



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

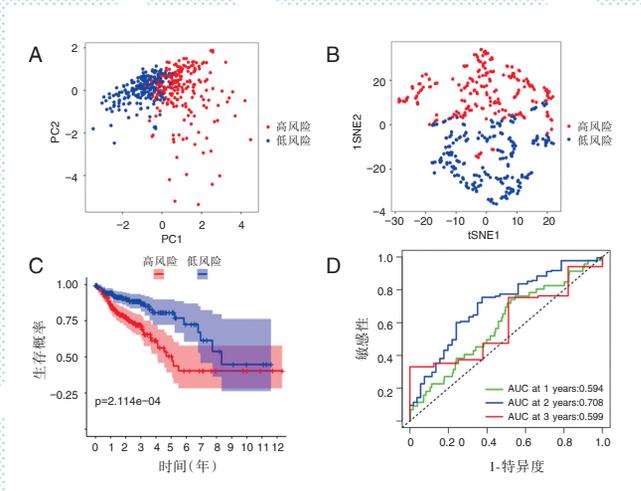
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022年3月 第14卷 第3期 总第91期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 3 March 2022



注: A 为主成分分析; B 为 t-SNE 分析; C 为生存曲线, 蓝色为低风险人群, 红色为高风险人群; D 为 AUC 评测预后模型。

图(366) 模型的预测效能检验

Figure(366) Predictive power test of the model

中山大学 主管

中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)

中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

中国期刊全文数据库全文必录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

中文生物医学期刊文献数据库 CMCC 收录期刊

中国生物医学期刊引文数据库 CMCI 收录期刊

中国学术期刊影响因子年报统计源期刊

ISSN 1674-6929



分子诊断与治疗杂志

二〇二二年三月

第十四卷 第三期

中山大学

赵肃清



赵肃清,1969年8月出生,湖南祁阳人,广东工业大学生物医药学院二级教授,博士生导师,南粤优秀教师。

2002年7月华南农业大学植物化学专业博士毕业,然后到中山大学基础医学院生物化学教研室和法国地中海大学医学院从事博士后研究,主要从事抗体工程、医用免疫诊断试

剂和生物制药研究。2004年7月到广东工业大学轻工化工学院制药工程系工作任系主任,2018年10月到广东工业大学生物医药学院从事教学与科研工作并担任执行院长,是国家级一流专业制药工程专业建设点负责人。已培养博士后出站2人,毕业博士和硕士研究生46名,现指导博士研究生6名,硕士研究生16名,承担博士生“制药工程进展”和硕士生“生物制药技术与进展”等课程。已申请专利77件,授权28件(已转让6件),在 *Analytical Chemistry*, *Analyst*, *Talanta*, *ACS Applied Materials & Interfaces*, *Sensors and Actuators B: Chemical*, *European Journal of Medicinal Chemistry* 和 *Antiviral Research* 等期刊发表SCI收录论文近100篇。主编《制药工程专业导论》、《生物医药与工程技术现状及应用前景》和《生命科学与生物技术现状及应用前景》等专著3部。2003年在法国地中海大学医学院进行为期1年的博士后研究,2007年国家留学基金委公派澳大利亚Murdoch大学从事1年访问研究。现在研广东省重点领域研发计划1项、广州民生科技攻关计划1项和企业横向项目多项。是广东省药学会制药工程专业生物制药分委员会常委、广东省精准医学应用学会危重症分会常务委员、广东省药学会药物化学委员会委员和中国化学会高级会员。是广东深圳绿诗源有限公司的科技特派员,广东大冢制药有限公司科技顾问,广东工业大学优秀科技工作者。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022年3月 第14卷 第3期 总第90期 Monthly Volume 14 Number 3 March 2022

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

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

地址 广州市天河区天河北路179号祥龙大厦11楼(510620)
电话 (020) 32290789-206, 32290789-201
电子邮箱 jmdt@vip.163.com
刊号 ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
邮发代号 46-283
发行单位 广东省报刊发行局
发行范围 国内外公开发售
广告发布登记通知书 440100190057
印刷 天意有福科技股份有限公司
出版日期 2022年3月18日
定价 RMB 15.00元

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

Add 11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620
Tel (020) 32290789-206, 32290789-201
E-mail jmdt@vip.163.com
CSSN ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
Printing TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date 2022.3.18
Price RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

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

分子诊断与治疗杂志

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

特颁发此证书。

中国科学院技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038 www.istic.ac.cn

2021年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年3月 第14卷 第3期

目次

述评

循环肿瘤细胞在结直肠癌预后及疗效评价中的研究进展 张昶 韩超 黄南祺 等(359)

论著

基于铁死亡相关基因的生物信息学分析构建结直肠癌预后模型
..... 陈梁玥 段怡平 柳家翠 等(364)

血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平对多囊卵巢综合征病情及合并不孕的评估价值
..... 吴琼丽 白剑 邓颂(369)

胚胎植入前地中海贫血检测试剂评价 曲守方 黄传峰 李丽莉 等(373)

老年股骨颈骨折术后经壮骨活血汤治疗后的BGP、BALP及DD水平变化
..... 李煜 唐洪涛 高辉(379)

糖尿病肾病患者血清PTH与血管钙化的相关性分析 张燕 黄争艳 李自光(383)

GeneXpert MTB/RIF技术在肺结核诊断及规范治疗中检测价值 朱夫俊 张威 高勇 等(388)

上皮性卵巢癌患者血清miR-203、miR-137、miR-222-3p表达及意义
..... 李祥坤 肖光军 陈姝 等(392)

妊娠晚期血液NLR联合fFN、宫颈长度对早产风险的预测价值 陆逊 王敬 张雯雯 等(397)

STIM1蛋白、尿蛋白、GST在急性缺血性脑梗死中的表达及临床意义
..... 时芳芳 胡加运 杨颖楠 等(401)

不同Ig类型多发性骨髓瘤患者血脂测定及与预后的关系 张晓娇 朱太岗 张飞虎 等(405)

HFHD治疗对糖尿病肾病患者临床疗效及IL-6、SOD水平的影响
..... 李仪静 曾继兰 尤小英 等(409)

系统性红斑狼疮患儿外周血p38MAPK、NF- κ B表达水平的变化及临床意义
..... 方钰 何美林 谢雪 等(413)

特发性肺纤维化患者血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能相关性
..... 李恒妍 贾琦 闫玉琴 等(418)

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
..... 史靖 胡军 罗开亮 等(422)

冠心病PCI术后SICAM-1、RDW及vWF水平与支架内再狭窄的关系
..... 崔耀刚 吕小宁 庞然(426)

CYP2C19、GPIa、ABCB1基因检测在伴发糖尿病的卒中患者抗血小板治疗作用
..... 冯艳 袁丽品 祁亚伟 等(430)

脑胶质瘤ABCC3、PEBP4及Anxa7的表达及与病理特征和预后的关系
..... 赵树鹏 马继伟 王向阳 等(434)

膀胱癌中Yes相关蛋白表达与Wnt/ β -catenin通路的关系及其临床病理意义
..... 李建军 喻长莉(439)

剖腹探查结合术中肠镜在消化道出血诊疗的应用及RBC、Hb和HCT改变
 吴天山 杨杰 马宏飞 等(443)

老年髌部骨折术后FIB、ALP及微循环指标表达意义 崔阳 薛辉 李星瑶 等(447)

CK19、CRP、ALB检测对结直肠癌术后疗效和预后的评估价值 赵贺 王冲 张文静 等(451)

血清APN、visfatin和Haptoglobin与PCOS患者IR指数的关系及临床意义
 王学博 汪爱兵 孙晖 等(455)

UAE联合腹腔镜下吸宫治疗对CSP患者孕酮、 β -HCG及AMH的影响
 王雪 商文金 韩松筠 等(459)

CD44与CA125与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫关系
 张海燕 范晖 张偲 等(463)

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 董磊 臧磊 王娇娇(467)

VK水平变化与新生儿不明原因消化道出血关系 杨雪 赵旭晶 王晓丽(471)

室间隔缺损患儿血清BNP、Cys-C及CGRP水平与肺动脉高压的关系
 吕志刚 马树峰 刘丽娟 等(475)

血清CEA、NSE、PTN水平检测诊断早期肺癌的应用价值 李馥郁 田春艳 李淘淘(479)

β -HCG、CRP和TNF- α 联合检测在胎膜早破宫内感染中的预测作用
 狄红丽 郝树磊 杨彩凤 等(483)

CD25、CRP及TLRs在小儿支气管哮喘合并感染中的预测作用
 朱琼琼 徐玄玄 韦贞汁 等(487)

心肌梗死患者血清cTnI、CK-MB、CRP水平变化及与心肌微循环状态的关系
 邛立征 于宏彬 董博(491)

凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平与结直肠癌患者术后DVT的关系
 卢晓华 田红梅 王冲 等(495)

前庭性偏头痛患者血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP的检测及临床意义
 许晓辉 段智慧 蔡卫卫 等(499)

肝动脉介入联合栓塞在肝癌合并脾功能亢进患者中的应用 祝德 张军旗 杨俊 等(503)

AEMA_b、ACPA_b、AHCgAb在不孕患者中表达水平及与生殖激素含量的相关性
 郭婉茹 曾彬 崔静 等(507)

6 620例已婚妇女HPV感染现状及影响因素分析 岳帆 侯向萍 咸敏 等(512)

PCT、CRP、EOS、NLR对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的病情评估及预后预测
 韩慧珊 张成 汪利宗(516)

老年胫骨骨折患者术后骨痂与血清ALP、IGF-1、sICAM-1及 β -CTX水平的相关性
 陈锦富 吴多庆 陈余兴(521)

COPD并RF经NIPPV后Fib、D-D、血气参数的变化及与肺功能的关系
 杨茜 王慧婷 尹月嫡 等(525)

无创产前基因检测技术在胎儿染色体非整倍体检测中的临床应用
 禚淑霞 谢小雷 陈晨 等(529)

综 述

碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌检测及鉴定现状 雷静 刘泽世 高兴辉 等(533)

专家风采

赵肃清 (封二)

实验室巡礼

广东省免疫诊断试剂研发重点实验室 (封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 3 March 2022

CONTENTS

COMMENTS

- Progress of research on circulating tumor cells in the prognosis and efficacy evaluation of colorectal cancer
ZHANG Chang, HAN Chao, HUANG Nanqi, WU Xiaobing, XU Xuehu (359)

ORIGINAL ARTICLES

- A Prognostic Model of Colorectal Cancer Based on the Expression of Ferroptosis-related Gene via Bioinformatics
CHEN Liangyue, DUAN Yiping, LIU Jiacui, MA Tiantian, ZHU Cuiwen, LI Dongxu, LIU Yonghao, LI Hui, YU Mingxia (364)
- Evaluation value of serum integrin $\beta 3$ and LIF levels in polycystic ovary syndrome and infertility
WU Qiongli, BAI Jian, DENG Song (369)
- Evaluation of preimplantation genetic diagnosis reagent for thalassemia
QU Shoufang, HUANG Chuanfeng, LI Lili, HUANG Jie (373)
- Changes of BGP, BALP and DD levels after treatment with Zhuanggu Huoxue Decoction in elderly patients with postoperative femoral neck fracture
LI Yu, TANG Hongtao, GAO Hui (379)
- Correlation analysis between serum PTH and vascular calcification in patients with diabetic nephropathy
ZHANG Yan, HUANG Zhengyan, LI Ziguang (383)
- Detection and analysis of GeneXpert MTB/RIF technology in the diagnosis and standard treatment of pulmonary tuberculosis
ZHU Fujun, ZHANG Wei, GAO Yong, MA Xiaolan, ZHANG Yumei (388)
- Expression and significance of serum miR-203, miR-137 and mir-222-3p in patients with epithelial ovarian cancer
LI Xiangkun, XIAO Guangjun, CHEN Shu, LIU Yanting, LIU Yulin (392)
- The predictive value of serum NLR combined with fFN and cervical length in late pregnancy for the risk of premature delivery
LU Xun, WANG Jing, ZHANG Wenwen, CHEN Xihan (397)
- Expression and clinical significance of STIM1 protein, urine protein and GST in acute ischemic cerebral infarction
SHI Fangfang, HU Jiayun, YANG Yingnan, WEI Huiling (401)
- Determination of blood lipids in patients with multiple myeloma of different Ig types and its relationship with prognosis
ZHANG Xiaojiao, ZHU Taigang, ZHANG Feihu, DONG Manyu (405)
- Effects of HFHD treatment on clinical efficacy and IL-6 and SOD levels in patients with diabetic nephropathy
LI Yijing, ZENG Jilan, YOU Xiaoying, QIN Hongxiang (409)
- Changes and clinical significance of peripheral blood p38MAPK and NF- κ B expression levels in children with systemic lupus erythematosus
FANG Yu, HE Meilin, XIE Xue, CHENG Qin, ZHANG Wei (413)
- Correlation between serum VEGF, TGF- β , IL-8, IL-13 levels and pulmonary function in patients with idiopathic pulmonary fibrosis
LI Hengyan, JIA Qi, YAN Yuqin, ZHAO Linna, YIN Zongbao (418)
- The relationship between ApoA-1 level and UPDRS score, MMSE score and cerebral white matter microstructure changes in patients with Parkinson's disease
SHI Jing, HU Jun, LUO Kailiang, JIA Shaohuan, SHEN He, HU Zekai, LIU Xinhao, LIU Ting (422)
- Relationship between the changes of SICAM-1, RDW and vWF levels and in-stent restenosis after PCI
CUI Yaogang, LV Xiaoning, PANG Ran (426)
- Effect of *CYP2C19*, *GPIa*, *ABCB1* gene detection on antiplatelet therapy in stroke patients with diabetes
FENG Yan, YUAN Lipin, QI YAwei, LI Xue (430)
- Expression of ABCC3, PEBP4 and Anxa7 in glioma and their relationship with pathological features and prognosis
ZHAO Shupeng, MA Jiwei, WANG Xiangyang, HU Chaoshuai, LIANG Jianing, GE Like, ZHAO Xinli (434)
- The relationship of Yes associated protein expression and Wnt/ β -catenin pathway in bladder cancer and its clinicopathological significance
LI Jianjun, YU Changli (439)

Application of exploratory laparotomy combined with intraoperative enteroscopy in diagnosis and treatment of gastrointestinal bleeding and changes of RBC , Hb and HCT <i>WU Tianshan , YANG Jie , MA Hongfei , GUO Fei</i>	(443)
Expression and significance of FIB , ALP and microcirculation indexes in elderly patients with hip fracture <i>CUI Yang , XUE Hui , LI Xingyao , MA Guoju</i>	(447)
Evaluation value of CK19, CRP and ALB detection in postoperative efficacy and prognosis of colorectal cancer <i>ZHAO He , WANG Chong , ZHANG Wenjing , LU Xiaohua</i>	(451)
Relationship between serum APN , visfatin and haptoglobin and IR index in patients with PCOS and their clinical significance <i>WANG Xuebo , WANG Aibing , SUN Hui , YANG Jianmin , YANG Ran , LI Yingxia , GUO Aiqin , NIU Dong</i>	(455)
Effect of UAE combined with laparoscopic uterine aspiration on progesterone , β -HCG and AMH in CSP patients <i>WANG Xue , SHANG Wenjin , HAN Songyun , ZHANG Hong</i>	(459)
Relationship between CD44 and CA125 and inflammatory immunity in elderly patients with tuberculous pleurisy infection <i>ZHANG Haiyan , FAN Hui , ZHANG Si , WANG Yongqin</i>	(463)
Detection and analysis of immunoglobulin , complement levels and antinuclear antibodies in children with Henoch-Schonlein purpura <i>DONG Lei , ZANG Lei , WANG Jiaojiao</i>	(467)
Relationship between changes of VK level and unexplained gastrointestinal bleeding in neonates <i>YANG Xue , ZHAO Xujing , WANG Xiaoli</i>	(471)
Relationship between serum BNP , Cys-C and CGRP levels and pulmonary hypertension in children with ventricular septal defect <i>LV Zhigang , MA Shufeng , LIU Lijuan , PAN Shuming</i>	(475)
Detection of Serum CEA , NSE and PTN Levels in Early Diagnosis of Lung Cancer <i>LI Fuyu , TIAN Chunyan , LI Taotao</i>	(479)
Predictive role of combined detection of β -HCG , CRP and TNF- α in intrauterine infection in premature rupture of membranes <i>DI Hongli , HAO Shulei , YANG Caifeng , LIU Peng</i>	(483)
Predictive role of CD25 , CRP and TLRs in children with bronchial asthma complicated by infection <i>ZHU Qionggiong , XU Xuanxuan , WEI Zhenzhi , ZHAO Xiyan , ZHOU Qin</i>	(487)
Changes of serum cTnl , CK-MB and CRP levels in patients with myocardial infarction and their relationship with myocardial microcirculation <i>ZHI Lizheng , YU Hongbin , DONG Bo</i>	(491)
Relationship between four coagulation indexes , plasma D-D and NT-proBNP levels and postoperative DVT in patients with colorectal cancer <i>LU Xiaohua , TIAN Hongmei , WANG Chong , WANG Mengjiao</i>	(495)
Detection and clinical significance of serum 5-HT , NO , MMP-9 and CGRP in patients with vestibular migraine <i>XU Xiaohui , DUAN Zhihui , CAI Weiwei , LIU Hailin</i>	(499)
Application of hepatic artery intervention combined with embolization in patients with liver cancer complicated by hypersplenism <i>ZHU De , ZHANG Junqi , YANG Jun , LEI Naijun</i>	(503)
Expression levels of AEMAb , ACPAb and AHCGAb in infertile patients and their correlation with reproductive hormone content <i>GUO Wanru , ZENG Bin , CUI Jing , YU Wanying</i>	(507)
Analysis of current status and influencing factors of HPV infection in 6 620 married women <i>YUE Fan , HOU Xiangping , XIAN Min , WEI Ce</i>	(512)
Prognostic value of PCT , CRP , EOS and NLR in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease <i>HAN Huishan , ZHANG Cheng , WANG Lizong</i>	(516)
Correlation between postoperative osteophytes and serum ALP , IGF-1 , sICAM-1 and β -CTX in elderly patients with tibiofibular fracture <i>CHEN Jinfu , WU Duoqing , CHEN Yuxing</i>	(521)
Relationship between the changes of Fib , D-D and blood gas parameters of COPD combined with RF after NIPPV and lung function <i>YANG Qian , WANG Huiting , YIN Yuedi , JIN Mingyue</i>	(525)
Clinical application of non-invasive prenatal genetic testing technology in fetal chromosomal aneuploidy detection <i>XUAN Shuxia , XIE Xiaolei , CHEN Chen , LIU Yanmei , LIN Jinduan , LI Fuguang , PAN Yizhen , TANG Qiaomin , YIN Weiguo</i>	(529)

REVIEWS

Current status of detection and identification of carbapenem-resistant Enterobacterales <i>LEI Jing , LIU Zeshi , GAO Xinghui , TANG Yiwei , GENG Yan</i>	(533)
--	---------

循环肿瘤细胞在结直肠癌预后及疗效评价中的研究进展

张昶 韩超 黄南祺 吴小兵 徐学虎*

[摘要] 结直肠癌(CRC)是常见的消化道肿瘤,其发病率逐年上升,复发及转移是结直肠癌患者死亡的主要原因。循环肿瘤细胞(CTCs)是起源于原发肿瘤或转移灶的完整肿瘤细胞,作为一种新型生物标志物,其存在与复发风险上升和预后不良密切相关。本文将从CTCs检测技术、CTCs应用于结直肠癌的疗效评估及预后评价等方面展开论述,以期对结直肠癌循环肿瘤细胞领域的研究提供参考。

[关键词] 结直肠癌;循环肿瘤细胞;液体活检

Progress of research on circulating tumor cells in the prognosis and efficacy evaluation of colorectal cancer

ZHANG Chang, HAN Chao, HUANG Nanqi, WU Xiaobing, XU Xuehu*

(Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510150)

[ABSTRACT] Colorectal cancer (CRC) is a common digestive tract tumor, and its incidence is increasing year by year. Recurrence and metastasis are the main causes of death in patients with colorectal cancer. Circulating tumor cells (CTCs) are tumor cells originating from the primary tumor or metastases, and as a novel biomarker, their presence is closely associated with an elevated risk of recurrence and poor prognosis. This article discusses the detection technology of CTCs, the application of CTCs in the efficacy evaluation and prognosis evaluation of colorectal cancer, to provide a reference for the research in the field of colorectal cancer circulating tumor cells.

[KEY WORDS] Colorectal cancer; CTCs; Liquid biopsy

在全球范围内,结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是第三大常见癌症和第四大癌症相关死亡病因^[1]。我国的CRC综合发病率和死亡率分别排第三位和第五位,且总体仍呈上升趋势^[2]。研究显示,结直肠癌在诊断时已有约1/4患者发生远处转移,接受治疗的患者中仍有约一半发生转移^[3]。目前,结直肠癌与组织病理学检查由于侵入性高,难以为患者提供精准的预后信息^[4]。结直肠癌的疗效评价主要以影像学检查RECIST1.1为标准,但由于费用高及滞后性等因素影响,实用性并不高;

癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)等血清肿瘤标志物检测结果也仅用于参考^[5]。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是因各种原因脱离原发实体肿瘤,进入血液并游离其中的肿瘤细胞。CTCs可在靶器官增殖并形成转移灶,导致远处器官的继发性肿瘤,故CTCs与肿瘤的血行转移紧密相连。CTCs的基本检测方法为从患者的体液样本中获取生物标志物,又被称为“液体活检”^[6],其中外周血最为常见。与传统组织病理学检查相比,CTCs检测具有微创、易于重复、取材简

基金项目:广州市科技创新发展专项资金项目(201904010394)

作者单位:广州医科大学附属第三医院胃肠外科,广东,广州 510150

*通信作者:徐学虎, E-mail: xxh@gzhmu.edu.cn

单等优点,可发现早期难以发现的微转移^[7]。目前 CTCs 已被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于监测乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌的疾病进展以及临床评估患者的预后与治疗疗效^[8]。本文就 CTCs 在结直肠癌的预后评估与疗效评价中的临床应用现状作一综述。

1 CTCs 检测与富集技术

1.1 标记依赖性检测技术

CTCs 检测和分离最广泛使用的方法是基于免疫亲和力的检测。由于 CTCs 不同程度表达上皮细胞粘附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)和细胞角蛋白(cytokeratin, CK)等上皮标志物,上皮标志物抗体可与磁性纳米颗粒偶联或修饰在微流控芯片的沟道上,通过阳性或阴性富集策略进行 CTCs 捕获^[9]。标记依赖性检测技术的代表性平台之一是 CellSearch 系统,它使用 EpCAM 包被的纳米磁珠来选择 EpCAM 阳性的细胞,再通过免疫染色确认 CK8、18 的高表达和 CD45 的不表达的 CTCs^[10]。Cohen 等^[11]利用 CellSearch 系统检测了 430 例转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者外周血中 CTCs 数量,得出 CTCs 数量是影响 mCRC 患者无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)的独立因素。AdnaTest 平台(AdnaGen AG, Langenhagen, 德国)则依赖于抗体混合物包被的磁珠,以增强结直肠癌中 CTCs 的捕获和富集;再通过多重反转录-聚合酶链反应技术(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测各种基因(如 *HER-2*、*MUC-1* 和 *KRAS*)的突变^[12]。该平台通过结合两种方法来提高 CTCs 检测的灵敏度以及更好的异质性表征。CellMax 检测平台是一种基于微流控芯片技术的单一特异性的 EpCAM 依赖性检测方法,可从外周血中准确富集 CTCs。Tsai 等^[13]通过 CellMax 平台将捕获的 CTCs 计数与不同 CRC 分期(腺瘤, I、II、III、IV 期)相关联,结果在各阶段均显示出高特异性(86%),验证了其作为早期癌症检测方法的可靠性。

1.2 基于 CTCs 物理特性的检测技术

CTCs 的细胞分析显示,与正常细胞相比,

CTCs 的生物物理特性表现出明显不同。它们具有更大的核浆比、更大的尺寸、不同的核形态,以及与正常细胞不同的电学特性^[14]。物理法可不依赖表面标记物富集到更多子类的 CTCs,具有广阔前景。ISET(RareCells Diagnostics, Paris, 法国)是利用 CTCs 细胞大小及其细胞结构的刚性特性进行分离富集的平台,其主要优势在于灵敏度高,所需血液标本量少,可在不破坏细胞形态的基础上分离上皮细胞^[15]。OncoQuick(Greiner Bio-One International GmbH, Frickenhausen, 德国)和 Ficoll-Paque(GE Healthcare Life Sciences, Uppsala, 瑞典)是基于沉降系数的差异来分离 CTCs 的典型密度梯度离心方法。与 Ficoll 相比,OncoQuick 分离纯度高,CTCs 捕获率也有一定提升^[16]。近年来,基于 CTCs 大小原理的微流控芯片也被开发出来,被称为“三维过滤”。Parsortix 系统是将微流控芯片构建为 3D 几何形状,并通过宽度逐渐减小的阶梯样结构以捕获 CTCs 的技术平台。该平台对于不同来源肿瘤细胞的捕获率为 42%~70%,且捕捉的 CTCs 活性率达到了 99%^[17]。最近, Su 等^[18]根据 CTCs 与正常血细胞间大小与变形能力的差异,研发出一种新的集成微流控装置用于 CRC 患者外周血 CTCs 的分离,结果显示在 3 小时内所有晚期 CRC 患者的外周血样本中均成功捕获到 CTCs。

2 CTCs 在 CRC 预后评估中临床价值

CTCs 作为一种潜在微转移灶,其在外周血中的存在与肿瘤患者的死亡结局密切相关^[19]。有研究报告,对 CTCs 数量及其动态变化过程进行监测可预测肿瘤患者的预后,与 TNM 分期联合应用则可更精确地预测患者预后^[20]。许多研究也表明,CTCs 对非转移性和转移性 CRC 预后的评估均具有极高价值。对于非转移性 CRC,CTCs 可预测未来的转移和较差的疾病预后;而在 mCRC 患者样本中鉴定出 CTCs 则可能表明转移病灶的形成^[21]。Bork 等^[22]研究发现 CTCs 计数及手术前后 CTCs 的动态变化可预测非转移性 CRC 的预后,而术前 CTCs 检测更是非转移性 CRC 一个有力的独立预后标志物。在 Cohen 等^[11]针对 430 例 mCRC 患者的研究中,≥3 个 CTCs/7.5 mL 与 PFS 和 OS 缩短相关;而在化疗治疗 5 周内,基线 CTCs 计数从

≥3 转变为 <3 则与较长的 PFS 和 OS 相关。另一研究则发现在基线 CEA ≥25 ng/mL 的患者中, 基线 CTCs <3 的患者 OS 更长; 而在治疗后 CEA 降低相似的患者中, CTCs 水平不同的患者也表现出差异较大的预后^[23]。这表明 CTCs 与 CEA 的联合检测可更精准地评估预后。

CTCs 各亚型的预后价值也有所差异。有报道称, 上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程与肿瘤的侵袭与转移紧密相连, 导致上皮标志物表达下调, 使基于 EPCAM 的 CTCs 检测技术易出现假阴性结果^[24]。Kozuka 等^[25]对 mCRC 患者 CTCs 样本于单细胞水平进行 RNA 测序, 结果显示 EMT 型 CTCs 比上皮 CTCs 更常被检测到, 且与 mCRC 患者的不良预后相关。CTCs 也可用于针对原发肿瘤病灶的基因检测, 进而评估 CRC 患者的预后。Denis 等^[26]通过微滴式数字 PCR (droplet digital PCR, ddPCR) 对 35 名 CRC 患者的 CTCs 样本进行 *KRAS* 基因状态检测, 结果发现 CTCs 与相应肿瘤组织间的一致性为 77%, 敏感性为 83%。这一数据表明, 从 CRC 患者的血液样本中检测 CTCs 中 *KRAS* 突变可用于预测原发肿瘤中的突变, 从而改善患者预后。另有研究报道, 侵袭性 CTCs 大多表达 CD133、CD44 和 CD54+, CD133+、CD44+、CD54+ 的 CTCs 高表达意味着更短的生存期及更差的预后^[27]。综上, 相关研究充分体现出 CTCs 在结直肠癌中不同层面的预后价值。

3 CTCs 在 CRC 疗效评价中临床价值

3.1 CTCs 在非转移性 CRC 中的疗效评估

对于非转移性 CRC 患者, 手术是行之有效的首选治疗手段, 术前检测到的 CTCs 正是影响癌症进展和生存的有效预后因素^[28]; 同时, 手术操作也会影响外周血 CTCs 数量。Wind 等^[29]研究显示, 与术前相比, 术中 CTCs 的检出率和数量显著增加, 且开腹手术检测到的 CTCs 明显多于腹腔镜手术。有报道显示, 接受原发肿瘤手术切除的 CRC 患者术后外周血中 CTCs 数量会明显减少, 表明手术已发挥治疗作用; 反之, 高 CTCs 水平则表明术后的转移风险增加^[30], 术后持续存在 CTCs 也与患者的无复发生存期 (relapse-free survival, RFS) 缩短和预后不良密切相关^[31]。Yang 等^[32]通

过研究 138 例行根治术 CRC 患者的 RFS, 发现术后 CTCs 阳性是预后不良的独立指标, 且与术前 CTCs 阳性无关。最近也有研究表明, 当非转移性 CRC 患者的术后 CTCs <3 或术后 CTCs 数量比术前 CTCs 数量减少或持平时, 表现为良好预后; 反之则表现为不良预后^[33]。综上, CTCs 数量变化可反映非转移性 CRC 患者的手术治疗效果, 对手术疗效作出评价。

3.2 CTCs 在 mCRC 中的疗效评估

据报道, 约 50%~60% 的 CRC 患者会发生转移, 其中 80%~90% 的患者患有不可切除的肝脏病变^[34]。近年来, mCRC 的治疗取得了显著进展, 从 OS 约 11~12 个月发展到如今的平均 OS 达到 3 年^[35]。不过, mCRC 的高度异质性依旧阻碍着靶向治疗策略和个体化治疗方案的优选, 临床上需要预后标志物来监测化疗反应, 对 mCRC 患者的化疗疗效进行评价。Cohen 等^[11]首次报道了 CTCs 计数可作为患者预后的指标以及评估 mCRC 患者化疗疗效的标志物, 目前已被 FDA 批准用于临床实践。此外也有报道称, CTCs 是 mCRC 患者 PFS 和 OS 的独立预测因素, 也是一线治疗有效性评估的关键因素^[36]。

目前, CEA 是监测 mCRC 对全身治疗反应的首选标志物。然而, Sørbye 等^[37]的研究指出, 在接受含奥沙利铂化疗治疗的 CRC 患者中尽管出现了客观缓解, 而 CEA 水平却一过性升高, 这一现象说明了 CEA 作为疗效评价标志物的不稳定性。Satoshi 等^[38]通过一项基于 64 名接受奥沙利铂治疗的 mCRC 患者的前瞻性研究发现, 相较于 CEA, CTCs 水平并未出现激增, 表明在监测 mCRC 对全身治疗的反应方面, CTCs 是比 CEA 更有效的标志物。由于 CTCs 通过提前识别潜在转移, 确定患者对化疗是否耐药进而评估化疗疗效, 故在化疗过程中, CTCs 持续存在提示肿瘤对化疗不敏感, 若检测到 CTCs 在化疗过程中持续变化则提示肿瘤对化疗敏感。Tan 等^[39]通过研究 mCRC 化疗过程中 CTCs 和 CTCs 相关 miRNAs 的变化情况, 发现 CTCs 与 miRNA 联合时可更好地反映疗效及疾病进展状况。此外, Javier 等^[40]研究发现 CTCs <3/7.5 mL 的 *KRAS* 野生型肿瘤患者的 PFS 和 OS 均高于 CTCs >3/7.5 mL 的 *KRAS* 突变型肿瘤患者, CTCs 计数和 *KRAS* 状态是接受贝

伐单抗化疗治疗的 mCRC 患者的独立预后因素。这些研究表明, CTCs 与其它靶点或生物标志物的联合检测在 mCRC 患者疗效评价方面显示出巨大的应用潜力。

4 小结与展望

通过近些年研究的不断深入, CTCs 检测作为新型液体活检技术已应用于多种肿瘤领域, 其相关技术在不断进步, 应用领域也在持续扩大。与传统影像学检查和组织病理学检查相比, CTCs 检测具有微创、快速等优势, 在肿瘤性疾病的早期诊断、疗效评价及预后评估等方面都具有巨大潜能。但是, CTCs 的临床转化与应用依旧面临着诸多挑战, 如检测技术缺陷、检测结果的假阳性率与假阴性、缺乏关于 CTCs 标准方面的共识等。在结直肠癌疗效及预后评估方面, 目前研究已表明 CRC 患者外周血 CTCs 数量与肿瘤的复发转移密切相关, 基于 CTCs 水平的动态监测也是预后及疗效评价有价值的临床工具。将 CTCs 与 CEA 等生物标志物同时检测, 可多层面地提高 CRC 患者疗效评价的精确性。虽然目前还面临着样本量不够大、检测手段缺陷等导致的可靠性不足的问题, 但随着本领域研究者的不断拓展, 如针对 CRC 特性进行多次多时间点 CTCs 检测、与多生物标志物及基因位点联合检测等, CTCs 在结直肠癌患者治疗及预后评价中的重要性将会充分得到体现。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 赫捷, 孙可欣, 魏文强, 等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(1):19-28.
- [3] 张卫刚, 张言言, 张宪文, 等. 不同分期结直肠癌患者的预后分析: 一项基于 SEER 数据库的回顾性研究[J]. *中华结直肠疾病电子杂志*, 2017, 6(1):21-27.
- [4] Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(2):93-99.
- [5] Breitenbuecher F, Hoffarth S, Worm K, et al. Development of a highly sensitive and specific method for detection of circulating tumor cells harboring somatic mutations in non-small-cell lung cancer patients[J]. *Plos One*, 2014, 9(1):e85350.
- [6] Campos-Fernández E, Barcelos LS, de Souza AG, et al. Research landscape of liquid biopsies in prostate cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(7):1309-1328.
- [7] 王丽丽, 袁海花, 刘峰, 等. 循环肿瘤细胞检测在结直肠癌临床中的应用[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(14):2579-2583.
- [8] de Melo-Silva AJ, Lucena JP, Hueneburg T. The evolution of molecular diagnosis using digital polymerase chain reaction to detect cancer via cell-free DNA and circulating tumor cells[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(3):735-743.
- [9] Murlidhar V, Rivera-Báez L, Nagrath S. Affinity versus label-free isolation of circulating tumor cells: Who wins? [J]. *Small*, 2016, 12(33):4450-4463.
- [10] Swennenhuis JF, van Dalum G, Zeune LL, et al. Improving the CellSearch® system[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2016, 16(12):1291-1305.
- [11] Cohen SJ, Punt CJA, Iannotti N, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *Clin Oncol*, 2008, 26(19):3213-3221.
- [12] Danila DC, Samoila A, Patel C, et al. Clinical validity of detecting circulating tumor cells by AdnaTest assay compared to direct detection of tumor mRNA in stabilized whole blood, as a biomarker predicting overall survival for metastatic castration-resistant prostate cancer patients[J]. *Cancer J*, 2016, 22(5):315-320.
- [13] Tsai WS, You JF, Hung HY, et al. Novel circulating tumor cell assay for detection of colorectal adenomas and cancer[J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2019, 10(10):e00088.
- [14] Bobek V, Gurlich R, Eliasova P, et al. Circulating tumor cells in pancreatic cancer patients: Enrichment and cultivation[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(45):17163-17170.
- [15] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells[J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(1):57-63.
- [16] Miller MC, Robinson PS, Wagner C, et al. The Parsortix™ Cell Separation System—A versatile liquid biopsy platform[J]. *Cytometry A*, 2018, 93(12):1234-1239.
- [17] Hvichia, GE, Parveen Z, Wagner C, et al. A novel microfluidic platform for size and deformability based separation and the subsequent molecular characterization of viable circulating tumor cells[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(12):2894-2904.
- [18] Su WT, Yu H, Jiang L, et al. Integrated microfluidic device for enrichment and identification of circulating tumor cells from the blood of patients with colorectal cancer[J]. *Dis Markers*, 2019, 2019:8945974.

- [19] Lin J, Zheng JP, Wu AG. An efficient strategy for circulating tumor cell detection: surface enhanced Raman spectroscopy[J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(16):3316-3326.
- [20] Wang LL, Zhou SC, Zhang WY, et al. Circulating tumor cells as an independent prognostic factor in advanced colorectal cancer: a retrospective study in 121 patients [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2019, 34(4):589-597.
- [21] Rahbari NN, Bork U, Schölch S, et al. Metastatic spread emerging from liver metastases of colorectal cancer [J]. *Ann Surg*, 2016, 263(2):345-352.
- [22] Bork U, Rahbari NN, Schölch S, et al. Circulating tumour cells and outcome in non-metastatic colorectal cancer: A prospective study[J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(8):1306-1313.
- [23] Aggarwal C, Meropol NJ, Punt CJ, et al. Relationship among circulating tumor cells, CEA and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(2):420-428.
- [24] Alix-Panabieres C, Pantel K. Challenges in circulating tumour cell research[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(9):623-631.
- [25] Kozuka M, Battaglin F, Jayachandran P, et al. Clinical significance of circulating tumor cell induced epithelial-mesenchymal transition in patients with metastatic colorectal cancer by single-cell RNA-sequencing [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(19):4862.
- [26] Denis JA, Patroni A, Guillerme E, et al. Droplet digital PCR of circulating tumor cells from colorectal cancer patients can predict KRAS mutations before surgery [J]. *Mol Oncol*, 2016, 10(8):1221-1231.
- [27] Fang C, Fan CW, Wang C, et al. CD133+CD54+CD44+ circulating tumor cells as a biomarker of treatment selection and liver metastasis in patients with colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47):77389-77403.
- [28] Jia SY, Zhang R, Li ZY, et al. Clinical and biological significance of circulating tumor cells, circulating tumor DNA, and exosomes as biomarkers in colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(33):55632-55645.
- [29] Wind J, Tuynman JB, Tibbe AG, et al. Circulating tumour cells during laparoscopic and open surgery for primary colonic cancer in portal and peripheral blood [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2009, 35(9):942-950.
- [30] Wang JY, Wu CH, Lu CY, et al. Molecular detection of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer using RT-PCR: significance of the prediction of postoperative metastasis [J]. *World J Surg*, 2006, 30(6):1007-1013.
- [31] Hardingham JE, Grover P, Winter M, et al. Detection and clinical significance of circulating tumor cells in colorectal cancer-20 years of progress [J]. *Mol Med*, 2015, 21 suppl 1(suppl 1):S25-31.
- [32] Yang CG, Shi DD, Wang SY, et al. Prognostic value of pre- and post-operative circulating tumor cells detection in colorectal cancer patients treated with curative resection: a prospective cohort study based on ISET device [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10:4135-4144.
- [33] 曹霞, 吴伟, 赵小玉, 等. 早中期结直肠癌手术前后外周血循环肿瘤细胞的监测及预后分析 [J]. *中山大学学报 (医学版)*, 2019, 40(4):604-614.
- [34] Chan KM, Wu TH, Wang YC, et al. Clinical relevance of oncologic prognostic factors in the decision-making of pre-hepatectomy chemotherapy for colorectal cancer hepatic metastasis: The priority of hepatectomy [J]. *World J Surg Oncol*, 2018, 16(1):24.
- [35] Loree JM, Kopetz S. Recent developments in the treatment of metastatic colorectal cancer [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2017, 9(8):551-564.
- [36] Shi J, Li Y, Liang SZ, et al. Analysis of circulating tumor cells in colorectal cancer liver metastasis patients before and after cryosurgery [J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(9):935-942.
- [37] Sørbye H, Dahl O. Carcinoembryonic antigen surge in metastatic colorectal cancer patients responding to oxaliplatin combination chemotherapy: implications for tumor marker monitoring and guidelines [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(23):4466-4467.
- [38] Matsusaka S, Suenaga M, Mishima Y, et al. Circulating Tumor Cells as a Surrogate Marker for Determining Response to Chemotherapy in Japanese Patients with Metastatic Colorectal Cancer [J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(6):1188-1192.
- [39] Tan K, Leong SM, Kee Z, et al. Longitudinal monitoring reveals dynamic changes in circulating tumor cells (CTCs) and CTC-associated miRNAs in response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients [J]. *Cancer Lett*, 2018, 423:1-8.
- [40] Sastre J, Vidaurreta M, Gómez A, et al. Prognostic value of the combination of circulating tumor cells plus KRAS in patients with metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy plus bevacizumab [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2013, 12(4):280-286.

基于铁死亡相关基因的生物信息学分析构建结直肠癌预后模型

陈梁玥¹ 段怡平¹ 柳家翠¹ 马甜甜¹ 朱翠雯¹ 李东旭¹ 刘永豪² 李慧² 喻明霞^{1*}

[摘要] **目的** 采用生物信息学方法分析铁死亡相关基因并构建结直肠癌铁死亡相关预后模型。**方法** 从TCGA数据库中下载结直肠癌患者的mRNA表达谱数据和临床资料。使用R4.0.2软件筛选出与铁死亡相关的差异基因。采用LASSO Cox回归分析构建预后模型。根据得到的风险评分,将纳入的结直肠癌患者划分为高风险组和低风险组。对构建的模型采用Kaplan-Meier方法绘制生存曲线,同时使用R语言“time ROC”包来评估预后模型的预测能力,并进行差异基因分析。分析差异基因富集状态和免疫功能状态。同时采用单因素和多因素COX回归对预后模型进行分析,以验证构建的预后模型是否能独立于其他临床因素成为独立的预测因子。**结果** 单因素COX回归分析显示,在50个差异表达的铁死亡相关基因中,6个基因可能与预后相关,且通过LASSO回归验证。生存分析结果显示,低风险组预后较高风险组好,差异有统计学意义($P<0.05$),ROC曲线显示该预后模型曲线下面积在1年内为0.594,2年内为0.708,3年内为0.599。高、低风险组的差异基因富集在几个铁相关和免疫相关的通路中,且免疫功能在两组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 通过多种生物学方法,构建了6个与铁死亡相关基因的预后模型,可能为结直肠癌患者的个体化治疗和评估提供参考。

[关键词] 结直肠癌;铁死亡;生物信息学;预后模型

A Prognostic Model of Colorectal Cancer Based on the Expression of Ferroptosis-related Gene via Bioinformatics

CHEN Liangyue, DUAN Yiping, LIU Jiacui, MA Tiantian, ZHU Cuiwen, LI Dongxu, LIU Yonghao, LI Hui, YU Mingxia*

(1. Clinical laboratory, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. The Second Clinical College of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** We aim to analyze the iron death-related genes and construct a prognosis model of colorectal cancer via bioinformatic methods. **Methods** The mRNA expression profiles data and clinicopathological information of colorectal cancer patients were downloaded from the TCGA database. R4.0.2 software was used to screen for differential genes associated with ferroptosis. Use LASSO Cox regression analysis to construct a prognostic model. According to the risk score obtained, the patients were divided into high-risk groups and low-risk groups. The OS of patients was analyzed using the Kaplan-Meier method. Time ROC package of R were used to evaluate the predictive ability of the model, and differential gene analysis was

基金项目:国家自然科学基金(81472033);湖北省医学青年后备人才(青年拔尖人才)(HB20200409);湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019M203);武汉市应用基础研究(2017060201010171);湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H0028);湖北省卫生和计划生育委员会青年人才项目(WJ2015Q021);武汉市应用基础研究(2017060201010171);武汉大学中南医院科技创新培育基金(cxy2018031、No.cxy20160054);武汉大学医学部教学研究项目(2020048);武汉大学中南医院转化医学及交叉学科研究联合基金资助项目(ZN1C202010);武汉大学大学生创新项目(S2018301747、202110486085、W2021303003)

作者单位:1. 武汉学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

2. 武汉学第临床学院,湖北,武汉 430071

*通信作者:喻明霞, E-mail: dewrosy520@163.com

conducted, and the enrichment analysis and immune function status analysis of the differential genes were carried out. Then univariate and multivariate COX regression were used to analyze the prognostic model to verify whether the constructed prognostic model could be an independent predictor of other clinical factors.

Results Univariate Cox regression analysis showed that among the 50 differentially expressed genes related to iron death, 6 genes may be related to prognosis, and these 6 genes were also confirmed by LASSO regression analysis. The result of the survival analysis showed that the low-risk group had a better prognosis than the high-risk group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The ROC curve showed that the area under the 1-year survival rate was 0.594, and the area under the 2-year survival rate was 0.708, and the area under the 2-year survival rate was 0.599. The differential genes between the high-risk group and the low-risk group were mainly enriched in several iron-related and immune-related pathways, and the immune function was statistically significant between the two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Using a variety of biological methods, we constructed prognostic models of 6 genes associated with iron death, which may provide a reference for individualized treatment and evaluation of colorectal cancer patients.

[KEY WORDS] Colorectal cancer; Ferroptosis; Bioinformatics; Prognostic model

2019年癌症统计数据显示消化系统肿瘤新增病例数和死亡人数均位居世界第一,而结直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)两者均位居消化系统榜首^[1]。根据我国恶性肿瘤死亡率排名,在男性中居第5位,女性中居第4位^[2]。CRC起病隐匿,早期症状不明显且不典型,缺乏特异性,有时与其他消化系统疾病共存,因此其发现时多为中晚期,且部分患者出现转移灶^[3]。尽管目前对CRC的治疗方式有手术切除、放化疗、基因治疗等多种手段,但其五年生存率仍不足50%^[4]。因此,通过CRC预后相关的生物标志物对CRC患者的预后进行早期评估,成为了必然。

铁死亡(Ferroptosis)是一种非凋亡形式的细胞死亡,其特征是铁依赖性脂质过氧化物的积累达到细胞致死水平^[5]。自铁死亡机制被提出以后,人们在多种疾病发生与发展的关键过程中证实了铁死亡的作用,如阿尔兹海默病、急性肾损伤、肿瘤的增殖与凋亡等^[6]。Zhang^[7]等发现,苯并吡喃衍生物能通过调节AMPK/mTOR/p70S6k信号通路的活性下调SLC7A11的表达,降低半胱氨酸和谷胱甘肽的含量来诱导结肠癌细胞的铁死亡。而Malfa^[8]等证实桦木树提取物通过促进细胞微环境氧化,导致血红素加氧酶-1表达水平增高提高细胞内游离铁浓度,从而诱导铁死亡。此外,XIAN^[9]等研究表明circABC10可以通过调控miR-326/CCL5轴促进直肠癌细胞铁死亡,从而成为潜在的治疗靶点。

本研究通过分析TCGA数据库中CRC的高通量测序数据,通过生物信息学方法筛选与CRC预后相关的铁死亡基因,并加以分析构建临床预后模型,以期对CRC的诊疗及预后提供评估参考。

1 材料与方法

1.1 数据采集

从TCGA(<http://gdc-portal.nci.nih.gov/>)数据库下载CRC患者肿瘤组织癌旁组织的mRNA高通量测序数据和临床资料,其中包括568个肿瘤组织和44个正常组织。对基因表达数据进行归一化处理,并Log2转化后用于后续分析。排除了临床信息缺失或患者生存时间为0的样本,最终纳入了538名CRC患者。

使用Strawberry Perl 5.32.1软件将原始基因表达谱数据整理成基因表达矩阵文件。

1.2 方法

1.2.1 铁死亡相关基因的提取和处理

基于美国国家生物信息中心数据库挖掘调控肿瘤发生发展的60个铁死亡相关基因(Iron death-related genes, IRGs),用于后续对照分析。通过R语言“limma”包对肿瘤和癌旁组织进行差异分析,筛选出铁死亡相关的差异基因(Differentially expressed gene, DEGs)。筛选阈值为伪发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 。运用R语言“Venn包”对具有差异和价值的IRGs取交集,并绘制热图。

1.2.2 预后模型的构建及评价

为了达到最大化减小过度拟合风险的目的,采用LASSO Cox回归分析并结合R语言“glmnet”包再次筛选基因。回归分析中的独立变量为交集基因的表达量,而响应变量是TCGA队列中患者的总体生存率和生存状态。根据每个基因的标准化表达水平及其相应的回归系数计算患者的风险

评分。风险评分表达式如下: 风险评分 (Risk Score) = $\sum_{i=1}^N (\text{Exp}_i * C_i)$, 其中 N 是基因数, Exp_i 是基因的表达水平, C_i 是 LASSO 回归分析得到的回归相关系数。根据预后模型得到的风险评分求其中位数, 将纳入的 CRC 患者划分为高、低风险组。对两组采用 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线, 同时使用 R 语言“time ROC”包来评估预后模型的预测能力。根据下载整理的临床病理信息, 采用单因素和多因素 COX 回归对预后模型进行分析, 以验证构建的预后模型是否能作为独立的预测因子。

1.2.3 功能富集分析和免疫功能状态分析

通过 R 语言“cluster profiler”和“limma”包对高、低风险组中的 DEGs 进行基因本体论(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析。此外, 基于 R 语言“gsva”包, 通过单样本基因集富集分析(ssGSEA)对 16 个免疫细胞浸润进行打分, 并分析 13 个免疫相关的通路。

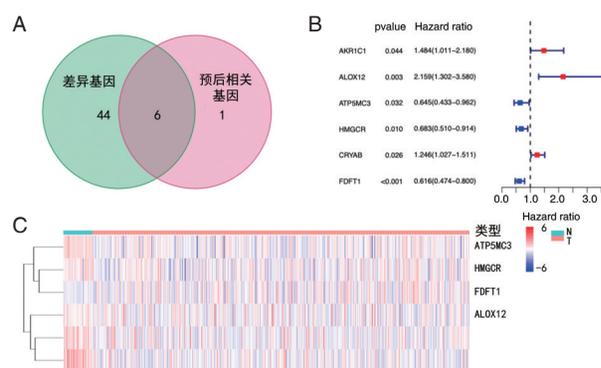
1.3 统计学分析

应用 R (4.0.2) 和 SPSS Statistic25.0 软件进行统计学分析; 使用 Wilcoxon 非参数秩和检验分析肿瘤样本和癌旁样本中的基因表达差异; 采用 χ^2 检验对计数资料之间的差异进行分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 确定与铁死亡相关的差异预后基因

大部分 IRGs 在肿瘤组织和临近组织间存在差异表达 (83.3%, 50/60), 见图 1A。单因素 COX 分析显示, 有 6 个基因与预后相关, 并绘制了基因表达热图 (图 1B-C), 同时进行了 LASSO 回归分析, 见表 1。



注: A 为 DEGs 和 IRGs 交集; B 为 IRGs; C 为 6 个 IRGs 的热图。

图 1 铁死亡相关基因

Figure 1 Iron death-related genes

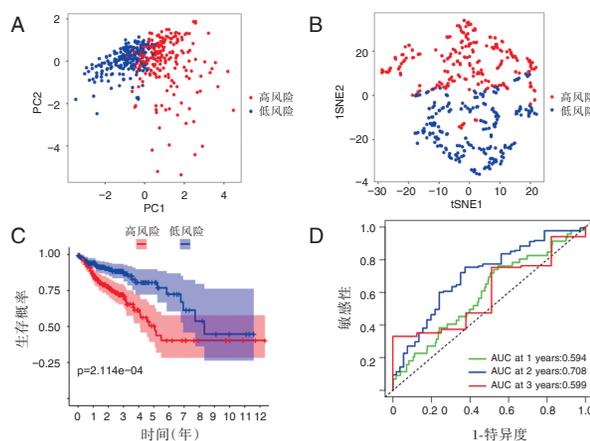
表 1 6 个铁死亡相关基因的详细信息

Table 1 Information of the 6 genes associated with iron-death

基因名称	HR	95%CI	LASSO 回归系数值	P 值
AKR1C1	1.484	1.011~2.180	0.234	0.044
ALOX12	2.159	1.302~3.580	0.620	0.003
ATP5MC3	0.645	0.433~0.962	-0.135	0.032
HMGCR	0.683	0.510~0.914	0.250	0.010
CRYAB	1.246	1.027~1.511	0.191	0.026
FDFT1	0.633	0.476~0.843	-0.330	0.002

2.2 构建预后模型和评价

PCA 和 t-SNE 分析表明, 高风险和低风险两组患者分布在两个方向, 见图 2A-B。Kaplan-Meier 生存曲线提示低风险组总体生存率显著高于高风险组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2C。并绘制受试者工作曲线 ($\text{AUC}_1 = 0.594$, $\text{AUC}_2 = 0.708$, $\text{AUC}_3 = 0.599$, 图 2D)。同时, 对患者进行了风险评分 (图 3A-B)。单因素和多因素 COX 分析提示, 该预后模型可以作为一个独立的预后因子 ($P < 0.05$) (图 3C-D)。



注: A 为主成分分析; B 为 t-SNE 分析; C 为生存曲线, 蓝色为低风险人群, 红色为高风险人群; D 为 AUC 评测预后模型。

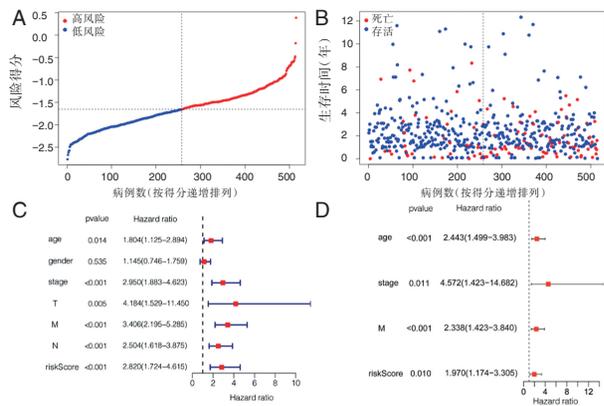
图 2 模型的预测效能检验

Figure 2 Predictive power test of the model

2.3 功能分析

GO 分析中, DEGs 富集在金属离子的隔离以及离子门控通道活性等几个铁相关的通路, 此外, DEGs 也明显富集在与免疫相关的通路中, 如补体的激活等。KEGG 分析中, 在细胞因子与细胞因子受体相互作用等与免疫反应相关的功能通路富集。见表 2。

ssGSEA 分析表明, 巨噬细胞、调节性 T 细胞等在两组之间比较, 差异有统计学意义 ($P <$



注:A为CRC患者风险评分的分布;B为风险评分与生存时间的关系;C为单因素COX回归;D为多因素COX回归。

图3 预后模型的生存状态及COX回归分析

Figure 3 Survival status and COX regression analysis of the prognostic model

0.05)。两组之间的免疫功能比较,除I型主要组织相容性复合物(MHC)外,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图4。

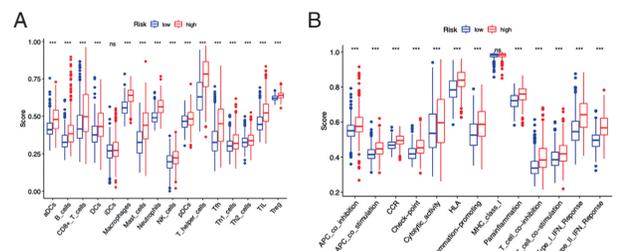
3 讨论

在本研究中,通过文献查阅和数据库挖掘,系统的分析了60个IRGs在CRC组织中的表达与其总体生存率之间的关系,首次构建了一个关于6个IRGs的预后模型。该模型将538例CRC患者分为高、低风险组,两组患者DEGs在铁相关和免疫相关的通路中被富集。一些基因可能通过调节某种激活剂或抑制剂进而调控肿瘤的铁死亡^[10],但这些基因的表达与CRC患者的生存预后之间的相关性仍不清楚。但值得注意的是,大约83.3%的IRGs在CRC组织和癌旁组织之间存在有差异表达,单因素COX分析显示有6个基因与总体生存预后相关。这表明铁死亡在CRC中具有潜在的作用,因此,利用IRGs建立CRC预后模型是有意义的。

本研究构建的预后模型由6个IRGs组成,包括AKR1C1、ATP5MC3、HMGCR、CRYAB、FDFT1、ALOX12。人Aldo-keto还原酶1家庭成员C1(Human Aldo-keto reductase 1 family member C1, AKR1C1)的过度表达可能导致肿瘤细胞的耐药^[11],并通过催化醛酮转化为相应的醇,解毒活性脂质过氧化物分子,进而影响铁死亡进程^[12]。ATP5MC3又称ATP5G3,编码线粒体ATP合成酶亚单位,参与肿瘤的多种生物学过程,并抑制了

表2 GO富集分析和KEGG通路分析
Table 2 GO enrichment analysis and KEGG pathway analysis

类型	功能	富集基因数目(n)	P值	
生物学过程	突触后神经递质受体活动的调节	28	<0.05	
	体液免疫	25	<0.05	
	NF-kB转录因子活性的负调控	24	<0.05	
	吞噬作用	19	<0.05	
	蛋白形成	18	<0.05	
	补体的激活	17	<0.05	
	脂肪酸衍生物的代谢过程	14	<0.05	
	二十醛代谢过程	12	<0.05	
	细胞成分	异型生物质的代谢过程	10	<0.05
		内质网	29	<0.05
		肌动蛋白	28	<0.05
		含有胶原的细胞外基质	22	<0.05
		脂滴	20	<0.05
		L型电压门控钙通道复合物	20	<0.05
		浦肯野纤维突触	17	<0.05
肥大细胞颗粒		15	<0.05	
微绒毛膜		14	<0.05	
生长锥		14	<0.05	
细胞外成分		10	<0.05	
带状胶原		10	<0.05	
分子功能		生长因子活性	28	<0.05
		单氧酶活性	26	<0.05
		氧化还原酶活性	25	<0.05
	血红素结合	24	<0.05	
	类固醇羟化酶活性	24	<0.05	
	受体配体活动	21	<0.05	
	信号受体激活物的活性	17	<0.05	
	四吡咯结合	13	<0.05	
	铁离子结合	10	<0.05	
	离子通道活性	7	<0.05	
	KEGG通路	细胞因子与细胞因子受体相互作用	18	<0.05
		趋化因子信号通路	15	<0.05
		细胞粘附分子	11	<0.05
		MAPK信号通路	10	<0.05
		钙信号通路	8	<0.05
金黄色葡萄球菌感染		7	<0.05	
Ras信号通路		6	<0.05	
胰岛素信号通路		4	<0.05	
血小板激活		4	<0.05	
系统性红斑狼疮		3	<0.05	



注:A为免疫细胞亚群图;B为免疫相关功能图;NS表示差异无统计学意义。

图4 不同风险组之间ssGSEA评分

Figure 4 ssGSEA scores between different risk groups

erastin 诱导的铁死亡^[13]。3-羟基-甲基戊二醇-CoA 还原酶 (3-hydroxy-methylpentanediol-CoA reductase, *HMGCR*) 在甲戊酸的合成中发挥重要作用, Shimada 等人发现抑制 *HMGCR* 可增强 FIN-56 诱导的铁死亡^[14]。*CRYAB* 是小型热休克蛋白家族的一员, 参与调节肿瘤中的几种信号通路, 有报道称其可以调节铁的摄入量和 *GPX4* 的丰度^[15]。角鲨烯合成酶 (Squalene synthase, *FDFT1*) 是合成甾醇并最终合成胆固醇的关键酶, 该基因的敲低与 CRC 的恶性进展和不良预后相关, 并通过负调控 *AKT/mTOR/HIF1 α* 通路抑制肿瘤发生^[16]。*ALOX12* 是脂氧合酶超家族成员之一, 有氧条件下催化多不饱和脂肪酸底物形成氢基二十碳四烯酸, 有研究证明, *ALOX12* 的失活减少了 *p53* 介导的铁死亡, 并消除了 *p53* 依赖的肿瘤生长抑制^[17]。综上, 这些基因在一定程度上影响 CRC 的进展, 但其中的大部分基因是否通过铁死亡机制来干扰 CRC 患者的预后还尚不明确。

近年来铁死亡在肿瘤领域的研究中较为热门, 但肿瘤免疫与铁死亡之间的潜在调控机制尚不清楚。对高、低风险间的 DEGs 进行 GO 和 KEGG 分析, 发现这些 DEGs 富集于一些与免疫相关的生物学通路和功能中。由此可推断, 铁死亡与肿瘤的免疫功能之间可能存在密切关联。此外, 在 ssGSEA 分析中, 发现抗原提呈过程在高、低风险组之间存在显著差异, 一种可能性是铁死亡细胞释放某些信号, 吸引抗原提呈细胞, 从而激活抗原提呈反应^[18]。同时, 本研究通过对比分析, 高风险组中有较高的肿瘤相关巨噬细胞、调节性 T 细胞表达, 既往研究已经证实该类细胞水平的升高与 CRC 肿瘤的不良预后相关^[19]。

综上所述, 本文经过多种生物学方法, 构建了 6 个与铁死亡相关基因的预后模型, 可能为 CRC 患者的个体化治疗和评估提供参考。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1): 7-34.
- [2] 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] Labianca R, Beretta GD, Kildani B, et al. Colon cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2010, 74(2): 106-133.
- [4] Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. Nccn guidelines insights: Colon cancer, version 2.2018 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(4): 359-369.
- [5] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [6] Stockwell BR, Jiang X, Gu W. Emerging mechanisms and disease relevance of ferroptosis [J]. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(6): 478-490.
- [7] Zhang L, Liu W, Liu F, et al. Imca induces ferroptosis mediated by slc7a11 through the ampk/mtor pathway in colorectal cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020(1675613).
- [8] Malfa GA, Tomasello B, Acquaviva R, et al. *Betula etnensis* raf. (betulaceae) extract induced ho-1 expression and ferroptosis cell death in human colon cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11).
- [9] Xian ZY, Hu B, Wang T, et al. Circabc10 silencing inhibits the cell ferroptosis and apoptosis by regulating the mir-326/ccl5 axis in rectal cancer [J]. *Neoplasma*, 2020, 67(5): 1063-1073.
- [10] Umemura M, Kim JH, Aoyama H, et al. The iron chelating agent, deferoxamine detoxifies fe (salen)-induced cytotoxicity [J]. *J Pharmacol Sci*, 2017, 134(4): 203-210.
- [11] Wei X, Wei Z, Li Y, et al. *Akr1c1* contributes to cervical cancer progression via regulating *twist1* expression [J]. *Biochem Genet*, 2021, 59(2): 516-530.
- [12] Gagliardi M, Cotella D, Santoro C, et al. Aldo-keto reductases protect metastatic melanoma from er stress-independent ferroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12): 902.
- [13] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060.
- [14] Shimada K, Skouta R, Kaplan A, et al. Global survey of cell death mechanisms reveals metabolic regulation of ferroptosis [J]. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(7): 497-503.
- [15] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [16] Weng ML, Chen WK, Chen XY, et al. Fasting inhibits aerobic glycolysis and proliferation in colorectal cancer via the *fdft1*-mediated *akt/mtor/hif1 α* pathway suppression [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1869.
- [17] Chu B, Kon N, Chen D, et al. *Alox12* is required for *p53*-mediated tumour suppression through a distinct ferroptosis pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(5): 579-591.
- [18] Xie Y, Hou W, Song X, et al. Ferroptosis: Process and function [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 369-379.
- [19] Picard E, Verschoor CP, Ma GW, et al. Relationships between immune landscapes, genetic subtypes and responses to immunotherapy in colorectal cancer [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 369.

· 论 著 ·

血清整合素 $\beta 3$ 、LIF 水平对多囊卵巢综合征病情及合并不孕的评估价值

吴琼丽¹ 白剑² 邓颂^{3*}

[摘要] 目的 研究血清整合素 $\beta 3$ 和白血病抑制因子(LIF)水平对多囊卵巢综合征(PCOS)病情及合并不孕的评估价值。方法 选择2018年1月至2021年2月重庆市云阳县人民医院收治的PCOS伴不孕患者作为PCOS组($n=120$)、排卵正常的非PCOS不孕女性作为对照组($n=100$),采用酶联免疫吸附法检测血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平,采用实验室检测指标黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、雌二醇(E2)、睾酮(T)、空腹胰岛素(F-Ins)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)评估病情,采用超声指标A型内膜比例、子宫内膜厚度评估子宫内膜容受性。结果 PCOS组患者血清中整合素 $\beta 3$ 、LIF的水平均明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平对PCOS伴不孕具有诊断价值,诊断的截断值分别为76.72 ng/mL、8.80 ng/mL($P<0.05$);PCOS组中整合素 $\beta 3 \geq 76.72$ ng/mL、LIF ≥ 8.80 ng/mL患者的F-Ins、HOMA-IR水平均低于整合素 $\beta 3 < 76.72$ ng/mL、LIF < 8.80 ng/mL患者,A型内膜比例、子宫内膜厚度高于整合素 $\beta 3 < 76.72$ ng/mL、LIF < 8.80 ng/mL患者,差异有统计学意义($P<0.05$),LH、FSH、E2、T水平与整合素 $\beta 3 < 76.72$ ng/mL、LIF < 8.80 ng/mL患者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平对PCOS伴不孕具有诊断价值且对胰岛素抵抗、子宫内膜容受性异常具有评估价值。

[关键词] 多囊卵巢综合征;不孕;整合素 $\beta 3$;白血病抑制因子;胰岛素抵抗;子宫内膜容受性

Evaluation value of serum integrin $\beta 3$ and LIF levels in polycystic ovary syndrome and infertility

WU Qiongli¹, BAI Jian², DENG Song^{3*}

(1. Department of Gynecology, Yunyang County People's Hospital Chongqing, China, 404500; 2. Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China, 430030; 3. Minda Hospital of Hubei Minzu University Enshi, Hubei, China, 445000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the evaluation value of serum integrin $\beta 3$ and leukemia inhibitory factor (LIF) levels in polycystic ovary syndrome (PCOS) and infertility. **Methods** PCOS patients with infertility treated in Yunyang County People's Hospital, Chongqing from January 2018 to February 2021 were selected as the PCOS group ($n=120$), and non PCOS infertile women with normal ovulation were selected as the control group ($n=100$). The levels of serum integrin $\beta 3$ and LIF were detected by Elisa. The disease condition of PCOS was evaluated by laboratory indicators including luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), estradiol (E2), testosterone (T), fasting insulin (F-Ins) and insulin resistance index (HOMA-IR). The endometrial receptivity was evaluated by ultrasound indexes including type A endometrial ratio and endometrial thickness. **Results** The levels of integrin $\beta 3$ and LIF in serum of the PCOS group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). The levels of integrin $\beta 3$ and

基金项目:湖北省卫生健康科研基金指导性项目(WJ2021F102)

作者单位:1.重庆市云阳县人民医院妇科,重庆404500

2.华中科技大学同济医学院附属同济医院,湖北,武汉430030

3.湖北民族大学附属民大医院,湖北,恩施445000

*通信作者:邓颂, E-mail:27672711@qq.com

LIF had diagnostic value for PCOS with infertility, the cutoff values of diagnosis were 76.72 ng/mL and 8.80 ng/mL respectively. The levels of F-Ins and HOMA-IR in patients with integrin $\beta 3 \geq 76.72$ ng/mL and LIF ≥ 8.80 ng/mL were lower than those of integrin $\beta 3 < 76.72$ ng/mL and LIF < 8.80 ng/mL, the proportion of type A endometrium and endometrial thickness were higher than those of integrin $\beta 3 < 76.72$ ng/mL and LIF < 8.80 ng/mL ($P < 0.05$). There was no significant difference in the levels of LH, FSH, E2, T between PCOS patients with different integrins $\beta 3$ and LIF level ($P > 0.05$). **Conclusion** Serum integrin $\beta 3$ and LIF levels have diagnostic value for PCOS with infertility and have evaluation value for insulin resistance and abnormal endometrial receptivity.

[KEY WORDS] PCOS; Infertility; Integrin $\beta 3$; LIF; Insulin resistance; Endometrial receptivity

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是常见的妇科内分泌疾病,以不排卵或排卵稀发、高雄激素血症及高胰岛素血症为主要的临床特征,是目前造成女性不孕的最常见病因之一。近些年关于PCOS合并不孕的研究不断深入,不孕的发生不仅与不排卵有关,还与子宫内膜容受性的改变有关^[1-2]。性激素指标黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、睾酮(testosterone, T)、抗苗勒管激素的变化与PCOS患者不排卵有关,也被证实能够评估PCOS不孕^[3-4],但目前尚缺乏通过子宫内膜容受性的评估来预测PCOS不孕的临床证据。整合素 $\beta 3$ 和白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)是两种在子宫内膜容受性调控中发挥重要作用的分子,有动物实验报道,糖尿病大鼠子宫内膜中整合素 $\beta 3$ 和LIF表达增加与容受性的改善有关^[5]。本研究将以子宫内膜容受性为切入点,分析血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平对PCOS病情及合并不孕的评估价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2018年1月至2021年2月重庆市云阳县人民医院收治的120例PCOS伴不孕患者作为PCOS组,纳入标准:①符合PCOS诊断标准^[6];②符合不孕症诊断标准^[7];③临床资料及样本完整。排除标准:①合并甲状腺、肾上腺、垂体等其他内分泌疾病;②合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病;③近3月使用过激素类药物。选择同期就诊的100例输卵管因素或男方因素不孕的100例女性患者作为对照组,月经规则、B超监测排卵正常。PCOS组年龄(31.39 ± 7.23)岁,病程(14.85 ± 3.29)月;对照组年龄(32.14 ± 8.15)岁,病程(13.95 ± 4.04)月。两组间一般资料的比较,差异无统计学意义

($P > 0.05$)。本研究获得医院伦理委员会批准、签署患者知情同意书。

1.2 血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平的酶联免疫吸附法检测

PCOS患者月经周期第3~5 d时(闭经患者日期不限)采集空腹外周静脉血,对照组入院后采集空腹外周静脉血,静置30 min凝血后,3 000 r/min离心分离(半径为10 cm)血清,采用酶联免疫吸附法试剂盒检测血清中整合素 $\beta 3$ 、LIF的水平。

1.3 IR程度及性激素水平的实验室检测

PCOS患者月经周期第3~5 d时(闭经患者日期不限)检测LH、FSH、E2、T、空腹胰岛素(F-Ins)、空腹血糖(FBG)水平,按照公式 $F\text{-Ins} \times FBG / 22.5$ 计算胰岛素抵抗指数HOMA-IR。

1.4 子宫内膜容受性的超声检测

PCOS患者月经周期第3~5 d时进行彩色多普勒超声检查,观察子宫内膜的超声特征、“三线征”阳性为A型内膜,测定子宫内膜厚度。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0软件录入数据并进行统计学分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示、两组间比较采用卡方检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示、两组间比较采用 t 检验;血清整合素 $\beta 3$ 、LIF诊断PCOS伴不孕采用ROC曲线分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCOS组与对照组血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平的比较

与对照组比较,PCOS组患者血清中整合素 $\beta 3$ 、LIF的水平均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平诊断PCOS合并不孕的ROC曲线分析

血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平诊断PCOS合并不孕

表1 PCOS组与对照组血清整合素β3、LIF水平的比较(̄x±s)

Table 1 Comparison of serum integrinβ3 and LIF levels between PCOS group and control group (̄x±s)

组别	n	整合素β3(ng/mL)	LIF(ng/mL)
PCOS组	120	70.69±19.40	7.97±2.35
对照组	100	93.34±16.68	10.76±2.61
t值		9.184	8.337
P值		0.000	0.000

的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.816、0.789,两项指标均对PCOS合并不孕具有诊断价值(P<0.05)。见表2、图1。

表2 血清整合素β3、LIF水平诊断PCOS合并不孕的ROC曲线分析

Table 2 ROC curve analysis of serum integrin β3 and LIF level in the diagnosis of PCOS complicated with infertility

指标	AUC	95%CI	截断值	灵敏度(%)	特异度(%)	P值
整合素β3	0.816	0.760-0.872	76.72 ng/mL	89.00	67.50	<0.05
LIF	0.789	0.730-0.848	8.80 ng/mL	78.22	69.17	<0.05

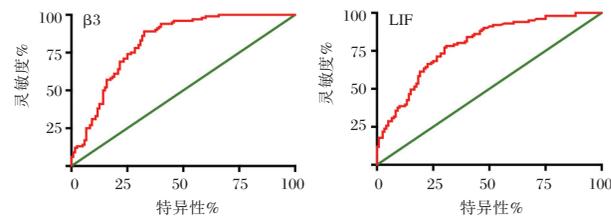


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

2.3 PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者IR程度的比较

PCOS组中血清整合素β3≥76.72 ng/mL、LIF≥8.80 ng/mL患者的F-Ins、HOMA-IR水平均低于血清整合素β3<76.72 ng/mL、LIF<8.80 ng/mL患者,不同整合素β3、LIF水平患者比较,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者IR程度的比较(̄x±s)

Table 3 Comparison of IR degree between patients with different integrins β3 and LIF level in PCOS group (̄x±s)

项目	n	F-Ins(IU/mL)	HOMA-IR
整合素β3	≥76.72 ng/mL	39	8.93±1.86
	<76.72 ng/mL	81	13.24±2.52
	t值		9.499
P值		0.000	0.000
LIF	≥8.80 ng/mL	37	9.31±2.02
	<8.80 ng/mL	83	13.04±2.44
	t值		8.027
P值		0.000	0.000

2.4 PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者性激素水平的比较

PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者LH、FSH、E2、T的比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表4。

2.5 PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者子宫内膜容受性的比较

PCOS组中血清整合素β3≥76.72 ng/mL、LIF≥8.80 ng/mL患者的A型内膜比例、子宫内膜厚度高于血清整合素β3<76.72 ng/mL、LIF<8.80 ng/mL患者,不同整合素β3、LIF水平患者比较,差异有统计学意义(P<0.05)。见表5。

表5 PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者子宫内膜容受性的比较[n(%), (̄x±s)]

Table 5 Comparison of endometrial receptivity of patients with different levels of integrin β3 and LIF in PCOS group [n(%), (̄x±s)]

指标	分类	n	A型内膜	内膜厚度(mm)
整合素β3	≥76.72 ng/mL	39	13(33.33)	8.83±2.85
	<76.72 ng/mL	81	9(11.11)	7.09±1.83
	t值		8.683	4.039
	P值		0.003	0.000
LIF	≥8.80 ng/mL	37	12(32.43)	8.57±2.91
	<8.80 ng/mL	83	10(12.05)	7.22±1.78
	t值		7.102	3.011
	P值		0.008	0.003

表4 PCOS组中不同整合素β3、LIF水平患者性激素水平的比较(̄x±s)

Table 4 Comparison of sex hormone level between patients with different integrins β3 and LIF level in PCOS group (̄x±s)

指标	分类	n	LH(U/L)	FSH(U/L)	E2(pmol/L)	T(nmol/L)
整合素β3	≥76.72 ng/mL	39	16.51±3.42	5.33±0.93	265.41±43.23	2.25±0.52
	<76.72 ng/mL	81	15.95±3.77	5.45±0.85	258.48±52.17	2.51±0.83
	t值		0.785	0.702	0.719	1.792
	P值		0.434	0.484	0.474	0.076
LIF	≥8.80 ng/mL	37	15.89±3.44	5.30±0.97	263.77±45.85	2.21±0.49
	<8.80 ng/mL	83	16.70±3.89	5.47±0.82	259.73±50.83	2.48±0.77
	t值		1.069	0.965	0.407	1.941
	P值		0.287	0.337	0.685	0.055

3 讨论

PCOS是育龄期女性不孕的常见病因之一,性激素水平异常造成的无排卵与不孕的发生密切相关,但具体的发病机制并不十分清楚。有研究报道,LH、FSH、E₂、T等性激素指标的变化能够作为诊断和评估PCOS合并不孕的辅助检查指标,但用于诊断的效能较低,ROC曲线下面积均不足0.8^[3-4]。近些年有临床研究发现,通过西医激素治疗PCOS伴不孕后虽然激素水平的紊乱得到纠正、卵泡发育也明显改善,但妊娠率仍较低,这可能与PCOS发病过程中患者子宫内膜容受性的降低有关。因此,子宫内膜容受性可能是筛查、诊断、治疗PCOS伴不孕的潜在研究靶点。

子宫内膜容受性降低的表现包括子宫内膜对胚胎定植、黏附、侵入的接受能力低下,进而造成胚胎植入失败^[8-9]。整合素 $\beta 3$ 和LIF是两种已知在子宫内膜容受性调控中起重要作用的分子^[10]。前者是一种细胞间黏附分子,直接介导了胚胎与子宫内膜的识别和黏附,被认为是评价子宫内膜容受性的标志分子^[11-12];后者具有促进胚胎发育、促进胎盘滋养细胞增殖的作用,参与胚胎向子宫内膜的定植过程^[13-14]。已有相关动物实验证实,大鼠子宫内膜中整合素 $\beta 3$ 和LIF表达降低会造成子宫内膜容受性降低^[5]。本研究结果表明整合素 $\beta 3$ 、LIF的降低与PCOS伴不孕的发生有关,可能原因是整合素 $\beta 3$ 及LIF的降低影响了子宫内膜容受性,进而造成PCOS患者发生不孕。

随后,本研究对整合素 $\beta 3$ 、LIF用于PCOS伴不孕病情评估的价值进行了分析。IR是PCOS的重要病理生理特征,代偿性的高胰岛素血症会影响糖脂代谢、内环境稳态,进而可能影响多种细胞因子的释放^[15-17]。本研究的结果表明整合素 $\beta 3$ 、LIF与IR存在相互作用,整合素 $\beta 3$ 、LIF的降低可能影响胰岛素敏感性、加重PCOS患者的IR;持续存在的IR又可能影响内环境,不利于整合素 $\beta 3$ 、LIF的合成及释放。

目前关于PCOS伴不孕的研究认为性激素紊乱造成的无排卵、不同黏附分子表达异常造成的子宫内膜容受性降低与不孕的发生密切相关。本研究还分析了不同整合素 $\beta 3$ 、LIF的PCOS伴不孕患者性激素水平的差异,结果提示LH、FSH、E₂、T四项性激素指标无差异,表明PCOS伴不孕

的发病过程中整合素 $\beta 3$ 、LIF的降低与性激素无关,其引起不孕的作用不依赖于性激素的改变。进一步通过超声指标评估子宫内膜容受性并分析其与整合素 $\beta 3$ 、LIF的关系,结果显示:随着血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平升高,患者的A型内膜比例,子宫内膜厚度均增加,表明整合素 $\beta 3$ 、LIF水平影响患者子宫内膜容受性,在PCOS伴不孕的发病过程中整合素 $\beta 3$ 及LIF水平的降低可能使子宫内膜容受性发生改变、进而不利于胚胎植入并造成不孕。

综上所述,本研究的临床分析数据表明PCOS伴不孕患者的血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平明显降低,血清整合素 $\beta 3$ 、LIF水平对PCOS伴不孕具有诊断价值且对胰岛素抵抗、子宫内膜容受性异常具有评估价值。但PCOS发病过程中整合素 $\beta 3$ 、LIF水平发生变化的机制是否与IR的加重有关仍有待更多的研究。

参考文献

- [1] Kara M, Ozcan SS, Aran T, et al. Evaluation of Endometrial Receptivity by Measuring HOXA-10, HOXA-11, and Leukemia Inhibitory Factor Expression in Patients with Polycystic Ovary Syndrome [J]. *Gynecol Minim Invas Ther*, 2019, 8(3):118-122.
- [2] Younas K, Quintela M, Thomas S, et al. Delayed endometrial decidualisation in polycystic ovary syndrome; the role of AR-MAGEA11 [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2019, 97(9):1315-1327.
- [3] 林丽娜. 血清AMH、PRL及性激素表达情况对PCOS伴不孕症的预测[J]. *中国处方药*, 2021, 19(3):3-5.
- [4] Baig M, Azhar A, Rehman R, et al. Relationship of Serum Leptin and Reproductive Hormones in Unexplained Infertile and Fertile Females [J]. *Cureus*, 2019, 11(12):e6524.
- [5] 赵春芳, 沈亚欣, 龚森, 等. 姜黄素对糖尿病大鼠子宫内膜整合素 $\beta 3$ 、LIF表达水平的影响[J]. *河北医科大学学报*, 2019, 40(7):758-762.
- [6] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(1):2-6.
- [7] 陈子江, 刘嘉茵, 黄荷凤, 等. 不孕症诊断指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2019, 54(8):505-511.
- [8] Ruiz-Alonso M, Valbuena D, Gomez C, et al. Endometrial Receptivity Analysis (ERA): data versus opinions [J]. *Hum Reprod Open*, 2021, 2021(2):hoab011.
- [9] Ben Rafael Z. Endometrial Receptivity Analysis (ERA) test: an unproven technology [J]. *Hum Reprod Open*, 2021, 14(2):hoab010.

胚胎植入前地中海贫血检测试剂评价

曲守方 黄传峰 李丽莉* 黄杰*

[摘要] **目的** 使用胚胎植入前地中海贫血诊断国家参考品,评价基于半导体测序法的胚胎植入前地中海贫血检测试剂的性能。**方法** 将家系中模拟胚胎细胞样本进行单细胞全基因组扩增。取家系中其它样本和胚胎细胞的基因组DNA作为模板,扩增选定区域,加上通用的测序接头完成文库构建;将文库进行定量;使用测序仪进行测序。**结果** 在国家参考品1号家系中,胚胎CNGB030013的 β 珠蛋白基因(*HBB*)基因检测结果:单体型结果为M1/F2(即遗传CNGB030012女方风险染色体中国型 $\delta\beta$, CNGB030011男方正常染色体 β^N);其致病基因检测结果为中国型 $\delta\beta/\beta^N$ 。*HBA*基因的检测结果:单倍体结果为M2/F1(即遗传CNGB030012女方正常染色体 $\alpha\alpha$, CNGB030011男方风险染色体 $\alpha^{-3.7}$),其致病基因检测结果为 $\alpha\alpha/\alpha^{-3.7}$ 。在国家参考品2号家系中,胚胎CNGB030017的*HBA*基因检测结果:单体型结果为M1/F2(即遗传CNGB030016女方风险染色体 $\alpha\alpha^{CS}$, CNGB030015男方正常染色体 $\alpha\alpha$);其致病基因检测结果为 $\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$ 。在国家参考品3号家系中,胚胎CNGB030021的*HBB*基因检测结果:单体型结果为M2/F1(即遗传CNGB030020女方正常染色体 β^N , CNGB030019男方风险染色体中国型 $\delta\beta$);其致病基因检测结果为 β^N /中国型 $\delta\beta$ 。在国家参考品4号家系中,胚胎CNGB030010的*HBB*基因检测结果:单体型结果为M2/F1(即遗传CNGB030008男方风险染色体 $\beta^{IVS-II-654}$, CNGB030009女方正常染色体 β^N);其致病基因检测结果为 $\beta^N/\beta^{IVS-II-654}$ 。**结论** 研制的国家参考品能够满足胚胎植入前地中海贫血检测试剂质量评价的要求。

[关键词] 地中海贫血;胚胎植入前遗传病检测;胚胎植入前遗传学诊断;全基因组扩增;单核苷酸多态性分析;高通量测序

Evaluation of preimplantation genetic diagnosis reagent for thalassemia

QU Shoufang, HUANG Chuanfeng, LI Lili*, HUANG Jie*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the performance of preimplantation genetic diagnosis reagent for thalassemia based on semiconductor sequencing using national reference for preimplantation thalassemia diagnosis. **Methods** DNA was extracted from simulated embryos cells in the pedigree by whole genome amplification of single cell. The genomic DNA from other samples in the pedigree and embryos cells were used as templates to amplify selected regions, and common sequencing connectors were added to complete library construction. Then the library was quantified. Finally, sequencer was used for sequencing. **Results** In the national reference family No.1, the *HBB* gene test result of embryo CNGB030013: the haplotype result is M1/F2 (that is, the CNGB030012 female risk chromosome Chinese type $\delta\beta$, the CNGB030011 male normal chromosome β^N); the causative gene test result is Chinese type $\delta\beta/\beta^N$. *HBA* gene test result: the haploid result is M2/F1 (ie, the CNGB030012 female normal chromosome $\alpha\alpha$, the CNGB030011 male risk chromosome $\alpha^{-3.7}$), and the causative gene test result is $\alpha\alpha/\alpha^{-3.7}$. In the national reference family No. 2, the *HBA* gene test

基金项目:国家重点研发计划资助(2021YFC2700500)

作者单位:中国食品药品检定研究院,北京100050

*通信作者:李丽莉, E-mail: lilili@nifdc.org.cn; 黄杰, E-mail: jhuang5522@126.com

注:曲守方和黄传峰共为第一作者

result of embryo CNGB030017: the haplotype result is M1/F2 (that is, the CNGB030016 female: risk chromosome $\alpha\alpha^{CS}$, the CNGB030015 male normal chromosome $\alpha\alpha$); the causative gene test result is $\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$. In the national reference family No. 3, the *HBB* gene test result of embryo CNGB030021: the haplotype result is M2/F1 (that is, the CNGB030020 female normal chromosome β^N , the CNGB030019 male risk chromosome Chinese type $\delta\beta$); the causative gene test result is $\beta^N/\text{Chinese type } \delta\beta$. In the national reference family No. 4, the *HBB* gene test result of embryo CNGB030010: the haplotype result is M2/F1 (that is, the inheritance of CNGB030008 male risk chromosome $\beta^{IVS-II-654}$, CNGB030009 female normal chromosome β^N); the causative gene test result is $\beta^N/\beta^{IVS-II-654}$. **Conclusion** The developed national reference material can meet the requirements of quality evaluation of preimplantation genetic diagnosis reagent for thalassemia.

[KEY WORDS] Thalassemia; Preimplantation genetic testing; Preimplantation genetic diagnosis; Whole genome amplification; Single-nucleotide polymorphisms; Next generation sequencing

地中海贫血(简称地贫)是一种常见的常染色体单基因遗传病, α -地贫和 β -地贫是最常见的地贫类型^[1-2]。它是目前我国南方地区在胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)领域中数量最多的单基因遗传病之一。胚胎植入前遗传病检测技术包括跨跃断裂点 PCR (Gap-PCR)、短串联重复序列 (Short Tandem Repeats, STR) 连锁分析、单核苷酸多态性 (Single-nucleotide polymorphisms, SNPs) 分析和高通量测序 (Next Generation Sequencing, NGS) 等方法^[3-5]。NGS 已经成为临床上用于胚胎植入前染色体非整倍体、染色体结构异常和单基因病检测的主要检测手段之一^[6-8]。为使胚胎植入前遗传学诊断 (preimplantation genetic diagnosis, PGD) 和胚胎植入前遗传学筛查更加规范并能够有效地实施,我国专家制定了胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识^[9]。

目前国内已有公司开发胚胎植入前地中海贫血检测试剂盒(半导体测序法),它是通过连锁分析判断胚胎是否遗传了来自父母的地中海贫血基因突变。本研究使用胚胎植入前地中海贫血诊断国家参考品,评价基于半导体测序法的胚胎植入前地中海贫血检测试剂盒的性能。

1 材料与方法

1.1 样本

胚胎植入前地中海贫血诊断国家参考品,包括4个家系样本,中国食品药品检定研究院(简称中检院)提供。

1.2 试剂与仪器

胚胎植入前地中海贫血检测试剂盒(半导体测序法)和测序反应通用试剂盒(半导体测序法),苏州贝康医疗器械有限公司。

Qubit 4.0 荧光定量仪,美国 Life Technology 公司;7500 实时荧光定量 PCR 仪,Applied Biosystems 公司;DA8600 基因测序仪,广州市达瑞生物技术股份有限公司。

1.3 国家参考品检测

按照试剂盒的说明书进行操作,取家系样本中的胚胎细胞样本进行细胞裂解后,然后等温扩增。将扩增后的胚胎细胞基因组 DNA 使用 Qubit 荧光定量仪进行定量。取家系中其它样本和胚胎细胞的基因组 DNA 作为模板,扩增选定区域,在扩增后的 DNA 片段两端加上通用的测序接头,构建测序文库。使用 7500 实时荧光定量 PCR 仪,对文库进行定量。根据文库的定量结果,取等物质的量的文库进行混合。根据测序反应通用试剂盒(半导体测序法)操作说明书,混合文库使用 DA8600 基因测序仪进行测序。将下机数据使用胚胎植入前遗传病检测分析软件进行数据分析。

2 结果

2.1 国家参考品 1 号家系

胚胎 CNGB030013 的 β 珠蛋白基因 (hemoglobin beta gene, *HBB*) 基因检测结果:单体型结果为 M1/F2 (即遗传 CNGB030012 女方风险染色体中国型 $\delta\beta$, CNGB030011 男方正常染色体 β^N);其致病基因检测结果为中国型 $\delta\beta/\beta^N$ 。*HBA* 基因的检测结果:单倍体结果为 M2/F1 (即遗传 CNGB030012 女方正常染色体 $\alpha\alpha$, CNGB030011 男方风险染色体 $\alpha^{-3.7}$),其致病基因检测结果为 $\alpha\alpha/\alpha^{-3.7}$ 。见表 1。*HBB* 基因中 SNP 位置 5192095-5248243 的 SNP 位点处于中国型 $\delta\beta$ 缺失所在区域,SNP 位置 5247992 的 SNP 位点为 CD41-42 突变位点所在区域。见表 2。*HBA* 基因中 SNP 位置

表1 国家参考品1号家系结果

Table 1 The result of national reference materials for family No.1

样本编号	家系关系	单体型 ^a	HBB 致病基因检测	单体型 ^b	HBA 致病基因检测
CNGB030012	女方	M1/M2	中国型 $\delta\beta/\beta^N$	M1/M2	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$
CNGB030011	男方	F1/F2	$\beta^{CD41-42}/\beta^N$	F1/F2	$\alpha^{-3.7}/\alpha\alpha$
CNGB030014	子代1	M1/F1	中国型 $\delta\beta/\beta^{CD41-42}$	M2/F2	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$
CNGB030013	胚胎	M1/F2	中国型 $\delta\beta/\beta^N$	M2/F1	$\alpha\alpha/\alpha^{-3.7}$

注:a表示HBB基因单体型;M1表示女方风险染色体,M2表示女方正常染色体;F1表示男方风险染色体,F2表示男方正常染色体。b表示HBA基因单体型;M1、M2表示女方正常染色体;F1表示男方风险染色体,F2表示男方正常染色体。

224619和224647的SNP位点处于 $\alpha^{-3.7}$ 缺失所在区域。见表3。

2.2 国家参考品2号家系

胚胎CNGB030017的 α 珠蛋白基因(α -globin genes, HBA)基因检测结果:单体型结果为M1/F2(即遗传CNGB030016女方风险染色体 $\alpha\alpha^{CS}$, CNGB030015男方正常染色体 $\alpha\alpha$);其致病基因检测结果为 $\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$ 。见表4。HBA基因中SNP位置221057-234632的SNP位点处于--^{SEA}缺失所在区域,SNP位置223597的SNP位点处于CS突变位点所在区域。见表5。

表2 HBB基因连锁分析结果

Table 2 The result of HBB gene linkage analysis

染色体编号	SNP 位置	1号家系 CNGB030012 女方基因型		1号家系 CNGB030011 男方基因型		1号家系 CNGB030014 子代1基因型		1号家系 CNGB030013 胚胎基因型	
		M1	M2	F1	F2	M1	F1	M1	F2
chr11	4992100		G	T	G	T	T	T	G
chr11	5026200	T	C	C	C	T	C	T	C
chr11	5117647	T	T	T	C	T	T	T	C
chr11	5192095		G	A	A		A		A
chr11	5194503		A	T	T		T		T
chr11	5194530		T	A	A		A		A
chr11	5211198		C	T	T		T		T
chr11	5211300		G	A	A		A		A
chr11	5214597		TTCATC	TTCATC	T		TTCATC		T
chr11	5214621		T	C	T		C		T
chr11	5214669		AA	TT	TT		TT		TT
chr11	5220001	缺失	T	T	C	缺失	T	缺失	C
chr11	5221645		C	C	G		C		G
chr11	5221825		G	G	A		G		A
chr11	5222379		G	G	A		G		A
chr11	5232573		A	A	G		A		G
chr11	5236851		C	C	T		C		T
chr11	5247791		C	C	G		C		G
chr11	5247992		CAAAG	C	CAAAG		C		CAAAG
chr11	5248243		A	A	G		A		G
chr11	5291414	C	T	T	T	C	T	C	T

注:M1显示女方来源中国型 $\delta\beta$ 缺失区域所在的染色单体,F1显示男方来源CD41-42突变位点所在的染色单体。

表3 HBA基因连锁分析结果

Table 3 The result of HBA gene linkage analysis

染色体编号	SNP 位置	1号家系 CNGB030012 女方基因型		1号家系 CNGB030011 男方基因型		1号家系 CNGB030014 子代1基因型		1号家系 CNGB030013 胚胎基因型	
		M1	M2	F1	F2	M2	F2	M2	F1
chr16	159741	G	G	C	G	G	G	G	C
chr16	221057	T	C	T	T	C	T	C	T
chr16	221126	C	T	C	C	T	C	T	C
chr16	224619	T	C	缺失	T	C	T	C	缺失
chr16	224647	G	A		G	A	G	A	
chr16	234632	G	C	G	G	C	G	C	G
chr16	234710	T	C	T	T	C	T	C	T
chr16	234791	C	CA	C	C	CA	C	CA	C

注:F1显示男方来源 $\alpha^{-3.7}$ 缺失区域所在的染色单体。

表4 国家参考品2号家系结果

Table 4 The result of national reference materials for family No.2

样本编号	家系关系	单体型	HBA 致病基因检测
CNGB030016	女方	M1/M2	$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$
CNGB030015	男方	F1/F2	$--^{SEA}/\alpha\alpha$
CNGB030018	子代1	M1/F1	$\alpha\alpha^{CS}/-^{SEA}$
CNGB030017	胚胎	M1/F2	$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$

注: M1 表示女方风险染色体, M2 表示女方正常染色体; F1 表示男方风险染色体, F2 表示男方正常染色体。

2.3 国家参考品3号家

胚胎 CNGB030021 的 *HBB* 基因检测结果: 单体型结果为 M2/F1 (即遗传 CNGB030020 女方正常染色体 β^N , CNGB030019 男方风险染色体中国型 $\delta\beta$); 其致病基因检测结果为 β^N /中国型 $\delta\beta$ 。见表6。*HBB* 基因中 SNP 位置 5214597-5249004 的 SNP 位点处于中国型 $\delta\beta$ 缺失所在区域, SNP 位置 5247992 的 SNP 位点处于 CD41-42 突变位点所在区域。见表7。

表5 *HBA* 基因连锁分析结果

Table 5 The result of *HBA* gene linkage analysis

染色体编号	SNP 位置	2号家系 CNGB030016 女方基因型		2号家系 CNGB030015 男方基因型		2号家系 CNGB030018 子代1基因型		2号家系 CNGB030017 胚胎基因型	
		M1	M2	F1	F2	M1	F1	M1	F2
chr16	198069	G	G	T	G	G	T	G	G
chr16	211167	G	G	A	G	G	A	G	G
chr16	221057	C	T		T	C		/	/
chr16	221126	T	C		C	T		/	/
chr16	223597	C	T		T	C		C	T
chr16	224619	C	T	缺失	T	C	缺失	C	T
chr16	234632	C	G		G	C		C	G
chr16	234710	C	T		T	C		C	T
chr16	234791	CA	C		C	CA		CA	C
chr16	235579	T	C	C	C	T	C	T	C
chr16	242770	G	A	A	A	G	A	G	A
chr16	259345	G	T	G	G	G	G	G	G
chr16	264642	T	C	T	T	T	T	T	T
chr16	277458	G	A	G	A	G	G	G	A

注: /代表 MISS 位点。M1 显示女方来源 CS 突变位点所在的染色单体, F1 显示男方来源 $-^{SEA}$ 缺失区域所在的染色单体。

表6 国家参考品3号家系结果

Table 6 The result of national reference materials for family No. 3

样本编号	家系关系	单体型	<i>HBB</i> 致病基因检测
CNGB030020	女方	M1/M2	$\beta^{CD41-42}/\beta^N$
CNGB030019	男方	F1/F2	中国型 $\delta\beta/\beta^N$
CNGB030328	子代1	M1/F1	$\beta^{CD41-42}$ /中国型 $\delta\beta$
CNGB030021	胚胎	M2/F1	β^N /中国型 $\delta\beta$

注: M1 表示女方风险染色体, M2 表示女方正常染色体; F1 表示男方风险染色体, F2 表示男方正常染色体。

2.4 国家参考品4号家系

胚胎 CNGB030010 的 *HBB* 基因检测结果: 单体型结果为 M2/F1 (即遗传 CNGB030008 男方风险染色体 $\beta^{IVS-II-654}$, CNGB030009 女方正常染色体 β^N); 其致病基因检测结果为 $\beta^N/\beta^{IVS-II-654}$ 。见表8。*HBB* 基因中 SNP 位置 5247153 的 SNP 位点处于 IVS-II-654 突变位点所在区域。见表9。

3 讨论

胚胎植入前单基因病遗传学检测是辅助生殖技术和分子生物学技术相结合而发展起来的一门新的诊断技术。该检测技术是通过囊胚滋养外胚层活检, 取出滋养层细胞 3~5 个, 进行单细胞全基因组扩增, 经过高通量测序及生物信息学分析后, 选择不带致病基因突变的囊胚植入子宫继续妊娠, 达到优生的目的。目前全基因组扩增 (whole genome amplification, WGA) 是通过非选择性地扩增活检的滋养外胚层细胞的整个基因组 DNA, 为后续分析提供足量的 DNA 模板, 包括简并寡核苷酸引物 PCR (Degenerate oligonucleotide primer PCR, DOP-PCR)、多重置换扩增 (multiple displacement amplification, MDA)、多次退火环状循环扩增 (multiple annealing and looping-based amplification cycles, MALBAC) 等^[10-11]。全基因组 DNA 扩

表7 HBB 基因连锁分析结果

Table 7 The result of HBB gene linkage analysis

染色体 编号	SNP 位置	3号家系 CNGB030020 女方基因型		3号家系 CNGB030019 男方基因型		3号家系 CNGB030328 子代1基因型		3号家系 CNGB030021 胚胎基因型	
		M1	M2	F1	F2	M1	F1	M2	F1
		chr11	5039076	T	T	T	TGA	T	T
chr11	5046138	A	A	A	G	A	A	/	/
chr11	5051729	T	T	T	C	T	T	/	/
chr11	5214597	TTCATC	T		T	TTCATC		T	
chr11	5214621	C	T		T	C		T	
chr11	5220001	T	C		T	T		C	
chr11	5221825	G	A		G	G		A	
chr11	5222379	G	A		G	G		A	
chr11	5232573	A	G	缺失	A	A	缺失	G	缺失
chr11	5236851	C	T		C	C		T	
chr11	5247791	C	G		C	C		G	
chr11	5247992	C	CAAAG		CAAAG	C			
chr11	5248243	A	G		A	A		G	
chr11	5249004	A	G		A	A		G	
chr11	5294145	A	C	A	A	A	A	C	A
chr11	5308728	T	C	T	T	T	T	C	T

注：/代表MISS位点；M1显示女方来源CD41-42突变位点所在的染色单体，F1显示男方来源中国型δβ缺失区域所在的染色单体。

表8 国家参考品4号家系结果

Table 8 The result of national reference materials for family

No.4			
样本编号	家系关系	单体型	HBB 致病基因检测
CNGB030009	女方	M1/M2	$\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$
CNGB030008	男方	F1/F2	$\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$
CNGB030006	男方父亲	F1/	$\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$
CNGB030007	男方母亲	F2/	β^N/β^N
CNGB030031	女方父亲	M2/	β^N/β^N
CNGB030032	女方母亲	M1/	$\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$
CNGB030004	子代1	M1/F1	$\beta^{IVS-II-654}/\beta^{IVS-II-654}$
CNGB030010	胚胎	M2/F1	$\beta^N/\beta^{IVS-II-654}$

注：M1表示女方风险染色体，M2表示女方正常染色体；F1表示男方风险染色体，F2表示男方正常染色体。

增均匀性不够，将降低覆盖率和分辨率，并增加等位基因脱扣的几率；扩增精确性不够，则将导致大量假阳性结果^[12]，可通过单体型连锁分析技术可

有效提高检测准确性。

胚胎植入前地中海贫血检测若直接对胚胎地贫致病位点进行检测具有一定的局限性，只针对部分已知的位点进行检测，无法覆盖所有地贫的类型。同时在单细胞扩增过程中易发生目标区域丢失或者等位基因脱扣的情况，导致检测失败或造成假阳性、假阴性结果。胚胎植入前地中海贫血检测试剂盒(半导体测序法)是对α-地中海贫血相关基因HBA1、HBA2和β-地中海贫血相关基因HBB及其上下游连锁的SNP位点进行检测。根据先证者子代1的两条链分别来自父亲和母亲各一条链，构建出单体型，然后根据胚胎的有效SNP位点信息，判断胚胎的基因型。胚胎中至少存在一个有效位点为杂合的基因型，才能构建出单体型。为了避免由于DNA重组导致假阳性或者假

表9 HBB 基因连锁分析结果

Table 9 The result of HBB gene linkage analysis

染色体 编号	SNP 位置	4号家系 CNGB030032 女方母亲 基因型		4号家系 CNGB030031 女方父亲 基因型		4号家系 CNGB030009 女方基因型		4号家系 CNGB030007 男方母亲 基因型		4号家系 CNGB030006 男方父亲 基因型		4号家系 CNGB030008 男方基因型		4号家系 CNGB030004 子代1基因型		4号家系 CNGB030010 胚胎基因型	
		M1	/	M2	/	M1	M2	F2	/	F1	/	F1	F2	M1	F1	M2	F1
		chr11	5222379	A	G	G	G	G	G	A	G	A	G	A	A	G	A
chr11	5222399	A	G	G	G	A	G	G	G	A	G	A	G	A	A	G	A
chr11	5246203	C	A	A	A	C	A	A	A	C	A	C	A	C	C	A	C
chr11	5247153	T	C	C	C	T	C	C	C	T	C	T	C	T	T	C	T
chr11	5247733	C	A	A	A	C	A	A	A	C	A	C	A	C	C	A	C
chr11	5247791	G	C	C	C	G	C	G	C	G	C	G	G	G	G	C	G

注：M1显示女方来源IVS-II-654突变位点所在的染色单体，F1显示男方来源IVS-II-654突变位点所在的染色单体。

阴性,设计试剂盒时需要包含尽可能多的高频突变的 SNP 位点,从而在样本中检出尽可能多的有效位点。

中国食品药品检定研究院建立胚胎植入前地中海贫血诊断国家参考品,用于胚胎植入前的胚胎 *HBA* 和 *HBB* 基因突变检测试剂盒的性能评价,适用方法学有高通量测序法、gap-PCR 法、一代测序法和芯片法。本研究结果显示国家参考品 4 个家系样本的检测结果均与标示结果一致,未出现漏检、假阳性或假阴性结果。评价的试剂盒能够准确检测出国家参考品的相应基因型别。研究表明研制的国家参考品能够满足胚胎植入前地中海贫血检测试剂盒质量评价的要求。

参考文献

- [1] Taher AT, Weatherall DJ, Cappellini MD. Thalassaemia[J]. Lancet, 2018, 391(10116):155-167.
- [2] Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2018, 32(2):193-211.
- [3] 李太暘,李蓉,王海燕. 胚胎植入前基因检测技术在体外受精-胚胎移植中的应用现状[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020, 40(11):952-957.
- [4] 何文茵,夏勇. 基于单细胞的分子技术在胚胎植入前遗传学检测中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(4):270-274.
- [5] 任一昕,乔杰,闫丽盈. 单基因遗传病的胚胎植入前遗传学诊断方法研究进展[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(3):443-447.
- [6] 何天文,卢建,陈创奇,等. 采用二代测序对 α/β 复合型地中海贫血夫妇进行胚胎植入前遗传学诊断[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(4):1275-1279.
- [7] 谢美娟,邓权衡,邓红辉,等. 应用下一代测序技术对 α 地中海贫血进行胚胎植入前遗传学检测[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016, 8(6):367-374.
- [8] 阳彦,刘艳秋,马鹏鹏,等. 基于二代测序的植入前遗传学检测在 71 例染色体易位家系中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(5):563-566.
- [9] 《胚胎植入前遗传学诊断/筛查专家共识》编写组. 胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(2):151-155.
- [10] Dean FB, Hosono S, Fang LH, et al. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(8):5261-5266.
- [11] Zong C, Lu S, Chapman AR, et al. Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell[J]. Science, 2012, 338(6114):1622-1626.
- [12] 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.
- [10] Qian ZD, Weng Y, Wang CF, et al. Research on the expression of integrin beta3 and leukaemia inhibitory factor in the decidua of women with cesarean scar pregnancy[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2017, 17(1):84.
- [11] Wang H, Fu J, Wang A. Leptin Upregulates the Expression of beta3-Integrin, MMP9, HB-EGF, and IL-1beta in Primary Porcine Endometrium Epithelial Cells In Vitro[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(18):6508.
- [12] Dorostghoal M, Ghaffari HO, Shahbazian N, et al. Endometrial expression of beta3 integrin, calcitonin and plexin-B1 in the window of implantation in women with unexplained infertility[J]. Int J Reprod Biomed, 2017, 15(1):33-40.
- [13] Cambra JM, Jauregi-Miguel A, Alvarez-Rodriguez M, et al. Allogeneic Embryos Disregulate Leukemia Inhibitory Factor (LIF) and Its Receptor in the Porcine Endometrium During Implantation[J]. Front Vet Sci, 2020, 24(7):611598.
- [14] Zarei R, Aboutorabi R, Rashidi B, et al. Evaluation of vascular endothelial growth factor A and leukemia inhibitory factor expressions at the time of implantation in diabetic rats following treatment with Metformin and Pioglitazone[J]. Int J Reprod Biomed, 2020, 18(9):713-722.
- [15] Giampaolino P, Foreste V, Di Filippo C, et al. Microbiome and PCOS: State-of-Art and Future Aspects[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4):2048.
- [16] Šimková M, Vítků J, Kolátorová L, et al. Endocrine disruptors, obesity, and cytokines-how relevant are they to PCOS? [J]. Physiol Res, 2020, 69(Suppl 2):S279-S293.
- [17] 张静,刘文涛,连玉兴. PCOS 患者子宫内膜厚度与血清 AMH、糖脂代谢的相关性研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1):17-20.

(上接第 372 页)

· 论 著 ·

老年股骨颈骨折术后经壮骨活血汤治疗后的BGP、BALP及DD水平变化

李煜¹ 唐洪涛^{2*} 高辉¹

[摘要] 目的 分析老年股骨颈骨折术后经壮骨活血汤治疗后的血骨钙素(BGP)、骨碱性磷酸酶(BALP)、D二聚体(DD)水平变化情况。方法 收集2018年11月至2020年12月开封市第二中医院收治的134例老年股骨颈骨折患者的临床资料,按不同治疗方法分为对照组($n=65$,人工全髋关节置换术+常规治疗)与研究组($n=69$,人工全髋关节置换术+常规治疗+壮骨活血汤)。比较两组髋关节功能、日常生活能力(ADL)、骨密度、骨代谢指标[BGP、骨形态发生蛋白2(BMP2)、BALP]、炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF α)、白介素6(IL6)]、DD及并发症情况。结果 治疗后,两组Harris评分、ADL评分、骨密度及BGP、BMP2水平均较治疗前增高,且研究组明显高于对照组,两组BALP、TNF α 、IL6及DD水平较治疗前明显下降,且研究组明显低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组并发症总发生率为7.25%,明显低于对照组的20.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 人工全髋关节置换术配合壮骨活血汤治疗老年股骨颈骨折可改善患者髋关节功能,调节骨代谢指标水平,促进骨折部位修复。

[关键词] 人工全髋关节置换术; 壮骨活血汤; 股骨颈骨折; 骨代谢指标; D二聚体

Changes of BGP, BALP and DD levels after treatment with Zhuanggu Huoxue Decoction in elderly patients with postoperative femoral neck fracture

LI Yu¹, TANG Hongtao^{2*}, GAO Hui¹

[1. Kaifeng Second Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kaifeng, Henan, China, 475004; 2. Luoyang Orthopedic Hospital of Henan Province (Orthopedic Hospital of Henan Province), Zhengzhou, Henan, China, 471002]

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of BGP, BALP and DD levels after treatment with Zhuanggu Huoxue Decoction with femoral neck fracture in elderly patients. **Methods** The clinical data of 134 elderly patients with femoral neck fractures admitted to Kaifeng Second Middle School Hospital from November 2018 to December 2020 were collected. According to different treatment methods, they were divided into a control group ($n=65$, artificial total hip replacement + conventional treatment) and a study group ($n=69$, artificial total hip replacement + conventional treatment + Zhuanggu Huoxue Decoction). Hip joint function, daily living ability (ADL), bone density, bone metabolism indexes [Blood osteocalcin (BGP), Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), bone alkalinity Phosphatase (BALP)], inflammatory factors [Tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6)], D-dimer (DD) and complications between the two groups were compared. **Results** After treatment, the Harris score, ADL score, bone mineral density, BGP, BMP-2, levels in the two groups were increased compared with those before treatment, and the study group was significantly higher than

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(2016ZY2078)

作者单位:1. 开封市第二中医院,河南,开封 475004

2. 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院),河南,郑州 471002

*通信作者:唐洪涛, E-mail:li_y1972@163.com

the control group, the levels of BALP, TNF- α , IL-6 and DD in the two groups decreased significantly than before treatment, and the study group was significantly lower than the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The total incidence of complications in the study group was 7.25%, which was significantly lower than 20.00% in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Total hip replacement combined with Zhuanggu Huoxue Decoction in the treatment of elderly femoral neck fractures can improve the hip joint function, adjust the level of bone metabolism, and promote the repair of fractures.

[KEY WORDS] Total hip replacement; Zhuanggu Huoxue Decoction; Femoral neck fracture; Bone metabolism index; D-dimer

股骨颈骨折是临床骨科常见的疾病之一,骨折线大多位于关节内。老年人由于骨质疏松易导致股骨颈脆弱、髋周肌肉群退变等,成为股骨颈骨折的高危人群^[1]。随着人口老龄化加剧,我国老年股骨颈骨折发生率亦呈逐渐上升趋势。内固定术、人工全髋关节置换术等是临床上治疗该类骨折的常用手段。但因股骨头解剖学复杂,加之老年人因年龄原因,身体抵抗力、免疫功能逐渐下降,骨折术后易发生股骨头缺血坏死、愈合延迟等并发症发生^[2]。因此,术后给予有效的功能锻炼与促进骨折愈合十分重要。既往研究证实,中药在治疗老年股骨颈骨折中效果显著,且具有一定安全性^[3]。壮骨活血汤是临床治疗骨折常用的中药内服方剂,具有活血接骨、行气止痛等功效。本研究对老年股骨颈骨折采用人工全髋关节置换术配合壮骨活血汤治疗,获得了满意疗效,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年11月至2020年12月开封市第二中医院收治的134例老年股骨颈骨折患者的临床资料。纳入标准:①均符合股骨颈骨折诊断标准^[4];②近3个月内无激素使用史;③明确外伤史,新鲜骨折。排除标准:①临床资料缺乏;②伴神经、血管损伤、骨关节炎者;合并其他部位骨折。按不同治疗方法分为对照组($n=65$,人工全髋关节

置换术+常规治疗)与研究组($n=69$,人工全髋关节置换术+常规治疗+壮骨活血汤)。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者家属已签署知情同意书。

1.2 方法

两组均在全麻下行人工全髋关节置换术,髋关节后外侧入路。切口皮肤,逐层分离肌肉纤维,测定暴露后侧关节囊,采用T型切口切开关节囊,并充分暴露髋部,按测量标准,截断股骨颈,取出股骨头^[5]。充分暴露好髋臼和股骨近端,扩大髓腔,将选择好的颈长合适的股骨头,复位后髋关节,当关节活动、稳定性及下肢的长度满意后安装同型号的髋臼内衬和股骨假体,然后进行髋关节复位,放置引流管,逐层缝合切口。

对照组于术后连续应用抗生素2~3 d,术后7 d内进行非负重功能锻炼;术后6周根据骨折愈合情况,进行负重锻炼。

研究组在对照组基础上加用壮骨活血汤治疗,于术后1 d开始服用。组方包括:骨碎补15 g,杜仲、黄芪、淫羊藿、独活、山茱萸、枸杞、牛膝、血竭、当归、没药、元胡、土鳖虫、白芍各10 g,炙甘草6 g。将上述药物加水浸泡半小时,温水煎熬,取汁,1 d/剂,200 mL/剂,分早晚2次温服。1个月为1疗程,连续治疗6个疗程。药方均由本院同一药师配置。

表1 两组资料比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

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

组别	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	疾病史		骨折 Carden 分型			
				高血压	糖尿病	I型	II型	III型	IV型
研究组	69	24/45	62.15 \pm 6.19	20(28.99)	24(34.78)	19(27.54)	11(15.94)	23(33.33)	16(23.19)
对照组	65	22/43	61.85 \pm 5.78	21(32.31)	23(35.38)	18(27.69)	12(18.46)	21(32.31)	14(21.54)
t/ χ^2 值	-	0.013	0.290	0.174	0.005			0.176	
P值	-	0.909	0.773	0.677	0.942			0.981	

1.3 观察指标

1.3.1 髋关节功能

随访6个月,采用Harris评分^[6]评估。该评分共包括髋关节疼痛、功能及活动范围,总分100分,分数越高,患者髋关节功能越好。

1.3.2 日常生活能力

术后6个月,采用电话随访的方式对两组日常生活能力进行评估。采用日常生活能力(Ability of daily living, ADL)量表^[7]评估,满分100分,患者日常生活能力越差,分数越低。

1.3.3 骨密度

采用双光能X线检测两组患者治疗前后骨密度情况,并进行比较。

1.3.4 骨代谢指标

于治疗前1d、治疗后6个月,清晨空腹采集患者5 mL外周静脉血,高速离心,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血骨钙素(Blood osteocalcin, BGP)、骨形态发生蛋白2(Bone morphogenetic protein2, BMP2)、骨碱性磷酸酶(Bone alkaline phosphatase, BALP)。

1.3.5 炎症因子、D二聚体(Ddimer, DD)

于治疗前1d、治疗后6个月,清晨空腹采集患者5 mL外周静脉血,高速离心,采用酶联免疫吸附法检测肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF α)、白介素6(Interleukin6, IL6),采用免疫比浊法检测DD。以上指标检测均由一名检验科人员完成。

1.3.6 并发症

比较两组关节脱位、感染、下肢静脉血栓、褥疮等发生情况。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组Harris评分、ADL评分及骨密度比较

治疗后,两组Harris评分、ADL评分及骨密度均较治疗前增高,且研究组上述指标明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 两组骨代谢指标水平比较

治疗后,两组BGP、BMP2水平较治疗前均明显增高,且研究组明显高于对照组,两组BALP水平较治疗前明显下降,且研究组明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.3 两组炎症因子、DD水平比较

治疗后,两组TNF α 、IL6及DD水平较治疗前明显降低,且研究组明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组并发症比较

研究组并发症发生率明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表2 两组Harris评分、ADL评分及骨密度比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	Harris评分(分)		ADL评分(分)		骨密度(g/cm ²)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	69	25.36 \pm 5.14	91.45 \pm 7.25 ^a	20.67 \pm 2.57	59.56 \pm 5.24 ^a	0.61 \pm 0.05	0.86 \pm 0.11 ^a
对照组	65	24.77 \pm 4.98	81.13 \pm 6.23 ^a	21.13 \pm 2.19	40.67 \pm 3.16 ^a	0.62 \pm 0.06	0.72 \pm 0.09 ^a
t值		0.674	8.813	1.112	25.081	1.050	8.035
P值		0.501	<0.001	0.268	<0.001	0.295	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组骨代谢指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of bone metabolism index levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BGP(pg/mL)		BMP-2(ng/L)		BALP(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	69	7.38 \pm 1.24	13.24 \pm 2.28 ^a	52.05 \pm 4.67	71.36 \pm 7.39 ^a	69.51 \pm 3.15	48.61 \pm 2.88 ^a
对照组	65	7.35 \pm 1.58	9.82 \pm 1.63 ^a	51.63 \pm 6.89	63.58 \pm 6.04 ^a	68.75 \pm 3.29	57.24 \pm 2.38 ^a
t值		0.123	9.935	0.415	6.649	1.366	18.845
P值		0.903	<0.001	0.679	<0.001	0.174	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组炎症因子、DD水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of inflammatory factors and DD levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (pg/mL)		IL-6(pg/mL)		DD(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	69	61.16 \pm 9.12	25.98 \pm 2.65*	23.41 \pm 3.19	7.36 \pm 1.59*	427.61 \pm 50.19	224.03 \pm 22.41*
对照组	65	61.11 \pm 9.39	38.11 \pm 2.35*	24.25 \pm 4.05	13.84 \pm 2.62*	429.65 \pm 52.83	316.95 \pm 34.37*
t值		0.031	10.306	1.338	17.422	0.229	18.643
P值		0.975	<0.001	0.183	<0.001	0.819	<0.001

注:与同组治疗前比较,* P <0.05。

表5 两组并发症发生率比较 [n (%)]Table 5 Comparison of the incidence of complications between the two groups [n (%)]

组别	n	感染	关节脱位	下肢静脉血栓	褥疮	合计
研究组	69	2(2.90)	1(1.45)	0(0.00)	2(2.90)	5(7.25)
对照组	65	5(7.69)	2(3.08)	1(1.54)	5(7.69)	13(20.00)
χ^2 值						4.682
P值						0.030

3 讨论

随着年龄的增长,老年人身体各项机能均减退,骨量流失严重,受到外力作用影响时易发生骨折,尤其是股骨颈骨折的发生率尤为高。既往文献显示,约80%左右股骨颈骨折患者存在骨质疏松,经人工髋关节置换术治疗后,可有效改善患者关节功能,具有良好效果^[8]。但因股骨头解剖学结构、供血特点,患者骨折后易出现缺血坏死、延迟愈合等情况。术后如何有效改善血供、促进愈合等是目前临床面临重大难题之一。

中医认为老年人股骨颈骨折应归为“骨痿”、“骨蚀”等范畴,发生骨折时,除局部骨断、筋伤外,气血的运行亦会受到影响,主要表现为气滞血瘀^[9]。瘀阻于脉络,不通则痛。因此,对股骨颈骨折围手术期患者辩证施用“壮骨活血汤”,一方面兼顾气滞血瘀之标,另一方面兼顾补肾强骨之本^[10]。壮骨活血汤主要在于滋补肝肾,续筋接骨,活血化瘀。既往研究亦指出,壮骨活血汤可促进蛋白质代谢与合成,促进骨髓细胞增生、骨钙离子释放^[11]。本研中,壮骨活血汤较常规治疗法更能改善患者髋关节功能、生活质量,疗效更佳,且可有效降低并发症发生。

老年股骨颈骨折患者多伴有骨质疏松,而骨代谢失衡是诱发骨质疏松的关键。临床常见的骨代谢指标包括BGP、BMP2、BALP。其中BMP2可诱导骨髓基质细胞与间充质细胞,使骨膜细胞增

殖、分化成软骨细胞及成骨细胞,最终形成新骨。BGP、BALP均是由成骨细胞分泌合成的因子。BGP可特异性反映机体成骨细胞功能、骨质更新及形成水平。BALP可提高局部磷酸含量,在反映骨代谢状况中敏感性更高。关业宁等^[12]报道认为骨代谢决定了骨折的修复进程,而壮骨活血汤可增强成骨细胞活性,改善患者骨代谢指标水平,促进骨折部位修复及治疗骨质疏松。本研究发现,两组治疗后骨代谢指标明显改善,且以研究组改善更为显著,与上述报道相符。分析其原因可能是由于壮骨活血汤组方中杜仲、淫羊藿、骨碎补等中药可强筋骨、活血通经,可能通过刺激成骨细胞引发骨组织反应,进而改善骨吸收功能。

现代医学研究发现,创伤及手术会导致神经系统产生应激反应,反射性地诱发TNF α 、IL6等炎症因子及DD水平增高^[13]。本研究结果发现,壮骨活血汤可通过调节神经内分泌系统,加速TNF α 、IL6等炎症因子释放,降低DD水平,进而加速患者康复进程、减少并发症发生。其机制虽尚未十分明确,但现代药理学研究证实,杜仲对中枢神经系统、循环系统起不同程度的调节作用,当归、白芍等可活血补血,调节机体免疫力^[14]。

综上所述,人工全髋关节置换术配合壮骨活血汤治疗老年股骨颈骨折可改善患者髋关节功能,调节骨代谢指标水平,促进骨折部位修复。

参考文献

- [1] 张维贞,向丽,黄山. 分子诊断技术在心房颤动临床诊疗中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(4): 283-288.
- [2] 郑辉,陈新文,王成伟,等. 不同手术方式对老年骨质疏松性股骨颈骨折病人骨密度及骨代谢的影响[J]. 临床外科杂志, 2019, 27(4): 335-337.
- [3] 李海波,许圣茜,汤雪霞,等. 术前牵引对股骨颈骨折术后发生股骨头缺血性坏死的影响研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2019, 33(6): 671-675.

(下转第387页)

糖尿病肾病患者血清PTH与血管钙化的相关性分析

张燕* 黄争艳 李自光

[摘要] **目的** 探讨糖尿病肾病(DN)患者血清甲状旁腺激素(PTH)水平与血管钙化(VC)的相关性。**方法** 选取2018年6月至2021年6月在安徽合肥市第二人民医院检查的门诊或住院的110例DN患者作为病例组,根据DN患者的肾功能、24小时尿微量白蛋白定量分期分为A组(I/II期, $n=30$)、B组(III期, $n=31$)、C组(IV期, $n=25$)、D组(V期, $n=20$)组,根据颈部超声结果将DN患者分为血管钙化组(VC组, 46例)和血管非钙化组(NVC组, 64例),另选取同期住院非肾病者40例作为对照组。采用化学发光法检测血清PTH水平,采用彩色多普勒B超检测颈部血管钙化情况。绘制ROC曲线确定PTH对DN患者出现VC的预测价值,多因素logistics回归分析探讨糖尿病肾病患者血管钙化相关因素。**结果** 不同组血清PTH水平比较:D组>C组>B组>A组>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同组血管钙化率比较:D组>C组>B组/A组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而A组和B组间差异无统计学意义($P>0.05$)。VC组PTH、钙磷乘积、CRP浓度均明显高于NVC组($P<0.05$)。PTH与 Ca^{2+} 、 P^{3-} 、CRP成正相关($r=0.613, 0.751, P<0.05$)。血清PTH、CRP、 Ca^{2+} 、 P^{3-} 在预测发生VC的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.811、0.746、0.725。在106.51 pg/mL的临界值下,PTH预测的灵敏度为85.1%,特异度为80.4%;在6.68 mg/L的临界值下,CRP预测的灵敏度为80.5%,特异度为76.2%;在50.62 mg²/dl²的临界值下, Ca^{2+} 、 P^{3-} 预测的灵敏度为78.3%,特异度为75.7%。多因素Logistic回归分析结果显示:高水平PTH、高CRP、高 Ca^{2+} 、 P^{3-} 是DN患者发生血管钙化独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 血清PTH对DN患者血管钙化具有一定的预测价值,有望作为DN患者血管钙化早期诊断生物标志物。

[关键词] 糖尿病肾病;血清PTH;血管钙化;相关性

Correlation analysis between serum PTH and vascular calcification in patients with diabetic nephropathy

ZHANG Yan*, HUANG Zhengyan, LI Ziguang

(Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between serum parathyroid hormone (PTH) level and vascular calcification (VC) in patients with diabetic nephropathy (DN). **Methods** 110 DN patients admitted to the Second People's Hospital of Hefei from June 2018 to June 2021 were selected as the case group. According to the stage of DN symptoms, they were divided into group A (stage I/II, $n=30$), group B (stage III, $n=31$), group C (stage IV, $n=25$) and group D (stage V, $n=20$). According to the results of cervical ultrasound, DN patients were divided into vascular calcification group (VC group, 46 cases) and vascular non-calcification group (NVC group, 64 cases), and during the same period 40 cases served as a control group. ELISA method was used to detect serum PTH level, and color Doppler ultrasound was used to detect cervical vascular calcification. The ROC curve was drawn to determine the predictive value of PTH for VC in DN patients, and multivariate logistic regression analysis was used to explore the related factors of vascular calcification in patients with diabetic nephropathy. **Results** The differences in serum PTH levels in different groups were statistically significant (group D > group C > group B > group A > control group) ($P<0.05$). There

基金项目:安徽省公益性研究联动计划项目(15011d04060)

作者单位:安徽合肥市第二人民医院检验科,安徽,合肥 230000

*通信作者:张燕, E-mail:zhangyan626318@163.com

was a statistically significant difference in the rate of vascular calcification in different groups (group D > group C > group B/group A > control group) ($P < 0.05$), but there was no significant difference between group A and group B ($P > 0.05$). The concentrations of PTH, calcium-phosphorus product and CRP in the VC group were significantly higher than those in the NVC group ($P < 0.05$). PTH was positively correlated with $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{P}^{3-}$, CRP ($r = 0.613, 0.751, P < 0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of serum PTH, CRP, and $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{P}^{3-}$ predicting the occurrence of VC were 0.811, 0.746, 0.725. Under the cut-off value of 106.51 pg/mL, the sensitivity of PTH prediction was 85.1% and the specificity was 80.4%; under the cut-off value of 6.68 mg/L, the sensitivity of CRP prediction was 80.5% and the specificity was 76.2%. At the critical value of 50.62 mg^2/dl^2 , the sensitivity of $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{P}^{3-}$ prediction was 78.3%, and the specificity was 75.7%. The results of multivariate logistic regression analysis showed that high levels of PTH, high CRP, and high $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{P}^{3-}$ were independent risk factors for vascular calcification in patients with DN ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum PTH has a certain predictive value for vascular calcification in DN patients, and is expected to be used as a biomarker for early diagnosis of vascular calcification in DN patients.

[KEY WORDS] DN; PTH; VC

糖尿病发病率居高不下,我国糖尿病发病人数在全球占比最高,是一种常见的慢性病,其不良并发症对人体危害极大,心血管并发症是糖尿病致死的最常见因素^[1-2]。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见的微血管并发症,主要表现为持续性蛋白尿及Ca、P代谢失衡,严重的可导致肾功能衰竭直至死亡^[3]。DN患者心血管并发症主要表现为血管钙化(vascular calcification, VC),据报道^[4],DN患者VC的发生率及重症率高于其他糖尿病患者。研究表明^[5],高血糖可以刺激甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)的分泌,后者升高又会激活破骨细胞,并使骨吸收功能增强,导致骨代谢异常。研究证实^[6],VC是一个有机的、在严密调控机制作用下进行的主动过程,其与骨的发生过程类似,PTH和蛋白可能参与了这一过程。PTH在高血压病致左室肥厚、心脏瓣膜钙化等方面起重要作用,其是体内调节钙磷代谢的重要激素^[7]。现有研究显示^[8],只有极少数的研究关注PTH与冠状动脉钙化的关系,但彼此的关联性因素尚不明确。本研究拟探讨DN患者血清PTH水平与VC的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年6月至2021年6月在合肥市第二人民医院住院治疗的110例DN患者作为病例组,其中男63例,女47例,平均年龄(55.7 ± 7.2)岁。收集患者的一般资料,包括年龄、性别、体重、病程等。另随机选取同期收住本院的非肾病糖尿病患者40例作为对照组,男22例、女18例,年龄($54.3 \pm$

6.5)岁。所有研究对象或家属对本研究知情并签署知情同意书。

纳入标准:①诊断符合世界卫生组织(World Health Organization, WHO)糖尿病诊断和分型标准^[9];②年龄35~77岁。排除标准:①急性血管炎、恶性肿瘤、风湿免疫性疾病、感染性疾病、甲亢者;②妊娠、哺乳期女性;③糖尿病乳酸酸中毒、酮症酸中毒等急性并发症者;④年龄<35岁,或>77岁;⑤尿路感染引起尿白蛋白阳性和肾脏实质性病变者;本研究获得本院医学伦理学委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 研究分组

参照糖尿病肾病的摩根森氏(Mogenson)分期标准^[10],并根据肾功能、24小时尿微量白蛋白定量及眼底检查结果,将病例组分为A组30例,均为DN I期和II期患者;B组31例,均为DN III期患者;C组25例,均为DN IV期患者;D组24例,均为DN V期患者。四组性别、年龄、体重指数比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2.2 标本采集

患者空腹12 h,1 d内不剧烈运动,不饮酒。用真空采血管(无添加剂)抽取静脉血3 mL和用EDTA抗凝管抽取静脉血2 mL。

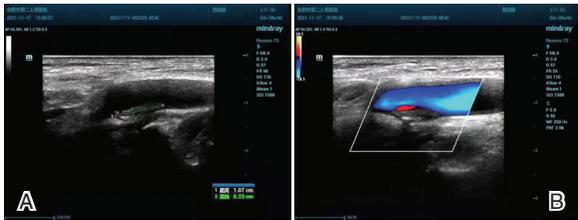
1.2.3 指标检测

应用上海精宏实验设备有限公司生产的HH.W21.600S恒温水浴箱,采用百欧TDL-400C离心机(以3 500 r/min离心15 min左右,半径7 cm)将血清分离出来,2 h内检测。采用AU5800型全自动生化分析仪检测常规项目包括肾功能、C反应蛋白(CRP)、血钙(Ca^{2+})、血磷(P^{3-})等;采用

DxI800Access型全自动微粒子化学发光仪,贝克曼库尔特(美国)股份有限公司生产的PTH试剂盒,化学发光法对血清PTH水平进行测定。

1.2.4 血管钙化检查

用彩色多普勒超声系统(武汉迈瑞医疗技术有限公司,型号Resona 7S)检查,患者取平卧头仰位,分别依次检查两侧颈总动脉(Common Carotid Artery, CCA)主干、分叉部及颈内动脉(Internal Carotid Artery, ICA)起始部,测量内膜面到中膜与外膜交界面之间的垂直距离即为内膜-中层厚度(Intima-media Thickness, IMT),并探查是否有较强回声或伴有声影的斑块。见图1。



注:A颈总动脉斑块;B为颈总动脉斑块CDFI图像示血流充盈缺损。

图1 彩色多普勒超声系统检测糖尿病肾病颈动脉斑块图

Figure 1 Carotid plaque of diabetic nephropathy detected by color Doppler ultrasound system

颈总动脉斑块阳性的定义^[4]:位于血管内膜中层厚度超过1mm且与邻近血管壁对比增厚至少100%。根据血管钙化判定标准分组^[4]:血管钙化组(VC组,46例),血管非钙化组(NVC组,64例)。

1.3 统计方法

采用SPSS 22.0统计软件,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,两组间比较用t检验,多组间比较用方差分析;计数资料用n(%)描述,行 χ^2 检验。相关分析采用Pearson积差相关分析,采用多因素Logistic回归分析探讨DN患者出现VC的相关因素,ROC曲线分析PTH对DN患者VC的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清PTH水平比较

各组血清PTH水平比较:D组>C组>B组>A组>对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 各组患者血管钙化情况分布

各组血管钙化率比较:D组>C组>B组/A组>对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 各组血清PTH水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum PTH levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PTH(pg/mL)	F值	P值
对照组	40	47.6 ± 8.5		
A组	30	86.1 ± 10.8 ^a	198.285	0.000
B组	31	105.3 ± 16.6 ^{ab}		
C组	25	134.2 ± 21.3 ^{abc}		
D组	24	163.2 ± 28.6 ^{abcd}		

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与A组比较,^b $P < 0.05$;与B组比较,^c $P < 0.05$;与C组比较,^d $P < 0.05$ 。

表2 各组血管钙化情况分布比较[n(%)]

Table 2 Comparison of the distribution of vascular calcification in each group [n(%)]

组别	n	血管钙化(n)	钙化率(%)	χ^2 值	P值
对照组	40	1	2.50	48.426	0.000
A组	30	7	23.33 ^a		
B组	31	8	25.81 ^a		
C组	25	12	48.00 ^{abc}		
D组	24	16	66.67 ^{abcd}		

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与A组比较,^b $P < 0.05$;与B组比,^c $P < 0.05$;与C组比较,^d $P < 0.05$ 。

2.3 VC组与NVC组临床指标比较

VC组PTH、钙磷乘积、CRP浓度均明显高于NVC组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 VC组与NVC组临床指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of clinical indicators between VC group and NVC group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PTH(pg/mL)	Ca ²⁺ ·P ³⁻ (mg ² /dl ²)	CRP(mg/L)
NVC组	64	86.5 ± 9.3	40.3 ± 6.1	20.2 ± 3.3
VC组	46	122.2 ± 10.7	56.2 ± 6.3	33.1 ± 8.4
t值		13.419	13.301	11.161
P值		0.000	0.000	0.000

2.4 PTH与各临床指标的相关性

Pearson相关分析结果:PTH与Ca²⁺、P³⁻、CRP呈正相关($r = 0.613, 0.751, P < 0.05$)。PTH与血管钙化发生率也呈正相关关系($r = 0.722, P < 0.05$)。

2.5 血清PTH水平对DN患者VC预测价值

血清PTH、CRP、Ca²⁺·P³⁻在预测发生VC的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.811、0.746、0.725。见表4、图1。

表4 血清PTH水平对DN患者VC预测价值

Table 4 Predictive value of serum PTH level for VC in DN patients

指标	AUC	95%CI	截断值	灵敏度	特异度
PTH	0.811	0.735-0.894	106.51	0.851	0.804
CRP	0.746	0.672-0.812	6.68	0.805	0.762
Ca ²⁺ ·P ³⁻	0.725	0.662-0.788	50.62	0.783	0.757

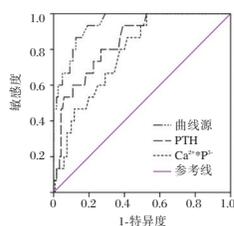


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

2.6 DN患者出现VC多因素 Logistic 回归分析

以患者是否出现VC为因变量(1=是,0=否),以PTH、CRP、 $\text{Ca}^{2+}\cdot\text{P}^{3-}$ 为自变量,多因素 Logistic 回归分析结果显示:高水平PTH、高CRP、高 $\text{Ca}^{2+}\cdot\text{P}^{3-}$ 是DN患者发生血管钙化独立危险因素($P < 0.05$)。见表5。

表5 DN患者出现VC的多因素 Logistic 回归分析

Table 5 Multivariate Logistic regression analysis of VC in

DN patients

自变量	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
PTH	1.411	0.235	13.326	4.110	2.586~6.498	0.001
CRP	0.665	0.113	7.256	1.944	1.558~2.426	0.012
$\text{Ca}^{2+}\cdot\text{P}^{3-}$	0.317	0.083	4.425	1.373	1.166~1.615	0.037

3 讨论

DN患者终末期主要并发症会出现VC,后者也是致DN患者死亡的主要危险因素。PTH在血管钙化的发展过程发挥着一定作用,其是体内钙磷代谢影响因素之一,在心脏瓣膜钙化等其他方面也起重要作用。研究显示^[11],原发性甲旁亢患者主动脉瓣及二尖瓣钙化率明显高于对照组,但PTH作为VC抑制剂或诱导剂的作用尚不清楚。研究表明^[12],VC的形成机制可能是血管平滑肌细胞在钙化促进因素作用下向成骨细胞转化,最后成为中膜钙化细胞。VC是一个诱导因子与活性抑制因子相互作用的过程。细胞凋亡、炎症、氧化应激、骨调节蛋白表达异常、高钙血症、高磷血症、脂蛋白代谢紊乱等都参与血管钙化的发生发展。研究表明^[13],PTH水平与腰椎侧位片的腹主动脉钙化评分呈正相关。研究显示^[14],PTH的表达与血管损伤严重程度的发生率呈正相关。

本研究结果提示,临床期肾病PTH水平与病情严重程度有关。当透析患者的病情进行性加重时,PTH的产生本身也会增加。PTH是调节 Ca^{2+} 、 P^{3-} 代谢的多肽类激素,其能促进骨 Ca^{2+} 进入血液中,并促进肾小管对 Ca^{2+} 的重吸收,使血 Ca^{2+} 、 P^{3-} 浓

度增加。研究表明^[15],高血 Ca^{2+} 能与体内的血糖酶、蛋白质结合形成糖基化终末产物,并诱导自由基的产生,最终导致内皮细胞破坏及促进钙化粥样斑块形成。PTH在血清钙磷动态平衡中发挥重要作用,本研究结果显示,PTH与 Ca^{2+} 、 P^{3-} 、CRP成正相关,提示DN患者VC可能与代谢紊乱以及微炎症状态有关。研究证实^[16],生理剂量的PTH对血管平滑肌细胞增殖及钙化有抑制作用,而超生理剂量PTH则有促进作用,后者可能通过增加炎症介质或促进钙化基因的转录而实现。据报道^[17],随着肾功能的减退,磷排泄率降低导致高磷血症出现,进一步刺激甲状旁腺增生,并诱发破骨细胞代谢活性,最终导致难治性高钙、高磷血症,从而促进血管/心瓣膜钙化。本研究结果表明除高血钙、血磷外,高PTH水平和炎症亦可能是引起血管钙化的重要原因。

研究表明^[18],DN患者终末期死于心血管疾病的大于50%,且死因与血管钙化有着密切关系。本研究提示血清PTH可能具有预测透析患者发生VC的早期重要参考指标。ROC曲线显示:PTH预测VC的截断值为106.51 pg/mL,此时灵敏度为85.1%,特异度为80.4%,均高于CRP、钙磷乘积对VC预测的灵敏度和特异度,多因素 Logistic 回归模型中,我们发现高PTH水平是DN患者发生VC的重要危险因素,提示PTH对预测DN患者发生VC具有重要价值。综上所述,DN的Ⅲ期以上患者血清PTH水平上升,可作为是否发生VC或VC发生严重程度的预测指标之一。血清PTH在DN合并VC发生过程中发挥一定作用。同时本研究有一定局限性,参与对象相对较少,研究受到限制。

参考文献

- [1] 李智韬,王小楠,刘晓琳,等.上海市浦东新区15岁及以上居民体质指数、腰围、腰臀比与糖尿病患病的关系[J].中华流行病学杂志,2020,41(3):326-330.
- [2] 王亚昕,贺星星,马晓静,等.血糖、血压等变异度与糖尿病心血管并发症的研究进展[J].中华内科杂志,2020,59(12):999-1002.
- [3] 肖小鹏,胡萍香,肖梅.肾皮质剪切波速度、肾动脉血流在糖尿病肾病中的临床应用[J].保健医学研究与实践,2018,15(4):75-77.
- [4] Niu Q, Zhao H, Wu B, et al. Study on the Prevalence of Vascular Calcification in Different Types of Arteries and Influencing Factors in Maintenance Peritoneal Dialysis Patients [J]. Blood Purif, 2019,47(S1):8-16.

- [5] Caire R, Roche B, Picot T, et al. Parathyroid Hormone Remodels Bone Transitional Vessels and the Leptin Receptor-Positive Pericyte Network in Mice [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(8): 1487-1501.
- [6] Ruderman I, Hewitson TD, Smith ER, et al. Vascular calcification in skin and subcutaneous tissue in patients with chronic and end-stage kidney disease [J]. *BMC Nephrol*, 2020, 21(1):279.
- [7] Gutiérrez OM, Porter AK, Viggeswarapu M, et al. Effects of phosphorus and calcium to phosphorus consumption ratio on mineral metabolism and cardiometabolic health [J]. *J Nutr Biochem*, 2020, 80:108374.
- [8] Ha L, Shi JB, Yu HY, et al. Association between serum cartilage oligomeric matrix protein and coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2020, 17(2):67-73.
- [9] Meharry PM, Tengera O, Rulisa S, et al. Prevalence of gestational diabetes mellitus among women attending antenatal care at public health centers in Rwanda [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019, 151(5): 252-259.
- [10] 胡鹏,汪薇,姜兰斌,等. Cys-C、RBP、 β 2-MG联合检测对2型糖尿病肾病早期诊断的价值[J]. *华南国防医学杂志*, 2019, 33(10):691-694.
- [11] Carrillo-López N, Panizo S, Alonso-Montes C, et al. High-serum phosphate and parathyroid hormone distinctly regulate bone loss and vascular calcification in experimental chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2019, 34(6):934-941.
- [12] Carrillo-López N, Martínez-Arias L, Alonso-Montes C, et al. The receptor activator of nuclear factor kappa Beta ligand receptor leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 4 contributes to parathyroid hormone-induced vascular calcification [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2021, 36(4):618-631.
- [13] Iwase T, Yoshida M, Hashizume Y, et al. Intracranial vascular calcification with extensive white matter changes in an autopsy case of pseudopseudohypoparathyroidism [J]. *Neuropathology*, 2019, 39(1): 39-46.
- [14] Ter Braake AD, Smit AE, Bos C, et al. Magnesium prevents vascular calcification in Klotho deficiency [J]. *Kidney Int*, 2020, 97(3):487-501.
- [15] Matejek T, Navratilova M, Zaloudkova L, et al. Parathyroid hormone - reference values and association with other bone metabolism markers in very low birth weight infants - pilot study [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(17):2860-2867.
- [16] Narayanasamy K, Karthick R, Raj AK. High Prevalent Hypovitaminosis D Is Associated with Dysregulation of Calcium-parathyroid Hormone-vitamin D Axis in Patients with Chronic Liver Diseases [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2019, 7(1):15-20.
- [17] Druck A, Patel D, Bansal V, et al. Osteopontin Levels in Patients With Chronic Kidney Disease Stage 5 on Hemodialysis Directly Correlate With Intact Parathyroid Hormone and Alkaline Phosphatase [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2019, 25:1076029619896621.
- [18] Desai N, Koppiseti H, Pande S, et al. Nanomedicine in the treatment of diabetic nephropathy [J]. *Future Med Chem*, 2021, 13(7): 663-686.

(上接第 382 页)

- [4] Ikeda T, Matsunaga Y, Kanbara M, et al. Effect of exercise therapy combined with branched-chain amino acid supplementation on muscle strength in elderly women after total hip arthroplasty: a randomized controlled trial [J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2019, 28(4): 720-726.
- [5] 金忠军,沈朝,刘贝妮,等. 股骨近端髓内钉螺旋刀片内固定与人工关节置换术在老年髌部骨折中的临床比较研究 [J]. *创伤外科杂志*, 2020, 22(2):59-63.
- [6] 范磊,李杰,赵大中. 双极人工股骨头置换术与全髋关节置换术治疗老年股骨颈骨折疗效比较分析 [J]. *河北医学*, 2018, 24(5):830-834.
- [7] Abdulhamid AK. Evaluation of the use of antiplatelet therapy throughout the perioperative period in patients with femoral neck fracture surgery. A retrospective cohort study [J]. *Int Orthop*, 2020, 44(3):147-149.
- [8] 孙启才,宋柏杉,茹选良,等. 直接前方入路髋关节置换术治疗老年股骨颈骨折合并帕金森病的短期疗效观察 [J]. *浙江医学*, 2018, 40(10):1054-1058.
- [9] 袁韩涛,李四波. 补肾活血汤对骨质疏松性股骨颈骨折术后愈合的临床疗效观察 [J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(4):612-616.
- [10] 金招国. 人工全髋关节置换术和股骨头置换术治疗老年股骨颈骨折的疗效 [J]. *中国急救医学*, 2018, 38(2):102-104.
- [11] 刘玉芳,杨京春,谭元奇. 活血祛瘀汤辅以康复训练对高龄股骨颈骨折患者康复效果的影响 [J]. *陕西中医*, 2018, 39(10):102-104.
- [12] 关业宁,周志,黄兹谕. 活血壮骨汤联合夹板外固定治疗老年桡骨远端骨折愈合效果的临床评价及对患者体内骨代谢的影响 [J]. *四川中医*, 2018, 36(7):145-147.
- [13] Van D, Schipper IB, Keizer SB, et al. Prospective comparison of the anterior and lateral approach in hemiarthroplasty for hip fractures: a study protocol [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2017, 18(1):361-364.
- [14] 胡敬暖,孙晓娜,张宝峰. 补肾活血汤加味辅助促进骨质疏松性椎体压缩性骨折术后骨愈合的疗效 [J]. *世界中医药*, 2020, 14(2):1047-1049.

GeneXpert MTB/RIF 技术在肺结核诊断及规范治疗中检测价值

朱夫俊¹ 张威^{2*} 高勇² 马小兰¹ 张玉梅¹

[摘要] **目的** 探究实时荧光定量核酸扩增检测(GeneXpert MTB/RIF)技术在肺结核诊断及规范治疗中检测价值。**方法** 分析阜南县人民医院检验科2019年1月至2021年11月收治的96例肺结核患者的临床资料,使用痰涂片抗酸染色镜检、痰培养、比例法体外药敏试验、GeneXpert MTB/RIF技术分别进行检测,比较不同方式的检验结果;比较GeneXpert MTB/RIF技术与传统药敏检测利福平耐药率的差异。**结果** 痰培养检测肺结核分枝杆菌阳性率40.63%(39/96)显著高于痰涂片检测阳性率20.83%(20/96),差异有统计学意义($\chi^2=8.833, P<0.05$);GeneXpert MTB/RIF技术检测肺结核分枝杆菌阳性率39.58%(38/96)显著高于痰涂片检测阳性率20.83%(20/96),差异有统计学意义($\chi^2=8.004, P<0.05$)。将痰培养结果、传统比例法药敏试验作为金标准, GeneXpert MTB/RIF技术检测肺结核分枝杆菌、利福平耐药的敏感度分别为72.22%、80.00%,特异度分别为81.67%、96.77%。**结论** GeneXpert MTB/RIF技术检测肺结核及利福平耐药的敏感度与特异度均较好,能够作为患者诊治的科学依据,值得临床参考借鉴。

[关键词] 实时荧光定量核酸扩增检测;肺结核;肺结核分枝杆菌;利福平耐药;检测价值

Detection and analysis of GeneXpert MTB/RIF technology in the diagnosis and standard treatment of pulmonary tuberculosis

ZHU Fujun¹, ZHANG Wei^{2*}, GAO Yong², MA Xiaolan¹, ZHANG Yumei¹

(1. Clinical Laboratory, Funan County People's Hospital Anhui Province, Funan, Anhui, China, 236300;

2. Clinical Laboratory, No.2 People's Hospital of Fuyang City, Fuyang, Anhui, China, 236015)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the value of real-time fluorescent quantitative nucleic acid amplification detection (GeneXpert MTB/RIF) technology in the diagnosis and standard treatment of tuberculosis. **Methods** A retrospective analysis of the clinical data of 96 pulmonary tuberculosis patients admitted to the Laboratory of Funan County People's Hospital was performed from January 2019 to November 2021, sputum smear acid-fast staining microscopy, sputum culture, proportional in vitro drug sensitivity test, GeneXpert MTB/RIF technology was tested separately, and the test results of different methods were compared; the difference between GeneXpert MTB/RIF technology and traditional drug susceptibility testing of rifampicin resistance was compared. **Results** The positive rate of sputum Mycobacterium tuberculosis detected by sputum culture was 40.63% (39/96), which was significantly higher than that of sputum smear detection, 20.83% (20/96), and the difference was statistically significant between groups, $P<0.05$. The positive rate of sputum Mycobacterium tuberculosis in GeneXpert MTB/RIF detection was 39.58% (38/96), which was significantly higher than that in sputum smear detection, which was 20.83% (20/96). The difference between two groups was statistically significant, $P<0.05$. Taking the results of sputum culture and traditional ratio method drug susceptibility test as the gold standard, the sensitivity of GeneXpert MTB/RIF technology for detecting sputum Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance were 72.22% and 80.00%, respectively,

基金项目:阜阳市科技局应急科技攻关项目(FK20201001)

作者单位:1.安徽省阜南县人民医院检验科,安徽,阜南236300

2.安徽省阜阳市第二人民医院检验科,安徽,阜阳236015

*通信作者:张威, E-mail:ZW2314160@163.com

and the specificity was 81.67%, 96.77%, respectively. **Conclusion** GeneXpert MTB/RIF technology has good sensitivity and specificity in detecting tuberculosis and rifampicin resistance, which can be used as a scientific basis for the diagnosis and treatment of patients, and is worthy of clinical reference.

[KEY WORDS] GeneXpert MTB/RIF; Pulmonary tuberculosis; Mycobacterium tuberculosis in sputum; Rifampicin resistance; Detection value

结核病属于慢性传染性疾病,已成为全球公共的卫生问题^[1]。随着环境的污染与人们生活方式的变化,我国肺结核发病率及死亡率居高不下,已成为主要的传染病之一^[2]。肺结核的广泛耐药可能导致其成为不治之症,故对肺结核进行早期诊断、早期预防与治疗是关键,也是我国结核病防治的重点^[3]。痰涂片抗酸染色与痰培养是常用的诊断手段,但部分患者无法通过单纯的细菌学检测确诊,且痰培养耗时较长,无法及时对患者的病情进行诊断,从而耽误治疗,导致细菌扩散,影响患者健康^[4]。随着肺结核疾病诊断技术的发展与临床的重视增加,新型的诊断方式应运而生。GeneXpert MTB/RIF技术是一种高效、间接的分子诊断方式,在2 h内即可完成标本的检测,具有较好的敏感性与特异度^[5],被广泛应用在结核病的诊断中。但目前将其应用在肺结核诊断并与传统检测方式进行对比的研究较少,且关于其对耐药性诊断的分析少见。本研究通过对96例患者的临床资料进行分析比较,为结核患者早诊治提供帮助,研究报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年11月阜南县人民医院检验科收治的96例肺结核患者作为研究对象,分析其临床资料及疾病检测结果。纳入标准:①符合《WS 288-2017 肺结核诊断》诊断标准^[6],经影像学检查确诊或存在肺结核症状;②临床资料完整;③未接受抗结核相关治疗;④无妊娠、哺乳期妇女;⑤无其他的呼吸道感染疾病;排除标准:①合并免疫功能障碍;②合并既往存在结核病史;③合并严重的心肺功能障碍;④合并肿瘤;⑤合并认知障碍。96例患者中男性59例、女性37例,平均年龄(51.20±10.39)岁,平均病程(2.50±0.67)年。研究符合《赫尔辛基宣言》中的伦理审查标准。所有患者及家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 痰涂片抗酸染色镜检

依据《中国结核病防治规划痰涂片镜检标准

化操作及质量保证手册》^[7]的要求进行检测,报告标准依据有关文献的光学显微镜报告标准并由具备相关检测经验人员进行。

1.2.2 痰培养

依据《结核病诊断实验室检验规程》^[8]准备培养器材,使用4% NaOH法对痰液样本进行处理,时间约为15 min,取0.1 mL无菌操作接种在酸性罗氏培养基斜面,将其放在适当温度(36℃左右)的培育箱中进行培养,观察阳性结果,若8周依然未出现菌落生长则判定为阴性。

1.2.3 比例法体外药敏试验

用过接种环在培养基上取所需的菌落,进行研磨操作,与标准麦氏管比较,调配1 mg/mL菌悬液,将其依据梯度稀释并将其接种在含利福平(40 μg/mL)的罗氏固体培养基与空白管培养基中,在37℃室温条件下培育4周并观察培育结果。

1.2.4 GeneXpert MTB/RIF技术

在1 mL的痰液样本中加入2 mL标本缓冲剂,将样本容器盖紧并通过旋涡振荡器振荡30 s,在36℃室温环境静置15 min,待其充分液化而后将其放入反应试剂盒,采用Xpert检测系统进行操作(全自动医用PCR分析系统GeneXpert Dx System,上海生科仪器有限公司),样本的反应时间为120 min,在检查结束后通过检测窗口观察检测结果。当内对探针的循环阈值≤38时判断为阳性反应,若存在≥2个探针的循环阈值≤38则检测出结核分枝杆菌。

1.2.5 质量控制

阜南县人民医院检验科每年均进行结核分枝杆菌涂片镜检、药敏试验及结核分枝杆菌分子诊断技术能力的检测工作,工作完成较好,成绩有效且合格。本研究中相关的检验均由同一组经验丰富的检测人员进行,能够保证检测的质量。

1.3 观察指标

比较痰培养、痰涂片、GeneXpert MTB/RIF技术检测痰样本的阳性、弱阳性及阴性检测率;比较GeneXpert MTB/RIF技术、痰培养检测痰结核分枝杆菌及菌GeneXpert MTB/RIF技术与传统比例法检测利福平耐药的敏感度、特异度。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析;计数资料用 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 96 例痰样本采用痰培养、痰涂片、GeneXpert MTB/RIF 的检测结果

痰培养检测结核分枝杆菌阳性率 40.63% 显著高于痰涂片检测阳性率 20.83%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.833, P < 0.05$); GeneXpert MTB/RIF 技术检测阳性率 39.58% 显著高于痰涂片检测阳性率 20.83%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.004, P < 0.05$); 痰培养检测阳性率 40.63% 高于 GeneXpert MTB/RIF 技术检测阳性率 39.58%, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.022, P > 0.05$), 见表 1、图 1。

表 1 96 例痰样本采用痰培养、痰涂片、GeneXpert MTB/RIF 的检测结果比较

检测方式	阳性	弱阳性	阴性	合计
痰培养	39(40.63) ^a	0(0.00)	57(59.38)	96(100.00)
痰涂片	20(20.83)	1(1.04)	75(78.13)	96(100.00)
GeneXpert MTB/RIF	38(39.58) ^a	2(2.08)	56(58.33)	96(100.00)

注:与痰涂片阳性率比,^a $P < 0.05$ 。

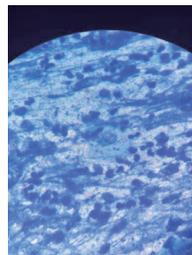


图 1 痰涂片、抗酸染色、找抗酸杆菌,经抗酸染色后镜检
Figure 1 Sputum smear, acid-fast staining, looking for acid-fast bacilli, and microscopic examination after acid-fast staining

2.2 痰结核分枝杆菌采用 GeneXpert MTB/RIF 技术、痰培养的检测结果

将痰培养结果作为金标准, GeneXpert MTB/RIF 检测痰涂片阳性患者痰结核分枝杆菌的敏感度为 93.75% (15/16)、特异度为 25.00% (1/4), 检测痰涂片阴性患者检测的敏感度为 55.00% (11/20)、特异度为 85.71% (48/56), 检测所有患者的敏感度为 72.22% (26/36)、特异度为 81.67% (49/60)。见表 2。

表 2 痰结核分枝杆菌采用 GeneXpert MTB/RIF 技术、痰培养的检测结果

Table 2 Sputum Mycobacterium tuberculosis detection results using GeneXpert MTB/RIF technology and sputum culture

GeneXpert MTB/RIF	阳性	弱阳性	阴性	合计
痰涂片阳性				
培养阳性	15(75.00)	1(5.00)	0(0.00)	16(80.00)
培养阴性	3(15.00)	0(0.00)	1(5.00)	4(20.00)
合计	18(90.00)	1(5.00)	1(5.00)	20(100.00)
痰涂片阴性				
培养阳性	11(14.47)	2(2.63)	7(9.21)	20(26.32)
培养阴性	7(9.21)	1(1.32)	48(63.16)	56(73.68)
合计	18(23.68)	3(3.95)	55(72.37)	76(100.00)

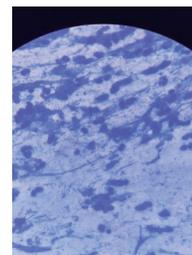
2.3 利福平耐药采用 GeneXpert MTB/RIF 技术与传统比例法检测结果比较

将传统比例法药敏试验作为检测的金标准, GeneXpert MTB/RIF 技术检测痰涂片阳性患者利福平耐药敏感度为 100.00% (1/1)、特异度为 50.00% (1/2); 检测痰涂片阴性患者利福平耐药敏感度为 75.00% (3/4)、特异度为 100.00% (3/3), GeneXpert MTB/RIF 技术检测所有患者利福平耐药的敏感度为 80.00% (4/5)、特异度为 96.77% (30/31)。见表 3、图 2。

表 3 利福平耐药采用 GeneXpert MTB/RIF 技术与传统比例法检测结果比较

Table 3 Comparison of rifampicin resistance detection results using GeneXpert MTB/RIF technology and traditional ratio method

GeneXpert MTB/RIF	阳性	阴性	合计
痰涂片阳性			
传统药敏耐药	1(6.25)	0(0.00)	1(6.25)
传统药敏敏感	1(6.25)	14(87.50)	15(93.75)
合计	2(12.50)	14(87.50)	16(100.00)
痰涂片阴性			
传统药敏耐药	3(15.00)	1(5.00)	4(20.00)
传统药敏敏感	0(0.00)	16(80.00)	16(80.00)
合计	3(15.00)	17(85.00)	20(100.00)



注:4+: ≥10 条/1 个视野, 报告 1 个+时至少观察 300 个视野, 报 2+ 至少观察 100 个视野, 3+ ~ 4+ 时至少观察 50 个视野。

图 2 抗酸杆菌阳性

Figure 2 Acid-fast bacilli positive

3 讨论

结核病在我国高发,其中以肺结核为常见疾病,该类疾病的传染性较高,若病情未得到有效控制将导致患者的生命安全受到威胁^[9]。结核分枝杆菌是肺结核的病因,该类细菌可以随着患者的痰液排出体内,故对痰液样本中是否含有结核分枝杆菌进行判定是诊断患者是否确诊为肺结核的关键^[10]。痰涂片抗酸染色镜检的要求严格,只有当菌落数量不少于5 000条/mL的时候才能显示出阳性结果,故严重影响患者的疾病检出率^[11]。痰培养亦为诊断结核病的传统方式,但分枝杆菌的生长需要较长的时间,常见痰培养与药敏试验均耗时久,虽有一定的诊断效果,但效率较低^[12]。与前者相比,GeneXpert MTB/RIF技术的操作便捷,其检测时间仅为2 h,对操作者只要通过基础培训即可,故适用范围较广^[13]。本研究中,GeneXpert MTB/RIF技术在诊断肺结核展现出较为理想的诊断价值。

以往研究结果表明^[14],基于GeneXpert MTB/RIF技术的结核病诊断,能够有效缩短患者耐药筛查的时间,优化诊断流程,对于基层医院来说手术的操作性能较好的掌握,提高了基层医院对于结核病检测的阳性检出率,与本研究结果具有相似性。范国萍等^[15]研究结果指出,GeneXpert MTB/RIF技术对于新发活动性肺结核具有较好的诊断价值且诊出速度较快,与比例法药敏试验诊断结果具有一致性。本研究结果提示GeneXpert MTB/RIF技术与痰培养对肺结核分枝杆菌的诊断阳性率均较高,以痰培养为金标准时,GeneXpert MTB/RIF技术诊断的敏感度与特异度均较高,究其原因在于:该系统是一种基于巢式实时PCR的检测方式,其具备样品准备、定量PCR扩增及荧光检测等功能于一体,能够自动进行操作,将检测时间缩短,节约等待的时间,且具有良好的检测效能。该技术的实施较为便捷,检测中避免形成气溶胶,降低了分枝杆菌的生物危害性,且其试剂盒是单独存放的,能够降低DNA污染的可能性^[16],比起传统检测来说更适用于临床检测;痰培养的诊断阳性率也较高,但其检测的时间久,无法及时获取患者诊断的结果。GeneXpert MTB/RIF检测中具有多种分子信标且检测多种分子探针,能够对检测的区域进行选择性的覆盖,故具有较高的敏感度,能够很好诊断出

肺结核分枝杆菌。除此之外,本研究结果,提示GeneXpert MTB/RIF技术对于肺结核耐药性的诊断效能较好,究其原因在于:大部分的利福平敏感菌株均有共同的核酸序列,且利福平耐药菌株中超过95%均因为rpoB基因的变异引起,故该基因与利福平相关,且能够作为评价利福平耐药菌株能力的依据,因此GeneXpert MTB/RIF技术对利福平耐药的敏感度较高。

综上所述,肺结核患者通过GeneXpert MTB/RIF技术确诊的敏感度、特异度相较于痰涂片抗酸染色与痰培养要好,且其对利福平耐药的敏感度与特异度也较好,能够为肺结核患者早期诊治提供有效参考。但本研究存在一些不足之处,例如样本数量有限,且仅为单中心的回顾性分析,在今后的研究中将会进一步扩大样本数量并增加实验的设计性,使研究结果更具说服力与科学性。

参考文献

- [1] 陈晓庆,夏菊芳.住院结核病患者结核病防治知识知晓情况分析[J].华南预防医学,2019,45(5):468-471.
- [2] 李福利,刘捷凌,冷霞,等.MAIT细胞及其分泌因子表达与肺结核病情严重程度的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(9):1482-1485.
- [3] Acharya B, Acharya A, Gautam S, et al. Advances in diagnosis of Tuberculosis: an update into molecular diagnosis of Mycobacterium tuberculosis[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(5): 4065-4075.
- [4] 张菊侠,杨万福.肺结核病合并2型糖尿病患者的痰涂片抗酸染色阳性率分析[J].临床肺科杂志,2019,24(4):596-599.
- [5] 孟素华. GeneXpert MTB/RIF检测技术在结核性胸膜炎诊断中的应用价值[J].中国防痨杂志,2019,41(9):1005-1008.
- [6] 高孟秋.《WS 283-2017肺结核诊断》新标准中关于临床诊断患者判定的解析[J].中国防痨杂志,2018,40(3):4.
- [7] 夏辉,赵冰,宋媛媛,等.全国结核病实验室网络痰涂片镜检室间质量保证结果分析[J].医学研究杂志,2013,42(4):21-26.
- [8] 王魁民.《结核病诊断实验室检验规程》修改的意义[C]//2006中国防痨协会全国学会会议论文集,2006:11.
- [9] 黄莉,许琳,徐志斌,等.从结核病患者就医习惯和疾病经济负担评价结核病防治策略转变的必然性[J].中国医学杂志,2019,36(1):46-49.
- [10] 钟业腾,吕志辉,林翀,等.基因芯片法与线性探针法对痰标本中结核分枝杆菌检测的应用价值[J].中国感染控制杂志,2019,18(4):283-288.
- [11] 张波,张涛,张茜,等.痰液涂片,支气管刷片抗酸染色联合 γ -干扰素释放试验对肺结核的诊断价值[J].海南医学,2021,32(21):2759-2762.

(下转第396页)

上皮性卵巢癌患者血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达及意义

李祥坤* 肖光军 陈姝 刘艳婷 刘玉林

[摘要] 目的 研究上皮性卵巢癌(EOC)患者血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达及意义。方法 选择2018年1月至2020年12月期间在四川省遂宁市中心医院接受手术治疗的150例浆液性 EOC 患者作为 EOC 组,体检的160例健康女性作为对照组,采用荧光定量 PCR 法检测血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 的表达水平。收集 EOC 患者的临床病理资料,随访 EOC 患者的无进展生存情况。结果 与对照组比较,EOC 组患者血清中 miR-203、miR-137 的表达水平明显降低,miR-222-3p 的表达水平明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 的表达水平对 EOC 具有诊断价值($P<0.05$);与 EOC 组中 FIGO I ~ II 期、淋巴结转移 N_{01} 患者比较,FIGO III 期、淋巴结转移 $N_{2/3}$ 患者的血清中 miR-203、miR-137 的表达水平明显降低,miR-222-3p 的表达水平明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);EOC 组中 miR-203、miR-137 表达 \geq 中位数患者的累积无进展生存率高于 miR-203、miR-137 表达 $<$ 中位数患者,miR-222-3p 表达 \geq 中位数患者的累积无进展生存率低于 miR-222-3p 表达 $<$ 中位数患者($P<0.05$);血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平对 EOC 患者的无进展生存期具有预测价值($P<0.05$),曲线下面积分别为 0.695(95%CI:0.612~0.777)、0.630(95%CI:0.563~0.697)、0.740(95%CI:0.683~0.797),灵敏度分别为 49.38%、50.00%、61.25%,特异性分别为 81.16%、66.67%、76.03%。结论 EOC 患者血清 miR-203、miR-137 表达降低及 miR-222-3p 表达增加对疾病具有诊断价值,且与病理进展、预后不良有关。

[关键词] 上皮性卵巢癌;微小 RNA;诊断;无进展生存;预测

Expression and significance of serum miR-203, miR-137 and mir-222-3p in patients with epithelial ovarian cancer

LI Xiangkun*, XIAO Guangjun, CHEN Shu, LIU Yanting, LIU Yulin

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

[ABSTRACT] **Objective** To study the expression and significance of serum miR-203, miR-137 and mir-222-3p in patients with epithelial ovarian cancer (EOC). **Methods** From January 2018 to December 2020, 150 patients with serous EOC were selected as the EOC group, and 160 healthy women were selected as the control group. The expression levels of miR-203, miR-137 and mir-222-3p in serum were detected by fluorescence quantitative PCR. The clinicopathological data of EOC patients were collected and the progression free survival of EOC patients was followed up. **Results** Compared with the control group, the expression levels of miR-203 and miR-137 in serum were significantly decreased, and the expression levels of miR-222-3p in serum was significantly increased in EOC group ($P<0.05$). The expression levels of serum miR-203, miR-137 and miR-222-3p have diagnostic value for EOC ($P<0.05$). Compared with patients with FIGO stage I ~ II and lymph node metastasis N_{01} in the EOC group, the expression levels of miR-203 and miR-137 in serum were significantly decreased, and the expression levels of miR-222-3p in serum was significantly increased in patients with FIGO stage III and lymph node metastasis $N_{2/3}$ ($P<0.05$). In the EOC group, the

基金项目:2020年四川省卫生健康委员会科研课题(20PJ283)

作者单位:四川省遂宁市中心医院检验科,四川,遂宁 629000

*通信作者:李祥坤, E-mail: wonderful20212021@163.com

cumulative progression free survival rate of patients with miR-203 and miR-137 expression \geq median was higher than that in patients with miR-203 and miR-137 expression $<$ median, and the cumulative progression free survival rate of patients with miR-222-3p expression \geq median was lower than that of patients with miR-222-3p expression $<$ median ($P < 0.05$). Serum miR-203, miR-137 and miR-222-3p expression levels had predictive value for progression free survival ($P < 0.05$), the area under curve was 0.695 (95% CI: 0.612~0.777), 0.630 (95% CI: 0.563~0.697), 0.740 (95% CI: 0.683~0.797), the sensitivity was 49.38%, 50.00%, 61.25%, and the specificity was 81.16%, 66.67% and 76.03% respectively. **Conclusion** The decreased expression of miR-203 and miR-137 and the increased expression of miR-222-3p in serum of EOC patients have diagnostic value for the disease and are associated with pathological progress and poor prognosis.

[KEY WORDS] Epithelial ovarian cancer; MicroRNA; Diagnosis; Progression free survival; Prediction

上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)是常见的女性生殖系统恶性肿瘤之一,其中浆液性 EOC 是最常见的病理类型。EOC 早期症状隐匿、诊断难度大且病灶容易浸润转移、手术难以根治性切除、放化疗容易耐药,目前尚缺乏有效的治疗手段、预后较差^[1-2]。因此,挖掘 EOC 的发病机制、发现 EOC 新的诊断分子标志物及治疗分子靶点是相关领域的研究热点。微小 RNA (microRNA, miR) 是一类在转录后水平调节基因表达的非编码小分子 RNA, 在恶性肿瘤发病过程中通过调节癌基因的表达起到促癌或抑癌作用^[3-4]。有研究报告,在 EOC 的增殖、迁移及侵袭过程中,miR-203、miR-137 起到抑制作用,miR-222-3p 则起到促进作用^[5-7],但三种 miRs 在 EOC 患者血清中表达的变化情况尚不明确。因此,本研究将以浆液性 EOC 患者为对象,分析血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达的变化及临床病理意义。

1 对象与方法

1.1 对象

选择 2018 年 1 月至 2020 年 12 月期间在四川省遂宁市中心医院接受手术治疗的 150 例 EOC 患者作为 EOC 组,纳入标准:①经术后病理诊断为浆液性 EOC^[8];②术前留取血清样本待测;③临床病理资料完整;④按要求完成随访。排除标准:①术前接受过放化疗或其他抗肿瘤治疗;②既往有其他恶性肿瘤病史。另取同期体检的 160 例健康女性作为对照组。EOC 组年龄(49.59 \pm 11.92)岁, BMI (22.39 \pm 5.29) kg/m²;对照组年龄(47.57 \pm 10.75)岁, BMI (22.77 \pm 6.41) kg/m²。两组间一般资料的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有受试者均知情同意。本研究取得医

院伦理委员会批准。

1.2 血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的检测

采集 EOC 组术前静脉血 3~5 mL、对照组体检时静脉血 3~5 mL,采用 miR 提取分离试剂盒(北京天根公司)提取 miR,而后采用 miR cDNA 第一链合成试剂盒(北京天根公司)将 miR 反转录为 cDNA。采用 miR 荧光定量检测试剂盒(北京天根公司)进行 PCR 实验,以 U6 为内参基因,按试剂盒说明书配置 PCR 的反应体系,于荧光定量 PCR 仪(Bio-rad 公司)完成 miR-203、miR-137、miR-222-3p 及 U6 的 PCR,反应条件:95 $^{\circ}$ C 15min 后 94 $^{\circ}$ C 20 s、60 $^{\circ}$ C 34 s、重复 40 个循环,按照 2- $\Delta\Delta$ CT 计算 miR-203、miR-137、miR-222-3p 的表达量。

1.3 临床病理资料的收集

查阅 EOC 患者的病历并收集以下资料:年龄、月经状态、肿瘤直径、组织学分级、FIGO 分期^[8]、淋巴结转移情况。组织学分级包括 G1-4,对应高分化、中分化、低分化和未分化;FIGO 分期包括 I、II、III 期,均参照《中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会》^[8]进行组织学分级及 FIGO 分期的判断。

1.4 预后的随访

采用门诊或住院复查、电话回访等方式进行术后随访,随访截止日期为 2021 年 6 月 30 日,随访内容为无进展生存情况,无进展生存期为接受治疗开始至发现肿瘤复发或转移。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件及 Prism6.0 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 t 检验,指标诊断 EOC 的价值及预测预后的价值采用 ROC 曲线分析;无进展生存期采用 K-M 曲线描

述,组间比较采用 Log-rank 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的比较

与对照组比较 EOC 组患者血清中 miR-203、miR-137 的表达水平明显降低,miR-222-3p 的表达水平明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-203	miR-137	miR-222-3p
EOC 组	150	0.75±0.25	0.82±0.22	1.27±0.34
对照组	160	1.00±0.32	1.00±0.35	1.00±0.24
t 值		7.631	5.380	8.117
P 值		0.000	0.000	0.000

2.2 血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达对 EOC 的诊断价值

血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平对 EOC 具有一定的诊断价值($P<0.05$)。见表 2、图 1。

2.3 EOC 组中不同临床病理特征患者血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的比较

EOC 组中不同年龄、月经状态、肿瘤直径、组织学分级患者血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的比较,差异无统计学意义($P>0.05$),FIGO 分期 III 期患者的血清 miR-203、miR-137 表达水平低

表 2 血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达诊断 EOC 的 ROC 曲线分析

Table 2 ROC curve analysis of serum miR-203, miR-137 and miR-222-3p expression in the diagnosis of EOC

指标	AUC	95%CI	灵敏度 (%)	特异性 (%)	P 值
miR-203	0.732	0.673-0.787	71.25	64.00	<0.001
miR-137	0.637	0.576-0.698	52.50	66.67	<0.001
miR-222-3p	0.743	0.689-0.797	65.00	73.33	<0.001

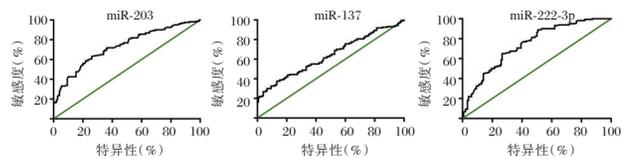


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

于 FIGO 分期 I ~ II 期患者,miR-222-3p 表达水平高于 FIGO 分期 I ~ II 期患者,差异有统计学意义($P<0.05$),淋巴结转移 N_{2/3} 患者的血清 miR-203、miR-137 表达水平低于 N_{0/1} 患者,miR-222-3p 表达水平高于 N_{0/1} 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 EOC 组中不同 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平患者预后的比较

EOC 组 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的中位数分别为 0.723、0.822、1.213。Log-rank 检验结果如下:EOC 组中 miR-203、miR-137 表达 \geq 中位数患者的累积无进展生存率高于 miR-203、miR-137 表达 $<$ 中位数患者,miR-222-3p 表达 \geq 中位数患者的累积无进展生存率低于 miR-222-3p 表达 $<$ 中位数患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 2。

表 3 EOC 组中不同临床病理特征患者血清 miR-203、miR-137、miR-222-3p 表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum miR-203, miR-137 and miR-222-3p expression levels in patients with different clinicopathological features in EOC group ($\bar{x}\pm s$)

临床病理特征	n	miR-203	t 值	P 值	miR-137	t 值	P 值	miR-222-3p	t 值	P 值	
年龄	>55 岁	59	0.71±0.34	1.156	0.250	0.79±0.32	0.823	0.412	1.29±0.41	0.958	0.340
	≤55 岁	91	0.77±0.29			0.83±0.27			1.23±0.35		
月经状态	未绝经	83	0.77±0.28	0.927	0.355	0.78±0.34	1.117	0.266	1.26±0.36	0.459	0.647
	绝经	67	0.72±0.38			0.84±0.31			1.29±0.44		
肿瘤直径	≥3 cm	79	0.77±0.33	0.762	0.453	0.80±0.30	0.957	0.340	1.24±0.44	0.889	0.375
	<3 cm	71	0.73±0.32			0.85±0.34			1.30±0.38		
组织学分级	G1-2	93	0.73±0.31	1.029	0.305	0.83±0.26	0.600	0.549	1.25±0.41	0.591	0.556
	G3-4	57	0.79±0.40			0.80±0.35			1.29±0.39		
FIGO 分期	I ~ II	85	0.80±0.31	2.219	0.035	0.87±0.29	2.524	0.013	1.17±0.48	2.265	0.025
	III	65	0.68±0.38			0.74±0.34			1.33±0.35		
淋巴结转移	N _{0/1}	88	0.80±0.33	2.166	0.032	0.87±0.30	2.371	0.019	1.15±0.45	2.712	0.007
	N _{2/3}	62	0.68±0.34			0.74±0.37			1.34±0.38		

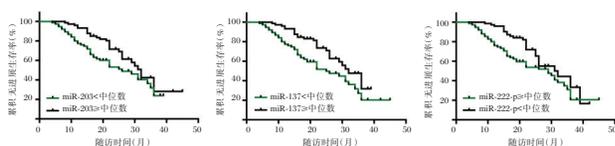


图2 EOC组中不同miR-203、miR-137、miR-222-3p表达患者无进展生存期的K-M曲线

Figure 2 K-M curve of progression free survival of patients with different expression of miR-203, miR-137 and miR-222-3p in EOC group

2.5 血清miR-203、miR-137、miR-222-3p表达水平对EOC患者预后的预测价值

血清miR-203、miR-137、miR-222-3p表达水平对EOC患者的无进展生存期具有预测价值,曲线下面积分别为0.695(95%CI:0.612~0.777)、0.630(95%CI:0.563~0.697)、0.740(95%CI:0.683~0.797),灵敏度分别为49.38%、50.00%、61.25%,特异性分别为81.16%、66.67%、76.03%。见图3。

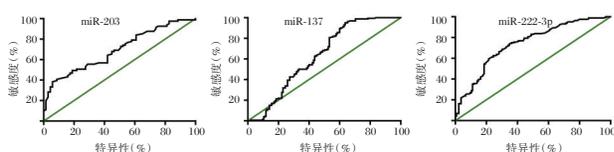


图3 血清miR-203、miR-137、miR-222-3p表达水平预测EOC患者无进展生存的ROC曲线

Figure 3 ROC curve of serum miR-203, miR-137 and miR-222-3p expression levels in predicting progression free survival in EOC patients

3 讨论

EOC起病隐匿且病理进展快,容易发生浸润和转移,浆液性EOC是最常见的EOC病理类型。目前缺乏能够早期诊断EOC、评估EOC病理进展及预后的分子标志物。MiRs是近些年恶性肿瘤相关研究的热点,miRs在体内分布广泛且通过识别靶基因mRNA的方式实现基因表达的沉默,对多种癌基因的表达具有调控作用并在恶性肿瘤发病中起到促癌或抑癌作用。此外,恶性肿瘤发病过程中异常表达的miRs能够释放进入血液循环,进而作为诊断疾病、评估病情的标志物。因此,研究miRs在EOC发病中的作用能够为发现新的EOC诊断标志物及新的EOC治疗靶点提供思路和依据。

本研究对miR-203、miR-137、miR-222-3p三种miRs在EOC发病中的作用进行了分析。miR-203

和miR-137是具有抑癌作用的miR,已有相关的细胞实验证实这两种miRs显著抑制卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭,同时也促进卵巢癌细胞的凋亡^[9-11]。Liang J的研究在非小细胞肺癌患者体内检测到miR-203的表达水平明显降低^[12],与miR-203介导的抑癌效应吻合。在关于miR-137的两项研究中,郑茜文^[13]的研究证实miR-137高表达的EOC患者生存期更长, Jesionek-Kupnicka D^[14]的研究证实胶质瘤的发病与miR-137表达降低有关。miR-222-3p是一种具有促癌作用的miR,其促癌作用已经在弥漫性大B细胞淋巴瘤及非小细胞肺癌中被证实^[15-16],但EOC发病过程中miR-222-3p的生物学作用尚缺乏基础研究。国内苏红娥^[17]的研究及本研究均证实EOC患者血清中miR-222-3p的表达增加,提示miR-222-3p可能在EOC发病中起促癌作用,但仍需更多的基础研究来证实。

本研究通过ROC曲线分析提示miR-203、miR-137、miR-222-3p有望成为早期诊断EOC的标志物。在EOC的病理进展过程中,癌细胞过度的增殖、迁移、侵袭是密切相关的生物学因素。本研究结果显示:随着EOC患者FIGO分期增加及淋巴结发生转移,血清中miR-203、miR-137的表达水平呈降低趋势,miR-222-3p的表达水平呈升高趋势,表明血清中miR-203、miR-137、miR-222-3p表达的变化与EOC的病理进展有关,提示三种miRs可能在EOC的发病及病情发展中发挥生物学作用。

本研究也对入组的EOC患者进行了术后随访,随访内容为无进展生存情况,在已经证实EOC患者血清中三种miRs表达变化与FIGO分期、淋巴结转移有关后,本研究还进一步分析EOC患者无进展生存情况与三种miRs表达的关系。Chen H^[18]、Wei Q^[19]、Lyu J^[20]的研究在肝癌中证实miR-203、miR-137、miR-222-3p表达变化是预后的影响因素^[17-19],本研究的分析结果显示:血清中miR-203、miR-137表达越高,累积无进展生存率越高;血清中miR-222-3p表达越高,累积无进展生存率越低。同时通过ROC曲线分析发现:血清中三种miRs的表达水平对EOC患者的无进展生存具有预测价值。

综上所述,EOC患者血清miR-203、miR-137表达降低及miR-222-3p表达增加对疾病具有诊断价值且与病理进展、预后不良有关,未来miR-203、

miR-137、miR-222-3p有望成为早期诊断EOC的分子标志物,也可作为进一步深入研究EOC发病机制、发现EOC新治疗靶点的标志物。

参考文献

- [1] Zhang SW, Chen WQ, Wei WQ, et al. Ovary cancer mortality in China 2004-2005: results from the Third National Retrospective Sampling Survey of Death Causes [J]. *Chin J Prev Med*, 2010, 44(5):418-422.
- [2] 魏长慧,朱继存,牛媛媛,等. 2004-2016年中国女性生殖系统恶性肿瘤死亡趋势分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2019, 23(5): 506-511.
- [3] Ghafouri-Fard S, Vafae R, Shoorei H, et al. MicroRNAs in gastric cancer: Biomarkers and therapeutic targets [J]. *Gene*, 2020, 5(757): 144937.
- [4] Al Rawi N, Elmabrouk N, Abu Kou R, et al. The role of differentially expressed salivary microRNA in oral squamous cell carcinoma. A systematic review [J]. *Arch Oral Biol*, 2021, 125: 105108.
- [5] 王宝金,赵欣欣,李霞,等. miR-203靶向Survivin抑制卵巢癌细胞增殖、迁移与侵袭[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2020, 58(12): 23-28, 37
- [6] Chen W, Du J, Li X, et al. microRNA-137 downregulates MCL1 in ovarian cancer cells and mediates cisplatin-induced apoptosis [J]. *Pharmacogenomics*, 2020, 21(3):195-207.
- [7] Fan L, Lei H, Zhang S, et al. Non-canonical signaling pathway of SNAI2 induces EMT in ovarian cancer cells by suppressing miR-222-3p transcription and upregulating PDCD10 [J]. *Theranostics*, 2020, 10(13):5895-5913.
- [8] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(第四版)[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(7): 739-749.
- [9] Wang B, Li X, Zhao G, et al. miR-203 inhibits ovarian tumor metastasis by targeting BIRC5 and attenuating the TGF-beta pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):235.
- [10] Wang SL, Dong XW, Zhao F, et al. MiR-203 inhibits cell proliferation, invasion, and migration of ovarian cancer through regulating RGS17 [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2021, 35(3):1109-1115.
- [11] Li X, Chen W, Zeng W, et al. microRNA-137 promotes apoptosis in ovarian cancer cells via the regulation of XIAP [J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(1):66-76.
- [12] Liang J, Sun T, Wang G, et al. Clinical significance and functions of miR-203a-3p/AVL9 axis in human non-small-cell lung cancer [J]. *Per Med*, 2020, 17(4):271-282.
- [13] 郑茜文,潘长清,于文亮,等. 卵巢癌中血清 miR-137 靶向调控 EZH2 及对疾病预后的价值 [J]. *生物技术*, 2021, 31(2): 194-197.
- [14] Jesionek-Kupnicka D, Braun M, Trąbska-Kluch B, et al. MiR-21, miR-34a, miR-125b, miR-181d and miR-648 levels inversely correlate with MGMT and TP53 expression in primary glioblastoma patients [J]. *Arch Med Sci*, 2019, 15(2):504-512.
- [15] Chen W, Li X. MiR-222-3p Promotes Cell Proliferation and Inhibits Apoptosis by Targeting PUMA (BBC3) in Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19:1533033820922558.
- [16] Sun S, Wang H, Ji M. Overexpression of miR-222-3p Promotes the Proliferation and Inhibits the Apoptosis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cells via Suppressing PPP2R2A [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18:1533033819892256.
- [17] 苏红娥,钟庆吉,符春丽,等. 上皮性卵巢癌患者血清 miR-222-3p、HE4 及 CA125 的表达及其临床意义 [J]. *临床输血与检验*, 2021, 23(3): 371-375.
- [18] Chen H, Kong M, Chen Y, et al. Prognostic significance of miR-203 and ZEB1 expression in early-stage hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer*, 2021, 12(16):4810-4818.
- [19] Wei Q, Zhao L, Jiang L, et al. Prognostic relevance of miR-137 and its liver microenvironment regulatory target gene AFM in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7):11888-11899.
- [20] Lyu J, Zhu Y, Zhang Q. An increased level of MiR-222-3p is associated with TMP2 suppression, ERK activation and is associated with metastasis and a poor prognosis in renal clear cell carcinoma [J]. *Cancer Biomark*, 2020, 28(2):141-149.
- [12] 扎丽帕·热合曼,董宪春. 肺结核病患者痰涂片及痰培养检测结果分析 [J]. *临床检验杂志:电子版*, 2019, 8(2):134.
- [13] 王敏媛,梁亚萍. 肺泡灌洗液 Gene Xpert MTB/RIF 检测技术在肺结核早期诊断中的临床应用价值 [J]. *陕西医学杂志*, 2019, 48(11):1563-1566.
- [14] 柳正卫,彭颖,张明五,等. 浙江省推广基于 GeneXpert MTB/RIF 检测的结核病诊断流程的效果分析 [J]. *中国防痨杂志*, 2021, 43(8):790-795.
- [15] 范国萍,潘爱珍,黄有平,等. GeneXpert MTB/RIF 技术诊断新发结核分枝杆菌感染的价值研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(10):1447-1450.
- [16] 张桂仙,高丽,李正伦,等. Gene-XpertMTB/RIF 技术在 HIV 合并结核分枝杆菌感染筛查中的应用 [J]. *海南医学*, 2019, 30(13):1694-16963.

(上接第 391 页)

妊娠晚期血液 NLR 联合 fFN、宫颈长度对早产风险的预测价值

陆逊* 王敬 张雯雯 陈希罕

[摘要] **目的** 探讨孕产妇妊娠晚期外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)联合胎儿纤维连接蛋白(fFN)、宫颈长度对早产风险的预测价值。**方法** 选取2017年6月至2019年5月北京市朝阳区妇幼保健院进行产前常规产检和分娩的早产妇(早产组)39例与足月妊娠产妇(对照组)52例作为研究对象,比较两组产妇一般情况、妊娠晚期血检参数、宫颈阴道分泌物中fFN与宫颈长度,采用多因素Logistic回归分析早产的独立危险因素,ROC曲线分析该独立因素对早产的预测价值。**结果** 两组产妇年龄、BMI、孕次、产次、淋巴细胞水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组产妇孕周、白细胞水平、中性粒细胞水平、NLR、宫颈长度和fFN比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic回归分析结果显示,NLR、fFN水平升高以及宫颈长缩短是发生早产的独立影响因素($P<0.05$)。绘制NLR、fFN水以及宫颈长度对胎儿早产的ROC曲线分析显示,NLR、fFN水以及宫颈长度的最佳截断值分别为4.185、52.035和24.570,联合检测的AUC、敏感度和特异性均明显高于NLR、fFN水以及宫颈长度独立检测。**结论** NLR、fFN水平升高、宫颈长度缩短是孕产妇孕晚期发生早产风险的独立危险因素,及时对妊娠晚期的孕产妇进行血清NLR、fFN、宫颈长度联合检测可以提高临床诊断率,及早做好防护,有利于降低早产风险。

[关键词] 中性粒细胞/淋巴细胞比值;胎儿纤维连接蛋白;宫颈长度;早产

The predictive value of serum NLR combined with fFN and cervical length in late pregnancy for the risk of premature delivery

LU Xun*, WANG Jing, ZHANG Wenwen, CHEN Xihan

(Clinical Laboratory, Beijing Chaoyang District Maternal and Child Health Care Hospital, Beijing, China, 100021)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the predictive value of the ratio of neutrophils to lymphocytes (NLR), fetal fibronectin (fFN) and cervical length on the risk of premature delivery. **Methods** 39 cases of preterm women (preterm group) and 52 cases of full-term pregnant women (control group) were selected from Beijing Chaoyang District Maternal and Child Health Care Hospital from June 2017 to May 2019. The general conditions of the two groups, the parameters of blood test in late pregnancy, the length of fFN and cervix in cervical and vaginal secretions were compared. Multivariate Logistic regression was used to analyze the independent risk factors of preterm birth, and ROC curve was used to analyze the predictive value of this independent factor for preterm birth. **Results** There was no statistically significant difference between the two groups of maternal age, BMI, pregnancy times, parity times, and lymphocyte levels ($P>0.05$). There were significant differences in gestational age, white blood cell level, neutrophil level, NLR, cervical length and fFN between the two groups ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that increased levels of NLR, fFN and the shortening cervical length were independent factors influencing the occurrence of preterm labor, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve analysis of NLR, fFN levels and cervical length

基金项目:吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金(320.6750.18528)

作者单位:北京市朝阳区妇幼保健院检验科,北京100021

*通信作者:陆逊, E-mail:lx8210a@163.com

on fetal preterm birth showed that the best cut-off values of NLR, fFN levels and cervical length were 4.185, 52.035 and 24.570, respectively, and the AUC, sensitivity and specificity of the combined detection were significantly higher in NLR, fFN levels and cervical length. **Conclusion** Increased levels of NLR, fFN, and shortened cervical length are independent risk factors for the risk of premature delivery in the third trimester of pregnancy, Timely detection of serum NLR, fFN, and cervical length for pregnant women in the third trimester of pregnancy can improve clinical diagnosis, protect them early, and help to reduce the risk of preterm birth.

[KEY WORDS] Neutrophil / lymphocyte ratio; Fetal fibronectin; Cervical length; Preterm delivery

早产是常见的妊娠期并发症之一,在妊娠期发病率约为10%,是世界范围内新生儿患病和死亡的主要原因^[1]。目前临床上常用于判断是否在短期内生产的常用方法是测量宫颈长度,该方法已被多方证实在分娩发动评价确实有一定预测价值,但仍存在一定的主观性,其可靠性有限^[2]。胎儿纤维连接蛋白(fetal fibronectin, fFN)是一种大分子细胞外基质糖蛋白,其在宫颈分泌物中高水平与分娩发动存在一定相关性,且被认为是不依赖孕周的临产预测因子^[3]。另有研究表明胎盘炎症与早产等妊娠情况紧密相关,而血液中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞计数、中性粒细胞/淋巴细胞计数比值(Neutrophil / lymphocyte ratio, NLR)均能作为反映炎症的血液学参数,其与胎盘炎症的关系在国内外临床研究中近年来逐渐受到关注^[4-5]。本研究综合上述早产风险的相关因素,对早产风险预测价值进行探讨,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年6月至2019年5月北京市朝阳区妇幼保健院进行产前常规产检和分娩的早产产妇39例(早产组)与足月妊娠产妇(对照组)52例作为研究对象。纳入标准:①经产检证实为单胎;②自然受孕;③经产检证实胎儿形态和胎盆无异常;④孕周均>29周;⑤在本院进行妊娠晚期检查和分娩者;④临床资料完整。排除标准:①孕前合并心肝肾肾功能异常者;②孕前合并有自身代谢性疾病者;③妊娠结局为流产者;④双胎妊娠或非整倍体妊娠;⑤合并严重胎儿畸形者。研究对象均对本研究知情同意。本研究经院伦理委员会审批同意。

1.2 研究方法

1.2.1 实验室指标

所有产妇妊娠晚期均采集空腹静脉血5 mL,采用全自动血细胞分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司,型号:LH750)检测血常规,获取白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞计数与NLR等资料。

1.2.2 fFN水平检测及计算方法

使用灭菌的专用棉拭子在阴道后穹窿处,采集宫颈阴道分泌物,取出置于磷酸盐缓冲液中充分洗涮,采用酶联免疫吸附法检测宫颈分泌物中fFN,具体按照试剂盒说明书操作,胎儿纤维连接蛋白(fFN)ELISA检测试剂盒(货号:JS-SJ-30708)购自上海晶抗生物工程有限公司,使用酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司,型号:DNM-9602)检测处理后的分泌物在450 nm的光密度值,根据标准品浓度绘制标准曲线,计算fFN水平。

1.2.3 宫颈长度测量方法

宫颈长度的测量采用彩色多普勒超声仪(德国西门子有限公司,型号:Antares),探头频率为3.5 MHz,嘱产妇取平卧位,将探头置于耻骨联合上方纵切处,显示宫颈图像并测量宫颈长度。

1.3 观察指标

比较早产与足月妊娠产妇的一般情况、妊娠晚期的血液学参数、宫颈长度与fFN,分析其中早产风险的独立预测因子,并评价其预测效能。

1.4 统计学处理

采用SPSS 21.0软件进行数据处理和分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 t 检验;将 $P < 0.05$ 的指标纳入多因素Logistic回归分析;绘制受试者工作特征曲线评价血清NLR联合fFN、宫颈长度的单独检测以及联合检测对早产风险的评估价值;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组产妇一般情况、血液学参数、宫颈分泌物fFN、宫颈长度的比较

两组产妇年龄、BMI、孕次、产次、淋巴细胞水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),两组产妇孕周、白细胞水平、中性粒细胞水平、NLR、宫颈长度和fFN比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组产妇一般情况、血液学参数、宫颈分泌物fFN与宫颈长度的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general conditions, hematological parameters, cervical secretion fFN and cervical length between the two groups of women ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄	BMI	孕次	产次	孕周	白细胞 ($\times 10^9/L$)	中性粒细胞 ($\times 10^9/L$)	淋巴细胞 ($\times 10^9/L$)	NLR	宫颈长度 (mm)	fFN (ng/mL)
早产组	39	32.95±2.68	23.52±2.92	2.10±1.32	0.81±0.33	33.26±2.71	11.52±4.31	7.51±3.70	1.20±0.49	7.82±3.82	27.15±9.06	95.61±51.82
对照组	52	31.87±3.57	23.85±3.11	2.16±1.35	0.78±0.32	39.72±2.35	8.39±2.56	5.82±2.67	1.41±0.65	4.62±2.25	35.64±7.67	47.53±25.26
t值		1.583	0.514	0.212	0.437	12.150	4.322	2.419	1.757	4.660	4.833	5.338
P值		0.117	0.609	0.833	0.663	0.000	0.000	0.018	0.082	0.000	0.000	0.000

2.2 早产的多因素 Logistic 回归分析

以胎儿早产为因变量,以表1结果有统计学意义的指标为自变量,Logistic 回归分析结果显示,NLR、fFN水平升高以及宫颈长度缩短是发生早产的独立影响因素($P < 0.05$)。见表2。

表2 早产的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of preterm labor

变量	β 值	S.E	Wald	OR	95%CI	P值
孕周	2.198	1.146	3.678	9.007	0.953~85.128	0.055
白细胞水($\times 10^9/L$)	1.846	1.123	2.702	6.334	0.701~57.230	0.100
中性粒细胞水平 ($\times 10^9/L$)	1.972	1.086	3.297	7.185	0.855~60.374	0.069
NLR(X1)	1.352	0.437	9.572	3.865	1.126~6.418	0.002
宫颈长度(X2)	-0.421	0.137	9.443	0.656	0.415~0.875	0.002
fFN(X3)	0.125	0.039	10.272	1.133	1.052~1.227	0.001

2.3 早产预测的 ROC 曲线

绘制NLR、fFN水以及宫颈长度对胎儿早产的ROC曲线分析显示,NLR、fFN水以及宫颈长度的最佳截断值分别为4.185、52.035和24.570,联合检测的AUC、敏感度和特异性均明显高于NLR、fFN水以及宫颈长度单独检测。见表3、图1。

表3 早产预测 ROC 曲线

Table 3 ROC curve for preterm delivery

因素	AUC	截断值	灵敏度	特异度	准确度 (%)
NLR	0.793	4.185	0.692	0.826	76.9
fFN	0.876	52.035	0.821	0.862	84.6
宫颈长度	0.898	24.570	0.923	0.711	81.3
1.352NTR-0.421 宫颈 长度+0.125fFN	0.946	1.818	0.949	0.865	89.0

3 讨论

早产是指妊娠满28周但小于37周的分娩,临床表现为子宫收缩、宫颈管先消退而后扩张,目前主要通过腹部触诊检查宫缩情况,或是超声检测宫颈管情况来评估胎儿情况^[6-7]。随着医学技术和

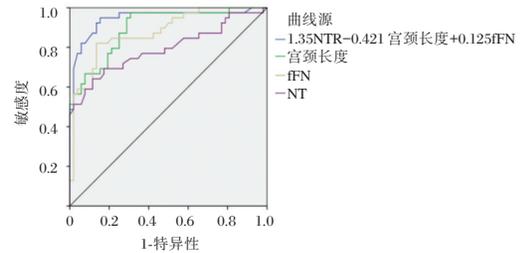


图1 早产预测的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve for preterm birth prediction

医疗设备的快速发展,由于早产儿在母体内生长时间不足,各器官发育不够健全,因肺发育不全、脑室内出血、小肠坏死性炎症等发病住院风险很高,及早识别高早产风险产妇,及时采取措施预防和干预早产的发生,有利于改善新生儿的预后^[8]。本研究综合产妇的炎性参数、fFN与宫颈长度等情况,进行早产风险预测效能评价,以期临床提供更可靠且方便获得的早产预测参考指标。

有研究发现,孕周低于34周的产妇很有可能发生早产风险^[9]。本研究结果中,孕周与发生早产风险有关,原因在于早产是胎儿肺表面活性物质合成及释放不足,继而引发呼吸窘迫或呼吸暂停,呼吸道的分泌物不能及时排出有关。因此对于孕周小于34周的产妇,在评估产前糖皮质激素的临床疗效及远期潜在风险的前提下,个体化用药防护。白细胞和中性粒细胞是常见的炎症因子指标,机体白细胞计数水平或中性粒细胞水平高于正常值,很有可能是身体存在炎症和感染分享。结果显示,与足月妊娠产妇相比,早产组产妇白细胞、中性粒细胞计数水平明显更高,提示早产产妇可能存在一定胎盘炎症,而妊娠期间宫内感染导致胎盘炎症又是早产的高危因素,与不良新生儿结局紧密相关,诸如败血症、脑瘫和低出生体重,极大地增加了早产和新生儿死亡率^[9-10]。徐澈^[11]研究结果发现,早产胎膜早破组产妇的白细胞计数水平、中性粒细胞百分比均高于足月胎膜早破

组和足月健康产妇,与本研究结果相似。Logistic 回归分析显示,白细胞计数和中性粒细胞水平不是孕晚期产妇发生早产风险的独立危险因素,分娩的过程是一个炎症过程,该过程中会伴随白细胞计数和中性粒细胞水平的增加,分娩前外周血中的白细胞处于待发状态,会在早产发动激活。因此,相关炎症因子可能预测早产,但不是发生早产风险的独立影响因素^[12]。

NLR 是反映机体炎症状态和免疫状态的重要指标,NLR 水平越高表示机体存在炎症和免疫异常^[13]。有研究采用孕晚期孕妇外周血 NLR 水平变化及其对早产的预测价值研究发现,检测 NLR 水平预测早产具有较高的灵敏度和特异度,密切监测 NLR 水平有助于尽早预测早产^[14]。本研究结果亦证实了 NLR 升高是发生早产的独立影响因素。考虑原因是,宫内感染引起 NLR 水平升高,绒毛膜受和蜕膜炎性区域到刺激,刺激细胞因子的释放,从而导致机体白细胞亚群数量发生变化,促使中性粒细胞计数增加和淋巴细胞减少,继而诱发早产。临床上关于宫颈长度的临界值争议较大,以 20 mm、25 mm、30 mm 作为宫颈缩短的文献均见报道,其中 25 mm 报道较多^[15]。本文中观察到早产组产妇宫颈长度确实显著短于足月妊娠产妇,且测量宫颈长度时具有较高灵敏度和特异度,对早产的预测效果最佳。当接近生产之际,子宫出现规律收缩,胎膜和子宫壁会摩擦,进而产生 fFN,代表胎膜正从子宫处剥离,因此若还未足月却在宫颈分泌物中检测出 fFN 阳性,则提示可能有较高的早产风险^[16]。早产产妇宫颈分泌物中 fFN 高于足月妊娠产妇,既往研究指出 fFN>50 ng/mL 为阳性,本文中采用 ROC 曲线分析得到最佳截断值接近该文献中阳性参考值。fFN 由于仅局限在母婴集合部位的基质结构中,如羊水、羊膜与胎盘组织,多学者研究认为 fFN 是不依赖于孕周的独立预测因素,在不同妊娠阶段均有一定预测价值,但本文仅就妊娠晚期的 fFN 进行讨论,妊娠晚期中高水平 fFN 提示着早产高风险^[17-18]。

综上所述,孕产妇妊娠晚期血清高 NLR、高 fFN 与宫颈过短提示早产风险高,妊娠晚期检测血清 NLR 联合 fFN、宫颈长度能显著提高早产风险预测效能,且 NLR 均为容易获取的无创性血液学参数,在临床中将有广泛的运用前景。

参考文献

- [1] 裴毓雯,温宇文,李广,等. 妊娠晚期母体血清中性粒/淋巴细胞比值可作为预测与胎盘炎症的指标[J]. 南方医科大学学报, 2018, 38(9): 1131-1134.
- [2] 许肖娜,程蔚蔚. 早产预测方法研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(12): 1416-1419.
- [3] 黄艳丽. 早产孕妇血清 IL-6、IL-17 和宫颈分泌物 fFN 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2015, 55(4): 80-81.
- [4] 郭煦,谢洪哲,柯尊富. 治疗前 NLR 和 PLR 对宫颈癌患者预后的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015, 7(6): 372-382.
- [5] Gezer C, Ekin A, Solmaz U, et al. Identification of preterm birth in women with threatened preterm labour between 34 and 37 weeks of gestation [J]. J Obstet Gynaecol, 2018, 38(5): 652-657.
- [6] 付锦娟,陈友鹏,陈新. 早产的发生机制及预测因子新进展[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2019, 40(4): 334-338.
- [7] 黄颖敏,陈智毅. 超声技术评估妊娠宫颈在预测早产中的应用进展[J]. 临床超声医学杂志, 2021, 23(1): 61-64.
- [8] 王恺斌,李励,刘媛媛,等. 早产无创性检测生物标志物研究进展及其应用前景[J]. 第二军医大学学报, 2019, 40(6): 589-594.
- [9] 孙雯,刘世良. 生殖道感染与早产[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(2): 140-143.
- [10] 刘海防,陈旭. 糖链抗原 125、19-9 和中性粒细胞/淋巴细胞比值与子宫内膜异位症患者术后妊娠率的关系 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2018, 24(5): 333-336.
- [11] 徐澈,吴庆庆,李慧杰. 早产胎膜早破孕妇血清 S100 钙结合蛋白 A12 的表达[J]. 中国医师进修杂志, 2018, 41(3): 252-255.
- [12] 张琦,董晓静. 早产预测指标概况[J]. 中外医疗, 2019, 38(24): 195-198.
- [13] 雷丽. 中性粒细胞与淋巴细胞比值对孕晚期胎盘炎症发病的预测效果[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(1): 92-94.
- [14] 彭晓慧,宋凤丽,马秀华. 孕晚期孕妇外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值对早产的预测价值[J]. 中国性科学, 2021, 30(6): 56-59.
- [15] Varley-Campbell J, Mújica-Mota R, Coelho H, et al. Three biomarker tests to help diagnose preterm labour: a systematic review and economic evaluation [J]. Health Technol Assess, 2019, 23(13): 1-226.
- [16] Oh KJ, Romero R, Park JY, et al. A high concentration of fetal fibronectin in cervical secretions increases the risk of intra-amniotic infection and inflammation in patients with preterm labor and intact membranes [J]. J Perinat Med, 2019, 47(3): 288-303.
- [17] Varley-Campbell J, Mújica-Mota R, Coelho H, et al. Three biomarker tests to help diagnose preterm labour: a systematic review and economic evaluation [J]. Health Technol Assess, 2019, 23(13): 1-226.
- [18] 陈爽爽,胡兵. 超声检查预测早产应用进展[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35(9): 1422-1425.

STIM1 蛋白、尿蛋白、GST 在急性缺血性脑梗死中的表达及临床意义

时芳芳^{1*} 胡加运¹ 杨颖楠¹ 韦慧玲²

[摘要] 目的 研究基质相互作用因子1(STIM1)蛋白、尿蛋白、谷胱甘肽 S-转移酶(GST)在急性缺血性脑梗死中的表达及临床意义。方法 收集 2018 年 5 月至 2020 年 10 月郑州市金水区总医院收治的 127 例急性缺血性脑梗死患者作为研究组,同时根据临床神经功能缺损程度评分标准将患者分为:轻度组(40 例)、中度组(49 例)和重度组(38 例),另选取 82 例同时间段行健康体检者作为健康组。比较两组以及不同程度急性缺血性脑梗死患者 STIM1 蛋白、尿蛋白、GST 水平。分析影响急性缺血性脑梗死患者预后的独立危险因素。结果 研究组 STIM1 蛋白、尿蛋白高于对照组,GST 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同程度急性缺血性脑梗死患者 STIM1 蛋白、尿蛋白:重度组>中度组>轻度组,GST:重度组<中度组<轻度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。性别、吸烟、平均体质量不是影响患者预后的因素($P>0.05$);年龄、STIM1、尿蛋白、GST、病情程度、家族史为影响急性缺血性脑梗死患者预后的单因素($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归模型分析显示,年龄、STIM1、尿蛋白、GST、病情程度、家族史为影响急性缺血性脑梗死患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 STIM1 蛋白、尿蛋白及 GST 水平变化可在一定程度上对急性缺血性脑梗死患者预后产生影响,临床可考虑将其应用于急性缺血性脑梗死检测中。

[关键词] STIM1 蛋白;尿蛋白;GST;急性缺血性脑梗死

Expression and clinical significance of STIM1 protein, urine protein and GST in acute ischemic cerebral infarction

SHI Fangfang^{1*}, HU Jiayun¹, YANG Yingnan¹, WEI Huiling²

(1. Department of Laboratory Medicine, General Hospital of Jinshui District, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. The Seventh People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the expression of stromal interaction molecule 1 (STIM1) protein, urine protein and glutathione S-transferase (GST) in acute ischemic cerebral infarction and their clinical significance. **Methods** 127 patients with acute ischemic cerebral infarction admitted to Jinshui District General Hospital of Zhengzhou from May 2018 to October 2020 were collected as the study group, and the patients were divided into the mild group, the moderate group, and the severe group according to the clinical neurological impairment scoring standard, another 82 patients who underwent physical examination at the same period were selected as the healthy group. The levels of STIM1 protein, urine protein and GST were compared between the two groups and patients with different degrees of acute ischemic cerebral infarction. The independent risk factors that affected the prognosis of patients with acute ischemic cerebral infarction were analyzed. **Results** STIM1 protein and urine protein in the study group were higher than those in the control group, and the GST level was lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). STIM1 protein and urine protein in patients with different degrees of acute ischemic cerebral infarction: the severe group > the

基金项目:河南省医学科技攻关计划(201802139)

作者单位:1. 郑州市金水区总医院检验科,河南,郑州 450000

2. 郑州市第七人民医院,河南,郑州 450000

*通信作者:时芳芳, E-mail:wyuny11@163.com

moderate group > the mild group, GST: the severe group < the moderate group < the mild group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Gender, smoking, and average body weight were not the factors affecting the prognosis of patients ($P > 0.05$). Age, STIM1, urine protein, GST, degree of disease and family history were the single factors influencing the prognosis of patients with acute ischemic cerebral infarction ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression model analysis showed that age, STIM1, urine protein, GST, disease severity, and family history were independent risk factors that affected the prognosis of patients with acute ischemic cerebral infarction ($P < 0.05$). **Conclusion** The changes of STIM1 protein, urinary protein and GST levels can affect the prognosis of patients with acute ischemic cerebral infarction to a certain extent, and it can be considered for clinical application in the detection of acute ischemic cerebral infarction.

[KEY WORDS] STIM1 protein; Urine protein; GST; Acute ischemic cerebral infarction

急性缺血性脑梗死又称为中风或者脑卒中,属于神经内科较为常见的一种急性脑血管疾病。临床认为脑梗死是由于脑局部出现血液灌注障碍,导致脑组织出现变性甚至坏死的疾病。脑梗死也可由血管壁病变、血管压迫、心脏疾病、血流动力学改变等因素引发^[1]。急性缺血性脑梗死多发于中老年人群,具有高致残率、高发病率、高病死率、高复发率及多并发症的特点,对患者及家庭造成严重影响^[2]。临床上对于急性缺血性脑梗死的诊治及预后的评估治疗十分重视。为准确评估患者预后以及为临床治疗提供有效的依据,本文对基质相互作用因子1(stromal interaction molecule 1, STIM1)蛋白、尿蛋白及谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)在急性缺血性脑梗死中的表达及临床意义进行研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年5月至2020年10月郑州市金水区总医院收治的127例急性缺血性脑梗死患者设为研究组。根据临床神经功能缺损程度评分标准^[3]将患者分为:轻度组(0~15分,40例)、中度组(16~30分,49例)和重度组(31~45分,38例)。纳入标准:①符合2015年中华医学会神经科学会制定的急性脑梗死诊断标准^[3];②在本院医治且临床及影像学资料完整。排除标准:①存在心、肝、肾等严重疾病者;②有恶性肿瘤或免疫缺陷性疾病者;③精神疾病或存在相关家族史,不能配合本研究者;④骨质严重疏松者。同时选取82例同时间段行健康体检者作为健康组。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。本研究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。

表1 两组资料比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	性别(男/女)	平均年龄(岁)	平均体质量(kg/m ²)
研究组	127	76/51	61.95±4.36	23.05±3.86
健康组	82	46/36	61.51±4.41	22.98±4.58
χ^2 值		0.288	0.709	0.119
P值		0.592	0.479	0.906

1.2 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。采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测GST,试剂盒购自上海研域化学试剂有限公司,严格按照使用说明书进行操作检测。参考值^[4]: ≤ 14.7 为异常。

采用western blot检测STIM1的蛋白含量,实验过程中所使用的STIM1一抗来自Abcam公司。参考值^[5]: ≥ 72.86 为异常。

患者于检查前日上午8时把膀胱排空,然后计时,将次日8时为止的全部尿液都收集起来,集尿时于便盆中加入40%甲醛液1 mL作为防腐剂,准确测量尿液的总量,记录下来,然后搅拌均匀,取200 mL采用全自动生化分析仪测定尿蛋白水平,阳性标准^[6]:尿蛋白 > 150 mg/24 h。

1.3 随访

通过复查、电话等方式对患者发病三个月后的恢复情况随访,时间截止至2021年1月,以美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale, NIHSS)^[5]评分系统为标准进行评价,以发生中风、复发或死亡作为预后不良的标准。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行t检验,多组间比较行F检验;计数资料采用n(%)表示,行 χ^2 检验;采用

Logistic 回归分析影响急性缺血性脑梗死患者预后的独立危险因素, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 STIM1 蛋白、尿蛋白、GST 比较

研究组 STIM1 蛋白、尿蛋白高于对照组, GST 水平低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 STIM1 蛋白、尿蛋白、GST 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of STIM1 protein, urine protein, GST between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	STIM1 (ng/mL)	尿蛋白 (mg/24 h)	GST (ng/mL)
研究组	127	90.26±10.62	197.19±5.69	8.94±2.89
健康组	82	23.89±6.59	42.97±3.75	16.35±4.81
t 值		50.624	216.816	13.911
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同程度急性缺血性脑梗死患者 STIM1 蛋白、尿蛋白、GST 比较

STIM1 蛋白、尿蛋白: 重度组 > 中度组 > 轻度组, GST: 重度组 < 中度组 < 轻度组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同程度急性缺血性脑梗死患者 STIM1 蛋白、尿蛋白、GST 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of STIM1 protein, urine protein and GST in patients with different degrees of acute ischemic cerebral infarction ($\bar{x} \pm s$)

时间	n	STIM1 (ng/mL)	尿蛋白 (mg/24 h)	GST (ng/mL)
重度组	38	98.53±11.48 ^{ab}	203.38±5.04 ^{ab}	6.89±2.19 ^{ab}
中度组	49	90.03±10.61 ^a	195.58±5.58 ^a	8.26±2.48 ^a
轻度组	40	82.69±9.53	193.28±4.62	11.72±2.98
F 值		21.95	41.65	37.21
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与轻度组相比, ^a $P < 0.05$ 。与中度组相比, ^b $P < 0.05$ 。

2.3 影响急性缺血性脑梗死患者预后的单因素分析

通过为期 3 个月的随访得知, 患者预后良好 95 例, 预后不佳 32 例。经对影响急性缺血性脑梗死患者预后的单因素进行分析, 发现性别、吸烟、平均体质量非影响患者预后的因素 ($P > 0.05$); 年

龄、STIM1、尿蛋白、GST、病情程度、家族史为影响膀胱尿路上皮细胞癌患者预后的单因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 影响急性缺血性脑梗死患者预后的单因素分析

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

Table 4 Analysis of single factors affecting the prognosis of patients with acute ischemic cerebral infarction [($\bar{x} \pm s$), n(%)]

变量		预后不佳 (n=32)	预后良好 (n=95)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)	≥60	20(62.50)	39(51.05)	4.427	0.035
	<60	12(37.50)	56(58.95)		
性别	男	17(53.13)	48(50.53)	0.065	0.799
	女	15(46.88)	47(49.47)		
吸烟	有	18(56.25)	53(55.79)	0.002	0.964
	无	14(43.75)	42(44.21)		
家族史	有	22(62.50)	40(42.11)	6.801	0.009
	无	10(31.25)	55(57.89)		
病情程度	轻度	5(15.63)	33(34.74)	7.769	0.021
	中度	11(34.38)	38(40.00)		
	重度	16(50.00)	24(25.26)		
平均体质量(kg/m ²)		22.89±3.56	23.08±4.18	0.230	0.818
STIM1 (ng/mL)		93.52±10.85	89.16±6.96	2.633	0.001
尿蛋白 (mg/24 h)		201.25±5.89	195.82±3.63	6.174	<0.001
GST (ng/mL)		7.25±2.56	9.51±4.36	2.771	0.006

2.4 影响急性缺血性脑梗死患者预后的因素分析

经多因素 Logistic 回归模型分析结果得出, 年龄、STIM1、尿蛋白、GST、病情程度、家族史为影响急性缺血性脑梗死患者预后的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

急性缺血性脑梗死临床表现比较复杂, 取决于梗死部位和梗死体积, 且不同类型的脑缺血有着不同的临床表现, 主要以局灶性神经功能缺损的症状和体征为特征, 如偏瘫、失语、共济失调等, 部分可表现为头痛、呕吐、昏迷等全脑症状。急性缺血性脑梗死多发生于中老年人群中, 同时其也是老年人致死、致残的重要原因之一。由于该病病死率和致残率较高, 故早期诊断并干预脑梗死的致病危险因素对于疾病的发展及预后尤为重要。

表 5 影响急性缺血性脑梗死患者预后的多因素分析

Table 5 Analysis of multiple factors affecting the prognosis of patients with acute ischemic cerebral infarction

组别	回归系数	标准误	wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
年龄(>60 岁 vs <60 岁)	0.695	0.263	7.515	2.004	1.197~3.355	0.035
STIM1 (≤14.7 vs >14.7)	0.626	0.236	7.281	1.870	1.178~2.970	<0.001
尿蛋白(阳性 vs 阴性)	0.635	0.196	6.384	1.887	1.285~2.471	<0.001
GST (≥72.86 vs <72.86)	0.723	0.365	6.715	2.061	1.008~4.314	<0.001
病情程度(轻 vs 中 vs 重)	0.753	0.295	7.578	2.123	1.191~3.786	0.021
家族史(有 vs 无)	0.813	0.399	6.782	2.255	1.031~4.929	0.009

有研究认为肾脏、脑是血管高度集中的地方,具有低阻抗和高血流等特点,肾脏功能受损可通过尿蛋白、血肌酐、血胱蛋白酶抑制剂C等生物指标早期发现,而脑血管病变常表现出神经功能的缺乏,关注肾功能等于关注脑血管,常规筛查尿常规、检测尿蛋白对早期发现肾损伤、预防脑卒中有重要临床意义^[7]。GST是体内重要的抗氧化酶,当脑组织受到损伤时,其生物学活性作用降低,此现象可以向外界发出脑组织缺血、神经细胞大量死亡的提示^[8]。研究认为,血小板参与缺血性脑卒中的病理生理过程,血小板激活、聚集、活化、参与形成血栓,从而影响急性缺血性脑梗死的发生;STIM1参与血小板激活、聚集、活化,因此STIM1可作为急性缺血性脑梗死的临床检测指标^[9]。本文研究结果显示,研究组STIM1蛋白、尿蛋白的表达高于对照组,GST表达低于对照组,这与Zhang等^[10]研究结果相似。临床有研究发现蛋白尿是由肾小球毛细血管壁渗透性增加和肾小管上皮细胞重吸收受损引起的,其突然增加可反映肾小球和诸多血管床内膜受损,内皮功能出现障碍患者常出现动脉粥样硬化^[11]。GST可催化谷胱甘肽与电子物质结合,生成具有抗脂质过氧化作用的物质,其可保护机体脑组织免受抗氧化损伤,减轻毒性物质和致癌剂对细胞的损伤严重程度^[12]。STIM1可以调控血小板内游离钙离子浓度,从而参与调解血小板的激活、聚集与活化,影响血栓形成^[13]。周慧等^[14]认为STIM1蛋白表达增加提示患者具有更严重的脑卒中。本研究结果与上述周慧等人研究结果相似。张晓愉等^[15]认为尿蛋白水平升高为脑梗死病人病情进展的独立危险因素,可用于病情评估,为预防病情进展提供有效指导。本研究发现STIM1蛋白、尿蛋白及GST等为影响脑梗死患者预后的因素,说明STIM1蛋白、尿蛋白及GST的异常变化会在一定程度上对急性缺血性脑梗死患者预后产生影响。

综上所述,STIM1蛋白、尿蛋白及GST水平变化可在一定程度上对急性缺血性脑梗死患者预后产生影响,临床可考虑将其应用于急性缺血性脑梗死检测中。

参考文献

- [1] 孙媛媛,余其贵,谢军.血清Hcy、hs-CRP在急性脑梗死患者的表达及与病情程度的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(12):1652-1656.
- [2] 陈加平,徐令奇,谭彩萍,等.血浆和肽素水平与急性脑梗死患者病情及近期预后的关系分析[J].临床和实验医学杂志,2019,18(5):489-492.
- [3] Ling ZC, Xin HF, Xiang MW, et al. Expression of miR-93-5p in patients with esophageal carcinoma and its relationship with the curative effect and prognosis of radiotherapy [J]. Cellul Mol Biol (Noisy-le-Grand, France), 2020,66(2):41-46.
- [4] Zhang AW, Han XS, Xu XT, et al. Acute phase serum cathepsin S level and cathepsin S/cystatin C ratio are the associated factors with cerebral infarction and their diagnostic value for cerebral infarction [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2019, 35(2):95-101.
- [5] Xin M, Hao Y, Huang G, et al. The efficacy and safety of salvianolic acids on acute cerebral infarction treatment: A protocol for systematic review and meta analysis [J]. Medicine, 2020,99(23):20-59.
- [6] 刘萍.急性期脑梗死患者血清UCH-L1和GFAP水平及其与病情和神经功能缺损程度的相关性研究[J].实用医院临床杂志,2019,16(2):173-176.
- [7] Oprescu N, Micheu MM, Scafa-Udriste A, et al. Inflammatory markers in acute myocardial infarction and the correlation with the severity of coronary heart disease [J]. Ann Med, 2021,53(1):1040-1046.
- [8] 范凝芳,崔雅丽,晋建华.血清Hcy、D-Dimer、GGT及hs-CRP水平与老年急性缺血性脑梗死的相关性研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(19):3055-3057.
- [9] Eliassen BM, Jacobsen BK, Melhus M, et al. Changes in conventional cardiovascular risk factors and the estimated 10-year risk of acute myocardial infarction or cerebral stroke in Sami and non-Sami populations in two population-based cross-sectional surveys: the SAMINOR Study [J]. BMJ Open, 2019,9(7):28-39.
- [10] Zhang C, Zhou J, Zhou T. Relationship of electrocardiographic changes and severity of acute cerebral ischemic stroke in old patients: A clinical observational study [J]. Medicine, 2021,100(26):26-48.
- [11] 王晋雁,焦丽萍,郝丽莎,等.血清Cav-1、YKL-40在急性脑梗死中的表达及其联合检测对预后的评估价值[J].中国医师杂志,2021,23(2):231-235.
- [12] Hu HJ, Lu X, et al. XPF expression and its relationship with the risk and prognosis of colorectal cancer [J]. Canc Cell Int, 2021,21(1)29-37.
- [13] Cao Z, Wang H, Zhu X. The Role of Serum miR-497 on the Predictive Index of Early Diagnosis and Poor Prognosis of Atherosclerosis Cerebral Infarction [J]. Iranian J Public Health, 2021,50(5):10-16.
- [14] 周慧,董鸣,刘杰.血小板STIM1蛋白表达水平与急性缺血性脑卒中严重程度及预后的相关性研究[J].中国地方病防治杂志,2016,31(9):1025-1027.
- [15] 张晓愉,栾少群,张涛,等.甘油三酯、尿蛋白、氧化低密度脂蛋白对急性腔隙性脑梗死临床分析[J].内蒙古医科大学学报,2019,41(1):63-66.

不同 Ig 类型多发性骨髓瘤患者血脂测定及与预后的关系

张晓娇* 朱太岗 张飞虎 董漫玉

[摘要] **目的** 探讨不同 Ig 类型多发性骨髓瘤(MM)患者血脂测定及与预后的关系。**方法** 分析 2017 年 1 月至 2021 年 3 月皖北煤电集团总医院血液科 83 例 MM 患者,选取同期 35 名健康体检者为对照组。分析不同 Ig 类型 MM 患者血脂指标与预后的关系。**结果** 观察组 HDL-C、LDL-C 及 TC 显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$); IgG 型、IgA 型 HDL-C、LDL-C、TC 均显著低于轻链型,差异有统计学意义($P<0.05$); IgD 型、IgM 型 HDL-C、LDL-C 均显著低于轻链型,差异有统计学意义($P<0.05$); IgG 型、IgA 型、轻链型、IgD 型、IgM 型患者预后不良占比分别为 68.57%、59.26%、43.75%、33.33%、0.00 ($P<0.05$); Pearson 相关分析表明,不同 Ig 类型 MM 患者 HDL-C、LDL-C、TC 与患者预后呈正相关($P<0.05$)。**结论** 不同 Ig 类型 MM 患者血脂水平差异较大,且低血脂水平 MM 患者预后较差。

[关键词] Ig 类型;多发性骨髓瘤;血脂

Determination of blood lipids in patients with multiple myeloma of different Ig types and its relationship with prognosis

ZHANG Xiaojiao*, ZHU Taigang, ZHANG Feihu, DONG Manyu

(Department of Hematology, Wanbei Coal Power Group General Hospital, Suzhou, Anhui, China, 234000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between blood lipids and prognosis in patients with multiple myeloma (MM) of different Ig types. **Methods** A retrospective analysis of 83 MM patients in the Department of Hematology, Wanbei Coal and Electricity Group General Hospital from January 2017 to March 2021, during the same period, 35 healthy subjects were selected as the control group. The relationship between blood lipid indicators and prognosis of patients with different Ig types of MM was analyzed. **Results** The HDL-C, LDL-C and TC levels in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). IgG type, IgA type HDL-C, LDL-C and TC were significantly lower than light chain type ($P<0.05$). IgD type, IgM type HDL-C, LDL-C are significantly lower than light chain type ($P<0.05$). The proportion of IgG, IgA, light chain, IgD and IgM patients with poor prognosis was 68.57%, 59.26%, 43.75%, 33.33% and 0.00 respectively ($P<0.05$); Pearson correlation analysis showed that HDL-C, LDL-C and TC in patients with different Ig types of MM were positively correlated with the patient's prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** The blood lipid levels of MM patients with different Ig types are quite different, and the prognosis of MM patients with lower blood lipid levels is poor.

[KEY WORDS] Ig type; Multiple myeloma; Blood lipids

多发性骨髓瘤(Multiplemyeloma, MM)为临床常见浆细胞恶性疾病,其特征为骨髓中浆细胞无限制增生,伴有大量免疫球蛋白分泌,引起器官受

损^[1]。中老年人为此病好发人群,流行病学显示,我国 MM 发病率相较西方国家低,但发病率呈逐年增长趋势^[2]。依据不同免疫球蛋白(Immuno-

基金项目:宿州市科技计划项目(2020121)

作者单位:安徽皖北煤电集团总医院血液内科,安徽,宿州 234000

*通信作者:张晓娇, E-mail:ZXJ18133202665@163.com

globulin, Ig)类型分为IgG型、IgA型、IgD型、IgM型、IgE、轻链型、双克隆型及不分泌型。研究表明,不同Ig类型MM患者临床表现不同,IgG较为常见,占比50%左右;IgA型MM患者疾病发展相对较快,凝血功能障碍,对化疗反应差,预后不理想;IgD型患者发病逐渐年轻化^[3]。随着骨髓瘤生物学的发展与完善,造血干细胞移植及靶向治疗对患者病情具有极大改善作用,患者生存率大大提升,但仍存在复发,其预后问题为临床研究热点^[4]。靳晓萍等^[5]研究表明,体内脂代谢水平的正常代谢对机体内环境稳定有重要维持作用。本研究通过检测不同Ig类型多发性骨髓瘤患者的血脂水平,探究其与预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析2017年1月至2021年3月皖北煤电集团总医院血液科83例MM患者为观察组,其中男性52例,女性31例,平均年龄为(63.59±10.68)岁,IgG型35例,IgA型27例,IgD型3例,IgM型1例,轻链型16例,1例为浆细胞疾病,未检测到IgE、双克隆型及不分泌型。于同期,选取35名健康体检者为对照组,其中男性21例,女性14例,平均年龄为(62.47±10.25)岁,经体检后确定无家族肿瘤史,心、肝、肾等重要器官均良好。两组性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①均符合MM相关诊断标准,参照《血液病诊断及疗效标准》^[6];②在本院血液科接受化疗治疗;③患者精神正常,能够有效配合;④临床资料完整;⑤近未服用激素或抗病毒治疗。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并其他严重脏器功能损伤;③拒绝化疗者;④预计生存期<6个月;⑤中途转院或退出治疗。所有患者及家属均知情并签署同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

收集MM患者初诊时或化疗前血脂相关指标,包括高密度脂蛋白(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total Cholesterol, TC),并收集MM患者化疗后的相关指标。所有MM患者血脂测定均在入院时清晨空腹采集静脉血所获得,采

用氧化酶法测定TG、TC、HDL-C,采用直接测定法测定患者LDL-C,检测使用全自动生化分析仪(生产厂家:基蛋生物科技股份有限公司)及配套试剂。对照组人群血脂相关指标均为体检时所得。HDL-C正常范围为^[6]:0.78~2.20 mmol/L, LDL-C正常范围为:1.30~4.10 mmol/L, TG正常范围为:0.40~1.70 mmol/L, TC正常范围:3.00~5.69 mmol/L。

预后评判标准^[7]:M蛋白转为阴性,骨髓浆细胞比例在5%以下,血清及IFE(尿免疫固定电泳)为阴性即为完全缓解(CR);血清M蛋白减少超过50%,20h尿蛋白检测90%以上下降或24h在200mg以下即为部分缓解(PR);血清M蛋白绝对值上升超过5g/L,尿蛋白上升绝对值24h内在200mg以上即为疾病稳定(SD);满足以下条件即为疾病进展(PD):①骨髓浆细胞比例上升超过25%,②血清M蛋白在50g/L以上;循环浆细胞上升超过50%,原有短径 ≥ 1 cm的病变增加超过50%即为复发。CR、PR、SD为预后良好,PD、复发为预后不良。化疗结束后随访6个月,随访截止至2021年9月,通过门诊复查或电话随访方式,获悉患者预后情况。

1.3 统计学分析

数据采用SPSS 22.0软件分析,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;正态分布计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组间行单因素方差分析,两两成对比较行LSD- t 检验;相关性分析采用Spearman相关分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血脂相关指标比较

观察组HDL-C、LDL-C及TC显著低于对照组,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 观察组不同Ig类型血脂相关指标比较

IgG型、IgA型HDL-C、LDL-C、TC均显著低于轻链型,差异有统计学意义($P<0.05$);IgD型、IgM型HDL-C、LDL-C均显著低于轻链型,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2、图1。

2.3 不同Ig类型MM患者预后分析

分析不同Ig类型MM患者预后情况,IgG型、IgA型、轻链型、IgD型、IgM型患者预后不良占比分别为68.57%、59.26%、43.75%、33.33%、0.00,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表1 两组患者血脂相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood lipid-related indicators between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)
观察组	83	1.12±0.36	2.15±0.95	1.41±0.82	3.82±1.36
对照组	35	1.75±0.57	3.02±0.02	1.52±0.34	4.93±0.31
t值		-8.089	-5.407	-0.775	-4.788
P值		<0.001	<0.001	0.439	<0.001

表2 观察组不同Ig分型血脂相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of blood lipid related indexes of different Ig types in the observation group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)
IgG	35	0.89±0.35	2.11±1.03	1.24±0.58	3.90±1.48
IgA	27	0.92±0.40	2.15±0.90	1.51±1.15	1.42±0.27 ^a
轻链型	16	1.77±0.30 ^{ab}	2.89±0.23 ^{ab}	1.55±0.67	4.02±0.91 ^b
IgD	3	1.12±0.39 ^c	1.78±1.18 ^c	1.39±0.33	3.24±1.02 ^b
IgM	1	0.84±0.00 ^c	3.89±0.00 ^c	1.87±0.00	5.66±0.00 ^b
F值		14.119	8.825	0.570	12.203
P值		<0.001	<0.001	0.685	<0.001

注:与IgG型比较,^aP<0.05;与IgA型比较,^bP<0.05;与轻链型比较,^cP<0.05;与IgD型比较,^dP<0.05。

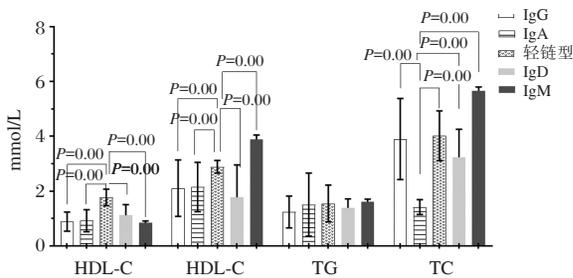


图1 观察组不同Ig分型血脂相关指标比较

Figure 1 Comparison of blood lipid associations of different Ig types in the observed groups

表3 不同Ig分型MM患者预后分析 [n(%)]

Table 3 Prognosis analysis of MM patients with different Ig types [n(%)]

组别	n	预后良好	预后不良
IgG	35	11(31.43)	24(68.57)
IgA	27	11(40.74)	16(59.26)
轻链型	16	9(56.25)	7(43.75)
IgD	3	2(66.67)	1(33.33)
IgM	1	1(100.00)	0(0.00)
χ ² 值			5.096
P值			0.023

2.4 不同Ig分型MM患者血脂与预后的相关性分析

将血脂相关指标(HDL-C、LDL-C、TG、TC)做Pearson相关分析表明,不同Ig类型MM患者

HDL-C、LDL-C、TC与患者预后呈正相关($r=0.415, P<0.05; r=0.386, P<0.05; r=0.476, P<0.05$),TG与患者预后无显著相关性($r=0.080, P>0.05$)。见图2。

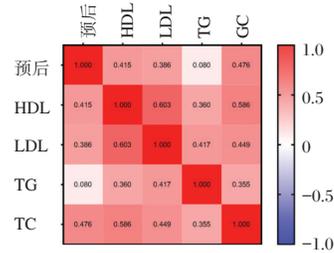


图2 不同Ig分型MM患者血脂与预后的相关性热图

Figure 2 Heatmap of lipid and prognosis in MM patients with different Ig types

3 讨论

MM为血液系统常见恶性肿瘤,因其具有骨性病变及贫血等特点,易致患者死亡风险指数上升^[8]。随着医疗水平的推进,免疫调节药物的完善,MM患者总体生存得到较大改善,但部分高危亚型患者预后仍较差,其复发比例仍较高。相关文献报道,半数MM患者完全缓解后仍存在病情反复发展现象,给患者造成巨大痛苦^[9]。因此临床治疗中,应密切关注患者病情进展及预后情况,寻找有价值的指标,改善患者生存率。大量研究表明,血脂与肿瘤的发生发展关系密切^[10]。国外出现过相关报道,血清胆固醇水平异常为癌症患者死亡的关键因素^[11]。

本研究共纳入83例MM患者,其中1例属于浆细胞疾病,另外82例亚型患者中,IgG性35例,占比42.68%;其次为IgA,占比32.93%;IgG型比IgA及其他类型多,这一点与白菊等^[12]结论一致。血脂由三酰甘油、胆固醇、磷脂及蛋白质组成,根据脂蛋白密度不同而分为高密度脂蛋白、低密度脂蛋白,其发挥机制不同。临床中常用TG、TC、HDL-C、LDL-C作为衡量血脂代谢水平指标。本研究中通过测定观察组与对照组的血脂相关指标,发现观察组HDL-C、LDL-C及TC显著低于对照组,TG虽略低于对照组,但比较无显著差异。说明MM患者中胆固醇及脂蛋白较健康人群低。可能原因:MM患者骨髓瘤细胞大量在机体增生,吸取机体大量营养物质,而TC为细胞膜主要成分,于是其胆固醇及白蛋白显著减少^[13]。国外Chauhan等^[14]通过探究小鼠的骨髓瘤细胞,发现其

得以在无血清条件下存活的条件为胆固醇的存在。胆固醇合成较复杂,在基本细胞生命活动中发挥重要作用,因而MM患者中TC水平呈现下降极大可能受MM细胞膜合成影响。相关研究指出,IgG型、IgA型MM患者中TC、HDL-C、LDL-C均较轻链型低,可能为轻链型骨髓瘤细胞分化较差^[15]。本研究进一步分析不同亚型患者血脂水平的差别,发现IgG型、IgA型HDL-C、LDL-C、TC均显著低于轻链型;IgD型、IgM型HDL-C、LDL-C均显著低于轻链型,而TG、TC水平比较无显著差异;五组分型MM患者TG水平比较均无显著差异。说明不同亚型HDL-C、LDL-C、TC具有显著差异,以上指标的变化对于MM患者Ig类型的鉴别具有重要意义。而不同亚型之间三酰甘油水平无显著差别。本研究中IgD型MM患者仅3例,IgA型MM患者仅1例,样本量较少,有待考证。本研究通过疗效评定MM患者预后情况,以完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)为预后良好,疾病进展(PD)、复发为预后不良,发现IgG型、IgA型、轻链型、IgD型、IgM型患者预后不良占比分别为68.57%、59.26%、43.75%、33.33%、0.00,说明IgG型患者预后最差,其次为IgA型,临床上对于此类患者应加强病情监测,定期随访,叮嘱其按时复查,遵医嘱服药,以降低复发率。本研究将血脂相关指标(HDL-C、LDL-C、TG、TC)做Pearson相关分析,Pearson相关分析表明,不同Ig类型MM患者HDL-C、LDL-C、TC与患者预后呈正相关,TG与患者预后无显著相关性,说明监测不同Ig亚型MM患者中HDL-C、LDL-C、TC等血脂的测定,对评估其预后具有一定临床价值。HDL-C为含有载脂蛋白最多的脂蛋白,MM患者营养不良,白蛋白相对正常人低,加之球蛋白的异常消耗使得大量白蛋白下降,载脂蛋白合成下降,因此多发性骨髓瘤患者中HDL-C降低,而病情越严重其水平越低,预后相对不理想。LDL-C为血清主要载体,有研究报道,肿瘤患者机体内LDL受体活性及数量比正常人低,且病情越轻,其受体活性越高^[16]。

综上所述,多发性骨髓瘤患者血脂较正常人群低,IgG型MM患者血脂水平较其他类型相对低,不同Ig类型MM患者HDL-C、LDL-C、TC与患者预后密切相关,临床应加强血脂水平的测定。

参考文献

- [1] Uematsu A, Kido K, Manabe E, et al. DANFIN functions as an inhibitor of transcription factor NF- κ B and potentiates the antitumor effect of bortezomib in multiple myeloma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(3): 2289-2295.
- [2] 邱惠,沈爱东,孙志军,等. 8例多发性骨髓瘤致心肌淀粉样变性临床特点分析[J]. *中国心血管杂志*, 2018, 23(3): 219-223.
- [3] 肖明锋,刘基铎,袁晴,等. 实验室指标在多发性骨髓瘤辨证分型中的应用[J]. *广州中医药大学学报*, 2018, 35(1): 55-62.
- [4] 刘雪莲,白晶,樊红琼,等. 182例初诊伴高危细胞遗传学异常多发性骨髓瘤患者的预后分析[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(8): 644-649.
- [5] 靳晓萍,韩莉,詹先琴,等. 甲亢患者骨钙素和甲功、骨密度及脂代谢指标相关性研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2019, 42(5): 638-642.
- [6] 张之南,沈梯. *血液病诊断及疗效标准* [M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [7] 常英军,陈苏宁. 《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020年修订)》微小残留病疗效标准部分解读[J]. *中华内科杂志*, 2020, 59(5): 332-334.
- [8] 崇翔,曾慧,万晓婷,等. 骨髓细胞形态学、M蛋白定量及免疫固定电泳在MM患者诊断中的应用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(7): 1067-1070.
- [9] 杨卫东,王升,赵艳秋,等. IgG型多发性骨髓瘤化疗后免疫球蛋白重/轻链表达及其与预后的关系[J]. *癌症进展*, 2018, 16(3): 363-365+369.
- [10] 王玲,阿丽努尔,阿不力米提,等. 中老年人血脂情况及血脂异常影响因素[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(1): 57-60.
- [11] Wang Y, Jia X, Su C, et al. [Dietary cholesterol intake status and the correlation analysis with serum cholesterol level of the residents aged 60 and above in 15 provinces (autonomous regions and municipality) of China in 2015] [J]. *Wei Sheng Yan Jiu*, 2019, 48(1): 33-40.
- [12] 白菊,何爱丽,王剑利,等. IgA型多发性骨髓瘤临床特征和预后分析[J]. *西部医学*, 2020, 32(10): 1461-1465.
- [13] 何兴娟,杨学农,武文双,等. 血脂相关指标在多发性骨髓瘤预后判断中的意义[J]. *河北北方学院学报(自然科学版)*, 2021, 37(6): 14-18.
- [14] Chauhan G, Schmelzer AE. A novel cholesterol/lipid delivery system for murine myeloma cell lines [J]. *Biotechnol Prog*, 2017, 33(3): 795-803.
- [15] 曹伟,王冰莹,曹颖,等. 多发性骨髓瘤M蛋白Ig类型改变的探讨[J]. *临床输血与检验*, 2019, 21(1): 65-67.
- [16] 武文峰,孙立元,温文慧,等. 家族性高胆固醇血症患者突变基因及低密度脂蛋白受体活性分析[J]. *中国医药*, 2018, 13(7): 965-968.

HFHD 治疗对糖尿病肾病患者临床疗效及 IL-6、SOD 水平的影响

李仪静 曾继兰 尤小英 秦洪祥*

[摘要] 目的 分析 HFHD 治疗对糖尿病肾病患者临床疗效及白介素-6(IL-6)、超氧化物歧化酶(SOD)水平的影响。方法 选取2020年2月至2021年2月重庆市大足区人民医院收治的116例糖尿病肾病患者,根据不同血液透析方法分为对照组(低通量血液透析,52例)和观察组(高通量血液透析,64例)。比较两组临床疗效、肾功能指标尿素氮(BUN)、肌酐(Scr)、抗氧化指标 SOD、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、炎症因子 IL-6、超敏 c 反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及并发症发生率。结果 观察组总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后3个月和6个月,两组 BUN、Scr 水平均较治疗前明显降低,且观察组显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后6个月,两组 SOD、GSH-Px 水平均显著上升,且观察组高于对照组,MDA 明显降低,且观察组低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后6个月,两组 IL-6、hs-CRP、TNF- α 水平均显著下降,且观察组下降更明显,差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组并发症发生率明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 HFHD 更有利于保护糖尿病肾病患者肾功能,可更大程度降低患者 IL-6、hs-CRP、TNF- α 等炎症因子,具有更好的抗氧化应激作用,且具有一定安全性,值得临床推广使用。

[关键词] HFHD; 糖尿病肾病; 抗氧化; IL-6; hs-CRP; TNF- α

Effects of HFHD treatment on clinical efficacy and IL-6 and SOD levels in patients with diabetic nephropathy

LI Yijing, ZENG Jilan, YOU Xiaoying, QIN Hongxiang*

(Department of Hemodialysis Room, People's Hospital of Dazu District, Chongqing, China, 402360)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the clinical effect of HFHD on the level of interleukin-6 (IL-6) and superoxide dismutase (SOD) in patients with diabetic nephropathy. **Methods** 116 patients with diabetic nephropathy admitted to Chongqing Dazu District People's Hospital from February 2020 to February 2021 were selected, and according to the different hemodialysis methods, they were divided into the control group (low-flux hemodialysis, 52 cases) and the observation group (high-flux hemodialysis, 64 cases). The clinical efficacy, renal function indexes [Urea nitrogen (BUN), creatinine (SCR)], antioxidant indexes [SOD, malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-PX)], inflammatory factors [IL-6, hypersensitive C-reactive protein (HS-CRP) and tumor necrosis factor - α (TNF- α)] and the incidence of complications were compared between the two groups. **Results** The total effective rate in the observation group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). 3 months after treatment and 6 months after treatment, the BUN and Scr levels in the two groups were significantly lower than those before treatment; and the observation group was significantly lower than the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After half a year of treatment, SOD and GSH-Px levels in the two groups were significantly increased, and the observation group was higher than the control group, MDA

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:秦洪祥, E-mail:13678402393@163.com

was significantly decreased, and the observation group was lower than the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). After 6 months of treatment, the levels of IL-6, hs-CRP and TNF- α in the two groups significantly decreased, and the observation group decreased more significantly, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The incidence of complications in the observation group was significantly lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$).

Conclusion HFHD is more conducive to protecting the renal function in patients with diabetic nephropathy, which can reduce IL-6, hs-CRP, TNF- α and other inflammatory factors to a greater extent, and has better effect on antioxidant stress, which is safety and worthy of clinical promotion and application.

[KEY WORDS] HFHD; Diabetic nephropathy; Antioxidant; IL-6; hs-CRP; TNF- α

糖尿病肾病分为5期,早期(1~3期)无明显不适症状,可能伴有尿频,发展至晚期(5期)会逐渐出现头晕、乏力、水肿、恶心呕吐、下肢浮肿、蛋白尿等症状,长期蛋白尿会引起机体蛋白质代谢失调,引起低蛋白血症,甚至造成尿毒症^[1-2]。由于糖尿病肾病病情进展十分迅速,临床上尽早诊断、及时治疗,才能有效阻止患者病情的恶化,从根本上提高患者的生存质量^[3]。目前,临床上对于终末期肾病常用的治疗方法为血液透析。然而,血液透析虽可以替代肾脏进行排毒、维持水电解质紊乱,但长期透析会引起心律失常、肾性贫血等并发症^[4]。有研究发现,高通量血液透析(high-flux hemodialysis, HFHD)相较于常规的透析器,能更有效地减轻患者体内的炎症反应和血管内皮变化,保护残存的肾功能,降低心血管疾病等并发症的发生^[5]。本文将分析 HFHD 治疗对糖尿病肾病患者临床疗效及白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)水平的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年2月至2021年2月重庆市大足区人民医院收治的116例糖尿病肾病患者设为研究对象。纳入标准:①均符合《糖尿病肾脏疾病临床诊疗中国指南》诊断标准^[6];②均处于终末期肾病需要进行血液透析治疗;③血液透析时间 ≥ 3 个月;④患者与家属均已签署知情同意书。排除标

准:①存在严重心率失常、心衰患者;②入院前1个月出现严重出血患者;③重要脏器功能障碍、凝血功能障碍者;④精神疾病患者。根据不同血液透析方法分为对照组(低通量血液透析,52例)和观察组(高通量血液透析,64例)。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 治疗方法

两组患者入院后,医护人员统一普及相关疾病知识,积极控制血糖,降低血压,调节血脂,严格控制患者饮食,限制蛋白质和钠盐的摄入,正确指导患者用药和运动等。对照组采用低通量血液透析,应用德国 Gambro 中空纤维透析器[型号: Polylux 14L,膜面积:1.4 m²,超滤系数:10 mL/(mmHg*h)]。观察组采用 HFHD,应用日本尼普洛中空纤维透析器[型号: FB-170U,膜面积:1.7 m²,超滤系数:30 mL/(mmHg*h)]。两组患者透析期间均设定透析频次为1周3次,每次4 h,血流量为200~300 mL/min,采用常规肝素抗凝,均连续透析6个月,透析期间注意谨遵医嘱。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

两组患者治疗6个月后,根据临床症状、肾功能、血糖及精神状态等情况作为临床疗效评估标准^[7]。显效:患者临床症状完全消失,肾功能指标下降60%以上,血糖稳定,精神状态好;有效:患者临床症状改善明显,肾功能指标下降40%~60%,血

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

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

组别	n	性别		平均年龄 (岁)	平均病程 (年)	糖尿病类型		高血压史	高脂血症
		男	女			1型	2型		
对照组	52	31(59.62)	21(40.38)	53.36 \pm 8.17	10.57 \pm 2.64	9(17.31)	43(82.69)	24(46.15)	17(32.69)
观察组	64	38(59.38)	26(40.63)	54.28 \pm 8.39	11.06 \pm 2.82	10(15.63)	54(84.38)	27(42.19)	21(32.8)
t/ χ^2 值		0.001		0.594	0.958	0.059		0.183	0.000
P值		0.979		0.554	0.340	0.808		0.669	0.989

糖正常或空腹血糖在 7.8 nmol/L 以内,精神状态良好;无效:未达到以上标准,或病情恶化。总有效率=[(显效+有效)/总病例数]×100%。

1.3.2 肾功能情况

分别采集所有患者治疗前、治疗后3个月和治疗后6个月的空腹静脉血样8 mL,离心后分离血清样本,置于低温环境中待检。采用全自动血细胞分析仪检测血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)、血清肌酐(Serum creatinine, Scr)。

1.3.3 抗氧化作用

同理采集治疗前和治疗后6个月的空腹静脉血样,应用双抗夹心酶联免疫吸附法检测过氧化物歧化酶(Peroxide dismutase, SOD)、丙二醛(Oxide dismutase, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)。

1.3.4 炎症因子

与上述方法一致检测血清中白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、超敏c反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)。

1.3.5 并发症

比较两组治疗期间发生心血管事件(高血压、心绞痛、心力衰竭、心肌缺血)、恶心呕吐、抽搐、昏迷等并发症发生率。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

治疗后6个月,观察组总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组临床疗效比较 [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
对照组	52	22(42.31)	18(34.62)	12(23.08)	40(76.92)
观察组	64	35(54.69)	26(40.63)	3(4.69)	61(95.31)
χ^2 值					8.617
P值					0.003

2.2 两组肾功能指标比较

与治疗前相比,治疗后3个月和治疗后6个月两组患者的BUN、Scr水平均明显降低,且观察组各指标下降幅度明显大于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.3 两组抗氧化指标比较

治疗后6个月,两组患者SOD、GSH-Px均显著上升,且观察组高于对照组,MDA明显降低,且观察组低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组炎症因子水平比较

治疗后6个月,两组患者各炎症因子IL-6、hs-CRP、TNF- α 水平均显著下降,且观察组患者下降更明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

2.5 两组并发症发生率比较

血透期间,观察组并发症总发生率明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表6。

表3 两组治疗前后肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of renal function indexes of patients before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	BUN(mmol/L)			Scr(μ mol/L)		
		治疗前	治疗后3个月	治疗后6个月	治疗前	治疗后3个月	治疗后6个月
对照组	52	25.18±6.37	21.43±6.05 ^a	16.41±4.82 ^{ab}	893.17±154.21	782.62±140.59 ^{ab}	663.51±132.67 ^{ab}
观察组	64	24.83±6.24	18.25±5.68 ^a	11.25±3.14 ^{ab}	896.34±155.62	731.19±128.43 ^{ab}	607.26±122.0564.93 ^{ab}
t值		0.298	2.912	6.944	0.110	2.056	2.346
P值		0.767	0.004	<0.001	0.913	0.042	0.021

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$;与治疗3个月比较,^b $P < 0.05$ 。

表4 两组治疗前后抗氧化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of oxidation indicators of patients before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	SOD(uIU/L)		MDA(nmol/L)		GSH-Px(IU/L)	
		治疗前	治疗后6个月	治疗前	治疗后6个月	治疗前	治疗后6个月
对照组	52	62.67±3.58	78.06±4.51 ^a	6.38±1.23	4.79±0.96 ^a	185.23±12.61	227.66±14.51 ^a
观察组	64	61.95±3.27	84.62±4.96 ^a	6.41±1.35	4.16±0.74 ^a	184.07±12.31	248.69±16.78 ^a
t值		1.130	7.376	0.130	3.991	0.499	7.127
P值		0.261	<0.001	0.897	<0.001	0.619	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表5 两组炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of the levels of inflammatory factors between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	IL-6 (ng/L)		hs-CRP (mg/L)		TNF- α (ng/L)	
		治疗前	治疗后6个月	治疗前	治疗后6个月	治疗前	治疗后6个月
对照组	52	31.88 \pm 4.62	18.36 \pm 2.57 ^a	10.26 \pm 1.74	7.18 \pm 1.21 ^a	50.08 \pm 3.98	37.69 \pm 3.41 ^a
观察组	64	32.17 \pm 4.79	12.69 \pm 2.31 ^a	10.57 \pm 1.79	4.82 \pm 0.83 ^a	51.23 \pm 4.02	26.58 \pm 2.16 ^a
t值		1.130	7.376	0.130	3.991	0.499	7.127
P值		0.261	<0.001	0.897	<0.001	0.619	<0.001

注:与治疗前比较,*P<0.05。

表6 两组并发症发生率比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of the incidence of complications between the two groups [n(%)]

组别	n	心血管事件	恶心呕吐	抽搐	昏迷	总发生率
对照组	52	1-2(23.08)	7(13.46)	4(7.69)	1(1.92)	24(46.15)
观察组	64	6(9.38)	1(1.56)	1(1.56)	0(0.00)	8(12.50)
χ^2 值						5.504
P值						<0.001

3 讨论

血液透析是治疗糖尿病肾病较为成熟的一种方法,但传统的低通量血液透析对糖尿病肾病患者的治疗效果低于其他血液透析方法^[8]。研究显示,低通量血液透析治疗疗效欠佳与患者炎症反应、氧化应激反应过高有关^[9]。本文主要研究分析 HFHD 治疗对糖尿病肾病炎症因子及氧化应激的影响。

近年来,临床上对于肾功能衰竭者常采用 HFHD 治疗,其半透膜有着超滤系数大、生物相容性好、疏水性、膜面积大等优势,能有效促进患者改善糖、脂代谢紊乱,提高患者生活质量^[10]。本文结果显示,治疗后半年,观察组患者的治疗总有效率显著高于对照组,考虑原因为 HFHD 透析膜通量大,对体内中、大、小分子毒素均有较高的清除率,更有利于减少毒素的堆积及降低并发症发生率,从而起到提高临床治疗有效率的效果。本文结果显示,治疗后观察组 BUN、Scr 水平均明显低于对照组,表明 HFHD 能有效减轻肾脏的负担,提高血液透析效果,与高楠等^[11]研究结果一致。

相关文献报道称,糖尿病肾病病情进展至终末期常伴随异常增多的炎症因子表达,而长期透析带来的自身代谢紊乱、透析液的微生物污染、透析膜的生物不稳定性等问题,可进一步加重机体炎症状态和氧化应激反应,可能导致心脑血管疾病等并发症,影响患者预后^[12]。既往黄佳媛^[13]研究结论证实:糖尿病肾病患者接受 HFHD 治疗更能有效减轻氧化应激及微炎症状态。本文研究结

果显示,观察组 SOD、GSH-Px 水平均明显高于对照组,MDA 以及炎症因子均显著低于对照组,提示 HFHD 更有利于改善糖尿病肾病患者机体应激及炎症反应,与上述黄佳媛研究结果一致。HFHD 比低通量血液透析的生物相容性更好,更能减少患者炎症反应及补体激活,同时还更能改善患者的骨髓造血功能,促进患者体内中分子及大分子毒素水平的降低,清除患者体内中分子炎症因子,有效改善患者慢性微炎症状态^[14]。

彭李等^[15]认为糖尿病肾病患者的预后与炎症因子、抗氧化物等有密切联系。本研究发现,血透期间观察组并发症总发生率明显低于对照组,提示 HFHD 能有效降低患者并发症的发生,与既往研究报道相符^[16]。笔者认为:低通量血液透析由于自身透析膜的孔径限制,对大分子的炎症因子滤过作用不显著,因而可能导致并发症发生增加,影响远期预后,而 HFHD 通过弥散、吸附作用清除毒素,可有效清除炎症因子,改善机体炎症状态,降低心脑血管疾病等并发症发生,有利于预后。

综上所述,HFHD 更有利于保护糖尿病肾病患者肾功能,可更大程度降低患者 IL-6、hs-CRP、TNF- α 等炎症因子及并发症发生,具有更好的抗氧化应激作用,且具有一定安全性,值得临床推广使用。

参考文献

- [1] 韩晨鹏,徐清芳,张美华,等. 2型糖尿病患者血清抵抗素、VEGF、糖化白蛋白联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2):128-131.
- [2] Bramham K. Diabetic Nephropathy and Pregnancy [J]. Semin Nephrol, 2017, 37(4):362-369.
- [3] 杨梦舒. 高通量血液透析对糖尿病肾病患者氧化应激及微炎症状态的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(15):19-21.
- [4] 杨静,蒋文勇,于黔,等. 高通量血液透析对糖尿病肾病维持性血液透析患者氧化应激和微炎症状态的影响[J]. 广东医学, 2016, 37(18):2784-2786.

(下转第 417 页)

系统性红斑狼疮患儿外周血 p38MAPK、NF- κ B 表达水平的变化及临床意义

方钰 何美林 谢雪 程芹 张伟*

[摘要] 目的 研究系统性红斑狼疮(SLE)患儿外周血 p38MAPK、NF- κ B 表达水平的变化及临床意义。方法 选择2018年6月至2020年12月期间成都市妇女儿童中心医院收治的94例SLE患儿并根据SLEDAI评分分别为SLE稳定组($n=52$)、SLE活动组($n=42$),另取同期体检的60例健康儿童作为对照组。检测外周血 p38MAPK、NF- κ B 的表达水平、血沉(ESR)水平以及血清C反应蛋白(CRP)、补体3(C3)、补体4(C4)、白介素(IL)-1 β 、IL-6、Bcl-2相关x蛋白(Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)水平。结果 SLE活动组外周血 p38MAPK、NF- κ B 的表达水平高于SLE稳定组及对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);外周血 p38MAPK、NF- κ B 的表达水平对SLE病情活动具有诊断价值,截断值分别为1.115、0.955;SLE活动组中有面部红斑、合并关节炎、合并LN患者的外周血 p38MAPK、NF- κ B 表达水平均高于无面部红斑、无关节炎、无LN患者,差异有统计学意义($P<0.05$);SLE活动组中外周血 p38MAPK 表达 ≥ 1.115 、NF- κ B 表达 ≥ 0.955 患者的CRP、ESR、IL-1 β 、IL-6、Bax、Caspase-3水平均高于外周血 p38MAPK 表达 < 1.115 、NF- κ B 表达 < 0.955 患者,C3、C4水平均低于外周血 p38MAPK 表达 < 1.115 、NF- κ B 表达 < 0.955 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 SLE患儿外周血 p38MAPK、NF- κ B 表达水平增加与病情活动、组织损伤加重有关。并激活炎症反应及细胞凋亡可能是与之相关的分子机制。

[关键词] 系统性红斑狼疮; p38MAPK; NF- κ B; 炎症反应; 细胞凋亡

Changes and clinical significance of peripheral blood p38MAPK and NF- κ B expression levels in children with systemic lupus erythematosus

FANG Yu, HE Meilin, XIE Xue, CHENG Qin, ZHANG Wei*

(Author Affiliation: Department of Children's Rheumatology and Immunology, Chengdu Women and Children's Central Hospital, Chengdu 610091, Sichuan, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes of p38MAPK and NF- κ B expression levels in peripheral blood of children with systemic lupus erythematosus (SLE) and its clinical significance. **Methods** Total of 94 children with SLE admitted to Chengdu Women and Children's Central Hospital from June 2018 to December 2020 were selected and divided into the SLE stable group ($n=52$) and the SLE active group ($n=42$) according to the SLEDAI score, and 60 healthy children who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The expression levels of p38MAPK and NF- κ B in peripheral blood, erythrocyte septate (ESR), and serum C-reactive protein (CRP), complement 3 (C3), complement 4 (C4), interleukin (IL)-1 β , IL-6, Bcl-2 associated X protein (Bax) and cysteine-containing aspartate protease-3 (Caspase-3) were detected. **Results** The expression levels of p38MAPK and NF- κ B in peripheral blood of the SLE active group were higher than those of the SLE stable group and the control group ($P<0.05$). The expression levels of p38MAPK and NF- κ B in peripheral blood had diagnostic value for the disease activity of SLE, and the cut-off values were 1.115 and 0.955 respectively. The expression levels of p38MAPK and NF- κ B

基金项目:四川省卫生健康科研课题立项项目(20ZD019)

作者单位:成都市妇女儿童中心医院儿童风湿免疫科,成都610091

*通信作者:张伟, E-mail: hongbeidangao@163.com

in peripheral blood of patients with erythema facialis, arthritis and LN in the SLE active group were higher than those of patients without erythema facialis, arthritis and LN ($P < 0.05$). The levels of CRP, ESR, IL-1 β , IL-6, Bax and Caspase-3 in patients with p38MAPK expression ≥ 1.115 and NF- κ B expression ≥ 0.955 in peripheral blood in SLE active group were higher than those in patients with p38MAPK expression < 1.115 and NF- κ B expression < 0.955 , and the levels of C3 and C4 were lower than those in patients with p38MAPK < 1.115 expression and NF- κ B < 0.955 expression ($P < 0.05$). **Conclusion** The increased expression levels of p38MAPK and NF- κ B in peripheral blood of children with SLE are related to disease activity and tissue injury. Activation of inflammatory response and cell apoptosis may be the related molecular mechanisms.

[KEY WORDS] Systemic lupus erythematosus; p38MAPK; NF- κ B; Inflammatory response; Cell apoptosis

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是由环境因素、遗传因素共同引起的一类自身免疫性疾病,累积全身多系统、多脏器,相关的发病机制包括免疫应答紊乱、炎症反应激活、细胞凋亡异常等^[1-2]。目前临床上常用的SLE病情评价手段为SLE疾病活动指数(systemic lupus erythematosus disease activity index, SLEDAI),缺乏特异性评价病情的分子标志物。近些年SLE的基础研究发现了多条与SLE发病相关的信号通路,其中p38MAPK通路、NF- κ B通路在细胞凋亡及炎症反应的调控中起重要作用,SLE小鼠中p38MAPK、NF- κ B的表达均明显增加^[3-4],但相关信号通路在SLE发病中的作用尚缺乏临床证据。因此,本研究将以SLE患儿为对象,分析外周血中p38MAPK、NF- κ B表达水平的变化及临床意义。

1 对象与方法

1.1 对象

选择2018年6月至2020年12月期间成都市妇女儿童中心医院收治的94例SLE患儿,纳入标准:①符合指南中SLE的诊断标准^[5];②临床资料完整;③留取外周静脉血样本;④取得患儿监护人知情同意。排除标准:①接受过激素或其他免疫制剂治疗;②合并其他自身免疫性疾病;③合并恶性肿瘤、急慢性感染。根据SLEDAI评分^[6]将入组的SLE患儿分为SLEDAI评分 < 10 分的SLE稳定组52例以及 ≥ 10 分的SLE活动组42例。另取同期体检的60例健康儿童作为对照组。SLE稳定组中男性19例、女性33例,年龄平均(9.39 \pm 1.32)岁;SLE组活动组中男性15例、女性27例,年龄平均(9.61 \pm 1.44)岁;对照组中男性24例、女性36例,年龄平均(9.14 \pm 1.22)岁。3组间一般资料的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究获得医院伦理委员会批准。

1.2 外周血 p38MAPK、NF- κ B 表达水平的检测

取外周静脉血3~5 mL,采用全血RNA提取试剂盒提取静脉血中的RNA,采用cDNA合成试剂盒进行反转录、以RNA为模板合成cDNA,采用荧光定量PCR试剂盒进行cDNA样本中p38MAPK、NF- κ B表达水平的检测,均严格按照试剂盒说明书进行检测操作。

另取外周静脉血3~5 mL,采用Ficoll液分离外周血单个核细胞,加入裂解液提取蛋白,在聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,电转PVDF膜后封闭1 h,孵育p38MAPK、p-p38MAPK、NF- κ B、 β -actin一抗过夜,次日孵育二抗并在凝胶成像系统(上海天能公司)中显影并对蛋白表达水平进行半定量分析。

1.3 实验室指标的检测

取外周静脉血3~5 mL,采用生化分析仪检测C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、补体3(Complement3, C3)、补体4(Complement4, C4),采用血沉(Erythrocyte sedimentation rate, ESR)分析仪检测ESR,均严格按照仪器使用说明书进行检测操作。

1.4 血清炎症因子及凋亡分子的检测

取外周静脉血3~5 mL,静置凝血后离心分离血清,采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海酶联公司)检测白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、Bcl-2相关x蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(CysteinyI aspartate specific proteinase-3, Caspase-3)的含量,均严格按照试剂盒说明书进行检测操作。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行数据处理分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析、进一步进行LSD-t两两比较,两组间比较采用t检验,诊断效能采用ROC曲线分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组受试者外周血 p38MAPK、NF-κB 表达水平的比较

与对照组比较, SLE 稳定组外周血 *p38MAPK*、*NF-κB* 的 mRNA 表达水平及 p-p38MAPK、NF-κB 的蛋白表达水平, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), SLE 活动组外周血 *p38MAPK*、*NF-κB* 的 mRNA 表达水平及 p-p38MAPK、NF-κB 的蛋白表达明显增加, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 与 SLE 稳定组比较, SLE 活动组外周血 *p38MAPK*、*NF-κB* 的 mRNA 表达水平及 p-p38MAPK、NF-κB 的蛋白表达明显增加, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 3组受试者外周血 p38MAPK、NF-κB 表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of p38MAPK and NF-κB expression levels in peripheral blood among 3 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	p38MAPK mRNA	NF-κB mRNA	p-p38MAPK 蛋白	NF-κB 蛋白
对照组	60	1.00±0.31	1.00±0.24	1.05±0.17	0.74±0.15
SLE 稳定组	52	1.05±0.27	0.96±0.32	0.98±0.19	0.79±0.18
SLE 活动组	42	1.20±0.37 ^{ab}	1.23±0.31 ^{ab}	1.83±0.34 ^{ab}	1.51±0.32 ^{ab}
F 值		3.484	3.774		
P 值		0.008	0.004	0.000	0.000

注: 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 SLE 稳定组比较, ^b $P<0.05$ 。

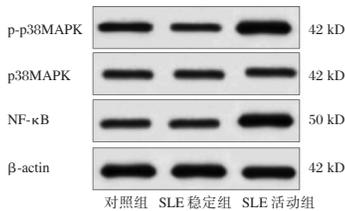


图 1 3组受试者外周血 p38MAPK、NF-κB 的蛋白条带

Figure 1 Protein bands of p38MAPK and NF-κB in peripheral blood of 3 groups

2.2 外周血 p38MAPK、NF-κB 表达水平诊断 SLE 病情活动的 ROC 曲线分析

外周血 p38MAPK、NF-κB 表达水平均对 SLE 病情活动具有诊断价值 ($P<0.05$)。见表 2、图 2。

表 2 外周血 p38MAPK、NF-κB 表达水平诊断 SLE 病情活动的 ROC 曲线分析

Table 2 ROC curve analysis of p38MAPK and NF-κB in peripheral blood in diagnosis of SLE activity

指标	AUC	95%CI	截断值	灵敏度 (%)	特异性 (%)
p38MAPK	0.657	0.538-0.776	1.115	76.19	69.23
NF-κB	0.750	0.648-0.853	0.955	83.33	65.38

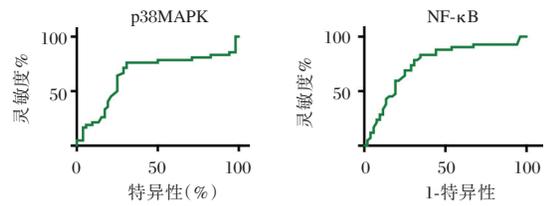


图 2 ROC 曲线图

Figure 2 ROC curve

2.3 SLE 活动组中不同临床特征患者 p38MAPK、NF-κB 表达水平的比较

SLE 活动组中有面部红斑、合并关节炎、合并 LN 患者的外周血 p38MAPK、NF-κB 表达水平均高于无面部红斑、无关节炎、无 LN 患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 SLE 活动组中不同临床特征患者 p38MAPK、NF-κB 表达水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of p38MAPK and NF-κB expression levels in peripheral blood between patients with different clinical characteristics in SLE active group ($\bar{x}\pm s$)

临床特征	分类	n	p38MAPK	NF-κB	
面部红斑	否	11	1.04±0.42	1.07±0.45	
	是	31	1.30±0.28	1.32±0.28	
	t 值		2.310	2.153	
			P 值	0.026	0.037
关节炎	否	22	1.10±0.32	1.08±0.32	
	是	20	1.31±0.34	1.34±0.35	
	t 值		2.062	2.515	
			P 值	0.046	0.016
LN	否	23	1.09±0.31	1.12±0.31	
	是	19	1.37±0.38	1.38±0.38	
	t 值		2.631	2.443	
			P 值	0.012	0.019

2.4 SLE 活动组中不同 p38MAPK、NF-κB 表达患者实验室指标的比较

SLE 活动组中外周血 p38MAPK 表达 ≥ 1.115 、NF-κB 表达 ≥ 0.955 患者的 CRP、ESR 水平均高于外周血 p38MAPK 表达 < 1.115 、NF-κB 表达 < 0.955 患者, C3、C4 水平均低于外周血 p38MAPK 表达 < 1.115 、NF-κB 表达 < 0.955 患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 4。

2.5 SLE 活动组中不同 p38MAPK、NF-κB 表达患者血清炎症及凋亡指标的比较

SLE 活动组中外周血 p38MAPK 表达 ≥ 1.115 、NF-κB 表达 ≥ 0.955 患者的血清 IL-1β、IL-6、Bax、Caspase-3 含量均高于外周血 p38MAPK 表达 < 1.115 、NF-κB 表达 < 0.955 患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 5。

表4 SLE活动组中不同p38MAPK、NF-κB表达患者实验室指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of laboratory parameters between patients with different p38MAPK and NF-κB expression levels in SLE active group ($\bar{x} \pm s$)

指标	分类	n	CRP (mg/L)	ESR (mm/h)	C3 (g/L)	C4 (g/L)
p38MAPK	≥1.115	32	22.31±5.34	35.68±7.41	0.71±0.15	0.20±0.05
	<1.115	10	15.72±3.51	22.47±4.62	0.98±0.17	0.31±0.07
t值			3.647	5.299	4.817	5.507
P值			0.000	0.000	0.000	0.000
NF-κB	≥0.955	35	23.09±6.11	36.11±8.12	0.68±0.14	0.21±0.04
	<0.955	7	14.94±3.34	20.93±6.14	1.02±0.20	0.29±0.08
t值			3.406	4.668	5.455	4.011
P值			0.002	0.000	0.000	0.000

表5 SLE活动组中不同p38MAPK、NF-κB表达患者血清炎症及凋亡指标的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of serum inflammation and apoptosis indexes between patients with different p38MAPK and NF-κB expression levels in SLE active group ($\bar{x} \pm s$)

指标	分类	n	IL-1β (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)	Bax (ng/mL)	Caspase-3 (ng/mL)
p38MAPK	≥1.115	32	2.95±0.54	93.49±13.85	2.93±0.62	5.01±0.89
	<1.115	10	2.03±0.45	74.52±15.41	2.33±0.51	3.32±0.91
t值			4.873	3.683	2.774	5.585
P值			0.000	0.001	0.008	0.000
NF-κB	≥0.955	35	3.02±0.51	96.41±12.93	2.88±0.60	5.12±0.83
	<0.955	7	1.92±0.52	73.32±14.57	2.40±0.71	3.15±1.08
t值			5.194	4.228	2.877	5.456
P值			0.000	0.000	0.024	0.000

3 讨论

SLE发病机制复杂,目前研究认为SLE的发生发展由自身免疫介导并通过激活炎症反应、细胞凋亡等途径引起组织脏器损伤。肾脏是SLE最常见的受累脏器,相关的基础研究证实SLE小鼠肾脏的损害与p38MAPK、NF-κB表达增加所介导的炎症反应、细胞凋亡有关^[3-4, 7-8],提示p38MAPK、NF-κB两条信号通路可能参与SLE的发病。本研究以SLE患儿为对象,通过检测外周血中信号分子表达的方式初步探究了两条信号通路与SLE发病的关系,与健康儿童及稳定期SLE患儿比较,活动期SLE患儿外周血中p38MAPK、NF-κB的表达水平明显增加;进一步通过ROC曲线分析证实:外周血p38MAPK、NF-κB对SLE病情活动具有一定潜在的诊断价值,以上结果提示p38MAPK、NF-κB通路的过度激活与活动期SLE的发病有关且

p38MAPK、NF-κB有望作为评估SLE病情活动的标志物。

SLE的发病过程中累及皮肤、关节、肾脏等全身多个组织脏器,炎症反应、细胞凋亡是已知与SLE发病过程中组织脏器损伤有关的病理环节^[9-12]。p38MAPK及NF-κB两条信号通路在炎症反应和细胞凋亡的调控中起关键作用,本研究已证实在活动期SLE患儿外周血中p38MAPK、NF-κB的表达增加,在此基础上分析p38MAPK、NF-κB表达与活动期SLE患儿组织脏器损害的关系可知:在合并面部红斑、关节炎、LN的活动期SLE患儿中,外周血p38MAPK、NF-κB的表达水平较未合并上述临床症状的患儿增加,表明p38MAPK、NF-κB表达增加与SLE皮肤、关节、肾脏等组织脏器损害有关。

在SLE病情发展变化过程中,炎症反应及细胞凋亡的激活可造成多项实验室指标发生变化,包括CRP、ESR的升高以及C3、C4的降低^[13-14],虽然上述实验室指标评价病情的特异性较差,但仍能在一定程度上反应SLE发病过程中免疫应答紊乱所致炎症反应、细胞凋亡激活的程度。本研究通过分析p38MAPK、NF-κB表达与实验室指标的关系可知:随着p38MAPK、NF-κB表达增加,活动期SLE患儿的CRP及ESR的升高、C3及C4的降低。在炎症反应激活过程中,IL-1β、IL-6是介导炎症反应级联放大的促炎细胞因子;在细胞凋亡激活过程中,Bax参与线粒体途径凋亡的激活,通过促进线粒体内细胞色素C的释放激活Caspase-3、引起细胞凋亡^[15-16]。本研究通过分析p38MAPK、NF-κB表达与炎症因子、凋亡分子的关系可知:随着p38MAPK、NF-κB表达增加,活动期SLE患儿的IL-1β、IL-6、Bax、Caspase-3含量增加。以上结果表明,在活动期SLE的发病过程中p38MAPK、NF-κB表达增加与下游炎症反应及细胞凋亡的激活有关。

综上所述,SLE患儿外周血p38MAPK、NF-κB表达水平增加与病情活动、组织损伤加重有关,激活炎症反应及细胞凋亡是与之相关的分子机制。p38MAPK、NF-κB对SLE病情活动具有诊断价值,未来这两个分子有望成为评估SLE病情的分子标志物,但本研究的分析结果中p38MAPK、NF-κB诊断病情活动的特异性较差,仍需未来扩大样本量、优化ROC曲线来获得更理想的诊断截断值。

参考文献

- [1] Zhang CX, Cai L, Zhou ZY, et al. Clinical manifestations, immunological features and prognosis of Chinese pediatric systemic lupus erythematosus: A single-center study [J]. *Int J Rheum Dis*, 2019, 22(6):1070-1076.
- [2] Jiang N, Li M, Zhang M, et al. Chinese SLE Treatment and Research group (CSTAR) registry: Clinical significance of thrombocytopenia in Chinese patients with systemic lupus erythematosus [J]. *PLoS One*, 2019, 14(11):e0225516.
- [3] Xiao ZX, Hu X, Zhang X, et al. High salt diet accelerates the progression of murine lupus through dendritic cells via the p38 MAPK and STAT1 signaling pathways [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1):34.
- [4] Álvarez K, Villar-Vesga J, Ortiz-Reyes B, et al. Induction of NF-kappaB inflammatory pathway in monocytes by microparticles from patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Heliyon*, 2020, 6(12):e05815.
- [5] 中华医学会风湿病学分会. 系统性红斑狼疮诊断及治疗指南中华医学会风湿病学分会 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2010, 14(5):342-346.
- [6] Gladman DD, Ibaez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000 [J]. *J Rheumatol*, 2002, 29(2):288-291.
- [7] Carrascal MA, Silva M, Ramalho JS, et al. Inhibition of fucosylation in human invasive ductal carcinoma reduces E-selectin ligand expression, cell proliferation, and ERK1/2 and p38 MAPK activation [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(5):579-593.
- [8] Kim T, Bae SC, Kang C. Synergistic activation of NF-kappaB by TNFAIP3 (A20) reduction and UBE2L3 (UBCH7) augment that synergistically elevate lupus risk [J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22(1):93.
- [9] Guo X, Fang X, He G, et al. The role of neutrophils in skin damage induced by tissue-deposited lupus IgG [J]. *Immunology*, 2018, 154(4):604-12.
- [10] Tang L, Zhou F. Inflammasomes in Common Immune-Related Skin Diseases [J]. *Front Immunol*, 2020, 12(11):882.
- [11] Zhang CX, Cai L, Zhou ZY, et al. Clinical manifestations, immunological features and prognosis of Chinese pediatric systemic lupus erythematosus: A single-center study [J]. *Int J Rheum Dis*, 2019, 22(6):1070-1076.
- [12] Hjorton K, Hagberg N, Israelsson E, et al. Cytokine production by activated plasmacytoid dendritic cells and natural killer cells is suppressed by an IRAK4 inhibitor [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1):238.
- [13] 张明娇, 吴勇. SLE及LN患者血清C1q的表达水平及意义 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(6):827-830.
- [14] Xiong ZH, Cao XS, Guan HL, et al. Immunotherapies application in active stage of systemic lupus erythematosus in pregnancy: A case report and review of literature [J]. *World J Clin Cases*, 2020, 8(24):6396-6407.
- [15] 施善芬, 黎良达, 潘翠萍, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血单个核细胞 miRNA-199a-3p 表达及调控机制 [J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2018, 12(6):623-629.
- [16] 麻贞贞, 赵萍, 吕继彩, 等. 系统性红斑狼疮患者外周血单个核细胞中微RNA-223及核苷酸结合寡聚化结构域样受体家族蛋白3炎性小体的表达及临床意义 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2019, 23(1):10-14.
- (上接第412页)
- [5] Wang S, Nie P, X Lu, et al. Nrf2 participates in the anti-apoptotic role of zinc in Type 2 diabetic nephropathy through Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *J Nutrit Biochem*, 2020, 84:108451.
- [6] 中华医学会肾脏病学分会专家组. 糖尿病肾脏疾病临床诊疗中国指南 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2021, 37(3):255-304.
- [7] 何传梅, 刘锦秀, 李慧, 等. 高压氧辅助血液透析联合灌流治疗对终末期糖尿病肾病患者肾功能及免疫炎症因子的影响 [J]. *中华航海医学与高压医学杂志*, 2021, 28(4):460-463.
- [8] 束金莲, 李贺, 叶岚, 等. 高通量血液透析对糖尿病肾病维持性血液透析患者氧化应激和颈动脉内膜厚度影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2017, 18(12):1083-1085.
- [9] 谢平. 高通量血液透析对糖尿病肾病患者的微炎症与氧化应激相关因子的作用 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2016, 15(5):462-464.
- [10] Tsai YC, Kuo MC, Hung WW, et al. High Glucose Induces Mesangial Cell Apoptosis through miR-15b-5p and Promotes Diabetic Nephropathy by Extracellular Vesicle Delivery [J]. *Molec Ther*, 2020, 28(3):963-974.
- [11] 高楠. 高通量血液透析对糖尿病肾病患者炎症因子及免疫功能的影响 [J]. *临床输血与检验*, 2019, 21(5):510-513.
- [12] 黄佳媛, 周参新, 单爱琴, 等. 糖尿病肾病患者接受 HFHD 治疗的氧化应激及微炎症状态变化 [J]. *现代实用医学*, 2018, 30(4):482-483.
- [13] 黄佳媛, 周参新, 单爱琴, 等. 糖尿病肾病患者接受 HFHD 治疗的氧化应激及微炎症状态变化 [J]. *现代实用医学*, 2018, 30(4):482-483.
- [14] 陈东, 刘强强, 朱峰. 高通量血液透析 (HFHD) 对改善严重肾功能衰竭患者炎症因子水平, 血脂及蛋白水平的应用效果观察 [J]. *中国医药指南*, 2017, 15(12):125-126.
- [15] 彭李, 杨建兵. 高通量血液透析对糖尿病肾病患者心功能及血清 BNP, cTnI, CK-MB 水平的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2020, 21(4):346-348.
- [16] 刘云, 马东红, 崔艳, 等. HFHD 对尿毒症患者 FGF-23, iPTH 水平及心肺功能的影响 [J]. *实验与检验医学*, 2018, 36(4):485-488.

特发性肺纤维化患者血清 VEGF、TGF- β 及 IL-8、IL-13 水平与肺功能相关性

李恒妍¹ 贾琦¹ 闫玉琴¹ 赵琳娜¹ 殷宗宝^{2*}

【摘要】 目的 研究特发性肺纤维化患者血清中血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子- β (TGF- β)及白介素-8(IL-8)、白介素-13(IL-13)水平与肺功能相关性。**方法** 选取北京市隆福医院及海口市人民医院2019年4月至2021年4月特发性肺纤维化患者113例作为研究组,同期健康体检的研究志愿者113例作为对照组。比较两组基线资料,血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平,肺功能指标用力肺活量(FVC)、第1秒用力呼气容积(FEV1)、最大呼气流量(PEF)。分析特发性肺纤维化患者血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能相关性。**结果** 两组年龄、性别比、体质指数、伴发基础疾病情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。研究组血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平均显著高于对照者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组肺功能指标FVC、FEV1、PEF均显著低于对照者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能指标FVC、FEV1、PEF呈显著负相关($P<0.05$)。血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13联合检测曲线面积为0.861(95%CI:0.663-0.921),检测价值更高($P<0.05$)。**结论** 特发性肺纤维化患者血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能有显著负相关性,通过监测以上各项指标可以评估患者病情,为该疾病诊治工作提供可靠的参考信息。

【关键词】 特发性肺纤维化;血管内皮生长因子;转化生长因子- β ;白介素-8;白介素-13;肺功能

Correlation between serum VEGF, TGF - β , IL-8, IL-13 levels and pulmonary function in patients with idiopathic pulmonary fibrosis

LI Hengyan¹, JIA Qi¹, YAN Yuqin¹, ZHAO Linna¹, YIN Zongbao^{2*}

(1. Respiratory Department of Beijing Longfu hospital, Beijing, China, 100010; 2. Emergency Department of Haikou People's Hospital, Haikou, Hainan, China, 570208)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the correlation between serum VEGF, TGF - β , IL-8, IL-13 levels, and pulmonary function in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. **Methods** 113 patients with idiopathic pulmonary fibrosis in our hospital from April 2019 to April 2021 were selected as the research objects, and 113 cases of research volunteers in the same period of physical examination were selected as the control subjects. The baseline data, serum VEGF, TGF - β , IL-8, IL-13 levels, forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume (FEV1) and maximal expiratory flow (PEF) of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and healthy controls were compared. The correlation between serum VEGF, TGF - β , IL-8, IL-13 levels, and pulmonary function in patients with idiopathic pulmonary fibrosis Objective were analyzed. **Results** There was no significant difference in age, sex ratio, body mass index, and underlying diseases between the two groups ($P>0.05$). The serum VEGF, TGF - β , IL-8 and IL-13 levels in patients with idiopathic pulmonary fibrosis were significantly higher than those in the healthy control group, and the differences between two groups were statistically significant ($P<0.05$). The pulmonary function indexes FVC, FEV1 and

基金项目:海南省卫生厅科研课题(2011-SWK-06-132/琼卫2011-61)

作者单位:1.北京市隆福医院呼吸科,北京100010

2.海口市人民医院急诊科,海南,海口570208

*通信作者:殷宗宝, E-mail: chaobao851024@163.com

PEF in patients with idiopathic pulmonary fibrosis were significantly lower than those in the healthy control group ($P<0.05$). The levels of serum VEGF, TGF- β , IL-8 and IL-13 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis were negatively correlated with the pulmonary function indexes FVC, FEV1 and PEF ($P<0.05$). The area under curve and confidence interval of serum VEGF, TGF- β , IL-8 and IL-13 were combined detection of 0.861(95% CI:0.663~0.921) had higher detection value. **Conclusion** The serum levels of VEGF, TGF- β , IL-8 and IL-13 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis were significantly negatively correlated with lung function. Monitoring the above indicators can evaluate the patient's condition and provide reliable reference information for the diagnosis and treatment of the disease.

[KEY WORDS] Idiopathic pulmonary fibrosis; VEGF; TGF- β ; IL-8; IL-13; Pulmonary function

特发性肺纤维化是一种慢性、进行性、纤维化间质性肺炎,我国随着人口老龄化的进展,特发性肺纤维化发病率和患病率呈上升趋势^[1]。该疾病的主要表现为进行性加重的呼吸困难,伴有限制性通气功能障碍及气体交换障碍,可引起低氧血症、甚至呼吸衰竭,预后较差^[2-3]。据报道特发性肺纤维化死亡率在54%~70%,中位生存期为5~6年^[4]。目前该疾病在临床上仍以药物治疗为主,但不能治愈,只能延缓疾病进展,改善患者生活质量,延长生存期^[5-6]。有研究表明肺泡上皮细胞损伤是特发性肺纤维化一个关键的起始因素,而自然病程和结局个体差异较大,受到生活习惯、性别、组织病理因素、胸部影像学检查及治疗等多方面因素的影响,大多数患者表现为缓慢逐步可见的肺功能下降,少数反复急性加重,相关预测指标的研究是重点^[7]。本研究分析特发性肺纤维化患者血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)及白介素-8(interleukin-8, IL-8)、白介素-13(interleukin-13, IL-13)水平与肺功能相关性。报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取北京市隆福医院及海口市人民医院2019年4月至2021年4月特发性肺纤维化患者113例作为研究组,同期健康体检的研究志愿者113例作为对照组。纳入标准为:①符合《内科学》第9版中特发性肺纤维化疾病诊断标准^[8];②生命体征、交流能力正常;③研究所需数据资料齐全;④签署知情同意并配合研究进行。排除标准为:①严重过敏性肺炎患者;②石棉沉着病、硅沉着病或其他职业尘肺病等患者;③其他自身免疫疾病患者;④严重心、肝、肾功能异常患者;⑤其他恶性肿瘤等严重疾病患者。本研究内容符合医学伦理学要求。

1.2 方法

1.2.1 收集基线资料

收集基线资料调查表真实记录患者的年龄、性别,测量记录身高及体重并按照体重/身高²方法计算得到体质指数,统计伴发基础疾病情况。

1.2.2 检测血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平

所有受检者抽取晨起空腹静脉血5mL,常温静置后常规离心处理,获取血清保存待测,均采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平,试剂盒购于武汉华美生物工程有限公司,严格按照说明进行操作。

1.2.3 测定肺功能

所有受检者在检查肺功能前调整呼吸,待呼吸平稳后接受检查,取坐位,腰挺直,采用S-980A肺功能检测仪进行肺容量和肺通气功能测定,获取研究所需指标用力肺活量(forced vital capacity, FVC)、第1秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV1)、最大呼气流量(peak expiratory flow, PEF)。

1.3 统计学分析

采用SPSS 23.0统计学软件版本对数据进行分析,计数资料用 $n(\%)$ 描述,比较采用 χ^2 检验,符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示、组间比较采用成组资料的 t 检验,特发性肺纤维化患者血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能相关性采用Pearson相关分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较

两组的年龄、性别比、体质指数、伴发基础疾病情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	例数	年龄(岁)	性别比男/女	体质指数(kg/m ²)	伴发基础疾病有/无
研究组	113	61.6±4.9	62/51	22.9±2.4	17/96
对照组	113	60.8±5.3	67/46	23.1±2.0	14/99
χ^2/t 值		1.178	0.452	0.681	0.337
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.2 血清 VEGF、TGF-β 及 IL-8、IL-13 水平

研究组血清 VEGF、TGF-β 及 IL-8、IL-13 水平均显著高于对照者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组血清 VEGF、TGF-β 及 IL-8、IL-13 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum VEGF, TGF-β, IL-8 and IL-13 levels between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	VEGF (μg/L)	TGF-β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)	IL-13 (pg/mL)
研究组	113	3.18±0.37	652.84±127.90	219.43±25.62	25.74±2.03
对照组	113	1.26±0.21	307.51±72.16	189.47±21.64	14.09±0.95
<i>t</i> 值		47.974	24.997	9.497	55.254
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 肺功能指标 FVC、FEV1、PEF 比较

研究组肺功能指标 FVC、FEV1、PEF 均显著低于对照者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组肺功能指标 FVC、FEV1、PEF 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of FVC, FEV1 and PEF between two groups of lung function indexes ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FVC(L)	FEV1(L)	PEF(L/s)
特发性肺纤维化组	113	1.51±0.29	1.48±0.25	2.86±0.34
健康对照组	113	2.46±0.31	2.10±0.37	4.52±0.43
<i>t</i> 值		23.790	14.759	32.190
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

2.4 炎症因子与肺功能的相关性

研究组血清 VEGF、TGF-β 及 IL-8、IL-13 水平与肺功能指标 FVC、FEV1、PEF 呈显著负相关($P < 0.05$)。见表4。

表4 特发性肺纤维化患者血清 VEGF、TGF-β、L-8、IL-13 水平与肺功能相关性分析

Table 4 Correlation analysis between serum VEGF, TGF-β, L-8, IL-13 levels and pulmonary function in patients with idiopathic pulmonary fibrosis

项目	FVC		FEV1		PEF	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
VEGF	-0.361	0.000	-0.297	0.000	-0.320	0.000
TGF-β	-0.237	0.001	-0.319	0.000	-0.289	0.000
IL-8	-0.384	0.000	-0.420	0.000	-0.367	0.000
IL-13	-0.573	0.000	-0.342	0.000	-0.318	0.000

2.5 血清 VEGF、TGF-β 及 IL-8、IL-13 疾病诊断价值分析

VEGF、TGF-β、IL-8、IL-13 均具有一定的诊断价值,联合检测 0.861(0.663~0.921)诊断价值更高($P < 0.05$)。见表5,图1。

表5 血清 VEGF、TGF-β 及 IL-8、IL-13 的 ROC 曲线 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Area under ROC curve of serum VEGF, TGF-β, IL-8 and IL-13 ($\bar{x} \pm s$)

项目	AUC	95%CI	灵敏度	特异度	<i>P</i> 值
VEGF	0.667	0.595~0.738	0.715	0.786	0.000
TGF-β	0.621	0.543~0.702	0.790	0.842	0.000
IL-8	0.611	0.542~0.683	0.809	0.891	0.000
IL-13	0.762	0.681~0.847	0.874	0.927	0.000

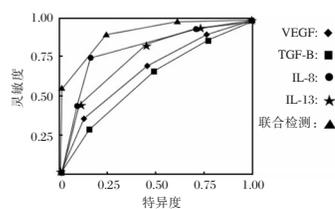


图1 血清指标的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of serum indexes

3 讨论

特发性肺纤维化发病原因不明,目前认为该疾病起源于肺泡上皮慢性损伤导致异常组织修复和肺泡结构发生改变所致,主要病理特点有弥漫性肺泡炎、肺泡单位结构紊乱、成纤维细胞聚集和肺纤维化^[9]。在已知和未知的环境或遗传因素多重持续损伤下,肺上皮细胞自噬降低、凋亡增加,上皮再生修复不足,残存细胞发生间充质样转化,呈现促纤维化表型,促纤维化因子分泌大量增加,促纤维化微环境形成,最终导致纤维瘢痕、蜂窝囊形成、肺结构破坏和功能丧失^[8,10-11]。现已有报道提示部分转化生长因子、白介素细胞等在肺组织纤维化过程中发挥着重要作用,还需不断深入探讨肺组织纤维化机制以为特发性肺纤维化防治工作提供参考依据^[12-13]。

研究结果显示 VEGF ROC 曲线下面积达到 0.667 时具有诊断价值,VEGF 是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子,意义在于促进血管通透性增加、细胞外基质变性、血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成,具有重要的生理和病理意义,早有报道其在肺纤维化的形成中发挥着一定作用^[14-15]。孙爱娟等^[16]有研究表明 VEGF 在肺纤维化病人和小鼠肺组织内呈显著的阳性表达,阻断肺组织内 VEGF 表达能够缓解博来霉素诱导的肺纤维化。TGF-β ROC 曲线下

面积达到0.621时具有诊断价值,TGF- β 属于转化生长因子超家族的多功能细胞因子,它的关键功能是调节炎症过程,在干细胞分化以及T细胞调节和分化中也起着至关重要的作用,有研究提示其有可能通过诱导II型肺泡上皮细胞发生上皮-间充质细胞转化,从而参与肺间质纤维化的发生^[17]。肖伟利等曾有研究证实特发性肺纤维化患者血清TGF- β 、VEGF表达水平增高,可作为评估治疗效果的指标。IL-8 ROC曲线下面积达到0.611、IL-13 ROC曲线下面积达到0.762时对特发性肺纤维化具有诊断价值,IL-8能够募集、活化中性粒细胞在肺间质和肺泡中聚集,导致肺纤维化,而IL-13能够直接或间接通过TGF- β 促使肺间质纤维化^[13]。以上各项指标联合检测检测价值更高,ROC曲线下面积能够达到0.861,能够为诊治特发性肺纤维化提供更可靠的诊断价值。

研究结果还显示,特发性肺纤维化患者的血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能指标FVC、FEV1、PEF呈显著负相关,梁宇等^[13]曾有研究报道特发性肺纤维化患者血清IL-13、TGF- β 1、IL-8水平显著升高,并且与患者肺功能具有负相关关系,本研究中增加了观察指标血清VEGF。研究中肺功能指标选取了FVC、FEV1、PEF,FVC是深吸气至肺总量位后,做最大力量、最快速度的呼气所呼出的最大气体容积,反映肺的代偿功能;FEV1是从肺总量位用力呼气1S所呼出的最大气体容积,可以作为判断通气功能障碍类型和程度的最常用参数;PEF是受检者肺膨胀到最大后立即用最大力量开始呼气,在口端测量到的呼气过程中的最大流量,能较好地反映气道的舒缩功能^[18]。特发性肺纤维化患者纤维化因子表达增加,肺弥散功能下降、换气功能障碍,肺功能指标FVC、FEV1、PEF均显著低于健康对照者,病情越严重,以上肺功能指标下降更显著,而血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平越高,孙莹等^[19]的研究也表明特发性肺纤维化患者血清中TGF β 1、PDGF、VEGF的表达水平明显升高,TGF β 1、PDGF、VEGF与患者的肺功能及血氧饱和度呈负相关,与本研究结果基本相符,共同提示综合各项指标对病情的发展和进行治疗情况进行评估,有利于疾病防治工作的进行。

综上所述可见,特发性肺纤维化患者血清VEGF、TGF- β 及IL-8、IL-13水平与肺功能有显著负相关性,通过监测以上各项指标可以评估患者病情,为该疾病诊治工作提供可靠的参考信息。

参考文献

- [1] 杨伟强,赵峰. 特发性肺纤维化发病机制的研究进展[J]. 医学综述, 2020,26(9):1684-1689+1695.
- [2] 吴珊珊,王月,张丽. 特发性肺纤维化的药物治疗研究进展[J]. 牡丹江医学院学报, 2020,41(1):120-122.
- [3] Kerri A Johansson. Remote Monitoring in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Home Is Where the Bluetooth-enabled Spirometer Is[J]. Am J Respir Crit care med, 2020,202(3):316-317.
- [4] 张琴霞,张海福,王建军,等. 特发性肺纤维化合并肺癌的研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2020,25(6):948-952.
- [5] 张俊,邵长周. 间充质干细胞在特发性肺纤维化治疗中的应用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020,43(7):595-598.
- [6] Zhang J, Shao CZ. Application of mesenchymal stem cells in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Zhong hua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 2020,43(7):595-598.
- [7] 蔡康华. 特发性肺纤维化预后的相关因素分析[J]. 中国处方药, 2020,18(3):15-17.
- [8] 葛均波,徐永健,王辰. 内科学[M]. 第9版,北京:人民卫生出版社, 2018:90-92.
- [9] 谢纬,刘玉,李亚清,等. 中医药治疗特发性肺纤维化研究进展[J]. 中国老年保健医学, 2020,18(3):91-94.
- [10] Gungor H, Ekici M, Onder Karayigit M, et al. Zingerone ameliorates oxidative stress and inflammation in bleomycin-induced pulmonary fibrosis: modulation of the expression of TGF- β 1 and iNOS [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2020,393(9):1659-1670.
- [11] Andrea Sonaglioni, Antonella Caminati, Roberto Lipsi, et al. Early left atrial dysfunction in idiopathic pulmonary fibrosis patients without chronic right heart failure [J]. Int J card iovasc Imag, 2020,36(9):1711-1723.
- [12] 蒋菲娅,刘文,伍洋科,等. mTOR信号通路在肺纤维化中的作用研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2020,25(9):1436-1439.
- [13] 梁宇,蒋令修,秦文婧,等. 特发性肺纤维化患者血清IL-13、TGF- β 1、IL-8水平及与肺功能的相关性[J]. 中国现代医生, 2015,(11):1-3.
- [14] 邵景韫,刘安,杜旭升,等. 肺间质纤维化患者的PAI-1、VEGF的变化[J]. 陕西医学杂志, 2016,45(8):953-954.
- [15] Youpeng Wang, Weichao Jing, Wanying Qu, et al. Tectorigenin inhibits inflammation and pulmonary fibrosis in allergic asthma model of ovalbumin-sensitized guinea pigs [J]. J Pharm Pharmacol, 2020,72(7):956-968.
- [16] 孙爱娟,王中轩,聂运娟,等. VEGF在肺纤维化肺组织内的表达及其作用研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2018,43(10):1309-1313.
- [17] Peng Liu, Kang Miao, Lei Zhang. Curdione ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by repressing TGF- β -induced fibroblast to myofibroblast differentiation [J]. Respir Res, 2020,21(1):58.
- [18] 葛姝君,王晓瑜,王丹. COPD患者血清HBP、LTB4变化与病情及肺功能参数的关系[J]. 中国实验诊断学, 2020,24(1):21-24.
- [19] 孙莹,宋晓萍,孙伟. 探讨TGF β 1、PDGF、VEGF对特发性肺纤维化诊断及病情评估的临床意义[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2020,13(1):54-58.

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

史靖^{1,2} 胡军^{1*} 罗开亮¹ 贾绍环² 沈鹤² 胡泽凯¹ 刘欣昊¹ 刘婷¹

[摘要] **目的** 探究帕金森病(PD)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。**方法** 分析上海交通大学医学院附属仁济医院宝山分院康复科 2020 年 6 月至 2021 年 10 月收治的 83 例 PD 患者的临床资料,另选取同期来本院行健康体检的 40 例患者作为对照组。对比两组 ApoA-1 水平,采用 UPDRS 评分评价两组患者精神行为、情绪、日常活动及运动功能,采用 MMSE 评分评价两组患者认知障碍水平,利用磁共振弥散张量成像检查两组患者脑白质微结构变化情况,使用 Person 相关性分析 ApoA-1 水平与 UPDRS 评分、MMSE 评分及脑白质区域部分 FA 值的关系。**结果** PD 患者 ApoA-1 水平、MMSE 量表评分较对照组低,UPDRS 量表评分较对照组高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);PD 患者脑白质不同区域 FA 值均较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$);PD 患者 ApoA-1 水平与 UPDRS、MMSE 量表评分、脑白质不同区域 FA 值相关($P < 0.05$)。**结论** PD 表现为 ApoA-1 水平下降,该水平与患者认知功能及脑白质微结构改变密切相关,临床检测 ApoA-1 水平对于判断患者是否存在认知障碍具有显著意义。

[关键词] 帕金森病;载脂蛋白 A-1;统一帕金森氏病评分量表;简易精神状态检查量表;脑白质微结构

The relationship between ApoA-1 level and UPDRS score, MMSE score and cerebral white matter microstructure changes in patients with Parkinson's disease

SHI Jing^{1,2}, HU Jun^{1*}, LUO Kailiang¹, JIA Shaohuan², SHEN He², HU Zekai¹, LIU Xinhao¹, LIU Ting¹

(1. Department of Rehabilitation, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, China, 201203; 2. Department of Rehabilitation, Baoshan Branch, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, China, 201203)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between ApoA-1 level and UPDRS score, MMSE score, and white matter microstructure changes in Parkinson's disease (PD) patients. **Methods** A retrospective analysis of the clinical data of 83 PD patients admitted to the Rehabilitation Department of Renji Hospital Baoshan Branch of Shanghai Jiaotong University Hospital from June 2020 to October 2021, and 40 patients who came to our hospital for physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of ApoA-1 in the two groups were compared, the UPDRS score was used to evaluate the mental behavior, mood, daily activities or motor function of the two groups of patients. Magnetic resonance diffusion tensor imaging was used to examine the changes of white matter microstructure in the two groups of patients, and Person correlation was used to analyze the relationship between ApoA-1 level and UPDRS score, MMSE score and partial FA value in white matter area. **Results** The ApoA-1 level and MMSE scale score in the PD patients were lower than those in the control group, and the UPDRS scale score was higher than that in

基金项目:上海市宝山区科学技术委员会科技创新专项资金项目(20-E-36)

作者单位:1. 上海中医药大学中西结合康复学,上海 201203

2. 上海交通大学医学院附属仁济医院宝山分院康复科,上海 201203

*通信作者:胡军, E-mail: jasonhwu@126.com

the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). the FA values of different areas of the white matter in the PD patients were lower than those in the control group ($P<0.05$). The level of ApoA-1 in PD patients was correlated with UPDRS, MMSE scale scores, and FA values in different regions of white matter ($P<0.05$). **Conclusion** PD is manifested as a decrease in the level of ApoA-1, which is closely related to the changes in the patient's cognitive function and white matter microstructure. Clinical detection of ApoA-1 level is of great significance for judging whether the patient has cognitive impairment.

[KEY WORDS] Parkinson's disease; Apolipoprotein A-1; Unified Parkinson's Disease Score Scale; Simple Mental Status Checklist; White Matter Microstructure

帕金森病(Parkinson Disease, PD)多发于老年群体,属神经系统退行性疾病,主要以黑质多巴胺能神经元退行引发,具体原因尚未研究透彻,进展较缓^[1]。根据最新流行病学调查显示,PD患者多为60岁以上群体,50岁之前发病较少,且男性发病率稍高于女性^[2]。以运动状态为基准可将PD临床表征分为运动类、非运动类。运动类患者有运动障碍、肌肉僵硬等表现,非运动类则表现为睡眠情况及认知出现异常。其中,认知障碍作为PD典型表现主要反应在学习能力、极易、注意力等方面,发生率约为25%~55%^[3-4]。PD早期表现出认知障碍、情绪等病症不明显,具备一定的隐匿性^[5]。再者,由于不同个体发病特点、发病严重程度均有不同,导致早期PD诊断较为困难。门诊评估PD多以脑脊液检查、影像学或其他辅助检查为主^[6-7]。价格较为昂贵,且特异度一般。载脂蛋白A-1(Apolipoprotein A-1, ApoA-1)有抗炎、抗氧化作用,有研究表明该指标与PD发生、发展有紧密联系^[8]。本研究探讨ApoA-1水平与统一帕金森氏病评分量表(Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS)评分、简易精神状态检查量表(Mini-mental State Examination, MMSE)评分及脑白质区域部分各向异性值(fractional anisotropy, FA值)的关系。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将上海交通大学医学院附属仁济医院宝山分院康复科2020年6月至2021年10月收治的83例PD患者作为研究对象,其中男性43例、女性40例,平均年龄(70.59±4.87)岁,平均病程(5.50±2.11)年,平均受教育年限(7.50±1.39)年。纳入标准:①中国帕金森病的诊断标准(2016版)^[9];②临床资料完整;③无严重的心、肝、肾功能异常。排除标准:①合并凝血功能异常;②合并既往脑部疾病史;③合并确诊前认知功能异常;④合并精神疾

病、无法交流患者。另选取健康检查的40例患者为对照组,其中男性20例、女性20例,平均年龄(70.06±5.19)岁,平均受教育年限(7.66±1.42)年。两组患者的一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。所有入试者家属均签署知情同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

①抽取所有患者清晨空腹周静脉血4 mL, 3 000 r/min离心15 min($r=13.5$ cm)后取上层血清,在低温环境下保存待测,采用ELISA法检测ApoA-1水平,迈瑞BS-2000M全自动生化分析仪,试剂盒购自上海沪峥生物科技有限公司。②UPDRS量表^[10]:内容包括:总评分、第I部分(精神和情感)、第II部分(日常生活能力)、第III部分(运动功能分值),分数越低表示患者生存质量越优。③MMSE量表^[11]:包括:定向力、注意力、计算力、记忆力、命名、复述、三项理解指令、反应、书写和复制,总分30分,用时5~10 min,MMSE≥26分为认知功能正常,<26分有认知功能障碍。④脑白质微结构变化:通过磁共振弥散张量成像检测患者脑白质微结构改变的情况,仪器为联影3.0T超导型磁共振uMR780,进行扫描检查。参数为:采集34层,层厚4.0 mm,间距0 mm,相位FOV 230 mm,读出FOV 250 mm,TR 5865 ms,TE 80.2 ms,空间分辨率 $1.95\times 1.95\times 4.00$ mm³。使用联合神经分析软件工作站对患者颞叶、顶叶、额叶、枕叶、前扣带束、后扣带束、胼胝体压部、胼胝体膝部、中脑锥体束、内囊锥体束、上纵束等脑白质区域部分FA值进行检测。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验,采用Person相关性分析PD患者ApoA-1水平与UPDRS评分、MMSE评分及脑白质不同区域FA值的关系,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 ApoA-1 水平、UPDRS 及 MMSE 量表评分比较

PD 组患者 ApoA-1 水平及 MMSE 量表评分显著低于对照组, UPDRS 量表评分显著高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者 ApoA-1 水平、UPDRS 及 MMSE 量表评分比较结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of ApoA-1 levels, UPDRS and MMSE scale scores between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ApoA-1(g/L)	UPDRS 评分(分)	MMSE 评分(分)
PD 组	83	0.89±0.08	16.88±1.79	21.70±1.85
对照组	40	1.12±0.10	2.40±1.41	27.48±1.43
<i>t</i> 值		14.20	44.85	17.36
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.2 两组患者脑白质不同区域 FA 值比较

PD 组患者脑白质不同区域 FA 值均低于对照组患者, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者脑白质不同区域 FA 值比较结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of FA values in different areas of white matter between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

观察指标	PD 组(<i>n</i> =83)	对照组(<i>n</i> =40)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
左颞叶	0.46±0.02	0.50±0.03	7.642	0.000
右颞叶	0.47±0.02	0.51±0.03	9.222	0.000
左顶叶	0.44±0.03	0.46±0.04	3.117	0.002
右顶叶	0.43±0.02	0.45±0.02	4.376	0.000
左额叶	0.46±0.02	0.50±0.03	8.299	0.000
右额叶	0.45±0.04	0.47±0.03	3.128	0.002
左枕叶	0.44±0.03	0.47±0.05	4.699	0.000
右枕叶	0.46±0.03	0.48±0.03	3.538	0.001
左前扣带束	0.45±0.02	0.54±0.03	18.425	0.000
右前扣带束	0.42±0.02	0.45±0.03	7.647	0.000
左后扣带束	0.42±0.02	0.44±0.02	4.775	0.007
右后扣带束	0.41±0.03	0.48±0.03	10.022	0.000
胼胝体压部	0.74±0.05	0.78±0.06	2.864	0.005
胼胝体膝部	0.67±0.04	0.71±0.06	4.377	0.000
左中脑锥体束	0.69±0.05	0.71±0.04	2.427	0.017
右中脑锥体束	0.69±0.05	0.73±0.03	4.193	0.000
左内囊锥体束	0.61±0.03	0.63±0.03	3.237	0.002
右内囊锥体束	0.36±0.04	0.62±0.03	36.493	0.000
左上纵束	0.61±0.03	0.63±0.03	2.724	0.007
右上纵束	0.62±0.03	0.64±0.03	2.597	0.011

2.3 PD 患者 ApoA-1 水平与 UPDRS、MMSE 量表评分及脑白质不同区域 FA 值的相关性分析

PD 患者 ApoA-1 水平与 UPDRS、MMSE 量表评分及脑白质不同区域 FA 值均呈现显著正相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 PD 患者 ApoA-1 水平与 UPDRS、MMSE 量表评分及脑白质不同区域 FA 值的相关性分析结果

Table 3 Correlation analysis results of ApoA-1 levels in PD patients with UPDRS, MMSE scale scores and FA values in different areas of white matter

相关性	ApoA-1	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
UPDRS 量表评分	0.589	0.000
MMSE 量表评分	0.620	0.000
右前扣带束	0.566	0.000
左后扣带束	0.533	0.000
右后扣带束	0.648	0.000
胼胝体压部	0.596	0.000
胼胝体膝部	0.661	0.000
左中脑锥体束	0.620	0.000
右中脑锥体束	0.652	0.000
左内囊锥体束	0.609	0.000
右内囊锥体束	0.569	0.000
左上纵束	0.695	0.000
右上纵束	0.615	0.000
右前扣带束	0.566	0.000
左后扣带束	0.533	0.000
右后扣带束	0.648	0.000
胼胝体压部	0.596	0.000
胼胝体膝部	0.661	0.000
左中脑锥体束	0.620	0.000
右中脑锥体束	0.652	0.000
左内囊锥体束	0.609	0.000
右内囊锥体束	0.569	0.000
左上纵束	0.695	0.000
右上纵束	0.615	0.000

3 讨论

研究表明, 神经系统疾病已成为导致人们发生残疾的主要疾病类型, PD 的增长速度在神经疾病中位列前位, 其增长速度已经高于阿尔茨海默氏病, 是影响当代人身心健康的重要疾病^[12]。研究表明, 到 2040 年, 全球 PD 患者预计将超过千万人, 且 PD 造成的全球负担正不断的增加, 据研究表明, 随着人口老龄化及工业化的进展, 这种负担增加的趋势正由西方转向东方, 尤其是中国。PD 的早期症状并不显著, 进展缓慢, 表现为一定程度的单侧肢体活动异常, 逐渐累及另一侧肢体运动障碍^[13]。认知障碍是 PD 患者主要的非运动症状, 部分患者早期识别认知障碍较困难, 导致临床难以发觉, 在确诊时往往已进展到一定程度, 耽误最佳治疗时期。认知功能损伤与多个因子及因素相关, 血脂、脑白质结构的变化均可引起患者的认知障碍^[14], 故对其进行探究是关键。

本研究结果,提示PD患者表现为ApoA-1水平的下降,生活水平降低与认知功能的损伤,随着ApoA-1的降低,患者的认知功能障碍越严重、生活质量越差,究其原因在于:ApoA-1是高密度脂蛋白的重要成分,能够维持人体内胆固醇的稳定,有效清除部分胆固醇并抑制周围组织的脂质堆积,发挥抗氧化及防止炎症反应的作用,常用于心血管疾病中预测动脉粥样硬化的发生^[15]。在本研究中,ApoA-1水平在PD患者中表现为降低,且随着水平的下降患者的疾病进展严重。UPDRS评分代表PD患者症状的严重程度,常与患者智力变化相关;MMSE量表表示患者认知功能障碍情况,当ApoA-1水平降低的同时,MMSE水平下降,UPDRS评分上升,预示着ApoA-1水平是影响PD患者认知功能的重要因素,患者的认知功能障碍程度越高,其体内的ApoA-1水平越低。除此之外,PD患者脑白质各FA水平均显著低于对照组,且ApoA-1水平与脑白质不同区域FA值均表现出相关性显著,这可能是因为:PD患者多存在脑白质病变情况,改病变与认知功能损伤密切相关,多由脑白质区域与日常活动相关的环路纤维联系阻碍而引起,因神经环路的连接水平降低而导致功能障碍生成,表现为认知障碍。磁共振技术是监测PD患者疾病进展的重要辅助手段,而弥散张量成像能够有效分析患者脑白质体积的减少及微结构的变化。本研究中,PD患者颞叶、顶叶、额叶、枕叶、前扣带束、后扣带束、胼胝体压部、胼胝体膝部、中脑锥体束、内囊锥体束、上纵束等区域的FA值均低于对照组,FA水平与患者嗅皮层、边缘系统等通路发生损伤有关,故FA水平的降低代表患者脑部的损伤处于进展中,表明PD患者脑白质微结构的变化程度剧烈,提示损伤程度严重,各FA值均与ApoA-1相关性显著,提示脑白质微结构的变化与认知障碍相关,在认知功能损伤中起到重要影响。

综上所述,ApoA-1水平下降预示着PD患者的病情严峻,ApoA-1的变化与患者认知功能障碍及脑白质病变的关系密切,临床可以通过对ApoA-1进行监测,预测患者疾病进展及判断患者的认知障碍程度。但本研究存在一些不足之处,例如只是

单中心的回顾性分析,且为回顾性分析,缺乏一些实验的设计性与前瞻性,在今后的研究中将会进一步改进,使研究结果更具有说服力。

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] 黄河灵,高玉元,王丽娟.血管相关因素与帕金森病认知功能障碍的研究进展[J].中华神经科杂志,2020,53(7):540-543.
- [3] Chaudhuri KR. Thirty years of research on autonomic dysfunction, non-motor features, and endophenotypes in Parkinson disease[J]. Clin Auton Res, 2021, 31(1):37-39.
- [4] 徐剑霞,刘卫国,华平,等.帕金森病前驱期轻度认知功能障碍的临床特点及相关影响因素分析[J].中华神经医学杂志,2020,19(10):1001-1007.
- [5] 姚梦莎,谭玉燕,刘军.帕金森病姿势异常诊疗进展[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2019,26(1):60-63.
- [6] 王佳宁,徐冉,祖洁,等.经颅黑质超声检查在帕金森病诊断中的应用[J].山东医药,2020,60(21):80-83.
- [7] 侯庆玲.经颅超声检查在帕金森病诊断中的临床意义[J].国际老年医学杂志,2020,41(2):83-85.
- [8] 陈伟巍,王敏. ApoA-1,MDA,Cys-C和血流动力学指标与帕金森病认知功能的相关性研究[J].标记免疫分析与临床,2019,26(4):620-624.
- [9] 刘军.中国帕金森病的诊断标准(2016版)[J].中华神经科杂志,2016,49(4):268-271.
- [10] 王冰,徐军,汤修敏.帕金森病统一评分量表信度和效度研究[J].山东医药,2009,49(28):88-89.
- [11] 吕艳,张增强,王海,等.海南版简易智能状态检查量表和蒙特利尔认知评估量表界值划分的初步研究[J].中华老年心脑血管病杂志,2020,22(4):352-355.
- [12] V Antonyová, Z Kejík, T Brogyányi, et al. Role of mtDNA disturbances in the pathogenesis of Alzheimer's and Parkinson's disease[J]. DNA Repair, 2020, 91-92(3):102871.
- [13] 马莉亚,张萍,郭思繁,等.协同护理下指导康复体操训练对改善帕金森患者自护能力及肢体功能的作用[J].中国药物与临床,2019,19(23):4201-4202.
- [14] 韦艳秋,董珍,徐耀,等.帕金森病认知功能障碍的临床特征及危险因素分析[J].中华老年心脑血管病杂志,2020,22(6):5.
- [15] 秦小敏,李四荣,刘慧,等. apoB/apoA-1、LDH及ALP水平与冠心病患者主要不良心血管事件的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(10):1635-1638+1643.

冠心病 PCI 术后 SICAM-1、RDW 及 vWF 水平与支架内再狭窄的关系

崔耀刚^{1*} 吕小宁² 庞然²

[摘要] **目的** 分析瑞舒伐他汀辅助冠心病经皮冠状动脉介入治疗(PCI)后可溶性细胞间粘附因子(sICAM-1)、红细胞分布宽度(RDW)、血管性血友病因子(vWF)水平变化与支架内再狭窄的关系。**方法** 选取2018年7月至2020年1月于本院接受治疗的124例冠心病患者作为冠心病组,随访1年,根据随访记录中支架内再狭窄发生情况分为再狭窄组和无狭窄组。选取91例同期于本院进行全面体检且健康者作为对照组。比较2组SICAM-1、RDW及vWF水平变化,采用多元Logistic回归分析影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的独立危险因素。**结果** 冠心病组治疗前SICAM-1、RDW及vWF水平高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。冠心病组治疗2周后SICAM-1、RDW及vWF水平较治疗前有所升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。再狭窄组年龄、BMI、高血压病史、糖尿病病史、低密度脂蛋白胆固醇、SICAM-1、RDW及vWF水平和吸烟情况与无狭窄组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。SICAM-1、RDW及vWF水平异常升高是影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 经瑞舒伐他汀辅助PCI治疗冠心病患者SICAM-1、RDW及vWF水平变化与支架内再狭窄关系密切,临床需密切监测上述指标水平变化并及时干预,以降低支架内再狭窄发生风险。

[关键词] 冠心病;瑞舒伐他汀;PCI;SICAM-1;RDW;vWF

Relationship between the changes of SICAM-1, RDW and vWF levels and in-stent restenosis after PCI

CUI Yaogang^{1*}, LV Xiaoning², PANG Ran²

(1. Department of Cardiology, General Hospital of Yima Coal Industry Group Co., Ltd., Yima, Henan, China, 472300; 2. Department of Internal Medicine-Cardiovascular, General Hospital of Yima Coal Industry Group Co., Ltd., Yima, Henan, China, 472300)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the change in the levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), red cell volume distribution width (RDW) and von Willebrand factor (vWF) and in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention (PCI) and adjuvant treatment with rosuvastatin in patients with coronary heart disease. **Methods** The 124 patients with coronary heart disease who were treated in this hospital from July 2018 to January 2020 were selected as the coronary heart disease group, the patients were followed up for 1 year. According to in-stent restenosis in the follow-up records after PCI operation, they were divided into the restenosis group and the non-stenosis group. 91 healthy patients who had a comprehensive physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The changes in SICAM-1, RDW and vWF levels between the two groups were compared, and the multivariate logistic regression was used to analyze the independent risk factors that affect the occurrence of in-stent restenosis in patients with coronary heart disease after treatment. **Results** The levels of SICAM-1, RDW and vWF in the coronary heart disease group before treatment were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of SICAM-1, RDW and

基金项目:河南省科技攻关计划(201802135)

作者单位:1.义马煤业集团股份有限公司总医院心内科,河南,义马 472300

2.义马煤业集团股份有限公司总医院心血管内科,河南,义马 472300

*通信作者:崔耀刚, E-mail: rangp17111@163.com

vWF in the coronary heart disease group increased 2 weeks after treatment, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The differences were statistically significant in age, BMI, history of hypertension, history of diabetes, low-density lipoprotein cholesterol, SICAM-1, RDW and vWF levels, and smoking between the restenosis group and the non-stenosis group ($P<0.05$). The abnormal increase of SICAM-1, RDW and vWF levels are independent risk factors that affect the occurrence of in-stent restenosis after treatment in patients with coronary heart disease ($P<0.05$). **Conclusion** The changes of SICAM-1, RDW, and vWF in patients with coronary heart disease after PCI and adjuvant treatment with rosuvastatin are closely related to the occurrence of in-stent restenosis. Clinically, it is necessary to closely monitor the changes in the levels of the above indicators and intervene in time to reduce the risk of in-stent restenosis.

[KEY WORDS] Coronary heart disease; Rosuvastatin; PCI; SICAM-1; RDW; vWF

冠心病是临床常见的心血管急症之一,经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)在改善冠脉血流和实现心肌冠脉血流重建方面具有重要作用,已成为冠心病临床治疗的关键手段^[1]。尽管PCI术不断创新与发展,但部分冠心病患者行PCI术后仍存在再狭窄问题。瑞舒伐他汀为一类新型他汀类药物,可有效调节冠心病患者血脂水平,是PCI术后辅助治疗的重要药物^[2]。随着有关冠心病形成及PCI术后再狭窄等相关机制研究的不断深入,可溶性细胞间粘附因子(soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)、红细胞分布宽度(Red Cell volume Distribution Width, RDW)、血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)等因子的表达与血管再狭窄的关系引起国内外学者的关注^[3-5]。本研究将分析冠心病患者经瑞舒伐他汀联合PCI治疗后SICAM-1、RDW及vWF水平变化与血管再狭窄发生的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 基线资料

选取2018年7月至2020年1月于本院接受治疗的124例冠心病患者作为冠心病组,其中男94例,女30例,平均年龄(59.67 ± 10.42)岁。纳入标准:①均符合美国心脏病学会/美国心脏协会制定的冠心病诊断标准^[6];②冠状动脉造影显示动脉狭窄 $\geq 50\%$ ^[7];③临床资料完整,所有患者均签署知情同意书,且本研究已获得医学伦理委员会批准。排除标准:①合并影响脂代谢水平的其他类型疾病;②合并血液系统疾病、肾功能不全患者;③合并其他心脏疾病;④合并免疫系统疾病;⑤合并急慢性感染性疾病。

选取91例同期于本院进行全面体检且健康者作为对照组。其中男68例,女23例,平均年龄(59.69 ± 10.75)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 治疗方法

冠心病组患者入院后均接受择期PCI治疗,同时给予抗血小板、抗凝、控制血压、扩张冠状动脉及延缓心室重构等治疗。在此基础上于术前3d加用瑞舒伐他汀[合肥合源药业有限公司,国药准字H20203395,规格:5mg(按瑞舒伐他汀计)]治疗,每晚睡前口服1片,术后持续服用1个月。

1.3 再狭窄判定标准^[8]

冠心病组患者PCI术后1年内(随访方式以来院复查为主)对支架远端、支架近端以及支架内的3个节段进行定量分析,其中近端和远端包括支架内距离支架5mm的范围,将冠状动脉造影显示支架置入节段管腔直径狭窄 $\geq 50\%$ 参考管腔直径判定为血管再狭窄。

1.4 观察指标

所有冠心病患者于急诊介入治疗前、术后2周及1年分别抽取肘静脉血4mL(对照组于入院后次日清晨抽取血液标本),3000r/min离心10min,分离血浆后置 -20°C 冰箱备用。SICAM-1、vWF采用酶联免疫吸附测定法,试剂盒由福建太阳生物技术公司生产,严格按照试剂盒说明书进行操作。采用Roche cobas8000 e 801全自动化学发光免疫分析仪及相关配套试剂检测RDW,仪器及试剂源自四川省亚中医疗仪器有限责任公司。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间行 t 检验,多组间采用 F 检验;采用多元Logistic回归分析冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的独立危险因素,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SICAM-1、RDW及vWF水平比较

冠心病组治疗前SICAM-1、RDW及vWF水平高

于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。冠心病组治疗2周后 SICAM-1、RDW 及 vWF 水平较治疗前有所升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。冠心病组治疗后1年 SICAM-1、RDW 及 vWF 水平显著降低,且与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 SICAM-1、RDW 及 vWF 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of sICAM-1, RDW and vWF levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SICAM-1 (ng/mL)	RDW (%)	vWF (%)
冠心病组				
治疗前	124	150.74±39.78 ^a	10.58±2.13 ^a	135.14±10.55 ^a
治疗后2周	124	196.56±41.57 ^{ab}	16.45±2.59 ^{ab}	195.68±13.47 ^{ab}
治疗后1年	124	140.29±35.41 ^{bc}	6.79±1.37 ^{bc}	98.29±9.15 ^{bc}
对照组	91	136.89±35.82	6.44±1.21	96.87±9.66
F 值		61.08	664.58	2113.02
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与同组治疗前比较,^b $P<0.05$;与同组治疗后2周比较,^c $P<0.05$ 。

2.2 影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的单因素分析

随访1年,根据 ACI 术后随访记录中支架内再狭窄发生情况,将患者分为再狭窄组($n=51$)和无狭窄组($n=73$)。

再狭窄组年龄、BMI、高血压病史、糖尿病病史、低密度脂蛋白胆固醇、SICAM-1、RDW 及 vWF 水平和吸烟情况与无狭窄组比较差异有统计学意义($P<0.05$),两组性别、血肌酐、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇及总胆固醇水平比较无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的多因素分析

经非条件多因素 Logistic 回归模型分析得,SICAM-1、RDW 及 vWF 水平异常升高是影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

3 讨论

随着 PCI 术的发展,术后支架内再次狭窄对临床疗效的影响已成为心血管内科临床医生面临的问题。瑞舒伐他汀属他汀类的一种,具有改善血管内皮功能、抑制炎症、促进平滑肌细胞凋亡、抑制血栓形成和稳定斑块等作用,对预防 PCI 术后患者出现支架内再狭窄等并发症防治有较好应用效果^[9]。因此,本研究选择 PCI 术及瑞舒伐他汀辅助治疗作为冠心病患者治疗方案。

表2 影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 single factor analysis of in stent restenosis in patients with coronary heart disease after treatment [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

因素		再狭窄组 ($n=51$)	无狭窄组 ($n=73$)	χ^2/t 值	P 值
性别	男	35(68.63)	59(80.82)	0.660	0.417
	女	16(31.37)	14(19.18)		
年龄(岁)	<50	40(78.43)	7(9.59)	60.456	<0.001
	≥50	11(21.57)	66(90.41)		
BMI(kg/m ²)	>24	32(62.75)	27(36.99)	7.987	0.005
	≤24	19(37.25)	46(63.01)		
高血压病	有	42(82.35)	22(30.14)	32.779	<0.001
	无	9(17.65)	51(69.86)		
糖尿病病	有	40(78.43)	10(13.70)	52.283	<0.001
	无	11(21.57)	63(86.30)		
血肌酐(mg/dL)		1.68±0.56	1.71±0.51	0.310	0.757
甘油三酯(mmol/L)		1.80±0.35	1.84±0.36	0.616	0.539
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)		2.48±0.71	2.52±0.73	0.304	0.762
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)		3.29±0.51	2.01±0.34	16.774	<0.001
总胆固醇(mmol/L)		4.59±0.81	4.56±0.89	0.192	0.848
SICAM-1(ng/mL)		167.80±12.47	123.75±16.88	15.850	<0.001
RDW(%)		8.06±1.07	5.79±1.33	10.112	<0.001
vWF(%)		104.59±3.74	92.75±3.66	17.567	<0.001
吸烟	是	43(84.31)	15(20.55)	49.036	<0.001
	否	8(15.69)	58(79.45)		

再狭窄的本质是机体对动脉损伤的一种过度的愈合反应,炎症反应在此过程中起重要作用^[10]。SICAM-1 能够介导循环中的白细胞与血管内皮细胞的粘附,研究发现 SICAM-1 可参与冠状动脉介入术前后发生的病理过程,在血管平滑肌的迁移和增殖以及细胞外基质的沉积等方面发挥重要的作用^[11]。本研究结果提示 SICAM-1 参与的炎症反应与 PCI 术后支架内再狭窄密切相关。

RDW 主要功能为反映外周血红细胞体积离散程度,研究显示,冠状病变支数越多、狭窄程度越严重,RDW 的水平越高^[12]。RDW 水平的升高可能与炎症反应和氧化应激有关,炎症因子可能会作用于骨髓红系干细胞,从而抑制红细胞的成熟,使不成熟的红细胞进入血液循环,导致红细胞体积离散程度增加,最终使 RDW 高表达^[13]。本组数据结果显示:冠心病组 PCI 术后2周 RDW 水平高于对照组和治疗前,考虑原因为 PCI 术后冠心病患者存在内分泌系统过度激活及骨髓抑制,从而导致红细胞生存和成熟出现异常^[14]。进一步经非条件多因素 Logistic 回归模型分析发现,RDW 水平异常升高是影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的独立危险因素,提示临床检测 RDW 水

表3 影响冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的多因素分析

Table 3 Analysis of multiple factors influencing in stent restenosis in patients with coronary heart disease after treatment

影响因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
X ₁ =年龄(岁)(0=<50 vs 1= \geq 50)	1.095	0.945	4.592	2.989	0.469~19.053	0.794
X ₂ =BMI(kg/m ²)(0= \leq 24 vs 1=>24)	1.184	0.879	4.168	3.267	0.583~18.299	0.179
X ₃ =高血压病史(0=无 vs 1=有)	1.043	0.931	4.089	2.838	0.458~17.598	0.059
X ₄ =糖尿病病史(0=无 vs 1=有)	0.929	0.754	4.135	2.532	0.578~11.099	0.432
X ₅ =低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)(0=正常 vs 1=升高)	0.987	0.865	3.981	2.684	0.492~14.620	<0.001
X ₆ =sICAM-1(ng/mL)(0=正常 vs 1=升高)	0.844	0.148	4.148	2.326	1.740~3.108	<0.001
X ₇ =RDW(%) (0=正常 vs 1=升高)	0.978	0.256	4.054	2.659	1.610~4.392	<0.001
X ₈ =vWF(%) (0=正常 vs 1=升高)	1.116	0.165	4.226	3.053	2.209~4.218	<0.001
X ₉ =吸烟(0=否 vs 1=是)	0.898	0.685	4.039	2.455	0.641~9.399	0.092

平有助于评估PCI术后再狭窄的发生风险。

正常的血管内皮功能是维持血管良好的稳定性、紧张度及降低血栓形成风险的基础条件。vWF是一种内皮细胞释放的活性物质,主要存在于成熟的内皮细胞Weibel palade小体内,是目前公认的内皮损伤标记物以及血小板与内皮黏膜连接的桥梁,可在血栓的形成中起重要作用^[15]。从生化功能方面进行探究,vWF可介导血小板在受损血管内膜或内膜下部发生黏附、聚集,同时促进一种强力的局部血管收缩剂-血栓素A₂的合成与释放,最终导致血管内皮功能受到损害。本研究结果提示介入治疗已造成血管内皮功能受损。同时无狭窄组vWF低于再狭窄组,进一步证实vWF参与了PCI术后支架内再狭窄发生的病理过程。

综上,冠心病患者经PCI术及瑞舒伐他汀辅治后sICAM-1、RDW及vWF水平异常升高与冠心病患者治疗后发生支架内再狭窄的关系密切,临床需重视对合并高危因素人群的监测,以降低支架内再狭窄发生风险。

参考文献

[1] Satija A, Bhupathiraju SN, Spiegelman D, et al. Healthful and Unhealthful Plant-Based Diets and the Risk of Coronary Heart Disease in US Adults[J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 70(4):411-422.

[2] Sadik A, Tolgahan E, Engin A, et al. The Coronary Stent Embolisation Into the Left Internal Iliac Artery during Percutaneous Coronary Intervention in a Patient Presenting with Inferior St-Segment Elevation Myocardial Infarction[J]. Am J Cardiol, 2018, 121(8):84-87.

[3] 余惠平,蔡昭文,黄建兴,等.双LVIS支架辅助栓塞治疗急性期颅内宽颈动脉瘤的疗效及其与sICAM-1、S100B水平的关系[J].中华神经医学杂志,2019,18(9):922-926.

[4] Igarashi Y, Morishita Y, Yoshizawa H, et al. The association between soluble intercellular adhesion molecule-1 levels

in drained dialysate and peritoneal injury in peritoneal dialysis[J]. Renal Fail, 2017, 56(35):569-574.

- [5] Artemio GE, Juan MGI. Red Cell Volume Distribution Width as Another Biomarker[J]. Card fail rev, 2019, 5(3):176-179.
- [6] 孙刚. 2017年美国心脏病学会/美国心脏协会高血压指南对我国高血压防治的启示及借鉴意义[J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(1):10-11.
- [7] Salama ABM, Khalil WA, Al-Zaky MM, et al. Abstract 294: Microna-208a: A Marker of No-Reflow in STEMI Patients Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention[J]. Circ Res, 2020, 127(51):852-857.
- [8] Shimura T, Shibata M, Gonda K, et al. Prognostic impact of soluble intercellular adhesion molecule1 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 16(5):8952-8956.
- [9] 张月超. 硫酸氢氯吡格雷片联合阿托伐他汀钙对冠心病PCI术后心绞痛患者血清血脂水平,sCD40L及sICAM-1水平的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 27(7):125-128+152.
- [10] Shimura T, Shibata M, Gonda K, et al. Clinical Significance of Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 and Interleukin-6 in Patients with Extrahepatic Cholangiocarcinoma[J]. J Invest Surg Off J Acad Surg Res, 2017, 78(31):516-521.
- [11] 肖奇贵,王铮,杨勤玲,等.肝癌切除术前后患者血清sP-selectin,sICAM-1水平变化及其临床意义[J].分子诊断与治疗杂志 2020,12(9):1208-1212.
- [12] 郑操,潘勇,周超,等.黄芪保心汤对心肌梗死病人PCI术后再灌注心肌H-FABPs及VEGF,sICAM-1,HMGB1和炎性因子的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(20):93-95.
- [13] Li T, Huang A, Zhang M, et al. Increased Red Blood Cell Volume Distribution Width; Important Clinical Implications in Predicting Gastric Diseases[J]. Clin Laborat, 2017, 63(7):1199.
- [14] Nada A, Shebl N, El-Gazzarah A, et al. Predictive Value of Red Cell Volume Distribution Width-to-Platelet Ratio in Staging Liver Fibrosis in Chronic HCV-Infected Patients[J]. Afro-Egypt J Infect End Dis, 2020, 56(19):9145-9147.
- [15] Biguzzi E, Siboni SM, Cessie SL, et al. Increasing levels of von Willebrand factor and factor VIII with age in patients affected by von Willebrand disease: REPLY from original authors Biguzzi et al[J]. J Thromb Haemost, 2021, 19(1):310-310.

CYP2C19、GPIa、ABCB1 基因检测在伴发糖尿病的卒中患者抗血小板治疗作用

冯艳 袁丽品 祁亚伟 李学*

[摘要] 目的 探究 CYP2C19、GPIa、ABCB1 基因检测在伴发糖尿病的卒中患者抗血小板治疗作用。方法 分析河南省人民医院神经内科 2019 年 2 月至 2021 年 1 月收治的 108 例伴发糖尿病的卒中患者的临床资料,依据 CYP2C19 基因型分为慢代谢型、中代谢型及快代谢型;依据 GPIa 基因型分为 TC 型与 CC 型;依据 ABCB1 基因型分为野生型与突变型。依据 CYP2C19、GPIa、ABCB1 基因的突变数量分为 A 组、B 组与 C 组。所有患者给予脑卒中及糖尿病常规治疗,通过血栓弹力图仪(TEG)检测患者在通过氯吡格雷治疗 1 周后的血小板功能、血小板药物抑制率、神经功能。结果 基因检测结果显示,按照 CYP2C19 基因型对 108 例患者进行分组,其中慢代谢型、中代谢型及快代谢型患者分别有 18、48、42 例;按照 GPIa 基因型分组,其中 TC 型 48 例、CC 型 60 例;按照 ABCB1 基因型分组,其中野生型 39 例、突变型 69 例。不同 CYP2C19、GPIa、ABCB1 基因型患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。依据患者检测的基因突变数量将其分为 A、B、C 组,其中 A 组 19 例、B 组 48 例、C 组 41 例。不同突变基因数量患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 CYP2C19、GPIa、ABCB1 基因的不同型并未对伴发糖尿病的卒中患者抗血小板治疗疗效产生影响。

[关键词] CYP2C19; GPIa; ABCB1; 基因检测; 脑卒中; 糖尿病; 抗血小板治疗

Effect of CYP2C19, GPIa, ABCB1 gene detection on antiplatelet therapy in stroke patients with diabetes

FENG Yan, YUAN Lipin, QI YAwei, LI Xue*

(Neurology Department, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450003)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effect of CYP2C19, GPIa, ABCB1 gene detection on antiplatelet therapy in stroke patients with diabetes. **Methods** The clinical data of 108 stroke patients with diabetes who were admitted to the Department of Neurology of Henan Provincial People's Hospital from February 2019 to January 2021 were analyzed. According to the CYP2C19 genotype, they were divided into slow metabolism type, intermediate metabolism type and fast metabolism type. According to GPIa Genotypes, they were divided into TC type and CC type; according to ABCB1 genotype, they were divided into wild type and mutant type. According to the number of mutations in CYP2C19, GPIa and ABCB1 genes, they were divided into group A, group B and group C. All patients were given routine treatment for stroke and diabetes, and thromboelastography (TEG) was used to detect platelet function, platelet drug inhibition rate, and neurological function after 1 week of clopidogrel treatment. **Results** The results of genetic testing showed that 108 patients were grouped according to CYP2C19 genotype, including 18, 48, and 42 patients with slow metabolism, intermediate metabolism, and fast metabolism, respectively, grouped according to GPIa genotype, including 48 patients with TC type, 60 cases of CC type, grouped according to ABCB1 genotype,

项目名称:河南省省部共建项目(SBGJ202002005)

作者单位:河南省人民医院神经内科,河南,郑州 450003

*通信作者:李学, E-mail: lidong875320@163.com

including 39 cases of wild type and 69 cases of mutant type. There was no significant difference in the inhibition rate of antiplatelet drugs, MAADP and neurological function among patients with different *CYP2C19*, *GPIa* and *ABCB1* genotypes ($P>0.05$). Patients were divided into groups A, B, and C according to the number of gene mutations detected, including 19 cases in group A, 48 cases in group B, and 41 cases in group C. There was no significant difference in the inhibition rate of antiplatelet drugs, MAADP and neurological function among patients with different mutated gene numbers ($P>0.05$). **Conclusion** Different types of *CYP2C19*, *GPIa*, *ABCB1* genes did not affect the efficacy of antiplatelet therapy in stroke patients with diabetes.

[KEY WORDS] *CYP2C19*; *GPIa*; *ABCB1*; Genetic testing; Stroke; Diabetes; Antiplatelet therapy

缺血性脑卒中属于脑血管疾病,多由遗传或环境因素影响,其主要因缺血缺氧引起脑组织性坏死产生病变,常与脂质沉积、过氧化造成的动脉粥样硬化有关,对神经功能产生一定的破坏作用^[1-2]。该类患者病情较为复杂,主要临床症状为头晕、吐字不清、四肢麻木等^[3]。以往研究表明,缺血性脑卒中患者多伴有糖尿病,且糖尿病患者引发脑梗死的风险是正常患者的2~4倍,患者往往预后不佳,当患者血糖水平上升之后,脑组织神经损伤加剧,从而影响其认知功能^[4-5]。阿司匹林与氯吡格雷为抗血小板治疗的常用药物,能够有效降低缺血性脑卒中患者的复发,但部分患者存在阿司匹林不耐受的情况,此时多应用氯吡格雷治疗,其疗效明显且发生不良反应的概率较少,受到临床的推崇^[6-7]。但有些患者使用氯吡格雷之后发现无抗血小板的变化,这种情况叫做氯吡格雷抵抗现象,因改善效果不明显会引起缺血性事件的发生,但目前关于其发生的机制尚未明确,主要与遗传学因素及非遗传性因素相关,其中遗传因素包括基因多态性^[8]。*CYP2C19*、*GPIa*、*ABCB1*基因均被证实与氯吡格雷代谢异常有关,目前,关于探究人细胞色素P450酶等位基因(*CYP2C19*)基因型与该类患者抗血小板治疗效果的研究存在^[9],但血小板膜糖蛋白Ia(Platelet Membrane Glycoprotein Ia, *GPIa*)、多药耐药性蛋白(ATP-binding cassette sub-family B member 1, *ABCB1*)基因检测与抗血小板疗效的研究稀少。本研究通过临床资料分析,旨在为指导伴发糖尿病的缺血性脑卒中患者使用氯吡格雷个体化用药提供科学依据。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

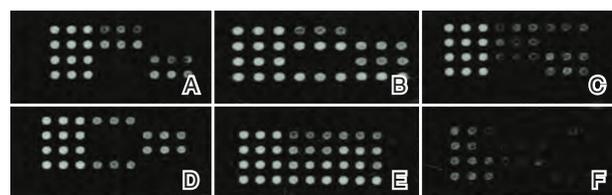
将河南省人民医院神经内科2019年2月至2021年1月收治的108例伴发糖尿病的卒中患者作为研究对象,其中男性65例、女性43例,平均年

龄(60.38 ± 3.97)岁,42例有吸烟史,21例有饮酒史。纳入标准:①脑卒中标准参考全国第五届脑血管病学术会议制定的标准^[10],糖尿病依据WHO标准(1999)诊断;②经影像学确诊;③脑出血、脑梗死后未发生出血现象;④临床资料完整;⑤符合《赫尔辛基宣言》的伦理审查标准;⑥既往无相关用药史。排除标准:①合并严重的肾、肝疾病;②合并脑部肿瘤及其他恶性肿瘤;③合并神经系统相关疾病;④合并凝血功能异常;⑤合并脑部静脉血栓;⑥使用其他影响本研究药物效果的治疗。所有患者或其家属均知情且签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 检测基因型

通过聚合酶链式反应技术检测患者*CYP2C19*、*GPIa*、*ABCB1*基因型,利用基因检测试剂盒(勇石生物科技(重庆)有限公司)并采用荧光探针法检测基因突变位点,通过荧光标记的表达进行基因型的判别。*CYP2C19*基因位点:①*1/*1(636GG, 681GG);②*1/*2(636GG, 681GA);③*1/3(636GA, 681GG);④*2/*2(636GG, 681AA);⑤*2/*3(636GA, 681GA)⑥*3/*3(636AA, 681GG)。依据基因位点分为慢代谢型(④⑤⑥)、中代谢型(②③)与快代谢型(①),见图1。*GPIa*基因位点为A1166C,依据基因位点分为TC型与CC型。*ABCB1*基因位点为C3435T,依据基因位点分为野生型与突变型。依据*CYP2C19*、*GPIa*、*ABCB1*



注:A为快代谢型,B、C为中代谢型,D、E、F为慢代谢型。

图1 *CYP2C19*基因图

Figure 1 *CYP2C19* gene map

基因的突变数量分为A组(未出现基因突变)、B组(存在至少一个基因突变)与C组(所有基因均发生突变)。

1.2.2 TEG检测

TEG采用健朗JLY6000(国产)血栓弹力图仪(安徽健朗医疗器械有限公司,皖械注准202122220046)及配套试剂检测患者血小板纤维蛋白凝块强度,通过花生四烯酸(AA)、二磷酸腺苷(ADP)通道作用于阿司匹林及氯吡格雷。首先采用高岭土对凝血酶进行激活,而后通过该通道表现患者血小板纤维蛋白凝块功能(MA_{凝血酶})。AA/ADP激活剂能够激活未受到药物抑制的血小板、纤维蛋白,得到未受药物影响的血小板及纤维蛋白功能(MA_{ADP(AA)})。因A激活剂单纯激活纤维蛋白故得到纤维蛋白原功能(MA_{纤维蛋白原})。以上三个值用于评价患者药物使用后抑制率。抗血小板药物抑制率=ADP(AA)抑制率=[MA_{凝血酶}-MA_{ADP(AA)}]/(MA_{凝血酶}-MA_{纤维蛋白原})×100%。

1.2.3 神经功能检测

采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIH Stroke Scale, NIHSS)^[11]及改良Rankin评分(Modified Rankin Scale, mRS)表^[12]对患者神经功能缺损情况及预后进行评分。①NIHSS量表评价方式:采用NIHSS量表评估患者神经功能,总分0~42分,0~1分代表正常或接近正常;1~4分代表轻度卒中;5~15分代表中度卒中;16~20分代表中/重度卒中;21~42分代表重度卒中。②mRS量表评价方式:患者状况分为:0级:无症状;1级:有症状,但无明显功能障碍,不影响日常生活和工作;2级:轻度残疾,无

法完成病前一切活动,能独立行走;3级:中度残疾,日常生活需一定帮助,能独立行走;4级:中重度残疾,无法独立行走,日常生活需帮助;5级:重度残疾,卧床,大小便失禁,日常生活完全依赖他人。

1.3 统计学处理

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

2 结果

2.1 CYP2C19、GPIa、ABCB1不同基因型检测情况

基因检测结果显示,按照CYP2C19基因型对108例患者进行分组,其中慢代谢型、中代谢型及快代谢型患者分别有18、48、42例;按照GPIa基因型分组,其中TC型48例、CC型60例;按照ABCB1基因型分组,其中野生型39例、突变型69例。见图2。

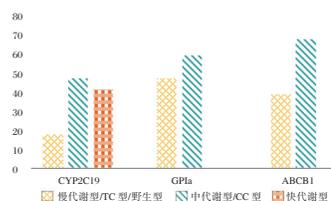


图2 CYP2C19、GPIa、ABCB1不同基因型检测情况
Figure 2 The detection of different genotypes of CYP2C19, GPIa, ABCB1

2.2 不同基因型患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平情况比较

不同CYP2C19、GPIa、ABCB1基因型患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 不同基因型患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平情况比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison of antiplatelet drug inhibition rate, MAADP and neurological function level in patients with different genotypes 结果 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

项目		n	血小板药物抑制率(%)	MAADP(mm)	NIHSS评分	mRS评分
CYP2C19	慢代谢型	18	11(61.11)	40.85±18.20	2.01±0.50	2.33±1.01
	中代谢型	48	23(47.92)	38.11±14.33	1.98±0.43	2.10±0.81
	快代谢型	42	19(45.24)	39.77±16.35	1.80±0.32	1.97±0.79
χ^2/F 值			1.317	0.239	2.820	1.171
P 值			0.518	0.788	0.064	0.314
GPIa	TC型	48	23(47.92)	39.25±16.59	1.76±0.35	2.10±0.97
	CC型	60	30(50.00)	39.89±17.20	1.80±0.52	1.95±0.81
χ^2/F 值			0.046	0.007	0.000	0.000
P 值			0.830	0.873	29.594	3.227
ABCB1	野生型	39	18(46.15)	40.87±17.99	1.79±0.35	1.97±0.80
	突变型	69	35(50.72)	37.29±15.62	2.03±0.49	2.32±1.03
χ^2/F 值			0.208	0.003	0.000	0.000
P 值			0.648	0.201	31.702	1.196

2.3 不同突变基因数量患者分组情况

依据患者检测的基因突变数量将其分为A、B、C组,其中A组19例、B组48例、C组41例。见图3。

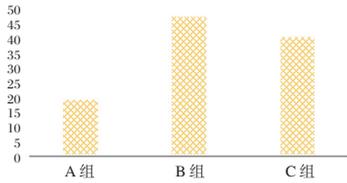


图3 不同突变基因数量患者分组情况

Figure 3 Grouping of patients with different numbers of mutant genes

2.4 不同突变基因数量患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平情况比较

不同突变基因数量患者抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平的差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 不同组别抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能水平 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

组别	n	血小板药物抑制率(%)	MAADP (mm)	NIHSS 评分	mRS 评分
A组	19	9(47.37)	40.29±19.30	1.95±0.62	1.96±0.65
B组	48	23(47.92)	40.42±19.78	1.99±0.76	1.99±0.81
C组	41	21(51.22)	36.74±15.69	2.02±1.00	2.09±0.91
χ^2/F 值		0.123	0.508	0.046	0.229
P 值		0.94	0.603	0.955	0.796

3 讨论

缺血性脑卒中是我国脑卒中一种主要的亚型,现已成为影响我国老年人的重要健康问题。氯吡格雷作为噻吩吡啶类抗血小板治疗的主要药物,能够有效降低缺血性脑卒中患者的发生概率,但不同的患者个人机体情况不一致,导致氯吡格雷的效果不同。氯吡格雷抵抗指的是使用药物之后产生低反应或未发生反应,5%以上的患者易出现药物抵抗,而药物抵抗与缺血性脑卒中的复发有关。*CYP2C19*、*GPIIa*、*ABCB1*是氯吡格雷代谢异常的相关基因,其中*CYP2C19*基因突变经证实与药物生物转化酶的活性程度有关^[13],*GPIIa*基因突变与血小板聚集有关^[14],*ABCB1*基因突变与药物引起的肠道吸收水平下降有关^[15],以上三者的变化均与氯吡格雷治疗后血小板功能及神经功能密切相关,因此,与氯吡格雷代谢有关的基因多态性

受到关注。国外一项研究表明^[16],急性冠脉综合征患者采用阿司匹林结合氯吡格雷治疗后,1年随访结果显示,*CYP2C19*同工酶与氯吡格雷生物学活性相关性密切,是其关键的代谢酶之一,且*CYP2C19*的活性与其基因的多态性有关,研究发现*CYP2C19*的基因型的差异并不会影响患者预后的情况,这与本研究结果一致,本研究结果表明,不同*CYP2C19*基因型患者的抗血小板药物抑制率、MAADP、神经功能的差异不显著,这可能是由于氯吡格雷能够有效发挥抗血小板的作用,且不需要依赖*CYP2C19*系统转化成为活性代谢物,故该药物的治疗效果与*CYP2C19*基因型的差异无关。*GPIIa*是一种重要的胶原蛋白受体,其对血小板活化具有一定的影响,当*GPIIa*与胶原相结合之后会导致患者产生血栓,以往研究显示*GPIIa*携带807T等位基因或与患者动脉粥样硬化相关,本研究结果提示其不同的基因型对氯吡格雷的疗效无影响,但其具体作用机制目前尚未明确。李笑笑等^[17]研究结果显示,*ABCB1*基因多态性对急性动脉粥样硬化脑梗死患者氯吡格雷疗效无影响,此结论亦与本研究结果相似,本研究中得出,不同的*ABCB1*基因型亦不会对氯吡格雷疗效产生影响,这可能是因为:对氯吡格雷药物代谢产生影响的因素多且复杂,临床对于其并未了解透彻,可能还有众多尚未发现的关键因素其作用,另外,评价血小板功能的方式繁杂,每种方式的检测机制和影响因素也不一样,故可能导致研究的结果不一致,本研究虽表现不同基因型的*CYP2C19*、*GPIIa*、*ABCB1*对氯吡格雷疗效、神经功能影响差异不显著,但缺乏对患者的长期跟踪研究,关于其远期效果还有待进一步研究。

综上所述,对于采用氯吡格雷治疗的伴发糖尿病的缺血性脑卒中患者而言,不同*CYP2C19*、*GPIIa*与*ABCB1*基因型之间的血小板抑制率及神经功能水平差异无显著性,但关于其长期影响还需进一步探究。另外,本研究存在一些不足之处,例如只是单中心的回顾性分析,缺乏一些实验的设计性与前瞻性,在今后的研究中将会进一步改进,使研究结果更具有说服力。

参考文献

- [1] 夏亚倩,彭敏,贾雪蓉,等.缺血性卒中患者膳食维生素摄入与颈动脉狭窄的关联研究[J].华南预防医学,2021,47(1):30-34.

脑胶质瘤 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 的表达及与病理特征和预后的关系

赵树鹏* 马继伟 王向阳 胡朝帅 梁甲宁 葛立可 赵新利

[摘要] 目的 研究脑胶质瘤 ATP 结合盒转运蛋白 3 (ABCC3)、磷脂酰乙醇胺结合蛋白 4 (PEBP4) 及膜联蛋白 7 (Anxa7) 的表达与病理特征、预后的关系。方法 收集 2016 年 5 月至 2018 年 6 月于新乡医学院第一附属医院行肿瘤切除术的 88 例脑胶质瘤患者的胶质瘤组织作为实验组,同时收集瘤旁组织(距离肿瘤 5 cm 处)作为对照组;根据预后分为生存组($n=51$)及死亡组($n=37$)。对比各组间 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 表达情况;分析脑胶质瘤中 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 的表达与病理特征、预后的关系。结果 实验组 ABCC3、PEBP4 阳性率及 Anxa7 阴性率较对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。ABCC3、PEBP4 阳性及 Anxa7 阴性患者的分化程度、远处转移、TNM 分期高于 ABCC3、PEBP4 阴性及 Anxa7 阳性患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。死亡组 ABCC3、PEBP4 阳性率及 Anxa7 阴性率较生存组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。组织分化程度、远处转移、TNM 分期、ABCC3、PEBP4、Anxa7 为影响脑胶质瘤预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 脑胶质瘤中 ABCC3、PEBP4 阳性表达高,Anxa7 阴性表达高,三者可作为脑胶质瘤患者病情预后有效评估指标。

[关键词] 脑胶质瘤; ABCC3; PEBP4; Anxa7

Expression of ABCC3, PEBP4 and Anxa7 in glioma and their relationship with pathological features and prognosis

ZHAO Shupeng*, MA Jiwei, WANG Xiangyang, HU Chaoshuai, LIANG Jianing, GE Like, ZHAO Xinli
(Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between the expression of ATP binding cassette subfamily C member-3 (ABCC3), phosphatidylethanolamine-binding protein-4 (PEBP4), Annexin-7 (Anxa7) and pathological characteristics and prognosis in brain gliomas. **Methods** The glioma tissues of 88 patients with glioma who underwent tumor resection in the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College from May 2016 to June 2018 were collected as the experimental group, and normal tissues adjacent to the tumor were collected as the control group; according to the prognosis they were divided into the survival group ($n=51$) and the death group ($n=37$). The expression of ABCC3, PEBP4 and Anxa7 among the groups was compared. The relationship between the expression of ABCC3, PEBP4 and Anxa7 in glioma tissue and pathological characteristics and prognosis in brain gliomas was analyzed. **Results** The positive rate of ABCC3, PEBP4 and the negative rate of Anxa7 in the experimental group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The degree of differentiation, distant metastasis, TNM stage of ABCC3, PEBP4 positive and Anxa7 negative patients was higher than those of ABCC3, PEBP4 negative and Anxa7 positive patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive rate of ABCC3,

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200503)

作者单位:新乡医学院第一附属医院神经外科,河南,新乡 453000

*通信作者:赵树鹏, E-mail: wtong22288@sina.com

PEBP4 and the negative rate of Anxa7 in the death group were higher than those in the survival group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The degree of tissue differentiation, distant metastasis, TNM staging, ABCC3, PEBP4, Anxa7 were independent risk factors affecting the prognosis of glioma ($P<0.05$).

Conclusion The positive expression rate of ABCC3 and PEBP4 in glioma tissue is high, and the negative expression of Anxa7 is high. The three can be used as effective indicators for the prognosis of patients with glioma.

[KEY WORDS] Glioma; ABCC3; PEBP4; Anxa7

脑胶质瘤起源于神经上皮,且大多数属于恶性肿瘤,发病率占颅脑肿瘤的36%~63%^[1]。早期脑胶质瘤患者可无明显症状,容易延误最佳治疗时机;且该病恶性程度高,临床治疗难度大,生存率低,严重威胁患者的生命安危^[2]。随着细胞与生物分子研究的开展,脑胶质瘤与转移的分子机制及肿瘤治疗新靶点引起广泛关注^[3]。据相关文献报道,磷脂酰乙醇胺结合蛋白4(phosphatidylethanolamine-binding protein-4, PEBP4)与ATP结合盒转运蛋白3(ATP binding cassette subfamily C member-3, ABCC3)被证实表达于肺癌、胰腺癌、胶质瘤等多数肿瘤细胞中;膜联蛋白7(Annexin-7, Anxa7)具有抑癌作用,广泛存在于细胞中,在肿瘤细胞中呈现低表达^[4-6]。本文主要研究脑胶质瘤患者ABCC3、PEBP4及Anxa7的表达与病理特征、预后的关系,旨在为脑胶质瘤的临床诊疗及疾病预后提供参考思路。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2016年5月至2018年6月于新乡医学院第一附属医院行肿瘤切除术的88例脑胶质瘤患者的胶质瘤组织作为实验组,同时收集瘤旁组织(距离肿瘤5 cm处)作为对照组。其中男性49例,女性39例,平均年龄(47.35 ± 6.23)岁;平均病程(12.16 ± 5.84)个月。纳入标准:①均符合脑胶质瘤的诊断标准^[7],且经CT、MRI检查及术后病理检查确诊;②均为原发脑胶质瘤且未行放疗;③病历资料完整无缺漏;④本研究已通过医院伦理委员会批准,受试者或家属已签署知情同意书。排除标准:①有血液系统疾病者;②有其他恶性肿瘤者;③合并脑脓肿等颅内感染性疾病者;④风湿免疫或结缔组织病变者;⑤拒绝检查或未完成相关检查的患者。

1.2 方法

山羊抗PEBP4多克隆抗体、山羊抗ABCC3

多克隆抗体、兔抗人Anxa7多克隆抗体、链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接(streptavidin-peroxidase, SP)免疫组化超敏试剂盒、DAB显色试剂均选自北京中杉金桥生物技术公司。采用S-P免疫组化染色,将标本经常规石蜡切片、脱水。根据S-P免疫组化染色法对ABCC3、PEBP4及Anxa7进行检测,整个实验操作过程严格按照说明进行。

1.3 判定标准

由病理科医师在光学显微镜下随机观察5个视野,要求每个视野至少计数100个完整的肿瘤细胞。ABCC3、PEBP4及Anxa7免疫组化阳性判定标准^[8]:肿瘤细胞胞质或细胞核中出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性,反之则为阴性。阳性细胞比例评分:<25%为1分,25%~50%为2分,>50%为3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>3分为阳性;染色指数≤3分为阴性。阳性率=(阳性例数/总例数)×100%。

1.4 随访

患者出院后均进行为期3年的随访,随访直至随访期结束(截止时间2021年6月)或者患者死亡,根据预后情况分为生存组及死亡组,并分析影响脑胶质瘤患者预后的危险因素。

1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件处理,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Logistic回归模型分析影响脑胶质瘤患者预后的独立危险因素;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

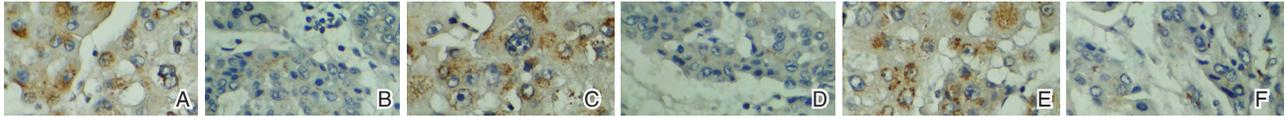
2.1 两组ABCC3、PEBP4及Anxa7表达情况比较

实验组ABCC3、PEBP4阳性率及Anxa7阴性率较对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1、图1。

表1 实验组、对照组 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 表达情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of ABCC3, pebp4 and anxa7 expression between experimental group and control group [n(%)]

组别	n	ABCC3		PEBP4		Anxa7	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
实验组	88	80(90.91)	8(9.09)	75(85.23)	13(14.77)	12(13.64)	76(86.36)
对照组	88	15(17.05)	73(82.95)	21(23.86)	67(76.14)	70(79.55)	18(20.45)
χ^2 值		96.634		66.825		76.812	
P值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A为ABCC3阳性表达;B为ABCC3阴性表达;C为Anxa7阳性表达;D为Anxa7阴性表达;E为PEBP4阳性表达;F为PEBP4阴性表达。

图1 脑胶质瘤中 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 表达情况 (SP, ×400)

Figure 1 The expression of ABCC3, PEBP4 and Anxa7 in brain glioma (SP, ×400)

2.2 分析脑胶质瘤组织中 ABCC3、PEBP4、Anxa7 表达与病理特征的关系

ABCC3、PEBP4 阳性患者的分化程度、远处转移、

TNM 分期高于 ABCC3、PEBP4 阴性患者, Anxa7 阴性患者的分化程度、远处转移、TNM 分期高于 Anxa7 阳性患者, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表2 分析脑胶质瘤组织中 ABCC3、PEBP4、Anxa7 表达与病理特征的关系 [n(%)]

Table 2 Analysis of the relationship between the expression of ABCC3, pebp4, anxa7 and pathological features in gliomas [n(%)]

病理参数	ABCC3		χ^2	P值	PEBP4		χ^2 值	P值	Anxa7		χ^2 值	P值	
	阳性(n=80)	阴性(n=8)			阳性(n=75)	阴性(n=13)			阳性(n=12)	阴性(n=76)			
年龄	<50岁	45(56.25)	4(50.00)	0.115	0.734	41(54.67)	7(53.85)	0.003	0.956	7(58.33)	41(53.95)	0.080	0.777
	≥50岁	35(43.75)	4(50.00)			34(45.33)	6(46.15)			5(41.67)	35(46.05)		
性别	男	46(57.50)	5(62.50)	0.075	0.785	42(56.00)	8(61.54)	0.139	0.710	6(50.00)	42(55.26)	0.116	0.734
	女	34(42.50)	3(37.50)			33(44.00)	5(38.46)			6(50.00)	34(44.74)		
组织分化	高分化	29(36.25)	6(75.00)	4.559	0.033	32(42.67)	11(84.62)	7.803	0.001	9(75.00)	31(40.79)	4.892	0.027
	中低分化	51(63.75)	2(25.00)			43(57.33)	2(15.38)			3(25.00)	45(59.21)		
瘤体直径	≤3cm	41(51.25)	3(37.50)	0.550	0.458	41(54.67)	10(76.92)	2.252	0.133	5(41.67)	40(52.63)	0.499	0.480
	>3cm	39(48.75)	5(62.50)			34(45.33)	3(23.08)			7(58.33)	36(47.37)		
远处转移	有	51(63.75)	2(25.00)	4.559	0.033	46(61.33)	4(30.77)	4.219	0.040	3(25.00)	46(60.53)	5.301	0.021
	无	29(36.25)	6(75.00)			29(38.67)	9(69.23)			9(75.00)	30(39.47)		
TNM 分期	I~II	55(68.75)	2(25.00)	6.101	0.014	41(54.67)	2(15.38)	6.842	0.009	4(33.33)	55(72.37)	7.147	0.008
	III~IV	25(31.25)	6(75.00)			34(45.33)	11(84.62)			8(66.67)	21(27.63)		
肿瘤位置	小脑幕下	42(52.50)	5(62.50)	0.292	0.589	40(53.33)	9(69.23)	1.135	0.287	8(66.67)	42(55.26)	0.549	0.459
	小脑幕上	38(47.50)	3(37.50)			35(46.67)	4(30.77)			4(33.33)	34(44.74)		

2.3 生存组、死亡组 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 表达情况比较

据预后情况分为生存组 ($n=51$) 及死亡组 ($n=37$)。死亡组 ABCC3、PEBP4 阳性率及 Anxa7 阴性率较生存组高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 影响脑胶质瘤患者预后的独立危险因素分析

Logistic 回归模型分析显示, 组织分化程度(中低分化)、远处转移(有)、TNM 分期(III~IV 期)、ABCC3(阳性)、PEBP4(阳性)、Anxa7(阴性)为影响脑胶质瘤患者预后的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

研究显示, 不同级别胶质瘤的生物学行为均具有恶性表现, 虽然临床上通过手术能够取得一定治疗效果, 但由于胶质瘤发病机制复杂, 与正常组织边界不清晰, 会影响手术切除效果^[9]。因此, 对脑胶质瘤的致病机制及靶点进行深入了解具有重要意义。国内外研究证实, 胶质瘤的发生、发展是许多蛋白基因及细胞因子共同作用的结果, 故开发脑胶质瘤早期诊断的标记物成为目前治疗胶质瘤研究的方向^[10-11]。

表3 生存组、死亡组 ABCC3、PEBP4 及 Anxa7 表达情况比较 [n(%)]

Table 3 Comparison of ABCC3, pebp4 and anxa7 expression in survival group and death group [n(%)]

组别	n	ABCC3		PEBP4		Anxa7	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
生存组	51	43(84.31)	8(15.69)	39(76.47)	12(23.53)	11(21.57)	40(78.43)
死亡组	37	37(100.00)	0(0.00)	36(97.30)	1(2.70)	1(2.70)	36(97.30)
χ^2 值		6.384		7.387		6.481	
P值		0.011		0.007		0.011	

表4 影响脑胶质瘤患者预后的独立危险因素

Table 4 independent risk factors affecting the prognosis of patients with glioma

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
分化程度(中低分化 vs 高分化)	1.992	(1.405~2.823)	0.024	1.763	(1.407~2.209)	0.007
远处转移(有 vs 无)	1.432	(1.151~13.238)	0.008	1.992	(1.405~2.823)	0.004
TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ期 vs Ⅰ~Ⅱ期)	1.640	(1.901~16.806)	0.003	2.373	(1.758~3.202)	0.002
ABCC3(阳性 vs 阴性)	1.642	(1.588~1.698)	0.001	1.756	(1.369~2.252)	<0.001
PEBP4(阳性 vs 阴性)	1.258	(2.290~17.518)	0.017	2.372	(1.052~5.352)	<0.001
Anxa7(阴性 vs 阳性)	1.529	(1.730~18.908)	0.006	1.850	(1.305~2.622)	<0.001

ABCC3 是 ATP 结合盒转运蛋白的超家族成员,能够通过细胞外膜和细胞内膜转运各种分子,其表达与细胞粘附、血管生成、趋药性等生物学过程有关^[12]。研究证实 ABCC3 表达于多种肿瘤细胞中,可运转长春新碱等抗癌药物,从而影响肿瘤的多重耐药,在介导抗肿瘤药物外排中具有重要作用^[13]。本文研究结果中,ABCC3 在瘤旁组织中的阳性表达率高于胶质瘤组织,说明 ABCC3 在脑胶质瘤中呈现高表达状态;且在死亡组患者中其阳性表达率高于生存组,说明 ABCC3 高表达的脑胶质瘤患者预后可能更差。

PEBP4 作为一种胞质可溶性蛋白,其结构高度保守,能够促进肿瘤细胞的增殖、浸润与转移^[14]。本研究结果说明患者机体的 PEBP4 表达越高,病情越严重,从而影响预后。分析个中缘由,PEBP4 具有促进胆碱乙酰转移酶分泌的作用,而胆碱乙酰转移酶参与了多种肿瘤疾病的发生发展,对患者的预后造成严重影响。

Anxa7 是一种钙依赖的磷脂结合蛋白,具有维持细胞膜受体功能、调节细胞免疫的作用,还可以通过抑制表皮生长因子受体的活性控制肿瘤细胞增殖扩散^[15]。本文研究结果显示,Anxa7 在胶质瘤组织中的阳性表达率低于瘤旁组织,考虑为 Anxa7 基因突变及 DNA 甲基化,使得 Anxa7 水平下降,这与既往研究结果报道相一致^[16]。并且 Anxa7 在死亡组患者中的阳性表达率低,考虑为 Anxa7 抑制表皮生长因子受体活性的能力减弱,

表皮生长因子受体高表达,促进了脑胶质瘤的病变。

本文分析结果显示:ABCC3、PEBP4 阳性患者的分化程度、远处转移、TNM 分期高于 ABCC3、PEBP4 阴性患者,Anxa7 阴性患者的分化程度、远处转移、TNM 分期高于 Anxa7 阳性患者。经 Logistic 回归模型分析得出,组织分化程度(中低分化)、远处转移(有)、TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ期)、ABCC3(阳性)、PEBP4(阳性)、Anxa7(阴性)为影响脑胶质瘤患者预后的独立危险因素。提示临床治疗中需加强对伴随高危因素患者的干预,在治疗后进行针对性预防有利于改善患者预后、提高患者生存时限。

综上所述,脑胶质瘤中 ABCC3、PEBP4 阳性表达高,Anxa7 阴性表达高,三者参与了脑胶质瘤的临床生物学进展,可作为脑胶质瘤患者病情预后有效评估指标。

参考文献

- [1] Parisi G, Ceschia T, Trovò M. Comment on "Correlation of CT indicators of NSCLC and pathological features and the expression level of p53 and c-myc" [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018,22(7):1877-1878.
- [2] 穆寅东,赵天书,谢清. 脑胶质瘤 SOX7 基因的甲基化状态及临床意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2019,24(2):90-92.
- [3] Batalov AI, Goryaynov SA, Zakharova NE, et al. Prediction of Intraoperative Fluorescence of Brain Gliomas: Correlation between Tumor Blood Flow and the Fluorescence [J]. J Clin Med, 2021,10(11):2387-2387.

- [4] 张涛,王辉,杨晓文,等.复发性脑胶质瘤患者磷脂酰乙醇胺结合蛋白4表达情况及其临床意义研究[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(5):36-39.
- [5] 刘恩智,邵晓光,盛巍.胶质瘤组织中let-7b,Anxa7表达水平变化及其与临床病理特征、预后的关系[J].卒中与神经疾病,2020,27(5):639-643.
- [6] 陈婧,张克难,王宽宇,等.ABCC3蛋白在脑胶质瘤中的表达及临床意义[J].中华神经外科杂志,2018,34(9):952-956.
- [7] 杨学军,江涛.脑胶质瘤临床诊断与治疗:积于跬步蓄势超越[J].中国现代神经疾病杂志,2019,19(11):801-806.
- [8] Sun ZX, Liu JQ, Liu JT. The expression of lncRNA - MALAT1 in breast cancer patients and its influences on prognosis [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-Grand, France), 2020, 66 (3):72-78.
- [9] 吕超,孙慧渊,闫俊飞. CCL18、HIF-1 α 、MIF mRNA 在人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.
- [10] Mehdi AF, Mohammad R, Hamideh AN, et al. The Expression of P53, MDM2, c-myc, and P14ARF Genes in Newly Diagnosed Acute Lymphoblastic Leukemia Patients [J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2020, 36(10):277-283.
- [11] 侯保森,徐培坤,王斌,等.脑胶质瘤患者肿瘤组织和外周血 HOPX 基因甲基化的检测[J].安徽医科大学学报,2018,53(3):428-432.
- [12] Haller PM, Jaeger B, Piackova E, et al. 203The expression of pro-coagulatory endothelial- and monocyte derived extracellular vesicles in patients with coronary artery disease differs depending on the presence of certain cardiovascular risk fac [J]. Cardio Res, 2018, 114(6):53-54.
- [13] 国丽茹,王淑彬,桑梅香,等. MAGE-A1 和 MAGE-A3 在脑胶质瘤组织中的表达及其临床意义[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2019,26(4):402-408.
- [14] 陈寒春,解祥通,虞政权,等.蛋白质组学在脑胶质瘤和脑转移瘤中的研究进展[J].中华医学杂志,2020,100(44):3556-3558.
- [15] Vasileios A, Abraham T, Nikolaos F, et al. Does proximity to the subventricular zone and expression of CXCR-4 and nestin affect prognosis in high-grade glioma? [J]. British J Neuros, 2018, 32(6):614-618.
- [16] 张学浩,徐灿,方川.人源肿瘤组织异种移植在脑胶质瘤中的应用进展[J].中国现代医学杂志,2019,29(18):36-39.

(上接第433页)

- [2] Ma F, Sun P, Zhang X, et al. Endothelium-targeted deletion of the miR-15a/16-1 cluster ameliorates blood-brain barrier dysfunction in ischemic stroke [J]. Sci Signal, 2020, 13(626): eaay5686.
- [3] 袁大华,杜朴,王玉凯.血清PTX-3,CTRP9,MIF水平与缺血性脑卒中患者神经功能及短期预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(7):935-939.
- [4] 周英,朱荣志,檀国祥,等.卒中前血糖水平对急性缺血性脑卒中早期神经功能缺损严重程度及预后的影响[J].安徽医药,2019,23(7):1437-1441.
- [5] 张艳,刘翔,李鸿钊,等.血清脂蛋白磷脂酶A2和血浆抗凝血酶Ⅲ对2型糖尿病患者发生缺血性脑卒中风险的评估价值[J].现代检验医学杂志,2020,35(4):71-74.
- [6] 倪晓璐,逢晓云.急性脑梗死或短暂性脑缺血发作患者抗血小板治疗后血小板高反应性影响因素分析[J].药学服务与研究,2020,20(3):174.
- [7] 李宏建.高危患者使用西洛他唑双重抗血小板治疗的卒中二级预防效果优于单药治疗[J].国际脑血管病杂志,2019,27(6):425.
- [8] 梅竹,侯智为,才艺,等.两种检测方法评价ACS患者服用氯吡格雷后的血小板反应性及其与CYP2C19基因多态性的关系[J].解放军医学杂志,2020,45(5):531-536.
- [9] 李娟.氯吡格雷抵抗基因多态性与短暂性脑缺血发作的相关性研究进展[J].海南医学,2021,32(20):2681-2684.
- [10] 魏兴海.第五届全国脑血管病学术会议简介[J].现代康复,2000,4(3):357.
- [11] 姚丽娜,时伟,孙喜燕,等.颗粒蛋白前体、基质金属蛋白酶-9及入院时美国国立卫生研究院卒中量表评分对脑梗死病人出血转化的预测价值[J].安徽医药,2021,25(5):966-970.
- [12] 王国瑜,汪洋,石华,等.缺血性脑卒中合并脑白质疏松患者预后分析及不同病变程度对认知功能的影响[J].中国临床医生杂志,2020,48(6):677-680.
- [13] 吴铮,李文铮,王长华,等.CYP2C19基因多态性与PCI术后氯吡格雷治疗患者血小板功能、炎性指标及病情转归的相关性[J].疑难病杂志,2019,18(8):770-774.
- [14] 槐瑞雪.阿司匹林抵抗与缺血性脑卒中复发的相关性研究[D].河北:河北医科大学,2018.
- [15] 李剑钦,杨星辰,史蔚青.ABCB1 C3435T基因多态性与氯吡格雷抵抗相关性的荟萃分析[J].药学服务与研究,2020,20(5):330-335.
- [16] Rodríguez-González F, Martínez-Quintana E, Saavedra P, et al. CYP2C19 or CYP3A5 Genotyping Does Not Predict Clinical Response to Clopidogrel [J]. J Clin Pharmacol. 2018, 58(10):1274-1283.
- [17] 李笑笑,吕佳宁,吴旭青,等.ABCB1和CYP2C19基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死患者氯吡格雷疗效的相关性[J].中国临床医学,2019,26(6):827-833.

· 论 著 ·

膀胱癌中 Yes 相关蛋白表达与 Wnt/ β -catenin 通路的关系及其临床病理意义

李建军 喻长莉*

[摘要] 目的 研究膀胱癌中 Yes 相关蛋白(YAP)表达与 Wnt/ β -catenin 通路的关系及其临床病理意义。方法 选择2017年1月至2018年12月期间在湖北省武汉市江夏区中医医院接受手术切除的膀胱癌患者(108例)作为研究对象,同时取癌旁距离 ≥ 5 cm的正常组织为对照组。检测膀胱癌组织及癌旁组织中 YAP、Wnt1、Wnt3a、 β -catenin 的表达水平,分析 YAP 表达与膀胱癌病理特征及 Wnt1、Wnt3a、 β -catenin 表达的关系、随访膀胱癌患者的无进展生存情况和总生存情况,分析 YAP 表达与生存预后的关系。结果 膀胱癌组织的 YAP 高表达率及 mRNA 表达水平均高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$);膀胱癌 YAP 高表达患者病理分级Ⅲ级、T3-T4期、淋巴结转移的比例高于 YAP 低表达患者,膀胱癌组织中 Wnt1、Wnt3a、 β -catenin 的 mRNA 表达水平高于 YAP 低表达患者,随访过程中的累积无进展生存率及累积总生存率均低于膀胱癌 YAP 低表达患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 膀胱癌中 YAP 表达水平增加与 Wnt/ β -catenin 通路激活及病理进展、生存时间缩短有关。

[关键词] 膀胱癌; Yes 相关蛋白; Wnt/ β -catenin 通路; 预后

The relationship of Yes associated protein expression and Wnt/ β -catenin pathway in bladder cancer and its clinicopathological significance

LI Jianjun, YU Changli*

(Department of Urology, Jiangxia District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, China, 430200)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship of Yes associated protein (YAP) expression and Wnt/ β -catenin pathway in bladder cancer and its clinicopathological significance. **Methods** The patients with bladder cancer who underwent surgical resection in Jiangxia District Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2017 to December 2018 were selected as the research objects ($n=108$). The expression of YAP, Wnt1, Wnt3a, β -catenin in bladder cancer tissues and adjacent tissues were detected. The relationship between YAP and pathological features, Wnt1, Wnt3a, β -catenin expression was analyzed. The progression free survival and overall survival of bladder cancer were followed-up and the relationship between YAP expression and survival prognosis was analyzed. **Results** The high expression rate and mRNA expression level of YAP in bladder cancer tissues were higher than those in adjacent tissues ($P < 0.05$). In patients with high YAP expression in bladder cancer, the proportion of pathological grading Ⅲ, T3-T4 stage and lymph node metastasis were higher than those in patients with low YAP expression, mRNA expression of Wnt1, Wnt3a, β -catenin were higher than those of patients with low YAP expression, the cumulative progression free survival and cumulative overall survival rate during follow-up were lower than those in patients with low YAP expression ($P < 0.05$). **Conclusion** Increased expression of YAP in bladder cancer is associated with activation of Wnt/ β -catenin pathway, pathological progression, and shortened survival time.

[KEY WORDS] Bladder cancer; Yes associated protein; Wnt/ β -catenin pathway; Prognosis

基金项目:开封市科技发展计划项目(2003036)

作者单位:湖北省武汉市江夏区中医医院泌尿科,湖北,武汉 430200

*通信作者:喻长莉, E-mail: 1501568851@qq.com

膀胱癌是一种发病率较高的泌尿系恶性肿瘤,虽然手术切除、灌注化疗等治疗手段取得了一定疗效,但治疗后容易发生复发及转移,预后不佳、5年生存率低^[1-2]。目前,膀胱癌的发病机制尚不完全清楚,临床上也缺乏评估病情及预后的分子标志物及靶向治疗的分子靶点。Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)参与细胞内信号传导及基因表达调控,在多种恶性肿瘤发病中起重要作用。一项膀胱癌相关的细胞实验证实,敲低膀胱癌细胞T24中YAP的表达后,癌细胞的增殖活力降低且细胞中Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)通路受到明显抑制^[3],提示YAP可能通过Wnt/ β -catenin通路参与膀胱癌的发病,但YAP在膀胱癌中的作用尚缺乏临床证据。因此,本研究将以膀胱癌患者为对象,分析膀胱癌中YAP表达与Wnt/ β -catenin通路的关系及其临床病理意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2017年1月至2018年12月期间在湖北省武汉市江夏区中医医院接受手术切除的膀胱癌患者作为研究对象,同时取癌旁距离 ≥ 5 cm的正常组织为对照组。纳入标准:①接受手术治疗,术后病理诊断为膀胱癌^[4];②术前未接受过放疗或其他抗肿瘤治疗;③临床病理资料及随访资料完整;④取得知情同意。排除标准:①既往有其他恶性肿瘤病史;②合并免疫功能异常、精神类疾病等。共纳入108例患者,年龄平均(61.49 \pm 11.82)岁,男性78例、女性30例,病理分级I级19例、II级24例、III级65例。本研究获得医院伦理委员会批准。

1.2 免疫组化染色及结果判定

取膀胱癌组织及癌旁组织,制作石蜡切片后采用SP二步法免疫组化染色试剂盒(北京杰辉博高生物公司)对YAP、Wnt1、Wnt3a、 β -catenin进行免疫组化染色,YAP一抗为Abcam公司、稀释比例1:200,完成免疫组化染色后进行苏木素复染,封片并在显微镜下观察。根据染色强度及阳性细胞比例进行结果判定^[4]。染色强度:无染色为0分、黄色染色为1分、棕黄色染色为2分、棕褐色染色为3分;阳性细胞比例:无染色为0分,1%~25%阳性为1分、26%~50%阳性为2分、51%~75%阳性为3分、>75%阳性为4分。将染色强度积分与阳性细胞比例积分相乘,乘积1~4分为低表达、5~12分为高表达。

1.3 荧光定量PCR检测mRNA表达水平

取膀胱癌组织及癌旁组织,采用RNA提取试剂盒(北京天根生化公司)提取RNA,采用cDNA合成试剂盒(北京天根生化公司)对RNA进行反转录、合成cDNA,采用荧光定量PCR试剂盒(北京天根生化公司)进行cDNA样本中YAP、Wnt1、Wnt3a、 β -catenin表达水平的检测,分别对YAP、Wnt1、Wnt3a、及进行荧光定量PCR扩增,得到扩增的循环曲线及循环阈值(cycle threshold, CT),以 β -actin为内参、按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算YAP、Wnt1、Wnt3a、 β -catenin的mRNA表达水平。

1.4 预后的随访

采用门诊复查、电话回访等方式进行随访,截止时间为2021年5月31日,随访内容为疾病进展情况和生存情况,计算无进展生存期和总生存期。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件和Prism6.0软件进行统计学分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,无进展生存期和总生存期采用K-M曲线描述、采用log-rank检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 膀胱癌组织及癌旁组织YAP表达水平的比较

膀胱癌组织的YAP高表达率及mRNA表达水平均高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图1、表1。

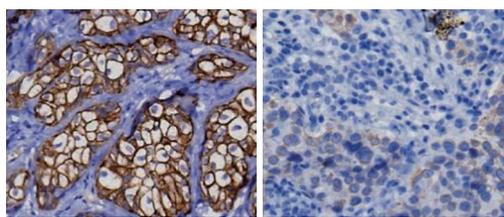


图1 膀胱癌组织及癌旁组织YAP病理图(SP, $\times 400$)

Figure 1 Immunohistochemical staining of YAP in bladder cancer tissues and adjacent tissues (SP, $\times 400$)

2.2 膀胱癌YAP低表达与高表达患者临床病理特征的比较

膀胱癌YAP低表达与高表达患者性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),膀胱癌YAP高表达患者病理分级III级、T3-T4期、淋巴结转移的比例高于YAP低表达患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 膀胱癌组织及癌旁组织 YAP 表达水平的比较
[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of YAP expression level in bladder cancer tissues and adjacent tissues [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组织来源	n	YAP 高表达率	YAP mRNA 表达水平
膀胱癌组织	108	76(70.37)	2.42±0.45
癌旁组织	108	36(33.33)	1.00±0.21
χ^2 值		29.670	29.717
P 值		0.000	0.000

表2 膀胱癌 YAP 低表达与高表达患者临床病理特征比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Comparison of clinicopathological features between low expression and high expression of YAP in bladder cancer [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

临床病理特征	YAP 蛋白表达		χ^2 值	P 值	
	高表达	低表达			
性别	男	56(71.79)	22(28.21)	0.273	0.601
	女	20(66.67)	10(33.33)		
年龄	<60 岁	34(73.91)	12(26.09)	0.482	0.487
	≥60 岁	42(67.74)	20(32.26)		
病理分级	I~II	24(55.81)	19(44.19)	7.261	0.007
	III	52(80.00)	13(20.00)		
T 分期	T1~T2	26(59.09)	18(40.91)	4.531	0.033
	T3~T4	50(78.13%)	14(21.88)		
淋巴结转移	否	39(61.90)	24(38.10)	5.197	0.023
	是	37(82.22)	8(17.78)		

2.3 YAP 低表达与高表达的膀胱癌组织中 Wnt/ β -catenin 通路的比较

YAP 高表达的膀胱癌组织中 *Wnt1*、*Wnt3a*、 *β -catenin* 的 mRNA 表达水平高于 YAP 低表达的膀胱癌组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表3 YAP 低表达与高表达的膀胱癌组织中 *Wnt1*、*Wnt3a*、 *β -catenin* mRNA 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of mRNA expression of *Wnt1*, *Wnt3a*, *β -catenin* between low expression and high expression of YAP in bladder cancer tissues ($\bar{x} \pm s$)

YAP 蛋白表达	n	<i>Wnt1</i>	<i>Wnt3a</i>	<i>β-catenin</i>
低表达	32	1.67±0.31	1.58±0.34	1.52±0.30
高表达	76	2.09±0.32	2.11±0.39	2.18±0.41
t 值		6.285	6.688	8.218
P 值		0.000	0.000	0.000

2.4 膀胱癌 YAP 低表达与高表达患者无进展生存期及总生存期的比较

膀胱癌 YAP 高表达患者随访过程中的累积无进展生存率及累积总生存率均低于膀胱癌 YAP 低表达患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

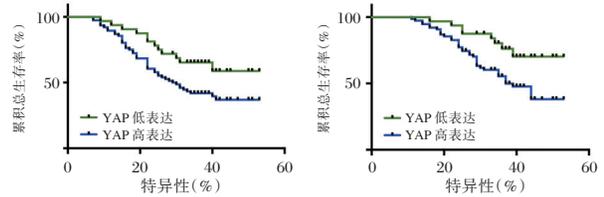


图2 膀胱癌 YAP 低表达与高表达患者无进展、总生存期的 K-M 曲线

Figure 2 K-M curve of progression free and overall survival in patients with low YAP expression and high expression of bladder cancer

3 讨论

YAP 基因是近些年受到越来越多关注的原癌基因,该基因的编码产物含有 WW 结构域,是 Hippo 信号通路的核心蛋白,在细胞内对多种信号通路的激活及基因的表达具有调控作用。国内外多项临床研究证实,肺癌^[4]、胰腺癌^[5]、乳腺癌^[6]等多种恶性肿瘤组织中 YAP 的表达水平明显增加,提示 YAP 具有促癌作用。膀胱癌中 YAP 相关的研究仍处于细胞实验阶段,国内刘邦俭^[3]、董锐^[7]及 Chen X^[8]的细胞实验均证实敲低 YAP 显著抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭,提示 YAP 可能在膀胱癌的发病中起促癌作用。本研究通过临床样本的收集及检测证实:膀胱癌组织中 YAP 的表达水平较癌旁组织明显增加,结合既往其他学者在细胞实验中证实 YAP 促进膀胱癌细胞生长的生物学效应进行分析,局部组织中高表达的 YAP 可能参与膀胱癌的发病。

膀胱癌具有浸润性生长的生物学特性,不断浸润的膀胱癌细胞促进了病理进展。癌细胞异常的增殖、迁移及侵袭是与膀胱癌浸润性生长密切相关的生物学行为,YAP 已经被证实显著促进膀胱癌细胞的增殖、迁移及侵袭,但其与膀胱癌病理进展的关系尚不清楚。Marquard S^[9]在肝癌中的研究及 Li J^[10]在头颈部恶性肿瘤中的研究分别证实 YAP 的高表达与两种恶性肿瘤的病理进展有关。本研究分析了膀胱癌发病过程中 YAP 与病理特征的关系。根据 YAP 的免疫组化染色检测结果将其分为高表达和低表达,与膀胱癌 YAP 低表达的患者比较,YAP 高表达患者的病理分级、T 分期及淋巴结转移率均更高,表明 YAP 表达增加与膀胱癌的病理进展有关,进而验证了高表达的 YAP 参与膀胱癌的发病。

膀胱癌相关的细胞实验证实, YAP的促癌作用与激活 Wnt/ β -catenin 通路有关^[3], 这一作用也在胃癌^[11]、肝癌^[12]、黑色素瘤^[13]、宫颈癌^[14]中被证实。Wnt/ β -catenin 通路是经典的促癌通路, 上游信号分子 Wnt1、Wnt3a 与受体 Frz、LRP5/6 结合后向细胞内传递信号, 使 β -catenin 在细胞质内聚集并向细胞核转位, 进入细胞核的 β -catenin 能调控多种原癌基因表达、促进细胞生长。Chehrazhi-Raffle A 的研究证实, Wnt/ β -catenin 通路的激活对膀胱癌细胞的生长具有促进作用^[15]。本研究通过临床样本的检测对膀胱癌发病过程中 YAP 与 Wnt/ β -catenin 通路的关系进行了验证, 与 YAP 低表达的膀胱癌比较, YAP 高表达的膀胱癌中 Wnt1、Wnt3a 及 β -catenin 的表达均明显增加, 提示高表达的 YAP 可能通过激活 Wnt/ β -catenin 通路参与膀胱癌的发病。

最后, 本研究还对膀胱癌的预后进行了随访。目前关于膀胱癌预后的研究认为, 病灶浸润、淋巴结转移等病理特征是预后的影响因素^[16-18], 本研究已经证实 YAP 的高表达与 T 分期、淋巴结转移有关, 进一步分析 YAP 表达水平与预后的关系可知: YAP 高表达患者随访过程中的累积无进展生存率及累积总生存率均明显降低, 表明 YAP 的高表达与膀胱癌患者预后不佳、生存时间缩短有关, 由此也为深入认识 YAP 在膀胱癌发病中的作用提供了临床随访证据。

综上所述, 膀胱癌中 YAP 表达水平增加与 Wnt/ β -catenin 通路激活及病理进展、生存时间缩短有关, 上述结果为今后深入研究 YAP 在膀胱癌发病中的作用及机制提供了依据。

参考文献

- [1] 李辉章, 郑荣寿, 杜灵彬, 等. 中国膀胱癌流行现状与趋势分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(3): 293-298.
- [2] 骆文书, 姚杏娟, 吉俊敏, 等. 2015年江苏省膀胱癌发病与死亡及2006-2015年变化趋势分析[J]. 中国肿瘤, 2021, 30(2): 112-118.
- [3] 刘邦俭, 王琦, 于德新, 等. 干扰 Yes 相关蛋白表达调控 Wnt/ β -catenin 信号通路影响膀胱癌细胞凋亡[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(2): 239-244.
- [4] Yoo G, Park D, Kim Y, et al. New Insights into the Clinical Implications of Yes - Associated Protein in Lung Cancer: Roles in Drug Resistance, Tumor Immunity, Autophagy, and Organoid Development [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(12): 3069.
- [5] Sun K, Zhang XD, Liu XY, et al. YAP1 is a Prognostic Biomarker and Correlated with Immune Cell Infiltration in Pancreatic Cancer [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 2(8): 625731.
- [6] Cha YJ, Kim D, Bae SJ, et al. The association between the expression of nuclear Yes-associated protein 1 (YAP1) and p53 protein expression profile in breast cancer patients [J]. *PLoS One*, 2021, 16(5): e0250986.
- [7] 董锐, 王行环. Yes 相关蛋白 1 短发卡 RNA 质粒构建及其对膀胱癌 T24 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(12): 2042-2045.
- [8] Chen X, Li S, Yu Z, et al. Yes-associated protein 1 promotes bladder cancer invasion by regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(3): 1070-1077.
- [9] Marquard S, Thomann S, Weiler SME, et al. Yes-associated protein (YAP) induces a secretome phenotype and transcriptionally regulates plasminogen activator Inhibitor-1 (PAI-1) expression in hepatocarcinogenesis [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 166.
- [10] Li J, Shi C, Zhou R, et al. The crosstalk between AXL and YAP promotes tumor progression through STAT3 activation in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(9): 3222-3235.
- [11] Zeng M, Li B, Yang L, et al. CBX2 depletion inhibits the proliferation, invasion and migration of gastric cancer cells by inactivating the YAP/beta-catenin pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(2): 137.
- [12] Bisso A, Filipuzzi M, Gamarra Figueroa GP, et al. Cooperation Between MYC and beta-Catenin in Liver Tumorigenesis Requires Yap/Taz [J]. *Hepatology*, 2020, 72(4): 1430-1443.
- [13] Liu T, Zhou L, Yang K, et al. The beta-catenin/YAP signaling axis is a key regulator of melanoma-associated fibroblasts [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 24(4): 63.
- [14] 谭建媛, 阳莉, 罗安莉. 宫颈癌患者组织 β -catenin、Wnt1 表达及与新辅助化疗疗效的关系 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(6): 803-807.
- [15] Chehrazhi - Raffle A, Dorff TB, Pal SK, et al. Wnt/beta - Catenin Signaling and Immunotherapy Resistance: Lessons for the Treatment of Urothelial Carcinoma [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(4): 889.
- [16] Culpun M, Turan T, Ozkanli SS, et al. Prognostic and clinicopathologic value of ki-67 and profilin 1 immunohistochemical expression in primary pT1 urothelial bladder cancer [J]. *J Cancer Res Ther*, 2021, 17(2): 434-442.
- [17] Ren J, Yang Y, Peng T, et al. Predictive value of beta-catenin in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(9): BSR20202127.
- [18] Lu H, Zhu W, Mao W, et al. Trends of incidence and prognosis of primary adenocarcinoma of the bladder [J]. *Ther Adv Urol*, 2021, 24(13): 17562872211018006.

剖腹探查结合术中肠镜在消化道出血诊疗的应用及RBC、Hb和HCT改变

吴天山 杨杰 马宏飞 郭飞*

[摘要] **目的** 探讨剖腹探查结合术中肠镜在消化道出血诊疗的应用及RBC、Hb和HCT改变。**方法** 选取2019年2月至2021年4月新疆医科大学第一附属医院附属医院创伤急救中心收治的89例消化道出血患者为观察组。于同期选取行常规肠镜检查的30例消化道出血患者为对照组。比较两组患者手术情况及疗效的差异,分析治疗前后RBC、Hb和HCT变化。**结果** 观察组总有效率(94.38%)显著高于对照组(50.0%),差异有统计学意义($P<0.05$);治疗前,两组RBC、Hb及HCT水平变化比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后1周、治疗后1个月RBC、Hb及HCT水平较治疗前显著升高($P<0.05$),且观察组治疗后1周、1个月RBC、Hb及HCT水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);中重度出血量患者RBC、Hb和HCT水平显著低于轻度出血量患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 消化道出血患者可采取剖腹探查结合术中肠镜的方式,临床诊治率较高,可有效减少RBC、Hb和HCT流失。

[关键词] 剖腹探查;术中肠镜;消化道出血;RBC;Hb;HCT

Application of exploratory laparotomy combined with intraoperative enteroscopy in diagnosis and treatment of gastrointestinal bleeding and changes of RBC, Hb and HCT

WU Tianshan, YANG Jie, MA Hongfei, GUO Fei*

(Emergency Trauma Surgery, Xinjiang Medical University, the First Affiliated Hospital, Urumchi, Xinjiang, China, 830054)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application of laparotomy combined with intraoperative enteroscopy in the diagnosis and treatment of gastrointestinal bleeding and the changes of RBC, Hb and HCT. **Methods** From February 2019 to April 2021, 89 patients with gastrointestinal bleeding admitted to the Trauma Emergency Center of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University were selected as the research objects. In the same period, 30 patients with gastrointestinal bleeding who underwent routine colonoscopy were selected as the control group. The differences in surgical conditions and curative effects between the two groups were compared, and the changes of RBC, Hb and HCT before and after treatment were analyzed. **Results** The total effective rate (94.38%) in the observation group was significantly higher than that in the control group (50.0%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Before treatment, there was no significant difference in the changes of RBC, Hb and HCT levels between the two groups ($P>0.05$). The levels of RBC, Hb and HCT at 1 week and 1 month after treatment were significantly higher than those before treatment ($P<0.05$), but the levels of RBC, Hb and HCT in the observation group were significantly higher than those in the control group at 1 week and 1 month after treatment, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of RBC, Hb and HCT in patients with moderate and severe bleeding were significantly lower than those in patients with mild bleeding, and the difference was statistically significant ($P<0.05$).

基金名称:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2019D01C304)

作者单位:新疆医科大学第一附属医院急诊创伤外科,新疆,乌鲁木齐830054

*通信作者:郭飞, E-mail: guo_fei001@163.com

Conclusion Patients with gastrointestinal hemorrhage can adopt laparotomy combined with intraoperative colonoscopy. The clinical diagnosis and treatment rate is relatively high, which can effectively reduce the loss of RBC, Hb and HCT.

[KEY WORDS] Laparotomy; Intraoperative colonoscopy; Gastrointestinal bleeding; RBC; Hb; HCT

消化道出血为临床常见病症之一,以呕血、黑便或血便为主要临床表现,严重者甚至全身血容量减少或贫血,对患者生命造成极大威胁^[1]。近年来随着内镜技术不断完善,消化道出血诊断与治疗取得较大进步。但胃镜检查较繁琐,术前准备工作多,且多数患者无法达到其适应条件,增加患者痛苦;加之胶囊内镜、双气囊小肠镜等检查对下消化道出血均有一定局限性^[2]。消化道出血若不及时诊断,采取有效治疗措施,病情发展迅速,对患者生命造成严重威胁。剖腹探查结合术中肠镜成为临床中有效的诊断手术^[3]。有研究表明,多数消化道出血患者可经内镜下治疗或内科保守治疗止血,少数患者保守治疗后仍无法达到止血的目的^[4]。因此需要开展剖腹探查术,术中结合肠镜检查以明确出血部位及病因,从而采取有效干预。基于此,本研究选取消化道出血患者为研究对象,对剖腹探查结合术中肠镜在消化道出血诊疗的应用及红细胞(red blood cell, RBC)、血红蛋白(Hemoglobin, Hb)和红细胞比容(Red blood cell specific volume, HCT)的改变进行分析,旨在为临床诊治提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年2月至2021年4月新疆医科大学第一附属医院附属医院创伤急救中心收治的89例消化道出血患者为观察组。于同期选取行常规肠镜检查的30例消化道出血患者为对照组。参照标准^[5]将实验室检查结果分为轻度便血者($n=69$)及中重度便血者($n=50$)。其中观察组中男49例,女40例,平均年龄为(52.36 ± 8.49)岁,对照组男17例,女13例,平均年龄为(52.78 ± 8.31)岁;两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究符合赫尔辛基宣言。便血严重程度判断标准^[5]:轻度便血:头晕为患者主要表现,出血量在400 mL以下,无其他严重症状;中重度便血:患者收缩压在90 mmHg以下,心率在100次/min以上,出现神经系统症状,尿少或无尿。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准:①符合消化道出血相关诊断标准^[6];②符合剖腹探查手术指征^[7];③近期末进行相关手术治疗;④能够有效配合,沟通无碍;⑤入试者家属均签署知情同意书。排除标准:①凝血功能存在异常;②合并全身恶性肿瘤;③患者有其他器官功能受损;④存在其他部位感染;⑤免疫功能存在异常;⑥患者不配合,中途退出实验。

1.3 方法

加强患者病情观察,心电监护监测患者血压、血氧饱和度变化,给予补液、止血、抗炎治疗。对照组患者采用常规肠镜检查,常规口服硫酸镁(生产厂家:河北武罗药业有限公司,国药准字:H13022977,规格:50 g)清肠。观察组患者采用剖腹探查结合术中肠镜,依据患者病情,初步判定可能出血的部位。区正中探查切口进入腹部,对胃、十二指肠、小肠、结肠进行探查,尤其是小肠肠管应检查有无异常,或积血部位,有无肠道肿瘤。若检出病变部位应缝合标志线。在出血部位与未出血部位作1 cm切口,将肠镜插入,推向近侧,采用手助法,通过显示屏观察出十二指肠、小肠、结肠,对肠管逐段观察组,经显示器发现病变。

指标检测方法:于治疗前后采集两组患者静脉血5 mL,采用XN-2000全自动血细胞分析仪(生产厂家:长春迪瑞医疗科技股份有限公司)检测患者红细胞(red blood cells, RBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)和血小板(platelets, HCT),试剂盒购于山东卓越生物技术股份有限公司,相关步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 观察指标及评判标准

①疗效评定标准^[8]:优:术后患者生命体征恢复正常,已止血,患者肝功能、血红蛋白及红细胞水平基本达到正常水平,无休克症状出现;良:术后患者生命体征基本恢复正常,无出血现象,肝功能、血红蛋白及红细胞水平基本达到正常水平,休克症状有较大改善;差:症状无明显改善,甚至恶化,患者肝功能异常、血红蛋白及红细胞水平仍较

低,患者出现休克。总有效率=(优+良)/总例数×100%。②比较两组治疗前、治疗后1周、治疗后1个月组RBC、Hb及HCT水平变化差异。③比较不同出血量RBC、Hb和HCT变化差异。

1.5 统计学分析

采用SPSS 21.0软件进行统计分析。计数资料以n(%)进行描述,采用χ²检验;符合正态的计量数据用(̄x±s)表示,组间比较采用t检验,或重复测量分析,两两比较采用LSD-t成对比较。P<0.05为差异具统计学意义。

2 结果

2.1 两组手术情况

观察组89例患者中通过术中肠镜检查均明确出血部位及原因,均为下消化道出血。出血原因:14例为小肠肿瘤、9例为憩室、11例为血管瘤、13例为毛细血管扩张症、18例为炎性肠病、24例为结肠癌。30例对照组利用常规肠镜检查;对照组30例患者中诊断出21例患者出血部位及原因。2例为结肠癌,6例为炎性肠病,7例为小肠肿瘤,6例为升结肠黏膜下畸形。

2.2 两组患者疗效比较

观察组总有效率显著高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 两组患者疗效比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of curative effect between two groups of patients [n(%)]

组别	n	优	良	差	总有效率
观察组	89	39	45	0	84(94.38)
对照组	30	5	10	9	15(50.0)
χ ² 值					31.609
P值					<0.001

2.3 两组患者RBC、Hb和HCT水平比较

治疗前,两组RBC、Hb及HCT水平变化差异无统计学意义(P>0.05);治疗后1周、1个月RBC、Hb及HCT水平较治疗前显著升高,差异有统计学意义(P<0.05),观察组治疗后1周、1个月RBC、Hb及HCT水平显著高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2,见图1。

2.4 不同出血量RBC、Hb和HCT比较

中重度出血量患者RBC、Hb和HCT水平显著低于轻度出血量患者,比较差异具有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表2 两组患者RBC、Hb和HCT水平比较(̄x±s)
Table 2 Comparison of RBC, Hb and HCT levels between the two groups (̄x±s)

观察指标	观察组 (n=89)	对照组 (n=30)	t值	P值
RBC(10¹²·L⁻¹)				
治疗前	4.05±0.95	4.09±0.92	0.201	0.841
治疗后1周	4.59±0.72 ^a	4.26±0.77 ^a	2.133	0.035
治疗后1个月	5.13±0.44 ^{ab}	4.73±0.43 ^{ab}	4.895	<0.001
F值	50.032	7.134		
P值	<0.001	0.001		
Hb(g·L⁻¹)				
治疗前	89.31±9.45	88.36±9.27	0.478	0.633
治疗后1周	101.58±11.25 ^a	94.31±9.56 ^a	3.172	0.002
治疗后1个月	118.91±12.35 ^a	102.06±11.84 ^{ab}	6.529	<0.001
F值	160.302	13.377		
P值	<0.001	<0.001		
HCT(%)				
治疗前	32.43±6.59	33.01±6.78	-0.414	0.68
治疗后1周	38.54±8.63 ^a	35.21±5.06	1.997	0.048
治疗后1个月	43.39±8.43 ^{ab}	38.56±6.79 ^{ab}	2.841	0.005
F值	42.618	5.974		
P值	<0.001	0.004		

注:与本组治疗前相比,^aP<0.05;与本组治疗后一周相比,^bP<0.05。

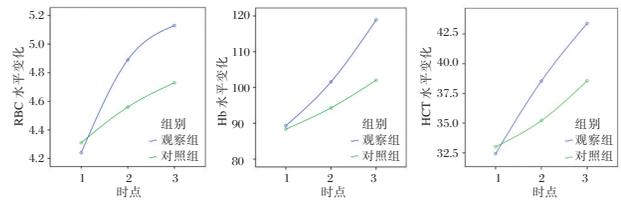


图1 RBC、Hb、HCT水平变化走势图

Figure 1 RBC, Hb, HCT level change trend chart

表3 不同出血量RBC、Hb和HCT比较(̄x±s)

Table 3 Comparison of RBC, Hb and HCT with different bleeding volume (̄x±s)

出血量	n	RBC(10 ¹² ·L ⁻¹)	Hb(g·L ⁻¹)	HCT(%)
轻度	69	4.14±0.63	92.17±11.27	34.01±9.01
中重度	50	3.98±0.58	84.89±10.61	30.64±8.46
t值		3.180	2.781	2.313
P值		0.002	0.006	0.022

3 讨论

消化道出血指从食管到肛门之间的消化道发生出血现象,屈氏韧带以上消化道为上消化道出血,屈氏韧带以下消化道出血为下消化道出血^[9]。临床多数患者为十二指肠降段以上病变或结肠病变,采用胃镜及肠镜即可确诊^[10]。小肠出血及结肠出血为常见下消化道出血,小肠出血迂曲回绕,较难检查,临床诊治较困难。剖腹探查为诊治小肠出血较为有效的方法。有研究表明,单一使

用剖腹探查对消化道出血诊断概率为30%~62%，若术中结合肠镜，病变检出率可达到80%以上，甚至达到100%^[11]。剖腹探查结合术中肠镜不仅对小肠出血病变部位能够准确判断，同时对手术方式有着决定性作用。

本研究采用剖腹探查结合术中肠镜的方式对89例消化道出血患者进行诊疗，发现89例患者均为下消化道出血。另采用常规肠镜检查30例消化道出血患者，只诊断出21例患者出血部位及原因，说明剖腹探查结合术中肠镜诊断率较高，同时能够及时对患者采取有效治疗措施。术中采用肠镜检查患者出血部位及出血原因，成功率为100%。通过89例患者治疗案例，本研究得出几种情况应及时行剖腹探查术并进行肠镜检查，寻找出血部位及原因：①长期反复出血，需明确病因；②年龄>40岁，近段时间出血反复，需明确出血原因；③患者为突发急性出血，内科治疗无法及时止血^[12-13]。从疗效上看，观察组总有效率(94.38%)显著高于对照组(50.0%)，说明剖腹探查结合术中肠镜治疗下消化道出血患者临床疗效较高。剖腹探查时可依据术者肉眼观察及手触摸，可较好发现出血部位，术中结合肠镜可直观观察小肠、结肠全程黏膜^[14]。对下消化道出血患者，术中肠镜检查为最有效方式，可在发现小肠出血部位后，取活检将冰冻切片送至病理检查，明确病变性质，确定手术方式，提高患者治愈率^[15]。本研究通过监测RBC、Hb及HCT水平观察患者病情变化。结果显示，治疗后1周、治疗后1个月RBC、Hb及HCT水平较治疗前显著升高，但观察组治疗后1周、治疗后1个月RBC、Hb及HCT水平显著高于对照组，说明剖腹探查结合术中肠镜应用于消化道出血诊疗止血效果更好。RBC、Hb及HCT为血常规检测指标，对机体病理改变有较敏感反应能力。当体内RBC、Hb及HCT异常降低时，说明机体发生出血、损伤及血细胞破坏，剖腹探查结合术中肠镜能够及时发现患者出血部位，从而采取止血措施，因此RBC、Hb及HCT水平较高^[16-17]。

综上所述，消化道出血患者可采取剖腹探查结合术中肠镜的方式，临床诊治率较高，可有效减少RBC、Hb和HCT流失，值得在临床推广。

参考文献

- [1] Kamboj AK, Hoversten P, Leggett CL, et al. Upper Gastrointestinal Bleeding: Etiologies and Management [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(4):697-703.
- [2] 杨艳华,贺建华,游玉峰. 消化内镜止血术在难治性急性非静脉曲张上消化道出血的应用[J]. *广东医学*, 2019, 40(11):1594-1597.
- [3] 唐瑾,李璟,何美蓉. 剖腹探查对急性下消化道大出血的诊断价值[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2018, 23(2):149-152.
- [4] 卢俊林. 内镜介入治疗溃疡性上消化道出血的临床疗效观察[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2018, 23(4):107-109.
- [5] 於敏,付金金. 急性上消化道出血患者出血量估算中尿素氮肌酐变化曲线的应用及其临床价值探讨[J]. *临床消化病杂志*, 2019, 31(5):289-293.
- [6] 于鹏,翟宁,宫凤玲,等. 多层螺旋CT三期增强扫描对消化道出血的诊断价值的实验研究[J]. *实用放射学杂志*, 2019, 35(1):130-133+153.
- [7] 卢璐,赵娟,李亚南,等. 剖腹探查术对创伤性脑损伤大鼠认知功能的影响及与钙超载的关系[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28(8):727-733.
- [8] 马艳丽,李莉. 急诊护理对肿瘤合并急性上消化道出血患者的临床疗效[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2020, 27(11):1355-1358.
- [9] Lau LHS, Sung JY. Treatment of upper gastrointestinal bleeding in 2020: New techniques and outcomes [J]. *Dig Endosc*, 2021, 33(1):83-94.
- [10] 陈欣,戴军,余珊. 内镜下套扎联合药物治疗对肝硬化上消化道出血患者hs-CRP水平、肝功能的影响[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(1):144-147.
- [11] 张燕双,孙涛,李白容,等. 双气囊小肠镜治疗小肠血管性病变出血疗效分析[J]. *中华消化杂志*, 2021, 41(4):241-246.
- [12] 吕志强,谈涛,马立芝,等. 急诊床旁结肠镜对急性下消化道大出血90例诊治分析[J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2018, 13(1):95-96.
- [13] 周艺茜,李东颖,冯永星,等. 胶囊内镜与小肠镜对胶囊内镜阴性的潜在小肠出血患者再出血诊断价值的比较[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2018, 27(3):305-307.
- [14] 徐宏团,张健,王新岭. 急诊CT结合早期结肠镜检查对急性下消化道出血诊断作用的研究[J]. *中国急救医学*, 2018, 38(8):719-723.
- [15] 秦榕,高建鹏,尧颖,等. 下消化道出血患者经不同肠道准备后急诊肠镜检查的效果比较[J]. *中华消化内镜杂志*, 2018, 35(3):212-214.
- [16] 徐玉秀,张岩,高贤,等. 血常规检测对慢性阻塞性肺疾病患者预后预测作用[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(1):69-71+75.
- [17] 李海深,宗慧丽. 上消化道出血患者红细胞分布宽度、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化脂质的变化及其临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(4):863-867.

老年髋部骨折术后FIB、ALP及微循环指标表达意义

崔阳 薛辉 李星瑶 马国驹*

[摘要] 目的 探讨老年髋部骨折术后纤维蛋白原(FIB)、碱性磷酸酶(ALP)、微循环指标表达意义。方法 选取河北省保定市第二中心医院118例老年髋部骨折手术患者,根据术后是否延迟愈合分组,延迟组20例,正常组98例,对比两组FIB、ALP、微循环指标水平,分析FIB、ALP与微循环指标水平的相关性及FIB、ALP、微循环指标与老年髋部骨折术后延迟愈合的关系,绘制ROC曲线,评价FIB和ALP联合微循环指标在老年髋部骨折术后延迟愈合中的检测价值。结果 延迟组FIB、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数均高于正常组,ALP水平低于正常组,差异有统计学意义($P<0.05$);老年髋部骨折术后延迟愈合患者FIB与微循环指标血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数呈正相关关系,ALP与血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数呈负相关关系($P<0.05$);Logistic回归分析,结果显示FIB、ALP、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数是老年髋部骨折患者术后延迟愈合的影响因素($P<0.05$),绘制受试者工作(ROC)曲线,评价FIB、ALP、微循环指标水平对老年髋部骨折术后延迟愈合的预测价值,发现各指标联合预测曲线下面积最大,且 >0.9 ,具有良好预测效能($P<0.05$)。结论 血液流变学及骨代谢异常是导致老年髋部骨折术后延迟愈合的内在原因,临床可通过检测FIB、ALP及微循环指标,预测术后延迟愈合,积极采取合理治疗措施,有助于改善预后。

[关键词] 髋部骨折; FIB; ALP; 血浆黏度; 红细胞聚集指数; 红细胞刚性指数

Expression and significance of FIB, ALP and microcirculation indexes in elderly patients with hip fracture

CUI Yang, XUE Hui, LI Xingyao, MA Guojun*

(Department of Orthopedics, Baoding Second Central Hospital, Baoding, Hebei, China, 072750)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and significance of fibrinogen (FIB), alkaline phosphatase (ALP) and microcirculation in elderly patients with hip fracture. **Methods** Second Central Hospital of Baoding city, Hebei Province 118 elderly patients undergoing hip fracture surgery were divided into groups according to whether postoperative healing was delayed, 20 cases in the delayed group and 98 cases in the normal group. The FIB, ALP, and microcirculation index levels of the two groups were compared, and the FIB, ALP and microcirculation index levels were analyzed. Correlation and the relationship between FIB, ALP, microcirculation indexes and delayed union of elderly hip fractures after surgery, ROC curve was drawn, and the value of FIB and ALP combined microcirculation indexes in the detection of delayed union of elderly hip fractures after surgery was evaluated. **Results** The FIB, plasma viscosity, erythrocyte aggregation index, and erythrocyte rigidity index of the delayed group were higher than those of the normal group, and the ALP level was lower than that of the normal group ($P<0.05$); In elderly patients with delayed healing after hip fracture surgery, FIB was positively correlated with microcirculation indexes, plasma viscosity, erythrocyte aggregation index, and erythrocyte stiffness index, and ALP was negatively correlated with plasma viscosity, erythrocyte aggregation index, and erythrocyte stiffness index ($P<0.05$); Logistic regression analysis showed that FIB, ALP, plasma viscosity, erythrocyte aggregation index, and erythrocyte stiffness index were the influencing factors of postoperative delayed healing in elderly patients with hip fracture ($P<0.05$). The receiver oper-

基金项目:保定市科技计划项目(2041ZF226)

作者单位:河北省保定市第二中心医院骨科,河北,保定 072750

*通信作者:马国驹, E-mail:mgj719@163.com

ating (ROC) curve was drawn and evaluated The predictive value of FIB, ALP, and microcirculation index levels for the delayed healing of elderly hip fractures after surgery. It is found that the combined prediction area under the curve of each index is the largest, and it is greater than 0.9, which has good predictive power. **Conclusion** Conclusion Abnormal blood rheology and bone metabolism are the internal causes of delayed healing of elderly hip fractures after surgery, Clinically, the detection of FIB, ALP and microcirculation indicators can predict delayed healing after surgery, and actively take reasonable treatment measures, which will help improve the prognosis.

[KEY WORDS] Hip fracture; FIB; ALP; Plasma viscosity; Red blood cell aggregation index; Red blood cell rigidity index

随着我国人口老龄化趋势增长,老年髋部骨折患者逐年增多,主要涉及股骨颈骨折与股骨粗隆间骨折,多数患者行手术治疗,但由于老年患者基础疾病众多,术后机体呈慢性消耗状态,可致使患者体内能量处于高消耗状态及免疫力低下状态,从而增加伤口感染、压疮发生风险,并出现骨折延迟愈合等不良^[1-2]。骨折延迟愈合是指骨折在正常愈合时间内未愈合的情况,其发病率较低,但对机体危害较大,严重影响患者日常生活及生存质量^[3-4]。既往关于老年髋部骨折术后延迟预后的研究多从物理因素角度着手,生化方面研究相对较少。有学者指出,除物理因素外,患者微循环状态及骨代谢情况均为影响骨折愈合的关键因素^[5]。研究显示,纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)等生化指标与骨科疾病发生及进展有关^[6-7]。FIB为血浆中蛋白分子,可吸附在细胞表面,其含量增高是血栓形成的关键因素,不利于骨折愈合。ALP作为骨折修复过程中重要生化指标,可反映骨折修复过程中骨钙化状况。基于此,本研究分析FIB和ALP联合微循环指标在老年髋部骨折术后延迟愈合中的检测价值,旨在为临床诊疗提供依据,报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2016年10月至2020年10月河北省保定市第二中心医院118例老年髋部骨折手术患者,根据术后是否延迟愈合分组,延迟组20例,其中男11例,女9例,年龄平均(73.45±6.29)岁;开放性骨折8例,闭合性骨折12例;骨折部位:股骨颈骨折7例,股骨粗隆间骨折13例;正常组98例,其中男54例,44例,年龄平均(75.52±6.04)岁;开放性骨折42例,闭合性骨折56例;骨折部位:股骨颈骨折34例,股骨粗隆间骨折64例。两组年龄、性别、骨折类型及部位等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审核批准,纳入

标准:①延迟组骨折正常愈合时间内未达到愈合标准,骨折部位功能受限、疼痛,X线片显示骨痂较少,骨折端存在间隙;正常组在骨折正常愈合时间内达到愈合标准;②年龄>60岁;③患者或其家属均对本研究知情,并自愿签署知情同意书。排除标准:①合并心血管疾病者;②伴有精神障碍或不能遵循医嘱者;③病理性骨折者;④近期接受激素或抗生素治疗者;⑤具有乙醇药物滥用史者。

1.2 方法

骨折后12周,清晨空腹状态下抽取受试者两管5 mL外周静脉血,其中1管置于肝素钠抗凝采血管内,以上海澜瑞科技公司提供ZL6000i型血液流变分析仪测定微循环指标,包括血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数;另1管高速离心处10 min,离心半径为13.5 cm,分离血清、血浆,储存于-80℃环境下待检;采用酶联免疫吸附法测定血清ALP水平,凝固终点法测定血浆FIB水平,试剂盒购自上海科兴生物公司。操作严格遵循试剂盒及仪器操作说明书进行。

1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 21.0处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验;采用Logistic多因素回归模型分析FIB、ALP、微循环指标与老年髋部骨折术后延迟愈合的关系;采用Pearson相关性分析FIB、ALP与微循环指标水平的相关性;绘制受试者工作特征曲线(ROC)得到曲线下面积(AUC),检验FIB和ALP联合微循环指标在老年髋部骨折术后延迟愈合中的预测价值; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组FIB、ALP、微循环指标水平比较

延迟组FIB、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数均高于正常组,ALP水平低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组FIB、ALP、微循环指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FIB, ALP and microcirculation indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FIB(g/L)	ALP(U/L)	血浆黏度(mPa/s)	红细胞聚集指数	红细胞刚性指数
延迟组	20	3.27±1.04	232.64±50.12	1.84±0.58	5.27±1.74	7.26±1.25
正常组	98	2.12±0.65	325.87±76.37	1.21±0.40	3.01±0.92	5.31±0.78
t值		6.435	5.225	5.908	8.395	9.088
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 FIB、ALP与微循环指标水平的相关性

老年髋部骨折术后延迟愈合患者FIB与微循环指标血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数呈正相关关系,ALP与血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数呈负相关关系($P < 0.05$)。见表2。

表2 FIB、ALP与微循环指标水平的相关性

Table 2 Correlation between FIB, ALP and microcirculation index level

项目	FIB		ALP	
	r值	P值	r值	P值
血浆黏度	0.592	<0.001	-0.574	<0.001
红细胞聚集指数	0.607	<0.001	-0.603	<0.001
红细胞刚性指数	0.614	<0.001	-0.592	<0.001

2.3 FIB、ALP、微循环指标水平与老年髋部骨折术后延迟愈合关系的Logistic回归分析

以本研究中纳入老年髋部骨折患者术后延迟愈合为因变量(赋值:否=0,是=1),以表1中FIB、ALP、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数为自变量,进行Logistic回归分析,采用输入回归纳入参数,结果显示FIB、ALP、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数是老年髋部骨折患者术后延迟愈合的影响因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 FIB、ALP、微循环指标水平对老年髋部骨折术后延迟愈合的预测价值

绘制ROC曲线,评价FIB、ALP、微循环指标水平对老年髋部骨折术后延迟愈合的预测价值,发现各指标联合预测AUC最大,且>0.9,具有良好预测效能($P < 0.05$)。见表4,图1。

表4 FIB、ALP、微循环指标水平对老年髋部骨折术后延迟愈合的预测价值

Table 4 the predictive value of FIB, ALP and microcirculation index levels on delayed healing of hip fracture in elderly patients

指标	AUC	95%CI	Z值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
FIB	0.827	0.746-0.890	4.695	>2.91 g/L	75.00	94.90	<0.001
ALP	0.826	0.745-0.890	7.155	≤291.5 U/L	85.00	73.47	<0.001
血浆黏度	0.807	0.724-0.874	5.355	>1.62 mPa/s	65.00	84.69	<0.001
红细胞聚集指数	0.859	0.783-0.916	5.697	>4.32	70.00	94.90	<0.001
红细胞刚性指数	0.738	0.649-0.815	3.339	>6.75	60.00	88.78	<0.001
联合预测	0.938	0.878-0.974	12.335		90.00	90.82	<0.001

表3 FIB、ALP、微循环指标水平与老年髋部骨折术后延迟愈合关系的Logistic回归分析

Table 3 logistic regression analysis of the relationship between FIB, ALP, microcirculation and delayed healing of hip fracture in elderly patients

因素	β值	S.E.值	Wald χ ² 值	OR值	95%CI	P值
FIB	1.753	0.314	31.163	5.771	4.125-8.074	<0.05
ALP	-0.657	0.174	14.260	0.518	0.394-0.682	<0.05
血浆黏度	1.740	0.384	20.540	5.699	3.981-8.159	<0.05
红细胞聚集指数	1.706	0.362	22.221	5.509	4.025-7.541	<0.05
红细胞刚性指数	1.720	0.314	30.018	5.586	3.874-8.056	<0.05

注:赋值:FIB、ALP、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数:以平均数为界,<平均数=1,≥平均数=2。

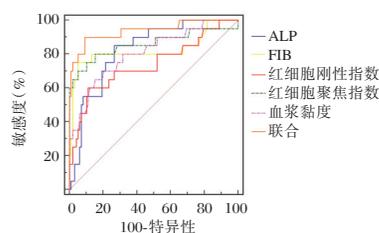


图1 预测ROC曲线

Figure 1 predicts ROC curve

3 讨论

骨折术后延迟愈合是骨折治疗过程中常见并发症,属于较为复杂的病理过程,受到患者自身及医源性的影响因素较多,增加患者痛苦及治疗成本,严重者甚至可能发展为下肢残废,影响患者预后^[8]。相较于身体其他部位组织再生能力,骨折愈合的生理过程主要表现在最终需重新建立骨折处的组织结构,使其恢复原有生物学特征及机体各

项功能,骨折愈合过程类似于胚胎发育中的骨头生长阶段^[9]。随着基因表达及免疫组织化学等各方面的不断深入研究,发现在骨折愈合中必须经过各种生化因子及微循环指标的参与。

血液流变学作为临床中较为常用的检测因子,可有效反映机体血液黏滞程度,影响机体血液循环,尤其是微循环,使得骨折部位及其周围血供受到影响,而血供是保证骨折愈合速度及效果的关键因素^[10],故临床认为对老年髌部骨折患者术后微循环的研究尤为重要。血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数为临床常用微循环指标,本研究对比老年髌部骨折患者术后延迟愈合与正常愈合患者微循环指标,结果可见,延迟组患者血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞刚性指数高于正常组,提示老年髌部骨折术后延迟愈合患者存在血供障碍。骨折延迟愈合多数发生于皮质骨中,多因严重创伤或过度移位致使交替血运欠缺所致^[11]。当周围软组织广泛受损,骨膜损伤严重者可致使机体局部血运遭到破坏,而骨痂形成主要依赖骨膜及周围软组织血运提供必要营养及生长因子,同时通过调控间充质细胞分化成骨,完成骨折修复重建过程。FIB作为血浆中蛋白分子,含量增高提示血液处于高凝状态,有研究表明,骨折患者血浆FIB含量高于正常对照组,而骨折延迟愈合患者亦存在FIB降解减少与形成增加现象^[12]。骨折术后肢体继续制动会导致血流缓慢,使得血液正常轴流及边流状态改变,增加血小板与内膜接触机会,血小板在本已增高的FIB作用下极易黏集成堆,影响血供,不利于骨折愈合^[13]。ALP是评价骨转换与成骨细胞分化程度的敏感指标,主要存在于成骨细胞胞浆中,骨折愈合过程中,随着骨形成增强,成骨细胞数量明显增多,ALP活性升高^[14],故ALP在外周血中水平变化有助于对骨折愈合情况的观察。本研究结果提示骨折延迟患者骨代谢状态较差。本研究绘制ROC曲线,结果显示联合预测AUC最大,诊断效能良好,临床可于术后监测上述指标水平,积极采取预防措施,降低术后延迟愈合发生风险。值得注意的是,本研究仅测定老年髌部骨折术后12周FIB、ALP、微循环指标水平,具有一定局限性,还需临床增加术后检测时间点,作进一步研究证实。

综上所述,血液流变学及骨代谢异常是导致老年髌部骨折术后延迟愈合的内在原因,临床可通过检测FIB、ALP及微循环指标,预测术后延

迟愈合,积极采取合理治疗措施,有助于改善预后。

参考文献

- [1] 游月焯,孙凯,严敏.手术时机对老年髌部骨折患者术后病死率影响的研究进展[J].中华创伤杂志,2020,36(1):58-62.
- [2] 彭柯云,王雨,李承伶,等.改良DORSSSP评分系统对老年髌部骨折内固定术后并发症的预测作用[J].创伤外科杂志,2020,22(5):326-330.
- [3] 郑海亮,刘晶.血清CYR61、IGF-1水平对胫骨平台骨折术后愈合延迟的预测价值[J].分子诊断与治疗,2020,12(8):1108-1111.
- [4] 顾光学,霍永锋,殷照阳,等.叉头框蛋白O1上调血管内皮生长因子A对大鼠骨折愈合及软骨新生血管的影响[J].中华生物医学工程杂志,2020,26(4):319-322.
- [5] 张铎安.骨折延迟愈合患者血清TGF- β 1、BMP-2、ALP及血液流变学指标研究[J].实验与检验医学,2017,35(5):658-660+683.
- [6] 明亮,王爱兵,刘晟,等.股骨颈骨折患者氧化应激对骨折愈合进度和凝血功能的影响[J].中国医药导报,2019,16(15):65-68+76.
- [7] 徐向勇,余永斌.血流变学指标血清炎症因子水平变化在骨折延迟愈合患者中的临床研究[J].河北医学,2020,26(5):810-815.
- [8] Goodnough LH, Ambrosi TH, Steininger H, et al. Delayed Union of a Diaphyseal Forearm Fracture Associated With Impaired Osteogenic Differentiation of Prospectively Isolated Human Skeletal Stem Cells[J]. Jbmr Plus, 2020, 4(10):e10398.
- [9] 钟海波,郭祥,罗涛.骨伤复原汤对骨折愈合过程中FGF-2、TGF- β 1表达及炎症、微循环影响的研究[J].临床和实验医学杂志,2019,18(18):1978-1982.
- [10] 白登彦,张文贤.高压氧联合神经生长因子局部注射对骨质疏松性骨折延迟愈合患者血清黏附因子及微循环指标表达的影响[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(9):1206-1211.
- [11] Gende A, Thomsen TW, Marcussen B, et al. Delayed-Union of Acetabular Stress Fracture in Female Gymnast: Use of Teriparatide to Augment Healing[J]. Clin J Sport Med, 2020, 30(5):e163-e165.
- [12] 翟东旺,张蒙蒙.骨伤复原汤辅助四肢骨折延迟愈合疗效观察[J].实用中医药杂志,2020,36(8):1051-1052.
- [13] Li J, Rai S, Tang X, et al. Fixation of delayed distal radial fracture involving metaphyseal diaphyseal junction in adolescents: a comparative study of crossed Kirschner-wiring and non-bridging external fixator[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2020, 21(1):365.
- [14] 袁玉军,王静.骨生化代谢标志物动态监测在预测老年股骨近端骨折延迟愈合中的价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(7):803-805+809.

CK19、CRP、ALB 检测对结直肠癌术后疗效和预后的评估价值

赵贺* 王冲 张文静 卢晓华

[摘要] 目的 研究角蛋白19(CK19)、C-反应蛋白(CRP)、白蛋白(Alb)检测对结直肠癌术后疗效、预后的评估价值。方法 选取2018年3月至2020年3月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的112例经临床及手术活检确诊为结直肠癌的患者为研究对象。比较治疗前后和不同疗效、不同预后患者的CK19、CRP、ALB水平,绘制ROC曲线分析CK19、CRP、ALB检测对结直肠癌术后预后的预测价值。结果 治疗后,患者的CK19、CRP、ALB水平较治疗前均下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。治疗后CR 57例、PR 33例、SD 13例、PD 9例,总有效率为80.36%。CR+PR组的CK19、CRP水平低于SD+PD组,ALB水平高于SD+PD组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。随访结束后,生存患者88例(78.57%)。生存组CK19、CRP低于死亡组,ALB高于死亡组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,CK19、CRP、ALB三者联合检测预测结直肠癌术后化疗患者预后的下曲线面积(AUC)为0.807、敏感度为0.917、特异度为0.925,均高于单一检测($P<0.05$)。结论 CK19、CRP、ALB联合检测能够准确地预测结直肠癌患者术后化疗的疗效及评估患者预后,值得推广使用。

[关键词] 结直肠癌; CK19; CRP; ALB; 术后化疗

Evaluation value of CK19, CRP and ALB detection in postoperative efficacy and prognosis of colorectal cancer

ZHAO He*, WANG Chong, ZHANG Wenjing, LU Xiaohua

(Department of Colorectal Oncology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To study the evaluation value of cytokeratin19 (CK19), C-reactive protein (CRP) and albumin (ALB) in the postoperative curative effect and prognosis of colorectal cancer. **Methods** 112 patients who were diagnosed with colorectal cancer by clinical and surgical biopsy admitted to Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from March 2018 to March 2020 were selected as the research objects. The levels of CK19, CRP, and ALB of patients before and after treatment and with different curative effects and different prognosis were compared, and the ROC was drawn to analyze the predictive value of CK19, CRP and ALB detection on the prognosis of postoperative colorectal cancer patients with chemotherapy.

Results After treatment, the levels of CK19, CRP, and ALB in patients were decreased compared with those before treatment, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, 57 cases were CR, 33 cases PR, 13 cases SD, and 9 cases were PD. The total curative effect was 80.36%. The CK19 and CRP levels in the CR+PR group were significantly lower than those in the SD+PD group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After the follow-up, 88 patients survived (78.57%). CK19 and CRP in the survival group were lower than those in the death group, and the ALB level was higher than that in the death group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve analysis results show that the area of the lower curve (AUC), sensitivity, and specificity of the combined detection of CK19, CRP, and ALB in

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7202025)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院结直肠肿瘤外科,北京 100038

*通信作者:赵贺, E-mail:zhaoh@bjsjth.cn

predicting the prognosis of patients with colorectal cancer after chemotherapy were 0.807, 0.917, 0.925, respectively, which were higher than those of a single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** The combined detection of CK19, CRP and ALB can accurately predict the efficacy of postoperative chemotherapy and evaluate the prognosis of patients with colorectal cancer, and it is worthy of clinical application.

[KEY WORDS] Colorectal cancer; CK19; CRP; ALB; Postoperative chemotherapy

结直肠癌在中国的恶性肿瘤发病率中居于第三位,仅次于肺癌、胃癌^[1-3]。随着生活环境的改变,结直肠癌的发病率呈不断上升的趋势,对人类生命安全造成严重威胁^[4-5]。对于晚期结直肠癌患者来说,外科手术也难以根治,需在术后结合放、化疗方案治疗,延长患者生存期。对于肿瘤疾病,临床上常通过血清肿瘤标志物水平的检测来评估患者的治疗效果及预后情况^[6]。研究显示,细胞角蛋白在肿瘤细胞的凋亡过程中发挥了重要作用,角蛋白19(cytokeratin19, CK19)是一种良好的上皮性表达指标,外周血中的细胞具有分泌 CK19 mRNA 的作用,因此肿瘤患者体内的 CK19 呈现高表达水平^[7]。既往文献证实,结直肠癌患者的 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平升高、白蛋白(Albumin, Alb)受肿瘤影响出现异常^[8]。本文主要研究 CK19 联合 CRP、ALB 检测对结直肠癌术后化疗疗效及预后评估中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年3月至2020年3月首都医科大学附属北京世纪坛医院收入治疗的112例经临床及手术活检确诊为结直肠癌的患者作为研究对象。纳入标准:①均满足结直肠癌的诊断标准^[9],且经病理学等专科检查确诊;②病历资料完整无缺损;③在本院治疗前3个月内未进行过相关放化疗,且未服用激素类药物;④肿瘤未出现转移者;⑤均为术后化疗;⑥本研究通过院伦理委员会批准同意,受试者或家属已签署知情同意书。排除标准:①有血液系统或传染性疾病者;②排除合并其他恶性肿瘤疾病者;③有严重心、肺、肾等重要脏器疾病者;④免疫功能缺陷者;⑤合并精神疾病者;⑥化疗不耐受者。男79例,女33例;平均年龄(47.84±5.48)岁;肿瘤TNM分期:Ⅱ期36例,Ⅲ期42例,Ⅳ期34例;病灶大小:病灶长度≥5 cm者58例,病灶长度<5 cm者54例。

1.2 方法

1.2.1 化疗方法

患者术后化疗方案采用5-氟尿嘧啶+亚叶酸钙+奥沙利铂。术后Ⅱ~Ⅲ期患者予以奥沙利铂85 mg/m²及亚叶酸钙400 mg/m²进行静脉滴注,分别在2 h内完成滴注;5-氟尿嘧啶静脉推注400 mg/m²后,按照2 400 mg/m²进行46 h静脉滴注。Ⅳ期患者奥沙利铂剂量为100 mg/m²,其余使用同Ⅱ~Ⅲ期患者。2 w为一个治疗周期,所有患者均持续治疗6个治疗周期。

1.2.2 疗效评价

在患者治疗前及治疗周期结束后,进行CK19、CRP、ALB检测,治疗后疗效判定^[10-11]:完全缓解(Complete remission, CR),患者病灶完全消失,并维持1个月以上;部分缓解(Partial response, PR),患者病灶基本消失,并维持1个月以上,肿瘤最大直径与最大垂直径的乘积减少50%及以上;病情稳定(Stable disease, SD),患者无新病灶出现,肿瘤最大直径与最大垂直径的乘积减少25%~49%;病情进展(Progressive Disease, PD),发现新病灶,肿瘤最大直径与最大垂直径的乘积减少在25%以下。临床总有效率=(CR+PR)×100%。

1.2.3 CK19、CRP、ALB检测方法

所有研究对象在治疗前后,采集清晨空腹静脉血5 mL,3 000 r/min,离心10 min,离心半径10 cm,分离血清,置-20℃保存。采用酶联免疫法检测CK19,采用免疫散射比浊法检测CRP,采用全自动生化分析仪检测ALB。

1.2.4 随访

患者出院后均进行为期1年的随访(随访截止时间为2021年3月),观察患者转移复发、死亡等情况。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析CK19联合CRP、ALB检测对结直肠癌术后化疗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 患者治疗前后 CK19、CRP、ALB 水平比较

治疗后,患者的 CK19、CRP、ALB 水平均较治疗前下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 患者治疗前后 CK19、CRP、ALB 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of CK19, CRP and ALB levels of patients before and after treatment ($\bar{x}\pm s$)

时间	n	CK19(U/L)	CRP(mg/L)	ALB(g/L)
治疗前	112	5.26±1.33	19.48±4.84	43.25±5.15
治疗后	112	3.16±1.06*	13.26±4.87*	29.78±5.18*
t值		13.067	9.587	19.515
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与治疗前相比,* $P<0.05$ 。

2.2 不同疗效患者 CK19、CRP、ALB 水平比较

治疗后 CR57 例、PR33 例、SD13 例、PD9 例,总有效率为 80.36%。CR+PR 组患者的 CK19、CRP 水平明显低于 SD+PD 组,ALB 水平明显高于 SD+PD 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同疗效患者 CK19、CRP、ALB 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of CK19, CRP and ALB levels in patients with different curative effects ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CK19(U/L)	CRP(mg/L)	ALB(g/L)
CR+PR	90	2.59±1.11	12.11±3.21	30.45±3.27
SD+PD	22	5.49±1.26	17.96±2.65	27.04±2.64
t值		10.694	7.907	4.538
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同预后患者治疗后 CK19、CRP、ALB 水平比较

随访结束后,生存患者 88 例,存活率为 78.57%。生存组患者 CK19、CRP 水平明显低于死亡组,ALB 水平明显高于死亡组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 不同预后患者治疗后 CK19、CRP、ALB 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of CK19, CRP and ALB levels in patients with different prognosis after treatment ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CK19(U/L)	CRP(mg/L)	ALB(g/L)
生存组	88	2.45±1.23	12.13±3.55	31.02±5.26
死亡组	24	5.76±1.89	17.40±3.79	25.23±4.63
t值		10.310	6.354	4.945
P值		<0.001	0.001	<0.001

2.4 CK19、CRP、ALB 单独检测及联合检测对结直肠癌术后化疗患者预后的预测价值

ROC 曲线分析结果显示,CK19、CRP、ALB 三者联合检测预测结直肠癌术后化疗患者预后的下曲

线面积(AUC)为 0.807、敏感度为 0.917、特异度为 0.925,均高于单一检测($P<0.05$)。见表4及图1。

表4 CK19、CRP、ALB 单独检测及联合检测对结直肠癌术后化疗患者预后的预测价值

Table 4 The predictive value of CK19, CRP, ALB single detection and combined detection on the prognosis of patients with colorectal cancer after chemotherapy

评估指标	Cut-off 值	敏感度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P 值
CK19	25.12	0.898	0.886	0.796	0.687~0.905	0.784	<0.001
CRP	24.65	0.791	0.835	0.645	0.515~0.775	0.626	<0.001
ALB	23.14	0.846	0.825	0.656	0.521~0.792	0.671	<0.001
CK19+CRP+ALB	24.89	0.917	0.925	0.807	0.704~0.911	0.842	<0.001

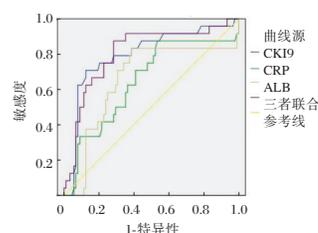


图1 CK19、CRP、ALB 联合检测对结直肠癌术后化疗患者预后的预测价值曲线图

Figure 1 The prognostic value curve of combined detection of CK19, CRP, and ALB on the prognosis of postoperative colorectal cancer patients undergoing chemotherapy

3 讨论

结直肠癌发生于结、直肠和肛管黏膜上皮,是一种常见的多基因参与形成的恶性肿瘤。作为消化道常见的恶性肿瘤,结直肠癌的发病与患者自身饮食习惯有密切联系^[12]。由于患者早期症状隐匿,大多数于中晚期确诊,肿瘤在治疗后易发生复发或转移,导致预后差,生存率低^[13]。因此,临床上对患者的治疗效果及预后进行预测具有重要意义。

CK19 是上皮来源细胞的骨架蛋白,在正常上皮组织中微量表达,而在胃肠道肿瘤、肺癌等上皮来源的恶性肿瘤中呈现高表达,其水平可反映肿瘤的代谢、增殖及凋亡等多个发生发展过程和状况^[14]。据相关报道,角蛋白基础水平的高低与肿瘤生长状态密切相关,其基础水平异常增高往往提示肿瘤进展和预后不良^[15]。本文研究结果显示,结直肠癌患者的 CK19 水平出现明显增高,经化疗治疗后得到了控制,这与既往研究文献报道结果相符合^[16]。考虑为 CK19 作为骨架蛋白,患者在使用化疗药物促进细胞凋亡时,化疗药物水解

物从肿瘤细胞释放进入血液,导致血液中的CK19水平快速升高。同时本文结果显示,SD+PD、死亡组患者的CK19水平明显高于CR+PR、生存组,说明通过检测CK19水平对结直肠癌患者的疗效及预后具有一定评估作用。

肿瘤患者在肿瘤细胞增殖时易引起急性时相反应,产生特异性因子,引发感染和持续性蛋白尿,从而导致患者ALB水平下降,因此在首次就诊时多半患者存在低蛋白血症^[17-18]。本文研究中,患者治疗前ALB水平普遍偏低,且术后化疗ALB水平低于治疗前,说明部分结直肠癌患者存在不同程度的营养不良,考虑为术后化疗患者胃肠功能未恢复,摄取营养不足所致。

据国内外研究证实,肿瘤的发生、发展与慢性炎症具有一定关联,炎性刺激会诱导细胞不可逆的过度增生,从而导致患者机体细胞DNA被破坏,免疫功能下降,此时肿瘤生长不受抑制,患者体内的炎性水平表达则会继续增高^[19-20]。CRP是一种急性时相反应蛋白,本文中,患者CRP水平经过治疗得到一定改善,说明检测其水平高低有助于患者治疗效果的评估。为进一步研究各项指标检测对患者预后的预测价值,本文绘制了ROC曲线,结果显示,CK19、CRP、ALB三者联合检测预测结直肠癌术后化疗患者预后的下曲线面积、敏感度、特异度均高于单一检测,说明CK19、CRP、ALB三者联合检测在结直肠癌术后化疗患者的预后复发的评价中具有较高的准确性,联合多种肿瘤标志物检测,从不同机制水平评价直肠癌患者术后化疗疗效方面具备临床实用价值。

综上所述,CK19联合CRP、ALB检测能够比较准确地预测结直肠癌患者术后化疗的疗效,同时还能作为直肠癌患者预后评估的有效预测指标,值得在临床上推广使用。

参考文献

- [1] 白驹,杨力芳. 结直肠癌患者血浆中可溶性血栓调节蛋白的水平及其临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(1):38-42.
- [2] 张忠涛,杨盈赤. 结直肠癌外科临床研究进展及展望[J]. 中国实用外科杂志, 2020, 40(1):65-69.
- [3] 张盟,金洪永,樊奇浩,等. 腹腔镜结直肠癌患者术后血液中C反应蛋白、血清降钙素原结合血清白蛋白预测早期吻合口瘘的临床价值[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(2):211-215.
- [4] Donlon NE, Hayes C, Davern M, et al. Impact of COVID-19 on the Diagnosis and Surgical Treatment of Colorectal Cancer: A National Perspective[J]. Dis Colon Rectum, 2021, 64(11):1305-1309.
- [5] 张志,杨晓东,孙亮,等. 结直肠癌组织AIM2和血清CEA表达与预后相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(1):20-25, 33.
- [6] Vieira GC, Vieira GF, Sinigaglia M, et al. Linking epigenetic function to electrostatics: The DNMT2 structural model example[J]. PLoS One, 2017, 12(6):1563-1564.
- [7] 王婷婷,杨瑶,马雪梅. 结直肠癌组织中PGC-1 α 表达水平与临床病理特征及预后的关系[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(15):1572-1575.
- [8] 颜兵,杨涛,薛天慧,等. 术前联合检测癌胚抗原和CD44v6对判断结直肠癌患者预后的价值[J]. 肿瘤研究与临床, 2018, 30(11):744-748.
- [9] 窦若虚,汪建平. 结直肠癌外科临床研究新进展[J]. 结直肠肛门外科, 2019, 25(3):243-247.
- [10] 郭飞,张晓阳,吕燕琴,等. 结直肠癌围术期营养干预对患者术后营养指标及免疫功能的影响[J]. 中国医药导报, 2018, 15(14):71-75.
- [11] 朱依青,张彤彤,郑珺文,等. p-mTOR蛋白在结直肠癌组织中的表达及患者预后判断中的价值[J]. 癌变·畸变·突变, 2020, 32(3):161-165.
- [12] Okegawa T, Pong RC, Li Y, et al. The role of cell adhesion molecule in cancer progression and its application in cancer therapy[J]. Acta Biochim Pol, 2004, 51(2):445-457.
- [13] 陶晓峰,张明,杨东,等. CEACAM-1和MMP-2在结直肠癌中的表达及与淋巴结转移的关系[J]. 山西医科大学学报, 2018, 49(11):70-74.
- [14] 周航亮,陈鲜宝,崔莹珊,等. FPR在I~III期结直肠癌患者术后辅助化疗疗效判断和预后评估中的价值[J]. 检验医学, 2020, 35(10):1019-1024.
- [15] Arabzadeh A, Mcgregor K, Valérie B, et al. EphA2 signaling is impacted by carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1-L expression in colorectal cancer liver metastasis in a cell context-dependent manner[J]. Oncotarget, 2017, 8(61):1564-1566.
- [16] 郭飞,薛军,韩磊,等. 结直肠癌围术期营养干预对患者术后营养指标、T淋巴细胞亚群及并发症的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(7):1360-1363.
- [17] De Baere T, Tselikas L, Yevich S, et al. The role of image-guided therapy in the management of colorectal cancer metastatic disease[J]. Eur J Cancer, 2017, 75(22):231-242.
- [18] 郑晓金,李凯,欧凤荣. 结直肠癌相关危险因素研究进展[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(10):1196-1199.
- [19] Otani K, Ishihara S, Yamaguchi H, et al. Adiponectin and colorectal cancer[J]. Surg Today, 2017, 47(2):151-158.
- [20] 潘伟瑜,姚俊霞,侯英勇. 结直肠癌分子分型及分子标志物的研究进展[J]. 中国临床医学, 2019, 26(1):111-116.

血清 APN、visfatin 和 Haptoglobin 与 PCOS 患者 IR 指数的关系及临床意义

王学博* 汪爱兵 孙晖 杨建敏 杨然 李英霞 郭爱琴 钮冬

[摘要] 目的 研究血清脂联素(APN)、内脂素(visfatin)、结合珠蛋白(Hp)水平与多囊卵巢综合征(PCOS)患者胰岛素抵抗(IR)指数的临床意义。方法 选择2018年2月至2021年3月南阳市中心医院诊治的102例PCOS患者,分为肥胖组($BMI \geq 23 \text{ kg/m}^2$, 47例)和非肥胖组非肥胖组($BMI < 23 \text{ kg/m}^2$, 55例)、IR组($HOMA-IR \geq 2.69$, 52例)和非IR组($HOMA-IR < 2.69$, 50例),另选择同期健康志愿者96例作为对照组。检测不同人群血清APN、visfatin、Hp水平,分析三者与IR指数关系及对IR的预测价值。结果 FPG、黄体生成素(LH)、visfatin、Hp、HOMA-IR、空腹胰岛素(FINS)、LH/卵泡雌激素(FSH)和体质指数(BMI)水平:肥胖组>非肥胖组>对照组,APN水平:肥胖组<非肥胖组<对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。血清APN水平与HOMA-IR呈负相关($P < 0.05$),visfatin、Hp水平与HOMA-IR呈正相关($P < 0.05$)。IR组患者BMI、FPG、LH、visfatin、Hp、HOMA-IR和FINS水平均显著高于非IR组,APN水平显著低于非IR组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。BMI、APN、visfatin、Hp均为诱发PCOS患者IR发生的危险因素($P < 0.05$)。血清APN、visfatin、Hp三者联合的曲线下面积(AUC)值以及特异度均高于单一指标预测($P < 0.05$)。结论 PCOS患者均存在血清APN、visfatin、Haptoglobin水平的异常变化,三者有可能参与PCOS患者IR的发生发展,有望通过上述血清指标预测IR的发生。

[关键词] 脂联素; visfatin; Haptoglobin; 多囊卵巢综合征; 胰岛素抵抗

Relationship between serum APN, visfatin and haptoglobin and IR index in patients with PCOS and their clinical significance

WANG Xuebo*, WANG Aibing, SUN Hui, YANG Jianmin, YANG Ran, LI Yingxia, GUO Aiqin, NIU Dong
(Department of Gynecology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the clinical significance of serum adiponectin (APN), visfatin (visfatin), haptoglobin (Hp) and insulin resistance (IR) index in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods** 102 patients with PCOS diagnosed and treated in Nanyang Central Hospital between February 2018 and March 2021 were selected. They were divided into the obesity group and the non-obesity group, the IR group and the non-IR group. Meanwhile, 96 healthy volunteers were selected as the control group. The levels of serum APN, visfatin and Hp in different groups were detected. The correlation between the three indicators and IR index, and their predictive value for IR were analyzed. **Results** The levels of fasting plasma glucose (FPG), luteinizing hormone (LH), visfatin, Hp, HOMA-IR, fasting insulin (FINS), LH/follicle-stimulating hormone (FSH) and body mass index (BMI) decreased in sequence, while APN level increased in sequence from the obesity group, the non-obesity group to the control group, with statistically significant differences among the groups ($P < 0.05$). Serum APN level was negatively correlated with HOMA-IR ($P < 0.05$), while the levels of visfatin and Hp were positively correlated with it ($P < 0.05$). The levels of BMI, FPG, LH, visfatin, Hp, HOMA-IR and FINS in the IR group were significantly higher than those in the non-IR group, while APN level was significantly lower than that in the non-IR group, with statistically significant

作者单位:南阳市中心医院妇科,河南,南阳 473000

*通信作者:王学博, E-mail: wxb1968_520@163.com

differences ($P<0.05$). BMI, APN, visfatin and Hp were risk factors of IR in patients with PCOS ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) value and specificity of serum APN combined with visfatin and Hp were higher than that of single indicator ($P<0.05$). **Conclusion** There are abnormal changes in serum APN, visfatin, and Haptoglobin levels in PCOS patients. These three may be involved in the occurrence and development of IR in PCOS patients. It is expected that the above serum indicators can predict the occurrence of IR.

[KEY WORDS] Adiponectin; Visfatin; Haptoglobin; Polycystic ovary syndrome; Insulin resistance

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是一种内分泌紊乱综合征,目前在生育期女性中发病率为5%~10%^[1]。研究表明胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、高胰岛素血症是PCOS病理生理过程中的中心环节,IR的发生会增加患者糖尿病、高血压、子宫内膜癌等疾病风险^[2]。近年来有学者发现脂肪细胞是胰岛素作用的主要靶细胞之一,IR的发生会影响脂肪的利用,导致肥胖发生^[3]。脂肪细胞被证实可合成和分泌包括脂联素(Adiponectin, APN)、抵抗素、内脂素(visfatin)等脂肪因子,参与体内代谢活动,在IR的发生发展中发挥重要作用^[4]。国内外均有研究表明PCOS患者血清APN、visfatin水平明显升高^[5-6]。朱亚莉等^[7]研究显示PCOS患者存在高内脂素血症,血清visfatin有望成为PCOS辅助检测指标。结合珠蛋白(Haptoglobin, Hp)本质是一种酸性糖蛋白,通过与游离血红蛋白结合发挥抗氧化剂作用,同时还具有抗炎作用。王柳等^[8]研究发现血清Hp水平与PCOS患者IR的发生密切相关。目前国内虽已有相关研究,但多集中于血清标志物与IR关系的探讨。本文将展开血清APN、visfatin和Haptoglobin与PCOS患者IR指数的关系及其预测价值等临床意义研究,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象

选择南阳市中心医院2018年2月至2021年3月诊治的102例PCOS患者,根据体质量指数(body mass index, BMI)将PCOS患者分为肥胖组($BMI\geq 23\text{ kg/m}^2$, 47例)和非肥胖组($BMI<23\text{ kg/m}^2$, 55例),根据稳态模型IR指数(homeostasis model assessment-IR, HOMA-IR)^[9]将PCOS患者分为IR组($HOMA-IR\geq 2.69$, 52例)和非IR组($HOMA-IR<2.69$, 50例)。纳入标准:①符合PCOS诊断标准^[10];②近期无激素类药物或减肥药物使用史;③患者资料完整。排除标准:①卵巢早衰等引起排卵障碍的疾病;②甲状腺功能异常者;③合并其他内分泌代谢紊乱疾病;④恶性肿瘤。另选择同期96

例健康志愿者作为对照组。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

月经规律的PCOS患者以及对对照组于月经第3~5d,月经不规律者在月经后第3~5d,空腹8~12h,采集清晨空腹血5mL,离心(3000 r/min, $r=12\text{ cm}$, 15min)后取血清,采用Berkman电化学发光法检测性激素水平,包括卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(Estradiol 2, E2);采用酶联免疫吸附法检测血清APN、visfatin、Hp水平。分别于空腹和口服75g无糖葡萄糖后30min、60min、120min检测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)(己糖激酶法)和血清胰岛素(fasting insulin, FINS)(电化学发光法)水平,计算 $HOMA-IR=FPG\times FINS/22.5$ 。

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间行 t 检验,多组间比较行单因素-方差分析,进一步两两比较行LSD- t 检验;采用Pearson相关性分析血清APN、visfatin、Hp水平与HOMA-IR相关性;采用Logistic多元回归分析导致PCOS患者IR风险的因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清APN、visfatin、Hp水平对PCOS患者IR风险的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCOS患者与对照组临床指标比较

FPG、LH、visfatin、Hp、HOMA-IR、FINS、LH/FSH和BMI水平:肥胖组>非肥胖组>对照组, BAPN水平:肥胖组<非肥胖组<对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 血清APN、visfatin、Hp水平与HOMA-IR相关性

血清APN水平与HOMA-IR呈负相关($r=-0.240$, $P=0.015$), visfatin、Hp水平与HOMA-IR呈正相关($r=0.393$ 、 0.344 , P 均 <0.001)。

表1 PCOS患者与对照组临床指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of clinical indicators between patients with PCOS and the control group ($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组 (n=96)	肥胖组 (n=47)	非肥胖组 (n=55)	F值	P值
年龄(岁)	26.28±3.81	27.15±4.03	26.53±3.29	0.861	0.424
BMI(kg/m ²)	24.16±2.32	26.82±3.62 ^a	24.95±2.11 ^{ab}	16.098	<0.001
FPG(mmol/L)	5.03±0.43	5.61±0.58 ^a	5.33±0.62 ^{ab}	20.098	<0.001
LH/FSH	0.92±0.24	1.95±0.65 ^a	2.31±0.76 ^{ab}	134.508	<0.001
LH(mIU/mL)	5.68±1.51	14.64±5.31 ^a	12.84±4.45 ^{ab}	122.257	<0.001
E2(pg/L)	60.45±8.54	56.28±10.43	58.02±12.93	2.760	0.066
APN(μg/L)	13.12±4.62	8.92±3.25 ^a	11.51±3.72 ^{ab}	16.705	<0.001
visfatin(ng/mL)	14.51±3.85	18.55±3.58 ^a	16.16±4.02 ^{ab}	17.633	<0.001
Hp(mg/mL)	1.32±0.27	1.79±0.29 ^a	1.42±0.36 ^{ab}	38.840	<0.001
HOMA-IR	1.54±0.52	3.40±1.02 ^a	2.10±0.92 ^{ab}	89.333	<0.001
FINS(μU/mL)	7.24±2.12	13.65±5.26 ^a	8.87±2.87 ^{ab}	59.354	<0.001

注:与对照组比较,^aP<0.05;与肥胖组比较,^bP<0.05。

2.3 不同IR情况患者临床指标比较

两组患者年龄、LH/FSH、E2水平比较无统计学意义(P>0.05), IR组患者BMI、FPG、LH、visfatin、Hp、HOMA-IR和FINS水平均显著高于非IR组, APN水平显著低于非IR组, 差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 不同IR情况患者临床指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of clinical indicators between patients with and without IR ($\bar{x} \pm s$)

指标	IR组(n=52)	非IR组(n=50)	t值	P值
年龄(岁)	27.06±3.84	26.56±3.41	0.694	0.489
BMI(kg/m ²)	26.49±3.28	24.12±3.39	3.589	0.001
FPG(mmol/L)	5.67±0.62	5.24±0.58	3.614	0.001
LH/FSH	2.22±0.69	2.06±0.74	1.130	0.261
LH(mIU/mL)	14.88±5.49	12.41±4.18	2.549	0.012
E2(pg/L)	56.13±10.38	58.35±13.24	0.944	0.347
APN(μg/L)	8.62±3.18	12.08±3.84	4.964	<0.001
visfatin(ng/mL)	19.29±3.35	15.15±4.31	5.428	<0.001
Hp(mg/mL)	1.75±0.31	1.43±0.35	4.829	<0.001
HOMA-IR	3.57±1.26	1.87±0.67	8.459	<0.001
FINS(μU/mL)	14.17±5.26	7.85±2.34	7.786	<0.001

2.4 PCOS患者IR风险的因素分析

以PCOS患者是否发生IR为因变量,以年龄、BMI、APN、visfatin、Hp等指标为自变量,进行Logistic回归分析,结果显示BMI、APN、visfatin、Hp均为诱发PCOS患者IR发生的危险因素(P<0.05)。见表3。

表3 导致PCOS患者IR风险的因素分析

Table 3 Factors leading to IR in patients with PCOS

变量	β值	SE值	waldχ ² 值	OR值	95%CI	P值
APN	1.649	0.550	8.989	5.202	1.770-15.287	0.003
visfatin	1.592	0.446	12.741	4.914	2.050-11.777	<0.001
Hp	1.663	0.482	11.904	5.275	2.051-13.568	0.001
BMI	1.395	0.612	5.192	4.035	1.216-13.390	0.023

2.5 血清APN、visfatin、Hp水平对PCOS患者IR风险的预测价值

ROC曲线显示,当APN≤7.61 μg/L、visfatin>16.41 ng/mL或Hp>1.54 mg/mL时,PCOS患者IR发生风险均增大;血清APN、visfatin、Hp三者联合的曲线下面积(AUC)值以及特异度均高于单一指标预测(P<0.05)。见表4和图1。

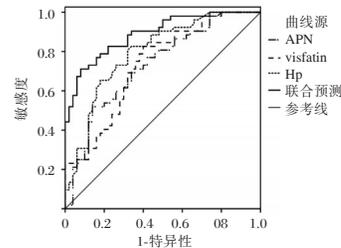


图1 血清APN、visfatin、Hp水平对PCOS患者IR风险的预测曲线

Figure 1 The prediction curves of serum APN, visfatin and Hp levels for IR risk in patients with PCOS

3 讨论

肥胖增加了PCOS患者的患病率,据统计,目前30%~60%的PCOS患者为肥胖女性,严重影响育龄期女性的健康^[11]。1980年Burghen首次提出IR参与PCOS的发病,随后证实IR与PCOS密切相关,IR的发生导致PCOS患者代谢以及生殖功能障碍^[12]。分析可预测PCOS患者IR发生的血清标志物意义重大。

国内学者研究发现约50%以上的PCOS患者存在IR,无论肥胖与否^[13]。本研究也有52例患者存在IR,发病率约为50.98%,接近国内平均水平。同时本研究还显示肥胖与非肥胖PCOS患者的

表4 血清APN、visfatin、Hp水平对PCOS患者IR风险的预测价值

Table 4 The predictive value of serum APN, visfatin, and Hp levels for IR risk in patients with PCOS

变量	AUC	标准误差	95%CI	敏感度	特异度	截断值	P值
APN	0.730	0.050	0.633-0.827	0.519	0.860	≤7.61 μg/L	<0.001
visfatin	0.733	0.049	0.637-0.830	0.827	0.600	>16.41 ng/mL	<0.001
Hp	0.795	0.044	0.708-0.882	0.808	0.680	>1.54 mg/mL	<0.001
联合预测	0.889	0.031	0.828-0.950	0.712	0.920		<0.001

HOMA-IR、FINS 水平均高于健康人,且肥胖组高于非肥胖组,进一步证实 PCOS 患者无论肥胖与否均存在 IR,与 Li 等^[13]研究结果相一致。分析原因可能是 PCOS 患者胰岛素受体的自身磷酸化减少,胰岛素刺激的最大葡萄糖转运率降低,独立于肥胖而存在,故 PCOS 患者无论肥胖与否,均存在 IR;而肥胖患者,因脂肪组织体积相对更大,游离脂肪酸、乳酸盐等代谢产物的利用度也相对增加,从而影响胰岛素的分泌、代谢,从而增加胰岛素抵抗及其程度。

自有研究者提出慢性炎症可能存在于 PCOS 患者中的观点以来,已有研究证实 PCOS 患者体内存在明显的炎症以及氧化应激损伤,并与 IR 有密切关系^[14]。Hp 是机体存在损伤或炎症时,由炎症因子刺激肝细胞合成的一种急性时相反应蛋白。既往学者通过血清蛋白质组学分析发现 Hp 的 α 、 β 链可作为 PCOS 的生物标志物^[8]。Burghardt 等人^[15]研究显示血清 Hp 水平与胰岛素水平显著相关。本研究结果提示血清 Hp 水平与 PCOS 患者的胰岛素水平密切相关,与 Burghardt 等^[15]等同类型研究结果相类似。笔者认为可能是血清 Hp 水平的增加,导致血浆黏度增加,并增加全血粘度,进而影响血流速度,导致输送到骨骼肌的葡萄糖减少,从而影响胰岛素水平。Visfatin 可结合并激活胰岛素受体发挥类胰岛素作用;还可促进葡萄糖合成三酰甘油,并促进三酰甘油在脂肪前体细胞中的表达;既往研究还表明 visfatin 可促进多种炎症因子的分泌,激活炎症反应增加 IR^[16]。本研究结果提示血清 visfatin 水平与 PCOS 患者胰岛素水平相关。作为脂肪细胞因子之一,研究显示 APN 具有增加组织对胰岛素敏感性、改善 IR 等多种生物学功能^[17]。本研究中,PCOS 患者血清 APN 水平低于对照组,且 APN 水平与 HOMA-IR 呈负相关,提示血清 APN 水平与 PCOS 患者胰岛素水平相关。才层等人^[18]研究也表明 PCOS 血清 APN 水平的降低与 IR 有一定的关系,与本研究结果相一致。进一步 Logistic 多元回归分析显示,血清 APN、visfatin、Hp 是 PCOS 患者 IR 发生的独立危险因素。ROC 曲线显示,血清 APN、visfatin、Hp 三者联合的 AUC 值以及特异度均高于单一指标预测,提示血清 APN、visfatin、Hp 水平的异常变化可作为 IR 发生的预测指标。

综上所述,PCOS 患者均存在血清 APN、visfatin、Haptoglobin 水平的异常变化,三者有可能参与 PCOS 患者 IR 的发生发展,有望通过上述血清指标预测 IR 的发生。

参考文献

- [1] 刘霞,余传金,刘欣梅,等.多囊卵巢综合症的病因及诊断标准[J].实用妇产科杂志,2018,34(8):561-564.
- [2] 张静,刘文涛,连玉兴.PCOS 患者子宫内膜厚度与血清 AMH、糖脂代谢的相关性研究[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):17-20.
- [3] 郝齐志,曹辉,王卫民,等.多囊卵巢综合征患者胰岛素敏感性及 β 细胞功能与体脂的关系[J].中华内分泌代谢杂志,2019,35(10):864-866.
- [4] 宁冬平,朱惠娟,阳洪波,等.脂肪因子与肥胖及代谢综合征的相关研究进展[J].医学综述,2018,24(18):3653-3657.
- [5] Abdul-Maksoud RS, Zidan HE, Saleh HS, et al. Visfatin and SREBP-1c mRNA Expressions and Serum Levels Among Egyptian Women with Polycystic Ovary Syndrome[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2020,24(7):409-419.
- [6] 丁芳,周靖,易晓芳.血清瘦素,脂联素,抵抗素与多囊卵巢综合征的相关研究[J].中国临床研究,2019,32(8):85-88.
- [7] 朱亚莉,黄燕清,易丹妮,等.不同表型多囊卵巢综合征患者内脂素与内分泌代谢特征的相关性[J].广东医学,2018,39(21):56-59+62.
- [8] 王柳,丘彦.多囊卵巢综合征患者结合珠蛋白基因型及血清水平的研究[J].上海交通大学学报(医学版),2017,37(4):532-537.
- [9] 张红阳,侯丽辉,李妍,等.稳态模型胰岛素抵抗指数与多囊卵巢综合征的相关性研究[J].医学研究杂志,2019,48(5):82-85.
- [10] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组.多囊卵巢综合征的诊断和治疗专家共识[J].中华妇产科杂志,2008,43(7):553-555.
- [11] 董冰莹,那芷菁,焦娇,等.体质量指数正常的多囊卵巢综合征患者肥胖指标与糖脂代谢的相关性[J].中国医科大学学报,2019,48(6):485-488.
- [12] 程晓娥,刘华,贵娟.胰岛素抵抗与多囊卵巢综合征育龄妇女生育功能的关系[J].海南医学,2017,28(2):229-231.
- [13] Li W, Chen Q, Xie Y, et al. Prevalence and degree of insulin resistance in Chinese Han women with PCOS: Results from euglycemic-hyperinsulinemic clamps[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2019,90(1):138-144.
- [14] 黄玉梅,罗静思,曹晓兰,等.PCOS 患者血清 HSP70,炎症-氧化应激指标表达及与胰岛素抵抗的关系[J].中国妇产科临床杂志,2020,21(3):79-80.
- [15] Burghardt KJ, Masri DE, Dass SE, et al. Association between haptoglobin gene and insulin resistance in Arab-Americans[J]. Biomark Med, 2017,11(11):937-945.
- [16] 李苑艳,王智慧,孙素玉.内脂素, TNF- α 与子痫前期患者血糖及胰岛素的关系[J].中国妇幼健康研究,2019,30(2):182-185.
- [17] 郭雨滢,常晓岑,林晶芮,等.单纯性肥胖病中学生患者血清脂联素与脂代谢异常相关性研究[J].中国实用内科杂志,2017,37(S1):26-28.
- [18] 才层,张仑.PCOS 患者血清 TNF- α 、IGF-1、瘦素、sOB-R、脂联素的变化及与患者发生胰岛素抵抗的关系[J].中国妇幼保健,2018,33(24):3.

UAE联合腹腔镜下吸宫治疗对CSP患者孕酮、 β -HCG及AMH的影响

王雪* 商文金 韩松筠 张红

[摘要] **目的** 探究子宫动脉阻断(UAE)联合腹腔镜下吸宫治疗对瘢痕妊娠(CSP)患者孕酮、人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)及抗苗勒管激素(AMH)的影响。**方法** 选取2015年2月至2020年5月北京市通州区妇幼保健院收治的91例CSP患者,分为对照组42例(腹腔镜下吸宫)与观察组49例(子宫动脉阻断+腹腔镜下吸宫)。比较两组术前与术后72 h降钙素原(PCT)、超敏C反应蛋白(Hs-CRP);比较术前与术后7d孕酮、 β -HCG水平变化;术前与术后3个月卵巢功能[促卵泡生长激素(FSH)、雌二醇(E2)、AMH、促黄体生成素(LH)];比较两组疾病相关恢复时间。**结果** 术前两组炎症指标水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),术后两组炎症指标水平较之前均降低,且观察组术后PCT、Hs-CRP水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术前两组孕酮、 β -HCG水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),术后两组孕酮、 β -HCG水平均明显降低,且观察组术后孕酮、 β -HCG水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术前与术后3个月两组卵巢功能指标FSH、E2、AMH、LH比较差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组宫腔肿块消失时间、月经复潮时间、 β -HCG转阴时间短于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** UAE联合腹腔镜吸宫治疗CSP可有效清除病灶,且对患者卵巢功能影响小,临床使用价值高。

[关键词] 子宫动脉阻断;腹腔镜下吸宫;瘢痕妊娠;孕酮; β -HCG;AMH

Effect of UAE combined with laparoscopic uterine aspiration on progesterone, β -HCG and AMH in CSP patients

WANG Xue*, SHANG Wenjin, HAN Songyun, ZHANG Hong

(Department of Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Tongzhou District, Beijing, China, 101100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of uterine artery occlusion (UAE) combined with laparoscopic uterine aspiration on progesterone, human chorionic gonadotropin (β -HCG) and anti-Müllerian hormone (AMH) in patients with scar pregnancy (CSP). **Methods** A total of 91 CSP patients admitted to this hospital from February 2019 to May 2020 were collected and divided into the control group 42 cases (laparoscopic uterine suction) and the observation group 49 cases (uterine artery block + laparoscopic uterine suction). Procalcitonin (PCT) and hypersensitive C-reactive protein (HS-CRP) were compared between the two groups 72 h before and after surgery. The levels of progesterone and β -HCG were compared 7 days before and after surgery. Ovarian function [follicle-stimulating growth hormone (FSH), estradiol (E2), AMH, luteinizing hormone (LH)] 3 months before and after surgery were compared. The disease-related recovery time was compared between the two groups. **Results** There was no statistically significant difference in the levels of inflammation indicators between the two groups before operation ($P>0.05$). The levels of inflammation indicators in the two groups after operation were lower than before, and the levels of PCT and Hs-CRP in the observation group were lower than those in the control group. The differences were statistically significant ($P<$

基金项目:北京市中医药科技发展资金项目(JJ2015-21)

作者单位:北京市通州区妇幼保健院妇科,北京 101100

*通信作者:王雪, E-mail: shileidagege@126.com

0.05). There was no significant difference in the levels of progesterone and β -HCG between the two groups before surgery ($P>0.05$). The levels of progesterone and β -HCG in the two groups were significantly reduced after surgery, while the levels of progesterone and β -HCG in the observation group were significantly lower than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in ovarian function indexes FSH, E2, AMH and LH between the two groups before operation and 3 months after operation ($P>0.05$). The disappearance time of uterine cavity masses, menstrual re-fluid time, and β -HCG negative time in the observation group were shorter than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** UAE combined with laparoscopic uterine suction in the treatment of CSP can effectively remove the lesions, and has little effect on the patient's ovarian function, which has high clinical value.

[KEY WORDS] Uterine artery blockage; Laparoscopic suction; Scar pregnancy; Progesterone; β -HCG; AMH

瘢痕妊娠(Scar pregnancy, CSP)是指具有剖宫产史的孕产妇出现孕囊异常着床的显现,可导致患者出现阴道出血、子宫瘢痕处破裂、大出血等情况出现,严重可威胁患者生命安全^[1]。早期诊断并采取正确的治疗方式是减少并发症、挽救患者生育能力的关键。随着腹腔镜技术的发展,腹腔镜下病灶切除治疗在CSP中优势较多,但有研究显示单独使用此方法治疗时,如果术中出现子宫破裂等情况可导致开腹风险增加,对患者预后有不良影响^[2]。子宫动脉阻断(Uterine artery blockage, UAE)是治疗阴道大出血的主要补救手段,对减少出血、降低子宫切除风险有积极意义,在CSP治疗中也逐渐得到重视^[3]。有研究显示腹腔镜下吸宫可直观了解患者宫腔形态,发现宫腔内异常情况,在CSP治疗有一定的使用价值^[4]。本文将分析UAE联合腹腔镜下吸宫治疗对CSP患者孕酮、人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, β -HCG)及抗苗勒管激素(Anti-mullerian hormone, AMH)的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年2月至2020年5月北京市通州区妇幼保健院收治的91例CSP患者,分为对照组42例(腹腔镜下吸宫)与观察组49例(子宫动脉阻断+腹腔镜下吸宫),观察组平均年龄(28.26 ± 2.36)岁,平均分娩次数(1.33 ± 0.68)次;对照组平均年龄(28.35 ± 2.18)岁,平均分娩次数(1.36 ± 0.44)次,两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入标准:①经彩超、妇科检查、 β -HCG检查确诊,符合《中华妇产科学》中有关CSP诊断标准^[5];②前次剖宫产均为子宫下端横切

口位;③同意本研究并签署知情同意书;④CSP分型均为II型。排除标准:①合并恶性肿瘤者;②临床资料缺失;③合并盆腔占位性疾病者。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 治疗方法

对照组:使用多普勒超声仪探查患者盆腔,将患者子宫膀胱腹膜打开,并将氯化钠+肾上腺素溶液注入患者子宫下段、膀胱间隙,使用电刀将病灶切除,术毕缝合切口,并肌肉注射甲氨蝶呤100 mg。

观察组:在手术时患者选取仰卧位,行局部麻醉,以Seldinger法从右侧股动脉进行穿刺,选择合适的导管行双侧子宫髂内动脉插管,并通过血管造影检查了解患者的子宫血供走向等情况,依次选择合适的方式置入,将甲氨蝶呤100 mg注入到双侧动脉,随后进行栓塞,完成后对穿刺部位止血、包扎,并观察子宫内部血供情况,在术后2~3 d进行吸宫手术。

术后两组均常规抗感染治疗,均跟踪随访3个月,随访截止时间为2020年8月31号。

1.3 检测指标相应的实验方法

1.3.1 手术前后炎症指标比较

术前1 d及术后72 h抽取静脉血液3 mL,使用胶体金免疫层析技术及双抗体夹心法检测降钙素原(Procalcitonin, PCT),试剂由上海凯创生物技术有限公司提供;使用酶联免疫法检测超敏C反应蛋白(High-sensitivity C-reactive protein, Hs-CRP),试剂盒由上海信裕生物公司提供。

1.3.2 手术前后孕酮、 β -HCG水平比较

在术前1 d及术后7 d抽取静脉血液5 mL,使用化学发光法检测孕酮、 β -HCG,检测仪器为罗氏全自动电化学发光免疫分析仪(ECL2010),检测试剂为仪器所配套。

1.3.3 手术前后卵巢功能指标比较

在术前1 d、术后3个月的月经周期来潮后的第5 d常规静脉采血,获取静脉血液5 mL,使用酶联免疫法检测卵巢功能。卵巢功能指标包括:促卵泡生长激素(Follicle Stimulating Hormone, FSH)、雌二醇(Estradiol, E2)、AMH、促黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)。

1.3.4 两组疾病相关恢复时间比较

包括宫腔肿块消失、月经复潮以及 β -HCG转阴时间。

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,采用 t 检验;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组手术前后炎症指标比较

术前两组炎症指标水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),术后两组炎症指标水平较之前均降低,且观察组术后PCT、Hs-CRP水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组手术前后炎症指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of inflammation indexes before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PCT(ng/mL)		Hs-CRP(mg/L)	
		术前	术后	术前	术后
对照组	42	121.25±15.94	76.26±9.33 ^a	22.16±5.19	12.21±2.31 ^a
观察组	49	123.62±15.24	48.25±9.64 ^a	21.94±5.13	8.66±2.14 ^a
t值		0.724	14.023	0.202	7.604
P值		0.470	<0.001	0.839	<0.001

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组手术前后孕酮、 β -HCG水平比较

术前两组孕酮、 β -HCG水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),术后两组孕酮、 β -HCG水平明显降低,且观察组术后孕酮、 β -HCG水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组手术前后孕酮、 β -HCG水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of changes in levels of progesterone and β -HCG before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FSH(IU/L)		E2(pmol/L)		AMH(ng/mL)		LH(IU/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后	术前	术后
对照组	42	7.31±2.36	7.22±2.49	335.16±14.22	328.51±14.52	3.19±1.24	3.20±1.16	7.55±2.61	7.50±2.18
观察组	49	7.33±2.16	7.24±2.15	336.25±14.61	327.95±14.35	3.17±1.44	3.18±1.85	7.53±2.18	7.52±2.55
t值		0.04	0.041	0.359	0.184	0.070	0.060	0.039	0.039
P值		0.966	0.967	0.720	0.854	0.994	0.951	0.968	0.968

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组手术前后卵巢功能指标比较

手术前后两组卵巢功能指标FSH、E2、AMH、LH比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 两组手术前后卵巢功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of ovarian function indexes before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	宫腔肿块消失时间(d)	月经复潮时间(d)	β -HCG转阴时间(d)
对照组	42	27.23±4.16	39.26±4.20	20.15±3.26
观察组	49	25.29±4.11	37.19±4.11	16.69±3.31
t值		2.232	2.371	5.873
P值		0.028	0.019	<0.001

2.4 两组疾病相关恢复时间比较

观察组宫腔肿块消失时间、月经复潮时间、 β -HCG转阴时间短于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组疾病相关恢复时间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of disease-related recovery time and complications between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	孕酮(nmol/L)		β -HCG(μ g/L)	
		术前	术后	术前	术后
对照组	42	28.16±6.22	6.52±1.33 ^a	582.64±26.38	122.64±20.64 ^a
观察组	49	29.25±6.94	5.31±1.16 ^a	580.33±27.54	105.69±20.31 ^a
t值		0.783	4.635	0.406	3.393
P值		0.435	<0.001	0.685	0.002

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

临床治疗CSP需要在保证患者生命安全的前提下尽最大能力保留生育能力。女性机体卵巢储备功能主要是由卵巢内卵泡数量、质量决定,而其中性激素及AMH分泌水平可对卵巢内卵泡数量、质量产生影响。研究显示,FSH、LH、E2水平可作为评价卵巢储备功能和反映女性生育能力的重要指标^[6]。有研究发现,对Ⅲ型CSP患者中使用腹腔镜子宫动脉栓塞联合吸宫治疗安全有效,术后7 d

患者FSH、E₂、AMH、LH均有所下降,3个月后水平恢复正常,提示两者联合治疗对患者远期卵巢储备功能影响较小^[7]。杨淑萍^[8]研究发现,腹腔镜下子宫动脉阻断术用于子宫肌瘤剔除术的效果良好,此外术者可以较清楚地观察妊娠部位的详细情况,进一步提高了治疗的安全性,且对患者卵巢功能影响小。本研究中,两组手术前与术后的3个月FSH、E₂、AMH、LH比较差异无统计学意义,与上述研究结果相符,提示UAE联合腹腔镜吸宫治疗对患者卵巢功能影响小,分析原因与两组均在腹腔镜下进行病灶切除,创伤较小有关^[9]。

孕酮也可称为黄体酮,是促进女性生殖系统、胸腺生长的重要激素,也是维持孕妇妊娠的重要激素^[10]。以往研究发现,高浓度的孕酮具有抑制子宫收缩的作用,可促进胎儿安全生长^[11]。 β -HCG与孕酮一样属于孕激素,主要由胎盘滋养层细胞所分泌,在妊娠终止后,孕妇血液中的 β -HCG会降至正常的水平,如果宫腔内存在残留的滋养细胞,血液中 β -HCG水平会持续升高,在临床中可用于检测CSP的治疗效果^[12]。以往研究显示,通过子宫动脉阻断术联合吸宫治疗CSP患者,不仅可以切除子宫瘢痕处的妊娠组织,还可以去除原剖宫产后的愈合缺陷或可能引起瘢痕妊娠的瘢痕组织,创伤小,视野清晰,可完全清除CSP病灶,使 β -HCG水平迅速恢复到正常^[13]。本研究中,术后两组血液中孕酮、 β -HCG均明显降低,提示单独吸宫治疗或联合UAE治疗均可有效清除患者病灶,而观察组孕酮、 β -HCG降低程度更大,可能与其联合治疗将病灶清除更彻底有关,与上述研究结果相符。

手术治疗可引起子宫内膜及其他组织损伤,即使是宫腔镜手术也无法避免。PCT、Hs-CRP均为机体炎症反应的介导物质,前者可促进机体其他炎症因子水平升高,促进氧自由基堆积,导致炎症反应加重;后者则是评估手术创伤程度的重要标志物^[14-15]。本研究中,观察组术后PCT、Hs-CRP水平低于对照组,提示联合治疗对患者创伤较小。观察组宫腔肿块消失时间、月经复潮时间、 β -HCG转阴时间短于对照组,提示UAE联合腹腔镜吸宫治疗CSP临床疗效佳,可更彻底清除妊娠组织,对促进患者康复有积极意义。

综上所述,UAE联合腹腔镜吸宫治疗CSP可有效清除病灶,从而降低孕酮和 β -HCG水平,对患者卵巢功能影响小,临床应用价值高。

参考文献

- [1] 孟宁,何林生,尹春华. 腹腔镜子宫动脉暂时阻断术与子宫动脉栓塞术预处理治疗Ⅲ型剖宫产瘢痕部位妊娠的效果分析[J]. 实用妇产科杂志, 2019, 35(6):475-477.
- [2] 赵晓兰,谢兰. 子宫动脉化疗栓塞术联合不同方式治疗子宫切口瘢痕妊娠62例临床分析[J]. 实用医院临床杂志, 2019, 16(5):132-134.
- [3] Wu Y, Liu H. Possibility of Live Birth For Patients With Low Serum β -hCG 14 Days After Blastocyst Transfer [J]. J Ovarian Res, 2020, 13(1):11-16.
- [4] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 成都:四川省人民卫生出版社, 2014.
- [5] Cameron DA, Anderson R, Clatot F, et al. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a marker of ovarian reserve and premature ovarian insufficiency (POI) in children and women with cancer: A systematic review[J]. J Clin Oncol, 2021, 39(15): 24057.
- [6] 米桂兰,舒志明,吴建发,等. 腹腔镜子宫动脉阻断加子宫腺肌瘤切除合并曼月乐治疗子宫腺肌瘤临床分析[J]. 河北医科大学学报, 2020, 41(2):45-48, 53.
- [7] 李素霞,何玉,张兰玲,等. 子宫动脉栓塞联合MTX治疗剖宫产瘢痕部位妊娠的疗效及其对卵巢功能的影响[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(5):43-45.
- [8] 杨淑萍. 腹腔镜下子宫动脉阻断术对子宫肌瘤患者卵巢功能及生育状况的影响[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(3):346-348.
- [9] 苗茜,胡春霞,肖丽. 单孔腹腔镜手术对异位妊娠患者卵巢功能影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(3): 332-334.
- [10] 芦爱华,赵永新,李洁,等. SD/CRL比值联合血 β -HCG, E₂水平对IVF/ICSI-ET早期流产的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10):1371-1374+1379.
- [11] 杨碧蓉,周华. 寿胎丸加味联合黄体酮及低分子肝素治疗复发性流产的临床观察[J]. 世界中医药, 2019, 14(6): 1502-1506.
- [12] Rca B, Zcda B, Hxza B, et al. Active immunization against AMH reveals its inhibitory role in the development of pre-ovulatory follicles in Zhedong White geese [J]. Theriogenology, 2020, 144(33): 185-193.
- [13] Cai L, Huang Y, Sun P, et al. Accurate detection of β -hCG in women's serum and cervical secretions for predicting early pregnancy viability based on time-resolved luminescent lanthanide nanoprobes [J]. Nanoscale, 2020, 12(3): 106-109.
- [14] Sindiani A, Alorjani MS, Aldaraiseh BK. Dysgerminoma of the ovary in an adolescent girl associated with a high serum β -human chorionic gonadotropin (β -hCG) level[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2019, 40(5): 859-861.
- [15] Zhang X, Pang Y, Ma Y, et al. A comparison between laparoscopy and hysteroscopy approach in treatment of cesarean scar pregnancy[J]. Medicine, 2020, 99(43): 845.

CD44与CA125与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫关系

张海燕^{1*} 范晖² 张偲¹ 王永勤³

[摘要] **目的** 探讨黏附分子(CD44)与糖链抗原-125(CA125)与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫关系。**方法** 选择2015年7月至2020年7月江苏省如皋市人民医院住院的结核性胸膜炎感染患者120例为观察组,选取同期120例健康体检者作为对照组,对患者的CD44、PBMC RNA进行检测;同时对THP-1细胞培养,并分化为巨噬细胞,进行CFU值统计。分离患者胸水,进行巨噬细胞的刺激试验;并检测CA-125水平。**结果** 外周血PBMC中,经检测观察组的CD44、CD44mRNA水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结合杆菌感染的CD44中加入巨噬细胞后,3周后计算CFU,其结核杆菌载量(1.12 ± 0.02)相较于对照组差异无统计学意义($P<0.05$)。加入巨噬细胞前,观察组各指标显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),加入后,观察组IL-10指标较对照组,差异无统计学意义($P>0.05$),TNF- α 水平显著高于对照组($P<0.05$),加入TNF- α 和抗体后,观察组CD44水平显著低于对照组($P<0.05$)。治疗前,观察组CA-125水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。CD44与CA125与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫呈正相关($P<0.05$)。**结论** 结核性胸膜炎患者的CD44与CA-125表达与体内的炎症免疫反应变化存在一定的关联。

[关键词] 结核性胸膜炎;感染;炎症免疫;关系研究

Relationship between CD44 and CA125 and inflammatory immunity in elderly patients with tuberculous pleurisy infection

ZHANG Haiyan^{1*}, FAN Hui², ZHANG Si¹, WANG Yongqin³

(1. Department of Infection, Rugao People's Hospital, Rugao, Jiangsu, China, 226500; 2. Department of Oncology, Rugao People's Hospital, Rugao, Jiangsu, China, 226500; 3. Department of Infectious Diseases, Weifang People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 261041)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between CD44 and CA125 and inflammatory immunity in senile patients with tuberculous pleurisy infection. **Methods** A total of 120 patients with tuberculous pleurisy infection in Rugao People's Hospital of Jiangsu Province from July 2015 to July 2020 were selected for this study. A total of 120 healthy subjects were selected as the control group CD44 and PBMC RNA were detected in the patients. At the same time, THP-1 cells were cultured and differentiated into macrophages, and CFU values were counted. The pleural effusion was isolated and macrophage stimulation test was performed. CA-125 level was detected. **Results** In peripheral blood PBMC, the mRNA level of CD44 and CD44 in the observation group were significantly higher than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). After macrophages were added to CD44 infected with Mycobacterium conjugate, CFU was calculated after 3 weeks, and there was no statistically significant difference in mycobacterium tuberculosis load (1.12 ± 0.02) compared with the control group ($P<0.05$). Before the addition of macrophages, indicators in

基金项目:2019年度南通市市级科技计划(指导性)立项项目(MSZ19070)

作者单位:1. 江苏省如皋市人民医院感染科,江苏,如皋 226500

2. 江苏省如皋市人民医院肿瘤科,江苏,如皋 226500

3. 山东省潍坊市人民医院感染性疾病科,山东,潍坊 261041

*通信作者:张海燕, E-mail: zhy1455@163.com

the observation group were significantly higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After the addition of macrophages, IL-10 in the observation group were not statistically significant ($P>0.05$), and TNF- α level was significantly higher than that in the control group, $P<0.05$. After the addition of TNF- α and antibodies, the level of CD44 in observation group was significantly lower than that in the control group, $P<0.05$. Before treatment, the level of CA-125 in the observation group was significantly higher than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). CD44 and CA125 were positively correlated with inflammation and immunity in senile patients with tuberculous pleurisy infection ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of CD44 and CA-125 in patients with tuberculous pleurisy is correlated with the changes of inflammatory immune response in vivo.

[KEY WORDS] Tuberculous pleurisy; Infection; Inflammatory immunity; Relationship research

结核性胸膜炎和肺结核一样均是由结核分枝杆菌侵犯引起感染,但无传染性,以不同程度肺外表现为主要的疾病表现形式^[1],9成^[2]患者会出现因该病引起的胸腔积液而并发一定程度的肺栓塞^[3]、心衰^[4]。该病的诊断大多情况下需要医者结合一系列的临床综合检查和胸膜活检^[5]等以达到最终的明确诊断,这一点明显区别于肺结核。以往相关资料中关于肺结核胸膜感染的诊断虽有一定的介绍和报道,但是基于结核菌培养、免疫学检查等情况,极易造成敏感性、检出率等客观情况出现最终诊断结果的偏差。故基于该病有效、便捷的诊断方法仍旧是解决此病临床实际需求的最大问题。黏附分子(Adhesion molecule, CD44)是机体内能够广泛参与巨噬细胞活化^[5-6]、淋巴免疫细胞活化的一种多糖蛋白^[6]。基于其白细胞黏附分子的属性,在体内存在结核菌感染的情况下,CD44互大量聚集以有效参与体内的免疫反应^[7]。此外,糖链抗原-125(carbohydrate antigen, CA125)最早的临床研究发现其作为一种血清学^[8]的中路标志物,参与肿瘤的发生、发展,但是对于一些疾病的渗出液检测也会发现该物质一定程度的高水平表达。借助两种物质本身特有的属性,能够综合反应结核性胸膜炎感染患者体内的感染情况和相应的免疫反应情况。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2015年7月至2020年7月江苏省如皋市人民医院住院的结核性胸膜炎感染患者120例为观察组,其中男65例,女55例,平均年龄(65.0 ± 4.1)岁,病程平均(3.4 ± 1.7)年。选取同时期的120例健康体检者作为对照组,其中男63例,女57例。平均年龄(64.8 ± 3.9)岁。所有患者及家属均签署知情同意书。

纳入标准:均为渗出液性质^[8],符合Light标准^[9];患者入院前经临床综合检查,结合影像学检查与痰液抗酸杆菌检测可确诊;经过临床行胸腔穿刺术,对患者胸水检测。观察组剔除标准:中途退出,拒绝配合本次研究,存在严重的其他系统并发症^[10],不能耐受住院药物治疗。本研究已通过单位伦理委员会审查。

1.2 方法

1.2.1 ELISA法检测患者的CD44

于96孔板50 mmol/L缓冲液溶解细胞抗原,恒温4℃条件过夜,弃除样本的包被液体后进行洗涤,放入100 μ L血清及进行稀释,在对照组样本置入后孵育2 h,所获得的最终样本洗涤并PBST清洗,加入二抗、孵育,再次进行清洗操作后加入OPD显色,将获得样本放置在490 nm波场条件下进行检测。

1.2.2 外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC)中提取RNA检测

对患者血液样本进行检测,测定总RNA浓度后进一步检测cDNA。CD44引物序列5' ACAACTGGTGATGGAGACTCATCC-3'。

1.2.3 THP-1细胞培养,并分化为巨噬细胞

用结核杆菌H37Ra^[11](其MOI值为5)感染THP-1细胞,感染后将CD44(浓度单位为10 ng/mL)加入,静置采用PBS将上清洗去。获得的样本以完全培养基进行后续培养,3 d后,SDS(浓度条件为0.7%)将样本中的细胞进行有效裂解,涂板后将培养皿置于二氧化碳条件下,进行彻底密封3周,后取出进行结核杆菌的CFU值统计。

1.2.4 红包裂解液分离患者胸水

进行巨噬细胞的刺激试验。待THP-1有效诱导巨噬细胞后,接种于6孔板,试验组分别加入0.5 mL胸水,并以TNF-a中和。在24 h后对所获得的上清进行取液体,并ELISA检测。

1.2.5 ELISA 检测 CA-125 以及观察指标

对患者治疗 1、2、3 月末时,取清晨肘静脉血 5 mL,有效分离血清后,使用 ELISA、免疫组化等方法检测 CA-125。其阳性值为 35 U/mL 以上。

1.2.6 患者预后效果胸水量以及观察指标

于患者治疗 1、2、3 月末时,予以 X 光胸片检查,胸液平面高于第 2 肋上缘为大量,低于第 4 肋下缘为小量,两者之间为中量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组比较用 *t* 检验,计数资料用 *n*(%) 表示,采用 χ^2 检验,相关关系采用皮尔森分析法,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CD44 水平的表达

外周血单个核细胞中,观察组的 CD44、CD44mRNA 水平显著高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 CD44 与巨噬杆菌的关系研究

结核杆菌感染的 CD44 中加入巨噬细胞后,3 周后计算 CFU,其结核杆菌载量 (1.12 ± 0.02) 相较于对照组,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 CD44 与 IL-10、TNF- α 炎症免疫因子的关系

TNF- α 中和抗体加入胸水前,观察组各指标显著高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),TNF- α 中和抗体加入胸水后,观察组 IL-10 指标较对照组,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),TNF- α 水平

显著高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),加入 TNF- α 中和抗体后,观察组 CD44 水平显著低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 老年结核性胸膜炎感染患者治疗前后 CA-125 水平比较

治疗前,观察组 CA-125 水平显著高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);治疗后各个时间点的组间水平,比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者 CA-125 的水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	治疗前	治疗 1 月末	2 月末	3 月末
对照组	6.0 \pm 2.5	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
观察组	58.2 \pm 8.16	69.15 \pm 21.03	40.15 \pm 13.23	17.42 \pm 4.12
<i>t</i> 值	10.245	36.020	33.020	46.317
<i>P</i> 值	0.001	0.000	0.000	0.000

2.5 CD44 与 CA125 与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫的相关性分析

CD44 与 CA125 与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 CD44 与 CA125 与老年结核性胸膜炎感染患者体内的炎症免疫的相关性分析 [*n*(%)]

项目	人数比例	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
CA-125 转阴	77(64.2)	0.384	0.003
CD44 转阴	89(74.2)	0.283	0.041
胸液量小	46(38.3)		

表 1 血浆 CD44、CD44mRNA 的水平情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Plasma CD44 and CD44 mRna levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD44(ng/mL)				CD44mRNA(ng/mL)			
		治疗前	治疗 1 月末	2 月末	3 月末	治疗前	治疗 1 月末	2 月末	3 月末
对照组	120	0.54 \pm 0.42	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.52 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
观察组	120	5.16 \pm 0.16	5.90 \pm 0.42	4.92 \pm 0.42	3.84 \pm 0.42	5.42 \pm 0.75	4.90 \pm 0.35	2.76 \pm 0.17	1.12 \pm 0.50
<i>t</i> 值		15.425	153.884	128.323	100.155	14.234	315.746	177.849	24.538
<i>P</i> 值		0.001	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000

表 2 两组的炎症因子水平情况 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	CD44(ng/mL)		IL-10(pg/mL)		TNF- α (pg/mL)	
		加入胸水前	加入胸水后	加入胸水前	加入胸水后	加入胸水前	加入胸水后
对照组	120	0.67 \pm 0.21 ^a	0.83 \pm 0.64	33.49 \pm 6.42 ^a	65.14 \pm 3.42	42.30 \pm 9.152 ^a	66.75 \pm 11.47
观察组	120	8.72 \pm 2.14 ^a	12.48 \pm 3.45	97.13 \pm 9.18 ^a	108.42 \pm 24.10	188.12 \pm 21.03 ^a	271.42 \pm 30.20
<i>t</i> 值		4.120	8.427	19.452	10.758	25.752	22.727
<i>P</i> 值		0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与加入胸水后相比,^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

CD44 作为机体内可促进因巨噬细胞活化的因子^[12],对炎症反应的发生及变化均有一定的促进作用^[13]。本次研究中发现,观察组的 CD44 水平均显著高于对照组,进一步的外周血 CD44mRNA 水平检测也呈现出高水平表达,这可能提示本次研究 CD44 在体内的表达与患者的病情呈现一定的关联性,故本次研究通过 3 个月的抗结合治疗后,动态观察该指标的水平情况,侧面得到了证实。而 CD44 是否与患者治疗期间的炎症免疫改善有一定关系,本次研究发现加入结合杆菌后患者 CD44 水平显著升高,说明 CD44 在该病的发生中具有一定的特异性。而结核杆菌会激发^[14]机体内 T 细胞产生大量 TNF- α ,以对抗组织局部的炎症变化,进而诱发^[15]CD44 表达。分析认为,经过一定时间的抗结核治疗后,患者体内的结核杆菌载量得到了有效的改善,其载量下降,使得原本因结核杆菌而引发的炎症免疫反应也得到了相应的控制,TNF- α 由此水平降低,最终受其刺激的 CD44 也相应减少了,实验的 CD44 检测水平也降低。在王中丽等的研究中认为该刺激可能与 TNF- α 调控 P38MAPK 的表达方面有一定关系^[16],但是其机制是否适用于本次研究中 CD44 的治疗后水平下降,还需要更深入的研究。

CA-125 在临床多被认为是与肿瘤^[17]有直接关联。但是在本次研究中,结核性胸膜炎患者的 CA-125 水平较健康对照组水平显著较高,且虽然经过 3 个月的针对性治疗,观察组该指标的水平显著降低,但是相比对照组,其阳性水平仍较高,说明该指标在患者体内始终存在较高的表达水平状态,分析认为,这种情况主要在于,患者本身存在较大的结核杆菌聚集^[18],且代谢产物相对较多,这会大量刺激肺部组织间皮细胞。CA125、CD44 转阴之间与胸腹水呈正相关,推测毒性代谢产物还会进一步损害肝内细胞,使得一些与 CA-125 等类似抗原性^[18]的物质大量产生,并释放进入患者体内血流中,呈现较高的水平。患者在此种状态下,CA-125 等大量有毒物质通过主动重吸收再次进入血液中,一方面对肝脏功能的损害,导致其抗原处理能力^[18]显著下降,另一方面患者表现出病情的进展,这也是结核性胸膜炎免疫功能相对较差,且此类患者基本普遍存在胸水、腹水情况的原因之一。而包义波^[19]等人的研究中进一步发现,CA-125 对于此类结核性胸膜炎患者的临床诊断

方面,尤其是胸水连个性方面有显著较高的价值,且其研究中对于患者进行抗结核治疗后,动态监测 CA-125 能够为患者的预后提供一定的帮助,其与炎症反应因子同样具有一定的疗效预测价值,以上综合说明了 CA-125 对于结核性胸膜炎的临床治疗和炎症免疫存在一定的关联。

综上所述,结核性胸膜炎患者的 CD44 表达与体内的炎症免疫反应变化存在一定的关联,经过系统的抗结核治疗后,CD44 水平显著降低,患者的炎症免疫指标水平也得到了改善,这可能是结核杆菌刺激,导致体内 TNF-A 水平升高而激活 CD44 表达,但是其具体的信号机制尚需研究;而动态监测 CA-125 与结核性胸膜炎的临床治疗和炎症免疫存在一定的关联,对于此类患者的临床预后有一定的价值,但也仍需进一步机制探索。

参考文献

- [1] 闫慧,杜园园,李鹏,等. 多项指标联合检测对结核性胸膜炎的诊断价值研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(16):1935-1939.
- [2] 张宪波,刘月皎,钱世宁,等. 白细胞黏附分子 CD44 在肺结核患者体内的表达水平、作用及机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(2):213-219.
- [3] 张志杰,张远芳,周前选,等. 胸水 ADA 及 ADA 同工酶在结核性胸膜炎中的诊断价值[J]. 湖南师范大学学报:医学版, 2020(2):11-14.
- [4] 申洁,贾莉,董小帅,等. 不同检测方法快速诊断结核性胸膜炎临床评价[J]. 检验医学, 2019, 34(3):221-224.
- [5] 陈雪梅,侯婉. 干扰素- γ ,白细胞介素-10 在肺结核血清,肺泡灌洗液和结核性胸腔积液中的表达和临床意义[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17(4):139-143.
- [6] 曹敬华,郎立新,田剑,等. 结核性胸膜炎胸腔积液中纤维蛋白原含量与胸膜粘连的相关性探讨[J]. 医学动物防制, 2021, 37(2):194-196.
- [7] 唐天弼,孙逸敏,贾佳,等. 肺结核合并结核性胸膜炎患者血清 CA125 和铁蛋白检测的临床价值分析[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(6):1066-1070.
- [8] 刘涛,杨燕,刘博,等. 联合检测胸腹腔积液 sCD44V6,CEA, CYFRA21-1,CA199,NSE,CA125 对良恶性疾病鉴别诊断价值研究[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2):53-55+64.
- [9] 苟甜甜,向章朋,柳梦君,等. TBDNA 和 IGRAs 对川西高原地区肺结核诊断的适用性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):292-295+313.
- [10] 王少华,杨翰,李爱芳,等. 三种实验方法检测胸腔积液对结核性胸膜炎的诊断价值分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3):104-108.
- [11] 谢平,陈彩萍,刘亮明. 结核性胸膜炎分子及生化免疫学诊断研究进展[J]. 中华临床感染病杂志, 2020, 13(5):387-393.

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

董磊^{1*} 臧磊¹ 王娇娇²

[摘要] 目的 探讨过敏性紫癜(HSP)患儿免疫球蛋白、补体水平及抗核抗体检测变化。方法 选取2019年2月至2021年3月在阜南县人民医院儿内科接受治疗的92例HSP患儿为研究对象。于同期,选取健康儿童41例为对照组。比较两组免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)、补体水平(C3、C4)及抗核抗体的差异,评估IgA、IgA/C3对HSP的诊断价值。**结果** 观察组IgA水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组IgG、IgM水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。两组C3、C4比较差异无统计学意义($P>0.05$);观察组IgA/C3显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组抗核抗体阳性率显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,IgA、IgA/C3及两项联合对HSP的诊断具有一定价值($P<0.05$)。**结论** HSP患儿体内IgA、IgA/C3较高,抗核抗体检测均呈阳性,且IgA、IgA/C3对HSP发生具有一定诊断价值。

[关键词] 过敏性紫癜;免疫球蛋白;补体;抗核抗体

Detection and analysis of immunoglobulin, complement levels and antinuclear antibodies in children with Henoch-Schonlein purpura

DONG Lei^{1*}, ZANG Lei¹, WANG Jiaojiao²

(1. The First Department of pediatrics, Funan County People's Hospital, Funan, Anhui, China, 236300;

2. Laboratory of Funan County People's Hospital, Funan, Anhui, China, 236300)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes in the levels of immunoglobulin, complement and antinuclear antibodies in children with Henoch-Schonlein purpura (HSP). **Methods** A total of 92 children with HSP who were treated at the Department of Pediatrics of Funan County People's Hospital from February 2019 to March 2021 were selected as the research objects. During the same period, 41 healthy children were selected as the control group. The differences in immunoglobulin (IgA, IgG, IgM), complement levels (C3, C4) and antinuclear antibodies were compared between the two groups, and the diagnostic value of IgA and IgA/C3 in HSP was evaluated. **Results** The level of IgA in the observation group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). There was no significant difference in the levels of IgG and IgM between the two groups ($P>0.05$). There was no significant difference in C3 and C4 between the two groups ($P>0.05$). The IgA/C3 in the observation group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). The positive rate of antinuclear antibodies in the observation group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that IgA, IgA/C3 and the combination of the two have a certain value in the diagnosis of HSP ($P<0.05$). **Conclusion** Children with HSP have higher levels of IgA and IgA/C3, and the antinuclear antibodies are all positive, and IgA and IgA/C3 have certain diagnostic value for the occurrence of HSP.

[KEY WORDS] Henoch-Schonlein purpura; Immunoglobulin; Complement; Antinuclear antibody

基金项目:安徽省公益性研究联动计划项目(15011d04060)

作者单位:1. 安徽省阜南县人民医院儿一科,安徽,阜南 236300

2. 安徽省阜南县人民医院化验室,安徽,阜南 236300

*通信作者:董磊, E-mail:dl19870315@163.com

过敏性紫癜(Henoch-Schonlein purpura, HSP)为常见血管疾病,主要好发于儿童,其发病率较高^[1]。HSP主要表现为毛细血管通透性及脆性增加,导致皮肤、脏器及关节发生炎症和出血,具有一定遗传倾向。目前,临床上对于此病病因及发病机理尚不明确。本病多为自限性疾病,大部分患儿有轻微症状,经临床治疗后,恢复较快;少数患儿病情进展快,全身器官功能出现衰竭,甚至引起死亡^[2]。有研究表明,HSP的发生与免疫功能有着密切关系,患儿发病期存在明显体液免疫功能紊乱、T淋巴细胞亚群失调等情况^[3]。免疫球蛋白及补体在机体免疫过程中发挥重要抗感染作用。正常生理情况下,部分人体内出现少量抗核抗体,但对于HSP患者,其血液中有自身抗体存在,通常可以对细胞核抗原成分产生直接针对作用^[4]。本研究选取过敏性紫癜患儿为研究对象,分析其免疫球蛋白、补体水平及抗核抗体变化,为临床针对性治疗提供重要依据。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3月在阜南县人民医院儿内科接受治疗的92例过敏性紫癜患儿为研究对象。其中男48例,女44例,平均年龄为(8.51±1.58)岁。于同期,选取健康儿童41例为对照组,男21例,女20例,平均年龄为(8.26±1.19)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究符合赫尔辛基宣言。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①经临床诊断,均符合过敏性紫癜相关诊断标准^[5];②近期末接受糖皮质激素治疗或免疫制剂治疗;③病情稳定,意识清醒;④均有一位陪护家属;⑤年龄均在14岁以下;⑥所有入试者监护人均签署同意书。排除标准:①合并严重器质性病变;②患者凝血功能异常;③伴有恶性肿瘤;④合并其他感染者;⑤有家族过敏史;⑥中途转院治疗或退出研究。

1.3 方法

免疫球蛋白、补体水平检测:所有人员均于清晨采集空腹静脉血5 mL,以3 000 r/min离心,20 min后将血清分离,离心半径为13.5 cm,放置于-80℃环境中保存。使用全自动生化分析仪(生产厂家:基蛋生物科技股份有限公司)采取免疫比

浊法测定IgA、IgG、IgM、C3、C4,并计算出IgA/C3值。试剂盒购于北京中西华大科技有限公司,相关操作严格遵守说明书规范。

抗核抗体检测:所有人员均于清晨采集空腹静脉血5 mL,30 min后进行离心操作,以3 000 r/min离心,离心半径为13.5 cm,时间为10 min,后将样品置于-20℃环境中保存。采取间接免疫荧光法进行检测,血清和荧光标记物的稀释采用磷酸盐缓冲液(1:100),将其添加于样品中,常温环境下和生物薄片上的Hep-2细胞核灵长类肝脏进行培育,30 min后进行冲洗(采用PBS缓冲液),去除未结合的非特异性物质;结合荧光标记物抗人IgG抗体、生物薄片基质,行二次孵育,30 min后进行浸泡冲洗;采用甘油进行封片处理,于显微镜下观察抗核抗体。试剂盒购于北京和杰创新生物医学科技有限公司,相关操作严格遵守说明书规范。

1.4 统计学方法

数据采用SPSS 22.0软件分析,计数数据采用 $n(\%)$ 表示,组间行 χ^2 检验;计量数据采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间比较独立样本行 t 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析IgA、IgA/C3对过敏性紫癜患儿的诊断价值,曲线下面积(AUC)0.7~0.9时有一定准确性,AUC>0.9时准确性较高。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组免疫球蛋白水平比较

观察组IgA水平显著高于对照组,比较差异有统计学意义($P<0.05$);两组IgG、IgM水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组免疫球蛋白比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)
观察组	92	2.21±0.64	8.06±2.41	1.49±0.46
对照组	41	0.98±0.29	9.46±2.32	1.41±0.37
<i>t</i> 值		11.761	0.782	0.981
<i>P</i> 值		<0.001	0.436	0.329

2.2 两组补体水平比较

两组C3、C4比较差异无统计学意义($P>0.05$);观察组IgA/C3显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 两组抗核抗体比较

观察组抗Sm阳性率、抗SS-A阳性率、抗

表2 两组补体水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	C3(g/L)	C4(g/L)	IgA/C3(g/L)
观察组	92	1.21±0.14	0.22±0.06	1.58±0.41
对照组	41	1.19±0.23	0.23±0.04	1.09±0.21
t 值		0.617	0.974	7.231
P 值		0.538	0.332	<0.001

SS-B 阳性率、抗 SCL-70 阳性率、抗 PM-SCL 阳性率、抗 PCNA 阳性率、抗核小体阳性率、抗组蛋白阳性率、抗核糖体核蛋白阳性率、ANA 阳性率显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组抗核抗体比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of two groups of antinuclear antibodies [$n(\%)$]

抗核抗体	观察组 (n=92)	对照组 (n=41)	χ^2 值	P 值
抗 Sm 阳性率	9(9.78)	0(0.00)	4.302	0.038
抗 SS-A 阳性率	13(14.13)	0(0.00)	6.421	0.011
抗 SS-B 阳性率	16(17.39)	0(0.00)	8.106	0.004
抗 SCL-70 阳性率	9(9.78)	0(0.00)	4.302	0.038
PM-SCL 阳性率	16(17.39)	0(0.00)	8.106	0.004
抗 PCNA 阳性率	14(15.22)	0(0.00)	6.973	0.008
抗核小体阳性率	19(20.65)	0(0.00)	9.879	0.002
抗组蛋白阳性率	12(13.04)	0(0.00)	5.878	0.015
抗核糖体核蛋白阳性率	10(10.87)	0(0.00)	4.819	0.028
ANA 阳性率	24(26.09)	0(0.00)	13.051	<0.001

2.4 IgA、IgA/C3 对过敏性紫癜患儿的诊断价值

ROC 曲线分析显示, IgA、IgA/C3 对 HSP 的诊断价值 AUC 分别为 0.848、0.835, 具有一定准确性; 其敏感度、特异度分别为: IgA 为 100.0%、56.1%, IgA/C3 为 51.1%、100.0%, 具有一定诊断价值。

将 IgA、IgA/C3 纳入 Logistic 回归模型, 通过回归系数得出联合检测的数值计算公式为: 联合检测 = $IgA + (0.835/0.848) * IgA/C3$, 统计分析得出联合数据。进一步 ROC 曲线显示, 联合检测 AUC 为 0.909, 敏感度、特异度为 66.3%、100.0%, 提示联合检测预测价值较高($P<0.05$)。见表4、图1。

表4 IgA、IgA/C3 对过敏性紫癜患儿的诊断价值

Table 4 The diagnostic value of IgA and IgA/C3 in children with Henoch-Schonlein purpura

检验项目	AUC	S.E.	95%CI	敏感度	特异度	约登指数	P 值
IgA	0.848	0.035	0.780 0.916	1.000	0.561	0.561	<0.001
IgA/C3	0.835	0.036	0.765 0.904	0.511	1.000	0.511	<0.001
两项联合	0.910	0.024	0.862 0.957	0.663	1.000	0.663	<0.001

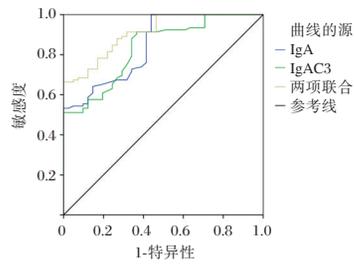


图1 IgA、IgA/C3 对过敏性紫癜患儿的诊断价值
Figure 1 The diagnostic value of IgA and IgA/C3 in children with Henoch-Schonlein purpura

3 讨论

过敏性紫癜为儿童常见自身免疫性疾病, HSP 典型症状为皮肤紫癜、关节症状、胃肠道症状及肾脏损伤^[6]。有研究发现, HSP 患儿存在免疫功能失调, 抗体分泌增多, T 淋巴细胞亚群功能紊乱^[7]。其发病机制临床尚不清楚, 目前认为除遗传因素之外, 感染、接触过敏原等都为其主要因素^[8]。各种刺激因子如感染源、过敏原, 激活 T 细胞, 引起细胞因子异常分泌, 凝血、纤溶功能异常, 导致周围血管炎性改变, 造成组织和脏器损伤^[9]。因此临床上因探寻有效评估 HSP 疾病的诊断指标, 以早期发现异常, 及时干预, 改善患儿预后。

有研究表明, IgA 在 HSP 患儿中呈较高水平, 并在 HSP 患儿皮损组织中出现大量沉淀, 其染色强度明显强于正常儿童^[10]。本研究结果显示, 从免疫球蛋白水平来看, 观察组 IgA 水平显著高于对照组, 但是两组 IgG、IgM 水平比较无明显差异, 说明 HSP 对免疫球蛋白存在选择性分泌异常, IgA 显著升高, 说明其在 HSP 患儿发生发展中发挥重要作用。有研究表明, IgA 可在 HSP 患儿皮肤、关节及肾脏毛细血管出沉积, 诱发小血管炎症, 从而使得毛细血管通透性增加, 致病理损害^[11]。另有文献报道, IgA 可抑制粒细胞吞噬 IgG 免疫复合物, 使得 IgG 免疫复合物堆积于肾脏, 加重肾脏损伤^[12]。对于 IgM、IgG 在 HSP 患儿体内变化, 目前报道不一致。有研究表明, IgM、IgG 失调会使得 HSP 患儿肾脏损伤加重。而本研究中 HSP 患儿与健康儿童比较 IgG、IgM 水平无明显差异。杨焕丹等^[13]通过研究 HSP 患儿体内补体水平, 发现补体水平与 HSP 的病情无关。本研究中结果显示, 两组 C3、C4 比较无显著差异, 这与本研究结论一致。畅晓元等^[14]报道 IgA/C3 值可较好反映 HSP 病情变化,

同时可反映肾脏损害程度。本研究通过分析 IgG/C3 值,发现观察组 IgA/C3 显著高于对照组,说明 IgA/C3 值对 HSP 疾病变化具有较好的监测作用。相关资料表明,抗核抗体检测对自身免疫疾病的诊断准确性较高,临床上医生可根据患者抗核抗体检出情况判断患者是否存在自身免疫疾病,从而及时治疗^[15]。抗核抗体为自身抗体中最为常见,与疾病的发生有着密切关系。本研究结果说明抗核抗体检测诊断 HSP 效果较为显著。

本文进一步将 IgA、IgG/C3 作 ROC 分析,ROC 曲线分析显示,IgA、IgA/C3 对 HSP 的诊断价值 AUC 分别为 0.848、0.835,具有一定准确性;其敏感度、特异度分别为:IgA 为 100.0%、56.1%,IgA/C3 为 51.1%、100.0%,具有一定诊断价值。当联合检测两项时,AUC 为 0.909,敏感度、特异度为 66.3%、100.0%,提示联合检测预测价值较高,由此得出,IgA、IgA/C3 可作为 HSP 的重要诊断指标^[16]。

综上所述,HSP 患儿体内 IgA、IgA/C3 较高,抗核抗体检测均呈阳性,且 IgA、IgA/C3 对 HSP 发生具有一定诊断价值,可为临床诊治明确方向,值得在临床推广。

参考文献

- [1] Leung AKC, Barankin B, Leong KF, et al. Henoch-Schönlein Purpura in Children: An Updated Review [J]. *Curr Pediatr Rev*, 2020, 16(4):265-276.
- [2] 贾实磊,杨军,马颐姣,等.初发过敏性紫癜和紫癜性肾炎患儿滤泡辅助性T细胞变化初探[J].*儿科药学杂志*, 2018, 24(1):1-4.
- [3] 范忠祥,胡波,胡云海,等.丹参酮治疗对过敏性紫癜患儿凝血功能、炎症因子及免疫功能的影响[J].*海南医学院学报*, 2019, 25(4):280-283+287.
- [4] 陈丽芬.抗核抗体联合抗核抗体谱检测在自身免疫性疾病诊断中的应用[J].*实用检验医师杂志*, 2020, 12(2):87-89.
- [5] 拉姆卓嘎,蔡桂梅.儿童过敏性紫癜诊治的研究进展[J].*西藏科技*, 2021(11):69-70+76.
- [6] Gohari A, Matsell DG, Mammen C, et al. Henoch-Schönlein purpura in children: Use of corticosteroids for prevention and treatment of renal disease [J]. *Can Fam Physician*, 2020, 66(12):895-897.
- [7] 罗明海,张森山.血液灌流治疗儿童重症腹型过敏性紫癜的临床疗效分析[J].*河北医学*, 2018, 24(12):2054-2057.
- [8] 常红,林毅,雷珂,等.SOCS 低甲基化在儿童过敏性紫癜 Th17/Treg 细胞失衡中的作用研究[J].*中国当代儿科杂志*, 2019, 21(1):38-44.
- [9] 魏彤. CD4 +T 细胞亚群在过敏性紫癜发病机制中的作用 [J]. *国际儿科学杂志*, 2021, 48(4):226-230.
- [10] 刘娜娜,丁周志,陈琼,等.过敏性紫癜患儿总 IgE、IgA 及补体 C3 水平对疾病预后的预测价值[J].*中华全科医学*, 2019, 17(9):1463-1466.
- [11] 万斌,何森,郭春艳.糖浆联合西替利嗪对过敏性咳嗽患儿血清总 IgE、IgA 及补体 C3 水平的影响[J].*分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(1):156-159.
- [12] 刘梅,王军,孙红,等.过敏性紫癜与紫癜性肾炎患儿免疫功能比较及临床意义探讨[J].*检验医学与临床*, 2019, 16(8):1060-1063.
- [13] 杨焕丹,张锐锋,彭倩倩,等.过敏性紫癜合并链球菌感染的临床特点及血清免疫球蛋白和补体的变化[J].*安徽医药*, 2019, 23(3):483-486.
- [14] 袁婷婷,张锐锋,商巧雨.紫癜性肾炎患儿血清 APN、CysC、OPN 和 IgA1 水平分析[J].*临床输血与检验*, 2019, 21(6):623-626.
- [15] 梁建群.35 例系统性红斑狼疮患者血清自身抗体分析[J].*华南预防医学*, 2005, 31(3):58-59.
- [16] 畅晓元,刘岩.儿童紫癜性肾炎的相关因素及血清 IgA/C3 的预测价值分析[J].*实用药物与临床*, 2019, 22(9):956-959.

(上接第 466 页)

- [12] 张晶,赵卉.结核性胸膜炎实验室诊断方法研究进展[J].*中国药物与临床*, 2019, 19(19):3303-3306.
- [13] 梁亚充,李晓倩,韩朝,等.胸水腺苷脱氨酶结合 ROSE 技术在结核性胸膜炎诊断中的应用[J].*中国医学装备*, 2021, 18(2):62-66.
- [14] 冉燕,张建勇,赵建军.内科胸腔镜胸膜活检联合 GeneXpert MTB/RIF 对结核性胸膜炎的诊断价值研究[J].*中国呼吸与危重监护杂志*, 2020, 19(1):12-15.
- [15] 马志强,王霖,王晓燕,等.胸水 ADA、TB-DNA 及 BACTEC MGIT 960 快速联合检测在结核性胸膜炎中的诊断价值[J].*昆明医科大学学报*, 2020, 41(7):135-139.
- [16] 张芸,姜广路,王冲,等.经内科胸腔镜胸膜病变活检对结核性胸膜炎的诊断价值[J].*中国防痨杂志*, 2020, 42(11):1158-1164.
- [17] 张倩,王玉炯,兀威.结核性胸膜炎诊断技术研究进展[J].*国际呼吸杂志*, 2019, 39(20):1592-1593.
- [18] 石卓林,贾奎,崔俊伟,等.复方柳菊胶囊联合西医治疗结核性胸膜炎疗效及对血清炎症因子水平的影响[J].*中国临床医生杂志*, 2019, 24(12):1413-1415.
- [19] 包义波,赵兴婵.CA125 和腺苷脱氨酶测定在结核性胸膜炎诊断中的应用价值[J].*中华医院感染学杂志*, 2020, 30(15):2287-2291.

VK水平变化与新生儿不明原因消化道出血关系

杨雪* 赵旭晶 王晓丽

【摘要】目的 观察新生儿的脐血维生素K₁、维生素K₂(VK₁、VK₂)水平和凝血功能水平,并分析其与新生儿发生不明原因消化道出血的关系。**方法** 选取2018年6月至2020年2月在山西省运城市中心医院接受分娩的新生儿100例为研究对象。根据新生儿出生时的情况分为发生不明原因消化道出血患儿(出血组, $n=11$)和未发生消化道出血新生儿(对照组, $n=89$),观察两组新生儿的VK₁、VK₂和凝血功能指标水平,分析VK₁、VK₂与凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)水平的相关性,并探讨VK₁、VK₂水平与新生儿不明原因消化道出血的关系。**结果** 出血组VK₁、VK₂和FIB水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),TT、PT、APTT和DD水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);发生不明原因消化道出血新生儿的VK₁、VK₂与FIB水平呈正相关($r=0.458, 0.483, P<0.05$),与TT、PT、APTT和DD水平呈负相关;VK₁和VK₂的ROC曲线下面积(AUC)为0.868、0.913,对新生儿不明原因消化道出血的预测灵敏度和特异度分别为0.8198和0.7611、0.8912和0.9205。**结论** VK水平对新生儿不明原因消化道出血有一定的预测价值,且与TT、PT、APTT、FIB和DD密切相关,可作为临床监测的重要指标。

【关键词】 新生儿; VK₁水平; 凝血功能; 消化道出血

Relationship between changes of VK level and unexplained gastrointestinal bleeding in neonates

YANG Xue*, ZHAO Xujing, WANG Xiaoli

(Neonatal Department of Yuncheng Central Hospital, Yuncheng, Shanxi, China, 044000)

【ABSTRACT】 Objective To observe the cord blood VK₁ and VK₂ levels and coagulation function levels of neonates, and analyze the relationship between VK₁ and VK₂ levels and the neonatal gastrointestinal hemorrhage of unknown origin. **Methods** A total of 100 neonates who were delivered in Yuncheng Central Hospital of Shanxi Province from June 2018 to February 2020 were selected as the research objects. According to the condition of newborns at birth, they were divided into infants with unexplained gastrointestinal bleeding (bleeding group, $n=11$) and newborns without gastrointestinal bleeding (control group, $n=89$). The correlation of VK₁, VK₂ with thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen (FIB), D-dimer (DD) levels. The relationship between VK₁ and VK₂ levels and unexplained gastrointestinal bleeding in newborns was explored. **Results** The levels of VK₁, VK₂ and FIB in newborns with unexplained gastrointestinal bleeding were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of TT, PT, APTT and DD were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). VK₁ and VK₂ in neonates with unexplained gastrointestinal bleeding were positively correlated with FIB levels ($r=0.458, 0.483, P<0.05$), and negatively correlated with TT, PT, APTT and DD levels. The area under the ROC curve (AUC) of VK₁ and VK₂ were 0.868 and 0.913, and the sensitivity and specificity for predicting unexplained gastrointestinal bleeding in neonates were 0.8198 and 0.7611, 0.8912 and 0.9205, respectively. **Conclusion** VK level has a

基金项目:国家级横向课题(KYLL2019076)

作者单位:运城市中心医院新生儿科,山西,运城 044000

*通信作者:杨雪, E-mail:shengbu00636@163.com

certain predictive value for neonatal gastrointestinal bleeding of unknown cause, and is closely related to TT, PT, APTT, FIB and DD, and can be used as an important indicator for clinical monitoring.

[KEY WORDS] Newborn; VK1 level; Coagulation function; Gastrointestinal bleeding

新生儿消化道出血是指严重疾病中胃黏膜的应激表现,病因较为复杂,主要是胃肠道畸形所致,严重的出血甚至会危及患儿的生命^[1]。研究表明^[2],新生儿出血与凝血功能异常直接相关。目前,新生儿的凝血功能评价尚无统一的标准,成人正常参考范围不适用于新生儿,根据成人参考值,凝血功能检查结果异常的早产儿没有临床观察到的出血症状,这给临床医生评价早产儿凝血功能带来了困难,因此新生儿凝血功能检查具有重要的临床意义^[3]。维生素K(vitamin K, VK)是维持正常血液凝固过程的必需维生素,凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅺ和Ⅹ都是VK依赖性凝血因子^[4-5]。研究表明^[6],新生儿容易缺乏VK,以维生素K₁(vitamin K₁, VK₁)和VK₂(vitamin K₂, VK₂)缺乏为主,二者的缺乏导致相关凝血因子活性降低,导致VK依赖性凝血因子缺乏症。但是,目前关于VK和人群健康的研究多以成人为对象,对儿童的研究较少。为了解新生儿凝血功能状况,预防新生儿不明原因消化道出血的发生,本研究主要观察新生儿的脐血VK₁和VK₂水平和凝血功能水平,并分析其与新生儿发生不明原因消化道出血的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2020年2月在山西省运城市中心医院接受分娩的新生儿为研究对象。纳入标准:①新生儿;②出生后尚未预防性使用VK者;③家属知情同意。排除标准:①新生儿因先天性血小板减少性紫癜、先天性凝血因子缺乏等疾病导致出血者;②新生儿母亲存在自身VK合成或吸收异常者。根据纳入排除标准共纳入病例数100例,根据新生儿出生时的情况分为发生不明原因消化道出血患儿(出血组)和未发生消化道出血新生儿(对照组)。其中出血组11例,足月者6例,未足月者5例,平均胎龄(37.68±2.21)周,出生平均体重(3.23±1.05)kg;对照组89例,足月者79例,未足月者10例,平均胎龄(37.71±2.35)周,出生平均体重(3.25±1.02)kg。两组新生儿胎龄、体重等资料比较差异无统计学意义($P <$

0.05)。研究经医院伦理委员会评审通过。

1.2 方法

采集符合纳入标准的新生儿脐带血3 mL,置于专用抗凝管中进行凝血。所有婴儿均在采血后1 h内接受肌肉注射VK₁。抗凝管中血液混匀后,以3 000 r/min离心分离血浆,在全自动血凝仪(CA7000,日本Sysmex公司)上室温3 h内检测凝血酶时间(thrombin time were analyzed, TT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、D-二聚体(D-dimer, DD)含量,使用高效液相质谱仪(Ultimate 3 000系列,赛默飞世尔科技(中国)有限公司),检测血清中VK₁和VK₂的水平,样品测试前会进行室内质控测试,室内质控在控后合格后进行样品测试。

1.3 评价指标

观察两组新生儿的VK₁、VK₂水平和凝血功能指标水平,分析VK₁、VK₂水平与凝血酶时间(thrombin time were analyzed, TT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、D-二聚体(D-dimer, DD)水平的相关性。并探讨VK₁、VK₂水平与新生儿不明原因消化道出血的关系。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0软件分析;采用K-S法检验计量资料的正态性,正态分布的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较行 t 检验;发生不明原因消化道出血新生儿VK水平与凝血功能指标水平的相关性分析采用Person相关分析;采用ROC曲线分析VK水平的诊断学价值; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 研究结果

2.1 两组新生儿VK₁、VK₂和凝血功能指标水平的比较

出血组VK₁、VK₂和FIB水平低于对照组,TT、PT、APTT和DD水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组新生儿VK水平和凝血功能指标水平的比较($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of VK levels and coagulation function index levels between the two neonatal groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	VK ₁ (ng/mL)	VK ₂ (ng/mL)	TT(s)	PT(s)	APTT(s)	FIB(μg/mL)	DD(mg/L)
出血组	11	0.22±0.05	0.19±0.07	20.02±2.78	18.03±2.02	72.56±3.73	151.59±7.58	3.65±0.98
对照组	89	0.36±0.08	0.35±0.05	17.56±2.15	16.11±2.43	65.08±4.11	175.26±8.03	1.35±0.64
<i>t</i> 值		5.654	9.555	3.463	2.512	5.746	9.275	10.544
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.014	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 发生不明原因消化道出血新生儿VK水平与凝血功能指标水平的相关性

发生不明原因消化道出血新生儿的VK₁、VK₂

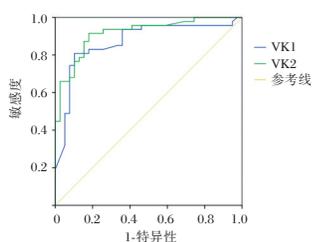
水平与FIB水平正相关($r=0.458、0.483, P<0.05$), VK₁、VK₂水平与TT、PT、APTT和DD水平负相关($P<0.05$)。见表2。

表2 发生不明原因消化道出血新生儿VK₁水平与凝血功能指标水平的相关性Table 2 Correlation between VK₁ levels and levels of coagulation function indicators in newborns with unexplained gastrointestinal bleeding

项目	TT		PT		APTT		FIB		DD	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值								
VK ₁	-0.446	0.006	-0.502	0.011	-0.493	0.015	0.458	0.008	-0.514	0.009
VK ₂	-0.411	0.003	-0.498	0.010	-0.417	0.008	0.483	0.002	-0.492	0.005

2.3 VK水平与新生儿不明原因消化道出血的关系

VK₁和VK₂的ROC曲线下面积(AUC)为0.868、0.913,对新生儿不明原因消化道出血的预测灵敏度和特异度分别为0.8198和0.7611、0.8912和0.9205($P<0.05$)。见图1。

图1 VK₁和VK₂预测新生儿不明原因消化道出血的ROC曲线Figure 1 The ROC curve of VK₁ and VK₂ predicting neonatal gastrointestinal bleeding of unknown cause

3 讨论

新生儿消化道出血是新生儿发生某种疾病进展到危急阶段时的疾病,发生前可出现不同程度的微循环障碍和腹胀,目前临床多为不明原因的消化道出血,可能因为在危急情况下,新生儿的交感神经处于兴奋状态,血液优先供应心脏、大脑等重要器官,导致消化道血流量减少和消化道缺血,这会增加出血的风险^[7];也可能因为新生儿严重缺乏VK, VK最经典的作用就是维持机体的正常凝血功能,可以参与凝血因子(II、VII、IX和X等)的合成, VK缺乏导致凝血因子不能羧化和继续结合

钙质,继而降低凝血活性,加之消化道起搏细胞发育极不完善,运动功能不成熟,导致消化道分泌型IgA水平低,肠道狭窄,抵御外来入侵能力差,引起出血^[8-10]。本研究结果显示,出血组新生儿VK₁和VK₂水平明显低于对照组,这证实了VK₁和VK₂与新生儿消化道出血的发生相关。可能因为VK₁和VK₂经过胎盘的通透性较差,母乳中VK₁和VK₂含量低导致新生儿摄入不足;新生儿的肝功能尚不成熟,导致VK₁和VK₂的肠道吸收减少;新生儿肠道菌群尚未充分建立而进一步导致VK₁和VK₂合成减少等。

已有研究证实,新生儿的肝功能发育不完善,凝血系统不成熟,促凝蛋白和抗凝蛋白的浓度低,凝血系统都处于低活动状态,与成人凝血功能存在不同,当任何一个环节或系统发生异常都会引起凝血功能障碍,导致新生儿出血的可能^[11-12]。因此,对于新生儿凝血五项指标的检测和研究有利于消化道出血的诊断、预防和及时治疗。医学临床研究证实^[13-14],血液凝固异常与新生儿出血具有相关性。凝血因子活性降低越多,凝血因子数量减少越多,反映凝血功能的五项凝血试验结果越异常,新生儿出血的可能性越大,出血越严重^[15]。本研究结果显示,新生儿的凝血功能存在异常。分析原因是,当新生儿处于病理状态时,集体的凝血功能动态平衡被打破,导致出血性疾病的发生率大大增加。因此,凝血功能指标的异常可能表明早产儿患出血性疾病的风险较高。国内文献报

道^[16]新生儿的PT和APTT值比成人正常值要高,反映了患儿内源性凝血功能低下,而D-D值的增加则表明纤维蛋白降解过度,凝血因子消耗过多。另外,新生儿FIB自身合成不足和纤溶活性增强、早产也会增加凝血功能异常。而给予及时和相应的治疗后,随着病情的好转,上述凝血功能指标逐渐恢复正常。婴幼儿出生后暴露于周围环境中,易受各种致病因素的影响,处于疾病状态下的婴幼儿其凝血功能受到明显影响。但笔者也认为新生儿出血性疾病的发生受多种因素影响,单独应用凝血功能的检测指标预测其发生具有一定的局限性。

VK₁和VK₂通过胎盘量较少,当孕妇的VK₁和VK₂不足时,胎儿通过胎盘获取的VK₁和VK₂更少,因而新生儿VK₁和VK₂血清水平低下。据研究^[17]提示PT延长与II、V、VII、X因子减少有关,APTT延长与II、VIII、IX、X、XI、XII因子减少有关,这些凝血因子大多是VK₁依赖性凝血因子。本研究进行进一步研究结果显示,出血组新生儿的VK₁和VK₂水平与FIB水平正相关,与TT、PT、APTT和DD水平负相关。这与已有研究结果^[18]一致。说明新生儿的VK₁水平与凝血功能具有相关性,可以通过检测新生儿的VK₁和VK₂水平来监测凝血功能指标变化。

本研究VK₁的ROC曲线下面积(AUC)为0.868,对新生儿不明原因消化道出血的预测灵敏度和特异度较好,对新生儿不明原因消化道出血有一定的预测价值。新生儿肝功能发育不完善,VK₁和VK₂缺乏是凝血功能异常和新生儿出血的主要原因。因此通过本研究,笔者认为,新生儿尤其是早产儿,必须在出生时及时补充VK,以维持凝血功能的正常。

目前临床研究中缺乏VK₁和VK₂水平与新生儿不明原因消化道出血之间关系的研究,本研究探讨VK₁和VK₂水平变化对新生儿不明原因消化道出血的预测价值,通过评估新生儿凝血五项和VK₁、VK₂水平并研究维生素K其与凝血功能的关系,旨在为临床新生儿不明原因消化道异常出血的相关机制提供新的思路,具有一定的创新性,早期发现新生儿凝血系统异常,可进行早期干预,对预防和治疗新生儿出血性疾病的发生,改善新生儿预后具有重要意义。但本研究样本量较少,缺乏相应机制的研究,还需要进一步分析验证。

综上所述,VK₁和VK₂水平对新生儿不明原因消化道出血有一定的预测价值,且与TT、PT、APTT、FIB和DD密切相关,可作为临床监测的重要指标。

参考文献

- [1] Sahn B, Bitton S. Lower Gastrointestinal Bleeding in Children [J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2016,26(1):75-98.
- [2] 翁妙珊,杨立业,吴教仁,等. 7例遗传性凝血因子XI缺陷症患者基因型与临床表型分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021,13(7):1130-1133.
- [3] 胡劲涛,谢宗德,彭敏,等. 新生儿消化道出血的多因素分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2003, 5(6):555-556.
- [4] Araki S, Shirahata A. Vitamin K Deficiency Bleeding in Infancy [J]. *Nutrients*, 2020, 12(3):780.
- [5] Romano C, Oliva S, Martellosi S, et al. Pediatric gastrointestinal bleeding: Perspectives from the Italian Society of Pediatric Gastroenterology [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(8):1328-1337.
- [6] Ardell S, Offringa M, Ovelman C, et al. Prophylactic vitamin K for the prevention of vitamin K deficiency bleeding in preterm neonates [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 2(2): 8342-8343.
- [7] Green DS, Abdel-Latif ME, Jones LJ, et al. Pharmacological interventions for prevention and treatment of upper gastrointestinal bleeding in newborn infants [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019,7(7):CD011785
- [8] Puckett RM, Offringa M. Prophylactic vitamin K for vitamin K deficiency bleeding in neonates [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2000,2000(4):CD002776.
- [9] 梁英健,李志亮,章志丹,等. 消化道大出血合并凝血功能障碍[J]. *中国实用外科杂志*, 2012, 32(11):962-965.
- [10] McPherson C. Vitamin K Deficiency Bleeding: An Ounce of Prevention [J]. *Neonatal Netw*, 2020, 39(6):356-362.
- [11] Fluri S, Wolf R, Leibundgut K, Nelle M. Vitamin-K-Mangelblutung--eine vermeidbare Entität? [Hemorrhage in vitamin K deficiency--a preventable entity [J]. *Praxis (Bern 1994)*, 2007,96(15):597-600.
- [12] Butt JH, Li A, Xian Y, et al. Direct oral anticoagulant- versus vitamin K antagonist-related gastrointestinal bleeding: Insights from a nationwide cohort [J]. *Am Heart J*, 2019, 216:117-124.
- [13] 高亮,林新祝,吴倩倩,等. 不同胎龄早产儿凝血功能及出血性疾病的临床研究 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2019,21(2):120-124.
- [14] 林枫,曾德海. 新生儿上消化道出血应用血凝酶的效果研究 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2015,26(1):50-51+54.
- [15] Guzzetta NA, Miller BE. Principles of hemostasis in children: models and maturation [J]. *Paediatr Anaesth*, 2011, 21(1):3-9.
- [16] Pichler E, Pichler L. The neonatal coagulation system and the vitamin K deficiency bleeding - a mini review [J]. *Wien Med Wochenschr*, 2008,158(13-14):385-395.
- [17] Hussain N, Shung DL. Editorial: vitamin K antagonists versus direct oral anticoagulants in upper gastrointestinal bleeding [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2021, 53(6):751-752.
- [18] Valdivieso P, Cetraro D, Angulo D. Gastrointestinal bleeding in newborn with hookworm, National Hospital San Bartolome. Case report [J]. *Rev Gastroenterol Peru*, 2017, 37(1):82-86.

室间隔缺损患儿血清BNP、Cys-C及CGRP水平与肺动脉高压的关系

吕志刚 马树峰* 刘丽娟 潘曙明

【摘要】 目的 分析室间隔缺损(VSD)患儿血清脑钠肽(BNP)、胱抑素-C(Cys-C)及降钙素基因相关肽(CGRP)水平与肺动脉高压(PH)的关系。方法 选取2018年4月至2020年5月河南省濮阳市人民医院收治的41例VSD患儿作为VSD组,以及同期收治的38例VSD合并PH患儿作为VSD合并PH组。根据肺动脉压将VSD合并PH组分为轻度组和中重度组。比较两组以及不同肺动脉压分级患儿BNP、Cys-C及CGRP水平,分析BNP、Cys-C及CGRP与肺动脉压分级相关性以及导致VSD合并PH的危险因素。结果 VSD合并PH组BNP、Cys-C水平均明显高于VSD组,CGRP明显低于VSD组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。轻度组17例,中重度组21例,中重度组BNP、Cys-C水平均明显高于轻度组,CGRP明显低于轻度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。经Pearson检验可知,BNP、Cys-C与肺动脉压分级呈正相关,CGRP与肺动脉压分级呈负相关($P<0.05$)。经多元Logistic回归分析可知,BNP升高、Cys-C升高、CGRP降低、年龄 <6 岁是导致VSD合并PH的独立危险因素($P<0.05$)。结论 VSD合并PH者血清BNP升高、Cys-C升高、CGRP下降,BNP、Cys-C及CGRP在一定程度上可预测PH发生。

【关键词】 室间隔缺损;BNP;Cys-C;CGRP;肺动脉高压

Relationship between serum BNP, Cys-C and CGRP levels and pulmonary hypertension in children with ventricular septal defect

LV Zhigang, MA Shufeng*, LIU Lijuan, PAN Shuming

(Department of Pediatric Critical Care Medicine, Puyang People's Hospital, Henan Province, Puyang, Henan, China, 457000)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the relationship between serum brain natriuretic peptide (BNP), cystatin-C (Cystatin-C, Cys-C) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in children with ventricular septal defect (VSD) and pulmonary hypertension (PH). **Methods** A total of 79 children with cardiac VSD were admitted to People's Hospital of Puyang City, Henan Province from April 2018 to May 2020, which were divided into 38 cases in a combined group and 41 cases in a non-combined group according to the presence or absence of PH. The levels of BNP, Cys-C and CGRP in children with and without PH and different pulmonary artery pressure grades were compared, and the correlation between BNP, Cys-C and CGRP and pulmonary artery pressure grades and the risk factors that led to VSD with PH were analyzed. **Results** The levels of BNP and Cys-C in the VSD combined PH group were significantly higher than those in the VSD group, and CGRP was significantly lower than that in the VSD group, with statistical significance ($P<0.05$). There were 17 cases in the mild group and 21 cases in the moderate-severe group. The levels of BNP and Cys-C in the moderate-severe group were significantly higher than those in the mild group, and CGRP was significantly lower than that in the mild group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The Pearson test showed that BNP

基金项目:河南省自然科学基金项目(182300410317)

作者单位:河南省濮阳市人民医院儿科重症医学科,河南,濮阳 457000

*通信作者:马树峰, E-mail:lv18639399500@163.com

and Cys -C were positively correlated with pulmonary artery pressure grading in recent years, and CGRP was negatively correlated with pulmonary artery pressure grading ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that increased BNP, increased Cys-C, decreased CGRP, and age <6 years were independent risk factors for VSD complicated with PH ($P<0.05$). **Conclusion** In VSD patients with PH, serum BNP and Cys-C were increased and CGRP was decreased. BNP, Cys-C and CGRP could predict the occurrence of PH to a certain extent.

[KEY WORDS] Ventricular septal defect; BNP; Cys-C; CGRP; Pulmonary hypertension

室间隔缺损 (Ventricular septal defect, VSD) 是指胎儿在胚胎期室间隔发育不完全, 是临床常见的先天性心脏病, 占我国先天性心脏病总数的 50%, 其中有 40% 的患儿合并其他畸形存在^[1]。VSD 是导致患儿心功能衰竭的常见原因, 严重影响患儿生活质量、生命安全。肺动脉高压 (Pulmonary hypertension, PH) 是 VSD 患者常见的并发症之一, 与患者治疗效果、预后有密切的联系, 寻找合适的方式预测患儿 PH 发生机率, 对患者治疗、预后具有积极意义^[2]。脑钠肽 (Brain natriuretic peptide, BNP) 存在于心肌细胞中, 在血液中的代谢水平与心室体积、压力成正比, 是临床评估心功能的客观参数^[3]。胱抑素-C (Cystatin-C, Cys-C) 可在所有有核细胞内表达, 具有调控细胞内外蛋白水解的作用, 可使细胞避免不适当的内、外源性蛋白酶水解^[4]。降钙素基因相关肽 (Calcitonin gene related peptide, CGRP) 是舒血管活性多肽, 可诱导多类细胞进行分化增殖, 以往研究发现, PH 的形成与发展和 CGRP 密切相关^[5]。本文将通过了解 VSD 患儿血液中 BNP、Cys-C 及 CGRP 表达水平, 分析三因子与 PH 的关系, 以期临床防治 VSD 合并 PH 提供理论依据, 开辟更为有效的防治途径。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 4 月至 2020 年 5 月河南省濮阳市人民医院收治的 41 例 VSD 患儿作为 VSD 组, 以及同期收治的 38 例 VSD 合并 PH 患儿作为 VSD 合并 PH 组。VSD 合并 PH 组男 24 例, 女 14 例, 平均年龄 (6.59 ± 2.16) 岁; VSD 组男 26 例, 女 15 例, 平均年龄 (6.87 ± 2.55) 岁。两组一般资料上比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

纳入标准: ①临床资料完整; ②患儿监护人知

晓本次研究, 签署知情同意书; ③经 X 线胸片确诊: X 线检查可见肺纹理轻度增多; 或肺纹理明显增多, 肺动脉段突出肺门动脉扩张, 甚至可见“肺门舞蹈”征, 左右心室增大^[6]; ④VSD 合并 PH 组符合《中国肺动脉高压诊断与治疗指南 (2021 版)》中相关诊断标准^[7]; 排除标准: ①合并慢性阻塞性肺疾病、肺栓塞、结缔组织疾病、门静脉疾病等; ②由于其他原因所引起的 PH; ③合并存在其他心脏病者; ④合并存在恶性肿瘤者。

1.2 方法

1.2.1 PH 分级检测^[7]

根据患者超声心动图检测结果, 按照伯努利方程计算肺动脉压, 根据肺动脉压将 VSD 合并 PH 组进行分级: 轻度: 肺动脉压 35~45 mmHg, 中重度: 肺动脉压 >45 mmHg。

1.2.2 BNP、Cys-C 及 CGRP 水平检测

在患者入院后抽取外周静脉血液 5 mL, 使用半径为 10 cm 的离心机离心, 转速为 3 500 r/min, 时间 5 min, 取上清放置 -80° 冰箱内待检。使用免疫荧光法检测 BNP, 仪器为美国雅培公司提供全自动免疫分析仪 (AXSYM REF: 37000), 试剂为仪器配套试剂, 参考值: 0~30 pg/mL; 使用改良免疫比浊分析法检测 Cys-C, 检测仪器为德国 BNProSpeed 全自动特定蛋白分析仪及其配套试剂, 参考值: 0.51~1.09 mg/L; 使用酶联免疫法检测 CGRP, 试剂盒由美轩生物科技有限公司提供, 参考值: 100~600 pg/mL。所有操作均严格按照试剂所配套说明书进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析, 计量资料采用 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 采用 t 检验; 计数资料采用 n (%) 表示, 并采用 χ^2 检验, 使用 Pearson 检验分析 BNP、Cys-C 及 CGRP 与肺动脉压分级相关性; 使用多元 Logistic 回归分析影响 VSD 合并 PH 的危险因素, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组BNP、Cys-C及CGRP水平比较

VSD合并PH组BNP、Cys-C水平均明显高于VSD组,CGRP明显低于VSD组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组BNP、Cys-C及CGRP水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of BNP, Cys-C and CGRP levels between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	BNP(pg/mL)	Cys-C(mg/L)	CGRP(pg/mL)
VSD组	41	45.25±10.26	1.12±0.32	68.49±10.49
VSD合并PH组	38	88.72±15.41	3.58±1.20	27.36±4.65
t值		14.858	12.655	22.223
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同肺动脉压分级患儿BNP、Cys-C及CGRP水平比较

轻度组17例,中重度组21例,中重组BNP、Cys-C水平均明显高于轻度组,CGRP明显低于轻度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同肺动脉压分级患儿BNP、Cys-C及CGRP水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of BNP, Cys-C and CGRP levels in children with different pulmonary artery pressure grades ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	BNP(pg/mL)	Cys-C(mg/L)	CGRP(pg/mL)
轻度组	17	82.67±10.26	1.89±0.16	40.50±5.12
中重度组	21	93.63±13.54	4.96±1.22	16.75±4.44
t值		2.755	10.277	15.311
P值		0.009	<0.001	<0.001

2.3 BNP、Cys-C及CGRP与肺动脉压分级相关性

经Pearson检验可知,BNP、Cys-C与肺动脉压分级为正相关($r=0.751$ 、 0.862 , P 均< 0.05),CGRP与肺动脉压分级为负相关($r=-0.411$, $P=0.05$)。

2.4 影响VSD合并PH的危险因素分析

经多元Logistic回归分析可知,BNP、Cys-C升高、CGRP降低、年龄<6岁是导致VSD合并PH的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

3 讨论

VSD合并PH者治疗以氧疗、强心、利尿等为主,早期对患者做出明确诊断,是提高诊疗效果以及改善预后的关键。

BNP在心室肌内合成并分泌,是反映心功能的有效指标,在临床中应用广泛,也是辅助诊断心力衰竭的重要指标^[7]。Cys-C为半胱氨酸蛋白酶抑制剂家族中的一员,属于低分子量的分泌性蛋白质,可反映肾小球滤过率,是衡量肾小球的理想指标^[8]。以往研究发现,在冠心病以及心脏结构异常等心脏疾病患者中,Cys-C表达明显上调,且Cys-C水平上调可增加心室壁的厚度,使心肌顺应性降低,最终导致患者出现心舒张功能不全^[9]。CGRP是心血管调节肽,其舒血管活性更高,为目前已知的机体内最强扩血管物质^[10]。CGRP是一种心血管调节肽,其舒血管活性远比腺苷、5-羟色胺和P物质强,且作为广谱血管扩张剂,CGRP可有效地舒张肺动脉与肺静脉,避免机体由于缺氧而引起肺血管收缩^[11]。以往研究证实,CGRP可促进心肌缺血功能的恢复,对心血管系统有保护作用^[12]。明确BNP、Cys-C及CGRP三者在VSD合并PH患儿中的表达及其临床意义,可为临床诊疗与预防VSD合并PH提供新的思路。

本研究中,不论有无合并PH患儿血液中BNP、Cys-C及CGRP水平表达均异常,而合并PH者BNP、Cys-C水平明显高于VSD组,CGRP水平则明显降低。不同肺动脉压分级患儿中,中重组BNP、Cys-C水平均明显高于轻度组,CGRP明显低于轻度组。分析原因为:①VSD对机体心脏收缩

表3 影响VSD合并PH的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors affecting VSD combined with PH

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
年龄(≥ 6 岁 vs <6岁)	1.642	1.223~2.203	<0.005	1.431	1.149~1.783	0.026
性别(男 vs 女)	1.164	0.564~2.399	0.615			
BMI(正常 vs 异常)	1.525	0.921~1.441	0.154			
早产(是 vs 否)	1.121	0.849~1.481	0.738			
BNP(正常 vs 升高)	1.675	1.268~2.212	0.003	1.747	1.254~2.433	<0.001
Cys-C(正常 vs 升高)	1.469	1.109~1.971	0.015	1.780	1.424~2.226	<0.001
CGRP(正常 vs 降低)	1.663	1.299~2.129	0.002	1.675	1.268~2.212	<0.05

功能有明显影响,导致心脏长期处于代偿性加强收缩,心脏体积增大,心室壁也随之被拉伸,可刺激心室肌合成分泌BNP前体增加;BNP前体进入到血液中后分解出BNP,因此BNP在血液中水平增加^[13]。②不论是VSD或PH均可影响机体血流动力学,对肾脏血流状况造成不良影响,机体肾功能随之下降,Cys-C是反应肾功能的敏感指标,肾功能下降,其水平升高^[14]。③VSD患儿肺血流量增多,肺组织充血,使CGRP处于反馈性抑制状态,血液中CGRP水平明显下降^[15]。肺血流量增加后,肺动脉剪切力增加,血管内皮结构、功能均发生改变,导致血管内细胞生产CGRP量降低,收缩血管物质合成增加,缩血管、舒血管之间稳定性失衡,导致CGRP对心血管系统保护作用降低,同时也减弱CGRP对血管内皮素(Endothelin, ET)的拮抗作用,肺血管收缩能力增加,从而促进PH发生和发展^[16]。进一步行相关性和危险因素分析显示,BNP、Cys-C与肺动脉压分级为正相关,CGRP与肺动脉压分级为负相关;BNP、Cys-C升高、CGRP降低是导致VSD合并PH的独立危险因素,与以往研究结果相符^[17]。说明通过了解患儿血液中BNP、Cys-C及CGRP水平变化可评估患者PH情况,在临床中对于BNP、Cys-C升高、CGRP降低者需要注意预防PH发生。

综上所述,VSD合并PH者血清BNP、Cys-C升高、CGRP下降,BNP、Cys-C及CGRP在一定程度上可预测PH发生。

参考文献

- [1] Beghetti M, Channick RN, Chin KM, et al. Selexipag treatment for pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease after defect correction: insights from the randomised controlled GRIPHON study[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 11(3):45-46.
- [2] Pihl C, Norsk J, Sillesen AS, et al. Spontaneous closure of ventricular septal defects in newborns the first year of life[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(2):15-16.
- [3] 李凯泽, 刘广雁, 陈建英. 生长因子在肺动脉高压发病中的作用研究进展[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(7):978-981.
- [4] Tian X, Ma J, Wu Y, et al. Functional analysis of the brain natriuretic peptide gene for high-altitude adaptation in Tibetan pigs[J]. *Gene*, 2020, 1(8):145-147.
- [5] Girgis SI, Yates C M, Fink G, et al. Calcitonin gene-related peptide and calcitonin immunoreactivity in brain and spinal cord in Alzheimer-type dementia[J]. *J Neurol Sci*, 2019, 99(1):69-74.
- [6] Honore PM, David C, Mugisha A, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels during the acute phase of sepsis may be a useful indicator of higher risk of long-term impairments: some confounders to consider[J]. *Critical Care*, 2020, 24(1):15-16.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组, 中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会, 全国肺栓塞与肺血管病防治协作组, 等. 中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021版)[J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(1):41.
- [8] Ulmann G, Ka J, Durand JP, et al. Creatinine to Cystatin C Ratio and BIA for the Assessment of Low Lean Body Mass in Cancer Patient: Comparison to L3 CT-scan[J]. *Nutrition*, 2020, 81(2):110-111.
- [9] Nakai R, Tao F, Okamura K, et al. Survival Outcomes of Two-Stage Intracardiac Repair in Large Ventricular Septal Defect and Trisomy 18[J]. *Pediatr Cardiol*, 2021, 15(3):46-47.
- [10] Zwijnenburg RD, Baggen V, Witsenburg M, et al. Risk Factors for Pulmonary Hypertension in Adults After Atrial Septal Defect Closure[J]. *Am J Cardiol*, 2019, 123(8):169-170.
- [11] Orr KE, Maxwell S, Allen R, et al. Pulmonary sling complex with complete tracheal rings and VSD with an unexpected AL-CAPA[J]. *Arch Dis Child*, 2019, 7(15):100-102.
- [12] Stonawski V, Purbojo A, Cesnjevar R, et al. Long-term Impact of an Early Operated Ventricular Septal Defect (VSD): Mental Health and Development in Children at Early School Age[J]. *Neuropediatrics*, 2019, 50(2):177-178.
- [13] Yaghoobi N, Mahdavi M, Maghsudi M, et al. Right ventricular ischemia by myocardial perfusion imaging in a 6-year-old child with pulmonary hypertension after ventricular septal defect repair[J]. *J Nucl Cardiol*, 2021, 6(22):88-89.
- [14] Huang ST, Xu N, Sun KP, et al. The Effect of Perioperative Administration of Treprostinil in Infants with Non-restrictive Ventricular Septal Defect and Severe Pulmonary Arterial Hypertension[J]. *Pediatr Cardiol*, 2020, 41(7):57-56.
- [15] Moreno-Ajona D, Pérez-Rodríguez A, Goadsby PJ. Gepants, calcitonin - gene - related peptide receptor antagonists: what could be their role in migraine treatment? [J]. *Cur Opin Neurol*, 2020, 33(3):309-315.
- [16] Alali A, Doan T, Lahiri S, et al. Diastolic Right-To-Left Shunting PDA In Neonatal Coarctation Is A Sign Of Severe Pulmonary Hypertension[J]. *Pediatrics*, 2021, 147(3):343-344.
- [17] Iwaya Y, Muneuchi J, Watanabe M, et al. Decreased Pulmonary Arterial Compliance is a Predictor for Poor Outcomes in Infants with Isolated Atrial Septal Defect and Pulmonary Hypertension[J]. *Pediatr Cardiol*, 2020, 41(6):15-16.

· 论 著 ·

血清CEA、NSE、PTN水平检测诊断早期肺癌的应用价值

李馥郁^{1*} 田春艳² 李淘淘¹

[摘要] 目的 探讨联合检测血清癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、人多效蛋白(PTN)联合应用诊断肺癌的临床价值。方法 选取秦皇岛市第四医院2019年3月至2021年8月确诊的肺癌患者100例(肺癌组)、肺部良性肿瘤患者40例(良性组)、体检志愿者40例作为对照组,检测三组患者血清CEA、NSE、PTN水平,并分析不同病理学类型、TNM分期、分化程度肺癌患者血清CEA、NSE、PTN水平的差异,并以病理学结果作为金标准计算三种指标单独及联合应用鉴别诊断肺癌的临床价值。结果 肺癌组患者的血清CEA、NSE、PTN水平均显著高于良性组和对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);肺腺癌与肺鳞癌患者的血清CEA、NSE、PTN水平差异无统计学意义($P>0.05$);低分化、Ⅲ期+Ⅳ期肺癌患者的血清CEA、NSE、PTN水平显著高于高中分化、Ⅰ期+Ⅱ期肺癌患者,差异具有统计学意义($P<0.05$);血清CEA鉴别诊断肺癌的AUC为0.689、灵敏度为57.00%、特异度为75.00%;NSE鉴别诊断肺癌的AUC为0.647、灵敏度为45.00%、特异度为80.00%;PTN鉴别诊断肺癌的AUC为0.616、灵敏度为60.00%、特异度为62.50%。血清CEA、NSE、PTN联合应用鉴别诊断肺癌的AUC为0.841、灵敏度为74.00%、特异度为85.00%。结论 血清CEA、NSE、PTN联合应用鉴别诊断肺癌具有较高的临床价值。

[关键词] 癌胚抗原;神经元特异性烯醇化酶;人多效蛋白;肺癌

Detection of Serum CEA, NSE and PTN Levels in Early Diagnosis of Lung Cancer

LI Fuyu^{1*}, TIAN Chunyan², LI Taotao¹

(1. Department of General Oncology, Qinhuangdao Fourth Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000;

2. Medical Department of Qinhuangdao Fourth Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the clinical value of combined detection of serum carcinoembryonic antigen (CEA), neuron specific enolase (NSE), and human multiple protein (PTN) for the diagnosis of lung cancer. **Methods** A total of 100 lung cancer patients (lung cancer group), 40 patients with benign lung tumors (benign group), and 40 physical examination volunteers who were diagnosed in the Fourth Hospital of Qinhuangdao City from March 2019 to August 2021 were selected as the control group, and the two groups were tested. Serum CEA, NSE and PTN levels of patients were analyzed, and the differences in serum CEA, NSE and PTN levels of lung cancer patients with different pathological types, TNM stages, and differentiation degrees were analyzed, and the pathological results were used as the gold standard to calculate the three indicators alone or in combination to identify Clinical value in the diagnosis of lung cancer. **Results** The serum levels of CEA, NSE and PTN in patients with lung cancer were significantly higher than those in benign group ($P<0.05$). There was no significant difference in serum CEA, NSE and PTN levels between lung adenocarcinoma and lung squamous cell carcinoma ($P>0.05$). Serum CEA, NSE, and PTN levels in patients

基金项目:秦皇岛市重点研发计划科技支撑项目(202004A043)

作者单位:1.秦皇岛市第四医院综合肿瘤科,河北,秦皇岛066000

2.秦皇岛市第四医院医务科,河北,秦皇岛066000

*通信作者:李馥郁, E-mail: lifuyu3388@163.com

with poorly-differentiated and stage III+IV lung cancer were significantly higher than those in patients with well-differentiated, stage I + II lung cancer patients ($P < 0.05$). The AUC, sensitivity and specificity of serum CEA in differential diagnosis of lung cancer were 0.689, 57.00% and 75.00% respectively. The AUC, sensitivity and specificity of NSE in differential diagnosis of lung cancer were 0.647, 45.00% and 80.00% respectively. The AUC, sensitivity and specificity of PTN in differential diagnosis of lung cancer were 0.616, 60.00% and 62.50% respectively. The AUC, sensitivity and specificity of serum CEA, NSE and PTN combined in differential diagnosis of lung cancer were 0.841, 74.00% and 85.00% respectively. **Conclusion** The combined application of serum CEA, NSE and PTN in differential diagnosis of lung cancer has high clinical value.

[KEY WORDS] Carcinoembryonic antigen; Neuron-specific enolase; Human pleiotropic protein; Lung cancer

有研究显示,我国部分地区在2018–2020年间肺癌的平均发病率高达600/10万人左右^[1],肺癌的发生缩短了患者总体生存时间,有着较高的远期致残率和病死率^[2]。因此对于恶性肿瘤患者而言,肺癌的早期诊断对其的整体性治疗具有重要意义,可以为临床上肺癌根治性手术提供前提和契机。血清学肿瘤指标的研究,能够为早期肺癌的诊断提供依据和研究靶点。癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)是特异性的肿瘤标志物,在癌细胞持续性扩增的过程中,癌细胞膜表面糖蛋白成分的释放可以显著促进CEA的上升^[3];神经元特异性烯醇化酶(Neuron-specific enolase, NSE)主要由于神经源性细胞或者神经内分泌细胞,参与到糖酵解过程,近年来发现在不同类型的肺癌患者中,NSE均有所上升^[4];人多效蛋白(Human pleiotropic protein, PTN)是从牛子宫内分离出的肝素结合分裂蛋白,其能够结合肝素结合生长因子,调控肿瘤血管的形成^[5]。为了揭示CEA、NSE、PTN在肺癌患者中的表达情况,探讨CEA、NSE、PTN在早期肺癌诊断过程中的价值,本次研究探讨CEA、NSE、PTN的表达及其与患者临床病理特征的关系,并分析了其诊断的灵敏度和特异性。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取秦皇岛市第四医院2019年3月至2021年8月期间确诊的肺癌患者100例(肺癌组),年龄平均(58.6 ± 11.7)岁,男58例、女42例,病理学类型:腺癌73例、鳞癌27例;TNM分期^[6]: I期患者24例、II期患者38例、III期患者33例、IV期患者5例;分化程度:高分化患者30例、中分化患者38例、低分化患者32例。肺部良性肿瘤患

者40例(良性组),年龄平均(56.2 ± 13.0)岁,男23例、女17例;错构瘤19例、肺部纤维瘤17例、炎性囊肿4例。选取40例健康体检志愿者作为对照组,年龄平均(54.8 ± 11.3)岁,男20例、女20例。三组研究对象的年龄、性别比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有入试者均签署知情同意书。

纳入标准:①肺癌的诊断标准参考中国临床肿瘤协会(CSCO)编制的《中国原发性肺癌诊疗指南》2016年版中的标准^[7];②肺癌经胸部CT、病理学活组织检查证实;③参与本次研究前患者未接受放化疗、免疫治疗;④本研究获得医学伦理委员会的批准。排除标准:①转移性肺癌;②伴有免疫缺陷性疾病;③合并其他部位恶性肿瘤。

1.2 指标检测方法

采集本次研究两组患者的静脉血3 mL, 3 000 r/min离心10 min后取血清,酶联免疫吸附法检测血清CEA、NSE及PTN,96孔板中加入CEA、NSE及PTN单抗,将标本和标准品中的CEA、NSE、PTN与单抗相结合,然后经PBS液体洗涤5 min后,按照1:500的比例加入鼠标志的一抗10 μ L,在温度4℃下放置过夜,然后再次经PBS缓冲液洗涤3次,每次5 min,加入鼠来源的二抗(1:1 000)2 mL,在室温下放置2 h,再次PBS液体洗涤5 min,最后加入显色底物,辣根过氧化物酶会使无色的显色剂现蓝色,加终止液变黄。在450 nm处测OD值。酶标仪购于美国GE公司。试剂盒购于南京建成生物研究所。

1.3 统计学方法

本次研究使用统计软件采用SPSS 16.0版本,计量数据表述采用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间采用 F 检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,

用 χ^2 检验;以病理学结果作为金标准绘制各项指标单独及联合应用诊断肺癌的ROC曲线; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者在血清CEA、NSE、PTN指标上的比较

肺癌组患者的血清CEA、NSE、PTN水平均显著高于良性组、对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);良性组和对照组的血清CEA、NSE、PTN水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 三组研究对象的血清CEA、NSE、PTN指标上的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum CEA, NSE and PTN indexes among the three groups of subjects ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CEA (ng/mL)	NSE (ng/mL)	PTN (pg/mL)
肺癌组	100	17.94±9.28	38.44±19.20	529.6±95.5
良性组	40	4.11±2.81 ^a	15.30±8.76 ^a	398.0±76.5 ^a
对照组	40	3.98±1.33 ^a	13.96±6.34 ^a	381.3±68.0 ^a
F值		21.092	19.774	23.308
P值		0.000	0.000	0.000

注:与肺癌组比较^a $P<0.05$ 。

2.2 不同病理学特征肺癌患者的血清CEA、NSE、PTN水平比较

比较肺腺癌与肺鳞癌患者的血清CEA、NSE、PTN水平差异无统计学意义($P>0.05$);低分化、Ⅲ期+Ⅳ期肺癌患者的血清CEA、NSE、PTN水平显著高于高中分化、Ⅰ期+Ⅱ期肺癌患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同病理学特征肺癌患者的血清CEA、NSE、PTN水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum CEA, NSE and PTN levels in lung cancer patients with different pathological features ($\bar{x}\pm s$)

参数	分组	n	CEA (ng/mL)	NSE (ng/mL)	PTN (pg/mL)
病理类型	鳞癌	73	17.44±9.15	37.50±18.55	523.5±87.8
	腺癌	27	18.30±8.49	39.82±18.40	538.1±90.0
	t值		-0.425	-0.556	-0.733
	P值		0.672	0.579	0.465
分化程度	高+中	68	15.44±7.95	34.81±17.20	476.9±91.4
	低分化	32	24.20±8.16	53.09±18.11	610.1±89.5
	t值		-4.858	-4.652	-6.506
	P值		0.000	0.000	0.000
TNM分期	Ⅰ期+Ⅱ期	62	14.83±8.55	33.19±18.26	460.5±89.6
	Ⅲ期+Ⅳ期	38	26.20±9.11	55.09±17.86	631.9±93.3
	t值		-5.801	-5.355	-8.399
	P值		0.000	0.000	0.000

2.3 血清CEA、NSE、PTN水平单独应用及联合诊断鉴别诊断肺癌的临床价值

血清CEA、NSE、PTN联合应用鉴别诊断肺癌的AUC、约登指数、灵敏度、特异度高于单一诊断,误诊率、漏诊率低于单一诊断($P<0.05$)。见表3,图1。

表3 血清CEA、NSE、PTN水平单独应用及联合诊断鉴别诊断肺癌的临床价值

Table 3 Clinical value of serum CEA, NSE and PTN levels in differential diagnosis of lung cancer

项目	截点值	AUC	灵敏度	特异度	漏诊率 (%)	误诊率 (%)
CEA	8.63	0.689	0.570	0.750	43.00	25.00
NSE	22.34	0.647	0.450	0.800	55.00	20.00
PTN	453.84	0.616	0.600	0.625	40.00	37.50
CEA+NSE+PTN 联合诊断		0.841	0.740	0.850	26.00	15.00

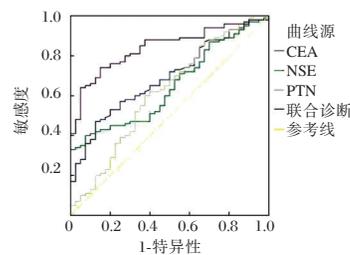


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

自身遗传易感基因的突变、长期吸烟、环境污染,均是促进肺癌发生的因素,尤其是在具有呼吸系统恶性肿瘤家族史的患者中,发生率更高^[8]。临床上肺癌患者的总体生存时间一般不足36个月,采取相应的综合性治疗措施后5年生存率也低于35%^[9]。因此寻找到可靠、有效的早期诊断方式,对临床上肺癌患者的远期存活时间非常重要。

CEA是上皮细胞恶性肿瘤分泌的细胞膜表面糖蛋白成分,其能够评估癌细胞的增殖活性和扩散风险。CEA的上升往往与恶性肿瘤细胞的持续性DNA扩增或者癌细胞的侵袭等病理过程有关^[10];NSE主要参与到糖酵解过程中的甘油代谢过程,近年来相关研究发现,不仅神经源性细胞可以分泌NSE,同时其他小细胞肺癌或者非小细胞肺癌患者中,均可出现NSE的显著上升。上升的NSE能够促进癌细胞变形能力的增强,提

高癌细胞的浸润能力;PTN是结合因子家族成员,其能够通过结合肝素生长因子,促进癌细胞的持续性增殖,抑制癌细胞的凋亡。同时PTN还能够结合血管内皮细胞因子,提高肿瘤新生血管的形成能力。

对于肺癌患者的血清肿瘤指标的分析研究可见,在肺癌患者中,CEA、NSE及PTN的表达浓度明显的上升,且高于肺部良性肿瘤患者,差异具有统计学意义,这说明CEA、NSE及PTN的表达均能够参与到肺癌的发生发展过程。综合其他研究发现这可能与CEA、NSE及PTN的下列几个方面的病理性作用有一定的关系^[11]:①CEA或者NSE的上升,能够促使肺泡上皮细胞变形能力的上升,从而提高了癌细胞的DNA分裂速度;②PTN的上升对肺癌组织新生血管的形成具有促进作用,从而提高了肿瘤病灶组织的血流灌注水平,进而参与了肺癌的病情进展过程。从张晓伟等^[12]人的研究中也发现,NSE的表达浓度在肺癌患者中可平均上升30%以上,尤其是在合并有明显的淋巴结转移或者远处转移的患者中,NSE的表达上升更为明显。本研究结果提示了相关指标与肺癌患者的临床病理特征密切相关。分析其原因,这主要由于CEA、NSE、PTN的表达均能够导致癌细胞分化成熟障碍,并能够促进癌细胞的扩散和转移,从而促进临床分期的进展。本研究并未发现CEA、NSE、PTN的表达与肺癌患者细胞来源类型的关系,提示CEA、NSE、PTN与癌细胞的分化来源并无明显的关系。但有研究者^[13-14]并不认为NSE的表达与肺癌患者的临床分期或者癌细胞分化程度有关,不同的研究存在结论间的差别,考虑可能与NSE检测的灵敏度或者检测方法的差别有关。此外本次研究还探讨了CEA、NSE、PTN的诊断学价值,发现单独指标诊断时AUC均 <0.7 ,其诊断的灵敏度较低,漏诊率和误诊率水平较高,而通过联合CEA、NSE、PTN进行诊断,其诊断的AUC达0.841,灵敏度和特异性分别为74.00%和85.00%,诊断的可靠性较高,值得临床上参考采用。

本次研究的创新性在于探讨了CEA、NSE、PTN单独或者联合诊断的诊断学价值。综上所述,在肺癌患者中,CEA、NSE、PTN的表达明显上升,同时CEA、NSE、PTN的表达与肺癌患者的临

床分期和癌细胞分化程度密切相关。临床上通过联合CEA、NSE、PTN进行早期肺癌的诊断,能够提高肺癌的整体诊断水平。

参考文献

- [1] 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):504-507.
- [2] Tiu AC, Potdar R, Djibo DA, et al. Clinical outcomes of African American patients with advanced or metastatic non-small cell lung cancer on Nivolumab in a single community-based cancer center[J]. Med Oncol, 2018, 35(7):90-92.
- [3] 单立新,陈凯,王春梅.联合检测血清胃泌素释放肽前体、癌胚抗原、细胞角蛋白19片段21-1诊断肺癌的价值[J].中国老年学杂志,2017,37(8):1938-1939.
- [4] 陈燕,彭伟,黄艳芳,等.治疗前血清神经特异性烯醇化酶水平在预测晚期非小细胞肺癌脑转移及预后中的意义[J].中华肿瘤杂志,2015,37(7):508-511.
- [5] 倪军,郭子健,张力.单独与联合检测四项肺癌血清肿瘤标志物在肺癌诊断中的价值[J].中华内科杂志,2016,55(1):25-30.
- [6] Kari Chansky, Jean-paul Sculier, John J. Crowley,等.国际肺癌研究会分期项目采用外科治疗的非小细胞肺癌的预后因素和病理TNM分期[J].中国肺癌杂志,2010,13(1):9-18.
- [7] 陈炎,陈亚蓓,陶荣芳.《CSCO原发性肺癌诊疗指南2016》小细胞肺癌治疗内容介绍[J].中国实用内科杂志,2017,12(1):42-43.
- [8] 马媛.肿瘤标志物CA125、CA153、CA199与CEA在肺癌诊断中的方法探讨[J].中国社区医师,2017,33(36):108-110.
- [9] 韩丹,钟敏钰.癌胚抗原联合神经特异性烯醇化酶鉴别肺结核与肺癌的价值[J].中国煤炭工业医学杂志,2016,18(5):683-686.
- [10] 马向荣,张东明,牛宏英,等.低剂量CT联合血清肿瘤标志物对肺癌早期诊断的可行性分析[J].中国临床研究,2016,29(11):1485-1487.
- [11] 徐婧玥,刘喆,张贺平,等.肺癌患者血清HE4、CEA、CYFRA21-1水平变化及意义[J].山东医药,2015,55(11):35-36.
- [12] 张晓伟,丛占杰,朱华,等.胃泌素释放肽前体与神经特异性烯醇化酶在小细胞肺癌诊断及预后中的价值[J].中国实验诊断学,2017,21(01):89-91.
- [13] 邹见刚,王笑峰.血清肿瘤标志物联合动态检测在肺癌早期诊断和监控治疗中的临床价值[J].医学检验与临床,2016,27(5):8-13.
- [14] 张佳佳,张艳萍,刘玉辉,等.NapsinA、NSE、Ki67表达结合临床病理分析在肺癌早期诊断中的意义[J].实用癌症杂志,2019,34(9):1441-1444.

β -HCG、CRP 和 TNF- α 联合检测在胎膜早破宫内感染中的预测作用

狄红丽 郝树磊 杨彩凤 刘蓬*

[摘要] **目的** 分析血清 β -人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)、C反应蛋白(CRP)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)联合检测在胎膜早破早期宫内感染中的预测作用。**方法** 收集保定市第二中心医院2018年1月至2020年8月收治的124例胎膜早破孕妇的临床资料,根据是否合并感染分为感染组、未感染组,另选取同时期52例足月分娩孕妇作为对照组。分析各组血清 β -HCG、CRP、TNF- α 水平;比较不同感染程度胎膜早破孕妇血清 β -HCG、CRP、TNF- α 水平及其与胎膜早破宫内感染程度的相关性。绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析 β -HCG、CRP、TNF- α 联合检测对胎膜早破患孕妇宫内感染的预测价值。**结果** 124例患者中,合并宫内感染58例(感染组)。 β -HCG、CRP及TNF- α 水平:对照组<未感染组<感染组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。48例胎膜早破合并宫内感染孕妇中,轻度感染21例(轻度组),中度感染18例(中度组),重度感染9例(重度组)。胎膜早破合并宫内感染孕妇血清 β -HCG、CRP、TNF- α 水平:轻度组<中度组<重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。相关性分析显示,血清 β -HCG、CRP、TNF- α 水平与感染严重程度均呈显著正相关性($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示, β -HCG、CRP、TNF- α 诊断临界值分别为33.84 mIU/mL、10.89 mg/L、537.12 pg/mL, β -HCG、CRP、TNF- α 联合检测预测胎膜早破合并宫内感染的下曲线面积(AUC)、敏感度、特异度均高于单一检测($P<0.05$)。**结论** 胎膜早破合并宫内感染孕妇血清 β -HCG、CRP及TNF- α 水平呈异常表达,联合检测上述因子有助于提高胎膜早破合并宫内感染的预测价值。

[关键词] 血清 β -人绒毛膜促性腺激素; C反应蛋白; 肿瘤坏死因子- α ; 胎膜早破; 宫内感染

Predictive role of combined detection of β -HCG, CRP and TNF- α in intrauterine infection in premature rupture of membranes

DI Hongli, HAO Shulei, YANG Caifeng, LIU Peng*

(Department of Obstetrics, Baoding Second Central Hospital, Baoding, Hebei, China, 072750)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive effect of serum β -human chorionic gonadotropin (β -HCG), C-reactive protein (CRP), Tumor necrosis factor- α (TNF- α) combined detection in the early intrauterine infection of premature rupture of membranes. **Methods** The clinical data of 124 pregnant women with premature rupture of membranes admitted to Baoding Second Central Hospital from January 2018 to August 2020 were collected. According to whether they were co-infected or not, they were divided into the infected group and the non-infected group, and 52 pregnant women who gave birth in the same period were selected as the control group. The serum levels of β -HCG, CRP, and TNF- α in each group were analyzed. The levels of serum β -HCG, CRP, and TNF- α in pregnant women with premature rupture of placenta infection and their correlation with the degree of intrauterine infection of premature rupture of membranes were compared. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the predictive value of combined detection of β -HCG, CRP, and TNF- α on intrauterine infection in pregnant women with premature rupture of placenta. **Results** Among the 124 patients, 58 were complicated with intrauterine infection (infected group).

基金项目:河北省卫计委医学科学研究重点课题(20180257)

作者单位:保定市第二中心医院产科,河北,保定 072750

*通信作者:刘蓬, E-mail:45873447@qq.com

The levels of β -HCG, CRP and TNF- α in each group: the control group <the uninfected group <the infected group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Among the 48 pregnant women with premature rupture of membranes and intrauterine infection, 21 had mild infection (mild group), 18 had moderate infection (moderate group), and 9 had severe infection (severe group). The serum levels of β -HCG, CRP and TNF- α in pregnant women with premature rupture of placenta and intrauterine infection: mild group < moderate group <severe group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Correlation analysis showed that serum β -HCG, CRP, TNF- α levels were significantly positively correlated with the severity of infection ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the diagnostic cut-off values of β -HCG, CRP, and TNF- α were 33.84 mIU/mL, 10.89 mg/L, 537.12 pg/mL, respectively. The combined detection of β -HCG, CRP and TNF- α had higher area of lower curve (AUC), sensitivity and specificity in predicting premature rupture of membranes complicated with intrauterine infection than single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of β -HCG, CRP and TNF- α in pregnant women with premature rupture of membranes and intrauterine infection were abnormally expressed. Combined detection of these factors could help improve the predictive value of premature rupture of membranes with intrauterine infection.

[KEY WORDS] β -HCG; CRP; TNF- α ; Premature rupture of membranes; Intrauterine infection

胎膜早破是产科常见的并发症,易导致孕妇早产。相关调查研究示,妊娠满37周后,胎膜早破发生率约占分娩总数的10%;若发生在胎儿未足月时,会大大增加胎儿宫内感染、围产儿死亡等发生风险^[1-2]。目前普遍认为感染、创伤、宫腔内压力及胎膜发育不良等是胎膜早破的主要原因,可导致母体胎盘结构被破坏。感染与胎膜早破互为因果关系,研究证实胎膜早破合并宫内感染风险较高,最低感染率可达50%^[3]。同时胎膜早破合并宫内感染是导致母婴结局不良的主要危险因素之一。寻找可靠、快速的预测或诊断方法对预防胎膜早破宫内感染风险的发生尤其重要。近年来,研究报道血清 β -人绒毛膜促性腺激素(β -Human chorionic gonadotropin, β -HCG)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)联合检测对胎膜早破孕妇宫内感染具有较高的预测价值^[4]。本研究通过比较分析合并感染与未合并感染的胎膜早破孕妇血清 β -HCG、CRP及TNF- α 水平差异,探讨上述因子联合检测在预测胎膜早破孕妇宫内感染中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集保定市第二中心医院2018年1月至2020年8月收治的124例胎膜早破孕妇的临床资料,孕妇平均年龄(28.33 ± 3.52)岁;初产妇52例,经产妇72例。纳入标准:①均符合胎膜早破相关诊断标准^[5];②年龄>18岁,且均为单胎头位妊娠;③确诊时孕周 ≥ 35 周。排除标准:①HPV感染阳性者;

②合并呼吸系统、生殖泌尿系统等其他感染性疾病者;③合并子痫前期、胎儿畸形等严重妊娠期并发症者。另选取同组足月分娩孕妇52例作为对照组,平均年龄(27.14 ± 2.52)岁;初产妇21例,经产妇31例。两组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

采集受检者5 mL空腹外周静脉血,以3 000 r/min离心,离心半径10 cm,离心10 min后留取沉淀物,置于-20℃低温保存。采用电化学发光法检测 β -HCG水平,采用酶联吸附免疫法检测CRP、TNF- α 水平。试剂盒均购自罗氏诊断产品上海有限公司,具体检测步骤严格按照说明书执行。

1.3 分组及判断标准

根据是否发生感染,将124例胎膜早破孕妇分为感染组、未感染组。根据不同感染程度,将感染组分为轻度组、中度组和重度组,评估标准^[6]:显微镜观察中性粒细胞浸润程度,中性粒细胞10~19个/视野为轻度;中性粒细胞浸润绒毛膜组织,未及羊膜,20~29个/视野为中度;中性粒细胞广泛浸润绒毛膜组织并进入羊膜, ≥ 30 个/视野为重度。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组比较行方差检验;各参数间相关性分析采用Pearson法;采用ROC曲线分析血清 β -HCG、CRP、TNF- α 水平对胎膜早破孕妇宫内感染的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清β-HCG、CRP、TNF-α水平比较

124例胎膜早破孕妇中,合并宫内感染48例(感染组),未发生宫内感染66例(未感染组)。各组β-HCG、CRP及TNF-α水平:对照组<未感染组<感染组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 各组血清β-HCG、CRP、TNF-α水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	β-HCG(mIU/mL)	CRP(mg/L)	TNF-α(pg/mL)
对照组	59	7.96±2.36	3.64±0.72	441.36±88.54
未感染组	66	20.49±6.47 ^a	10.91±2.31 ^a	616.98±94.26 ^a
感染组	48	55.46±11.43 ^{ab}	28.45±5.25 ^{ab}	785.72±126.89 ^{ab}
F值		581.79	858.95	149.990
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:^a与对照组比较,^b与未感染组比较, $P<0.05$ 。

2.2 不同感染程度孕妇血清β-HCG、CRP、TNF-α水平比较

48例胎膜早破合并宫内感染孕妇中,轻度感染21例(轻度组),中度感染18例(中度组),重度感染9例(重度组)。胎膜早破合并宫内感染孕妇血清β-HCG、CRP、TNF-α水平:轻度组<中度组<重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同感染程度孕妇血清β-HCG、CRP、TNF-α水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	β-HCG(mIU/mL)	CRP(mg/L)	TNF-α(pg/mL)
轻度组	21	28.28±5.14	19.87±4.01	599.15±99.36
中度组	18	52.65±8.26 ^a	31.54±8.47 ^a	724.34±134.95 ^a
重度组	9	124.55±19.43 ^{ab}	42.34±9.67 ^{ab}	1343.81±254.14 ^{ab}
F值		280.110	36.490	79.160
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:^a与轻度组比较,^b与中度组比较, $P<0.05$ 。

2.3 血清各细胞因子与感染严重程度的相关性分析

血清β-HCG、CRP、TNF-α水平与感染严重程度均呈显著正相关关系($r=0.624、0.598、0.608, P=0.001、0.012、0.003$)。

2.4 β-HCG、CRP、TNF-α对胎膜早破孕妇合并宫内感染的预测价值

ROC曲线分析结果显示,β-HCG、CRP、TNF-α诊断临界值分别为33.84 mIU/mL、10.89 mg/L、537.12 pg/mL,β-HCG、CRP、TNF-α联合检测预测胎

膜早破合并宫内感染的下曲线面积(AUC)、敏感度、特异度均高于单一检测($P<0.05$)。见表3与图1。

表3 β-HCG、CRP、TNF-α对胎膜早破孕妇合并宫内感染的预测价值

Table 3 The predictive value of β-HCG, CRP, and TNF-α in pregnant women with premature rupture of membranes with intrauterine infection

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95%CI	P值
β-HCG	0.806	0.807	0.849	0.753~0.945	<0.001
CRP	0.776	0.832	0.805	0.697~0.914	<0.001
TNF-α	0.753	0.831	0.674	0.544~0.804	<0.001
三者联合	0.931	0.906	0.870	0.774~0.965	<0.001

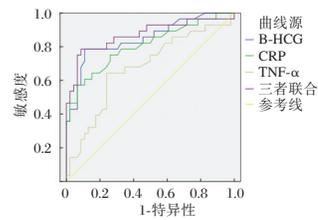


图1 β-HCG、CRP、TNF-α对胎膜早破孕妇合并宫内感染的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of β-HCG, CRP, TNF-α on premature rupture of membranes with intrauterine infection

3 讨论

胎膜早破合并宫内感染对母婴造成的危害备受临床关注。相关研究发现,孕妇出现胎膜早破后,羊水抑菌作用会大大减弱,可增加上行感染风险,当发生宫内感染后,胎儿早产、败血症甚至死胎等发生几率亦会明显增高^[7-8]。及时诊治胎膜早破孕妇宫内感染对保证母婴安全非常重要。

大量报道指出,机体应激、炎症及免疫调节等生化指标在胎膜早破宫内感染的发生、发展中均具有重要作用^[9-10]。血清β-HCG是受精卵着床后机体分泌的一种激素,与滋养层细胞数量呈正相关^[11]。李燕等^[12]报道认为,胎膜早破孕妇群体中,β-HCG水平呈高表达,且明显高于正常孕妇。国外亦有报道指出,血清β-HCG是妊娠女性的特异性检测指标,对妊娠过程中发生的多种疾病具有较高的预测价值^[13]。本研究中,胎膜早破孕妇β-HCG水平显著高于正常妊娠孕妇,且该因子水平随宫内感染严重程度增高而上升。提示血清β-HCG水平参与了胎膜早破、宫内感染的进展。推测其原因可能是受胎膜早破、感染等因素,导致绒毛间质炎性细胞浸润、胎盘组织血管损伤,子宫内发生缺氧现象,使得滋养层细胞反应性增生,合

成和释放的绒毛膜促性腺激素增多。但受孕妇女自身健康状况、炎症反应等因素的影响,仅用 β -HCG预测是否发生宫内感染的敏感性不高^[14]。

近年来,国内外大量研究认为炎症细胞因子浸润诱发的慢性非特异性炎症与胎膜早破早期宫内感染及病情变化存在紧密联系^[15-16]。血清CRP、TNF- α 是目前临床应用较为广泛的炎症因子指标,其中CRP主要由肝脏合成,在炎症或感染急性期可参与机体免疫抵抗反应调节,在发生炎症后的4~6 h会急剧增高,故可作为反映早期组织炎症情况的临床指标之一^[17]。同时,CRP的合成与TNF- α 的刺激相关。TNF- α 主要由激活的单核巨噬细胞、自然杀伤细胞等产生,其参与胎膜早破发生的机制可能是使局部胎膜细胞缺氧坏死^[18]。孔振兴等^[19]认为,TNF- α 可直接抑制胶原合成,刺激胶原降解,参与胎膜早破的发生。本研究中,与对照组、未感染组相比,感染组CRP、TNF- α 水平更高,且上述因子水平与宫内感染程度呈正相关。推测可能是由于胎膜早破宫内感染引起细胞炎性因子释放增多,故宫内感染程度越严重,炎性因子释放更多^[20]。此外,本研究进一步根据ROC曲线分析发现,当 β -HCG、CRP、TNF- α 诊断临界值分别为33.84 mIU/m、10.89 mg/L、537.12 pg/mL时,上述因子联合检测预测胎膜早破合并宫内感染的敏感性、特异性及AUC均高于任意一项单独检测,说明三者联合检测诊断效能更佳。

综上所述,胎膜早破合并宫内感染孕妇血清 β -HCG、CRP及TNF- α 水平呈异常表达,联合检测上述因子有助于提高胎膜早破合并宫内感染的预测价值。

参考文献

- [1] 刘婧,刘妮英,蒋依伶.硫酸镁联合盐酸利托君治疗未足月早产胎膜早破的临床价值分析[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(11):1514-1517.
- [2] 赵倩,何霞,凌娅,等.TNF- α ,IL-6,IL-17在胎膜早破母儿感染相关不良妊娠结局中的表达及临床价值[J].昆明医科大学学报,2021,42(9):101-107.
- [3] Samantha W, Blair A, Michelle C, et al. MicroRNA Signature of Epithelial-Mesenchymal Transition in Group B Streptococcal Infection of the Placental Chorioamniotic Membranes[J]. J Infect Dis, 2020,69(18):316-318.
- [4] 李秋敏,王飞,张莉莉,等.胎膜早破的临床特点与母婴结局及影响因素分析[J].西部医学,2018,30(11):1612-1615.
- [5] Lorthe E, Moreira C, Weber T, et al. Unit policies regarding tocolysis after preterm premature rupture of membranes: association with latency, neonatal and 2-year outcomes (EPICE cohort)[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):105-106.
- [6] 廖化波,魏利,程相红,等.血清MMP-2,IL-8, β -hCG对胎膜早破妊娠患者合并羊膜腔感染的诊断[J].中华医院感染学杂志,2020,30(9):123-127.
- [7] Lorthe E, Moreira C, Weber T, et al. Unit policies regarding tocolysis after preterm premature rupture of membranes: association with latency, neonatal and 2-year outcomes (EPICE cohort)[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):1254-1255.
- [8] 黄亚军,孙佳,赵艳丽. β -HCG,PCT,CRP,hs-CRP在胎膜早破中预测宫内感染的意义[J].中国医师杂志,2020,22(7):1091-1093.
- [9] 赵培斐,张晓芬,陈亚宁.血清 β -HCG,CRP水平检测结合子宫动脉血流超声指标对胎儿宫内窘迫及宫内感染的诊断价值[J].现代检验医学杂志,2019,34(5):95-98.
- [10] 雒晓燕,严俊汝.血清 β -绒毛膜促性腺激素C反应蛋白水平联合检测对胎膜早破孕妇宫内感染早期诊断效能的影响[J].中国药物与临床,2019,19(15):2656-2657.
- [11] Kara AE, Guney G, Tokmak A, et al. The role of inflammatory markers hs-CRP, sialic acid, and IL-6 in the pathogenesis of preeclampsia and intrauterine growth restriction[J]. Eur Cytokine Netw, 2019, 30(1):29-33.
- [12] 李燕,程万芳,李颖,等.血清 β -hCG,CRP,IL-6水平对胎膜早破孕妇宫内感染的诊断及评估价值[J].中国医师杂志,2019,21(3):141-143.
- [13] Jalali M, Ranjbar T, Mosallanezhad Z, et al. Effect of Propolis supplementation on serum CRP and TNF- α levels in adults: A systematic review and meta-analysis of clinical trials[J]. Complement Ther Med, 2020, 50(9):102380.
- [14] 张岩,杨彪,范娟,等.血清 β -人绒毛膜促性腺激素与C-反应蛋白对胎膜早破妊娠患者宫内感染的预测效果[J].中华医院感染学杂志,2018,28(6):911-914.
- [15] 戴满花.血清 β -hCG,IGFBP-1联合TNF- α 检测对胎膜早破宫内感染患者的诊断价值[J].中国妇幼保健,2019,34(14):3200-3202.
- [16] Hall A, Obi A, Iriete B, et al. Predicting Impending Ectopic Pregnancy Rupture: what else besides β -hCG?[J]. J Nat Med Asso, 2020, 112(5):S35-S36.
- [17] 杨帆,安晓霞,程亚华.血清 β -hCG,ICAM-1,MMP-9在足月胎膜早破宫内感染及预后中的临床评价意义[J].临床输血与检验,2020,22(1):101-104.
- [18] Kumar SS, Hemalatha SK, Revathy N, et al. β -hCG-induced mutant BRCA1 ignites drug resistance in susceptible breast tissue[J]. Carcinogenesis, 2019,29(11):11.
- [19] 孔振兴,马恺,韩娜,等.血清MMP-9,TIMP-1,TNF- α 及IL-10在未足月胎膜早破而早产产妇中的表达及临床意义[J].现代生物医学进展,2020,20(21):178-181.
- [20] 李学鸿.孕妇血清CRP、TNF- α 、CVAM-1在胎膜早破中的临床意义[J].标记免疫分析与临床,2018,25(6):859-862.

CD25、CRP及TLRs在小儿支气管哮喘合并感染中的预测作用

朱琼琼^{1*} 徐玄玄¹ 韦贞汁¹ 赵喜燕¹ 周秦²

[摘要] **目的** 分析外周血CD25、CRP及TLRs在小儿支气管哮喘中的表达及对合并感染的预测价值。**方法** 选取2019年1月至2020年5月三门峡市中心医院接收的90例支气管哮喘患儿,根据是否合并感染分为合并组($n=32$)和未合并组($n=58$),同时选取64例同期行健康体检的正常儿童作为对照组。比较不同儿童CD25、CRP及TLRs水平,分析影响小儿支气管哮喘合并感染的危险因素及CD25、CRP及TLRs检测对小儿支气管哮喘合并感染的预测价值。**结果** 研究组患儿CD25、CRP及TLRs水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。合并组患儿外周血CD25、CRP及TLRs水平较未合并组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。白细胞值 $\geq 3.0 \times 10^9/L$ 、CD25、CRP、TLR2、TLR4异常升高为影响小儿支气管哮喘合并感染的独立危险因素($P<0.05$)。CD25、CRP、TLR2、TLR4水平及四者联合检测诊断小儿支气管哮喘合并感染曲线下面积分别为0.918、0.949、0.878、0.905、1.000,各指标曲线下面积以联合检测最大($P<0.05$)。**结论** 支气管哮喘合并感染患儿CD25、CRP及TLRs水平呈高表达,联合上述指标检测对小儿支气管哮喘合并感染的诊断、病情评估具有重要价值。

[关键词] 支气管哮喘;感染;CD25;CRP;TLRs

Predictive role of CD25, CRP and TLRs in children with bronchial asthma complicated by infection

ZHU Qionqiong^{1*}, XU Xuanxuan¹, WEI Zhenzhi¹, ZHAO Xiyan¹, ZHOU Qin²

(1. Department of Children's Emergency, Sanmenxia Central Hospital, Sanmenxia, Henan, China, 472000;

2. Department of Children's Emergency, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou Medical University, Zhengzhou, Henan, China, 450052)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the expression of peripheral blood CD25, CRP and TLRs in children with bronchial asthma and their predictive value for co-infection. **Methods** 90 children with bronchial asthma admitted to Sanmenxia Central Hospital from January 2019 to May 2020 were selected, and according to whether they had co-infections, they were divided into the combined group ($n=32$) and the non-combined group ($n=58$). At the same time, 64 children who had physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of CD25, CRP, and TLRs in different children were compared, and the risk factors affecting bronchial asthma in children and the predictive value of detection of CD25, CRP and TLRs in children with bronchial asthma were analyzed. **Results** The levels of CD25, CRP and TLRs in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of CD25, CRP and TLRs in the peripheral blood of the children in the combined group were higher than those in the uncombined group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). White blood cell value $\geq 3.0 \times 10^9/L$, abnormal increasing of CD25, CRP, TLR4, and TLR3 were independent risk factors affecting co-

基金项目:河南省科技攻关计划项目(2019030358)

作者单位:1.三门峡市中心医院儿童急诊科,河南,三门峡472000

2.郑州医科大学第一附属医院儿童急诊科,河南,郑州450052

*通信作者:朱琼琼, E-mail: zhuqionqiong1631@163.com

infection in children with bronchial asthma ($P<0.05$). The area under the curve of CD25, CRP, TLR2, TLR4 and the combined detection of the four in the diagnosis of pediatric bronchial asthma with infection were 0.918, 0.949, 0.878, 0.905, and 1.000, respectively. The area under the combined test curve was the largest ($P<0.05$).

Conclusion The levels of CD25, CRP and TLRs are highly expressed in children with bronchial asthma complicated by infection. Combined detection of the above indicators is of great value for the diagnosis and condition assessment of bronchial asthma complicated by infection in children.

[KEY WORDS] Bronchial asthma; Infection; CD25; CRP; TLRs

哮喘是由肥大细胞、嗜酸细胞、气道上皮细胞和T淋巴细胞等多种细胞参与的气道慢性炎症,可导致气道高反应性,引发可逆性气道阻塞,并引发反复发作性喘息、呼吸困难、胸闷、咳嗽等症状。据统计,全球哮喘患病率约18%,其中儿童约占35%左右,对患儿的身体健康及生活质量造成严重影响^[1]。目前,关于小儿支气管哮喘的发病原因尚未明确,但相关研究显示其与呼吸道感染密切相关^[2]。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)作为急性期反应蛋白,系反映哮喘严重程度的一项有效指标^[3]。Toll样受体信号通路(toll-like receptors, TLRs)作为反映人体内对外源性病原体侵入的敏感指标,在多种免疫通路中具有十分重要的作用^[4]。CD25是T淋巴细胞中的活化表达因子,因具有趋化特性以及炎症调节等作用,其与支气管哮喘之间的关系也越来越引起研究者的重视^[5]。本研究就外周血CD25、CRP及TLRs检测在小儿支气管哮喘中的表达及对合并感染的预测价值进行研究,现报道如下。

1 一般资料

1.1 资料与方法

选取2019年1月至2020年5月三门峡市中心医院儿童接收的90例支气管哮喘患儿作为研究组。纳入标准:①年龄 ≥ 3 岁;②符合支气管哮喘诊断标准^[6];③临床资料完整者;排除标准:①入组前2个月使用过免疫抑制剂、糖皮质激素、等药物使用者;②首次喘息发作者;③存在家族性变态反应性疾病者;④合并肝肾功能严重不全及恶性肿瘤疾病者;⑤合并痴呆等精神疾患无法配合本研究开展者。其中男46例,女44例,平均(7.41 \pm 3.71)岁。根据肺部感染诊断标准^[7]分为合并组(合并感染, $n=32$)和未合并组(未合并感染, $n=58$)同时选取64例同期行健康体检的正常儿童作为对照组,其中男31例,女33例,平均(7.69 \pm 3.75)岁。两组性别、年龄

等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试患儿监护人已签署知情同意书。

1.2 治疗方法

研究组入院后均给予对症支持治疗,包括抗感染、糖皮质激素、支气管扩张剂及免疫治疗等。

1.3 观察指标

1.3.1 CD25检测

两组受试者均在清晨空腹状态下抽取静脉血2 mL。取肝素抗凝的全血100 μ L,加入CD3-PE/CD25-FITC单克隆抗体20 μ L,室内放置30 min进行避光反应。添加2 mL融血剂,在常温下溶解红细胞,时长10 min左右,进行PBS洗涤,离心后保存在冰箱中等待备用,加入1 g/L多聚甲醛500 μ L,使用美国BD FACSVisa流式细胞仪检测CD25水平。CD25正常范围^[8]:10%~15%, >15%则为异常升高。

1.3.2 CRP、TLRs检测

两组受试者进行静脉抽血4 mL,将抽取的血样放置不含抗凝剂的试管内,于常温下静置30 min,然后进行15 min、1 000 r/min($r=10$ cm)的离心操作,取血清,于-20 $^{\circ}$ C下保存等待检测。采用酶联免疫吸附法检测CRP、TLR2及TLR4水平,全自动酶标仪由芬兰Labsystems Dragon公司提供,试剂盒由上海莱尔生物科技公司提供,具体操作严格按照说明书执行。CRP正常范围^[9]:0~10 mg/L, >10 g/L则为异常升高;TLR2、TLR4正常范围^[10]:0~20 ng/L, >20 ng/L则为异常升高。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,行 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析影响分析影响小儿支气管哮喘合并感染的独立危险因素;采用ROC曲线分析外周血CD25、CRP及TLRs水平对小儿支气管哮喘合并感染的预测价值。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平比较
研究组患儿外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组患儿外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of CD25, CRP and TLRs levels in peripheral blood of children in the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD25(%)	CRP(mg/L)	TLRs(ng/L)	
				TLR2	TLR4
研究组	90	26.30±4.86	42.31±10.58	27.21±2.43	28.44±2.53
对照组	64	12.34±2.03	5.16±2.14	14.15±2.12	17.11±4.25
t 值		21.659	27.666	34.627	20.673
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组患儿外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平比较
合并组患儿外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平较未合并组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组患儿外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of the levels of CD25, CRP and TLRs in the peripheral blood of the two groups of children ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD25(%)	CRP(mg/L)	TLRs(ng/L)	
				TLR2	TLR4
合并组	32	29.26±5.06	48.49±10.86	30.29±2.52	30.57±2.92
未合并组	58	24.67±4.75	38.90±10.43	25.51±2.38	27.26±2.31
t 值		5.690	4.123	8.932	5.914
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 影响小儿支气管哮喘合并感染的危险因素分析
Logistic 回归模型分析得出:白细胞值、TLR4、TLR3、粉尘接触史、CD25、CRP 为影响小儿支气管哮喘合并感染的单因素($P<0.05$)。选取有条件的单因素进一步分析得出:白细胞值 $\geq 3.0\times 10^9/L$ 、CD25、CRP、TLR4、TLR3 异常升高为影响小儿支气管哮喘合并感染的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 影响小儿支气管哮喘合并感染的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors affecting children's bronchial asthma complicated 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
家族史(有 vs 无)	1.139	0.713~1.513	0.569			
过敏史(有 vs 无)	1.658	0.892~3.081	0.644			
白细胞(≥ 3.0 vs <3.0) $\times 10^9/L$	1.791	1.325~1.616	0.019	1.857	1.257~1.754	0.041
TLR4(异常升高 vs 正常)	1.716	1.236~1.497	0.010	1.598	1.364~1.885	0.023
粉尘接触史(有 vs 无)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	1.268~1.779	0.538
CD25(异常升高 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.6369	1.365~1.784	0.035
CRP 异常升高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
TLR2(异常升高 vs 正常)	1.658	1.587~1.575	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017

2.4 外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平对小儿支气管哮喘合并感染的预测价值

ROC 曲线分析显示,外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平及四者联合检测诊断小儿支气管哮喘合并感染的曲线下面积最大为 1.00($P<0.05$)。见表 4 及图 1。

表 4 外周血 CD25、CRP 及 TLRs 水平对小儿支气管哮喘合并感染的预测价值

Table 4 The predictive value of peripheral blood CD25, CRP and TLRs levels in children with bronchial asthma complicated infection

预测因子	临界值	敏感度	特异度	AVC	95%CI	P 值
TLR4	29.96	0.864	0.762	0.918	0.801~1.000	<0.001
TLR2	31.25	0.871	0.767	0.949	0.000~1.000	<0.001
CD25	35.46	0.893	0.731	0.878	0.765~0.992	<0.001
CRP	37.26	0.847	0.799	0.905	0.797~1.000	<0.001
四者联合	38.14	0.975	0.813	1.000	1.000~1.000	<0.001
预测指数模型	1.85	0.834	0.743	0.884	0.764~1.000	<0.001

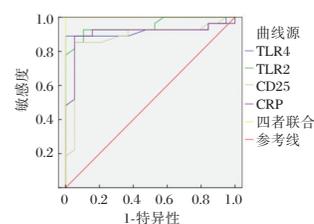


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

近年来,据流行病学统计,儿童支气管哮喘的患病率及死亡率明显升高,对儿童的身体健康造成极大的影响^[10]。支气管哮喘发病机制具有多样、复杂的特点,相关研究显示,一旦支气管哮喘患儿合并感染,可诱发肺外严重并发症,对患儿的生命安全造成严重威胁^[11]。寻求正确判断病情严重程度、评估患者预后情况的有效指标、为治疗提供有效证据已成为相关基础和临床研究者关注的重点^[12]。

相关研究发现,CD25参与自身免疫性疾病、变态反应、移植排斥反应及肿瘤等的发生发展^[13]。CRP是临床应用较多的一个感染指标,在健康人血清中浓度极低,当有炎症侵入时,血浆中CRP水平可在数小时迅速升高。既往研究发现CRP水平升高与支气管哮喘患者预后相关^[14]。美国呼吸协会曾表示可将CRP水平作为哮喘常规检测因素^[15]。TLRs作为一类可激活机体产生复杂免疫效应的受体,与支气管哮喘的发生也有密切联系。Wu等学者^[16]在鼠实验中发现,TLR4及TLR2基因在肺脏中表达量最多。本研究数据显示:支气管哮喘患儿血清CD25、CRP及TLRs水平均显著高于正常健康儿童,符合既往研究理论^[17]。

既往研究显示,当哮喘患者发作后,可刺激体内T淋巴受体,使IL-2活性增强,导致CD25 T淋巴细胞增加,检测CD25有助于医务人员判断患者病情是否加重,CD25可作为预测患者预后的独立因素^[18]。Battaglin等^[19]研究中,相关性分析显示CRP与白细胞等炎性因子指标呈正相关,这与本研究CRP及白细胞均为影响支气管患儿肺部感染的多因素结果相似,证实CRP在支气管哮喘中具有较高的诊断价值,可作为支气管哮喘患儿合并感染的临床筛查指标及辅助检查指标。TLRs是一种可识别入侵病原体的先天免疫受体分子,可介导多种免疫细胞激活核转录因子 κ B,促进辅助性T细胞由Th2型转向Th1型,刺激促炎因子释放增多,也可通过促进调节性T细胞成熟而影响获得性免疫。本文进一步分析提示CD25、CRP联合TLRs检测在小儿支气管哮喘预后评估中的应用优势,也更进一步证明CD25、CRP、TLR2、TLR4水平变化与小儿支气管哮喘合并感染密切相关,可作为评估感染的有效指标。

综上所述,支气管哮喘合并感染患儿CD25、CRP及TLRs水平呈高表达,联合上述指标检测对小儿支气管哮喘合并感染的诊断、病情评估具有重要价值。

参考文献

- [1] 赵雅婷,张焕萍.痰嗜酸粒细胞在支气管哮喘气道炎症中作用的研究进展[J].医学综述,2019,25(10):1889-1893.
- [2] 邱虹,李岱,董燕萍,等.支气管哮喘急性发作合并肺部感染患者IL-32、IgE水平与预后的相关性分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(7):1015-1018.
- [3] 王丽峰,张静,杨广利.支气管哮喘合并细菌感染患者检测C反应蛋白降钙素原临床价值[J].山西医药杂志,2019,48(12):1454-1455.
- [4] Zhang L, Wang XI, Ding J, et al. The predictive and prognostic value of Foxp3+/CD25+ regulatory T cells and PD-L1 expression in triple negative breast cancer [J]. Ann Diagn Pathol, 2019, 40(12):133-134.
- [5] Zheng T, Zhou Q, Chen Z, et al. Correlation between expression levels of IL-37, GM-CSF, and CRP in peripheral blood and atherosclerosis and plaque stability [J]. Eur J Inflamm, 2019, 17(5):243-246.
- [6] Ersvr E, Kildal W, Vlatkovic L, et al. Prognostic value of mitotic checkpoint protein BUB3, cyclin B1, and pituitary tumor-transforming 1 expression in prostate cancer [J]. Mod Pathol, 2019, 33(5):1-11.
- [7] 许宏霞.血清降钙素原检测在诊断小儿肺部感染中的价值[J].当代医药论丛,2017,15(15):177-178.
- [8] 梁春莉.外周血白细胞介素-17 CD4~+CD25~+调节性T细胞白三烯B4变化与患儿支气管哮喘活动状态的关系研究[J].中国药物与临床,2017,17(7):975-976.
- [9] 余丽娜,侯海瑞,张燕妮,等.CD64指数,IL-6,PCT检测对儿童过敏性紫癜合并感染的早期诊断价值分析[J].检验医学与临床,2021,18(18):2638-2642.
- [10] 陈金妮,李大伟,林秋玉,等.难治性肺炎患儿感染病原学及HMGB1,TLR2,TLR4表达[J].中华医院感染学杂志,2020,30(18):2847-2850.
- [11] 刘世英,殷勇,张芬,等.上海市浦东新区儿童支气管哮喘分级诊疗模式效果评价[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(16):1235-1239.
- [12] 李矢云,王淑玉.血清Periostin水平在儿童支气管哮喘控制管理中的临床意义[J].中国现代医学杂志,2019,29(7):76-79.
- [13] 高永伟,刘庆,李元霞,等.FeNO,C-ACT,1,25-(OH)₂-VD₃在儿童哮喘患儿预后评价中的意义[J].临床肺科杂志,2020,25(12):97-101.
- [14] 魏胜全,王惠霞,贾汝臻.孟鲁司特联合噻托溴铵对支气管哮喘缓解期患者的影响[J].实用临床医药杂志,2020,24(14):48-52.
- [15] 聂金,张景涛,周仪竟.支气管哮喘合并感染患者其血清PCT,CRP及血小板的变化分析[J].湖南师范大学学报:医学版,2020,16(2):178-181.
- [16] Wu Z, Zhang L, Xu S, et al. Predictive and prognostic value of ZEB1 protein expression in breast cancer patients with neoadjuvant chemotherapy [J]. Cancer Cell Int, 2019, 19(1):617-618.
- [17] 肖捷,杨丽萍,肖健,等.CD4~+CD25~+调节性T细胞在AIHA患者外周血中的表达及临床意义[J].中国医药科学,2020,10(16):199-202.
- [18] Akhter N, Madhoun A, Arefanian H, et al. Oxidative Stress Induces Expression of the Toll-Like Receptors (TLRs) 2 and 4 in the Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Metabolic Inflammation [J]. Cell Physiol Biochem, 2019, 53(1):1-18.
- [19] Battaglin F, Ou FS, Qu X, et al. Predictive and prognostic value of HER2 gene expression and HER2 amplification in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) enrolled in CALGB/SWOG 80405 (Alliance) [J]. Journal of Clinical Oncology, 2020, 38(15_suppl):4086.

心肌梗死患者血清cTnI、CK-MB、CRP水平变化及与心肌微循环状态的关系

邱立征^{1*} 于宏彬² 董博¹

[摘要] 目的 探讨心肌梗死患者血清心肌肌钙蛋白(cTnI)、肌酸激酶同工酶MB(CK-MB)、C-反应蛋白(CRP)水平变化及与心肌微循环状态的关系。方法 选取2018年6月至2021年3月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的90例心肌梗死患者作为心肌梗死组,并根据患者心电图ST段有无抬高分为ST段抬高组(STEMI)38例和非ST段抬高组(NSTEMI)52例,选取同期来院体检的80例健康人作为健康对照组,检测各组血清cTnI、CK-MB和CRP水平,并分析三者与心肌微循环状态的关系。结果 心肌梗死组血清cTnI、CK-MB、CRP水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。STEMI组血清cTnI、CK-MB、CRP水平均高于NSTEMI组,差异有统计学意义($P<0.05$)。心肌梗死组甲襞微循环输入支管径、输出支管径和血流速度均小于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。STEMI组甲襞微循环输入支管径、输出支管径和血流速度均小于NSTEMI组,差异有统计学意义($P<0.05$)。心肌梗死组微循环指标均与血清cTnI、CK-MB、CRP水平呈负相关($P<0.05$)。结论 心肌梗死患者血清cTnI、CK-MB、CRP水平较健康人群高,且与心肌微循环呈负相关,临床可将其作为诊断心肌梗死患者心肌微循环状态的参考指标。

[关键词] 心肌梗死;血清心肌肌钙蛋白;肌酸激酶同工酶MB;C-反应蛋白;心肌微循环

Changes of serum cTnI, CK-MB and CRP levels in patients with myocardial infarction and their relationship with myocardial microcirculation

ZHI Lizheng^{1*}, YU Hongbin², DONG Bo¹

(1. Department of Emergency, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038;

2. Department of Thoracic Surgery, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100020)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the changes of serum cardiac troponin (cTnI), creatine kinase MB (CK-MB) and C-reactive protein (CRP) levels in patients with myocardial infarction and their relationship with myocardial microcirculation. **Methods** 90 patients with myocardial infarction admitted to Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from June 2018 to March 2021 were selected as the myocardial infarction group. According to the presence or absence of electrocardiogram ST-segment elevation, the patients were divided into the ST-segment elevation group (STEMI group, 38 cases) and the non-ST-segment elevation group (NSTEMI group, 52 cases). And 80 healthy people who came to the hospital for physical examination during the same period were selected as the healthy control group. The levels of serum cTnI, CK-MB and CRP were detected in each group, and the relationship between the above three levels and myocardial microcirculation status was analyzed. **Results** The levels of serum cTnI, CK-MB and CRP in the myocardial infarction group were higher than those in the healthy control group ($P<0.05$). The levels of serum cTnI, CK-MB and CRP in the STEMI group were higher than those in the NSTEMI group ($P<0.05$). The input branch diameter, output

基金项目:北京市科学技术委员会课题(Z181100000417058)

作者单位:1.首都医科大学附属北京世纪坛医院急诊科,北京 100038

2.首都医科大学附属北京朝阳医院胸外科,北京 100020

*通信作者:邱立征, E-mail: zhilizheng666@163.com

branch diameter and blood flow velocity of nailfold microcirculation were shorter or slower in the myocardial infarction group than those in the healthy control group ($P<0.05$). The input branch diameter, output branch diameter and blood flow velocity of nailfold microcirculation in the STEMI group were shorter or slower compared with those in the NSTEMI group ($P<0.05$). The microcirculation indicators in the myocardial infarction group were negatively correlated with serum cTnI, CK-MB and CRP ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum cTnI, CK-MB and CRP in patients with myocardial infarction are higher than those in healthy people and they are negatively correlated with myocardial microcirculation. They can be used as reference indicators for clinical diagnosis of myocardial microcirculation in patients with myocardial infarction.

[KEY WORDS] Myocardial infarction; Serum cardiac troponin; Creatine kinase MB; C-reactive protein; Myocardial microcirculation

心肌梗死是指因冠状动脉出现急性阻塞,导致心脏急性缺血缺氧而引起的心肌坏死,可分为ST段抬高型(ST segment elevation myocardial infarction, STEMI)和非ST段抬高型(non-ST segment elevation myocardial infarction, NSTEMI)。目前临床针对心肌梗死患者一般采取皮冠状动脉介入治疗,随着近年来临床对冠状动脉慢血流现象研究的深入以及皮冠状动脉介入治疗的广泛应用,心肌微循环状态成为临床关注的重点^[1]。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是临床用于反映机体受到感染或组织损伤时的炎症标志物,有研究表明CRP可预示心血管疾病的发展和危险程度,可在心肌损伤早期急剧上升^[2]。心肌肌钙蛋白(serum cardiac troponin, cTnI)和肌酸激酶同工酶MB(creatine kinase MB, CK-MB)均可反映心肌损伤,二者均可应用于心肌梗死的早期诊断及鉴别诊断中^[3-4]。本研究主要探讨心肌梗死患者血清cTnI、CK-MB、CRP水平变化及与心肌微循环状态的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2021年3月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的90例心肌梗死患者作为心肌梗死组。纳入标准:符合《急性心肌梗死诊断和治疗指南》中心肌梗死的诊断标准^[5];排除标准:心功

能不全者;患有先天性心脏病;合并恶性肿瘤;合并严重肝肾功能不全者;患有先天性免疫疾病。根据心肌梗死患者ST段有无抬高分为STEMI组38例和NSTEMI组52例,选取同期来院体检的80例健康人作为健康对照组,两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究已通过院医学伦理委员会审核批准,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

心肌梗死患者和健康对照组于入院当日和体检当日空腹抽取静脉血5 mL,分离上层血清后进行检测。采用化学发光法检测血清cTnI、CK-MB,全自动化学发光分析(苏械注准20192220813)仪购自江苏拜明生物技术有限公司,试剂盒购自北京华科泰生物技术股份有限公司;采用乳胶增强免疫比浊法检测CRP,仪器购自烟台艾德康生物科技有限公司,试剂盒购自上海聚创医药科技有限公司;采用微循环检测仪(徐州众联医疗器械有限公司,苏械注准20182061472)检测心肌微循环指标,包括甲襞微循环血流速度、输入支管径和输出支管径。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计处理,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,将血清cTnI、CK-MB、CRP水平与微循环状态指标进行Pearson相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 STEMI组、NSTEMI组和健康对照组基本资料比较 [$n(\%)$, $(\bar{x}\pm s)$]

Table 1 Comparison of basic data between myocardial infarction group and healthy control group [$n(\%)$, $(\bar{x}\pm s)$]

组别	n	年龄(岁)	性别		高血压		糖尿病		高血脂	
			男	女	有	无	有	无	有	无
STEMI组	38	68.48±8.02	27(71.05)	11(28.95)	23(60.53)	15(39.47)	21(55.26)	17(44.74)	23(60.53)	15(39.47)
NSTEMI组	52	69.32±8.04	38(73.08)	14(26.92)	34(65.38)	18(34.62)	29(55.77)	23(44.23)	35(67.31)	17(32.69)
健康对照组	80	68.54±8.52	57(71.25)	23(28.75)	38(47.50)	42(52.50)	38(47.50)	42(52.50)	45(37.50)	35(62.50)
F/ χ^2 值		0.169		0.064		4.517		1.103		1.614
P值		0.844		0.968		0.105		0.576		0.446

2 结果

2.1 心肌梗死组和健康对照组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平比较

心肌梗死组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 心肌梗死组和健康对照组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of levels of serum cTnI, CK-MB and CRP between myocardial infarction group and healthy control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	cTnI (ng/mL)	CK-MB (ng/mL)	CRP (mg/L)
心肌梗死组	90	0.07±0.02	7.23±1.68	8.53±2.90
健康对照组	80	0.01±0.00	4.11±1.05	2.15±0.61
t 值		26.824	14.309	19.296
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 STEMI 组和 NSTEMI 组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平比较

STEMI 组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平均高于 NSTEMI 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 STEMI 组和 NSTEMI 组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of levels of serum cTnI, CK-MB and CRP between STEMI group and NSTEMI group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	cTnI (ng/mL)	CK-MB (ng/mL)	CRP (mg/L)
STEMI 组	38	0.08±0.03	8.06±2.03	9.33±1.52
NSTEMI 组	52	0.06±0.02	6.62±2.01	7.94±1.65
t 值		5.048	4.638	5.716
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 心肌梗死组和健康对照组微循环指标比较

心肌梗死组甲襞微循环输入支管径、输出支管径和血流速度均小于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 心肌梗死组和健康对照组微循环指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of microcirculation indicators between myocardial infarction group and healthy control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	输入支管径 (μm)	输出支管径 (μm)	血流速度 (mm/s)
心肌梗死组	90	7.26±2.44	10.36±2.48	0.43±0.09
健康对照组	80	8.56±2.38	11.75±2.35	0.58±0.08
t 值		3.508	3.738	11.425
P 值		0.001	<0.001	<0.001

2.4 STEMI 组和 NSTEMI 组微循环指标比较

STEMI 组甲襞微循环输入支管径、输出支管

径和血流速度均小于 NSTEMI 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表5 STEMI 组和 NSTEMI 组微循环指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of microcirculation indicators between STEMI group and NSTEMI group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	输入支管径 (μm)	输出支管径 (μm)	血流速度 (mm/s)
STEMI 组	38	7.89±2.06	9.88±1.03	0.40±0.06
NSTEMI 组	52	6.80±2.33	10.71±1.26	0.45±0.05
t 值		3.237	4.722	5.861
P 值		0.002	<0.001	<0.001

2.5 心肌梗死组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平与微循环指标的相关性

甲襞微循环输入支管径、输出支管径和血流速度均与血清 cTnI、CK-MB、CRP 呈负相关($P<0.05$)。见表6。

表6 心肌梗死组血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平与微循环指标的相关性

Table 6 Correlation between levels of serum cTnI, CK-MB and CRP and microcirculation indicators in myocardial infarction group

项目	指标	r 值	P 值
输入支管径	cTnI	-0.415	<0.001
	CK-MB	-0.458	<0.001
	CRP	-0.521	<0.001
输出支管径	cTnI	-0.412	<0.001
	CK-MB	-0.336	<0.001
	CRP	-0.485	<0.001
血流速度	cTnI	-0.365	<0.001
	CK-MB	-0.322	<0.001
	CRP	-0.642	<0.001

3 讨论

心肌梗死是临床常见的心血管疾病,临床多表现为心前区持续性的压榨性疼痛^[6]。心肌梗死因发病较急,病情凶险,常危及患者生命^[7]。STEMI 大多是在冠状动脉病变的基础上发生的急性心肌缺血性坏死,NSTEMI 则与不稳定粥样硬化斑块、微血管栓塞等因素导致的急性亚急性心肌供血不足有关,二者均与患者冠状动脉情况密切相关^[8]。

本研究结果显示,心肌梗死患者血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平高于健康对照组,且 STEMI 患者血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平高于 NSTEMI 患者,提示血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平与心肌梗死严重程度密切相关,可为心肌梗死的诊断提供重要的参考价值,与阮一等^[9]研究结果类似。血清 cTnI、CK-MB

均为特异性和灵敏性较强的心肌损伤标志物,血清 cTnI 是心肌肌肉收缩的调节蛋白,参与心肌细胞舒缩功能的调节,当心肌细胞膜受损时,游离型 cTnI 可迅速从细胞中释放进入血液,在血循环中出现较早,且持续时间较长,为心肌损伤首选标志物^[10]。血清 CK-MB 主要存在于心肌细胞中,在心肌梗死发生 6 小时之内便可升高^[11]。CRP 是机体在受到感染或组织损伤时血浆中一些急剧上升的蛋白质,可作为预示心血管疾病进程的非特异性炎症标志物,炎症反应越高,表示心肌受损程度越深^[12]。由于 STEMI 患者冠状动脉狭窄程度通常更为严重,心功能受损更为严重,故其 CRP 水平急剧上升,且 STEMI 的发生以纤维蛋白血栓为主,表现以心肌持续缺氧受损为主,因此血清 cTnI、CK-MB 水平表达更为敏感。

向义桂等^[13]研究指出,外周微循环障碍程度与冠心病的严重程度有明显的相关性,无论是心绞痛还是心肌梗死,均存在不同程度外周微循环障碍。本研究结果显示,与健康对照组相比,心肌梗死患者的心肌微循环指标较低,且 STEMI 患者低于 NSTEMI 患者,说明心肌梗死病情越严重,心肌微循环状态越差,这与上述研究具有一致性。分析其原因为心肌梗死患者由于血液供应不足,使机体血循环处于相对较差的状态。甲襞微循环是有效反映人体手指末梢的毛细血管血流及其他相关情况的重要指标,不仅对局部微循环有着较高的反映价值,且对机体整体微循环状态有着积极的监测意义^[14]。本研究结果显示,心肌梗死组微循环状态指标与血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平均呈负相关,与胡玉海等^[15]研究结果相同。分析原因为心肌梗死患者微循环状态较差,导致甲襞微循环输入支管径、输出支管径和血流速度情况不佳,加重心肌梗死患者疾病进程^[16]。而当心肌梗死疾病进程越严重时,患者血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平表达越高,故而心肌梗死患者血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平与微循环状态呈现负相关,提示心肌损伤标志物及血清 CRP 对心肌梗死患者的临床预后具有一定价值,可反映心肌梗死患者心肌微循环状态。

综上所述,心肌梗死患者血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平较健康人群高,且与心肌微循环呈负相关,临床可将其作为诊断心肌梗死患者心肌微循环状态的参考指标。

参考文献

- [1] Pi SF, Liu YW, Li T, et al. Effect of sequential nicorandil on myocardial microcirculation and short-term prognosis in acute myocardial infarction patients undergoing coronary intervention[J]. J Thorac Dis, 2019, 11(3):744-752.
- [2] 宋克玉,吴旭平.降钙素原、C反应蛋白和白细胞联合检测在主动脉夹层和急性心肌梗死鉴别诊断中的意义[J].解放军医学院学报,2018,39(9):778-781.
- [3] 陈振,黄猛珣,李华,等.术前应用替罗非班对急性心肌梗死患者介入术后心肌供血和心肌收缩功能的影响[J].安徽医学,2019,40(1):53-56.
- [4] 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.
- [5] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会,《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.
- [6] Ferreira JP, Lamiral Z, Bakris G, et al. Red Cell Distribution Width in Patients with Diabetes and Myocardial Infarction: an analysis from the EXAMINE trial [J]. Diabet Obes Metab, 2021, 23(7):1580-1587.
- [7] Holmes MV, Millwood IY, Kartsonaki C, et al. Lipids, lipoproteins, and metabolites and Risk of myocardial infarction and Stroke [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(6):620-632.
- [8] 吴转转,赵红玉,李今朝.非 ST 段抬高型心肌梗死与 ST 段抬高型心肌梗死患者代谢特点的对比研究[J].医学与哲学,2018,39(10):33-37.
- [9] 阮一,何瑶,杨啸,等.替格瑞洛对急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗效果及血清 CRP、cTnI、CK-MB 水平的影响[J].现代生物医学进展,2017,17(33):6527-6530.
- [10] 王子宽,杨竞肖,白宝宝,等.急性心肌梗死患者血清 hs-CRP 及 CK-MB 水平与患者 Gensini 评分相关性研究[J].陕西医学杂志,2017,46(1):121-122.
- [11] 吴铮,吕响,王平,等.急性非 ST 段抬高型心肌梗死患者血清 hs-CRP、CK-MB、cTnI、NT-proBNP 的表达及临床意义[J].疑难病杂志,2018,17(12):1297-1300+1305.
- [12] 张静敏,高永莉,叶磊,等.炎症标志物在急性心肌梗死中的预测作用[J].医学综述,2020,26(18):3566-3571.
- [13] 向义桂,张前燕,熊青峰,等.微循环阻力指数与非心肌梗死冠心病病人心肌微循环状态的相关性分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(5):792-796.
- [14] 李龙,李荣荣.微循环状态及凝血相关指标评估急性心肌梗死患者预后的价值[J].血栓与止血学,2020,26(5):772-773.
- [15] 胡玉海,田佩孚.血清 CK-MB 和 FIB 水平与急性心肌梗死患者的冠状动脉狭窄程度关联[J].基因组学与应用生物学,2019,38(4):1864-1868.
- [16] 陈默,吴先军,杨小莉,等.不同治疗方案对急性 ST 抬高型心肌梗死患者 PCI 术后心功能及心肌微循环的影响[J].临床和实验医学杂志,2017,16(20):2030-2033.

凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平与结直肠癌患者术后DVT的关系

卢晓华^{1*} 田红梅² 王冲¹ 王孟娇¹

[摘要] **目的** 研究凝血四项、血浆D-二聚体(D-D)、N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)水平与结直肠癌患者术后深静脉血栓形成(DVT)的关系。**方法** 选择首都医科大学附属北京世纪坛医院2017年9月至2021年2月诊治的106例结直肠癌患者,根据是否发生DVT分为DVT组($n=24$)和非DVT组($n=82$),均于术前检测凝血四项、血浆D-D和NT-proBNP水平,分析上述指标对术后DVT的预测效能,并评估影响术后DVT发生的因素。**结果** DVT组患者APTT、NT-proBNP水平显著高于非DVT组,TT、D-D水平显著低于非DVT组,差异均有统计学意义($P<0.05$),两组患者PT、FIB水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平联合预测术后DVT的AUC值以及敏感度最高($P<0.05$)。两组患者年龄、术中失血、术后化疗、卧床时间、凝血四项以及血浆D-D、NT-proBNP水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。术后卧床时间 >3 d、凝血四项存在两项及以上异常、 $D-D\leq 1.51\ \mu\text{g/mL}$ 、 $NT\text{-}proBNP>94.79\ \text{pg/mL}$ 是影响术后DVT发生的危险因素($P<0.05$)。**结论** 凝血四项、血浆D-D以及NT-proBNP水平的异常变化均与结直肠癌患者术后DVT发生相关,监测上述指标变化对于预测患者DVT发生有较高价值。

[关键词] 凝血四项; D-二聚体; N末端脑钠肽前体; 结直肠癌; 腹腔镜术; 深静脉血栓

Relationship between four coagulation indexes, plasma D-D and NT-proBNP levels and postoperative DVT in patients with colorectal cancer

LU Xiaohua^{1*}, TIAN Hongmei², WANG Chong¹, WANG Mengjiao¹

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

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship of four coagulation indexes, plasma D-dimer (D-D) and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) levels with deep venous thrombosis (DVT) in patients with colorectal cancer after surgery. **Methods** Totally 106 patients with colorectal cancer diagnosed and treated at Beijing Shijitan Hospital affiliated to Capital Medical University were selected between September 2017 and February 2021. According to the presence or absence of DVT, the patients enrolled were divided into the DVT group ($n=24$) and the non-DVT group ($n=82$). Four coagulation indexes, plasma D-D and NT-proBNP levels were detected before surgery, and their predictive value for DVT was analyzed. The influencing factors of postoperative DVT were analyzed. **Results** The APTT and NT-proBNP levels in the DVT group were significantly longer or higher than those in the non-DVT group, and the TT and D-D levels were significantly shorter or lower than those in the non-DVT group, with statistically significant differences ($P<0.05$). There were no statistically significant differences in PT and FIB levels between the two groups ($P>0.05$). The AUC value

基金项目:北京市科学技术委员会课题(Z171100000417015)

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

2.首都医科大学附属北京世纪坛医院护理部,北京 100038

*通信作者:卢晓华, E-mail:luxiaohua3420@bjsjth.cn

and sensitivity of combination of four coagulation indexes, plasma D-D and NT-proBNP levels were the highest in predicting postoperative DVT ($P<0.05$). Age, intraoperative blood loss, postoperative chemotherapy, time in bed, four coagulation indexes, plasma D-D and NT-proBNP levels showed statistically significant differences between the two groups ($P<0.05$), and the other indicators showed no statistically significant differences between the two groups ($P>0.05$). Postoperative time in bed >3 d, abnormalities in two or more of the four coagulation indexes, D-D level ≤ 1.51 $\mu\text{g/mL}$, and NT-proBNP level >94.79 pg/mL were risk factors for postoperative DVT ($P<0.05$). **Conclusion** The abnormal changes of coagulation four items, plasma D-D and NT-proBNP levels are all related to the occurrence of postoperative DVT in patients with colorectal cancer. Monitoring the changes of the above indicators is of high value for predicting the occurrence of DVT in patients.

[KEY WORDS] Four coagulation index; D-dimer; NT-proBNP; Colorectal cancer; Laparoscopic surgery; DVT

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,据统计,我国结直肠癌5年生存率仅约55%^[1]。近年来,腹腔镜结直肠癌根治术的发展促使患者预后水平逐渐改善^[2-3],但其术中及术后并发症的发生也逐步得到重视。深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)是腹部手术后的严重并发症之一,主要是因血液在深静脉内异常凝结引起的^[3],其发生会导致致残率和致死率的升高。现阶段临床虽通过超声等影像学检查可诊断DVT的发生,但对于其预测尚缺乏有效手段。血液凝固性增高被认为是导致DVT发生的重要因素,凝血四项以及血浆D-二聚体(D-Dimer, D-D)水平被认为可反映凝血系统情况,有研究表明两者均与静脉血栓的发生相关^[4-5]。N末端脑钠肽前体(N terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)是早期心功能损害的敏感标志物,近年来有研究显示其在肺血栓栓塞等血栓疾病中也具有一定的临床意义^[6],但国内其对于术后DVT的预测价值尚无研究报道。本研究将探讨凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平对结直肠癌患者腹腔镜术后DVT的预测价值,以期对DVT的预测提供方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择首都医科大学附属北京世纪坛医院2017年9月至2021年2月诊治的106例结直肠癌患者,其中男70例,女36例;平均年龄(52.78 ± 8.59)岁。纳入标准:①符合结直肠癌诊断标准^[7],②均在本院接受腹腔镜结直肠癌根治术治疗;③患者临床资料完整;④入院前1个月无抗凝药物使用史。排除标准:①感染、脓毒血症患者;②合并血液系统疾病者;③自身免疫性疾病者;④术前确诊DVT

者;⑤合并其他恶性肿瘤。根据患者术后是否发生DVT分为DVT组(24例)和非DVT组(82例)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

收集所有患者年龄、性别、手术情况、术后并发症等一般资料,术前以及术后1d抽取患者空腹静脉血5mL,置于含有1/10体积0.109 mol/L枸橼酸钠抗凝液的试管中,3 000 r/min离心10 min,收集上层液(血浆,黄色)。采用全自动凝血分析仪测定凝血四项[凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、部分凝血活酶时间(Activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)和纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)]水平,采用酶联免疫吸附法检测血浆D-D水平,采用电化学发光免疫分析法检测NT-proBNP水平。术后进行深静脉彩超检查,范围从髂总静脉至小腿深静脉,观察下肢深浅静脉在B超探头加压情况下静脉主干是否可被压缩,内有无异常血栓,血栓位置、大小、范围、周围血流情况,DVT诊断标准参考相关文献^[8]。

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件分析数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 或连续性校正 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行 t 检验;采用Logistic回归分析影响术后DVT形成的多因素;采用受试者工作曲线(ROC)分析凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平对术后DVT的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平比较

DVT组患者APTT、NT-proBNP水平显著高于

非 DVT 组, TT、D-D 水平显著低于非 DVT 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 两组患者 PT、FIB 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 凝血四项、血浆 D-D、NT-proBNP 水平对术后 DVT 的预测价值

凝血四项、血浆 D-D、NT-proBNP 水平联合预测术后 DVT 的 AUC 值以及敏感度最高 ($P <$

0.05)。见表 2 和图 1。

2.3 影响术后 DVT 形成的单因素分析

DVT 组患者年龄 ≥ 65 岁、术中失血 ≥ 150 mL、术后无辅助化疗、术后卧床时间 > 3 d、凝血四项存在两项及以上异常、D-D ≤ 1.51 $\mu\text{g/mL}$ 、NT-proBNP > 94.79 pg/mL 发生率显著高于非 DVT 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 两组患者凝血四项、血浆 D-D、NT-proBNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of four blood coagulation indexes, plasma D-D and NT-proBNP levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	PT(s)	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	D-D($\mu\text{g/mL}$)	NT-proBNP(pg/mL)
DVT 组	24	13.62 \pm 1.44	42.27 \pm 4.16	14.76 \pm 0.85	4.45 \pm 1.07	1.38 \pm 0.35	108.48 \pm 27.73
非 DVT 组	82	14.15 \pm 1.26	38.35 \pm 4.22	15.37 \pm 1.34	4.83 \pm 1.13	1.83 \pm 0.48	91.34 \pm 25.19
t 值		1.754	4.015	2.106	1.466	4.277	2.866
P 值		0.082	<0.001	0.038	0.146	<0.001	0.005

表 2 凝血四项、血浆 D-D、NT-proBNP 水平对术后 DVT 的预测价值

Table 2 The predictive value of four coagulation indexes, plasma D-D and NT-proBNP levels for postoperative DVT

指标	AUC	标准误差	95%CI	敏感度	特异度	截断值	P 值
PT	0.607	0.068	0.472~0.741	0.625	0.610	≤ 13.76 s	0.113
APTT	0.825	0.044	0.739~0.911	0.708	0.817	> 41.92 s	<0.001
TT	0.658	0.053	0.553~0.762	0.917	0.439	≤ 15.65 s	0.019
FIB	0.470	0.069	0.336~0.605	0.542	0.622	> 4.87 g/L	0.659
D-D	0.692	0.055	0.584~0.801	0.625	0.732	≤ 1.51 $\mu\text{g/mL}$	0.004
NT-proBNP	0.660	0.062	0.538~0.781	0.750	0.549	> 94.79 pg/mL	0.018
联合预测	0.897	0.031	0.836~0.958	0.958	0.720		<0.001

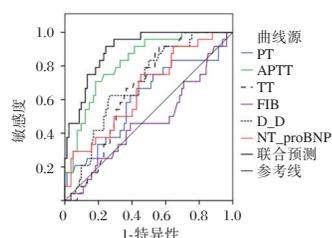


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

2.4 影响术后 DVT 发生的多因素分析

以术后是否发生 DVT 为因变量 (发生 DVT=1, 未发生 DVT=0), 以单因素分析中有统计学意义的指标为自变量赋值 (年龄 < 65 岁=0, ≥ 65 岁=1; 术中失血 < 150 mL=0, ≥ 150 mL=1; 术中辅助化疗有=1, 无=0; 术后卧床时间 > 3 d=1, ≤ 3 d=0; 凝血四项均正常=0, 一项异常=1, 两项及以上异常=2; D-D ≤ 1.51 $\mu\text{g/mL}$ =0, > 1.51 $\mu\text{g/mL}$ =1; NT-proBNP > 94.79 pg/mL=1, ≤ 94.79 pg/mL=0), 进行 Logistic 回归分析, 结果显示术后卧床时间 > 3 d、凝血四项存在两项及以上异常、D-D ≤ 1.51 $\mu\text{g/mL}$ 、NT-proBNP > 94.79 pg/mL 是影响术后 DVT 发生的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

国外研究报道腹部外科手术术后未采用任何预防措施者, 术后 DVT 发生率达 15%~19%^[9]。国内也有研究表明 DVT 是腹腔镜结直肠癌根治术患者术后严重并发症^[10]。目前临床主要通过彩色多普勒超声诊断 DVT, 该方法可清晰显示静脉的解剖结构和血流动力学特征, 其准确率已得到公认。但其缺点在于检查时间长, 部分患者甚至因在一定的时间内不能完成检查而需要延长住院时间, 且连续的超声检查促使诊疗计划更为繁琐。因此, 寻找合适的预测 DVT 的生物标志物是非常有必要的。

本研究 109 例患者中, 术后彩超诊断 DVT 24 例, 发生率为 22.02%, 略高于既往研究报道^[9-10], 其原因可能与病例数选取较少等因素有关。Rees 等人^[11]研究表明胃肠道肿瘤本身就是术后 DVT 发生的高危因素, 而手术本身也可能从术前、术中、术后等各方面增加术后 DVT 发生风险。腹腔镜手术虽然创伤小, 但术中使用的气腹可使下肢静脉血流缓慢, 从而导致 DVT 的发生^[12]。本研究结果提示 DVT 患者存在凝血四项以及 D-D 水平异常,

表3 影响术后DVT形成的单因素分析 [n(%)]

Table 3 Single factor analysis of postoperative DVT [n(%)]

临床资料	DVT组 (n=24)	非DVT组 (n=82)	χ^2 值	P值
性别				
男	13(54.17)	57(69.51)	1.949	0.163
女	11(45.83)	25(30.49)		
年龄				
<65岁	13(54.17)	66(80.49)	5.357	0.021
≥65岁	11(45.83)	16(19.51)		
术中失血(mL)				
<150	5(20.83)	37(45.12)	4.578	0.032
≥150	19(79.17)	45(54.88)		
肿瘤位置				
直肠	14(58.33)	51(62.20)	3.795	0.284
左半结肠	5(20.83)	15(18.29)		
右半结肠	3(12.50)	15(18.29)		
多发	2(8.33)	1(1.22)		
病理类型				
腺癌	20(83.33)	77(93.90)	1.963	0.161
黏液腺癌	4(16.67)	6(7.31)		
肿瘤浸润深度				
T1或T2	6(25.00)	11(13.41)	1.851	0.174
T3或T4	18(75.00)	71(86.59)		
淋巴结侵犯				
有	14(58.33)	34(41.46)	2.133	0.144
无	10(41.67)	48(58.54)		
TNM分期				
I~II期	11(45.83)	39(47.56)	0.022	0.881
III~IV期	13(54.17)	43(52.44)		
分化程度				
低分化	5(20.83)	13(15.85)	0.327	0.568
中高分化	19(79.17)	69(84.15)		
术后辅助化疗				
有	15(62.50)	67(81.71)	3.911	0.048
无	9(37.50)	15(18.29)		
术后卧床时间				
>3 d	12(50.00)	17(20.73)	8.003	0.005
≤3 d	12(50.00)	65(79.27)		
凝血四项				
均正常	4(16.67)	61(74.39)	22.353	<0.001
一项异常	9(37.50)	17(20.73)		
两项及以上异常	11(45.83)	4(4.88)		
D-D≤1.51 μg/mL	19(79.17)	24(29.27)	19.173	<0.001
NT-proBNP>94.79 pg/mL	16(66.67)	27(32.83)	10.586	0.001

表4 影响术后DVT发生的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of postoperative DVT

因素	β 值	SE值	OR值	95%CI	P值
术后卧床时间(>3 d)	1.039	0.435	2.826	1.205~6.630	0.017
凝血四项(两项及以上异常)	1.194	0.324	3.300	1.749~6.228	<0.001
D-D≤1.51 μg/mL	0.937	0.286	2.552	1.457~4.471	0.001
NT-proBNP>94.79 pg/mL	0.837	0.307	2.309	1.265~4.215	0.007

与徐弋等人^[13]结果相类似。分析其原因,血液在血管中液态的维持主要依靠凝血与抗凝血系统的动态平衡,而手术、结直肠癌的发生会导致这种平衡失调,凝血系统占优势时,便会形成血栓,从而促使机体启动体内的纤溶激活系统用于溶解血

栓,D-D水平升高表明体内存在血栓以及溶解发生。凝血四项中,PT和APTT分别反映外源和内源凝血途径凝血因子的含量和活性,而TT是内外源凝血途径的共同通道,FIB是血凝块形成必需的蛋白,故DVT患者易出现凝血四项水平以及D-D水平异常。既往已有研究表明NT-proBNP水平升高可增加肺血栓栓塞发生的风险^[14],但与其与腹腔镜术后DVT发生的关系尚无研究报道。通过Logistic回归分析,发现凝血四项存在两项及以上异常、D-D≤1.51 μg/mL、NT-proBNP>94.79 pg/mL是影响术后DVT发生的危险因素,提示术后应严密监测凝血四项、D-D和NT-proBNP水平。

本研究还显示卧床时间长也是促进DVT形成的因素之一,与杨文英等人^[15]研究结果相一致。结直肠癌患者在手术后,卧床时间延长会使下肢活动受限,肌肉处于松弛状态,致使静脉血流缓慢淤滞,增加DVT发生风险。此外,ROC曲线结果显示凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平联合预测术后DVT的AUC值以及敏感度最高,肯定了上述指标对于结直肠癌腹腔镜手术患者DVT的预测价值。但是单一指标的预测能力往往是有限的,在临床实践工作中,建议联合凝血四项、D-D和NT-proBNP三者共同预测DVT发生。

综上所述,凝血四项、血浆D-D和NT-proBNP水平异常升高均是影响结直肠癌腹腔镜手术患者术后DVT发生的危险因素,均对DVT的发生具有一定的预测价值,且三者联合的预测效能更高。

参考文献

[1] 田剑波,温艳,杨卓煜,等.全球结直肠癌筛查指南及共识质量评价[J].中华流行病学杂志,2021,42(2):248-257.
 [2] 何子锐,臧璐,马君俊,等.3D腹腔镜结直肠癌根治术的应用现状与展望[J].中华消化外科杂志,2017,16(8):804-807.
 [3] Sinnamon AJ, Tong JKC, Bailey EA, et al. Prospective implementation of a standardized screening protocol for deep venous thrombosis in abdominal surgical oncology patients[J]. J Surg Oncol, 2018, 118(3):568-573.
 [4] 严婷,黄海城,宋伏虎,等.乌司他丁对腹腔镜手术患者术后深静脉血栓形成的影响[J].广东医学,2016,37(15):2334-2337.
 [5] 陈昌礼,银保,徐德兴,等.D-D,FIB及PAI-1在创伤性脊柱骨折表达及术后静脉血栓的预测[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):43-46.
 [6] Matusik PT, Malecka B, Lelakowski J, et al. Association of NT-proBNP and GDF-15 with markers of a prothrombotic state in patients with atrial fibrillation off anticoagulation[J]. Clin Res Cardiol, 2020, 109(4):426-434. (下转第502页)

前庭性偏头痛患者血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP的检测及临床意义

许晓辉* 段智慧 蔡卫卫 刘海林

[摘要] **目的** 探讨血清5-羟色胺(5-HT)、一氧化氮(NO)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)及降钙素基因相关肽(CGRP)水平对前庭性偏头痛(VM)患者的临床意义。**方法** 选取2019年9月至2020年9月郑州大学附属洛阳中心医院收治的60例VM患者为研究组,60例健康体检人员为对照组。检测2组血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平;记录研究组1个月内偏头痛及眩晕发作频次、平均持续时间和偏头痛疼痛程度,分析血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者偏头痛及眩晕的关系。**结果** 研究组血清5-HT水平低于对照组,血清NO、MMP-9及CGRP水平高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组偏头痛发作频次(8.05 ± 2.53)次/月,发作持续时间(17.26 ± 5.44)h,VAS评分(6.98 ± 2.31)分;眩晕发作频次(5.38 ± 1.72)次/月,发作持续时间(25.88 ± 8.12)h。血清5-HT水平与患者偏头痛及眩晕的发作频次、平均持续时间及VAS评分均呈负相关关系($P < 0.05$),而血清NO、MMP-9及CGRP与患者偏头痛及眩晕的发作频次、平均持续时间及VAS评分均呈正相关关系($P < 0.05$)。**结论** 血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者症状程度相关,可能是病情评估的潜在参考指标。

[关键词] 前庭性偏头痛;5-羟色胺;一氧化氮;基质金属蛋白酶9;降钙素基因相关肽

Detection and clinical significance of serum 5-HT, NO, MMP-9 and CGRP in patients with vestibular migraine

XU Xiaohui*, DUAN Zhihui, CAI Weiwei, LIU Hailin

(Department of Neurology, Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Luoyang, Henan, China, 471000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the clinical significance of serum 5-hydroxytryptamine (5-HT), nitric oxide (NO), matrix metalloprotein-9 (MMP-9) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) levels for patients with vestibular migraine (VM). **Methods** A total of 60 patients with VM admitted to Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University were enrolled as the study group between September 2019 and September 2020, while other 60 healthy controls were enrolled as the control group. The levels of serum 5-HT, NO, MMP-9 and CGRP in both groups were detected. The frequency and average duration of headache and dizziness within 1 month, and migraine degree in the study group were recorded. **Results** The level of serum 5-HT in the study group was lower than that in the control group, while the levels of NO, MMP-9 and CGRP were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The frequency and duration of migraine attacks, VAS score, frequency and duration of dizziness in the study group were (8.05 ± 2.53) times/month, (17.26 ± 5.44) h, (6.98 ± 2.31), (5.38 ± 1.72) times/month and (25.88 ± 8.12) h, respectively. The level of serum 5-HT was negatively correlated with the frequency and average duration of headache and dizziness, and VAS score ($P < 0.05$), while the levels of serum NO, MMP-9 and CGRP were positively correlated with the frequency and average duration of headache and dizziness, and VAS score ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of serum 5-HT, NO, MMP-9 and CGRP are related to the severity of symptoms in VM patients, and may be potential reference

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建立项目(LHGJ20191203)

作者单位:郑州大学附属洛阳中心医院神经内科,河南,洛阳471000

*通信作者:许晓辉, E-mail: xuxiaohui7811@126.com

indicators for disease assessment.

[KEY WORDS] Vestibular migraine; 5-hydroxytryptamine; Nitric oxide; Matrix metalloprotein-9; Calcitonin gene-related peptide

前庭性偏头痛(Vestibular migraine, VM)是偏头痛中十分常见的一种类型,约占偏头痛的10.3%~21%^[1-2]。VM可引发患者反复眩晕发作,临床主要表现为中枢性眩晕或外周性眩晕疾病,对患者的日常生活造成极大不便。由于该病属于跨学科疾病,患者可能会就诊于神经内科或耳鼻喉科,而两科室医生的关注点不同,易导致漏诊或误诊^[3]。现阶段,临床对于偏头痛的主要病理生理机制仍未完全明确。部分学者认为,偏头痛的发生可能与5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、降钙素基因相关肽(Calcitonin gene-related peptide, CGRP)等神经递质的紊乱息息相关^[4-5]。也有学者指出,一氧化氮(Nitric oxide, NO)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloprotein-9, MMP-9)可能会扩张血管、改变大脑血管的通透性,从而导致偏头痛的发生^[6-7]。VM的发病机制与普通偏头痛的发病机制有一定程度的类似之处,因而推测上述因子也可能会直接或间接参与到VM的发生、发展中。故本研究将探讨VM患者血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平特征,并分析其临床意义,以期对VM的发病机制及病情辅助评估等提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年9月至2020年9月郑州大学附属洛阳中心医院收治的60例VM患者为研究组,其中男24例,女36例;平均年龄(39.13±5.11)岁。纳入标准:①均符合《前庭性偏头痛诊治专家共识(2018)》^[8]中相关诊断标准;②经脑电图、脑部CT及MRI等检查无器质性病变、颅内感染等其他脑功能异常;③年龄18~70周岁;④病程>1年;⑤入组前1个月内未接受过相关治疗;⑥配合度高,自愿检测相关指标。排除标准:①紧张性头痛、偏瘫性头痛、高血压头痛等其他类型头痛;②出血、感染等引发的继发性头痛;③脑卒中后遗症者;④合并恶性肿瘤、下丘脑-垂体内分泌疾病、先天免疫缺陷性疾病;⑤合并肝、肾、心功能异常;⑥合并精神疾病,存在认知功能障碍无法正常沟通者;⑦孕妇、哺乳期妇女;⑧既往有药物或酒精滥用史。另选取同期于本院体检的60例健康人员为对照组,其中男22例,女38例;平

均年龄(39.86±5.02)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),均衡可比。本院伦理委员会已通过此项目,患者知情并同意参与。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 血清学指标检测

采集2组清晨空腹静脉血10 mL,离心分离上清。采用酶联免疫吸附法检测血清5-HT、MMP-9及CGRP水平,试剂盒均购自上海康朗生物科技有限公司。血清NO水平采用分光光度计检测。

1.2.2 头痛及眩晕症状指标评估

采用问卷调查方式对研究组患者进行头痛及眩晕发作频次和平均持续时间的调查,以1个月内发作次数为准。

1.2.3 偏头痛疼痛程度评估

采用视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)^[9]评估研究组患者偏头痛疼痛程度,量表总分0~10分,分值越低提示疼痛越轻。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,对计量资料进行正态性检验,如果各组均满足正态性且两组间方差齐,采用两样本独立 t 检验比较两组间差异性;采用Pearson相关性分析血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者偏头痛及眩晕之间的相关性,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平比较

研究组患者血清5-HT水平明显低于对照组,而血清NO、MMP-9及CGRP水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum 5-HT, NO, MMP-9 and CGRP levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	5-HT ($\mu\text{g/L}$)	NO (ng/L)	MMP-9 ($\mu\text{g/L}$)	CGRP (ng/L)
研究组	60	80.49±15.93	101.35±21.27	192.57±40.82	59.02±8.95
对照组	60	112.96±18.54	47.08±9.31	108.93±29.61	45.13±6.73
t 值		10.289	18.105	12.847	9.608
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 VM患者头痛及眩晕发作频次、平均持续时间及VAS评分情况

研究组VM患者偏头痛发作频次为(8.05±2.53)次/月,发作持续时间为(17.26±5.44)h,疼痛程度VAS评分为(6.98±2.31)分;研究组VM患者眩晕发作频次为(5.38±1.72)次/月,发作持续时间为(25.88±8.12)h。

2.3 血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者偏头痛的关系

Pearson相关性分析结果显示,血清5-HT水平与VM患者偏头痛的发作频次、平均持续时间及VAS评分均呈负相关关系($P<0.05$),而血清NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者偏头痛的发作频次、平均持续时间及VAS评分均呈正相关关系($P<0.05$)。见表2。

表2 血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者偏头痛的关系

Table 2 The relationship between serum 5-HT, NO, MMP-9, CGRP levels and migraine in VM patients

指标	发作频次		平均持续时间		VAS评分	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
5-HT	-0.348	0.003	-0.307	0.017	-0.329	0.010
NO	0.429	0.001	0.309	0.016	0.298	0.021
MMP-9	0.397	0.002	0.318	0.013	0.312	0.015
CGRP	0.337	0.009	0.408	0.001	0.326	0.011

2.4 血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者眩晕的关系

Pearson相关性分析结果显示,血清5-HT水平与VM患者眩晕的发作频次、平均持续时间均呈负相关关系($P<0.05$),而血清NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者眩晕的发作频次、平均持续时间均呈正相关关系($P<0.05$)。见表3。

表3 血清5-HT、NO、MMP-9及CGRP水平与VM患者眩晕的关系

Table 3 The relationship between serum 5-HT, NO, MMP-9, CGRP levels and dizziness in VM patients

指标	发作频次		平均持续时间	
	r值	P值	r值	P值
5-HT	-0.337	0.009	-0.326	0.011
NO	0.272	0.036	0.330	0.010
MMP-9	0.263	0.042	0.304	0.018
CGRP	0.372	0.004	0.280	0.030

3 讨论

国际头痛分类标准将VM归类为一种特殊的疾病,并将之视作一种可能和偏头痛有关的周期

综合征,患者常存在眩晕、头晕和平衡失调等^[10]。目前对于VM的发病机制仍处于积极探索中,有学者推测其可能与普通偏头痛、前庭性眩晕的发病机制存在一定相似之处^[11]。

5-HT在大脑皮层质、神经突触内的水平尤其高,其作为一种抑制性神经递质与神经兴奋抑制联系十分紧密,对于调节大脑精神活动及血流等方面具有极为重要的作用^[12]。既往文献显示,偏头痛患者体内5-HT、CGRP水平异常,而使用5-羟色胺受体激活剂能够明显减轻患者偏头痛的发作^[13]。本研究在VM患者也发现了类似的结论,VM患者血清5-HT、CGRP水平异常,并与VM症状指标相关。对于VM患者而言,由于其中枢5-HT功能低下,会使机体内的兴奋性和抑制性神经通路的稳态平衡失衡,对三叉神经血管系统起到激活作用,从而使得P物质等神经递质、神经激肽A及CGRP的释放大大增加,促使脑膜血管的过度扩张并出现血管炎症,如血浆渗出、肥大细胞脱颗粒等,继而引发头痛症状;同时,由于中枢神经系统中负责平衡及痛觉的传导通路间存在相互重叠作用,前庭神经核与三叉神经核间也有纤维连接,因而可能会引发前庭眩晕症状。

研究发现,NO具有扩张血管、参与信息传递、抑制血小板聚集等众多作用,在偏头痛患者中水平异常,可能参与了偏头痛的发生机制^[14]。本研究结果提示血清NO水平的异常变化可能是导致VM病情进展的重要因素之一。推测,在VM患者中,随着脑血管通透性的增加,患者的血清NO水平进一步上升,而血清NO水平的动态改变可能会导致颅内血管舒缩功能障碍,形成水肿、血管痉挛等,加重缺血状况,引发偏头痛的发作。Yao等^[15]研究还指出,NO可以通过激活三叉神经节神经元Akt/GSK-3 β /NF- κ B信号通路来上调与偏头痛相关的CGRP水平,从而加重偏头痛病情。

既往研究显示,MMP-9在中枢神经系统的急慢性损伤等病理生理过程中扮演了重要角色,推测血清MMP-9水平的异常升高可能是加速偏头痛发作的潜在机制之一^[16]。本研究结果证实,VM患者中存在血清MMP-9含量的异常升高,且其与偏头痛及眩晕的症状指标呈正相关关系。MMP-9是基质金属蛋白酶家族的成员之一,其与血-脑脊液屏障微小损伤关系紧密,因而在神经源性炎症机制中发挥重要作用^[17]。本研究推测,VM患者的脑血管痉挛损伤诱使主要表达于血管内皮细胞中的MMP-9被大量激活,并作用于血管基底膜,从而造

成血管基底膜成分水解,进而引发血管源性脑水肿,加重偏头痛的发作,并形成炎症瀑布反应。同时,病理条件下,当机体出现神经血管反应时,MMP-9的大量增加可导致脑出血、继发性脑水肿等后续脑血管事件,加重病情进展,因此MMP-9也可作为潜在指标之一用于预测VM的发生程度。

综上,VM患者血清5-HT水平降低,NO、MMP-9及CGRP水平升高,且患者症状程度和上述各项指标存在一定相关性,临床可以通过监测上述指标的变化来帮助判断患者病情进展。

参考文献

- [1] Beh SC, Friedman DI. Acute vestibular migraine treatment with noninvasive vagus nerve stimulation[J]. *Neurology*, 2019, 93(18):e1715-e1719.
- [2] Colombo B, Teggi R, NIVE Project. Vestibular migraine: who is the patient?[J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(Suppl 1):107-110.
- [3] 肖卫,高不为.头痛宁胶囊联合麻黄附子细辛汤治疗偏头痛临床效果及对患者血清相关指标的影响[J]. *陕西中医*, 2019, 40(1):39-41.
- [4] Karaaslan Z, Özçelik P, Ulukan Ç, et al. Plasma levels of inflammatory mediators in vestibular migraine [J]. *Int J Neurosci*, 2020, 130(4):330-335.
- [5] Ferroni P, Barbanti P, Spila A, et al. Circulating Biomarkers in Migraine: New Opportunities for Precision Medicine [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(34):6191-6206.
- [6] 刘斌,马原源,毛文静,等.偏头痛模型大鼠血浆一氧化氮和降钙素基因相关肽含量变化及氟桂利嗪干预效果实验研究[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(7):5-7.
- [7] 肖悠美.镇脑宁胶囊联合阿魏酸钠治疗偏头痛的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(1):41-44.
- [8] 中国医师协会神经内科医师分会疼痛和感觉障碍学组,中国医药教育协会眩晕专业委员会,中国研究型医院学会头痛与感觉障碍专业委员会.前庭性偏头痛诊治专家共识(2018)[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2018, 24(7):481-488.
- [9] Carlsson AM. Assessment of chronic pain. I. Aspects of the reliability and validity of the visual analogue scale [J]. *Pain*, 1983, 16(1):87-101.
- [10] Lauritsen CG, Marmura MJ. Current Treatment Options: Vestibular Migraine [J]. *Curr Treat Options Neurol*, 2017, 30;19(11):38-38.
- [11] Beh SC. Vestibular Migraine: How to Sort it Out and What to Do About it [J]. *J Neuroophthalmol*, 2019, 39(2):208-219.
- [12] Villalón CM, VanDenBrink AM. The Role of 5-Hydroxytryptamine in the Pathophysiology of Migraine and its Relevance to the Design of Novel Treatments [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2017, 17(11):928-938.
- [13] Moreno-Ajona D, Chan C, Villar-Martínez MD, et al. Targeting CGRP and 5-HT_{1F} Receptors for the Acute Therapy of Migraine: A Literature Review [J]. *Headache*, 2019, 59 (Suppl 2):3-19.
- [14] Gündüztepe Y, Mit S, Geçioglu E, et al. The impact of acupuncture treatment on nitric oxide (NO) in migraine patients [J]. *Acupunct Electrother Res*, 2014, 39(3-4):275-283.
- [15] Yao G, Man YH, Li AR, et al. NO up-regulates migraine-related CGRP via activation of an Akt/GSK-3 β /NF- κ B signaling cascade in trigeminal ganglion neurons [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(7):6370-6384.
- [16] Gonçalves FM, Martins-Oliveira A, Lacchini R, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 gene polymorphisms affect circulating MMP-2 levels in patients with migraine with aura [J]. *Gene*, 2013, 512(1):35-40.
- [17] 张皓,周颖祯.脑出血大鼠相关蛋白表达与脑组织水肿和神经功能缺损关系的研究[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(6):584-587.
- [7] 中华医学会消化内镜学分会消化系早癌内镜诊断与治疗协,中华医学会消化病学分会消化道肿瘤协作组,中华医学会消化内镜学分会肠道学组,等.中国早期结直肠癌及癌前病变筛查与诊治共识意见(2014年11月·重庆)[J]. *中华内科杂志*, 2015, 54(4):375-389.
- [8] 中国临床肿瘤学会(CSCO)肿瘤与血栓专家共识委员会.肿瘤相关静脉血栓栓塞症的预防与治疗中国专家指南(2015版)[J]. *中国肿瘤临床*, 2015, 42(20):979-991.
- [9] Felder S, Rasmussen MS, King R, et al. Prolonged thromboprophylaxis with low molecular weight heparin for abdominal or pelvic surgery [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019, 8(8):CD004318.
- [10] 刘进宇,武雪亮,郭圣超,等.腹腔镜与开腹直肠癌根治术后下肢深静脉血栓形成的对照研究[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(16):108-113.
- [11] Rees PA, Clouston HW, Duff S, et al. Colorectal cancer and thrombosis [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2018, 33(1):105-108.
- [12] 钟超超,徐兴国,苗海航,等.腹腔镜下结直肠癌根治术对患者凝血和血小板功能的影响[J]. *江苏医药*, 2019, 45(7):698-700.
- [13] 徐弋,程波.血栓弹力图评估创伤后下肢静脉血栓患者凝血功能的价值[J]. *中华创伤杂志*, 2017, 33(12):1127-1132.
- [14] Ates H, Ates I, Kundi H, et al. Choice of marker for assessment of RV dysfunction in acute pulmonary embolism: NT-proBNP, pulmonary artery systolic pressure, mean arterial pressure, or blood pressure index [J]. *Herz*, 2017, 42(8):758-765.
- [15] 杨文英,何兰娟.子宫肌瘤术后并发下肢深静脉血栓的危险因素分析和防治对策[J]. *中国性科学*, 2018, 27(9):58-60.

(上接第498页)

肝动脉介入联合栓塞在肝癌合并脾功能亢进患者中的应用

祝德* 张军旗 杨俊 雷乃军

[摘要] **目的** 探究肝动脉介入联合脾动脉栓塞对肝癌合并脾功能亢进患者门静脉血流动力学及T淋巴细胞亚群的影响。**方法** 选取巴中市中心医院2016年7月至2019年7月收治的104例肝癌合并脾功能亢进患者,按照随机数字表法分为两组,各52例。对照组给予肝动脉介入栓塞治疗,观察组给予肝动脉介入联合脾动脉栓塞治疗。比较两组术前、术后7d外周血白细胞、血小板计数、肝功能指标[谷丙转氨酶(ALT)、总胆红素(TBIL)]、门静脉血流动力学(门静脉直径、门静脉对比剂达峰时间)、T淋巴细胞亚群(CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺)、血清肿瘤标志物[高尔基体糖蛋白73(GP73)、甲胎蛋白异质体-L3(AFP-L3)、转化生长因子-β1(TGF-β1)]及并发症发生情况。**结果** 术后7d观察组外周血白细胞、血小板计数高于对照组,血清ALT、TBIL低于对照组,门静脉对比剂达峰时间、门静脉直径短于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);观察组术后7d CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺高于对照组,血清AFP-L3、GP73、TGF-β1低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);两组腹水、胸腔积液、门静脉血栓发生率相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 肝动脉介入联合脾动脉栓塞治疗肝癌合并脾功能亢进能有效减轻患者脾功能亢进级肝功能损害,改善门静脉血流动力学及机体免疫功能,降低肿瘤标志物水平,且安全性高。

[关键词] 肝动脉介入;脾动脉栓塞;肝癌;脾功能亢进;门静脉血流动力学;T淋巴细胞亚群

Application of hepatic artery intervention combined with embolization in patients with liver cancer complicated by hypersplenism

ZHU De*, ZHANG Junqi, YANG Jun, LEI Naijun

(Department of Oncology, Central Hospital of Bazhong, Bazhong, Sichuan, China, 636000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of hepatic artery intervention combined with splenic artery embolization on portal vein hemodynamics and T lymphocyte subsets in patients with liver cancer complicated with hypersplenism. **Methods** A total of 104 patients with hepatocellular carcinoma and hypersplenism admitted from July 2016 to July 2019 in Central Hospital of Bazhong were selected and divided into two groups according to the random number table method, 52 cases each. The control group was given hepatic artery interventional embolization, and the observation group was given hepatic artery intervention and splenic artery embolization. The peripheral blood leukocytes, platelet count, liver function indexes [alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin (TBIL)], portal vein hemodynamics (portal vein diameter, portal vein contrast agent peak time), T lymphocyte subsets (CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺), serum tumor markers [Golgi glycoprotein 73 (GP73), alpha-fetoprotein heterogeneity-L3 (AFP-L3), transforming growth factor-β1 (TGF-β1)], and the occurrence of complications before and 7 days after operation were compared between the two groups. **Results** On the 7th day after operation, the peripheral blood leukocyte and platelet counts in the observation group were higher than those in the control group, the serum ALT and TBIL were lower than those in the control group, the peak time of portal contrast agent and the diameter of the portal vein were shorter than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$); 7 days after operation,

基金项目:巴中市科技支撑计划项目(2018-22015)

作者单位:四川省巴中市中心医院肿瘤科,四川,巴中636000

*通信作者:祝德, E-mail:441226764@qq.com

CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ in the observation group were higher than those in the control group, and serum AFP-L3, GP73, TGF- β 1 were lower than those in the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of pleural effusion and portal vein thrombosis ($P > 0.05$). **Conclusion** Hepatic artery intervention combined with splenic artery embolization in the treatment of liver cancer complicated with hypersplenism can effectively reduce the liver function damage of patients with hypersplenism, improve portal vein hemodynamics and immune function, and reduce the level of tumor markers, with high safety.

[KEY WORDS] Hepatic artery intervention; Splenic artery embolization; Liver cancer; Hypersplenism; Portal vein hemodynamics; T lymphocyte subsets

肝癌为临床常见恶性肿瘤,相关统计数据显示,肝癌患者中70%~90%伴有肝硬化、脾功能亢进,患者外周血象偏低,故不宜选取肝切除术^[1-2]。而肝动脉介入术是一种微创介入治疗方式,通过控制肿瘤血液供应,同时注入化疗药物,能有效抑制病情进展,但患者门静脉压增加,影响门静脉血流,会加剧其脾功能亢进,破坏白细胞,减少血小板,同时患者血液中抗氧化维生素、抗氧化酶含量降低,加重肝纤维化,具有负性抗肿瘤作用,加之肝癌及化疗导致的免疫功能受损、骨髓抑制、血细胞降低、粒细胞缺乏,增加患者感染、出血风险,致使预后效果欠佳^[3-5]。因此应及时抑制患者脾功能亢进,提高机体免疫功能。脾动脉栓塞术可在保留脾脏的基础上减轻患者脾功能亢进,且并发症少,与既往的脾切除相比安全性更高^[6],但目前临床关于其对肝动脉介入术患者门静脉血流状况及免疫状态影响如何,报道鲜少。本研究旨在从患者门静脉血流动力学及T淋巴细胞亚群变化等方面分组分析肝动脉介入联合脾动脉栓塞的应用价值。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取巴中市中心医院2016年7月至2019年7月收治的104例肝癌合并脾功能亢进患者,按照随机数字表法分为两组,各52例。两组年龄、性别、肿瘤个数、肿瘤最大径、Child-Pugh分级^[7]、病因、脾功能亢进程度、肝癌类型对比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

纳入标准:均符合肝癌诊断标准^[8];经病理检查确诊为肝癌;经CT或B超检查显示脾厚度 >4 cm、肝硬化;患者或家属知情本研究并签署同意书;预计生存期 >3 个月。**排除标准:**合并其他脏器严重病变者;既往外科手术史;严重凝血功能异常;肝功能衰竭;近一个月出现上消化道出血者;存在肝外转

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

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

一般资料	观察组 (n=52)	对照组 (n=52)	χ^2/t 值	P值
年龄(岁)	50.85±6.52	52.11±6.04	1.022	0.309
性别	男	29(55.77)	0.039	0.843
	女	23(44.23)		
肿瘤个数(个)	3.27±1.12	3.50±1.08	1.066	0.289
肿瘤最大径(cm)	2.89±0.42	2.92±0.38	0.382	0.703
Child-Pugh 分级	A	32(61.54)	0.166	0.684
	B	20(38.46)		
病因	酒精肝	6(11.54)	0.354	0.838
	丙肝	7(13.46)		
	乙肝	39(75.00)		
脾功能亢进程度	轻度	12(23.08)	0.134	0.894
	中度	29(55.77)		
	重度	11(21.15)		
肝癌类型	结节型	16(30.77)	0.334	0.846
	弥漫型	8(15.38)		
	巨块型	28(53.85)		

移者。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

对照组给予肝动脉介入栓塞治疗,术前行心电图、X线及肝脏增强CT检查,局麻后经股动脉穿刺至腹腔肝动脉,行肝动脉血管造影,注入阿霉素(瀚晖制药有限公司,国药准字H33021980)30 mg、丝裂霉素(瀚晖制药有限公司,国药准字H33020786)8 mg、顺铂(江苏豪森药业集团有限公司,国药准字H20040813)60 mg,以碘化油(烟台鲁银药业有限公司,国药准字H37022398)15 mL栓塞肿瘤供血动脉,拔管后加压包扎。观察组给予肝动脉介入联合脾动脉栓塞治疗,肝动脉介入方法同对照组,以Selding穿刺法置入导管至脾动脉主干或分支,脾动脉显影,于脾动脉下叶注入利多卡因(MOEHS IBERICA S.L.,批准文号H20150613)5 mL+庆大霉素(岳阳新华达制药有限公司,国药

准字 H43022236) 16 万单位+地塞米松(上海浦津林州制药有限公司国药准字, H41022642) 10 mg+生理盐水, 并以明胶海绵颗粒(杭州艾力康医药科技有限公司, 国药食药监械(准)字 2006 第 3770360 号) 800 μm 栓塞末梢, 栓塞面积维持在 40%~60%, 维持脾动脉血流。

1.2.2 检测方法

取清晨空腹静脉血 8 mL, 其中一份采用全自动血液生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, BC-30)检测外周血白细胞、血小板计数; 另一份室温凝固, 离心(转速: 3 500 r/min, 离心半径: 8 cm, 离心时间: 10 min), 分离取上层血清, 置于-80℃恒温箱待测; 采用酶联免疫吸附测定法(试剂盒由上海酶联生物科技有限公司提供)检测转化生长因子-β1(Transforming growth factor-β1, TGF-β1), 酶联免疫定量法检测高尔基体糖蛋白 73(Golgi glycoprotein 73, GP73), 微量离心柱法(试剂盒由上海江莱生物科技有限公司提供)检测甲胎蛋白异质体-L3(Alpha fetoprotein hetero-L3, AFP-L3), 酶速率法(试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供)检测谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT), 以重氮法(试剂盒由上海远慕生物科技有限公司提供)检测总胆红素(total bilirubin, TBIL)水平; 采用流式细胞仪(美国贝克曼库尔特

公司, CytoFLEX LX 型)检测 CD4⁺、CD8⁺水平, 并计算 CD4⁺/CD8⁺。所有操作由相同检验科高年资医师按照仪器或试剂盒说明书严格完成。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计分析软件, 计数资料以 n(%) 表示, 两组间比较采用 χ² 检验; 计量资料符合正态分布采取 ($\bar{x} \pm s$) 表示、t 检验, 非正态分布数据经自然对数转换成正态分布后施行分析, 两组间比较采用 t 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血白细胞、血小板计数、肝功能指标、门静脉血流动力学、T 淋巴细胞亚群

术前, 两组外周血白细胞、血小板计数、肝功能指标、门静脉血流动力学及 T 淋巴细胞亚群相比, 差异无统计学意义(P>0.05); 术后 7 d, 观察组外周血白细胞计数、血小板计数、ALT、TBIL、门静脉对比剂达峰时间、门静脉直径、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与对照组相比, 差异均有统计学意义(P<0.05)。见表 2。

2.2 两组血清肿瘤标志物

术前两组血清 AFP-L3、GP73、TGF-β1 相比, 差异无统计学意义(P>0.05); 观察组术后 7 d 血清 AFP-L3、GP73、TGF-β1 低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05)。见表 3。

表 2 两组外周血白细胞、血小板计数、肝功能指标、门静脉血流动力学、T 淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of peripheral blood leukocyte, platelet count, liver function index, portal vein hemodynamics and T lymphocyte subsets between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	观察组(n=52)		t 值	P 值	对照组(n=52)		t 值	P 值
	术前	术后 7 d			术前	术后 7 d		
白细胞计数(×10 ⁹ /L)	2.13±0.47	6.08±0.80 ^a	30.699	<0.001	2.15±0.51	2.36±0.69 ^a	1.765	0.081
血小板计数(×10 ⁹ /L)	37.60±5.29	84.17±8.74 ^a	32.871	<0.001	37.93±4.86	53.06±8.18	11.467	<0.001
ALT(U/L)	36.52±5.77	32.65±6.53 ^a	3.203	0.002	36.13±5.09	44.18±7.11 ^a	6.639	<0.001
AST(U/L)	41.26±6.78	36.47±7.12	3.513	0.001	40.89±6.41	50.12±5.25	8.033	<0.001
TBIL(μmol/L)	8.18±2.06	10.09±2.71 ^a	4.046	<0.001	8.20±2.12	12.73±3.04 ^a	8.814	<0.001
门静脉对比剂达峰时间(s)	17.71±2.13	17.40±1.58	0.843	0.401	17.55±2.07	19.06±1.81 ^a	3.960	<0.001
门静脉直径(mm)	12.90±0.32	12.92±0.22	0.371	0.711	12.87±0.36	13.14±0.25 ^a	4.442	<0.001
CD4 ⁺ (%)	31.17±4.73	45.22±6.18 ^a	13.019	<0.001	30.96±5.04	32.07±5.36	1.088	0.279
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.29±0.24	1.62±0.25 ^a	6.867	<0.001	1.31±0.27	1.40±0.23	1.830	0.070

注: 与同组术前相比, ^aP<0.05。

表 3 两组血清肿瘤标志物比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	观察组(n=52)		t 值	P 值	对照组(n=52)		t 值	P 值
	术前	术后 7 d			术前	术后 7 d		
AFP-L3(ng/mL)	0.46±0.12	0.17±0.05 ^a	16.086	<0.001	0.44±0.10	0.32±0.06 ^a	7.420	<0.001
GP73(ng/mL)	192.28±51.03	113.14±38.25 ^a	8.949	<0.001	190.34±48.77	154.06±41.59 ^a	4.082	<0.001
TGF-β1(ng/mL)	3.02±0.95	1.03±0.11 ^a	15.005	<0.001	2.99±0.91	1.25±0.14 ^a	13.628	<0.001

注: 与同组术前相比, ^aP<0.05。

2.3 两组并发症

观察组术后腹水 18 例(34.62%),胸腔积液 8 例(15.38%),对照组术后腹水 20 例(38.46%),胸腔积液 7 例(13.46%),门静脉血栓 3 例(5.77%)。两组术后并发症发生率相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

肝动脉介入为治疗中晚期肝癌的有效措施,能有效阻断肿瘤血液供应,加速肿瘤细胞及组织坏死,进而缓解患者病情^[9]。但脾功能亢进为肝癌常见并发症,患者多出现门静脉高压、脾窦淤血,若对肝癌合并脾功能亢进者仅行肝动脉介入治疗,术后恢复效果有限。

脾动脉栓塞通过股动脉插管至脾动脉或其分支,注入栓塞材料,以减少脾脏血流量,使部分脾实质缺血梗死、萎缩,减轻脾脏对血细胞的破坏功能,有效消除脾功能亢进,且可保留患者脾脏,维持机体免疫功能,从而增加血细胞计数,减轻肝功能损害,促进患者恢复^[10]。本研究结果显示,术后 7 d 观察组外周血白细胞、血小板计数高于对照组,血清 ALT、TBIL 低于对照组,与相关研究结果相似^[11];此外门静脉造影检测,既能客观反映门静脉血流动力学变化,又可避免肝静脉插管损伤,结果显示,术后 7 d 观察组门静脉对比剂达峰时间、门静脉直径短于对照组。双介入术后脾静脉血流量减少,门静脉血流速度增加,从而降低门静脉压力,避免分流道狭窄,减少分流道血栓形成风险,这也是观察组未出现门静脉血栓并发症的重要原因,但组间对比差异无统计学意义,可能与本研究样本量较小有关。相关报道显示,脾栓塞面积达到 30%~40%时能有效缓解脾功能亢进症状,脾栓塞面积为 50%~60%则可降低门静脉压力,但栓塞过多易导致脾脓肿、脾坏死等并发症^[12],本研究将栓塞面积维持在 40%~60%,既能有效维持脾动脉血流,又未出现脾脓肿或脾坏死,且腹水、胸腔积液发生率无明显差异,可见双介入治疗具有安全性,临床实际操作过程中可根据脾脏大小决定栓塞面积,必要时分次行脾动脉栓塞术。

恶性肿瘤发生、发展及转归各个阶段均与机体免疫功能密切相关,研究显示,肝癌患者免疫功能明显低于正常人群,其中 T 淋巴细胞亚群为代表的细胞免疫受损最明显^[13-14]。而脾脏为免疫应答的重要淋巴器官之一,脾脏内 T 淋巴细胞占全身循环的

35%~50%,在机体特异性、非特异性免疫中均具有重要作用^[15]。而肝癌合并脾功能亢进患者因树突状细胞生成受到抑制,致使免疫系统中各种免疫细胞数量、功能、比例异常,机体免疫功能紊乱加剧。CD4⁺与 CD8⁺分别代表 T 细胞诱导亚群、抑制亚群,二者比例降低是细胞免疫功能抑制的重要指征。肝癌合并脾功能亢进患者 CD4⁺/CD8⁺下降,机体免疫监视、防御、调节功能均显著降低。

本研究还对肿瘤标志物进行检测,结果显示,观察组术后 7 d 血清 AFP-L3、GP73、TGF- β 1 低于对照组。TGF- β 1 在肿瘤组织中表达上调,可促进肿瘤细胞增殖、浸润、转移;GP73 为肝癌早期诊断及术后复发评估的重要标志物,且可反映肝硬化病情程度;AFP-L3 是肝癌独立诊断因子,具有较高敏感性及特异性^[16-17]。上述结果表明,肝动脉介入联合脾动脉栓塞治疗肝癌合并脾功能亢进能进一步降低肿瘤标志物水平,抑制肝癌细胞活性,预防远处转移,主要与患者免疫功能改善,机体恢复较快,能增强机体抗肿瘤免疫反应,有效清除肿瘤标志物有关,但具体作用机制如何仍需临床进一步深入探究。

综上,肝动脉介入联合脾动脉栓塞治疗肝癌合并脾功能亢进能有效减轻患者脾功能亢进级肝功能损害,改善门静脉血流动力学及机体免疫功能,降低肿瘤标志物水平,且安全性高。

参考文献

- [1] 童正喜,张克昌,郑奇.血清高尔基体糖蛋白 73、甲胎蛋白、CHI3L1 在肝癌中的诊断价值及与患者预后的关系[J].热带医学杂志,2020,20(6):779-782+786.
- [2] Yang JG, He XF, Huang B, et al. Rule of changes in serum GGT levels and GGT/ALT and AST/ALT ratios in primary hepatic carcinoma patients with different AFP levels[J]. Cancer Biomark, 2018,21(4):743-746.
- [3] Xu XL, Liu XD, Liang M, et al. Radiofrequency Ablation versus Hepatic Resection for Small Hepatocellular Carcinoma: Systematic Review of Randomized Controlled Trials with Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis[J]. Radiology, 2018,287(2):461-472.
- [4] Zhao GS, Liu Y, Zhang Q, et al. Transarterial chemoembolization combined with Huaier granule for the treatment of primary hepatic carcinoma: Safety and efficacy [J]. Medicine (Baltimore), 2017,96(29):e758.
- [5] Cucchetti A, Mazzaferro V, Pinna AD, et al. Average treatment effect of hepatic resection versus locoregional therapies for hepatocellular carcinoma: Average treatment effect of surgery for hepatocellular carcinoma [J]. Br J Surg, 2017, 104(12):1704-1712.

(下转第 511 页)

· 论 著 ·

AEMAb、ACPAb、AHCGAb 在不孕患者中表达水平及与生殖激素含量的相关性

郭婉茹¹ 曾彬² 崔静² 于婉莹^{2*}

[摘要] **目的** 探讨抗子宫内膜抗体(AEMAb)、抗心磷脂抗体(ACPAb)、抗绒毛膜促性腺激素抗体(AHCGAb)在女性不孕患者中表达特征及其与生殖激素含量的关联性。**方法** 选取2019年1月至2020年4月唐山市妇幼保健院女性不孕患者89例设为研究组,同期参加常规体检的女性89例设为对照组。统计两组基本资料,并抽取血液样本测定AEMAb、ACPAb、AHCGAb阳性率、生殖激素[垂体泌乳素(PRL)、促黄体生成素(LH)、促卵泡成熟激素(FSH)、雌二醇(E₂)]水平,对比研究组不同AEMAb、ACPAb、AHCGAb表达情况患者生殖激素水平。**结果** 盆腔病变、流产或产后并发症、痛经、精神压力、受教育程度、AEMAb、ACPAb、AHCGAb阳性均为女性不孕的独立危险因素($P<0.05$);研究组PRL、LH及FSH水平高于对照组,E₂水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组AEMAb、ACPAb、AHCGAb阳性表达者PRL、LH及FSH水平高于阴性表达者,E₂水平低于阴性表达者,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 不孕患者AEMAb、ACPAb、AHCGAb阳性率显著升高,且与生殖激素水平关系密切,可为临床筛查不孕及治疗提供依据。

[关键词] 抗子宫内膜抗体;抗心磷脂抗体;抗绒毛膜促性腺激素抗体;生殖激素

Expression levels of AEMAb, ACPAb and AHCGAb in infertile patients and their correlation with reproductive hormone content

GUO Wanru¹, ZENG Bin², CUI Jing², YU Wanying^{2*}

(1. Prenatal Diagnosis Genetic Disease Diagnosis Center of Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000; 2. Department of Reproductive Genetics, Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression characteristics of anti-endometrial antibody (AEMAb), anti-cardiolipin antibody (ACPAb) and anti-chorionic gonadotropin antibody (AHCGAb) in female infertile patients and their correlation with reproductive hormone levels. **Methods** A total of 89 female infertile patients in Tangshan Maternal and Child Health Hospital from January 2019 to April 2020 were selected as the research group, and 89 women who participated in routine physical examinations during the same period were selected as the control group. The basic data of the two groups were collected, and blood samples were drawn to determine the positive rate of AEMAb, ACPAb, AHCGAb, reproductive hormones [pituitary prolactin (PRL), luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E₂)] levels. The reproductive hormone levels of patients with different AEMAb, ACPAb, and AHCGAb expression in the study group were compared, and the correlation between female infertility risk factors and reproductive hormone levels and the positive expression of AEMAb, ACPAb, and AHCGAb were analyzed. **Results** Pelvic lesions, miscarriage or postpartum complications, dysmenorrhea, mental stress, education level, positive AEMAb,

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20210396)

作者单位:1.唐山市妇幼保健院产前诊断遗传病诊断中心,河北,唐山063000

2.唐山市妇幼保健院生殖遗传科,河北,唐山063000

*通信作者:于婉莹, E-mail: gwr365@qq.com

ACPAb, and AHCGAb were all independent risk factors for female infertility ($P<0.05$). The levels of PRL, LH and FSH in the study group were higher than those in the control group, and the level of E₂ was lower than that in the control group ($P<0.05$). The levels of PRL, LH and FSH in the positive expression of AEMAb, ACPAb and AHCGAb in the research group were higher than those in the negative expression, and the E₂ level was lower than that in the negative expression ($P<0.05$). **Conclusion** The positive rates of AEMAb, ACPAb and AHCGAb in infertile patients were significantly increased, and were closely related to reproductive hormone levels, which could provide a basis for clinical screening and treatment of infertility.

[KEY WORDS] Anti-endometrial antibody; Anti-cardiolipin antibody; Anti-chorionic gonadotropin antibody; Female; Infertility; Reproductive hormone

不孕是困扰育龄期女性的常见生殖系统疾病。近年随我国社会老龄化进程加快,国内陆续出台多项刺激人口增长政策,如何有效进行不孕筛查及治疗成为临床研究热点^[1-2]。生殖激素水平一直是临床诊断不孕的主要辅助手段,但有部分不孕患者生殖激素水平正常^[3]。近年来对免疫学的深入研究发现,不孕还与自身免疫系统密切相关^[4]。抗子宫内膜抗体(Anti endometrial antibody, AEMAb)是一种以子宫内膜为靶抗原并能诱发一系列免疫反应的自身抗体,与免疫性不孕关系密切^[5];抗心磷脂抗体(Anticardiolipin antibodies, ACPAb)与组织炎症、损伤等关系密切,极易诱发微血管血栓形成,造成生殖器官血流障碍引起不孕或反复性流产等^[6];人绒毛膜促性腺激素(Human chorionic gonadotropin, HCG)是维持早期妊娠的关键激素,而抗绒毛膜促性腺激素抗体(Anti chorionic gonadotropin antibody, AHCGAb)可通过免疫过程调节HCG水平^[7]。外周血AEMAb、ACPAb、AHCGAb可能与妊娠建立及维持有关,但三者在不孕患者中表达特征及与生殖激素水平的关系如何,尚未见相关报道。本文旨在为临床完善不孕筛查及治疗机制提供参考。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2020年4月唐山市妇幼保健院女性不孕患者89例设为研究组,纳入标准:①符合不孕诊断标准^[8];②未采取任何避孕措施,正常性生活一年以上而未受孕;③有周期性排卵,输卵管、子宫正常,无生殖器官畸形;④男方精液正常;⑤患者知情本研究并签署同意书。排除标准:①精神疾病患者;②存在肝肾心功能异常者;③伴甲状腺功能缺陷者;④有高泌乳素血症等内分泌系统疾病者;⑤近3个月内有激素药物应用史

者;⑥系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病患者。另选同期参加常规体检的女性89例设为对照组。纳入标准:①身体健康,有生育史;②有周期性排卵,输卵管、子宫正常,无生殖器官畸形;③知情本研究并签署同意书。排除标准:①有子宫炎症、子宫内膜炎等感染性疾病者;②存在肝肾心功能异常者;③伴甲状腺功能缺陷者;④有高泌乳素血症等内分泌系统疾病者;⑤近3个月内有激素药物应用史者;⑥系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病患者。研究组年龄平均(28.56±1.69)岁,体质指数平均(21.39±1.06) kg/m²;对照组年龄平均(28.73±1.70)岁,体质指数平均(21.43±1.03) kg/m²。两组年龄、体质指数、饮食偏好基础资料差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

AEMAb、ACPAb、AHCGAb及生殖激素水平检测:经期第7d采用非抗凝管采集晨空腹肘静脉血4 mL,分装2管,各2 mL,加温(37℃)促凝,离心(半径8 cm,时间15 min,转速3 500 r/min)采集上层血清,采用广州万孚生物技术有限公司AEMAb酶联免疫试剂盒、ACPAb酶联免疫试剂盒、上海信然实业有限公司AHCGAb酶联免疫试剂盒及杭州诚信生物科技有限公司垂体泌乳素(Pituitary prolactin, PRL)、促黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)、促卵泡成熟激素(Follicle stimulating hormone, FSH)、雌二醇(Estradiol, E₂)酶联免疫试剂盒分别检测AEMAb、ACPAb、AHCGAb、PRL、LH、FSH、E₂水平。操作均由相同资深检验科医师严格参考试剂盒说明书步骤规范完成。AEMAb、ACPAb、AHCGAb阳性判断标准:在450 nm处检测样本孔、标准品孔、空白对照孔吸光度值,计算Cutoff值为0.368,若样本孔吸光度值大于Cutoff值则为阳性,小于Cutoff值为阴性。

1.3 统计学处理

采用统计学软件 SPSS 22.0 处理数据,计数资料 $n(\%)$ 描述,采用卡方检验。计量资料采以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,用 t 检验;采用 Logistic 回归分析模型分析女性不孕发病危险因素, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基本资料比较

研究组与对照组在盆腔病变、流产或产后并发症、痛经、精神压力、受教育程度、AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性率等比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);在妇科手术史、宫外孕史、促排卵用药史、平均月收入、结婚年龄等比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组基本资料比较 ($n=178$) [$n(\%)$]

指标	研究组 ($n=89$)	对照组 ($n=89$)	χ^2/t 值	P 值
盆腔病变				
有	56 (62.92)	31 (34.83)	14.052	<0.001
无	33 (37.08)	58 (65.17)		
流产或产后并发症				
有	23 (25.84)	10 (11.24)	6.287	0.012
无	66 (74.16)	79 (88.76)		
痛经				
有	36 (40.45)	21 (23.60)	5.807	0.016
无	53 (59.55)	68 (76.40)		
精神压力				
有	44 (49.44)	30 (33.71)	4.533	0.033
无	45 (50.56)	59 (66.29)		
受教育程度				
初中与以下	41 (46.07)	23 (25.84)	2.162	0.031
高中	28 (31.46)	41 (46.07)		
大专与以上	20 (22.47)	25 (28.09)		
妇科手术史				
有	28 (31.46)	30 (33.71)	0.102	0.749
无	61 (68.54)	59 (66.29)		
宫外孕史				
有	16 (17.98)	13 (14.61)	0.371	0.543
无	73 (82.02)	76 (85.39)		
促排卵用药史				
有	60 (67.42)	57 (64.04)	0.225	0.636
无	29 (32.58)	32 (35.96)		
平均月收入(元)				
<3 000	46 (51.69)	43 (48.31)	0.384	0.825
3 000~5 000	32 (35.96)	36 (40.45)		
>5 000	11 (12.36)	10 (11.24)		
结婚年龄(岁)				
<25	37 (41.57)	35 (39.33)	0.108	0.948
25~35	40 (44.94)	41 (46.07)		
>35	12 (13.48)	13 (14.61)		
AEMAb 阳性率	31 (34.83)	7 (7.87)	19.27	<0.001
ACPAb 阳性率	34 (38.20)	10 (11.24)	17.389	<0.001
AHCGAb 阳性率	18 (20.22)	0 (0.00)	20.025	<0.001

2.2 女性不孕发病危险因素分析

以女性不孕为因变量,以盆腔病变、流产或产后并发症、痛经、精神压力、受教育程度为初中与以下、AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性作自变量进行分析,盆腔病变、流产或产后并发症、痛经、精神压力、受教育程度为初中与以下、AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性均为女性不孕发病重要影响因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 女性不孕发病危险因素分析

因素	β 值	S.E. 值	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
盆腔病变	1.276	0.425	9.012	3.582	2.385~5.379	<0.001
流产或产后并发症	1.579	0.515	9.395	4.848	3.668~6.407	<0.001
痛经	1.272	0.496	6.575	3.567	2.435~5.226	<0.001
精神压力	0.870	0.307	8.034	2.387	1.507~3.782	<0.001
受教育程度为初中与以下	1.176	0.368	10.216	3.242	2.302~4.566	<0.001
AEMAb	1.754	0.581	9.116	5.779	4.799~6.958	<0.001
ACPAb	1.179	0.469	6.320	3.251	2.633~4.015	<0.001
AHCGAb	1.385	0.431	10.323	3.994	3.012~5.290	<0.001

2.3 两组生殖激素含量比较

研究组 PRL、LH 及 FSH 水平高于对照组, E_2 水平低于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 研究组与对照组生殖激素含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PRL (ng/mL)	LH (mIU/mL)	FSH (mIU/mL)	E_2 (pg/mL)
研究组	89	36.29±10.21	7.11±2.34	9.40±1.51	30.26±6.98
对照组	89	17.43±6.04	3.69±1.25	5.56±1.10	43.04±9.01
t 值		14.999	12.162	19.391	10.578
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 不同 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 表达情况者生殖激素水平比较

AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性表达者 PRL、LH 及 FSH 水平高于 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阴性表达者, E_2 水平低于阴性表达者,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 4。

3 讨论

目前世界范围内不孕发病率约 13%~15%,发展中国家高于发达国家,且近年来不孕发病率有显著升高趋势^[9]。不孕致病因素众多,临床诊断、治疗难度较大,明确导致不孕的相关因

表4 不同 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 表达情况者生殖激素水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of reproductive hormone levels in patients with different expression of aemab, acpab and ahcgab ($\bar{x} \pm s$)

表达情况	n	PRL(ng/mL)	LH(mIU/mL)	FSH(mIU/mL)	E ₂ (pg/mL)
AEMAb 阳性	31	41.04±10.04	8.71±2.40	11.04±1.97	26.79±4.13
AEMAb 阴性	58	33.75±8.12	6.26±1.98	8.53±1.23	32.12±4.04
t 值		3.711	5.160	7.392	5.884
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
ACPAb 阳性	34	40.08±9.55	9.01±2.51	10.94±2.02	27.36±3.96
ACPAb 阴性	55	33.95±7.98	5.94±2.02	8.45±1.40	32.05±4.97
t 值		3.264	6.343	6.865	4.660
P 值		0.002	<0.001	<0.001	<0.001
AHCGAb 阳性	18	44.61±8.79	10.01±2.22	11.13±2.10	25.30±4.28
AHCGAb 阴性	71	34.18±8.03	6.38±1.92	8.96±1.95	31.52±4.35
t 值		4.829	6.940	4.153	5.435
χ ² 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

素对指导临床筛查、制定治疗方案具有重要意义。

本研究发现,盆腔病变、流产或产后并发症、痛经、精神压力等均是女性不孕的独立危险因素,与国内相关研究结果一致^[10],且 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性也与女性不孕的发生有关。免疫学观点认为,妊娠是同种异体器官移植过程,免疫应答在妊娠过程中发挥重要作用,受精卵、胚胎可被看作具有一半父方遗传物质的异体自然移植物,另一半遗传物质来自母体,故胚胎具同种异体移植及自体移植双重特性^[11]。正常情况,母体免疫系统可识别携带父源抗原的胚胎并启动保护性免疫应答直至整个妊娠过程结束,因此,母胎间免疫活化及抑制调控平衡在胚胎、胎儿生长发育过程中发挥关键作用^[12]。AEMAb 是子宫内膜异位症标记性抗体,可引起机体免疫内环境紊乱,但从其生物学特性方面分析,AEMAb 对精子活性及精卵结合过程影响较小,且有研究显示,继发性不孕患者外周血 AEMAb 阳性率显著高于习惯性流产及原发性不孕患者^[13]。推测 AEMAb 可能是通过影响机体免疫环境层面而影响受精卵着床造成生化妊娠,此病理生理特征与上述免疫学观点一致,受免疫排斥作用,受精卵难以正常回到子宫着床而造成妊娠失败。ACPAb 是机体受各种携带有负电荷磷脂及其结合蛋白刺激而生成的一种自身抗体^[14]。有研究表明,正常妊娠过程中磷脂作为一种黏合剂可辅助受精卵着床、胎盘附着于子宫内壁,而 ACPAb 与细胞膜上携带负电荷的磷脂结合会阻断磷脂作用导致不孕^[15]。AHCGAb 能通过免疫调节过程灭活 HCG 继而降低机体 HCG 水平,引

起流产发生,而 AHCGAb 产生的机制主要有:有流产史女性在流产过程中滋养层细胞损伤致绒毛膜组织内 HCG 进入血液循环作为抗原被免疫细胞识别刺激机体生成 AHCGAb;在促排卵女性中,HCG 可能会作为抗原刺激生成 AHCGAb^[16]。本研究也发现,流产史、盆腔病变是女性不孕的独立危险因素,推测流产、盆腔病变可能通过刺激机体生成 AHCGAb 而抑制 HCG 活性,从而导致女性不孕。

此外,临床已证实,内分泌系统在妊娠过程中发挥重要调节作用^[17]。从生殖内分泌学角度看,生殖激素水平正常是成功受孕、维持妊娠的基础。PRL、LH、FSH、E₂ 是机体主要生殖激素,在整个月经周期中呈规律性变化,其主要作用是促进子宫内膜生长,尤其是对促进功能层上皮、腺体、螺旋小动脉生长具有重要作用,可为受精卵着床做准备^[18]。多项研究表明,不孕及习惯性流产患者外周血 PRL、LH 及 FSH 水平升高显著,而 E₂ 水平降低,上述生殖激素水平异常与不孕关系密切^[19]。本研究结果提示在不孕女性中 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性表达与生殖激素水平有关。可能与因 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 主要作用部位均是子宫内膜,而子宫内膜的生长发育同时受生殖激素调节,其异常发育可反馈调节造成 PRL、LH、FSH、E₂ 等生殖激素平衡紊乱,形成恶性循环继而引起不孕有关。

综上所述,不孕患者 AEMAb、ACPAb、AHCGAb 阳性率显著升高,且与生殖激素水平有关,可为临床筛查不孕及治疗提供依据。

参考文献

- [1] 魏瑞瑞,安力彬,李晶,等. 女性不孕症患者生活质量现状调查及影响因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(6): 1262-1265.
- [2] 邢再玲,俞文兰,徐茗,等. 中国9个典型行业育龄女工的不孕状况及相关因素分析[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(2): 134-140.
- [3] Kucukdurmaz F, Efe E, Sahinkanat T, et al. Ureteroscopy with Holmium: YAG Laser Lithotripsy for Ureteral Stones in Preschool Children: Analysis of the Factors Affecting the Complications and Success[J]. Urology, 2018, 111(6): 162-167.
- [4] 张薛,刘海霞,吕啸舒,等. 甲状腺自身免疫致不孕流产的机制[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2017, 37(5): 348-351.
- [5] 朱晓芳,张海燕,何丽,等. 抗心磷脂抗体及抗子宫内膜抗体与复发性流产的关系探讨[J]. 重庆医学, 2018, 47(02): 249-251.
- [6] 董瑶佳,吴冰,郭卉. 抗心磷脂抗体与习惯性流产的关系[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(6): 924-925.
- [7] Khare P, Bose A, Singh P, et al. Gonadotropin and tumorigenesis: Direct and indirect effects on inflammatory and immunosuppressive mediators and invasion[J]. Mol Carcinog, 2017, 56(2): 359-370.
- [8] 中华医学会妇产科学分会,内分泌学组. 不孕症诊断指南[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(8): 505-511.
- [9] 彭燕蓁,段华,郭银树,等. 子宫发育异常在不孕不育患者中发生率的单中心研究[J]. 国际妇产科学杂志, 2017, 44(6): 655-658.
- [10] 彭芳. 不孕女性抑郁焦虑状况及其影响因素研究[J]. 中华现代护理杂志, 2019, 25(8): 991-996.
- [11] 刘宇,张英,华克勤. 同种异体子宫移植的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(2): 244-249+256.
- [12] 刘莹,黄楚冰,王晨虹. 重视子痫前期发生的免疫学机制[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(7): 961-965.
- [13] 杨淑英,杨智红,陈雪兰. 不孕不育症患者外周血和子宫内膜 AsAb、EmAb、AcAb、AoAb、ToxAb 的检测价值研究[J]. 河北医药, 2018, 40(3): 368-371.
- [14] 赵小萱,李娜,姜月蓬,等. 抗心磷脂抗体阳性复发性流产合并心理问题中西医结合治疗进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(9): 97-100.
- [15] 朱丹,阮加里,李阳阳,等. 低分子肝素在反复生化妊娠合并抗磷脂抗体阳性患者中的队列研究[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(1): 13-16.
- [16] 李红飞,王军,王海花,等. 哺乳动物促卵泡素氨基酸序列特征及其单克隆抗体的制备与鉴定[J]. 河南农业科学, 2017, 46(9): 139-143.
- [17] 丁昉,贺恒祯,林寒梅. 妊娠期妇女弓形虫、风疹病毒和巨细胞病毒感染与其不良妊娠结局的相关性研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2018, 33(6): 644-644.
- [18] 方群英,吴丽敏,孙秀英,等. 不同中医证候多囊卵巢综合征不孕患者促排加指导同房临床特征和妊娠结局比较[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(11): 2662-2666.
- [19] 郭春燕,艾红梅. 雌激素受体 β 基因多态性和不明原因复发性流产的关系探讨[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(4): 272-276.
- [6] Kuo F, Park J, Chen A. Coil-assisted retrograde transvenous obliteration and partial splenic artery embolization for hepatic encephalopathy[J]. Hepatology, 2017, 66(4): 1347-1350.
- [7] 董菁,段雅洁. 老年肝硬化患者血清胆碱酯酶血清白蛋白和凝血酶原时间变化及其与 Child-Pugh 分级的关系[J]. 河北医学, 2021, 27(12): 1962-1965.
- [8] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J]. 中华消化外科杂志, 2017, 16(7): 635-647.
- [9] Chao JS, Zhao SL, Ou-Yang SW, et al. Post-transplant infection improves outcome of hepatocellular carcinoma patients after orthotopic liver transplantation[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(37): 5630-5640.
- [10] 刘曙民,孙邱,张美菊. 肝动脉化栓栓塞术联合脾栓塞术治疗对肝细胞肝癌脾功能亢进患者血清标志物及凋亡分子的影响[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(23): 2937-2940.
- [11] 黄景香,李智岗,武中林,等. 肝癌并发脾功能亢进患者肝脾双介入对肝功能及门静脉血流动力学的影响[J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(8): 914-917.
- [12] 李运江,周坦洋,张岳林,等. 不同粒径 Embosphere 栓塞微球在部分脾动脉栓塞术中的应用[J]. 中国介入影像与治疗学, 2018, 15(7): 401-404.
- [13] 金鹏飞,吴华文,金德西,等. 脾动脉栓塞辅助腹腔镜脾切除术治疗门静脉高压脾功能亢进患者的术中观察[J]. 中国医师进修杂志, 2018, 41(12): 1090-1093.
- [14] 陈明,曹洋. 抗乙型肝炎病毒对肝癌 TACE 术后复发转移的临床疗效及免疫功能研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(5): 396-400.
- [15] 孙世蒙. 探讨 TIPS 联合 PSE 对肝硬化门脉高压伴脾亢患者血流动力学及免疫功能的影响[D]. 西宁: 青海大学, 2017.
- [16] Yang Y, Liu Q, Li Z, et al. GP73 promotes epithelial-mesenchymal transition and invasion partly by activating TGF- β 1/Smad2 signaling in hepatocellular carcinoma[J]. Carcinogenesis, 2018, 39(7): 900-910.
- [17] 胡仁智,赵世巧,申波,等. 血清甲胎蛋白及其异质体和异常凝血酶原对原发性肝癌的诊断价值[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(8): 634-637.

(上接第 506 页)

6 620例已婚妇女HPV感染现状及影响因素分析

岳帆 侯向萍* 咸敏 魏策

[摘要] **目的** 通过对阿拉尔片区35~60周岁已婚健康妇女进行人乳头瘤病毒筛查,了解其感染状况,进一步分析其影响因素。**方法** 选取2020年5月至2021年4月间阿拉尔片区35~60周岁已婚健康妇女6 620例为研究对象,采用荧光PCR-反向点杂交法进行HPV核酸检测及基因分型;采用女性人乳头瘤病毒感染影响因素调查问卷调查女性人乳头瘤病毒感染影响因素。**结果** 在受检的6 620名妇女中,共检出HPV阳性感染率为14.34%(949/6 620),其中高危型阳性率为10.09%(668/6 620),低危型阳性率2.34%(155/6 620),合并型阳性率1.90%(126/6 620),混合感染中以二重感染及三重感染最为常见;在高危型感染人群中,HPV亚型感染排在前三位依次为HPV52, HPV16, HPV58,在低危型感染人群中,以HPV54, HPV61最为常见;女性HPV感染与否在初次性生活年龄、文化程度、吸烟、性生活频率、性伴侣人数、避孕套使用、同房后清洗行为、宫颈糜烂程度、免疫力低下等方面比较,差异有统计学意义($P<0.05$),在结婚次数、饮酒、人工流产次数、规律体育锻炼等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$);logistics回归分析显示,初次性生活年龄 ≤ 20 岁($OR=1.940$)、性生活频率 ≥ 4 次/周($OR=1.814$)、重度宫颈糜烂($OR=1.598$)、吸烟($OR=1.509$)、免疫力低下($OR=1.371$)是女性人乳头瘤病毒感染的独立危险因素。**结论** 阿拉尔片区女性HPV高危感染亚型主要以HPV52、HPV16、HPV58为主。其中性生活过早、性生活频率高、吸烟等是女性人乳头瘤病毒感染危险因素。有关部门应依据上述危险因素合理制定有效干预措施,大力宣传人乳头瘤病毒和疫苗的健康宣传教育工作,降低本地区女性人乳头瘤病毒感染率。

[关键词] HPV感染; 荧光PCR-反向点杂交法; 育龄妇女; 影响因素

Analysis of current status and influencing factors of HPV infection in 6 620 married women

YUE Fan, HOU Xiangping*, XIAN Min, WEI Ce

(Department of Laboratory Medicine, Alar Hospital, First Division, Xinjiang Production and Construction Corps, Aral, Xinjiang, China, 843300)

[ABSTRACT] **Objective** To understand the infection status of human papillomavirus by screening healthy married women aged 35 to 60 in Arla area, and further analyze its influencing factors. **Methods** From May 2020 to April 2021, 6 620 healthy married women aged 35 to 60 in the Arla area were selected as the research subjects. HPV nucleic acid detection and genotyping were performed by fluorescent PCR-reverse dot blot; female Questionnaire on influencing factors of human papillomavirus infection to investigate the influencing factors of human papillomavirus infection in women. **Results** Among the 6 620 women examined, the positive rate of HPV infection was 14.34% (949/6 620), of which the positive rate of high-risk type was 10.09% (668/6 620), and the positive rate of low-risk type was 2.34%. (155/6 620), the combined type positive rate was 1.90% (126/6 620), superinfection and triple infection were the most common in mixed infection; in high-risk infection population, HPV subtype infection ranked the top 3 in order HPV52, HPV16, and HPV58. Among the low-risk types of infection, HPV54 and HPV61 are the most common. Whether women are infected with HPV is related to age at first sexual life, educational level, smoking, frequency of sexual life, number of sexual partners, condom use, There were statistically significant differences in cleaning behavior

作者单位:新疆生产建设兵团第一师阿拉尔医院检验科,新疆,阿拉尔 843300

*通信作者:侯向萍, E-mail: 1043967603@qq.com

after intercourse, cervical erosion degree, and low immunity ($P<0.05$), but there was no significant difference in the number of marriages, drinking, number of induced abortions, and regular physical exercise ($P<0.05$); logistic regression analysis showed that the age of first sexual intercourse was ≤ 20 years old (OR=1.940), the frequency of intercourse was ≥ 4 times/week (OR=1.814), severe cervical erosion (OR=1.598), smoking (OR=1.509) and low immunity (OR=1.371) were independent risk factors for HPV infection in women.

Conclusion The high-risk HPV infection subtypes of females in Alar area are mainly HPV52, HPV16 and HPV58. Among them, early sexual life, high frequency of sexual life and smoking are the risk factors for female human papillomavirus infection. Relevant departments should rationally formulate effective intervention measures based on the above risk factors, vigorously publicize the health promotion and education of human papillomavirus and vaccines, and reduce the infection rate of female human papillomavirus in the region.

[KEY WORDS] HPV infection; Fluorescent PCR-reverse dot hybridization; Women of childbearing age; Influencing factors

据2018年一项宫颈癌流行病学调查显示,宫颈癌发病率在我国15~44岁年龄段女性恶性肿瘤的第二位,死亡率位居第三位,严重威胁我国女性生命健康^[1]。目前我国宫颈癌筛查以HPV检测和宫颈细胞学检测为主。人乳头瘤状病毒(Human papillomavirus, HPV)是一种环状DNA病毒,主要感染皮肤和黏膜的上皮细胞,有多种传播途径,主要通过性途径进行传播^[2]。HPV是公认的宫颈癌致癌危险因素,依据其致癌风险的高低,又可分为高危型(如HPV16、HPV18、HPV53等)和低危型(如HPV6、HPV11、HPV61等)^[3-4]。绝大多数HPV感染均为暂时性的,可被机体免疫系统清除,少数为持续性,可发展为宫颈上皮瘤变,甚至宫颈癌^[5]。因此明确阿尔拉片区已婚妇女HPV感染现状及其影响因素,以利于降低阿尔拉片区HPV感染率,减少宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的发生。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月到2021年4月间阿尔拉片区35~60周岁已婚健康妇女6 620例为研究对象,平均年龄(43.15±12.56)岁。纳入标准:①已婚女性;②受检者24小时内无性生活且非月经期、妊娠期;③72 h内无进行阴道冲洗或给药。排除标准:①有宫颈癌手术治疗史;②沟通障碍、无法配合完成研究。研究经院伦理委员会同意,所有患者均已签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集

受检者取膀胱截石位,医生使用窥阴器扩张

受检者阴道,充分暴露宫颈,取出宫颈刷首先在宫颈口顺时针旋转3~5圈,停留10 s,再逆时针旋转3~5圈,停留10 s,最后取出宫颈刷并将其保存在细胞保存液中。

1.2.2 荧光PCR-反向点杂交法

从受检者的细胞保存液提取细胞总DNA,采用HPV检验试剂盒(厂家:广州和实生物技术有限公司,试剂名称:人乳头瘤病毒核酸检测及基因分型试剂盒,规格:24人份/盒,生产批号:orc00402和orc00505)和基因扩增仪(杭州安杰思AFD4800)对HPV DNA进行PCR扩增并测定其序列,按照测序结果进行分型。反应体积(50 μ L):反应体系30 μ L, DNA样本20 μ L。扩增条件:50℃ 3 min UDG酶反应,95℃预变性5 min;94℃变性20 s,55℃退火20 s,72℃延伸20 s,共40个循环;72℃延伸7 min。实验设立阴性和阳性对照。取扩增产物在95℃下加热8 min,冰浴处理2 min,然后在将变性完成的产物在杂交液(广州和实生物人乳头瘤病毒核酸检测及基因分型试剂盒)缓冲环境下,与HPV分型膜条(广州和实生物人乳头瘤病毒核酸检测及基因分型试剂盒)进行反向点杂交,杂交完成的膜条在结合液中与pod进行结合。

1.2.3 女性人乳头瘤病毒感染影响因素调查问卷

该问卷包含初次性生活年龄、结婚次数、文化程度、饮酒、吸烟、性生活频率、人工流产次数、性伴侣人数、避孕套使用、是否有免疫系统疾病等内容。以上内容均由患者进行填写,如不能自行填写,口述,有护士进行填写。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据分析;计数资料

以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验;采用多因素 logistics 回归模型对女性人乳头瘤病毒感染的的影响因素进行分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 阿尔拉片区 35~60 周岁已婚健康妇女 HPV 感染现状

在受检的 6 620 名妇女中,共检出 HPV 阳性感染率为 14.34% (949/6 620),其中高危型阳性率为 10.09% (668/6 620),低危型阳性率 2.34% (155/6 620),合并型阳性率 1.90% (126/6 620),混合感染中以二重感染及三重感染最为常见;在高危型感染人群中,HPV 亚型感染排在前 3 位依次为 HPV52, HPV16, HPV58,在低危型感染人群中,以 HPV54, HPV61 最为常见。见表 1。

表 1 阿尔拉片区 35~60 周岁已婚健康妇女 HPV 感染亚型分布 [$n(\%)$]

高危型 HPV	阳性数	低危型 HPV	阳性数
52	131(19.61)	54	39(25.16)
16	110(16.47)	61	29(18.71)
58	70(10.48)	36	20(12.90)
18	65(9.73)	44	18(11.61)
53	63(9.43)	43	15(9.68)
45	61(9.13)	11	13(8.39)
56	60(8.98)	42	10(6.45)
68	60(8.98)	6	9(5.81)
39	48(7.19)	11	2(1.29)
合计	668	合计	155

2.2 HPV 感染相关因素分析

女性 HPV 感染与否在初次性生活年龄、文化程度、吸烟、性生活频率、性伴侣人数、避孕套使用、同房后清洗行为、宫颈糜烂程度、免疫力低下等方面比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);在结婚次数、饮酒、人工流产次数、规律体育锻炼方面比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 HPV 感染 logistics 多因素分析

以 HPV 感染为因变量,上述有意义因素为自变量,建立进入多因素 logistics 回归模型,结果显示,初次性生活年龄 ≤ 20 岁 ($OR=1.940$)、性生活频率 ≥ 4 次/周 ($OR=1.814$)、重度宫颈糜烂 ($OR=1.598$)、吸烟 ($OR=1.509$)、免疫力低下 ($OR=1.371$) 是女性人乳头瘤病毒感染的独立危险因素。见表 3。

表 2 HPV 感染相关因素分析 [$n(\%)$]

项目	n	HPV 感染例数	χ^2 值	P 值
初次性生活年龄(岁)	≤ 20	3 205	534(16.66)	20.369 < 0.001
	21~	3 415	435(12.73)	
结婚次数	1	4 403	636(14.44)	0.391 0.531
	≥ 2	2 201	333(15.12)	
文化程度	小学至初中	2 665	358(13.43)	5.175 0.022
	高中及以上	3 955	611(15.44)	
饮酒	是	1 951	300(15.37)	1.209 0.271
	否	4 669	669(14.32)	
吸烟	是	1 812	312(17.21)	13.302 < 0.001
	否	4 808	657(13.66)	
性生活频率(次/周)	2~3	3 994	524(13.11)	18.563 < 0.001
	≥ 4	2 626	445(16.94)	
人工流产次数(次)	0	3 033	464(15.29)	2.656 0.264
	1~2	2 354	323(13.72)	
	≥ 3	1 233	182(14.76)	
性伴侣人数	1	2 675	424(15.85)	5.286 0.021
	≥ 2	3 945	545(13.81)	
避孕套使用	是	2 765	444(16.05)	7.666 0.005
	否	3 855	525(13.61)	
同房后清洗行为	有	4 044	415(10.26)	7.320 0.006
	无	2 576	554(21.50)	
规律体育锻炼	有	1 964	313(15.93)	3.773 0.521
	无	4 656	656(14.08)	
宫颈糜烂程度	轻中度	2 707	346(12.78)	12.622 < 0.001
	重度	3 913	623(15.92)	
免疫力低下	是	3 803	603(15.85)	10.618 < 0.001
	否	2 817	366(12.99)	

表 3 HPV 感染 logistics 多因素分析

自变量	β 值	SE	Wald χ^2	P 值	OR	95% CI
初次性生活年龄 ≤ 20 岁	0.663	0.148	19.846	0.000	1.940	1.449~2.597
性生活频率 ≥ 4 次/周	0.596	0.142	17.431	0.000	1.814	1.371~2.400
重度宫颈糜烂	0.469	0.136	11.863	0.000	1.598	1.223~2.087
吸烟	0.412	0.115	12.702	0.000	1.509	1.203~1.893
免疫力低下	0.316	0.101	9.634	0.001	1.371	1.123~1.674

3 讨论

宫颈癌是一种进展缓慢的恶性肿瘤,HPV 感染是其重要致病因素之一;对比其他发展快速且不易发现的恶性肿瘤,宫颈癌是一种可以预防且唯一可治愈的恶性肿瘤^[5]。目前研究表明,女性性行为、吸烟、宫颈疾病等是 HPV 感染的危险因素^[6]。但是由于不同区域经济条件、文化程度、气候环境、饮食习惯的不同,HPV 感染率、HPV 类型及其影响因素也有所不同^[7]。因此开展本研究,调查阿尔拉片区已婚妇女 HPV 感染现状。分析其影

响因素,旨在为阿尔拉片区宫颈癌防治防控提供参考依据,从而降低本地区 HPV 感染率。

在受检的 6620 名妇女中,共检出 HPV 阳性感染率为 14.64%,与既往报道中新疆维吾尔自治区整体 HPV 感染水平(14.02%)相近^[8],低于伊犁地区女性 HPV 感染阳性率(25.6%)^[9]。其中高危型阳性率为 10.09%,低危型阳性率 2.34%,合并型阳性率 1.90%;在高危型感染人群中,HPV 亚型感染排在前三位依次为 HPV52,HPV16,HPV58,与既往报道汉族女性高危 HPV 类型有一定的差异^[10]。在低危型感染人群中,以 HPV54,HPV61 最为常见,混合感染中以二重感染及三重感染最为常见。

以 HPV 感染为因变量,上述有意义因素为自变量,建立进入多因素 logistics 回归模型,结果显示,初次性生活年龄、性生活频率、宫颈糜烂程度、吸烟、免疫力低下是女性人乳头瘤病毒感染的独立危险因素。20 岁以下的女性免疫系统和宫颈上皮修复尚未发育成熟,性行为知识较为不足,自我保护意识较弱。20 岁以下的女性大多进行无套性生活,可能损伤宫颈黏膜屏障,增加了 HPV 感染的风险;且女性在进行性生活时,机体雌、孕激素水平上升,可进一步降低机体免疫功能,使得机体不能清除 HPV,增加了 HPV 感染的风险^[11]。性生活频率过高,使得损伤的宫颈上皮来不及修复,也会增加了 HPV 感染的风险^[12]。祁青玲等人^[13]研究表明,性生活频率过高可降低女性的免疫力,不仅不能清除 HPV 感染,还有可能诱发潜伏的 HPV 感染。宫颈糜烂程度是一个很好地反应宫颈慢性炎症程度的客观指标^[14]。在正常情况下,阴道可维持其自身的酸性环境,杀死致病微生物,当宫颈发生炎症的时候,阴道微环境发生改变^[15]。有研究表明,HPV 感染与阴道微环境的改变有密切的联系^[16]。宫颈糜烂程度越重,在改变阴道微环境的同时,抑制机体免疫反应,HPV 就越能感染机体并占据主位^[17]。香烟中富含尼古丁、烟碱等烟草衍生物,吸烟可是宫颈粘液中烟草衍生物含量上升,破坏宫颈黏膜屏障,增加了 HPV 感染的风险,且高浓度的烟草衍生物还可促使富含 HPV 的宫颈上皮细胞发生恶变^[18]。

本研究还发现免疫力低下是 HPV 感染的影响因素,合并免疫性疾病的患者由于疾病和治疗的影响,免疫功能低下,容易受到 HPV 的感染^[19]。接种 HPV 疫苗是一种预防 HPV 感染的有效途径,

目前已有多个国家将其纳入国家免疫规划管理,免费为青少年人群接种^[20]。HPV 免疫预防主要是通过基因工程技术在体外表达 HPV 重组 L1 蛋白并组装呈病毒样颗粒,将其注入人体,可刺激机体产生 HPV 抗体,从而发挥阻断 HPV 感染的作用^[21]。目前我国 9~45 岁女性人口总数达 3.2 亿,可是截止至 2020 年,我国 HPV 疫苗接种率仅为 2.24%,远低于世界平均接种水平^[22]。

综上所述,阿拉尔片区女性 HPV 高危感染亚型主要以 HPV52、HPV16、HPV58 为主,高危型 HPV 感染和合并感染是诱发宫颈上皮瘤变的重要危险因素。其中性生活过早、性生活频率高、吸烟等是女性人乳头瘤病毒感染危险因素。有关部门应依据上述危险因素合理制定有效干预措施,大力宣传人乳头瘤病毒和疫苗的健康宣传教育工作,降低本地区女性人乳头瘤病毒感染率。

参考文献

- [1] Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis[J]. *Lancet Glob Health*, 2020,8(2):e191-e203.
- [2] 王华庆,王岩,王朝华,等. 子宫颈癌等人乳头瘤病毒相关疾病免疫预防专家共识(简版)[J]. *中国疫苗和免疫*, 2019,25(6):718-735.
- [3] de Martel C, Plummer M, Vignat J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type [J]. *Int J Cancer*, 2017,141(4):664-670.
- [3] Clifford GM, Tully S, Franceschi S. Carcinogenicity of Human Papillomavirus (HPV) Types in HIV-Positive Women: A Meta-Analysis From HPV Infection to Cervical Cancer [J]. *Clin Infect Dis*, 2017,64(9):1228-1235.
- [4] de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018,47:2-13.
- [5] Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, et al. Cervical cancer [J]. *Lancet*, 2019,393(10167):169-182.
- [6] Shi N, Lu Q, Zhang J, et al. Analysis of risk factors for persistent infection of asymptomatic women with high-risk human papilloma virus [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2017,13(6):1-7.
- [7] Li K, Li Q, Song L, et al. The distribution and prevalence of human papillomavirus in women in mainland China [J]. *Cancer*, 2019,125(7):1030-1037.
- [8] Wang J, Tang D, Wang K, et al. HPV genotype prevalence and distribution during 2009-2018 in Xinjiang, China: baseline surveys prior to mass HPV vaccination [J]. *BMC Womens Health*, 2019,19(1):90.

PCT、CRP、EOS、NLR对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的病情评估及预后预测

韩慧珊 张成 汪利宗*

【摘要】目的 探究降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)、嗜酸性粒细胞(EOS)、中性粒细胞/淋巴细胞(NLR)对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者病情评估及预后预测价值。**方法** 将安徽省芜湖市皖南医学院附属弋矶山医院2019年1月至2020年12月收治的AECOPD患者197例设为研究组,再根据其临床表现及动脉血气分析分为轻度(无呼吸衰竭, $n=27$)、中度(急性呼吸衰竭-无生命危险, $n=60$)及重度组(急性呼吸衰竭-有生命危险, $n=110$),选同期来院健康体检者50例(对照组)。根据随访情况将入院后9个月内死亡设为预后不良,存活设为预后良好,比较不同病情、不同预后情况患者PCT、CRP、EOS、NLR水平,判断上述四项指标预测预后不良价值。**结果** 研究组PCT、CRP、EOS、NLR水平均大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组PCT、CRP、EOS、NLR水平比较,轻度组>中度组>重度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。预后不良患者PCT、CRP、EOS、NLR水平高于预后良好患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。PCT、CRP、EOS、NLR水平联合预测联合预测预后不良灵敏度为89.70%,特异度为84.50%($P<0.05$)。**结论** PCT、CRP、EOS、NLR患者随病情加重逐渐升高,对AECOPD患者预后具有重要预测价值。

【关键词】 C-反应蛋白;降钙素原;嗜酸性粒细胞;嗜中性粒细胞与淋巴细胞比值;慢性阻塞性肺疾病

Prognostic value of PCT, CRP, EOS and NLR in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

HAN Huishan, ZHANG Cheng, WANG Lizong*

(Department of General Medicine, Yijishan Hospital affiliated to Wannan Medical College, Wuhu, Anhui, China, 241000)

【ABSTRACT】Objective To explore the prognostic value of procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), eosinophils (EOS), neutrophil (neu) to lymphocyte (lym) ratio (NLR) in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** 197 patients with AECOPD treated in yijishan Hospital Affiliated to Wannan Medical College in Wuhu City, Anhui Province from January 2019 to December 2020 were set as the observation group. According to their clinical manifestations and arterial blood gas analysis, they were divided into mild (no respiratory failure, $n=27$), moderate (acute respiratory failure - no life risk, $n=60$) and severe group (acute respiratory failure - life risk, $n=110$), 50 healthy persons who came to the hospital in the same period were selected (control group). According to the follow-up, death within 9 months after admission was set as poor prognosis and survival as good prognosis. The levels of PCT, CRP, EOS and NLR in patients with different conditions and different prognosis were compared to judge the value of the above four indexes in predicting poor prognosis. **Results** The levels of PCT, CRP, EOS and NLR in the study group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). In terms of PCT, CRP,

基金项目:安徽省医学会急诊医学分会急诊临床研究计划项目(Ky2021021)

作者单位:安徽省芜湖市皖南医学院附属弋矶山医院全科医学科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:汪利宗, E-mail:562510601@qq.com

EOS and NLR levels, mild group Moderate group There was significant difference in severe group ($P<0.05$). The levels of PCT, CRP, EOS and NLR in patients with poor prognosis were significantly higher than those in patients with good prognosis ($P<0.05$). The increased levels of PCT, CRP, EOS and NLR were 89.70% and 84.50% ($P<0.05$). **Conclusion** The severity of PCT, CRP, EOS and NLR patients increased gradually, which has important predictive value for the prognosis of AECOPD patients.

[KEY WORDS] CRP; PCT; EOS; NLR; AECOPD

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)属临床常见慢性支气管炎疾病,病程表现为不可逆进行性发展^[1]。当COPD患者受到细菌、病毒或其他因素影响导致症状加重时,慢性阻塞性肺疾病稳定期就可能转为慢性阻塞性肺疾病急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)^[2]。AECOPD患者死亡率较高,生存状态以及质量均受到严重威胁^[3]。因此,对AECOPD患者进行预后早期评估可提高临床治疗效果,降低死亡率以及改善患者生存情况^[4]。AECOPD多由细菌或病毒感染导致,C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)作为感染细菌标志物对患者预后情况有一定预测作用。炎症反应在AECOPD发生、发展中有着重要作用,有学者表示可用炎性指标预测患者临床转归情况,如中性粒细胞(neutrophil, NEU)与淋巴细胞(lymphocyte, LYM)比值(neutrophil/lymphocyte, NLR)、嗜酸性粒细胞(eosinophilic granulocyte, EOS)等作为炎性指标对AECOPD患者临床预后情况也有相应作用^[5]。本文就PCT、CRP、EOS、NLR对AECOPD疾病病情评估预后预测的价值进行探讨。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2020年12月安徽省芜湖市皖南医学院附属弋矶山医院诊治197例AECOPD患者(研究组)进行临床与随访研究。选同时段来院体检健康群体为对照组(50例)。研究组男97例,女100例;年龄平均(73.98 ± 9.41);病程平均(23.24 ± 3.41)个月;致病原因为细菌73例,其他124例。对照组男24例,女26例;年龄平均(72.34 ± 10.92)岁。除病情外,研究组、对照组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。根据AECOPD患者临床表现及动脉血气分析分为轻度(27例)(无呼吸衰竭)、中度(60例)(急性呼吸衰

竭-无生命危险)及重度组(110例)(急性呼吸衰竭-有生命危险)。本研究经医院伦理委员批准。

纳入标准:①入院确诊AECOPD^[6];②入院前一个月未使用其他方式进行治疗;③年龄 ≥ 18 岁;④肺功能检查中第1sFEV1测定 $\geq 35\%$ ^[6];⑤患者充分了解研究内容,已签署知情同意书。排除标准:①临床资料缺失;②不同意出院后进行随访研究;③合并其他肺功能异常者;④合并心血管疾病、严重精神疾病者;⑤近3个月进行开放性手术。

1.2 诊断标准

以《慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018年)》^[7]为标准:①咳嗽且于晨间频率升高,夜间有咳痰且存在痰量增多趋势。呼吸困难,日常休息时也可呼吸乏力,有喘息、胸闷等特征。部分有食欲减退、消瘦;②体征可见胸廓增大,肋间隙加宽。触诊时可查语颤趋弱,听诊时可查呼吸音趋弱,呼吸间期延长;③X线结果显示肺纹理表现为紊乱、加粗,有肺气肿;④肺功能检查中予支气管舒张药后呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV1)与用力肺活量(forced vital capacity, FVC)比值 $<70\%$ 、呼气容量 $<80\%$ 。

1.3 方法

所有研究对象于清晨空腹状态下抽取静脉血5 mL置于EDTA抗凝管,所有样本均行20 min离心操作(3 000 r/min,离心半径10 cm)。将样本放于 -80°C 处保存,12小时检测完毕。选生化分析仪(日立诊断产品上海有限公司,型号7600 Series)用仪器自带试剂盒测定CRP。选全自动化学发光免疫分析仪(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司 Maglumi 1 000 plus)用抗人PCT试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)以荧光免疫法测PCT。选血细胞分析仪(浙江友孚医疗器械有限公司 BC6800/BC6900)及仪器配套试剂测定NEU与LYM、EOS数量,所有样本均检测两次后取平均值。NEU与LYM计数结束后计算两者比值NLR。

1.4 观察指标

①PCT、CRP、EOS水平。测定所有研究对象血清PCT、CRP水平与EOS数量,分析AECOPD患者、健康者、预后不良者血清PCT、CRP水平与EOS数量。判断PCT、CRP、EOS对预测预后不良价值。②NLR绝对值。测定研究对象NEU、LYM数量,NLR=NEU/LYM。分析AECOPD患者、健康者、预后不良者NLR绝对值,判断其对预测预后不良价值。③预后情况。以出院后9个月为节点,院后9个月内死亡为预后不良。

1.5 统计学处理

用SPSS 22.0软件处理分析统计数据。计数资料用n(%)表示,采用 χ^2 检验;服从正态分布计

量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,行t检验;不服从正态分布计量资料用中位数(四分位距离)表示,行非参数检验;服从正态分布多组计量资料比较用单因素ANOVA方差分析,不服从正态分布多组计量资料行非参数检验;相关危险因素采用Logistic回归分析;建立受试者工作特征曲线(ROC)探究PCT、CRP、EOS、NLR对预后不良的预测价值。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组PCT、CRP、EOS、NLR比较

研究组PCT、CRP、EOS、NLR表达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PCT、CRP、EOS、NLR比较 [中位数(四分位距离)]

组别	n	CRP(mg/L)	PCT(ng/mL)	NLR	EOS($10^9/L$)
对照组	50	1.15(0.83, 1.58)	0.11(0.05, 0.17)	0.65(0.54, 0.83)	0.13(0.08, 0.18)
研究组	197	10.30(5.16, 22.57)	0.21(0.05, 0.52)	4.85(3.29, 8.76)	0.20(0.00, 0.51)
χ^2 值		102.642	13.172	118.866	5.832
P值		<0.001	<0.001	<0.001	0.016

2.2 不同病情患者PCT、CRP、EOS、NLR比较

不同病情患者PCT、CRP、EOS、NLR水平比较,轻度组>中度组>重度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 不同病情患者PCT、CRP、EOS、NLR比较 [($\bar{x} \pm s$)/中位数(四分位距离)]

组别	n	CRP (mg/L)	PCT (ng/mL)	NLR	EOS ($10^9/L$)
轻度组	27	75.26 \pm 71.11	2.64 (1.65, 4.77)	0.19 (0.05, 0.38)	0.13 (0.28, 0.36)
中度组	60	32.93 \pm 22.26*	10.20 (5.65, 44.00 ^a)	6.09 (3.94, 10.06 ^a)	4.09 (2.45, 6.06 ^a)
重度组	110	6.35 \pm 4.48**	0.52 (0.10, 0.70 ^{ab})	0.20 (0.10, 0.56 ^{ab})	0.20 (0.00, 0.30 ^{ab})
F/ χ^2 值		65.484	62.029	34.505	12.079
P值		<0.001	<0.001	<0.001	0.002

注:与轻度组比较,* $P < 0.05$;与中度组比较,** $P < 0.05$ 。

2.3 影响AECOPD患者预后不良多因素分析

两组喝酒、抽烟、性别、基础疾病(糖尿病、高血压)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与预后量好组相比,预后不良组PCT、CRP、EOS、NLR水平明显更高($P < 0.05$)。Logistic回归分析结果可知四项指标升高属预后不良危险因素($P < 0.05$)。见表3~4。

表3 AECOPD患者预后不良多因素分析 [n(%)]

因素		预后不良组 (n=29)	预后良好组 (n=168)	χ^2 值	P值
喝酒	是	6(20.70)	54(32.1)	1.532	0.219
	否	23(79.30)	114(67.9)		
抽烟	是	18(62.10)	87(51.80)	1.051	0.305
	否	11(37.90)	81(48.20)		
性别	男	3(10.30)	42(25.00)	3.014	0.083
	女	26(89.70)	126(75.00)		
糖尿病	是	14(48.30)	80(47.60)	0.004	0.948
	否	15(51.70)	88(52.40)		
高血压	是	16(55.20)	92(54.80)	0.002	0.967
	否	13(44.80)	76(45.20)		
CRP(mg/L)		31.70(20.13, 114.50)	8.58(4.54, 20.70)	42.899	<0.001
PCT(ng/mL)		3.00(2.34, 30.10)	0.16(0.03, 0.36)	64.825	<0.001
NLR		10.20(5.46, 42.38)	4.47(2.96, 7.36)	21.170	<0.001
EOS($10^9/L$)		0.30(0.05, 0.65)	0.20(0.00, 0.30)	8.573	0.003

表4 预后不良Logistic回归分析

指标	B值	S.E.值	Wald值	自由度	Exp(B)	95%CI	P值
CRP	-0.036	0.009	16.810	1	0.964	0.948-0.981	0.000
PCT	-0.284	0.105	7.305	1	0.753	0.613-0.925	0.007
NLR	-0.044	0.019	5.387	1	0.957	0.923-0.993	0.020
EOS	-2.088	0.852	6.011	1	0.124	0.023-0.658	0.014
常量	4.701	0.665	49.980	1	110.006		0.000

2.4 PCT、CRP、EOS、NLR 单独与联合预测预后不良 ROC 曲线分析

PCT、CRP、EOS、NLR 联合预测预后不良灵敏度为 89.70%，特异度为 84.50%，优于单一检测 ($P < 0.05$)。见表 5、图 2。

表 5 PCT、CRP、EOS、NLR 单独与联合预测预后不良预测
Table 5 The poor prognosis predicted by PCT, CRP, EOS and NLR alone and in combination

变量	AUC	SE 值	约登指数	cut-off 值	敏感度	特异度	95%CI	P 值
CRP	0.857	0.031	0.615	12.445	0.966	0.649	0.796~0.918	0.000
PCT	0.968	0.014	0.918	0.775	0.966	0.952	0.942~0.995	0.000
NLR	0.768	0.053	0.419	8.425	0.621	0.798	0.664~0.872	0.000
EOS	0.668	0.063	0.313	0.605	0.141	0.899	0.544~0.792	0.004
联合	0.937	0.022	0.742	0.896	0.897	0.845	0.893~0.980	0.000

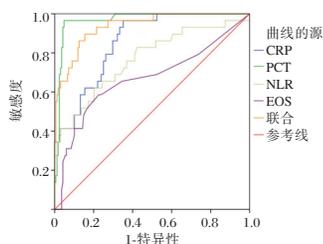


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

COPD 患者多存在肺功能受损、呼吸受限等情况，而 AECOPD 患者多因细菌病菌感染或其他因素致使迷走神经受干扰粘液分泌增多、支气管病情加重导致机体表现出系列急性加重病症^[8]。AECOPD 属不可逆进展性疾病，长期病情反复致使患者生活、心理处于持续负面影响。为减少患者心理、身体损伤，改善医务工作者病情处置与预后处理方案，对 AECOPD 患者进行早期预后评估意义重大。因 AECOPD 患者炎症反应持续时间较长，炎症因子对小气道、肺泡等损害巨大，患者肺功能显著下降^[9]。

PCT 作为炎症性反应指标，当血清 PCT 表达水平升高时，患者可出现粘液增多阻塞气道从而进一步加剧肺功能损害程度。PCT 在健康者血清中很难检测，当机体被细菌感染后，2 h 即可出现 PCT 表达水平升高，24 小时 PCT 表达水平达到峰值^[10]。在脓毒症、急性呼吸道疾病诊断中 PCT 表现出色。近年来有研究表明 PCT 可用于 COPD 患者临床诊断，还可判断患者预后情况。对

于细菌感染所致 AECOPD 而言，PCT 在诊断病情发生、评估病情发展、预后中都有一定价值。

CRP 作为非特异性炎症标志物，对心血管疾病以及自身免疫疾病可起到较好预测与诊断作用^[11]。当机体出现感染，CRP 表达水平可在数小时内升高，若患者病情好转则可迅速减少。临床对呼吸道感染类型鉴别时常用到 CPR，患者属细菌感染时体内 CPR 表达水平升高，而属病毒感染时则只表现为轻度或无升高^[12]。本研究结果提示预后不良患者 CPR 表达水平明显高于预后良好者。本研究中，通过 Logistic 回归分析结果可知 CPR 为 AECOPD 院后预后不良危险因素。该结果表明可将 CPR 作为预测 AECOPD 患者预后不良风险标志物。

炎症作为 AECOPD 疾病发病机制，可单发或系统性发生于机体各处。AECOPD 患者大量释放炎症介质后，可检测到患者外周血中各类炎症标志物显著升高^[13]。有研究表明，NLR 在提示机体细菌性炎症反应时敏感度更高，而 AECOPD 约有 50% 由细菌感染引发。本研究中，预后不良患者 NLR 明显更高，Logistic 回归结果表明 NLR 属 AECOPD 预后不良危险因素。

有学者将血清 EOS 以 2% 为界限对 204 例 AECOPD 患者进行研究，结果显示 EOS 百分比低 AECOPD 患者住院时间较短，出院后病死率较低，EOS 小于 2% 者体内 CRP 表达水平较低、NLR 值较低^[14]。本研究中 CPR、NLR 均为 AECOPD 预后不良危险因素，由于 EOS 升高可提示 CPR 与 NLR 升高，可推测 EOS 对预测患者预后情况评估也有一定作用。本研究结果与推测一致，预后不良患者 EOS 绝对值高于预后良好患者，可作为临床预后评估指标^[15]。但 EOS 预测预后不良患者敏感度仅为 41.4%，与其他学者研究存在差异，可能因为本研究纳入患者致病因素不同。

生物标志物单独诊断或预测疾病发生、发展、预后可存在一定局限性，尤其在标志物特异度不高情况下。如 CRP 属非特异性炎症标志物，单独预测或诊断 AECOPD 存在一定误差，与 PCT 进行联合预测时准确度更高。

综上所述，PCT、CRP、EOS、NLR 水平随患者病情加重逐渐升高，PCT、CRP 与 EOS 数量、NLR 值单独、联合对预测 AECOPD 患者预后不良有一定价值，值得推广。

参考文献

- [1] Wang C. Editorial for "Repeatability of Dynamic 3D Phase-Resolved Functional Lung (PREFUL) Ventilation MR Imaging in Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Healthy Volunteers"[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2021, 54(2):630.
- [2] 韩静, 刘晓宇, 翁军, 等. PDW、BNP及LDH在COPD合并PH患者中的变化及其临床意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(8):1268-1271.
- [3] 张冬芹, 田祥, 刘素芬, 等. 不同剂量布地奈德对AECOPD患者肺功能和PCT、MMP-9及TIMP-1水平的影响[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(4):623-626.
- [4] 查兆煜, 王春艳. CRP、PCT、NLR在慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床价值探讨[J]. *安徽医药*, 2017, 21(5):856-858.
- [5] 罗德云, 陈菊屏. NLR联合降钙素原对COPD急性加重期细菌感染患者预后价值探讨[J]. *天津医药*, 2019, 47(10):4.
- [6] 刘于嵩, 岑宜静, 彭端亮, 等. NLR和PLR对AECOPD的诊断价值分析[J]. *重庆医学*, 2020, 49(11):82-84+89.
- [7] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018年)[J]. *中华全科医师杂志*, 2018, 17(11):856-870.
- [8] Lee AHY, Snowden CP, Hopkinson NS, et al. Pre-operative optimisation for chronic obstructive pulmonary disease: a narrative review[J]. *Anaesthesia*, 2021, 76(5):681-694.
- [9] 安铁峰, 谢苗荣, 王文科, 等. 血清肾上腺髓质素原、降钙素原、D-二聚体水平对急诊慢性阻塞性肺疾病急性加重并II型呼吸衰竭患者预后的预测价值[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2019, 27(6):62-67.
- [10] 李蓓, 徐冬梅. 肺表面活性蛋白D、降钙素原及C-反应蛋白在慢性阻塞性肺疾病临床应用中的价值探讨[J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(23):70-72.
- [11] 王宏俊, 马大文, 刘峰, 等. NLR、PLR在慢性阻塞性肺疾病患者的临床应用价值探讨[J]. *国际呼吸杂志*, 2019, 39(11):7.
- [12] 刘林林, 栾英, 肖凌, 等. COPD急性加重期患者血清PCT、hs-CRP、血气指标变化及其与预后的相关性[J]. *新疆医科大学学报*, 2019, 42(9):1180-1183.
- [13] 吉训恋, 倪琼玮. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者呼气冷凝液中肺部活化调节趋化因子、Clara细胞蛋白16、细胞间黏附分子1水平变化及其与患者短期预后的关系研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(5):40-45.
- [14] 凌玲, 吕荣, 汤金梅, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值对老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者并发心力衰竭的预测价值[J]. *临床内科杂志*, 2019, 36(3):196-198.
- [15] 王月平, 袁开芬, 王应琼, 等. 外周血SAA、NLR及BNP对COPD合并肺部感染患者预后的评估价值[J]. *贵阳医学院学报*, 2020, 45(5):579-583+599.
- (上接第515页)
- [9] 潘贞贞, 宋宇宁, 张琴, 等. 新疆维吾尔自治区伊犁地区女性HPV感染状况及基因型别分布[J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52(9):946-950.
- [10] 胡序怀, 孟璐, 高永祥, 等. 深圳地区某女性体检人群人乳头瘤病毒感染现状及宫颈细胞学异常研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(7):1205-1212.
- [11] 张文莉, 孙萍, 宋佳卉, 等. 1895例社区妇女乳头瘤病毒感染状况与危险因素分析[J]. *宁夏医科大学学报*, 2018, 40(8):948-952.
- [12] 解秋霜. 育龄期妇女HPV感染筛查、疫苗接种认知调查及干预建议[J]. *中国性科学*, 2019, 28(10):119-124.
- [13] 祁青玲, 王乾印, 贾佳, 等. 妇科患者人乳头瘤病毒感染特点及基因分型[J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(11):1353-1356+1362.
- [14] Araldi RP, Sant'Ana TA, Módolo DG, et al. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106:1537-1556.
- [15] Di Paola M, Sani C, Clemente AM, et al. Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):10200.
- [16] 钟阳青, 陈艳清, 肖翔, 等. 阴道微环境改变与高危型人乳头瘤病毒感染的相关性[J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(13):1960-1962.
- [17] 苟甜甜, 朱静. 川西高原地区妇女人乳头瘤病毒感染现状及其与阴道微环境改变的关系[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(11):3614-3621.
- [18] Tarney CM, Beltran TA, Klaric J, et al. Tobacco Use and Prevalence of Human Papillomavirus in Self-Collected Cervicovaginal Swabs Between 2009 and 2014[J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 132(1):45-51.
- [19] Liu YT, Tsou HK, Chiou JY, et al. Association of human papillomavirus infection with risk for rheumatoid arthritis: a population-based cohort study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(12):1734-1736.
- [20] Bruni L, Saura-Lázaro A, Montoliu A, et al. HPV vaccination introduction worldwide and WHO and UNICEF estimates of national HPV immunization coverage 2010-2019[J]. *Prev Med*, 2021, 144:106399.
- [21] 何志晖, 寇增强, 徐爱强. HPV感染及其免疫预防[J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52(1):106-112.
- [22] 宋祎凡, 刘晓雪, 尹遵栋, 等. 2018-2020年中国9~45岁女性人乳头瘤病毒疫苗估算接种率[J]. *中国疫苗和免疫*, 2021, 27(5):570-575.

· 论 著 ·

老年胫骨骨折患者术后骨痂与血清 ALP、IGF-1、sICAM-1 及 β -CTX 水平的相关性

陈锦富^{1*} 吴多庆² 陈余兴³

[摘要] 目的 探讨老年胫骨骨折患者血清 β -I 型胶原羧基端肽(β -CTX)、碱性磷酸酶(ALP)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、人可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)水平与患者骨痂形成的关系。方法 选取2018年1月至2021年3月澄迈县人民医院采用切开复位内固定手术治疗的胫骨骨折患者123例,对123例患者进行随访,根据患者是否发生骨折延迟愈合分为延迟组30例、正常愈合患者93例(对照组);对比两组患者手术前后不同时间点的X线骨痂评分、血清ALP、IGF-1、sICAM-1及 β -CTX水平;采用多元线性回归方法分析X线骨痂评分与患者的年龄、性别、BMI及血清ALP、IGF-1、sICAM-1、 β -CTX的关系。结果 延迟组患者术后1个月、术后2个月的骨痂X线评分均显著低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);术前,延迟组和对照组的血清ALP、IGF-1、sICAM-1、 β -CTX比较差异无统计学意义($P>0.05$);术后2个月,延迟组患者的血清sICAM-1高于对照组,血清ALP、IGF-1、 β -CTX低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);多元线性回归分析结果显示:老年下肢胫骨骨折患者骨痂X线评分与ALP、IGF-1、 β -CTX呈正相关($P<0.05$)、与术后感染、sICAM-1呈负相关($P<0.05$)。结论 老年患者胫骨骨折术后ALP、IGF-1、 β -CTX水平及sICAM-1水平变化可能与骨痂形成有关。

[关键词] β -I型胶原羧基端肽;碱性磷酸酶;胰岛素样生长因子-1;人可溶性细胞间黏附分子-1;骨痂

Correlation between postoperative osteophytes and serum ALP, IGF-1, sICAM-1 and β -CTX in elderly patients with tibiofibular fracture

CHEN Jinfu^{1*}, WU Duoqing², CHEN Yuxing³

(1. Department of Orthopedics, Chengmai People's Hospital, Chengmai, Hainan, China, 571900; 2. Department of Rehabilitation and Reconstruction, Orthopaedic Medical Center, Haikou Hospital Affiliated to Xiangya Medical College, Central South University, Haikou, Hainan, China, 570208; 3. Department of Orthopedics, Hainan West Central Hospital, Danzhou, Hainan, China, 571700)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum β -CTX, ALP, IGF-1, sICAM-1 levels and callus formation in elderly patients with tibial fractures. **Methods** A total of 123 patients with tibial fractures treated by open reduction and internal fixation in Chengmai County People's Hospital from January 2018 to March 2021 were selected, 123 patients were followed up, and they were divided into the delayed group of 30 cases according to whether the patients had delayed fracture union. 93 patients with normal healing (control group); The X-ray callus scores, serum ALP, IGF-1, sICAM-1 and β -CTX levels at different time points before and after surgery were compared between the two groups. Multiple linear regression method was used to analyze the relationship between X-ray callus score and age, gender, BMI and serum ALP, IGF-1,

基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(13A210274)

作者单位:1.澄迈县人民医院骨科,海南,澄迈571900

2.中南大学湘雅医学院附属海口医院骨科医学中心修复重建科,海南,海口570208

3.海南西部中心医院骨科,海南,儋州571700

*通信作者:陈锦富, E-mail:lijingfu009@163.com

sICAM-1 and β -CTX. **Results** The callus X-line scores of patients in the delayed group at 1 month and 2 months after operation were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Before surgery, there was no significant difference in serum ALP, IGF-1, sICAM-1 and β -CTX between the delay group and the control group ($P>0.05$); Two months after operation, the serum sICAM-1 in the delayed group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the serum ALP, IGF-1 and β -CTX were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of multiple linear regression analysis showed that the callus X-line score was positively correlated with ALP, IGF-1 and β -CTX in elderly patients with lower extremity tibial fractures ($P<0.05$), and negatively correlated with postoperative infection and sICAM-1 ($P<0.05$). **Conclusion** The changes of ALP, IGF-1, β -CTX and sICAM-1 levels in elderly patients after tibial fracture may be related to callus formation.

[KEY WORDS] β -I collagen carboxy terminal peptide; Alkaline phosphatase; Insulin-like growth factor-1; Human soluble intercellular adhesion molecule-1

胫骨骨折约占长骨骨折的15%左右,属于临床常见骨折,研究^[1]发现及胫骨骨折常伴有腓骨骨折而导致下肢稳定性下降,增加了手术选择和施展的难度,骨折术后由于骨膜动脉、髂动脉来源的血流供应不足,中下段软组织覆盖较少而导致骨不连或骨延迟愈合,降低了治疗效果。文献^[2]提示造成骨折缠绵难愈的因素较多,骨折类型、年龄及骨折断端血流供应均可在一定程度上影响骨折愈合。最新的研究^[3]发现 β -I型胶原羧基端肽(β -I collagen carboxy terminal peptide, β -CTX)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、人可溶性细胞间黏附分子-1(human soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)均是影响骨折愈合及骨痂形成的影响因素。其中 β -CTX是骨胶原降解产物,能够对机体骨痂改建和骨转换情况进行准确反映;IGF-1与细胞增殖、分化关系密切,是多功能细胞增殖调控因子;sICAM-1在介导炎症反应时具有重要作用^[4]。本文探讨了老年胫骨骨折患者血清ALP, IGF-1, β -CTX和sICAM-1水平与患者骨痂形成的关系,现汇报如下。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2018年1月至2021年3月澄迈县人民医院采用切开复位内固定手术治疗的胫骨骨折患者123例,对123例患者进行随访,根据患者是否发生骨折延迟愈合分为延迟组30例、正常愈合患者93例(对照组)。延迟组,年龄平均(70.8 \pm 7.6)岁;性别构成:男14例、女16例,开放性骨折10例、闭合性骨折20例;其中粉碎性骨

折14例;患者平均体质指数(BMI)(23.5 \pm 2.1)kg/m²。对照组,年龄平均(70.3 \pm 6.2)岁;性别构成:男40例、女53例,开放性骨折35例、闭合性骨折58例;其中粉碎性骨折38例;患者平均BMI(23.4 \pm 2.8)kg/m²。两组患者的年龄、性别、骨折类型、粉碎性骨折占比、BMI比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 相关标准

纳入标准:骨折延迟愈合的诊断标准参考《实用骨科学》第二版中的标准^[5];①患者具有明确的外伤病程;②所有患者均采用切开复位内固定手术治疗;③骨折延迟愈合的患者为经过正规治疗3个月后,患者X线复查骨痂形成量少,骨折断端骨折线清晰,骨折处产生量骨软化组织等;④本研究符合《赫尔透辛基宣言》相关医学伦理规定。排除标准:①长期使用糖皮质激素、钙剂及影响骨代谢指标的患者。②原发性骨肿瘤、骨结核患者。③合并其他系统重大疾病;④长期卧床患者;⑤严重的肝肾功能疾病、感染性疾病。所有患者及家属均签署知情同意书。

1.3 方法

1.3.1 指标检测方法

取所有患者术前及术后2个月的空腹静脉血,离心后分离血清,使用我院全自动生化分析仪(美国GE公司生产, YHYG-600型)对两组患者血清ALP进行检测,酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清IGF-1、sICAM-1、 β -CTX水平,试剂盒购于南京建成生物研究所,所有操作均按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 骨折X线评分

参考《骨与关节损伤》^[6]中的评分标准,骨痂X

线评分标准骨折断处边缘趋向为骨膜轻度反应,未见骨痂为Ⅰ级;断处边缘模糊,其骨膜反应较浅淡,有少量骨痂,密度淡,边缘不平整为Ⅱ级;断处边缘已接近消失但仍可见,骨膜反应深,其骨痂量增多,未达到将缺损填满,边缘较清晰,密度增深为Ⅲ级;断处边缘已完全消失,其骨膜反应密度已近似骨影,缺损被骨痂填满,并与骨皮质密度一样且相互连接为Ⅳ级。将Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级分别计为0、1、2、3分,并且计算积分。

1.4 统计分析

采用SPSS 21.0软件版本对数据进行分析统计。计量数据采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验;多因素分析采用多元线性回归分析法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组术后1个月、术后2个月的骨痂X线评分比较

延迟组患者术后1个月、术后2个月的骨痂X线评分均显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组术后1、2个月的骨痂X线评分比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	术后1个月	术后2个月
延迟组	30	0.83±0.40	1.52±0.66
对照组	93	1.78±0.42	2.60±0.28
<i>t</i> 值		9.222	8.099
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.2 两组血清ALP、IGF-1、sICAM-1、β-CTX比较

术前,延迟组和对照组的血清ALP、IGF-1、sICAM-1、β-CTX比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);术后2个月,延迟组患者的血清sICAM-1高于对照组,血清ALP、IGF-1、β-CTX低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组血清ALP、IGF-1、sICAM-1、β-CTX比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	ALP(U/L)		IGF-1(ng/mL)		sICAM-1(ng/mL)		β-CTX(ng/mL)	
		术前	术后2个月	术前	术后2个月	术前	术后2个月	术前	术后2个月
延迟组	30	74.3±8.3	85.3±9.1	207.8±44.6	310.4±57.8	304.8±79.6	212.7±48.2	0.40±0.07	0.45±0.06
对照组	93	76.0±6.6	96.1±10.3	212.4±48.0	351.2±60.3	297.3±75.0	144.8±32.7	0.41±0.06	0.52±0.08
<i>t</i> 值		-1.149	-5.131	-0.464	-3.254	0.469	8.737	-0.762	-4.405
<i>P</i> 值		0.253	0.000	0.643	0.001	0.640	0.000	0.448	0.000

2.3 多元线性回归分析

采用多元线性回归分析,结果显示:老年下肢胫骨骨折患者骨痂X线评分与ALP、IGF-1、β-CTX呈正相关($P < 0.05$)、与术后感染、sICAM-1呈负相关($P < 0.05$)。见表3。

表3 多元线性回归结果

参数	β值	S.E值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄	0.304	0.231	1.732	0.069
性别	2.271	1.794	1.602	0.073
BMI	1.420	1.208	1.382	0.172
开放性骨折	2.557	2.213	1.335	0.181
术后感染	-4.109	2.885	2.029	0.045
ALP	0.692	0.437	2.508	0.026
IGF-1	0.488	0.281	3.016	0.001
β-CTX	0.770	0.419	3.377	0.000
sICAM-1	-0.385	0.233	2.730	0.009

3 讨论

胫骨骨折常见开放性骨折和四肢长管状骨骨折,因胫骨前内侧紧贴皮下软组织较少致使患者血液运输较差,常出现较重损伤并易造成感染,骨折区延迟愈合甚至不愈合,严重者还可出现化脓性骨髓炎^[7]。

骨痂为骨头受伤后愈合形成的伤痂,骨痂形成的速度能对骨愈合状态直接反映,原始骨痂形成并不断改造,最终达到愈合标准^[8]。本研究结果显示延迟组和对照组术后1个月、术后2个月的骨痂X线评分比较延迟组患者术后1个月、术后2个月的骨痂X线评分均显著低于对照组,差异具有统计学意义。上述结果说明胫骨骨质愈合延迟患者的骨痂形成较差,需要临床给予注意。形成血肿、原始骨痂形成及骨痂改建是骨折愈合的主要3个步骤,该过程包含多种分子和细胞的相互作用^[9]。影响骨折愈合的因素也较为复杂,主要分为免疫功能、营养状况、年龄等全身因素,骨折断端情况、骨折血液供应情况及是否存在等局部因素。此外,文献^[10]提

示间充质细胞和骨细胞是否正常增殖分化均是影响骨折愈合的重要因素。

血清学指标研究发现术前,延迟组和对照组的血清 ALP、IGF-1、sICAM-1、 β -CTX 比较差异无统计学意义;术后 2 个月,延迟组患者的血清 sICAM-1 高于对照组,血清 ALP、IGF-1、 β -CTX 低于对照组。上述结果说明胫骨骨折术后延迟愈合存在 ALP、IGF-1、sICAM-1、 β -CTX 表达异常。ALP 主要来源于骨骼和肝脏,广泛分布于各脏器,能够将对应底物去磷化,文献^[11]提示成骨细胞变化及成骨细胞活性与 ALP 活力具有密切相关性,骨骼疾病由于骨细胞增殖可促进血清 ALP 的快速升高。IGF-1 在骨折修复和骨骼生长过程中具有重要作用,能够调节间充质细胞分化、增殖,进而诱导软骨细胞和成骨细胞增生^[12]。sICAM-1 可通过介导细胞与细胞外基质、细胞间的粘附作用,诱导炎症细胞浸润,进而造成骨折端炎症损伤^[13]。 β -CTX 是胶原降解产物,骨痂改建过程中 I 型胶原大量降解,因而骨折愈合延长患者 β -CTX 水平较高。

本研究采用多元线性回归分析,结果显示:老年下肢胫骨骨折患者骨痂 X 线评分与 ALP、IGF-1、 β -CTX 呈正相关、与术后感染、sICAM-1 呈负相关。上述结果说明老年患者胫骨骨折术后 ALP、IGF-1、 β -CTX 水平及 sICAM-1 水平变化可能与骨痂形成有关并在骨折愈合中发挥重要的调节作用。sICAM-1 主要介导细胞黏附和炎症反应,骨折延迟愈合 IGF-1 分泌不足,导致软骨细胞和骨细胞增生下降,I 型胶原降解水平下降。文献^[14]提示骨折愈合期间,ALP 活力可轻度增高,血清 ALP 含量增加,且随着骨折愈合增高 ALP 上升幅度越大,愈合能力越强。此外,研究^[15]发现 sICAM-1 的高水平表面骨折愈合患者可能在骨折断端存在一定程度的炎症反应,进而延长了骨折愈合时间。

综上所述,老年患者胫骨骨折术后 ALP、IGF-1、 β -CTX 水平及 sICAM-1 水平变化可能与骨痂形成有关。

参考文献

[1] 李志鹏,徐磊,杜仲补肾健骨颗粒对骨折不愈合患者 sICAM-1、sVCAM-1 及骨诱导蛋白 BMP-2 及微循环因子的

影响[J].现代中西医结合杂志,2018,18(7):749-752.

- [2] 葛向荣,马红霞,林继红.胫骨骨折患者术后血清 IGF-1、 β -CTX、CYR61 蛋白的表达与延迟愈合的关系[J].创伤外科杂志,2020,22(3):205-208.
- [3] 李盼祥,刘晓峰,蒋亮,等.桃红四物汤对骨质疏松性股骨粗隆间骨折患者 PFNA 术后骨折愈合的影响及机制[J].山东医药,2018,19(1):67-69.
- [4] 郑海亮,刘晶.血清 CYR61、IGF-1 水平对胫骨平台骨折术后愈合延迟的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(8):1108-1111.
- [5] 万马,徐苏洋,高田田.微创钢板接骨技术联合锁定加压钢板内固定对四肢粉碎性骨折患者术后骨折愈合及血清神经生长因子、血管细胞黏附分子及碱性磷酸酶水平的影响[J].中国综合临床,2018,34(3):253-257.
- [6] Yu W, Zhao J, Kong L, et al. Involvement of bone-specific alkaline phosphatase and procollagen I carboxy-terminal propeptide as predictors of early fracture risk in Chinese Children with juvenile osteoporosis: An interventional clinical trial[J]. Bangl J Pharmacol, 2018, 13(2):164.
- [7] 连志远,马少波,李建.传统手术与应用 3D 打印技术手术对胫骨平台骨折的疗效比较[J].湖南师范大学学报(医学版),2018,15(6):82-85.
- [8] 陈晖.MIPPO 技术联合 HBO 对胫骨骨折患者踝关节功能及血清 FGF-2、IGF-1 水平的影响[J].医学理论与实践,2020,33(14):2318-2320.
- [9] 王敏敏,杨振青.胫骨平台骨折术后感染患者 PCT、CRP 检测及其临床意义[J].浙江创伤外科,2020,25(1):143-144.
- [10] 苏启旭,巴黎,王松,等.切开复位内固定取髂骨植骨与同种异体骨植骨对胫骨平台骨折患者血清 CRP、IL-6、TNF- α 水平的影响[J].现代医学与健康研究(电子版),2020,4(18):50-52.
- [11] 杨晓峰,李彬,陈颖.不同钢板内固定技术对胫骨平台骨折患者血清 SP NPY TNF- α IL-1 β 水平及膝关节功能的影响[J].河北医学,2020,26(9):1491-1494.
- [12] 陈刚,郑文标,陈滔,等.关节镜下与切开复位内固定手术治疗胫骨平台 Schatzker III 型骨折血清炎症因子变化对预后的影响[J].中国骨伤,2020,33(3):252-256.
- [13] 李德欣,李涛,张伟涛.GSP、ACA 及 APCR 在胫骨平台骨折患者近期预后中的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(11):1552-1555+1560.
- [14] 刘冰,周志斌,徐海峰.交锁髓内钉内固定治疗胫骨多段骨折的疗效及其对血清 TGF- β 1、FGF-2 的影响[J].华夏医学,2020,33(4):44-47.
- [15] 黄浩.关节镜下微创锁定钢板固定治疗胫骨平台骨折对患者膝关节功能及血清 BMP-2、IGF-1、BGP 水平的影响[J].现代医学与健康研究(电子版),2020,4(16):77-79.

· 论 著 ·

COPD 并 RF 经 NIPPV 后 Fib、D-D、血气参数的变化及与肺功能的关系

杨茜^{1*} 王慧婷² 尹月嫡³ 金明月⁴

【摘要】 目的 探究慢性阻塞性肺疾病(COPD)并呼吸衰竭(RF)经无创正压通气(NIPPV)治疗后纤维蛋白原(Fib)、D-二聚体(D-D)、血气参数的变化及与肺功能的关系。方法 将2018年4月至2021年2月于首都医科大学附属北京世纪坛医院治疗的98例COPD合并RF患者作为研究组,选取同期86例健康体检者作为对照组。比较研究组治疗前后与对照组Fib、D-D、血气参数[动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)]、肺功能[用力肺活量(FVC)、一秒用力呼气容积(FEV₁)、FEV₁/FVC];分析COPD合并RF的Fib、D-D、血气参数与肺功能的相关性。结果 Fib、D-D、PaCO₂水平:研究组治疗前>研究组治疗后>对照组,PaO₂、FVC、FEV₁、FEV₁/FVC水平:研究组治疗前<研究组治疗后<对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。COPD并RF患者Fib、D-D、PaCO₂与FVC、FEV₁、FEV₁/FVC呈负相关(P<0.05),PaO₂与FVC、FEV₁、FEV₁/FVC呈正相关(P<0.05)。结论 COPD合并RF患者肺功能受损会影响Fib、D-D、血气参数,采取NIPPV治疗后能有效改善患者的肺功能、血气参数,有助于患者呼吸系统的恢复,减轻血液高凝状态。

【关键词】 NIPPV治疗; PaCO₂; Fib; COPD合并RF; 肺功能

Relationship between the changes of Fib, D-D and blood gas parameters of COPD combined with RF after NIPPV and lung function

YANG Qian^{1*}, WANG Huiting², YIN Yuedi³, JIN Mingyue⁴

(1. Department of Critical Medicine, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100038; 2. Department of Spine Surgery, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing, China, 100035; 3. Department of Vascular Surgery, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing, China, 100035; 4. Department of Respiratory, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

【ABSTRACT】 Objective To explore the relationship between the changes of fibrinogen (Fib), D-dimer (DD) and blood gas parameters in patients of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) combined with respiratory failure (RF) after noninvasive intermittent positive pressure ventilation (NIPPV) and lung function. **Methods** The clinical data of 98 COPD patients with RE who were treated in Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from April 2018 to February 2021 were selected as the study group; another 86 cases who had health examination were selected as the control group. Compared The levels of Fib, DD, and blood gas parameters [arterial partial pressure of oxygen (PaO₂), arterial Partial pressure of carbon dioxide in artery (PaCO₂)], lung function [forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in one second (FEV₁), and FEV₁/FVC were compared between the study group and the control group before and after treatment. The

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7202013)

作者单位:1.首都医科大学附属北京世纪坛医院重症医学科,北京 100038

2.北京积水潭医院脊柱外科,北京 100035

3.北京积水潭医院血管外科,北京 100035

4.首都医科大学附属北京世纪坛医院呼吸科,北京 100038

*通信作者:杨茜, E-mail: yangqian@bjsjth.cn

correlation between Fib, DD, blood gas parameters of COPD combined with RF and lung function was analyzed. **Results** Fib, DD, PaCO₂ levels: before treatment in the study group > after treatment in the study group > the control group. PaO₂, FVC, FEV₁, FEV₁/FVC levels: before treatment in the study group < after treatment in the study group < the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Fib, DD, PaCO₂ were negatively correlated with FVC, FEV₁, FEV₁/FVC, and PaO₂ was positively correlated with FVC, FEV₁, FEV₁/FVC in COPD patients with RF ($P < 0.05$). **Conclusion** Impaired lung function in patients with COPD and RF can affect the levels of Fib, D-D, and blood gas parameters. NIPPV treatment can effectively improve the patient's lung function and blood gas parameters, help the recovery of the patient's respiratory system, and reduce blood hypercoagulability.

[KEY WORDS] NIPPV treatment; PaCO₂; Fib; COPD with RF; Lung function

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是由通气功能障碍引起的以肺功能减退为特征的肺部疾病。据统计,我国40岁以上人群COPD的发病率达8.3%^[1]。当COPD患者出现急性感染时易引发呼吸功能下降,乃至发展为呼吸衰竭(Respiratory failure, RF),严重时危及患者的生命安全。据研究表明,当COPD患者合并RF时,单纯的药物治疗并不能缓解大部分临床症状,因此联合机械通气治疗成为挽救COPD合并RF患者生命的重要手段^[2]。常规有创通气虽能改善患者症状,但侵入性操作可增加患者发生医源性感染风险,在临床治疗的开展中存在一定局限性^[3]。而无创正压通气(noninvasive intermittent positive pressure ventilation, NIPPV)为现阶段治疗COPD合并RF的常用方式,其具有无创性及并发症少等优点^[4]。此外,COPD合并RF易诱发低氧血症或高碳酸血症,且患者常存在缺氧及二氧化碳潴留表现。为此,本研究就COPD合并RF经NIPPV治疗后纤维蛋白原(Fibrinogen, Fib)、D-二聚体(D-dimer, D-D)、血气参数的变化及与肺功能的关系进行分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年4月至2021年2月于首都医科大学附属北京世纪坛医院接受治疗的98例COPD合并RF患者为研究组,其中男62例,女36例,平均年龄(67.50±10.23)岁;平均病程(16.26±3.52)年。纳入指标:①满足中华医学会编订的《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》内的相关诊断标准^[5];②经肺功能检查、胸部X线/CT等检查确诊;③临床资料完整者;④无支气管哮喘病史。排除标准:①存在心、肝、肾和脑等脏器严重功能不全者;②昏迷状

态下等无自主呼吸,无法配合治疗者;③存在精神疾病、意识障碍等配合度低的情况;④呼吸道的清除能力较差,而且误吸性极高者;⑤纳入研究前2周服用过抗血小板聚集、抗凝药者。另选取同期进行体检的86例健康者作为对照组,其中男49例,女37例,平均年龄(67.50±10.23)岁。两组性别、年龄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 治疗方法

COPD合并RF患者予以NIPPV治疗:连接呼吸机管道,测试呼吸机功能是否正常,协助患者合理佩戴面罩。无创呼吸机参数的选择:将工作模式调节至S/T模式;呼吸频率控制在12~16次/min,依据患者病情发展、基础条件、生命体征等给予合适的辅助压力,呼吸机的吸气相压力从8~10 cm H₂O开始,以每次上调2 cm H₂O进行调节,由低到高逐步调节至12~20 cm H₂O,呼气相压力也需从2~4 cm H₂O起,视患者的病情变化逐步调整至4~6 cm H₂O之间,使患者的血氧饱和度在体内含量达到90%以上,吸氧浓度35%~50%。

1.2.2 检测方法

检测时间为对照组体检时、研究组入院时及NIPPV治疗4 h后。抽取受检者5 mL静脉血,3 000 r/min离心10 min,离心半径10 cm,分离血清,置-80℃保存。采用沃芬ACL-TOP-750型全自动凝血分析仪(西班牙沃芬集团)及配套试剂盒,采用凝固法检测纤维蛋白原(fibrinogen, Fib),采用乳胶免疫比浊法检测D-二聚体(D-Dimer, D-D)。抽取受检者1 mL动脉血,采用美国沃芬GEM premier 3500型血气分析仪检测受检者动脉血氧分压

(arterial partial pressure of oxygen, PaO₂)、动脉血二氧化碳分压(Partial pressure of carbon dioxide in artery, PaCO₂)。采用耶格肺功能检测仪检测肺功能,由专业人员操作,主要检测指标包括:用力肺活量(Forced vital capacity, FVC)、一秒用力呼气容积(Forced expiratory volume in one second, FEV₁)及第一秒用力呼气量占所有呼气量的比例(FEV₁/FVC)水平。

1.3 统计学方法

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

相关分析 COPD 合并 RF 患者 Fib、D-D、血气参数与肺功能的相关性,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组治疗前后与对照组 Fib、D-D、PaO₂、PaCO₂水平比较

Fib、D-D、PaCO₂水平:研究组治疗前>研究组治疗后>对照组,PaO₂水平:研究组治疗前<研究组治疗后<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 研究组治疗前后与对照组 Fib、D-D、PaO₂、PaCO₂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FIB, D-D, PaO₂ and PaCO₂ levels between the two groups at admission ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Fib (g/L)	D-D (mg/L)	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)
研究组治疗前	98	4.51±0.38	1.59±0.43	50.46±5.82	59.56±5.72
研究组治疗后	98	3.88±0.29 ^a	1.21±0.37 ^a	70.33±7.49 ^a	44.79±5.96 ^a
对照组	85	3.57±0.35 ^{ab}	0.87±0.29 ^{ab}	73.42±9.86 ^{ab}	41.83±3.47 ^{ab}
<i>F</i> 值		182.48	86.17	241.94	310.30
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与研究组治疗前比较,^a $P < 0.05$;与研究组治疗后比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 研究组治疗前后与对照组 FVC、FEV₁、FEV₁/FVC水平比较

FVC、FEV₁、FEV₁/FVC水平:研究组治疗前<研究组治疗后<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 研究组治疗前后与对照组 FVC、FEV₁、FEV₁/FVC水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of FVC, FEV₁ and FEV₁/FVC levels between the two groups at admission ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FVC (L)	FEV ₁ (L)	FEV ₁ /FVC (%)
研究组治疗前	98	1.75±0.33	1.02±0.21	45.37±9.86
研究组治疗后	98	1.98±0.27 ^a	2.59±0.35 ^a	74.19±10.95 ^a
对照组	85	2.17±0.31 ^{ab}	3.08±0.42 ^{ab}	82.46±12.33 ^{ab}
<i>F</i> 值		43.84	974.42	292.52
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与研究组治疗前比较,^a $P < 0.05$;与研究组治疗后比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 COPD 合并 RF 患者 Fib、D-D、血气参数与肺功能的相关性分析

Pearson 相关性分析显示:COPD 合并 RF 患者 Fib、D-D、PaCO₂与 FVC、FEV₁、FEV₁/FVC 呈负相关($P < 0.05$),PaO₂与 FVC、FEV₁、FEV₁/FVC 呈正相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 COPD 合并 RF 患者 Fib、D-D、血气参数与肺功能的相关性分析

Table 3 correlation analysis of coagulation function, blood gas parameters and lung function in patients with COPD complicated with respiratory failure

指标	FVC		FEV ₁		FEV ₁ /FVC	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
Fib	-0.427	<0.001	-0.387	<0.001	-0.543	<0.001
D-D	-0.487	<0.001	-0.449	<0.001	-0.546	<0.001
PaO ₂	0.478	<0.001	0.468	<0.001	0.427	<0.001
PaCO ₂	-0.453	<0.001	-0.397	<0.001	-0.524	<0.001

3 讨论

COPD 合并 RF 主要以胸闷、气短、胸痛、咳嗽等表现为主,故临床治疗主要以改善患者的肺通气能力为首要目标^[6-7]。据研究显示,COPD 合并 RF 的患者 PaCO₂水平会出现上升,同时 PaO₂水平会出现下降^[8]。本研究显示,与对照组相比,COPD 合并 RF 患者治疗前 Fib、D-D、PaCO₂水平升高,PaO₂水平下降。既往研究显示,COPD 合并 RF 患者 FVC、FEV₁、FEV₁/FVC 水平存在明显降低,这与本研究结果一致^[9-10]。说明 COPD 合并 RF 存在明显的血气指标紊乱与肺功能下降。究其原因可能为,COPD 患者常存在感染、缺氧症状以及血

栓前状态,当合并 RF 时就会引起缺氧症状加剧,机体的炎症介质水平增加更为显著,持续性的血液高凝状态导致肾小球内微小血栓的形成,引起肾小球的损伤,同时又激活了纤溶系统,致使 Fib 沉积在肾小球内^[11];加之持续性的高碳酸血症以及低氧血症造成微血管的直接损伤,促使凝血系统激活,致使肝素抗凝活性下降,从而引起凝血因子的活性增加,造成继发性纤溶亢进,从而导致 D-D、Fib 的表达水平上调^[12]。

NIPPV 是当前国外推荐治疗 COPD 合并 RF 的首选方式,该方式在患者可自主呼吸的前提下,通过面罩连接人机界面,为患者提供压力水平以维持气道压,以此进行辅助通气^[13-14]。既往 Rong 等^[15]研究指出,COPD 患者的缺氧主要与肺通气血流比例失衡相关。类似的,Zhou 等^[16]研究认为,采取 NIPPV 低浓度给氧方式能有效纠正患者缺氧情况,根据肺泡通气和 PaCO₂ 的关系,当 PaCO₂>75 mmHg 时,就会引起线性范围内的通气增多,致使 PaCO₂ 下降,酸碱值上升,因此认为 COPD 合并 RF 应用 NIPPV 治疗疗效较佳。本研究结果说明 NIPPV 治疗可改善患者血气参数和血液高凝状态以及肺功能,这与既往研究结果相似^[17]。分析其中原因,NIPPV 通过促进机体潮气量的增加,改善患者的通气功能,从而减轻呼吸肌负荷,继而有效维持体内 PaO₂、PaCO₂ 水平。此外 NIPPV 可提供外源性的呼气末正压,在提高呼吸肌的性能的同时有效减少气道的阻力,扩张闭塞的肺泡,从而促进表面物质的释放以及痰液的排出,继而改善患者的肺换气功能^[18]。本文研究结果提示 Fib、D-D、血气参数指标与 COPD 合并 RF 患者肺功能相关。

综上所述,COPD 合并 RF 患者肺功能受损会影响 Fib、D-D、血气参数,采取 NIPPV 治疗后能有效改善患者的肺功能、血气参数,有助于患者呼吸系统的恢复,减轻血液高凝状态。

参考文献

- Petit A, Knabe L, Khelloufi K, et al. Bronchial Epithelial Calcium Metabolism Impairment in Smokers and COPD: Decreased ORAI3 Signaling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019,61(4):348-352.
- 李俭平. 异丙托溴铵联合无创呼吸机通气治疗对 COPD 合并呼吸衰竭患者的临床观察[J]. *中国医疗器械信息*, 2020, 26(4):184-185.
- 郑艳会,陈秀梅,邵丽娜. 不同有创-无创序贯通气切换点在慢性阻塞性肺疾病所致 II 型呼吸衰竭并肺性脑病患者中应用效果的对比研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2019,27(3):66-70.
- 邓睿,梁红卫,唐欣慧. 无创正压通气联合纤维支气管镜下肺泡灌洗治疗慢性阻塞性肺疾病合并严重呼吸衰竭的疗效研究[J]. *广西医科大学学报*, 2019,36(2):250-253.
- 贾伟,钱晓君,赵世光,等. 降钙素原检测在慢性阻塞性肺疾病抗生素治疗中的应用[J]. *临床肺科杂志*, 2018,23(5):810-813.
- 高辉,高院,孙萍,等. 网络远程管理联合无创通气治疗慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭的临床研究[J]. *临床肺科杂志*, 2020,25(3):347-351.
- 孙彩玲,张华钊,孙淑红. 血清 NT-proBNP、D-二聚体、ST2 水平与 COPD 合并呼吸衰竭患者预后的相关性分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020,12(2):229-233.
- Khalimi K V, Mez B, Veszeli N, et al. Changes of coagulation parameters during erythema marginatum in patients with hereditary angioedema [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81(24):293-298.
- Wang J, Zhu M, Zhou X, et al. Changes in tumor markers, coagulation function and serum VEGF in patients with ovarian cancer and benign ovarian disease[J]. *J BUON*, 2020,25(5):432-436.
- 邱萍,谭明旗,郑锐. 慢性阻塞性肺疾病合并支气管扩张的临床特征分析[J]. *国际呼吸杂志*, 2020,40(14):1061-1066.
- 刘景刚,杨圣强,袁继印,等. 经鼻高流量氧序贯治疗慢性阻塞性肺疾病机械通气患者的临床研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2019,30(4):459-462.
- Qiu F, Wu Y, Zhang A, et al. Changes of coagulation function and risk of stroke in patients with COVID [J]. *Brain Behavior*, 2021,11(6):431-437.
- 虞乐群,陆益民,田高润,等. 慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭患者行外周血 TREM-1 检测对序贯治疗切换点应用研究[J]. *海南医学院学报*, 2019,25(16):1219-1223.
- Viktoriia A, Pinchuk, Ya G, et al. Features of clinical manifestations, free radical, coagulation and aggregation properties of blood in patients with craniocerebral trauma [J]. *Wiad Lek*, 2019,72(4):625-629.
- Rong B, Fu T, Rong C, et al. Correlation between serum IL-32 concentration and clinical parameters of stable COPD: a retrospective clinical analysis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):92-96.
- Zhou WY, Zhou WJ, Bai JJ, et al. TEG in the monitoring of coagulation changes in patients with sepsis and the clinical significance [J]. *Exper Therap Med*, 2019,17(5):1458-1471.
- Suri TM, Esquinas A, Hadda V, et al. HVNI vs NIPPV in the treatment of acute decompensated heart failure: Is acute stabilization enough? [J]. *Am J Emerg Med*, 2019,37(11):1429-1435.
- 李春梅,胡莺,陈晓霞,等. 无创正压通气联合纤维支气管镜肺泡灌洗对老年 AECOPD 合并 II 型呼吸衰竭患者肺功能及血气指标的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(24):4752-4755.

无创产前基因检测技术在胎儿染色体非整倍体检测中的临床应用

禔淑霞 谢小雷 陈晨 刘艳枚 林金端 李付广 潘意珍 汤巧敏 尹卫国*

[摘要] 目的 评价无创产前基因检测技术(NIPT)在产前胎儿染色体非整倍体筛查中的应用价值。方法 收集2017年10月至2021年6月在清远市人民医院行NIPT检测的6 535例孕妇的临床资料,高风险孕妇行羊水穿刺术进行核型确诊,低风险孕妇进行产前产后电话随访。结果 6 535例样本中共检出胎儿染色体非整倍体异常高风险88例,检出率为1.35%。其中68例进行产前诊断确诊21三体综合征(T21)、18三体综合征(T18)、13三体综合征(T13)、性染色体异常(SCA)、罕见染色体异常(RATs)的例数分别为18、5、8和1例,其阳性预测值(PPV)分别为72%(18/25)、83.3%(5/6)、40%(8/20)和7.14%(1/14)。高龄组阳性检出率大于低龄,差异有统计学意义($\chi^2=13.005, P<0.05$);唐筛高风险组阳性检出率大于临界风险或单指标异常组,差异有统计学意义($\chi^2=18.565, P<0.05$)。结论 NIPT技术可快速准确地检测胎儿18、21号染色体非整倍体,但13号染色体PPV较低,而SCA及RATs的检出及有效性有待完善及优化。高龄及唐筛高风险人群患染色体异常疾病的风险升高,应重点关注NIPT在此类人群的应用。

[关键词] 无创产前基因检测;胎儿染色体非整倍体;无创产前筛查;产前诊断

Clinical application of non-invasive prenatal genetic testing technology in fetal chromosomal aneuploidy detection

XUAN Shuxia, XIE Xiaolei, CHEN Chen, LIU Yanmei, LIN Jinduan, LI Fuguang, PAN Yizhen, TANG Qiaomin, YIN Weiguo*

(Department of Laboratory Medicine, the Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan People's Hospital, Qingyuan, Guangdong, China, 511518)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the application of non-invasive prenatal gene detection in prenatal chromosome aneuploid detection. **Methods** The clinical data of 6 535 pregnant women who underwent non-invasive prenatal genetic testing (NIPT) in Qingyuan People's Hospital from October 2017 to June 2021 were collected. High-risk pregnant women underwent amniocentesis for karyotype diagnosis while low-risk pregnant women were follow-up by telephone. **Results** A total of 88 high-risk fetal chromosomal aneuploidy were detected in 6 535 samples, with a detection rate of 1.35%. Among them, 68 cases were diagnosed with trisomy 21 (T21), trisomy 18 (T18), trisomy 13 (T13), sex chromosomal abnormalities (SCA), and rare chromosomal abnormalities (RATs) by prenatal diagnosis. There were 18, 5, 8 and 1 cases, respectively, and their positive predictive value (PPV) were 72% (18/25), 83.3% (5/6), 40% (8/20) and 7.14% (1/14), respectively). The positive detection rate of the elderly group was higher than that of the young age group, the difference was statistically significant ($\chi^2=13.005, P<0.05$). The positive detection rate of Tang screening high-risk group was higher than that of borderline risk or single-index abnormal group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=18.565, P<0.05$). **Conclusion** NIPT can detect fetal chromosome 18 and 21

基金项目:广东省医学科研基金项目(A2020553);清远市人民医院医学科研基金(20190212)

作者单位:广州医科大学附属第六医院清远市人民医院检验医学部,广东,清远 511518

*通信作者:尹卫国, E-mail:hyinweiguo@hotmail.com

aneuploidy quickly and accurately, but the PPV of chromosome 13 is low. And the detection and effectiveness of SCA and RATs need to be improved and optimized. The risk of chromosomal abnormalities in the elderly and high-risk population is increased. These people should be paid more attention in the application of NIPT.

[KEY WORDS] Non-invasive prenatal gene testing; Fetal chromosome aneuploid; Noninvasive prenatal screening; Prenatal diagnosis

1997年Lo等^[1]发现孕妇外周血中存在胎儿游离DNA (cell-free fetal DNA, cffDNA), 2008年提出应用高通量测序 (Next-generation Sequencing, NGS) 技术对 cffDNA 进行检测, 经生物信息学分析评估胎儿患常见染色体非整倍体风险的方法^[2], 即无创产前检测技术 (Non-invasive prenatal testing, NIPT)。2012年, 美国妇产科医师学会 (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG) 声明 NIPT 可用于胎儿罹患染色体非整倍体疾病的高风险人群^[3], 这是国外最早明确 NIPT 用途的指南。在国内, 2016年国家卫健委明确将 NIPT 检测技术作为介于血清学筛查和羊水穿刺染色体核型分析之间的二次筛查手段, 是对常规产前筛查和产前诊断技术的有益补充^[4]。

随着 NIPT 的深入研究及技术优化, 国内外对 NIPT 的临床应用共识也在不断改变、调整、细化。NIPT 应用人群从指定的唐筛高风险人群扩展到普通人群, 而慎用人群中的双胞胎妊娠也更改为适用人群^[5-6]。但随之而来的问题也浮现, 例如 NIPT 能否取代血清学筛查作为一线筛查技术, 是否应用于性染色体异常 (Sex Chromosome Aneuploidies, SCA) 以及罕见染色体非整倍体 (Rare autosomal trisomies, RATs) 筛查等, 甚至存在 NIPT 可以代替产前诊断的误解。因此, 如何更好地将 NIPT 应用于不同人群的产前筛查, 降低畸形出生率, 是每一位产前诊断工作者面临的挑战。

本研究通过分析 NIPT 检测结果, 结合 NIPT 高风险孕妇的羊水细胞核型分析, 对 NIPT 低风险人群进行产前及产后随访, 评价 NIPT 并技术对不同染色体异常的阳性预测值 (PPV), 以及不同临床指征中的阳性检出率, 评价 NIPT 在产前筛查中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象

2017年10月至2021年6月在清远市人民医院行 NIPT 检测的孕妇 6 535 例, 纳入标准: 孕周 12

周以上, 单双胎, 因临床或个人要求行 NIPT 在研究截止时已得知妊娠结局。排除标准: 曾有染色体异常分娩史; 夫妻一方有明确染色体疾病; 孕妇一年内接受过异体输血; 移植手术; 细胞治疗或接受过免疫治疗等可能对高通量测序结果造成干扰的; 胎儿 B 超怀疑有异常的; 各种基因病的高风险人群^[4]。纳入的例数中, 6 446 例为单胎妊娠, 89 例为双胎妊娠; 6 403 例为自然受孕, 132 例为辅助生殖受孕。孕妇年龄平均 (30.00 ± 4.94) 岁; 孕周平均 (17.20 ± 4.19) 周。所有受检者均经过充分咨询, 自愿选择 NIPT 并签署知情同意书。本研究经过本院伦理委员会审批通过。

1.1.1 临床指征分组

将所有孕妇按照不同指征进行分组^[7]。第一组: ①高龄组, 即孕妇预产年龄 ≥ 35 岁。②低龄组, 孕妇产龄 < 35 岁; 第二组: ①唐筛高风险组: 经血清学筛查, 21 三体的截断值 ≤ 270, 18 三体的截断值 ≤ 350。②唐筛临界风险组: 经血清学唐氏筛查, 21 三体 270 < 截断值 ≤ 1 000, 18 三体 350 < 截断值 ≤ 1 000。③唐筛单指标异常组: 经血清学三联或四联筛查, AFP、β-HCG、uE3、PAPPA (四者任一) 的 MoM 值偏高或偏低; 第三组: ①超声软指标异常组: 经 B 超检测发现 NT 增厚或临界性增厚、脉络丛囊肿、鼻骨偏短、胎儿生长受限、侧脑室增宽、心室强回声光点、肠回声增强等情况。②不良生育史组: 曾有不良生育情况的人群。③无临床指征但要求 NIPT 组: 无临床指征, 但孕妇自己要求做 NIPT 检测的人群, 其中包括未行血清学筛查、辅助生殖 (IVF) 及双胎人群。

1.2 试剂及仪器

胎儿染色体非整倍体 (T13/T18/T21) 检测试剂盒 (100 人份/盒) 购自杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司 (国械注准: 20153400461)。主要仪器包括贝瑞和康 Illumina NextSeq CN500 高通量测序仪。核型分析采用以色列 BI 培养基培养细胞, 使用 ZEISS Axio Image.Z2 全自动显微镜进行扫片分析。

1.3 检测方法

1.3.1 NIPT 检测

以血浆游离 DNA 采血管 (Cell Free DNA BCT) 采集孕妇外周血 8~10 mL, 4 h 内分离血浆。取 1.2 mL 血浆提取胎儿游离 DNA、构建文库、定量、高通量测序及生物信息学分析, 计算每条染色体的 Z 值; 当 Z 值 ≥ 3 为三体高风险, 当 Z 值 < 3 为三体低风险。生物信息学分析由北京贝瑞和康基因有限公司完成。

1.3.2 羊水细胞染色体核型分析

对于 NIPT 检测提示胎儿存在 21 三体综合征 (21-trisomy syndrome, T21)、18 三体综合征 (18-trisomy syndrome, T18)、13 三体综合征 (13-trisomy syndrome, T13) 及性染色体异常的高风险孕妇, 建议进行羊水穿刺。取羊水细胞, 均分为 2 管, 1 800 r/min 离心 12 min 后取细胞悬液 1.5 mL, 采用平行双线圈分别接种, 37°C 培养箱中进行培养 7 d, 经换液、转种, 约 10 d 左右根据细胞生长情况收取细胞。以秋水仙碱终止羊水细胞生长、刮取细胞、低渗、预固定、固定、再固定、滴片、烤片、胰酶消化及 Giemsa 染色制备羊水染色体片, 以 ZEISS Axio Image.Z2 扫片。每个标本至少计算 30 个分裂相, 分析 5 个完整核型。

1.4 追踪随访

跟踪随访高风险孕妇的妊娠结局; 对低风险孕妇, 进行产前产后随访, 判断有无其他异常情况或假阴性的情况出现, 以分娩后无异常为阴性。

1.5 统计学分析

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

2 结果

2.1 NIPT 检测结果

6 535 例孕妇中共有 88 例 NIPT 高风险, 检出率为 1.35%。见表 1。

2.2 不同临床指征的检测率对比

各组间的阳性检出率, 高龄组和低龄组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 唐筛高风险和唐筛临界风险及单指标异常比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不良生育史和超声软指标及要求 NIPT 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 NIPT 筛查胎儿染色体非整倍体的检测结果 [$n(\%)$]

染色体非整倍体异常	NIPT 高风险	核型分析确诊	PPV (%)
13 三体	3 (4.4)	0	0.0
18 三体	6 (8.8)	5	83.3
21 三体	25 (36.8)	18	72.0
SCA	20 (30.9)	8	40.0
RTAs	14	1	7.1
合计	54	32	47.1

表 2 不同临床指征的 NIPT 检测情况比较

分组	n	真阳性	检出率 (%)	χ^2 值	P 值
第一组	高龄	2 027	17	0.84	13.005 <0.05
	低龄	4 494	14	0.31	
第二组	唐筛高风险	618	5	0.81	18.565 <0.05
	唐筛临界风险	1 243	5	0.40	
	单指标异常	1 858	0	0.00	
第三组	超声软指标异常	535	4	0.75	3.713 >0.05
	不良孕产史	57	1	1.75	
	要求 NIPT	605	2	0.33	

2.3 随访情况

所有经羊水细胞核型确诊者中, 除 1 例 47, XYY 选择继续妊娠且分娩后新生儿无明显异常, 其余均选择终止妊娠; 确诊为正常核型的孕妇继续妊娠至分娩, 其中 2 例 NIPT 提示 SCA 但核型正常者, 分娩后孩子分别为外耳畸形 (隐耳)、卵圆孔未闭, 其余均正常。NIPT 低风险孕妇的后续产检无异常, 新生儿出生后无异常, 未见假阴性。

3 讨论

本研究分析了 6 535 例孕妇外周血样本, NIPT 提示高风险的有 88 例, 检出率为 1.35%, 与文献报道 (1.41%) 相符^[8]。其中 68 例经羊水细胞分析, 21 三体、18 三体、13 三体的 PPV 分别为 72%、83.3%、0%, 低于相关国外报道 (99.17%, 98.24%, 100%)^[9], 但与国内报道的结果相近 (84.21%, 75%, 0%)^[10]。分析其原因, 一方面, 本研究中假阳性病例的 Z 值都处于 $[-6, 6]$ 之间, 其中 $[-5, 5]$ 之间的有 8 例。研究表明 NIPT 真实性与 Z 值的大小相关, Z 值越大, 胎儿染色体非整倍体的风险越大^[11]。另一方面, 假阳性与孕妇自身因素如恶性

肿瘤、染色体变异、拷贝数变异、母体嵌合,以及双胎消失综合征、胎盘嵌合等因素有关^[12-13]。此外,检出的例数较少也可能造成数据差异,特别是13三体只检出3例。

SCA的PPV为40%,对于45,X的检出率较低(3/10),结果与国内外报道的文献结果(33.3%~47%)有较高的一致性^[10,14]。性染色体较常规染色体的PPV低,可能与GC含量的偏向性有关,可通过改进染色体内标参照方法、分析胎儿特异性甲基化DNA比例差异,从而修正GC含量,减小变异系数,进而提高性染色体检出率^[15]。

RTAs的PPV约为7.14%(1/14),与文献报道(9.38%)接近^[16]。RTAs的致病性多为不明确,可能与胎盘嵌合或单亲二倍体有关^[17]。因其检测的有效性差及致病性的不明确,在实际应用中,应根据以下的原则进行补充报告:①该变异有明确的致病性,有相关报道及处理方案;②对病人进行充分的遗传咨询,以免造成孕妇不必要的心理负担及增加穿刺率甚至引产率。经随访未发现假阴性。假阴性主要是由于cffDNA浓度过低(<4%)^[13,18],在实际应用中可通过加强质控、优化NIPT管理流程及技术^[19-21],加强孕期各指标的全流程监控,降低假阴性的风险。

高龄组、唐筛高风险组的PPV和其他分组比较,差异有统计学意义。研究表明^[22-23],高龄产妇由于卵细胞质量下降,生殖功能减退、生殖细胞或受精卵易发生染色体畸变或不分离等原因,导致胎儿染色体异常的发生率较高,特别是21-三体的检出率明显增高(35.48%~45.20%)。唐筛高风险组的PPV为1.46%,检出的9例中只有5例确诊,若以NIPT为二线筛查,可大幅减少羊水穿刺的案例,避免因入侵性检测(约0.4~1%的概率)造成的流产^[24]。经超声检测异常的孕妇,联合NIPT检测,可提高胎儿染色体异常的检出率^[25]。值得注意的是,NIPT不能检测染色体结构异常,当NIPT为低风险但超声检查为结构异常时,建议孕妇行进一步的检查或产前诊断^[4]。目前也有关于NIPT双胎妊娠和IVF人群的应用研究^[26],其检出率也能达到70%~80%,但仍需解决cffDNA中位值较低,取样失败率较高等问题^[27-28]。

综上所述,NIPT可检测全部染色体非整倍体,提高了检出率,既可作为减少侵入性的二次产前筛查,也可作为一线的产前筛查方法。但由于NIPT存在假

阳性及假阴性的情况,13号染色体的PPV较低,性染色体异常及其他染色体异常的检出也有待完善及优化。高龄及唐筛高风险人群患染色体异常疾病的风险升高,应重点关注NIPT在此类人群中的应用。NIPT高风险的孕妇仍需要核型分析或基因芯片分析,不能作为产前诊断的确认方法。临床应用中应根据实际情况,多种产前筛查方法联合应用,有助于及早发现罹患染色体病的胎儿,降低出生缺陷率。

参考文献

- [1] Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. *Lancet*, 1997, 350(9076):485-7.
- [2] Chiu RWK, Chan KCA, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(51):20458-20463.
- [3] American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy [J]. *Obstet Gynecol*, 2012, 120(6):1532-1534.
- [4] 国家卫生计生委办公厅. 孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范[S]. 国卫办妇幼发, 2016(45号):9.
- [5] Rose NC, Kaimal AJ, Dugoff L, et al. Screening for Fetal Chromosomal Aneuploidy: ACOG Practice Bulletin Summary, Number 226 [J]. *Obstet Gynecol*, 2020, 136(4):e48-e69.
- [6] 栗娜, 吕远, 刘彩霞, 等. 双胎妊娠产前筛查与诊断技术规范(2021年更新版)[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2021, 37(3):312-316.
- [7] 景亚玲, 刘晓芳, 陈俭辉, 等. 无创产前基因检测在血清学筛查风险值异常及高龄孕妇中的应用[J]. *贵州医科大学学报*, 2021, 46(2):204-209.
- [8] 燕凤, 燕飞, 姚念玲, 等. 孕妇外周血无创DNA检测技术在产前诊断中的应用[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(1):17-21.
- [9] ZHANG H, GAO Y, JIANG F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(5):530-538.
- [10] 刘艳华, 李洁. 无创产前基因检测在产前筛查风险人群中的应用[J]. *中国计划生育学杂志*, 2020, 8(10):1698-1701.
- [11] Tian Y, Zhang L, Tian W, et al. Analysis of the accuracy of Z-scores of non-invasive prenatal testing for fetal Trisomies 13, 18, and 21 that employs the ion proton semiconductor sequencing platform [J]. *Mol Cytogenet*, 2018, 11:49.
- [12] Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(3):249-266.

碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌检测及鉴定现状

雷静¹ 刘泽世¹ 高兴辉² 汤一苇^{2*} 耿燕^{1*}

[摘要] 碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌(CRE)感染在国内迅速蔓延,临床实验室及时检测 CRE 对院感防控至关重要。产生碳青霉烯酶是 CRE 主要的耐药机制。目前 CRE 实验室检测包括表型和基因型方法。表型方法通过碳青霉烯酶对碳青霉烯类药物的水解作用或抑制剂对酶的抑制作用来检测其活性,或通过添加底物筛选出 CRE 有色菌落。基因型方法主要包括靶向基因检测和二代测序,其检测编码碳青霉烯酶的 DNA 序列。本文对 CRE 检测方法及鉴定现状进行研究。

[关键词] 碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌;碳青霉烯酶;表型检测;基因型检测

Current status of detection and identification of carbapenem-resistant Enterobacterales

LEI Jing¹, LIU Zeshi¹, GAO Xinghui², TANG Yiwei^{2*}, GENG Yan^{1*}

(1. Department of Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shannxi, Xi'an, China, 710004; 2. Cepheid (Shanghai) Commerce and Trade Co., Ltd, Shanghai, China, 200030)

[ABSTRACT] Carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) infection spreads rapidly in China. Timely detection of CRE in clinical laboratory is very important for nosocomial infection prevention and control. In CRE, carbapenemases are the main contributing resistance mechanism. At present, CRE detection include phenotypic and genotype methods in the laboratory. Phenotypic methods detect the activity of carbapenemases through the hydrolysis of carbapenemases on carbapenem drugs or inhibiting carbapenemase activity by inhibitors, or screens colored CRE colonies by adding substrates. Genotype methods include targeted gene detection and next-generation sequencing, which detect the encoding carbapenemase DNA sequence. In this paper, the detection and identification methods of CRE were studied retrospectively.

[KEY WORDS] Carbapenem-resistant Enterobacterales; Carbapenemases; Phenotype detection; Genotype detection

碳青霉烯类抗菌药物具有抗菌谱广、对大多数β-内酰胺酶稳定、不易被水解、不良反应相对较少的特点,是有效治疗革兰阴性杆菌严重感染的抗菌药物之一。然而,在抗生素滥用问题日益严峻的今天,碳青霉烯类抗菌药物也无法避免出现耐药危机,碳青霉烯类耐药肠杆菌目细菌(carbapenem-resistant Enterobacterales, CRE)的出现,无疑使临床抗感染治疗陷于无药可用的境地^[1]。CRE 耐药问题不容小觑,尤其是产碳青霉烯酶肠杆菌目细菌(carbapenemase-producing Enterobacterales,

CPE),早期快速、准确地检测 CPE 是遏制其传播的关键,也有助于精准用药治疗^[2]。

1 CRE 定义

美国疾病预防控制中心(centers for disease control and prevent, CDC)将 CRE 定义为满足以下任一条件:①肠杆菌目细菌对亚胺培南、美罗培南、厄他培南或多利培南任何一种碳青霉烯类抗菌药物耐药;对亚胺培南天然敏感性降低的细菌(如摩根菌属、变形杆菌属和普罗威登菌属等),需

基金项目:陕西省重点研发计划(2017SF-128)

作者单位:1. 西安交通大学第二附属医院检验科,陕西,西安 710004

2. 赛沛(上海)商贸有限公司,上海 200030

*通信作者:汤一苇, E-mail: yi-wei.tang@cephheid.com; 耿燕, E-mail: wsw87679358@163.com

参考除亚胺培南外的其他碳青霉烯类抗菌药物的药敏结果;②产碳青霉烯酶^[3]。

2 CRE 耐药机制

产碳青霉烯酶是 CRE 耐药最主要的机制,

其余耐药机制还包括外膜孔蛋白缺失或突变协同 AmpC 酶或超广谱 β -内酰胺酶的表达、外排泵系统过度表达^[4-5]。根据 Ambler 分子分类方法,可将碳青霉烯酶分为 A、B 和 D 三类。见表 1。

表 1 碳青霉烯酶分类

Table 1 classification of carbapenemases

分类	主要酶	主要常见细菌	底物	可能的治疗方案
A 类 (丝氨酸酶)	KPC	肠杆菌科	所有 β -内酰胺类药物,包括碳青霉烯类药物	头孢他啶/阿维巴坦 粘菌素/替加环素
B 类 (金属酶)	IMP VIM NDM	肠杆菌科 铜绿假单胞菌 不动杆菌	大多数 β -内酰胺类,包括碳青霉烯类,但不包括单环 β -内酰胺	粘菌素/替加环素
D 类 (丝氨酸酶)	OXA-48 OXA-23	肠杆菌科 不动杆菌	青霉素和碳青霉烯类,不水解超广谱头孢菌素类	粘菌素/替加环素 头孢他啶/阿维巴坦 (可抑制 OXA-48)

3 CRE 表型检测方法

3.1 Carba NP 试验

Carba NP 试验是 2015 年 CLSI 推荐的对 CPE 和产碳青霉烯酶铜绿假单胞菌的一种检测方法,其原理为碳青霉烯酶水解亚胺培南后导致溶液 PH 值改变而发生颜色变化。据报道,Carba NP 试验检测肠杆菌目细菌和铜绿假单胞菌产 KPC、NDM、VIM、IMP 等碳青霉烯酶的灵敏度和特异度均 > 90%,但由于 OXA-48 对碳青霉烯类药物活性较弱,导致其结果具有较高的假阴性。因此,Carba NP 试验在 OXA-48 高流行区域(如土耳其和其他中东地区等)不具备检测优势^[6-7]。另外,进行 Carba NP 试验应选用非选择性培养基进行菌株培养。研究表明,从麦康凯和显色培养基获取的菌株在检测 VIM 或 OXA-48 存在假阴性,而使用 MH 平板时,当菌株同时携带 OXA-48 和 NDM/VIM 时,结果存在假阴性^[8-9]。

3.2 改良碳青霉烯酶灭活试验

2017 年,CLSI 推荐改良碳青霉烯灭活试验(modified carbapenem inactivation method, mCIM)用于检测 CPE。2018 年,增加了 EDTA 改良碳青霉烯灭活试验(EDTA-modified carbapenemase inactivation method, eCIM),根据碳青霉烯酶可水解美罗培南以及 EDTA 可抑制金属 β -内酰胺酶活性的原理,可区分细菌产酶类型。研究表明,mCIM 检测 CPE 的灵敏度和特异度均为 100%;eCIM 区分丝氨酸酶的灵敏度和特异度分别为 100%、

95.1%, MBLs 的灵敏度和特异度为 98.4% 和 100%,若待测菌株同时存在丝氨酸酶和 MBLs, eCIM 试验结果将出现误差^[10-12]。

3.3 碳青霉烯酶抑制剂增强试验

根据 3-氨基苯硼酸和乙二胺四乙酸可分别抑制丝氨酸酶和金属 β -内酰胺酶活性的原理,可判断待测菌株产酶类型,但无法检测 OXA 酶^[13]。研究显示,碳青霉烯酶抑制剂增强试验检测单一酶型菌株的灵敏度为 100%,特异度 > 98.8%,检测同时产丝氨酸酶和 MBLs 的灵敏度为 96.8%,特异度为 100%^[14]。

3.4 质谱技术

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是近年来快速发展起来的一种检测生物大分子的重要手段,被认为是快速鉴定临床微生物的新利器,通过测定蛋白特征峰或碳青霉烯类药物结构的完整性检测酶的存在。结合目前研究结果, MALDI-TOF MS 技术检测 KPC 酶的灵敏度和特异度分别为 85.1% 和 100%^[15-16]。目前 MALDI-TOF MS 在此方面的研究存在异质性且无统一标准化的操作方法,进行酶水解法时某些抗菌药物溶液需自配,并需与待测菌共孵育 1~2.5 h,且不同酶型孵育时间不同。

3.5 显色培养基

显色培养基已广泛应用于临床微生物的鉴别诊断,其原理为目标细菌产生的特异性酶作用于

底物而长成有色菌落,由于添加抗菌药物或其他抑制剂,非目标性细菌生长受限,可从样本中直接分离出 CRE。近年来,不同厂家研发了不同 CRE 商品化产品,如 Brilliance CRE、bioMérieux chromID Carba、CHROMagar Colorex KPC 等。两项研究表明,与 PCR 相比,以上 3 种显色培养基的灵敏度分别为 77.6%~78.0%、89.8%~91.0% 和 56.0%~83.7%,特异度分别为 60.0%~87.1%、76.0%~95.0% 和 70.0%~92.1%,但其对 OXA-48 的检测能力有待提高^[17-18]。此外,一些产中间型碳青霉烯酶(NDM-1)菌株可

能生长不良^[19]。CRE 表型检测方法。见表 2。

4 碳青霉烯酶基因型检测

碳青霉烯酶基因型检测是检测能够编码碳青霉烯酶的 DNA 序列。其主要检测方法包括靶向基因检测和二代测序。与表型方法相比,基因型方法的优势是能够检测并明确碳青霉烯酶基因型,检测速度快,节省时间;劣势是技术要求高,不能确定基因是否表达,检测成本高。见表 3。

表 2 CRE 表型检测方法

Table 2 CRE phenotypic testing methods

方法	时间(h)	优势	劣势	灵敏度(%)	特异度(%)
Carba NP 试验	4~6	简单快速;阴性预测值高	需特殊试剂;无法检测 OXA-48 酶;受培养基影响	>90.0	>90.0
mCIM/eCIM	18~20	简单、不需要特殊试剂或培养基	耗时长	>98.4	>95.1
碳青霉烯酶抑制剂增强试验	18~20	操作简单;灵敏度高	需特殊试剂;耗时长;无法检测 OXA 酶	>96.8	>98.8
质谱技术	1~2.5	快速	需自配抗菌药物溶液;无统一标准化方法	>85.1	>100.0
显色培养基	18~24	检测 KPC 和大多数 MBLs;简单	不能有效检测 OXA-48 酶;易受抗菌药物与抑制剂浓度影响	56.0~91.0	60.0~95.0

表 3 CRE 耐药基因检测方法

Table 3 CRE resistance genotype detection methods

方法	原理	碳青霉烯酶类型	时间	样本
酶免疫层析法	抗原抗体结合	KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like	<15 min	分离株 阳性血培养物
Carba-R	荧光定量 PCR	KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like	50 min	直肠拭子
BD MAX	实时 PCR	KPC, VIM/NDM, OXA-48-like	<3 h	分离株 直肠拭子
LightMix Modular Carbapenemases	多重 PCR	KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like	<2 h	分离株 直肠拭子
ePlex BCID-GN panel	多重 PCR	KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like	1.5 h	阳性血培养物
Verigene Gram-negative blood culture test	DNA 微阵列	KPC, NDM, VIM, OXA-48-like	1 h	阳性血培养物
BioFire FilmArray BCID2	多重 PCR	KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like	1 h	阳性血培养物

4.1 酶免疫层析技术

酶免疫层析技术是一种以抗原抗体反应为基础,用于体外快速检测阳性血培养物以及纯菌落中碳青霉烯酶。近年来,不同厂家基于此技术推出不同的试剂盒,如 NG-Test CARBA 5、RESIST-4 O.K.N.V. 和免疫显色试剂,可对 bla_{KPC} 、 bla_{NDM} 、 bla_{VIM} 、 bla_{IMP} (RESIST-4 O.K.N.V. 不能检测) 和 bla_{OXA-48} 进行检测。研究显示,酶免疫层析技术检测碳青霉烯酶的灵敏度和特异度均>92.0%,但当细菌携带 2 种或以上的酶型后,酶免疫层析方法只能检测到部分酶型从而产生重大错误^[20-21]。

4.2 Carba-R Assay

Carba-R Assay 是一种荧光定量 PCR 检测方法,可在 50 min 内检测直肠拭子、尿液和纯菌落中 5 种碳青霉烯酶。一项多中心研究发现,在直肠拭子和临床菌株中,与测序结果相比,Carba-R 检测碳青霉烯酶基因的总阳性符合率分别为 96.0% 和 99.7%,总阴性符合率分别为 94.0% 和 98.0%^[22]。此外,在 301 份痰标本中,Carba-R Assay 与 PCR 方法相比,其阳性一致率和阴性一致率分别为 92.9% 和 86.7%^[23]。而检测血流感染菌株和阳性血培养物时,Carba-R 特异度为 100%,NG-Test CARBA5

和 Carba-R 检测菌株的灵敏度分别为 92.1% 和 100.0%, 阳性血培养物的灵敏度分别为 79.3% 和 100%^[20]。应用 Carba-R 对 CPE 定植患者进行快速筛查, 可将 CPE 的定植率从 28.6% 降至 5.6%, 感染率从 35.7% 降至 2.8%, 有效地限制了其在医疗环境中传播^[24]。

4.3 BD MAX

BD MAX 是一种单试剂、即用、全自动的多重实时 PCR 体外诊断产品, 能够检测菌株和直肠拭子中的 *bla*_{KPC}、*bla*_{NDM}、*bla*_{VIM}/*bla*_{IMP} 和 *bla*_{OXA-48} 基因。一项研究结果显示, BD MAX 检测碳青霉烯酶的灵敏度和特异度可达 97.1% 和 98.8%, 但不能检测到 IMP-11、IMP-13、IMP-14 和 OXA-535 突变体, 而在直肠拭子标本中, 其灵敏度和特异度分别为 92.8% 和 97.8%^[25]。由于 VIM 和 IMP 之间缺乏区分, 可能会限制 BD MAX 在这些酶广泛流行的地区应用。

4.4 LightMix Modular Carbapenemases Kits

LightMix Modular Carbapenemases Kits 是一种多重 PCR 方法, 可根据需求选择检测靶标数量, 操作时间约 5 min, 90 min 内报告结果。与测序结果相比, 其对 118 份临床分离株的总体敏感性和特异性分别为 99% 和 100%, 且在 CPE 定植患者中, Light-Mix Modular Carbapenemases Kits 与 Xpert Carba-R 检测结果一致^[26]。

4.5 ePlex BCID-GN panel

ePlex BCID-GN panel 是一种采用电润湿和电子传感器技术对血培养阳性瓶进行提取、扩增和竞争性 DNA 杂交, 可鉴定 56 种细菌和真菌以及包括碳青霉烯酶在内的 β -内酰胺酶检测试剂盒。研究显示, BCID-GN panel 对碳青霉烯酶的 PPA 和 NPA 分别为 98.1% 和 99.9%^[27]。

4.6 Verigene Gram-negative blood culture test

Verigene Gram-negative blood culture test 是一种非扩增方法, 其依赖于从阳性血培养物中提取核酸, 然后使用捕获和检测探针进行基于微阵列的检测。一项多中心研究表明, Verigene 与参考方法相比, 对 5 种碳青霉烯酶基因的阳性一致率 > 94.3%, 阴性一致率 > 99.9%^[28]。若阳性血培养物中为混合菌, Verigene 则无法确定耐药基因与特定细菌之间的关联^[29]。

4.7 FilmArray BCID2

FilmArray Blood Culture Identification 2 (BCID2)

采用巢式多重 PCR 技术, 可在 1 h 内检测包括 *bla*_{KPC}、*bla*_{IMP}、*bla*_{NDM}、*bla*_{OXA-48-like}、*bla*_{VIM} 在内的 10 种耐药基因^[30]。一项研究显示 BCID2 鉴定微生物种类的灵敏度和特异度分别为 98.8% 和 99.9%, 检测耐药基因的灵敏度和特异度均为 100%^[31]。然而, 在 FilmArray 上进行测试的成本超过 100 美元, 这限制了该方法在低中度流行环境下检测 *bla*_{KPC} 的实用性。

4.8 二代测序

全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS) 被认为是检测碳青霉烯酶基因的最全面的分子检测方法, 它还可测定除碳青霉烯酶外的其他耐药基因。在过去十年中, WGS 的成本急剧下降, 在临床微生物学实验室中的应用已指日可待。然而, 在将该技术纳入常规临床微生物学之前, 还需要克服一些障碍, 包括周转时间长和数据管理困难。宏基因组测序与 WGS 类似, 但它是直接从临床样本 (如痰) 中获得 DNA, 由于数据分析的高成本和复杂性, 目前还不足以对感染进行评估。

5 质控菌株选择

进行以上碳青霉烯酶实验室检测时, 应同时测试相应的阳性和阴性质控菌株。首选的阳性质控菌株为肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-1705 (产 KPC 型碳青霉烯酶)、肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-2146 (产 NDM 型金属 β -内酰胺酶) 和肺炎克雷伯菌 ATCC BAA-2524 (产 OXA-48 型碳青霉烯酶), 首选的阴性质控菌株为肺炎克雷伯菌 BAA-1706 (不产碳青霉烯酶)。若实验室不具备上述首选质控菌株, 可选择经 DNA 测序后相应已明确的碳青霉烯酶基因型作为阳性质控菌株, 而阴性质控菌株可选择大肠埃希菌 ATCC 25922^[13]。

6 小结和展望

目前实验室的 CRE 表型检测方法, 灵敏度较高、操作方便、价格较低, 但存在特异度较低、缺乏标准化、耗时较长等缺点, 限制了其进一步使用。随着 CRE 基因型方法的出现, 提高了检测的灵敏度和特异度, 且操作简单, 但也只能检测已知基因, 不能检测未知基因。全基因组测序方法弥补这个缺陷, 能够检测已知和未知 CRE 基因, 这能够帮助临床解决疑难问题。

随着 CRE 在包括中国在内的全球范围内不断地蔓延,一些菌株携带 CRE 酶型种类和数量也在增加。未来的 CRE 实验室检测方法和应用可能有下面一些趋势:第一是检测样本的类型会拓展,除了已应用的菌落、阳性血培养物以及肛拭子以外,呼吸道标本可能获得更多的应用。第二是在检测 CRE 存在的前提下,迅速对其酶型进行判断,可用于临床指导治疗依据。第三是既往菌种鉴定基础上的耐药性检测有望被快速的 CRE 酶型检测的“功能性”鉴定所取代。

参考文献

- [1] Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(3):318-327.
- [2] Han R, Shi Q, Wu S, et al. Dissemination of Carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) Among Carbapenem-Resistant Isolated From Adult and Children Patients in China[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10:314.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Facility guidance for control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE)[EB/OL]. <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf>.
- [4] Tilahun M, Kassa Y, Gedefie A, et al. Emerging Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infection, Its Epidemiology and Novel Treatment Options: A Review[J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14:4363-4374.
- [5] Banerjee R and Humphries R. Clinical and laboratory considerations for the rapid detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae[J]. *Virulence*, 2017, 8(4):427-439.
- [6] Cunningham S A, Limbago B, Traczewski M, et al. Multi-center Performance Assessment of Carba NP Test[J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(6):1954-1960.
- [7] Pitout J, Peirano G, Kock MM, et al. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2019, 33(1).
- [8] Literacka E, Herda M, Baraniak A, et al. Evaluation of the Carba NP test for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp., and its practical use in the routine work of a national reference laboratory for susceptibility testing[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017, 36(11):2281-2287.
- [9] Dortet L, Brécharde L, Poirel L, et al. Impact of the isolation medium for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae using an updated version of the Carba NP test[J]. *J Med Microbiol*, 2014, 63(Pt 5):772-776.
- [10] Tsai Y M, Wang S, Chiu H C, et al. Combination of modified carbapenem inactivation method (mCIM) and EDTA-CIM (eCIM) for phenotypic detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1):315.
- [11] Li J, Li C, Cai X, et al. Performance of modified carbapenem inactivation method and inhibitor-based combined disk test in the detection and distinguishing of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(20):566.
- [12] 王永红, 刘航, 邹家齐, 等. mCIM 与 eCIM 检测肠杆菌科细菌碳青霉烯酶的临床评价[J]. *第三军医大学学报*, 2020, 42(5):466-472.
- [13] 喻华, 徐雪松, 李敏, 等. 肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(6):671-680.
- [14] Tsakris A, Poulou A, Pournaras S, et al. A simple phenotypic method for the differentiation of metallo-beta-lactamases and class A KPC carbapenemases in Enterobacteriaceae clinical isolates[J]. *J Antim Chemotherapy*, 2010, 65(8):1664-1671.
- [15] Cordovana M, Kostrzewa M, Glandorf J, et al. A Full MALDI-Based Approach to Detect Plasmid-Encoded KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9:2854.
- [16] Wang G, Song G, Xu Y. A Rapid Antimicrobial Susceptibility Test for Using a Broth Micro-Dilution Combined with MALDI TOF MS[J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14:1823-1831.
- [17] Wilkinson KM, Winstanley TG, Lanyon C, et al. Comparison of four chromogenic culture media for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(9):3102-3104.
- [18] Simmer PJ, Gilmour MW, DeGagne P, et al. Evaluation of five chromogenic agar media and the Rosco Rapid Carb screen kit for detection and confirmation of carbapenemase production in Gram-negative bacilli [J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(1):105-112.
- [19] 徐旋, 曲芬. 碳青霉烯耐药的肠杆菌科细菌诊断进展[J]. *生物工程学报*, 2018, 34(8):1338-1345.
- [20] Liu Z, Bai L, Liu J, et al. Parallel Validation of the NG-Test Carba 5 and the Xpert Carba-R for Detection and Characterization of Carbapenem-Resistant Enterobacteriales Causing Bloodstream Infections[J]. *J Mol Diagn*, 2021, 23(8):1007-1014.
- [21] Hopkins KL, Meunier D, Naas T, et al. Evaluation of the NG-Test CARBA 5 multiplex immunochromatographic assay for the detection of KPC, OXA-48-like, NDM, VIM and IMP carbapenemases [J]. *J Antim Chem*, 2018, 73(12):3523-3526.
- [22] Jin X, Zhang H, Wu S, et al. Multicenter Evaluation of Xpert Carba-R Assay for Detection and Identification of the Carbapenemase Genes in Rectal Swabs and Clinical Isolates [J]. *J Mol Diagn*, 2021, 23(1):111-119.
- [23] Cai Z, Tao J, Jia T, et al. Multicenter Evaluation of the Xpert Carba-R Assay for Detection and Identification of Carbapenemase Genes in Sputum Specimens[J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(9):10.

- [24] Zhou M, Kudinha T, Du B, et al. Active Surveillance of Carbapenemase - Producing Organisms (CPO) Colonization With Xpert Carba - R Assay Plus Positive Patient Isolation Proves to Be Effective in CPO Containment [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9:162.10.3389/fcimb.2019.00162.
- [25] Girlich D, Oueslati S, Bernabeu S, et al. Evaluation of the BD MAX Check-Points CPO Assay for the Detection of Carbapenemase Producers Directly from Rectal Swabs [J]. *J Mol Diagn*, 2020, 22(2):294-300.
- [26] Oviaño M, Torres I, González M, et al. Evaluation of a novel procedure for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) using the LightMix® modular carbapenemase kits [J]. *J Antim Chem*, 201671(12):3420-3423.
- [27] Wolk DM, Young S, Whitfield NN, et al. A Multicenter Clinical Study To Demonstrate the Diagnostic Accuracy of the GenMark Dx ePlex Blood Culture Identification Gram-Negative Panel [J]. *J Clin Microbiol*, 2021, 59(9):e0248420.
- [28] Ledebner NA, Lopanski BK, Dhiman N, et al. Identification of Gram-Negative Bacteria and Genetic Resistance Determinants from Positive Blood Culture Broths by Use of the Verigene Gram - Negative Blood Culture Multiplex Microarray - Based Molecular Assay [J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(8):2460-2472.
- [29] Peker N, Couto N, Sinha B, et al. Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24(9):944-955.
- [30] Cortazzo V, D'Inzeo T, Giordano L, et al. Comparing Bio-Fire FilmArray BCID2 and BCID Panels for Direct Detection of Bacterial Pathogens and Antimicrobial Resistance Genes from Positive Blood Cultures [J]. *J Clin Microbiol*, 2021, 59(4):e03163-20.
- [31] Holma T, Torvikoski J, Friberg N, et al. Rapid molecular detection of pathogenic microorganisms and antimicrobial resistance markers in blood cultures: evaluation and utility of the next-generation FilmArray Blood Culture Identification 2 panel [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2022, 41(3):363-371.

(上接第 532 页)

- [13] Skirton H, Patch C. Factors affecting the clinical use of non-invasive prenatal testing: a mixed methods systematic review [J]. *Prenat Diagn*, 2013(33):532-541.
- [14] Liang Desheng, David S Cram, Tan Hu, et al. Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes [J]. *Genet Med*, 2019, 21(9):1998-2006.
- [15] Jiang F, Ren J, Chen F, et al. Noninvasive Fetal Trisomy (NIFTY) test: an advanced noninvasive prenatal diagnosis methodology for fetal autosomal and sex chromosomal aneuploidies [J]. *BMC Med Genomics*, 2012, 5:57.
- [16] Chen Yibo, Yu Qi, Mao Xiongying, et al. Noninvasive prenatal testing for chromosome aneuploidies and subchromosomal microdeletions/microduplications in a cohort of 42,910 single pregnancies with different clinical features [J]. *Hum Genomics*, 2019, 29, 13(1):60.
- [17] Pertile MD, Halksmiller M, Flowers N, et al. Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of fetoplacental disease [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(405):eaan1240.
- [18] 李佳新, 魏瑗, 赵扬玉. 胎儿游离 DNA 浓度低导致无创产前检测失败的相关因素研究进展 [J]. *中华围产医学杂志*, 2019, 22(1):30-34.
- [19] Welker NC, Lee AK, Kjolby RAS, et al. High-throughput fetal fraction amplification increases analytical performance of noninvasive prenatal screening [J]. *Genet Med*, 2021, 23(3):443-450.
- [20] 李金明. NIPT 实验室的规范化建设与质量管理 [C]// 浙江省医学遗传学学术年会暨高通量基因测序产前筛查与诊断技术研讨会论文集汇编, 2015.
- [21] 张文新, 于婷, 孙楠, 等. 胎儿染色体非整倍体 21 三体、18 三体和 13 三体检测试剂盒(高通量测序法)行业标准的制定 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2016, 8(6):991-994.
- [22] 王元丽, 唐明珠, 杨学习, 等. 11339 例孕妇无创产前检测结果对比分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2016, 8(6):363-366.
- [23] 郭正琴, 陈雪清, 蔡素清, 等. 1069 例高龄孕妇外周血胎儿游离 DNA 产前筛查与诊断分析 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2018, 26(12):61-64.
- [24] 陈志美, 杜珍, 王定珺. 孕中期 NIPT 联合血清 AFP、free β -hCG 及 uE3 检测在唐氏综合征筛查的临床价值 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(1):79-80.
- [25] 何晓俊, 马玉成, 冷培, 等. 超声软指标联合无创 DNA 产前检测筛查胎儿染色体异常效果 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2019, 27(5):620-623.
- [26] Motevasselian M, Gargari SS, Younesi S, et al. Non-invasive prenatal test to screen common trisomies in twin pregnancies [J]. *Mol Cytogenet*, 2020, 13:5.
- [27] YU W, LV Y, YIN S, et al. Screening of fetal chromosomal aneuploidy diseases using noninvasive prenatal testing in twin pregnancies [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2019, 19(2):189-196.
- [28] 邹刚, 孙路明. 双胎妊娠产前筛查新进展 [J]. *实用妇产科杂志*, 2018, 34(11):801-803.

广东省免疫诊断试剂研发重点实验室

“广东省免疫诊断试剂研发重点实验室”位于广东省广州市番禺区广州大学城外环西路100号,依托广东工业大学生物医药学院,2020年经广东省药品监督管理局批准。实验室主要开展抗体设计制备、抗体活性评价和免疫诊断试剂产品开发三大平台,探索特异性抗体在疾病生物标记物检测领域的应用,突破免疫检测领域技术瓶颈,以实现免疫检测上游材料的国产化开发和医用免疫诊断领域取得新的进展。实验室现有高级职称7人,中级职称5人,在读博士和硕士研究生60余人,涵盖免疫学、材料学、生物信息学、药剂学和药理学等学科的中青年科研骨干。近年分别从美国俄亥俄州立大学 Wexner 医学中心、美国加州大学 Davis 分校、新加坡国立大学、吉林大学和西安交通大学等引进了黎相广博士、崔锡平博士、蒋璐博士、李清兰博士和赵静静博士等青年骨干人员。

本团队主要研究方向为诊断抗体和抗体药物研发,围绕着新型抗体研发的关键技术,初步建立了一个从单克隆抗体、单链抗体和纳米抗体筛选、抗体分子改造、抗体表达生产工艺到精准检测、靶向治疗的技术平台,从而推进基础研究中获得的新型抗体向产业化转化,在甘胆酸、3-硝基酪氨酸、脱氢表雄酮和马铃薯毒素等肿瘤标志物和HPV病毒、幽门螺旋杆菌等的精准检测和肿瘤靶向治疗方面取得了良好的效果。所在平台的基础科研与转化条件已达到国内先进水平,设备硬件包括多功能酶标仪(Varioskan LUX)、三维划膜喷金仪(HM3030)、X-射线衍射仪(D8 ADVANCE)、紫外/可见/近红外分光光度计(Lambda 950)、荧光光谱仪(FluoroMax-4)、PCR仪(Thermo)、倒置荧光显微镜(Olympus IX71)、超高分辨率激光共聚焦显微镜(LSM 800 with Airyscan)、生物分子相互作用分析系统(Biocore T200)和全自动组织切片染色机(Xmatrx Infinity)等。

实验室目前在研国家自然科学基金5项,广东省科技计划(国际科技合作领域)1项,广东省重点领域研发计划项目1项、广东省重大科技专项1项,近五年到校科研经费约900万元。已培养60余名硕士及博士毕业生;共发表SCI论文150余篇,其中高水平论文40余篇。获得授权中国发明专利30余件,积极开展科技成果转化,在“新冠病毒”疫情防控工作中,本研究团队在疫情起始阶段,与深圳市绿诗源生物技术有限公司、中山大学附属第三医院等科研医疗单位,研制了“新冠病毒“IgM/IgG”抗体检测试剂盒,通过CE认证并出口多个国家。“甘胆酸测定试剂盒(免疫分析方法)”以及“卵黄抗体系列专利”等已实现成果转让并产业化。



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。

