



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 9 月 第 14 卷 第 9 期 总第 97 期

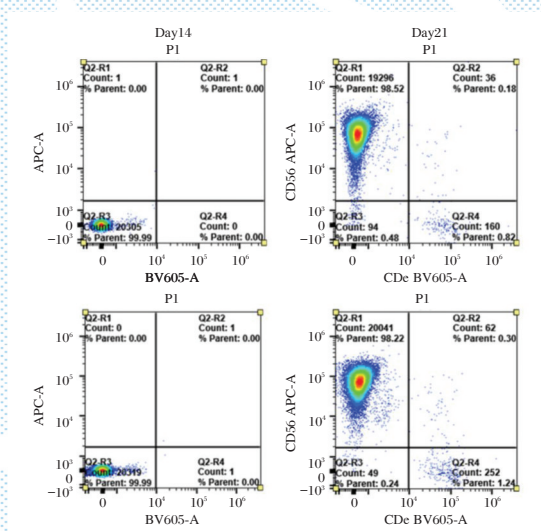
JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14

Number 9

September 2022



图(1487) NK 细胞纯度与流式分析

Figure(1487) The purity of NK cells was identified by flow cytometry

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

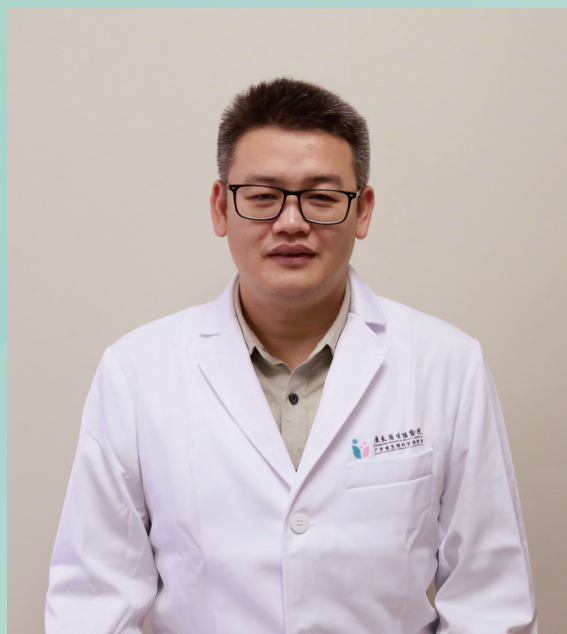
ISSN 1674-6929



9 771674 692228



唐佳



唐佳,1987年1月出生。美国哈佛医学院、贝勒医学院访问学者,中山大学中山医学院医学遗传学博士,暨南大学临床医学博士后,暨南大学硕士研究生导师,江门市创新领军人才,2020年度广东省百名博士博士后创新人物,2021年度江门市优秀科技工作者,现任广东省生殖医院优生遗传科主任,广东省遗传病基因检测工程技术研究中心主任。

现任ACGA美洲华人遗传学会会员,中华医学会医学遗传学分会生化与代谢遗传学组成员,中国医师协会医学遗传医师分会委员,中国妇幼保健协会遗传代谢病和维生素代谢专委会委员,广东省医学会医学遗传学分会常务委员,广东省基层医药学会细胞病理与分子诊断专业委员会副主任委员,广东省医学教育协会检验医学专业委员会副主任委员,粤港澳大湾区检验医学教育联盟副主席,广东欧美同学会理事。

主持国家自然科学基金项目2项,中国博士后科学基金1项,吴阶平医学基金1项,广东省科技攻关项目1项等,参与编写《医学遗传学》和《新生儿遗传代谢病筛查》教材,发表论著33篇,其中SCI文章19篇(Genome Medicine, J Mol Diagn等杂志),申请国家发明专利7项,获授权3项,获江门市(2019—2020)年度自然科学优秀学术论文一等奖。目前从事生殖系统遗传疾病的发病机制研究,利用高通量测序和蛋白质组学等技术,揭示遗传病发生分子机制,研发遗传病基因诊断和治疗新技术。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 9 月 第 14 卷 第 9 期 总第 97 期 Monthly Volume 14 Number 9 September 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 9 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	2022.9.18
Price	RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》

• 述 评 •

早期鼻咽癌外周血 EB 病毒相关分子诊断标志物研究进展

邢利¹ 任明君¹ 唐石伏^{2*}

【摘要】 鼻咽癌(NPC)源自鼻咽部粘膜上皮细胞,是最常见的头颈部恶性肿瘤之一,与之发病相关的危险因素包括遗传易感性、EB病毒(EBV)感染和环境因素等。NPC是一种放疗敏感的癌症,但大多数NPC患者多在晚期时才被确诊,治疗后局部和远处复发在很大程度上导致了这些患者的癌症特异性死亡。在过去的十年中,NPC的外周血游离分子诊断标志物检测技术取得了重大进步,特别是EB病毒相关分子诊断标志物的检测促进了这种致命疾病的早期诊断,本文就该问题的最新研究进展综述如下。

【关键词】 鼻咽癌; EB病毒; 早期诊断; 标志物

Status of EB virus-related molecular biomarkers in peripheral blood for the early detection of nasopharyngeal carcinoma

XING Li¹, REN Mingjun¹, TANG Shifu^{2*}

(1. College of Graduate School, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China, 530000; 2. Department of Clinical Laboratory, Liuzhou People's Hospital/Liuzhou People's Hospital affiliated to Guangxi Medical University, Liuzhou, Guangxi, China, 545006)

【ABSTRACT】 Nasopharyngeal carcinoma (NPC) originates from nasopharyngeal mucosal epithelial cells and is one of the most common head and neck malignancies. Risk factors associated with its pathogenesis include genetic susceptibility, Epstein-Barr virus (EBV) infection, and environmental factors. NPC is a radio-sensitive cancer, but most NPC patients are diagnosed at an advanced stage, and local and distant recurrences after treatment largely contribute to cancer-specific death in these patients. In the past decade, significant progress has been made in the detection of free molecular diagnostic markers in peripheral blood of NPC, especially the detection of Epstein-Barr virus-related molecular diagnostic markers has facilitated the early diagnosis of this deadly disease. This review summarizes the recent advances in the detection of NPC.

【KEY WORDS】 Nasopharyngeal carcinoma; Epstein-Barr virus; Early diagnosis; Biomarker

鼻咽癌(Nasopharyngeal carcinoma, NPC)是东亚和东南亚(包括中国南方地区)流行的地方性恶性肿瘤之一^[1]。据世界卫生组织最新统计,中国人群NPC发病率明显高于世界平均水平,新发病例数占全球总NPC人数的46.91%。NPC对放疗敏感,因此随着放疗技术的不断提高,目前早期

NPC的5年总生存率(overall survival, OS)已达到90%^[2]。在临床诊疗中,由于NPC发病部位隐匿,发病症状体征与其他良性疾病的难以鉴别,70% NPC患者确诊时已处于中晚期,转移和复发风险显著升高,死亡率急剧上升,预后不好^[3]。目前发病机制尚不明确,现广泛认为NPC是宿主细胞、

基金项目:国家自然科学基金(NSFC81560430);广西自然科学基金(2016JJA140484);柳州市科技计划项目(2020NBAB0827)

作者单位:1. 广西中医药大学研究生学院,广西,南宁 530000

2. 柳州市人民医院/广西医科大学附属柳州市人民医院检验科,广西,柳州 545006

*通信作者:唐石伏, E-mail: 385152159@qq.com

EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染和肿瘤微环境等因素长期相互作用、不断演化的结果^[4]。其中 EBV 被公认为是 NPC 的主要危险因素^[5], 因此与 EBV 有关的生物标志物常被应用于临床辅助诊断 NPC。本文通过分析各种 EBV 相关标志物与早期 NPC 的相关性, 以帮助阐明其在早期 NPC 分子诊断方面的成就和不足。

1 EBV 血清抗体与 NPC

EBV 是由 Epstein 和 Barr 在 1964 年发现的一种结构为双链线性 DNA 的人类 γ 疱疹病毒, 长约 172 kb, 主要通过唾液传播, 以潜伏感染的形式存在人 B 淋巴细胞和鼻咽上皮细胞中, 与 NPC 等多种疾病密切相关^[6]。EBV 生存周期分为潜伏期和裂解期, 而裂解期又分为立即早期、早期、病毒 DNA 复制期和晚期。不同时期表达相应的蛋白如潜伏膜蛋白 1 (Latent Membrane protein 1, LMP1)、*BZLF1* (BamHI Z left frame 1) 基因编码的 Zta (BZLF1 transcription activator, Zta) 蛋白、*BRLF1* (BamHI Z left frame 1) 基因编码的 Rta (replication and transcription activator) 蛋白、早期抗原 (Early antibody, EA) 等。美国学者 Old 等^[7]使用免疫扩散实验最先证实了 EBV 抗体与 NPC 有关。

1976 年曾毅院士团队首次建立了免疫酶法用于检测衣壳抗原 (capsid antigen, VCA) IgA 和 EA-IgA, 随后的大规模的血清学普查和追踪观察发现两种抗体联合检测对 NPC 的早期诊断具有重大意义^[8]。但单一抗体检测早期 NPC 时 EA-IgA 敏感性低, 而 VCA-IgA 特异度较低。此外 EBV 抗体谱中, 机体对潜伏基因编码的蛋白产生的免疫应答产物 Rta-IgG 对于早期 NPC 的具有较高准确性^[9], 而 Zta 蛋白抗体需要大规模临床应用才能评价。EBV 核抗原 (nucleus antigen, NA) 作为 NPC 增殖后期产生的结构蛋白, 对早期 NPC 诊断也具有一定的价值。YU 等^[10]发现在早期患者血清中, EBNA1-IgA 的灵敏度和特异度分别为 0.778 和 0.969。而 LIU 等^[11]在 106 例早期 NPC 患者血浆中检测到 EBNA1-IgA 敏感性为 0.915, 特异性为 0.987, 同时提出单一的 EBNA1-IgA 有望成为早期 NPC 有前途的标记物。以上的 EBV 血清抗体敏感性和特异性均较高, 但是阳性预测值多在 1%~5%, 因此单一抗体在早期 NPC 筛查及诊断应用中依然存在局限性。

2 血浆 EB 病毒 DNA

血浆中 EBV-DNA 可能是从 NPC 细胞凋亡过程中释放, 或由病毒复制产生。Lo 等^[12]运用 RT-qPCR 技术检测 NPC 患者血浆中 EB 病毒 EBNA-1 和 BamHI-W 两个片段的拷贝数, 发现晚期患者血浆中 EBV-DNA 拷贝数明显高于早期患者, 认为血浆 EBV-DNA 定量快速、准确, 适用于高危地区鼻咽癌的筛查。随后, 多个实验室将单拷贝数的 *EBNA-1* 基因以及多拷贝数的 *BamHI-W* 基因作为检测对象, 使用多种检测技术如 qPCR、dPCR 等检测由 NPC 细胞凋亡释放出的 EB 病毒 DNA 片段 (<181 个 bp)。然而不同的实验室, 不同的样品处理方法、不同的检测方法对 EBV-DNA 的检出率均有影响。随后在 2011 年世界卫生组织发布了第一版 EB 病毒扩增技术的国际标准^[13]。

大量学者将 EBV-DNA 应用于 NPC 的早期诊断及筛查中, 其中 Chan 等^[14]应用血浆 EBV-DNA 筛查无症状患者并对第一次阳性的患者 4 周后再次取血浆进行检测, 仍呈阳性的 309 名受试者经病理确诊的 NPC 患者共 34 例, 早期占 71%。作为一项前瞻性研究, 血浆 EBV-DNA 诊断早期 NPC 特异度及灵敏度均良好。但与其他实验室的检测结果相比明显较高, 这或许是因为检测方法、检测对象及阈值的设定不同。近五年关于早期 NPC 患者血浆 EBV DNA 研究结果见表 1。随后 Chan 等^[15]还分析了 NPC 患者血浆 EBV DNA 的大小, 并强调了 ctDNA 大小是的一个重要参数, 对 ctDNA 分析 (包括大小图谱) 的深入了解可能有助于其在癌症诊断中的全部潜力得以实现。

血浆 EBV DNA 目前广泛应用于 NPC 的筛查、复发监测和预后。使用 qPCR 技术检测 BamHI-W 基因在研究学者看来能够获得更高的灵敏度。但目前的研究存在一些不足: 一、组织学亚型会影响 DNA 结果: EBV 感染多与高发地区的非角化型 NPC 相关, 而角化型 NPC 大多检测不到 EBV 基因组。二、单次血浆 EBV DNA 结果假阳性较高, 需要采集两次血样并进行内镜检查及影像学检查, 这会加重患者的心理负担。三、临床分期: 对于较早期的 NPC 即 EBV 再激活即复制早期, 细胞周转少, 在凋亡/坏死过程中释放的 EBV DNA 不足以在早期 NPC 患者的血浆中检测到, 这会导致假阴性结果的产生。综上所述血浆 EBV DNA 对于早期 NPC 患者的筛查价值有限。

表1 近五年关于早期NPC患者血浆EBV DNA的研究数据比较

Table 1 Comparison of research data on EBV DNA of patients with NPC in the past five years

文献	检测方法	检测对象	阈值	早期NPC患者	检测阳性的早期NPC患者	早期NPC检出率
Anh. 2020 ^[16]	qPCR	BamHI-W	25 copies/mL	46	44	95.7%
Chan. 2017 ^[14]	PCR	BamHI-W	20 copies/mL	25	24	96%
Vo JH. 2016 ^[17]	qPCR dPCR	BamHI-W EBNA1		16	BamHI-W qPCR: 12 EBNA1 qPCR: 5 EBNA1 dPCR: 11	BamHI-W qPCR: 75% EBNA1 qPCR: 31.3% EBNA1 dPCR: 68.8%
Prayongrat. 2017 ^[18]	RT-qPCR	BamHI-W	600 copies/mL	33	10	30.3%
YU. 2016 ^[19]	RT-qPCR	BamHI-W	100 copies/mL	63	34	54%
Tan. 2020 ^[20]	qPCR	BamHI-W76bp EBNA1 99bp	0 copy/mL	60	BamHI-W 76 bp: 58 EBNA1 99 bp: 48	BamHI-W 76 bp: 96.7% EBNA1 99 bp: 80%

3 EBV 编码的 microRNA

EBV 是首个发现可以编码 miRNAs 的病毒。EBV miRNAs 可作为病毒致癌基因诱导宿主细胞的基因突变和表观遗传改变,从而导致 NPC 发生和进展^[21]。目前已鉴定出 25 个 EBV 相关的 miRNA 前体和 48 个 miRNA 成熟体,分别由病毒基因组的两个区域 BamHI-A 右向转录本(Bam HI-A region rightward transcript, BART)和 BHRF1(Bam HI fragment H right ward pen reading frame 1)编码^[22]。目前证明与 NPC 发生相关的三种是 miR-BART7、miR-BART13-3p 和 miR-BART17。

miR-BART7 在未分化的 NPC 细胞中和组织中高表达,具有潜在的诊断价值^[23]。Wardana 等^[24]在 138 例早期患者中使用定量 PCR 技术检测血浆 EBV miR-BART7 和 miR-BART13-3p 的表达,miR-BART7 的 AUC 值为 0.965, miR-BART13-3p 的 AUC 值为 0.980,这证实了血浆 miR-BART7 和 miR-BART13-3p 对早期 NPC 患者的具有较高准确率。Gourzones 等^[25]人发现在 NPC 患者血浆标本中 miR-BART17 明显增加,且 miR-BART17 的显著增加伴随着一个患者肿瘤质量的增加,敏感性为 77%,特异性可达 90%。这提示血浆中 miR-BART17 的浓度可能与 NPC 的进展有关。与 EBV DNA 相比,血浆 EBV miRNAs 可能更直接地反映了肿瘤的活性,这或许是因为 EBV-miR-BARTs 作为病毒致癌基因在宿主细胞生存、免疫逃逸、细胞增殖、细胞凋亡和肿瘤代谢中发挥关键作用,促进 NPC 的发生。但 EBV miRNAs 目前仅处于实验阶段,并未进行大规模的验证,且检测质量影响因素存在、缺少大型前瞻性研究证据,方法学有待标准

化等问题亟需解决。随着研究方法的改进,未来 EBV microRNAs 检测有望成为早期 NPC 潜在的分子标志物。

4 联合检测

从 1970 年开始,研究者们使用 EA-IgA 和 VCA-IgA 两项联合检测用于筛查中国南方 NPC 高发地区的高危人群^[8]。2008 年 Liu 共招募了 28 688 人参与了血清学筛查实验,总体 NPC 检出率为 0.14%(41/28 688),随访第一年内早期诊断率为 68.3%(28/41),但阳性预测值只有 4.41%^[26]。而 Li 等使用上述研究中的 46 份 NPC 血清以及 263 份根据 EBNA1-IgA 和 VCA-IgA 结果被划分为高危参与者的血清样本检测 EAD-IgA,称之为两步筛选方案,使高危人群从 128 人降低为 27 人,阳性预测值由 4.69%提高至 18.5%,仅遗漏一例极早期病例^[27]。两步筛选法提高了特异性,且不会显著降低敏感性,使更多人避免了纤维内镜检查。目前越来越多的学者建议将血清学抗体与血浆 DNA 联合检测在提高灵敏度和特异度的同时,将阳性预测值提高,得到更好的诊断效能。综上所述,使用 EBV 血清学抗体及血浆 DNA 联合检测,或建立血清学的预测模型是鼻咽癌的早期筛查策略之一,能够显著提高阳性预测值,减少不必要的内镜或影像学检查,近五年联合检测结果比较见表 2。

酶联免疫吸附法作为目前最常用的 EBV 血清学检测方法,简便快捷且经济成本低,常用于 NPC 高发地区筛查及诊断。目前有专家提出将血清学筛查与遗传学风险联合开发出了综合风险(comprehensive risk score, CRS)评分应用于鼻咽癌筛查,阳性预测值从 4.70%(仅 VCA-/EBNA1-IgA)增

加到 43.24% (CRS+VCA-/EBNA1-IgA), 这为鼻咽癌的早期诊断及预后提供了有效的辨别模式^[28]。总之 EBV 血清抗体谱作为临床应用最广泛的分子标志物, 单一抗体多存在灵敏度或特异性不足的缺陷, 两种抗体联合检测多能满足临床

需求但对于鼻咽癌早期筛查存在阳性预测值低的问题, 而使用血清学检测与 CRS 相结合则能有效提高阳性预测值, 避免了大量非 NPC 患者免受内镜及影像学检查的痛苦, 是目前临床最高效的早期筛查手段之一。

表 2 联合检测结果比较
Table 2 Comparison of combined test results

文献	组合	敏感性	特异性	备注
Yu. 2016 ^[10]	NA1/IgA 和 DNA	早期:0.825 晚期:0.989	0.969	抗体 ROD $\geq$ 1.00 为阳性, DNA level >100 copies/mL 为阳性
	NA1/IgA+ DNA+ Zta/IgA ^a	0.961	0.929	
Li. 2016 ^[29]	Rta-IgG + EA-IgG + VCA-IgA + EBV-DNA ^a	0.982	0.789	(EA-IgG > 0.05, VCA-IgA > 1.1, RtaIgG > 30 U/mL, EBV-DNA > 1 $\times$ 103 copies /mL)。
Yu. 2018 ^[19]	VCA/IgA 和 NA1/IgA	0.489	0.995	抗体 ROD $\geq$ 1.00 为阳性 LogitPROB=-3.934+2.203 $\times$ VCA/IgA +4.797 $\times$ EBNA1/IgA
	VCA/IgA 或 NA1/IgA	0.851	0.901	
	PROB $\geq$ 0.65	0.957	0.916	
Chen. 2018 ^[30]	VCA-IgA +NA1 IgA+ Zta-IgA ¹	0.940	0.918	VCA-IgA 和 NA1-IgA > 1.1, ZTA-IgA > 1.0

注:a 表示至少一个抗体和或 DNA 阳性。

5 总结与展望

EBV 在鼻咽上皮建立异常的潜伏感染, 在多种因素的作用下裂解再激活诱导肿瘤微环境有助于 NPC 的发展及维持, 并因机体对肿瘤相关病毒的黏膜抗体应答, 使得多种 EBV 血清抗体、血浆 EBV-DNA 及 EBV 编码的 miRNAs 成为了早期 NPC 液体活检的分子诊断标志物及潜在分子标志物。近年来随着高通量测序及液体活检技术的广泛普及, 越来越多的肿瘤循环 RNA (circulating tumor RNA, ctRNA), 例如长链非编码 RNA 及环状 RNA 在 NPC 早期筛查诊断中扮演了重要的角色。相信随着研究方法的改进及大规模的验证, 越来越多的新型分子诊断标志物能够应用于早期 NPC 的筛查及诊断。

参考文献

[1] Renaud S, Lefebvre A, Mordon S, et al. Novel Therapies Boosting T Cell Immunity in Epstein Barr Virus-Associated Nasopharyngeal Carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4292.

[2] Bhattacharyya T, Babu G, Kainickal CT. Current Role of Chemotherapy in Nonmetastatic Nasopharyngeal Cancer [J]. J Oncol, 2018, 2018:3725837.

[3] Hong M, Tang K, Qian J, et al. Immunotherapy for EBV-Associated Nasopharyngeal Carcinoma [J]. Crit Rev Oncog, 2018, 23(3-4): 219-234.

[4] Huang SCM, Tsao SW, Tsang CM. Interplay of Viral Infection, Host Cell Factors and Tumor Microenvironment in the Pathogenesis of Nasopharyngeal Carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2018, 10(4):106.

[5] Abdulmir AS, Hafidh RR, Abdulmuhamen N, et al. The distinctive profile of risk factors of nasopharyngeal carcinoma in comparison with other head and neck cancer types [J]. BMC Public Health, 2008, 8:400.

[6] Tan R, Phua SKA, Soong YL, et al. Clinical utility of Epstein-Barr virus DNA and other liquid biopsy markers in nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Commun(London), 2020, 40(11): 564-585.

[7] Old LJ, Boyse EA, Oettgen HF, et al. Precipitating antibody in human serum to an antigen present in cultured burkitt's lymphoma cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1966, 56(6):1699-704.

[8] 曾毅. 病毒与肿瘤 [J]. 科学技术与工程, 2002, 1(1): 8-22.

[9] Liu W, Chen G, Gong X, et al. The diagnostic value of EBV-DNA and EBV-related antibodies detection for nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis [J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1):164.

[10] 俞霞, 季明芳, 程伟民, 等. EBV 抗体和 EBV-DNA 在鼻咽癌诊断及分期的研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2016, 43(15): 650-654.

[11] Liu W, Li H, Sheng H, et al. A Randomized Controlled Trial on Evaluation of Plasma Epstein-Barr Virus Biomarker for Early Diagnosis in Patients With Nasopharyngeal Carcinoma [J]. Adv Ther, 2020, 37(10):4280-4290.

(下转第 1463 页)

· 论 著 ·

基因多态性对儿童肾病综合征糖皮质激素治疗效果的影响

黄佳斯^{1,2} 何宇婷² 陈瑶² 余学高² 黄浩² 陈培松^{2*}

[摘要] **目的** 探讨 *CYP3A4*18B* (*G20230A*)、*CYP3A5* (*A6986G*)、*ABCB1* (*C3435T*)、*NR1I2* (*A7635G*)、*MIF* (*G-173C*) 与儿童肾病综合征糖皮质激素治疗效果的相关性。**方法** 收集糖皮质激素敏感和糖皮质激素耐药的肾病综合征患儿各 29 例,采用序列特异引物引导的聚合酶链反应技术分析 *CYP3A4*18B* (*G20230A*)、*CYP3A5* (*A6986G*)、*ABCB1* (*C3435T*)、*NR1I2* (*A7635G*)、*MIF* (*G-173C*) 多态性在各组中的分布,并进行统计学分析。**结果** 糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *CYP3A4*18B* (*G20230A*)、*CYP3A5* (*A6986G*)、*ABCB1* (*C3435T*)、*NR1I2* (*A7635G*)、*MIF* (*G-173C*) 基因型和等位基因分布频率比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** *CYP3A4*18B* (*G20230A*)、*CYP3A5* (*A6986G*)、*ABCB1* (*C3435T*)、*NR1I2* (*A7635G*)、*MIF* (*G-173C*) 基因多态性与儿童肾病综合征糖皮质激素治疗效果无明确关联。

[关键词] 激素耐药; 肾病综合征; 基因多态性; *CYP3A4*18B* (*G20230A*); *CYP3A5* (*A6986G*); *ABCB1* (*C3435T*); *NR1I2* (*A7635G*); *MIF* (*G-173C*)

Effect of gene polymorphisms on the efficacy of glucocorticoid therapy in children with nephrotic syndrome

HUANG Jiasi^{1,2}, HE Yuting², CHEN Yao², YU Xuegao², HUANG Hao², CHEN Peisong^{2*}

(1. Department of Laboratory Medicine, The Third Hospital of Changsha, Changsha, Hunan, China, 410000; 2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, China, 510000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between *CYP3A4*18B* (*G20230A*), *CYP3A5* (*A6986G*), *ABCB1* (*C3435T*), *NR1I2* (*A7635G*), *MIF* (*G-173C*) and glucocorticoid therapy in children with nephrotic syndrome. **Methods** A total of 29 children with glucocorticoid-sensitive and glucocorticoid-resistant nephrotic syndrome were collected. The sequence-specific primer-guided polymerase chain reaction technique was used to analyze the distribution of *CYP3A4*18B* (*G20230A*), *CYP3A5* (*A6986G*), *ABCB1* (*C3435T*), *NR1I2* (*A7635G*), *MIF* (*G-173C*) polymorphisms in each group, and statistical analysis was performed. **Results** Glucocorticoid sensitive group and glucocorticoid resistant group *CYP3A4*18B* (*G20230A*), *CYP3A5* (*A6986G*), *ABCB1* (*C3435T*), *NR1I2* (*A7635G*), *MIF* (*G-173C*) genotype and allele distribution frequency were not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** *CYP3A4*18B* (*G20230A*), *CYP3A5* (*A6986G*), *ABCB1* (*C3435T*), *NR1I2* (*A7635G*), *MIF* (*G-173C*) gene polymorphisms are not related to the effect of glucocorticoid therapy.

[KEY WORDS] Hormone resistance; Nephrotic syndrome; Gene polymorphism; *CYP3A4*18B* (*G20230A*); *CYP3A5* (*A6986G*); *ABCB1* (*C3435T*); *NR1I2* (*A7635G*); *MIF* (*G-173C*)

基金项目:湖南省卫生健康委科研计划项目(20201430)

作者单位:1. 长沙市第三医院检验科, 湖南, 长沙 410000

2. 中山大学附属第一医院检验科, 广东, 广州 510000

*通信作者:陈培松, E-mail:mydhgg77@qq.com

原发性肾病综合征(primary nephrotic syndrome, PNS)是儿童期常见病之一,在儿童中发病率约为2~7/100 000,男女比例为2:1,以水肿、低蛋白血症、大量蛋白尿和血尿为主要临床特征^[1]。糖皮质激素是目前治疗PNS的首选药物,但临床上PNS患儿对其应答存在个体差异,约有10%~20%儿童在常规糖皮质激素治疗8周后不能得到临床缓解或复发后再次使用无效,即糖皮质激素耐药型肾病(glucocorticoid-resistant nephrotic syndrome, SRNS),50%~70% SRNS在5~10年内进展为终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)^[2]。多种因素可导致SRNS,如遗传及免疫因素、合并感染、高凝、肾静脉血栓、伴肾小管间质损伤以及激素受体或耐药基因表达异常^[3-4]。文献报道,*CYP3A4*18B*、*CYP3A5*、*ABCB1*、*NR1I2*、*MIF*等5个基因编码的蛋白通过参与糖皮质激素的代谢、转运或调节等多种途径影响血清中糖皮质激素的水平或功能^[5-8]。而蛋白的水平及活性基本由相关基因多态性决定。本研究采用序列特异引物引导的聚合酶链反应(polymerase chain reaction-sequence specific primer, PCR-SSP)检测PNS患儿5个相关基因多态性,旨在探究*CYP3A4*18B*、*CYP3A5*、*ABCB1*、*NR1I2*、*MIF*基因多态性对PNS患儿糖皮质激素疗效的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年7月至2020年6月中山大学附属第一医院儿科就诊的PNS患儿58例,符合肾病综合征的诊断标准:24 h尿蛋白>3.5 g/d,血清蛋白<30 g/L。排除标准:①所有继发型肾病综合征患者;②恶性肿瘤患者,包括各种血液病和实体瘤;③资料不全,未明确糖皮质激素敏感型患者。其中男43例,女15例,年龄1~12岁。依据患儿对口服泼尼松治疗反应可分为糖皮质激素敏感组(glucocorticoid-sensitive, SS)和糖皮质激素耐药组(glucocorticoid-resistant, SR)。见表1。PNS的诊断标准及糖皮质激素治疗反应类型参照中华医学会儿科学分会肾脏病学组指定的儿童常见肾脏疾病诊治循证指南^[9]。患者在入院时签署了泛知情同意临床剩余样本用于科研。2~12岁儿童由家长监护人代签。本研究经医院医学伦理委员会批准[批件号:(快)-KY-2021EC-003]。

表1 58例肾病综合征患儿一般资料($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Demographic data of 58 children with nephrotic syndrome ($\bar{x} \pm s$)

特征	糖皮质激素敏感组	糖皮质激素耐药组
例数(例)	29	29
性别(例)		
男	23	20
女	6	9
始发年龄(岁)	4.02±2.97	4.82±2.82
病理检查(例)	11	23
微小病变型肾病	7	12
局灶节段性肾小球硬化	1	6
膜性肾病	0	3
系膜增生性肾小球肾炎	3	2

1.2 仪器与试剂

PCR热循环仪(ABI7500);凝胶成像系统(SAGECREATION);DNA提取试剂盒(德国QIAGEN公司);免疫抑制剂相关基因分型检测试剂盒(天津市秀鹏生物技术开发有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 模板DNA提取

采集2 mL 2% EDTA-K₂抗凝外周静脉血;采用德国QIAGEN全血基因组DNA提取试剂盒按照说明书进行DNA提取,采用超微量分光光度计检测DNA的纯度及浓度,调整浓度为30~50 ng/μL, A260/A280值为1.6~2.0。保存于-20℃冰箱待测。

1.3.2 PCR-SSP

采用ABI7500PCR热循环仪进行PCR;采用天津市秀鹏生物技术开发有限公司的免疫抑制剂相关基因分型检测试剂盒(PCR-SSP法)进行检测,操作流程严格按照操作说明书进行,并严防污染。

1.3.3 凝胶电泳及成像

配置2.5%琼脂糖凝胶,将6 μL PCR反应产物转移至凝胶孔中,140 V电压下电泳10 min,应用UVP凝胶成像系统记录结果,并进行结果判读。

1.4 统计分析

采用SPSS 20.0对研究数据进行分析 and 处理;计数资料 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PNS患儿糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组*CYP3A4*18B*(G20230A)基因型及等位基因分布频率比较

糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组*CYP3A4*18B*(G20230A)基因型及等位基因分布频

率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 耐药组和敏感组间 *CYP3A4*18B (G20230A)* 基因型和等位基因分布频率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of *CYP3A4*18B (G20230A)* genotype and allele distribution frequency between resistant group and sensitive group [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		GG	AG	AA	G	A
敏感组	29	11(37.9)	17(58.6)	1(3.4)	39(67.2)	19(32.8)
耐药组	29	15(51.7)	10(34.5)	4(13.8)	40(69.0)	18(31.0)
χ^2 值		4.230			0.040	
<i>P</i> 值		0.121			0.842	

2.2 PNS 患儿糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *CYP3A5 (A6986G)* 基因型及等位基因分布频率比较

糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *CYP3A5 (A6986G)* 基因型及等位基因分布频率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 耐药组和敏感组间 *CYP3A5 (A6986G)* 基因型和等位基因分布频率比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of *CYP3A5 (A6986G)* genotype and allele distribution frequency between resistant group and sensitive group [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		AA	AG	GG	A	G
敏感组	29	0(0.0)	13(44.8)	16(55.2)	13(22.4)	45(77.6)
耐药组	29	3(10.3)	15(51.7)	11(37.9)	21(36.2)	37(63.8)
χ^2 值		4.069			2.663	
<i>P</i> 值		0.131			0.103	

2.3 PNS 患儿糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *ABCB1 (C3435T)* 基因型及等位基因分布频率比较

糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *ABCB1 (C3435T)* 基因型分布频率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);两组等位基因分布频率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

表4 耐药组和敏感组间 *ABCB1 (C3435T)* 基因型和等位基因分布频率的比较 [$n(\%)$]

Table 4 Comparison of *ABCB1 (C3435T)* genotype and allele distribution frequency between resistant group and sensitive group [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
敏感组	29	17(58.6)	5(17.2)	7(24.1)	39(67.2)	19(32.8)
耐药组	29	10(34.5)	14(48.3)	5(17.2)	34(58.6)	24(41.4)
χ^2 值		6.411			0.924	
<i>P</i> 值		0.041			0.336	

2.4 PNS 患儿糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *NR1I2 (A7635G)* 基因型及等位基因分布频率比较

糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *NR1I2 (A7635G)* 基因型及等位基因分布频率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5。

表5 耐药组和敏感组间 *NR1I2 (A7635G)* 基因型和等位基因分布频率比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of *NR1I2 (A7635G)* genotype and allele distribution frequency between resistant group and sensitive group [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		AA	AG	GG	A	G
敏感组	29	7(24.1)	17(58.6)	5(17.2)	31(53.4)	27(46.6)
耐药组	29	6(20.7)	12(41.4)	11(37.9)	24(41.4)	34(58.6)
χ^2 值		3.189			1.694	
<i>P</i> 值		0.203			0.193	

2.5 PNS 患儿糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *MIF (G-173C)* 基因型及等位基因分布频率的比较

糖皮质激素敏感组和糖皮质激素耐药组 *MIF (G-173C)* 基因型及等位基因分布频率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表6。

表6 耐药组和敏感组间 *MIF (G-173C)* 基因型和等位基因分布频率比较 [$n(\%)$]

Table 6 Comparison of *MIF (G-173C)* genotype and allele distribution frequency between resistant group and sensitive group [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		GG	GC	CC	G	C
敏感组	29	0(0.0)	7(24.1)	22(75.9)	7(12.1)	51(87.9)
耐药组	29	3(10.3)	8(27.6)	18(62.1)	14(24.1)	44(75.9)
χ^2 值		3.467			2.849	
<i>P</i> 值		0.177			0.091	

3 讨论

CYP3A4 与 CYP3A5 是 CYP3A 家族的重要成员,CYP3A 酶通过脱氢和羟基化作用,代谢地塞米松、布地奈德等多种糖皮质激素。不同个体基因的单个碱基序列差异所导致的 CYP3A 酶单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),可能导致糖皮质激素类药物在体内代谢存在个体差异。*CYP3A4*18B (G20230A)* 是目前 *CYP3A4* 基因出现频率最高的 SNP,该突变能提高 CYP3A4 酶的活性^[10]。*CYP3A5 (A6986G)* 是 *CYP3A5* 基因

中最常见的 SNP,该突变导致 mRNA 出现新的剪切位点,使得蛋白质翻译在 102 位氨基酸处中断,蛋白质功能降低,对糖皮质激素的代谢功能受阻^[5]。本文对糖皮质激素耐药患儿与糖皮质激素敏感患儿 *CYP3A4*18B (G20230A)*、*CYP3A5 (A6986G)* 位点基因型和等位基因进行了分析,发现两组间差异无统计学意义。

ABCB1 基因编码 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp),也称为多药耐药蛋白 (multidrug resistance protein, MDR),是转运蛋白超家族的成员之一,P-gp 可将细胞内药物泵出细胞外,使胞内药物浓度降低而产生耐药,*ABCB1* 基因变异可影响 P-gp 的表达水平或活性,导致糖皮质激素代谢发生个体差异^[6]。目前已发现 *ABCB1* 多个 SNP 位点与糖皮质激素代谢相关,其中第 26 号外显子 *C3435T* 备受关注,其可通过影响 RNA 的稳定性来降低 mRNA 水平,或者通过影响蛋白质翻译折叠而改变 P-糖蛋白与药物的相互作用^[11]。本文对 *ABCB1 (C3435T)* 的 3 种基因型及 2 个等位基因进行了分析,结果显示 *ABCB1 (C3435T)* 与 PNS 患儿糖皮质激素治疗效果无关。国外学者 Safan 等^[12]在研究 80 例糖皮质激素敏感患儿和 40 例糖皮质激素耐药患儿后发现 *ABCB1 (C3435T)* 与 PNS 患儿糖皮质激素疗效无关。印度学者 Jafar 等^[13]也得出了同样结论,均与本文的结果相一致。

人类 *NR1I2* 基因编码孕烷 X 受体 (pregnane X receptor, PXR),是配体激活依赖的孤核受体,能与多种底物相互作用,调控下游靶基因的转录表达,包括 I 相代谢酶如 *CYP3A4*、II 相代谢酶 UGTs 与磺基转移酶、药物泵出转运蛋白如 P-gp 等^[7]。糖皮质激素作为 P-gp 及 *CYP3A4* 的作用底物,其体内代谢过程很可能受 *NR1I2* SNP 影响。一项日本研究表明,*NR1I2 (G7635A)* 可能影响肾移植术后患者的泼尼松血药浓度^[14]。但本研究发现 *NR1I2 (7635A>G)* 与 PNS 患儿的糖皮质激素治疗效果不相关。

人类 *MIF* 基因编码的巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 在机体免疫系统起重要调控作用。MIF 作为促炎细胞因子,能够抑制巨噬细胞的游走,促进巨噬细胞在炎症局部聚集、增生,激活及分泌一些细胞因子,从而发挥抗激素作用^[8]。研究发现,SRNS 患儿血浆 MIF 浓度显著高于糖皮质激素敏感者,是

糖皮质激素治疗效果的良好预测指标^[15]。*MIF (-173G>C)* 位于 *MIF* 基因启动子区域,调控 *MIF* 基因转录及表达。Ramayani 等^[16]对 120 例 PNS 患儿进行研究发现 SRNS 患儿的循环血清 MIF 水平升高,*MIF-173C* 等位基因频率显著升高。但本研究结果显示糖皮质激素耐药组与糖皮质激素敏感组的 *MIF (-173G>C)* 基因型与基因频率比较,差异均无统计学意义。

综上所述,*CYP3A4*18B (G20230A)*、*CYP3A5 (A6986G)*、*ABCB1 (C3435T)*、*NR1I2 (A7635G)*、*MIF (G-173C)* 的基因多态性可能与中国 PNS 患儿糖皮质激素治疗效果不相关。

参考文献

- [1] Boyer O, Baudouin V, Bérard E. Idiopathic nephrotic syndrome [J]. Arch Pediatr, 2017, 24(12): 1338-1343.
- [2] Dogra S, Kaskel F. Steroid-resistant nephrotic syndrome: A persistent challenge for pediatric nephrology [J]. Pediatr Nephrol, 2017, 32(6): 965-974.
- [3] 杨全,赵蓉苑,李跃昌.肾病综合征患者血清 IgG、IgM、IgA 水平变化及临床意义[J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9): 1152-1154+1162.
- [4] Hejazian SM, Zununi Vahed S, Moghaddas Sani H. Steroid-resistant nephrotic syndrome: pharmacogenetics and epigenetic points and views [J]. Expert Rev Clin Pharmacol, 2020, 13(2): 147-156.
- [5] 唐青. *CYP3A5* 基因多态性表达体系的构建及对药物代谢和效应的影响[D].长沙:中南大学, 2013: 1-83.
- [6] Wright J, Muench SP, Goldman A. Substrate polyspecificity and conformational relevance in ABC transporters: new insights from structural studies [J]. Biochem Soc Trans, 2018, 46(6): 1475-1484.
- [7] Mbatchi LC, Gassiot M, Pourquier P. Association of *NR1I2*, *CYP3A5* and *ABCB1* genetic polymorphisms with variability of temsirolimus pharmacokinetics and toxicity in patients with metastatic bladder cancer [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2017, 80(3): 653-659.
- [8] 吕超,孙慧渊,闫俊飞. *CCL18*、*HIF-1α*、*MIF* mRNA 在脑胶质瘤中的表达及预后评估价值[J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(8): 1060-1063+1081.
- [9] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 儿童常见肾脏疾病诊治循证指南(一):激素敏感、复发/依赖肾病综合征诊治循证指南(试行)[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(3): 167-170.
- [10] Brovkina AF, Sychev DA, Toropova OS. Influence of *CYP3A4*, *CYP3A5*, and *NR3C1* genes polymorphism on the effectiveness of glucocorticoid therapy in patients with endocrine ophthalmopathy [J]. Vestn Oftalmol, 2020, 136(6.Vyp. 2): 125-132.

- [11] Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, et al. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity [J]. *Science*, 2007, 315(5811):525-528.
- [12] Safan MA, Elhelbawy NG, Midan DA, et al. ABCB1 polymorphisms and steroid treatment in children with idiopathic nephrotic syndrome [J]. *Br J Biomed Sci*, 2017, 74(1):36-41.
- [13] Jafar T, Prasad N, Agarwal V, et al. MDR-1 gene polymorphisms in steroid-responsive versus steroid resistant nephrotic syndrome in children [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(12):3968-3974.
- [14] Miura M, Satoh S, Inoue K, et al. Influence of CYP3A5, ABCB1 and NR1I2 polymorphisms on prednisolone pharmacokinetics in renal transplant recipients [J]. *Steroids*, 2008, 73(11):1052-1059.
- [15] Cuzzoni E, Franca R, De Iudicibus, S. MIF plasma level as a possible tool to predict steroid responsiveness in children with idiopathic nephrotic syndrome [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2019, 75(12):1675-1683.
- [16] Ramayani OR, Sekarwana N, Trihono PP. A genetic study of steroid - resistant nephrotic syndrome: relationship between polymorphism - 173 G to C in the MIF gene and serum level MIF in children [J]. *J Dev Orig Health Dis*, 2016, 7(1):102-107.

(上接第1458页)

- [12] Lo YM, Chan LY, Lo KW, et al. Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(6):1188-1191.
- [13] Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, et al. Collaborative Study Group. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques [J]. *Biologicals*. 2016, 44(5):423-433.
- [14] Chan KCA, Woo JKS, King A, et al. Analysis of Plasma Epstein-Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(6):513-522.
- [15] Lam WKJ, Jiang P, Chan KCA, et al. Sequencing - based counting and size profiling of plasma Epstein-Barr virus DNA enhance population screening of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(22):E5115-E5124.
- [16] Anh VNQ, Van Ba N, Anh DT, et al. Validation of a Highly Sensitive qPCR Assay for the Detection of Plasma Cell - Free Epstein - Barr Virus DNA in Nasopharyngeal Carcinoma Diagnosis [J]. *Cancer Control*, 2020, 27(3):1073274820944286.
- [17] Vo JH, Nei WL, Hu M, et al. Comparison of Circulating Tumour Cells and Circulating Cell - Free Epstein - Barr Virus DNA in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma Undergoing Radiotherapy [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):13.
- [18] Prayongrat A, Chakkabat C, Kannarunimit D, et al. Prevalence and significance of plasma Epstein-Barr Virus DNA level in nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Radiat Res*, 2017, 58(4):509-516.
- [19] Yu X, Ji M, Cheng W, et al. Assessment of the Long-term Diagnostic Performance of a New Serological Screening Scheme in Large-scale Nasopharyngeal Carcinoma Screening [J]. *J Cancer*, 2018, 9(12):2093-2097.
- [20] Tan LP, Tan GW, Sivanesan VM, et al. Systematic comparison of plasma EBV DNA, anti-EBV antibodies and miRNA levels for early detection and prognosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(8):2336-2347.
- [21] Chen YP, Chan ATC, Le QT, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. *Lancet (London)*, 2019, 394(10192):64-80.
- [22] Wang Y, Guo Z, Shu Y, et al. BART miRNAs: an unimaginable force in the development of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2017, 26(2):144-150.
- [23] Zhang X, Ye Y, Fu M, et al. Implication of viral microRNAs in the genesis and diagnosis of Epstein-Barr virus-associated tumors [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(4):3433-3442.
- [24] Wardana T, Gunawan L, Herawati C, et al. Circulation EBV Mir-Bart-7 Relating to Clinical Manifestation in Nasopharyngeal Carcinoma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21(9):2777-2782.
- [25] Gourzones C, Ferrand F R, Amiel C, et al. Consistent high concentration of the viral microRNA BART17 in plasma samples from nasopharyngeal carcinoma patients--evidence of non-exosomal transport [J]. *Virol J*, 2013, 10:119.
- [26] Liu Z, Ji MF, Huang QH, et al. Two Epstein-Barr virus-related serologic antibody tests in nasopharyngeal carcinoma screening: results from the initial phase of a cluster randomized controlled trial in Southern China [J]. *Am J Epidemiol*, 2013, 177(3):242-250.
- [27] Li T, Guo X, Ji M, et al. Establishment and validation of a two-step screening scheme for improved performance of serological screening of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(4):1458-1467.
- [28] Zhou X, Cao SM, Cai YL, et al. A comprehensive risk score for effective risk stratification and screening of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):5189.
- [29] Li Y, Wang K, Yin SK, et al. Expression of Epstein-Barr virus antibodies EA-IgG, Rta-IgG, and VCA-IgA in nasopharyngeal carcinoma and their use in a combined diagnostic assay [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(1).
- [30] 陈善昌, 吴家恩, 张小娟, 等. 血清 VCA-IgA、NA1-IgA、Zta-IgA 检测在鼻咽癌筛查中的应用价值 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(13):1883-1884+1888.

建立一种高灵敏的HBV核酸定量检测方法

李卓¹ 于海涛² 高娟¹ 黄燕^{3*}

[摘要] **目的** 建立一种高灵敏度的TaqMan实时荧光PCR法用于HBV核酸定量检测,并评估其临床性能。**方法** 针对HBV保守序列设计引物探针,收集来自国内3家医院共计631例样本,利用本文建立的方法进行HBV核酸定量检测,评估其灵敏度、特异性和重复性,并与普遍采用的对照试剂盒进行比较,评价该方法的临床性能。**结果** 本文建立的HBV核酸定量检测方法对5 IU/mL的HBV血清和血浆样本的检出率均为100%,且对HBV强阳性、弱阳性和临界阳性样本的阳性检出率均为100%;该方法对于可能存在交叉的15种病原体、内源干扰物及外源干扰物均无交叉反应;与对照试剂的检测结果比较基本相同,对于不一致的样本,经过复检均和本文建立的检测方法结果一致。**结论** 该方法具有较高的灵敏度,稳定性和重复性好,特异性强,具有较高的临床应用价值。

[关键词] HBV; 高灵敏核酸定量检测; TaqMan实时荧光PCR

Establishment of a highly sensitive quantitative detection method for HBV nucleic acid

LI Zhuo¹, YU Haitao², GAO Juan¹, HUANG Yan^{3*}

(1. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, China, 710077; 2. Department of Laboratory Medicine, Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang, China, 310020; 3. Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan, China, 410008)

[ABSTRACT] **Objective** To establish a highly sensitive TaqMan real-time PCR method for HBV DNA quantitative detection and evaluate the clinical performance of this method. **Methods** The primers and probes were designed based on HBV conservative sequence. A total of 631 samples were collected from three hospitals in China. The nucleic acid of HBV was quantified using the method we established. The sensitivity, specificity and reproducibility of the method were compared with the commonly used HBV detection kit, and the clinical performance of this method was evaluated. **Results** The HBV nucleic acid quantitative detection method established in this paper has a detection rate of 100% for 5 IU/mL HBV serum and plasma samples. The positive detection rates of strong positive samples, weak positive samples and critical positive samples were all 100%. This method has no cross-reaction to 15 pathogens, endogenous and exogenous distractors. Compared with the control reagent, the qualitative results were similar. For the inconsistent samples, the re-test results were consistent with the test method established in this study. **Conclusion** This method has high sensitivity, good stability and repeatability, strong specificity, and has high clinical application value.

[KEY WORDS] HBV; Highly sensitive quantitative nucleic acid detection; TaqMan real-time fluorescence PCR

基金项目:国家科技重大专项(2018ZX10732-202);国家自然科学基金项目(82102471)

作者单位:1. 西安医学院第一附属医院检验科,陕西,西安710077

2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院检验科,浙江,杭州310020

3. 中南大学湘雅医院感染病科,湖南,长沙410008

*通信作者:黄燕, E-mail: drhyan@163.com

全球范围内约有2.5亿人感染慢性乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)^[1]。感染HBV后,约有15~40%会进展为肝硬化、肝衰竭甚至肝癌^[1-2],每年导致近100万人死亡。我国人群HBV携带率约为10%,有超过1亿的无症状病毒携带者以及2 000多万慢性乙肝患者^[3],给社会经济和医疗带来巨大负担。

准确诊断联合预防策略,对于指导患者管理以及控制HBV向易感人群的传播尤为重要,HBV核酸定量检测是评价疗效和预后最常用的方法^[4-6]。目前,国内已有很多商品化的HBV核酸检测试剂盒,但由于不同试剂盒往往针对病毒核酸不同位点,检测性能差别较大,灵敏度和特异性难以满足临床需求^[7]。本研究拟建立一种灵敏度高、特异性强、操作简便、更适用于临床的HBV核酸定量检测方法,全面评估该方法的灵敏度、特异性和重复性,同时与另外一种普遍使用的HBV核酸检测试剂盒进行比较,从而评价该方法的临床性能。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集2020年2月至2021年6月来自中南大学湘雅医院、浙江大学医学院附属邵逸夫医院和西安医学院第一附属医院,共计631例样本,包括血浆60例,血清571例(其中60例与血浆样本为同一来源)。所有参与单位均通过医学伦理部门审核同意。

1.2 仪器与试剂

采用西安天隆科技有限公司生产的全自动核酸提取仪及其配套的核酸提取或纯化试剂盒(批号:PANA9600S)进行核酸提取;采用A公司生产的“乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒(PCR-荧光探针法)”(批号:2019008)作为对照试剂;B公司生产的“乙型肝炎病毒(HBV)核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)”(批号:C0010481902)作为复核试剂;qPCR预混液、Taq DNA聚合酶及UNG酶,均来自西安天隆科技有限公司(批号:P1662001001);实时荧光定量PCR仪购自美国ABI公司(Thermo Fisher, ABI 7500)。

1.3 方法

1.3.1 核酸提取及浓度测定

所有采集的血清和血浆样本,采用全自动核酸提取仪及其配套试剂盒进行DNA提取,并用紫外分光光度计检测DNA浓度和质量。

1.3.2 HBV核酸定量检测方法

①引物及探针的设计:选用HBV病毒保守基

因片段设计引物及特异TaqMan探针,并利用Primer Express软件设计一段人工合成的非竞争性序列为内标模板,设计引物探针,内标探针选用VIC通道荧光标记;②TaqMan实时荧光PCR进行HBV核酸定量检测:配制PCR反应液,包括qPCR预混液,4.2 μ L引物探针混合液,0.4 μ L Taq DNA聚合酶,0.4 μ L UNG酶。向反应液中分别加入20 μ L HBV质控品或定量标准品,以及样品DNA。PCR扩增程序为:50℃ 2 min, 95℃ 3 min,随后94℃ 15 s, 55℃ 15 s,最后72℃ 15 s,共5个循环;随后94℃ 15 s, 60℃ 30 s,共40个循环。目标基因FAM通道的Ct值<35,内标VIC通道的Ct值<40,则判断该样本为HBV阳性,否则为阴性。HBV强阳性质控品Ct值应小于20,HBV临界阳性质控品Ct值应在25~30之间,HBV阴性质控品Ct值无数据且内标Ct值<40。

1.3.3 灵敏度分析

采用灭活的人源HBV阴性血清和血浆样本,将HBV核酸国家标准品(300022-201601)血清及血浆样本稀释,制备K1(20 IU/mL)、K2(15 IU/mL)、K3(10 IU/mL)、K4(5 IU/mL)、K5(2.5 IU/mL)样本,对样品中的HBV进行定量检测,每份样本重复检测24次,分三天进行。计算检出率和Ct值的变异系数(CV,%)。

1.3.4 重复性分析

采用灭活的人HBV阴性血浆样本,将商品化的HBV血浆(包含HBV A~H型别)按型别分别稀释,制备成强阳性样本(5 log IU/mL)、弱阳性样本(2 log IU/mL)、临界阳性样本(1.3 log IU/mL)。所有样本在不同时间重复检测,每个样本共重复20次,计算检出率及Ct值的变异系数(CV,%)。

1.3.5 特异性分析

采用干扰物添加方法进行特异性分析。①收集可能与HBV存在交叉的15种临床样本,包括丙型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、人类疱疹病毒IV型、人巨细胞病毒、甲型肝炎病毒、单纯疱疹病毒I型、单纯疱疹病毒II型、结核分枝杆菌、白色念珠菌、金黄色葡萄球菌、人类免疫缺陷病毒、梅毒、甲型流感病毒、痤疮丙酸杆菌和人类疱疹病毒VI型等样本,经确认为HBV阴性。细菌感染的水平为 10^6 cfu/mL或更高,病毒为 10^5 pfu/mL或更高。所有样本重复检测3次;②内源性干扰:采用正常血

清和含有 30 mg/mL 游离血红蛋白、60 mg/mL 甘油三酯、0.6 mg/mL 胆红素、40 mg/mL IgG 及 80 IU/mL 类风湿因子的血清样品,分别制备 HBV 终浓度为 30 IU/mL 的血清,重复检测 5 次;③外源性干扰:针对 HBV 常用治疗药物,采用正常的血浆和含有 300 U/mL 干扰素 α , 4.5 μ g/mL 拉米夫定, 75 ng/mL 阿德福韦酯, 15 μ g/mL 替比夫定, 50 ng/mL 恩替卡韦的血浆,制备至终浓度 30 IU/mL,重复 3 次。

1.3.6 乙型肝炎病毒核酸定量检测的对照分析及结果复核

对照试剂采用 A 公司生产的 HBV 核酸测定试剂盒(检测下限为 500 copies/mL),所有血清和血浆样本采用本文提出的 HBV 核酸定量检测方法和对照试剂盒同时进行检测,结果不一致的样本采用 B 公司生产的 HBV 核酸检测试剂盒(检测下限为 5 IU/mL)进行复核检测。

1.3.7 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以(%)表示;采用 Passing-Bablok 回归分析进行一致性评价和 Kappa 统计分析,评估 HBV 核酸定量检测方法的临床性能;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

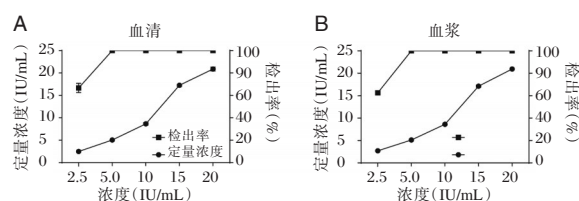
2 结果

2.1 HBV 核酸定量检测方法的灵敏度及重复性评估

HBV 核酸定量检测方法对标准品中 5 IU/mL 的血清(图 1A)和血浆样本(图 1B)的检出率均为 100%,检测 CV $\leq$ 5%,且与理论值浓度偏差 $\leq$ 0.5,重复性检测结果,强阳性样本、弱阳性样本和临界阳性样本的阳性检出率均为 100%,且所有样本的 Ct 值的 CV 值均 $\leq$ 5%。见表 1。

表 1 HBV 分型检测结果

Table 1 Results of the HBV subtyping test							
HBV 分型	强阳性		弱阳性		临界阳性		阴性
	阳性检出率 (%)	Ct 值 CV (%)	阳性检出率 (%)	Ct 值 CV (%)	阳性检出率 (%)	Ct 值 CV (%)	
A	100	0.61	100	1.80	100	1.88	0
B	100	0.50	100	1.38	100	1.77	0
C	100	0.44	100	1.77	100	1.65	0
D	100	0.51	100	1.63	100	2.08	0
E	100	0.49	100	1.75	100	2.33	0
F	100	0.65	100	2.13	100	1.75	0
G	100	0.66	100	1.29	100	1.93	0
H	100	0.69	100	1.54	100	1.80	0



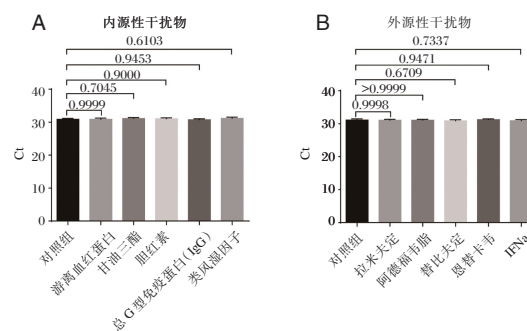
注:A 为血清样本的灵敏度分析; B 为血浆样本的灵敏度分析。

图 1 HBV DNA 定量检测方法对血清和血浆样本的检测灵敏度分析结果

Figure 1 Results of the sensitivity of the HBV DNA quantification method for serum and plasma samples

2.2 HBV 核酸定量检测方法的特异性评估

15 份感染其他病原体的样本结果均为阴性,无交叉反应。30 mg/mL 游离血红蛋白、60 mg/mL 甘油三酯、0.6 mg/mL 胆红素、40 mg/mL 总 G 型免疫蛋白(IgG)及 800 IU/mL 的类风湿因子的 Ct 值与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2A。300 U/mL IFN α , 4.5 μ g/mL 拉米夫定, 75 ng/mL 阿德福韦酯, 15 μ g/mL 替比夫定, 50 ng/mL 恩替卡韦的 Ct 值与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2B。



注:P 值标记于柱形图上方。

图 2 HBV DNA 定量检测方法不同干扰物的交叉反应结果

Figure 2 Results of the cross-reaction of HBV DNA quantitative method with different distractors

2.3 HBV 核酸定量检测方法与对照试剂盒定性分析的一致性比较

571 例样本中有 6 例血清样本在使用本研究建立的 HBV 核酸定量检测方法与对照试剂盒时检测结果不一致,本法检测结果判定为阳性,对照试剂盒检测结果为阴性,采用复核试剂盒进行检测,结果 6 例样本均为阳性,与本文建立的方法检测结果一致。见表 2。

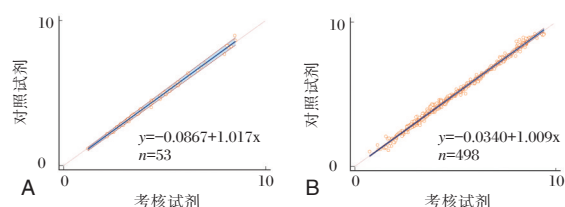
表2 检测结果不一致样本的复核检测

样本编号	HBV-Ct	IC-Ct	HBV 浓度 (IU/mL)	检测结果
XS008	25.59	22.86	96.6	阳性
XS019	28.16	22.28	15.6	阳性
XS021	27.50	22.64	24.9	阳性
XS034	28.33	22.59	13.8	阳性
XS040	26.06	22.51	68.8	阳性
X179	26.38	21.38	43.7	阳性
X245	阴性	22.28		阴性

60 例血浆样本中 1 例检测结果在使用本研究建立的 HBV 核酸定量检测方法时为阴性,对照试剂盒检测为阳性,结果不一致(表 2-样本编号: X245),经复核为阴性,与本文建立的方法检测结果一致。

2.4 HBV 核酸定量检测方法 with 对照试剂盒定量分析的一致性比较

血浆样本的检测差异均值为 0.021 2。见图 3A。血清样本的检测差异均值为-0.011 3。见图 3B。针对血清和血浆样本,对照试剂盒与本文建立的 HBV 定量检测方法(考核试剂)的一致性限的范围分别为(-0.312 8~0.355 2)和(-0.337 3~0.314 6),在临床认可标准范围内(-0.4~0.4);回归分析显示,两者的线性度无明显偏差;但两种样本的检测结果显示有统计学意义(P 均 <0.05)。



注:图 A 为血浆样本的检测一致性比较;图 B 为血清样本的检测一致性比较。

图3 HBV 核酸定量检测方法 with 对照试剂盒定量分析的一致性比较

Figure 3 Comparison of agreement between the HBV quantitative methods and control kits

3 讨论

HBV DNA 载量通常被认为是衡量病毒复制情况的“金标准”,与临床上乙肝的疾病活动度和传染性密切相关^[8-10]。欧洲肝病研究学会指南指出 HBV DNA 载量应尽可能控制在 10~15 IU/mL,并建议其最低检测限为 30 IU/mL^[11]。目前,我国的 HBV DNA 检测多为基于煮沸法进行 PCR

检测,耗时较长,灵敏度低,检测限普遍为 500~1 000 IU/mL,因此临床普遍采用进口的高敏检测试剂盒,虽然重复性好但价格昂贵。本文建立了一种基于 Taqman 探针的定量 PCR 检测方法,具有以下优势:一、检测通量大,仅需 2 h 可同时检测 94 份标本;二、灵敏度高,重复性好,能有效区分不同亚型和不同阳性程度的 HBV 样本;三、全程闭管,可有效避免污染;四、特异性高,与干扰物无交叉反应。且采用双荧光通道,检测结果直观,便于临床推广。

为进一步评价其临床性能,本研究还与目前市场占有率较高的常规 HBV DNA 检测试剂盒进行了比较,结果发现:一、该方法灵敏度高,检测限低至 5 IU/mL,对 HBV-A-H 型强阳性、弱阳性和临界阳性样本的检出率均为 100%;二、特异性高,可能存在交叉反应的 15 种病原体对检测结果均无影响;三、该方法与对照试剂的一致性分析比较发现存在个别样本检测结果不一致,后经过复核试剂确认和本法结果一致。其中,结果不一致的 6 例血清样本均为低浓度样本,因为不同检测方法存在检测灵敏度的差异,可能是导致对照试剂出现假阴性结果的原因;另有 1 例血浆样本,考核试剂检测为阴性,而对照试剂则为阳性,经复核结果与考核试剂一致,表明本文建立方法准确性高,具有较好的临床应用价值。

综上,本研究开发的 HBV 核酸定量检测方法具有较高的灵敏度和特异性,能够有效区分不同的病毒亚型,性能符合临床要求,有望为乙肝的临床诊断提供一种新的实验室检测方法和参考依据。

参考文献

- [1] Geneva. Global Hepatitis Report[M]. World Health Organization, Switzerland, 2017.
- [2] Datta S, Chatterjee S, Veer V, et al. Molecular biology of the hepatitis B virus for clinicians[J]. J Clin Exp Hepatol, 2012, 2:353-365.
- [3] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65:87-108.
- [4] Tseng TC, Liu CJ, Hsu CY, et al. High Level of Hepatitis B Core-Related Antigen Associated With Increased Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Chronic HBV Infection of Intermediate Viral Load[J]. Gastroenterology, 2019, 157:1518-1529 e1513.
- [5] Blumberg BS. Hepatitis B virus, the vaccine, and the control of primary cancer of the liver[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94:7121-7125.

晚期乳腺癌患者经TP方案治疗后TNF- α 、IL-6和IL-2水平变化及对预后的预测价值

柯瑶¹ 张琪² 王娜^{1*}

[摘要] 目的 分析晚期乳腺癌患者经TP方案治疗后肿瘤细胞坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、白介素-2(IL-2)水平变化及对预后的预测价值。方法 收集2017年10月至2020年8月武汉大学中南医院收治的86例晚期乳腺癌患者的临床资料(研究组),另选取同期55名健康体检者作为对照组。比较对照组及研究组化疗前后TNF- α 、IL-6、IL-2水平变化情况;对研究组进行1年随访,观察患者预后情况,将患者分为预后良好组和预后不良组,比较两组TNF- α 、IL-6、IL-2水平;绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析上述因子对乳腺癌患者预后的预测价值。结果 TNF- α 、IL-6水平:研究组治疗前>治疗后>对照组;IL-2水平:研究组治疗前<治疗后<对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。经随访,预后不良者17例(19.77%,预后不良组),预后良好者69例(80.23%,预后良好组),治疗后,两组TNF- α 、IL-6水平均较治疗前下降,且预后良好组TNF- α 、IL-6水平低于预后不良组,IL-2水平较治疗前增高,且预后良好组IL-2水平高于预后不良组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,三者联合检测的曲线下面积(AUC)、敏感度、特异度分别为0.822、0.899、0.922,均明显高于单一检测($P<0.05$)。结论 TNF- α 、IL-6、IL-2在晚期乳腺癌患者中呈异常表达,可作为评估化疗治疗疗效及预测患者预后的有效辅助指标。

[关键词] 肿瘤细胞坏死因子- α ;白介素-2;白介素-6;晚期乳腺癌

Changes of TNF- α , IL-6 and IL-2 levels and their prognostic predictive value for prognosis in patients with advanced breast cancer after treated with the TP regimen

KE Yao¹, ZHANG Qi², WANG Na^{1*}

(1. Department of the Second Ward of Head, Neck and Breast Cancer, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. Department of the Second Abdominal Tumor Ward, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of tumor cell necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) and Interleukin-2 (IL-2) levels and its prognostic prediction in patients with advanced breast cancer after treated with the TP regimen. **Methods** The clinical data of 86 patients with advanced breast cancer admitted to Zhongnan Hospital of Wuhan University from October 2017 to August 2020 were collected (research group), another 55 healthy subjects who had physical examination during the same period were selected as the control group. The changes in the levels of TNF- α , IL-6, and IL-2 in the two groups before and after chemotherapy for breast cancer were compared; the study group was followed up for 1 year to observe the prognosis of the patients, and the patients were divided into a good prognosis group and a poor prognosis group, and the levels of TNF- α , IL-6, and IL-2 in the two groups were compared. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the value of the above factors in predicting the prognosis of patients with breast cancer. **Results** The levels of TNF- α and IL-6: before treatment in the study group > after

基金项目:湖北省卫健委青年人才项目(WJ2017Q038)

作者单位:1. 武汉大学中南医院放化疗头颈乳腺二病区,湖北,武汉 430071

2. 武汉大学中南医院腹部肿瘤二病区,湖北,武汉 430071

*通信作者:王娜, E-mail:694868731@qq.com

treatment in the study group > the control group; IL-2 level: before treatment in the study group < after treatment < the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After follow-up, 17 cases had a poor prognosis (19.77%, poor prognosis group), and 69 cases had a good prognosis (80.23%, good prognosis group), after treatment, the levels of TNF- α and IL-6 in the two groups were decreased compared with those before treatment, and the levels of IL-2 were increased compared with those before treatment, and the levels of TNF- α and IL-6 in the good prognosis group were lower than those in the poor prognosis group, and the IL-2 level was higher than that in the poor prognosis group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the area under curve (AUC), sensitivity, and specificity of the three combined detections were 0.822, 0.899 and 0.922, respectively, which were significantly higher than those of a single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** TNF- α , IL-6, and IL-2 are abnormally expressed in patients with advanced breast cancer, which can be used as effective auxiliary indicators to evaluate the efficacy of chemotherapy and predict the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Tumor cell necrosis factor- α ; Interleukin-2; Interleukin-6; Advanced breast cancer

乳腺癌是威胁女性健康的常见疾病,死亡率较高,给社会、家庭造成严重影响^[1]。晚期乳腺癌病死率较高,化疗是临床治疗晚期乳腺癌的常用方法,通过化疗治疗可延缓病情进展,但化疗治疗会损伤患者免疫系统,导致其免疫功能下降,诱发一系列毒副反应,影响患者预后^[2-3]。相关报道指出,异常表达的肿瘤细胞坏死因子- α (Tumor cell necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、白介素-2 (Interleukin-2, IL-2) 等细胞因子不仅可导致患者免疫功能受损,亦可引起化疗耐药,故认为通过检测上述细胞因子水平可用于评估患者化疗治疗疗效^[4-5]。本研究通过检测晚期乳腺癌患者治疗前后 TNF- α 、IL-6、IL-2 水平,观察上述因子的变化情况,并探讨其对预后的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2017 年 10 月至 2020 年 8 月武汉大学中南医院收治的 86 例晚期乳腺癌患者作为研究组。纳入标准:①均符合乳腺癌诊断标准^[6];②临床各方面资料完整;③无乳腺炎;④可耐受化疗治疗者。排除标准:①合并其他恶性疾病者;②心、脑、肝等功能异常者;③孕妇、精神病等特殊人群;④沟通、意识障碍者。86 例患者均为女性,平均年龄(35.24 ± 6.05)岁;临床分期:Ⅲ期 46 例,Ⅵ期 40 例。另选取同期 55 名健康体检者作为对照组,均为女性,平均年龄(34.31 ± 5.49)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

研究组化疗治疗采用 TP 方案(紫杉醇+顺铂):第 1 d 静脉滴注 135 mg/m^2 紫杉醇,第 1~3 d 给予 30 mg/m^2 顺铂,21 d 为一个疗程,连续治疗 2 个疗程。

1.2.2 细胞因子检测

清晨抽取对照组、研究组治疗前后各 3 mL 空腹静脉血,置于非抗凝无菌试管中。 $3\ 000 \text{ r/min}$ 离心 10 min,离心半径 10 cm,随后分离上层血清,置于 -80°C 保存待检。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测 TNF- α 、IL-6、IL-2 水平,试剂盒均由美国 RD 生物有限公司提供,详细步骤严格按照说明书执行。

1.3 随访

对研究组进行 1 年随访(截止至 2021 年 8 月),观察患者预后情况,将患者分为预后不良组以及预后良好组。预后不良包括乳腺癌复发、肿瘤转移、死亡,其余为预后良好。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;采用 ROC 曲线分析 TNF- α 、IL-6、IL-2 对乳腺癌患者预后的预测价值;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 TNF- α 、IL-6、IL-2 水平比较

TNF- α 、IL-6 水平:研究组治疗前 > 治疗后 > 对照组;IL-2 水平:研究组治疗前 < 治疗后 < 对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表1 两组 TNF- α 、IL-6、IL-2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of TNF- α , IL-6 and IL-2 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-2(pg/mL)
对照组	55	479.65 $\pm$ 16.47	49.63 $\pm$ 6.14	3107.05 $\pm$ 162.14
研究组 治疗前	86	945.12 $\pm$ 44.25 ^a	134.11 $\pm$ 13.38 ^a	2619.42 $\pm$ 102.05 ^a
治疗后	86	628.96 $\pm$ 18.63 ^{ab}	82.49 $\pm$ 8.82 ^{ab}	3048.86 $\pm$ 122.58 ^{ab}
F 值		4380.27	1210.93	345.00
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a P <0.05;与治疗前比较,^b P <0.05。

2.2 不同预后乳腺癌患者 TNF- α 、IL-6、IL-2 水平比较

经随访,预后不良者 17 例(19.77%,预后不良

组),预后良好者 69 例(80.23%,预后良好组)。治疗后,两组 TNF- α 、IL-6 水平均较治疗前下降,且预后良好组 TNF- α 、IL-6 水平低于预后不良组,IL-2 水平较治疗前增高,且预后良好组 IL-2 水平高于预后不良组,差异均有统计学意义(P <0.05)。见表 2。

2.3 TNF- α 、IL-6、IL-2 对乳腺癌患者预后的预测价值

ROC 曲线分析结果显示,TNF- α 、IL-6 及 IL-2 联合检测的曲线下面积(AUC)、敏感度、特异度分别为 0.822、0.899、0.922,均明显高于单一检测(P <0.05)。见表 3、图 1。

表2 不同预后乳腺癌患者 TNF- α 、IL-6、IL-2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of TNF- α , IL-6 and IL-2 levels in breast cancer patients with different prognosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (pg/mL)		IL-6(pg/mL)		IL-2(pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
预后不良组	17	944.65 $\pm$ 40.21	701.69 $\pm$ 22.96 ^a	133.54 $\pm$ 12.64	96.47 $\pm$ 11.32 ^a	2618.47 $\pm$ 101.95	2806.94 $\pm$ 123.98 ^a
预后良好组	69	945.24 $\pm$ 41.09	611.05 $\pm$ 16.47 ^a	134.25 $\pm$ 13.34	79.05 $\pm$ 6.17 ^a	2619.66 $\pm$ 100.17	3108.47 $\pm$ 128.47 ^a
t 值		0.053	18.713	0.198	8.657	0.044	8.725
P 值		0.958	<0.001	0.843	<0.001	0.965	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a P <0.05。

表3 TNF- α 、IL-6、IL-2 对乳腺癌患者预后的预测价值

Table 3 Predictive value of TNF- α , IL-6 and IL-2 on prognosis of breast cancer patients

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95% CI	P 值
TNF- α	0.742	0.772	0.779	0.648~0.909	<0.001
IL-6	0.801	0.794	0.805	0.686~0.924	<0.001
IL-2	0.756	0.781	0.781	0.655~0.907	<0.001
三者联合	0.899	0.922	0.822	0.712~0.932	<0.001

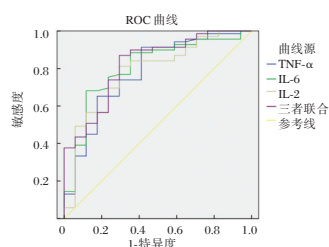


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

乳腺癌是较为常见的一种疾病,其发病率位居女性恶性肿瘤第一位。相关报道显示,TNF- α 、IL-6、IL-2 等细胞因子在肿瘤形成过程中具有重要作用,分析患者细胞因子水平变化与预后的关系,将为乳腺癌的治疗及预后评估提供可靠依据^[7]。

TNF- α 是由活化的巨噬、单核及 T 细胞分泌产生,可调控炎症期间细胞迁移,在促进肿瘤细胞增殖、

侵袭、诱导细胞凋亡中具有重要作用^[8]。Roy 等^[9]发现,乳腺癌患者 TNF- α 水平显著高于正常女性,TNF- α 高表达可作为乳腺癌不良预后的重要生物学指标。

IL-6 是由巨噬细胞、成纤维细胞等分泌的一种细胞因子^[10]。国内外报道发现,在胃癌、肺癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤疾病中 IL-6 呈高表达,IL-6 可促进癌细胞侵袭与转移,导致紫杉醇化疗耐药^[11]。郭晓莺等^[12]发现,IL-6 在乳腺癌患者中呈高表达,且与淋巴结转移、激素状态有关,IL-6 越高者预后越差。

IL-2 又可称为 T 细胞生长因子,可促进细胞毒作用,调节免疫功能^[13]。Ewelina 等^[14]研究指出,在恶性肿瘤患者体内,内源性 IL-2 产生能力及肿瘤细胞对 IL-2 的反应能力均降低,往往导致癌细胞进一步恶化、浸润与转移。本研究结果显示,与对照组相比,乳腺癌患者 TNF- α 、IL-6 水平更高,IL-2 水平更低。考虑其原因可能是由于乳腺癌患者体内巨噬细胞吞噬或胞饮抗原物质,导致炎症反应加重,促使单核细胞产生大量 TNF- α 、IL-6,从而使得血清 TNF- α 、IL-6 水平增高;而乳腺癌患者自身存在细胞免疫功能紊乱,T、B 淋巴细胞比例失调,进而导致 IL-2 水平下降^[15]。说明 TNF- α 、IL-6、IL-2 在乳腺癌发生、发展中具有重要作用,可作为评估乳腺癌的有效指标。经化疗治疗后,乳腺癌患者上述因子水

平均明显改善。推测其原因可能是由于化疗可减轻肿瘤导致的免疫抑制,使免疫失调重新趋于平衡,增强对化疗的耐受能力,而 TNF- α 、IL-6 水平低表达、IL-2 水平高表达可刺激 T 淋巴细胞的增殖与分泌,从而间接有利于患者预后改善。表明抑制 TNF- α 、IL-6 表达、上调 IL-2 分泌可促进肿瘤细胞凋亡或坏死,可能成为有效控制乳腺癌发生、发展的有效途径之一。进一步研究发现,预后良好组 TNF- α 、IL-6 水平明显低于预后不良组,IL-2 高于预后不良组,说明 TNF- α 、IL-6、IL-2 可作为乳腺癌预后评估的指标。ROC 曲线结果显示,TNF- α 、IL-6、IL-2 联合预测晚期乳腺癌预后的 AUC 最高,说明多项指标联合检测可有效减少筛检的误诊、漏诊率。Singh 等^[16]报道亦发现,阻断 TNF- α 、IL-6 信号通路、重组人 IL-2 可抑制癌细胞进展与转移,侧面反映了上述因子对晚期乳腺癌的预后具有一定预测价值,与本研究报道相符。

综上所述,TNF- α 、IL-6、IL-2 在晚期乳腺癌患者中呈异常表达,可作为评估化疗治疗疗效及预测患者预后的有效辅助指标。

参考文献

- [1] 孙少甫,潘亚军,栾春.乳腺癌中 lncRNA ITGA9-AS1 表达与病理特征及新辅助化疗疗效的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(9):1264-1267.
 - [2] Tsutsui K, Takahashi A, Muto Y, et al. Outcomes of lymph node dissection in the treatment of extramammary Paget's disease: A single-institution study[J]. J Dermatol, 2020, 47(5): 512-517.
 - [3] 杨丽,孙孟雄,陈丽华.参芪扶正注射液联合 TC 方案化疗对晚期卵巢癌肿瘤标志物,肿瘤血管生成因子及免疫相关因子的影响[J].解放军医药杂志,2020,32(10):79-83.
 - [4] Alonso A, Affolter VK, Sevane N, et al. E-Cadherin overexpression in canine inflammatory mammary cancer does not occur at the transcriptional level[J]. J Comp Pathol, 2019, 166(12):107-109.
 - [5] 杨颖涛,何晓燕,程小旭,等.血清白细胞介素-10 水平在评估乳腺癌患者新辅助化疗疗效中作用[J].中华实用诊断与治疗杂志,2019,33(8):757-759.
 - [6] 杨棋智,阮晓晓,徐丹丹.IL-6 联合中性粒细胞与淋巴细胞比值对三阴性乳腺癌的预后评估价值[J].中国现代医学杂志,2020,30(6):41-46.
 - [7] Jafarzadeh M, Mousavizadeh K, Joghataei MT, et al. A Fibroblast Growth Factor Antagonist Peptide Inhibits Breast Cancer in BALB/c Mice[J]. Open Life Sci, 2018, 13(1):348-354.
 - [8] Wehde BL, Rdlr PD, Shrestha H, et al. Janus Kinase 1 Plays a Critical Role in Mammary Cancer Progression[J]. Cell Rep, 2018, 25(8):2192-2207.
 - [9] Roy R, Yang J, Shimura T, et al. Abstract 5122: Obesity promotes tumor growth, reduces breast tumor latency and correlates with neovascularization [J]. Cancer Res, 2018, 78 (13 Supplement):5122-5122.
 - [10] 赵芳哲,桑晓青,朱彦,等. M2 型巨噬细胞分泌的 IL-6 因子对成纤维细胞活化的作用机制研究[J].药学学报,2020,55(5):892-897.
 - [11] 王述莲,呼建民,李绵洋,等. NLR、CRP、IL-2、BRCA1、miR-145、miR-21、miR-10b 在乳腺癌诊断及预后中的应用[J].医学研究杂志,2019,48(7):99-102.
 - [12] 郭晓莺,申国宏,赵滨.斑蝥酸钠维生素 B6 注射液对乳腺癌辅助化疗患者血清 IL-6、IL-17、TNF- α 及 MIF 表达水平的影响[J].武警医学,2019,30(10):885-889.
 - [13] 刘亚婷,张升校,李军霞.白细胞介素-2 调节免疫耐受在自身免疫病中的研究进展[J].中国药物与临床,2020,20(21):3578-3580.
 - [14] Ewelina P, Ryszard S, Magdalena JB, et al. Human ADSC xenograft through IL-6 secretion activates M2 macrophages responsible for the repair of damaged muscle tissue [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 10(1):93-95.
 - [15] 戴科军,卢绪菁,周希法,等.混合调强放疗对局部晚期乳腺癌手术患者免疫功能的影响及疗效观察[J].肿瘤研究与临床,2020,32(11):766-771.
 - [16] Singh S, Murillo G, Singh A, et al. Abstract 5436: Novel single-domain antibody (sdAb), SBT-100, localizes in the cytoplasm to inhibit IL-6 mediated P-STAT3 nuclear translocation in cancer cells [J]. Cancer Res, 2018, 78 (13 Supplement): 5436.
-
- (上接第 1467 页)
- [6] 张玲,朱江华,马韵,等.乙型肝炎病毒核酸定量检测与临床的关系[J].中华肝脏病杂志,2002,10(1):49-51.
 - [7] 张志珊,蒋燕成,陈婉花,等.一种新型国产乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂的临床应用效能评价[J].新乡医学院学报,2020,37(7):641-644.
 - [8] 崔春霞,解希帝,郑瑞芬.乙型肝炎病毒的研究进展[J].疾病监测与控制,2013,7(4):228-231.
 - [9] 黎莉,贺超奇,刘军.慢性乙肝患者血清 HBV DNA 与 HBeAg 定量及 ALT 水平的相关性分析及临床意义[J].检验医学与临床,2011,8(7):779-780+782.
 - [10] 刘宇静,吴学军,刘晔.荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 与化学发光酶免疫法检测乙肝五项的相关性调查[J].标记免疫分析与临床,2014,21(2):197-200.
 - [11] European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee, European Association for the Study of the L: EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2017, 67:370-398.

不同手术入路对脑肿瘤患者肿瘤切除率及血清指标的影响

胡志平 郑钟 刘庭富 陈彦蓉 周珍贵*

【摘要】目的 分析不同手术入路对脑肿瘤患者肿瘤切除率及血清炎症因子等指标的影响。**方法** 选取2016年1月至2020年6月湖北省荆州市公安县人民医院脑外科接受颅脑肿瘤切除术患者84例为研究对象,根据患者颅脑肿瘤位置的不同,给予相应的手术入路,观察其治疗效果。**结果** 本次研究患者中肿瘤总切除率为92.85%,其中颅前窝底肿瘤、蝶骨嵴脑膜瘤切除率高达100%;患者在术后其头痛、头晕、视乳头水肿、恶心呕吐及癫痫等临床症状明显改善,差异有统计学意义($\chi^2=131.574, 144.932, 111.446, 127.043, 49.130, P<0.05$);患者在术前疼痛程度评分明显高于术后,差异有统计学意义($\chi^2=59.267, P<0.05$);手术治疗后的IL-8、MBP、ETS-1及NSE均较术前高,但不同手术入路患者间IL-8、MBP、ETS-1及NSE数据比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 根据患者颅脑肿瘤位置的不同,选择与其相对应的手术入路,能明显改善患者的临床症状,改善血清指标水平,提升颅脑肿瘤的切除率。

【关键词】 手术入路; 脑肿瘤; 肿瘤切除率; 血清指标

Effects of different surgical approaches on tumor resection rate and serum markers in patients with brain tumors

HU Zhiping, ZHENG Zhong, LIU Tingfu, CHEN Yanrong, ZHOU Zhengui*

(Department of Brain Surgery, Gonggan County People's Hospital, Jingzhou, Hubei, China, 434300)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the effects of different surgical approaches on tumor resection rate and serum inflammatory factors in patients with brain tumors. **Methods** From January 2016 to June 2020, 84 patients who underwent Craniocerebral Tumor Resection in the Department of Brain Surgery of Gonggan County People's Hospital, Jingzhou City, Hubei Province were selected as the research objects. According to the different positions of patients' craniocerebral tumors, the corresponding surgical approaches were given to observe the therapeutic effects. **Results** The total resection rate of tumors in this study was 92.85%, among which the resection rate of anterior fossa tumors and sphenoid ridge meningioma was as high as 100%. After surgery, the patient's clinical symptoms, such as headache, dizziness, papilledema, nausea and vomiting, and epilepsy were significantly improved, the difference was statistically significant ($\chi^2=131.574, 144.932, 111.446, 127.043, 49.130, P<0.05$); The pain score of patients before operation was significantly higher than that after operation, and the difference was statistically significant ($\chi^2=59.267, P<0.05$); After surgical treatment, IL-8, MBP, ETS-1 and NSE were higher than those before surgery, but there were no statistical differences in IL-8, MBP, ETS-1 and NSE among patients with different surgical approaches ($P>0.05$). **Conclusion** According to the different location of craniocerebral tumor, selecting the corresponding surgical approach can improve the clinical symptoms of patients and improve the resection rate of craniocerebral tumor.

【KEY WORDS】 Different surgical approaches; Brain tumors; Tumor resection rate; Clinical symptoms; The degree of pain

基金项目:湖北省卫生健康委第一批联合基金立项项目(WJ2019HJ020)

作者单位:公安县人民医院脑外科,湖北,荆州 434300

*通信作者:周珍贵, E-mail:191169222@qq.com

脑肿瘤又称颅脑肿瘤,其发病人群年龄限制不大^[1]。脑肿瘤主要的临床症状为头晕、视力模糊及癫痫等,多不明显,医师在进行临床诊断时易误诊,从而致患者错过最佳治疗时期^[2]。当脑肿瘤发展至晚期,患者会出现癫痫、剧烈疼痛等症状,但此时进行治疗对患者的预后无法预知^[3]。目前,临床所采用的主要治疗方式为显微外科手术将脑肿瘤切除,显微外科手术为现代科技产物,其手术切口面积小,对患者造成的创伤较轻,能缩短患者的康复进程^[4]。有报告显示,在进行手术治疗时,根据患者脑肿瘤的位置选择手术入路,其治疗效果更为明显^[5]。现如今对于脑肿瘤患者检查和诊断的方法主要还是选择影像学检查,但关于血清指标在脑肿瘤患者治疗前后病情监测中的报道却鲜有报道,有学者通过检测脑肿瘤患者手术前后血清髓鞘碱性蛋白(Myelin Basic Protein, MBP)、重组人E26转录因子1(Recombinant Human E26 Transformation-Specific 1, *ETS-1*)及基质金属蛋白酶-1(Matrix metalloproteinase-1, MMP-1)的表达水平,发现其水平明显高于正常体检者,认为血清指标可能与手术治疗疗效存在一定相关性^[6]。本次研究选取本院脑肿瘤患者进行显微外科手术,探讨其不同入路途径对治疗效果,同时分析血清MBP、*ETS-1*及NSE等指标对疾病治疗过程中的意义,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取2016年1月至2020年6月湖北省荆州市公安县人民医院脑外科接受颅脑肿瘤切除术患者84例为研究对象,其中男性48例、女性36例;平均年龄为(46.37±8.51)岁;病灶部位:小脑肿瘤患者25例、脑桥小脑角肿瘤患者20例、岩斜区肿瘤患者17例、颅前窝底肿瘤患者13例、丘脑-基底节区肿瘤患者6例、蝶骨嵴脑膜瘤3例。纳入标准:①符合颅脑肿瘤诊断标准^[7],且经影像学检查支持该诊断;②具有头晕、头痛、恶心、视力模糊及癫痫等临床表现;③无精神系统及认知功能障碍;④生化检查显示患者脑脊液中白细胞、蛋白含量升高;⑤患者心、肝、肾等实质性器官无功能障碍;⑥未处于妊娠期或哺乳期的妇女;本次研究经医学伦理会批准执行,患者及家属均签署知情同意书。

1.2 手术方法

①小脑肿瘤患者25例,手术入路途径选择在枕骨下旁边正中,以肿瘤外缘皮肤行直切口,颅骨开窗大小为30 mm×30 mm,使用电凝将小脑皮质分离,而后镜下摘除肿瘤。②脑桥小脑角肿瘤患者20例,手术入路途径选择经乙状窦后入路。在20例患者中,肿瘤全切术19例,大部分切术1例。③岩斜区肿瘤患者17例,手术入路途径选择改良版乙状窦前入路,在岩上窦的正下方与乙状窦前弧形两组之间的硬膜切开,范围在130 mm~150 mm之间,抬起小脑,引流出脑脊液,暴露肿瘤并切除。在17例患者中,行肿瘤全切术患者16例,1例行肿瘤大部分切除术。④颅前窝底肿瘤患者13例,手术入路途径选择患者右额眉或眉上切开入路。所有患者均行肿瘤全切术。⑤丘脑-基底节区肿瘤患者6例,手术入路途径选择在肿瘤边缘行弧形切口,开骨窗后使用电凝行皮质切口,待肿瘤充分暴露后行切除术。在6例患者中,5例患者行全切术,1例行肿瘤大部分切除术。⑥蝶骨嵴脑膜瘤3例,手术入路途径选在患者右侧眉间上或眉上行直切口40 mm,颅骨开窗大小范围在20 mm×20 mm的骨窗,而后将额叶抬起,切开外侧蛛网膜,引流出脑脊液,待肿瘤充分暴露后行切除术。3例患者均行肿瘤全切术。

1.3 评价标准

①评价选择不同手术入路途径患者的肿瘤切除率,1级切除:肿瘤及周围黏连组织、骨组织均完美切除;2级切除:肿瘤完整切除,但肿瘤周围黏连组织给予电灼;3级切除:在行肿瘤切除术后,未切除干净,仍存在少量肿瘤组织。肿瘤切除率为(1级切除例数+2级切除例数)/总例数的百分比。②观察患者在治疗前后的临床症状变化。③评价选择不同手术入路途径患者的疼痛程度:采用视觉模拟评分法(Visual analogue scales, VAS)评估患者术前及术后3天疼痛程度^[8],将疼痛评分为10分,0分表示无痛、1~3分表示为轻度疼痛、4~6分表示为中度疼痛、7~10分表示为重度疼痛。④比较患者在手术治疗前及手术治疗后3 d的血清指标水平变化。

1.4 实验室检测

于空腹状态下采集两组患者的外周静脉血5 mL,常温静置2 h后,离心5 min(4℃, 1 500 r/min),离心半径为12 cm,保存上层血清至-80℃冰箱。

采用特异性酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent, ELISA)检测样品中IL-8、MBP、NSE及*ETS-1*表达水平,仪器采用美国贝克曼库尔特有限公司生产的UniCel DxI 800全自动免疫发光分析仪,试剂盒购自福建迈特生物工程有限公司,由专人严格根据使用说明书进行检测。

1.5 统计学方法

本次研究采用SPSS 23.0对分析处理;计数资料以 $n(\%)$ 表示,比较用 χ^2 检验;呈正态分布计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组数据采用 t 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同位置的颅脑肿瘤切除率结果描述

本次研究患者中肿瘤总切除率为92.85%,其中颅前窝底肿瘤、蝶骨嵴脑膜瘤切除率高达100%。不同手术入路对脑肿瘤患者的肿瘤切除率见表1。

表1 不同位置的颅脑肿瘤切除率结果描述

Table 1 Description of results of resection rate of craniocerebral tumors at different locations

组别	<i>n</i>	1级 切除	2级 切除	3级 切除	总切除率 (%)
小脑肿瘤	25	16	7	2	92.00
脑桥小脑角肿瘤	20	11	8	1	95.00
岩斜区肿瘤	17	9	6	2	88.23
颅前窝底肿瘤	13	8	5	0	100.00
丘脑-基底节区肿瘤	6	3	2	1	83.33
蝶骨嵴脑膜瘤	3	2	1	0	100.00
合计	84	49	29	6	92.85

2.2 患者术前术后临床症状变化比较

本组患者在术后其头痛、头晕、视乳头水肿、恶心呕吐及癫痫等临床症状明显改善,术前术后比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 患者术前术后临床症状变化比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of changes in clinical symptoms of patients before and after surgery [$n(\%)$]

时间	<i>n</i>	头痛	头晕	视乳头 水肿	恶心 呕吐	癫痫
术前	84	83(98.80)	82(97.61)	67(79.76)	80(95.23)	47(55.95)
术后	84	9(10.71)	4(4.76)	0(0.00)	7(8.33)	5(5.95)
χ^2 值		131.574	144.932	111.446	127.043	49.130
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 患者术前术后疼痛程度评分比较

患者在术前疼痛程度评分明显高于术后,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 患者术前术后疼痛程度评分比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of preoperative and postoperative pain degree scores [$n(\%)$]

时间	<i>n</i>	0分	1~3分	4~6分	7~10分
术前	84	1(1.19)	14(16.66)	40(47.61)	29(34.52)
术后	84	26(30.95)	37(44.04)	11(13.09)	10(11.90)
χ^2 值			59.267		
<i>P</i> 值			<0.001		

2.4 患者在手术治疗前后的血清指标水平变化比较

手术治疗后的IL-8、MBP、*ETS-1*及NSE均较术前高,但不同手术入路患者术后IL-8、MBP、*ETS-1*及NSE数据比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

3 讨论

颅脑肿瘤可发病于任何年龄段,属常见的临床疾病之一,据调查显示,在颅脑肿瘤患者中的男女性别比约为5:4,其发病率较高,对人体的危害较大^[9]。不良的预后不仅会对患者造成巨大的心理负担,影响治疗效果,且临床对于颅脑肿瘤治疗不单只通过手术治疗,还有内科治疗与放疗等方式,会导致以上治疗方式效果均不理想^[10]。因此,

表4 患者在手术治疗前后的血清指标水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of changes in serum index levels of patients before and after surgery ($\bar{x} \pm s$)

指标	时间	小脑肿瘤 (<i>n</i> =25)	脑桥小脑角肿瘤 (<i>n</i> =20)	岩斜区肿瘤 (<i>n</i> =17)	颅前窝底肿瘤 (<i>n</i> =13)	丘脑-基底节区肿瘤 (<i>n</i> =6)	蝶骨嵴脑膜瘤 (<i>n</i> =3)
IL-8(pg/mL)	术前	31.87±4.62	32.01±4.41	31.42±4.27	31.62±4.62	32.05±4.51	31.73±4.55
	术后	54.61±7.64 ^a	55.01±7.12 ^a	54.31±7.75 ^{ab}	54.22±7.34 ^{ab}	54.17±7.62 ^{ab}	54.57±7.37 ^{ab}
MBP(μg/L)	术前	1.02±0.24	1.12±0.21	1.67±0.40	1.28±0.45	1.34±0.61	1.35±0.18
	术后	2.71±0.62 ^a	2.63±0.54 ^a	2.73±0.43 ^{ab}	2.77±0.46 ^{ab}	2.93±0.70 ^{ab}	2.76±0.94 ^{ab}
ETS-1(μg/L)	术前	2.17±0.63	2.48±0.52	2.14±0.46	2.16±0.51	2.37±0.42	2.29±0.39
	术后	4.92±0.75 ^a	4.81±0.65 ^a	4.90±0.62 ^{ab}	4.83±0.77 ^{ab}	4.86±0.82 ^{ab}	4.90±0.87 ^{ab}
NSE(μg/L)	术前	12.83±1.62	12.80±1.83	12.88±1.67	12.74±1.94	12.73±1.92	12.80±1.54
	术后	14.54±2.43 ^a	14.50±2.37 ^a	14.52±2.39 ^{ab}	14.50±2.42 ^{ab}	14.61±2.36 ^{ab}	14.58±2.33 ^{ab}

注:与同组术前比较,^a $P > 0.05$;与同组干预前比较,^b $P < 0.05$ 。

选择合理的临床治疗方案是保证其治疗效果的关键原因。

近年有研究发现,NSE可反映出脑组织的损伤程度,其通常存在于神经元及内分泌细胞中,具有维持中枢神经系统正常生理功能等作用,而颅脑肿瘤患者因肿瘤的挤压,从而破坏毗邻组织,造成损伤,且对于颅脑肿瘤最佳的治疗手段为手术切除肿瘤,因此检测血清中NSE水平,可辅助评估患者脑损伤及疾病预后^[11]。IL-8为一种炎症趋化因子,使中性粒细胞活化,从而引起炎症反应。有文献指出,*ETS-1*可作为评估颅脑肿瘤预后的相关指标之一,其水平波动变化与术后治疗效果有密切联系^[12]。MBP为一种呈强碱性的膜蛋白,分布于神经系统的髓鞘中,具有稳定髓鞘功能及结构等作用,当颅脑组织损伤后,其在血清中水平升高。本次研究所采用显微外科手术方式进行治疗,根据患者颅脑肿瘤发生位置的不同,选择不同的入路途径进行治疗,探讨其治疗效果。

本次研究患者中肿瘤总切除率为92.85%,其中颅前窝底肿瘤、蝶骨嵴脑膜瘤切除率高达100%。可见根据患者颅脑肿瘤位置的不同,选择不同的手术入路进行手术,可缩小手术创口面积;且在显微外科手术下,术中视野清晰,可明显地观察到肿瘤组织与周围组织的分界线及颅脑内血管与神经,同时可关注颅内细小组织,进行精细手术,有效地切除颅脑肿瘤,同时还可减少对颅内组织的损伤及手术创伤,降低术后感染的发生率,具有一定的安全性;患者在术后其头痛、头晕、视乳头水肿、恶心呕吐及癫痫等临床症状明显改善,表明根据患者颅脑肿瘤位置的不同,选择不同的手术入路进行手术,其术后治疗效果可观,可明显改善患者的临床症状,临床应用价值水平高;患者术后疼痛程度评分明显降低,可见通过显微外科手术方式,再根据患者颅脑肿瘤位置的不同,选择不同的手术入路进行手术,不仅可改善患者的临床症状,且患者术后3天的创面疼痛均有所改善,因根据肿瘤位置的不同选择不同的手术入路,可缩小手术创口面积,减少手术损伤,降低感染发生率,从而降低患者的疼痛程度。手术治疗后的IL-8、MBP、*ETS-1*及NSE均较手术前高,但不同手术入路患者间IL-8、MBP、*ETS-1*及NSE数据比

较差异无统计学意义,表明不同手术如路术后对患者的IL-8、MBP、*ETS-1*及NSE水平波动变化差距不大。因外科手术的原因,导致IL-8升高,同时在术中将颅脑肿瘤切除,必不可免地会损伤部分脑组织损伤,从而引起NSE、*ETS-1*及MBP的升高,因此可根据患者颅脑肿瘤位置的不同,选择不同的手术入路进行手术。

综上所述,根据患者颅脑肿瘤位置的不同,选择与其相对应的手术入路,能明显改善患者的临床症状,提升颅脑肿瘤的切除率。

参考文献

- [1] 熊羽,黄伟俊,何洁. 颅脑彩超动态监测,CT造影在颅内肿瘤切除术中的应用[J]. 中国CT和MRI杂志, 2020, 18(6):12-14.
- [2] Shi WD, Shi MY. Prognostic Effect Observaiton of Surgical Treatment at different time in elderly patients with craniocerebral trauma[J]. Smart Healthcare, 2019, 12(1):11-13.
- [3] 李亮,丛建军. 脑肿瘤卒中与脑出血的CT诊断及鉴别诊断探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 35(1):2-6.
- [4] 郭志波,徐文中. 不同显微外科手术入路对颅脑肿瘤的治疗价值[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(23):2608-2614.
- [5] 何阳,张新中. 颅脑肿瘤显微外科手术不同入路的临床效果评价[J]. 临床医学, 2019, 39(7):1003-3548.
- [6] 唐少舟,王成鸿,邓勇,等. 脑膜瘤患者手术前后血清*ETS-1*, MMP-1及MBP水平变化及其临床意义[J]. 湖南师范大学学报:医学版, 2019, 16(4):80-83.
- [7] 刘晓平,叶敏,张文波,等. 经乙状窦后入路显微手术治疗桥小脑角肿瘤27例[J]. 广东医科大学学报, 2019, 37(3):352-354.
- [8] 蒋太鹏. 三脑中后部肿瘤的手术入路选择[C]//第十五届中国医师协会神经外科医师年会摘要集, 2020, 1(7):1-2.
- [9] 邓汉生,辛继宾,莫梅琦,等. MRS脑肿瘤分型诊断模型研究[C]//中华医学会全国医学信息学术会议, 2007, 17(9):293-319.
- [10] Jian-Chang XU, Zheng JY, Sun YZ, et al. Risk factors of acute epidural hematoma in distant site after craniocerebral tumor operation[J]. J Med Forum, 2019.
- [11] 尹健,张宏燕,王晓娜,等. 右美托咪定联合利多卡因对颅脑肿瘤手术患者的脑保护作用[J]. 河北医药, 2020, 42(19):2943-2926.
- [12] 饶克成,郭京立,王明国,等. 颅脑肿瘤术后患者血清NSE MBP RDW与预后的相关性研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2020, 23(24):2164-2169.

超声心动图联合 H-FABP、cTnI 及 CK-MB 在 AMI 诊断、病情评估中的应用

郭建红^{1*} 喻红霞² 李丹³

【摘要】目的 分析超声心动图联合心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)、肌钙蛋白I(cTnI)及肌酸激酶同工酶(CK-MB)检测在急性心肌梗死(AMI)早期诊断、病情评估中的价值。**方法** 选取2020年6月至2021年10月中牟县人民医院收治的94例AMI患者(AMI组),采用心功能Killip分级评估将患者分为I级、II级和III级三个亚组;另取同期在本院进行体检的82名健康者作为健康组。比较两组、AMI组不同心功能患者H-FABP、cTnI、CK-MB水平及超声心动图参数LVEF、LVEDD;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析超声心动图联合H-FABP、cTnI及CK-MB检测诊断AMI的价值。**结果** AMI组H-FABP、cTnI、CK-MB水平及LVEDD均明显高于健康组,LVEF低于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。AMI组根据心功能Killip分级评估分为I级27例、II级46例、III级21例。不同心功能分级患者H-FABP、cTnI、CK-MB水平及LVEDD比较:I级<II级<III级;LVEF比较:I级>II级>III级,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线显示,(H-FABP+cTnI+CK-MB+超声心动图)四者联合检测诊断AMI的敏感度和特异度分别为0.901、0.826,AUC=0.910,明显高于四者单独预测($P<0.05$)。**结论** H-FABP、cTnI、CK-MB及超声心动图参数在AMI中存在异常表达,联合四者检测可有效评估AMI患者病情,提高诊断效能。

【关键词】 超声心动图;急性心肌梗死;心脏型脂肪酸结合蛋白;肌钙蛋白;肌酸激酶同工酶

Application of echocardiography combined with H-FABP, cTnI and CK-MB in the diagnosis and evaluation of AMI

GUO Jianhong^{1*}, YU Hongxia², LI Dan³

(1. Department of Ultrasound, Zhongmu County People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 451450;
2. Department of Ultrasound, Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 3. Department of Laboratory Medicine, Zhongmu County People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 451450)

【ABSTRACT】Objective To analyze the value of echocardiography combined with heart fatty acid-binding protein (H-FABP), cardiac troponin I (cTnI) and creatine kinase isoenzyme (CK-MB) detection in the early diagnosis and evaluation of acute myocardial infarction (AMI). **Methods** 94 AMI patients admitted to Zhongmu County People's Hospital from June 2020 to October 2021 were selected (AMI group), the patients were divided into three subgroups of grade I, grade II and grade III by heart function Killip grading; 82 healthy patients who underwent physical examination in this hospital during the same period were selected as the healthy group. The levels of H-FABP, cTnI, CK-MB and echocardiographic parameters LVEF and LVEDD were compared between the two groups and the AMI group in patients with different cardiac functions; receiver operating characteristic (ROC) curves were drawn to analyze echocardiography combined with

基金项目:河南省科技攻关项目(LHGJ20190435)

作者单位:1. 中牟县人民医院超声科,河南,郑州 451450

2. 郑州大学第二附属医院超声科,河南,郑州 450000

3. 中牟县人民医院检验科,河南,郑州 451450

*通信作者:郭建红, E-mail: 15838230619@163.com

H-FABP, cTnI and the value of CK-MB detection in the diagnosis of AMI was evaluated. **Results** The levels of H-FABP, cTnI and CK-MB in the AMI group were significantly higher than those in the healthy group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The LVEF in the AMI group was lower than that in the healthy group, and the LVEDD was significantly higher than that in the healthy group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The AMI group was divided into 27 cases of grade I, 46 cases of grade II, and 21 cases of grade III according to the Killip classification of cardiac function. Comparison of H-FABP, cTnI, CK-MB levels and LVEDD in patients with different cardiac function grades: grade I < grade II < grade III; comparison of LVEF: grade I > grade II > grade III, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve showed that the sensitivity and specificity of the combined detection of the four (H-FABP + cTnI+CK-MB+echocardiography) in the diagnosis of AMI were 0.901 and 0.826, respectively; AUC=0.910, which was significantly higher than those predicted by the four alone ($P<0.05$). **Conclusion** H-FABP, cTnI, CK-MB and echocardiographic parameters are abnormally expressed in AMI. The combination of four tests can effectively evaluate the condition of AMI patients and improve the diagnostic efficiency.

[**KEY WORDS**] Echocardiography; Acute myocardial infarction; Cardiac fatty acid binding protein; Troponin; Creatine kinase isoenzyme

急性心肌梗死(Acute myocardial infarction, AMI)属于冠状动脉粥样硬化性心脏病,发病率超过0.05%,且近年来呈逐渐上升趋势^[1]。临床上AMI长期发生、发展可导致患者病死率增高并发生不良临床结局。因此,及时准确诊断AMI对患者早期治疗、预后评估具有重要意义。心脏型脂肪酸结合蛋白(Heart fatty acid-binding protein, H-FABP)、肌钙蛋白I(Cardiac troponin I, cTnI)及肌酸激酶同工酶(Creatine kinase isoenzyme, CK-MB)等心肌损伤标志物及超声心动图是临床诊断AMI、评估患者病情的常用辅助手段^[2]。H-FABP、cTnI及CK-MB等标志物在心肌损伤早期可出现明显异常,在诊断AMI中具有较高的敏感性、特异性,但易受检测条件等因素的影响,存在一定误诊、漏诊率^[3-4]。因此,为提高临床诊断准确率往往需联合其他检查。超声心动图可对AMI进行定位,且具有操作简便、可重复性强等优势,在诊断AMI中得以广泛应用^[5]。本研究将探讨超声心动图联合H-FABP、cTnI及CK-MB检测在AMI早期诊断、病情评估中的价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年6月至2021年10月中牟县人民医院收治的94例AMI患者纳入AMI组。纳入标准:均符合AMI相关诊断标准^[6];年龄>18岁,且无意识、交流障碍;具备完整临床资料。排除标准:存在先天性心脏病、风湿性心脏病等引起的心肌

损伤;存在代谢性疾病者;合并全身感染性疾病者。男性64例,女性30例,平均年龄(60.42 ± 5.21)岁。另取同期82名在本院进行体检的健康者作为健康组,男56名,女性26名,平均年龄(60.13 ± 5.51)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 H-FABP、cTnI及CK-MB检测

清晨抽取所有受检者3 mL空腹外周静脉血,3 000 r/min(离心半径10 cm)离心10 min,分离上层血清,将血清置于Eppendorf管中,置于-80摄氏度低温保存,避免反复冻融。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测H-FABP(试剂盒货号:EPX010-12263-901,美国Invitrogen),采用全自动生化仪检测cTnI(试剂盒货号:MA1-20117,美国Invitrogen)、CK-MB(试剂盒货号:PA5-113731,美国Invitrogen),严格按照说明书操作。上述操作均由同一经验丰富的检验科医生完成。

1.2.2 超声心动图

仪器:美国GE超声机,选用频率为2~4 MHz的探头,探查深度16~20 cm。患者取左侧卧位或平卧位。以心尖四腔心、胸骨左缘作为基础切面,进行二维、三维成像,调整各切面轴线及轴心位置,确保轴线通过该切面的最大面积。通过Teichholtz校正公式^[7]重复测量左室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室舒张末期内径(Left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)

3次,取平均值。上述操作均由本院2名经验丰富的影像科医师完成。

1.2.3 病情严重程度

采用心功能 Killip 分级评估^[8]: I 级为无肺部啰音和第三心音; II 级肺部有啰音,啰音范围<1/2 肺野; III 级肺部啰音范围>1/2 肺野,存在肺水肿; VI 级休克。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较行方差检验;绘制受试者工作特征(Receiver operating characteristic, ROC)曲线分析超声心动图联合 H-FABP、cTnI 及 CK-MB 检测诊断 AMI 的价值,并计算曲线下面积(Area under curve, AUC),以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 H-FABP、cTnI\CK-MB 水平及 LVEF、LVEDD 比较

AMI 组 H-FABP、cTnI、CK-MB 水平及 LVEDD 均明显高于健康组,LVEF 低于健康组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 2 AMI 不同心功能分级患者 H-FABP、cTnI、CK-MB 及 LVEF、LVEDD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of H-FABP, cTnI, CK-MB and LVEF, LVEDD in patients with different cardiac function classifications in AMI ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	H-FABP (ng/mL)	cTnI (μg/L)	CK-MB (U/L)	LVEF (%)	LVEDD (mm)
I 级	27	3.45±0.63	0.79±0.07	69.23±12.21	56.98±8.14	48.33±5.02
II 级	46	5.74±1.11 ^a	1.54±0.42 ^a	78.87±18.56 ^a	47.82±7.59 ^a	54.47±10.23 ^a
III 级	21	8.62±2.02 ^{ab}	2.98±0.51 ^{ab}	91.69±26.98 ^{ab}	39.15±4.65 ^{ab}	60.62±12.47 ^{ab}
<i>F</i> 值		97.49	197.78	7.99	36.41	8.56
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 I 级比较,^a $P < 0.05$;与 II 级比较,^b $P < 0.05$ 。

表 3 超声心动图联合 H-FABP、cTnI 及 CK-MB 检测对 AMI 的诊断价值

Table 3 The diagnostic value of echocardiography combined with H-FABP, cTnI and CK-MB detection for AMI

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度	<i>P</i> 值
H-FABP	0.752	0.667~0.837	0.767	0.617	<0.001
cTnI	0.837	0.762~0.913	0.782	0.696	<0.001
CK-MB	0.766	0.684~0.847	0.774	0.629	<0.001
超声心动图	0.881	0.813~0.949	0.814	0.792	<0.001
四者联合	0.910	0.858~0.962	0.901	0.826	<0.001

3 讨论

AMI 主要发病机制是在冠脉粥样硬化的前提下,由于冠脉内血栓形成诱发血管的堵塞,进而导

表 1 两组 H-FABP、cTnI\CK-MB 水平及 LVEF、LVEDD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of H-FABP, cTnI\CK-MB levels, LVEF and LVEDD between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	H-FABP (ng/mL)	cTnI (μg/L)	CK-MB (U/L)	LVEF (%)	LVEDD (mm)
AMI 组	94	5.72±1.32	1.64±0.42	78.96±9.82	48.51±9.95	54.08±8.48
健康组	82	2.36±0.14	0.16±0.02	15.11±2.36	63.78±11.64	46.12±5.87
<i>t</i> 值		22.930	31.866	57.430	9.383	7.137
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 AMI 不同心功能分级患者 H-FABP、cTnI、CK-MB 及 LVEF、LVEDD 比较

AMI 组根据心功能 Killip 分级评估分为 I 级 27 例、II 级 46 例、III 级 21 例。AMI 不同心功能分级患者 H-FABP、cTnI、CK-MB 水平及 LVEDD 比较: I 级<II 级<III 级;LVEF 比较: I 级>II 级>III 级,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 超声心动图联合 H-FABP、cTnI 及 CK-MB 检测对 AMI 的诊断价值

ROC 曲线显示,(H-FABP+cTnI+CK-MB+超声心动图)四者联合检测诊断 AMI 的敏感度和特异度分别为 0.901、0.826,AUC=0.910,明显高于四者单独预测($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

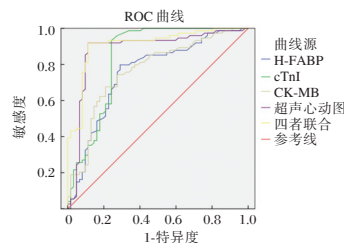


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 The ROC curve

致心肌细胞血液供应逐渐降低,从而导致缺血心肌细胞的坏死。临床上以体温增高、胸骨后持续性疼痛等为 AMI 主要临床表现,病情严重者可诱发心力衰竭、心律失常等,甚至发生休克^[9]。早期诊治、

有效评估患者病情是改善AMI患者预后的关键。H-FABP、cTnI及CK-MB等血清心肌细胞损伤标志物是临床上应用较为广泛的诊断AMI方法之一,但心肌细胞损伤标志物的检测易受多种因素的影响,导致结果可能出现偏颇^[10-11]。因此,临床急需找寻一种诊断价值更高的方法来提高AMI的诊断准确率。

超声心动图是近年来应用较为广泛的一种安全无创超声技术,在评估患者心功能、心肌阶段运动的同步性方面具有较高的价值^[12]。Kosugi等^[13]发现,LVEF随AMI患者心功能恶化而降低,LVEDD随之增高。本研究发现,AMI组LVEF、LVEDD与健康组比较差异有统计学意义,与杨焕杰等^[14]结果报道一致。分析可能是由于AMI发生后出现心室重构,进而导致室壁所承受的牵引张力及压力负荷出现适应性重置与改变,梗死区扩展或向外膨出,非梗死区心室壁受牵拉,导致心室壁异常波动,加重心室重构,最终在超声心动图上成像为LVEF减少,LVEDD扩大^[15-16]。说明超声心动图在诊断AMI中具有一定价值。H-FABP是一种心脏特异性脂肪酸结合蛋白,广泛存在于心肌细胞中,心肌梗死部位及其周围处于缺血状态的心肌均会导致相应部位的心室壁发生异常波动,进而导致其张力增加,患者体内H-FABP大量合成,并释放进入血液中^[17]。cTnI及CK-MB均广泛存在于心肌细胞中,当心肌细胞出现损伤时会大量分泌cTnI、CK-MB,导致AMI患者血清cTnI、CK-MB水平增高^[18-19]。本研究发现,AMI组H-FABP、cTnI及CK-MB水平均明显高于健康组,提示H-FABP、cTnI及CK-MB升高可能与AMI发生、发展有关。但Gulersoy等^[20]研究中,AMI患者cTnI、CK-MB水平略高于本研究,与本研究结果存在一定差异。导致两项研究出现差异的原因可能与纳入样本量、病变严重程度不同及纳入患者年龄范围相差较大等因素有关。本研究结果还发现,随患者病变严重程度的增加,H-FABP、cTnI、CK-MB水平及LVEDD明显增高,LVEF呈下降趋势。进一步说明上述指标与AMI患者病情存在一定联系,通过检测上述指标对疾病诊断、病情评估及预后具有重要意义。进一步ROC曲线分析发现,联合超声心动图、H-FABP、cTnI、CK-MB检测诊断AMI的敏感度、特异度及AUC均高于各项指标单独诊断,可见联合四者诊断AMI的价值更高,推测其原因可能与两种

诊断方式具有一定协同互补作用有关。

综上所述,H-FABP、cTnI、CK-MB及超声心动图参数在AMI中存在异常表达,联合四者检测可有效评估AMI患者病情,提高诊断效能。

参考文献

- [1] 江宜乐, 荣媛媛, 邢明青, 等. 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血浆Elabela水平变化及其与冠状动脉狭窄程度的关系[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(5): 557-560.
- [2] 李小娟, 曹劝省, 汪砚雨. 急性心肌梗死PCI术后患者的血清NT-proBNP, ICTP, MMP-9水平及其临床意义研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1): 31-34.
- [3] 胡晓兰, 蒋廷旺, 殷彝. 心肌损伤标志物阳性患者中心肌标志物、白细胞计数与血小板分布宽度联合检测的诊断价值研究[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(1): 16-19.
- [4] Dungey M, Bishop NC, Young H, et al. The Impact of Exercising During Haemodialysis on Blood Pressure, Markers of Cardiac Injury and Systemic Inflammation-Preliminary Results of a Pilot Study[J]. Kidney Blood Press Res, 2019, 40(6): 593-604.
- [5] 计春辉, 冯磊光, 宋志伟, 等. 缺血修饰白蛋白和心型脂肪酸结合蛋白对急性冠状动脉综合征患者早期诊断价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(10): 70-73.
- [6] Bivona G, Agnello L, Butera D, et al. Clinical utility of HFABP in acute myocardial infarction[J]. Acta Medica mediterranea, 2018, 34(6): 1621-1625.
- [7] 李谦, 魏亚娟, 乞艳华, 等. 实时三维超声心动图联合Tei指数评价川崎病恢复期左心功能[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(6): 611-614.
- [8] Alsawas M, Wang Z, Murad MH, et al. Gender disparities among hospitalised patients with acute myocardial infarction, acute decompensated heart failure or pneumonia: Retrospective cohort study[J]. BMJ Open, 2019, 9(1): 65-66.
- [9] 郑玉强, 齐娜, 王晶, 等. 心型脂肪酸结合蛋白和肌钙蛋白I联合检测在慢阻肺急性加重期早期心肌梗死中的应用价值[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(23): 105-108.
- [10] Kaab C, Jakkula DP, Hstbacka DJ, et al. Optimum Blood Pressure in Patients With Shock After Acute Myocardial Infarction and Cardiac Arrest - ScienceDirect [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(7): 812-824.
- [11] 韩静, 胡文江, 白蓉, 等. 超声心动图联合血清H-FABP, cTnI检测评估慢性心力衰竭病人左心功能的效果观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(2): 4-6.
- [12] 宁伟, 金仁波. 超声心动图自动心肌运动定量与三维定量分析评估左室收缩功能应用价值比较[J]. 临床军医杂志, 2018, 46(12): 1413-1416.
- [13] Kosugi S, Shinouchi K, Ueda Y, et al. Clinical and Angiographic Features of Patients With Out-of-Hospital Cardiac Arrest and Acute Myocardial Infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(17): 1934-1943.

(下转第1483页)

• 论 著 •

CRP、Hcy 和 D-D 联合检测在青年急性 ST 段抬高型心肌梗死患者中的临床价值

朱烨然^{1*} 李玉仙²

[摘要] **目的** 探究血清 CRP+Hcy+D-二聚体联合检测在青年急性 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 诊断中的价值。**方法** 回顾性选取 2019 年 7 月至 2020 年 7 月在河北大学附属医院就诊的 137 例青年急性 ST 段抬高型心肌梗死患者纳入观察组, 另外选择同时期 137 例心绞痛患者纳入对照组, 比较两组患者的 CRP、Hcy、D-二聚体水平。**结果** 观察组患者血清 CRP、Hcy、D-二聚体水平均明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($t=31.65, 31.59, 25.00, P<0.05$)。观察组血清 CRP、Hcy、D-二聚体联合检测的阳性数明显高于单独检测, 三联检测的灵敏度、特异度和准确度都明显高于单独检测。联合检测曲线下面积大于单独检测, 联合检测 95% *CI* 为 0.924~0.961。**结论** 联合检测血清 CRP、Hcy、D-二聚体水平可以预测 STEMI 的发生风险, 值得在临床上推广和使用。

[关键词] 急性 ST 段抬高型心肌梗死; CRP; Hcy; D-二聚体

Clinical value of combined detection of CRP, Hcy and D-dimer in acute ST segment elevation myocardial infarction

ZHU Yeran^{1*}, LI Yuxian²

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei, China, 071000; 2. Department of Ultrasound, Tangxian People's Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the value of combined detection of serum CRP + Hcy + D-dimer in the diagnosis of young patients with acute ST segment elevation myocardial infarction (STEMI). **Methods** A total of 137 young patients with acute ST segment elevation myocardial infarction in the Affiliated Hospital of Hebei University from July 2019 to July 2020 were selected as the observation group, and another 137 patients with angina pectoris in the same period were selected as the control group. The levels of CRP, Hcy and D-dimer were compared between the two groups. **Results** The levels of serum CRP, Hcy and D-dimer in the observation group were significantly higher than those in the control group ($t=31.65, 31.59, 25.00, P<0.05$). The positive number of serum CRP, Hcy, D-dimer combined detection in observation group was significantly higher than that of single detection, and the sensitivity, specificity and accuracy of triple detection were significantly higher than those of single detection. The area under the curve of combined detection was larger than that of single detection, and the 95% *CI* of combined detection was 0.924~0.961. **Conclusion** Combined detection of serum CRP, Hcy and D-dimer levels can predict the risk of STEMI, which is worthy of clinical promotion and use.

[KEY WORDS] Acute ST-segment elevation myocardial infarction; CRP; Hcy; D-dimer

基金项目: 保定市科技计划项目 (1951ZF094)

作者单位: 1. 河北大学附属医院心血管内科, 河北, 保定 071000

2. 唐县人民医院超声科, 河北, 保定 071000

*通信作者: 朱烨然, E-mail: hbydzyr@163.com

近年来,随着人们生活水平的不断提高以及生活节奏的持续加快,急性心肌梗死(Acute myocardial infarction AMI)的发病率逐渐提高。AMI已经成为世界公认的威胁人们身体健康的重要疾病,其中,急性ST段抬高型心肌梗死(acute ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI)的发病率及致死率仍处于较高水平。青年急性心肌梗死发病率明显增加,与中老年冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)患者不同。青年冠心病患者比较独特,多无先兆,起病急,常因STEMI就诊,甚至会在院外发生猝死,因此应给予高度关注。有研究显示^[1], STEMI患者如果延误的时间超过90分钟,将会大大提高急性ST段抬高型心肌梗死的病死率,所以早期的诊断和治疗尤为重要。目前,临床在诊断STEMI时主要通过冠状动脉造影、心电图和生物标志物检测等方法,但这些方法的使用都存在着一定的局限性,与这些方法相比,生物标志物检查更为方便、快捷,可以在检测患者各项血生化指标之后对患者的病情做出全面的评估^[2]。本文通过比较青年STEMI患者与心绞痛患者血清C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, CRP)、血同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)、D-二聚体(D-Dimer, D-D)水平,分析其联合检测价值,以期临床诊治及疾病预防提供一定参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性选取2019年7月至2020年7月期间在河北大学附属医院住院符合2019年STEMI诊治标准^[3]诊断的青年(年龄<45岁)患者137例作为观察组,男性78例,女性59例,平均年龄(31.24±1.01)岁。另选择同时期137例心绞痛患者作为对照组,男性76例,女性61例,平均年龄(31.26±1.03)岁。纳入标准:出现急性缺血性胸痛;心电图异常(ST段抬高,病理性Q波;心肌坏死标志物水平高于正常值。排除标准:严重的肝功能和肾功能障碍;伴有血液系统疾病;患有自身免疫性疾病;接受其他药物治疗患者;精神疾病患者;恶性肿瘤患者;临床资料不完整的患者。

1.2 方法

①记录患者临床基线特征:一般情况包括年龄、性别、职业、冠心病危险因素(如既往吸烟史、饮酒史、高血压病史、糖尿病史、家族史、高脂血

症)及既往冠心病史、脑卒中史等;②记录患者CRP、Hcy、D-D水平等;两组患者临床资料比较,差异无统计学意义($P<0.05$)。见表1。Hcy的标准值小于等于15 $\mu\text{mol/L}$, CRP标准值小于等于10 mg/L, D-二聚体标准值是小于等于0.5 mg/L, 如果超过上述标准值即为阳性^[3]。

表1 两组患者的一般资料比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $n(\%)$]

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

一般资料	对照组 ($n=137$)	观察组 ($n=137$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	31.26±1.03	31.24±1.01	0.1623	0.8712
收缩压(mmHg)	130.64±23.69	129.98±24.03	0.2289	0.8191
性别				
男	76(55.0)	78(57.0)	0.0593	0.8076
女	61(45.0)	59(43.0)		
吸烟				
有	65(47.0)	63(46.0)	0.0586	0.8086
无	72(53.0)	74(54.0)		
酗酒				
有	81(59.0)	79(58.0)	0.0601	0.8064
无	56(41.0)	58(42.0)		
职业				
农民	25(18.0)	28(20.0)	0.2105	0.6463
非农民	112(82.0)	109(80.0)		
糖尿病				
有	74(54.0)	73(53.0)	0.0147	0.9036
无	63(46.0)	64(47.0)		
高血压				
有	71(52.0)	69(50.0)	0.0584	0.8090
无	66(48.0)	68(50.0)		
高脂血症				
有	84(61.0)	83(60.0)	0.0153	0.9015
无	53(39.0)	54(40.0)		

1.3 临床观察指标

比较对照组和观察组的血清CRP、Hcy、D-D, 记录并分析血清CRP、Hcy、D-二聚体水平检测以及血清CRP、Hcy、D-二聚体水平联合检测的阳性数。对比3种指标联合检测的性能,包括敏感度、特异性和准确度三个方面。灵敏度的计算方式为真阳性例数/(假阴性例数+真阳性例数)×100%;特异性的计算方式为真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%;准确度的计算方式为(真阳性例数+真阴性例数)/总人数×100%。假阳性指的是原本是阴性,但是检查结果为阳性,假阴性与之相反。

1.4 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行数据处理;正态分布计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRP、Hcy、D-二聚体检测指标比较

观察组患者血清CRP、Hcy、D-二聚体水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 CRP、Hcy、D-二聚体水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRP(mg/L)	Hcy(μ mol/L)	D-二聚体(mg/L)
对照组	137	19.28 $\pm$ 2.49	21.32 $\pm$ 3.19	0.76 $\pm$ 0.65
观察组	137	41.47 $\pm$ 7.82	39.85 $\pm$ 6.08	0.99 $\pm$ 0.87
t值		31.65	31.59	25.00
P值		<0.05	<0.05	0.0138

2.2 单独检测与联合检测在青年急性ST段抬高型心肌梗死诊断结果比较

观察组血清CRP、Hcy、D-二聚体联合检测的

阳性数明显高于单独检测,三联检测的灵敏度、特异度和准确度都明显高于单独检测。见表3。联合检测曲线下面积大于单独检测,联合检测95%CI为0.924~0.961。见表4。

3 讨论

STEMI通常是患者存在冠状动脉斑块损伤的基础上,形成急性闭塞性的血栓导致的^[4]。据相关的调查资料显示,在冠心病患者总体中,青年急性

表3 CRP、Hcy、D-二聚体指标单独和联合检测的诊断性能 [n(%)]

组别	CRP		Hcy		D-二聚体		联合检测	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
观察组	117(85.4)	20(14.6)	109(79.6)	28(20.4)	114(83.2)	23(16.8)	135(98.5)	2(1.5)
对照组	62(45.3)	75(54.7)	63(46.0)	74(54.0)	59(43.1)	78(56.9)	59(43.1)	78(56.9)

表4 CRP、Hcy、D-二聚体指标表达对STEMI的诊断价值

指标	截断值	AUC	标准误	95% CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)
CRP	0.642	0.724	0.023	0.602~0.742	65.36	78.95	70.07
Hcy	1.092	0.701	0.025	0.672~0.825	63.37	72.55	66.79
D-二聚体	2.402	0.676	0.035	0.547~0.705	65.90	77.23	70.07
联合检测		0.943	0.010	0.924~0.961	69.59	98.73	77.74

心肌梗死患者的占比在3%~10%,年龄不超过45周岁的急性心肌梗死患者在所有急性心肌梗死患者中的占比高达16%,因此分析青年STEMI患者发病的临床特征为STEMI的早期诊断提供参考^[5-6]。

D-D指的是在溶血酶的作用下交联纤维蛋白生成的特异性的降解物,它是机体中一种重要的血栓标志物和高凝状态标志物,在高凝状态、血栓性疾病的诊断中,D-D得到了广泛的应用^[7]。冠心病和冠状动脉血栓的形成之间存在着紧密的联系,同时冠状动脉血栓对心绞痛及急性心肌梗死疾病的发生和发展起到非常重要的作用。在本次研究中发现,青年心绞痛患者和急性ST段抬高型心肌梗死患者的D-D超出正常标准,急性ST段抬高型心肌梗死患者的D-D水平更高,差异有统计学意义。需要注意的是,急性心肌梗死患者的血栓大部分出现在中小动脉的末端,血栓的体积比较小,所以继发性纤溶之后血清当中的D-D水平相对比较小,单独使用此种检测方法时,诊断意义不高^[8]。

CRP在正常的情况下,机体中血清中的CRP水平较低,当机体出现创伤、梗死或者是急性炎症时,CRP的水平会明显增大^[9]。CRP和血栓形成之间存在着紧密的联系,而血栓又会引起卒中、心梗以及其他的心血管疾病。有研究者指出,当急性心肌梗死患者的血清CRP水平持续大于200 mg/L时,预示着极有可能发生心脏破裂的情况^[10]。CRP水平可以反应感染性疾病和炎症性疾病的严重程度,而且和急性心肌梗死病情发展之间存在着紧密的关系。有学者指出,CRP能够诱导不同种类炎性介质的分泌,导致急性心肌梗死患者单核细胞内膜浸润,CRP水平与急性心肌梗死患者病情发展和动脉斑块化程度密切相关,如果患者的CRP水平异常升高往往意味着急性心肌梗死的发生。在本次研究中,急性ST段抬高型心肌梗死患者的血清CRP水平明显高于心绞痛患者,差异有统计学意义,意味着心肌细胞坏死与心肌损伤的血清标志物——CRP在急性ST段抬高型心肌梗死诊断中拥有良好的鉴别价值。

Hcy表达异常容易引起血管内皮失调,同时还会影响脂质的正常代谢,诱导平滑肌细胞转变成泡沫细胞,大大降低血管的弹性,进而导致机体凝血系统和抗凝系统失去平衡,加速血栓的形成,最终导致急性心肌梗死,因而可以将Hcy的异常升高当作判断急性心肌梗死的重要因素^[11]。同型半胱氨酸是最近几年新发现的心血管疾病的独立危险因素,当机体中的Hcy代谢紊乱时,Hcy水平超过10 μ mmol/L时,将这种情况叫作高同型半胱氨

酸血症,它会生成许多S-腺苷同型半胱氨酸。S-腺苷同型半胱氨酸是机体中甲基转移反应的竞争抑制剂,它会降低甲基转移酶的活性,对甲基化产生干扰^[12-13]。Hcy在一些病理作用下,会严重影响心血管疾病的健康,容易导致高血压、血管再狭窄以及动脉粥样硬化等问题^[14]。在本次研究中,急性ST段抬高型心肌梗死患者的Hcy水平远远高于心绞痛组,差异有统计学意义,表明可以利用Hcy水平辨别心绞痛和心肌梗死。

综上所述,在青年心绞痛患者和青年急性ST段抬高型心肌梗死患者中,血清CRP、Hcy、D-二聚体水平均异常表达,但是急性ST段抬高型心肌梗死患者的血清CRP、Hcy、D-二聚体水平更高,差异比较显著,可以据此特点准确辨别患者的疾病类型^[15]。

参考文献

- [1] 王天杰,董军乐,王妍,等.急性ST段抬高型心肌梗死合并慢性闭塞病变的近期预后分析[J].中华心血管病杂志,2021,49(6):586-592.
- [2] 夏海云,丁霞,傅琳.现场快速检测高敏肌钙蛋白在老年急性心肌梗死早期的临床诊断价值[J].临床急诊杂志,2022,23(1):67-71.
- [3] 江雪,江海燕.吡拉西坦联合舒血宁注射液对高血压并脑梗死患者血液流变学及血清Hcy和hs-CRP水平的影响[J].河北医学,2022,28(2):331-336.
- [4] 仲涛,韩汶君,陈岩,等.合并完全性左束支阻滞的急性心肌梗死心电图诊断效度的回顾性队列研究[J].中国心血管杂志,2021,26(6):520-524.
- [5] 陆小群,孙杰,丁佳成.急性心肌梗死患者外周血TLR4,HPSE表达及其临床意义[J].中外医学研究,2021,19(35):83-86.
- [6] 林丽卿,余火标.二维超声斑点追踪成像技术诊断老年急性心肌梗死患者的效果[J].临床医学工程,2021,28(12):1619-1620.
- [7] 刘铁红,董琳琳,高阿妮,等.生长停滞特异性蛋白6与hs-CRP、cTnI对急性心肌梗死的诊断价值[J].新疆医科大学学报,2021,44(12):1346-1350.
- [8] 李庆宽,覃绍明,卢志红,等.血清半乳糖凝集素-3与急性心肌梗死患者新发心房颤动的关联性研究[J].中国临床新医学,2021,14(11):1116-1119.
- [9] 张文丽,周鸿晨,宗朋,等.D-二聚体和肌钙蛋白I在急性心肌梗死与主动脉夹层早期鉴别中的应用[J].标记免疫分析与临床,2021,28(11):1874-1877.
- [10] 臧栋,杨丽洁,吴振安.红细胞分布宽度、N末端脑钠肽原联合检测对急性心肌梗死后急性肾损伤的预测价值[J].中国动脉硬化杂志,2021,29(11):983-988.
- [11] 古力斯坦·艾斯卡尔,布祖克拉·阿布都艾尼,吐尔孙阿依·依斯米提,米合拉依·玉素,穆叶赛·尼加提.急性冠脉综合征患者微粒中miR-126与NLR间的关系及其临床意义[J].临床急诊杂志,2021,22(11):720-726.
- [12] Meissner J, Irfan A, Twerenbold R, et al. Use of neutrophil count in early diagnosis and risk stratification of AMI [J]. Am J Med, 2011, 124(6):534-542.
- [13] Ammann EM, Schweizer ML, Robinson JG, et al. Chart validation of inpatient ICD-9-CM administrative diagnosis codes for acute myocardial infarction (AMI) among intravenous immune globulin (IGIV) users in the Sentinel Distributed Database [J]. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2018, 27(4):398-404.
- [14] William B, Theodore C, Richard H. Left Bundle Branch Block and the Electrocardiographic Diagnosis of AMI [J]. Emerg Med News, 2001, 23(3):48.
- [15] Hisamuddin Nar N, Suhailan MA. Evaluation of the diagnostic indices and clinical utility of qualitative cardiodetect® test kit in diagnosis of ami within 12 hours of onset of chest pain in the emergency department [J]. Int J Emerg Med, 2011, 4:67.
- [14] 杨焕杰,完海平,杨永昌,等.急诊超声心动图联合血清NT-proBNP,cTnI,CK-MB诊断急性心肌梗死的临床价值分析[J].现代生物医学进展,2020,20(21):94-97.
- [15] 兑宏志.急性心肌梗死病人PⅢNP,骨桥蛋白与心功能,心肌重构及左心室室壁运动积分指数的关系探讨[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(20):3395-3397.
- [16] Vollmar B, Krause BJ, Ince H, et al. 18F-FDG PET-Based Imaging of Myocardial Inflammation Following Acute Myocardial Infarction in a Mouse Model [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9):3340-3342.
- [17] 薛炎,王立新,周帆,等.血清BNP,CK-MB,H-FABP水平早期动态检测对先心病合并肺炎患儿病情评估的临床价值[J].临床和实验医学杂志,2020,19(3):62-66.
- [18] Pva B, Dka B, Mma B, et al. Outcomes of Acute Myocardial Infarction in Patients with Influenza and Other Viral Respiratory Infections - ScienceDirect [J]. Am J Med, 2019, 132(10):1173-1181.
- [19] Fenoil R, Weisz G, Alfieri R. Reference values for CK-MB isoenzyme compared with acute myocardial infarction [J]. Clin Chem, 2020, 54(6):6-10.
- [20] Gulersoy E, Ok M, Yldz R, et al. Assessment of intestinal and cardiac-related biomarkers in dogs with parvoviral enteritis [J]. Pol J Vet Sci, 2020, 23(2):211-219.

(上接第1479页)

脐血来源NK细胞对肝肿瘤生长抑制作用

吴炳义^{1,2,3} 李娟华⁴ 李烨¹ 张兰兰² 朱伟⁵ 陈琼^{2,3*} 吕成伟^{2,3*}

[摘要] 目的 培养脐血来源NK细胞,通过细胞和动物水平验证其用于肝癌治疗的安全性和有效性。方法 NK细胞体外诱导培养,观察培养过程细胞形态、细胞总数、增殖倍数,流式检测其中CD3⁺CD56⁺细胞的比例,细胞毒性检测验证NK细胞对癌细胞的杀伤活性;建立肝癌裸鼠皮下荷瘤模型,采用瘤内与静脉方式注射NK细胞,密切观察不同时间段实验组和对照组裸鼠移植瘤大小、体积、质量以及裸鼠存活状态。荷瘤40天后取肿瘤组织进行分析。通过流式分析、HE染色和免疫荧光检测NK细胞移植在裸鼠体内第37天含量,分析NK细胞在裸鼠体内残留情况。结果 脐血分离单个核细胞经体外诱导培养的NK细胞能保持典型的NK细胞表型特征,细胞活性好、增殖能力强、纯度高,对多种癌细胞系均具有良好的杀伤作用。与对照组相比,NK细胞注射组均能抑制肝肿瘤生长。NK细胞移植35天后,尾静脉组肿瘤大小显著下降($P < 0.05$)。同时NK细胞在体内无明显残留,表明NK细胞小鼠体内移植无致瘤性。结论 本研究制备的脐血NK细胞符合临床研究需求,可作为肝癌患者临床治疗的替代方案,为下一步开展临床研究提供前期基础。

[关键词] 自然杀伤细胞;肝癌;脐血;动物试验

Inhibitory effect of NK cells derived from cord blood on liver tumor growth

WU Bingyi^{1,2,3}, LI Juanhua⁴, LI Ye¹, ZHANG Lanlan², ZHU Wei⁵, CHEN Qiong^{2,3*}, LV Chengwei^{2,3*}

(1. Xiangxue Southern Precision Medicine Technology Co., Guangzhou, Guangdong, China, 510663; 2. Medical Research Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510515; 3. Precision Medicine Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510515; 4. Obstetrics and Gynecology Department, Zengcheng Branch of Nanfang Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510000; 5. Liver Disease Medical Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510515)

[ABSTRACT] **Objective** To culture the NK cells derived from cord blood and verify the safety and efficacy of NK cells in the treatment of liver cancer at cellular and animal levels. **Methods** NK cells were induced and cultured *in vitro*, and the cell morphology, total number of cells, and multiplication factor were observed during the culture process, and the proportion of CD3-CD56⁺ cells was detected by flow cytometry. The cytotoxicity assay was performed to verify the killing effect of NK cells on various cancer cells *in vitro*. A subcutaneous tumor-bearing model of liver cancer nude mice was established, and NK cells were injected intratumorally and intravenously. The size, volume, mass and survival status of the transplanted tumors in the experimental group and the control group were observed in different time periods. Tumor tissue was taken for K analysis 40 days after tumor bearing. The content of NK cells transplanted in nude mice on the 37th day was detected by flow analysis, HE staining and immunofluorescence, and the residual NK cells in nude mice were analyzed. **Results** The

基金项目:国家自然科学基金(81771340);横向课题(HXKY201809070203)

作者单位:1. 广州香雪南方精准医学科技有限公司,广东,广州 510663

2. 南方医科大学南方医院医学实验中心,广东,广州 510515

3. 南方医科大学南方医院精准医学中心,广东,广州 510515

4. 南方医院增城分院妇产科,广东,广州 510000

5. 南方医科大学南方医院肝病中心,广东,广州 510515

*通信作者:吕成伟, E-mail:lvwcw@126.com, 陈琼, E-mail:qooce77@hotmail.com

NK cells induced and cultured by umbilical cord blood isolated mononuclear cells can maintain the typical NK cell phenotype characteristics, with good cell activity, strong proliferation ability and high purity, and have a good killing effect on a variety of cancer cell lines. Compared with the control group, the NK cell injection group could inhibit the growth of liver tumor. After 35 days of NK cell transplantation, the tumor size in the tail vein injected group decreased significantly ($P < 0.05$). At the same time, there were no obvious residual NK cells in the body, which indicated that the transplantation of NK cells into mice had no tumorigenicity. **Conclusion** The cord blood NK cells prepared in this study meet the needs of clinical research and can be used as an alternative for clinical treatment of liver cancer patients, providing a preliminary basis for the next clinical research.

[KEY WORDS] Natural killer cell; Liver cancer; Umbilical cord blood; Animal trials

肝癌(Hepatocellular Carcinoma, HCC)是我国常见的恶性肿瘤之一,致死率高^[1]。对于晚期无法手术的HCC患者,一线药物如索拉菲尼、瑞戈非尼等小分子激酶抑制剂能一定程度提高患者总生存率,但不能有效抑制肝癌进展、改善整体预后^[2-3]。因此,亟需新的治疗手段提高肝癌患者的生存质量。免疫疗法的出现为此开辟了新路。

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK cell)作为机体的固有免疫,是抵御病毒感染和肿瘤细胞的第一道防线。NK细胞通过细胞毒效应可杀伤主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)低表达的肿瘤细胞^[4]。随着相关研究不断探索,其在治疗多种肿瘤疾病方面表现出良好的前景^[5],可作为肿瘤过继性免疫治疗的重要候选细胞^[6]。目前,用于临床研究的NK细胞主要来源于外周血、脐血、诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)等^[7-8]。研究表明,脐血中NK前体细胞含量高于成人外周血,且安全性高于iPSC来源^[9-10]。因此,本研究利用脐血来源NK细胞,在细胞和动物水平验证其用于肝癌治疗的安全性和有效性,为下一步开展NK细胞治疗肝癌的临床研究提供前瞻性研究基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与耗材

淋巴细胞无血清培养基 X-ViVo15(Lonza 公司, 04-418Q, 1L); NK 细胞刺激剂、淋巴细胞营养添加剂(HANK 公司, A2005001-5, 5 mL; PC200903, 1.5 mL); 0.9%氯化钠注射液(Baxter); 人淋巴细胞分离液(灏洋, HY2015L, 200 mL); 培养瓶(Thermo 公司); 细胞计数板(Invitrogen 公司); 台盼蓝染色液(Sigma 公司); 乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH) Assay kit(碧云天, C0016); DMEM 细胞培养基、1640 细胞培养基、

1×PBS(均来自 Gibco); 流式抗体 anti-human CD3 (BD Pharmingen 公司, 563219, 100test)、anti-human CD56(BD Pharmingen, 555518, 100test)。

1.2 实验仪器设备

生物安全柜(ECSO 公司, AC2-6S1)、CO₂ 培养箱(ESCO 公司, CLM-170B-8-NF); 细胞计数仪(Thermo 公司, Countess II)、离心机(Thermo 公司, ST40); 流式细胞仪(CYTEK 公司, NL3000); 低温保存箱 4℃~ -20℃(海尔, BCD-216WMPT); 倒置显微镜(Leica 公司, DMI 1)。

1.3 脐血来源

南方医科大学南方医院增城分院妇产科, 采集前取得产妇知情同意并签署《知情同意书》。采集 40 mL 脐血于 4℃ 保存运输, 并在采集后 12 h 内完成 UCBMC 分离。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.4 试验方法

1.4.1 NK 培养与扩增

将脐血按 600×g (离心半径 209 mm) 离心 15 min 后小心吸出血浆, 56℃ 水浴灭活 30 min; 以淋巴细胞分离液离心法 600×g 离心 15 min 收集白膜层(UCBMC), 并用生理盐水洗涤 2 次, 细胞计数。用 HANK 细胞培养液重悬细胞后, 加入细胞刺激剂于 T75 细胞瓶中混合培养(37℃, 5% CO₂), 21 天后收集细胞。培养期间补加细胞培养液, 并分别于第 5、8、14、21 天进行拍照和计数。

1.4.2 NK 细胞数量与纯度检测

以台盼蓝染色法计数活细胞及总细胞数。取第 14 天和 21 天细胞进行流式分析: 加入 500 μL 流式缓冲液洗涤, 500×g 离心(离心半径 209 mm) 5 min, 去上清, 加 50 μL 流式缓冲液重悬。样品管加 CD3 流式抗体 1.25 μL 和 CD56 流式抗体 5 μL (空白管不加染料), 4℃ 避光孵育 15 min; 染色后加 500 μL 流式缓冲液洗涤 1 次, 500×g 离心 5 min 后去

上清,加 300 μ L 流式缓冲液重悬细胞,上机检测。

1.4.3 NK 细胞杀伤活性

收集培养 21 天的 NK 细胞作为效应细胞;选取癌细胞系:鼻咽癌细胞 C666-1、肝癌细胞 HepG2、宫颈癌细胞 C33a 和 SHA、结肠癌细胞 Caco2 以及胃癌细胞 MNK45 作为靶细胞,调整浓度至 5×10^5 /mL;分别设置①阴性对照组:靶细胞;②阳性对照组:靶细胞,培养结束前 6 h 加入裂解液释放 LDH。③实验组:靶细胞+效应细胞,设置效靶比 2:1,5:1 和 10:1;每组 3 个复孔,置于 CO₂ 培养箱中培养 24 h。分别取每孔上清进行 LDH 活性检测。按以下公式计算:NK 细胞杀伤活性(%)=[(实验组 LDH 值-阴性对照孔 LDH 值)/(阳性对照孔 LDH 值-阴性对照孔 LDH 值)] $\times$ 100%。

1.4.4 NK 细胞治疗 HCC

取 20 只 SPF 级 M-NSG 小鼠(17~20 g)(购于南方模式小鼠,许可证号:SCXK(沪)2017-0010),饲养一周以适应新环境,并随机分成 4 组。包括 NK 静注治疗组和静脉注射对照组:尾静脉注射 2.0×10^7 个 NK 细胞或同体积生理盐水;NK 瘤内治疗组以及瘤内注射对照组:瘤内注射 5.0×10^6 个 NK 细胞或同体积生理盐水。分别于第 5、10、15、20、25、30、35 天检测肿瘤体积大小。第 40 天取肿瘤组织称重并拍照。

1.4.5 小鼠眼眶外周血流式分析

分别取小鼠尾静脉对照组、NK 静注治疗组第 37 天眼眶外周血,加入 1 mL 1 $\times$ 红细胞裂解液,至红细胞裂解充分,加入流式抗体孵育液,室温避光孵育 20 min,1 $\times$ PBS 洗涤,并重悬后上机检测。

1.4.6 免疫组化分析组织标本中 NK 细胞标志蛋白 CD56 的表达量

取 NK 静注治疗组和对照组第 40 天的小鼠肿瘤、心、脑、肝组织,经甲醛固定 48 h 后,组织脱水、石蜡包埋并切片。切片经脱蜡后进行抗原修复,并封闭 15 min,1 $\times$ PBS 浸洗后加 anti-mouse CD56 一抗稀释液,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,1 $\times$ PBS 代替一抗作阴性对照;加辣根过氧化物酶标记的二抗稀释液(1:100 稀释)并室温避光孵育 45 min,1 $\times$ PBS 浸洗,DAB 显色剂显色,苏木素染色后分化,返蓝,脱水、透明、封片、镜检。

1.5 统计学分析

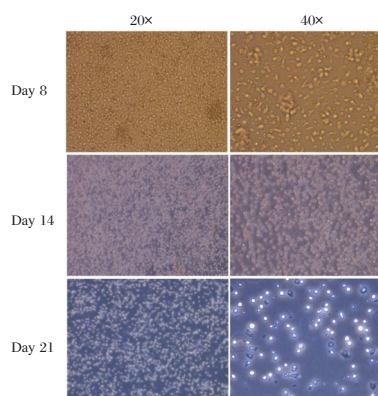
采用 GraphPad Prism 8.0 软件作图和 SPSS 20.0 软件统计进行数据分析;以 Shapiro-Wilk 法检

验统计资料的正态性,符合正态分布与方差齐性的资料采用独立样本 *t* 检验,不符合正态分布与方差齐性的采用非参数 Mann-Whitney U 检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NK 细胞形态

本研究培养中的 NK 细胞形态表现为悬浮生长,密集形态为成簇成团,单个细胞为圆形细胞悬浮形态。见图 1。



注:左图镜倍数为 20 $\times$;右图镜倍数为 40 $\times$ 。

图 1 NK 细胞培养过程在倒置显微镜下观察细胞形态

Figure 1 NK cellular morphology during the cell culture

2.2 NK 细胞的增殖与纯度检测

UCBMCs 接种量为 0.25×10^8 ,培养前 5 天 NK 细胞生长较慢。之后细胞增殖速度加快,培养至 21 天时,细胞数量达 13.78×10^8 。见图 2。第 14 和 21 天细胞流式分析,结果显示 CD3⁺CD56⁺细胞比例达 95% 以上。见图 3。

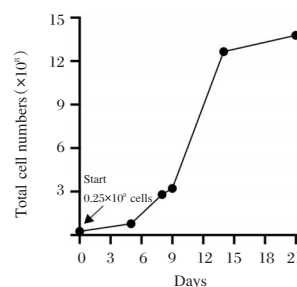


图 2 NK 细胞诱导培养增殖曲线

Figure 2 Proliferation curve of NK cells inducing culture

2.3 NK 细胞对肿瘤细胞杀伤活性

NK 细胞对癌细胞株杀伤效果均呈现浓度依赖性,对癌细胞的杀伤活性依次为 HepG2>SHA>Caco2>C33a>C666-1>MNK45。见图 4。

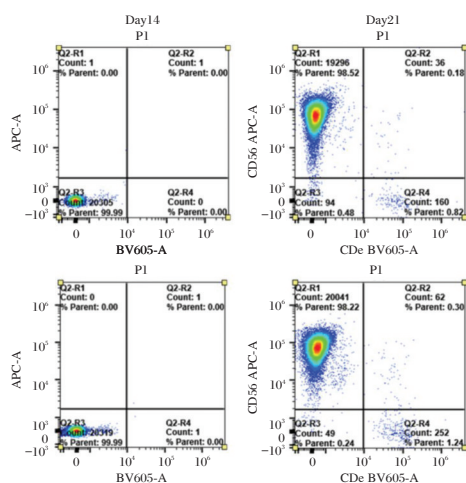
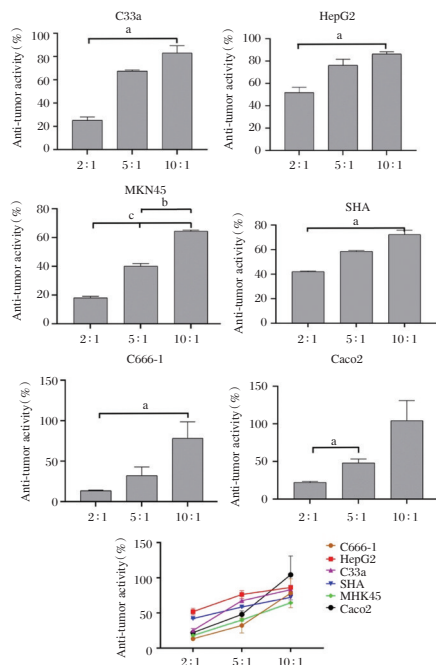


图3 NK细胞纯度与流式分析

Figure 3 The purity of NK cells was identified by flow cytometry



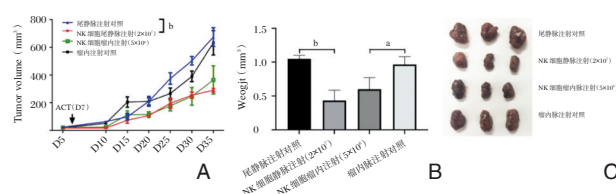
注: ^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$; ^c $P<0.001$ 。

图4 NK细胞对多种癌细胞株的杀伤活性(%)

Figure 4 Killing activity of NK cells to different cancer cells (%)

2.4 NK细胞对肿瘤组织生长的影响

尾静脉/瘤内注射NK细胞组的小鼠体积大小Day15内与对照组无明显差别;之后,NK治疗组与对照组相比,肿瘤体积呈下降趋势。NK细胞治疗35天后,尾静脉组肿瘤大小显著下降($P<0.01$)。见图5A。与对照组相比,Day40NK注射组肿瘤组织重量与大小均显著下降($P<0.05$, $P<0.01$)。见图5B、5C。



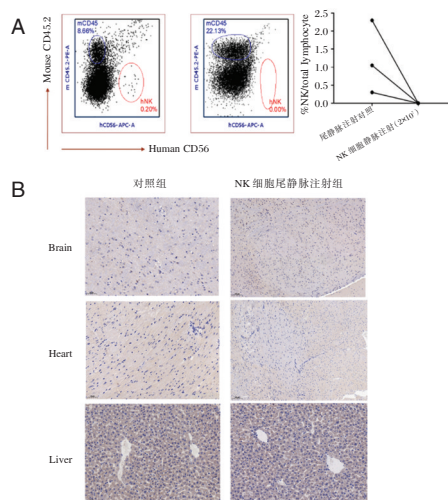
注:A为不同时间段肿瘤体积大小;B、C为Day40各组肿瘤重量与大小;^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$ 。

图5 NK细胞对肝肿瘤的抑制作用

Figure 5 Inhibiting effect of NK cells to hepatoma

2.5 NK细胞静脉移植安全性

检测结果显示,尾静脉对照组和NK静注治疗组小鼠第37天外周血以及各组织中无人源NK细胞残留。见图6。



注:A为流式分析小鼠外周血中NK细胞的残留;B为免疫组化HE染色分析小鼠各组织NK细胞的残留(10×)。

图6 NK细胞移植体内残留情况分析

Figure 6 Analysis of the residual NK cells transplanting in vivo

3 讨论

NK细胞在肝脏中高度富集,占肝内淋巴细胞的30%~50%,比外周血中占比高出2~5倍^[11]。同时,肝脏中NK细胞毒性和产生细胞因子的能力均高于外周血NK细胞,推测其在肝脏免疫监测中发挥重要功能^[12]。而肝癌患者外周血和肿瘤浸润部位NK细胞的数量明显减少,且NK细胞功能严重受损,患者经治疗后NK细胞活性可得到恢复^[13]。由此推测NK细胞在肝癌患者免疫防御中起着重要的作用,肝癌细胞可能是NK细胞免疫治疗的重要靶标。本研究通过肝癌裸鼠模型证明了异种移植NK细胞对肝肿瘤具有显著杀伤作用。进一步的研

究表明移植NK细胞在小鼠体内参与正常代谢,不具有成瘤性,说明NK细胞移植的安全性。

研究表明NK细胞的抗肿瘤作用机制主要包括①被激活的细胞释放受体与肿瘤细胞表面的抗体相结合发挥细胞毒性作用,通过释放穿孔素和颗粒酶或通过死亡受体直接杀死癌细胞^[14];②分泌细胞因子和趋化因子,如GM-CSF, IL10, IL2, CCL3, CCL4, CCL5, IFN- γ , TNF- α 等,调节免疫细胞间接杀死病变细胞^[15]。NK细胞具有非MHC限制的广谱抗肿瘤作用,对几乎所有常见类型的癌细胞都有杀伤作用^[6]。本研究结果表明,UCBMC经诱导扩增激活的NK细胞对鼻咽癌、肝癌、宫颈癌,结肠癌以及胃癌细胞均具有杀伤作用,证实了脐血源NK细胞的广谱抗肿瘤作用。

已有临床研究证实了同种异体NK细胞治疗肝癌有很好的安全性和有效性,患者临床安全性良好、短期生活质量得到提高、临床症状得到改善^[16-17]。上述结果均与本研究动物实验结果吻合,说明NK细胞在肝癌治疗中具有一定的临床应用价值。但本研究选用脐血来源NK细胞,其优势在于NK细胞培养体系稳定,扩增得到的NK细胞增殖倍数、纯度均符合行业的临床应用标准,批间差异小于外周血来源扩增的NK细胞(数据未在本研究显示)。因此,本研究体外扩增制备的脐血来源NK细胞有望成为治疗肝癌的有效手段,为下一步开展临床研究提供前期研究基础。尽管如此,随着NK细胞在体内的耗竭与功能下降,其抗肝癌治疗效果随着肿瘤进展可能非常有限^[18]。因此,采用抗肝癌药物联合NK细胞治疗的方案显得十分必要。本研究下一步将评估肝癌一线药物联合NK细胞的治疗有效性与安全性,为推动肝癌治疗提供研究数据。

综上所述,本研究建立了从脐血分离单个核细胞、诱导扩增培养NK细胞的稳定实验技术,并通过多种肿瘤细胞的杀伤试验证明所培养的NK细胞杀伤作用良好。进一步的肝癌动物模型实验结果表明本研究制备的脐血NK细胞在动物水平用于肝癌治疗的有效性和安全性良好。

参考文献

- [1] 安澜, 曾红梅, 郑荣寿, 等. 2015年中国肝癌流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(10): 721-727.
- [2] Bruix J, Qin S, Merle P, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. Lancet, 2017, 389(10064): 56-66.
- [3] Kudo M, Finn R S, Qin S, et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial [J]. Lancet, 2018, 391(10126): 1163-1173.
- [4] Geiger TL, Sun J C. Development and maturation of natural killer cells[J]. Curr Opin Immunol, 2016, 39: 82-89.
- [5] Ljunggren HG, Malmberg KJ. Prospects for the use of NK cells in immunotherapy of human cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7(5): 329-339.
- [6] Shimasaki N, Jain A, Campana D. NK cells for cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Drug Discov, 2020, 19(3): 200-218.
- [7] Liu E, Marin D, Banerjee P, et al. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors[J]. N Engl J Med, 2020, 382(6): 545-553.
- [8] Fang F, Xie S, Chen M, et al. Advances in NK cell production[J]. Cell Mol Immunol, 2022, 19(4): 460-481.
- [9] Sarvaria A, Jawdat D, Madrigal JA, et al. Umbilical Cord Blood Natural Killer Cells, Their Characteristics, and Potential Clinical Applications[J]. Front Immunol, 2017, 8: 329.
- [10] Perez SA, Sotiropoulou PA, Gkika DG, et al. A novel myeloid-like NK cell progenitor in human umbilical cord blood [J]. Blood, 2003, 101(9): 3444-3450.
- [11] Mikulak J, Bruni E, Oriolo F, et al. Hepatic Natural Killer Cells: Organ-Specific Sentinels of Liver Immune Homeostasis and Physiopathology[J]. Front Immunol, 2019, 10: 946.
- [12] Hu W, Wang G, Huang D, et al. Cancer Immunotherapy Based on Natural Killer Cells: Current Progress and New Opportunities[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1205.
- [13] Zecca A, Barili V, Rizzo D, et al. Intratumor Regulatory Nontoxic NK Cells in Patients with Hepatocellular Carcinoma[J]. Cells, 2021, 10(3): 614.
- [14] Valero-Pacheco N, Beaulieu A M. Transcriptional Regulation of Mouse Tissue-Resident Natural Killer Cell Development [J]. Front Immunol, 2020, 11: 309.
- [15] Crinier A, Narni-Mancinelli E, Ugolini S, et al. SnapShot: Natural Killer Cells[J]. Cell, 2020, 180(6): 1280-1280.e1.
- [16] 李莉, 周丰, 王晓今, 等. NK细胞治疗肝脏恶性肿瘤疗效评价的安全性及有效性[J]. 肝脏, 2020, 25(10): 1005-1061.
- [17] 谢云波, 张纪元, 杜美玲, 等. 原发性肝癌患者同种异体NK细胞治疗后疗效评价及外周淋巴细胞亚群变化特点[J]. 北京大学学报, 2019, 51(3): 591-595.
- [18] Sun C, Sun H, Xiao W, et al. Natural killer cell dysfunction in hepatocellular carcinoma and NK cell-based immunotherapy [J]. Acta Pharmacol Sin, 2015, 36(10): 1191-1199.

• 论 著 •

模式化单操作孔胸腔镜行肺癌根治术的临床疗效观察

赵金栋* 胡春玲 班跃松

【摘要】目的 探讨模式化单操作孔胸腔镜行肺癌根治术的临床疗效。**方法** 选取黄骅市人民医院收治的肺癌患者120例,随机分为研究组和对照组各60例,研究组予以模式化单操作孔VATS治疗,对照组予以三孔VATS治疗。比较两组患者手术相关指标,包括手术时间、术中出血量、淋巴结清扫数目、拔除引流管时间、下床活动时间和住院时间,视觉模拟评分(VAS);血清指标如基质金属蛋白酶9(MMP-9)、癌胚抗原(CEA)、淀粉样蛋白A(SAA)、肺癌治疗功能评价量表(FACT-L)评分以及手术后并发症发生情况。**结果** 研究组术中出血量、拔除引流管时间、下床活动时间和住院时间均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),两组手术时间和淋巴结清扫数目比较差异无统计学意义($t=1.085, 1.308, P>0.05$);两组术后第3d VAS评分低于术后第1d,且研究组术后第3d VAS评分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);手术后,两组MMP-9、CEA和SAA水平低于术前,且研究组MMP-9、CEA和SAA水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);手术后,两组FACT-L各维度评分和总分均高于术前,且研究组FACT-L各维度评分和总分均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);手术后,对照组中有8例患者出现并发症,总发生率为13.33%,研究组有5例患者出现并发症,总发生率为8.33%,两组并发症总发生率差异无统计学意义($\chi^2=0.776, P>0.05$)。**结论** 模式化单操作孔VATS可以降低手术创伤和术后疼痛,促进恢复,抑制炎症反应,降低肿瘤标志物水平,改善生活质量,安全性好。

【关键词】 模式化单操作孔;胸腔镜;肺癌根治术;近期疗效

Clinical curative effect of radical resection of lung cancer under modular single-port VATS

ZHAO Jindong*, HU Chunling, BAN Yuesong

(The Second Department of Surgery, Huanghua People's Hospital, Huanghua, Hebei, China, 061100)

【ABSTRACT】 Objective To explore the clinical curative effect of radical resection of lung cancer under modular single-port video-assisted thoracoscopic surgery (VATS). **Methods** A total of 120 patients with lung cancer admitted Huanghua People's Hospital were enrolled and randomly divided into the study group and the control group, 60 cases in each group. The study group was treated with modular single-port VATS, while control group was treated with three-port VATS. The surgery-related indexes (operating time, intraoperative blood loss, number of lymph node dissection, extubation time of drainage tube, leaving bedtime, hospitalization time), scores of visual analogue scale (VAS), serum indexes such as matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), carcinoembryonic antigen (CEA), serum amyloid A (SAA), scores of functional assessment of cancer therapy-lung cancer (FACT-L) and occurrence of postoperative complications were compared between the two groups. **Results** The intraoperative blood loss, extubation time of drainage tube, leaving bedtime and hospitalization time in the study group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The difference in operation time and number of lymph node dissection between the two groups was not statistically significant ($t=1.085, 1.308, P>0.05$). The

基金项目:沧州市重点研发计划指导项目(192106027)

作者单位:黄骅市人民医院外二科,河北,黄骅061100

*通信作者:赵金栋, E-mail: zhaojindong2021@163.com

VAS score on the 3rd postoperative day in the two groups was lower than that on the 1st postoperative day, and the VAS score on the 3rd postoperative day in the study group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After surgery, the scores and total scores of FACT-L in both groups were increased, which were higher in the study group than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). After surgery, 8 patients in the control group developed complications, with a total incidence of 13.33%, while 5 patients in the study group developed complications, with a total incidence of 8.33%. There was no significant difference in the total incidence of complications between the two groups ($\chi^2=0.776$, $P>0.05$). **Conclusion** Modular single - port VATS can reduce surgical trauma and postoperative pain, promote recovery, inhibit inflammation response, reduce levels of tumor markers, and improve quality of life in patients, with good safety.

[KEY WORDS] Modular single - port operation; Thoracoscopy; Radical resection of lung cancer; Short-term curative effect

伴随工业技术的进步,环境问题日趋严重,肺癌作为呼吸道的恶性肿瘤,其发病率位列第一,严重威胁国民健康^[1]。肺癌的治疗以手术治疗方式为主,自2006年电视胸腔镜手术(video-assisted thoracoscopic surgery, VATS)成为治疗肺癌的标准术式,胸腔镜技术蓬勃发展,由传统的多孔最终演变为现在的单操作孔^[2]。单操作孔手术不需要辅助操作孔,一个操作孔就可以完成手术,可以有效减轻手术创伤,更加符合微创理念^[3]。本研究以120例肺癌患者为研究对象,探讨模式化单操作孔VATS的近期疗效,旨在为临床治疗肺癌提供更多思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年3月至2021年4月在黄骅市人民医院就诊的肺癌患者120例,随机分为研究组60例和对照组60例。纳入标准:①经病理确诊为非小细胞癌;②年龄大于18周岁。排除标准:①合并其他恶性肿瘤和呼吸道疾病;②合并心肝肾功能障碍、免疫缺陷和血液系统疾病;③精神类疾病;④既往胸部手术史。其中,研究组男34例,女26例;平均年龄(56.29 ± 8.37)岁;病理类型:腺癌46例,鳞癌12例,未分型2例;TNM分期^[4]:Ⅰ期35例,Ⅱ期19例,Ⅲ期6例。对照组男32例,女28例;平均年龄(56.42 ± 8.25)岁;病理类型:腺癌42例,鳞癌13例,未分型5例;TNM分期:Ⅰ期34例,Ⅱ期22例,Ⅲ期4例。两组患者的基础资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》要求,所有患者或者家属知情并签署知情同意书。

1.2 方法

两组患者入院后均行相关辅助性检查,确认是否存在胸膜近处或远处转移、胸腔粘连、肺门纵隔淋巴结肿大等实际情况。研究组予以模式化单操作孔VATS治疗:于腋后线第7、8肋间,切开皮肤,长约1.5 cm的切口为观察孔;于腋前线第4肋间作3~4 cm的切口为操作孔。术中,右肺清扫2~9组淋巴结,左肺清扫5~9组淋巴结,并放置引流管。对照组予以三孔VATS治疗:和模式化单操作孔VATS相比,多了副操作孔,位于腋后线第8肋间,切口约1.0 cm,其他操作相同。主刀经主操作孔进行手术,助手从旁协助,器械经副操作孔伸入,术后放置引流管。

1.3 观察指标

①比较两组患者的手术相关指标(手术时间、术中出血量、淋巴结清扫数目、拔除引流管时间、下床活动时间和住院时间)。②于术后第1天和第3天使用视觉模拟评分^[5](Visual analogue scale, VAS)评估两组患者的疼痛程度,评分范围1~10分,分数越高,表示疼痛越剧烈。③于术前和术后3个月采集患者的空腹静脉血,分离血清,使用人基质金属蛋白酶9(MMP-9)ELISA试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,规格48T,批号190217)测定基质金属蛋白酶9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)水平,使用人癌胚抗原(CEA/CD66)ELISA试剂盒(卡迈舒(上海)生物科技有限公司,规格48T,批号20190104)测定癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)水平,使用全自动生化分析仪(雅培公司,型号C16000)测定淀粉样蛋白A(serum amyloid protein A, SAA)水平。④于术前和术后3个月使用肺癌治疗功能评价量表^[6]

(functional assessment of cancer therapy - lung cancer, FACT-L)评估患者的生活质量,改量表包括功能状态、心理状态和情感状态等5个维度,共36个条目,每个条目评分1~4分,分数越高,生活质量越好。⑤记录术后3个月内两组患者的并发症发生情况。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较进行 t 检验;计数资料

以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;等级资料采用秩和 U 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组手术相关指标比较

研究组术中出血量、拔除引流管时间、下床活动时间和住院时间均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),两组手术时间和淋巴结清扫数目比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 两组手术相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of surgical related indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	手术时间(min)	术中出血量(mL)	淋巴结清扫数目(枚)	拔除引流管时间(d)	下床活动时间(d)	住院时间(d)
对照组	60	154.72±12.54	212.76±30.71	11.58±1.39	6.54±0.71	3.84±0.65	9.74±2.43
研究组	60	157.18±12.29	165.52±22.15	11.27±1.20	5.12±0.84	2.58±0.31	8.56±1.24
t 值		1.085	9.664	1.308	10.001	13.553	3.350
P 值		0.280	<0.001	0.194	<0.001	<0.001	0.001

2.2 两组VAS评分比较

两组术后第3天VAS评分低于术后第1天,且研究组术后第3天VAS评分低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组VAS评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of VAS scores between the two groups

[($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	术后第1天(分)	术后第3天(分)	t 值	P 值
对照组	60	6.69±1.18	4.32±0.78	12.978	<0.001
研究组	60	5.30±1.27	3.16±0.35	12.583	<0.001
t 值		6.211	10.510		
P 值		<0.001	<0.001		

2.3 两组血清指标比较

手术后,两组MMP-9、CEA和SAA水平低于手术前,且研究组MMP-9、CEA和SAA水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组FACT-L评分比较

手术后,两组FACT-L各维度评分和总分均高于手术前,且研究组FACT-L各维度评分和总分均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 两组并发症发生情况比较

手术后,对照组中有8例患者出现并发症,总

表3 两组血清指标比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	MMP-9($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)				CEA($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)				SAA($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)			
		术前	术后	t 值	P 值	术前	术后	t 值	P 值	术前	术后	t 值	P 值
对照组	60	322.42±36.42	278.66±44.14	5.923	<0.001	13.21±3.48	8.71±1.67	9.030	<0.001	332.53±22.42	93.12±8.37	77.491	<0.001
研究组	60	325.27±29.45	213.17±27.23	7.771	<0.001	13.29±3.14	6.85±1.32	13.324	<0.001	333.16±21.48	54.57±5.13	89.007	<0.001
t 值		0.471	9.781			0.132	6.768			0.157	30.417		
P 值		0.638	<0.001			0.859	<0.001			0.875	<0.001		

表4 两组FACT-L评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of FACT-L scores between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组		t 值	P 值	研究组		t 值	P 值
	手术前	手术后			手术前	手术后		
心理状态(分)	16.49±4.16	18.18±4.17	2.222	0.029	16.54±4.31	20.02±3.72 ^a	4.735	<0.001
情感状态(分)	14.38±3.75	15.73±3.37	2.074	<0.040	14.21±3.65	16.98±3.21 ^a	4.414	<0.001
社会/家庭状态(分)	14.85±4.52	16.59±4.35	2.149	<0.034	14.96±4.45	18.76±4.68 ^a	4.558	<0.001
功能状态(分)	17.22±4.78	19.04±4.51	2.145	<0.034	17.28±4.73	21.57±5.45 ^a	4.605	<0.001
肺癌相关症状(分)	21.47±5.25	25.24±4.51	4.219	<0.001	21.39±5.31	28.48±5.45 ^a	7.218	<0.001
总分(分)	84.41±20.54	94.48±16.49	2.961	<0.001	84.38±21.61	105.81±17.14 ^a	6.019	<0.001

注:与对照组手术后比较,^a $P < 0.05$ 。

发生率为13.33%;研究组有5例患者出现并发症,总发生率为8.33%;两组并发症总发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.776, P>0.05$)。见表5。

表5 两组并发症发生情况比较 [n(%)]
Table 5 Comparison of complications between the two groups [n(%)]

组别	二次开胸止血	刀口感染	肺不张	气胸	总发生率
对照组	3(5.00)	1(1.67)	2(3.33)	2(3.33)	8(13.33)
研究组	1(1.67)	1(1.67)	1(1.67)	2(3.33)	5(8.33)
χ^2 值					0.776
P值					0.378

3 讨论

手术创伤会抑制免疫功能,增加肿瘤复发的几率^[7]。传统的VATS手术需要3个切口,呈三角形分布,切口过多容易导致肋间神经受损,影响预后^[8-9]。2004年Rocco等^[10]首次使用单操作孔VATS完成肺楔形切除手术,发现可以降低术后疼痛和住院时间。2011年学者^[11]首次报道将系统淋巴结清扫和单操作孔VATS肺叶切除结合完成手术。自此之后,全世界的胸外科专家陆续完成模式化单操作孔VATS操作(系统淋巴结清扫和单操作孔VATS肺叶切除)。本研究结果显示,研究组术中出血量、拔除引流管时间、下床活动时间和住院时间以及术后第1天、第3天VAS评分均低于对照组,提示模式化单操作孔VATS可以降低手术创伤和术后疼痛,促进恢复,与既往研究^[12]结论一致。传统的三孔VATS从供血丰富的肌肉层入路,出血后较难止血。并且其受后肋间隙限制,为了获得清晰视野,副操作孔操作角度过大可能导致肋间神经和血管损伤。模式化单操作孔VATS从前侧入路,肌肉层较少,不会造成更大损伤,有利于降低术后疼痛,而且可以避免因手术创伤引起渗液和渗血,缩短了引流管留置时间。前侧较背侧肋间隙更宽,方便手术操作,可以避免传统手术造成的肋间神经损伤,使患者恢复更快。

手术创伤会诱发炎症因子的表达,引起机体炎症反应,而SAA是来源于肝脏的蛋白质,灵敏性较高,可以用来检测机体的炎症反应^[13]。CEA是与肿瘤浸润和转移相关的酸性蛋白,当癌细胞恶化时,在细胞质中大量表达^[14]。MMP-9可以辅助肿瘤细胞突破组织屏障,促进肿瘤细胞侵袭和转移^[15]。结果显示,术后研究组MMP-9、CEA和SAA水平低于对照组,提示模式化单操作孔VATS

可以抑制炎症反应,降低肿瘤标志物水平。许建宁等^[16]研究发现,相比传统手术,单操作孔VATS由于手术创伤更小,降低了对机体的刺激,因而术后SAA水平更低,本研究结果与其相同。模式化单操作孔VATS将胸腔镜观察孔从腋中线移到腋后线,在手术操作时放置切割缝合器处理血管,加快术后切口愈合,避免肿瘤细胞的增殖和转移,从而抑制MMP-9和CEA水平的表达。与术后对照组相比,研究组FACT-L各维度评分和总分更高,提示模式化单操作孔VATS可以提高患者的生活质量,与顾家榕等^[17]研究结论相符。模式化单操作孔VATS手术操作均在操作孔进行,避免再作一副孔对周围肌肉和神经造成更大伤害,而且术后缝合更为方便和美观,因此更易让患者满意,从而改善生活质量,提高预后。术后两组的并发症发生情况无明显差异,且处于较低水平,提示模式化单操作孔VATS安全性好。

综上所述,模式化单操作孔VATS可以降低手术创伤和术后疼痛,促进恢复,抑制炎症反应,降低肿瘤标志物水平,改善生活质量,安全性好。

参考文献

- [1] 王智园, 杨曼, 刘士岳, 等. GOLPH3在肺癌组织中的表达及其对肺癌细胞侵袭和迁移的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(9):1402-1405+1409.
- [2] 李开敏, 吴洪财, 田洪森. 常规开胸手术与电视胸腔镜手术治疗肺癌的临床效果研究[J]. 中国临床实用医学, 2020, 11(2):41-44.
- [3] 任凤海, 王丹丹, 王俊峰, 等. 单孔与单操作孔电视辅助胸腔镜手术治疗 I A 期非小细胞肺癌的临床对比研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2016, 30(4):327-331.
- [4] Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. International Association for the Study of Lung Cancer Staging and Prognostic Factors Committee, Advisory Boards, and Participating Institutions; International Association for the Study of Lung Cancer Staging and Prognostic Factors Committee Advisory Boards and Participating Institutions. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer[J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(1):39-51.
- [5] 李畅, 马海涛, 何靖康, 等. 单操作孔肺叶切除术治疗周围型肺癌的临床研究[J]. 中国肺癌杂志, 2013, 16(9):487-491.
- [6] 江泷, 何健行. 重组改构人肿瘤坏死因子雾化吸入联合化疗治疗非小细胞肺癌的疗效研究[J]. 癌症进展, 2020, 18(14):1477-1481.

(下转第1497页)

• 论 著 •

肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平与临床病理特征及预后的关系

董子瑜* 汪超 施险峰

【摘要】目的 分析肺癌患者血清糖类抗原 724(CA724)、细胞角蛋白 19 片段(Cyfra21-1)及胃泌素释放肽前体(ProGRP)水平与临床病理特征及预后的关系。**方法** 选取 2015 年 1 月至 2017 年 5 月于安徽医科大学附属巢湖医院就诊的肺癌患者 104 例作为病例组,选取同期本院体检健康者 50 名作为对照组,对病例组随访 60 个月。采用电化学发光法检测两组血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平,分析血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平与肺癌患者临床病理特征的关系,并绘制生存曲线分析血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平与患者预后的关系。随访期间,以复发、转移与死亡为预后不良,分析肺癌患者预后不良影响因素。**结果** 病例组患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平均高于对照组,差异具有统计学意义($t=8.140、22.139、38.862, P<0.05$);TNM 分期为Ⅲ和Ⅳ期、有淋巴转移、有远处转移肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平均高于 TNM 分期为Ⅰ和Ⅱ期、无淋巴转移、无远处转移肺癌患者,差异具有统计学意义($t_{CA724}=5.695、8.078、6.572, t_{Cyfra21-1}=5.502、7.697、6.261, t_{ProGRP}=5.579、8.065、6.406, P<0.05$);低血清 CA724、Cyfra21-1 或 ProGRP 水平患者累积生存率高于高血清 CA724、Cyfra21-1 或 ProGRP 水平,差异具有统计学意义($\chi^2=9.838、7.916、6.890, P<0.05$);TNM 分期、淋巴结转移、血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平为肺癌患者预后不良的影响因素($P<0.05$)。**结论** 肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平均升高,高水平的 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 与分期、转移及不良预后有关,或可作为肺癌患者预后评价的血清生物学指标。

【关键词】 肺癌; CA724; Cyfra21-1; ProGRP

Correlation of serum CA724, Cyfra21-1 and ProGRP levels with clinicopathological features and prognosis in patients with lung cancer

DONG Ziyu*, WANG Chao, SHI Xianfeng

(Department of Oncology, Chaohu Hospital, Anhui Medical University, Chaohu, Anhui, China, 238000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the association between serum levels of carbohydrate antigen 724 (CA724), cytokeratin 19 fragment (Cyfra21-1), and gastrin releasing peptide precursor (ProGRP) and clinicopathological characteristics and prognosis of patients with lung cancer. **Methods** A total of 104 lung cancer patients who visited the Affiliated Chaohu Hospital of Anhui Medical University from January 2015 to May 2017 were selected as the case group, and 50 healthy individuals who underwent physical examination in the same period in the hospital were selected as the control group, and the case group was followed up for 60 months. Serum CA724, CYFRA21-1 and ProGRP levels were measured by electrochemiluminescence assay in the two groups, the relationship between the serum CA724, CYFRA21-1 and ProGRP levels and the clinicopathological characteristics of lung cancer patients were analyzed. A survival curve was drawn to analyze the association between the serum CA724, CYFRA21-1 and ProGRP levels and the prognosis of patients. During the follow-up period, recurrence, metastasis and death were considered poor prognostic factors, and the poor

基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(1804h08020267)

作者单位:安徽医科大学附属巢湖医院肿瘤内科,安徽,巢湖 238000

通信作者:董子瑜, E-mail: dongziyu01010101@163.com

prognostic factors of lung cancer patients were analyzed. **Results** The levels of serum CA724, CYFRA21-1, and ProGRP in the case group were higher than those in the control group ($t=8.140, 22.139, 38.862, P<0.05$). The serum CA724, CYFRA21-1, and ProGRP levels were higher in lung cancer patients with TNM stages III and IV, with lymphatic metastasis, and with distant metastasis than in lung cancer patients with TNM stages I and II, without lymphatic metastasis, and without distant metastasis, respectively ($t_{CA724}=5.695, 8.078, 6.572, t_{Cyfra21-1}=5.502, 7.697, 6.261, t_{ProGRP}=5.579, 8.065, 6.406, P<0.05$). The cumulative survival rate of patients with low serum CA724, CYFRA21-1 or ProGRP levels was higher than that of patients with high serum CA724, CYFRA21-1 or ProGRP levels with statistically significant differences ($\chi^2=9.838, 7.916, 6.890, P<0.05$). TNM stage, lymph node metastasis, serum CA724, CYFRA21-1, ProGRP levels were the influencing factors of poor prognosis of lung cancer patients ($P<0.05$). **Conclusion** Serum levels of CA724, CYFRA21-1 and ProGRP were increased in lung cancer patients. High levels of CA724, CYFRA21-1 and ProGRP were associated with stage, metastasis, and poor prognosis, or could be used as serum biological indicators for prognosis evaluation of lung cancer patients.

[KEY WORDS] Lung cancer; CA724; Cyfra21-1; ProGRP

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,肺癌的发生缩短了患者生存时间,且有着较高的致残率及死亡率,据报道2018年-2020年间我国部分地区肺癌平均发生率为0.6%左右,而随着人口老龄化、城市化的发展,在二手烟、大气污染等因素影响,我国肺癌发病率及死亡率可将进一步上升^[1-2]。随着医学科技的发展,对肺癌治疗技术也不断提高,然而肺癌死亡率较高,其中5年生存率不高15%^[3]。因此,寻找肺癌预后评估的生物学标志物有助于临床的治疗及提高患者生存率。有研究表明,血清糖类抗原724(carbohydrate antigen, CA724)是恶性肿瘤诊断标志物,可能与癌症病理分期与预后有关^[4],细胞角蛋白19片段(Cytokeratin-19-fragment, Cyfra21-1)及胃泌素释放肽前体(progastrin releasing peptide, ProGRP)水平在不同病理分期存在差异,同时对癌症具有一定的诊断价值^[5]。然而对于上述指标与肺癌患者临床病理特征及预后的关系报道较少,因此本研究对104例肺癌患者的血清CA724、Cyfra21-1及ProGRP水平与患者临床病理特征及预后的关系进行分析,旨在为临床治疗、预后评估等提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年1月至2017年5月于安徽医科大学附属巢湖医院就诊的肺癌患者104例作为病例组,选取同期本院体检健康者50名作为对照组,对病例组随访60个月。病例组纳入标准:①经影像学及病理组织学检测^[6],均确诊为肺癌患者;②为

初次诊断的肺癌;③临床病理资料完整,并可配合全程随访;④所有患者或家属均签署知情同意书。排除标准:①入组前已接受过手术、放疗等治疗;②存在其他部位的原发性恶性肿瘤;③心脏、肝脏、肾脏等重要器官存在严重的功能障碍;④存在急慢性感染等。对照组均为健康体检者,无癌症的相关基表,均签署知情同意书。病例组:男52例,女52例,年龄平均(62.17 ± 4.42)岁,吸烟史58例;对照组:男27名,女23名,年龄平均(63.55 ± 4.12)岁,吸烟史29例。两组年龄、性别、吸烟史等一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

病例组患者在入组72 h内采集静脉血5 mL,对照组在体检当天进行采集,采用TG16-II台式高速离心机(湖南平凡科技有限公司),4℃下3 000 r/min(离心半径为10 cm)离心20 min,去上层血清,在-80℃低温下保存,48 h内完成检测。取出样本,于4℃下缓慢复融,采用电化学发光免疫法检测受试者血清CA724、Cyfra21-1及ProGRP水平,Eleesys-e601电化学发光仪(瑞士罗氏公司)及其配套试剂盒,操作严格按照试剂盒说明书步骤进行。

1.3 随访

对病例组患者从入组开始进行60个月的随访,截止时间为2022年4月,每3个月随访1次,随访方式由门诊复查、电话随访、上门面对面随访及微信等形式进行。以复发、转移、死亡作为随访终点事件。

1.4 统计学方法

本研究数据采用 SPSS 21.0 进行统计分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,比较用 χ^2 检验;Kaplan-Meier 生存曲线分析指标与预后关系,比较用 Log rank χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平比较

病例组患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平均高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum levels of CA724, CYFRA21-1 and ProGRP between the two groups($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CA724(ng/mL)	Cyfra21-1(ng/mL)	ProGRP(ng/mL)
病例组	104	6.43±3.50	9.25±2.38	69.24±5.34
对照组	50	2.29±1.16	1.67±0.61	33.31±5.44
<i>t</i> 值		8.140	22.139	38.862
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.2 不同临床病理特征肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平比较

TNM 分期为Ⅲ和Ⅳ期、有淋巴转移、有远处转移肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平均高于 TNM 分期为Ⅰ和Ⅱ期、无淋巴转移、无远处转移肺癌患者,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平肺癌患者 Kaplan-Meier 生存分析

以 104 例肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平均值(6.43 ng/mL、9.25 ng/mL、69.24 ng/mL)作为界限,其中 CA724≤6.43 ng/mL、Cyfra21-1≤9.25 ng/mL、ProGRP≤69.24 ng/mL 为低水平患者,累积无复发转移生存率显著高于 CA724>6.43 ng/mL、Cyfra21-1>9.25 ng/mL、ProGRP>69.24 ng/mL 高水平患者,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

2.4 肺癌患者预后影响因素 Cox 回归分析

肺癌患者预后不良(否=0,是=1, t =生存时间)

表 2 不同临床病理特征肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum levels of CA724, CYFRA21-1, ProGRP in lung cancer patients with different clinicopathological characteristics($\bar{x} \pm s$)

特征	<i>n</i>	CA724(ng/mL)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	Cyfra21-1(ng/mL)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	ProGRP(ng/mL)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别			1.348	0.181		1.271	0.207		1.459	0.148
男	52	6.89±3.27			9.54±2.26			70.00±5.10		
女	52	5.97±3.68			8.95±2.47			68.48±5.52		
年龄			0.522	0.603		0.427	0.671		0.378	0.706
≥60 岁	55	6.62±3.54			9.35±2.42			69.45±5.52		
<60 岁	49	6.26±3.48			9.15±2.35			69.05±5.22		
吸烟史			0.723	0.472		0.983	0.328		1.053	0.295
有	58	6.21±3.54			9.04±2.41			68.75±5.35		
无	46	6.71±3.46			9.50±2.32			69.86±5.32		
肿瘤直径			0.611	0.543		0.536	0.593		0.504	0.615
≥3 cm	52	6.64±3.81			9.37±2.63			69.50±5.88		
<3 cm	52	6.22±3.17			9.12±2.10			68.97±4.78		
病理类型			1.639	0.104		1.594	0.114		1.677	0.097
非细胞肺癌	57	5.92±3.57			8.91±2.41			68.45±5.42		
小细胞肺癌	47	7.04±3.34			9.65±2.29			70.20±5.14		
分化程度			0.231	0.818		0.341	0.734		0.161	0.873
低中分化	47	6.34±3.87			9.16±2.62			69.15±5.90		
高分化	57	6.50±3.19			9.32±2.17			69.32±4.88		
TNM 分期			5.695	0.000		5.502	0.000		5.579	0.000
Ⅰ、Ⅱ期	53	4.75±2.79			8.14±1.91			66.72±4.44		
Ⅲ、Ⅳ期	51	8.17±3.32			10.40±2.27			71.86±4.95		
淋巴转移			8.078	0.000		7.697	0.000		8.065	0.000
有	53	8.56±2.97			10.65±2.04			72.49±4.41		
无	51	4.21±2.49			7.79±1.73			65.86±3.95		
远处转移			6.572	0.000		6.261	0.000		6.406	0.000
有	49	8.47±2.87			10.59±1.96			72.31±4.34		
无	55	4.64±3.05			8.08±2.11			66.57±4.75		

表3 Kaplan-Meier 生存分析 [n(%)]

Table 3 Kaplan Meier survival analysis [n(%)]

指标水平	n	CA724	Cyfra21-1	ProGRP
低水平患者	49	37 (68.52)	34 (69.39)	35 (66.04)
高水平患者	51	20 (40.00)	23 (41.82)	22 (43.14)
χ^2 值		9.838	7.916	6.890
P 值		0.002	0.005	0.009

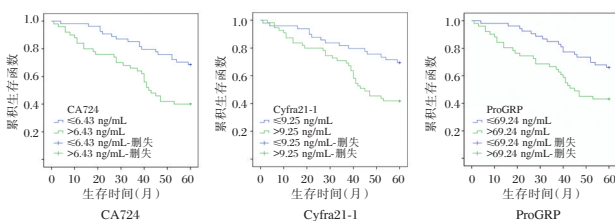


图1 Kaplan-Meier 生存分析

Figure 1 Kaplan Meier survival analysis

为因变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示,TNM 分期、淋巴结转移、血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平为肺癌患者预后不良的影响因素($P < 0.05$)。见表4。

表4 肺癌患者预后影响因素 Cox 回归分析

Table 4 prognostic factors in lung cancer patients Cox regression scores

自变量	β 值	S _e 值	Wald χ^2 值	HR 值	95% CI	P 值
TNM 分期	0.267	0.184	4.233	1.342	1.191~1.658	0.040
淋巴结转移	0.511	0.150	12.344	1.679	1.431~1.898	0.002
CA724	0.582	0.395	7.469	1.783	1.192~2.347	0.000
Cyfra21-1	0.230	0.411	5.746	1.574	1.241~3.529	0.000
ProGRP	0.729	0.144	4.359	2.314	1.478~3.397	0.021

3 讨论

肺癌在临床上的发病率及死亡率均居高不下,同时其发病率与死亡率在不断升高,已对人类的生命健康造成了严重的威胁^[7]。研究^[8]表明,肺癌患者无瘤生存期不足38个月,通过手术及辅助放、化疗治疗后,患者3年内生存率不足65%。目前,肺癌患者早期诊断手段主要依赖于细胞、组织病理学以及影像学等方式,然而由上述方法确诊肺癌时,肿瘤往往已经发生扩散或转移,失去了最佳治疗时机。细胞学、组织学的诊断特异性高,但灵敏性低,因此寻找特异性与灵敏度均较高的肿瘤标志物尤为重要。为识别肺癌患者病情进展情况、改善预后,需对肺癌患者临床特征以及预后相关机制进行识别,为临床治疗提供新的靶点,更准确对预后进行评估。基于此,本课题对患者血清

CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平进行分析,探讨上述指标与患者临床特征及预后的关系。

本研究中,对肺癌患者与健康体检者的血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平进行比较,肺癌患者的血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平显著升高。CA724 是属于糖类蛋白,近年来临床上常用的一种肿瘤标志物,主要用于胃肠道恶性肿瘤的早期诊断,是一种非特异性的肿瘤标志物。CA724 是一种细胞表面的高分子抗原,若细胞发生癌变,在血清中的含量则会急剧升高^[9]。Cyfra21-1 存在于单层或复层上皮肿瘤细胞介质中,是细胞角蛋白19的可溶性片段之一,细胞癌变时,Cyfra21-1 可被细胞角蛋白刺激,从而参与恶性肿瘤细胞的分化、增殖、浸润以及迁移的过程,因此患者血清水平升高^[10]。胃泌素释放肽(GRP)可刺激胃内G细胞,具有收缩平滑肌与促进细胞相互作用的效果。ProGRP 是 GRP 的前体,在人体内稳定、半衰期长,胃组织细胞分泌的一种激素类的肿瘤标志物,广泛分布在胃、肺神经内分泌组织中,肺细胞癌变 ProGRP 在血清中含量增加^[11]。

本研究对不同临床特征患者的血清 CA724、Cyfra21-1 及 ProGRP 水平进行比较和对不同 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平患者累积5年内生存率进行分析,结果显示,TNM 分期为Ⅲ和Ⅳ期、有淋巴转移、有远处转移肺癌患者血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平显著高于TNM 分期为Ⅰ和Ⅱ期、无淋巴转移、无远处转移肺癌患者,低 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平患者生存率均显著高于高水平患者。多因素 Cox 回归分析结果显示,TNM 分期、淋巴结转移、血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平为肺癌患者预后不良的影响因素。可见肺癌患者的血清 CA724、Cyfra21-1、ProGRP 水平可反映患者的临床分期、是否转移等,同时或可对患者预后具有一定的预测作用。谢兴凤等^[12]表明,CA724 在非细小细胞肺癌患者血清水平显示异常升高,其中在肝癌与结肠癌中可做分级诊断。Cyfra21-1 在癌细胞坏死脱落时,大量释放入血液中,在肺癌晚期患者中,Cyfra21-1 血清水平异常升高,诱导患者的免疫功能,使其下降,从而进一步使癌细胞增殖^[13]。肺癌细胞分泌与合成 ProGRP,同时通过旁分泌作用,刺激肿瘤的生长,参与了肿瘤细胞的转移与侵袭过程^[14-15]。

综上所述,肺癌患者血清CA724、Cyfra21-1及ProGRP水平均升高,而高水平的CA724、Cyfra21-1与ProGRP与患者的不良预后存在密切关联,因此血清CA724、Cyfra21-1、ProGRP水平或可作为患者病情发展与有的评估指标,并为肺癌患者的治疗提供新靶点。

参考文献

- [1] 李馥郁,田春艳,李淘淘.血清CEA、NSE、PTN水平检测诊断早期肺癌的应用价值[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(3):479-482.
- [2] 刘琳琳,姜春叶,陈佳燕.肺癌高危人群癌症防治核心知识认知情况调查[J].华南预防医学,2021,47(3):315-318.
- [3] 刘小甲,章文光,姚杰,等.CA724、CA153、PSA、HCG在肺癌患者病理类型诊断、临床分期及预后评估中的应用分析[J].临床肺科杂志,2020,25(9):1405-1410.
- [4] Zhang Y, Zhang M, Bai X, et al. Increased serum CA724 levels in patients suffering gout vs cancers[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019,162:177-186.
- [5] Li J, Chen Y, Wang X, et al. The value of combined detection of CEA, CYFRA21-1, SCC-Ag, and pro-GRP in the differential diagnosis of lung cancer[J]. Transl Cancer Res, 2021,10(4):1900-1906.
- [6] 中华人民共和国国家卫生委员会.原发性肺癌诊疗规范(2018年版)[J].肿瘤综合治疗电子杂志,2019,5(3):100-120.
- [7] 方黎,李伟.肺癌患者血清中CYFRA21-1、TIMP-1、ProGRP的表达水平及其与病理特征的关系[J].实用癌症杂志,2022,37(4):543-546+576.
- [8] Gao Y, Zhang H, Li Y, et al. Preoperative increased systemic immune-inflammation index predicts poor prognosis in patients with operable non-small cell lung cancer[J]. Clin Chim Acta, 2018,484:272-277.
- [9] 刘凤伟,王芳.血清CEA、CA724、CA242、CA19-9在肺癌患者中的水平变化与临床意义分析[J].现代医学与健康研究电子杂志,2021,5(5):23-25.
- [10] Xu F, Li Y, Fan L, et al. Preoperative SCC-Ag and thrombocytosis as predictive markers for pelvic lymphatic metastasis of squamous cervical cancer in early FIGO stage[J]. J Cancer, 2018,9(9):1660-1666.
- [11] 饶汕,李森.肺癌患者中血清NSE、ProGRP、SAA的表达及与临床病理特征的关系[J].检验医学与临床,2022,19(4):463-466.
- [12] 谢兴凤,张旭.肿瘤标志物CA724在肿瘤中的研究进展[J].检验医学与临床,2020,17(19):2896-2898.
- [13] 马丽娟,王蕴,李殿明.肺癌患者血清CEA、CYFRA21-1、ALP、ALB与KPS评分的相关性及诊断价值分析[J].检验医学与临床,2022,19(4):454-458.
- [14] 李华,王波,纪冬梅.血清ProGRP、HE4、CYFRA21-1在肺癌诊断中的应用及其与病理特征的关系[J].癌症进展,2016,14(12):1235-1238.
- [15] Nisman B, Nechushtan H, Biran H, et al. New ARCHITECT plasma pro-gastrin-releasing peptide assay for diagnosing and monitoring small-cell lung cancer[J]. Br J Cancer, 2016,114(4):469-476.
- [7] 孙静,黄涛.探讨不同胸腔镜手术切除方式治疗肺部小结节的临床疗效比较[J].中南医学科学杂志,2020,48(2):131-133.
- [8] 王希文,赵俊刚.单孔胸腔镜肺癌根治术与传统三孔手术的对比分析[J].重庆医学,2016,45(28):3959-3961.
- [9] 杨彦龙,蓝斌,李锐雄.快速康复外科技在胸腔镜肺癌手术中的应用及疗效[J].中华生物医学工程杂志,2016,22(2):154-157.
- [10] 胡晓星,李辉.单孔胸腔镜肺手术的扶镜体会与思考[J].中国胸心血管外科临床杂志,2018,25(12):1096-1099.
- [11] 章卫国,谷电雷,方新.单孔、单操作孔电视辅助胸腔镜手术治疗早期非小细胞肺癌临床效果比较[J].生物医学工程与临床,2017,28(4):390-394.
- [12] 汪强,庞奇,宋超,等.单操作孔电视胸腔镜治疗非小细胞肺癌的临床应用价值[J].安徽医学,2019,40(8):930-932.
- [13] 李晓亮,谢晓阳,杨彦辉,等.全胸腔镜与后外侧开胸手术对非小细胞肺癌患者创伤指标,免疫功能及生活质量的影响[J].临床肺科杂志,2017,22(7):1189-1192.
- [14] 段铮,周庆伟,孙宏新.化痰散结方对晚期非小细胞肺癌患者CEA、CYFRA21-1, miR及MMP表达的影响[J].辽宁中医杂志,2020,47(1):95-98.
- [15] 冯高华,刘美秀.扶正抗癌方辅助化疗对晚期非小细胞肺癌患者血清CEA、bFGF及MMP-9的影响[J].中国肿瘤临床与康复,2018,25(8):904-907.
- [16] 许建宁,刘国锋.全胸腔镜术式与开胸肺叶切除术对早期NSCLC患者围手术期的影响[J].实用肿瘤杂志,2017,32(6):511-514.
- [17] 顾家榕,李梁.单操作孔与三孔胸腔镜肺癌根治术对减轻肺癌患者术后疼痛及改善短期生活质量的效果研究[J].西北国防医学杂志,2017,38(9):595-598.

(上接第1492页)

鼻咽癌患者血清 IFN- γ 、PTX3 及 EGF 水平对放疗效果的预测价值

程建刚^{1*} 袁炜² 谷贺³

〔摘要〕 目的 探讨鼻咽癌患者血清干扰素- γ (IFN- γ)、血清穿透素 3(PTX3)、表皮生长因子(EGF)水平对放疗效果的预测价值。方法 选取 2015 年 3 月至 2018 年 7 月于石家庄平安医院就诊的 112 例鼻咽癌患者作为研究对象(NPC 组),选取同期 112 名健康体检者作为对照组,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测两组血清中的 IFN- γ 、PTX3、EGF 水平。根据实体瘤的疗效评价标准将 NPC 患者分为有效组和无效组,比较两组血清中的 IFN- γ 、PTX3、EGF 水平。根据随访结果将 NPC 组分为生存组和死亡组,比较两组血清中的 IFN- γ 、PTX3、EGF 水平。分析 IFN- γ 、PTX3、EGF 对放疗效果的评价及诊断预后的预测价值。结果 NPC 组 IFN- γ 水平显著低于对照组,PTX3 和 EGF 水平显著高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。放疗后有效组 IFN- γ 水平显著高于无效组,PTX3 和 EGF 水平显著低于无效组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。放疗后生存组 IFN- γ 水平显著高于死亡组,PTX3 和 EGF 水平显著低于死亡组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。根据 AUC 选取 IFN- γ 、PTX3 和 EGF 的最佳诊断截点,ROC 曲线分析显示,IFN- γ 、PTX3、EGF 联合预测的 AUC 为 0.936,高于三者单独检测($P<0.05$)。结论 鼻咽癌患者中血清 IFN- γ 表达降低,PTX3 和 EGF 表达升高,三指标对鼻咽癌患者放疗效果的评价和诊断预后具有重要的价值。

〔关键词〕 鼻咽癌; IFN- γ ; PTX3; EGF

Predictive value of serum IFN- γ , PTX3 and EGF levels for radiotherapy effect in patients with nasopharyngeal carcinoma

CHENG Jiangang^{1*}, YUAN Wei², GU He³

(1. Department of Otorhinolaryngology, Shijiazhuang Pingan Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050021; 2. Department of Hematology, Shijiazhuang Pingan Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050021; 3. Department of Oncology, Shijiazhuang Pingan Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050021)

〔ABSTRACT〕 **Objective** To explore the predictive value of serum interferon- γ (IFN- γ), pentraxin 3 (PTX3) and epidermal growth factor (EGF) for radiotherapy effect in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** A total of 112 patients with NPC treated in Shijiazhuang Pingan Hospital were enrolled as the NPC group between March 2015 and July 2018, while other 112 healthy controls during the same period were enrolled as the control group. The levels of serum IFN- γ , PTX3 and EGF were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). According to the efficacy evaluation criteria of solid tumors, NPC patients were divided into the effective group and the ineffective group, and levels of serum IFN- γ , PTX3 and EGF were compared between the two groups. According to the follow-up results, the NPC group were divided into the survival group and the death group, and levels of serum IFN- γ , PTX3 and EGF were compared between the two groups. The evaluation of IFN- γ , PTX3 and EGF on the effect of radiotherapy and the predic-

基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划(ZL20150258)

作者单位:1. 石家庄平安医院耳鼻喉科,河北,石家庄 050021

2. 石家庄平安医院血液内科,河北,石家庄 050021

3. 石家庄平安医院肿瘤科,河北,石家庄 050021

*通信作者:程建刚, E-mail: cjjg6532@163.com

tive value of diagnosis and prognosis were analyzed. **Results** The level of serum IFN- γ in the NPC group was significantly lower than that in the control group, while levels of PTX3 and EGF were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). After radiotherapy, the level of serum IFN- γ in the effective group was significantly higher than that in the ineffective group, while levels of PTX3 and EGF were significantly lower than those in the ineffective group ($P<0.05$). After radiotherapy, the level of serum IFN- γ in the survival group was significantly higher than that in the death group, while levels of PTX3 and EGF were significantly lower than those in the death group ($P<0.05$). The best diagnostic cut-off values of IFN- γ , PTX3 and EGF were selected according to AUC values. ROC curve analysis showed that AUC of IFN- γ combined with PTX3 and EGF for predicting radiotherapy effect was 0.936, which was higher than that of the three alone ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of serum IFN- γ was decreased in patients with nasopharyngeal carcinoma, and the expressions of PTX3 and EGF were increased. The three indicators have important value in the evaluation of radiotherapy effect and the diagnosis and prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma.

[KEY WORDS] Nasopharyngeal carcinoma; IFN- γ ; PTX3; EGF

鼻咽癌(Nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种独特的上皮恶性肿瘤,其早期症状不典型,发现时大都已经是中晚期。放射治疗是局部控制NPC的主要策略,但IV期NPC的5年生存率仅为30%^[1]。研究发现,在筛查阶段进行诊断和早期治疗可改善NPC患者预后^[2]。干扰素- γ (Interferon γ , IFN- γ)是一种主要由T辅助细胞、细胞毒性T细胞和自然杀伤细胞产生的多功能细胞因子,具有抗病毒、抗增殖、免疫调节和抗血管生成作用,能够抑制肿瘤的生长^[3]。血清穿透素3(Pentraxin-3, PTX3)是由炎症信号和Toll样受体激活外周组织中免疫细胞而产生的长五聚蛋白,其在心血管疾病和多种癌症中表达均呈升高状态^[4]。表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)是一种多功能生长因子,具有促进血管内皮细胞有丝分裂、维持细胞完整性、促进肿瘤血管形成等作用^[5]。尽管IFN- γ 、PTX3、EGF在肿瘤进展中的功能作用已得到证实,但其对放疗效果的影响仍需要进一步的研究分析。本研究将探讨分析IFN- γ 、PTX3、EGF对放疗效果的评价及诊断预后的预测价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年3月至2018年7月于石家庄平安医院就诊的112例NPC患者作为研究对象(NPC组),其中男75例,女37例;平均年龄(47.34 ± 7.86)岁;角化性癌42例,非角化性癌70例;临床TNM分期^[6]: I~II期47例, III~IV期65例。纳入标准:经过临床病理学和影像学检查分析^[7]确诊为NPC患者;无碘过敏史患者;临床资料完整患者。排除

标准:有自身免疫性疾病患者;年龄 <18 岁;处于妊娠期或者哺乳期患者;初次诊断为远处转移癌症患者。另选取同期112名健康体检者作为对照组,其中男78名,女34名,平均年龄(45.69 ± 7.14)岁,两组性别、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,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

所有NPC患者给予根治性放疗,首先通过CT扫描确定放疗靶区,使患者平躺于扫描床,取仰卧位进行放疗模拟定位和靶区勾画,以6MV-X射线照射对患者进行放疗,每周放疗扫描5次,一共扫描35次,每次1.9~2 Gy,总剂量为65~70 Gy。NPC患者放疗结束后和对照组入组后进行静脉空腹采血5 mL,采用人IFN- γ ELISA试剂盒、人PTX3 ELISA试剂盒和人EGF ELISA试剂盒检测血清中的IFN- γ 、PTX3、EGF水平,所用的试剂盒均来自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.3 疗效判定

放疗结束4周后,根据实体瘤的疗效评价标准^[8]将NPC患者分为有效组和无效组,其中有效组=完全缓解+部分缓解,无效组=疾病进展+疾病稳定,观察统计放疗后有效组及无效组IFN- γ 、PTX3、EGF水平。完全缓解:所有目标病灶完全消失,所有目标结节须缩小至正常大小(短轴 <10 mm);部分缓解:所有目标病灶最大径之和减少 $\geq 30\%$;疾病稳定:以目标病灶半径的总和最小值为参照,既达不到缓解标准、也达不到恶化标准;疾病进展:靶病灶直径之和的最小值为参照,直径和相对增加 $\geq 20\%$,直径和的绝对值增加至少5 mm

或出现新的病灶。

1.4 随访

采取门诊、电话的方式对放疗后患者进行3年随访,随访的截止日期为2021年7月。根据随访结果将NPC组分为生存组和死亡组,分析两组IFN- γ 、PTX3、EGF水平。

1.5 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件进行分析处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;绘制受试者工作特征(ROC)分析IFN- γ 、PTX3、EGF对NPC患者预后的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组IFN- γ 、PTX3、EGF表达情况比较

NPC组IFN- γ 水平显著低于对照组,PTX3和EGF水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组IFN- γ 、PTX3、EGF表达情况比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of IFN- γ , PTX3 and EGF between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	PTX3(mg/L)	EGF(μ g/L)
NPC组	112	29.87 $\pm$ 4.63	17.64 $\pm$ 3.27	3.16 $\pm$ 0.64
对照组	112	38.62 $\pm$ 4.31	6.11 $\pm$ 3.09	2.11 $\pm$ 0.58
<i>t</i> 值		14.639	27.122	12.866
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 放疗后有效组及无效组IFN- γ 、PTX3、EGF水平比较

放疗后,有效组共86例,有效率为76.79%。放疗后有效组IFN- γ 水平显著高于无效组,PTX3和EGF水平显著低于无效组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 放疗后有效组及无效组IFN- γ 、PTX3、EGF水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of IFN- γ , PTX3 and EGF levels between effective group and ineffective group after radiotherapy ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	PTX3(mg/L)	EGF(μ g/L)
有效组	86	31.45 $\pm$ 4.73	16.61 $\pm$ 3.64	2.85 $\pm$ 0.44
无效组	26	24.64 $\pm$ 4.97	21.05 $\pm$ 3.85	4.19 $\pm$ 0.46
<i>t</i> 值		6.358	5.378	12.160
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 放疗后生存组及死亡组IFN- γ 、PTX3、EGF水平比较

对NPC患者随访3年,所有患者均得到随访,其

中死亡39例,死亡率为34.82%。放疗后生存组IFN- γ 水平显著高于死亡组,PTX3和EGF水平显著低于死亡组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 放疗后生存组及死亡组IFN- γ 、PTX3、EGF水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of IFN- γ , PTX3 and EGF levels between survival group and death group after radiotherapy ($\bar{x} \pm s$)

组织	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	PTX3(mg/L)	EGF(μ g/L)
生存组	73	32.17 $\pm$ 4.16	15.94 $\pm$ 3.41	2.83 $\pm$ 0.71
死亡组	39	27.44 $\pm$ 4.35	20.82 $\pm$ 3.66	3.78 $\pm$ 0.63
<i>t</i> 值		5.642	7.033	7.008
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 IFN- γ 、PTX3、EGF及三者联合检测对NPC患者预后生存的预测价值

根据AUC选取IFN- γ 、PTX3和EGF的最佳诊断截点,ROC曲线分析显示,IFN- γ 、PTX3、EGF联合预测的AUC为0.937,高于IFN- γ 的0.703、PTX3的0.799、EGF的0.864,差异有统计学意义($Z = 4.750$; $Z = 3.261$; $Z = 2.860$, $P < 0.05$)。见表4、图1。

表4 IFN- γ 、PTX3、EGF对NPC患者预后生存的预测价值分析

Table 4 Predictive value of IFN- γ , PTX3 and EGF for prognosis of NPC patients

指标	截点值	AUC	95% CI	特异度	敏感度	<i>P</i> 值
IFN- γ	28.73	0.703	0.609~0.785	0.671	0.667	<0.001
PTX3	18.62	0.799	0.713~0.869	0.945	0.539	<0.001
EGF	3.34	0.864	0.786~0.921	0.890	0.744	<0.001
三者联合		0.937	0.875~0.974	0.849	0.923	<0.001

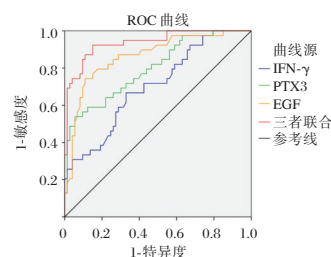


图1 预测价值分析

Figure 1 Predictive value

3 讨论

NPC起源于鼻咽内壁,是一种由遗传变异、环境因素和EBV病毒(Epstein-Barr virus)感染等多种因素引起的恶性肿瘤^[9]。NPC男性患者的发病率是女性的两到三倍,发病的高峰年龄在50到60岁之间^[10]。由于NPC的辐射敏感性和解剖位置特

殊,自1965年以来,放疗已被确立为其主要治疗方法^[11]。文献显示,一些细胞因子和趋化因子与NPC的发生发展相关联,并在复杂的肿瘤微环境发挥不可或缺的作用^[12]。

IFN- γ 是一种对先天免疫和适应性免疫至关重要的细胞因子,一旦形成抗原特异性免疫,激活的效应T细胞就会分泌IFN- γ ^[13]。IFN- γ 上调可诱导多种细胞表达MHC I类和II类分子,从而增强抗原递呈,并促进Th0细胞向Th1分化^[14]。已有研究表明PTX3在肺癌、乳腺癌、前列腺癌中可能通过促进肿瘤细胞的迁移侵袭和增殖来促肿瘤发生,PTX3可作为重要的血清标志物^[15]。EGF可通过PI3K/AKT途径促进癌细胞的增殖^[16]。

王海妮等^[17]研究显示,NPC患者清IFN- γ 、PTX3、EGF水平显著高于健康者。国外Ooft等^[18]研究显示,IFN- γ 、PTX3、EGF阳性表达患者的三年生存率低于阴性表达患者。另外,多项研究发现,IFN- γ 、PTX3、EGF水平与肿瘤分化程度、肿瘤大小密切相关^[19]。本研究结果显示,与正常对照组比较,NPC患者血清IFN- γ 水平显著降低,PTX3和EGF水平显著升高,推测IFN- γ 、PTX3、EGF可能参与NPC的发生和发展。金铭鑫等^[14]研究显示,血清IFN- γ 水平降低与鼻咽癌患者淋巴结转移有关。徐鑫等^[20]研究证实,PTX3水平与NPC的TNM分期、EBV-DNA载量有关。刘焕娣等^[21]研究发现,放疗治疗后,EGF水平较治疗前明显降低。本研究结果显示,放疗后有效组IFN- γ 水平显著高于无效组,PTX3和EGF水平显著低于无效组,提示IFN- γ 、PTX3、EGF表达水平在放疗不同敏感性患者之间存在差异,推测三者可能通过调节肿瘤的发展进而影响放疗治疗的效果。白璐等^[22]证实,IFN- γ 是调节肺癌放射敏感性的重要因子,其通过调节机体免疫功能进而在放疗过程中发挥作用。Sarper等^[23]研究发现,鼠肺实质组织中的PTX3水平与辐射损伤相关。Yang等^[24]研究表明,EGF受体通过激活内质网应激PERK-eIF2 α -GRP94,IRE1 α -XBP1-GRP78通路介导人口咽癌放射抗拒性。本文研究中,放疗后生存组IFN- γ 水平显著高于死亡组,PTX3和EGF水平显著低于死亡组,提示IFN- γ 、PTX3、EGF水平可用于辅助诊断NPC患者的预后。本研究根据AUC选取IFN- γ 、PTX3和EGF的最佳诊断截点,进一步ROC曲线分析显示,IFN- γ 、PTX3、EGF联合预测的特异度、

敏感度高于单一指标检测,提示IFN- γ 、PTX3、EGF联合预测的价值较高,可以通过联合检测预测NPC的放疗效果,三指标可作为NPC的重要标志物。

综上所述,鼻咽癌患者中血清IFN- γ 表达降低,PTX3和EGF表达升高,三指标对鼻咽癌患者放疗效果的评价和诊断预后具有重要的价值。

参考文献

- [1] Lee A, Chow JCH, Lee NY. Treatment deescalation strategies for nasopharyngeal cancer: a review [J]. JAMA Oncol, 2020, 7(3): 445-453.
- [2] 陈娟,贺秋冬,艾小红.姜黄素通过调控Tiam1蛋白表达影响鼻咽癌增殖与侵袭的研究[J].中南医学科学杂志, 2019, 47(5): 483-487+507.
- [3] Hagman S, Mäkinen A, Ylä-Outinen L, et al. Effects of inflammatory cytokines IFN- γ , TNF- α and IL-6 on the viability and functionality of human pluripotent stem cell-derived neural cells [J]. J Neuroimmunol, 2019, 331(1): 36-45.
- [4] 丘创华,李卓成,卢章,等.血浆PTX3对STEMI近期不良心血管事件的预测价值[J].热带医学杂志, 2017, 17(3): 405-408.
- [5] Sarper B, Ozbilgin MK, Gumustepe E, et al. PTX3 levels in murine pulmonary parenchymal tissues are correlated with radiation-induced injuries [J]. Int J Radiat Res, 2020, 18(1): 109-115.
- [6] 中国鼻咽癌临床分期工作委员会.鼻咽癌92分期修订工作报告[J].中华放射肿瘤学杂志, 2009, 18(1): 2-6.
- [7] 王跃建主编.鼻咽癌诊断和治疗[M].北京:人民卫生出版社, 2013: 60-65.
- [8] 杨学宁,吴一龙.实体瘤治疗疗效评价标准-RECIST[J].循证医学, 2004, 4(2): 25-30+51.
- [9] Salehiniya H, Mohammadian M, Mohammadian-Hafshejani A, et al. Nasopharyngeal cancer in the world: epidemiology, incidence, mortality and risk factors [J]. World Cancer Res J, 2018, 5(1): e1046.
- [10] Wu SG, Zhang QH, Zhang WW, et al. The effect of marital status on nasopharyngeal carcinoma survival: a surveillance, epidemiology and end results study [J]. J Cancer, 2018, 9(10): 1870-1876.
- [11] Huang T, Debelius JW, Ploner A, et al. Radiation Therapy-Induced Changes of the Nasopharyngeal Commensal Microbiome in Nasopharyngeal Carcinoma Patients [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2021, 109(1): 145-150.
- [12] Jin Y, Zhang G, Lin KR, et al. Changes of plasma cytokines and chemokines expression level in nasopharyngeal carcinoma patients after treatment with definitive intensity-modulated radiotherapy (IMRT) [J]. PloS One, 2017, 12(2): e0172264.
- [13] 杜磊,李延晖,杨云霜,等.补肾解毒方调控IL-12、IFN- γ 水平对辐射后小鼠免疫防护作用研究[J].陕西中医杂志, 2020, 41(5): 582-584. (下转第1506页)

血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 对冠心病软斑块形成及病情程度的评估价值

常蕊^{1*} 孙凤荣² 常亮³ 李开敏¹

【摘要】目的 探讨血清内皮细胞特异性分子-1(Endocan)、细胞间粘附因子-1(ICAM-1)、小而密低密度脂蛋白胆固醇(sdLDL-C)对冠心病软斑块形成及病情程度的评估价值。**方法** 选取2020年2月至2021年5月黄河水利委员会黄河中心医院117例冠心病患者,对比不同斑块类型、不同病情患者血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C水平,分析其与冠心病病情程度的关系。**结果** 软斑患者血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C水平较非软斑患者高,差异有统计学意义($t=6.175, 9.906, 13.263, P<0.05$);血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C水平:急性心肌梗死>不稳定型心绞痛>稳定型心绞痛,多支>双支>单支,重度冠脉狭窄>中度>轻度,差异有统计学意义($F=26.423, 27.937, 62.585, 44.089, 35.295, 38.269, 33.380, 22.238, 18.840, P<0.05$);血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C水平与冠心病患者严重程度、病变支数、冠脉狭窄程度呈正相关($P<0.05$);三者血清联合诊断冠心病软斑形成的AUC为0.888,较各指标单独诊断价值显著提高($P<0.05$)。**结论** 血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C与冠心病软斑块形成及病情程度密切相关,可为冠心病诊治提供一定参考。

【关键词】 内皮细胞特异性分子-1; 细胞间粘附因子-1; 小而密低密度脂蛋白胆固醇; 冠心病

Evaluation value of serum Endocan, ICAM-1, sdLDL-C on the formation of soft plaque and the severity of coronary heart disease

CHANG Rui^{1*}, SUN Fengrong², CHANG Liang³, LI Kaimin¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Yellow River Central Hospital of Yellow River Water Conservancy Commission, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Department of Cardiology, Yellow River Central Hospital of Yellow River Water Conservancy Commission, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 3. Department of Geriatrics, Huojia Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinxiang, Henan, China, 453800)

【ABSTRACT】Objective To investigate the value of serum endothelial cell-specific molecule-1 (endocan), intercellular adhesion factor-1 (ICAM-1), and small and dense low-density lipoprotein cholesterol (sdLDL-C) on the assessment of soft plaque formation and degree of disease in coronary heart disease. **Methods** One hundred and seventeen patients with coronary heart disease from February 2020 to May 2021 in Yellow River Central Hospital of Yellow River Water Conservancy Commission Hospital were selected to compare the serum endocan, ICAM-1, and sdLDL-C levels in patients with different plaque types and different conditions, and to analyze the relationship between serum and the degree of coronary heart disease. **Results** Serum endocan, ICAM-1, sdLDL-C levels in patients with soft plaques were higher than those in patients with non-soft plaques, and the difference was statistically significant ($t=6.175, 9.906, 13.263, P<0.05$). Serum endocan, ICAM-1, sdLDL-C levels: acute myocardial infarction>unstable angina>

基金项目:国家重点研发计划(2019YFF0216502)

作者单位:1.黄河水利委员会黄河中心医院检验科,河南,郑州 450000

2.黄河水利委员会黄河中心医院心内科,河南,郑州 450000

3.获嘉县中医院老年病科,河南,新乡 453800

*通信作者:常蕊, E-mail:176319283@qq.com

stable angina, multiple branches > double branches > single branches, severe coronary stenosis > moderate > mild ($F=26.423, 27.937, 62.585, 44.089, 35.295, 38.269, 33.380, 22.238, 18.840, P<0.05$). Serum endocan, ICAM-1 and sdLDL-C levels were positively correlated with the severity, number of lesion branches and degree of coronary stenosis in patients with coronary artery disease ($P<0.05$). The AUC of the combination of the three sera for the diagnosis of soft spot formation in coronary artery disease was 0.888, which was significantly higher than the diagnostic value of each indicator alone ($P<0.05$). **Conclusion** Serum endocan, ICAM-1 and sdLDL-C are closely correlated with the soft plaque formation and degree of coronary artery disease, which can provide a certain reference for the diagnosis and treatment of coronary artery disease.

[KEY WORDS] Endothelial cell specific molecule-1; Intercellular adhesion factor-1; Small and dense low-density lipoprotein cholesterol

临床研究认为,炎症反应、脂代谢异常在动脉粥样硬化斑块及冠心病发生、进展中扮演着重要角色^[1-2]。细胞间粘附因子-1(Intercellular adhesion factor-1, ICAM-1)为免疫球蛋白超家族成员之一,可促使炎性细胞黏附于血管壁或者其他细胞上,促进炎症进展,且与冠状动脉内皮损伤程度有关^[3]。内皮细胞特异性分子-1(Endothelial cell specific molecule-1, Endocan)为新型可溶性内皮细胞特异性硫酸皮肤素蛋白多糖,近期研究指出,其可参与机体炎症反应、血管内皮功能不全等发生、进展过程^[4]。小而密低密度脂蛋白胆固醇(Small and dense low-density lipoprotein cholesterol, sdLDL-C)为脂代谢指标,更易被氧化,可促进动脉产生粥样硬化,属冠心病危险因素之一^[5]。本研究探讨血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C对冠心病软斑块形成及病情程度的评估价值,以期临床诊治提供一定参考。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年2月至2021年5月黄河水利委员会黄河中心医院117例冠心病患者为研究对象,其中男82例,女35例;年龄<60岁72例,≥60岁45例;吸烟史:有57例,无60例;高血压:有44例,无73例;糖尿病:有38例,无79例,体质指数(BMI)<23 kg/m² 51例,≥23 kg/m² 66例;按疾病类型分为:急性心肌梗死(AMI, Acute myocardial infarction)32例,不稳定型心绞痛(UAP, Unstable angina pectoris)49例,稳定型心绞痛(SAP, Stable angina pectoris)36例;病变支数:单支病变45例,双支病变42例,多支病变30例;冠脉狭窄程度:轻度狭窄50例,中度狭窄41例,重度狭窄26例;斑块类型:软斑41例,非软斑76例。本研究经医院伦理委员会同意。

纳入标准:①符合中国医疗保健国际交流促进会急诊急救分会。急性冠脉综合征急诊快速诊治指南有关诊断标准^[6-7];②经彩超检查显示存在颈动脉单一斑块;③近2周末应用免疫抑制剂、降血脂等有关治疗;④均自愿接受冠脉CTA血管造影(CTA)、彩超检查;⑤所有患者均签订知情同意书。排除标准:①合并肝肾功能严重障碍者;②合并自身免疫性疾病、急慢性炎症性疾病、血液系统疾病者;③由于药物作用导致高脂血症者;④合并恶性肿瘤、严重感染者;⑤合并肺源性心脏病、心脏瓣膜病、甲状腺疾病、急性心肌炎者;⑥无法配合完成研究或者有冠脉CTA检查禁忌症者。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

在受检者入院后次日清晨,采集5 mL空腹静脉血样,应用离心机离心处理10 min,转速3 000 r/min,离心半径8 cm,分离血清,-20℃冻存待检;以全自动生化分析仪(奥林巴斯, AU2700)测定血清sdLDL-C水平;酶联免疫吸附法测定血清Endocan、ICAM-1水平,试剂盒均购于上海酶联生物科技有限公司, MULTISKAN ASCENT酶标仪,有关操作严格按仪器与试剂盒说明书执行。

1.2.2 斑块性质判定方法^[8]

采取冠脉CT成像并实施三维重建,依据斑块CT值进行判定,斑块CT值<60 Hu判定为软斑块;处于60~129 Hu为纤维斑块;≥130 Hu为钙化斑块;将纤维斑块、钙化斑块归为非软斑^[8]。

1.3 观察指标

①不同斑块类型患者临床资料。②不同斑块类型患者血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C水平。③不同病情程度(疾病类型、病变支数、冠脉狭窄程度)患者血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C水平,其中冠脉狭窄程度应用冠脉病变评分(Gensini评

分)判定^[9], Gensini 评分>40 分为重度狭窄, 处于 20~40 分为中度狭窄, <20 分为轻度狭窄。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 20.0 统计学软件, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较行单因素方差分析, 两两比较行 LSD-t 检验; 组间计量资料比较行 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 行 χ^2 检验; 相关性采用 Pearson 相关系数模型分析; 影响因素采用 Logistic 回归分析; 诊断价值应用受试者工作特征(ROC)曲线分析, 联合诊断进行 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; 所有统计均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同斑块类型患者临床资料

不同斑块类型患者年龄、疾病类型、病变支数、冠脉狭窄程度相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同斑块类型患者临床资料对比 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of clinical data of patients with different plaque types [$n(\%)$]

指标		软斑 ($n=41$)	非软斑 ($n=76$)	χ^2 值	P 值
性别	男	27(65.85)	55(72.37)	0.539	0.463
	女	14(34.15)	21(27.63)		
年龄	<60 岁	20(48.78)	52(68.42)	4.341	0.037
	≥60 岁	21(51.22)	24(31.58)		
吸烟史	有	21(51.22)	36(47.37)	0.158	0.691
	无	20(48.78)	40(52.63)		
高血压	有	16(39.02)	28(36.84)	0.054	0.816
	无	25(60.98)	48(63.16)		
糖尿病	有	14(34.15)	24(31.58)	0.080	0.777
	无	27(65.85)	52(68.42)		
BMI	<23 kg/m ²	19(46.34)	32(42.11)	0.194	0.659
	≥23 kg/m ²	22(53.66)	44(57.89)		
疾病类型	AMI	17(41.46)	15(19.74)	6.475	0.039
	UAP	13(31.71)	36(47.37)		
	SAP	11(26.83)	25(32.89)		
病变支数	单支病变	11(26.83)	34(44.74)	6.684	0.035
	双支病变	14(34.15)	28(36.84)		
	多支病变	16(39.02)	14(18.42)		
冠脉狭窄程度	轻度狭窄	10(24.39)	40(52.63)	2.326	0.020
	中度狭窄	20(48.78)	21(27.63)		
	重度狭窄	11(26.83)	15(19.74)		

2.2 不同斑块类型患者血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平

软斑患者血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平均较非软斑患者高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同斑块类型患者血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum Endocan, ICAM-1, and sdLDL-C levels in patients with different plaque types ($\bar{x} \pm s$)

斑块类型	n	Endocan (ng/mL)	ICAM-1 (mg/L)	sdLDL-C (mmol/L)
软斑	41	1.27±0.15	2.12±0.68	1.38±0.42
非软斑	76	1.12±0.11	1.16±0.37	0.62±0.20
t 值		6.175	9.906	13.263
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同病情程度患者血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平

不同病情程度(疾病类型、病变支数、冠脉狭窄程度)患者血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同病情程度患者血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum Endocan, ICAM-1, and sdLDL-C levels in patients with different degrees of disease ($\bar{x} \pm s$)

病情程度	n	Endocan (ng/mL)	ICAM-1 (mg/L)	sdLDL-C (mmol/L)
疾病类型				
AMI	32	1.31±0.17	2.15±0.72	1.23±0.35
UAP	49	1.17±0.15	1.39±0.41	0.84±0.30
SAP	36	1.05±0.12	1.06±0.37	0.63±0.27
F/P 值		26.423/<0.001	44.089/<0.001	33.380/<0.001
病变支数				
单支病变	45	1.09±0.07	1.04±0.34	0.61±0.32
双支病变	42	1.14±0.12	1.45±0.52	0.92±0.40
多支病变	30	1.34±0.18	2.25±0.74	1.25±0.41
F/P 值		27.937/<0.001	35.295/<0.001	22.238/<0.001
冠脉狭窄程度				
轻度狭窄	50	1.02±0.10	1.05±0.39	0.63±0.37
中度狭窄	41	1.20±0.14	1.54±0.56	0.92±0.42
重度狭窄	26	1.42±0.17	2.29±0.72	1.31±0.56
F/P 值		62.585/<0.001	38.269/<0.001	18.840/<0.001

2.4 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 与病情程度的相关性

Pearson 相关性分析可知, 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 水平与冠心病患者疾病类型、病变支数、冠脉狭窄程度呈正相关关系($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 与病情程度的相关性
Table 4 Correlation of serum Endocan, ICAM-1, and sdLDL-C with the degree of disease

指标	疾病类型		病变支数		冠脉狭窄程度	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
Endocan	0.569	<0.001	0.572	<0.001	0.594	<0.001
ICAM-1	0.631	<0.001	0.601	<0.001	0.624	<0.001
sdLDL-C	0.617	<0.001	0.622	<0.001	0.637	<0.001

注: 疾病类型赋值: SAP=1, UAP=2, AMI=3。

2.5 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 与冠心病软斑形成关系的 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析显示,血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 为冠心病软斑形成影响因素,血清指标水平越高,软斑形成风险越大。见表 5。

表 5 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 与冠心病软斑形成关系的 Logistic 回归分析

Table 5 Logistic regression analysis of the relationship between serum Endocan, ICAM-1, sdLDL-C and soft spot formation in coronary artery disease

因素	赋值	β 值	S.E. 值	Wald χ^2 值	95% CI	OR 值
Endocan	<1.17 ng/mL=1, ≥1.17 ng/mL=2	1.829	0.324	31.854	4.174~9.825	6.225
ICAM-1	<1.50 mg/L=1, ≥1.50 mg/L=2	1.848	0.319	33.569	5.022~8.026	6.349
sdLDL-C	<0.89 mmol/L=1, ≥0.89 mmol/L=2	1.898	0.311	37.255	4.871~9.145	6.674

2.6 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 对冠心病软斑形成的诊断价值

绘制 ROC 曲线,评价血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 对冠心病软斑形成的诊断价值,发现三种血清指标联合诊断 AUC 最大,诊断效能良好。见表 6、图 1。

表 6 血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 对冠心病软斑形成的诊断价值

Table 6 Diagnostic value of serum Endocan, ICAM-1, and sdLDL-C for soft spot formation in coronary artery disease

指标	AUC	95% CI	Z 值	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)
Endocan	0.782	0.696~0.853	5.947	>1.19 ng/mL	75.61	75.00
ICAM-1	0.861	0.785~0.918	8.750	>1.8 mg/L	73.17	79.47
sdLDL-C	0.852	0.775~0.911	8.886	>1.01 mmol/L	75.61	81.58
联合诊断	0.888	0.816~0.939	12.675		90.24	80.26

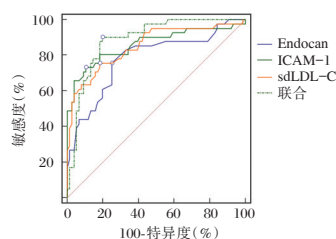


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

临床认为,炎症与血脂异常在冠心病发病机制与动脉粥样硬化发生、进展始终具有重要作用,测定其有关指标水平可为冠心病病情与斑块性质

评价提供一定参考^[9]。

ICAM-1 属黏附分子中的一种免疫球蛋白,蔡珠虹等^[10]研究报道,ICAM-1 表达与颈动脉斑块易损性及冠心病发生风险密切相关。本研究结果中,软斑患者血清 ICAM-1 高于非软斑患者,且随病情程度加重其水平逐渐增高,且与患者疾病严重程度相关。分析其主要机制与血管炎症反应密切相关,ICAM-1 作为炎性介质之一,可促使单核细胞大量黏附在冠脉内皮,而后单核细胞转变成吞噬细胞,将低密度脂蛋白吞噬后转化成泡沫细胞沉积于血管内皮下,促进冠脉粥样硬化斑块形成,造成冠脉病变^[11]。且随病变血管发展,斑块中巨噬细胞不断分泌 ICAM-1,促使炎性细胞大量黏附在血管上,致使炎症反应进一步损害冠脉血管腔;此外,炎性细胞也可黏附在斑块上,加剧炎症反应,降低纤维帽厚度,致使斑块稳定性降低,甚至于斑块破裂,促进冠心病病情进展,引起不良心血管事件^[12]。张泽骅^[13]研究也证实,冠心病患者血清 ICAM-1 水平与 Gensini 评分有关,对病情评价具有一定参考价值。本研究经 Logistic 回归分析显示,血清 ICAM-1 为冠心病软斑形成的影响因素。也说明血清 ICAM-1 与冠心病软斑形成有关,可作为软斑形成的重要鉴别指标。

Endocan 属一种潜在免疫炎症标志物,于诱导炎症反应、维持内皮功能稳态、促进动脉粥样硬化发生、进展等方面具有重要作用,李晓红^[14]研究证实,Endocan 为冠心病独立危险因素,且表达水平与冠心病病情程度有关。本研究发现,软斑患者血清 Endocan 更高,且表达与疾病类型、病变支数、冠脉狭窄程度等疾病病情程度呈正相关。提示血清 Endocan 可能在促进冠心病病情进展与软斑块形成过程中具有重要作用。有关研究也指出,Endocan 水平降低可抑制内皮细胞活化,阻止动脉粥样硬化进展^[15]。本研究通过 Logistic 回归分析发现,血清 Endocan 为冠心病软斑形成影响因素,也提示血清 Endocan 与患者软斑形成密切相关。

sdLDL-C 属血脂指标之一,黄银招等^[16]研究证实,血清 sdLDL-C 与冠心病患者的颈动脉斑块及动脉内膜中厚分型具有明显相关性。本研究中,软斑患者血清 sdLDL-C 水平较高,且表达与冠心病病情程度、软斑形成风险有关。表明血清 sdLDL-C 与冠心病软斑块形成及病情进展具有密切关系,可为冠心病防治提供一定参考。本研究尝试应用血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 联合诊断冠心病软斑形成情况,提

示各指标联合检测对软斑形成具有较高诊断价值,可为临床诊断提供更多信息。

综上,血清 Endocan、ICAM-1、sdLDL-C 与冠心病软斑块形成及病情程度有关,且联合检测对软斑形成诊断价值较高,可为冠心病诊治提供一定依据。

参考文献

- [1] 周鹏,王烁,任艳玲. 冠心病患者冠状动脉 CT 特征与血清脂蛋白(a),脂联素,PTX3 的相关性研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(2):244-248.
- [2] 高颖,邢智,马依彤. 冠心病人群免疫指标、炎症指标和血脂的比较及补体 C3、C4 与 HDL-C 的相关性分析[J]. 新疆医科大学学报, 2019,42(3):293-296.
- [3] Wu C, Huang C. ICAM-1 and MKL-1 polymorphisms impose considerable impacts on coronary heart disease occurrence [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(18): 10338-10342.
- [4] Qiu CR, Fu Q, Sui J, et al. Serum Endothelial Cell-Specific Molecule 1 (Endocan) Levels in Patients With Acute Myocardial Infarction and Its Clinical Significance [J]. Angiology, 2017, 68(4): 354-359.
- [5] Higashioka M, Sakata S, Honda T, et al. Small Dense Low-Density Lipoprotein Cholesterol and the Risk of Coronary Heart Disease in a Japanese Community [J]. J Atheroscler Thromb, 2020, 27(7): 669-682.
- [6] Cruden NL, Al-Attar N, Albiston M, et al. SIGN 151 Management of stable angina A national clinical guideline. 2018.
- [7] 中国医师协会急诊医师分会,国家卫健委能力建设与继续教育中心急诊学专家委员会,中国医疗保健国际交流促进会急诊急救分会. 急性冠脉综合征急诊快速诊治指南(2019)[J]. 中华急诊医学杂志, 2019,28(4):421-428.
- [8] 潘兴丰,蒋芙蓉,唐大超,等. 3 种实验室指标在冠心病病情严重程度及软斑块形成风险评价中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2019,29(24):2978-2980+2983.
- [9] Hardas Suhas, Titar Pritam, Zanwar Ishwar, et al. Correlation between echocardiographic calcium score and coronary artery lesion severity on invasive coronary angiography [J]. Heart J, 2021, 73(3): 307-312.
- [10] 蔡珠虹,刘天佳,赵静,等. 颈动脉斑块易损性与血脂指标,炎症因子和冠心病的关系[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(4): 661-664.
- [11] Su R. Biological function of intercellular adhesion molecule-1 gene in coronary heart disease and its mediated primary regulatory network: a literature based secondary analysis [J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31(4): 434-438.
- [12] 罗姝,刘世平,龚君佐,等. HGF 及血清炎症因子的变化与 CAS 严重程度的相关性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(11): 4878-4883.
- [13] 张泽骅. 冠心病患者血清 Adropin 蛋白, ICAM-1 水平变化的意义[D]. 西宁:青海大学, 2019.
- [14] 李晓红. 血浆 ESM-1 水平与冠心病患者严重程度的相关性研究[D]. 郑州:郑州大学, 2019.
- [15] 谭文鹏,李文杰,黄兆琦. 强化瑞舒伐他汀对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者 8-OHdG 和 ESM-1 水平的影响及预后观察[J]. 临床心血管病杂志, 2018, 34(2): 127-131.
- [16] 黄银招,杜秋荣,陈敬好. 小而密低密度脂蛋白胆固醇与冠心病患者颈动脉斑块,动脉内膜中层厚度分型的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(20): 3055-3058.
- [14] 金铭鑫,张镭,段广廷. 血清 IFN- γ 水平与鼻咽癌淋巴结转移的相关性[J]. 中国实用医刊, 2021, 48(10): 66-69.
- [15] Ahmmed B, Khan MN, Nisar MA, et al. Tunicamycin enhances the suppressive effects of cisplatin on lung cancer growth through PTX3 glycosylation via AKT/NF- κ B signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2019, 54(2): 431-442.
- [16] 王凯斌,贺伯伟,徐军,等. TRAP1, EGF 在食管癌中的表达及其与临床病理的相关性[J]. 海南医学, 2020, 31(8): 983-986.
- [17] 王海妮,陈安青. 血清 IFN- γ , IL-2, EGF 预测鼻咽癌患者放疗敏感性和预后的相关性分析[J]. 临床输血与检验, 2020, 22(3): 300-304.
- [18] Ooft ML, Braunius WW, Heus P, et al. Prognostic significance of the EGFR pathway in nasopharyngeal carcinoma: a systematic review and meta-analysis [J]. Biomark Med, 2015, 9(10): 997-1010.
- [19] 吕双,陈志芳,祖菲娅·艾力. 血清高迁移率族蛋白 1 及相关细胞因子在宫颈癌中的变化及临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(4): 351-354.
- [20] 徐鑫,牟佳,陈茜. 鼻咽癌患者的血清穿透素 3 水平及临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2020, 25(2): 140-145.
- [21] 刘焕娣,赵辉,王彤,等. 健脾扶正中药联合放疗治疗鼻咽癌 48 例临床研究[J]. 江苏中医药, 2020, 52(6): 38-41.
- [22] 白璐,刘承一,张晶晶,等. 放射治疗对肺癌患者 TNF- α 及 INF- γ 的影响[J]. 河北医学, 2019, 25(9): 1474-1476.
- [23] Sarper B, Ozbilgin MK, Gumustepe E, et al. PTX3 levels in murine pulmonary parenchymal tissues are correlated with radiation-induced injuries [J]. Int J Radiat Res, 2020, 18(1): 109-115.
- [24] Zhang M, Han N, Jiang Y, et al. EGFR confers radioresistance in human oropharyngeal carcinoma by activating endoplasmic reticulum stress signaling PERK-eIF2 α -GRP94 and IRE1 α -XBPI-GRP78[J]. Cancer Med, 2018, 7(12): 6234-6246.

(上接第 1501 页)

· 论 著 ·

Cys-c、SAA 及 CRP 水平与慢性心力衰竭并发肺部感染的关系

刘倩* 唐惠星 崔雅璇 薛启婷

〔摘要〕 目的 分析半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys-c)、淀粉样蛋白 A(SAA)及 C-反应蛋白(CRP)与慢性心力衰竭并发肺部感染的关系。方法 选取 2018 年 2 月至 2020 年 8 月首都医科大学附属北京世纪坛医院接收的 90 例慢性心力衰竭患者(研究组),根据是否肺部感染分为合并感染组($n=36$),未合并感染组($n=54$);另选取 98 名同期行健康体检者(对照组)。比较各组 Cys-c、SAA 及 CRP 水平,分析慢性心力衰竭并肺部感染的危险因素及 Cys-c、SAA 及 CRP 对慢性心力衰竭肺部感染的预测价值。结果 研究组 Cys-c、SAA 及 CRP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。合并感染组 Cys-c、SAA 及 CRP 水平高于未合并感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。有吸烟史、进行侵入性操作、Cys-c、SAA 及 CRP 水平异常升高为 CHF 并发肺部感染的危险因素($P<0.05$)。联合 Cys-c、SAA 及 CRP 检测敏感度、特异度、约登指数、AUC 为 0.975、0.813、0.788、0.961,均高于单一指标检测($P<0.05$)。结论 Cys-c、SAA 及 CRP 水平在慢性心力衰竭患者中显著升高,且均为 CHF 并发肺部感染的危险因素,联合三者检测对评估患者病情有重要价值。

〔关键词〕 Cys-c; SAA; CRP; 慢性心力衰竭; 肺部感染

The relationship between Cys-c, SAA and CRP levels and chronic heart failure complicated with pulmonary infection

LIU Qian*, TANG Huixing, CUI Yaxuan, XUE Qiting

(Department of Emergency Care Room, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

〔ABSTRACT〕 **Objective** To analyze the relationship between cysteine protease inhibitor C(Cys-c), serum amyloid A protein (SAA) and C-reactive protein (CRP) and chronic heart failure complicated with pulmonary infection. **Methods** 90 patients with chronic heart failure admitted to Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University from February 2018 to August 2020 were selected (study group), and according to whether they had lung infection, they were divided into the combined infection group($n=36$), the non-combined infection group($n=54$). In addition, 98 patients who had physical examination during the same period were selected (control group). The levels of Cys-c, SAA and CRP in each group were compared, and the risk factors of chronic heart failure complicated with pulmonary infection and the predictive value of Cys-c, SAA and CRP on pulmonary infection in chronic heart failure were analyzed. **Results** The levels of serum Cys-c, SAA and CRP in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of Cys-c, SAA and CRP in the combined infection group were higher than those in the non-combined infection group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Smoking history, invasive operation, abnormally elevated levels of Cys-c, SAA and CRP were risk factors affecting CHF complicated with lung infection ($P<0.05$). The sensitivity, specificity, Youden index, and AUC of combined Cys-c, SAA and CRP detection were 0.975, 0.813, 0.788, 0.961, which were higher than

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院急诊监护室,北京 100038

*通信作者:刘倩, E-mail:liuqian7183@bjshjth.cn

those of single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum Cys-c, SAA and CRP were significantly increased in patients with chronic heart failure, and they were all risk factors for CHF complicated by pulmonary infection. Combined detection of the three is of great value in evaluating the patient's condition.

[KEY WORDS] Cys-c; SAA; CRP; Chronic heart failure; Pulmonary infection

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是心肌损伤导致心室负荷过重而影响心肌功能的一种临床综合征,常见于各种心脏病的终末阶段^[1]。相关研究显示,CHF患者都会存在不同程度的肺水肿、瘀血状态,易发生肺部感染,加重患者心功能负担,造成严重不良影响^[2]。降低CHF患者并发肺部感染,改善患者预后具有重要意义。

血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(cystatin-C, Cys-c)是临床上评估心力衰竭的重要指标,其通过参与重塑及降解细胞外基质对心室重塑造成影响^[3]。血清淀粉样蛋白A(serum amyloid A protien, SAA)是一类多基因编码的多形态蛋白家族,在细菌、病毒感染、急性移植排斥反应、肿瘤等疾病中均可检测到血清SAA升高^[4]。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是临床感染性疾病诊断的敏感指征,在各种感染性疾病中其水平呈升高状态^[5]。本研究对血清Cys-c、SAA及CRP水平在CHF患者中变化及与并发肺部感染的关系进行分析,现报道如下。

1 一般资料

1.1 资料与方法

选取2018年2月至2020年8月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的90例CHF患者,男58例,女32例,平均年龄(70.19±7.84)岁,病程(4.16±1.46)年,根据美国纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)分级标准^[6]分为心功能Ⅱ级41例、Ⅲ级32例、Ⅳ级17例。根据是否存在肺部感染另分两组,合并感染者组($n=36$),未合并感染者组($n=54$)。纳入标准:①符合慢性心力衰竭诊断治疗指南^[7]标准;②合并感染者组患者均予以影像诊断并经药敏结果确诊为肺部感染;③经医学伦理委员会批准,受试者均签署知情同意书。排除标准:①存在心、肾等重要器官严重障碍者;②存在精神异常、痴呆等无法配合者;③资料缺失者。另将本院同时间段98名进行健康检查显示正常者设为对照组,男61名,女37名,平均年龄(70.69±7.75)岁。各组基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 血清Cys-c、SAA及CRP水平检测

对照组于体检当日、研究组于入院24 h内采用未加抗凝剂的标准采样管采集清晨空腹静脉全血5 mL,离心(3 000 r/min, $r=10$ cm, 10 min),分离血清存放于EP管中, -80℃保存待检。采用来自宁波美康生物科技有限公司提供的免疫比浊法试剂盒检测血清Cys-c、CRP;采用酶联免疫吸附法检测SAA,试剂盒采购自欣博盛生物科技有限公司。所有操作均按试剂或仪器所配套说明书进行,由专业人员操作。

Cys-c判定标准^[3]: <1 mg/L时为正常, ≥ 1 mg/L时为异常升高。SAA判定标准^[4]: <10 mg/L时为正常, ≥ 10 mg/L时为异常升高。CRP判定标准^[5]: <5 mg/L时为正常, ≥ 5 mg/L时为异常升高。

1.3 统计学方法

以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;采用多元Logistic回归分析影响分析影响CHF并发肺部感染的独立危险因素;采用ROC曲线分析血清Cys-c、SAA及CRP水平对CHF并发肺部感染的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清Cys-c、SAA及CRP水平比较

对照组Cys-c、SAA及CRP水平较研究组低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清Cys-c、SAA及CRP水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum Cys-c, SAA and CRP levels between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cys-c(mg/L)	SAA(mg/L)	CRP(mg/L)
研究组	90	3.64±0.28	134.59±25.32	25.09±4.67
对照组	98	0.81±0.12	3.52±0.85	3.13±1.25
t 值		91.352	28.537	31.182
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 合并感染组与未合并感染组血清Cys-c、SAA及CRP水平比较

合并感染组血清Cys-c、SAA及CRP水平较未合并感染组高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 合并感染组与未合并感染组血清 Cys-c、SAA 及 CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum Cys-c, SAA and CRP levels between group A and group B ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cys-c(mg/L)	SAA(mg/L)	CRP(mg/L)
合并感染组	36	4.23±0.24	142.28±24.36	29.64±5.24
未合并感染组	54	3.25±0.31	129.46±22.63	22.06±2.35
t 值		15.748	2.487	8.911
P 值		<0.001	0.015	<0.001

2.3 影响 CHF 并发肺部感染的危险因素

通过 Logistic 回归模型分析得出:患者有吸烟史、进行侵入性操作、血清 Cys-c、SAA 及 CRP 水平

异常升高为影响 CHF 并发肺部感染的危险因素 ($P<0.05$)。见表 3。

2.4 血清 Cys-c、SAA 及 CRP 水平对 CHF 并发肺部感染的预测价值

联合 Cys-c、SAA 及 CRP 检测敏感度、特异度、约登指数、AUC 为 0.975、0.813、0.788、0.961,均高于单一指标检测($P<0.05$)。见表 4、图 1。

3 讨论

研究显示,CHF 患者长期呼吸障碍会导致肺动脉高压、肺部淤血等情况,可诱发患者肺部出现

表3 影响 CHF 并发肺部感染的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors affecting CHF complicated with lung infection

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
性别(男 vs 女)	1.139	0.713~1.513	0.569			
年龄(<70 岁 vs ≥70 岁)	1.658	0.892~3.081	0.644			
吸烟史(有 vs 无)	1.791	1.325~1.616	0.019	1.857	1.257~1.754	0.041
侵入性操作(有 vs 无)	1.716	1.236~1.497	0.010	1.598	1.364~1.885	0.023
滥用抗生素(有 vs 无)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	0.268~1.779	0.538
Cys-c(异常升高 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.6369	1.365~1.784	0.035
SAA(异常升高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
CRP(异常升高 vs 正常)	1.658	1.587~1.575	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017

表4 血清 Cys-c、SAA 及 CRP 水平对 CHF 并发肺部感染的预测价值

Table 4 The predictive value of serum Cys-c, SAA and CRP levels for CHF complicated by pulmonary infection

预测因子	敏感度	特异度	约登指数	AUC	95% CI	P 值
Cys-c	0.864	0.762	0.626	0.823	0.671~0.974	<0.001
SAA	0.871	0.767	0.638	0.758	0.607~0.909	<0.001
CRP	0.893	0.731	0.624	0.890	0.799~0.982	<0.001
三者联合	0.975	0.813	0.788	0.961	0.000~1.000	<0.001

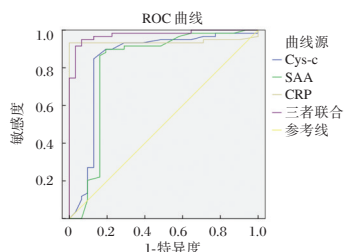


图1 预测价值

Figure 1 The predictive value

顺应性变化,引发肺部感染^[8]。CHF 患者合并肺部感染不仅会加大治疗难度,还可能危及患者生命安危^[9]。因此,寻求快捷、可靠的诊断检查对 CHF 患者具有重要意义。

Cys-c 是一种小分子蛋白,其不受饮食、炎症、疾

病等影响,在血清中稳定性较高。既往研究证实 Cys-c 只能在肾脏过滤,可精确反应肾小球滤过率^[10]。近年来相关国外学者发现,Cys-c 也可反映心血管疾病病程进展情况^[11]。SAA 作为急性反应蛋白,具有较强的敏感性,在机体受外界刺激后,促炎因子会刺激 SAA 分泌,导致 SAA 水平急剧上升^[12]。CRP 是反应急性系统性炎症的标志物,对炎症及组织损伤敏感度较高^[13]。本次研究结果显示:对照组 Cys-c、SAA 及 CRP 水平较研究组低,可见 CHF 患者血清中 Cys-c、SAA 及 CRP 水平要明显高于健康人群,提示 Cys-c、SAA 及 CRP 可能与 CHF 疾病的发生有着密切联系。

有学者发现,当机体出现感染时,Cys-c、SAA、CRP 的含量都表现为上升^[14]。国外研究显示,心力衰竭患者存在长期血供、氧供不足,这会刺激巨噬细胞、血管内皮细胞分泌 CRP 等致炎因子,加之心力衰竭患者可能伴发有心肌炎症,所以 CRP 等会出现一定程度的升高^[15]。本研究得出,合并感染组血清 Cys-c、SAA 及 CRP 水平较未合并感染组高,与上述结论一致。由此可以推测 Cys-c、SAA、CRP 水平变化与 CHF 患者并发肺部感染关系密切,三者可作为评估肺部感染的有效指标。

贾晨红等^[16]研究发现,由于CHF患者存在器官组织灌注不足及心排量降低情况,导致机体代谢障碍,使炎性介质刺激半胱氨酸蛋白酶活性增加,影响肾小球滤过,出现Cys-c排出量减少,Cys-c水平上升。CRP系肺炎链球菌形成的复合物,可通过激活补体,释放炎性因子,使感染风险增加。由于SAA半衰期短,基础浓度低且个体差异小,且其体内清除为非肾脏依赖性,这些特点使SAA在炎症疾病中的敏感性较高^[17]。CHF患者存在心肌损伤,且患者免疫力低下,机体易受到外界病原菌侵袭,引发肺部感染。本文研究结果显示,患者有吸烟史、进行侵入性操作、血清Cys-c、SAA及CRP水平异常升高为影响CHF并发肺部感染的危险因素,与Wang等^[18]所得结果基本一致。提示检测Cys-c、SAA及CRP对CHF患者早期诊断及预后评估具有一定价值,临床需引导CHF患者规范生活习惯,并对患者加强Cys-c、SAA及CRP检测,降低CHF患者发生肺部感染的风险,以改善预后。ROC曲线分析发现,联合Cys-c、SAA及CRP检测敏感度、特异度、约登指数、AUC均高于单一指标检测,进一步提示临床可通过联合检测多项指标提高对CHF患者并发肺部感染的评估价值。

综上所述,血清Cys-c、SAA及CRP水平在CHF患者中呈异常状态,上述水平异常是影响CHF患者并发肺部感染的危险因素,联合三者检测对评估患者病情有重要价值。

参考文献

- [1] 劳慧琴,林绮娴.痰液标本细菌培养及药敏试验对慢性心力衰竭并发肺部感染患者抗菌药物合理使用的影响[J].中国现代药物应用,2020,14(11):240-242.
- [2] 豆书梅,刘美霞,谢飞飞,等.血清降钙素原及C反应蛋白在老年慢性心力衰竭合并肺部感染患者中的应用价值[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,20(8):352-354.
- [3] 周政,刘高俊,刘超.美托洛尔治疗扩张型心肌病慢性心力衰竭的临床价值分析[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(11):1578-1581.
- [4] 谢瑶峰,潘一龙,曹乾,等.血清淀粉样蛋白A1对急性心肌梗死的早期诊断及预后意义[J].中国心血管病研究,2019,16(10):889-893.
- [5] Sobieszek G, T Powrózek, Skwarek-Dzianowska A, et al. Clinical Significance of TNFRSF1A36T/C Polymorphism in Cachectic Patients with Chronic Heart Failure[J]. J Clin Med, 2021, 10(5):1095.
- [6] 许顶立,马壮.2018英国国家卫生与临床优化研究所成年人慢性心力衰竭诊断与管理指南更新解读[J].中国全科医学,2019,22(17):2015-2019.
- [7] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.慢性心力衰竭诊断治疗指南[J].中华心血管病杂志,2007,35(12):1076-1095.
- [8] Bricks G, Senise JF, Pott-Jr H, et al. Previous hepatitis E virus infection, cirrhosis and insulin resistance in patients with chronic hepatitis C[J]. Braz J Infect Dis, 2019, 17(6):195-197.
- [9] 王慧敏,盛臻强,卢辉和.血清UA, Cys=C和hs-CRP与慢性心力衰竭相关性研究[J].心脑血管病防治,2020,20(3):313-315.
- [10] 崔晓婷,郑红晓,李海燕,等.血清BNP与hs-CRP和PCT对慢性心力衰竭患者肺部感染的诊断评价[J].中华医院感染学杂志,2019,29(11):1651-1655.
- [11] Kato M, Saisho Y, Tanaka H, et al. Effect of peramivir on respiratory symptom improvement in patients with influenza virus infection and pre-existing chronic respiratory disease: Findings of a randomized, open-label study[J]. Influenza Other Respir Viruses, 2021, 15(3):482-484.
- [12] Liu S, Yu Y, Zheng H. Correlation between serum TBA level and ventricular remodeling and inflammatory response in patients with chronic heart failure[J]. Contemp Med, 2019, 31(9):368-369.
- [13] Bai C, Tian H. Subclinical Hepatitis C Virus Infection in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Evidence from a Cross-Sectional Multicenter Observation Study[J]. Jundishapur J Microbiol, 2021, 13(11):518-519.
- [14] Cui X, Geriatrics DO. Diagnostic Potential of Cystatin C for Renal Impairment in Older Patients with Heart Failure[J]. Int J Geriatr, 2019, 21(3):417-419.
- [15] Nural GH, Zakharova L. Anti-Fibrotic Effects of Class IHDAC Inhibitor, Mocetinostat Is Associated with hs-CRP/Stat3 Signaling in Ischemic Heart Failure[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(5):11482-11499.
- [16] 贾晨红,哈生林,姜金坪,等.慢性心力衰竭患者血清Galectin-3,hs-cTnT,Cys C和PTX-3水平变化及临床意义[J].现代生物医学进展,2020,20(14):2672-2675.
- [17] 李果.血清降钙素原与C反应蛋白测定在老年慢性心力衰竭合并肺部感染患者中的临床价值研究[J].医学检验与临床,2020,31(7):11-13-50.
- [18] Wang JW, Qian WD, Qian YH, et al. Clinical Study of Qishen Yiqi Dropping Pill in Patients with Chronic Heart Failure of Non-valvular Atrial Fibrillation[J]. World Journal of Complex Medicine, 2019, 26(11):336-339.

· 论 著 ·

SCCAg、EGFR 及 NSE 在非小细胞肺癌病情进展、预后预测中的价值

张武通* 韩健康 张海莲

【摘要】目的 探讨 SCCAg、EGFR、NSE 在非小细胞肺癌(NSCLC)病情进展、预后预测中的应用价值。**方法** 以2017年1月至2020年1月宿州市第一人民医院收治的116例NSCLC患者作为研究对象,116份NSCLC组织标本作为癌组织组,距癌组织3 cm的癌旁组织作为癌旁组织组,对比不同组织中SCCAg、EGFR、NSE阳性率,分析三项指标与病理特征的关系;绘制ROC曲线,分析联合SCCAg、EGFR、NSE检测对NSCLC患者预后死亡的预测价值。**结果** 癌组织组SCCAg、EGFR、NSE阳性率均高于癌旁组织组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤直径 ≥ 4 cm、分化程度为中-低分化、TNM分期为T3~T4、有淋巴结转移、肿瘤数目为多个的NSCLC患者SCCAg、EGFR、NSE阳性率高于肿瘤直径 <4 cm、分化程度为高分化、TNM分期为T1~T2期、无淋巴结转移的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。116例患者中,有49例生存、67例死亡。预后死亡的NSCLC患者SCCAg、EGFR、NSE阳性率均高于生存的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线显示:联合SCCAg、EGFR、NSE检测对NSCLC患者预后死亡灵敏度(0.966)、特异度(0.934)、AUC(0.926)均高于单一指标检测($P<0.05$)。**结论** SCCAg、EGFR、NSE与NSCLC患者病情进展、预后密切相关,临床可通过加强三项指标联合检测评估NSCLC患者预后。

【关键词】 SCCAg; EGFR; NSE; NSCLC

Value of SCCAg, EGFR and NSE in the progression and prognosis prediction of non-small cell lung cancer

ZHANG Wutong*, HAN Jiankang, ZHANG Hailian

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Suzhou First People's Hospital, Suzhou, Anhui, China, 234000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the application value of SCCAg, EGFR and NSE in disease progression and prognosis prediction of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 116 NSCLC patients admitted to Suzhou First People's Hospital from January 2017 to January 2020 were selected as the research subjects (116 NSCLC tissue specimens were used as cancer tissue group, and the paracancerous tissues 3 cm away from the cancer tissues was selected as the paracancerous tissue group), and the positive rates of SCCAg, EGFR and NSE in different tissues were compared, and the relationship between the three indicators and pathological characteristics was analyzed; ROC curve was drawn to analyze the predictive value of combined SCCAg + EGFR + NSE detection on the prognosis and death of NSCLC patients. **Results** The positive rates of SCCAg, EGFR and NSE in the cancer tissue group were higher than those in the paracancerous tissue group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The positive rates of SCCAg, EGFR, and NSE in NSCLC patients with tumor diameter ≥ 4 cm, moderate to poorly differentiated, TNM stage of T3~T4 stage, lymph node metastasis, and multiple tumors were higher than those in patients with tumor diameter <4 cm, high-differentiated degree of differentiation, TNM stage of T1-T2 stage, and no lymph node metastasis, and the

基金项目:安徽省自然科学基金(1708085MH202)

作者单位:宿州市第一人民医院呼吸与危重症医学科,安徽,宿州 234000

*通信作者:张武通, E-mail: Z18505572039@163.com

difference was statistically significant ($P<0.05$). Among the 116 patients, 49 survived and 67 died. The positive rates of SCCAg, EGFR and NSE in NSCLC patients with prognostic death were higher than those in surviving patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve showed that the combined SCCAg, EGFR, and NSE detection had higher sensitivity (0.966), specificity (0.934), and AUC (0.926) for the prognosis of NSCLC patients than single indicator detection ($P<0.05$). **Conclusion** SCCAg, EGFR and NSE are closely related to the disease progression and prognosis of NSCLC patients. The clinical prognosis of NSCLC patients can be assessed by strengthening the combined detection of the three indicators.

[KEY WORDS] SCCAg; EGFR; NSE; NSCLC

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)侵袭性强,属于恶性程度极高的肿瘤,其发病率及死亡率均处于恶性肿瘤的第一位^[1]。提高NSCLC的早期诊断率是延长患者生存期的关键。鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCAg)是一种糖蛋白,广泛表达于恶变的鳞状上皮细胞中,其与宫颈癌、肺癌等恶性肿瘤关系密切^[2]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、神经元烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)均为近年来肺癌诊断中最常用的生化标志物,相关文献报道EGFR、NSE参与肺癌患者的疾病进展,影响患者预后^[3-4]。本研究旨在探讨SCCAg、EGFR、NSE在NSCLC病情进展、预后预测中的应用价值,为临床评估NSCLC患者病情、预后提供参考依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

对2017年1月至2020年1月宿州市第一人民医院收治的NSCLC患者的临床资料进行整理、分析。纳入标准:①经组织病理学检查,确诊为NSCLC^[5];②除肿瘤原发疾病外,无其他明显威胁生存的并存疾病,如严重肺功能不全、心功能不全、肝功能或肾功能不全、严重贫血等;③病历资料及随访资料完整。排除标准:①合并其他恶性肿瘤及重要器官严重疾病者;②因精神障碍无法配合治疗者;③预计生存期在<6个月者。本研究最终纳入116例NSCLC患者作为研究对象,其中男85例,女31例;平均年龄(66.17 ± 4.93)岁。选取NSCLC组织标本(116份)作为癌组织组,同时选取上述患者远离癌组织3 cm的癌旁组织作为癌旁组织组。本研究经院医学伦理委员会批准,患者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

检测方法为免疫组化法。将两组标本经常规

石蜡切片、脱水、DTA抗原修复、室温放置2 h后经显色剂显色、中性树胶封固。在显微镜下观SCCAg、EGFR、NSE。阳性细胞判定标准^[6]:阳性表达于细胞浆,少部分表达于细胞核,可见有棕黄色或棕褐色颗粒沉着,反之则为阴性。SCCAg、EGFR、NSE阳性细胞比例评分^[6]: $\leq 5\%$ 为0分, $>5\%\sim 25\%$ 为1分, $>25\%\sim 50\%$ 为2分, $>50\%\sim 75\%$ 为3分, $>75\%$ 为4分;染色强度评分:未染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。染色指数=阳性细胞比例评分+染色强度评分。染色指数 >5 分为阳性,染色指数 ≤ 4 分为阴性。

1.3 观察指标

对比不同组织中SCCAg、EGFR、NSE阳性、阴性占比,分析三项指标与NSCLC患者病情进展的关系,以病例查询、电话或门诊复查的方式对NSCLC患者进行1年随访(截止时间2022年1月)。比较不同SCCAg、EGFR、NSE表达的NSCLC患者预后生存、死亡率。绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC),分析联合三项指标检测对NSCLC患者1年预后死亡的预测价值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示;采用ROC评估诊断价值,计算曲线下面积(area under curve, AUC),AUC值越高,诊断价值越高;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织中SCCAg、EGFR、NSE阳性率比较

癌组织组SCCAg、EGFR、NSE阳性率均高于癌旁组织组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 不同组织中SCCAg、EGFR、NSE阳性率比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of positive rates of SCCAg, EGFR and NSE in different tissues [n(%)]

组别	SCCAg		EGFR		NSE	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
癌组织组	69(59.48)	47(40.52)	61(52.59)	55(47.41)	75(64.66)	41(35.34)
癌旁组织组	31(26.72)	85(73.28)	23(19.83)	93(80.17)	24(20.69)	92(79.31)
χ^2 值	25.379		26.947		45.829	
P值	<0.001		<0.001		<0.001	

2.2 SCCAg、EGFR、NSE与NSCLC患者病理特征的关系

肿瘤直径 ≥ 4 cm、分化程度为中-低分化、TNM分期为T3~T4、有淋巴结转移、肿瘤数目为多个的NSCLC患者SCCAg、EGFR、NSE阳性率高于肿瘤直径 < 4 cm、分化程度为高分化、TNM分期为T1~T2期、无淋巴结转移的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 不同SCCAg、EGFR、NSE表达的NSCLC患者预后分析

116例患者中,有49例(42.24%)生存、67例(57.76%)死亡。预后死亡的NSCLC患者SCCAg、EGFR、NSE阳性率均高于生存的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 联合SCCAg、EGFR、NSE检测对NSCLC患者预后死亡的预测价值分析

ROC曲线显示:联合SCCAg、EGFR、NSE检测对NSCLC患者预后死亡灵敏度(0.966)、特异度(0.934)、AUC(0.926)均高于单一指标检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

3 讨论

肺癌在世界范围内属于死亡人数最高的恶性疾病,其中NSCLC占比约为80%^[7]。因NSCLC早期发病隐匿,多数患者确诊时已经出现远处转移,影响化疗和放疗疗效。提高NSCLC早期诊断率,可为临床实施针对性治疗指明方向。

表2 SCCAg、EGFR、NSE与NSCLC患者病理特征的关系 [n(%)]

Table 2 Relationship between SCCAg, EGFR, NSE and pathological characteristics of NSCLC patients [n(%)]

组别	n	SCCAg				EGFR				NSE			
		阳性 (n=69)	阴性 (n=47)	χ^2 值	P值	阳性 (n=61)	阴性 (n=55)	χ^2 值	P值	阳性 (n=75)	阴性 (n=41)	χ^2 值	P值
性别	男	85	55(79.71)	30(63.83)	3.600	43(70.49)	42(76.36)	0.509	0.475	51(68.00)	34(82.93)	3.016	0.082
	女	31	14(20.29)	17(36.17)		18(29.51)	13(23.64)			24(32.00)	7(17.07)		
年龄(岁)	< 60	39	19(27.54)	20(42.55)	2.825	20(32.79)	19(34.55)	0.041	0.841	27(36.00)	12(29.27)	0.538	0.463
	≥ 60	77	50(72.46)	27(57.45)		41(67.21)	36(65.45)			48(64.00)	29(70.73)		
肿瘤大小 (cm)	> 4	62	47(68.12)	15(31.91)	14.725	42(68.85)	20(36.36)	12.270	<0.001	54(72.00)	8(19.51)	29.352	<0.001
	≤ 4	54	22(31.88)	32(68.09)		19(31.15)	35(63.64)			21(28.00)	33(80.49)		
分化程度	高分化	53	21(30.43)	32(68.09)	9.807	16(26.23)	37(67.27)	19.634	<0.001	22(29.33)	31(75.61)	22.877	<0.001
	中-低分化	63	48(69.57)	15(31.91)		45(73.77)	18(32.73)			53(70.67)	10(24.39)		
TNM分期	T1~T2期	50	14(20.29)	36(76.60)	36.141	11(18.03)	39(70.91)	32.973	<0.001	18(24.00)	32(78.05)	31.576	<0.001
	T3~T4期	66	55(79.71)	11(23.40)		50(81.97)	16(29.09)			57(76.00)	9(21.95)		
淋巴结转移	有	57	41(59.42)	16(34.04)	7.204	44(72.13)	23(41.82)	10.893	<0.001	46(61.33)	11(26.83)	12.628	<0.001
	无	59	28(40.58)	31(65.96)		17(27.87)	32(58.18)			29(38.67)	30(73.17)		
肿瘤数目	单个	61	23(33.33)	38(80.85)	25.318	44(72.13)	17(30.91)	19.711	<0.001	53(70.67)	8(19.51)	27.821	<0.001
	多个	55	46(66.67)	9(19.15)		17(27.87)	38(69.09)			22(29.33)	33(80.49)		

表3 不同SCCAg、EGFR、NSE表达的NSCLC患者预后分析 [n(%)]

Table 3 Prognostic analysis of NSCLC patients with different expressions of SCCAg, EGFR and NSE [n(%)]

组别	n	SCCAg		EGFR		NSE	
		阳性(n=69)	阴性(n=47)	阳性(n=61)	阴性(n=55)	阳性(n=75)	阴性(n=41)
生存	49	18(26.09)	31(65.96)	12(19.67)	37(67.27)	17(22.67)	32(78.05)
死亡	67	51(73.91)	16(34.04)	49(80.33)	18(32.73)	58(77.33)	9(31.95)
χ^2 值		18.215		8.580		13.140	
P值		<0.001		0.003		<0.001	

表4 联合SCCAg、EGFR、NSE检测对NSCLC患者预后的预测价值分析

Table 4 Analysis of the predictive value of combined SCCAg, EGFR and NSE detection on the prognosis of NSCLC patients

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	约登指数	P值
SCCAg	0.886	0.821	0.818	0.736~0.909	0.707	<0.001
EGFR	0.816	0.791	0.716	0.618~0.814	0.607	<0.001
NSE	0.906	0.887	0.853	0.782~0.825	0.793	<0.001
三者联合检测	0.966	0.934	0.926	0.878~0.974	0.900	<0.001

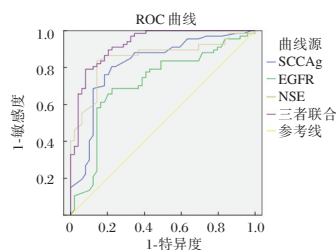


图1 预测价值分析

Figure 1 Analysis of the predictive value

研究发现,在癌细胞出现持续性分裂的过程中SCCAg会大量释放,癌细胞核DNA分化程度异常时,SCCAg分泌量会进一步提升^[8]。EGFR是近年肿瘤研究的热点生化指标之一,其介导的信号与肿瘤细胞增殖、分化密切相关。现有研究报道,EGFR在肾癌、膀胱癌、结肠癌、肺癌等均存在过表达现象,且影响患者预后^[9-10]。NSE是一种酸性蛋白酶,主要存在于神经元及神经内分泌细胞中,为临床中最有价值的血清肿瘤标志物之一^[11]。本文研究发现,癌组织组SCCAg、EGFR、NSE阳性率均高于癌旁组织组,这一研究结果与既往文献报道结果相符^[12],提示SCCAg、EGFR、NSE阳性率与NSCLC发生有关。

相关研究指出,血清肿瘤标志物能够影响癌细胞的细胞周期调控,使人体组织中癌细胞比例上升,血清肿瘤标志物阳性表达可影响到NSCLC病情进展^[13]。既往文献报道,肺癌患者机体相关血清生化指标水平异常,能提高NSCLC患者癌细胞在肺泡上皮细胞的粘附浸润能力,引起癌细胞发生转移;同时增加了临床分期及周围淋巴结组织浸润,导致淋巴结转移的发生^[14]。本次研究中,肿瘤直径 ≥ 4 cm、分化程度为中-低分化、TNM分期为T3~T4、有淋巴结转移、肿瘤数目为多个的NSCLC患者SCCAg、EGFR、NSE阳性率高于肿瘤直径 < 4 cm、分化程度为高分化、TNM分期为T1~T2期、无淋巴结转移的患者。可以看出,SCCAg、

EGFR、NSE与肺癌分期、病情轻重相关,三者阳性率随疾病进展而逐渐升高。基础领域的研究也证实,SCCAg、EGFR、NSE阳性表达在早期恶性肿瘤细胞增殖过程中发挥促进作用^[15]。

116例患者中,有49例(42.24%)生存、67例(57.76%)死亡。预后死亡的NSCLC患者SCCAg、EGFR、NSE阳性率均高于生存的患者,表明SCCAg、EGFR、NSE为阳性的NSCLC患者预后差、生存时间短,三项指标不仅与患者病情进展相关,同时会影响患者预后。以单独血清生化指标检测的灵敏度评估NSCLC的预后较为局限,联合多项血清指标检测能有效提高检测灵敏度。本研究经进一步联合SCCAg、EGFR、NSE检测并绘制ROC曲线,结果显示联合(SCCAg+EGFR+NSE)检测对NSCLC患者预后死亡灵敏度(0.966)、特异度(0.929)、AUC(0.926)均高于单一指标检测,提示临床医师可依据联合检测三者的检测结果更好地判断NSCLC患者预后,这一研究结果或可为临床医师开展NSCLC针对性分子靶向治疗提供新方向。

综上所述,SCCAg、EGFR、NSE与NSCLC患者病情进展密切相关,三者为阳性表达的患者预后死亡风险较大,临床可通过加强三项指标联合检测评估NSCLC患者预后。

参考文献

- [1] Check JH, Check D, Poretti T. Mifepristone Extends Both Length and Quality of Life in a Patient With Advanced Non-small Cell Lung Cancer that Has Progressed Despite Chemotherapy and a Check-point Inhibitor [J]. Anticancer Res, 2019, 39(4):1923-1926.
- [2] 王欣欣,黄松洁,于洋,等.血清ProGRP、SCCAg及HE4与非小细胞肺癌患者病理特征的关系及其诊断价值分析[J].现代生物医学进展, 2020, 20(13):2497-2501.
- [3] 李燕舞,殷俊,梁秋萍,等.肺癌血清肿瘤标志物与病理特征及转移的关系[J].热带医学杂志, 2021, 21(7):883-887+949.
- [3] 李燕舞,殷俊,梁秋萍,等.肺癌血清肿瘤标志物与病理特征及转移的关系[J].热带医学杂志, 2021, 21(7):883-887+949.
- [4] 曾琛,杨光华,高冬冬,等.培土滋阴化痰方联合EGFR-TKI治疗EGFR敏感突变晚期非小细胞肺癌的效果及预后[J].中国实用医刊, 2020, 47(22):116-119.
- [5] 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.
- [6] 叶敏,韩昱晨,项珍珍,等.免疫组化双染技术在非小细胞肺癌中的应用[J].临床与实验病理学杂志, 2019, 35(6):741-742.

(下转第1518页)

• 论 著 •

SAA、PCT及淋巴细胞计数在脓毒血症预后评估中的作用分析

胡小勇 夏洪韬*

【摘要】目的 探讨血清淀粉样蛋白A(SAA)、降钙素原(PCT)及外周血淋巴细胞计数在脓毒血症预后评估中的作用。**方法** 选取2019年11月至2021年11月遂宁市中心医院ICU收治的118例脓毒血症患者为研究组,根据患者预后情况分为死亡组和存活组,选取同时间段92名健康体检者为对照组。比较各组SAA、PCT水平及淋巴细胞计数,分析SAA、PCT联合淋巴细胞计数对脓毒血症预后的预测价值。**结果** 研究组SAA、PCT水平较对照组高、淋巴细胞计数较对照组少,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组所有患者均成功完成随访,随访期间共37例患者死亡,81例患者存活。死亡组SAA、PCT水平较生存组高、淋巴细胞计数较生存组少,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,SAA、PCT、淋巴细胞计数三者联合检测对脓毒血症患者预后预测价值的AUC为0.873[95%CI(0.795~0.950)]($P<0.05$)。**结论** SAA、PCT及外周血淋巴细胞计数在脓毒血症患者中存在异常表达,可能与脓毒血症患者预后密切相关,通过联合检测上述因子水平有助于评估患者预后情况。

【关键词】 SAA; 脓毒血症; PCT; 外周血淋巴细胞计数

The role of SAA, PCT and lymphocyte count in the prognosis assessment of sepsis

HU Xiaoyong, XIA Hongtao*

(Department of Critical Care Medicine, Suining Central Hospital, Suining, Sichuan, China, 629000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the effects of serum amyloid A Protein (SAA) and Procalcitonin (PCT) and peripheral blood lymphocyte count in the prognosis assessment of sepsis. **Methods** 118 sepsis patients admitted to ICU of Suining Central Hospital from November 2019 to November 2021 were selected as the study group and were divided into the death group and the survival group according to the prognosis, and 92 cases of health examination during the same period were selected as the control group. SAA, PCT levels and lymphocyte count were compared between the groups, the prognostic value of SAA and PCT combined with lymphocyte count in sepsis patients was analyzed. **Results** The levels of SAA and PCT in the study group were higher than those in the control group, and the lymphocyte count was lower than that in the control group, and the differences were all statistically significant ($P<0.05$). All patients were successfully followed up, during which 37 patients died and 81 patients survived. The levels of SAA and PCT in the death group were higher than those in the survival group, and the lymphocyte count was lower than that in the survival group, the differences were all statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the AUC of SAA, PCT and lymphocyte count combined detection for prognosis prediction of sepsis patients was 0.873 [95% CI (0.795~0.950)]. **Conclusion** SAA, PCT and peripheral blood lymphocyte count were abnormally expressed in sepsis patients, which may be closely related to the prognosis of sepsis patients. The combined detection of these factors can help to evaluate the prognosis of patients.

【KEY WORDS】 SAA; Sepsis; PCT; Peripheral blood lymphocyte count

基金项目:四川省医学会专项科研课题(2018HR32)

作者单位:遂宁市中心医院重症医学科,四川,遂宁 629000

*通信作者:夏洪韬, E-mail: snsyy_xwk@126.com

脓毒血症是由于机体对感染所致炎症反应失调而引发的一种器官功能障碍性疾病,常见于重症肺炎、消化道穿孔、弥漫性腹膜炎、泌尿系感染、严重烧伤、外科手术后等患者^[1]。脓毒血症有着较高的发生率,据不完全统计,全球每年脓毒血症的发生人数高达1 800万,脓毒血症也有着较高的死亡率,是目前重症病房患者死亡的重要原因^[2]。虽然脓毒血症病情较重,但若早期发现、判断病情发展及预后,对改善患者预后情况具有重要意义。

血清淀粉样蛋白A (serum amyloid A protien, SAA)是一类多基因编码的多形态蛋白家族,在细菌、病毒感染、急性移植排斥反应、肿瘤等疾病中均可检测到血清SAA升高^[3]。降钙素原(Procalcitonin, PCT)是炎症反应标志物,在各种感染性疾病中应用较为广泛^[4]。研究指出,在脓毒血症的发生、发展过程中,淋巴细胞的凋亡发挥了重要作用^[5-6]。本研究就SAA、PCT联合外周血淋巴细胞计数检测在脓毒血症患者预后评估中的作用进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 基本资料

选取2019年11月至2021年11月遂宁市中心医院ICU收治的118例脓毒血症患者设为研究组,其中男73例,女45例,平均年龄(53.27±7.39)岁。纳入标准:①患者皆满足《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》中关于脓毒血症的诊断^[5],并经实验室检查明确诊断。②年龄>18岁者;③临床资料完整,均自愿参加本次研究,并签署相关协议及知情同意书。排除标准:①近期存在血液系统相关疾病者;②恶性肿瘤者;③长期应用免疫抑制剂、激素者;④伴重要脏器功能不全者;⑤处于妊娠期女性;⑥未能接受随访者。

选取同时间段92名行健康体检者作为对照组。其中男52名,女40名,平均年龄(51.48±8.23)岁。两组性别、年龄等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。

1.2 检测方法

所有对象均在医生协助下完善相关检查,研究组于入重症监护病房后24 h内、对照组为体检当日采集空腹静脉血5 mL 2管,1管离心(3 000 r/min, 10 min,离心半径8 cm)后取分离血清,使用免疫荧光层析法检测SAA水平,试剂盒由深圳锦瑞生物科

技有限公司提供;使用电化学发光法检测PCT水平,试剂盒由生物梅里埃公司中国有限公司提供。另1管采用SYSMEX-XE 5000血细胞分析仪检测外周血淋巴细胞计数。具体方法均严格按照操作说明书执行。

1.3 随访

对脓毒血症患者进行为期28 d的随访,随访方式为门诊、电话及住院随访,记录患者预后生存、死亡情况,根据患者预后情况分为生存组和死亡组,并比较两组SAA、PCT水平及淋巴细胞计数。

1.4 统计学方法

以SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)标示,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用ROC分析SAA、PCT联合淋巴细胞计数检测对脓毒血症患者预后的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组SAA、PCT水平及淋巴细胞计数比较

研究组SAA、PCT水平较对照组高、淋巴细胞计数较对照组少,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组SAA、PCT水平及淋巴细胞计数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SAA (mg/L)	PCT (ng/mL)	淋巴细胞计数 ($\times 10^9/L$)
研究组	118	224.75±62.48	23.46±5.95	0.86±0.21
对照组	92	7.62±1.83	0.49±0.16	2.30±0.45
<i>t</i> 值		33.304	36.999	30.745
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 生存组和死亡组SAA、PCT水平及淋巴细胞计数比较

所有患者均成功完成随访,随访期间共37例患者死亡,81例患者存活。死亡组SAA、PCT水平较生存组高、淋巴细胞计数较生存组少,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 生存组和死亡组SAA、PCT水平及淋巴细胞计数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SAA (mg/L)	PCT (ng/L)	淋巴细胞计数 ($\times 10^9/L$)
死亡组	37	369.54±83.92	38.67±6.28	0.67±0.21
生存组	81	158.61±58.24	16.51±4.19	0.95±0.28
<i>t</i> 值		15.803	22.633	5.421
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	<0.001

2.3 SAA、PCT联合淋巴细胞计数检测对脓毒血症患者预后的预测价值

ROC曲线分析结果显示,SAA、PCT、淋巴细胞计数三者联合检测对脓毒血症患者预后预测价值的AUC最大,为0.873[95%CI(0.795~0.950)]($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 SAA、PCT联合淋巴细胞计数检测对脓毒血症患者预后的预测价值

Table 3 The predictive value of SAA, PCT combined with lymphocyte count detection on the prognosis of patients with sepsis

预测指标	敏感度	特异度	约登指数	AUC	95% CI	P值
SAA	0.741	0.618	0.359	0.747	0.651~0.844	<0.001
PCT	0.765	0.588	0.353	0.760	0.660~0.860	<0.001
淋巴细胞计数	0.790	0.559	0.349	0.791	0.686~0.895	<0.001
SAA、PCT、淋巴细胞计数联合检测	0.691	0.794	0.485	0.873	0.795~0.950	<0.001

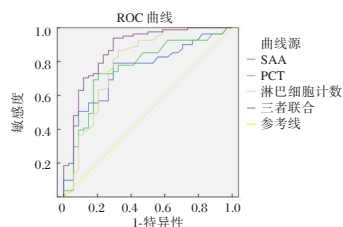


图1 预测价值

Figure 1 The predictive value

3 讨论

脓毒血症是重症监护病房常见疾病,该疾病病情凶险,可致患者多器官功能衰竭、脓毒性休克^[7-8]。随着当前新型抗生素、呼吸机及肾脏替代治疗等的发展,脓毒血症的治疗获得了较大的进步,但脓毒血症患者仍存在起病急、进展迅速以及死亡率高的情况^[9-10]。早期对脓毒血症患者的预后予以预测,并尽早予以针对性干预治疗,对改善脓毒血症患者预后情况至关重要^[11]。

SAA为肝内合成的一种载脂蛋白,属于急性反应蛋白,具有较强的敏感性,在机体受外界刺激后,促炎因子会刺激SAA分泌,导致SAA水平急剧上升^[12]。SAA半衰期短、基础浓度低、个体差异小,且其体内清除为非肾脏依赖性,这些特点使SAA在炎症疾病中的敏感性较高^[13]。据李国楠等^[14]研究显示,血清SAA水平与脓毒血症患者的严重程度密切相关,有助于预测脓毒血症患者的临床预后。本研究中,研究组SAA水平较对照组高,且

死亡组SAA水平较生存组高,这与上述研究结果相似,可见SAA可能与脓毒血症的发生、发展存在一定的关联。

PCT是由甲状腺旁腺C细胞分泌的一种无激素活性的前肽物质,正常情况下,PCT血清浓度低,而在感染状态下,PCT可在各个组织、器官大量形成并释放进入血液循环。相关研究显示,PCT的高水平表达与感染性疾病和结构损伤密切相关^[15]。本研究结果显示,研究组PCT水平较对照组高,提示感染性疾病患者因炎症应激,体内PCT大量生成,随循环进入血液,进一步刺激患者各种炎症因子生成,导致脓毒血症患者血中PCT水平明显高于健康人群。且死亡组PCT水平高于生存组,提示PCT可作为评估脓毒血症患者预后的重要指标。

淋巴细胞由淋巴器官产生,为白细胞中体积最小的一种细胞,约占机体白细胞的20%~30%,主要参与体内的免疫应答过程^[16]。Huang等^[17]研究指出,脓毒血症发生时可导致体内大量的淋巴细胞凋亡,致使机体免疫抑制状态的出现,导致机体特异性免疫反应失调,对于病原体侵袭无法产生有效的抵抗,使机体发生感染,从而易造成多器官功能障碍综合征以及死亡。研究显示,脓毒血症患者外周血淋巴细胞的减少同病情的发展以及预后密切相关^[18]。本研究结果显示,研究组淋巴细胞计数较对照组少,且死亡组淋巴细胞计数较生存组少,表明可将外周血淋巴细胞计数作为判断脓毒血症患者预后的重要标志物。

进一步采用ROC曲线分析发现,SAA、PCT、淋巴细胞计数检测在脓毒血症患者预后评估方面有较高的价值。联合检测SAA、PCT、淋巴细胞计数对脓毒血症患者预后评估的价值最佳,进一步证实了SAA、PCT联合淋巴细胞计数检测能提升对脓毒血症患者预后的预测价值,这与既往研究结果相似^[19-20]。

综上所述,SAA、PCT及外周血淋巴细胞计数在脓毒血症患者中存在异常表达,可能与脓毒血症患者预后密切相关,通过联合检测上述因子水平有助于评估患者预后情况。

参考文献

- [1] 刘蕾蕾,华玮,居培红,等.脓毒症患者血清中白细胞介素-6和降钙素原表达及其临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(6):527-530.
- [2] Orfanu A, Popescu C, Tilican C, et al. The usefulness of neutrophil/lymphocyte count ratio in the diagnosis and prognosis

- of bacterial sepsis-An old parameter with new implications[J]. Rev Rom Med Lab, 2020, 16(1):39-48.
- [3] 蔡宏瑜,张旭辉,杨华.输尿管结石患者术后尿源性脓毒症的影响因素及外周血 NLR,PLR,PCT 的诊断价值[J].中华医院感染学杂志, 2021,31(20):3082-3085.
- [4] Takahashi K. Effect of dosage reduction on peripheral blood lymphocyte count in patients with multiple sclerosis receiving long-term fingolimod therapy[J]. J Clin Neurosci, 2019, 26(7):428-444.
- [5] 蔡国龙,严静,邱海波.中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014):规范与实践[J].中华内科杂志, 2015,54(6):484-485.
- [6] 徐娟,彭辉勇,蔡燕.脓毒症患者外周血长链非编码 RNA TMEVPG1 水平及意义[J/OL].江苏大学学报(医学版):1-9 [2022-08-12].
- [7] Zhang S, Li M, Yuan F, et al. Correction to: The predictive value of dynamic monitoring of peripheral blood lymphocyte to monocyte ratio in patients with extranodal NK/T cell lymphoma[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1):524-529.
- [8] 王虎,张姣姣,孙俊楠,等.白介素-6联合 CD4~+T 淋巴细胞百分比对脓毒症患者预后的评估价值[J].内科理论与实践, 2021,16(6):404-408.
- [9] 王青,翁艳,陈一文,等.快速序贯器官功能衰竭评分对肝硬化脓毒症患者的预后评估价值[J].肝脏, 2021,26(12):1348-1350.
- [10] Russell CD, Parajuli A, Gale HJ, et al. The utility of peripheral blood leucocyte ratios as biomarkers in infectious diseases: A systematic review and meta-analysis[J]. J Infect, 2019, 41(5):339-348.
- [11] 周明杨,孙莹,贺琳晰,等.脓毒血症合并肺部感染患儿外周血 CRP 与 IL-6 和 PCT 变化及相关危险因素分析[J].中国预防医学杂志, 2020,21(9):979-982.
- [12] Wang Y, Sun F, Hong G, et al. Thyroid hormone levels as a predictor marker predict the prognosis of patients with sepsis[J]. Am J Emerg Med, 2021, 45(6):582-589.
- [13] Hotchkiss RS, Colston E, Yende S, et al. Immune checkpoint inhibition in sepsis: a Phase 1b randomized study to evaluate the safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of nivolumab[J]. Intensive Care Med, 2019, 43(10):1360-1371.
- [14] 李国楠,张国强,张洪波,等.血清淀粉样蛋白 A 评估脓毒血症严重程度和预后的临床研究[J].中日友好医院学报, 2021,35(3):143-145+161.
- [15] Wang M, Liu T, Niu Z, et al. Utility of venous-to-arterial carbon dioxide changes to arteriovenous oxygen content ratios in the prognosis of severe sepsis and septic shock: A systematic review and meta-analysis[J]. Hong Kong J Emerg Med, 2021, 28(4):241-253.
- [16] 张潮,姜毅,宋显相,等.血清 C-反应蛋白联合血清淀粉样蛋白 A 水平早期检测在婴幼儿脓毒血症中的应用价值[J].中国卫生检验杂志, 2020,30(10):1186-1188+1203.
- [17] Huang J, Zhang J, Wang F, et al. Association between comorbid asthma and prognosis of critically ill patients with severe sepsis: a cohort study[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):395-397.
- [18] Westerdijk K, Simons K S, Zegers M, et al. The value of the neutrophil-lymphocyte count ratio in the diagnosis of sepsis in patients admitted to the Intensive Care Unit: A retrospective cohort study[J]. PLoS ONE, 2019, 13(2):562-568.
- [19] 王伟,秦超,卜克,等.淋巴细胞计数对脓毒症患者预后的评估价值[J].中国实用医刊, 2020,47(24):16-19.
- [20] 黄国兰,谢宗贤,裴杰,浦柳美.炎症因子评估脓毒症患者疾病预后的应用价值[J].现代医学, 2019,47(7):778-782.

(上接第 1514 页)

- [7] 饶汕,李森.肺癌患者中血清 NSE、ProGRP、SAA 的表达及与临床病理特征的关系[J].检验医学与临床, 2022, 19(4):463-466.
- [8] 杜淑英.血清 CEA CYFRA21-1 NSE ProGRP SCCAg 水平检测诊断肺癌的价值分析[J].中国药物与临床, 2020, 20(11):1899-1900.
- [9] 李勇,龙勇,赵冲,等. EGFR-TKIs 联合抗血管生成药物治疗晚期 EGFR 突变型非小细胞肺癌患者疗效的 Meta 分析[J].中国全科医学, 2022, 25(8):1007-1013.
- [10] 姜中华,姜春成,刘歆,等.非小细胞肺癌颅内转移瘤 CT 灌注参数与病理类型、TTF-1 及腺癌 EGFR 突变相关性的初步研究[J].医学影像学杂志, 2021, 31(12):1996-2000.
- [11] 薛刚,郭华,白洁.康艾注射液联合 GP 化疗方案治疗老年中晚期非小细胞肺癌的效果及对免疫功能、VEGF、CEA、NSE 水平的影响[J].临床医学研究与实践, 2022, 7(1):143-145+149.
- [12] 王仪胜,张章,秦岭,等. NSE、TTF-1 及 Ki-67 与小细胞肺癌患者预后、化疗反应的关系[J].分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(3):461-465.
- [13] 闫飞,高征. NSE、SCC-Ag、LDH、Cyfra21-1 联合检测在肺癌患者中的诊断价值[J].医学理论与实践, 2021, 34(12):2126-2128.
- [14] 刘露,董健,张勇.肿瘤转移相关基因 1 和血管内皮生长因子 C 在肺癌中的表达及意义[J].临床内科杂志, 2021, 38(12):822-825.
- [15] Tan Q, Huang Q, Ma GZ, et al. Relationship between serum tumor markers and Anaplastic Lymphoma Kinase mutations in stage IV lung adenocarcinoma in Hubei province, Central China[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(1):527-531.

· 论 著 ·

血清 ACA、 β_2 GP₁ 抗体与生殖道病原体感染在不孕及复发性流产的检测价值

阿尼克孜·阿不都艾尼 木则帕尔·太来提 曾涛* 许爱敏

【摘要】目的 调查喀什地区不孕及复发性流产患者与正常对照组女性的血清抗心磷脂抗体(ACA)、抗 β_2 糖蛋白1抗体(β_2 GP₁)的表达以及人乳头瘤病毒(HPV)、沙眼衣原体(Ct)、解脲支原体(UU)等生殖道病原体感染情况,探讨以上五个指标在喀什地区不孕及复发性流产患者的检测价值。**方法** 选取2020年1月至2021年11期间到喀什地区第一人民医院检查的不孕及复发性流产患者100例作为研究组,同期另选取100名健康的女性作为对照组进行对比,采用ELISA方法对其血清ACA、 β_2 GP₁进行检测对比,采用PCR方法对其宫颈分泌物HPV、CT、UU进行检测对比。**结果** 两组ACA指标的阳性检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2=3.046, P>0.05$),两组 β_2 -GPI指标的阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2=30.521, P<0.05$)。两组对应的HPV、CT及UU的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。HPV感染类型主要为单一基因型别,同时存在双重和多重基因型别。**结论** ACA、 β_2 -GPI、HPV、CT、UU与复发性流产密切相关,应重视相关实验室指标的检测,早期诊断,做到早期治疗。

【关键词】 不孕及复发性流产; 抗心磷脂抗体; β_2 糖蛋白1抗体; 生殖道病原体感染

Detection value of Serum ACA、 β_2 GP1 antibody reproductive tract pathogen infection in infertility and recurrent abortion

ANIKUZ Abudueni, MUZEPAR Talat, ZENG Tao*, XU Aimin

(Department of Laboratory Medicine, the First People's Hospital of Kashgar, Kashgar, Xinjiang, China, 844000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the expression of serum anticardiolipin antibody (ACA), anti- β_2 glycoprotein 1 antibody (β_2 GP₁), human papilloma virus (HPV), Chlamydia trachomatis (Ct) in patients with infertility and recurrent abortion and normal control women in Kashgar area, Ureaplasma urealyticum (UU) and other reproductive tract pathogens infection and explore the detection value of the above five indicators in patients with infertility and recurrent miscarriage in Kashi area. **Methods** A total of 100 patients with infertility and recurrent miscarriage who were examined in the First People's Hospital of Kashgar from January 2020 to November 2021 were selected as the research group, and 100 healthy women were selected as the control group for comparison. Their serum ACA and β_2 GP₁ were measured by ELISA, and the cervical secretions HPV, CT and UU were detected and compared by PCR. **Results** There was no significant difference in the positive detection rate of ACA between the two groups ($\chi^2=3.046, P>0.05$) and there was significant difference in the positive detection rate of β_2 GP₁ ($\chi^2=30.521, P>0.05$). There was significant difference in the positive detection rates of HPV, CT and UU between the two groups ($P<0.05$). The type of HPV infection is mainly single genotype, and there are dual and multiple genotypes at the same time. **Conclusion** ACA, β_2 GP₁, HPV, CT and UU are closely related to recurrent abortion. Attention should be paid to the detection of relevant laboratory indicators, early diagnosis, and early treatment.

【KEY WORDS】 Infertility and recurrent abortion; Anti-cardiolipin antibody; β_2 glycoprotein 1 antibody; Genital tract pathogen infection

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2020D01C016),喀什地区第一人民医院院级科研项目(KDYY202010)

作者单位:新疆喀什市喀什地区第一人民医院检验科,新疆,喀什 844000

*通信作者:曾涛, E-mail: zengtao405@126.com

近年来,育龄人群不孕症及复发性流产的发病率有逐年上升的趋势^[1]。大量的研究表明,不孕症及复发性流产原因非常复杂,包括生殖道的感染、畸形、内分泌紊乱、染色体异常及自身免疫因素等。不孕症及复发性流产严重影响患者生活质量及家庭和谐、社会稳定,因此已成为一个值得关注的公共健康问题。

抗心磷脂抗体(anticardiolipin antibody, ACA)是由于免疫系统无法识别细胞膜脂质双层磷脂,导致其暴露于内层之外而产生,与磷脂结合会争夺胎盘血管,形成血栓,影响生育^[2]。抗 β 2-糖蛋白1(β 2-glycoprotein-1 antibody, β 2-GPI)抗体是病理状态下心磷脂靶抗原与血清中 β 2-GPI结合暴露抗原位点,诱导产生自身抗体,与女性不孕不育及先兆流产密切相关^[3]。人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)及解脲支原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)结构稳定,传染性强。据报道,宫颈HPV感染者自然流产率可能高于非感染者^[4]。CT以及UU与女性不孕、异位妊娠、男性不育、宫内死胎、新生儿死亡以及婴儿早产关系密切^[5-6]。单个指标检测不能完全找到病因,因此,多个指标检测才具有更大的临床意义。

因此,本研究旨在探讨血清ACA和 β 2-GPI抗体以及生殖道HPV、CT、UU感染与不孕及复发性自然流产的关系及五个指标联合检测的应用价值,为临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2020年1月至2021年11月在喀什地区第一人民医院诊断为不孕症及复发性流产的患者100例为研究对象。纳入标准:①参与研究前未服用过任何抗菌药;②丈夫精液检查结果正常,未见染色体异常;③孕妇对本次研究知情,且自愿签署知情同意书。排除标准:①排除生殖道畸形;②遗传性疾病、内分泌失调;③血型不合及染色体异常。选择有孕产史的准备备孕的正常妇女100名为对照组。研究经医院伦理委员会同意批准。

1.2 检测方法

1.2.1 标本采集

血样采集:所有检查者采集空腹静脉3 mL,1 h内离心(转速3 500 r/min,离心半径8 cm,离心时

间10 min)分离血清,如果不能及时检测,于-20℃冰箱冻存。宫颈分泌物采集:暴露宫颈,无菌干棉拭子伸入宫颈至内口水平停留30 s,再旋转数周后取下放入无菌干燥试管中(有出血的,待恶露干净后采集标本),将棉拭子取出放在1.5~2.0 mL生理盐水中浸泡备用。

1.2.2 检测方法

1.2.2.1 ACA检测 ELISA(酶联免疫吸附法)进行检测,用抗心磷脂抗体IgA/IgG/IgM检测试剂盒(欧蒙医学实验诊断股份公司,德国),将样本血清进行稀释(1:200)后,取出所需反应板将样本加入微孔中,室温25℃下孵育30 min,每孔加入酶标记溶液100 μ L,室温20℃下孵育60 min后,用洗板机洗板3次,每次之间静置15 s,分别加入显色剂A和B液(各50 μ L)混匀,室温20℃下避光孵育15 min后,加入50 μ L的终止液。30 min内使用酶标仪(郑州安图生物工程股份有限公司)在波长450 nm下读取各孔的OD值,并计算Cut off值,Cut off值 $\geq$ 12 RU/mL,为ACA阳性,反之则为ACA阴性。

1.2.2.2 β 2-GPI检测 ELISA(酶联免疫吸附法)进行检测,用抗 β 2糖蛋白1抗体(IgA/IgG/IgM)检测试剂盒(欧蒙医学实验诊断股份公司,德国),每孔加入100 μ L血清,,37℃孵育60 min,用洗板机洗板5次,每孔加入酶标抗体100 μ L,37℃孵育60 min,用洗板机洗板5次,加底显色剂100 μ L,室温下避光孵育15 min,加50 μ L的终止液,30 min内使用酶标仪(安图实验室仪器,郑州有限公司)在波长450 nm下读取各孔的OD值,并计算Cut off值,Cut off值 $\geq$ 20 RU/mL,为 β 2-GPI阳性,反之则为 β 2-GPI阴性。

1.2.2.3 HPV检测 PCR反向点杂交方法进行检测,使用人乳头瘤病毒(HPV)基因分型检测试剂盒(亚能生物技术深圳有限公司)。操作过程严格按照说明书进行。样本DNA提取:轻微振荡悬浮保存液中的脱落细胞,取保存液于1.5 mL离心管中离心(转速13 000 r/min,离心半径5 cm,离心时间10 min),去上清液。加入100 μ L裂解液,振荡混匀,将离心管放入100℃水浴10 min。核酸释放后,离心10 min(转速13 000 r/min,离心半径5 cm),保留上清液以备检测。用全自动医用PCR分析系统(SLAN96P,上海宏石医疗科技有限公司)进行PCR扩增:按照试剂盒说明书要求配制相应数量的PCR

反应试剂,然后加入提取的 DNA 模板,进行 PCR 扩增。扩增条件按照试剂盒说明书进行设置。结果判断:根据试剂说明书,膜条上蓝色斑点显现的位置读取相应位置上标注的基因型信息。

1.2.2.4 UU、CT 检测 PCR 荧光探针法进行检测,使用沙眼衣原体核酸检测试剂盒(批号:2021010,20 人份/盒,广州达安基因股份有限公司)及解脲支原体核酸检测试剂盒(批号:202101008,20 人份/盒,广州达安基因股份有限公司),操作过程严格按照说明书进行。将封闭在无菌生理盐水试管中的标本充分悬浮后离心 10 min(转速 13 000 r/min,离心半径 5 cm),弃去上清后,加 DNA 提取液 50 μ L,涡旋混匀,煮沸 10 min,于 4℃冰箱中裂解 6~8 h,核酸释放后,离心 10 min(转速 13 000 r/min,离心半径 5 cm),保留上清液以备检测。取上述裂解液上清 2 μ L 置于 PCR 反应管中,于转速为 6 000 r/min 下离心 10 min,扩增条件按照试剂盒说明书进行设置,反应结束后使用实时荧光定量 PCR 仪(AGS4800,杭州安杰思生物科技有限公司)进行检测。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0.0 进行数据分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示;计数资料以 $n(\%)$ 表示,应用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 ACA 和 β 2-GPI 检测情况的比较

两组 ACA 指标的阳性检出率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),两组 β 2-GPI 指标的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组阳性率比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of positive rates between the two groups [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	ACA	β 2-GPI
研究组	100	3(3)	31(31)
对照组	100	0(0)	2(2)
χ^2 值		3.046	30.521
<i>P</i> 值		0.081	0.000

2.2 两组 HPV、CT 及 UU 检测情况的比较

两组对应的 HPV、CT 及 UU 的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。从受检人员 HPV 感染类型及构成来看,200 名受检人员中检出 HPV 感染者 23 名,检出率达 11.5%,感染类型主要为单一基因型别,构成比 8%,同时存在双重和多重基因型别。见表 3。

表 2 两组阳性率比较 [$n(\%)$]

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

组别	<i>n</i>	HPV	CT	UU
研究组	100	17(17)	21(21)	14(14)
对照组	100	6(6)	4(4)	0(0)
χ^2 值		5.944	13.211	15.054
<i>P</i> 值		0.015	0.000	0.000

表 3 受检人员 HPV 感染类型及构成 [$n(\%)$]

Table 3 Types and composition of HPV infection in the tested personnel [$n(\%)$]

HPV 感染类型	临床诊断	感染人数	构成比(%)
单一基因型别	不孕症或体检	16(8.00)	69.60
双重基因型别	不孕症或复发性流产	5(2.50)	21.74
多重基因型别	复发性流产	2(1.00)	4.35
合计	不孕症或复发性流产	23(11.50)	100.00

3 讨论

不孕不育以及复发性流产一直是困扰着人类生殖健康的难题。目前,研究已经发现 ACA 和 β 2-GPI 抗体以及生殖道病原体感染对不孕不育和复发性流产女性患者的病因分析和临床诊断具有重要的指导意义。

ACA 近年来临床上研究的热点免疫因素。研究发现,血清 ACA 阳性育龄期妇女妊娠容易合并胎盘血管内皮损伤、血栓形成以及胎盘梗死的病理改变,损害胎盘功能,进而胎盘和胎儿缺血缺氧,引起流产,这本身是一种自身免疫疾病,称为自身免疫性流产。目前该抗体已作为抗磷脂综合征的指标之一,被广泛用于临床检测与研究,它是抗磷脂综合症的标志性抗体,是现今已知可直接诱发血液高凝状态的唯一自身抗体^[7]。这方面的研究正在不断发展,因为这些抗体的临床相关性还未完全阐明。研究最多的抗体是抗磷脂酰乙醇胺、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、波形蛋白/心磷脂复合物和膜联蛋白 A5 的抗体^[8]。国内的大量研究显示,ACA 阳性率明显高于对照组。陈玉阁的研究中^[9],研究组的 ACA 阳性率(37.97%)明显高于对照组的阳性率(3.84%)。乔彦杰的研究结果显示^[10],ACA 检测为阳性率(31%)明显高于对照组阳性率(12.2%)。本研究结果显示,研究组 ACA 阳性率(3%)与对照组(0%)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),这可能是一方面缺乏标准化试剂盒,导致不同实验室之间抗体阳性率的显著差异^[11]。另一方面由于人群地区差异,疾病的发

生率与沿海地区有一定的差别。因此,ACA可能不是本地区不孕和复发性流产的原因之一,但是需要扩大样本量,进一步地研究。

$\beta 2$ 糖蛋白-1($\beta 2$ -GPI)是载脂蛋白,由肝细胞合成、胎盘产生,会抑制内源性凝集通路,抑制血小板凝血酶原活性,表明 $\beta 2$ -GPI是血栓形成致病因素^[12]。且其为重要结合辅因子,能与单核细胞、内皮细胞、血小板、蜕膜细胞、滋养层细胞表面受体与凝血因子结合,引发细胞凋亡、炎症反应、凝血功能障碍、内皮细胞损伤;其水平增高常见于习惯性流产、免疫性不孕不育,是女性不孕不育及先兆流产的重要因素,与ACA联合诊断可提高女性不孕诊断准确率,有助于临床治疗^[13]。陈玉阁的研究显示^[9],研究组的阳性 $\beta 2$ -GPI率(39.24%)明显高于对照组的阳性率(2.56%)。乔彦杰的研究结果显示^[10], $\beta 2$ -GPI阳性率(17%)明显高于对照组的阳性率(7.8%)。本研究结果显示,研究组 $\beta 2$ -GPI阳性率为31%,对照组为2%,与对照组比较,差异有统计学意义,因此,不孕症或有过复发性流产史或死胎的孕妇应该提前检查 $\beta 2$ -GPI,在下次妊娠之前判断是否需要合理预防用药,来避免流产的发生。

HPV感染与宿主的免疫状态明确相关,目前关于HPV感染导致早期胚胎发育不良的体内研究证据很少,但体外研究证明HPV感染增加了囊胚细胞的凋亡和减少了滋养层细胞在子宫内膜的植入^[14]。一项病例对照研究发现,宫颈HPV感染阳性率在RSA患者中明显升高(35.0%),高于对照组(12.5%),且以HPV 16感染为主(85.71%),差异有统计学意义^[15]。钟小敏^[16]的一项研究显示,RSA组(34.7%)宫颈HPV感染率高于对照组(12.6%),但感染类型比较,差异无统计学意义。本研究结果显示,研究组HPV阳性率(17%)与对照组HPV阳性率(6%)比较,差异有统计学意义。不孕及复发性流产患者中,单一基因型别感染率构成比(16/17)69.60%,双重基因型别感染构成比为(5/23)21.74%,多种基因型别感染构成比为(2/17)4.35%,说明是特异型别的HPV基因型和致病力的强弱决定了不孕及复发性流产的发生。

UU感染极易诱发复发性流产或不孕。安泓霏等指出,子宫内膜炎患者UU感染阳性率为32.88%,造成胎儿早产或胎膜破裂比例达62.50%,强调要在围生期加强UU感染筛查以便及时治疗。在不孕及复发性流产中CT感染也是原因之一,

也是较常见的性病之一。邢炳静等^[17-18]指出解脲支原体、沙眼衣原体与复发性自然流产密切相关,复发性流产患者蜕膜组织中UU阳性率77.78%(63/81),CT阳性率60.49%(49/81),UU+CT阳性率43.21%(35/81)。本研究结果显示,CT及UU的阳性率分别为21%、14%,说明本地区该项目仍然是不孕症和复发性流产的重要检测指标。

喀什地区多个民族聚集在一起,公共卫生优先级较低,当地人民相关专业基础知识缺乏,在这样低收入地区进行认知教育和预防疾病知识宣传是很必要的。抗心磷脂抗体、抗 $\beta 2$ 糖蛋白1抗体以及人乳头瘤病毒(HPV)、沙眼衣原体(Ct)、解脲支原体(UU)感染与复发性流产及不孕关系密切,临床中应做好孕前和孕妇早期筛查,及时发现及时治疗,减轻病人及家庭的经济负担,社会效益及经济效益均佳。

参考文献

- [1] 月华,钟秀宏,尤淑霞,等.探析阴道毛滴虫感染致女性不孕症原因及预防[J].中国妇幼保健,2014,29(16):2648-2650.
- [2] 徐萍,应春妹,方筠.抗核抗体检测在不孕诊断中的价值[J].检验医学,2018,33(12):1116-1119.
- [3] 狄子暄,韩璐.抗心磷脂抗体阳性型复发性流产的研究近况[J].新疆中医药,2017,35(4):98-101.
- [4] Weyn C, Thomas D, Jani J, et al. Evidence of Humanpapillomavirus in the Placenta[J]. J Infect Dis, 2011, 203(3):341-343.
- [5] 芦笛,白伶俐,任永变.解脲支原体、沙眼衣原体感染与异位妊娠的相关性研究[J].中国性科学,2016,25(6):137-139.
- [6] 徐春辉,杨丽.妊娠期生殖道感染对妊娠结局影响的临床研究[J].中国性科学,2015,24(2):76-79.
- [7] 罗永芳,冯玲,李莉,等.阿司匹林联合激素类药物抗心磷脂抗体阳性早孕复发性流产的临床效果分析[J].中国性科学,2015,24(5):107-110.
- [8] Pasquale P, Ettorre E, Menichelli D, et al. Seronegative antiphospholipid syndrome: refining the value of "non-criteria" antibodies for diagnosis and clinical management[J]. Haematologica, 2020, 105(3):562-572.
- [9] 陈玉阁.抗心磷脂抗体及抗 $\beta 2$ 糖蛋白抗体与自然流产的相关性研究[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(6):71-72.
- [10] 乔彦杰.抗心磷脂抗体、 $\beta 2$ -GPI、抗核抗体联合检测在育龄女性不孕诊断中的影响价值[J].疾病监测与控制,2020,6(3):193-195.
- [11] Jiansuo Zhou, Xiuzhu Hou, Hua Zhang, The Clinical Performance of a New Chemiluminescent Immunoassay in Measuring Anti- $\beta 2$ Glycoprotein 1 and Anti-Cardiolipin Antibodies[J]. Med Sci Monit, 2018, 24:6816-6822.

(下转第1527页)

· 论 著 ·

食管癌组织中 *miR-3651* 表达与其 IPCL 分型及病理分级的关系

陈孟君 袁燕文* 程树红

[摘要] 目的 探讨食管癌组织中 *miR-3651* 表达与其 IPCL 分型及病理分级的关系。方法 分析 2019 年 1 月至 2020 年 12 月东莞市人民医院确诊并收治的 82 例食管癌患者,选取患者的食管癌组织以及癌旁组织,对食管癌组织进行 IPCL 分型和病理分级,并采用实时定量聚合酶链反应(Real-time PCR)法检测癌旁组织以及各 IPCL 分型以及病理分级的食管癌组织的 *miR-3651* 表达;采用 spearman 分析法分析各组患者 IPCL 分型及病理分级结果与 *miR-3651* 水平的相关性;采用单因素分析以及 Cox 比例风险回归分析研究食管癌预后不良的影响因素。结果 食管癌组织中 *miR-3651* 相对表达量小于癌旁组织的 *miR-3651* 相对表达量($t=18.839, P<0.05$);各 IPCL 分型及病理分级之间食管癌组织的 *miR-3651* 相对表达量比较,差异有统计学意义($F=8.411, t=7.490, P<0.05$);食管癌患者癌组织中 *miR-3651* 表达水平与患者食管癌组织的 IPCL 分型及病理分级呈正相关($P<0.05$);*miR-3651* 高表达者术后 1 年总生存率低于 *miR-3651* 低表达者,差异有统计学意义($\chi^2=4.623, P<0.05$);Cox 回归分析结果显示,浸润性食管癌、IPCL 分型 V_{3A} 型、病理分级中-高分化以及 *miR-3651* 表达 ≥ 0.528 为食管癌患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。结论 食管浅表性病变患者的食管癌组织 IPCL 分型以及病理分级与 *miR-3651* 表达水平呈正相关;*miR-3651* 表达水平检验可以为医生对食管癌的早期诊断提供理论依据。

[关键词] *miR-3651* 表达; IPCL 分型; 关系分析; 食管癌

Correlation analysis of *miR-3651* expression in esophageal cancer tissue with IPCL type and pathological grade

CHEN Mengjun, YUAN Yanwen*, CHENG Shuhong

(Department of Gastroenterology, Affiliated Dongguan Hospital, Southern Medical University (Dongguan People's Hospital), Dongguan, Guangdong, China, 523000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of *miR-3651* in esophageal carcinoma and its IPCL type and pathological grade. **Methods** From January 2019 to December 2020, 82 patients with esophageal cancer diagnosed and treated by the Department of Gastroenterology of Dongguan People's Hospital. The esophageal cancer tissues and adjacent tissues of the patients were collected, and the esophageal cancer tissues were subjected to IPCL typing and pathological grading, and the real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) method was used to detect the expression of *miR-3651* in adjacent tissues and esophageal cancer tissues of various IPCL types and pathological grades. Spearman analysis was used to analyze the IPCL types and the correlation between pathological grading results and *miR-3651* level. Univariate analysis and Cox proportional hazards regression analysis were used to study the influencing factors of poor prognosis of esophageal cancer. **Results** The relative expression of *miR-3651* in esophageal cancer tissue was lower than that in adjacent tissue ($t=18.839, P<0.05$). Compared with the relative expression of 3651, the difference was statistically significant ($F=8.411, t=7.490, P<0.05$). The expression level of

基金项目:广东省东莞市科技发展(一般)项目(201750715001287)

作者单位:南方医科大学附属东莞医院(东莞市人民医院)消化内科,广东,东莞 523000

*通信作者:袁燕文, E-mail:yywen2022@163.com

miR-3651 in cancer tissue of patients with esophageal cancer was positively correlated with IPCL typing and pathological grade of esophageal cancer tissue ($P<0.05$). The expression of *miR-3651* was significantly different in age, Pathological typing, TNM stage, IPCL type and pathological grade ($\chi^2=4.623$, $P<0.05$). The 1-year overall survival rate of patients with high *miR-3651* expression was lower than that of patients with low *miR-3651* expression, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.623$, $P<0.05$). Cox regression analysis showed that invasive esophageal cancer, IPCL type V3A, pathological grade medium-high differentiation and *miR-3651* expression ≥ 1.497 were independent risk factors for poor prognosis in patients with esophageal cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The IPCL type and pathological grade of esophageal cancer in patients with superficial esophageal lesions are positively correlated with the expression level of *miR-3651*. The detection of *miR-3651* level can provide a theoretical basis for doctors to diagnose early esophageal cancer.

[KEY WORDS] *miR-3651* expression; IPCL typing; Relationship analysis; Esophageal cancer

食管癌(esophageal carcinoma, EC)是世界上常见的消化系统恶性肿瘤之一,中国作每年死于食管癌的人数位居前列^[1]。由于EC的早期症状较不明显加上大部分居民对EC的认知情况较差^[2],早期的诊断率较低,EC患者就医时大多为EC晚期,错过较好的治疗时机。微小RNA(miRNA, miRNA)是一类内源非编码小RNA分子,长度约为22个核苷酸,能够参与肿瘤的形成、侵袭和转移过程,*miR-3651*在EC组织中表达存在着差异^[3-5],其在EC组织中的表达明显多于癌旁组织。食管上皮乳头内毛细血管襻(inteapapillary capillary, IPCL)分型对于食管早期肿瘤的诊断具有指导意义^[6],目前对于EC发病机制研究尚且较少,且利用*miRNA-3652*对EC患者进行排查有利于早期筛查EC,能够提前发现EC的几率大大上升。故本研究旨在探讨EC组织中*miR-3651*表达与其IPCL分型及病理分级的关系以及*miR-3651*表达与预后的关系,为临床通过*miR-3651*诊断EC提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集东莞市人民医院2019年1月至2020年12月病理诊断确诊并手术切除EC患者82例,分别收集患者的癌旁组织(距离肿瘤边缘约1~2 cm的组织)以及EC组织。患者平均年龄(60.02 ± 11.36)岁。男性56例,女性26例。纳入标准:①参照《食管癌诊疗指南》^[7]制定的EC诊断标准,确诊为EC的患者;②术前未接受过其他治疗方法,例如化疗、放疗等;③在本院的临床资料完整。排除标准:①同时患有其他类型的肿瘤;②伴随心、脑、肾等重要器官功能障碍;③患者同时

患有严重精神疾病以及精神状况不佳。本研究已获得东莞市人民医院伦理委员会批准,所有受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与处理

手术中切除EC组织以及癌旁组织后立即将其放入冻存管并投入术前准备好的液氮使其快速冷冻保存。

1.2.2 *miR-3651* 检验

采用实时定量PCR检验*miR-3651*表达。采用Trizol试剂提取细胞中总RNA,其中RNA纯度和浓度的检验采用微量核酸分析仪(杭州优米仪器有限公司,型号:UNano-2000)。随后参照反转录试剂盒(德国Qiagen有限公司,货号:QA2317)操作说明,混匀后为使其沉淀,将其低速离心20 s,离心参数25℃,1 600 r/min,离心半径3 cm,10 min,即可获得最终转录成的cDNA。然后以cDNA为模板进行PCR扩增。扩增条件为:37℃,2 min(1个循环);94℃,15 s与55℃,45 s(10个循环);94℃,15 s与55℃,45 s(30个循环)。*miR-3651*基因引物序列:CAUAGCCCGGUCGCGUGUACA-UGA。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算*miR-3651*的相对表达量^[8]。由相关文献^[9]知*miR-3651*相对表达量的最佳截断值为0.528。并根据该截断值对*miR-3651*的相对表达量进行分类,*miR-3651*的相对表达量 ≥ 0.528 为高表达,*miR-3651*的相对表达量 < 0.528 为低表达。

1.2.3 EC组织的IPCL分型^[10]

采用NBI加上放大内镜进行观察,识别病变区域并根据IPCL形态类型进行IPCL分型。本研究所涉及的IPCL分型有Ⅲ型、Ⅳ型、V₁型、V₂型、V_{3A}型。

1.2.4 病理分级^[11]

由三名5年以上的工作经验的路理科诊断医师进行病理分级并达成一致,将患者按病理分级进行分组,分为低分化组和中高分化组。

1.3 观察指标

对比EC组织和癌旁组织中 *miR-3651* 表达量,并分析其与EC患者的IPCL分型、病理分级以及预后之间的关系。

1.4 随访

随访的主要方式是电话随访和门诊复查,随访截止时间为2021年12月31日,其中,患者死亡即为随访结束,患者的总生存时间(Overall Survival, OS)为治疗结束至随访结束或死亡的期间。

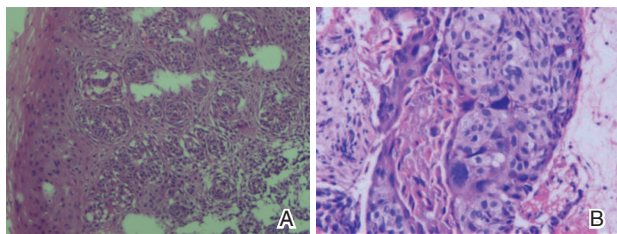
1.5 统计学方法

采用SPSS21.0统计学软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,用 *t* 检验计算统计量,计数资料用例(%)表示,用 χ^2 检验计算统计量。采用Spearman相关分析 *miR-3651* 表达与EC组织IPCL分型及病理分级的相关性。采用Kaplan-Meier法进行OS分析以评估 *miR-3651* 表达与OS之间的关系,采用Log-rank检验单因素的组间差异,多因素分析采用COX风险模型分析EC预后不良的独立危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EC组织与癌旁组织 *miR-3651* 表达比较

EC组织中 *miR-3651* 相对表达量(2.083 ± 0.813)明显高于癌旁组织(0.304 ± 0.265),差异有统计学意义($t=18.839, P < 0.001$)。见图1。



注:A为食管高级别上皮内瘤变;B为食管中分化鳞状细胞癌。

图1 食管癌在苏木精-伊红染色法下的病理图片(电镜观察图, $\times 200$)

Figure 1 Pathological pictures of esophageal cancer (electron microscope observation, $\times 200$)

2.2 EC组织各IPCL分型以及病理分级之间 *miR-3651* 表达比较

各IPCL分型之间EC组织的 *miR-3651* 相对表

达量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);经 *t* 检验分析, V_1 型、 V_2 型、 V_{3A} 型的 *miR-3651* 相对表达量明显高于III型的 *miR-3651* 相对表达量,且 V_{3A} 型的 *miR-3651* 相对表达量明显高于 V_1 型的 *miR-3651* 相对表达量,差异有统计学意义($P < 0.05$)。各病理分级之间的 *miR-3651* 相对表达量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 EC组织 *miR-3651* 表达与患者EC组织的IPCL分型及病理分级的关系($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	<i>n</i>	<i>miR-3651</i> 相对表达量	<i>F/t</i> 值	<i>P</i> 值
IPCL 分型				
III型	8	3.002 ± 1.096	8.411	<0.001
IV型	12	3.657 ± 1.362		
V_1 型	26	4.399 ± 0.960^a		
V_2 型	19	4.864 ± 0.877^a		
V_{3A} 型	17	5.036 ± 0.804^{ab}		
病理分级				
低分化	39	3.367 ± 0.550	15.931	<0.001
中-高分化	43	5.325 ± 0.561		

注:与III型相比,^a $P < 0.05$;与 V_1 型比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 EC组织 *miR-3651* 表达与患者EC组织的IPCL分型及病理分级的相关性分析

经Spearman相关分析,食道癌患者癌组织中 *miR-3651* 表达水平与患者EC组织的IPCL分型($r=0.306, P=0.005$)及病理分级($r=0.332, P < 0.001$)呈正相关。

2.4 EC组织 *miR-3651* 表达与患者临床病理特征的关系

miR-3651 的低表达和高表达在年龄、病理分型、TNM分期、IPCL分型以及病理分级方面比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而两组在性别、体重指数方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.5 影响EC患者预后的Cox回归分析

截至2021年12月,共随访12个月,随访期间死亡15例。*miR-3651* 高表达者与低表达者术后一年总生存率分别为74.42%(32/43)、92.31%(36/39), *miR-3651* 高表达者术后1年总生存率低于 *miR-3651* 低表达者($\chi^2=4.623, P < 0.05$)。见图2。将EC患者预后情况设为因变量,将单因素分析中存在显著性差异的因素设为自变量。赋值情况见表3。Cox回归分析结果显示,浸润性食管癌、

表2 EC组织 *miR-3651* 表达与患者临床病理特征的关系
[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

临床病理特征	miR-3651		χ^2/t 值	P 值
	高表达 ($n=43$)	低表达 ($n=39$)		
性别				
男	30(69.77)	26(66.67)	0.786	0.074
女	13(30.23)	13(33.33)		
年龄				
≥60	35(81.40)	23(58.97)	4.069	0.044
<60	8(18.60)	16(32.03)		
体重指数[$\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$]	21.04±1.33	21.43±1.26	1.360	0.178
病理分型				
上皮内瘤变或原位癌	16(37.22)	29(74.36)	12.907	0.002
早期食管癌	12(27.91)	7(17.95)		
浸润性食管癌	15(34.88)	3(7.69)		
TNM 分期				
I、II 期	22(51.16)	27(69.23)	6.411	0.011
III、IV 期	21(48.84)	12(30.77)		
IPCL 分型				
III 型	3(37.50)	5(62.50)	9.635	0.047
IV 型	6(50.00)	6(50.00)		
V ₁ 型	16(69.23)	8(30.77)		
V ₂ 型	11(78.95)	4(21.05)		
V _{3A} 型	12(88.24)	2(11.76)		
病理分级				
低分化	19(48.72)	20(51.28)	5.826	0.016
中-高分化	27(62.79)	16(37.21)		

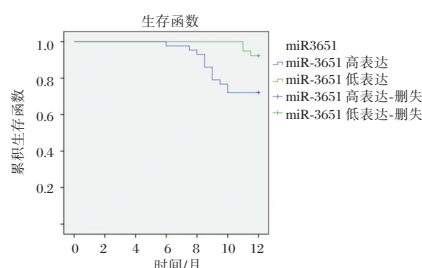


图2 生存曲线
Figure 2 Survival curve

表3 赋值表
Table 3 Assignment table

变量	赋值说明
患者预后	存活=0; 死亡=1
年龄	<60=0; ≥60=1
病理分型	上皮内瘤变及原位癌=1; 早期食管癌=2; 浸润性食管癌=3
TNM 分期	I、II 期=0; III、IV 期=1
IPCL 分型	III 型=0; IV 型=1; V ₁ 型=2; V ₂ 型=3; V _{3A} 型=4
病理分级	低分化=0; 中-高分化=1
miR-3651 表达	<1.479=0; ≥1.479=1

IPCL 分型 V_{3A} 型、病理分级中-高分化以及 *miR-3651* 表达≥0.528 为 EC 患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表4 影响 EC 患者预后的 Cox 回归分析

Table 4 Cox regression analysis affecting the prognosis of EC patients						
变量	β 值	标准误	Wald χ^2 值	HR 值	95% CI	P 值
年龄	0.366	0.201	3.316	1.442	0.972~2.138	0.069
病理分型	2.159	0.998	4.680	8.662	1.225~61.257	0.031
TNM 分期	0.721	0.369	3.818	2.056	0.998~4.239	0.051
IPCL 分型	2.013	0.992	4.118	7.486	1.071~52.317	0.042
病理分级	1.111	0.456	5.936	3.037	1.243~7.424	0.015
miR-3651 表达	1.867	0.771	5.864	6.469	1.427~29.317	0.015

3 讨论

EC 在全球范围内的消化道恶性肿瘤中,属于发病率极高的肿瘤。早期 EC 患者经治疗后 5 年生存率可达 95%^[12],并且肿瘤的发病机制十分复杂,单纯依靠早期筛查中使用的内镜对 EC 肿瘤组织的形态进行观察并诊断十分容易出现漏诊或误诊的情况。因此,找到能够在早期诊断出 EC 的指标是十分必要的。

据有关研究表明 *miR-3651* 相对表达量在 EC 组织和癌旁组织间差异显著,能够作为一项观察指标有助于临床早期筛查 EC。本研究研究结果表明:EC 组织中 *miR-3651* 相对表达量明显高于癌旁组织中;各 IPCL 分型之间及病理分级 EC 组织的 *miR-3651* 相对表达量比较有区别;食道癌患者癌组织中 *miR-3651* 表达水平与患者 EC 组织的 IPCL 分型及病理分级呈正相关。因此,我们可以通过这种差异来鉴别组织是否为食管癌组织从而提高食管癌的诊断的准确度。据有关研究表明^[8], *miR-3651* 能够抑制基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)和细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)的表达,其中 MMP-9 通过调节肿瘤的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)以促进肿瘤的侵袭迁移^[13], ICAM-1 可以促进肿瘤细胞的迁移作用^[14],因此 *miR-3651* 能够通过促进肿瘤细胞的迁移,加速癌症范围的扩散,从而加重 EC 病情。

随访期间 *miR-3651* 高表达者术后 1 年总生存率较高,并且病理分型为浸润性食管癌、IPCL 分型 V_{3A} 型、病理分级中-高分化以及 *miR-3651* 表达≥

0.528 为 EC 患者预后不良的独立危险因素。具体原因如下:在手术中,由于浸润性食管癌的肿瘤细胞的结构较复杂,很有可能会导致手术中肿瘤组织切除不干净,影响预后甚至可能导致复发;据有关研究报道^[10],IPCL 分型对浸润深度诊断的准确度高达 70.83%,因此 IPCL 分型的结果能够较为准确地诊断出病情,EC 的病理分级是按照其分化程度划分的,分化程度越低的 EC 其恶性程度越差,其肿瘤就具有越丰富的新生血管^[15];而 IPCL 分型以及病理分级是按照病情严重程度进行划分的,故病情越严重的患者其预后越差;*miR-3651* 的表达谱可以作为一种重要的生物标志物去评估癌症患者的肿瘤发生、发展以及预后的过程。由于 *miR-3651* 可以促进肿瘤细胞迁移,因此手术中有较大的可能性未能完全切除肿瘤组织,术后极易出现预后不良以及复发的情况。

综上所述,*miR-3651* 与 EC 组织的 IPCL 分型以及病理分级具有一定的关系,*miR-3651* 表达水平检验可以作为一项客观指标协助临床医生对 EC 严重程度以及预后是否良好进行诊断,临床参考价值较高。

参考文献

- [1] 徐晓,唐曦,徐晓明,等.TGF- β 1、TSGF 及 CYFRA21-1 与食管癌放疗后病理缓解程度、预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):237-241.
- [2] 徐蓉生,段云,梅艳,等.食管癌高发地区居民食管癌认知情况 & 饮食偏好[J].华南预防医学,2019,45(4):305-308.
- [3] Chang HY, Lee CH, Li YS, et al. MicroRNA-146a suppresses tumor malignancy via targeting vimentin in esophageal squamous cell carcinoma cells with lower fibronectin membrane assembly[J]. J Biomed Sci, 2020, 27(1):102.
- [4] Lin Z, Chen Y, Lin Y, et al. Potential miRNA biomarkers for the diagnosis and prognosis of esophageal cancer detected by a novel absolute quantitative RT-qPCR method [J]. Sci Rep, 2020, 10(1):20065.
- [5] Yan A, Wang C, Zheng L, et al. MicroRNA-454-3p inhibits cell proliferation and invasion in esophageal cancer by targeting insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1 [J]. Oncol Lett, 2020, 20(6):359.
- [6] 钟灿新,张世豪. IPCL 分型联合 Cyclin D1、PDGFR 对食管早期肿瘤的诊断和预后预测价值[J].河北医科大学学报,2021,42(8):891-895.
- [7] 王程浩,韩泳涛.2020 年中国临床肿瘤学会《食管癌诊疗指南》解读[J].肿瘤预防与治疗,2020,33(4):285-290.
- [8] 李淑军,姚继方,江蒲.微小 RNA-3651 在食管癌组织的表达及其与肿瘤侵袭迁移的关系[J].中华实验外科杂志,2021,38(8):1455-1458.
- [9] Ries J, Vairaktaris E, Agaimy A, et al. miR-186, miR-3651 and miR-494: potential biomarkers for oral squamous cell carcinoma extracted from whole blood [J]. Oncol Rep, 2014, 31(3):1429-1436.
- [10] 李伊敏,程树红,张世豪. IPCL 分类对食管早期肿瘤诊断价值的应用[J].蚌埠医学院学报,2019,44(6):742-744.
- [11] 高朋瑞,曲金荣,鲁亚南,等.食管鳞状细胞癌动态增强 MRI 定量参数与病理分级的相关性研究[J].临床放射学杂志,2021,40(10):1934-1938.
- [12] 宋颂,雷林,张瑞,等.食管癌筛查的研究进展[J].中华肿瘤防治杂志,2022,29(7):451-455.
- [13] 李涛,马利锋,刘国超,等.微小 RNA-150 在胆囊癌上皮-间充质转化中的作用及其机制[J].中华实验外科杂志,2020,37(10):1890-1893.
- [14] 牟仁奎,向水,黄进启,等.鸢尾素通过磷酸腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路调控自噬抑制血管平滑肌细胞炎症反应和增殖的研究[J].中华实验外科杂志,2019,36(6):1020-1023.
- [15] 刘小静,苗重昌,周胜利.双源 CT 能谱曲线在食管癌诊断及病理分级中的应用价值[J].临床和实验医学杂志,2016,15(7):692-695.
- [12] 申慧慧,张慧弘.抗心磷脂抗体与抗核抗体水平检测在诊疗宫颈机能不全孕妇中的作用[J].中国医药科学,2018,8(6):53-55+77.
- [13] 李俊娥.相关血清学指标在早期 RA 中的应用价值[D].昆明:昆明医科大学,2018.
- [14] Noventa M, Andrisani A, Gizzo S, et al. Is it time to shift the attention on early stages embryo development to avoid inconclusive evidence on HPV-related infertility: debate and proposal[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2014, 31(3):12-48.
- [15] 姚守珍,刘玲,王璐璐.复发性流产孕妇滋养细胞中 E-钙黏素的表达与 HPV 感染的相关性[J].中华医院感染学杂志,2014,24(12):3034-3040.
- [16] 钟小敏.复发性流产与宫颈 HPV 感染的相关性分析[J].中国医学创新,2015,12(15):130-132.
- [17] 安泓霏,胡永浩,赵国清,等.产后子宫内膜炎与围生期解脲脲原体感染有关[J].基因组学与应用生物学,2019,38(2):354-359.
- [18] 晓丽,龚向东,李婧,等.2015-2019 年中国性病监测点生殖道沙眼衣原体感染流行病学特征[J].中华皮肤科杂志,2020,53(8):596-601.

(上接第 1522 页)

呼出气一氧化氮分数联合气道反应性测定对儿童咳嗽变异性哮喘早期鉴别价值分析

母东勤 刘利英*

【摘要】目的 探讨呼出气一氧化氮分数(FeNO)联合气道反应性测定对儿童咳嗽变异性哮喘早期鉴别价值。**方法** 选择2019年9月至2021年9月在苏州大学附属第二医院就诊的86例学龄前咳嗽变异性哮喘患儿为病例组,以性别、年龄(± 2 岁)进行1:1配对选择同期就诊的呼吸道感染后慢性咳嗽患儿为对照组进行分析。收集患儿呼出气一氧化氮(FeNO)、潮气肺功能检测结果及咳嗽症状积分。比较两组上述各指标,并以ROC法评估FeNO及潮气肺功能检测指标对儿童咳嗽变异性哮喘的诊断价值。**结果** 病例组患儿FeNO与咳嗽症状积分均高于对照组,差异有统计学意义($t=18.200, 5.548, P<0.05$)。病例组患儿VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE均低于对照组,差异有统计学意义($t=-5.728, -6.522, -6.527, P<0.05$)。相关性分析结果显示:FeNO与咳嗽症状积分呈正相关关系($r>0, P<0.05$);VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE均与咳嗽症状积分呈负相关关系($r<0, P<0.05$)。ROC分析结果显示:FeNO、VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE对儿童咳嗽变异性哮喘患者鉴别诊断的截断值分别为29.68 ppb、7.25 mL/kg、26.84%、29.03%;曲线下面积(AUC)分别为0.901、0.881、0.796、0.756,联合诊断的AUC为0.962,其诊断效能高于各指标单独检测($P<0.05$)。**结论** 咳嗽变异性哮喘患儿FeNO、VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE与呼吸道感染后慢性咳嗽患儿具显著差异,上述指标均可用作咳嗽变异性哮喘的早期鉴别,联合检测可提高诊断效能。

【关键词】 呼出气一氧化氮分数;潮气功能检测;儿童;咳嗽变异性哮喘;诊断效能

Analysis of the early identification value of exhaled nitric oxide combined with airway reactivity measurement in children with cough variant asthma

MU Dongqin, LIU Liying*

(Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu, China, 215004)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the value of exhaled nitric oxide combined with determination of airway reactivity in early identification of cough variant asthma in children. **Methods** A total of 86 pre-school children with cough variant asthma who were treated in our hospital from September 2019 to September 2021 were selected as the case group, and 1:1 matching was performed according to gender and age (± 2 years old) to select the respiratory tract infections who visited the clinic during the same period. Post-chronic cough children were retrospectively analyzed as the control group. The exhaled nitric oxide (FeNO), tidal pulmonary function test results and cough symptom scores were collected. The above indexes were compared between the two groups, and the diagnostic value of FeNO and tidal pulmonary function test indexes in children with cough variant asthma was evaluated by ROC method. **Results** FeNO and cough symptom scores in the case group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($t=18.200, 5.548, P<0.05$). The VT/kg, TPTEF/TE and VPTEF/VE in the case group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($t=-5.728, -6.522, -6.527, P<0.05$). The results of cor-

基金项目:苏州市科技计划项目(SyS2018069)

作者单位:苏州大学附属第二医院儿科,江苏,苏州 215004

*通信作者:刘利英, E-mail:750207101@qq.com

relation analysis showed that FeNO was positively correlated with cough symptom score ($r>0$, $P<0.05$); VT/kg, TPTEF/TE, VPTEF/VE were all negatively correlated with cough symptom score ($r<0$, $P<0.05$). The results of ROC analysis showed that the cut-off values of FeNO, VT/kg, TPTEF/TE, and VPTEF/VE for differential diagnosis of children with cough variant asthma were 29.68 ppb, 7.25 mL/kg, 26.84%, and 29.03%, respectively. The areas under the curve (AUC) were 0.901, 0.881, 0.796, and 0.756, respectively. The AUC of combined diagnosis was 0.962, and its diagnostic efficiency was higher than that of the individual indicators ($P<0.05$). **Conclusion** FeNO, VT/kg, TPTEF/TE, VPTEF/VE in children with cough variant asthma are significantly different from those with chronic cough after respiratory infection. The above indicators can be used for early identification of cough variant asthma, and combined detection can improve the diagnosis efficacy.

[KEY WORDS] Fractional Exhaled Nitric Oxide; Tidal Function Testing; Children; Cough Variant Asthma; Diagnostic Efficacy

咳嗽变异性哮喘是以咳嗽为唯一或主要表现,无喘息、气促等典型症状体征,但有气道高反应性的特殊类型哮喘^[1-2]。本病为儿童常见病,据统计儿童慢性咳嗽中有17.0%~40.1%为咳嗽变异性哮喘,目前咳嗽变异性哮喘的诊断主要根据临床表现结合支气管激发试验和(或)最大呼气流量(peak expiratory flow, PEF)日间变异率进行判断^[3]。但支气管激发试验对于部分诱剂过敏、基础通气功能较差的患儿不适用,PEF日间变异率则需要连续监测,耗时较长,儿童难以配合^[4]。呼出气一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)为近年常用的气道炎症反应监测方法,该方法无创且安全性高,操作简便具有较高的敏感性 & 客观性^[5]。潮气呼吸肺功能检测则为婴幼儿常用的肺功能检测法,其操作简便、无创且无需配合,在儿童呼吸道疾病诊断中有重要的价值。目前关于FeNO联合潮气肺功能检测用于儿童呼吸系统疾病诊断的研究虽有报道,但关于该方法用于儿童咳嗽变异性哮喘与呼吸道感染后咳嗽的早期鉴别方面的研究未见相关报道。因此本研究旨在通过分析呼出气一氧化氮联合气道反应性测定对儿童咳嗽变异性哮喘早期鉴别价值,以期为此类患者的临床诊断鉴别提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年9月至2021年9月在苏州大学附属第二医院就诊的86例学龄前咳嗽变异性哮喘患儿为病例组,以性别、年龄(± 2 岁)进行1:1配对选择同期就诊的呼吸道感染后慢性咳嗽患儿为对照组进行回顾性分析。纳入标准:①病例组患儿符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)》^[6]中咳嗽变异性哮喘的

诊断,并经支气管激发试验和(或)PEF日间变异率检查证实;②对照组患儿符合《中国儿童慢性咳嗽诊断及治疗指南(2013年修订)》^[7]中呼吸道感染后慢性咳嗽的诊断;③年龄0~6岁;④接受FeNO及潮气肺功能检测;⑤拟分析的相关资料完整。排除标准:①支气管功能发育障碍的患者;②胸廓畸形或其他可能影响潮气功能监测结果的患儿;③合并心血管疾病者。其中病例组男45例,女41例;年龄平均(3.28 ± 1.06)岁;身高平均(92.17 ± 21.88)cm;平均体重(12.75 ± 3.08)kg。对照组男45例,女41例;年龄平均(3.29 ± 1.10)岁,身高平均(93.08 ± 20.95)cm,平均体重(12.51 ± 3.25)kg。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2 方法

所有患儿均行FeNO及潮气肺功能检测,方法如下:①潮气肺功能检测:患儿给予10%水合氯醛口服镇静睡眠后戴上面罩,采用德国耶格公司生产的MasterScreen PAED型肺功能检测仪以流速传感器检测流速-容量指标,取5次最佳检测结果平均值,计算每千克体重潮气量(VT/kg)、呼气流速峰值到达时间与呼气时间的比值(TPTEF/TE)、呼气流速峰值呼气容积与呼气容积的比值(VPTEF/VE)。②潮气功能检测完成后行FeNO水平检测:在患儿安静状态,用无锡尚沃医疗电子股份有限公司生产的纳库伦呼气分析仪检测FeNO水平^[8]。③咳嗽症状严重程度:采用咳嗽症状积分^[9]对患者进行评估,该评分包括日间积分与夜间积分2部分,每个部分根据严重程度分为4个等级,分别计0~3分。0分:无咳嗽;1分:偶有咳嗽,对日常生活及睡眠无明显影响;2分:轻中度咳嗽,可对患者日常生活/睡眠造成轻度的影响;3分:频繁咳嗽,可对患者的日常生活/睡眠造成严重的影响。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件分析数据,计数资料以 $n(\%)$ 表示采用 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较行 t 检验,以Spearman相关系数法分析FeNO及潮气肺功能指标与咳嗽症状积分的相关性,以ROC法评估FeNO及潮气肺功能指标对儿童咳嗽变异性哮喘的诊断价值,均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者FeNO与咳嗽症状积分比较

病例组患儿FeNO与咳嗽症状积分均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组患者FeNO与咳嗽症状积分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FeNO and cough symptom scores between the two groups ($\bar{x} \pm s$)			
组别	n	FeNO(ppb)	咳嗽症状积分(分)
病例组	86	36.94 $\pm$ 5.88	4.52 $\pm$ 1.33
对照组	86	22.95 $\pm$ 4.03	3.51 $\pm$ 1.04
t 值		18.200	5.548
P 值		0.000	0.000

2.2 两组患者潮气肺功能检测指标比较

病例组患儿VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组患者潮气肺功能检测指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of tidal pulmonary function test indexes between two groups of patients ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	VT/kg(mL/kg)	TPTEF/TE(%)	VPTEF/VE(%)
病例组	86	6.72 $\pm$ 1.61	24.17 $\pm$ 4.28	26.19 $\pm$ 4.65
对照组	86	8.33 $\pm$ 2.05	29.55 $\pm$ 6.34	31.27 $\pm$ 5.52
t 值		-5.728	-6.522	-6.527
P 值		0.000	0.000	0.000

2.3 FeNO及潮气肺功能指标与咳嗽症状积分的相关性

相关性分析结果显示:FeNO与咳嗽症状积分呈正相关关系($P < 0.05$);VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE均与咳嗽症状积分呈负相关关系($P < 0.05$)。见表3。

表3 FeNO及潮气肺功能指标与咳嗽症状积分的相关性
Table 3 Correlations between FeNO and tidal lung function indexes and cough symptom scores

指标	咳嗽症状积分(分)	
	r 值	P 值
FeNO(ppb)	0.621	0.003
VT/kg(mL/kg)	-0.715	0.018
TPTEF/TE(%)	-0.692	0.007
VPTEF/VE(%)	-0.803	0.025

2.4 ROC分析

ROC分析结果显示:FeNO、VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE对儿童咳嗽变异性哮喘患者鉴别诊断的截断值分别为29.68 ppb、7.25 mL/kg、26.84%、29.03%;曲线下面积(Area under the curve, AUC)分别为0.901、0.881、0.796、0.756。联合诊断的AUC为0.962,其诊断效能高于各指标单独检测($Z=4.903$ 、 5.126 、 6.033 、 7.725 , $P=0.007$ 、 0.000 、 0.000 、 0.000)。见表4、图1。

表4 ROC分析

Table 4 ROC analysis

指标	截断值	AUC	95% CI	灵敏度	特异度	P 值
FeNO(ppb)	29.68	0.901	0.841~0.953	0.744	0.744	0.004
VT/kg(mL/kg)	7.25	0.881	0.818~0.945	0.802	0.686	0.013
TPTEF/TE(%)	26.84	0.796	0.725~0.851	0.872	0.791	0.005
VPTEF/VE(%)	29.03	0.756	0.695~0.751	0.849	0.849	0.021
联合检测		0.962	0.907~0.992	0.919	0.686	0.019

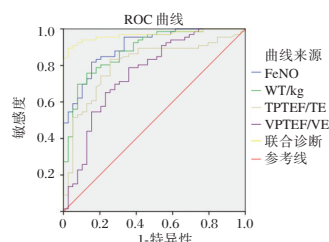


图1 ROC图

Figure 1 ROC chart

3 讨论

目前关于儿童咳嗽变异性哮喘的具体病因尚未完全明确,多认为与生活环境、感染、遗传等因素有关。呼吸道感染后咳嗽同样为儿童慢性咳嗽的常见类型,咳嗽变异性哮喘与呼吸道感染后咳嗽临床表现较相似,且部分呼吸道感染后咳嗽患者有一过性气道高反应性的表现,这给两者的鉴别带来一定的困难^[10]。目前临床上常用支气管激发试验和(或)PEF日间变异率作为咳嗽变异性哮喘的鉴别方法,但上述检测方法耗时较长且需要患儿的配合,对于学龄前儿童实施难度较大,有必要寻找更为简便的指标。

FeNO为临床常用的气道炎症反应指标,FeNO检测过程是在自主呼吸平静状态下完成,无特殊的主动配合要求,目前常用于多种儿童呼吸系统疾病的诊断^[11-12]。本研究结果显示病例组患儿FeNO水平高于对照组,这可能与咳嗽变异性哮喘属于嗜酸性粒细胞气道炎症,而呼吸道感染后慢

性咳嗽为非嗜酸性粒细胞气道炎症疾病有关。虽然气道中NO水平受多种气道炎症反应的刺激,但嗜酸性粒细胞炎症对于NO水平的影响最敏感,因而咳嗽变异性哮喘患儿FeNO水平更高。本研究ROC分析结果显示FeNO对咳嗽变异性哮喘患儿早期鉴别截断值为29.68 ppb,灵敏度及特异度均为74.4%,仍有一定的提高空间,这可能与疾病异质性的存在有关。咳嗽变异性哮喘的鉴别诊断仅凭单一指标难以全面评估患者的状态,应综合考虑多方面的因素,因此本研究在FeNO的基础上加以VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE等潮气肺功能检测指标。潮气肺功能检测与FeNO检测相似,均不需要患儿作出特别的配合,对于学龄前儿童呼吸道疾病的诊断有着明显的优势^[13]。本研究结果显示:病例组患儿VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE均低于对照组,差异有统计学意义,与国外一项关于急性期支气管肺炎与支气管哮喘患儿的比较结果不同^[14],该研究中两组患儿VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE差异无统计学意义,这可能与本研究所纳入的患儿为呼吸道感染后慢性咳嗽患儿而非急性期支气管肺炎患儿有关。急性支气管肺炎可致患儿呼吸道出现大量分泌物而容易阻塞气道,引起潮气功能指标异常,加上学龄前儿童呼吸系统功能本就较差,气道腔道较为狭窄,在出现肺炎后气道阻塞更明显;呼吸道感染后慢性咳嗽的患儿与之不同的是,慢性咳嗽患儿呼吸道肿胀较急性期明显的缓解,出现气道阻塞的情况较少,因而VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE等潮气肺功能指标升高不明显^[15]。咳嗽变异性哮喘患儿普遍有气流功能障碍及呼吸道高反应性,易引起支气管平滑肌痉挛而致气道阻塞。本研究ROC分析结果显示:联合诊断的AUC为0.962,其诊断效能高于各指标单独检测,这可能与联合检测可由气道炎症反应及气道阻塞情况两方面综合反应患儿呼吸道病情而提高诊断效能有关。

综上所述,咳嗽变异性哮喘患儿FeNO、VT/kg、TPTEF/TE、VPTEF/VE与呼吸道感染后慢性咳嗽患儿具有显著差异,上述指标均可用作咳嗽变异性哮喘的早期鉴别,联合检测可提高诊断效能。

参考文献

- [1] 田雪,周新.咳嗽变异性哮喘诊治新进展[J]. 华西医学, 2018, 33(1): 99-103.
- [2] Tang W, Zhou J, Miao L, et al. Clinical features in patients of cough variant asthma with normal and high level of exhaled fractional nitric oxide[J]. Clin Respir J, 2018, 12(2): 595-600.
- [3] Xie Z, Chai M, Gu W, et al. Changes in fractional exhaled nitric oxide, exhaled carbon monoxide and pulmonary function during the acute attack, treatment and remission phases of pediatric asthma[J]. Transl Pediatr, 2020, 9(6): 784-788.
- [4] McDowell KM. Recent diagnosis techniques in pediatric asthma: impulse oscillometry in preschool asthma and use of exhaled nitric oxide[J]. Immunol Allergy Clin North Am, 2019, 39(2): 205-219.
- [5] Rybka - Fraczek A, Dabrowska M, Grabczak E M, et al. Does bronchial hyperresponsiveness predict a diagnosis of cough variant asthma in adults with chronic cough: a cohort study[J]. Respir Res, 2021, 22(1): 1-5.
- [6] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181.
- [7] 中华医学会儿科学分会呼吸学组慢性咳嗽协作组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 中国儿童慢性咳嗽诊断与治疗指南(2013年修订)[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(3): 184-188.
- [8] Shimoda T, Obase Y, Nagasaka Y, et al. Airway inflammation phenotype prediction in asthma patients using lung sound analysis with fractional exhaled nitric oxide[J]. Allergol Int, 2017, 66(4): 581-585.
- [9] Meo SA, Aldeghaither M, Alnaeem KA, et al. Effect of motor vehicle pollution on lung function, fractional exhaled nitric oxide and cognitive function among school adolescents[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(19): 8678-8686.
- [10] Kouri A, Gupta S, Yadollahi A, et al. Addressing reduced laboratory-based pulmonary function testing during a pandemic[J]. Chest, 2020, 158(6): 2502-2510.
- [11] Watanabe H, Shirai T, Akamatsu T, et al. Forced oscillatory parameters in reversibility testing as predictors for chronic cough responsive to inhaled corticosteroid/long-acting β_2 agonist[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2019, 122(3): 345-346.
- [12] Liu Z, Niu C, Ying L, et al. Exploration of the Serum Interleukin-17 and Interleukin-27 Expression Levels in Children with Bronchial Asthma and Their Correlation with Indicators of Lung Function[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2020, 24(1): 10-16.
- [13] Knihtilä H, Kotaniemi - Syrjänen A, Pelkonen AS, et al. Small airway function in children with mild to moderate asthmatic symptoms[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2018, 121(4): 451-457.
- [14] Rizzi M, Radovanovic D, Airolidi A, et al. Rationale underlying the measurement of fractional exhaled nitric oxide in systemic sclerosis patients[J]. Clin Exp Rheumatol, 2019, 37: 125-132.
- [15] Ren L, Zhang W, Zhang Y, et al. Nasal nitric oxide is correlated with nasal patency and nasal symptoms[J]. Allergy Asthma Immunol, 2019, 11(3): 367-380.

血清 MMP-1、CTGF、25-OHD 水平与产后盆底功能障碍患者康复效果的关系分析

符剑花^{1*} 韩燕媚² 周冰³ 冯永洪⁴ 刘桑⁵

[摘要] 目的 探讨血清基质金属蛋白酶-1(MMP-1)、结缔组织生长因子(CTGF)、25羟维生素D(25-OHD)水平与产后盆底功能障碍(PFD)患者康复效果的关系。方法 选取2019年12月至2021年5月收治于海口市妇幼保健院产后康复科的198例PFD患者作为研究对象。所有患者均进行盆底肌功能训练联合生物反馈治疗,持续治疗8周后根据MLD B42盆底表面肌功能评分将患者分为有效组($n=136$)和无效组($n=62$),采用多因素Logistic回归分析血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果的关系;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平单独及联合检测对PFD患者康复效果的诊断效能。结果 两组患者在产次、分娩方式、新生儿体重、会阴裂伤、血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。多因素Logistic回归分析显示,新生儿出生体质量、分娩方式、血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果明显相关($P<0.05$);ROC曲线显示,血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平预测PFD患者康复效果的曲线下面积(AUC)为0.763、0.816、0.794,三者联合预测的AUC为0.882,优于单一检测($P<0.05$)。结论 血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果密切相关,三者联合评估患者康复效果有一定临床应用价值。

[关键词] 产后盆底功能障碍; MMP-1; CTGF; 25-OHD

Relationship between serum MMP-1, CTGF, 25-OHD levels and rehabilitation effect in patients with postpartum pelvic floor dysfunction

FU Jianhua^{1*}, HAN Yanmei², ZHOU Bing³, FENG Yonghong⁴, LIU Shen⁵

(1. Department of Postpartum Rehabilitation, Haikou Maternal and Child Health Care Hospital, Haikou, Hainan, China, 570102; 2. Department of Medical Genetics, Haikou Maternal and Child Health Care Hospital, Haikou, Hainan, China, 570102; 3. Department of Obstetrics, Haikou Maternal and Child Health Care Hospital, Haikou, Hainan, China, 570102; 4. Department of Neonatology, Haikou Maternal and Child Health Care Hospital, Haikou, Hainan, China, 570102; 5. Department of Women Health Care, Haikou Maternal and Child Health Care Hospital, Haikou, Hainan, China, 570102)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum levels of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), connective tissue growth factor (CTGF), 25-hydroxyvitamin D (25-OHD) and the rehabilitation effect of postpartum pelvic floor dysfunction (PFD). **Methods** A total of 198 patients with PFD who were admitted to the Postpartum Rehabilitation Department of Haikou Maternal and Child Health Hospital from December 2019 to May 2021 were selected as the research subjects. All patients received

基金项目:海南省自然科学基金面上项目(821MS0847)

作者单位:1.海口市妇幼保健院产后康复科,海南,海口 570102

2.海口市妇幼保健院医学遗传科,海南,海口 570102

3.海口市妇幼保健院产科,海南,海口 570102

4.海口市妇幼保健院新生儿科,海南,海口 570102

5.海口市妇幼保健院妇女保健科营养门诊,海南,海口 570102

*通信作者:符剑花, E-mail:1500128669@qq.com

pelvic floor muscle function training combined with biofeedback therapy. After 8 weeks of continuous treatment, the patients were divided into the effective group ($n=136$) and the ineffective group ($n=62$) according to the MLD B42 pelvic floor surface muscle function score. Logistic regression analysis of factors was used to analyze the relationship between serum MMP-1, CTGF and 25-OHD levels and the rehabilitation effect of PFD patients. Diagnostic efficacy of rehabilitation effects in patients with PFD was evaluated. **Results** There were significant differences in parity, mode of delivery, neonatal weight, perineal laceration, serum MMP-1, CTGF and 25-OHD levels between the two groups ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that parity, mode of delivery, serum MMP-1, CTGF, 25-OHD levels were significantly correlated with the rehabilitation effect of PFD patients ($P<0.05$). The ROC curve showed that the areas under the curve (AUC) of serum MMP-1, CTGF and 25-OHD levels for predicting the rehabilitation effect of PFD patients were 0.763, 0.816, and 0.794, and the combined AUC of the three was 0.882, which was better than the single test ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum MMP-1, CTGF and 25-OHD are closely related to the rehabilitation effect of PFD patients, and the combination of the three has a certain value in evaluating the rehabilitation effect of patients.

[KEY WORDS] Postpartum pelvic floor dysfunction; MMP-1; CTGF; 25-OHD

产妇产后过程中易使盆底肌肉韧带受损形成盆底功能障碍(Pelvic floor dysfunction, PFD)。其临床表现较轻者为小腹坠胀、尿频、性生活不满意等,病情较重者可出现盆腔脏器脱垂、尿失禁等疾病严重影响患者生活质量甚至造成家庭不和谐等^[1-2]。有研究指出PFD发病原因因为细胞外基质(ECM)代谢异常和重构,而大多数细胞因子均参与了ECM重构过程^[3]。血清基质金属蛋白酶-1(Matrix metalloproteinase-1, MMP-1)主要参与ECM中纤维化过程及胶原蛋白流失^[4]。结缔组织生长因子(Connective tissue growth factor, CTGF)是一种富含半胱氨酸的分泌生长因子,能促进纤维细胞增殖、迁移,维持ECM正常结构^[5]。目前临床用于评估患者盆底肌功能多应用MRI、B超等影像学方法,但因检测费用昂贵,且B超只能显示盆腔结构及其受损程度,对盆腔功能改变的检查存在一定局限性。血清学指标检测具有无创、操作简便等优势,可用于疾病早期筛查诊断,具有一定的临床应用价值。本研究将探讨血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果的关系,以期为临床提供数据支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年12月至2021年5月收治于海口市妇幼保健院产后康复科的198例PFD患者作为研究对象。所有患者治疗8周后根据MLD B42盆底表面肌功能评分将患者分为有效组($n=136$)和无效组($n=62$)。纳入标准:①年龄18~40岁;②经妇

科检查诊断为PFD;③单胎,足月分娩,分娩过程中未进行阴道助产;④既往无盆腔手术史。排除标准:①伴有生殖系统感染、泌尿系统感染;②会阴Ⅲ度裂伤或完全撕裂;③妊娠期发生严重不良发应;④产前已诊断为PFD。所有患者及家属均签署知情同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 收集一般资料

收集198例患者临床资料,包括年龄、教育水平、产次、既往流产史、分娩方式、第二产程时间延长、产褥感染、新生儿出生体质量、孕期体质量增加、会阴裂伤及血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平。

1.2.2 治疗方法

向患者科普盆底解剖结构知识及盆底肌肉收缩训练内容。指导患者进行缩紧肛门动作,维持3 s后放松,重复此动作15~30 min, 2~3次/天,8周为1疗程。同时联合生物反馈治疗,即依据肌电图等形式将肌肉活动信息转化为视觉、听觉信号反馈给患者,并指导患者进行正确的盆底肌训练,纠正不良的肌肉收缩活动。在正确的收缩方法下根据每个患者每次恢复前的肌力对训练强度进行调控。30 min/次,2次/周,持续治疗8周。

1.3 观察指标

1.3.1 MLD B42盆底表面肌功能评分^[6]

所有患者持续治疗8周后进行MLD B42盆底表面肌功能评分。在产道阴道放置生物反馈传导器用于评估其盆底肌功能。包括以下5个阶段:①前静息阶段:测试患者静态下肌张力状态,大于4 μV 时提示盆底肌静张力增强,易出现盆底

肌缺血,且伴有尿潴留、便秘等不适症状。②快肌(Ⅱ类肌)阶段:主要测试动态下Ⅱ类肌肌力及反应速度,Ⅱ类肌肌力不足可引起尿失禁、性冷淡等。③慢肌(Ⅰ类肌)阶段:测试动态下Ⅰ类肌收缩能力及控制的稳定性,肌力变异性起伏大于0.2,易导致排便障碍、盆腔器官脱垂等症状。④耐力测试阶段:测试Ⅰ类纤维的耐力,当后前比值及平均值下降时,说明Ⅰ类纤维耐力降低。⑤后静息阶段:测试患者静态下盆底肌张力状态,大于4 μ V时提示盆底肌静张力增强,易出现盆底肌缺血,且伴有尿潴留、便秘等不适症状。以上五项总分 ≥ 80 分即为治疗有效。

1.3.2 血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平检测

患者治疗8周后抽取10 mL空腹静脉血,离心15 min(转速:3 000 rpm,半径:10 cm),离心后取血清置于 -80°C 保存。采用全自动酶免分析仪(型号:请作者补充)用酶联免疫吸附法检测患者MMP-1(试剂盒:北京博奥森生物技术有限公司)、CTGF(试剂盒:武汉华美生物工程有限公司)、25-OHD的检测仪器为LK3000V(试剂盒:天津市兰标电子科技有限公司)水平。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据处理,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。采用多因素Logistic回归分析血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果的关系;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平单独及联合应用对PFD患者康复效果的诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响PFD患者康复效果的单因素分析

两组患者在产次、分娩方式、新生儿体重、会阴裂伤、血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 影响PFD患者康复效果的单因素分析 [$n(\%)$]

因素	选项	有效组 ($n=136$)	无效组 ($n=62$)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)	20~35	96(70.58)	41(66.12)	0.397	0.053
	>35岁	40(29.41)	21(33.87)		
教育水平	初中及以下	64(47.05)	29(46.77)	0.001	0.970
	高中及以上	72(52.94)	33(53.22)		
产次(次)	1	92(67.64)	21(33.87)	6.679	0.009
	≥ 2	44(32.35)	41(66.12)		
既往流产史	是	35(25.73)	18(29.03)	0.236	0.627
	否	101(74.26)	44(70.96)		
分娩方式	剖宫产	47(34.55)	12(19.35)	4.705	0.030
	顺产	89(65.44)	50(80.64)		
第二产程时间 延长	是	26(19.11)	11(17.74)	0.053	0.817
	否	110(80.88)	51(82.25)		
产褥感染	是	33(24.26)	9(14.51)	2.421	0.119
	否	103(75.73)	53(85.48)		
新生儿出生体 质量(g)	<3500	89(65.44)	30(48.38)	5.165	0.023
	≥ 3500	47(34.55)	32(51.61)		
孕期体质量 增加(kg)	<10	46(33.82)	19(30.64)	0.198	0.905
	10~20	31(22.79)	15(24.19)		
	>20	59(43.38)	28(45.16)		
会阴裂伤	是	83(61.02)	24(38.70)	8.541	0.003
	否	53(38.97)	38(64.29)		
血清MMP-1 水平($\mu\text{g/L}$)	<6.88	93(68.38)	27(43.54)	11.000	<0.001
	≥ 6.88	43(31.67)	35(56.45)		
血清CTGF 水平($\mu\text{g/L}$)	<45.80	88(64.70)	23(37.09)	13.178	<0.001
	≥ 45.80	48(35.29)	39(62.90)		
血清25-OHD 水平($\mu\text{g/L}$)	<50	39(28.67)	28(45.16)	5.169	0.023
	≥ 50	97(71.32)	34(54.83)		

2.2 影响PFD患者康复效果的多因素分析

将单因素结果进一步进行多因素分析,结果显示,新生儿出生体质量、分娩方式、血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果明显相关($P<0.05$)。见表2。

2.3 血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平单独及联合预测PFD患者康复效果的ROC曲线分析

通过绘制ROC曲线得出,血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平预测PFD患者康复效果的曲线下面积

表2 影响PFD患者康复效果的多因素分析

Table 2 Multivariate analysis of factors affecting the rehabilitation effect of PFD patients

影响因素	β 值	$S.E$ 值	Wald值	OR值	95% CI	P 值
产次	-0.293	0.073	16.109	0.746	0.646~0.860	5.977
分娩方式	0.913	0.307	8.844	2.491	1.365~4.548	0.002
新生儿出生体质量	1.310	0.335	11.197	3.067	1.591~5.915	0.000
会阴裂伤	0.023	0.190	0.014	1.023	0.705~1.148	0.903
血清MMP-1水平	1.056	0.453	5.434	2.874	1.183~6.985	0.019
血清CTGF水平	1.062	0.461	5.306	2.892	1.171~7.138	0.021
血清25-OHD水平	1.168	0.355	10.825	3.215	1.603~6.448	0.001

(AUC)为0.763、0.816、0.794,三者联合预测的AUC为0.882,优于单一检测($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 ROC 曲线分析
Table 3 ROC curve analysis

项目	AUC	截断值	95% CI	敏感度	特异度	准确度
MMP-1	0.763	7.11 $\mu\text{g/L}$	0.670~0.820	0.742	0.765	0.758
CTGF	0.816	52.01 $\mu\text{g/L}$	0.755~0.885	0.790	0.794	0.793
25-OHD	0.794	16.84 $\mu\text{g/L}$	0.692~0.844	0.758	0.780	0.773
MMP-1+CTGF+25-OHD	0.882		0.821~0.932	0.839	0.882	0.869

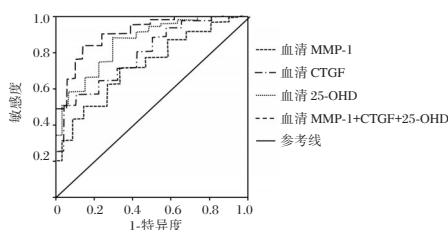


图1 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve

3 讨论

随着临床医学检测手段的不断发展及女性对自身健康的重视,PFD检出率呈上升趋势,已成为影响女性生活质量的慢性疾病之一^[7]。产妇在妊娠过程中激素水平的变化及胎儿重量的不断增加可使盆底支持结构减弱进而引发盆底肌松弛^[8]。因此在产后尽早进行盆底筛查进行干预,有助于改善产妇产后盆底肌功能。盆底肌肉、筋膜、韧带等互相交错、相互作用构成盆底支持结构,而筋膜、韧带的主要构成为结缔组织和平滑肌,结缔组织中的成纤维细胞生成ECM。ECM的主要成分为胶原蛋白,具备高度扩张能力,不同类型的胶原蛋白互相作用直接影响盆底结缔组织的稳定性。胶原蛋白结构或含量有变动时均可能造成结缔组织抗张能力下调,弹性不足,降低盆底支持作用,引起器官脱垂。

本研究发现,分娩次数越多、分娩方式为顺产、血清MMP-1水平、CTGF越高、25-OHD水平越低,PFD患者康复效果越差,与田志强等^[9]的研究类似。随着产次的增加,产妇在盆底肌损伤的基础上,妊娠可再次使盆底支持结构减弱,不利于其盆底肌功能恢复,因此应尽早对产妇盆底肌功能损害程度进行评估并进行干预治疗。分娩方式为顺产的产妇盆底肌功能相比剖宫产产妇更差,因顺产过程中会压迫、撕裂盆底组织,造成盆底肌过

度伸拉变松弛,使盆底肌功能受到损害^[10]。但也有研究报道盆底肌肌力不受分娩方式影响^[11]。因此在选择分娩方式应结合各种因素进行考虑。血清MMP-1又称胶原酶-1,用于降解盆底结缔组织中的I、III型胶原蛋白,血清MMP-1水平一旦过高,可引起盆底结缔组织病理性改变。CAO等^[12]的研究指出,便秘伴直肠内脱垂女性患者MMP-1在直肠黏膜下层中呈高表达,弹性纤维和胶原含量与MMP-1表达情况有关。本研究结果提示MMP-1水平上升可能诱导产妇PFD的发生。血清CTGF由平滑肌细胞、成纤维细胞及内皮细胞分泌、合成,在心、肝等多个器官组织中均有表达,能加快细胞增殖速度,促进胶原蛋白合成,参与ECM相关基因表达,可诱导结缔组织增生、合成ECM。有研究报道CTGF参与ECM蛋白和上皮-间质转化,促使胃纤维化,抑制CTGF水平表达,减轻实验性肾损害^[13]。本研究结果显示CTGF表达水平上调可能会影响PFD疾病发生和发展。

血清25-OHD是反映机体维生素D营养状况的主要指标之一,而维生素D对机体生理功能具有调节作用。杨丹^[14]认为患者体内维生素D一旦降低将会影响盆底肌肉肌力强度,最后形成PFD。胡凤英等^[15]的研究显示,对产后盆底功能障碍患者给予陈氏盆乐汤治疗,可显著改善患者盆底功能,提高25-OHD水平。本研究结果发现25-OHD高表达有助于PFD患者盆底肌功能恢复。根据上述结果,本研究通过绘制ROC曲线得出血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与PFD患者康复效果密切相关,三者联合评估患者康复效果有一定价值。

综上,血清MMP-1、CTGF水平升高、25-OHD水平降低不利于PFD患者盆底肌功能恢复。三者联合检测有助于产妇产后PFD预测。

参考文献

- [1] Kam HA, Yagel S, Eisenberg VH. Ultrasonography in Pelvic Floor Dysfunction[J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2019, 46(4):715-732.
- [2] 刘盼盼,邢文龙,李晶晶,等. 不同年龄盆底功能障碍性疾病患者的盆底肌电分析[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2022, 44(3):257-260.
- [3] 叶俊彤,李梦熊,费慧,等. 女性盆底功能障碍与性功能障碍的关系[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(17):2204-2209.

(下转第1540页)

E-cad、TIMP-2 及 OPN 对甲状腺癌患者病情进展及预后的价值

白建云* 张菁 刘小静

[摘要] **目的** 探讨上皮细胞钙粘附蛋白(E-cad)、基质金属蛋白酶抑制剂-2(TIMP-2)及骨桥蛋白(OPN)对甲状腺癌患者病情进展及预后的价值。**方法** 选取2016年5月至2018年5月北京市房山区中医医院收治的174例甲状腺癌患者(174份甲状腺癌组织标本)作为癌组织组,选取同期在本院行手术治疗的141例甲状腺瘤患者(141份甲状腺瘤组织标本)作为腺瘤组织组。比较两组E-cad、TIMP-2及OPN表达情况,分析三者与甲状腺癌患者病情进展的关系,统计随访期间甲状腺癌患者预后情况,绘制受试者工作特征曲线(ROC),评估联合E-cad、TIMP-2及OPN三者检测对甲状腺癌患者预后死亡的预测价值。**结果** 癌组织组E-cad阴性率及TIMP-2、OPN阳性率高于腺瘤组织组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。E-cad阴性及TIMP-2、OPN阳性的患者病理分类为乳头状癌、TNM分期为T3~T4、有淋巴结转移、肿瘤数目为多个的患者占比高于E-cad阳性及TIMP-2、OPN阴性的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。本研究随访率100%,随访期间死亡33例(18.97%),生存141例(81.03%)。E-cad阴性表达及TIMP-2、OPN阳性表达的甲状腺癌患者死亡率显著高于E-cad阳性表达及TIMP-2、OPN阴性表达的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。联合E-cad、TIMP-2、OPN检查对预测甲状腺癌患者预后死亡的灵敏度(0.896)、特异度(0.912)、AUC(0.988)均高于单一指标检测($P<0.05$)。**结论** E-cad、TIMP-2、OPN参与甲状腺癌患者病情进展的过程,临床可通过联合三项指标检测评估甲状腺癌患者预后。

[关键词] E-cad; TIMP-2; OPN; 甲状腺癌

The value of E-cad, TIMP-2 and OPN on disease progression and prognosis in patients with thyroid cancer

BAI Jianyun*, ZHANG Jing, LIU Xiaojing

(Department of General Surgery, Fangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing, China, 102400)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of epithelial cell cadherin (E-cad), matrix metalloproteinase inhibitor-2 (TIMP-2) and osteopontin (OPN) on the progression and prognosis of patients with thyroid cancer. **Methods** 174 patients with thyroid cancer admitted to Beijing Fangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine from May 2016 to May 2018 were selected as the cancer tissue group (174 thyroid cancer tissue specimens), and 141 patients with thyroid tumor who underwent surgical treatment in our hospital during the same period (141 thyroid tumor tissue specimens) were selected as the adenoma tissue group. The expressions of E-cad, TIMP-2 and OPN between the two groups were compared, and the relationship between the three and the progression of thyroid cancer patients was analyzed. The predictive value of E-cad, TIMP-2 and OPN detection in the prognosis and death of patients with thyroid cancer. **Results** The negative rate of E-cad and the positive rate of TIMP-2 and OPN in the cancer tissue group were higher than those in the adenoma tissue

基金项目:北京市自然科学基金面上项目(7182058)

作者单位:北京市房山区中医医院普外科,北京 102400

*通信作者:白建云, E-mail:bjy963852@126.com

group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The proportion of pathological classification as papillary carcinoma, TNM stage T3~T4, lymph node metastasis, and multiple tumors in patients with E-cad negative and TIMP-2, OPN positive were higher than the proportion of patients with E-cad positive and TIMP-2, OPN-negative patients, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The follow-up rate of this study was 100%, during the follow-up period, 33 cases died (18.97%) and 141 cases survived (81.03%). The mortality rate of thyroid cancer patients with negative expression of E-cad, positive expression of TIMP-2 and OPN was significantly higher than that of patients with positive expression of E-cad and negative expression of TIMP-2 and OPN, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity (0.896), specificity (0.912) and AUC (0.988) of the combined E-cad, TIMP-2 and OPN examinations for predicting the prognostic death of patients with thyroid cancer were higher than that of single indicator detection ($P<0.05$). **Conclusion** E-cad, TIMP-2 and OPN are involved in the progression of thyroid cancer patients, and the clinical prognosis of thyroid cancer patients can be evaluated by combining the three indicators.

[KEY WORDS] E-cad; TIMP-2; OPN; Thyroid cancer

甲状腺癌是头颈部常见的肿瘤之一,占人类所有恶性肿瘤的1%^[1]。上皮细胞钙粘附蛋白(E-cadherin, E-cad)是一种跨膜蛋白,在肿瘤发生、侵袭、转移中发挥重要作用^[2]。基质金属蛋白酶抑制剂-2(Tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)是内源性的广泛分布的天然抑制剂,研究发现TIMP-2在肿瘤及间质组织中均有表达,且对肿瘤细胞的生长、繁殖、凋亡等发挥多样性作用^[3]。骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)是近年来发现的一种多功能分泌型磷酸化糖蛋白,既往研究报道,在甲状腺癌患者中,OPN阳性率较高^[4]。本研究旨在探讨E-cad、TIMP-2及OPN对甲状腺癌患者病情进展及预后的价值,以期为临床评估甲状腺癌病情进展、预后提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年5月至2018年5月北京市房山区中医医院收治的174例甲状腺癌(174份甲状腺癌组织标本)患者作为癌组织组。纳入标准:①均符合甲状腺癌的诊断标准,并经病理检查确诊^[5];②未合并其他部位恶性肿瘤;③临床资料及随访资料完整。排除标准:①合并血液系统疾病者、重要器官严重疾病者;②认知功能障碍者;③妊娠期、哺乳期女性。选取同期在本院进行手术治疗的141例甲状腺癌患者(141份甲状腺癌组织标本)作为腺瘤组织组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。所有患者均已签署知情同意书,研究通过院医学伦理委员会批准。

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	<i>n</i>	性别		平均年龄(岁)	病理分型		TNM分期	
		男	女		乳头状癌	滤泡状癌	T1~T2期	T3~T4期
癌组织组	174	72(41.38)	102(58.62)	56.12±4.12	121(69.54)	53(30.46)	41(23.56)	133(76.44)
腺瘤组织组	141	59(41.84)	82(58.16)	56.85±4.28				
<i>t</i> / χ^2 值		0.007		1.537				
<i>P</i> 值		0.934		0.125				

1.2 方法

1.2.1 E-cad、TIMP-2及OPN检测方法

采用免疫组化染色法检测两组标本E-cad、TIMP-2及OPN表达情况。每例组织蜡块均切片4张,厚度约4 μm ,标本均经甲醛溶液固定,石蜡包埋、载玻片泡酸、DAB显色剂显色,苏木精复染,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。操作步骤严

格按照试剂说明书进行。E-cad、TIMP-2及OPN兔多克隆抗体均采购自美国Epitomics公司。

1.2.2 判定标准

E-cad、TIMP-2及OPN免疫组化阳性判定标准^[6]:细胞胞质或细胞核中出现棕黄色或棕褐色颗粒,反之则为阴性。阳性细胞比例评分: $\leq 5\%$ 为0分, $>5\%\sim 25\%$ 为1分, $>25\%\sim 50\%$ 为2分, $>50\%\sim$

75%为3分,>75%为4分;染色强度评分:未染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。染色指数=阳性细胞比例评分+染色强度评分, ≥ 2 分则判为阳性。

1.3 随访

以门诊复查或电话随访的方式对174例甲状腺癌患者随访3年(随访截止时间2021年5月),了解不同E-cad、TIMP-2、OPN表达的甲状腺癌患者预后生存、死亡率。

1.4 统计学方法

使用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计数资料通过 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;计量资料通过 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,使用 t 检验;采用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估诊断价值,计算曲线下面积(area under curve, AUC),AUC值越高,诊断价值越高;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组E-cad、TIMP-2、OPN阳性率比较

癌组织组E-cad阴性率及TIMP-2、OPN阳性率

高于腺瘤组织组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 不同病理参数的甲状腺癌患者E-cad、TIMP-2、OPN表达情况

E-cad阴性及TIMP-2、OPN阳性的患者病理分类为乳头状癌、TNM分期为T3~T4、有淋巴结转移、肿瘤数目为多个的患者占比高于E-cad阳性及TIMP-2、OPN阴性的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.3 不同预后的甲状腺癌患者E-cad、TIMP-2、OPN表达情况

随访率100%,随访期间死亡33例(18.97%),生存141例(81.03%)。E-cad阴性表达及TIMP-2、OPN阳性表达的甲状腺癌患者死亡率显著高于E-cad阳性表达及TIMP-2、OPN阴性表达的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 联合E-cad、TIMP-2、OPN检查对甲状腺癌患者预后死亡的预测价值

联合E-cad、TIMP-2、OPN检查对预测甲状腺癌患者预后死亡的灵敏度(0.896)、特异度(0.912)、AUC(0.988)均高于单一指标检测($P < 0.05$)。见表5、图1。

表2 两组E-cad、TIMP-2、OPN阳性率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of the positive rates of E-cad, TIMP-2 and OPN between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	E-cad		TIMP-2		OPN	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
癌组织组	174	46(26.44)	128(73.56)	109(62.64)	65(37.36)	124(71.26)	50(28.74)
腺瘤组织组	141	114(80.85)	27(19.15)	39(27.66)	102(72.34)	35(24.82)	106(75.18)
χ^2 值		92.268		38.269		67.201	
P值		<0.001		<0.001		<0.001	

表3 不同病理参数的甲状腺癌患者E-cad、TIMP-2、OPN表达情况 [$n(\%)$]

Table 3 Expression of E-cad, TIMP-2, OPN in patients with thyroid cancer with different pathological parameters [$n(\%)$]

组别		n	E-cad		χ^2 值	P 值	TIMP-2		χ^2 值	P 值	OPN		χ^2 值	P 值
			阳性	阴性			阳性	阴性			阳性	阴性		
			(n=46)	(n=128)			(n=109)	(n=65)			(n=124)	(n=50)		
性别	男	72	19(41.30)	53(41.41)	0.001	0.990	48(44.04)	24(36.92)	0.849	0.357	52(41.94)	20(40.00)	0.055	0.815
	女	102	27(58.70)	75(58.59)			61(55.96)	41(63.08)			72(58.06)	30(60.00)		
年龄(岁)	<60	66	16(34.78)	50(39.06)	0.263	0.608	42(38.53)	24(36.92)	0.045	0.832	48(38.71)	18(36.00)	0.111	0.739
	≥60	108	30(65.22)	78(60.94)			67(61.47)	41(63.08)			76(61.29)	32(64.00)		
肿瘤大小 (cm)	>4	113	27(58.70)	86(67.19)	1.072	0.301	71(65.14)	42(64.62)	0.005	0.944	80(64.52)	33(66.00)	0.034	0.853
	≤4	61	19(41.30)	42(32.81)			38(34.86)	23(35.38)			44(35.48)	17(34.00)		
病理分类	乳头状癌	121	24(52.17)	97(75.78)	8.903	0.003	91(83.49)	30(45.15)	26.792	<0.001	102(82.26)	19(38.00)	32.951	<0.001
	滤泡状癌	53	22(47.83)	31(24.21)			18(16.51)	35(53.85)			22(17.74)	31(62.00)		
TNM 分期	T1~T2	41	26(56.52)	15(11.72)	37.713	<0.001	10(9.17)	31(47.69)	33.541	<0.001	16(12.90)	25(50.00)	27.226	<0.001
	T3~T4	133	20(43.48)	113(88.28)			99(90.83)	34(52.31)			108(87.10)	25(50.00)		
淋巴结转移	有	95	11(23.91)	84(65.63)	23.751	<0.001	35(32.11)	60(92.31)	59.525	<0.001	86(69.35)	9(18.00)	37.910	<0.001
	无	79	35(76.09)	44(34.38)			74(67.89)	5(7.69)			38(30.65)	41(82.00)		
肿瘤数目	单个	81	33(71.74)	48(37.50)	15.944	<0.001	38(34.86)	43(66.15)	16.024	<0.001	49(39.52)	32(64.00)	8.585	0.003
	多个	93	13(28.26)	80(62.50)			71(65.14)	22(33.85)			75(60.48)	18(36.00)		

表4 不同预后的甲状腺癌患者 E-cad、TIMP-2、OPN 表达情况 [n(%)]

Table 4 The expression of E-cad, TIMP-2 and OPN in patients with thyroid cancer with different prognosis [n(%)]

组别	n	E-cad		TIMP-2		OPN	
		阳性(n=46)	阴性(n=128)	阳性(n=109)	阴性(n=65)	阳性(n=124)	阴性(n=50)
生存	141	43(30.50)	98(69.50)	81(57.45)	60(42.55)	92(65.25)	49(34.75)
死亡	33	3(9.09)	30(90.91)	28(84.85)	5(15.15)	32(96.97)	(3.03)
χ^2 值		6.300		8.580		13.140	
P 值		0.012		0.003		<0.001	

表5 联合 E-cad、TIMP-2、OPN 检查对甲状腺癌患者预后死亡的预测价值

Table 5 The predictive value of combined E-cad, TIMP-2 and OPN examinations on the prognostic death of patients with thyroid cancer

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	约登指数	P 值
E-cad	0.884	0.899	0.909	0.861~0.977	0.783	<0.001
TIMP-2	0.841	0.856	0.846	0.953~0.999	0.697	<0.001
OPN	0.863	0.889	0.856	0.761~0.952	0.719	<0.001
三者联合检测	0.896	0.912	0.988	0.974~1.000	0.808	<0.001

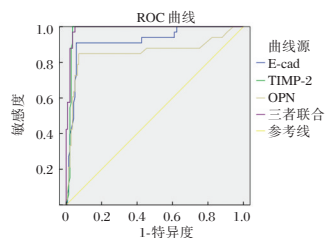


图1 预测价值

Figure 1 The predictive value

3 讨论

甲状腺癌是普外科常见疾病,治疗方案以手术治疗为主。研究发现,早期甲状腺癌手术治疗预后较好,术后20年生存率约80%,但中晚期甲状腺癌患者术后5年生存率仅为50%^[7]。提高甲状腺癌早期诊断率,并尽早实施手术治疗可显著延长患者生存期。

有学者发现,甲状腺癌的发生发展与细胞内的某些蛋白表达缺失或上调有关^[8]。E-cad 是一种钙依赖性糖蛋白,已有研究证实在乳腺癌、肠癌、结直肠癌、甲状腺癌等恶性肿瘤中都存在 E-cad 表达下调^[9]。TIMP-2 蛋白是由多种肿瘤细胞产生并分泌的蛋白,主要位于胞浆内,TIMP-2 阳性率升高会促进肿瘤细胞增殖和分化。OPN 属于 Th1 类细胞因子,广泛分布于多种组织和细胞中,既往文献报道,OPN 是与细胞恶性转化有关的磷酸蛋白,其与肿瘤侵袭转移的关系已引起临床学者的广泛关注^[10]。本次研究结果显示:癌组织组 E-cad 阴性率

及 TIMP-2、OPN 阳性率高于腺瘤组织组,与既往研究结果相符^[11]。提示临床可通过联合 E-cad、TIMP-2、OPN 检测,为甲状腺癌诊断提供依据,也可针对 E-cad、TIMP-2、OPN 开展分子靶向治疗,为甲状腺癌的治疗提供新方向。

国外研究指出,E-cad 阳性表达率下降会促使肿瘤细胞脱离原发病灶,进入周围组织及血管,加速肿瘤远处转移^[12]。一项关于肺癌细胞放射敏感性机制研究显示,TIMP-2 具有促使肺部恶性肿瘤细胞增殖和分化的作用^[13]。OPN 作为肿瘤转移的媒介,可发挥生物学特性促进残留细胞生长、增殖^[14]。本次研究发现,E-cad 阴性及 TIMP-2、OPN 阳性的患者病理分类为乳头状癌、TNM 分期为 T3~T4、有淋巴结转移、肿瘤数目为多个的患者占比要高于 E-cad 阳性及 TIMP-2、OPN 阴性的患者。可见随着 E-cad 阴性表达率及 TIMP-2、OPN 阳性表达率升高,甲状腺癌生殖速度更快,转移性可能越大,肿瘤分期越高。

E-cad 在诱导细胞分化、促进细胞凋亡的过程中,患者全身器官、组织均会受到肿瘤细胞的攻击,从而导致器官、组织损伤,进一步加重病情,减短生存时间^[15]。TIMP-2、OPN 可通过促进血管基底膜的分解,诱导血管网形成,并抑制细胞凋亡,继而促进肿瘤发生与转移^[16]。本研究随访资料显示,E-cad 阴性表达、TIMP-2 及 OPN 阳性表达的甲状腺癌患者死亡率显著高于 E-cad 阳性表达及 TIMP-2、OPN 阴性表达的患者。推测 E-cad、TIMP-2 及 OPN 不仅参与甲状腺癌的发生,也可能与甲状腺癌病情进展、预后密切相关。ROC 曲线结果显示,联合 E-cad、TIMP-2、OPN 检查对预测甲状腺癌患者预后死亡的灵敏度、特异度、AUC 均高于单一指标检测。由此可见,E-cad、TIMP-2、OPN 联合检测可作为预测甲状腺癌患者预后死亡的标志物。

综上所述,E-cad、TIMP-2、OPN 三者参与甲状腺癌患者病情进展的过程,临床可通过联合三项指标检测评估甲状腺癌患者预后。

参考文献

- [1] 秦元, 张浩. 国内外指南中甲状腺癌颈淋巴结清扫手术范围及指征变迁[J]. 中国实用外科杂志, 2020, 40(6): 639-643.
- [2] 赵文辉. 甲状腺癌中骨桥蛋白、E-钙黏蛋白、 β -连环蛋白的表达及其与预后的关系[J]. 广西医学, 2019, 41(1): 48-51+66.
- [3] 敖宁, 王亮, 王琼, 等. USP22 siRNA通过TIMP-2抑制人结肠癌细胞系SW480侵袭[J]. 基础医学与临床, 2019, 39(3): 375-380.
- [4] 李豪杰, 徐庭凯, 王连迪. 骨桥蛋白对甲状腺癌细胞生物学效应的影响[J]. 安徽医学, 2019, 40(4): 356-360.
- [5] 刘娜香, 唐丽娜, 沈友洪, 等. 超声引导下细针抽吸活检联合洗脱液测定甲状腺球蛋白诊断甲状腺乳头状癌侧颈淋巴结转移[J]. 中国介入影像与治疗学, 2019, 15(9): 527-530.
- [6] 张乐. 非小细胞肺癌组织中抑癌基因RUNX3启动子甲基化与肿瘤侵袭相关基因E-Cad、MMP-7和TIMP-1蛋白表达的关系[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(3): 316-319.
- [7] 吴恢升, 吴妹, 曾海勇, 等. 过表达miR-202对甲状腺癌细胞恶性表型的影响及作用机制[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2020, 27(3): 261-265.
- [8] 张冲, 古虎霞, 刘定荣, 等. BRAFV600E突变对甲状腺乳头状癌HMGB1及MMP-9表达的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(3): 372-375+379.
- [9] 龚静青, 曹端荣, 李晓鸣, 等. EMA和CD10及E-Cadherin在伴浸润性微乳头状分化结直肠癌中的表达及意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2019, 22(1): 58-60.
- [10] 吴树强, 廖和和, 王甲林, 等. 肺癌患者血清骨桥蛋白、腺苷激酶1和Dkkopf1表达水平及其临床意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2019, 31(3): 149-153.
- [11] 王晓磊, 寇书诚, 周斌杰, 皇甫深强. 跨膜丝氨酸蛋白酶4与E-钙黏蛋白在105例结直肠癌中的表达及意义分析[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(12): 82-85.
- [12] Nordio L, Stornelli V, Giudice C. Expression of MMP-9 and TIMP-2 in feline diffuse iris melanoma: Correlation with histological grade and mitotic index[J]. J Comp Pathol, 2019, 16(6): 112-118.
- [13] 范庞双, 庞先琼. miR-616通过靶向TIMP-2增强肺癌细胞放射敏感性的机制研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2020, 34(1): 7-11.
- [14] Bank JR, Ruhaak R, Soonawala D, et al. Urinary TIMP-2 Predicts the Presence and Duration of Delayed Graft Function in Donation After Circulatory Death Kidney Transplant Recipients[J]. Transplantation, 2019, 15(5): 1-5.
- [15] 尚艺泰, 徐超卫, 程羽铭. DAB2IP过表达对人胃癌细胞SGC7901增殖、迁移及对E-cad-herin, Snail, Twist表达的影响[J]. 中国药师, 2020, 23(3): 411-416.
- [16] 赵伦德, 刘胜, 尹庆雨, 等. miR-221-3p靶向TIMP-2对腹主动脉瘤血管平滑肌细胞增殖、凋亡影响[J]. 热带医学杂志, 2021, 21(9): 1119-1124.

(上接第1535页)

- [4] Nokhbehsaim M, Nogueira A, Damanaki A, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-1 by Filifactor alocis in human gingival and monocytic cells[J]. Clin Oral Investig, 2020, 24(6): 1987-1995.
- [5] Li X, Pongkitwitton S, Lu H, et al. CTGF induces tenogenic differentiation and proliferation of adipose-derived stromal cells[J]. J Orthop Res, 2019, 37(3): 574-582.
- [6] 梁日新. 盆底肌功能锻炼与电刺激联合生物反馈对产后盆底功能障碍的干预效果[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2015, 6(1): 53-55.
- [7] 任双丽, 徐秋红, 吴斯瑶, 等. 盆底2D/4D超声在女性前盆腔功能障碍性疾病诊断中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(2): 329-332.
- [8] 孙芳, 曾晶, 符艳艳, 等. 产后妇女盆底肌损伤发生情况调查研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(4): 453-456.
- [9] 田志强, 丁玲, 张俊俊, 等. 高龄产妇产后早期盆底功能状况及其影响因素[J]. 护理研究, 2021, 35(7): 1262-1266.
- [10] Quiroz LH, Pickett SD, Peck JD, et al. Increasing age is a risk factor for decreased postpartum pelvic floor strength[J]. Female Pelvic Med Reconstr Surg, 2017, 23(2): 136-140.
- [11] Li H, Wu RF, Qi F, Xiao AM, et al. Postpartum pelvic floor function performance after two different modes of delivery[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 2994-3001.
- [12] Cao LL, Yu J, Yang ZL, Qiao X, et al. MMP-1/TIMP-1 expressions in rectal submucosa of females with obstructed defecation syndrome associated with internal rectal prolapse[J]. Histol Histopathol, 2019, 34(3): 265-274.
- [13] Rayego-Mateos S, Morgado-Pascual JL, Rodrigues-Diez RR, et al. Connective tissue growth factor induces renal fibrosis via epidermal growth factor receptor activation[J]. J Pathol, 2018, 244(2): 227-241.
- [14] 杨丹. 绝经后女性血清25-羟基维生素D水平与盆底功能障碍性疾病的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(15): 1917-1920.
- [15] 胡凤英, 周先韦, 盛少琴, 等. 陈氏盆乐汤治疗产后盆底功能障碍性疾病对PFIQ-7、PISQ-31评分及血清25-OHD水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(8): 222-224.

• 论 著 •

NT-proBNP、CysC 及 cTnI 在老年慢性心力衰竭中的表达及与不良心血管事件的关系

闫秀莲¹ 于中飞¹ 王媛媛¹ 王松艳¹ 金晓东^{2*}

【摘要】 目的 分析氨基末端 B 型脑钠肽前体(NT-proBNP)、胱抑素 C(CysC)及心肌肌钙蛋白 T(cTnI)在老年慢性心力衰竭患者中的表达情况及与不良心血管事件(MACE)的关系。方法 收集 2020 年 1 月至 2021 年 1 月山东省淄博市高青县人民医院收治的慢性心力衰竭患者 131 例(心衰组),另选取本院同期健康体检者 122 名作为对照组。对比不同人群中 NT-proBNP、CysC、cTnI 因子表达水平以及心功能指标[左房容积指数(LAVI)、左室质量指数(LVMI)、左心室射血分数(LVEF)];对比不同心功能指标与 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 之间的相关性;分析影响患者发生 MACE 的相关因素。结果 心衰组 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 表达水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。心衰组 LAVI、LVMI 明显高于对照组,LVEF 则明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。NT-proBNP、CysC 及 cTnI 与患者 LAVI、LVMI 为正相关($r_{NT-proBNP}=0.558, r_{CysC}=0.577, r_{cTnI}=0.669, P$ 均 < 0.001),与患者 LVEF 则为负相关性($r_{NT-proBNP}=-0.620, r_{CysC}=-0.577, r_{cTnI}=-0.779, P$ 均 < 0.001)。根据随访结果可知,131 例患者中 95 例无 MACE,36 例 MACE。MACE 组合并基础疾病所占比例高于无 MACE 组,LVEF 值低于无 MACE 组,NT-proBNP、CysC 及 cTnI 表达水平则明显高于无 MACE 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。条件 Logistic 回归模型分析显示,合并基础疾病、LVEF 降低、NT-proBNP、CysC、cTnI 升高为影响慢性心力衰竭患者发生 MACE 的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 在老年慢性心力衰竭患者中的表达均明显上升,且与患者心功能之间密切相关,三指标对评定患者近期预后具有重要的临床价值。

【关键词】 NT-proBNP; CysC; cTnI; 慢性心力衰竭; 心功能

Expression of NT-proBNP, CysC and cTnI in elderly patients with refractory heart failure and their relationship with adverse cardiovascular events

YAN Xiulian¹, YU Zhongfei¹, WANG Yuanyuan¹, WANG Songyan¹, JIN Xiaodong^{2*}

(1. Department of Cardiology, Gaoqing County People's Hospital, Zibo, Shandong, China, 256300; 2. Department of Geriatric Cardiology, Zibo Central Hospital, Zibo, Shandong, China, 256300)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the expression of amino terminal B-type brain natriuretic peptide precursor (NT-proBNP), cystatin C (CysC) and cardiac troponin I (cTnI) in elderly patients with refractory heart failure and its relationship with adverse cardiovascular events (MACE). **Methods** 131 patients with refractory heart failure admitted to People's Hospital of Gaoqing County, Zibo City, Shandong Province from January 2020 to January 2021 were collected (heart failure group), and 122 healthy subjects in our hospital during the same period were selected as the control group. The expression levels of NT-proBNP, CysC and cTnI factors and cardiac function indexes in different populations were compared. The correlation between different cardiac function indexes and NT-proBNP, CysC and cTnI were compared. The related

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2020MC031)

作者单位:1. 山东省淄博市高青县人民医院心内科,山东,淄博 256300

2. 山东省淄博市中心医院老年心内科,山东,淄博 256300

*通信作者:金晓东, E-mail: yxlian877@126.com

factors affecting the occurrence of MACE was analyzed. **Results** The expression levels of NT-proBNP, CysC and cTnI in the heart failure group were significantly higher than those in the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The LAVI and LVMI in the heart failure group were significantly higher than those in the control group, while the LVEF was significantly lower than that in the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). NT-proBNP, CysC and cTnI were positively correlated with the LAVI and LVMI of patients ($r_{\text{NT-proBNP}} = 0.558$, $r_{\text{CysC}} = 0.577$, $r_{\text{cTnI}} = 0.669$, all $P<0.001$), and were negatively correlated with the LVEF of patients ($r_{\text{NT-proBNP}} = -0.620$, $r_{\text{CysC}} = -0.577$, $r_{\text{cTnI}} = -0.779$, all $P<0.001$). According to the follow-up results, 95 of the 131 patients had no MACE, and 36 had MACE. The proportion of underlying diseases in the MACE group was higher than that in the non-MACE group, the LVEF value was lower than that in the non-MACE group, and the expression levels of NT-proBNP, CysC and cTnI were significantly higher than those in the non-MACE group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Conditional Logistic regression model analysis showed that complicated underlying diseases, the decreasing of LVEF, and the increasing of NT-proBNP, CysC and cTnI were independent risk factors for MACE in patients with chronic heart failure ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of NT-proBNP, CysC and cTnI in elderly patients with refractory heart failure are significantly increased and are closely related to the heart function of patients. The three indicators have important clinical value in assessing the short-term prognosis of patients.

[**KEY WORDS**] NT-proBNP; CysC; CTnI; Refractory heart failure; Cardiac function

心力衰竭是由于心脏结构或者功能异常导致的心室充盈或射血能力受损的一种临床综合征,慢性心力衰竭则是各种心脏疾病进行性发展的终末阶段,为目前临床中常见的心血管疾病之一^[1],严重威胁患者的生命健康和生活质量。早期对患者做出准确诊断,了解患者心功能情况,对临床诊疗及预后具有积极影响。随着心脏生物标志物研究的不断深入,心肌肌钙蛋白I(Cardiac troponin I, cTnI)、氨基末端B型脑钠肽前体(Amino terminal B-type brain natriuretic peptide precursor, NT-proBNP)等在临床中广泛使用,对心力衰竭诊断及预后评估具有一定的使用价值^[2-3]。胱抑素C(Cystatin C, CysC)是临床用于评估肾脏损伤的理想内源性物质,也有研究报道显示,其与心血管疾病发生、预后具有密切的联系^[4]。本文将通过分析NT-proBNP、CysC及cTnI在老年慢性心力衰竭患者中的表达情况,了解三者与患者不良心血管事件(Adverse cardiovascular events, MACE)的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2020年1月至2021年1月山东省淄博市高青县人民医院收治的慢性心力衰竭患者131例(心衰组),其中男88例,女43例,平均年龄为(65.55 ± 2.36)岁。纳入标准:①均符合《中国心力

衰竭诊断和治疗指南2018》中相关诊断标准^[5];②临床资料完整。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。另选取本院同期健康体检者122名作为对照组,其中男71名,女51名,平均年龄为(66.04 ± 2.55)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,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 NT-proBNP、CysC及cTnI水平检测

心衰组在入院次日清晨抽取空腹静脉血液3 mL,对照组则在体检当日清晨抽取空腹静脉血液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。使用荧光免疫法测定NT-proBNP,使用胶乳免疫比浊法测定CysC,使用电化学发光免疫分析法测定cTnI,试剂盒均为北京九强生物技术股份有限公司提供。

1.2.2 彩色多普勒超声检查

使用惠普公司提供的GE彩色多普勒超声进行检测,探头为2.5 MHz,对患者心功能相关指标进行检测,包括左房容积指数(Left atrial volume index, LAVI)、左室质量指数(Left ventricular mass index, LVMI)、左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)等。

1.2.3 MACE 发生情况

随访从 2021 年 1 月 1 日起,截止至 2021 年 1 月 31 日,通过电话、回院复查、短信等方式随访,了解患者在此期间发生 MACE 情况^[6],包括:心律失常、心力衰竭加重、不稳定型心绞痛、再次入院、心源性死亡等。据此将心衰组分为 MACE 组和无 MACE 组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件建立数据库,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料通过率或构成比表示,并采用 χ^2 检验,采用 Pearson 进行相关性分析 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 与患者心功能各指标的相关性,均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 表达水平比较

心衰组 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 表达水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 NT-proBNP、CysC 及 cTnI 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of NT-proBNP, CysC and cTnI expression levels between the 2 groups($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NT-proBNP (pg/L)	CysC (mg/L)	cTnI (ng/mL)
对照组	122	109.36±12.26	0.71±0.16	0.05±0.01
心衰组	131	787.11±20.28	2.74±0.36	0.31±0.02
<i>t</i> 值		318.81	57.235	129.311
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组心功能指标比较

心衰组 LAVI、LVMI 明显高于对照组,LVEF 则明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组心功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of cardiac function indicators between the 2 groups($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LAVI	LVMI (g/m ²)	LVEF (%)
对照组	122	20.26±1.32	96.69±3.58	55.38±1.69
心衰组	131	44.58±1.50	126.59±4.74	38.59±1.33
<i>t</i> 值		136.498	54.420	88.125
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 NT proBNP、CysC 及 cTnI 与心功能指标相关性分析

NT proBNP、CysC 及 cTnI 与患者 LAVI、LVMI 为正相关($r_{\text{NT-proBNP}}=0.558$, $r_{\text{CysC}}=0.577$, $r_{\text{cTnI}}=0.669$,

P 均<0.001),与患者 LVEF 则为负相关性($r_{\text{NT-proBNP}}=-0.620$, $r_{\text{CysC}}=-0.577$, $r_{\text{cTnI}}=-0.779$, P 均<0.001)。

2.4 MACE 与无 MACE 患者基本情况比较

根据随访结果可知,131 例患者中 95 例无 MACE,36 例 MACE。MACE 组合并基础疾病所占比例高于无 MACE 组,LVEF 值低于无 MACE 组,NT-proBNP、CysC 及 cTnI 表达水平则明显高于无 MACE 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 MACE 与无 MACE 患者基本情况比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of basic information between mace and non mace patients($\bar{x} \pm s$)

基线资料	无 MACE 组 (<i>n</i> =95)	MACE 组 (<i>n</i> =36)	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别(男/女)	66/29	22/14	0.828	0.362
年龄(岁)	65.14±3.16	65.89±3.10	1.218	0.225
合并基础疾病(是/否)	31/64	28/8	21.495	<0.001
LAVI	41.52±1.69	41.76±1.38	0.760	0.448
LVMI(g/m ²)	126.54±4.18	127.11±4.66	0.674	0.501
LVEF (%)	39.14±1.26	30.29±1.77	31.919	<0.001
NT-proBNP(pg/L)	581.52±20.33	955.58±20.69	168.597	<0.001
CysC(mg/L)	2.24±0.31	3.15±0.33	14.734	<0.001
cTnI(ng/mL)	0.21±0.03	0.39±0.05	25.179	<0.001

2.5 影响患者发生 MACE 相关因素分析

将表 3 中统计有意义的因素代入条件 Logistic 回归模型分析中发现,合并基础疾病、LVEF 降低、NT-proBNP、CysC、cTnI 升高为影响慢性心力衰竭患者发生 MACE 的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 4、5。

表 4 待分析因素的意义及赋值

Table 4 significance and assignment of factors to be analyzed

因素	代表意义	赋值
X ₁	合并基础疾病	0=否;1=是
X ₂	LVEF	0=>39.14(%);1=<39.14(%)
X ₃	NT-proBNP	0=<581.52(pg/L);1=>581.52(pg/L)
X ₄	CysC	0=<2.24(mg/L);1=>2.24(mg/L)
X ₅	cTnI	0=<0.21(ng/mL);1=>0.21(ng/mL)

表 5 影响患者发生 MACE 相关因素分析

Table 5 Analysis of mace related factors affecting patients

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	<i>P</i> 值
X ₁	0.550	0.174	3.816	1.733(1.232~2.437)	0.022
X ₂	0.610	0.254	3.447	1.840(1.118~3.027)	0.031
X ₃	0.369	0.15	8.648	1.446(1.077~1.940)	<0.001
X ₄	0.406	0.187	6.215	1.500(1.040~2.165)	0.002
X ₅	0.391	0.114	8.412	1.478(1.182~1.848)	<0.001

3 讨论

心力衰竭是各种心脏疾病的终末阶段,老年患者由于身体各项功能衰减进而导致患者介入治疗的难度也明显增加,早期诊断对临床诊疗及预后均有积极影响。

NT-proBNP是临床中常用的心肾功能标志物,在心衰患者中其水平明显升高,对心功能分级及心衰严重程度评估均有一定的参考价值。以往研究显示,患者出现心功能不全后可加速NT-proBNP的释放,从而导致血液中NT-proBNP含量迅速升高^[7]。周立涛等^[8]研究显示,NT-proBNP可用于检测或排除心室功能障碍。CysC可抑制内源性半胱氨酸蛋白酶活性并参与细胞外基质的降解、重塑,从而抑制弹力纤维的破坏,促进胶原纤维降解,对血管壁及心室的重塑造成影响。有研究显示,冠心病患者血液中CysC表达水平明显升高,CysC对冠心病的发生有一定的预测价值,同时可为患者心力衰竭发展情况评估提供参考^[9]。有学者通过研究CysC在慢性心力衰竭患者中的作用,发现其为影响患者预后的独立危险因素^[10]。cTnI则是一种心肌细胞源性的特异度蛋白,一旦机体出现心肌损伤,cTnI可被大量释放到血液当中,尤其是在症状严重的患者血液中cTnI表达水平可呈持续增长的趋势,其升高的程度与患者的心肌损伤程度为正相关^[11-12]。

本文研究结果显示,在慢性心衰患者中NT-proBNP、CysC及cTnI表达水平均明显上升,与上述研究结果相符。分析原因可能是患者存在心肌细胞慢性缺氧现象,在持续缺氧状态下导致患者心肌细胞受损,释放出cTnI,也引起NT-proBNP、CysC的表达增加^[13]。以往研究显示,心力衰竭患者NT-proBNP、CysC及cTnI表达水平上升可能预示着患者左心室发生进行性扩大,提示心功能受损,三者为心力衰竭患者病情进展的危险因素^[14]。在本研究中,通过分析慢性心衰患者心功能指标可知,LAVI、LVMI、LVEF与机体心力衰竭程度相关,心衰组LAVI、LVMI明显升高,LVEF则降低,说明慢性心衰者心功能受损。进一步研究显示,NT-proBNP、CysC及cTnI与患者LAVI、LVMI为正相关,与LVEF则为负相关。结合本研究结果,认为临床中监测患者NT-proBNP、CysC及cTnI表达水平可有助于临床了解患者心功能情况,对患者病情评估也具有一定的参考价值。有研究显示,

NT-proBNP、CysC、cTnI对心脏疾病患者心血管不良事件预测有一定的参考价值^[15]。本研究分析影响慢性心力衰竭患者发生MACE相关因素可知,发生MACE者NT-proBNP、CysC及cTnI表达水平明显高于未发生MACE者。进一步多因素分析可知,NT-proBNP、CysC及cTnI水平升高与合并基础疾病、LVEF降低同为影响慢性心力衰竭患者发生MACE的相关危险因素,说明NT-proBNP、CysC及cTnI表达水平与患者MACE发生情况存在密切联系,可为患者MACE预测提供参考依据。

综上所述,NT-proBNP、CysC及cTnI在老年慢性心力衰竭患者中的表达均明显上升,且与患者心功能之间密切相关,三指标表达情况对评定患者近期预后具有重要的临床价值。

参考文献

- [1] 陈鑫龙,田晶,张青,等.冠心病慢性心力衰竭病人住院前后血清NT-proBNP,cTnI,sST2,GDF-15变化及其影响因素[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(10):1622-1626.
- [2] Tian C, Gao L, Zucker I. Heart-Brain Communication by Extracellular Vesicles Contributes to the Sympatho-Excitation in Chronic Heart Failure by Targeting Nrf2/ARE Signaling[J]. FASEB J, 2021, 35(1):588-589.
- [3] 卿山林,骆强,任波,等.高剂量缬沙坦对老年糖尿病肾病伴高血压患者血压及肾功能的影响[J].成都医学院学报,2020,15(2):247-250.
- [4] 张子豪,王昌生,尹纪来,等.血清尿酸、胱抑素C、NT-proBNP及PCT表达水平与CHF并发医院感染患者预后的关系[J].热带医学杂志,2021,21(8):1006-1010+1092.
- [5] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.
- [6] 李杰,张施明,杨淑莲.抗氧化应激对慢性心力衰竭患者CysC及Pro-BNP的影响及相关性[J].昆明医科大学学报,2020,41(1):31-36.
- [7] Koehler F, Winkler S, Schieber M, et al. Impact of remote telemedical management on mortality and hospitalizations in ambulatory patients with chronic heart failure: the telemedical interventional monitoring in heart failure study[J]. Circulation, 2019, 123(17):1873-80.
- [8] 周立涛,向常清.CRR联合重组人脑利钠肽对CRS难治性心力衰竭患者NT-ProBNP,心肾功能的影响[J].中国医院药学杂志,2020,40(8):937-940.
- [9] 林春秋,蒋文秀,邱婷,等.心力衰竭新生儿血浆B型脑钠肽和N末端B型脑钠肽前体水平检测的临床意义[J].中国医药,2020,15(4):495-499.

(下转第1548页)

· 论 著 ·

子宫内膜异位症患者血清 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平与痛经、R-AFS 分期的关系

贾璇^{1,2} 刘学良³ 吴国萍⁴ 柴连梅² 车艳辞^{5*}

〔摘要〕 目的 分析子宫内膜异位症(EMS)患者血清免疫脂氧素 A4(LXA4)、血管生成素-2(Ang-2)及内皮抑素(Endostatin, ENS)水平与痛经、R-AFS 分期的关系。方法 选取2019年12月至2021年12月青岛大学附属医院收治的138例EMS患者(EMS组,其中R-AFS分期:I~II期75例,III~IV期63例),并根据痛经程度不同分为轻度组和中-重度组,另选取同期收治的125例因卵巢良性肿瘤进行腹腔镜手术治疗者(对照组)。比较不同人群中LXA4、Ang-2及ENS水平;比较不同R-AFS分期、痛经程度患者中LXA4、Ang-2及ENS水平;分析LXA4、Ang-2及ENS与R-AFS分期、痛经程度相关性。结果 EMS组Ang-2及ENS水平均明显高于对照组,LXA4水平则明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。III~IV患者Ang-2及ENS水平均明显高于I~II期,LXA4水平则明显低于I~II期,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。138例患者中根据痛经程度不同分为轻度组79例,中-重度组59例,中-重度组Ang-2及ENS水平均明显高于轻度组,LXA4水平则明显低于轻度组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。LXA4与R-AFS分期、痛经程度均为负相关性($r_{R-AFS分期} = -0.621$, $r_{痛经程度} = -0.551$, P 均 < 0.05);Ang-2与R-AFS分期、痛经程度均为正相关性($r_{R-AFS分期} = 0.596$, $r_{痛经程度} = 0.603$, P 均 < 0.05);ENS与R-AFS分期、痛经程度均为正相关性($r_{R-AFS分期} = 0.575$, $r_{痛经程度} = 0.715$, P 均 < 0.05)。结论 LXA4、Ang-2及ENS可能参与EMS的病理、生理过程,且三者与患者痛经、R-AFS分期之间密切相关,可为EMS临床诊断及病情评估提供一定的参考价值。

〔关键词〕 子宫内膜异位症; LXA4; Ang-2; ENS; 痛经; R-AFS分期

Correlation of serum LXA4, Ang-2 and ENS levels with dysmenorrhea and R-AFS stage in patients with endometriosis

JIA Xuan^{1,2}, LIU Xueliang³, WU Guoping⁴, CHAI Lianmei², CHE Yanci^{5*}

(1. Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266100; 2. Department of Obstetrics, Shouguang Maternal and Child Health Hospital, Shouguang, Shandong, China, 262700; 3. Department of Gynecology, Weifang People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 261031; 4. Department of Medical, Shouguang City People's Hospital, Shouguang, Shandong, China, 262700; 5. Department of Gynecology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266100)

〔ABSTRACT〕 **Objective** To analyze the relationship between the serum immune lipoxin A4 (LXA4), Angiopoietin-2 (Ang-2) and endostatin (ENS) levels in patients with endometriosis (EMS) and dysmenorrhea and R-AFS staging. **Methods** 138 EMS patients who were admitted to our hospital from December 2019 to December 2021 were selected (EMS group, R-AFS stage: I~II stage 75 cases, III~IV stage 63 cases), another 125 cases of benign ovarian tumors underwent laparoscopic hand therapy were selected (con-

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2019HM017)

作者单位:1. 青岛大学附属医院妇科, 山东, 青岛, 266100

2. 寿光市妇幼保健院产科, 山东, 寿光, 262700

3. 潍坊市人民医院妇科, 山东, 潍坊, 261031

4. 寿光市人民医院医务科, 山东, 寿光, 262700

5. 青岛大学附属医院妇科, 山东, 青岛, 266100

*通信作者:车艳辞, E-mail: xuanbabylove123@163.com

trol group). The levels of LXA4, Ang-2 and ENS in different populations and in patients with different degrees of dysmenorrhea were compared. The correlation between LXA4, Ang-2 and ENS and R-AFS staging, and the degree of dysmenorrhea was analyzed. **Results** The levels of Ang-2 and ENS in the EMS group were significantly higher than those in the control group, while the LXA4 level was significantly lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of Ang-2 and ENS in patients with stage III~IV were significantly higher than those in stage III~IV, while the level of LXA4 was significantly lower than those in stage I~II, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). According to the degree of dysmenorrhea, 138 patients were classified as the mild group 79 cases, the moderate-severe group 59 cases. Ang-2 and ENS levels in the moderate-severe group were significantly higher than those in the mild group, while the level of LXA4 was significantly lower than that in the mild group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). LXA4 was negatively correlated with R-AFS staging and degree of dysmenorrhea ($r_{R-AFS\ staging}=-0.621$, $r_{dysmenorrhea}=-0.551$, $P<0.05$). Ang-2 was positively correlated with R-AFS staging, dysmenorrhea ($r_{R-AFS\ staging}=0.596$, $r_{dysmenorrhea}=0.603$, $P<0.05$). ENS was positively correlated with R-AFS staging and dysmenorrhea ($r_{R-AFS\ staging}=0.575$, $r_{dysmenorrhea}=0.715$, $P<0.05$). **Conclusion** LXA4, Ang-2 and ENS may be involved in the pathological and physiological processes of EMS, and the three are closely related to the patient's dysmenorrhea and R-AFS staging, which can provide a certain reference value for EMS clinical diagnosis and disease evaluation.

[**KEY WORDS**] Endometriosis; LXA4; Ang-2; ENS; Dysmenorrhea; R-AFS staging

子宫内膜异位症(Endometriosis, EMS)是临床中常见的妇科疾病,是因有活性的内膜细胞在子宫内外的位置出现种植而导致的^[1]。EMS作为良性病变,以药物及手术治疗为主,在早期对患者进行诊断及治疗是预防EMS发生、发展的关键。免疫脂氧素A4(Immune lipoxin A4, LXA4)属于内在的“刹车信号”(炎症反应),对多种炎性介质及细胞有负调节作用,对EMS发生有一定的促进作用^[2]。有研究发现,新生血管在EMS病情进展中发挥着重要的作用,血管生成素-2(Angiopoietin-2, Ang-2)、内皮抑素(Endostatin, ENS)在血管生成中有着重要的作用^[3-4]。本文将通过分析LXA4、Ang-2及ENS在EMS患者中的表达情况,了解三者与患者痛经、美国生殖学会子宫内膜异位症分期法(American reproductive society endometriosis staging, R-AFS)关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年12月至2021年12月青岛大学附属医院收治的138例EMS患者(EMS组),R-AFS分期^[5]: I~II期75例, III~IV期63例。纳入标准: ①符合《妇产科学》中相关诊断标准^[6]; ②经腹腔镜病理检查等确诊; ③临床资料完整。排除标准: ①合并其他子宫疾病者; ②有接受过激素或避孕药等药物治疗者; ③合并活性炎症或其他器官功能障

碍者; ④妊娠期或哺乳期妇女。另选取同期收治的125例因卵巢良性肿瘤进行腹腔镜手术治疗者作为对照组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),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。

表1 一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of general information ($\bar{x}\pm s$)				
组别	n	年龄(岁)	病程(年)	月经周期(d)
对照组	125	34.87 $\pm$ 3.14	4.67 $\pm$ 0.89	30.25 $\pm$ 1.47
EMS组	138	34.59 $\pm$ 3.69	4.59 $\pm$ 0.66	30.15 $\pm$ 1.21
t值		0.659	0.832	0.604
P值		0.510	0.405	0.546

1.2 方法

1.2.1 LXA4、Ang-2及ENS检测

患者均在入院后次日清晨抽取空腹静脉血液5 mL,使用3 000 r/min离心机离心10 min,离心半径10 cm,获取上清液待检。使用酶联免疫法检测LXA4、Ang-2及ENS,仪器为Elx800全自动酶标仪,试剂及试剂均购自深圳晶美生物科技有限公司。

1.2.2 痛经程度评价

以视觉模拟疼痛评分(Visual Analogue Scale, VAS)进行评价^[7]。无需服药-0分;需要服用药物,但对患者的日常生活并无影响-1~3分(轻度);在服用药物之后疼痛缓解,对日常生活有影响-4~6分(中度);服用药物后疼痛无法缓解-7~10分(重度)。由患者自诉情况,根据痛经程度不同将

EMS组分为轻度组和中-重度组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件建立数据库, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 行 t 检验; 计数资料采用 $n(\%)$ 表示, 行 χ^2 检验, 采用 Pearson 相关性分析 LXA4、Ang-2 及 ENS 与 R-AFS 分期、痛经程度之间的关系, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群中 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平比较

EMS 组 Ang-2 及 ENS 水平均明显高于对照组, LXA4 水平则明显低于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同人群中 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of LXA4, Ang-2 and ENS levels in different populations ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LXA4 (ng/L)	Ang-2 (ng/mL)	ENS (ng/mL)
对照组	125	571.25±25.46	30.26±8.54	58.54±10.35
EMS 组	138	307.08±20.54	67.82±10.55	107.32±15.54
<i>t</i> 值		92.982	31.530	29.639
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 R-AFS 分期患者中 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平比较

Ⅲ~Ⅳ患者 Ang-2 及 ENS 水平均明显高于Ⅲ~Ⅳ期, LXA4 水平则明显低于Ⅲ~Ⅳ期, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 R-AFS 分期患者中 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of LXA4, Ang-2 and ENS levels in patients with R-AFS staging ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LXA4 (ng/L)	Ang-2 (ng/mL)	ENS (ng/mL)
I~II 期	75	381.57±20.32	61.25±12.64	81.54±15.06
III~IV 期	63	218.41±20.16	75.64±12.36	138.01±15.64
<i>t</i> 值		47.153	6.729	21.558
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同痛经程度患者中 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平比较

138 例患者中根据痛经程度不同分为轻度组、中-重度组分别为 79 例、59 例, 中-重度组 Ang-2 及 ENS 水平均明显高于轻度, LXA4 水平则明显低于轻度, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 LXA4、Ang-2 及 ENS 与 R-AFS 分期、痛经程度相关性分析

LXA4 与 R-AFS 分期、痛经程度均为负相关性 ($r_{\text{R-AFS 分期}} = -0.621$, $r_{\text{痛经程度}} = -0.551$, P 均 < 0.05); Ang-2

表 4 不同痛经程度患者中 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of LXA4, Ang-2 and ENS levels in patients with different degrees of dysmenorrhea ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LXA4 (ng/L)	Ang-2 (ng/mL)	ENS (ng/mL)
轻度	79	395.58±20.69	56.29±13.58	88.49±15.30
中-重度	59	188.59±20.25	83.26±13.25	132.54±15.58
<i>t</i> 值		58.670	11.662	16.602
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

与 R-AFS 分期、痛经程度均为正相关性 ($r_{\text{R-AFS 分期}} = 0.596$, $r_{\text{痛经程度}} = 0.603$, P 均 < 0.05); ENS 与 R-AFS 分期、痛经程度均为正相关性 ($r_{\text{R-AFS 分期}} = 0.575$, $r_{\text{痛经程度}} = 0.715$, P 均 < 0.05)。

3 讨论

LXA4 属于内源性炎症消退介质, 可通过跨膜途径经酶氧化花生四烯酸催化合成, 具有抗炎、促炎真消退、抗纤维化以及抑制组织增生的作用。研究发现, LXA4 可减少由于炎症引发的痛觉及水肿作用^[8]。本研究结果显示, EMS 患者中 LXA4 表达明显降低, 这可能与 EMS 患者体内过度的炎症反应导致机体 LXA4 合成障碍, 致使 EMS 患者机体炎症反应失调有关^[9]。且随着 R-AFS 分期越高、痛经程度越严重, 患者 LXA4 水平越低, LXA4 与 R-AFS 分期、痛经程度为负相关。提示随着患者病情进展, 机体炎症反应更严重, 机体的 LXA4 水平明显降低, 导致 EMS 疾病的发生发展。故 LXA4 可能成为早期诊断 EMS 的有用指标, 监测其水平变化对患者预后情况评估可能有一定参考价值^[10]。

在子宫内膜成功种植后, 新生的血管对异位内膜的进一步发展有着较大的作用, 以往研究证实, 新生血管可促进 EMS 发病^[11]。Ang-2 是血管生成中的一种重要因子, 主要由内皮细胞分泌。在血管内皮细胞中, Ang-2 可与其特异性酪氨酸激酶受体结合, 从而影响血管的稳定性, Ang-2 与血管生成因子之间也有密切的联系^[12]。本研究发现, EMS 组与对照组比较 Ang-2 水平明显升高, 且在 III-IV 期与痛经程度为中-重度患者中 Ang-2 水平也为明显升高趋势, Ang-2 与 R-AFS 分期、痛经程度为正相关, 提示异位内膜的血管增生能力较强, 而 Ang-2 可促使异位内膜存活, 并参与子宫内膜异位症的发病过程。以往研究也显示, EMS 发生时, 血管内皮细胞增生活跃, Ang-2 是强效的血管生成因子, 在某些病理环境下刺激毛细血管增

生,提高血管通透性,为异位生长的腺上皮细胞提供赖以生存的物质基础,因此病灶组织在大量新生血管的支持下不断发展^[13]。

ENS不仅是一种可抑制内皮细胞增殖和转移的因子,同时对新生血管生成也有一定的抑制作用。有研究通过动物实验发现,使用重组人内皮抑素对动物模型进行治疗后,EMS模型鼠病灶重量及体积均明显降低,且其病灶内血管密度也呈逐渐降低的趋势;通过进行病理组织切片检查显示,在使用内皮抑素后,异位内膜病灶内的血管生成被抑制,在光镜下观察可见到治疗后的病灶腺体明显萎缩,且间质出现不同程度的坏死,结构被破坏^[14]。此研究结果证实内皮抑素可有效抑制EMS患者病灶内部的血管生成,从而阻止患者病情进展。本研究发现,EMS患者中ENS水平明显升高,且随着R-AFS分期增高、痛经程度增加其表达也逐渐升高,说明EMS患者存在血管形成因子以及抑制因子异常的现象,两者作者用失衡进而引发患者异位内膜进一步生长、种植^[15]。

综上所述,LXA4、Ang-2及ENS可能参与EMS的病理、生理过程,且三者与患者痛经、R-AFS分期之间密切相关,可为EMS临床诊断及病情评估提供一定的参考价值。

参考文献

- [1] 陈豫中,赖威,张国安,等. DNA结合抑制因子,Rab5基因在子宫内膜异位症患者中的表达及其意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(6):724-727+732.
- [2] 张园,蒋春艳,吴畏,等. 中重度子宫内膜异位症患者血清中抗核抗体,抗心磷脂抗体和抗 β_2 糖蛋白1抗体的检测价值[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2020, 39(2):97-100.
- [3] 廖利琼,刘岩丽,刘宝玲,等. 子宫内膜异位症患者血清MMIF, Ang-2的水平及临床意义[J]. 中国性科学, 2020, 29(2):59-61.
- [4] Wu T, Duan X, Hu T, et al. Effect of endostatin on Wnt pathway of stem-like cells in bladder cancer in tumor microenvironment[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(5):1-12.
- [5] 曹月婷,刘贵朋. 凝血指标、炎症因子和糖类抗原125在子宫内膜异位症诊断与分期评估中的应用价值[J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23(3):88-92.
- [6] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2014.
- [7] 李相禹,王亚飞,崔玉兰. 脂氧素A4在子宫内膜异位症中的生物学研究进展[J]. 中国生育健康杂志, 2021, 32(6):599-601.
- [8] 谭雪梅,倪荣,匡军. 血清性激素,5-LOX,LXA4检测在子宫内膜异位症不孕患者中的临床价值研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(8):1311-1314+1348.
- [9] Qw A, Lei CA, Ys A, et al. Lipoxin A4 reduces hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats through PINK1 signaling pathway - ScienceDirect[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 73(3):414-423.
- [10] Ou M, Zhang Q, Zhao H, et al. Polyunsaturated Fatty Acid Diet and Upregulation of Lipoxin A4 Reduce the Inflammatory Response of Preeclampsia[J]. J Proteome Res, 2020, 20(1):80-83.
- [11] 汪沙,林斯丽. 趋化因子在子宫内膜异位症发病机制中作用的研究进展[J]. 中国微创外科杂志, 2020, 20(7):644-648.
- [12] 万秋园,赵文娜,吴晓玲,等. 益母草总生物碱对大鼠薄型子宫内膜VEGF和Ang-2表达的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(24):101-106.
- [13] 周凌,孙慧婷,杨思慧,等. shRNA靶向血管生成素2基因沉默联合奥沙利铂对子宫内膜癌生长抑制作用的研究[J]. 东南大学学报:医学版, 2021, 40(2):107-117.
- [14] 肖艳平,付久园,王晓华,等. 重组人内皮抑素对子宫内膜异位症大鼠的影响研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(22):785-788.
- [15] Chang C, Hasan AA, Gaballa M, et al. Endostatin Is an Independent Risk Factor of Graft Loss after Kidney Transplant[J]. Am J Nephrol, 2020, 51(5):373-380.
- [10] Li Y, Wu H, Zhang B, et al. Efficacy and safety of Linggui Zhugan decoction in the treatment of chronic heart failure with Yang deficiency: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine, 2021, 100(20):26012.
- [11] 王玲,田晞,李柏颖. 心脉隆注射液对老年难治性心力衰竭患者心功能参数及血清标志物的影响[J]. 心脑血管病防治, 2020, 20(4):406-408.
- [12] 贾晨红,哈生林,姜金坪,等. 慢性心力衰竭患者血清Galectin-3,hs-cTnI,Cys C和PTX-3水平变化及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(14):2672-2675.
- [13] 张超,王小兵,段丙军. PCI不同时间窗对急性NSTEMI合并室壁瘤患者室壁瘤逆转及血清NT-proBNP,cTnI水平的影响[J]. 医学综述, 2021, 27(9):1824-1829.
- [14] 王精文,张欢,赵冠杰,等. NT-pro BNP联合Cys-C评估慢性肾脏病患者心功能的价值[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(10):1598-1601.
- [15] Ru D, Yan Y, Li B, et al. BNP and NT-proBNP concentrations in paired cerebrospinal fluid and plasma samples of patients with traumatic brain injury[J]. J Surg Res, 2021, 266(11):353-360.

(上接第1544页)

· 论 著 ·

3种单细胞全基因组扩增方法对1~4 Mb拷贝数变异检测性能的研究

于婷¹ 王云云² 费嘉² 黄杰^{1*} 胡泽斌^{1*}

[摘要] **目的** 比较3种单细胞全基因组扩增(WGA)法(SurePlex、MALBAC和MDA)对1~4 Mb拷贝数变异(CNV)的检测性能,为胚胎植入前非整倍体遗传学检测(PGT-A)选择最佳方法提供依据。**方法** 采用3种含有已知1~4 Mb CNV的细胞系,分别以上述3种方法进行WGA扩增,对扩增产物统一采用Veriseq构建PGT-A测序文库,illumina-NextSeq550测序平台进行测序,最后采用嘉宝仁和公司的PGXCloud生信平台进行信息学分析。对比各方法的PGT-A分析结果,综合评估其性能。**结果** 3种方法均可获得足够的WGA产物,并成功构建测序文库。扩增产物浓度中,MDA>SurePlex>MALBAC,差异有统计学意义($P<0.05$);建库产物浓度中,MDA>MALBAC>SurePlex,差异有统计学意义($P<0.05$);3种方法测序获得有效reads平均值在10 M以上,且原始数据与基因组的比对率也均超过97%。基因组比对率、已覆盖基因组比例、SD值比较,MDA>MALBAC>SurePlex,差异有统计学意义($P<0.05$)。冗余序列比例的比较,SurePlex>MALBAC>MDA,差异有统计学意义($P<0.05$)。MDA法可辨识出3.59 Mb(GM24312)左右的CNV,而对于2.5 Mb(GM13325)及1.3 Mb(GM25372)很难辨识。其他两种WGA方法结果理想。**结论** SurePlex和MALBAC均可用于1~4 Mb的CNV检测,且Sureplex法性能更优,但MDA法检测1~4 MbCNV存在一定风险。

[关键词] 植入前染色体非整倍体检测;全基因组扩增;拷贝数变异;二代测序

The performance of three commonly single-cell whole genome amplification methods for the detection of 1~4 Mb copy number variation

YU Ting¹, WANG Yunyun², FEI Jia², HUANG Jie^{1*}, HU Zebin^{1*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050; 2. Peking Jabrehoo Med Tech Co., Ltd, Beijing, China, 102629)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the performance of sureplex, MALBAC, and MDA for detecting 1~4 Mb copy number variation (CNV) in the PGT detection single-cell whole-genome amplification protocol, to provide the basis for preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A). **Methods** Using a known 1~4 Mb CNV three cell line, WGA amplification was carried out using the above three schemes. The amplified products were used to construct a PGT-A sequencing library by veriseq protocol. The NextSeq 550 (Illumina) was used for sequencing. The sequencing data were analyzed by PGXCloud (Jabrehoo) and evaluated the parameters of the three WGA methods. **Results** Three methods can obtain enough WGA products and successfully construct the sequencing library. For the concentration of amplification products: MDA>sureplex>malbac, the difference was statistically significant ($P<0.05$). For the concentration of library building products: MDA>malbac>sureplex, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The average

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1002400);安徽省科技重大专项(202003a07020012)

作者单位:1. 中国食品药品检定研究院,北京 100050

2. 北京嘉宝仁和医疗科技有限公司,北京 102629

*通信作者:黄杰, E-mail: jhuang5522@126.com; 胡泽斌, E-mail: huzebin@nifdc.org.cn

注:于婷和王云云共为第一作者

values of effective reads obtained by three sequencing methods are more than 10 M. The comparison rate between the original data and the genome are all more than 97%. For comparison of genome comparison rate, proportion of covered genome and SD value, MDA > malbac > sureplex, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). For comparison of proportion of redundant sequences, sureplex > malbac > MDA, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). MDA method can identify CNV of about 3.59 Mb (GM24312), but it is difficult to identify CNV of 2.5 Mb (GM 13325) and 1.3 Mb (GM 25372). The results of the other two WGA methods are satisfactory. **Conclusion** Both SurePlex and MALBAC can be used to detect 1~4 Mb CNV, and the SurePlex has a better performance, but the MDA method has certain risks in the detection of 1~4 Mb CNV.

[KEY WORDS] Preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A); whole genome amplification (WGA); Copy number variation (CNV); Next-generation sequencing (NGS); SurePlex; MALBAC; MDA

拷贝数变异(Copy number variations, CNV)是胚胎植入前非整倍体遗传学检测(Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidies, PGT-A)的重要检测对象。据Wang等^[1]对3 398例羊水样本检测发现,3%(102/3 398)的样本存在致病性拷贝数变异,其中0.97%(33/3 398)CNVs片段小于5 Mb。近年研究发现,这些1~4 Mb范围的CNV可能也会带来严重的后果,比如被统称为微缺失/微重复综合征(microdeletion and microduplication syndromes, MMS)^[2]的DiGeorge综合征(22q11.2)、Wolf-Hirschhorn综合征(4p16.3)、Prader-Willi/Angelman综合征(15q11-q12)、Smith-Magenis综合征(17p11.2)等。然而目前对这些可能致病性的小CNV多在流产物、患者血样、羊水提取物中进行分析,在预防遗传疾病最前端的PGT-A检测中,却鲜有涉及。

PGT-A检测方法有效应用的前提是单细胞全基因组扩增技术(whole genome amplification, WGA),其原理是对分离的单个细胞的微量全基因组DNA进行扩增,获得高覆盖率的完整的基因组后进行高通量测序。因此,获得高覆盖度高保真性的全基因组扩增产物是准确全面的测序结果的保障。全基因组扩增技术从1992年出现,至今已开发了多种方法,主要有三类:一类为基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术的WGA方法,如简并寡核苷酸引物PCR(degenerate oligonucleotide primed PCR, DOP-PCR)^[3]、SurePlex等;第二类为多次退火环状循环扩增(multiple annealing and looping-based amplification cycles, MALBAC)^[4];第三类为恒温全基因组扩增反应,如多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)^[5];目前在临床使用的WGA主要有3

种:SurePlex、MALBAC及MDA,且针对的是4 Mb以上分辨率PGT-A分析。对于1~4 Mb小CNV的准确检测,哪种方法性能更优,尚无太多文献报道。本文拟采用含有已知1~4 Mb的CNV培养细胞系样本,对上述3种WGA方法的检测性能进行综合评估,为PGT-A选择适宜的方法提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 细胞系

3种含有1~4 Mb的CNV细胞系分别为:GM24312, XX, del(17)(p11.2-p11.2)(3.59 Mb); GM13325, XX, del(22)(q11.2-q11.2)(2.5 Mb); GM25372, XY, del(17)(p11.2-p11.2)(1.3 Mb),购自美国Coriell Institute for Medical Research公司(<https://catalog.coriell.org>)。

1.2 主要试剂

WGA试剂:SurePlex DNA Amplification System(美国Illumina公司,货号:PR-40-415101-00,批号:002005028)、MALBAC单细胞全基因组扩增试剂盒(亿康公司,货号:YK001B,批号:H210426)、Discover-sc single cell WGA kit(MDA)(诺唯赞公司,货号:N603-02,批号:7E551B1);文库构建试剂:TG DNA Library Prep Kit(Veriseq)(美国Illumina公司,货号:20029274);定量试剂:Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit(美国ThermoFisher公司,货号:Q33231,批号:2342798);测序通用试剂(美国Illumina公司,货号:FC-404-2005)。

1.3 主要检测仪器

Qubit™ 3 Fluorometer, 货号为Q33216, 美国ThermoFisher公司;Life ECO基因扩增仪,型号为TC-96/G/H(b)C,杭州博日公司;高通量测序仪,型

号为NextSeq550,美国Illumina公司生产。

1.4 方法

分别培养3种细胞系,并以3~5个细胞/管进行分装,每管样本体积不超过2 μ L。严格按照3种WGA试剂盒说明书操作,进行WGA扩增,每种方法每个细胞系样本进行9次重复,3种细胞系共计27个测试样本。使用Qubit试剂对扩增产物进行定量,扩增产物按照Veriseq试剂盒说明书操作,构建文库,并对建库产物浓度定量,最后使用Nextseq550测序平台测序,采用SE75试剂盒测序,以期每个样本获得10 M以上有效reads。对下机数据(包括基因组比对率、已覆盖基因组比例、冗余序列比例、SD值的数据资料),采用嘉宝仁和PGXCloud生信分析平台结合散点图人工核对,进行PGT-A分析。

1.5 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,三组间比较采用单因素方差分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3种WGA方法基本性能比较

SurePlex、MALBAC、MDA 3种方法在WGA及其产物进行文库构建中,均可获得足够的WGA产物,并成功构建了测序文库,满足后续PGT-A测序分析要求。见表1。扩增产物浓度中,MDA>SurePlex>MALBAC,差异有统计学意义($P < 0.05$);建库产物浓度中,MDA>MALBAC>SurePlex,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 3种WGA方法PGT-A分析基本参数比较

3种方法获得数据经PGXcloud生信平台分析,相关的分析参数统计结果见表2。3种方法测序获得有效reads平均值在10 M以上。原始数据与基因组的比对率均超过97%,达到预期

表1 3种WGA方法基本情况比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of three WGA methods' basic information ($\bar{x} \pm s$)

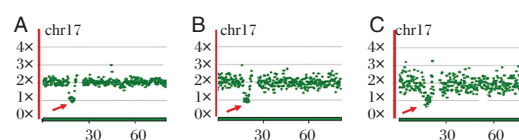
方法	技术基础	起始细胞量(个)	扩增体积(μ L)	扩增产物浓度($\text{ng}/\mu\text{L}$)	建库产物浓度($\text{ng}/\mu\text{L}$)	操作时间(h)
SurePlex	PCR	3~5	75	35.2 $\pm$ 2.4	2.3 $\pm$ 0.3	<3
MALBAC	PCR	3~5	65	23.7 $\pm$ 1.6 ^c	2.7 $\pm$ 0.9 ^c	<5
MDA	MDA	3~5	50	135.6 $\pm$ 15.3 ^{ab}	5.2 $\pm$ 0.7 ^{ab}	<4
F值				1225	218.3	
P值				<0.05	<0.05	

注:MDA组与SurePlex组比较,^a $P < 0.05$;MDA组与MALBAC组比较,^b $P < 0.05$;MALBAC组与SurePlex组比较,^c $P < 0.05$ 。

目标。基因组比对率、已覆盖基因组比例、SD值比较,MDA>MALBAC>SurePlex,差异有统计学意义($P < 0.05$)。冗余序列比例的比较,SurePlex>MALBAC>MDA,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 3种WGA方法PGT-A对检测1~4 Mb CNV性能比较

3种WGA方法对3种细胞系的27个样本进行PGT-A分析,散点图结果见图1~3。MDA法可辨识出3.59 Mb(GM24312)左右的CNV。见图1C。而对于2.5 Mb(GM13325)及1.3 Mb(GM25372)则很难辨识。见图2C、3C。3种WGA方法PGT-A检测1~4 Mb CNV时,PGT-A分析成功率、预期CNV检出率和非预期CNV检出率三个指标方面的比较结果见表3。



注:A为Sureplex(GM24312);B为MALBAC(GM24312);C为MDA(GM24312)。

图1 SurePlex、MALBAC和MDA对GM24312细胞系CNV检测结果

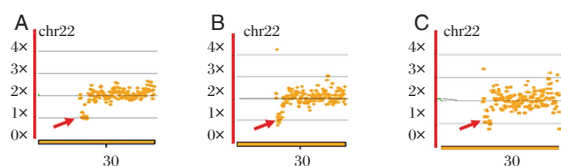
Figure 1 Detection of CNV in GM24312 cell line by SurePlex, MALBAC and MDA

表2 测序数据结果比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of sequencing data results ($\bar{x} \pm s$)

方法	基因组比对有效reads(M)	基因组比对率(%)	冗余序列比例(%)	已覆盖基因组比例(%)	SD值
SurePlex	10.1(6.29~12.7)	97.51 $\pm$ 0.004	16.27 $\pm$ 0.017	12.84 $\pm$ 0.012	1.99 $\pm$ 0.234
MALBAC	11.2(8.67~12.89)	98.49 $\pm$ 0.003 ^c	6.44 $\pm$ 0.020 ^c	15.02 $\pm$ 0.011 ^c	2.51 $\pm$ 0.259 ^c
MDA	10.7(6.87~14.1)	99.57 $\pm$ 0.001 ^{ab}	4.64 $\pm$ 0.004 ^{ab}	19.85 $\pm$ 0.020 ^{ab}	3.56 $\pm$ 0.351 ^{ab}
F值		197.3	325.5	194.4	192.3
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

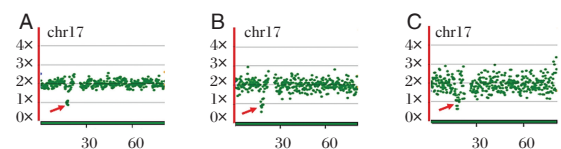
注:MDA组与SurePlex组比较,^a $P < 0.05$;MDA组与MALBAC组比较,^b $P < 0.05$;MALBAC组与SurePlex组比较,^c $P < 0.05$ 。



注: A 为 Sureplex (GM13325); B 为 MALBAC (GM13325); C 为 MDA (GM13325)。

图2 SurePlex、MALBAC 和 MDA WGA 对 GM13325 细胞系 CNV 检测结果

Figure 2 Detection of CNV in GM 13325 cell line by SurePlex, MALBAC and MDA



注: A 为 Sureplex (GM25372); B 为 MALBAC (25372); C 为 MDA (25372)。

图3 SurePlex、MALBAC 和 Discover-sc WGA 对 GM25372 细胞系 CNV 检测结果

Figure 3 Detection of CNV in GM 25372 cell line by SurePlex, MALBAC and MDA

表3 3种 WGA 方法性能评估

Table 3 Evaluation of three WGA methods' performance

方法	PGT-A 分析成功率(%)	预期 CNV 检出率(%)	非预期 CNV 检出率(%)
MALBAC	100.00	100.00	33.33
SurePlex	100.00	100.00	25.93
MDA	81.48	81.82	100.00

3 讨论

CNVs 具有致病性、良性以及临床意义不明,随着 NGS 技术的发展和 CNVs 临床病例的积累,以及很多对 CNVs 解读的分析标准完善,对 CNV 的认识也会越来越充分。以往认为是良性或者未知临床意义的 CNVs 可能会对某些复杂性疾病的致病性具有潜在作用,因此提高 CNV 解读的准确性,更有利于发现新的致病基因^[6-7],提高我国的出生缺陷防控水平。Marcou 等^[8]对 DNA 微重复研究发现,片段长度<1 Mb 的 CNV,并且临床意义未明 (variants of uncertain significance, VUS) CNV 的重复 DNA 片段,对提高致病性 CNV (Pathogenic CNV, pCNV) 诊断率的作用很有限。蔡艾杞等^[9]推断除了导致单倍剂量不足的基因产生功能丧失突变的 CNV,以及覆盖已知致病基因的 CNV 外,片段长度<1MbCNV 很可能为不具有临床诊断意义的 CNV,而对于长度≥1Mb 且多为

新发突变的 CNV 中,则意味着可鉴定诊断出更多的 pCNV。PGT-A 检测核心技术是将 pg 级别的微量 DNA 进行均一保真有效地全基因组扩增,以获得足够的 DNA 进行检测分析。因此,WGA 技术的基本要求是要扩增均一、基因组覆盖度高、保真度高。本研究所使用的 3 种 WGA 方法 (SurePlex、MALBAC 和 MDA),在临床上主要是对 4 Mb 以上分辨率的 PGT-A^[10-13],每种方法各有所长,需要根据应用目的去选择合适的方法。然而,针对 1~4 Mb CNV 在 PGT-A 检测中的研究文献较少,因此本研究中开展了 3 种 WGA 方法对 1~4 Mb CNV 的检测性能评估。

根据本研究的结果,MDA 法对单细胞全基因组的扩增能力最强,对相同起始量的细胞样本,其扩增产物是 SurePlex 法及 MALBAC 法得到的扩增产物的 3~5 倍,建库产物是后两者的 2 倍左右,且操作时间居中(<4 h)。MDA 法获得基因组比对有效数据量在相近情况下(10M),冗余率最低(4.64%<6.44%<16.27%),对基因组的覆盖率最高(19.85%>15.02%>12.84%)。然而进行 PGT-A 分析后,MDA 法的 SD 值(3.56)远高于 SurePlex 法(1.99)与 MALBAC 法(2.51),这就表明 MDA 法对基因组扩增的均一性远低于这两种方法,结果的可信度降低。因为 SD 值代表了待测样本与正常基因组标准样本间的离散程度,SD 越小则越接近标准基因组,离散度越小,则可信度越高,反之则结果可信度越低。在对 1~4 Mb CNV 检测的评估中,MDA 法得到的结果显示其仅可准确分辨 3.59 Mb CNV,而难以辨识 2.5 Mb CNV 和 1.3 Mb CNV。并且因 SD 值过高,散点图离散程度较高,均出现一些非预期的 CNV。有研究亦指出以 PCR 技术为基础的 MALBAC 和 PicoPLEX single-cell WGA kit (NEB-WGA) 与 MDA 相比,更适合 CNV 检测,MDA 更适合单核苷酸多态性分析^[14]。

SurePlex 与 MALBAC 两种技术的基本原理相同。本研究结果表明,无论是 PGT-A 分析成功率、预期 1~4 Mb CNV 检出率均为 100%,与 Li 等^[15]在 3~15 Mb CNV 测试对比的结果类似。不过,在数据量接近的情况下,SurePlex 法的冗余度远高于 MALBAC,与基因组的匹配率也稍低。这就导致在进行 PGT-A 分析中,唯一比对 reads 数不如 MALBAC 法得到的 reads 数,对基因组的覆盖度稍

低,这对 PGT-A 分析不利。但同时 SurePlex 获得的 SD 值显著低于 MALBAC,其散点图比 MALBAC 的散点图更集中,目标 CNV 的异常也更明确,从而检测结果可信度更高。这与 Zhang^[10]等的研究结果类似,他们在对比了多种 WGA 方法后,认为这两种方法在扩增效率、准确性等方面得到同样结果。Deleye 等^[16]研究结果显示 SurePlex 与 MALBAC 相比,SurePlex 对基因组扩增有更好的均匀性,在 CNV 检测中具有低的假阳性,因此 SurePlex 在检测拷贝数变异方面更具优势。本研究结果也显示,MALBAC 法检出非预期 CNV 的比例比 SurePlex 法高出 7.4%。所以,SurePlex 法获得数据的有效性上虽不如 MALBAC 与 MDA,但其 SD 值最小,预期 CNV 检出率为 100%,而非预期 CNV 检出率最低。因此 3 种方法在检测 1~4 Mb 的 CNV 时,在平均有效 reads 为 10 Mb 时,SurePlex 法结果最可信,其次为 MALBAC,MDA 表现最差。综合比较,SurePlex 法更优,可作为首选方法,MALBAC 可作为备选方法,而 MDA 法不适合 1~4 Mb 小 CNV 的检测。

本研究中仅针对 3 种已知大小 CNV 的培养细胞系进行了分析,然而细胞系样本与囊胚滋养外胚层样本相比还是有一定差异,后者更具复杂多样。下一步将继续开展对临床已知由 1~4 Mb CNV 引起疾病的废胚活检样本的研究,以期对胚胎染色体异常进行精准检测。

参考文献

- [1] Wang J, Chen L, Zhou C, et al. Identification of copy number variations among fetuses with ultrasound soft markers using next-generation sequencing [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):8134.
- [2] Duan HL, Li J, Wang WJ, et al. Cell-free DNA test for pathogenic copy number variations: A retrospective study [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2021, 60(6):1066-1071.
- [3] He B, Wang L, Wu QH, et al. Clinical application of NGS-based SNP haplotyping for PGT-M of methylmalonic acidemia [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2022, 68(1):80-88.
- [4] Xu QN, Wang ZW, Kong QQ, et al. Evaluating the effects of whole genome amplification strategies for amplifying trace DNA using capillary electrophoresis and massive parallel sequencing [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2022, 56:102599.
- [5] Sean C Patro, Aurelie Niyongabo, Frank Maldarelli, et al. New Approaches to Multi-Parametric HIV-1 Genetics Using Multiple Displacement Amplification: Determining the What, How, and Where of the HIV-1 Reservoir Viruses [J]. *Viruses*, 2021, 13(12):2475.
- [6] 李奉瑾,姚欣雨,张玉萍. 低深度全基因组测序技术在产前诊断中的研究进展 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2021, 48(1):75-78.
- [7] 张丽娜,孟哲,何展文,等. 50 例微缺失和微重复综合征患儿的临床表型及基因组拷贝数变异的分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(9):840-845.
- [8] Marcou CA, Pitel B, Hagen CE, et al. Limited diagnostic impact of duplications <1 Mb of uncertain clinical significance: a 10-year retrospective analysis of reporting practices at the Mayo Clinic [J]. *Genet Med*, 2020, 22(12):2120-2124.
- [9] 蔡艾杞,章锦曼,唐新华,等. 胎儿拷贝数变异的产前诊断与遗传咨询 [J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2021, 17(3):262-267.
- [10] Zhang X, Liang B, Xu X, et al. The comparison of the performance of four whole genome amplification kits on ion proton platform in copy number variation detection [J]. *Biosci Rep*, 2017, 37:1-10.
- [11] 姚雅馨,喇永富,狄冉,等. 不同单细胞全基因组扩增方法的比较及 MALBAC 在辅助生殖中的应用 [J]. *遗传*, 2018, 40(8):620-631.
- [12] Hou Y, Wu K, Shi XL, et al. Comparison of variations detection between whole-genome amplification methods used in single-cell resequencing [J]. *GigaScience*, 2015, 4:37.
- [13] Huang L, Ma F, Chapman A, et al. Single-Cell Whole-Genome Amplification and Sequencing: Methodology and Applications [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2015, 16:79-102.
- [14] De Bourcy CFA, De Vlaminck I, Kanbar JN, et al. A Quantitative Comparison of Single-Cell Whole Genome Amplification Methods [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e105585.
- [15] Li N, Wang L, Wang H, et al. The Performance of Whole Genome Amplification Methods and Next-Generation Sequencing for Pre-Implantation Genetic Diagnosis of Chromosomal Abnormalities [J]. *J Genet Genomics*, 2015, 42: 151-159.
- [16] Deleye L, Coninck DD, Christodoulos C, et al. Whole genome amplification with SurePlex results in better copy number alteration detection using sequencing data compared to the MALBAC method [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11711.

25-OH-VitD₃、BGP 和 Apelin-13 与 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽疗效的关系

马朝朋 王晓妍 尹超 马竞轩 宋彦伟 郭淑芹 王君*

【摘要】目的 观察 2 型糖尿病(T2DM)肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗中血清 25 羟基维生素 D₃ (25-OH-VitD₃)、骨钙素(BGP)、爱帕琳肽-13(Apelin-13)水平,并探讨三种血清与疗效的关系。**方法** 选取 2019 年 11 月至 2020 年 11 月在保定市第一中心医院接受阿格列汀及利拉鲁肽治疗的 116 例 T2DM 肥胖患者,均治疗 24 周,并按疗效分成有效组和无效组。检测患者的血清 25-OH-VitD₃、BGP、Apelin-13 水平,收集患者的临床资料,并单因素和多元 Logistic 回归分析 25-OH-VitD₃、BGP、Apelin-13 水平与 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽疗效的关系。**结果** 116 例 T2DM 肥胖患者中,84 例(72.41%)治疗有效,32 例(27.59%)治疗无效;经 Logistic 回归分析显示,血清 25-OH-VitD₃、BGP、Apelin-13 水平是 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的影响因素($P<0.05$);受试者工作特征(ROC)曲线显示,三者联合检测的曲线下面积(AUC)的预测价值最佳。**结论** 血清 25-OH-VitD₃、BGP、Apelin-13 水平和 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽疗效密切相关,且三者联合检测可作为患者治疗效果的预测指标。

【关键词】 25 羟基维生素 D₃; 骨钙素;爱帕琳肽-13; 2 型糖尿病合并肥胖; 阿格列汀; 利拉鲁肽

Relationship between 25 - OH - VITD₃, BGP, apelin - 13 and efficacy of alaglipitin and liraglutide in obese patients with T2DM

MA Chaopeng, WANG Xiaoyan, YIN Chao, MA Jingxuan, SONG Yanwei, GUO Shuqin, WANG Jun*
(Department of Endocrinology, Baoding First Central Hospital, Baoding, Heibei, China, 071000)

[ABSTRACT] Objective To observe the serum levels of 25 hydroxyvitamin D₃ (25-OH-vitD₃), osteocalcin (BGP) and apelin-13 (apelin-13) in obese type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients treated with alaglipitin and liraglutide, and to explore the relationship between the three serum levels and the curative effect. **Methods** A total of 116 T2DM obese patients who received alaglipitin and liraglutide in Baoding First Central Hospital from November 2019 to November 2020 were selected and treated for 24 weeks. They were divided into the effective group and the ineffective group according to the efficacy. Serum 25-OH-VITD₃, BGP, apelin-13 levels were detected, clinical data of patients were collected, and the relationship between 25-OH-VITD₃, BGP, apelin-13 levels and the efficacy of alaglipitin and liraglutide in T2DM obese patients was analyzed by univariate and multivariate logistic regression analysis. **Results** Among the 116 obese patients with T2DM, 84 cases (72.41%) were treated effectively, while 32 cases (27.59%) were ineffective. Logistic regression analysis showed that serum levels of 25-OH-VITD₃, BGP and apelin-13 were the influencing factors of ineffective treatment of alaglipitin and liraglutide in T2DM obesity, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The receiver operating characteristic (ROC) curve showed that the area under the curve (AUC) combined with the three measures had the best predictive value. **Conclusion** Serum 25-OH-VITD₃, BGP and apelin-13 levels are closely correlated with the therapeutic effect of alaglipitin and liraglutide in obese patients with T2DM, and the combined detection of the three can be used as a predictor of the treatment effect of patients.

[KEY WORDS] 25-hydroxyvitamin D₃; Osteocalcin; Apelin-13; Type 2 diabetes mellitus with obesity; Alaglipitin; Liraglutide

基金项目:保定市科技计划项目(1951ZF051)

作者单位:保定市第一中心医院内分泌三科,河北,保定 071000

*通信作者:王君, E-mail: 1602794926@qq.com

糖尿病是以高血糖为主的综合性疾病,有九成以上是2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)^[1]。T2DM患者需终生服用药物控制病情,对患者的生活质量造成严重影响。肥胖是糖尿病常见的合并症,郭伟等^[2]指出T2DM肥胖患者有抵抗胰岛素的情况,患者常规治疗后血糖水平仍很难达到正常值,会直接或间接影响患者的骨代谢。阿格列汀及利拉鲁肽是临床上常用来治疗T2DM肥胖患者,但因药物作用有限,加之患者个体差异,效果不明显,甚至是治疗无效,导致疾病得不到有效控制,严重损伤患者的肾脏功能。相关研究指出^[3],血清25羟基维生素D3(25-hydroxyvitamin D3, 25-OH-VitD3)、骨钙素(Bone gla protein, BGP)、爱帕琳肽-13(Apelin-13)水平与糖尿病的发生及发展密切相关,25-OH-VitD3、Apelin-13可促进骨细胞的增殖和表达,通过BGP可了解成骨细胞的情况,提示25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13可能与T2DM肥胖患者的预后存在关系。本研究选取T2DM肥胖患者为研究对象,进一步探讨血清25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平与T2DM肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗效果的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年11月至2020年11月在保定市第一中心医院接受阿格列汀及利拉鲁肽治疗的116例2型糖尿病合并肥胖患者为研究对象,均维持治疗24周,治疗效果根据《中国肥胖及2型糖尿病外科治疗指南(2019版)解读》^[4]中相关标准分成有效组和无效组。纳入标准:①符合T2DM的诊断标准^[5];②体重指数 $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ 且 $< 40 \text{ kg/m}^2$;③临床资料完整者;④生存期 > 6 个月;⑤患者或家属知情同意。排除标准:①患者有糖尿病酮症酸中毒、糖尿病高渗性昏迷等严重糖尿病并发症;②对本研究使用的药物存在禁忌证者;③合并有其他尿毒症等肾脏疾病或恶性肿瘤;④处于哺乳期或妊娠期的女性;⑤有认知障碍或严重精神障碍者;⑥伴有红斑狼疮等自身免疫性疾病。本研究已获得保定市第一中心医院医学伦理委员会审核通过。

1.2 方法

1.2.1 基本资料采集

由专业人员采集所有研究对象的相关信息,

包括性别、年龄、身高、体重,测量腹围,计算体重指数,询问饮酒史、吸烟史。

1.2.2 样本采集与检测

入组后清晨采集患者的空腹静脉血10 mL,将样本以1 500 r/min(离心半径为10 cm,湖南湘仪离心机厂)速度离心15 min后取上清液,并放于 -20°C 中保存待测。采用SM-3型酶标仪(北京天石科技有限责任公司)、应用酶联免疫吸附试验(上海将来实业股份有限公司)检测25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平;采用糖化血红蛋白分析仪(TOSOH公司)、应用离子层析法测定糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, HbA1c);采用全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司)测定空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、餐后2 h血糖(2 hr postprandial plasma glucose, 2hPG)水平;以化学抽提法测定总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)水平。

1.2.3 治疗效果评定

患者均进行阿格列汀及利拉鲁肽治疗,口服苯甲酸阿格列汀(尼欣那,日本Takeda Pharmaceutical Company Limited, 25 mg/片,国药准字H20130548)及阿卡波糖片(贝希,四川绿叶制药股份有限公司, 50 mg/粒,国药准字H20020391), 1次/日;接受利拉鲁肽注射液(诺合力,丹麦诺和诺德公司, 3 mL, 18 mg, 国药准字J20160037)皮下注射, 0.6 mg/次, 1次/日,若无不可耐受的不良反应,最大剂量可增加至1.2 mg/次。均治疗24周。显效:FPG $< 7 \text{ mmol/L}$ 、2hPG $< 9 \text{ mmol/L}$ 、HbA1c $< 7\%$;好转:FPG $< 8 \text{ mmol/L}$ 、2hPG $< 1.0 \text{ mmol/L}$ 、HbA1c 7%~8%;无效:未达上述标准为无效^[6]。根据评估结果将满足显效或好转条件的其中一项或多项的患者定义为治疗有效。

1.3 统计学方法

本研究数据分析处理应用SPSS 22.0统计学软件,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较行 t 检验。应用多元Logistic回归分析血清25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平对T2DM肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽的治疗效果,绘制受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析血清25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平对阿格列汀及利拉鲁肽的治疗效果的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的单因素分析

116 例 2 型糖尿病合并肥胖患者中, 84 例 (72.41%) 治疗有效, 32 例 (27.59%) 治疗无效; 单因素分析显示, HbA1c、血清 25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13 水平是 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的影响因素 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的单因素分析 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

因素	分类	有效组 ($n=84$)	无效组 ($n=32$)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)		53.48±9.34	52.94±8.66	0.284	0.777
性别	男	49(58.33)	21(65.63)	0.515	0.473
	女	35(41.67)	11(60.71)		
饮酒史	有	51(60.71)	20(34.38)	0.031	0.860
	无	33(39.29)	12(37.50)		
吸烟史	有	48(57.14)	22(68.75)	1.305	0.254
	无	36(42.86)	10(31.25)		
体重指数 (kg/m^2)		32.48±3.51	33.05±2.48	0.841	0.402
腹围(mm)		105.84±4.67	104.27±4.07	1.674	0.097
25-OH-VitD3 (ng/mL)		23.88±0.13	19.24±0.12	175.378	<0.001
BGP(ng/mL)		21.54±3.02	19.73±2.11	3.110	0.002
Apelin-13 (ng/L)		310.57±49.27	108.91±15.33	9.856	0.002
HbA1c(%)		4.67±0.84	6.91±1.22	11.251	<0.001
FPG(mmol/L)		8.33±0.51	8.39±0.66	0.521	0.604
2hPG(mmol/L)		9.75±1.05	9.64±1.02	0.508	0.612
TC(mmol/L)		4.55±0.91	4.81±0.83	1.408	0.162
TG(mmol/L)		1.63±0.35	1.55±0.31	1.134	0.259

2.2 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的多因素分析

以经 T2DM 肥胖患者治疗效果为因变量, 将上述具有统计学意义的因素纳入 Logistic 回归模型。自变量赋值情况见表 2。经 Logistic 回归分析显示, 血清 25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13 水平是 2 型糖尿病合并肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的独立影响因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 自变量赋值情况

变量	赋值说明
25-OH-VitD3(ng/mL)	连续变量
BGP(ng/mL)	连续变量
Apelin-13(ng/L)	连续变量
HbA1c(%)	连续变量

表 3 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的多因素分析

因素	β 值	$S.E$ 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
25-OH-VitD3 (ng/mL)	1.228	0.511	5.775	3.414	1.254~9.300	0.017
BGP(ng/mL)	1.768	0.635	7.826	5.859	1.687~20.328	0.011
Apelin-13 (ng/L)	0.957	0.316	9.172	2.604	1.402~4.836	<0.001
HbA1c(%)	0.843	0.531	2.520	2.323	0.820~6.580	0.081

2.3 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的 ROC 结果

ROC 曲线分析显示, 25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13 及三者联合检测的曲线下面积(AUC)分别为 0.821、0.849、0.815、0.916, 其中联合检测的预测价值最佳。见表 4、图 1。

表 4 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的 ROC 结果

检测指标	最佳 截断值	AUC	95% CI	敏感 度	特异 度	准确 度
25-OH-VitD3 (ng/mL)	21.59	0.821	0.812~0.921	0.813	0.845	0.833
BGP(ng/mL)	20.91	0.849	0.823~0.967	0.844	0.869	0.862
Apelin-13 (ng/L)	212.61	0.815	0.803~0.911	0.781	0.833	0.819
联合检测		0.916	0.867~0.985	0.938	0.917	0.922

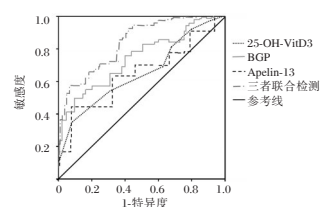


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

T2DM 主要发生于 ≥ 35 岁的人群, 其发病原因多为患者体内产生的胰岛素过多或减少, 使胰岛素的作用效果变差从而进一步加重病情。阿格列汀及利拉鲁肽常用于治疗 T2DM 肥胖患者, 但药物作用有限, 使得治疗效果不明显。既往研究显示^[7], 血清指标与 T2DM 肥胖患者有密切关系。因此, 本研究进一步探讨了 25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13 对 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗效果的关系, 为临床诊断以及治疗效果的预测提供参考。

本结果显示,116例T2DM肥胖患者,84例(72.41%)治疗有效,32例(27.59%)治疗无效。利拉鲁肽是GLP-1类似物,能使胰岛 β 细胞再生、修复以及抑制凋亡,而胰岛 β 细胞得修复能有效降低FPG、2 hPG、HbA1c及体重;阿格列汀是T2DM常用药物,有调节糖代谢及脂代谢效果^[8]。因此,两者联合使用可对血糖、骨代谢均有一定的调节作用,与既往研究相符^[9-10]。经Logistic回归分析显示,血清25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平是T2DM肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗无效的独立危险因素。糖尿病患者普遍存在着骨代谢异常情况,引起血管功能紊乱,从而导致骨形成减少,会增加大血管等并发症的发生^[11]。骨代谢在一定程度上能调节糖代谢,其调节机制可能与维生素D和骨钙素有关。25-OH-VitD3主要是由食物来源及皮肤合成在肝脏被羟基化而形成的,是维生素D存储的主要形式,若机体发生维生素D不足,会给自身免疫系统造成损伤,且能抑制胰岛素的合成与分泌,使身体出现炎症反应,进一步加速糖尿病的发生及发展,因此25-OH-VitD3的降低有可能抑制了药物作用,导致治疗无效^[12]。BGP主要由骨细胞合成分泌形成,通过该指标可了解成骨细胞的实际情况。黄燕等^[13]研究发现,骨钙素能积极调控糖尿病患者的胰岛素的敏感性及分泌功能,而且还参与糖脂代谢的调节过程,与糖尿病的发生及发展密切相关。BGP的降低使患者在骨形成和骨吸收耦联时的标志物均降低,BGP此时为转换的状态,从而导致骨骼脆弱,使治疗达不到预期效果。Apelin-13对抑制细胞增殖、抗炎和调整体液平衡方面均具有积极作用,可促进骨细胞内信号分子的活化以及骨细胞的增殖^[14]。此外,Apelin-13对氧化还原反应具有中和作用,能降低氧化游离自由基的激活程度,减少组织受损,骨损害越严重,血清Apelin-13水平越低,进一步影响了疾病的治疗。

ROC曲线分析显示,25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13及三者联合检测的曲线下面积(AUC)分别为0.821、0.849、0.815、0.916,其中联合检测的预测价值最佳,提示可通过动态监测血清25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平,有助于评估T2DM肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽治疗的治疗效果。

综上所述,血清25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平和2型糖尿病合并肥胖患者阿格列汀及利拉

鲁肽治疗效果密切相关,25-OH-VitD3、BGP、Apelin-13水平的降低会增加治疗无效的风险,可将三者作为患者治疗效果的预测指标,对评估结果制定针对性的治疗措施。

参考文献

- [1] 殷蕾,刘慧琳,谢湊,等. 浏阳市成年人群糖尿病患病及影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2022,48(4):460-462+466.
- [2] 郭伟,李伟,侯小莉,等. 利拉鲁肽对2型糖尿病轻度认知功能障碍患者炎症因子及认知功能的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2019,39(11):1179-1182.
- [3] Duan J, Cui J, Yang Z, Guo C, et al. Neuroprotective effect of Apelin 13 on ischemic stroke by activating AMPK/GSK-3 β /Nrf2 signaling[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1):24.
- [4] 张光辉,王存川. 中国肥胖及2型糖尿病外科治疗指南(2019版)解读[J]. 临床外科杂志, 2020,28(1):46-48.
- [5] 中国老年2型糖尿病防治临床指南(2022年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2022,30(1):2-51.
- [6] 赵富利,马玉瑾,梁丽君,等. 沙格列汀联合阿法骨化醇治疗2型糖尿病疗效及对患者血清25羟维生素D3水平骨代谢指标的影响[J]. 临床心身疾病杂志, 2021,27(4):1-6.
- [7] Zang H, Jiang F, Cheng X, et al. Serum adipon levels are decreased in Chinese type 2 diabetic patients and negatively correlated with body mass index[J]. Endocr J, 2018,65(7):685-691.
- [8] 宋彦伟,王君,马朝朋,等. 二甲双胍和阿格列汀对2型糖尿病患者骨代谢、骨密度及血清Apelin-13水平的影响[J]. 海南医学, 2022,33(10):1229-1233.
- [9] 王瑒,洪世华,柯瑞琼,等. 不同剂量二甲双胍联合阿格列汀治疗2型糖尿病合并骨质疏松症患者的疗效研究[J]. 中国医学创新, 2020,17(22):40-43.
- [10] 范晓霞,姚勇利,胡耀嘉,等. 利拉鲁肽联合阿法骨化醇治疗老年2型糖尿病合并骨质疏松的疗效及对骨保护蛋白、Apelin-13的效果观察[J]. 中国糖尿病杂志, 2020,28(5):341-344.
- [11] An Y, Zhang H, Wang C, et al. Activation of ROS/MAPKs/NF- κ B/NLRP3 and inhibition of efferocytosis in osteoclast-mediated diabetic osteoporosis[J]. FASEB J, 2019,33(11):12515-12527.
- [12] 苏晓慧,李维辛. 骨钙素在老年2型糖尿病患者中的血糖调控作用及其影响因素研究[J]. 中国全科医学, 2020,23(17):2157-2163.
- [13] 黄燕,杜梦梦,张智海. 探讨糖尿病患者的骨转换标志物的变化与骨质疏松的关系[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019,25(2):178-181.
- [14] Gao Z, Zhong X, Tan YX, et al. Apelin-13 alleviates diabetic nephropathy by enhancing nitric oxide production and suppressing kidney tissue fibrosis[J]. Int J Mol Med, 2021,48(3):175.

肺癌患者 ACTH、HGH、PRL 和皮质醇联合检测价值分析

关堂胜 陈苗红 许岩 吴竞*

【摘要】目的 促肾上腺皮质激素(ACTH)、人生长激素(HGH)、泌乳素(PRL)和皮质醇(CORT)联合检测肺癌的价值分析。**方法** 选取2018年1月到2021年12月皖南医学院第二附属医院及皖南医学院附属弋矶山医院收治的86例肺癌患者为肺癌组,并选取同期患有良性肺部疾病的患者50例为对照组。分析两组患者血清的ACTH、HGH、PRL和CORT水平情况,探究其联合检测对肺癌预测价值。随访一年,根据预后情况将患者分为预后良好组和预后不良组,收集患者的相关资料,采用Logistic因素分析ACTH、HGH、PRL和CORT水平与肺癌患者预后的关系。**结果** 肺癌组患者的ACTH、HGH、PRL水平明显高于良性肺部疾病组患者,CORT水平明显低于良性肺部疾病组,差异有统计学意义($t=10.003$ 、 8.294 、 10.234 、 7.569 ; P 均 <0.05)。以ACTH、HGH、PRL和CORT含量变化的数据建立ROC分析模型,四者及联合检测曲线下面积分别为0.636、0.583、0.597、0.613和0.758,联合检测对肺癌具有较高的预测价值($P<0.05$)。预后不良组患者血清中ACTH、HGH、PRL水平均高于预后良好组,CORT水平低于预后良好组,差异有统计学意义($t=2.489$ 、 3.127 、 2.306 、 2.690 ; P 均 <0.05)。Logistic回归分析显示,吸烟、肺腺癌病理分型、血清中ACTH、HGH、PRL、CORT水平变化均是患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** ACTH、HGH、PRL和CORT联合检测对肺癌具有较高的预测价值,且吸烟、肺腺癌病理分型、ACTH、HGH、PRL、CORT水平变化均是影响肺癌患者预后不良的因素,在临床中可相应做好的诊疗措施。

【关键词】 肾上腺皮质激素;人生长激素;泌乳素;皮质醇;肺癌

Analysis of the value of combined detection of ACTH, HGH, PRL and cortisol in patients with lung cancer

GUAN Tangsheng, CHEN Miaohong, XU Yan, WU Jing*

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu, Anhui, China, 241000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the value of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), human growth hormone (HGH), prolactin (PRL) and cortisol (CORT) combined detection in lung cancer. **Methods** A total of 86 lung cancer patients admitted to the Second Affiliated Hospital of Wannan Medical College and the First Affiliated Hospital of Wannan Medical College from January 2018 to December 2021 were selected as the lung cancer group, and 50 patients with benign lung disease during the same period were selected as the control group. The serum levels of ACTH, HGH, PRL and CORT in two groups were analyzed to explore the predictive value of combined detection for lung cancer. Patients were followed up for one year and divided into the good prognosis group and the poor prognosis group according to prognosis. Relevant data of patients were collected, and Logistic factors were used to analyze the relationship between ACTH, HGH, PRL and CORT levels and prognosis of patients with lung cancer. **Results** The levels of ACTH, HGH and PRL in the lung cancer group were significantly higher than those in the benign lung disease group, and the level of CORT was

基金项目:国家自然科学基金(81601806)

作者单位:皖南医学院第二附属医院检验科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:吴竞, E-mail: wjwjw1973@126.com

significantly lower than that in the benign lung disease group, and the differences were statistically significant ($t=10.003, 8.294, 10.234, 7.569; P<0.05$). The ROC analysis model was established based on the changes of ACTH, HGH, PRL and CORT levels. The areas under the curves of the four methods and the combined method were 0.636, 0.583, 0.597, 0.613 and 0.758, respectively. The combined method has high predictive value for lung cancer. The serum ACTH, HGH and PRL levels in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group, and the CORT level was lower than that in the good prognosis group, the difference was significant ($t=2.489, 3.127, 2.306, 2.690; P<0.05$). Logistic regression analysis showed that smoking, pathological classification of lung adenocarcinoma and changes in serum levels of ACTH, HGH, PRL and CORT were independent risk factors for poor prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of ACTH, HGH, PRL and CORT has a high predictive value for lung cancer, and smoking, pathological classification of lung adenocarcinoma, changes in ACTH, HGH, PRL and CORT levels are all factors affecting the poor prognosis of lung cancer patients, and corresponding diagnosis and treatment measures can be taken in clinical practice.

[KEY WORDS] Adrenal cortical hormone; Human growth hormone; Prolactin; Cortisol; Lung cancer

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,因其具有较高的发病率、死亡率,也成为了严重威胁着人类生命健康的公共卫生问题。提高肺癌患者的生存率,做好患者的早期筛查和诊断至关重要^[1]。肺癌的发生、发展是在多种致癌因素和多基因影响下经过多个步骤形成的,起病也较隐匿,大多数的患者在临床确诊时都已处于中晚期的阶段,因此也延误了对与肺癌的治疗^[2]。目前肺癌的诊断也成为当前的难题,肺癌的临床诊断主要依靠影像学 and 病理,但CT筛查难以对部分肺部结节与肺癌进行有效的筛查诊断,病理学诊断具有创伤性和标本取材的限制^[3]。近年血清肿瘤标志物的检测越来越受到关注,其具有快速、准确、易获取、可重复测定、价格低廉等诸多优点,已经被广泛应用于肺癌的临床辅助诊断^[4]。本研究分析促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、人生长激素(Human Growth Hormone, HGH)、泌乳素(prolactin, PRL)和皮质醇(cortisol, CORT)于患者血清中的水平,探究其联合检测对于肺癌的预测价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年1月到2021年12月皖南医学院第二附属医院及皖南医学院附属弋矶山医院收治的86例肺癌患者的临床资料(研究组),男性59例,女性27例,平均年龄(44.25 ± 11.13)岁;病理类型:小细胞肺癌30例,鳞癌25例,腺癌16例,未定型15例。同时选取同期患有良性肺部疾病的患者50例(对照组),其中男性28例,女性22例,平均年龄

(43.88 ± 10.96)岁;肺结节病15例,多发性支气管囊肿7例,结核瘤13例,支气管扩张12例,肺结核3例。两组患者的划分参考国际肺癌研究协会(International Association for the Study of Lung Cancer, IASLC)第八版肺癌分期标准^[5]和原发性肺癌诊疗规范(2018年版)^[6]。

纳入标准:①临床相关资料完整的患者;②最近1个月内未服用过任何激素类的药物的患者;③患者年龄大于等于18岁。④所有入试者及家属均签署知情同意书。排除标准:①孕妇或哺乳期妇女;②合并其他恶性肿瘤或有血液系统、免疫系统、内分泌系统疾病的患者。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 采样方法

收集所有受试患者检查当天的空腹静脉血3 mL,放置于EDTA抗凝管中,采用离心机以10 cm为离心半径,3 000 r/min离心10 min分离血清,取上清液完成临床检测项目后,留取剩余于清管中,保存于 -80°C 冰箱待测。

1.3 化验指标

采用免疫磁微粒化学发光法测定ACTH(郑州安图生物工程股份有限公司)、CORT(郑州安图生物工程股份有限公司)水平、PRL(郑州安图生物工程股份有限公司)水平、HGH水平(郑州安图生物工程股份有限公司),由本院检验科人员进行检测,并严格遵循试剂盒说明书的操作要求进行检测。

1.4 观察指标

对肺癌患者随访1年,观察记录患者的预后情况,当患者出现死亡或复发状况时则判定为预后不良。同时,收集所有患者年龄、性别、是否吸烟、病理分型

等一般资料,分析影响肺癌患者预后的危险因素。

1.5 统计学方法

本研究采用统计学软件 SPSS 23.0 对数据进行处理。计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验。绘制受试者工作特征曲线 (ROC 曲线),并计算曲线下面积分析检测对于肺癌的预测价值。多因素使用 Logistic 回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清中 ACTH、HGH、PRL 及 CORT 含量比较

肺癌组患者血清中的 ACTH、HGH、PRL 含量均明显高于良性疾病组,CORT 含量明显低于良性疾病组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者 ACTH、HGH、PRL 及 CORT 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of ACTH, HGH, PRL and CORT contents between the two groups ($\bar{x} \pm s$)					
组别	<i>n</i>	ACTH (nmol/L)	HGH (ng/mL)	PRL (μ g/L)	CORT (ng/L)
良性疾病组	50	62.57 $\pm$ 13.74	0.63 $\pm$ 0.21	9.24 $\pm$ 2.06	153.36 $\pm$ 35.39
肺癌组	86	94.73 $\pm$ 20.16	1.05 $\pm$ 0.32	15.89 $\pm$ 4.27	114.11 $\pm$ 24.87
<i>t</i> 值		10.003	8.294	10.234	7.569
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 患者血清中 ACTH、HGH、PRL 及 CORT 联合检测对肺癌的诊断价值

ROC 曲线分析结果显示,患者血清中 ACTH、HGH、PRL、CORT 水平及四者联合检测曲线下面积分别为 0.636、0.583、0.597、0.613、0.758,优于单一检测 ($P < 0.05$)。见表 2、图 1。

表 2 血清中 ACTH、HGH、PRL 及 CORT 水平对肺癌的预测价值

Table 2 Predictive value of serum ACTH, HGH, PRL and CORT levels for lung cancer						
指标	AUC	95% CI	截断值	灵敏度	特异度	准确度
ACTH (nmol/L)	0.636	0.512~0.761	94.50	0.419	0.800	0.559
HGH (ng/mL)	0.583	0.456~0.701	1.17	0.314	0.900	0.529
PRL (μ g/L)	0.597	0.483~0.699	15.35	0.279	0.860	0.493
CORT (ng/L)	0.613	0.501~0.725	130.86	0.407	0.880	0.581
联合检测	0.758	0.633~0.883		0.721	0.940	0.669

2.3 影响肺癌患者预后的单因素分析

预后不良组患者吸烟占比高于预后良好组,患者血清中 ACTH、HGH、PRL 水平高于预后良好组,CORT 水平低于预后良好组,差异有统计学意义 (P 均 < 0.05);两组患者的肺腺癌病理分型比较,差异具

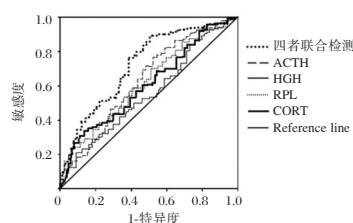


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curves

有统计学意义 ($P < 0.05$);两组年龄、性别、病理分型等对比,差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表 3。

表 3 患者预后的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

Table 3 Univariate analysis of patient outcomes

[($\bar{x} \pm s$), $n(\%)$]				
相关因素	预后良好 ($n=60$)	预后不良 ($n=26$)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄	42.66 $\pm$ 9.75	46.88 $\pm$ 10.85	1.701	0.093
性别				
男	37 (61.67)	21 (80.77)	3.015	0.083
女	23 (38.33)	5 (19.23)		
是否吸烟			5.929	0.015
是	20 (33.33)	16 (61.54)		
否	40 (66.67)	10 (38.46)		
病理类型			0.500	0.617
小细胞肺癌	20 (33.33)	10 (38.46)		
鳞癌	21 (35.00)	4 (15.38)		
腺癌	10 (16.67)	6 (23.08)		
其他	9 (15.00)	6 (23.08)		
肺腺癌病理分型			9.244	0.010
原位腺癌	6 (60.00)	0 (0.00)		
微小浸润腺癌	3 (30.00)	1 (16.67)		
浸润腺癌	1 (10.00)	5 (83.33)		
ACTH (nmol/L)	92.40 $\pm$ 12.74	100.12 $\pm$ 14.26	2.489	0.015
HGH (ng/mL)	0.96 $\pm$ 0.31	1.27 $\pm$ 0.61	3.127	0.002
PRL (μ g/L)	15.32 $\pm$ 3.22	17.21 $\pm$ 4.06	2.306	0.024
CORT (ng/L)	117.65 $\pm$ 19.76	105.93 $\pm$ 15.36	2.690	0.009

2.4 影响肺癌患者预后的多因素分析

Logistic 回归分析显示,吸烟、肺腺癌病理分型、患者血清中 ACTH、HGH、PRL 及 CORT 水平变化是导致肺癌患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 影响肺腺癌患者预后的多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors influencing prognosis of lung adenocarcinoma patients

指标	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR (95% CI) 值	<i>P</i> 值
吸烟	1.013	0.328	9.562	2.754 (1.449~5.234)	0.002
肺腺癌病理分型	0.856	0.302	8.041	2.354 (1.303~4.253)	0.005
ACTH	0.950	0.307	8.621	2.586 (1.371~4.875)	0.003
HGH	0.988	0.312	10.021	2.686 (1.457~4.952)	0.002
PRL	1.316	0.452	8.469	3.728 (1.537~9.046)	0.004
CORT	0.914	0.302	9.135	2.494 (1.379~4.512)	0.003

3 讨论

据研究表示,2020年全球新发肺癌病例约220万,占全部恶性肿瘤的11.4%。我国的肺癌发病率较高,GLOBOCAN2020数据显示中国肺癌发病率占全球的37.0%、死亡率占全球的39.8%^[7]。有研究显示,肺癌的生存情况与临床诊断时间关系密切^[8]。同时,肺癌作为预后最差的肿瘤之一,分析影响其预后状况的原因和改善患者的预后的措施,也是临床一直在探索的研究内容。

研究表明,激素与癌症的发生、发展相关^[9]。本研究结果显示,肺癌组患者血清中的ACTH、HGH、PRL含量均明显高于肺部良性疾病组,而CORT含量明显低于良性疾病组。进一步通过ROC曲线分析显示,患者血清中ACTH、HGH、PRL、CORT联合检测曲线下面积为0.758,准确度、灵敏度和特异度分别为0.721、0.581、0.651,可见四种激素联合检测对肺癌的诊断均较高的预测价值。ACTH是脑垂体分泌的多肽类激素,可促进肾上腺皮质的组织增生以及皮质激素的生成和分泌等。CORT由肾上腺皮质束状带细胞分泌的甾体类固醇激素,其在人体物质代谢、应激反应中有重要的作用,除了可发挥相应的生物学效应外,也可负反馈调节ACTH的合成和分泌。沈礼平等^[10]在研究中发现,在恶性肿瘤细胞、恶性肿瘤代谢产物及炎症因子的刺激下,肾上腺皮质激素及皮质醇等会出现明显变化;而给予治疗的肺癌患者血清中的促肾上腺皮质激素会明显较治疗前低,血清中的皮质醇则会升高。林豫蓉等^[11]也在研究中表示,肺癌患者癌因性疲乏与内分泌激素的紊乱密切相关,且肺癌患者的血清ACTH水平高于正常对照组、CORT水平低于正常对照组,与本研究结果一致。

在以往的研究中,HGH也被作为肿瘤标志物被用于肺癌的诊断,与肿瘤的发生发展相关^[12]。周春茹等^[13]在研究中表明,VEGF基因是肺癌进展的重要标志,PRL可上调肺癌细胞VEGF基因表达,促进肺癌的发生发展^[14]。本研究结果显示,吸烟、肺腺癌病理分型、患者血清中ACTH、HGH、PRL及CORT水平变化是导致肺癌患者预后不良的独立危险因素。顾阳春等^[15]也在研究中表示,肺癌治疗中发生垂体免疫相关不良反应会出现ACTH、TSH、PRL水平异常的情况,也提示ACTH、TSH、PRL水平与患者诊疗的预后息息相关。

综上所述,血清ACTH、HGH、PRL、CORT可作为预测肺癌的重要肿瘤标志物,四者联合检测对肺癌预测具有较高的敏感度和准确率,临床可考虑通过联合检测血ACTH、HGH、PRL和皮质醇预测肺癌的发生。

参考文献

- [1] 刘琳琳,姜春叶,陈佳燕. 肺癌高危人群癌症防治核心知识认知情况调查[J]. 华南预防医学, 2021,47(3):315-318.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] Thakur SK, Singh DP, Choudhary J. Lung cancer identification: a review on detection and classification [J]. Cancer Metastasis Rev, 2020,39(3):989-998.
- [4] 张婷,向波,林勇平. 肿瘤标志物联合检测在肺癌辅助诊断中的预测价值[J]. 中华预防医学杂志, 2021,55(6):786-791.
- [5] Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer [J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(1):39-51.
- [6] 国家卫生健康委员会. 原发性肺癌诊疗规范(2018年版) [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2019, 5(3):100-120.
- [7] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021,4.
- [8] Zeng HM, Chen WQ, Zheng RS, et al. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries [J]. Lancet Glob Health, 2018, 6(5):e555-e567.
- [9] 马媛原,袁伟,高春晓,等. 慢性压力通过激素及炎症影响肿瘤发展及预后[J]. 现代肿瘤医学, 2021,29(19):3480-3483.
- [10] 沈礼平,徐力. 益气养阴法治疗气阴两虚型晚期肺癌临床研究[J]. 新中医, 2021,53(8):107-110.
- [11] 林豫蓉. 肺癌患者癌因性疲乏与血清CRP、IL-6、ACTH、皮质醇的关系研究[J]. 临床肺科杂志, 2018,23(1):146-149.
- [12] 李清茹,季成,季顺东. 多肿瘤标志物蛋白芯片连续3年筛查对肿瘤检出率的影响[J]. 实用医学杂志, 2019,35(21):3378-3383.
- [13] Chou JC, Lieu FK, Ho DM, et al. Regulation of extracellular and intracellular prolactin on cell proliferation and survival rate through GHR/JAK2/STAT3 pathway in NSCLC [J]. Chemosphere, 2021,264(Pt 1):128604.
- [14] 韩媛媛,魏玉磊,章春芝. 外周血FGF2、VEGFA及循环肿瘤细胞含量水平与肺癌转移的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(1):152-155.
- [15] 顾阳春,刘颖,谢超,等. 程序性死亡蛋白-1抑制剂治疗晚期肺癌出现垂体免疫不良反应3例[J]. 北京大学学报(医学版), 2022,54(2):369-375.

子宫颈肿瘤患者 HPV-E6/E7 mRNA 表达的临床意义

张一帆^{1*} 王艳茹² 赵琴³

[摘要] 目的 探讨子宫颈肿瘤患者人乳头瘤病毒(HPV)-E6/E7 mRNA 表达的临床意义。方法 选择2019年1月至2021年12月在平顶山市妇幼保健院经阴道镜下宫颈活检的102例患者作为研究对象,所有对象行宫颈液基薄层细胞学(TCT)检查,收集患者宫颈管及宫颈口脱落细胞行 HPV 分型和 HPV-E6/E7 mRNA 定量检测,在阴道镜下行宫颈多点活检,根据活检结果,患者分为宫颈癌浸润组(21例)、宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅲ级组(33例)、CINⅡ级组(29例)及 CINⅠ级组(19例),选择慢性宫颈炎女性40例设置为对照组,比较各组的 HPV-E6/E7 mRNA 的表达水平,分析 HPV-E6/E7 mRNA 与宫颈肿瘤病变分级的关系及其对宫颈肿瘤的诊断价值。结果 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平:宫颈癌组>CINⅢ组>CINⅡ组>CINⅠ组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。随 TBS 分级的降低,HPV-E6/E7 mRNA 水平呈降低趋势,差异有统计学意义($P<0.05$)。HPV-E6/E7 mRNA 表达水平与疾病严重程度呈正相关($r=0.525, P=0.007$)。HPV-E6/E7 mRNA 鉴别诊断慢性宫颈炎与 CIN 的 AUC 为 0.747($P<0.05$); HPV-E6/E7 mRNA 鉴别诊断宫颈癌与 CIN 的 AUC 为 0.711($P<0.05$)。结论 HPV-E6/E7 mRNA 在宫颈肿瘤患者中呈高水平表达,且表达水平随着疾病严重程度增加而增加,检测 HPV-E6/E7 mRNA 的表达可鉴别诊断慢性宫颈炎、CIN 及宫颈癌,对于疾病诊断及评估具有一定临床价值。

[关键词] 子宫颈肿瘤;人乳头瘤病毒;HPV-E6/E7 mRNA;液基薄层细胞学

Clinical significance of HPV-E6/E7 mRNA expression in patients with cervical tumor

ZHANG Yifan^{1*}, WANG Yanru², ZHAO Qin³

(1. Department of Gynecology, Pingdingshan Maternal and Child Health Hospital, Pingdingshan Henan, China, 467000; 2. Blood Supply Bank of Wugang Peoples Hospital, Pingdingshan, Henan, China, 462599; 3. Dongchangfu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Liaocheng, Shandong, China, 252000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical significance of human papillomavirus (HPV)-E6/E7 mRNA expression in patients with cervical tumor. **Methods** A total of 102 patients with cervical biopsy under colposcopy in Pingdingshan City Maternal and Child Health Hospital from January 2019 to December 2021 were selected as the study subjects. All subjects underwent cervical fluid based thin layer cytology (TCT) examination, and cervical canal and cervical mouth excells were collected for HPV typing and HPV-E6/E7 mRNA quantitative detection. According to the biopsy results, the patients were divided into the cervical cancer infiltration group (21 cases), the cervical intraepithelial neoplasia (CIN) Ⅲ group (33 cases), the CIN Ⅱ group (29 cases) and the CIN Ⅰ group (19 cases). 40 women with chronic cervicitis were selected as the control group. The expression levels of HPV-E6/E7 mRNA in each group were compared to analyze the relationship between HPV-E6/E7 mRNA and cervical tumor lesion grade and its diagnostic value for cervical tumor. **Results** HPV-E6/E7 mRNA expression levels: the cervical cancer group > the CIN Ⅲ group > the CIN Ⅱ group > the CIN Ⅰ group > the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). HPV-E6/E7 mRNA level decreased with the decrease of TBS grade, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). HPV-E6/

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20191409)

作者单位:1. 河南省平顶山市妇幼保健院妇科,河南,平顶山 467000

2. 舞钢市人民医院供血库,河南,平顶山 462599

3. 山东省聊城市东昌府区中医院,山东,聊城 252000

*通信作者:张一帆, E-mail:18860287809@163.com

E7 mRNA expression was positively correlated with disease severity ($r=0.525$, $P=0.007$). The AUC of HPV-E6/E7 mRNA in differential diagnosis of chronic cervicitis and CIN was 0.747 ($P<0.05$). The AUC of HPV-E6/E7 mRNA in differential diagnosis of cervical cancer and CIN was 0.711 ($P<0.05$). **Conclusion** HPV-E6/E7 mRNA is highly expressed in cervical tumor patients, and the expression level increases with the severity of the disease. Detection of HPV-E6/E7 mRNA expression can differentiate chronic cervicitis, CIN and cervical cancer. It has certain clinical value for disease diagnosis and evaluation.

[KEY WORDS] Cervical tumor; Human papillomavirus; HPV-E6/E7 mRNA; Liquid-based thin-layer cytology

宫颈癌是女性常见肿瘤,目前尚未完全阐明宫颈癌发病机制,但多项研究均证实^[1-3],人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是宫颈肿瘤发生的独立危险因素。基础研究显示^[4],HPV基因中包含非编码区、晚期区及早期区,E6及E7属HPV早期区基因,在HPV病毒转录、翻译过程中发挥重要作用,是HPV致癌机制中的关键点。相关研究显示^[5],E6及E7编码的致癌蛋白可与多种因子相互作用,参与宫颈癌的发生及发展。既往研究显示^[6],HPV-E6/E7 mRNA的定性分析可用于宫颈肿瘤的鉴别诊断,区分宫颈上皮内瘤变(Cervical intraepithelial neoplasia, CIN)与宫颈癌。本研究中对宫颈肿瘤患者的HPV-E6/E7 mRNA进行定量分析,探讨其不同疾病严重程度患者中的表达差异,分析其对宫颈肿瘤的诊断价值,为宫颈癌的防治提供一定参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年1月至2021年12月在平顶山市妇幼保健院经阴道镜下宫颈活检的102例患者作为研究对象,根据活检结果,患者分为宫颈癌浸润组(21例)、CINⅢ级组(33例)、CINⅡ级组(29例)及CINⅠ级组(19例),选择慢性宫颈炎女性40例设置为对照组,宫颈癌浸润组患者年龄26~67岁,平均年龄(42.48 ± 5.43)岁,经产妇18例,非经产妇3例;CINⅢ级组患者年龄28~64岁,平均年龄(41.42 ± 4.52)岁,经产妇29例,非经产妇4例;CINⅡ级组患者年龄24~58岁,平均年龄(43.52 ± 6.22)岁,经产妇21例,非经产妇8例;CINⅠ级组患者年龄22~61岁,平均年龄(42.96 ± 6.24)岁,经产妇16例,非经产妇3例;对照组为慢性宫颈炎患者,年龄24~58岁,平均年龄(41.63 ± 5.23)岁,经产妇27例,非经产妇13例。各组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:CIN及宫颈癌参考《中国子宫颈癌综合防治指南》中相关标准^[7],经病理学检查确诊;

慢性宫颈炎参考《中华妇产科学》中相关标准^[8],经妇科检查及白带检查确诊;所有患者未接受过放疗及化疗治疗;入组前无宫颈癌及CIN病史;临床资料完整;经医院医学伦理委员会批准。排除标准:子宫颈外科手术史;入组前1个月内接受过抗菌治疗、抗病毒治疗者;妊娠期或哺乳期女性;入组前接受过免疫治疗者;自身免疫性疾病患者;合并其他部位恶性肿瘤者;合并肝肾功能障碍者。本研究中受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

①宫颈液基薄层细胞学(thinprep cytology test, TCT)检查:检查前3d内禁止性生活,禁止阴道冲洗及阴道用药,且检查避开月经期;将专用宫颈细胞毛刷在宫颈内顺时针旋转6周左右,采集宫颈管脱落上皮细胞并保存在专用液瓶中,编号后封存;使用全自动细胞制片机(购自湖北孝感阔海医疗科技有限公司,型号:KCT-10)制片,参考TBS分级系统^[9],将TCT结果分为:鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC);高级别鳞状CIN(High grade squamous intraepithelial lesion, HSIL);低级别鳞状CIN(Low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL);意义不明确的非典型鳞状细胞(Atypical squamous cells of undetermined significances, ASC-US);不典型鳞状细胞(Atypical squamous cells: cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion, ASC-H);无恶性改变及上皮病变(Negative for malignant lesions or intraepithelial lesions, NSIL)。②HPV-E6/E7 mRNA检测:将待检标本放置于离心机(购自美国贝克曼公司,型号:C800),离心半径13 cm,转速3 000 r/min,离心15 min后弃上清液,加入细胞裂解液,添加蛋白酶K,分离组蛋白;而后摇匀标本,放置恒温箱保存2 h,使用捕获探针捕获HPV-E6/E7 mRNA,放大信号3级,进行底物发光反应,观察发光信号强度,使用冷光检测仪检测mRNA数量,经软件计算,数量与

信号强度呈正比,拷贝数在0以上时判定为阳性。

1.3 统计学方法

所有统计学资料录入 SPSS 23.0 软件包,计量资料满足正态分布,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间的差异采用单因素方差分析进行比较,多组两两间的差异采用 SNK-*q* 比较;HPV-E6/E7 mRNA 与患者病变程度的关系使用 Pearson 相关性分析进行检验;使用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析 HPV-E6/E7 mRNA 对各疾病的诊断价值;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平的比较

HPV-E6/E7 mRNA 表达水平:宫颈癌组>CIN III组>CIN II组>CIN I组>对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of HPV-E6/E7 mRNA expression levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HPV-E6/E7 mRNA [lg(copies/mL)]
对照组	40	1.96±0.15
CIN I 组	19	2.95±0.42 ^a
CIN II 组	29	3.68±0.32 ^{ab}
CIN III 组	33	4.62±0.85 ^{abc}
宫颈癌组	21	5.14±0.95 ^{abcd}
<i>F</i> 值		53.734
<i>P</i> 值		0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$,与 CIN I 组比较,^b $P < 0.05$,与 CIN II 组比较,^c $P < 0.05$,与 CIN III 组比较,^d $P < 0.05$ 。

2.2 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平与疾病严重程度的关系

随 TBS 分级的降低,HPV-E6/E7 mRNA 水平呈降低趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HPV-E6/E7 mRNA:SCC 组>HSIL 组>LSIL 组>ASC-US 组>ASC-H 组>NSIL 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析结果显示,HPV-E6/E7 mRNA 表达水平与疾病严重程度呈正相关($r = 0.525$, $P = 0.007$)。见表2。

2.3 HPV-E6/E7 mRNA 对宫颈肿瘤的诊断价值

HPV-E6/E7 mRNA 鉴别诊断慢性宫颈炎与 CIN 的曲线下面积(area under curve, AUC)为 0.747,最佳截断值为 2.35lg(copies/mL),此时诊断敏感度为 0.786,特异度为 0.846,95% CI 为 0.652~0.841;HPV-E6/E7 mRNA 鉴别诊断宫颈癌与 CIN 的 AUC 为 0.711,此时诊断敏感度为 0.609,特异度

表2 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平与疾病严重程度的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Relationship between HPV-E6/E7 mRNA expression levels and disease severity ($\bar{x} \pm s$)

疾病严重程度	<i>n</i>	HPV-E6/E7 mRNA [lg(copies/mL)]
SCC	21	5.37±1.53
HSIL	23	4.78±0.85 ^a
LSIL	21	3.79±0.44 ^{ab}
ASC-US	19	3.15±0.51 ^{abc}
ASC-H	18	2.06±0.24 ^{abcd}
NSIL	40	1.46±0.09 ^{abcde}
<i>F</i> 值		94.952
<i>P</i> 值		0.000

注:与 SCC 比较,^a $P < 0.05$,与 HSIL 比较,^b $P < 0.05$,与 LSIL 比较,^c $P < 0.05$,与 ASC-US 比较,^d $P < 0.05$,与 ASC-H 比较,^e $P < 0.05$ 。

为 0.883,最佳截断值为 4.69lg(copies/mL),95% CI 为 0.617~0.805($P < 0.05$)。见图1。

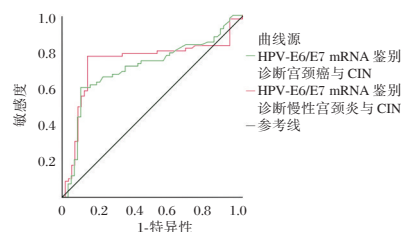


图1 ROC 曲线

Figure 1 The ROC curve

3 讨论

多项研究显示^[10-12],由癌前病变发展成为宫颈癌所需时间较长,故开展宫颈癌的早期筛查具有重要意义。临床上常采用 TCT 进行宫颈癌的筛查,具有无创、操作简便等优势,但受操作者的涂片操作质量、阅片经验等影响较大,存在假阴性高等不足。HPV 感染是宫颈癌发生发展的重要危险因素,且与多种宫颈疾病相关,既往研究显示^[13],HPV 感染能够辅助筛查宫颈癌,其操作便捷性与 TCT 相当。随着相关研究的不断深入,目前发现宫颈上皮细胞的持续性 HPV 感染才可诱发宫颈癌,联合进行 HPV 筛查具有较高的假阳性率,易造成医疗资源的浪费。故目前寻找更有效的宫颈癌筛查方法成为了临床探索的重点。

本研究中使用原位杂交技术定量检测了 CIN、慢性宫颈炎及宫颈癌患者的 HPV-E6/E7 mRNA 表达情况,结果显示,宫颈癌组的 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平>CIN III组>CIN II组>CIN I组>对照组,差异有统计学意义,提示 HPV-E6/E7 mRNA 的表达在不同宫颈病变患者中存在差异性,对于判断宫颈病

变具有一定意义。国内莫小亮等研究显示^[14], HPV的阳性率及 E6/E7 mRNA 的表达水平随着宫颈病变的级别升高而升高, 与本研究结果类似。本研究结果显示, 随 TBS 分级的降低, HPV-E6/E7 mRNA 水平呈降低趋势, 差异有统计学意义。研究称^[15], TBS 分级是一种基于阴道/宫颈细胞学的诊断技术, 其根据宫颈细胞病变程度进行分级, 筛查宫颈癌具有较高特异性。本研究结果提示 HPV-E6/E7 mRNA 水平检测与 TBS 分级具有一定相关性, 检测 HPV-E6/E7 mRNA 水平能判断宫颈病变患者的细胞病变程度。本研究结果显示, SCC 组、HSIL 组、LSIL 组、ASC-US 组、ASC-H 组及 NSIL 组的 HPV-E6/E7 mRNA 表达水平依次降低, 且各组间差异均有统计学意义, Pearson 相关性分析结果显示, HPV-E6/E7 mRNA 表达水平与宫颈疾病严重程度呈正相关。本研究结果提示 HPV-E6/E7 mRNA 水平随着宫颈疾病病变程度的加重而升高, 基础研究显示^[16], HPV 持续感染是宫颈癌的重要病因, 与 HPV 基因编码区的早期基因区 E6 及 E7 相关, 大量 HPV 被持续性转录成为 HPV-E6/E7 mRNA 时, 宫颈癌的风险成倍数上升。研究显示^[17], HPV-E6 基因编码的 E6 蛋白能够特异性结合癌基因 p53 的产物, 使 P53 蛋白快速降解, 引起周围细胞失控, 产生类似 P53 基因突变的效应, 具有较强致癌作用。此外有研究证实^[18], E6 蛋白还能降解正常细胞内的 PDZ 蛋白, 抑制细胞黏附, 促进宫颈癌发展。而 E7 蛋白可与视网膜母细胞瘤蛋白结合, 使转录因子激活腺病毒 E2, 造成细胞周围失控, 发挥促进细胞恶性增殖的作用。本研究中进一步分析了 HPV-E6/E7 mRNA 水平检测对宫颈疾病的诊断价值, 结果显示, HPV-E6/E7 mRNA 在鉴别诊断慢性宫颈炎与 CIN 及宫颈癌与 CIN 中均具有一定价值, 提示 HPV-E6/E7 mRNA 检测可作为 TCT 检查结果的补充。

综上所述, HPV-E6/E7 mRNA 在宫颈肿瘤患者中呈高水平表达, 且表达水平随着疾病严重程度的增加而增加, 检测 HPV-E6/E7 mRNA 的表达可鉴别诊断慢性宫颈炎、CIN 及宫颈癌。

参考文献

- [1] 李利玲, 王少帅, 汪向红, 等. HPV 感染宫颈患者 Hippo-YAP 通路改变及其与临床特征的关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(9): 1415-1418.
- [2] McLean BA, Zhabyeyev P, Patel VB, et al. PI3K alpha is essential for the recovery from Cre/tamoxifen cardiotoxicity and in myocardial insulin signalling but is not required for normal myocardial contractility in the adult heart[J]. Cardiovasc Res, 2015, 105(3): 292-303.
- [3] 卢徐涟. 宫颈癌组织 HPV16 早期基因 E6/E7 相关转录本以及整合基因的分析[D]. 温州: 温州医科大学, 2014.
- [4] Kiseki H, Tsukahara Y, Tajima N, et al. Influence of co-infection complicated with human papillomavirus on cervical intraepithelial neoplasia development in patients with atypical squamous cells of undetermined significance[J]. J Infect Chemother, 2017, 23(11/12): 814-819.
- [5] Luo RZ, Chen SL, Li M, et al. HPV E6/E7 mRNA in situ hybridization in endocervical adenocarcinoma: implications for prognosis and diagnosis[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 19-29.
- [6] 叶丽君, 喻长法, 蔡莎莎, 等. 高危型人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 联合液基细胞学检查在宫颈病变诊断中的应用[J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 25(7): 499-501.
- [7] 王临虹, 赵更力. 中国子宫颈癌综合防控指南[J]. 中国妇幼健康研究, 2018, 29(1): 1-3.
- [8] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 119-123.
- [9] 王莹, 卞美璐, 刘军. 对 2001 年 TBS 系统中不典型鳞状细胞分型及诊断标准的评价——附 1186 张宫颈细胞学涂片分析[J]. 中华妇产科杂志, 2004, 39(1): 27-29.
- [10] Kim TJ, Jin HT, Hur SY, et al. Clearance of persistent HPV infection and cervical lesion by therapeutic DNA vaccine in CIN3 patients[J]. Nat Commun, 2014, 5(1): 11-18.
- [11] 赵海丽, 陈华, 李妍, 等. 西宁市女性人群人乳头瘤病毒感染状况及主要分型[J]. 华南预防医学, 2021, 47(3): 387-389+393.
- [12] Cao C, Lin S, Zhi W, et al. Analyses of PTEN gene aberrations and evaluation of the therapeutic potential of mTOR inhibitor in HPV negative cervical carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2020, 159(1): 15-23.
- [13] 谭旭东, 车爱文, 陈淑苹, 等. 同一样本中 Cervista 高危型 HPV 检测联合计算机辅助 TCT 检查在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. 诊断病理学杂志, 2017, 24(1): 49-51.
- [14] 莫小亮, 罗殿中, 党裔武, 等. 不同程度宫颈病变单一、多重高危型 HPV 感染状态下 E6 / E7 mRNA 的表达[J]. 重庆医学, 2014, 43(18): 2268-2271.
- [15] Hosono S, Terasawa T, Katayama T, Sasaki S, et al. Frequency of unsatisfactory cervical cytology smears in cancer screening of Japanese women: A systematic review and meta-analysis[J]. Cancer Sci, 2018, 109(4): 934-943.
- [16] Keegan H, Mc Inerney J, Pilkington L, et al. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTecttrade mark HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens[J]. J Virol Methods, 2009, 155(1): 61-66.
- [17] 迟龙青, 杨薇薇, 刘宇, 等. 宫颈癌组织中人乳头瘤病毒 16-E6 基因整合/整合率与临床病理资料相关性分析[J]. 国际免疫学杂志, 2018, 41(1): 19-22.
- [18] 赵思成, 骆丹. HPV E6 蛋白及其在致癌过程中作用的靶蛋白[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(3): 225-228.

血清CRP、IG、ALP水平与MPP患儿病情和预后的关系

吴艺* 汤申红 余霞

【摘要】目的 探讨血清C反应蛋白(CRP)、未成熟粒细胞(IG)、碱性磷酸酶(ALP)与支原体肺炎(MPP)患儿病情和预后的关系。**方法** 选取2019年10月至2021年12月期间安徽省皖南康复医院儿科收治的MPP患儿88例为研究对象,根据临床肺部感染评分(CPIS)及预后转归情况将患儿分为轻症组和重症组、预后良好组和预后不良组,比较分析各组上述血清指标及其与MPP患儿病情严重程度的相关性,进一步评价其对MPP患儿预后的预测效能。**结果** 重症组MPP患儿WBC、CRP、IG、ALP水平均高于轻症组,差异均有统计学意义($P<0.05$);Pearson相关检验显示,CPIS评分分别与WBC、CRP、IG、ALP水平呈轻度正相关($P<0.05$);预后良好组与预后不良组在上述血清指标水平上比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);多因素Logistic回归显示,上述血清指标水平均为影响MPP患儿预后的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线显示,MPP患儿预后预测的临界值、AUC最高为联合检测,且其敏感度为86.69%,特异性为89.66%。**结论** 血清CRP、IG、ALP与MPP病情严重呈正相关,且其水平变化是MPP患儿预后不良的独立危险因素,动态监测可为临床医师对MPP病情严重程度及预后评估提供参考价值。

【关键词】 未成熟粒细胞;碱性磷酸酶;C反应蛋白;肺炎

Relationship between serum CRP, IG, ALP levels and the condition and prognosis of children with MPP

WU Yi*, TANG Shenhong, YU Xia

(Department of Pediatrics, South Wannan Rehabilitation Hospital, Wuhu No.5 People's Hospital, Wuhu, Anhui, China, 241000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between serum C-reactive protein (CRP), immature granulocytes (IG), alkaline phosphatase (ALP) and the condition and prognosis of children with mycoplasma pneumonia (MPP). **Methods** A total of 88 children with MPP who were admitted to the Pediatrics Department of Wannan Rehabilitation Hospital in Anhui Province from October 2019 to December 2021 were selected as the research subjects. According to the clinical pulmonary infection score (CPIS) and prognosis, the children were divided into the mild disease group, the severe disease group, the good prognosis group and the poor prognosis group. The above serum indicators and their correlation with the severity of MPP children in each group were compared and analyzed to further evaluate their predictive efficacy for the prognosis of children with MPP. **Results** The levels of WBC, CRP, Ig and ALP in the severe MPP group were significantly higher than those in the mild MPP group ($P<0.05$). The Pearson correlation test showed that CPIS score was slightly positively correlated with WBC, CRP, Ig and ALP levels ($P<0.05$). There were significant differences in the above serum indicator levels between the good prognosis group and the poor prognosis group ($P<0.05$). Multivariate logistic regression showed that the above serum indicator levels were independent risk factors affecting the prognosis of children with MPP ($P<0.05$). The ROC curve showed that the critical value of prognosis prediction in children with MPP and the highest AUC were combined detection, with a sensitivity of 86.69% and a specificity of 89.66%. **Conclusion** Serum CRP, IG, and ALP are highly expressed in children

基金项目:芜湖市科技计划项目(2015hm10)

作者单位:安徽省皖南康复医院(芜湖市第五人民医院)儿科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:吴艺, E-mail: WY139553979551z@126.com

with severe MPP, which are positively correlated with the severity of MPP, and their level changes are independent risk factors for poor prognosis in children with MPP. Dynamic monitoring can provide reference value for clinicians to evaluate the severity and prognosis of MPP.

[KEY WORD] Immature granulocytes; Alkaline phosphatase; C-reactive protein; Pneumonia

肺炎支原体肺炎(*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP)是儿科常见呼吸系统疾病,约占儿童社区获得性肺炎的29.14%,且近年来其发病率有低龄化的发展趋势^[1]。近年来,抗生素的耐药率有逐年上升趋势,导致单纯使用抗生素治疗MPP的疗效欠佳,少数患儿在多种因素影响下病情进展为难治性MPP(refractory or severe *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia, RMPP),甚至并发多系统损伤,预后不良^[2]。血清白细胞(white blood cell, WBC)和C反应蛋白(C reactive protein, CRP)是肺炎病情监测及疗效评估的常规指标,但这些指标均缺乏特异性,对于感染原体类型的鉴别能力尚不足^[3-4]。随着生物学标志物研究的进展,越来越多的研究表明血清未成熟粒细胞百分比(imature granulocyte, IG)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)在呼吸系统疾病中存在差异表达,且具有灵敏、特异、快速等特点,但关于其在MPP疾病严重程度及预后评估价值仍值得进一步探讨^[5-6]。本研究将从血清标志物的角度分析CRP、IG、ALP水平在MPP疾病严重程度及预后评估中应用价值,为MPP的病情监测提供新的生物学指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2019年10月至2021年12月期间安徽省皖南康复医院儿科收治的88例MPP患儿为研究对象。纳入标准:①符合MPP西医诊断标准^[7],支原体阳性或血清支原体抗体检查呈阳性;②年龄1~14岁;③患儿监护人知晓治疗方法并签订知情同意书。排除标准:①重症MPP或肺部重症疾病;②伴心、肝、肾等严重基础疾病;③入院前有服用抗菌药物史;④对本研究药物过敏者;⑤难以配合治疗及相关检查者。入院后根据临床肺部感染评分(clinical pulmonary infection score, CPIS)^[8]分为轻症组(CPIS≤6分)和重症组(CPIS>6分),轻症组61例,男童36例,女童25例;年龄3~14岁,平均(6.54±2.24)岁;病程2~10 d,平均(5.07±1.14)d。重症组17例,男童11例,女童6例;年龄2~13岁,

平均(6.15±2.41)岁;病程2~11 d,平均(5.25±1.07)d。两组基线资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 资料收集方法

临床症状情况:参照刘瀚旻等^[9]《专家共识》对两组患儿发热、咳嗽、咳痰、气喘、肺部啰音等各项症状体征进行计分,每个症状根据严重程度依次评分为:正常(0分)、轻度(2分)、中度(4分)、重度(6分)。

实验室指标:分别于抽取两组患儿清晨空腹静脉血标本3~5 mL,及时送检。以半径8 cm, 3 500 r/min离心15 min后,取上清液,采用化学发光分析法测定血清中WBC、CRP、IG、ALP水平,血常规WBC、IG由希森美康全自动血液分析仪及相配套试剂测定;CRP试剂盒购于美康生物科技有限公司;ALP试剂盒由北京利德曼生化股份有限公司提供。

1.3 治疗方法

患儿均予静滴头孢类药物、麻杏石甘汤和银翘散加减方联合治疗。同时根据病情的严重程度,给予对症支持治疗,如脱水者予静脉补液液体量及电解质液量;多痰者予氨溴索口服液;哮喘者予雾化吸入布地奈德、甲泼尼龙琥珀酸钠;高热者予口服布洛芬混悬液、温水擦浴、多饮水等。中药方依据患儿病情及症状进行辨证加减,如:肺热较重者加用黄芩、脾气虚弱者加用茯苓、表邪较重加用薄荷和淡豆豉、痰多者加用瓜蒌皮和薏苡仁、夜间咳多者加柴胡等。

1.4 预后转归

患儿经治疗好转后予出院,并对其进行为期4周的门诊随访,评估患儿康复效果,并通过肺部CT或X线评估患儿肺部病变情况,将无肺部并发症、临床痊愈者纳入预后良好组,将存在肺部后遗症(局限性肺气肿、闭塞性细支气管炎、支气管扩张等)或死亡者纳入预后不良组。

1.5 统计学方法

使用SPSS 26.0软件对数据进行统计学处理。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组组间及组内比较采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用Pearson相关分析CPIS评分分别与WBC、CRP、IG、ALP水平的相关性;采用单因素及Logis-

tics 多因素回归分析筛选出影响患儿预后的独立危险因素,并绘制 ROC 曲线明确各指标对预后预测效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组各血清指标比较

重症组 MPP 患儿 WBC、CRP、IG、ALP 水平均高于轻症组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组各血清指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	WBC($\times 10^9/L$)	CRP(mg/L)	IG(%)	ALP(U/L)
轻症组	61	14.65 $\pm$ 3.52	16.42 $\pm$ 5.39	1.85 $\pm$ 0.59	77.13 $\pm$ 19.23
重症组	27	16.35 $\pm$ 3.60	19.25 $\pm$ 5.61	3.01 $\pm$ 0.66	88.63 $\pm$ 21.17
t 值		2.075	2.243	8.200	2.743
P 值		0.041	0.027	<0.001	0.007

2.2 CPIS 评分分别与各血清指标的相关性

经 Pearson 相关检验,发现 CPIS 评分分别与 WBC、CRP、IG、ALP 水平呈轻度正相关($r=0.284$ 、 0.353 、 0.401 、 0.339 , $P<0.05$)。

2.3 不同预后转归 MPP 患儿临床资料比较

4 周门诊随访结果显示,预后良好 71 例,预后不良 17 例,预后良好率为 80.68%。预后良好组与预后不良组在年龄、性别、病情程度、病程、BMI、治疗前临床症状积分上比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);两组在血清 WBC、CRP、IG、ALP 水平上比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同预后转归 MPP 患儿临床资料比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $n(\%)$]

因素	分类	预后良好组 ($n=71$)	预后不良组 ($n=17$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)		6.54 $\pm$ 2.24	6.15 $\pm$ 2.41	0.636	0.527
性别(例)	男	40(56.34)	10(58.82)	0.035	0.853
	女	31(43.66)	7(41.18)		
病程(d)		5.07 $\pm$ 1.14	5.25 $\pm$ 1.07	0.591	0.556
BMI(kg/m ²)		20.01 $\pm$ 3.74	19.66 $\pm$ 3.69	0.347	0.729
病情程度(例)	轻症	50(70.42)	8(47.06)	3.332	0.068
	重症	21(29.58)	9(52.94)		
治疗前临床症状积分(分)	发热	4.01 $\pm$ 1.25	4.04 $\pm$ 1.22	0.089	0.929
	咳嗽	4.70 $\pm$ 1.36	4.62 $\pm$ 1.32	0.219	0.827
	咳痰	4.35 $\pm$ 1.34	3.95 $\pm$ 1.08	1.143	0.256
	气喘	3.96 $\pm$ 1.50	3.69 $\pm$ 1.44	0.672	0.504
	肺部啰音	4.05 $\pm$ 1.26	4.03 $\pm$ 1.31	0.058	0.954
WBC($\times 10^9/L$)		13.58 $\pm$ 4.68	21.82 $\pm$ 5.56	6.285	0.000
CRP(mg/L)		15.93 $\pm$ 4.74	22.96 $\pm$ 6.09	5.188	0.000
IG(%)		1.77 $\pm$ 0.65	4.17 $\pm$ 0.89	12.681	0.000
ALP(U/L)		73.43 $\pm$ 17.14	110.85 $\pm$ 19.13	7.907	0.000

2.4 MPP 患儿不良预后的多因素 Logistic 回归分析

将 MPP 患儿预后设为因变量,单因素分析中差异有统计学意义的变量设为自变量,并予赋值(性别:0=男,1=女;病情程度:0=轻症,1=重症)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,血清 WBC、CRP、IG、ALP 水平是影响 MPP 患儿预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 MPP 患儿不良预后的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate logistic regression analysis of poor prognosis in children with MPP

变量	β 值	S.E 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
WBC	0.454	0.220	4.259	1.575	1.023~2.423	0.039
CRP	0.315	0.125	6.350	1.370	1.073~1.751	0.012
IG	0.674	0.254	7.041	1.962	1.192~3.228	0.008
ALP	1.352	0.542	6.222	3.865	1.336~11.179	0.013

2.5 血清 WBC、CRP、IG、ALP 水平对 MPP 患儿预后的预测效能分析

ROC 曲线结果显示,各指标对 MPP 患儿预后的临界值、AUC 由高至低均依次为联合检测、IG、ALP、CRP、WBC。见表 4、图 1。

表 4 各指标对 MPP 患儿预后预测效能

Table 4 The predictive efficacy of each index on the prognosis of children with MPP

指标	临界值	敏感度	特异度	AUC	95% CI
WBC	9.98 $\times 10^9/L$	0.543	0.604	0.561	0.454~0.874
CRP	9.77mg/L	0.692	0.575	0.677	0.545~0.975
ALP	71.55U/L	0.703	0.701	0.781	0.625~0.902
IG	1.31%	0.778	0.715	0.805	0.645~0.975
联合检测		0.866	0.896	0.929	0.854~1.000

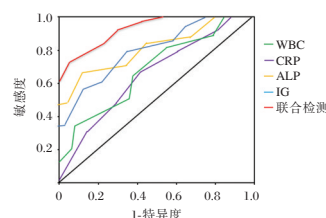


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

MPP 发病率在近年来有不断升高趋势,其发病后可导致多器官系统同时受损,是影响儿童健康及死亡的关键疾病之一,已引起医学界的重视,故对其早期病情评估尤为重要^[10]。CRP 是一种急性时相蛋白,当机体感染状态下,血清 CRP 浓度反应性升高,且其在炎症反应开始后 48 h 可到达高

峰,峰值与感染的严重程度成正相关^[11]。既往临床上常将WBC、CRP作为常规检测指标,用以反映MPP病情严重程度,同时认为动态监测WBC、CRP水平可用于评估MPP治疗效果^[12]。本研究发现,重症组MPP患儿WBC、CRP水平均显著高于轻症组,且与CPIS评分呈正相关,表明WBC、CRP水平与MPP患儿病情程度有关,这与既往的研究一致^[13]。IG占外周血白细胞的50%~70%,当MPP处于感染期时,IG水平的升高可提示外周血中出现早幼粒细胞、中幼粒细胞及晚幼粒细胞等未成熟粒细胞,其具有趋化、杀菌、吞噬等多种生物学功能,参与急性炎症反应过程^[13]。肝功能损伤是MPP合并肺外并发症之一^[14]。肝脏中含有大量ALP,当肝功能损伤时,血清中的ALP活性增高。临床已有相应的研究报道指出^[15],MPP患者肝功能相关指标值较正常儿童高。ALP对辅助判断MPP患者病情进展及预后等方面具有重要价值。与既往研究不同的是,本研究纳入了IG、ALP两项血清标志物评估患儿病情及预后,发现IG、ALP水平同样与CPIS评分呈正相关。进一步在患儿预后影响因素中显示,血清WBC、CRP、IG、ALP水平升高均是影响MPP患儿预后的独立危险因素,该结果提示随患儿病情越严重,血清IG、ALP、CRP水平表达则越强,且其水平表达可能提示患儿预后情况。

郭峻飏等^[16]研究以脓毒症患者28 d死亡及存活作为参考对照,得出IG%与SOFA评分呈正相关,且通过ROC证实IG%联合SOFA评分的预测预后不良敏感度为87%,特异度为85%。许若虹等^[17]则以老年股骨粗隆骨折患者术后是否合并感染展开探讨,该研究表明患者体内血清ALP水平呈明显升高状态,通过监测ALP能够了解患者术后病情变化情况和预后情况。本研究最后通过ROC曲线图分析血清WBC、CRP、IG、ALP对预后的预测效能,发现各指标对MPP患儿预后预测的AUC由高至低均依次为:联合检测、IG、ALP、CRP、WBC,其中,联合检测敏感度为86.69%,特异性为89.66%,提示四项指标联合预测疗效价值较为理想。因此,临床通过检测血清WBC、CRP、IG、ALP水平,对于评估MPP患儿病情、制订个性化治疗方案及预后转归预测上均具有重要的参考意义。

综上所述,血清CRP、IG、ALP在重症MPP患儿中呈高表达水平,与MPP病情严重呈正相关,且其水平变化是MPP患儿预后不良的独立危险因

素,动态监测可为临床医师对MPP病情严重程度及预后评估提供参考价值。

参考文献

- [1] 梁伟,管世鹤,周强,等. 儿童社区获得性肺炎支原体感染的流行病学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018,39(21):2708-2711.
- [2] 辜德明,周家仍,罗旋,等. 细胞因子IL-6、TNF- α 评估小儿支原体肺炎病情进展和预后[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2021,14(4):505-507.
- [3] 李桂凌,郑婷婷,李立佳. 麻杏石甘汤联合阿奇霉素治疗小儿肺炎支原体肺炎的临床观察[J]. 中华中医药学刊, 2021,39(9):73-75.
- [4] Daix T, Jeannot R, Padilla ACH, et al. Immature granulocytes can help the diagnosis of pulmonary bacterial infections in patients with severe COVID-19 pneumonia[J]. J Intensive Care, 2021,9(1):58.
- [5] 张婕,高晓玲,刘燕,等. 重型/危重型新型冠状病毒肺炎患者合并肝脏损伤及凝血功能障碍的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2021,29(5):1582-1588.
- [6] 刘芳芳,侯杰,谢彩凤,等. 用化痰泄热方治疗社区获得性肺炎痰热壅肺证的效果及对患者血清皮质醇水平的影响[J]. 当代医药论丛, 2019,17(21):181-183.
- [7] 刘瀚旻,马融. 儿童肺炎支原体肺炎中西医结合诊治专家共识(2017年制定)[J]. 中国实用儿科杂志, 2017,32(12):881-885.
- [8] 何荣香,俞丹,何英,等. CPIS评分联合CURB-65评分系统在医院获得性肺炎评价中的作用及价值研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(2):300-304.
- [9] 刘瀚旻,马融. 儿童肺炎支原体肺炎中西医结合诊治专家共识(2017年制定)[J]. 中国实用儿科杂志, 2017,32(12):881-885.
- [10] Tsai TA, Tsai CK, Kuo KC, et al. Rational stepwise approach for Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021,54(4):557-565.
- [11] 侯月,王俊宏,陈芳,等. D-二聚体水平变化对肺炎支原体肺炎患儿的临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2021,31(13):83-87.
- [12] 吴鹏,夏宏林,赵含信,等. 支原体肺炎患儿治疗前后血清CRP水平、SAA/PCT对疗效的预测效能分析[J]. 国际检验医学杂志, 2022,43(6):720-725.
- [13] 王全荣,赵红亮. 未成熟粒细胞在感染性疾病中的应用进展[J]. 医学理论与实践, 2020,33(23):3902-3904.
- [14] 于国云,张庆. 支原体IgM抗体阳性患者肝功能及心肌酶质变变化及意义[J]. 黑龙江医学, 2019,43(2):155-157.
- [15] 曹风光. 肝功能、心肌酶及CRP、PCT、WBC联合检测在小儿肺炎支原体肺炎中的诊治意义[J]. 淮海医药, 2019,37(6):594-596.
- [16] 郭峻飏,木塔里甫·买合木提,肖东. 未成熟粒细胞结合SOFA评分对脓毒症患者预后的评估价值[J]. 中国医药导报, 2019,16(2):129-132.
- [17] 许若虹,苏建华,付安,等. ALP和r-GGT及hs-CRP对中老年股骨粗隆骨折术后预后的评估价值研究[J]. 当代医学, 2020,26(35):4-6.

乳腺癌患者手术前后CA-153、SCC和HE4水平变化及复发预测分析

白云鹤^{1*} 王阳² 齐丽丽³ 张晓伟⁴ 张士明²

[摘要] 目的 分析乳腺癌患者手术前后糖类抗原-153(CA-153)、鳞状细胞癌抗原(SCC)及人附睾蛋白4(HE4)水平变化及在复发预测中的应用价值。方法 2019年1月至2020年12月于承德市第三医院行外科手术的乳腺癌患者102例(观察组),另选取本院同期体检健康人群98名作为对照组。对观察组进行为期12个月随访,统计患者复发情况,检测不同人群CA-153、SCC及HE4水平,分析CA-153、SCC及HE4对乳腺癌术后复发的预测价值。结果 CA-153、SCC、HE4表达水平为:观察组治疗前>观察治疗后>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。随访截止至2021年12月31日,所有患者均未失访,102例乳腺癌患者中复发者21例,未复发者81例。术后复发者病理分期为Ⅲ~ⅣV期、肿瘤直径 ≥ 5 cm、术后未辅助治疗、术后CA-153 ≥ 30 U/L、SCC ≥ 1.5 ng/mL、HE4 ≥ 70 pmol/L占比明显高于术后未复发者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。经多元Logistic回归分析可知,术前病理分期、肿瘤直径以及术后是否辅助治疗、术后CA-153、SCC及HE4水平为影响乳腺癌患者复发的相关危险因素($P<0.05$)。结论 CA-153、SCC及HE4表达水平与乳腺癌患者术后复发密切相关,监测CA-153、SCC、HE4表达水平可为患者术后复发预测提供参考依据。

[关键词] 乳腺癌; CA-153; SCC; HE4; 复发预测

Changes of CA-153, SCC and HE4 levels and prediction of recurrence in breast cancer patients before and after surgery

BAI Yunhe^{1*}, WANG Yang², QI Lili³, ZHANG Xiaowei⁴, ZHANG Shiming²

(1. Department of Operating Room, Chengde Third Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000; 2. Department of Surgery, Chengde Third Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000; 3. Department of Public Health, Chengde Third Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000; 4. Department of Anesthesiology, Chengde Third Hospital, Chengde, Hebei, China, 067000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of carbohydrate antigen-153 (CA-153), squamous cell carcinoma antigen (SCC) and human epididymal protein 4 (HE4) levels in breast cancer patients before and after surgery and its application value in recurrence prediction. **Methods** 102 breast cancer patients who underwent surgical treatment in Chengde Third Hospital from January 2019 to December 2020 were selected (observation group), another 98 healthy people who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The observation group were followed up for 12 months, the recurrence of the patients was counted, and the levels of CA-153, SCC and HE4 in different populations were detected, and the predictive effects of CA-153, SCC and HE4 for postoperative recurrence of breast cancer were analyzed. **Results** The expression levels of CA-153, SCC and HE4 were as follows: before

基金项目:承德市科学技术研究与发展计划项目(201904A004)

作者单位:1. 承德市第三医院手术室,河北,承德 067000

2. 承德市第三医院外科,河北,承德 067000

3. 承德市第三医院公共卫生科,河北,承德 067000

4. 承德市第三医院麻醉科,河北,承德 067000

*通信作者:白云鹤, E-mail: Byh382921488@163.com

treatment in the observation group > after treatment in the observation group > the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The follow-up ended on December 31, 2021; all patients were not lost to follow-up. Among the 102 breast cancer patients, 21 had recurrence and 81 had no recurrence. The pathological stage III~IV, tumor diameter ≥ 5 cm, no postoperative adjuvant therapy, the proportions of postoperative CA-153 ≥ 30 U/L, SCC ≥ 1.5 ng/mL, HE4 ≥ 70 pmol/L in patients with postoperative recurrence were significantly higher than those without postoperative recurrence, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), but there was no difference in age and pathological type ($P < 0.05$). Multiple logistic regression analysis showed that preoperative pathological stage, tumor diameter and postoperative whether adjuvant therapy, postoperative CA-153, SCC and HE4 levels were the relevant risk factors for breast cancer recurrence ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of CA-153, SCC and HE4 are closely related to postoperative recurrence of breast cancer patients. Monitoring the expression levels of CA-153, SCC and HE4 can provide reference for the prediction of postoperative recurrence of patients.

[KEY WORDS] Breast cancer; CA-153; SCC; HE4; Recurrence prediction

乳腺癌为女性常见的恶性肿瘤, 现已成为威胁女性健康的头号杀手, 早期诊断及治疗是改善患者预后的关键。手术是目前乳腺癌治疗的常用手段, 而术后复发、转移会严重影响患者预后, 提高患者死亡率和致残率^[1]。寻找合适的方法对患者术后复发情况进行评估, 对延长患者生存期限有积极意义, 也是目前临床研究热点。以往研究认为, 血清肿瘤标志物对乳腺癌的诊断、疗效评估及预后均有重要的临床意义^[2]。糖类抗原-153 (Carbohydrate antigen-153, CA-153) 为乳腺癌的特异性标志物, 广泛应用于乳腺癌诊断、随访中^[3]。鳞状细胞癌抗原 (Squamous cell carcinoma antigen, SCC) 为宫颈癌辅助诊断中常用的标志物, 近年来有研究显示其在乳腺癌诊断及预后评估中具有一定的使用价值^[4]。人附睾蛋白 4 (Human epididymal protein 4, HE4) 是近年来发现的新肿瘤标志物, 其表达水平与肿瘤细胞的扩增情况存在密切联系^[5]。本文将通过分析乳腺癌患者手术前后 CA-153、SCC 及 HE4 水平变化, 了解三者在乳腺癌患者复发预测中的应用价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般收集

选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月于承德市第三医院行外科手术的乳腺癌患者 102 例 (观察组), 所有患者均为女性, 平均年龄为 (58.78 $\pm$ 4.87) 岁, 病理分期: I~II 期 57 例, III~IV 期 45 例, 病理类型: 浸润性导管癌 77 例, 非浸润性导管癌 25 例。纳入标准: ①入选者符合《乳腺癌诊疗规范 (2011 版)》中相关诊断标准^[6]; ②在手术前均未进

行放疗或化疗; ③临床资料完整。排除标准: ①存在血液系统或免疫系统疾病者; ②合并存在心、肝、肾等严重原发性疾病者; ③合并其他肿瘤者; ④存在手术禁忌症者; ⑤术前存在转移病灶者。另选取本院同期体检健康人群 98 名作为对照组, 均为女性, 平均年龄为 (59.11 $\pm$ 4.13) 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, 受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 CA-153、SCC 及 HE4 水平检测

观察组患者术前及术后 7 d 在空腹状态下抽取静脉血液 5 mL, 对照组在体检当日清晨抽取静脉血液 5 mL。收集标本后使用离心机离心 (转速: 3 000 r/min, 时间: 10 min, 半径: 10 cm) 获取上清液待检。CA-153 使用电化学发光法进行检测 (罗氏公司 cobase-601 电化学发光分析仪); SCC 使用电化学发光免疫分析法进行检测 (罗氏 E170 电化学免疫分析系统); HE4 使用全自动生化法检测 (南京碧云天生物技术有限公司)。CA-153、SCC 及 HE4 阳性诊断临界值参考以试剂盒标上参考值为标准: CA-153: 30 U/L; SCC: 1.5 ng/mL; HE4: 70 pmol/L。

1.2.2 随访

在手术治疗后对患者进行为期 12 个月随访, 随访截止至 2021 年 12 月 31 日, 以回院复查、短信、电话等方式进行随访, 统计患者术后复发情况。复发: 经影像学检查显示乳房周围再次出现肿瘤, 经病理检查确诊。据此将观察组分为复发组和未复发组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,多组间比较使用方差检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;并采用多元 Logistic 回归分析 CA-153、SCC 及 HE4 与乳腺癌术后复发的相关性,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与观察组手术前后 CA-153、SCC 及 HE4 水平比较

CA-153、SCC、HE4 表达水平为:观察组治疗前>观察治疗后>对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 对照组与观察组手术前后 CA-153、SCC 及 HE4 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of CA-153, SCC and HE4 levels between the control group and the observation group before and after surgery ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CA-153(U/L)	SCC(ng/mL)	HE4(pmol/L)
对照组	98	18.11±3.21	0.51±0.13	31.58±2.16
观察组 治疗前	102	50.85±5.58 ^a	1.96±1.21 ^a	88.65±5.54 ^a
治疗后		28.49±3.55 ^{ab}	1.14±0.31 ^{ab}	66.54±3.19 ^{ab}
<i>F</i> 值		552.92	156.00	388.92
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与观察组治疗前比较^b $P < 0.05$ 。

2.2 复发与未复发者一般资料比较

所有患者均未失访,102 例乳腺癌患者中复发者 21 例,未复发者 81 例。术后复发者病理分期为Ⅲ~Ⅳ期、肿瘤直径 ≥ 5 cm、术后未辅助治疗、术后 CA-153 ≥ 30 U/L、SCC ≥ 1.5 ng/mL、HE4 ≥ 70 pmol/L 占比明显高于术后未复发者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 影响乳腺癌术后复发相关因素分析

待分析因素的意义及赋值见表 3,经多元 Logistic 回归分析可知,术前病理分期、肿瘤直径以及术后是否辅助治疗、术后 CA-153、SCC 及 HE4 水平为影响乳腺癌患者复发的相关危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

在乳腺癌术后评估相关指标中,影像学检查可对术后效果、病灶残留情况做出评估,但对于远期复发预测能力有限。肿瘤标志物是一种简便、

表 2 复发与未复发者一般资料比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of general data between relapsed and non relapsed patients [$n(\%)$]

因素	复发组 (<i>n</i> =21)	未复发组 (<i>n</i> =81)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄				
≥60 岁	8(38.10)	26(32.10)	0.269	0.603
<60 岁	13(51.90)	55(67.90)		
肿瘤直径				
≥5 cm	14(66.67)	33(40.74)	4.511	0.033
<5 cm	7(33.33)	48(59.26)		
病理分期				
I~II 期	6(28.57)	51(62.96)	8.000	0.004
III~IV 期	15(71.43)	30(37.04)		
病理类型				
浸润性导管癌	15(71.43)	62(76.54)	0.235	0.627
非浸润性导管癌	6(28.57)	19(23.46)		
术后辅助治疗				
是	4(19.05)	55(67.90)	16.322	0.000
否	17(80.95)	26(32.10)		
CA-153(U/L)				
≥30	19(90.48)	17(20.99)	35.260	0.000
<30	2(9.52)	64(79.01)		
SCC(ng/mL)				
≥1.5	14(66.67)	22(27.16)	11.396	0.000
<1.5	7(33.33)	59(72.84)		
HE4(pmol/L)				
≥70	18(85.71)	34(41.98)	112.766	0.000
<70	3(14.29)	47(58.02)		

表 3 待分析因素的意义及赋值

Table 3 significance and assignment of factors to be analyzed

因素	代表意义	赋值
X_1	病理分期	0=I~II 期;1=III~IV 期
X_2	肿瘤直径	0= ≥ 5 cm;1= < 5 cm
X_3	术后辅助治疗	0=是;1=否
X_4	CA-153	0= < 30 U/L;1= ≥ 30 U/L
X_5	SCC	0= < 1.5 ng/mL;1= ≥ 1.5 ng/mL
X_6	HE4	0= < 70 pmol/L;1= ≥ 70 pmol/L

表 4 影响乳腺癌术后复发相关因素分析

Table 4 factors influencing postoperative recurrence of breast cancer

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	<i>P</i> 值
X_1	0.616	0.135	6.491	1.851(1.421~2.412)	<0.001
X_2	0.519	0.264	7.559	1.680(1.001~2.819)	<0.001
X_3	0.489	0.118	9.518	1.630(1.293~2.055)	0.012
X_4	0.667	0.248	5.069	1.948(1.198~3.167)	0.031
X_5	0.503	0.216	8.264	1.653(1.082~2.525)	0.003
X_6	0.461	0.203	10.645	1.585(1.065~2.360)	<0.001

快捷、重复性好的检测方法,在肿瘤诊断、预后评估中均有较高的使用价值。

以往研究显示,CA-153 对乳腺癌诊断具有较高的灵敏度,在乳腺癌患者中表达明显升高,在其他组织中无明显高表达^[7]。在临床诊断中,医生可根据乳腺癌患者 CA-153 表达水平评估患者病理情况,CA-153 检测阳性率与乳腺癌临床分期、淋巴结转移等情况密切相关,对乳腺癌早期诊断及治疗方案选择有参考价值^[8]。本研究结果显示,乳腺癌患

者血清中CA-153水平显著高于对照组,且治疗后CA-153水平降低,表明其可能参与乳腺癌发展过程。另有文献报道^[9],CA153在乳腺癌术后的复发和转移患者中均明显升高,与本研究结果相符。

SCC最初在宫颈鳞癌组织中分离得到,与鳞状细胞癌的发生、转移、复发以及预后之间均具有相关性,可有效反映鳞状细胞癌的生物学特征,其在多种器官鳞状癌诊断及治疗效果评估中广泛应用^[10]。以往研究显示,SCC通过抑制NK细胞向肿瘤组织迁移,从而帮助肿瘤系统逃脱宿主的免疫机制^[11]。在本研究中,SCC在乳腺癌患者及术后复发患者中均为高表达,与以往研究结果相符^[12],说明SCC与乳腺癌发生、发展之间存在联系,检测其水平变化可为临床诊疗提供参考。

HE4为乳腺癌筛查的重要指标,有研究显示,HE4表达水平不仅可体现乳腺腺体及细胞数量,同时也可反映出乳腺各个部位的病理情况以及分泌功能^[13]。当乳腺组织出现异常病变后,HE4分泌会随之改变,在临床中可通过检测HE4表达水平了解乳腺组织的异常改变。有研究显示,HE4不仅可为乳腺早期诊断提供参考,在乳腺癌患者术后转归中也具有相同的参考价值,与乳腺癌临床分期和淋巴结转移密切相关^[14]。同样,在本研究中也显示,HE4在复发转移患者中表达水平升高,提示HE4与肿瘤复发之间可能存在相关性。进一步随访可知,术前CA-153、SCC、HE4与病理分期、肿瘤直径以及术后是否辅助治疗为影响乳腺癌患者术后复发的相关因素,提示CA-153、SCC、HE4可能在肿瘤复发转移中发挥了重要的作用,后三者水平升高可能提示存在复发风险,或许可作为监测乳腺癌复发的肿瘤标志物,与以往研究结果一致^[15]。临床对存在高危临床特征的乳腺癌患者,在术后可监测患者CA-153、SCC、HE4表达水平,评估患者术后复发的风险,出现异常升高时需及时采取干预措施,以改善预后。

综上所述,CA-153、SCC及HE4表达水平与乳腺癌患者术后复发密切相关,监测CA-153、SCC、HE4表达水平可为患者术后复发预测提供参考依据。

参考文献

- [1] 闫顺朝,焦昕,李娜,等. miR-181a表达水平与ER阳性乳腺癌对内分泌治疗敏感性的关系[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(4): 573-577.
- [2] 常立伟,杨东炜,刘东辰. 血CTCs, cfDNA检测在乳腺癌中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10): 1298-1302.
- [3] 李江涛,刘薇. 乳腺癌切除术后血清TSGF、CA153、CA199、CA125水平与其预后的关系[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(3): 378-384.
- [4] 袁红琴,王霞,马晓捷. 子宫颈癌同步放化疗前鳞状细胞癌抗原,外周血淋巴细胞与单核细胞比值,血小板与淋巴细胞比值的复发预测价值研究[J]. 肿瘤研究与临床, 2021, 33(12): 901-907.
- [5] 赵树强,郭建平,曹荣,等. 外周血CD62P和CA153水平在乳腺癌诊断中的临床价值研究[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(7): 1011-1014.
- [6] 中华人民共和国卫生部医政司制定. 乳腺癌诊疗规范(2011年版)[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31(10): 902-907.
- [7] 赵琳,朱争艳,朱宏飞,等. 利拉鲁肽对乳腺癌细胞生物学特性的影响及其机制研究[J]. 华中科技大学学报:医学版, 2020, 49(6): 677-682.
- [8] 汪瑞,周军. 糖类抗原153,人附睾分泌蛋白4联合高频超声及钼靶在乳腺癌早期诊断中的应用研究[J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(8): 1531-1536.
- [9] 于强,彭世军. 中药联合化疗治疗晚期乳腺癌疗效及对血清CEA, CA125, CA153和CA19-9水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(17): 1878-1881.
- [10] 赵怡欣,管忆楠,张寅,等. 血脂、CA153水平与乳腺癌发生及临床病理特征的关系[J]. 国际肿瘤学杂志, 2020, 47(2): 70-76.
- [11] Rajeshwari R, Mandal S, Rajasekaran. Compressive strength prediction of SCC containing fly ash using SVM and PSO-SVM models[J]. J Struct Engineering (Madras), 2021, 48(1): 1-11.
- [12] 路欣,孔令玉,邱宁. 乳腺癌患者D-双功能蛋白表达与肿瘤标志物CEA和CA153关系的临床研究[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(2): 164-166.
- [13] Blackman AM, Samborski A, Miller MC, et al. Analysis of serum HE4 and CA-125 levels in uterine cancers subtypes[J]. Gynecol Oncol, 2020, 15(9): 328.
- [14] 冯明明,周林,张洁,等. 宫颈瘤术后复发的危险因素及SCC-Ag, HR-HPV对复发的预测价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(8): 1583-1587.
- [15] 刘娟妮,李俊海,吴宏培,等. 循环肿瘤细胞联合血清CA153检测在转移性乳腺癌中临床意义[J]. 肿瘤学杂志, 2021, 27(3): 202-205.

彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 检测在乳腺癌早期诊断中的应用

杨大才¹ 陈鹤² 彭良琴¹ 朱廷玲^{1*}

[摘要] **目的** 分析彩色多普勒超声联合细胞角质蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、可溶性肿瘤坏死因子受体 P55(sTNFR-P55)、人附睾分泌蛋白 4(HE4)检测在乳腺癌早期诊断中的应用。**方法** 选取 2019 年 2 月至 2021 年 7 月重庆市永川区中医院收治的 116 例乳腺癌患者(乳腺癌组),另选取同期收治的乳腺良性疾病 105 例作为良性组,对比两组患者 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 表达水平以及彩色多普勒超声征象差异,计算彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 对乳腺癌的诊断价值。**结果** 乳腺癌组 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 表达水平均明显高于良性组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。乳腺癌组患者肿瘤形态不规则、边界不清晰、毛刺征、后方回声衰减、存在微小钙化、血流Ⅱ~Ⅲ级、纵横比为 ≥ 1 所占比例明显高于良性组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 检测对乳腺癌诊断敏感度和特异度分别为 0.817、0.857, $AUC=0.858$ (95% CI: 0.705~0.974), 明显高于三者单独诊断($P<0.05$)。**结论** 彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 检可有效弥补单项检测的不足,对乳腺癌早期诊断有重要的临床使用价值,可为临床早期诊断提供更全面的参考信息。

[关键词] 彩色多普勒超声; CYFRA21-1; sTNFR-P55; HE4; 乳腺癌

Application of color Doppler ultrasound combined with CYFRA21-1, sTNFR-P55 and HE4 detection in early diagnosis of breast cancer

YANG Dacai¹, CHEN He², PENG Liangqin¹, ZHU Tingling^{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 application of color Doppler ultrasound combined with cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1), soluble tumor necrosis factor receptor P55 (sTNFR-P55), human epididymal protein 4 (HE4) detection in the early diagnosis of breast cancer. **Methods** 116 breast cancer patients admitted to our hospital from February 2019 to July 2021 were selected (breast cancer group), another 105 patients with benign breast diseases admitted during the same period were selected as the benign group, the expression levels of CYFRA21-1, sTNFR-P55 and HE4 and the difference of color Doppler ultrasound signs between the two groups were compared, and the diagnostic value of color Doppler ultrasound combined with CYFRA21-1, sTNFR-P55 and HE4 in breast cancer was calculated. **Results** The expression levels of CYFRA21-1, sTNFR-P55 and HE4 in the breast cancer group were significantly higher than those in the benign group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The proportion of irregular tumor morphology, unclear borders, burr signs, rear echo attenuation, presence of microcalcification, blood flow Ⅱ~Ⅲ grade, and aspect ratio ≥ 1 of patients in the breast cancer group was significantly higher than that in the benign group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of color Doppler ultrasound combined with CYFRA21-1, sTNFR-P55 and HE4 detection for breast cancer

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:朱廷玲, E-mail: 420175435@qq.com

diagnosis were 0.817 and 0.857, respectively; AUC=0.858 (95% CI: 0.705-0.974), which were significantly higher than the three were diagnosed alone ($P<0.05$). **Conclusion** Color Doppler ultrasound combined with CYFRA21-1, sTNFR-P55, and HE4 detection can effectively make up for the deficiency of single detection, which has important clinical value for early diagnosis of breast cancer and can provide more comprehensive reference information for early clinical diagnosis.

[KEY WORDS] Color Doppler ultrasound; CYFRA21-1; sTNFR-P55; HE4; Breast cancer

乳腺癌为女性常见恶性肿瘤,有着较高的发病率,据相关数据显示,乳腺癌是影响女性生存及生活质量的重要因素^[1]。近年来乳腺癌发病率逐渐上升,且发病年龄逐渐趋于年轻化,早发现早治疗是提高乳腺癌治疗效果及降低死亡率的有效方法^[2]。彩色多普勒超声检查是临床中常用的检查方式,在乳腺癌早期筛查中具有一定的使用价值。以往研究表明,相比单独超声检查,联合血清肿瘤标志物可提高乳腺癌检出率^[3]。随着分子生物学发展,细胞角质蛋白 19 片段(Cytokeratin 19 fragment, CYFRA21-1)、可溶性肿瘤坏死因子受体 P55(Soluble tumor necrosis factor receptor p55, sTNFR-P55)、人附睾分泌蛋白 4(human epididymis protein 4, HE4)等血清肿瘤标志物也被证实与乳腺癌发生、发展存在密切的联系,研究指出,三者联合超声检查在乳腺癌早期筛查中有一定使用价值^[4]。本研究将通过分析 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 在乳腺癌中的表达情况,了解三者联合彩色多普勒超声对乳腺癌的诊断效能,以期临床早期筛查提供依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 2 月至 2021 年 7 月重庆市永川区中医院收治的 116 例乳腺癌患者(乳腺癌组),所有患者均为女性,平均年龄为(46.69±6.68)岁,根据国际抗癌联盟(International Anti Cancer Alliance, UICC)中 TNM 分期^[5]分为:Ⅰ期 25 例,Ⅱa 期 54 例,Ⅱb 期 37 例。纳入标准:①临床资料完整;②符合《乳腺癌诊疗规范(2011 版)》中相关诊断标准^[6];③经术后病理检查证实;④术前均进行彩色多普勒超声检查。排除标准:①入院前有行放化疗或手术治疗者;②存在代谢性疾病者;③合并其他脏器肿瘤者。另选取同期收治的乳腺良性疾病 105 例作为良性组,包括乳腺囊肿 39 例,乳腺增生 31 例,纤维腺瘤 35 例,所有患者均为女性,平均年龄为(46.88±6.21)岁,两组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 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 检测方法

入院后次日清晨抽取患者静脉血液 5 mL,使用离心机离心(转速:3 000 r/min,时间:10 min,半径:10 cm)后获取上清液待检, CYFRA21-1 使用电化学发光法进行检测,仪器及试剂均为德国罗氏公司提供;sTNFR-P55、HE4 使用酶联免疫法进行检测,试剂为瑞典康乃格公司提供,仪器为 IMX 酶标分析仪(美国雅培公司)。

1.2.2 彩色多普勒超声检查

乳腺癌组在术前进行超声检查,良性组则在入院当天进行超声检查。仪器为:Acuson Sequoia 512 型彩色多普勒超声诊断仪,探头:频率为 2.5~5 MHz 的腹部 4C-1 凸阵探头,对比脉冲序列。患者选择仰卧位,并将双手举上,以便于将腋窝和胸部充分暴露。在检查前需先设置乳腺检查的相关条件,并根据患者病灶的具体情况对检测深度、增益、聚焦部位进行调整,以此获得最佳的图像。乳腺超声检查范围包括双侧乳腺,内侧到达胸骨旁线,外侧则到达腋中线。由 2 名专业的超声医生对肿块超声图像进行分析,采用“双盲法”进行评估,在评价前医生均未知患者病理检查结果。彩色多普勒诊断乳腺癌阳性标准^[7]:肿块为无规则性团块状、分叶状,呈浸润性生长,边界模糊,边缘毛刺改变,无包膜,实质回声非均匀分布,内部见血流信号,淋巴结血流紊乱,内部点状强回声、后方弱回声,纵横比 ≥ 1 。

1.2.3 结果判断

血清学指标阳性评估标准^[8]:CYFRA21-1 阳性: $>3.3 \mu\text{g/L}$, sTNFR-P55 阳性: $>85 \text{ ng/mL}$, HE4 阳性: $>105 \text{ pg/L}$ 。联合检测中有一项为阳性,则判定为阳性。

1.3 观察指标

对比乳腺癌组与良性组患者 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 表达水平以及彩色多普勒超声征象差异,计算彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 对乳腺癌的诊断价值。

1.4 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,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 表达水平比较

乳腺癌组 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 表达水平均明显高于良性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组CYFRA21-1、sTNFR-P55及HE4表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CYFRA21-1 ($\mu\text{g/L}$)	sTNFR-P55 (ng/mL)	HE4 (pg/L)
良性组	105	1.36 $\pm$ 0.26	59.69 $\pm$ 5.66	80.26 $\pm$ 5.25
乳腺癌组	116	5.69 $\pm$ 1.34	108.54 $\pm$ 6.94	149.65 $\pm$ 6.78
t 值		32.554	56.982	84.428
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组彩色多普勒超声征象比较

乳腺癌组患者肿瘤形态不规则、边界不清晰、毛刺征、后方回声衰减、存在微小钙化、血流Ⅱ~Ⅲ级、纵横比为 ≥ 1 所占比例明显高于良性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组彩色多普勒超声征象比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of color Doppler ultrasound signs between the 2 groups [$n(\%)$]

超声征象	乳腺癌组 ($n=116$)	良性组 ($n=105$)	χ^2 值	P 值
肿瘤形态				
不规则	98(84.48)	29(27.62)	72.908	<0.001
规则	18(15.52)	76(72.38)		
边界				
清晰	34(29.31)	66(62.86)	25.035	<0.001
不清晰	82(70.69)	39(37.14)		
毛刺征				
有	88(75.86)	44(41.90)	26.420	<0.001
无	28(24.14)	61(58.10)		
后方回声				
衰减	71(61.21)	38(36.19)	14.250	<0.001
增强/不变	45(38.79)	67(63.81)		
微小钙化				
有	77(66.38)	45(42.86)	12.331	<0.001
无	39(33.62)	60(57.14)		
血流				
0~Ⅰ级	46(39.66)	59(56.19)	6.042	0.013
Ⅱ~Ⅲ级	70(60.34)	46(43.81)		
纵横比				
≥ 1	89(76.72)	32(30.48)	47.581	<0.001
< 1	27(23.28)	73(69.52)		

2.3 彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 对乳腺癌的诊断价值

依据 ROC 曲线可知,彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 检测对乳腺癌诊断

敏感度和特异度分别为 0.817、0.857, $\text{AUC} = 0.858$ (95% CI: 0.705~0.974), 明显高于三者单独诊断 ($P < 0.05$)。见表3、图1。

表3 彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4 对乳腺癌的诊断价值

Table 3 diagnostic value of color Doppler ultrasonography combined with CYFRA21-1, sTNFR-P55 and HE4 in breast cancer

因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P 值
CYFRA21-1	0.677	0.577~0.777	0.521	0.618	0.001
sTNFR-P55	0.733	0.638~0.828	0.601	0.687	<0.001
HE4	0.685	0.588~0.782	0.703	0.706	<0.001
彩色多普勒超声	0.769	0.682~0.875	0.698	0.711	<0.001
CYFRA21-1+ sTNFR-P55+HE4+超声	0.858	0.705~0.974	0.817	0.857	<0.001

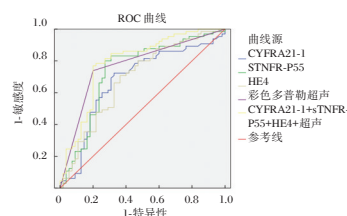


图1 诊断价值

Figure 1 diagnostic value

2.4 典型病例

本研究中1例患者经超声检查可见:左乳2点位距乳头1.6 cm扫及1.5 cm $\times$ 0.7 cm低回声团块,边界欠清,形态不规则,边缘不规则,内部见点状强回声。见图2A。团块内未见明显血流信号。见图2B。

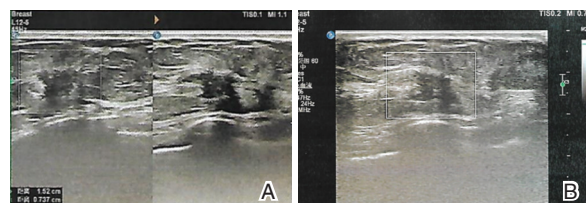


图2 乳腺癌超声图

Figure 2 ultrasonogram of breast cancer

3 讨论

早期诊断是改善乳腺癌预后的关键,既往数据指出,乳腺癌患者早期精确诊断可提升5年生存率^[9]。早期正确诊断是治疗的前提,以往临床中乳腺癌早期筛查手段主要为乳腺钼靶,其可为乳腺癌早期诊断提供重要参考信息,但对致密型乳腺癌显示效果不佳,且对于微小病灶检出率低,同时由于存在一定电离辐射,使其临床使用价值受限。彩色多普勒超声检查则可弥补上述缺点,但由于检查结果主

要依赖医生主观判断,也存在一定误诊、漏诊的情况。为更好地提高乳腺早期诊断效能,本研究采用多种肿瘤标志物与彩色多普勒超声进行联合诊断。

CYFRA21-1是构成细胞骨架的一种丝状物质,在细胞出现癌变、坏死、溶解后CYFRA21-1在血液中的表达呈明显升高趋势。研究显示,在恶性肿瘤患者中CYFRA21-1阳性率与患者的临床分期、预后复发情况有关,临床分期越高、出现转移复发的患者其CYFRA21-1水平明显增加^[10]。但CYFRA21-1并非器官特异性的肿瘤标志物,其除在乳腺癌患者中表达升高,在肺癌、肝癌等患者中其表达也可明显升高。HE4是乳清酸性4-二硫化中心蛋白中的一员,具有类似胰蛋白酶抑制剂的特性^[11]。以往研究显示,HE4可在附睾、生殖道、呼吸道上皮中表达,在乳腺癌、卵巢癌等患者中阳性表达明显升高,对女性盆腔恶性肿瘤诊断有较高的诊断价值,同时可为患者预后评估提供参考^[12]。本研究中,与良性组患者相比,乳腺癌患者中CYFRA21-1、HE4表达均明显升高,与以往研究结果相符^[13],提示CYFRA21-1、HE4与乳腺癌之间存在一定联系。sTNFR-P55是由膜结合肿瘤坏死因子受体裂解形成的肿瘤坏死因子- α 的主要受体,通常在蛋白激酶的作用下裂解形成,临床中认为sTNFR-P55是肿瘤坏死因子- α 的主要受体^[14]。以往研究显示,在恶性肿瘤患者中sTNFR-P55表达明显升高^[15]。本研究也发现,与良性组相比,乳腺癌患者sTNFR-P55表达水平明显上升,分析可能与肿瘤细胞导致机体细胞因子调节紊乱有关,乳腺癌患者机体的防御能力下降,细胞免疫功能受抑,刺激机体产生大量sTNFR-P55;也可能是因机体肿瘤过度生长,刺激单核-巨噬细胞合成和释放过量的sTNFR-P55,导致其在患者血液中为高表达^[16]。

本研究发现,上述指标在单独检测时均存在一定局限性,虽然均可作为乳腺诊断提供一定的参考信息,但诊断效能一般,敏感度及灵敏度均不理想。进一步分析显示,彩色多普勒超声联合CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4检测对乳腺癌诊断敏感度和特异度分别为81.70%、85.70%,提示相比单独诊断,超声联合血清因子检测诊断乳腺癌效果更佳,诊断效能更佳。

综上所述,彩色多普勒超声联合CYFRA21-1、sTNFR-P55、HE4检测可有效弥补单项检测的不足,对乳腺癌早期诊断有重要的临床使用价值,可为临床早期诊断提供更全面参考信息。

参考文献

- [1] 杨成林,李建彬,王玮.乳腺癌术后放疗与全身系统治疗的顺序选择[J].中华放射医学与防护杂志,2021,41(10):790-795.
- [2] 任艳伟,孙萌.乳腺癌术后存活10年以上病人自我感受负担与生活质量的相关性[J].安徽医药,2019,23(3):563-567.
- [3] Tartaglione S, Manganaro L, Trani MD, et al. Evaluation of CA125 and HE4 diagnostic performance in hereditary and sporadic ovarian cancer[J]. Clin Chim Acta, 2019, 493(2):158-159.
- [4] 杨利萍,李登云,朱庆文,等.联合检测血清淀粉样蛋白A,细胞角蛋白19片段,糖链抗原125,糖链抗原153对乳腺癌的临床诊断价值[J].中国卫生检验杂志,2019,29(24):3024-3026.
- [5] 于洋,吕峰,王志军,等.p55PIK和血管内皮生长因子在乳腺癌患者中的表达及意义[J].中华实用诊断与治疗杂志,2019,33(8):764-767.
- [6] 中华人民共和国卫生部医政司制定.乳腺癌诊疗规范(2011年版)[J].中国实用外科杂志,2011,31(10):902-907.
- [7] 张维,龙松权,彭印钢.血清CYFRA21-1、HCY及CA15-3水平联合检测对乳腺癌辅助诊断的临床评价[J].现代检验医学杂志,2020,35(3):55-57+61.
- [8] 左奇,王蓉.乳腺癌超声征象,病理组织学类型及组织学分级的相关性及其临床意义分析[J].中国全科医学,2020,23(1):89-91.
- [9] 王群拴,黎小花.核磁共振结合血清肿瘤标志物及细胞因子检测在乳腺癌诊断中的应用价值研究[J].陕西医学杂志,2019,48(10):1295-1297.
- [10] Blackman AM, Samborski A, Miller MC, et al. Analysis of serum HE4 and CA-125 levels in uterine cancers subtypes[J]. Gynecol Oncol, 2020, 159(3):328.
- [11] Qiao L, Chen X, Xi X, et al. Correlation analysis and clinical significance of CA125, HE4, DDI, and FDP in type II epithelial ovarian cancer[J]. Medicine, 2020, 99(49):3329-3330.
- [12] Plotti F, Guzzo F, Schirò T, et al. Role of human epididymis protein 4 (HE4) in detecting recurrence in CA125 negative ovarian cancer patients[J]. Int J Gynecol Cancer, 2019, 29(4):1059-1063.
- [13] 汪瑞,周军.糖类抗原153,人附睾分泌蛋白4联合高频超声及钼靶在乳腺癌早期诊断中的应用研究[J].广西医科大学学报,2020,37(8):1531-1536.
- [14] Rowswell-Turner RB, Singh RK, Urh A, et al. HE4 Overexpression by Ovarian Cancer Promotes a Suppressive Tumor Immune Microenvironment and Enhanced Tumor and Macrophage PD-L1 Expression[J]. J Immunol, 2021, 206(10):2478-2488.
- [15] 朱医高,逢越,李庆伟.肿瘤坏死因子受体超家族成员在免疫系统和疾病中的研究[J].中国生物化学与分子生物学报,2020,36(2):141-151.
- [16] 刘敏,王立芹,杨茂勇,等.血清肿瘤坏死因子受体-6水平对AECOPD合并呼吸衰竭患者转归的影响[J].中国医师杂志,2019,21(8):1181-1184+1189.

NKD1在结直肠癌中的表达及其在预测肝转移中的价值

胡志方* 李丹 刘燕

[摘要] **目的** 探讨裸角质膜同源蛋白(NKD1)在结直肠癌(CRC)中的表达及其在预测肝转移中的价值。**方法** 选取2018年12月至2021年12月江苏省人民医院浦口分院接受根治性切除术的CRC肝转移患者44例为观察组,同期选取36例接受根治性切除术的CRC无肝转移患者为对照组。收集癌组织及癌旁组织(距癌肿5 cm肠粘膜),采用免疫组化法检测NKD1表达,分析癌组织NKD1表达与病理特征的相关性,Logistic回归分析CRC肝转移影响因素。**结果** 癌组织NKD1阳性表达率低于癌旁组织,差异有统计学意义($\chi^2=35.153, P<0.05$);CRC患者癌组织中NKD1阳性表达率与年龄、性别、肿瘤直径、病变部位、浸润深度无关($P>0.05$),与Duke分期、分化程度、淋巴结转移有关($\chi^2=42.725, 14.266, 16.419; P<0.05$);Logistic回归模型分析显示,浸润浆膜、Duke分期C+D期、低分化、淋巴结转移均为CRC患者肝转移独立危险因素,癌组织NKD1阳性表达为CRC患者肝转移独立保护因素($P<0.05$)。**结论** CRC患者NKD1阳性表达率显著降低,可能与CRC侵袭与转移有关,且可作为肝转移的预测标志物。

[关键词] 裸角质膜同源蛋白;结直肠癌;病理特征;肝转移

Expression of of NKD1 in colorectal cancer and its value in predicting liver metastasis

HU Zhifang*, LI Dan, LIU Yan

(Department of Gastroenterology, Pukou Branch, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing, Jiangsu, China, 211800)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of naked keratinocyte homologous protein (NKD1) in colorectal cancer (CRC) and its value in predicting liver metastasis. **Methods** Forty-four patients with CRC liver metastases who received radical resection from December 2018 to December 2021 in Pukou Branch of Jiangsu Provincial People's Hospital were selected as the observation group, and 36 CRC patients without liver metastasis who received radical resection during the same period were selected for the control group. Cancer tissues and adjacent tissues (intestinal mucosa 5 cm away from the tumor) were collected, and the expression of NKD1 was detected by immunohistochemistry. The correlation between the expression of NKD1 in cancer tissues and pathological characteristics was analyzed, and the influencing factors of CRC liver metastasis were analyzed by logistic regression. **Results** The positive expression rate of NKD1 in cancer tissues was lower than that in adjacent tissues ($\chi^2=35.153, P<0.05$). The positive expression rate of NKD1 in cancer tissues of CRC patients was not related to age, gender, tumor diameter, lesion location, and depth of invasion ($P>0.05$), and was associated with Duke staging, differentiation degree, and lymph node metastasis ($\chi^2=42.725, 14.266, 16.419; P<0.05$). Logistic regression model analysis showed that serosa infiltration, Duke stage C+D, poorly differentiated, and lymph node metastasis were independent risk factors for liver metastasis in CRC patients, and positive expression of NKD1 in cancer tissue was an independent protective factor for liver

基金项目:南京医科大科技发展基金面上项目(2017NJMU230)

作者单位:江苏省人民医院浦口分院消化科,江苏,南京211800

通信作者:胡志方, E-mail:zf18913005215@163.com

metastasis in CRC patients ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expression rate of NKD1 in CRC patients is significantly reduced, which may be related to the invasion and metastasis of CRC and can be used as a predictive marker for liver metastasis.

[KEY WORDS] Naked corneal homologous protein; Colorectal cancer; Pathological features; Liver metastasis

结直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)是常见消化道恶性肿瘤,国内统计数据显示,CRC发病率、死亡率分别位列恶性肿瘤第3位、第5位,且发病率逐年升高^[1]。门静脉血液回流解剖学特点决定肝脏是CRC最常见远处转移部位,据统计,50%以上CRC患者病程中会发生肝转移^[2]。CRC肝转移是临床治疗的重点与难点,也是CRC患者主要死亡原因之一^[3]。因此,探索CRC肝转移致病机制,对其进行早期的判断和预测,成为临床研究热点。研究显示,80%左右CRC由Wnt通路(Wingless-related integration site, Wnt)异常活化所致^[4]。裸角质膜同源蛋白(Naked cuticle homolog 1, NKD1)是经典Wnt通路的负向调控因子,可下调Wnt活性,抑制Wnt信号传导,并可刺激c-JNK发挥作用,调节Wnt/PCP通路,进而对上皮细胞极性产生影响,调控黏附蛋白运动,控制肿瘤增值^[5]。已有研究报道,NKD1可能参与CRC发生、发展,且与患者恶性程度及预后有关^[6]。但关于NKD1与CRC肝转移的相关性,尚未见研究报道。本研究对此展开探讨,旨在为临床寻找预防和阻断CRC肝转移提供依据。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年12月至2021年12月江苏省人民医院浦口分院接受根治性切除术的CRC肝转移患者44例为观察组,同期选取36例接受根治性切除术的CRC无肝转移患者36例为对照组。纳入标准:均经术后病理确诊为CRC^[7];术前均未行放、化疗。排除标准:恶性肿瘤病史;肝脏病变经病理证实为肝良性肿瘤或原发性肝癌。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 资料收集

收集患者一般资料,包括年龄、性别、肿瘤直径、病变部位、浸润深度、Duke分期^[8]、分化程度(低分化、中分化、高分化)、有无淋巴结转移等。

1.2.2 癌组织及癌旁组织NKD1检测

取癌组织及癌旁组织标本,10%中性福尔马林中浸泡,石蜡包埋,连续切片(4 μm 厚),分别行苏木素-伊红(HE)和免疫组化染色。美国Santa Cruz公司1:50兔抗人NKD1多克隆抗体;北京中杉金桥公司。DAB酶底物显色试剂盒、即用型SP免疫组化试剂盒。按说明书进行免疫组化染色,阳性对照由试剂公司提供,阴性对照以磷酸盐缓冲溶液代替一抗。结果判读^[8]:NKD1阳性:胞质着色,为棕黄色至棕褐色粗颗粒状。由阳性细胞百分率与着色强度分别进行评分。阳性细胞百分率^[9]: $\times 400$ 镜下随机取5个不同视野,无阳性细胞、阳性细胞数 $\leq 10\%$ 、阳性细胞数11%~50%、阳性细胞数51%~75%、阳性细胞数 $> 75\%$ 分别计0、1、2、3、4分;着色强度:无着色、淡棕色、棕黄色、棕褐色分别计0、1、2、3分。两项得分相乘,3分以上为阳性。

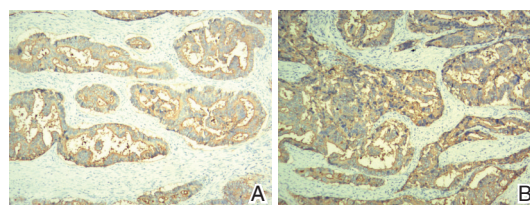
1.3 统计学处理

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。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌组织及癌旁组织NKD1表达率比较

癌组织NKD1阳性表达率(28/80),癌旁组织NKD1阳性表达率(65/80)。癌组织NKD1阳性表达率低于癌旁组织,差异有统计学意义($\chi^2=35.153, P<0.001$)。见图1。



注:A为低分化腺癌NKD1表达;B为中分化腺癌NKD1表达。

图1 NKD1表达病理图(IHC, $\times 20$)

Figure 1 NKD1 expression in cancer tissue (IHC, $\times 20$)

2.2 癌组织 NKD1 表达与病理特征的相关性

CRC 患者癌组织中 NKD1 阳性表达率与年龄、性别、肿瘤直径、病变部位、浸润深度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与 Duke 分期、分化程度、淋巴结转移比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 癌组织 NKD1 表达与病理特征的相关性 [$n(\%)$]

Table 1 Correlation between NKD1 expression and pathological features in cancer tissues [$n(\%)$]					
因素	<i>n</i>	NKD1 阳性表达率	χ^2 值	<i>P</i> 值	
年龄	<65 岁	32	13(40.63)	0.742	0.389
	≥65 岁	48	15(31.25)		
性别	男	49	16(32.65)	0.306	0.580
	女	31	12(38.71)		
肿瘤直径(cm)	<5	35	12(34.29)	0.014	0.906
	≥5	45	16(35.56)		
病变部位	结肠	46	15(32.61)	0.272	0.602
	直肠	34	13(38.24)		
浸润浆膜	无	32	15(46.88)	3.306	0.069
	有	48	13(27.08)		
Duke 分期	A+B	30	24(80.00)	42.725	<0.001
	C+D	50	4(8.00)		
分化程度	低	31	3(9.68)	14.266	<0.001
	高+中	49	25(51.02)		
淋巴结转移	无	44	24(54.55)	16.419	<0.001
	有	36	4(11.11)		

2.3 CRC 肝转移的单因素分析

80 例 CRC 患者,肝脏病变经病理证实为肝转移 44 例,发生率 55.00%(44/80)。浸润深度、Duke 分期、分化程度、淋巴结转移及癌组织 NKD1 表达均为 CRC 肝转移相关因素($P<0.05$)。见表 2。

表 2 CRC 肝转移的单因素分析 [$n(\%)$]

Table 2 Univariate analysis of CRC liver metastases [$n(\%)$]					
临床特征	<i>n</i>	肝转移 ($n=44$)	无肝转移 ($n=36$)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄	<65 岁	32	14(31.82)	2.727	0.099
	≥65 岁	48	30(68.18)		
性别	男	49	29(65.91)	0.894	0.344
	女	31	15(34.09)		
肿瘤直径(cm)	<5	35	18(40.91)	0.321	0.571
	≥5	45	26(59.09)		
病变部位	结肠	46	26(59.09)	0.101	0.750
	直肠	34	18(40.91)		
浸润浆膜	无	32	9(20.45)	15.564	<0.001
	有	48	35(79.55)		
Duke 分期	A+B	30	7(15.91)	19.448	<0.001
	C+D	50	37(84.09)		
分化程度	低	31	23(52.27)	7.533	0.006
	高+中	49	21(47.73)		
淋巴结转移	无	44	19(43.18)	5.518	0.019
	有	36	25(56.82)		
癌组织 NKD1 表达	阴性	52	37(84.09)	15.664	<0.001
	阳性	28	7(15.91)		

2.4 CRC 肝转移的多因素 Logistic 回归分析

以 CRC 患者肝转移情况为因变量(赋值:无肝转移=0,肝转移=1),将表 2 中差异有统计学意义的项作为自变量(赋值:浸润深度:无浸润浆膜=0,浸润浆膜=1;Duke 分期:A+B=1,C+D=2;分化程度:高+中=1,低=2;淋巴结转移:无=0,有=1;癌组织 NKD1 表达:阴性=0,阳性=1),应用 Logistic 回归模型分析,结果显示,浸润浆膜、Duke 分期 C+D 期、低分化、淋巴结转移均为 CRC 患者肝转移独立危险因素,癌组织 NKD1 阳性表达为 CRC 患者肝转移独立保护因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 CRC 肝转移的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate logistic regression analysis of CRC liver metastases						
因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
浸润深度	1.425	0.513	7.714	4.157	2.361~7.319	<0.001
Duke 分期	1.574	0.663	5.638	4.827	3.084~7.556	<0.001
分化程度	1.443	0.557	6.712	4.233	2.541~7.053	0.019
淋巴结转移	1.509	0.541	7.781	4.523	2.681~7.629	<0.001
癌组织 NKD1 表达	-0.811	0.329	6.072	0.445	0.257~0.769	<0.001

3 讨论

研究表明,未经治疗的 CRC 肝转移患者中位生存期仅 6~9 个月,是 CRC 最主要死亡原因^[10]。CRC 肝转移具有明显遗传分子异质性,是术后复发重要因素,也是个体化治疗重要依据^[11]。因此,早期评估 CRC 肝转移情况具有重要临床意义。

随遗传学和表观遗传学逐步累积,CRC 发生关键在于 Wnt 通路异常激活^[12]。NKD1 最初在果蝇体内发现,包含 470 个氨基酸,是 Wnt 通路重要调节蛋白之一。多项研究显示,CRC 患者癌组织中 NKD1 表达能力减弱,且与肿瘤分化能力、转移及预后有关^[13]。本研究显示,CRC 患者癌组织中 NKD1 阳性表达率显著低于癌旁组织,且与 Duke 分期、分化程度、淋巴结转移有关,亦提示 NKD1 低表达可能参与 CRC 发生及侵袭、转移,与上述报道一致。NKD1 主要通过抑制经典 Wnt/ β -环蛋白(β -Catenin)通路而发挥功能,主要机制在于:NKD1 保守 EF 序列结合散乱蛋白家族 Dvl 蛋白,进而引起细胞核内 β -catenin 异常表达^[14]。同时,NKD1 对 Wnt/PCP 信号通路具有调节作用,进而影响上皮细胞极性,调控黏附蛋白,最终抑制肿瘤增殖^[15]。

CRC肝转移与解剖相关,这是由于肿瘤经肠系膜静脉向门静脉回流,进而引起癌细胞转移至肝脏^[16]。本研究中,80例CRC患者,发生肝转移44例,发生率高达55.00%(44/80),与报道^[17]一致。目前,CRC肝转移确切机制尚未完全明确。研究报道,CRC肝转移中环加氧酶-2 mRNA、血管重塑因子血管生成素-2、转化生长因子- α 、表皮生长因子受体等表达上调^[18]。相应肿瘤抑制基因可能作为肝转移监测的重要标志。目前,已有研究评估NKD1在CRC患者的诊断、预后评价中的作用,然而其对肝转移的预测价值尚不明确。本研究显示,肝转移者癌组织NKD1阳性表达率15.91%(7/44)显著低于无肝转移者58.33%(21/36),且Logistic回归模型分析显示,癌组织NKD1阳性表达为CRC患者肝转移独立保护因素。表明NKD1对CRC肝转移具有一定预测价值。上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)指间叶细胞标记物如波形蛋白、神经性钙黏素表达增加,上皮细胞标记物如上皮性钙黏素表达降低,形成的间叶样细胞的侵袭力显著提升,促进肿瘤细胞转移^[19]。研究显示,EMT在CRC肝转移中发挥关键作用,涉及多种信号通路,其中经典Wnt/ β -Catenin通路对癌细胞EMT具有明显促进作用^[20]。因此,推测NKD1通过抑制细胞核内 β -catenin表达,阻断EMT,进而抑制CRC肝转移。另研究指出,局部持续慢性炎症反应可加速肿瘤生长、浸润,为CRC肝转移提供条件^[21]。而Wnt/ β -Catenin通路在炎症反应、肿瘤形成等过程中发挥关键作用,也可能是NKD1抑制CRC肝转移的机制之一。因此,对CRC肝转移进行预测时,检测NKD1阳性表达率具有重要指导意义。但NKD1参与CRC肝转移的确切机制仍有待基础研究进一步明确。

综上所述,CRC患者NKD1阳性表达率显著降低,可能与CRC侵袭与转移有关,且可作为肝转移的预测标志物。

参考文献

- [1] 覃春霞,宋杨美惠,刘芳,等. 68Ga-FAPI PET对结直肠癌再分期的诊断价值及对治疗决策的影响[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2021, 41(12): 717-721.
- [2] Jiang K, Chen H, Fang Y, et al. Exosomal ANGPTL1 attenuates colorectal cancer liver metastasis by regulating Kupffer cell secretion pattern and impeding MMP9 induced vascular leakiness[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 21.
- [3] 冯婧,赵凯,周鑫. 结直肠癌TRDMT-1、CEACAM-1的表达及与肿瘤生物学特性的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11): 1556-1560.
- [4] 马佳懿,许宇文,韩刚. 基于Wnt1/ β -catenin信号通路观察白藜芦醇对小鼠炎症相关结直肠癌的作用机制[J]. 现代消化及介入诊疗, 2021, 26(11): 1384-1389.
- [5] Tang Q, Chen J, Di Z, et al. TM4SF1 promotes EMT and cancer stemness via the Wnt/ β -catenin/SOX2 pathway in colorectal cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 232.
- [6] 杨洲,刚海菊,覃先蓬,等. 激活Wnt信号通路阻滞沉默ZEB2对结直肠癌细胞增殖抑制和凋亡促进作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(16): 1717-1722.
- [7] 于永洋,张福星,刘昭晖,等. 血清lncRNA SNHG5与老年结直肠癌患者临床病理的关系及其诊断价值[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(7): 1590-1593.
- [8] 杨晓琳,殷先利,郭戈杨,等. Duke's B期结肠癌患者钙粘附蛋白的表达与复发转移的关系[J]. 医学临床研究, 2011, 28(12): 2264-2266.
- [9] 林山,蒋晓芳,王亚萍,等. NKD1和 β -catenin蛋白在结直肠癌组织中的表达及意义[J]. 山东医药, 2014, 54(25): 38-40.
- [10] 史艳龙,方德宝,冉启豪,等. 基于Web of Science数据库的2000-2019年结直肠癌肝转移文献计量分析[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(4): 400-411.
- [11] 唐杰庆,秦龙梅,李洁. lncRNA THAP9-AS1靶向miR-577调控结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 热带医学杂志, 2021, 21(1): 26-30+39.
- [12] Lanaube CB, Sehgal P, Hayer K, et al. Colorectal cancer-associated Smad4 R361 hotspot mutations boost Wnt/ β -catenin signaling through enhanced Smad4-LEF1 binding[J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(5): 823-833.
- [13] 苗玉,周玮玮,张欣,等. Wnt信号通路成员蛋白NKD1、 β -catenin和Cyclin D1在结直肠腺癌中的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(2): 146-151.
- [14] 苗玉,张欣,邢荣格,等. 乳腺癌组织NKD1与 β -catenin表达临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 26(4): 233-238.
- [15] 冯砚平,王楠,王伟佳. WT1、NKD1基因在急性髓系白血病中的表达及其与预后的关系[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(11): 1534-1537.
- [16] Yang L, Liu L, Zhang R, et al. IL-8 mediates a positive loop connecting increased neutrophil extracellular traps (NETs) and colorectal cancer liver metastasis[J]. J Cancer, 2020, 11(15): 4384-4396.
- [17] 金辉,盛玲玲,盛显仑,等. 美国结直肠癌肝转移患者的临床病理特征及预后因素分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(8): 911-914.
- [18] Hellingman T, Kuiper BI, Buffart LM, et al. Survival benefit of repeat local treatment in patients suffering from early recurrence of colorectal cancer liver metastases[J]. Clin Colorectal Cancer, 2021, 20(4): e263-e272.

(下转第1585页)

Hcy、hs-CRP 及 NT-proBNP 在 AMI 患者并发急性心衰中的诊断价值

毛磊¹ 耿国英¹ 时静¹ 姬劲锐¹ 赵秋霞² 刘恒亮^{1*}

【摘要】目的 探讨联合检测急性心肌梗死(AMI)患者血清超敏C反应蛋白(hs-CRP)、同型半胱氨酸(Hcy)、氨基末端脑钠肽前体(NT-proBNP)诊断并发急性心衰的临床价值。**方法** 选取在河南省郑州市人民医院确诊的AMI患者148例,收集时间2020年1月至2021年8月,根据患者心功能Killips分级 $\geq$ II级的患者判断为心衰组57例、非心衰组91例,对比两组入院48h内的血清hs-CRP、Hcy、NT-proBNP水平,并采用ROC曲线分析三者单独及联合应用早期诊断急性心衰的临床价值。**结果** 心衰组患者的血清hs-CRP、Hcy、NT-proBNP水平均显著的高于非心衰组患者,差异有统计学意义($t=4.412, 7.899, 13.613, P<0.05$);心衰组患者的血清hs-CRP、Hcy与NT-proBNP水平均呈显著的正相关关系($r=0.592, 0.634, P<0.05$);绘制ROC曲线分析,血清hs-CRP的临界值取10.04 mg/L时,诊断AMI并发心衰的灵敏度为0.678、特异度为0.759、ROC曲线下面积为0.727;血清Hcy的临界值取1.62 mg/L时,诊断AMI并发心衰的灵敏度为0.704、特异度为0.793、ROC曲线下面积为0.753;血清NT-proBNP的临界值取3116.4 pg/mL时,诊断AMI并发心衰的灵敏度为0.790、特异度为0.880、ROC曲线下面积为0.843。血清hs-CRP、Hcy与NT-proBNP联合检测诊断AMI并发心衰患者的灵敏度为0.880、特异度为0.970、AUC值为0.934($P<0.05$)。**结论** 联合检测Hcy、hs-CRP及NT-proBNP对于早期预测AMI患者并发心衰具有重要的临床实用价值。

【关键词】 急性心肌梗死;超敏C反应蛋白;同型半胱氨酸;氨基末端脑钠肽前体;心衰

Diagnostic value of Hcy, hs-CRP and NT-proBNP in AMI patients complicated with acute heart failure

MAO Lei¹, GENG Guoying¹, SHI Jing¹, JI Jingrui¹, ZHAO Qiuxia², LIU Hengliang^{1*}

(1. Department of Cardiology, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450003; 2. Department of Health and Medicine, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450003)

【ABSTRACT】Objective To explore the clinical value of combined detection of serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP in patients with acute myocardial infarction combined with acute heart failure. **Methods** A total of 148 cases of AMI patients were collected from January 2020 to August 2021, according to the Killips classification of cardiac function in patients with grade II, 57 cases were set as the heart failure group, 91 cases were the non-heart failure group, serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP levels were compared between two groups within 48 h after admission, and the clinical value of three parameters for the diagnosis of acute heart failure combined with the ROC curve were analyzed. **Results** The levels of serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP in the heart failure group were significantly higher than those in the non-heart failure group, and the difference was statistically significant ($t=4.412, 7.899, 13.613, P<0.05$). Serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP levels in the heart failure group were significantly positively correlated ($r=0.592, 0.634, P<0.05$). Drawing ROC curve analysis, when the critical value of serum hs-CRP was 10.04 mg/L, the sensitivity of diagnosis

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20200678)

作者单位:1. 河南省郑州市人民医院心血管内科二区,河南,郑州450003

2. 河南省郑州市郑州市人民医院健康医学部,河南,郑州450003

*通信作者:刘恒亮, E-mail: liuhengliang66@163.com

ing AMI complicated with heart failure was 0.678, the specificity was 0.759, and the area under the ROC curve was 0.727. When the critical value of serum Hcy was 1.62 mg/L, the sensitivity of diagnosing AMI complicated with heart failure was 0.704, the specificity was 0.793, and the area under the ROC curve was 0.753. When the critical value of serum NT-proBNP was 3116.4 pg/mL, the sensitivity of diagnosing AMI complicated with heart failure was 0.790, the specificity was 0.880, and the area under the ROC curve was 0.843. The combined detection of serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP had a sensitivity of 0.880, a specificity of 0.970 and an AUC value of 0.934 ($P < 0.05$) in the diagnosis of AMI complicated with heart failure. **Conclusion** Combined detection of Hcy, hs-CRP and NT-proBNP has important clinical value for early prediction of AMI patients complicated with heart failure.

[KEY WORDS] Acute myocardial infarction; High sensitivity C reactive protein; Cystatin C; N-terminal pro brain natriuretic peptide; Heart failure

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 的发生能够增加患者急性心力衰竭的发生风险, 流行病学研究显示, 在 AMI 基础上合并的心力衰竭的发生率可达 5% 以上^[1], 特别是在梗死面积较大、合并基础代谢性疾病等人群中, 心力衰竭的发生风险更高。临床上心力衰竭的发病较为急骤, 病情进展较为迅速, 短期内即可造成患者多器官功能衰竭及循环障碍。对于心力衰竭的预测, 能够指导临床上早期的利尿、脱水、强心等对症治疗, 降低患者的病死率, 改善临床结局。血清学指标的评估在心血管疾病的诊断及预测过程中具有重要的参考价值, 超敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C reactive protein, hs-CRP)、同型半胱氨酸 (Homocysteine, Hcy) 等是反应心肌细胞早期损伤及细胞膜完整性破坏的重要因子, 其表达浓度的上升还能够促进心肌细胞的凋亡等病理过程, 促进心力衰竭的发生^[2-3]; N 末端脑钠肽前体 (N-terminal pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP) 是评估心肌细胞舒张功能的重要指标, 在心力衰竭早期即可发现显著的表达变化^[4]。为了进一步探讨不同的指标在评估早期 AMI 合并心力衰竭的发生风险, 本研究探讨了 hs-CRP、Hcy、NT-proBNP 的表达变化, 并揭示了其诊断学价值。

1 研究对象与方法

1.1 基线资料

选取 2020 年 1 月至 2021 年 8 月在河南省郑州人民医院确诊的 AMI 患者 148 例, 根据纽约心脏病学会心功能分级标准^[5] (New York Heart Association, NYHA) 分级 $\geq$ II 级的患者判断为心衰组 57 例、非心衰组 91 例。心衰组, 男 34 例、女 23 例, 年龄 55~75 岁, 平均 (66.9 ± 9.6) 岁, 体质指数 (BMI)

$(24.0 \pm 2.0) \text{ kg/m}^2$, 入院时收缩压/舒张压 $(135.1 \pm 12.6) / (81.4 \pm 8.3) \text{ mmHg}$, 合并糖尿病 23 例、吸烟 25 例。非心衰组, 男 54 例、女 37 例, 年龄 52~79 岁, 平均 (65.0 ± 11.0) 岁, BMI $(23.3 \pm 2.4) \text{ kg/m}^2$, 入院时收缩压/舒张压 $(134.3 \pm 10.4) / (80.1 \pm 9.7) \text{ mmHg}$, 合并糖尿病 38 例、吸烟 42 例。两组的年龄、性别等基线资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 有可比性。

1.2 纳入排除标准

1.2.1 纳入标准

① AMI 患者的诊断标准参考《2015 年急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南解析》^[5] 中的诊断标准; ② 患者的年龄 ≤ 79 岁; ③ 经心电图检查、心肌酶学指标确诊^[6] 为新发 AMI 患者; ④ 起病至入院时间 $< 24 \text{ h}$; ⑤ 既往未发生心衰病史; ⑥ 研究方案经医学伦理委员会审查后实施。所有患者家属签署知情同意书。

1.2.2 排除标准

① 伴有严重感染; ② 肿瘤疾病; ③ 伴有免疫功能缺陷、低下; ④ 血糖、血压未能得到控制; ⑤ 先心病、心瓣膜疾病; ⑥ 主动脉夹层; ⑦ 缩窄性心包炎; ⑧ 脑血管病史患者。

1.3 指标检测方法

抽取患者空腹肘部静脉血 3~5 mL 血清, 室温下放置 1 h 后上离心机处理 ($4\ 000 \text{ r/min}$, 10 min , 离心半径 10 cm) 后取血清待测。采用贝克曼库尔特 UniCel DxI 800 化学发光免疫分析仪进行 Hcy 及 NT-proBNP 的检测, EasyBlot ECL 化学发光显色试剂盒购自赛默飞公司; 采用 ELISA 法进行 hs-CRP 的检测, 配套试剂购自罗氏公司。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0, 计量资料应用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 分析采用 t 检验; 绘制 ROC 曲线并计算相关

诊断学指标;血清 hs-CRP、Hcy 与 NT-proBNP 的相关性采用 Pearson 分析法; P 值 <0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的血清 hs-CRP、Hcy、NT-proBNP 比较
心衰组患者的血清 hs-CRP、Hcy、NT-proBNP 水平均显著的高于非心衰组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者的血清 hs-CRP、Hcy、NT-proBNP 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP between two groups of patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	hs-CRP (mg/L)	Hcy (mg/L)	NT-proBNP (pg/mL)
心衰组	57	10.34±3.26	1.95±0.58	4672.9±1847.0
非心衰组	91	8.12±2.79	1.24±0.50	1561.4±920.4
<i>t</i> 值		4.412	7.899	13.613
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 AMI 并发心衰患者血清 hs-CRP、Hcy 与 NT-proBNP 的相关性

心衰组患者的血清 hs-CRP($r=0.592$)、Hcy($r=0.634$)与 NT-proBNP 水平均呈显著的正相关关系($P<0.05$)。

2.3 血清 hs-CRP、Hcy 与 NT-proBNP 诊断 AMI 并发心衰患者的临床价值

绘制 ROC 曲线分析,血清 hs-CRP、Hcy 与 NT-proBNP 联合检测诊断 AMI 并发心衰患者的灵敏度为 0.880、特异度为 0.970、AUC 值为 0.934,优于单一诊断($P<0.05$)。见表 2、图 1。

表 2 血清 hs-CRP、Hcy 与 NT-proBNP 诊断 AMI 并发心衰患者的临床价值

Table 2 Clinical value of serum hs-CRP, Hcy and NT-proBNP in the diagnosis of patients with AMI complicated with heart failure

指标	临界值	灵敏度	特异度	漏诊率	误诊率	AUC
hs-CRP(mg/L)	10.04	0.678	0.759	32.19	24.07	0.727
Hcy(mg/L)	1.62	0.704	0.793	29.56	20.71	0.753
NT-proBNP (pg/mL)	3 116.4	0.790	0.880	21.05	11.96	0.843
hs-CRP+Hcy+ NT-proBNP		0.880	0.970	11.97	3.05	0.934

3 讨论

AMI 导致的心力衰竭的发生,主要考虑与下列几个方面的因素有关:①心肌细胞的坏死可以直接导致患者心脏泵血功能的障碍,并影响到舒

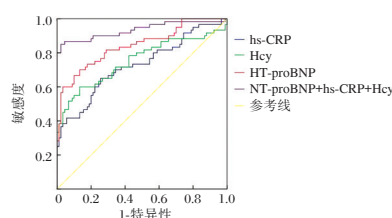


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curves

张期血流的灌注;②AMI 导致的心肌细胞的坏死,特别是窦房结及房室交界处的细胞坏死等,能够影响到心律失常的发生,导致室颤等恶性心律失常的发生,进而增加了心力衰竭的发生风险。但迄今为止临床上主要通过 BNP 等指标来评估心力衰竭的发生风险,单纯 BNP 虽然能够在一定程度上反应心肌细胞的舒张功能障碍及心肌细胞的损伤程度,但其评估的灵敏度或者特异度等指标仍然较差,对于 AMI 合并心力衰竭的整体预测效果不佳^[6]。而超声等影像学检查属于确诊实验,其在临床上主要用来评估心力衰竭的病情严重程度,而对于疾病的早期预测及治疗指导价值并不高。

hs-CRP 作为炎症因子家族成员,其对于下游炎症因子如 IL-6 或者 IL-10 等的富集作用,能够促进心肌细胞线粒体的损伤,导致 ATP 利用障碍,增加了单核细胞或者巨噬细胞等对于心肌细胞的浸润^[7-8];Hcy 能够通过对于半胱氨酸的代谢影响,增加过氧化损伤对于心肌细胞肌纤维特别是肌动蛋白的影响,导致等长收缩的障碍,心肌纤维的收缩及复旧均受到了明显的影响^[9-10];NT-proBNP 是 BNP 的前体成分,其浓度相对稳定,对于心力衰竭的评估特异度相对较高,在心室壁顺应性下降的过程中,心房内皮细胞等分泌的 NT-proBNP 等因子显著上升^[11]。

本次研究发现,在心力衰竭组患者血清中,相关指标的高表达趋势较为明显,其中 hs-CRP、Hcy、NT-proBNP 等各指标均呈现出了明显的上升趋势,提示其均可能参与到了心力衰竭的发生发展过程中,hs-CRP、Hcy、NT-proBNP 的异常表达可能通过影响到下列几个方面的因素,进而促进心力衰竭的发生^[12-13]:①hs-CRP 能够诱导体内炎症瀑布反应,促进缺血性心肌细胞的再灌注损伤;②Hcy 对于体内还原型氧化酶的激活作用,能够促进心肌细胞利用 ATP 酶的障碍,导致能量利用代谢的异常。Huhta 等^[14]在探讨了 43 例急性心力衰

竭患者的血清分子谱表达后发现,hs-CRP、Hcy的平均上升幅度可达25%、30%以上,在病死组患者中的相关指标高表达趋势更为明显,同时患者的病情进展速度、强心药物治疗效果等治疗敏感性越差,相关指标的表达波动越为明显。NT-proBNP水平是临床上评估心力衰竭发生的重要参考指标,而本次研究通过相关关系分析可见,hs-CRP、Hcy的高表达与NT-proBNP具有密切的相关性,hs-CRP、Hcy在预测心力衰竭方面具有潜在的价值。血清hs-CRP、Hcy与NT-proBNP诊断AMI并发心衰患者的临床分析可见,单独NT-proBNP预测心力衰竭的灵敏度或者特异度等指标相对较高,接近80%,而hs-CRP、Hcy单独检测的灵敏度或者特异度虽然偏低,但联合不同的指标进行预测分析后可见,三种指标在早期评估心衰的过程中具有较高的诊断学价值。但也有研究者认为联合不同的参考指标评估AMI合并心衰容易导致漏诊的发生^[15-16],鉴于NT-proBNP等指标的诊断灵敏度较低而特异度较高的特点,临床上可以通过综合性分析患者临床症状、生命体征等,进而早期识别、早期干预。

本次研究探讨了AMI基础上并发心力衰竭的相关指标的预测价值。综上所述,联合检测Hcy、hs-CRP及NT-proBNP对于早期预测AMI患者并发心衰具有重要的临床实用价值。

参考文献

- [1] 杨红,孙晓妍,刘静,等.沙库巴曲缬沙坦对老年人急性心肌梗死后慢性心力衰竭发生的影响[J].中华老年医学杂志,2020,39(1):38-42.
- [2] 朱志远,王海燕,王宏宝,等.急性心肌梗死患者血清hs-CRP/PAB、NT-pro BNP、LVEF水平与心力衰竭发生的相关性[J].中国医药导刊,2019,21(7):392-395.
- [3] 杨蓉,刘裴,张小琳,等.血清Omentin-1、HCY水平对急性心肌梗死患者心室重构及预后的预测价值[J].山东医药,2020,60(31):32-36.
- [4] 丁政,顾小宇.老年重症心力衰竭患者血清NT-proBNP水平及预后危险因素[J].中国老年学杂志,2020,40(16):3361-3363.
- [5] 沈卫峰,张奇,张瑞岩.2015年急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南解析[J].国际心血管病杂志,2015,42(4):217-219.
- [6] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会,《中国循环杂志》编辑委员会.急性心肌梗死诊断和治疗指南[J].中华心血管病杂志,2001,29(12):710-725.
- [7] Zhao G, Zhang H, Wang Y, et al. Effects of levocarnitine on cardiac function, urinary albumin, hs-CRP, BNP, and troponin in patients with coronary heart disease and heart failure[J]. Hellenic J Cardiol, 2020, 61(2): 99-102.
- [8] 相莲,高娟,颜晖,等.急性冠脉综合征患者血清hs-CRP、sST2、IL-6的表达及其意义[J].医学临床研究,2021,38(6):938-940.
- [9] Jin N, Huang L, Hong J, et al. Elevated homocysteine levels in patients with heart failure: A systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(33): e26875.
- [10] 余平,李叶子,万少兵.抑制沉默信息调节因子1/p53通路对同型半胱氨酸诱导的心肌纤维化的影响[J].广西医学,2021,43(19):2322-2326.
- [11] 张群英,康娜,唐懿,等.ST2、NT-proBNP在心力衰竭病情进展评估的价值研究[J].标记免疫分析与临床,2021,28(6):1012-1015+1031.
- [12] 王巧凤,毛明洁.射血分数保留心力衰竭患者血清NT-proBNP、hs-CRP及Hcy的变化及临床意义[J].海南医学,2019,30(24):3149-3151.
- [13] 戴书连,诸波,高发林,等.心力衰竭患者血清D-D、Cys-C、NT-proBNP、hs-cTnI和CRP水平及其对预后评估的价值[J].临床和实验医学杂志,2021,20(11):1152-1155.
- [14] Huhta JC. Diagnosis and treatment of foetal heart failure: foetal echocardiography and foetal hydrops[J]. Cardiol Young, 2015, 25(2):100-106.
- [15] 卢鑫,丁力平,高国杰,等.慢性心力衰竭患者同型半胱氨酸、肌钙蛋白T、高敏C反应蛋白与心功能的相关性研究[J].中国医药导报,2020,17(26):45-48.
- [16] 江永进,冯俊,张静,等.Hcy、BNP、CRP联合检测对慢性心力衰竭病人诊断的临床价值[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(17):2836-2838.
- [19] 肖忠盛,龙泓,丁成明,等.IMP3基因沉默介导Notch信号通路对结肠癌上皮间质转化及血管生成的影响[J].中国免疫学杂志,2020,36(14):1714-1719.
- [20] 夏璐,陈毅星,连加辨.LINC00665通过激活WNT-CTN-NB1/ β -catenin信号通路促进HeLa细胞增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化[J].生理学报,2021,73(2):233-243.
- [21] 何杨,肖帅,李通,等.富血小板纤维蛋白对人牙周膜细胞成骨能力,炎症因子表达和Wnt/ β -catenin信号通路的影响[J].现代生物医学进展,2022,22(6):1180-1185.

(上接第1581页)

血液净化治疗对有机磷中毒患者 CHE、CK-MB 及 IL6 水平的影响

胡自廷 张清学 王建军 戴成才 孙杰 刘杰 崔涛 赵曙光*

[摘要] **目的** 分析血液净化治疗对有机磷中毒患者胆碱酯酶(CHE)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及白介素-6(IL-6)水平的影响。**方法** 选取2015年1月至2022年1月于太和县人民医院治疗的102例有机磷中毒患者的临床资料,根据不同治疗方式将其分为观察组($n=53$,血液净化治疗)、对照组($n=49$,常规治疗)。比较两组临床疗效、炎症因子[IL-6、降钙素原(PCT)、C反应蛋白(CRP)]、心肌酶谱[CK-MB、肌酸激酶(CK)、肌钙蛋白(cTnI)]、CHE水平以及并发症。**结果** 观察组临床总有效率(94.34%)高于对照组临床总有效率(80.43%),差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组IL-6、PCT、CRP水平均出现下降,其中观察组下降更为明显,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组CK、CK-MB、cTnI均出现下降,CHE水平上升,其中观察组变化更为明显,差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组并发症总发生率(11.32%)低于对照组总发生率(28.57%),差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 有机磷中毒患者采取血液净化治疗疗效确切,可有效降低患者的IL-6、PCT、CRP水平,改善患者的CK、CK-MB、cTnI及CHE水平,且具有一定的安全性,值得临床应用推广。

[关键词] 血液净化治疗; CHE; 炎症因子; CK-MB; IL6

Effects of blood purification treatment on CHE, CK-MB and IL6 levels in patients with organophosphorus poisoning

HU Ziting, ZHANG Qingxue, WANG Jianjun, DAI Chengcai, SUN Jie, LIU Jie, CUI Tao, ZHAO Shuguang*
(Department of Emergency Medicine, Taihe County People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236600)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of blood purification treatment on Cholinesterase (CHE), creatine kinase isoenzymes (CK-MB) and interleukin-6 (IL-6) levels in patients with organophosphorus poisoning. **Methods** The clinical data of 102 patients with organophosphorus poisoning treated in Taihe County People's Hospital from January 2015 to January 2022 were selected, they were divided into the observation group ($n=53$, blood purification treatment) and the control group ($n=49$, conventional treatment). The clinical efficacy, levels of inflammatory factors, CHE level and complications were compared between the two groups. **Results** The total clinical effective rate (94.34%) of the observation group was higher than that of the control group (80.43%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of IL-6, PCT, and CRP in the two groups decreased, and the observation group decreased more significantly, with statistical significance ($P<0.05$). After treatment, the levels of CK, CK-MB and cTnI in the two groups decreased, and the level of CHE increased, among which the changes in the observation group were more obvious, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The total incidence of complications in the observation group (11.32%) was lower than that in the control group (28.57%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Blood purification treatment for patients with organophosphorus poisoning is effective, can effectively reduce the levels of IL-6, PCT, CRP, and improve the levels of CK,

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(1904h08020257)

作者单位:太和县人民医院急诊医学科,安徽,阜阳 236600

*通信作者:赵曙光, E-mail:Zsg1141125943@163.com

CK-MB, cTnI and CHE in patients, and has certain safety, which is worthy of clinical application and promotion.

[KEY WORDS] Blood purification therapy; CHE; Inflammatory factors; CK-MB; IL6

有机磷中毒属于临床较为易见的一种危重急症,是由于有机磷毒物进入人体后同胆碱酯酶(Cholinesterase, CHE)相结合,并对CHE造成抑制,生成一种磷酸化胆碱酯酶物质,导致神经功能出现紊乱,严重危害人体各器官功能,且极易导致器官功能障碍^[1]。抢救有机磷中毒患者应及时将患者体内的毒物清除,并予以解毒药物进行对症治疗,但由于有机磷中毒患者的病情较为复杂且迅猛,常规治疗并不能达到理想的效果,因此如何有效提升抢救效果是目前研究的热点。随着医疗技术的不断发展,血液净化已逐渐应用于临床危重疾病的急救中^[2-3]。本研究就血液净化治疗对有机磷中毒患者CHE、肌酸激酶同工酶(Creatine kinase-MB, CK-MB)及白介素-6(Interleukin-6, IL-6)

水平的影响进行分析,现将研究结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年1月至2022年1月于太和县人民医院治疗的102例有机磷中毒患者资料,根据治疗方式的不同分为观察组($n=53$,血液净化治疗)、对照组($n=49$,常规治疗)。纳入标准:①符合有机磷中毒临床诊断标准^[4];②临床资料完整;③患者或家属同意参加本次研究。排除标准:①合并严重的肝、肾功能障碍;②存在精神疾病无法配合本研究或其他依从性差者;③已进行相关治疗者。两组资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

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

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

组别	n	性别 (男/女)	平均年龄 (岁)	就诊时间 (d)	中毒剂量 (mL)	严重程度			中毒药物种类		
						轻度	中度	重度	敌敌畏	甲胺磷	氧化乐果
观察组	53	30/23	43.72±4.69	3.51±0.44	108.52±15.39	16(30.19)	21(39.62)	16(30.19)	28(52.83)	19(35.84)	6(11.32)
对照组	49	29/20	44.08±4.10	3.60±0.41	109.03±14.68	15(30.61)	21(42.86)	14(28.57)	26(53.06)	16(32.65)	7(14.29)
t/χ^2 值		0.070	0.411	1.066	0.171		0.032			0.252	
P 值		0.792	0.682	0.289	0.845		0.984			0.882	

1.2 检测方法

对照组患者行常规治疗,包括洗胃、催吐,清除口腔分泌物、服用药物,治疗期间,时刻监测患者生命体征。

观察组在对照组的基础上加用血液净化治疗,首先建立血管通路,利用一次性血液灌流器治疗,每天1次,3~4 h/次,维持血液流速在180~200 mL/min。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

疗效判定标准^[5]:显效:患者临床症状消失, CHE、CK-MB、IL-6水平恢复正常;有效:患者临床症状、CHE、CK-MB、IL-6水平较治疗前有所改善;无效:临床症状、CHE、CK-MB、IL-6水平无明显变化。[(显效+有效)/总例数]×100%=总有效率。

1.3.2 炎症因子水平

收集患者静脉血5 mL, 3 000 r/min 离心 10

min, 离心半径10 cm, 分离血清, 低温保存。通过酶联免疫吸附法检测 IL-6、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平。试剂盒均购自上海恒远生物科技有限公司, 严格按照说明书进行操作检测。

1.3.3 心肌酶谱、CHE水平

收集患者静脉血5 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 离心半径10 cm, 分离血清, 低温保存。免疫发光法检测 CK-MB、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌钙蛋白(cardiac troponin, cTnI)。酶联免疫吸附法检测 CHE 水平。试剂盒均购自上海恒远生物科技有限公司, 严格按照说明书进行操作检测。

1.3.4 患者并发症发生率

并发症包括心律失常、中间综合征、器官衰竭等^[6]。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析。

计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 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

观察组临床总有效率(94.34%)高于对照组临床总有效率(79.59%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 两组炎症因子水平比较

治疗后,两组IL-6、PCT、CRP水平均出现下降,其中观察组下降更为明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

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	显效	有效	无效	总有效率
观察组	53	22(41.51)	28(52.83)	3(5.66)	50(94.34)
对照组	49	17(34.69)	22(44.90)	10(20.41)	39(79.59)
χ^2 值					4.980
P 值					0.026

2.3 两组心肌酶谱、CHE水平比较

治疗后,两组CK、CK-MB、cTnI均出现下降,CHE水平上升,其中观察组变化更为明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组患者并发症比较

观察组并发症总发生率(11.32%)低于对照组

表3 两组治疗前后炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of inflammatory factor levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6(ng/L)		PCT(ng/mL)		CRP(mg/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	53	97.68±21.94	67.62±19.28 ^a	11.22±3.22	1.53±0.35 ^a	86.55±26.51	44.81±19.51 ^a
对照组	49	98.07±20.68	83.64±18.37 ^a	10.95±3.15	2.35±0.51 ^a	85.94±26.98	60.22±21.37 ^a
t 值		0.092	4.289	0.428	9.529	0.115	3.807
P 值		0.927	<0.001	0.670	<0.001	0.909	<0.001

注:与治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组治疗前后心肌酶谱、CHE水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of myocardial enzyme spectrum and CHE levels before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CK(IU/L)		CK-MB(IU/L)		cTnI(μ g/L)		CHE(U/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	53	609.62±69.85	146.71±30.31 ^a	38.95±6.59	15.38±3.91 ^a	1.84±0.20	0.75±0.11 ^a	590.61±40.38	3209.62±94.85 ^a
对照组	49	605.88±70.62	264.85±35.38 ^a	39.08±6.82	19.35±4.38 ^a	1.80±0.22	0.98±0.15 ^a	597.03±43.28	2134.20±73.65 ^a
t 值		0.269	18.141	0.098	4.836	0.962	8.877	0.564	63.591
P 值		0.789	<0.001	0.922	<0.001	0.338	<0.001	0.574	<0.001

注:与治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

总发生率(28.57%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表5 两组患者并发症比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of complications between the two groups of patients [$n(\%)$]

组别	n	中间综合征	器官衰竭	心律失常	其他	总发生率
观察组	53	1(1.89)	0(0.00)	3(5.66)	2(3.77)	6(11.32)
对照组	49	3(6.12)	2(4.08)	5(10.20)	4(8.16)	14(28.57)
χ^2 值						4.867
P 值						0.028

3 讨论

有机磷是一种含磷的有机化合物,经呼吸道、胃肠道、皮肤黏膜等途径被人体吸收后,与肝内代谢进行生物转化,发生氧化反应,可抑制呼吸中枢,

引起支气管痉挛、呼吸道的分泌物大量增加,同时还可扩张血管致使血压下降,出现循环衰竭甚至死亡^[6]。因此,对于有机磷中毒患者而言予以早期有效的治疗至关重要。

既往临床对于有机磷中毒患者治疗主要以清除机体内的有机磷毒物、辅助通气为主,虽可一定程度缓解患者的症状,但由于临床目前并无有机磷中毒的特效解毒药物,使得仅使用常规治疗的效果并不显著^[7]。Farooqui等^[8]研究指出,部分并发多器官功能障碍的有机磷中毒患者由于有机磷毒物对机体的损伤,使得患者肾功能严重受损,机体内部环境紊乱,同时还造成了多种酶活性的丧失,继而造成多器官组织循环、代谢衰竭,严重威胁患者生命安全。

血液净化疗法是一种通过体外循环将人体血液引入血液灌流器,吸收清除血液中内源性或外源性毒物的治疗手段,可有效清除中分子物质、有机酸等物质,适用于各种中毒症状^[9-11]。本研究对血液净化治疗有机磷中毒患者的临床疗效进行分析,发现观察组临床总有效率高于对照组临床总有效率,这与既往研究结果相似^[12],表明在常规治疗的基础上加用血液净化治疗可显著提升临床疗效。研究显示,有机磷中毒患者机体会存在明显的应激反应,这会早造成体内大量的炎性因子释放^[13]。IL-6、PCT和CRP是临床常用的炎性因子指标,对此本文将三者进行研究,结果发现,治疗后两组IL-6、PCT、CRP水平均出现下降,其中观察组下降更为明显,这说明在常规治疗的基础上加用血液净化治疗可有效降低患者体内炎性因子水平。究其原因可能是由于血液灌流可持续且有效地将有机磷中毒患者机体内的有机磷毒素清除,进一步降低甚至阻断了由于有机磷毒素所诱发的炎性反应,从而有效降低了IL-6、PCT、CRP水平。研究指出,有机磷毒物进入血液后会造成CHE的抑制^[14]。本研究发现观察组治疗后CHE水平高于对照组,说明采取血液净化治疗可促使CHE的活性恢复并发挥其生理功能。Liu等^[15]研究认为,有机磷农药中毒可导致患者心肌受损,而心肌受损是中毒患者常见的死亡原因之一。本研究通过对比两组心肌酶谱发现,观察组治疗后CK、CK-MB、cTnI水平下降程度优于对照组,这说明血液净化治疗更能改善患者心肌损伤情况。研究显示,大剂量应用药物可增加心律失常等并发症的发生风险^[16]。本研究中,观察组并发症总发生率低于对照组,说明血液净化治疗可有效降低患者并发症发生率,安全性较高。

综上所述,有机磷中毒患者采取血液净化治疗疗效确切,可有效降低患者的IL-6、PCT、CRP水平,改善患者的CK、CK-MB、cTnI及CHE水平,且具有一定的安全性,值得临床应用推广。

参考文献

- [1] 王红兵. 急诊血液净化治疗对重度有机磷中毒患者的临床效果[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(1): 83-85.
- [2] Lin G, Yuan L, Bai L, et al. Successful treatment of a patient with severe thallium poisoning in a coma using Prussian blue and plasma exchange: A case report [J]. Medicine, 2019, 98(8): 14-16+29.
- [3] 陈杰, 祁天明, 董晓光, 等. 长托宁联合阿托品对急性有机磷农药中毒患者炎症反应及心肌损伤的影响[J]. 实用药物与临床, 2019, 22(2): 151-154.
- [4] Cheng L, Tang YQ, Yi J, et al. Double Filtration Plasmapheresis in the Treatment of Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis with Severe Kidney Dysfunction [J]. Blood Purif, 2020, 49(6): 1-10.
- [5] 胡大碧, 黄彪, 何婕, 等. 硫普罗宁辅助治疗急性有机磷中毒的疗效及其对肝功能和外周血对氧磷酶1表达的影响[J]. 中国药师, 2019, 22(7): 1268-1271.
- [6] Melissa A, Marc M, Christophe C, et al. Ricin poisoning: A review on contamination source, diagnosis, treatment, prevention and reporting of ricin poisoning [J]. Toxicon, 2021, 195(2): 384-386.
- [7] 窦悦, 祝国莲, 孙晓旭. 连续性床旁血液滤过对急性有机磷农药中毒患者血清AST cTnI AMS及血清炎症因子水平的影响[J]. 河北医学, 2020, 26(11): 1796-1801.
- [8] Farooqui WA, Uddin M, Qadeer R, et al. Trajectories of vital status parameters and risk of mortality among acute organophosphorus poisoning patients - a latent class growth analysis [J]. BMC Public Health, 2020, 20(1): 359-361.
- [9] 柯伟光, 陈振荣, 潘有军, 等. 血液灌流联合阿托品治疗有机磷中毒呼吸衰竭疗效及对患者肾功能、中性粒细胞/淋巴细胞比值的影响[J]. 临床肾脏病杂志, 2020, 20(8): 675-679.
- [10] Gifford RM, Umesh C, Thomas L, et al. Short-term glucose dysregulation following acute poisoning with organophosphorus insecticides but not herbicides, carbamate or pyrethroid insecticides in South Asia [J]. Clin Toxicol (Phila), 2019, 57(4): 254-264.
- [11] 焦文明, 高永霞, 胡德亮. 早期血液灌流在急性百草枯中毒患者中的应用效果观察[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(12): 1732-1735.
- [12] 谢曼丽, 杜永锋, 杨晓燕, 等. 序贯血液净化治疗急性重症有机磷中毒及对缺血修饰白蛋白、心肌型脂肪酸结合蛋白的影响[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(2): 184-187.
- [13] Pang L, Liu J, Li W, et al. Serum ubiquitin C-terminal hydrolase L1 predicts cognitive impairment in patients with acute organophosphorus pesticide poisoning [J]. J Clin Lab Anal, 2019, 33(1): 22-29+47.
- [14] 周睿, 吴振华, 刘春, 等. 不同血液净化方式治疗急性有机磷农药中毒对患者ChE活性、肝肾功能及炎症反应的影响[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(16): 2340-2343.
- [15] Liu Y, Zhou X, Wang X, et al. c(RGDyK)-mediated Pluronic-PBCA nanoparticles through the blood-brain barrier to enhance the treatment of central organophosphorus intoxication [J]. J Nanopart Res, 2020, 22(11): 330-335.
- [16] Li Y, Qiu Z, Huang L, et al. Extracorporeal membrane oxygenation combined with sequential blood purification in the treatment of myocardial damage and cardiac arrest caused by mushroom poisoning [J]. Toxicon, 2021, 197(1): 254-259.

肺腺癌CT征象与Ki67、PNCA及p53蛋白的相关性

卢艳丽* 万宏燕 吴俊

[摘要] 目的 分析肺腺癌CT征象与Ki67、增殖细胞核抗原(PNCA)、p53蛋白的相关性。方法 选取2019年8月至2021年1月北京市隆福医院收治的187例肺腺癌患者临床资料,均在手术后病理证实为肺腺癌者,以患者癌组织作为观察组,取距离癌组织5 cm处癌旁组织作为对照组。比较不同组织中Ki67、PNCA、p53蛋白表达情况,分析肺腺癌CT征象,探讨肺腺癌CT征象与Ki67、PNCA、p53蛋白的相关性。结果 观察组中Ki67、PNCA、p53蛋白表达阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。187例患者CT图像可见:患者病灶多为实性结节,边界不清晰;同时可见胸膜凹陷征、毛刺征、空泡征、分叶征、胸腔积液。有分叶征、毛刺征患者Ki67表达阳性率明显高于无分叶征、毛刺征患者,差异有统计学意义($P<0.05$),不同胸膜凹陷征、肿瘤边界、结节类型、胸腔积液患者Ki67表达情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。有分叶征、胸膜凹陷征、空泡征患者PNCA表达阳性率明显高于无分叶征、胸膜凹陷征、空泡征患者,差异有统计学意义($P<0.05$),不同肿瘤边界、毛刺征、结节类型、胸腔积液患者PNCA表达情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。有毛刺征、肿瘤边界不清晰患者p53表达阳性率明显高于无毛刺征、肿瘤边界清晰患者,差异有统计学意义($P<0.05$),不同胸膜凹陷征、空泡征、结节类型、分叶征、胸腔积液患者p53表达情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 Ki67、PNCA、p53蛋白表达情况与肺腺癌CT征象存在一定相关性,对肺腺癌的早期诊断及预后评估有一定的参考价值。

[关键词] 肺腺癌; CT征象; Ki67; PNCA; p53蛋白

Correlation between CT signs of lung adenocarcinoma and Ki67, PNCA and p53 protein

LU Yanli*, WAN Hongyan, WU Jun

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

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between CT signs of lung adenocarcinoma and Ki67, proliferating cell nuclear antigen (PNCA) and p53 protein. **Methods** The clinical data of 187 patients with lung adenocarcinoma admitted to Beijing Longfu Hospital from August 2019 to January 2021 were selected, all patients were pathologically confirmed with lung adenocarcinoma after surgery, the cancer tissue of the patient was used as the observation group, and the no cancerous tissue 5 cm next to the cancer were selected as the control group. The protein expressions of Ki67, PNCA and p53 in different tissues were compared, and the CT signs of lung adenocarcinoma were analyzed to explore the correlation between the CT signs of lung adenocarcinoma and Ki67, PNCA and p53 proteins. **Results** The positive rates of Ki67, PNCA, and p53 protein expression in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). CT images of 187 patients were visible, the lesions were mostly solid nodules, with unclear borders; at the same time pleura depression sign, burr sign, vacuole sign, lobular sign, pleural effusion were visible; the positive rate of Ki67 expression in patients with lobular sign and burr sign was significantly higher than that in patients without lobular sign and burr sign, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in Ki67 expression among patients with different pleural indentation signs, tumor borders, nodule types, and pleural effusions ($P>0.05$). The positive rate of PNCA expression in patients with lobular sign, pleural depression,

基金项目:东城区卫生科技计划项目(编号: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:lfyyl@163.com

and vacuole sign was significantly higher than that in patients without lobular sign, pleural depression, and vacuole signs, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the expression of PNCA among patients with different tumor borders, burr signs, nodule types, and pleural effusion ($P > 0.05$). The positive rate of p53 expression in patients with burr sign and unclear tumor boundary was significantly higher than that in patients without burr sign, and the tumor boundary was clear, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the expression of p53 among patients with different pleural indentation sign, vacuole sign, nodule type, lobular sign, nodule type, and pleural effusion ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of Ki67, PNCA, and p53 protein are correlated with CT signs of lung adenocarcinoma, which has certain reference value for the early diagnosis and prognostic evaluation of lung adenocarcinoma.

[KEY WORDS] Lung adenocarcinoma; CT signs; Ki67; PNCA; p53 protein

肺癌根据其发病机制、临床病理不同可分为腺癌、鳞癌等多种类型。据相关数据显示,目前肺腺癌所占比例已超过肺鳞癌,成为肺癌的主要病理类型^[1]。CT检查可有效反映出患者肺部改变情况,其影像学征象有助于临床诊断,是临床早期筛查诊断肺腺癌的有效手段。目前关于肺腺癌的病理机制尚未明确,随着研究不断深入,有学者发现多生物学因子与肺腺癌的发生、发展间存在着密不可分的联系,认为肿瘤的生长与其增殖形态和影像学表现相关^[2]。Ki67蛋白属于肿瘤细胞增殖活性评估的重要参考指标,在癌变组织中恶性程度越高,Ki67蛋白的表达越强^[3]。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PNCA)也称为周期蛋白,其合成情况与细胞的周期有密切性关系,是肿瘤细胞增殖的重要指标^[4]。多数肿瘤患者中可见p53基因出现结构与表达的异常,p53基因突变后可导致细胞无限增长,同时可促使肿瘤细胞增生^[5]。本研究旨在分析Ki67、PNCA、p53蛋白与肺腺癌CT征象之间的关系,为临床诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年8月至2021年1月北京市隆福医院收治的187例肺腺癌患者临床资料,均在手术后病理证实为肺腺癌者,以患者癌组织作为观察组,取距离癌组织5 cm处癌旁组织作为对照组。其中男141例,女46例,平均年龄(55.16 ± 4.15)岁,病理分级:I级58例,II级89例,III级40例^[6]。纳入标准:①所有患者临床资料完整,术前均进行CT检查;②临床资料完整;③经术后病理检查证实为肺腺癌,符合《国际肺癌研究协会/美国胸科学会/欧洲呼吸学会肺腺癌的国际多学科分类》中相关

诊断标准^[6];④自愿加入本次研究,均签署知情同意书。排除标准:①入院前进行过分子靶点或放疗等;②合并其他部位肿瘤者;③非首次手术治疗者。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 Ki67、PNCA、p53蛋白检测

Ki67、PNCA、p53均使用免疫组化法进行检测,鼠抗人Ki-67抗原免疫组化单克隆抗体、鼠抗PNCA(PC10)单克隆抗体、鼠抗人p53蛋白免疫组化单克隆抗体均为福州迈新生物技术公司提供。实验中以空白实验替代阴性对照,以已知阳性切片作为阳性对照。

结果判读:Ki67:细胞核内有棕黄色颗粒为阳性;PNCA:细胞核呈清晰棕色为阳性;p53:细胞核内有棕黄色颗粒为阳性。高倍镜下($\times 400$)5个视野中的阳性细胞 $< 4\%$ 为0分、 $4\% \sim 24\%$ 为1分、 $> 24\% \sim 49\%$ 为2分、 $> 49\% \sim 74\%$ 为3分、 $\geq 75\%$ 为4分;染色强度:0分为无色、1分为淡黄色、棕黄色为2分、棕褐色为3分。根据两结果相加得分计算:积分低于3分为阴性,3分以上则为阳性,得分越高,阳性表达越高^[7]。

1.2.2 CT检查

检查仪器:采用西门子64排多层螺旋CT。扫描范围:选取相应的序列进行扫描,扫描范围胸锁关节到横膈。扫描参数:管电压为120 kV,扫描层厚为7 mm,层距7 mm,螺距为1.375:1,扫描视野为 $25 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$ 。行平扫和增强扫描,在平扫后使用双筒高压注射器(英国Mallinckrodt公司产品),以5 mL/s的流率经肘静脉团注入非离子型对比剂碘普胺注射液(优维显)50 mL,等渗盐水40 mL,延迟扫描时间为13~16 s二期或三期扫描。扫描完成后使用相关图像处理工作站,由2名专业医生进行诊断判断。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 28.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织中 Ki67、PNCA、p53 蛋白表达情况比较

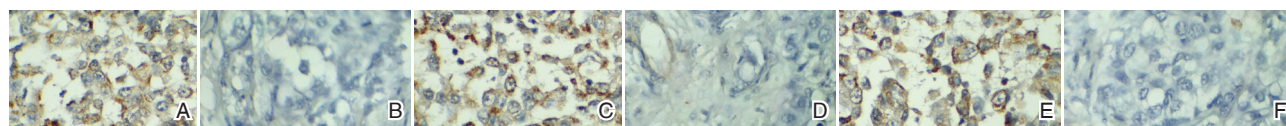
观察组中 Ki67、PNCA、p53 蛋白表达阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见

表1、图1。

表1 不同组织中 Ki67、PNCA、p53 蛋白表达情况比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of Ki67, PNCA, and p53 protein expression in different tissues [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	Ki67 阳性	PNCA 阳性	p53 阳性
对照组	187	11(5.88)	16(8.56)	13(6.95)
观察组	187	101(54.01)	109(58.29)	121(54.71)
χ^2 值		103.237	103.921	135.644
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001



注:A为Ki67阳性;B为Ki67阴性;C为p53蛋白阳性;D为p53蛋白阴性;E为PNCA阳性;F为PNCA阴性。

图1 Ki67、PNCA、p53 蛋白高倍镜下免疫组化图(SP,×400)

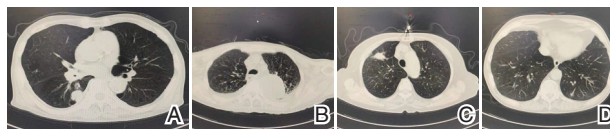
Figure 1 Ki67, PNCA, p53 protein under high magnification immunohistochemical map (SP,×400)

2.2 187例患者CT表现

患者典型CT图像可见:病灶多为实性结节,形态不规则,边界不清晰,同时可见胸膜凹陷征、毛刺征、空泡征、分叶征、胸腔积液。见图2。

2.3 不同CT征象中 Ki67 表达情况比较

有分叶征、毛刺征患者 Ki67 表达阳性率明显高于无分叶征、毛刺征患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。有分叶征、胸膜凹陷征、空泡征患者 PNCA 表达阳性率明显高于无分叶征、胸膜凹陷征、空泡征患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。有毛刺征、肿瘤边界不清晰患者 p53 表达阳性率明显



注:A为右肺下叶进展期肺癌CT图像可见分叶状、边缘毛刺征;B为左肺上叶肺癌CT图像可见双侧胸腔积液;C为右肺上叶前段进展期肺癌CT图像可见边缘分叶状、多发毛刺征、邻近胸膜牵拉征;D为左肺下叶进展期肺癌CT图像可见结节伴多发毛刺征。

图2 肺癌患者CT典型表现

Figure 2 typical CT findings of patients with lung cancer

高于无毛刺征、肿瘤边界清晰患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 不同CT征象中 Ki67 表达情况比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of Ki67 expression in different CT signs [$n(\%)$]

CT 征象		Ki67		χ^2 值	<i>P</i> 值	PNCA		χ^2 值	<i>P</i> 值	p53		χ^2 值	<i>P</i> 值
		阳性 (<i>n</i> =101)	阴性 (<i>n</i> =86)			阳性 (<i>n</i> =109)	阴性 (<i>n</i> =78)			阳性 (<i>n</i> =121)	阴性 (<i>n</i> =66)		
胸膜凹陷征	是	56(55.45)	50(58.14)	0.137	0.710	78(71.56)	28(35.90)	16.835	<0.001	68(56.20)	38(57.58)	0.033	0.855
	否	45(44.55)	36(41.86)			31(28.44)	50(64.10)			53(43.80)	28(42.42)		
肿瘤边界	清晰	40(39.60)	30(34.88)	0.441	0.506	37(33.94)	33(42.30)	1.357	0.243	32(26.45)	38(57.58)	17.669	0.001
	不清晰	61(60.40)	56(65.12)			72(66.06)	45(57.70)			89(73.55)	28(42.42)		
毛刺征	有	74(73.28)	25(29.07)	36.420	<0.001	58(53.21)	41(52.56)	0.007	0.930	74(61.16)	25(37.88)	9.288	0.002
	无	27(26.73)	61(70.93)			51(46.79)	37(47.44)			47(38.84)	41(62.12)		
空泡征	有	55(54.46)	48(55.81)	0.034	0.852	71(65.14)	32(41.03)	10.683	0.001	66(54.55)	37(56.06)	0.039	0.842
	无	46(45.54)	38(44.19)			38(34.86)	46(58.97)			55(45.45)	29(43.94)		
分叶征	有	68(67.33)	23(26.74)	30.621	<0.001	69(63.30)	22(28.20)	22.418	<0.001	56(46.28)	35(53.03)	0.778	0.377
	无	33(32.67)	63(73.26)			40(36.70)	56(71.80)			65(53.72)	31(46.97)		
结节类型	实性	64(63.37)	57(66.28)	0.172	0.677	74(67.89)	47(60.26)	1.160	0.281	82(67.77)	39(59.09)	1.408	0.235
	亚实性	37(36.63)	29(33.72)			35(32.11)	31(39.74)			39(32.23)	27(40.91)		
胸腔积液	有	53(52.48)	42(48.84)	0.246	0.619	51(46.79)	44(56.41)	1.683	0.194	63(52.07)	32(48.48)	0.219	0.639
	无	48(47.52)	44(51.16)			58(53.21)	34(43.89)			58(47.93)	34(51.52)		

3 讨论

肺癌分子水平的改变可通过临床、病理方面的一些指标反映出来,而能否通过宏观检测方法在术前了解其蛋白水平的变化是近几年人们研究的重点之一。肺癌的主要临床表现有咳嗽、咳痰、咯血等,由于其生长方式不同,所表现的CT征象也存在一定差异。在本研究中,CT检查中可见患者病灶多为实性结节,形态不规则,边界不清晰,同时可见胸膜凹陷征、毛刺征、空泡征、分叶征、胸腔积液。

Ki67是一种增殖细胞相关的核抗原,可反映出肿瘤的恶性程度以及侵袭力。研究显示,在肺腺癌患者中Ki67表达明显增加,且Ki67高表达者复发率也越高,总生存率则明显降低,预后情况不理想,因此,认为Ki67高表达者在手术治疗后仍需积极进行辅助治疗^[8]。也有研究显示,癌细胞的分化程度和其抗原抗体反应中Ki67抗原阳性的检出率为负相关^[9]。本研究结果发现,肺腺癌病理组织中Ki67阳性表达明显高于癌旁组织,且在有分叶征、毛刺征患者中为高表达,可能与Ki67高表达可促进细胞增殖有关。Ki67作为细胞周期调节的重要因子,表达高低与肺癌的发生、发展有密切联系,可为临床评估肿瘤细胞增长提供相关参考^[10]。

PNCA是DNA聚合酶的辅助蛋白,在细胞周期G1/S期中合成,在M期会降到最低水平,对DNA合成以及细胞增生有重要的调节作用^[11]。有研究发现,PNCA作为与细胞增殖相关的核内因子,其与肺癌分化程度密切相关,分化程度越低的肺癌其PNCA表达越高,提示PNCA可为肺癌恶性程度、分化程度评估提供参考^[12]。在本研究中,PNCA在癌组织中表达明显高于正常组织,且在有分叶征、胸膜凹陷征、空泡征患者PNCA表达明显升高,提示PNCA在肺癌发展过程中具有一定的促进作用,应加强对这一类患者的综合治疗,以便获得良好的手术治疗效果。

有研究发现,一旦p53基因发生突变,p53蛋白失活,细胞分裂失去节制,可导致癌变发生,人类癌症中约有一半是由于该基因发生突变失活导致,p53也是迄今发现与人类肿瘤相关性最高的基因^[13-14]。有研究认为p53基因的表达与肺癌之间存在密切的联系,p53基因突变后可促进癌细

胞增长,并影响细胞内蛋白降解,进而促进肿瘤发生转移^[15]。本研究中发现,与对照组相比,观察组中p53阳性表达明显上升,且有毛刺征、肿瘤边界不清晰患者中p53表达阳性率明显高于无毛刺征、肿瘤边界清晰者。毛刺征是由于肿瘤间质、血管向瘤外生长与肿瘤细胞向周围蔓延所致,此种现象表明肿瘤具有较强的浸润及转移能力,而存在毛刺征及肿瘤边界不清晰者中p53表达均明显增高,可能与p53可刺激癌细胞增长有关^[16]。

综上所述,Ki67、PNCA、p53蛋白表达情况与肺腺癌CT征象存在一定相关性,对肺腺癌的早期诊断及预后评估有一定的参考价值。

参考文献

- [1] 陈燕清,朱慧媛,杨洋,等.晚期肺腺癌CT分叶征和分叶程度与表皮生长因子受体基因突变的相关性研究[J].中华放射学杂志,2019,53(12):1096-1100.
- [2] 周吉航,续力云,陆畅畅,等.含微乳头结构肺腺癌CT重建征象特征及上皮间质转化相关基因表达[J].解剖学报,2019,50(1):66-74.
- [3] 牛聪,李向阳.老年肺腺癌患者肺癌组织Ki67表达与临床病理特征及预后的相关性研究[J].老年医学与保健,2019,25(4):480-483+495.
- [4] 刘春喜,姚丽,马莉.上皮性卵巢癌PET/CT标准摄取值与增殖细胞核抗原蛋白及预后的关系[J].中国计划生育学杂志,2019,27(2):41-45.
- [5] 黄程,吴正升,吴强.肺腺癌基因谱分析及p53,KRAS的表达及意义[J].临床与实验病理学杂志,2019,35(12):1387-1390+1394.
- [6] 钟文昭,董嵩,李磊,等.国际肺癌研究协会/美国胸科学会/欧洲呼吸学会肺腺癌的国际多学科分类[J].循证医学,2011,11(4):33.
- [7] 刘文静,沈晓宇,李琳琳,等.肺腺癌细胞表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂耐药相关上皮间质转化基因筛选及其调控通路分析[J].临床军医杂志,2019,47(2):176-179.
- [8] 安晓颖,李晓霞,陈宁,等.BAP1,Ki-67表达与老年肺腺癌患者肿瘤侵袭及预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):661-665.
- [9] 陈威,冯维忠,王刚.肺腺癌MSCT征象与EGFR突变,Ki-67表达水平的相关性研究[J].中国CT和MRI杂志,2020,18(7):49-51.
- [10] 张文超,李靖熙,关玉宝,等.多原发肺癌的CT表现与患者预后相关性研究[J].CT理论与应用研究,2019,28(1):29-38.
- [11] Tam K, Leung K, Siu G, et al. Direct detection of pyrazinamide resistance of Mycobacterium tuberculosis using pncA PCR Sequencing[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(8):151-154.

B族链球菌感染对妊娠期女性甲状腺功能及妊娠结局的影响

洪彩虹* 金娟 李务聪

[摘要] 目的 探讨B族链球菌(GBS)感染对妊娠期女性甲状腺功能及妊娠结局的影响。方法 选取黄山首康医院产科2017年1月至2022年1月妊娠合并GBS感染患者70例为观察组,另于同期选取正常妊娠孕妇34名为对照组。比较两组基线资料及甲状腺功能指标水平,分析GBS定植感染的危险因素,观察组两组母婴结局。结果 观察组促甲状腺激素(TSH)水平明显高于对照组,差异有统计学意义($t=6.787$, $P<0.05$)。TSH升高($OR=4.094$)、胎龄 ≤ 37 周($OR=4.200$)、有流产史($OR=9.443$)、有阴道炎既往史($OR=6.859$)为GBS定植感染发生的独立危险因素($P<0.05$)。观察组产妇及新生儿不良结局发生率均高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.719, 4.605$, $P<0.05$)。结论 GBS感染可引发甲状腺功能异常,影响妊娠结局,产科应针对危险因素,加强防控。

[关键词] 妊娠期;甲状腺功能;B族链球菌感染;妊娠结局

Effects of group B streptococcus infection on thyroid function and pregnancy outcome in pregnant women

HONG Caihong*, JIN Juan, LI Wucong

(Department of Obstetrics and Gynecology, Huangshan Shoukang Hospital, Huangshan, Anhui, China, 245000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of group B streptococcus (GBS) infection on thyroid function and pregnancy outcome in pregnant women. **Methods** 70 pregnant women with GBS infection in Huangshan Shoukang Hospital from January 2017 to January 2022 were selected as the observation group, and 34 normal pregnant women were selected as the control group during the same period. The baseline data and the levels of thyroid function indicators between the two groups were compared, the risk factors of GBS colonization infection were analyzed, and the maternal and infant outcomes of the two groups were observed. **Results** The level of thyroid stimulating hormone (TSH) in the observation group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($t=6.787$, $P<0.05$). TSH elevation ($OR=4.094$), gestational age ≤ 37 weeks ($OR=4.200$), history of abortion ($OR=9.443$), and history of vaginitis ($OR=6.859$) were independent risk factors for GBS colonization infection ($P<0.05$). The incidence of maternal and neonatal adverse outcomes in the observation group was higher than that in the control group, the difference was statistically significant ($\chi^2=4.719, 4.605$, $P<0.05$). **Conclusion** GBS infection can cause thyroid dysfunction and affect pregnancy outcome. Obstetrics should focus on risk factors and strengthen prevention and control.

[KEY WORDS] Pregnancy; Thyroid function; Group B streptococcus infection; Pregnancy outcomes

B族链球菌(Group B Streptococcus, GBS)感染可增加胎膜感染、创伤感染及产褥感染等疾病发生风险^[1]。近些年诸多研究^[2-4]报道,对于围产

期产妇与新生儿,GBS是诱发感染的主要致病菌。妊娠晚期发生GBS感染,会使得产妇剖宫产、产褥感染以及新生儿感染发生率明显升高,可对

基金:安徽省自然科学基金(1808085MH282)

作者单位:安徽省黄山市黄山首康医院妇产科,安徽,黄山 245000

*通信作者:洪彩虹, E-mail: hch139559879282022@163.com

产妇及新生儿健康及生命安全产生严重威胁。分析GBS感染对妊娠结局的影响并探讨感染危险因素,有益于临床预防、治疗进行科学决策,改善母婴结局。有研究^[5]表明,早产等常见不良妊娠结局发生与孕妇甲状腺功能存在紧密关联。然而,鲜有研究探讨GBS感染与妊娠期女性甲状腺功能的的关系。本研究选取孕妇104例,分析是否GBS感染甲状腺功能水平差异,并探讨GBS感染的危险因素,及对妊娠结局的影响。现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取黄山首康医院产科2017年1月至2022年1月妊娠合并GBS感染患者70例为观察组,平均年龄(30.72 ± 4.23)岁。另于同期选取正常妊娠孕妇34名为对照组,平均年龄(30.28 ± 3.91)岁。纳入标准:①均为妊娠晚期,孕周34~39周;②均为宫内妊娠;③均为单胎妊娠;④入组前均无性生活;⑤均无生殖道畸形;⑥观察组孕妇符合GBS感染相关诊断标准^[6]。排除标准:①入组前3个月内接受过抗生素治疗;②伴泌尿系统感染;③高危妊娠孕妇;④伴有产科并发症;⑤合并肝肾等脏器严重功能不全。入组对象均签署知情同意书。本研究经医院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 GBS培养鉴定

清洁纳入对象外阴,无菌棉拭子置入阴道下1/3处,旋转1周采取分泌物。置于T-H肉汤(英国OXOID公司生产)管中培养24 h,再接种至5.0%绵羊血哥伦比亚血平皿(中国安图公司),于35℃、10.0%CO₂培养箱中孵育24 h。观察菌落特点,挑选颜色灰白、大小适中、表面光滑、半透明有乳光的菌落,通过触酶试验、CAMP试验进行鉴定,触酶结果阴性、CAMP结果阳性,可判定为GBS^[7]。质控菌株购自北京中科质检生物技术有限公司,金黄色葡萄球菌(ATCC25923)。

1.2.2 甲状腺功能指标水平测定

两组对象分别于体检当天、入院次日,抽取清晨空腹静脉血5 mL,3 000 r/min,离心半径13.5 cm,离心15 min,留取上清液,置于冰箱(-30℃)待测。采用酶联免疫吸附试验测定血清促甲状腺激素(thyrotropin-releasing hormone, TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT3)、游离甲

状腺素(Free Thyroxine, FT4)水平。试剂盒购自江苏拜明生物技术有限公司,检测过程严格按照试剂盒说明书实施操作。

1.2.3 GBS定植相关因素分析

收集纳入对象基线资料,涵盖年龄、文化程度、胎龄、流产史、是否经产、既往阴道炎、妊娠期糖尿病、妊娠期高血压等,记录两组对象实验室检测资料。采取单因素及多因素Logistic回归模型分析妊娠晚期GBS定植感染的危险因素。

1.2.4 妊娠结局

观察、记录两组对象早产、胎膜早破、宫内感染、剖宫产、产褥感染、产后出血等产妇不良结局,以及宫内窘迫、肺炎、窒息、病理性黄疸等新生儿不良结局。比较两组对象母婴结局情况的差异。

1.3 统计学方法

应用SPSS 22.0行统计分析。符合正态分布的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验;计数资料 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析GBS定植感染的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较

两组文化程度、胎龄、流产史、阴道炎既往史比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组基线资料比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of baseline data between the two groups [$n(\%)$]

项目		观察组 ($n=70$)	对照组 ($n=34$)	χ^2 值	P 值
年龄/岁	≤ 35	48(68.57)	25(73.53)	0.269	0.604
	> 35	22(31.43)	9(26.47)		
文化程度	初中及以下	33(47.14)	7(32.35)	2.907	0.004
	高中或中专	19(27.14)	11(32.35)		
	大专	15(21.43)	10(29.41)		
	本科及以上	3(4.29)	6(17.65)		
胎龄/周	≤ 37	46(65.71)	11(32.35)	10.283	0.001
	> 37	24(41.43)	23(67.65)		
流产史	有	29(41.43)	3(9.18)	11.421	0.001
	无	41(58.57)	31(91.18)		
分娩史	初产妇	32(45.71)	19(55.88)	0.947	0.331
	经产妇	38(54.29)	15(44.12)		
阴道炎既往史	有	26(37.14)	3(8.82)	9.127	0.003
	无	44(62.86)	31(91.18)		
妊娠期糖尿病	有	43(61.43)	16(47.06)	1.925	0.165
	无	27(38.57)	18(52.94)		
妊娠期高血压	有	36(51.43)	16(47.06)	0.175	0.676
	无	34(48.57)	18(52.94)		

2.2 两组甲状腺功能指标水平比较

两组 FT3、FT4 比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);观察组 TSH 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组甲状腺功能指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of thyroid function indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TSH(mIU/L)	FT3(pmol/L)	FT4(pmol/L)
观察组	70	3.76±0.91	3.52±0.42	14.24±1.52
对照组	34	2.72±0.63	3.65±0.51	14.57±1.75
<i>t</i> 值		6.787	1.379	0.988
<i>P</i> 值		0.000	0.171	0.326

2.3 影响 GBS 定植感染的多因素分析

以是否 GBS 感染为因变量,将单因素分析中有统计学意义的项目指标作为自变量纳入多元 Logistic 回归模型,结果显示:TSH 升高($OR=4.094$)、胎龄 ≤ 37 周($OR=4.200$)、有流产史($OR=9.443$)、有阴道炎既往史($OR=6.859$)为 GBS 定植感染发生的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 影响 GBS 定植的多因素 Logistic 回归分析结果

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis results of GBS colonization

影响因素	β 值	<i>S.E</i> 值	Wald χ^2 值	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)值	<i>P</i> 值
TSH 升高	1.410	0.429	10.801	4.094(1.766~9.489)	0.001
文化程度 (初中及以下)	1.572	1.213	1.679	4.816(0.447~51.901)	0.195
文化程度 (高中或中专)	1.228	1.209	1.031	3.415(0.319~36.525)	0.310
文化程度 (本科及以上)	1.164	1.239	0.884	3.204(0.283~36.317)	0.347
胎龄 ≤ 37 周	1.435	0.635	5.106	4.200(1.210~14.584)	0.024
有流产史	2.245	0.826	7.390	9.443(1.871~47.661)	0.007
有阴道炎既往史	1.926	0.794	5.889	6.859(1.448~32.489)	0.015

2.4 两组母婴结局比较

观察组产妇不良结局发生率、新生儿不良结局发生率均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

GBS^[8]是一种革兰阳性菌,也是围产期孕产妇发生生殖道感染的主要病原菌。GBS 实际上是一种条件致病菌,正常健康人群在感染 GBS 后,并不会诱发各类疾病,但是,对于孕妇,发生 GBS 感染后,分娩过程中有可能会传染给新生儿,致使新生儿发生早期侵入性感染,甚者可出现死亡状况^[9]。

表 4 两组母婴结局比较 [$n(\%)$]

Table 4 Comparison of maternal and infant outcomes between the two groups [$n(\%)$]

项目	观察组 (<i>n</i> =70)	对照组 (<i>n</i> =34)	χ^2 值	<i>P</i> 值
产妇不良结局发生	22(31.43)	4(11.76)	4.719	0.030
早产	2(2.86)	0(0.00)		
胎膜早破	4(5.71)	2(5.88)		
宫内感染	1(1.43)	0(0.00)		
剖宫产	3(4.29)	1(2.94)		
产褥感染	3(4.29)	0(0.00)		
产后出血	9(12.86)	1(2.94)		
新生儿不良结局	19(27.14)	3(8.82)	4.605	0.032
宫内窘迫	3(4.29)	0(0.00)		
肺炎	3(4.29)	0(0.00)		
窒息	8(11.43)	2(5.88)		
病理性黄疸	5(7.14)	1(2.94)		

现阶段,临床中妊娠晚期生殖道 GBS 感染发病率较高,会对母婴结局造成严重不良影响^[10]。本研究显示,观察组产妇不良结局发生率 31.43%、新生儿不良结局发生率 27.14%均明显高于对照组的 11.76%、8.82%,提示妊娠晚期发生 GBS 感染患者母婴结局相对较差,临床应重视妊娠晚期 GBS 感染监测,早期筛查并及时给予抗感染治疗,并且可分析 GBS 定植感染发生的危险因素,有的放矢地加以预防干预,从而改善妊娠结局。

妊娠晚期,孕妇免疫力水平明显降低,生殖道相对更容易滋生细菌,发生 GBS 感染,致妊娠受到严重影响而形成不良结局^[11]。妊娠晚期机体感染 GBS 后,GBS 可吸附于绒毛膜,促进前列腺素、炎性因子等大量分泌、释放,会对吞噬细胞产生刺激作用,加速吞噬病原菌,胎膜炎症性损伤因此加重,胎膜张力也随之降低,此种情况下,非常容易导致胎膜早破和早产状况发生,与此同时,也会增加剖宫产几率^[12]。既往研究^[13]表明,孕妇 GBS 感染与新生儿 GBS 感染直接相关,可经生殖道传染给新生儿,促使新生儿不良结局发生,GBS 是诱发新生儿感染的主要病原菌之一。临床可针对 GBS 感染进行早期筛查,给予青霉素、头孢唑林等抗感染治疗,从而降低不良妊娠结局发生率。

本研究比较两组甲状腺功能水平发现,两组 FT3、FT4 无明显差异,而观察组 TSH 水平较对照组更高。此外,进一步分析 GBS 定植感染的影响因素发现,TSH 升高、胎龄 ≤ 37 周、有流产史、有阴道炎既往史为 GBS 定植感染发生的独立危险因素。有研究^[14]表明,妊娠合并亚临床甲减约占妊

娠期合并症 5.0%,若未及时给予有效干预,易发生胎儿窘迫、早产、产后出血等不良妊娠结局。妊娠合并亚临床甲减患者较正常妊娠者,FT3、FT4 水平较一致,而 TSH 水平明显升高。然而对于妊娠晚期孕妇,免疫力水平下降,同时,甲状腺功能出现异常,甲状腺激素水平失调,致内分泌代谢紊乱,进一步使免疫功能降低,生殖道发生 GBS 感染风险明显增加,因此,甲状腺功能异常(TSH 明显升高)为 GBS 定植感染发生的危险因素^[15]。GBS 感染后,又可致内分泌代谢紊乱加剧且持续,促进甲状腺激素水平失调,TSH 水平显著增加,所以,GBS 感染孕妇 TSH 水平明显高于正常妊娠者。胎龄相对较小,各器官发育相对而言更不完善,免疫功能缺陷越明显,从母体获得的 GBS 荚膜多糖抗体不充足,所以,更容易遭受 GBS 入侵发生感染。有流产史或者阴道炎既往史孕妇生殖道存在损伤,菌群紊乱可使 GBS 逆行感染风险明显增加。

综上,妊娠晚期 GBS 感染发生率较高,可致不良妊娠结局发生。TSH 升高、胎龄低、既往流产史、阴道炎为 GBS 定植感染的危险因素,产科可监测 TSH 变化进行预测,并针对性加以防控。

参考文献

- [1] Wang CH, Kung WJ, Lee CH, et al. High rates of colonization and antimicrobial resistance of group B streptococcus highlight the need for vaccination even after implementation of guidelines for intrapartum antibiotic prophylaxis [J]. *Vaccine*, 2022, 40(2):282-287.
- [2] 徐亿力,高雪梅,王瀚,等.妊娠晚期生殖道 GBS 感染影响因素及其妊娠结局[J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(12):1911-1915.
- [3] Aronoff DM, Blaser MJ. Disturbing the neonatal microbiome is a small price to pay for preventing early-onset neonatal group B streptococcus disease: AGAINST: Against relying on antibiotics to prevent early-onset neonatal group B streptococcus disease [J]. *Bjog*, 2020, 127(2):229.
- [4] 王佳丽,彭文红,徐敬轩. PSP、IL-10、CCL-17 在新生儿早发型 GBS 败血症中的水平变化及临床意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(10):1583-1586.
- [5] 蒋晓辉. 妊娠 8~20 周孕妇甲状腺功能异常合并 TPOAb 阳性情况及对妊娠结局影响[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(3):306-308.
- [6] Verani JR, McGee L, Schrag SJ, et al. Prevention of perinatal group B streptococcal disease-revised guidelines from CDC, 2010 [J]. *MMWR Recomm Rep*, 2010, 59(RR-10):1-36.
- [7] 解安霞,李惠琴,刘占梅. 452 例妊娠晚期孕妇 B 族链球菌感染及妊娠结局调查和定植高危因素分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(8):967-970.
- [8] 董卫国,王文工,卫明. 妊娠晚期孕妇 GBS 感染与凝血功能、阴道清洁度及母婴结局[J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(1):185-188+192.
- [9] 黄莲芬,陈光炼,高坎坎,等. 基于基质辅助激光解析电离飞行时间质谱的 B 组链球菌血清型预测模型验证[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2021, 27(2):134-141.
- [10] 张甜,杨春,纪春花,等. 孕妇 B 族链球菌感染调查及其对生殖道微生物水平与妊娠结局的影响[J]. *中国病原生物学杂志*, 2019, 14(8):959-961.
- [11] 黄亚军,张艳彬,赵艳丽,等. 孕晚期血清炎症细胞因子和 B 族链球菌感染与绒毛膜羊膜炎和围生儿感染的相关性[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(14):3183-3186.
- [12] 林新祝,吴佳音,祝垚,等. 孕晚期阴道定植 B 族链球菌的血清型特点及其与新生儿早发型感染的相关性[J]. *中华围产医学杂志*, 2020, 23(4):232-238.
- [13] 罗丽,管静,何忠玲,等. 454 例妊娠期妇女 B 族链球菌定植状况对妊娠结局的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2020, 45(12):1805-1808.
- [14] 林文静,温高静,黄志琼,等. 妊娠晚期 B 族链球菌感染孕妇血清细胞因子水平、相关危险因素及妊娠结局分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2020, 28(9):1482-1485.
- [15] 陈小丽,吴佳音,陈玲,等. 妊娠晚期孕妇无乳链球菌定植的相关因素分析[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(1):45-47.
- [12] Cantalapiedra-Hijar G, Fouillet H, Chantelauze C, et al. The isotopic nitrogen turnover rate as a proxy to evaluate in the long-term the protein turnover in growing ruminants [J]. *J Agric Sci*, 2019, 157(10):701-710.
- [13] 李卿明,张胜亮,徐庭华,等. STEAP1 对乳腺癌细胞增殖、侵袭迁移及 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(21):2628-2634.
- [14] 赵振山,李海洋,赵振兴,等. p53 调控信号转导子和转录激活子 3 对肺癌细胞增殖及凋亡的影响[J]. *武警医学*, 2019, 15(5):402-405.
- [15] 李会颖,谢宇,林永娟,等. 肺腺癌软脑膜转移患者的脑脊液和血液中不同的基因突变谱:基于循环肿瘤 DNA 的液体活检[J]. *中国肺癌杂志*, 2020, 23(8):646-654.
- [16] 张冉,石长林,苟小军,等. miR-302c 靶向 CREB1 基因通过 P53 信号通路影响肺癌的侵袭和迁移[J]. *中国肿瘤临床*, 2021, 48(13):649-655.

(上接第 1593 页)

脑脊液 HBP 和外周血 PCT、hs-CRP 在小儿化脓性脑膜炎中的诊断价值

世淑兰 李小娟 麻明彪 周百灵 杜廷义*

[摘要] **目的** 探讨脑脊液(CSF)肝素结合蛋白(HBP)和外周血降钙素原(PCT)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)在小儿化脓性脑膜炎(PM)诊断中的应用价值。**方法** 收集2019年2月至2020年2月于昆明市儿童医院住院的中枢感染患儿60例,根据感染的病原体类型分为化脓性脑膜炎(PM)组($n=30$)(其中CSF培养阳性6例,分别为大肠埃希菌3例,肺炎链球菌2例,产单核李斯特菌1例),病毒性脑炎(VM)组($n=30$),选择30例同期经检查证实无中枢神经系统损伤患儿作为对照组,测定并分析三组患儿CSF中HBP和外周血PCT、hs-CRP水平,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标单一和联合鉴别PM和VM的诊断效能,并计算ROC下面积(AUC)。**结果** PM组CSF中HBP、外周血PCT及hs-CRP水平显著高于VM组及对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);PM组CSF培养阳性各菌株三个检测指标水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。CSF中HBP及外周血PCT、hs-CRP、HBP+PCT+hs-CRP的AUC分别为0.950、0.877、0.864、0.959。当HBP、PCT、hs-CRP cutoff值分别为5.93 ng/mL、0.62 ng/mL、6.70 mg/L时,敏感度分别为91.30%、73.90%、78.30%;特异度分别为98.30%、91.40%、75.90%;阳性预测值分别为95.00%、77.10%、58.12%;阴性预测值分别为97.01%、91.02%、88.05%。**结论** CSF中HBP是一种在PM与VM鉴别诊断中具有较高价值的指标,联合外周血PCT及hs-CRP能提高对PM的诊断价值。

[关键词] 肝素结合蛋白;降钙素原;超敏C反应蛋白;脑脊液;化脓性脑膜炎;儿童

The application value of HBP in cerebrospinal fluid, PCT and hs-CRP in peripheral blood for diagnosis of purulent meningitis in children

SHI Shulan, LI Xiaojuan, MA Mingbiao, ZHOU Bailing, DU Tingyi*

(Yunnan Children's Medical Center, Clinical Laboratory of Kunming children's Hospital, Kunming, Yunnan, China, 650228)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value of cerebrospinal fluid (CSF) heparin-binding protein (HBP), procalcitonin (PCT) and High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in peripheral blood (PB) for purulent meningitis (PM) in children. **Methods** A total of 60 children defined diagnosis as Central nervous infection in Kunming Children's Hospital from February 2019 to February 2020 were collected. According to the type of pathogen infected, they were divided into the purulent meningitis (PM) group ($n=30$), Among them, 6 cases were positive for CSF culture, including 3 cases of Escherichia coli, 2 cases of Streptococcus pneumoniae and 1 case of Listeria monocytogenes. and viral meningitis (VM) group ($n=30$), 30 children who with no central nervous system injury confirmed by examination in the same period were selected as the control group, measure and analyze the levels of HBP in CSF, PCT and hs-CRP in Peripheral blood. the receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic efficacy

基金项目:云南省教育厅科学研究项目(2020J0229);昆明市卫生健康委员会卫生科研项目(2019-06-01-014);昆明市科技计划项目(2019-S-25318000001171);昆明市卫生科技人才培养项目(2020-SW-118)

作者单位:云南省儿童医学中心,昆明市儿童医院检验科,云南,昆明 650228

通讯作者:杜廷义, E-mail: timkally@163.com

注:世淑兰, 李小娟同为第一作者

of each index single and combined to distinguish PM and VM, and the area under ROC (AUC) was calculated. **Results** The level of HBP in CSF and PCT, hs-CRP in Peripheral blood of PM group were significantly higher than those of VM group and control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); There was no significant difference among the three indexes of CSF culture positive strains in PM group ($P > 0.05$). The AUC of HBP in CSF and PCT, hs-CRP in peripheral blood, HBP+PCT+hs-CRP in CSF are 0.950, 0.877, 0.864, 0.959 respectively. When the cutoff values of HBP, PCT, hs-CRP are 5.93 ng/mL, 0.62 ng/mL, 6.70 mg/L, respectively, the sensitivity is 91.30%, 73.90%, 78.30%; the specificity is 98.30%, 91.40%, 75.90%, respectively; positive predictive values are 95.00%, 77.10%, 58.12%; negative predictive values are 97.01%, 91.02%, 88.05%. **Conclusion** HBP in CSF is an indicator of high value in the differential diagnosis of PM and VM. The combination of PCT and hs-CRP in peripheral blood can improve the diagnostic value of PM.

[**KEY WORDS**] Heparin-binding protein; Procalcitonin; High-sensitivity C-reactive protein; Cerebrospinal fluid; Purulent meningitis; Children

化脓性脑膜炎(Purulent Meningitis, PM)是婴幼儿期严重的中枢神经系统感染性疾病之一,由于PM与病毒性脑炎(Viral Meningitis, VM)早期临床表现极其相似,传统的实验室指标在疾病的早期或使用抗生素后变化不典型,导致临床对PM与VM的诊断及鉴别诊断带来较大困难^[1]。肝素结合蛋白(heparin-binding protein, HBP)近年来被认为是一种鉴别细菌感染和非细菌感染的生物标志物^[2]。Linder等^[3]报道PM组脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中HBP水平显著高于VM组,具有较高特异度和敏感度。降钙素原(procalcitonin PCT)和超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein hs-CRP)是临床常用细菌感染性疾病标志物,在细菌性脑膜炎中两者含量水平会增高^[4]。但CSF中HBP联合外周血PCT及hs-CRP在儿童BM及VM的鉴别诊断中的价值报道的较少,本研究探讨其对PM与VM的鉴别诊断价值,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2019年2月至2020年2月昆明市儿童医院收治的60例中枢神经系统感染患儿为研究对象,纳入标准:①均符合诸福堂第8版^[5]及2016版《欧洲临床微生物和感染病学学会急性细菌性脑膜炎诊治指南》^[6]诊断标准,对照组选择参照杜开先等^[7]发表于中华实用儿科临床杂志相关标准;②年龄<18岁;③入组前未使用过相关治疗。排除标准:①结核性脑膜炎、真菌或寄生虫引起的脑炎患儿;②合并肿瘤或免疫功能异常及其他脏器功能受损的患儿;③其他部位感染者;④住院期间未进

行腰椎穿刺或临床资料不全者。根据感染的病原体类型分为化脓性脑膜炎(PM)组($n=30$)(其中CSF培养阳性6例,分别为大肠埃希菌3例,肺炎链球菌2例,产单核李斯特菌1例),病毒性脑炎(VM)组($n=30$)。PM组男15例,女15例,年龄15天~3岁,平均 (1.05 ± 0.85) 岁;VM组男17例,女13例,年龄26天~3.2岁;平均 (1.22 ± 0.88) 岁。选择30例同期经检查证实无中枢神经系统损伤患儿作为对照组^[7],对照组男15例,女15例,年龄1月~3岁,平均 (1.33 ± 0.92) 岁。三组患儿性别、年龄之间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准,患儿监护人知情并签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与处理

所有研究对象的CSF及外周血标本均在患儿入院4 h内由临床医生、护士采集后及时送检(使用抗生素治疗前完成采集),进行CSF培养、CSF常规、生化检测和外周血PCT及hs-CRP检测。剩余的CSF离心($3\ 500\ \text{r/min}$,离心5 min)取上清液,于 -80°C 保存,集中检测HBP。

1.2.2 主要试剂、仪器

HBP乳胶免疫比浊法试剂盒(杭州中翰盛泰技术有限公司,20182400180);PCT(杭州中翰盛泰技术有限公司,20152401106);hs-CRP(巴迪泰(广西)生物科技有限公司,20182402142),全自动干式免疫荧光分析仪(杭州中翰盛泰医疗器械有限公司,型号:Jet-iStar3000;半自动免疫荧光分析仪(杭州中翰盛泰医疗器械有限公司,型号:iCHROMA Reade);全自动干式荧光免疫分析仪(巴迪泰(广西)生物科技有限公司,型号:A5000)。

1.2.3 检测方法

采用胶乳免疫比浊法及全自动免疫荧光分析仪测定CSF中HBP表达,采用免疫荧光干式定量法及半自动免疫荧光分析仪测定外周血中PCT表达,采用免疫荧光干式定量法及全自动干式荧光免疫分析仪测定外周血hs-CRP表达。所有步骤严格按照试剂说明书进行操作。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料经正态性检验,符合正态性分布的数据以($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较用Kruskal-Wallis H或方差分析检验,组间两两比较,符合正态分布的用t检验,不符合正态分布的用MannWhitney U; HBP、PCT、hs-CRP对PM的诊断效能采用受试者工作特征曲线(Receiver operating characteristic, ROC)和ROC下面积(Area under the curve, AUC)分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组患儿脑脊液HBP、外周PCT及hs-CRP表达水平比较

PM组CSF中HBP及外周血中PCT、hs-CRP水平高于VM组及对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。VM组外周血中PCT高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。VM组CSF中HBP水平及外周血hs-CRP与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。PM组经CSF培养阳性菌株6株,各菌株之间脑脊液HBP、外周PCT及hs-CRP表达水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表1 三组患儿CSF中HBP及外周血PCT、hs-CRP结果比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the results of HBP in CSF and PCT and hs-CRP in peripheral blood among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HBP (ng/mL)	PCT (ng/mL)	hs-CRP (mg/L)
PM组	30	131.68±109.31 ^{ab}	15.69±8.17 ^{ab}	70.22±40.74 ^{ab}
VM组	30	6.54±3.65 ^c	1.13±0.77 ^{bc}	18.78±9.17 ^c
对照组	30	5.74±0.54 ^c	0.27±0.07 ^{ac}	2.89±2.64 ^c
F值		65.54	42.02	28.44
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与VM组比较,^a $P < 0.05$;与对照组比较,^b $P < 0.05$;与PM组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 各指标单一及联合鉴别PM与VM的价值

HBP、PCT和hs-CRP三者联合诊断PM与VM

表2 PM组CSF培养阳性各菌株间CSF中HBP、外周血PCT及hs-CRP表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of expression levels of HBP in cerebrospinal fluid, PCT and hs-CRP in peripheral blood among CSF positive strains in PM group ($\bar{x} \pm s$)

CSF培养阳性菌株	n	HBP (ng/mL)	hs-CRP (mg/L)	PCT (ng/mL)
大肠埃希菌	3	300.33±0.58	141.29±101.69	9.59±5.34
肺炎链球菌	2	182.28±166.48	113.33±122.58	58.45±58.76
李斯特菌	1	300.00±0.00	45.86±0.00	28.96±0.00
Z值		-0.71	-0.47	-1.34
P值		0.480	0.640	0.180

的AUC为0.959,大于单一指标检测的AUC($P < 0.05$)。见表3、图1。

表3 三个指标诊断PM的AUC的结果比较及95%的可信区间

Table 3 Comparison of the results of the AUC diagnosis and the 95% confidence interval of PM in three indicators

指标	AUC	95% CI	与HBP比较的Z(P)值
HBP	0.950	0.000~1.000	
PCT	0.877	0.790~0.970	1.924(0.050)
hs-CRP	0.864	0.780~0.950	1.600(0.110)
HBP+PCT+hs-CRP	0.959	0.921~0.997	0.317(0.750)

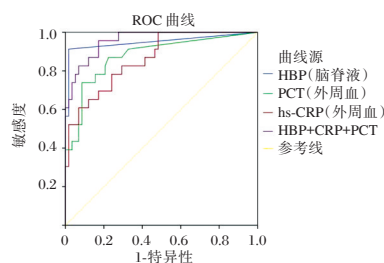


图1 ROC曲线图

Figure 1 The ROC curve

2.3 各指标的诊断PM的效能评价

根据约登指数为最大值的原则确定3个指标最佳cutoff值,CSF中HBP及外周血PCT、hs-CRP分别为5.93 ng/mL、0.62 ng/mL、6.70 mg/L时,各指标cutoff值所对应的敏感度和特异度,阳性预测值及阴性预测值见表4。

表4 ROC分析结果

Table 4 Results of ROC analysis

指标	cut-off 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
HBP (ng/mL)	≥5.93	91.30	98.30	95.00	97.01
PCT (ng/mL)	≥0.62	73.90	91.40	77.10	91.02
hs-CRP (mg/L)	≥6.70	78.30	75.90	58.12	88.05

3 讨论

PM是婴幼儿期常见的中枢感染性疾病之一,起病急、病情凶险,严重者导致死亡,幸存者易留下严重后遗症,故早期准确鉴别并及时给予有效的治疗是降低该病死亡率及致残率的关键^[8-9]。由于小儿PM缺乏典型的症状,易耽误最佳的治疗时机,因此,寻找早期快速、特异的诊断指标非常重要。

HBP是一种由人体成熟中性粒细胞分泌的蛋白质,正常情况下人体血液及体液中含量很低,当细菌感染时,菌体组织或其释放的毒素诱导血管渗漏和趋化以及活化单核细胞,引起水肿和炎症,导致血液及体液中的HBP水平升高^[3,10]。有研究表明,HBP在急性细菌性脑膜炎患者中呈高表达^[11]。本研究显示,PM组CSF中HBP水平显著高于VM组及对照组,可能是由于细菌性脑膜炎时,CSF中细菌释放的毒素及菌体刺激中性粒细胞释放出HBP,导致PM组CSF中HBP含量增加^[3,10]。且在CSF培养阳性标本的HBP明显升高,可能是CSF培养阳性的标本中细菌的数量较多,对中性粒细胞刺激作用更强,导致中性粒细胞释放的HBP增加更明显。Kandil等^[2]指出,HBP在成人细菌性脑膜炎中呈高表达,且与患者病情的严重程度及预后有关。有关研究显示,HBP在革兰阴性细菌感染引起的急性细菌性脑膜炎患者CSF中表达高于革兰阳性细菌感染者,PM患者CSF中的HBP水平高于VM患者,提示HBP具有较高的病原体类别鉴别价值^[11-12]。本研究结果与以上研究结果基本一致,证实了CSF中HBP对鉴别PM与VM的诊断价值。因此,HBP呈高表达的患者,临床应给予高度重视,及时正确治疗,以改善预后。在鉴别诊断效能上,Kandil等^[2]研究表明,CSF及血浆中的HBP诊断细菌性颅内感染AUC为1.0,当CSF和血清中HBP的cutoff值分别为56.7 ng/mL和45.3 ng/mL时对成人细菌性脑膜炎诊断灵敏度、特异度均为100%。而本研究结果显示,CSF中HBP鉴别PM及VM的AUC为0.95,当cutoff值为5.93 ng/mL时敏感度、特异度分别为91.3%、98.3%。此研究结果高于陈若虹等^[12]报道的结果,但略低于Kandil等^[2]的研究结果,可能与选择的研究人群不同有关。

PCT是由甲状腺素C细胞分泌的蛋白质,正常情况下人体血液中含有量很低,当机体发生细菌

感染时,人体血清中PCT水平会明显的升高^[13]。有研究证实,PCT是鉴别细菌感染和非细菌性感染性疾病重要指标^[4,12,14]。PCT在细菌性中枢感染患者CSF中表达高于非细菌性感染者,提示PCT与细菌性中枢感染疾病有关^[15]。本研究发现,PM组外周血PCT水平高于VM组及对照组,但对PM的诊断效能低于HBP,与相关文献^[1,12,16]报道的一致。hs-CRP由肝脏合成,属于急性时相反应蛋白,当机体产生炎症反应或受损后会升高。有关研究表明,PCT联合hs-CRP新生儿细菌性脑膜炎中会明显升高^[17]。但hs-CRP是一种炎症和组织损伤的非特异性敏感标志物,在心血管疾病及慢性阻塞性肺疾病也会升高^[17-18]。本研究发现,有近1/3的VM患儿外周血hs-CRP升高,单独诊断PM敏感度为78.5%、特异度为75.9%,而阳性预测值仅为58%。因此,不推荐单独使用hs-CRP对PM进行诊断。

综上所述,CSF中HBP在鉴别PM和VM中的诊断价值优于外周血PCT、hs-CRP,三者联合使用能提高对PM与VM的鉴别诊断价值。HBP具有操作简单、耗时短(仅需18 min)、敏感度及特异度高等优势,值得推广。

参考文献

- [1] 汪涛,刘波,邓向海,等.血清PCT在小儿细菌性和病毒性脑膜炎鉴别诊断中的应用[J].中国妇幼健康研究,2017,28(9):1090-1092.
- [2] Kandil M, Khalil G, El-Attar E, et al. Accuracy of Heparin binding protein: as a new marker in prediction of acute bacterial meningitis[J]. Braz Microbiol, 2018, 49 (11): 213-219.
- [3] Linder A, Arnold R, Body JH, et al. Heparin-binding protein measurement improves the prediction of severe infection with organ dysfunction in the emergency department[J]. Crit Care Med, 2015, 43(11):2378-2386.
- [4] 陈静波. C-反应蛋白、降钙素原对脓毒症患者早期诊断及病情评估的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(2):242-244.
- [5] 诸福棠. 实用儿科学[M]. 第8版. 北京:人民卫生出版社, 2014:854-1003.
- [6] 胡家胜,邓小龙,孙丹,等. 2016版《欧洲临床微生物和感染病学会急性细菌性脑膜炎诊治指南》解读[J]. 中国实用儿科杂志, 2017, 32(10):726-732.
- [7] 杜开先,张华玲,等. 病毒性脑炎及细菌性脑膜炎患儿血清及脑脊液血管内皮细胞钙黏蛋白、降钙素原的变化及意义[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2019, 34(18):1407-1410.

(下转第1606页)

术前血清 miR-135b、miR-141 水平对结直肠癌根治术后预后的评估价值分析

赖箭波

【摘要】目的 探究术前血清 miR-135b、miR-141 水平对结直肠癌根治术后预后的评估价值。**方法** 分析 2018 年 1 月至 2019 年 4 月于深圳市人民医院胃肠外科行结直肠癌根治术的 106 例结直肠癌患者的相关临床资料,同时收集术前 1 周患者的血清 miR-135b、miR-141 检测结果。以受试者工作特征曲线(ROC)确定血清 miR-135b、miR-141 的最佳界点,并分析二者与临床特征的关系。以 Cox 风险比例模型分析血清 miR-135b、miR-141 与患者生存预后的关系,以 *Kaplan-Meier* 法绘制术后 3 年的生存曲线。**结果** 研究组结直肠癌患者术前血清 miR-135b、miR-141 表达明显高于对照组,差异有统计学意义($t=13.564, 4.475, P<0.05$)。结直肠癌患者术后 3 年总生存期(OS)生存率为 79.25%(84/106),术后 3 年无病生存期(DFS)生存率为 73.58%(78/106)。以 OS 为状态变量,术前血清 miR-135b、miR-141 的最佳界值分别为 2.215、1.120;且术前血清 miR-135b、miR-141 均与患者的 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移有关(均 $P<0.05$)。Cox 回归分析显示,血清 miR-135b、miR-141 及 TNM 分期是患者术后 DFS 和 OS 的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** 术前血清 miR-135b、miR-141 水平对结直肠癌根治术患者的术后预后具有良好的评估价值,且是患者术后生存的独立危险因素,有望成为判断其预后的潜在生物标志物。

【关键词】 微小 RNA-135a; 微小 RNA-141; 结直肠癌; 预后; 临床病理

Evaluation of preoperative serum miR - 135b and miR - 141 levels on prognosis after radical resection of colorectal cancer

LAI Jianbo

(Department of Gastrointestinal Surgery, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518000)

【ABSTRACT】 Objective To explore the evaluation value of preoperative serum miR-135b and miR-141 levels on postoperative prognosis of colorectal cancer after radical resection. **Methods** The clinical data of 106 patients with colorectal cancer who underwent radical colorectal cancer surgery in the Gastrointestinal Surgery Department of Shenzhen People's Hospital from January 2018 to April 2019 were retrospectively analyzed, and the detection results of serum miR-135b and miR-141 in patients 1 week before surgery were collected. The optimal cut-off points of serum miR-135b and miR-141 was determined by receiver operating characteristic curve (ROC), and their relationship with clinical characteristics was analyzed. Cox hazard ratio model was used to analyze the relationship between serum miR-135b and miR-141 and the survival prognosis of patients, and kaplan-Meier method was used to plot the survival curve 3 years after surgery. **Results** The preoperative expression of serum miR-135b and miR-141 in patients with colorectal cancer in the study group was significantly higher than that in the control group, with statistical significance ($t=13.564, 4.475, P<0.05$). The 3-year OS survival rate of colorectal cancer patients was 79.25% (84/106), and the 3-year DFS survival rate was 73.58% (78/106). Taking OS as the state variable, the optimal threshold value of serum miR-135b and miR-141 before surgery was 2.215 and 1.120, respectively. Preoperative serum miR-135b and miR-141 were related to TNM stage, degree of differentiation and lymph node metastasis ($P<0.05$). Cox regression analysis

基金项目:深圳市科技计划项目(JCYJ20190807145011340)

作者单位:深圳市人民医院胃肠外科,广东,深圳 518000

showed that serum miR-135b, miR-141 and TNM stage were independent influencing factors of postoperative disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) ($P < 0.05$). **Conclusions** Preoperative serum miR-135b and miR-141 levels have good evaluation value for postoperative prognosis of patients undergoing radical colorectal cancer surgery and are independent risk factors for postoperative survival of patients, and are expected to be potential biomarkers for prognosis.

[KEY WORDS] miR-135b; miR-141; Colorectal carcinoma; Prognosis; Clinical pathology

结直肠癌在全世界范围内的发病率和死亡率位居恶性肿瘤前列,而近年来随着人民饮食结构等生活方式的改变,其在我国的发病率及死亡率均处于上升阶段^[1]。目前,结直肠癌根治术仍是临床首选的治疗手段。但根据全球肿瘤调查报告数据,每年仍有超过88万结直肠癌患者死亡,约占癌症死亡例数的10%,预后效果仍未达预期^[2]。因此,为进一步优化结直肠癌患者的诊疗措施,寻找行结直肠癌根治术患者的潜在预后因子的临床意义深远。miRNA作为一类长度为18~25个核苷酸的内源性非编码单链RNA,可在转录后通过特异性调控靶基因表达,从而参与机体的多种生理及病理过程^[3]。研究表明^[4],miRNA的异常表达与肿瘤的发生、发展,侵袭及转移有关,提示检测肿瘤患者的血清miRNA水平可能有助于疾病的早期诊断与预后评估。Zhang等^[5]研究发现,循环血miR-135b在结直肠癌患者中的表达明显高于健康者;Ardila等^[6]也指出,血清miR-141在结直肠癌组织中的含量显著升高。本研究旨在探讨术前血清miR-135b、miR-141水平对结直肠癌根治术后预后的评估价值,以期临床运用提供依据。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

以2018年1月至2019年4月于深圳市人民医院胃肠外科行结直肠癌根治术的106例结直肠癌患者为研究组。纳入标准:①均经术后病理组织学诊断证实为结直肠癌;②均行结直肠癌根治术治疗,且术前未接受化疗等其他抗肿瘤治疗者;③均有记录完整的病例资料及随访记录。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②为继发性结直肠癌;③存在梗阻、穿孔而行急诊手术者;④合并血液系统疾病者。其中男性65例,女性41例;年龄平均(61.37 ± 7.85)岁;淋巴结转移:有60例,无46例;TNM分期:I~II期36例,III~IV期70例;分化程度:低分化42例,中、高分化64例;肿瘤位置:结

肠50例,直肠56例。另选同期于本院行健康体检的100名体检者为对照组,研究组和对照组的年龄、性别等基线资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),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 血清miR-135b、miR-141检测

收集研究组所有患者和对照组术前1周的空腹静脉血5 mL,在离心半径10 cm、转速1 000 r/min下离心10 min,取上层血清,置于 -80°C 储存待测。采用购自美国赛默飞公司的miRNA提取试剂盒、miRNA逆转录试剂盒,严格按照说明书进行操作,提取血清中的总miRNA并逆转录成cDNA,并采用实时荧光定量PCR法检测血清miR-135b、miR-141水平。PCR反应体系为25,内参为GAPDH,反应条件为预变性 95°C 10 min;变性 95°C 15 s;退火 60°C 1 min;共40个循环。结果取3个样本复孔的均值。血清miR-135b、miR-141表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法进行计算。

1.2.2 临床资料收集

收集研究组所有患者的相关临床资料,包括患者的性别、年龄、是否合并高血压、是否合并糖尿病、有无淋巴结转移、TNM分期、分化程度、肿瘤位置、肿瘤直径等。

1.2.3 随访

研究组患者术后至少随访3年,采用电话、微信和门诊方式进行随访,术后1年每3个月随访1次,2年以后每间隔6个月随访一次。本研究中末次随访截止日期为2022年4月30日。总生存时间(overall survival, OS)定义为从手术结束至患者因任何原因引起的死亡或末次随访的时间,无病生存期(disease-free survival, DFS)定义为从手术结束至患者出现肿瘤复发或转移或因疾病进展导致死亡的时间。

1.3 统计学方法

应用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。

计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。采用受试者工作特征曲线(ROC)来确定血清 miR-135b、miR-141 对 OS 的最佳界值;并以 Cox 风险比例模型分析影响患者生存预后的影响因素。以 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,并以 Log-Rank 法进行组间生存差异检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组和对照组术前血清 miR-135b、miR-141 比较

研究组结直肠癌患者术前血清 miR-135b、miR-141 表达明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 研究组和对照组术前血清 miR-135b、miR-141 比较 $(\bar{x} \pm s)$
Table 1 Comparison of serum miR-135b and miR-141 between study group and control group before operation $(\bar{x} \pm s)$

组织	n	miR-135b	miR-141
研究组	106	1.90 ± 0.54	1.03 ± 0.36
对照组	100	0.98 ± 0.42	0.82 ± 0.31
t 值		13.564	4.475
P 值		< 0.001	< 0.001

2.2 术前血清 miR-135b、miR-141 的最佳界点

本研究共纳入 106 例结直肠癌患者,术后 3 年 OS 生存率为 79.25%(84/106),术后 3 年 DFS 生存率为 73.58%(78/106)。以 OS 为状态变量,术前血清 miR-135b、miR-141 的最佳界值分别为 2.215、1.120。见表 2、图 1。

表 2 术前血清 miR-135b、miR-141 对 OS 的诊断价值

Table 2 Preoperative diagnostic value of serum miR-135b and miR-141 for OS

指标	最佳截断值	AUC	95% CI	灵敏度	特异度
miR-135b	2.215	0.825	(0.774~0.881)	0.727	0.810
miR-141	1.120	0.870	(0.802~0.942)	0.818	0.917

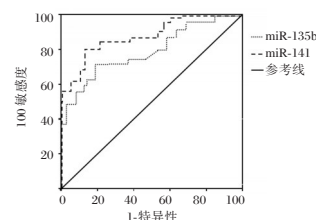


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

2.3 术前血清 miR-135b、miR-141 与临床特征的关系

根据血清 miR-135b、miR-141 的最佳界值,把所有患者分为 miR-135b ≥ 2.215 组、miR-135b < 2.215 组和 miR-141 ≥ 1.120 组、miR-141 < 1.120 组,术前血清 miR-135b、miR-141 均与患者的 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移有关(均 $P < 0.05$)。见表 3。

2.4 DFS 的单因素和多因素 Cox 回归分析

Cox 回归分析显示,血清 miR-135b、miR-141 及 TNM 分期是患者术后 DFS 的独立影响因素($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 OS 的单因素和多因素 Cox 回归分析

Cox 回归分析显示,血清 miR-135b、miR-141 及 TNM 分期是患者术后 OS 的独立影响因素($P < 0.05$)。见表 5。

表 3 术前血清 miR-135b、miR-141 与临床特征的关系 $[n(\%)]$

Table 3 Relationship between serum miR-135b and miR-141 and clinical features before surgery $[n(\%)]$

因素	n	miR-135b ≥ 2.215 ($n=32$)	χ^2 值	P 值	miR-141 ≥ 1.120 ($n=25$)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)							
<60	45	15(46.88)	0.367	0.544	10(40.00)	0.081	0.777
≥ 60	61	17(53.13)			15(60.00)		
性别							
男	65	21(65.63)	0.358	0.550	14(56.00)	0.391	0.532
女	41	11(34.38)			11(44.00)		
合并高血压							
是	47	17(53.13)	1.434	0.231	13(52.00)	0.778	0.378
否	59	15(46.88)			12(48.00)		
合并糖尿病							
是	31	12(37.50)	1.509	0.219	9(36.00)	0.721	0.396
否	75	20(62.50)			16(64.00)		
淋巴结转移							
有	60	24(75.00)	6.315	0.012	19(76.00)	5.011	0.025
无	46	8(25.00)			6(24.00)		
TNM 分期							
I+II 期	36	6(18.75)	4.730	0.030	3(12.00)	7.036	0.008
III+IV 期	70	26(81.25)			22(88.00)		
分化程度							
低分化	42	7(21.88)	6.035	0.014	4(16.00)	6.068	0.014
中、高分化	61	25(78.12)			19(84.00)		
肿瘤位置							
结肠	50	13(40.63)	0.788	0.375	9(36.00)	1.638	0.201
直肠	56	19(59.37)			16(64.00)		
肿瘤直径							
≤ 5 cm	59	14(43.75)	2.635	0.105	10(40.00)	3.251	0.071
> 5 cm	47	18(56.25)			15(60.00)		

表4 DFS的单因素和多因素Cox回归分析

Table 4 Univariate and multivariate Cox regression analysis of DFS

变量	单因素分析		多因素分析	
	HR(95% CI)值	P值	HR(95% CI)值	P值
性别	0.662(0.379~1.162)	0.154		
年龄	0.971(0.954~0.988)	0.082		
合并高血压	0.677(0.340~1.287)	0.141		
合并糖尿病	0.812(0.485~1.324)	0.167		
淋巴结转移	2.345(1.184~4.642)	0.058		
TNM分期	2.343(1.182~4.643)	0.015	0.980(0.954~0.996)	0.016
分化程度	2.534(1.053~4.067)	0.008	1.277(0.767~1.645)	0.233
肿瘤位置	0.544(0.286~1.042)	0.098		
肿瘤直径	1.311(0.625~2.760)	0.480		
血清miR-135b	3.120(1.454~4.986)	0.007	2.864(1.342~4.487)	0.004
血清miR-141	2.536(1.100~4.020)	0.009	3.540(1.030~12.101)	0.002

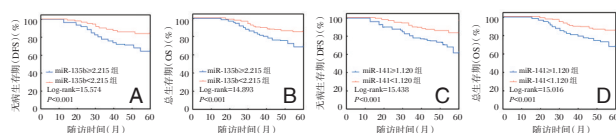
表5 OS的单因素和多因素Cox回归分析

Table 5 Univariate and multivariate Cox regression analysis of OS

变量	单因素分析		多因素分析	
	HR(95% CI)值	P值	HR(95% CI)值	P值
性别	0.812(0.433~1.524)	0.487		
年龄	2.884(1.336~4.930)	0.024	1.267(0.804~1.542)	0.095
合并高血压	0.810(0.427~1.462)	0.115		
合并糖尿病	0.835(0.454~1.545)	0.442		
淋巴结转移	3.812(0.843~16.227)	0.063		
TNM分期	3.105(1.244~5.265)	0.010	2.376(1.080~3.743)	0.024
分化程度	3.125(1.178~5.253)	0.009	1.201(0.724~1.647)	0.218
肿瘤位置	1.007(0.875~1.158)	0.630		
肿瘤直径	1.438(0.585~5.357)	0.328		
血清miR-135b	3.293(1.040~4.916)	0.007	3.182(1.142~5.148)	0.003
血清miR-141	3.074(1.035~6.080)	0.009	2.894(1.214~4.617)	0.002

2.6 生存曲线分析

根据血清miR-135b、miR-141的最佳界值,把所有患者分为miR-135b ≥ 2.215 组、miR-135b < 2.215 组和miR-141 ≥ 1.120 组、miR-141 < 1.120 组,Kaplan-Meier法绘制生存曲线OS和DFS生存函数曲线并行Log-Rank检验,miR-135b ≥ 2.215 组、miR-141 ≥ 1.120 组具有更低的DFS和OS。见图2。



注:A、B为基于不同血清miR-135b水平的生存曲线;C、D为基于不同血清miR-141水平的生存曲线。

图2 生存曲线

Figure 2 Survival curves

3 讨论

miRNA可以通过与靶mRNA上的部分互补位点进行碱基配对来抑制基因表达,从而引发RNA

降解或损害翻译。大量研究显示^[7-8],miRNA可调节多种生物学功能,并且通常在病理条件下异常表达,如其可参与调节肿瘤发生、细胞增殖、凋亡和化学敏感性。目前,虽然关于miRNA进入循环血液中的机制尚未完全明确,但通过PCR法可检测到稳定的miRNA并可将其量化,因此miRNA有望成为肿瘤早期诊断和预后预测的生物标志物。本文回顾性分析了术前血清miR-135b、miR-141在行结直肠癌根治术患者预后中的作用,通过ROC曲线的最佳界点对血清miR-135b、miR-141进行二分类,进一步进行单因素和多因素的Cox分析,并绘制OS和DFS的生存曲线,最终得出结论,即术前血清miR-135b、miR-141是预测结直肠癌患者根治术后预后的有效标志物。

miR-135b位于染色体1q32.1,在多种恶性肿瘤如结直肠癌、胃癌、肺癌等中明显过表达,可通过参与调控不同靶基因而在不同肿瘤的进展过程中发挥重要作用。张小鸿等^[9-10]的研究显示,miR-135b可通过调控PTEN/PI3K/AKT信号通路来影响结肠癌细胞的凋亡;同时可以通过mTOR/p70S6K信号通路使细胞周期发生阻滞。提示miR-135b可作为一种促癌基因参与结直肠癌的生长过程。目前国内外相关研究多集中在肿瘤组织或粪便中,如Li等^[11]的研究指出,miR-135b在结直肠癌患者粪便中表达显著上调,并与结直肠癌细胞的侵袭迁移有关。Moghadamnia等^[12]采用实时定量PCR技术分析结直肠肿瘤组织和正常邻近组织中7种结直肠癌相关的miRNA,结果显示miR-135b在结直肠癌组织中的表达显著过表达。但关于血清miR-135b在结直肠癌中的报道仍鲜见报道。袁平等^[13]的研究指出,血清miR-135b在结直肠癌患者中的表达量较正常健康者明显升高,并与结直肠癌的恶性程度、淋巴结转移的关系密切,与本研究结果基本一致。miR-141在不同的癌症类型中可发挥抑癌或促癌作用,如在结直肠癌、肺癌、卵巢癌中显著过表达,但在胃癌、乳腺癌、胰腺癌中却明显低表达^[14]本研究通过检测患者术前血清miR-141的表达,进一步验证了其在结直肠癌进展过程中的作用,提示miR-141在结直肠癌中具有一定的应用价值,可用于结直肠癌手术疗效及预后评估中。Sun等^[15]研究显示,miR-141在晚期结直肠癌患者血浆中的含量较中晚期患者显著升高,提示miR-141表达可随着结直肠癌的恶化程度

增加而上调。本研究结果也表明,miR-141 与的 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移有关,且术前更高血清 miR-141 水平的患者的生存预后更差。

综上所述,术前血清 miR-135b、miR-141 水平对结直肠癌根治术患者的术后预后具有良好的评估价值,且是患者术后生存的独立危险因素,有望成为判断其预后的潜在生物标志物,且可能是结直肠癌治疗的潜在靶点。

参考文献

- [1] 王红梅,张兰,王一涵. 新发结直肠癌患者膳食模式分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(3):319-322+326.
- [2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram L, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN. estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018,68060:394-424.
- [3] 刘学娟,甘海宁,张丽妹,等. 循环外泌体 miRNAs 在结直肠癌中的标志作用和临床转化中的挑战[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(3):157-163+152.
- [4] 李航,帖晓静,朱鸿波,等. 血清外泌体 miRNA 对结直肠癌患者免疫调控及预后价值的研究[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(8):1443-1448.
- [5] Zhang J, Raju GS, Chang DW, et al. Global and targeted circulating microRNA profiling of colorectal adenoma and colorectal cancer[J]. Cancer, 2018, 124(4):785-796.
- [6] Ardila HJ, Sanabria-Salas MC, Meneses X, et al. Circulating miR-141-3p, miR-143-3p and miR-200c-3p are differentially expressed in colorectal cancer and advanced adenomas[J]. Mol Clin Oncol, 2019, 11(2):201-207.
- [7] Wang H. MicroRNAs and Apoptosis in Colorectal Cancer[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15):5353.
- [8] 黄紫弦,王霖,黄益玲. 微小 RNA 在肿瘤中调控细胞凋亡的研究进展[J]. 生命科学, 2021, 33(9):1161-1168.
- [9] 张小鸿,黄枝妙,朱颖,等. miR-135b 对结肠癌细胞凋亡诱导作用及机制[J/OL]. 中国公共卫生:1-4[2022-05-19].
- [10] 张小鸿,陆秋艳,袁平. miR-135b 对 HCT116 结肠癌细胞周期的调控作用及机制研究[J]. 中国预防医学杂志, 2021, 22(3):213-217.
- [11] Li L, Wang A, Cai M, et al. Identification of stool miR-135b-5p as a non-invasive diagnostic biomarker in later tumor stage of colorectal cancer[J]. Life Sci, 2020, 260:118417.
- [12] Moghadamnia F, Ghoraeian P, Minaeian S, et al. MicroRNA Expression and Correlation with mRNA Levels of Colorectal Cancer-Related Genes[J]. J Gastrointest Cancer, 2020, 51(1):271-279.
- [13] 袁平,张小鸿,王家兴,等. 血清 miR-135b 在结直肠癌中的表达及临床意义[J]. 慢性病学杂志, 2019, 20(8):1121-1124.
- [14] 薛亚晶,陈建,张金业,等. 粪便微 RNA-141、-17-3p 和-92a-3p 对结直肠癌诊断及预后判断的价值[J]. 肿瘤, 2016, 36(8):901-907.
- [15] Sun Y, Liu Y, Cogdell D, et al. Examining plasma micro RNA markers for colorectal cancer at different stages[J]. Oncotarget, 2016, 7(10):11435-11449.
- [8] Wang CY, Xu HM, Deng JK, et al. Prognostic factors in pediatric pneumococcal meningitis patients in Mainland China: A retrospective multicenter study[J]. Infect Drug Resist, 2019, 7(12):1501-1512.
- [9] Lyons JL, Thakur KT, Lee R, et al. Utility of Measuring (1, 3)- β -d-glucan in cerebrospinal Fluid for diagnosis of fungal central nervous system infection[J]. Clin Microbiol, 2015, 53(1):319-322.
- [10] Fisher J, Linder A. Heparin-binding Protein: A key player in the pathophysiology of organ dysfunction in sepsis[J]. Intern Med, 2017, 281(6):562-574.
- [11] 徐雪勤,马永磊,杨喜勇. HBP、ADA、CHE 鉴别急性细菌性脑膜炎病原菌的价值及其与病情的关联性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(6):741-745.
- [12] 陈若虹,胡敏,任亚萍,等. 脑脊液肝素结合蛋白和降钙素原在细菌性颅内感染诊断中的应用[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(4):256-259.
- [13] Rodriguez A, Reyes LF, Monclou J, et al. Relationship between acute kidney injury and serum procalcitonin (PCT) concentration in critically ill patients with influenza infection[J]. Med Intensiva, 2018, 42(7):399-408.
- [14] 陈军. 血清降钙素原 PCT 的变化与脓毒症脑病预后的相关性研究[J]. 吉林医学, 2020, 41(1):86-87.
- [15] 韩敏,易燕,刘惠芳,等. sCD14-ST 诊断儿童细菌性脑膜炎及脑室炎的价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(16):2557-2560.
- [16] 梁惠碧,吕伟标,周远青,等. PCT 与 CRP 水平在新生儿感染性疾病中的诊断价值[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(6):742-745.
- [17] Li Z, Li M, Li F, et al. Paper-based chemiluminescence Enzyme-Linked immunosorbent assay enhanced by Biotin-Streptavidin system for High-Sensitivity C-reactive protein detection[J]. Anal Biochem, 2018, 559(15):86-90.
- [18] Ding GZ, Li WS. The expressions and significance of APN, D-D, IL-17 and hs-CRP in Patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(19):6463-6468.

(上接第 1601 页)

· 论 著 ·

重组人干扰素 α -2b口腔喷雾疗法治疗儿童疱疹性咽峡炎的临床疗效

魏翠琴* 韩军民 陈飞飞 刘娜

【摘要】目的 观察重组人干扰素 α -2b治疗儿童疱疹性咽峡炎的临床疗效,比较肌肉注射和雾化吸入两种给药方式对疗效的影响。**方法** 选取安徽医科大学附属宿州医院儿科2019年7月至2021年7月住院期间的186例疱疹性咽峡炎患儿,根据治疗方式不同分为对照组($n=58$,采用常规治疗)和试验组($n=128$,采用重组人干扰素 α -2b治疗),后又根据重组人干扰素 α -2b使用方式不同将试验组分为试验1组($n=64$,以肌肉注射重组人干扰素 α -2b治疗)和试验2组($n=64$,重组人干扰素 α -2b+生理盐水雾化吸入治疗)。三组患儿入院后均进行常规治疗,并给予口腔和饮食护理,试验1组在对照组基础上以重组人干扰素 α -2b肌肉注射,试验2组在对照组基础上以重组人干扰素 α -2b雾化吸入,持续治疗1周。比较三组治疗情况、炎症因子水平以及临床疗效,观察并记录治疗期间不良反应发生情况,进行安全性评价。**结果** 试验1组和试验2组热退时间、口腔疱疹消退时间、恢复进食时间、疼痛消退时间、住院天数均显著短于对照组,且试验2组上述指标均显著短于试验1组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与治疗前比较,三组治疗后血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素10(IL-10)、C反应蛋白(CRP)水平均显著降低,且试验2组变化最显著,差异有统计学意义($P<0.05$)。试验2组临床总有效率显著高于对照组和试验1组,差异有统计学意义($P<0.05$)。三组患儿治疗期间均未出现严重不良反应。**结论** 重组人干扰素 α -2b口腔喷雾疗法治疗儿童疱疹性咽峡炎疗效显著,在缓解临床症状、降低炎症因子水平、提升临床疗效、促进患儿恢复等方面均优于肌肉注射疗法,且未发现有明显不良反应,具有临床应用价值。

【关键词】 疱疹性咽峡炎; 儿童; 重组人干扰素 α -2b; 口腔喷雾; 肌肉注射

Clinical efficacy of recombinant human interferon α -2b oral spray in the treatment of herpetic angina in children

WEI Cuiqin*, HAN Junmin, CHEN Feifei, LIU Na

(Department of Pediatric Allergy, Suzhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Suzhou, Anhui, China, 234000)

【ABSTRACT】Objective To observe the clinical efficacy of recombinant human interferon α -2b in the treatment of herpetic angina in children and compare the effects of intramuscular injection and aerosol inhalation on the efficacy. **Methods** 186 children with herpetic angina who were hospitalized in our hospital from July 2019 to July 2021 were selected and divided into the control group ($n=58$) and the experimental group ($n=128$) according to different treatment methods. Then, the experimental group was divided into the experimental group 1 ($n=64$) and the experimental group 2 ($n=64$) according to different ways of using recombinant human interferon α -2b. After admission, all the three groups of children were given routine treatment and oral and dietary care. The experimental group 1 was given intramuscular injection of recombinant human interferon α -2b based on the control group, and the experimental group 2 was given atomized inhalation of recombinant human interferon α -2b based on the control group for one week. The treatment situation, inflammatory

基金项目:宿州市科技计划项目(2020090)

作者单位:安徽医科大学附属宿州医院(宿州市立医院)儿童感染科,安徽,宿州 234000

*通信作者:魏翠琴, E-mail:wcqek7@163.com

factors level and clinical efficacy of the three groups were compared, and the occurrence of adverse reactions during treatment was observed and recorded for safety evaluation. **Results** The time of fever regression, oral herpes regression, food recovery, pain regression, and hospitalization days in the experimental group 1 and the experimental group 2 were significantly shorter than those in the control group, and the above indexes in the experimental group 2 were significantly shorter than those in the experimental group 1 ($P<0.05$). Compared with before treatment, the levels of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10) and C-reactive protein (CRP) in the three groups decreased significantly after treatment, and the changes in the experimental group 2 were the most significant ($P<0.05$). The total clinical effective rate of the two groups was significantly higher than that of the control group and the group 1 ($P<0.05$). There were no serious adverse reactions in the three groups during treatment. **Conclusion** Recombinant human interferon α -2b oral spray therapy has a significant effect on children with herpetic angina and is superior to intramuscular injection therapy in relieving clinical symptoms, reducing the level of inflammatory factors, improving clinical efficacy, and promoting children's recovery. And no obvious adverse reactions were found, which has clinical application value.

[**KEY WORDS**] Herpangina; Children; Recombinant human interferon α -2b; Oral spray; Intramuscular injection

疱疹性咽峡炎是由肠道病毒感染(如柯萨奇 A 组病毒等)引起,其在夏、秋季节均有流行趋势,该病传染性强,并可呈较大范围爆发,患儿病后高热不退,口腔黏膜多处疱疹及破溃,给患儿及家长带来极大痛苦及经济负担^[1-2]。抗病毒等对症治疗是目前临床治疗儿童疱疹性咽峡炎的主要方法,而重组人干扰素 α -2b 具有广谱抗病毒作用,可通过抑制受感染细胞病毒复制,从而可有效改善机体免疫功能,缓解炎症反应^[3-4]。为此,本文通过分析重组人干扰素 α -2b 口腔喷雾疗法治疗儿童疱疹性咽峡炎的临床疗效,从而为提升该药在本病中的应用方式提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取安徽医科大学附属宿州医院儿科 2019 年 7 月至 2021 年 7 月住院期间的 186 例疱疹性咽峡炎患儿,根据治疗方式不同分为对照组($n=58$,采用常规治疗)和试验组($n=128$,采用重组人干扰素 α -2b 治疗),后又根据重组人干扰素 α -2b 使用方式不同将试验组分为试验 1 组($n=64$,以肌肉注射重组人干扰素 α -2b 治疗)和试验 2 组($n=64$,以重组人干扰素 α -2b + 生理盐水雾化吸入治疗)。对照组 58 例,男性 29 例,女性 29 例,年龄 4 个月~7 岁,平均年龄(3.01 ± 0.84)岁,平均病程(2.64 ± 0.38)天。试验组 128 例,男性 69 例,女性 59 例,年龄 5 个月~6 岁,平均年龄(2.98 ± 0.79)岁,平均病程(2.70 ± 0.45)天。两组性别、年龄、病程比较,差异

均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,所有患儿法定监护人知情并签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①符合疱疹性咽峡炎的临床诊断^[5];②临床资料完整。排除标准:①对研究药物过敏或耐受性较差;②伴有肝肾功能异常、凝血功能异常、传染性疾病、先天性疾病等。

1.3 治疗方法

三组患儿入院后均进行常规治疗,包括清热解毒、降温、水电解质平衡等,并给予口腔护理;对体温 $>38.5^{\circ}\text{C}$ 的患儿,及时进行降温处理,清淡饮食。试验 1 组在对照组基础上以重组人干扰素 α -2b (天津未名生物医药公司,国药准字 S20000019,规格 1 mL:100 万 IU)治疗,肌肉注射,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,1 次/d。试验 2 组在对照组基础上以重组人干扰素 α -2b 治疗,100IU 重组人干扰素 α -2b +10 mL 生理盐水雾化吸入,1 次/d。连续治疗 1 周,肌肉注射组和雾化吸入组重组人干扰素 α -2b 用量经剂量转化后药物等效剂量相同^[6]。

1.4 观察指标

治疗前后采集患儿静脉血 1 mL,检测血清肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 水平。观察三组患儿热退时间、口腔疱疹消退时间、恢复进食时间、疼痛消退时间、住院天数。观察并记录不良反应发生情况。

1.5 临床疗效^[7]

显效:治疗后 48 h 内体温降至正常范围内,临床症状消退,饮食恢复正常,溃疡面积减少>75%;有效:治疗后 72 h 内体温降至正常范围内,临床症状及体征明显减轻,溃疡面积减少 30%~74%;无效:治疗后 72 h 内体温未恢复正常范围,临床症状未见减轻甚至加重,饮食未恢复正常。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 23.0 版统计学软件。符合正态分布计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,三组比较采用单因素方差分析,两两比较 Snk-q 检验。计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组治疗情况比较

试验 1 组和试验 2 组热退时间、口腔疱疹消退时间、恢复进食时间、疼痛消退时间、住院天数均显著短于对照组,且试验 2 组上述指标均显著短于试验 1 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 三组治疗前后炎症因子水平比较

治疗前,三组炎症因子水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与治疗前比较,三组治疗后血清 TNF- α 、IL-10、CRP 水平均显著降低,且实验 2 组变化最显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 三组治疗情况比较 ($\bar{x} \pm s, d$)

Table 1 Comparison of treatment among the three groups ($\bar{x} \pm s, d$)

组别	<i>n</i>	热退时间	疱疹消退时间	恢复进食时间	疼痛消退时间	住院天数
对照组	58	3.60±0.73	6.59±1.14	4.98±0.89	4.14±0.75	7.85±1.47
试验 1 组	64	2.78±0.62 ^a	5.44±0.97 ^a	4.36±0.75 ^a	3.57±0.69 ^a	6.57±1.43 ^a
试验 2 组	64	2.51±0.59 ^{ab}	4.48±0.73 ^{ab}	3.58±0.70 ^{ab}	2.85±0.54 ^{ab}	5.09±1.33 ^{ab}
<i>F</i> 值		46.312	74.292	49.405	58.146	58.650
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与试验 1 组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 2 三组治疗前后炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of inflammatory factors before and after treatment in three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TNF- α (ng/L)		IL-10(ng/L)		CRP(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	58	22.15±6.06	18.45±3.94 ^c	36.06±7.73	31.15±6.06 ^c	16.05±3.44	9.83±2.15 ^c
试验 1 组	64	22.68±6.11	14.67±3.56 ^{ac}	35.48±6.93	27.64±5.56 ^{ac}	15.82±3.21	6.21±1.34 ^{ac}
试验 2 组	64	23.05±5.85	10.85±2.74 ^{abc}	34.95±6.74	22.75±5.05 ^{abc}	15.74±2.95	4.83±0.93 ^{abc}
<i>F</i> 值		0.344	74.652	0.369	35.330	0.152	170.308
<i>P</i> 值		0.710	<0.01	0.692	<0.01	0.859	<0.01

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与试验 1 组比较,^b $P < 0.05$;与本组治疗前比较,^c $P < 0.05$ 。

2.3 三组临床疗效比较

试验 2 组临床总有效率显著高于对照组和试验 1 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 三组临床疗效比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of clinical efficacy among three groups [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效
对照组	58	19(32.76)	21(36.21)	18(31.03)	40(68.97)
试验 1 组	64	29(45.31)	25(39.06)	10(15.63)	54(84.38)
试验 2 组	64	44(68.75)	17(26.56)	3(4.69)	61(95.31)
χ^2 值					15.283
<i>P</i> 值					0.000

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与试验 1 组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.4 安全性评价

三组患儿治疗期间均未出现严重不良反应。

3 讨论

据相关文献报道,在疱疹性咽峡炎病程早期,补充外源性干扰素不仅可增强感染患儿的免疫功能,还可阻止病毒感染的扩散^[8]。重组人干扰素 α -2b 对多种病毒感染性疾病有良好的疗效。与国内、外同类产品相比,重组人干扰素 α -2b 不仅疗效高,而且不良反应轻,中和抗体产生率低,是适合中国人使用的新型药物^[9]。以往国内应用重组人干扰素 α -2b 治疗病毒感染,多选用肌注给药,儿童依从性较差,直接影响疗效^[10]。既往研究表明,雾化吸入给药方式相对于肌注更易被儿童接受,依从性高^[11]。口腔喷雾疗法,每日给予重组人干扰素 α -2b 和灭菌用水混合,局部喷涂口腔,不受年龄

及体重的药量限制,能避免全身用药带来的副作用,且局部用药更能减轻患儿痛苦,缩短病程^[12]。近年药物动力学研究证实,雾化给药时吸入药物直接分布在呼吸道的表面,其呼吸道分泌物中药物浓度为血浆高峰浓度的数倍^[13]。另有研究证实,雾化吸入干扰素 α -2b治疗呼吸道合胞病毒肺炎,干扰素直接进入呼吸道使呼吸道分泌物中干扰素浓度迅速增高,以药物直接作用于呼吸道的方式足以抑制病毒复制^[14]。喷雾治疗黏膜直接吸收,避免肌肉注射痛苦,能得到患者家长配合,同时可在短期内使局部病灶获取较高的血药浓度,增强治疗效果。

本研究以常规治疗为基础,观察重组人干扰素 α -2b治疗儿童疱疹性咽峡炎疗效,同时分析不同给药方式对疗效的影响,结果显示试验1组和试验2组热退时间、口腔疱疹消退时间、恢复进食时间、疼痛消退时间、住院天数均显著短于对照组,且试验2组上述指标均显著短于试验1组,表明重组人干扰素 α -2b治疗儿童疱疹性咽峡炎疗效显著,可促进患儿疾病恢复,缓解临床症状,而相比于肌肉注射,雾化吸入给药对疱疹性咽峡炎患儿的临床疗效更加理想,可作为该药物临床治疗的首选给药方式。有研究指出,炎症细胞因子和趋化因子在疱疹性咽峡炎发病过程中均起到重要的调节作用,机体受柯萨奇等病毒感染后,受感染细胞经刺激后产生一系列促炎因子,并进一步损伤组织脏器功能^[15]。TNF- α 主要由单核细胞、巨噬细胞分泌而成,其在体内各种炎症反应过程中起到重要作用,如若TNF- α 含量过度增高往往会引起机体损伤的发生。IL-10可促进儿茶酚胺的释放,抑制病原体的清除,可通过作用于各种免疫细胞,如T淋巴细胞、树突细胞、巨噬细胞等而引起多重生物学效应。如若IL-10水平过高往往提示体内炎症反应、组织损伤等不良情况。CRP主要是经肝脏分泌而成的一种急性期反应蛋白,其含量过高往往说明体内感染程度较重,其与疾病的发生、发展的过程密切相关,可反映体内炎症状态。本研究结果显示,与治疗前比较,三组治疗后血清TNF- α 、IL-10、CRP水平均显著降低,且实验2组变化最显著,表明重组人干扰素 α -2b口腔喷雾疗法可有效降低疱疹性咽峡炎患儿体内炎症因子水平,抑制炎症反应状态,从而可明显减轻病情程度。

综上所述,重组人干扰素 α -2b口腔喷雾疗法治疗儿童疱疹性咽峡炎疗效显著,在缓解临床症

状、降低炎症因子水平、提升临床疗效、促进患儿恢复等方面均优于肌肉注射疗法,且未发现有明显不良反应,具有临床应用价值。

参考文献

- [1] 王涛,易文龙. 疱疹性咽峡炎的病原学、流行病学及治疗进展[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(6): 67-71.
- [2] 卢成瑜,陈德晖. 乳铁蛋白胶囊治疗80例儿童疱疹性咽峡炎临床疗效观察[J]. 中国妇幼健康研究, 2017, 28(2): 203-205.
- [3] 高丽娜,夏菁,高佳. 小儿金翘颗粒联合干扰素 α -2b对小儿疱疹性咽峡炎急性期的疗效观察及对患儿免疫功能、心肌酶的影响[J]. 中国基层医药, 2021, 28(3): 344-348.
- [4] 潘家华,杨泽玉,潘家严,等. 重组人干扰素 α 2b口咽部喷雾治疗疱疹性咽峡炎的有效性和安全性多中心随机对照研究[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020, 35(4): 279-284.
- [5] 中华医学会儿科学分会感染学组,国家感染性疾病医疗质量控制中心. 疱疹性咽峡炎诊断及治疗专家共识(2019年版)[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(3): 177-180.
- [6] 何金花. 雾化吸入和肌肉注射方式应用干扰素治疗小儿疱疹性咽峡炎的疗效比较[J]. 中国处方药, 2020, 18(5): 96-98.
- [7] Yu H, Li XW, Liu QB, et al. Diagnosis and treatment of herpangina: Chinese expert consensus [J]. World J Pediatr, 2020, 16(2): 129-134.
- [8] 张苏棉,王利利,郭小丽. 干扰素雾化联合口服补液盐治疗疱疹性咽峡炎的疗效研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(10): 1407-1409.
- [9] Liu J, Chen Y, Hu P, et al. Caregivers: the potential infection resources for the sustaining epidemic of hand, foot, and mouth disease/herpangina in Guangdong, China [J]. Arch Public Health, 2021, 79(1): 54.
- [10] 蒋春华,熊忠贤,邓俊超. 重组人干扰素 α -2b不同给药方式治疗手足口病患儿血清细胞因子和免疫功能的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(8): 1126-1129.
- [11] 韩梅,宋华,张伟,王平乐. 硫酸特布他林联合布地奈德雾化对支气管肺炎患儿临床治疗效果分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(8): 1095-1098.
- [12] 陈丽敏,屈弘宇. 凉膈散化痰方联合干扰素 α -2b治疗小儿疱疹性咽峡炎临床疗效及其心肌保护作用研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(4): 14-18.
- [13] Kuo KC, Yeh YC, Huang YH, et al. Understanding physician antibiotic prescribing behavior for children with enterovirus infection [J]. PLoS One, 2018, 13(9): e0202316.
- [14] 国琴,李思思. 重组人干扰素 α -1b喷雾剂治疗儿童疱疹性咽峡炎疗效观察[J]. 儿科药学杂志, 2019, 25(2): 31-33.
- [15] Duan X, Wang H, Wu J, et al. Comparative efficacy of chinese herbal injections for the treatment of herpangina: A Bayesian network meta-Analysis of randomized controlled trials [J]. Front Pharmacol, 2020, 11(1): 693.

• 论 著 •

肌营养不良蛋白基因检测的评价

胡泽斌 曲守方 黄传峰* 黄杰*

【摘要】目的 使用国家参考品,对人肌营养不良蛋白基因检测试剂盒(荧光PCR-毛细管电泳法)进行评价。**方法** 将国家参考品基因组DNA分别加入到DMD引物混合液1和DMD引物混合液2等两个PCR反应体系中,进行PCR扩增。取扩增产物1、扩增产物2和1% GeneScan 500 LIZ Size Standard,经过95℃变性,在3500Dx基因分析仪进行检测。**结果** 对国家参考品中性染色体正常的DMD基因缺失或者重复的样本,试剂盒均能准确检出标示的相应外显子的缺失或者重复。对X0单体的国家参考品,试剂盒的结果与标示结果不一致。对国家参考品中DMD基因点突变、微缺失的样本以及未检出致病突变的样本,试剂盒均未检出试剂盒范围内的外显子的缺失或者重复。**结论** 国家参考品可以用于评价荧光PCR-毛细管电泳法的人肌营养不良蛋白基因检测试剂盒的准确性和特异性,增加了国家参考品的检测方法适用性。

【关键词】 杜氏进行性肌营养不良; X连锁隐性遗传; 外显子拷贝数; 点突变

Evaluation of dystrophin gene detection

HU Zebin, QU Shoufang, HUANG Chuanfeng*, HUANG Jie*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050)

[ABSTRACT] Objective To evaluate the detection kit of dystrophin gene (fluorescence PCR capillary electrophoresis) by using national reference material for Duchenne muscular dystrophy gene mutation. **Methods** The national reference genomic DNA was added to two PCR reaction systems, DMD primer mixture 1 and DMD primer mixture 2, respectively, for PCR amplification. Amplification product 1, amplification product 2 and 1% GeneScan 500 LIZ Size Standard were taken, denatured at 95℃, and detected on a 3500Dx genetic analyzer. **Results** For the samples of DMD gene deletion or duplication with normal sex chromosome of national reference, the kit could accurately detect the deletion or duplication of the corresponding exon. For the national reference with X0 monomer, the result of the kit was inconsistent with the marked result. For the samples with DMD gene point mutation or microdeletion and the samples without pathogenic mutation of national reference, the kit did not detect the deletion or duplication of exons within the scope of the kit. **Conclusion** The national reference material can be used to evaluate the accuracy and specificity of human dystrophin gene detection kit by fluorescence PCR capillary electrophoresis and has good method applicability.

[KEY WORDS] Duchenne muscular dystrophy; X-linked recessive inheritance; Exon copy number; Point mutation

肌萎缩蛋白基因(*dystrophin*)位于染色体Xp21.2,包括79个外显子,其编码的蛋白称为抗肌萎缩蛋白,分布于骨骼肌和心肌的细胞膜上^[1]。肌萎缩蛋白基因的变异约70%~80%为一个或多个

外显子缺失突变,重复突变约占5%~10%,其余20%~30%为点突变^[2]。杜氏进行性肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy, DMD)是由于肌萎缩蛋白基因变异引起的X连锁隐性遗传性肌肉疾

作者单位:中国食品药品检定研究院,北京100050

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

注:胡泽斌和曲守方共为第一作者

病,患者大多症状严重,伴心肌损害,一般于12岁前即失去行走能力,多为男性发病,女性大多为DMD携带者无症状^[3]。

国内有多家公司开展不同检测方法的人肌营养不良蛋白基因检测试剂盒的研发,尚未获得国家药品监督管理局的批准上市。中国食品药品检定研究院研制了杜氏肌营养不良基因突变检测国家参考品,包括DMD基因外显子缺失、重复及点突变等变异类型^[4]。本研究使用国家参考品,对人肌营养不良蛋白基因(DMD)检测试剂盒(荧光PCR-毛细管电泳法)的准确性和特异性进行评价。

1 材料与方法

1.1 样本

杜氏肌营养不良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。

1.2 试剂

人肌营养不良蛋白基因(DMD)检测试剂盒(荧光PCR-毛细管电泳法)由厦门百欧迅生物科技有限公司提供;GeneScan 500 LIZ Size Standard和Hi-Di Formamide,购自美国Applied Biosystems公司。

1.3 仪器

PCR扩增仪,型号:T100,购自美国BIO RAD公司;基因分析仪,型号:3500Dx,购自美国Life Technologies公司。

1.4 检测

按照试剂盒说明书进行操作,将国家参考品基因组DNA分别加入到DMD引物混合液1和DMD引物混合液2等两个PCR反应体系中,PCR扩增程序:95℃ 5 min; (95℃ 30 S, 57℃ 45 S, 72℃ 90 S), 25个循环; 72℃ 45 min; 4℃保存。扩增结束后,取1 μL扩增产物1、1 μL扩增产物2和10 μL 1% GeneScan 500 LIZ Size Standard(以10 μL GeneScan 500 LIZ Size Standard加990 μL Hi-Di Formamide配制), 95℃变性3 min,立即放冰上2 min,在3500Dx基因分析仪进行检测。反应程序结束后,使用GeneMapper软件对PCR扩增产物进行分析。

1.5 结果判读

根据各外显子位点理论扩增片段长度位置,选择单一检测峰。分别计算试剂盒检测范围内的DMD基因79个外显子的检测峰与内控峰(HBB和ACTB)的比值(R),根据检测峰比值(R)范围($R_{EX1} \sim R_{EX79}$)进行外显子基因拷贝数判读,判断样

本是否为重复或者缺失突变。

1.6 统计学方法

以所有样本相邻拷贝数的检测结果对应R值绘制ROC曲线,以约登指数最大时的R值确定为区分相邻拷贝数的最佳检测峰判断R值。

2 结果

2.1 准确性

对试剂盒范围内的性染色正常的DMD基因缺失或者重复的国家参考品样本,试剂盒均能准确检出标示的相应外显子的缺失或者重复,试剂盒的准确性很好。见表1、图1。

试剂盒对X0单体的国家参考品37号样本的基因拷贝数的检测结果为性别决定基因SRY无检测峰、1~4号外显子1拷贝、5~7号外显子2拷贝和8~79号外显子1拷贝,按照试剂盒常规基因型判读规则进行判定的结果为1~4号外显子及8~79号外显子杂合缺失,与标示的结果(5~7号外显子重复)并不符合。见图2。

2.2 特异性

对试剂盒范围外的DMD基因点突变、微缺失以及未检出致病突变的国家参考品样本,试剂盒均未检出试剂盒范围内1~79号外显子的缺失或者重复,判定结果为正常型,试剂盒的特异性很好。见表2、图3。

3 讨论

针对DMD基因变异的分子诊断技术,主要包括Sanger测序法、多重连接探针扩增(Multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA)、微阵列比较基因组杂交技术(array based comparative genomic hybridization, array-CGH)和二代测序技术(next generation sequencing, NGS)等^[5-8]。MLPA技术可以有效检测DMD基因外显子的缺失和重复突变,但无法在所有外显子区域中发现点突变;荧光PCR-毛细管电泳法可以检测DMD基因在第1~79号外显子拷贝数(0、1、2、3)的缺失或重复突变,也不能检测点突变或微缺失引起的DMD基因异常。杜氏进行性肌营养不良是X连锁隐性遗传病,患者多为男性,男性患者的双亲一般表型正常,母亲为携带者。目前临床上尚无有效的治疗方法,采用对症的综合治疗,因此遗传咨询及产前诊断至关重要^[9-11]。对于DMD基因治疗,美国食

表1 试剂盒的准确性结果

Table 1 The accuracy result of kit

序号	样本类型	标示结果	结果
1	CNGB030321-4	54号外显子半合缺失	Ex54无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.91~1.19)
2	CNGB030326-8	45~47号外显子半合缺失	Ex45-47无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.91~1.19)
3	CNGB030327-9	45~47号外显子杂合缺失	Ex45-47拷贝数为1(R值为0.94~0.96),其他Ex拷贝数为2(R值为1.68~2.19)
4	CNGB030329-10	2号外显子半合重复	Ex2拷贝数为2(R值为2.28),其他Ex拷贝数为1(R值为0.88~1.16)
5	CNGB030330-11	46~52号外显子半合缺失	Ex46-52无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.96~1.16)
6	CNGB030332-13	49~52号外显子半合缺失	Ex49-52无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.90~1.16)
7	CNGB030333-14	49~52号外显子杂合缺失	Ex49-52拷贝数为1(R值为0.99~1.04),其他Ex拷贝数为2(R值为1.82~2.17)
8	CNGB030402-18	45~50号外显子半合缺失	Ex45-50无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.69~1.25)
9	CNGB030405-20	46~52号外显子半合缺失	Ex46-52无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.90~1.09)
10	CNGB030407-22	46~52号外显子杂合缺失	Ex46-52拷贝数为1(R值为0.97~1.11),其他Ex拷贝数为2(R值为1.77~2.35)
11	CNGB030408-23	46~52号外显子半合缺失	Ex46-52无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.91~1.15)
12	CNGB030412-27	45~57号外显子半合缺失	Ex45-57无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为1.01~1.26)
13	CNGB030413-28	8~43号外显子半合缺失	Ex8-43无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.97~1.15)
14	CNGB030414-29	8~43号外显子半合缺失	Ex8-43无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.93~1.13)
15	CNGB030415-30	8~43号外显子杂合缺失	Ex8-43拷贝数为1(R值为0.93~1.07),其他Ex拷贝数为2(R值为1.68~2.08)
16	CNGB030419-34	3~28号外显子半合缺失	Ex3-28无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.92~1.16)
17	CNGB030420-35	3~28号外显子杂合缺失	Ex3-28拷贝数为1(R值为0.87~1.10),其他Ex拷贝数为2(R值为1.74~2.40)
18	CNGB030428-37	5~7号外显子重复	Ex5-7拷贝数为2(R值为2.06~2.18),其他Ex拷贝数为1(R值为0.97~1.29)。不符合
19	CNGB030429-38	5~7号外显子半合重复	Ex5-7拷贝数为2(R值为2.06~2.09),其他Ex拷贝数为1(R值为0.94~1.21)
20	CNGB030432-40	14~41号外显子半合缺失	Ex14-41无检测峰,其他Ex拷贝数为1(R值为0.88~1.13)

注:1. 检测峰比值(R)<0.25, DMD基因外显子(Ex)拷贝数为0; 0.25≤R<1.45, 外显子(Ex)拷贝数为1; 1.45≤R<2.53, 外显子(Ex)拷贝数为2; 2.53≤R<3.80, 外显子(Ex)拷贝数为3; 2. 正常型男性样本DMD基因外显子(Ex)均为1拷贝, 正常型女性样本DMD基因外显子(Ex)均为2拷贝。

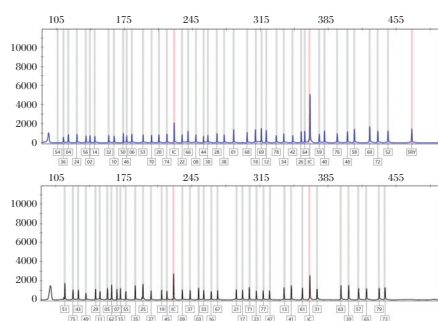


图1 外显子缺失样本CNGB030321-4的准确性结果

Figure 1 The accuracy result of exon deletion mutation sample for CNGB030321-4

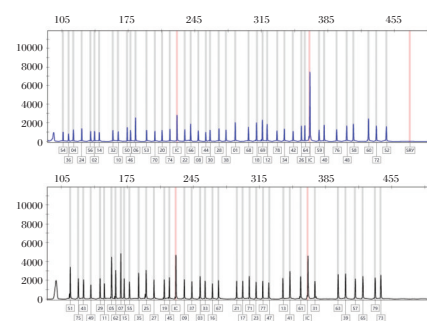


图2 外显子重复样本CNGB030428-37的准确性结果

Figure 2 The accuracy result of exon duplication mutation sample for CNGB030428-37

品药品监督管理局于2020年批准日本新药株式会社子公司NS Pharma公司的药物Viltepso,用于经基因检测证实存在突变、适合使用跳过第53号外显子(exon 53 skipping)治疗的杜氏肌营养不良症患者^[12-13]。DMD基因变异检测对遗传咨询、产前诊断和DMD精确治疗具有积极的临床指导意义。

杜氏肌营养不良基因突变检测国家参考品包括17个外显子缺失、3个外显子重复及10个点突变的DMD变异类型样本,使用NGS和MLPA方法验证。基于荧光PCR-毛细管电泳法的检测DMD外显子缺失或重复的试剂盒,DMD基因拷

贝数的判读基于以下规则:正常女性性染色体为XX,两条X染色体上正常的DMD基因1~79号外显子分别为1拷贝,女性正常型为2拷贝,当其中一条X染色体上的DMD部分外显子缺失或重复,其相应外显子的拷贝数即为1(杂合缺失)或3(杂合重复);正常人类男性性染色体为XY,一条X染色体上正常的DMD基因1~79号外显子均为1拷贝,DMD部分外显子的缺失或重复均导致其编码的抗肌萎缩蛋白异常而发病,其相应外显子的拷贝数即为0(半合缺失)和2(半合重复)。研究结果显示试剂盒对国家参考品37号样本的基因拷贝数检测结果为1~4号外显子及8~79号外显子杂合

表2 试剂盒的特异性结果
Table 2 The specificity result of kit

序号	样本类型	标示结果	结果
1	CNGB030318-1	NM_000109:c.7669C>T 半合突变或 NM_004006:c.7693C>T 半合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
2	CNGB030319-2	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
3	CNGB030320-3	NM_004006.2:c.412_413delAA 嵌合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
4	CNGB030323-5	NM_000109:c.7315C>T 半合突变或 NM_004006:c.7339C>T 半合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
5	CNGB030324-6	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
6	CNGB030325-7	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
7	CNGB030331-12	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
8	CNGB030334-15	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
9	CNGB030400-16	NM_000109:c.1307+1G>T 半合突变或 NM_004006:c.1331+1G>T 半合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
10	CNGB030401-17	NM_000109:c.1307+1G>T 杂合突变或 NM_004006:c.1331+1G>T 杂合突变	Ex1-79 拷贝数为 2
11	CNGB030404-19	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
12	CNGB030406-21	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
13	CNGB030409-24	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
14	CNGB030410-25	NM_000109:c.1126-1G>A 半合突变或 NM_004006:c.1150-1G>A 半合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
15	CNGB030411-26	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
16	CNGB030416-31	NM_000109:c.507-2A>C 杂合突变或 NM_004006:c.531-2A>C 杂合突变	Ex1-79 拷贝数为 2
17	CNGB030417-32	NM_000109:c.507-2A>C 半合突变或 NM_004006:c.531-2A>C 半合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
18	CNGB030418-33	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
19	CNGB030421-36	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
20	CNGB030430-39	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
21	CNGB030448-41	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
22	CNGB030449-42	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
23	CNGB030450-43	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 2
24	CNGB030455-44	NM_000109:c.9180_9183del 半合突变或 NM_004006:c.9204_9207del 半合突变	Ex1-79 拷贝数为 1
25	CNGB030456-45	未检出致病突变	Ex1-79 拷贝数为 1
26	CNGB030457-46	NM_000109:c.9180_9183de 杂合突变或 NM_004006:c.9204_9207del 杂合突变	Ex1-79 拷贝数为 2

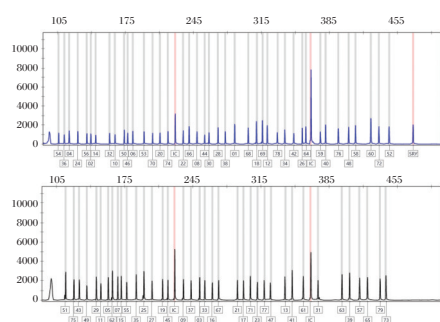


图3 外显子点突变样本 CNGB030318-1 的特异性结果
Figure 3 The specificity result of exon point mutation sample for CNGB030318-1

缺失,与标示为5~7号外显子重复的结果并不符合。查阅国家参考品的研究资料显示37号样本为XX/X0嵌合,并且XO细胞所占比例偏高,XX部分为外显子5~7号杂合重复,X0部分为外显子5~7号半合重复^[4]。但当X性染色体数目异常时,如女性X0、XXX和男性XXY的X染色体数目与正常人不同,因此其DMD基因拷贝数的正常和异常判断并不适用性染色体正常的规则。胚胎组织在发育过程中发生基因突变,可导致嵌合体发生,即一个个体具有2个或2个以上的细胞

系。研究报道DMD生殖细胞嵌合体遗传家系,父母为生殖腺嵌合体,自身不发病,但可导致子代发生DMD基因新发突变^[14-15]。另有研究报道DMD体细胞嵌合体遗传家系,需考虑父源/母源均存在嵌合体突变的可能^[16]。国家参考品37号样本是体细胞嵌合的样本,试剂盒只检测到XO细胞的外显子5~7号重复,结果表明试剂盒不适用检测DMD嵌合体样本。因此试剂盒对样本的DMD基因拷贝数的分析应结合其性染色体进行综合判断,同时对嵌合样本给出相应的补充说明,才能避免检测错误。

本研究结果显示试剂盒对国家参考品中性染色体正常的DMD基因缺失或者重复的样本,均能准确检出标示的相应外显子的缺失或者重复;对国家参考品中DMD基因点突变、微缺失以及未检出致病突变的样本,均未检出试剂盒范围内的1~79号外显子的缺失或者重复,具有很好的准确性和特异性。国家参考品可以用于评价荧光PCR-毛细管电泳法的人肌营养不良蛋白基因检测试剂盒的准确性和特异性,拓宽了检测方法的适用性。

(下转第1619页)

• 论 著 •

血清 CEA、NSE 联合影像学特征在肺癌分期及预后中的价值

陈宝华^{1*} 段强军²

[摘要] **目的** 探讨血清癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)联合影像学特征在肺癌的临床分期及预后的临床价值。**方法** 收集2016年1月至2018年12月宿州市第一人民医院肿瘤科肺癌患者70例作为肺癌组,另选取在本院进行体检的健康者70名作为对照组。采用全自动电化学发光法对受试者进行血清NSE和CEA水平的检测;采用CT记录肺癌患者肺结节影像学特征;比较肺癌不同分期(I期、II期、III期、IV期)间血清NSE和CEA水平以及影像学特征;分析血清NSE、CEA水平与影像学特征的关系;采用ROC曲线分析患者血清NSE、CEA以及二者联合对肺癌不良预后的预测价值。**结果** 与对照组比较,肺癌组患者的血清NSE、CEA水平显著升高,差异有统计学意义($t=15.499$ 、 11.009 , $P<0.05$)。患者血清NSE、CEA水平比较:I期<II期<III期<IV期,组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$);与预后良好组患者比较,预后不良组患者的血清NSE、CEA水平显著升高,差异有统计学意义($t=8.488$ 、 5.839 , $P<0.05$);与预后良好组患者比较,预后不良组患者的结节直径 >5 mm、毛刺征、血管征、深分叶征、坏死空洞比例明显增多,差异有统计学意义($P<0.05$)。患者结节直径 >5 mm、有毛刺征、有血管征、有深分叶征、有坏死空洞的血清NSE、CEA水平明显高于结节直径 ≤ 5 mm、无毛刺征、无血管征、无深分叶征、无坏死空洞的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC结果显示,血清NSE、CEA二者联合诊断肺癌不良预后的AUC为0.829,敏感度为0.856,特异度为0.750。**结论** 肺癌患者血清中NSE、CEA水平与临床分期以及不良预后有关,血清NSE、CEA与影像学特征具有一定的关系,联合检测有望提升肺癌预后预测价值。

[关键词] 肺癌;影像学特征;神经元特异性烯醇化酶;癌胚抗原

The value of serum CEA and NSE combined with imaging features in lung cancer staging and prognosis

CHEN Baohua^{1*}, DUAN Qiangjun²

(1. Department of Oncology, Suzhou First People's Hospital, Suzhou, Anhui, China, 234000; 2. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical value of serum carcinoembryonic antigen (CEA) and neuron-specific enolase (NSE) combined with imaging features for the clinical staging and prognosis of lung cancer. **Methods** A total of 70 patients with lung cancer in the Oncology Department of Suzhou First People's Hospital from January 2016 to December 2018 were collected as the lung cancer group, and 70 healthy people who underwent physical examination in Suzhou First People's Hospital were selected as the control group. The automatic electrochemiluminescence method was used to detect serum NSE and CEA levels in the subjects; CT was used to record the imaging features of lung nodules in patients with lung cancer; the serum NSE and CEA levels and imaging features among different stages of lung cancer (stage I, stage II, stage III, stage IV) were compared; the relationship between serum NSE and CEA levels and imaging features was analyzed. The ROC curve was used to analyze the predictive value of serum NSE, CEA and the combination

基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(KJ2020A0424)

作者单位:1.宿州市第一人民医院肿瘤科,安徽,宿州 234000

2.安徽中医药大学,安徽,合肥 230000

*通信作者:陈宝华, E-mail: chenbaohua2244@163.com

of the two on the poor prognosis of lung cancer of patients. **Results** Compared with the control group, the levels of serum NSE and CEA in the lung cancer group were significantly higher ($t=15.499, 11.009, P<0.05$). Comparison of serum NSE and CEA levels in patients: stage I < stage II < stage III < stage IV, there was significant difference between the two groups ($P<0.05$). Compared with the patients in the good prognosis group, the serum NSE and CEA levels of the patients in the poor prognosis group were significantly higher, the difference was statistically significant ($t=8.488, 5.839, P<0.05$). Compared with the patients in the good prognosis group, the proportions of nodules > 5 mm, burr sign, vascular sign, deep paging sign, and necrotic cavity were significantly higher than those in the poor prognosis group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The serum NSE and CEA levels in patients with nodule diameter > 5 mm, burr sign, vascular sign, deep paging sign and necrotic cavity were significantly higher than those in patients with nodule diameter ≤ 5 mm, no burr sign, no blood vessel sign, no deep paging sign and no necrotic cavity, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The ROC results showed that the AUC of serum NSE level for the diagnosis of poor prognosis of lung cancer was 0.737, the sensitivity was 0.761, and the specificity was 0.667; the AUC of serum CEA level for the diagnosis of poor prognosis of lung cancer was 0.817, the sensitivity was 0.783, and the specificity was 0.792; the AUC of the two combined diagnosis of poor prognosis of lung cancer was 0.829, the sensitivity was 0.856, and the specificity was 0.750. **Conclusion** Serum NSE and CEA levels in patients with lung cancer are related to clinical staging and poor prognosis. Serum NSE and CEA have a certain relationship with imaging characteristics. Combined detection is expected to improve the prognostic value of lung cancer.

[**KEY WORDS**] Lung cancer; Imaging features; Neuron specific enolase; Carcinoembryonic antigen

肺癌为全球发病第一位肿瘤,其死亡率位居肿瘤之首^[1]。CT因其影像学特征在肺癌的诊断与鉴别诊断具有高准确度,但是对于部分影像学特征不明显的病例,需借助肿瘤标记物的鉴别作用^[2]。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是一种广谱的肿瘤标记物,在晚期肿瘤中表达出现异常^[3]。除此之外,有研究报道,神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)对肺癌的诊断阳性率较高^[4-5]。为进一步验证血清CEA、NSE联合影像学特征在肺癌中的作用,本研究通过检测肺癌患者血清中NSE、CEA的水平,并联合影像学特征,旨在探索评估肺癌进展及预后的生物学指标。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2016年1月至2018年12月宿州市第一人民医院肿瘤科肺癌患者70例作为肺癌组,其中男47例,女23例,平均年龄(60.45 ± 4.36)岁,肺癌分期:I期27例,II期16例,III期15例,IV期12例。纳入标准:①所有病例均符合肺腺癌的诊断标准^[6],且有明确的病理组织学诊断结果;②入选患者未接受过化疗、手术或放疗。排除标准:①同时存在其他肺部疾病;②同时存在肺外其他肿瘤者;③资料缺失或依从性差者。另选取在本院进

行体检的健康者70名作为对照组,其中男39名,女31名,平均年龄(61.08 ± 4.52)岁。两组性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。所有研究对象或其直系亲属自愿签署知情同意书,本项研究所用方法符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》,且经本院伦理委员会审核、批准后实施(伦理批号:20160112)。

1.2 方法

1.2.1 标本收集

取患者静脉血5 mL,以2 500 r/min离心(离心半径为10 cm)10 min后分离血清, -20°C 冰冻保存。

1.2.2 血清NSE和CEA水平的测定

采用全自动电化学发光法(BKI2200型全自动化学发光免疫分析仪)测定血清NSE和CEA水平,测定的具体方法参照NSE试剂盒(上海羽喙生物科技有限公司,规格:100T,批号:20160523)和CEA试剂盒(北京孚博生物科技有限公司,规格:48T/96T,批号:20170105)说明书。

1.2.3 影像学检查

采用德国GE Light Speed VCT 64排螺旋CT记录患者肺结节影像学特征^[7]:①测量结节直径,并分为>5 mm和 ≤ 5 mm;②有无毛刺征;③有无血管征;④深分叶征,病灶不同方向的生长速度不均,呈分叶形;⑤有无坏死及空洞,坏死为CT增强扫描后得到明显强化的瘤体内呈现出低密度影,

空洞表现出CT平扫时瘤体含气空洞。

1.2.4 所有患者进行长期随访

就诊或入院时间为第一随访点,患者死亡或者到2021年1月1号随访结束为终末时间点,以上均为资料齐全并完成随访的患者。终点事件包括患者出现并发症、严重感染等导致死亡。根据随访结果将出现终点事件的患者定义为不良预后组,其余患者定义为预后良好组。

1.3 统计学方法

使用SPSS 25.0软件进行数据处理;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用卡方检验;计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,不同分期患者血清NSE和CEA水平的比较采用单因素方差分析,有差异时采用的是SNK-q检验,两组间比较行 t 检验;用受试者工作特征(ROC)曲线评价血清NSE、CEA以及二者联合诊断预后不良的效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌组和对照组血清NSE和CEA水平的比较

与对照组比较,肺癌组患者的血清NSE、CEA水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 肺癌组和对照组血清NSE和CEA水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NSE($\mu\text{g/L}$)	CEA($\mu\text{g/L}$)
对照组	70	5.12 $\pm$ 2.60	2.85 $\pm$ 0.93
肺癌组	70	20.07 $\pm$ 7.64	13.80 $\pm$ 8.27
t 值		15.499	11.009
P 值		0.000	0.000

2.2 不同分期患者血清NSE和CEA水平的比较

与I期相比较,II期、III期、IV期患者血清NSE、CEA水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与II期相比较,III期、IV期患者血清NSE、CEA水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与III期相比较,IV期患者血清NSE、CEA水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 不同预后患者血清NSE、CEA水平与影像学特征的比较

与预后良好组患者比较,预后不良组患者的血清NSE、CEA水平显著升高,结节直径 >5 mm、毛刺征、血管征、深分叶征、坏死空洞比例

表2 不同分期患者血清NSE和CEA水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum NSE and CEA levels in patients with different stages ($\bar{x} \pm s$)

分期	n	NSE($\mu\text{g/L}$)	CEA($\mu\text{g/L}$)
I期	27	13.01 $\pm$ 4.95	8.94 $\pm$ 5.36
II期	16	21.96 $\pm$ 8.35 ^a	15.09 $\pm$ 9.04 ^a
III期	15	23.42 $\pm$ 8.91 ^{ab}	16.10 $\pm$ 9.64 ^{ab}
IV期	12	29.27 $\pm$ 11.13 ^{abc}	20.12 $\pm$ 12.06 ^{abc}
F 值		13.691	5.521
P 值		0.000	0.002

注:与I期相比较,^a $P < 0.05$;与II期相比较,^b $P < 0.05$;与III期比较,^c $P < 0.05$ 。

明显增多,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同预后患者血清NSE、CEA水平与影像学特征比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

Table 3 Comparison of serum NSE, CEA levels and imaging features in patients with different prognosis [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

指标	预后良好组 ($n=24$)	预后不良组 ($n=46$)	t/χ^2 值	P 值
NSE($\mu\text{g/L}$)	8.36 $\pm$ 3.09	26.20 $\pm$ 10.02	8.488	0.000
CEA($\mu\text{g/L}$)	5.18 $\pm$ 3.72	18.31 $\pm$ 10.65	5.839	0.000
结节直径(mm)				
>5	8(17.39)	38(82.61)	16.996	0.000
≤ 5	16(66.67)	8(33.33)		
毛刺征				
有	6(16.67)	30(83.33)	10.212	0.001
无	18(52.94)	16(47.06)		
血管征				
有	8(21.62)	29(78.38)	5.587	0.018
无	16(48.48)	17(51.52)		
深分叶征				
有	4(10.53)	34(89.47)	20.827	0.000
无	20(62.50)	12(37.50)		
坏死空洞				
有	5(15.15)	28(84.85)	10.145	0.001
无	19(51.35)	18(48.65)		

2.4 血清NSE、CEA水平与影像学特征之间的关系

患者结节直径 >5 mm、有毛刺征、有血管征、有深分叶征及有坏死空洞的血清NSE、CEA水平明显高于结节直径 ≤ 5 mm、无毛刺征、无血管征、无深分叶征、无坏死空洞的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 血清NSE、CEA水平诊断肺癌不良预后的ROC曲线

ROC结果显示,血清NSE、CEA二者联合诊断肺癌不良预后的AUC为0.829,敏感度为0.856,特异度为0.750。见表5、图1。

表4 血清NSE、CEA水平与影像学特征之间的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Correlation between serum NSE, CEA levels and imaging features ($\bar{x} \pm s$)						
指标	n	NSE ($\mu\text{g/L}$)	t值	P值	CEA ($\mu\text{g/L}$)	t值 P值
结节直径 >5 mm	24	29.28±11.14			20.13±12.06	
结节直径 ≤5 mm	46	15.28±5.81			10.50±6.29	
有毛刺征	34	26.55±7.86			16.20±8.51	
无毛刺征	36	19.52±7.42	3.849	0.000	11.42±8.04	2.417 0.018
无血管征	37	17.99±7.22			11.05±7.82	
有血管征	33	22.29±8.10	2.349	0.022	16.64±8.77	2.819 0.006
无深分叶征	38	18.49±7.03			12.71±7.61	
有深分叶征	32	21.96±9.35	2.791	0.000	15.09±9.04	3.207 0.002
有坏死空洞	31	22.67±8.62			17.58±9.33	
无坏死空洞	39	18.02±6.85	2.516	0.014	10.38±7.42	3.598 0.001

表5 血清NSE、CEA水平水平对患者预后的诊断价值

Table 5 Diagnostic value of serum NSE and CEA levels on prognosis of patients						
变量	AUC	截断值	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
NSE	0.737	>12.022 $\mu\text{g/L}$	0.618~0.835	0.761	0.667	0.428
CEA	0.817	>9.953 $\mu\text{g/L}$	0.707~0.899	0.783	0.792	0.575
二者联合	0.829		0.720~0.908	0.856	0.750	0.606

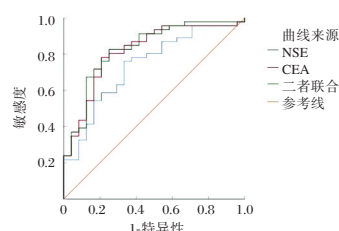


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

肺癌的发病率一直处于较高水平,年纪越大发病率越高^[8]。CT广泛应用于肺癌的诊断,但是一些早期肺癌以及其他肺部病变并不能通过CT影像做出有效的辨别^[9]。肺癌在发生发展的过程中会表达出一些糖蛋白、脂蛋白等物质,能够反映出肿瘤的一些特征,临床上常用这些肿瘤标记物对肺癌进行辅助诊断^[10]。本次研究通过对血清NSE、CEA水平进行检测,联合影像学特征诊断肺患者的预后。

血清NSE、CEA在肺癌中明显升高,二者作为肺癌肿瘤标志物已应用于临床多年,其敏感度和特异度均较好^[11]。本研究结果发现,肺癌组患者血清NSE、CEA水平较健康者高,且肺癌患者血清NSE、

CEA水平随着临床分期升高而升高,说明NSE和CEA水平越高,患者疾病严重程度越高,血清NSE和CEA水平可以作为判断肺癌发病及患者肿瘤分期的指标。此外在血清检查方面,预后不良组患者血清NSE、CEA水平较预后良好组高;在影像学检查方面,预后不良组患者的毛刺征、血管征、深分叶征、坏死空洞、肺结节直径>5 mm比例较预后良好组患者明显增多。上述结果与相关研究结果相似^[12],提示血清NSE、CEA、影像学特征均对患者的不良预后预测具有一定参考价值,检测肺癌患者血清NSE、CEA水平可能作为影像学检查的辅助手段。

临床上肺癌有多种不同类型,不同细胞类型的肺癌在CT上会有不同的特点^[13]。例如肿瘤大小、毛刺征、深分叶、坏死空洞、中心型与周围型等,不同细胞类型肺癌的血清标记物的表达也有所差异^[14]。也有研究提出肺癌的CT影像学征象与肺癌特异性标记物的表达也会有相关性^[15]。本研究通过分析肺癌患者CT影像学特征(结节直径、毛刺征、血管征、深分叶征、坏死及空洞)与血清NSE、CEA水平的关系,发现结节直径>5 mm、有血管征、有毛刺征、有深分叶征及坏死空洞患者血清NSE、CEA水平更高,提示对于部分CT影像学特征不明显的肺癌患者,通过分析血清NSE、CEA水平可能有利于判断肺癌发生及患者预后。进一步ROC结果显示,血清NSE、CEA水平均可作为诊断肺癌不良预后的肿瘤标志物,二者联合诊断的AUC和敏感度相对较高,提示二者联合诊断对评估肺癌患者预后可能更有意义。而之前本研究的结果显示,CT影像特征中结节直径、有无毛刺征、深分叶及坏死空洞与血清NSE、CEA的升高有一定的关系。这些结果再次提示,将血清CEA、NSE水平联合影像学特征用于肺癌临床分期及预后的鉴别诊断中,可有效提升鉴别诊断的精准度,并为后续的相关治疗提供可靠的数据支持,有一定的临床价值。

综上所述,预后不良组以及高临床分期肺癌患者血清中NSE、CEA水平均明显升高,与影像学特征具有一定的关系,提示联合血清学与影像学对肺癌发展预测和预后判断有重要意义。

参考文献

- [1] National Lung Screening Trial Research Team. Lung Cancer Incidence and Mortality with Extended Follow-up in the National Lung Screening Trial [J]. J Thorac Oncol, 2019, 14 (10): 1732-1742.

- [2] 朱莉莉,袁新平. CT联合血清肿瘤标志物水平检测在周围型肺癌患者中的诊断价值[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(10):1529-1532.
- [3] Gu RH, Tan B, Ma J, et al. Diagnostic value of the combined detection of CEA, NSE and IL-18 for lung cancer and their relationship with apoptosis gene Bcl-2[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020, 34(5):1637-1646.
- [4] Chen Z, Liu X, Shang X, et al. The diagnostic value of the combination of carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma-related antigen, CYFRA 21-1, neuron-specific enolase, tissue polypeptide antigen, and progastrin-releasing peptide in small cell lung cancer discrimination[J]. Int J Biol Markers, 2021, 36(4):36-44.
- [5] 夏国庆,韩一平. 血清神经元特异性烯醇化酶与胃泌素释放肽前体水平评估小细胞肺癌疗效及预后的效果研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(35):4322-4326+4331.
- [6] 中华医学会,中华医学学会肿瘤学分会,中华医学杂志社. 中华医学学会肺癌临床诊疗指南(2018版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(12):935-964.
- [7] 周家田. 血清 TK1, CEA, CYFRA21-1 联合胸部 CT 特征在肺结节诊断中的临床价值[D]. 成都: 成都医学院, 2020.
- [8] Campling BG, Ye Z, Lai Y, et al. Disparity in age at lung cancer diagnosis between current and former smokers[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(5):1243-1251.
- [9] 唐黎. 多层螺旋 CT 征象联合血清肿瘤标志物 CYFRA21-1, CEA 和 NSE 检测对诊断肺癌的临床价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2019, 17(7):71-73.
- [10] Wang J, Chu Y, Li J, et al. Development of a prediction model with serum tumor markers to assess tumor metastasis in lung cancer[J]. Cancer Med, 2020, 9(15):5436-5445.
- [11] 尚文丽,霍树芬,王洁英,等. 血清 NSE、SCCA 及 CEA 在肺癌早期诊断和预后预测中的应用价值研究[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(2):308-312.
- [12] 谢春艳,崔鑫鹏,彭丹丹,等. 老年性肺癌患者 CT 影像学分型与血清肿瘤特异性标志物的相关性分析[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(15):2685-2688.
- [13] 荆利民,李东,李振强,等. 低剂量 CT 联合血清肿瘤标志物诊断肺结节的临床价值[J]. 医学影像学杂志, 2019, 29(3):166-169.
- [14] 李岗,尤小芳. 64 层多层螺旋 CT 联合 Ki-67 和神经元特异性烯醇化酶检测与周围型肺癌检出率及病理分型的关系[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2020, 27(11):16-19.
- [15] 任茂,张会峰,王天轶. CT 影像学联合细胞角蛋白 19 片段抗原对周围性肺癌患者的临床诊断价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2021, 19(6):68-70.

(上接第 1614 页)

参考文献

- [1] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组. 杜氏进行性肌营养不良的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3):258-262.
- [2] Aartsma-Rus A, Ginjaar IB, Bushby K. The importance of genetic diagnosis for Duchenne muscular dystrophy[J]. J Med Genet, 2016, 53(3):145-151.
- [3] 方红军,杨赛,旷小军,等. Duchenne 型肌营养不良 171 例临床表型与基因型特征分析[J]. 临床儿科杂志, 2022, 40(3):189-195.
- [4] 于婷,孙楠,孙晶,等. 杜氏肌营养不良基因突变检测国家参考品的研制[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(8):1205-1208.
- [5] 徐盈,宋婷婷,郑娇,等. 杜氏肌营养不良症家系致病基因的遗传学研究[J]. 山西医科大学学报, 2021, 52(8):1078-1084.
- [6] 张倩,吴东,肖海,等. 微阵列比较基因组杂交在产前诊断中意外检出 Duchenne 肌营养不良基因变异的回顾性分析[J]. 中华围产医学杂志, 2021, 24(8):601-607.
- [7] 刘莉娜,陈晨,赵学潮,等. 杜氏肌营养不良家系产前诊断一例[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(2):134-136.
- [8] 高云轻,欧俐羽,李亚勤,等. DMD 基因新发错义突变致 Becker 型肌营养不良症一家系临床表型及基因突变分析[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2019, 19(5):343-348.
- [9] 中华医学会神经病学分会,中华医学学会神经病学分会神经肌肉病学组,中华医学学会神经病学分会心电图与临床神经生理学组. 中国假肥大型肌营养不良症诊治指南[J]. 中华神经科杂志, 2016, (1):17-20.
- [10] 李涛,刘红彦,肖海,等. DMD 基因新发突变家系生育史女性再发风险分析[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(6):509-515.
- [11] 曾艳欣,陈敏,陈超,等. 基于单体型的杜氏肌营养不良无创产前检测研究[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(9):698-701.
- [12] 纪伟,田国力,王燕敏. 杜氏肌营养不良症基因治疗新进展[J]. 药学与临床研究, 2021, 29(3):207-210.
- [13] 陈本川. 靶向治疗杜氏肌营养不良症新药—维托拉森(viltolarsen)[J]. 医药导报, 2021, 40(4):569-575.
- [14] 肖海,张照婧,李涛,等. DMD 基因部分缺失型生殖腺嵌合体一例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(10):1015-1018.
- [15] 段红蕾,王皖骏,朱湘玉,等. 连续发生两次同种新发 DMD 基因突变的家系[J]. 中华医学遗传学杂志, 2015, 32(4):495-497.
- [16] 毛莹莹,陈倩,张学,等. 体细胞嵌合父亲传递致女性杜氏肌营养不良一例家系及遗传学分析[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(48):3973-3976.

基于MLPA技术筛选帕金森病遗传相关基因及其与中医证型分布的关系和临床诊断价值

施宗生¹ 刘大同¹ 孙培养^{2*}

[摘要] 目的 探讨基于MLPA技术筛选帕金森病(PD)遗传相关基因及其与中医证型分布的关系和临床诊断价值。方法 选取2019年1月至2021年12月庐江县中医院确诊的106例PD患者作为研究对象,记为PD组,同时选取同期体检健康志愿者50名作为对照组,采用多重连接探针扩增(MLPA)技术检测,筛选出帕金森遗传相关基因,采用荧光定量(qRT)-PCR对基因mRNA表达水平进行检测。比较两组相关基因mRNA表达水平及相关基因与中医证型分布的关系,并绘制ROC曲线检验其对帕金森的临床诊断效能。结果 106例PD患者中36例(33.96%)*PARKIN*基因3号、4号外显子缺失突变,14例(13.21%)*PARKIN*基因2号外显子点突变,67例(63.21%) α -突触核蛋白(*SNCA*)基因1号外显子重复突变,其中15例(14.15%)患者未检出明确致病位点;PD患者不同的基因突变在证型的总体分布上,差异具有统计学意义($P<0.05$);PD组外周静脉血*PARKIN* mRNA表达水平低于对照组、*SNCA* mRNA表达水平高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);ROC曲线结果显示*PARKIN* mRNA、*SNCA* mRNA表达水平及其联合诊断曲线下面积(AUC)分别为0.727、0.859、0.905($P<0.05$),敏感度分别为0.745、0.632、0.745,特异度分别为0.700、0.920、0.900。结论 基于MLPA技术筛选出PD患者可能存在*PARKIN*基因与*SNCA*基因突变,且不同基因突变其中医证型分布不同,基因对应mRNA表达水平对PD具有一定的诊断价值。

[关键词] 多重连接探针扩增技术;帕金森病;遗传基因;中医证型分布

Screening of genetically related genes of Parkinson's disease based on MLPA technology and their relationship with the distribution of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome types and clinical diagnostic value

SHI Zongsheng¹, LIU Datong¹, SUN Peiyang^{2*}

(1. Department of Encephalopathy, Lujiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lujiang, Anhui, China, 231500; 2. Department of Acupuncture and Moxibustion, the Second Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the screening of genetic related genes of Parkinson's disease (PD) based on MLPA technique and their relationship and clinical diagnostic value with the distribution of TCM syndromes. **Methods** A total of 106 PD patients diagnosed in Lujiang County Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2019 to December 2021 were selected as the PD group, while 50 healthy volunteers from the same period medical examination were selected as the control group, the patients' antecubital venous blood was examined by multiplex ligation probe amplification (MLPA), parkinsonism genetic related genes were screened, and the mRNA expression levels of genes were determined by fluorescence quantitative (qRT) - PCR. The mRNA expression levels of related genes were compared between the two groups, and the

基金项目:安徽省教育厅高校科学研究项目(KJ2020A0404)

作者单位:1.安徽省庐江县中医院脑病科,安徽,庐江 231500

2.安徽中医药大学第二附属医院针灸科,安徽,合肥 230000

*通信作者:孙培养, E-mail: sunpeiyang2008@aliyun.com

relationship between the related genes and TCM pattern distribution, and the ROC curve was plotted to test their clinical diagnostic efficacy for Parkinson's. **Results** Thirty-six (33.96%) of 106 PD patients had deletion mutations in exons 3 and 4 of the *PARKIN* gene, 14 (13.21%) had point mutations in exon 2 of the *PARKIN* gene, and 67 (63.21%) had point mutations. Duplication mutation in exon 1 of the synuclein (*SNCA*) gene, of which 15 (14.15%) patients had no clear pathogenic locus. Different gene mutations in PD patients showed statistical significance in the overall distribution of syndrome types ($P<0.05$). The *PARKIN* mRNA expression level in the peripheral venous blood in the PD group was lower than that in the control group, and the *SNCA* mRNA expression level was higher than that in the control group, with statistically significant differences ($P<0.05$). The ROC curve results showed that *PARKIN* mRNA, *SNCA* mRNA expression levels and their combined diagnostic area under the curve (AUC) were 0.727, 0.859, 0.905 ($P<0.05$), with sensitivity of 0.745, 0.632, 0.745, and specificity of 0.700, 0.920, 0.900, respectively. **Conclusion** Patients with PD screened based on MLPA technique may have *PARKIN* gene mutations at *SNCA* gene, and different gene mutations have different distribution of TCM Patterns. The mRNA expression levels of the genes have a certain diagnostic value for PD.

[KEY WORDS] Multiplex ligation probe amplification technology; Parkinson's disease; Genetic genes; Distribution of TCM syndromes

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是中老年人群中常见的一种神经退行性变性疾病,主要的临床表现为运动迟缓、静止性震颤、姿势步态障碍、肌强直等,同时常伴有抑郁、睡眠障碍、便秘等症状^[1]。在中医理论中,PD属于“颤证”的范畴^[2]。据统计,PD全球流行率约占总人口的0.3%。60岁以上发病率约为1%,并随着年龄的增长而急剧增加,其中80岁以上者占3%^[3]。然而,目前对于PD的诊断标准仍然只有基于运动症状的鉴定,但是在长时间发生神经退行性病变时,临床的诊断受到个体发病特征及疾病严重程度不同的影响,造成诊断结果出现差异^[4],因此体液生物标志物在临床确诊PD具有重要意义。基因检测可以明确病因,有助于诊断和鉴别诊断PD。*PARKIN*基因和 α -突触核蛋白(α -Synuclein, *SNCA*)基因等须应用多重连接探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)和其他技术来完成基因拷贝数检测^[5]。本研究对106例PD患者进行MLPA检测,筛选相关遗传基因,并对其与中医证型分布的关系与其诊断效能进行分析。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12月庐江县中医院确诊的106例PD患者作为研究对象,记为PD组,同时选取同期年龄、性别等与PD组相匹配的体检健康志愿者50名作为对照组。PD组纳入标准:①符合《帕金森病抑郁中西医结合诊断与治疗

专家共识(2021年版)》^[6]中关于帕金森病者诊断标准,并确诊;②年龄 ≥ 18 岁;③患者本人或家属均对本研究知情同意,并签署知情同意书。排除标准:①伴有严重的肝、肾等器官功能障碍;②免疫功能障碍、缺陷等;③伴有严重的贫血、营养不良等;④存在颅外伤史、脑血管病史;⑤合并精神疾病等。对照组纳入标准:为自愿者,无PD家族史、无PD症状。PD组男76例,女30例,年龄47~81岁,平均年龄(61.47 ± 8.63)岁,病程1~9年,平均(5.14 ± 2.22)年,合并疾病:高血压46例、糖尿病13例,高血脂7例。对照组男29名,女21名,年龄41~80岁,平均年龄(62.44 ± 3.14)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具可比性,本研究已通过本院伦理委员会批注。

1.2 方法

抽取所有受试者外周静脉血2~3 mL,送至杭州迪安医学检验中心有限公司,采用MLPA技术对帕金森相关基因包括*SNCA*、*PARKIN*、*PINK1*、*PARK7*、*UCHL1*、*LRRK2*、*GCH1*、*ATP13A2*基因等各外显子是否存在变异。根据结果,采用荧光定量(qRT)-PCR对相应的mRNA表达水平进行检测。

1.3 观察指标

比较两组相关基因mRNA表达水平,及相关基因与中医证型分布的关系,并绘制ROC曲线检验其对帕金森的临床诊断效能。

中医症候诊断标准:依据《中医老年颤证诊断和疗效评定标准(试行)》^[7]中的证型分类标准,配合应用中医四诊,可将PD分为痰热动风

证、血瘀动风证、气血两虚证、肝肾不足证和阴阳两虚证。

1.4 统计学方法

本研究数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,组间比较用 χ^2 检验;绘制 ROC 曲线检验诊断效能;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MLPA 技术帕金森病遗传相关基因筛选结果

纳入 106 例 PD 患者,通过 MLPA 技术检出 36

例(33.96%) *PARKIN* 基因 3 号、4 号外显子缺失突变,14 例(13.21%) *ARKIN* 基因 2 号外显子点突变,67 例(63.21%) α -突触核蛋白(*SNCA*)基因 1 号外显子重复突变,其中 15 例(14.15%)患者未检出明确致病位点。

2.2 *PARKIN*、*SNCA* 基因突变情况及其与中医证型分布的关系

PD 患者不同的基因突变在证型的分布上差异有统计学意义($P < 0.05$),*PARKIN* 基因突变以肝肾不足证为主,占 50.00%;而 *SNCA* 基因突变以血瘀动风证为主,占 52.24%。见表 1。

表 1 *PARKIN*、*SNCA* 基因突变情况及其与中医证型分布的关系 [$n(\%)$]

基因	<i>n</i>	痰热动风证	血瘀动风证	气血两虚证	肝肾不足证	阴阳两虚证
<i>PARKIN</i> 基因突变	50	1(2.00)	4(8.00)	4(8.00)	25(50.00)	16(32.00)
<i>SNCA</i> 基因突变	67	6(9.86)	35(52.24)	4(5.97)	18(26.87)	4(5.97)
χ^2 值				34.817		
<i>P</i> 值				0.000		

2.3 两组 *PARKIN*、*SNCA* mRNA 表达水平比较

PD 组外周静脉血 *PARKIN* mRNA 表达水平低于对照组、*SNCA* mRNA 表达水平高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 *PARKIN*、*SNCA* mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>PARKIN</i> mRNA	<i>SNCA</i> mRNA
PD 组	106	0.91 $\pm$ 0.11	1.00 $\pm$ 0.15
对照组	50	1.02 $\pm$ 0.16	0.86 $\pm$ 0.09
<i>t</i> 值		5.007	5.781
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.4 *PARKIN*、*SNCA* mRNA 表达对 PD 的临床诊断价值

绘制 *PARKIN*、*SNCA* mRNA 诊断 PD 的 ROC 曲线,结果如下,*PARKIN*、*SNCA* mRNA 及两针联合对 PD 诊断 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.727、0.859、0.905(P 均 < 0.05),敏感度分别为 0.745、0.632、0.745,特异性分别为 0.700、0.920、0.900;两者联合诊断效能优于 *PARKIN* 或 *SNCA* mRNA 单项诊断。见表 3、图 1。

3 讨论

本研究中,依据相关评定标准并配合应用中医学四诊,将 PD 分为痰热动风证、血瘀动风证、气血

表 3 *PARKIN*、*SNCA* mRNA 诊断 PD 的 ROC 曲线结果

Table 3 ROC curve results of *PARKIN* and *SNCA* mRNA for PD diagnosis

变量	AUC	标准误	敏感度	特异性	95% CI	<i>P</i> 值
<i>PARKIN</i> mRNA	0.727	0.045	0.745	0.700	0.639~0.816	0.000
<i>SNCA</i> mRNA	0.859	0.030	0.632	0.920	0.800~0.917	0.000
联合诊断	0.905	0.024	0.745	0.900	0.858~0.952	0.000

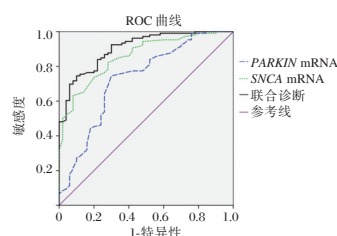


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

两虚证、肝肾不足证和阴阳两虚证。本研究采用 MLPA 技术对 PD 遗传基因进行筛选,并分析其与中医证型分布的关系和临床诊断价值,为临床的诊断与治疗提供参考。

MLPA 技术检测结果显示,纳入 106 例 PD 患者中检出 36 例(33.96%) *PARKIN* 基因 3 号、4 号外显子缺失突变,14 例(13.21%),*PARKIN* 基因 2 号外显子点突变,67 例(63.21%) α -突触核蛋白(*SNCA*)基因 1 号外显子重复突变,其中 15 例(14.15%)患者未检出明确致病位点。根据相关研究报道,PD 的病理改变,可能是由 *SNCA* 蛋白聚集

小体造成的, SNCA 蛋白的分解代谢受损促进了其有毒低聚物的形成, 而 SNCA 基因则被认为是 PD 的一个致病基因^[8]。SNCA 基因的基因突变, 及其多态性可能使 SNCA 蛋白个过高表达, 造成 α -synuclein 蛋白的异常聚集, 从而导致患者神经功能障碍和神经元死亡^[9]。有研究发现线粒体质量控制过程被确定为 PD 关键参与者, PARKIN 基因的缺失突变导致通过称为线粒体自噬对功能失调的线粒体去除不足^[10]。同时有研究通过体外细胞培养试验, PARKIN 蛋白可通过抑制线粒体的凋亡, 降低 α -synuclein 蛋白表达, 从而起到保护神经元的作用, 降低 PD 的发生^[11]。同时, 本研究对患者外周血中 PARKIN 与 SNCA mRNA 表达水平进行检查, 结果显示, PD 患者中 PARKIN mRNA 表达水平显著降低、SNCA mRNA 表达水平显著升高, 结果与研究^[12]一致。

PD 在我国传统医学理论中归于“颤证”、“震颤”等范畴, 于近现代, 在中医经典的基础上, 一些丰富经验的中医结合多年临床经验, 总结了颤证的病因、病机, 刘翠芳等^[13]总结为肝肾不足、气血亏虚、血瘀等; 许玉珉等^[14]认为颤证病机在肾虚兼血瘀。本研究对 PARKIN 基因、SNCA 基因的突变情况与 PD 中医证型分布关系进行分析, 结果显示 PD 患者不同的基因突变在证型的总体分布上存在差异, PARKIN 基因突变以肝肾不足证为主, 占 50.00%; 而 SNCA 基因突变以血瘀动风证为主, 占 52.24%。有研究表明, PARKIN 可激活线粒体的自噬, 而 PARKIN 基因缺失, PARKIN 蛋白表达降低, 线粒体受损、细胞凋亡增加, 造成肝肾功能损伤^[15]。PD 中 SNCA 基因的重复突变, 导致 α -synuclein 蛋白异常聚集从而引起神经系统变性, 其宏观表现为血瘀等病理产物的形成^[16]。同时本研究对 PARKIN mRNA 与 SNCA mRNA 表达水平对 PD 临床诊断效能进行分析, 结果表明, 二者均具有良好的诊断效能, 而两者联合诊断价值更高。然而, 经过研究表明, PARKIN 基因的突变多出现在早发型 PD 中, 且随着年龄的增长, 该基因位点突变率对着降低。因此仍需扩大样本量, 对不同地区、环境的患者, 增加相关基因的检测, 旨在得到更客观、准确的数据。

综上所述, PD 患者 PARKIN 基因、SNCA 基因存在突变, 且其与中医证型分布存在密切关系, 绘制 ROC 曲线分析, PARKIN mRNA 与 SNCA mRNA

表达水平对 PD 具有一定的临床诊断价值, 为 PD 的前期诊断及治疗提供参考。

参考文献

- [1] 环林林, 段培蓓, 修闵宁, 等. 帕金森病患者功能锻炼依从性及影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(10): 1334-1337.
- [2] 孙雪, 梁建庆, 何建成, 等. 帕金森病中医证候的研究进展[J]. 吉林中医药, 2020, 40(12): 1682-1686.
- [3] 栾明月, 王朝霞, 邓健文. α 突触核蛋白作为帕金森病诊断标志物和治疗靶点(英文)[J]. 生物化学与生物物理进展, 2022, 49(1): 86-99.
- [4] 史靖, 胡军, 罗开亮, 等. 帕金森病患者 ApoA-1 水平与 UPDRS 评分、MMSE 评分及脑白质微结构改变的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(3): 422-425.
- [5] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组, 中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍学组. 早发型帕金森病的诊断与治疗中国专家共识[J]. 中华神经医学杂志, 2021, 20(2): 109-116.
- [6] 杨宁, 刘卫国, 宁厚旭, 等. 帕金森病抑郁中西医结合诊断与治疗专家共识(2021 年版)[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2021, 21(12): 1027-1035.
- [7] 中华全国中医学会老年医学学会. 中医老年颤证诊断和疗效评定标准(试行)[J]. 山东中医学院学报, 1992(6): 55.
- [8] Ho PW, Leung CT, Liu H, et al. Age-dependent accumulation of oligomeric SNCA/ α -synuclein from impaired degradation in mutant LRRK2 knockin mouse model of Parkinson disease: role for therapeutic activation of chaperone-mediated autophagy (CMA)[J]. Autophagy, 2020, 16(2): 347-370.
- [9] 田小军, 郝洁, 邢红霞, 等. SNCA 基因多态性与 PD 患者发病和临床特征的相关性分析[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(2): 159-161.
- [10] Miller S, Muqit MMK. Therapeutic approaches to enhance PINK1/Parkin mediated mitophagy for the treatment of Parkinson's disease[J]. Neurosci Lett, 2019, 705: 7-13.
- [11] 胡霞, 陈方方, 侯蓓蓓, 等. Parkin 蛋白对帕金森细胞模型中 α -突触核蛋白表达的抑制作用及机制[J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(5): 12-19.
- [12] Zhou J, Zhao Y, Li Z, et al. miR-103a-3p regulates mitophagy in Parkinson's disease through Parkin/Ambra1 signaling[J]. Pharmacol Res, 2020, 160: 105197.
- [13] 刘翠芳, 黄小波. 帕金森病病因病机及治则治法学术源流探析[J]. 北京中医药, 2018, 37(8): 780-784.
- [14] 许玉珉, 马云枝, 沈晓明, 等. 马云枝从瘀血生风论治帕金森病[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(2): 251-253.
- [15] 程栋, 韦玲. 右美托咪定预处理通过激活 PINK1/Parkin 通路介导的线粒体自噬减轻小鼠肝缺血再灌注后急性肾损伤[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2022, 23(1): 35-37+97.
- [16] 章林. 帕金森病中医证型与血清胱抑素 C 的关系研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019: 1-41.

iPTH、AKP联合FER检测在MHD不良心血管事件预测中的应用

李仪静 曾继兰 尤小英 向平*

【摘要】目的 研究全段甲状旁腺激素(iPTH)、碱性磷酸酶(AKP)联合铁蛋白(FER)检测在维持性血液透析(MHD)不良心血管事件预测中的应用。**方法** 收集2019年8月至2020年12月于重庆市大足区人民医院进行维持性血液透析治疗的134例患者设为研究组,根据患者有无不良心血管事件的发生分为发生组和未发生组;另选取87名同时时间段健康体检者作为健康组。比较两组、发生以及未发生不良心血管事件患者iPTH、AKP、FER水平,统计不良心血管事件发生率及相关影响危险因素,同时分析iPTH、AKP、FER及三者联合检测对不良心血管事件发生的预测价值。**结果** 研究组iPTH、AKP、FER水平高于健康组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。发生不良心血管事件者43例(32.09%),未发生不良心血管事件者91例(67.91%)。发生组iPTH、AKP、FER水平高于未发生组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。iPTH、AKP、FER为影响不良心血管事件发生的因素($P<0.05$)。ROC曲线显示:iPTH、AKP、FER单独检测及三者联合检测AUC分别为0.812、0.836、0.809、0.913,其中以三者联合检测AUC值最大($P<0.05$)。**结论** iPTH、AKP、FER联合检测有利于临床预测不良心血管事件发生,其对维持性血液透析患者预后具有重大的意义。

【关键词】 维持性血液透析患者;不良心血管事件; iPTH; AKP; FER

Application of iPTH, AKP combined with FER detection in the prediction of adverse cardiovascular events in MHD

LI Yijing, ZENG Jilan, YOU Xiaoying, XIANG Ping*

(Department of Hemodialysis Room, People's Hospital of Dazu District, Chongqing, China, 402360)

【ABSTRACT】 Objective To study the application of intact parathyroid hormone (iPTH), alkaline phosphatase (AKP), and ferritin (FER) detection in predicting adverse cardiovascular events in elderly patients undergoing maintenance hemodialysis. **Methods** A total of 134 patients who underwent maintenance hemodialysis in Dazu District People's Hospital of Chongqing from August 2019 to December 2020 were collected as the research group, and they were divided into the occurrence group and the non-occurrence group according to whether the patients had adverse cardiovascular events; Another 87 healthy subjects during the same time period were selected as the healthy group. The levels of iPTH, AKP and FER in the two groups, patients with and without adverse cardiovascular events were compared. The operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the predictive value of iPTH, AKP, FER and the combined detection of iPTH, AKP and FER for adverse cardiovascular events. **Results** The levels of iPTH, AKP and FER in the study group were higher than those in the healthy group, the difference is statistically significant ($P<0.05$). Adverse cardiovascular events occurred in 43 cases (32.09%) and 91 cases (67.91%) without adverse cardiovascular events. The levels of iPTH, AKP and FER in the occurrence group were higher than those in the non-occurrence group, the difference is statistically significant ($P<0.05$). iPTH, AKP and FER were independent risk factors

基金项目:重庆市大足区科技发展项目(DZKJ,2018ACC1018)

作者单位:重庆市大足区人民医院血透室,重庆402360

*通信作者:向平, E-mail:XP15923055253@163.com

for adverse cardiovascular events ($P<0.05$). The ROC curve showed that the AUCs of iPTH, AKP, FER alone and the combined detection of the three were 0.812, 0.836, 0.809, and 0.913, respectively, and the combined detection of the three had the highest AUC value ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of iPTH, AKP and FER is beneficial to the clinical prediction of adverse cardiovascular events, which is of great significance for the prognosis of patients with maintenance hemodialysis.

[KEY WORDS] Maintenance hemodialysis patients; Adverse cardiovascular events; iPTH; AKP; FER

慢性肾衰竭由肾脏长期受到损伤引起,患者机体多存在水、电解质和酸碱平衡失调等问题。当慢性肾衰竭发展至终末期时常规治疗方式已无法进行有效治疗,血液透析是处于终末期肾脏病患者替代治疗的主要方式,可明显缓解症状和延长患者生命。但长时间的血液透析易导致患者出现不良心血管事件,对患者生活质量以及预后产生影响,严重时危及患者生命^[1]。目前研究尚未完全明确维持性血液透析患者在治疗期间发生不良心血管事件的具体机制。近年来不少研究显示,全段甲状旁腺激素(intact parathyroid hormone, iPTH)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)以及铁蛋白(ferritin, FER)均可对维持性血液透析患者不良心血管事件进行预测,但有学者认为单一的检查准确性和特异性较差^[2-4]。因此,本文对iPTH、AKP联合FER检测在老年维持性血液透析患者不良心血管事件预测中的应用进行研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年8月至2020年12月于重庆市大足区人民医院进行维持性血液透析治疗的134例患者设为研究组。纳入标准:①透析时间>6个月;②临床资料均完整,无缺失。排除标准:①存在合并严重内分泌紊乱、自身免疫性疾病或恶性肿瘤者;②伴随严重器质性疾病患者;③存在精神疾病无法配合本研究或依从性差者;④中途退出研究者。研究组男75例,女59例,平均年龄(66.18 ± 8.43)岁。原发疾病类型:慢性肾小球肾炎48例、糖尿病肾病50例、高血压性肾病36例。另选取87名同时间段进行健康体检者作为健康组,其中男46名,女41名,平均年龄为(65.51 ± 9.01)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,

受试者已签署知情同意书。

1.2 检测方法

收集所有参与研究者早晨空腹静脉血5 mL,使用离心机(离心半径10 cm)3 000 r/min分离血清,10 min后取出低温保存。使用放射免疫法测定iPTH、AKP水平,采用散射比浊法检测FER水平,试剂盒均购自德国Siemens公司,具体操作方法严格按照说明书进行。

1.3 随访

通过电话、复查等方式进行为期半年的随访,随访时间截止至2021年6月,根据患者有无不良心血管事件^[5](心绞痛、心肌梗死、心衰、恶性心律失常、心源性猝死等)的发生分为发生组和未发生组。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;采用多元Logistic回归分析不良心血管事件发生的危险因素;使用ROC曲线分析iPTH、AKP、FER及三者联合检测对不良心血管事件发生的预测价值,计算ROC曲线下面积(Area Under Curve, AUC),以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组iPTH、AKP、FER水平比较

研究组iPTH、AKP、FER水平均高于健康组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组iPTH、AKP、FER水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of iPTH, AKP and FER between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	iPTH(pg/mL)	AKP(U/L)	FER(ng/mL)
研究组	134	206.84±84.95	176.84±39.15	280.41±64.26
健康组	87	47.92±9.38	65.84±20.19	49.58±13.84
<i>t</i> 值		17.367	24.408	32.987
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 发生以及未发生不良心血管事件患者的 iPTH、AKP、FER 水平比较

通过随访资料得知:发生不良心血管事件患者 43 例(32.09%),未发生不良心血管事件患者 91 例(67.91%)。发生组 iPTH、AKP、FER 水平均高于未发生组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 影响不良心血管事件发生的危险因素

经多因素 Logistic 回归模型分析结果得出, iPTH、AKP、FER 为影响不良心血管事件发生的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 2 发生以及未发生不良心血管事件患者的 iPTH、AKP、FER 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of iPTH, AKP, and FER levels in patients with and without adverse cardiovascular events ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	iPTH(ng/mL)	AKP(IU/L)	FER(ng/mL)
未发生组	91	196.75±71.85	169.81±34.84	272.49±59.48
发生组	43	228.19±90.36	191.72±41.51	297.17±66.23
t 值		2.172	3.192	2.161
P 值		0.032	0.002	0.033

2.4 iPTH、AKP、FER 及三者联合检测对不良心血管事件发生的预测价值

ROC 曲线显示:iPTH、AKP、FER 单独检测及三

表 3 影响不良心血管事件发生的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors affecting adverse cardiovascular events

变量	单因素分析					多因素分析				
	回归系数	标准误	wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	P 值	回归系数	标准误	wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	P 值
年龄(>60 岁 vs <60 岁)	0.659	0.395	5.548	1.933(0.891~4.192)	0.138					
透析时间(>2 年 vs <2 年)	0.563	0.364	4.150	1.776(0.860~3.584)	0.064					
原发疾病类型(糖尿病肾病 vs 慢性肾小球肾炎 vs 高血压性肾病)	0.485	0.248	4.031	1.624(0.999~2.641)	0.068					
性别(男 vs 女)	0.619	0.314	3.894	1.857(0.892~3.865)	0.091					
iPTH(ng/mL)	0.669	0.133	8.185	1.952(1.504~2.534)	<0.001	0.685	0.236	6.364	1.984(1.249~3.150)	0.017
AKP(IU/L)	0.745	0.259	7.269	2.106(1.268~3.500)	0.004	0.834	0.156	8.086	1.931(1.422~2.622)	<0.001
FER(ng/mL)	0.698	0.213	6.281	1.984(1.324~3.051)	0.021	0.538	0.196	6.196	1.713(1.166~2.515)	0.012

者联合检测 AUC 分别为 0.812、0.836、0.809、0.913,其中以三者联合检测 AUC 值最大。见表 4、图 1。

表 4 iPTH、AKP、FER 及三者联合对不良心血管事件发生的预测价值

Table 4 Predictive value of iPTH, AKP, FER and the combination of the three on the occurrence of adverse cardiovascular events

预测指标	Cut-off 值	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	P 值
iPTH	25.22	0.891	0.879	0.812	0.731~0.893	<0.001
AKP	26.45	0.897	0.881	0.836	0.754~0.918	<0.001
FER	29.79	0.875	0.887	0.809	0.735~0.883	<0.001
三者联合	23.61	0.923	0.925	0.913	0.863~0.962	<0.001

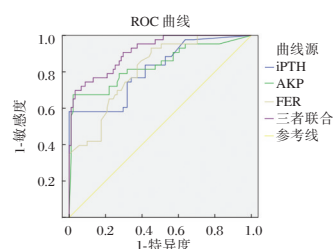


图 1 预测价值

Figure 1 The predictive value

3 讨论

临床治疗慢性肾衰竭主要以延缓病程发展、减轻或消除症状以及防治并发症为主。血液透析是通过吸附、弥散及对流等方法将血液中多余的有害物质及水分进行清除,使机体内酸碱及水、电解质维持相对平衡。血液透析可延长患者存活时间,但透析器对毒素清除具有局限性,易导致机体代谢产物残留、患者发生不良心血管事件,从而诱发并发症,造成患者死亡^[6-7]。有学者认为准确而有效的诊断有助于减少维持性血液透析患者不良心血管事件发生^[8-9]。

有研究发现矿物质及骨代谢紊乱是慢性肾脏病的常见并发症,与维持性血液透析患者的心血管事件密切相关,主要以 AKP、iPTH 等作为监测指标^[10]。本研究发现维持性血液透析患者 iPTH、AKP、FER 均高于健康人群,这与 Hanatani 等^[11]的研究结果相似。进一步研究显示发生组者 iPTH、AKP、FER 水平高于未发生组,这与既往研究结果相似^[12]。由此可看出维持性血液透析可在一定程

度上对 iPTH、AKP、FER 水平产生影响。甲状旁腺激素是由甲状旁腺主细胞分泌的人体重要的钙、磷调节因子,而 iPTH 可准确地反映患者甲状旁腺的分泌水平。常规血液透析难以清除体内多余的磷,随着透析龄的增长,血磷在体内蓄积量逐渐增加, iPTH 水平上升^[13]。AKP 是一种膜结合的同型二聚体酶,能在碱性环境下水解磷酸单酯键,可将无机焦磷酸(inorganic pyrophosphate, PPi)水解为无机磷酸盐(Inorganic phosphate, Pi),解除 PPi 对骨盐形成的抑制作用,造成局部的 Pi 与 PPi 比例失衡,从而引起 AKP 水平出现变化^[14]。过量铁沉积促进心肌细胞损伤、凋亡及纤维化,同时铁过载可引起铁的氧化还原电位产生细胞毒性,使羟基自由基大量生成,从而损害心肌细胞及血管内皮细胞,促进动脉硬化;FER 是人体内铁的主要储存形式,是机体缺铁或铁超载的主要评价指标之一,其与患者的心血管事件具有一定的相关性^[15]。有研究认为 FER 处于高水平时是维持性血液透析患者死亡的独立危险因素^[16]。本研究分析发现, iPTH、AKP、FER 为影响维持性血液透析患者不良心血管事件发生的独立危险因素,说明当 iPTH、AKP、FER 水平出现变化时可在一定程度上影响不良心血管事件发生。考虑其中缘由可能是因为 iPTH、AKP、FER 水平异常升高,引起骨骼畸形、血管及心瓣膜钙化等,导致不良心血管事件发生。鲁晓涵等^[17]认为联合检测 ALP 和 iPTH 可更好地预测维持性血液透析患者预后。本研究发现 iPTH、AKP、FER 三者联合检测不良心血管事件发生的 AUC 值最大,灵敏度、特异度最高,说明联合检测能够有效提高诊断的准确度。

综上所述, iPTH、AKP、FER 联合检测有利于临床预测不良心血管事件发生,其对维持性血液透析患者预后的具有重大的意义。

参考文献

- [1] Chou YH, Huang JY, Kornelius E, et al. Major Adverse Cardiovascular Events after Treatment in Early-stage Breast Cancer Patients Receiving Hormone Therapy [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):325-329.
- [2] 张曼,张京慧,温小军. 老年血液透析患者血清 hs-CRP、Fetuin-A 水平与心脏瓣膜钙化和血管钙化的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(3):296-299.
- [3] Targher G, Lippi G. Editorial: importance of an elevated mean platelet volume for prediction of major adverse cardiovascular events in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 49(8):1092-1093.
- [4] Pastori D, Miyazawa K, Li Y, et al. Atrial high-rate episodes and risk of major adverse cardiovascular events in patients with cardiac implantable electronic devices [J]. *Clin Res Cardiol*, 2020, 109(9):143-146.
- [5] 宋培. CysC、IL-6 及 LVEF 对维持性血液透析患者发生不良心血管事件的预测价值[J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(11):1762-1765.
- [6] Sen J, Tonkin A, Varigos J, et al. CHA2DS2 - VASc and CHADS2 scores for risk stratification of major adverse cardiovascular events in the COMPASS trial [J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(2):1548-1550.
- [7] 高翔,苏华俊,邓流飞,等. 血压变异性、氨基末端脑利钠肽前体与维持性血液透析患者心血管事件的相关性分析[J]. *临床肾脏病杂志*, 2019, 19(1):49-53.
- [8] Targher G, Lippi G. Editorial: importance of an elevated mean platelet volume for prediction of major adverse cardiovascular events in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 49(8):1092-1093.
- [9] 赵俊丽,张婷,闵丹燕,等. 维持性血液透析患者血清骨硬化蛋白与冠脉钙化及心血管事件的关系[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2020, 29(3):208-214.
- [10] 何舒宁,张亮亮,郝丽,等. 维持性血液透析患者钙磷及 iPTH 三项指标达标状况分析[J]. *安徽医学*, 2020, 41(2):126-129.
- [11] Hanatani S, Izumiya Y, Yamamoto M, et al. A simple method of sarcopenia detection can predict adverse cardiovascular events in patients with abdominal obesity [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2021, 45(10):1-7.
- [12] Lim JH, Park Y, Yook J M, et al. Randomized controlled trial of medium cut-off versus high-flux dialyzers on quality of life outcomes in maintenance hemodialysis patients [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):77-80.
- [13] 刘雪姣,谢晓东,程虹,等. 甲状旁腺增生在维持性血液透析患者全因死亡和主要不良心脏事件中的作用[J]. *中国血液净化*, 2020, 19(9):592-597.
- [14] Senoner T, Dichtl W. Variability in biological markers for prediction of adverse cardiovascular events [J]. *Heart*, 2020, 106(14):1040.
- [15] Felipe T, Alberto N, Juan Castellanos - De LH, et al. HEART, TIMI, and GRACE Scores for Prediction of 30-Day Major Adverse Cardiovascular Events in the Era of High-Sensitivity Troponin [J]. *Arq Bras Cardiol*, 2020, 114(5):795-802.
- [16] Zheng Y, Tang Z, You L, et al. Trimethylamine-N-oxide is an independent risk factor for hospitalization events in patients receiving maintenance hemodialysis [J]. *Ren Fail*, 2020, 42(1):580-586.
- [17] 鲁晓涵,林海霞,耿明慧,等. 联合检测血清碱性磷酸酶和甲状旁腺激素对维持性血液透析患者全因及心血管事件死亡风险的预测价值[J]. *中华内科杂志*, 2020, 59(8):634-637.

慢性牙周炎患者龈沟液中 IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 的表达与临床意义

刘莉 戈春城* 黄婧

【摘要】目的 研究慢性牙周炎患者龈沟液中白介素-35(IL-35)、白介素-1 β (IL-1 β)及干扰素 γ (IFN- γ)的表达与临床意义。**方法** 选取2018年4月至2021年4月恩施土家族苗族自治州中心医院收治的126例慢性牙周炎患者设为研究组,另选取同期于本院进行健康体检的101名健康人群为对照组。比较两组IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 水平;对研究组进行为期6个月的随访,按照预后判断标准将患者分为预后良好组与预后不良组,比较两组IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 水平。分析影响患者预后的危险因素及检测IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 对慢性牙周炎的预测价值。**结果** 研究组IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。随访结束预后良好者88例。预后不良组IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。吸烟史、牙龈出血、糖尿病、龈下菌斑、IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 为影响慢性牙周炎预后的独立危险因素($P<0.05$)。IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 三者联合曲线下面积最大,为0.979($P<0.05$)。**结论** 慢性牙周炎患者龈沟液中IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 水平异常升高,联合检测对慢性牙周炎的诊断具有意义。

【关键词】 慢性牙周炎; IL-35; IL-1 β ; IFN- γ

Expression and clinical significance of IL-35, IL-1 β and IFN- γ in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis

LIU Li, GE Chunheng*, HUANG Jing

(Department of Oral Diagnosis and Treatment Center, the Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei, China, 445000)

【ABSTRACT】Objective To study the expression and clinical significance of interleukin-35 (IL-35), interleukin-1 β (IL-1 β) and Interferon γ (IFN- γ) in the gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. **Methods** 126 patients with chronic periodontitis admitted to Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Central Hospital from April 2018 to April 2021 were selected as the study group, another 101 healthy people who underwent physical examination in this hospital during the same period were selected as the control group. The levels of IL-35, IL-1 β and IFN- γ in the two groups were compared; the patients in the study group were followed up for 6 months, according to the prognostic criteria. Patients were divided into good prognosis group and poor prognosis group. The levels of IL-35, IL-1 β and IFN- γ in the two groups were compared. The risk factors affecting the prognosis of patients were analyzed and the predictive value of IL-35, IL-1 β and IFN- γ in chronic periodontitis was detected. **Results** The levels of IL-35, IL-1 β , IFN- γ in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After the follow-up, 88 cases had a good prognosis. The IL-35, IL-1 β , IFN- γ in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Smoking history, gingival bleeding, diabetes, subgingival plaque, IL-35, IL-1 β , IFN- γ levels were independent risk factors affecting the prognosis of patients with chronic periodontitis ($P<0.05$).

基金项目:2020年恩施州科技计划指导性项目(F20200016)

作者单位:恩施土家族苗族自治州中心医院口腔诊疗中心,湖北,恩施 445000

*通信作者:戈春城, E-mail:18607268718@163.com

The area under the combined curve of IL-35, IL-1 β , IFN- γ is the largest at 0.979 ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of IL-35, IL-1 β and IFN- γ in the gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis are abnormally increased, and the combined detection is of significance in the diagnosis of chronic periodontitis.

[KEY WORDS] Chronic periodontitis; IL-35; IL-1 β ; IFN- γ

牙周炎是以牙周组织的进行性破坏为特点的一种疾病,据统计95%的牙周炎患者为慢性牙周炎^[1]。慢性牙周炎在临床上主要表现为附着丧失、牙周支持组织丧失等症状,严重影响着患者的日常生活。临床试验证实牙菌斑微生物感染是引发牙周炎的主要原因^[2]。相关临床实验发现,慢性牙周炎患者的牙周袋中存在约 10^8 个细菌,是导致患者机体出现免疫反应、产生炎性细胞因子的重要原因^[3-4]。目前对慢性牙周炎的治疗以消除菌斑微生物为基础,虽取得一定的临床效果,但有部分患者在牙周袋过深等多因素的影响下,菌斑没有办法清除完全,容易引起疾病复发^[5]。随着对牙周病的不断深入认知,临床发现患者龈沟液中一些细胞因子能够反映牙周组织的炎症状况,可作为慢性牙周炎早期诊断的重要分子标志物^[6]。对此,本文就慢性牙周炎患者龈沟液中白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、干扰素 γ (Interferon γ , IFN- γ)及白介素-35(Interleukin-35, IL-35)的表达与临床意义进行研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析2018年4月至2021年4月于恩施土家族苗族自治州中心医院就诊的126例慢性牙周炎患者的病历资料,并归为研究组。其中男66例,女60例;平均年龄(37.02 ± 4.48)岁。

纳入标准:①均确诊为慢性牙周炎^[7];②在本院治疗,且病历资料及随访资料完整无缺损;③1年内未接受任何牙周治疗;④近一个月内未接受抗生素治疗者。排除标准:①有血液系统或传染性疾病者;②存在恶性肿瘤疾病;③心、肺、肝、肾等功能异常者;④合并精神疾病或认知障碍者;⑤明显错颌畸形者;⑥处于特殊时期的女性,如:妊娠期、哺乳期或生理期。

另纳入同期于本院体检的101名健康人群,归为对照组,其中男56名,女45名;平均年龄(38.12 ± 5.18)岁。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已通过院伦理委员批准同意,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

收集患者临床资料,包括性别、年龄、BMI、糖尿病病史及牙龈出血等。

IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 检测方法:首先,选取受检者4个象限的牙齿(以第一磨牙为主)的颊侧近中或远中位点作为受试点,注意牙齿颈部需要无缺损及充填体;使用无菌棉球将受试牙的牙面及牙龈擦拭干燥,气枪吹干,棉卷隔湿。于受试牙的龈沟或牙周袋内插入30号吸潮纸尖,遇到轻阻力时停止,静置30s后拿出,立即存入200 mL PBS缓冲液的试管中密封,于 -80°C 冰箱保存待测。采用酶联免疫法检测所有受检者龈沟液中IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 水平,试剂盒购自欣博盛生物科技有限公司,严格遵循说明书操作。参考值:IL-35 >8.59 pg/mL, IL-1 β >12.50 ng/mL, IFN- γ >3.22 pg/mL,为异常升高^[8]。

1.3 随访

研究组患者出院后随访6个月(随访截止日期:2021年10月),按照预后判断标准将患者分为预后良好组(无附着丧失等症状)与预后不良组(附着丧失1~2 mm,牙周袋深度 >4 mm)^[9]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)描述,行 t 检验;采用Logistic回归模型分析影响慢性牙周炎患者预后的相关危险因素;采用ROC曲线分析检测IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 水平对慢性牙周炎的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 表达水平比较

研究组患者的IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 表达水平平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同预后患者中IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 表达水平比较

随访结束,预后良好患者88例。预后良好组患者的IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 表达水平平均低于预后不良组($P<0.05$)。见表2。

表1 两组 IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of IL-35, IL-1 β and IFN- γ between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-35(pg/mL)	IL-1 β (ng/mL)	IFN- γ (pg/mL)
研究组	126	11.76 $\pm$ 5.37	23.10 $\pm$ 5.86	3.34 $\pm$ 0.86
对照组	101	5.16 $\pm$ 2.16	6.78 $\pm$ 2.54	2.33 $\pm$ 0.78
t 值		11.617	26.085	9.162
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 不同预后患者中 IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the expression levels of IL-35, IL-1 β and IFN- γ in patients with different prognosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-35(pg/mL)	IL-1 β (ng/mL)	IFN- γ (pg/mL)
预后良好组	88	10.26 $\pm$ 3.22	16.26 $\pm$ 5.48	2.98 $\pm$ 0.88
预后不良组	38	15.23 $\pm$ 4.85	38.95 $\pm$ 6.48	4.16 $\pm$ 0.77
t 值		6.772	20.166	7.163
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 影响慢性牙周炎患者预后的相关因素分析

吸烟史、牙龈出血、糖尿病、龈下菌斑、IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 水平升高为慢性牙周炎患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 检测对慢性牙周炎不良预后的预测价值

IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 三者联合曲线下面积为 0.979, 大于三者单独检测($P<0.05$)。见表4、图1。

表4 IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 检测对慢性牙周炎不良预后的预测价值

Table 4 The predictive value of IL-35, IL-1 β and IFN- γ levels in chronic periodontitis

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95% CI	约登指数	P 值
IL-35	0.864	0.762	0.942	0.653~0.862	0.626	<0.001
IL-1 β	0.871	0.767	0.818	0.782~0.944	0.638	<0.001
IFN- γ	0.893	0.731	0.928	0.000~1.000	0.624	<0.001
三者联合	0.975	0.813	0.979	0.000~1.000	0.788	<0.001

表3 影响慢性牙周炎患者预后的相关因素分析

Table 3 Analysis of related factors affecting the prognosis of patients with chronic periodontitis

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
性别(男 vs 女)	1.139	0.713~1.513	0.569			
年龄(<50 岁 vs $\geq$ 50 岁)	1.658	0.892~3.081	0.644			
BMI($\geq$ 25.0 kg/m 2 vs <25.0 kg/m 2)	1.782	0.202~15.730	0.526			
吸烟史(有 vs 无)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	0.268~1.779	0.538
牙龈出血(有 vs 无)	1.614	1.143~2.280	0.020	1.672	1.072~2.609	0.012
糖尿病(有 vs 无)	1.829	1.022~3.274	0.023	1.972	1.091~3.564	0.010
龈下菌斑(有 vs 无)	1.791	1.325~1.616	0.019	1.857	1.257~1.754	0.041
IL-35(异常升高 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.6369	1.365~1.784	0.035
IL-1 β (异常升高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
IFN- γ (异常升高 vs 正常)	1.658	1.587~1.575	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017

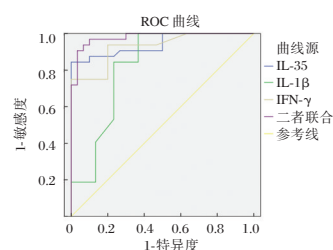


图1 预测价值曲线图

Figure 1 The predictive value

3 讨论

慢性牙周炎是临床上常见的慢性口腔感染性疾病,作为一个持续性的炎性反应,容易在患者缓解期及急性发作期间反复交替,最终导致牙槽骨吸收、牙龈出血等并发症,对患者的身心健康造成严重影响^[10]。既往研究发现,TNF- α 、IL-6 作为炎症介导的活性细胞因子,在慢性牙周炎患者龈沟液中水平高于健康口腔志愿者,说明两者与牙周病的发生具有密切关系^[11]。除 TNF- α 、IL-6 与牙周炎发生关系紧密外,牙周炎炎症反应发作时,牙周袋中的微生物或脂多糖等分泌物会通过受损上皮进入患者的血液系统,从而引起单核巨噬细胞活化,释放出 IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 等炎性因子^[12]。越来越多相关研究证实,在牙周组织的破坏机制中,细胞因子具有重要的免疫调节作用及直接介导作用^[13]。

IL-35 作为一种具有免疫调节作用的抗炎因子,由调节性 T 细胞分泌,能够促进抑制性 T 细胞的分泌,调节全身免疫状态,当机体处于炎症状态时,IL-35 呈现高水平表达^[14]。相关研究发现,慢性牙周炎及侵袭性牙周炎患者的牙龈组织中 IL-35 浓度明显高于健康人群^[15]。IL-1 β 是一种特异性急性期炎性指标,具有促进黏附分子和趋化性细

胞因子产生的作用,不但能促进造血细胞和淋巴细胞增殖活化,还会导致其他炎症因子表达和释放^[16-17]。相关文献显示,慢性牙周炎患者龈沟液中IL-1 β 水平显著高于正常健康人群,且以浓度依赖方式抑制牙周膜细胞的增殖,参与了牙周炎的发展^[18]。IFN- γ 为Th1细胞的中心细胞因子,临床试验发现,IFN- γ 具有抑制骨吸收的特性,能够减少破骨细胞的分化及骨吸收量^[19]。在牙周炎中,IFN- γ 具有刺激巨噬细胞并减弱其活性的作用,以抑制根尖免疫炎症反应,IFN- γ 也可诱导根尖周组织产生其他炎症因子等加速根尖的组织破坏^[20]。本文研究结果显示,慢性牙周炎患者龈沟液中IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 表达水平均高于健康人群,该变化在预后不良患者中更为显著,提示三者的高水平变化与慢性牙周炎的发病具有一定联系。

进一步研究结果显示,吸烟史、牙龈出血、糖尿病、龈下菌斑、IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 水平升高是影响慢性牙周炎预后的独立危险因素。由此可见,影响慢性牙周炎患者预后的因素多种多样,针对影响患者预后的因素采取针对性处理手段,对疾病后续的治疗具有积极意义。ROC曲线结果显示,IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 三者联合曲线下面积为0.979,大于三者单独检测。由此可见,IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 三者联合检测对慢性牙周炎患者预后情况的评价具有较高准确性,可作为预测慢性牙周炎患者预后评估的标志物。

综上所述,慢性牙周炎患者龈沟液中IL-35、IL-1 β 、IFN- γ 水平异常升高,联合检测对慢性牙周炎的诊断具有意义。

参考文献

- [1] 漆晓玲,甘廷彬,黄姣.慢性牙周炎和慢性肾病相关关系的研究进展[J].国际口腔医学杂志,2021,48(1):5-6.
- [2] 李宝坤,陈晓涛,杨柯,等.慢性牙周炎患者外周血CD4~+CD25~+调节性T细胞表达[J].中华实用诊断与治疗杂志,2019,33(5):487-490.
- [3] 颜孟雄,黄婧,杨再波.慢性牙周炎龈沟液IL-10、IL-23、MCP-1与牙周指数的相关性分析[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):255-258.
- [4] 罗业姣,龚仁国,陈琦,等.盐酸米诺环素软膏联合布洛芬对慢性牙周炎患者龈沟液TNF- α 、IL-1 β 、IL-8水平及生活质量的影响[J].现代生物医学进展,2019,19(20):3935-3938.
- [5] Liu HJ, Wang B, Wang AC, et al. Prognostic factors affecting the short-term efficacy of non-surgical treatment of chronic periodontitis: a multilevel modeling analysis[J]. Eur J Med Res, 2021,26(1)21-29.
- [6] 杨彝,常卫.慢性牙周炎患者龈沟液IL-6、TNF- α 、MMP-8水平及临床意义[J].检验医学与临床,2020,17(14):2085-2087.
- [7] 汪潇,张斌,Hesham Al-Sharani,等.miR-23a、miR-146a在种植体周围炎龈沟液中的表达及临床意义[J].陕西医学杂志,2020,49(2):135-139.
- [8] Pinar KZ, Cayir KG, Bahattin A, et al. Nonsurgical Periodontal Therapy Reduces Salivary and Gingival Crevicular Fluid YKL-40 and IL-6 Levels in Chronic Periodontitis[J]. Oral Health Prev Dent, 2020,18(4):815-822.
- [9] 季明辉,谭选平,徐婷,等.牙周炎影响下口腔微生物群落的变化及检测技术的研究进展[J].江苏医药,2021,47(3):308-312.
- [10] 彭曼斯,韩淋畴,张华贵,等.IL-33和IL-35对慢性牙周炎患者疗效评价的研究[J].现代医学,2020,48(3):365-368.
- [11] 刘钦赞,庞真贞,李晔.盐酸米诺环素软膏联合替硝唑治疗对慢性牙周炎患者龈沟液中IL-10、TGF- β 及外周血Th17、Treg水平的影响[J].临床和实验医学杂志,2019,18(9):966-969.
- [12] Wang H, Zhang W, Wang W, et al. The prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis in patients with chronic periodontitis: A meta-analysis[J]. PLoS ONE, 2020,15(10):24-25.
- [13] Hyun H, Park YW, Kwon YC, et al. Relationship Between Chronic Periodontitis and Lower Urinary Tract Symptoms/Benign Prostatic Hyperplasia[J]. Int Neurourol J, 2021,25(1):36-41.
- [14] 张克明,顾朝云,冯陈刚.口腔H.pylori感染与慢性牙周炎患者龈沟液中细胞因子和MMPs/TIMPs水平的相关性[J].中国微生态学杂志,2020,32(1):31-34.
- [15] Zhang X N, Du R. Two Zn(II)-based Coordination Polymers: Treatment Activity on Chronic Periodontitis by Inhibiting the Relative Expression of the Porphyria gingivalis Survival Gene[J]. J Oleo Sci, 2021,70(4):541-548.
- [16] 孙菲,周月华,阎晶,等.种植体周围炎患者龈沟液内炎症因子与血链球菌及牙龈卟啉单胞菌变化研究[J].中华医院感染学杂志,2019,29(1):120-123.
- [17] 宁海燕,梁斌,梁扬师.西帕依固龈液对慢性牙周炎患者牙周指标和龈沟液中细胞因子的影响[J].中国医药,2019,14(4):600-604.
- [18] Bail S, Ydr ZT, Bayraktar N, et al. Severe chronic periodontitis is not common in Acromegaly: Potential protective role of gingival BMP-2[J]. Turk J Med Scis, 2021,51(3):2-6.
- [19] 夏琳,吴晨,徐东升.牙周基础治疗对慢性牙周炎患者龈沟液趋化因子CX3CL1、RANKL/OPG水平的影响[J].临床口腔医学杂志,2020,36(5):282-285.
- [20] 林浩.正畸固定矫治患者龈沟液中TSLP和IL-33浓度的变化与牙周炎症的关系[J].实用口腔医学杂志,2019,35(4):583-586.

·论 著·

HSP伴MP感染患儿呼吸道菌群多样性与25(OH)D、IL-6、IgM的相关性

吴秦超* 金波 张显敏

【摘要】目的 探究过敏性紫癜(HSP)合并肺炎支原体(MP)感染患儿呼吸道菌群多样性与血清25-羟维生素D[25(OH)D]、IL-6及免疫指标IgM的相关性。**方法** 选取2018年7月至2021年7月期间皖西卫生职业学院附属医院儿科收治的HSP患儿88例为研究对象,根据MP感染情况分未合并MP感染HSP组($n=49$)与合并MP感染HSP组($n=39$)。检测并对比两组患儿血清25(OH)D、IL-6及免疫球蛋白IgM水平,并采用Spearman分析上述指标与患儿呼吸道菌群多样性的关系。**结果** Simpson指数、IL-6水平:合并MP感染HSP组大于未合并MP感染HSP组,差异有统计学意义($t=36.467, 4.671, P<0.05$);Shannon指数、25(OH)D水平:未合并MP感染HSP组大于合并MP感染HSP组,差异有统计学意义($t=16.924, 5.055, P<0.05$);IgM水平:未合并MP感染HSP组大于合并MP感染HSP组,差异有统计学意义($t=4.763, P<0.05$)。Spearman相关性分析结果显示,HSP合并MP感染患儿Simpson指数与血清25(OH)D、IgM水平呈负相关,Shannon指数与IL-6水平呈正相关($P<0.05$)。**结论** HSP合并MP感染患儿呼吸道菌群多样性与血清25(OH)D、IL-6及免疫指标IgM显著相关。

【关键词】 过敏性紫癜;肺炎支原体感染;呼吸道菌群多样性;白细胞介素;25-羟维生素D;免疫指标

Correlation of respiratory tract flora diversity with serum 25 (OH) D, IL-6 and IgM in children with HSP complicated with MP infection

WU Qinchao*, JIN Bo, ZHANG Xianmin

(Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of West Anhui Health Vocational College, Lu'an, Anhui, China, 237000)

【ABSTRACT】 Objective To explore the correlation of respiratory flora diversity with serum 25-hydroxyvitamin D [25 (OH) D], IL-6 and immune indexes in children with henoch-schonlein purpura (HSP) complicated with Mycoplasma pneumoniae (MP) infection. **Methods** A total of 88 children with HSP who were admitted to the Department of Pediatrics of Affiliated Hospital of West Anhui Health Vocational College from July 2018 to July 2021 were selected as the research objects, according to the status of MP infection, the HSP group without MP infection ($n=49$) and the HSP group with MP infection ($n=39$) were divided. The serum levels of 25 (OH) D, IL-6 and immunoglobulin IgM were detected and compared between the two groups, and the relationship between the above indicators and the diversity of respiratory tract flora was analyzed by Spearman. **Results** Simpson index and IL-6 level: HSP group with MP infection > HSP group without MP infection; Shannon index, 25 (OH) D level: HSP group without MP infection > HSP group with MP infection; IgM Level: HSP group without MP infection > HSP group with MP infection, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of Spearman correlation analysis showed that Simpson index was negatively correlated with serum 25 (OH) D and IgM levels in children with HSP complicated with MP infection, and Shannon index was positively correlated with IL-6 level ($P<0.05$). **Conclusion** The diversity of respiratory tract

基金项目:北京医卫健康公益基金资助(B20090EN)

作者单位:皖西卫生职业学院附属医院儿科,安徽,六安 237000

*通信作者:吴秦超, E-mail: qinzhongchao@126.com

flora in children with HSP complicated with MP infection is significantly correlated with serum 25 (OH) D, IL-6 and immune index IgM.

[KEY WORDS] Henoch-schonlein purpura; Mycoplasma pneumoniae infection; Respiratory flora diversity; Interleukin 6; 25-hydroxyvitamin D; Immune index

过敏性紫癜(henoch-schonlein purpura, HSP)是多系统免疫球蛋白 A 介导的儿童常见血管变态反应性疾病,主要表现为非血小板减少性的皮肤紫癜、腹部不适、关节炎或下肢大关节痛等关节症状,部分患儿有肾脏、呼吸受累风险^[1]。HSP 发生的原因可能是由肺炎支原体(Mycoplasma pneumoniae, MP)感染引起的呼吸道感染,可导致儿童口咽、鼻咽菌群紊乱,还会引起除呼吸道症状以外的广泛组织损伤。近年来有研究报道^[2], HSP 患儿常合并 MP 感染,1 个月至 18 岁儿科患者的 MP 感染率为 30.3%~37.5%。而 B 淋巴细胞在 HSP 发病中起主要作用,患儿体内 B 细胞活性增强,分泌到血液中的 IgA、IgM 增多,从而增强体液免疫^[3]。维生素 D 是儿童生长发育必不可少的微量元素,维生素 D 可参与骨代谢调节钙磷水平并参与机体免疫反应,现已发现维生素 D 与许多儿童常见的感染性自身免疫性疾病的发生发展有关^[4]。本研究选取 HSP 患儿为研究对象,探究 HSP 合并 MP 感染患儿呼吸道菌群多样性与维生素 D、IL-6 及相关免疫指标间的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2018 年 7 月至 2021 年 7 月期间皖西卫生职业学院附属医院儿科收治的 HSP 患儿 88 例为研究对象。根据 MP 感染情况分未合并 MP 感染 HSP 组($n=49$)与合并 MP 感染 HSP 组($n=39$)。纳入标准:①符合《儿童过敏性紫癜循证诊治建议》^[5]中 HSP 的诊断标准并经病原学检查确诊;②经血清学方法诊断为 MP 感染,表现为外周静脉血 MP 抗体阳性^[6]。③年龄 2~15 岁;④发病时间 <5 d;⑤患儿家属知情并签署同意书。排除标准:①患有免疫缺陷性疾病或代谢疾病;②患有意识障碍等神经系统疾病或依从性差,无法配合研究;③近一个月内服用过糖皮质激素、免疫抑制剂或维生素 D 补充治疗。未合并 MP 感染 HSP 组男 28 例,女 21 例,年龄(7.74 ± 2.14)岁;合并 MP 感染 HSP 组男 19 例,女 20 例,年龄(7.62 ± 2.63)岁。两组性别、年龄等一般

资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经皖西卫生职业学院附属医院医学伦理会审批并通过。

1.2 呼吸道菌群检测方法

专业护士指导患儿用温开水漱口后用无菌痰液收集器收集患儿咳出的气管深处痰液,保存于 -80°C 冰箱中待测。对标本作液化处理后加入裂解液裂解,转至硅胶柱中吸附 DNA,对目标基因片段进行 PCR 扩增,回收扩增产物,用荧光定量系统对 PCR 扩增回收产物定量后,采用 NovaSeq6000 高通量测序仪(美国 Illumina 公司)进行高通量测序,最后用 QIIME 序列分析软件分析呼吸道菌群多样性。采用辛普森多样性指数(Simpson index)与香农-维纳指数(Shannon index)^[7]评估呼吸道菌群多样性, Simpson 指数越小, Shannon 指数越大,表示物种数量越多。

1.3 25(OH)D、IL-6 及免疫指标检测方法

于研究对象入院次日清晨采集空腹肘正中静脉血 10 mL,注入含有抗凝剂的试管中混匀,1 800×g 离心 10 min(离心半径 10 cm)后取上层血清,保存于 -80°C 冰箱中待测。25(OH)D 检测:采用 XevoTQ-S 型三重四级杆串联质谱仪(美国 Waters 公司)及其配套试剂盒,以液相色谱-串联质谱法检测。IL-6 检测:采用双抗体夹心法使用试剂盒(广州祺正生物科技有限公司)进行测定。IgM 检测:采用 Cobas e 601 型全自动化学发光免疫分析仪(罗氏诊断产品有限公司)采用免疫透射比浊法进行测定。

1.4 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。采用 Spearman 分析患儿呼吸道菌群多样性与血清 25(OH)D、IL-6 及免疫指标的关系, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组呼吸道菌群多样性比较

Simpson 指数:合并 MP 感染 HSP 组大于未合

并 MP 感染 HSP 组,差异有统计学意义($P<0.05$); Shannon 指数:未合并 MP 感染 HSP 组大于合并 MP 感染 HSP 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 Simpson 与 Shannon 指数比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of Simpson and Shannon indices between two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Simpson 指数	Shannon 指数
合并 MP 感染 HSP 组	39	0.75±0.06	0.79±0.10
未合并 MP 感染 HSP 组	49	0.36±0.04	1.51±0.25
<i>t</i> 值		36.467	16.924
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 两组 25(OH)D、IL-6、IgM 水平比较

IL-6 水平:合并 MP 感染 HSP 组大于未合并 MP 感染 HSP 组,差异有统计学意义($P<0.05$); 25(OH)D 水平:未合并 MP 感染 HSP 组大于合并 MP 感染 HSP 组,差异有统计学意义($P<0.05$); IgM 水平:未合并 MP 感染 HSP 组大于合并 MP 感染 HSP 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组 25(OH)D、IL-6、IgM 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of 25(OH)D, IL-6 and IgM levels between two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	25(OH)D (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)	IgM (g/L)
合并 MP 感染 HSP 组	39	13.17±3.89	19.74±3.36	0.92±0.26
未合并 MP 感染 HSP 组	49	17.65±4.31	16.27±3.54	1.32±0.47
<i>t</i> 值		5.055	4.671	4.763
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 呼吸道菌群多样性与血清 25(OH)D、IL-6 及免疫指标的相关性分析

Spearman 相关性分析结果显示,HSP 合并 MP 感染患儿 Simpson 指数与血清 25(OH)D、IgM 水平呈负相关,Shannon 指数与 IL-6 水平呈正相关($P<0.05$)。见表 3。

表 3 呼吸道菌群多样性与血清 25(OH)D、IL-6 及免疫指标的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of respiratory flora diversity and serum 25(OH)D, IL-6 and immune indexes						
	25(OH)D		IL-6		IgM	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
Simpson 指数	-0.409	0.010	0.402	0.011	-0.358	0.025
Shannon 指数	0.399	0.012	-0.243	0.017	0.398	<0.001

3 讨论

目前 HSP 发病机制尚不完全清楚,但遗传因素和环境因素(接触过敏原、微生物感染、药物等)与 HSP 的发生及发展关系密切。MP 是儿童呼吸道感染的主要病原体之一,可引起较轻的上呼吸道感染(咽炎、鼻窦炎)和严重的下呼吸道感染(支气管炎、肺炎)并损害肺外系统^[8-9]。目前 MP 感染患者存在大环内酯类耐药率升高、多种全身并发症、治疗难度增加等问题^[10]。因此,加强相关研究对指导临床开展针对性治疗及改善 HSP 合并 MP 感染患儿预后具有重要意义。

HSP 患儿紫癜皮肤的毛细血管内的沉积物中含有大量 IgA,这主要与 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞活性增强,导致产生大量 IgA 免疫复合物,进而引起 IgA 介导的免疫反应有关。此外,T 淋巴细胞亚群功能失调及相关细胞因子的异常分泌等免疫失衡也是 HSP 发病的重要因素之一。HSP 急性期时 IgM 水平会发生变化,本研究中合并 MP 感染 HSP 组患儿血清 IgM 水平低于未感染组,Simpson 指数与血清 IgM 水平呈负相关,提示 MP 感染可导致 HSP 患儿呼吸道菌群多样性下降,且 IgM 水平降低可能与 MP 感染所致的 HSP 发病有关,这与雷小葆等^[11]的研究结果部分相符。白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)是一种重要的细胞因子,主要由 Th2 细胞分泌,可促进细胞外微生物病原体保护性抗体的分泌。研究表明^[12],IL-6 在 MP 感染的发病机制中起重要作用,IL-6-174 G/C 基因型会使患者的感染率上升。MP 刺激白细胞介素和肿瘤坏死因子 α 的产生,并可引起血管炎,介导 HSP 的发生发展。本研究中,合并 MP 感染 HSP 组患儿的 IL-6 水平显著高于未感染 HSP 组,提示 IL-6 与 HSP 合并 MP 感染患儿呼吸道菌群多样性密切相关,与张洁等^[13]的报道相似。其机制可能是通过引起患儿免疫应答失衡,诱导大量促炎因子生成,形成相应组织的自身抗体与抗原-抗体复合物,沉积于小血管壁上,引起血管炎为主的病理改变有关。维生素 D 是一类脂溶性维生素,其在调节免疫功能、炎症反应等方面均具有重要作用,在多种自身免疫性疾病中扮演重要角色。维生素 D 在肝脏内转化为 25(OH)D,25(OH)D 半衰期长,在血液中浓度稳定,是反映人

体内维生素D水平的最佳指标^[14]。维生素D促进T调节细胞的诱导,刺激炎症细胞因子如TNF- α 的表达。先前的研究表明,维生素D缺乏会导致呼吸道病原体感染的风险增加,25(OH)D不足的儿童,更容易受到流感、呼吸道病毒、呼吸道病原菌和MP等病原微生物的侵害^[15]。HSP患儿血清25(OH)D水平降低,导致患儿T细胞功能改变,B细胞多克隆活化,体液免疫反应总体处于亢进状态,从而促进HSP的发生及发展。本研究结果显示,HSP合并MP感染患儿血清25(OH)D水平明显降低,且随着患儿感染程度呈逐渐降低趋势,与董显燕等^[16]研究结果相一致,这提示25(OH)D与HSPMP感染程度有关。

综上,本研究发现HSP合并MP感染患儿呼吸道菌群多样性与血清25(OH)D、IL-6及免疫指标IgM显著相关,提示上述指标可能参与了HSP合并MP感染过程。在临床治疗中,治疗原发MP感染的同时,可通过补充免疫抑制剂、维生素D等途径调节免疫平衡以获得更好的治疗效果。本研究还存在许多不足之处:①研究样本量较少,且研究对象均来自皖西卫生职业学院附属医院,可能由于地域、文化或习俗差异,导致代表性不高。②未对其信号通路及具体机制做深入分析。希望将来可进行多中心、大样本的前瞻性研究,以便更深入地探究HSP合并MP感染患儿呼吸道菌群多样性与血清25(OH)D、IL-6及免疫指标的相关性及机制。

参考文献

- [1] 高春林,夏正坤.从过敏性紫癜到IgA血管炎——发病机制新认识[J].中国实用儿科杂志,2022,37(1):12-16.
- [2] 杨祎,张春生,徐乐,等.儿童过敏性紫癜感染的临床及肾损伤特点[J].中华医院感染学杂志,2021,31(5):791-795.
- [3] 董磊,臧磊,王娇娇.过敏性紫癜患儿免疫球蛋白、补体水平及抗核抗体检测分析[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(3):467-470.
- [4] 陈祺,张贝,唐长玖.过敏性紫癜患儿血清APRIL、25(OH)D、补体C3的表达及与体液免疫的关系[J].现代免疫学,2022,42(2):133-138.
- [5] 吴小川,唐雪梅,胡坚,等.儿童过敏性紫癜循证诊治建议[J].中华儿科杂志,2013,51(7):502-507.
- [6] 胡亚美,江载芳.诸福棠实用儿科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2002:688-690.
- [7] Kim BR, Shin J, Guevarra R, et al. Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities [J]. J Microbiol Biotechnol, 2017, 27(12):2089-2093.
- [8] Søndergaard MJ, Friis MB, Hansen DS, et al. Clinical manifestations in infants and children with Mycoplasma pneumoniae infection [J]. PLoS One, 2018, 13(4):e0195288.
- [9] 王艳蕊,王桂芳,宋丽芳,等.儿童肺炎支原体感染的流行病学特征分析[J].中国病原生物学杂志,2020,15(2):230-232+237.
- [10] 涂鹏,窦海伟,史大伟,等.流感样病例中肺炎支原体感染与耐药情况研究[J].中国全科医学,2022,25(2):145-148+158.
- [11] 雷小葆,黄咏梅,唐小辉.过敏性紫癜合并肺炎支原体感染患儿呼吸道菌群多样性与补体C3、C4及免疫指标的相关性[J].中国微生态学杂志,2022,34(2):187-190.
- [12] Zhao J, Li Y, Zhang W. The clinical significance of IL-6 s and IL-27 s in Bronchoalveolar lavage fluids from children with mycoplasma pneumoniae pneumonia [J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1):331-338.
- [13] 张洁,金华,顾岚,等.血清IL-17和IL-6及TNF- α 与儿童特异性体质肺炎支原体感染的相关性[J].中华医院感染学杂志,2020,30(14):2201-2205.
- [14] 吾曼莉,黄毅.肺炎支原体感染合并呼吸道哮喘患者血清免疫球蛋白和炎性因子及维生素D联合检测的临床意义[J].中华医院感染学杂志,2019,29(24):3748-3752+3757.
- [15] Meng F, Chen P, Guo X, et al. Correlations between Serum P2X7, Vitamin A, 25-hydroxy Vitamin D, and Mycoplasma Pneumoniae Pneumonia [J]. J Clin Lab Anal, 2021, 35(5):e23760.
- [16] 董显燕,钟涛,黄郁波,等.血清25-羟维生素D与过敏性紫癜发病风险关系的病例对照研究[J].重庆医学,2017,46(8):1076-1078+1081.

非综合征型耳聋基因与听力学表型的研究进展

郭晓宇¹ 王波² 贺娟² 任志宏² 肖伟利² 李雪芹² 丁海涛^{2*}

[摘 要] 耳聋是一种影响患者生活质量的致残性疾病,对儿童发育尤为有害,且与60岁及以上人群的痴呆症和其他健康状况密切相关。因此,耳聋的预防和治疗在年龄谱的两端尤为重要。在耳聋病例中,几乎一半的患者与耳聋基因突变有关,但有效的治疗非常有限。近年来随着基因检测技术的广泛应用和防聋意识的进一步提高,对耳聋基因的研究也更加深入。同时,对耳聋突变基因的探索,有助于深入了解听觉系统中各组织细胞的结构和功能,并对耳聋患者的临床诊断和治疗靶点提供一定的指导意义。本文以听力学表型为分类标准综述了常见的耳聋突变基因,旨在加深对耳聋致病基因的理解,并对其治疗干预提供框架基础。

[关键词] 遗传性耳聋;耳聋基因;基因检测;听力学表型

Advances in research on non-Syndromic deafness genes and hearing curve

GUO Xiaoyu¹, WANG Bo², HE Juan², REN Zhihong², XIAO Weili², LI Xueqin², DING Haitao^{2*}

(1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010059; 2. Department of Laboratory Medicine, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017)

[ABSTRACT] Deafness is a disabling disease that affects the life quality of patients, which is particularly harmful to the development of children and is closely related to dementia and other health conditions of people aged 60 and over. Therefore, the prevention and treatment of deafness are particularly important at both ends of the age spectrum. In deaf cases, almost half of patients are related to deafness gene mutation, but effective treatment is very limited. In recent years, with the wide application of gene detection technology and the further improvement of anti deafness awareness, the research on deafness genes is also more in-depth. At the same time, the exploration of deaf mutant genes is helpful to deeply understanding the structure and function of various tissues and cells in the auditory system and provides some guiding significance for the clinical diagnosis and treatment targets of deaf patients. This paper reviews the common deafness mutant genes based on audiological phenotype, to deepen the understanding of deafness pathogenic genes and provide a framework for their therapeutic intervention.

[KEY WORDS] Hereditary deafness; Deafness gene; Gene detection; Hearing curve

耳聋指听觉传导通路出现器质性或功能性改变,是从幼儿到老年所有年龄组中最常见的感觉缺陷,严重影响患者生活质量^[1]。根据世界卫生组织最新统计,在所有致残原因中,听力损失是致残

的第四大主要因素,占所有致残原因的5.8%^[2]。在引起耳聋的所有因素中,至少有50%的先天性或早发性听力损失具有遗传来源,其中以耳聋为唯一症状的非综合征性耳聋(Non Syndromic Hear-

基金项目:内蒙古自治区卫生健康委医疗卫生科技计划项目(202201054);内蒙古自治区人民医院院内基金(2022YN09)

作者单位:1. 内蒙古医科大学,内蒙古,呼和浩特 010059

2. 内蒙古自治区人民医院检验科,内蒙古,呼和浩特 010017

*通信作者:丁海涛; E-mail:htding2013@163.com

ing Loss, NSHL)约占遗传性耳聋的70%^[3-4]。随着第一个NSHL相关基因*POU3F4*的成功克隆^[5],大量研究者开始关注NSHL相关基因的探索和研究。迄今为止,已超过140种NSHL相关基因被成功克隆,然而更多的遗传因素仍然是未知的,而且部分耳聋基因的突变极为罕见,只在单个或少数家族中被报道。

据中国突发性耳聋多中心临床调研统计:对于没有任何相关医学方法处理的耳聋患者,根据听力损失累及的频率和程度可分为高频下降型、低频下降型、平坦降低型和全聋型^[6]。有研究证明,不同的耳聋基因突变会对应不同的听力学表型^[3]。本文就NSHL基因型和其临床常见听力学表型的关系作一综述,对NSHL的治疗和预后具有一定的指导意义。

1 高频下降型耳聋

*GJB2*基因定位于13q12号染色体,参与缝隙连接蛋白26(Connexin26, Cx26)的编码^[7]。Cx26蛋白是钾离子去极化进入细胞内的重要通道,在耳蜗细胞间的信息传递和钾离子循环中发挥重要作用,如果该蛋白缺乏会引起耳蜗发育障碍和毛细胞变性,从而引起先天性感音神经性耳聋,而耳聋的严重程度取决于基因突变的具体类型^[8]。*GJB2*基因是导致NSHL最常见的突变基因,该基因引起的遗传性耳聋以常染色体隐性遗传较为多见,目前已发现的众多可导致耳聋的*GJB2*突变类型中,以4种突变形式最为常见(c.235delC、c.299-300delAT、c.35delG和c.176-199delGCTGCAAGAACGTGTG)。在中国NSHL患者中,*GJB2*基因的总突变频率大于25%,其最常见的突变类型是c.235delC,占突变基因的65.16%^[9]。

*SLC26A4*基因最早连锁于Pendred综合征,并定位于7q31.4号染色体,该基因编码具有11个高度疏水性跨膜结构域的pendrin蛋白,其编码区和剪接位点的突变会导致伴前庭导水管扩张的非综合征型耳聋^[10]。*SLC26A4*突变是导致我国NSHL的第二大主要原因,其突变谱在不同种族和地域存在明显差异。在中国,*SLC26A4*基因变异占耳聋基因检测阳性检出率的14.54%,其中*ivs7-2A>G*突变最常见^[11]。

线粒体DNA12SrRNA基因突变的患者对氨基糖苷类药物敏感,因此建议在使用氨基糖苷类药物前进行12SrRNA突变筛查。该基因突变在国内新生儿筛查中的检出率约为0.25%^[12]。有研究证明,某些线粒体tRNA突变可能与线粒体DNA突变有协同作用,调节线粒体DNA的突变表型。而这些tRNA突变会导致结构和功能改变,并引起tRNA代谢失败,损害线粒体的翻译和呼吸功能,致使耳蜗和前庭细胞中的ATP生成减少,导致耳蜗和前庭细胞的功能障碍或死亡,从而导致耳聋^[13]。

*GJB3*基因是我国本土克隆和鉴定的第一个耳聋致病基因,主要引起进行性语后聋,编码缝隙连接蛋白31,表达于耳蜗毛细胞^[3]。在中国,*GJB3*基因变异的携带率约为0.37%^[12]。此外,*GJB3*基因突变也与变异性红斑角化症(Variant Erythema Keratosis, EKV)以及神经病变有关^[14]。

*SYNE4*基因编码nesprin-4蛋白,一种在内耳毛细胞中表达的核膜蛋白。由于该基因突变,使编码的nesprin-4蛋白不能准确定位在核膜上,造成毛细胞核的错误定位以及毛细胞变性。最新研究表明,一种合成腺相关病毒AAV9-PHP.B将*SYNE4*基因的编码序列转染到该基因突变的小鼠中,可以导致毛细胞形态还原和听觉功能几乎完全恢复,且没有观察到不良影响^[15]。

*OTOGL*基因的结构与上皮细胞分泌的粘蛋白家族相似,编码otogelin蛋白,该蛋白正常翻译为一种盖膜成分。众所周知,外毛细胞的静纤毛锚定于盖膜中,共同组成机械传感细胞器,可将声音引起的振动转换为电信号。*OTOGL*基因突变则会扰乱这个进程,并导致进行性语前聋^[3, 16]。在我国,已报道了4个隐性等位基因(c.2773C>T、c.2826C>G、c.4455G>A、c.875C>G)可引起NSHL^[17]。

高频下降型耳聋是指2 000 Hz(含)以上频率听力下降,至少4 000 Hz与8 000 Hz处听力损失不低于20 dB。其特征是声音可以正常传入,但患者对于声音的分辨能力降低。其治疗难度较大,预后效果差。因此,对不同人群进行基因筛查在一定程度上可以早期预防并获得良好的预后。

2 低频下降型耳聋

DIAPH1 基因突变可导致常染色体显性遗传的非综合征感音神经性耳聋,其特征是从儿童期开始出现进行性语后聋,从低频区开始,在整个频率范围内逐渐加重^[3]。*DIAPH1* 基因定位于5q31.3号染色体,编码 diaphanous 相关蛋白家族成员 diaphanous homolog 1 蛋白(DIAPH1),该蛋白在肌动蛋白微丝和微管细胞骨架组装过程中起到重要的调节作用,其基因突变可能会导致立体纤毛的异常排列和功能障碍^[18-19]。

WFS1 基因定位于4q16号染色体,跨度为33.4 kb,编码一种由890个氨基酸组成的跨膜蛋白,在维持内质网稳态方面发挥着重要作用^[20]。该基因突变致使内质网应激并造成早期细胞功能障碍和死亡,诱发 NSHL 和 Wolfram 综合征^[3, 20]。在低频感音神经性耳聋家庭中,*WFS1* 突变可占30%~80%^[21]。

CCDC50 基因编码 Ymer 蛋白,这是一种表皮生长因子介导的细胞信号传导效应器,在成人内耳中,Ymer 蛋白的定位仅限于耳蜗的柱状细胞、血管纹和前庭感觉上皮细胞,并与微管的细胞骨架有空间重叠。*CCDC50* 基因的突变可能会导致成人听觉系统柱状细胞和血管纹中基于微管的细胞骨架解聚,造成柱状细胞和血管纹萎缩^[22-23]。

TNC 基因定位于染色体9q31.3-q34.3上跨越28.54 Mb的区域,编码一种多功能六聚糖蛋白 Tenascin-C,是细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)糖蛋白的一员,存在于基底膜和耳蜗骨螺旋层中,是哺乳动物基底膜的主要成分之一^[24]。由于内耳的基底膜调节着内淋巴和外淋巴之间的液体和离子运输,该基因突变可能会导致离子的稳态紊乱^[24-25]。

低频下降型耳聋指1 000 Hz(含)以下频率听力下降,至少250与500 Hz处听力损失 ≥ 20 dB。其治疗预后效果较好。因此,在耳聋未进行性发展到重度听力损失之前进行有效的早期诊断对于该类型患者显得尤为重要。

3 平坦下降型耳聋

MYH14 基因是一个噪声性耳聋易感基因的候选基因,广泛表达于内耳细胞,编码肌球蛋白家族

中的非肌肉肌球蛋白 II 重链 C(Nonmuscle Myosin Heavy Chain II -C, NMHC II C),该蛋白参与许多细胞运动过程,如离子门控通道、细胞器易位以及细胞骨架重排^[26]。

GRHL2 基因编码一种在人类上皮组织中表达的转录因子,调节上皮组织的形态,并在紧密连接的相关成分中发挥重要作用^[27]。2002年,在一个患有轻度至中度进行性双侧感音神经性耳聋的北美家庭中,该基因首次与常染色体显性遗传性耳聋相关联^[28]。同时有研究证明,*GRHL2* 基因突变与年龄相关性听力障碍(也称老年性聋)密切相关^[29]。

TMC1 基因位于9q21.13号染色体,与常染色体隐性和显性非综合征性耳聋均相关,主要表达于耳蜗毛细胞,并编码毛细胞机械电转导通道的跨膜通道蛋白,该蛋白质含有760个氨基酸,且有六个跨膜区^[30-31]。

P2RX2 基因由10个外显子组成,编码嘌呤受体 P2X 配体门控性离子通道2(Purinergic Receptor P2X Ligand-gated Ion Channel 2, P2X2),该受体以相同亚单位的三聚体形式聚集^[32]。*P2RX2* 基因在内耳毛细胞的立体纤毛、支持细胞以及耳蜗的螺旋神经节神经元中表达,调节声音的传导,同时也对耳蜗毛细胞起到保护作用^[33]。

DMXL2 基因位于15q21.2号染色体,编码 rabconnectin-3a 蛋白,该蛋白是一种由3036个氨基酸组成的囊泡蛋白,主要定位于基底膜毛细胞的钙离子通道中,并凝聚在突触小泡上,参与神经递质分泌^[34]。综上所述,大多数 NSHL 患者都是从高频听力开始下降,进行性加重进而受累多个频率直至全聋,只有少数遗传性耳聋患者表现为低频或平坦型感音性神经性耳聋。由此可见,听力学表型并非一成不变的。据临床研究证明,低频下降型耳聋患者的预后相比于平坦降低型耳聋患者效果更好,而高频下降型和全聋型耳聋患者的预后很差。因此,确定听力学表型并联合耳聋突变基因型可以为个体化的早期诊断和治疗提供了更多的临床数据。

4 耳聋基因的持续研究

目前已知的耳聋基因并不能为所有患者提供诊断,因此对耳聋突变基因的持续探索是必要

的。2021年,Bharadwaj等^[35]通过全外显子测序和Sanger测序从耳聋患者DNA中发现了四个NSHL相关的候选基因(*ADAMTS1*、*MPDZ*、*MVD*和*SEZ6*),测序数据揭示了这些基因在小鼠内耳感觉上皮细胞中有表达,小鼠耳蜗组织的免疫组化也证实*ADAMTS1*、*SEZ6*和*MPDZ*基因表达于毛细胞中,*MVD*基因则在螺旋神经节细胞中表达更明显。同年,Chen等^[36]在*OTOGL*基因中发现了两个新的杂合突变,丰富了*OTOGL*基因突变谱。2022年,Ghasemnejad等^[37]在*ESRRB*基因的5号外显子中发现了一个新的纯合错义突变,并通过计算机分析和ACMG/AMP指南得到了验证。耳聋相关基因谱不断完善,将有助于不同类型的耳聋疾病筛查,为基因功能研究和遗传咨询提供更多的依据。

5 现状与展望

在既往的临床耳聋检测诊断中,主要是采取耳声发射联合听性脑干反应的时差方式,然而随着筛查人群的逐渐普及和新技术的应用,常规的听力筛查手段逐渐显现出一些缺陷,常引起误诊或漏诊,并容易忽略一些综合征的疾病,对患者的生活可能会起到翻天覆地的影响。基因检测的优势是可尽早检出耳聋突变基因和突变位点,协助临床判断患者有无听力损害情况。因此,对不同人群(包括新生儿、孕妇以及听力正常受检者)进行有差异性的遗传咨询和基因筛查是有必要的。

深入了解耳聋的具体发病机制对耳聋的靶向治疗具有重要的指导意义。若能早期筛查耳聋突变基因,并结合其听力学表型,势必对遗传性耳聋患者的个体化治疗和有效的临床护理提供一个更好的需求。本文的不足是只综述了常见的耳聋突变基因,对基因检测方法和具体治疗方案未展开综述。耳聋的突变基因数据库在不断更新,治疗方案的个体化也还需要更多的研究和临床数据支撑。因此,对耳聋突变基因的探索和鉴定仍然是一个巨大的挑战。

参考文献

- [1] Delmaghani S, El-Amraoui A. Inner Ear Gene Therapies Take Off: Current Promises and Future Challenges[J]. J Clin Med, 2020, 9(7): 2309.
- [2] Wilson BS, Tucci DL, O'Donoghue GM, et al. A Lancet Commission to address the global burden of hearing loss[J]. Lancet, 2019, 393(10186): 2106-2108.
- [3] 袁慧军,戴朴,刘玉和,等.遗传性非综合征型耳聋的临床实践指南[J].中华医学遗传学杂志,2020,37(3):269-276.
- [4] Liu M, Zhang T. A review of diagnosis and treatment of syndromic hearing loss[J]. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi, 2021, 35(3): 285-288.
- [5] de Kok YJ, van der Maarel SM, Bitner-Glindzicz M, et al. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the POU domain gene *POU3F4* [J]. Science, 1995, 267(5198): 685-688.
- [6] Carpena NT, Lee MY. Genetic Hearing Loss and Gene Therapy[J]. Genomics Inform, 2018, 16(4): e20.
- [7] Sellitto C, Li L, White TW. Connexin hemichannel inhibition ameliorates epidermal pathology in a mouse model of keratitis ichthyosis deafness syndrome [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 24118.
- [8] Lin YF, Lin HC, Tsai CL, et al. GJB2 mutation spectrum in the Taiwanese population and genotype-phenotype comparisons in patients with hearing loss carrying GJB2 c.109G>A and c.235delC mutations[J]. Hear Res, 2022, 413: 108135.
- [9] Yu X, Lin Y, Xu J, et al. Molecular epidemiology of Chinese Han deaf patients with bi-allelic and mono-allelic GJB2 mutations[J]. Orphanet J Rare Dis, 2020, 15(1): 29.
- [10] Nakano A, Arimoto Y, Mutai H, et al. Clinical and genetic analysis of children with hearing loss and bilateral enlarged vestibular aqueducts[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2022, 152: 110975.
- [11] Yuan Y, Guo W, Tang J, et al. Molecular epidemiology and functional assessment of novel allelic variants of *SLC26A4* in non-syndromic hearing loss patients with enlarged vestibular aqueduct in China[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e49984.
- [12] 雷洁,韩璐好,邓茜,等.33 911例新生儿听力联合耳聋基因筛查及随访结果的分析[J].中华医学遗传学杂志,2021,38(1):32-36.
- [13] Zheng J, Ji Y, Guan M X. Mitochondrial tRNA mutations associated with deafness[J]. Mitochondrion, 2012, 12(3): 406-413.
- [14] Aliazami F, Farhud D, Zarif-Yeganeh M, et al. Gjb3 Gene Mutations in Non-Syndromic Hearing Loss of Bloch, Kurd, and Turkmen Ethnicities in Iran [J]. Iran J Public Health, 2020, 49(11): 2128-2135.
- [15] Taiber S, Cohen R, Yizhar-Barnea O, et al. Neonatal AAV gene therapy rescues hearing in a mouse model of SYNE4 deafness[J]. EMBO Mol Med, 2021, 13(2): e13259.
- [16] Askari M, Moradi Z, Mohammadi M, et al. Prediction and interpretation of rare missense variant in *OTOG* associated with hearing loss[J]. Genomics, 2021, 113(4): 2793-2799.

- [17] 冯梦龙, 黄莎莎, 唐凤珠, 等. OTOGL 基因新变异致隐性遗传中度感音神经性耳聋的表型和基因型分析[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(2):115-121.
- [18] 吴佩, 王秋菊. DIAPH1 基因相关性遗传性耳聋研究进展[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2019, 27(2):219-224.
- [19] Lakha R, Montero A M, Jabeen T, et al. Variable Autoinhibition among Deafness-Associated Variants of Diaphanous 1 (DIAPH1)[J]. Biochemistry, 2021, 60(29):2320-2329.
- [20] Li J, Xu H, Sun J, et al. Missense Variant of Endoplasmic Reticulum Region of WFS1 Gene Causes Autosomal Dominant Hearing Loss without Syndromic Phenotype[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021:6624744.
- [21] 代志瑶, 戴朴. 非综合征型耳聋的基因型与表型关系[J]. 中华耳科学杂志, 2013, 11(1):151-155.
- [22] Modamio-Hoybjor S, Mencia A, Goodyear R, et al. A mutation in CCDC50, a gene encoding an effector of epidermal growth factor-mediated cell signaling, causes progressive hearing loss[J]. Am J Hum Genet, 2007, 80(6):1076-1089.
- [23] 刘翀然, 韩锐, 武爽, 等. 一个常染色体显性遗传非综合征性耳聋家系的 CCDC50 基因突变及遗传学特征分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2021, 29(5):684-687.
- [24] Zhao Y, Zhao F, Zong L, et al. Exome sequencing and linkage analysis identified tenascin-C (TNC) as a novel causative gene in nonsyndromic hearing loss[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e69549.
- [25] Kwiatkowska M, Reinhard J, Roll L, et al. The expression pattern and inhibitory influence of Tenascin-C on the growth of spiral ganglion neurons suggest a regulatory role as boundary formation molecule in the postnatal mouse inner ear[J]. Neuroscience, 2016, 319:46-58.
- [26] Hiramatsu K, Nishio S, Kitajiri SI, et al. Prevalence and Clinical Characteristics of Hearing Loss Caused by MYH14 Variants[J]. Genes (Basel), 2021, 12(10):1623.
- [27] Trebusak Podkrajsek K, Tesovnik T, Bozanic Urbancic N, et al. Novel GRHL2 Gene Variant Associated with Hearing Loss: A Case Report and Review of the Literature[J]. Genes (Basel), 2021, 12(4):484.
- [28] Peters LM, Anderson DW, Griffith A J, et al. Mutation of a transcription factor, TFCP2L3, causes progressive autosomal dominant hearing loss, DFNA28[J]. Hum Mol Genet, 2002, 11(23):2877-2885.
- [29] Han B, Yang X, Li Y, et al. Association of polymorphisms in grainyhead-like-2 gene with the susceptibility to age-related hearing loss: A systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(25):e16128.
- [30] Vaché C, Baux D, Bianchi J, et al. Reclassification of a TMC1 synonymous substitution as a variant disrupting splicing regulatory elements associated with recessive hearing loss[J]. Eur J Hum Genet, 2022, 30(1):34-41.
- [31] Gallo S, Trevisi P, Rigon C, et al. Auditory Outcome after Cochlear Implantation in Children with DFNB7/11 Caused by Pathogenic Variants in TMC1 Gene[J]. Audiol Neurotol, 2021, 26(3):157-163.
- [32] Chen X, Abad C, Chen ZY, et al. Generation and characterization of a P2rx2 V60L mouse model for DFNA41[J]. Hum Mol Genet, 2021, 30(11):985-995.
- [33] Liu XZ, Yan D, Mittal R, et al. Progressive Dominant Hearing Loss (Autosomal Dominant Deafness - 41) and P2RX2 Gene Mutations: A Phenotype-Genotype Study[J]. Laryngoscope, 2020, 130(7):1657-1663.
- [34] Wonkam-Tingang E, Schrauwen I, Esoh KK, et al. A novel variant in DMXL2 gene is associated with autosomal dominant non-syndromic hearing impairment (DFNA71) in a Cameroonian family[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2021, 246(13):1524-1532.
- [35] Bharadwaj T, Schrauwen I, Rehman S, et al. ADAMTS1, MPDZ, MVD, and SEZ6; candidate genes for autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment[J]. Eur J Hum Genet, 2022, 30(1):22-33.
- [36] Pan C, Li J, Wang S, et al. Novel heterozygous mutations in the otogelin-like (OTOGL) gene in a child with bilateral mild nonsyndromic sensorineural hearing loss[J]. Gene, 2022, 808:146000.
- [37] Ghasemnejad T, Shekari Khaniani M, Nouri Nojaded J, et al. A novel missense variant in ESRRB gene causing autosomal recessive non-syndromic hearing loss; in silico analysis of a case[J]. BMC Med Genomics, 2022, 15(1):18.



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9月 第14卷 第9期

目次

述评

早期鼻咽癌外周血EB病毒相关分子诊断标志物研究进展 邢利 任明君 唐石伏(1455)

论著

基因多态性对儿童肾病综合征糖皮质激素治疗效果的影响 黄佳斯 何宇婷 陈瑶 等(1459)

建立一种高灵敏的HBV核酸定量检测方法 李卓 于海涛 高娟 等(1464)

晚期乳腺癌患者经TP方案治疗后TNF- α 、IL-6和IL-2水平变化及对预后的预测价值
..... 柯瑶 张琪 王娜(1468)

不同手术入路对脑肿瘤患者肿瘤切除率及血清指标的影响 胡志平 郑钟 刘庭富 等(1472)

超声心动图联合H-FABP、cTnI及CK-MB在AMI诊断、病情评估中的应用
..... 郭建红 喻红霞 李丹(1476)

CRP、Hcy和D-D联合检测在青年急性ST段抬高型心肌梗死患者中的临床价值
..... 朱烨然 李玉仙(1480)

脐血来源NK细胞对肝肿瘤生长抑制作用 吴炳义 李娟华 李烨 等(1484)

模式化单操作孔胸腔镜行肺癌根治术的临床疗效观察 赵金栋 胡春玲 班跃松(1489)

肺癌患者血清CA724、Cyfra21-1及ProGRP水平与临床病理特征及预后的关系
..... 董子瑜 汪超 施险峰(1493)

鼻咽癌患者血清IFN- γ 、PTX3及EGF水平对放疗效果的预测价值
..... 程建刚 袁炜 谷贺(1498)

血清Endocan、ICAM-1、sdLDL-C对冠心病软斑块形成及病情程度的评估价值
..... 常蕊 孙凤荣 常亮 等(1502)

Cys-c、SAA及CRP水平与慢性心力衰竭并发肺部感染的关系
..... 刘倩 唐惠星 崔雅璇 等(1507)

SCCAg、EGFR及NSE在非小细胞肺癌病情进展、预后预测中的价值
..... 张武通 韩健康 张海莲(1511)

SAA、PCT及淋巴细胞计数在脓毒血症预后评估中的作用分析 胡小勇 夏洪韬(1515)

血清ACA、 β 2GP1抗体与生殖道病原体感染在不孕及复发性流产的检测价值
..... 阿尼克孜·阿不都艾尼 木则帕尔·太来提 曾涛 等(1519)

食管癌组织中miR-3651表达与其IPCL分型及病理分级的关系
..... 陈孟君 袁燕文 程树红(1523)

呼出气一氧化氮分数联合气道反应性测定对儿童咳嗽变异性哮喘早期鉴别价值分析
..... 母东勤 刘利英(1528)

血清MMP-1、CTGF、25-OHD水平与产后盆底功能障碍患者康复效果的关系分析
..... 符剑花 韩燕媚 周冰 等(1532)

E-cad、TIMP-2及OPN对甲状腺癌患者病情进展及预后的价值 白建云 张菁 刘小静(1536)

NT-proBNP、CysC 及 cTnI 在老年慢性心力衰竭中的表达及与不良心血管事件的关系	闫秀莲 于中飞 王媛媛 等(1541)
子宫内位异位症患者血清 LXA4、Ang-2 及 ENS 水平与痛经、R-AFS 分期的关系	贾璇 刘学良 吴国萍 等(1545)
3 种单细胞全基因组扩增方法对 1~4 Mb 拷贝数变异检测性能的研究	于婷 王云云 费嘉 等(1549)
25-OH-VitD3、BGP 和 Apelin-13 与 T2DM 肥胖患者阿格列汀及利拉鲁肽疗效的关系	马朝朋 王晓妍 尹超 等(1554)
肺癌患者 ACTH、HGH、PRL 和皮质醇联合检测价值分析	关堂胜 陈苗红 许岩 等(1558)
子宫颈肿瘤患者 HPV-E6/E7 mRNA 表达的临床意义	张一帆 王艳茹 赵琴(1562)
血清 CRP、IG、ALP 水平与 MPP 患儿病情和预后的关系	吴艺 汤申红 余霞(1566)
乳腺癌患者手术前后 CA-153、SCC 和 HE4 水平变化及复发预测分析	白云鹤 王阳 齐丽丽 等(1570)
彩色多普勒超声联合 CYFRA21-1、sTNFR-P55 及 HE4 检测在乳腺癌早期诊断中的应用	杨大才 陈鹤 彭良琴 等(1574)
NKD1 在结直肠癌中的表达及其在预测肝转移中的价值	胡志方 李丹 刘燕(1578)
Hcy、hs-CRP 及 NT-proBNP 在 AMI 患者并发急性心衰中的诊断价值	毛磊 耿国英 时静 等(1582)
血液净化治疗对有机磷中毒患者 CHE、CK-MB 及 IL6 水平的影响	胡自廷 张清学 王建军 等(1586)
肺腺癌 CT 征象与 Ki67、PNCA 及 p53 蛋白的相关性	卢艳丽 万宏燕 吴俊(1590)
B 族链球菌感染对妊娠期女性甲状腺功能及妊娠结局的影响	洪彩虹 金娟 李务聪(1594)
脑脊液 HBP 和外周血 PCT、hs-CRP 在小儿化脓性脑膜炎中的诊断价值	世淑兰 李小娟 麻明彪 等(1598)
术前血清 miR-135b、miR-141 水平对结直肠癌根治术后预后的评估价值分析	赖箭波(1602)
重组人干扰素 α -2b 口腔喷雾疗法治疗儿童疱疹性咽峡炎的临床疗效	魏翠琴 韩军民 陈飞飞 等(1607)
肌营养不良蛋白基因检测的评价	胡泽斌 曲守方 黄传峰 等(1611)
血清 CEA、NSE 联合影像学特征在肺癌分期及预后中的价值	陈宝华 段强军(1615)
基于 MLPA 技术筛选帕金森病遗传相关基因及其与中医证型分布的关系和临床诊断价值	施宗生 刘大同 孙培养(1620)
iPTH、AKP 联合 FER 检测在 MHD 不良心血管事件预测中的应用	李仪静 曾继兰 尤小英 等(1624)
慢性牙周炎患者龈沟液中 IL-35、IL-1 β 及 IFN- γ 的表达与临床意义	刘莉 戈春城 黄婧(1628)
HSP 伴 MP 感染患儿呼吸道菌群多样性与 25(OH)D、IL-6、IgM 的相关性	吴秦超 金波 张显敏(1632)

综 述

非综合征型耳聋基因与听力学表型的研究进展	郭晓宇 王波 贺娟 等(1636)
----------------------	-------------------

专家风采

唐佳	(封二)
----	------

实验室巡礼

广东省生殖医院优生遗传科	(封三)
--------------	------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 9 September 2022

CONTENTS

COMMENTS

Status of EB virus-related molecular biomarkers in peripheral blood for the early detection of nasopharyngeal carcinoma

XING Li, REN Mingjun, TANG Shifu (1455)

ORIGINAL ARTICLES

Effect of gene polymorphisms on the efficacy of glucocorticoid therapy in children with nephrotic syndrome

HUANG Jiasi, HE Yuting, CHEN Yao, YU Xuegao, HUANG Hao, CHEN Peisong (1459)

Establishment of a highly sensitive quantitative detection method for HBV nucleic acid

LI Zhuo, YU Haitao, GAO Juan, HUANG Yan (1464)

Changes of TNF- α , IL-6 and IL-2 levels and their prognostic predictive value for prognosis in patients with advanced breast cancer after treated with the TP regimen

KE Yao, ZHANG Qi, WANG Na (1468)

Effects of different surgical approaches on tumor resection rate and serum markers in patients with brain tumors

HU Zhiping, ZHENG Zhong, LIU Tingfu, CHEN Yanrong, ZHOU Zhengui (1472)

Application of echocardiography combined with H-FABP, cTnI and CK-MB in the diagnosis and evaluation of AMI

GUO Jianhong, YU Hongxia, LI Dan (1476)

Clinical value of combined detection of CRP, Hcy and D-dimer in acute ST segment elevation myocardial infarction

ZHU Yeran, LI Yuxian (1480)

Inhibitory effect of NK cells derived from cord blood on liver tumor growth

WU Bingyi, LI Juanhua, LI Ye, ZHANG Lanlan, ZHU Wei, CEHN Qiong, LV Chengwei (1484)

Clinical curative effect of radical resection of lung cancer under modular single-port VATS

ZHAO Jindong, HU Chunling, BAN Yuesong (1489)

Correlation of serum CA724, Cyfra21-1 and ProGRP levels with clinicopathological features and prognosis in patients with lung cancer

DONG Ziyu, WANG Chao, SHI Xianfeng (1493)

Predictive value of serum IFN- γ , PTX3 and EGF levels for radiotherapy effect in patients with nasopharyngeal carcinoma

CHENG Jiangang, YUAN Wei, GU He (1498)

Evaluation value of serum Endocan, ICAM-1, sLDL-C on the formation of soft plaque and the severity of coronary heart disease

CHANG Rui, SUN Fengrong, CHANG Liang, LI Kaimin (1502)

The relationship between Cys-c, SAA and CRP levels and chronic heart failure complicated with pulmonary infection

LIU Qian, TANG Huixing, CUI Yaxuan, XUE Qiting (1507)

Value of SCCAg, EGFR and NSE in the progression and prognosis prediction of non-small cell lung cancer

ZHANG Wutong, HAN Jiankang, ZHANG Hailian (1511)

The role of SAA, PCT and lymphocyte count in the prognosis assessment of sepsis

HU Xiaoyong, XIA Hongtao (1515)

Detection value of Serum ACA, β 2GP1 antibody reproductive tract pathogen infection in infertility and recurrent abortion

ANIKUZ Abudueni, MUZEPAR Talat, ZENG Tao, XU Aimin (1519)

Correlation analysis of *miR-3651* expression in esophageal cancer tissue with IPCL type and pathological grade

CHEN Mengjun, YUAN Yanwen, CHENG Shuhong (1523)

Analysis of the early identification value of exhaled nitric oxide combined with airway reactivity measurement in children with cough variant asthma

MU Dongqin, LIU Liying (1528)

Relationship between serum MMP-1, CTGF, 25-OHD levels and rehabilitation effect in patients with postpartum pelvic floor dysfunction

FU Jianhua, HAN Yanmei, ZHOU Bing, FENG Yonghong, LIU Shen (1532)

The value of E-cad , TIMP-2 and OPN on disease progression and prognosis in patients with thyroid cancer <i>BAI Jianyun , ZHANG Jing , LIU Xiaojing</i>	(1536)
Expression of NT- proBNP , CysC and cTnl in elderly patients with refractory heart failure and their relationship with adverse cardiovascular events <i>YAN Xiulian , YU Zhongfei , WANG Yuanyuan , WANG Songyan , JIN Xiaodong</i>	(1541)
Correlation of serum LXA4 , Ang-2 and ENS levels with dysmenorrhea and R-AFS stage in patients with endometriosis <i>JIA Xuan , LIU Xueliang , WU Guoping , CHAI Lianmei , CHE Yanci</i>	(1545)
The performance of three commonly single-cell whole genome amplification methods for the detection of 1~4 Mb copy number variation <i>YU Ting , WANG Yunyun , FEI Jia , HUANG Jie , HU Zebin</i>	(1549)
Relationship between 25-OH-VITD3 , BGP , apelin-13 and efficacy of alaglipitin and liraglutide in obese patients with T2DM <i>MA Chaopeng , WANG Xiaoyan , YIN Chao , MA Jingxuan , SONG Yanwei , GUO Shuqin , WANG Jun</i>	(1554)
Analysis of the value of combined detection of ACTH , HGH , PRL and cortisol in patients with lung cancer <i>GUAN Tangsheng , CHEN Miaohong , XU Yan , WU Jing</i>	(1558)
Clinical significance of HPV-E6/E7 mRNA expression in patients with cervical tumor <i>ZHANG Yifan , WANG Yanru , ZHAO Qin</i>	(1562)
Relationship between serum CRP , IG , ALP levels and the condition and prognosis of children with MPP <i>WU Yi , TANG Shenhong , YU Xia</i>	(1566)
Changes of CA-153 , SCC and HE4 levels and prediction of recurrence in breast cancer patients before and after surgery <i>BAI Yunhe , WANG Yang , QI Lili , ZHANG Xiaowei , ZHANG Shiming</i>	(1570)
Application of color Doppler ultrasound combined with CYFRA21-1 , sTNFR-P55 and HE4 detection in early diagnosis of breast cancer <i>YANG Dacai , CHEN He , PENG Liangqin , ZHU Tingling</i>	(1574)
Expression of of NKD1 in colorectal cancer and its value in predicting liver metastasis <i>HU Zhifang , LI Dan , LIU Yan</i>	(1578)
Diagnostic value of Hcy , hs-CRP and NT-proBNP in AMI patients complicated with acute heart failure <i>MAO Lei , GENG Guoying , SHI Jing , JI Jingrui , ZHAO Qiuxia , LIU Hengliang</i>	(1582)
Effects of blood purification treatment on CHE , CK-MB and IL6 levels in patients with organophosphorus poisoning <i>HU Zitong , ZHANG Qingxue , WANG Jianjun , DAI Chengcai , SUN Jie , LIU Jie , CUI Tao , ZHAO Shuguang</i>	(1586)
Correlation between CT signs of lung adenocarcinoma and Ki67 , PNCA and p53 protein <i>LU Yanli , WAN Hongyan , WU Jun</i>	(1590)
Effects of group B streptococcus infection on thyroid function and pregnancy outcome in pregnant women <i>HONG Caihong , JIN Juan , LI Wucong</i>	(1594)
The application value of HBP in cerebrospinal fluid , PCT and hs-CRP in peripheral blood for diagnosis of purulent meningitis in children <i>SHI Shulan , LI Xiaojuan , MA Mingbiao , ZHOU Bailing , DU Tingyi</i>	(1598)
Evaluation of preoperative serum miR-135b and miR-141 levels on prognosis after radical resection of colorectal cancer <i>LAI Jianbo</i>	(1602)
Clinical efficacy of recombinant human interferon α -2b oral spray in the treatment of herpetic angina in children <i>WEI Cuiqin , HAN Junmin , CHEN Feifei , LIU Na</i>	(1607)
Evaluation of dystrophin gene detection <i>HU Zebin , QU Shoufang , HUANG Chuanfeng , HUANG Jie</i>	(1611)
The value of serum CEA and NSE combined with imaging features in lung cancer staging and prognosis <i>CHEN Baohua , DUAN Qiangjun</i>	(1615)
Screening of genetically related genes of Parkinson's disease based on MLPA technology and their relationship with the distribution of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome types and clinical diagnostic value <i>SHI Zongsheng , LIU Datong , SUN Peiyang</i>	(1620)
Application of iPTH , AKP combined with FER detection in the prediction of adverse cardiovascular events in MHD <i>LI Yijing , ZENG Jilan , YOU Xiaoying , XIANG Ping</i>	(1624)
Expression and clinical significance of IL-35 , IL-1 β and IFN- γ in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis <i>LIU Li , GE Chuncheng , HUANG Jing</i>	(1628)
Correlation of respiratory tract flora diversity with serum 25 (OH) D , IL-6 and IgM in children with HSP complicated with MP infection <i>WU Qinchao , JIN Bo , ZHANG Xianmin</i>	(1632)

REVIEWS

Advances in research on non-Syndromic deafness genes and hearing curve <i>GUO Xiaoyu , WANG Bo , HE Juan , REN Zhihong , XIAO Weili , LI Xueqin , DING Haitao</i>	(1636)
--	--------

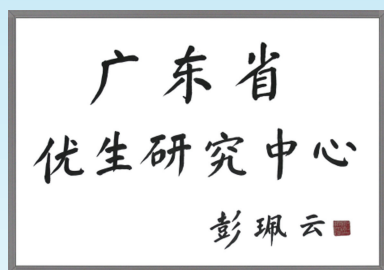
广东省生殖医院优生遗传科

1976年广东省计划生育科研所成立时设置了优生科。1993年经省计生委批准扩大为“优生研究中心”，国务委员彭佩云亲自给予题匾。1995年，作为科研所转型升级改造项目，由省科委、省计委成立“优生技术中心”。逐步建立成为功能较齐全、有一定社会影响的职能单位，担负全省计生系统优生技术的科研、服务、培训等工作。2020年，医院资源重新整合后更名为“优生遗传科”，开展优生遗传咨询、孕前优生、产前筛查、细胞遗传、分子遗传诊断、病理诊断、亲子鉴定等临床服务，并围绕生殖遗传、出生缺陷干预开展相关研究，加强全省出生缺陷防治，降低婴幼儿死亡率和减少残疾，促进家庭幸福和社会和谐发展。

科室现有人员14名，主任医师1名、副主任医师2名，副主任技师3名，主管技师5名，技师1名；其中博士2名，硕士5名，海外归国人员1名，均具有丰富的科研、教学、临床服务经验，具备独立开展培训、带教、规范化管理及解决技术难题的能力。中华医学会医学遗传学分会第十届委员会专业学组委员、中国医师协会医学遗传医师分会委员、广东省医学教育协会检验医学专业委员会副主任委员各1名。为广东省博士工作站、暨南大学博士后创新实践基地和研究生培养基地，与美国贝勒医学院、哈佛医学院、中山大学和暨南大学保持长期合作关系。

1998年-2003年，受省人口计生委委托，开展全省优生遗传咨询医师和优生技术员培训班。指导全省各计生服务站开展常见遗传病诊断、优生监测和咨询服务。2010年-2019年，每年定期召开全省孕前优生健康检查项目培训班，总结通报全省数据，指导、督导全省各县级服务机构国家免费孕前优生健康检查项目的实施。现设置了优生遗传门诊：优生遗传咨询；辅助生殖遗传咨询；遗传性不孕不育的诊断治疗；孕前、孕期优生指导、产前筛查生育指导、亲子鉴定等。

承担世界卫生组织资助项目1项，联合国妇女儿童基金会项目1项，国家重点基础研究规划973项目子课题1项，国家科技部支撑项目1项，国家自然科学基金2项，吴阶平医学基金1项，中国博士后科学基金1项，广东省科技厅项目2项，广东省医学科研基金、省人口计生委项目共30多项；发表SCI论文15篇；获奖国家人口和计划生育委员会“十一五”计划生育优秀科技成果二等奖1项，中华医学科技进步三等奖1项，广东省人口计生委科技进步三等奖1项，2020年度广东省百名博士博士后创新人物1名，广东省遗传科普二等奖、三等奖各1项；参与编写《医学遗传学》和《新生儿遗传代谢病筛查》教材；申请国家发明专利7项，实用新型专利2项；国家计算机软件著作权3项。



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。

