



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

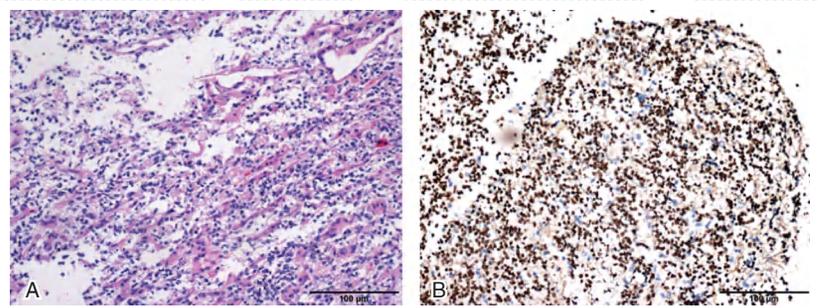
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022年8月 第14卷 第8期 总第96期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 8 August 2022



注:A为肿瘤细胞排列密集,异型性明显,局灶坏死及钙化,间质伴小血管增生(HE,×20);B为肿瘤细胞核H3K27M弥漫阳性,增生的血管内皮为阴性对照(EnVision法,×20)。

图(1327) 脊髓弥漫中线胶质瘤病理特征

Figure(1327) Pathological characteristics of diffuse midline glioma of the spinal cord

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

二〇二二年八月

第十四卷 第八期

中山大学

郭清江



郭清江,《分子诊断与治疗杂志》第五届编辑委员会编委。

1977年3月出生。2010年毕业于石河子大学,研究生学历,理学硕士学位。曾在上海复旦大学附属儿科医

院,上海交通大学贺林院士 Bio-X 研究院进修学习。主任检验技师,教授,现任安徽省蚌埠市第一人民医院分子诊断实验室主任。中国药理学会药物基因组学第三届委员会委员,中国中西医医学会检验医学分子诊断学会第一届委员会委员,安徽省医师协会检验医师分会第一届、第二届委员会委员,《分子诊断与治疗杂志》、《淮海医药》等杂志编委,蚌埠市十一届青联委员,十四届蚌埠市政协委员。

郭清江教授长期从事高血压、肿瘤等疾病发病分子机制研究,近年来主持蚌埠市市级科研项目4项,并完成结题验收3项,院级三新项目6项,参与国家自然科学基金课题、国内合作课题共10余项。在北大中文、统计源科技核心等期刊上发表相关论文20余篇。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 8 月 第 14 卷 第 8 期 总第 96 期 Monthly Volume 14 Number 8 August 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 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 8 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 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 2022.8.18
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。

中国科学院技术信息研究所

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8月 第14卷 第8期

目次

述评

尿液肌氨酸在前列腺癌中的应用及检测 周斌 胡晔江(1267)

论著

肝硬化合并门静脉血栓的危险因素及PLT、DD对其形成的预测价值 熊雪丽(1271)
INR、CI、PLT与颅脑外伤迟发性颅内出血关系及联合检测价值

..... 程凡菊 江竹君 伍益凡(1275)

T淋巴细胞亚群和细胞因子对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染预测价值

..... 赵鸿雁 缪凡 刘忠(1279)

血清AFP、GGTⅡ、AFU和DCP联合检测对肝癌的诊断价值 陈琳 张恒 江斌(1283)

乳腺癌MRI征象与ER、Her-2及Ki-67生物学指标的关系 卢艳丽 万宏燕 吴俊(1287)

云南地区非小细胞肺癌10种驱动基因突变联合检测分析 苏国苗 王娟 李振辉等(1292)

数字PCR法检测血液EGFR基因T790M突变的评价 曲守方 徐任 张文新等(1296)

¹³¹I清甲治疗前sTg水平与DTC术后清甲治疗疗效的关系 赵玮 史良平 程义壮(1300)

2型糖尿病患者FGF-21、OC及ucOC水平与血脂代谢的关系 赵春楠 张泽智 苏东峰等(1304)

Angiojet血栓清除与导管取栓对急性下肢缺血患者PLT、CR、PF的影响

..... 刘艳 孙立巍 刘海勇(1308)

老年股骨头坏死患者Ghrelin、P1NP的表达及与骨密度的相关性分析

..... 罗逸林 姚德威 卓恩德等(1312)

miR-194-5p与分化型甲状腺癌术后转移相关性的探讨 黄月 付青 张茜等(1316)

超声结合术前hs-CRP、CA19-9和CEA检测诊断厚壁型胆囊癌的效果

..... 杨大才 陈鹤 彭良琴等(1320)

伴H3K27M突变的脊髓弥漫性中线胶质瘤的临床病理特征和预后

..... 吴小廷 黄超芸 罗威等(1324)

类泛素蛋白FAT10通过Nrf2/HO-1通路对心肌细胞缺血缺氧修复损伤的保护作用

..... 陈天德 曹玉芳(1329)

T2DM患者miR-377、VEGF及8-iso-PGF2 α 水平与肾损伤的相关性

..... 范艳艳 吕莎莎 耿金平(1334)

产妇产褥感染血清白介素-6、肿瘤坏死因子- α 、干扰素- γ 水平变化及危险因素分析

..... 史杨 马万增 徐晓英(1338)

GOLPH3及PI3K在卵巢癌组织中的表达及意义 沈艳丽 冯文广 易金玲(1342)

脑卒中合并冠心病患者PCI中应用不同剂量比伐卢定对PLT、MPV及FIB的影响

..... 邓俊国 孟令秀 熊爱红等(1346)

PCT、Th17和Tregs在ACLF中的表达及与预后的关系 倪艳 程玲 蒋玉凤(1350)

血清Galectin-9和PD-L1对慢性乙型肝炎肝脏炎症程度的诊断价值

..... 贾梦山 刘加敏 杨艳霞(1354)

非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液细胞因子水平分析	段宁霞 申超红 颜喜玲 (1358)
IL-1 β 、IL-1和MMP-13在膝关节骨性关节炎中的表达及临床意义	郭健 邢乾龙 胡滨 等(1363)
FT4、TPOAb及TgAb联合超声弹性成像鉴别良恶性甲状腺结节的价值	韩鹏 胡桂芹 王树艳(1367)
变应性鼻炎患者血清ECP、ICAM-1、Eotaxin水平与其疾病状态及症状的关系	李红娟 张珂 蔡文杰(1371)
精神分裂症患者血清VILIP-1、SOD-1表达及临床意义	马淑君 林育波 吴映娥 等(1375)
使用血脂大数据评估三种低密度脂蛋白计算公式	樊高威 贾安琪 张顺利(1379)
输尿管结石并发感染患者血清HMGB1、Caspase9及IL-10水平变化意义	罗子靖 王磊 高景宇 等(1385)
IMA、LP-a与Stanford A型主动脉夹层动脉瘤术预后的关系	刘建华 蒋伟 闫小清 等(1389)
EGFR罕见突变致奥希替尼耐药的晚期肺腺癌1例并文献复习	焦赵爽 张寒菲 郑大鹏 等(1394)
HBV-ACLF侵袭性肺真菌感染的临床特征及预后危险因素	李玄丹 李材忠 唐咏婕 等(1399)
急性脑梗死应用血管内介入联合通脑饮治疗的效果	贾志青 樊玉香 贾瑾尧 等(1403)
变应性鼻炎T淋巴细胞亚群、IFN- γ 及IgE水平与VitD的关系	林红艳 尚红坤 潘利平(1407)
VSD疗法对高位肛周脓肿患者血清IL-1 α 、VEGF及SOD水平的影响	蒋文峰 马凯 谭琳玲 等(1411)
miR-375靶向YAP1调节宫颈癌细胞侵袭迁移的机制研究	何小丽 林蓓蓓 范幸(1415)
Apo-B、Hcy、Apo-A预测慢性心力衰竭疗效价值及生存状况分析	王丽兰 刘慧 王逸君 等(1420)
RF、Anti-CCP抗体及ESR对RA疾病活动度和治疗后复发的评估价值	肖华 梁永钢 张书娟 等(1424)
糖尿病肾病患者不同中医证型与肾功能及实验室指标的关系	张玉花 李生海 王财年 等(1428)
外周血淋巴细胞及HIF-1 α 对CA患者光动力疗效的评估价值	姚涌晖 王发武 沈源基 等(1433)
血清miR-126、IGF-1水平与糖尿病前期人群结肠息肉发病的相关性	张慧慧 叶美霞 邓金凤 等(1437)
老年CKD患者25(OH)D、SOST水平与OSP和跌倒风险的关系	张丽 赵倩 贾英杰 等(1442)
血液学参数截断值对不同缺失型 α -地中海贫血的诊断价值	韦松晓 潘美秀 麦莹莹 等(1446)

综 述

数字聚合酶链式反应在检验诊断中的应用进展	刘雅楠 张彤 赵国强 等(1450)
----------------------	--------------------

专家风采

郭清江	(封二)
-----	------

实验室巡礼

安徽省蚌埠市第一人民医院分子诊断实验室	(封三)
---------------------	------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 8 August 2022

CONTENTS

COMMENTS

- Application and detection of sarcosine in urine in prostate cancer
ZHOU Bin, HU Xijiang (1267)

ORIGINAL ARTICLES

- Risk factors of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis and the predictive value of serum PLT and D-dimer for its formation
XIONG Xueli (1271)
- Relationship between INR, CI, PLT and delayed intracranial hemorrhage in craniocerebral trauma and the value of joint detection
CHENG Fanju, JIANG Zhujun, WU Yifan (1275)
- Predictive value of T lymphocyte subsets and cytokines for puerperal infection after cesarean section in scarred uterus
ZHAO Hongyan, MIAO Fan, LIU Zhong (1279)
- The diagnostic value of combined detection of serum AFP, GGT II, AFU and DCP in liver cancer
CHEN Lin, ZHANG Heng, JIANG Bin (1283)
- Relationship between MRI signs of breast cancer and biological indicators of ER, Her-2 and Ki-67
LU Yanli, WAN Hongyan, WU Jun (1287)
- Combined detection and analysis of 10 driving gene mutations in Non-small cell lung cancer in Yunnan
SU Guomiao, WANG Juan, LI Zhenhui, PAN Guoqing, LI Yanxi, LIU Shiyue, ZENG Dingtao, YANG Zhe, LEI Zi (1292)
- Evaluation of droplet digital PCR in detection of blood EGFR T790M mutation
QU Shoufang, XU Ren, ZHANG Wenxin, HUANG Chuanfeng, HUANG Jie (1296)
- Relationship between sTg level before ¹³¹I thyroid remnant ablation and curative effect of thyroid remnant ablation after DTC surgery
ZHAO Wei, SHI Liangping, CHENG Yizhuang (1300)
- Relationship between FGF-21, OC and ucOC levels and lipid metabolism in patients with type 2 diabetes
ZHAO Chunnan, ZHANG Zezhi, SU Dongfeng, GENG Xueli (1304)
- Effects of Angiojet thrombus removal and catheter thrombectomy on PLT, CR and PF in acute lower limb ischemia
LIU Yan, SUN Liwei, LIU Haiyong (1308)
- Analysis of the expression of ghrelin and P1NP in elderly patients with femoral head necrosis and their correlation with bone mineral density
LUO Yilin, YAO Dewei, ZHUO Ende, CHEN Changbin (1312)
- Correlation between miR-194-5p and postoperative metastasis of differentiated thyroid cancer
HUANG Yue, FU Qing, ZHANG Qian, XU Haiyang (1316)
- Effect of ultrasonography combined with preoperative detection of HS-CRP, CA19-9 and CEA on the diagnosis of thick-wall gallbladder carcinoma
YANG Dacai, CHEN He, PENG Liangqin, GU Peng (1320)
- Clinicopathological characteristics and prognosis of diffuse midline glioma of the spinal cord with H3K27M mutation
WU Xiaoyan, HUANG Chaoyun, LUO Wei, WANG Fang, Du Ziming, DENG Ling (1324)
- Protective effect of ubiquitin-like protein FAT10 on myocardial ischemia-hypoxia repair injury through Nrf2/HO-1 pathway
CHEN Tiande, CAO Yufang (1329)
- Correlation between miR-377, VEGF, 8-iso-PGF2 α levels and renal damage in patients with type 2 diabetes mellitus
FAN Yanyan, LV Shasha, GENG Jinping (1334)
- Changes and risk factors of serum interleukin-6, tumor necrosis factor- α , interferon- γ levels in maternal puerperal infection
SHI YANG, MA Wanzeng, XU Xiaoying (1338)

Expression and significance of GOLPH3 and PI3K in ovarian cancer <i>SHEN Yanli, FENG Wenguang, YI Jinling</i>	(1342)
Effects of different doses of bivalirudin on PLT, MPV and FIB in patients with stroke complicated with coronary heart disease during PCI <i>DENG Junguo, MENG Lingxiu, XIONG Aihong, WANG Xuemei, WANG Long</i>	(1346)
Expression of PCT, Th17, Tregs in ACLF and their relationship with prognosis <i>NI Yan, CHENG Ling, JIANG Yufeng</i>	(1350)
The diagnostic value of serum Galectin-9 and PD-L1 on the degree of liver inflammation in chronic hepatitis B <i>JIA Mengshan, LIU Jiamin, YANG Yanxia</i>	(1354)
Analysis of cytokine levels in serum and vaginal lavage fluid of patients with nonspecific vaginitis <i>DUAN Ningxia, SHEN Chaohong, YAN Xiling</i>	(1358)
Expression and clinical significance of IL-1 β , IL-1, MMP-13 in knee osteoarthritis <i>GUO Jian, XING Qianlong, HU Bin, ZHANG Haiyong, LI Tao</i>	(1363)
Value of FT4, TPOAb and TgAb combined with ultrasound elastography in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules <i>HAN Peng, HU Guiqin, WANG Shuyan</i>	(1367)
Relationship between serum ECP, ICAM-1 and eotaxin levels in patients with allergic rhinitis and their disease state and symptoms <i>LI Hongjuan, ZHANG Ke, CAI Wenjie</i>	(1371)
Expression and clinical significance of serum VILIP-1 and SOD-1 in patients with schizophrenia <i>MA Shujun, LIN Yubo, WU Yingge, JI Xiaobin, ZHENG Wenhua</i>	(1375)
Application of three low-density lipoprotein calculation formulas in blood lipid big data assessment <i>FAN Gaowei, JIA Anqi, ZHANG Shunli</i>	(1379)
Changes of serum HMGB1, caspase9 and IL-10 levels in patients with ureteral calculi complicated by infection <i>LUO Zijing, WANG Lei, GAO Jingyu, XU Zhe, REN Lingyun, WANG Zhao</i>	(1385)
The relationship between IMA, Ip-a and prognosis of Stanford type A aortic dissection aneurysm <i>LIU Jianhua, JIANG Wei, YAN Xiaoqing, WU Gang</i>	(1389)
Osimertinib-resistant advanced lung adenocarcinoma caused by rare <i>EGFR</i> mutation: a case report and literature review <i>JIAO Zhaoshuang, ZHANG Hanfei, ZHENG Dapeng, WANG Ping</i>	(1394)
Clinical features and prognostic risk factors of HBV-ACLF invasive pulmonary fungal infection <i>LI Xuandan, LI Caizhong, TANG Yongjie, CAI Xiaoyang, WANG Shengcheng</i>	(1399)
Effect of intravascular intervention combined with tongnaoyin in the treatment of acute cerebral infarction <i>JIA Zhiqing, FAN Yuxiang, JIA Jinyao, LIU Xiao</i>	(1403)
Relationship between T lymphocyte subsets, IFN- γ and IgE levels and VitD in allergic rhinitis <i>LIN Hongyan, SHANG Hongkun, PAN Liping</i>	(1407)
Effects of VSD therapy on serum IL-1 α , VEGF and SOD levels in patients with high perianal abscess <i>JIANG Wenfeng, MA Kai, TAN Linling, LIU Fang</i>	(1411)
Mechanism of miR-375 targeting YAP1 to regulate the invasion and migration of cervical cancer cells <i>HE Xiaoli, LIN Beibei, FAN Xing</i>	(1415)
Analysis of Apo-B, Hcy, Apo-A in predicting the efficacy and survival of chronic heart failure <i>WANG Lilan, LIU Hui, WANG Yijun, QIN Xiaomin</i>	(1420)
Evaluation of RF, anti-CCP antibody and ESR in RA disease activity and recurrence after treatment <i>XIAO Hua, LIANG Yonggang, ZHANG Shujuan, XIE Linsen, FENG Lixin</i>	(1424)
Relationship between different TCM certificate types and renal function, serum ALB, blood lipids, TWEAK, CTGF, and CysC levels in patients with diabetic nephropathy <i>ZHANG Yuhua, LI Shenghai, WANG Cainian, ZHAO Yue, ZHU Xiaolin, DONG Dawen</i>	(1428)
Evaluation value of peripheral blood lymphocytes and HIF-1 α on photodynamic efficacy in patients with CA <i>YAO Yonghui, WANG Fawu, SHEN Yuanji, WANG Qin</i>	(1433)
Correlation between serum miR-126 and IGF-1 levels and the incidence of colon polyps in prediabetic population <i>ZHANG Huihui, YE Meixia, DENG Jinfeng, LI Xinnan, CHEN Yun, ZHONG Yinqin</i>	(1437)
Relationship between 25(OH)D, SOST levels and OSP, falls risk in elderly patients with CKD <i>ZHANG Li, ZHAO Qian, JIA Yingjie, MAO Hui, NIAN Haoran, HAN Xue, JIANG Hanwei, ZHANG Xiujuan</i>	(1442)
Diagnostic value of hematological parameter cutoff values for different deletion α -thalassemias <i>WEI Songxiao, PAN Meixiu, MAI Yingying, LI Fengyuan, QIN Weiling, LI Dan, CHEN Xiuqin, LIANG Wei</i>	(1446)

REVIEWS

Advances in the application of digital polymerase chain reaction in laboratory diagnosis <i>LIU Yanan, ZHANG Tong, ZHAO Guoqiang, WEI Fengxiang</i>	(1450)
--	--------

尿液肌氨酸在前列腺癌中的应用及检测

周斌 胡晞江*

[摘要] 肌氨酸是通过代谢组学筛选的前列腺癌生物标志物,能有效指导前列腺癌早期诊断和病理分级。尿液中肌氨酸准确检测对前列腺癌早期诊断尤为重要,目前其主要检测方法有分光光度法、电化学分析法、色谱法或色谱与质谱联用法、荧光光谱法等。本文针对肌氨酸的临床应用价值及近十年来国内外尿液中肌氨酸的检测方法进行综述,对不同检测方法的性能参数及发展趋势进行分析,为检测人员及科研工作者选择检测方法提供参考依据。

[关键词] 前列腺癌;肌氨酸;生物标志物;检测;电化学;色谱;荧光光谱

Application and detection of sarcosine in urine in prostate cancer

ZHOU Bin, HU Xijiang*

[Eugenic Genetics Laboratory, Wuhan Children's Hospital (Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital), Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan, Hubei, China, 430014]

[ABSTRACT] Sarcosine is a prostate cancer biomarker screened by metabolomics, which can effectively guide the early diagnosis and pathological grading of prostate cancer. Accurate detection of sarcosine in urine is particularly important for the early diagnosis of prostate cancer. At present, the main detection methods include spectrophotometry, electrochemical analysis, chromatography or combined chromatography and mass spectrometry, and fluorescence spectroscopy. This article reviewed the clinical application of sarcosine and the detection methods in urine during the past ten years, and analyzed the performance parameters and development trends of determination methods. This will provide reference for testing technicians and scientific researchers to select detection methods.

[KEY WORDS] Prostate carcinoma; Sarcosine; Biomarker; Detection; Electrochemistry; Chromatography; Fluorescence spectrum

前列腺癌(prostate carcinoma, PCa)发病率在临床上位于男性恶性肿瘤的第二位,且在中国呈逐年上升趋势^[1],PCa早诊断、早治疗尤为重要,目前PCa早期筛查主要依靠直肠指检联合血液前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)检测,但其存在一定程度的“灰区”和假阳性结果,造成过度治疗和漏诊(灵敏度为20.5%、特异性为51%~91%)^[2-3],因此在临床上迫切需要特异和敏感的生物标志物及其准确且灵敏的检测方法。

尿液前列腺癌抗原3(prostate cell antigen 3, PCA3)、早期前列腺抗原(early prostatecancer anti-

gen, EPCA)、前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen, PSCA)、 α -甲酰辅酶A消旋酶(alpha-methylacyl-coa racemase, AMACR)等生物标志物逐步走进了大众的视野^[4-5],但是由于其检测手段有限,限制了在临床上的使用。近年来通过代谢组学逐渐发现包括肌氨酸、丙氨酸、精氨酸、尿嘧啶、谷氨酸、富马酸、柠檬酸和丝氨酸等多种代谢产物有望被用作PCa患者生物标志物^[6-7],其中肌氨酸是最早被筛选和证实的^[8]。对于这些新型生物标志物推广至临床应用还需进行严密评估及确证,使科研向临床转化。本文主要综述肌氨酸的临床应用

基金项目:湖北省卫生健康科研基金(WJ2019H351)、武汉市卫生健康科研基金(WX19Q04)

作者单位:华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院(武汉市妇幼保健院)优生遗传实验室,湖北,武汉430014

*通信作者:胡晞江, E-mail:1936861339@qq.com

价值和近十年来尿液中肌氨酸的检测方法,为医务工作者及科研工作者提供参考依据。

1 肌氨酸的临床应用价值

肌氨酸,即 N-甲基甘氨酸,化学式为 $\text{CH}_3\text{NHCH}_2\text{COOH}$,末端含羧基,溶于水,是胆碱代谢为甘氨酸过程的中间体。自 2009 年研究者首次揭示肌氨酸是 PCa 发展时显著增高的代谢产物后^[8],又陆续开展了众多研究以期评估肌氨酸作为 PCa 生物标志物的价值。少量研究显示,尿液中的肌氨酸不能用于鉴别前列腺相关疾病。Jentzmik 发现直肠指诊与尿液中肌氨酸联合使用并不比 PSA 更容易区分 PCa 和非 PCa,且肌氨酸浓度与评分无相关性^[9]。大部分研究认为:尿肌氨酸不仅能作为前列腺疾病早期筛查、病理分级及预后判断的关键指标,还能有效反映 PCa 的侵袭性,辨别癌细胞是缓慢生长还是高度侵袭生长,其检测诊断 PCa 的准确性优于血 PSA 检测^[8,10]。Wang 等^[11]也进一步证实了尿肌氨酸/肌酐比值不仅可区分良性前列腺增生性疾病和 PCa,还可在 PSA 灰色区 ($\text{PSA} < 10 \text{ ng/mL}$) 水平时作为 PCa 生物标志物,而且还发现肌氨酸浓度水平与 Gleason 评分密切相关。上述结果说明,肌氨酸在检出 PCa 以及判断 PCa 侵袭性方面至少与 PSA 相当,甚至更优。也有研究者推测,将 PSA 检测和一些新的生物标志物如肌氨酸等结合起来,可使 PCa 的诊断、治疗和监测更个体化,最重要的是在活检之前就能预判前列腺病变的严重程度,减少不必要的穿刺活检。

综上所述,尿液肌氨酸检测在前列腺癌诊断中的应用价值目前存在争议,导致出现争议的原因可能与尿液肌氨酸检测方法、测定样本(尿沉渣或经尿液离心后的上清液)、受试人群等差异有关^[12]。不同 *GNMT* 遗传背景可影响人群中肌氨酸水平^[13],而且样品预处理方法和检测方法都可能影响检测结果^[12,14]。因此,样品前处理和检测对肌氨酸在临床上的应用非常重要。

2 肌氨酸检测方法

肌氨酸要达到临床应用必须依赖准确,且快速的检测方法,目前肌氨酸检测方法种类繁多,主要包括间接定量分析和直接检测两大类。间接定量分析是通过肌氨酸氧化酶或纳米酶氧化肌氨酸间接检测,主要包括比色法^[15],荧光法^[16]和电化学

方法^[17]。2007 年以来随着纳米酶催化体系的不断发展,肌氨酸比色法中基于纳米酶的生物传感器逐渐增多,大大优化了比色法的检测性能。直接检测方法通常包括色谱法、色谱与质谱联用法^[18]以及电化学方法^[17]。这类方法准确性和重复性都非常好,但暂未能实现标准化的快速批量检测,电化学方法灵敏度也有待提高。随着分子印迹技术在电化学传感器中的应用,其检测性能均达到了新的高度。

2.1 分光光度法

传统的分光光度法主要依赖的是肌氨酸氧化酶,这是最早开发和最经典的检测方法之一,目前已有成熟检测试剂盒和专利诞生,该方法操作简单,成本低,也不受丙氨酸干扰,但在低浓度尿液加标实验中回收率较低。随着材料科学的迅猛发展,越来越多的人工模拟酶如贵金属络合物和金/银纳米颗粒等有望替代传统酶用于分析检测中,纳米酶的应用也是肌氨酸比色检测未来发展方向。纳米酶既具有纳米材料优异的理化特性,良好的相容性,合成简单,易修饰和无毒,又兼具极佳的酶学催化功能,可避免酶修饰和分离步骤,也能减少蛋白酶的非特异性吸附。早期在 Pd 纳米颗粒合成中引入碳纳米管,石墨烯等纳米颗粒增强模拟酶活性,改善生物亲和力,使方法的检出限降至 5.0 nmol/L ^[19]。BawaMbage 等人以自制的叶酸官能团化的多金属氧酸盐化合物为模拟酶,实现肌氨酸和双氧水同时检测,但检出限较高($0.311 \mu\text{mol/L}$)^[20]。

2.2 电化学分析法

尿液中肌氨酸的含量极低(健康成人为 $1 \sim 1.5 \mu\text{mol/L}$),常规的电化学传感器的灵敏度和选择性并不都能满足临床需求^[17, 21]。近年来,研究者们一方面致力于改善肌氨酸氧化酶活性,通过新型材料的合成或结构改善实现活性生物物质固定在基体电极表面保证接触面积最大化,达到酶催化活性增强目的。比如, Yang 等^[22]合成铂负载介孔磷酸镍增加活性位点,对肌氨酸氧化酶产物具有良好的电化学性能,在定量分析肌氨酸时检出限为 $0.24 \mu\text{mol/L}$ 。Yang 等以类沸石咪唑酯骨架材料(zeoliticimidazolate framework-8, ZIF-8)负载纳米铂(Pt@ZIF8),将其修饰在玻碳电极(glassy carbon electrode, GCE)上(Pt@ZIF8/GCE),ZIF-8 独特的 3D 网络结构提高了铂纳米颗粒对肌氨酸氧化酶的电催化活性,维持检出限在 1.06

$\mu\text{mol/L}$ 水平,线性范围为 $5\sim 30\ \mu\text{mol/L}$ ^[23]。另一方面研究者们利用分子印迹聚合物对模板分子的良好识别机制,实现肌氨酸检测中出色的选择性和稳定性^[24],比如,Sheydaei Omid等^[25]利用新型纳米分子印迹聚合物修饰碳糊电极建立了微分脉冲伏安法,以甲基丙烯酸为功能单体,乙腈水溶液为致孔剂,通过溶胶-凝胶法制备分子印迹聚合物纳米珠,纳米珠结构在碳糊电极上良好的电催化作用,实现了肌氨酸定量分析的高亲和性和高选择性,但该方法同样没有呈现优异的检出限($0.38\ \mu\text{mol/L}$)。Özkütük等^[26]以甲基丙烯酰胺基组氨酸为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂,通过乳液聚合合成分子印迹聚合物,该分子印迹聚合物电位传感器平台对肌氨酸显示出高选择性,且响应时间短($<2\ \text{min}$),线性范围宽($10^{-5}\sim 10^{-9}\ \text{mol/L}$)。也有研究者把磁性 Fe_3O_4 纳米粒子嵌入金属有机骨架化合物作为分子印迹化合物载体,利用金属有机骨架的多孔结构提高传质效率和吸附能力,印迹因子达4.30,使检测肌氨酸的检测限降至 $0.4\ \text{pmol/L}$,线性范围为 $1\sim 100\ \text{pmol/L}$ ^[27]。所以,电化学方法可通过改变模板分子的结构或基于复合材料创建多层分子印迹聚合物来设计聚合物的整体形态以此提高选择性和灵敏度。虽然分子印迹技术在电化学传感器中已经获得了良好应用,但仍然存在机理研究不够深入,制备技术有待优化等亟待解决的问题。

2.3 色谱法或色谱-质谱联用法

质谱法是氨基酸定量检测的最准确的方法之一。肌氨酸结构上带有氨基和羧基,是一种分子量较小的亲水物质,在电喷雾离子源中肌氨酸离子化效率较低,直接用质谱法信号较弱,通常需要与气相色谱、液相色谱和毛细管电泳联合使用^[28]。目前肌氨酸检测的色谱法主要以高效液相色谱为主,而气相色谱使用较少(需要合适的衍生化试剂衍生)。尿液中存在内源性丙氨酸,其浓度是肌氨酸的数千倍,在常规色谱法或色谱-质谱联用法中不能有效分离肌氨酸及其分子异构体($\alpha\text{-L}$ -丙氨酸, $\alpha\text{-D}$ -丙氨酸和 β -丙氨酸)。近年来,通过合适的衍生化等手段逐步可排除丙氨酸的干扰。如Tang-Chia Chung等人利用荧光试剂左氧氟沙星酰氯衍生化,以乙酸钠缓冲液和四氢呋喃作为流动相进行梯度洗脱,在己基-苯基柱上能较好的分离氨基酸衍生物与其分子异构体,线性范围为 $44.5\sim 1780.0\ \text{ng/mL}$,检出限为 $8.9\ \text{ng/mL}$ ^[18]。研究

者利用丹磺酰氯进行柱前衍生,在液相色谱串联质谱仪上通过提高分辨率和离子化效率,使衍生后肌氨酸及丙氨酸保留时间延长以达到分离目的^[29]。高效液相色谱-质谱或气相色谱-质谱法能对复杂基质中的肌氨酸进行准确定量,重复性好,且有极高的分辨率和分析效率,值得注意的是质谱法需要昂贵的仪器设备、标准品和固相萃取等样品前处理手段。所以在今后要实现临床意义上的色谱-质谱法常规检测肌氨酸,应该更着重样品前处理方法的简化以及临床操作的标准化。

2.4 荧光光谱法

肌氨酸本身不具有荧光,必须利用荧光染料等试剂与其相互作用生成络合物再进行测定。研究者利用镧系金属有机骨架出色的光学特性^[30],将 Tb^{3+} 和 Cu^{2+} 引入到金属有机骨架中设计了发光探针,通过肌氨酸与 Cu^{2+} 之间的强相互作用来影响传感器的发光性质,检出限为 $0.23\ \mu\text{mol/L}$ ^[16]。近两年也报道了基于核酸适体的荧光光谱法,肌氨酸核酸适体于2018年首次合成,对肌氨酸具有严格的识别行为和高度的亲和力(解离常数为 $134.8\pm 1.12\ \text{nmol/L}$),用于肌氨酸检测,不受内源性丙氨酸干扰^[31]。2019年Canan Özyurt等^[31]使用氧化石墨烯辅助的配体指数富集技术又筛选了两个特异性的DNA核酸适体9S和13S,显著降低了解离常数,相比2018年报道的核酸适体荧光法,其检出限降低了5个数量级,低至 $0.5\ \text{pmol/L}$,是现有检测方法中检出限最低的方法,线性范围达到6个数量级,核酸适体的应用避免了复杂繁琐的衍生和样品预处理步骤^[32]。

3 小结与展望

本文综述了肌氨酸在前列腺癌早期筛查和等级评分中的应用价值及近十年来的检测方法。肌氨酸定量方法种类多,早期不同的检测方法的结果差异性大,而且全自动化检测方法较少,严重制约了肌氨酸在临床上的应用。比色法有成品的试剂盒,操作简便,对仪器设备要求不高,适合医院大规模检测,未来应该更多的开发纳米酶的潜在应用价值。色谱-质谱检测方法难以在基层单位开展,其需要昂贵的检测费用和特殊的专业技术人员,但准确性和重复性都非常好。电化学方法近年来通过使用分子印迹聚合物等极大降低了肌氨酸检测的检出限,并提高了选择性,电化学方法和荧

光谱法未来应该朝连续、自动化、快速和计算机方向发展,通过自动化仪器向医院推广。实验室可根据检测目的和自身实验室条件选择合适的检测方法,建立普通人群和前列腺相关疾病的肌氨酸数据库,提高肌氨酸生物标志物早期筛查的灵敏度和准确性。总之,如何选择和互补不同的检测方法,改善检测方法的性能参数,提高肌氨酸检测的临床应用价值是检验工作人员一致的追求方向。

参考文献

- [1] Culp MB, Soerjomataram I, Efstathiou J, et al. Recent Global Patterns in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates [J]. *Eur Urol*, 2020, 77(1):38-52.
- [2] Kearns JT, Lin DW. Improving the Specificity of PSA Screening with Serum and Urine Markers[J]. *Curr Urol Rep*, 2018, 19(10):80.
- [3] Eskra JN, Rabizadeh D, Pavlovich CP, et al. Approaches to urinary detection of prostate cancer [J]. *Prostate cancer Prostatic Dis*, 2019, 22(3):362-381.
- [4] Fujita K, Nonomura N. Urinary biomarkers of prostate cancer [J]. *Int J Urol*. 2018, 25: 770-779.
- [5] Sardana G, Dowell B, Diamandis EP. Emerging Biomarkers for the Diagnosis and Prognosis of Prostate Cancer [J]. *Clin Chem*, 2008(12):1951-1960.
- [6] Lima AR, Pinto J, Bastos ML, et al. NMR-based metabolomics studies of human prostate cancer tissue [J]. *Metabolomics*, 2018, 14(7):88.
- [7] Lima AR, Pinto J, Amaro F, et al. Advances and Perspectives in Prostate Cancer Biomarker Discovery in the Last 5 Years through Tissue and Urine Metabolomics [J]. *Metabolites*, 2021, 11(3):181.
- [8] Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression[J]. *Nature*, 2009, 457:910-914.
- [9] Jentzmik F, Stephan C, Miller K, et al. Sarcosine in urine after digital rectal examination fails as a marker in prostate cancer detection and identification of aggressive tumours [J]. *Eur Urol*, 2010, 58(1):12-8:20-21.
- [10] Heger Z, Cernei N, Gumulec J, et al. Determination of common urine substances as an assay for improving prostate carcinoma diagnostics [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(4):1846-1854.
- [11] Wang M, Zou L, Liang J, et al. The Urinary Sarcosine/Creatinine Ratio is a Potential Diagnostic and Prognostic Marker in Prostate Cancer [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:3034-3041.
- [12] Jaromir G, Martina R, Dalibor P. Post-treatment urinary sarcosine as a predictor of recurrent relapses in patients with prostate cancer [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(11): 5411-5419.
- [13] Natalia C, Zbynek H, Jaromir G, et al. Sarcosine as a Potential Prostate Cancer Biomarker—A Review [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(7):13893-13908.
- [14] Warwick BD, David IE. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies [J]. *Trends Analyt Chem*, 2005, 24(4):285-294.
- [15] Lan J, Xu W, Wan Q, et al. Colorimetric determination of sarcosine in urine samples of prostatic carcinoma by mimic enzyme palladium nanoparticles [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 825:63-68.
- [16] Sun NN, Yan B. A fluorescent probe based on a Tb³⁺/Cu²⁺ co-functionalized MOF for urinary sarcosine detection [J]. *Analyst*, 2018, 143:2349-2355.
- [17] Li J, Ma J, Zhang Y, et al. An amperometric biosensor for the assay of sarcosine based on the cross coupled chemical and electrochemical reactions with practical applications [J]. *J Electroanal Chem*, 2019, 833:568-572.
- [18] Chung TC, Li CT, Kou HS, et al. High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Sarcosine as a Fluorescent Levofloxacin Derivative [J]. *J Chromatogr Sci*, 2015, 53(8):1310-1315.
- [19] Lan J, Xu W, Wan Q, et al. Colorimetric determination of sarcosine in urine samples of prostatic carcinoma by mimic enzyme palladium nanoparticles [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 825:63-68.
- [20] Mbage B, Li Y, Si H, et al. Fabrication of folate functionalized polyoxometalate nanoparticle to simultaneously detect H₂O₂ and sarcosine in colorimetry [J]. *Sens Actuators B: Chem*, 2020, 304:127429.
- [21] Kumar P, Narwal V, Jaiwal R, et al. Construction and application of amperometric sarcosine biosensor based on SOxNPs/AuE for determination of prostate cancer [J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 122:140-146.
- [22] Yang C, Yang Q, Yu S, et al. Platinum-loaded mesoporous nickel phosphonate and its electrochemical application for sarcosine detection [J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1046:93-98.
- [23] Yang H, Wang J, Yang C, et al. Nano Pt@ZIF8 Modified Electrode and Its Application to Detect Sarcosine [J]. *J Electrochem Soc*, 2018, 165(5):H247-H250.
- [24] Nguy TP, Van Phi T, Tram DTN, et al. Development of an impedimetric sensor for the label-free detection of the amino acid sarcosine with molecularly imprinted polymer receptors [J]. *Sens Actuators Chem*, 2017, 246:461-470.
- [25] Sheydaei O, Khajehsharifi H, Rajabi HR. Rapid and selective diagnose of Sarcosine in urine samples as prostate cancer biomarker by mesoporous imprinted polymeric nanobeads modified electrode [J]. *Sens Actuators Chem*, 2020, 309:127559.
- [26] Ozkutuk EB, Diltemiz SE, Avci S, et al. Potentiometric sensor fabrication having 2D sarcosine memories and analytical features [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 69:231-235.
- [27] Tang P, Wang Y, He F. Electrochemical sensor based on super-magnetic metal-organic framework@molecularly imprinted polymer for Sarcosine detection in urine [J]. *J Saudi Chem Society*, 2020, 24(8): 620-630. (下转第 1274 页)

肝硬化合并门静脉血栓的危险因素及PLT、DD对其形成的预测价值

熊雪丽

[摘要] **目的** 研究肝硬化患者合并门静脉血栓(PVT)的危险因素及血小板(PLT)、D-二聚体(DD)对其形成的预测价值。**方法** 选取2019年3月至2021年3月武汉市中西医结合医院收治的87例肝硬化患者作为研究对象,根据是否合并PVT分为PVT组($n=17$)与非PVT组($n=70$),比较两组的一般资料及血液学指标[PLT、DD、凝血酶原时间(PT)],采用Logistics分析肝硬化患者合并PVT的影响因素,采用受试者工作曲线(ROC)分析DD、PLT、PT等指标对肝硬化患者合并PVT的预测价值。**结果** 单因素分析发现,PVT组的脾脏切除史占比和PLT、DD、PT水平均高于非PVT组,差异有统计学意义($P<0.05$)。PLT($OR=1.988$)、DD($OR=2.128$)、脾脏切除术($OR=2.237$)及PT($OR=2.212$)是影响肝硬化患者合并PVT的危险因素($P<0.05$)。PLT、DD和PT预测肝硬化合并PVT的曲线下面积(AUC)分别为0.725(95%CI: 0.619~0.816), 0.810(95%CI: 0.712~0.887)、0.743(95%CI: 0.638~0.831),其中PT的灵敏度最高(0.710),DD的特异度最好(0.911)($P<0.05$)。**结论** 临床应重视高PLT、DD水平和脾脏切除史的肝硬化患者,监视PVT的形成,同时联合PLT、DD、PT预测,为预防PVT提供参考依据。

[关键词] 肝硬化; 门静脉血栓; 血小板; D-二聚体

Risk factors of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis and the predictive value of serum PLT and D-dimer for its formation

XIONG Xueli

(Department of Gastroenterology, Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan, Hubei, China, 430000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the risk factors of portal vein thrombosis (PVT) in patients with cirrhosis and the predictive value of serum platelets (PLT) and D-dimer (DD) on its formation. **Methods** A total of 87 patients with cirrhosis admitted to Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine were enrolled as the research objects between March 2019 and March 2021. According to presence or absence of PVT, they were divided into the PVT group (17 cases) and the non-PVT group (70 cases). The general data and hematological indicators [PLT, DD, prothrombin time (PT)] between the two groups were compared. The influencing factors of PVT were analyzed by Logistics analysis. The predictive value of DD, PLT and PT for PVT was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** Univariate analysis showed that the proportion of history of splenectomy and the levels of PLT, DD and PT in the PVT group were higher than those in the non-PVT group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). PLT($OR=1.988$), DD($OR=2.128$), splenectomy ($OR=2.237$) and PT($OR=2.212$) were risk factors for PVT ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) values of PLT, DD and PT for predicting PVT were 0.725 (95% CI: 0.619~0.816), 0.810 (95% CI: 0.712~0.887) and 0.743 (95% CI: 0.638~0.831), respectively, among which PT had the highest sensitivity (0.710) and DD had the best specificity (0.911) ($P<0.05$).

基金项目:湖北省卫生健康委员会科研基金资助项目(ZY2019Q018)

作者单位:武汉市中西医结合医院消化内科,湖北,武汉 430000

*通信作者:熊雪丽, E-mail: 569181373@qq.com

Conclusion Clinical attention should be paid to liver cirrhosis patients with high PLT and DD levels and a history of splenectomy, monitoring the formation of PVT, and combining PLT, DD, and PT prediction to provide reference for the prevention of PVT.

[KEY WORDS] Cirrhosis; Portal vein thrombosis; Platelet; D-dimer

肝硬化是一类较常见的慢性肝病,主要病理特征为肝细胞弥漫性坏死、肝脏纤维组织增生,临床表现多为肝功能减退、门静脉高压等^[1]。一般患者被确诊肝硬化,提示该患者肝病已属晚期。门静脉血栓(portal vein thrombosis, PVT)是肝硬化的一种并发症,主要指门静脉主干、分支发生血栓,伴或不伴肠系膜静脉和脾静脉血栓形成^[2]。急性PVT可导致肝腹水、肠坏死、消化道出血、休克甚至死亡,临床上检查PVT主要靠多普勒超声、磁共振等影像学手段。PVT起病隐匿,特异性不强,早期准确预测PVT对于其防治意义重大^[3-4]。近些年关于肝硬化合并PVT的危险因素研究并不少见,其危险因素较多,主要因素尚不完全明晰^[5-6]。D-二聚体(D-dimer, DD)是一种反映机体纤溶功能的分子标志物,有研究发现肝硬化PVT患者DD水平较高,可能是导致PVT发生的危险因素^[7]。血小板(platelets, PLT)减少被看作是慢性肝病的典型特征,肝硬化患者由于肝脏PLT生成素分泌减少或脾功能亢进,导致PLT生成明显下降^[8]。本研究分析肝硬化合并PVT的影响因素,以及DD与PLT对肝硬化PVT的预测价值,以期对PVT的预防诊治提供可靠的建议。

1 资料与方法

1.1 资料

选取2019年3月至2021年3月本院收治的87例肝硬化患者作为研究对象,根据是否合并PVT分为PVT组($n=17$)和非PVT组($n=70$)。纳入标准:①符合临床对肝硬化的最新诊断标准^[9],经影像学确诊;②PVT的诊断标准符合《肝硬化门脉高压食管静脉曲张出血防治共识》^[10]。③患者对研究了解知情,签署知情同意书。排除标准:①合并心、肺、肾等脏器严重器质性病变;②既往有肝移植手术史;③恶性肿瘤;④抗凝治疗禁忌证;⑤肝癌;⑥患有精神类疾病;⑦临床病理资料不齐。本研究符合《赫尔辛基宣言》的原则。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

利用医院信息系统查询患者年龄、性别以及

肝硬化病程、发病原因、脾脏切除史、Child-Pugh分级^[11]等一般临床资料,记录患者白细胞(White blood cell, WBC)计数。

1.2.2 血液学指标

入组后第2 d清晨采集全部患者的空腹静脉血4 mL,静置1 h,使用低速离心机(中科中佳, SC-3616,离心半径10 cm)于室温中1 500 r/min离心20 min,分离血浆,采用全自动凝血仪(日本SYSMES公司)检测患者血浆DD水平、血浆凝血酶原时间(Prothrombin time, PT)和PLT水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行统计分析,采用Logistics分析肝硬化患者PVT的影响因素,对正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,组间比较用 χ^2 检验;采用ROC曲线分析DD、PLT、PT对肝硬化合并PVT的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响肝硬化合并PVT的单因素分析

结果显示,PVT组的脾脏切除史占比和PLT、DD、PT水平均高于非PVT组,差异有统计学意义($P < 0.05$),PVT组与非PVT组的年龄、性别、Child-Pugh分级、肝硬化病因、肝硬化病程以及WBC水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 影响肝硬化合并PVT的多因素分析

结果显示,PLT、DD、脾脏切除术及PT是影响肝硬化患者合并PVT的危险因素($P < 0.05$)。见表2。

2.3 PLT、DD以及PT对肝硬化患者合并PVT的预测价值

结果显示,PLT、DD和PT预测肝硬化合并PVT的AUC分别为0.725(95%CI: 0.619~0.816)、0.810(95%CI: 0.712~0.887)、0.743(95%CI: 0.638~0.831),其中PT的灵敏度最高(0.710),DD的特异度最好(0.911)($Z=3.831, 6.332, 4.020, P < 0.05$)。见表3、图1。

表1 影响肝硬化合并PVT的单因素分析 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Single factor analysis of PVT influencing liver cirrhosis [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

项目	PVT组 (n=17)	非PVT组 (n=70)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	56.46±9.51	55.72±8.77	0.307	0.760
性别				
男	11(64.71)	48(68.57)	0.094	0.760
女	6(35.29)	22(31.43)		
Child-Pauh 分级				
A级	10(58.82)	39(55.71)	0.170	0.919
B级	5(29.41)	20(28.57)		
C级	2(11.76)	11(15.71)		
肝硬化病因				
乙肝	9(52.94)	33(47.14)	0.813	0.666
丙肝	2(11.76)	15(21.43)		
酒精肝	6(35.29)	22(31.43)		
脾脏切除术				
有	11(64.71)	25(35.71)	4.740	0.029
无	6(35.29)	45(64.29)		
肝硬化病程(年)	3.78±1.64	3.22±1.39	1.438	0.154
WBC($\times 10^9/L$)	6.96±2.04	6.80±1.95	0.301	0.764
PLT($\times 10^9/L$)	152.87±53.41	97.62±38.72	4.879	<0.001
DD(mg/L)	3.16±0.54	1.85±0.49	9.694	<0.001
PT(s)	17.24±2.23	13.56±1.50	8.189	<0.001

表2 影响肝硬化合并PVT的多因素分析

Table 2 Analysis of multiple factors affecting liver cirrhosis with PVT

危险因素	β 值	SE值	wald χ^2 值	OR值	95% CI	P值
PLT	0.687	0.305	1.205	1.988	1.093~3.614	0.025
DD	0.755	0.217	1.895	2.128	1.391~3.255	0.001
脾脏切除术	0.805	0.350	5.290	2.237	1.126~4.442	0.021
PT	0.794	0.362	5.951	2.212	1.088~4.497	0.029

表3 PLT、DD以及PT对肝硬化患者合并PVT的预测价值

Table 3 The predictive value of PLT, DD and PT in patients with liver cirrhosis combined with PVT

检测指标	临界值	灵敏度	特异度	95% CI	AUC	P值
PLT($\times 10^9/L$)	131.88	0.548	0.839	0.619~0.816	0.725	0.003
DD(mg/L)	2.92	0.645	0.911	0.712~0.887	0.810	0.001
PT(s)	15.01	0.710	0.750	0.638~0.831	0.743	0.004

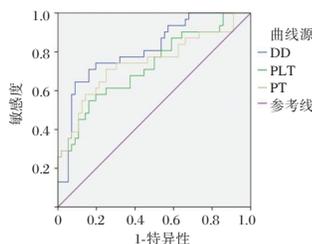


图1 PLT、DD以及PT预测肝硬化患者合并PVT的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of PLT, DD and PT predicting PVT in patients with liver cirrhosis

3 讨论

PVT是肝硬化终末期较常见的并发症,若未能及时得到有效治疗,极易引发肝腹水、消化道出血等并

发症,危及患者生命安全。研究显示,肝硬化患者合并PVT发生率可达11.2%^[12]。而本次研究中,87例肝硬化患者,合并PVT 17例,发生率为19.54%,与上述研究存在一定出入,这可能与本研究样本量偏少有关。然而由于肝硬化合并PVT前期表现并不典型,现有影像学检测手段亦无法有效鉴别血栓新旧,因而比较难判断PVT发生的时间,不利于防治工作的进行。早期精准预测PVT,对于肝硬化患者的病情进展观察以及预防工作的开展有重要的临床意义。

本次研究发现,PVT组的PLT、DD、PT等血液学指标水平显著高于非PVT组患者,提示肝硬化合并PVT患者血液处于高凝状态。国外研究显示,接受脾切除术的肝硬化患者,术后PVT发生率可达37%,并且PLT增加也是导致肝硬化患者发生PVT的危险因素^[13]。国内也有研究显示,门脉高压术后患者的DD水平上升,DD水平是肝硬化患者发生PVT的危险因素^[14],与本研究结论一致。进一步Logistics回归分析显示,PLT、DD、PT及脾脏切除术是导致肝硬化患者发生PVT的独立危险因素。分析原因,可能是切除脾脏后,脾静脉形成盲端,脾静脉血流速度减缓甚至停滞,导致门静脉系统处于低流高阻状态,极大增加了发生PVT的风险;同时切除术过程产生的创伤、炎症反应等均可能导致血管内皮受损,促使PLT凝集而形成PVT。另外,高水平DD意味着肝硬化患者出现纤溶亢进,存在凝血紊乱现象,也使得PVT发生的风险上升;PT一般反映患者外源性凝血因子的变化,PT值升高提示肝硬化患者外源性凝血途径受到影响,也可能导致PVT风险增加。这一结果说明临床早期应注意监测肝硬化患者的PLT、DD、PT水平,筛查脾脏切除史,预防PVT的形成。

本研究发现,PLT、DD、PT预测肝硬化患者合并PVT的AUC为0.725、0.810、0.743,同时DD与PT具有较高的灵敏度和特异度,提示PLT、DD、PT可有效预测肝硬化合并PVT。Yang等学者^[15]认为PLT能通过一种胞内蛋白(雷帕霉素靶蛋白复合物)调节PVT的形成过程,对PVT具有一定的预测价值。国内相关研究显示PT预测肝硬化PVT的灵敏度和特异度为77.5%和69.9%;该研究还发现,DD预测PVT的特异度为89.3%、灵敏度为86.6%^[16]。国外研究显示,高水平DD表示凝血纤

溶功能异常,而门静脉主干内径变宽造成门静脉高压,使得患者凝血、抗凝平衡被打破,因此DD对肝硬化合并PVT具有不错的灵敏度和特异度^[17]。较早前国外报道显示DD对PVT的阴性预测率可达98%^[18]。上述研究均说明了PLT、PT和DD对肝硬化PVT有良好的预测价值,与本研究结论一致。

综上,临床应重视高PLT、DD水平和脾脏切除史的肝硬化患者,监视PVT的形成,同时联合PLT、DD、PT预测,为预防PVT提供参考依据。

参考文献

- [1] 邵小梅, 杨杨, 韩丽霞. 胱抑素C和肝动脉阻力指数在肝硬化患者中的临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(5):391-395.
- [2] Fan X, Huang X, Hershman M, et al. Portal vein thrombosis prevalence and mortality among alcoholic cirrhosis in a nationwide inpatient cohort[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2020, 32(9):1160-1167.
- [3] 中华医学会消化病学分会肝胆疾病学组. 肝硬化门静脉血栓管理专家共识(2020年,上海)[J]. 中华消化杂志, 2020, 40(11):721-730.
- [4] Dupuis M, Spahr L, Giostra E, et al. [Portal vein thrombosis in patients with cirrhosis]. [J]. Rev Med suisse, 2017, 13(572):1470-1473.
- [5] Faccia M, Ainora ME, Ponziani FR, et al. Portal vein thrombosis in cirrhosis: Why a well-known complication is still matter of debate[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(31):4437-4451.
- [6] Lu S, Hu G, Chen S, et al. Risk factors of portal vein thrombosis after devascularization treatment in patients with liver cirrhosis: A nested case-control study[J]. BioMed Res Int, 2020, 2020(9):9583706.
- [7] Wang J, Chai JS, Zhang YM. Anticoagulation treatment of portal vein thrombosis in a patient with cirrhosis awaiting liver transplantation: a case report [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(26):e11183.
- [8] Peck-Radosavljevic M. Thrombocytopenia in chronic liver disease[J]. Liver Int, 2017, 37(6):778-793.
- [9] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(12):1941-1960.
- [10] 中华医学会消化病学分会, 中华医学会内镜学分会. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治共识[J]. 中华肝脏病杂志, 2008, 16(8):564-570.
- [11] 赵春华, 周志强, 任光学, 等. 肝硬化肝脏肋单元数与肝功能Child-Pugh分级的关系[J]. 中国临床医学影像杂志, 2015, 26(10):708-711.
- [12] Yang ZL, Guo T, Zhu DL, et al. Risk factors of portal vein thrombosis after splenectomy in patients with liver cirrhosis [J]. Hepat Res, 2020, 6(7):1-13.
- [13] Then EO, Are VS, Lopez-Luciano M, et al. Elevated international normalized ratio: a risk factor for portal vein thrombosis in cirrhotic patients [J]. Gastroenterol Res, 2019, 12(3):135-140.
- [14] 徐忠. 血浆D-二聚体,脾脏特征与肝硬化发生PVT的关系[J]. 中南医学科学杂志, 2021, 49(2):203-206.
- [15] Yang J, Zhou X, Fan X, et al. mTORC1 promotes aging-related venous thrombosis in mice via elevation of platelet volume and activation [J]. Blood, 2016, 128(5):615-624.
- [16] 徐雷, 王芳, 张囡囡. 不同血栓前状态分子标志物水平对肝硬化合并门静脉血栓形成的预测价值分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2017, 25(5):384-388.
- [17] Poisson J, Plessier A, Kiladjian JJ, et al. Selective testing for calreticulin gene mutations in patients with splanchnic vein thrombosis: a prospective cohort study [J]. J Hepatol, 2017, 67(3):501-507.
- [18] Toutouzas, Konstantinos G, Kekis PB, et al. Prospective study of the incidence and risk factors of postsplenectomy thrombosis of the portal, mesenteric, and splenic veins [J]. Arch Surg, 2006, 7(11):663-669.
- [28] Soliman LC, Hui Y, Hewavitharana AK, et al. Monitoring potential prostate cancer biomarkers in urine by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2012, 1267(23):162-169.
- [29] 许耕川, 马妍慧, 张良, 等. LC-MS/MS法定量检测肌酐校正后尿肌氨酸的方法建立及评估[J]. 中华检验医学杂志. 2015, 38(5):321-324.
- [30] Aguilera-Sigalat, Jordi, Bradshaw, et al. Synthesis and applications of metal-organic framework-quantum dot (QD@MOF) composites [J]. Coordin Chem Rev, 2016. DOI: 10.1016/j.ccr.2015.08.004
- [31] Luo Y, Wang J, Yang L, et al. In vitro selection of DNA aptamers for the development of fluorescent aptasensor for sarcosine detection [J]. Sens Actuators Chem, 2018, 276:128-135.
- [32] Ozyurt C, Canbay ZC, Dinckaya E, et al. A highly sensitive DNA aptamer-based fluorescence assay for sarcosine detection down to picomolar levels [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 129:91-99.

(上接第1270页)

INR、CI、PLT 与颅脑外伤迟发性颅内出血关系及联合检测价值

程凡菊 江竹君 伍益凡*

【摘要】 目的 探讨国际标准化比值(INR)、综合凝血指数(CI)、血小板(PLT)与颅脑外伤迟发性颅内出血(DICH)关系及联合检测价值。方法 选取2018年10月至2021年10月东南大学医学院附属南京同仁医院96例颅脑外伤患者,根据是否发生DICH分为DICH组、无DICH组,比较两组基线资料、就诊时纤维蛋白原(FIB)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、INR、CI、PLT。结果 DICH组合并伤患者占比率、GCS评分低于无DICH组,差异有统计学意义($\chi^2=7.736, t=7.046, P<0.05$);DICH组INR高于无DICH组,CI、PLT低于无DICH组,差异有统计学意义($t=6.713, 41.018, 4.361, P<0.05$);单因素与多因素Logistic分析显示,合并伤、GCS评分、INR、CI、PLT均与DICH发生相关($P<0.05$);INR、CI、PLT预测DICH的AUC为0.858、0.758、0.792,INR、CI联合PLT预测DICH的AUC为0.919,优于单一检测($P<0.05$)。结论 INR、CI、PLT与颅脑外伤DICH发生独立相关,联合检测可提高对DICH预测价值,为临床预测、纠正凝血异常等提供参考。

【关键词】 INR; CI; PLT; 颅脑外伤; 迟发性颅内出血

Relationship between INR, CI, PLT and delayed intracranial hemorrhage in craniocerebral trauma and the value of joint detection

CHENG Fanju, JIANG Zhujun, WU Yifan*

(EICU, Nanjing Tongren Hospital, Nanjing, Jiangsu, China, 211100)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the relationship between international normalized ratio (INR), integrated coagulation index (CI), platelet (PLT) and delayed intracranial hemorrhage (DICH) in craniocerebral trauma and the value of the combined test. **Methods** A total of 96 patients with craniocerebral trauma in Nanjing Tongren Hospital, School of Medicine, Southeast University, from October 2018 to October 2021 were selected. According to the occurrence of DICH, they were divided into the DICH group and the DICH free group. The baseline data, fibrinogen (FIB), activated partial thrombin time (APTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT), INR, CI and PLT were compared between the two groups. **Results** There were more patients with combined injuries in the DICH group than in the DICH free group, and the GCS score was lower than that in the DICH free group ($\chi^2=7.736, t=7.046, P<0.05$). INR was higher in the DICH group than in the DICH free group, and CI and PLT were lower than those in the DICH free group ($t=6.713, 41.018, 4.361, P<0.05$). Univariate and multivariate logistic analysis showed that combined injuries, GCS score, INR, CI, and PLT were all associated with DICH ($P<0.05$). The AUC of INR, CI, and PLT predicted DICH was 0.858, 0.758, and 0.792, and the AUC of INR and CI combined with PLT predicted DICH was 0.919 ($P<0.05$). **Conclusion** INR, CI, and PLT are independently associated with the occurrence of DICH in craniocerebral trauma. The combined detection can improve the predictive value of DICH and provide a reference for clinical prediction and correction of coagulation abnormalities.

【KEY WORDS】 INR; CI; PLT; Craniocerebral trauma; Delayed intracranial hemorrhage

基金项目:江苏省第五期“333工程”科研项目资助计划项目(BRA2018249)

作者单位:东南大学医学院附属南京同仁医院急诊科,江苏,南京211100

*通信作者:伍益凡, E-mail:15850613670@qq.com

颅脑外伤约占全身各部位损伤10%~20%,致残率、致死率高居全身创伤首位,给社会带来沉重经济和医疗负担^[1]。迟发性颅内出血(delayed intracranial hemorrhage, DICH)是颅脑外伤一种严重合并症,可引起脑再次损伤,严重影响病情转归,及早治疗或预防对提高颅脑损伤救治水平意义重大^[2]。目前临床尚缺乏预测颅脑外伤后DICH有效有段,故对此进行研究是必要的。国际标准化比值(international normalized ratio, INR)以往被用于监测维生素K拮抗剂的抗凝治疗,以预防出血疾病发生,近年来研究发现,其可作为预测急性上消化道出血、心脏瓣膜病患者出血并发症的标志物^[3-4]。综合凝血指数(Comprehensive coagulation index, CI)正常值范围-3~3,在此范围外可提示患者处于低凝或高凝状态。血小板(Platelet, PLT)对机体止血功能、抗炎等过程至关重要,颅脑外伤后PLT水平降低,并随疾病严重程度增加逐渐降低^[5]。根据Rzepliński R^[6]报道,PLT与蛛网膜下腔出血及出血严重程度密切相关。但INR、CI、PLT与颅脑外伤DICH是否有关,以及联合检测是否有助于DICH的预测,因缺乏相关报道,尚不能明确。本研究尝试探讨INR、CI、PLT与颅脑外伤DICH关系及联合检测价值,期待为颅脑外伤救治及预后改善提供参考。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2018年10月至2021年10月96例东南大学医学院附属南京同仁医院颅脑外伤患者作为研究对象,其中女31例,男65例,年龄平均(36.51±9.18)岁。纳入标准:①结合受伤史、影像学等检查,明确为颅脑外伤^[7];②既往无影响意识、认知疾病;③患者家属自愿签署知情同意书;④受伤前无血液系统疾病;排除标准:①存在CT检查禁忌症者;②临床资料不全者;③正在参与其他研究者。本研究获医院伦理委员会审核通过,所有患者家属自愿签署知情同意书。根据是否发生DICH分为DICH组(32例)、无DICH组(64例)。DICH:入院首次头颅CT检查未见颅内出血,复查时发现颅内出血或复查时发现出血量较原有出血量增多 ≥ 5 mL^[8]。

1.2 方法

1.2.1 基线资料收集

由经过培训数据调查员采用一般资料调查

表,收集年龄、受伤至入院时间、性别、体质量指数、受伤原因、合并伤、格拉斯哥昏迷评分法(Glasgow Coma Scale, GCS)^[7]、合并疾病、双抗(阿司匹林、氯吡格雷)用药史,其中GCS评分最高15分,分值越低,意识状态越差。

1.2.2 检测方法

于就诊时采集肘部抗凝静脉血5 mL,采用全自动血凝仪(CA-7000,希森美康)检测纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、INR,采用全自动血细胞分析仪(XE-5000,希森美康)检测PLT,采用血栓弹力图仪(TEG 5000, Haemoscope公司)检测CI。

1.2.3 治疗方法

所有患者均参考相关指南^[7],给予纠正电解质紊乱、营养支持、预防感染、控制颅内压、外科手术等对症治疗。

1.3 统计学方法

采用SPSS 24.0分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示、 t 检验,采用Logistic回归对DICH进行单因素与多因素分析,采用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析INR、CI、PLT及三者联合预测DICH价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较

DICH组合并伤患者占比、GCS评分低于无DICH组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组各观察指标比较

DICH组FIB、APTT、PT、TT与无DICH组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);DICH组INR高于无DICH组,CI、PLT低于无DICH组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 DICH单因素与多因素分析

单因素与多因素Logistic分析显示,合并伤、GCS评分、INR、CI、PLT均与DICH发生相关($P < 0.05$)。见表3。

2.4 INR、CI、PLT预测DICH价值分析

INR、CI联合PLT预测DICH的AUC为0.919,优于单一检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表1 两组基线资料比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

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

资料	DICH组 (n=32)	无DICH组 (n=64)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	37.59±8.66	35.97±10.30	0.764	0.447
受伤至入院时间(h)	2.48±0.59	2.39±0.61	0.689	0.493
性别			0.381	0.537
男	23(71.88)	42(65.63)		
女	9(28.13)	22(34.38)		
体质量指数(kg/m ²)	23.81±0.87	23.69±0.95	0.600	0.550
受伤原因			0.237	0.971
高处坠落	3(9.38)	5(7.81)		
交通事故	19(59.38)	36(56.25)		
暴力伤	6(18.75)	14(21.88)		
摔伤	4(12.50)	9(14.06)		
合并伤			7.736	0.005
无	7(21.88)	33(51.56)		
有	25(78.13)	31(48.44)		
GCS评分(分)	6.54±1.09	8.37±1.25	7.046	0.000
合并疾病				
心脏病	2(6.25)	1(1.56)	0.387	0.534
糖尿病	4(12.50)	4(6.25)	0.426	0.514
高脂血症	9(28.13)	20(31.25)	0.099	0.753
高血压	3(9.38)	5(7.81)	0.017	0.896
双抗用药史			0.107	0.743
无	27(84.38)	57(89.06)		
有	5(15.63)	7(10.94)		

表4 INR、CI、PLT预测DICH的ROC分析结果

Table 4 Results of ROC analysis of INR, CI, and PLT for predicting DICH

指标	AUC	95% CI	cut-off值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
INR	0.858	0.772~0.921	1.22	75.00	82.81	0.000
CI	0.758	0.660~0.839	1.61	75.00	68.75	0.000
PLT	0.792	0.698~0.869	108.66 ×10 ⁹ /L	84.37	68.75	0.000
联合	0.919	0.845~0.965		96.87	78.12	0.000

表2 两组各观察指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

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

组别	n	FIB(g/L)	APTT(s)	PT(s)	TT(s)	INR	CI	PLT(×10 ⁹ /L)
DICH组	32	2.98±0.62	44.20±4.65	16.11±3.09	12.38±2.74	1.31±0.19	-1.86±0.49	102.88±24.76
无DICH组	64	3.16±0.50	42.97±4.83	15.72±3.18	11.84±2.65	1.08±0.14	1.23±0.25	127.43±26.59
t值		1.533	1.191	0.572	0.931	6.713	41.018	4.361
P值		0.129	0.237	0.569	0.354	0.000	0.000	0.000

表3 DICH单因素与多因素Logistic分析

Table 3 DICH univariate and multivariate logistic analysis

影响因素	DICH单因素				DICH多因素			
	β 值	OR值	95% CI	P值	β 值	OR值	95% CI	P值
合并伤	2.566	13.017	2.687~63.058	0.000	2.237	9.362	1.528~57.366	0.000
GCS评分	-0.980	0.375	0.167~0.844	0.000	-1.343	0.261	0.086~0.793	0.000
INR	2.977	19.628	4.529~85.062	0.000	2.510	12.305	3.054~49.577	0.000
CI	2.493	12.094	1.955~74.813	0.000	1.842	6.310	1.287~30.938	0.000
PLT	2.692	14.768	3.840~56.795	0.000	2.249	9.477	2.329~38.560	0.000

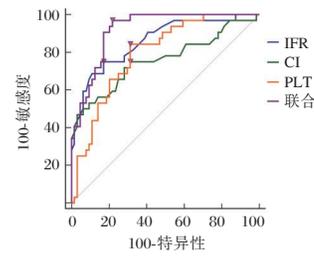


图1 INR、CI、PLT预测DICH价值分析

Figure 1 Analysis of INR, CI, and PLT to predict the value of DICH

3 讨论

目前已证实,继发性脑损伤存在于颅脑外伤后各个阶段,是导致颅脑外伤后二次脑损伤重要因素,可显著增加致残率、致死率,因此防治继发性脑损伤成为临床处理颅脑外伤一个重要目标。由于颅脑外伤后,血脑屏障破坏,大量组织因子暴露,使抗凝、纤溶、凝血途径被异常激活,导致机体凝血与出血失衡,出现伤后再出血等不良事件。

FIB、APTT、PT、TT是临床评估凝血功能常用的四项指标,本研究结果与Yuan Q等^[9]Meta分析结果一致,提示常规检测FIB、APTT、PT、TT对颅脑外伤后DICH预测价值有限。INR是凝血功能化验中另一项常用指标,在颅脑外伤不良预后患者中水平高于预后良好者^[10]。本研究发现,DICH组INR高于无DICH组,与颅脑外伤DICH发生相关。常志锋等^[11]报道,创伤性脑损伤进展性出血性脑损伤患者INR高于无进展性出血性脑损伤患者,有助于早期发现进展性出血性脑损伤,本研究

结论与之相似,佐证了INR的作用。在以上研究基础上,本研究进行了ROC分析,结果显示,INR预测DICH的AUC为0.858,呈现出较高的预测价值,可作为预测DICH一种标志物。

CI可反映所检测外周血标本在各种条件下综合凝血状态,<-3表示处于低凝,>3表示处于高凝。本研究结果显示,与无DICH患者相比,DICH患者CI降低,是DICH一个独立相关因素。具有预测DICH的潜质。颅脑外伤后凝血功能紊乱表现为血管内皮损伤、组织因子通过血脑屏障入血,使外源性凝血途径激活,并导致内源性凝血机制激活,早期机体先处于高凝状态,同时PLT大量激活、凝血因子不断消耗、继发性纤溶亢进,从而表现为出血倾向。一般认为颅脑外伤后发生DICH将增加患者不良预后风险,CI与DICH发生有关,故推测CI还与颅脑外伤患者预后有关。但根据马涛等^[12]报道,CI与颅脑创伤患者预后无关,除与纳入样本数量有关外,还可能与研究的终点事件不同有关,有待下一步的继续观测与分析。CI预测DICH的AUC为0.758,<0.8,所以不建议临床单独依赖CI对DICH进行预测,需联合其他指标使用。

血小板功能障碍可能增加个体自发性、创伤后或术后出血的风险^[13]。PLT机体启动和协调对组织损伤主要反应之一,根据Vulliamy P等^[14]报道,重大创伤可引起PLT水平减少。当前关于PLT与颅脑外伤后出血类疾病发生关系尚存在争议,程亚娟等^[15]研究通过多变量分析确定,PLT是创伤性脑损伤患者发生急性创伤性凝血病的一个独立相关危险因素,本研究取得了类似结果,但其指出,PLT截断值为 $100 \times 10^9/L$,而本研究获得截断值为 $108.66 \times 10^9/L$,造成截断值不同的原因可能是:以上学者是直接以患者PLT是否 $>100 \times 10^9/L$ 进行分组和统计分析的,而本研究是按患者PLT实际值赋值分析,并通过ROC分析获得分界点,该分界点是基于本研究对象的一个最佳截断值,可避免对病情低估。但Esnault P等^[16]报道指出,PLT与创伤性脑损伤患者进行性出血性损伤发生无关,本研究结论与之不同,一方面可能与样本量不同有关,另一方面还可能与国家、纳入对象体质不同有关,仍需下一步的验证。

另本研究还发现,INR、CI联合PLT预测DICH的AUC为0.919,能为临床预测DICH发生

提供可靠参考,尤其是敏感度高达96.87%,可灵敏地预测DICH发生,虽然三者联合的特异度为78.12%,未达满意水平,但结合CT可对出血部位进行定位,提高特异性。结合本研究,纠正凝血异常对预防颅脑外伤DICH发生具有积极意义,尤其是三者均异常时,更应警惕,适当利用输注新鲜冰冻血浆等方法,补充凝血因子,以预防DICH,促进病情良好转归。

综上所述,INR、CI、PLT与颅脑外伤DICH发生独立相关,联合检测可提高对DICH预测价值,为临床预测、纠正凝血异常等提供参考。

参考文献

- [1] 孔羽,罗永刚,常天颖,等.中重度开放性颅脑损伤患者CRP、D-D与压力相关参数关系及预测预后价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(6):710-714.
- [2] 李春梅,苏裕茗,黎婵波,等.颅脑损伤患者早期死亡情况及危险因素分析[J].华南预防医学,2021,47(7):872-874.
- [3] Zandi S, Imani B, Gholamreza S. Self-care training and informational support of patients with a mechanical heart valve on the international normalized ratio and bleeding complications [J]. Kardiochir Torakochirurgia Pol, 2021,18(2):80-86.
- [4] 金珊珊,张俞,黄秋萍,等.老年患者急性上消化道再出血风险预测模型的建立[J].中华危重病急救医学,2022,34(2):167-171.
- [5] 李兵,乔鹏,武宏杰.创伤性颅脑损伤术后凝血功能障碍与疾病严重程度和肝功能的关系[J].创伤外科杂志,2020,22(6):447-450.
- [6] Rzepliński R, Kostyra K, Skadorwa T, et al. Acute platelet response to aneurysmal subarachnoid hemorrhage depends on severity and distribution of bleeding: an observational cohort study [J]. Neurosurg Rev, 2021,44(5):2647-2658.
- [7] Carney N, Totten AM, O'Reilly C, et al. Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition [J]. Neurosurgery, 2017,80(1):6-15.
- [8] 《加重继发性脑损伤危险因素防治专家共识》专家组.颅脑创伤后加重继发性脑损伤的危险因素防治专家共识[J].临床神经外科杂志,2020,17(3):241-249+253.
- [9] Yuan Q, Sun YR, Wu X, et al. Coagulopathy in Traumatic Brain Injury and Its Correlation with Progressive Hemorrhagic Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. J Neurotrauma, 2016,33(14):1279-91.
- [10] 陈磊,孙静,张宏泽,等. INR、HbA1c、ICP与颅脑外伤患者神经缺损程度的相关性及对预后的预测价值分析[J].医学临床研究,2022,39(2):284-286.

· 论 著 ·

T淋巴细胞亚群和细胞因子对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染预测价值

赵鸿雁¹ 缪凡^{2*} 刘忠²

[摘要] 目的 探讨T淋巴细胞亚群和细胞因子对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测价值。方法 选取2021年1月至2021年12月的在承德市中心医院行剖宫产的瘢痕子宫产妇124例作为研究对象,根据其术后产褥感染情况分为产褥感染组($n=36$)和非产褥感染组($n=88$),比较两组的基本情况、T淋巴细胞亚群和细胞因子水平,采用多因素Logistic回归分析瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的独立危险因素,并以ROC曲线分析独立因素对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测价值。结果 产褥感染组的白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、降钙素原(PCT)水平均高于非产褥感染组,差异有统计学意义($t=16.199, 29.907, 23.565, P<0.05$)。产褥感染组的CD3+、CD4+水平低于非产褥感染组,CD8+高于产褥感染组,差异有统计学意义($t=2.465, 3.275, 6.998, P<0.05$)。多因素Logistic回归分析显示IL-6、TNF- α 、PCT、CD3+、CD4+、CD8+是瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示IL-6、TNF- α 、PCT、CD3+、CD4+、CD8+对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测价值AUC分别为0.746, 0.711, 0.745, 0.824, 0.835。结论 T淋巴细胞亚群和细胞因子对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染均具有显著的预测价值。

[关键词] T淋巴细胞亚群; 瘢痕子宫; 剖宫产; 产褥感染; 预测价值

Predictive value of T lymphocyte subsets and cytokines for puerperal infection after cesarean section in scarred uterus

ZHAO Hongyan¹, MIAO Fan^{2*}, LIU Zhong²

(1. Department of Obstetrics, Chengde Central Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000; 2. Department of Anesthesiology, Chengde Central Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of T lymphocyte subsets and cytokines for puerperal infection after cesarean section with scarred uterus. **Methods** 124 pregnant women with scarred uterus who underwent cesarean section in Chengde Central Hospital from January 2021 to December 2021 were selected as the research object. According to their postoperative puerperal infection, they were divided into the puerperal infection group ($n=36$) and the non-puerperal infection group ($n=88$). The basic situation, T lymphocyte subsets and cytokine levels between the two groups were compared. The independent risk factors of puerperal infection after cesarean section were analyzed by multivariate logistic regression, the ROC curve was used to analyze the predictive value of independent factors on puerperal infection after cesarean section. **Results** The levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and procalcitonin (PCT) in the puerperal infection group were significantly higher than those in the non-puerperal infection group ($t=16.199, 29.907, 23.565, P<0.05$). The levels of CD3+ and CD4+ in the puerperal infection group were lower than those in the non-puerperal infection group, and CD8+ was higher than those in the puerperal infection group ($t=2.465, 3.275, 6.998, P<0.05$).

基金项目:承德市科学技术研究与发展计划项目(201903A006)

作者单位:1.承德市中心医院产科,河北,承德067000

2.承德市中心医院麻醉科,河北,承德067000

*通信作者:缪凡, E-mail:miao.fan311@outlook.com

Multivariate logistic regression analysis showed that IL-6, TNF- α , PCT, CD3+, CD4+, CD8+ were independent risk factors for puerperal infection after cesarean section ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of IL-6, TNF- α , PCT, CD3+, CD4+, CD8+ in predicting puerperal infection after cesarean section were 0.746, 0.711, 0.745, 0.824, 0.835, respectively. **Conclusion** Both T lymphocyte subsets and cytokines have significant predictive value for puerperal infection after cesarean section with scarred uterus.

[KEY WORDS] T lymphocyte subsets; Scarred uterus; Cesarean section; Puerperal infection; predictive value

瘢痕指各种原因造成创伤后皮肤组织发生外观上或病理性的变化,而瘢痕子宫指曾行剖宫产手术或其他子宫手术的子宫^[1]。随着国家开放二胎政策的实施,生育二胎的产妇数量呈逐渐上升趋势。而剖宫产和麻醉技术的快速发展,以及在各种新媒体宣传观念的影响下,不少生育二胎的产妇都选择进行第二次剖宫产,且其中不少产妇均为高龄产妇,严重影响母婴健康^[2]。另外,产妇处于产褥期这一特殊阶段时,机体免疫水平可发生一定程度的下降,也可能造成其产褥感染的发生风险增加^[3]。目前临床中多采用白细胞等实验室指标水平、病原菌培养等方法,结合临床症状对产褥感染进行诊断,但其特异性不足,且花费时间较长,不足以满足临床诊疗需要,可能会对病情造成延误。因此,急需探讨更有效的方案对瘢痕子宫剖宫产后产褥感染的发生进行预测。因此,本研究探讨T淋巴细胞亚群和细胞因子对瘢痕子宫剖宫产后产褥感染的预测价值,旨在为瘢痕子宫剖宫产后产褥感染的防治提供有价值的参考。现阐述结果如下。

1 资料与方法

1.1 资料

取2021年1月至2021年12月的在承德市中心医院行剖宫产术的瘢痕子宫产妇124例作为研究对象,根据其术后产褥感染情况分为产褥感染组($n=36$)和非产褥感染组($n=88$),产褥感染组年龄23~32岁,平均年龄(27.95 ± 2.68)岁,非产褥感染组年龄22~33岁,平均年龄(27.87 ± 3.57)岁。纳入标准:①剖宫产分娩产妇;②临床诊断为产褥感染;③临床资料完整。排除标准:①合并产后大出血者;②合并自身免疫性疾病者;③合并其他部位感染者;④临床资料缺失、不完整者;⑤合并心、肺等器官严重疾病者。产褥感染诊断标准^[4]:发热、恶露、异味,病原菌培养检测阳性,白细胞、C-反应蛋白等指标异常升高。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集产妇的临床资料,包括基本情况、T淋巴细胞亚群和细胞因子水平。基本情况:年龄、BMI、孕周、分娩史、剖宫产史。

1.2.2 细胞因子检测方法

剖宫产术后24h抽取产妇空腹肘静脉血4mL,静置1h后进行离心,离心半径为10cm,以3000r/min离心10min,在 -80° 下保存。采用酶联免疫吸附试验(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对血清降钙素原(Procalcitonin, PCT)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)水平进行检测(试剂盒:滁州仕诺达生物科技有限公司)。

1.2.3 T淋巴细胞亚群检测方法

剖宫产术后24h采集产妇外周静脉血4mL,采用流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司, CytoFLEX)测定T淋巴细胞亚群水平,包括CD3+、CD4+、CD8+。

1.3 统计分析

使用SPSS 24.0对本研究中的数据进行处理。计量资料($\bar{x}\pm s$)进行处理,采用 t 检验。计数资料用 $n(\%)$ 描述,用 χ^2 检验。采用Logistic回归分析进行多因素分析, $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般情况、T淋巴细胞亚群和细胞因子水平的比较

两组年龄、BMI、孕周、分娩史、剖宫产史比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。产褥感染组的白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、降钙素原(PCT)水平均高于非产褥感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。产褥感染组的CD3+、CD4+水平低于非产褥感染组,CD8+高于产褥感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组一般情况、T淋巴细胞亚群和细胞因子水平的比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 1 Comparison of general conditions, T lymphocyte subsets and cytokine levels between the two groups $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

因素	产褥感染组 (n=36)	非产褥感染组 (n=88)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	27.95±2.68	27.87±3.57	0.121	0.904
BMI(kg/m ²)	23.42±2.63	23.56±2.71	0.263	0.793
孕周(周)	39.08±1.32	39.16±1.35	0.301	0.764
分娩史			0.001	0.979
初产妇	13(36.11)	32(36.36)		
经产妇	23(63.89)	56(63.64)		
剖宫产史			1.294	0.255
无	20(55.56)	39(44.32)		
有	16(44.44)	49(55.68)		
IL-6(pg/mL)	22.06±6.84	8.72±2.34	16.199	<0.001
TNF-α(ng/mL)	183.56±42.35	35.82±12.36	29.907	<0.001
PCT(ng/mL)	1.52±0.38	0.46±0.12	23.565	<0.001
CD3+(%)	58.26±7.94	62.34±8.53	2.465	0.015
CD4+(%)	31.53±4.82	34.92±5.39	3.275	0.001
CD8+(%)	28.54±4.74	23.26±3.37	6.998	<0.001

2.2 瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的多因素分析
多因素 Logistic 回归分析显示 IL-6、TNF-α、PCT、CD3+、CD4+、CD8+是瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的独立危险因素(P<0.05)。见表2。

表2 瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 multivariate logistic regression analysis of puerperal infection after cesarean section in scar uterus

变量	β 值	S.E 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
IL-6	0.732	0.256	8.176	2.079	1.259~3.434	0.008
TNF-α	0.629	0.217	8.402	1.876	1.226~2.870	0.007
PCT	0.646	0.243	7.067	1.908	1.185~3.072	0.016
CD3+	0.572	0.239	5.728	1.772	1.109~2.831	0.033
CD4+	0.584	0.216	7.310	1.793	1.174~2.738	0.014
CD8+	0.593	0.223	7.071	1.809	1.169~2.801	0.016

2.3 瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染预测的 ROC 曲线

ROC 曲线分析显示 IL-6、TNF-α、PCT、CD3+、CD4+、CD8+对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测价值 AUC 分别为 0.831, 0.846, 0.805, 0.724, 0.782, 0.793。见图1。

3 讨论

产褥感染主要指产妇在分娩时或产褥期间发生病原菌感染,主要受累为生殖器官,是产科较常见的并发症之一,可对产妇预后造成不良影响^[5]。由于孕产妇产褥期的各项生理功能均会产生不同

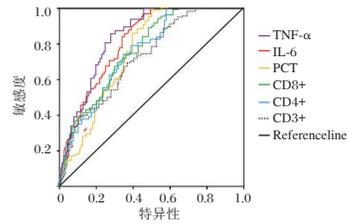


图1 瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染预测的 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve for predicting puerperal infection after cesarean section of scar uterus

程度的变化,加上剖宫产手术造成的创伤,导致其产褥感染的发生风险较高^[6]。另外,有学者在研究中发现,相较于正常产妇,瘢痕子宫产妇发生产褥感染的风险更高,如何进行有效预测,并给予及时干预,是临床医疗工作者关注的重点之一^[7]。但目前使用的白细胞等炎性因子指标均不具有特异性。因此本研究通过分析 T 淋巴细胞亚群和细胞因子对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测价值,为该疾病的预测及临床诊疗治疗提供重要的依据。

本研究结果显示产褥感染组的 IL-6、TNF-α、PCT 水平均高于非产褥感染组,差异显著。这说明瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染产妇的细胞因子均会产生不同程度的改变。IL-6 能诱导 B 细胞分化和产生抗体,并诱导 T 细胞活化增殖、分化,参与机体的免疫应答,是炎症反应的促发剂^[8]。TNF-α 是炎症反应过程中出现最早、最重要的炎性介质,能激活中性粒细胞和淋巴细胞,使血管内皮细胞通透性增加,调节其他组织代谢活性并促使其他细胞因子的合成与释放^[9]。PCT 可反映全身炎症反应的活跃程度,在诱导细菌内毒素生成中也发挥了重要作用^[10]。当发生严重的细菌真菌感染或脓毒血症、多脏器功能衰竭时,PCT 水平会明显上升,因此临床中多将其作为急性炎症感染的观察指标^[11]。剖宫产术后发生产褥感染时,上述细胞因子会被激活从而大量释放到血液中,引起全面炎症反应和自我免疫过程^[12]。

既往研究指出,但患者发生感染,引发炎症反应时,T 淋巴细胞亚群均会发生不同程度的变化^[13]。本研究结果也显示产褥感染组的 CD3+、CD4+水平低于非产褥感染组,CD8+高于产褥感染组,差异显著。这提示瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染可引发体内应激,打破机体免疫平衡,使产妇的免疫功能受损。

与非瘢痕子宫产妇比较,瘢痕子宫产妇的瘢痕部位更为脆弱,在术后更易导致阴道炎、出血等不良结局的发生,使生殖道处于持续暴露,继而使产褥感染风险大幅上升^[14]。而感染发生后,不仅可引发炎症反应的发生,造成免疫功能紊乱,还可形成恶性循环,导致病原菌入侵风险进一步增加^[15]。因此进行有效预测,并采取及时有效的防治措施,对改善瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染产妇的预后具有重要临床意义。本研究多因素分析结果显示,IL-6、TNF- α 、PCT、CD3+、CD4+、CD8+是瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的独立危险因素,ROC曲线分析显示IL-6、TNF- α 、PCT、CD3+、CD4+、CD8+对瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测价值AUC分别为0.746, 0.711, 0.745, 0.824, 0.835。这提示,T淋巴细胞亚群CD3+、CD4+、CD8+和细胞因子IL-6、TNF- α 、PCT在瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染的预测中具有不错的预测价值,对该类产妇的临床诊疗具有重要的指导意义。

综上,瘢痕子宫剖宫产术后发生产褥感染时,产妇的T淋巴细胞亚群CD3+、CD4+、CD8+和细胞因子IL-6、TNF- α 、PCT水平可发生显著变化,上述指标在瘢痕子宫剖宫产术后产褥感染中均具有显著的预测价值,可为临床诊疗提供有价值的依据。

参考文献

- [1] 余兰兰,李玉佳,王佩娟. 瘢痕子宫妊娠的相关研究进展[J]. 江苏医药, 2020, 46(10): 1056-1058.
- [2] 李咪琪,黄素芳. 妊娠期子宫破裂高危因素的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2019, 46(1): 53-56.
- [3] 李懿蔚,马一玮,张燕君,等. 剖宫产术后产褥感染病原菌及其影响因素研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(11): 1451-1453.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5): 314-320.
- [5] 霍会蚕,王如意,李艳云,等. 剖宫产产妇产褥感染危险因素及血清IFN- γ 与TGF- β 变化[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(13): 2033-2037.
- [6] 戴宜霏,余春风,孙杨芳,等. 84例产褥感染的临床特点及常见致病微生物耐药性分析[J]. 中国现代医生, 2020, 58(31): 130-133+141.
- [7] 余凤娇. 剖宫产产妇产褥感染危险因素调查及护理对策[J]. 临床护理杂志, 2020, 19(1): 20-23.
- [8] 钟影,符爱贞,吴春,等. 产后早期PCT、CRP、IFN- γ 、IL-6水平对产褥感染的诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(7): 1085-1088.
- [9] 祝莹,张紫娟,王丹阳,等. 自然分娩产后产褥感染病原菌分布及血清CRP、TNF- α 、IL-6、IL-10水平的研究[J]. 中华全科医学, 2018, 16(11): 1854-1856+1863.
- [10] 李小芝,唐连敏,付翠芳,等. 剖宫产后产褥感染血清AT-III、TAC及PCT水平变化及与预后[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(12): 1691-1694+1699.
- [11] 严春华,郑云英,张建果,等. 白细胞介素、降钙素原及C-反应蛋白与产妇产褥感染的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(5): 803-807.
- [12] 韩曼琳,周爱梅,符爱贞,等. 细胞因子和红细胞免疫状态与产妇产褥期感染的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(3): 443-447.
- [13] 胡万芹,杜玲,吴灿,等. 剖宫产产妇术后感染相关因素及炎症因子和T淋巴细胞亚群指标的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(4): 590-593.
- [14] 卢晓宁,李歧佩,赵乃蒙,等. 剖宫产史孕妇再次妊娠分娩方式对母儿结局的影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(6): 483-486.
- [15] 王会菊,靳荣,卢慧. 剖宫产术后切口感染炎症指标与免疫应激的相关性[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(5): 763-767.
- [11] 常志锋,王梅,岳常义. TBI患者凝血功能、抗凝血酶、凝血因子的变化及与PHI的相关性[J]. 实验与检验医学, 2020, 38(2): 382-384.
- [12] 马涛,郭少春,李立宏. 急性期血栓弹力图与常规凝血功能检测在预测颅脑创伤患者预后中的作用[J]. 中华神经外科杂志, 2020, 36(3): 278-280.
- [13] Mason GA, Rabbolini DJ. The Current Role of Platelet Function Testing in Clinical Practice[J]. Semin Thromb Hemost, 2021, 47(7): 843-854.
- [14] Vulliamy P, Kornblith LZ, Kutcher ME, et al. Alterations in platelet behavior after major trauma: adaptive or maladaptive[J]. Platelets, 2021, 32(3): 295-304.
- [15] 程亚娟,陆士奇,徐进步,等. 中老年脑外伤患者急性创伤性凝血病的危险因素分析[J]. 中国急救医学, 2020, 40(2): 117-122.
- [16] Esnault P, Mathais Q, D'Aranda E, et al. Ability of Fibrin Monomers to Predict Progressive Hemorrhagic Injury in Patients with Severe Traumatic Brain Injury[J]. Neurocrit Care, 2020, 33(1): 182-195.

(上接第1278页)

血清 AFP、GGT II、AFU 和 DCP 联合检测对肝癌的诊断价值

陈琳 张恒 江斌*

[摘要] 目的 探讨血清甲胎蛋白(AFP)、转氨酶 II (GGTII)、a-l-岩藻糖苷酶(AFU)及去 r-羧基凝血酶原(DCP)联合检测在肝癌患者中的诊断价值。**方法** 选择2020年1月至2022年1月湖北医药学院附属十堰市太和医院肝胆胰诊疗中心收治的肝癌患者104例为肝癌组,选择同期治疗的肝硬化患者34例为肝硬化组,选择同期治疗的慢性肝炎患者31例为肝炎组,选择同期健康体检者29名为对照组。采用电化学发光免疫分析测定各组 AFP水平,采用全自动生化分析仪测定各组 GGTII水平,采用化学比色速率法测定 AFU水平,采用酶联免疫吸附试验测定各组 DCP水平。绘制 ROC 曲线,分析血清 AFP、GGTII、AFU、DCP 及联合测定在肝癌中的诊断效能。**结果** 肝癌组血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 水平高于肝硬化组、肝炎组及对照组,肝硬化组血清 GGT II 水平高于肝炎组及对照组,肝炎组血清 GGT II 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肝癌组不同肿瘤直径、肿瘤分期、门静脉癌栓及远处转移病理状态下患者血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 比较具有统计意义($P<0.05$)。ROC 曲线结果表明:血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 联合检测在肝癌患者中诊断灵敏度与特异度高于四指标单一检测($P<0.05$)。**结论** 血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 在肝癌患者中呈高表达,在不同病理中表达水平存在差异,不同指标联合测定能提高诊断灵敏度与特异度。

[关键词] 甲胎蛋白;转氨酶 II; a-l-岩藻糖苷酶;去 r-羧基凝血酶原;肝癌

The diagnostic value of combined detection of serum AFP, GGT II, AFU and DCP in liver cancer

CHEN Lin, ZHANG Heng, JIANG Bin*

(Hepatobiliary Pancreatic Diagnosis and Treatment Center, Taihe Hospital, Shiyan, Hubei, China, 442000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the combined detection of serum alpha-fetoprotein (AFP), transpeptidase II (GGT II), a-l-fucosidase (AFU) and de-r-carboxyprothrombin (DCP) in the diagnosis of liver cancer patients value. **Methods** From January 2020 to January 2022, 104 patients with liver cancer who were admitted to the Hepatobiliary and Pancreatic Diagnosis and Treatment Center of Shiyan Taihe Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine were selected as the liver cancer group; 34 patients with liver cirrhosis treated during the same period were selected as the liver cirrhosis group; Thirty-one chronic hepatitis patients treated during the same period were selected as the hepatitis group; 29 healthy subjects were selected as the control group. Electrochemiluminescence immunoassay was used to determine the level of AFP in each group; automatic biochemical analyzer was used to determine the level of GGT II in each group; AFU level was determined by chemical colorimetric rate method; DCP level in each group was determined by enzyme-linked immunosorbent assay; The ROC curve was drawn, the diagnostic efficacy of serum AFP, GGT II, AFU, DCP and combined assays in liver cancer was analyzed. **Results** The serum levels of AFP, GGT II, AFU and DCP in the liver cancer group were higher than those in the liver cirrhosis group, hepatitis group and control

基金项目:肝胆胰恶性肿瘤研究基金临床研究创新项目(CXPJH11800001-2018246)

作者单位:湖北省十堰市太和医院肝胆胰诊疗中心,湖北,十堰 442000

*通信作者:江斌, E-mail:jiangbin5799@163.com

group ($P<0.05$). The serum GGT II level in the liver cirrhosis group was higher than that in the hepatitis group and the control group ($P<0.05$). The level of serum GGT II in the hepatitis group was higher than that in the control group ($P<0.05$). The comparison of serum AFP, GGT II, AFU and DCP in patients with liver cancer under different tumor diameters, tumor stages, portal vein tumor thrombus and distant metastases was statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the combined detection of serum AFP, GGT II, AFU and DCP had higher diagnostic sensitivity and specificity than the single detection of the four indicators in patients with liver cancer ($P<0.05$). **Conclusion** Serum AFP, GGTII, AFU and DCP are highly expressed in patients with liver cancer, and there are differences in the expression levels in different pathologies. The combined determination of different indicators can improve the diagnostic sensitivity and specificity.

[KEY WORDS] AFP; GGT II; AFU; DCP; Liver cancer

肝癌分为原发性与继发性两种,前者指肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤^[1],而后者指身体其他器官起源的恶性肿瘤扩散或转移到肝脏^[2]。Zeng等^[3]研究结果显示,肝癌好发于中年男性人群中,发病率居恶性肿瘤第4位,其发病多与饮酒、病毒性肝炎及遗传因素等有关,发病早期临床症状缺乏典型性,导致临床诊疗难度较大。病理组织检查是肝癌患者诊断“金标准”,能确定肝癌的类型、分期,可指导临床诊疗,但是该方法具有一定的风险性,且患者诊断时会产生恐惧心理^[4-5]。目前,甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)广泛应用于血清学诊断中,能预测肝癌的发生、辅助肝癌诊断,但是仍有30.0%患者肝癌患者AFP呈阴性,且该指标诊断灵敏度仅为70.0%左右^[6-7]。朱嫦琳等^[8]研究表明,多项肿瘤标志物指标联合检测有助于提高肝癌诊断灵敏度。AFP、转氨酶II(gamma-glutamyltransferase II, GGTII)、a-L-岩藻糖苷酶(a-L-Fu-cosidase, AFU)及去r-羧基凝血酶原(des-γ-carboxy prothrombin, DCP)是近年来诊断肝癌较新的指标,具有一定诊断价值。本研究以肝癌患者为对象,探讨AFP、GGT II、AFU及DCP联合检测在肝癌患者中的诊断价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2020年1月至2022年1月湖北医药学院附属十堰市太和医院肝胆胰诊疗中心收治的肝癌患者104例为肝癌组;选择同期治疗的肝硬化患者34例为肝硬化组;选择同期治疗的慢性肝炎患者31例为肝炎组;选择同期健康体检者29名为对照组。本研究均获得伦理委员会批准,患者或家属已签署同意书,两组临床资料比较差异无统计意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。

表1 四组临床资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

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

组别	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)
	男	女		
肝癌组	66(63.46)	38(36.54)	61.29±6.39	23.19±3.41
肝硬化组	18(52.94)	16(47.06)	62.11±6.43	23.53±3.47
肝炎组	19(61.29)	12(38.71)	62.63±6.47	23.15±3.24
对照组	16(55.17)	13(44.83)	62.18±6.53	23.64±3.31
χ^2/F 值	1.294		0.683	0.941
P 值	0.782		0.416	0.692

1.2 纳入、排除标准

纳入标准:符合肝癌、肝硬化、慢性肝炎诊断标准^[9],经肝功能两对半、超声及影像学检查确诊;配合完成AFP、GGT II、AFU、DCP检查;年龄≥18岁,患者临床资料完整。排除标准:精神异常、凝血功能异常或伴有自身免疫系统疾病者;合并其他部位恶性肿瘤或近期出现维生素K缺乏、服用药物影响检测指标者;认知障碍、近期行放疗、生物免疫治疗者。

1.3 方法

1.3.1 血液标本采集

肝癌组、肝硬化组、肝炎组入院后次日取外周空腹肘静脉血3 mL,对照组健康体检当天取外周空腹血3 mL,静置2 h后,5 min离心,速度为3 000 rpm,离心半径10 cm,温度为4℃。

1.3.2 检测方法

采用电化学发光免疫分析测定各组AFP水平,仪器为日本Lumipulse G1200分析仪及配套试剂盒,参考值:(0~8.1)ng/mL^[10];采用全自动生化分析仪测定各组GGTII水平,仪器购自于罗氏全自动生化分析仪,参考值:7~45 U/L^[11];采用化学比色速率法测定AFU水平,仪器为日立7600-020ISE,试剂盒购自于浙江伊利康生物技术有限公司,参考值:234~414 μmol/L;采用酶联免疫吸附

试验测定各组 DCP 水平,试剂盒购自于北京热景生物技术有限公司,参考值: $<300 \mu\text{g/L}$ ^[12]。

1.3.3 诊断价值及效能

绘制 ROC 曲线,分析血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 及联合测定在肝癌中的诊断效能(灵敏度与特异度)。

1.4 统计分析

采用 SPSS 24.0 计量资料软件进行统计分析,符合正态分布采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组数据比较采用 *F* 检验,组间计量资料行 *t* 检验,计数资料采用 *n*

(%)表示,行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 四组患者血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 比较

肝硬化组、肝炎组及对照组血清 AFP、AFU、DCP 水平比较差异无统计意义($P > 0.05$);肝癌组血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 水平高于肝硬化组、肝炎组及对照组,肝硬化组血清 GGT II 水平高于肝炎组及对照组,肝炎组血清 GGT II 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 四组患者血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of serum AFP, GGT II, AFU and DCP among four groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	AFP(ng/mL)	GGTII(U/L)	AFU($\mu\text{mol/L}$)	DCP($\mu\text{g/L}$)
肝癌组	104	153.98 \pm 15.28 ^{abc}	123.19 \pm 9.17 ^{abc}	631.59 \pm 45.69 ^{abc}	7.49 \pm 1.21 ^{abc}
肝硬化组	34	3.69 \pm 0.63 ^{ab}	74.57 \pm 6.74 ^{ab}	324.17 \pm 32.41 ^{ab}	1.63 \pm 0.25 ^{ab}
肝炎组	31	3.65 \pm 0.61 ^a	43.19 \pm 5.12 ^a	319.68 \pm 31.59 ^a	1.61 \pm 0.23 ^a
对照组	29	2.24 \pm 0.41	18.68 \pm 2.15	317.81 \pm 31.32	1.58 \pm 0.21
<i>F</i> 值		10.693	7.781	8.518	9.285
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与肝炎组比较,^b $P < 0.05$;与肝硬化组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 肝癌组不同临床病理特征下血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 比较

肝癌患者不同肿瘤直径、肿瘤分期、门静脉癌栓及远处转移病理状态下患者血清 AFP、GGTII、AFU、DCP 比较差异具有统计意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 在肝癌患者中诊断价值

ROC 曲线结果表明:血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 联合检测在肝癌患者中诊断灵敏度与特异度

高于四指标单一检测($P < 0.05$)。见表 4、图 1。

3 讨论

肝癌是我国发生率较高的恶性肿瘤,随着人们生活方式改变,疾病发生率明显呈上升趋势。林玲等^[13]研究显示,原发性肝癌起病隐匿,多数患者确诊时已经是中晚期,增加临床诊疗难度。AFP 是一种糖蛋白,主要由胎儿干细胞及卵黄囊合成。AFP 在人体中具有多重生理功能,包括:运输

表 3 肝癌组不同病理下血清 AFP、GGT II、AFU、DCP 比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 3 Comparison of serum AFP, GGT II, AFU and DCP in liver cancer group under different pathologies $(\bar{x} \pm s)$

病理类型	<i>n</i>	AFP(ng/mL)	GGTII(U/L)	AFU($\mu\text{mol/L}$)	DCP($\mu\text{g/L}$)	
肿瘤直径	$\geq 4 \text{ cm}$	46	167.19 \pm 18.33	132.59 \pm 12.41	689.41 \pm 49.48	8.17 \pm 1.32
	$< 4 \text{ cm}$	58	143.50 \pm 12.15	115.73 \pm 8.63	585.73 \pm 34.61	6.95 \pm 0.98
	<i>t</i> 值		8.481	9.136	6.326	9.029
		<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000
肿瘤分期	I~II 期	71	148.73 \pm 12.11	117.63	608.31 \pm 41.23	7.15
	III~IV 期	33	165.27 \pm 17.43	135.16 \pm 12.47	681.68 \pm 48.67	8.21 \pm 1.35
	<i>t</i> 值		7.125	6.392	7.781	6.252
		<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000
门静脉癌栓	有	37	171.57 \pm 21.95	138.38 \pm 13.45	687.34 \pm 49.81	8.27 \pm 1.37
	无	67	144.27 \pm 14.12	114.80 \pm 8.52	600.80 \pm 41.23	7.06 \pm 0.74
	<i>t</i> 值		7.285	7.194	9.183	6.114
		<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000
远处转移	是	28	170.58 \pm 22.11	139.51 \pm 14.39	688.47 \pm 50.14	8.23 \pm 1.34
	否	76	147.86 \pm 12.38	117.18 \pm 10.13	610.63 \pm 40.69	7.22 \pm 0.78
	<i>t</i> 值		5.298	8.581	8.313	6.193
		<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

表4 血清AFP、GGT II、AFU、DCP在肝癌患者中诊断价值
Table 4 Diagnostic value of serum AFP, GGT II, AFU and DCP in patients with liver cancer

检测变量	AUC	标准误差	95% CI	敏感性 (%)	特异性 (%)	P 值
AFP	0.734	0.185	0.754~0.872	71.59	78.18	0.000
GGT II	0.718	0.131	0.711~0.856	70.61	75.35	0.000
AFU	0.739	0.098	0.732~0.873	73.24	76.12	0.000
DCP	0.792	0.110	0.697~0.801	72.19	74.36	0.000
联合检测	0.897	0.124	0.815~0.921	89.78	81.46	0.000

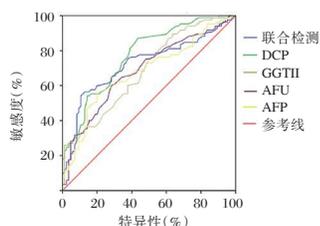


图1 血清AFP、GGT II、AFU、DCP在肝癌患者中诊断价值

Figure 1 The diagnostic value of serum AFP, GGT II, AFU and DCP in patients with liver cancer

功能、作为生长调节因子的双向调节功能、免疫抑制及T淋巴细胞诱导凋亡等,其表达水平能反映患者的基本严重程度。对于肝癌患者AFP水平多呈高表达,加强肝癌患者AFP水平测定,能辅助临床诊断^[14]。但是,AFP单一使用时存在一定的局限性,加强不同指标的联合测定,对帮助患者早期确诊具有重要的意义。

GGT II是一种结合在细胞表面的生物酶,在HBV感染的原发性肝癌中高表达,在肝癌患者中活性进一步上升,由此看出,GGT II可作为肝癌诊断的重要指标^[15]。本研究中,肝癌组血清AFP、GGT II、AFU、DCP水平高于肝硬化组、肝炎组及对照组,肝硬化组血清GGT II水平高于肝炎组及对照组,肝炎组血清GGT II水平高于对照组。从本研究结果看出,血清AFP、GGT II、AFU、DCP水平在肝癌患者中呈高表达,其表达水平能反映患者的疾病严重程度,可指导临床诊疗。AFU属于是一种调节糖、蛋白质等大分子物质代谢的酸性水解酶,不仅存在于肝细胞组织中,亦可存在于脑、肾、胰腺等组织的成纤维细胞、白细胞中^[16]。符白玉等^[17]研究显示,AFU含量在原发性肝癌中显著增高,较转移性肝癌、肝硬化、恶性间皮瘤血清活性更高。凝血酶原是无活性的凝血酶的前体,主要由肝脏合成,并通过VitK作为辅助因子 γ 羧化后转位活化的凝血酶形式。当肝脏发生癌变后,合成了比正常结构少的 γ 羧基谷酸,形成异常

的凝血酶原。正常人血清中DCP含量相对较低或不表达,但是在肝癌患者中DCP水平呈上升趋势。因此,通过测定DCP能实现肝癌的诊断与监测,尤其是对于AFP阴性患者,可作为肝癌的辅助诊断指标^[17]。本研究中,肝癌患者不同肿瘤直径、肿瘤分期、门静脉癌栓及远处转移病理状态下患者血清AFP、GGT II、AFU、DCP比较差异具有统计意义,从本研究结果看出,血清AFP、GGT II、AFU、DCP表达水平与肿瘤直径、肿瘤分期病理状态存在紧密的联系。为了进一步分析不同血清指标在肝癌患者中的表达,本研究中绘制ROC曲线,结果表明:血清AFP、GGT II、AFU、DCP联合检测在肝癌患者中诊断灵敏度与特异度高于四指标单一检测。因此,临床上对于疑似肝癌患者,应加强患者血清AFP、GGT II、AFU、DCP水平测定,发挥不同检测指标优势,帮助患者早期确诊,必要时可联合病理组织检查,为患者后续诊疗提供参考依据。

综上所述,血清AFP、GGT II、AFU、DCP在肝癌患者中呈高表达,且在患者不同病理中表达水平存在差异,不同指标联合测定能提高诊断灵敏度与特异度,值得推广应用。

参考文献

- [1] 邱亮,丁兢,赵晓飞.血清AFP,PIVKA-II,GGT及GGT/ALT检测对早期原发性肝癌的诊断价值[J].临床和实验医学杂志,2022,21(3):270-273.
- [2] 程书平,李明,谭诗云.血清AFP,PIVKA-II,GGT,GGT/ALT检测对早期原发性肝癌的诊断价值[J].山东医药,2021,61(1):61-65.
- [3] Zeng X, Peng L, Tan C, et al. Cost-effectiveness analysis of positron-emission tomography-computed tomography in pre-operative staging for nonsmall-cell lung cancer with resected monometastatic disease[J]. Medicine, 2019,98(33):e16843.
- [4] 童林,黄晨军,高致远,等.基于临床常用检验项目的原发性肝细胞肝癌术前微血管侵犯诊断模型研究[J].检验医学,2020,35(8):741-748.
- [5] 郁森,秦兵,胡道军,等.血清甲胎蛋白,高尔基体蛋白73, α -L-岩藻糖苷酶,血清铁蛋白联合检测在原发性肝癌早期诊断中的价值[J].实用临床医药杂志,2020,24(20):37-39+43.
- [6] 曾繁利,王东和,苏锐,等.AFP,AFP-L3和DKK1联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J].川北医学院学报,2020,35(1):130-132.
- [7] 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):1-3+38.
- [8] 朱嫦琳,陈展泽,李启欣.基于决策曲线分析评估血清异常凝血酶原和甲胎蛋白在原发性肝癌中的诊断价值[J].实用医学杂志,2021,37(19):2524-2529. (下转第1291页)

乳腺癌MRI征象与ER、Her-2及Ki-67生物学指标的关系

卢艳丽* 万宏燕 吴俊

[摘要] **目的** 分析乳腺癌MRI征象与雌激素受体(ER)、人表皮生长因子受体-2(Her-2)及核蛋白抗原(Ki-67)的关系。**方法** 选取2019年4月至2021年7月北京市隆福医院收治的94例乳腺癌患者,收集患者术后癌组织(乳腺癌组)及距瘤体5 cm以上的癌旁组织(癌旁组织组),比较不同组织中ER、Her-2、CerbB-2表达情况,并分析MRI征象与上述指标的相关性。**结果** 乳腺癌组ER、Her-2、CerbB-2阳性表达率显著高于癌旁组织组,差异有统计学意义($P<0.05$)。94例患者均为浸润型乳腺癌。MRI检查显示肿瘤直径 >2 cm者52例;形态不规则40例;边缘不光整55例,呈毛刺征;分叶征33例;早期环形强化71例;动态曲线分型:I型8例,II型51例,III型35例;内部坏死51例。ER阳性表达者形态不规则、毛刺征、早期环形强化占比明显高于ER阴性表达者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Her-2阳性表达者形态不规则、内部坏死占比高于Her-2阴性表达者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Ki-67阳性表达者毛刺征、分叶征占比高于Ki-67阴性表达者,差异有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤形态、边缘、强化形式与ER阳性表达呈正相关($P<0.05$);边缘与Ki-67呈正相关($P<0.05$);内部坏死、形态与Her-2阳性表达呈正相关($P<0.05$)。**结论** 乳腺癌患者MRI征象与ER、Her-2及Ki-67阳性表达存在一定的相关性,MRI征象与ER、Her-2及Ki-67水平在预测乳腺癌生物学特性中具有一定指导价值。

[关键词] 乳腺癌;磁共振成像;雌激素受体;人表皮生长因子受体-2;Ki-67

Relationship between MRI signs of breast cancer and biological indicators of ER, Her-2 and Ki-67

LU Yanli*, WAN Hongyan, WU Jun

(Department of Radiology, Beijing Longfu Hospital, Beijing, China, 100010)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the breast cancer MRI signs of breast cancer and estrogen receptor (ER), human epidermal growth factor receptor-2 (Her-2) and nuclear protein antigen (Ki-67). **Methods** 94 breast cancer patients admitted to Beijing Longfu Hospital from April 2019 to July 2021 were selected, the postoperative cancer tissues (breast cancer group) and the adjacent tissues (paracancerous tissues group) more than 5 cm from the tumor were collected, compared the expression of ER, Her-2, CerbB-2 in different tissues, and analyzed the correlation between MRI signs and the above indicators. **Results** The positive expression rate of ER, Her-2, and CerbB-2 in the breast cancer group was significantly higher than that in the adjacent tissue group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). All 94 patients were invasive breast cancer. MRI examination showed that tumor diameter >2 cm in 52 cases; irregular shape in 40 cases; burr sign in 55 cases, showing burr sign; lobulation sign in 33 cases; early annular enhancement in 71 cases; dynamic curve classification: 8 cases of type I, 51 cases of type II, 35 cases of type III, and 51 cases of internal necrosis. The proportions of ER-positive expressors with irregular morphology, burr sign, and early ring enhancement were significantly higher than those with ER-negative expressors, and the difference

基金项目:东城区卫生科技计划项目(东卫健研[2021-9])

作者单位:北京市隆福医院放射科,北京 100010

*通信作者:卢艳丽, E-mail:lfylyl@163.com

was statistically significant ($P<0.05$). Her-2 positive expression was irregular in shape and the proportion of internal necrosis was higher than Her-2 negative expression, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The proportion of spicule sign and lobulation sign in Ki-67 positive expression was higher than that in the negative expression of Ki-67, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The tumor shape, edge and enhancement form were positively correlated with the positive expression of ER ($P<0.05$). Margin was positively correlated with Ki-67 ($P<0.05$). The internal necrosis, morphology was positively correlated with the positive expression of Her-2 ($P<0.05$). **Conclusion** There is a certain correlation between the MRI signs of breast cancer patients and the positive expression of ER, Her-2 and Ki-67. MRI signs and ER, Her-2 and Ki-67 levels have certain guiding value in predicting the biological characteristics of breast cancer.

[KEY WORDS] Breast cancer; Magnetic resonance imaging; Estrogen receptor; Human epidermal Growth factor receptor-2; Ki-67

乳腺癌是临床妇科最常见的恶性肿瘤,具有高发病率、高死亡率特征^[1]。近年来,乳腺癌发病率呈上升趋势,且逐渐年轻化,对女性生命安全造成严重威胁。影像学检查是临床诊断乳腺癌常用的辅助方法,其中磁共振成像(Magnetic resonance imaging, MRI)因具有高软组织分辨率、多方面成像等优势在乳腺癌的诊断中得以广泛应用^[2]。随着MRI技术的发展和广泛普及,乳腺癌MRI征象与其病理学之间的关系备受关注。理论上来说,基因及细胞因子的存在与表达诱发的病理改变均可通过影像学方法呈现。相关学者认为,乳腺癌MRI征象与雌激素受体(estrogen receptor, ER)、人表皮生长因子受体-2(Human epidermal growth factor receptor-2, Her-2)等因子表达可能存在一定相关性^[3]。本研究通过分析乳腺癌患者的临床资料,探讨其ER、Her-2及核蛋白抗原(Ki-67)表达情况,并分析上述指标与MRI征象的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年4月至2021年7月北京市隆福医院收治的94例乳腺癌患者,均为女性,平均年龄为(49.68±8.24)岁;临床分期:I期15例,II期57例,III期22例。纳入标准:均符合乳腺癌诊断标准^[4],且经手术或病理检查确诊;影像学资料和病理资料无丢失或缺损;既往无手术史;年龄>18岁,且无意识障碍者。排除标准:存在MRI检查禁忌症者;存在自身免疫疾病或全身感染性疾病;哺乳期或妊娠期孕妇;循环功能严重障碍、肝肾功能严重损伤者。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 MRI检查

设备:3.0T MRI(GE Healthcare, 750W, Waukesha, WI)扫描仪。选用7通道专用乳腺相控阵表面线圈。患者取俯卧位,将患者两个乳房垂于空洞内。对患者进行T2压脂,轴位TIWI、T2WI序列,弥散加权成像(DWI)。T1WI平扫、T2WI平扫及脂肪抑制扫描层厚<1.5 mm,单次扫描时间不超过2 min。常规平扫+Gd-DTPA试剂行增强扫描。扫描完后将图像进行后处理,绘制时间-信号强度曲线(TIC),TIC的层面设定感兴趣区(ROI)选在强化最为显著且曲线性质最差的区域,按照Alonso等^[5]的研究标准分为流入型(I型),平台型(II型),流出型(III型)。最后进行统计,得出最终诊断结果。MRI图像由两名或两名以上经验丰富、高年资诊断医师采用双盲法在不知病理结果的情况下进行阅片,重点观察肿瘤大小、分级、类型、淋巴结转移及强化形式等特征。

1.2.2 免疫组化检测

兔抗人ER免疫组化单克隆抗体、鼠抗人Her-2、Ki-67单克隆抗体均由美国Epitomics公司提供。链酶菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接(SP)免疫组化试剂盒、DAB试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

收集上述94例患者术后癌组织(乳腺癌组)及距瘤体5 cm以上的癌旁组织(癌旁组织组)。各组织标本均脱水,经10%甲醛固定,二甲苯脱蜡;常规石蜡包埋,5 μm连续厚切片。根据S-P免疫组化染色法对ER、Her-2、Ki-67进行检测,检测过程严格按照说明书进行。一抗阴性对照使用PBS(磷酸盐缓冲液)进行代替。

结果判定^[6]:采用双盲法对结果进行判定,即根据阳性细胞在全部组织细胞中占比及阳性细胞染色强度判定:①按显色细胞数计分,无阳性细胞数为0分;阳性细胞<10%为1分,10%~50%为2分;50%~75%为3分;>75%为4分。②按细胞着色程度计分,0分为无色,1分为淡黄色,2分为棕黄色,3分为黄褐色。每张切片取5个高倍视野。两类分数相乘总分<3分为阴性,≥3分为阳性。

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;计数资料采用n(%)表示,并采用 χ^2 检验;采用双变量相关性分析乳腺癌MRI征象与ER、Her-2及Ki-67阳性表达的相关性;以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织中ER、Her-2、Ki-67表达情况

乳腺癌组ER、Her-2、Ki-67阳性表达率显著高于癌旁组织组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1、图1。

2.2 MRI结果

94例患者均为浸润型乳腺癌。MRI检查显示

肿瘤直径>2 cm者52例;形态不规则40例;边缘不光整55例,呈毛刺征;分叶征33例;早期环形强化71例;动态曲线分型:I型8例,II型51例,III型35例;内部坏死51例。典型病例。见图2。

2.3 94例乳腺癌MRI征象与ER、Her-2、Ki-67表达情况的关系

ER阳性表达者形态不规则、毛刺征、早期环形强化占比明显高于ER阴性表达者,差异有统计学意义(P<0.05)。Her-2阳性表达者形态不规则,内部坏死占比高于Her-2阴性表达者,差异有统计学意义(P<0.05)。Ki-67阳性表达者毛刺征、分叶征占比高于Ki-67阴性表达者,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

2.4 乳腺癌MRI征象与ER、Her-2及Ki-67阳性表达的相关性分析

肿瘤形态、边缘、强化形式与ER阳性表达呈正相关(P<0.05);边缘与Ki-67呈正相关(P<0.05);内部坏死、形态与Her-2阳性表达呈正相关(P<0.05)。见表3。

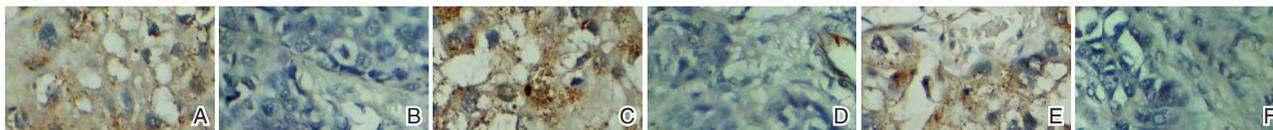
3 讨论

王月波等^[7]研究发现,乳腺癌生物学行为与组

表1 不同组织中ER、Her-2、Ki-67表达情况 [n(%)]

Table 1 Expression of ER, Her-2 and Ki-67 in different tissues [n(%)]

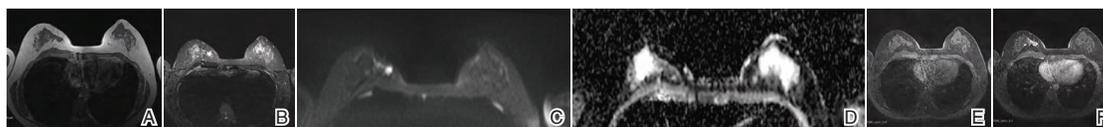
组别	n	ER		Her-2		Ki-67	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
乳腺癌组	94	74(78.72)	20(21.28)	60(63.83)	34(36.17)	63(67.02)	31(32.98)
癌旁组织组	94	19(20.21)	75(79.79)	22(23.40)	72(76.60)	18(19.15)	76(80.85)
χ^2 值		64.369		31.232		43.925	
P值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A为乳腺癌ER阳性;B为癌旁组织ER阴性;C为乳腺癌Her-2阳性;D为癌旁组织Her-2阴性;E乳腺癌Ki-67阳性;F为癌旁组织Ki-67阴性。

图1 免疫组化图(SP,×400)

Figure 1 Immunohistochemical map (SP,×400)



注:患者,女,右乳内下象限不规则软组织结节,MRI扫描示T1WI呈等信号(图A),T2WI呈高信号(图B),DWI呈高信号(图C),ADC值明显降低(图D)。MRI动态增强扫描结节明显强化,增强曲线呈廓清型(图E-D)。

图2 乳腺癌MRI图像

Figure 2 Breast cancer MRI images

表2 94例乳腺癌MRI征象与ER、Her-2、Ki-67表达情况的关系 [n(%)]

Table 2 Relationship between MRI signs and expression of ER, Her-2 and Ki-67 in 94 cases of breast cancer [n(%)]

MRI 征象	ER		χ^2 值	P 值	Her-2		χ^2 值	P 值	Ki-67		χ^2 值	P 值	
	阳性 (n=74)	阴性 (n=20)			阳性 (n=60)	阴性 (n=34)			阳性 (n=63)	阴性 (n=31)			
直径	>2 cm	43(58.11)	9(45.00)	1.095	0.295	33(55.00)	19(55.88)	0.007	0.934	32(50.79)	20(64.52)	1.523	0.208
	≤2 cm	31(41.89)	11(55.00)			27(45.00)	15(44.12)			31(49.21)	11(35.48)		
形态	规则	41(55.1)	18(90.11)	8.063	0.005	24(40.00)	30(88.24)	20.655	<0.001	39(61.90)	15(48.39)	1.553	0.213
	不规则	33(44.59)	2(10.00)			36(60.00)	4(11.76)			24(38.10)	16(51.61)		
边缘	光整	0(0.00)	6(30.00)	36.903	<0.001	2(3.33)	4(11.76)	4.800	0.091	3(4.76)	13(41.94)	21.679	<0.001
	毛刺征	53(71.62)	2(10.00)			33(55.00)	22(64.71)			37(58.73)	8(25.81)		
	分叶征	21(28.38)	12(60.00)			25(41.67)	8(23.53)			23(36.51)	10(32.26)		
强化形式	早期环形强化	67(90.54)	4(20.00)	42.392	<0.001	47(78.33)	24(70.59)	0.704	0.401	45(71.43)	26(83.87)	1.740	0.187
	非环形强化	7(9.46)	16(80.00)			13(21.67)	10(29.41)			18(28.57)	5(16.13)		
TIC 类型	I 型	5(6.76)	3(15.00)	2.620	0.270	5(8.33)	3(8.24)	0.552	0.759	6(9.52)	2(6.45)	0.260	0.878
	II 型	43(58.11)	8(40.00)			31(51.67)	20(58.82)			34(53.97)	17(54.84)		
	III 型	26(35.14)	9(45.00)			24(40.00)	11(32.35)			23(36.51)	12(38.71)		
内部坏死	有	41(55.41)	10(50.00)	0.185	0.667	44(73.33)	7(20.59)	24.327	<0.001	42(66.67)	9(29.03)	3.330	0.068
	无	33(44.59)	10(50.00)			16(26.67)	27(79.41)			21(33.33)	22(70.97)		
临床分期	I 期	10(66.67)	5(33.33)	0.274	0.872	9(60.00)	6(40.00)	1.120	0.571	10(15.87)	5(16.13)	0.245	0.885
	II 期	34(59.65)	23(40.35)			42(73.68)	15(26.32)			38(60.32)	19(61.29)		
	III 期	13(59.09)	9(40.91)			15(68.18)	7(31.82)			15(23.81)	7(22.58)		

表3 乳腺癌MRI征象与ER、Her-2及Ki-67阳性表达的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of breast cancer MRI signs and positive expression of ER, Her-2 and Ki-67

MRI 征象	ER		Her-2		Ki-67	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
直径	0.115	0.152	0.182	0.096	0.156	0.107
形态	0.524	0.003	0.592	<0.001	0.106	0.154
边缘	0.562	<0.001	0.157	0.105	0.582	<0.001
强化形式	0.496	0.011	0.143	0.124	0.102	0.165
TIC 类型	0.133	0.131	0.152	0.113	0.116	0.142
内部坏死	0.163	0.101	0.601	<0.001	0.118	0.131

织病理学改变是乳腺癌影像学表现的基础。ER、Her-2 及 Ki-67 等生物学指标可一定程度上反映乳腺癌的生物学行为及患者预后。探讨乳腺癌影像学征象与分子生物学指标之间的关系,可有效预测乳腺癌的侵袭性,为患者临床治疗方案选择及预后评估提供可靠依据。

相关研究证实,ER 的表达与癌组织类型存在密切联系,若癌细胞的分化程度较高时,ER 阳性表达率会降低^[8]。胡幸等^[9]亦指出,在乳腺癌中,ER 有无表达及表达程度可有效评估患者临床疗效及预后。Her-2 是人体表皮生长因子之一,主要参与细胞生长、增殖及分化等过程,可促使蛋白过度表达,进而导致细胞产生异型增生,与肿瘤进展情况有关,对肿瘤预后具有很好的预测作用^[10]。Ki-67 是一种核抗原,目前病理学普遍将 Ki-67 指数列为增殖标

志物来评估肿瘤增殖能力,是公认的细胞增殖活性标志物。Ki-67 阳性表达率高者乳腺癌细胞恶性程度高,细胞增殖活跃,因此肿瘤生长速度快、侵袭性强,预后较差。本研究中,上述因子在乳腺癌组织中的阳性表达率显著高于癌旁组织,与 Ramasamy 等^[11]报道结果相符,说明 ER、Her-2 及 Ki-67 在乳腺癌发生、发展中具有重要作用。

在乳腺癌 MRI 检查中,乳腺癌肿瘤形态、边缘、强化特征是较为重要的诊断点^[12]。本研究结果显示,ER 与肿瘤形态、边缘、强化形式具有显著相关性,形态不规则、边缘有毛刺、非环形强化者 ER 阳性表达率较高。Ikink 等^[13]报道指出,乳腺癌肿瘤形态不规则、边缘有毛刺征者,ER 阳性表达率高。边缘毛刺肿块通常被认为是恶性肿瘤,反映了肿瘤对周围的浸润,具有一定侵袭性。本研究发现,Ki-67 与肿瘤边缘亦存在显著相关性,与 Schueler 等^[14]报道结果一致。上述研究表明,Ki-67、ER 阳性表达可能提示肿瘤恶性程度高,患者预后较差。国内相关报道显示,乳腺癌 MRI 征象除形态不规则、边缘毛刺征外,肿瘤内部还易出现坏死时,可提示肿瘤生长迅速,内部供血不全,具有侵袭性^[15-16]。本研究中,MRI 显示肿瘤内部有坏死者,Her-2 阳性表达率更高。进一步相关性分析显示,内部坏死与 Her-2 阳性表达呈正相关。表明 Her-2 阳性表达者,肿瘤内部出现坏死的几率可能更高,需引起重视。考虑其原因可能与

Her-2高表达的乳腺癌中,Her-2抑制细胞凋亡、促进细胞增殖,肿瘤生长迅速,肿瘤内部易由于血供相对缺乏而出现营养不良性坏死有关^[17]。

综上所述,乳腺癌患者MRI征象与ER、Her-2及Ki-67阳性表达存在一定的相关性,MRI征象与ER、Her-2及Ki-67水平在预测乳腺癌生物学特性中具有一定指导价值。

参考文献

- [1] 徐书星,霍庆赞,张明远,等.血清CA153,CEA,SF,CT及Hcy联合检测对乳腺癌的临床诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(2):190-194.
- [2] 章蓉,刘瑜琳,刘代洪,等.功能磁共振成像技术评估乳腺癌新辅助化疗疗效的研究进展[J].磁共振成像,2019,10(8):620-624.
- [3] 苗环,许文森,孙宇.浸润性乳腺癌MRI征象与HER-2及Ki-67表达的相关性[J].现代肿瘤医学,2020,28(22):3904-3907.
- [4] Alonso A, Affolter VK, N Sevane, et al. E-Cadherin overexpression in canine inflammatory mammary cancer does not occur at the transcriptional level [J]. J Compar Pathol, 2019, 166(11):107-109.
- [5] Shea MP, O'Leary KA, Wegner KA, et al. High collagen density augments mTOR-dependent cancer stem cells in ER α + mammary carcinomas, and increases mTOR-independent lung metastases[J]. Cancer Lett, 2018, 433(19):149-151.
- [6] 于亮,涂灿,江凯,等.乳腺癌的MRI影像特征与ER、PR、HER-2表达的相关性研究[J].医学影像学杂志,2018,28(5):771-774.
- [7] 王月波,蒲红.乳腺癌增强MRI形态学特征及表观扩散系数数值与相关分子生物学标记物的关系分析[J].实用放射学杂志,2020,36(2):219-222.
- [8] 张东蕾,钱银锋,李伟,等.影响乳腺癌腋窝淋巴结转移的因素分析及不同诊断方式的对比研究[J].中国临床医学影像杂志,2021,32(2):94-99.
- [9] 胡幸,杨华,吴利忠.乳腺复杂硬化性病变与浸润性乳腺癌的MR影像比较及病理分析[J].中国医学计算机成像杂志,2019,25(1):23-28.
- [10] 刘勇,王斌,陈思思.siRNA沉默胰腺癌BXPc-3细胞中Her-2/neu基因对COX-2表达水平及细胞增殖、凋亡、侵袭力的影响[J].临床和实验医学杂志,2018,17(10):1018-1021.
- [11] Ramasamy K, Samayoa C, Krishnegowda NK, et al. Abstract P1-04-01: Estrogen receptor β agonists inhibits syngeneic mammary tumor growth through cell-cycle arrest by modulating cell-cycle regulators[J]. Cancer Res, 2019, 79(4):1-4.
- [12] 牛微,罗娅红,于韬,等.基于动态对比增强MRI的肿瘤血流动力学及形态学特征预测乳腺癌术后复发时间的价值[J].中华放射学杂志,2020,54(3):209-214.
- [13] Ikink GJ, Boer M, Bakker E, et al. Insertional mutagenesis in a HER2-positive breast cancer model reveals ERAS as a driver of cancer and therapy resistance[J]. Oncogene, 2018, 37(12):104-106.
- [14] Schueler J, Shatillo A, Rytkenen J, et al. Abstract 3041: Molecular, histopathologic, MRI and PET findings in syngeneic oncologic mouse models[J]. Canc Res, 2018, 78(13 Supplement):3041-3043.
- [15] 李航,夏燕,刘晓敏,等.浸润性乳腺癌中的超声影像表现及其对患者临床特征和肿瘤标志物表达的影响[J].癌症进展,2020,18(18):1863-1865.
- [16] Witek M, Harari P, Burr A, et al. Intra-Treatment PET/MRI Separates Intermediate Risk p16-Positive Oropharynx Cancer Patients into Favorable and Unfavorable Cohorts [J]. Internat J Radiat Oncol Biol Phys, 2020, 108(2):E40-E41.
- [17] 杨宇峰,庾建中,林思园,等.乳腺癌原发肿瘤和复发肿瘤间ER、PR和HER-2表达不一致及其对患者生存的影响[J].临床与实验病理学杂志,2019,35(3):21-26.

(上接第1286页)

- [9] 李敏,刘检,周怡,等.血清PIVKA-II,AFP和GGT对原发性肝癌的诊断价值[J].标记免疫分析与临床,2021,28(10):1759-1764+1769.
- [10] Ronnie TPP, Sheung TF, Chung ML, et al. Long-term survival and pattern of recurrence after resection of small hepatocellular carcinoma in patients with preserved liver function: implications for a strategy of salvage transplantation [J]. Ann Surg, 2019, 235(3):373-382.
- [11] 王志远,卢立全,牛继华.血清AFP,AFP-L3,AFU,GP73联合检测对原发性肝癌的诊断价值[J].海南医学,2022,33(2):216-218.
- [12] 赵学兰,何颖竹.血清AFP,AFU及CA19-9联合MRI增强扫描检测在原发性肝癌诊断中的应用价值[J].中国CT和MRI杂志,2021,19(7):109-111.
- [13] 林玲,俞善春,刘从瑶.凝血四项及血清肿瘤标志物联合检测在乙型肝炎相关肝癌中的诊断价值[J].河北医科大学学报,2021,42(6):665-670.
- [14] Li R, Huang W, Chen F. Research progress of functional MRI in early brain injury after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma [J]. Chin J Intervent Imag Ther, 2020, 17(1):51-54.
- [15] 马智星,农清清,赵惠柳,等.4项生化指标联合检测在原发性肝癌诊断中的应用[J].广西医科大学学报,2020,37(2):235-239.
- [16] Lee J, Higgins MCSS. What Interventional Radiologists Need to Know About Managing Severe Frostbite: A Meta-Analysis of Thrombolytic Therapy [J]. AJR Am J Roentgenol, 2020, 214(4):1-8.
- [17] 符白玉,林怡,徐琪,等.mFOLFOX6化疗联合射频消融治疗原发性肝癌的疗效及机制研究[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(1):69-73.

云南地区非小细胞肺癌 10 种驱动基因突变联合检测分析

苏国苗¹ 王娟² 李振辉³ 潘国庆¹ 李彦熙¹ 刘士岳¹ 曾定涛¹ 杨哲¹ 雷梓^{1*}

[摘要] 目的 探讨云南地区非小细胞肺癌(NSCLC)患者 *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*KRAS*、*BRAF*、*NRAS*、*PIK3CA*、*HER2*、*RET* 和 *MET* 10 种基因突变特点及与临床病理特征的关系,探索 10 种基因突变联合检测的临床应用价值。方法 收集 2016 年 7 月至 2021 年 7 月昆明医科大学第一附属医院经病理诊断为 NSCLC 的云南地区 227 例患者的肿瘤组织和临床病理资料,采用扩增阻滞突变系统(ARMS)检测 10 基因突变状态。结果 227 例 NSCLC 标本中,10 种驱动基因的总突变率为 78.85%,*EGFR* 突变频率最高,*KRAS* 突变位居第二,*ALK* 融合位居第三,并且原发灶的突变率与转移灶比较,术后石蜡样本突变率与细胞学样本比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.646, 0.216, P>0.05$)。*EGFR* 基因突变率为 44.93%,主要以 19Del 和 21 号外显子 L858R 为主型,占总突变率的 78.43%。*EGFR* 基因突变率在女性患者高于男性患者,腺癌患者高于非腺癌患者,不吸烟患者高于吸烟患者,差异有统计学意义($\chi^2=11.050, 12.365, 19.936, P<0.05$)。*HER2* 基因突变率在女性患者高于男性患者,差异有统计学意义($\chi^2=6.647, P<0.05$)。结论 云南地区 NSCLC 患者 10 种基因突变以 *EGFR* 基因突变率最高,并且与样本是否转移及样本类型均无关。*EGFR* 突变以 19Del 和 21 号外显子 L858R 为主型,多见于女性、无吸烟史及腺癌患者。*HER2* 基因突变多见于女性患者。

[关键词] 非小细胞肺癌;驱动基因;ARMS;靶向治疗

Combined detection and analysis of 10 driving gene mutations in Non-small cell lung cancer in Yunnan

SU Guomiao¹, WANG Juan², LI Zhenhui³, PAN Guoqing¹, LI Yanxi¹, LIU Shiyue¹, ZENG Dingtao¹, YANG Zhe¹, LEI Zi^{1*}

(1. The Department of Pathology of First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, China, 650032; 2. The Department of Clinical Laboratory of Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan, China, 650011; 3. The Department of Radiology of Yunnan Cancer Hospital, Kunming, Yunnan, China, 650118)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the mutation characteristics of *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *KRAS*, *BRAF*, *NRAS*, *PIK3CA*, *HER2*, *RET* and *MET* genes in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) in Yunnan province and their relationship with clinicopathological features and to explore the clinical application value of combined detection of 10 gene mutations. **Methods** The tumor tissue and clinicopathological data of 227 patients in Yunnan who were pathologically diagnosed as NSCLC in the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from July 2016 to July 2021 were collected. Amplification block mutation system (ARMS) was used to detect the mutation status of 10 genes. **Results** In 227 NSCLC samples, the total mutation rate of 10 driver genes was 78.85%, *EGFR* mutation frequency was the highest, *KRAS* mutation was the

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2019J1241);昆医联合专项-面上项目(202201AY070001-0706)

作者单位:1.昆明医科大学第一附属医院病理科,云南,昆明 650032

2.云南省第三人民医院检验科,云南,昆明 650011

3.云南省肿瘤医院放射科,云南,昆明 650118

*通信作者:雷梓, E-mail:11648602@qq.com

second, *ALK* fusion was the third, and the mutation rate of primary lesions was compared with metastasis, and the mutation rate of postoperative paraffin samples was compared with cytology samples. There was no significant difference ($\chi^2=1.646, 0.216, P>0.05$). The mutation rate of *EGFR* gene was 44.93%, and 19Del and 21 exon L858R were the main types, accounting for 78.43% of the total mutation rate. The mutation rate of *EGFR* gene in female patients was higher than that in male patients, adenocarcinoma patients was higher than that in non-adenocarcinoma patients, and non-smoking patients were higher than smoking patients, and the differences were statistically significant ($\chi^2=11.050, 12.365, 19.936, P<0.05$). The mutation rate of *HER2* gene in female patients was higher than that in male patients, and the difference was statistically significant ($\chi^2=6.647, P<0.05$). **Conclusions** *EGFR* gene mutation rate was the highest among the 10 gene mutations in NSCLC patients in Yunnan, and it was not related to whether the samples were transferred or not and the type of samples. *EGFR* mutations were mainly in exon 19Del and exon 21 L858R, which were more common in women, patients without smoking history and adenocarcinoma. *HER2* mutations are more common in women.

[KEY WORDS] Non-small cell lung cancer; Drive gene; ARMS; Targeted therapy

肺癌目前已经成为全球发病率和死亡率增长最快的肿瘤之一,对人群健康和生命构成严重的威胁。2020年全球新增1 930万例癌症病例中,肺癌发病率位居第二,仅次于乳腺癌,然而死亡率位居第一,在中国,特别是非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)位居恶性肿瘤之首^[1]。云南地区的肺癌发病率和死亡率,特别是宣威地区在中国乃至全世界都位居前列,其相关驱动基因研究和个体化治疗越来越受到重视。全面了解NSCLC基因突变谱,能够帮助临床选择合适的靶向药物进行治疗,从而有效延长患者生存期。常见驱动基因(如*EGFR*、*ALK*、*ROS1*等)的靶向治疗药物阿法替尼、奥希替尼等上市,肺癌患者治疗疗效得到显著改善^[2]。因此,本次研究探讨NSCLC多驱动基因联合检测对临床诊疗的意义,为临床个体化治疗提供重要的参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集2016年7月至2021年7月昆明医科大学第一附属医院经病理诊断为NSCLC的云南地区样本227例,其中福尔马林固定石蜡包埋组织204例,细胞涂片23例;男性101例,女性126例;年龄范围22~89岁,中位年龄55岁;腺癌213例、鳞癌12例、腺鳞癌1例、大细胞癌1例;原发灶184例,转移灶43例。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 肿瘤样本采集及DNA、RNA提取

病理医师镜下筛片,调取蜡块进行切片装管(厚度:6~10 μm ,数量8~12片)。使用厦门艾德生物医药有限公司的石蜡组织DNA和RNA提取试剂盒,按照

说明书提取石蜡组织肿瘤样本的DNA和RNA。

1.3 NSCLC驱动基因检测

采用美国ABI公司QPCR仪(型号:7500),依据突变扩增阻滞系统(ARMS法)的原理检测NSCLC 10种基因。检测试剂盒(基因突变检测试剂盒-荧光PCR法)采用厦门艾德生物医药有限公司,每次实验均设定阴、阳对照及内参照,并根据试剂盒说明书判读结果。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析;计数资料以 $n(\%)$ 进行描述,采用 χ^2 检验;理论频数 <5 的则采用Fisher确切概率法检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 10种驱动基因突变联合检测情况

227例NSCLC标本中,10种驱动基因的总突变率为78.85%(179/227)。*EGFR*突变频率最高,*KRAS*突变位居第二,*ALK*融合位居第三。见图1。

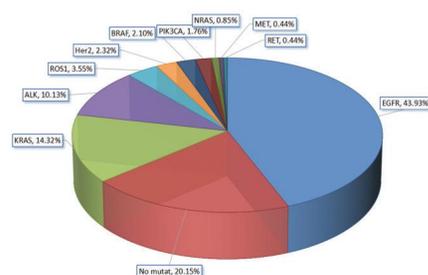


图1 227例NSCLC患者10种基因突变频率分布
Figure 1 Frequency distribution of 10 gene mutations in 227 patients with NSCLC

通过对不同样本 10 基因突变检测比较显示：原发灶的突变检出率与转移灶比较，术后石蜡样本突变检出率与细胞学样本比较，差异无统计学意义(P 均 >0.05)。见表 1。

表 1 不同样本 10 基因突变检测率比较 [$n(\%)$]

Table 1 Ratio of detection rate of 10 gene mutations in different samples [$n(\%)$]

类别	突变	野生	χ^2 值	P 值
转移	原发灶	142(79.3)	1.646	0.200
	转移灶	37(20.7)		
标本类型	石蜡组织	160(89.4)	0.216	0.642
	细胞样本	19(10.6)		

2.2 EGFR 基因突变特点

在 227 例 NSCLC 患者中，共检出 EGFR 基因突变 102 例(44.93%)。主要以 19Del 和 21 号外显子 L858R 为主型，占总突变率的 78.43%。见表 2。

2.3 10 种基因突变与临床特征关系分析

10 种基因突变数据分析显示：EGFR 基因突变率在女性患者高于男性患者，腺癌患者高于非腺癌患者，不吸烟患者高于吸烟患者，差异有统计学意义($P<0.05$)。HER2 基因突变率在女性患者高于男性患者，差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 EGFR 基因突变与临床病理特征的关系

Table 2 Relationship between EGFR gene mutation and clinicopathological features

Exon	突变位点	突变数量	突变率(%)
Exon 18	G719X	10	9.80
Exon 19	19 Del	35	34.31
Exon 20	20 ins	4	3.92
	S768I	1	0.98
Exon 21	L858R	42	41.18
	L861Q	3	2.94
Exon 18 和 Exon 20	G719X、S768I	5	4.90
Exon 21 和 Exon 20	L858R、S768I	1	0.98
	L858R、T790M	1	0.98

3 讨论

在 NSCLC 靶向治疗前，全面了解肿瘤基因突变状态才能实施有效的个体化治疗。NSCLC 患者 10 基因联合检测已是临床 NSCLC 个体化治疗的重要参考依据^[3]。EGFR 属于酪氨酸激酶 I 型受体，是上皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)细胞增殖和信号传导的受体，其功能缺失或其相关信号通路中关键因子的活性或细胞定位异常，与肿瘤细胞的增殖、血管生成、肿瘤侵袭、转移及细胞凋亡有着密切的关系^[4-5]。ALK 基因属于胰岛素受体家族，通过基因重排进而激活下游信号通

表 3 NSCLC 患者 EGFR 基因突变类型及检出率

Table 3 Type and proportion of EGFR gene mutation in NSCLC patients

一般资料		n	突变基因									
			EGFR	ALK	KRAS	ROS1	RET	NRAS	BRAF	HER2	MET	PIK3CA
性别	女	126	69	14	14	5	0	2	3	8	0	2
	男	101	33	9	21	6	1	0	2	0	1	2
χ^2 值			11.050	0.298	4.029	0.473	1.253	1.617	0.042	6.647	1.253	0.050
P 值			0.001	0.585	0.045	0.492	0.445	0.504	1.000	0.009	0.445	1.000
年龄(岁)	≥ 55	122	55	15	19	3	1	1	3	2	1	3
	< 55	105	47	8	16	8	0	1	2	6	0	1
χ^2 值			0.002	1.355	0.025	3.259	0.864	0.011	0.080	2.756	0.864	0.740
P 值			0.961	0.224	0.944	0.071	1.000	1.000	1.000	0.149	1.000	0.626
病理组织学类型	腺癌	213	101	23	33	11	1	2	5	8	1	4
	鳞癌	12	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	腺鳞癌	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	大细胞癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
χ^2 值			12.365	1.682	0.380	0.760	0.066	0.133	0.336	0.545	0.066	0.268
P 值			0.006	0.641	0.944	0.859	0.996	0.988	0.953	0.909	0.996	0.966
吸烟史	有	70	16	4	17	6	1	0	1	0	1	1
	无	157	86	19	18	5	0	2	4	8	0	3
χ^2 值			19.936	2.169	6.102	3.047	2.253	0.900	0.282	3.697	2.253	0.065
P 值			0.000	0.141	0.014	0.081	0.133	1.000	1.000	0.055	0.108	1.000
临床分期	I + II	114	52	10	18	6	0	2	2	5	0	1
	III + IV	113	50	13	17	5	1	0	3	3	1	3
χ^2 值			0.043	0.465	0.024	0.087	1.013	2.000	0.214	5.000	1.013	1.036
P 值			0.836	0.495	0.876	0.769	0.498	0.498	0.683	0.722	0.314	0.369

路导致癌变发生,可与多种基因发生融合,主要以 *EML4-ALK* 融合突变最为常见^[6]。*ROS1* 基因定位于 6q21 染色体,在 NSCLC 中主要与 *CD74*、*SLC34A* 发生融合,激活 *ROS1* 酪氨酸激酶区及下游 JAK/STAT、PI3K/AKT、RAS/MAPK 等信号通路,进而引起肿瘤的发生^[7]。*KRAS* 基因在 NSCLC 患者中以 G12C 和 G12V 突变最为常见^[8]。*BRAF* 基因在 *EGFR* 信号通路中位于 *KRAS* 下游,其突变引起编码氨基酸的改变,导致编码蛋白持续被激活,细胞恶性增殖引起癌变,以 15 号外显子 V600E 突变位点为主。*NRAS* 基因常见 Exon-3 外显子 Q61R/K/L/H 突变;*PIK3CA* 基因常见 Exon-9 和 20 号外显子 E545K 和 E545Q 突变;*HER2* 基因常见 20 号外显子的插入突变;*RET* 基因常见 12 号外显子融合突变;*MET* 基因突变常见 14 号外显子缺失突变,在 NSCLC 患者中多作为 *EGFR* 基因突变患者接受 TKI 治疗后产生的耐药突变而继发性存在^[9-10]。

既往相关研究数据显示,在中国人群中,NSCLC 患者 *EGFR* 突变阳性率最高(39.0%),其次是 *KRAS* (8.0%) 和 *ALK* (5.5%),*ROS1* (2.1%) 和 *BRAF* (0.6%) 突变阳性率相对较低^[11]。本研究与前期研究数据基本吻合,造成检测结果组间差异的原因可能是研究的人群差异和采用的检测方法灵敏度不同,以及检测样本来源的不同。同时,通过对云南地区不同样本 10 基因突变检测比较显示石蜡组织或细胞样本、原发灶或转移灶,都能够用于肿瘤驱动基因突变检测,与相关研究报道一致^[12]。

国内外针对 *EGFR* 基因突变的最新研究显示,*EGFR* 是 NSCLC 最常见的驱动基因突变,在亚洲人群突变频率约 50%^[13],主要存在于外显子 18、19、20、21,最常见的类型为 19 号外显子缺失和 21 号外显子 *L858R* 点突变,且多见于肺腺癌为主,亚裔、女性、非吸烟者,且瘤体积更小、分期更早的人群,更易从靶向治疗中获益^[14]。本次研究 *EGFR* 基因突变的检出率为 44.93%,以 19 号外显子缺失和 21 号外显子 *L858R* 点突变为主;女性患者突变率高于男性患者;腺癌患者的突变率高于非腺癌患者;不吸烟患者中的突变率高于吸烟患者;与患者年龄、TNM 分期无关。

在中国 *EGFR* 基因的突变存在显著的地域差异,相关文献报道,广西与华南地区的 *EGFR* 基因主要以 19 号外显子缺失突变为主^[15-16],四川与云南

地区以 21 号外显子 *L858R* 位点突变为主^[17-18]。本研究结果显示,云南地区 NSCLC 患者中,*EGFR* 基因主要以 21 号外显子 *L858R* 位点突变为主,19 *Del* 次之,与相关报道一致。

因此,NSCLC 患者 10 种基因突变联合检测可一次获得更多基因突变信息,为分子靶向用药提供更加全面的指导信息,对于临床取材量少标本意义重大,并且 10 种基因联合检测有利于发现相应靶向治疗的敏感基因及耐药基因,从而更精确的筛查靶向治疗的适应人群和判断靶向治疗的疗效,更全面地指导临床治疗。

综上所述,云南地区 NSCLC 患者 10 种基因突变以 *EGFR* 基因突变率最高,与样本是否转移、样本类型均无关;*EGFR* 突变以 19~~Del~~ 和 21 号外显子 *L858R* 为主型,多见于女性、无吸烟史及腺癌患者,与年龄及 TNM 分期无关。*HER2* 基因突变多见于女性患者,与患者年龄、是否吸烟、组织学类型以及 TNM 分期无关。*ALK*、*ROS1*、*KRAS*、*BRAF*、*NRAS*、*PIK3CA*、*RET* 及 *MET* 基因与 NSCLC 患者性别、年龄、是否吸烟、组织学类型、TNM 分期均无关。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, 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] Jonna S, Subramaniam D. S. Molecular diagnostics and targeted therapies in non-small cell lung cancer (NSCLC): an update[J]. Discov Med, 2019, 27(148):167-170.
- [3] Imyanitov E. N, Iyevleva A. G, Levchenko E. V. Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: Current status and perspectives[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2021, 157:103194.
- [4] Zhang H, Yang X, Qin N, Li X, et al. Detection and Analysis of EGFR and KRAS Mutation with Lung Adenocarcinoma [J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2015, 18(11):686-690.
- [5] Sousa A. C, Silveira C, Janeiro A, Malveiro S, et al. Detection of rare and novel EGFR mutations in NSCLC patients: Implications for treatment-decision[J]. Lung Cancer, 2020, 139:35-40.
- [6] Zhong S, Zhang H. P, Zheng J, et al. Detection of EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer and its clinicopathologic correlation [J]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, 2013, 42(4):252-256.
- [7] Pisapia P, Lozano M. D, Vigliar E, et al. ALK and ROS1 testing on lung cancer cytologic samples: Perspectives [J]. Cancer Cytopathol, 2017, 125(11):817-830.

(下转第 1299 页)

数字PCR法检测血液EGFR基因T790M突变的评价

曲守方¹ 徐任² 张文新¹ 黄传峰^{1*} 黄杰^{1*}

[摘要] **目的** 使用血浆循环肿瘤DNA基因突变检测国家参考品,对EGFR基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法)的准确性、特异性和检测限的性能进行评价。**方法** 提取国家参考品的血浆游离DNA,并测定浓度。取不同浓度的EGFR基因T790M突变的游离DNA样本,加入装有ddPCR和ddPCR MIX3的PCR预混液的PCR管中,混匀后使用全自动样本处理系统进行微滴制备。将微滴转入96孔板内后,使用微滴式数字PCR系统的封膜仪和PCR仪进行封膜和PCR扩增。取PCR扩增样本,加至芯片中,使用生物芯片阅读仪读取结果。**结果** 对国家参考品中不同突变频率的EGFR基因T790M突变样本,试剂盒能够准确检出T790M突变。对国家参考品中EGFR基因其他突变的样本,试剂盒未检出T790M突变。试剂盒能够准确检测0.05%突变频率的国家检测限参考品。**结论** EGFR基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法)具有很好的检测准确性、特异性和灵敏度,国家参考品具有很好的检测方法适用性。

[关键词] 非小细胞肺癌;表皮生长因子受体;T790M突变;酪氨酸激酶抑制剂

Evaluation of droplet digital PCR in detection of blood EGFR T790M mutation

QU Shoufang¹, XU Ren², ZHANG Wenxin¹, HUANG Chuanfeng^{1*}, HUANG Jie^{1*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050; 2. Shanghai Rightongene Biotechnology Co., Ltd., Shanghai, China, 201401)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the accuracy, specificity and detection limit of droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) in detecting epidermal growth factor receptor (EGFR) T790M mutation by National reference materials for detection of gene mutation in plasma circulating tumor DNA (ctDNA). **Methods** Extracted plasma free DNA of national reference material and determined its concentration. Took the different concentrations of free DNA samples with EGFR T790M mutation, added them into PCR premix with DDPCR and DDPCR mix3, mixed them evenly, and then used the automatic sample processing system to prepare droplets. After the micro drops were transferred into the 96 well plate, the film sealing instrument and PCR instrument of the micro drop digital PCR system were used for film sealing and PCR amplification. Took the PCR amplified sample, added it to the chip, and used the biochip reader to read the results. **Results** EGFR T790M mutation samples with different mutation frequencies in national reference materials could be accurately detected by the kit. For samples with other mutations of EGFR gene in national reference materials, T790M mutation was not detected by the kit. The kit could accurately detect the national detection limit reference with mutation frequency of 0.05%. **Conclusion** The EGFR T790M mutation detection kit (Digital PCR) has good detection accuracy, specificity and sensitivity, and the national reference material has good applicability of the detection method.

[KEY WORDS] non-small cell lung cancer; epidermal growth factor receptor; T790M mutation; tyrosine kinase inhibitors

作者单位:1. 中国食品药品检定研究院,北京 100050

2. 上海睿昂基因科技股份有限公司,上海 201401

*通信作者:黄传峰, E-mail:huangchf@nifdc.org.cn;黄杰, E-mail:jhuang5522@126.com

注:曲守方和徐任共为第一作者

肺癌是全球癌症死亡的首要原因,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占85%^[1]。NSCLC患者中存在多种肿瘤基因突变类型,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因是目前NSCLC治疗最重要的分子靶点。针对NSCLC的靶向治疗进展迅速,已获批准的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)药物,包括吉非替尼(Gefitinib)、阿法替尼(Afatinib)和甲磺酸奥希替尼(Osimertinib)等^[2-3]。NSCLC患者通常在接受一或二代TKI靶向治疗后9~14个月时会发生获得性耐药,EGFR基因第20号外显子发生的T790M突变是最常见的获得性耐药^[4-5]。美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)发布的非小细胞肺癌(NSCLC)的临床实践指南指出,患者需进行EGFR基因突变检测。

国内有多家公司开展不同方法的血浆EGFR基因T790M突变检测试剂盒的研发。中国食品药品检定研究院研制了血浆循环肿瘤DNA基因突变检测国家参考品,包括EGFR基因点突变、缺失突变和扩增突变等类型^[6]。本研究使用国家参考品,对EGFR基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法)的准确性、特异性和检测限进行评价。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 血浆

ctDNA KRAS/ NRAS/ EGFR/ BRAF/MET 基因突变检测国家参考品,由中国食品药品检定研究院(简称中检院)提供。

1.1.2 试剂

人EGFR基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法)和核酸提取及纯化试剂,上海源奇生物医药科技有限公司提供;微滴生成油,购自美国伯乐公司。

1.1.3 仪器

NanoDrop紫外可见分光光度计,型号:2000c,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;微滴式数字PCR系统,型号:QX200,美国BIO RAD公司;全自动样本处理系统,型号:JT-DGR-001,生物芯片阅读仪,型号:JT-Scan-001,长春技特生物技术有限公司。

1.2 方法

按照试剂盒说明书进行操作,使用核酸提取及纯化试剂提取EGFR基因T790M突变的国家参考品(T790M突变频率分别为3%,1%,0.3%,0.1%和0.05%)的血浆游离DNA,使用NanoDrop分光光度计进行样本浓度测定。然后根据试剂盒的检测限要求将0.05%突变频率的EGFR基因T790M突变的检测限样本稀释至2 ng/ μ L。取不同突变频率EGFR基因T790M突变的游离DNA样本6 μ L,加入14 μ L PCR预混液(ddPCR和ddPCR MIX3)中。混匀后使用全自动样本处理系统进行微滴制备。将微滴转入96孔板内后,使用微滴式数字PCR系统的封膜仪和PCR仪进行封膜和PCR扩增,程序:95 $^{\circ}$ C 10 min;(94 $^{\circ}$ C 15 sec,58 $^{\circ}$ C 60 sec),40个循环;98 $^{\circ}$ C 10 min;4 $^{\circ}$ C 5 min。取PCR扩增样本,加至试剂盒的芯片中,使用生物芯片阅读仪读取结果。采用QuantaSoft软件分析,3个及以上微滴出现在FAM信号的阳性区域(ch1+ch2-)时,结果判为EGFR基因T790M位点突变。计算阳性和阴性微滴的数量及阳性微滴的比例,根据泊松分布原理以及阳性微滴的比例,分析软件可计算出待检靶分子的浓度或拷贝数。

2 结果

对于不同突变频率(3%、1%、0.3%和0.1%)EGFR基因T790M突变的国家参考品样本,样本结果显示Ch1+Ch2-区的点数均 ≥ 3 个,试剂盒能够准确检出T790M突变阳性。见表1、图1。对于2

表1 试剂盒的准确性结果

Table 1 The accuracy result of kit

序号	样本	标示	Ch1+Ch2-区的点数	试剂盒检测结果	基因突变百分比%
1	CP_018_01(3%)	EGFR p.T790M	86	T790M突变	2.30
2	CP_018_02(1%)	EGFR p.T790M	48	T790M突变	1.28
3	CP_018_03(0.3%)	EGFR p.T790M	13	T790M突变	0.22
4	CP_018_04(0.1%)	EGFR p.T790M	4	T790M突变	0.15
5	CP_018_05(0.05%)	EGFR p.T790M	3	T790M突变	0.11

ng/ μ L浓度的0.05%突变频率的EGFR基因T790M突变的国家参考品样本,样本结果显示Ch1+Ch2-区的点数为3个,试剂盒能够准确检出T790M突变阳性。见表1、图2。

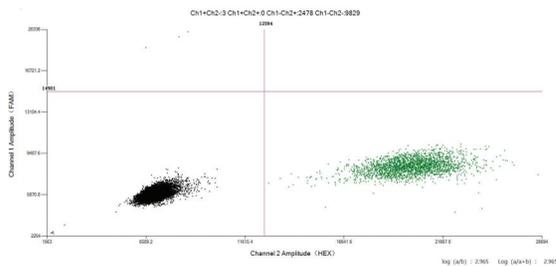


图1 试剂盒的检测限的结果 [CP_018_05 (0.05%)]
Figure 1 The limit result of kit [CP_018_05 (0.05%)]

对试剂盒范围外的EGFR基因其他突变样本,如G719S突变的样本CP_019_01(3%),Ch1+Ch2-区的点数为0个,试剂盒未检出T790M突变阳性。见图3。

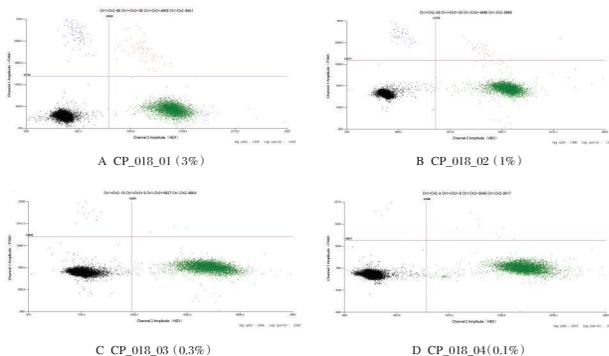


图2 试剂盒的准确性结果[(CP_018 (3%,1%,0.3%,0.1%)]
Figure 2 The accuracy result of kit [CP_018 (3%,1%,0.3%,0.1%)]

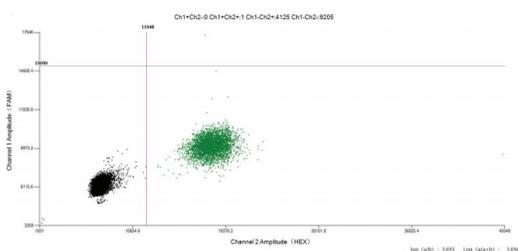


图3 试剂盒的特异性结果 (CP_019_01 (3%))
Figure 3 The specific result of kit (CP_019_01 (3%))

3 讨论

EGFR基因位于人类7号染色体的短臂上,其突变主要发生在胞内酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)区域的前四个外显子上(18~21)。

EGFR作为癌症治疗的分子靶标受到普遍关注。研究显示肿瘤患者的外周血中存在来源于凋亡或者坏死的肿瘤细胞的循环肿瘤DNA(cell tumor DNA, ctDNA),患者血液中可以检测到与肿瘤组织高度一致的肿瘤基因突变。对晚期肺癌患者,在不能获取肺癌组织样本时,可以选择外周血样本进行相关肿瘤基因突变检测。《非小细胞肺癌血液EGFR基因突变检测中国专家共识》的发布^[7],规范了中国EGFR基因血液检测。血浆EGFR基因突变检测方法包括扩增阻碍突变阻滞扩增系统(amplification refractory mutation system, ARMS)法、二代测序法(next generation sequencing, NGS)和微滴数字聚合酶链反应法(droplet digital polymerase chainaction, ddPCR)等^[8-10]。目前国家药品监督管理局仅批准了厦门艾德生物医药科技股份有限公司的人类EGFR基因突变检测试剂盒(荧光PCR法),用于血浆样本EGFR基因突变的检测。研究报道第三代EGFR-TKI的奥希替尼对出现EGFR基因T790M突变的耐药患者有较好的治疗效果^[11],EGFR基因T790M突变的检测具有重要的临床指导作用。《中国非小细胞肺癌患者EGFR T790M基因突变检测专家共识》的发布,对T790M突变检测进行相应的规范^[12]。

为了评价不同方法的肿瘤基因突变检测试剂盒性能,EGFR基因T790M突变的国家参考品样本设置了不同的突变频率梯度,并使用二代测序法进行验证。国家参考品也提供了阴性血浆样本,可以根据试剂盒的检测限要求用于样本的稀释。本研究结果显示试剂盒对3%~0.1%突变频率的EGFR基因T790M突变的国家参考品,能够准确检出标示的T790M突变;对国家参考品中EGFR基因其他突变的样本,如EGFR基因G719S突变,未检出试剂盒范围内的T790M突变,表明试剂盒具有很好的准确性和特异性。人EGFR基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法)可以检测0.05%突变频率的EGFR基因T790M突变;使用阴性血浆样本对0.1%国家参考品稀释后的样本进行检测限性能评价,试剂盒能够准确检出T790M突变,表明检测限符合要求。研究结果表明国家参考品可以用于评价数字PCR法的血浆EGFR基因T790M突变检测试剂盒的准确性、特异性和检测限,拓宽了其检测方法的适用性。

参考文献

- [1] Ashour Badawy A, Khedr G, Omar A, et al. Site of Metastases as Prognostic Factors in Unselected Population of Stage IV Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(7):1907-1910.
- [2] Hsu PC, Jablons DM, Yang CT, et al. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Pathway, Yes-Associated Protein (YAP) and the Regulation of Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15):3821.
- [3] Reita D, Pabst L, Pencreach E, et al. Molecular Mechanism of EGFR-TKI Resistance in EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer: Application to Biological Diagnostic and Monitoring [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(19):4926.
- [4] Vlacova T, Grazini U, Ward L, et al. Clinical impact of subclonal EGFR T790M mutations in advanced-stage EGFR-mutant non-small-cell lung cancers [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):1780.
- [5] Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, et al. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2017, 376(7):629-640.
- [6] Xu J, Qu S, Sun N, et al. Construction of a reference material panel for detecting KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET mutations in plasma ctDNA [J]. *J Clin Pathol*, 2021, 74(5):314-320.
- [7] 《非小细胞肺癌血液 EGFR 基因突变检测中国专家共识》制订专家组. 非小细胞肺癌血液 EGFR 基因突变检测中国专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2015, 95(46):3721-3726.
- [8] 杜亚茜, 马煜辉, 杨长绍, 等. 非小细胞肺癌患者外周血 ctDNA 样本中 EGFR-T790M 基因突变分析 [J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(19):3228-3232.
- [9] 孙楠, 于婷, 孙晶, 等. 血浆循环肿瘤 DNA 基因突变检测国家参考品的应用评价 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(9):1390-1393, 1397.
- [10] Wang W, Song Z, Zhang Y. A Comparison of ddPCR and ARMS for detecting EGFR T790M status in ctDNA from advanced NSCLC patients with acquired EGFR-TKI resistance [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(1):154-162.
- [11] Odogwu L, Mathieu L, Goldberg KB, et al. FDA Benefit-Risk Assessment of Osimertinib for the Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Harboring Epidermal Growth Factor Receptor T790M Mutation [J]. *Oncologist*, 2018, 23(3):353-359.
- [12] 中国临床肿瘤学会肿瘤生物标志物专家委员会, 《中国非小细胞肺癌患者 EGFR T790M 基因突变检测专家共识》制定专家组. 中国非小细胞肺癌患者 EGFR T790M 基因突变检测专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(32):2544-2551.
- (上接第 1295 页)
- [8] Timar J, et al. The clinical relevance of KRAS gene mutation in non-small-cell lung cancer [J]. *Curr Opin Oncol*, 2014, 26(2):138-144.
- [9] Li S, Li L, Zhu Y, et al. Coexistence of EGFR with KRAS, or BRAF, or PIK3CA somatic mutations in lung cancer: a comprehensive mutation profiling from 5125 Chinese cohorts [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(11):2812-20.
- [10] Bubendorf L, Dafni U, Schobel M, et al. Prevalence and clinical association of MET gene overexpression and amplification in patients with NSCLC: Results from the European Thoracic Oncology Platform (ETOP) Lungscape project [J]. *Lung Cancer*, 2017, 111:143-149.
- [11] Zhuang X, Zhao C, Li J, Su C, et al. Clinical features and therapeutic options in non-small cell lung cancer patients with concomitant mutations of EGFR, ALK, ROS1, KRAS or BRAF [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(6):2858-2866.
- [12] 代洁, 左卓, 郭鹏, 谭化姣, 廖琼. 非小细胞肺癌十基因突变联合检测分析 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2020, 33(12):979-987.
- [13] Shi Y, Au J. S, Thongprasert S, et al. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER) [J]. *Thorac Oncol*, 2014, 9(2):154-62.
- [14] Soria J. C, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2):113-125.
- [15] 唐艳萍, 张力图, 谭晓玉, 等. 广西南宁地区非小细胞肺癌 EGFR 基因突变分析 [J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(5):1067-1070.
- [16] 黎谢梦丹, 罗凯, 吴顺芳, 等. 华南地区非小细胞肺癌患者肿瘤组织 EGFR, ALK 和 ROS1 基因突变分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(5):16-23.
- [17] 魏丹凤, 郭元彪, 王战豪, 等. 四川地区非小细胞肺癌患者 EGFR 基因突变分型与临床病理特征的相关性分析 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2018, 23(10):915-919.
- [18] 王娟, 苏国苗, 潘国庆, 等. 云南地区非小细胞肺癌 EGFR、ALK 和 ROS1 基因突变联合检测 [J]. *昆明医科大学学报*, 2020, 41(9):1-6.

¹³¹I清甲治疗前sTg水平与DTC术后清甲治疗疗效的关系

赵玮* 史良平 程义壮

[摘要] 目的 探究¹³¹I清甲治疗前sTg水平与分化型甲状腺癌(DTC)术后清甲治疗疗效的关系。方法 选择2019年1月至2021年6月来安徽省肿瘤医院就诊的DTC患者206例,根据治疗后¹³¹I全身显影结果将其分为清甲成功组($n=122$)与清甲未成功组($n=84$),影响因素分析先采用 χ^2 检验进行单因素分析,并选择有意义统计学指标进行非条件的Logistic回归分析,并采用ROC曲线分析¹³¹I清甲治疗前TSH、sTg水平对分化型甲状腺癌术后临床疗效的诊断价值。结果 两组性别、年龄、体质质量、病理类型比较,差异无统计学意义($P>0.05$);两组的手术方式、残余甲状腺估算质量、治疗前甲状腺外转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。手术方式非全切,残余甲状腺质量 >3.00 g,治疗前存在转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平 >20.00 $\mu\text{g/L}$ 是术后¹³¹I清甲治疗效果的独立危险因素。远处转移组¹³¹I清甲治疗前sTg水平高于单纯颈部淋巴结转移组,差异有统计学意义($t=7.679, P<0.05$)。¹³¹I清甲治疗前sTg水平对DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的AUC为0.935,其Cut off值为22.59 $\mu\text{g/L}$,敏感度为0.83,特异性为0.91。结论 ¹³¹I清甲治疗前sTg水平是影响分化型甲状腺癌术后患者临床疗效的重要因素。

[关键词] 分化型甲状腺癌;碘放射性同位素;促甲状腺激素;刺激性甲状腺球蛋白;临床疗效

Relationship between sTg level before ¹³¹I thyroid remnant ablation and curative effect of thyroid remnant ablation after DTC surgery

ZHAO Wei*, SHI Liangping, CHENG Yizhuang

(Department of Nuclear Medicine, Anhui Cancer Hospital, Hefei, Anhui, China, 230031)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between level of stimulating thyroglobulin (sTg) before ¹³¹I thyroid remnant ablation and curative effect of thyroid remnant ablation after differentiated thyroid cancer (DTC) surgery. **Methods** A total of 206 patients with DTC treated in Anhui Cancer Hospital were enrolled from January 2019 to June 2021. According to the results of ¹³¹I whole body radiography after treatment, they were divided into the success group ($n=122$) and the non-success group ($n=84$). The univariate analysis of influencing factors was conducted by χ^2 test, and then the indexes with statistical significance were given unconditional Logistic regression analysis. The diagnostic value of TSH and sTg before ¹³¹I thyroid remnant ablation for clinical curative effect after DTC surgery was analyzed by ROC curves. **Results** There was no significant difference in gender, age, body mass index or pathological types between the two groups ($P>0.05$), but there were significant differences in surgical methods, residual thyroid mass, metastases, and sTg level before ¹³¹I thyroid remnant ablation ($P<0.05$). The non-full thyroidectomy, residual thyroid mass >3.00 g, metastases before treatment and sTg level >20.00 $\mu\text{g/L}$ before ¹³¹I thyroid remnant ablation were independent risk factors of thyroid remnant ablation effect after surgery. The sTg level before ¹³¹I thyroid remnant ablation in the distant metastasis group was higher than that in the simple cervical lymph node metastasis group ($t=7.679, P<0.05$). AUC, Cutoff value, sensitivity, and specificity of sTg before ¹³¹I thyroid remnant ablation for predicting postoperative curative effect were 0.935, 22.59 $\mu\text{g/L}$, 0.83 and 0.91, respectively. **Conclusion** The sTg level before ¹³¹I thyroid remnant ablation is an important influencing factor affecting the clinical curative efficacy of patients with DTC after surgery.

[KEY WORDS] Differentiated thyroid cancer; Iodine radioisotope; Thyroid stimulating hormone; Stimulating thyroglobulin; Clinical curative effect

作者单位:安徽省肿瘤医院核医学科,安徽,合肥 230031

*通信作者:赵玮, E-mail:zhaodawei5360@163.com

甲状腺癌是内分泌系统常见恶性肿瘤之一,近年来,随着人们生活节奏及饮食习惯上的改变,其发病率逐渐升高。甲状腺癌中超过90%为分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC),其治疗及预后受到越来越多的关注^[1]。目前临床上主要是采用手术切除甲状腺组织治疗DTC,而术后通常采用放射性¹³¹I清除残余甲状腺癌组织,从而降低DTC的复发及转移^[2]。关于¹³¹I清甲治疗效果受多方面因素影响,有学者^[3]认为清甲距手术时间、术前血清促甲状腺激素(thyroid Stimulating Hormone, TSH)水平与疗效相关。近来也有研究^[4]认为¹³¹I清甲治疗前刺激状态下甲状腺球蛋白(stimulating thyroglobulin, sTg)及其动态变化对¹³¹I治疗后的远处转移具有较高预测价值。故本研究旨在探究影响¹³¹I清甲治疗效果的危险因素,及sTg与治疗效果的相关性,以期为提高临床治疗DTC疗效提供参考,报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2019年1月至2021年6月来安徽省肿瘤医院就诊的DTC患者206例,其中男性60例,女性146例。纳入标准:①符合DTC诊断标准^[5],均进行甲状腺切除手术,且术后经病理学确诊为DTC;②术后接受¹³¹I清甲治疗清除残余甲状腺组织;③¹³¹I清甲治疗前TSH>30 mU/L;④患者资料完整,且能按时进行复查。排除标准:①存在¹³¹I治疗禁忌症患者;②伴有其他恶性肿瘤患者;③存在较为严重的心、肝、肾功能障碍患者;④有垂体手术史或病变史患者;⑤头颈胸部既往接受过放疗患者;⑥妊娠或哺乳期患者。根据治疗后¹³¹I全身显影结果将其分为清甲成功组($n=122$)与清甲未成功组($n=84$)。患者均知情并同意参与本研究,研究经医学伦理委员会同意。

1.2 方法

1.2.1 ¹³¹I清甲治疗

治疗前,叮嘱患者术后停服甲状腺素片约3~4 w,保持低碘饮食,于¹³¹I清甲治疗前检测相关生化指标、心电图、颈部彩超等,并计算残留甲状腺大小,治疗前血清TSH水平升至30 mU/L以上。¹³¹I清甲治疗:¹³¹I首次剂量为100 mci,在空腹状态服用,服药后2 h开始进食,多饮食,将其置于辐射隔离病房观察,服药2 d后进行左甲状腺素替代治疗,¹³¹I治疗7 d后,行¹³¹I全身显像(美国GE infinia Hawkeye

SPECT仪),治疗6个月后评估治疗效果。

1.2.2 清甲治疗的效果评价

清甲治疗成功的标准^[6]:¹³¹I显像甲状腺床无放射性浓聚或停用T4后sTg<1 μg/L。

1.3 观察指标

①收集患者一般资料,包括性别、年龄、体质质量、病理类型、手术方式、残余甲状腺质量、治疗前是否存在转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平。②治疗前TSH、sTg水平检测:治疗前,取患者静脉血3 mL,离心后分离上层血清,采用电化学发光免疫分析法检测sTg、TSH水平。③多因素分析:以¹³¹I清甲是否成功(清甲成功=0,清甲未成功=1)作为因变量,将单因素中差异存在统计学意义的因素(手术方式、残余甲状腺估算质量、治疗前甲状腺外转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平)作为自变量,并进行赋值,手术方式(全切=0,其他=1),残余甲状腺估算质量(≤ 3.00 g=0, > 3.00 g=1),治疗前甲状腺外转移灶(无转移灶=0,有转移灶=1)、¹³¹I清甲治疗前sTg水平(≤ 20.00 μg/L=0, > 20.00 μg/L),将其纳入Logistic回归模型中,回归方程为 $\text{Logit}P=0.825 \times \text{手术方式} + 0.718 \times \text{残余甲状腺质量} + 0.597 \times \text{转移灶} + 0.684 \times \text{清甲治疗前sTg水平} + 0.257$ 。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 t 检验;计数资料以 n 或($\%$)表示,采用 χ^2 检验;多因素分析采用二元Logistic回归分析,并根据分析结果建立预测模型,¹³¹I清甲治疗前sTg水平对DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的诊断价值采用ROC曲线分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的单因素分析

两组性别、年龄、体质质量、病理类型比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),两组的手术方式、残余甲状腺估算质量、治疗前甲状腺外转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的多元Logistic分析

多因素分析结果显示,手术方式非全切,残余甲状腺质量 > 3.00 g,治疗前存在转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平 > 20.00 μg/L是术后¹³¹I清甲治疗效果的独立危险因素。见表2。

表1 DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的单因素分析

Table 1 Univariate analysis on the curative effect of ¹³¹I thyroid remnant ablation on patients after DTC surgery

因素	清甲成功组 (n=122)	清甲未成功组 (n=84)	χ^2 值	P值
性别(例)	男	31	2.002	0.157
	女	91		
年龄(岁)	>45	67	1.435	0.231
	≤45	55		
体质质量(kg/m ²)	>25.00	44	0.660	0.417
	≤25.00	78		
病理类型	乳头状癌	104	3.403	0.065
	滤泡状癌	18		
手术方式	全切	83	9.615	0.002
	其他	39		
残余甲状腺估算质量(g)	>3.00	38	17.723	<0.001
治疗前甲状腺外转移灶	无转移灶	59	6.220	0.013
	有转移灶	63		
¹³¹ I清甲治疗前sTg水平(μg/L)	>20.00	21	11.352	0.001
	≤20.00	101		

表2 DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的多元Logistic分析

Table 2 Multivariate Logistic analysis on the curative effect of ¹³¹I thyroid remnant ablation on patients after DTC surgery

相关因素	β值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
手术方式非全切	0.825	0.314	6.903	2.282	1.233~4.223	0.009
残余甲状腺质量>3.00g	0.718	0.236	9.256	2.050	1.291~3.256	0.002
治疗前存在转移灶	0.597	0.185	10.414	1.817	1.264~2.611	0.001
¹³¹ I清甲治疗前sTg水平>20.00 μg/L	0.684	0.211	10.509	1.982	1.311~2.997	0.001

2.3 单纯颈部淋巴结转移及远处转移与¹³¹I清甲治疗前sTg水平比较

远处转移组(n=37)¹³¹I清甲治疗前sTg水平(29.18±7.24)高于单纯颈部淋巴结转移组(n=84)(19.65±5.83),差异有统计学意义(t=7.679,P<0.05)。

2.4 ¹³¹I清甲治疗前sTg水平对DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的预测价值分析

清甲成功组治疗前sTg水平为(16.52±4.78)μg/L,清甲未成功组治疗前(28.54±6.39)μg/L,采用ROC曲线分析可知,¹³¹I清甲治疗前sTg水平对DTC患者术后¹³¹I清甲治疗效果的AUC为0.935,其Cut off值为22.59 μg/L,敏感度为0.83,特异性为0.91。见图1。

3 讨论

DTC是甲状腺癌的常见类型,30~45岁是DTC发病的高峰,近年来随着环境变化,人们生活节奏加快及饮食习惯改变等,发病率呈升高趋势^[7]。DTC分化程度较高,恶性程度较低,因此临床治疗

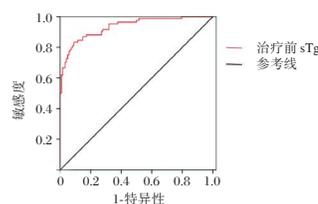


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

多采用手术切除,能取得较好的效果;但是由于颈部解剖结构复杂,会残留部分甲状腺及淋巴结,因而在术后会存在复发或转移,影响患者预后^[8]。随着技术的发展,目前术后采用¹³¹I产生的电离辐射清除残留甲状腺组织,辅助改善患者预后^[9]。而治疗效果除与个体差异相关,还与很多因素相关。有研究表明¹³¹I的治疗剂量与疗效相关,由于残余甲状腺体积接受的¹³¹I辐射量与其治疗剂量成正相关,随着¹³¹I的治疗剂量的增加,清除残余甲状腺组织的疗效越高^[10];还有研究表明^[11]残余甲状腺大小、手术方式、病程等与清甲效果相关;因而寻找与清甲疗效相关的影响因素对于临床具有重要意义。

有研究报道^[12]显示清甲成功率为43.0~87.2%,而本研究中,术后清甲成功率59.22%,与前人研究具有一致性。进行单因素分析,本研究中清甲成功组与未成功组在性别、年龄、体质指数、病理类型上无明显差异,而两组手术方式、残余甲状腺质量、有无转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平存在明显差异。多项研究表明^[13]首次清甲效果与病理类型无关,这与本研究结果具有一致性。还有研究表明^[14]年轻DTC患者的¹³¹I治疗缓解率很高,而本研究中年龄对治疗效果影响不大,这可能与本研究患者样本量较少,中年患者较多相关。进一步采用多因素分析发现,手术方式、残余甲状腺质量、有转移灶、¹³¹I清甲治疗前sTg水平>20.00 μg/L是影响术后临床疗效的独立危险因素。甲状腺的手术方式包括甲状腺全切术、近全切、次全切及腺叶切除,近年来多主张全切或近全切,以保证术后残余甲状腺组织尽量少。而残余甲状腺质量越少,甲状腺激素处于低水平状态,导致Tg水平随之下降,而TSH激素则代偿性升高^[15-16]。值得注意的是TSH能促进残余甲状腺组织的¹³¹I摄取率,因此治疗前须停用甲状腺激素2~4周待TSH升高到一定水平再行治疗^[17]。研究表明^[18]存在远处转移灶患者的预后较差,治疗缓解率低,而本研究中单纯颈部淋巴结转移患者¹³¹I清甲治疗前sTg水平

低于远处转移患者,提示¹³¹I清甲治疗前sTg水平对于远处转移可能具有较高价值。

Tg是甲状腺组织的滤泡上皮细胞分泌,被认为是DTC的重要肿瘤标志物,而sTg是在DTC术后未服或停用甲状腺激素状态下,TSH水平升至30 mIU/L以上时测定的血清Tg水平^[19]。有研究表明^[20]首次¹³¹I治疗前的sTg水平对判断DTC有无转移、转移部位、转移灶数目及直径均有一定预测价值。也有研究表明^[21]¹³¹I治疗前的sTg水平受到残余甲状腺组织、血清中TSH等因素影响,目前尚未无明确的最佳sTg界值点可用来预测治疗反应。本研究预测术后疗效时,¹³¹I清甲治疗前sTg对清甲治疗效果具有较高的预测价值,这有助于发现常规影像学检查无法发现的隐匿病灶。本研究中,¹³¹I清甲治疗前sTg预测疗效的Cut off值高于部分研究^[22]中清甲治疗后sTg诊断复发或转移的临界值10 μg/L,考虑这与少许残余甲状腺组织残留相关。

综上,手术方式、残余甲状腺质量、治疗前存转移灶、¹³¹I清甲治疗前高sTg水平是影响清甲疗效的重要因素,在治疗前应采取相应手段降低sTg水平来提高成功率。

参考文献

- [1] Jin S, Yang YT, Bao W, et al. Naming difficulties after thyroid stimulating hormone suppression therapy in patients with differentiated thyroid carcinoma: a prospective cohort study [J]. *Endocrine*, 2019, 65(2):327-337.
- [2] Rogozinski A, Daly AF, Reyes A, et al. Differentiated thyroid carcinoma in sporadic and familial presentations of acromegaly: A case series [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2020, 81(5):482-486.
- [3] Haytham, Bayadsi, Martin, et al. Invasiveness and Metastatic Aggressiveness in Small Differentiated Thyroid Cancers: Demography of Small Papillary Thyroid Carcinomas in the Swedish Population [J]. *World J Surg*, 2020, 44(2):461-468.
- [4] 卢承慧,李娇,刘新峰,等.首次¹³¹I治疗后淋巴结显影伴治疗前刺激性Tg阴性的分化型甲状腺癌的治疗反应及影响因素分析[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2020, 40(1):21-26.
- [5] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer [J]. *Thyroid*, 2015, 26:1.
- [6] 武健,李兆全,韩雪莲. I(清甲)对分化型甲状腺癌术后复发的影响研究[J]. *实用癌症杂志*, 2015, 30(10):1518-1520.
- [7] Liu C, Lv H, Li Q, et al. Effect of thyrotropin suppressive therapy on heart rate variability and QT dispersion in patients with differentiated thyroid cancer [J]. *Medicine*, 2020, 99(28):e21190.
- [8] 王芳,王越,刁宏翠,等.分化型甲状腺癌术后再次~(131)I治疗前sTg与sTg/sup-Tg对淋巴结转移的预测价值[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28, 296(14):58-62.
- [9] Chu YH, Wirth LJ, Farahani AA, et al. Clinicopathologic features of kinase fusion-related thyroid carcinomas: an integrative analysis with molecular characterization [J]. *Modern Pathol*, 2020, 33(12):2458-2472.
- [10] 马晓君,吴丽娜,刘飞,等.分化型甲状腺癌患者术后放射性¹³¹I治疗效果的影响因素分析[J]. *实用癌症杂志*, 2016, 31(9):1528-1530.
- [11] Barres B, Kelly A, Kwiatkowski F, et al. Stimulated Thyroglobulin and Thyroglobulin Reduction Index Predict Excellent Response in Differentiated Thyroid Cancers [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(8):3462-3472.
- [12] 王任飞,高再荣,欧阳伟,等.分化型甲状腺癌转移灶摄碘能力与¹³¹I清灶疗效关系的回顾性多中心研究[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2020, 40(6):334-338.
- [13] 王鑫,宋清斌,徐冬冬,等.术后首次放射性碘治疗时机的选择对分化型甲状腺癌早期疗效的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2019, 48(4):359-362+369.
- [14] 李雪蓉,肖雄,张晶晶,等.分化型甲状腺癌术后~(131)I清甲治疗前血清促甲状腺激素水平最佳区间的确定[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(15):110-113.
- [15] 黄际远,戴庆靖,苏娟,等.腺叶切除不全分化型甲状腺癌术后¹³¹I治疗选择[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2021, 34(2):143-149.
- [16] Giovannella L. Circulating biomarkers for the detection of tumor recurrence in the postsurgical follow-up of differentiated thyroid carcinoma [J]. *Curr Opin Oncol*, 2020, 32(1):7-12.
- [17] 马晓君,吴丽娜,刘飞,等.分化型甲状腺癌患者术后放射性¹³¹I治疗效果的影响因素分析[J]. *实用癌症杂志*, 2016, 31(9):1528-1530.
- [18] 彭庆,郑容,耿建华,等.首次~(131)I治疗前刺激性甲状腺球蛋白在预测分化型甲状腺癌术后转移中的价值[J]. *中国医学装备*, 2020, 17(4):61-65.
- [19] 李成乾,王国强,王叙馥,等.首次¹³¹I治疗前刺激性Tg对分化型甲状腺癌转移的预测价值[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2019, 39(7):395-399.
- [20] 刘丽娜,张歆玥,刘斌,等.首次¹³¹I治疗前刺激性Tg对儿童及青少年分化型甲状腺癌疗效的预测价值[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2020, 40(6):324-328.
- [21] 刘杰蕊,梁军,林岩松.分化型甲状腺癌¹³¹I治疗前刺激性Tg与最佳治疗反应的关系[J]. *中国癌症杂志*, 2019, 29(2):125-130.
- [22] Rogozinski A, Daly AF, Reyes A, et al. Differentiated thyroid carcinoma in sporadic and familial presentations of acromegaly: A case series [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2020, 81(5):482-486.

2型糖尿病患者 FGF-21、OC 及 ucOC 水平与血脂代谢的关系

赵春楠¹ 张泽智² 苏东峰³ 耿学丽^{1*}

[摘要] **目的** 分析2型糖尿病(T2DM)患者成纤维细胞生长因子-21(FGF-21)、骨钙素(OC)、羧化不全骨钙素(ucOC)变化情况与血脂代谢指标的关系。**方法** 选取2019年3月至2020年9月承德医学院附属医院收治的72例T2DM患者纳入T2DM组,选取同期95例体检健康的人员纳入健康组,比较两组血脂代谢指标总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和FGF-21、OC、ucOC水平。根据是否合并血脂代谢异常将T2DM组分为合并组及未合并组,比较两组FGF-21、OC、ucOC水平,并分析上述因子与血脂代谢指标的相关性。**结果** T2DM组TG、TC、LDL-C、FGF-21水平明显高于健康组,HDL-C、OC、ucOC水平明显低于健康组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。T2DM组中,30例合并血脂代谢异常(合并组),42例未合并血脂代谢异常(未合并组)。合并组FGF-21水平明显高于未合并组,OC、ucOC水平明显低于未合并组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性结果显示,FGF-21与TC、TG呈正相关,OC、ucOC与TG、TC呈负相关($P < 0.05$)。**结论** FGF-21、OC、ucOC在T2DM患者中呈异常表达,且与T2DM患者血脂代谢异常密切相关,上述因子对T2DM发生及病情监测具有重要意义。

[关键词] 2型糖尿病;成纤维细胞生长因子-21;骨钙素;羧化不全骨钙素;血脂代谢

Relationship between FGF-21, OC and ucOC levels and lipid metabolism in patients with type 2 diabetes

ZHAO Chunnan¹, ZHANG Zezhi², SU Dongfeng³, GENG Xueli^{1*}

(1. Department of Laboratory Medicine, Headquarters, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000; 2. Department of Laboratory Medicine, South Campus, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000; 3. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of fibroblast growth factor-21 (FGF-21), osteocalcin (OC) and incomplete carboxylated osteocalcin (ucOC) in patients with type 2 diabetes and its relationship with lipid metabolism. **Methods** 72 T2DM patients admitted to the Affiliated Hospital of Chengde Medical College from March 2019 to September 2020 were enrolled into the T2DM group, 95 healthy persons who underwent physical examination during the same period were selected as the health group. The blood lipid metabolism indexes [total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels], FGF-21, OC, ucOC levels between the two groups were compared. The T2DM group was divided into the combined group and the non-combined group according to whether there was abnormal lipid metabolism, and FGF-21, OC, ucOC levels between the two groups were

基金项目:承德市科技支撑计划项目(201904A034)

作者单位:1.承德医学院附属医院本部检验科,河北,承德 067000

2.承德医学院附属医院南院区检验科,河北,承德 067000

3.承德医学院附属医院内分泌科,河北,承德 067000

*通信作者:耿学丽, E-mail: gengxueli1127@163.com

compared, and the correlation between the above factors and lipid metabolism indexes was analyzed. **Results** The levels of TG, TC, LDL-C and FGF-21 in the T2DM group were significantly higher than those in the healthy group, while the levels of HDL-C, OC and ucOC were significantly lower than those in the healthy group, and difference was statistically significant ($P<0.05$). In the T2DM group, 30 patients had abnormal blood lipid metabolism (combined group), and 42 patients had no abnormal blood lipid metabolism (non-combined group). The level of FGF-21 in the combined group was significantly higher than that in the non-combined group, and the levels of OC and ucOC were significantly lower than those in the uncombined group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The correlation results showed that FGF-21 was positively correlated with TC and TG, while DO and ucOC were negatively correlated with TG and TC ($P<0.05$). **Conclusion** FGF-21, OC, and ucOC are abnormally expressed in T2DM patients, and are closely related to abnormal blood lipid metabolism in T2DM patients. The above factors are of great significance to the occurrence and disease monitoring of T2DM.

[**KEY WORDS**] Type 2 diabetes mellitus; Fibroblast growth factor-21; Osteocalcin; Carboxylated incomplete osteocalcin; Blood lipid metabolism

2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)多好发于成年人,临床以慢性高血糖为主要特征,多伴有蛋白质、脂肪代谢紊乱。目前有关T2DM的病因尚未十分明确,但有研究发现,内脏脂肪积蓄导致糖脂代谢紊乱、胰岛素抵抗是诱发糖尿病、冠心病等多种疾病的重要病因^[1]。成纤维细胞生长因子-21(Fibroblast growth factor-21, FGF-21)是最新发现的脂肪细胞因子,具有调节组织细胞糖脂代谢的作用^[2]。近期研究发现,成骨细胞分化可受高糖影响,导致骨髓腔内脂肪含量增加,进而影响骨质量^[3]。骨钙素(Osteocalcin, OC)是一种非特异性胶原骨基质蛋白,在维生素K依赖性羧化酶作用下,所有谷氨酸残基未羧化氨基酸残基可成为羧化完全骨钙素及羧化不全骨钙素(Incomplete carboxylated osteocalcin, ucOC)^[4]。OC、ucOC不仅参与了骨代谢,亦是调解糖脂代谢的重要参与因子^[5]。本研究旨在探讨T2DM患者FGF-21、OC、ucOC变化情况以及与血脂代谢指标的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年3月至2020年9月承德医学院附属医院收治的72例T2DM患者纳入T2DM组。纳入标准:①均符合T2DM相关诊断标准^[6];②年龄>18岁,且无精神疾病史;③具备完整的临床资料;④近6个月内无调脂类药物或影响血脂水平药物服用史。排除标准:①合并肿瘤、感染性疾病者;②依从性差,中途退出者;③存在自身免疫性疾病者。其中男34例,女38例,平均年龄(51.94±

13.4)岁。同期选择95例体检健康的人员纳入健康组,其中男45例,女50例,平均年龄(48.63±10.65)岁。两组资料性别、年龄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,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血脂代谢指标检测

两组受检者均隔夜禁食12~14h后,于次日清晨空腹进行葡萄糖耐量试验,并抽取3mL空腹静脉血,采用全自动生化仪检测总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein cholesterol-HDL-C)水平。参考范围^[7]:TC≥5.18 mmol/L或TG≥1.70 mmol/L或LDL-C≥3.37 mmol/L或HDL-C≥1.20 mmol/L即为血脂代谢异常。T2DM组血脂水平符合上述标准则为合并血脂代谢异常(合并组),反之则为未合并血脂代谢异常(未合并组)。

1.2.2 FGF-21、OC、ucOC检测

收集各受检者清晨空腹静脉血5mL,置于未加抗凝剂的离心管中,3 500 r/min离心(离心半径8cm)10 min,分离血清,送检或低温保存。采用酶联免疫吸附法检测FGF-21、ucOC的水平,采用赛默飞公司提供的Multiskan FC型全自动酶联仪及其配套试剂盒;采用电化学发光法检测OC的水平,采用罗氏Cobas 801及其配套试剂盒。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量

资料以($\bar{x} \pm s$)描述,行 *t* 检验; FGF-21、OC、ucOC 与各血脂代谢指标相关性使用 Pearson 相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血脂代谢指标、FGF-21、OC、ucOC 水平比较

T2DM 组 TG、TC、LDL-C、FGF-21 水平明显高于健康组, HDL-C、OC、ucOC 水平明显低于健康

组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 T2DM 组患者合并血脂代谢异常与未合并者血脂代谢者 FGF-21、OC、ucOC 水平比较

T2DM 组中,合并血脂代谢异常者 30 例(合并组),未合并者 42 例(未合并组)。合并组 FGF-21 水平明显高于未合并组, OC、ucOC 水平明显低于未合并组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组 FGF-21、OC、ucOC 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood lipid metabolism indexes, FGF-21, OC and ucOC levels between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	FGF-21 (ng/mL)	OC (ng/mL)	UcOC (ng/mL)
T2DM 组	72	5.61±0.56	3.15±0.54	1.12±0.11	3.87±0.71	2.35±0.37	17.34±4.95	0.95±0.16
健康组	95	3.41±0.32	1.15±0.06	2.65±0.23	2.24±0.49	1.13±0.11	23.25±5.28	1.64±0.21
<i>t</i> 值		32.026	35.842	52.084	17.540	30.438	7.358	23.229
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 T2DM 组患者合并血脂代谢异常与未合并者 FGF-21、OC、ucOC 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of FGF-21, OC, ucOC levels between patients in T2DM group with abnormal blood lipid metabolism and those without ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FGF-21 (ng/mL)	OC (ng/mL)	ucOC (ng/mL)
合并组	30	3.36±0.37	12.63±3.48	0.28±0.03
未合并组	42	1.63±0.11	20.71±4.91	1.43±0.31
<i>t</i> 值		28.651	7.727	20.211
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 FGF-21、OC、ucOC 与各血脂代谢指标相关性分析

相关性分析显示, FGF-21 与 TC、TG、LDL-C、HDL-C 呈正相关; OC、ucOC 与 TG、TC 呈负相关, 与 LDL-C、HDL-C 呈正相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 FGF-21、OC、ucOC 与各血脂代谢指标相关性分析

Table 3 Correlation analysis of FGF-21, OC, ucOC and various blood lipid metabolism indexes

指标	FGF-21		OC		ucOC	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
TC	0.277	<0.05	-0.340	<0.05	-0.238	<0.05
TG	0.512	<0.05	-0.608	<0.05	-0.486	<0.05
LDL-C	0.141	0.132	0.098	0.203	0.157	0.096
HDL-C	0.069	0.214	0.123	0.132	0.164	0.087

3 讨论

T2DM 是由于胰岛素抵抗与胰岛 β 细胞分泌功能障碍所致的代谢综合征。长期高糖毒性可导致胰腺组织上皮细胞反复破坏、修复、增生或成为癌变的诱因^[7]。既往研究发现, T2DM 患者脂代谢

异常的患病率明显较正常人群高,慢性高脂毒性会一定程度损伤胰腺细胞,进而诱发急性或慢性胰腺炎^[8]。T2DM 患者存在多种血脂代谢紊乱,而血脂异常是 T2DM 患者发生动脉粥样硬化的独立危险因素^[9]。因此,防治 T2DM 血脂代谢异常对患者具有重要意义。

杨文聪等^[10]证实, FGF-21 可通过过氧化物酶体增殖活化受体 γ 、信号转导等多种途径发挥降低体质量、调节血脂、改善胰岛素抵抗等多种生物学作用。Nguyen 等^[11]通过动物研究发现,使用 FGF-21 持续给糖尿病小鼠输注可提高其胰岛素水平,改善血糖情况。Rosenstock 等^[12]则发现, FGF-21 在脂肪肝、高三酰甘油血症患者中呈高表达。本研究中,与健康人群相比, T2DM 患者 FGF-21 水平明显增高,尤其是合并血脂代谢异常者。推测其原因可能 T2DM 患者存在胰岛素抵抗,血脂代谢异常者更为严重,机体可能在胰岛素敏感性降低的状态下,血糖升高,进而导致血循环中 FGF-21 代偿性增高^[13-14]。进一步相关性分析发现 FGF-21 与 TC、TG 均呈正相关关系,说明 FGF-21 可能参与 T2DM 患者的血脂代谢调控。

T2DM 患者存在胰岛素抵抗与胰岛素相对不足,成骨细胞 Twist 的表达抑制被削弱, Twist 对 Runt 相关转录因子活性的抑制相对增强,进而导致成骨细胞增殖分化受阻, OC 合成分泌下降^[15]。同时胰岛素受体通过一系列分子信号途径可以增强骨吸收、酸化骨基质,进而导致骨钙素脱羧形成 ucOC,调节糖代谢、脂代谢等能量代谢。由于

ucOC与羟磷灰石亲和力很低,更易释放进入血液循环。已有研究证实,血脂代谢异常患者血清OC水平会降低^[16]。郝向波等^[17]研究显示,低ucOC水平与T2DM发病风险有关。本研究中,T2DM组OC、ucOC水平均低于健康组,且合并血脂代谢异常的T2DM患者OC、ucOC水平更低,与既往研究报道相符^[18]。结果表明,血清OC、ucOC可能是T2DM发病的危险因素,在T2DM合并血脂代谢异常发生、发展中具有重要作用。动物实验发现,将小鼠骨钙素基因敲除可导致其胰岛素分泌量及血浆浓度明显下降,且多伴有脂代谢紊乱;给予实验小鼠皮下泵入ucOC,小鼠血糖明显下降,认为ucOC对糖代谢具有一定调节作用^[19]。本研究相关性分析亦显示,OC、ucOC与TG、TC均存在显著负相关,提示血清OC、ucOC降低与2型糖尿病患者血脂代谢异常有关。但Nguyen等^[20]发现,T2DM患者OC与其血脂代谢指标无明显相关性。考虑可能由于纳入样本量、患者自身体质差异等因素有关。

综上所述,FGF-21、OC、ucOC在T2DM患者中呈异常表达,且与T2DM患者血脂代谢异常密切相关,上述因子对T2DM发生及病情监测具有重要意义。

参考文献

- [1] 韩晨鹏,徐清芳,张美华,等. 2型糖尿病患者血清抵抗素、VEGF、糖化白蛋白联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2): 128-131.
- [2] 陈镡,赵妍妍,梁向艳,等. 成纤维细胞生长因子21抑制脂肪细胞瘦素基因表达的分子机制[J]. 生理学报, 2020, 72(2): 175-180.
- [3] Malone JJ, Hansen BC. Does obesity cause type2 diabetes mellitus (T2DM)? Or is it the opposite? [J]. *Pediatr Diabet*, 2019, 20(1): 254-256.
- [4] 廖婧,冯正平. 骨钙素对糖、脂代谢的影响及分子机制的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(3): 426-430.
- [5] 张雪,郝亚荣,唐凤娟. 松果菊苷对2型糖尿病小鼠血脂代谢的影响[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(3): 53-56.
- [6] 赵冉,韩辉,于春晓,等. 绝经后2型糖尿病患者性激素水平和血脂及内脏脂肪面积的关系[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2019, 35(11): 950-954.
- [7] Tavakol M, Vaughan TJ. The structural role of osteocalcin in bone biomechanics and its alteration in Type-2 Diabetes [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 148-149.
- [8] 薛立芝,谭焕腾,张思泉,等. 成纤维细胞生长因子21在2型糖尿病视网膜病变患者血清中的水平及其临床意义[J]. 中华全科医学, 2020, 18(6): 959-961.
- [9] 刘阳,王红,袁彬彬,等. 骨钙素基因多态性与2型糖尿病糖、脂及骨代谢指标的相关性[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 40(2): 60-65.
- [10] 杨文聪,尹建蓝,黄芳,等. 冠心病患者血清FGF21、PPAR γ 水平与冠状动脉狭窄程度的相关性[J]. 广东医学, 2019, 40(12): 159-161.
- [11] Nguyen M, Darwish L, Major-Orfao C, et al. Relationships Between Serum Osteocalcin, Brain Derived Neurotrophic Factor and Subjective Stress in People With and Without Depression and Type 2 Diabetes Mellitus [J]. *Biolog Psych*, 2020, 87(9): S437-S438.
- [12] Rosenstock M, Ayalon M, Liu Y, et al. BIO89-100, a novel PEG-FGF21 analogue, is efficacious following weekly and every 2-week subcutaneous dosing in spontaneous diabetic cynomolgus monkeys [J]. *J Hepatol*, 2019, 23(1): 25-27.
- [13] Ippai K, Sayuri T, Toshitsugu S. The Association Between Osteocalcin and Chronic Inflammation in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus [J]. *Calcif Tissue Internat*, 2018, 103(10): 1048-1049.
- [14] 朱宗国,杨洪余,黄澜,等. 糖尿病患者血清microRNA-152表达水平与血脂代谢、胰岛素抵抗的相关性[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(8): 1-6.
- [15] Funakoshi S, Yoshimura K, Hirano S, et al. Undercarboxylated osteocalcin correlates with insulin secretion in Japanese individuals with diabetes [J]. *Diabet Metab Syndr*, 2020, 12(1): 146-148.
- [16] 李杰,上官海燕,陈晓倩,等. 辛伐他汀对更年期糖尿病患者骨密度、骨代谢影响的前瞻性随机对照研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(20): 2188-2192.
- [17] 郝向波,房辉,李玉凯,等. 2型糖尿病男性患者血清羧化不全骨钙素水平及视网膜病变的相关性[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(2): 113-117.
- [18] Martinez TC, Weber D, Weikert C, et al. Methionine restriction prevents onset of type 2 diabetes in NZO mice by FGF21 secretion [J]. *Diabetol Stoffw*, 2019, 14(1): 56-58.
- [19] 夏瑞瑞,章霞,钟礼信,等. 节律紊乱与苯影响小鼠肝脂代谢的独立和交互作用研究[J]. 毒理学杂志, 2021, 35(2): 97-103.
- [20] Nguyen MM, Anita NZ, Darwish L, et al. Serum osteocalcin is associated with subjective stress in people with depression and type 2 diabetes [J]. *Psychoneuroendocrinol*, 2020, 122(23): 147-149.

Angiojet 血栓清除与导管取栓对急性下肢缺血患者 PLT、CR、PF 的影响

刘艳* 孙立巍 刘海勇

【摘要】 目的 研究 Angiojet 血栓清除与导管取栓对急性下肢缺血患者血小板计数(PLT)、血肌酐(CR)、铁蛋白(PF)的影响。方法 选取2018年9月至2021年9月沧州市人民医院收治的102例急性下肢缺血患者,根据不同治疗方式分为研究组($n=52$, Angiojet 血栓清除与导管取栓后 CDT 治疗)和对照组($n=50$, CDT 治疗),两组患者根据血栓清除率另分为Ⅲ级、Ⅱ级、Ⅰ级亚组。比较两组临床疗效、血栓清除率、治疗前后 PLT、CR、PF 水平及并发症。结果 研究组总有效率(92.31%)高于对照组(78.00%),差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组Ⅲ级血栓清除率38例、Ⅱ级血栓清除率9例、Ⅰ级血栓清除率5例;对照组Ⅲ级血栓清除率19例、Ⅱ级血栓清除率21例、Ⅰ级血栓清除率10例。研究组血栓清除率效果明显优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后两组 PLT、PF 水平均降低,且对照组低于研究组,CR 水平均升高,且对照组高于研究组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组并发症率为11.54%,对照组并发症率为18.00%。两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 Angiojet 血栓清除与导管取栓治疗急性下肢缺血的疗效显著,可帮助患者快速清除血栓,恢复血液供应,且术后对患者 PLT、CR、PF 的影响较小,具有一定安全性。

【关键词】 急性下肢缺血; Angiojet 血栓清除; CDT; PLT; CR; PF

Effects of Angiojet thrombus removal and catheter thrombectomy on PLT, CR and PF in acute lower limb ischemia

LIU Yan*, SUN Liwei, LIU Haiyong

(Department of Vascular Surgery, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061001)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the effects of Angiojet thrombus removal and catheter thrombectomy on Platelet (PLT), serum creatinine (CR), ferroprotein (PF) in patients with acute lower limb ischemia. **Methods** 102 patients with acute lower limb ischemia admitted to Cangzhou People's Hospital from September 2018 to September 2021 were selected, according to different treatment methods, they were divided into the study group ($n=52$, CDT treatment after Angiojet thrombectomy and catheter thrombectomy) and the control group ($n=50$, CDT treatment). The two groups were divided into grade Ⅲ, grade Ⅱ and grade Ⅰ subgroups according to the thrombus clearance rate. The clinical efficacy, thrombosis clearance rate, PLT, CR, PF levels and complications before and after treatment were compared between the two groups. **Results** The total clinical efficacy of the study group (92.31%) was higher than that of the control group (78.00%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). In the study group, the grade Ⅲ thrombosis clearance rate was 38 cases, grade Ⅱ was 9 cases and grade Ⅰ was 5 cases. In the control group, there were 19 cases of grade Ⅲ, 21 cases of grade Ⅱ and 10 cases of grade Ⅰ thrombus clearance. The thrombus clearance effect of the study group was significantly better than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, PLT and PF levels in the two groups were decreased, and the control group was lower than the

基金项目:沧州市科技支撑计划项目(172302152)

作者单位:沧州市人民医院血管外科,河北,沧州 061001

*通信作者:刘艳, E-mail:puwailiu@163.com

study group, CR level was all increased, and the control group was higher than the study group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The complication rate was 11.54% in the study group and 18.00% in the control group. There was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Angiojet thrombectomy and catheter thrombectomy have significant curative effects in the treatment of acute lower extremity ischemia, which can help patients to quickly remove thrombus and restore blood supply.

[KEY WORDS] Acute lower limb ischemia; Angiojet thrombus clearance; CDT; PLT; CR; PF

急性下肢缺血属于血管外科极为常见的血管急重症,多发生于既往存在下肢动脉狭窄病史的患者^[1]。急性下肢缺血起病急、患者缺血严重、病情进展迅速,如果没有得到及时有效的治疗,容易发展为下肢缺血性坏死,造成截肢,更为严重者甚至会引起生命危险^[2]。因此,在对患者明确诊断后需要及时进行治疗,通过取栓及溶栓,帮助患者恢复下肢的血液供应,挽救患者的生命^[3]。目前临床上针对急性下肢缺血主要采取机械性血栓清除、导管取栓及导管接触性溶栓(Catheter-Directed Thrombolysis, CDT)治疗,Angiojet血栓清除术以其显著的疗效及较高的安全性被广泛应用于临床治疗中^[4-5]。本文主要研究Angiojet血栓清除与导管取栓对急性下肢缺血患者血小板计数(Platelet, PLT)、血肌酐(Serum creatinine, CR)、铁蛋白(Ferroprotein, PF)的影响,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9月沧州市人民医院收治的102例急性下肢缺血患者,根据不同治疗方式分为研究组($n=52$, Angiojet血栓清除与导管取栓后CDT治疗)和对照组($n=50$, CDT治疗),两组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

纳入标准:①均满足急性下肢缺血的诊断标准^[6],且经影像学检查及专科检查确诊;②病历资料完整无缺损;③急性下肢动脉血栓形成;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有血液系

统或传染性疾病者;②存在溶栓禁忌症或发生肺栓塞者;③有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对手术不能耐受者。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 治疗方案

两组均在术前行彩超或CTA检查明确闭塞部位。对照组行CDT治疗,步骤如下:患者仰卧位,常规消毒铺巾后予以局麻,将滤器放置在血栓顶端,利用Seldinger技术穿刺患侧股动脉,置入导管鞘,在J型泥鳅导丝引导下前行直至血栓附近,换为Unifuse溶栓导管,使之头端置于滤器顶端,侧孔埋入血栓内。经Unifuse溶栓导管持续泵入尿激酶100万U/d,肝素抗凝8000U/d,进行分段溶栓,待血栓完全溶解后,将滤器取出。研究组行Angiojet血栓清除与导管取栓后CDT治疗,步骤如下:患者仰卧位,常规消毒铺巾后予以局麻,利用Seldinger技术穿刺健侧股动脉,“翻山”至患侧股动脉,开通闭塞动脉,植入6F AngioJet™血栓抽吸导管(美国Boston Scientific公司),反复抽吸血栓部位。并使用尿激酶25万U加0.9%生理盐水稀释至50mL,将AngioJet机调节至喷射模式,向血栓内喷射尿激酶进行溶栓处理。等待15min,再次调回抽吸模式,进行血栓的抽吸。将5000U的低分子肝素加入0.9%生理盐水稀释至500mL,进行水化处理。抽吸完毕后立即造影,对血栓清除率进行评估,对于清除率仍 $< 90\%$ 的患者进行CDT处理。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效^[7]

①痊愈:治疗后患者肢体远端脉搏恢复至正

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

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

组别	n	平均年龄(岁)	性别(男/女)	BMI(kg/m ²)	病程(天)	病变部位		
						髂动脉	股腘动脉	膝下动脉
研究组	52	50.91±6.29	32/20	20.33±2.95	5.15±2.26	18(34.62)	23(44.23)	11(21.15)
对照组	50	49.59±6.34	33/17	19.59±3.88	5.78±2.57	15(30.00)	25(50.00)	10(20.00)
t/ χ^2 值		1.055	0.220	1.087	1.316		0.365	
P值		0.294	0.639	0.280	0.191		0.833	

常,肌肉皮肤无坏死,无运动感觉障碍;②良好:治疗后患者肢体远端脉搏恢复,但相较于侧较弱,症状消失;③一般:治疗后患者肢体血运部分恢复,能够代偿;④无效:截肢、截趾甚至死亡。总有效率= $[(痊愈+良好+一般)/总例数] \times 100\%$ 。

1.3.2 血栓清除率^[8]

血栓清除率($\%$)= $[(治疗前血栓体积-治疗后血栓体积)/治疗前血栓体积] \times 100\%$ 。两组患者根据血栓清除率进行分组:血栓清除率 $>90\%$ 为Ⅲ级,50%~90%为Ⅱ级, $<50\%$ 为Ⅰ级。

1.3.3 PLT、CR、PF水平

抽取患者治疗前及治疗15天后清晨空腹静脉血各5 mL,置于肝素锂抗凝管中,在低温离心机中离心(半径:13 cm,转数:3 000 r/min,时间:15 min)。采用酶联免疫法检测PLT、CR、PF水平。

1.3.4 并发症

观察两组并发症,包括皮下出血、假性动脉瘤、切口感染、骨筋膜室综合症等。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0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,经 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

研究组总有效率(92.31%)显著高于对照组(78.00%),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of clinical efficacy between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	痊愈	良好	一般	无效	总有效率
研究组	52	23(44.23)	16(30.77)	9(17.31)	4(7.69)	48(92.31)
对照组	50	18(36.00)	11(22.00)	10(20.00)	11(22.00)	39(78.00)
χ^2 值						4.160
P 值						0.041

2.2 两组血栓清除率比较

研究组Ⅲ级血栓清除率38例、Ⅱ级血栓清除率9例、Ⅰ级血栓清除率5例;对照组Ⅲ级血栓清除率19例、Ⅱ级血栓清除率21例、Ⅰ级血栓清除率10例。研究组血栓清除率效果明显优于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组患者血栓清除率比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of thrombus clearance rate between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	血栓清除率($\%$)		
		Ⅲ级	Ⅱ级	Ⅰ级
研究组	52	38(70.08)	9(17.31)	5(9.62)
对照组	50	19(38.00)	21(42.00)	10(20.00)
χ^2 值			12.766	
P 值			0.002	

2.3 两组PLT、CR、PF水平比较

治疗前两组PLT、CR、PF水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗15天后两组PLT、PF水平均降低,且对照组低于研究组,CR水平均升高,且对照组高于研究组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组并发症比较

研究组并发症率为11.54%,对照组并发症率为18.00%,比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

表5 两组并发症情况比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of complications between 2 groups [$n(\%)$]

组别	n	皮下出血	假性动脉瘤	切口感染	骨筋膜室综合症	并发症率
研究组	52	3(5.77)	1(1.92)	2(3.85)	0(0.00)	6(11.54)
对照组	50	4(8.00)	1(2.00)	3(6.00)	1(2.00)	9(18.00)
χ^2 值						0.849
P 值						0.357

3 讨论

急性肢体缺血是一种血管外科急症,发病时患者肢体血流灌注突然减少,对其生命造成威胁。相

表4 两组FIB、PLT、DD水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of FIB, PLT and DD levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PLT($\times 10^9/L$)		CR(mmol/L)		PF(ng/mL)	
		治疗前	治疗15天后	治疗前	治疗15天后	治疗前	治疗15天后
研究组	52	125.26 \pm 9.84	109.45 \pm 12.65 ^a	60.59 \pm 5.48	98.56 \pm 10.33 ^a	95.86 \pm 5.94	80.45 \pm 4.98 ^a
对照组	50	123.87 \pm 9.66	100.84 \pm 12.42 ^a	61.21 \pm 5.44	121.85 \pm 10.84 ^a	96.15 \pm 6.84	74.15 \pm 4.17 ^a
t 值		0.720	3.467	0.573	11.111	0.229	6.913
P 值		0.473	0.001	0.568	<0.001	0.819	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

关研究显示,急性血栓形成及动脉栓塞是急性肢体缺血主要的发病原因^[9-10]。急性肢体缺血引起的死亡率和截肢率较高,据权威数据报道,急性下肢缺血的发病率是上肢的20倍,30天病死率高达15%,截肢率高达10%~30%^[11-12]。目前临床上对于急性下肢缺血的治疗多为CDT治疗、切开取栓、血栓抽吸术等治疗,并无统一术式,其中CDT能够快速开通患者堵塞的血管,保护其瓣膜功能并减少动脉出现缺血性坏死的发生率^[13]。但有国外相关研究报告,CDT术后患者卧床时间长,出血风险较高,对于是否能够广泛推广该术式存在一定争议^[14]。

随着血管腔内技术的不断发展,经皮机械清除血栓被临床证实能够较好地清除血管堵塞率^[15]。其中,Angiojet作为新型腔内血栓清除机械,利用伯努利原理,通过高速喷射的液体击碎血栓并在导管抽吸侧孔处产生负压,从而将击碎的血栓抽出体外,具有快速清除血栓、恢复血流的作用,已经被广泛应用于急性肢体缺血的治疗^[16]。但有相关国内外文献报道,单纯的机械治疗并不能得到满意的血栓清除效果^[17]。本文研究结果说明Angiojet血栓清除与导管取栓后CDT治疗的效果显著,能够快速恢复患者血运、改善感觉障碍等症状,这一结果与既往研究报道相符合^[18-19]。文中结果还显示,研究组血栓清除率效果明显优于对照组,由此可见联合应用对处理患者血栓堵塞更具有优势,更能够达到清栓效果。分析缘由为:CDT虽然能够快速开通堵塞血管、保护瓣膜功能和减少动脉缺血性坏死的发生率,但患者卧床时间较长,伴有较高的出血风险,而Angiojet血栓清除与导管取栓疗效快,且没有溶栓潜在性大出血等风险,安全性高。在手术过程中,由于机械抽吸装置在抽吸中需要调节至喷射模式,高速的喷射水流会导致患者的红细胞会受到一定程度的损害,造成PLT、PF水平降低,还会引起CR水平升高,加重患者肾脏的损害^[20]。本文研究结果说明Angiojet血栓清除与导管取栓后CDT治疗后能够减少患者失血并减轻对肾脏的损害,从而提高患者术后的舒适度。文中结果显示联合应用后患者并未出现严重并发症,说明其安全性较高。

综上所述,Angiojet血栓清除与导管取栓后CDT治疗急性下肢缺血患者的临床疗效显著,能够帮助患者快速清除血栓、恢复血液供应,且该手术术后对患者PLT、CR、PF的影响较小,并未增加患者的并发症率,说明其具有一定安全性,值得在

临床中推广使用。

参考文献

- [1] 刘浩,董智慧,符伟国.急性下肢缺血诊断和治疗[J].中国实用外科杂志,2020,40(12):1381-1384.
- [2] Sundeep D, Nikhil D, Harvey S, et al. A retrospective review of patients with massive and submassive pulmonary embolism treated with AngioJet rheolytic thrombectomy with decreased complications due to changes in thrombolytic use and procedural modifications[J]. Vascular, 2018,26(2):163-168.
- [3] 孙立巍,刘艳,梁增辉. AngioJet血栓抽吸装置联合CDT对急性下肢动脉缺血的疗效研究[J].中国循证心血管医学杂志,2019,11(2):205-208.
- [4] 陈粹,黄国飞,周丹.服药信念与抗凝治疗依从性在下肢深静脉血栓清除术后患者的应用[J].血栓与止血学,2020,26(1):108-109.
- [5] Krajcer Z, Costello BT. Editorial for: Outcomes after endovascular mechanical thrombectomy in occluded vascular access used for dialysis purposes[J]. Cathet Card Interv, 2020,95(4):765-766.
- [6] 公茂峰,顾建平,陈国平,等. AngioJet血栓清除术在急性下肢动脉缺血治疗中的应用[J].介入放射学杂志,2017,26(6):509-513.
- [7] 毛由军,李承龙,雷锋锐,等. AngioJet机械性血栓抽吸系统联合CDT治疗急性下肢深静脉血栓的疗效分析[J].中华医学杂志,2017,97(34):2687-2690.
- [8] Miroslav B. Mechanical atherothrombectomy in the treatment of peripheral arterial in-stent occlusions[J]. Vascular, 2020,28(2):152-158.
- [9] Jennings A, Lepage O, Mair T, et al. Surgical site infection after occlusion of the internal carotid artery with a thrombectomy catheter: Five cases[J]. Equine Veterin Educat, 2019,31(1):37-44.
- [10] 陈慧娇,孙晓红,张喆,等.出血性卒中患者下肢深静脉血栓形成风险预测模型的构建与验证[J].中华神经外科杂志,2021,37(3):255-259.
- [11] Song JH, Shi YD, Gu JP, et al. A Swine Model of Filter-Assisted Caval Thrombosis for Endovascular Thrombectomy Using AngioJet[J]. J cardiov asc transl Res, 2021,14(2):365-370.
- [12] 潘升权,殷世武,龙海灯,等. Angiojet血栓清除导管在急性动脉栓塞治疗中的应用体会[J].安徽医学,2018,39(7):793-795.
- [13] 乔延松,吕引娣,孙超,等. AngioJet血栓清除联合置管溶栓治疗下肢急性缺血[J].中国微创外科杂志,2019,19(10):882-886.
- [14] Philip GC, Gerard SG. Safety and efficacy of the AngioJet device in the treatment of thrombosed arteriovenous fistula and grafts: A systematic review[J]. J Vascu Acc, 2018,19(3):243-254.

老年股骨头坏死患者 Ghrelin、P1NP 的表达及与骨密度的相关性分析

罗逸林* 姚德威 卓恩德 陈昌斌

[摘要] 目的 探讨老年股骨头坏死患者胃饥饿素(Ghrelin)、I型胶原氨基端延长肽(P1NP)的表达及与骨密度的相关性。方法 选择2018年1月至2019年12月琼海市人民医院接诊的63例老年股骨头坏死患者为本研究对象为观察组,选择同期老年体检健康者52名为对照组,分析血清 Ghrelin、P1NP 在其中的表达及其骨密度之间的相关性。结果 观察组患者 Ghrelin 及骨密度水平显著低于对照组,P1NP 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($t=6.134, 3.657, 2.355, P<0.05$)。II期患者 Ghrelin 及骨密度水平显著高于III期、IV期患者,II期患者 P1NP 水平显著低于III期、IV期患者者,差异有统计学意义($P<0.05$)。通过 logistic 回归分析显示,血清 Ghrelin 和骨密度之间均呈正相关($P<0.05$),血清 P1NP 和骨密度之间均呈负相关($P<0.05$)。Ghrelin 诊断股骨头坏死的 AUC 为 0.799,95%CI 为 0.719~0.880,P1NP 诊断股骨头坏死的 AUC 为 0.645,95%CI 为 0.544~0.745,联合检测诊断股骨头坏死的 AUC 为 0.824,95%CI 为 0.748~0.900,单独检测分别和联合检测曲线下面积比较均具有显著差异($Z=3.442, 2.788, P<0.05$);联合检测的灵敏度、特异度分别为 82.14%、88.56%。结论 通过 logistic 回归分析显示,在老年股骨头坏死患者中血清 Ghrelin 和骨密度之间均呈正相关,血清 P1NP 和骨密度之间均呈负相关,可作为诊断股骨头坏死的重要指标。

[关键词] 股骨头坏死; Ghrelin; I型胶原氨基端延长肽; 骨密度

Analysis of the expression of ghrelin and P1NP in elderly patients with femoral head necrosis and their correlation with bone mineral density

LUO Yilin*, YAO Dewei, ZHUO Ende, CHEN Changbin

(Department of Trauma Surgery, Qionghai People's Hospital, Qionghai, Hainan, China, 571400)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of ghrelin (Ghrelin) and type I collagen amino-terminal elongation peptide (P1NP) and their correlation with bone mineral density in elderly patients with necrosis of the femoral head. **Methods** A total of 63 elderly patients with necrosis of the femoral head who were admitted to Qionghai People's Hospital from January 2018 to December 2019 were selected as the observation group, and 52 healthy elderly people who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. Serum ghrelin and P1NP were analyzed. The correlation between its expression and its bone density. **Results** The levels of ghrelin and bone mineral density in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the level of P1NP was significantly higher than that in the control group ($t=6.134, 3.657, 2.355, P<0.05$). The levels of ghrelin and bone mineral density in stage II patients were significantly higher than those in stage III and IV patients, and the level of P1NP in stage II patients was significantly lower than that in stage III and IV patients ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that there was a positive correlation between serum ghrelin and BMD ($P<0.05$), and a negative correlation between serum P1NP and BMD ($P<0.05$). The AUC of ghrelin in the diagnosis of femoral head necrosis was 0.799, 95% CI was 0.719~0.880, the AUC of P1NP in the diagnosis of femoral head necrosis was 0.645, 95%

基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(19A200087)

作者单位:琼海市人民医院创伤外科,海南,琼海 571400

*通信作者:罗逸林, E-mail:luoyilin135@163.com

CI was 0.544~0.745, the AUC of combined detection was 0.824, 95% CI was 0.748~0.900, the area under the curve of single detection and combined detection were significantly different ($Z=3.442, 2.788, P<0.05$). The sensitivity and specificity of combined detection were 82.14% and 88.56%, respectively. **Conclusion** Logistic regression analysis showed that there was a positive correlation between serum ghrelin and bone mineral density in elderly patients with femoral head necrosis, and a negative correlation between serum P1NP and bone mineral density, which could be used as an important indicator for the diagnosis of femoral head necrosis.

[KEY WORDS] Femoral head necrosis; Ghrelin; Type I collagen N-terminal extension peptide; Bone density

股骨头坏死是由股骨头血液循环障碍引发的骨关节病,多发生于中老年,若得不到及时治疗则会导致股骨头结构改变、变形,关节炎症,从而导致功能障碍,严重影响患者的生活质量。据调查显示,研究显示,80%的未经有效治疗的股骨头坏死患者会出现股骨头塌陷而导致残疾^[1]。但目前对于该病的治疗效果不明确,因此观察疾病标志物水平变化对早期发现疾病具有重要意义。相关研究表明,一旦股骨头坏死,破骨细胞诱导的骨吸收和成骨细胞诱导的骨形成都会影响股骨头坏死的病理,而在改变过程中骨密度也会发生改变^[2]。胃饥饿素(Ghrelin)是新近发现的一种肠肽类激素,具有促进生长激素释放作用,还能改善心力衰竭,抑制炎症因子释放等,近年来被发现 Ghrelin 受体也分布于骨骼组织,可能对骨组织起到一定的调节作用^[3]。I型胶原氨基端延长肽(propeptide of type I procollagen, P1NP)是一种特殊的I型胶原蛋白沉积指示剂,是骨形成的一个特异性标志物,可反映成骨细胞的活性,目前被广泛用于评估骨质疏松症的早期治疗^[4]。Ghrelin、P1NP均在股骨头坏死中存在异常表达,但目前并未有研究探讨老年股骨头坏死患者 Ghrelin、P1NP水平与骨密度的相关性,因此,本研究通过观察老年股骨头坏死患者 Ghrelin、P1NP的水平表达,并分析其与骨密度的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2018年1月至2019年12月琼海市人民医院接诊的63例老年股骨头坏死患者为观察组,其中男35例,女28例,年龄平均(60.61±3.26)岁,病程平均(2.56±0.64)年,根据FICAT分期^[5]将患者分为Ⅱ期15例、Ⅲ期27例、Ⅳ期21例。选取同期琼海市人民医院体检中心收取的52名健康人为对照,年龄平均(62.58±3.22)岁,其中男30名,女

22名。两组基线资料差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。

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

Table 1 Comparison of two groups of general data

	[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]			
组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	体质指数(kg/m^2)
观察组	63	35/28	60.61±3.26	23.81±2.26
对照组	52	30/22	62.58±3.22	23.75±2.35
χ^2/t 值		0.053	0.049	0.139
P 值		0.818	0.961	0.889

纳入标准:①参照《成人股骨头坏死临床诊疗指南》^[6]:伴有髋部、臀部区疼痛;髋关节活动受限;影像检查证实。②影像检查无塌陷;③未服用过影响骨代谢药物;④签署知情同意书。排除标准①近6月内骨折者;②沟通不便者;③合并免疫缺陷者;④妊娠、围产患者;⑤近期髋关节外伤者;⑥不能配合本次研究样品采集者。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

采集空腹静脉血5 mL,4℃、2 500 r/min条件下离心15 min,离心半径8 cm留取上层血清。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定 Ghrelin、P1NP,试剂盒购于英国 Abcam 公司;采用双能 X线骨密度仪测定骨密度,患者均采取仰卧位测股骨头的骨密度,并以 g/cm^2 来表示。采用 logistic 回归分析 Ghrelin、P1NP 与骨密度之间的相关性。

1.3 统计学分析

以 SPSS 19.0 软件进行数据处理分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。计量资料用 ($\bar{x}\pm s$) 表示, t 检验,多组间比较用 F 检验。相关性分析使用 Spearman 相关系数,并使用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 LAGE、维生素 D、HbA1c 的诊断效能, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 Ghrelin、P1NP 及骨密度水平比较

观察组 Ghrelin 及骨密度水平显著低于对照

组, P1NP水平显著高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组 Ghrelin、P1NP 及骨密度水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of ghrelin, p1np and bone mineral density between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ghrelin(pg/mL)	P1NP(ng/mL)	骨密度(g/cm ²)
观察组	63	441.35±105.04	66.56±28.61	0.89±0.14
对照组	52	559.16±99.34	55.28±21.29	0.98±0.12
t值		6.134	2.355	3.657
P值		0.000	0.020	0.000

2.2 不同 FICAT 分期患者 Ghrelin、P1NP 及骨密度水平比较

不同 FICAT 分期患者 Ghrelin、骨密度水平比较: II 期>III 期>IV 期, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。P1NP 水平比较: IV 期>III 期>II 期, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同 FICAT 分期患者 Ghrelin、P1NP 及骨密度水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of Ghrelin, P1NP and bone mineral density in patients with different Ficat stages ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ghrelin(pg/mL)	P1NP(ng/mL)	骨密度(g/cm ²)
II 期	15	496.61±101.24	57.52±15.66	0.94±0.13
III 期	27	445.27±106.89	64.49±18.59	0.90±0.11
IV 期	21	396.84±107.45	75.68±19.67	0.84±0.08
F 值		3.924	4.596	4.094
P 值		0.025	0.014	0.022

2.3 血清 Ghrelin、P1NP 和股骨头坏死患者骨密度的相关性分析

将骨密度作为因变量, 将血清 Ghrelin、P1NP 分别作为自变量, 通过 Spearman 分析显示, 血清 Ghrelin 和骨密度之间均呈正相关($r=0.284, P < 0.05$), 血清 P1NP 和骨密度之间均呈负相关($r=-0.312, P < 0.05$)。

2.4 血清 Ghrelin、P1NP 在股骨头坏死中的诊断价值

血清 Ghrelin、P1NP 联合检测的灵敏度、特异度分别为 82.14%、88.56%, 优于单一检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表4 血清 Ghrelin、P1NP 诊断股骨头坏死的效能分析

Table 4 Efficacy analysis of serum Ghrelin and P1NP in the diagnosis of femoral head necrosis

检验变量	AUC	标准误	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数	P 值
Ghrelin	0.799	0.041	0.719~0.880	76.58	71.25	0.44	0.000
P1NP	0.645	0.051	0.544~0.745	74.36	73.15	0.47	0.008
联合检测	0.824	0.039	0.748~0.900	82.14	88.56	0.51	0.000

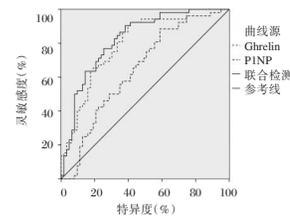


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

股骨头坏死是骨科常见的一种疑难病症, 是一个病理演变过程, 该疾病起病较隐匿, 最开始会引起病痛, 关节活动和负重行走功能障碍, 当患者发生疼痛症状就诊时, 股骨头已出现坏死病变, 骨小梁萎缩, 且并致使股骨头塌陷、变形, 对人们的生活造成严重影响^[7]。当股骨头坏死后会发生一系列的骨坏死和骨吸收, 同时导致骨密度也会发生变化, 矿密度是对患者局部骨骼中骨含量的测量, 广泛用于骨质疏松症的诊断^[8]。股骨头无菌坏死患者的发病与骨密度测量结果具有一定相关性, 患者骨密度值的变化可以反映其在临床治疗中的效果^[9]。本研究结果显示, 股骨头坏死患者骨密度水平低于健康人群, 且随着疾病的严重程度而降低。分析其原因可能是因为发生股骨头坏死后, 骨髓间充质干细胞骨成分的减少, 可抑制成骨基因表达, 导致骨密度降低。

有研究发现, 血清中的代谢物由股骨头坏死代谢物产生, 因此检测血清中的生物标记物可有效反映股骨头坏死病情的进展^[10]。Ghrelin 是最近在人及大鼠胃部发现的脑肠肽, 能刺激生长素的释放, 能调节能量代谢、保护心血管等作用^[11-12]。近年来随着研究的不断深入, 有学者发现 Ghrelin 受体也分布于人的骨细胞、成骨细胞, 在骨科疾病中起一定作用^[13]。国外研究显示^[14], Ghrelin 在骨质疏松中表达异常, 且与股骨颈骨密度存在明显的正相关, 骨质疏松患者受到其他因素影响时容易导致骨质塌陷, 从而引起股骨头坏死, 由此推测, Ghrelin 可能对股骨头坏死的发病具有一定作用。本研究结果显示, 老年股骨头坏死患者 Ghrelin 水平低于健康人群, 随着疾病的严重程度而降低, 且血清 Ghrelin 和骨密度之间呈正相关, 说明 Ghrelin 在股骨头坏死中呈低表达, 可通过增强特殊成骨细胞基因表达促进成骨细胞的增殖。分析其原因可能是因为 Ghrelin 可通过刺激成骨细胞的

增殖、抑制细胞凋亡,增加骨质密度诱导骨的形成,从而随着骨密度的降低而降低。

PINP是成骨细胞合成并释放出的前胶原纤维在细胞外分解后的产物,其含量可反映骨形成和转换的情况,当其水平降低时,I型胶原合成速率减慢,骨更新率减慢^[15]。本研究结果显示,老年股骨头坏死患者PINP水平高于健康人群,随着疾病的严重程度而升高,另外血清PINP和骨密度之间呈负相关,说明PINP在股骨头坏死中呈高表达,且随着骨密度的降低而升高,分析其原因可能是因为发生股骨头坏死后,坏死区域发生修复,早期局部骨代谢相对活跃,导致PINP随之升高。

本研究用ROC曲线分析了Ghrelin、PINP诊断股骨头坏死的价值,结果显示二者诊断的灵敏度分别为76.58%、74.36%,特异度分别为71.25%、73.15%,而当二者联合时灵敏度和特异度可分别提高至82.14%和88.56%。说明二者在股骨头坏死中有一定诊断价值。然而本研究未分析Ghrelin、PINP联合传统影像学指标的实用价值,需要未来进一步分析。

综上所述,在老年股骨头坏死患者中血清Ghrelin和骨密度之间均呈正相关,血清PINP和骨密度之间均呈负相关,可能作为诊断股骨头坏死的重要指标。

参考文献

- [1] 朱蜀云,杨康,成向东,等. 中医疗法治疗中晚期非创伤性股骨头坏死的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(4):357-360+374.
- [2] 李峰,高军茂,张瑒. 血清标志物与股骨头坏死骨密度和骨钙素的关系[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30(9): 858-860.
- [3] Zhu W, Guo MK, Yang W, et al. CD41-deficient exosomes from non-traumatic femoral head necrosis tissues impair osteogenic differentiation and migration of mesenchymal stem cells

[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(4):293.

- [4] 吴长达,许邦发,严良二,等. 骨折患者血清25-羟维生素D和甲状旁腺素水平与骨密度的相关性[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(3):491-493+519.
- [5] 陈健,高勇,郭丽玲,等. CT、X线在股骨头缺血性坏死Ficat、ARCO和Steinberg三种分期方法中的应用比较[J]. 医学临床研究, 2017, 34(1):122-124.
- [6] 国医师协会骨科医师分会显微修复工作委员会,中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组,中华医学会骨科分会显微修复学组. 成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(15):945-954.
- [7] 林智军,李玉茂,谢晓勇,等. 桃红四物汤加减治疗对气滞血瘀型股骨头坏死骨修复及血液流变学的影响[J]. 世界中医药, 2018, 13(1):105-108.
- [8] Zhang XL, Wang YM, Chu K, et al. The application of PRP combined with TCP in repairing avascular necrosis of the femoral head after femoral neck fracture in rabbit [J]. Eur Rev Med Pharmacol, 2018, 22(4):903-909.
- [9] 秦谊,胡晓玲,林新晓. 自拟补肾祛瘀汤对股骨头无菌性坏死患者骨密度的影响[J]. 环球中医药, 2019, 12(6):881-883.
- [10] 徐丹,杨静华,朱世华,等. TGF- β 、BMP-2及miR-672-5p与激素性股骨头坏死的关系分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(12):2013-2016.
- [11] 郝利苹,刘戈力,杨管岩,等. 重组人生长激素治疗儿童特发性矮小症的疗效及对血清Ghrelin和IGF-1水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(20):3854-3857.
- [12] 侯梦,邵继红,薛颖. 儿童单纯性肥胖血清Ghrelin、nesfatin-1水平与TC、TG及FBG的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(18):4177-4179.
- [13] 毛笋,岳永彬,鲁路,等. 血清Ghrelin水平与非创伤性股骨头坏死严重程度的相关性[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(12):1978-1981.
- [14] Ren X, Fan W, Shao Z, et al. A metabolomic study on early detection of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head[J]. Oncotarget, 2018, 9(8):7984.
- [15] 林霞,黄静,蔡云翔,等. 免疫性血小板减少性紫癜患者糖皮质激素治疗前后血清PINP、 β -CTX水平的变化[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(11):1331-1333.

(上接第1311页)

- [15] 李云松,刘向东,李亮,等. AngioJet血栓抽吸术在机械血栓清除联合置管溶栓治疗急性下肢深静脉血栓中的价值[J]. 中华普通外科杂志, 2019, 34(6):509-511.
- [16] 刘正立,公茂峰,顾建平,等. 滤器源性腔-髂静脉血栓形成的介入治疗:AngioJet血栓清除术与大腔导管抽吸术的疗效比较[J]. 临床放射学杂志, 2021, 40(4):790-795.
- [17] Liu G, Qin JB, Cui CY, et al. Comparison of Direct Iliofemoral Stenting Following AngioJet Rheolytic Thrombectomy vs Staged Stenting After AngioJet Rheolytic Thrombectomy Plus Catheter-Directed Thrombolysis in Patients With Acute Deep

Vein Thrombosis[J]. J Endov Ther, 2018, 25(1):133-139.

- [18] 张洋,马庆防,傅新民,等. CT-DRAGON评分预测急性缺血性卒中患者经血管内治疗后转归[J]. 国际脑血管病杂志, 2019, 27(9):662-667.
- [19] 颜汉坤,畅智慧,刘兆玉. 外周动脉疾病患者下肢动脉钙化与下肢缺血程度的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(11):79-83.
- [20] 王文斌,詹焱青,韩珑,等. 导管接触性溶栓联合髂静脉支架治疗下肢深静脉血栓形成的疗效及预后分析[J]. 中华全科医学, 2021, 19(9):1439-1441.

miR-194-5p 与分化型甲状腺癌术后转移相关性的探讨

黄月* 付青 张茜 许海洋

[摘要] 目的 探讨 miR-194-5p 与分化型甲状腺癌术后转移相关性,为临床制定预防措施提供依据。方法 选择2020年12月至2021年12月首都医科大学附属北京天坛医院收治的分化型甲状腺癌患者198例为对象,采用双侧甲状腺全切除术治疗,且术后均行¹³¹I治疗(TSH刺激状态下),6个月后根据¹³¹I全身显像结果分为转移组($n=46$ 例)与非转移组($n=152$ 例);采用实时荧光PCR法测定各组 miR-194-5p mRNA水平;采用电化学发光法测定患者促甲状腺激素(TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、甲状腺球蛋白(Tg)及甲状腺球蛋白抗体(TgAb)水平,对分化型甲状腺癌患者 miR-194-5p 与甲状腺相关激素完成相关性分析。结果 两组 TSH、FT3、FT4 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);转移组 miR-194-5p、Tg 及 TgAb 水平高于非转移组,差异均有统计学意义($P<0.05$);ROC 曲线结果表明:miR-194-5p、Tg 联合 TgAb 在分化型甲状腺癌术后转移中诊断灵敏度与特异度高于单一 miR-194-5p、Tg、TgAb($P<0.05$);Pearson 相关性分析结果表明:分化型甲状腺癌术后转移 miR-194-5p 与 TSH、FT3、FT4 水平无相关性($P>0.05$);与 Tg 及 TgAb 水平呈正相关性($P<0.05$)。结论 miR-194-5p 在分化型甲状腺癌患者中呈高表达,对患者术后转移可能具有较高的预测灵敏度及特异度,且与 Tg 及 TgAb 水平存在正相关。

[关键词] miR-194-5p; 分化型甲状腺癌; 术后转移; 甲状腺相关激素; 相关性

Correlation between miR-194-5p and postoperative metastasis of differentiated thyroid cancer

HUANG Yue*, FU Qing, ZHANG Qian, XU Haiyang

(Operation Room, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100070)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between miR-194-5p and postoperative metastasis of differentiated thyroid carcinoma, and to provide basis for clinical preventive measures. **Methods** A total of 198 patients with differentiated thyroid cancer who were admitted to Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University from December 2020 to December 2021 were selected as subjects, treated with bilateral total thyroidectomy, and were all prepared to undergo ¹³¹I therapy (under TSH stimulation after surgery). After 6 months, the patients were divided into a metastasis group ($n=46$ cases) and a non-metastatic group ($n=152$ cases) according to the results of ¹³¹I whole-body imaging. The miR-194-5p mRNA levels in each group were measured by real-time PCR. The levels of thyroid-stimulating hormone (TSH), free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4), thyroglobulin (Tg) and thyroglobulin antibody (TgAb) in patients with differentiated thyroid cancer were determined by luminescence method. The correlation analysis between miR-194-5p and thyroid-related hormones in patients was completed. **Results** There was no significant difference in the levels of TSH, FT3 and FT4 between the two groups ($P>0.05$). The levels of miR-194-5p, Tg and TgAb in the metastasis group were higher than those in the non-metastasis group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve results showed that miR-194-5p, Tg combined with TgAb had higher diagnostic sensitivity and specificity than single miR-194-5p, Tg, TgAb in the postoperative metastasis of differentiated thyroid cancer ($P<0.05$). Pearson correlation analysis results showed that miR-194-5p had no

基金项目:北京市医院管理局项目(QML20190507)

作者单位:首都医科大学附属北京天坛医院手术室,北京 100070

*通信作者:黄月, E-mail:kkklxb2008@126.com

correlation with the levels of TSH, FT3 and FT4 ($P>0.05$), but was positively correlated with the levels of Tg and TgAb ($P<0.05$). **Conclusion** MiR-194-5p is highly expressed in differentiated thyroid cancer patients, may have high predictive sensitivity and specificity for postoperative metastasis, and is positively correlated with Tg and TgAb levels.

[**KEY WORDS**] MiR-194-5p; Differentiated thyroid cancer; Postoperative metastasis; Thyroid-related hormones; Correlation

甲状腺癌根据组织分化可分为分化型与未分化型两种,其中分化型甲状腺癌占全部甲状腺癌的75%,而分化型又包括乳头状甲状腺癌和滤泡状甲状腺癌两种^[1]。乳头状甲状腺癌生长缓慢,恶性度亦较低,早期可伴有颈部淋巴结转移,多数患者能获得良好预后;而滤泡状甲状腺癌恶性度高于乳头状甲状腺癌,肿块生长快^[2]。Zhao等^[3]结果表明:甲状腺癌好发于儿童及中老年人中,且女性发病率略高于男性,临床多表现为单一甲状腺结节、质地坚硬,超声下可见结节直径 >1 cm、实体性,能与外周组织区分。手术治疗是分化型甲状腺癌常用的干预方法,借手术能切除病灶组织,且多数患者可从中获益^[4]。但是,仍有1.2%~4.2%患者进展为远处转移,5年生存率仅为36%^[5]。外周血循环miRNAs具有稳定性好、取材方便、检测成本低等优势,在检验医学中具有巨大的潜力^[6]。王芳等^[7]研究报道:miR-194-5p在甲状腺癌组织中呈高表达,可通过调节肿瘤细胞促凋亡基因或凋亡抑制基因活性,参与肿瘤细胞的生物学过程。因此,本研究以北京天坛医院收治分化型甲状腺癌患者为对象,探讨miR-194-5p与分化型甲状腺癌术后转移相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2020年12月至2021年12月首都医科大学附属北京天坛医院收治的分化型甲状腺癌患者198例为对象,根据术后是否发生转移分为转移组与非转移组。转移组46例,男15例,女31例,平均年龄(58.91 ± 6.36)岁;平均体重指数(Body mass index, BMI) (23.14 ± 3.49) kg/m^2 ;甲状腺乳头状癌35例,甲状腺滤泡状癌11例。非转移组152例,男43例,女109例,平均年龄(58.99 ± 6.42)岁;平均BMI (23.43 ± 3.52) kg/m^2 ;甲状腺乳头状癌114例,甲状腺滤泡状癌38例。本研究获得伦理委员会批准,患者或家属签署同意书,两组临床资料比较差异无统计意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 纳入、排除标准

纳入标准:①符合分化型甲状腺癌诊断标准^[8],均经病理检查确诊;②均采用双侧甲状腺全切除术,且患者均可耐受;③术后拟行¹³¹I治疗,且均未接受放疗、生物免疫治疗与内分泌治疗。排除标准:①精神异常、严重肝肾功能不全或急慢性感染者;②内分泌系统与血液系统相关疾病、认知功能异常者;③既往合并其他恶性肿瘤史者或冠心病、心衰史者。

1.3 方法

1.3.1 术后转移判断

¹³¹I治疗6个月后对患者常规行¹³¹I全身显像检查,检查仪器为SPECT/CT Discovery 670,购自于GE公司。根据患者情况设定测定参数:步径速度9.2~10 cm/min,矩阵为256×1024,常规完成颈、胸部断层显像,6°/帧,合计采集60帧,矩阵为64×64^[9]。

1.3.2 标本采集

术前采集空腹外周肘静脉血5 mL,置于肝素钠抗凝管中,10 min离心,速度8 000 rpm,离心半径8 cm。待上述操作完毕后,将标本转移到RNase-free离心管中,10 min离心,速度8 000 rpm,离心半径8 cm,去除细胞碎片与杂志,备用。

1.3.3 miR-194-5p测定

采用实时荧光PCR法测定各组miR-194-5p mRNA水平,取上述分离的血清标本,采用Trizol法常规处理血液标本,完成总RNA提取,采用紫外分光光度仪测定所提取的RNA纯度,采用聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定总RNA纯度。采用PCR试剂盒完成cRNA。待上述操作完毕后,完成逆转录:RNA模板14 μL 、2 μL Enzymemix, 4 μL ×RT缓冲液补充到20 μL ,在PCR检测仪上42℃ 1 h、95℃ 5 min,将合成的cDNA放置在-20℃冰箱中,保存。设定反应体系:cDNA模板8 μL 、SYBR Green mix 10 μL 、PCR Primer mix 2 μL 。引物设计如下:上游引物序列:5'-AGUGAAUUCUAC-CAGUGCCAUA-3';下游引物序列:5'-CAGUACUUUUGUGUAGUACAA-3';设定反应条件:95℃

下预变性 10 min、95℃变性 15 s、60℃退火 30 s、72℃下延伸 30 s,上述操作均连续完成 45 个循环,每个血液标本重复 3 次,取 CT 值。以 β -actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 完成不同血液标本中 miR-194-5p mRNA 表达量^[10]。

1.3.4 甲状腺水平测定及相关性分析

取上述分离的血清标本,采用电化学发光法测定患者促甲状腺激素(Thyroid stimulating hormone, TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(Free triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素(Serum free thyroxine, FT4)、甲状腺球蛋白(Thyroglobulin, Tg)及甲状腺球蛋白抗体(Thyroglobulin antibody, TgAb)水平,仪器为 Roche cobas6000 电化学发光仪,购自于 Roche 公司,所有操作严格遵循仪器与试剂盒说明

书完成^[11]。采用 Pearson 相关性分析软件对分化型甲状腺癌患者 miR-194-5p 与甲状腺相关激素完成相关性分析。

1.4 统计分析

采用 SPSS 24.0 统计软件进行统计处理,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 miR-194-5p 及甲状腺功能比较

转移组与非转移组 TSH、FT3、FT4 水平比较差异无统计意义($P > 0.05$);转移组 miR-194-5p、Tg 及 TgAb 水平高于非转移组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 miR-194-5p 及甲状腺功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of miR-194-5p and thyroid function between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-194-5p	TSH(mIU/L)	FT3(pg/mL)	FT4(pg/mL)	Tg(ng/mL)	TgAb(IU/mL)
转移组	46	2.41±0.38	79.78±6.35	3.20±0.63	10.32±0.79	48.69±5.29	17.68±2.14
非转移组	152	1.02±0.24	80.11±6.36	3.18±0.61	10.34±0.83	5.72±0.67	14.35±1.95
<i>t</i> 值		6.015	0.191	1.217	0.996	74.395	7.302
<i>P</i> 值		0.000	0.846	0.539	0.693	0.000	0.000

2.2 miR-194-5p、Tg 联合 TgAb 在分化型甲状腺癌术后转移诊断效能

ROC 曲线结果表明:miR-194-5p、Tg 联合 TgAb 在分化型甲状腺癌术后转移中诊断灵敏度与特异度高于单一检测($P < 0.05$)。见表 2、图 1。

表 2 miR-194-5p、Tg 联合 TgAb 在分化型甲状腺癌术后转移诊断效能

Table 2 The diagnostic efficacy of miR-194-5p,

Tg combined with TgAb in differentiated thyroid cancer postoperative metastasis

检测变量	AUC	标准误差	95% CI	灵敏度	特异度	<i>P</i> 值
TgAb	0.732	0.131	0.673-0.794	71.41	77.45	0.000
miR-194-5p	0.778	0.136	0.710-0.821	76.57	74.31	0.000
Tg	0.741	0.132	0.691-0.802	74.23	75.47	0.000
联合检查	0.873	0.145	0.784-0.895	87.46	85.25	0.000

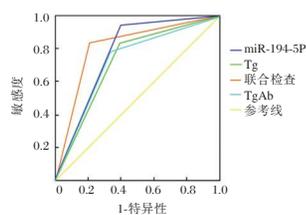


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

2.3 分化型甲状腺癌术后转移 miR-194-5p 与甲状腺指标相关性

Pearson 相关性分析结果表明:分化型甲状腺癌术后转移 miR-194-5p 与 TSH、FT3、FT4 水平无相关性($P > 0.05$);与 Tg 及 TgAb 水平呈正相关性($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 分化型甲状腺癌术后转移 miR-194-5p 与甲状腺指标相关性

Table 3 The correlation between miR-194-5p and thyroid indexes after the operation of differentiated thyroid cancer

生化指标	miR-194-5p	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
TSH	0.152	0.779
FT3	0.198	0.698
FT4	0.214	0.781
Tg	0.632	0.014
TgAb	0.504	0.028

3 讨论

分化型甲状腺癌恶性程度相对较低,且患者多以手术干预为主,借手术能切除病灶组织,多数患者可从中获益。但是,部分患者术后区域性淋巴结转移发生率较高,成为影响患者手术预后及生存的重要原因之一^[12]。Marina 等^[13]研究表

明:由于分化型甲状腺癌患者病灶组织分化良好,能合成与分泌Tg、TgAb。通过测定Tg、TgAb能反映患者术后恢复情况,亦可实现术后转移监测。但是,Tg、TgAb临床使用时常可以相互影响,临床上尚缺乏排除二者影响的方法。国外学者研究表明:Tg、TgAb用于分化型甲状腺癌患者难以动态反映患者的病情,导致临床使用受到限制^[14]。

微小RNA是机体内源性表达的非编码小分子单链RNA,缺乏阅读框,难以编码任何蛋白,但是具有高度的保守性、组织特异性及时序性。目前,临床上已经鉴定出miRNA合计8000多种,能调节真菌、植物、动物等发育^[15]。Renaud等^[16]研究表明:miRNA的保守性进化有助于在基因转录后调控生长发育过程,可通过与靶基因特异性结合参与疾病的发生、发展。本研究中,两组TSH、FT3、FT4水平比较差异无统计意义;转移组miR-194-5p、Tg及TgAb水平高于非转移组,从本研究结果看出,miR-194-5p在分化型甲状腺癌患者中呈高表达,能参与分化型甲状腺癌的调控与转归。吴彩妮等^[17]研究证实,microRNA能参与机体细胞的增殖、凋亡、免疫应答、生长发育、肿瘤的发生过程,microRNA介导的转录后基因沉默与肿瘤形成的关系为当前研究的热点。miR-194小家族包括miR-194a和miR-194b两个成员,二者在3'端存在两个核苷酸区别。miR-194能作用于RIG-I通路及TLRs/MyD88/NF- κ B等信号通路,并对通路中的细胞炎性因子进行调节,从而负向调节固有免疫的强度^[18]。本研究ROC曲线结果表明miR-194-5p联合甲状腺功能指标能提高分化型甲状腺癌患者术后转移预测效能。郭琪等^[19]研究表明:miR-194-5p与甲状腺癌存在紧密的联系,能参与甲状腺癌的发生、发展和转归,亦可实现甲状腺良恶性结节的区分和鉴别。而在分化型甲状腺癌患者中,miR-194-5p能通过调控靶基因的表达及相关信号通路,参与肿瘤细胞的生长、侵袭、转移及凋亡等生物学过程。本研究Pearson相关性分析结果看出分化型甲状腺癌患者手术后,加强患者miR-194-5p水平测定,了解患者术后甲状腺水平,或可预测患者术后转移,对于检测异常者应尽早采取干预措施,巩固手术效果,延长患者生存期。

综上所述,miR-194-5p在分化型甲状腺癌患者中呈高表达,对患者术后转移可能具有较高的预测灵敏度及特异度,且与Tg及TgAb水平存在正相关。

参考文献

- [1] 洪文斌,胡竑韡. NLR,PLR在甲状腺良恶性结节及自身免疫性甲状腺炎诊断中的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(5):643-646+655.
- [2] 赵春颖. 分化型甲状腺癌术后出现颈部可疑性淋巴结转移的超声随访及探讨[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2019,26(12):42-44.
- [3] Zhao X, Yang G, Zhang W, et al. Age-related risk for second breast cancer and gynecological malignant neoplasms after differentiated thyroid cancer[J]. Endocrine, 2022,76(2):385-394.
- [4] 王全良,赵北永. 刺激性甲状腺球蛋白预测分化型甲状腺癌术后转移复发的临床价值[J]. 癌症进展, 2021,19(24):2522-2525.
- [5] 丁颖,杨辉,李文亮,等. 分化型甲状腺癌术后首次血清刺激性Tg水平对远处转移的预测价值[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2019,43(4):308-313.
- [6] Kumar P, Damle NA, Agarwala S, et al. Individualized dosimetry in children and young adults with differentiated thyroid cancer undergoing iodine-131 therapy[J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2020,33(8):1031-1044.
- [7] 王芳,刁宏翠,王叙馥,等. 分化型甲状腺癌术后再次¹³¹I治疗前sTg与sTg/sup-Tg对淋巴结转移的预测价值[J]. 现代肿瘤医学, 2020,28(14):2417-2421.
- [8] 王芳,王越,刁宏翠,等. 分化型甲状腺癌术后再次¹³¹I治疗前sTg与sTg/sup-Tg对淋巴结转移的预测价值[J]. 现代肿瘤医学, 2020,28(14):2417-2421.
- [9] Feng G, Luo Y, Zhang Q, et al. Sorafenib and radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer (RR-DTC): a systematic review and meta-analysis[J]. Endocrine, 2020,68(1):56-63.
- [10] 高立霓,张敏,杨大雁,等. 分化型甲状腺癌术前原发肿瘤超声特征与术后颈部淋巴结转移的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2019,28(5):630-635.
- [11] 窦蕊,史完全,江波,等. 分化型甲状腺癌HRAS突变与颈部淋巴结转移的相关性及超声特征的研究[J]. 中华全科医师杂志, 2021,20(9):990-996.
- [12] 孙洪莉,魏枫,梁书卿,等. 分化型甲状腺癌术后随访的标化管理及临床相关因素分析[J]. 中国医学创新, 2021,18(8):155-159.
- [13] Marina M, Serra MF, Aldigeri R, et al. Incidental versus clinically diagnosed differentiated thyroid cancer in both adult and elderly subjects: histological characteristics and follow-up in a retrospective analysis from a single institution[J]. Endocrine, 2020,68(3):584-591.
- [14] 田亮,霍占江,王志杰,等. 分化型甲状腺癌患者术后血清中Cyfra21.1水平检测价值研究[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2020,27(10):564-567.
- [15] 王任飞,高再荣,欧阳伟,等. 分化型甲状腺癌转移灶摄碘能力与¹³¹I清灶疗效关系的回顾性多中心研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2020,40(6):564-567.

超声结合术前 hs-CRP、CA19-9 和 CEA 检测诊断厚壁型胆囊癌的效果

杨大才¹ 陈鹤² 彭良琴¹ 古鹏^{1*}

【摘要】目的 分析超声结合术前超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、糖类抗原 19-9(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)检测诊断厚壁型胆囊癌的效果。**方法** 收集 2016 年 2 月至 2021 年 2 月重庆市永川区中医院收治的 106 例经超声检查发现胆囊厚壁占位性患者,经手术病理检查发现 47 例厚壁型胆囊癌(恶性组),59 例良性病变(良性组)。另选取同期 55 例健康体检者作为对照组。比较各组 hs-CRP、CA19-9、CEA 表达水平;比较良性与恶性组患者超声征象;分析超声结合术前 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测对厚壁型胆囊癌的诊断价值。**结果** hs-CRP、CA19-9、CEA 在不同人群中表达为:恶性组>良性组>对照组,三组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。恶性组患者超声征象高增强、增强分布不均匀、黏膜形态不规则、始增时间>15 s、减退时间>36 s 占比明显高于良性组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。超声结合 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测对厚壁型胆囊癌敏感度和特异度分别为 78.70%、80.00%, $AUC=0.781$ (95% CI:0.652~0.889),明显高于三者单独诊断($P<0.05$)。**结论** 超声结合术前 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测可提高对厚壁型胆囊癌的诊断效能,为临床诊疗提供重要的参考依据。

【关键词】 超声; hs-CRP; CA19-9; CEA; 厚壁型胆囊癌

Effect of ultrasonography combined with preoperative detection of HS-CRP, CA19-9 and CEA on the diagnosis of thick-wall gallbladder carcinoma

YANG Dacai¹, CHEN He², PENG Liangqin¹, GU Peng^{1*}

(1. Department of Ultrasound, Yongchuan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing, China, 402160; 2. Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, China, 400016)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the effect of ultrasonography combined with preoperative Sensitive C-reactive protein (HS-CRP), Carbohydrate antigen 19-9 (Ca19-9) and Carcinoembryonic antigen (CEA) detection on the diagnosis of thick-walled gallbladder carcinoma. **Methods** A total of 106 patients with thick-walled gallbladder space occupying by ultrasound admitted in Yongchuan District Hospital of Traditional Chinese Medicine from February 2016 to February 2021 were collected, 47 patients with thick-walled gallbladder cancer (malignant group) and 59 patients with benign lesions (benign group) were found by surgical pathology. In addition, 55 healthy subjects in our hospital during the same period were selected as the control group. The expression levels of HS-CRP, CA19-9 and CEA in different groups were compared. Ultrasound signs in patients between benign and malignant groups were compared. The diagnostic value of ultrasonography combined with preoperative hS-CRP, CA19-9 and CEA in thick-wall gallbladder carcinoma was analyzed. **Results** The expressions of HS-CRP, CA19-9 and CEA in different groups were as follows: malignant group > benign group > control group, and the differences among the three groups were statistically significant ($P<0.05$). The proportion of ultrasound signs with high enhancement, uneven enhancement distribution, irreg-

作者单位:1.重庆市永川区中医院超声科,重庆 402160

2.重庆医科大学附属第一医院超声科,重庆 400016

*通信作者:古鹏, E-mail:841460138@qq.com

ular mucosal morphology, onset time > 15s and decline time > 36 s in the malignant group was significantly higher than that in the benign group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of ultrasonography combined with HS-CRP, CA19-9 and CEA for thick-wall gallbladder carcinoma were 78.70% and 80.00%, respectively. AUC was 0.781 (95% CI: 0.652 ~ 0.889), which was significantly higher than that of the three alone ($P < 0.05$). **Conclusion** Ultrasonography combined with preoperative detection of hS-CRP, CA19-9 and CEA can improve the diagnostic efficiency of thick-wall gallbladder carcinoma, and provide an important reference for clinical diagnosis and treatment.

[KEY WORDS] Ultrasound; hs-CRP; CA19-9; CEA; Thick-walled gallbladder carcinoma

胆囊癌属于高度恶性的消化道肿瘤,据相关数据显示,我国胆囊癌在消化系统肿瘤中发病率占第6位,且其发病率呈逐年增长的趋势;胆囊癌在病程早期无特异性症状,5年总生存率仅为5%^[1]。胆囊癌根据超声表现不同可分为隆起型、厚壁型、混合型、实块型,其中厚壁胆囊癌由于其临床特征、影像学表现与胆囊炎、胆囊肌腺症相似,而易出现误诊、漏诊的情况^[2]。寻找合适的检查方法,降低厚壁胆囊癌误诊、漏诊率具有重要的临床意义。超声检查是临床中诊断厚壁型胆囊癌的首选方法,但其对早期厚壁型胆囊癌诊断准确性较低^[3]。随着分子生物学的逐步发展,肿瘤标志物检测成为临床常用的诊断方法之一,对提高厚壁型胆囊癌检出率有积极意义。糖类抗原 19-9 (Carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)、癌胚抗原 (Carcinoembryonic antigen, CEA) 为临床中常用的肿瘤标志物,在肠胃道、消化道肿瘤检测中均有一定的使用价值^[4]。超敏 C 反应蛋白 (Sensitive C-reactive protein, hs-CRP) 是临床中常用的炎症因子检测指标,有研究显示,在肺癌、结肠癌、膀胱癌等肿瘤患者中 hs-CRP 表达水平明显上升^[5]。本文将通过分析 hs-CRP、CA19-9、CEA 在厚壁型胆囊癌中的表达水平以及患者超声征象,了解超声结合术前 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测对厚壁型胆囊癌的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2016 年 2 月至 2021 年 2 月重庆市永川区中医院收治的 106 例经超声检查发现胆囊厚壁占位性病变患者,经手术病理检查发现厚 47 例壁型胆囊癌(恶性组),59 例良性病变(良性组)。恶性组中男 17 例,女 30 例,平均年龄为(59.89±2.69)岁;良性组中男 25 例,女 34 例,平均年龄为(60.36±2.18)岁,其中 35 例为慢性胆囊炎,胆囊肌

腺症 24 例。纳入标准:①相关临床资料完整;②均进行超声检查;③均经术后病理检查证实;④恶性组符合《胆囊癌诊断和治疗指南》中有关厚壁型胆囊癌诊断标准^[6];良性组符合《胆囊良性疾病治疗决策的专家共识》^[7]中相关诊断标准。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②入院前有接受相关治疗者;③心肌梗死、心肌炎、糖尿病肾病等疾病;④妊娠期妇女。另选取本院同期 55 例健康体检者作为对照组,其中男 30 例,女 25 例,平均年龄为(60.55±2.57)岁。入选者一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 hs-CRP、CA19-9、CEA 水平检测

抽取受试者清晨空腹状态下静脉血液 3 mL,使用离心机(转数:3 000 r/min;离心半径:10 cm;时间:10 min)离心后获取上清液待检。使用免疫比浊法检测 hs-CRP,试剂盒由上海经科化学科技有限公司提供;使用全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培公司生产)检测 CA19-9、CEA,试剂为仪器所配套。

1.2.2 超声检查

使用 Philips iU 22 彩色多普勒超声进行检测,探头为 C5-12 凸探头,频率为 2.0~3.5 MHz,超声造影剂为 SonoVue(意大利 Bracco 公司),在检查前受检者需要保持空腹 8 h 以上,首选使二维超声检查胆囊情况、病变部位、囊壁厚度、黏膜完整性,随后进行超声造影检查。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较行 F 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析超声结合 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测对厚壁型胆囊癌的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群中 hs-CRP、CA19-9、CEA 表达水平比较

hs-CRP、CA19-9、CEA 在不同人群中表达为：恶性组>良性组>对照组，三组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 不同人群中 hs-CRP、CA19-9、CEA 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of expression levels of hs-CRP, CA19-9 and CEA between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	hs-CRP	CA19-9(U/mL)	CEA($\mu\text{g/L}$)
恶性组	47	13.21±0.84	144.28±8.26	53.29±1.94
良性组	59	3.26±0.95 ^a	53.69±6.22 ^a	9.55±1.06 ^a
对照组	55	1.22±0.36 ^{ab}	25.36±3.10 ^{ab}	3.26±1.22 ^{ab}
F 值		525.92	848.36	250.82
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注：与恶性组比较，^a $P<0.05$ ，与良性组比较，^b $P<0.05$ 。

2.2 良性与恶性组超声征象比较

恶性组患者超声征象高增强、增强分布不均匀、黏膜形态不规则、始增时间>15 s、减退时间>36 s 占比明显高于良性组，差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 超声结合 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测对厚壁型胆囊癌的诊断价值

ROC 曲线可知，超声结合 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测明显高于两者单独诊断($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 超声结合 hs-CRP、CA19-9、CEA 检测对厚壁型胆囊癌的诊断价值分析

Table 3 Analysis of the diagnostic value of ultrasonography combined with hs-CRP, CA19-9 and CEA detection in thick-walled gallbladder carcinoma

因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P 值
hs-CRP	0.681	0.574-0.788	0.702	0.636	0.002
CA19-9	0.732	0.632-0.831	0.745	0.764	<0.001
CEA	0.710	0.606-0.814	0.723	0.727	<0.001
超声	0.665	0.558-0.771	0.638	0.691	0.004
超声+hs-CRP+CA19-9+CEA	0.781	0.652-0.889	0.787	0.800	<0.001

表2 良性与恶性组超声征象比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of ultrasound signs between benign and malignant groups [$n(\%)$]

组别	n	增强程度		增强分布		黏膜形态		始增时间		减退时间	
		低	高	不均匀	均匀	不规则	规则	>15 s	≤15s	>36 s	≤36 s
恶性组	47	12(25.53)	35(74.47)	29(61.70)	18(38.30)	31(65.96)	16(43.24)	28(59.57)	19(40.23)	33(70.21)	14(29.79)
良性组	59	46(77.97)	13(22.03)	15(25.42)	44(74.58)	12(20.34)	47(79.66)	21(35.59)	38(64.41)	16(27.12)	43(72.88)
χ^2 值		29.027		14.181		22.58		6.052		19.544	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001		<0.001		<0.001	

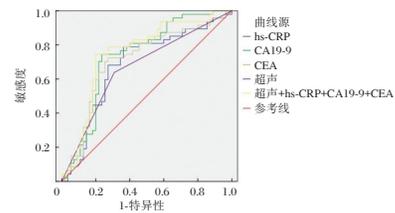


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

厚壁型胆囊癌5年生存率低，早期对患者做出准确诊断并及时采取治疗是延长患者生存期限的有效手段^[8]。超声属于无创检查，且经济方便更易受患者接受，是临床中胆囊癌筛查的首选手段。本研究结果显示，良性组与厚壁型胆囊癌患者在超声征象中比较存在差异，恶性组患者超声征象高增强、增强分布不均匀、黏膜形态不规则、始增时间>15 s、减退时间>36 s 占比明显高于良性组，与以往研究结果相符^[9]，提示超声检查可为厚壁型胆囊癌临床诊疗及性质鉴别提供参考依据。但在临床实践中发现，由于超声检查结果依赖医生主观判断，且受患者自身因素的影响，对于形态、病理特征相似的胆囊病变无法做出准确诊断，可出现误诊的情况^[10]。虽然CT、MRI 等其他影像学检查可在一定程度上弥补超声不足，但检查过程繁琐、价格昂贵，从临床实际来看作为早期筛查适用性不高，需要探索更为简便、经济有效的早期筛查方式。

肿瘤标志物是反映肿瘤存在的化学类物质，其多以胚胎组织形式存在，且在肿瘤组织中具有较活跃的表达，与肿瘤发生、发展、细胞分化等情况密切相关，可为临床诊疗提供有力的参考信息^[11]。CA19-9 属于低聚糖肿瘤相关抗原，其水平和细胞增殖能力密切相关，不受其他因素影响。以往研究显示，CA19-9 在正常人血清中的含量极低，在胃癌、胰腺癌、胃癌等患者中表达明显升高，CA19-9 也是判断胆囊癌的重要指标^[12]。CEA 是一种具有人类胚胎抗原特性的酸性糖蛋白，在人

体发育成熟后其表达逐渐降低。CEA在多种肿瘤中高表达,临床中常用于诊断肠癌,也有研究显示其对胆囊癌也有一定的诊断价值^[13]。CRP是人体急性时相反应的重要指标,常用于各种炎症性疾病诊断中^[14]。hs-CRP与CRP属于同一种蛋白,但检测方法更为灵敏,近年来研究发现在肿瘤患者中hs-CRP水平明显升高,认为hs-CRP水平可作为评估肿瘤的潜在指标^[15]。本研究结果显示,恶性组中hs-CRP、CA19-9、CEA表达水平比良性组及对照组均高,与以往研究结果相符^[16],说明hs-CRP、CA19-9、CEA与厚壁型胆囊癌患者的发生存在一定联系,在临床中可为患者临床早期筛查提供参考。

但上述指标均非特异性血清学指标,在多种疾病中均会有升高的表达,因此本研究采用hs-CRP、CA19-9、CEA与超声进行联合诊断,探讨其在厚壁型胆囊癌中的诊断价值。结果显示,相比单独诊断,超声联合hs-CRP、CA19-9、CEA时对厚壁型胆囊癌诊断灵敏度及特异度均明显上升,与以往研究结果相符^[17],提示超声联合hs-CRP、CA19-9、CEA检测可提高对厚壁型胆囊癌的诊断准确性,为临床提供更全面的参考信息。

综上所述,通过超声联合检测血清hs-CRP、CA19-9、CEA水平,充分利用影像学与肿瘤标志物联合检测的互补作用,可以提高厚壁型胆囊癌诊断率,为术前诊断提供参考。

参考文献

- [1] 窦常伟,张春旭,刘杰,等.腹腔镜和开腹胆囊癌根治性切除术近期疗效及远期预后的比较[J].中华外科杂志,2022,60(2):140-147.
- [2] 彭正,陈之强,杨琦. Galectin-9,NOX-1 mRNA在胆囊癌中表达变化及与癌细胞生物学行为指标的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(6):981-984.
- [3] 萧岗,杨建辉,鲁葆春,等. β -纤维蛋白原-455G/A基因多态性与胆囊癌的相关性研究[J].肝胆胰外科杂志,2020,32(9):538-541.
- [4] 李继伟,王强,邵新苗.中性粒细胞淋巴细胞比率和糖类抗原19-9在胆囊癌患者中的预后意义[J].现代消化及介入诊疗,2020,25(11):1522-1525.
- [5] Quan ZW, Wu K, Wang J, et al. Association of p53, p16, and vascular endothelial growth factor protein expressions with the prognosis and metastasis of gallbladder cancer [J]. J Am Coll Surg, 2019, 193(4):380-383.
- [6] 中华医学会外科学分会胆道外科学组,中国医师协会外科医师分会胆道外科专业委员会.胆囊癌诊断和治疗指南(2019版)[J].中华外科杂志,2020,58(4):243-251.
- [7] 华医学会外科学分会胆道外科学组.胆囊良性疾病治疗决策的专家共识(2011版)[J].中华消化外科杂志,2011,10(1):14-19.
- [8] Hidehiro K, Toshio T, Kenji S, et al. Safety and Efficacy of Early Tube Removal Following Percutaneous Transhepatic Gallbladder Drainage: an Observational Study [J]. Surg Laparosc, Endosc Percutan Tech, 2021, 30(2):164-168.
- [9] Gao Y, Wang Z, Zhu Y, et al. NOP2/Sun RNA methyltransferase 2 promotes tumor progression via its interacting partner RPL6 in gallbladder carcinoma [J]. Cancer Sci, 2019, 110(11):157-159.
- [10] 曹丽君,李伟,余海龙,等.胆囊癌的临床及影像征象分析[J].肝脏,2021,26(6):650-654.
- [11] Wietsma M, Molloy C, Bhimani N, et al. Gallbladder carcinoma outcomes in an Australian tertiary referral hospital [J]. ANZ J Surg, 2021, 91(4):160-166.
- [12] 郑茹瑜,丁建民,周燕,等.超声造影在诊断厚壁型胆囊癌中的应用[J].中国医学影像学杂志,2020,28(3):210-214.
- [13] Wang J, Jin Y, Li S, et al. Identification of microRNAs associated with the survival of patients with gallbladder carcinoma [J]. J Int Med Res, 2020, 48(5):1806-1811.
- [14] 李嘉,蒋基令,黄梦黎,等.胆囊癌患者血清sVEGF-C和CEA水平变化及其与组织病理学特征的关系探讨[J].实用肝脏病杂志,2020,23(2):284-287.
- [15] 郑茹瑜,丁建民,周燕,等.超声造影在诊断厚壁型胆囊癌中的应用[J].中国医学影像学杂志,2020,28(3):210-214.
- [16] 胡紫月,丁建民,周燕,等.超声造影与增强CT对厚壁型胆囊癌诊断价值研究[J].中国超声医学杂志,2019,35(12):1103-1105.
- [17] 袁波,傅晓辉,尹磊,等.联合检测肿瘤标志物对胆囊癌诊断及患者预后的价值[J].中华肝胆外科杂志,2019,25(10):746-750.
- [16] Renaud C, Virginie SR, Florence G, et al. PSMA Expression in Differentiated Thyroid Cancer: Association With Radioiodine, 18FDG Uptake, and Patient Outcome [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2021, 106(12):3536-3545.
- [17] 吴彩妮,魏丽芳,张卫群.甲状腺癌组织中CD147及survivin表达与术后淋巴结转移的相关性[J].中华实用诊断与治疗杂志,2021,35(1):32-35.
- [18] 陈伟,李晓艳,董频,等.血清促甲状腺激素水平与分化型甲状腺癌的相关性研究[J].中国眼耳鼻喉科杂志,2019,19(5):332-336+341.
- [19] 郭琪,姚昶,郭宇飞.乳腺疾病高危人群乳腺病认知度与乳腺自检现状调查及相关性研究[J].华南预防医学,2020,46(1):18-21.

(上接第1319页)

伴 *H3K27M* 突变的脊髓弥漫性中线胶质瘤的临床病理特征和预后

吴小延¹ 黄超芸² 罗威³ 王芳¹ 杜紫明¹ 邓玲^{1*}

[摘要] **目的** 探讨13例脊髓弥漫性中线胶质瘤伴 *H3K27M* 突变患者的临床病理特征和分子特征。**方法** 分析2017年至2021年间在中山大学附属肿瘤医院接受手术治疗的13例弥漫性中线胶质瘤伴 *H3K27M* 突变型患者的临床和分子病理特征及预后。并且描述了包括世界卫生组织 (WHO) 分级、年龄、性别、位置、替莫唑胺治疗以及 Ki-67、异柠檬酸脱氢酶 1 (*IDH1*) R132H 突变和 *TERT* 启动子 C228T 和 C250T 突变等临床和分子病理特征。生存率用 Kaplan-Meier 图绘制,并用 log-rank 检验进行比较。Cox 回归分析用于研究这些临床病理特征的预后价值。**结果** 13例病变中,免疫组织化学及分子检测显示所有病例 *H3K27M* 均为阳性;9例(81.8%, 9/11) p53 强阳性;8例(80.0%, 8/10) ATRX 表达缺失;10例(100.0%, 10/10) IP/19Q 共缺失阴性;13例 GFAP 及 Olig-2 检测显示两个均有不同程度阳性;Ki-67 阳性指数 1%~40%;10例 *IDH1* 及 8例 *TERT* 行基因检测均显示阴性。中位总生存时间为 13.0 个月(1.7~34 个月),随访期间 4 例患者死亡。组织学分级 I/III 和 IV 级肿瘤患者的中位总生存时间比较,两者差异无统计学意义 ($P>0.05$)。排除颈脊髓弥漫性中线胶质瘤患者和包括所有脊髓胶质瘤患者的中位生存时间比较,两者差异有统计学意义 ($P<0.05$)。此外,接受替莫唑胺治疗的患者和未接受替莫唑胺治疗的患者的平均生存时间比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 该研究报告了 13 例脊髓弥漫性中线胶质瘤的临床病理特征、生存分析及预后因素,并揭示在评估 *H3K27M* 突变型脊髓弥漫性中线胶质瘤的预后时不能忽视病变位置,为脊髓弥漫性中线胶质瘤专业化管理的循证实践提供了指南。

[关键词] 脊髓弥漫性中线胶质瘤; *H3K27M* 突变; 分子病理; 预后

Clinicopathological characteristics and prognosis of diffuse midline glioma of the spinal cord with *H3K27M* mutation

WU Xiaoyan¹, HUANG Chaoyun², LUO Wei³, WANG Fang¹, Du Ziming¹, DENG Ling^{1*}

(1. Department of Molecular Diagnostics, Sun Yat-sen University Cancer Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510060; 2. Department of Pathology, Sun Yat-sen University Cancer Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510060; 3. Department of Medical Imaging, Sun Yat-sen University Cancer Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510060)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinicopathological and molecular features of 13 patients with diffuse midline glioma of the spinal cord with *H3K27M* mutation. **Methods** The clinical and molecular pathological features and prognosis of 13 patients with diffuse midline glioma with *H3K27M* mutation who underwent surgical treatment from 2017 to 2021 in Sun Yat-sen University Cancer Hospital were analyzed. Clinical and molecular pathology including World Health Organization (WHO) classification, age, gender, loca-

基金项目:国家自然科学基金(81602468);广东省基础与应用基础研究基金(2020A1515010314, 2017A030310192);

中山大学青年教师培育项目(17ykpy84)

作者单位:1. 中山大学附属肿瘤医院分子诊断科, 广东, 广州 510060

2. 中山大学附属肿瘤医院病理科, 广东, 广州 510060

3. 中山大学附属肿瘤医院影像科, 广东, 广州 510060

*通信作者:邓玲, E-mail: dengling@susucc.org.cn

tion, temozolomide treatment, Ki-67, isocitrate dehydrogenase 1 (*IDH1*) R132H mutation, and *TERT* promoter C228T and C250T mutations were described. Survival rates were plotted using Kaplan-Meier plots and compared using log-rank tests. Cox regression analysis was used to study the prognostic value of these clinicopathological features. **Results** Among the 13 lesions, immunohistochemistry and molecular tests showed that all cases were positive for H3K27M; 9 cases (81.8%, 9/11) were strongly positive for p53; 8 cases (80.0%, 8/10) had *ATRX* expression loss; 10 cases (100.0%, 10/10) were negative for 1P/19Q co-deletion. 13 cases of *GFAP* and *Olig-2* were both positive to varying degrees. The Ki-67 positive index was 1% to 40%; 10 cases of *IDH1* and 8 cases of *TERT* line Genetic testing was negative. The median overall survival time was 13.0 months (1.7-34 months), and 4 patients died during the follow-up period. There was no significant difference in the median overall survival time between patients with histological grades I/III and IV tumors ($P>0.05$). There was a statistically significant difference in the median survival time between patients with diffuse midline gliomas in the cervical spinal cord and those with all spinal gliomas ($P<0.05$). In addition, the mean survival time of patients who received temozolomide and those who did not receive temozolomide was compared. The difference was not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusions** This study reported the clinicopathological characteristics, survival analysis and prognostic factors of 13 cases of diffuse midline glioma of the spinal cord, and revealed that the location of the lesion cannot be ignored when evaluating the prognosis of the H3K27M mutant diffuse midline glioma of the diffuse spinal cord. The evidence-based practice in the professional management of midline glioma provides guidelines.

[KEY WORDS] Diffuse midline glioma of the spinal cord; H3K27M mutation; Molecular pathology; Prognosis

根据2016年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)分类,在*H3F3A*或*HIST1H3B/C*中具有H3K27M突变的弥漫性中线胶质瘤被认为是一种新的实体,称为“弥漫性中线胶质瘤, H3K27M突变体”^[1]。它主要发生在丘脑、脑干和脊髓等中线结构。以往文献报道了弥漫性中线胶质瘤, H3K27M突变体在大脑的中线结构中,包括成人的丘脑和脑干;鲜有报道脊髓弥漫性中线胶质瘤 H3K27M突变病例^[2-3]。因此,迫切需要根据2016年WHO分类从患者中总结脊髓弥漫性中线胶质瘤 H3K27M突变体的特征和预后因素。本研究分析2017年至2021年在中山大学附属肿瘤医院确诊的13例脊髓弥漫性中线胶质瘤患者的临床、分子病理特征和预后因素。以更全面地了解脊髓弥漫性中线胶质瘤,并为其管理提供询证实践。

1 材料与方法

1.1 临床资料

评估2017年11月至2021年9月期间在中山大学附属肿瘤医院手术且经病理确诊为脊髓弥漫性中线胶质瘤的13名患者的临床结果见表1。患者平均年龄为(27.5±14.4)岁,76.9%(10/13)的患者为成人(≥18岁)。平均随访时间为15.3个月(1.7~34个月),其中男性10例,女性3例,男性占优势。肿

瘤的发生频率依次为胸椎(30.8%),胸腰椎(30.8%),腰椎(15.4%),颈椎(15.4%),颈胸椎(7.7%)。纳入标准:①所有患者均根据2016年WHO分类明确组织病理学诊断为脊髓弥漫性中线胶质瘤;②H3K27M均为突变状态;③可获得患者的随访信息。排除标准:①脊髓以外部位的胶质瘤患者;②H3K27M野生状态;③术后失访的患者。本研究经院医学伦理委员会批准,且获得所有患者知情同意。

1.2 方法

组织病理学分级是通过苏木精和伊红(H&E)染色对福尔马林固定/石蜡包埋(Formalin fixation/paraffin embedding, FFPE)样本进行常规评估来确定的。所有切片均由至少两名经验丰富的病理学家进行审查。免疫组织化学染色采用Envision法,单克隆抗体选用胶质纤维酸性蛋白(Glial fibrillary acidic protein, *GFAP*)购自北京中杉金桥生物技术有限公司(0.2 mL/支, 21030609)、*Olig-2*购自福州迈新生物技术开发有限公司(0.2 mL/支, 2106240681C3)、*ATRX*购自福州迈新生物技术开发有限公司(0.2 mL/瓶, 2107290855C2)、*P53*购自苏州百道医疗科技有限公司(0.2 mL/瓶, PA21061A01)、*H3K27M*购自基因科技(上海)有限公司(0.2 mL/瓶, 2021051401)、*Ki-67*购自丹麦Da-

表 1 13例脊髓弥漫中线胶质瘤患者的病理特征

Table 1 Pathological characteristics of 13 patients with diffuse midline glioma of the spinal cord

例序	WHO 级别	性别	年龄(岁)	临床主要表现	肿瘤部位	替莫唑胺化疗	结局
1	III	男	32岁	双下肢麻木,无力	T-L	是	D
2	IV	男	18岁	双下肢麻木,无力	T	否	D
3	IV	男	35岁	左下肢麻木疼痛,大小便障碍	L	是	A
4	IV	男	56岁	双下肢疼痛,乏力	T-L	是	A
5	IV	男	32岁	下肢麻木	L	是	D
6	IV	男	31岁	下肢无力伴麻木	T	是	A
7	IV	男	11岁	下肢麻木,大小便障碍	T-L	否	D
8	IV	男	3岁	上肢无力	C	否	A
9	IV	女	50岁	下肢麻木,大小便障碍	T-L	否	A
10	I	女	22岁	双下肢麻木,无力	T	否	A
11	IV	男	22岁	四肢麻木无力,大便障碍	C-T	是	A
12	IV	女	24岁	双下肢麻木,无力	T	否	A
13	IV	男	21岁	感觉障碍	C	是	A

注:C为颈椎,C-T为颈胸椎,T为胸椎,T-L为胸腰椎,D为死亡,A为存活。

ko公司(12 mL/瓶,41282723)。采用罗氏公司 BenchMark XT 全自动免疫组织化学仪器染色。*1p/19q* 共缺失通过荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术进行检测, FISH 探针购自广州安必平医药科技股份有限公司,包括 1q21/L 1p36 和 19p13/19q13 两组探针(5人份/盒,202112001),采用 Olympus BX51 荧光显微镜观察结果。

1.3 基因突变分析

采用 FFPE 样本 DNA 分离提取试剂盒(基因科技股份有限公司,50次测试/盒,批号:2021111801)提取组织 DNA,严格按照试剂盒说明书步骤进行操作。对抽提后的 DNA 进行 PCR 扩增后,通过 Sanger 测序检测 *H3F3A/HIST1H3B K27M*、*IDH1 R132H* 以及 *TERT* 启动子 C228T 和 C250T 突变;其中 *TERT* 采用巢式 PCR 的方法进行扩增,使用的引物序列见表 2。按 25 μL PCR 体系进行扩增。

H3F3A PCR 反应程序为: 94℃预变性 5 min, 94℃变性 30 s, 66℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 循环 10 次; 94℃变性 30 s, 56℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 循环 30 次; 72℃延伸 5 min, 12℃保温。*IDH1* PCR 反应程序为: 94℃预变性 5 min; 94℃变性 30 s, 56℃退火 30 s, 72℃延伸 30 s, 循环 32 次; 72℃延伸 5 min, 12℃保温。*TERT* PCR 反应程序为: 94℃预变性 5 min, 98℃变性 10 s, 75℃退火 1 min, 循环 30 次; 98℃变性 10 s, 58℃退火 15 s, 68℃延伸 1 min, 循环 35 次; 72℃延伸 5 min, 12℃保温。扩增后的 PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测目的条带。Sanger 测序利用测序试剂盒中 bigdye mix, 利用设计好的测序引物,于 ABI 3500XL 型测序仪进行测序。

1.4 随访方法

通过电话联系脊髓弥漫中线胶质瘤患者并询

表 2 H3/IDH1 基因引物序列

Table 2 H3/IDH1 gene primers sequence

基因	引物序列 5'-3'	产物长度(bp)
<i>H3F3A</i> -amplification F	GGCTCGTACAAAGCAGAC	277
<i>H3F3A</i> -amplification R	CAGTACATTTATTTAAGCAGTAG	
<i>H3F3A</i> -Sequencing primer	GGCTCGTACAAAGCAGAC	279
<i>HIST1H3B</i> -amplification F	TTCCTTTCTCCACAGACG	
<i>HIST1H3B</i> -amplification R	GGCGATTTCTCGACCAG	290
<i>HIST1H3B</i> -Sequencing primer	GGCGATTTCTCGACCAG	
<i>IDH1</i> -amplification F	TGCCACCAACGACCAAGTCA	500
<i>IDH1</i> -amplification R	CCTTGCTAATGGGTGTA	
<i>IDH1</i> -Sequencing primer	TGCCACCAACGACCAAGTCA	459
<i>TERT</i> -amplification F1	CAGCCTAGGCCGATTCGACCTCTCT	
<i>TERT</i> -amplification R1	CGGCAGCACCTCGCGGTAGTGG	459
<i>TERT</i> -amplification F2	TCTCCGCTGGGGCCCTC	
<i>TERT</i> -amplification R2	TGGCTGCGCAGCAGGGAG	459
<i>TERT</i> -Sequencing primer	TCTCCGCTGGGGCCCTC	

问患者的状态,采用中山大学肿瘤防治中心病案管理系统,通过查阅病历对患者进行了随访,随访内容包括性别、年龄、组织学分级及肿瘤部位。生存时间定义为从手术日期到最后一次随访或死亡日期。

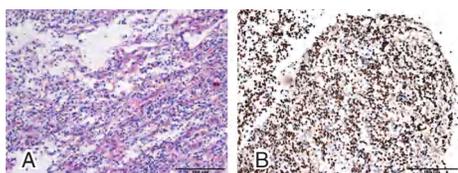
1.5 统计学方法

采用统计软件 R 语言对数据进行统计分析;预后因素和生存情况采用 Kaplan-Meier 和 log-rank 检验以及单变量 Cox 回归对结果进行比较分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分子病理特征

免疫组织化学染色显示,13 例病变中,所有肿瘤细胞呈 *H3K27M* 核阳性表达(以血管内皮细胞为阴性内对照),阳性率为 100% (100/100),见图 1。基因检测结果显示,13 例患者出现基因突变,与免疫组织化学阳性病例完全吻合,突变基因均为 *H3F3A* NM_002107.4: c.80A>T (p.K27M),见图 2。其他分子特征示瘤细胞不同程度的表达,11 例患者进行了 *P53* 检测,强阳性表达者 9 例 (81.8%);10 例进行 *ATRX* 检测,结果显示 8 例 *ATRX* 表达缺失 (80.0%);13 例患者进行 *GFAP* 及 *Olig-2* 检测,结果显示两个均有不同程度阳性;10 例进行 *IP/19Q* 共缺失检测,结果显示 10 例 (100%) *IP/19Q* 均阴性; *Ki-67* 阳性指数为 1%~40%。10 例患者 *IDH1* 基因检测均阴性;8 例患者 *TERT* 启动子基因检测均阴性。见表 3。



注:A 为肿瘤细胞排列密集,异型性明显,局灶坏死及钙化,间质伴小血管增生(HE, ×20);B 为肿瘤细胞核 H3K27M 弥漫阳性,增生的血管内皮为阴性对照(EnVision 法, ×20)。

图 1 脊髓弥漫中线胶质瘤病理特征

Figure 1 Pathological characteristics of diffuse midline glioma of the spinal cord

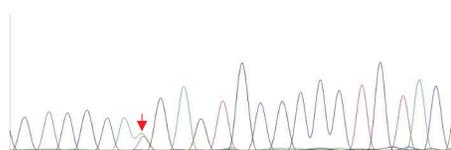


图 2 *H3K27M* 基因点突变 NM_002107.4: c.80A>T (p.K27M)

Figure 2 *H3K27M* gene point mutation NM_002107.4: c.80A>T (p.K27M)

表 3 13 例脊髓弥漫性中线胶质瘤的分子特征
Table 3 Molecular characteristics of 13 cases of diffuse midline glioma of the spinal cord

基因	个数	检测结果	个数	百分比 (%)
<i>IDH1</i>	13	突变	0	0.0
		野生	10	76.9
		未知	3	23.1
<i>TERT</i>	13	突变	0	0.0
		野生	8	61.5
		未知	5	38.5
<i>IP/19Q</i>	13	突变	0	0.0
		野生	10	76.9
		未知	3	23.1
<i>ATRX</i>	13	突变	8	61.5
		野生	2	15.4
		未知	3	23.1
<i>P53</i>	13	突变	9	69.2
		野生	2	15.4
		未知	2	15.4
<i>Olig2</i>	13	突变	13	100.0
		野生	0	0.0
		未知	0	0.0
<i>GFAP</i>	13	突变	13	100.0
		野生	0	0.0
		未知	0	0.0

2.2 生存分析

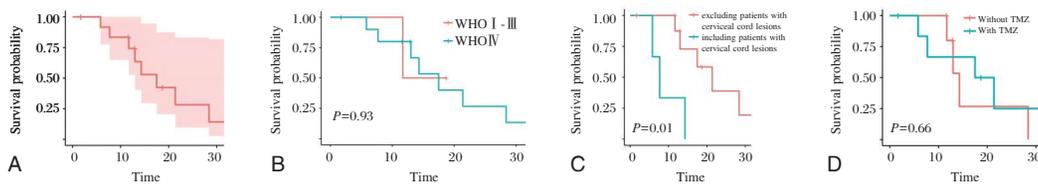
在本研究中,有 3 名患者表现出肿瘤扩散。13 例患者的生存率为 69.2%,中位生存时间为 13.0 个月 (1.7~34 个月),随访期间 4 例患者死亡。13 例脊髓弥漫中线胶质瘤患者的 1、2 年生存率分别为 61.5%、15.4%,见图 4A。组织学分级 I/III 和 IV 级肿瘤患者的中位总生存时间比较,两者差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 4B)。排除颈脊髓弥漫中线胶质瘤患者后,中位总生存时间为 15.3 个月,而在包括所有脊髓胶质瘤患者后,中位生存时间为 13.0 个月,两者差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 4C)。此外,7 名患者 (53.8%) 接受了替莫唑胺治疗,而接受替莫唑胺治疗的患者较未接受替莫唑胺治疗的患者平均生存时间长 4.5 个月;差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 4D。

2.3 COX 单因素分析

当年龄、性别、肿瘤位置、WHO 分级和替莫唑胺治疗被纳入 Cox 模型时,排除颈髓病变患者的因素与脊髓弥漫中线胶质瘤的预后之间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

由于脊髓胶质瘤的罕见性,其治疗仍存在争议,也没有建立专门的治疗指南^[1]。本研究根据病理分



注:A为总生存曲线;B为组织学分级的总生存曲线;C为排除颈髓患者的总生存曲线;D为替莫唑胺化疗的总生存曲线。

图4 13例脊髓弥漫中线胶质瘤患者的生存曲线

Figure 4 Survival curves of 13 patients with diffuse midline glioma of the spinal cord

表3 脊髓弥漫中线胶质瘤的单因素相关分析

Table 3 Single factor correlation analysis of diffuse midline glioma of the spinal cord

项目	HR	95% CI	P 值
年龄	1.07	0.12~9.72	0.95
性别	0.68	0.16~2.94	0.60
肿瘤部位	7.64	1.25~46.72	0.03 ^a
WHO 分级	1.10	0.13~9.44	0.93
替莫唑胺	0.72	0.17~3.03	0.66

注:年龄(>20=1, ≤20=0);性别(男=1, 女=0);肿瘤部位(包括颈髓病变的患者=1, 排除颈髓病变的患者=0);WHO 分级(WHO I-III=0, WHO IV=1);替莫唑胺治疗(是=1, 否=0);a表示差异有统计学意义。

级比较了中位总生存时间 WHO I/III级和 WHO IV级肿瘤患者,尽管两种级别的肿瘤患者的生存率差异无统计学意义,但 WHO I/III级胶质瘤患者的生存期更好,中位总生存时间为 15.2个月,而 WHO IV级胶质瘤患者的中位总生存时间为 13.0个月。本研究结果与之前的研究,替莫唑胺可降低脊髓胶质瘤患者术后复发率和死亡率结果一致^[4]。此外,本研究通过排除或包括颈髓病变的患者来比较生存率,两者差异有统计学意义。同样, Toshitaka Seki^[5]等人报道,排除颈髓病变患者与包括颈髓病变的所有患者预后差异有统计学意义, Nakamura^[6]等人报道,颈髓肿瘤患者的预后明显低于胸脊髓肿瘤患者。以上研究提示颈髓病变因素与脊髓弥漫中线胶质瘤预后存在相关性。

分子研究的最新进展显示,包括 *IDH1* 突变、*1p/19q* 共缺失、*H3K27M* 突变、*TERT* 启动子突变等基因,彻底改变了诊断胶质瘤的分类和精准化治疗^[2]。然而,与脑胶质瘤相比,以往关于脊髓胶质瘤的研究单篇报道比较罕见,脊髓胶质瘤的分子特征仍然很大程度上未知^[5,7-8]。本研究 13 例脊髓弥漫中线胶质瘤的分子研究显示,*IDH1* 突变率 0% (0/10), *ATRX* 和 *P53* 分别为 80.0% (8/10) 和 81.8% (9/11)。与之前的文献相符合^[9-11]。有研究提示 *TERT* 启动子突变与 *IDH1* 野生型脊髓胶质瘤的存

活率低有关^[12]。本研究发现 8 例 *TERT* 启动子全部无突变。另外,本研究也揭示分子谱的同质性,例如所有 *IDH1* 及 *TERT* 阴性,无 *1p/19q* 共缺失。

此外,本研究注意到 *H3K27M* 突变型脊髓弥漫中线胶质瘤的中位年龄为 31 岁(11~56 岁), *H3K27M* 突变型脊髓弥漫中线胶质瘤的中位总生存时间为 13 个月,这与之前的报道一致,但与脑干星形细胞瘤有显著差异,脑干细胞瘤主要发生在青少年中,中位总生存时间小于 12 个月^[13]。以上结论说明控制发育的遗传因素在脑干和脊髓星形细胞瘤存在差异,并可能为治疗策略提供特定位置的分子靶点。

综上,虽然 *H3K27M* 突变被认为是弥漫性中线胶质瘤的有力标志物,但研究证明在评估 *H3K27M* 突变脊髓星形细胞瘤的预后时不能忽视颈髓病变患者。本研究结果为改善脊髓弥漫中线胶质瘤的管理提供了基于证据的信息。本研究的局限性包括其回顾性设计,并且由于样本数量小,缺乏可用样本进行充分分析,这可能会引入选择偏差。未来有必要通过大规模数据分析来证实脊髓弥漫中线胶质瘤的特异性,并为髓弥漫中线胶质瘤的临床治疗寻找新的分子标志物。

参考文献

[1] Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary [J]. Acta Neuropathol, 2016, 131: 803-820.

[2] Yi S, Choi S, Shin DA, et al. Impact of H3.3 K27M mutation on prognosis and survival of grade IV spinal cord glioma on the basis of new 2016 World Health Organization classification of the central nervous system [J]. Neurosurgery, 2019, 84(5): 1072-1081.

[3] Karremann M, Gielen GH, Hoffmann M, et al. Diffuse high-grade gliomas with H3 K27M mutations carry a dismal prognosis independent of tumor location [J]. Neuro Oncol, 2018, 20: 123-131. (下转第 1333 页)

· 论 著 ·

类泛素蛋白 FAT10 通过 Nrf2/HO-1 通路对心肌细胞缺血缺氧修复损伤的保护作用

陈天德¹ 曹玉芳^{2*}

[摘要] **目的** 探讨类泛素蛋白人类白细胞抗原 F 介导转录因子 10(FAT10)在心肌细胞缺血缺氧修复损伤中的作用及机制。**方法** 采用 H9C2 大鼠心肌细胞构建缺氧复氧模型,将心肌细胞分为对照组、缺氧 4 h 组、复氧 2 h 组及复氧 4 h 组。采用细胞活力检测试剂盒(CCK-8)检测细胞活性,采用 Annexin V-FITC/PI 法检测心肌细胞凋亡,采用微量酶标法检测乳酸脱氢酶(LDH)。将阴性对照 RNA 序列(si-CON)和 FAT10 沉默序列转入心肌细胞,将细胞分为对照组、缺氧 4 h+si-CON 组、缺氧 4 h+siRNA 组、复氧 4 h+si-CON 组、复氧 4 h+siRNA 组。Western-blot 检测细胞 FAT10、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平。**结果** 随复氧时间延长,心肌细胞存活率下降,心肌细胞损伤加重,细胞凋亡率升高,在复氧 4 h 后最低。复氧 4 h 组细胞存活率低于对照组,而 LDH 水平及细胞凋亡率高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。FAT10 蛋白表达水平:复氧 4 h+siRNA 组<缺氧 4 h+siRNA 组<缺氧 4 h+si-CON 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。转染 siRNA 后,心肌细胞 FAT10 蛋白表达水平下降,凋亡率增高,Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平下降($P<0.05$)。**结论** FAT10 可能通过 Nrf2/HO-1 通路抗心肌细胞凋亡,进而对缺氧修复损伤起到保护作用。

[关键词] 人类白细胞抗原 F 介导转录因子 10; 心肌; 缺氧复氧损伤; 核因子 E2 相关因子 2; 血红素氧化酶 1

Protective effect of ubiquitin-like protein FAT10 on myocardial ischemia-hypoxia repair injury through Nrf2/HO-1 pathway

CHEN Tiande¹, CAO Yufang^{2*}

(1. Department of Critical Care Medicine, Ding'an County People's Hospital, Dingan, Hainan, China, 571200; 2. Department of Critical Care Medicine, Haikou Hospital Affiliated to Xiangya School of Medicine, Central South University, Haikou, Hainan, China, 570208)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the role and mechanism of ubiquitin-like protein human leukocyte antigen F-mediated transcription factor 10 (FAT10) in cardiomyocyte hypoxia-reinjury. **Methods** H9C2 rat cardiomyocytes were used to construct the hypoxia-reoxygenation model, and the cardiomyocytes were divided into the control group, the hypoxia 4h group, the reoxygenation 2 h group and the reoxygenation 4 h group. Cell viability was detected by cell viability detection kit (CCK-8). Cardiomyocyte apoptosis was detected by Annexin V-FITC/PI method, and lactate dehydrogenase (LDH) was detected by micro-enzyme labeling method. The negative control RNA sequence (si-CON) and FAT10 silencing sequence were transferred into cardiomyocytes, and the cells were divided into the control group, the hypoxia 4 h+si-CON group, the hypoxia 4 h+siRNA group, and the reoxygenation 4h+si-CON group, the Reoxygenation 4 h+siRNA group. Western-blot detection of FAT10, Nrf2, HO-1 protein expression levels. **Results** With the prolongation of reoxygenation time, the survival rate of cardiomyocytes decreased, the injury of cardiomyocytes aggravated,

基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(18A200156)

作者单位:1. 定安县人民医院重症医学科,海南,定安 571200

2. 中南大学湘雅医学院附属海口医院重症医学科,海南,海口 570208

*通信作者:曹玉芳, E-mail: cyf12536@163.com

and the apoptosis rate increased, which was the lowest after 4 h of reoxygenation. The survival rate of cells in the 4 h reoxygenation group was lower than that in the control group, while the level of LDH and the apoptosis rate were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). FAT10 protein expression level: Reoxygenation 4h + siRNA group < hypoxia 4 h + siRNA group < hypoxia 4 h + si-CON group. After transfection of siRNA, the expression level of FAT10 protein in cardiomyocytes decreased, the apoptosis rate increased, and the protein expression levels of Nrf2 and HO-1 decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** FAT10 may resist cardiomyocyte apoptosis through the Nrf2/HO-1 pathway, thereby protecting against hypoxia-reinjury.

[KEY WORDS] FAT10; myocardium; Hypoxia-reoxygenation injury; Nrf2; HO-1

缺血性心肌病是心血管疾病中最严重的一类,致死率较高^[1]。缺血心肌组织恢复血供后发生再灌注损伤是缺血性心肌病发生的重要原因之一^[2]。心肌再灌注损伤的发病机制目前尚未完全明确。有研究显示,心肌缺血早期的心肌细胞损伤以凋亡为主,而晚期以坏死为主^[2]。探讨缺血再灌注损伤心肌细胞凋亡的机制有重要意义。类泛素蛋白人类白细胞抗原F介导转录因子10(Human HLA-F adjacent transcript 10, FAT10)在人类各种组织中广泛表达,在靶蛋白降解、细胞周期调控、免疫调控等过程中发挥重要作用^[3-5]。近年来研究显示,FAT10与细胞凋亡密切相关^[3]。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid2-related factor 2, Nrf2)是机体重要的抗氧化分子,可以靶向调控血红素氧化酶1(heme oxygenase 1, HO-1),影响心肌细胞凋亡^[6],在心肌缺血再灌注损伤的发病过程中起到重要作用^[7]。FAT10与Nrf2/HO-1通路的关系尚不清楚,本研究采用小干扰RNA(siRNA)沉默FAT10蛋白,检测心肌细胞凋亡情况,旨在探讨FAT10在心肌缺血再灌注损伤中的作用,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

H9C2大鼠心肌细胞购于通派(上海)生物科技有限公司,胎牛血清、DMEM培养基和胰蛋白酶购于上海卧宏生物科技有限公司,细胞活力检测试剂盒(cell counting kit 8, CCK-8)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂盒购于武汉卡诺斯科技有限公司,BCA蛋白定量试剂盒和十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司,siRNA转染试剂购于美国Sigma公司,Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购于上海翊

圣生物科技有限公司,FAT10抗体、Nrf2抗体、HO-1抗体、GAPDH抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔抗体均购于美国bioxcell公司,混合气体购于上海恒远生物科技有限公司,FAT10沉默序列由上海吉玛制药技术有限公司设计并提供,序列为:5'-GCCCTTACCGTTCCAAGGCC-3'。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将H9C2细胞置于含有10%胎牛血清、1%青霉素/链霉素双抗混合液的DMEM培养基中,进行传代培养,培养条件为5% CO₂、37℃。待细胞生长至80%时,用胰蛋白酶消化进行传代。

1.2.2 心肌细胞缺氧复氧模型的构建

将细胞(密度为 2×10^5 /孔)接种于6孔板中,在5% CO₂、37℃条件下培养48 h。将95%氮气和5% CO₂充入Concept 400M厌氧培养箱,构建缺氧复氧模型。将细胞分为对照组、缺氧4 h组、复氧2 h组及复氧4 h组。对照组正常培养。缺氧前首先将DMEM培养基更换为无糖无血清培养基,进行同步化处理3 h,随后将缺氧组及复氧组细胞放入厌氧培养箱,冲入混合气体,缺氧4 h后取出。复氧组将培养基更换为DMEM培养基,在5% CO₂、37℃条件下进行复氧处理2、4 h。

1.2.3 CCK-8法检测心肌细胞活力

将心肌细胞(密度为 8×10^3 /孔)接种于96孔板,对照组正常培养,其余组缺氧复氧处理后,加入CCK-8溶液,孵育1 h,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。使用BK-EL10C酶标仪在450 nm处检测光密度值。实验重复4次。

1.2.4 微量酶标法检测LDH

建立心肌细胞缺氧复氧模型后,取细胞上清液,使用LDH试剂盒以微量酶标法检测LDH,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。实验重复4次。

1.2.5 Annexin V-FITC/PI 法检测心肌细胞凋亡

将细胞制成 1×10^6 个/mL 的悬液, 加入 $5 \mu\text{L}$ 异硫氰酸荧光素, 孵育 10 min, 随后加入 $2.5 \mu\text{L}$ 碘化丙啶, 孵育 5 min。最后使用美国 Orflo 流式细胞仪检测凋亡率。实验重复 4 次。

1.2.6 细胞转染

将心肌细胞(密度为 2×10^5 /孔)加入 6 孔板, 用 $120 \mu\text{L}$ riboFECT CP Buffer(v2) 转染试剂稀释 $10 \mu\text{L}$ 的 siRNA 储备液, 随后加入 $12 \mu\text{L}$ riboFECT CP Buffer(v4), 温室孵育 10 min。随后将混合物加入 $1\ 858 \mu\text{L}$ 的 DMEM 培养基中。用脂质体转染法将阴性对照 RNA 序列(si-CON) 和 FAT10 沉默序列转入心肌细胞。将心肌细胞分为对照组、缺氧 4 h+si-CON 组(阴性对照)、缺氧 4 h+siRNA 组、复氧 4 h+si-CON 组(阴性对照)、复氧 4 h+siRNA 组。

1.2.7 Western-blot 检测心肌细胞 FAT10、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平

用 RAPI 裂解液提取心肌细胞中的总蛋白, 用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 10% SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 用半干转移法将蛋白转至 PVDF 膜上。随后用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 加入 FAT10 抗体(稀释 500 倍)、Nrf2 抗体(稀释 1 000 倍)、HO-1 抗体(稀释 1 000 倍), 4°C 过夜孵育, 次日除去一抗, 用 TBST 缓冲液洗涤 3 次后加入二抗。用 ECL 发光仪成像, Image J 软件分析灰度值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计处理。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组内两两比较用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 缺氧复氧模型的建立

细胞活性检测结果显示, 随时间延长, 心肌细胞存活率下降, 在复氧 4 h 后最低。复氧 4 h 组细胞存活率低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。LDH 检测结果显示, 随时间延长, 心肌细胞损伤加重, 在复氧 4 h 后最严重。复氧 4 h 组 LDH 活性高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。流式细胞术检测结果显示, 在复氧 4 h 后心肌细胞凋亡率最高。复氧 4 h 组细胞凋亡率高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 各组细胞存活率、LDH 活性和细胞凋亡率比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Comparison of cell survival rate, LDH activity and apoptosis rate in each group $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	细胞存活率 (%)	LDH 活性 (U/L)	细胞凋亡率 (%)
对照组	4	1	87.23 ± 6.27	4.08 ± 0.87
缺氧 4 h 组	4	65.12 ± 10.12^a	110.26 ± 14.29^a	8.21 ± 1.02^a
复氧 2 h 组	4	62.7 ± 15.20^a	200.34 ± 35.05^a	14.65 ± 3.41^a
复氧 4 h 组	4	54.70 ± 8.24^a	271.46 ± 60.02^a	19.33 ± 3.17^a

注: 与对照组比较, $^a P < 0.05$ 。

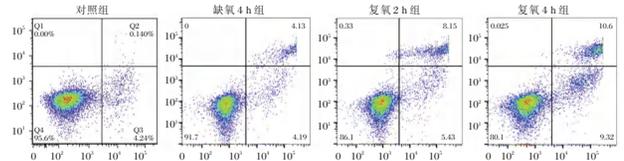


图 1 流式细胞术检测的代表性图片

Figure 1 Representative images of drain cytometry assays

2.2 缺氧复氧对 FAT10 蛋白表达的影响

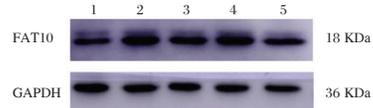
FAT10 蛋白表达水平: 复氧 4 h+si-CON 组 > 缺氧 4 h+si-CON 组 > 对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2、图 2。

表 2 各组 FAT10 蛋白相对表达量及细胞凋亡率比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of the relative expression of FAT10 protein and cell apoptosis rate in each group $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	蛋白相对表达量	细胞凋亡率 (%)
对照组	4	1	3.67 ± 1.50
缺氧 4h+si-CON 组	4	1.67 ± 0.23^a	7.43 ± 2.03
缺氧 4h+siRNA 组	4	1.12 ± 0.20^c	14.04 ± 3.15^c
复氧 4h+si-CON 组	4	2.02 ± 0.31^{ab}	12.00 ± 2.32
复氧 4h+siRNA 组	4	1.03 ± 0.17^c	16.46 ± 1.29^c

注: 与对照组比较, $^a P < 0.05$; 与缺氧 4h+si-CON 组比较, $^b P < 0.05$; 与对应的阴性对照组比较, $^c P < 0.05$ 。



注: 1 为对照组; 2 为缺氧 4h+si-CON 组; 3 为缺氧 4 h+si-RNA 组; 4 为复氧 4 h+si-CON 组; 5 为复氧 4 h+si-RNA 组。

图 2 Western-blot 检测的代表性条带

Figure 2 Representative bands detected by Western-blot

2.3 沉默 FAT10 表达对心肌细胞凋亡的影响

FAT10 蛋白表达水平: 复氧 4 h+siRNA 组 < 缺氧 4 h+siRNA 组 < 缺氧 4 h+si-CON 组, 见表 2、图 2。沉默 FAT10 后细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$)。见表 2、图 3。

2.4 沉默 FAT10 表达对 Nrf2、HO-1 蛋白表达水平的影响

缺氧复氧损伤使 FAT10 蛋白表达水平增加,

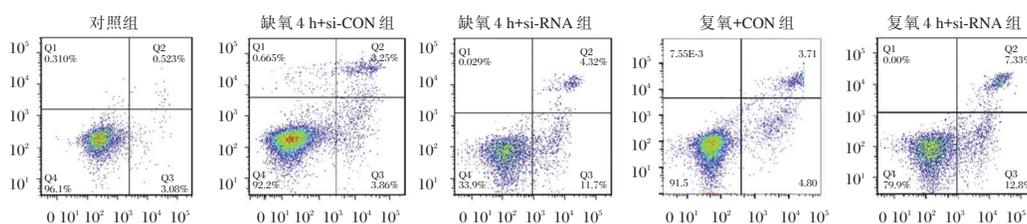


图3 流式细胞术检测的代表性图片

Figure 3 Representative images of drain cytometry assays

Nrf2、HO-1 蛋白表达水平也增高。沉默 FAT10 后,Nrf2、HO-1 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。见表 3 和图 4。

表 3 各组 FAT10、Nrf2、HO-1 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of protein expression levels of FAT10, Nrf2 and HO-1 in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FAT10	Nrf2	HO-1
对照组	4	1	1	1
复氧 4h+si-CON 组	4	1.95±0.21	1.45±0.12	1.51±0.10
复氧 4h+si-RNA 组	4	1.62±0.10 ^a	1.21±0.09 ^a	1.18±0.11 ^a

注:与复氧 4h+si-CON 组比较,^a $P<0.05$ 。

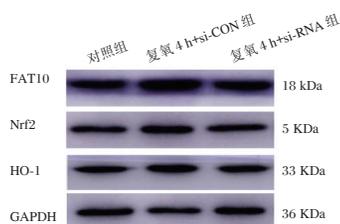


图4 Western-blot 检测的代表性条带

Figure 4 Representative bands detected by Western-blot

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤会造成一系列并发症,如心律失常、心衰等,对疾病预后造成不良影响^[8]。心肌缺血再灌注损伤的发病机制目前尚未完全明确,可能与氧化应激损伤、钙离子超载、能量代谢障碍、免疫炎症损伤等有关^[9-10]。心肌缺血再灌注损伤过程中存在心肌细胞凋亡现象,如何减少心肌细胞凋亡已成为疾病研究热点^[11-12]。FAT10 是泛素样蛋白家族成员之一,由 165 个氨基酸组成,其基因位于 6 号染色体上。既往 FAT10 在肿瘤疾病中被研究的较多,FAT10 与细胞增殖、细胞周期、凋亡和免疫反应密切相关^[13]。研究发现,FAT10 可以通过稳定 caveolin-3 缓解缺氧诱导的心肌细胞凋亡^[14]。另外,FAT10 可以抑制沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1)改善心肌细胞自噬,进而对缺血心肌组织

起到保护作用^[15]。

FAT10 与心肌缺血再灌注损伤的关系,既往未见报道。本研究将 95% 氮气和 5% CO₂ 充入 Concept 400M 厌氧培养箱,构建缺氧复氧模型。细胞活性检测结果显示,随时间延长,心肌细胞存活率下降,在复氧 4 h 后最低。复氧 4 h 组细胞存活率低于对照组。LDH 检测结果显示,随时间延长,心肌细胞损伤加重,在复氧 4 h 后最严重。复氧 4 h 组 LDH 活性高于对照组。流式细胞术检测结果显示,在复氧 4 h 后心肌细胞凋亡率最高。复氧 4 h 组细胞凋亡率高于对照组。结合上述结果,本研究选择缺氧 4 h、复氧 4 h 为模型建立的时间进行后续研究。缺氧 4h、复氧 4h 为模型建立的最佳时间,与既往报道一致^[16]。在心肌细胞缺氧复氧过程中,心肌细胞 FAT10 表达水平升高。

本研究中,缺氧 4 h+si-CON 组 FAT10 蛋白相对表达水平高于对照组,复氧 4 h+si-CON 组 FAT10 蛋白相对表达水平高于对照组,复氧 4 h+si-CON 组 FAT10 蛋白相对表达水平高于缺氧 4 h+si-CON 组,提示 FAT10 参与了缺氧复氧损伤过程,可能是保护心肌细胞损伤的因子。此外,沉默 FAT10 后细胞凋亡率升高,说明 FAT10 激活与心肌细胞凋亡有关,可能起到保护作用。Nrf2 是抗氧化应激损伤的重要分子,受到刺激后,Nrf2 进入细胞核,与氧化应激元件结合后被激活,进而靶向作用于 HO-1,发挥抗氧化作用^[17]。既往研究显示,Nrf2/HO-1 通路心肌细胞凋亡有关^[17]。本研究发现,沉默 FAT10 基因后 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平降低,提示 FAT10 可能通过激活 Nrf2/HO-1 通路对心肌细胞缺氧复氧损伤起到保护作用。

综上所述,FAT10 可能通过 Nrf2/HO-1 通路抗心肌细胞凋亡,进而对缺氧修复损伤起到保护作用,FAT10 可能成为缺血再灌注损伤的潜在靶点。然而本研究仅分析了 FAT10 对心肌细胞存活及凋亡的影响,未分析心肌细胞免疫炎症损伤、氧化应

激损伤等的变化,而这些变化与缺血再灌注损伤密切相关。未来需要开展细胞和动物研究,进一步明确 FAT10 在缺血再灌注中的作用及机制。

参考文献

- [1] Moroni F, Gertz Z, Azzalini L. Relief of Ischemia in Ischemic Cardiomyopathy[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2021, 23(7):80.
 - [2] 李宇轩,李冬,燕荣锟,等. miRNA 在心肌缺血再灌注损伤诊疗中作用的临床研究进展[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2022, 30(4):123-129.
 - [3] Arshad M, Abdul Hamid N, Chan MC, et al. NUB1 and FAT10 Proteins as Potential Novel Biomarkers in Cancer: A Translational Perspective[J]. *Cells*, 2021, 10(9):2176.
 - [4] Mah MM, Roverato N, Groettrup M. Regulation of Interferon Induction by the Ubiquitin-Like Modifier FAT10[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(6):951.
 - [5] Shi F, Li L, Cheng Y. FAT10 stimulates the development of osteosarcoma by regulating the JAK/STAT signaling pathway[J]. *J buon*, 2021, 26(5):2090-2096.
 - [6] Guo H, Wang Y, Jia W, et al. MiR-133a-3p relieves the oxidative stress induced trophoblast cell apoptosis through the BACH1/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Physiol Res*, 2021, 70(1):67-78.
 - [7] 李泽华,关贤颂,蒋路平. 黄芩甲苷通过 NRF2/HO-1 信号通路减轻小鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(12):2147-2153.
 - [8] 洪名扬,富路. 冠心病心肌缺血再灌注损伤机制研究的进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2022, 31(2):241-245.
 - [9] Wang K, Li Y, Qiang T, et al. Role of epigenetic regulation in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170:105743.
 - [10] Mui D, Zhang Y. Mitochondrial scenario: roles of mitochondrial dynamics in acute myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021, 41(1):1-5.
 - [11] Fu D, Gao T, Liu M, et al. LncRNA TUG1 aggravates cardiomyocyte apoptosis and myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Histol Histopathol*, 2021, 36(12):1261-1272.
 - [12] Korshunova AY, Blagonravov ML, Neborak EV, et al. BCL2-regulated apoptotic process in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review)[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(1):23-36.
 - [13] Xiang S, Shao X, Cao J, et al. FAT10: Function and Relationship with Cancer[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2020, 13(3):182-191.
 - [14] Zhou Q, Peng X, Liu X, et al. FAT10 attenuates hypoxia-induced cardiomyocyte apoptosis by stabilizing caveolin-3[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 116:115-124.
 - [15] Wan R, Yuan P, Guo L, et al. Ubiquitin-like protein FAT10 suppresses SIRT1-mediated autophagy to protect against ischemic myocardial injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 153:1-13.
 - [16] Zhu K, Guo J, Yu X, et al. Polypeptide Globular Adiponectin Ameliorates Hypoxia/Reoxygenation-Induced Cardiomyocyte Injury by Inhibiting Both Apoptosis and Necroptosis[J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021:1815098.
 - [17] 郭施勉,楚英杰. 脂联素通过 Nrf2/HO-1 通路对急性心肌梗死大鼠心功能和心肌细胞凋亡的作用机制[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(14):2343-2347.
-
- (上接第 1328 页)
- [4] 胡国良,李全春,朱强,等. 替莫唑胺对脊髓胶质瘤的疗效及对 MGMT, Survivin 和 caspase-3 的影响[J]. *延安大学学报:医学科学版*, 2020, 18(4):29-33.
 - [5] Toshitaka, Seki, Kazutoshi, et al. Surgical Outcomes of High-Grade Spinal Cord Gliomas[J]. *Asian spine J*, 2015, 9(6):935-941.
 - [6] Nakamura M, Chiba K, Ishii K, et al. Surgical outcomes of spinal cord astrocytomas[J]. *Spinal Cord*, 2007, 44(12):740-745.
 - [7] Castel D, Philippe C, Kergrohen T, et al. (2018) Transcriptional and epigenetic profiling of 'diffuse midline gliomas, H3 K27M-mutant' discriminate two subgroups based on the type of histone H3 mutated and not supratentorial or infratentorial location[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018,6(1):117.
 - [8] Wang L, Li Z, Zhang M, et al. (2018) H3 K27M-mutant diffuse midline gliomas in different anatomical locations[J]. *Hum Pathol*, 2018, 78:89-96.
 - [9] Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. (2009) IDH1 and IDH2 mutations in gliomas[J]. *N Engl J Med*, 360:765-773.
 - [10] Zhang Y, Li J, Yi K, et al. (2019) Elevated signature of a gene module coexpressed with CDC20 marks genomic instability in glioma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(14):6975-6984.
 - [11] Solomon DA, Wood MD, Tihan T, et al. Diffuse Midline Gliomas with Histone H3-K27M Mutation: A Series of 47 Cases Assessing the Spectrum of Morphologic Variation and Associated Genetic Alterations[J]. *Brain Pathol*, 2016, 26:569-580.
 - [12] Alvi MA, Ida CM, Paolini MA, et al. Spinal cord high-grade infiltrating gliomas in adults: clinico-pathological and molecular evaluation[J]. *Mod Pathol*, 2019, 32(9):1236-1243.
 - [13] Jiang H, Yang K, Ren X, et al. Retraction notice: Diffuse midline glioma with H3 K27M mutation: a comparison integrating the clinical, radiological, and molecular features between adult and pediatric patients[J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(5):736.

T2DM患者 miR-377、VEGF 及 8-iso-PGF2 α 水平与肾损伤的相关性

范艳艳* 吕莎莎 耿金平

[摘要] 目的 分析 8-异前列腺素 F2 α (8-iso-PGF2 α)、miR-377 和血管内皮生长因子(VEGF)水平与 2 型糖尿病(T2DM)患者肾损伤的相关性。方法 选取 2019 年 1 月到 2020 年 10 月 200 例廊坊市中医医院收治的 200 例 T2DM 患者,根据是否发生肾损害分为肾损害组($n=62$)和非肾损害组($n=138$)。检测两组血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 、胱抑素 C(Cys-C)、血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、C 反应蛋白(CRP)以及白蛋白水平;采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测血清 miR-377 表达水平;采用 Pearson 相关性分析血清 miR-377 表达、血浆 VEGF 和 8-iso-PGF2 α 水平与 2 型糖尿病患者肾损伤的相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-377 表达、血浆 VEGF 和 8-iso-PGF2 α 水平对 T2DM 患者发生肾损害的预测价值。结果 两组白蛋白、CRP、Scr、BUN、Cys-C 和 β 2-MG 水平比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。肾损伤组患者血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平均明显高于非肾损伤组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 相关性分析显示,血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平与 T2DM 患者肾损伤程度呈正相关($P<0.05$)。血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 、血清 miR-377 表达水平及联合检测鉴别诊断 T2DM 肾损伤的 AUC 分别为 0.781、0.767、0.770、0.882($P<0.05$)。结论 血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平与 T2DM 患者肾损伤程度呈正相关,对 T2DM 患者是否发生肾损伤及预测其损伤程度有一定应用价值。

[关键词] miR-377; 8-异前列腺素 F2 α ; 血浆胱抑素 C; β 2-微球蛋白; 2 型糖尿病; 肾功能损伤

Correlation between miR-377, VEGF, 8-iso-PGF2 α levels and renal damage in patients with type 2 diabetes mellitus

FAN Yanyan*, LV Shasha, GENG Jinping

(Department of Endocrinology, Langfang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Langfang, Hebei, China, 065000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between 8-isoprostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α), miR-377, vascular endothelial growth factor (VEGF) levels and renal damage in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** A total of 200 patients with T2DM admitted to Langfang Hospital of Traditional Chinese Medicine were enrolled between January 2019 and October 2020. According to presence or absence of renal damage, they were divided into the damage group ($n=62$) and the non-damage group ($n=138$). The levels of plasma VEGF, 8-iso-PGF2 α , Cys-C, BUN, Scr, CRP and albumin in both groups were detected. The expression level of serum miR-377 was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR). The correlation between miR-377, VEGF, 8-iso-PGF2 α levels and renal damage in T2DM patients was analyzed by Pearson correlation analysis. And their predictive value for renal damage was analyzed by the receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** There were significant differences in the levels of albumin, CRP, Scr, BUN, Cys-C and β 2-MG between the two groups ($P<0.05$). The expression levels of plasma VEGF, 8-iso-PGF2 α and serum miR-377 in damage group were significantly higher than those in the

基金项目:河北省科技厅计划资助项目(19277768D)

作者单位:廊坊市中医医院内分泌科,河北,廊坊 065000

*通信作者:范艳艳, E-mail:wpfv94@163.com

non-damage group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the levels of plasma VEGF, 8-iso-PGF2 α and serum miR-377 were positively correlated with the renal damage in T2DM patients ($P<0.05$). The AUC values of plasma VEGF, 8-iso-PGF2 α , serum miR-377 and combined detection in the differential diagnosis of renal damage were 0.781, 0.767, 0.770 and 0.882, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of plasma VEGF, 8-iso-PGF2 α and serum miR-377 are positively correlated with the severity of renal damage in T2DM patients, which has a certain application value for the occurrence of renal injury in patients with T2DM and the prediction of the degree of injury.

[KEY WORDS] MiR-377; 8-isoprostaglandin F2 α ; Plasma cystatin C; β 2-microglobulin; Type 2 diabetes mellitus; Renal damage

目前我国糖尿病患者以2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)为主,由微血管病变引发的糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)是T2DM最严重并发症之一,严重影响患者预后,因此,预测肾损伤发生对T2DM患者有重要的临床意义^[1-2]。微小RNA(microRNA, miRNA)参与代谢和细胞凋亡等多个生物过程。既往研究表明, DN患者体内异常表达的miRNAs可能与其发生、发展和转归有所关联,因此差异化表达的miRNAs水平有望成为早期诊断糖尿病患者肾功能损伤的生物学指标,进一步推进临床DN治疗^[3]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可以促进血管内皮细胞增殖,提高血管通透性,miRNA通过调节VEGF表达调控血管生成,影响疾病进展^[4]。8-异前列腺素F2 α (8-isoprostaglandin F2 α , 8-iso-PGF2 α)是评价机体氧化应激反应的特征指标,尿 β 2-微球蛋白(β 2-microglobulin, β 2-MG)常被用作早期诊断肾损伤的特异性指标,胱抑素C(Cystatin C, Cys-C)是评价肾小球过滤功能的指标^[5-6]。本研究将通过分析上述指标与T2DM患者肾损伤相关性以及对肾损伤发生的预测价值,以期为临床早期诊断T2DM患者肾损伤提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2019年1到2020年10月廊坊市中医医院收治的200例2型糖尿病患者。纳入标准:①根据中华医学会糖尿病学分会制定的相关标准^[7]确诊为T2DM:有典型糖尿病症状,空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L或随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L;或无典型糖尿病症状,连续两次空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L或餐后2 h血糖 ≥ 11.1 mmol/L或连续两次随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L。②年龄35~75岁。排除标准:①有家族糖尿病史或患有1型糖尿病;②其他基础肾脏疾病;③合并

严重感染后恶性肿瘤;④近期经历大手术;⑤临床资料不完整。根据糖尿病肾损伤相关诊断标准^[8],取24 h尿白蛋白排泄率(urinary albumin excretion rate, UAER)水平三次测量平均值,UAER=30~300 mg/24 h定义为肾损伤,UAER ≤ 30 mg/24 h定义为肾未损伤,将患者分为肾损害组62例($n=62$)和非肾损害组138例($n=138$)。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 观察指标与检测方法

记录两组研究对象年龄、性别、空腹血糖和病程等一般资料。

1.2.1 基础指标

采集所有研究对象清晨空腹静脉血及晨尿各5 mL,向血液样本中加入肝素钠抗凝,将血液和尿液样本离心(3 500 r/min, $r=10$ cm, 10 min),取上清液,采用免疫比浊法检测血浆Cys-C、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平和尿 β 2-MG水平,采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血浆8-iso-PGF2 α 和VEGF水平;采用脲酶电极法检测血尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)水平;采用苦味酸法检测血肌酐(Serum Creatinine, Scr)水平。所有试剂盒均购自上海臻科生物科技有限公司。

1.2.2 血清miR-377表达水平

采集所有患者清晨空腹静脉血5 mL,离心(3 500 r/min, $r=10$ cm, 10 min)取上清,加入Trizol提取总RNA,使用逆转录试剂盒(北京泰泽嘉业科技发展有限公司)将RNA逆转录为cDNA,以cDNA为模板,按PCR扩增试剂盒(杭州昊鑫生物科技股份有限公司)说明进行PCR扩增,以GAPDH为内参,实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测血清miR-377表达。miR-377引物序列为:上游:5'-GTTTGTTTTAGGGTTATAGAAGTT-

GG-3', 下游: 5'-ATATAACCTTATTCAATCCAA CCTAC-3'; GAPDH 引物序列为: 上游: 5'-GT-CAACGGATTTGGTCTGTATT-3'; 下游: 5'-AGT CTTCTGGGTGGCAGTGAT-3'。引物均由宝生物工程(大连)有限公司合成。PCR 反应体系: 反应总体积 15 μ L, 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min、94 $^{\circ}$ C 变性 30 s、58 $^{\circ}$ C 退火 30 s、72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 45 个循环。重复实验 3 次, 取平均值, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析, 计数资料用 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 t 检验; 采用 Pearson 分析血浆 8-iso-PGF2 α 、VEGF 和血清 miR-377 表达水平与 T2DM 患者肾损害的相关性; 采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血浆 8-iso-PGF2 α 、VEGF 和血清 miR-377 表达水平与 T2DM 患者发生肾损害的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料

两组研究对象性别、年龄、BMI 和病程等一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 肾损伤组患者 CRP、Scr、BUN、Cys-C 和 β 2-MG 水平均明显高于非肾损伤组, 白蛋白水平明显低于非肾损伤组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 肾损伤组和非肾损伤组患者临床资料 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of clinical data between damage group and non-damage group [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

类别	肾损伤组 ($n=62$)	非肾损伤组 ($n=138$)	t/χ^2 值	P 值
性别 男	32(51.61)	73(52.90)	0.028	0.866
女	30(48.39)	65(47.10)		
BMI(kg/m^2)	23.16 \pm 2.01	23.07 \pm 1.98	0.296	0.768
年龄(岁)	56.78 \pm 8.67	57.03 \pm 8.76	0.187	0.852
病程(年)	8.28 \pm 2.12	8.37 \pm 2.52	0.245	0.807
白蛋白(g/L)	23.86 \pm 7.44	35.19 \pm 8.27	9.236	<0.001
CRP(mg/L)	10.38 \pm 3.31	8.15 \pm 2.72	5.004	<0.001
Scr($\mu\text{mol}/\text{L}$)	348.58 \pm 48.63	237.07 \pm 35.17	18.323	<0.001
BUN(mmol/L)	16.91 \pm 3.66	10.18 \pm 2.95	13.818	<0.001
Cys-C(mg/L)	2.17 \pm 0.67	1.24 \pm 0.45	11.528	<0.001
β 2-MG(mg/L)	0.19 \pm 0.08	0.11 \pm 0.06	7.833	<0.001

2.2 两组血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平比较

肾损伤组患者血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平均明显高于非肾损伤组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison on the expression levels of plasma VEGF, 8-iso-PGF2 α and serum miR-377 between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(ng/mL)	8-iso-PGF2 α (ng/L)	miR-377
肾损伤组	62	308.76 \pm 59.41	458.66 \pm 58.82	1.42 \pm 0.18
非肾损伤组	138	228.94 \pm 31.09	142.37 \pm 39.67	0.97 \pm 0.12
t 值		12.458	44.668	20.841
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 血浆 8-iso-PGF2 α 、VEGF 和血清 miR-377 水平与 T2DM 肾损害相关性分析

对 T2DM 肾损害情况进行变量赋值, 未发生肾损伤=0, 发生肾损伤=1。Pearson 相关性分析显示, 血浆 VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清 miR-377 表达水平与 T2DM 患者肾损伤程度呈正相关 ($r=0.313$ 、 0.332 、 0.341 , $P < 0.05$)。

2.4 血浆 8-iso-PGF2 α 、VEGF、血清 miR-377 水平对 T2DM 患者发生肾损害的预测价值

选择鉴别诊断肾损伤差异变量进行赋值, 未发生肾损伤=0, 发生肾损伤=1。血浆 Cys-C、8-iso-PGF2 α 、尿 β 2-MG 联合检测鉴别诊断 T2DM 肾损伤的 AUC 为 0.882 ($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

表 3 ROC 分析血浆 8-iso-PGF2 α 、VEGF、血清 miR-377 水平及联合检测 T2DM 肾损伤

Table 3 ROC curves of plasma 8-iso-PGF2 α , VEGF, serum miR-377 and combined detection in the diagnosis of renal damage in T2DM

指标	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P 值
VEGF(ng/mL)	0.781	0.706~0.856	0.742	0.754	<0.001
8-iso-PGF2 α (ng/L)	0.767	0.689~0.846	0.758	0.841	<0.001
miR-377	0.770	0.684~0.857	0.742	0.877	<0.001
联合检测	0.882	0.833~0.931	1.000	0.580	<0.001

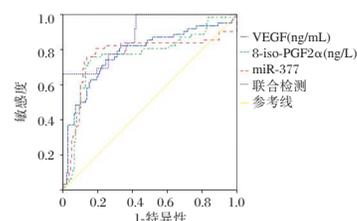


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

既往研究证明, Cys-C 参与调节细胞内蛋白质类化合物代谢, 当肾小球滤过功能受损时, 血中 Cys-C 水平迅速升高, 随病情加重逐渐增高, 由于其在肾损

伤早期即发生变化,适用于肾损伤的早期诊断^[9]。 $\beta 2$ -MG能自由透过肾小球滤过膜,当肾小球滤过功能受损时,尿液 $\beta 2$ -MG含量明显增加,是目前临床反映肾小球滤过功能早期诊断的重要指标^[10]。Scr和BUN是临床常用评价肾功能的指标,CRP常用于炎症反应的诊断与鉴别。当糖尿病进展为DN后,患者上述指标均有明显升高,提示临床可以通过观察这些指标的变化,对糖尿病患者发生肾功能损伤行初步预测。本研究结果,提示临床可以通过观察上述指标上来合理判断肾脏病变的发生。

当血糖升高,增多的自由基催化生物膜上的花生四烯酸发生脂质过氧化产生8-iso-PGF2 α ,促使单核细胞粘附在微血管内皮细胞上,造成组织损伤,其水平一定程度上反映机体氧化应激反应水平^[11]。有研究显示,8-iso-PGF2 α 水平在评估心血管疾病、糖尿病等方面具有重要价值,8-iso-PGF2 α 含量在糖尿病患者血液中和尿液中明显升高,与本研究结果一致^[12]。DN作为糖尿病微血管并发症,与VEGF的表达密切相关。研究表明,VEGF在DN患者肾小球足细胞中持续表达,足细胞分泌的VEGF与内皮细胞上的VEGF受体结合,使血管通透性增加,改变肾小球滤过膜的通透性,加重肾功能损伤^[13]。Wang等^[14]指出,高糖状态下人系膜细胞中miR-377表达明显上调,并与DN进展密切相关,其调控机制是通过增加纤连蛋白表达,造成肾小球细胞外基质沉淀。另有研究显示,早期糖尿病患者尿液中出现miR-377高表达,进一步说明miR-377可能参与DN的发生与发展^[15]。miR-377通过调控靶基因表达,调控相关信号通路,进而参与多种疾病进展。转化生长因子TGF- β /SMAD信号通路与DN的发生与发展有密切关联,SMAD蛋白可诱导肾小球硬化和肾间质纤维化,是DN发展的重要原因。miR-377通过调控该信号通路,上调SMAD蛋白表达,进一步加重T2DM患者肾功能损伤,同时miRNA在血液中保持稳定的优点使其成为DN预测与评估的优质指标。本研究结果提示对三个指标进行及时检测对T2DM患者是否发生肾损伤及预测其损伤程度有一定应用价值。

Pearson相关性分析显示,血浆VEGF、8-iso-PGF2 α 及血清miR-377表达水平与T2DM患者肾损伤程度呈正相关,即当上述指标表达水平升高时,患者肾损伤程度越高,且偏离正常水平越多标志患者肾损伤程度越高。血浆VEGF、8-iso-

PGF2 α 、血清miR-377表达水平及联合检测鉴别诊断T2DM肾损伤的AUC分别为0.781、0.767、0.770、0.882,说明三者早期鉴别诊断T2DM患者发生肾损伤方面有较高的检测价值,当三者联合检测时,敏感度大大增加,提示临床可以同时联合三种指标检测综合判断T2DM发生肾损伤的可能性。

综上所述,血浆VEGF、8-iso-PGF2 α 、血清miR-377表达水平与肾损伤明显相关,当肾脏发生器质性损伤时,三者水平均会明显升高,能够提示肾损伤程度,由于三者具有稳定、高效、敏感、特异性高等特点,有望成为临床诊断T2DM患者发生肾损伤的有效手段。

参考文献

- [1] Cannon CP, Perkovic V, Agarwal R, et al. Evaluating the Effects of Canagliflozin on Cardiovascular and Renal Events in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Chronic Kidney Disease According to Baseline HbA1c, Including Those With HbA1c <7%: Results From the CREDENCE Trial [J]. *Circulation*, 2020, 141(5):407-410.
- [2] Sloan LA. Review of glucagon-like peptide-1 receptor agonists for the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with chronic kidney disease and their renal effects [J]. *J Diabetes*, 2019, 11(12):938-948.
- [3] 何爽, 黄萍, 范明娟. 血浆miR-192, miR-29c水平对2型糖尿病肾病诊断的临床意义 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(6):522-526.
- [4] 邢筱雯. 益肾养阴活血通络汤对消渴病肾病患者血清VEGF、BMP-7表达的影响 [J]. *四川中医*, 2019, 37(4):118-120.
- [5] Jhata C, Girdhar J, Gupta S, et al. To Compare the Level of Cystatin C in Type 2 Diabetes Mellitus with Obesity [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2020, 24(4):312-318.
- [6] Jiang X, Zhang Q, Wang HB, et al. Associations of urinary, glomerular, and tubular markers with the development of diabetic kidney disease in type 2 diabetes patients [J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(1):e22191.
- [7] 中华医学会糖尿病分会. 2007年版中国2型糖尿病防治指南 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2008, 24(2):1-22.
- [8] 侯云珍, 郭升玲. 糖尿病早期肾损伤诊断中尿糖、尿微量白蛋白联合检验的临床研究 [J]. *糖尿病新世界*, 2014, 7(11):4, 6.
- [9] 王立敏. 血清Cys-C、hs-CRP和Hcy联合检测对2型糖尿病肾病的诊断价值 [J]. *临床检验杂志(电子版)*, 2018, 7(2):330-331.
- [10] 刘先海. CysC和UmAlb/Ucr及 $\beta 2$ -MG在糖尿病肾病早期诊断中的应用意义分析 [J]. *临床检验杂志(电子版)*, 2019, 8(3):42-43. (下转第1341页)

产妇产褥感染血清白介素-6、肿瘤坏死因子- α 、干扰素- γ 水平变化及危险因素分析

史杨* 马万增 徐晓英

[摘要] **目的** 研究产妇产褥感染血清白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)水平变化及危险因素。**方法** 选取2019年5月至2021年12月南阳市中心医院分娩产妇628例,分析产褥感染相关危险因素及感染组IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平变化。**结果** 628例患者感染26例,感染率4.14%。感染组感染时(T1)、治疗第1d(T2)、3d(T3)、治疗结束时(T4),IL-6、TNF- α 水平先升高、后下降,IFN- γ 先下降、后升高($P<0.05$);但T1、T2、T3时,感染组IL-6、TNF- α 水平始终高于未感染组,IFN- γ 水平始终低于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。感染组妊娠合并症、剖宫产、胎膜早破、产程 ≥ 12 h、侵入性操作、血红蛋白 <120 g/L、卧床时间 ≥ 3 d构成比均高于未感染组($P<0.05$)。Logistic多因素分析显示妊娠合并症、剖宫产、胎膜早破、产程、侵入性操作、血红蛋白、卧床时间因素是产妇产褥感染危险因素($P<0.05$)。**结论** 积极控制危险因素,利于降低产妇产褥期感染率;且加强产妇IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平动态监测,有助于早发现、早干预,降低产褥感染危害、避免炎症反应扩大。

[关键词] 产褥感染;白介素-6;肿瘤坏死因子- α ;干扰素- γ ;危险因素

Changes and risk factors of serum interleukin-6, tumor necrosis factor- α , interferon- γ levels in maternal puerperal infection

SHI YANG*, MA Wanzeng, XU Xiaoying

(Department of Obstetrics, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the changes of serum interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interferon- γ (IFN- γ) levels and risk factors in maternal puerperal infection. **Methods** A total of 628 puerperae in Nanyang Central Hospital from May 2019 to December 2021 were selected, and the risk factors related to puerperal infection and the changes of IL-6, TNF- α and IFN- γ levels in the infection group were retrospectively analyzed. **Results** 26 of 628 patients were infected, and the infection rate was 4.14%. In the infection group, the levels of IL-6 and TNF- α increased first and then decreased, and IFN- γ decreased first and then increased at the time of infection (T1), the first day (T2), 3 days (T3), and the end of treatment (T4). However, at T1, T2, and T3, the levels of IL-6 and TNF- α in the infected group were always higher than those in the uninfected group, and the level of IFN- γ was always lower than that in the uninfected group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Pregnancy complications, cesarean section, premature rupture of membranes, labor duration ≥ 12 hours, invasive operation, hemoglobin <120 g/L, and bed rest ≥ 3 days in the infection group were higher than those in the uninfected group ($P<0.05$). Logistic multivariate analysis regression model showed that pregnancy complications, cesarean section, premature rupture of membranes, labor process, invasive operation, hemoglobin, and bed rest were risk factors for puerperal infection. **Conclusion** Active control of risk factors will help reduce the puerperium infection rate of puerperium; and strengthen the dynamic monitoring of maternal IL-6, TNF- α , IFN- γ levels. It is helpful for early detection and early intervention,

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018072311)

作者单位:南阳市中心医院产科,河南,南阳 473000

*通信作者:史杨, E-mail: hheeyl@163.com

reducing the harm of puerperal infection and avoiding the expansion of inflammatory response.

[KEY WORDS] Puerperal infection; Interleukin-6; Tumor necrosis factor- α ; Interferon- γ ; Risk factors

产褥期作为女性分娩至除乳腺外机体功能完全恢复的重要生理阶段,常常易合并诸多并发症,如产后出血、产褥感染,尤其产褥感染发病率高达1.00%~7.20%、死亡率高达6.00%~8.00%,对产妇产后恢复造成极大危害,成为影响医患关系的重要风险点^[1-3]。近年来随着医护理念转变,发现抗菌药物虽然能有效控制产褥感染,但作为一种事后干预往往延长了患者恢复时间、增加了患者经济负担,并非理想治疗方案^[4-5]。相关文献资料显示,关于产妇的相关研究主要集中于孕期和分娩过程,有关产褥期研究报道虽然较多,但产褥感染早期诊断指标、危险因素分析方面研究尚存在不足^[6-7],不利于产褥感染防控以及降低产褥感染危害性。本研究通过动态监测其白介素-6(Interleukin-6)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α)、干扰素- γ (Interferon- γ)水平变化,重点分析、归纳产褥感染危险因素,旨在对高危人群进行早监控、早筛查、早诊断、早干预,从而降低产妇产褥感染率、减少抗菌药物使用率,更好的促进产妇机体功能恢复,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年5月至2021年12月南阳市中心医院分娩产妇628例,纳入标准:①产前检查身体健康,正常分娩。②住院时间>24 h。③检查资料、分娩记录完整。④产褥感染经临床症状、病原学检查明确。⑤自愿参加本项研究且签署项目同意书。排除标准:①酒精、阿片类或镇静催眠药物成瘾史和依赖史。②分娩前存在感染潜伏期或其他科室获得性感染。③分娩中出血量高于机体血容量1/5及中途转变分娩方式。④分娩前3d存在抗菌药物及免疫制剂使用史。年龄20~42岁,孕周38~42周,经产妇158例、初产妇470例,分娩方式:阴道分娩422例、剖宫产206例,单胎478例、多胎150例。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集人口学资料和相关临床资料,包括年龄、产次、妊娠合并症、分娩方式、产次等,均有专业人员记录。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2.2 实验室检测

检测产褥期对象纳入时(T0)IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平以及感染者感染时(T1)、治疗第1 d(T2)、3 d(T3)、治疗结束时(T4)上述指标水平变化。IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平检测:次日清晨空腹抽取纳入者肘部静脉血4 mL,置于含有乙二胺四乙酸二钾抗凝剂的采血管中,采用离心机(安徽中科佳科学仪器有限公司,型号KDC-2046)以2 000 r/min速度离心5 min(离心半径10 cm),吸取上层血清送检。采用双抗体夹心-酶联免疫吸附法(ELISA法)测定,IL-6、TNF- α 检测试剂盒由深圳焯英生物科技有限公司提供,IFN- γ 检测试剂盒由武汉华美生物工程有限公司(CUSABIO)提供。

1.3 统计学分析

采用SPSS 23.0软件分析试验数据。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,两组间的比较为 t 检验,多组间用方差分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;选择单因素分析有存在差异性指标进行多因素Logistic分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 产妇产褥期感染率及感染部位分布

628例患者感染26例,感染率4.14%;感染部位以手术切口10(38.46%)、生殖道8(30.77%)为主,泌尿道4(15.38%),宫腔2(7.69%),其他2(7.69%)。

2.2 产褥感染组和未感染组血清IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平比较

T0时,两组患者IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);T1、T2、T3、T4时,IL-6、TNF- α 水平先升高、后下降,IFN- γ 先下降、后升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);但T1、T2、T3时,感染组IL-6、TNF- α 水平始终高于未感染组,IFN- γ 水平始终低于未感染组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.3 产妇产褥期感染危险单因素分析

感染组妊娠合并症、剖宫产、胎膜早破、产程 ≥ 12 h、侵入性操作、血红蛋白 < 120 g/L、卧床时间 ≥ 3 d构成比均高于未感染组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 产褥感染组和未感染组血清IL-6、TNF-α、IFN-γ水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum IL-6, TNF-α and IFN-γ levels in infected and uninfected patients ($\bar{x} \pm s$)

指标	感染组 (n=26)	未感染组 (n=602)	t值	P值
IL-6 (ng/L)	T0	52.50±7.20	51.00±6.40	1.205 0.064
	T1	194.00±21.40 ^a	51.00±6.40	3.387 0.039
	T2	103.00±19.10 ^b	51.00±6.40	3.294 0.041
	T3	83.00±13.20 ^c	51.00±6.40	3.041 0.045
	T4	69.00±9.40 ^d	51.00±6.40	1.951 0.056
TNF-α (ng/mL)	T0	57.50±9.10	56.50±8.70	1.108 0.070
	T1	173.00±27.00 ^a	56.50±8.70	4.531 0.020
	T2	137.00±25.30 ^b	56.50±8.70	4.315 0.024
	T3	110.00±17.00 ^c	56.50±8.70	4.029 0.029
	T4	75.00±11.00 ^d	56.50±8.70	2.104 0.053
IFN-γ (pg/mL)	T0	150.00±36.00	144.70±30.50	1.185 0.068
	T1	41.30±11.00 ^a	144.70±30.50	3.719 0.031
	T2	106.00±20.40 ^b	144.70±30.50	3.517 0.036
	T3	110.70±24.50 ^c	144.70±30.50	3.110 0.044
	T4	148.00±33.00 ^d	144.70±30.50	1.125 0.066

注:与组内T0时比较,^aP<0.05;与组内T1比较,^bP<0.05;与组内T2时比较,^cP<0.05;与组内T3时比较,^dP<0.05。

表2 产妇产褥期感染危险单因素分析 [n(%)]

Table 2 Single factor analysis of maternal puerperal infection risk [n(%)]

因素	感染组 (n=26)	未感染组 (n=602)	χ ² 值	P值
年龄	≥35岁	16(61.54)	356(59.14)	3.201 0.072
	<35岁	10(38.46)	246(40.86)	
产次	经产	12(46.15)	264(43.85)	0.173 0.684
	初产	14(53.85)	338(56.15)	
妊娠合并症	糖尿病	4(15.38)	16(2.66)	4.953 0.027
	高血压	2(7.69)	12(1.99)	
	生殖道炎症	10(38.46)	24(3.99)	
分娩方式	阴道分娩	8(30.77)	518(86.05)	6.482 0.011
	剖宫产	18(69.23)	84(13.95)	
胎膜早破	是	18(69.23)	46(7.64)	5.531 0.023
	否	8(30.77)	556(92.36)	
产程	≥12h	6(23.08)	76(12.62)	7.126 0.019
	<12h	20(76.92)	526(87.38)	
侵入性操作	是	22(84.62)	156(25.91)	10.405 0.006
	否	4(15.38)	446(74.09)	
血红蛋白	<90 g/L	14(53.85)	38(6.31)	5.720 0.026
	90~119 g/L	10(38.46)	90(14.95)	
	≥120 g/L	2(7.69)	474(78.74)	
卧床时间	≥3d	16(61.54)	86(14.29)	6.448 0.012
	<3d	10(38.46)	516(85.71)	

2.4 产妇产褥感染危险多因素分析

以产褥感染为因变量,将妊娠合并症、剖宫产、胎膜早破、产程、侵入性操作、血红蛋白、卧床时间作为自变量,建立多因素 Logistic 回归模型,结果显示上述因素均为产妇产褥感染危险因素(P<0.05)。见表3。

表3 产妇产褥感染的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multi-factor analysis of the risk of maternal puerperal infection

自变量	β值	S.E.值	Wald值	OR值	95% CI	P值
妊娠合并症	1.417	0.761	4.161	3.157	2.049~11.940	0.041
剖宫产	1.513	1.131	4.154	4.836	3.051~14.053	0.042
胎膜早破	1.643	0.961	7.180	5.284	1.592~17.682	0.013
产程	1.730	0.832	4.643	5.780	1.150~27.620	0.034
侵入性操作	1.341	0.452	3.753	4.465	3.011~16.842	0.043
血红蛋白	1.570	1.310	5.746	5.185	3.084~16.418	0.039
卧床时间	1.412	1.125	3.954	4.637	3.148~15.050	0.044

3 讨论

研究表明产褥期轻度感染以局部感染为主,严重时可能诱发全身炎症性反应,甚至多器官功能障碍,是造成产妇死亡的主要因素之一^[8-9]。加强对产褥期人群高危因素评定及相关感染指标监测,利于降低产褥感染率、减轻炎症反应程度、遏制病情进展而改善预后。

本研究结果显示产褥感染率4.14%,低于文献资料报道水平^[10],与本院对产褥期重视与感染防控理念、措施执行到位等原因不无关系;感染部位以手术切口、生殖道为主,与其他研究结果基本一致^[11],如剖宫产或阴道分娩中采用的会阴切开等操作破坏了皮肤组织完整性,一旦产后卫生观念差或产妇免疫力低下,可诱发表皮葡萄球菌、大肠埃希菌等人体正常菌群转变为致病菌而引起感染^[12]。进一步观察结果说明IL-6、TNF-α、IFN-γ与产褥感染发生发展与控制密切相关,能有效反映感染状况。其机制如下,如TNF-α是一种前炎症细胞因子,其异常升高早于白细胞计数、中性粒细胞等指标,具有促进炎症细胞粘附、浸润以及局部性聚集可诱发长期趋化效应而引起多种炎症性疾病等特性^[13-14];且感染后的活化巨噬细胞可致TNF-α水平成倍升高^[15]。IL-6与TNF-α具有相同的生物学效应,且二者通过相应的网络系统相互作用,诱发或加重炎症进程^[16]。IFN-γ是一种在抗原刺激作用下,由CD₄⁺细胞早期产生、CD₈⁺后期产生的具有多种活性的糖蛋白,能够抑制或消除病原菌以及增强抗原递呈效应而能提高机体免疫能力,在整个致炎过程中具有重要价值^[17]。

虽然上述指标能早期判断感染发生、评估病情,但最大限度降低产褥感染危险因素同样至关重要,如本研究结果显示妊娠合并症、剖宫产、胎膜早破、产程、侵入性操作、血红蛋白、卧床时间是

产妇产褥感染危险因素。其中妊娠合并糖尿病可引起阴道内糖原水平升高,有助于病原菌生长繁殖且血糖水平的升高削弱了组织灌注能力致修复功能下降而不利于受损创面愈合,增加产褥感染机率。胎膜早破可致羊膜腔与外界环境接触,而女性生殖道内支原体、厌氧菌、需氧菌等病原菌微生物可在特定条件下转变为致病菌沿着生殖道上行而引起宫内感染,成为诱发产褥感染危险因素。分娩可导致机体出现相应的应激反应,尤其剖宫产作为一种有创性侵入操作,其反应更为显著,一旦产程过长更易消耗产妇体力致其疲劳而弱化机体防御能力、增加病原菌易感性。另外,研究显示低血红蛋白水平不利于机体组织器官自身修复能力及酶生成能力改善^[17],延迟了组织愈合,易致感染。长时间卧床可影响产妇胃肠道蠕动、消化吸收功能以及血液循环,易造成机体功能下降,增加产褥期感染风险。

综上所述,积极控制妊娠合并症、剖宫产、胎膜早破、产程过长、侵入性操作、低血红蛋白、长时间卧床危险因素,利于降低产妇产褥期感染率;且加强产妇IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平动态监测,利于早发现、早干预,降低产褥感染危害、避免炎症反应扩大。但本研究纳入病例数量相对较少,进一步采取多中心的研究方式利于夯实本研究结论,以便推广。

参考文献

- [1] 吕英,徐娟.剖宫产妇产褥期感染发生情况及影响因素研究[J].实用预防医学,2019,26(2):211-213.
- [2] 李洁.剖宫产后感染产妇相关血清炎症细胞因子与红细胞免疫指标的关系[J].中国妇幼保健,2020,35(6):1004-1006.
- [3] Majangara R, Chirenje ZM, Gidiri MF. The association of puerperal sepsis with HIV infection at two tertiary hospitals in Zimbabwe[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2019, 144(1):67-72.
- [4] Parriott AM, Brown JM, Arah OA. Hospital and provider patient volumes, cesarean section rates, and early postpartum invasive methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection[J]. Am J Infect Control, 2019, 42(2):156-159.
- [5] 蒋晓辉,李宁,刘舒鑫.脂多糖结合蛋白联合白介素-6、肿瘤坏死因子- α 水平检测对产褥期感染早期诊断价值[J].实验与检验医学,2021,39(1):26-30.
- [6] Kiriakopoulos N, Grigoriadis S, Maziotis E, et al. Investigating Stress Response during Vaginal Delivery and Elective Cesarean Section through Assessment of Levels of Cortisol, Interleukin 6 (IL-6), Growth Hormone (GH) and Insulin-Like Growth Factor1 (IGF-1)[J]. J Clin Med, 2019, 8(8):165-168.
- [7] 石淑颖.产妇产褥期感染的相关影响因素与临床预防控制[J].中国实用医药,2019,14(6):42-43.
- [8] 闫俊霞,吴亚丽,张建文.降钙素原联合C-反应蛋白的检测对产褥期产妇感染的临床价值[J].宁夏医科大学学报,2020,42(10):1028-1030.
- [9] 潘珏蓉,韦卉,陈滢,等.血清中糖化血红蛋白和白蛋白水平预测妊娠期糖尿病产妇剖宫产术后感染风险的临床价值[J].河北医学,2021,27(7):1205-1209.
- [10] 谢朝云,李远珺,蒙桂鸾,等.基于倾向值匹配应激性高血糖与剖宫产术后产褥感染相关性研究[J].湖北民族大学学报(医学版),2021,38(4):33-36.
- [11] 李懿蔚,马一玮,张燕君,等.剖宫产术后产褥感染病原菌及其影响因素研究[J].华南预防医学,2021,47(11):1451-1453.
- [12] 余玲娟.剖宫产后产褥感染危险因素分析[J].中国乡村医药,2019,26(20):5-6.
- [13] 刘江波,赵晓宁,姚明杨,等.心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6和TNF- α 与心肌酶谱的关系及临床价值[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(1):19-22.
- [14] 钟影,符爱贞,吴春,等.产后早期PCT、CRP、IFN- γ 、IL-6水平对产褥感染的诊断价值[J].中华医院感染学杂志,2021,31(7):1085-1088.
- [15] 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.
- [16] 焦江琴.血培养联合血清PCT、CRP水平检测对产科重症产褥感染患者诊断准确率的影响[J].临床研究,2020,28(4):132-133.
- [17] 王秀娟,王细先,郭春海.不同分娩方式对产褥感染患者TNF- α 、IFN- γ 、TGF- β 及红细胞免疫状态的影响[J].热带医学杂志,2021,21(6):744-747.
- [11] Schöttker B, Xuan Y, Gao X, et al. Oxidatively Damaged DNA/RNA and 8-Isoprostane Levels Are Associated With the Development of Type 2 Diabetes at Older Age: Results From a Large Cohort Study[J]. Diabetes Care, 2020, 43(1):130-136.
- [12] Simeone P, Liani R, Tripaldi R, et al. Thromboxane-Dependent Platelet Activation in Obese Subjects with Prediabetes or Early Type 2 Diabetes: Effects of Liraglutide- or Lifestyle Changes-Induced Weight Loss[J]. Nutrients, 2018, 10(12):1872.
- [13] 刘桐菊,李都,王镁.糖肾安对高糖环境下人肾系膜细胞HO-1、VEGF表达的影响[J].吉林中医药,2019,39(10):1342-1346.
- [14] Wang Q, Wang Y, Minto AW, et al. MicroRNA-377 is up-regulated and can lead to increased fibronectin production in diabetic nephropathy[J]. FASEB J, 2008, 22(12):4126-4135.
- [15] Al-Kafaji G, Al-Muhtareh HA. Expression of microRNA-377 and microRNA-192 and their potential as blood-based biomarkers for early detection of type 2 diabetic nephropathy[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1):1171-1180.

(上接第1337页)

GOLPH3 及 PI3K 在卵巢癌组织中的表达及意义

沈艳丽* 冯文广 易金玲

[摘要] **目的** 探讨高尔基磷酸化蛋白3(GOLPH3)及3-羧基磷脂酰肌醇激酶(PI3K)在卵巢癌组织中的表达及意义。**方法** 选取2019年1月至2021年3月于新疆医科大学第五附属医院保存的卵巢癌组织标本87份,同时选取正常卵巢组织50份,采用免疫组化染色法检测GOLPH3及PI3K表达,分析不同组织GOLPH3及PI3K表达,以及与卵巢癌临床病理特征的关系,采用Spearman秩相关分析GOLPH3和PI3K相关性。**结果** 卵巢癌组织GOLPH3及PI3K阳性表达率分别为75.86%和66.67%,明显高于正常卵巢组织的4.00%和8.00%,差异均有统计学意义($P>0.05$)。浆液性、FIGO分期Ⅲ~Ⅳ期、中低分化、有淋巴结转移卵巢癌组织GOLPH3阳性表达率分别为84.38%、94.74%、88.33%和90.91%,明显高于非浆液性、I~II期、高分化、无淋巴结转移卵巢组织的52.17%、61.22%、48.15%和60.47%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。FIGO分期Ⅲ~Ⅳ期、中低分化、有淋巴结转移卵巢癌组织PI3K阳性表达率分别为84.21%、78.33%和84.09%,明显高于I~II期、高分化、无淋巴结转移卵巢组织的53.06%、40.74%和48.84%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。卵巢癌组织GOLPH3及PI3K表达呈正相关($r=0.456, P<0.05$)。GOLPH3阳性表达患者无进展生存时间为18个月,明显短于GOLPH3阴性患者的29个月,差异有统计学意义($P<0.05$);PI3K阳性表达患者无进展生存时间为13个月,明显短于PI3K阴性患者的26个月,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 卵巢癌组织中GOLPH3及PI3K表达在疾病发生发展中有重要作用,两者间存在一定相关性。

[关键词] 高尔基磷酸化蛋白3; 3-羧基磷脂酰肌醇激酶; 卵巢癌

Expression and significance of GOLPH3 and PI3K in ovarian cancer

SHEN Yanli*, FENG Wenguang, YI Jinling

(Department of Gynecology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China, 830000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and significance of Golgi phosphorylated protein 3 (GOLPH3) and 3-carboxyphosphatidylinositol kinase (PI3K) in ovarian cancer. **Methods** The expression of GOLPH3 and PI3K in 87 specimens of ovarian cancer preserved in the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from January 2019 to March 2021 and 50 normal ovarian tissues were detected by immunohistochemical staining. Spearman rank correlation was used to analyze the correlation between GOLPH3 and PI3K. **Results** The positive rates of GOLPH3 and PI3K in ovarian cancer tissues were 75.86% and 66.67%, respectively, which were significantly higher than those in normal ovarian tissues 4.00% and 8.00% ($P>0.05$). The positive rates of GOLPH3 in serous, FIGO stage III~IV, moderately and poorly differentiated and lymph node metastasis ovarian cancer tissues were 84.38%, 94.74%, 88.33% and 90.91%, respectively, which were significantly higher than those in non-serous, stage I~II, highly differentiated and lymph node-free ovarian cancer tissues 52.17%, 61.22%, 48.15% and 60.47% ($P<0.05$). The positive expression rates of PI3K were 84.21%, 78.33% and 84.09% in FIGO stage III~IV, moderately and poorly differentiated ovarian cancer and ovarian can-

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2018D01C309)

作者单位:新疆医科大学第五附属医院妇科,新疆维吾尔自治区,乌鲁木齐 830000

*通信作者:沈艳丽, E-mail: Syl8719soft@163.com

cer with lymph node metastasis, which were significantly higher than those in stage I ~ II, highly differentiated and non-lymph node metastasis ovarian cancer 53.06%, 40.74% and 48.84% ($P < 0.05$). The expression of GOLPH3 and PI3K in ovarian cancer was positively correlated ($r_s = 0.456$, $P < 0.05$). The progression free survival time of patients with positive expression of GOLPH3 was 18 months, which was significantly shorter than 29 months of patients with negative expression of GOLPH3 ($P < 0.05$). The progression free survival time of PI3K positive patients was 13 months, which was significantly shorter than that of PI3K negative patients (26 months) ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of GOLPH3 and PI3K in ovarian cancer plays an important role in the occurrence and development of the disease, and there is a certain correlation between the two.

[KEY WORDS] Golgi phosphorylated protein 3; 3 carboxyphosphatidylinositol kinase; Ovarian cancer

卵巢癌患者早期诊断预后情况佳,中晚期病情进展率可超过25%以上^[1]。由于卵巢癌细胞浸润及转移能力较强,不同措施治疗后,卵巢癌患者的病死率及致残率仍然超过了30%^[2]。通过对卵巢癌发病过程中的细胞因子表达进行分析,能够为临床上卵巢癌的早期诊断及临床预后评估提供依据。高尔基磷酸化蛋白3(Golgi phosphorylated protein 3, GOLPH3)是细胞骨架结构蛋白,能维持癌细胞骨架结构,提高癌细胞骨架结构蛋白的翻译合成速度^[3]。3-羧基磷脂酰肌醇激酶(3-carboxyphosphatidylinositol kinase, PI3K)是磷酸激酶蛋白家族成员,可修饰癌细胞内信号通路蛋白,能够显著加剧癌细胞生物学行为的恶化^[4]。为了揭示GOLPH3及PI3K在卵巢癌患者中的表达情况,评估GOLPH3及PI3K在卵巢癌发生发展过程中的作用,本研究将探讨了GOLPH3及PI3K的表达及其与卵巢癌临床分期或者淋巴结转移等的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年3月于本院保存的卵巢癌组织标本87份,纳入标准:①均经病理组织学确诊^[5];②临床资料保存完整;③术前未行放疗等抗肿瘤治疗。排除标准:①合并有其他恶性肿瘤者;②卵巢转移癌。同时选取正常卵巢组织50份(因宫颈癌或子宫内膜癌切除术后留存),两组年龄、体重指数比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。本次研究获得医院伦理委员会批准,且经患者或家属知情同意。

1.2 实验方法

采用石蜡切片,脱水操作后采用3% H_2O_2 室温条件下孵育20 min,磷酸盐缓冲液清洗3次,每次5 min,磷酸盐缓冲液稀释后的山羊血清封闭抗体5 min,倒去血清后不清洗,加入一抗(购自赛默飞

表1 两组一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general data between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	体重指数(kg/m ²)
卵巢癌组织	87	49.82±9.22	22.04±3.10
正常卵巢组织	50	50.28±9.03	21.97±2.94
t值		-0.283	0.130
P值		0.777	0.897

世尔中国浓度:1:1 000)5 mL,37℃孵育2 h,或者放置4℃冰箱过夜孵育,磷酸盐缓冲液清洗3次,每次5 min,加入生物素荧光标记的二抗(购自赛默飞世尔中国浓度:1:2 000)3 mL,37℃孵育20~30 min,磷酸盐缓冲液清洗3次,每次5 min,加入Streptavidin/HRP辣根酶标记链霉卵白素,37℃孵育20~30 min,磷酸盐缓冲液清洗3次,每次5 min,增强型HRP-DAB底物显色试剂盒(PA110)显色,自来水冲洗,复染,封片。

1.3 判断标准^[6]

采用半定量积分方法进行判断,对染色强度和阳性细胞比例进行评分,其中染色强度:无着色为0分,浅黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;阳性细胞比例:≤5%为0分,6%~10%为1分,11%~50%为2分,51%~74%为3分,≥75%为4分。染色强度和阳性细胞比例得分之和,分数≥4分为阳性表达。

1.4 统计学处理

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,比较使用t检验,计数资料采用n(%)表示,比较使用 χ^2 检验,相关性采用Spearman秩相关分析,生存分析采用Kaplan-Meier法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

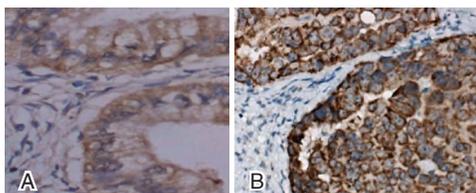
2.1 卵巢癌和正常卵巢组织GOLPH3及PI3K表达

卵巢癌组织GOLPH3及PI3K阳性表达率明显高于正常卵巢组织,差异均有统计学意义($P > 0.05$)。见表2、图1。

表2 卵巢癌和正常卵巢组织 GOLPH3 及 PI3K 表达 [n(%)]

Table 2 expression of GOLPH3 and PI3K in ovarian cancer and normal ovarian tissues [n(%)]

组别	n	GOLPH3 阳性表达率	PI3K 阳性表达率
卵巢癌组织	87	66(75.86)	58(66.67)
正常卵巢组织	50	2(4.00)	4(8.00)
χ^2 值		65.592	44.110
P值		0.000	0.000



注:A为GOLPH3阳性表达;B为PI3K阳性表达。

图1 免疫组化染色图(SP, x400)

Figure 1 Immunohistochemical staining diagram (SP, x400)

2.2 GOLPH3 及 PI3K 表达与卵巢癌临床病理关系

浆液性、FIGO 分期 III~IV 期、中低分化、有淋巴结转移卵巢癌组织 GOLPH3 阳性表达率明显高于非浆液性、I~II 期、高分化、无淋巴结转移卵巢癌组织, FIGO 分期 III~IV 期、中低分化、有淋巴结转移卵巢癌组织 PI3K 阳性表达率明显高于 I~II 期、高分化、无淋巴结转移卵巢癌组织, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 相关性分析

卵巢癌组织 GOLPH3 及 PI3K 表达呈正相关($r_s = 0.456, P < 0.05$)。

2.4 生存分析

GOLPH3 阳性表达患者无进展生存时间为 18 个月, 明显短于 GOLPH 阴性患者的 29 个月($\chi^2 = 7.998, P = 0.005$); PI3K 阳性表达患者无进展生存时间为 13 个月, 明显短于 PI3K 阴性患者的 26 个月($\chi^2 = 17.177, P = 0.000$)。见图 2。

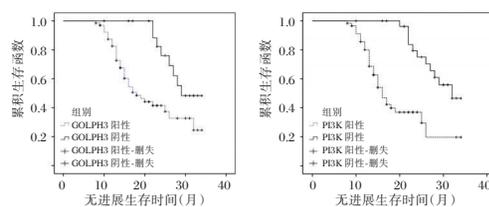


图2 生存曲线图

Figure 2 Survival curve

3 讨论

卵巢癌细胞生物学浸润及侵袭的能力较强, 对于盆腔内或者腹腔内脏器浸润转移的风险较高^[7]。在多种病理生理机制的激活过程中, 卵巢癌细胞生物学行为的改变能够加剧卵巢癌患者整体临床预后的恶化^[8]。临床观察发现, 卵巢癌患者多脏器功能衰竭的比例可超过 35%, 其远期总体生存时间不足 38 个月^[9-10]。通过对于卵巢癌生物学行为的调控分析, 或者通过对于卵巢癌临床病理特征影响因素的分析, 能够为临床上卵巢癌的预后评估提供依据。鉴于近年来恶性肿瘤的免疫靶向治疗已经在妇科恶性肿瘤整体治疗过程中发挥了重要作用, 本次研究将通过分析卵巢癌病灶组织中 GOLPH3 及 PI3K 的表达, 以期为临床上卵巢癌患者免疫靶向治疗提供研究靶点。

GOLPH3 是高尔基体磷酸化修饰蛋白, 在高尔基骨架结构蛋白空间构象形成过程中, 蛋白磷酸化的修饰能够影响到癌细胞骨架结构的稳定性。GOLPH3 作为蛋白激酶成分, 可调控细胞骨架结构, 提高癌细胞伪足的形成风险, 促进癌细胞的浸润和转移过程^[11]。PI3K 是磷酸肌醇蛋白激酶成员, 能激活下游肿瘤蛋白效应因子, 影响 PI3K/AKT 信号通路的上调程度。基础分子生物学领域的分析认为, PI3K 能够影响癌基因的激活, 提高癌基因的转录活性, 提高肿瘤细胞核 DNA 的复制速度^[12]。研究

表3 GOLPH3 及 PI3K 表达与卵巢癌临床病理关系 [n(%)]

Table 3 Relationship between the expression of GOLPH3 and PI3K and clinicopathology of ovarian cancer [n(%)]

临床病理特征	指标	n	GOLPH3 阳性表达率	χ^2 值	P值	PI3K 阳性表达率	χ^2 值	P值
年龄	≤50 岁	43	31(72.09)	0.660	0.417	28(65.12)	0.092	0.762
	>50 岁	44	35(79.55)			30(68.18)		
组织学类型	浆液性	64	54(84.38)	9.581	0.002	42(65.63)	0.118	0.731
	非浆液性	23	12(52.17)			16(69.57)		
FIGO 分期	I~II 期	49	30(61.22)	13.126	0.000	26(53.06)	9.345	0.002
	III~IV 期	38	36(94.74)			32(84.21)		
分化程度	高分化	27	13(48.15)	16.421	0.000	11(40.74)	11.842	0.001
	中低分化	60	53(88.33)			47(78.33)		
淋巴结转移	有	44	40(90.91)	11.007	0.001	37(84.09)	12.153	0.000
	无	43	26(60.47)			21(48.84)		

证实,PI3K蛋白的高表达能够影响妇科恶性肿瘤的发生过程,提高妇科恶性肿瘤细胞的转移风险^[13-14]。但目前对于GOLPH3、PI3K的表达与卵巢癌临床分期、淋巴结转移之间关系的研究相对较少,故本研究针对两者与临床病理特征的关系进行研究。

本研究中卵巢癌组织患者免疫组化研究结果提示:GOLPH3及PI3K蛋白具有较高的阳性表达率,其表达阳性率明显高于正常卵巢组织,差异具有明显的统计学意义,原因可能为:在卵巢癌病情发生发展中由于癌细胞凋亡、周期变化及癌细胞骨架结构的形成造成GOLPH3、PI3K的异常表达。周艳^[15]等研究发现,卵巢癌细胞中PI3K蛋白的表达阳性率可随着癌细胞增殖活性的上升而上升,在癌细胞凋亡比例较低或者增殖活性较高的细胞中,PI3K蛋白的表达阳性率可超过65%以上,这一结论与本研究具有相似性。本研究结果表明GOLPH3能够显著影响卵巢癌总体病情进展,可能是由于GOLPH3能够加剧卵巢生发上皮细胞对于盆腔内脏器的浸润风险,提高癌细胞对于引流部位淋巴结的侵袭能力。另外,在浆液性卵巢癌患者中,GOLPH3蛋白的表达阳性率较高,提示GOLPH3的表达还具有一定的细胞来源特异性^[16]。在临床分期较晚、淋巴结转移明显等患者中,PI3K蛋白的表达也明显上升,表明PI3K的表达也与卵巢癌的病情有关,其机制可能与PI3K影响到了癌细胞内MAPK信号通路的激活水平有关^[17]。本研究采用Spearman秩相关分析分析卵巢癌组织中GOLPH3与PI3K表达成正相关,说明两者的表达具有一定的内在联系,临床可通过检测卵巢癌病灶组织中GOLPH3及PI3K的表达,判断卵巢癌病变程度,为临床上患者免疫靶向治疗提供依据。本研究还发现GOLPH3阳性表达患者无进展生存时间为18个月,PI3K阳性表达患者无进展生存时间为13个月,均明显短于GOLPH、PI3K阴性患者,说明GOLPH、PI3K3阳性表达会缩短生存期,可能与患者阳性患者临床特征有关,这一观点与以往研究一致^[18]。

综上所述,卵巢癌组织中GOLPH3及PI3K表达在疾病发生发展中有重要作用,两者间存在一定相关性。

参考文献

[1] Bachmann C, Bachmann R, Kraemer B, et al. Prevalence and distribution pattern of nodal metastases in advanced ovari-

- an cancer[J]. *Mol Clin Oncol*, 2016,5(4):483-487.
- [2] Watts S, Prescott P, Mason J, et al. Depression and anxiety in ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis of prevalence rates[J]. *BMJ Open*, 2015,5(11):618-623.
- [3] 谭宏伟,楚光华,胡春艳,等. GOLPH3沉默对顺铂诱导的人上皮性卵巢癌A2780/DDP细胞凋亡的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2016,24(17):2700-2704.
- [4] 赵雅琛,孙旸,黄素辉,等. IL-6经PI3K/Akt通路诱导卵巢癌细胞对他莫西芬耐药[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017,24(6):601-607.
- [5] 李艺,祝洪澜,昌晓红,崔恒. 初诊晚期上皮性卵巢癌的规范化治疗[J]. *现代妇产科进展*, 2020,29(10):778-782,787.
- [6] 王莉,孙云燕,李冬冬,等. GOLPH3通过PI3K/Akt信号通路调控上皮性卵巢癌细胞增殖与凋亡的研究[J]. *现代妇产科进展*, 2018,27(9):648-651.
- [7] Gentry-Maharaj A, Karpinskyj C, Glazer C, et al. Prevalence and predictors of complementary and alternative medicine/non-pharmacological interventions use for menopausal symptoms within the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening[J]. *Climacteric*, 2017,20(3):240-247.
- [8] 赵玉芝,蔡大军,李元昆,等. HE4、OPN、MSLN水平对上皮性卵巢癌的诊断价值[J]. *癌症进展*, 2018,16(3):331-333.
- [9] Liu CL, Liu L, Zhang Y, et al. Prevalence and its associated psychological variables of symptoms of depression and anxiety among ovarian cancer patients in China: a cross-sectional study[J]. *Heal Qual Life Outcom*, 2017,15(1):103-106.
- [10] Hirasawa A, Imoto I, Naruto T, et al. Prevalence of pathogenic germline variants detected by multigene sequencing in unselected Japanese patients with ovarian cancer[J]. *Oncotarget*, 2017,8(68):45-52.
- [11] 洪丽君,曾清芳,卢昆林,等. 高尔基体磷蛋白3在卵巢癌中的表达及临床意义[J]. *东南国防医药*, 2017,19(4):357-360.
- [12] 雷婧,郭瑞霞,郭涛,等. SDF-1和PI3K/Akt通路对卵巢癌CAOV3细胞增殖和侵袭能力的影响研究[J]. *中国妇幼保健*, 2015,30(15):2411-2414.
- [13] 葛顺娜,段峥峥. 外源性硫化氢通过EGFR/PI3K/Akt信号通路促进人卵巢癌细胞增殖、侵袭和顺铂耐药[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2018,38(3):244-253.
- [14] 闫泓霖,王登兰,李莉. 子宫内膜异位症相关性卵巢癌组织PIK3CA基因变异情况及蛋白表达变化[J]. *山东医药*, 2016,56(26):51-52.
- [15] 周艳,乔玉环,郭瑞霞,等. 阻断PI3K/PKB通路对卵巢癌OVACA-3细胞株增殖和凋亡的影响[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2017,18(4):350-353.
- [16] 蔡晶,王泽华. 肿瘤标志物预测卵巢癌预后的价值[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2015,31(3):226-229.
- [17] 黄华艺. 卵巢癌可溶性生物标志物的新进展[J]. *中华检验医学杂志*, 2016,39(7):552-555.
- [18] 刘亚利,王小霞,李红霞. PI3K/AKT/mTOR通路及其靶向治疗在卵巢癌中的研究进展[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2020,41(21):2710-2713.

脑卒中合并冠心病患者PCI中应用不同剂量比伐卢定对PLT、MPV及FIB的影响

邓俊国¹ 孟令秀¹ 熊爱红¹ 王雪梅² 王龙^{3*}

[摘要] **目的** 分析脑卒中合并冠心病患者经皮冠状动脉介入治疗(PCI)中应用不同剂量比伐卢定对血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、纤维蛋白原(FIB)的影响。**方法** 选取2019年1月至2021年4月秦皇岛市第二医院收治的153例脑卒中合并冠心病患者,均行PCI手术治疗,根据术中使用的比伐卢定剂量不同分为低剂量组68例[术中1.5 mg/(kg·h)术后0.15 mg/(kg·h)]与全剂量组85例[术中1.75 mg/(kg·h)术后0.2 mg/(kg·h)]。比较两组治疗后24 h PLT、MPV、FIB水平变化;比较两组治疗后30 d心功能情况;比较两组治疗后30 d出血事件及治疗后6个月不良心脑血管事件(MACCE)发生情况。**结果** 治疗前两组PLT、MPV、FIB水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后24 h两组PLT、FIB、MPV明显降低,且全剂量组明显低于低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗前两组LVEF、E/A比较差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后30 d两组LVEF、E/A值均升高,且全剂量组明显高于低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。低剂量组30 d内出血事件总发生率为2.94%,全剂量组总发生率为4.71%,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。低剂量组6个月MACCE总发生率为7.35%,全剂量组总发生率为3.53%,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 脑卒中合并冠心病患者PCI中使用比伐卢定可明显改善患者凝血状态,降低PLT、FIB、MPV表达水平,使用全剂量比伐卢定可获得更为理想的治疗效果,安全性尚可。

[关键词] 脑卒中合并冠心病; PCI; 比伐卢定; PLT; MPV; FIB

Effects of different doses of bivalirudin on PLT, MPV and FIB in patients with stroke complicated with coronary heart disease during PCI

DENG Junguo¹, MENG Lingxiu¹, XIONG Aihong¹, WANG Xuemei², WANG Long^{3*}

(1. Department of Cardiology, the Second Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066600;
2. Department of Infectious Diseases, the Second Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066600;
3. Department of Cardiac Electrophysiology, Peking University People's Hospital, Beijing, China, 100044)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effect of different doses of bivalirudin on platelet count (PLT), mean platelet volume (MPV) and Fibrinogen (FIB) in patients with stroke complicated with coronary heart disease during percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** 153 stroke patients with coronary heart disease admitted to Qinhuangdao Second Hospital from January 2019 to April 2021 were selected for PCI surgery, according to the intraoperative dose of bivalirudin, 68 patients were divided into a low-dose group [Surgery In the middle 1.5 mg/(kg·h) postoperative 0.15 mg/(kg·h)] and the full dose group of 85 cases [intraoperative 1.75 mg/(kg·h) postoperative 0.2 mg/(kg·h)]. The changes of PLT, MPV and FIB levels at 24 h after treatment between the two groups were compared; the cardiac function at 30 days after treatment was compared between the two groups. The bleeding events at 30 days after treatment and the occurrence of ad-

基金项目:秦皇岛市重点研发计划科技支撑项目(201805A018)

作者单位:1.秦皇岛市第二医院心内一科,河北,秦皇岛 066600

2.秦皇岛市第二医院感染科,河北,秦皇岛 066600

3.北京大学人民医院心电生理室,北京 100044

*通信作者:王龙, E-mail:13933517868@163.com

verse cardiovascular and cerebrovascular events (MACCE) at 6 months after treatment were compared between the two groups. **Results** There was no significant difference in the levels of PLT, MPV and FIB between the two groups before treatment ($P>0.05$), and the levels of PLT, FIB and MPV in the two groups were significantly decreased at 24 h after treatment, and the full-dose group was significantly lower than the low-dose group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in LVEF and E/A between the two groups before treatment ($P>0.05$), but the value of LVEF and E/A in the two groups 30 d after treatment were increased, and the values in the full-dose group were significantly higher than those in the low-dose group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The total incidence of bleeding within 30 days in the low-dose group was 2.94%, and the full-dose group was 4.71%, there was no difference between the two groups ($P>0.05$). The total incidence of MACCE at 6 months in the low-dose group was 7.35%, and the full-dose group was 3.53%, there was no difference between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The use of bivalirudin in PCI in stroke patients with coronary heart disease can significantly improve the coagulation state of the patients and reduce the expression levels of PLT, FIB, and MPV. The use of full dose bivalirudin can achieve a more ideal therapeutic effect, and the safety is acceptable.

[KEY WORDS] Stroke with coronary heart disease; PCI; Bivalirudin; PLT; MPV; FIB

经皮冠状动脉介入治疗 (Percutaneous coronary intervention, PCI) 是冠心病的常用治疗手段, 其通过心导管技术将患者狭窄或闭塞的冠状动脉腔疏通, 进而改善心肌血流灌注^[1]。但在治疗过程中可能出现冠状动脉血流阻塞或减慢的情况, 可引起患者心绞痛, 严重可导致死亡。以往研究显示, 血液凝血功能对机体血流动力学有着重要的影响, 在 PCI 手术治疗过程中降低血小板水平及活性可抑制患者凝血功能, 进而降低血流动力学相关的并发症出现, 从而改善患者预后^[2]。比伐卢定是 PCI 治疗过程中的常用药物, 可有效抑制凝血功能, 但关于其临床用量存在一定争议^[3]。本文将通过分析不同剂量比伐卢定在脑卒中合并冠心病患者 PCI 中的应用效果, 了解不同剂量比伐卢定对患者血小板计数 (platelet, PLT)、平均血小板体积 (Mean platelet volume, MPV)、纤维蛋白原 (Fibrinogen, FIB) 的影响, 以期为临床治疗提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2021 年 4 月秦皇岛市第二医院收治的 153 例脑卒中合并冠心病患者, 均进行 PCI 手术治疗, 根据术中使用比伐卢定剂量不同分为低剂量组与全剂量组。全剂量组 85 例 (术中 1.75 mg/(kg·h) 术后 0.2 mg/(kg·h)), 男 53 例, 女 32 例, 年龄平均 (59.25±3.65) 岁; 低剂量组 (术中 1.5 mg/(kg·h) 术后 0.15 mg/(kg·h)) 68 例, 其中男 45 例, 女

23 例, 年龄平均 (59.85±3.69) 岁。两组一般资料比较并差异无统计学意义, 具有可比性 ($P>0.05$)。纳入标准: ①脑卒中符合《中国脑血管病防治指南》中相关诊断标准^[4], 冠心病符合《临床冠心病诊断与治疗指南》中相关诊断标准^[5]; ②临床资料完整; ③自愿加入本次研究, 签署知情同意书。排除标准: ①合并其他靶器官疾病者; ②合并自身免疫疾病者; ③治疗药物过敏者。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 PCI 治疗

术前两组均服用双联抗血小板药物 3 d 以上, 术前均使用比伐卢定 (深圳信立泰药业股份有限公司, 国药准字 H20110089, 规格: 250 毫克/瓶) 首次负荷给药剂量 0.75 mg/kg 进行静脉推注。低剂量组在术中以 1.5 mg/(kg·h) 持续静脉泵入, 术后给予 0.15 mg/(kg·h) 静脉注射 2 h; 全剂量组在术中以 1.75 mg/(kg·h) 持续静脉泵入, 术后给予 0.2 mg/(kg·h) 静脉注射 2 h。PIC 手术根据标准流程进程。

1.2.2 PLT、MPV、FIB 检测

在 PCI 治疗前及治疗后 24 h 抽取患者空腹静脉血液 5 mL 进行检测。使用河南龙力康科技有限公司所提供的 WD-3000 全自动血细胞分析仪检测 PLT、MPV; 使用上海涵飞医疗器械有限公司提供的贝克曼 ACL7000 全自动凝血仪检测 FIB, 试剂均为仪器所配套。

1.3 两组治疗前与治疗后 30 d 心功能比较

心功能使用彩色多普勒超声 (飞利浦 EPIQ-5)

进行检测,记录患者左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、E峰与A峰比值(Peak E/peak A, E/A)。

1.4 两组治疗后30 d内出血事件比较

出血事件包括:牙龈出血、颅内出血、胃肠道出血、泌尿生殖系统出血等。

1.5 两组治疗前与治疗后6个月不良心脑血管事件(major adverse cardiac and cerebrovascular events, MACCE)比较

通过对患者以微信、电话、回院复查等方式进行随访,了解其心肌梗死、中风、大出血^[6]、支架血栓形成、心源性死亡等发生情况。

1.6 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行统计处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前与治疗后24 h PLT、MPV、FIB比较

治疗前两组PLT、MPV、FIB水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后24 h两组PLT、FIB、MPV明显降低,且全剂量组明显低于低剂量组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组治疗前与治疗后24hPLT、MPV、FIB水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PLT($\times 10^9/L$)		MPV(fL)		FIB(g/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
低剂量组	68	218.26 \pm 15.21	198.52 \pm 15.39 ^a	12.15 \pm 1.25	9.55 \pm 1.24 ^a	4.22 \pm 1.23	2.86 \pm 0.88 ^a
全剂量组	85	217.85 \pm 15.65	179.58 \pm 15.94 ^a	12.22 \pm 1.54	6.64 \pm 1.69 ^a	4.19 \pm 1.52	2.31 \pm 0.46 ^a
t 值		0.163	7.415	0.303	11.839	0.131	4.977
P 值		0.870	<0.001	0.762	<0.001	0.895	<0.001

注:治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组治疗前与治疗后30 d心功能比较

治疗前两组LVEF、E/A比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后30 d两组LVEF、E/A值均升高,且全剂量组明显高于低剂量组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前与治疗后30 d心功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEF(%)		E/A	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
低剂量组	68	36.86 \pm 6.52	43.26 \pm 6.95 ^a	0.66 \pm 0.22	0.93 \pm 0.14 ^a
全剂量组	85	37.22 \pm 6.25	49.52 \pm 6.31 ^a	0.65 \pm 0.25	1.15 \pm 0.79 ^a
t 值		0.347	5.828	0.259	2.266
P 值		0.728	<0.001	0.795	0.024

注:治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组30 d内出血事件比较

低剂量组30 d内出血事件总发生率为2.94%,全剂量组总发生率为4.71%,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

2.4 两组治疗后6个月MACCE发生情况比较

低剂量组6个月MACCE总发生率为7.35%,全剂量组总发生率为3.53%,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表3 两组30 d内出血事件比较 [$n(\%)$]

组别	n	牙龈出血	颅内出血	胃肠道出血	泌尿生殖系统出血	合计
低剂量组	68	1(1.47)	0(0.00)	1(1.47)	0(0.00)	2(2.94)
全剂量组	85	2(2.35)	0(0.00)	0(0.00)	2(2.35)	4(4.71)
χ^2 值						0.312
P 值						0.576

表4 两组治疗后6个月MACCE发生情况比较 [$n(\%)$]

组别	n	心肌梗死	中风	大出血	支架血栓形成	心源性死亡	合计
低剂量组	68	1(1.47)	2(2.94)	0(0.00)	2(2.94)	0(0.00)	5(7.35)
全剂量组	85	1(2.35)	1(2.35)	0(0.00)	1(2.35)	0(0.00)	3(3.53)
χ^2 值							1.114
P 值							0.291

3 讨论

PCI是冠心病的主要治疗方式,在临床获得较为理想的治疗效果。研究显示,在PCI手术治疗期间进行抗凝、抗血小板治疗可增加PCI治疗效果,提高手术成功率,同时对减少术后支架内血栓形成等情况有积极影响^[7]。

比伐卢定是人工合成的新型凝血酶抑制剂,对抑制术后血栓形成意义重大,广泛适用于PCI手术治疗中。研究显示,比伐卢定可以降低血小板和单核细胞的活化功能,从而抑制血栓的形成。与肝素相比,比伐卢定的抗凝效果不会受到激活的血小板的干扰,可获得更佳的抗凝效果^[8]。以往研究显示,比伐卢定对凝血酶活性的抑制属于可逆的,且药物半衰期短,在停止用药后抗凝作用消失速度快^[9]。临床中为预防PCI术后血栓成型可常规应用抗凝药物及双抗治疗,但随之而来的是患者出血风险增大,因此药物使用剂量多少需慎重,并需实时监测患者凝血功能^[10]。血小板主要功能是止血,PLT是反映血小板生成与衰老的指标,临床中常用于诊断出血性疾病^[11]。MPV可反映血小板平均体积,MPV值增加说明血小板体积增大,大血小板中所含有的活性物质更多,可释放的血栓素A2增加,更易出现凝集反应。研究显示,MPV与血栓前状态及血栓性疾病密切相关^[12]。FIB为凝血因子,是血凝块形成中所必须的一种蛋白,研究显示,在血液中FIB表达增高,可引起血液黏度增加,同时可促进血小板聚集,改变内皮细胞与红细胞的黏附性,加速粥样硬化斑块形成^[13]。本研究结果显示,使用低剂量与全剂量的比伐卢定后,患者凝血功能较术前均明显下降,且全剂量组患者PLT、MPV、FIB下降程度更明显。可能与全剂量用药浓度更高,从而获得更好的抗凝效果有关。

在PCI术后患者心功能的恢复与患者靶血管持续再通情况有密切的联系。LVEF、E/A均为反映心功能的有效指标,LVEF低于40%时表示心肌收缩能力不佳,E/A大于1时则说明心脏舒张功能正常^[14]。本研究显示,两组心功能指标均上升,而全剂量组心功能恢复最佳,可能与全剂量使用可获得更好的抗凝血功能,避免靶血管缺血发生,促进患者心功能恢复有关。但随着抗凝效果增加,抗凝治疗后导致的出血机率也会随之增加。本研究中,低剂量组30d内出血事件总发生率为2.94%,全剂量组为4.71%,全剂量稍高于低剂量组,但两组间比较差异并无统计学意义,亦均未出现大出血情况。同样,两组6个月后MACCE总发生率比较差异无统计学意义,说明在PCI治疗中使用全剂量比伐卢定并不会增加MACCE发生率,具有较好的安全性,与以往研究结果相符^[15]。

综上所述,脑卒中合并冠心病患者PCI中使用比伐卢定可明显改善患者凝血状态,降低PLT、

FIB、MPV表达水平,使用全剂量比伐卢定可获得更为理想的治疗效果,安全性尚可。

参考文献

- [1] 何松坚,刘强,翁建新,等.比伐卢定在尿毒症依赖透析并急性冠脉综合征患者经皮冠状动脉介入治疗中的抗凝疗效和安全性研究[J].实用心脑血管病杂志,2021,29(1):80-84+90.
- [2] 李玉轩.老年心房颤动合并缺血性脑卒中患者的临床特点及抗凝治疗效果[J].实用临床医药杂志,2020,24(6):113-115.
- [3] 邹克勇,李大程,孙少兵.冠心病患者并发缺血性脑卒中的影响因素及左心房大小对其的预测价值分析[J].中国循证心血管医学杂志,2019,11(6):736-738+741.
- [4] 饶明俐主编.中国脑血管病防治指南[M].北京:人民卫生出版社,2007.
- [5] 颜红兵主编.临床冠心病诊断与治疗指南[M].人民卫生出版社,2010.
- [6] 叶莎,郑敏英,张倩榕,等.替格瑞洛联合比伐卢定用于STEMI患者急诊行PCI术的疗效分析[J].现代生物医学进展,2019,19(4):680-683.
- [7] 郎勇,冉迅,屈模英.单核细胞高密度脂蛋白比值,血清尿酸水平与冠心病患者冠脉狭窄程度的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(9):1184-1186+1191.
- [8] 廖付军,牛力,谢登海,等.比伐卢定在高出血风险ACS患者PCI术中的应用研究[J].重庆医学,2021,50(4):563-566+572.
- [9] 张黎,刘迪.比伐卢定联合替格瑞洛对老年STEMI患者PCI治疗的疗效及安全性分析[J].心血管康复医学杂志,2020,29(3):297-300.
- [10] 宋莹,姜琳,陈艳,等.高密度脂蛋白胆固醇水平对冠状动脉病变严重程度及介入治疗预后的影响[J].中华心血管病杂志,2020,48(2):123-129.
- [11] 陈要起,穆金兴,陈洪波,等.冠状动脉内应用比伐卢定对急性非ST段抬高型心肌梗死高危患者早期PCI术预后的影响[J].疑难病杂志,2019,18(8):765-769+774.
- [12] 苏蕊雅.肝素联合替罗非班,比伐卢定两种抗凝方案对STEMI病人PCI术后MACE,出血事件及P-选择素水平的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(24):4090-4093.
- [13] 穆金兴,陈要起,齐丽平,等.经皮冠状动脉介入治疗急性心肌梗死手术期使用比伐卢定的安全性和有效性分析[J].安徽医药,2019,23(1):158-160.
- [14] Sadoul K. tubulin acetylation a valuable accessory of the platelet cytoskeleton. focus on histone deacetylase 6 - mediated deacetylation of -tubulin coordinates cytoskeletal and signaling events during platelet activation [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2019, 305(12):1211-1213.
- [15] 刘梅.2型糖尿病合并冠心病患者血浆纤维蛋白原,D二聚体及脂蛋白a水平的临床分析[J].中南医学科学杂志,2019,47(2):192-194.

PCT、Th17和Tregs在ACLF中的表达及与预后的关系

倪艳 程玲 蒋玉凤*

【摘要】目的 分析降钙素原(PCT)、T辅助细胞17(Th17)、调节性T细胞(Tregs)在慢加急性肝衰竭(ACLF)患者中的表达及与预后的关系。**方法** 收集2018年1月至2020年2月西南医科大学附属第一医院收治的106例ACLF患者(ACLF组),其中早期41例,中期39例,晚期26例。另选取本院同期97例健康体检志愿者(对照组),99例慢性乙型肝炎患者(CHB组)。比较不同人群、不同时期ACLF患者PCT、Th17、Tregs表达水平,并分析影响ACLF患者预后的危险因素,计算PCT、Th17、Tregs对患者预后不良的预测价值。**结果** PCT、Th17、Tregs表达水平:ACLF组>CHB组>对照组,晚期>中期>早期,差异均有统计学意义($P<0.05$)。106例ACLF患者中预后良好75例(70.75%),预后不良31例(29.25%)。不同性别、年龄、AST、ALB、PAIb在预后良好组与预后不良组之间比较差异均无统计学意义($P>0.05$),WBC、CRP、NEU、AFP、PCT、Th17、Tregs指标在两组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。多元Logistic回归分析结果显示,WBC、CRP、NEU、AFP、PCT、Th17、Tregs为影响ACLF患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。PCT+Th17+Tregs联合预测ACLF预后不良敏感度和特异度分别为0.872、0.717,AUC明显高于三者单独预测($P<0.05$)。**结论** PCT、Th17、Tregs表达与ACLF患者病情严重程度、预后存在密切联系,监测三因子水平变化可为临床治疗及预后评估提供一定参考。

【关键词】 PCT; Th17; Tregs; ACLF

Expression of PCT, Th17, Tregs in ACLF and their relationship with prognosis

NI Yan, CHENG Ling, JIANG Yufeng*

(Department of Infectious Diseases, Infection and Immunity Laboratory, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, China, 646000)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the relationship between the procalcitonin (PCT), T helper cell 17 (Th17), regulatory T cells (Tregs) and chronic and acute liver failure (ACLF) and their relationship with prognosis. **Methods** A total of 106 ACLF patients admitted to the Affiliated Hospital of Southwest Medical University from January 2018 to February 2020 were collected (ACLF group), including 41 in the early stage, 39 in the middle stage, and 26 in the late stage. 97 health volunteers from the hospital for physical examination during the same period were selected (control group), and 99 patients with chronic hepatitis B during the same period were selected as the CHB group. The expression levels of PCT, Th17 and Tregs in ACLF patients in different populations and at different periods were compared. The risk factors affecting the prognosis of ACLF patients were analyzed, and the predictive value of PCT, Th17 and Tregs on the poor prognosis of ACLF patients was calculated. **Results** The expression levels of PCT, Th17, and Tregs: ACLF group > CHB group > control group, late stage > mid stage > early stage, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Among 106 ACLF patients, 75 cases had a good prognosis (70.75%), 31 cases had a poor prognosis (29.25%), and there was no statistically significant difference in gender, age, AST, ALB, and PAIb between the good prognosis group and the poor prognosis group ($P>0.05$). There were statistically significant differences in WBC, CRP, NEU, AFP, PCT, Th17, and Tregs indicators between the two groups ($P<$

基金项目:四川省卫生计生委科研课题基金资助项目(18PJ158)

作者单位:西南医科大学附属第一医院感染病科,感染与免疫实验室,四川,泸州 646000

*通信作者:蒋玉凤, E-mail:zykzyf@163.com

0.05)。Multivariate logistic regression analysis showed that WBC, CRP, NEU, AFP, PCT, Th17, Tregs were independent risk factors that affects the poor prognosis of ACLF patients ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of PCT+Th17+Tregs combined to predict poor prognosis in ACLF were 0.872 and 0.717, respectively, and the AUC was significantly higher than that of the three alone ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of PPCT, Th17 and Tregs are closely related to the severity and prognosis of ACLF patients. Monitoring the changes of the three factors can provide a certain reference for clinical treatment and prognosis evaluation.

[KEY WORDS] PCT; Th17; Tregs; ACLF

慢加急性肝衰竭(Chronic and acute liver failure, ACLF)是发生在慢性肝病基础上的一种短期内出现急性或者亚急性的肝功能代谢失常的临床症候群^[1]。ACLF患者可表现出黄疸、消化道症状(呕吐、恶心、腹胀等)、肝性脑病或者伴有严重的凝血功能障碍等情况,预后较差。降钙素原(Procalcitonin, PCT)为临床检测机体内毒素感染有效指标,在临床中可用于评估肝衰竭患者体内毒素水平^[2]。T辅助细胞17(T helper cell 17, Th17)是CD4⁺T细胞亚群,以往研究发现, Th17与慢性肝炎的发生发展存在一定的联系^[3]。调节性T细胞(Regulatory T cells, Tregs)是CD4⁺T淋巴细胞的另一个亚群,有研究显示,在肝脏或者血液中Tregs的表达失衡是引起机体持续感染乙肝病毒以及疾病进展的重要原因之一^[4]。本研究将分析PCT、Th17、Tregs在ACLF中的变化趋势,分析三者与ACLF患者预后之间的联系,以期为临床诊疗ACLF以及改善预后提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年1月至2020年2月西南医科大学附属医院收治的106例ACLF患者(ACLF组),其中男77例,女29例,平均年龄(49.28±5.33)岁,根据病情严重程度分为^[5]:早期41例,中期39例,晚期26例。纳入标准:①符合《肝衰竭诊疗指南》中有关ACLF的诊断级分期标准^[5];②临床资料完整;③血清相关免疫学检测证实HBsAg阳性6个月以上、HBsAb阴性、HBeAg阳性或阴性。排除标准:①合并恶性肿瘤;②入院前有进行药物治疗者;③药物所致肝衰竭者;④合并酒精性肝病、非酒精性脂肪肝病者;⑤合并代谢性疾病者。另选取本院同期97例健康体检志愿者(对照组),以及同期进行治疗的99例慢性乙型肝炎(CHB组),对照组中男63例,女34例,平均年龄(48.95±5.27)岁;CHB组中男65例,女34例,平均年龄(49.10±5.18)岁。入选者在一般资料上比较差异无统计学

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

1.2.1 PCT、Th17、Tregs水平检测

ACLF组患者在入院后次日清晨抽取空腹静脉血液5 mL, CHB组、体检者则在受检当日清晨抽取空腹静脉血液5 mL,使用枸橼酸钠或肝素抗凝,离心分离血清。使用mini-VIDAS全自动免疫荧光分析仪检测PCT,试剂及仪器均由法国梅里埃公司提供。使用FACS LSRII流式细胞仪通过flowcytomix技术检测Th17、Tregs水平,试剂盒及仪器均由美国R&D公司提供。操作均严格按照说明书进行。

1.2.2 预后情况评估

观察组患者均进行内科、人工肝等综合治疗,对患者进行为期3个月随访,截止至2020年5月31日,病情稳定为预后良好;出现死亡、复发则判定为预后不良。收集患者一般资料,包括:年龄、性别、白细胞(white blood cell, WBC)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、中性粒细胞百分比(Percentage of neutrophils, NEU%)、甲胎蛋白(Alpha fetoprotein, AFP)、天冬氨酸转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)、白蛋白(albumin, ALB)、前白蛋白(Prealbumin, PAIb)等。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较使用方差检验。采用多元Logistic回归分析影响ACLF患者预后不良的危险因素。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析PCT、Th17、Tregs对ACLF患者预后不良的预测价值,并计算曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组PCT、Th17、Tregs表达水平比较

PCT、Th17、Treg表达水平:ACLF组>CHB组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 三组PCT、Th17、Tregs表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of PCT, Th17 and Tregs in the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PCT(ng/mL)	Th17(%)	Tregs(%)
对照组	97	0.49±0.12	0.44±0.11	0.07±0.03
CHB组	99	4.11±1.24 ^a	2.14±0.18 ^a	1.03±0.24 ^a
ACLF组	106	6.33±2.17 ^{ab}	3.60±0.71 ^{ab}	2.92±0.85 ^{ab}
F值		404.47	720.79	787.81
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较^aP<0.05,与CHB组比较^bP<0.05。

2.2 不同时期ACLF患者PCT、Th17、Tregs表达水平比较

PCT、Th17、Tregs表达水平:晚期>中期>早期,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 不同时期ACLF患者PCT、Th17、Tregs表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the expression levels of PCT, Th17 and Tregs in ACLF patients in different periods ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PCT(ng/mL)	Th17(%)	Tregs(%)
早期	41	4.76±1.12	2.20±0.11	1.39±0.15
中期	39	6.10±1.30 ^a	3.11±0.18 ^a	2.57±0.24 ^a
晚期	26	9.15±1.37 ^{ab}	6.54±0.71 ^{ab}	5.87±0.85 ^{ab}
F值		98.38	2270.11	796.24
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与早期组比较^aP<0.05,与中期组比较^bP<0.05。

2.3 影响ACLF患者预后的危险因素分析

2.3.1 影响ACLF患者预后不良单因素分析

不同性别、年龄、AST、ALB、PAIb在预后良好组与预后不良组之间比较差异均无统计学意义(P>0.05),WBC、CRP、NEU、AFP、PCT、Th17、Tregs指标在两组间比较差异均有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 影响ACLF患者预后不良单因素分析 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Analysis of single factors affecting the prognosis of ACLF patients ($\bar{x} \pm s$)

因素	预后良好组 (n=75)	预后不良组 (n=31)	t/χ ² 值	P值
性别(男/女)	58/17	19/12	2.840	0.091
年龄(岁)	49.14±5.12	49.62±5.62	0.426	0.670
WBC(×10 ⁹ /L)	6.32±2.16	15.34±2.95	17.495	<0.001
CRP(mg/L)	9.20±3.84	22.64±3.14	17.236	<0.001
NEU(%)	61.32±15.24	81.55±15.69	6.163	<0.001
AFP(mg/L)	2.15±0.16	15.26±3.24	35.177	<0.001
AST(U/L)	23.26±3.21	24.14±3.55	1.244	0.216
ALB(g/L)	36.71±3.54	37.16±3.33	0.606	0.546
PAIb(μmol/L)	4.62±1.33	4.85±1.24	0.825	0.410
PCT(ng/mL)	4.61±0.18	10.52±2.66	15.237	<0.001
Th17(%)	2.36±0.75	6.62±0.76	26.499	<0.001
Tregs(%)	1.70±0.06	5.87±0.62	57.982	<0.001

2.3.2 影响ACLF患者预后不良多因素分析

将单因素分析有差异的指标进行多元Logistic回归分析,结果显示:WBC、CRP、NEU、AFP、PCT、Th17、Tregs为影响ACLF患者预后不良的独立危险因素(P<0.05)。见表4。

表4 影响ACLF患者预后不良多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors affecting the prognosis of ACLF patients

因素	回归系数	标准误	Wald χ ² 值	OR(95% CI)值	P值
WBC	0.618	0.144	3.263	1.855(1.399~2.460)	0.039
CRP	0.567	0.213	4.177	1.762(1.612~2.676)	0.010
NEU	0.416	0.185	4.960	1.515(1.054~2.178)	0.001
AFP	0.306	0.117	6.941	1.357(1.079~1.707)	<0.001
PCT	0.409	0.147	5.069	1.505(1.128~2.007)	0.001
Th17	0.336	0.118	10.621	1.399(1.110~1.763)	<0.001
Tregs	0.362	0.164	8.555	1.436(1.041~1.980)	<0.001

2.4 PCT、Th17、Tregs对ACLF患者预后不良的预测价值

依据ROC曲线可知,PCT+Th17+Tregs联合预测NSCLC预后不良敏感度和特异度分别为0.872、0.717,AUC=0.859,明显高于三者单独预测(P<0.05)。见表5、图1。

表5 PCT、Th17、Tregs对ACLF患者预后不良的预测价值
Table 5 The predictive value of PCT, Th17 and Tregs on the poor prognosis of ACLF patients

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
PCT	0.791	0.719~0.826	0.745	0.623	<0.001
Th17	0.768	0.670~0.865	0.660	0.528	<0.001
Tregs	0.774	0.678~0.870	0.681	0.585	<0.001
PCT+Th17+Tregs	0.859	0.781~0.938	0.872	0.717	<0.001

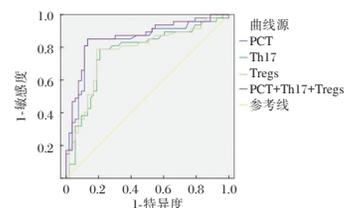


图1 ROC曲线图

Figure 1 The ROC curve

3 讨论

PCT在正常情况下表达水平低,但在机体出现细菌感染后、器官出现炎症反应时可明显上升,炎症反应所释放出的PCT也可被细菌所产生的内毒素直接诱导^[6]。以往研究发现ACLF肠源性内毒素血症是重型肝炎发展为肝衰竭的重要诱因,在重型肝炎的进展和预后方面有着重要的作用,

因此预防和控制内毒素血症的发生是成功治疗重型肝炎的关键^[7]。在临床中 PCT 是检测内毒素的重要参考指标,拥有较高的灵敏度,可为重症感染性疾病诊断、病情进展、预后等评估提供重要的参考信息^[8]。本研究中,ACLF 患者 PCT 水平明显高于 CHB 组与对照组,结合以往文献报导推断,PCT 异常表达与 ACLF 发生之间有一定关系。

ACLF 的进展与机体天然免疫、适应性免疫的紊乱有密切的联系,树突状细胞(Dendritic cells, DC)、T 淋巴细胞等均参与了 ACLF 的疾病发生发展过程^[9]。Th17、Tregs 作为 CD4+T 细胞的亚群之一,两者在免疫应答中发挥了重要的作用。有研究显示,Th17 参与了酒精性肝炎、慢性乙型肝炎、胆汁性肝硬化等多种肝脏疾病的发生发展,也参与宿主抵御细菌、病毒、真菌等机体免疫保护机制^[10]。关于 Th17 细胞对 ACLF 患者临床转归的影响目前并不清楚,但有数据显示预后不佳的患者 Th17 细胞比例及白细胞介素-17 水平明显高于预后良好的患者,提示预后不佳的患者存在更加激烈的免疫病理损伤^[11]。Tregs 可通过释放抗炎因子发挥抗炎作用,多项研究证实 Tregs 在维持自身免疫耐受及平衡中有着重要的作用^[12]。Th17、Tregs 两者在机体中的关系密切,两者平衡失调可引起多种自身免疫性疾病^[13]。本研究发现,ACLF 患者中 Th17、Tregs 表达明显高于对照组,与以往文献研究结果相符^[14]。提示 Th17、Tregs 与 ACLF 的病理过程密切相关,ACLF 患者 Th17、Tregs 比例失衡,而 Tregs 升高可能是为了阻止 Th17 引起的过度免疫应答而出现的负反馈性调节作用,以此控制疾病进展。

本研究中,ACLF 早、中、晚期患者 PCT、Th17、Tregs 表达存在差异,随着患者病情进展,三指标呈明显上升趋势,说明 ACLF 在不同时期的炎症反应及免疫状态的动态变化是不同的,ACLF 患者存在细胞免疫功能紊乱的现象。PCT、Th17、Tregs 三者均为影响患者的预后相关因素,预后不良者 Th17、Tregs、PCT 水平明显高于预后良好组,提示预后不佳者其免疫病理损伤及炎症反应更严重,机体免疫功能亢进所引起的病理损伤以及炎症反应可能参与 ACLF 疾病进展过程。ROC 曲线分析发现,PCT、Th17、Tregs 三者联合检测可有效提高 ACLF 患者预后不良预测的敏感度、特异度,对患者早期诊断有积极意义。

综上所述,PCT、Th17、Tregs 表达与 ACLF 患者病情严重程度、预后存在密切联系,病情严重、

预后越差者其机体内免疫紊乱、炎症反应更严重。监测患者 PCT、Th17、Tregs 水平变化,可为临床治疗及预后评估提供一定参考。

参考文献

- [1] 李玉琴,邹东花,谭艳,等.慢性乙型肝炎患者维生素 D 及其受体表达与炎症损伤程度及肝细胞癌发生的相关性分析[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(8):1361-1364+1368.
- [2] 栾念旭,王新梅,兰淑娟,等.降钙素原在肺癌患者感染与癌性发热的鉴别诊断中的价值[J].肿瘤预防与治疗,2019,32(6):494-498.
- [3] Winkler I, Wo J, Karczmarczyk A, et al. An association of circulating Tregs and Th17 cells producing IL-21 and IL-22 with the ROMA in ovarian cancer patients [J]. Cytokine, 2020, 134(28):1043-4666.
- [4] Valencic E, Todaro F, Piscianz E, et al. Tregs and Th17 lymphocytes in human DYRK1A haploinsufficiency [J]. Immunol Lett, 2019, 214:52-54.
- [5] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会分会重型肝病与人工肝学组.肝衰竭诊治指南(2018年版)[J].中华临床感染病杂志,2018,11(6):401-410.
- [6] Lu M, Qin X, Yao J, et al. Th17/Treg imbalance modulates rat myocardial fibrosis and heart failure by regulating LOX expression[J]. Acta Physiol, 2020, 14(3):105-106.
- [7] 谢玲,程丰,孙文锦,等.血清同型半胱氨酸联合降钙素原检测对 HBV 相关慢加急性肝衰竭患者短期预后的临床价值[J].肝脏,2019,24(12):1402-1406.
- [8] 陈木兴,林涛发,谢丽平,等.肠道菌群失衡对乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者血浆降钙素原升高的影响[J].中国微生态学杂志,2019,31(8):880-884.
- [9] 杨亚南,邵焕璋,史源,等.肝素结合蛋白联合 SOFA 评分对脓毒性休克的预测价值[J].中华危重病急救医学,2019,31(3):336-340.
- [10] 王鑫,张国民,牛兴杰,等.外周血 CD14~+CD16~+单核细胞亚群在肝衰竭继发感染患者中的检测价值[J].中国免疫学杂志,2020,36(9):106-109+112.
- [11] Wang L, Jia X, Yu Q, et al. Piper nigrum extract attenuates food allergy by decreasing Th2 cell response and regulating the Th17/Treg balance[J]. Phytoth Res, 2021,11(3):106-108.
- [12] 李子月,杨士田,吴玲玲,等.乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者预后危险因素分析及预后模型建立[J].中华传染病杂志,2019,37(12):737-741.
- [13] Zaunders J, Munier C, Mcguire HM, et al. Mapping the extent of heterogeneity of human CCR5+CD4 T-cells in peripheral blood and lymph nodes[J]. AIDS (London, England), 2020, 34(6):22-25.
- [14] Chen Y, Zhang XS, Wang YG, et al. Imbalance of Th17 and Tregs in thymoma may be a pathological mechanism of myasthenia gravis - ScienceDirect [J]. Mol Immunol, 2021, 133(2):67-76.

血清 Galectin-9 和 PD-L1 对慢性乙型肝炎肝脏炎症程度的诊断价值

贾梦山* 刘加敏 杨艳霞

[摘要] **目的** 探讨血清半乳糖凝集素-9(Galectin-9)和程序性死亡受体-配体1(PD-L1)对慢性乙型肝炎(CHB)肝脏炎症程度的诊断价值。**方法** 选取2020年1月至2021年7月周口市疾控中心专科病医院CHB患者126例为观察组,同期选取45名健康体检者为对照组。比较两组临床特征及血清Galectin-9、PD-L1水平,CHB患者血清Galectin-9、PD-L1水平与临床特征相关性,Logistic回归分析CHB患者显著肝脏炎症影响因素,受试者工作特征(ROC)分析血清Galectin-9、PD-L1对CHB患者肝脏炎症程度的诊断价值。**结果** 观察组血清Galectin-9、PD-L1水平高于对照组,差异有统计学意义($t=19.108, 21.523, P<0.05$);CHB患者血清Galectin-9、PD-L1水平与HBV-DNA、炎症分级、纤维化分期均呈正相关($P<0.05$);Logistic回归模型分析显示,HBV-DNA及血清Galectin-9、PD-L1水平升高均为CHB患者显著肝脏炎症独立危险因素($P<0.05$);ROC显示,Galectin-9、PD-L1联合诊断肝脏炎症程度的AUC值0.850最大,对应敏感度为85.96%,特异度为72.46%,优于单一诊断($P<0.05$)。**结论** CHB患者血清Galectin-9、PD-L1异常高表达,且可较准确地诊断肝脏炎症程度,利于监测CHB疾病进展。

[关键词] 半乳糖凝集素-9;程序性死亡受体-配体1;慢性乙型肝炎;肝脏炎症程度

The diagnostic value of serum Galectin-9 and PD-L1 on the degree of liver inflammation in chronic hepatitis B

JIA Mengshan*, LIU Jiamin, YANG Yanxia

(Department of Hepatology, Zhoukou Hospital for Disease Control and Prevention, Zhoukou, Henan, China, 466000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of serum galectin-9 (Galectin-9) and programmed death-ligand 1 (PD-L1) in the degree of liver inflammation in chronic hepatitis B (CHB). **Methods** From January 2020 to July 2021, 126 CHB patients in Zhoukou CDC Specialized Disease Hospital were selected as the observation group, and 45 healthy subjects were selected as the control group during the same period. The clinical characteristics and serum Galectin-9 and PD-L1 levels of the two groups were compared, and the correlation between serum Galectin-9 and PD-L1 levels and clinical characteristics in CHB patients was compared. The ROC curve was drawn to analyze the diagnostic value of serum Galectin-9 and PD-L1 on the degree of liver inflammation in CHB patients. **Results** Serum Galectin-9 and PD-L1 levels in the observation group were higher than those in the control group ($t=19.108, 21.523, P<0.05$). Serum Galectin-9 and PD-L1 levels in CHB patients were positively correlated with HBV-DNA, inflammation grade and fibrosis stage ($P<0.05$). Logistic regression model analysis showed that HBV-DNA and increased serum Galectin-9 and PD-L1 levels were independent risk factors for significant liver inflammation in CHB patients ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the AUC value of Galectin-9 and PD-L1 in the diagnosis of liver inflammation was

基金项目:河南科技厅重点项目(20200725)

作者单位:周口市疾控中心专科病医院肝病科,河南,周口466000

*通信作者:贾梦山, E-mail: jiamengshan2022@126.com

the highest at 0.850, with a corresponding sensitivity of 85.96% and a specificity of 72.46%, which were better than single diagnosis ($P<0.05$). **Conclusion** Serum Galectin-9 and PD-L1 levels in CHB patients are abnormally high, and can more accurately diagnose the degree of liver inflammation, which is conducive to monitoring the progression of CHB disease.

[KEY WORDS] Galectin-9; Programmed death receptor-ligand 1; Chronic hepatitis B; Degree of liver inflammation

慢性乙型肝炎(Chronic hepatitis B, CHB)是乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的世界性传染病。我国是CHB高发国家,据统计,我国每年死于CHB相关肝硬化、肝癌等疾病的人高达100多万^[1-2]。目前,评价肝脏病理状态仍是CHB基础与临床研究的热点问题。肝脏炎症是CHB发展至肝硬化、肝癌的病理基础^[3]。因此,早期诊断CHB肝脏炎症程度具有重要临床意义。CHB病机主要是免疫反应介导的肝损伤,机体免疫水平与病情进展及预后密切相关^[4]。半乳糖凝集素-9(Galectin-9)是T细胞免疫球蛋白域粘蛋白域蛋白-3(Tim-3)配体,研究表明,Tim-3/Galectin-9信号通路活化可抑制T细胞活化及Th1免疫^[5]。相关研究已证实,Galectin-9在多种自身免疫性疾病、炎性疾病、肿瘤等发生及进展过程中起到重要作用^[6]。程序性死亡受体-配体1(Programmed death ligand-1, PD-L1)是程序性死亡受体-1(PD-1)主要配体,可负向调节免疫应答,近年来,其在CHB患者免疫调节中的作用日益受到重视^[7]。目前,关于血清Galectin-9、PD-L1对CHB肝脏炎症程度的诊断价值,临床研究较少。本研究对此展开探讨,旨在为临床提供数据支持。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2021年7月周口市疾控中心专科病医院CHB患者126例为观察组,同期选取45名健康体检者为对照组。观察组纳入标准:均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)》^[8]中CHB诊断标准;患者及家属知情同意。对照组纳入标准:病毒性肝炎抗体、肝肾功能、血常规、腹部彩超、肿瘤系列等体检均正常;入试者均知情同意。排除标准:曾接受干扰素- α 类、核苷(酸)类等药物治疗;其他病毒性肝炎;自身免疫性肝病;失代偿期肝硬化;恶性肿瘤;凝血功能障碍;妊娠或哺乳期女性。本研究经本院医学伦理

委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床特征收集

包括年龄、性别、肝功能指标、HBV-DNA、肝脏炎症分级、纤维化分期^[9]等。HBV-DNA及肝功能指标[谷丙转氨酶(Aspartate transaminase, AST)、谷草转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(Total bilirubin, TBil)、凝血酶原时间(Prothrombin time, PT)、白蛋白(Albumin, Alb)]采用罗氏全自动生化分析仪检测;炎症活动度分级(G)为0~4级,轻度肝脏炎症(G0+G1),显著肝脏炎症(G2+G3+G4);肝纤维化分期(S)为0~4期,轻度肝纤维化(S0+S1),显著肝纤维化(S2+S3+S4)。观察组HBV-DNA为 $(8.27\pm 1.09)\times 10^3$ 拷贝/mL;炎症分级:G0=23例,G1=47例,G2=34例,G3=18例,G4=4例;纤维化分期:S0=47例,S1=40例,S2=32例,S3=5例,S4=2例。

1.2.2 血清Galectin-9、PD-L1检测

采集空腹肘静脉血3 mL,离心(时间15 min,半径8 cm,转速3 500 r/min),取血清,采用酶联免疫吸附试验测定Galectin-9,上海纪宁生物制剂公司试剂盒;采用流式细胞仪检测PD-L1。

1.3 统计学处理

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 描述, t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验;影响因素采用Logistic回归分析;采用Spearman、Pearson分析相关性;诊断价值采用受试者工作特征(ROC)曲线,获取AUC、置信区间、敏感度、特异度,联合预测实施Logistic二元回归拟合,返回预测概率 $\text{logit}(p)$,将其作为独立检验变量。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床特征及血清Galectin-9、PD-L1水平

两组年龄、性别、肝功能指标(ALT、AST、TBil、PT、Alb)比较,差异无统计学意义($P>0.05$);

观察组血清 Galectin-9、PD-L1 水平高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组临床特征及血清 Galectin-9、PD-L1 水平
[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Clinical characteristics and serum levels of Galectin-9 and PD-L1 in the two groups [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

指标	观察组 ($n=126$)	对照组 ($n=45$)	t/χ^2 值	P 值
年龄				
≥40岁	58(46.03)	21(46.67)	0.005	0.942
<40岁	68(53.97)	24(53.33)		
性别				
男	73(57.94)	27(60.00)	0.058	0.809
女	53(42.06)	18(40.00)		
肝功能指标				
AST(U/L)	33.31±7.25	32.79±6.84	0.419	0.676
ALT(U/L)	32.58±8.96	31.55±8.43	0.672	0.503
TBil(μmol/L)	16.94±5.06	16.31±4.28	0.745	0.457
PT(s)	12.84±1.36	12.62±1.13	0.972	0.333
Alb(g/L)	40.61±3.87	41.15±4.16	0.788	0.432
HBV-DNA($\times 10^3$ 拷贝/mL)	8.27±1.09			
Galectin-9(ng/mL)	1.92±0.55	0.33±0.15	19.108	<0.001
PD-L1(%)	1.52±0.34	0.38±0.17	21.523	<0.001

2.2 CHB 患者血清 Galectin-9、PD-L1 水平与主要临床特征相关性

CHB 患者血清 Galectin-9、PD-L1 水平与 HBV-DNA、炎症分级、纤维化分期均呈正相关($P<0.05$)。见表2。

表2 CHB 患者血清 Galectin-9、PD-L1 水平与主要临床特征相关性

Table 2 Correlations between serum Galectin-9 and PD-L1 levels and main clinical characteristics in CHB patients

主要临床特征	Galectin-9		PD-L1	
	r 值	P 值	r 值	P 值
AST	0.028	0.654	0.082	0.471
ALT	0.034	0.605	0.114	0.225
TBil	0.052	0.528	0.058	0.525
PT	0.049	0.557	0.072	0.493
Alb	0.108	0.239	0.109	0.241
HBV-DNA	0.751	<0.001	0.548	<0.001
炎症分级	0.526	<0.001	0.472	<0.001
纤维化分期	0.251	0.018	0.236	0.021

2.3 CHB 患者显著肝脏炎症单因素分析

126 例 CHB 患者中, 轻度肝脏炎症(G0+G1) 69 例, 显著肝脏炎症(G2+G3+G4) 57 例。HBV-DNA、Galectin-9、PD-L1 均为 CHB 患者显著肝脏炎症相关因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 CHB 患者显著肝脏炎症多因素 Logistic 回归分析

以 CHB 患者肝脏炎症程度为因变量(赋值: 轻

表3 CHB 患者显著肝脏炎症单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]
Table 3 Univariate analysis of significant liver inflammation in CHB patients [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

指标	轻度肝脏炎症 ($n=69$)	显著肝脏炎症 ($n=57$)	χ^2/t 值	P 值
年龄				
≥40岁	31(44.93)	27(47.37)	0.075	0.784
<40岁	38(55.07)	30(52.63)		
性别				
男	39(56.52)	34(59.65)	0.125	0.723
女	30(43.48)	23(40.35)		
肝功能指标				
AST(U/L)	32.86±7.09	33.85±8.13	0.730	0.467
ALT(U/L)	32.07±8.51	33.19±7.62	0.771	0.442
TBil(μmol/L)	16.55±4.19	17.41±4.58	1.099	0.274
PT(s)	12.69±1.29	13.02±1.25	1.449	0.150
Alb(g/L)	40.83±3.96	40.34±4.07	0.683	0.496
HBV-DNA($\times 10^3$ 拷贝/mL)	7.75±1.07	8.90±1.24	5.588	<0.001
Galectin-9(ng/mL)	1.65±0.47	2.24±0.62	6.072	<0.001
PD-L1(%)	1.39±0.28	1.68±0.37	5.004	<0.001

度肝脏炎症=1, 显著肝脏炎症=2), 将表3中差异有统计学意义的项作为自变量(赋值: 实际值), 应用 Logistic 回归模型分析, 结果显示, HBV-DNA 及血清 Galectin-9、PD-L1 水平升高均为 CHB 患者显著肝脏炎症独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表4 CHB 患者显著肝脏炎症多因素 Logistic 回归分析

Table 4 Multivariate Logistic regression analysis of significant liver inflammation in CHB patients

因素	β 值	SE	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
HBV-DNA	1.744	0.439	15.780	5.719	4.062~8.053	<0.001
Galectin-9	1.593	0.519	9.417	4.917	3.315~7.293	<0.001
PD-L1	1.640	0.528	9.646	5.154	3.517~7.554	<0.001

2.4 血清 Galectin-9、PD-L1 对 CHB 患者肝脏炎症程度的诊断价值

以显著肝脏炎症患者血清 Galectin-9、PD-L1 水平为阳性样本, 以轻度肝脏炎症患者血清 Galectin-9、PD-L1 水平为阴性样本, 绘制各指标诊断肝脏炎症程度的 ROC 曲线, 结果显示, Galectin-9、PD-L1 优于单-诊断联合诊断 AUC 最大, 为 0.850。见表5、图1。

表5 血清 Galectin-9、PD-L1 对肝脏炎症程度的诊断价值

Table 5 The diagnostic value of serum Galectin-9 and PD-L1 on the degree of liver inflammation

指标	AUC	95% CI	cut-off 值	敏感度	特异度	P 值
Galectin-9	0.789	0.710~0.869	1.79	0.825	0.623	<0.001
PD-L1	0.730	0.643~0.817	1.51	0.842	0.522	<0.001
联合	0.850	0.782~0.918		0.860	0.725	<0.001

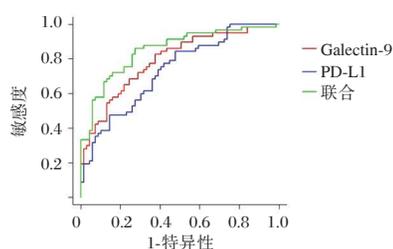


图1 血清 Galectin-9、PD-L1 诊断肝脏炎症程度的ROC曲线
Figure 1 ROC curve of serum Galectin-9 and PD-L1 in the diagnosis of liver inflammation

3 讨论

CHB 具有发病率高、传染性强、难治愈等特点,病理改变主要为肝组织炎症坏死,活动性慢性炎症是导致 CHB 肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌的重要因素^[10]。因此,早期评价显著肝脏炎症,及时采取个体化治疗,对抑制 CHB 疾病进展,改善患者预后具有重要价值。但目前,临床仍缺乏可快速、有效评价肝脏炎症进展程度的手段,成为亟待解决的难题。

Galectin-9 属半乳凝素家族成员,是 Tim-3 配体,作为新型酸性粒细胞驱化物,具有诱导 T 细胞凋亡、促进酸性粒细胞趋化等多种生物学功能,参与自身免疫性疾病、急性炎症反应、过敏等的发生发展过程^[11]。本研究显示,CHB 患者血清 Galectin-9 呈异常高表达,且 CHB 患者血清 Galectin-9 水平与 HBV-DNA、炎症分级、纤维化分期均呈正相关,与相关研究^[12]一致,提示 Galectin-9 可能参与 CHB 发生及病情进展。HBV 感染的慢性化与机体固有免疫及适应性免疫损伤密切相关,尤其 T 细胞功能耗竭^[13]。耗竭的 T 细胞毒性杀伤、分泌效应因子及增殖能力降低,无法有效清除 HBV,同时,过表达一些抑制性表面分子,如 Tim-3、PD-L1 等, Tim-3 通过结合配体 Galectin-9,诱导 T 细胞功能耗竭^[14]。多项研究表明,作为凝集素家族重要成员之一, Galectin-9 是病毒感染过程中发挥关键作用的免疫调控分子,发挥多种生物效应,如调控细胞黏附、影响树突状细胞成熟及 Treg 细胞分化、抗病原微生物等^[15]。HBV 感染后,肝内分泌大量干扰素 (IFN)- β 、IFN- γ ,诱导 Galectin-9 大量表达,与 Tim-3 结合后,使 CD8⁺T 细胞增殖及分泌细胞因子的能力显著降低,进而促进病情进展^[16]。Logistic 回归模型分析显示,血清 Galectin-9 水平升高均为 CHB 患者显著肝脏炎症独立危险因素,进一步证实应用 Galectin-9 有助于监测 CHB 疾病进展。

CHB 免疫学机制一直是临床研究重点,患者一旦出现特异性 T 细胞功能减退,就无法清除病毒,引起 HBV 慢性化^[17]。多项研究表明,PD-1/PD-L1 信号通路可降低 T 细胞表面受体传导的抗原信号,起到负性调节作用,可能在降低机体免疫清除 HBV 能力方面起重要作用^[18]。本研究结果也提示 PD-L1 参与 CHB 发生及发展。PD-L1 是 PD-1 主要配体,属 B7 家族成员,可负向调节免疫应答,这点不同于其他 B7 家族分子。生理状况下,T 细胞、单核细胞、B 细胞 PD-L1 表达处于较低水平,而 HBV 感染后,淋巴细胞活化,PD-L1 表达增加(尤其 T 细胞),肿瘤坏死因子- α (IFN- α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白介素-4(IL-4)等多种因子均可引起淋巴细胞表达 PD-L1 增加^[19]。另外,相较于 PD-1 表达,PD-L1 更加广泛,可在 T 细胞、巨噬细胞、树突状细胞、B 细胞、肝细胞、多种间质细胞等表面表达,在多种组织上调节免疫应答^[20]。另 ROC 曲线显示,血清 Galectin-9、PD-L1 在肝脏炎症程度的诊断方面均具有一定价值,且二者联合诊断的 AUC 达 0.850,可为 CHB 患者肝脏炎症程度诊断提供更准确数据参考。Galectin-9、PD-L1 参与 CHB 患者免疫调节的作用机制不同,二者联合可更全面反映病变情况,从而为显著肝脏炎症评价提供更全面信息。

综上所述,CHB 患者血清 Galectin-9、PD-L1 异常高表达,且可较准确地诊断肝脏炎症程度,利于监测 CHB 疾病进展。但调节 Galectin-9、PD-L1 相关通路可否改善 CHB 患者免疫状态,达到抑制病情进展的目的,尚待进一步研究。

参考文献

- [1] Jiang D, Deng J, Dong C, et al. Knowledge-based analyses reveal new candidate genes associated with risk of hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):403.
- [2] 李园园,苏峰,王艳,等. b-FGF、TGF- β 1、microRNA-34a 与慢性乙型肝炎肝纤维化程度的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(6):1002-1005.
- [3] 周新兰,马鑫,王雁冰,等. APRI、FIB-4 和 GPR 对慢性乙型肝炎肝脏炎症程度的诊断价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(9):2066-2070.
- [4] Kwak MS, Chung GE, Yang JI, et al. Long-term outcomes of HBsAg/anti-HBs double-positive versus HBsAg single-positive patients with chronic hepatitis B [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):19417.

(下转第 1362 页)

非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液细胞因子水平分析

段宁霞* 申超红 颜喜玲

【摘要】 目的 探讨非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液白介素-2(IL-2)、IL-8、IL-10和肿瘤坏死因子(TNF- α)水平变化及临床意义。方法 选取2020年6月至2021年6月在许昌市建安区妇幼保健院治疗的108例非特异性阴道炎患者为研究对象(研究组),另选取同期本院体检健康的志愿者68例为对照组,研究组患者给予药物治疗,检测比较两组血清及阴道灌洗液IL-2、IL-8、IL-10和TNF- α 水平变化。结果 108例患者共检出120株病原菌,且对病原菌分析发现,链球菌属感染最为常见,占比36.67%,葡萄球菌属感染次之,占比23.33%;治疗前研究组血清及阴道灌洗液中IL-2、TNF- α 低于对照组,IL-8、IL-10、IL-6高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),且研究组治疗后血清及阴道灌洗液中IL-2、TNF- α 均显著升高,IL-8、IL-10、IL-6降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),但研究组治疗后血清及阴道灌洗液中以上指标与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗前研究组血清及阴道灌洗液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),且研究组治疗后血清及阴道灌洗液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺均显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),但研究组治疗后血清及阴道灌洗液中以上指标与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);相关性分析发现,血清及阴道灌洗液中炎症因子与T细胞群指标无相关性($P > 0.05$)。结论 非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液中IL-2、TNF- α 、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺呈低表达,IL-8、IL-10、IL-6呈高表达,说明以上因子失衡可能是介导非特异性阴道炎患者免疫功能失衡,促进疾病进展的重要因素。

【关键词】 非特异性阴道炎;血清;阴道灌洗液;白介素-2;白介素-8;白介素-10;肿瘤坏死因子

Analysis of cytokine levels in serum and vaginal lavage fluid of patients with nonspecific vaginitis

DUAN Ningxia*, SHEN Chaohong, YAN Xiling

(Department of Obstetrics and Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Jian'an District, Xuchang City, Xuchang, Henan, China, 461000)

【ABSTRACT】 **Objective** To explore the changes of interleukin-2 (IL-2), IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor α (TNF- α) levels in serum and vaginal lavage fluid of patients with non-specific vaginitis. **Methods** 108 patients with non-specific vaginitis treated in Maternal and Child Health Hospital of Jian'an District, Xuchang City between June 2020 and June 2021 were selected as the study group. Meanwhile, 68 healthy volunteers were selected as the control group. Patients in the study group were given drug treatment. The levels of IL-2, IL-8, IL-10 and TNF- α in serum and vaginal lavage fluid were compared between the two groups. **Results** A total of 120 pathogenic bacteria strains were detected in the 108 patients, and the proportion of Streptococcus was the highest (36.67%), followed by Staphylococcus (23.33%). Before treatment, the levels of IL-2 and TNF- α in serum and vaginal lavage fluid in the study group were lower than those in the control group, while the levels of IL-8, IL-10 and IL-6 were higher than those in the control group, the

基金项目:河南省科技发展计划项目(182102311233)

作者单位:许昌市建安区妇幼保健院妇产科,河南,许昌 461000

*通信作者:段宁霞, E-mail:SGQ200177@163.com

difference was statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, the levels of IL-2 and TNF- α in serum and vaginal lavage fluid were significantly increased, while the levels of IL-8, IL-10 and IL-6 were decreased in the study group ($P < 0.05$), but the difference in the above indicators between the two groups was not statistically significant ($P > 0.05$). Before treatment, the levels of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ in serum and vaginal lavage fluid in the study group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$), which were significantly increased in the study group after treatment ($P < 0.05$). The differences in the above indicators between the two groups were not statistically significant ($P > 0.05$). Correlation analysis showed that there was no correlation between inflammatory factors in serum and vaginal lavage fluid and T cell subsets ($P > 0.05$).

Conclusion The serum and vaginal lavage fluid of patients with non-specific vaginitis showed low expression of IL-2, TNF- α , CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺, and high expression of IL-8, IL-10, and IL-6, indicating that the imbalance of the above factors may be caused by an important factor that mediates the imbalance of immune function in patients with nonspecific vaginitis and promotes disease progression.

[KEY WORDS] Non-specific vaginitis; Serum; Vaginal lavage fluid; Interleukin-2; Interleukin-8; Interleukin-10; Tumor necrosis factor

阴道炎为常见妇科疾病,包含非特异性阴道炎及特异性阴道炎,其中特异性阴道炎是因一些特定的病原微生物引起的感染,如风湿性心肌、肾小球肾炎等^[1-2],而非特异性阴道炎则是因一般病原菌感染引起的,如链球菌、变形杆菌等,阴道分泌物增多、裤子物料不适合等都会引发非特异性阴道炎^[3-4],在临床中非特异性阴道炎发生率占比更多,患者早期无明显特征,急性发作期间有阴道分泌物增多、外阴道瘙痒等症状,且迁延的病情及反复发作特点均严重影响患者生活质量。近年来研究提出,免疫细胞功能紊乱或自身细胞因子紊乱是促进非特异性阴道炎发生的重要因素^[5-6]。本研究中通过对非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液中T细胞群及炎症因子水平进行分析,旨在探讨以上指标在非特异性阴道炎中表达情况,为临床诊断及治疗提供客观依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年6月至2021年6月在许昌市建安区妇幼保健院治疗的108例非特异性阴道炎患者为研究对象(研究组),另选取同期本院体检健康的志愿者68例为对照组,其中观察组平均年龄(41.56±5.37)岁;平均病程(3.54±0.67)个月。对照组平均年龄(41.67±5.33)岁;平均病程(3.59±0.54)个月,两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)有可比性。纳入标准:①研究组均诊断为非特异性阴道炎^[7],对照组为体检健康者;②患者有外阴瘙痒、白带增多、阴道灼痛感;③均知情并自愿参与

本研究;④均为已婚女性且有性生活史。排除标准:①合并其他宫颈或者阴道病变者;②合并其他恶性肿瘤者;③合并严重心肝肾器质性疾病者。本研究符合赫尔辛基宣言。

1.2 方法及观察指标

1.2.1 病原菌分析

采用无菌棉试纸收集患者阴道上侧壁约2 cm处单层柱状上皮细胞,置于培养基上进行培养,并在37℃下孵育,采用VITEK 2 Compact全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司)鉴定病原菌,并采用快速革兰氏染色液确定细菌种类。

1.2.2 治疗方法

采用克霉唑栓(国药集团武汉中联四药药业有限公司生产,国药准字H42021869,规格0.15 g)治疗研究组患者,1粒/次,1次/d,夜晚使用,均在月经结束后用药,在治疗前采用温开水:碳酸氢钠溶液(1:500)清洗外阴及阴道,向阴道深处置入栓剂,治疗期间禁止性生活、游泳及盆浴,尽可能避免进食辛辣刺激食品,1w为1个疗程,治疗4个疗程。

1.2.3 炎症因子及T细胞群检测

取样:在治疗前后收集患者清晨空腹静脉血,均分为2份。另取膀胱截石位,应用无菌生理盐水冲洗阴道壁上1/3处,回吸冲洗液,均分为2份。阴道灌洗严格遵循《阴道灌洗操作方法及标准》中相关准则进行。检测:采用流式细胞仪检测T细胞群指标水平;采用双抗体夹心ELISA法检测TNF- α 、IL-2、IL-8、IL-10水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0软件处理数据;无序分类资料

采用 χ^2 检验; 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组内计量资料比较采用配对样本 t 检验, 组间计量资料比较采用独立样本 t 检验; 血清及阴道灌洗液中炎症因子与 T 细胞群指标相关性采用 Spearman 相关性分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病原菌分布

108 例患者共检出 120 株病原菌, 且对病原菌分析发现, 链球菌属感染最为常见, 占比 36.67%, 葡萄球菌属感染次之, 占比 23.33%。见表 1。

表 1 病原菌分布

病原菌分布	株数	构成比 (%)
葡萄球菌属	28	23.33
金黄色葡萄球菌	21	17.50
凝固酶阴性葡萄球菌	7	5.83
链球菌属	44	36.67
甲型溶血性链球菌	20	16.67
乙型溶血性链球菌	14	11.67
丙型溶血性链球菌	10	8.33
棒状杆菌属	11	9.16
阴道棒状杆菌	7	5.84
短小棒状杆菌	1	0.83
白喉棒状杆菌	1	0.83
痤疮棒状杆菌	1	0.83
溃疡棒状杆菌	1	0.83
其他	37	30.84
大肠埃希菌	17	14.17
溶组织梭菌	11	9.17
产气荚膜杆菌	5	4.17
奇异变形杆菌	4	3.33

2.2 两组血清中炎症因子含量比较

治疗前研究组血清中 IL-2、TNF- α 低于对照组, IL-8、IL-10、IL-6 高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且研究组治疗后血清中 IL-2、TNF- α 均显著升高, IL-8、IL-10、IL-6 降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但研究组治疗后血清中以上指标与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 两组阴道灌洗液中炎症因子含量比较

治疗前研究组阴道灌洗液中 IL-2、TNF- α 低于对照组, IL-8、IL-10、IL-6 高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且研究组治疗后阴道灌洗液中 IL-2、TNF- α 均显著升高, IL-8、IL-10、IL-6 降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但研究组治疗后阴道灌洗液中以上指标与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 两组血清中 T 细胞群指标水平比较

治疗前研究组血清中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且研究组治疗后血清中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 均显著升高, 差异有统计意义 ($P < 0.05$), 但研究组治疗后血清中以上指标与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

2.5 两组阴道灌洗液中 T 细胞群指标水平比较

治疗前研究组阴道灌洗液中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且研究组治疗后阴道灌洗液中 CD3⁺、CD4⁺、

表 2 两组血清中炎症因子含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The levels of serum inflammatory factors in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-2 (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (pg/mL)	
对照组	68	16.25 \pm 3.54	116.54 \pm 12.36	13.05 \pm 2.64	32.56 \pm 3.78	44.67 \pm 5.29	
研究组	108	治疗前	8.87 \pm 1.33 ^a	517.26 \pm 56.43 ^a	28.36 \pm 3.54 ^a	23.64 \pm 5.41 ^a	71.56 \pm 9.42 ^a
		治疗后	16.17 \pm 3.25	127.54 \pm 13.69	12.64 \pm 2.58	31.87 \pm 5.69	45.54 \pm 6.74
t 值		21.604	67.749	39.294	10.893	23.345	
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

注: 与对照组比, ^a $P < 0.05$; 表格内统计值为治疗后与治疗前比结果。

表 3 两组阴道灌洗液中炎症因子含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The levels of inflammatory factors in vaginal lavage fluid of the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-2 (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (pg/mL)	
对照组	68	13.26 \pm 2.48	105.64 \pm 12.33	11.45 \pm 2.64	27.64 \pm 3.54	40.61 \pm 5.28	
研究组	108	治疗前	7.56 \pm 1.03 ^a	489.64 \pm 51.33 ^a	26.54 \pm 3.15 ^a	18.33 \pm 2.64 ^a	65.41 \pm 7.53 ^a
		治疗后	13.18 \pm 2.54	109.54 \pm 13.28	11.27 \pm 2.51	27.26 \pm 3.61	40.39 \pm 5.37
t 值		11.346	14.537	13.690	15.001	14.369	
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

注: 与对照组比, ^a $P < 0.05$; 表格内统计值为治疗后与治疗前比结果。

表4 两组血清中T细胞群指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The levels of serum T cell subsets in 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
对照组	68	61.54±7.21	41.25±6.33	32.54±3.67
研究组 治疗前	108	53.26±6.57 ^a	36.29±5.44 ^a	26.41±3.59 ^a
治疗后		61.07±7.18	41.33±5.69	32.13±4.23
t值		5.671	7.920	11.200
P值		0.000	0.000	0.000

注:与对照组比,^aP<0.05;表格内统计值为治疗后与治疗前比结果。

CD8⁺均显著升高,差异有统计学意义(P<0.05),但研究组治疗后阴道灌洗液中以上指标与对照组比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表5。

表5 两组阴道灌洗液中T细胞群指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 The levels of T cell subsets in vaginal lavage fluid of the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
对照组	68	60.27±5.33	41.33±6.54	32.47±3.69
研究组 治疗前	108	52.36±5.45 ^a	35.67±5.28 ^a	25.41±3.6 ^a
治疗后		61.33±6.97	41.28±5.64	32.57±4.13
t值		13.201	23.114	15.219
P值		0.000	0.000	0.000

注:与对照组比,^aP<0.05;表格内统计值为治疗后与治疗前比结果。

2.6 血清中炎症因子与T细胞群指标相关性分析

相关性分析发现,血清中炎症因子与T细胞群指标无相关性(P>0.05)。见表6。

表6 血清中炎症因子与T细胞群指标相关性分析

Table 6 Correlation between serum inflammatory factors and T cell subsets

组别	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
IL-2	0.031	>0.05	0.080	>0.05	0.021	>0.05
IL-8	-0.034	>0.05	-0.078	>0.05	-0.009	>0.05
IL-10	-0.205	>0.05	-0.024	>0.05	-0.137	>0.05
TNF-α	0.135	>0.05	0.058	>0.05	0.098	>0.05
IL-6	-0.089	>0.05	-0.094	>0.05	-0.013	>0.05

2.7 阴道灌洗液中炎症因子与T细胞群指标相关性分析

相关性分析发现,阴道灌洗液中炎症因子与T细胞群指标无相关性(P>0.05)。见表7。

表7 阴道灌洗液中炎症因子与T细胞群指标相关性分析

Table 7 Correlation between vaginal lavage fluid inflammatory factors and T cell subsets

组别	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
IL-2	0.139	>0.05	0.074	>0.05	0.035	>0.05
IL-8	-0.131	>0.05	-0.061	>0.05	-0.047	>0.05
IL-10	-0.126	>0.05	-0.000	>0.05	-0.024	>0.05
TNF-α	0.013	>0.05	0.037	>0.05	0.096	>0.05
IL-6	-0.128	>0.05	-0.058	>0.05	-0.085	>0.05

3 讨论

在本研究中,108例患者共检出120株病原菌,且对病原菌分析发现,链球菌属感染最为常见,葡萄球菌属感染次之,提示链球菌及葡萄球菌为非特异性阴道炎感染的主要病原菌,而临床亦需进行相关药敏试验后给予治疗,避免产生耐药性。

本研究结果提示非特异性阴道炎患者IL-2、TNF-α较健康者更低,IL-8、IL-10、IL-6水平更高,分析Th1及Th2淋巴细胞通过其分泌物对彼此细胞分化及增值进行调节,Th1及Th2的失衡打破则会影晌机体细胞因子的合成,IL-2、TNF-α主要由Th1细胞分泌,IL-8、IL-10、IL-6则由Th2细胞分泌,为抗炎因子,是维持机体免疫平衡的重要因子,在病原体侵袭阴道后,体内免疫环境被破坏,促炎因子水平降低,抗炎因子水平升高,而,Th1及Th2的失衡后,则会导致阴道炎症发生^[8-9]。本研究中研究组治疗后血清及阴道灌洗液中IL-2、TNF-α均显著升高,IL-8、IL-10、IL-6降低,但研究组治疗后血清及阴道灌洗液中以上指标与对照组比较,差异无统计学意义,这提示经药物治疗后患者血清及阴道灌洗液中细胞因子可恢复平衡。

此外,治疗前研究组血清及阴道灌洗液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺显著低于对照组,提示非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺均较健康者低,CD3⁺为识别性T细胞主要标志物,CD4⁺为Th表面标志物,Th可通过增生扩散,将其他可直接产生免疫反应的细胞进行激活,CD8⁺为细胞毒性T细胞(Tc)标志物,Tc杀伤力较强,可反复杀伤病毒靶细胞及微生物感染的细胞^[10-12]。而非特异性阴道炎患者表现为血清及阴道灌洗液Tc细胞抑制,机体免疫功能低下,血清及阴道灌洗液中细胞毒及淋巴细胞增生能力均呈反应性降低,平衡被打破后,T淋巴细胞对细胞因子的合成也随之受到影响,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺显著降低^[13]。炎症因子水平的升高多与机体免疫功能紊乱有一定关系,但本研究经相关性分析发现,血清及阴道灌洗液中炎症因子与T细胞群指标无相关性,可能与本研究中样本量较少有关。

综上所述,非特异性阴道炎患者血清及阴道灌洗液中IL-2、TNF-α及T细胞群指标表达降低,IL-8、IL-10、IL-6表达升高,推测其诱导的细胞免

疫及体内免疫功能紊乱是诱发非特异性阴道炎的重要因素。

参考文献

- [1] Evans BA. Metronidazole for non-specific vaginitis [J]. *Lancet* (London, England), 1980, 1(8176):1029-1030.
- [2] Tsimaris P, Giannouli A, Tzouma C, et al. Alleviation of vulvovaginitis symptoms: can probiotics lead the treatment plan? [J]. *Benef Microbes*, 2019, 10(8):867-872.
- [3] Seta FD, Campisciano G, Zanotta N, et al. The Vaginal Community State Types Microbiome - Immune Network as Key Factor for Bacterial Vaginosis and Aerobic Vaginitis [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10(30):2451.
- [4] Salinas AM, Osorio VG, Pacha-Herrera D, et al. Vaginal microbiota evaluation and prevalence of key pathogens in ecuadorian women: an epidemiologic analysis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):18358.
- [5] G Fátima, Carmen-Amparo R, P María-Lourdes, et al. Efficacy, acceptability and tolerability of Zelesse for the treatment of non - specific vulvovaginitis in paediatric patients: The NINESSE Study [J]. *J Int Med Res*, 2018;300060518775566.
- [6] Yassin MT, Mostafa AA, Al-Askar AA, et al. In vitro antifungal resistance profile of *Candida* strains isolated from Saudi women suffering from vulvovaginitis [J]. *Eur J Med Res*, 2020, 25(1):1.
- [7] Kinghorn GR, Jones BM. Non - specific vaginitis [J]. *Br J Vener Dis*, 1983, 59(4):278.
- [8] Eleutério J, RMN Eleutério, Martins LA, et al. Inflammatory cells in liquid-based cytology smears classified as bacterial vaginosis [J]. *Diagn Cytopathol*, 2017, 45(12):1100-1104.
- [9] Sonthalia S, Aggarwal P, Das S, et al. Aerobic vaginitis-An underdiagnosed cause of vaginal discharge - Narrative review [J]. *Int J STD AIDS*, 2020, 31(11):1018-1027.
- [10] Zhu LI, Guo J, Lin L, et al. The impact of efficacy and inflammatory factors of *Lactobacillus* vaginal capsules Fluconazole against *Candida* vaginitis [J]. *Chin J Diffi Compl Cases*, 2016, 15(8):834-837.
- [11] Asmita S, Sobel JD. Vulvovaginitis Caused by *Candida* Species Following Antibiotic Exposure [J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2019, 21(11):44.
- [12] Bergmann CB, Beckmann N, Salyer CE, et al. Lymphocyte Immunosuppression and Dysfunction Contributing to Persistent Inflammation, Immunosuppression and Catabolism Syndrome (PICS) [J]. *Shock*, 2020, 55(6):723-741.
- [13] Rui XU, Wang WP, Xiong CQ, et al. Role of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in the evaluation of inflammation in patients with end stage renal disease [J]. *J Clin Nephrol*, 2020, 60(1):20-23.
- (上接第 1357 页)
- [5] 刘亚男,余追,姚兰,等. Galectin-9/Tim-3 信号通路在 HBV 感染中对机体固有免疫及适应性免疫调控的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(10):1590-1595.
- [6] 刘娇,戴敏,陈星,等. PD-1/PD-L1 信号通路在慢性乙型肝炎患者免疫调节中作用的研究进展 [J]. *山东医药*, 2020, 60(1):90-94.
- [7] Acerbi G, Montali I, Ferrigno GD, et al. Functional reconstitution of HBV-specific CD8 T cells by in vitro polyphenol treatment in chronic hepatitis B [J]. *J Hepatol*, 2020, 74(4):783-793.
- [8] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版) [J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(12):938-961.
- [9] 谢春艳,胡景玉,牟娜,等. APRI 对慢性乙型肝炎肝脏炎症和纤维化程度的预测性能评价 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(2):210-214.
- [10] Zhang X, Wang L, Yan Y. Identification of potential key genes and pathways in hepatitis B virus associated hepatocellular carcinoma by bioinformatics analyses [J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(5):3477-3486.
- [11] 许政衡,黄勇,柯海霞,等. 慢性乙型肝炎患者外周血单个核细胞 Galectin-3 基因水平对聚乙二醇干扰素 α 治疗应答的影响 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2021, 24(6):811-814.
- [12] 李卫群,于馨,侯召华,等. HBV 通过上调肝细胞表面 Galectin-9 的表达抑制 NK 细胞的功能 [J]. *现代免疫学*, 2014, 34(6):471-477.
- [13] 朱义玲,甘建和,赵卫峰,等. 慢性乙型肝炎患者外周血调节性 T 细胞、Th17 细胞的水平及与乙肝表面抗原滴度的相关性 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(5):493-497.
- [14] 汪玲妹,管世鹤,张浩,等. 维生素 D 及维生素 D 受体在慢性乙型肝炎患者体内表达水平及抗病毒相关机制的研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(6):882-887.
- [15] 杜斐雄,闫宏建,陆徽,等. 胶质瘤患者术前 galectin-9 的水平负调节与免疫反应的相关性研究 [J]. *脑与神经疾病杂志*, 2020, 28(11):702-706.
- [16] 王永芳,彭卓颖,李想,等. Galectin 家族成员对 HIV-1 感染巨噬细胞凋亡的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(6):65-71.
- [17] Liu LL, Hou J, Xu Y, et al. PD-L1 upregulation by IFN- α / γ -mediated Stat1 suppresses anti-HBV T cell response [J]. *PLoS ONE*, 2020, 15(7):e0228302.
- [18] 彭丽珊,刘显. PD-1 对 HBV 感染者 T 细胞的调节作用 [J]. *现代免疫学*, 2020, 40(6):523-526.
- [19] 赵金花,李俊峰,毛小荣. T 淋巴细胞表型对慢性 HBV 感染免疫状态的影响及应用价值 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(5):1019-1023.
- [20] 李芳,邹桂舟,叶珺,等. 不同 HBV 感染转归人群外周血 PD-1 拷贝数分布研究 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2019, 22(1):37-40.

IL-1 β 、IL-1 和 MMP-13 在膝关节骨性关节炎中的表达及临床意义

郭健^{1*} 邢乾龙² 胡滨³ 张海勇⁴ 李涛⁴

[摘要] 目的 探讨白介素 1 β (IL-1 β)I、白介素 1(IL-1)、金属蛋白酶 13(MMP-13)在膝关节骨性关节炎(KOA)中的表达及临床意义。方法 选取 2018 年 1 月至 2021 年 1 月鹿邑真源医院住院部收治的 113 例 KOA 设为观察组,根据 K-L 分级分组:Ⅱ级组 34 例、Ⅲ级组 47 例、Ⅳ级组 32 例,选取本院同期 122 例健康体检者设为对照组。比较不同组别及不同 K-L 分级 KOA 患者 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平,分析三指标与 KOA 患者 K-L 分级的相关性,分析影响 KOA 患者预后不良的相关因素。结果 观察组 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同 K-L 分级患者 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平比较:Ⅱ级组<Ⅲ级组<Ⅳ级,差异有统计学意义($P<0.05$)。IL-1 β 、IL-1、MMP-13 与 K-L 分级呈正相关($P<0.05$)。年龄 ≥ 65 岁、有半月板撕裂、未在术后坚持锻炼、L-1 β 异常增高、IL-1 异常增高、MMP-13 异常增高为影响 KOA 患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。结论 IL-1 β 、IL-1 及 MMP-13 在 KOA 患者中表达水平较高,临床可对患者加强三者检测,及时评估 KOA 患者病情进展及预后状态。

[关键词] 膝关节骨性关节炎; IL-1 β ; IL-1; MMP-13

Expression and clinical significance of IL-1 β , IL-1, MMP-13 in knee osteoarthritis

GUO Jian^{1*}, XING Qianlong², HU Bin³, ZHANG Haiyong⁴, LI Tao⁴

[1. Department of Orthopedics, Luyi Zhenyuan Hospital, Zhoukou, Henan, China, 477200; 2. Department of Knee and Joint Diseases, Luoyang Orthopedic Hospital of Henan Province (Henan Orthopedic Hospital), Zhengzhou, Henan, China, 450000; 3. Department of Sports Medicine, Zhengzhou Orthopedic Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 4. Department of Spine and Joint Surgery, Luyi Zhenyuan Hospital, Zhoukou, Henan, China, 477200]

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of interleukin 1 β (IL-1 β) I, interleukin 1 (IL-1) and metalloproteinase 13 (MMP-13) in knee osteoarthritis (KOA). **Methods** 113 cases of KOA admitted in the inpatient department of Luyi Zhenyuan Hospital from January 2018 to January 2021 were set as the observation group, according to KL classification they were grouped: 34 cases in the II group, 47 cases in the III group, 32 cases in the IV group, 122 cases underwent healthy physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The levels of IL-1 β , IL-1, and MMP-13 in KOA patients in different groups and different K-L grades were compared, and the correlation between the three indicators and the K-L grade of KOA patients was analyzed. The related factors affecting the poor prognosis of KOA patients were analyzed. **Results** The levels of IL-1 β , IL-1 and MMP-13 in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the difference

基金项目:河南省科技攻关项目(182102310512)

作者单位:1.鹿邑真源医院骨科,河南,周口 477200

2.河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)膝关节病科,河南,郑州 450000

3.郑州市骨科医院运动医学科,河南,郑州 450000

4.鹿邑真源医院脊柱关节外科,河南,周口 477200

*通信作者:郭健, E-mail:13393933388@163.com

was statistically significant ($P<0.05$). Comparison of IL-1 β , IL-1 and MMP-13 levels in patients with different K-L grades: grade II group < grade III group < grade IV, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). IL-1 β , IL-1 and MMP-13 were positively correlated with K-L grade ($P<0.05$). Age ≥ 65 years old, meniscus tear, failure to exercise after surgery, abnormally increased L-1 β , abnormally increased IL-1, and abnormally increased MMP-13 were independent risk factors affecting the poor prognosis of patients with KOA ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of L-1 β , IL-1 and MMP-13 are relatively high in KOA patients, and clinical testing of these three can be strengthened to assess the disease progression and prognosis of KOA patients in a timely manner.

[KEY WORDS] Knee osteoarthritis; IL-1 β ; IL-1; MMP-13

膝关节骨性关节炎(Knee osteoarthritis, KOA)是临床常见的一种慢性进行性骨关节疾病,在50岁以上的中老年人群中高发^[1-2]。KOA患者膝关节会出现反复疼痛,严重者关节活动受限、行走困难,甚至会导致残疾。近年来随着人口老龄化加剧,KOA发病率呈不断上升趋势发展,引起较多学者对该病的重视,并对此病的发病机制进行不断深入研究。基质金属蛋白酶3(Matrix metalloprotein-3, MMP-3)是滑膜分泌的细胞因子,对金属蛋白酶和其它蛋白水解酶的合成起着重要的调节作用^[3]。白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素1(interleukin-1, IL-1)均为炎性滑膜组织分泌的主要炎症因子,可与组织细胞膜上相应的受体结合,发挥促炎功能^[4-5]。本研究将重点分析IL-1 β 、IL-1、MMP-13在KOA患者血清中的表达,并分析三项指标与Kellgren-Lawrence(K-L)分级的相关性,以期为临床评估KOA疾病进展提供参考。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2月鹿邑真源医院住院部收治的113例KOA患者设为观察组。纳入标准:①均符合中华骨科学会制定的相关诊断标准^[6];②存在膝关节疼痛的症状,活动时骨摩擦音;③K-L分级为II级~IV级;④均在入院后1周内进行关节镜清理术治疗。排除标准:①合并骨肿瘤、骨结核、严重骨质疏松的患者;②合并其他恶

性肿瘤及重要器官严重疾病者;③有酒精药物滥用史;④类风湿性关节炎、感染等原因引发的膝关节病变者。选取本院同期122例健康体检者设为对照组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。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

观察组于入院当天,对照组于体检当日抽取清晨空腹静脉血3 mL,无需抗凝,4℃下放置30 min,3 000 r/min ($r=10$ cm)离心15 min,分离血清,-18℃保存待测,均在42 h内完成检测。应用酶联免疫吸附法检测血清IL-1 β 、IL-1、MMP-13水平,试剂盒购自武汉贝茵莱生物科技有限公司,具体步骤严格按照说明书进行操作。IL-1 β 正常范围:22~57(pg/mL),>57(pg/mL)视为异常增高^[7];IL-1正常范围:54~89(pg/mL),>89(pg/mL)视为异常增高^[8];MMP-13正常范围:40~110(pg/mL),>110(pg/mL)视为异常增高^[9]。

1.3 K-L分级标准^[10]

0级:正常;I级:关节间隙可见明显狭窄,并且可能有骨赘;II级:关节间隙可见较轻度狭窄,并且有较明显骨赘;III级:关节间隙可见较明显变窄,且伴中等量骨赘形成,而软骨下有小范围的骨质轻度硬化;IV级:关节间隙可见明显变窄,且有大量骨赘,软骨下骨质有极为明显硬化的改变,关节肥大及有明显畸形。

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)	侧别		K-L分级		
		男	女		左膝	右膝	II级	III级	IV级
观察组	113	41(36.28)	72(63.72)	58.36 \pm 7.54	50(44.25)	63(55.75)	34(30.09)	47(41.59)	32(28.32)
对照组	122	54(44.26)	68(55.74)	57.12 \pm 7.19					
χ^2/t 值		1.551		1.290					
P值		0.213		0.198					

1.4 统计学方法

应用 SPSS 22.0 统计软件分析数据。计数资料以率 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用 t 检验;多组间比较采用 F 检验;采用 Pearson 直线相关分析 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平浓度与 K-L 分级的相关性;采用 Logistic 回归分析影响 KOA 预后不良的相关危险因素;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平

观察组 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平 $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$

组别	n	IL-1 β	IL-1	MMP-3
观察组	113	89.36 \pm 15.65	130.01 \pm 37.45	142.00 \pm 34.86
对照组	122	31.24 \pm 6.27	66.98 \pm 10.25	75.25 \pm 12.12
t 值		37.874	17.883	19.894
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同 K-L 分级 KOA 患者 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平

不同 K-L 分级患者 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平比较: II 级组 < III 级组 < IV 级组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平与 K-L 分级的相关性

L-1 β 、IL-1、MMP-13 水平与 K-L 分级呈正相关 ($r = 0.778, P = 0.024; r = 0.668, P = 0.036; r = 0.814, P = 0.007$)。

2.4 影响 KOA 患者预后不良的相关因素

性别非影响 KOA 患者预后不良的相关因素 ($P > 0.05$);年龄 ≥ 65 岁、有半月板撕裂、未在术后坚持锻炼、L-1 β 异常增高、IL-1 异常增高、MMP-13

表 3 不同 K-L 分级 KOA 患者 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平 $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$

Table 3 Levels of IL-1 β , IL-1 and MMP-13 in KOA patients with different K-L grades $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$

组别	n	IL-1 β	IL-1	MMP-3
II 级组	34	70.26 \pm 10.96	110.68 \pm 33.56	120.11 \pm 23.57
III 级组	47	86.64 \pm 14.41 ^a	130.58 \pm 36.16 ^a	141.37 \pm 38.69 ^a
IV 级组	32	113.65 \pm 22.45 ^{ab}	149.73 \pm 43.47 ^{ab}	166.19 \pm 41.23 ^{ab}
F 值		59.700	8.880	13.770
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 II 级组比较, ^a $P < 0.05$;与 III 级组比较, ^b $P < 0.05$ 。

异常增高为影响 KOA 患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

KOA 是导致老年人群慢性残疾的首要原因,相关研究报道该病在 65 岁以上老年人群中发病率约为 70%^[11]。该病以膝关节软骨变性和丢失及膝关节边缘和软骨下骨骨质增生为特征,近年来逐渐呈年轻化趋势发展,给家庭及社会带来沉重的医疗负担。对 KOA 早期诊断、治疗是改善患者预后的关键。

KOA 的发生可能为软骨基质降解产物引起的继发性改变,滑膜出现炎症进而刺激多种细胞因子分泌增加,活性增高,增生的滑膜反过来加重 KOA 血清炎症指标水平,这一恶性循环最终导致软骨的破坏,使得 KOA 进展加速^[12]。L-1 β 由活化的单核细胞、巨噬细胞合成及分泌,可抑制软骨基质蛋白聚糖合成,造成关节软骨结构被破坏。有研究显示 L-1 β 是 KOA 发病过程中最重要的炎症细胞因子^[13]。既往文献报道,IL-1 在正常组织中含量较少,在病变的软骨及滑膜中表达量较多^[14]。MMP-13 是一种细胞因子,具有多种生物效应,可裂解胶原蛋白间的肽链,破坏软骨组织,参与关节软骨破坏过程。本文研究发现,L-1 β 、IL-1、MMP-13 在 KOA 患者血清中的表达水平显著高于

表 4 影响 KOA 患者预后不良的相关因素

Table 4 Related factors affecting the poor prognosis of KOA patients

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)	1.254	1.113~1.513	0.012	1.536	1.304~1.895	0.031
性别(男 vs 女)	1.356	0.892~3.081	0.869			
半月板撕裂(有 vs 无)	1.369	1.277~1.897	0.019	1.352	1.214~1.883	0.028
术后坚持锻炼(否 vs 是)	1.254	1.544~1.972	0.033	1.458	1.300~1.705	0.045
L-1 β (异常增高 vs 正常)	1.365	1.357~1.867	0.025	1.563	1.252~1.874	0.040
IL-1(异常增高 vs 正常)	1.654	1.587~1.975	0.007	1.458	1.329~1.771	0.017
MMP-13(异常增高 vs 正常)	1.425	1.352~1.884	0.012	1.364	1.266~1.790	0.026

对照组,与既往研究结果相一致^[15],推测 L-1 β 、IL-1、MMP-13 与 KOA 的发生有密切联系。

有研究认为,IL-1 可抑制前列腺素的合成,在炎症细胞浸润方面占有举足轻重的地位^[16]。IL-1 β 会诱导软骨基质降解酶类基因表达,刺激成纤维细胞、软骨细胞等分泌多种炎症介质,参与软骨损伤的过程,使 KOA 患者病情加重。MMP-13 水平过高会导致软骨框架结构崩解,从而破坏 KOA 患者关节功能,此外,MMP-13 可诱导软骨细胞微囊蛋白 1 的水平增高,加速软骨细胞凋亡,加重关节软骨退变程度^[17]。K-L 分级是临床常用的通过膝关节影像学表现(如骨赘、关节间隙、骨质硬化等)评估膝关节骨性关节炎严重程度的重要标准^[18]。本研究不同 K-L 分级患者 IL-1 β 、IL-1、MMP-13 水平比较:Ⅱ级组<Ⅲ级组<Ⅳ级组,这也印证本研究与上述研究结果相一致。IL-1 β 、IL-1、MMP-13 在 KOA 软骨、滑膜中的表达升高,促进病情不断发展,反映软骨退变严重程度及滑膜严重程度,是 KOA 的损害性细胞因子,在 KOA 患者疾病进展中发挥重要作用。本文进一步研究发现,L-1 β 、IL-1、MMP-13 水平与 K-L 分级呈正相关,提示随着 L-1 β 、IL-1、MMP-13 水平的升高,会使 KOA 患者软骨发生退变、剥脱,最终导致 K-L 分级随之加重。

研究结果显示,年龄 \geq 65 岁、有半月板撕裂、未在术后坚持锻炼、L-1 β 异常增高、IL-1 异常增高、MMP-13 异常增高为影响 KOA 患者预后不良的独立危险因素,提示高水平的 L-1 β 、IL-1 及 MMP-13 不利于患者预后。

综上所述,L-1 β 、IL-1 及 MMP-13 在 KOA 患者中表达水平较高,临床可对患者加强三者检测,及时评估 KOA 患者病情进展及预后状态。但本研究病例数有限,仍存在局限性,对 KOA 的诊治仍需进一步探索,寻找特异度、灵敏度兼有的生物标记物是未来医学发展的方向。

参考文献

- [1] 丁童,周彦鹏,冯立平.长链非编码 RNA MEG3 靶向下调 miR-21 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡及炎症反应的影响[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(4):515-523.
- [2] 赵丽莉,高宇,梁涓,等.滑膜组织 Galectin-3、BMP-2 蛋白在骨关节炎患者中的表达及临床价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):606-610.
- [3] 李雪,张长杰.自分泌运动因子-溶血磷脂酸途径对大鼠膝骨关节炎关节软骨内基质金属蛋白酶 13 的影响[J].华西医学,2020,35(5):52-56.
- [4] Benner RW, Shelbourne KD, Bauman SN, et al. Knee Osteoarthritis[J]. Orthop Clin North Am, 2019, 50(4):52-56.
- [5] Alfirevic Z, Keeney E, Dowswell T, et al. Relative Efficacy of Different Exercises for Pain, Function, Performance and Quality of Life in Knee and Hip Osteoarthritis: Systematic Review and Network Meta-Analysis[J]. Obstet Gynecol Surv, 2019, 70(12):23-25.
- [6] Starobova H, Monteleone M, Adolphe C, et al. Vincristine-induced peripheral neuropathy is driven by canonical NLRP3 activation and IL-1 β release[J]. J Exp Med, 2021, 218(5):14-16.
- [7] Torstensen TA, Grooten WJA, Sters H, et al. How does exercise dose affect patients with long-term osteoarthritis of the knee? A study protocol of a randomised controlled trial in Sweden and Norway: the Swenor Study [J]. BMJ Open, 2018, 8(5):184-189.
- [8] Sen N, Tanwar S, Jain A, et al. P6293 Assessment of testosterone/estradiol ratio, DHEA-S level and correlation with coronary inflammatory markers IL-1 & 6, TNF-1 and hsCRP predict 5 years risk of cardiovascular disease in men [J]. Eur Heart J, 2019, 25(11):23-25.
- [9] Nagumo Y, Kandori S, Tanuma K, et al. PLD1 promotes tumor invasion by regulation of MMP-13 expression via NF- κ B signaling in bladder cancer[J]. Cancer Lett, 2021, 51(12):15-25.
- [10] Takahashi A, Abe K, Fujita M, et al. Simple resistance exercise decreases cytokeratin 18 and fibroblast growth factor 21 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A retrospective clinical study[J]. Medicine, 2020, 9(15):75-79.
- [11] Henrotin Y, Donneau AF, Vlam KD, et al. Responses to "Bio-optimized Curcuma longa extract is efficient on knee osteoarthritis pain: a double-blind multicenter randomized placebo controlled three-arm study": authors' reply [J]. Arthritis Res Ther, 2020, 22(1):65-66.
- [12] 李前凯,胡瑞红,李江梅.膝骨关节炎软骨组织中内质网应激对炎症分子、骨代谢分子分泌的影响[J].海南医学院学报,2019,25(10):70-73+77.
- [13] 代凤雷,尹宏,张斌,等.大鼠滑膜组织中 S100A12、IL-1 β 、Galectin-3 与早期膝骨关节炎相关性研究[J].四川医学,2020,40(6):570-574.
- [14] 陈长凯,叶宝飞,张志伟,等.老年膝骨关节炎患者血清脂联素和白细胞介素-17 及转化生长因子- β ₁ 水平变化及临床意义[J].中华实用诊断与治疗杂志,2019,33(6):67-69.
- [15] 陈晓涛,郑峰,谢守宁,等.IL-37 水平与骨关节炎疾病活动度及炎症介质 TNF- α 、IL-1 β 、CXCL8、MMP-3 的相关性[J].临床和实验医学杂志,2020,19(24):315-319.
- [16] 鲍亮,赵晨,刘琮,等.膝关节液和血清肿瘤坏死因子与 IL-1 的临床意义[J].中南医学科学杂志,2020,47(5):458-460.
- [17] 卢国良,邹泽良,潘耀成. TLRs/MyD88 信号通路在膝骨关节炎患者滑膜炎中的作用[J].新疆医科大学学报,2020,47(2):196-200.
- [18] 许炜民,钱佳佳,韩龙,等.温经通络汤对小鼠膝骨关节炎软骨形态改变和 VEGF、MMP-13、HIF-1 α 表达情况的影响[J].中医药信息,2020,37(6):12-18.

FT4、TPOAb 及 TgAb 联合超声弹性成像鉴别良恶性甲状腺结节的价值

韩鹏¹ 胡桂芹² 王树艳^{1*}

[摘要] **目的** 探究游离四碘甲腺原氨酸(FT4)、甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(TgAb)联合超声弹性成像对甲状腺结节(TN)良恶性的鉴别价值。**方法** 选取2019年1月至2021年4月于阳光融和医院接受治疗的35例甲状腺恶性肿瘤患者设为恶性组,同时选取同时期60例甲状腺良性结节患者设为良性组。收集两组患者的电子病历信息进行分析,比较两组血清FT4、TPOAb、TgAb浓度以及超声弹性成像参数。**结果** 恶性组血清TPOAb、TgAb浓度大于良性组,FT4浓度低于良性组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组患者的结节大小比较差异无统计学意义($P>0.05$)。恶性组患者超声弹性成像参数应变率比值大于良性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。受试者工作特征曲线(ROC)分析显示,FT4、TPOAb、TgAb、超声弹性成像联合鉴别TN良恶性的敏感度、特异度分别为94.29%、88.33%,曲线下面积(AUC)为0.913,约登指数为0.826(95%CI: 0.837~0.961)($P<0.05$)。**结论** FT4、TPOAb、TgAb联合超声弹性成像对TN良恶性具有较高的临床鉴别价值,临床中可结合患者的血清指标以及超声弹性检测鉴别TN良恶性,及时采取正确治疗,改善患者预后。

[关键词] 甲状腺结节;良恶性鉴别;游离四碘甲腺原氨酸;甲状腺过氧化物酶抗体;甲状腺球蛋白抗体;超声弹性成像

Value of FT4, TPOAb and TgAb combined with ultrasound elastography in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules

HAN Peng¹, HU Guiqin², WANG Shuyan^{1*}

(1. Sunshine Union Hospital, Weifang, Shandong, China, 261042; 2. Zhucheng People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 262200)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the value of free tetraiodothyronine (FT4), thyroid peroxidase antibody (TPOAb) and thyroglobulin antibody (TgAb) combined with ultrasound elastography in differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules (TN). **Methods** Thirty-five patients with malignant thyroid nodules (malignant group) and 60 patients with benign thyroid nodules (benign group) treated in Sunshine Union Hospital from January 2019 to April 2021 were selected. Electronic medical records of the two groups were collected and analyzed. The concentrations of serum FT4, TPOAb and TgAb, and ultrasound elastography parameters in the two groups were compared. **Results** The concentrations of serum TPOAb and TgAb in the malignant group were higher than those in the benign group, and the concentration of FT4 was lower than that in the benign group, with statistically significant differences ($P<0.05$). Nodules of the two groups were similar in size ($P>0.05$), but the strain rate in the malignant group was higher than that in the benign group, with statistically significant differences ($P<0.05$). The receiver operating characteristic curve (ROC) analysis showed that the sensitivity, specificity and area under curve (AUC) of the combination of

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2019WS182)

作者单位:1.阳光融和医院,山东,潍坊 261042

2.诸城人民医院,山东,潍坊 262200

*通信作者:王树艳, E-mail: wangshuyan1982217@163.com

FT4, TPOAb, TgAb, and ultrasound elastography in differential diagnosis of benign and malignant TNs were 94.29%, 88.33%, and 0.913, with Youden index of 0.826 (95% CI: 0.837~0.961). **Conclusion** FT4, TPOAb and TgAb combined with ultrasound elastography has a high differential diagnostic value for benign and malignant thyroid TNs in clinical practice. Clinically, serum indicators can be combined with ultrasonic elastography to diagnose benign and malignant TNs, thereby guiding treatment and improving the prognosis.

[KEY WORDS] Thyroid nodule; Benign and malignant; Free tetraiodothyronine; Thyroid peroxidase antibody; Thyroglobulin antibody; Ultrasound elastography

甲状腺结节(Thyroid nodule, TN)是常见的内分泌系统疾病,发病率高,在正常人群中的检出率为20%~70%,其中恶性结节占5%~15%^[1-2]。TN良恶性关系到治疗方案的制定,提高鉴别精确度意义重大^[3]。不同组织的弹性硬度不同,超声弹性检测可收集交变震动后病灶的片段信息,并直观呈现甲状腺组织间硬度差异^[4]。甲状腺过氧化物酶抗体(Thyroid peroxidase antibody, TPOAb)是一种参与甲状腺激素合成过程的酶,属于甲状腺自身免疫性抗体,可影响甲状腺功能^[5]。甲状腺球蛋白抗体(Thyroglobulin antibody, TgAb)也是甲状腺自身抗体,以上两种指标表达水平均可反映甲状腺功能,是临床诊断甲状腺疾病的常用指标^[6]。血清游离四碘甲腺原氨酸(Free of four iodine a glandular acid, FT4)是重要的甲状腺激素,以游离形式进入血液循环,可直接反映甲状腺功能状态^[7]。本研究将对良恶性 TN 患者的超声影像资料以及 FT4、TPOAb、TgAb 血清浓度进行分析,判断其对甲状腺结节良恶性鉴别价值,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2019年1月至2021年4月于阳光融和医院接受治疗的35例甲状腺恶性肿瘤患者设为恶性组,同时选取同时期60例甲状腺良性结节患者设为良性组。纳入标准:①临床资料完整;②超声弹性成像清晰;③恶性组患者符合甲状腺肿瘤的诊断标准^[8],且经病理检测确定。排除标准:①有甲状腺手术史;②合并有其他免疫系统疾病;③合并原发性可影响 FT4 的疾病。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,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 超声弹性成像检查

采用多功能彩色超声诊断仪(开立 M30)进行

表1 两组患者一般资料的比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

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

组别	恶性组 ($n=35$)	良性组 ($n=60$)	t/χ^2 值	P 值
性别(例)	男	11(31.43)	0.102	0.750
	女	24(68.57)		
病程(年)	2.30±0.44	2.45±0.57	1.34	0.183
年龄(岁)	51.30±4.90	52.17±4.39	0.893	0.374
良性结节类型	腺瘤	8(13.33)		
	腺肿	15(25.00)		
	炎性	7(11.67)		
	其他	5(8.33)		
恶性结节类型	乳头状癌	31(88.57)		
	滤泡状癌	10(28.57)		
	髓样癌	7(20.00)		
	未分化癌	10(28.57)		
	其他	2(5.71)		

超声弹性成像,患者取平卧位,充分暴露颈部前区;涂抹耦合剂后,颈部探头在患者胸锁乳突肌、TN 及其周围组织进行扫描,压力控制在2~4,探头垂直于体表,根据需求转动,采集保存弹性图。

1.2.2 弹性应变率比值测定

利用应变率比值测定功能,勾画病灶区域以及周围正常组织的感兴趣区域(Region of interest, ROI),分别测量其应变率比值。弹性应变率比值=周围正常组织弹性应变数平均值/病变区域弹性应变数平均值。弹性图评估采用0~4分法评级,0分:病变区域无实性成分、囊性,区域呈现为红蓝色;1分:病变以及周围区域呈绿色;2分:病变区域绿色,周围组织为蓝色;3分:病变区域为蓝色或蓝绿色,且有点状红色;4分:病变区域为蓝色,可见少量红色^[9]。

1.2.3 血清指标检测

患者入院检查当天抽取空腹外周静脉血5.0 mL,经离心、吸取上层清液、冷置。采用化学发光免疫分析法检测 TPOAb 及 TgAb,试剂盒分别选自泉州市睿信生物科技有限公司、上海通蔚实业有限公司;采用全自动生化分析仪(贝克曼)检测血清 FT4 浓度,试剂盒由上海恒远生物科技有限公司生产。

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件处理数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验。采用受试者工作特征曲线(The receiver operating characteristic curve, ROC)分析血清FT4、TPOAb、TgAb联合超声弹性成像参数对TN良恶性的鉴别价值。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清指标比较

恶性组的血清TPOAb、TgAb浓度均高于良性组,FT4浓度低于良性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组患者血清指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum indexes between the two groups of patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TPOAb(IU/mL)	TgAb(IU/mL)	FT4(pmol/L)
恶性组	35	40.29±5.60	126.04±11.57	13.89±3.44
良性组	60	23.47±4.88	70.65±8.91	15.30±3.18
t 值		15.341	26.133	2.023
P 值		<0.001	<0.001	0.046

2.2 两组患者超声弹性成像参数比较

恶性组的应变率比值大于良性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者的结节直径大小比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 两组患者超声弹性成像参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of ultrasound elastography parameters between the two groups of patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	结节直径大小(cm)	应变率比值(%)
恶性组	35	1.27±0.31	3.98±1.00
良性组	60	1.36±0.43	1.54±0.48
t 值		1.084	16.036
P 值		0.281	<0.001

2.3 FT4、TPOAb、TgAb、超声弹性成像单项以及联合检测甲状腺良恶性

ROC分析显示,FT4、TPOAb、TgAb、超声弹性成像联合鉴别TN良恶性的敏感度、特异度分别为94.29%、88.33%,曲线下面积(AUC)为0.913,约登指数为0.826($P < 0.05$)。见表4、图1。

3 讨论

随着生存环境以及人们生活习惯的改变,TN发病率逐年增加,且多发于女性人群^[10]。超声诊断无辐射,可清晰显示灶内部回声强度、血流信号以

表4 FT4、TPOAb、TgAb、超声弹性成像单项以及联合检测甲状腺良恶性

Table 4 FT4, TPOAb, TgAb, ultrasound elastography alone and in combination to detect benign and malignant thyroid nodules

指标	敏感度 (%)	特异性 (%)	约登指数	AUC	95% CI	P 值
FT4	51.43	61.67	0.131	0.565	0.460~0.667	<0.001
TPOAb	62.86	71.67	0.345	0.673	0.569~0.765	<0.001
TgAb	68.57	81.67	0.502	0.751	0.652~0.834	<0.001
超声弹性成像	82.86	93.33	0.762	0.881	0.798~0.938	<0.001
联合检测	94.29	88.33	0.826	0.913	0.837~0.961	<0.001

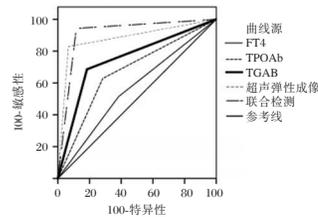


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

及边缘特征等,是甲状腺疾病临床诊断的常用方法^[11],但当影像重叠时不宜区分病灶,TN良恶性诊断受操作者影响较大^[12]。超声弹性检测可直观反映各组织弹性系数,有效区分不同性质的病变组织,联合血清指标或可提高TN鉴别精确度。

TgAb是甲状腺疾病患者一种常见的血清抗体,与甲状腺自身免疫性疾病密切相关,可与甲状腺球蛋白结合,激活自然杀伤细胞,攻击靶细胞,最终造成甲状腺细胞损伤^[13],TN的发生、发展或与此有关。TPOAb是一种蛋白质,同时也是甲状腺重要的相关自身免疫性抗体,可影响甲状腺激素合成,损伤甲状腺细胞^[14]。正常机体中TPOAb滴度非常低,而当其高度表达时则提示受测者存在自身免疫性甲状腺炎症。本研究结果显示,恶性组患者的TPOAb、TgAb血清浓度高于良性组。分析原因,这可能是由于甲状腺恶性肿瘤患者的甲状腺滤泡细胞受损,滤泡内的甲状腺过氧化物酶以及甲状腺球蛋白向外渗漏,促使TPOAb、TgAb的合成、分泌。甲状腺恶性肿瘤组织细胞的损伤程度大于良性患者,因此其血清TPOAb、TgAb浓度较高。程田等^[15]研究指出,甲状腺恶性肿瘤患者的血清TPOAb、TgAb浓度高于良性结节患者,其鉴别TN良恶性的灵敏度、特异度分别为73.48%、76.52%,具有一定的鉴别效能。Li等^[16]的研究也指出,TgAb、TPOAb是甲状腺乳头状癌的特

立检测标志物。FT4是实现甲状腺素生物效用的主要部分,其浓度的增高意味着甲状腺功能亢进,而降低则意味着患者的甲状腺功能减退。FT4含量不受甲状腺结合球蛋白的影响,对于甲状腺功能检测具有重要临床价值。本研究结果显示,恶性组患者的FT4略低于良性组,这可能与恶性肿瘤者自身免疫系统以及甲状腺功能紊乱有关,恶性患者的甲状腺功能较良性患者低。

本研究结果显示,恶性组的应变率比值大于良性组,同时ROC分析也显示超声弹性检测对甲状腺良恶性检测的AUC为0.881,具有一定价值。分析原因,这是因为良恶性结节的组织硬度不同,采用超声弹性呈现可通过组织弹性特征加以区分。良性阶段早期的滤泡并未受到破坏,炎症细胞浸润以及纤维组织增生不显著,而发展到晚期时,纤维组织可能会产生大量瘢痕,从而逐渐增加组织硬度^[17]。因此结节恶性程度越大,硬度越大。超声弹性应变率可定向评估组织硬度,应变率比值的应用可有效避免感兴趣区域大小差异造成硬度评估误差。张长军等^[18]研究显示,超声弹性成像的应变率比值鉴别甲状腺良恶性结节的截断值为3.14,应变率比值以及硬度分级的鉴别价值相当。徐丹凤等^[19]研究显示,超声弹性成像可以有效弥补常规超声“异病同像”的缺点,可有效区分良恶性结节,本研究结果与其一致。ROC分析结果显示,三种血清指标以及超声弹性成像联合检测的AUC最高,说明联合检测对TN的鉴别效能最佳。这可能是因为,联合检测可从TN患者的生理变化以及甲状腺组织性质多方面进行评估,更能对结节性质进行鉴别。

综上所述,血清FT4、TPOAb、TgAb以及超声弹性成像对TN良恶性均有一定的鉴别意义,联合检测的临床价值最高。在实际临床结节良恶性鉴别中,应结合血清指标、超声诊断对结节性质进行评估,以确保患者得到及时救治,改善其预后。

参考文献

- [1] Meng C, Hinkler E, Wang W, et al. Hashimoto's thyroiditis elicits decreased diagnostic efficacy of thyroid nodule ultrasound-guided fine needle aspiration [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(9):3474-3482.
- [2] Nathalie SDM, Stuart J, Guan H, et al. The impact of hashimoto's thyroiditis on thyroid nodule cytology & risk of thyroid cancer [J]. *J End Soc*, 2019, 3(4):791-800.
- [3] Giorgio R, Sandro L, Valcria D, et al. Influence of Hashimoto's thyroiditis on the development of thyroid nodules and cancer in children and adolescents [J]. *J End Soc*, 2019, 3(3):391.
- [4] JIN XZ, LU WW, ZHANG HF, et al. Comparative study on the diagnostic values of different ultrasound technologies for malignant thyroid nodules [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1):910-914.
- [5] Godlewska M, Gawel D, Buckle AM, et al. Thyroid Peroxidase Revisited-What's New [J]? *Horm Metab Res*, 2019, 51(12):765-769.
- [6] Kuo YS, Wu YH, Chang JY, et al. Blood profile of atrophic glossitis patients with thyroglobulin antibody/thyroid microsomal antibody positivity but without gastric parietal cell antibody positivity [J]. *J Formos Med Assoc*, 2019, 118(8):1218-1224.
- [7] Kratzsch J, Baumann NA, Ceriotti F, et al. Global FT4 immunoassay standardization: an expert opinion review [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2020, 59(6):1013-1023.
- [8] 董文武, 张浩. 2018年版日本《甲状腺肿瘤诊疗指南》外科治疗部分更新解读 [J]. *中国实用外科杂志*, 2019, 39(12):1260-1264.
- [9] Săftoiu A, Gilja OH, Sidhu PS, et al. The EFSUMB Guidelines and Recommendations for the Clinical Practice of Elastography in Non-Hepatic Applications: Update 2018 [J]. *Ultraschall Med*, 2019, 40(4):425-453.
- [10] 罗雯, 傅颖. ECT联合B超, CT检查对甲状腺癌诊断的临床价值 [J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(5):509-512.
- [11] Bojunga J. Ultrasound of thyroid nodules [J]. *Ultraschall Med*, 2018, 39(5):488-511.
- [12] 温晓玲, 谢建平, 林师宇, 等. 血清癌胚抗原, 甲状腺球蛋白及半乳凝集素-3水平在甲状腺癌鉴别诊断中的价值 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(1):58-62.
- [13] Hasukic B, Jakubovic-Cickusic A, Sehanovic E, et al. Fine Needle Aspiration Cytology and Thyroglobulin Antibodies in Preoperative Diagnosis of Thyroid Malignancy [J]. *Med Arch*, 2019, 73(6):382-385.
- [14] Saki T, Mikio W, Naoya I, et al. The polymorphisms in the thyroid peroxidase gene were associated with the development of autoimmune thyroid disease and the serum levels of TPOAb [J]. *Endocr J*, 2017, 64(10):1025-1032.
- [15] Li L, Shan T, Sun X, et al. Positive Thyroid Peroxidase Antibody and Thyroglobulin Antibody are Associated With Better Clinicopathologic Features of Papillary Thyroid Cancer [J]. *Endocr Pract*, 2021, 27(4):306-311.
- [16] 程田, 唐振林. TK1、TPOAb和TgAb对TN良恶性的诊断价值 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(22):110-112.
- [17] 温卫琴, 芦芳, 白翠萍. TI-RADS4类甲状腺结节患者的超声弹性应变率比值分布特征与结节钙化的关联研究 [J]. *中国临床实用医学*, 2019, 10(4):22-25.
- [18] 张长军, 刘百敬, 王春辉, 等. 超声弹性成像应变率比值与硬度分级鉴别诊断甲状腺良恶性结节的临床价值 [J]. *中国超声医学杂志*, 2017, 33(5):9-12.
- [19] 徐丹凤, 王志利, 刘洋, 等. 超声弹性成像联合TSH检测对TN良恶性鉴别诊断的价值分析 [J]. *东南大学学报(医学版)*, 2018, 37(1):50-54.

变应性鼻炎患者血清 ECP、ICAM-1、Eotaxin 水平与其疾病状态及症状的关系

李红娟^{1*} 张珂¹ 蔡文杰²

[摘要] **目的** 分析变应性鼻炎(AR)患者血清嗜酸细胞阳离子蛋白(ECP)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及嗜酸性粒细胞趋化因子(Eotaxin)水平与其疾病状态、症状的关系。**方法** 分析本院2020年1月至2022年4月门诊收治的156例AR患者的临床资料。另同期选取在本院进行健康体检的83名健康者作为对照组。比较两组及不同疾病状态、症状评分AR患者ECP、ICAM-1及Eotaxin水平;并采用Pearson分析ECP、ICAM-1及Eotaxin水平与AR临床症状的相关性。**结果** AR组ECP、ICAM-1及Eotaxin水平均明显高于对照组,差异具有统计学意义($t=42.075, 11.083, 42.243, P<0.05$)。持续性AR组患者ECP、ICAM-1及Eotaxin水平均明显高于间歇性AR组,差异具有统计学意义($t=41.409, 8.596, 10.294, P<0.05$)。不同症状评分AR患者ECP、ICAM-1及Eotaxin水平比较:0~2分组<3~4分组<≥5分组,差异具有统计学意义($F=794.36, 42.50, 124.72, P<0.05$)。相关性结果显示,ECP、ICAM-1及Eotaxin水平与间歇性AR患者SFAR评分呈负相关;与持续性AR患者SFAR评分呈正相关($P<0.05$)。**结论** 血清ECP、ICAM-1及Eotaxin水平在AR患者中呈高表达,且与其疾病状态、症状存在一定相关性。

[关键词] 变应性鼻炎;嗜酸细胞阳离子蛋白;细胞间黏附分子-1;趋化因子Eotaxin;疾病状态

Relationship between serum ECP, ICAM-1 and eotaxin levels in patients with allergic rhinitis and their disease state and symptoms

LI Hongjuan^{1*}, ZHANG Ke¹, CAI Wenjie²

(1. Department of Otolaryngology, Anyang Sixth People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000; 2. Department of Clinical Laboratory, Anyang Regional Hospital, Anyang, Henan, China, 455000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between serum eosinophil cationic protein (ECP), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and eosinophil chemokine (Eotaxin) levels and disease states and symptoms in allergic rhinitis (AR) patients. **Methods** The clinical data of 156 AR patients admitted to the outpatient clinic of our hospital from January 2020 to April 2022 were analyzed, 83 healthy people who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The levels of ECP, ICAM-1 and eotaxin and AR patients with different disease states and symptom scores were compared between the two groups. Pearson was used to analyze the correlation between the levels of ECP, ICAM-1 and eotaxin and the clinical symptoms of AR. **Results** The levels of ECP, ICAM-1 and eotaxin in the AR group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($t=42.075, 11.083, 42.243, P<0.05$). The levels of ECP, ICAM-1 and eotaxin in the persistent AR group were significantly higher than those in the intermittent AR group, and the difference was statistically significant ($t=41.409, 8.596, 10.294, P<0.05$). Comparison of ECP, ICAM-1 and eotaxin levels in AR patients with different symptom scores: 0~2 group <3~4 group <≥5 group, the difference was statistically significant.

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201912318)

作者单位:1.安阳市第六人民医院耳鼻喉科,河南,安阳455000

2.安阳地区医院临床实验室,河南,安阳455000

*通信作者:李红娟, E-mail:lhj15896863107@126.com

cant ($F=794.36, 42.50, 124.72, P<0.05$). The correlation results showed that the levels of ECP, ICAM-1 and eotaxin were negatively correlated with the SFAR score of patients with intermittent AR and were positively correlated with the SFAR score of patients with persistent AR ($P<0.05$). **Conclusion** Serum ECP, ICAM-1 and eotaxin levels are highly expressed in AR patients, and there is a certain correlation with their disease state and symptoms.

[KEY WORDS] Allergic rhinitis; Eosinophil cationic protein; Intercellular adhesion molecule-1; Chemokine Eotaxin; Disease state

变应性鼻炎(Allergic rhinitis, AR)是临床耳鼻喉科较为常见的一种疾病,病情可反复发作,具有较高的发病率。据相关数据调查显示,AR发病率可达30%,且半数患者伴有变应性哮喘^[1]。AR是由Th2细胞介导、诸多炎症因子及趋化因子等所参与的I型变态反应,以嗜酸性粒细胞(Eosinophils, EOS)的浸润、活化等为主要病理学特征^[2]。嗜酸性粒细胞阳离子蛋白(Eosinophil cationic protein, ECP)、细胞间黏附分子-1(Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)及趋化因子Eotaxin等因子与EOS局部浸润、活化存在紧密联系^[3]。已有研究表明,Th1/Th2失衡、EOS在变应性疾病进展中具有重要作用,但与AR持续状态的相关性尚未十分明确^[4]。本研究通过分析AR患者的临床资料,拟通过研究ECP、ICAM-1及Eotaxin水平在不同病情、类型AR患者中的表达,并分析上述指标与AR疾病状态、症状的相关性,以探讨ECP、ICAM-1及Eotaxin水平在AR发病中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析本院2020年1月至2022年4月门诊收治的156例AR患者的临床资料。其中男性72例,女性84例,平均年龄(42.18 ± 3.19)岁;体质指数平均(22.36 ± 1.14) kg/m^2 ;持续性AR患者87例,间歇性AR患者69例。将156例AR患者纳入AR组,另同期选取在本院进行健康体检的83名健康者作为对照组,男性35例,女性48例,平均年龄(43.54 ± 4.12)岁;体质指数平均(23.11 ± 1.16) kg/m^2 。两组性别、年龄、体质指数资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①均经AR相关诊断标准^[5];②皮肤点刺、血清特异性免疫球蛋白结果均为阳性;③近期无抗免疫、组胺等药物治疗;④患者知情,并自愿签署同意书。排除标准:①伴脑、心等脏器恶性疾病者;②伴鼻窦炎、哮喘等疾病者;③伴全身感染性疾病者;④癫痫、痴呆等特殊人群,无法配合本次

研究。本研究已经医院伦理委员会批注。

1.2 方法

1.2.1 血清ECP、ICAM-1及Eotaxin水平检测

清晨空腹抽取两组受检者3 mL外周静脉血,注入一次性真空管内,3 000 r/min的速率离心10 min,离心半径为8 cm,分离上层血清,将血清置于Eppendorf管中,置于 -80°C 低温保存。采用酶联免疫吸附法检测ECP、ICAM-1及Eotaxin水平,试剂盒均由美国R&D公司提供。实验步骤严格按照试剂盒说明书执行。最后采用酶标仪在450 nm波长下测量各孔OD值。按标准物浓度及OD值计算出标准曲线的线性回归方程式,将样品OD值代入方程式,算出待检样品浓度,乘以5,即为待测样品的实际浓度。以上操作均由同一名经验丰富的检验科技术人员完成。

1.2.2 AR疾病类型^[6]

持续性AR:症状发生的天数 >4 d/周与病程 >4 周(持续性AR组, $n=69$);间歇性AR:症状发生天数 <4 d/周或病程 <4 周(间歇性AR组, $n=87$)。

1.2.3 症状评分

采用AR症状评分(Score for allergic rhinitis, SFAR)^[7]评估AR病情,该评分包括喷嚏、鼻塞、流涕及鼻痒四个项目,各项评分范围1~3分。根据SFAR评分将AR患者分为0~2分组($n=50$),3~4分组($n=58$), ≥ 5 分组($n=48$)。

1.3 统计学方法

本研究采用SPSS 22.0软件进行分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,两组间行 t 检验,多组间行方差检验;ECP、ICAM-1及Eotaxin水平与AR患者SFAR评分相关性采用Pearson分析;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组ECP、ICAM-1及Eotaxin水平比较

AR组ECP、ICAM-1及Eotaxin水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组ECP、ICAM-1及Eotaxin水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of ECP, ICAM-1 and Eotaxin levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ECP(ng/mL)	ICAM-1(ng/mL)	Eotaxin(pg/mL)
对照组	83	265.45±25.14	5.97±1.21	89.44±10.52
AR组	156	456.04±111.09	7.26±2.52	170.02±18.08
t值		15.408	4.377	37.362
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同疾病状态 AR 患者 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平比较

持续性 AR 组患者 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平均明显高于间歇性 AR 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表2 不同疾病状态 AR 患者 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of ECP, ICAM-1 and Eotaxin levels in AR patients with different disease states ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ECP(ng/mL)	ICAM-1(ng/mL)	Eotaxin(pg/mL)
间歇性 AR 组	87	362.81±31.32	5.81±1.29	156.96±9.12
持续性 AR 组	69	573.60±41.78	9.09±2.52	186.49±12.10
t值		36.013	10.519	17.381
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同症状评分 AR 患者 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平比较

不同症状评分 AR 患者 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平比较:0~2 分组<3~4 分组<=5 分组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表3 不同症状评分 AR 患者 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of ECP, ICAM-1 and Eotaxin levels in AR patients with different symptom scores ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ECP(ng/mL)	ICAM-1(ng/mL)	Eotaxin(pg/mL)
0~2 分组	50	381.80±25.44	5.83±1.24	158.05±8.61
3~4 分组	58	406.30±94.09 ^a	6.77±1.90 ^a	163.45±14.88 ^a
≥5 分组	48	593.48±32.84 ^{ab}	9.33±2.86 ^{ab}	190.42±10.06 ^{ab}
F值		172.760	37.103	107.956
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 0-2 分组比较,^a $P<0.05$;与 3-4 分组比较,^b $P<0.05$ 。

2.4 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平与 AR 患者 SFAR 评分相关性分析

ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平与间歇性 AR 患者 SFAR 评分呈负相关,与持续性 AR 患者 SFAR 评分呈正相关($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

AR 是较为常见的呼吸道疾病,具有病程长、

表4 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平与 AR 患者 SFAR 评分相关性分析

Table 4 Correlation analysis of ECP, ICAM-1 and Eotaxin levels and SFAR score in AR patients

指标	状态	SFAR 评分	
		r 值	P 值
ECP	间歇性	-0.784	<0.001
	持续性	0.707	<0.001
ICAM-1	间歇性	-0.287	0.007
	持续性	0.258	0.032
Eotaxin	间歇性	-0.378	<0.001
	持续性	0.556	<0.001

反复发作等特征,其病理过程主要表现为局部 T 细胞活化及各类细胞因子长期作用所致的鼻腔黏膜发生炎症改变,同时 Th2 细胞分泌的多种细胞因子、趋化因子及黏附分子共同协调介导 EOS 浸润,故 EOS 趋化聚集是 AR 发生的中心环节^[8]。AR 对患者生命威胁虽不大,但其持续存在的鼻腔与黏膜不适会给患者生活质量造成严重影响,可能诱发心理障碍,导致其生活质量降低。故寻找有效生化指标,评估 AR 患者病情具有重要作用。

AR 病理过程中 EOS 的局部浸润、活化与趋化因子 Eotaxin 的相互作用密切相关,Eotaxin 属于已发现的具有 EOS 趋化因子中作用最强的一类,可促进 EOS 从血管中向鼻黏膜局部趋化,同时还可促进募集至组织中的 EOS 活化,释放 EOS 阳离子蛋白(ECP)等有毒氧化物^[9]。动物实验证明 Eotaxin 在大鼠上皮细胞胞质中表达最高,提示其主要源于鼻黏膜上皮细胞^[10]。ECP 则是由于 EOS 活化释放的毒性蛋白,已被证实在 AR 发生、发展中具有重要作用。国内外相关研究表明,Eotaxin、ECP 在 AR 患者鼻黏膜局部呈高表达,而血清中的含量目前尚未获取一致意见^[11-12]。沈林峰等^[13]发现,AR 患者血清 Eotaxin、ECP 水平与健康受试者比较无差异,但亦有研究指出,AR 患者、健康受试者 Eotaxin、ECP 水平比较有差异^[14]。本研究中,与对照组相比,AR 患者 Eotaxin、ECP 水平明显增高。众多研究结果表明 AR 患者外周血中 Eotaxin、ECP 的作用尚未完全阐明,提示 Eotaxin、ECP 在外周血中表达情况较为复杂,可能与 AR 患者病情、疾病状况及采集时间点等因素有关^[15-16]。本研究通过分析不同疾病状况,症状评分 AR 患者 Eotaxin、ECP 水平发现,随 AR 患者症状评分增高,其 Eotaxin、ECP 水平亦会逐渐增高,且相关性分析结果示,上述因子与 AR 疾病状况、症状评分存在一定相关性。提示,Eotaxin、ECP 有可

能作为评估 AR 患者疾病状况、症状的早期生化检测指标。考虑其原因可能是由于 Eotaxin 还可趋化活化 EOS, 释放 ECP 及有毒氧化物, 而 AR 持续发作患者 EOS 与上皮细胞黏附及激活作用后释放的毒性蛋白可能更高。

AR 与哮喘同属 I 型变态反应, 具有变应性炎症和异常免疫应答两个特点。就其变应性炎症这一病理学特点而言, 已有研究证实, ICAM-1 在炎症细胞的趋化、聚集、浸润中起重要作用^[17]。ICAM-1 是黏附分子免疫球蛋白超家族成员之一, 在气道发生变应性炎症的 4~24 h 内, 气道上皮组织中 ICAM-1 浓度增高; 用 ICAM-1 的单克隆抗体可减少嗜酸粒细胞浸润并抑制气道高反应性。亦有相关研究表明, 鼻黏膜微血管内皮细胞可通过调节 ICAM-1 表达, 促进 EOS 通过内皮细胞间隙, 增强 EOS 与鼻黏膜微血管内皮细胞的黏附作用, 从而使鼻黏膜中 EOS 浸润、黏附及聚集, 加重患者病情^[18]。既往研究指出, ICAM-1 与 AR 患者病情相关, 轻度 AR 患者 ICAM-1 水平较中重度患者明显降低, 且中度 AR 患者 ICAM-1 水平明显增高^[19-20]。本研究中, AR 患者 ICAM-1 明显高于对照组, 尤其是持续性 AR 患者, 且随患者 SFAR 评分增加, ICAM-1 水平亦会随之增高; 相关性分析结果显示, ICAM-1 与 AR 疾病状况、症状评分亦存在一定相关性。表明 ICAM-1 水平与 AR 持续状态有关, ICAM-1 水平升高可能是导致 AR 症状持续存在、迁延难愈的原因之一。通过拮抗 ICAM-1 可能成为临床治疗持续性 AR 的有效手段。

综上所述, 血清 ECP、ICAM-1 及 Eotaxin 水平在 AR 患者中呈高表达, 且与其疾病状态、症状存在一定相关性。

参考文献

- [1] 刘怡君, 曾邦兵, 曾浪. 氯雷他定联合孟鲁司特钠对变应性鼻炎患者血清 ICAM-1 ECP EOS CSF 的影响研究[J]. 河北医学, 2019, 25(2): 108-112.
- [2] Kim HY, Jee H, Yeom JH, et al. The ameliorative effect of AST2017-01 in an ovalbumin-induced allergic rhinitis animal model[J]. *Inflamm Res*, 2019, 19(5): 1458-1460.
- [3] 李丽莎, 关凯, 崔乐. 圆柏花粉变应性鼻炎临床症状的危险因素分析[J]. 西部医学, 2018, 30(6): 900-904.
- [4] 朱新华, 黄芸, 江银丽, 等. 变应性鼻炎冲击免疫治疗剂量增加阶段血清学相关因素变化分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 33(1): 36-40.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎特异性免疫治疗专家共识[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 46(12): 976-980.
- [6] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2009年, 武夷山)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 44(12): 977-978.
- [7] 余文婷, 周玥, 檀慧芳, 等. 血液和鼻分泌物中嗜酸粒细胞和嗜酸粒细胞阳离子蛋白对变应性鼻炎的辅助诊断价值[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 33(11): 1027-1030.
- [8] 徐明, 张伟伟, 王卢莎. 鼻后神经切断术治疗变应性鼻炎的效果观察[J]. 浙江医学, 2018, 40(24): 2688-2689.
- [9] 杨守云, 肖艳. RAI1 脱敏干预影响变应性鼻炎大鼠模型 ECP 表达和 Th1-Th2 分化的机制[J]. 中国医药生物技术, 2019, 14(6): 540-544.
- [10] 李倩, 吴玉彬, 王涛, 等. 舌下含服免疫治疗联合孟鲁司特钠对变应性鼻炎患者自噬及外周血 ECP、YKL-40 的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(2): 230-235.
- [11] Ni J, Friedman H, Boyd BC, et al. Early antibiotic exposure and development of asthma and allergic rhinitis in childhood[J]. *BMC Pediatr*, 2019, 19(1): 104-106.
- [12] 谢蔓芳, 胡玲, 黎小年, 等. 糠酸莫米松鼻喷雾剂联合氯雷他定片治疗变应性鼻炎儿童患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(19): 2989-2992.
- [13] 沈林峰, 钟永红, 葛敏捷. 扎鲁司特联合噻托溴铵粉雾剂对支气管哮喘患者肺功能及血清 T 细胞亚群和嗜酸粒细胞阳离子蛋白水平的影响[J]. 中国慢性病预防与控制, 2018, 26(11): 870-873.
- [14] Kwon OE, Lee YC, Park JM, et al. Measurement of Tryptase and CC16/Albumin in Nasal Lavage Fluid as a Screening Tool of Allergic Rhinitis: [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2021, 35(6): 768-773.
- [15] 郭洪佩, 范俊, 路臻豪, 等. 血清 Eotaxin-1 和 CCP 抗体水平与类风湿关节炎疾病活动度的关系研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(8): 845-848.
- [16] Maimaitiaili G, Kahaer K, Tang L, et al. The Effect of Vidian Neurectomy on Pulmonary Function in Patients with Allergic Rhinitis and Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps[J]. *Am J Med Sci*, 2020, 360(2): 116-119.
- [17] 胡敏, 罗甜, 刘敏, 等. 通窍鼻炎颗粒联合氯雷他定治疗轻度变应性鼻炎疗效及对 Th1/Th2 平衡、嗜酸性粒细胞的影响[J]. 药物流行病学杂志, 2019, 28(11): 703-707.
- [18] 吴思仿, 周丽芹, 吴峰. 支气管哮喘患者 ICAM-1, EOS 水平与病情严重程度的相关性分析[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(5): 34-37.
- [19] Yang C, Shangguan C, Cai C, et al. LncRNA HCP5 Participates in the Tregs Functions in Allergic Rhinitis and Drives Airway Mucosal Inflammatory Response in the Nasal Epithelial Cells[J]. *Inflammation*, 2022, 45(3): 1281-1297.
- [20] 郑晓娟, 张艳梅, 王晓燕. 穴位埋线对变应性鼻炎大鼠炎症介质、细胞因子及 JNK 通路的调节作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(6): 965-969.

精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 表达及临床意义

马淑君^{1*} 林育波¹ 吴映娥² 纪晓斌¹ 郑闻华¹

【摘要】 **目的** 探究精神分裂症患者血清视锥蛋白样蛋白-1(VILIP-1)、超氧化物歧化酶 1(SOD-1) 表达并探究其临床意义。**方法** 选取在本院确诊的 65 例精神分裂症患者(疾病组)及同期在本院体检的 65 例健康者(健康组)作为研究对象。以酶联免疫吸附法检测血清 VILIP-1、SOD-1、降钙素原(PCT)水平,以 Pearson 法分析精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 水平表达与 PCT 水平的关系及两者间的相关性。再以 ROC 曲线下面积评估 VILIP-1、SOD-1 诊断精神分裂症的价值,以多因素 Logistic 回归分析影响精神分裂症发生的危险因素。**结果** 疾病组血清 VILIP-1、SOD-1、PCT 水平高于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 VILIP-1、SOD-1、PCT 表达与 BPRS 总分、敌对性、激活性、思维障碍、缺乏活力、焦虑抑郁各项评分均呈正相关($P<0.05$)。精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 表达水平与 PCT 均呈正相关($r=0.643, 0.557, P<0.05$)。血清 VILIP-1、SOD-1 水平的 ROC 曲线下面积分别为 0.773、0.712, VILIP-1 的特异度优于 SOD-1, SOD-1 的敏感度优于 VILIP-1。两者联合检测 ROC 曲线下面积为 0.911, 特异度均优于单独检测。VILIP-1 >586.51 pg/mL、SOD-1 >6.25 μ g/L 为影响精神分裂症发生的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 水平呈高表达,两者与炎症反应均呈正相关,可能参与疾病进展,为影响精神分裂症发生的独立危险因素,可能为诊断精神分裂症的潜在指标。

【关键词】 精神分裂症;超氧化物歧化酶 1;视锥蛋白样蛋白-1;临床意义

Expression and clinical significance of serum VILIP - 1 and SOD - 1 in patients with schizophrenia

MA Shujun^{1*}, LIN Yubo¹, WU Ying², JI Xiaobin¹, ZHENG Wenhua¹

(1. Department of Psychiatry, the Fourth People's Hospital of Shantou, Shantou, Guangdong, China, 515041;

2. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Shantou University, Guangdong, China, 515041)

【ABSTRACT】 **Objective** To explore the expression of serum visinin-like protein-1 (VILIP-1) and superoxide dismutase - 1 (SOD - 1) in patients with schizophrenia and explore their clinical significance. **Methods** Sixty-five patients with schizophrenia (disease group) diagnosed in this hospital and 65 healthy people (healthy group) who received physical examination in this hospital during the same period were selected as the research objects. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect levels of serum VILIP-1, SOD-1, and procalcitonin (PCT), Pearson method was used to analyze the relationship between serum levels of VILIP-1, SOD-1 and PCT levels in patients with schizophrenia and the correlation between the two. The area under the ROC curve was used to evaluate the value of VILIP-1 and SOD-1 in diagnosing schizophrenia, multivariate Logistic regression was used to analyze the risk factors that affected the occurrence of schizophrenia. **Results** The serum levels of VILIP-1, SOD-1 and PCT in the disease group were higher than those in the healthy group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum VILIP-1, SOD-1, and PCT expressions were positively correlated with BPRS total score, hostility, activation, thinking disorder, lack of energy, anxiety, and depression scores ($P<0.05$). The expression levels of serum VILIP - 1 and SOD - 1 in patients with

基金项目:汕头市科技计划医疗卫生类别项目(191030115264208)

作者单位:1. 汕头市第四人民医院精神科, 广东, 汕头 515041

2. 汕头大学附属第一医院检验科, 广东, 汕头 515041

*通信作者:马淑君, E-mail:msj19780313@163.com

schizophrenia were positively correlated with PCT ($r=0.643, 0.557, P<0.05$). The areas under the ROC curve of serum VILIP-1 and SOD-1 levels were 0.773 and 0.712, respectively. The specificity of VILIP-1 was better than that of SOD-1, and the sensitivity of SOD-1 was better than that of VILIP-1. The area under the ROC curve of the combined detection of the two was 0.911, and the specificity was better than that of the single detection. VILIP-1 >586.51 pg/mL and SOD-1 >6.25 μ g/L were independent risk factors for schizophrenia ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of VILIP-1 and SOD-1 are highly expressed in patients with schizophrenia, and both of which are positively correlated with inflammation. They may be involved in disease progression. They are independent risk factors affecting the occurrence of schizophrenia and may be potential indicators for the diagnosis of schizophrenia.

[KEY WORDS] Schizophrenia; Superoxide dismutase-1; Visinin-like protein-1; Clinical significance

精神分裂症为目前最严重的精神疾病之一,多见青壮年患病,多表现为行为、情感、思维及感知等方面的障碍,严重损害患者生活质量及社会功能^[1-2]。目前尚不清楚精神分裂症的发病机制,多认为与炎症反应关系密切^[3]。但是常用炎症指标缺乏诊断精神分裂症的特异性,寻找诊断精神分裂症更为敏感、有效的指标意义重大。Mandya CD^[4]、郭文娟^[5]研究显示,视锥蛋白样蛋白-1(Visinin-like protein-1, VILIP-1)可能与神经退行性病变及脑部损伤有关。精神分裂症与认知功能障碍及阿尔茨海默病的认知改变类似。卢文斌^[6]研究显示,超氧化物歧化酶1(Superoxide Dismutase-1, SOD-1)水平随着阿尔茨海默病及认知障碍的加重不断变化。但是目前缺乏探究 VILIP-1、SOD-1 在精神分裂症患者中表达的相关研究,不明确其价值。因此本研究主要分析精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 表达并探究其临床意义。

1 资料与方法

1.1 资料

选取2019年10月至2021年10月在本院确诊的65例精神分裂症患者(疾病组)及同期在本院体检的65例健康者(健康组)作为研究对象。纳入标准:①研究组患者均符合《中国精神障碍分类与诊断标准》(3版)^[7]中精神分裂症相关诊断标准;②研究组患者均为首次确诊;③所有患者未服用精神病相关药物治疗;④所有入组患者或其家属均签署知情同意书。排除标准:①近3个月内患感染性疾病患者;②存在烟酒等不良嗜好患者;③既往有脑部血管介入治疗史、脑部创伤史、药物滥用史患者。疾病组患者平均年龄(50.26 \pm 5.21)岁;男30例,女35例。健康组患者平均年龄(50.79 \pm 5.34)岁;男28例,女37例。两组患者基本资料比

较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经伦理委员会批准。

表1 两组基本资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	男/女	年龄(岁)
疾病组	65	30/35	50.26 \pm 5.21
健康组	65	28/37	50.78 \pm 5.34
t/ χ^2 值		0.125	0.562
P值		0.724	0.575

1.2 评估疾病严重程度

以简明精神病评定量表(The Brief Psychiatric Rating Scale, BPRS)评估精神分裂症患者严重程度^[8],包括敌对性、激活性、思维障碍、缺乏活力及焦虑忧郁等项目,每项1~7分,7分为极重,6分为重度,5分为偏重,4分为中度,3分为轻度,2分为很轻或可疑,1分为无症状。35分即为临床界限。

1.3 血清水平检测

抽取患者空腹静脉血5 mL,使用血液离心机(H/T12MM,北京莱博瑞杰科技有限公司)离心10 min(以3 500 r/min速度),以酶联免疫吸附法检测患者血清 VILIP-1、SOD-1 水平,使用全自动生化分析仪(美国 BECKMAN COULTER AU5800)以免疫比浊法检测降钙素原(Procalcitonin, PCT)水平,试剂盒使用专用测定试剂盒(贵州普洛迈德生物工程有限公司)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行数据处理;计量资料采用($\bar{x}\pm s$)描述,两组间比较采用 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验;血清 VILIP-1、SOD-1 在精神分裂症患者中的表达情况与 PCT 表达的相关性以 Pearson 分析;以 ROC 曲线明确 VILIP-1、SOD-1 对精神分裂症的诊断价值;多因素 Logistic 回归分析影响精神分裂症发生的危险因素;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VILIP-1、SOD-1、PCT在精神分裂症患者血清中的表达

疾病组血清 VILIP-1、SOD-1、PCT 水平高于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 VILIP-1、SOD-1、PCT在精神分裂症患者血清中的表达($\bar{x}\pm s$)

组别	n	VILIP-1(pg/mL)	SOD-1($\mu\text{g/L}$)	PCT(ng/mL)
疾病组	65	642.53 \pm 112.78	6.85 \pm 1.95	0.25 \pm 0.06
健康组	65	532.74 \pm 88.69	6.14 \pm 1.79	0.19 \pm 0.02
t值		6.169	2.163	7.649
P值		0.000	0.032	0.000

2.2 血清 VILIP-1、SOD-1、PCT 表达水平与 BPRS 量表的相关性

血清 VILIP-1、SOD-1、PCT 表达与 BPRS 总分、敌对性、激活性、思维障碍、缺乏活力、焦虑抑郁各项评分均呈正相关($P<0.05$)。见表3。

表3 血清 VILIP-1、SOD-1、PCT 表达水平与 BPRS 量表的相关性

项目	评分	VILIP-1 (pg/mL)		SOD-1 ($\mu\text{g/L}$)		PCT (ng/mL)	
		r值	P值	r值	P值	r值	P值
BPRS 总分	50.64 \pm 6.73	0.824	0.002	0.821	0.025	0.713	0.021
敌对性	12.75 \pm 3.54	0.711	0.007	0.759	0.036	0.947	0.031
激活性	7.69 \pm 2.45	0.645	0.015	0.707	0.042	0.716	0.043
思维障碍	9.43 \pm 2.11	0.863	0.027	0.916	0.038	0.811	0.002
缺乏活力	9.56 \pm 2.23	0.754	0.022	0.779	0.031	0.862	0.005
焦虑抑郁	7.45 \pm 1.79	0.789	0.004	0.674	0.018	0.937	0.016

2.3 血清 VILIP-1、SOD-1 表达水平与 PCT 的相关性

Pearson 相关性检验分析结果显示,精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 表达水平与 PCT 均呈正相关($r=0.643, 0.557, P<0.05$)。见图1。

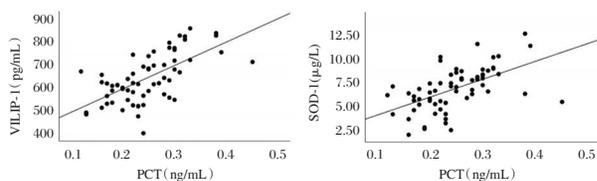


图1 血清 VILIP-1、SOD-1 与 PCT 表达的相关性

Figure 1 Correlation between serum VILIP-1, SOD-1 and PCT expression

2.4 血清 VILIP-1、SOD-1 诊断精神分裂症的价值

绘制 ROC 曲线显示血清 VILIP-1、SOD-1 两者联合检测 ROC 曲线下面积为 0.911, 特异度均优于单独检测($P<0.05$)。见表4、图3。

表4 血清 VILIP-1、SOD-1 表达水平诊断精神分裂症的 ROC 曲线结果

Table 4 ROC curve results of serum VILIP-1 and SOD-1 expression levels in the diagnosis of schizophrenia

指标	截断值	AUC	敏感性 (%)	特异性 (%)	95%CI	约登指数
VILIP-1	586.51 pg/mL	0.773	72.31	73.85	0.692~0.842	0.4616
SOD-1	6.25 $\mu\text{g/L}$	0.712	89.23	56.92	0.626~0.788	0.4615
联合检测	0.6257	0.911	83.10	86.20	0.849~0.954	0.6930

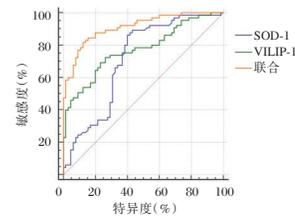


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

2.5 多因素 Logistic 回归分析影响精神分裂症发生的因素

多因素 Logistic 回归分析显示, VILIP-1 > 586.51 pg/mL、SOD-1 > 6.25 $\mu\text{g/L}$ 为影响精神分裂症发生的独立危险因素($P<0.05$)。见表5。

表5 多因素 Logistic 回归分析影响精神分裂症发生的因素

指标	β 值	SE值	Wald值	OR值	95% CI	P值
VILIP-1 > 586.51 pg/mL	0.010	0.002	19.087	1.010	1.006~1.015	0.000
SOD-1 > 6.25 $\mu\text{g/L}$	0.357	0.131	7.428	1.429	1.106~1.848	0.006

3 讨论

目前尚未明确精神分裂症的发病原因,其中“精神分裂症的双重打击假说”及“细胞因子假说”均提示精神分裂症发生发展的一项重要因素即为炎症^[9]。Fuglewicz AJ^[10]研究显示,疾病早期感染可诱发炎症,或许是精神分裂症的重要诱因。目前已有多项研究证实炎症在精神分裂症的发生、发展过程中起重要作用^[11-12]。刘亚平^[13]研究显示, PCT 作为临床评估炎症反应的常用指标,在精神分裂症中呈高表达。本研究结果显示,疾病组患

者血清 PCT 水平明显高于健康组,与上述研究结果一致,再次证实了炎症反应的发生可能与精神分裂症的发生存在密切关系。但是 PCT 可在多种炎症反应中表达,不具有特异性,因此探究更多、有效的细胞因子与精神分裂症的关系并明确其具体价值意义重大。

VILIP-1 通过调控钙平衡、与钙离子结合发挥生物作用,为神经钙传感蛋白家族^[14]。目前,已有研究证实 VILIP-1 在阿尔茨海默病机脑损伤等神经退行性疾病中呈高表达^[15]。也有研究显示,脑卒中认知障碍患者血清 VILIP-1 水平与认知功能正常患者相比明显升高,认为 VILIP-1 为脑损伤的标志物^[16]。但是目前其在精神分裂症的表达尚不明确,本研究检测精神分裂症患者及健康者血清 VILIP-1 水平结果提示 VILIP-1 可能参与精神分裂症的发生。本研究还以 BPRS 量表评估精神分裂症患者疾病严重程度,并分析 VILIP-1 与疾病严重程度的关系,可推测 VILIP-1 可能促进精神分裂症的发展。另外,VILIP-1 还可能与炎症反应互相促进,进一步诱发并促进精神分裂症的发生及进展。

精神分裂症与认知障碍的表现有相似之处。郭庆夺^[17]研究显示,SOD-1 与认知障碍关系密切。早在 1997 年,Kostic 等^[18]已在研究中发现 SOD-1 G93A 转基因小鼠有脑多巴胺能系统退化现象。Kreilaus 等^[19]对 SOD-1G93A 转基因小鼠(未出现运动症状)测试认知行为,结果显示,与对照组相比,SOD-1 G93A 转基因小鼠焦虑样症状增加、探索能力及运动能力下降。本研究检测结果推测 SOD-1 可能通过影响中枢炎性因子的表达对突触机构或中枢神经元及胶质细胞起作用,进而影响认知功能,与卢文斌^[6]研究基本一致。本研究显示,血清 VILIP-1、SOD-1 具有较好的诊断价值,但是两者联合检测的特异性及敏感性均优于单独检测。且 VILIP-1、SOD-1 水平较高为影响精神分裂症发生的独立危险因素。以上结果提示,临床应针对 VILIP-1>586.51 pg/mL、SOD-1>6.25 μg/L 的患者采取针对措施、积极干预,以减少或缓解精神分裂症的发生、发展。

综上所述,精神分裂症患者血清 VILIP-1、SOD-1 水平呈高表达,两者与炎症反应均呈正相关,参与疾病进展,为影响精神分裂症发生的独立危险因素,可能为诊断精神分裂症的潜在指标。但是 VILIP-1、SOD-1 在精神分裂症中的具体作用机制还不明确,还需在以后的研究中进一步探究。

参考文献

- [1] Winship IR, Dursun SM, Baker GB, et al. An overview of animal models related to schizophrenia[J]. *Can J Psychiatry*, 2019, 64(1):5-17.
- [2] Jin HJ, Mosweu I. The societal cost of schizophrenia: a systematic review[J]. *Pharmacoeconomics*, 2017, 35(1):25-42.
- [3] 刘文艳, 郭蕊. 奥氮平联合氨磺必利治疗难治性精神分裂症的临床疗效及安全性分析[J]. *国际精神病学杂志*, 2021, 48(3):406-409.
- [4] Mandya CD, Schilling JM, Cui W, et al. Neuron-targeted caveolin-1 improves molecular signaling, plasticity and behavior dependent on the hippocampus in adult and mice[J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 81(2):101-110.
- [5] 郭文娟, 王宏, 王茂松, 等. 脑梗死后认知功能障碍与血清视锥蛋白样蛋白-1 水平及神经功能缺损关系的研究[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2016, 7(5):432-435.
- [6] 卢文斌, 金培培, 陈元杰, 等. 老年患者术后认知功能障碍与循环中生物标记物水平的关系[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2019, 40(9):818-823.
- [7] 中华医学会精神病学分会. 中国精神障碍分类与诊断标准第三版(精神障碍分类)[J]. *中华精神科杂志*, 2001, 34(3):184-188.
- [8] 张颖, 王若梅, 李刚. 稳定期精神分裂症患者认知功能、情绪管理水平及其影响因素分析[J]. *首都医科大学学报*, 2021, 42(1):5.
- [9] Borovcanin MM, Jovanovic I, Radosavljevic G, et al. Interleukin-6 in schizophrenia-is there a therapeutic relevance?[J]. *Frontiers Psychiatry*, 2017, 8(11):221-231.
- [10] Fuglewicz AJ, Piotrowski P, Stodolak A. Relationship between toxoplasmosis and schizophrenia: A review[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2017, 26(6):1031-1036.
- [11] 陈松, 张江涛, 梁雨. 首发精神分裂症患者的甲状腺激素及炎症因子水平检测及其与临床特征的关系[J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(2):215-217+220.
- [12] 冯薇, 贾强, 谭淑平, 等. 稳定期精神分裂症患者血浆炎症因子与症状相关性研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2020, 46(3):145-148.
- [13] 刘亚平, 唐小伟, 冯旭薇. 精神分裂症患者血清降钙素原表达水平与 BPRS 量表值及症状的关系分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(2):116-118.
- [14] 王茂松, 王宏. 血清视锥蛋白样蛋白-1 水平对卒中后认知障碍的临床诊断价值[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2016, 24(7):451-453.
- [15] 黄英媛, 杨国帅, 宋振华. 葛酮通络胶囊联合针灸对急性脑梗死病人血清 VILIP-1、Cav-1 表达的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2020, 18(22):3858-3891.
- [16] 包璐, 邵祥忠, 秦延昆, 等. 脑梗死患者血清 VILIP-1、胱抑素 C 和 SSA 表达情况与其认知障碍的相关性及发生认知障碍的 logistics 分析[J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2021, 16(3):253-256.
- [17] 郭庆夺, 杨秋影, 马美娜, 等. 右美托咪定联合舒芬太尼对脑出血患者术后炎症应激反应及神经和认知功能的影响[J]. *河北医药*, 2019, 41(7):965-971. (下转第 1384 页)

使用血脂大数据评估三种低密度脂蛋白计算公式

樊高威 贾安琪 张顺利*

[摘要] **目的** 通过使用中国人的血脂大数据评估三种低密度脂蛋白(LDL-C)计算公式与直接测定法检测的一致性,探讨 LDL-C 计算公式在中国人群中的适用性。**方法** 本研究回顾性收集了 62 990 份血脂检测结果,将使用 Friedewald、Martin/Hopkins 和 Sampson 公式计算的 LDL-C 与直接检测的 LDL-C 进行比较,计算相关系数和均方根误差,并根据甘油三酯、LDL-C 和年龄进行分组分析。**结果** 血脂水平与年龄存在曲线相关。三种公式计算值与直接测定法测定值比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在总体研究对象、高甘油三酯或低 LDL-C 人群中,Sampson 公式计算与直接测定法符合性较好。公式法与直接测定法的偏差受到 TG、LDL-C 以及年龄的影响。**结论** 在无法获得直接测定法检测的 LDL-C 情况下,需要结合年龄和血脂水平选择最适合的 LDL-C 计算公式。

[关键词] 低密度脂蛋白;公式法;血脂

Application of three low-density lipoprotein calculation formulas in blood lipid big data assessment

FAN Gaowei, JIA Anqi, ZHANG Shunli*

(Department of Clinical Laboratory, Beijing Chao - Yang Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100020)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the applicability of LDL-C equations in the Chinese population, this study evaluates the concordance of three LDL-C equations with direct LDL-C in a large Chinese population. **Methods** We collected a retrospective 62990 lipid profiles. The calculated LDL-C by the Friedewald, Martin/Hopkins, and Sampson equations was compared with the LDL-C measured by a direct homogenous method. The correlation coefficient and root mean squared error was calculated. Subgroup analyses were stratified by triglycerides (TG), LDL-C, and age. **Results** A curve correlation exists between age and lipid parameters. There is a significant difference between the direct LDL-C and calculated LDL-C ($P < 0.05$). The Sampson equation showed more agreement with direct LDL-C in the total subjects and those with low LDL-C or hypertriglyceridemia. The equations with the highest concordance with direct LDL-C varied in subgroups stratified by TG, LDL-C, and age. **Conclusions** Age and other lipid parameters should be considered when choosing an LDL-C equation when direct LDL-C is unavailable.

[KEY WORDS] low-density lipoprotein cholesterol; equation; blood lipid

血清低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)是心血管疾病发病的一个重要危险因素^[1-2],降低 LDL-C 水平可减少心血管疾病发病风险和死亡率^[3]。因此,血清中 LDL-C 含量的评估具有重要的临床价值。

血清 LDL-C 测定的参考方法是超速离心法,

但这种方法需要专门的设备,操作复杂,样品制备需手工操作,费时费力,不适用于作为临床常规方法使用^[4]。1972年,Friedewald 等人提出根据总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)和高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)估算 LDL-C 的计算公式(简称为 Frie-

作者单位:首都医科大学附属北京朝阳医院检验科,北京 100020

*通信作者:张顺利, E-mail: er-012@163.com

dewald 公式), 即 $LDL-C(mg/dL) = (TC - HDL - TG/5)^{[5]}$ 。Friedewald 公式假设 TG 与极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein cholesterol, VLDL-C) 比值固定不变。该公式使用简便且经济实惠, 具有一定的临床使用价值。但该公式易受到 TG/VLDL-C 比值的影响, 当 TG 含量较高或 LDL-C 含量较低时, 使用 Friedewald 公式将低估 LDL-C 含量^[6]。后续又出现了多种其它的公式估算 LDL-C 含量^[5,7-11]。与 Friedewald 公式类似, 这些公式均采用固定的 TG/VLDL-C 比值。由于 TG/VLDL-C 比值在不同人群中存在差异, 因此这些公式存在相似的临床应用局限性。

Martin 等人于 2013 年采用个性化的 TG/VLDL-C 比值计算 LDL-C 含量, 即 $TC - HDL - TG/(\text{个性化的 TG/VLDL-C 比值})^{[12]}$ 。该方法被称为 Martin/Hopkins 公式。在不同人群的验证结果表明, Martin/Hopkins 公式的准确性优于 Friedewald 公式^[13-15]。但 Martin/Hopkins 公式在高 TG 人群中的准确性较差^[16-20]。2020 年, Sampson 等人采用回归的方法建立一个 LDL-C 公式(简称 Sampson 公式), 该公式在高 TG 人群中的准确性高于 Martin/Hopkins 公式和 Friedewald 公式^[10]。

利用生化分析仪对血清中的 LDL-C 进行直接检测的方法被称为直接测定法。直接测定法准确性好, 但试剂成本较高。由于 LDL-C 公式成本较低, 具有一定的准确性, 目前多个国家的部分实验室仍使用公式计算 LDL-C。但 Friedewald、Martin/Hopkins 和 Sampson 公式都是基于欧美人群的数据建立的, 这些公式在中国人群中的适用性尚未进行评估。此外, 研究发现, 血脂代谢受到年龄的影响^[17-20]。国内外尚未有文献报告 LDL-C 公式在不同年龄段人群中的准确性。本研究的主要目的是在中国人群中比较 Friedewald、Martin/Hopkins 和 Sampson 三种公式计算 LDL-C 与直接测定法检测 LDL-C 的符合性, 并分析这三种 LDL-C 公式在不同年龄区段的表现。

1 材料和方法

1.1 研究对象

从北京朝阳医院收集 2016 年 1 月和 12 月份就诊人群中收集 62 990 份血脂检测结果(TC, TG, HDL, LDL-C), 其中男性占 47.62%, 女性占 52.37%, 年龄中位值为 56 岁。该研究经院伦理委员会批准(2022-科-16)。

1.2 血脂检测

所有研究对象空腹 8~12 h 后抽取静脉血, 并在 2 h 内送至检验科进行离心, 3 500 r/min 离心 15 min (离心半径为 8 cm), 收集血清。采用德国 Siemens 西门子 ADVIA 2400 型全自动生化分析仪进行血脂检测。TC, TG, HDL 和 LDL-C 试剂及校准品均为西门子公司专用配套试剂。所用检测系统检测血脂四项的不精密密度介于 1.28%~2.01%, 低于美国国家胆固醇教育计划(National Cholesterol Education Program, NCEP)要求的范围。检验科实验室参加国家卫健委临床检验中心和北京市临床检验中心组织的室间质评, 成绩均满意。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) 进行数据分析; 数据资料符合正态分布时, 两两比较采用 *t* 检验, 不符合正态分布时, 行 *Z* 检验; 计数资料以 *n*(%) 表示; 采用 Pearson 进行相关性分析; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TC、TG、HDL 和 LDL-C 水平在不同年龄区段的分布情况

当小于 50 岁时, TC 水平随着年龄的增加而升高, 并在 40~50 岁到达峰值; 当超过 50 岁, 随着年龄的增加, TC 水平逐渐下降。当小于 60 岁时, TG 水平随着年龄的增加而升高, 并在 50~60 岁到达峰值; 超过 60 岁, TG 水平随着年龄的增加而逐渐下降。40 岁以后, HDL 水平保持不变。40 岁之前, LDL-C 水平随着年龄的增加而升高。当年龄介于 40~60 岁, LDL-C 水平达到峰值。超过 60 岁, 随着年龄的增加, LDL-C 水平逐渐下降。20 岁之前, HDL 水平随着年龄增加而升高, 并在 20~30 岁时到达峰值, 之后随着年龄增加而缓慢下降。TC、TG、HDL 和 LDL-C 水平与年龄均存在曲线相关性。见图 1。

2.2 三种 LDL-C 公式在总体研究对象中的比较

Sampson 公式计算的 LDL-C 值与直接测定法测定的 LDL-C 值相关性均较好, Martin/Hopkins 公式和 Friedewald 公式与直接测定法的相关性一般(图 2a)。三种公式计算值与直接测定法测定值比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Sampson 公式与直接测定法的偏差(RMSE=15.61)小于 Friedewald 公式(RMSE=21.77)和 Martin/Hopkins 公式(RMSE=16.77)(图 2c)。

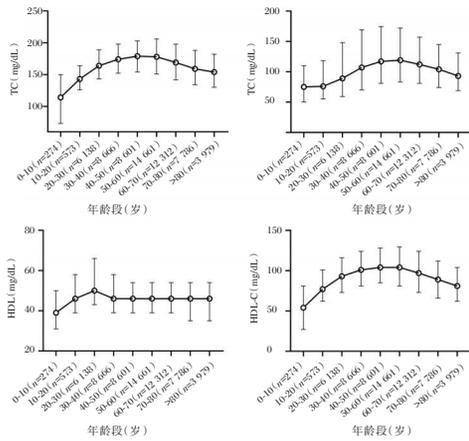


图1 血脂与年龄存在曲线相关性

Figure 1 A curve correlation exists between age and lipid parameters

对年龄进行分组,发现三种公式与直接测定法的相关性和RMSE随着年龄的增加而变化,当年龄处于30~40岁时,三种公式与直接测定法的RMSE均最大,而相关系数均最小(图2b和图2d)。三种公式中,当年龄小于20岁时或大于80岁时,Martin/Hopkins公式与直接测定法的偏差最小;年龄为30~60岁时,Sampson公式与直接测定法的偏差最小(图2d)。

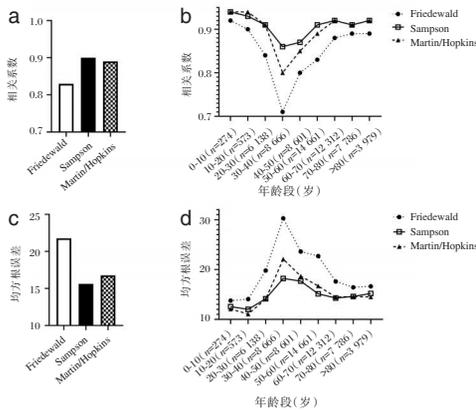


图2 3种LDL-C公式在总人群中的表现

Figure 2 Performance of the 3 LDL-C equations in the total subjects

2.3 三种LDL-C公式在TG ≥ 400 mg/dL中的比较

三种公式计算的LDL-C值与直接测定法测定的LDL-C值相关性均较差,见图3a。三种公式计算值与直接测定法测定值比较,差异有统计学意义(P<0.05)。Sampson公式与直接测定法的偏差小于Friedewald公式和Martin/Hopkins公式,见图3c。

根据年龄分组发现,在30~40岁时三种公式与直接测定法的相关系数最小,见图3b,偏差最大(图3d)。三种公式中,当年龄小于20岁时,Mar-

tin/Hopkins公式与直接测定法的RMSE最小;而超过20岁时,Sampson公式与直接测定法的RMSE最小,见图3d。

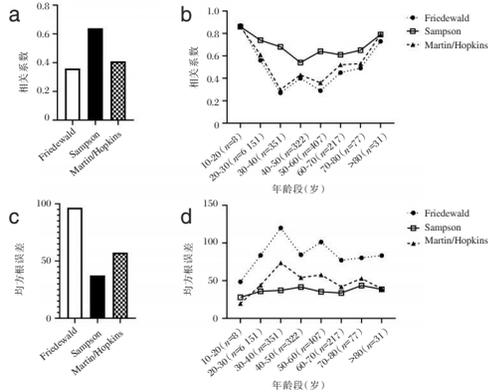


图3 LDL-C公式在TG ≥ 400 mg/dL人群中的表现

Figure 3 Performance of the LDL-C equations in the subjects with TG ≥ 400 mg/dL

2.4 三种LDL-C公式在TG < 400 mg/dL中的比较

三种公式计算的LDL-C值与直接测定法测定的LDL-C值相关性高,见图4a。三种公式计算值与直接测定法测定值比较,差异有统计学意义(P<0.05)。Martin/Hopkins公式与直接测定法的偏差(RMSE=14.30)小于Friedewald公式(RMSE=15.76)和Sampson公式(RMSE=14.64),见图4c。

根据年龄进行分组,在30~40岁时三种公式与直接测定法的相关系数最小,偏差均最大,见图4b、图4d。不同年龄段中,Martin/Hopkins公式与直接测定法的偏差均小于Friedewald和Sampson公式,见图4d。

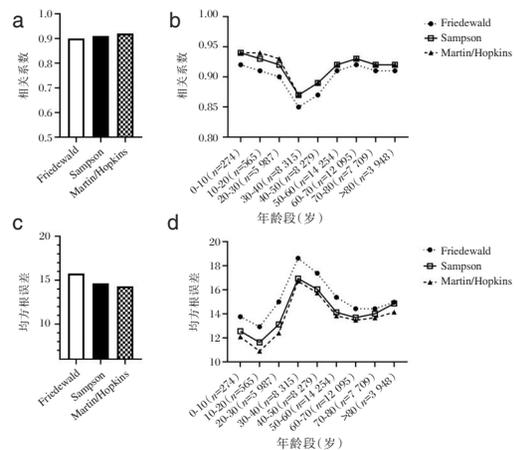


图4 LDL-C公式在TG < 400 mg/dL人群中的表现

Figure 4 Performance of the LDL-C equations in the subjects with TG < 400 mg/dL

2.5 三种 LDL-C 公式在低 LDL-C 中的比较

当 LDL-C<70 mg/dL 或 LDL<40 mg/dL 时, 三种公式与直接测定法的相关性较差, 见图 5a、图 6a。三种公式计算值与直接测定法测定值比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。Sampson 公式与直接测定法的偏差最小, Friedewald 公式与直接测定法的 RMSE 最大, 见图 5c、图 6c。

各个年龄区段中, 在 30~40 岁时三种公式与直接测定法的相关系数最小, 见图 5b、图 6b, 偏差均最大, 见图 5d、图 6d。对于 LDL-C<70 mg/dL, 当年龄小于 20 岁时, Martin/Hopkins 公式与直接测定法的 RMSE 最小; 当年龄大于 20 岁时, Sampson 公式与直接测定法的 RMSE 最小。对于 LDL-C<40 mg/dL, 当年龄小于 10 岁时, Martin/Hopkins 和 Sampson 公式与直接测定法的 RMSE 相近, 小于 Friedewald 公式; 当年龄大于 10 岁时, Sampson 公式与直接测定法的 RMSE 大于 Martin/Hopkins 公式或 Friedewald 公式。

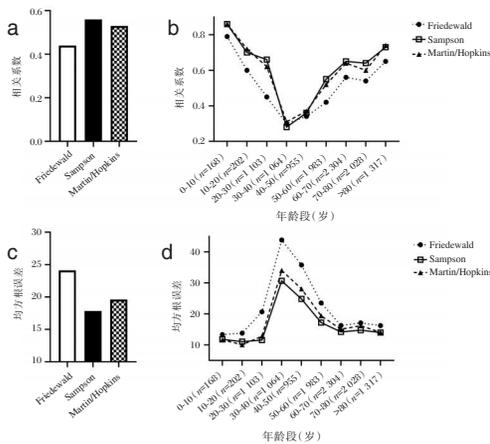


图5 LDL-C 公式在 LDL-C<70 mg/dL 人群中的表现
Figure 5 Performance of the LDL-C equations in the subjects with LDL-C<70 mg/dL

2.6 三种 LDL-C 公式在 LDL-C≥70 mg/dL 中的比较

三种公式计算的 LDL-C 值与直接测定法测定的 LDL-C 值相关性均一般, 见图 7a、图 7b。三种公式计算值与直接测定法测定值均存在统计学差异($P<0.05$)。Sampson 公式与直接测定法的偏差小于 Friedewald 公式和 Martin/Hopkins 公式, 见图 7c。

按照年龄进行分组, 当年龄小于 20 岁时或大于 70 岁时, 三种公式中 Martin/Hopkins 公式与直接测定法的 RMSE 最小; 在 20~70 岁区间, Sampson 公式与直接测定法的 RMSE 最小。各个年龄

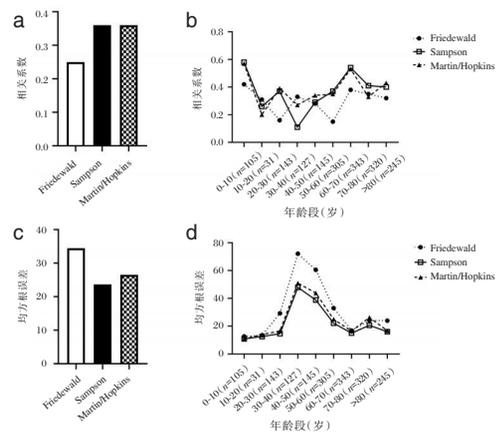


图6 LDL-C 公式在 LDL-C<40 mg/dL 人群中的表现
Figure 6 Performance of the LDL-C equations in the subjects with LDL-C<40 mg/dL

区段中, Friedewald 公式和 Martin/Hopkins 公式与直接测定法的偏差在 30~40 岁达到最大; 而 Sampson 公式与直接测定法的偏差则在 40~50 岁时最大, 见图 7d。

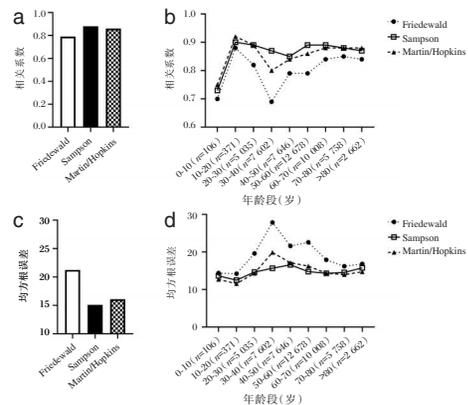


图7 LDL-C 公式在 LDL-C > 70 mg/dL 人群中的表现
Figure 7 Performance of the LDL-C equations in the subjects with LDL-C>70 mg/dL

2.7 三种 LDL-C 公式在 TG<150 mg/dL 和 LDL-C>100 mg/dL 中的比较

三种公式与直接测定法相关性均一般, 偏差较为接近, 见图 8a、8c。三种公式计算值与直接测定法测定值均存在统计学差异($P<0.05$)。三种公式与直接测定法的 RMSE 和相关系数较为接近, 见图 8b、图 8d。各个年龄区段中, 三种公式与直接测定法的偏差在年龄大于 80 岁人群中达到最大, 见图 8d。

3 讨论

LDL-C 水平与心血管疾病发病风险呈正相关^[21]。2018 版美国心脏学会/美国心脏病协会

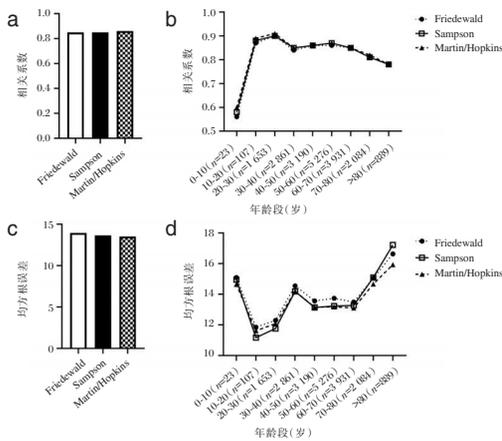


图8 LDL-C公式在TG<150 mg/dL和LDL-C>100 mg/dL人群中的表现

Figure 8 Performance of the LDL-C equations in the subjects with TG < 150 mg/dL 和 LDL-C > 100 mg/dL

(American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee, AHA/ACC)指南强调准确评估 LDL-C 水平的重要性^[22]。目前,有多个 LDL-C 计算公式被建立并使用。多种因素包括肥胖、饮食、种族等均影响 LDL-C 计算公式的准确性。目前,尚无相关研究评估适用于中国人群的 LDL-C 计算公式。因此,采用临床真实数据评估国际指南推荐的 LDL-C 计算公式在中国人群中的适用性具有临床价值。本研究共纳入 62 990 组血脂检测结果进行分析,以确保分析结果的可靠性。目前,国内临床实验室主要采用直接测定法检测 LDL-C。因此,本研究选择直接测定法检测的 LDL-C 结果作为参考。公式法计算的 LDL-C 与直接测定法检测的 LDL-C 存在显著性差异。总体上 Sampson 公式与直接测定法相关性和一致性优于 Friedewald 公式和 Martin/Hopkins 公式。

年龄和血脂是心血管疾病的两大风险因素。血脂代谢受年龄影响^[19]。本研究结果显示,TC, TG, LDL-C 浓度水平与年龄呈曲线关系。国内外尚无相关研究评估年龄对 LDL-C 计算公式的影响。本研究发现三种公式与直接测定法的偏差随着年龄变化而波动。在总体研究对象、TG<400 mg/dL、LDL-C<70 mg/dL 或 LDL-C<40 mg/dL 的研究对象中,三种公式法与直接测定法的偏差均在 30~40 岁之间的达到最大;在高 TG(≥400 mg/dL)人群中, Friedewald 公式和 Martin/Hopkins 公式与直接测定法的偏差在 30~40 岁之间最大,而 Sampson 公式与直接测定法的偏差则在 40~50 岁达到最大。

2021 版欧洲心脏病学会(European Society of Cardiology, ESC)指南推荐使用 Martin/Hopkins 公式、Sampson 公式或直接测定法评估低 LDL-C 和/或高 TG 人群中 LDL-C 水平^[21]。本研究发现,在 LDL-C<70 mg/dL 的研究对象中, Sampson 公式与直接测定法的偏差小于 Martin/Hopkins 公式和 Friedewald 公式。但对于年龄小于 20 岁且 LDL-C<70 mg/dL 的研究对象, Martin/Hopkins 公式与直接测定法的偏差略小于 Sampson 公式。

当 TG 升高时, LDL-C 公式的准确性受到影响。本研究发现,对于 TG≥400 mg/dL 的研究对象中, Sampson 公式与直接测定法的偏差小于 Friedewald 公式和 Martin/Hopkins 公式,这一现象与已报道的结论相符。但在年龄小于 20 岁且 TG≥400 mg/dL 的研究对象中, Martin/Hopkins 公式与直接测定法的偏差小于 Friedewald 公式和 Sampson 公式。

有研究认为 Friedewald 公式仅适用于 TG<150mg/dL 且 LDL-C≥100 mg/dL 人群的 LDL-C 计算^[23]。本研究发现 TG<150mg/dL 且 LDL>100 mg/dL 的研究对象中,三种公式与直接测定法的偏差较为接近。但当年龄超过 70 岁, Martin/Hopkins 公式与直接测定法的偏差小于 Friedewald 公式和 Sampson 公式。

对于动脉粥样硬化性心血管疾病,临床治疗目标是 LDL-C 水平降至 55mg/dL 或更低(<40 mg/dL)^[21,24]。当 LDL-C 较低时, Friedewald 公式计算的 LDL-C 值低于 LDL-C 的真实水平,而 Martin/Hopkins 公式能准确计算 LDL-C 的水平^[10,13,25]。本研究发现对于 LDL-C<40 mg/dL 的研究对象, Sampson 公式与直接测定法的偏差小于 Martin/Hopkins 公式和 Friedewald 公式。

综上所述,在无法获得直接测定法检测的 LDL-C 情况下,需要结合年龄和血脂水平选择最适合的 LDL-C 计算公式。

参考文献

[1] Soppert J, Lehrke M, Marx N, et al. Lipoproteins and lipids in cardiovascular disease: from mechanistic insights to therapeutic targeting [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2020, 159: 4-33.
 [2] Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel [J]. Eur Heart J, 2017, 38 (32): 2459-2472.

- [3] Kinoshita M, Yokote K, Arai H, et al. Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases 2017 [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2018, 25(9): 846-984.
- [4] Chung S. Update on low-density lipoprotein cholesterol quantification [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2019, 30(4): 273-283.
- [5] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge [J]. *Clin Chem*, 1972, 18(6): 499-502.
- [6] Brownstein AJ, Martin SS. More accurate LDL-C calculation: Externally validated, guideline endorsed [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 506: 149-153.
- [7] DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, et al. A Comparison of Methods for the Estimation of Plasma Low- and Very Low-Density Lipoprotein Cholesterol: The Lipid Research Clinics Prevalence Study [J]. *JAMA*, 1986, 256(17): 2372-2377.
- [8] Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation [J]. *Clin Chem*, 2002, 48(2): 236-254.
- [9] Martin SS, Elshazly MB, Jones SR. Accuracy of New Equation to Calculate Low-Density Lipoprotein Cholesterol [J]. *JAMA Cardiol*, 2020, 310(19): 2061-2068.
- [10] Sampson M, Ling C, Sun Q, et al. A New Equation for Calculation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients With Normolipidemia and/or Hypertriglyceridemia [J]. *JAMA Cardiol*, 2020, 5(5): 540-548.
- [11] Rim JH, Lee YH, Lee MH, et al. Comparison and Validation of 10 Equations Including a Novel Method for Estimation of LDL-cholesterol in a 168,212 Asian Population [J]. *Med (Baltimore)*, 2016, 95(14): 1-8.
- [12] Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, et al. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile [J]. *JAMA*, 2013, 310(19): 2061-2068.
- [13] Martin SS, Giugliano RP, Murphy SA, et al. Comparison of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Assessment by Martin/Hopkins Estimation, Friedewald Estimation, and Preparative Ultracentrifugation [J]. *JAMA Cardiol*, 2018, 3(8): 749-753.
- [14] Kang M, Kim J, Lee SY, et al. Martin's Equation as the Most Suitable Method for Estimation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Korean Adults [J]. *Korean J Fam Med*, 2017, 38(5): 263-269.
- [15] Martins J, Olorunju SAS, Murray LM, et al. Comparison of equations for the calculation of LDL-cholesterol in hospitalized patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 444: 137-142.
- [16] Sajja A, Park J, Sathiyakumar V, et al. Comparison of Methods to Estimate Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients With High Triglyceride Levels [J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(10): e2128817-e2128830.
- [17] Deepti GI, Sukanya S, Ashalatha VR, et al. Age Related Difference in the Lipid Profile in Normal Healthy Women [J]. *J Heal Allied Sci NU*, 2014, 4(2):94-97.
- [18] Zhao P, Liu S, Zhong Z, et al. Age- and sex-related difference of lipid profile in patients with ischemic stroke in China [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(23): 1-6.
- [19] Balder JW, de Vries JK, Nolte IM, et al. Lipid and lipoprotein reference values from 133,450 Dutch Lifelines participants: Age- and gender-specific baseline lipid values and percentiles [J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 11(4): 1055-1064.e6.
- [20] Richter V, Rassoul F, Hentschel B, et al. Age-dependence of lipid parameters in the general population and vegetarians [J]. *Z Gerontol Geriatr*, 2004, 37(3): 207-213.
- [21] Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(34): 3227-3337.
- [22] Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines [J]. *Circulation*, 2019, 139(25): E1082-E1143.
- [23] Wilson PWF, Jacobson TA, Martin SS, et al. Lipid measurements in the management of cardiovascular diseases: Practical recommendations a scientific statement from the national lipid association writing group [J]. *J Clin Lipidol*, 2021, 15(5): 629-648.
- [24] Zeitouni M, Sabouret P, Kerneis M, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for management of dyslipidaemia: strengths and limitations [J]. *Eur Hear J Cardiovasc Pharmacother*, 2021, 7(4): 324-333.
- [25] Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, et al. The Friedewald formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2001, 39(5): 426-431.

(上接第 1378 页)

- [18] Kostic V, Gurney ME, Deng HX, et al. Midbrain dopaminergic neuronal degeneration in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Ann Neurol*, 1997, 41(4): 497-504.
- [19] Kreilaus F, Guerra S, Masanetz R, et al. Novel behavioural characteristics of the superoxide dismutase1 G93A (SOD1G93A) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis include sex-dependent phenotypes [J]. *Genes Brain Behav*, 2020, 19(2): 12604-12607.

输尿管结石并发感染患者血清 HMGB1、Caspase9 及 IL-10 水平变化意义

罗子靖 王磊 高景宇 徐哲 任凌云 王照*

[摘要] 目的 探究输尿管结石并发感染患者血清高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9(Caspase9)、白细胞介素-10(IL-10)水平变化意义。方法 选取河北医科大学第一医院泌尿外科 2019 年 1 月至 2022 年 1 月收治的 108 例输尿管结石并发感染患者作为观察组,另选取同期 50 例单纯输尿管结石未并发感染患者作为对照组。比较两组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平;以观察组与对照组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平平均值为界分为低水平与高水平患者,分析血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平对输尿管结石患者并发感染危险度的影响;根据患者住院期间是否发生尿源性脓毒症分组,比较发生与未发生尿源性脓症患者术前、术后 1 d、7 d 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平;并评价血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 对输尿管结石并发感染患者尿源性脓毒症的预测价值。结果 观察组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平较对照组高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 高水平者并发感染风险是低水平者的 4.124 倍、3.277 倍、4.001 倍($P<0.05$)。术后 7 d,发生尿源性脓症患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平较未发生患者高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。绘制术后 7 d 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平预测输尿管结石并发感染患者预后的 ROC 曲线,各指标联合预测 AUC 为 0.916,较单独预测价值更大($P<0.05$)。结论 输尿管结石并发感染患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平升高,且随感染加剧、病情恶化其水平呈渐进性升高趋势,临床检测其水平,有助于预测感染及尿源性脓毒症风险,为临床工作提供依据。

[关键词] 输尿管结石;感染;HMGB1;Caspase9;IL-10

Changes of serum HMGB1, caspase9 and IL-10 levels in patients with ureteral calculi complicated by infection

LUO Zijing, WANG Lei, GAO Jingyu, XU Zhe, REN Lingyun, WANG Zhao*

(Department of Urology, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China, 050031)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the significance of changes in serum high mobility group protein B1 (HMGB1), cysteine aspartate protease 9 (Caspase9), and interleukin-10 (IL-10) levels in patients with ureteral calculi complicated by infection. **Methods** One hundred and eight patients with ureteral stones complicated by infection admitted to the Department of Urology, First Hospital of Hebei Medical University from January 2019 to January 2022 were selected as the observation group, and another 50 patients with simple ureteral stones uncomplicated by infection in the same period were selected as the control group. The changes of serum HMGB1, caspase9 and IL-10 levels in the two groups were detected and analyzed. **Results** Serum HMGB1, caspase9, and IL-10 levels in the observation group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The risk of concurrent infection in patients with high levels of serum HMGB1, caspase9, and IL-10 was 4.124 times, 3.277 times, and 4.001 times that of those

基金项目:河北省卫生健康委科研基金项目(20160204)

作者单位:河北医科大学第一医院泌尿外科,河北,石家庄 050031

*通信作者:王照, E-mail:591384518@qq.com

with low levels ($P<0.05$). On the 7th day after operation, the levels of serum HMGB1, Caspase9 and IL-10 in patients with urosepsis were higher than those in patients without, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The ROC curves of serum HMGB1, caspase9, and IL-10 levels at 7 days after surgery were drawn to predict the prognosis of patients with ureteral stones complicated by infection. The combined prediction AUC of each indicator was 0.916, which was more valuable than individual prediction ($P<0.05$).

Conclusion Serum HMGB1, caspase9, and IL-10 levels are elevated in patients with ureteral stones complicated by infection, and their levels increased gradually with the aggravation of infection and disease progression. Clinical detection of their levels is helpful for predicting infection and urinary sepsis risk, and provide a basis for clinical work.

[KEY WORDS] Ureteral calculus; Infection; HMGB1; Caspase9; IL-10

输尿管结石为泌尿外科常见疾病之一,临床主要表现为剧烈疼痛,可伴有恶心、呕吐及腹胀等,多数患者临床预后良好,但部分患者因结石近端上尿路积水、扩张,并发上尿路感染,致使并发症增多、住院时间延长,甚至可引发尿源性脓毒症,最终造成患者死亡^[1-3]。因此,早期及时预测输尿管结石并发感染,阻断感染于尿源性脓毒症发生之前尤为关键。高迁移率族蛋白 B1 (High mobility group protein B1, HMGB1) 水平与临床严重感染患者病情程度及预后关系密切,针对其干预有助于改善患者远期预后^[4]。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9 (Caspase9) 作为凋亡相关因子,在细胞凋亡过程中发挥至关重要作用,参与调控机体炎症反应^[5]。白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL-10) 作为临床较为常用的炎症因子,是多种感染性炎症疾病病源识别的重要指标^[6]。本研究观察输尿管结石并发感染患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平变化,结果如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取河北医科大学第一医院泌尿外科 2019 年 1 月至 2022 年 1 月收治的 108 例输尿管结石并发感染患者作为观察组,另选取同期 50 例单纯输尿管结石未并发感染患者作为对照组。纳入标准:均经影像学证实为输尿管结石,感染组中段尿细菌培养出致病菌;年龄 >18 岁;均经皮肾镜碎石术后留置双 J 管,并签署本研究知情同意书;排除标准:合并慢性前列腺炎、肾盂肾炎、肾脓肿或细菌性膀胱炎者;伴有血液系统或免疫功能不全等疾病者;合并其他系统急慢性感染性疾病者。

观察组男 68 例,女 40 例,年龄平均(45.16 ± 11.27)岁;对照组男 31 例,女 19 例,年龄平均($46.20 \pm$

10.87)岁。两组年龄、性别等资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),本研究已通过院伦理委员会批准。

1.2 方法

受检者均于清晨抽取 5 mL 空腹肘静脉血,离心半径 13.5 cm,速度 4 000 r/min,时间 10 min,取上层清液贮存于 -70°C 环境下待检。采用酶联免疫吸附法测定 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平,操作严格遵循试剂盒(上海樊克生物科技有限公司)说明书进行。

1.3 观察指标

比较两组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平;以观察组与对照组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平平均值为界分为低水平与高水平患者,分析血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平对输尿管结石患者并发感染危险度的影响;根据患者住院期间是否发生尿源性脓毒症分组,比较发生与未发生尿源性脓症患者术前、术后 1 d、7 d 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平;并评价血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 对输尿管结石并发感染患者尿源性脓毒症的预测价值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较采用方差检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;预测价值采用受试者工作特征 ROC 曲线分析;输尿管结石患者并发感染危险度采用 RR 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平比较

观察组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平较对照组高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表1 两组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum HMGB1, caspase9 and IL-10 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HMGB1 (pg/mL)	Caspase9 (ng/mL)	IL-10 (ng/L)
观察组	108	39.74±9.89	0.64±0.21	77.37±13.65
对照组	50	22.58±7.13	0.37±0.10	30.29±7.42
t 值		11.008	8.638	22.850
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平对输尿管结石患者并发感染危险度的影响

以观察组与对照组血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平平均值(31.16 pg/mL、0.51 ng/mL、53.83 ng/L)为界分为低水平与高水平患者。血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 高水平患者并发感染风险是低水平患者的 4.124, 3.277, 4.001 倍 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 发生与未发生尿源性脓毒症患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平比较

发生与未发生尿源性脓毒症患者术前、术后 1 d 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。术后 7 d, 发生尿源性脓毒症患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平较未发生患者高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 HMGB1、Caspase9、IL-10 对输尿管结石并发感染患者尿源性脓毒症的预测价值

以发生尿源性脓毒症为阳性, 未发生为阴性, 绘制术后 7 d 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平预测输尿管结石并发感染患者尿源性脓毒症的 ROC 曲线, 各指标单独预测 AUC 为 0.815、0.816、0.819, 联合预测 AUC 为 0.916。见表 4、图 1。

表2 血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平对输尿管结石患者并发感染危险度的影响 [$n(\%)$]
Table 2 Effect of serum HMGB1, caspase9 and IL-10 levels on the risk of infection in patients with ureteral calculi [$n(\%)$]

组别	n	HMGB1		Caspase9		IL-10	
		高水平(n=101)	低水平(n=57)	高水平(n=98)	低水平(n=60)	高水平(n=99)	低水平(n=59)
感染组	108	95(87.96)	13(12.04)	91(84.26)	17(15.74)	94(87.04)	14(12.96)
未感染组	50	6(12.00)	44(88.00)	7(14.00)	43(86.00)	5(10.00)	45(90.00)
RR(95% CI)值		4.124(2.552~6.666)		3.277(2.183~4.919)		4.001(2.527~6.337)	
U 值		5.202		4.761		5.238	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	

表4 HMGB1、Caspase9、IL-10 对输尿管结石并发感染患者尿源性脓毒症的预测价值

Table 4 diagnostic value of HMGB1, caspase9 and IL-10 in urinary sepsis in patients with ureteral calculi complicated with infection

指标	AUC	95% CI	Z 统计	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
HMGB1	0.815	0.729-0.883	4.533	39.63 pg/mL	72.22	86.67	<0.001
Caspase9	0.816	0.730-0.884	5.069	0.73 ng/mL	83.33	77.78	<0.001
IL-10	0.819	0.733-0.886	5.089	79.01 μg/L	88.89	68.89	<0.001
联合预测	0.916	0.847-0.961	15.596		94.44	86.67	<0.001

表3 发生与未发生尿源性脓毒症患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum HMGB1, caspase9 and IL-10 levels between patients with and without urogenic sepsis ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	n	术前	术后 1 d	术后 7 d	
HMGB1 (pg/mL)	发生	18	40.12±10.12	47.84±15.31 ^a	49.19±20.14 ^{ab}	
	未发生	90	39.66±9.72	45.69±13.22 ^a	30.27±10.07 ^{ab}	
	t 值		0.182	0.613	5.979	
			P 值	0.856	0.541	<0.001
Caspase9 (ng/mL)	发生	18	0.66±0.15	0.75±0.20 ^a	0.80±0.25 ^{ab}	
	未发生	90	0.64±0.20	0.74±0.18 ^a	0.45±0.13 ^{ab}	
	t 值		0.402	0.211	8.711	
			P 值	0.689	0.833	<0.001
IL-10 (μg/L)	发生	18	78.12±12.15	85.84±13.06 ^a	90.22±12.52 ^{ab}	
	未发生	90	77.22±10.58	83.02±13.25 ^a	50.14±10.26 ^{ab}	
	t 值		0.321	0.826	11.915	
			P 值	0.749	0.411	<0.001

注:与术前比较,^a $P < 0.05$;与术后 1 d 比较,^b $P < 0.05$ 。

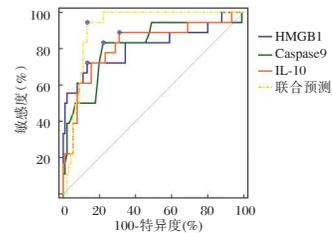


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

作为机体内大量存在的细胞核 DNA 结合蛋白, HMGB1 对细胞及生物体存活发挥着至关重要的作用^[7]。本研究中观察组血清 HMGB1 水平显著高于对照组, 提示 HMGB1 水平升高参与感染发生。在应激或炎症状态下, HMGB1 可由活化炎症

细胞主动释放或损坏、坏细胞被动分泌,空间转移至细胞质及细胞外,激活相关信号转导通路,刺激多种炎症因子释放,参与免疫、感染等过程^[8-9]。进一步研究可见血清 HMGB1 高水平患者并发感染风险是低水平患者的 4.124 倍,提示临床检测血清 HMGB1 水平,可为感染诊断及治疗提供参考依据。HMGB1 在脓毒症诊断及病情评估中的应用价值已经临床研究证实,故本研究分析发生与未发生尿源性脓毒症 HMGB1 水平,发现发生尿源性脓毒症患者 HMGB1 水平明显较高, HMGB1 水平升高与尿源性脓毒症关系密切。

作为内源性凋亡通路中的关键蛋白, Caspase9 位于细胞凋亡信号转导通路级联反应上游,参与细胞凋亡^[10]。一项关于前列腺电切术后感染研究指出,感染可致促凋亡蛋白 Caspase9 显著升高^[11]。本研究中观察组血清 Caspase9 水平明显高于对照组,与上述研究结果一致,且 Caspase9 高水平患者并发感染风险是低水平患者 3.277 倍,充分说明 Caspase9 水平升高参与输尿管结石并发感染发病。进一步研究显示,观察组发生尿源性脓毒症患者血清 Caspase9 水平高于未发生患者,提示 Caspase9 过度激活参与感染病情演变。研究证实,细胞凋亡通路的过度激活与炎症反应密切相关^[12]。持续的炎症反应是病原菌感染致病的基础,病原菌感染宿主细胞后,通过影响 Caspase9 激活,调控宿主细胞凋亡状态,进而促进炎症反应,加剧病情进展。

IL-10 主要作用为控制免疫抑制过程,通过参与抑制淋巴细胞增殖反应,抑制拮抗炎症性细胞^[13-14]。本研究中观察组血清 IL-10 水平明显高于对照组,与周先明等^[15]研究结果一致,且 IL-10 高水平患者并发感染风险是低水平患者 4.001 倍,提示 IL-10 水平升高可能与感染有关。当机体处于感染状态时,体内抗炎介质受促炎因子分泌影响大量释放,IL-10 水平随之升高,且其产生抗炎作用同时,还可抑制机体免疫功能。此外,本研究中观察组发生尿源性脓毒症患者血清 IL-10 水平高于未发生患者,提示血清 IL-10 水平上调与感染患者预后有关。分析原因,可能是由于随输尿管结石并发感染,患者病情加剧,机体受到感染等应激持续刺激,大量炎性介质释放,致使机体失控性全身炎症反应及免疫功能障碍严重,增加尿源性脓毒症发生风险。

本研究结果说明随感染性疾病病情恶化, HMGB1、Caspase9、IL-10 均呈渐进性升高趋势。绘制 ROC 曲线,发现 HMGB1、Caspase9、IL-10 联合预测尿源性脓毒症的 AUC 为 0.916,较各指标单独预测效能高。分析原因,可能是由于 Caspase9 通过细胞凋亡途径调控机体炎症反应,促使机体 HMGB1 等促炎因子释放,大量炎症介质过度释放,导致极易促炎/抗炎失衡,随之引起抗炎介质反馈性分泌,IL-10 水平随之升高,三者之间存在一定的相关性,故联合预测效能更高。

综上所述,输尿管结石并发感染患者血清 HMGB1、Caspase9、IL-10 水平升高,且随感染加剧、病情恶化其水平呈渐进性升高趋势,临床检测其水平,有助于预测感染及尿源性脓毒症风险。

参考文献

- [1] 向景,刘宗来,高小瞻,等. 输尿管镜联合肾穿刺引流术治疗输尿管结石伴尿脓毒症临床研究[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(8): 945-948.
- [2] 张勇辉,汪清,李晓铭,等. 双J管留置时间对输尿管结石合并感染患者疗效的影响[J]. 临床医学工程, 2021, 28(12): 1603-1604.
- [3] 王安莲,武霞,胡世松,等. 微通道经皮肾造瘘外引流与输尿管支架置入内引流治疗输尿管结石急性梗阻致严重感染脓毒血症的疗效比较[J]. 吉林医学, 2021, 42(2): 270-272.
- [4] 王一迪,韩毅,李占峰,等. UFP-101 对脓毒症大鼠心功能及心脏 HMGB1、TLR-4 蛋白表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(23): 5022-5026.
- [5] 蒋文,杨亚东. 心型脂肪酸结合蛋白对脓毒症血管内皮细胞损伤的影响[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(9): 1723-1727.
- [6] Golebski K, Layhadi JA, Sahiner U, et al. Induction of IL-10-producing type 2 innate lymphoid cells by allergen immunotherapy is associated with clinical response [J]. *Immunity*, 2021, 54(2): 291-307.
- [7] Lasky JA, Fuloria J, Morrison ME, et al. Design and Rationale of a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 2/3 Study Evaluating Dociparstat in Acute Lung Injury Associated with Severe COVID-19 [J]. *Adv Ther*, 2021, 38(1): 782-791.
- [8] Shan H, Zhang X, Lin ZM, et al. Effects of mild hypothermia on serum HMGB1 of brain-dead donors and its impact on kidney transplantation recipients [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(22): e20425.
- [9] 马欢欢,李元垒,付云,等. HMGB-1、S100B 与 RAGE 对创伤性颅脑损伤术后颅内感染的诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(2): 201-204+209.

(下转第 1393 页)

IMA、LP-a与Stanford A型主动脉夹层动脉瘤术预后的关系

刘建华^{1*} 蒋伟¹ 闫小清¹ 武刚²

[摘要] 目的 探讨缺血修饰白蛋白(IMA)、血清脂蛋白-a(LP-a)与Stanford A型主动脉夹层动脉瘤(SAAD)患者术后预后的相关性。方法 对河南省胸科医院2019年1至12月326例接受主动脉手术的SAAD患者进行分析。术后对SAAD患者随访2年,根据随访期间全因死亡概率分为存活组276例和死亡组50例,比较两组患者临床资料及血清IMA、LP-a水平差异。采用多因素Logistic回归模型分析SAAD患者术后预后不良危险因素。进行受试者操作特征(ROC)分析,评估血清IMA、LP-a对预后的预测价值。结果 与存活组相比,死亡组的血清IMA、LP-a水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。年龄($OR=2.825, P=0.009$),术前肾灌注不良($OR=4.162, P=0.012$),D-二聚体($OR=6.206, P=0.002$)、血清IMA水平($OR=3.112, P<0.001$)、血清LP-a水平($OR=5.412, P=0.005$)为SAAD患者住院死亡的独立危险因素。当血清IMA最佳截断值为76.78 kU/L时,诊断SAAD术后发生全因死亡AUC为0.754(95% CI 0.612~0.831),灵敏度为61.32%,特异性84.51%;血清LP-a水平最佳截断值为118.52 mmol/L,血清LP-a诊断SAAD术后发生全因死亡的AUC为0.747(95% CI 0.679~0.813),灵敏度为62.35%,特异性82.17%。两者联合诊断SAAD术后发生全因死亡的AUC为0.892(95% CI 0.847~0.927),灵敏度为86.74%,特异性80.02%。结论 血清IMA、LP-a水平升高与SAAD患者术后死亡具有明显正相关性,今后可考虑将其作为预后的独立预测标志物。

[关键词] 主动脉夹层; 缺血修饰白蛋白; 血清脂蛋白-a; 动脉瘤

The relationship between IMA, lp-a and prognosis of Stanford type A aortic dissection aneurysm

LIU Jianhua^{1*}, JIANG Wei¹, YAN Xiaoqing¹, WU Gang²

(1. The Second Department of Extracorporeal Circulation, Henan Chest Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450008; 2. Department of Cardiac Surgery, Henan Chest Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450008)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between ischemia modified albumin (IMA), serum lipoprotein-a (lp-a) and the prognosis of patients with Stanford type A aortic dissecting aneurysm (Saad). **Methods** 326 Saad patients who underwent continuous aortic surgery from January to December 2019 were analyzed. The patients with Saad were followed up for 2 years. According to the probability of all-cause death during the follow-up period, they were divided into 276 cases in the survival group and 50 cases in the death group. The clinical data and serum IMA and lp-a levels of the two groups were compared. Multivariate logistic regression model was used to analyze the risk factors of poor prognosis in Saad patients. The subjects' operating characteristics (ROC) were analyzed to evaluate the prognostic value of serum IMA and lp-a. **Results** Compared with the survival group, the levels of serum IMA and lp-a in the death group increased ($P<0.05$). Age ($OR=2.825, P=0.009$), poor preoperative renal perfusion ($OR=4.162, P=0.012$), D-Dimer

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目和软科学项目(LHGJ20210239)

作者单位:1.河南省胸科医院体外循环二科,河南,郑州 450008

2.河南省胸科医院心外科,河南,郑州 450008

*通信作者:刘建华, E-mail:ljhbyq123@126.com

(OR=6.206, $P=0.002$), serum IMA level (OR=3.112, $P<0.001$), serum lp-a level (OR=5.412, $P=0.005$) were identified as independent risk factors for in-hospital death in Saad patients. When the optimal cutoff value of serum IMA was 76.78 Ku/L, the AUC of diagnosis of all-cause death after Saad was 0.754 (95% CI 0.612-0.831), the sensitivity was 61.32%, and the specificity was 84.51%; The optimal cutoff value of serum lp-a level was 118.52 mmol/L. the AUC of serum lp-a in diagnosing all-cause death after Saad was 0.747 (95% CI 0.679-0.813), the sensitivity was 62.35%, and the specificity was 82.17%. The AUC of all-cause death after Saad was 0.892 (95% CI 0.847-0.927), the sensitivity was 86.74%, and the specificity was 80.02%. **Conclusion** The increase of serum IMA and lp-a levels has a significant positive correlation with the long-term death of Saad patients, which can be considered as an independent prognostic marker in the future

[KEY WORDS] Aortic dissection; Ischemia modified albumin; Serum lipoprotein-a; Aneurysm

Stanford A型主动脉夹层动脉瘤(Stanford type A aortic dissection aneurysm, SAAD)是一种凶险的心血管疾病,起病急,病情复杂^[1]。该类型患者临床表现为胸背部撕裂样疼痛,或伴呼吸急促、呼吸困难,若不及时治疗可出现头晕、昏迷、心力衰竭等病症,严重者可导致死亡^[2]。临床对于SAAD主要采用外科手术治疗,尽管SAAD治疗技术在逐渐改进,手术成功率较高,但术后住院死亡率仍高达22%^[3]。此外,SAAD是一种累及整个主动脉及其分支的进行性疾病,即使在急性指数事件术后仍处于高风险状态。SAAD的临床预后结果差异很大,准确的风险分层会进一步影响到治疗决策(例如,手术类型的选择)和出院后药物治疗,及时识别高危患者将有助于改善SAAD整体预后。因此,早期诊断、准确风险分层对评估SAAD术后预后有一定价值。本研究抽选326例主动脉手术的SAAD,探讨缺血修饰白蛋白(Ischemia modified albumin; IMA)、血清脂蛋白-a(Serum lipoprotein-a, LP-a)与SAAD患者术后预后的相关性。

1 资料与方法

1.1 对象

选取2019年1至12月326例于河南省胸科医院实施主动脉手术的SAAD患者进行研究。纳入标准如下:①所有患者均行心脏相关影像学检查,并经检查结果分析诊断为SAAD;依据诊断标准^[4-5],A型急性主动脉夹层经胸超声心动图和计算机断层扫描(CT)的形态学确诊,患者出现严重的胸痛、放射至颈部或肩背痛等临床症状;②所有患者术前肾生理结构正常,无任何器质性异常;③深入肾动脉内部的假腔无破口,肾动脉均由真腔供血。排除标准:①手术过程中死亡的患者;②合并精神类疾病患者;③临床资料不完整患

者。④肿瘤、自身免疫性疾病、传染病、全身炎症性疾病或手术史;并存在慢性主动脉夹层。⑤术前存在慢性肾功能不全的患者。本研究经院伦理委员会批准,患者或家属已签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 数据收集

入院时获取患者基本医疗信息,例如一般病史[性别、年龄、体重指数(BMI)、吸烟史、高血压、糖尿病、CKD、既往主动脉支架植入术、既往心脏手术史等]和实验室测试(尿素、白细胞、葡萄糖、甘油三酯、胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、纤维蛋白原、D-二聚体、hs-CRP、同型半胱氨酸、心肌肌钙蛋白、Lp(a)、IMA等)。发病至手术时间、收缩压、舒张压、心率、升主动脉直径、器官缺血情况、主动脉置手术类型、手术时间等。

1.2.2 实验室检测

所有患者禁食约12 h后,清晨抽取患者肘部空腹静脉血2 mL,并在1小时内室温下以3 500 r/min离心10 min(离心半径10 cm),获取血清,血清分为2份。1份采取罗氏全自动生化分析仪检测血清学相关指标。另一份在-80℃冰箱里存储待检,用于集中测量IMA和LP-PLA2水平,采用ELISA法检测血清Lp-PLA2,试剂盒购于北京九强生物技术公司。

1.2.3 研究终点

所有受试者均行CTA检测主动脉夹层,术前肾灌注不良由CTA明确诊断,观察患者肾动脉受夹层累及,患者入院后随访至2年,随访截止日期2021年12月1日。病史和死亡结局等临床资料均从医院病史记录和患者电话访谈资料中收集。住院并发症包括急性肾功能衰竭、急性肢体缺血、低血压、低氧血症、心肌缺血性梗死、意识障碍、心包填塞和截瘫。

1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0统计软件进行统计学分析,计

量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验,计数资料用 [*n*(%)]表示,采用 χ^2 检验。采用多因素 Logistic 回归模型分析每个因子的风险比和置信区间(95% CI),以确定全因死亡率的独立预测因子。*P*<0.05 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 SAAD 患者的临床特征

与存活组相比,死亡组的血清 IMA、LP-a 水平显著升高(*P*<0.05)。死亡组年龄均偏大(*P*<

0.05)。死亡组中术前急性肾功能不全(定义为 eGFR< 60 mL/min/m²)的发生率显著高于生存组(*P*<0.05)。血清 D-二聚体、同型半胱氨酸、hs-CRP、心肌肌钙蛋白、尿素浓度在死亡组中显著高于存活组(*P*<0.05)。纤维蛋白原在死亡组中显著降低(*P*<0.05)。存活组高血压(36.2%)、术前肾灌注不良比率(8.7%)低于死亡组(66.0%、38.0%)(*P*<0.05)。手术时间、CPB 时间、ACC 时间、HCA 时间在死亡组中均较长(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 SAAD 患者的临床特征 [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]
Table 1 clinical characteristics of Saad patients [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

项目	变量	存活组(<i>n</i> =276)	死亡组(<i>n</i> =50)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值	
人口特征	年龄(岁)	49.2±6.4	55.8±6.3	6.725	0.000	
	男	232(84.1)	39(78.0)	1.108	0.293	
	女	44(15.9)	11(22.0)			
病史	高血压	100(36.2)	33(66.0)	15.531	0.000	
	糖尿病	15(5.4)	1(2.0)	1.070	0.301	
	CKD	25(9.1)	1(2.0)	2.873	0.090	
	既往主动脉支架植入术	28(10.1)	1(2.0)	3.465	0.063	
	既往心脏手术史	9(3.3)	1(2.0)	0.226	0.634	
临床表现	吸烟者	104(37.7)	16(32.0)	0.587	0.443	
	发病至手术时间(h)	8.5±3.2	8.7±3.4	0.403	0.687	
	收缩压(mmHg)	125.5±10.8	126.1±12.4	0.353	0.724	
	舒张压(mmHg)	72.6±9.4	71.9±10.1	0.478	0.632	
	心率(次/min)	80.5±3.2	79.8±3.3	1.417	0.158	
	升主动脉直径(mm)	42.8±1.5	43.1±1.7		0.204	
	术前肾灌注不良率(%)	24(8.7)	19(38.0)	31.747	0.000	
	体质量指数(kg/m ²)	28.2±4.7	27.9±5.1		0.682	
	入院时实验室检查	尿素(中位数, IQR)(mmol/L)	6.6±1.3	7.19±1.2	2.986	0.003
		白细胞(中位数, IQR)(10 ⁹ /L)	13.9±0.9	14.0±0.8	0.735	0.463
葡萄糖(中位数, IQR)(mmol/L)		5.6±1.5	6.2±1.7	2.548	0.011	
甘油三酯(中位数, IQR)(mmol/L)		1.6±0.7	1.7±0.8	0.909	0.364	
胆固醇(中位数, IQR)(mmol/L)		4.4±1.3	4.6±1.2	1.012	0.312	
高密度脂蛋白(中位数, IQR)(mmol/L)		1.2±0.4	1.1±0.4	1.627	0.105	
低密度脂蛋白(中位数, IQR, mmol/L)		3.4±0.6	3.3±0.7	1.056	0.292	
纤维蛋白原(中位数, IQR)(g/L)		3.5±0.9	3.1±0.8	2.939	0.004	
D-二聚体(中位数, IQR)(mg/L)		245.7±78.2	313.8±80.2	5.634	0.000	
hs-CRP(中位数, IQR)(mg/dL)		1.13±0.9	2.16±0.9	7.446	0.000	
同型半胱氨酸(中位数, IQR)(mmol/L)		11.5±2.7	15.6±2.5	9.988	0.000	
器官缺血	心肌肌钙蛋白(μg/L)	2.13±0.9	3.16±0.9	7.446	0.000	
	脑缺血	24(8.7)	2(4.0)	1.272	0.259	
	冠状动脉受累	91(33.0)	15(30.0)	0.170	0.680	
	下肢缺血	104(37.7)	17(34.0)	0.246	0.620	
	eGFR< 60ml/min/m ²	25(9.1)	29(58.0)	73.367	0.000	
主动脉置手术类型	全弓置换术	184(66.7)	35(70.0)	0.213	0.754	
	半弓置换术	83(30.1)	13(26.0)	0.338	0.561	
	升主动脉置换术	40(14.5)	8(16.0)	0.077	0.782	
	手术时间(min)	406.78±89.3	540.7±92.3	9.707	0.000	
	CPB 时间(min)	195.6±76.4	238.3±81.2	3.601	0.000	
	ACC 时间(min)	141.7±54.2	166.5±55.8	2.964	0.000	
	HCA 时间(min)	20.7±5.2	36.8±5.1	20.203	0.000	
	Lp(a)(mmol/L)	89.49±32.17	121.49±30.12	6.535	0.000	
	IMA(kU/L)	63.16±8.09	89.25±8.11	20.975	0.000	

2.2 主动脉夹层术预后不良的影响因素 Logistic 回归模型分析

随访2年,根据随访期间全因死亡概率分为存活组276例和死亡组50例。以主动脉夹层术后是否全因死亡为因变量,将单因素中 $P < 0.05$ 因素为自变量,绘制ROC曲线,以各指标最大约登指数得出血清IMA、LP-a水平的最佳分界值(分别为:76.78 kU/L、118.52 mmol/L)。见图1。多因素分析结果显示,年龄、术前肾灌注不良、D-二聚体、血清IMA水平、血清LP-a水平为SAAD患者住院死亡的独立危险因素。见表2。

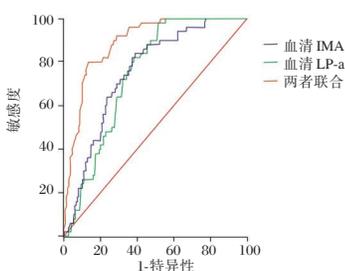


图1 血清IMA、LP-a水平诊断SAAD术后发生全因死亡的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of serum IMA and lp-a levels in the diagnosis of all-cause death after Saad

表2 主动脉夹层术预后不良的影响因素 Logistic 回归模型分析

Table 2 logistic regression analysis of factors affecting the poor prognosis of aortic dissection

项目	β 值	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	P值
年龄	1.075	8.175	2.825	1.016~6.382	0.009
D-二聚体	1.881	7.973	6.206	4.172~9.310	0.002
术前肾灌注不良	1.937	12.693	4.162	3.017~6.325	0.012
血清IMA水平	1.917	11.201	3.112	2.002~5.233	<0.001
血清LP-a水平	1.876	8.256	5.412	3.189~7.567	0.005

2.3 血清IMA、LP-a水平最佳截断值

当血清IMA最佳截断值为76.78 kU/L时,诊断SAAD术后发生全因死亡AUC为0.754(95% CI 0.612~0.831),灵敏度为61.32%,特异性84.51%;血清LP-a水平最佳截断值为118.52 mmol/L,血清LP-a诊断SAAD术后发生全因死亡的AUC为0.747(95% CI 0.679~0.813),灵敏度为62.35%,特异性82.17%。两者联合诊断SAAD术后发生全因死亡的AUC为0.892(95% CI 0.847~0.927),灵敏度为86.74%,特异性80.02%。见表3。

表3 血清IMA、LP-a水平最佳截断值

Table 3 optimal cutoff values of serum IMA and lp-a levels

项目	AUC	95% CI	P值	灵敏度(%)	特异性(%)
血清IMA诊断	0.754	0.612~0.831	<0.001	61.32	84.51
血清LP-a诊断	0.747	0.679~0.813	<0.001	62.35	82.17
两者联合	0.892	0.847~0.927	<0.001	86.74	80.02

3 讨论

尽管早期诊断和及时的外科手术可降低发病时的死亡风险,但由于Stanford A型主动脉夹层动脉瘤病情危重,手术操作复杂,以致该类型患者在接受手术后仍存在较高的病死率^[6-7]。因此,了解影响患者术后发生死亡的危险因素,并给予及时有效的干预,对降低其术后病死率具有重要意义。尽管大量研究已经证明了生物标志物在预测SAAD中的作用,但缺乏对多标志物(如心电图、影像和实验室预后指标)的系统研究,以预测SAAD术后死亡的危险性^[8]。本研究检查了SAAD患者术后死亡与各指标之间的关系,结果表明,血清D-二聚体、血清IMA水平、血清LP-a增高及术前肾灌注不良可增加SAAD术后全因死亡风险,提示在临床中应注意监测SAAD患者血清血清D-二聚体、血清IMA水平、血清LP-a水平,观察术前肾灌注情况,及时处理,以改善患者预后。值得注意的是,在SAAD患者中,D-二聚体并不总是升高,因此,D-二聚体可能不能作为潜在SAAD术后预后的生物标志物,建议今后进一步研究SAAD患者中D-二聚体浓度变化,以明确其预后预测价值。

缺血修饰白蛋白(ischemia modified albumin, IMA)在急性冠脉综合征(Acute coronary syndrome, ACS)、经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术后和缺血性心脏病等缺血性疾病或者手术中均可见。IMA因局部血流减少促使该区域内ROS活化,ROS可对白蛋白的N端部分进行修饰,导致IMA大量生成,因此血清中IMA水平的改变可作为预测缺血性损伤的标志物^[9]。Manini等^[10]研究证明,以75 U/mL作为IMA血清水平的临界值时,IMA预测心脏不良事件的敏感性为80%;进一步研究发现,将IMA联合肌钙蛋白I(Troponin I, TnI)共同预测心脏不良事件,其敏感性提升,说明两者联合预测比单独检测IMA在预测心脏不良事件中的意义更大。Lp-a是一种特殊脂蛋白,由肝脏合成,但Lp-a在体内的浓

度保持在一定范围不变化,且不受吸烟、脂代谢、年龄、糖代谢等因素的影响^[11-12]。目前大量研究表明,冠心病与Lp-a存在一定的相关性,其浓度的升高可促使冠状动脉粥样硬化,因此Lp-a能用于预测急性心肌梗死,同时其被列为冠心病的一个独立危险因素^[13-14]。近年研究^[15]发现,SAAD患者血清脂蛋白-a水平明显增高,提示脂蛋白-a与SAAD发生可能相关。本研究结果显示,血清IMA诊断SAAD术后发生全因死亡的灵敏度为61.32%,特异性84.51%;血清LP-a水平诊断SAAD术后发生全因死亡的灵敏度为62.35%,特异性82.17%。两者联合诊断SAAD术后发生全因死亡的灵敏度为86.74%,特异性80.02%。AUC值越接近于1,指标诊断准确性越高。本研究血清IMA、LP-a水平诊断SAAD术后发生全因死亡的AUC均>0.74,说明此两项指标及联合诊断在评价SAAD术后发生全因死亡时均有较高准确性。

综上所述,血清IMA、LP-a水平升高与SAAD患者术后死亡具有明显正相关性,今后考虑可将其作为预后的独立预测标志物。

参考文献

- [1] 钱琦,姜海,郭守玉,等.血清脂蛋白(a)与冠心病的关系[J].中国循证心血管医学杂志,2016,8(10):1201-1203.
- [2] 陈晓锋,唐礼江,郑文远,等.血清脂蛋白-a水平与急性主动脉夹层关系探讨[J].心脑血管病防治,2005,5(2):23-25.
- [3] 刘亚东,王海晶,王丽萍,等.脂蛋白相关磷脂酶A2、同型半胱氨酸和高密度脂蛋白胆固醇及D-二聚体检测对冠状动脉粥样硬化斑块预测价值[J].岭南心血管病杂志,2020,26(1):17-21+29.
- [4] 中国医师协会心血管外科分会大血管外科专业委员会.主动脉夹层诊断与治疗规范中国专家共识[J].中华胸心血管外科杂志,2017,33(11):14.
- [5] 施蓉蓉,汪占华.脂蛋白相关磷脂酶A2和小而密低密度脂蛋白胆固醇联合检测在冠心病患者诊断中的临床价值评价[J].国际检验医学杂志,2018,39(12):1421-1424,1428.
- [6] 刘刚.体外检测血清脂蛋白相关磷脂酶A2与冠心病患者其他指标的相关性[J].中国医疗器械信息,2018,24(12):27-28.
- [7] 刘玉婷,陈海瑞,尚飞,等.河南省中牟县35~75岁居民心血管病高危现状及影响因素[J].华南预防医学,2021,47(12):1501-1505.
- [8] 向军,李东林,何玲,等.缺血修饰白蛋白对急性主动脉夹层患者院内死亡的预测价值[J].中华医学杂志,2022,102(1):62-66.
- [9] 刘毓刚,肖毅,沈金兰,等.血清肌钙蛋白I和缺血修饰白蛋白在急性冠状动脉综合征早期诊断及预后评估中的价值[J].标记免疫分析与临床,2015,22(10):960-963.
- [10] Manini AF, Ilgen J, Noble VE, et al. Derivation and validation of asensitive IMA cutpoint to predict cardiac events in patients with chest pain [J]. Emerg Med J, 2009, 26 (11) : 791796.
- [11] Wannamethee SG, Papacosta O, Lennon L, et al. Serum uric acid as a potential marker for heart failure risk in men on anti-hypertensive treatment: the British regional heart study [J]. Int J Cardiol, 2018, 252: 187-92.
- [12] 于鑫溢. Stanford A型主动脉夹层术后院内死亡的术前危险因素分析及预测模型构建[D]. 郑州大学, 2020.
- [13] 皮红泉,李德华,卢盛祥,等.心脏型脂肪酸结合蛋白和D-二聚体及高敏肌钙蛋白T在急性冠状动脉综合征早期诊断中的应用[J].分子诊断与治疗杂志,2016,8(3):182-187.
- [14] 夏健明.主动脉夹层肺损伤危险因素分析与外周血标志物筛查的实验研究[D].昆明医科大学,2013.
- [15] Liu J, Sun LL, Wang J, et al. The relationship between fibrinogen and in-hospital mortality in patients with type a acute aortic dissection [J]. Am J Emerg Med, 2018, 36(5): 741-744.

(上接第1388页)

- [10] 臧燕伟,姚明言,史鹏鹏.合并2型糖尿病对椎间盘退变患者血清半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶9、B细胞淋巴瘤2表达水平的影响及其临床意义[J].广西医学,2021,43(6):685-689.
- [11] 沈仕兴,欧善际.前列腺电切术后感染病原菌分布及对细胞凋亡蛋白的影响[J].中国病原生物学杂志,2018,13(1):86-88+105.
- [12] 李珂,李娟,杨金煜,等.美沙拉嗪通过调节钙粘蛋白11对克罗恩大鼠肠上皮细胞凋亡和炎症反应的影响[J].中国临床药理学杂志,2021,37(20):2838-2841+2846.
- [13] 王军锋.血清IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 检测结果对预防儿童肺炎支原体肺炎的临床意义[J].华南预防医学,2017,43(1):83-85.
- [14] Kang MG, Han SW, Kang HR, et al. Probiotic NVP-1703 Alleviates Allergic Rhinitis by Inducing IL-10 Expression: A Four-week Clinical Trial [J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1427.
- [15] 周先明,疏仁义,李建.血清炎症指标对老年BPH患者术后尿路感染的预测价值[J].中国老年学杂志,2021,41(15):3227-3230.

EGFR 罕见突变致奥希替尼耐药的晚期肺腺癌 1 例并文献复习

焦赵爽¹ 张寒菲² 郑大鹏³ 王萍^{1*}

[摘要] **目的** 探索二代测序 (NGS) 技术在监测罕见耐药位点并指导晚期肺腺癌患者治疗中的应用。**方法** 选取 2016 年 9 月来中南医院就诊的 1 例晚期肺腺癌患者,采用 NGS 技术监测该患者二线奥希替尼治疗进展后基因突变情况,分析病例资料回顾治疗过程,并对现有的相关文献进行复习总结。**结果** 本例晚期肺腺癌患者初诊时携带 *EGFR*-L858R 敏感突变,一线吉非替尼靶向治疗后继发 T790M 突变。经奥希替尼靶向治疗再次进展后行 NGS 检测,首次发现罕见的 *EGFR* T790M-G796S-L858R 和 T790M-G796del-L858R 双克隆复合耐药突变,治疗方案调整为双药化疗+贝伐单抗,患者目前病情稳定。**结论** 奥希替尼耐药机制多样,临床处理困难,再次活检、重复血液基因分子分型是了解耐药机制及指导后续治疗的关键,而 NGS 技术因其独特的优势在晚期肺腺癌患者耐药监测及全程管理中起着重要作用。

[关键词] 肺腺癌;二代测序;奥希替尼;顺式突变;贝伐单抗

Osimertinib-resistant advanced lung adenocarcinoma caused by rare EGFR mutation : a case report and literature review

JIAO Zhaoshuang¹, ZHANG Hanfei², ZHENG Dapeng³, WANG Ping^{1*}

(1. Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. Department of Radiology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 3. Department of Radiation and Medical Oncology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objection** To explore the application of NGS technology in monitoring rare resistance mutation and guiding the treatment of advanced NSCLC patient. **Method** A patient with advanced lung adenocarcinoma who came to Zhongnan Hospital in September 2016 was selected. NGS technology was used to monitor the gene mutation status of the patient after the second line osimertinib treatment progress. The case data was analyzed to review the treatment process, and the existing relevant literature Review summary. **Result** The patient was initially diagnosed as advanced NSCLC with *EGFR*-L858R sensitive mutation. After first line gefitinib targeted treatment, she was detected with secondary T790M mutation from cfDNA in plasma. NGS detection was performed after progression again, finding a rare *EGFR* T790M-G796S-L858R and T790M-G796del-L858R double clone resistance mutations for the first time. The treatment scheme was adjusted to dual-drug chemotherapy + bevacizumab, and she is now in stable condition. **Conclusion** The resistance mechanism of Osimertinib is diverse and the clinical treatment is difficult. Secondary biopsy and repeated blood molecular typing are the key to understand the resistance mechanism and guide the follow-up treatment. Because of its unique advantages, NGS technology plays an important role in resistance monitoring and whole process management of patients with advanced lung adenocarcinoma.

[KEY WORDS] NSCLC; NGS; Osimertinib; Cis mutation; Bevacizumab

作者单位:1. 武汉大学中南医院病理科,湖北,武汉 430071

2. 武汉大学中南医院放射科,湖北,武汉 430071

3. 武汉大学中南医院肿瘤放疗中心,湖北,武汉 430071

*通信作者:王萍, E-mail:wangp0816@163.com

在我国肺癌的发病率和死亡率仍居各类恶性肿瘤之首。晚期非小细胞肺癌(Non-small-cell Lung Cancer, NSCLC)患者中,表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor, *EGFR*)的突变率高,占40%~55%(其中约90%为19DEL或L858R)^[1];与传统的化疗相比,酪氨酸激酶抑制剂(Tyrosine kinase inhibitor, TKI)介导的靶向治疗显著延长携带*EGFR*敏感突变的晚期NSCLC患者的生存期,同时其生存率和生活质量也得到了极大的改善。*EGFR*-L858R突变的晚期NSCLC患者使用第一代*EGFR*-TKI治疗后疾病进展,出现继发T790M突变主要续贯口服第三代TKI奥希替尼^[2],但仍不可避免地会产生获得性耐药。二线奥希替尼治疗后进展的耐药机制有多种,分*EGFR*依赖性和非依赖性,已知的主要包括*EGFR*修饰(突变/扩增),旁路途径激活,下游途径激活,上皮-间质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT),组织学转化,致癌基因融合等,因此再次活检、重复血液基因分子分型及基于二代测序(Next Generation Sequencing, NGS)的检测平台是关键。目前,服用奥希替尼进展后最常见的耐药位点为C797S突变(约占14%)^[3],也是研究者们关注的热点^[4-7],然而与C797S位点相邻*EGFR*-G796S突变却鲜有报道。本研究首次观察到二线奥希替尼耐药后出现*EGFR* T790M-G796S-L858R和T790M-G796del-L858R双克隆三重(顺式)复合耐药突变的晚期肺腺癌患者1例,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 病例来源

选取2016年9月中南医院就诊并确诊为晚期肺腺癌的患者1例。该患者为女性,年龄68岁,住院期间进行了肺癌相关的基因检测及靶向治疗,且诊疗经过资料完整。

1.2 试剂与仪器

人类*EGFR*突变检测试剂盒、人类*EGFR*突变检测试剂盒(多重荧光PCR法)、FFPE核酸提取试剂盒及游离DNA提取试剂盒(厦门艾德生物科技有限公司,中国福建),人类*EGFR*、*KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA*、*ALK*、*ROS1*基因突变检测试剂盒及配套分析软件(北京诺禾致源科技股份有限公司,中国北京)。TTF-1、Ki-67、*ALK*、Ber-EP4、CD147、CK20、CK5/6、CK7、MOC31、NapsinA、P63、VILLIN鼠抗人单克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公

司,中国北京),PD-L1抗体(22C3, Merck & Co., Inc., 美国)。全自动免疫组化染色仪(Leica BOND-Max, Leica公司,德国),全自动免疫组化染色仪(DAKO Link 48平台, Agilent公司, 美国),荧光定量PCR仪(Mx3000p, Agilent公司, 美国),DA8600基因测序仪(广州达安基因股份有限公司, 广州)。

1.3 检测方法

1.3.1 病理诊断

本例患者初次及二次活检标本均采用10%的中性福尔马林固定,石蜡包埋并常规HE染色制片,采用全自动免疫组化染色仪进行免疫组织化学染色,病理诊断及免疫组化结果判读均由病理科高年资的诊断医师完成。

1.3.2 ARMS-PCR检测

采用ARMS-PCR检测试剂盒(人类*EGFR*突变检测试剂盒)对组织样本进行*EGFR*突变检测,采用Super ARMS-PCR检测试剂盒(人类*EGFR*突变检测试剂盒(多重荧光PCR法))对血液样本cfDNA进行*EGFR*突变检测,实验操作严格按照说明书进行,FFPE核酸提取试剂盒及游离DNA提取试剂盒均由艾德公司配套提供,上机检测于荧光定量PCR仪上完成。检测覆盖*EGFR*基因18、19、20、21号外显子,包括19del、L858R等*EGFR*-TKI敏感位点,以及T790M、20INS等耐药位点。

1.3.3 高通量测序

采用高通量测序试剂盒(人类*EGFR*、*KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA*、*ALK*、*ROS1*基因突变检测试剂盒)对组织样本进行二代测序文库构建及富集,实验操作严格按照说明书进行,上机检测于DA8600基因测序仪上完成,检测覆盖*EGFR*、*KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA*、*ALK*、*ROS1*、*NRAS*、*TP53*、*MET*、*RET*、*NTRK1*等26基因panel,突变类型涵盖点突变、插入/缺失、基因融合、拷贝数变异等,有效测序深度大于3000X。数据分析由配套分析及诺禾致源公司生信团队辅助完成。

2 结果

2.1 临床资料

女性患者,68岁,无烟酒嗜好,因“咳嗽5天咯血半天”于2016年9月28日来中南医院就诊;入院后完善相关辅助检查,胸部CT示:右肺门结节,见图2;PET-CT示:右肺门结节,胸膜多发结节,右侧肾上腺转移。经皮肺穿刺活检结果示(图1):

1. 腺癌(中等分化),部分呈粘液腺癌图像; 2. 免疫组化结果:ALK (lung) (-), Ber-EP4 (+), CD147 (-), CK20 (-), CK5/6 (-), CK7 (-), Ki-67 (+, 30%), MOC31 (+), NapsinA (+), P63 (-), TTF-1 (+), VILLIN (-)。诊断为右肺腺癌伴纵膈淋巴结转移、双侧肾上腺转移 T3N2M1 IV期。于中南医院病理科行 *EGFR* 基因检测 (ARMS-PCR 平台), 结果提示 *EGFR* 21 号外显子检测出 L858R 突变, 见图 3 A。

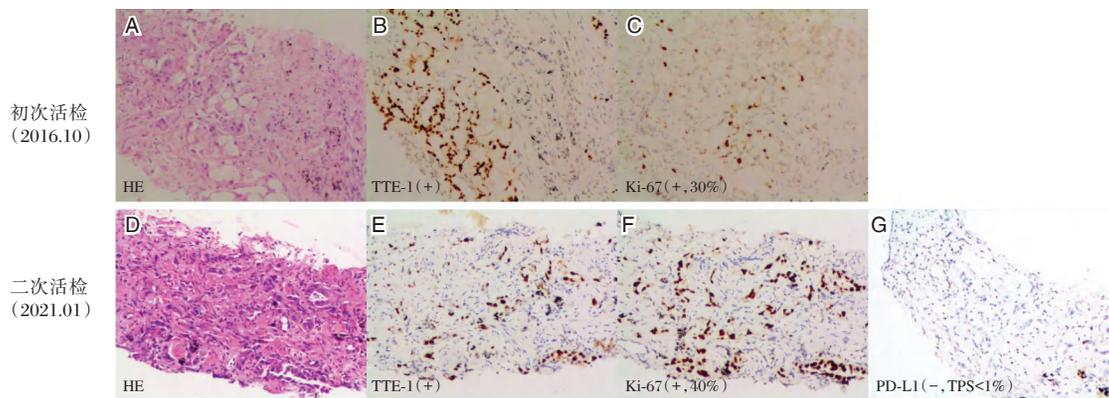
2.2 治疗经过

患者于 2016 年 10 月行吉非替尼 (250 mg, po, qd) 靶向治疗, 期间中南医院复查 CT 均示病情稳定, 治疗 17 个月后, 于 2018 年 4 月本院门诊 CT 示: 右肺中叶结节较前稍增大, 纵膈淋巴结及双侧肾上腺结节较前无明显变化。提示病情进展, 于 2018 年 5 月行右肺放疗 SBRT (50 Gy/5 F), 同时继续原吉非替尼靶向治疗, 患者一般情况较好。

于 2019 年 8 月因“间断右侧腰部绞痛 4 天余”

再次入院, 中南医院胸部、全腹部 CT 平扫示: 右肺肿块较前进展, 双肺弥漫性小结节, 考虑肺内转移; 双侧肾上腺结节。给予抗感染、化痰、解痉等对症治疗, 患者腰部疼痛完全缓解。考虑到该患者肺肿瘤一线靶向治疗后进展, 且近期咳嗽、咳痰明显不宜立即手术, 遂于本院病理科行血液 cfDNA *EGFR* 基因检测, 结果示 *EGFR* T790M-L858R 突变, 见图 3B, 于 2019 年 9 月开始改为口服奥希替尼 (80 mg, po, qd) 靶向治疗, 治疗期间病情稳定。

于 2021 年 1 月复查 CT 示: 右肺门肿块较前明显增大提示病情进展。再次经皮肺穿刺活检结果 (图 1) 示腺癌, 免疫组化: PD-L1 (阴性, TPS<1%), 检测平台: DAKO Link 48, 22C3。肺癌 26 基因 NGS 检测结果示 (图 3C): *EGFR* 21 号外显子 L858R 突变 (丰度 85.93%), 20 号外显子 T790M 突变 (丰度 85.69%), 20 号外显子 G796S 突变 (丰度 58.12%), 20 号外显子 G796del 缺失突变 (丰度



注: A、D 为初次及二次活检病理诊断为肺腺癌 (HE × 200); B、E 为 TTF-1 示肿瘤细胞核强阳性 (IHC × 200); C、F 为 Ki-67 示初次及二次活检分别为 30%、40% 强阳性 (IHC × 200); G 为 PD-L1 示肿瘤细胞不表达 (TPS 评分 < 1%) (IHC × 200)。

图 1 初诊及再次肺穿刺活检病理学诊断

Figure 1 Pathological diagnosis of lung biopsy at the first time and again

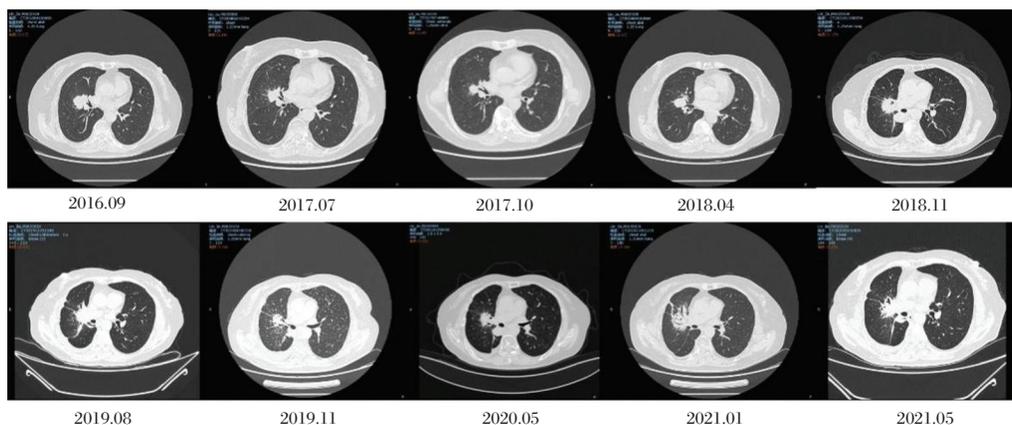
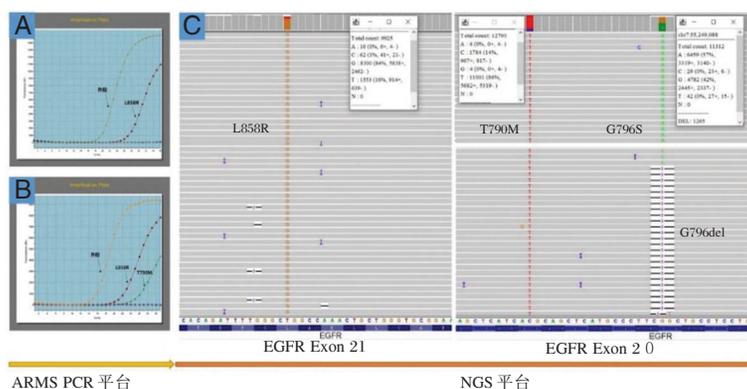


图 2 患者治疗过程中胸部 CT 表现

Figure 2 CT findings of the chest during treatment

20.20%);其中 T790M 和 G796S、G796del 均为顺式突变。于 2021 年 2 月开始行化疗联合抗血管生成治疗(培美曲塞 800 mg+奈达铂 100 mg,安维汀 400 mg),两个周期治疗后评估临床疗效为 SD,遂

继续行化疗联合贝伐单抗治疗,共治疗四个周期;2021.5。胸部 CT 示肿块较前无明显变化,因化疗反应不能耐受,遂 5.31 行单药贝伐单抗 400 mg 维持治疗,患者目前病情稳定。



注:A为初次活检组织行EGFR突变检测示L858R突变;B为血液cfDNA EGFR突变检测示T790M-L858R突变;C为二次活检组织行NGS检测示存在EGFR T790M-G796S-L858R和T790M-G796del-L858R双克隆复合耐药突变。

图3 本例晚期肺腺癌患者基因检测结果

Figure 3 The results of genetic testing in this patient with advanced lung adenocarcinoma

3 讨论

EGFR-TKI 靶向药的问世彻底改变了肺癌的治疗史,携带 EGFR 敏感突变的晚期 NSCLC 患者推荐首选 EGFR-TKI 靶向治疗^[2]。NEJ002 研究^[8]中研究者比较靶向单药(易瑞沙)和传统化疗药(卡铂+紫杉醇)治疗晚期肺腺癌的临床疗效,结果显示易瑞沙显著提高患者中位 PFS (10.8 vs 5.4 个月)。本例晚期肺腺癌患者,初诊时携带有 EGFR-L858R 突变,故一线口服吉非替尼靶向治疗,PFS 为 17 个月,临床疗效显著。值得注意的是,服用易瑞沙的患者一般在一年左右就会开始耐药,根据进展类型可分为缓慢进展型、局部进展型和快速进展型,前两者推荐继续原 EGFR-TKI 治疗或加局部治疗,而快速进展型,需二次活检了解 T790M 突变状态,根据检查结果是阳性或阴性,推荐二线奥希替尼或含铂双药化疗治疗^[2]。本例患者一线易瑞沙治疗 17 个月后,CT 示“右肺中叶结节较前稍增大,纵膈淋巴结及双侧肾上腺结节较前无明显变化”,提示疾病局部缓慢进展,故继续原口服易瑞沙,同时右肺放疗,患者病情稳定;再次进展时,血液 cfDNA 检测结果提示继发 T790M-L858R 突变(ARMS PCR 平台),因此用药调整为口服奥希替尼治疗。

尽管奥希替尼在一线与二线的相关研究数据中取得了较好的成果,但仍不可避免地会产生获

得性耐药,且耐药机制多样,因此在行奥希替尼治疗时,再次活检、连续血浆基因检测是发现耐药机制和指导后续治疗的关键。本例患者奥希替尼耐药后再次活检,NGS 结果提示 EGFR T790M-G796S-L858R 和 T790M-G796del-L858R 双克隆顺式复合耐药突变;EGFR-G796S 突变的相关研究较少,G796S 突变与 G796del 共存更是本病例首次报道。基于当前奥希替尼耐药研究,T790M-G796S 顺式突变的肺腺癌患者已不能从 EGFR-TKI 中获益,因此本例患者治疗方案改为双药化疗+贝伐单抗维持治疗。

EGFR-G796S 突变是一种被称为“溶剂前沿”的突变,溶剂前沿是激酶表面许多抑制剂附着的区域,而这一机制可被耐药突变破坏,从而干扰 TKI 与 EGFR 激酶区域的结合,诱发耐药。2008 年 Judith^[9]等首次报道了头颈鳞癌中发现 EGFR-G796S 罕见突变,但当时头颈鳞癌中 EGFR 基因的研究热点集中在 19 和 21 号外显子,对 20 号外显子研究较少,故 G796S 突变的临床意义尚不清楚。2017 年 Klemperer^[10]等首次报道了 1 例初诊携带 L858R 突变的肺腺癌患者,一线厄洛替尼治疗进展后,ctDNA 检测结果提示继发 T790M 突变,行二线奥希替尼治疗后再次进展,二次活检行全基因组测序发现 EGFR L858R-T790M-顺式 G796S 三重突变,因该患者存在 PD-L1 高表达,后续行免疫治疗达到影像

学部分缓解。同年 Ignatius Ou^[11]等人首次报道了 *EGFR* L858R-T790M 突变二线奥希替尼治疗的肺腺癌患者, 出现 G796S/R, L792F/H, C797S/G 和 V802F 突变同时存在, 且均与 T790M 为顺式突变, 提示奥希替尼耐药机制复杂, 可能出现多种分子改变共存; 计算机模拟显示 G796 突变干扰了奥希替尼与 *EGFR* 激酶结构域的苯基芳环位置结合, 从而诱发耐药。

探索奥希替尼耐药的分子机制及研发针对性的新型靶向药是目前研究的热点。第四代 *EGFR*-TKI 如 EAI045^[12]、CH7233163^[13]、JBJ-04-125-02^[14] 和 BLU-945, 在克服 C797S-T790M 顺式突变方面, 已进行体外和体内活性测定, 但尚未达到临床试验阶段。奥希替尼与一代 TKIs 联合用于 C797S-T790M 反式突变已有报道^[15]。在 C797S 突变和 T790M 丢失时, 奥希替尼治疗失败后患者仍对一代或二代 *EGFR*-TKIs 敏感^[3]。但值得注意的是, 针对服用奥希替尼进展后出现 *EGFR* L858R-T790M-顺式 G796S 突变的患者, 目前尚无有效的治疗策略^[16]。

综上所述, *EGFR*-TKIs 耐药是不可避免的临床难题, 三代 TKI 奥希替尼耐药的分子机制复杂, 临床处理棘手, 再次活检、连续血液基因分子分型及基于 NGS 的检测平台的应用是了解其分子机制及指导未来用药的关键。本例病例提示, 对于晚期 NSCLC 患者奥希替尼二线治疗进展后出现 *EGFR* 多重突变 (T790M-G796S-L858R 和 T790M-G796del-L858R 双克隆复合突变) 的患者, 在无免疫治疗指征且患者能耐受的情况下, 双药化疗+贝伐单抗维持治疗不失为一种较优选择。

参考文献

- [1] Nagasaka M, Zhu VW, Lim SM, et al. Beyond Osimertinib: The Development of Third-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors For Advanced EGFR+NSCLC [J]. J Thorac Oncol, 2021, 16(5): 740-763.
- [2] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会肿瘤学分会肺癌临床诊疗指南(2021版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(6): 591-621.
- [3] Leonetti A, Sharma S, Minari R, et al. Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer [J]. Br J Cancer, 2019, 121(9): 725-737.
- [4] Karnik KS, Sarkate AP, Tiwari SV, et al. Free energy perturbation guided Synthesis with Biological Evaluation of Substituted Quinoline derivatives as small molecule L858R/T790M/C797S mutant EGFR inhibitors targeting resistance in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) [J]. Bioorg Chem, 2021, 115: 105226.
- [5] Park HR, Kim TM, Lee Y, et al. Acquired Resistance to Third-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients With De Novo EGFR^{T790M}-Mutant NSCLC [J]. J Thorac Oncol, 2021, 6: S1556-0864(21)02254-1.
- [6] Wang Y, Yang N, Zhang Y, et al. Effective Treatment of Lung Adenocarcinoma Harboring EGFR - Activating Mutation, T790M, and cis-C797S Triple Mutations by Brigatinib and Cetuximab Combination Therapy [J]. J Thorac Oncol, 2020, 15(8): 1369-1375.
- [7] 刘小云, 吴小延, 邵琼, 等. 基于分子标签二代测序技术的非小细胞肺癌驱动基因变异分析 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(6): 468-473.
- [8] Inoue A, Kobayashi K, Maemondo M, et al. North-East Japan Study Group. Updated overall survival results from a randomized phase III trial comparing gefitinib with carboplatin-paclitaxel for chemo-naïve non-small cell lung cancer with sensitive EGFR gene mutations (NEJ002) [J]. Ann Oncol, 2013, 24(1): 54-59.
- [9] Schwentner I, Witsch-Baumgartner M, Sprinzl GM, et al. Identification of the rare EGFR mutation p.G796S as somatic and germline mutation in white patients with squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Head Neck, 2008, 30(8): 1040-1044.
- [10] Klempner SJ, Mehta P, Schrock AB, et al. Cis-oriented solvent-front EGFR G796S mutation in tissue and ctDNA in a patient progressing on osimertinib: a case report and review of the literature [J]. Lung Cancer (Auckl), 2017, 8: 241-247.
- [11] Ou SI, Cui J, Schrock AB, et al. Emergence of novel and dominant acquired EGFR solvent-front mutations at Gly796 (G796S/R) together with C797S/R and L792F/H mutations in one EGFR (L858R/T790M) NSCLC patient who progressed on osimertinib [J]. Lung Cancer, 2017, 108: 228-231.
- [12] Jia Y, Yun CH, Park E, et al. Overcoming EGFR (T790M) and EGFR (C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors [J]. Nature, 2016, 534(7605): 129-132.
- [13] Kashima K, Kawauchi H, Tanimura H, et al. CH7233163 overcomes osimertinib resistant EGFR - Del19/T790M/C797S mutation [J]. Mol Cancer Ther, 2020, 19(11): 2288-2297.0229.2020.
- [14] To C, Jang J, Chen T, et al. Single and Dual Targeting of Mutant EGFR with an Allosteric Inhibitor [J]. Cancer Discov, 2019, 9(7): 926-943.
- [15] 王小艳, 汪睿, 姚圆圆, 等. 奥希替尼联合厄洛替尼治疗 EGFR-T790M 与 C797S 反式突变的肺腺癌一例并文献复习 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(8): 951-953.
- [16] Passaro A, Jänne PA, Mok T, et al. Overcoming therapy resistance in EGFR-mutant lung cancer [J]. Nat Cancer, 2021, 2.4: 377-391.

HBV-ACLF 侵袭性肺真菌感染的临床特征及预后危险因素

李玄丹^{1*} 李材忠¹ 唐咏婕¹ 蔡潇阳¹ 王生成²

[摘要] **目的** 探讨乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)患者侵袭性肺真菌感染的临床特征及预后危险因素。**方法** 以2015年1月至2020年1月儋州市人民医院收治的247例HBV-ACLF患者为研究对象,根据患者是否发生侵袭性肺真菌感染分为非感染组($n=184$)和感染组($n=63$),分析感染组菌株种类,并探讨影响患者发生侵袭性肺真菌感染的危险因素。对感染组患者随访1年,根据是否存活分为存活组和死亡组,探讨影响患者预后的危险因素。**结果** 63例感染患者共分离71株菌株,其中以白色念珠菌为主(45.07%)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,长期使用广谱抗生素、有侵入性操作、MELD 评分 ≥ 29.14 以及TBIL $\geq 334.29 \mu\text{mol/L}$ 是影响患者发生侵袭性肺真菌感染的独立危险因素。随访1年,共23例患者死亡。多因素 Logistic 回归分析结果显示,侵入性操作、MELD 评分 ≥ 32.06 以及TBIL $\geq 471.09 \mu\text{mol/L}$ 是影响HBV-ACLF侵袭性肺真菌感染患者死亡的独立危险因素。**结论** HBV-ACLF侵袭性肺真菌感染患者主要以白色念珠菌感染为主。对于具有侵入性操作、MELD 评分、TBIL水平过高的HBV-ACLF侵袭性肺真菌感染患者需及时关注预后。

[关键词] 乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭;真菌;预后

Clinical features and prognostic risk factors of HBV-ACLF invasive pulmonary fungal infection

LI Xuandan^{1*}, LI Caizhong¹, TANG Yongjie¹, CAI Xiaoyang¹, WANG Shengcheng²

(1. Respiratory Medicine, Danzhou People's Hospital, Danzhou, Hainan, China, 571700; 2. Infectious Disease Department, Danzhou People's Hospital, Danzhou, Hainan, China, 571700)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical features and prognostic risk factors of invasive pulmonary fungal infection in patients with chronic acute liver failure (HBV-ACLF) associated with hepatitis B. **Methods** A total of 247 HBV-ACLF patients admitted to Danzhou People's Hospital were selected as the research objects, and they were divided into the non-infection group ($n=184$) and the infection group ($n=63$) according to whether the patients had invasive pulmonary fungal infection. The strains of the infection group were analyzed, and the risk factors affecting the occurrence of invasive pulmonary fungal infection were discussed. The patients in the infection group were followed up for 1 year and were divided into a survival group and a death group according to whether they survived or not, to explore the risk factors affecting the prognosis of the patients. **Results** A total of 71 strains were isolated from 63 infected patients, among which *Candida albicans* was the main strain (45.07%). Multivariate Logistic regression analysis showed that long-term use of broad-spectrum antibiotics, invasive procedures, MELD score ≥ 29.14 and TBIL $\geq 334.29 \mu\text{mol/L}$ were independent risk factors for invasive pulmonary fungal infection. During the 1-year follow-up, a total of 23 patients died. Multivariate Logistic regression analysis showed that invasive procedures, MELD score ≥ 32.06 and

基金项目:海南省自然科学基金面上项目(20168340)

作者单位:1. 儋州市人民医院呼吸内科,海南,儋州 571700

2. 儋州市人民医院感染科,海南,儋州 571700

*通信作者:李玄丹, E-mail:lixuandan4708@163.com

TBIL \geq 471.09 μ mol/L were independent risk factors for death in patients with HBV-ACLF invasive pulmonary fungal infection. **Conclusion** Patients with HBV-ACLF invasive pulmonary fungal infection are mainly infected with *Candida albicans*. Prognosis should be paid attention to patients with HBV-ACLF invasive pulmonary fungal infection with invasive procedures, MELD score and high TBIL level.

[KEY WORDS] Chronic acute liver failure associated with hepatitis B; Fungus; Prognosis

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关慢加急性肝衰竭(HBV associated acute on chronic liver failure, HBV-ACLF)感染是我国常见的肝衰竭类型之一^[1-2]。研究表明,HBV-ACLF患者病情凶险,患者病死率极高,且患者往往存在免疫功能紊乱、肠道微生物生态失衡等临床特点,加之长期使用抗生素进行抗感染治疗,导致院内真菌感染率有所上升^[3-5]。侵袭性肺真菌感染起病隐匿,无典型临床特征,且临床上缺乏快速、有效的诊断方法,在各类真菌感染中病死率最高^[6-7]。本研究将探讨HBV-ACLF患者侵袭性肺真菌感染的临床特征及影响预后的危险因素,旨在为临床医师及时采用有效控制措施,预防感染,改善患者预后提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

以2015年1月至2020年1月儋州市人民医院收治的247例HBV-ACLF患者为研究对象,根据患者是否发生院内侵袭性肺真菌感染分为非感染组($n=184$)和感染组($n=63$)。感染标准参考2006年我国制定的侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)^[8]。本研究通过医院伦理委员会批准,伦理批准号为2014012。

纳入标准:①符合《肝衰竭诊疗指南(2012年版)》中HBV-ACLF诊断标准^[9];②年龄 \geq 18岁;③患者及其家属知情且同意。排除标准:①HBV感染以外的其他肝疾病所致的ACLF;②合并其他严重疾病者;③妊娠期或哺乳期者;④近3个月内使用免疫抑制剂治疗者;⑤既往有肝移植病史者;⑥依从性差者。

1.2 病原菌鉴定

本研究侵袭性肺真菌病患者均为临床诊断,满足宿主因素、临床特征及微生物学检查,即合格痰标本直接镜检发现菌丝,且培养连续 \geq 2次分离到同种真菌或血清1-3- β -D葡聚糖抗原检测(G试验)连续2次阳性或血清半乳甘露聚糖抗原检测(GM试验)连续2次阳性。合格样本经常规培养18~24 h后,利用VITEK 2 Compact全自动细菌鉴

定及药敏系统(BioMérieux,法国)对细菌菌株进行鉴定分析,利用显色培养基(Chromagar,法国)、真菌鉴定卡(BioMérieux,法国)对真菌菌株进行鉴定分析。质控菌属为白色念珠菌(ATCC10231),质控菌均购于中国疾病预防控制中心实验室。

1.3 观察指标

收集所有研究对象一般资料及临床资料,包括性别、年龄、是否长期使用广谱抗菌药(时间 \geq 4周)、是否有侵入性操作、住院天数、国际标准化比值(International Normalized Ratio, INR)、终末期肝模型(End-Stage Liver Model Score, MELD)评分、血小板值(Platelet value, PLT)、白细胞计数(white blood cell, WBC)、丙氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、空腹血糖(fasting blood sugar, FBG)、白蛋白(albumin, Alb)水平等。

对感染组患者随访1年,随访截止2021年1月。根据是否存活分为存活组和死亡组,采用单因素及多因素Logistic回归分析影响患者预后的危险因素。

1.4 统计分析

采用SPSS 22.0软件进行数据收集和统计分析。符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,比较采用 χ^2 检验。对单因素分析具有统计学差异的指标进一步通过多元Logistic回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 病原菌分布情况

63例患者共分离71株菌株,其中以白色念珠菌(45.07%)、曲霉菌(23.94%)为主。见表1。

2.2 感染组与非感染组一般资料及临床资料比较

感染组与非感染组在是否长期使用广谱抗菌药物、是否有侵入性操作、住院天数、MELD评分、WBC、ALT及TBIL水平比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 病原菌分布情况

Table 1 Distribution of pathogenic bacteria

菌种	菌株数	构成比(%)
白色念珠菌	32	45.07
曲霉菌	17	23.94
光滑念珠菌	8	11.27
季也蒙念珠菌	8	11.27
热带念珠菌	4	5.63
厚膜菌	2	2.82
合计	71	100.00

表2 感染组与非感染组一般资料及临床资料比较

Table 2 Comparison of general data and clinical data between infection group and non-infection group

指标	非感染组 (n=184)	感染组 (n=63)	t/χ ² 值	P值
性别 男(例)	101(54.89%)	38(60.32%)	0.562	0.454
女(例)	83(45.11%)	25(39.68%)		
年龄(岁)	52.9±8.1	53.4±7.5	0.431	0.667
长期使用广谱抗菌药物(例)	56(30.43%)	49(77.78%)	43.042	<0.001
侵入性操作(例)	54(29.35%)	44(69.84%)	32.152	<0.001
住院天数(d)	38.42±8.83	52.19±9.06	10.613	<0.001
INR	3.01±1.92	3.17±1.84	0.577	0.565
MELD评分(分)	29.14±8.15	35.87±7.02	5.851	<0.001
PLT(×10 ⁹ /L)	109.46±22.18	111.46±21.48	0.623	0.534
WBC(×10 ⁹ /L)	11.32±2.27	15.94±2.92	11.431	<0.001
PT(s)	24.71±3.39	24.56±3.02	0.311	0.756
TC(mmol/L)	2.64±0.57	2.58±0.61	0.708	0.479
FBG(mmol/L)	5.49±0.63	5.54±0.59	0.552	0.581
Alb(g/L)	29.47±4.29	29.21±5.33	0.351	0.727
ALT(U/L)	118.07±42.21	159.62±47.73	6.518	<0.001
AST(U/L)	154.76±39.84	158.09±40.46	0.571	0.569
TBIL(μmol/L)	334.29±89.06	497.38±114.22	10.311	<0.001

2.3 影响患者发生侵袭性肺真菌感染的独立危险因素

对单因素分析具有统计学差异指标进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,长期使用广谱抗生素、有侵入性操作、MELD 评分≥29.14 以及 TBIL ≥ 334.29 μmol/L 是影响患者发生侵袭性肺真菌感染的危险因素。见表 3。

表3 Logistic 回归法分析影响患者发生侵袭性肺真菌感染的危险因素结果

Table 3 Logistic regression analysis of risk factors for invasive pulmonary fungal infection in patients

指标	β值	SE值	Wald值	OR(95% CI)值	P值
长期使用广谱抗菌药物	0.264	0.368	11.395	8.01(4.47~11.95)	<0.001
侵入性操作	0.276	0.113	5.039	5.57(4.02~9.86)	0.029
MELD 评分(≥29.14)	0.376	0.269	11.345	4.766(2.83~9.29)	<0.001
TBIL(≥334.29 μmol/L)	0.425	0.163	7.884	4.471(2.03~7.13)	<0.001

2.4 存活组和死亡组一般资料比较

随访一年,共 23 例患者死亡。单因素分析结果显示,存活组和死亡组在是否、是否有侵入性操作、MELD 评分、WBC 及 TBIL 水平比较差异具有统计学意义(P<0.05)。见表 4。

表4 存活组和死亡组一般资料比较 [(x̄±s), n(%)]

Table 4 Comparison of general data between survival group and death group [(x̄±s), n(%)]

指标	存活组 (n=40)	死亡组 (n=23)	t/χ ² 值	P值
性别 男(例)	24(60.00%)	14(60.87%)	0.005	0.946
女(例)	16(40.00%)	9(39.13%)		
年龄(岁)	53.2±6.8	53.7±5.5	0.301	0.765
长期使用广谱抗菌药物(例)	29(72.50%)	20(86.96%)	1.766	0.184
侵入性操作(例)	23(57.50%)	21(91.30%)	7.993	0.005
住院天数(d)	52.09±8.17	52.36±8.64	0.124	0.902
INR	3.10±1.75	3.29±1.76	0.414	0.681
MELD 评分(分)	33.42±3.38	40.13±2.25	9.436	<0.001
PLT(×10 ⁹ /L)	111.19±21.12	111.93±21.14	0.134	0.894
WBC(×10 ⁹ /L)	14.89±1.06	17.77±0.64	13.443	<0.001
PT(s)	24.45±2.98	24.75±2.31	0.416	0.679
TC(mmol/L)	2.50±0.57	2.72±0.42	1.614	0.112
FBG(mmol/L)	5.49±0.51	5.63±0.42	1.116	0.269
Alb(g/L)	29.09±5.01	29.42±5.17	0.249	0.804
ALT(U/L)	159.24±46.15	160.28±45.14	0.087	0.931
AST(U/L)	157.87±39.11	158.47±38.56	0.059	0.953
TBIL(μmol/L)	471.09±67.22	543.10±54.72	4.368	<0.001

2.5 患者预后的危险因素

对单因素比较具有统计学差异指标进行 Logistic 回归分析,结果显示,有侵入性操作、MELD 评分≥32.06 以及 TBIL ≥ 471.09 μmol/L 是影响患者预后的独立危险因素。见表 5。

表5 Logistic 回归法分析影响患者预后的危险因素结果

Table 5 Logistic regression analysis of risk factors affecting the prognosis of patients

指标	β值	SE值	Wald值	OR(95% CI)值	P值
侵入性操作	0.427	0.168	11.498	4.44(2.09~7.73)	<0.001
MELD 评分(≥32.06)	0.337	0.298	9.942	1.17(1.04~1.96)	<0.001
TBIL(≥471.09 μmol/L)	0.219	0.492	9.087	1.47(1.19~2.02)	<0.001

3 讨论

肝衰竭是临床上较为严重的肝病症候群,可在短时间内急剧恶化,且并发症多,病死率高^[10-11]。ACLF 是肝衰竭最常见的类型之一,主要由 HBV 感染所致,目前临床上尚缺乏有效的治疗措施,因此积极预防 HBV-ACLF 发生具有重要的临床意义。正常生理条件下,肝系统可清除体内

血液循环中的内毒素以及微生物,而当肝衰竭时,机体肝细胞坏死,肝内单核细胞、巨噬细胞结构功能受损,肝解毒功能下降,机体免疫功能紊乱,最终导致肠道菌群易通过门脉系统进入血流导致全身性感染^[12-13]。本研究纳入的63例侵袭性肺真菌感染患者中,共分离71株菌株,其中以白色念珠菌为主(45.07%),这与既往研究结果较为一致^[13]。这也提示在临床上,需及时关注患者病情进展,并根据不同真菌感染采取对应的临床措施。

多因素 Logistic 回归分析结果显示,长期使用广谱抗生素、有侵入性操作、MELD 评分 ≥ 29.14 以及 TBIL $\geq 334.29 \mu\text{mol/L}$ 是影响患者发生侵袭性肺真菌感染的独立危险因素。既往研究发现,由于 HBV-ACLF 患者住院时间较长,往往需要腹腔诊断性穿刺、深静脉置管等侵入性操作,这将导致患者皮肤黏膜的屏障功能受损。此外,侵入性操作还可导致定植于皮肤的致病菌进入体内,从而增加了感染的风险。而长期使用抗生素则易导致机体正常菌群失调,并可增加耐药性菌株产生的风险^[14]。MELD 评分系统为作为评估终末期肝系统的评分指标之一,其分值越高往往代表患者病情越严重,更易发生感染。此外,还有研究表明,当 ACLF 患者发生感染时,会导致肝损伤进一步加重,引起血清 TBIL 水平升高,而升高的 TBIL 则会进一步加重患者病情,导致恶性循环^[15]。因此,在临床治疗过程中,需及时关注 HBV-ACLF 患者是否存在长期使用广谱抗生素、有侵入性操作、MELD 评分较高、TBIL 水平呈过表达等特征,而对于有类特征患者,需及时采取有效的防控措施,以防止感染的发生。

本文研究还探讨了影响 HBV-ACLF 合并侵袭性肺真菌感染患者预后的因素。既往已有研究证实,有侵入性操作和 TBIL 水平是肝衰竭患者预后的独立危险因素^[16],这与本研究结果较为一致。而对于 MELD 评分过高患者则提示患者病情较为严重,患者病死率更高。因此,对于 HBV-ACLF 合并侵袭性肺真菌感染患者,具有侵入性操作、MELD 评分、TBIL 水平过高特征时需及时关注预后,进行更加精细的治疗和护理,以降低患者的不良预后率。

综上所述,HBV-ACLF 侵袭性肺真菌感染患者主要以白色念珠菌感染为主。对于具有侵入性操作、MELD 评分、TBIL 水平过高的 HBV-ACLF 侵袭性肺真菌感染患者需及时关注预后。同时,本研究也存在以下不足:①研究纳入样本来源单

中心,导致样本量过小;②未进一步分析细菌性感染患者与真菌性感染患者上述指标差异性。因此,仍需后续研究加以探讨。

参考文献

- [1] LI C, ZHU B, LV S, et al. Prediction model of the progression of patients with acute deterioration of hepatitis B virus-related chronic liver disease to acute-on-chronic liver failure [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(34): e11915.
- [2] 刘晨瑞,李亚萍,罗森,等. HBV 相关慢加急性肝衰竭患者短期预后的影响因素分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(1):56-62.
- [3] Zhao RH, Shi Y, Zhao H, et al. Acute-on-chronic liver failure in chronic hepatitis B: an update [J]. *Exp Rev Gastroent*, 2018, 12(4):341-350.
- [4] Hsu C. Autophagy: a potential target for rescuing sepsis-induced hepatic failure [J]. *Chin J Physiol*, 2019, 62(2):53-62.
- [5] Nakao M, Nakayama N, Uchida Y, et al. Nationwide survey for acute liver failure and late-onset hepatic failure in Japan [J]. *J Gastroenterol*, 2018, 53(6):752-769.
- [6] 王建文,刘大东,马鸿杰. 慢加急性肝衰竭合并侵袭性真菌感染患者的临床特征和预后影响因素分析[J]. *肝脏*, 2020, 25(5):507-509.
- [7] 利振坤,何吕芬,李欢,等. 慢加急性肝衰竭并发侵袭性真菌感染患者临床特点及其影响因素分析[J]. *实用肝脏病杂志*, 2021, 24(4):520-523.
- [8] 中华内科杂志编辑委员会. 侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)[J]. *中华内科杂志*, 2006, 45(8):697-700.
- [9] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012年版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2013, 21(3):210-216.
- [10] Bajaj JS, Moreau R, Kamath PS, et al. Acute-on-chronic liver failure: getting ready for prime time? [J]. *Hepatology*, 2018, 68(4):1621-1632.
- [11] Hu J, Zhao H, Lou D, et al. Human cytomegalovirus and Epstein Barr virus infections, risk factors, and their influence on the liver function of patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1):577-597.
- [12] Verma N, Singh S, Taneja s, et al. Invasive fungal infections-amongst patients with acute-on-chronic liver failure at high risk for fungal infections [J]. *Liver Int*, 2019, 39(3):503-513.
- [13] Martinez DNI, Diaz A, Bassegoda O, et al. Acute liver failure due to visceral leishmaniasis in Barcelona: a case report [J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1):874-875.
- [14] 彭思璐,刘冰,孙宏,等. HBV 相关慢加急性肝衰竭患者预后及其影响因素分析[J]. *实用肝脏病杂志*, 2019, 22(4):545-548.
- [15] Jiang QQ, Han MF, Ma K, et al. Acute kidney injury in acute-on-chronic liver failure is different from in decompensated cirrhosis [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(21):2300-2310.
- [16] Gustot T, Moreau R. Acute-on-chronic liver failure vstraditional acute decompensation of cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2018, 69(6):1384-1393.

急性脑梗死应用血管内介入联合通脑饮治疗的效果

贾志青^{1*} 樊玉香² 贾瑾尧³ 刘晓⁴

[摘要] 目的 探讨急性脑梗死应用血管内介入联合通脑饮治疗的效果。方法 选取荥阳市人民医院2017年6月至2021年6月收治的符合条件的86例ACI患者按随机数字表法划分成西医组($n=43$)、中西医结合组($n=43$)两组,西医组实施血管内介入治疗,中西医结合组在西医组基础上加用通脑饮。评定两组治疗2周后疗效及治疗3个月预后,比较两组治疗前后中医证候积分、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、血清胰岛素样生长因子1(IGF-1)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)水平。结果 治疗2周后中西医结合组总有效率优于西医组,差异有统计学意义($\chi^2=4.440, P<0.05$)。治疗2周后两组中医证候积分、NIHSS评分均较治疗前降低,且治疗2周后中西医结合组均低于西医组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗2周后两组血清IGF-1水平均明显增高,血清NSE水平均明显降低,且治疗2周后中西医结合组血清IGF-1水平明显高于西医组,血清NSE水平明显低于西医组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。治疗3个月后,中西医结合组预后良好率高于西医组,差异有统计学意义($\chi^2=4.715, P<0.05$)。结论 对ACI患者实施血管内介入联合通脑饮治疗的效果较佳,可明显减轻中医症状及神经功能损伤,有效调节血清IGF-1、NSE水平,显著改善预后。

[关键词] 血管内介入;通脑饮;急性脑梗死;神经功能;预后

Effect of intravascular intervention combined with tongnaoyin in the treatment of acute cerebral infarction

JIA Zhiqing^{1*}, FAN Yuxiang², JIA Jinyao³, LIU Xiao⁴

(1. Department of Neurology, Xingyang People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450100; 2. Department of Neurology, the First People's Hospital of Zhengzhou, Henan, Zhengzhou, China, 450004; 3. Department of Rehabilitation Medicine, Xingyang People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450100; 4. Department of General Surgery District 1, The First Affiliated Hospital of Henan University of Technology, Jiaozhuo, Henan, China, 454001)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of intravascular intervention combined with tongnaoyin in the treatment of acute cerebral infarction (ACI). **Methods** A total of 86 eligible ACI patients admitted to Xingyang People's Hospital from June 2017 to June 2021 were selected and divided into two groups: Western medicine group ($n=43$) and Chinese and Western medicine group ($n=43$) according to the random number table method. In the Western medicine group, intravascular interventional therapy was performed, and in the TCM combined Western medicine group, Tongnao drink was added on the basis of the Western medicine group. The efficacy of the two groups was evaluated after 2 weeks of treatment and the prognosis of 3 months after treatment, the TCM syndrome score, National Institute of Health stroke scale (NIHSS) score, serum insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and neuron-specific enolase (NSE) levels were compared before and after treatment. **Results** After 2 weeks of treatment, the total effective rate of the Traditional Chinese and Western medicine group was better than that of the Western medicine group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.440, P<$

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20200833)

作者单位:1. 荥阳市人民医院神经内科,河南,郑州 450100

2. 郑州市第一人民医院神经重症科,河南,郑州 450004

3. 荥阳市人民医院康复医学科,河南,郑州 450100

4. 河南理工大学第一附属医院普外一区,河南,焦作 454001

*通信作者:贾志青, E-mail: jiazhiqing88666@163.com

0.05)。After 2 weeks of treatment, TCM syndrome scores and NIHSS scores in the two groups were lower than those before treatment, and after 2 weeks of treatment, the TCM and Western medicine group were lower than those in the Western medicine group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After 2 weeks of treatment, the levels of serum IGF-1 in the two groups were significantly increased, and the levels of serum NSE were significantly decreased. After 2 weeks of treatment, the level of serum IGF-1 in the Traditional Chinese and Western medicine group was significantly higher than that in the Western medicine group, and the serum NSE level was significantly lower than that in the Western medicine group. The differences were statistical significance ($P < 0.05$). After 3 months of treatment, the good prognosis rate in the Chinese and Western medicine group was higher than that in the Western medicine group, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 4.715, P < 0.05$). **Conclusion** The effect of intravascular intervention combined with Tongnao Yin for ACI patients is better, which can significantly reduce the symptoms of Traditional Chinese medicine and nerve function damage, effectively regulate the serum IGF-1 and NSE levels, and significantly improve the prognosis.

[KEY WORDS] Intravascular intervention; Tongnao drink; Acute cerebral infarction; Nerve function; Prognosis

急性脑梗死(Acute cerebral infarction, ACI)占所有脑卒中的3/5~4/5,是导致中老年人群残疾、死亡的首要原因^[1]。对于此病,治疗的关键是快速开通闭塞血管,恢复梗塞区血流,最大程度减轻脑损伤。血管内介入技术是治疗ACI的重要方法,可通过动脉溶栓、机械取栓等操作去除血栓,增加脑血流灌注,改善临床预后^[2]。但在实际操作中仍可能由于各种原因导致治疗效果不佳。近年来,中医在ACI治疗研究方面获得较大成效。中医认为,ACI通常由饮食失调致痰瘀互结、痹阻脑络引起^[3]。通脑饮由方天麻钩藤饮、通窍活血汤化裁而成,研究证实其对ACI患者脑缺血具有改善作用^[4]。本研究观察了ACI应用血管内介入联合通脑饮治疗的效果及相关血清学指标变化,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料

以荥阳市人民医院2017年6月至2021年6月接收的86例ACI患者为研究对象,西医诊断参照《神经病学(第2版)》^[5]有关标准。中医参照《中医内科学(第1版)》^[6]制定痰瘀阻络型ACI诊断标准为①主症:半身不遂,口舌歪斜,语言謇涩或不语,感觉减退或丧失;②头晕目眩,痰多且黏稠,舌暗苔黄腻,脉弦滑。纳入标准:①符合上述西医有关ACI的诊断标准,且中医辨证为痰瘀阻络型;②既往无神经系统疾病史,且发病时间在8h内;③年龄为40~79岁;④患者或其家属签署书面同意书。排除标准:①合并活动性出血、脑外伤者;②合并其他严重恶性疾病;③近6个月内接受过脑部手术;④患病前意识障碍;⑤对通脑饮中某些中药成

分过敏;⑥治疗依从性差。将所有患者按随机数字表法划分入西医组($n=43$)、中西医组($n=43$)内,两组间基线资料比较,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批通过。

表1 两组基线资料比较 [$n(\%), (\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of baseline data between the two groups

组别	n	性别		年龄(岁)	发病时间(h)
		男	女		
中西医组	43	26	17	61.79±5.26	5.67±1.14
西医组	43	29	14	62.49±5.71	5.81±1.27
χ^2/t 值		0.454	0.591	0.538	
P值		0.500	0.556	0.592	

1.2 方法

西医组实施血管介入治疗,即用Seldinger法经股动脉内插管,置入6F动脉鞘,通过脑血管造影明确病变所在后将微导管尖端送至闭塞段,使用10万U尿激酶(厂家:天津生物化学制药有限公司,批号:0417020,规格:10万U/支)进行溶栓,对溶栓效果不佳的大动脉血管闭塞行机械取栓,治疗期间密切关注患者生命指标。术后服用阿司匹林(厂家:拜耳医药保健有限公司,批号:BJ11832,规格:100 mg/片)、氯吡格雷(厂家:赛诺菲制药有限公司,批号:170306,规格:75 mg/片),各服用1片/次,均1次/d,用药6个月以上。中西医组在西医组基础上加用通脑饮,方剂组成:双钩藤30 g,天竺黄、明天麻、赤芍、胆南星、川芎、石斛、僵蚕、地龙均10 g,水蛭5 g。上方水煎,取汁300 mL,1剂/d,分早晚2次服用,连续治疗2周。

1.3 观察指标

①中医证候积分:于治疗前、治疗2周后依照

《风病辨证诊断标准》^[7]对两组进行评定。按无、轻度、中度、重度划分,主症依次计分为0分、2分、4分、6分,次症(舌脉象除外)依次计分为0分、1分、2分、3分,主次症相加之和即为中医证候积分。②神经功能:于治疗前、治疗2周后利用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)^[8]对两组进行评定。NIHSS共计42分,得分越高,神经功能损伤越重。③血清学指标:于治疗前、治疗2周后清晨空腹取两组静脉血4 mL,常规分离出血清,并以酶联免疫吸附法测定血清胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF-1)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)水平。④预后:于治疗3个月后利用改良Rankin量表(modified rankin scale, mRS)^[9]对两组进行评定。mRS评分为0~6分,0分表示无症状,6分表示死亡。统计两组预后良好(mRS≤2分)率。

1.4 判定疗效

治疗2周后参照ACI相关诊治指南^[10]评价疗效。NIHSS评分降低≥90%、≥70%且<90%、≥30%且<70%、<30%分别判定为痊愈、显著进步、进步、无效,前三个等级视为治疗有效,计算两组总有效率。

1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0软件分析;计量资料经S-W检验确认符合正态分布后采用($\bar{x} \pm s$)描述,两组间、组内比较分别采用独立、配对样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组疗效比较

治疗2周后中西医组总有效率优于西医组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组疗效比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of curative effects between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	痊愈	显著进步	进步	无效	总有效率
中西医组	43	16(37.21)	12(27.91)	12(27.91)	3(6.98)	40(93.02)
西医组	43	11(25.58)	13(30.23)	9(20.93)	10(23.26)	33(76.74)
χ^2 值						4.440
P 值						0.035

2.2 两组中医证候积分、NIHSS评分比较

治疗2周后两组中医证候积分、NIHSS评分均较治疗前降低,且治疗2周后中西医组均低于西医组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组中医证候积分、NIHSS评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of TCM syndrome score and NIHSS score between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	中医证候积分(分)		NIHSS评分(分)	
		治疗前	治疗2周后	治疗前	治疗2周后
中西医组	43	15.21±3.26	6.53±1.56 ^a	18.39±4.03	6.74±1.81 ^a
西医组	43	14.68±3.04	9.27±2.19 ^a	18.04±3.57	9.69±2.42 ^a
t 值		0.780	6.682	0.426	6.401
P 值		0.438	0.000	0.671	0.000

注:和治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组血清学指标比较

治疗2周后两组血清IGF-1水平均明显增高,血清NSE水平均明显降低,且治疗2周后中西医组血清IGF-1水平明显高于西医组,血清NSE水平明显低于西医组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表4。

表4 两组血清学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serological indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGF-1 (ng/mL)		NSE (μ g/L)	
		治疗前	治疗2周后	治疗前	治疗2周后
中西医组	43	25.85±5.71	34.64±5.93	16.79±3.41	7.34±1.80
西医组	43	24.69±4.92	29.12±5.30	16.25±3.08	9.53±2.26
t 值		1.009	4.551	0.771	4.970
P 值		0.316	0.000	0.443	0.000

注:和治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组预后比较

治疗3个月后,中西医组预后良好率高于西医组,差异有统计学意义($\chi^2=4.715, P < 0.05$)。见表5。

表5 两组预后比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of prognosis between 2 groups [$n(\%)$]

组别	n	预后良好	预后不良
中西医组	43	29(67.44)	14(32.56)
西医组	43	19(44.19)	24(55.81)
χ^2 值		4.715	
P 值		0.030	

3 讨论

近年来,血管内介入技术逐渐取代静脉溶栓成为ACI的一线治疗方法。血管内介入技术是指在透视监测的精准定位下将微导管送入病变血管内,对梗死区域直接给药,增加局部药物浓度,从而可提高溶栓效果^[11]。此外,还可辅助使用Solitaire支架绞碎非机化血栓,并将其取出体外。但部分研究指出,医师的血管内介入技术操作水平对血栓清除效果具有一定影响,同时该技术无法充分规避血栓脱落的风险,故易再次血栓,导致血

管再度闭塞^[12]。故临床建议在对 ACI 患者应用血管内介入技术的同时辅以其他方法进行治疗。

ACI 属于祖国医学“中风范畴”，中医认为，过食肥甘厚腻可致脾胃失健，不能正常运化水谷，内生痰浊，而痰浊可使气血减缓，形成血瘀。痰瘀胶结，则可致脑络失畅，遂引起中风^[13]。此外，血管内介入技术具有“破血逐瘀”之功，治疗后局部痰瘀散去，但并未彻底根除，减而未除的瘀血和痰浊互结，上扰清窍，毒损脑络，影响预后。故中医治宜以活血化瘀、祛痰通络为要。本院选择痰瘀阻络型 ACI 患者，采用化痰祛瘀方通脑饮联合血管内介入进行治疗，结果显示，中西医组总有效率、预后良好率和西医组相比均更高；治疗后中西医组中医证候积分、NIHSS 评分改善效果较西医组更明显。究其原因，通脑饮方中水蛭破血通经、逐瘀散结，川芎活血祛瘀、行气开郁，共为君药。明天麻行气活血，双钩藤、赤芍活血通脉、散瘀止痛，胆南星清热化痰，合为臣药；辅以通络地龙、僵蚕开痹，天竺黄、石斛益胃生津。诸药合用，可实现痰瘀共治，使痰浊得除，瘀血得去，脑络得通，中风之症得消。现代药理研究表明，水蛭中的水蛭素可发挥抗凝效应，抑制血小板聚集，并能调节血脂，从而有助于预防动脉硬化斑块形成^[14]。川芎含有的川芎嗪可调节微循环，增加局部脑血流，缩小梗死面积，还可抑制凋亡基因表达，减轻缺血组织损伤^[15]。明天麻含有的天麻素可改善脑动脉供血不足，营养脑神经细胞。钩藤含有的钩藤碱抑制脑部低灌注所致的神经损害^[16]。而胆南星对中枢系统具有调节作用。故通脑饮可辅助血管内介入技术促进 ACI 患者脑血液循环恢复，同时可保护脑组织免受缺血损伤，从而可最大程度地减轻神经功能缺损，提高预后效果。

IGF-1 为一种主要由肝脏合成的多肽激素，可通过和效应神经元上的受体 tRNA 结合而促进神经细胞增生及分化，诱导损伤的神经功能修复，还可通过影响平滑肌增殖等环节而防止动脉硬化斑块破裂。研究表明，ACI 患者血清 IGF-1 水平和脑损伤程度呈负相关关系^[17]。NSE 为一种酸性蛋白酶，当脑组织缺血损伤后，可随着膜通透性改变而从神经元细胞内大量释放，并渗透入外周血中^[18]。故血清 NSE 水平可对 ACI 患者脑损伤程度及预后做出反映。本研究结果推测本研究治疗方法还可能通过有效调节血清 IGF-1、NSE 水平而对 ACI 发挥治疗作用。

综上所述，血管内介入技术联合通脑饮在 ACI 治疗中应用的疗效优于单用血管内介入技术治疗，可有效调控血清 IGF-1、NSE 的表达，明显改善中医症状及神经功能，显著提高预后效果。本研究不足之处在于样本量较少，所得结论是否准确有待后续扩大样本量做进一步验证。

参考文献

- [1] 丛蓓, 罗金维, 韩世杰, 等. 脑梗死患者临床回顾性分析[J]. 临床医学进展, 2019, 9(5):674-679.
- [2] 刘新峰, 刘锐. 脑梗死急性期的血管内介入诊疗[J]. 中华神经科杂志, 2020, 53(5):372-375.
- [3] 杨惠卿, 房玲, 侯震, 等. 化浊通络畅气机方对痰瘀阻络型脑梗死恢复期患者功能及危险因素的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(3):89-98.
- [4] 朱元, 常诚, 王欣彤. 通脑饮治疗急性脑梗死的临床疗效及对患者血液流变学影响[J]. 河北医学, 2018, 24(10):59-63.
- [5] 吴江主编. 神经病学[M](第2版). 北京:人民卫生出版社, 2001:158-170.
- [6] 周仲英主编. 中医内科学[M]. (第1版). 北京:中国中医药出版社, 2003:324-327.
- [7] 国家中医药管理局全国中医脑病急症科研协作组. 中风病辨证诊断标准[J]. 北京:北京中医药大学学报, 1994, 7(3):64-64.
- [8] 孙静, 姚源蓉, 程焱. 脑梗死急性期相关生化指标与早期临床转归的关系[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(3):393-396.
- [9] 徐小林, 戚晓昆. Barthel 指数和改良 Rankin 量表在急性卒中试验中的应用[J]. 国外医学(脑血管疾病分册), 2000, 8(3):188-188.
- [10] 刘鸣, 贺茂林. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(4):246-257.
- [11] 王杰. 经导管选择性脑动脉内介入溶栓术联合尤瑞克林注射液对急性脑梗死患者 NIHSS 评分及生活质量的影响[J]. 国外医学:医学地理分册, 2018, 39(2):147-149.
- [12] 梁仔, 江庆炎, 刘德, 等. 血栓通联合 SolitaireAB 支架介入取栓治疗急性脑梗死的疗效观察[J]. 广东医科大学学报, 2019, 37(2):138-141.
- [13] 崔春丽, 李文磊, 骆守真. 天麻钩藤饮辅助治疗痰瘀阻络型急性脑梗死及对血管内皮功能, Hcy, D-二聚体和 hs-CRP 水平影响的临床研究[J]. 世界中医药, 2019, 14(4):130-133.
- [14] 戴其军, 柯进, 徐沛. 三虫胶囊组成分的药理分析[J]. 云南中医中药杂志, 2019, 40(9):50-52.
- [15] 张晓娟, 张燕丽, 左冬冬. 川芎的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(6):128-133.
- [16] 柳威, 邓林华, 赵英强. 钩藤提取物及钩藤碱的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(6):899-904.
- [17] 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.
- [18] 王辉. 血清 NSE, IMA 及 LPA 对急性脑梗死患者预后的评估价值[J]. 脑与神经疾病杂志, 2020, 28(2):91-95.

· 论 著 ·

变应性鼻炎 T 淋巴细胞亚群、IFN- γ 及 IgE 水平与 VitD 的关系

林红艳^{1*} 尚红坤² 潘利平¹

【摘要】目的 探讨变应性鼻炎 T 淋巴细胞亚群、干扰素 γ (IFN- γ) 及免疫球蛋白 E (IgE) 水平与维生素 D (VitD) 的关系。**方法** 选取 2016 年 5 月至 2021 年 5 月安阳市第六人民医院收治的变应性鼻炎患儿 95 例为研究组, 及同时间段体检健康儿童 87 名为对照组。对比两组 25(OH)D 水平; 对比各组 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺、IFN- γ 及 IgE 水平; 分析 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺、IFN- γ 及 IgE 与变应性鼻炎患儿 VitD 的相关性。**结果** 研究组 25(OH)D 水平、CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺、IFN- γ 水平较对照组低, IgE 水平较对照组高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。经统计, 28 例 VitD 正常, 43 例 VitD 不足, 24 例 VitD 缺乏。CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺、IFN- γ 水平比较: VitD 正常组 > VitD 不足组 > VitD 缺乏组, IgE 水平比较: VitD 正常组 < VitD 不足组 < VitD 缺乏组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。Spearman 相关分析显示, 变应性鼻炎患儿 VitD 与 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺、IFN- γ 水平呈正相关, 与 IgE 水平呈负相关 ($P < 0.05$)。**结论** CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺、IFN- γ 、IgE 水平与变应性鼻炎患儿 VitD 存在相关性, 且 VitD 具有较好的免疫调节作用, 通过补充 VitD 有助于改善患儿免疫功能。

【关键词】 变应性鼻炎; IgE 水平; VitD; T 淋巴细胞亚群; IFN- γ

Relationship between T lymphocyte subsets, IFN- γ and IgE levels and VitD in allergic rhinitis

LIN Hongyan^{1*}, SHANG Hongkun², PAN Liping¹

(1. Department of Otolaryngology, Anyang Sixth People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000; 2. Department of Otolaryngology, Anyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Anyang, Henan, China, 455000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between the levels of T lymphocyte subsets, interferon γ (IFN- γ) and immunoglobulin E (IgE) and vitamin D (VitD) in allergic rhinitis. **Methods** 95 children with allergic rhinitis admitted to the Sixth People's Hospital of Anyang City from May 2016 to May 2021 were selected as the study group, and 87 healthy children who underwent physical examinations during the same period were selected as the control group. The levels of 25(OH)D in the two groups were compared; the levels of CD₃⁺, CD₄⁺, CD₄⁺/CD₈⁺, IFN- γ and IgE were compared in each group. The correlation between CD₃⁺, CD₄⁺, CD₄⁺/CD₈⁺, IFN- γ and IgE and VitD in children with allergic rhinitis was analyzed. **Results** The level of 25(OH)D, CD₃⁺, CD₄⁺, CD₄⁺/CD₈⁺, and IFN- γ in the study group were lower than those in the control group, and the level of IgE was higher than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). According to statistics, 28 cases of VitD were normal, 43 cases of VitD decrease, and 24 cases of VitD deficiency. Comparison of CD₃⁺, CD₄⁺, CD₄⁺/CD₈⁺, IFN- γ levels: normal VitD group > VitD insufficiency group > vitamin D deficiency group, comparison of IgE levels: normal vitamin D group < vitamin D insufficiency group < vitamin D deficiency group, and the differences were statistically significant ($P <$

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20180613)

作者单位: 1. 安阳市第六人民医院耳鼻喉科, 河南, 安阳 455000

2. 安阳市中医院耳鼻喉科, 河南, 安阳 455000

*通信作者: 林红艳, E-mail: linhy73@163.com

0.05)。Spearman correlation analysis showed that VitD in allergic rhinitis patients was positively correlated with the levels of CD_3^+ , CD_4^+ , CD_4^+/CD_8^+ , and IFN- γ , and was negatively correlated with the level of IgE ($P < 0.05$)。Conclusion The levels of CD_3^+ , CD_4^+ , CD_4^+/CD_8^+ , IFN- γ , and IgE were correlated with VitD in patients with allergic rhinitis, and VitD has a good immunoregulatory effect. Supplementing with VitD can help improve the immune function of children.

[KEY WORDS] Allergic rhinitis; IgE level; VitD; T lymphocyte subsets; IFN- γ

变应性鼻炎是临床上常见的疾病,该病是指人体在与过敏原如灰尘、花粉等接触后,鼻黏膜出现非传染性炎症性病变,患者常表现为鼻塞、鼻痒、喷嚏、流涕及鼻粘膜肿胀,且部分患者可能还会出现嗅觉减退,这给患者的生活带来了诸多困扰^[1-2]。据数据统计,中国变应性鼻炎的病发率约为8%~24%,且随着环境的变化,近些年变应性鼻炎的发病率也呈现逐渐增加趋势^[3]。目前对于变应性鼻炎的发病机理尚未完全清楚,但据研究显示,约1/2的变应性鼻炎患者患有哮喘,约3/4的哮喘患者存在变应性鼻炎情况,且哮喘同维生素D (Vitamin D, VitD)缺乏症存在一定相关性,而由于鼻黏膜和气道黏膜相连,因此上下气道的免疫机制被认为是一致的,故有研究推测变应性鼻炎同VitD之间存在一定联系^[4-6]。本研究就变应性鼻炎T淋巴细胞亚群、干扰素 γ (Interferon γ , IFN- γ)及免疫球蛋白E (Immunoglobulin E, IgE)水平与VitD的关系进行研究,现报告见下。

1 资料与方法

1.1 基本资料

选取2016年5月至2021年5月安阳市第六人民医院收治的变应性鼻炎患儿95例设为研究组,其中男52例,女43例,年龄平均(8.68 \pm 1.05)岁。纳入标准:①所有患儿均符合《过敏性鼻炎世界诊疗指南》中相关诊断标准^[7];②临床各方面资料完整;③变应原皮肤试验结果为阳性。排除标准:①存在严重感染者;②存在恶性肿瘤或血液系统疾病者;③有免疫系统疾病或长期使用激素治疗者;④其他原因所致的鼻炎;⑤入院前6个月内使用VitD补充治疗者。

另选取同时间段进行健康体检的健康儿童87名作为对照组。其中男56名,女31名,平均年龄(7.94 \pm 1.27)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者监护人已签署知情同意书。

1.2 方法

研究组于入院时、对照组为体检当日抽取5 mL静脉血两管。1管离心(3 000 r/min, 10 min, $r = 10$ cm)后取上清液,采用酶联免疫吸附法测定25(OH)D、IFN- γ ,检测试剂由北京中杉金桥生物有限公司提供,采用免疫透射比浊法测定IgE,检测试剂由长春汇力生物科技有限公司提供;1管采用流式细胞分析仪检测T淋巴细胞亚群(CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+)水平,并计算 CD_4^+/CD_8^+ 比值,检测试剂由广州易锦生物技术有限公司提供。所有操作均由专业的技术人员进行,操作步骤皆严格依照试剂所配套说明书进行。

1.3 观察指标

①对比研究组与对照组25(OH)D、 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 及IgE水平;②根据变应性鼻炎患儿VitD水平的不同分为3组,VitD正常为25(OH)D \geq 25 ng/mL, VitD不足为15 ng/mL \leq 25(OH)D $<$ 25 ng/mL, VitD缺乏为25(OH)D $<$ 15 ng/mL^[8],并对比3组 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 及IgE水平;③分析 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 及IgE与变应性鼻炎患儿VitD的相关性。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件统计分析,计量资料通过($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较行 F 检验;采用Spearman分析 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 及IgE与变应性鼻炎患儿VitD的相关性,并绘制散点图;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组25(OH)D、 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 及IgE水平比较

研究组25(OH)D、 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 水平较对照组低,IgE水平较对照组高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 不同VitD水平变应性鼻炎患儿 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IFN- γ 及IgE水平比较

经统计,28例VitD正常,43例VitD不足,24

表1 两组25(OH)D、CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ及IgE水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of 25(OH)D, CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, IFN-γ and IgE between the study group and the control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	25(OH)D(ng/mL)	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	IFN-γ(pg/mL)	IgE(IU/mL)
研究组	95	19.80±6.51	47.72±5.35	55.62±6.34	1.02±0.30	31.25±4.57	312.59±127.19
对照组	87	34.62±4.50	57.25±5.80	67.59±6.67	1.50±0.16	46.33±2.70	87.16±12.41
t值	-	17.708	11.531	12.41	13.291	26.789	16.456
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

例VitD缺乏。CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ水平比较: VitD正常组>VitD不足组>VitD缺乏组, IgE水平比较: VitD正常组<VitD不足组<VitD缺乏组, 差异均有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 不同VitD水平变应性鼻炎患儿CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ及IgE水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, IFN-γ and IgE levels in patients with allergic rhinitis with different VitD levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	IFN-γ(pg/mL)	IgE(IU/mL)
VitD正常组	28	51.07±4.71	60.64±4.82	1.32±0.18	35.43±2.41	164.73±43.51
VitD不足组	43	48.52±4.23 ^a	56.24±4.53 ^a	1.04±0.15 ^a	31.97±2.49 ^a	317.74±54.92 ^a
VitD缺乏组	24	42.38±3.69 ^{ab}	48.65±4.17 ^{ab}	0.63±0.10 ^{ab}	25.08±2.26 ^{ab}	475.87±62.49 ^{ab}
F值	-	28.394	45.899	140.284	122.364	215.434
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a与VitD正常组比较,P<0.05;^b与VitD不足组比较,P<0.05。

2.3 分析CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ及IgE与变应性鼻炎患儿VitD的相关性

Spearman相关分析显示, CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ水平与变应性鼻炎患儿VitD呈正相关(P<0.05), IgE水平与变应性鼻炎患儿VitD呈负相关(P<0.05)。见表3、图1。

3 讨论

变应性鼻炎是一种常见的儿科疾病,其是在机体遭受变应原侵袭后,由IgE介导释放组胺而引发,该反应过程中涉及多种免疫细胞与细胞因子^[9]。据研究显示,变应性鼻炎同免疫功能低下、缺乏微量元

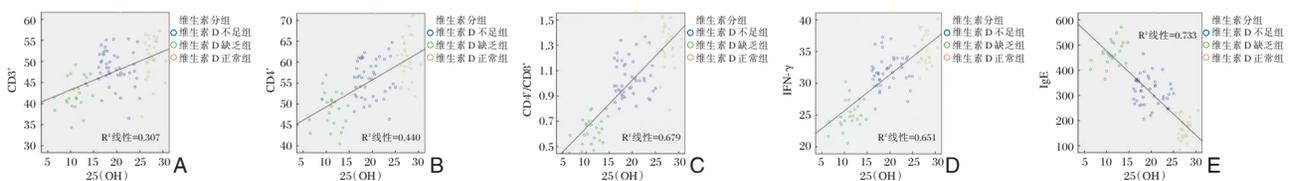
素和维生素等原因存在一定关联^[10]。此外,变应性鼻炎具有高频再发的特点,若未予以及时诊治,患儿易并发哮喘、结膜炎等疾病,影响患儿的发育^[11]。

VitD属于固醇类衍生物,而25(OH)D是VitD在体内主要存在的形式,且25(OH)D在血液中浓度较高,有着较好的稳定性,可有效反映人体内VitD的含量^[12]。据研究显示, VitD参与机体的免疫调节,且已被证实与多种疾病的发生有关,特别是自身免疫性疾病^[13]。本研究发现,研究组25(OH)D水平较对照组低,这可能是由于患儿经由食物摄入的VitD不足或者户外阳光照射不足所致,而由于VitD可对免疫系统发挥多种调节作用,

表3 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ及IgE与变应性鼻炎患儿VitD的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, IFN-γ and IgE and VitD in patients with allergic rhinitis

因素	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD4 ⁺ /CD8 ⁺		IFN-γ		IgE	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
25(OH)D	0.553	<0.001	0.655	<0.001	0.803	<0.001	0.792	<0.001	-0.855	<0.001



注:A为CD3⁺与变应性鼻炎患儿VitD的相关性散点图; B为CD4⁺与变应性鼻炎患儿VitD的相关性散点图; C为CD4⁺/CD8⁺与变应性鼻炎患儿VitD的相关性散点图; D为IFN-γ与变应性鼻炎患儿VitD的相关性散点图; E为IgE与变应性鼻炎患儿VitD的相关性散点图。

图1 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN-γ及IgE与变应性鼻炎患儿VitD的相关性分析

Figure 1 Correlation analysis of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, IFN-γ and IgE and VitD in patients with allergic rhinitis

因此推测 VitD 的含量降低可能同变应性鼻炎的发生存在一定关系。

T 淋巴细胞亚群是人体免疫系统的重要组成部分^[14]。在免疫学上,CD3⁺为总 T 细胞水平,可反映人体总细胞免疫的情况;CD4⁺为 T 辅助细胞,具有辅助诱导细胞免疫、体液免疫的作用^[15]。CD3⁺、CD4⁺水平降低,患儿免疫功能亦会下降。CD4⁺/CD8⁺比值主要用于反映人体的免疫能力,CD4⁺/CD8⁺比值越低,说明机体免疫功能越差^[16]。本研究结果发现,与健康人群相比,变应性鼻炎患儿 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显下降,这与既往王婷婷等研究结果相似^[17],说明变应性鼻炎患儿存在 T 淋巴细胞亚群表达异常的情况。

研究显示,变应性鼻炎同 Th1/Th2 功能失衡存在密切联系^[18]。当机体遭受异常抗原刺激时,会引发免疫异常反应,导致 Th1 功能抑制与 Th2 功能亢进,而 Th1 功能遭到抑制就会导致 IFN- γ 分泌的减少^[19]。研究指出,IFN- γ 为 Th1 的标志性因子,故当 IFN- γ 在血清中处于异常表达时,就可反过来对 Th1 进行调控,致使 Th1/Th2 免疫功能失调^[20]。本研究结果显示,研究组 IFN- γ 水平较对照组低,IgE 水平较对照组高。这可能是由于 IFN- γ 能抑制 IgE 的合成,当 IFN- γ 缺乏时就会刺激鼻黏膜产生大量嗜酸性粒细胞和 IgE,而高表达的 IgE 可介导体内 I 型变态反应的发生,诱发变应性鼻炎。

本研究结果还显示,随着 VitD 含量的降低 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN- γ 水平呈下降趋势,IgE 水平呈上升趋势,因此推测 VitD 水平的变化可能会对 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN- γ 及 IgE 水平造成影响。通过进一步分析发现,CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN- γ 水平与变应性鼻炎患儿 VitD 呈正相关,IgE 与变应性鼻炎患儿 VitD 呈负相关。由此可见,VitD 水平不足可抑制 IFN- γ 水平,刺激 IgE 的分泌,从而影响 T 淋巴细胞亚群的调节功能。

综上所述,CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、IFN- γ 、IgE 水平与变应性鼻炎患儿 VitD 存在相关性,且 VitD 具有较好的免疫调节作用,通过补充 VitD 有助于改善患儿免疫功能。

参考文献

- [1] 王莹莹,朱蓓,高娟,等. 针灸联合西药对中重度间歇性过敏性鼻炎患儿 T 淋巴细胞亚群、IL-4、IL-10、VACM-1 水平的影响[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(4): 57-60.
- [2] Schuler ICF, Montejo JM. Allergic Rhinitis in Children and Adolescents[J]. *Pediatr Clin North Am*, 2019, 66(5): 981-993.
- [3] Campo P, Eguiluz-Gracia I, Bogas G, et al. Local allergic rhinitis: Implications for management[J]. *Clin Exp All*, 2019, 49(1): 6-16.
- [4] 鲍千红,吕凌云,张伟群,等. 过敏性鼻炎患儿血清中炎症因子、免疫球蛋白及 T 淋巴细胞亚群水平检测及分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(21): 2614-2616.
- [5] Brown T. Diagnosis and Management of Allergic Rhinitis in Children. *Pediatr Ann*[J]. 2019, 48(12): e485-e488.
- [6] 董怡君,赵宇,郑永波. 维生素 D 在变应性鼻炎中的研究进展[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2021, 45(5): 294-297.
- [7] Meng Y, Wang C, Zhang L. Recent developments and highlights in allergic rhinitis[J]. *Allergy*, 2019, 74(12): 2320-2328.
- [8] 肖小兵,刁诗光,邱建武,等. 反复呼吸道感染患儿维生素 D 水平与 T 淋巴细胞亚群的关系[J]. 广东医学, 2019, 57(s1): 99-102.
- [9] Meng Y, Wang C, Zhang L. Advances and novel developments in allergic rhinitis[J]. *Allergy*, 2020, 75(12): 3069-3076.
- [10] 折宁宁,邵娜,夏翠,等. 维生素 D 与儿童变应性鼻炎发生风险的 Meta 分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2020, 28(11): 1234-1238.
- [11] Ciprandi G, Tosca MA. Turbinate Hypertrophy, Allergic Rhinitis, and Otitis Media[J]. *Curr All Asthma Rep*, 2021, 21(9): 44-45.
- [12] 黄南,李文静,赵炎,等. 升阳益肾汤对肺肾阳虚型过敏性鼻炎患儿免疫球蛋白 IgE, IgM, IgA 及淋巴细胞表达的影响[J]. 世界中医药, 2019, 14(7): 1771-1774+1779.
- [13] Klimek L, Sperl A, Becker S, et al. Current therapeutical strategies for allergic rhinitis[J]. *Expert Opin Pharmacother*. 2019, 20(1): 83-89.
- [14] 魏永佳,李改平. 慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉的微小 RNA 表达及 T 淋巴细胞亚群分布情况研究[J]. 中国医刊, 2022, 57(2): 156-159.
- [15] Steiner NC, Lorentz A. Probiotic Potential of Lactobacillus Species in Allergic Rhinitis[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2021, 182(9): 807-818.
- [16] 赵常华,姬永辉,丁艳霞. 郑州市常见风湿免疫病病例特征及 T 淋巴细胞亚群和调节性 T 细胞变化研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(10): 1272-1275.
- [17] 王婷婷,周建,陈红芳,等. 新生儿社区获得性肺炎与血清 25 羟维生素 D、淋巴细胞亚群关系分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2020, 28(4): 479-481+485.
- [18] 魏先梅,高下,俞晨杰. 间充质干细胞对变应性鼻炎治疗作用的研究进展[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 53(10): 789-793.
- [19] 李燕京,刘齐元,张存丽,等. 丙酸氟替卡松联合维生素 D 对儿童哮喘患儿特异性 IgE、25(OH)D3 的影响[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2019, 16(5): 19-21.
- [20] 刘霞,薛亦男,杨慧,等. 维生素 A、维生素 D、维生素 E 水平与儿童反复呼吸道感染及免疫功能相关性研究[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(9): 1094-1097.

VSD 疗法对高位肛周脓肿患者血清 IL-1 α 、VEGF 及 SOD 水平的影响

蒋文峰^{1*} 马凯¹ 谭琳玲¹ 刘芳²

【摘要】目的 探讨 VSD 疗法对高位肛周脓肿患者血清白介素-1 α (IL-1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)及超氧化物歧化酶(SOD)水平的影响。**方法** 选取2019年5月至2021年5月成都医学院第三附属医院收治的高位肛周脓肿患者93例,根据治疗方法分为研究组(内口封闭+VSD技术, $n=47$)和对照组(挂线引流法治疗, $n=46$)。对比两组临床疗效、术后临床指标、炎症因子水平[IL-1 α 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)]、VEGF及氧化应激因子[SOD、丙二醛(MDA)]。**结果** 研究组治疗总有效率(93.62%)较对照组(82.61%)高,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组 Wexner 及 VAS 评分较对照组少,创面愈合时间较对照组短,差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组术后 IL-1 α 、TNF- α 、IL-6、MDA 水平均下降,VEGF、SOD 水平均上升,以研究组最显著,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 高位肛周脓肿患者采取 VSD 技术治疗疗效确切,能有效增强括约肌功能,减轻疼痛感,缩短愈合时间,且可有效降低 IL-1 α 、TNF- α 及 IL-6 水平,增强 VEGF 的表达,调节 SOD、MDA 水平,有利于患者术后恢复,临床应用前景可观。

【关键词】 高位肛周脓肿; VSD 技术; IL-1 α ; VEGF; SOD

Effects of VSD therapy on serum IL-1 α , VEGF and SOD levels in patients with high perianal abscess

JIANG Wenfeng^{1*}, MA Kai¹, TAN Linling¹, LIU Fang²

(1. Department of Anorectal, the Third Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Pidu District People's Hospital, Chengdu, Sichuan, China, 611730; 2. Department of Anorectal Integration of Traditional Chinese and Western Medicine, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, China, 637000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the effects of VSD therapy on the serum levels of Interleukin-1 α (IL-1 α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and superoxide dismutase (SOD) in patients with high perianal abscess. **Methods** 93 patients with high perianal abscess admitted to the Third Affiliated Hospital of Chengdu Medical College from May 2019 to May 2021 were analyzed, and according to the treatment, they were divided into the study group (internal mouth closure+VSD technique, $n=47$) and the control group (hanging thread drainage therapy, $n=46$). The clinical efficacy, postoperative clinical indicators, inflammatory factor levels [IL-1 α , Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6)], VEGF, and oxidative stress factors [SOD, Malondialdehyde (MDA)] were compared between the two groups. **Results** The total effective rate of treatment in the study group (93.62%) was higher than that in the control group (82.61%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The Wexner and VAS scores in the study group were lower than those in the control group, and the wound healing time in the study group was shorter than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-1 α , TNF- α ,

基金项目:四川省卫计委基金资助项目(16PJ130)

作者单位:1. 成都医学院第三附属医院·成都市郫都区人民医院肛肠科,四川,成都 611730

2. 川北医学院附属医院中西医结合肛肠科,四川,南充 637000

*通信作者:蒋文峰, E-mail:jiangwf19857@163.com

IL-6 and MDA in each group decreased after operation, and among which the study group was the most significant ($P<0.05$). **Conclusion** VSD technology is effective in the treatment of patients with high perianal abscess, which can effectively enhance sphincter function, relieve pain, shorten healing time, and can effectively reduce the levels of IL-1 α , TNF- α and IL-6, enhance the expression of VEGF, and regulate the levels of SOD and MDA. it is beneficial to the postoperative recovery of patients, and the clinical application prospect is considerable.

[KEY WORDS] High perianal abscess; VSD technique; IL-1 α ; VEGF; SOD

肛周脓肿为肛肠外科较为常见的一类疾病,该疾病是指发生于肛管与直肠交界处肛腺的脓肿。根据肛腺的感染位置可分为高、低位肛周脓肿,其中以高位肛周脓肿最为常见,该脓肿常位于肛提肌以上^[1]。由于脓液可能存在于肠周围疏松的组织中,因此对于高位肛周脓肿首选切开引流治疗,以便腔内脓性积液与有害物质及时排出,减轻脓性物质对于机体持续刺激而造成炎症反应^[2]。线引流法为既往临床常用于肛周脓肿的治疗方式,虽能有效缓解患者症状,但易造成患者肛门括约肌的损伤,影响患者术后肛门功能恢复。负压封闭引流(Vacuum sealing drainage, VSD)技术为近些年应用较广的高效引流术,可及时将脓液、渗液排出,不受创面位置限制,且能减少创面与外界环境的接触面积^[3]。本研究就VSD疗法对高位肛周脓肿患者血清白介素-1 α (Interleukin-1 α , IL-1 α)、血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)及超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)水平的影响进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年5月至2021年5月成都医学院第三附属医院收治的高位肛周脓肿患者93例,根据患者治疗方式的不同分为研究组(内口封闭+VSD技术, $n=47$)和对照组(挂线引流法治疗, $n=46$)。其中研究组男35例,女12例,平均年龄(43.28 ± 5.27)岁。对照组男33例,女13例,平均年龄(45.49 ± 5.87)岁。纳入标准:①所有患者的诊断均满足《肛周脓肿诊治指南》的标准^[4];②经影像学检查确定为高位肛周脓肿;③在本院住院治疗临床资料完整者。排除标准:①存在严重心、肝、肾等重要脏器疾病者;②处于妊娠期女性;③既往存在药物过敏情况;④患有严重器质性病变者;⑤严重感染者;⑥存在肛周手术史者。两组资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),存在可比较性。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

1.2.1 治疗方法

对照组:采取挂线引流法治疗。方法与肖莉等^[5]研究一致。

研究组:采取内口封闭+VSD技术治疗。在离肛缘3 cm以上位置,取主脓腔对应皮肤处作一弧形切口,长3 cm,进入脓腔后将脓液彻底排除,钝性分离腔内间隔,刮除坏死组织,采用双氧水冲洗并彻底止血。探查内口,修剪并缝合,采用生物胶加明胶海绵封闭内口,防止内口再通。放置VSD装置,根据脓腔大小选取泡沫敷料,充填至脓腔并缝合固定后将半透明膜粘贴,连接三通管,接通负压装置进行持续吸引。

1.2.2 检测方法

抽取患者手术前、后空腹肘静脉血5 mL,予以离心($3\ 000\ \text{r/min}$, $10\ \text{min}$, $r=10\ \text{cm}$)后取上清液,保存于 -60°C 中。采用酶联免疫吸附法检测IL-1 α 、VEGF、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor, TNF- α)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)水平,试剂盒购自上海森雄科技有限公司。采用放射免疫法检测SOD水平,试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司。采用硫代巴比妥酸法检测丙二醛(Malondialdehyde, MDA)水平,试剂盒购自上海润裕生物科技有限公司。上述检测过程均严格按照说明进行。

1.3 观察指标

①临床疗效^[6]:显效:创面完全愈合,症状及体征消失;有效:创面未愈合,可见明显填充,症状及体征明显改善;无效:症状、体征及创面未见明显好转,可见较多分泌物,填充效果欠佳。总有效率= $(\text{显效}+\text{有效})/\text{总数}\times 100\%$ 。②术后临床指标:包括肛门功能、疼痛情况及创面愈合时间。肛门功能参考Wexner评分法评估^[7],满分30分,得分越低说明肛门功能越好;疼痛情况参考VAS评分法评估^[8],满分10分,得分越高表明疼痛程度越高。

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;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

研究组临床治疗总有效率为93.62%,对照组为82.61%,研究组临床治疗总有效率较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
研究组	47	31(65.96)	13(27.66)	3(6.38)	44(93.62)
对照组	46	22(47.83)	16(34.78)	8(17.39)	38(82.61)
χ^2 值					4.180
P 值					0.041

2.2 两组术后临床指标比较

研究组Wexner及VAS评分较对照组少,创面愈合时间较对照组短,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组术后临床指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Wexner评分(分)	VAS评分(分)	创面愈合时间(d)
研究组	47	2.46 \pm 0.33	3.52 \pm 0.49	24.59 \pm 3.82
对照组	46	3.67 \pm 0.42	5.63 \pm 0.71	41.36 \pm 5.07
t 值		15.467	16.710	18.041
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表3 两组IL-1 α 、TNF- α 及IL-6水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-1 α (pg/mL)		TNF- α (ng/L)		IL-6(ng/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
研究组	47	262.18 \pm 4.38	59.46 \pm 3.56 ^a	191.56 \pm 25.27	103.46 \pm 15.19 ^a	163.59 \pm 10.37	92.48 \pm 8.26 ^a
对照组	46	260.64 \pm 4.57	84.34 \pm 3.91 ^a	186.30 \pm 24.68	139.77 \pm 18.47 ^a	159.86 \pm 10.25	115.48 \pm 7.65 ^a
t 值		1.660	32.099	1.015	10.364	1.744	13.924
P 值		0.101	<0.001	0.313	<0.001	0.085	<0.001

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组VEGF、SOD、MDA水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF(g/L)		SOD(U/mL)		MDA(μ mol/mL)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
研究组	47	78.64 \pm 15.36	181.46 \pm 26.35 ^a	75.46 \pm 8.48	132.27 \pm 12.58 ^a	7.46 \pm 0.51	4.32 \pm 0.40 ^a
对照组	46	82.49 \pm 16.41	161.48 \pm 22.76 ^a	77.52 \pm 8.63	117.49 \pm 10.63 ^a	7.28 \pm 0.49	5.84 \pm 0.43 ^a
t 值		1.168	3.910	1.161	6.113	1.735	17.655
P 值		0.246	<0.001	0.249	<0.001	0.086	<0.001

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组IL-1 α 、TNF- α 及IL-6水平比较

与术前相比,两组术后IL-1 α 、TNF- α 及IL-6水平均下降,其中以研究组最为显著,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组VEGF、SOD、MDA水平比较

与术前相比,两组术后VEGF及SOD水平均上升,MDA水平均下降,其中以研究组最为显著,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

高位肛周脓肿的发生主要是由于肛周的细菌感染引发的,常见病原菌包括大肠杆菌、链球菌、金黄色葡萄球菌等^[9]。高位肛周脓肿可导致患者肛周组织的破坏,甚至引发肛肠疾病的发生,包括排便困难、大便失禁等情况。该疾病采用单纯的抗感染治疗一般无效,故临床常采用手术治疗^[10]。近年来,VSD技术在治疗创伤感染方面应用较为广泛^[11]。VSD技术通过对创面进行持续负压吸引,改善局部组织的血液循环,且创面与吸附性和透水性良好的敷料紧密、完全贴合,可全面、无死角地清除创面有害物质,也可为创面营造一个良好的封闭、湿润环境,有效减少创面直接暴露于空气中受到细菌感染,促进愈合^[12]。本研究结果显示,研究组Wexner及VAS评分较对照组少,创面愈合时间较对照组短,且研究组临床治疗总有效率(93.62%)较对照组高(82.61%),由此可见内口封闭联合VSD技术较挂线引流法的治疗效果更为显著,这与既往研究结果类似^[13]。究其原因可能

为,由于内口封闭联合 VSD 技术治疗主要于内外括约肌中进行,不会对括约肌造成损害,从而有效地保证了肛门括约肌功能的完整,同时术后采取弧形切口有效减轻对患者的创伤,从而有效减轻患者术后肛门疼痛的程度,缩短了创面的愈合时间。

相关研究显示,炎性因子是造成高位肛周脓肿的重要因素^[14]。IL-1 α 、TNF- α 及 IL-6 等炎性因子作为临床检测感染的常用指标,在感染性疾病的诊断中亦得以广泛普及应用。IL-1 α 为反映机体炎症损伤程度的重要指标,参与炎症性疾病的发生、发展过程;TNF- α 属于炎症反应的起始因子,可促进相关炎性细胞因子的释放,如 IL-6 等炎性细胞因子的释放,同时还可加重机体的炎症反应^[15]。本研究中术后两组患者 IL-1 α 、TNF- α 及 IL-6 水平均下降,其中以研究组最为显著,这与既往 Simatou 等^[16] 研究结果相似,表明内口封闭联合 VSD 技术治疗对于高位肛周脓肿患者血清炎性因子的控制效果更为理想。

VEGF 属于一种细胞因子,对血管生长具有较强的诱导作用,同时亦可增强血管的通透性^[17]。本研究结果说明内口封闭联合 VSD 技术治疗可加速脓腔内血管和肉芽组织的新生。SOD 与 MDA 分别为人体脂质过氧化产物及抗氧化物酶。其中 SOD 可与超氧阴离子反应,生成过氧化氢,是内皮细胞的保护因子,可间接反映脂质过氧化及组织损伤的程度;而 MDA 是易损害血管内皮细胞,对维持机体氧化及抗氧化平衡起着重要作用^[18]。本研究结果显示,术后研究组 SOD 及 MDA 水平优于对照组,表明内口封闭联合 VSD 技术治疗有利于受损皮肤黏膜的修复。

综上所述,高位肛周脓肿患者采取 VSD 技术治疗疗效确切,能有效增强括约肌功能,减轻疼痛感,缩短愈合时间,且可有效降低 IL-1 α 、TNF- α 及 IL-6 水平,增强 VEGF 的表达,调节 SOD、MDA 水平,有利于患者术后恢复,临床应用前景可观。

参考文献

- [1] 傅林平,蔡敬泽,潘学东,等.高位肛周脓肿患者切口感染病原学及炎症因子表达研究[J].中华医院感染学杂志,2019,29(14):2181-2184.
- [2] Jun D, Su M, Kai HH, et al. Effects of the nontourniquet combined with controlled hypotension technique on pain and long-term prognosis in elderly patients after total knee arthroplasty: a randomized controlled study[J]. J Anesth, 2019, 33(5):587-593.
- [3] 赵春雷,王丽璞.珍龙生肌散外敷对高位肛周脓肿术后患者血管内皮生长因子和炎性细胞因子,肛门功能的影响[J].河北中医药学报,2019,34(1):57-60.
- [4] 肖莉,张天佑,何涛.隧道式拖线引流术与切开挂线引流术治疗马蹄型肛周脓肿的疗效及安全性对比研究[J].川北医学院学报,2021,36(5):632-635.
- [5] Wang JP, Cai C, Du JL, et al. Role of interleukin-17 in the pathogenesis of perianal abscess and anal fistula: a clinical study on 50 patients with perianal abscess[J]. ANZ J Surg, 2018, 18(5):432-438.
- [6] Nam IC, Kim SY, Joo YH, et al. Effects of Voice Therapy Using the Lip Trill Technique in Patients With Glottal Gap[J]. J Voice, 2018, 32(7):1425-1429.
- [7] 柴小琴,冯文哲,石鹏,等.消痈促愈方对高位肛周脓肿术后患者的疗效及炎症因子的影响[J].中国中医急症,2021,30(9):1572-1574,1582.
- [8] 王洁,曹吉勋.紫草油联合美洲大蠊粉在低位肛周脓肿术后的应用[J].中国中西医结合外科杂志,2019,25(4):488-491.
- [9] Matteo R, Simone M, Gilberto P. TAMIS - Flap Technique: Full-thickness Advancement Rectal Flap for High Perianal Fistulae Performed Through Transanal Minimally Invasive Surgery[J]. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech, 201, 19(4):53-56.
- [10] Litta F, Scaldaferrri F, Parello A, et al. Anorectal function and quality of life in IBD patients with a perianal complaint[J]. J Invest Surg, 2019, 32(1):108-116.
- [11] 陈敏远.一期根治术对肛周脓肿患儿肛门功能及术后血清血管内皮生长因子、炎症因子的影响[J].中国妇幼保健,2019,34(22):5185-5188.
- [12] Uzun M, Gencer M, Turkon H, et al. Effects of Melatonin on Blood Pressure, Oxidative Stress and Placental Expressions of TNF α , IL-6, VEGF and sFlt-1 in RUPP Rat Model of Preeclampsia[J]. Arch Med Res, 2018, 27(8):386-392.
- [13] 程海霞,吴松梅,明晓峰,等.VSD对骨折创面感染患者血清炎症因子及骨性标志物的影响[J].中华医院感染学杂志,2019,29(23):3598-3602.
- [14] Yu Z, Wang Y, Li Y, et al. Effect of Moxibustion on the Serum Levels of MMP-1, MMP-3, and VEGF in Patients with Rheumatoid Arthritis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 17(9):249-253.
- [15] 董景玉.脐带血 PCT、TNF- α 、IL-6 对新生儿宫内细菌感染的诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):136-139.
- [16] Simatou M, Papandreou M, Billis E, et al. Effects of the Ergon instrument - assisted soft tissue mobilization technique (IASTM), foam rolling, and static stretching application to different parts of the myofascial lateral line on hip joint flexibility[J]. J Phys Ther Sci, 2020, 31(4):425-429.
- [17] 邢效如,袁富玲,郝雅男,等.肌萎缩侧索硬化患者血清 SOD、GSH-Px、MIP-1 α 、VEGF 水平与肌电图特征及病程的关系研究[J].现代生物医学进展,2021,21(12):2263-2266+2234.
- [18] Orkun Y, Ylmaz O, Ahmet BA, et al. Effects of concentrated growth factors (CGF) on the quality of the induced membrane in Masquelet's technique-An experimental study in rabbits[J]. Injury, 2018, 49(8):1497-1503.

miR-375 靶向 YAP1 调节宫颈癌细胞侵袭迁移的机制研究

何小丽 林蓓蓓 范幸*

[摘要] 目的 探讨 miR-375 对宫颈癌细胞侵袭、迁移的影响及调控机制。方法 选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月在长沙市妇幼保健院行宫颈癌根治术患者 50 例,取切除的癌组织、癌旁组织标本。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测癌组织、癌旁组织 miR-375 和 YAP1 的表达, Pearson 分析两者的相关性,并分析两者表达与宫颈癌临床病理学参数的关系。体外培养 HeLa 细胞,分成空白对照组(NC)、miR-375 激动剂组(miR-375 mimic)、YAP1 抑制组(shYAP1)、miR-375+YAP1 抑制组(sh-miR-375+sh-YAP1);细胞迁移侵袭试验技术(Transwell)检测细胞侵袭性;细胞划痕检测细胞迁移性;蛋白质印迹(Western blot)检测各组上皮间充质转化(EMT)相关蛋白表达情况。荧光素酶系统验证 miR-375 与 YAP1 的靶向性。结果 宫颈癌组织中 miR-375 表达低于癌旁组织, YAP1 表达高于癌旁组织, 差异均有统计学意义($P<0.05$); Pearson 分析显示 miR-375 与 YAP1 呈负相关($P<0.05$)。miR-375 和 YAP1 mRNA 表达在不同组织学分级、FIGO 分期、淋巴结转移间存在统计学意义($P<0.05$)。miR-375 过表达与抑制 YAP1 的表达后, 迁移与侵袭细胞数显著减少($P<0.05$)。结论 miR-375 可通过负向调节 YAP1 抑制 EMT 相关蛋白, 进而抑制宫颈癌细胞的迁移、侵袭。

[关键词] miR-375; YAP1; 宫颈癌细胞; 侵袭; 迁移

Mechanism of miR-375 targeting YAP1 to regulate the invasion and migration of cervical cancer cells

HE Xiaoli, LIN Beibei, FAN Xing*

(Department of Gynecology, Changsha Maternal and Child Health Care Hospital, Hunan Normal University, Changsha, Hunan, China, 410007)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of miR-375 on invasion and migration of cervical cancer cells and its regulatory mechanism. **Methods** From January 2019 to January 2021, 50 patients with cervical cancer underwent radical mastectomy in Changsha Maternal and Child Health Hospital were selected, and tumor tissue and paracancerous tissue samples were collected. The correlation between *mir-375* and YAP1 expression and clinical pathological parameters of cervical cancer was analyzed by Pearson. HeLa cells were cultured in vitro and divided into blank control group (NC), miR-375 agonist group (*miR-375* mimic), YAP1 inhibitory group (shYAP1), and miR-375 + YAP1 inhibitory group (SH-*miR-375* + SH-YAP1). Cell invasion assay (Transwell) was used to detect cell invasion activity. Cell migration activity was detected by cell scratch assay. Western blot was used to detect the expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT) related proteins in each group. The luciferase system verified the targeting of miR-375 and YAP1. **Results** *miR-375* expression in cervical cancer tissues was lower than that in adjacent tissues, and YAP1 expression was higher than that in adjacent tissues with statistically significant differences ($P<0.05$). Pearson analysis showed that miR-375 was negatively correlated with YAP1 ($P<0.05$). The mRNA expressions of miR-375 and YAP1 were statistically significant in different histological grades, FIGO stages and lymph node metastasis ($P<0.05$). Af-

基金项目:湖南省卫生健康委项目(202105011187);湖南省长沙市自然科学基金项目(kq2014016)

作者单位:湖南师范大学附属长沙市妇幼保健院妇一科,湖南,长沙 410007

*通信作者:范幸, E-mail:578278486@qq.com

ter miR-375 overexpression and inhibition of YAP1 expression, the number of migrating and invading cells was significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** MiR-375 can inhibit the migration and invasion of cervical cancer cells by negatively regulating YAP1 and inhibiting EMT-related proteins.

[KEY WORDS] MiR-375; YAP1; Cervical cancer cell; Invasion; Migration

宫颈癌是一种常见的发生于女性生殖系统的妇科恶性肿瘤,其发病率及死亡率呈逐年上升趋势,给女性的生命健康带来严重的威胁^[1]。微小RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度为19~25个核苷酸的小分子非编码RNA,被认为是基因表达转录后的调控因子^[2]。研究显示,miRNAs参与调控恶性肿瘤的发生及发展,已成为肿瘤生物靶向治疗的靶标^[3]。YAP1是Hippo信号通路的组成部分,通路包含像Hippo/MST1-2激酶、Sav1结合体、LATS1/2激酶在内的激酶级联反应。裴峰等^[4]研究表明,LATS1/2激酶对肿瘤有抑制作用,而YAP1有致瘤基因的功能,调控YAP1表达可能成为宫颈癌靶向治疗的新思路。miR-375在宫颈癌等实体瘤内为异常低表达,提示其有可能存在抑癌基因的效应,但目前miR-375是否通过靶向YAP1调控宫颈癌细胞的生物学行为尚未明确^[5]。本文通过探讨miR-375靶向YAP1调节宫颈癌细胞侵袭迁移的机制,旨在为临床诊断及靶向治疗宫颈癌的提供新的方向。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年1月在长沙市妇幼保健院行宫颈癌根治术患者50例,取切除的癌组织、癌旁组织标本。患者平均年龄(58.27±9.57)岁。纳入标准:①符合《宫颈癌诊断与治疗指南(第四版)》中宫颈癌的诊断标准^[6],且经病理确诊为原发性宫颈癌;②未并发其他肿瘤;③无恶性肿瘤家族史。排除标准:临床病理资料及随访信息不完整者,临床病理资料包含组织学分级、有无淋巴结转移、肿瘤分期(Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)等。本研究已获得长沙市妇幼保健院伦理委员会审核批准,且均经患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 癌组织、癌旁组织标本的miR-375和YAP1表达

取标本磨碎后匀浆,12 000 rpm 转速离心15 min(离心半径10 cm)。TRIzol试剂盒(北京雷根

生物技术有限公司)提取总RNA。mRNA和miRNA的反转录分别使用PrimeScript™ RT Master Mix (TaKaRa, 日本)和miScript Reverse Transcription Kit (Qiagen, 德国)。使用Mastercycler® nexus X2 (Eppendorf, 德国)进行实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction technology, qRT-PCR)进行扩增。扩增条件:95℃,15 s,60℃,60 s,72℃,40 s,进行35个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法处理数据,并分别以GAPDH作为内参计算miR-375和YAP1 mRNA相对表达水平。引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

名称	序列
miR-375	Forward: 5'-ACACTCCAGCTGGGTAGCACCATCTGAAATC-3'
	Reverse: 5'-CTCAACTGGTGTCTCGTGGA-3'
YAP1	Forward: 5'-CTACTACCATTCCCCAGCCG-3'
	Reverse: 5'-CTACTACCATTCCCCAGCCG-3'
GAPDH	Forward: 5'-TGCACCACCAACTGCTTAG-3'
	Reverse: 5'-GATGCAGGGATGATGTTTC-3'

1.2.2 细胞培养

宫颈癌细胞系Hela购自上海生工生物工程技术服务有限公司。将细胞放在含有10%胎牛血清(Sigma-Aldrich, St. Louis, 美国)、100 U/mL青霉素、100 mg/mL链霉素的RPMI 1640(Gibco, Rockville, 美国)培养基中,置于37℃、5% CO₂、饱和湿度的细胞培养箱(Thermo Fisher Scientific, 美国)中静置培养,选取对数生长期细胞进行实验。

1.2.3 细胞转染分组

细胞按照 3×10^5 接种细胞,待细胞融合度80%时,去病毒上清按照最优的感染复数MOI值,转染细胞。转染48 h后,荧光显微镜观察荧光蛋白。传代后,换用含抗性DMEM培养液进行筛选,得到稳定传代的细胞克隆。获得miR-miR-375细胞、shYAP1细胞、miR-375+YAP1细胞。同时设空白对照(normal control, NC)组,予以常规培养。

1.2.4 细胞划痕试验检测细胞迁移活性

消化细胞、重悬后,将上述稳定转染的细胞均匀

接种于6孔板内,次日待细胞贴壁并长满后用微量加样器枪头垂直于6孔板底和标记,分别于划痕后0、12、24、48 h拍照,用photoshop软件测量划痕宽度,划痕愈合率代表迁移能力线划一条划痕。

1.2.5 细胞迁移侵袭试验技术(Transwell)检测细胞侵袭活性

基质胶溶液均匀铺在小室,向24孔板孔内加入500 μL 含10% FBS的培养液,FBS作为趋化因子诱导细胞穿膜。将各组细胞消化、收集、离心、重悬,制成单细胞悬液后调整细胞密度并接种至小室内,置于细胞培养箱内培养36 h。4%的多聚甲醛溶液中固定10 min,结晶紫溶液染色5 min,随机选取10个视野,计数平均每个视野细胞数。

1.2.6 蛋白质印迹(Western blot)法检测各组上皮间充质转化(Epithelial - Mesenchymal Transition, EMT)相关蛋白表达情况

检测EMT相关 β -catenin、Snail、Twist、E-cadherin、Vimentin的表达情况。各组细胞用PBS清洗3次后,加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液进行总蛋白提取,100 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 min,等量蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳分离并转移至PVDF膜上。经5%的BSA封闭1 h后加入相应的一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育后加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育1.5 h,加入发光液后凝胶成像仪进行曝光拍照并统计灰度值计算相对表达量。

1.2.7 荧光素酶系统验证miR-375与YAP1的靶向性

构建YAP1的3'UTR区域突变,将其与mimic和mimic control共转染入HCT116细胞中培养24 h。吸去上清,加入75 μL /孔的新鲜培养基,并加入75 μL /孔配置好的Luciferase底物,震荡10 min,用多光能酶标仪测定荧光值;加入75 μL /孔配置好的Stop reagent,震荡10 min,测定荧光值。

1.3 统计学方法

应用SPSS 16.0软件分析处理数据,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;Pearson分析miR-375与YAP1表达的相关性,另分析miR-375与YAP1表达与宫颈癌临床病理学参数的关系,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-375、YAP1表达量比较

与癌旁组织相比,miR-375在癌组织当中低表

达,YAP1在癌组织中高表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2、图1。

表2 miR-375、YAP1表达量比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of miR-375 and YAP1 expression levels ($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	miR-375	YAP1
癌组织	50	0.58 \pm 0.11	4.76 \pm 0.68
癌旁组织	50	3.58 \pm 0.87	0.47 \pm 0.09
<i>t</i> 值		24.190	44.225
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

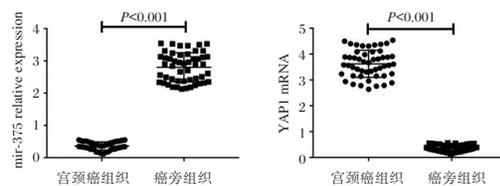


图1 miR-375、YAP1在宫颈癌及癌旁组织的表达量比较

Figure 1 Comparison of Mir-375 and YAP1 expression levels in cervical cancer tissues and adjacent tissues

2.2 miR-375和YAP1 mRNA与宫颈癌组织的相关性

Pearson分析显示miR-375和YAP1 mRNA在宫颈癌组织中呈负相关($r = -0.973, P < 0.001$)。

2.3 miR-375和YAP1 mRNA表达与宫颈癌临床病理学参数的关系

miR-375和YAP1 mRNA在不同组织学分级、FIGO分期、淋巴结转移间表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 细胞划痕实验检测细胞的迁移活性

24 h、48 h时miR-375mimic、shYAP1细胞迁移率低于NC和sh-miR-375+sh-YAP1,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图2。

2.5 Transwell小室实验检测细胞的侵袭活性

24 h miR-375 mimic、shYAP1细胞侵袭数量明显低于NC和sh-miR-375+sh-YAP1,差异有统计学意义($P < 0.05$);miR-375 mimic、shYAP1细胞侵袭数量差异无统计学意义($P > 0.05$),NC和sh-miR-375+sh-YAP1细胞侵袭数量差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图3。

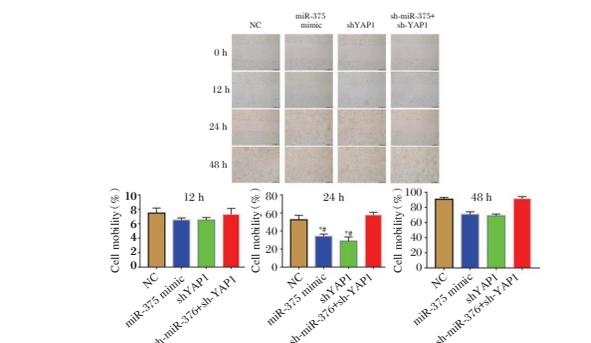
2.6 Western blot法检测细胞EMT相关蛋白表达情况

miR-375 mimic、shYAP1细胞 β -catenin、Snail、Twist、E-cadherin、Vimentin蛋白表达明显明显低于NC和sh-miR-375+sh-YAP1,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图4。

表3 miR-375和YAP1 mRNA表达与宫颈癌临床病理学特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Relationship between miR-375 and YAP1 mRNA expression and clinicopathological features of cervical cancer ($\bar{x} \pm s$)

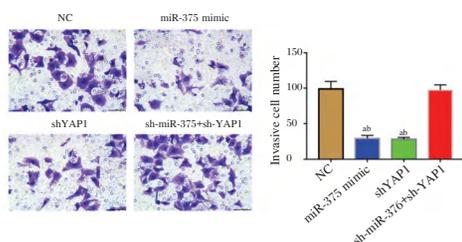
临床病理特征	分类	n	miR-375	t值	P值	YAP1	t值	P值
年龄(岁)	≥60	21	0.35±0.02	1.745	0.087	3.63±0.29	0.125	0.901
	<60	29	0.36±0.02			3.62±0.27		
组织学分级	G1+G2	18	0.54±0.03	49.451	<0.001	3.24±0.21	10.188	<0.001
	G3	32	0.19±0.02			4.12±0.33		
FIGO分期	I期+II期	30	0.55±0.05	33.920	<0.001	3.04±0.23	15.999	<0.001
	III期	20	0.15±0.02			4.35±0.35		
肌层浸润深度	≥1/2	18	0.36±0.03	1.734	0.089	3.61±0.21	0.487	0.628
	<1/2	32	0.35±0.01			3.65±0.31		
淋巴结转移	是	30	0.21±0.02	31.167	<0.001	4.23±0.24	14.376	<0.001
	否	20	0.43±0.03			3.11±0.31		
病理学类型	鳞癌	45	0.36±0.02	1.095	0.279	3.64±0.27	0.235	0.815
	腺癌	5	0.35±0.01			3.61±0.28		



注: *与NC相比 $P < 0.05$, #与sh-miR-375+sh-YAP1相比 $P < 0.05$ 。

图2 细胞划痕实验检测HeLa细胞的迁移活性

Figure 2 Cell scratch assay for migration activity of HeLa cells



注: a与NC相比 $P < 0.05$, b与sh-miR-375+sh-YAP1相比 $P < 0.05$ 。

图3 Transwell检测HeLa细胞的侵袭

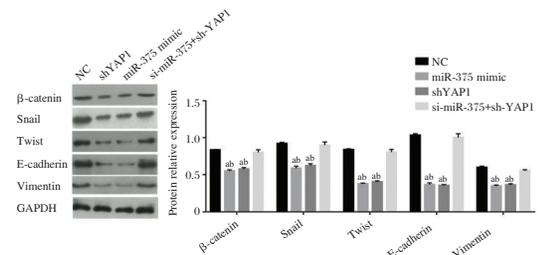
Figure 3 Invasion of HeLa cells detected by Transwell

2.7 双荧光素酶报告系统研究 miR-375 与 YAP1 靶向关系

miR-29a降低含有WT 3'UTR的YAP1的荧光素酶活性,但不降低含有Mut 3'UTR的YAP1的荧光素酶活性。见图5。

3 讨论

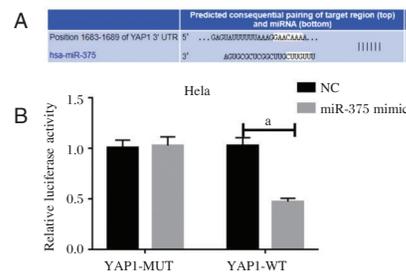
本研究结果提示 miR-375 在宫颈癌的发生及发展中可能发挥重要调控作用。进一步结果表明 miR-375 在宫颈癌细胞系中的表达水平均呈现为



注: a与NC相比 $P < 0.05$, b与sh-miR-375+sh-YAP1相比 $P < 0.05$ 。

图4 Western blot法检测HeLa细胞β-catenin、Snail、Twist、E-cadherin、Vimentin表达

Figure 4 Expression of β-catenin, Snail, Twist, e-cadherin and Vimentin in HeLa cells detected by Western blot



注: (A) miR-375与YAP1 3'UTR区域预测的结合位点; (B) miR-375与靶基因YAP1的重组载体的双荧光素酶报告结果。

图5 双荧光素酶试验结果

Figure 5 Results of double luciferase test

异常低表达,与既往研究^[7]一致。miR-375在宫颈癌中存在异常低表达已得到多项研究证实,Bayramoglu等^[8]发现其在宫颈鳞癌中低表达,且可通过靶向转录因子SP1抑制癌细胞的迁移和侵袭过程;Morel等^[9]研究发现miR-375通过抑制蛋白E6蛋白从而抑制人宫颈癌HPV16细胞增殖、侵袭过程。为了进一步明确miR-375在宫颈癌细胞侵袭、迁移中的作用,通过转化的平板中挑去阳性克隆测序验证后,细胞划痕实验结果显示24h、48h时miR-375

mimic、shYAP1 细胞迁移率低于 NC 组和 sh-miR-375+sh-YAP1; Transwell 实验结果显示, miR-375 mimic、shYAP1 细胞侵袭数量低于 NC 和 sh-miR-375+sh-YAP1。过表达 miR-375 可有效抑制宫颈癌细胞的侵袭和迁移,其机制与靶向 YAP1 有关,提示 miR-375 可通过靶向 YAP1 抑制宫颈癌的发展。张强等^[10]研究显示, miR-375 具有阻滞宫颈癌细胞增殖和迁移的作用,其作用机制可能与靶向调控 PIK3CA 密切相关,提示 miR-375 可能在宫颈癌中发挥抑癌作用。

miRNA 调控肿瘤细胞的生物学功能主要是通过与靶基因 3'UTR 结合,因此,本研究通过生物信息学平台 RNAInter 进行预测,确定 YAP1 评分较高的靶点 (Confidence Score=0.982)。YAP1 是 Hippo 通路中重要的组成部分,已被证实是一个促肿瘤靶点^[11]。YAP1 基因的 mRNA 在大多数肿瘤细胞内均呈现高表达,且和肿瘤的进展有较强的相关性。此外,周雅青等^[12]研究表明, YAP1 能对多数细胞株起到体外诱导作用引发 EMT,进而推动恶性肿瘤的发展。EMT 是肿瘤微环境调控癌细胞转移的最重要机制,上皮性肿瘤细胞发生 EMT 表示着细胞发生转移、侵袭能力加强^[13]。因此,本研究通过 Western blot 法检测细胞 EMT 相关蛋白表达情况,结果显示 miR-375 mimic、shYAP1 细胞相关蛋白表达低于 NC 组和 sh-miR-375+sh-YAP1 组,提示 miR-375 能够抑制细胞 EMT,而 YAP1 能够促进细胞 EMT。叶星明等^[14]表示 miR-375 可通过靶向 YAP1 的表达对曲妥珠单抗耐药细胞株的 EMT 进行调控。

本研究的双荧光素酶报告系统显示, YAP1 是 miR-375 靶标,且 miR-375 与 YAP1 3'UTR 区域存在结合位点,提示 YAP1 可能受到 miR-375 的调节。此外,本研究发现 miR-375 与 YAP1 在肿瘤组织中呈负相关,与 Kang 等^[15]报道一致,结果提示 miR-375 参与宫颈癌的发生,异常低表达会促进疾病发生恶化。本研究还探讨了 miR-375 和 YAP1 mRNA 表达与宫颈癌临床病理学特征的关系,结果发现, miR-375 和 YAP1 mRNA 表达在不同组织学分级、FIGO 分期、淋巴结转移间存在统计学意义。提示 miR-375、YAP1 在宫颈癌的发展及淋巴转移过程有参与作用,同时也表明了 miR-375、YAP1 可作为宫颈癌术后监测及预后的临床参考指标。

综上所述,可通过 miR-375 靶向负调控 YAP1 从而抑制 EMT,进一步抑制宫颈癌细胞的侵袭以

及迁移,为宫颈癌的治疗提供了新的靶点。此外,术后的 miR-375、YAP1 的表达情况可作为临床手术后的监测及预后指标。

参考文献

- [1] 张雪竹,贾丽华,张爱凤.北京市某妇幼保健院体检成年女性对宫颈癌认知度及影响因素分析[J].华南预防医学,2022,48(2):251-254.
- [2] 郑波,王琪,陈萍,等.血清 miR-543、miR-25-3p、miR-370 在肺癌中表达及意义[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(12):2026-2029+2033.
- [3] Shi Y, Liu Z, Lin Q, et al. MiRNAs and Cancer: Key Link in Diagnosis and Therapy[J]. Genes (Basel), 2021, 12(8):1289.
- [4] 裴峰,罗倩,吕文静. Hippo/YAP 信号通路对 HPV 感染宫颈癌细胞调节作用[J].中华肿瘤防治杂志,2019,26(3):148-154.
- [5] Xu X, Chen X, Xu M, et al. miR-375-3p suppresses tumorigenesis and partially reverses chemoresistance by targeting YAP1 and SP1 in colorectal cancer cells[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(18):7357-7385.
- [6] 周琦,吴小华,刘继红,等.宫颈癌诊断与治疗指南(第四版)[J].中国实用妇科与产科杂志,2018,34(6):613-622.
- [7] 田姗,江海,刘慧,等. miR-375 靶向 OTX1 对宫颈癌 HeLa 细胞增殖、侵袭、迁移的影响[J].河北医药,2021,43(14):2090-2095.
- [8] Bayramoglu TN, Bozgeyik E, Bozdag Z, et al. Identification of autophagy-associated miRNA signature for the cervical squamous cell cancer and high-grade cervical intraepithelial lesions[J]. Reprod Biol, 2021, 21(3):100536.
- [9] Morel A, Baguet A, Perrard J, et al. 5azadC treatment upregulates miR-375 level and represses HPV16 E6 expression[J]. Oncotarget, 2017, 8(28):46163-46176.
- [10] 张强,张晶晶,曹丽艳,等. miRNA-375 对宫颈癌细胞系 Si-Ha 增殖能力和迁移能力的影响及相关机制研究[J].临床和实验医学杂志,2019,18(16):1739-1743.
- [11] 苏丽萍,季敏,路子扬,等. AJUBA 调控 MST1 YAP1 和 TAZ 因子促进食管鳞状细胞癌细胞体外增殖迁移和侵袭[J].中国肿瘤临床,2022,49(7):331-337.
- [12] 周雅青,杨蓉,马刚.沉默 YAP1 可抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力[J].南方医科大学学报,2019,39(3):286-291.
- [13] Dongre A, Weinberg RA. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(2):69-84.
- [14] 叶星明,王淋,贾静,等. miR-375 靶向 YAP1 调控上皮-间质转化参与乳腺癌细胞曲妥珠单抗的耐药[J].中国癌症杂志,2021,31(1):27-34.
- [15] Kang W, Huang T, Zhou Y, et al. miR-375 is involved in Hippo pathway by targeting YAP1/TEAD4-CTGF axis in gastric carcinogenesis[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2):92.

Apo-B、Hcy、Apo-A 预测慢性心力衰竭疗效价值及生存状况分析

王丽兰* 刘慧 王逸君 秦小敏

[摘要] 目的 探讨载脂蛋白 B(Apo-B)、同型半胱氨酸(Hcy)、载脂蛋白 A(Apo-A)预测慢性心力衰竭(CHF)疗效价值及生存状况。方法 选取2018年2月至2021年11月安徽芜湖市第五人民医院心内科144例CHF患者作为研究组,均接受抗心力衰竭治疗,另纳入98名健康体检者作为对照组。统计研究组治疗前后有效(70例显著,45例有效)、无效患者及对照组血 Apo-B、Hcy、Apo-A 水平, Pearson 相关系数模型分析血清各指标与抗心力衰竭效果,采用受试者工作特征(ROC)曲线、卡普兰-迈耶曲线(K-M)分析血清各指标与抗心力衰竭效果、生存率关系。**结果** 治疗前研究组有效、无效患者血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗2周后、4周后研究组有效患者血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 水平低于无效患者,差值大于无效患者,差异有统计学意义($P<0.05$);CHF患者血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 水平与抗心力衰竭效果呈负相关($P<0.05$);三者差值联合预测抗心衰治疗无效 AUC 为 0.911 (95%CI: 0.852~0.952), 优于单独预测;血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 高水平患者生存率均低于 Apo-B、Hcy、Apo-A 低水平患者($P<0.05$)。**结论** CHF患者 Apo-B、Hcy、Apo-A 高表达与抗心力衰竭效果相关,联合检测有利于预测抗心力衰竭效果,指导后续治疗。

[关键词] 慢性心力衰竭; Apo-B; Hcy; Apo-A; 抗心力衰竭; 治疗效果; 生存状况

Analysis of Apo-B, Hcy, Apo-A in predicting the efficacy and survival of chronic heart failure

WANG Lilan*, LIU Hui, WANG Yijun, QIN Xiaomin

(Department of Cardiology, South Wannan Rehabilitation Hospital, The Fifth People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of apolipoprotein B (Apo-B), homocysteine (Hcy), and apolipoprotein A (Apo-A) in predicting the efficacy and survival of chronic heart failure (CHF). **Methods** 144 patients with CHF from February 2018 to November 2021 in the Department of Cardiology, the Fifth People's Hospital of Wuhu City, Anhui Province, were selected as the study group, all of whom received anti-heart failure treatment, and another 98 healthy physical examiners were included as the control group. The serum Apo-B, Hcy, Apo-A levels of effective (70 significant, 45 effective) and ineffective patients and the control group before and after treatment were measured in the study group, and the Pearson correlation coefficient model was used to analyze the serum indicators and anti-heart failure effect, and the subject operating characteristic (ROC) curve and Kaplan-Meier curve (K-M) were used to analyze the serum indicators and anti-heart failure effect and survival rate. The relationship between serum indices and anti-heart failure effect and survival rate was analyzed using ROC curve and Kaplan-Meier curve (K-M). **Results** Serum Apo-B, Hcy, and Apo-A levels were higher in effective and ineffective patients in the study group than those in the control group before treatment, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum Apo-B, Hcy,

基金项目:芜湖市卫生健康委科研项目(WHWJ2021y085)

作者单位:安徽省皖南康复医院·芜湖市第五人民医院心内科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:王丽兰, E-mail: wanglilan7129@163.com

and Apo-A levels were lower in effective patients than in ineffective patients in the study group after 2 weeks and 4 weeks of treatment, and the difference was greater than in ineffective patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum Apo-B, Hcy, and Apo-A levels in CHF patients were negatively correlated with the effect of anti-heart failure ($P<0.05$). The AUC of the three differences combined to predict the ineffectiveness of anti-heart failure treatment was 0.911 (95% CI: 0.852-0.952), which was better than the independent prediction. The survival rate of patients with high levels of serum Apo-B, Hcy and Apo-A was lower than that of patients with low levels of Apo-B, Hcy and Apo-A ($P<0.05$). **Conclusion** The high expression of Apo-B, Hcy, and Apo-A in patients with heart failure is associated with the anti-heart failure effect, and the combined detection is beneficial to predict the anti-heart failure effect and guide the follow-up treatment.

[KEY WORDS] Heart failure; Apo-B; Hcy; Apo-A; Anti-heart failure; Therapeutic effect

心力衰竭是各种心脏病引起心功能受损的综合征,据推算中国心力衰竭患者高达650万~875万^[1]。慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)是常见心力衰竭类型,具有发病率高、反复发作、预后差等特点,给临床诊治带来巨大挑战。抗心力衰竭治疗涉及利尿、强心等药物,可有效控制呼吸困难、咳嗽、紫绀等症状,但仍有部分患者对该治疗方案不敏感,如何预测疗效成为亟待解决问题。同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)是蛋氨酸及胱氨酸中间代谢产物,高Hcy是CHF独立危险因素^[2]。研究证实,CHF患者存在冠状动脉微血管功能异常,与之相关的血脂异常受到临床学者高度重视^[3]。载脂蛋白A(Apolipoprotein A, Apo-A)、载脂蛋白B(Apolipoprotein B, Apo-B)是评价血脂代谢紊乱重要标志,亦是动脉粥样硬化独立危险因素^[4]。因此,本研究创新性分析血清Hcy、Apo-B、Apo-A表达与抗心力衰竭效果及生存状况关系,为本病确定治疗方案提供有利依据。报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年2月至2021年11月安徽芜湖市第五人民医院心内科144例CHF患者作为研究组,均符合CHF诊断标准^[5],结合超声检查确诊;纽约心脏病学会(New York Heart Association, NYHA)心功能分级II~IV级^[6];患者及家属知晓并签署同意书。另纳入98名健康体检者作为对照组,均无心血管器质性病变及心血管病史。排除恶性肿瘤、肝肾异常、感染性疾病、不配合检查者。研究组男88例,平均年龄(66.34 ± 6.23 岁),女56例,平均年龄(68.23 ± 4.51 岁);对照组男55例,平均年龄(65.87 ± 6.31 岁),女43例,平均年龄(66.14 ± 5.52 岁)。两组年龄、性别比较,差异无统计学意义

($P>0.05$),有可比性。本研究征得医院伦理委员会批准通过。

1.2 方法

①血清各指标检测:入院次日清晨,采集2 mL 静脉血,离心15 min($2\ 500\ \text{r}/\text{min}$, $r=6\ \text{cm}$),取上清液,血清Hcy采用循环酶法测定,Apo-B、Apo-A采用双抗体夹心法测定,均参照上海纪宁实业有限公司试剂盒说明书执行操作。②抗心力衰竭治疗:研究组均接受贝那普利、呋塞米、硝酸酯类、美托洛尔、他汀类药物等治疗,高血压者加服抗压药物,高血糖者加服降糖药物,心房颤动者加服抗凝药物,连续治疗4周。③抗心力衰竭效果^[6]:分为显效(心功能改善2级)、有效(心功能改善1级)、无效(未至上述标准)3个等级。将有效及显效纳入总有效。本研究中共发现70例显效,45例有效,29例无效。

1.3 统计学处理

应用SPSS 22.0软件包处理数据,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)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,组间比较采用SNK- q 检验,采用Pearson相关系数模型分析相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)、卡普兰-迈耶曲线(K-M)分析血清各指标与抗心力衰竭效果、生存率关系。 $P<0.05$ 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组不同疗效患者治疗前后血清各指标

治疗前研究组有效、无效患者血清Apo-B、Hcy、Apo-A水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗2周后、4周后研究组有效患者血清Apo-B、Hcy、Apo-A水平低于无效患者,差值大于无效患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 研究组不同疗效患者治疗前后血清各指标 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Blood indices before and after treatment in patients with different effect in the study group ($\bar{x} \pm s$)

项目	研究组		对照组 (n=98)	F/t值	P值
	有效 (n=115)	无效 (n=29)			
Apo-B(g/L)					
治疗前	1.85±0.31	2.00±0.35	1.02±0.22	273.514	0.000
治疗2周后	1.55±0.32	1.92±0.41		5.243	0.000
治疗4周后	1.14±0.14	1.83±0.18		22.325	0.000
治疗4周后差值	0.71±0.12	0.17±0.04		23.846	0.000
Hcy(μmol/L)					
治疗前	24.36±4.11	25.29±4.68	17.71±3.46	88.687	0.000
治疗2周后	21.12±3.38	24.05±4.42		3.907	0.000
治疗4周后	19.37±3.65	23.54±4.03		5.383	0.000
差值	4.99±0.34	1.75±0.15		50.002	0.000
Apo-A(g/L)					
治疗前	1.47±0.33	1.52±0.29	0.77±0.15	207.672	0.000
治疗2周后	1.31±0.28	1.50±0.34		3.123	0.000
治疗4周后	0.89±0.15	1.48±0.31		14.758	0.000
治疗4周后差值	0.58±0.12	0.04±0.03		23.986	0.000

2.2 CHF患者血清各指标与抗心力衰竭效果相关性

CHF患者血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 水平与抗心力衰竭效果呈负相关(P<0.05)。见表2。

表2 CHF患者血清各指标与抗心力衰竭效果相关性
Table 2 Correlation between blood indices and anti-heart failure effect in patients with heart failure

项目	Apo-B		Hcy		Apo-A	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
抗心力衰竭效果	-0.612	<0.001	-0.631	<0.001	-0.588	<0.05

2.3 血清各指标差值预测 CHF 患者治疗疗效

ROC 曲线分析,三者差值联合预测 CHF 患者抗心衰治疗无效的 AUC 为 0.911(95%CI: 0.852~0.952),明显优于单独预测(P<0.05)。见表3、图1。

表3 血清各指标差值预测 CHF 患者治疗疗效

Table 3 Prediction of therapeutic effect of CHF patients by the difference of serum indicators

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
Apo-B 差值	0.796	0.727~0.858	<0.65 g/L	82.76	62.61	<0.001
Apo-A 差值	0.805	0.730~0.866	<0.59 g/L	93.10	57.39	<0.001
Hcy 差值	0.726	0.645~0.797	<4.99 g/L	79.31	58.26	<0.001
三者差值联合	0.911	0.852~0.952		86.21	86.96	<0.001

2.4 血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 表达与生存状况关系

根据 ROC 曲线获取血清 Apo-B、Hcy、Apo-A 水平最佳截断值,以此为界分为低水平和高水平, Apo-B、Hcy、Apo-A 高水平患者生存率均低于 Apo-B、

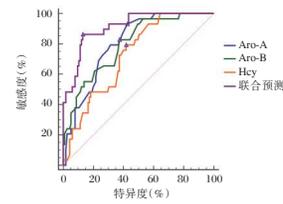


图1 血清各指标差值预测 CHF 患者治疗疗效的 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve of the difference of each index of blood to predict the efficacy of treatment in patients with heart failure

Hcy、Apo-A 低水平患者,差异有统计学意义(P<0.05)。见图2。

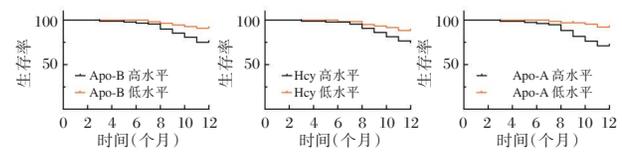


图2 生存曲线

Figure 2 Survival curve

3 讨论

CHF 是心功能失代偿的综合表现,发病机制复杂,治疗较为棘手,5年生存率接近于恶性肿瘤,是目前最受关注的心血管疾病^[7]。抗心衰药物的应用虽可延长患者生存时间,改善其生活质量,但目前实际诊疗状况仍与人们对疗效期待值存在一定差异,尽早实施心脏生化标志物检测对抗心力衰竭效果监测及预后评估具有现实意义。

Hcy 是人体代谢非必要氨基酸,健康人群中含量极低,在心力衰竭、冠心病、急性心肌梗死等心血管疾病中显著升高,符合本研究结论^[8]。可能机制为:高 Hcy 可持续刺激血管壁,诱发血管炎症,加快冠状动脉粥样硬化斑块形成;可介导心血管内皮细胞释放凝血因子,抑制抗凝物质活性,导致血小板聚集,增加血栓风险;可增加细胞内活性氧成分及血管脂质过氧化反应,加重心血管损伤^[9-10]。上述因素综合作用下引起心室重构,诱发心血管疾病,因此 Hcy 在 CHF 诊断中意义重大。相关研究表明,贝那普利、呋塞米、美托洛尔等抗心力衰竭药物均可下调 Hcy 水平,延缓 CHF 患者病情进展^[11]。贝那普利可竞争性抑制血管紧张素转换,降低交感神经系统活性,阻碍心室重构;美托洛尔可上调β受体,抑制交感神经兴奋,减少心肌耗氧量,抑制心室重构,下调 Hcy 水平。本研究数据显示,治疗2周后、4周后研究组有效患者血

清Hcy低于无效患者,两者间呈显著负相关,说明检测Hcy水平变化有助于动态了解抗心力衰竭效果,指导后续临床工作。K-M曲线显示,Hcy高水平生存率低于Hcy低水平患者,该结果说明下调Hcy可减轻血管内皮细胞损伤,降低炎症反应及脂质过氧化反应,促进疾病良好转归。

资料显示,血脂异常在冠状动脉疾病及其所致心力衰竭发生发展中扮演重要角色,其中以LDL-C升高作为明显^[12]。Apo-B是LDL主要成分,可参与胆固醇吸收、转运、代谢全过程,在脂质代谢过程中发挥关键作用。研究证实,Apo-B是引起动脉粥样硬化主要载脂蛋白,相比于其他血脂指标,其对冠状动脉疾病发病预测价值更大^[13]。Apo-A主要分布于HDL-C,可将胆固醇从组织中逆转运至肝脏,在抗动脉粥样硬化中具有重要作用。以往研究表明,CHF患者中Apo-B、Apo-A呈高表达,佐证本研究结论,考虑原因与其参与机体代谢、血管舒张、动脉斑块形成有关,下调Apo-B、Apo-A表达有望减缓冠状动脉粥样硬化发生发展,控制CHF病程^[14-15]。本研究还发现,治疗2周、4周后研究组有效患者血清Apo-B、Apo-A低于无效患者,且其差值单独预测抗心力衰竭治疗无效的AUC分别为0.807、0.695,可见血清Apo-B、Apo-A水平对抗心力衰竭治疗效果具有预测价值,可作为CHF患者疗效评估重要指标。同时本研究还发现,Apo-B、Apo-A高水平患者生存率低于Apo-B、Apo-A低水平患者,可见监测血清Apo-B、Apo-A水平变化可为心力衰竭患者预后转归提供有利依据。

另从ROC曲线得知,血清Apo-B、Apo-A、Hcy差值联合预测CHF患者抗心衰治疗无效的AUC为0.911,接近于1,说明三者联合检测具有较高预测价值,考虑原因与三者 CHF 发生发展中共同作用有关。仍需注意的是,血清Apo-B、Apo-A、Hcy差在CHF患者疗效预测中虽具有一定灵敏度,尚不可作为独立检查项目,建议后续研究结合三者差值变化及临床表现进行综合鉴别诊断。

综上所述,CHF患者Apo-B、Hcy、Apo-A高表达与抗心力衰竭效果明显相关,联合检测有利于预测抗心力衰竭效果,指导后续治疗及预后改善。但本研究纳入样本量少,一定程度上影响研究数据结果可信度,有待日后大规模临床研究进一步验证分析。

参考文献

- [1] 贲倩莹,朱凌燕,黄晓莉,等.慢性心力衰竭患者自我管理现状及其影响因素[J].华南预防医学,2021,47(1):109-112.
- [2] Yao Z, Li G, Li G, et al. Correlation between serum urea nitrogen, cystatin C, homocysteine, and chronic heart failure [J]. Am J Transl Res, 2021, 15(4): 3254-3261.
- [3] Cherubini A, Palomba A, Morosin M, et al. Achieving optimal cholesterol levels in patients with chronic ischemic heart disease: from guidelines to the real world [J]. G Ital Cardiol (Rome), 2015, 16(4):240-249.
- [4] 潘兴邦,李凡,陈晨,等.脂蛋白 α 、载脂蛋白B/A-1与颈动脉Crouse积分联合检测对冠状动脉病变程度的预测价值[J].中国分子心脏病学杂志,2021,21(2):3856-3860.
- [5] 葛均波,徐永健.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:163.
- [6] 王亮亮,卫海松,高海旺,等.注射用益气复脉治疗气阴两虚型糖尿病肾病合并慢性心力衰竭的临床效果[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(19):3250-3252.
- [7] Horodinschi RN, Bratu OG, Dediú GN, et al. Heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: a review [J]. Acta Cardiol, 2020, 75(2):97-104.
- [8] 海澜,雷晓亭,王鹏,等.血清Hcy及NT-pro-BNP与慢性心力衰竭患者临床预后的相关性研究[J].河北医学,2020,26(10):1712-1715.
- [9] 雷蕾,冯杰,雷燕,等.PTX3,OPG及Hcy与ACS患者PCI术后支架内再次狭窄的相关性分析[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):288-291.
- [10] Wang X, Wang F, Feng Z, et al. The association between levels of serum homocysteine and chronic heart failure: a protocol for systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2021, 5(5):e24117.
- [11] 时彬,卢运,魏晶晶,等.酒石酸美托洛尔联合贝那普利对高血压合并心力衰竭患者心功能指标,血压昼夜节律变化及心率变异性的影响[J].中南医学科学杂志,2022,50(1):93-97.
- [12] Kloer HU, Belardinelli R, Ruchong O, et al. Combining ubiquinol with a statin may benefit hypercholesterolaemic patients with chronic heart failure [J]. Heart Lung Circ, 2020, 29(2):188-195.
- [13] 李欣颖,张大庆.载脂蛋白B在动脉粥样硬化性心血管疾病防治中的最新进展[J].实用药物与临床,2020,23(9):854-858.
- [14] Pourrajab B, Naderi N, Janani L, et al. Comparison of probiotic yogurt and ordinary yogurt consumption on serum pentraxin3, nt-probnp, oxldl, and apob100 in patients with chronic heart failure: a randomized, triple-blind, controlled trial [J]. Food Funct, 2020, 18(11):10000-10010.
- [15] Yan J, Pan Y, Xiao J, et al. High level of lipoprotein(a) as predictor for recurrent heart failure in patients with chronic heart failure: a cohort study [J]. Arq Bras Cardiol, 2019, 18(2):197-204.

RF、Anti-CCP 抗体及 ESR 对 RA 疾病活动度和治疗后复发的评估价值

肖华^{1*} 梁永钢¹ 张书娟¹ 谢林森¹ 封利欣²

[摘要] 目的 探究类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(Anti-CCP)及红细胞沉降率(ESR)水平对类风湿性关节炎(RA)疾病活动度和治疗后复发的评估价值。方法 以2019年1月到2020年12月郑州大学附属郑州中心医院收治的106例类风湿性关节炎患者为观察组,并根据RA疾病活动指数(DAS28)分为高活动度、中活动度、低活动度三个亚组,根据复发情况分为复发组、未复发组两个亚组。以同期50名健康体检者为对照组。检测两组及观察组不同疾病活动度、不同复发情况患者RF、Anti-CCP抗体及ESR水平,使用Spearman相关分析RF、Anti-CCP抗体及ESR水平对类风湿性关节炎疾病活动度和治疗后复发的相关性,并通过ROC曲线分析RF、Anti-CCP抗体、ESR水平及联合检测对治疗后复发的预测价值。结果 观察组患者的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平为明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。根据不同疾病活动度将观察组分为高活动度24例、中活动度54例、低活动度28例。RF、Anti-CCP抗体及ESR水平:高活动度组>中活动度组>低活动度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。106例患者中,复发的16例,未复发的90例。未复发组患者的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平明显低于复发组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。Spearman相关分析显示观察组患者的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与疾病活动度、复发具有明显的相关性(P 均 < 0.05)。以患者的RF、Anti-CCP抗体及ESR含量变化建立ROC分析模型,RF、Anti-CCP抗体、ESR及联合预测治疗后复发曲线下面积为0.635、0.662、0.698、0.825,患者RF、Anti-CCP抗体及ESR对治疗后复发有一定的预测价值。结论 RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与类风湿性关节炎的疾病活动度均存在一定的相关性,对患者疾病活动度和预后复发有一定的评估价值。

[关键词] RF; Anti-CCP抗体; ESR; 类风湿性关节炎

Evaluation of RF, anti-CCP antibody and ESR in RA disease activity and recurrence after treatment

XIAO Hua^{1*}, LIANG Yonggang¹, ZHANG Shujuan¹, XIE Linsen¹, FENG Lixin²

(1. Department of Clinical Laboratory, Zhengzhou Central Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450007; 2. Department of Rheumatology, Zhengzhou Central Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450007)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the evaluation value of rheumatoid factor (RF), anti-cyclic citrullinate peptide antibody (anti-CCP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) levels on disease activity and recurrence of rheumatoid arthritis (RA) after treatment. **Methods** A total of 106 patients with rheumatoid arthritis admitted to Zhengzhou Central Hospital affiliated to Zhengzhou University from January 2019 to December 2020 were selected as the observation group, and were divided into three subgroups according to RA activity index (DAS28), high activity, moderate activity and low activity, and two subgroups according to recurrence and non-recurrence. Fifty healthy subjects were selected as the control group. The levels of RF,

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20210774)

作者单位:1. 郑州大学附属郑州中心医院检验科,河南,郑州 450007

2. 郑州大学附属郑州中心医院风湿免疫科,河南,郑州 450007

*通信作者:肖华, E-mail:amber01992@163.com

anti-CCP antibody and ESR in patients with different disease activity and relapse were detected in the two groups and observation group. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between RF, anti-CCP antibody and ESR levels on the activity of rheumatoid arthritis disease and relapse after treatment. ROC curve was used to analyze the prediction value of RF, anti-CCP antibody and ESR levels and combined detection for recurrence after treatment. **Results** The levels of RF, anti-CCP antibody and ESR in observation group were significantly higher than those in control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The observation group was divided into 24 cases with high activity, 54 cases with moderate activity and 28 cases with low activity according to different disease activity. The levels of RF, anti-CCP antibody and ESR in high activity group > medium activity group > light activity group were statistically significant ($P < 0.05$). Of the 106 patients, 16 relapsed and 90 did not. The levels of RRF, anti-CCP antibody and ESR in the non-recurrence group were significantly lower than those in the recurrence group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that RF, anti-CCP antibody and ESR levels were significantly correlated with disease activity and recurrence in the observation group ($P < 0.05$). The ROC analysis model was established based on the changes of RF, anti-CCP antibody and ESR content of patients. The areas under the recurrence curve predicted by RF, anti-CCP antibody, ESR and their combination after treatment were 0.635, 0.662, 0.698, 0.825. RF, anti-CCP antibody and ESR have certain predictive value for recurrence after treatment. **Conclusion** The levels of RF, anti-CCP antibody and ESR are correlated with the disease activity of rheumatoid arthritis, which has certain evaluation value for patients' disease activity and prognosis and recurrence.

[KEY WORDS] RF; Anti-ccp antibody; ESR; rheumatoid arthritis

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 为慢性的、以炎性滑膜炎为主的全身系统性疾病, 多发于青中年女性^[1]。既往研究中显示 RA 发病与免疫、感染、遗传、环境等相关, 患者多表现为手、足小关节的多关节、侵袭性关节炎, 严重可导致关节畸形及功能障碍^[2]。抗环瓜氨酸肽 (Anti-cyclic citrullinopeptide, CCP) 抗体是以合成的环化瓜氨酸多肽为抗原的 RA 高特异性自身抗体^[3], 也是临床中常用于监测 RA 病情状况的指标。类风湿因子 (Rheumatoid factor, RF) 也是临床上辅助诊断类风湿性关节炎的指标。红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation Rate, ESR) 为红细胞在规定时间内在自身血浆中自然沉降速度, 是目前临床诊断 RA 的重要依据^[4-5]。本研究通过分析 RF、Anti-CCP 抗体、ESR 水平、患者的疾病活动度变化及患者的复发情况, 旨在探讨 RF、Anti-CCP 抗体及 ESR 水平与 RA 疾病活动度和治疗后复发的相关性, 为患者的疾病进展和临床预后研究提供参考, 现研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2019 年 1 月到 2020 年 12 月郑州大学附属郑州中心医院收治的 106 例类风湿性关节炎患者为观察组, 纳入标准: ①经临床诊断为类风

湿性关节炎的患者^[6]。②年龄 ≥ 18 岁的患者。排除标准: ①含有重大疾病及重要器官功能不全的患者; ②有系统性红斑狼疮、多发性肌炎和皮肌炎、强直性脊柱炎等其他自身免疫性疾病及家族遗传性疾病者; ③既往有骨关节外伤手术史, 有接受过 RA 系统治疗的患者; ④处于妊娠或者哺乳期的女性患者; ⑤随访失败, 临床相关资料不全的患者。选取同期于本院接受体检并与观察组患者的年龄、性别相匹配的 50 名健康体检者作为对照组, 纳入标准: ①无重大疾病的患者; ②无关节类疾病的患者。排除标准: ①相关资料不完整的患者; ②检查前有服用影响检查结果的药物的患者。其中, 观察组男性 31 例、女性 75 例, 平均年龄为 (42.51 ± 12.26) 岁, 平均体质量指数 (23.55 ± 1.96) kg/m^2 ; 对照组中男性 16 名、女性 34 名, 平均年龄为 (40.98 ± 13.58) 岁, 平均体质量指数 (24.01 ± 2.14) kg/m^2 。两组一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究经医院伦理学委员会批准, 且患者或家属知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 RF、Anti-CCP 抗体及 ESR 水平

采集受试对象入院后次日清晨空腹状态下的静脉血 3 mL, 血沉管 2 mL, 并将 5 mL 静脉血置于一次性真空采血管内中, 以 10 cm 为离心半径, 3 500 r/min 离心 10 min 后分离血清, 所有样品均在

2 h内测定完毕。血清RF水平严格按照类风湿因子测定试剂盒(上海惠中生物科技有限公司)操作,使用免疫透射比浊法进行检测;血清Anti-CCP抗体水平严格按照抗环瓜氨酸肽抗体测定试剂盒(深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司)操作,使用化学发光法进行测定;ESR水平采用意大利VITAL MONITOR-100全自动血沉分析仪进行测定。

1.2.2 疾病活动度^[7]及随访

疾病活动度为RA疾病活动指数(disease activity score 28, DAS28),根据压痛关节数(Tender joint count, TJC)、肿胀关节数(swollen joint count, SJC)、C反应蛋白(c-Reactive Protein)或ESR及100 mm疼痛视觉模拟标尺(visualanaloguescale, VAS100 mm)计算DAS28。其中,当 $2.6 < \text{DAS28-CRP} < 3.2$ 为轻活动度;当 $3.2 < \text{DAS28-CRP} < 5.1$ 为中活动度;当 $\text{DAS28-CRP} > 5.1$ 为高活动度;当 $\text{DAS28-CRP} < 2.6$ 判定为疾病缓解,并据此对观察组进行分组。对受试患者随访一年,记录患者的复发情况,随访截止至2021年12月。

1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS17.0对数据进行处理,其中年龄、体质量指数、RF、Anti-CCP抗体及ESR水平等计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较行 t 检验;多组间的比较使用方差分析,进一步两两比较使用SNK- q 检验;采取Spearman相关分析RF、Anti-CCP抗体及ESR与RA病情活动度及治疗后复发的相关性。以RF、Anti-CCP抗体及ESR含量为检验变量,以患者的复发率为状态变量,绘制受试者工作特征曲线(ROC曲线),计算曲线下面积。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组RF、Anti-CCP抗体及ESR水平比较

观察组RF、Anti-CCP抗体及ESR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 两组RF、Anti-CCP抗体及ESR水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	RF(U/mL)	Anti-CCP抗体(U/mL)	ESR(mm/h)
观察组	106	135.53±40.12	12.97±3.16	28.29±4.38
对照组	50	5.35±2.02	1.60±0.31	8.86±1.75
<i>t</i> 值		22.891	25.342	30.209
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 患者不同疾病活动度的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平比较

根据不同疾病活动度将观察组分为高活动度24例、中活动度54例、低活动度28例。RF、Anti-CCP抗体及ESR水平:高活动度组>中活动度组>轻活动度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 患者不同疾病活动度的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

疾病活动度	<i>n</i>	RF(U/mL)	Anti-CCP抗体(U/mL)	ESR(mm/h)
高活动度	24	185.65±48.30	16.80±4.58	38.70±5.56
中活动度	54	130.88±39.61 ^a	13.18±4.05 ^a	27.67±4.87 ^a
低活动度	28	101.54±22.18 ^{ab}	9.24±2.85 ^{ab}	20.56±3.35 ^{ab}
<i>F</i> 值		32.186	24.388	97.391
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与高活动度组比较,^a P 均<0.05;与中活动度组比较,^b P 均<0.05。

2.3 患者RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与疾病活动度及治疗后复发的相关性

106例患者中,复发的16例,未复发的90例,其中复发的占15.09%,未复发的占84.91%。未复发组患者的RF、Anti-CCP抗体及ESR含量均明显低于复发组,差异有统计学意义(P 均<0.05)。见表3。

表3 患者复发与未复发的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平的比较 $(\bar{x} \pm s)$

复发情况	<i>n</i>	占比(%)	RF(kU/L)	Anti-CCP抗体(U/mL)	ESR(mm/h)
复发	16	15.09	191.21±40.25	14.70±2.63	37.97±5.53
未复发	90	84.91	125.63±23.31	12.65±2.19	26.57±4.21
<i>t</i> 值			9.145	3.345	9.496
<i>P</i> 值			<0.001	<0.05	<0.001

2.4 患者RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与疾病活动度及治疗后复发的相关性

经Spearman相关分析显示,观察组患者RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与疾病活动度呈正相关($r=0.325, 0.288, 0.367, P$ 均<0.05);患者RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与患者治疗后的复发呈正相关($r=0.532, 0.486, 0.549, P$ 均<0.05)。

2.5 患者RF、Anti-CCP抗体、ESR水平及联合预测对治疗后复发的价值

ROC曲线分析结果显示RF、Anti-CCP抗体、

ESR水平及联合预测对治疗后复发的曲线下面积为0.635、0.662、0.698、0.825,灵敏度分别为0.601、0.622、0.647、0.787,特异度0.686、0.722、0.755、0.793,准确度为0.654、0.633、0.651、0.760,患者RF、Anti-CCP抗体、ESR水平及联合预测治疗后复发均有一定的价值。见图1。

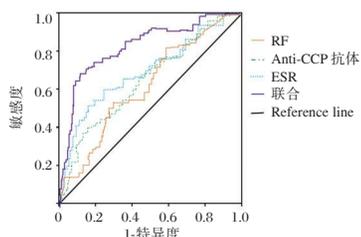


图1 患者RF、Anti-CCP抗体、ESR水平及联合预测治疗后复发的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of RF, anti-CCP antibody and ESR levels and their combination in predicting relapse after treatment

3 讨论

类风湿性关节炎是关节滑膜的慢性炎症,具有较高的发病率和致残率^[8]。RA患者除了有补体水平升高、抗瓜氨酸化蛋白抗体和抗核抗体阳性等表现外,患者的症状也与血清细胞因子变化密切相关,多种炎症因子参与了RA的发生、发展^[9]。其中,CRP、RF、ESR等均是反映患者身体炎症变化的重要指标。

Anti-CCP抗体是B淋巴细胞分泌的环状聚丝蛋白的多肽片段,在人体的正常状态下B细胞不会自发产生Anti-CCP抗体。而RA患者由于机体免疫功能受损,外周血、关节液、骨髓中B淋巴细胞功能异常,Anti-CCP抗体水平会较正常水平高。RF是血清中免疫球蛋白IgG的FC段受体抗体,也是以变性IgG为靶抗原的自身抗体,RF水平高也代表着免疫功能紊乱。ESR是红细胞在一定条件下沉降的速度,其会受重力作用而自然下沉,在正常情况下红细胞下沉缓慢,而当人体出现急性炎症、风湿病活动期等病理情况时血沉速度会明显加快。在本研究中,观察组患者的RF、Anti-CCP抗体及ESR水平均明显高于对照组,与郑美荣等^[10]研究结果一致。

本研究中RF、Anti-CCP抗体及ESR水平变化为:高活动度组>中活动度组>轻活动度组,RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与患者的疾病活动度呈

正相关。RA患者的主要表现为炎症反应,RF主要存在患者的血清和关节液中,通过促进患者的炎症反应,致使患者组织出现免疫性损伤。另外,IL-17、IL-22等炎症因子含量也可直接反映RA患者的炎症水平。牛诗琼等^[11]研究表明Anti-CCP抗体与IL-17、IL-22等炎症因子存在明显的正相关关系,Anti-CCP抗体可反映机体的炎症程度,与患者骨关节损伤严重程度相关,对RA患者的疾病活动度具有一定的影响。刘莺燕等^[12]研究显示,RA患者炎症反应会导致淋巴细胞、巨噬细胞浸润和聚集,从而使ESR水平升高。ESR可反映患者的疾病活动度,对于临床中判断RA患者的病情活动程度有重要参考价值。本研究中,患者RF、Anti-CCP抗体及ESR水平均与患者的疾病活动度具有一定的相关性,与陈庆花等^[13]的研究结果一致。

同时,经Spearman相关分析显示,RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与患者的治疗后复发相关;以RF、Anti-CCP抗体及ESR水平变化建立ROC分析模型曲线,显示RF、Anti-CCP抗体及ESR预测患者复发的曲线下面积分别为0.635、0.662、0.698,三者联合预测患者复发的曲线下面积0.825,提示RF、Anti-CCP抗体、ESR及联合预测对患者的复发均具有一定价值。张雪珍等^[14]研究表示,RF可通过与异体、自体或异种IgG合成免疫复合物,激活补体系统,而诱发机体的炎症反应,从而诱发患者复发。潘慧等^[15]也在研究中表明,Anti-CCP抗体与B细胞的计数呈正相关的关系,B细胞在抗原的刺激下可分化为浆细胞,会导致自身抗体、免疫球蛋白的合成和分泌,其过量表达也可引发自身免疫性疾病,与RA的发生密切相关。而ESR作为评价机体炎症反应与组织损伤程度的重要指标,随着ESR水平的升高RA患者晨僵、关节肿痛等症状也会越严重,从而加快疾病的发展。

综上所述,RF、Anti-CCP抗体及ESR水平与类风湿性关节炎的疾病活动度及治疗后的复发存在一定的相关性,且三者及联合检测对患者疾病活动度和治疗后复发有一定的评估价值。

参考文献

- [1] 孟庆防,郭冬芳,党笋,等. 类风湿关节炎并发医院感染因素及CRP、sCD14-ST预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4): 454-458. (下转第1432页)

糖尿病肾病患者不同中医证型与肾功能及实验室指标的关系

张玉花* 李生海 王财年 赵越 朱晓琳 董大文

[摘要] **目的** 探究糖尿病肾病患者不同中医证型与肾功能、血清 ALB、血脂、TWEAK、CTGF 及 CysC 水平的关系。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2020 年 5 月期间武威市中医院收治的糖尿病肾病患者 153 例作为观察组,选取同期体检的健康人员 30 名作为健康组,对患者尿素氮(BUN),血肌酐(Scr),胱抑素 C(CysC),总胆固醇(TC),三酰甘油(TG),血清清蛋白(ALB)、肿瘤坏死样凋亡微弱诱导因子(TWEAK)、结缔组织生长因子(CTGF)等指标进行检测比较。**结果** 153 例 DN 患者中阴虚燥热 8 例,占 5.23%、气阴两虚 20 例,占 13.07%、脾肾气虚 56 例,占 36.6%、阴阳两虚 69 例,占 54.1%; DN 患者不同中医证型中脾肾气虚和阴阳两虚占比最高。BUN、Scr、CysC、TC、TG 和 CTGF 指标在健康组、阴虚燥热、气阴两虚、脾肾气虚、阴阳两虚组间逐渐上升,差异有统计学意义($P<0.05$)。ALB、TWEAK 指标在阴虚燥热、气阴两虚、脾肾气虚、阴阳两虚组间逐渐下降,差异有统计学意义($P<0.05$);logistic 回归分析显示,BUN、Scr、CysC、TC、TG、ALB、TWEAK 和 CTGF 是糖尿病肾病发病的独立影响因素($P<0.05$);Spearman 秩相关分析显示,主证证型与 BUN、Scr、CysC、TC、TG 和 CTGF 呈正相关关系,与 ALB、TWEAK 呈负相关关系($P<0.05$)。**结论** DN 随着疾病分期的进展,中医证型主要表现为阴虚燥热—气阴两虚—脾肾气虚—阴阳两虚。DN 中医证型与 BUN、Scr、CysC、TC、TG、ALB、TWEAK 和 CTGF 有一定相关性,可为临床 DN 判断病情、治疗及预后提供依据。

[关键词] 糖尿病肾病;中医证型;肾功能;TWEAK

Relationship between different TCM certificate types and renal function, serum ALB, blood lipids, TWEAK, CTGF, and CysC levels in patients with diabetic nephropathy

ZHANG Yuhua*, LI Shenghai, WANG Cainian, ZHAO Yue, ZHU Xiaolin, DONG Dawen

(Department of Endocrinology, Wuwei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuwei, Gansu, China, 733000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between different TCM syndrome types and renal function, serum ALB, blood lipids, TWEAK, CTGF and CysC levels in patients with diabetic nephropathy. **Methods** From January 2019 to May 2020, 153 patients with diabetic nephropathy admitted to Wuwei Hospital of Traditional Chinese Medicine were selected as the observation group, and 30 healthy persons who underwent physical examination during the same period were selected as the healthy group. cystatin C (CysC), total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), serum albumin (ALB), tumor necrosis weak inducer of apoptosis (TWEAK), connective tissue growth factor (CTGF), etc. indicators for comparison. **Results** Among the 153 DN patients, 8 cases of yin deficiency and heat, accounting for 5.23%, 20 cases of qi and yin deficiency, accounting for 13.07%, 56 cases of spleen and kidney qi deficiency, accounting for 36.6%, and 69 cases of yin and yang deficiency, accounting for 54.1%; Among the syndrome types, deficiency of spleen

基金项目:甘肃省中医药科研课题(GZKP-2020-42)

作者单位:武威市中医院,甘肃,武威 733000

*通信作者:李生海, E-mail: 1656292543@qq.com

and kidney qi and deficiency of both yin and yang accounted for the highest proportion. The indexes of BUN, Scr, CysC, TC, TG and CTGF increased gradually among the healthy group, yin deficiency, dryness and heat, qi and yin deficiency, spleen and kidney qi deficiency, and yin and yang deficiency groups, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The indexes of ALB and TWEAK decreased gradually among the yin deficiency, dryness and heat, qi and yin deficiency, spleen and kidney qi deficiency, and yin and yang deficiency groups, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that BUN, Scr, CysC, TC, TG, ALB, TWEAK and CTGF were independent influencing factors of diabetic nephropathy ($P<0.05$); Spearman rank correlation analysis showed that the main syndrome type was positively correlated with BUN, Scr, CysC, TC, TG and CTGF, and was positively correlated with ALB, TWEAK were negatively correlated ($P<0.05$). **Conclusion** DN With the progression of disease stages, TCM syndromes are mainly manifested as yin deficiency, dryness and heat-qi and yin deficiency-spleen and kidney qi deficiency-yin and yang deficiency. The TCM syndrome types of DN have a certain correlation with BUN, Scr, CysC, TC, TG, ALB, TWEAK and CTGF, which can provide a basis for the judgment, treatment and prognosis of clinical DN.

[KEY WORDS] Diabetic nephropathy; Traditional Chinese medicine certificate type; Renal function; TWEAK

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)由糖尿病性微血管病变所引起,病理诊断名称为“糖尿病性肾小球硬化症”,DN是糖尿病的常见慢性微血管并发症之一^[1]。据统计,目前全球约有3.16亿糖尿病患者,到2030年患者总数可能翻番,其中约有30%~40%的糖尿病患者进展为DN^[2]。它已成为引起慢性肾功能衰竭(chronic renal failure; CRF)的首要原因,也是导致糖尿病(diabetes mellitus; DM)患者死亡的主要原因^[3]。因此,寻找有效方法延缓DN的进展具有重大意义。目前西医对于DN的治疗可在一定程度上延缓糖尿病肾病向终末期肾病发展,但这些治疗在延缓糖尿病肾病进展的同时不能减少低血糖事件、心脑血管事件发生,且不能解决患者身体自觉的不适症状,而中医药治疗糖尿病肾病在维持机体内环境稳定及改善全身症状方面具有一定优势,因此寻求中西药结合防治糖尿病肾病的新方法将成为临床医者今后的研究目标。辨证论治是中医最基本的原则,证候研究是中医基础理论研究中一个至关重要的科学问题^[4]。笔者通过对比不同证型下DN患者生化指标的表达差异,探讨DN患者中医证型与实验室指标之间的相关性,为DN患者中医辨证分型客观化提供依据,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

随机抽样法选取2019年1月至2020年5月期

间本院收治的糖尿病肾病患者153例作为观察组,其中阴虚燥热8例,男性5例,女性3例,年龄平均(51.67±8.65)岁,病程平均(4.67±1.65)年;气阴两虚20例,男性15例,女性5例,年龄平均(51.86±7.95)岁,病程平均(4.67±0.65)年;脾肾气虚56例,男性37例,女性19例,年龄平均(50.94±7.65)岁,病程平均(4.43±1.65)年;阴阳两虚69例,男性46例,女性23例,年龄平均(52.73±8.50)岁,病程平均(3.98±1.65)年;选取同期体检的健康人员30例作为健康组,观察各组性别、年龄等一般资料间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 纳入排除标准

纳入标准:①2型DN患者:以《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[4]和中华中医药学会肾病分会发布的《糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准(试行方案)》^[5]为依据,其中本证分为阴虚燥热证、气阴两虚证、脾肾气虚证、阴阳两虚证;②临床资料完整;③均无认知功能异常;④均意识清醒;排除标准:①合并严重感染者;②合并有其他主要器官功能不全患者;③结缔组织病;④合并有精神障碍患者;⑤哺乳妊娠期妇女。所有研究对象或家属均知情同意,并经医院伦理委员会批准。

1.3 检测方法

①采集所有研究对象清晨空腹静脉血,2 000 r/min、离心10 min($r=8$ cm)后取血清,采用自动生化分析仪检测尿素氮(urea nitrogen; BUN),血肌

酞 (serum creatinine; Scr), 胱抑素 C (cystatinC; CysC), 总胆固醇 (total cholesterol; TC), 三酰甘油 (triacylglycerol; TG), 血清清蛋白 (serum albumin; ALB); ②采用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay; ELISA), 试剂盒由欣搏盛生物科技有限公司生物中心提供) 检测肿瘤坏死样凋亡微弱诱导因子 (Weak inducer of tumor necrosis-like apoptosis; TWEAK) 浓度; ③收集受试者连续 24 h 尿量, 离心 (1 500 r/min) 15 min, 取上清液 2 mL, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (EUSA, 试剂盒购自武汉博士得生物工程有限公司) 检测尿液结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor; CTGF) 含量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 25.0 软件, 计量资料 ($\bar{x} \pm s$) 用表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 采用 Logistic 回归分析糖尿病肾病患病的影响因素; 采用

Spearman 秩相关性分析; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组患者不同中医证型占比

观察组患者共 153 例, 不同中医证型其中阴虚燥热 8 例, 占 5.23%、气阴两虚 20 例, 占 13.07%、脾肾气虚 56 例, 占 36.6%、阴阳两虚 69 例, 占 54.1%; DN 患者不同中医证型中脾肾气虚和阴阳两虚占比最高。

2.2 DN 不同中医证型与实验室指标的关系

与健康组相比, BUN、Scr、CysC、TC、TG 和 CTGF 指标在阴虚燥热、气阴两虚、脾肾气虚、阴阳两虚组间逐渐上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。ALB、TWEAK 指标在阴虚燥热、气阴两虚、脾肾气虚、阴阳两虚组间逐渐下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 DN 不同中医证型与实验室指标的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Relationship between different Chinese medicine certificate types of DN and laboratory indicators ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN (mmol/L)	Scr ($\mu\text{mol/L}$)	CysC (mg/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	ALB (g/L)	TWEAK ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	CTGF (ng/mL)
健康组	30	4.25 \pm 1.57	55.45 \pm 10.46	0.81 \pm 0.18	3.52 \pm 1.23	1.05 \pm 0.47	45.65 \pm 5.06	560.21 \pm 150.48	34.52 \pm 9.23
阴虚燥热	8	4.53 \pm 2.35	61.38 \pm 10.32	0.92 \pm 0.28	4.75 \pm 1.41	2.03 \pm 1.05	40.38 \pm 3.32	485.42 \pm 191.38	84.75 \pm 10.41
气阴两虚	20	7.61 \pm 2.38	79.15 \pm 12.26	1.68 \pm 0.27	5.02 \pm 1.33	2.21 \pm 1.38	31.15 \pm 2.26	421.68 \pm 170.37	231.42 \pm 28.33
脾肾气虚	56	13.92 \pm 3.28	327.45 \pm 14.21	3.51 \pm 0.78	5.25 \pm 1.36	2.42 \pm 1.28	24.35 \pm 2.61	398.61 \pm 137.38	457.15 \pm 42.26
阴阳两虚	69	20.25 \pm 4.47	436.15 \pm 19.66	5.53 \pm 0.85	5.78 \pm 0.82	2.81 \pm 1.58	20.45 \pm 2.46	350.78 \pm 90.57	783.22 \pm 98.63
F 值		91.969	3014.063	128.628	8.57	7.343	199.087	10.143	737.173
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 影响 DN 患者患病的多因素 Logistics 回归分析

将单因素分析中有统计学意义的指标, 包括 BUN、Scr、CysC、TC、TG、ALB、TWEAK 和 CTGF 为自变量, 患者患病作为因变量进行多因素 logistic 回归分析, 结果显示, BUN、Scr、CysC、TC、TG、ALB、TWEAK、CTGF 是影响患者患病的独立影响因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 DN 中医主证各证型与实验室指标的相关性分析

DN 中医主证证型与实验室指标的相关性分析, Spearman 秩相关分析显示, 主证证型与 BUN、Scr、CysC、TC、TG 和 CTG 呈正相关关系, 与 ALB、TWEAK 呈负相关关系 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 影响 DN 患者患病的多因素 Logistics 回归分析

Table 2 Multivariate Logistics regression analysis that affected the disease of DN patients

指标	B 值	S.E. 值	Wald 值	自由度	OR 值	95% CI	P 值
BUN	-1.486	845.061	0	1	0.226	-0.138~0.117	<0.001
Scr	-0.158	226.075	0	1	0.854	0.010~0.052	<0.001
CysC	-47.671	15283.234	0	1	0.000	-0.864~0.534	<0.001
TC	11.451	4020.427	0	1	94037.108	-0.438~0.279	<0.001
TG	9.129	2859.981	0	1	9221.548	-0.296~0.243	<0.001
ALB	-1.508	665.286	0	1	0.221	-0.334~-0.061	<0.001
TWEAK	-0.036	17.681	0	1	0.965	-0.004~0.002	<0.001
CTGF	0.555	72.235	0	1	1.743	-0.001~0.012	<0.001

表3 DN中医主证各证型与实验室指标的相关性分析
Table 3 Correlation analysis of DN TCM master certificate types and laboratory indicators

指标	阴虚燥热		气阴两虚		脾肾气虚		阴阳两虚	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
BUN	0.052	0.784	0.657	<0.001	0.780	<0.001	0.742	<0.001
Scr	0.200	0.289	0.712	<0.001	0.779	<0.001	0.742	<0.001
CysC	0.218	0.274	0.863	<0.001	0.780	<0.001	0.742	<0.001
TC	0.331	0.074	0.427	0.005	0.447	<0.001	0.642	<0.001
TG	0.444	0.014	0.382	0.013	0.487	<0.001	0.480	<0.001
ALB	-0.470	0.009	-0.842	<0.001	-0.779	<0.001	-0.742	<0.001
TWEAK	-0.279	0.136	-0.441	0.004	-0.413	<0.001	-0.535	<0.001
CTGF	0.766	<0.001	0.865	<0.001	0.779	<0.001	0.742	<0.001

3 讨论

DN是继发于糖尿病的肾脏损害,是糖尿病最常见和最严重的内脏并发症之一,是导致患者死亡的主要原因之一^[6]。近年来, DN呈几何倍数增长,而一旦DN机制启动,它对肾脏的损害则将不可逆转,长期以来被认为是一种预后不良的难治性复杂性疾病^[7-8]。由于糖尿病肾病危害严重,是糖尿病引起患者死亡的首要原因,越来越多的研究者将目光转向糖尿病肾病的防治。控制血压、调节血糖及调整饮食结构可有效减少糖尿病肾病患者尿蛋白的排出,在部分以尿蛋白为主尚未出现肾功能指标异常的早期患者甚至可以出现逆转。但这些治疗不能减少低血糖、心血管事件的发生,也不能完全缓解患者的全身症状,部分研究学者开始寻求一条中西医联合防治糖尿病肾病的道路^[9]。中医治疗讲究准确的辨证,辨证错误,拟定的治法治则必定错误,可导致误治,延误病情,不能缓解病人痛苦甚至带来危害,达不到发挥中医药治疗优势的目的^[10]。古代文献中关于糖尿病肾病的认识多来自对消渴病情发展中临床症状的描述,不能全面概括糖尿病肾病的病因病机。在对古今文献的研究中发现,大部分医家认为糖尿病肾病始于糖尿病,因此具有消渴病的一些特点,病机以阴虚为本,病位在肾,病程中体现由阴虚燥热向气阴两虚、阴阳两虚动态发展规律,并且随着阴阳气血脏腑的虚损,产生湿痰瘀毒等病理产物,兼夹于病程不同环节^[11-12]。祖国医学认为, DN属于“肾劳”“虚劳”“水肿”“肾消”“下消”等范畴,为消渴病日久迁延不愈,素体肾虚,日久而形成。DN病理机制涉及多脏,但以肾为本,消渴虽有在

肺、脾(胃)、肾之不同,但常常互相影响,肺、脾(胃)、肾三脏中,尤以肾最为重要^[13]。肾为先天之本,寓元阴元阳,他脏的虚弱日久,最终无不损及肾之阴阳。DN基本病机特点是本虚标实,本虚指阴、阳、气、血、五脏虚,以肾虚为本,标实即湿邪、痰浊、瘀血,疾病不同发展阶段,病机重点不同。本病的病机,历代医家普遍重视肾虚,消渴病日久,伤阴耗气,阴损及阳是其基本发展趋势,禀赋不足或劳倦太过均可导致肾元亏虚。总而言之病机转归为:气阴两虚—阴损及阳—阴阳两虚—脏腑衰败。而本研究结果与中医中的理论相符,而从西医方面分析,随着病情的发展,患者的肾功能逐渐恶化,肾功能指标也随之出现恶化。且患者的血脂和血清指标ALB也随着患者病情阴虚燥热—气阴两虚—脾肾气虚—阴阳两虚恶化。TWEAK为一种新型的炎症因子,属于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor; TNF)超家族的成员, TWEAK和其受体Fn14在肾脏存在和表达。TWEAK和Fn14来源包括内在的肾细胞和白细胞浸润。TWEAK是肾脏的一种多功能的细胞因子,如TWEAK有助于肾脏细胞炎症趋化因子的分泌,也可以促进肾小管细胞的增殖,在促炎症条件下诱导肾小球和肾小管细胞凋亡等。TWEAK水平是慢性肾脏病不良预后的一个潜在的生物标志物^[14], CTGF是调节细胞外基质成分代谢的重要分子,能够促进基质成分合成、抑制基质成分降解。在生理情况下,血管内皮细胞、肾小球系膜细胞、上皮细胞和肾间质成纤维细胞等可以分泌少量的CTGF。当糖尿病患者出现肾脏病变时,肾脏CTGF表达水平明显升高,CTGF和其代谢产物通过肾小球滤过排除体外。研究表明^[15],当DN患者血浆CTGF水平开始升高时,肾脏CTGF升高水平更加明显,血浆CTGF升高引起肾小球过多的滤过CTGF及肾脏局部分泌的CTGF增加是导致尿CTGF升高的重要原因。对DN中医主证证型与实验室指标的相关性分析显示,主证证型与BUN、Scr、CysC、TC、TG和CTG呈正相关关系,与ALB、TWEAK呈负相关关系。这说明了DN各中医证型与BUN、Scr、CysC、TC、TG、ALB、TWEAK和CTGF等实验室指标存在一定的相关性。但由于样本量偏少和患者地域分布较为单一,所得结果难免具有偏差,因此尚需进行多地区、多中心、大样本的临床观察,以进一步明确DN不同分期中医证型与实验室指标的相关性。

综上所述, DN 随着疾病分期的进展, 中医证型主要表现为阴虚燥热—气阴两虚—脾肾气虚—阴阳两虚。DN 中医证型与 BUN、Scr、CysC、TC、TG、ALB、TWEAK 和 CTGF 有一定相关性, 可为临床 DN 判断病情、治疗及预后提供依据。

参考文献

- [1] 都静, 张晓明. 血清脂蛋白(α)及胱抑素 C 与早期糖尿病肾病中医证型的相关性分析[J]. 西部中医药, 2019, 32(6):1-3.
- [2] 母淑娟, 陈静, 李雪, 等. 糖尿病肾病不同分期的中医主证型及其与血清中 miR-133, Scr, BUN, Cys-C 及 CTGF 水平相关性分析[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(5):911-914.
- [3] 张华贞. 复方黄芪汤加减联合骨化三醇治疗糖尿病肾病疗效及对患者血糖、肾功的影响[J]. 陕西中医, 2019, 40(6):767-769.
- [4] 张华贞, 赵晓琴, 吴琼皎. 厄贝沙坦与前列地尔联用治疗糖尿病肾病的可行性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(1):54-57+62.
- [5] 郑启艳, 孙鲁英, 姚志, 等. 糖尿病肾病 III~IV 期患者人体成分变化及与中医证型的相关性[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5):2978-2982.
- [6] 陈刚毅, 曾妙玲, 李显红, 等. 糖尿病肾病生物节律紊乱的中医证型及影响因素研究[J]. 四川中医, 2019, 37(1):79-81.
- [7] Zeng L, Y Yu, Cai X, et al. Differences in Serum Amino Acid Phenotypes Among Patients with Diabetic Nephropathy, Hypertensive Nephropathy, and Chronic Nephritis [J]. *Medi Sci Monit*, 2019, 26(25):7235-7242.
- [8] 方凤贞, 李壮苗, 陈婷玉. 2 型糖尿病患者发生糖尿病肾脏疾病危险因素的系统评价[J]. 中国全科医学, 2021, 24(33):4261-4267.
- [9] 吴志坚, 陈广树. 不同严重程度的糖尿病肾脏病患者踝臂指数与肾动脉阻力指数的相关性[J]. 海南医学, 2019, 30(5):34-36.
- [10] 张玉花, 赵良存. 血清炎症因子水平与糖尿病肾病疾病进展相关性研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(9):1228-1230.
- [11] 王震宇, 高超, 邢秀玲, 等. 糖尿病肾病分期与中医证型相关性分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(26):2920-2923.
- [12] 苏保林, 李敬, 汤水福, 等. 糖尿病肾病患者的中医证型及其与实验室指标的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2020, 23(1):70-74.
- [13] Hyounghae K, Yun-Ui B, Seok JJ, et al. The circulating exosomal microRNAs related to albuminuria in patients with diabetic nephropathy [J]. *J Transl Med*, 2020, 17(1):236.
- [14] 殷玉磊, 王沛, 张瑞怀, 等. 肾功能正常的 2 型糖尿病肾病患者血清尿酸与骨密度的关系[J]. 临床肾脏病杂志, 2019, 019(6):426-429.
- [15] 朱毛, 李秋容. 糖尿病肾病患者 24 h 尿蛋白, 血清胱抑素 C 水平与中医证型的相关性[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(15):1864-1867.

(上接第 1427 页)

- [2] 陈焱琼, 赵迪, 任方, 等. 抗氨甲酰蛋白抗体与类风湿性关节炎的相关性分析[J]. 检验医学, 2018, 33(1):26-30.
- [3] 李文雪, 刘芳, 朱家安, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体与超声检出的类风湿性关节炎骨侵蚀的相关性研究[J]. 首都医科大学学报, 2019, 40(6):829-832.
- [4] 刘兰芳. 抗 CCP 抗体、抗角蛋白抗体、类风湿因子联合检测在类风湿性关节炎诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(18):2635-2637.
- [5] 张佳琦, 庞春艳, 王永福, 等. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体与抗环瓜氨酸肽抗体对类风湿关节炎的诊断价值[J]. 中国药物与临床, 2021, 21(3):365-368.
- [6] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(4):265-271.
- [7] 王利, 杨良勤, 刘颖颖, 等. FLARE 问卷对类风湿关节炎的病情活动及识别复发中的临床研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2017, 32(4):402-403.
- [8] 高鹏, 霍爱鑫, 刘宇宏, 等. 延安市 ≥ 40 岁类风湿关节炎患者应对方式及生活质量调查[J]. 华南预防医学, 2019, 45(6):582-584.
- [9] 高学祥, 汪六庆. 血清抗 CCP 抗体、RF、CRP、EER 水平联合检测在类风湿性关节炎患者早期诊断中的应用价值[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(14):2156-2159.
- [10] 郑美荣, 李春鸿, 余丽梅, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体、类风湿因子与 RA 活动度的相关性研究[J]. 中国卫生标准管理, 2021, 12(18):81-84.
- [11] 牛诗琼, 邓绍团, 张姹慧, 等. 类风湿性关节炎患者 anti-Sa、anti-CCP 抗体浓度检测及其与炎症及骨关节损伤严重程度的关系[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(1):83-86.
- [12] 刘莺燕. 血沉参数变化与类风湿关节炎患者病情活动的关系[J]. 中国医学创新, 2019, 16(21):55-58.
- [13] 陈庆花, 杨永红, 汪根娥, 等. 早期 RA 患者血清炎症指标与临床特征、转归的相关性研究[J]. 现代免疫学, 2019, 39(6):485-489.
- [14] 张雪珍. 血清 RF、抗 CCP 抗体在类风湿性关节炎患者中的表达及其与预后的相关性[J]. 中国医学创新, 2018, 15(9):27-30.
- [15] 潘惠, 汪元. 类风湿关节炎患者 B 细胞功能变化及其相关性分析[J]. 风湿病与关节炎, 2018, 7(7):17-20+32.

外周血淋巴细胞及 HIF-1 α 对 CA 患者光动力疗效的评估价值

姚涌晖¹ 王发武^{2*} 沈源基² 汪勤¹

[摘要] 目的 探究外周血淋巴细胞及缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)对尖锐湿疣(CA)患者光动力疗效的评估价值。方法 选取2019年5月至2021年8月南京市浦口区中医院收治的尖锐湿疣患者102例为研究对象,采用5-氨基酮戊酸光动力(ALA-PDT)对所有患者进行治疗。根据患者3个月后的治疗效果分为有效组($n=70$)与无效组($n=32$)。检测并对比两组患者治疗前后的外周血淋巴细胞CD4⁺、CD8⁺、自然杀伤(NK)细胞比值及HIF-1 α 水平,并绘制ROC曲线分析上述指标对尖锐湿疣患者光动力疗效的评估价值。结果 有效组治疗前后外周血CD4⁺、NK细胞比值均高于无效组,外周血CD8⁺细胞比值和HIF-1 α 水平均低于无效组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素Logistic回归分析显示,CD4⁺($\beta=513$, $OR=1.670$)、CD8⁺($\beta=0.306$, $OR=1.358$)、HIF-1 α ($\beta=0.894$, $OR=2.445$)是ALA-PDT疗效的独立影响因素($P<0.05$)。ROC曲线显示,外周血CD4⁺、CD8⁺和HIF-1 α 三者联合检测时,预测ALA-PDT疗效为有效的AUC为0.907,敏感性、特异性分别为93.75%、83.33%,优于单一检测($P<0.05$)。结论 监测基线外周血CD4⁺、CD8⁺淋巴细胞比值、HIF-1 α 水平以及治疗过程中的动态变化,对尖锐湿疣患者ALA-PDT疗效具有一定的预测价值。

[关键词] 尖锐湿疣; 5-氨基酮戊酸光动力; 淋巴细胞; 缺氧诱导因子

Evaluation value of peripheral blood lymphocytes and HIF-1 α on photodynamic efficacy in patients with CA

YAO Yonghui¹, WANG Fawu^{2*}, SHEN Yuanji², WANG Qin¹

(1. Department of Dermatology, Pukou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China, 210000; 2. Department of Urology, Nanjing Pukou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China, 210000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the evaluation value of peripheral blood lymphocytes and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) on photodynamic efficacy in patients with condyloma acuminatum (CA). **Methods** A total of 102 patients with condyloma acuminatum admitted to Nanjing Pukou District Traditional Chinese Medicine Hospital from May 2019 to August 2021 were selected as the research subjects, and all patients were treated with 5-aminolevulinic acid photodynamic (ALA-PDT). According to the treatment effect after 3 months, the patients were divided into an effective group ($n=70$) and an ineffective group ($n=32$). The peripheral blood lymphocyte CD4⁺, CD8⁺, natural killer (NK) cell ratio and HIF-1 α levels of the two groups of patients before and after treatment were detected and compared, and the ROC curve was drawn to analyze the evaluation value of the above indicators on the photodynamic efficacy of patients with condyloma acuminatum. **Results** The ratio of peripheral blood CD4⁺ and NK cells in the effective group before and after treatment was higher than that in the ineffective group, and the peripheral blood CD8⁺ cell ratio and HIF-1 α level

基金项目:江苏省卫计委科技计划项目(Z201612)

作者单位:1.南京市浦口区中医院皮肤科,江苏,南京210000

2.南京市浦口区中医院泌尿外科,江苏,南京210000

*通信作者:王发武, E-mail: wang_fawu@163.com

in the effective group before and after treatment were lower than those in the ineffective group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that $CD4^+$ ($\beta=513$, $OR=1.670$), $CD8^+$ ($\beta=0.306$, $OR=1.358$), $HIF-1\alpha$ ($\beta=0.894$, $OR=2.445$) were the independent influencing factors for the efficacy of ALA-PDT ($P < 0.05$). The ROC curve showed that the combined detection of $CD4^+$, $CD8^+$ and $HIF-1\alpha$ in peripheral blood had an AUC of 0.907 to predict the efficacy of ALA-PDT, and the sensitivity and specificity were 93.75% and 83.33%, respectively, which were better than single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** Baseline peripheral blood $CD4^+$, $CD8^+$ lymphocyte ratio, $HIF-1\alpha$ level and dynamic changes during treatment have certain predictive value for the efficacy of ALA-PDT in patients with condyloma acuminatum.

[KEY WORDS] Condyloma acuminatum; 5-aminolevulinic acid photodynamic; Lymphocytes; hypoxia inducible factor

尖锐湿疣是一种常见的性传播疾病,主要由人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染肛门、会阴等生殖部位引起。由于与感染 HPV 的人进行无保护的性接触,传播风险高达 75%,使性活跃个体罹患终生尖锐湿疣的风险增加 50%^[1]。尖锐湿疣的传播能力强、复发率高,对患者身心健康及生活质量造成严重影响^[2]。5-氨基酮戊酸光动力疗法(5-aminolevulinic acid-photodynamic therapy, ALA-PDT)是目前治疗尖锐湿疣的重要方式之一,其能直接去除疣体,有效清除 HPV 亚临床性感染和潜伏病灶,避免尖锐湿疣的复发。近年来临床研究发现^[3-4],机体免疫功能、细胞增殖与血管增生在尖锐湿疣的发生、发展和复发中起重要作用。外周血炎症指标淋巴细胞比值、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)与尖锐湿疣 ALA-PDT 治疗效果关系密切^[5]。但关于如何尽快区分疗效显著与疗效不佳者的研究较为少见,因此本文旨在探讨外周血淋巴细胞及白细胞介素对尖锐湿疣患者光动力疗效的评估价值,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 5 月至 2021 年 8 月南京市浦口区中医院皮肤科收治的尖锐湿疣患者 102 例为研究对象,采用 ALA-PDT 对所有患者进行治疗,3 个月后再根据患者治疗效果分为有效组($n=70$)与无效组($n=32$)。纳入标准:①符合《尖锐湿疣临床诊疗与防治指南》^[6]尖锐湿疣的诊断标准并经临床病理学检查确诊;②首发尖锐湿疣;③皮损均原发于会阴部皮肤;④患者知情并签署同意书。排除标准:①合并其他自身免疫性疾病或其他性病;②患有神经系统疾病,如意识障碍、帕金森等,无法配合研

究;③近一个月内接受过局部或全身治疗;④合并皮肤光过敏症、哮喘症;⑤妊娠期或哺乳期女性;⑥疣体位于阴道内、子宫颈或肛门内。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。本研究经南京市浦口区中医院医学伦理会审批并通过。

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

Table 1 Comparison of general data between two groups

		[$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]			
因素		有效组 ($n=70$)	无效组 ($n=32$)	$t/\chi^2/Z$ 值	P 值
年龄(岁)		64.52 \pm 5.17	63.74 \pm 4.87	0.720	0.473
性别	男	41(58.57)	18(56.25)	0.049	0.826
	女	29(41.43)	14(44.75)		
病程(月)		2.43 \pm 0.85	2.68 \pm 0.76	1.423	0.158
皮损部位	阴茎	18(25.71)	8(25.00)	0.750	0.453
	肛周	23(32.86)	7(21.88)		
	阴唇	20(28.57)	10(31.25)		
其他		9(12.86)	7(21.88)		
疣体数量	单发	31(44.29)	15(46.87)	0.060	0.807
	多发(>1)	39(55.71)	17(53.13)		

1.2 方法

1.2.1 检测方法

分别于患者入院次日及 3 次治疗结束后清晨采集所有患者空腹静脉血 10 mL,注入含有抗凝剂的试管中混匀后于室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 10 cm)后取上层血清,保存于 -20°C 冰箱中待测。采用 FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)检测所有患者外周血 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 淋巴细胞亚群的百分比。采用酶联免疫吸附实验使用 ELISA 试剂盒(上海劲马实验设备有限公司)测定血清 HIF-1 α 水平。

1.2.2 治疗方法

对患者皮损部位进行常规消毒清洁后,采用温敏凝胶稀释 ALA 粉末配制成 20% ALA 新鲜溶液,用灭菌棉片沾满药液后均匀涂于皮损及其周

围 2 cm 范围,纱布、塑料薄膜封包,并用胶布固定。3 h 后用波长为 635 nm 的 ALA-PDT 激光治疗仪照射皮损部位 30 min,根据患者耐受情况选择能接受的最大输出功率,标准为 150 mW,根据光斑大小及照射时间计算激光照射总能量,使其达 (60~100) J/cm²。治疗每周一次,共 3 次。

1.2.3 疗效判定方法

治疗结束后对患者随访 3 个月,观察并记录患者治疗效果及复发情况。疗效判定标准^[7]:完全清除:患者疣体清除率为 100%且未复发;部分清除:疣体清除率 50%~99%但未复发;清除效果欠佳:疣体清除率<50%且短期内复发。将完全清除及部分清除患者共 70 例纳入有效组,清除效果欠佳患者共 32 例纳入无效组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS Statistics 21 统计学软件进行分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验;计数资料以 *n*(%) 表示,采用 χ^2 检验,等级资料采用秩和检验。采用 ROC 曲线分析各指标诊断价值,曲线下面积值(AUC)的比较采用非参数检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后外周血 CD4⁺、CD8⁺、NK 比值和 HIF-1 α 水平比较

有效组治疗前后外周血 CD4⁺、NK 细胞比值均高于无效组,外周血 CD8⁺细胞比值和 HIF-1 α 水平均低于无效组,差异有统计学意义 (*P*<

0.05)。见表 2。

2.2 ALA-PDT 疗效的多因素分析

多因素 Logistic 回归分析显示,CD4⁺($\beta=0.513$, *OR*=1.670)、CD8⁺($\beta=0.306$, *OR*=1.358)、HIF-1 α ($\beta=0.894$, *OR*=2.445) 是 ALA-PDT 疗效的独立影响因素 (*P*<0.05)。见表 3。

表 3 ALA-PDT 疗效的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate Logistic Regression Analysis of ALA-PDT Efficacy

影响因素	β 值	S.E 值	Wald 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
CD4 ⁺	0.513	0.217	5.589	1.670	1.254~1.871	0.036
CD8 ⁺	0.306	0.114	7.205	1.358	1.085~1.659	0.015
HIF-1 α	0.894	0.367	5.934	2.445	2.023~3.316	0.030
NK	2.359	1.472	2.568	10.580	8.102~11.487	0.218

2.3 外周血 CD4⁺、CD8⁺和 HIF-1 α 水平对 ALA-PDT 疗效的评估价值

ROC 曲线显示,外周血 CD4⁺、CD8⁺和 HIF-1 α 三者联合检测时,预测 ALA-PDT 疗效为有效的 AUC 为 0.907,敏感性、特异性分别为 0.938、0.833,优于单一检测 (*P*<0.05)。见表 4、图 1。

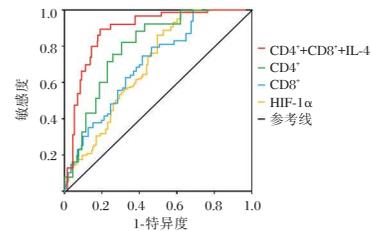


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

表 2 两组治疗前后外周血 CD4⁺、CD8⁺、NK 比值和 HIF-1 α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of peripheral blood CD4⁺, CD8⁺, NK ratio and HIF-1 α levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ (%)		CD8 ⁺ (%)		HIF-1 α (ng/L)		NK (%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
有效组	70	37.58 \pm 2.43	38.85 \pm 3.06	31.41 \pm 1.52	30.15 \pm 1.78	0.38 \pm 0.12	0.21 \pm 0.06 ^a	7.96 \pm 0.88	10.67 \pm 0.60 ^a
无效组	32	32.25 \pm 2.21	36.42 \pm 2.55 ^a	39.87 \pm 2.02	35.68 \pm 1.79 ^a	0.47 \pm 0.14	0.30 \pm 0.08 ^a	6.59 \pm 1.13	8.31 \pm 0.53 ^a
<i>t</i> 值		10.566	3.911	23.447	14.534	3.333	6.310	6.657	19.094
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a*P*<0.05。

表 4 外周血 CD4⁺、CD8⁺和 HIF-1 α 水平对 ALA-PDT 疗效的评估价值

Table 4 The evaluation value of peripheral blood CD4⁺, CD8⁺ and HIF-1 α levels on the efficacy of ALA-PDT

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度	特异度	<i>P</i> 值
CD4 ⁺	0.842	0.758~0.931	36.57%	0.887	0.876	<0.001
CD8 ⁺	0.757	0.669~0.807	33.67%	0.864	0.818	<0.001
HIF-1 α	0.749	0.684~0.851	0.28 ng/L	0.845	0.833	<0.001
CD4 ⁺ +CD8 ⁺ +HIF-1 α	0.907	0.863~0.975	36.57%+33.67%+0.28 ng/L	0.938	0.833	<0.001

3 讨论

尖锐湿疣是由 HPV 感染等因素引起的性传播疾病,感染早期无明显症状,发病后 3~6 个月可观察到明显的皮损征象。尖锐湿疣通常以扁平、花椰菜或带蒂等形式附着于肛门生殖器或口腔区域的湿润粘膜上,也可单独发展为孤立的角化性丘疹或斑块。其并发症包括瘙痒、灼热、接触衣物或性交时出血、排尿或排便困难等。该病治疗方式包括物理治疗(激光、微波、电离)和细胞毒药物等,但难以清除 HPV 亚临床感染病灶,6 个月复发率高达 69%^[8]。ALA-PDT 目前广泛用于尖锐湿疣的治疗,5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)局部应用于病灶区域,可选择性吸收病灶区域的过度增殖细胞,在体内将 5-ALA 转化为具有强光敏性的原卟啉 IX,在特定波长的光照射后,产生大量单线态氧和自由基,导致病灶区细胞凋亡、坏死,而对周围正常组织和细胞无损伤^[9-10]。

临床研究表明^[11],免疫功能低下是导致患者再次感染 HPV 的关键,T 淋巴细胞和炎症因子可以直接反映机体的免疫功能状况。T 淋巴细胞是一类主要参与自身免疫性疾病的免疫细胞,在维持机体免疫稳态、调节免疫应答、抗细菌和病毒感染等方面发挥重要作用。Du 等^[12]发现,与健康人群相比,尖锐湿疣患者外周血 CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺明显减少,而 CD8⁺显著增加,表明尖锐湿疣患者 T 淋巴细胞亚群紊乱。本研究发现,有效组治疗前后外周血 CD4⁺、NK 细胞比值均高于无效组,有效组治疗前后外周血 CD8⁺细胞比值均低于无效组,这可能是由于无效组患者病损局部免疫功能受到抑制,CD8⁺细胞抗病毒能力受到明显抑制,CD4⁺细胞数量减少,不能抑制 HPV 的生长,患者 T 淋巴细胞的免疫水平受到明显抑制,T 淋巴细胞亚群失衡,即使通过 ALA-PDT 治疗将疣体有效清除,但是未能及时调节患者的免疫功能,导致复发。此外,人体内 NK 细胞具有识别正常和异常组织细胞的能力,在体内具有重要的免疫监视功能,NK 细胞活性下降可导致体内清除瘤细胞和清除病毒等免疫复合物的能力下降。而无效组患者外周血 NK 细胞数量明显少于有效组,则尖锐湿疣损害越多。因此,治疗前免疫功能失调的尖锐湿疣患者的疗效不佳。宣晓梅等^[13]也指出,尖锐湿疣患者在接受治疗前的细胞免疫水平与疾病复发之间存

在密切联系,与本研究结果部分相符。国外研究显示^[14],ALA-PDT 能靶向富集于所有 HPV 感染组织,并在细胞内转化为具有光敏活性的原卟啉 IX,在红光激发下发生光化学反应,引起感染细胞的坏死或凋亡。尖锐湿疣疣体具有快速增长、血运丰富的缺氧肿瘤性生长的特性,而 HIF-1 α 作为对缺氧反应的关键调节因子,与细胞增殖和血管增生关系密切。HIF-1 α 活性的下调可能会对其靶基因产生影响,抑制肿瘤生长并维持侵略性表型。本研究中有有效组治疗前后 HIF-1 α 水平均低于无效组,与刘广悦等^[15]的研究结果部分一致。本研究将外周血 CD4⁺、CD8⁺和 HIF-1 α 三者联合检测时,预测 ALA-PDT 疗效为有效的 AUC 为 0.907,可见动态观察外周血 CD4⁺、CD8⁺淋巴细胞比值、HIF-1 α 水平变化,有利于临床医师尽早发现疗效不佳患者。

综上所述,通过检测尖锐湿疣患者治疗前的外周血 CD4⁺、CD8⁺淋巴细胞比值、HIF-1 α 水平并监测治疗过程中的动态变化,可预测 ALA-PDT 治疗的近期疗效,为尽早发现治疗疗效不佳患者提供了一定指导意义。

参考文献

- [1] 张钰颖,宋晓彬,郝世超,等.尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒感染状况及影响因素研究[J].中国全科医学,2017,20(4):443-447+453.
- [2] 王俊伟,李旭阳,尹光文.老年尖锐湿疣患者生活质量调查及其影响因素分析[J].中国皮肤性病杂志,2017,31(11):1220-1221+1268.
- [3] 吴然,贾敏,唐挺,等.诱导型一氧化氮合酶和缺氧诱导因子-1 α 与尖锐湿疣发生、发展的相关性研究[J].中国现代医学杂志,2017,27(24):49-52.
- [4] 潘慧仙,诸靖宇,李军华,等.5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗高危型 HPV 感染尖锐湿疣的疗效及局部细胞免疫活性分析[J].中华男科学杂志,2019,25(1):50-54.
- [5] 吴然,杨轩,黄增阳,等.电离子联合光动力对肛管尖锐湿疣的治疗效果及血清 iNOS 和 HIF-1 α 水平的影响[J].贵州医科大学学报,2019,44(3):314-317.
- [6] 中华医学会皮肤性病学分会性病组.尖锐湿疣临床诊疗与防治指南(一)[J].中国艾滋病性病,2015,137(2):172-174.
- [7] 中华医学会皮肤性病学分会光动力治疗研究中心.氨基酮戊酸光动力疗法皮肤科临床应用指南(2021版)[J].中华皮肤科杂志,2021,54(1):1-9.
- [8] Mistrangelo M, Dal Conte I, Volpato S, et al. Current treatments for anal condylomata acuminata [J]. Minerva Chir, 2018, 73(1):100-106. (下转第 1441 页)

· 论 著 ·

血清 miR-126、IGF-1 水平与糖尿病前期人群结肠息肉发病的相关性

张慧慧^{1,2} 叶美霞³ 邓金凤⁴ 李鑫楠⁴ 陈贇¹ 钟印芹^{4*}

[摘要] 目的 观察微小RNA-126(miR-126)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)与糖尿病(DM)前期发生人群结肠息肉发病的关系。方法 选取2017年11月至2021年3月于广州中医药大学深圳医院治疗的DM前期人群673例,其中结肠息肉患者71例作为DM前期息肉组,结肠黏膜无病变者81例作为DM前期无息肉组,并根据息肉的临床特点以及病理结果将DM前期息肉组分为低危结肠息肉组和高危结肠息肉组;另选取同期糖耐量正常者140例作为对照组,其中结肠息肉29例作为正常息肉组,无结肠息肉111例作为正常无息肉组。检测受试者血清miR-126、IGF-1表达水平,分析两者相关性以及对DM前期结肠息肉的诊断价值。结果 血清miR-126、IGF-1表达水平比较:DM前期息肉组>DM前期无息肉组>正常息肉组>正常无息肉组,差异有统计学意义($P<0.05$)。DM前期息肉组分为低危结肠息肉组(22例)和高危结肠息肉组(49例),高危结肠息肉组患者血清miR-126、IGF-1表达水平高于低危结肠息肉组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。DM前期结肠息肉患者血清中miR-126与IGF-1表达水平呈正相关($r=0.447, P<0.05$)。血清miR-126联合IGF-1诊断DM前期结肠息肉的曲线下面积明显高于两者单独诊断($P<0.05$)。结论 miR-126、IGF-1在DM前期结肠息肉血清中高表达,均可作为诊断结肠息肉的指标。

[关键词] 微小RNA-126; 胰岛素样生长因子-1; 糖尿病前期; 结肠息肉

Correlation between serum miR-126 and IGF-1 levels and the incidence of colon polyps in prediabetic population

ZHANG Huihui^{1,2}, YE Meixia³, DENG Jinfeng⁴, LI Xinnan⁴, CHEN Yun¹, ZHONG Yinquin^{4*}

[1. Department of Endocrinology, Shenzhen Hospital (Futian), Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong, China, 518034; 2. Department of Nursing, Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Sixth Clinical Medical College, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong, China, 518034; 3. Department of Nursing, Shenzhen Hospital (Futian), Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong, China, 518034; 4. Department of Cardiovascular Diseases, Shenzhen Hospital (Futian), Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong, China, 518034]

[ABSTRACT] **Objective** To observe the relationship between microRNA-126 (miR-126) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and the incidence of colonic polyps in prediabetes mellitus (DM) population. **Methods** A total of 673 patients with pre-DM treated in Shenzhen Hospital Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine from November 2017 to March 2021 were selected, including 71 patients with colonic polyps as the pre DM polyp group and 81 patients without lesions of colonic mucosa as the pre-DM polyp free group, according to the clinical characteristics and pathological results of polyps, the pre DM polyps were divid-

基金项目:广东省中医药局科研项目(20211338)

作者单位:1. 广州中医药大学深圳医院(福田)内分泌科,广东,深圳 518034

2. 广州中医药大学第六临床医学院中西医结合护理专业,广东,深圳 518034

3. 广州中医药大学深圳医院(福田)护理部,广东,深圳 518034

4. 广州中医药大学深圳医院(福田)心血管病科,广东,深圳 518034

*通信作者:钟印芹, E-mail: 641296484@qq.com

ed into low-risk colonic polyps group (22 cases) and high-risk colonic polyps group (49 cases). Another 140 cases with normal glucose tolerance in the same period were selected as the control group, including 29 cases of colonic polyps as the normal polyp group and 111 cases without colonic polyps as the normal polyp free group. The expression levels of serum miR-126 and IGF-1 were detected, and the correlation between them was analyzed, as well as the diagnostic value of colonic polyps in pre-DM. **Results** Comparison of serum miR-126 and IGF-1 expression levels: pre-DM polyp group > pre-DM polyp free group > normal polyp group > normal polyp free group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of serum miR-126 and IGF-1 in high-risk colonic polyps group were significantly higher than those in low-risk colonic polyps group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of miR-126 and IGF-1 in serum of patients with colonic polyps in pre-DM were positively correlated ($r=0.447$, $P<0.05$). The area under the curve of serum miR-126 combined with IGF-1 in the diagnosis of pre-DM colonic polyps was significantly higher than that of both alone ($P<0.05$). **Conclusions** MiR-126 and IGF-1 are highly expressed in the serum of colonic polyps in the pre-DM stage, which can be used as indicators for the diagnosis of colonic polyps.

[KEY WORDS] MicroRNA-126; Insulin like growth factor-1; Prediabetes mellitus; Colonic polyp

结肠息肉是指从结肠粘膜表面突出到肠腔的息肉状病变,在未确定病理性质前均称为结肠息肉,通常分为非腺瘤性息肉和腺瘤性息肉^[1]。糖尿病(diabetes mellitus, DM)前期人群血糖值较正常人高,但尚不符合确诊DM的标准,此类人群不仅容易逐渐发展为2型糖尿病,而且患结肠癌的风险相对较高^[2]。目前认为大多数结肠癌患者是由结肠息肉演变而来,因此探讨DM前期人群中结肠息肉发病的相关指标,早期发现并切除结肠息肉,对防治DM前期患者结肠癌变具有积极意义。研究发现I型DM血管并发症患者血清微小RNA-126(miR-126)表达降低^[3]。另有研究显示胰岛素样生长因子1(Insulin-like Growth Factor-1, IGF-1)调节的脑激素信号系统紊乱是DM发生的关键因素之一^[4]。由于miR-126、IGF-1与DM前期人群并发结肠息肉的关系尚不十分明确,因此本研究通过联合检测血清miR-126与IGF-1表达水平,探讨其与DM前期人群结肠息肉发病的关系,以期为提高对DM前期人群结肠息肉发病诊断的准确性、从而防止结肠息肉癌变提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2017年11月至2021年3月于广州中医药大学深圳医院内分泌科治疗的673例DM前期患者,根据《中国癌症筛查及早诊早治指南(试行)》^[5]规定,初筛出185例结肠癌高危的DM前期患者,遵医嘱完成全结肠镜检查者共169例,其中88例结肠黏膜病变中检出结肠息肉患者71例作

为DM前期息肉组,结肠黏膜无病变者81例作为DM前期无息肉组。同期选取于本院腔镜中心进行全面健康体检且经75g口服葡萄糖耐量试验证实为糖耐量正常者140例作为对照组,其中检出结肠息肉29例作为正常息肉组,无结肠息肉111例作为正常无息肉组。DM前期人群纳入标准:①空腹血糖 ≥ 6.1 mmol/L但 < 7.0 mmol/L或餐后2小时血糖 ≥ 7.8 mmol/L但 < 11.1 mmol/L;②配合度高,已被告知研究过程并自愿参加本实验。排除标准:①高血压、心脏病、肝肾疾病等慢性病史;②脑部疾病、精神疾病;③吸烟、酗酒等不良生活习惯者。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

逆转录试剂盒(货号:KR116)购自北京天根生化有限公司;Prime Script™ RT reagent Kit(Perfect Real Time)(货号:RR037A)及Trizol试剂(货号:JMS12279)均购自日本TaKaRa公司;实时荧光定量PCR(Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)仪(型号:MiniAmp)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;Human IGF-1酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) kit(HAKATA, HH-82-1)购自上海传秋生物科技有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 血清样本的采集

所有受试人员空腹 > 8 h,均于清晨采集静脉血3 mL,置于促凝试管中,3 500 r/min离心15 min,离心半径为15 cm,吸取血清标本置于Eppendorf管中,于 -20°C 冰箱保存待测。

1.3.2 血清 miR-126 相对表达量测定

采用 qRT-PCR 测定血清 miR-126 相对表达量。从 -20℃ 冰箱中取出血清样本, Trizol 试剂提取血清总 RNA, 异丙醇沉淀浓缩后, 用 75% 酒精洗涤, 干燥后加入 100 μL DEPC 水, 检测所得 RNA 纯度及完整度。按照逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA, 产物置于 -20℃ 保存。qRT-PCR 反应(反应体系 10 μL): cDNA 模板 4 μL, 2×SYBR Green PCR Master Mix 5 μL, 上下游引物各 0.5 μL。由上海启因生物科技有限公司设计相应上下游引物, 以 U6 为内参, 序列见表 1。反应条件: 95℃ 变性 5 min, 循环 1 次; 95℃ 10 s, 60℃ 20 s, 72℃ 20 s, 循环 38 次, 利用 qRT-PCR 仪进行检测。根据各样本平均 Ct 值, 采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-126 相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
U6	ATTGGAACGATACAGAGAA-GATT	GGAACGCTTCAC-GAATTG
miR-126	ACAGTTCTCTCGTACCGTGA-GTAAT	AAAGGTTGATCT-GCTCTCTCTCTC

1.3.3 血清 IGF-1 表达水平测定

采用 ELISA 法检测所有受试者血清中 IGF-1 的表达水平, 操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 结肠息肉的诊断及分类

由腔镜中心医技人员记录结肠镜下结肠息肉的检查结果, 同时行息肉活检并将标本送病理学检查。在测量息肉直径时, 若有多个息肉以直径最大的息肉作为代表。根据息肉的临床特点以及病理结果, 将息肉分为高危息肉[息肉数量≥3 个和(或)高度增生不良和(或)绒毛状结构和(或)息肉直径≥1 cm]和低危息肉[息肉数量<3 个和(或)不伴有高度增生不良和(或)管状结构和(或)息肉直径<1 cm]^[6]。据此将 DM 前期息肉组分为低危结肠息肉组和高危结肠息肉组。

表 2 一般资料比较 [(x̄±s), n(%)]

Table 2 Comparison of general data [(x̄±s), n(%)]

组别	n	男/女	年龄(岁)	体质指数(kg/m ²)	空腹血糖(mmol/L)	结肠癌家族史
正常无息肉组	111	61/50	52.66±9.20	22.94±3.51	4.86±0.69	25(22.52)
正常息肉组	29	21/8	51.37±8.35	23.45±3.23	4.81±0.72	9(31.03)
DM 前期无息肉组	81	43/38	51.80±8.04	23.86±2.90	5.69±0.57 ^{ab}	20(24.69)
DM 前期息肉组	71	40/31	53.59±11.07	24.07±3.48	5.83±0.48 ^{abc}	19(26.76)
χ ² /F 值		3.481	0.629	2.071	53.357	1.048
P 值		0.323	0.597	0.104	<0.001	0.790

注: 与正常无息肉组比较, ^aP<0.05; 与正常息肉组比较, ^bP<0.05; 与 DM 前期无息肉组比较, ^cP<0.05。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件进行统计处理, 计量资料以 (x̄±s) 表示, 两组间采用 t 检验, 多组间采用方差 F 检验, 组间有差异进一步采用 LSD-t 检验; 计数资料以 n(%) 表示, 采用 χ² 检验; 采用 Pearson 法分析 DM 前期结肠息肉患者血清中 miR-126、IGF-1 表达水平的相关性; 绘制 ROC 曲线分析血清 miR-126、IGF-1 表达水平对 DM 前期结肠息肉发病的诊断价值, 曲线下面积比较行 Z 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料比较

四组性别、年龄、体质指数、结肠癌家族史比较差异无统计学意义 (P>0.05), 正常无息肉组与正常息肉组空腹血糖比较差异无统计学意义 (P>0.05), DM 前期无息肉组、DM 前期息肉组空腹血糖高于正常无息肉组与正常息肉组, DM 前期息肉组高于 DM 前期无息肉组, 差异均有统计学意义 (P<0.05)。见表 2。

2.2 四组血清 miR-126、IGF-1 表达水平比较

血清 miR-126、IGF-1 表达水平比较: DM 前期息肉组>DM 前期无息肉组>正常息肉组>正常无息肉组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。见表 3。

表 3 四组血清 miR-126、IGF-1 表达水平比较 (x̄±s)

Table 3 Comparison of serum miR-126 and IGF-1 expression levels between the 4 groups (x̄±s)

组别	n	miR-126	IGF-1(mg/L)
正常无息肉组	111	17.86±3.68	161.36±36.93
正常息肉组	29	22.49±6.08 ^a	205.11±44.65 ^a
DM 前期无息肉组	81	27.35±6.11 ^{ab}	236.97±56.84 ^{ab}
DM 前期息肉组	71	40.02±8.53 ^{abc}	247.30±69.28 ^{abc}
F 值		197.183	50.296
P 值		<0.001	<0.001

注: 与正常无息肉组比较, ^aP<0.05; 与正常息肉组比较, ^bP<0.05; 与 DM 前期无息肉组比较, ^cP<0.05。

2.3 低危、高危结肠息肉组血清 miR-126、IGF-1 表达水平的比较

根据息肉的临床特点以及病理结果,将DM前期息肉组分为低危结肠息肉组(22例)和高危结肠息肉组(49例)。高危结肠息肉组患者血清miR-126、IGF-1表达水平高于低危结肠息肉组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 低危、高危结肠息肉组血清 miR-126、IGF-1 表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of serum miR-126 and IGF-1 expression levels between low-risk and high-risk colon polyp groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-126	IGF-1 (mg/L)
低危结肠息肉组	22	32.72±7.00	218.18±55.95
高危结肠息肉组	49	43.30±9.22	260.38±75.27
t值		4.791	2.351
P值		<0.001	0.022

2.4 DM前期结肠息肉患者血清中 miR-126、IGF-1 表达的相关性

Pearson 结果显示,DM前期结肠息肉患者血清中 miR-126 与 IGF-1 表达水平呈正相关($r=0.447, P<0.05$)。

2.5 血清 miR-126、IGF-1 表达对 DM 前期结肠息肉的诊断价值

ROC 曲线显示,血清 miR-126 联合 IGF-1 诊断 DM 前期结肠息肉的曲线下面积明显高于两者单独诊断($Z=2.616, 3.719, P<0.05$)。见表5、图1。

表5 血清 miR-126、IGF-1 表达对 DM 前期结肠息肉的诊断价值

Table 5 The diagnostic value of serum miR-126 and IGF-1 expression in colonic polyps in pre DM

指标	AUC	临界值	灵敏度	特异度	95% CI	P 值
miR-126	0.791	34.27	0.702	0.805	0.717~0.865	<0.001
IGF-1	0.725	241.52 mg/L	0.695	0.761	0.640~0.810	<0.001
两者联合	0.910		0.912	0.748	0.861~0.960	<0.001

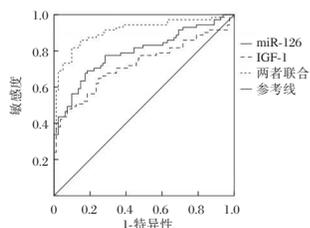


图1 血清 miR-126、IGF-1 表达对 DM 前期结肠息肉的诊断价值

Figure 1 The diagnostic value of serum miR-126 and IGF-1 expression in colonic polyps in pre DM

3 讨论

miRNA 是一个小型非编码 RNA 家族,在调节血糖水平和 DM 中起着至关重要的作用^[7]。血浆 miR-126 表达水平与某些血糖和脂质指数显著相关,可作为 DM 生物标志物^[8]。王凤等^[9]认为 miR-126 表达上调,可抑制白细胞黏附、限制炎症细胞召集,降低血小板的活化和聚集,调节脂质代谢,miR-126 具有作为血管内皮损伤标志物的潜能,同时 miR-126 是缺血相关血管生成和修复信号的重要潜在靶点和调节位点。本研究结果显示,正常息肉组患者血清 miR-126 表达水平较正常无息肉组高,与 Thorlacius-Ussing 等^[10]研究相似,提示 miR-126 与结肠息肉的发生有关,猜测其可能参与结肠息肉形成的血管构建。DM 前期结肠息肉与无结肠息肉患者 miR-126 水平均高于糖耐量正常者,提示 miR-126 与 DM 前期的发生也有关,原因可能为:DM 前期过程中机体为适应胰岛素紊乱等多种失衡机制,可能发生某些炎性反应,从而导致 miR-126 水平升高。本研究还发现,DM 前期息肉组血清 miR-126 表达水平较正常无息肉组、正常息肉组、DM 前期无息肉组显著升高,因此研究猜测 miR-126 可能在 DM 前期结肠息肉发病过程中扮演着重要角色。

IGF-1 是一种肽生长因子,可促进细胞增殖并抑制细胞凋亡^[11-12]。有研究显示,DM 患者患结直肠癌风险高于无 DM 者,在 IGF-1 水平高于 183.5 ng/mL 时,患结直肠癌的风险显著提高^[13]。Parolin 等^[14]发现,肢端肥大症患者结肠息肉的发生与 IGF-1、空腹血糖水平显著相关。陈娟等^[15]发现,糖尿病肾病患者血清 IGF-1 表达水平显著高于健康对照组。本研究中,正常息肉组患者血清 IGF-1 表达水平较正常无息肉者高,与 Parolin 等^[14]研究具有类似性,提示 IGF-1 可能与结肠息肉的发生有关。DM 前期结肠息肉与无结肠息肉患者血清 IGF-1 表达水平均较糖耐量正常者高,提示 IGF-1 高表达可能参与 DM 前期慢性炎症刺激,加剧炎症反应。此外,本研究还发现,DM 前期息肉组血清 IGF-1 表达水平较糖耐量正常者、DM 前期无息肉组显著升高,猜测 IGF-1 水平升高可能在 DM 前期结肠息肉发病过程中发挥一定作用,具体作用机制需后期继续探讨。

本研究 Pearson 分析显示,DM 前期结肠息肉患

者血清中 miR-126 与 IGF-1 呈正相关,提示两者可能在 DM 前期炎症反应过程中存在某种共同调节机制。进一步研究发现,高危结肠息肉组血清 miR-126、IGF-1 表达水平高于低危结肠息肉组,提示 miR-126、IGF-1 表达或与结肠息肉危险程度相关。进一步绘制了 ROC 曲线,结果显示血清 miR-126、IGF-1 均可作为诊断 DM 前期结肠息肉的血清指标,且两者联合诊断价值与可靠性更高。提示,在血清 miR-126、IGF-1 表达水平升高的 DM 前期人群中,需警惕结肠息肉恶变的风险。

综上所述,miR-126、IGF-1 在 DM 前期发生结肠息肉患者血清中均呈高表达,miR-126、IGF-1 具有一定相关性,对诊断 DM 前期患者结肠息肉有一定的诊断价值,两者联合诊断价值更高。

参考文献

- [1] 刘刚, 靳伟杰, 杨品娜. 结肠息肉与 2 型糖尿病的相关性分析[J]. 中国地方病防治杂志, 2017, 32(9):1056.
- [2] 邓丽丽, 赵晓彤, 陈明卫, 等. 血浆脂联素、内脂素、瘦素、抵抗素水平与糖尿病前期人群结肠息肉发病的相关性研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2018, 34(12):997-1002.
- [3] Barutta F, Bruno G, Matullo G, et al. MicroRNA-126 and micro-/macrovascular complications of type 1 diabetes in the EURODIAB prospective complications study[J]. Acta Diabetol, 2017, 54(2):133-139.
- [4] Shpakov AO. The role of alterations in the brain signaling systems regulated by insulin, IGF-1 and leptin in the transition of impaired glucose tolerance to overt type 2 diabetes mellitus[J]. Tsitologiya, 2014, 56(11):789-799.
- [5] 董志伟. 中国癌症筛查及早诊早治指南(试行)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [6] Cha JM, Lee JI, Joo KR, et al. Prediabetes is associated with a high-risk colorectal adenoma[J]. Dig Dis Sci, 2013, 58(7):2061-2067.
- [7] Zhang Y, Bai R, Liu C, et al. MicroRNA single-nucleotide polymorphisms and diabetes mellitus: A comprehensive review[J]. Clin Genet, 2019, 95(4):451-461.
- [8] Amr KS, Abdelmawgoud H, Ali ZY, et al. Potential value of circulating microRNA-126 and microRNA-210 as biomarkers for type 2 diabetes with coronary artery disease[J]. Br J Biomed Sci, 2018, 75(2):82-87.
- [9] 王凤, 徐华英, 杜文婷, 等. miR-126 的临床意义研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(9):2236-2241.
- [10] Thorlacius-Ussing G, Schnack NB, Andersen V, et al. Expression and Localization of miR-21 and miR-126 in Mucosal Tissue from Patients with Inflammatory Bowel Disease[J]. Inflamm Bowel Dis, 2017, 23(5):739-752.
- [11] Hamed MS, El-Sherbeny AA, El-Din AMB. Prepubertal IGF-1 and Possible Relation with Physical Features of Growth and Type 1 Diabetes Mellitus[J]. Curr Diabetes Rev, 2019, 15(5):420-428.
- [12] Smith TJ, Janssen JAMJL. Insulin-like Growth Factor-I Receptor and Thyroid-Associated Ophthalmopathy[J]. Endocr Rev, 2019, 40(1):236-267.
- [13] 李阳, 刘蕊, 周晓杰, 等. 不同性别和年龄糖尿病患者血清 IGF-1 水平与结直肠癌发生风险相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(12):831-835.
- [14] Parolin M, Dassi F, Russo L, et al. Guidelines versus real life practice: the case of colonoscopy in acromegaly[J]. Pituitary, 2018, 21(1):16-24.
- [15] 陈娟, 高鹏霞, 石敏, 等. 血清炎症细胞因子水平与糖尿病肾病病情进展的关系[J]. 中华肾脏病杂志, 2019, 35(2):106-112.
- [9] Meng X, Li Y, Luan H, et al. Therapeutic effect of photodynamic therapy combined with imiquimod in the treatment of anal condyloma acuminatum and its effect on immune function[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(5):3909-3912.
- [10] 刘丽红, 王永芳. ALA-PDT 联合微波治疗尖锐湿疣具有较好的疗效和安全性[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(11):4909-4913.
- [11] 胡雅玉, 胡恩平, 任小丽, 等. 尖锐湿疣感染患者不同病程 T 淋巴细胞亚群的表达与人乳头状瘤病毒感染的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(10):2227-2228+2241.
- [12] Du J, Cheng Q, Zhang Z, et al. 5-Aminolevulinic acid photodynamic therapy stimulates local immunity in patients with condylomata acuminata via activation of T lymphocytes[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(5):1125-1135.
- [13] 宣晓梅, 董伟兰, 王贝贝, 等. 老年尖锐湿疣患者光动力治疗前后外周血淋巴细胞及细胞因子测定[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(23):4994-4998.
- [14] Mahmoudi K, Garvey KL, Bouras A, et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for the treatment of high-grade gliomas[J]. J Neurooncol, 2019, 141(3):595-607.
- [15] 刘广悦, 李艳, 曹庆生, 等. ALA-PDT 联合口服茶多酚对尖锐湿疣患者血清 HIF-1 α 和 VEGF 水平的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(5):677-679.

(上接第 1436 页)

老年CKD患者25(OH)D、SOST水平与OSP和跌倒风险的关系

张丽¹ 赵倩^{1*} 贾英杰¹ 毛慧¹ 犇皓然¹ 韩雪¹ 蒋晗微¹ 张秀娟²

[摘要] **目的** 探讨老年慢性肾脏病(CKD)患者血清25羟维生素D[25(OH)D]、骨硬化蛋白(SOST)水平与骨质疏松症(OSP)和跌倒风险的关系。**方法** 选取在承德市中心医院确诊的120例CKD患者,根据是否发生OSP将患者分为OSP组($n=33$)和非OSP组($n=87$)。分析老年CKD患者发生OSP的单因素,并采用Logistic回归分析影响患者OSP和跌倒发生的危险因素;ROC曲线分析血清25-(OH)-D、SOST水平诊断老年CKD患者OSP的价值;比较两组Morse跌倒评估量表(MFS)评分;Pearson相关性分析血清25(OH)D、SOST水平与老年CKD患者跌倒风险之间的相关性。**结果** OSP组患者合并糖尿病发生率和血清SOST水平明显高于对照组,不同部位BMD和血清25-(OH)-D均显著低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);Logistic分析显示血清25-(OH)-D水平降低、SOST水平升高均为老年CKD患者并发OSP诊断的独立因素($P<0.05$);血清25-(OH)-D和SOST水平联合预测老年CKD患者发生OSP的AUC为0.870($P<0.05$);OSP组MFS评分为(65.13±3.24)分,明显高于非OSP组的(41.05±2.98)分,差异有统计学意义($P<0.05$);老年CKD患者MFS评分与血清25-(OH)-D水平呈显著正相关($r=0.512, P<0.05$),与血清SOST水平呈显著负相关($r=-0.327, P<0.05$)。**结论** 老年慢性肾脏病患者血清25羟维生素D和骨硬化蛋白水平表达异常,血清25羟维生素D、骨硬化蛋白可作为骨质疏松症的独立危险因素。

[关键词] 老年慢性肾脏病; 25羟维生素D; 骨硬化蛋白; 骨质疏松症; 跌倒风险

Relationship between 25(OH)D, SOST levels and OSP, falls risk in elderly patients with CKD

ZHANG Li¹, ZHAO Qian^{1*}, JIA Yingjie¹, MAO Hui¹, NIAN Haoran¹, HAN Xue¹, JIANG Hanwei¹, ZHANG Xiujuan²

(1. Department of Nephrology; 2. Department of Respiratory Medicine, Chengde Central Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], sclerostin (SOST) levels and osteoporosis (OSP), falls risk in elderly patients with chronic kidney disease (CKD). **Methods** A total of 120 patients confirmed with CKD in Chengde Central Hospital were enrolled. According to presence or absence of OSP, they were divided into OSP group ($n=33$) and non-OSP group ($n=87$). Univariate analysis of OSP was conducted. The risk factors of OSP and falls were analyzed by Logistic regression analysis. The diagnostic value of serum 25-(OH)-D and SOST in OSP was analyzed by ROC curves. The score of Morse Fall Assessment Scale (MFS) between the two groups was compared. The correlation between serum 25-(OH)-D, SOST levels and falls risk was analyzed by Pearson correlation analysis. **Results** The incidence of diabetes and level of serum SOST in OSP group were significantly higher than those in control group, while BMD and serum 25-(OH)-D at different sites were significantly lower than those

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(2019513)

作者单位:1.承德市中心医院肾内科,河北,承德 067000

2.承德市中心医院呼吸内科,河北,承德 067000

*通信作者:赵倩, E-mail:149788442@qq.com

in control group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that decreased 25-(OH)-D and increased SOST were independent factors of OSP ($P<0.05$). AUC of serum 25-(OH)-D combined with SOST for predicting OSP was 0.870 ($P<0.05$). MFS score in OSP group was significantly higher than that in non-OSP group [(65.13±3.24) points vs (41.05±2.98) points] ($P<0.05$). MFS score was significantly positively correlated with level of serum 25-(OH)-D ($r=0.512$, $P<0.05$), while significantly negatively correlated with level of serum SOST ($r=-0.327$, $P<0.05$). **Conclusion** The expressions of serum 25-(OH)-D and SOST are abnormal in elderly patients with CKD. Serum 25-(OH)-D and SOST can be applied as independent risk factors of osteoporosis.

[KEY WORDS] Elderly chronic kidney disease; 25-hydroxyvitamin D; Sclerostin; Osteoporosis; Risk of fall

慢性肾脏病(chronic kidney diseases, CKD)是一种以肾脏结构和功能障碍为主要特征的慢性进展代谢性疾病,具有较高的患病率与死亡率^[1]。有研究表明,增龄是CKD发病的主要危险因素之一,其发病率随年龄增高而逐渐增加^[2]。老年CKD患者常因长期肾损伤及心血管疾病、心功能不全、高血压、糖尿病等多种合并症而引起骨代谢异常,导致骨转换、矿化异常,最终造成骨质疏松症(osteoporosis, OSP)^[3]。维生素D(vitamin D, VitD)是体内调节钙平衡的主要激素,可经肝脏、肾脏酶的羟化作用形成25羟维生素D[25-hydroxy vitamin D, 25(OH)D],可维持神经肌肉的协调作用,有助于降低跌倒风险^[4]。骨密度(Bone mass density, BMD)是目前临床诊断和预测患者OSP的常见方法,既往有研究显示,25(OH)D水平与BMD存在相关性^[5]。骨硬化蛋白(Sclerostin, SOST)对骨形成具有负调节作用,参与调节骨重建过程^[5]。本研究通过检测老年CKD患者血清25(OH)D、骨硬化蛋白水平,分析其与OSP和跌倒风险的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2020年12月在承德市中心医院确诊的120例CKD患者,根据是否发生OSP将患者分为OSP组($n=33$)和非OSP组($n=87$)。纳入标准:年龄 ≥ 65 岁,符合CKD诊断标准^[6];患者及家属了解知情并签署知情同意书。排除标准:合并严重心、肝、肾等脏器功能不全及其它免疫性相关性疾病;合并高血压、糖尿病或其它内分泌疾病者;妊娠期、哺乳期或长期服用避孕药者;近3个月内服用过VitD;合并恶性肿瘤或心理、精神疾病者。本研究经医院伦理委员会通过。

1.2 研究方法

于入组次日清晨,采集所有入选者空腹静脉血5 mL,采用全自动生化分析仪(Hitachi 7600,日本日立公司)检验血钙(Ca)、血磷(P)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)、血清血肌酐(serum creatinine, SCr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、白蛋白(albumin, ALB)水平;采用酶联免疫法(试剂盒由江西艾博因生物科技有限公司生产)检测25(OH)D、SOST水平;采用全自动电化学发光仪检测血清全段甲状旁腺素(intact parathyroid hormone, iPTH)水平;采用美国双能X线骨密度仪检测所有受试者L1~4、股骨颈、大转子部位;采用Morse跌倒评估量表(Morse Fall Scale, MFS)对CKD组患者跌倒风险进行评估。

1.3 观察指标

比较OSP组与非OSP组年龄、体质量指数(body mass index, BMI)等一般资料及不同部位BMD(L1~4、股骨颈、大转子)、血清25-(OH)-D、SOST水平,分析老年CKD患者发生OSP的影响因素。

OSP评判标准^[7]:参照中国老年学学会骨质疏松委员会(Osteoporosis committee of Chinese gerontology society, OCCGS)中OSP的标准,以BMD下降25%为OSP。

跌倒风险评估^[8]:采用MFS量表,通过跌倒史、医学疾病诊断、行走辅助、静脉输液治疗、步行姿态和认知状态等6个条目进行评分,以MFS评分 ≥ 25 分为具有跌倒风险。

1.4 统计学处理

采用SPSS 18.0统计学软件进行数据分析,满足正态分布且方差齐的计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用两样本独立 t 检验,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,采用Logistic回归分析影响老年CKD患者OSP和跌倒发生的危险因素;采用ROC曲线

分析血清 25-(OH)-D、SOST 水平诊断老年 CKD 患者 OSP 的价值;采用 Pearson 相关性分析血清 25-(OH)D、SOST 水平与 OSP、跌倒风险之间的相关性, $P < 0.05$ 提示有统计学意义。

2 结果

2.1 老年 CKD 患者发生 OSP 的单因素分析

OSP 组患者合并糖尿病发生率和血清 SOST 水平明显高于对照组,不同部位 BMD 和血清 25-(OH)-D 均显著低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 老年 CKD 患者发生 OSP 的单因素分析 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]
Table 1 Univariate analysis of OSP in elderly patients with CKD [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

指标	OSP 组 ($n=33$)	非 OSP 组 ($n=87$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	69.32±1.17	68.94±1.05	1.715	0.089
性别 男	18(54.55)	52(59.77)	0.269	0.604
女	15(45.45)	35(40.23)		
BMI(Kg/m ²)	22.56±2.41	23.15±2.47	1.716	0.242
合并症 高血压	21(65.62)	61(70.11)	0.220	0.639
糖尿病	22(66.67)	40(45.98)	4.101	0.043
高血脂症	15(45.45)	27(31.03)	2.187	0.139
Ca(mmol/L)	2.46±0.19	2.35±0.34	1.754	0.082
P(mmol/L)	2.15±0.38	2.08±0.35	0.955	0.341
iPTH(ng/L)	41.73±11.17	37.25±11.73	1.892	0.061
BMD(g·cm ²)L ₁₋₄	0.71±0.08	1.14±0.06	31.856	<0.001
股骨颈	0.65±0.12	0.89±0.07	13.577	<0.001
大转子	0.64±0.05	1.03±0.11	29.264	<0.001
25-(OH)-D(μg/L)	23.91±13.05	33.56±12.93	3.641	<0.001
SOST(ng/mL)	15.38±1.47	11.72±1.29	13.347	<0.001

2.2 老年 CKD 患者发生 OSP 的多因素分析

采用差异变量赋值,非 OSP 组=0,OSP 组=1;无糖尿病=0,合并糖尿病=1。采用中位数法对 Ca、BMD、25-(OH)-D、SOST 进行变量赋值,<中位数=0,≥中位数=1。经二分类 Logistic 分析,血清 25-(OH)-D 水平降低、SOST 水平升高均为老年 CKD 患者并发 OSP 诊断的独立因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 老年 CKD 患者发生 OSP 的多因素分析

Table 2 Multivariate analysis of OSP in elderly patients with CKD

指标	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
合并糖尿病	0.715	0.447	2.559	2.044	0.851~4.909	0.110
Ca	0.702	0.463	2.299	2.018	0.814~5.000	0.130
BMD	0.675	0.436	2.397	1.964	0.836~4.616	0.122
25-(OH)-D	0.624	0.282	4.896	1.866	1.074~3.244	0.027
SOST	0.651	0.321	4.354	1.917	1.040~3.534	0.038

2.3 血清 25-(OH)-D、SOST 水平诊断老年 CKD 患者 OSP 的 ROC 分析

血清 25-(OH)-D、SOST 水平联合预测老年 CKD 患者发生 OSP 的曲线下面积(Area Under Curve, AUC)为 0.870, 敏感度为 75.758%, 特异度为 89.655%, 具有最好诊断价值 ($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

表 3 血清 25-(OH)-D、SOST 水平诊断老年 CKD 患者 OSP 的 ROC 特征

Table 3 ROC characteristics of serum 25-(OH)-D and SOST levels in the diagnosis of OSP in elderly patients with CKD

血清学指标	AUC	敏感度	特异度	标准误	95% CI	P 值
25-(OH)-D	0.801	0.636	0.942	0.056	0.691~0.911	<0.001
SOST	0.706	0.576	0.793	0.053	0.603~0.810	<0.001
联合预测	0.870	0.758	0.897	0.044	0.784~0.957	<0.001

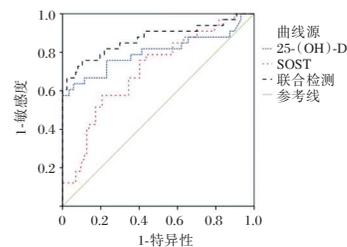


图 1 血清 25-(OH)-D、SOST 水平诊断老年 CKD 患者 OSP 的 ROC 分析曲线

Figure 1 ROC curves of serum 25-(OH)-D and SOST levels in the diagnosis of OSP in elderly patients with CKD

2.4 老年 CKD 患者的跌倒风险

OSP 组 MFS 评分为 (65.13±3.24) 分, 明显高于非 OSP 组的 (41.05±2.98) 分, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 老年 CKD 患者 MFS 评分与血清 25-(OH)-D、SOST 水平的相关性分析

老年 CKD 患者 MFS 评分与血清 25-(OH)-D 水平呈显著正相关 ($r=0.512$, $P < 0.05$), 与血清 SOST 水平呈显著负相关 ($r=-0.327$, $P < 0.05$)。

3 讨论

随着年龄增长,老年 CKD 患者骨质形成减少、流失增加,伴 VitD 生成不足,易导致患者并发 OSP,进而引起患者肌肉反应能力减退,增加其跌倒风险^[9-10]。既往研究显示,25-(OH)-D 可参与骨质代谢,影响 BMD 和骨质结构,对 OSP 的发生发展过程具有促进作用,而 SOST 参与骨重建过程,在 CKD 患者中呈现高表达状态^[11]。

本研究结果显示,老年CKD患者OSP的发生与合并糖尿病、BMD、25-(OH)-D及SOST水平有关,二分类Logistic分析结构显示,25-(OH)-D水平降低、SOST水平升高为老年CKD患者并发OSP诊断的独立因素,且ROC分析显示血清25-(OH)-D、SOST水平联合预测老年CKD患者发生OSP具有最好诊断价值。方纪林等人^[12]研究显示,血清25-(OH)-D水平可随CKD病情进展而呈现降低趋势,且与骨代谢异常密切相关,血清25-(OH)-D水平检测可作为CKD患者并发OSP的诊断参考。25-(OH)-D是VitD在肝脏特殊羟化酶催化作用下形成,是VitD在体内的主要存储形式,在Ca、P平衡和骨代谢中具有重要作用。SOST可有效抑制骨代谢调节信号通路,在骨形成及代谢中发挥重要作用。赵敏等人^[13]研究显示,血清25-(OH)-D和骨代谢指标水平与OSP的发生关系密切,且对其有较高的检测价值。本研究结果与以上研究结论基本一致,提示临床应重点关注血清25-(OH)-D、SOST水平异常表达的老年CKD患者,并积极采取有效干预措施,评估其OSP发生的风险,指导临床治疗方案的调整。

本研究采用MFS评分对老年CKD患者的跌倒风险进行评价,结果显示OSP组MFS评分明显高于非OSP组。Pearson相关性分析结果显示,老年CKD患者MFS评分与血清25-(OH)-D水平呈显著正相关,与血清SOST水平呈显著负相关。吴旭等^[14]研究发现,血清25-(OH)-D可促进骨生成,其水平值降低可引起骨质生成速度降低,同时加快骨质吸收速度,从而导致老年CKD患者出现OSP,并增加其跌倒风险。Goto、Conley等^[15-16]研究发现,SOST可抑制BMD,其血清含量升高提示机体BMD明显降低,从而加速骨量丢失,促进骨质疏松症形成,增加患者跌倒风险。老年OSP患者肾功能恶化时,低血清25-(OH)-D水平可导致患者跌倒风险显著增加。本研究结果与上述研究基本一致,提示临床可通过检测老年CKD患者血清25-(OH)-D、SOST水平变化评估其病情进展情况,评估跌倒风险并采取措施帮助老年患者减少跌倒发生,降低OSP性骨折风险,提高其生活质量。另外,临床可通过补充VitD含量、降低SOST水平从而达到促进患者病情改善的目的。

综上所述,老年CKD患者血清25-(OH)-D、SOST水平呈异常表达状态,血清25-(OH)-D水平降低、SOST水平升高均为老年CKD患者并发OSP的独立危险因素。

参考文献

- [1] Chen TK, Knicely DH, Grams ME. Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review [J]. JAMA, 2019, 1(13):1294-1304.
- [2] Khairallah P, Nickolas TL. Management of Osteoporosis in CKD [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2018, 7(6):962-969.
- [3] Sessa C, Galeano D, Alessandrello I, et al. Osteoporosis and chronic kidney disease: review and new therapeutic strategies [J]. G Ital Nefrol, 2019, 36(4):2019-2024.
- [4] 杨红英,李虹,刘璐,等.绝经后女性骨密度与维生素D和高密度脂蛋白水平相关性研究[J].中国骨质疏松杂志, 2019, 25(2):193-197.
- [5] 方兵,程翰林,虞红林,等.血清E2、P1NP水平对绝经后骨质疏松性腰椎骨折风险的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7):956-959, 963.
- [6] 中华医学会老年医学分会肾病学组.老年人慢性肾脏病诊治中国专家共识(2018) [J].中华老年医学杂志, 2018, 37(7):725-731.
- [7] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊疗指南(2017) [J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 10(5):413-443.
- [8] 嵇加佳,戴曦,梅克文.改良版托马斯跌倒风险评估量表与Morse跌倒评估量表对老年住院病人跌倒的预测价值[J].实用老年医学, 2019, 33(6):611-613.
- [9] 冷云吉,匡扶,杨忆,等.慢性肾脏病合并糖皮质激素性骨质疏松症患者的药学监护要点探索[J].中南药学, 2020, 18(10):1764-1767.
- [10] Evenepoel P, Cunningham J, Ferrari S, et al. European Renal Osteodystrophy (EUROD) workgroup, an initiative of the CKD-MBD working group of the ERA-EDTA, and the committee of Scientific Advisors and National Societies of the IOF. European Consensus Statement on the diagnosis and management of osteoporosis in chronic kidney disease stages G4-G5D [J]. Nephrol Dial Transplant, 2021, 1(1):42-59.
- [11] Khairallah P, Nickolas TL. Updates in CKD-Associated Osteoporosis [J]. Curr Osteoporos Rep, 2018, 16(6):712-723.
- [12] 方纪林,蒋红利,李向东,等.慢性肾脏病患者血清25(OH)D、IGF-1及骨质疏松指标水平变化及其临床意义[J].疑难病杂志, 2020, 19(4):344-348.
- [13] 赵敏.老年骨质疏松症患者25羟维生素D₃和骨代谢指标水平变化及其与骨密度的相关性分析[J].海军医学杂志, 2020, 41(6):105-107.
- [14] 吴旭,王小芳,陈宗涛,等.老年骨质疏松人群血清25(OH)D、跌倒风险及肌力与维生素D缺乏的相关性分析[J].西部医学, 2019, 31(8):1228-1231.
- [15] Goto NA, Weststrate ACG, Oosterlaan FM, et al. Emmelot-Vonk MH, Hamaker ME. The association between chronic kidney disease, falls, and fractures: a systematic review and meta-analysis [J]. Osteoporos Int, 2020, 31(1):13-29.
- [16] Conley RB, Adib G, Adler RA, et al. Secondary Fracture Prevention: Consensus Clinical Recommendations from a Multistakeholder Coalition [J]. J Bone Miner Res, 2020, 35(1):36-52.

血液学参数截断值对不同缺失型 α -地中海贫血的诊断价值

韦松晓 潘美秀* 麦莹莹 黎凤元 覃炜玲 李丹 陈秀勤 梁伟

[摘要] **目的** 分析不同缺失型 α -地中海贫血(地贫)的血液学表型特征,比较其引起小细胞及低血红蛋白的程度与受影响的 α -珠蛋白基因的数量关系,探讨血液学参数(RBC、HGB、MCV、MCH、MCHC和RDW)对缺失不同数量的 α -地贫的筛查价值。**方法** 选取本院于2017年4月至2020年4月期间经基因确诊为缺失型 α -地贫的370例患者为研究对象,根据 α 珠蛋白基因缺失数目不同分为 $-\alpha/\alpha$ 、 $(-/-)\alpha$ 、 $-\alpha/(-\alpha)$ 、 $-/-\alpha$ 和 $-/-$ 共四组,分析确诊的缺失型 α -地贫患者的血液学数据,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,确定缺失不同 α 基因数量的 α -地贫的血液学参数的最佳截断值,分析血液学指标在缺失型 α -地贫中的筛查价值。**结果** 缺失型 α -地贫基因类型以 $-\text{SEA}/\alpha$ 最常见(61.62%)。缺失不同 α 基因数量的患者血液学参数与正常对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。健康人群的MCV >83.8 fl及MCH >27.6 pg。缺失1个 α 基因者,MCV在74.9~83.8 fl之间,MCH在23.8~27.6 pg之间。缺失2个 α 基因者,MCV在62.9~74.9 fl之间,MCH在18.7~23.8 pg之间。缺失3个 α 基因者,MCV小于62.9 fl,MCH小于18.7 pg,另外RDW $>18.8\%$ 。**结论** MCV和MCH是有效鉴别 α 基因缺失数量的指标,可初步区分不同亚型的缺失 α -地贫。

[关键词] α -地贫;缺失型;截断值;基因数目;血液学参数

Iagnostic value of hematological parameter cutoff values for different deletion α -thalassemias

WEI Songxiao, PAN Meixiu*, MAI Yingying, LI Fengyuan, QIN Weiling, LI Dan, CHEN Xiuqin, LIANG Wei

(Department of Laboratory Medicine, Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou, Guangxi, China, 543000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the hematological phenotypic characteristics of different deletion types α -thalassemia and to compare the relationship between the degree of small cell and low hemoglobin and the number of affected α -globin genes. To explore the screening value of hematological parameters (RBC、HGB、MCV、MCH、MCHC and RDW) for different amounts of α -thalassemia. **Methods** A total of 370 patients with deletional α -thalassaemia who were genetically diagnosed in our hospital from April 2017 to April 2020 were selected as the research objects. $./\alpha\alpha$, $(-/-)\alpha$, $-\alpha/(-\alpha)$, $-/-\alpha$ and $-/-$ a total of four groups, the hematological data of patients with confirmed deletion α -thalassaemia were analyzed, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn, to determine the optimal cut-off value of hematological parameters of α -thalassemia missing different α gene numbers, and to analyze the screening value of hematological indexes in missing α -thalassaemia. **Results** The deletion type α -thalassemia geno type was the most common with SEA/ α (61.62%). Compared with the normal control group, the hematological parameters of patients with deletion of different α gene numbers were significantly different ($P<0.05$). MCV > 83.8 fl and MCH >27.6 pg in healthy population. The MCV ranged from 74.9 to 83.8 fl, and the MCH ranged from 23.8 to 27.6 pg for those who

基金项目:广西卫健委自筹经费课题(Z20190727)

作者单位:梧州市红十字会医院检验科,广西,梧州 543000

*通信作者:潘美秀, E-mail: 1329643913@qq.com

lacked one α gene. For those who lacked two α genes, the MCV ranged from 62.9 to 74.9 fl, and the MCH ranged from 18.7 to 23.8 pg. For those with deletion of 3 α genes, the MCV was less than 62.9 fl, the MCH was less than 18.7 pg, and the RDW was >18.8%. **Conclusion** MCV and MCH are effective indicators to identify the number of α gene deletions, and can preliminarily distinguish different subtypes of deletion α -thalassemia.

[KEY WORDS] α -thalassemia; Deletion; Truncation; Number of genes; Hematological parameters

α -地中海贫血(α -地贫, α -thalassemia)是世界上最常见的单基因遗传病,多数是由于 α 珠蛋白基因缺失致使 α 珠蛋白链生成减少或缺如,导致 α 链与非 α 链数量的不平衡,不能合成正常的血红蛋白^[1-2]。临床表现主要为溶血性贫血,疾病的严重程度和临床分型与缺失的 α 基因数量相关^[3-5]。广西作为地贫高发区之一,缺失型 α -地贫携带率为14.23%^[6-7];梧州地区缺失型 α -地贫则高达41%^[8]。然而,目前少见有对梧州地区缺失型 α -地贫的血液学参数的截断值的报道。本研究对缺失不同 α 基因数量的 α -地贫的血液学参数红细胞(Red blood cell, RBC)、血红蛋白(Hemoglobin, HGB)、平均红细胞体积(Mean corpuscular volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(Mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)和红细胞分布宽度(Red cell distribution width, RDW)进行分析,并评价血液学参数的精确断点是否可以鉴别缺失不同 α 基因患者,为本地区筛查缺失型 α -地贫提供一定的理论依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2017年4月至2020年4月在本院行地贫基因检测确诊为缺失型 α -地贫的患者370例为研究对象,其中男性146例,女性224例,年龄3~86岁,均为梧州地区患者,所有病例均排除健康、 α 复合 β 地贫和异常血红蛋白病。同期67名健康人群为正常对照组。所有研究对象均知情同意。本研究获得医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血细胞分析仪(XE-5000, Sysmex, 日本)进行血细胞分析;用罗氏全自动生化分析仪(c702, 德国)检测血清铁和血清铁蛋白;用血红蛋白地贫检测仪(Variant II, Bio-rad, 美国)进行血红蛋白组分的分析;所有操作严格按照各自说明书进行,试

剂均为厂家原装配套试剂。

1.2.2 以DNA提取试剂盒提取基因组DNA。采用跨越断裂点PCR技术检测3种缺失型 α -地贫基因突变类型(--^{SEA}、- $\alpha^{3.7}$ 和- $\alpha^{4.2}$),所有地贫基因诊断试剂盒均购于亚能生物技术(深圳)有限公司,具体操作按试剂盒(批号:THAA20181007)说明进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析;计数资料以($n, \%$)表示;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间计量资料采用单因素方差分析;用MedCalc软件绘制受试者工作特征(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲线,计算曲线下面积,评价血液学参数筛查缺失型 α 地贫的敏感性、特异性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般资料

基因确诊的370例缺失型 α -地贫中,共有8种基因型。其中以--^{SEA}/ $\alpha\alpha$ 缺失型最常见,占61.62%。其次是- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 缺失型与--^{SEA}/ α - $\alpha^{3.7}$ 复合缺失型,分别占13.24%和10.00%。见表1。

表1 缺失型 α -地贫的基因型分布及其构成

Table 1 Genotypic distribution and composition ratio of missing α -thalassemia

基因型	例数 (n)	构成比 (%)
- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$	49	13.24
- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$	34	9.19
-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$	228	61.62
- $\alpha^{3.7}$ / α - $\alpha^{3.7}$	6	1.62
- $\alpha^{4.2}$ / α - $\alpha^{4.2}$	2	0.54
- $\alpha^{3.7}$ / α - $\alpha^{4.2}$	1	0.27
-- ^{SEA} / α - $\alpha^{3.7}$	37	10.00
-- ^{SEA} / α - $\alpha^{4.2}$	13	3.52

2.2 正常对照组和缺失不同 α 基因数量的患者血液学参数比较

四组患者的血液学参数比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。正常对照组的HGB、

MCV、MCH 和 MCHC 均显著高于 (-α/αα) 组, RDW 则显著低于 (-α/αα) 组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。(-/-α) 组的 MCV、MCH、MCHC 值显著低于 (-α/αα) 组和 (-/-αα, -α/-α) 组, 而 RDW 值则

高于 (-α/αα) 组、(-/-αα, -α/-α) 组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。(-/-αα, -α/-α) 组 RBC、HGB、MCV、MCH 和 MCHC 显著高于 (-α/αα) 组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。

表2 正常对照组、缺失不同α基因数量的患者血液学参数比较 (x̄±s)

Table 2 Comparison of haematological parameters of patients with different number α missing genes in normal control group (x̄±s)

组别	n	RBC (10 ¹² /L)	HGB(g/dL)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/dL)	RDW(%)
正常对照	67	4.71±0.57	13.83±1.61	87.50±3.48	29.37±1.14	33.58±0.84	12.77±0.60
-α/αα	83	4.66±0.86	11.94±2.50 ^a	79.80±7.00 ^a	25.66±3.06 ^a	32.09±1.98 ^a	14.93±4.44 ^a
-α/-α 和 -/-αα	237	5.45±0.93 ^{ab}	11.43±1.97 ^{ab}	67.46±5.55 ^{ab}	20.94±2.36 ^{ab}	31.22±1.34 ^{ab}	15.75±2.72 ^{ab}
-/-α	50	5.08±1.08 ^{abc}	8.68±1.56 ^{abc}	58.83±7.49 ^{abc}	17.28±1.91 ^{abc}	29.47±1.42 ^{abc}	23.66±4.51 ^{abc}
F 值		22.85	64.95	337.52	362.56	87.47	123.33
P 值		0.022	0.010	0.001	0.029	< 0.001	< 0.001

注: 与正常对照组相比, ^aP<0.05; 与-α/αα组相比, ^bP<0.05; 与(-/-αα, -α/-α)组相比, ^cP<0.05。

2.3 血液学参数对缺失不同数量α基因患者的鉴别诊断价值

以αα/αα组为参考, 各血液学参数鉴别诊断-α/αα组的性能指标见表3, 图1。其中MCV和MCH的曲线下面积(AUC)均大于0.8 (P<0.05)。MCV≤83.8 fl 及 MCH≤27.6 pg 在区分αα/αα组和-α/αα组的诊断效能较高, 敏感性达到84.3%及88.0%, 特异性分别为88.1%及95.5%。见表3。

表3 血液学参数对αα/αα组(对照组)与-α/αα组的诊断价值

参数	截断值	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	P 值
RBC (10 ¹² /L)	≤3.48	10.8		0.480	0.674
HGB (g/dL)	≤12.4	55.4	79.1	0.725	<0.001
MCV (fL)	≤83.8	84.3	88.1	0.895	<0.001
MCH (pg)	≤27.6	88.0	95.5	0.947	<0.001
MCHC (g/dL)	≤32.5	51.8	91.0	0.775	<0.001
RDW (%)	>13.3	60.2	82.1	0.775	<0.001

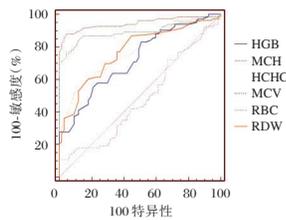


图1 血液学参数对αα/αα组(对照组)与-α/αα组的诊断价值
Figure 1 The value of hematological parameters in differential diagnosis between αα/αα and -α/αα groups

以-α/αα组为参考, 各血液学参数鉴别诊断(-/-αα, -α/-α)组的性能指标见表4, 图2。其中MCV和MCH的曲线下面积(AUC)均大于0.8 (P<0.05)。RDW>18.8%时其敏感性达

(P<0.05)。MCV在截断值为74.9 fl、MCH为23.8 pg时, 可以较好地地区分-α/αα组和(-/-αα, -α/-α)组, 敏感性达到92.8%及96.6%, 特异性达到86.7%及88.0%。

表4 血液学参数对-α/αα组(对照组)与(-/-αα, -α/-α)组的诊断价值

Table 4 The value of hematological parameters in differential diagnosis of -α/αα group (control group) and -α/-αα, -α/-α group

参数	截断值	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	P 值
RBC (10 ¹² /L)	> 5.03	73.4	72.3	0.768	<0.001
HGB (g/dL)	≤11.4	50.2	72.3	0.605	0.005
MCV (fL)	≤74.9	92.8	86.7	0.915	<0.001
MCH (pg)	≤23.8	96.6	88.0	0.914	<0.001
MCHC (g/dL)	≤32.3	82.3	57.8	0.709	<0.001
RDW (%)	>14	86.9	68.7	0.789	<0.001

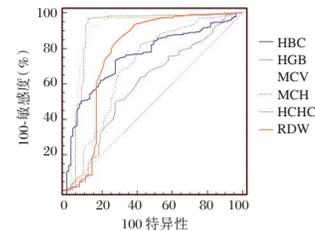


图2 血液学参数对-α/αα组(对照组)与(-/-αα, -α/-α)组的鉴别诊断价值

Figure 2 The value of hematological parameters in differential diagnosis of -α/αα group (control group) and (-α/-αα, -α/-α) group

以(-/-αα, -α/-α)组为参考, 各血液学参数鉴别诊断(-/-α)组的性能指标见表5, 图3。其中MCV、MCH、MCHC和RDW的曲线下面积(AUC)均大于0.8 (P<0.05)。RDW>18.8%时其敏感性达

到100%,特异性为92.0%,AUC为0.957;HGB在截断值为9.8 g/dL,MCV为62.9 fl,MCH为18.7 pg及MCHC为30.2 g/dL时,区分两组的敏感性也可达到74.0%~90.0%,特异性为80.2%~93.7%。

表5 血液学参数对(-- $\alpha\alpha$,- α /- α)(对照组)与(-- α)/ α 组的鉴别诊断价值

参数	截断值	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	P值
RBC($10^{12}/L$)	>5.34	64.0	58.2	0.621	0.003
HGB(g/dL)	\leq 9.8	90.0	84.0	0.894	<0.001
MCV(fl)	\leq 62.9	74.0	83.5	0.845	<0.001
MCH(pg)	\leq 18.7	88.0	93.7	0.914	<0.001
MCHC(g/dL)	\leq 30.2	74.0	80.2	0.817	<0.001
RDW(%)	>18.8	100	92.0	0.957	<0.001

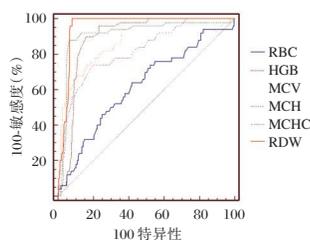


图3 血液学参数对(-- $\alpha\alpha$,- α /- α)(对照组)与(-- α)/ α 组的鉴别诊断价值

Figure 3 Value of hematological parameters in differential diagnosis of (-- $\alpha\alpha$,- α /- α)(control) and (- α)/ α groups

3 讨论

α -地贫是两广地区高发的遗传性疾病,据统计我国 α -地贫的携带率高达7.88%^[6]。 α -地贫携带者临床上没有表现或是轻微的小细胞低色素贫血,中间型的临床表现差异比较大,严重的需要输血、去铁治疗维持生命,治疗费用非常大;重型 α -地贫会导致妊娠晚期胎停或分娩后新生儿窒息死亡^[9]。

在本研究的370例缺失型患者中,-- $\alpha\alpha$ 占61.62%, $\alpha^{3.7}$ 型13.24%,与龙驹^[10]报道的广西南部地区、徐玉婵等^[11]报道的广西柳州地区 α -地贫基因携带构成比-- $^{SEA}/\alpha\alpha$ (53.25%,67.31%)与-- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (19.09%,18.51%)为主相似。此外,在临近地区广东,刘勇^[12]等185例 α -地贫分析结果-- $^{SEA}/\alpha\alpha$ 占54.59%、-- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 占19.46%,也与本研究结果相似。而海南地区黎族人群则以-- $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 和-- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 最常见,-- $^{SEA}/\alpha\alpha$ 较为少见^[13]。以上研究显示,缺失型 α -地贫基因携带率还是很高,分析其血液学参

数并用于初步鉴别缺失数量,可以给地贫防控提供更多的实验室依据。

本研究表明,MCV和MCH是有效预测 α 基因缺失数量的指标。绝大部分健康人群的MCV>83.8 fl及MCH>27.6 pg;缺失1个 α 基因者,MCV在74.9~83.8 fl之间,MCH在23.8~27.6 pg之间。从ROC曲线上看,MCV \leq 83.8 fl及MCH \leq 27.6 pg在区分 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 组和-- $\alpha/\alpha\alpha$ 组的诊断效能较高,与地贫初筛阳性标准中的MCV<80 fl和(或)MCH<27.6 pg^[8]有差异,而广东地区则建议MCV<81.45 fl和MCH<27.35 pg^[12]、福建地区MCV<81.25 fl和MCH<27.35 pg^[2]作为筛查 α -地贫的标准。各地存在差异的原因可能跟基因频率存在地域性以及研究数量不同有关。本次研究显示,MCV在截断值为74.9 fl、MCH为23.8 pg时,能较好地地区分-- $\alpha/\alpha\alpha$ 组和(-- $\alpha\alpha$,- α /- α)组;国外有Diego Velasco-Rodríguez^[14]对不同缺失型 α -地贫红细胞参数进行比较鉴别报道,结果为当MCH<21.90 pg和(或)MCV<70.80 fl强烈提示存在 α^0 等位基因,而国内有缺失型 α -地贫的血液学参数比较^[15],鉴别价值少见报道。尽管缺失两个的 α 基因在临床上没有很大的影响(只有轻微的小细胞低色素贫血),但它为高危夫妇需进行遗传咨询提供了充分的证据。

HbH病患者的MCV、MCH比(-- $\alpha\alpha$,- α /- α)组明显降低,血红蛋白(Hb)的范围在7~10 g/dL,大部分表现为轻中度贫血,极少为重度贫血。这与农雪娟等^[16]报道保持一致。缺失3个 α 基因者,MCV一般小于62.9 fl,MCH一般小于18.7 pg,另外RDW>18.8%;与缺失两个 α 基因者有明显的分别。

α 基因缺失的数量对MCV、MCH和RDW有很大的影响,与MCH的相关性最强; α 基因缺失越多,MCH和MCV值越低,RDW呈现相反的趋势。此外,与MCV相比,MCH在血液保存过程中的稳定性更高^[17-18]。因此许多作者建议使用MCH而不是MCV来筛查地贫。本次研究的结果与这项建议是一致的。

综上所述,本研究通过血液学表型与缺失 α 基因数量的关系,了解应用血液学参数初步鉴别不同亚型的缺失 α 地贫的价值,以提示地贫高危夫妇进行进一步的基因诊断,降低出生缺陷,提高人口质量。

(下转第1454页)

数字聚合酶链式反应在检验诊断中的应用进展

刘雅楠¹ 张彤² 赵国强² 魏凤香^{1,3*}

[摘要] 数字聚合酶链式反应(dPCR)是继实时定量聚合酶链反应之后发展起来的不依赖于标准曲线的高灵敏度和高特异性核酸绝对定量分析技术。dPCR的PCR反应体系被分成大量独立的反应分子池,在其进行PCR扩增时,核酸拷贝数根据泊松分布校正,最终,实现低浓度样品的绝对定量分析。近年来,基于微流控技术的发展数字聚合酶链式反应检测技术准确性和特异性明显提高。本文详细介绍了数字聚合酶链反应技术的原理,阐述了其在临床疾病诊断方面的应用概况和技术发展。

[关键词] 数字PCR;绝对定量;液体活检

Advances in the application of digital polymerase chain reaction in laboratory diagnosis

LIU Yanan¹, ZHANG Tong², ZHAO Guoqiang², WEI Fengxiang^{1,3*}

(1. School of Basic Medicine, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang, China, 154007; 2. School of Clinical Medicine, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang, China, 154007; 3. Central Experiment of Shenzhen Longgang Maternal and Child Health Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518174)

[ABSTRACT] Digital Polymerase chain reaction (dPCR) is an absolute quantitative nucleic acid analysis technique with a high sensitivity and specificity, and independent of standard curve developed after real-time quantitative polymerase chain reaction. The PCR reaction system of dPCR is divided into many independent reaction molecular pools, where PCR amplification is performed, and the nucleic acid copy number is corrected according to Poisson distribution. Finally, the absolute quantitative analysis of low concentration samples is achieved. In recent years, based on the development of microfluidic technology, the accuracy and specificity of dPCR detection technology have been significantly improved. This paper introduces the principle of dPCR technology in detail, and expounds its application and technology development in clinical disease diagnosis.

[KEY WORDS] Digital PCR; Absolute quantitative; The liquid biopsy

自1983年PCR这一革命性技术诞生以来,这种核酸分析方法一直处于检测领域的领先地位。随着分子生物技术的不断发展,PCR技术不仅局限于体外无限扩增目的基因,而是从定性向更精确的定量转变。数字聚合酶链式反应(digital polymerase chain reaction, dPCR)作为一种新的DNA

定量技术,具有比传统PCR更快、更精准、重复性更好的特性,已逐渐成为生命科学领域最引人注目的创新之一,并在检验诊断中快速推广。该技术不仅可用于临床诊断和结果验证,还可用于疾病随访和疗效观察,在疾病发现和治疗方面具有很大优势,对提高国民健康水平具有很高的发展

基金项目:深圳市科技规划项目(JCYJ20180305125647151)

作者单位:1. 佳木斯大学基础医学院,黑龙江,佳木斯 154007

2. 佳木斯大学临床医学院,黑龙江,佳木斯 154007

3. 深圳市龙岗区妇幼保健院(中心实验室),广东,深圳 518174

*通讯作者:魏凤香, E-mail: haowei727499@163.com

前景和研究价值。本文总结了最近几年 dPCR 技术在检验中的应用进展和优势。

1 技术原理和优势

dPCR 是结合了传统 PCR 简单操作的特征和实时荧光定量 PCR 准确定量的特征发展而来的第三代 PCR 技术^[1]。同传统 PCR 相比, dPCR 增加了对反应体系进行分隔的操作, 将几十微升的反应体系分隔成了数万微小独立反应体系, 核酸模板在这种分隔过程中被充分稀释, 理想状态下每个微滴中含有 1 个分子的核酸模板, 扩增完成后对所有的液滴进行荧光信号识别并计数, 通过泊松分布原理计算靶标分子的浓度。基于分液形式的不同, dPCR 主要分为 3 种: 微流体数字 PCR (microfluidic digital PCR, mdPCR)、液滴数字 PCR (droplet digital PCR, ddPCR) 和芯片数字 PCR (chip digital PCR, cdPCR)。与传统的核酸扩增技术相比, dPCR 不需要内参基因, 不依赖扩增阈值 (cycle threshold, CT) 和标准曲线, dPCR 扩增效率不影响结果, 可以绝对定量核酸分子^[2]。近年来, 推出的最新使用指南: 数字定量 PCR 实验数据和发表文章所必须的最低限度标准指南 (the digital MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative digital PCR experiments, dMIQE)^[3], 使 dPCR 的实验方法更标准化, 实验结果可靠性和准确性不断提高^[4], dPCR 技术在基因突变检测、拷贝数变异检测、病毒微生物检测、转基因食品检测以及测序等方面均得到广泛的应用^[5]。

2 dPCR 技术在检验中的应用

2.1 dPCR 在肿瘤研究和诊断方面的应用

dPCR 技术具有高灵敏度、高准确性的特点, 在微量样本的检测中发挥重要作用。该技术不仅能实现样本核酸的检测和定量, 还能发现新的肿瘤标志物、研究核酸功能作用^[6]。血液或其他体液中的循环核酸、循环肿瘤细胞 DNA、微小核糖核酸等常作为检测对象。

在急性髓系白血病的诊疗中, 体细胞基因突变是重要的预后标志物和治疗靶标。Rausch 等^[7]研发了一种新型的 ddPCR 检测设计——“double drop-off” (DDO-ddPCR), 可以检测目标 DNA 分子的两个相邻突变热点区域中的异质性变化, 可用

于突变筛选以及定量检测。实验证明, DDO-ddPCR 检测具有较高的一致性和灵敏度, 将 DDO-ddPCR 用于检测血浆游离 DNA 可以诊断急性髓系白血病, 监测长期靶点特异性疗效效果, 评估化疗期间的早期反应, 以及确定髓外疾病患者的体细胞基因突变。但是这种方法的临床适用性还需要更大规模的前瞻性研究来验证。

在唾液冲洗液等复杂样本中检测核酸面临着“能否检测出”和“是否检测准”这两个巨大的挑战。有研究表明 miRNA 的表达水平和 DNA 甲基化与肿瘤的发生、发展有着密切的关系^[8]。Fung 等^[9]利用 ddPCR 技术定量检测头颈部鳞状细胞癌患者唾液冲洗液中的 PAX5、EDNRB 和 DCC 甲基化靶标, 将未甲基化的正常 DNA 浓度稀释至 0.01%, 降低检测浓度下限, 使得背景低甲基化信号与肿瘤衍生的高甲基化信号区分开, 从而提高检测灵敏度。ddPCR 为检测非靶标分子池中的有限靶标提供了更高的分辨率, 这种方法还可以对目标分子进行绝对定量而不需要外部参考标准基线。有多项研究表明同时检测多种分子畸变可能对恶性肿瘤的诊断有协同作用^[10-11]。已经证明, dPCR 可以绝对定量、简化实验, 但是 dPCR 同时检测多种类型的分子靶点重复性较差^[12-13]。为了优化检测方法, Li 等^[12]使用 ddPCR 结合 96 微孔板开发了一种可以高通量检测多个 miRNAs 和 DNA 甲基化生物标志物。基于微孔板的 ddPCR 检测技术可以绝对、重复、高灵敏度地定量 15 个 miRNAs 和 14 个 DNA 甲基化位点。通过实验证明, 微孔板 ddPCR 技术使可以高通量检测并量化痰和血浆中多种分子畸变, 提高肺癌的早期诊断率。以上研究表明在低靶标浓度的复杂样本中, ddPCR 在直接定量标志物方面具有明显的优势, 为肿瘤研究和诊断提供了重要的技术支持。

2.2 dPCR 在产前诊断中的应用

传统的产前诊断是通过羊膜穿刺术和绒毛膜绒毛取样进行的, 这种侵入式采样方法容易对胎儿造成创伤, 使孕妇流产的风险增大。dPCR 可以对母体血浆中游离胎儿 DNA 进行精确分析, 被广泛用于非侵入性产前筛查, 是一种安全、快捷、准确的产前诊断新技术^[14]。

Caswell 等^[15]对血浆游离 DNA 样本进行 ddPCR 检测, 以量化母体 GCK 或 HNF4A 变异体的等位基因, 再利用 Bayesian MCMC 概率分数模型结合

ddPCR 数据和胎儿分数分析预测胎儿基因型。该方法与目前仅有 56%~72% 准确率的超声扫描法预测母系遗传单基因疾病的胎儿基因型相比,灵敏度和准确性方面有很大改进,在单胎糖尿病妊娠巨大儿的风险管理中具有很强的适用性。

近两年,基因分型技术得到了突飞猛进的发展,越来越多的临床和科研成果不断涌现出来,但是 dPCR 技术却有着不可替代的地位。在 80% 以上的报告病例中,抗血小板 HPA-1a 抗原是引起胎儿和新生儿同种免疫血小板减少症的原因^[16]。Mammasse 等^[17]利用 ddPCR 技术同时扩增四种血小板抗原系统预测的胎儿 HPA 基因型,所有胎儿和新生儿同种免疫性血小板减少症病例组基因型均在羊膜穿刺术或分娩后得到验证。实验结果证实,ddPCR 是一种灵敏、准确、安全、非侵入性检测方法,可以预测胎儿血小板抗原基因分型,有助于识别有风险的孕妇,加强产前管理。Vodicka 等^[18]分析比较实时荧光定量 PCR、微测序和 ddPCR 方法在 RHD 胎儿无创性基因分型中的应用,结果显示:ddPCR 的准确性与实时荧光定量 PCR 相当,但是灵敏度更高;与微测序方法相比,ddPCR 仅在半个工作日内便可完成。在基因分型检测方面,ddPCR 可以对母体胎儿游离 DNA 的数量进行准确的测量和定量,重复性较好,从而将假阴性结果的可能性降到最低。

dPCR 检测不仅可以精准地预测基因分型,在常染色体遗传病的检测中也得到了广泛的应用。脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)在新生儿中的发病率约为 1:3 900~1:16 000^[19]。Noemi 等^[20]利用 ddPCR 方法检测 1 530 名患者干血点中运动神经元存活基因 1(spinal motor neurons-1, SMN1)缺失和 SMN2 拷贝数变化,并同时测定 SMN1、SMN2 和核糖核酸酶 P/MRP30k Da 亚基浓度,当拷贝个体 ≥ 1 SMN1 时,批次内和批次间不确定度的变异系数 $<7.1\%$ 。检测 12 例 SMA 阳性样本的敏感性和特异性均为 100%,ddPCR 方法灵敏度高、特异性强,适用于 SMA 新生儿筛查和载体状态测定。

2.3 dPCR 在病毒检测和预后治疗方面的应用

病毒载量是持续性病毒感染的重要决定因素,往往与疾病的预后和复发相关。Rutsaert 等^[21]分别用 dPCR 和 RT-qPCR 检测病毒载量变化,监测艾滋病疾病进展。结果显示与 RT-qPCR 相比,

dPCR 能够对核酸进行高灵敏度检测和对靶点进行直接绝对定量,可以量化持续存在的低浓度病毒。随着 dPCR 技术的不断发展,它很可能成为艾滋病毒研究与诊断中不可或缺的检测工具。

准确检测出低浓度的复制残留的中间价闭环 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA),是判断 HBV 是否治愈的重点^[22]。Bao 等^[23]利用 dPCR 技术以过量松弛环状双链 DNA 为背景,精确定量肝细胞中稳定增殖的 HBV cccDNA 未发现假阳性。与传统 PCR 方法相比,dPCR 方法最低检测浓度降低 1 000 倍。dPCR 大大提高了 cccDNA 检测的敏感性和特异性,可用于筛选有效的 cccDNA 抑制剂。

HPV 病毒载量是病毒持久性的重要决定因素^[24],不同 HPV 基因型的病毒载量检测对预测宫颈癌发生率至关重要。Malin 等^[25]利用 ddPCR 对福尔马林固定石蜡嵌入组织和宫颈液细胞学样本的 DNA 进行病毒载量分析,比较多重 HPV 感染和单发 HPV 感染的肿瘤之间病毒载量的差异,结果显示 ddPCR 可以高灵敏度地绝对定量不同 HPV 基因型的病毒载量,ddPCR 可能成为预测疾病进展或复发的有效监测工具。

早期筛查出阳性的核酸样本对于预防和控制新冠肺炎病毒感染至关重要^[26],但是,也有报道称新冠肺炎出院患者中出现了 SARS-CoV-2 复发,可能是检测结果假阴性以及病毒的重新激活或再次感染。最近,有报道称与 RT-qPCR 相比,dPCR 在检测 SARS-CoV-2 低病毒载量方面显示出更高的敏感性和特异性^[27]。Sun 等^[28]使用 dPCR 技术对临床复发的新冠肺炎患者定量检测 SARS-CoV-2,分析低病毒载量标本的检测效果。结果表明,与 RT-qPCR 相比,dPCR 对 SARS-CoV-2 模拟样本和临床样本的低病毒载量具有更高的敏感性,并能准确反映病毒 RNA 拷贝数的变化。与传统 PCR 相比,在 SARS-CoV-2 复发样本和假阴性以及病毒的重新激活或再次感染样本中,dPCR 检测更具优势^[29-30]。dPCR 对 SARS-CoV-2 与其他呼吸道病原体如普通流感病毒或其他人类冠状病毒的鉴别也显示出很高的特异性。

综上所述,dPCR 具有高特异性和高灵敏度的特点,与 RT-qPCR 相比,该技术的主要优点是定量分析精度高、可靠性强、重现性好,可实现复杂目标序列的大规模平行单分子扩增。这项技术可以

在临床生物学实验室、临床检验诊断以及几乎所有学科中使用,特别适用于对低丰度的或抑制剂存在的复杂环境中的核苷酸序列定量检测。

3 小结与展望

dPCR 虽然实用性强,应用范围广,但是还存在一些局限和不足:①高灵敏度的 dPCR 技术在受到外源性污染时会造成假阳性结果。②当反应分子池单元达到饱和状态时,样品浓度越高,检测精度越低,所以需要优化稀释方法,以满足对样本持续检测的能力。③相比于传统 PCR, dPCR 的成本高出几十倍。④每个反应池理论上希望最多存在一个核酸模板,然而实际操作中却通常含有 2 个及 2 个以上的核酸模板,导致基因拷贝数的偏移。为了提高 dPCR 的准确性、适用性,弥补现存的不足,应首先在实验室内进行标准质控验证,再进行实验室间的质控标准化确认。其次可以优化 dPCR 技术操作方法,提高对靶标检测的准确性和实验目的的适用性,如上文所述应用 96 微孔板等优化操作过程,或与 NGS 测序、质谱、恒温扩增技术等多种技术相结合扩展应用范围。最后, dPCR 技术还在不断完善,适用的范围也将逐渐扩大,与其他检测技术的结合将更为紧密,期望 dPCR 在基础研究和应用方面发挥更大的作用。

参考文献

- [1] 叶庆,张标,杨军,等.用于液体活检的新技术——数字 PCR 检测技术[J].临床检验杂志,2019,37(8):564-567.
- [2] Quan PL, Martin S, Eric B. dPCR: a technology review[J]. Sensors (Basel), 2018, 18(4): 1271-1271.
- [3] dMIQE Group, Huggett JF. The digital MIQE guidelines update: minimum information for publication of quantitative digital PCR experiments for 2020 [J]. Clin Chem, 2020, 66(8): 1012-1029.
- [4] 王尚君,董莲华.数字 PCR 仪校准方法研究[J].生物技术进展,2020,10(6):585-589.
- [5] 林佳琪,苏国成,苏文金,等.数字 PCR 技术及应用研究进展[J].生物工程学报,2017,33(2):170-177.
- [6] Belay M, Tulu B, Younis S, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis complex DNA in CD34-positive peripheral blood mononuclear cells of asymptomatic tuberculosis contacts: an observational study [J]. Lancet Microbe, 2021, 2(6): e267-e275.
- [7] Rausch C, Rothenberg TM, Buerger SA, et al. Double drop-off droplet digital PCR (DDO-ddPCR): a novel, versatile tool for mutation screening and residual disease monitoring in acute myeloid leukemia using cellular or cell-free DNA [J]. J Mol Diagn, 2021, 19(21): 1525-1578.
- [8] Hu WX, Wang TZ, Xu JH, et al. MicroRNA mediates DNA methylation of target genes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 444(4): 676-681.
- [9] Fung SYH, Chan KCA, Wong EWY, et al. Droplet digital PCR of tumor suppressor gene methylation in serial oral rinses of patients with head and neck squamous cell carcinoma [J]. Head Neck, 2021, 43(6): 1812-1822.
- [10] Guo SH. Exploration and analysis of the value of tumor-marker joint detection in the pathological type of lung cancer [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2020, 66(6): 93-97.
- [11] 王艳艳.癌胚抗原、糖类抗原 199 及甲胎蛋白联合检测对结肠恶性肿瘤的诊断价值分析[J].中国医学工程,2019,27(4):100-103.
- [12] Li N, Jie M, Maria A. Guarnera, HongBin Fang, Ling Cai, Feng Jiang. Digital PCR quantification of miRNAs in sputum for diagnosis of lung cancer [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(1):145-150.
- [13] Li N, Dhilipkannah P, Jiang F. High-throughput detection of multiple miRNAs and methylated DNA by droplet digital PCR [J]. J Pers Med, 2021, 11(5): 359.
- [14] Nectoux J. Current, emerging, and future applications of digital PCR in non-invasive prenatal diagnosis [J]. Mol Diagn Ther, 2018, 22(2): 139-148.
- [15] Caswell RC, Snowsill T, Houghton JAL, et al. noninvasive fetal genotyping by droplet digital PCR to identify maternally inherited monogenic diabetes variants [J]. Clin Chem, 2020, 66(7): 958-965.
- [16] Davoren A, Curtiss R, Aster RH, et al. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia [J]. Transfusion, 2004, 44(8): 1220-1225.
- [17] Mammasse YO, Chenet C, Drubay D, et al. A new efficient tool for non-invasive diagnosis of fetomaternal platelet antigen incompatibility [J]. Br J Haematol, 2020, 190(5): 787-798.
- [18] Vodicka R, Bohmova J, Holuskova I, et al. risk minimization of hemolytic disease of the fetus and newborn using droplet digital PCR method for accurate fetal genotype assessment of RHD, KEL, and RHCE from Cell-Free fetal DNA of maternal plasma [J]. Diagnostics (Basel), 2021, 11(5): 803.
- [19] Verhaart IEC, Robertson A, Rebecca L, et al. A multi-source approach to determine SMA incidence and research ready population [J]. J Neurol, 2017, 264(7): 1465-1473.
- [20] Noemi VF, Dimitar G, Kimiyo R, et al. multiplex droplet digital PCR method applicable to newborn screening, carrier status, and assessment of spinal muscular atrophy [J]. Clin Chem, 2018, 64(12): 1753-1761.
- [21] Rutsaert S, Bosman K, Trypsteen W, et al. Digital PCR as a tool to measure HIV persistence [J]. BioMed Central, 2018, 15(1): 5-21.

- [22] Hu J, Chen J, Tang L, et al. virological basis for the cure of chronic hepatitis B[J]. ACS Infect Dis, 2019,5(5):659-674.
- [23] Bao CY, Hung HC, Chen YW, et al. Requirement of cyclin-dependent kinase function for hepatitis B virus cccDNA synthesis as measured by digital PCR[J]. Ann Hepatol, 2020, 19(3):280-286.
- [24] Vanderweele P, Vanlogchem E, Wolffs P, et al. Correlation between viral load, multiplicity of infection, and persistence of HPV16 and HPV18 infection in a dutch cohort of young women[J]. J Clin Virol, 2016, 83:6-11.
- [25] Malin K, Louise BM, Gisela H, et al. Optimization of droplet digital PCR assays for the type-specific detection and quantification of five HPV genotypes, including additional data on viral loads of nine different HPV genotypes in cervical carcinomas[J]. J Virol Methods, 2021, 294:114193.
- [26] Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia[J]. Clin Chem, 2020, 66(4): 549-555.
- [27] Harish V, Xu P, Servellita V, et al. Digital droplet PCR accurately quantifies SARS-CoV-2 viral load from crude lysate without nucleic acid purification[J]. Scientific Report, 2021, 11(1):780.
- [28] Sun Y, Ding CC, Chen QQ, et al. Digital PCR assay for the effective detection of COVID-19 patients with SARS-CoV-2 low viral load[J]. J Virol Methods, 2021, 295:114185.
- [29] Xiao AT, Tong YX, Zhang S. False negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence [J]. J Med Virol, 2020, 92(10): 1755-1756.
- [30] 颜佳扬,赵婧雅,张静,等.正确认识新型冠状病毒感染诊断中核酸检测与影像学检查的关系[J].诊断学理论与实践, 2020,19(1):1-3.

(上接第 1449 页)

参考文献

- [1] 杨阳,张杰.中国南方地区地中海贫血研究进展.中国实验血液学杂志[J], 2017,25(1):276-280.
- [2] 谢屿平,曹颖平,祝先进,等.血液学指标在中国福建地区 α -地中海贫血筛查中的价值[J].中国实验血液学杂志, 2019,27(1):165-169.
- [3] 王文杰,陈发钦,王琳,等.广西地中海贫血不同基因型血常规参数MCV MCH及血红蛋白电泳检测结果的差异分析[J].中国临床新学, 2017,10(5):426-431.
- [4] Koh DXR, Raja Sabudin RZA, Mohd Yusoff M, et al. Molecular characterisation of α - and β -thalassaemia among indigenous senoi orang Asli communities in Peninsular Malaysia [J]. Ann Hum Genet, 2017, 81(5):205-212.
- [5] 沈如,陈云明,杨晓红,等. α 地中海贫血筛查及诊断技术的进展[J].分子诊断与治疗杂志, 2019,11(1):68-71.
- [6] Lai K, Huang G, Su L, et al. The prevalence of thalassaemia mainland China: Evidence from epidemiological surveys [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):920-923.
- [7] 徐湘民.地中海贫血预防控制操作指南[M].北京:人民军医出版社, 2011:13-25.
- [8] 黎勇鉴,闫丽琼,陈唯.梧州市1365对地中海贫血筛查双阳夫妇泰国缺失型 α 地中海贫血基因诊断及产前诊断结果分析[J].吉林医学, 2017,38(2):317-319.
- [9] 石明芳,杨兰,余夏,等.6545例 α -地中海贫血基因检测结果分析[J].检验医学, 2019,34(1):8-10.
- [10] 龙驹.广西南部地区人群 α 地中海贫血基因携带情况及热点突变检测范围探讨[J].广西医学, 2020, 42(2):457-460.
- [11] 徐玉婵,罗世强,韦朔峰,等.广西柳州地区泰国缺失型 α 地中海贫血1的血液学筛查和基因诊断及产前诊断分析[J].中国优生与遗传杂志, 2018,26(12):26-28.
- [12] 刘勇,林晓英,黄燕,等.MCV、MCH、RBC脆性和HbA2在广东地区 α -地中海贫血筛查中的价值[J].中国实验血液学杂志, 2020,28(5):1679-1682.
- [13] YAO H, CHEN X, LIN L, et al. The spectrum of α - and β -thalassaemia mutations of the Li people in Hainan Province of China[J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 53(12):16-20.
- [14] Diego Velasco-Rodríguez, Carlos Blas, Juan-Manuel Alonso-Domínguez, Gala Vega, Carlos Soto, Aránzazu García-Raso and Pilar Llamas-Sillero. Cut-Off Values of Hematologic Parameters to Predict the Number of Alpha Genes Deleted in Subjects with Deletional Alpha Thalassemia[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(12):2707.
- [15] 梁华英,黄胜,陈亚珍,等.三种常见缺失型 α -地中海贫血患者的红细胞及网织红参数变化的临床意义[J].世界最新医学文摘, 2018,18(88):221-223.
- [16] 农雪娟,许桂丹,李佳,等.桂西地区遗传性血红蛋白H病基因变异类型及其血液学特征的研究[J].中华医学遗传学杂志, 2020,37(12):1326-1330.
- [17] Brugnara C, Mohandas N. Red cell indices in classification and treatment of anemias: From M. M. Wintrobe's original 1934 classification to the third millennium[J]. Curr Opin Hematol, 2013, 20(3):222-230.
- [18] 李恋湘,肖奇志,周玉球.红细胞参数中MCH指标筛查地中海贫血比MCV指标更可靠[J].国际检验医学杂志, 2014,35(14):1914-1918.

安徽省蚌埠市第一人民医院分子诊断实验室

安徽省蚌埠市第一人民医院分子诊断实验室位于安徽省蚌埠市涂山路229号,以蚌埠市第一人民医院检验科为主体,按照ISO 15189要求建立了分子诊断全面质量管理体系,2011年通过卫生部临床检验中心和安徽省卫生厅临床基因扩增检验实验室验收。现有专业技术人员11名,其中高级职称3名、中级职称4名、初级职称4名,获硕士研究生学历者6名,全部具有安徽省临床检验中心颁发的临床基因扩增实验室上岗证。实验室有试剂配、样品准备、基因扩增、测序及结果分析等4个功能实验室。实验室拥有Bio-rad实时荧光定量PCR扩增仪、ABI7500实时荧光定量PCR扩增仪、ABI 3500 DX基因测序仪、高速及高速低温离心机、生物安全柜、核酸电泳仪等分子生物实验设备,设备总值约350万元。

实验室可对临床样本中的乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、沙眼衣原体、人乳头瘤病毒、肺炎支原体、EB病毒、淋病奈瑟菌、解脲支原体、弓形虫、风疹病毒、人巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、柯萨奇病毒、肠道病毒EV71等多种病原体进行准确的核酸定性、定量检测;可对低危及高危人乳头瘤病毒进行准确的基因分型;可进行白血病融合基因检测、靶向化疗药物敏感性及毒副作用预测;可进行抗凝药物如华法林剂量预测、氯比格雷抵抗预测。连续多年参加卫生部临检中心室间质评,成绩优秀。承担国家级自然科学基金科研课题、安徽省卫生厅重点项目、蚌埠市科技局课题等多项研究。研究成果获安徽省科技进步三等奖1项,蚌埠市科技局科研成果二等奖3项。获国家发明专利1项。在国内外重要期刊发表研究论文50余篇。

学科带头人郭清江长期从事生物化学与分子生物学及病原微生物的分子诊断研究,是安徽省医学会检验医师分会第一届、第二届委员会委员。



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。

