	26(22.6)		
rs1801280	TT	102(88.7)	7.324	0.021
	CT	13(11.3)		
rs1799930	GG	58(50.4)	5.326	0.026
	AG	44(38.3)		
	AA	13(11.3)		
rs1799931	GG	68(59.1)	3.652	0.032
	AG	37(32.2)		
	AA	10(8.7)		

2.3 NAT2 基因突变型检测预测结核药物肝损伤的诊断效能

NAT2 基因突变型联合检测诊断结核药物致肝损伤时灵敏度为 76.5% (88/115), 特异性为 77.5% (93/120), 阳性预测值为 76.5% (88/115), 阴性预测值为 77.5% (93/120)。见表 3。

表3 NAT2 基因型与结核药物致肝损伤关系

Table 3 The Relationship of mutation detection of NAT2 gene in the study

NAT2 基因型	肝损伤	无肝损伤	合计
NAT2 突变	88	27	115
NAT2 无突变	27	93	120
合计	115	120	

3 讨论

抗结核药物肝损伤是治疗过程中常见的药物毒副作用,可影响抗结核治疗效果,甚至危及生命^[3,5],是在抗结核药物使用过程中,由于药物或其代谢产物引起的肝细胞毒性损害或肝脏对药物及其代谢产物的超敏反应所致的病理过程。药物的代谢存在个

体差异性,与基因的 SNP 多态性密切相关^[6-7]。虽然抗结核药物导致肝损伤性的发病机制未完全阐明,但是异烟肼是抗结核治疗的基本药物,通常与其他抗结核药物联用。异烟肼的代谢产物会引起肝脏功能受损,因此,探讨异烟肼的代谢过程对于预防抗结核治疗过程中出现的肝损伤有重要意义。

目前多数研究认为 NAT2 基因多态性在异烟肼等药物的代谢过程中起了重要的作用^[8-9],慢乙酰化型是异烟肼所致肝损伤的危险因素^[10]。NAT2 基因位于第 8 对染色体短臂 2 区 2 带 (8p22), 编码 N-乙酰基转移酶 2, NAT2 基因多态性可能与抗结核药物的血浆浓度、抗结核药物所致肝损伤有直接关系^[11], 根据乙酰化代谢能力不同, 可将 NAT2 分为快乙酰化型 (如 *4/*4、*4/*12、*4/*13、*12/*12、*12/*13、*13/*13)、中间乙酰化型 (如 *4/*5、*4/*6、*4/*6A、*4/*7、*4/*7B、*12/*5、*12/*6、*12/*7) 和慢乙酰化型 (如 *5/*5、*6/*6、*7/*7、*5/*6、*5/*7、*6/*7、*6A/*7B)^[12-13]。有研究表明,慢乙酰化型患者使用异烟肼时更易出现较重肝损伤^[14],与快乙酰化代谢者相比,慢乙酰化代谢者体内的异烟肼浓度高,更易产生肝损害等不良反应。

在我国人群中 NAT2 多态性主要为 NAT2*4 rs1801279 (191G>A)、NAT2*5 rs1801280 (341T>C)、NAT2*6 rs1799930 (590G>A)、NAT2*7 rs1799931 (857G>A)、NAT2*13 rs1041983 (282C>T)^[14], 本研究选取这五个 SNP 位点作为研究对象, 研究结果显示, NAT2*5 (341T>C) C 等位基因、*6 (590G>A) A 等位基因、*7 (857G>A) A 等位基因、*13 (282C>T) T 等位基因的携带者在联用抗结核药物利福平等一线抗结核药物时, 发生肝毒性的风险升高。

本研究结果标明 NAT2*5 rs1801280 (341T>C) C 等位基因、NAT2*6 rs1799930 (590G>A) A 等位基因、NAT2*7 rs1799931 (857G>A) A 等位基因、NAT2*13 rs1041983 (282C>T) T 等位基因可以作为临床应用异烟肼药物时预测肝损伤的分子标记。

参考文献

- [1] WHO. Global tuberculosis report 2018 [J]. 2018.
- [2] 郑伟, 季林丹, 邢文华, 等. 肺结核全基因组关联研究进展 [J]. 遗传, 2013, 35(7): 823-829.
- [3] 中华医学会结核病学分会. 抗结核药物所致药物性肝损伤诊断与处理专家建议 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(10): 732-736.

- [4] Metushi I, Uetrecht J, Phillips E, et al. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity: Then and now [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 81(6): 1030-1036.
- [5] Herrera-Rodulfo A, Carrillo-Tripp M, Laura Yeveerino-Gutierrez M, et al. NAT2 polymorphisms associated with the development of hepatotoxicity after first-line tuberculosis treatment in Mexican patients: From genotype to molecular structure characterization [J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 8(519): 153-162.
- [6] 温志国, 安亮, 林凤, 等. CYP2D6 基因多态性的临床应用概况 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2013, 5(5): 347-352.
- [7] 杨琳艳, 杨旭, 范冬梅, 等. 中国人群常见的药物代谢相关基因多态位点及其检测方法 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017, 9(5): 358-363.
- [8] Zhang D, Hao J, Hou R, et al. The role of NAT2 polymorphism and methylation in anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Mongolian tuberculosis patients [J]. *Clin Pharm Ther*, 2020, 45(3): 561-569.
- [9] Araujo-Mariz C, Militão de Albuquerque MFP, Lopes EP, et al. Hepatotoxicity during TB treatment in people with HIV/AIDS related to NAT2 polymorphisms in Pernambuco, Northeast Brazil [J]. *Ann Hepatol*, 2020, 19(2): 153-160.
- [10] Perwitasari DA, Darmawan E, Mulyani UA, et al. Polymorphisms of NAT2, CYP2E1, GST, and HLA related to drug-induced liver injury in Indonesian tuberculosis patients [J]. *Int J Mycobacteriol*, 2018, 7(4): 380-386.
- [11] Richardson M, Kirkham J, Dwan K, et al. NAT2 variants and toxicity related to anti-tuberculosis agents: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2019, 23(3): 293-305.
- [12] Yuliwulandari R, Prayuni K, Susilowati RW, et al. NAT2 slow acetylator is associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury severity in Indonesian population [J]. *Pharmacogenomics*, 2019, 20(18): 1303-1311.
- [13] Zhang D, Hao J, Hou R, et al. The role of NAT2 polymorphism and methylation in anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Mongolian tuberculosis patients [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2020, 45(3): 561-569.
- [14] Shetty P, Panchal F, Munshi R, et al. A case series of three patients presenting with isoniazid induced toxicity and N-acetyl transferase 2 gene mutation: A management conundrum for programmatic therapy of tuberculosis in India [J]. *Indian J Tuberc*, 2020, 67(3): 407-410.

(上接第 341 页)

参考文献

- [1] 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会遗传性肿瘤标志物协作组, 中华医学会病理学分会分子病理学组. 同源重组修复缺陷临床检测与应用专家共识(2021版) [J]. *中国癌症防治杂志*, 2021, 13(4): 329-338.
- [2] 邱宇凡, 胡蕴慧, 张瑾. DNA 同源重组修复与乳腺癌的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(7): 910-914.
- [3] 李圆, 郭红燕, 张曦, 等. 携带胚系同源重组修复基因突变的卵巢上皮性癌临床特点 [J]. *实用妇产科杂志*, 2021, 37(3): 221-226.
- [4] 郁俐, 沈敏娜, 姜惠琴, 等. 同源重组缺陷检测在肿瘤临床诊疗中的研究进展与展望 [J]. *中国癌症杂志*, 2021, 31(4): 344-349.
- [5] de Bono J, Mateo J, Fizazi K, et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(22): 2091-2102.
- [6] 朱耀, 韦煜, 潘剑, 等. PARP 抑制剂在同源重组修复基因突变型前列腺癌中的临床研究进展 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2021, 42(5): 397-400.
- [7] 曲守方, 黄传峰, 张文新, 等. BRCA 基因突变检测的标准化研究 [J]. *中国医药生物技术*, 2021, 16(5): 439-443.
- [8] 王秋菊, 沈亦平, 陈少科, 等. 遗传变异分类标准与指南 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2017, 47(6): 668-688.
- [9] Richards S, Aziz N, ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology [J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424.
- [10] Zhang J, Yao Y, He H, et al. Clinical Interpretation of Sequence Variants [J]. *Curr Protoc Hum Genet*, 2020, 106(1): e98.
- [11] Schaeffer E, Srinivas S, Antonarakis ES, et al. NCCN Guidelines Insights: Prostate Cancer, Version 1.2021 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021, 19(2): 134-143.
- [12] 中国抗癌协会泌尿生殖系肿瘤专业委员会, 中国临床肿瘤学会前列腺癌专家委员会. 中国前列腺癌患者基因检测专家共识(2020年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2020, 30(7): 551-560.
- [13] 中华医学会病理学分会, 国家病理质控中心. BRCA1/2 数据解读中国专家共识(2021版) [J]. *中华病理学杂志*, 2021, 50(6): 565-571.
- [14] Shao K, Wang R, Qu S, et al. Comprehensive evaluation of BRCA1/2 variant interpretation ability among laboratories in China [J]. *J Med Genet*, 2021: jmedgenet-2020-107360.
- [15] Qu S, Chen Q, Yi Y, et al. A Reference System for BRCA Mutation Detection Based on Next-Generation Sequencing in the Chinese Population [J]. *J Mol Diagn*, 2019, 21(4): 677-686.

自身免疫性肝炎临床特点分析及血清相关抗体检测水平分析

李应* 庞源源 陈虹余

[摘要] **目的** 探究自身免疫性肝炎(AIH)临床特点及血清相关抗体检测水平。**方法** 选取2017年8月至2020年5月南充市高坪区人民医院 AIH患者106例设为研究组、胆汁淤积性肝炎患者106例设为对照组,另选取同期健康体检者106例设为健康组。统计研究组基本情况、三组人口学特征,并抽取三组血液样本测定肝功能指标、免疫指标、相关抗体水平,并分析 AIH 发病影响因素。**结果** AIH患者主要为女性,占比86.79%,饮食不规律占比47.17%,多伴有腹胀、腹痛、食欲减退、乏力、关节肿痛、肝大、脾大,患者肝功能指标 ALT、ALP、GGT、AST水平升高,血清免疫球蛋白 G(IgG)、IgM 明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组抗肝细胞溶质抗原 1 型(LC-1)、抗可溶性肝抗原(SLA)、抗肝肾微粒体抗体 1 型(LKM-1)、抗平滑肌抗体(SMA)、抗核抗体(ANA)、抗着丝点抗体(ACA)阳性率>对照组>健康组,对照组抗线粒体抗体(AMA)阳性率>研究组>健康组,对照组 ACA、抗核膜糖蛋白抗体(gp210)、SMA、ANA 阳性率>健康组,差异均有统计学意义($P<0.05$);LC-1、SLA、LKM-1、AMA、SMA、ANA、ACA、IgG、IgM 均为 AIH 发病的重要影响因素($P<0.05$)。**结论** AIH 患者以女性为主,临床表现复杂多样,患者肝功能异常,血清 IgG、IgM 及相关抗体阳性表达率明显升高,肝组织学特征、免疫指标及相关抗体是诊断本病的重要依据。

[关键词] 自身免疫性肝炎;临床特点;肝功能;抗体

Analysis of clinical features of autoimmune hepatitis and detection of serum related antibodies

LI Ying*, PANG Yuanyuan, CHEN Hongyu

(Department of Gastroenterology, Gaoping District People's Hospital, Nanchong, Sichuan, China, 637100)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the clinical characteristics and serum related antibody detection levels of autoimmune hepatitis (AIH). **Methods** From August 2017 to May 2020, 106 patients with AIH in Gaoping District People's Hospital of Nanchong City were selected as the research group, 106 patients with cholestatic hepatitis were selected as the control group, and 106 healthy people who underwent physical examination during the same period were selected as healthy Group. The basic situation of the research group and the demographic characteristics of the three groups were counted, and three groups of blood samples were drawn to measure liver function indexes, immune indexes, and related antibody levels, and to analyze the influencing factors of AIH incidence. **Results** AIH patients were mainly women, accounting for 86.79%, and irregular diet accounted for 47.17%, which were mostly accompanied by abdominal distension, abdominal pain, loss of appetite, fatigue, joint swelling and pain, hepatomegaly, and spleen. The levels of GGT and AST increased, and the serum immunoglobulin G (IgG) and IgM increased significantly, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Antigen (SLA), anti-liver-kidney microsomal antibody type 1 (LKM-1), anti-smooth muscle antibody (SMA), anti-nuclear antibody (ANA), and anti-centromere antibody (ACA)

基金项目:南充市科技计划项目(21YFZJ0113)

作者单位:南充市高坪区人民医院消化内科,四川,南充 637100

*通信作者:李应, E-mail:787687881@qq.com

positive rate > control group and healthy group, The positive rate of anti-mitochondrial antibody (AMA) in the control group > the study group > the healthy group, the positive rate of ACA, anti-nuclear membrane glycoprotein antibody (gp210), SMA, ANA in the control group > the healthy group ($P < 0.05$); LC-1, SLA, LKM-1, AMA, SMA, ANA, ACA, IgG, IgM were all important influencing factors of AIH ($P < 0.05$). **Conclusion** AIH patients are mainly female, with complex and diverse clinical manifestations, abnormal liver function, and significantly increased serum IgG, IgM and related antibodies.

[KEY WORDS] Autoimmune hepatitis; Clinical features; Liver function; Antibodies

自身免疫性肝炎(Autoimmune hepatitis, AIH)是由自身免疫反应介导的慢性进行性肝脏炎症性疾病,其欧美国家发病率相对较高,在我国确切发病率尚未清晰,部分地区调查显示AIH发病率占肝功能异常病因的7.52%,是非传染性肝损伤的主要病因之一^[1-2]。AIH临床表现多样复杂,部分患者无症状,但部分患者甚至出现呕血、黑便,临床诊断难度较高,多数患者经对症治疗预后良好,但严重病例可快速进展为肝硬化和肝衰竭,预后较差^[3-4]。因此,早发现、早治疗对改善患者预后具有重要意义。肝功能和免疫指标一直是临床诊断AIH的主要检测项目,但均存在一定局限性^[5]。近年来研究发现,自身抗体检测对AIH诊断、鉴别具有重要作用^[6-7]。本研究探究AIH患者的临床特征、病理变化,旨在为临床诊治本病提供参考。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年8月至2020年5月南充市高坪区人民医院AIH患者106例设为研究组,其中女92例,男14例;年龄平均(47.51±10.11)岁;胆汁淤积性肝炎患者106例设为对照组,其中女80例,男26例;年龄平均(48.09±9.64)岁;另选取同期健康体检者106例设为健康组,其中女75例,男31例;年龄平均(47.97±11.04)岁。

纳入标准:(1)研究组:①均符合AIH诊断标准^[8];②本地区常住居民;③自主行为能力良好;④无沟通交流障碍;⑤年龄≥18岁。(2)对照组:①符合胆汁淤积性肝炎诊断标准^[9];②年龄≥18岁;③自主行为能力良好;④无沟通交流障碍。(3)健康组:①均为我院健康体检者,全身体检结果正常;②年龄≥18岁;③自主行为能力良好;④无沟通交流障碍。所有入试者均知情并签署同意书。本实验经医院伦理委员会批准。排除标准:①恶性肿瘤患者;②有肝脏、胆管手术史者;③血

液系统疾病患者;④代谢性疾病患者;⑤营养不良、过度肥胖者;⑥严重心脑血管疾病患者;⑦肺功能、肾功能异常者;⑧药物、酒精、遗传代谢性肝病患者;⑨各项病毒感染指标均为阳性者。

1.2 方法

人口学特征统计法:采用本院入院评估单采集,内容包括性别、年龄、职业类型、吸烟情况、饮酒情况、体质量指数(Body mass index, BMI)、职业类型、熬夜情况、饮食是否规律。饮酒定义:每日饮白酒≥2两或啤酒≥2瓶,每周饮酒≥1次。吸烟定义:每天抽烟≥1支,连续吸烟时间>6月。

肝功能指标检测方法:包括丙氨酸转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)、 γ -谷氨酰基转移酶(γ -Glutamyltranspeptidase, GGT)、天冬氨酸转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST),采集所有研究对象入组当天空腹静脉血6 mL,以3 500 r/min转速、5 cm离心半径,离心处理5 min后取血清,置于-70℃冷藏室内待检,取血清标本,采用全自动干式生化分析仪(南京大树生物医疗技术股份有限公司,批准文号:苏械注准20172400293,规格:长292 mm、宽222 mm、高155 mm)检测上述指标水平。

免疫指标检测方法:包括血清免疫球蛋白G(Immunoglobulin G, IgG)、IgM水平,取血清标本,采用免疫比浊法检测上述指标水平,试剂盒购自深圳市生科源技术有限公司[批准文号:粤食药监械(准)字2012第2400436号,规格:50人份/盒、100人份/盒]。

相关抗体检测方法:包括抗肝细胞溶质抗原1型抗体(Anti-liver cytosol antibody type1, LC-1)、抗可溶性肝抗原(Anti-soluble liver antigen, SLA)、抗肝肾微粒体抗体1型(Anti-liver-kidney microsomal antibody, LKM-1)、抗线粒体抗体(Anti-mitochon-

drial antibodies, AMA)、抗平滑肌抗体(Smooth-muscle antibodies, SMA)、抗核抗体(Anti-nuclear antibodies, ANA)、抗着丝点抗体(Anticentromere antibody, ACA)、抗核膜糖蛋白抗体(Anti-gp210 antibodies, gp210),取血清标本,采用条带酶免疫分析法检测上述指标水平,试剂盒购自苏州浩欧博生物医药有限公司[批准文号:苏食药监械(准)字2013第2400687号,规格:型号I(8项):64人份/盒],由欧蒙公司提供的阳性条带位置标准图判定膜条上阳性结果。

1.3 统计学方法

数据处理采用SPSS 22.0软件,计数资料以 $n(\%)$ 描述,采用fisher确切概率法,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,两组间比较采用独立样本 t 检验,进一步两两组间比较采用LSD- q 检验,多组间比较采用单因素方差分析,通过Logistic进行多因素回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组人口学特征、肝功能和免疫功能指标比较

三组年龄、职业类型、吸烟情况、BMI、职业类型、熬夜情况、饮食是否规律、差异无统计学意义($P > 0.05$),三组性别、饮酒情况、ALT、ALP、GGT、AST、IgG、IgM水平间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 三组相关抗体阳性率比较

研究组LC-1、SLA、LKM-1、AMA、SMA、ANA、ACA阳性率均高于对照组、健康组,对照组AMA、SMA、ANA、gp210阳性率均高于健康组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 AIH发病危险因素分析

通过Logistic进行多因素回归分析可知,LC-1、SLA、LKM-1、AMA、SMA、ANA、ACA、IgG、IgM均为AIH发病的重要影响因素($P < 0.05$)。见表3。

3 讨论

临床大量研究^[10-11]指出,AIH多发于女性患者,疾病的靶向器官为肝脏,其临床特征为不同程度的血清转氨酶升高、高 γ -球蛋白血症、自身抗体阳性,组织学特征为以淋巴细胞、浆细胞浸润为主。我们调查选取的106例AIH患者中,女性占比86.79%,患者肝功能指标ALT、ALP、GGT、AST明显异常,多伴有腹胀、腹痛、食欲减退、乏力、关

表1 三组人口学特征、肝功能和免疫功能指标对比
[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of demographic characteristics, liver function and immune function indicators among the three groups [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

指标	研究组 ($n=106$)	对照组 ($n=106$)	健康组 ($n=106$)	χ^2/t 值	P 值
性别					
男	14(13.21)	26(24.53)	31(29.25)	8.305	0.015
女	92(86.79)	80(75.47)	75(70.75)		
年龄(岁)	47.51±10.11	49.39±8.54	47.97±11.04	0.136	0.413
吸烟情况					
是	34(32.08)	31(29.25)	29(27.36)	0.574	0.751
否	72(67.92)	75(70.75)	77(72.64)		
饮酒情况					
是	56(52.83)	70(66.04)	73(68.87)	6.634	0.036
否	50(47.17)	36(33.96)	33(31.13)		
BMI(kg/m^2)	21.15±1.97	20.97±2.02	21.04±1.99		
职业类型					
农民	51(48.11)	52(49.06)	48(45.28)	1.374	0.980
务工	32(30.19)	35(33.02)	35(33.02)		
学生	10(9.43)	4(3.77)	13(12.26)		
干部	13(12.26)	15(12.26)	10(9.43)		
熬夜情况					
是	64(60.38)	59(55.66)	61(57.55)	0.490	0.783
否	42(39.62)	47(44.34)	45(42.45)		
饮食是否规律					
是	64(60.38)	60(56.60)	51(48.11)	3.380	0.185
否	42(39.62)	46(43.40)	55(51.89)		
ALT(U/L)	125.06±32.54	94.21±12.79	35.15±4.85	213.285	<0.001
ALP(U/L)	115.57±29.37	480.89±35.10	65.93±4.07	590.308	<0.001
GGT(U/L)	122.78±35.22	561.61±65.49	30.01±7.38	581.126	<0.001
AST(U/L)	129.57±21.39	109.24±29.25	25.90±6.10	269.298	<0.001
IgG(g/L)	19.98±7.02	19.31±2.59	13.65±1.01	135.072	<0.001
IgM(g/L)	3.57±0.73	2.43±0.42	1.40±0.26	217.359	<0.001

表2 三组相关抗体阳性率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of the positive rates of related antibodies among the three groups [$n(\%)$]

指标	研究组 ($n=106$)	对照组 ($n=106$)	健康组 ($n=106$)	χ^2 值	P 值
LC-1	6(5.66)	0(0.00)	0(0.00)	12.231	0.002
SLA	24(22.64)	4(3.77)	0(0.00)	38.849	<0.001
LKM-1	10(9.43)	0(0.00)	0(0.00)	20.649	<0.001
AMA	19(17.92)	101(95.28)	0(0.00)	231.353	<0.001
SMA	51(48.11)	18(16.98)	0(0.00)	74.294	<0.001
ANA	106(100.00)	95(89.62)	1(0.94)	271.179	<0.001
ACA	96(90.57)	6(5.66)	0(0.00)	250.451	<0.001
gp210	0(0.00)	25(23.58)	0(0.00)	54.266	<0.001

节肿痛、肝大、脾大,与国内相关研究^[12-13]结果基本一致。进一步证实AIH以女性为主要发病群体,患者肝功能明显异常,临床特征复杂多样。但自身免疫性肝病均存在明显肝功能指标异常及上述临床症状,如胆汁淤积性肝炎,仅依靠肝功能指标

表3 AIH发病危险因素分析

因素	β 值	S.E.值	Wald χ^2	OR值	95%CI	P值
性别	0.077	0.261	0.086	1.080	0.779~1.496	>0.05
饮酒	0.059	0.328	0.033	1.061	0.671~1.678	>0.05
ALT	0.168	0.199	0.717	1.183	0.596~2.350	>0.05
ALP	0.028	0.201	0.019	1.028	0.674~1.568	>0.05
GGT	0.043	0.156	0.075	1.044	0.932~1.169	>0.05
AST	0.062	0.133	0.217	1.064	0.868~1.304	>0.05
LC-1	1.193	0.351	11.543	3.295	1.189~9.133	<0.001
SLA	1.178	0.404	8.498	3.247	1.212~8.699	<0.001
LKM-1	1.088	0.369	8.699	2.969	1.135~7.768	<0.001
AMA	1.561	0.461	11.467	4.764	2.345~9.678	<0.001
SMA	1.177	0.410	8.240	3.244	1.350~7.797	<0.001
ANA	1.432	0.373	14.747	4.189	2.024~8.669	<0.001
ACA	1.389	0.684	13.077	4.009	1.958~8.210	<0.001
gp210	0.044	0.267	0.027	1.045	0.593~1.842	>0.05
IgG	1.251	0.357	12.271	3.492	1.561~7.813	<0.001
IgM	1.236	0.379	10.629	3.441	1.545~7.662	<0.001

和临床特征难以对 AIH 进行疾病诊断^[14]。杨小娇等^[15]研究发现, AIH 患者血清 IgG 水平明显升高, 可反映肝内炎症活动程度, 经免疫抑制治疗后可逐渐恢复正常, 虽不是本病的特异性指标, 但其在 AIH 诊断和疗效评估方面仍具有较高应用价值。此外, 胆汁淤积性肝炎患者的血清 IgG、IgM 水平同样处于高表达状态, 但其升高水平远远不及 AIH, 因此在对 AIH 进行疾病诊断时, 可综合考虑血清 IgG、IgM 水平, 或将有助于提高诊断效能。

新近研究^[16]指出, 由于自身免疫性肝病免疫类型和病理特征不同, 自身免疫抗体具有明显差异, 因此自身免疫肝病抗体对不同类型肝病的检测具有重要意义。大多数 AIH 患者血清中存在一种或多种高滴度的自身抗体, 临床上 70%~80% 的 AIH 患者呈 ANA 阳性, 20%~30% 呈抗平滑肌抗体 (Anti-smooth muscle antibodies, ASMA) 阳性, ANA 和/或 ASMA 阳性者可达 80%~90%^[17]。ANA 和 ASMA 为非器官组织特异性自身抗体, 在高效价阳性时支持 AIH 诊断, 低效价阳性可见于各种肝病甚至正常人^[18]。自身免疫肝病的相关抗体较多, 通过对比分析发现, AIH 患者的 LC-1、SLA、LKM-1、SMA、ANA、ACA 阳性率明显高于胆汁淤积性肝炎患者和健康群体。本研究进一步通过多因素分析发现, LC-1、SLA、LKM-1、AMA、SMA、ANA、ACA、IgG、IgM 均为 AIH 发病的重要影响因素, 提示 AIH 发病的影响因素较多, 加之其临床特征呈多样化, 因此临床对本病进行诊断时应综合考虑患者临床特征、肝功能变化、免疫指标、自身

抗体指标等, 从而对疾病做出更准确的诊断。

综上所述, AIH 临床特点符合 AIH 的基本情况, 均存在肝功能障碍, 患者临床表现复杂多样, 临床诊断难度大, 免疫指标及相关抗体均为本病发生的重要影响因素, 其诊断可结合肝组织学特征、免疫指标及相关抗体等, 以提高诊断准确性。但本研究仍存在一定不足, 如未探究治疗前后各抗体阳性率的变化情况, 未来工作中仍需进一步深入探讨。

参考文献

- [1] Webb GJ, Hirschfield GM, Krawitt EL, et al. Cellular and Molecular Mechanisms of Autoimmune Hepatitis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2018, 13(1):247-292.
- [2] 莫寿勇, 黄桂英, 吴晓, 等. 丽水地区肝功能异常的病因分析和流行病学调查[J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(18): 2296-2298.
- [3] Shomi Oka, Takashi Higuchi, Hiroshi Furukawa, et al. Association of a single nucleotide polymorphism in TNIP1 with type-1 autoimmune hepatitis in the Japanese population [J]. *J Hum Genet*, 2018, 63(6): 739-744.
- [4] Sucher E, Sucher R, Gradistanac T, et al. Autoimmune Hepatitis-Immunologically Triggered Liver Pathogenesis-Diagnostic and Therapeutic Strategies [J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019(1):9437043.
- [5] 户梅芳. 肝功能和自身抗体检查在自身免疫性肝炎诊断中的应用探讨[J]. *淮海医药*, 2019, 37(1):62-64.
- [6] 郭辉, 庄洁伟, 缪文强, 等. 自身抗体和生化检测指标在自身免疫性肝炎诊断中的价值[J]. *包头医学院学报*, 2019, 35(2):77-78.
- [7] 严家来, 方安宁, 周卫凤. 抗肝抗原自身抗体检测在自身免疫性肝病诊断中的应用[J]. *安徽卫生职业技术学院学报*, 2019, 18(2):104-105.
- [8] 中华医学会肝病学会. 自身免疫性肝炎诊断和治疗共识 (2015) [J]. *胃肠病学*, 2016, 21(4):969-982.
- [9] 中华医学会肝病学会, 中华医学会消化病学会, 中华医学会感染病学会. 胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识 (2015) [J]. *中华肝脏病杂志*, 2015, 23(12):924-933.
- [10] Lohse AW, Sebode M, Jørgensen MH, et al. Second-line and third-line therapy for autoimmune hepatitis: A position statement from the European Reference Network on Hepatological Diseases and the International Autoimmune Hepatitis Group [J]. *J Hepatol*, 2020, 73(6):1496-1506.
- [11] Urs C, Edith H. Autoantibodies in Autoimmune Hepatitis: Can Epitopes Tell Us about the Etiology of the Disease [J]. *Front Immunol*, 2018, 9(1):163.
- [12] 舒艳芸, 潘晓莉, 宋宇虎, 等. 自身免疫性肝炎与原发胆汁性胆管炎临床特征比较[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(2):354-358.

HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 在胎膜早破患者体内变化意义研究

周玲^{1*} 符梅沙² 喻灿阳¹

【摘要】 目的 观察胎膜早破患者的 $\beta 2$ 防御素(HBD-2)、孕酮受体膜组分1(pgrmc1)、缺氧诱导因子1 α (HIF 1 α)水平,并分析其临床意义。方法 选取2019年2月至2020年8月在海口市琼山区妇幼保健院接受治疗的胎膜早破患者50例为研究对象,同时选取体检的健康孕妇50例为对照。比较两组HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 、炎症因子水平,并分析胎膜早破患者HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 与炎症因子水平的相关性。结果 胎膜早破组患者的HBD-2、HIF 1 α 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$), pgrmc1水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);胎膜早破组患者的IL-6、CRP、TNF- α 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);胎膜早破患者HBD-2、HIF 1 α 水平与IL-6、CRP、TNF- α 水平正相关, pgrmc1与IL-6、CRP、TNF- α 水平负相关($P<0.05$)。结论 胎膜早破患者的HBD-2、HIF 1 α 水平较高, pgrmc1水平较低,且与患者血清炎症因子水平密切相关。

【关键词】 胎膜早破; HBD-2; HIF 1 α ; 相关分析

Significance of HBD-2, pgrmc1 and HIF 1 α in patients with premature rupture of membranes

ZHOU Ling^{1*}, FU Meisha², YU Canyang¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Qiongzhan District Maternal and Child Health Hospital, Haikou, Hainan, China, 571100; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan, China, 570102)

【ABSTRACT】 **Objective** To observe the levels of $\beta 2$ defensin (HBD-2), progesterone receptor membrane component 1 (pgrmc1) and hypoxia inducible factor 1 α (HIF 1 α) in patients with premature rupture of membranes, and to analyze its clinical significance. **Methods** The patients with premature rupture of membranes who were treated in Qiongzhan District Maternal and Child Health Hospital from February 2019 to August 2020 were selected as the study subjects. The healthy pregnant women who underwent physical examination in our hospital at the same time were selected as controls. The levels of HBD-2, pgrmc1, HIF 1 α and inflammatory factors were detected in the two groups, and the correlation between HBD-2, pgrmc1, HIF 1 α and inflammatory factors in patients with premature rupture of membranes was analyzed. **Results** The levels of HBD-2 and HIF 1 α in the patients with premature rupture of membranes were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The level of pgrmc1 was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-6, CRP and TNF- α in the patients with premature rupture of membranes were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of HBD-2 and HIF 1 α in patients with premature rupture of membranes were positively correlated with the levels of IL-6, CRP and TNF- α , and pgrmc1 was negatively correlated with the levels of IL-6, CRP and TNF- α ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of HBD-2

基金项目:海南省自然科学基金项目(813265)

作者单位:1. 海口市琼山区妇幼保健院妇产科,海南,海口 571100

2. 海南医学院第一附属医院妇产科,海南,海口 570102

*通信作者:周玲, E-mail:zhouling6862@163.com

and HIF 1 α in patients with premature rupture of membranes were higher, and the level of pgrmc1 was lower, which were closely related to the levels of serum inflammatory factors in patients.

[KEY WORDS] Premature rupture of membranes; HBD-2; HIF 1 α ; Correlation analysis

临床上胎膜早破的发生能够导致孕产妇不良临床结局的发生,其能够通过诱导宫腔感染、胎儿宫内窘迫,进而增加新生儿围产期死亡的风险^[1]。在具有妊娠期糖尿病或者双胎妊娠的孕产妇中,胎膜早破的发生率可进一步上升^[2]。在研究胎膜早破发病机理的过程中,可以发现细胞因子的改变,能够在胎膜早破的病情进展过程中发挥作用。 β 2 防御素(beta2 defensin, HBD-2)的表达上升,能够通过作为应激反应的效应因子,参与到炎症反应及氧化应激性损伤过程,最终促进胎膜组织的损伤^[3];孕酮受体膜组分 1(progesterone receptor membrane components 1, pgrmc1)能够通过影响到孕激素受体的敏感性,干预到孕激素受体的生理效应^[4];缺氧诱导因子 1 α (Hypoxia inducible factor 1 α , HIF 1 α)是缺氧条件下的炎症反应因子,其对于下游肿瘤坏死因子等的激活,能够加剧胎膜及胎盘组织的炎症性损伤,促进胎膜早破的病情进展^[5]。为了揭示 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 在胎膜早破孕产妇体内的变化意义,从而为临床上胎膜早破的病情评估提供参考,本次研究探讨了 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 水平的表达情况与胎膜早破患者关系,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 2 月至 2020 年 8 月在海口市琼山区妇幼保健院接受治疗的 50 例胎膜早破孕产妇为胎膜早破组。年龄 23~40 岁,平均(27.45 \pm 2.58)岁纳入标准:①符合中华妇产科学(第 3 版)^[6]中胎膜早破的标准:孕妇出现阴道流液,窥阴器检查见羊水自宫颈口流出,且阴道酸碱度测定 pH 值升高;②年龄 \geq 18 周岁;③首次妊娠者;④均签署知情同意书。排除标准:①伴有精神异常;②合并凝血功能障碍者;③伴有心血管、内分泌及风湿免疫系统疾病者。选取 50 例健康原产妇产为对照组。纳入标准:①年龄 \geq 18 周岁;②首次妊娠;③无严重基础疾病者,排除标准同胎膜早破组,根据标准共纳入 50 例,年龄 25~41 岁,平均(28.01 \pm 3.01)岁。本研究经伦理委员会评审通过,且所有入试者均知情同意。

1.2 研究方法

采用一次性静脉血采集器进行肘部静脉血采集,采集 5 mL 静脉血后自然放置,取上清液体进行检测。采用贝克曼库尔特公司 UniCel DxI 800 免疫发光仪器进行 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 的检测,配套试剂盒购自北京九强生物公司,批号 20190112。

采用 ELISA 法进行白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、高敏 C 反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, CRP)、T 血清肿瘤坏死因子(serum tumor necrosis factor, TNF- α)的检测,采用十字交叉的方法进行抗原浓度的测定,采用碳酸盐缓冲液进行抗原稀释,加入 96 孔的酶标板中,盖好酶标板盖后置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,蒸馏水冲洗 3 次,每次 5 min,轻轻叩击酶标板甩干。每孔中加入 5% 的脱脂牛奶 200 μ L,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,蒸馏水冲洗 3 次,每次 5 min,加入稀释好的抗体,蒸馏水冲洗 3 次,每次 5 min,每孔中加入 100 μ L 的底物,显色后在酶标仪上进行吸光度的检测,酶标抗体均由南京建成生物研究所提供。

1.3 评价指标

两组 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 、炎症因子(IL-6、CRP、TNF- α)水平,并分析胎膜早破患者 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 与炎症因子水平的相关性。

1.4 统计分析

采用 SPSS 11.5 软件进行数据分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较用 t 检验。Pearson 相关分析法分析胎膜早破患者 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 与 IL-6、CRP、TNF- α 水平的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象的基线资料比较

对比胎膜早破组和对照组的年龄、孕前 BMI、心率、收缩压、舒张压情况,两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 两组 HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 水平的比较

胎膜早破组患者的 HBD-2、HIF 1 α 水平高于对照组,pgrmc1 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表1 两组研究对象的基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of baseline data of two groups of subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	孕前BMI(kg/m ²)	心率(次/min)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
胎膜早破组	50	27.45±2.58	22.81±1.44	74.84±7.55	113.75±8.50	68.56±6.60
对照组	50	28.01±3.01	22.56±1.81	72.91±7.26	112.41±7.82	70.20±7.51
t值		-0.999	0.764	1.303	0.820	-1.160
P值		0.320	0.447	0.196	0.414	0.249

表2 两组HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of the levels of HBD-2, pgrmc1 and HIF 1 α between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HBD-2(ng/L)	pgrmc1	HIF 1 α (pg/mL)
胎膜早破组	50	658.17±13.64	0.46±0.09	96.27±8.35
对照组	50	420.42±9.67	0.84±0.11	52.34±6.03
t值		100.547	-18.906	30.159
P值		<0.05	<0.05	<0.05

2.3 两组炎症因子水平的比较

胎膜早破组患者的IL-6、CRP、TNF- α 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组研究对象炎症因子水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of the levels of inflammatory factors in two groups of subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6(mg/L)	CRP(mg/L)	TNF- α (ng/L)
胎膜早破组	50	38.03±2.14	65.48±5.25	94.62±9.04
对照组	50	12.11±3.28	15.23±2.97	10.53±3.25
t值		46.799	58.907	61.896
P值		<0.05	<0.05	<0.05

2.4 胎膜早破患者HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 与炎症因子水平的相关性

胎膜早破患者HBD-2、HIF 1 α 水平与IL-6、CRP、TNF- α 水平正相关,pgrmc1与IL-6、CRP、TNF- α 水平负相关($P < 0.05$)。见表4。

表4 胎膜早破患者HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 与炎症因子水平的相关性Table 4 Correlation of HBD-2, pgrmc1, HIF 1 α and inflammatory factor levels in patients with premature rupture of membranes

指标	HBD-2 vs		pgrmc1 vs		HIF 1 α vs	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
IL-6	0.424	<0.05	-0.437	<0.05	0.676	<0.05
CRP	0.398	<0.05	-0.505	<0.05	0.493	<0.05
TNF- α	0.512	<0.05	-0.386	<0.05	0.534	<0.05

3 讨论

不同病理性因素导致的胎膜组织张力的改变,或者胎膜机械性损伤因素导致的纤维间质的

损害,均能够促进胎膜早破的发生。在不同孕周中胎膜早破的发生,能够通过影响到羊水量的改变,加剧羊水性状的改变,最终影响到新生儿临床结局^[7]。在临床随访观察过程中,可以发现胎膜早破的发生能够通过诱导炎症反应的激活,从而增加产褥期感染或者围产期宫内感染风险。越来越多的研究关注到,不同细胞因子的改变,能够在炎症反应的激活和胎膜组织损伤过程中发挥作用。超敏C反应蛋白或者降钙素原能够在胎膜早破的发生过程中起到作用,但对于超敏C反应蛋白等指标的分析,并不能完全揭示胎膜早破的发生机理^[8]。本次研究对于胎膜早破孕产妇血清中HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 的表达分析,能够在揭示胎膜早破的部分发病机理的同时,为临床上胎膜早破远期病情的评估提供依据。

HBD-2作为防御素相关因子,其在病原体感染入侵的过程中可以显著释放,释放的HBD-2能够在机体T淋巴细胞功能免疫激活、组织细胞损伤修复方面发挥作用。基础机制领域的分析还表明,HBD-2还能够提高血管内皮细胞的通透性,提高炎症性因子的扩散风险^[9];pgrmc1是孕激素受体调控因子,其对于孕激素生理效应的影响,能够影响到胎膜上皮细胞的损伤修复能力,促进胎膜上皮细胞的凋亡;HIF 1 α 是缺氧诱导因子,其对于下游中性粒细胞的激活,能够提高炎症细胞对于绒毛膜或者羊膜囊的损伤程度^[10-12]。

本次研究发现在胎膜早破孕产妇血清中,HBD-2、HIF 1 α 的表达浓度明显的上升,而pgrmc1的表达浓度明显的下降,相比于正常孕产妇组,其统计学差异均较为显著,HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 在胎膜早破孕产妇血清中的异常波动,表明其可能在疾病的发生或者病情进展过程中发挥了调控作用。HBD-2、HIF 1 α 对于胎膜早破的影响,主要在于其能够提高机体内部炎症信号通路的激活程度,促进下游炎症性细胞的上调程度,最终促进羊膜囊、胎膜组织的破坏;pgrmc1的表达缺失,失去了对于胎膜组织的保护作用,导致胎膜张力的改

变和胎膜早破的发生。有少部分研究者也发现,在胎膜早破孕产妇血清中,HBD-2的表达具有显著的灵敏度,特别是在胎膜早破发生的6~8 h内,HBD-2的浓度即可出现明显的改变^[13-15]。IL-6、CRP、TNF- α 是炎症性相关指标,其能够通过加剧宫腔感染、绒毛膜滋养细胞的损伤,进而诱导胎膜早破孕产妇临床结局的恶化。本次研究中,胎膜早破组孕产妇的IL-6、CRP、TNF- α 明显高于对照组,统计学差异显著,IL-6、CRP、TNF- α 的上升对于病情的影响,主要在于其能够激活中性粒细胞及单核细胞,影响到了机体的免疫屏障和羊水性质,促进了新生儿临床结局的恶化。相关关系分析可见,胎膜早破患者HBD-2、HIF 1 α 水平与IL-6、CRP、TNF- α 水平正相关,pgrmc1与IL-6、CRP、TNF- α 水平负相关,提示HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 与胎膜早破孕产妇体内的炎症反应密切相关,这主要由于HBD-2、pgrmc1、HIF 1 α 能够加速病原体的入侵过程,提高组织破坏和继发性炎症反应的上调程度。

综上所述,胎膜早破患者的HBD-2、HIF 1 α 水平较高,pgrmc1水平较低,且与患者血清炎症因子水平密切相关。

参考文献

- [1] Hassanzadeh A, Paknahad Z, Khoigani M. The relationship between macro- and micro-nutrients intake and risk of preterm premature rupture of membranes in pregnant women of Isfahan[J]. *Adv Biomed Res*, 2016, 5(1):155-158.
- [2] Nakubulwa S, Kaye DK, Bwanga F, et al. Genital infections and risk of premature rupture of membranes in Mulago Hospital, Uganda: a case control study[J]. *BMC Research Notes*, 2015, 8(1):90-95.
- [3] 陈丽萍,吴颖元,何海飞. IL-1、 β_2 防御素检测对胎膜早破合并羊膜腔感染诊断意义[J]. *中国社区医师*, 2018, 34(24):100-101.
- [4] 程国梅,张琳瑛,郝志伟,等. 胎膜早破孕产妇胎膜不同区域及胎盘组织中孕酮膜受体组件1的表达[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2016, 51(3):378-381.
- [5] 蒋玲玲,刘曼华,乔海风,等. 孕妇血清HIF-1 α 、胎盘血流与胎儿生长受限的相关性研究[J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(15):3523-3526.
- [6] 曹泽毅. *中华妇产科学(第3版)(中)(精)*[M]. 北京:人民卫生出版社, 2014.
- [7] Assefa NE, Berhe H, Girma F, et al. Risk factors of premature rupture of membranes in public hospitals at Mekele city, Tigray, a case control study[J]. *BMC Pregnanc Childbirth*, 2018, 18(1):35-42.
- [8] 肖春玉,王蕊,秦学桂. 血清 β -hCG、超敏C-反应蛋白和C-反应蛋白水平对胎膜早破孕产妇宫内感染的预测价值[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(13):2626-2628.
- [9] 颜露春,叶蔚,廖少玲,等. Toll样受体4/核因子- κ B信号转导通路介导入 β 防御素2在绒毛膜羊膜炎孕妇未足月胎膜早破过程中的作用[J]. *中国综合临床*, 2017, 33(3):200-204.
- [10] 蓝永洪,饶朗毓,杨智,等. 妊娠高血压综合征患者胎盘组织中HIF-1 α 和HSP70的表达及其意义[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2018, 44(2):346-349.
- [11] 屈莉红,荆鲁宁. 胎盘组织缺氧诱导因子-1 α 和内皮素-1表达对糖尿病妊娠的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(20):44-47.
- [12] 周启立,刘利蕊,郭健,等. 不同胎龄胎膜早破致新生儿早发型败血症母体炎症因子水平与临床表现对比[J]. *山东医药*, 2018, 58(5):58-60.
- [13] 杨丽娜,王凡,于海燕,等. 白介素-1与 β_2 防御素对胎膜早破合并羊膜腔感染预测的意义[J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(3):412-414.
- [14] 于海燕,杨丽娜,闫莉,等. 血清白介素-1与 β_2 防御素对未足月胎膜早破合并羊膜腔感染早期诊断的临床意义[J]. *中国实验诊断学*, 2017, 21(10):1777-1778.
- [15] 赵瑞岩,李静,张锡峰. 未足月胎膜早破母体感染患者外周血中HBD-2与PCT和CRP水平变化对HCA诊断的价值研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(21):4995-4997.
- [13] 曹丽丽,张敏,朱世殊,等. 儿童自身免疫性肝炎46例临床病理特点及疗效分析[J]. *中华儿科杂志*, 2019, 57(1):40-45.
- [14] Kunatum Prasadhrathsint, Jack T Stapleton. Laboratory Diagnosis and Monitoring of Viral Hepatitis[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2019, 48(2):259-279.
- [15] 杨小娇,杨永峰,钟艳丹. 血清免疫球蛋白与自身抗体检测在自身免疫性肝炎诊断中的价值[J]. *肝脏*, 2018, 23(12):1084-1086.
- [16] 孙喜明,田野,马娟,等. 自身免疫性肝病抗体谱检测在自身免疫性肝病诊断中的价值[J]. *中国临床医生杂志*, 2020, 48(1):94-97.
- [17] 刘巧燕,尤征瑞,马雄,等. 自身免疫性肝炎患者肝内组织驻留记忆性CD8⁺T细胞的活化机制研究[J]. *国际消化病杂志*, 2021, 41(06):421-426.
- [18] 王林春. 自身免疫性肝病抗体谱检测在自身免疫性肝病诊断中的效果评价[J]. *临床检验杂志(电子版)*, 2019, 8(3):72-73.

(上接第349页)

病原宏基因组高通量测序中无菌部位临床标本的处理办法

梁志坤¹ 孙荣同² 吴轶兰¹ 王琳¹ 唐翠燕^{3*}

[摘要] 病原宏基因组高通量测序(mNGs)不依赖于传统的微生物培养,直接对临床样本中的核酸进行高通量测序,具有无偏倚、广覆盖、快速等优点。检测临床样本中的较多病原微生物(包括病毒、细菌、真菌、寄生虫),在重症感染领域,特别是疑难、罕见病导致的重症感染中发挥了关键作用。然而,感染性的临床样本多种多样,样本前处理及核酸提取方法并没有标准规范。各专家共识中也指出样本前处理和核酸提取为mNGS技术流程的质量控制的重要节点。且相比有菌部位的标本,无菌部位的标本(静脉血、脑脊液、胸腔积液、组织)具有更高的临床价值,应尽量送检无菌部位的标本。因此,本文通过对mNGS无菌部位临床样本处理方法进行综述,着重阐述无菌部位样本的特性及处理方法,以期为医疗工作者及科研人员提供详实的参考信息。

[关键词] 病原宏基因组;高通量测序;无菌样本处理

Treatment of clinical specimens of sterile parts in pathogenic metagenomics high-throughput sequencing

LIANG Zhikun¹, SUN Rongtong², WU Yilan¹, WANG Lin¹, TANG Cuiyan^{3*}

(1. Research Center of Medical and Pharmaceutical Bioengineering, Ministry of Health, National and Regional Joint Engineering Laboratory for Clinical Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Province Nucleic Acid Molecular Diagnostics Engineering Technology Research Center, Guangdong Provincial Clinical Medical Molecular Diagnostics Engineering Technology Center, DAAN Gene Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong, 510665; 2. Clinical Laboratory, Weihai Municipal Hospital Affiliated to Shandong University, Weihai, Shandong, China, 264200; 3. Clinical Laboratory, Weihai Maternal and Child Health Hospital, Weihai, Shandong, China, 264200)

[ABSTRACT] Pathogen metagenomic high-throughput sequencing (mNGS) does not rely on traditional microbial culture, and directly performs high-throughput sequencing of nucleic acids in clinical samples, which has the advantages of unbiased, wide coverage, and rapidity. The detection of more pathogenic microorganisms (including viruses, bacteria, fungi, and parasites) in clinical samples has played a key role in the field of severe infections, especially those caused by difficult and rare diseases. However, infectious clinical samples are diverse, and there is no standard specification for sample pretreatment and nucleic acid extraction methods. The consensus of various experts also pointed out that sample pre-processing and nucleic acid extraction are important nodes in the quality control of the mNGS technical process. And compared with the specimens from the bacterial site, the specimens from the sterile site (venous blood, cerebrospinal fluid, pleural ef-

基金项目:广东省疾病防控科技协同创新中心(2018B020207006)

作者单位:1. 卫生部医药生物工程技术研究中心,临床医学分子诊断国家地方联合工程实验室,广东省核酸分子诊断工程技术研究中心,广东省临床医学分子诊断工程技术中心,广州达安基因股份有限公司,广东,广州,510665

2. 山东大学附属威海市立医院检验科,山东,威海264200

3. 威海市妇幼保健院检验科,山东,威海264200

*通信作者:唐翠燕, E-mail: whfeiy7@163.com

注:梁志坤和孙荣为共同第一作者

fusion, tissue) have higher clinical value and should be submitted for examination as far as possible. Therefore, this article summarizes the clinical sample processing methods of mNGS sterile parts, focusing on the characteristics and processing methods of the sterile parts samples, in order to provide detailed reference information for medical workers and scientific researchers.

[KEY WORDS] Pathogen metagenomics; High-throughput sequencing; Sterile sample processing

感染性疾病作为全球十大死亡原因之一,时刻威胁着患者的生命健康。其根本原因在于现有的病原鉴定技术,包括微生物的培养和分离、特异性病原抗体的检测和微生物核酸[DNA(Deoxyribonucleic acid)或RNA(Ribonucleic Acid)]检测[PCR(Polymerase Chain Reaction)]等无法满足临床需求^[1-3]。病原宏基因组高通量测序(mNGS, Metagenomics next-generation sequencing)技术理论上能“无偏倚”地检出全部潜在病原体,包括病毒、细菌、真菌、寄生虫等^[4],尤其适用于病原不明的疑难感染性疾病的诊断^[5-7]。也正是得益于mNGS技术,才能在新型冠状病毒疫情初期迅速发现并鉴定出这一新发病原体^[8]。

mNGS技术适用于几乎所有类型的临床样本。主要有静脉血、脑脊液、肺泡灌洗液、痰液、胸水和腹水组织等。不同样本核酸提取前需进行不同的前处理,比如离心、过滤、液化、破壁、去宿主等以提高病原体检出率。

专家共识中也指出样本前处理和核酸提取为mNGS技术流程的质量控制的重要节点^[9-10]。无菌部位的标本(静脉血、脑脊液、胸腔积液、组织等)具有更高的临床价值,应尽量送检无菌部位的标本^[10]。因此,本文通过对mNGS无菌部位临床样本处理方法进行综述,着重阐述常见无菌部位样本的特性及处理方法,以期为医疗工作者及科研人员提供详实的参考信息。

1 病原宏基因组高通量测序技术原理

mNGS检测过程主要包括实验操作(湿实验)和生信分析(干实验)两个部分,具体是将临床感染患者样本中的全部核酸片段化后进行测序,然后再应用生物信息学分析软件将测序结果与相关病原体数据库中的参考序列进行对比、分析和鉴定,见图1。

与传统的病原体核酸诊断技术(PCR、基因芯片、核酸杂交技术)相比,mNGS能在较短的时间内完成对样本的无靶向检测,单次即可检测上千种病原体,检测的病原体种类包括病毒、细菌、真菌和寄生虫等^[11-12]。

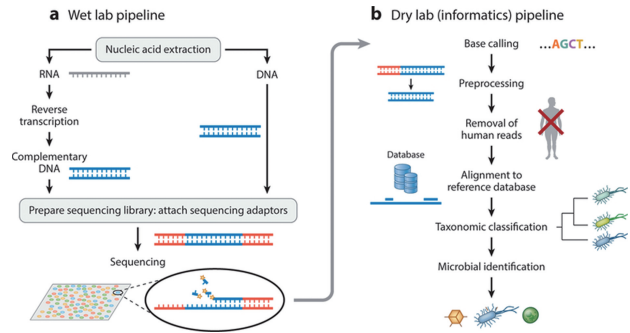


图1 mNGS技术原理^[4]

Figure 1 mNGS technology principle^[4]

2 无菌部位临床样本处理方法

mNGS技术相当于是“草垛寻针”,既要考虑草垛的数量,也要考虑针的数量,即草垛和针的比例。测序数据中仅有1%的reads是非人源的,而这1%又仅有少部分是属于病原的^[2]。不同的临床样本中所含的人核酸含量不同。因此,需要根据不同种类的临床样本核酸特点设计样本前处理的具体方法,如痰液液化、组织研磨和切片脱蜡等,来保证检测的可靠性。以下总结了不同实验室针对感染性疾病无菌部位样本的处理方法。

2.1 血液

血浆cfDNA(Circulating free DNA)中存在引起机体不同部位感染的病原体基因组DNA片段。因此,对外周血中微生物cfDNA进行测序,可以提高对多种感染进行无创检测的可能性^[5]。血液样本处理方法如下:

将大于1.2 mL的血浆样本解冻,加入已知浓度的合成的分子质控,16 000 g离心10 min,收集血浆。用改进的Mag-Bind cfDNA kit(M3298, Omega Biotek, USA)提取0.25 mL血浆的cfDNA^[5],或者用TIANamp Micro DNA Kit(DP316, TIANGEN BIOTECH, Beijing, China)提取300 μL血浆中的DNA^[11]。

对于血液样本,一般是建议采集后立即离心收集血浆来进行长期保存。与血培养不同,mcfDNA检测容易受溶血、乳糜血的影响,与高入源背景的影响相似^[5],当标本出现严重的溶血、乳糜血时,微

生物检出不足,容易造成假阴性。

2.2 脑脊液

颅内感染会产生脑炎或脑膜炎的症状。脑脊液样本核酸总量有时可能低于测序文库制备所需的最低核酸起始量,需要考虑对样本中的核酸进行富集,使用核酸回收率高的纯化试剂盒。脑脊液样本处理方法如下:

方法 1^[6]: 600 μL CSF 用 FastPrep-24 磁珠匀浆机 (MPFastPrep-24 5G, MP biomedical, USA) 以 6 m/s 的速度匀浆两次,每次 30 s,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min。以 2 000 rpm 离心 3 min 后留取 400 μL 上清。将 DNA 和 RNA 质控,包含 DNA 和 RNA 噬菌体的内部质控加入上清液中(以 3×10^5 和 9×10^3 copies/mL 浓度),结果大约为 1×10^3 RPM,提取 400 μL 样本,使用的试剂盒为 EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (955134, Qiagen, Germany),洗脱体积为 60 μL 。见图 2。

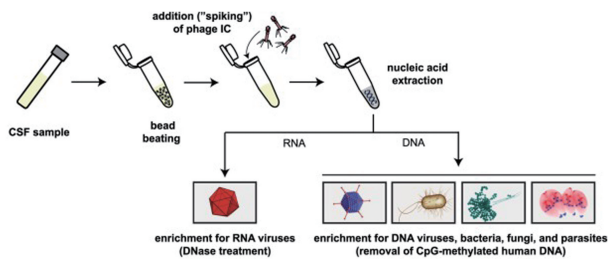


图 2 脑脊液样本处理方法示意图^[6]

Figure 2 Schematic diagram of cerebrospinal fluid sample processing method^[6]

DNA 的富集:取 25 μL 总核酸使用 NEBNext[®] Microbiome DNA Enrichment Kit (E2612S/L, New England Biolabs, USA) 进行富集。该试剂盒通过选择性抗体介导的甲基化 DNA 去除来富集微生物核酸,甲基化 DNA 大部分来自人类宿主。

病毒 RNA 的富集:取 25 μL 总核酸,用 3 μL of Turbo DNase (AM2238/AM2239, Thermo - fisher, USA) 和 1 μL Baseline DNase [(DB0715K, Epicentre (Illumina), USA)] 37 $^{\circ}\text{C}$ 处理 30 min。然后使用 RNA Clean & Concentrator Kit (R1013/R1014, Zymo Research, USA) 对 DNase 进行终止, RNA 进行纯化。

方法 2^[12]: 病毒核酸提取前, 100 μL 的脑脊液样本先用 Turbo DNase (AM2238/AM2239, Thermo-fisher, USA) 和 RNase I (AM2295/AM2294, Thermo-fisher, USA) 处理, 然后用 QIAamp viral RNA kit (52904, Qiagen, Germany) 提取病毒核酸。

方法 3^[13-14]: 1.5~6 mL 脑脊液样本使用 QIAamp Circ μ Lating Nucleic Acid Kit (55114, Qiagen, Germany) 进行脑脊液上清液的 cf DNA 提取, 使用 QIAamp DNA Mini Kit (51304, Qiagen, Germany) 进行脑脊液细胞团的 DNA 提取。

脑脊液是一种无菌体液, 在采集的时候应注意无菌操作和防止血污染。脑脊液病原体核酸量少, 需要采用富集方法对核酸进行富集。另外, 脑脊液中的病原主要以菌体的形式存在, 在提取核酸时需要“破壁”处理, 来提高胞内菌/真菌的检出率。

2.3 胸腔积液

胸腔积液的常见原因有胸膜或邻近组织感染, 常见致病菌有葡萄球菌、链球菌、大肠埃希菌、脆弱类杆菌、绿脓杆菌等。胸腔积液样本处理方法如下: 使用 MagNALyzer[®] 仪 (Roche Diagnostics GmbH, Switzerland) 加上 SeptiFast Lysis kit (Roche, Switzerland) 对细菌细胞进行机械破壁来获得 DNA, 然后在 MagNA Pure 紧凑型自动化仪器 (MagNA Pure 96, Roche, Switzerland) 上进行 DNA 提取和纯化^[15]。胸腔积液中常见的病原为菌体, 需要对样本进行破壁处理以提高核酸提取效率。

2.4 关节积液

膝关节是人体滑膜最多, 关节面最大和结果最复杂的关节, 由于膝关节滑膜广泛并位于肢体较表浅部位, 故遭受损伤和感染的机会较多。如细菌感染造成的细菌性关节炎、结核性滑膜炎等。关节积液样本处理方法如下:

DNA 提取之前, 使用 MolYsis Basic5 kit (D-301-050, Molzym, Germany) 通过促溶剂选择性的裂解人源细胞, 释放出来的 hDNA 使用 MoIDNase 降解。然后将样品中存在的细菌沉淀, 洗涤, 然后使用 MoBio Bacteremia DNA isolation kit (12240-50, Qiagen, Germany) 进行 DNA 提取和分离^[16]。

关节积液的保存, 必须离心除去细胞, 因为细胞内酶释放出来会改变关节积液的成分, 也会影响积液中病原核酸的组成, 影响病原的检出率。

2.5 感染的组织

与无菌体液相比, 组织增加了人类宿主背景, 导致微生物 reads 数量和比例减少, 从而导致 mNGS 敏感性降低。所以需要去除人源宿主, 大部分去除宿主的方法对唾液、血液或粪便样本有利, 但对感染的组织样本是无效的。在 DNA 提取前, 对组织进行匀浆处理, 可以使宿主细胞保留到

裂解液中促进宿主细胞的裂解。感染组织样本处理方法如下。

2.5.1 新鲜组织样本

方法1(DNA提取)^[17]:为了选择最有效的微生物提取方法来去除宿主DNA的污染,又不影响感染组织样本对微生物多样性的分析。实验者比较了5种常见的DNA提取方法。见图3、表1。

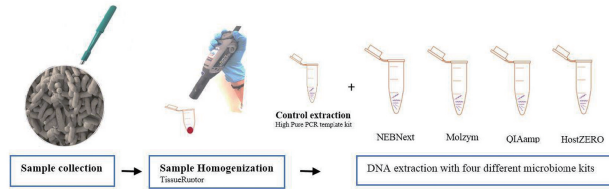


图3 新鲜组织样本处理方法示意图^[17]

Figure 3 Schematic diagram of fresh tissue sample processing method^[17]

由于单份糖尿病足感染(DFI(Diabetic foot infection))活检样本体积小,实验者将这5份样本混合在一起比较5种DNA提取方法。总共380mg的混合DFI样本在1.5mL无核酸酶水中使用Tissue Ruptor II instrument(230V, 50/60Hz, 中速10s)(9002756, Qiagen, Germany)进行匀浆处理。然后被分成15等份,每一份含100μL约25mg。使用5种方法进行DNA提取,每种提取方法重复三次,提取方法有High Pure PCR Template Preparation Kit(对照)(11796828001, Roche, Switzerland)、NEBNext Microbiome DNA enrichment kit(E2612S/L, NEB Inc, USA)、Molzym Ultra-Deep

Microbiome Prep(G-020-025, Molzym, Germany)、QIAamp DNA Microbiome Kit(51704, Qiagen, Germany)、HostZERO microbial DNA kit(D4310, Zymo Research, USA)。18S/16S rRNA定量PCR, 16s扩增子测序结果显示HostZERO和QIAamp试剂盒宿主DNA的含量较低。

方法2(DNA提取):将取自骨移植相关感染的病人的软组织活检样本平均分成两份,组织2(同样大小和重量)。一份按Ultra-Deep Microbiome Prep kit(G-020-025, Molzym, Germany)说明书进行提取,另一份用改进的方法:延长蛋白酶K孵育时间(由原来的10min延长到20min),接着裂解人细胞,降解细胞外DNA,细胞用1mLTSB重悬,重复上一步骤,14000xg离心。使用HBB和nuc-gene qPCR、MiION测序来比较两种方法。改进后的方法HBB和nuc-gene qPCR的ct值都比未改进的方法高,MiION测序后hDNA的reads数为1755(为改进方法reads数为60063)^[18]。

方法3:新鲜组织冷冻样本使用AllPrep DNA/RNA FFPE kit(80234, Qiagen, Germany)和QIAamp DNA microbiome kit(51704, Qiagen, Germany)^[19]。

2.5.2 组织切片样本

甲醛固定石蜡包埋处理会使组织样本中核酸发生核酸发生断裂或降解,需要对原始样本进行脱蜡和DNA修复后,AllPrep DNA/RNA FFPE kit(80234, Qiagen, Germany)和QIAamp DNA microbiome kit(51704, Qiagen, Germany)对FFPE样本进

表1 几种去除宿主DNA方法的优劣势比较^[17]

Table 1 Comparison of several advantages and disadvantages of removing host DNA^[17]

方法	原理及过程	优势	劣势
High Pure PCR Template Preparation Kit	离心柱法,离心柱含有硅胶或专有树脂的固体基质,有官能基团固定在基质上,用于选择性结合核酸	提取效率较高,DNA完整性较好	宿主DNA和微生物DNA都能被提取到,对于mNGS来说,不占优势
NEBNext	提取DNA后处理。磁珠选择性地结合到CpG甲基化的宿主DNA上去。剩下的DNA被纯化	用于完整性及质量较高的DNA	成本高,DNA完整性要求高(大于15kb),需磁力架
Molzym	优先裂解宿主细胞,然后用MolDnseq降解宿主DNA,活的微生物细胞用酶解裂,在获得纯化的DNA	用于组织和体液样本	过程长,步骤多,多次转关,耗时长
QIAamp	宿主细胞被选择性裂解,宿主DNA用苯甲酸酶降解掉,后续用珠子和蛋白酶K裂解微生物细胞,再纯化DNA	珠子结合酶解可提高微生物的裂解效率	需要珠子及设备
HostZERO	宿主细胞被裂解,选择性去除宿主DNA。在用两种大小的珠子打磨样本,再进行DNA纯化	用两种大小的珠子打磨样本可降低微生物裂解的偏好	需要珠子及设备

行总 DNA 提取^[19]或使用 GeneRead DNA FFPE Kit (180134, Qiagen, Germany)进行 DNA 的提取^[20]。

组织样本千差万别,即使是同样大小的组织样本,来源不同,取样时间的不同,细胞数量也是千差万别的。对于肝脏和脾脏转录非常活跃的器官,其蛋白质和 RNA 含量都很高。因此在制备基因组 DNA 时,可以适当减少组织用量。此外,有些组织中含有收缩蛋白、结缔组织、胶原等,都提升了核酸提取的难度,需要根据组织样本的特性做特殊的处理。对于 FFPE,需要对其进行脱蜡和 DNA 的修复。

3 总结

不同病原微生物的基因组大小不同(寄生虫>真菌>细菌>病毒),核酸提取效率也存在差异[难易程度:病毒<革兰阴性菌<革兰阳性菌(不包括分枝杆菌、需氧放线菌等)<真菌]。应该根据病原微生物的特征选择针对性的提取方法。比如,血液样本的病原 NGS 检测的主要是血浆中的游离核酸 cfDNA^[21]。而组织标本中,其病原主要以菌体形式存在,核酸是存在于病原细胞中,所以对于这类标本会存在“破壁”的过程,让核酸释放出来再进行检测^[10]。临床样本多种多样,但对于 mNGS 技术来说,无菌部位样本比无菌部位样本更具临床价值。因此,本文阐述了常见无菌部位样本的特性及处理方法,期为医疗工作者及科研人员提供详实的参考信息。

参考文献

- [1] WHO. The top 10 causes of death [J]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>, 2020.
- [2] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(6): 341-355.
- [3] Bharucha T, Oeser C, Ballou XF, et al. STROBE-metagenomics: a STROBE extension statement to guide the reporting of metagenomics studies [J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(10): e251-e60.
- [4] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14:319-338.
- [5] Blauwkamp T, Thair S, Rosen M, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(4): 663-674.
- [6] Miller S, Naccache SN, Samayoa E, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid [J]. *Genome Res*, 2019, 29(5): 831-842.
- [7] Miao Q, Ma Y, Wang Q, et al. Microbiological Diagnostic Performance of Metagenomic Next-generation Sequencing When Applied to Clinical Practice [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, (suppl_2): S231-S40.
- [8] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(8): 727-733.
- [9] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[本文附更正] [J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(11): 681-689.
- [10] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用与感染性疾病病原检测中国专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(2): 107-120.
- [11] Chen X, Ding S, Lei C, et al. Blood and Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing in Pneumonia [J]. *Can J Infect Dis*, 2020, 2020(4): 1-9.
- [12] Anh N, Nhu L, Hong N, et al. Viral Metagenomic Analysis of Cerebrospinal Fluid from Patients with Acute Central Nervous System Infections of Unknown Origin, Vietnam [J]. *Emerg Infect Dis*, 2021, 27(1): 205-213.
- [13] von Baumgarten L, Kumbink J, Jung A, et al. Therapeutic management of neuro-oncologic patients - potential relevance of CSF liquid biopsy [J]. *Theranostics*, 2020, 10(2):856-866.
- [14] Ge M, Zhan Q, Zhang Z, et al. Different next-generation sequencing pipelines based detection of tumor DNA in cerebrospinal fluid of lung adenocarcinoma cancer patients with leptomeningeal metastases [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 143.
- [15] Chen Z, Cheng H, Cai Z, et al. Identification of Microbiome Etiology Associated With Drug Resistance in Pleural Empyema [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 637018.
- [16] Ivy MI, Thoendel MJ, Jeraldo PR, et al. Direct Detection and Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens in Synovial Fluid by Metagenomic Shotgun Sequencing [J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(9): e00402-e00418.
- [17] Heravi FS, Zakrzewski M, Vickery K, et al. Host DNA depletion efficiency of microbiome DNA enrichment methods in infected tissue samples [J]. *J Microbiol Methods*, 2020, 170: 105856.
- [18] Helmersen K, Aamot HV. DNA extraction of microbial DNA directly from infected tissue: an optimized protocol for use in nanopore sequencing [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 2985.
- [19] Apopa PL, Lisa A, Penney RB, et al. PARP1 is up-regulated in Non-small cell lung cancer tissues in the presence of the cyanobacterial toxin microcystin [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1757.
- [20] Debesatur G, Ruizruiz S, Castillejo A, et al. Metagenomic analysis of formalin-fixed paraffin-embedded tumor and normal mucosa reveals differences in the microbiome of colorectal cancer patients [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 391.
- [21] Langelier C, Fung M, Caldera S, et al. Detection of Pneumonia Pathogens from Plasma Cell-Free DNA [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201(4): 491-495.

阳江市人民医院精准医学检测中心

阳江市人民医院精准医学检测中心位于阳江市江城区东山路42号。阳江市人民医院精准医学检测中心(生物芯片北京国家工程研究中心阳江分中心)是阳江市人民医院高水平医院建设的重点项目,与生物芯片北京国家工程研究中心共建。

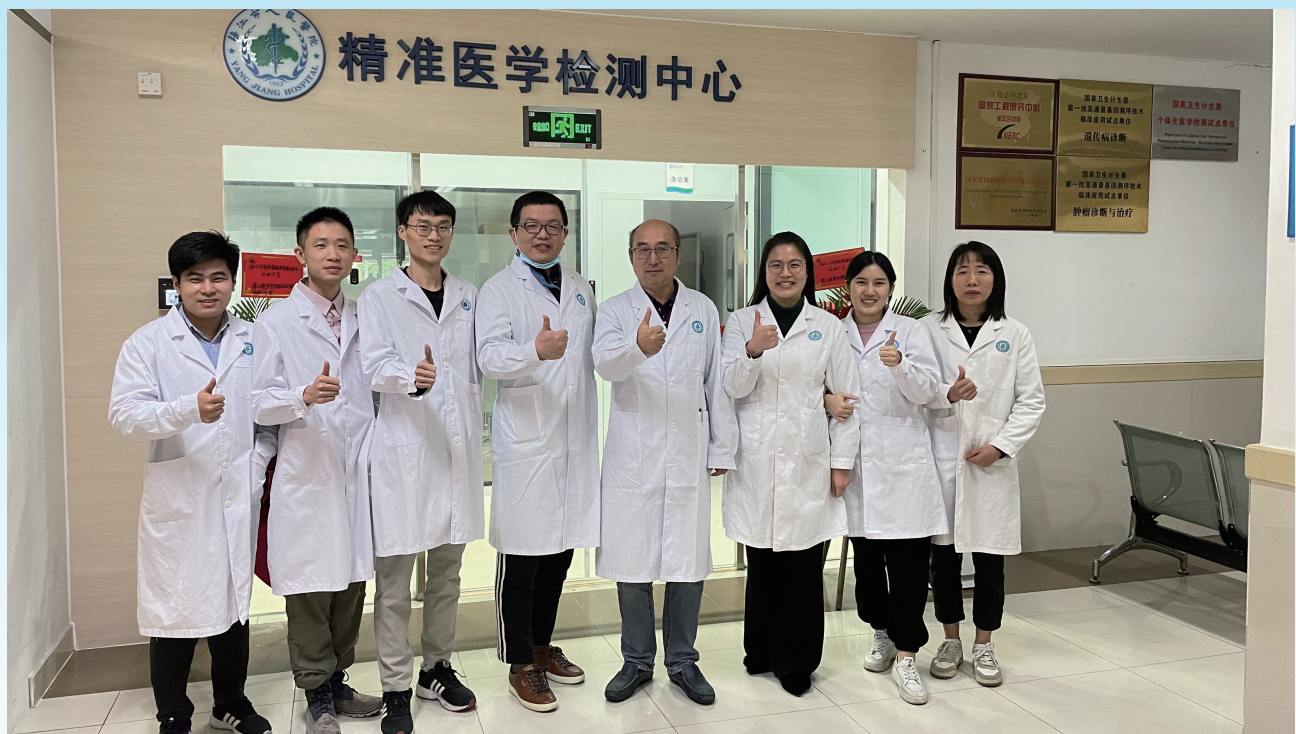
生物芯片北京国家工程研究中心是我国首个生物芯片的国家工程研究中心,中国工程院院士、清华大学讲席教授程京任中心主任。

检测中心目前设置分子诊断实验室、流式细胞实验室和液相色谱-串联质谱实验室三个功能室组,实验室面积约为400平方米。学科现有职工8人,其中高级职称1人,中级职称1人,硕士生导师1人;博士1人,硕士2人。科室拥有恒温扩增核酸分析仪(RTisochip),基因测序仪(3500Dx),数字PCR仪(Chip Reader R1, Drop maker 新弈生物),微阵列芯片扫描仪(晶芯 LuxScan 10K-B),芯片杂交仪(BioMixer™ II),二代测序仪(Bioelectroc Seq 4000),实时荧光定量PCR仪(7500),PCR仪(Veriti™ Dx96 well Thermal Cycler, TC-EA-B-4EDA),微量紫外-可见光分光光度计(NanoDrop One),凝胶成像系统(GEL DOC XR+),液相色谱-串联质谱仪(AB SCIEX TRIPLE QUAD 4500),流式细胞分析仪(CYTEK, DXP Athena),超净工作台,超低温冰箱等大型检验仪器。设备总值1000多万元。

阳江市人民医院精准医学检测中心在遗传病、感染性疾病、疾病预测预防、肿瘤及心血管疾病个体化用药领域开展基因检测项目,如遗传性耳聋基因检测、地中海贫血基因检测、无创产前DNA检测、呼吸道病原体核酸检测、个体遗传疾病风险预测、华法林用药基因检测等。

中心主要研究方向包括:异常血红蛋白病和地中海贫血的分子流行病学调查和基因诊断新方法研究、G6PD缺乏症的基因诊断和分子流行病学调查、HPV的分子流行病学调查和基因多态性、新生儿黄疸的遗传因素以及阳江地区高放射本底的生物学研究等。目前承担广东省自然科学基金1项和医院高水平建设项目1项。

学科带头人杨立业长期从事血红蛋白病、G6PD缺乏症、新生儿黄疸和HPV相关研究,现为广东省医学会检验分会委员、广东省医学会医学遗传学分会委员、广东省肝病学会检验分会委员。



杂志简介：

《分子诊断与治疗杂志》于 2009 年 5 月创刊，是由中山大学主管，《中国家庭医生》杂志社有限公司主办，广州达安基因股份有限公司承办的面向国内外公开发行的分子医学权威性刊物，也是我国第一份以分子诊断与治疗学科为主要内容的分子医学专业学术期刊。本刊以传播分子医学理念、报道分子医学前沿、倡导分子医学创新、促进分子医学进步为办刊宗旨。主要刊登我国医学分子诊断和分子治疗相关领域中的基础理论研究、临床实践和技术方法的最新研究成果以及国内分子医学新技术、新理论和新进展等方面的文章。目前有编委及审稿专家 80 余人。在编委会和审稿专家及编辑部的共同努力下，于 2016 年被收录为“中国科技核心期刊”（中国科技论文统计源期刊）。

目前有“述评”、“论著”、“综述”、“前沿进展”、“专家笔谈”、“讲座”、“动态”和“专栏”等栏目。涵盖基因诊断、免疫诊断、核酸分子诊断、蛋白分子诊断、信号分子诊断、分子影像诊断、诊断仪器应用、基因治疗、核酸分子治疗、蛋白分子治疗等内容。

