



ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

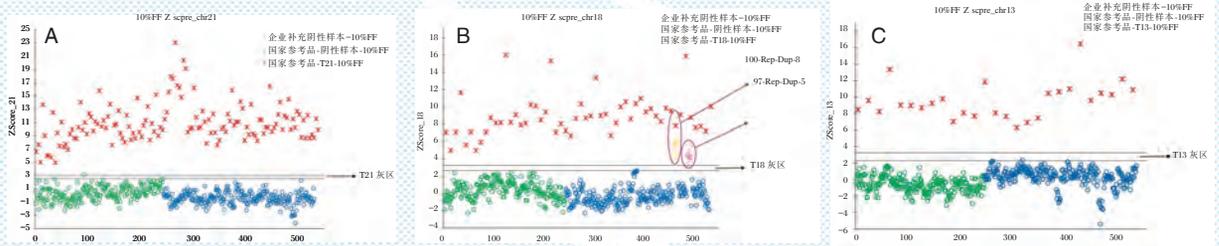
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2020年11月 第12卷 第11期 总第75期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 12 Number 11 November 2020



注:A为T21阳性参考品;B为T18阳性参考品及T18微重复参考品;C为T13阳性参考品。

图(P1436) 10% cffDNA 比例国家参考品结果

Figure(P1436) The results of national reference materials with 10% cffDNA fraction

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



张少冲



张少冲,男,1963年10月出生;二级主任医师,三级教授,博士生导师。现任中山大学中山眼科中心特需医疗中心主任。

中国医师协会眼科学分会眼底病专业委员会常务委员,广东省医师协会眼科学常务委员、眼底病组组长;广东省医学会涉外与特需医疗服务分会副主任委员;广东省眼健康协会防盲治盲专业委员会副主任委员;广东省医学会老年医学分会副主任委员;广东省医学会眼科学分会常务委员;中央保健会诊专家、广东省干部保健专家。中国人民政治协商会议越秀区第十二、十三、十四届委员会委员,哥伦比亚大学眼科研究所访问学者。《GRAEF ARCH CLIN EXP》、《INT OPHTHALMOL》、《ADVANCES IN THERAPY》特约审稿专家,《中国实用眼科杂志》、《中华眼底病杂志》编委;中华眼科杂志、中华医学杂志英文版等期

刊编委和审稿专家。

张少冲教授长期从事眼科学临床、教学、科研工作;擅长各种类型玻璃体视网膜手术,尤其对复杂性视网膜脱离、增殖性糖尿病视网膜病变、病理性近视等疑难复杂疾病具有丰富诊治经验,在国内率先使用微创玻璃体视网膜手术、非接触广角成像系统治疗视网膜疾病,开创了一种不依赖于机器的主动硅油取出法,并率先用360°视网膜切开术治疗AMD、PCV等相关视网膜下出血;荣获全国眼底病会议蔡司手术视频比赛第一名,首届“羊城好医生”、广东省家庭医生协会岭南名医(眼科)、2017年首届“广东好医生”人气奖。

张少冲教授主要致力于增殖性玻璃体视网膜病变发病机制与防治、视网膜变性疾病的机制以及神经保护、病理性近视发病机制及防治、近视相关流行病学调查、人工智能在眼底病领域的开发应用等研究;先后主持及参与国家自然科学基金、国家眼科学重点实验室创新基金、广东省自然科学基金、广州市科技局等科研项目10余项,发表科技论文60余篇,其中SCI论文30余篇;获得Storz和Alcon优秀论文奖。研究成果获教育部提名国家科学技术进步奖一等奖、二等奖以及广东省科学技术进步二等奖;主编《临床眼底病》外科卷、《眼科解剖与临床》,并参编多部眼科专著。培养和招收博士后、博士及硕士研究生30余名。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2020 年 11 月 第 12 卷 第 11 期 总第 75 期 Bimonthly Volume 12 Number 11 November 2020

主管 中山大学
主办 《中国家庭医生》杂志社有限公司
承办 中山大学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 2020 年 11 月 18 日
定价 RMB 15.00 元

Responsible Institution Sun Yat-sen University
Sponsor China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.
Organizer Da An Gene Co., Ltd. of SunYat-sen University
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 2020.11.18
Price RMB 15.00



扫码订购《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

2019年11月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2020年11月 第12卷 第11期

目次

述评

Angio-OCT在眼底疾病综合诊疗过程中的应用进展
..... 钟莉婷 向武 钟燕凤 等(1429)

论著

胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法)的评价
..... 张文新 于婷 贾峥 等(1434)

湖北汉族人群*ALK*、*EGFR*和*ROS1*基因多态性与非小细胞肺癌易感性相关分析
..... 沈智俊 刘世国(1439)

深圳龙华地区β-地中海贫血基因型与红细胞参数分析
..... 刘运洪 崔晓阳 魏晓珠 等(1443)

TCZ治疗对sJIA患儿外周血Th17/Treg、炎症指标的影响 王娟娟 何孝亮 陈雨青(1448)

小儿视网膜母细胞瘤VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达及与组织病理特征的关系
..... 汪岭 马雪莲 王启明(1452)

CML、Asprosin与2型糖尿病患者颈动脉粥样硬化的关系 刘书苑 陈小敏(1457)

D-二聚体联合血栓弹力图对急性脑出血患者出血量及死亡风险的评估
..... 吴鲲鹏 韦程 何同(1461)

乳腺癌患者外周血miR-34a表达变化的临床意义 王庆月 张晨辉 陈钰(1466)

腹型肥胖者外周血miR-21表达与代谢紊乱及糖尿病发病风险的关系
..... 万红 燕树勋 王娴 等(1470)

副溶血性弧菌质粒DNA参考物质的研制
..... 林晓峰 努色热提·阿布都沙拉木 袁暮云 等(1474)

直肠癌患者*BRMS1*mRNA、*PTN*mRNA的表达及临床意义
..... 马欢 焦英华 李曙光 等(1479)

宫颈病变与Treg转录因子表达及细胞因子水平的关系
..... 梅琳琳 王雅莉 田晓娜 等(1484)

PG、MG7-Ag联合G-17检测对胃癌前病变、胃癌的诊断及鉴别诊断
..... 文采 肖明娜 朴善英(1488)

急性心肌梗死患者术前A/G、NT-proBNP在PCI术后预后中的评估价值分析
..... 张佩雯 吴胜福 陈文君(1493)

血清凋亡分子caspase-3、P53与突发性耳聋病情及治疗效果的相关性
..... 王智超 乐海桂(1497)

RDW在COPD患者并发不同程度肺动脉高压的表达及相关性
..... 梁彩妮 廖永城 邱宇 等(1501)

N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP在鼻咽癌放疗后骨转移中诊断及预后中的价值	王林 纪东 许全一(1505)
急性脑梗死患者血清Caspase-3含量与早期神经功能恶化的相关性研究	揣兰香 邢效如 孙志 等(1510)
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	刘婧 刘妮英 蒋依伶(1514)
肝癌患者手术前后血清AFP、 γ -GT、ApoA1水平变化及临床意义	黄庆国 汤鸿 李鹏泽 等(1518)
OSAHS患者相关炎症因子的表达与动脉粥样硬化的相关性分析	班健 罗雁 韦圳原(1522)
大面积脑梗死患者外周血Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平变化及意义	刘磊 董海 何仲春 等(1527)
血清IL-6、sICAM-1在新生儿肺炎细菌性感染鉴别诊断及疗效评价中的应用	刘珍 陈丹 魏莹亚 等(1531)
创伤性四肢骨折患者血清FIB、FDP、D-D和TAT水平与血栓形成的关系	田丰 杨家赵 徐玮 等(1535)
血清KL-6、LDH水平对结缔组织病合并间质性肺炎患者病情及预后的评估价值	崔艳香 刘晓莉 周丽萍(1539)
甲状腺癌细针穿刺组织中CEACAM1表达量及其与肿瘤恶性程度的相关性	徐显昌 周宁 陈志刚(1544)
血清BSP、SOST及Ca ²⁺ 水平与维持性血液透析患者腹主动脉钙化的关系	司江涛 崔文军 安乾 等(1548)
GSP、ACA及APCR在胫骨平台骨折患者近期预后中的预测价值	李德欣 李涛 张伟涛(1552)
结直肠癌TRDMT-1、CEACAM-1的表达及与肿瘤生物学特性的相关性	冯婧 赵凯 周鑫(1556)
CRSwNP患者YKL-40、TLR4基因表达及嗜酸性粒细胞水平与复发的相关性	董春花 张英 岳光浩(1561)
系统性红斑狼疮患者外周血CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK细胞水平变化的临床意义	仲华 王朝辉 林志强 等(1565)
CIP2A、VCAM-1及TRF1在脑胶质瘤中的表达及临床意义	董留建 王树凯 冯书彬 等(1570)
血清fFN、MMP-9、IL-6水平与自发性早产的相关性分析	陈婷 郭晓静 白婧(1574)
美托洛尔治疗扩张型心肌病慢性心力衰竭的临床价值分析	周政 刘高俊 刘超(1578)
PCI术后肺部感染患者血清miR-146a、Galectin-3表达及与抗感染疗效的关系	林强 魏天龙 罗练 等(1582)

综 述

EB病毒实验室检测技术研究进展	麻婷婷 许四宏 周海卫(1587)
-----------------	-------------------

专家风采

张少冲	(封二)
-----	------

实验室巡礼

中山大学中山眼科中心特需医疗中心	(封三)
------------------	------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 12 Number 11 November 2020

CONTENTS

COMMENTS

- Application progress of Angio-OCT in comprehensive diagnosis and treatment of ocular fundus diseases
ZHONG Liting, XIANG Wu, ZHONG Yanfeng, YI Ke, ZHANG Shaochong (1429)

ORIGINAL ARTICLES

- Evaluation of fetal chromosome aneuploidy (T21, T18, T13) detection kit (probe hybridization)
ZHANG Wenxin, YU Ting, JIA Zheng, SUN Nan, SUN Jing, HUANG Jie, QU Shoufang (1434)
- Polymorphisms of susceptibility genes *ALK*, *EGFR* and *ROS1* in non-small cell lung cancer within Han population in Hubei province
SHEN Zhijun, LIU Shiguo (1439)
- Analysis of β -thalassemia genotype and erythrocyte parameters in Longhuaarea of Shenzhen
LIU Yunhong, CUI Xiaoyang, WEI Xiaozhu, WANG Yuying, ZHANG Jingwei, SU Wei, WU Wenquan, SUN Ping, JIANG Xiaoxin (1443)
- Effect of TCZ treatment on peripheral blood Th17/Treg and inflammatory indexes in children with sJIA
WANG Juanjuan, HE Xiaoliang, CHEN Yuqing (1448)
- Expression of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin in pediatric retinoblastoma and their relationship with histopathological characteristics
WANG Ling, MA Xuelian, WANG Qiming (1452)
- Relationship between CML, Asprosin and carotid atherosclerosis in type 2 diabetes
LIU Shuyuan, CHEN Xiaomin (1457)
- Evaluation value of D-dimer combined with thrombus elasticity chart on the condition and treatment outcome of patients with acute cerebral hemorrhage
WU Kunpeng, WEI Cheng, HE Tong (1461)
- The clinical significance of the change of miR-34a expression in peripheral blood of breast cancer patients
WANG Qingyue, ZHANG Chenhui, CHEN Yu (1466)
- Relationship between the expression of miR-21 in peripheral blood and metabolic disorder and the risk of diabetes mellitus in abdominal obesity
WAN Hong, YAN Shuxun, WANG Xian, ZHANG Shengwei (1470)
- Preparation of plasmid DNA reference material for *Vibrio parahaemolyticus*
LIN Xiaofeng, Nusereti Abudushalamu, YUAN Muyun, XU Longyan, CHEN Yao (1474)
- Expression and clinical significance of *BRMS1*mRNA and *PTN*mRNA in patients with rectal cancer
MA Huan, JIAO Yinghua, LI Shuguang, ZHANG Xianyu, WEI Yulei, TIAN Guiying, LU Xiurong, YUAN Na (1479)
- Relationship between cervical lesions and Treg transcription factor expression and cytokine levels
MEI Linlin, WANG Yali, TIAN Xiaona, SONG Shuang (1484)
- Diagnosis and differential diagnosis of PG, MG7-Ag combined with G-17 detection for gastric precancerous lesions and gastric cancer
WEN Cai, XIAO Mingna, PU Shanying (1488)
- Analysis of the value of preoperative albumin-globulin ratio and NT-proBNP in prognosis of patients with acute myocardial infarction after PCI
ZHANG Peiwen, WU Shengfu, CHEN Wenjun (1493)
- Correlation between serum apoptosis molecules caspase-3, p53 and the disease condition and therapeutic effect of sudden deafness
WANG Zhichao, YUE Haigui (1497)
- Expression and correlation of RDW in COPD patients with different degrees of pulmonary hypertension
LIANG Caini, LIAO Yongcheng, QIU Yu, CHEN Maohao (1501)

The value of N-Orsteoc, β -Crosslaps and TPINP in the diagnosis and prognosis of bone metastases after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma <i>WANG Lin, JI Dong, XU Tongyi</i>	(1505)
Correlation between serum caspase-3 content and early neurological deterioration in patients with acute cerebral infarction <i>CHUAI Lanxiang, XING Xiaoru, SUN Zhi, QIN Xiao, YUAN Fuling</i>	(1510)
The clinical value analysis of magnesium sulfate combined with ritodrine hydrochloride in the treatment of preterm premature rupture of membranes <i>LIU Jing, LIU Niyong, JIANG Yiling</i>	(1514)
Changes of serum AFP, γ -GT, ApoA1 levels before and after operation in patients with liver cancer and their clinical significance <i>HUANG Qingguo, TANG Hong, LI Pengze, ZHU Zaiyang</i>	(1518)
Correlation analysis between related inflammatory factors in patients with OSAHS and atherosclerosis <i>BAN Jian, LUO Yan, WEI Zhenyuan</i>	(1522)
Changes and significance of peripheral blood Th1, Th2, Th17 and Treg cells in patients with massive cerebral infarction <i>LIU Lei, DONG Hai, HE Zhongchun, XU Lijuan</i>	(1527)
Application of serum IL-6 and sICAM-1 in the differential diagnosis of neonatal pneumonia bacterial infection and evaluation of curative effect <i>LIU Zhen, CHEN Dan, WEI Yingya, CHEN Xiaoli, SUN Xiaomin</i>	(1531)
Relationship between serum FIB, FDP, D-D and TAT levels and thrombosis in patients with traumatic limbs fractures <i>TIAN Feng, YANG Jiazhao, XU Wei, XIA Rui, FANG Shiyuan</i>	(1535)
Evaluation value of serum KL-6 and LDH levels in conditions and prognosis of patients with connective tissue disease combined with interstitial pneumonia <i>CUI Yanxiang, LIU Xiaoli, ZHOU Liping</i>	(1539)
Expression level of CEACAM1 in fine needle aspiration tissue of thyroid cancer and its correlation with tumor malignancy <i>XU Xiachang, ZHOU Ning, CHEN Zhigang</i>	(1544)
Relationship between serum BSP, SOST, Ca^{2+} levels and abdominal aortic calcification in patients undergoing maintenance hemodialysis <i>SI Jiangtao, CUI Wenjun, AN Qian, WANG Ying, WU Fei, LI Yang, WANG Guanghua, WANG Mengyu, WANG Bing</i>	(1548)
Predictive value of GSP, ACA and APCR in the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau <i>LI Dexin, LI Tao, ZHANG Weitao</i>	(1552)
Expression of TRDMT-1 and CEACAM-1 in colorectal cancer and its correlation with tumor biological characteristics <i>FENG Jing, ZHAO Kai, ZHOU Xin</i>	(1556)
Correlation between YKL-40, LR4 gene expression, eosinophi level and relapse in patients with chronic sinusitis with nasal polyps <i>DONG Chunhua, ZHANG Ying, YUE Guanghao</i>	(1561)
Clinical significance of changes in peripheral blood CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK cells in patients with systemic lupus erythematosus <i>ZHONG Hua, WANG Zhaohui, LIN Zhiqiang, DAI Xuyang, BO Deying, WANG Yanan, ZHANG Lei, ZHAI Zhijia, JIAO Luyang</i>	(1565)
Expressions and clinical significance of CIP2A, VCAM-1 and TRF1 in glioma <i>DONG Liujuan, WANG Shukai, FENG Shubin, FENG Qiang, LV Qiang, LI Tao, PEI Hang, QI Lin</i>	(1570)
Correlation analysis between serum fFN, MMP-9, IL-6 levels and spontaneous preterm delivery <i>CHEN Ting, GUO Xiaojing, BAI Jing</i>	(1574)
Analysis of the clinical value of metoprolol in the treatment of chronic heart failure caused by dilated cardiomyopathy <i>ZHOU Zheng, LIU gaojun, LIU Chao</i>	(1578)
Expression of serum miR-146a and Galectin-3 in patients with pulmonary infection after PCI and their relationship with anti-infection efficacy <i>LING Qiang, WEI Tianlong, LUO Lian, CHEN Yujin, LI Xiang</i>	(1582)

REVIEWS

Progress of researches on Epstein-Barr virus laboratory detection technology <i>MA Tingting, XU Sihong, ZHOU Haiwei</i>	(1587)
--	--------

Angio-OCT 在眼底疾病综合诊疗过程中的应用进展

钟莉婷 向武 钟燕凤 易焱 张少冲*

[摘要] 光学相干断层扫描血管成像(Angio-OCT)是一种新型的成像技术,用来检测眼底血液流动;相较于传统OCT,Angio-OCT具备分辨率高、安全快速、无创性等优势;实现了无创定量测量视网膜、脉络膜血管和血流灌注等眼部解剖结构。本文回顾了Angio-OCT定量测量血流灌注的基本原理,以及在脉络膜新生血管形成、中心性浆液性脉络膜视网膜病变、糖尿病性视网膜病、视网膜动静脉阻塞和息肉样脉络膜血管病变等眼底疾病的应用进展,对其优缺点进行系统的概述,用以加深眼科临床工作者对Angio-OCT这一新型检查手段的全面认知。

[关键词] 光相干断层成像血管造影;脉络膜新生血管;中心性浆液性脉络膜视网膜病变;糖尿病性视网膜病;视网膜动静脉阻塞;息肉样脉络膜血管病变

Application progress of Angio-OCT in comprehensive diagnosis and treatment of ocular fundus diseases

ZHONG Liting, XIANG Wu, ZHONG Yanfeng, YI Ke, ZHANG Shaochong*

(Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, China, 510060)

[ABSTRACT] Optical coherence tomography angiography (Angio-OCT) is a new imaging technology used to detect blood flow in the fundus. Compared with traditional OCT, Angio-OCT has the advantages of high resolution, safety, speed, and non-invasiveness. Non-invasive quantitative measurement of ocular anatomical structures was achieved such as retina, choroidal blood vessels and blood perfusion. This article reviews the basic principles of Angio-OCT quantitative measurement of blood flow transplanted and its application in fundus diseases such as choroidal neovascularization, central serous chorioretinopathy, diabetic retinopathy, retinal arteriovenous and polypoid choroidal vascular diseases. The shortcomings are summarized to deepen the ophthalmology clinicians' comprehensive knowledge of Angio-OCT, as a new inspection method.

[KEY WORDS] Optical coherence tomography angiography; Polypoidal choroidal vasculopathy; Central serous chorioretinopathy; Diabetic retinopathy; Retinaartery and vein occlusion; Polypoid choroidal vascular disease

随着现代医学的不断发展和进步,精准医学概念已经逐步深入到临床治疗的全部流程中;分子医学及仿生医学、分子影像等学科的快速进步也带动了眼科学的不断发展,显著提高了眼科多项疾病的综合诊疗水平。在传统医学背景下,视网膜疾病与青光眼等眼科疾病的诊疗存在着诸多的局限性;而光学相干断层扫描(optical coherence

tomography, OCT)的诞生,为临床眼科疾病的综合诊疗做出了巨大贡献;完美契合现代精准医学发展的理念。但是,传统OCT对脉络膜及视网膜血管的评估却依然存在着无法量化和精细化的局限性,扫描范围的局限性、需要患者高度配合、易出现伪迹伪影等不足也同样使其应用受限。近些年来国内外诸多学者为进一步提高临床检查效

基金项目:国家重点实验室专项(30306020240020174)

作者单位:中山大学中山眼科中心,广东,广州 510060

*通信作者:张少冲, E-mail: zhangshaochong@gzoc.com

率,研发出新的无创性 OCT 血管成像技术(optical coherence tomography angiography, Angio-OCT),可以对视网膜各分层、视盘及黄斑区的血管血流三维图像及血管解剖结构,提供安全快速的全面分析,为现阶段眼底疾病的综合诊疗提供了更直观的影像学依据^[1]。

1 Angio-OCT 的基本技术应用原理与临床使用优劣势分析

Angio-OCT 的成像原理是对眼底同一位置连续横向扫描,如系统接收的反馈光学信号在持续变化,表明在该扫描位置内有血液流动及红细胞运动信号;通过连续进行横断面扫描探测血管腔中的红细胞运动信号,再将每个横断面信息进行整合,可获得视网膜各层及脉络膜的三维重建血管图像^[2]。但是当血管信号在灵敏度阈值下限和饱和度阈值上限,即在血流流速极慢的小血管和血流流速极快的大血管,扫描的血管无法在成像系统上显示^[3]。相较于传统的 OCT 成像系统,Angio-OCT 成像系统创造性地运用了分频幅去相干血管成像算法(split-spectrum amplitude-decorrelation angiography, SSADA),其中一个优势在于经过处理后的 Angio-OCT 信号增强了血流信号,减少了因眼球轴向运动和运动产生的噪点,改善了流量检测和更好的噪声信号比^[4];另一个优势是在扫描图层后获得完整的 3D 数据图像,其包含有视网膜表面的 X-Y 平面、X-Z 平面和 Y-Z 平面的任意二维平面扫描图像;可以有效地检测和评价视网膜的功能和结构变化。

现阶段在临床诊疗过程中将 Angio-OCT 作为眼底血管病变的主要检查手段;适应症重点包含有脉络膜新生血管形成^[5]、中心性浆液性脉络膜视网膜病变^[6]、糖尿病性视网膜病^[7]、视网膜动静脉阻塞^[8]及息肉样脉络膜血管病变^[9]和其它常见的眼底病变。传统的眼底荧光血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)更多地被用作视网膜血液循环的重点检测方法,吲哚青绿血管造影(indocyanine green angiography, ICGA)则侧重于脉络膜血管结构的检测^[10]。然而,FFA 和 ICGA 对于造影剂过敏患者存在检查禁忌;且获得图像均为 2D 血管造影图像,不能够显示视网膜血管结构层次及病变所在层次^[11]。Angio-OCT 相较于 ICGA 与 FFA,不需要注射任何造影剂或显影剂^[12],可准确获得视网

膜各层及脉络膜血管丛信息。但 Angio-OCT 观察范围相较于 FFA 和 ICGA 两种检查明显偏小,仅限黄斑和视盘区域;眼球运动或血细胞运动引起的伪影将严重干扰眼科医生对图像结果的判断^[13]。

将 Angio-OCT 图像与 ICGA 的脉络膜血流图像进行比较,发现 Angio-OCT 显示的异常脉络膜血管图像是一个高灌注区,伴有周围血流减少的病灶,与 ICGA 显示的异常脉络膜血管位置一致^[14]。SPAIDE 等^[15]研究表明,FFA 和 Angio-OCT 对视网膜血管层的对比分析;成果表明 FFA 无法捕捉视盘旁边的放射状毛细血管构造,而 Angio-OCT 能正确地检测到眼底血管构造的所有层结构。Angio-OCT 相较于 FFA 和 ICGA 两种检查手段,所获得图像中血流面积、无血流面积、血流密度等均可做到量化,这对于明确诊断分期,随访治疗效果等均有重要价值,多次测量结果重复率很高;数据可靠性较高。

2 Angio-OCT 在当前常见眼底疾病中的应用进展

2.1 脉络膜新生血管

脉络膜新生血管(CNV)是湿性老年性黄斑变性症(wet age-related macular degeneration, wAMD)的重要病理特征^[16]。在 OCT 应用于临床检查之前,FFA 和 ICGA 一般认为是 CNV 诊断的影像金标准;但近年来随着 Angio-OCT 的广泛使用,临床医生能够通过其图像准确评估血管网的延伸及形态,新血管的形态及血流可以用纤维组织观察。所以,使用血管光学相干断层扫描来检测 CNV 并指导其治疗和随访,可以定量测量新生血管的面积^[17]。De CARLO 等人^[18]的研究结果提示 Angio-OCT 可以作为检测 CNV 的首选无创性方法,并作为指导患者治疗的重要手段;Angio-OCT 相比于传统的眼底荧光血管造影,在 CNV 检测上特异性更高,目前在临床上已开展了多项临床研究证实其有效性及安全性。

2.2 中心性浆液性脉络膜视网膜病变

中心性浆液性脉络膜视网膜病变(Central serous chorioretinopathy, CSC)是一种常见的视网膜病症,脉络膜新生血管经常发生在中心性浆液性脉络膜视网膜病变,是引起患者视力下降的重要原因之一^[19]。而传统的眼底荧光血管造影对脉络新生血管的诊断往往受到中心性浆液性脉络膜视网膜病变本身所引起的荧光素渗漏的干扰,因此在诊断上存在漏诊的可能性较大。

传统的眼底荧光血管造影及OCT为判断CSC的活动性和渗漏点提供了初步的检测依据,并作为眼科临床治疗和随访的主要依据。但以上检查手段存在诸多局限性,Angio-OCT弥补了这些不足,改善了CSC的诊断效率,精确地指导了临床医生对于CSC患者的个体化治疗^[20]。Angio-OCT对于CSC患者的优势主要体现在以下几个方面:①Angio-OCT作为无创性眼底血管检测手段,当CSC患者合并脉络膜新生血管的时候,可以直接提供视网膜各层和视盘血管图像,包括血管的形态、血管范围和病变部位等;而传统的眼底荧光血管造影则无法精确诊断并明确临床分型。②Angio-OCT可以精确定位脉络膜新生血管发生所在层,对脉络膜新生血管的形态范围做到高清晰度的显影,相较于传统的眼底荧光血管造影可早期检测脉络膜新生血管。③Angio-OCT在临床使用中可以动态监测脉络膜新生血管的发展;对慢性CSC患者合并脉络膜新生血管的活动性进行判断。④对荧光素钠过敏或伴有全身禁忌证的患者,Angio-OCT可作为高效安全的检测手段^[21]。虽然之前国内外学者开展的临床研究均证实了Angio-OCT对于慢性CSC患者合并脉络膜新生血管的临床安全性及有效性,但仍需更多的临床研究来对比分析多种检测手段,从而选出更好的组合模式来指导慢性CSC患者合并脉络膜新生血管的诊疗计划及随访方式。

2.3 糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是由糖尿病引起的视网膜微血管系统的眼底疾病,是最常见的微血管病变之一^[22]。临床上根据是否存在视网膜新生血管,将无视网膜新生血管的糖尿病性视网膜病称为非增殖性糖尿病视网膜病(Nonproliferative diabetic retinopathy, NPDR)、伴有视网膜新生血管的称为增殖性糖尿病性视网膜病(proliferative diabetic retinopathy, PDR)^[23]。微血管病变是早期的主要原因,而新生血管和缺血是糖尿病视网膜病变导致患者视力丧失的主要原因^[24]。DE CARLO和其他相关研究人员^[25]在研究中证实,Angio-OCT可以用于观察黄斑中心血管区域的扩大、视网膜区域的血管灌注的缺失、毛细血管密度降低和糖尿病性视网膜病变患者早期新生血管的形成;上述症状均为传统眼球荧光素血管造影无法准确观察到的早期症状。在增殖性糖尿病视网膜病变患者中,血管光学相干断层扫描

可显著观测到无斑点区域的扩张和扭曲、视网膜剥离和早期视网膜化和其他早期症状,目前已成为临床诊断增殖性糖尿病视网膜病变和黄斑缺血的重要的检查手段。

2.4 视网膜动脉或静脉阻塞

视网膜血管阻塞是一种较为常见的视网膜微血管病变,严重的情况会造成视力急剧下降。有研究表明,Angio-OCT可以很好地应用于视网膜血管阻塞检查,在区分无灌注区域、组织缺血边界及血管异常(微小动脉瘤、血管扩张症等)等症状时具有明显的优点^[26]。Angio-OCT相较于传统的眼底荧光血管造影检查,可以在视网膜各层(毛细血管出血区域、非自然的微血管结构等)得到更准确的捕捉异常血管的细节。Angio-OCT可以作为视网膜分支静脉阻塞(branch retinal vein occlusion, BRVO)的临床诊断和后续随访的重要检测手段^[27];SAMARA等人^[28]的研究报道称,Angio-OCT可用于定量测量BRVO患者的血管密度和黄斑中心的非血管区域面积。结果显示,浅层毛细血管和深层毛细血管的血管密度显著低于普通人的血管密度;此外通过Angio-OCT对黄斑中心凹周围的毛细血管进行定量测量,发现侧枝循环血管数量与毛细血管灌注程度呈负相关;其中,深层毛细血管的密度与侧枝循环血管总量相关性更大,视力下降可能与深层毛细血管密度减少有关。有文献报道称,Angio-OCT检测视网膜分支动脉阻塞(branch retinal artery occlusion, BRAO)所显示的血管特征与传统检查结果相仿,Angio-OCT发现了毛细血管灌注不足的表现,传统的眼底荧光血管造影检查则无法显示对应的结果^[29]。Angio-OCT能清晰地显示视网膜新生血管形态并发现早期的相关症状,其检查的精确度及灵敏度较传统的眼底荧光血管造影更容易被眼科医生所接受。

2.5 息肉样脉络膜血管病

自Yannuzzi在1990年第一次报道息肉样脉络膜血管病变以来,关于PCV的报道逐年增加。PCV大多数患者发病在50岁以上,发病机制与致病原因目前尚未完全明确。早期大多研究中将PCV归类于wAMD,然而近几年间ICGA和OCT等检查手段的持续发展,目前大多学者认为PCV与wAMD有显著区别^[30];但是之前临床上缺乏精确有效的方法测量脉络膜内层血管流速及血管解剖结构,所以Angio-OCT的出现为PCV的血管发生学说提供了有力的证据支持^[31]。

ICGA 是早期诊断和评估 PCV 的主要检查手段;但在临床工作中利用 Angio-OCT 检查时可发现 RPE 拱形高反光区,Angio-OCT 有助于观察和研究 PCV 的形态学改变^[32],主要包括:RPE 呈息肉样拱形隆起;视网膜下积液和色素上皮脱离;脉络膜异常分支血管网表现为“双层征”。Angio-OCT 常用于检测浅层视网膜浆液性渗出情况并监测 PCV 的治疗效果,对评估肥厚血管(pachyvessels)具有一定辅助作用;Angio-OCT 联合脉络膜血管指数可用于评估 PCV 的脉络膜病理改变程度。所以目前 Angio-OCT 可以作为一个准确定量测量脉络膜厚度与肥厚血管的方法,成为脉络膜结构检测的重要辅助手段。

3 Angio-OCT 在当前临床科室使用现状总结

本中心作为全国顶级的眼科综合诊疗中心,在 Angio-OCT 在眼底相关疾病的综合诊疗过程中总结了自己独到的临床经验;现阶段本中心使用的 Angio-OCT 设备为德国海德堡 SPECTRALIS 品牌的设备系统及科林仪器公司生产的 Optovue 设备系统。德国海德堡 SPECTRALIS 品牌的 Angio-OCT 设备系统主要包括三种扫描模式,即①标准扫描模式:ART=7(4-7 可调),最高分辨率可达 6 μm ;②快速筛查模式:ART=2,最高分辨率可达 11 μm ;③高清断层模式:单线 ART=100,多线 ART=25,仅需 2 秒可获得高清的眼底结构和血管扫描图像;对于糖尿病视网膜病变及脉络膜新生血管等治疗随访具有较强的功能性。本中心开展的项目研究也证明了 Angio-OCT 在眼底疾病的综合诊疗过程中具备自己的优势。迟玮团队^[33]的研究成果提示 Angio-OCT 在 BRVO 患者在治疗前后,对特定层定量评估眼睛的微血管变化有临床意义;证明其可以作为 BRVO 患者随访评估过程中最具效益的无创性血管成像手段。

4 Angio-OCT 在未来眼科临床诊疗过程中的提升展望

Angio-OCT 拥有高分辨率、三维成像、无创操作及简便快捷等多个优势,但其局限性也显而易见,一般包括以下几个方面:①扫描范围小,只能扫描黄斑区域及视乳头区域,对周边视网膜无法评估。②存在投射伪影,影响医生对于血管图像的判读。③由于检测血流速度阈值的限制,检查

过程中可能丢失部分阈值外的快速及慢速血流信号。④由于 Angio-OCT 没有渗漏效应,无法提示存在的功能性血管病变。

由上述内容综合来看,Angio-OCT 是一种新的眼科检查方法,具有分辨率高、三维成像、无创操作及简便快捷等多个优势,为眼科医生提供为精确地诊断依据、也为患者带来更为方便和个体化的检查方案。希望通过多学科多组学的共同合作,研发出更大检测范围和高质量血管成像的 Angio-OCT 系统;并且适合在多个层次的医院医疗系统进行推广普及应用。深信新一代的 Angio-OCT 系统拥有更为广阔的临床应用前景;可以造福更多的眼底疾病患者。

参考文献

- [1] Tey KY, Teo K, Tan ACS, et al. Optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy: a review of current applications[J]. Eye Vis (Lond), 2019, 6: 37.
- [2] Ko F, Muthy ZA, Gallacher J, et al. Association of Retinal Nerve Fiber Layer Thinning With Current and Future Cognitive Decline: A Study Using Optical Coherence Tomography [J]. JAMA Neurol, 2018, 75(10): 1198-1205.
- [3] Conti FF, Young JM, Silva FQ, et al. Repeatability of Split-Spectrum Amplitude - Decorrelation Angiography to Assess Capillary Perfusion Density Within Optical Coherence Tomography [J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina, 2018, 49(9): e9-e19.
- [4] Conti FF, Qin VL, Rodrigues EB, et al. Choriocapillaris and retinal vascular plexus density of diabetic eyes using split-spectrum amplitude decorrelation spectral-domain optical coherence tomography angiography [J]. Br J Ophthalmol, 2019, 103(4): 452-456.
- [5] Nagpal M, Khandelwal J, Juneja R, et al. Correlation of optical coherence tomography angiography and microperimetry (MP3) features in wet age-related macular degeneration [J]. Indian J Ophthalmol, 2018, 66(12): 1790-1795.
- [6] Faghihi H, Mohammadzadeh V, Nabavi A, et al. Oral Mineralocorticoid-Receptor Antagonists: Choroidal Parameters Changes Using OCT in Central Serous Chorioretinopathy [J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina, 2019, 50(11): 726-733.
- [7] Zeng Y, Cao D, Yang D, et al. Retinal vasculature-function correlation in non-proliferative diabetic retinopathy [J]. Doc Ophthalmol, 2020, 140(2): 129-138.
- [8] Goel S, Saurabh K, Roy R. Combined central retinal vein occlusion and branch retinal artery occlusion [J]. Indian J Ophthalmol, 2018, 66(12): 1862-1863.
- [9] Zhan Z, Sun L, Jin C, et al. Comparison between non-visualized polyps and visualized polyps on optical coherence tomogra-

- phy angiography in polypoidal choroidal vasculopathy[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2019, 257(11): 2349-2356.
- [10] Nozaki M, Kato A, Yasukawa T, et al. Indocyanine green angiography-guided focal navigated laser photocoagulation for diabetic macular edema[J]. *Jpn J Ophthalmol*, 2019, 63(3): 243-254.
- [11] Chaikitmongkol V, Kong J, Khunsongkiet P, et al. Sensitivity and Specificity of Potential Diagnostic Features Detected Using Fundus Photography, Optical Coherence Tomography, and Fluorescein Angiography for Polypoidal Choroidal Vasculopathy[J]. *JAMA Ophthalmol*, 2019, 137(6): 661-667.
- [12] Eriş E, Kocakaya AE. Comparison of optical coherence tomography angiography and green indocyanine angiography in polypoidal choroidal vasculopathy: A prospective study[J]. *J Fr Ophtalmol*, 2019, 42(7): 690-695.
- [13] Ong SS, Cummings TJ, Vajzovic L, et al. Comparison of Optical Coherence Tomography With Fundus Photographs, Fluorescein Angiography, and Histopathologic Analysis in Assessing Coats Disease[J]. *JAMA Ophthalmol*, 2019, 137(2): 176-183.
- [14] Lupidi M, Fruttini D, Eandi CM, et al. Chronic Neovascular Central Serous Chorioretinopathy: A Stress/Rest Optical Coherence Tomography Angiography Study [J]. *Am J Ophthalmol*, 2020, 211: 63-75.
- [15] Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, et al. Optical coherence tomography angiography[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2018, 64: 1-55.
- [16] Chihara E, Dimitrova G, Amano H, et al. Discriminatory Power of Superficial Vessel Density and Prelaminar Vascular Flow Index in Eyes With Glaucoma and Ocular Hypertension and Normal Eyes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(1): 690-697.
- [17] Nesper PL, Soetikno BT, Treister AD, et al. Volume-Rendered Projection - Resolved OCT Angiography: 3D Lesion Complexity Is Associated With Therapy Response in Wet Age-Related Macular Degeneration[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(5): 1944-1952.
- [18] de Carlo TE, Bonini FMA, Chin AT, et al. Spectral-domain optical coherence tomography angiography of choroidal neovascularization[J]. *Ophthalmology*, 2015, 122(6): 1228-1238.
- [19] Cakir B, Reich M, Lang SJ, et al. Möglichkeiten und Grenzen der OCT-Angiografie bei Patienten mit Chorioretinopathia centralis serosa [Possibilities and Limitations of OCT-Angiography in Patients with Central Serous Chorioretinopathy] [J]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2017, 234(9): 1161-1168.
- [20] Fujita K, Kawamura A, Yuzawa M. Choriocapillaris Changes Imaged by OCT Angiography After Half-Dose Photodynamic Therapy for Chronic Central Serous Chorioretinopathy[J]. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*, 2017, 48(4): 302-310.
- [21] Teussink MM, Breukink MB, van Grinsven MJ, et al. OCT Angiography Compared to Fluorescein and Indocyanine Green Angiography in Chronic Central Serous Chorioretinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(9): 5229-5237.
- [22] Arevalo JF, Lasave AF, Kozak I, et al. Preoperative Bevacizumab for Tractional Retinal Detachment in Proliferative Diabetic Retinopathy: A Prospective Randomized Clinical Trial [J]. *Am J Ophthalmol*, 2019, 207: 279-287.
- [23] Fawzi AA, Fayed AE, Linsenmeier RA, et al. Improved Macular Capillary Flow on Optical Coherence Tomography Angiography After Panretinal Photocoagulation for Proliferative Diabetic Retinopathy [J]. *Am J Ophthalmol*, 2019, 206: 217-227.
- [24] de Carlo TE, Bonini FMA, Baomal CR, et al. Evaluation of Preretinal Neovascularization in Proliferative Diabetic Retinopathy Using Optical Coherence Tomography Angiography [J]. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*, 2016, 47(2): 115-119.
- [25] Choi EY, Choi W, Lee CS. A novel PAX3 mutation in a Korean patient with Waardenburg syndrome type 1 and unilateral branch retinal vein and artery occlusion: a case report [J]. *BMC Ophthalmol*, 2018, 18(1): 266.
- [26] Jung JJ, Chen MH, Lee SS. Branch Retinal Artery Occlusion Imaged With Spectral-Domain Optical Coherence Tomographic Angiography [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2016, 134(4): e155041.
- [27] Loukianou E, Brouzas D, Chatzistefanou K, et al. Clinical, anatomical, and electrophysiological assessments of the central retina following intravitreal bevacizumab for macular edema secondary to retinal vein occlusion [J]. *Int Ophthalmol*, 2016, 36(1): 21-36.
- [28] Samara WA, Shahlaee A, Adam MK, et al. Quantification of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography and Its Relationship with Visual Acuity [J]. *Ophthalmology*, 2017, 124(2): 235-244.
- [29] Bo Q, Yan Q, Shen M, et al. Appearance of Polypoidal Lesions in Patients With Polypoidal Choroidal Vasculopathy Using Swept-Source Optical Coherence Tomographic Angiography[J]. *JAMA Ophthalmol*, 2019, 137(6): 642-650.
- [30] Lim TH, Tan CS. Insights of Swept-Source Optical Coherence Tomographic Angiography on the Structures in Polypoidal Choroidal Vasculopathy [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2019, 137(6): 650-651.
- [31] CMG C, Kim JE. Diagnosing Polypoidal Choroidal Vasculopathy Without Indocyanine Green Angiography[J]. *JAMA Ophthalmol*, 2019, 137(6): 667-668.
- [32] Wong TY, Ogura Y, Lee WK, et al. Efficacy and Safety of Intravitreal Aflibercept for Polypoidal Choroidal Vasculopathy: Two-Year Results of the Aflibercept in Polypoidal Choroidal Vasculopathy Study[J]. *Am J Ophthalmol*, 2019, 204: 80-89.
- [33] Deng Y, Cai X, Zhang S, et al. Quantitative Analysis of Retinal Microvascular Changes after Conbercept Therapy in Branch Retinal Vein Occlusion Using Optical Coherence Tomography Angiography[J]. *Ophthalmologica*, 2019, 242(2): 69-80.

胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法)的评价

张文新 于婷 贾峥 孙楠 孙晶 黄杰* 曲守方*

[摘要] **目的** 应用基于单核苷酸多态性(SNP)检测方法的胎儿染色体非整倍体(21三体、18三体和13三体)国家参考品,评价胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法)的性能。**方法** 从国家参考品中提取血浆游离DNA。应用探针杂交捕获染色体目标片段并将其转换为DNA环,对DNA环进行滚环扩增,然后对滚环复制产物进行特异荧光标记并使用显微成像仪检测,通过比较21号、18号和13号染色体的荧光信号值计算三者之间的相对比例,从而评估T21、T18和T13的风险。**结果** 三批试剂盒对国家参考品中的104例样本进行检测,其中10%胎儿游离DNA比例的国家阳性参考品结果均为相应染色体三体;染色体正常或其他染色体异常的国家阴性参考品,结果均不是21、18和13三体;5%胎儿游离DNA比例检测限参考品在9次测试中的检出率均为100%,3.5%胎儿游离DNA比例检测限参考品在9次测试中的检出率为75%~92%;微缺失微重复参考品中18号染色体微重复的参考品均为18三体,其余参考品结果均不是21、18和13三体,重复性均符合国家参考品的要求。**结论** 国家参考品具有很好的适用性,胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法)的性能符合其要求。

[关键词] 染色体非整倍体;单核苷酸多态性;胎儿游离DNA;三倍体

Evaluation of fetal chromosome aneuploidy (T21, T18, T13) detection kit (probe hybridization)

ZHANG Wenxin, YU Ting, JIA Zheng, SUN Nan, SUN Jing, HUANG Jie*, QU Shoufang*

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

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the performance of fetal chromosome aneuploidy (T21, T18 and T13) detection kit (probe hybridization), the national reference materials for fetal trisomy 21, trisomy 18 and trisomy 13 of chromosomal aneuploidies detection by SNP method were used. **Methods** Plasma free DNA was extracted from national reference materials and hybridized to the target DNA fragments to form circular DNA complexes. The DNA circles were copied by rolling-circle-amplification (RCA), then labeled the rolling circle replication product (RCP) with specific fluorescent tags. The density of each chromosome and chromosome fragment raw ratio was acquired to assess the risks of T21, T18 and T13, which were tested and counted by microscopic imaging devices. **Results** 104 samples of national reference material were tested with three batches of kits, among which national positive reference material with 10% cell-free fetal DNA (cffDNA) fraction were the corresponding trisomy. National negative reference material with normal or other chromosomal abnormalities were not trisomy 21, 18 and 13. The detection rate of the limited reference with 5% cffDNA fraction in 9 tests were 100%, and the detection rate of the limited reference with 3.5% cffDNA fraction in 9

基金项目:生殖健康及重大出生缺陷防控研究(2016YFC1000300)

作者单位:中国食品药品检定研究院,北京 100050

*通信作者:曲守方, E-mail:qushoufang@126.com;黄杰, E-mail:jhuang5522@126.com

张文新和于婷共为第一作者

tests were from 75% to 92%. The microduplication reference of chromosome 18 were all trisomy 18, while the results of other microdeletion and microduplication reference were not trisomy 21, 18 and 13. The repeatability was in line with the requirement of national reference. **Conclusion** The national reference materials have good applicability, and the performance of fetal chromosome aneuploidy detection kit (probe hybridization) meets its requirements.

[KEY WORDS] Chromosomal aneuploidy; single nucleotide polymorphism; Cell-free fetal DNA; Trisomy (T)

染色体数目异常和结构异常导致新生儿出生缺陷,其中21三体、18三体、13三体是临床上最常见的染色体疾病^[1-2]。目前21三体、18三体和13三体的检测方法主要有血清学筛查、无创产前检测(non-invasive prenatal testing, NIPT)^[3-4]、细胞核型分析和单核苷酸多态性微阵列(single nucleotide polymorphism microarray, SNP-array)等分子生物学方法^[5-6],其中基于高通量测序平台的NIPT技术目前已被广泛应用于胎儿染色体非整倍体产前筛查。

随着分子生物学技术在临床检测领域的发展,基于不同平台的胎儿染色体非整倍体检测技术方法不断涌现。胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法)是通过特异性探针捕获21号、18号、13号及Y染色体上的目标片段,捕获后的片段与设计好的核酸骨架结构连接成环,对DNA环进行恒温滚环扩增延长,对延长的多拷贝DNA进行染色体特异的荧光标记,在显微成像设备上只针对21号、13号和18号染色体上的DNA片段进行计数分析,评估胎儿患T21、T18或T13综合征的风险^[7]。中国食品药品检定研究院(简称中检院)研制的基于SNP检测方法的胎儿染色体非整倍体(21三体、18三体和13三体)国家参考品,可以用于该技术方法试剂盒的评价。本研究通过应用该探针杂交法试剂盒对国家参考品进行检测,以评价该技术方法试剂盒的检测性能。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 国家参考品

基于单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)检测方法的胎儿染色体非整倍体(21三体、18三体和13三体)国家参考品,包括3份正常人样本,72份模拟胎儿游离DNA不同比例的21号、18号、13号染色体非整倍体异常样本,9份微缺失微重复样本和20份其他染色体非整倍

体异常的样本,中检院提供。

1.1.2 试剂

胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法),全自动核酸处理系统(Easy Core)和全自动荧光显微成像分析仪(Easy View),苏州新波生物技术有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 血浆游离DNA提取

采用试剂盒说明书指定的游离DNA提取试剂盒(磁珠法)和全自动核酸提取仪对国家参考品血浆样本和阴、阳性质控品进行游离DNA提取和纯化。

1.2.2 游离DNA的处理

将带有游离DNA的洗脱板放入到Easy Core仪器,打开Easy Core软件登录进入操作界面,点击“滚环扩增”进入样本选择界面,选择样本(提取后的洗脱板)。确认试剂和耗材摆放,然后运行仪器。经过内切酶剪切游离DNA(cell-free DNA, cfDNA)、探针捕获cfDNA片段后与骨架DNA连接成环、消化残余单链线性DNA、滚环扩增延长cfDNA片段和染色体特异荧光标记等步骤,转移产物至检测板,运行结束后把检测板小心取出。

1.2.3 信号读取

将检测板小心放入Easy View托盘上,注意A1孔朝左上方(条形码在右侧),运行Easy View仪器。扫描检测板条形码,随后仪器进行自检,自检通过后开始信号读取。仪器对检测板每一个孔位的121个区域进行拍照,每个区域在每个荧光通道拍1张照片,包括chr21、chr13、chr18、chrY共4个检测通道。每个孔位拍照结束后会根据总的荧光点数(counts)和所拍区域的数量计算出该孔位荧光点的密度(density)。

1.2.4 结果分析

使用无创产前筛查风险分析软件,从每份样本拍照计数得到的21号、18号和13号染色体的荧光

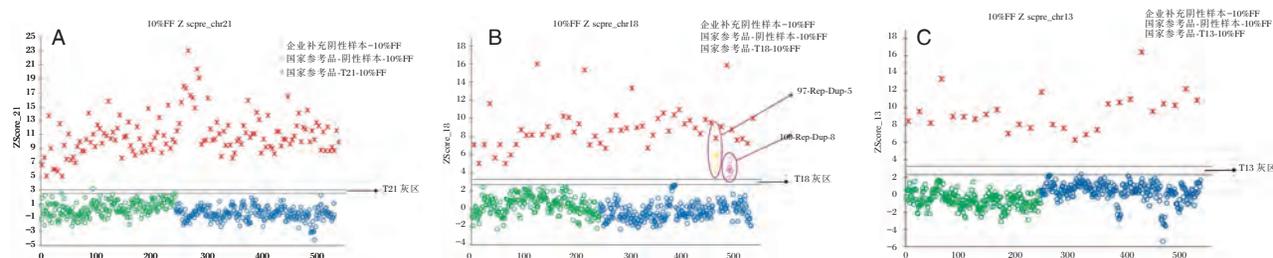
信号(density)计算三者之间的相对比例(raw_ratio),再通过 Levenberg-Marquardt 进行回归分析得到三者校正后的比例(Norm_ratio),计算Z值,评估样本的21号、18号和13号染色体三体的风险。

2 结果

2.1 国家阳性参考品、阴性参考品及 T18 微重复参考品结果

取三批试剂盒,每批试剂重复检测3套相同的国家参考品。在9次测试中,国家参考品中15例10%胎儿游离DNA(cell-free fetal DNA, cffDNA)比例的T21阳性参考品和32例阴性参考品的结果

表明,T21阳性参考品均检出T21高风险(high risk),阴性参考品均未出现T21高风险或T21灰区(grey zone)。国家参考品中6例10%胎儿游离DNA比例的T18阳性参考品、2例T18微重复参考品和32例阴性参考品的结果表明,T18阳性参考品均检出T18高风险,chr18微重复参考品97-Rep-Dup-5和100-Rep-Dup-8检出T18高风险,阴性参考品均未出现T18高风险或T18灰区。国家参考品中3例10%胎儿游离DNA比例的T13阳性参考品和32例阴性参考品的结果表明,T13阳性参考品均检出T13高风险,阴性参考品均未出现T13高风险或T13灰区。见图1。



注:A为T21阳性参考品;B为T18阳性参考品及T18微重复参考品;C为T13阳性参考品。

图1 10% cffDNA比例国家参考品结果

Figure 1 The results of national reference materials with 10% cffDNA fraction

2.2 国家检测限参考品结果

对于国家检测限参考品,24例5%胎儿游离DNA比例检测限参考品在9次测试中均正确检出,而24例3.5%胎儿游离DNA比例检测限参考品在9次测试中的正确检出率分别为75%~92%。第一批次试剂盒对24例5%检测限参考品和24例3.5%检测限参考品共48例样本的3次重复检测结果,见表1,三批试剂盒对24例5%检测限参考品和24例3.5%检测限参考品的检出率统计结果。见表2、表3。

3 讨论

1997年,香港中文大学卢煜明教授发现孕妇外周血游离DNA中存在胎儿成分^[7],基于这一研究,无创产前基因检测(Noninvasive prenatal genetic testing, NIPT)技术为胎儿染色体非整倍体检测开辟新的方向,同时随着高通量测序技术的发展,21三体、18三体、13三体的NIPT技术逐渐成熟并在产前筛查中广泛应用。目前,21三体、18三体、13三体的NIPT技术多采用以全基因组低深度测

序的高通量测序策略,国家药监局现已批准的NIPT产品也均采用该方法学,该方法学在样本建库过程中不对来自不同染色体的DNA序列加以区分,而是通过后续生物信息学分析识别其原始位置并通过分析每条染色体上检测到的碱基占所有检测到碱基的百分比来对染色体是否存在非整倍体进行判断。

随着分子诊断技术在临床应用上的发展,也出现了NIPT技术应用的不同平台。Vanadis NIPT系统即可用于胎儿染色体非整倍体21三体、18三体和13三体的检测,它包括Easy Extrac、Easy Core和Easy View等三台设备和配套的专用图像分析软件以及胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(探针杂交法)。该试剂盒针对21号、18号、13号及Y染色体各设计3000个探针,其结果分析基于正常样本群得出回归曲线,所以对每次测试中阴性样本的数目有要求。另外分析方法对每次测试中阳性样本所占的比例也有一定的规定,一般不应超过15%^[8]。与高通量测序法相比,探针杂交法不对全部染色体核酸片段进行分析,

表3 3.5%胎儿游离DNA比例检测限参考品的检出率结果
Table 3 The detection rate of the limited reference with 3.5% cffDNA fraction

	第一批次试剂盒			第二批次试剂盒			第三批次试剂盒		
	重复1	重复1	重复3	重复1	重复2	重复3	重复1	重复2	重复3
未检出	1	2	2	4	2	1	4	3	2
灰区	1	1	1	2	1	1	1	1	1
检出	22	21	21	18	21	22	19	20	21
检出率(%)	92%(22/24)	88%(21/24)	88%(21/24)	75%(18/24)	88%(21/24)	92%(22/24)	79%(19/24)	83%(20/24)	88%(21/24)

只针对21号、18号和13号染色体上的DNA片段,通过专用图像软件对来自不同荧光DNA微球进行计数分析,因此不用通过生物信息分析具体的序列信息。同时由于该方法在捕获cfDNA片段后,仅通过滚环扩增延长DNA片段而不进行扩增,可减少PCR扩增效率不同带来的偏移,且可降低体系污染的风险和可能性。

基于SNP检测方法的胎儿染色体非整倍体(21三体、18三体和13三体)国家参考品,包括染色体非整倍体、微缺失微重复和正常样本,适用于单核苷酸多态性(SNP)位点基因芯片法和基于SNP位点的高通量测序法等。人群中胎儿DNA浓度分布的统计结果表明有接近一半样本中胎儿游离DNA比例大于10%,超过96%样本中胎儿游离DNA比例高于4%^[9-10]。而胎儿游离DNA比例是NIPT技术准确度的主要因素,低胎儿游离DNA比例会导致假阴性结果的较高风险^[8]。而国家检测限参考品要求5%胎儿游离DNA比例检测限参考品检出率应不低于90%,3.5%胎儿游离DNA比例检测限参考品检出率应不低于50%^[9]。

三批试剂盒对国家参考品中104例样本进行检测,结果均符合国家参考品的预期结果。9次测试中,5%胎儿游离DNA比例检测限参考品检出率均为100%,3.5%胎儿游离DNA比例检测限参考品检出率最低为75%,最高可达到92%;微缺失微重复参考品中18号染色体微重复的参考品均为18三体。由此可见,该探针杂交法的试剂盒即使在低胎儿游离DNA比例的情况下也能实现胎儿染色体非整倍体的较高检出率,保证胎儿染色体非整倍体的较准确检出。

应用基于SNP检测方法的胎儿染色体非整倍体(21三体、18三体和13三体)国家参考品对该探针杂交技术检测试剂盒进行评价,结果显示其阳

性参考品符合率、阴性参考品符合率、检测限和重复性均符合我国国家参考品的相关规定,性能均可到达我国国家参考品的要求。

参考文献

- [1] 黎永鉴, 闫丽琼, 郭豪, 等. 梧州地区21-三体综合征患者的细胞遗传学研究[J]. 重庆医学, 2020, 49(8): 1265-1268+1273.
- [2] 韩瑾, 张蒙, 甄理, 等. 18-三体综合征胎儿的产前诊断结果分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2016, 12(2): 190-195.
- [3] 廖哈献, 黄卫彤, 王宗杰. 胎儿染色体非整倍体基因检测在孕妇产前筛查中的应用研究[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(5): 657-660.
- [4] 余宏盛, 胡晞江. 基于高通量测序技术应用于孕期无创产前筛查人群的结果分析[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(3): 433-436.
- [5] 白小艺, 章钧, 田琪, 等. 单核苷酸多态性芯片与染色体核型分析在唐氏筛查高风险孕妇产前诊断中的比较研究[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 4(4): 707-712.
- [6] 周伟宁, 杜倩怡, 钟志成, 等. QF-PCR技术检测4262例胎儿常见染色体非整倍体结果回顾分析[J]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2020, 12(1): 37-42.
- [7] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. Lancet, 1997, 350(9076): 485-487.
- [8] Fredrik Dahl, Olle Ericsson, Olof Karlberg, et al. Imaging single DNA molecules for high precision NIPT[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 4549.
- [9] 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, 2020, 12(8): 6-10.
- [10] Xu XP, Gan HY, Li FX, et al. A Method to Quantify Cell-Free Fetal DNA Fraction in Maternal Plasma Using Next Generation Sequencing: Its Application in Non-Invasive Prenatal Chromosomal Aneuploidy Detection[J]. Plos One, 2016, 11(1): e0146997.

湖北汉族人群 *ALK*、*EGFR* 和 *ROS1* 基因多态性与非小细胞肺癌易感性相关分析

沈智俊 刘世国*

[摘要] **目的** 通过研究非小细胞肺癌(NSCLC)的易感基因 *ALK*、*EGFR* 和 *ROS1* 的基因多态性,探讨两者的相关关系,为研究非小细胞肺癌的发生发展机制打下理论基础。**方法** 收集本院2016年1月至2018年1月期间51位非小细胞肺癌患者和64名健康人外周抗凝血样本,检测 *ALK*、*EGFR* 和 *ROS1* 单核苷酸多态性位点的突变情况,采用显性模型通过 logistic 回归分析单核苷酸多态性突变与 NSCLC 的关系。**结果** 与健康人群相比,NSCLC 患者中 *ALK*、*EGFR* 和 *ROS1* 突变型比率更高,其中 *EGFR* 的阳性率明显高于健康人群($P<0.05$)。*ALK* 和 *EGFR* 的单核苷酸多态性突变显著促进了 NSCLC 的发生,而 *ROS1* 基因的突变对 NSCLC 的发生发展无明显影响。*EGFR* 的单核苷酸多态性是 NSCLC 发生的危险因素($P<0.05$),其中,*EGFR* 的 rs121434569 位点突变的优势比最大($OR=56.00$)。**结论** *ALK* 和 *EGFR* 的基因突变可以影响 NSCLC 的发生发展,但只有 *EGFR* 突变是 NSCLC 发生的危险因素,其中以 *EGFR* 的 rs121434568 位点突变最为危险。

[关键词] 基因多态性; *ALK*; *EGFR*; *ROS1*; 非小细胞肺癌

Polymorphisms of susceptibility genes *ALK*, *EGFR* and *ROS1* in non-small cell lung cancer within Han population in Hubei province

SHEN Zhijun, LIU Shiguo*

(Department of Clinical Laboratory, Hubei NO.3 People's Hospital of Jiangnan University, Wuhan, Hubei, China, 430033)

[ABSTRACT] **Objective** To study the mechanism of occurrence and development in non-small-cell Lung Carcinoma, the relationship between the polymorphism of susceptibility genes *ALK*, *EGFR* and *ROS1* will be explored. **Method** From January 2016 to January 2018, 51 patients with NSCLC were enrolled in our hospital, and 64 healthy individuals were enrolled within the same period. Single nucleotide polymorphism of *ALK*, *EGFR*, and *ROS1* were detected. Dominant model by logistic regression was used to analyze the relationship between genetic polymorphisms and NSCLC. **Result** The incidence of *ALK*, *EGFR*, and *ROS1* mutations was higher in NSCLC patients compared with that in healthy individuals. Polymorphisms of *ALK* and *EGFR* markedly contributed to NSCLC but *ROS1* had little effect on the occurrence of NSCLC. Polymorphisms of *EGFR* were the risk factors in NSCLC ($P<0.05$), with rs121434569 being the highest risk factor ($OR=56.00$). **Conclusion** Among the three genes, *ALK* and *EGFR* mutations affected the occurrence of NSCLC, but only *EGFR* mutations were risk factors of NSCLC occurrence, with the rs121434568 mutation being the strongest risk factor.

[KEY WORDS] Polymorphisms; *ALK*; *EGFR*; *ROS1*; Non-small cell lung cancer

基金项目:湖北省自然科学基金面上项目(2016CFB694);武汉市卫生健康委员会科研基金(WX16Z07)

作者单位:江汉大学附属湖北省第三人民医院检验科,湖北,武汉 430033

*通信作者:刘世国, E-mail:llsgg518@163.com

近10年来,肺癌的发生率逐年提高。大多数肺癌患者在初次诊断时就已经有转移。即使在之后行根治性切除术,5年生存率只有25~30%。所有肺癌病例中,非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)约占85%^[1]。肺癌是环境和遗传因素相互作用的结果,其遗传因素在其发生发展中的作用越来越受到人们的重视。许多学者对单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)和肺癌易感性之间的关系进行了深入的研究,并取得了良好的效果^[2]。目前,关于NSCLC易感基因单核苷酸多态性的研究,我国已有开展,但湖北地区汉族人群却研究较少。将这些易感基因的单核苷酸多态性位点作为风险因素或可疑信号,运用到肿瘤个体化治疗的诊断还需要进一步验证。本研究采用高通量实时多聚酶链反应(PCR)评估湖北地区汉族人群NSCLC患者相关基因单核苷酸多态性突变型的情况,为肺癌综合防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本信息

选取2016年1月到2018年1月,本院收集的51例NSCLC患者的样本作为患者组。其中,男性36人(70.6%),女性15人(29.4%),平均年龄(62.4±14.1)岁。入选标准包括:①进行过X光或CT检测,发现有肺部阴影;②通过细胞组织病理切片确诊为NSCLC;③患者只有NSCLC而没有其他器官的恶性肿瘤。排除标准为:①本次治疗以前该患者被诊断过其他恶性肿瘤;②本次治疗以前该患者执行过放疗或手术治疗;③该患者同时患有严重的内分泌疾病;④该患者同时患有心脑血管疾病;⑤该患者同时患有慢性肝脏和肾脏功能异常;⑥该患者有精神障碍,不能正常交流。同时收集了64位健康人作为对照组,包括男性35人(54.7%),女性29人(45.3%),平均年龄(61.8±15.3)岁。入选标准为:①没有肿瘤患病史或肿瘤临床特征;②入选者之间没有血缘关系。对照组的排除标准同患者组。所有患者及家属均已签署知情、同意书。本研究经本医院医学伦理委员会批准。

1.2 试剂与仪器

核酸提取采用离心柱型DNA提取试剂盒(DP318,天根生化科技(北京)有限公司);引物合成及PCR试剂均购自生工生物工程(上海)股份有

限公司;核酸定量采用NanoDrop One/OneC微量紫外-可见分光光度计(Thermo Scientific,中国)进行;PCR扩增仪为GeneAmp®PCR system9700(Applied Biosystem,中国)。

1.3 方法

本研究通过调查问卷的形式获取样本的相关信息,每位入选者抽取外周静脉血5 mL,EDTA抗凝,放-20℃备用。待入组完成后,按DNA提取试剂盒说明书对人外周血样本进行核算提取。采用NanoDrop分析仪对各DNA样本进行浓度测定及质量评价。确定符合后续实验条件后,取10 μL进行PCR扩增,反应条件为94℃ 5 min;以下3个温度循环32次:94℃ 30 s,57℃ 35 s,72℃ 40 s。然后将扩增产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序,分析各SNP位点突变情况。SNP检测位点及其PCR引物见表1。

表1 SNP检测位点及PCR引物

位点及引物名称	引物序列
rs113994090-F	5'-TGGAGGAACCCAGACTAAC-3'
rs113994090-R	5'-CTGCGGTGCTGTGATA-3'
rs113994092-F	5'-GAATTGTTAAGGCTGTTTC-3'
rs113994092-R	5'-AGGAGATGATGTAAGGGAC-3'
rs281864719-F	5'-CAGCTCAGTTAATTTTGGTT-3'
rs281864719-R	5'-GGGATTGCAGGCTCAC-3'
rs281864720-F	5'-ACGTGGCTCGGGACATTGCC-3'
rs281864720-R	5'-GCGACAGGATGACAGGAAGA-3'
ROS1-F	5'-TAAAGGCTACACCCTCC-3'
ROS1-R	5'-TGATGTCCACCAGCAA-3'
rs28929495-F	5'-GCAAGTGCCGTGCTCT-3'
rs28929495-R	5'-GCCTTTGGTCTGTGAAT-3'
rs121434569-F	5'-TCCCTGTGCTAGGTCTT-3'
rs121434569-R	5'-CTCCCTTCCCTGATTAC-3'
rs121913428-F	5'-ATGTCTGGCACTGCTTTC-3'
rs121913428-R	5'-TCACAGGACCACTGATTAC-3'
rs121913465-F	5'-CTTCACAGCCCTGCGTAA-3'
rs121913465-R	5'-TCTCCCCTCCCCGTATCT-3'
rs397517127-F	5'-CAGGGTCTTCTCTGTTTCAG-3'
rs397517127-R	5'-ATGCTGCGGTGTTTTACCA-3'
rs606231253-F	5'-TGAAAACAGGACGGACCTCC-3'
rs606231253-R	5'-TGTAATCTACCAGGCTTTGG-3'
rs121434568-F	5'-CCAGCCATAAGTCTCG-3'
rs121434568-R	5'-GCTGACCTAAAGCCACC-3'

1.4 统计分析

采用SPSS 25.0软件进行数据分析。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,用t检验,计数资料用n(%)表示,采用 χ^2 检验;对于基因的多态性位点与NSCLC的相关性采用logistic单因素分析;对于基

因的多态性位点与 NSCLC 的因果关系,本研究选择显性模型,采用非条件二分类 logistic 回归分析,计算优势比, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 临床数据

入选的研究人群中,有吸烟史的人数,NSCLC 患者组较健康人群组多,但截至入组时还在吸烟的人数,NSCLC 患者组较健康人群组无统计学差异。测序结果表明,NSCLC 患者的 *ALK*、*EGFR*、*ROS1* 单核苷酸多态性突变的阳性率都要比健康人群高,特别是 *EGFR* 单核苷酸多态性突变型 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 *ALK*、*EGFR*、*ROS1* 的单核苷酸多态性突变与 NSCLC 的相关分析

Logistic 单因素分析表明,*ALK* 的 rs113994090 和 rs113994092 突变型与 NSCLC 易感性显著性相关 ($P < 0.05$); *EGFR* 的 rs28929495, rs121434568, rs121434569, rs12193428, rs121913465, rs397517127, rs606231253 也与 NSCLC 易感性显著性相关 ($P < 0.05$),但 *ROS1* 位点与 NSCLC 易感性的相关性无显著性差异 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.3 *ALK*、*EGFR*、*ROS1* 的单核苷酸多态性突变对于 NSCLC 易感性的优势比

Logistic 回归分析结果表明, *EGFR* 的几个单核苷酸多态性突变型均是 NSCLC 易感性的风险因素,其中优势比最高的位点是 rs121434569; *ALK* 与 NSCLC 易感性的患病风险比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 2 两组临床资料对比 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Comparison of clinical data in the two groups

类别	健康人群组 ($n=64$)	NSCLC 患者组 ($n=51$)	t/χ^2 值	P 值
平均年龄(岁)	61.8±15.3	62.4±14.1	0.196	0.8045
性别			3.038	0.087
男性	35(54.7)	36(70.6)		
女性	29(45.3)	15(29.4)		
入组时有肝转移例数	-	32(41.2)		
吸烟史				
从不	28(43.8)	9(17.6)	8.862	0.003
现在吸	26(40.6)	14(27.5)	2.172	0.141
以前吸	10(15.6)	28(54.9)	19.790	<0.001
癌胚抗原(CEA) (ng/mL)	2.76±1.65	259.89± 345.51		
NSCLC 分型				
腺癌	-	46(90.2)		
鳞癌	-	3(5.9)		
其他	-	2(2.9)		
<i>ALK</i> 突变比率			5.123 ^a	0.024
阳性	1(1.6)	6(11.8)		
阴性	63(98.4)	45(88.2)		
<i>EGFR</i> 突变比率			42.890	<0.001
阳性	3(4.7)	31(60.8)		
阴性	61(95.3)	20(39.2)		
<i>ROS1</i> 突变比率			3.866 ^a	0.049
阳性	0(0)	3(5.9)		
阴性	64(100)	48(94.1)		

注:a 为采用 fisher 精确概率法计算。

3 讨论

不同个体对环境因素造成的影响是有差异的,造成这种差异的一个重要的内在因素就是单

表 3 *ALK*、*EGFR*、*ROS1* 基因多态性 logistic 单因素分析

Table 3 Univariate analysis of polymorphism of *ALK*, *EGFR* and *ROS1* by logistic regression

SNP 位点	健康人群组突变例数	NSCLC 患者组突变例数	B	95%CI	r^2 值	P 值
<i>ALK</i>						
rs113994090	0	4	0.577	0.083~1.070	0.037	0.023
rs113994092	0	4	0.577	0.083~1.070	0.037	0.023
rs281864719	0	1	0.561	-0.430~1.553	0.002	0.264
rs281864720	1	3	0.318	-0.184~0.819	0.005	0.213
<i>EGFR</i>						
rs28929495	0	11	0.615	0.322~0.909	0.125	<0.001
rs121434568	1	26	0.679	0.501~0.857	0.330	<0.001
rs121434569	1	24	0.660	0.472~0.848	0.294	<0.001
rs12193428	3	30	0.653	0.488~0.818	0.348	<0.001
rs121913465	1	18	0.604	0.381~0.826	0.197	<0.001
rs397517127	0	5	0.582	0.141~1.023	0.049	0.001
rs606231253	0	20	0.674	0.464~0.883	0.253	<0.001
<i>ROS1</i>						
	0	3	0.566	-0.134~1.267	0.014	0.112

表4 ALK、EGFR、ROS1 基因二分类 logistic 回归分析
Table 4 Binary Logistic Regression analysis of ALK, EGFR and ROS1 genes

SNP 位点	OR	95%CI	P 值
<i>ALK</i>			
rs281864720	3.937	0.397~39.043	0.242
<i>EGFR</i>			
rs121434568	65.520	8.432~509.119	<0.001
rs121434569	56.000	7.205~435.243	<0.001
rs12193428	29.048	8.026~105.129	<0.001
rs121913465	34.364	4.392~268.874	0.001

核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP)。人类基因组目前已发现 1.5×10^7 个 SNP 位点, 每隔 300~600 bp 就有一个^[3]。关于 NSCLC 易感性与 SNP 的关联分析一直是热点, 近期的研究包括: 维生素 D 信号通路的相关分子^[4], 端粒酶 *TERT* 基因^[3-4], *TOP2A* 和 *ERCC1*^[5], miR-423-3p 基因拷贝数变异^[6], 非转移性细胞 1 基因^[7], *IL-17F* 和 *IL-17A*^[8]等, 均与 NSCLC 易感性相关。本研究通过分析全基因组关联 (Genome-wide association, GWAS) 数据库 (<https://atlas.ctglab.nl/>)^[9], 备选了 *ALK*、*EGFR*、*ROS1* 的几个位点, 研究在湖北汉族人群中, 其 SNP 与 NSCLC 的易感性是否相关。

ALK 是间变性淋巴瘤激酶基因, 其重排可诱导 NSCLC^[10], 不同人群 NSCLC 患者的 *ALK* 阳性突变的比率在 1.4~13% 之间^[11]。尤其是 NSCLC IV 期患者, *ALK* 阳性突变的比率比其他几个 NSCLC 分期都要高^[12]。本研究进一步明确了 *ALK* 与 NSCLC 发生的相关关系, 但并非患病的危险因素。

EGFR 是表皮生长因子受体基因, 其致癌突变在低分化型和预后不良的 NSCLC 患者中很常见, 90% 的 *EGFR* 突变存在于 18-21 外显子中^[13]。其突变的频率在不同种族之间差异较大, Kosaka 等^[14]报道, 日本人群的突变频率要显著高于欧美人群。而我国的研究发现, 中国人群的突变频率甚至达 30%^[15]。本研究表明, *EGFR* 的突变型频率在选取的三个基因中最高, 这也与国际上的研究结果一致。本研究选取的 *EGFR* 各单核苷酸多态性位点均与 NSCLC 的易感性显著相关, 其中, rs121434568, rs121434569, rs12193428, rs121913465 是 NSCLC 患病的危险因素。曾有报道 *EGFR* 的 rs2293347 位点与吉非替尼临床疗效相关^[16], 笔者推测这几个位点也是通过突变改变了 *EGFR* 受体的生物学功能, 进而影响了疾病的发生, 确切机制还需要进一步研究。

ROS1 是 c-ros 肉瘤致癌因子基因, 在 NSCLC 的患者中有 *ROS1* 重排的发生, 但其重排的发生率不及 *EGFR* 和 *ALK* 的突变率高^[17]。*ROS1* 的重排多发于年轻的非吸烟的 NSCLC 患者中, 这与其他几种突变不同 (*EGFR* 突变/*KRAS* 突变/*ALK* 重排)。有研究通过原位杂交检测 *ROS1* 的重排, 发现其比率仅为 1.7%^[18]。本研究中, *ROS1* 的单核苷酸多态性突变与 NSCLC 之间的相关性无显著差异, 因此未能分析其易感性, 这很有可能是笔者的数据较少导致, 需增加临床病例以确定最终结论。

NSCLC 的病理分型中, 肺腺癌占比最多, 约 50%, 其次是鳞癌, 约 30%^[6], 而本研究收集的样本大部分为腺癌, 鳞癌样本较少, 导致分析数据有一定的偏向性。另外, 本研究选择显性模型进行统计分析, 因为在将杂合型与纯合型突变分别分析时, 发现与将二者合并分析得到了一致的统计学结论。由于技术原因, 很多分析不能进行, 例如部分位点存在连锁不平衡, 可能会影响最终结果判断。同时, 肿瘤作为一种系统性疾病^[19], 不仅是遗传因素, 环境因素和心理因素的影响同样重要, 本研究模型未将是否吸烟这一因素加入, 导致其有一定的局限性。即便如此, 目前包括 miRNA 及 LncRNA 的 SNP 与疾病的相关性研究还是越来越多^[20-21], 这些相关分析有利于解释个体的不同个体对系统性疾病的易感性以及对各种药物的耐性和对环境因素反应的差异, 是后续研究的基础。本研究下一步将从生物学功能的角度, 探讨 SNP 与系统性疾病的因果关系, 为肿瘤诊断与预防提供理论支持。

参考文献

- [1] 范夷平, 杜名, 于夫尧, 等. 肺癌驱动基因、检测方法及靶向治疗研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(2): 330-334.
- [2] 王莹, 王艺, 黄薇. 全基因组关联分析在人类复杂疾病研究中的应用 [J]. 诊断学理论与实践, 2010, 9(5): 430-432.
- [3] Kong J, Chen X, Wang J, et al. Genetic polymorphisms in the vitamin d pathway and non-small cell lung cancer survival [J]. Pathol oncol res: POR, 2020, 26(3): 1709-1715.
- [4] 刘世国, 裴锐, 沈智俊. 湖北地区汉族人群 tert-clptm11 基因多态性与肺癌易感性关联分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(14): 1079-1083.
- [5] Grenda A, Blach J, Szczyrek M, et al. Promoter polymorphisms of top2a and ercc1 genes as predictive factors for chemotherapy in non-small cell lung cancer patients [J]. Cancer med, 2020, 9(2): 605-614. (下转第 1447 页)

深圳龙华地区 β -地中海贫血基因型与红细胞参数分析

刘运洪¹ 崔晓阳¹ 魏晓珠¹ 汪宇婴¹ 张婧惟¹ 苏维¹ 吴文权¹ 孙平² 姜孝新^{1*}

[摘要] 目的 分析深圳市龙华地区最新 β 地中海贫血(地贫)携带(患)者基因型分布特点,并全面探讨该地区不同基因型的 β 地贫携带(患)者的血液学特征。**方法** 以怀疑地贫就诊者为研究对象,采用PCR-流式荧光杂交法进行 β 地中海贫血基因突变检测,采用血细胞分析仪检测红细胞计数(RBC)、血红蛋白浓度(HGB)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞分布宽度(RDW)等血液学参数;采用毛细管电泳法检测血红蛋白亚型(HbA、HbA2和HbF)比率。并对14岁以上不同基因型组红细胞及血红蛋白参数进行 t 检验统计分析。**结果** 从4983例怀疑地贫就诊者标本中,检出400例 β 地中海贫血,检出率为8.03%。最常见3种基因型为CD41-42/N(137, 34.25%)、IVS-II-654/N(122, 30.50%)、CD17/N(56, 14.00%)。 β -地中海贫血患者血液学参数主要表现为HGB、MCV、MCH降低,即红细胞呈小细胞、低色素形态。与正常人参考值相比,男性 β^0/β^N 与 β^+/ β^N 基因型的RDW和HbA2更高,女性 β^0/β^N 与 β^+/ β^N 基因型MCV、MCH、MCHC更低,而RDW和HbA2更高, β^0/β^N 与 β^+/ β^N 和 β^+/ β^N 基因型在MCV、MCH、MCHC、RDW、HbA和HbA2参数上更接近正常人参考值,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 深圳市龙华区 β 地贫基因突变最常见类型为CD41-42/N、IVS-II-654/N和CD17/N基因型,不同性别不同基因型的 β 地贫拥有其独特的血液学特征,可用于辅助不同类型地贫的参考鉴别。

[关键词] β -地中海贫血;基因型;红细胞参数

Analysis of β -thalassemia genotype and erythrocyte parameters in Longhuaarea of Shenzhen

LIU Yunhong¹, CUI Xiaoyang¹, WEI Xiaozhu¹, WANG Yuying¹, ZHANG Jingwei¹, SU Wei¹, WU Wenquan¹, SUN Ping², JIANG Xiaoxin^{1*}

(1. Clinical Laboratory, People's Hospital of Longhua Shenzhen, Shenzhen, Guangdong, China, 518109;
2. Da An Gene Co., Ltd. of SunYat-sen University, Guangzhou, Guangdong, China, 510665)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the characteristics of genotype distribution of the latest β -thalassemia carriers (patients) in Longhua District, Shenzhen, and to explore the hematological characteristics of different subtypes of β -thalassemia carriers in this area. **Methods** Suspected patients with thalassemia were taken as the research object. PCR-flow fluorescence hybridization method was used to detect β -thalassemia gene mutation, and hematology analyzer was used to detect red blood cell count (RBC), hemoglobin concentration (HGB), and mean red blood cell volume (MCV), Mean red blood cell hemoglobin amount (MCH), mean red blood cell hemoglobin concentration (MCHC), red blood cell distribution width (RDW) and other hematological parameters. The capillary electrophoresis was used to detect the ratio of hemoglobin subtypes (HbA, HbA2 and HbF). The t -test statistical analysis was performed on the parameters of red blood cells and

基金项目:深圳市龙华区科技创新资金项目(2017115)

作者单位:1. 深圳市龙华区人民医院检验科,广东,深圳 518109

2. 中山大学达安基因股份有限公司,广东,广州 510665

*通信作者:姜孝新, E-mail: xiaoxinjiang168@126.com

hemoglobin of different genotype groups over 14 years old. **Results** 400 cases of β -thalassemia were genetically confirmed from 4983 subjects. The detection rate was 8.03%. The three most common genotypes are CD41-42/N (137, 34.25%), IVS-II-654/N (122, 30.50%), and CD17/N (56, 14.00%). The hematological parameters of patients with β -thalassemia are mainly represented by the decrease of HGB, MCV, and MCH, that is, the red blood cells are in the form of small cells and low pigment. Compared with normal reference values, male $\beta 0/\beta N$ and $\beta +/\beta N$ genotypes have higher RDW and HbA₂, female $\beta 0/\beta N$ and $\beta +/\beta N$ genotypes have lower MCV, MCH, and MCHC, while RDW and HbA₂ are higher. High, $\beta E/\beta N$ and $\beta 0/\beta N$ and $\beta +/\beta N$ genotypes are closer to normal reference values in MCV, MCH, MCHC, RDW, HbA and HbA₂ parameters, and the differences are statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The most common types of β -thalassemia gene mutations in Longhua District, Shenzhen are CD41-42/N, IVS-II-654/N, and CD17/N genotypes. β -thalassemias with different genotypes of different genders have their unique hematological characteristics. It can be used to assist the reference identification of different types of thalassaemia.

[KEY WORDS] β -thalassemia; Genotype; Erythrocyte parameter

广东省为地中海贫血(下称地贫)高发地区之一,作为广东省外来人口占比最高的城市,深圳市的外来人口带来了不同地贫基因型,可能产生了新的基因型组合。在深圳市龙华区,地贫的防治工作已经成为优生优育工作的重点之一,地贫基因的检测已成为孕妇产检常规开展项目。血液学参数,尤其是红细胞计数(red blood cell count, RBC)、血红蛋白浓度(hemoglobin concentration, HGB)、平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、红细胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)等血液学参数和HbA亚型(hemoglobin A、A₂、and F, HbA、HbA₂和HbF)检测分析,对地贫患者筛查和亚型鉴别有重要价值^[1]。近年,裴元元^[2]、刘洋^[3]、贺志军^[4]等对不同地贫基因型的血液学参数进行统计分析,指出不同基因型 β -地贫患者的红细胞参数存在差异,可以用来辅助地贫类型的鉴别,但这些研究或者没有综合考虑性别、年龄等影响因素,还不够全面。因此,本文全面地研究了近一年龙华地区 β 地贫发病率和基因型分布,以及患者血液特征在不同性别和基因型间的差别,以期临床提供更准确的诊断依据,报告如下。

1 材料和方法

1.1 一般资料

选取2018年4月至2019年4月在本院就诊并进行地贫基因检测的受检者(包括婚检、产检、体检人群),共计4983例。受检者纳入标准为:①主要为实验室检测血液学指标异常(平均红细胞体

积 $MCV < 80 \text{ fl}$ 和/或平均红细胞血红蛋白含量 $MCH < 27 \text{ pg}$)、Hb电泳提示有地中海贫血($HbA_2 \leq 2.5\%$ 或 $HbA_2 \geq 3.5\%$ 或正常但 $HbF \geq 3\%$);②家族中有地中海贫血的患者、地中海贫血基因携带者的孕前和产前检查者以及疑似地贫的儿童等。排除标准为:①缺铁性贫血;②甲状腺、肝脏及自身免疫病等导致红细胞血液学参数明显变化的相关疾病。本研究获得深圳市龙华区人民医院医学伦理委员会批准,受检者及其家属均知情了解并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血液学参数检测

采集受检者肘静脉血2 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,用全自动血细胞仪(Sysmex XN-10,希森美康医用电子(上海)有限公司)检测RBC、Hb、MCV、MCH、MCHC、RDW等。使用全自动毛细管电泳仪(SEBIA CAPILLARYS,赛比亚公司,法国),检测参数为HbA、HbA₂、HbF和变异Hb。标本均在2 h内检测完毕,所使用试剂均为原厂配套试剂。

1.2.2 地贫基因检测

样本要求同血常规检测,采集外周静脉血后充分混匀,置于2~8℃冰箱保存。采用自动核酸提取仪(Smart-32型,中山大学达安基因股份有限公司)及全血基因提取试剂盒(磁珠法)(中山大学达安基因股份有限公司)提取外周血基因组DNA。使用基因诊断试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司)和流式荧光检测仪(MAGPIX多功能液态悬浮芯片系统, Luminex公司,美国)检测 β 地贫的17种点突变,包括PCR扩增,杂交和检测分析,具体步骤严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。两组均数比较采用两独立样本 t 检验; 多组比较用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 地贫基因检测结果

4 983 例标本共检出携带 β 地贫基因突变 436 例, 排除其他疾病后, 单 β 地贫型 400 例, 检出率为 8.03%。共检出 14 种突变类型, 3 种突变未检出 (-30, -32 和 CD31), 未发现纯合子基因型。其中 14 岁以上患者 338 人, 男性 107 例, 女性 231 例, 14 岁及以下儿童和婴儿 62 例。见表 1。

2.2 血液学参数统计

14 岁以上 β 地贫患者共 338 人, 其中 281 人接受了红细胞血液学参数检测, 男性 80 例, 女性 201 例, 均表现为小细胞、低色素, 细胞大小不一且 HbA2 明显升高。男性与女性的平均年龄比较差

表 1 400 例 β -地中海贫血患者的基因型分布
Table 1 Genotypic distribution of 400 patients with β -thalassemia

分组(n)	基因型	例数	构成比(%)
β^0/β^N 基因型 (228)	CD41-42/N	137	34.25
	CD17/N	56	14.00
	CD71-72/N	15	3.75
	CD27-28/N	11	2.75
	CD43/N	6	1.50
	CD14-15/N	1	0.25
	IVS-I-1/N	1	0.25
	Int/N	1	0.25
	β^+/ β^N 基因型 (161)	IVS-II-654/N	122
-28/N		35	8.75
-29/N		2	0.50
CAP/N		1	0.25
IVS-I-5/N		1	0.25
β^E/β^N 基因型 (11)	CD26/N	11	2.75
	总计	400	100

异具有统计学意义 ($P < 0.05$), β^0/β^N 型、 β^+/ β^N 型以及 β^E/β^N 型之间的部分血液学参数比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2 和表 3。

表 2 80 例男性 β 地贫不同基因型携带 (患) 者与对照组血常规红细胞参数比较 (14 岁以上) ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of red blood cell parameters between 80 male β -thalassemia carriers (patients) with different genotypes (over 14 years old) ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RBC($\times 10^{12}/L$)	HGB(g/L)	HCT(%)	MCV(fl)	MCH(pg)	MCHC(g/L)
β^0/β^N	40	6.48 \pm 0.89	128 \pm 15.58	41.39 \pm 4.79	64.173 \pm 4.25	19.89 \pm 1.34	309.95 \pm 8.99
β^+/ β^N	36	6.44 \pm 0.65	130.58 \pm 12.35	42.08 \pm 4.15	65.46 \pm 5.16	20.32 \pm 1.74	310.56 \pm 8.68
β^E/β^N	4	5.44 \pm 0.43	138.25 \pm 7.97	41.98 \pm 1.58	77.32 \pm 3.18	25.45 \pm 1.05	329.00 \pm 9.06
P 值 ^a	-	0.840	0.494	0.507	0.237	0.223	0.767
F 值 ^b	-	3.303	1.006	0.236	14.534	24.238	8.579
P 值 ^b	-	0.042	0.371	0.790	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c

组别	n	RDW(%)	HbA(%)	HbA2(%)	HbF(%)	E(%)	年龄(岁)
β^0/β^N	40	17.42 \pm 1.40	93.63 \pm 1.45	5.65 \pm 0.72	0.72 \pm 1.02	0	30.27 \pm 6.68
β^+/ β^N	36	15.99 \pm 1.34	93.85 \pm 1.46	5.26 \pm 0.72	0.89 \pm 1.33	0	30.31 \pm 6.15
β^E/β^N	4	13.50 \pm 0.68	69.97 \pm 1.36	3.73 \pm 0.15	0.33 \pm 0.57	25.97 \pm 1.27	29.25 \pm 4.50
P 值 ^a	-	0.000 ^c	0.557	0.027 ^c	0.667	-	0.982
F 值 ^b	-	21.584	505.193	17.616	0.328	-	0.051
P 值 ^b	-	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.772	-	0.950

注: a 为 β^0/β^N vs β^+/ β^N ; b 为 β^0/β^N vs β^+/ β^N vs β^E/β^N ; c 为 $P < 0.05$ 。

3 讨论

β 地贫主要由 β 珠蛋白基因点突变所致, 少部分是由于 β 珠蛋白基因的缺失所引起^[5]。 β 珠蛋白链合成减少即为 β^+ 地贫, β 珠蛋白链完全不能合成即为 β^0 地贫, 该病轻者可无临床表现, 重者以进行性溶血性贫血为主要特征, 中重型地贫属于致死或致残性疾病^[6-7]。对突变基因携带者大规模筛查, 防止中重型地贫患儿出生是目前最有效的措施^[8]。

β 地贫基因突变类型与突变频率存在地域和种族差异, 我国长江以南的广大地区, 尤其以广西、广东和海南 3 省是高发区^[9-11]。目前, 在中国已报道有 34 种 β 地中海贫血基因突变, 中国人最常见的 6 种基因突变类型为 CD41-42、IVS-II-654、CD17、-28、CD71-72、CD26^[12]。

本研究中共发现 14 种 β 基因突变类型, 与周围地区相比较, 前 3 位突变型构成比接近的有: 东莞地区^[13]、广州地区^[14]、惠州地区^[15]。前 2 位突变型

表3 201例女性β地贫不同基因型携带(患)者与对照组血常规红细胞参数比较(14岁以上)($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of red blood cell parameters between 201 female β-thalassemia carriers (patients) with different genotypes (over 14 years old) ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RBC($\times 10^{12}/L$)	HGB(g/L)	HCT(%)	MCV(fl)	MCH(pg)	MCHC(g/L)
β^0/β^N	112	4.84±0.73	98.24±11.94	31.66±4.02	65.70±4.53	20.41±1.56	310.61±8.35
β^+/ β^N	82	4.77±0.74	100.79±13.36	32.07±4.21	67.57±5.70	21.25±2.06	314.48±10.89
β^E/β^N	7	4.50±0.44	115.86±14.63	35.21±4.25	78.10±3.04	25.71±1.60	329.286±10.87
P值 ^a	-	0.539	0.164	0.495	0.012 ^c	0.001 ^c	0.006 ^c
F值 ^b	-	0.832	6.759	2.525	21.455	31.392	14.643
P值 ^b	-	0.437	0.001 ^c	0.083	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c

组别	n	RDW(%)	HbA(%)	HbA2(%)	HbF(%)	E(%)	年龄(岁)
β^0/β^N	112	16.27±1.65	92.66±3.22	5.40±0.60	1.57±1.92	0	27.64±4.56
β^+/ β^N	82	15.337±1.13	93.46±1.46	5.17±0.50	1.34±1.33	25	28.03±6.17
β^E/β^N	7	14.81±2.43	69.42±1.22	3.74±0.36	0.33±0.65	26.58±0.76	28.29±4.39
P值 ^a	-	0.000 ^c	0.120	0.035 ^c	0.475	-	0.583
F值 ^b	-	10.860	185.125	21.289	1.156	3.637	0.181
P值 ^b	-	0.000 ^c	0.000 ^c	0.000 ^c	0.318	0.129	0.834

注:a为 β^0/β^N vs β^+/ β^N ; b为 β^0/β^N vs β^+/ β^N vs β^E/β^N ; c为 $P < 0.05$ 。

构成比接近的有:广东清远地区^[16],广东河源客家人^[17]。与深圳市内近年相比,有一定差别,深圳市南山区^[18]也是CD41-42/N、IVS-II-654/N最常见。龙岗区^[19]以CD41-42/N和IVS-II-654/N最常见,而成年以CD41-42、IVS-II-654最常见。光明区^[20]2015年CD41-42、CD17、-28最常见。盐田区^[21]CD41-42/N、IVS-II-654/N、-28/N。说明本区域携带地贫基因的比例,与同在深圳市内的南山区、龙岗区相近。而与光明区和盐田区有更大的差别,一定程度上反应了人口结构的差别和人口流动规律,但需要结合人口变化数据进一步研究。与本地区往年报道数据相比,变化不大,龙华地区^[22]2013年4月至2015年3月以CD41-42、IVS-II-654、CD17为主,排前三的基因类型CD41-42/N和CD17/N比率下降,近年来地贫相关筛查成为常规项目,一定程度上说明地贫疾病的防控工作取得了成效。

β地贫的血液学特征以MCV、MCH明显减小的小细胞、低色素为主要特征,MCV、MCH和HbA2在地贫初筛中有重要价值^[23]。之前的研究报道也有关于不同基因型β地贫的血液学特征并做了统计学分析。裴元元等^[2]报道深圳龙岗地区 β^0/β^N 型和 β^+/ β^N 型地贫之间,RBC、MCV、MCH、RDW-CV、HbA2均有统计学差异,但是作者没有将儿童和成年、男性和女性分开来进行分析。本实验结果说明男性β地贫患者代偿造血情况更重,可能与不同性别的激素水平有关,需要后续研究证明。

本研究还检出血常规接近正常的两种基因型各1例,其中CAP型地贫患者的MCV、MCH分别

为97.50 fL、31.40 pg,Int型地贫患者MCV、MCH分别为83.30 fL、27.70 pg,且两例均为女性,与其他基因型相差较大。如果仅通过血液学筛查极易造成漏诊,有赖于DNA分子诊断。

综上所述,本研究显示深圳市龙华区β地贫基因突变最常见类型为CD41-42/N、IVS-II-654/N和CD17/N基因型。本研究还使用了更详细的分组比较了本地区不同基因型的β地贫患者血液学参数,研究结果可用于辅助当地不同类型地贫的鉴别诊断,为本地区的地贫防控提供有价值的资料,具有重要意义。

参考文献

- [1] 李莉艳,李强,宋兰林,等. MCV、MCH和血红蛋白A2检测在地中海贫血筛查中的价值[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(2):96-100.
- [2] 裴元元,冉健,丛潇怡,等. 不同基因型轻型β-地中海贫血患者血液学特征[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(10):1691-1692, 1697.
- [3] 刘洋,王飞清,刘燕青,等. 不同基因型地中海贫血孕妇妊娠早期部分血常规指标分析[J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(11):1301-1305.
- [4] 贺志军,周远青,冯影豪,等. 广东顺德地区孕产人群地中海贫血基因诊断及血液学特征分析[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(13):2171-2174.
- [5] Giardine B, Borg J, Viennas E, et al. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations[J]. Nucl Acids Res, 2014, 42:D1063-D1069.
- [6] Karim MF, Ismail M, Hasan AM, et al. Hematological and biochemical status of Beta-thalassemia major patients in Bangladesh: A comparative analysis [J]. Int J Hematol Oncol

- Stem Cell Res, 2016, 10(1):7-12.
- [7] Danjou F, Anni F, Galanello R. Beta-thalassemia: from genotype to phenotype [J]. Haematologica, 2011, 96(11):1573-1575.
- [8] 周玉球. 地中海贫血表型筛查和基因诊断的现状与展望[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5):394-398.
- [9] 杨阳, 张杰. 中国南方地区地中海贫血研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(1):276-280.
- [10] 梁秋. 我国地中海贫血诊治进展与现状[J]. 临床医学研究与实践, 2016, 1(24):195-196.
- [11] 方建培, 许吕宏. 中国地中海贫血的诊治现状和挑战[C]. 全国儿科疾病诊治技术学术会议, 2012.
- [12] 王燕燕, 李晓辉, 徐西华. 地中海贫血诊治进展与我国现状[J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 28(6):473-476.
- [13] 华仙丽, 李敬河, 梁爱芬, 等. 东莞地区340例 β 地中海贫血的基因诊断回顾分析[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(5):787-789.
- [14] 华亮, 李婉玲, 朱冰, 等. 5042例地中海贫血高风险儿童 β -地中海贫血基因分析[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2011, 16(3):125-128.
- [15] 黄超群, 曾云, 杨海涛, 等. 941对育龄高危夫妇地中海贫血基因结果分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(2):299-301.
- [16] 黄利华, 刘冬霞, 李伟明, 等. 广东清远地区 β -地中海贫血基因型特点[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2017, 38(1):41-45.
- [17] 曾祥兴, 刘惠敏, 许园姣, 等. 广东河源客家人 β -地中海贫血调查及基因突变类型[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(7):661-663.
- [18] 刘丽益, 韩璐好, 李维, 等. 深圳市南山区2898例地中海贫血基因检测结果分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(8):1528-1532.
- [19] 曹宪振, 李高驰, 裴元元, 等. 深圳地区儿童珠蛋白生成障碍性贫血基因型和表型研究[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(13):1837-1839+1843.
- [20] 文艳, 刘爱胜, 阳建. 深圳地区未婚青年人地中海贫血基因携带率现状调查[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(6):13-14+90.
- [21] 杨巧娜, 陈仕平, 卢森, 等. 深圳市盐田区地中海贫血分子流行病学调查[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(11):1409-1411+1428.
- [22] 李爱敏, 唐曙明, 陈海霞, 等. 儿童地中海贫血基因诊断和血液学指标分析[J]. 中国现代医药杂志, 2015, 8(8):50-52.
- [23] 唐德国, 田洁, 阳少辉, 等. MCV、MCH和HbA2检测在育龄人群中地中海贫血筛查中的价值[J]. 实用预防医学, 2017, 24(12):1458-1461.

(上接第1442页)

- [6] 殷亚俊, 毛小亮, 王焯铭, 等. 非小细胞肺癌组织中微小rna-423-3p的拷贝数变异和rs6505162位点多态性分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2019, 24(11):1014-1018.
- [7] 孟凡亮, 胡杰贵, 陈亚新, 等. Nme1多态性与非小细胞肺癌易感性的关系分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2019, 24(4):338-343.
- [8] 代丽, 武军思, 程宏, 等. IL-17基因多态性与非小细胞肺癌风险的相关性分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(2):4-7.
- [9] 李娇元, 缪小平, 林东昕. 中国常见肿瘤的全基因组关联研究进展[J]. 自然杂志, 2015, 37(1):1-7.
- [10] Wekken AJ, Kok K, Groen HJM. Is alectinib the new first line therapy in alk-rearranged advanced non-small cell lung cancer? [J]. J Thoracic Dis, 2018, 10(S18):S2130-S2132.
- [11] Kim HR, Shim HS, Chung JH, et al. Distinct clinical features and outcomes in never-smokers with nonsmall cell lung cancer who harbor egfr or kras mutations or alk rearrangement [J]. Cancer, 2012, 118(3):729-739.
- [12] Kim MH, Shim HS, Kang DR, et al. Clinical and prognostic implications of alk and ros1 rearrangements in never-smokers with surgically resected lung adenocarcinoma [J]. Lung cancer (Amsterdam, Netherlands), 2014, 83(3):389-395.
- [13] Jo U, Park KH, Whang YM, et al. Egfr endocytosis is a novel therapeutic target in lung cancer with wild-type egfr [J]. Oncotarget, 2014, 5(5):1265-1278.
- [14] Hirano T, Yasuda H, Tani T, et al. In vitro modeling to determine mutation specificity of egfr tyrosine kinase inhibitors against clinically relevant egfr mutants in non-small-cell lung cancer [J]. Oncotarget, 2015, 6(36):38789-38803.
- [15] 王宇, 于丽艳, 方楠, 等. 中国人群非小细胞肺癌的基因突变情况及其靶向药物的应用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 5):424-428.
- [16] Ma F, Sun T, Shi Y, et al. Polymorphisms of EGFR predict clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with Gefitinib [J]. Lung Cancer, 2009, 66(1):114-119.
- [17] Alice, Shaw, Benjamin, et al. Crizotinib in ros1-rearranged non-small-cell lung cancer [J]. The New England J med, 2015.
- [18] 徐陆亭, 赵瑞景, 董增军, 等. 非小细胞肺癌中ros1基因重排及其临床意义[J]. 中国肺癌杂志, 2013, 16(12):663-670.
- [19] 顾健人, 杨胜利. 要用系统性疾病的观念重新认识癌症[J]. 中华医学杂志, 2005, 8:505-507.
- [20] 莫大超, 李君久, 彭亮, 等. PSCA基因单核苷酸多态性位点与胃溃疡易感性的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(6):474-478.
- [21] 吕燕萍, 吴传城, 杨双凤, 等. 胃癌差异表达miRNA及其相关基因的单核苷酸多态性与胃癌预后相关性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2020, 32(5):380-386.

TCZ治疗对sJIA患儿外周血Th17/Treg、炎性指标的影响

王娟娟 何孝亮 陈雨青*

[摘要] **目的** 探究托珠单抗(TCZ)治疗对全身型幼年特发性关节炎(sJIA)患儿的效果。**方法** 选取本院118例sJIA患儿作为研究对象,按照治疗方案分组,观察组(80例)实施糖皮质激素联合TCZ治疗,对照组(38例)采取糖皮质激素+甲氨蝶呤和(或)来氟米特治疗。对比两组主要疗效指标、治疗期间次要疗效指标、JIA核心评估参数、外周血Th17、Treg、Th17/Treg、糖皮质激素停用情况、巨噬细胞活化综合征(MAS)、严重感染、严重肝功能损伤而停药发生率。**结果** 观察组主要疗效指标、次要疗效指标、JIA核心评估参数优于对照组($P<0.05$);观察组治疗第12周、52周后Th17、Th17/Treg低于对照组,Treg高于对照组($P<0.05$);观察组治疗第24周、36周、52周后停用糖皮质激素占比高于对照组($P<0.05$);观察组MAS、严重感染发生率低于对照组($P<0.05$)。**结论** TCZ治疗sJIA效果显著,能有效减轻患儿炎症,调节机体免疫功能,减少糖皮质激素的使用,且安全性高。

[关键词] 托珠单抗;糖皮质激素;甲氨蝶呤;来氟米特;全身型幼年特发性关节炎

Effect of TCZ treatment on peripheral blood Th17/Treg and inflammatory indexes in children with sJIA

WANG Juanjuan, HE Xiaoliang, CHEN Yuqing*

(Department of Endocrinology, Rheumatism and Immunology, Anhui Children's Hospital, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effect of tocilizumab (TCZ) treatment on children with systemic juvenile idiopathic arthritis (sJIA). **Methods** 118 children with sJIA in our hospital were selected retrospectively as the research objects. According to the treatment plan, the observation group (80 cases) was treated with glucocorticoid combined with TCZ, and the control group (38 cases) was treated with glucocorticoid + methotrexate and/or leflunomide. The main efficacy indicators, secondary efficacy indicators during treatment, JIA core evaluation parameters, peripheral blood Th17, Treg, Th17/Treg, discontinuation of glucocorticoids, macrophage activation syndrome (MAS), severe infection, severe liver damage and the incidence of drug withdrawal were compared between the two groups. **Results** The main efficacy indicators, secondary efficacy indicators, and JIA core evaluation parameters in the observation group were better than those in the control group ($P<0.05$); Th17 and Th17/Treg of the observation group were lower than those of the control group after 12 and 52 weeks of treatment, and Treg was higher than that of the control group ($P<0.05$); the proportion of discontinuation of glucocorticoids after 24 weeks, 36 weeks and 52 weeks in the observation group was higher than that in the control group ($P<0.05$). The incidence of MAS and severe infection in the observation group was lower than that in the control group ($P<0.05$). **Conclusion** TCZ has a significant effect in treating sJIA, which can effectively reduce the inflammation in children, regulate the immune function of the body, reduce the use of glucocorticoid, and has high safety.

[KEY WORDS] Tocilizumab; Glucocorticoid; Methotrexate; Leflunomide; Systemic juvenile idiopathic arthritis

基金项目:安徽省卫生健康委科研计划项目(2019SEY009)

作者单位:安徽省儿童医院内分泌风湿免疫科,安徽,合肥 230000

*通信作者:陈雨青, E-mail: 894839405@qq.com

幼年特发性关节炎(Juvenile Idiopathic Arthritis, JIA)是儿童时期一种常见的以慢性关节滑膜炎为主的自身免疫性疾病,全身型JIA(systemic JIA, sJIA)为其主要类型,发病率约占JIA的10%,但致死率占总JIA的2/3以上,严重威胁患儿生命安全^[1]。目前临床主要采用长期糖皮质激素、非甾体抗炎药和甲氨蝶呤、来氟米特等治疗,但长期应用糖皮质激素会出现明显不良反应,甚至导致患儿发育停滞。近年来,随着临床对sJIA炎症过程认识加深,发现白细胞介素-6(IL-6)水平升高与sJIA患儿关节破坏严重程度相关^[2],因此,阻断IL-6炎症信号通路,对于sJIA的治疗有理论基础。托珠单抗(Tocilizumab, TCZ)是一种IL-6受体拮抗剂,是全球首个针对IL-6受体的人源化单克隆抗体,在国内外sJIA治疗中已取得显著效果。研究显示,sJIA活动期患儿外周血Th/Treg值异常升高,Th17/Treg失衡参与其免疫调节机制,且与病情严重程度密切相关^[3]。本研究选取本院sJIA患儿为研究对象,旨在分析TCZ的应用价值。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院118例sJIA患儿作为研究对象,按照治疗方案分为观察组(80例)和对照组(38例)。两组性别、年龄、临床表现、受累关节个数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①均符合sJIA诊断标准^[4];②首次确诊;③患儿家属签署知情同意书;排除标准:排除类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、皮炎、强直性脊柱炎、痛风等可能影响本研究结果的自身免疫性疾病。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

对照组给予糖皮质激素+甲氨蝶呤和(或)来氟米特治疗。观察组给予糖皮质激素联合TCZ治疗,每2周静脉滴注1次TCZ,体质量 ≥ 30 kg者剂量为8 mg/kg;体质量 < 30 kg者剂量为12 mg/kg,加入0.9%氯化钠注射液100 mL,每次静脉滴注时间 > 1 h;12周后依据临床表现情况改为每4周静脉滴注1次,剂量同前。

1.2.2 检测方法

采集晨空腹血3 mL,抗凝,采用魏氏法检测ESR,采用酶联免疫法检测CRP,试剂盒购自上海

远慕生物科技有限公司;采用流式细胞仪(美国Becton-Dickinson公司,FACScan型)检测Th17、Treg,试剂由仪器配套提供,并计算Th17/Treg。

1.3 观察指标

①治疗第12周后疾病无活动比例、治疗第52周后药物治疗下临床缓解率。②JIA核心评估参数,包括活动性关节炎关节数、活动受限关节数、医师评价、患儿或患儿父母评价、ESR或CRP、儿童健康评估问卷(CHAQ)评分6项。③次要疗效指标,包括ACRPedi30且无发热、ACRPedi50且无发热、ACRPedi70且无发热、ACRPedi90且无发热比例。④外周血Th17、Treg、Th17/Treg。⑤糖皮质激素停用情况。⑥巨噬细胞活化综合征(MAS)、严重感染、严重肝功能损伤而停药发生率。

1.4 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 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较正态分布数据采用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

两组资料在性别、年龄、受累关节等比较差异无统计学意义($P>0.05$),均衡可比。见表1。

表1 两组一般资料对比 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of general data between 2 groups [$n(\%)$]

一般资料	观察组 (80例)	对照组 (38例)	χ^2/t 值	P 值
性别				
男	50(62.50)	24(63.16)		0.005 0.945
女	30(37.50)	14(36.84)		
年龄(岁)	7.32 \pm 2.40	7.61 \pm 2.26	0.625	0.533
Hb下降	57(71.25)	27(71.05)	0.001	0.982
ESR升高	75(93.75)	35(92.11)	0.004	0.952
血小板升高	53(66.25)	26(68.42)	0.055	0.815
皮疹	58(72.50)	29(76.32)	0.194	0.660
关节痛	80(100.00)	38(100.00)		
受累关节				
≥ 5 个	56(70.00)	27(71.05)		0.014 0.907
≤ 4 个	24(30.00)	11(28.95)		

注:Hb为血红蛋白,ESR为红细胞沉降率。

2.2 两组疾病无活动比例、临床缓解率比较

观察组治疗第12周后疾病无活动比例高于对照组,治疗第52周后药物治疗下临床缓解率高于对照组差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表2 两组疾病无活动比例、临床缓解率比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of disease inactivity ratio and clinical remission rate between 2 groups [n(%)]

组别	n	治疗第12周后 疾病无活动	治疗第52周后 药物治疗下临床缓解
观察组	77	34(44.16)	65(84.42)
对照组	37	8(21.62)	23(62.16)
χ^2 值		5.453	7.030
P值		0.020	0.008

注:剔除两组因严重肝功能损伤而停药者,观察组3例,对照组1例。

2.3 两组次要疗效指标

观察组次要疗效指标优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表3。

2.4 两组JIA核心评估参数比较

观察组治疗第12、52周后活动性关节炎数、活动受限关节数、医师评价、患儿或患儿父母评价、ESR、CRP 低于对照组,CHAQ评分高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表4。

表3 两组次要疗效指标比较[n(%)]

Table 3 Comparison of 2 groups of secondary efficacy indicators [n(%)]

时间	组别	n	ACRPedi30且无发热	ACRPedi50且无发热	ACRPedi70且无发热	ACRPedi90且无发热
治疗第12周后	观察组	77	48(62.34)	23(29.87)	10(12.99)	0(0.00)
	对照组	37	13(35.14)	6(10.81)	2(5.41)	0(0.00)
	χ^2 值		7.434	5.023	0.827	
	P值		0.006	0.025	0.363	
治疗第52周后	观察组	77	77(100.00)	75(97.40)	72(93.71)	63(81.82)
	对照组	37	37(100.00)	34(91.89)	27(72.97)	21(56.76)
	χ^2 值			0.734	7.512	8.095
	P值			0.392	0.006	0.004

注:剔除两组因严重肝功能损伤而停药者,观察组3例,对照组1例。

表4 两组JIA核心评估参数比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of two groups of JIA core evaluation parameters ($\bar{x}\pm s$)

时间	组别	n	活动性关节炎 关节数(个)	活动受限 关节数(个)	医师评价 (cm)	患儿或患儿 父母评价(cm)	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	CHAQ 评分(分)
治疗前	观察组	77	7.48±2.05	6.91±1.46	6.76±1.30	6.37±1.27	78.43±22.71	10.77±3.02	51.10±8.46
	对照组	37	7.41±2.08	6.83±1.52	6.65±1.34	6.28±1.19	76.57±20.36	10.64±3.10	51.75±8.82
	t值		0.170	0.270	0.419	0.361	0.423	0.213	0.379
	P值		0.865	0.787	0.676	0.719	0.673	0.831	0.706
治疗第12周后	观察组	77	3.49±1.03	2.69±0.54	2.81±0.43	2.65±0.42	10.21±3.05	2.44±0.73	76.32±10.25
	对照组	37	5.08±1.27	3.47±0.61	3.39±0.55	3.13±0.51	16.85±4.11	4.03±0.82	63.49±9.14
	t值		7.143	6.920	6.144	5.322	9.687	10.457	6.474
	P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
治疗第52周后	观察组	77	1.33±0.40	1.01±0.29	1.13±0.23	1.07±0.30	4.15±1.06	0.62±0.20	108.43±9.09
	对照组	37	1.79±0.46	1.37±0.30	1.57±0.31	1.49±0.46	8.49±2.27	1.47±0.41	93.45±9.76
	t值		5.472	6.137	8.512	5.844	13.951	14.914	8.043
	P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:剔除两组因严重肝功能损伤而停药者,观察组3例,对照组1例。

2.5 两组外周血Th17/Treg比较

观察组治疗第12、52周后Th17、Th17/Treg 低于对照组,Treg 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表5。

2.6 两组治疗期间糖皮质激素停用情况比较

观察组治疗第24、36、52周后停用糖皮质激素占比高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表6。

2.7 两组安全性比较

观察组MAS、严重感染发生率低于对照组

($P<0.05$),见表7。

3 讨论

sJIA 是一种严重的全身炎症性疾病,具有病程长、病情反复、并发症多等特点,严重危害患儿身体健康^[5]。因此应及早采取合理有效的治疗方案。甲氨蝶呤是治疗sJIA的常用效果,可有效抑制炎性介质释放,改善关节压痛及肿胀程度,但长期应用会导致败血症、骨髓抑制、贫血、中枢系统

表5 两组外周血 Th17/Treg 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of Th17/Treg in peripheral blood of the two groups ($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	n	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg
治疗前	观察组	77	4.05±0.82	3.54±0.74	1.14±0.25
	对照组	37	4.11±0.79	3.50±0.76	1.17±0.22
	t值		0.370	0.238	0.623
	P值		0.712	0.789	0.535
治疗第12周后	观察组	77	3.10±0.43	4.18±0.57	0.74±0.17
	对照组	37	3.56±0.38	3.73±0.49	0.95±0.20
	t值		5.547	4.123	5.826
	P值		<0.001	<0.001	<0.001
治疗第52周后	观察组	77	1.71±0.30	5.12±0.61	0.33±0.11
	对照组	37	2.03±0.33	4.47±0.53	0.45±0.12
	t值		5.161	5.550	5.294
	P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:剔除两组因严重肝功能损伤而停药者,观察组3例,对照组1例。

表6 两组治疗期间糖皮质激素停用情况比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of glucocorticoid discontinuation between 2 groups during treatment [n(%)]

组别	n	治疗12周后	治疗24周后	治疗36周后	治疗52周后
观察组	77	3(3.90)	12(15.58)	15(19.48)	20(25.97)
对照组	37	0(0.00)	0(0.00)	1(2.70)	3(8.11)
χ ² 值		-	4.896	5.831	4.953
P值		0.550	0.027	0.016	0.026

注:“-”表示以确切概率法计算,无χ²值;剔除两组因严重肝功能损伤而停药者,观察组3例,对照组1例。

表7 两组安全性比较 [n(%)]

Table 7 Comparison of the safety of the 2 groups [n(%)]

组别	n	MAS	严重感染	严重肝功能损伤而停药
观察组	80	2(2.50)	0(0.00)	3(3.75)
对照组	38	9(23.68)	5(13.16)	1(2.63)
χ ² 值		11.286	7.989	0.053
P值		0.001	0.005	0.818

神经毒性等不良反应。来氟米特是一种免疫抑制剂,抑制二氢乳清酸脱氢酶活性,从而影响活化淋巴细胞的嘧啶合成,减轻炎性反应,延缓对关节的破坏作用。IL-6的基因多态性、启动子区域单核苷酸多态性与sJIA发病相关,而IL-6只有通过与其受体形成IL-6/IL-6R/gp130六聚复合物才能进行信号传导,激活各种基因表达,刺激T淋巴细胞增殖且分化为Th17细胞,参与全身炎性反应,因此通过调节IL-6受体水平控制IL-6表达成为一种治疗途径^[6]。TCZ是抗IL-6受体的重组人源化IgG1亚组单克隆抗体,可通过抑制IL-6与跨膜型IL-6受体和可溶性IL-6受体的结合,阻断IL-6介导的细胞内信号通路

传导,抑制IL-6生物学活性,从而发挥有效抗炎作用^[7-8]。研究显示,TCZ治疗难治性sJIA安全有效,可在短期内减停激素,改善生长,并可尝试在诱导缓解后延长用药间隔^[9]。本研究结果显示,TCZ治疗sJIA具有显著效果。TCZ可通过减少机体IL-6的合成减轻炎症反应,同时有助于抑制破骨细胞分化及骨吸收,减少关节结构破坏,从而有效缓解sJIA患儿症状。sJIA患儿经有效治疗后使疾病进入缓解期,糖皮质激素可逐步减停。本研究结果显示糖皮质激素停用占比更高,且TCZ的用药安全性有保证。由于机体IL-6水平高低与其产生和消耗间的平衡有关,TCZ与IL-6R结合后,其促炎作用被抑制,临床症状得到缓解,但IL-6水平并不会立即下降,但整个治疗过程中IL-6水平何时开始下降且与疗效有无直接相关性仍需临床进一步深入探究。

Th17细胞促进炎症反应发生,并与自身免疫性疾病、恶性肿瘤发病密切相关;Treg细胞主要有免疫负调控并抑制自身免疫性疾病发生、维持自身免疫耐受等功能^[10]。研究发现,sJIA发病与Th17/Treg失衡密切相关,随着sJIA活动度增加,患儿Th17细胞比例、Th17/Treg值均逐渐升高,Treg细胞比例逐渐降低,早期对其进行检测可评估病情活动度,从而为临床诊断和治疗提供指导^[11]。甲氨蝶呤可在体内转化为长效甲氨蝶呤多聚谷氨酸盐,促进并提高细胞释放腺苷,从而发挥免疫抑制作用。来氟米特可调节T细胞亚群水平,抑制Th细胞。TCZ能有效抑制IL-6生物活性,调节抑制转化生长因子-β(TGF-β)诱导的Foxp3表达,促进Treg细胞分化,同时降低受IL-6、TGF-β诱导的维A酸相关孤儿受体(ROR-γt)的表达,抑制Th17细胞分化,因此,有效维持Th17/Treg平衡,调节患儿免疫功能。

综上,TCZ治疗sJIA效果显著,能有效减轻患儿炎症,调节机体免疫功能,减少糖皮质激素使用,且安全性高。

参考文献

[1] Opoka-Winiarska V, Zbigniew Ż, Alexeeva E, et al. Long-term, interventional, open-label extension study evaluating the safety of tocilizumab treatment in patients with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis from Poland and Russia who completed the global, international CHERISH trial [J]. Clin Rheumatol, 2018, 37(7):1807-1816.

[2] 潘伟,刘雪梅.血清炎症因子在全身型幼年特发性关节炎与脓毒症患儿鉴别诊断中的价值[J].中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(21):1636-1639. (下转第1456页)

小儿视网膜母细胞瘤 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达及与组织病理特征的关系

汪岭¹ 马雪莲^{2*} 王启明^{3*}

[摘要] 目的 探究小儿视网膜母细胞瘤(RB)组织中的血管内皮生长因子(VEGF)、细胞周期调节蛋白(Cyclin D1)及上皮钙黏蛋白(E-Cadherin)表达及与组织病理特征的关系。方法 选取本院2017年1月至2019年1月收集的55例小儿RB组织样本及正常视网膜组织样本,免疫组化SP法检测并对比VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达情况,分析VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达相关性及三指标与患儿组织病理特征的关系。结果 免疫组化染色结果显示,RB组织中VEGF、Cyclin D1表达阳性率均显著高于正常视网膜组织,E-Cadherin表达显著低于正常视网膜组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman相关性分析结果显示,VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达存在正相关性($P<0.05$)。RB患儿不同性别、年龄、眼别VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);不同分化情况、临床分期、视神经侵犯程度、病理分期RB患儿VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Cox多因素分析结果显示,临床分期越高、神经侵犯程度越高、VEGF、Cyclin D1高表达及E-Cadherin低表达为影响患者生存的不良因素($P<0.05$)。结论 VEGF、Cyclin D1阳性表达越高、E-Cadherin阳性表达越低,小儿RB肿瘤恶性程度越高、预后越差,检测VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达有助于RB患儿病情评估。

[关键词] 小儿;视网膜母细胞瘤;血管内皮生长因子;细胞周期调节蛋白;上皮钙黏蛋白

Expression of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin in pediatric retinoblastoma and their relationship with histopathological characteristics

WANG Ling¹, MA Xuelian^{2*}, WANG Qiming^{3*}

(1. Department of Ophthalmology, Maternal and Child Health Hospital of Qiaokou District, Wuhan, Hubei, China, 430030; 2. Department of Laboratory Medicine, Dongying District People's Hospital, Dongying City, Dongying, Shandong, China, 257000; 3. Department of Ophthalmology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China, 430022)

[ABSTRACT] Objective To investigate the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), cell cycle regulatory protein (Cyclin D1) and epithelial cadherin (E-Cadherin) in pediatric retinoblastoma (RB) tissues and their relationship with histopathological characteristics. Methods 55 tissue samples from pediatric RB patients and normal controls were collected in our Hospital from January 2017 to January 2019. Immunohistochemical SP method was used to detect and compare the expression of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin, and analyze VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression correlation and the relationship between the three indicators and histopathological characteristics of children. Results The results of

基金项目:东营市卫生计生委科技项目(2015BWDY004)

作者单位:1. 武汉市硚口区妇幼保健院眼科,湖北,武汉 430030

2. 东营市东营区人民医院检验科,山东,东营 257000

3. 华中科技大学同济医学院附属协和医院眼科,湖北,武汉 430022

*通信作者:王启明, E-mail: huairen780137@163.com; 马雪莲, E-mail: maxuelian1023@163.com

immunohistochemical staining showed that the positive rates of VEGF and Cyclin D1 expression in the RB tissues were significantly higher than those in the normal retinal tissues, and the expression of E-Cadherin was significantly lower than that in the normal retinal tissues. The difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin were positively correlated ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the positive rates of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression in children with RB in different genders, ages, eye categories ($P>0.05$). However, there was significant difference in the positive rates of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression in children with different differentiation, clinical stage, optic nerve invasion and pathological stage were compared with statistical significance ($P<0.05$). The results of Cox multivariate analysis showed that the higher the clinical stage, the higher the degree of neurological invasion, and the high expression of VEGF, Cyclin D1 and the low expression of E-Cadherin were the adverse factors affecting the survival of patients ($P<0.05$). **Conclusion** The higher the positive expression of VEGF and Cyclin D1 and the lower the positive expression of E-Cadherin, the higher the malignant degree of RB tumors in children, and the worse the prognosis. The detection of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression is helpful for the assessment of the condition of children with RB.

[KEY WORDS] Children; Retinoblastoma; Vascular endothelial growth factor; Cell cycle regulatory protein; Epithelial cadherin

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)为儿童发病率较高的一类眼内恶性肿瘤,不仅对患儿视力造成严重影响,更危及患儿的生命安全^[1]。肿瘤血管新生和细胞外基质降解为肿瘤浸润转移过程中的关键因素,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)为已知的最强促血管形成因子之一,在恶性肿瘤发生发展中具有重要作用^[2]。细胞周期调节蛋白D1(Cell cycle regulatory protein D1, Cyclin D1)参与了细胞周期G1/S期转换,与多种肿瘤的发生发展密切相关^[3]。上皮钙黏蛋白(Epithelial cadherin, E-Cadherin)阳性表达具有抑制肿瘤细胞侵袭转移的功能,并与多种肿瘤肿瘤浸润、临床分期及淋巴结转移密切相关^[4]。目前,对于VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin在RB患儿中联合检测的研究尚不多见, RB患儿肿瘤组织VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达检测对于RB患儿的诊断、评估和预后分析可能存在显著价值。故本研究对RB患儿VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达及与组织病理特征的关系进行了研究,具体如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2017年1月至2019年1月收集的55例小儿RB组织样本,纳入标准:①均为单眼发病;②均经病理学检查确诊;③均征得患儿家属同意并签署知情同意责任书。排除标准:①合并其他眼部疾病者;②临床资料缺失者;③依从性差及无

法配合完成此研究者;④合并其他严重疾病者。患儿年龄为5个月至8岁,平均(2.8±0.6)岁,男30例,女25例,左眼29例,右眼25例,分化35例,未分化25例;侵犯神经36例,未侵犯神经24例;临床分期眼内生长期7例、眼内压增高期28例、眼外转移期20例;病理分期R0期(肿瘤细胞不呈菊花团状排列)5例、R1(仅少数肿瘤细胞呈菊花团状排列)27例、R2期(多数肿瘤细胞呈菊花团状排列)23例。并取55例患儿瘤旁正常视网膜组织作为对照。本研究取得医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 临床病理特征统计

统计所有RB组织对应患儿的性别、年龄、分化情况、临床分期、视神经侵犯程度、病理分期等资料。

1.2.2 免疫组织化学法染色

免疫组化染色法检测VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin表达,取肿瘤组织及瘤旁正常视网膜组织常规石蜡包埋,4 μm连续切片,常规脱水,抗原修复。加入一抗和二抗,37℃孵育40 min。DAB显色30 s,苏木精复染,封片显微镜下观察。VEGF、Cyclin D1及E-Cadherin染色结果表现为细胞质或细胞核中染色为棕黄色颗粒。结果判读^[5]:阳性细胞数评分随机选取5个高倍镜视野,视野内阳性细胞数百分比≤5%为阴性(-),6%~25%为弱阳性(+),26%~50%为阳性(++),>50%为强阳性(+++)。

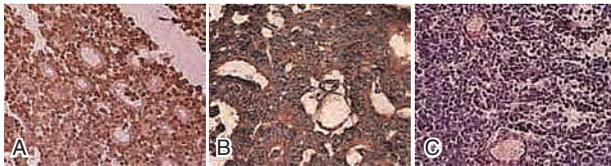
1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析, 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; Spearman 检验分析各指标相关性, Cox 回归模型分析各指标与 RB 患儿预后的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常视网膜组织与 RB 组织 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达情况比较

免疫组化染色结果显示, RB 组织中 VEGF、Cyclin D1 表达阳性率均显著高于正常视网膜组织(高表达), E-Cadherin 表达显著低于正常视网膜组织(低表达), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1 和表 1。



注: A、B、C 分别为 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 染色结果

图 1 RB 组织 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达免疫组化染色 (SP, $\times 200$)

Figure 1 Immunohistochemical staining of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression in RB tissue (SP, $\times 200$)

表 1 正常视网膜组织与 RB 组织 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达情况比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression between normal retinal tissue and RB tissue [$n(\%)$]

指标	结果	正常视网膜组织	RB 组织	χ^2 值	P 值
VEGF	-	31(56.4)	7(12.7)	36.881	0.000
	+	16(29.1)	10(18.2)		
	++	6(10.9)	20(36.4)		
	+++	2(3.6)	18(32.7)		
Cyclin D1	-	12(21.8)	4(7.2)	48.418	0.000
	+	37(67.3)	9(16.4)		
	++	5(9.1)	27(49.1)		
	+++	1(1.8)	15(27.3)		
E-Cadherin	-	0(0.0)	10(18.2)	11.000	0.001
	+	4(7.3)	26(47.3)		
	++	9(16.4)	8(14.5)		
	+++	42(76.4)	11(20.0)		

2.2 RB 组织 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达相关性分析

VEGF、Cyclin D1 之间存在正相关性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), VEGF、Cyclin D1 均与

E-Cadherin 之间存在负相关性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 RB 组织 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达相关性分析

Table 2 Correlation analysis of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin expression in RB tissue

指标	VEGF		Cyclin D1		E-Cadherin	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
VEGF	-	-	0.524	0.000	-0.493	0.000
Cyclin D1	0.524	0.000	-	-	-0.508	0.000
E-Cadherin	-0.493	0.000	-0.508	0.000	-	-

2.3 RB 患儿 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达与组织病理特征的关系

RB 患儿不同性别、年龄、眼别 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达阳性率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 不同分化情况、临床分期、病理分期、视神经侵犯程度 RB 患儿 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 Cox 回归多因素生存分析

临床分期越高、神经侵犯程度越高、VEGF、Cyclin D1 阳性高表达及 E-Cadherin 低表达阳性为影响患者生存的不良因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

RB 具有生长速度快、恶性程度高的特点, 主要来源于光感受器前体细胞, 多具有一定的家族遗传倾向, 容易发生颅内及远处转移, 危及患儿生命^[6]。视网膜母细胞瘤多表现为结膜内水肿、充血、角膜水肿、玻璃体混浊、虹膜新生血管、眼压升高及斜视等, 但其具体的机制目前尚未完全明确^[7]。研究认为^[8], 原癌基因和抑癌基因表达平衡失调及转录调控异常为肿瘤发生、发展的分子机制。

本研究结果提示 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 在 RB 病理进程中具有重要作用。视网膜母细胞瘤与多数实体瘤一样, 肿瘤发生发展需要通过血管、淋巴管向远处转移, 也需要新生血管形成二维肿瘤组织提供充足的营养物质。VEGF 为强促血管生成因子, 也是肿瘤血管新生的主要促进因子, 是多种实体瘤发生发展的关键因子^[9]。Cyclin D1 为反映细胞周期变化的蛋白, 为细胞周期的正向调控因子, Cyclin D1 表达异常上调可导致组织细胞无序性生长增加, 从而导致肿瘤的发

表3 RB患儿 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达与组织病理特征的关系 [n(%)]

Table 3 The relationship between the expression of VEGF, Cyclin D1 and E-Cadherin and histopathological characteristics in children with RB [n(%)]

项目		VEGF		Cyclin D1		E-Cadherin	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
性别	男	26(47.3)	4(7.3)	28(50.9)	2(3.6)	25(45.5)	5(9.1)
	女	22(40.0)	3(9.1)	23(41.8)	2(3.6)	20(36.4)	5(9.1)
χ^2 值		0.022		0.036		0.102	
P值		0.883		0.850		0.750	
年龄	<3	29(52.7)	5(9.1)	32(58.2)	2(3.6)	28(50.9)	6(10.9)
	≥3	19(34.5)	2(3.6)	21(38.2)	0(0.0)	17(30.9)	4(7.3)
χ^2 值		0.314		1.282		0.017	
P值		0.575		0.258		0.896	
眼别	左眼	26(47.3)	3(5.5)	26(47.3)	3(5.5)	23(41.8)	6(10.9)
	右眼	22(40.0)	4(7.3)	25(45.5)	1(1.8)	22(40.0)	4(7.3)
χ^2 值		0.313		0.859		0.259	
P值		0.576		0.354		0.611	
分化情况	分化	35(63.6)	0(0.0)	35(63.6)	0(0.0)	11(20.0)	9(16.4)
	未分化	13(23.6)	7(14.6)	16(29.1)	4(7.3)	34(61.8)	1(1.8)
χ^2 值		14.036		7.549		15.195	
P值		0.000		0.000		0.000	
临床分期	眼内生长期	2(3.6)	5(9.1)	3(5.5)	4(7.3)	24(43.6)	4(7.3)
	眼内压增高期	26(47.3)	2(3.6)	28(50.9)	0(0.0)	19(34.5)	1(1.8)
	眼外转移期	20(36.4)	0(0.0)	20(36.4)	0(0.0)	2(3.6)	5(9.1)
χ^2 值		25.419		29.580		15.963	
P值		0.000		0.000		0.000	
病理分期	R0	1(1.8)	4(7.3)	2(3.6)	3(5.5)	22(40.0)	1(1.8)
	R1	25(45.5)	2(3.6)	26(47.3)	1(1.8)	23(41.8)	4(7.3)
	R2	22(40.0)	1(1.8)	23(41.8)	0(0.0)	0(0.0)	5(11.1)
χ^2 值		22.514		22.927		25.665	
P值		0.000		0.000		0.000	
视神经侵犯程度	侵犯	36(65.5)	0(0.0)	36(65.5)	0(0.0)	12(21.8)	7(12.7)
	未侵犯	12(21.8)	7(12.7)	15(27.3)	4(7.3)	33(60.0)	3(5.5)
χ^2 值		15.197		8.173		6.795	
P值		0.000		0.004		0.009	

表4 Cox 回归多因素生存分析

Table 4 Cox regression multivariate survival analysis

项目	β	S.E	Wald	95%CI	P值
临床分期	0.813	0.438	5.124	1.115~4.561	0.024
视神经侵犯程度	0.921	0.214	18.522	1.651~3.821	0.000
VEGF	1.034	0.301	11.801	1.559~5.073	0.002
Cyclin D1	0.933	0.384	5.903	1.198~5.396	0.016
E-Cadherin	-0.813	0.327	6.181	0.234~0.842	0.013

生。近年来,对于 Cyclin D1 在肿瘤发生发展中的作用受到广泛重视,在多种恶性肿瘤组织中都检测到 Cyclin D1 的过度表达^[10]。本研究中,在 RB 组织中 Cyclin D1 表达相较于癌旁正常视网膜组织表达阳性率明显升高。研究表明,Cyclin D1 在食管癌、前列腺癌等疾病过程中发挥重要作用,并与分化程度、组织学类型等密切相关^[11-12]。

E-Cadherin 为膜整合糖蛋白家族的一类,为钙离子依赖性正常细胞-细胞黏附的主要介质。研究证实^[13-14],E-Cadherin 低表达可促进癌细胞侵袭、分化和转移,是机体重要的抗肿瘤侵袭分子之一。另有研究指出^[15],E-Cadherin 表达水平与宫颈癌的侵犯血管、病理分期等密切相关,E-Cadherin 表达越低,肿瘤侵袭更深,远处转移更广。本研究结果显示,VEGF、Cyclin D1 之间存在正相关性,VEGF、Cyclin D1 分别与 E-Cadherin 存在负相关性,但其具体机制仍有待进一步研究。本研究推测:RB 恶性程度越高,肿瘤新生血管也更加丰富,其生长也更加迅速,诱导新生血管形成的能力提高,促使 VEGF 和 Cyclin D1 升高,随着肿瘤发展,机体抗肿瘤能力逐渐降低,E-Cadherin 表达也随之降低。这提示 VEGF、Cyclin D1 表达越高及 E-Cad-

herin 表达越低, RB 患儿预后越差; VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 可作为 RB 患儿预后评估的有效监测指标。在接下来的研究中, 本研究将着重针对 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 影响 RB 发生发展及三指标之间存在的相互关系的分子生物学机制进行研究, 以为 RB 患儿的临床诊疗和预后评估提供参考。

综上所述, VEGF、Cyclin D1 阳性表达越高、E-Cadherin 阳性表达越低, 小儿 RB 肿瘤恶性程度越高、预后越差, 检测 VEGF、Cyclin D1 及 E-Cadherin 表达有助于 RB 患儿病情评估。

参考文献

- [1] 邹黎, 刘虎, 陆超, 等. 儿童视网膜母细胞瘤临床特点分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(12):1687-1690.
- [2] Wu Q, Sun X, Zheng G. VEGF overexpression is associated with optic nerve involvement and differentiation of retinoblastoma: A PRISMA-compliant meta-analysis [J]. *Medicine*, 2018, 97(51):13753.
- [3] Plath M, Broglie MA, Förbs D, et al. Prognostic significance of cell cycle-associated proteins p16, pRB, cyclin D1 and p53 in resected oropharyngeal carcinoma [J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2018, 47(1):53.
- [4] Corso G, Roviello F. Germline mutations of the E-cadherin gene (CDH1) in early onset gastric cancer [J]. *Semin Oncol*, 2020, 47(2-3):125-126.
- [5] 李新菊. 不明原因复发性流产患者蜕膜组织中雌、孕激素受体的表达水平及意义[J]. 国际医药卫生导报, 2019(7):1085-1088.
- [6] 邹宏密, 简嘉, 周希媛. 视网膜母细胞瘤的治疗研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(8):1407-1410.
- [7] 胡慧敏, 张伟令, 王一卓, 等. 视网膜母细胞瘤远处转移期的临床特点和治疗及预后分析[J]. 中华眼科杂志, 2017, 53(2):121-127.
- [8] 程湧, 贾忠旭, 赵明威, 等. 视网膜母细胞瘤综合治疗的回顾性临床研究[J]. 中华眼底病杂志, 2020, 36(6):419-424.
- [9] 邢海霞, 赵明燕, 郭勇. 乳腺癌患者血清性激素、IGF-1、VEGF 和组织 LOX 水平与淋巴结转移的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2):122-127.
- [10] Tian C, Zeng S, Luo J. MCTS1 Directly Binds to TWF1 and Synergistically Modulate Cyclin D1 and C-Myc Translation in Luminal A/B Breast Cancer Cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(1):5353-5361.
- [11] Jin J, Guo Y, Dong X, et al. Methylation-associated silencing of miR-193b improves the radiotherapy sensitivity of esophageal cancer cells by targeting cyclin D1 in areas with zinc deficiency [J]. *Radiother Oncol*, 2020, 150(1):104-113.
- [12] Ahmed ES, Elnour LS, Hassan R, et al. Immunohistochemical expression of Cyclin D1 among Sudanese patients diagnosed with benign and malignant prostatic lesions [J]. *BMC Res Notes*, 2020, 13(4):295.
- [13] Grabenstetter A, Mohanty AS, Rana S, et al. E-cadherin immunohistochemical expression in invasive lobular carcinoma of the breast: correlation with morphology and CDH1 somatic alterations [J]. *Hum Pathol*, 2020, 46(20):30108.
- [14] 阳琼芝, 王明伟, 张杨鹤龄, 等. E-cadherin 阴性乳腺小管小叶癌 5 例临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(5):589-591.
- [15] Zacapala-Gómez AE, Navarro-Tito N, Alarcón-Romero LDC, et al. Mendoza-Catalán. Ezrin and E-cadherin expression profile in cervical cytology: a prognostic marker for tumor progression in cervical cancer [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1):349.

(上接第 1451 页)

- [3] 胡玲娟, 吴春江, 周旭炜, 等. 全身型幼年特发性关节炎 Th17/Treg 细胞平衡改变的临床意义[J]. 武汉大学学报(医学版), 2018, 39(2):116-119.
- [4] 中国医师协会儿科医师分会风湿免疫专业委员会, 中国儿童免疫与健康联盟. 全身型幼年特发性关节炎诊断与治疗中国专家共识(2019年版)[J]. 中国实用儿科杂志, 2019, 34(12):969-976.
- [5] Listing M, Mönkemöller K, Liedmann I, et al. The majority of patients with newly diagnosed juvenile idiopathic arthritis achieve a health-related quality of life that is similar to that of healthy peers: results of the German multicenter inception cohort (ICON) [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1):106.
- [6] 王景霞, 王林元, 王淳, 等. 美藤果油对非酒精性脂肪性肝炎大鼠的保护作用[J]. 华南预防医学, 2015, 41(4):342-346.
- [7] Quesada-Masachs E, Consuelo CM. Subcutaneous Tocilizumab May Be Less Effective than Intravenous Tocilizumab in the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis-associated Uveitis [J]. *J Rheumatol*, 2017, 44(2):260-261.
- [8] Machado SH, Xavier RM. Safety of tocilizumab in the treatment of juvenile idiopathic arthritis [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2017, 16(4):493-500.
- [9] 姚文, 孙利, 刘海梅, 等. 托珠单抗治疗难治性全身型幼年特发性关节炎的中长期疗效[J]. 临床儿科杂志, 2017, 35(6):454-457.
- [10] 鲁冰, 任东升, 栗明. 左卡尼汀联合血液透析对尿毒症患者 Treg/Th17 细胞、血清炎症因子和肾功能指标的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2):117-121, 127.
- [11] 孙广超, 曾华松. 活动期全身型幼年特发性关节炎患儿外周血 Th17/Treg 的变化及意义[J]. 山东医药, 2019, 59(25):27-30.

CML、Asprosin 与 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化的关系

刘书苑 陈小敏*

[摘要] **目的** 探讨 2 型糖尿病(T2DM)患者血清 N ϵ -羧甲基赖氨酸(CML)、及白脂素(Asprosin)水平与颈动脉粥样硬化(CAS)的关系。**方法** 将 135 例 T2DM 患者根据颈动脉超声检查颈动脉内膜中层厚度(IMT)结果分为颈动脉粥样硬化组(CAS 组=79)和非颈动脉粥样硬化组(NCAS 组=56),另选取 60 例健康体检者作为对照组(NC 组),对比各组临床一般资料、血生化指标等,并采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 CML、Asprosin,采用 Pearson 相关性分析和多元线性回归分析 CML、Asprosin 与其他指标的相关性。logistic 回归分析 CML、Asprosin 是否为颈动脉粥样硬化进展危险因素。**结果** T2DM 合并 CAS 组 CML、Asprosin 显著高于 NCAS 组和 NC 组 NCAS 组显著高于 NC 组,3 组间比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析结果显示,CML、Asprosin 相互之间且与糖尿病病程、FPG、HOMI-IR、TC、TG、LDL-C、HbA1C 存在正相关性($P < 0.05$);多元线性回归分析结果显示,糖尿病病程、FPG、HOMI-IR、TC、TG 为影响 CML 及 Asprosin 水平的独立危险因素。logistic 回归分析,提示 CML、Asprosin、糖尿病病程、FPG、HOMI-IR 均为颈动脉粥样硬化的危险因素。**结论** T2DM 合并颈动脉粥样硬化患者 CML、Asprosin 显著升高,提示糖脂毒性和氧化应激,导致内皮损伤,促进颈动脉粥样硬化的发生、进展。

[关键词] 2 型糖尿病;颈动脉粥样硬化;N ϵ -羧甲基赖氨酸;血清白脂素

Relationship between CML, Asprosin and carotid atherosclerosis in type 2 diabetes

LIU Shuyuan, CHEN Xiaomin*

(Department of Endocrinology, Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen, Fujian, China, 361000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum N ϵ -carboxymethyllysine (CML) and Asprosin levels and carotid atherosclerosis (CAS) in patients with type 2 diabetes (T2DM). **Methods** 135 patients with T2DM were divided into the carotid atherosclerosis group (CAS group, 79) and the non-carotid atherosclerosis group (NCAS group, 56) according to carotid ultrasound examination of carotid intima-media thickness (IMT), another 60 healthy people were selected as the control group (NC group). The clinical general data and blood biochemical indicators of each group were compared, and the serum CML and Asprosin were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The correlation between CML and Asprosin and other indicators were analyzed by Pearson correlation analysis and multiple linear regression analysis. Logistic regression analysis was used to analyze whether CML and Asprosin were risk factors for carotid atherosclerosis progression. **Results** ① In the T2DM combined with CAS group, CML and Asprosin were significantly higher than those in the T2DM without CAS group and the control group. And the non-CAS group was significantly higher than in the control group. The differences among the three groups were statistically significant ($P < 0.05$). ② Pearson correlation analysis results showed that there was a positive correlation between CML, Asprosin and the duration of diabetes, FPG, HOMI-IR, TC, TG, LDL-C ($P < 0.05$). The multiple lin-

基金项目:厦门市科技计划医疗卫生项目(3502Z20184039)

作者单位:厦门大学附属中山医院内分泌科,福建,厦门 361000

*通信作者:陈小敏, E-mail:chenxiaomin0517@163.com

ear regression results showed that the course of diabetes, FPG, HOMI-IR, TC, TG are independent risk factors that affect the levels of CML and Asprosin. ③ Logistic regression analysis showed that CML, Asprosin and the course of diabetes, FPG and HOMI-IR were all risk factors for carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. Conclusion CML and Asprosin are significantly increased in patients with T2DM and carotid atherosclerosis, suggesting that glycolipid toxicity and oxidative stress lead to endothelial damage and promote the occurrence and progression of carotid atherosclerosis.

[KEY WORDS] Type 2 diabetes; Carotid atherosclerosis; N ϵ -carboxymethyllysine; Asprosin

2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)为仅次于恶性肿瘤、心血管疾病的严重威胁人类健康的一类内分泌疾病,其中老年人群中发病率较高,近年来研究表明我国T2DM发病有逐渐年轻化的趋势^[1]。T2DM多数早期无明显症状,随着病情发展机体内分泌代谢异常逐渐加重,可引发微血管病变、甚至大血管病变的发生。颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerotic sclerosis, CAS)是导致T2DM并发血管病变的重要危险因素之一,动脉粥样硬化的发生与内皮功能紊乱、氧化应激有关^[2]。N ϵ -羧甲基赖氨酸(N ϵ -carboxymethyl lysine, CML)为糖基化终末产物,其与机体氧化应激和促炎因子释放存在密切关系^[3];还有研究显示CML参与了血管粥样硬化的发展^[4]。白脂素(Asprosin)主要源自白色脂肪组织,其与T2DM患者代谢紊乱存在密切关系^[5]。本研究对T2DM患者CML、Asprosin水平进行检测,以了解CML、Asprosin与T2DM患者CAS的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2019年1月于本院住院治疗的135例T2DM患者,根据颈动脉超声检查颈动脉内膜中层厚度(IMT)结果是否存在颈动脉粥样硬化CAS(IMT \geq 1.0 mm或(和)有1个以上斑块)^[6]分为CAS组($n=79$)和无CAS组($n=56$),另选取同时期年龄性别匹配的糖耐量正常的60例健康体检者作为对照组。

纳入标准:均符合WHO定义的T2DM诊断标准^[7];均对本研究知情同意并签署责任书;年龄 \geq 18岁,临床资料完整,能够配合完成此研究。本研究获得本院医学伦理委员会批准通过。排除标准:1型糖尿病、其他内分泌疾病所致糖尿病、糖尿病酮症酸中毒、糖尿病高渗性昏迷状;肝肾等脏器严重功能障碍、脓毒血症、自身免疫性疾病恶性肿瘤患者;合并精神疾病、文盲等存在交流障碍者;无法配合完成此研究者。3组间性别、年龄、饮酒

史、吸烟史、BMI等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 颈动脉超声检测

所有研究对象均通过美国惠普SONOS 5500彩色多普勒超声诊断仪行超声检查,取平卧头仰位,探头频率7~11 MHz,对左右两侧颈动脉分叉处远端1 cm处前后壁的4个点进行测量颈总动脉远侧壁内膜至中层厚度,以左右两侧较大值进行分析。

1.2.2 血生化指标检测

所有研究对象收集5 mL空腹静脉血,3 000 r/min离心15 min分离血清,-80 $^{\circ}$ C保存待测。采用日立7600全自动生化分析仪及仪器配套试剂检测总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、糖化血红蛋白(Glycated hemoglobin, HbA1C),空腹血糖(Fasting plasma glucose, FPG),酶联免疫吸附法(ELISA)测定CML及Asprosin水平,试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。严格依照试剂盒及仪器说明书执行各项操作。

1.3 统计学分析

采用SPSS 19.0统计学软件进行数据分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较用LSD- t 检验;相关性分析采用Pearson检验;多元线性回归分析CML、Asprosin的独立影响因素,非条件一般logistic回归分析动脉粥样硬化分类变量的独立危险因素。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3组临床一般资料及血生化指标比较

3组研究对象性别、年龄、饮酒史、吸烟史、BMI比较差异无统计学意义($P>0.05$);T2DM合并

CAS组DBP、SBP、FPG、TC、TG、LDL-C、HbA1c、HOMA-IR、CML及Asprosin显著高于NCAS组和NC组,HDL-C显著低于NCAS组和NC组,差异具

有统计学意义($P<0.05$)。T2DM合并CAS组患者糖尿病病程显著高于NCAS组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 3组临床一般资料及血生化指标比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison of general clinical data and blood biochemical indexes of 3 groups [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

因素	NC组($n=60$)	NCAS组($n=56$)	CAS组($n=79$)	F/χ^2 值	P 值
性别(男/女)	32/28	30/26	43/36	1.059	0.589
年龄(岁)	56.0±3.9	57.2±3.9	59.3±3.7	1.083	0.190
病程(年)	-	3.7±1.9	7.4±0.9	7.937	0.015
饮酒史(%)	12(20.0)	11(19.6)	16(20.4)	0.026	0.871
吸烟史(%)	16(26.7)	15(26.7)	22(27.8)	2.011	0.181
BMI(kg/m^2)	24.5±2.9	25.5±2.6	26.2±2.2	4.444	0.132
DBP(mmHg)	74.3±4.9	80.2±7.9 ^a	88.9±7.7 ^{ab}	6.390	0.038
SBP(mmHg)	121.2±7.3	130.2±11.4 ^a	138.3±11.8 ^{ab}	7.325	0.032
FPG(mmol/L)	4.8±0.8	8.2±1.7 ^a	9.6±1.4 ^{ab}	17.869	0.009
HbA1c(%)	5.2±0.7	8.4±1.4 ^a	10.6±2.4 ^{ab}	13.829	0.001
HOMA-IR	1.9±0.5	4.7±0.9 ^a	6.8±1.8 ^{ab}	18.123	0.000
TC(mmol/L)	4.4±0.3	4.7±0.3 ^a	5.1±0.2 ^{ab}	14.437	0.026
TG(mmol/L)	1.5±0.3	1.9±0.4 ^a	2.2±0.4 ^{ab}	9.996	0.018
LDL-C(mmol/L)	2.4±0.2	2.6±0.3 ^a	3.1±0.6 ^{ab}	7.671	0.023
HDL-C(mmol/L)	1.4±0.3	1.2±0.3 ^a	0.9±0.2 ^{ab}	10.312	0.009
CML($\mu\text{g}/\text{L}$)	16.3±1.7	32.2±3.7 ^a	54.1±5.5 ^{ab}	45.447	0.000
Asprosin(pg/mL)	176.4±23.6	253.5±24.8 ^a	355.1±40.6 ^{ab}	26.832	0.008

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与无CAS组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 T2DM患者CML、及Asprosin与临床各指标的相关性分析

相关性分析结果,CML、Asprosin之间并与糖尿病病程、FPG、HOMI-IR、TC、TG、LDL-C、HbA1C存在正相关性,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 CML Asprosin与临床各指标的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of CML, Asprosin and clinical indicators in Patients

因素	CML		Asprosin	
	r 值	P 值	r 值	P 值
CML	-	-	0.501	0.016
Asprosin	0.501	0.016	-	-
糖尿病病程	0.551	0.008	0.582	0.017
FPG	0.467	0.009	0.470	0.010
HOMI-IR	0.709	0.004	0.740	0.000
TC	0.514	0.025	0.533	0.019
TG	0.486	0.021	0.546	0.001
LDL-C	0.467	0.036	0.486	0.007
HDL-C	-0.496	0.097	-0.512	0.081
HbA1c	0.538	0.026	0.603	0.019

2.3 T2DM患者CML及Asprosin与相关性指标的多元线性回归分析

分别以CML、Asprosin为因变量,以糖尿病病程、FPG、HOMI-IR、TC、TG、LDL-C、HbA1C为自变

量,行多元线性逐步回归分析进一步分析结果显示:糖尿病病程、FPG、HOMI-IR、TC、TG、均为影响CML及Asprosin水平的独立危险因素。见表3。

2.4 T2DM患者颈动脉粥样硬化危险因素的logistic回归分析

以是否合并颈动脉粥样硬化为因变量,以CML、Asprosin、糖尿病病程、FPG、HOMI-IR、TC、TG、LDL-C为自变量,进行logistic回归分析,结果显示CML、Asprosin、糖尿病病程、FPG、HOMI-IR为颈动脉粥样硬化发生的危险因素。见表4。

3 讨论

T2DM合并大血管病变病情一旦迅速发展,可累及中、大动脉内膜,加速内膜损伤和斑块形成,最终导致急性卒中、心肌梗死等心脑血管事件的发生。然而,目前对于T2DM患者颈动脉粥样硬化等血管病变的进展缺乏有效的分子预测标志物。有研究证实^[8],晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs)在动脉粥样硬化中存在关键作用。AGEs通过与受体结合激活NF- κ B转录因子信号传导通路,促进炎性细胞黏附,增加内皮细胞通透性,从而加重内皮功能失调和血管内皮炎性损伤,最终导致动脉粥样硬化形

表3 T2DM患者CML、Asprosin与相关性指标的多元线性回归分析

Table 3 Multiple linear regression analysis of CML and Asprosin correlation indicators in Patients with T2DM

指标	因素	β	S.E.	OR值	95%CI	P值
CML	糖尿病病程	2.108	0.069	2.961	2.930~2.991	0.003
	FPG	0.737	0.209	2.074	1.380~3.116	0.0160
	HOMI-IR	1.138	0.3629	1.149	1.042~1.506	0.000
	TC	1.632	0.736	5.136	1.217~21.596	0.022
	TG	0.971	0.308	1.350	0.552~1.809	0.000
Asprosin	糖尿病病程	1.906	0.675	6.736	0.716~1.406	0.003
	FPG	1.034	0.301	1.352	0.552~1.816	0.016
	HOMI-IR	2.186	0.587	8.862	0.315~3.138	0.010
	TC	0.874	0.273	1.321	0.573~1.726	0.031
	TG	1.850	0.576	6.406	2.083~19.719	0.001

表4 T2DM患者颈动脉粥样硬化危险因素的logistic回归分析

Table 4 logistic Regression Analysis on Risk Factors of CAS in Patients with T2DM

因素	β	S.E.	wald值	OR值	95%CI	P值
糖尿病病程	0.308	0.066	13.432	1.534	1.857~2.792	0.021
FPG	0.461	0.123	17.480	2.355	1.660~2.994	0.005
HOMI-IR	0.165	0.297	11.421	1.209	1.072~1.276	0.026
CML	0.532	0.117	28.974	3.136	1.266~1.586	0.002
Asprosin	0.490	0.218	18.217	2.358	0.996~2.363	0.004

成。CML为机体重要的AGEs之一,研究证实其与高血压患者IMT以及糖尿病足截肢患者、糖尿病合并冠心病患者CAS存在密切关系,在CAS的演进中有一定的早期预测价值^[9-11]。因此,CML可成为预测动脉粥样硬化有效的分子标志物。本研究结果提示CML与T2DM颈动脉粥样硬化的发生发展存在密切关系。氧化型LDL通过损伤内皮细胞渗透至内膜下,参与动脉粥样硬化的发生发展。

近年来人们逐渐认识到脂肪组织作为人体最大的内分泌器官,在机体能量代谢中具有重要作用。T2DM患者存在明显的胰岛素分泌异常和胰岛素抵抗,往往伴有不同程度的血脂异常,加重胰岛素抵抗,促进T2DM的发生发展。脂肪组织可分泌脂联素、瘦素、抵抗素、内脂素等多种脂肪细胞因子来维持机体代谢调节的稳态。研究证实^[14],脂肪因子中瘦素抵抗,抵抗素分泌增加或脂联素减少可导致胰岛素抵抗,因而脂肪因子在T2DM的发病机制起到重要作用。本研究结果提示Asprosin不仅参与了T2DM发病过程,还增加了T2DM患者发生CAS的风险。Asprosin为近几年新发现的一种以肝脏为主要靶器官的新型脂肪因子,由原纤维蛋白1(fbn1)基因的两个外显子(外显子65和外显子66)编码,主要由白色脂肪组织在禁食期间合成和释放^[5]。多项研究显示在肥胖成人,多囊卵巢综合征患者、2型糖尿病、糖耐量异

常等患者中血清Asprosin水平均较健康人群明显升高^[5,12-13],本研究结果与之相一致。在胰岛素抵抗状态下,机体Asprosin呈病理性增加Asprosin在介导血管内皮细胞功能、血管炎症反应及动脉粥样硬化形成的过程中具有重要作用。本研究结果提示,CML、Asprosin与T2DM并发CAS患者病情发展、糖脂代谢及胰岛素抵抗存在相互作用^[15-16]。

综上所述,T2DM患者CML、Asprosin升高与患者糖脂代谢紊乱密切相关,并导致T2DM患者并发颈动脉粥样硬化的发生发展。对于T2DM患者CML、Asprosin检测可作为T2DM患者评价糖脂毒性、氧化应激水平及颈动脉粥样硬化发生进展的有效指标。

参考文献

- [1] 汪慧,薛振香,利耀辉,等.新疆喀什地区维吾尔族成年居民糖尿病发病风险及影响因素[J].热带医学杂志,2019,19(10):1288-1291.
- [2] 王卫东,杨钦娟,万宝红,等.血浆内脂素及脂联素水平对2型糖尿病患者早期动脉粥样硬化的预测价值[J].中华老年医学杂志,2017,36(12):1304-1307.
- [3] Klein R, Horak K, Lee KE, et al. The Relationship of Serum Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGE) and Carboxymethyl Lysine (CML) to the Incidence of Diabetic Nephropathy in Persons With Type 1 Diabetes[J]. Am Diabetes Associat, 2017,40(9):117-119.
- [4] Wang Z, Bao Z, Ding Y, et al. Ne- (下转第1465页)

D-二聚体联合血栓弹力图对急性脑出血患者出血量及死亡风险的评估

吴鲲鹏* 韦程 何同

[摘要] **目的** 探究D-二聚体(D-D)联合血栓弹力图(TEG)对急性脑出血(AICH)患者病情及治疗结局的评估价值。**方法** 选取本院116例AICH患者作为研究组,另随机选取同期健康体检者56例作为对照组。比较两组血清D-D、TEG参数,分析上述指标对AICH病情评估、治疗结局预测的价值。**结果** 血清D-D、R值、K值比较结果:研究组大量出血患者>小量出血患者>对照组, α 角、MA值、CI值比较结果:研究组大量出血患者<小量出血患者<对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);AICH患者病情程度与血清D-D、R值、K值、 α 角、MA值、CI值显著相关,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组死亡患者血清D-D、R值、K值高于生存患者, α 角、MA值、CI值低于生存患者,差异有统计学意义($P<0.05$);AICH患者血清D-D与R值、K值间存在正相关关系,与 α 角、MA值、CI值间存在负相关关系,差异有统计学意义($P<0.05$);血清D-D与TEG参数中K值、MA值联合预测AICH患者治疗结局的曲线下面积(AUC)为0.899,大于各指标单一预测的AUC,联合预测的最佳敏感度为95.24%,特异度为83.16%。**结论** 血清D-D、TEG参数均与AICH患者病情程度存在密切关系,二者联合在患者治疗结局预测方面具有较高应用价值。

[关键词] 急性脑出血; D-二聚体; 血栓弹力图; 出血量; 治疗结局

Evaluation value of D-dimer combined with thrombus elasticity chart on the condition and treatment outcome of patients with acute cerebral hemorrhage

WU Kunpeng*, WEI Cheng, HE Tong

(Department of Neurosurgery, Laibin People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Laibin, Guangxi, China, 546100)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the value of D-dimer (D-D) combined with thrombus elasticity map (TEG) in evaluating the condition and treatment outcome of patients with acute intracerebral hemorrhage (AICH). **Methods** 116 cases of AICH patients in our hospital were selected as the study group, and 56 healthy medical examiners in the same period were randomly selected as the control group. The serum D-D and TEG parameters of the two groups were compared, and the value of the above indicators for the assessment of AICH condition and the prediction of treatment outcome was analyzed. **Results** The results of comparison of serum D-D, R value and K value: large bleeding patients in the study group>small bleeding patients>the control group, and the result of comparison of α angle, MA value, and CI value: a large number of bleeding patients in the study group<a small amount of bleeding patients<the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The severity of AICH patients was significantly correlated with serum D-D, R value, K value, α angle, MA value, CI value, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The serum D-D, R and K values of the deceased patients in the study group were higher than those in the surviving patients, and the α angle, MA value and CI value were lower than those in the surviving patients, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was a positive correlation between serum D-D and R value and K value in AICH

基金项目:广西自然科学基金项目(2018GXNSFBA281025)

作者单位:广西壮族自治区来宾市人民医院神经内科,广西,来宾 546100

*通信作者:吴鲲鹏, E-mail:wuzuer@163.com

patients, and a negative correlation between α angle, MA value and CI value, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The area under the curve (AUC) of the combined prediction of the K value and MA value of the serum D-D and TEG parameters for the treatment outcome of AICH patients was 0.899, which was greater than the single predicted AUC of each indicator. The best sensitivity of the combined prediction was 95.24% and the specificity was 83.16%. Conclusion Serum D-D and TEG parameters are closely related to the status of disease in patients with AICH, and the combination of the two has a high application in the prediction of patient treatment outcome

[KEY WORDS] Acute cerebral hemorrhage; D - dimer; Thromboelastography; Bleeding volume; Treatment outcome

脑出血是由非创伤性脑实质血管破裂引起的颅内出血,发生率占全部脑卒中的20%~30%,其中急性脑出血(Acute intracerebral hemorrhage, AICH)病死率为30%~40%,是威胁人类健康的首要脑血管疾病^[1-2]。AICH发生的原因主要与脑血管的病变有关,常继发凝血机制异常及纤溶亢进^[3]。D-二聚体(D-Dimer, D-D)是一种特异性降解物,其表达增加提示患者体内的纤维蛋白降解过程频繁,也是继发凝血机制异常及纤溶亢进的一个特异性指标^[4-5]。此外,血栓弹力图(Thromboelastogram, TEG)是采用TEG仪描记血液凝固过程而形成的图形,在凝血功能障碍的研究中应用广泛,可良好反映凝血功能状态、纤维蛋白溶解现象。基于此,本研究初次尝试探讨血清D-D联合血栓弹力图对AICH患者病情及治疗结局的评估价值,旨在为临床治疗本病提供循证依据。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年10月至2019年10月本院116例AICH患者作为研究组,男74例,女42例,年龄51~75岁,体质量45~88 kg,根据CT检查计算颅内出血量,其中大量出血(出血量 ≥ 30 mL)患者42例、小量出血(出血量 < 30 mL)患者74例^[6]。另随机选取同期健康体检者56例作为对照组,男36例,女20例,年龄48~73岁,体质量47~85 kg。

纳入标准:①研究组均符合AICH诊断标准^[7],首次发病;②对照组均为体检结果健康者;③既往无颅脑损伤、头部手术史;④无血液系统疾病;⑤患者家属知晓本研究,已签署同意书。排除标准:①恶性肿瘤患者;②严重心血管疾病、肝肾功能障碍、肺功能异常者;③全身感染性疾病患者;④精神疾病患者;⑤传染性疾病患者。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

血清D-D检测方法:研究组入院后6 h内采集静脉血6 mL,对照组采集入组后第2 d清晨空腹静脉血6 mL,采血后2 h内,取血液标本3 mL采用离心机以3 500 r/min转速离心处理5 min,取血清采用免疫比浊法检测血清D-D水平,所用仪器为贝克曼库尔特UniCel Dx C800 Synchron全自动生化分析仪,试剂盒购自上海华美生物工程公司。

TEG检测方法:取两组血液标本3 mL,采用美国GE生产的5000型TEG仪检测,自动描记TEG参数:凝血反应时间(R值)、血细胞凝集块形成时间(K值)、血细胞凝集块形成速率(α 角)、最大血块强度(MA值)、凝血综合指数(CI值)。

1.3 观察指标

两组血清D-D、TEG参数。探究血清D-D、R值、K值、 α 角、MA值、CI值与AICH患者病情程度的关系。研究组患者均常规行静卧、吸氧、脱水降颅压、调整血压、防止继续出血、加强护理维持生命功能等治疗,统计1周后治疗结局情况,比较生存、死亡患者血清D-D、TEG参数。探究血清D-D与TEG参数的相关性。探究血清D-D、TEG参数对AICH治疗结局的预测价值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据统计分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验,多组间比较采用方差分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,通过Logistic进行多因素回归分析,采用Pearson进行相关性分析,采用受试者工作ROC曲线分析预测价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

对比两组性别、年龄、体质量、合并症、吸烟及饮酒情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 两组一般资料比较 [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison of General information of 2 groups

项目	研究组 (n=116)	对照组 (n=56)	t/ χ^2 值	P值
性别(女/男)	42/74	20/36	0.004	0.950
年龄(岁)	62.34±5.66	61.49±5.75	0.918	0.360
体质量(kg)	65.39±10.19	63.51±8.25	1.203	0.231
合并症(例)				
冠心病	18(15.52)	7(12.50)	0.277	0.599
高血压	25(21.55)	10(17.86)	0.318	0.573
糖尿病	11(9.48)	3(5.36)	0.397	0.529
吸烟情况(例)				
是	68(58.62)	30(53.57)	0.393	0.531
否	48(41.38)	26(46.43)		
饮酒情况(例)				
是	75(64.66)	34(60.71)	0.253	0.615
否	41(35.34)	22(39.29)		

2.2 血清D-D、TEG参数

研究组大量出血患者血清D-D、R值、K值高于小量出血患者及对照组,α角、MA值、CI值低于小量出血患者及对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

2.3 血清D-D、TEG参数与AICH病情程度的关系

以AICH病情程度为因变量,将血清D-D、R值、K值、α角、MA值、CI值作为自变量,纳入Logistic回归分析显示,血清D-D、R值、K值、α角、MA

值、CI值与AICH患者病情程度显著相关(P<0.05)。见表3。

表3 血清D-D、TEG参数与AICH病情程度的关系

Table 3 Relationship between serum D-D and TEG parameters and the severity of AICH

变量	β	S.E.	Wald/ χ^2	OR	95%CI	P值
血清D-D	1.774	0.528	11.286	5.893	4.279~8.116	<0.001
R值	1.658	0.436	14.460	5.248	2.754~10.002	<0.001
K值	1.570	0.511	9.443	4.808	3.158~7.320	<0.001
α角	-0.614	0.209	8.634	0.541	0.320~0.915	<0.001
MA值	-0.786	0.234	11.284	0.456	0.237~0.876	<0.001
CI值	-0.507	0.171	8.779	0.602	0.402~0.903	<0.001

2.4 生存患者与死亡患者血清D-D、TEG参数

研究组患者治疗1周后情况显示:死亡患者血清D-D、R值、K值高于生存患者,α角、MA值、CI值低于生存患者(P<0.05),见表4。

2.5 相关性

Pearson相关性分析,AICH患者血清D-D与R值、K值呈正相关,与α角、MA值、CI值呈负相关(r=0.645、0.620、-0.481、-0.554、-0.629,P<0.05),见图1。

2.6 单一预测价值

根据生存患者与死亡患者血清D-D、TEG参

表2 血清D-D、TEG参数比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum D-D and TEG parameters ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血清D-D(μg/L)	R值(min)	K值(min)	α角(deg)	MA值(mm)	CI值
研究组							
大量出血患者	42	344.49±82.25	9.77±1.02	4.51±0.57	40.53±5.04	47.54±4.06	1.26±0.18
小量出血患者	74	246.77±70.39	8.75±0.93	3.24±0.48	48.18±6.30	55.11±4.47	1.45±0.22
对照组	56	130.42±31.15	7.07±1.38	2.30±0.41	60.04±10.20	59.26±7.13	1.63±0.37
F值		137.331	74.848	251.492	84.416	57.049	22.538
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表4 生存患者与死亡患者血清D-D、TEG参数比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of serum D-D and TEG parameters between surviving and dead patients ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血清D-D(μg/L)	R值(min)	K值(min)	α角(deg)	MA值(mm)	CI值
生存患者	95	211.49±63.35	8.53±1.12	3.28±0.46	46.51±5.39	54.44±6.31	1.43±0.25
死亡患者	21	601.80±187.44	11.79±1.89	5.60±0.75	40.43±4.06	43.01±5.22	1.15±0.14
t值		16.631	10.490	18.409	4.866	7.729	4.953
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

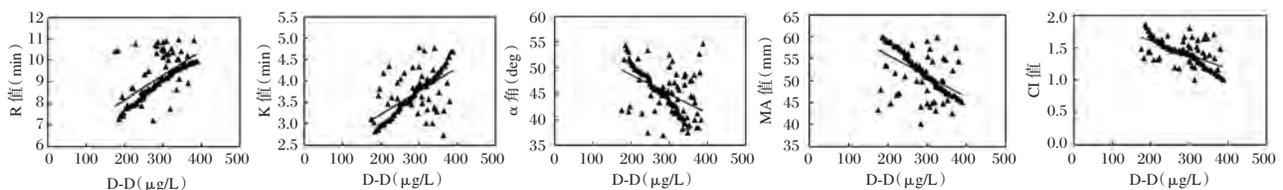


图1 AICH患者血清D-D与TEG参数相关性

Figure 1 Relationship between serum D-D and TEG parameters in AICH patients

数水平绘制 ROC 曲线,显示血清 D-D 预测 AICH 患者治疗结局的曲线下面积(Area under the curve, AUC)最大为 0.823。见表 5、图 2。

2.7 联合预测价值

根据单一预测价值,选择血清 D-D 与 TEG 参数中 K 值、MA 值进行联合预测,绘制 ROC 曲线显示,联合预测 AICH 患者治疗结局的 AUC 为 0.899,95%CI 为 0.830~0.947,Z 统计=13.214,最佳预测敏感度为 95.24%,特异度为 83.16%。见图 3。

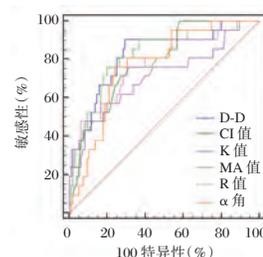


图 2 血清 D-D、TEG 参数单一预测 AICH 患者治疗结局的 ROC

Figure 2 ROC of treatment outcome of AICH patients with single prediction of serum D-D and TEG parameters

表 5 血清 D-D、TEG 参数单一预测 AICH 患者治疗结局的价值

Table 5 The value of serum D-D and TEG parameters to predict the treatment outcome of AICH patients

指标	AUC	95%CI	Z 统计	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
D-D	0.823	0.741~0.888	6.080	>375.99 μg/L	90.48	70.53	<0.001
R 值	0.772	0.685~0.845	0.772	>9.79 min	76.19	69.47	<0.001
K 值	0.708	0.617~0.789	2.927	>4.80 min	47.62	90.53	<0.001
α 角	0.768	0.680~0.841	5.186	≤42.20 deg	76.19	75.79	<0.001
MA 值	0.819	0.736~0.884	5.967	≤49.64 mm	76.19	80.00	<0.001
CI 值	0.780	0.694~0.852	5.473	≤1.29	76.19	68.42	<0.001

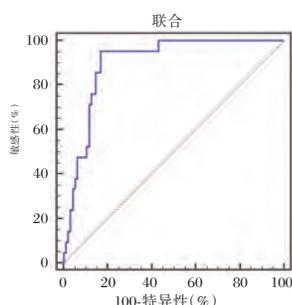


图 3 血清 D-D、TEG 参数联合预测 AICH 患者治疗结局的 ROC

Figure 3 The combination of serum D-D and TEG parameters to predict the ROC of treatment outcome in patients with AICH

3 讨论

本研究发现,AICH 患者血清 D-D 表达水平明显高于健康人群,与董蔚蔚等^[8]研究结果一致,Cheng 等^[9]研究也证明脑出血患者血清 D-D 表达明显升高,提示血清 D-D 表达异常可能参与 AICH 的发生发展。AICH 患者颅内存在出血,能机械性压迫周围脑组织,致使脑组织损伤,并迅速释放组织因子,激活外源性凝血系统,促进血管破损处血栓形成,最终导致血清 D-D 表达异常升高。此外,国内外均有研究指出,D-D 可作为蛛网膜下腔出血及脑室内出血预后的独立判断指标^[10-11]。本研

究通过 ROC 曲线分析发现,血清 D-D 预测 AICH 患者治疗结局的 AUC 为 0.823,当其水平取截断值 375.99 μg/L 时,预测敏感度高达 90.48%,但特异度仅为 70.53%,有待提高。

本研究结果中 AICH 患者 TEG 参数 R 值、K 值明显增加,而 α 角、MA 值、CI 值则明显降低。TEG 是反映血液凝固动态变化,如纤维蛋白的形成速度、溶解状态和凝状的坚固性、弹力度等的重要方法,可通过模拟全血在体内的凝血和纤溶过程,全面监控血小板、凝血因子、纤维蛋白原等参与凝血过程的全貌^[12]。而影响 TEG 参数变化的因素主要有红细胞的聚集状态、红细胞的刚性、血凝的速度、纤维蛋白溶解系统活性的高低等^[13]。陈勇等^[14]研究显示,脑出血患者治疗后 R 值、K 值明显降低,且治疗前均低于对照组,α 角、MA 值、CI 值等明显升高,且治疗前均高于对照组。支持本研究结果,充分表明 TEG 参数能快速、精确地评估患者凝血功能状态的改变,且 TEG 检测方便快捷、检测时间短、应用血液量少,具有良好推广应用前景。此外,本研究发现,TEG 参数与 AICH 患者病情程度关系密切,TEG 参数可能有助于评估患者病情程度及治疗结局,且在预测 AICH 患者治疗结局方面均具有一定价值,但单一预测均存在一定不足。

本研究的创新之处在于联合应用血清 D-D 和 TEG 预测 AICH 患者治疗结局,充分利用血清 D-D 预测敏感度高、TEG 预测特异度高的优势,二者互为补充,ROC 分析显示血清 D-D 与 TEG 参数中 K 值、MA 值联合预测 AICH 患者治疗结局的 AUC 高达 0.899,联合预测能为临床预测患者病情转归情况提供更准确数据,从而指导临床开展针对性治疗、干预措施,以改善患者预后。

参考文献

- [1] 查继辉,罗丽珍,康宏达,等. 陇南市脑出血流行病学调查与临床特点分析[J]. 医学理论与实践, 2019,32(5):753-755.
- [2] 李瑞力,杨明飞. CT 影像预测急性脑出血血肿扩大的研究进展[J]. 中华神经外科杂志, 2017,33(10):1078-1080.
- [3] 尹艳霞,尚文俊,郭华,等. 轴突生长抑制因子 A、核因子-kB p65 对急性高血压脑出血患者病情及预后的评估[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(08):1056-1059+1068.
- [4] 皮红泉,李德华,卢盛祥,等. 心脏型脂肪酸结合蛋白和 D-二聚体及高敏肌钙蛋白 T 在急性冠状动脉综合征早期诊断中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016,8(3):182-187.
- [5] Huo LW. Analysis of correlation of plasma D-dimer and severity of acute cerebral hemorrhage [J]. Chin J Lab Diagn, 2015,19(12):44-47.
- [6] 刘小勇,覃凤娟. D-二聚体联合纤维蛋白(原)降解产物检测判断脑出血患者预后的临床价值[J]. 医疗装备, 2020,33(3):43-45.
- [7] 中华医学会神经外科学分会,中国医师协会急诊医师分会,国家卫生和计划生育委员会脑卒中筛查与防治工程委员会. 自发性脑出血诊断治疗中国多学科专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2015,24(12):1319-1323.
- [8] 董蔚蔚,李新星,王文卿,等. 血清 D-二聚体水平与急性脑出血疾病严重程度及早期预后的关系[J]. 临床神经病学杂志, 2018,31(3):219-221.
- [9] Cheng X, Zhang L, Xie NC, et al. High Plasma Levels of d-Dimer Are Independently Associated with a Heightened Risk of Deep Vein Thrombosis in Patients with Intracerebral Hemorrhage[J]. Mol Neurobiol, 2016,53(1):5671-5678.
- [10] Chen CW, Wu EH, Huang J, et al. Dynamic evolution of D-dimer level in cerebrospinal fluid predicts poor outcome in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage combined with intraventricular hemorrhage[J]. J Clin Neurosci, 2016,29(1):149-154.
- [11] Fukuda H, Lo B, Yamamoto Y, et al. Plasma D-dimer may predict poor functional outcomes through systemic complications after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. J Neurosurg, 2017,127(2):284-290.
- [12] 陆毅奇,薛建中,黄剑岗,等. 血栓弹力图参数预测脑出血患者血肿增大[J]. 国际脑血管病杂志, 2018,26(12):902-907.
- [13] Zhang JH, Sun YA. Application of TEG in assessing curative effect of antiplatelet drugs and its influencing factors in ischemic cerebro-cardiovascular disease patients [J]. Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis, 2016,18(6):623-627.
- [14] 陈勇,方怀志,陈道文,等. 急性脑血管病患者血栓弹力图指标改变的临床意义[J]. 临床神经病学杂志, 2017,30(5):366-368.
- [5] carboxymethyl-lysine-induced PI3K/Akt signaling inhibition promotes foam cell apoptosis and atherosclerosis progression [J]. Biomed Pharmacother, 2019,115(1):108880.
- [6] Zhang L, Chen C, Zhou N, et al. Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently associated with fasting glucose and triglyceride [J]. Clin chim acta, intern J clin chem, 2019,489(1):183-188.
- [7] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国头颈部动脉粥样硬化诊治共识[J]. 中华神经科杂志, 2017,50(8):572-578.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中国医学前沿杂志, 2015,7(3):26-89.
- [9] 高锦雄,彭海军,严炳存,梁碧霞,李明光,石延科. 冠心病患者血清中晚期糖基化终产物与动脉硬化的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015,7(1):38-43.
- [10] 李丽华,叶斐,付先利,等. 糖尿病足截肢患者血清 Nε-羧甲基赖氨酸与胫前动脉斑块内钙化的关系[J]. 中华心血管病杂志, 2017,45(11):958-962.
- [11] 徐晓艳,唐啸. HMGB1 通过糖基化终末产物受体在动脉粥样硬化发病中的作用[J]. 临床心血管病杂志, 2018,34(9):861-865.
- [12] Wang CY, Lin TA, Liu KH, et al. Serum asprosin levels and bariatric surgery outcomes in obese adults [J]. Int J Obesity, 2019,43(1):1019-1025.
- [13] Li X, Liao M, Shen R, et al. Plasma asprosin levels are associated with glucose metabolism, lipid, and sex hormone profiles in females with metabolic-related diseases [J]. Med Inflamm, 2018,6(1):7375294.
- [14] Mihai BM, Petriș AO, Ungureanu DA, et al. Insulin resistance and adipokine levels correlate with early atherosclerosis - a study in prediabetic patients [J]. Open Med, 2015(1):14-24.
- [15] Bhadel P, Shrestha S, Sapkota B, et al. Asprosin and type 2 diabetes mellitus: a novel potential therapeutic implication [J]. Biol Regul Homeost Agents, 2020,34(1):23812-23819.
- [16] 刘师伟,吴亚茹,段瑞雪,等. 2 型糖尿病患者血清 Asprosin 水平及其与代谢指标的相关性研究[J]. 重庆医科大学学报, 2018,43(12):1613-1618.

(上接第 1460 页)

乳腺癌患者外周血 miR-34a 表达变化的临床意义

王庆月 张晨辉* 陈钰

[摘要] 目的 研究乳腺癌患者外周血微小RNA(miR)-34a表达的变化及临床意义。方法 选择2017年5月至2019年5月期间在本院接受新辅助化疗的乳腺癌患者142例作为乳腺癌组,同期体检的健康者86例作为对照组,检测两组外周血miR-34a的表达水平及乳腺癌病灶内bcl-2、CCND1、Notch1的表达水平。乳腺癌患者接受新辅助化疗及手术治疗后评估病理学完全缓解(pCR),采用ROC曲线分析miR-34a对pCR的预测价值。结果 乳腺癌组患者外周血miR-34a的表达水平低于对照组,差异有统计学意义($t=4.321, P<0.05$),且不同T分期、N分期、临床分期、Ki-67表达、分子分型患者比较,外周血miR-34a表达水平的比较,差异有统计学意义($P<0.05$);乳腺癌组中miR-34a表达 \geq 中位数患者乳腺癌病灶内bcl-2、CCND1、Notch1的表达水平低于miR-34a表达 $<$ 中位数的乳腺癌患者($P<0.05$);乳腺癌组中新辅助化疗未获得pCR患者外周血miR-34a的表达水平低于获得pCR患者,差异有统计学意义($t=3.660, P<0.05$);ROC曲线分析显示,外周血miR-34a表达对新辅助化疗pCR具有预测价值。结论 乳腺癌患者外周血miR-34a低表达与病理特征及新辅助化疗疗效相关,化疗前检测miR-34a对pCR具有预测价值。

[关键词] 乳腺癌;新辅助化疗;病理学完全缓解;miR-34a;预测

The clinical significance of the change of miR - 34a expression in peripheral blood of breast cancer patients

WANG Qingyue, ZHANG Chenhui*, CHEN Yu

(The Affiliated Wuxi Maternity and Child Health Care Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu, China, 214000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the change of miR-34a expression in peripheral blood of breast cancer patients and its clinical significance. **Methods** 142 cases of breast cancer patients who received neoadjuvant chemotherapy in our hospital from May 2017 to May 2019 were selected as the breast cancer group, and 86 cases of healthy people in the same period were selected as the control group. The expression level of miR-34a in peripheral blood of two groups and the expression of bcl-2, CCND1, Notch1 in breast cancer lesion were detected. Pathological complete response(pCR) of breast cancer patients were evaluated after neoadjuvant chemotherapy and surgery. ROC curve was used to analyze the predictive value of miR-34a for pCR. **Results** The expression level of miR-34a in peripheral blood of breast cancer group was lower than that of control group, the difference was statistically significant. ($t=4.321, P<0.05$) and the expression of miR-34a in peripheral blood of patients with different T stage, N stage, clinical stage, Ki-67 expression and molecular type was significantly different ($P<0.05$); the expression levels of bcl-2, CCND1, Notch1 in breast cancer lesion of patients with miR-34a \geq median were lower than those of patients with miR-34a $<$ median in breast cancer group ($t=3.660, P<0.05$); the expression level of miR-34a in peripheral blood of patients without pCR after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer group was lower than that of patients with PCR the difference was statistically significant ($t=3.660, P<0.05$); ROC curve analysis showed that the expression of miR-34a in

基金项目:无锡市卫计委青年医学人才项目(QNRC007)

作者单位:无锡市妇幼保健院检验科,江苏,无锡214000

*通信作者:张晨辉, E-mail:1057210091@qq.com

peripheral blood had predictive value for pCR of neoadjuvant chemotherapy. **Conclusion** the low expression of miR-34a in peripheral blood of breast cancer patients relates with the pathological characteristics and the efficacy of neoadjuvant chemotherapy, detection of miR-34a before chemotherapy has predictive value for pCR.

[KEY WORDS] Breast cancer; Neoadjuvant chemotherapy; Pathological complete response; miR-34a; Prediction

乳腺癌是我国发病率居首的女性恶性肿瘤,约20%乳腺癌患者首次就诊时已经发展至局部晚期,在手术前进行新辅助化疗是临床常用的治疗手段^[1-2]。病理完全缓解(pathologic complete response, pCR)是评价新辅助化疗效果的重要指标,乔伟强等人通过Meta分析研究发现新辅助化疗后获得pCR的乳腺癌患者5年总生存率和无病生存率均明显高于未获得pCR的患者^[3]。在临床实践中,手术后病理检查是评估pCR的金标准,但是具有一定滞后性。在手术前预测新辅助化疗的疗效、筛选出能够获得pCR的乳腺癌患者,对于选择适用新辅助化疗的患者具有指导意义。癌细胞对化疗药物的敏感性是影响化疗效果的重要因素,多种微小RNA(microRNA, miR)被证实参与癌细胞化疗敏感性的调控^[4-6]。miR-34a是一种具有抑癌作用的微小RNA,乳腺癌病灶内miR-34a表达减少^[7],过表达miR-34a能够抑制乳腺癌细胞的增殖和侵袭^[8]。因此,本研究将分析乳腺癌患者外周血miR-34a表达与临床病理特征及新辅助化疗pCR的相关性,旨在为寻找新辅助化疗pCR的早期预测标志物提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2017年5月至2019年5月期间在本院接受新辅助化疗的乳腺癌患者作为乳腺癌组,纳入标准:①经穿刺活检诊断为浸润性乳腺癌,临床分期ⅡB~Ⅲ期;②接受TE或TEC方案新辅助化疗;③临床病理资料完整;④术前留取外周抗凝血样本。排除标准:①入组前接受过放化疗或其他抗肿瘤治疗;②妊娠或哺乳期患者;③既往有其他恶性肿瘤病史。另取同期体检的健康志愿者作为对照组。乳腺癌组共142例,年龄34~64岁、平均(51.32±9.29)岁,BMI(23.12±6.23)kg/m²;对照组共86例,年龄33~60岁、平均(49.95±11.32)岁,BMI(23.44±7.14)kg/m²。两组间一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 外周血 miR-34a 表达水平的检测

取乳腺癌组和对照组的外周抗凝血标本,采用miR提取分离试剂盒(北京天根公司,批号DP501)分离miR,而后采用miR cDNA第一链合成试剂盒(北京天根公司,批号KR211)将静脉血中提取得到的miR反转录为cDNA,最后采用miR荧光定量检测试剂盒(北京天根公司,批号FP401)在荧光定量PCR仪进行荧光定量PCR检测,反应结束后生成循环曲线并得到循环阈值,以U6为内参,计算miR-34a的表达量。

1.3 乳腺癌中 bcl-2、CCND1、Notch1 表达的检测

取乳腺癌组织,采用RIPA裂解液对组织进行匀浆并提取蛋白,采用BCA试剂盒测定蛋白含量,取含有20 μg蛋白的样本进行western blot检测,在SDS-聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳后电转移至PVDF膜,1:1 000稀释的bcl-2、CCND1、Notch1一抗或1:5 000稀释的β-actin一抗4℃孵育PVDF膜过夜,1:2 000稀释的二抗室温孵育PVDF膜1 h,采用ECL显影液在凝胶成像系统中曝光得到bcl-2、CCND1、Notch1、β-actin的蛋白条带,计算bcl-2、CCND1、Notch1与β-actin灰度值的比值作为蛋白表达水平。

1.4 新辅助化疗方案及pCR的判断

乳腺癌患者接受TE或TEC方案新辅助化疗。化疗两个周期后,进行磁共振检查并根据RECIST1.1标准判断疗效,疗效达到稳定(SD)、进展(PD)、完全缓解(CR)的患者进行根治性手术,疗效达到部分缓解(PR)继续行两个周期TEC方案新辅助化疗后进行根治性手术。根治性手术后进行病理检查,乳腺原发灶和转移区域淋巴结未找到恶性肿瘤的组织学证据认为获得pCR。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据统计分析,计量资料经方差齐性检验、符合方差齐性并以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验,3组间比较采用方差分析;miR-34a预测新辅助化疗pCR采用ROC曲线分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组与对照组外周血 miR-34a 表达的比较

与对照组比较,乳腺癌组患者外周血 miR-34a 的表达水平明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 乳腺癌组中不同病理特征患者外周血 miR-34a 表达的比较

乳腺癌组中不同年龄、月经状态患者比较,外周血 miR-34a 表达水平的比较,差异无统计学意义($P>0.05$);不同 T 分期、N 分期、临床分期、Ki-67 表达、分子分型患者比较,外周血 miR-34a 表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 乳腺癌组中不同病理特征患者外周血 miR-34a 表达的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of miR-34a expression in peripheral blood of patients with different pathological characteristics in breast cancer group ($\bar{x}\pm s$)

临床病理特征	分类	n	miR-34a	t/F 值	P 值
年龄	<50 岁	61	0.75±0.22	1.489	0.139
	≥50 岁	81	0.70±0.18		
月经状态	绝经前	84	0.74±0.21	1.449	0.150
	绝经后	58	0.69±0.19		
T 分期	T1-2	101	0.77±0.25	3.991	0.000
	T3-4	41	0.60±0.17		
N 分期	N0-1	109	0.76±0.24	3.591	0.001
	N2-3	33	0.60±0.16		
临床分期	IIB	95	0.77±0.25	3.786	<0.001
	III	47	0.62±0.15		
Ki-67	阴性	31	0.47±0.16	6.993	<0.001
	阳性	111	0.79±0.24		
分子分型	Luminal 型	63	0.75±0.24	22.342	<0.001
	HER2 型	38	0.68±0.25		
	三阴性	41	0.46±0.14		

2.3 乳腺癌组中不同 miR-34a 表达水平患者乳腺癌病灶内 bcl-2、CCND1、Notch1 的比较

计算乳腺癌患者外周血 miR-34a 表达的中位数,比较不同 miR-34a 表达水平患者乳腺癌病灶内 bcl-2、CCND1、Notch1 表达水平的差异可知:miR-34a 表达≥中位数患者乳腺癌病灶内 bcl-2、CCND1、Notch1 的表达水平低于 miR-34a 表达<中位数的乳腺癌患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 1、表 2。

2.4 乳腺癌组中 pCR 与非 pCR 患者外周血 miR-34a 表达的比较

与乳腺癌组中 pCR 患者比较,非 pCR 患者外周血 miR-34a 的表达水平(0.66 ± 0.16)明显降低于

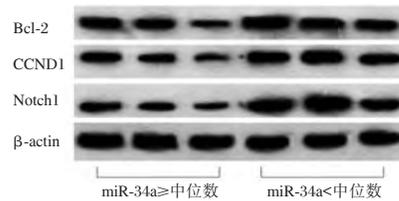


图 1 乳腺癌组中不同 miR-34a 表达水平患者乳腺癌病灶内 bcl-2、CCND1、Notch1 的蛋白条带

Figure 1 Protein bands of bcl-2, CCND1, Notch1 in breast cancer lesion of patients with different miR-34a expression level in breast cancer group

表 2 乳腺癌组中不同 miR-34a 表达水平患者乳腺癌病灶内 bcl-2、CCND1、Notch1 的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of bcl-2, CCND1, Notch1 expression levels in breast cancer lesion of patients with different miR-34a expression level in breast cancer group ($\bar{x}\pm s$)

miR-34a 表达水平	n	Bcl-2	CCND1	Notch1
≥中位数	71	0.67±0.16	0.58±0.12	0.55±0.14
<中位数	71	1.14±0.32	0.94±0.27	1.22±0.36
t 值		9.938	7.582	13.274
P 值		0.000	0.000	0.000

pCR 患者外周血 miR-34a 的水平(0.85 ± 0.17),差异有统计学意义($t=3.660, P<0.05$)。

2.5 miR-34a 预测新辅助化疗 pCR 的 ROC 曲线分析

miR-34a 预测新辅助化疗 pCR 的 ROC 曲线下面积为 0.807 (95% CI: 0.729~0.886, $P<0.05$)。根据约登指数最大值确定 miR-34a 预测 pCR 的最佳截断值为 0.735,灵敏度为 82.93%、特异性为 69.31%。见图 2。

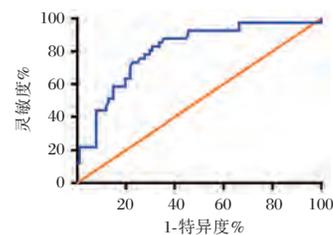


图 2 miR-34a 预测新辅助化疗 pCR 的 ROC 曲线

Figure 2 ROC curve of miR-34a in predicting PCR of neoadjuvant chemotherapy

3 讨论

新辅助化疗是乳腺癌重要的治疗手段,化疗后获得 pCR 对改善远期预后具有积极意义,但目前关于乳腺癌化疗敏感性的调控机制尚不清楚。近些年,miR 在乳腺癌发病中的作用受到越来越

越多关注,相关临床研究发现,乳腺癌组织中存在多种 miR 的异常表达^[9-10];相关基础研究发现,miR 对乳腺癌细胞的恶性生物学行为及放化疗敏感性具有调控作用^[11]。

miR-34a 具有抑癌作用,已有研究报道,乳腺癌、胃癌、结直肠癌、口腔癌等恶性肿瘤中 miR-34a 的表达减少^[7, 12-14]。本研究结果与既往国内外学者报道的乳腺癌中 miR-34a 低表达结果^[7, 12]一致。乳腺癌中 miR-34a 生物学功能相关的实验研究发现,miR-34a 对乳腺癌细胞的增殖、侵袭具有抑制作用^[8, 15]。在乳腺癌病情发展过程中,癌细胞不断增殖、侵袭能够造成肿瘤病灶增大、促进肿瘤浸润及远处转移。本研究进一步观察结果表明 miR-34a 低表达与乳腺癌多项病理特征的恶化有关,与之相关的可能机制是 miR-34a 表达减少后、相应的抑癌作用减弱,进而促进了乳腺癌的发展。

miR-34a 的抑癌作用与其对多种原癌基因表达的抑制作用有关,李志华^[9]的研究发现 miR-34a 能够抑制乳腺癌细胞中 bcl-2、CCND1、Notch1 三种基因的表达。bcl-2、CCND1、Notch1 是目前已知具有促增殖作用的原癌基因,在乳腺癌病灶内均呈高表达的趋势,能够通过阻碍细胞凋亡、加速细胞周期进程、促进细胞有丝分裂等方式促进细胞增殖。为了进一步阐明 miR-34a 在乳腺癌发展中的作用及可能机制,本研究分析结果与 miR-34a 在细胞实验中抑制 bcl-2、CCND1、Notch1 表达的作用吻合,表明 miR-34a 低表达在乳腺癌发病及病理进程中的作用可能与增加多种原癌基因的表达有关^[16]。

本研究结果提示 miR-34a 的低表达可能影响新辅助化疗效果、与患者未能获得 pCR 有关。ROC 曲线分析表明 miR-34a 有望成为预测乳腺癌新辅助化疗 pCR 的标志物。

综上所述,乳腺癌患者外周血 miR-34a 表达减少且与病理特征恶化、新辅助化疗未能获得 pCR 有关,未来 miR-34a 有望成为乳腺癌诊疗及新辅助化疗效果预测的新靶点,但本研究的样本量相对较小且未对接受新辅助化疗的乳腺癌患者进行术后生存的长期随访,今后应继续收集病例并进行生存随访,以阐明 miR-34a 在乳腺癌发生发展中的作用。

参考文献

[1] 何明艳,朱碧琪,钟媛,等. 2005-2013年中国女性乳腺癌发病及死亡趋势分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 23(1): 10-14.

- [2] 孙可欣,郑荣寿,顾秀瑛,等. 2000-2014年中国肿瘤登记地区女性乳腺癌发病趋势及年龄变化情况分析[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(6): 567-572.
- [3] 乔伟强,潘淋淋,寇长贵,等. 局部晚期乳腺癌新辅助化疗病理完全缓解与预后相关性的 Meta 分析[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(16): 3982-3985.
- [4] Wang S, Li MY, Liu Y, et al. The role of microRNA in cisplatin resistance or sensitivity [J]. *Exp Opin Ther Targets*, 2020, 24(9):885-897.
- [5] Jayaraj R, Nayagam SG, Kar A, et al. Clinical Theragnostic Relationship between Drug -Resistance Specific miRNA Expressions, Chemotherapeutic Resistance, and Sensitivity in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1250.
- [6] Farhan M, Aatif M, Dandawate P, et al. Non-coding RNAs as Mediators of Tamoxifen Resistance in Breast Cancers [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1152: 229-241.
- [7] 任殿泉,冯立文,乌仁高娃. PD-L1 和 miR-34a 在三阴乳腺癌中的表达及相关性研究[J]. 诊断病理学杂志, 2020, 27(1): 38-41.
- [8] 李蕾蕾,贺亮,邱正伦. 微小 RNA-34a 对乳腺癌细胞增殖和侵袭的抑制作用[J]. 中国现代普通外科进展, 2019, 22(9): 678-682.
- [9] Zelli V, Compagnoni C, Capelli R, et al. Circulating MicroRNAs as Prognostic and Therapeutic Biomarkers in Breast Cancer Molecular Subtypes [J]. *J Pers Med*, 2020, 10(3): E98.
- [10] Ortega MA, Fraile-Martínez O, Guisjarro LG, et al. The Regulatory Role of Mitochondrial MicroRNAs (MitomiRs) in Breast Cancer: Translational Implications Present and Future [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9): E2443.
- [11] Wang S, Li MY, Liu Y, et al. The role of microRNA in cisplatin resistance or sensitivity [J]. *Exp Opin Ther Targets*, 2020, 7: 1-13.
- [12] Tokumaru Y, Katsuta E, Oshi M, et al. High Expression of miR-34a Associated with Less Aggressive Cancer Biology but Not with Survival in Breast Cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3045.
- [13] Shi X, Kaller M, Rokavec M, et al. Characterization of a p53/miR-34a/CSF1R/STAT3 Feedback Loop in Colorectal Cancer [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2020, 10(2): 391-418.
- [14] 丁延晶,王立新,邱静怡,等. 下调 lncRNA HCG18 靶向调控 miR-34a 影响口腔鳞癌 SCC4 细胞增殖、侵袭以及迁移的分子机制 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7): 864-868.
- [15] Han R, Zhao J, Lu L. MicroRNA - 34a expression affects breast cancer invasion in vitro and patient survival via down-regulation of E2F1 and E2F3 expression [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(6): 2062-2072.
- [16] Irani S, Paknejad M, Soleimani M, et al. Evaluation of miR-34a Effect on CCND1 mRNA Level and Sensitization of Breast Cancer Cell Lines to Paclitaxel [J]. *Iran Biomed J*, 2020, 24(6): 356-64.

腹型肥胖者外周血 miR-21 表达与代谢紊乱及糖尿病发病风险的关系

万红 燕树勋* 王娴 张胜威

[摘要] 目的 研究腹型肥胖者外周血 miR-21 表达量与腹型肥胖者发生糖代谢紊乱及糖尿病的关系。方法 选取在 2017 年 1 月至 2019 年 12 月期间本院内分泌科诊断为初发 2 型糖尿病患者 160 例 (T2DM 组), 选取同期在本院体检的健康志愿者 80 例 (NC 组), 按照腰围身高比 (>0.5 的腹型肥胖标准) 将 T2DM 组与 NC 组对象细化亚组, 即 T2DM 腹型肥胖组 (T2DM-AO 组=80 例), T2DM 非腹型肥胖组 (T2DM-NAO 组=80 例), NC 腹型肥胖组 (NC-AO 组=40 例), NC 非腹型肥胖组 (NC-NAO 组=40 例)。分析比较组间临床资料、糖代谢指标、外周血 miR-21 表达的差异, 采用多元 logistic 回归分析探讨 miR-21 及其它检测指标作为腹型肥胖患者发生糖代谢紊乱及糖尿病风险预测并用 ROC 曲线进行评估。结果 各亚组年龄、ALT 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), T2DM-AO 组与 NC-AO 组腰围、WHtR、BMI 均明显高于 T2DM-NAO 组与 NC-NAO 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); T2DM-AO 组 TG、FBG、GHbA1C、miR-21 指标最高, T2DM-NAO 组次之, 与 NC-AO 组及 NC-NAO 组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), miR-21 相对表达量未见差异; 逐步法多元 logistic 回归分析表明, miR-21 相对表达量增高是单纯腹型肥胖病人糖尿病发病的最显著的风险因素, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 测定的腹型肥胖者外周血 miR-21 的表达量对糖尿病的发病风险具有重要的预测价值, 外周血 miR-21 水平较高的腹型肥胖人群更有发生糖尿病的风险。

[关键词] 腹型肥胖; 糖尿病; miR-21; logistic 回归分析

Relationship between the expression of miR - 21 in peripheral blood and metabolic disorder and the risk of diabetes mellitus in abdominal obesity

WAN Hong, YAN Shuxun*, WANG Xian, ZHANG Shengwei

(Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] Objective To study the relationship between the expression of miR-21 in peripheral blood of patients with abdominal obesity and the occurrence of glucose metabolism disorders and diabetes in patients with abdominal obesity. Methods A case-control study was used to select 160 patients (T2DM group) diagnosed as first-onset type 2 diabetes in the Department of Endocrinology in our hospital from January 2017 to December 2019, and 80 healthy volunteers who were in our hospital for physical examination during the same period were selected (NC group), according to the waist-to-height ratio (>0.5 abdominal obesity standard), the T2DM group and NC group were divided into subgroups, namely T2DM abdominal obesity group (T2DM-AO group = 80 cases), T2DM non-abdominal type Obesity group (T2DM-NAO group = 80 cases), NC abdominal obesity group (NC-AO group = 40 cases), NC non-abdominal obesity group (NC-NAO group = 40 cases). The differences in clinical data, glucose metabolism indicators, and peripheral blood miR-21

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(2019JDZX2105)

作者单位: 河南中医药大学第一附属医院内分泌科, 河南, 郑州 450000

*通信作者: 燕树勋, E-mail: nanque391510@163.com

expression between groups was analyzed. Multivariate logistic regression analysis was used to explore miR-21 and other detection indicators as the risk prediction of glucose metabolism disorders and diabetes in abdominal obesity patients and ROC curve Assessment. **Results** The age and ALT of each subgroup were not statistically significant ($P>0.05$). The waist circumference, WHtR and BMI of the T2DM-AO group and NC-AO group were significantly higher than those of the T2DM-NAO group and the NC-NAO group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The T2DM-AO group has the highest TG, FBG, GHbA1C, and miR-21 indicators, followed by the T2DM-NAO group, which is evenly and significantly different from the NC-AO group and the NC-NAO group ($P<0.05$). There was no difference in the relative expression of miR-21. The stepwise multivariate logistic regression analysis showed that the increased relative expression of miR-21 was the most significant risk factor for diabetes in patients with simple abdominal obesity, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The measured expression of miR-21 in peripheral blood of patients with abdominal obesity has important predictive value for the risk of diabetes. Abdominal obese people with higher levels of peripheral blood miR-21 are more at risk of developing diabetes.

[KEY WORDS] Abdominal obesity; Diabetes mellitus; miR-21; Logistic regression analysis

肥胖的发生率随着社会经济的发展和生活条件的提高而显著上升,而肥胖(尤其是腹型肥胖)与2型糖尿病密切相关。研究腹型肥胖者外周血中与糖代谢紊乱及糖尿病发病相关的生物标志物,对预防和控制糖尿病具有重要意义。人体外周血中的微小RNA(microRNA, miR),近年来有越来越多研究表明其作为肿瘤等疾病发生、发展和预后的潜力生物标志物^[1-4]。已有研究表明,炎症细胞因子的过量表达与肥胖和胰岛素抵抗的程度高度相关^[5],而miR-21潜在靶向调节多种炎症细胞因子的表达及分泌^[6-7],但miR-21的表达水平与腹型肥胖者糖代谢紊乱及糖尿病发病的关系及临床意义尚未见报道。本研究将探究腹型肥胖者外周血miR-21表达与代谢紊乱及糖尿病发病风险的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入2017年1月至2019年12月间于本院内分泌科收治的内分泌科诊断为初发2型糖尿病患者160例,设为T2DM组,年龄41~79岁,平均年龄(52.29±14.03)岁,男104例,女56例。选取同期在本院体检的健康志愿者80例,设为NC组,年龄40~79岁,平均年龄(52.33±14.15)岁,男49,女31例。按照腰围身高比(>0.5的腹型肥胖标准)将T2DM组与NC组对象细化亚组,即T2DM腹型肥胖组(T2DM-AO组=80例),T2DM非腹型肥胖组(T2DM-NAO组=80例),NC腹型肥胖组(NC-AO组=40例),NC非腹型肥胖组(NC-NAO组=40例)。

入选标准:①符合美国糖尿病学会(ADA)2016年制定的糖尿病诊断标准^[8],初发糖尿病;②腰围/身高比大于0.50(腹型肥胖的判定标准^[9]);③入院后24小时内留取静脉血及血清样本;④自愿参加本研究方案。排除标准:①有严重的肝、肾、心、肺等系统疾病、自身免疫性疾病或功能衰竭及严重感染者;②服用过糖尿病药物或接受过糖尿病治疗的患者;③拒绝配合研究者。本研究在实施前经本院伦理委员会审阅批准。

1.2 方法

1.2.1 常规指标测定

在空腹12 h以上进行测定:身高、体重、腰围,计算体重指数(Body Mass Index, BMI)、腰围身高比(Waist to Height Ratio, WHtR);采集肘静脉血进行肝功能、血常规、甘油三酯(Triglyceride, TG)、空腹血糖(Fasting Blood Glucose, FBG)、糖化血红蛋白(Glycosylated Hemoglobin, GHbA1C)的测定。

1.2.2 外周血miR-21表达的检测

使用RNA提取试剂盒(RN46-血清/血浆 microRNA快速提取试剂盒,购自北京艾德莱生物科技有限公司)对采集的3 mL肘静脉血进行处理。对提取出的RNA,使用miRNA cDNA第一链合成试剂盒(miRNA First Strand cDNA Synthesis Kit, 购自北京百奥莱博科技有限公司)反转录合成cDNA。将cDNA作为模板,荧光定量PCR方法用以检测表达量,引物序列miR-21(上游引物5'-GATCCTAGCATCGTAGCTA-3',下游引物为试剂盒自带),U6(上游引物5'-TAGATCGTATAGC-TAT-3',下游引物5'-TAAGCTAGCTAGCTAGC-

TA -3')。扩增程序按照 95℃ 3min 循环 1 次, 95℃ 15 s -60℃ 30 s 循环 40 次设置, 使用 miRNA 荧光定量 PCR 检测试剂盒 (miRNA Real-Time PCR Assay kit, 购自北京博凌科为生物科技有限公司)。上机后得到相关曲线和循环阈值 (Ct), U6 作为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-21 的相对表达水平。

1.2.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行数据统计分析, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组间比较用 *t* 检验, 采用多元 Logistic 回归分析方法进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。对于 Logistic 回归模型建立 ROC 曲线的线下面积 AUC 表征预测性能。

2 结果

2.1 两组一般资料的比较

T2DM 组患者与 NC 组年龄、腰围、WHtR、BMI、ALT 等指标比较无统计学意义 ($P > 0.05$), T2DM 组 TG、FBG、GHbA1C、miR-21 明显高于 NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 糖尿病单因素差异分析

各亚组年龄、ALT 比较无统计学意义 ($P > 0.05$), T2DM-AO 组与 NC-AO 组腰围、WHtR、BMI 均明显高于 T2DM-NAO 组与 NC-NAO 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); T2DM-AO 组 TG、FBG、GHbA1C、miR-21 指标最高, T2DM-NAO 组次之, 与 NC-AO 组及 NC-NAO 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 糖尿病发病风险的多因素分析

利用资料数据中的 BMI、腰围身高比 (WHtR)、血清谷丙转氨酶 (ALT)、甘油三酯 (TG) 和外周血 miR-21 相对表达量作为自变量, 糖尿病

表 1 两组基本临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

指标	T2DM 组 (n=160)	NC 组 (n=80)	t 值	P 值
年龄 (岁)	52.29±14.03	52.33±14.15	0.0208	0.9835
腰围 (cm)	85.64±5.71	86.29±5.54	0.8395	0.4020
WHtR	0.52±0.04	0.51±0.04	1.8257	0.0691
BMI (kg/m ²)	24.23±2.99	24.46±2.75	0.5767	0.5647
ALT (U/L)	22.23±3.31	21.61±1.76	1.5671	0.1184
TG (mmol/L)	1.86±1.07	1.23±0.59	4.9034	<0.05
FBG (mmol/L)	8.06±2.28	5.19±0.37	11.1741	<0.05
GHbA1C (%)	9.08±2.50	5.16±0.47	13.8885	<0.05
miR-21	10.25±3.72	2.67±1.45	17.5555	<0.05

是否发病为应变量, 对腹型肥胖糖尿病组及单纯腹型肥胖组数据进行多元 Logistic 回归分析。miR-21 相对表达量增高是单纯腹型肥胖病人糖尿病发病的最显著的风险因素, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

表 3 糖尿病发病风险的 Logistic 回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of diabetes risk

自变量	B 值	S.E.	Wald 值	P 值	OR 值
miR-21	2.752	0.566	14.285	0.001	6.72

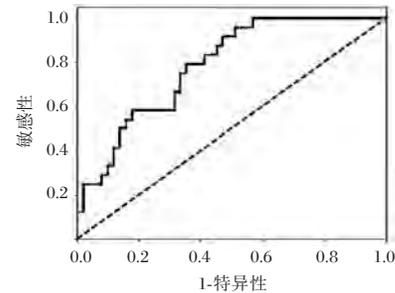


图 1 miR-21 相对表达量增高与糖尿病发病的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of increased relative expression of miR-21 and the onset of diabetes

表 2 糖尿病单因素差异分析 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Analysis of Single Factor Differences in Diabetes ($\bar{x} \pm s$)

指标	T2DM 组		NC 组		F 值	P 值
	T2DM-AO (n=80)	T2DM-NAO (n=80)	NC-AO (n=40)	NC-NAO (n=40)		
年龄 (岁)	53.27±15.72	51.30±12.55	52.08±13.98	52.57±14.32	0.26	0.8508
腰围 (cm)	92.23±6.84 ^{bc}	79.06±4.82	94.35±6.73	78.24±4.91	116.03	<0.05
WHtR	0.56±0.06 ^{bc}	0.48±0.03	0.55±0.05	0.47±0.03	62.75	<0.05
BMI (kg/m ²)	26.37±3.01 ^{bc}	22.08±2.97	25.91±2.59	23.01±2.84	35.89	<0.05
ALT (U/L)	22.41±3.72	22.05±2.58	22.15±1.81	21.08±1.73	2.04	0.1094
TG (mmol/L)	1.98±1.12 ^{ab}	1.73±1.01 ^b	1.42±0.72	1.05±0.46	9.73	<0.05
FBG (mmol/L)	8.37±2.11 ^{abc}	7.75±2.46 ^{ab}	5.36±0.42	5.02±0.35	42.72	<0.05
GHbA1C (%)	9.41±2.51 ^{abc}	8.76±2.49 ^{ab}	5.53±0.45	4.79±0.48	66.53	<0.05
miR-21	12.82±4.97 ^{abc}	7.68±3.01 ^{ab}	3.42±1.75 ^b	1.92±1.12	115.58	<0.05

注: 与 NC-AO 组比较, * $P < 0.05$, 与 NC-NAO 组比较 ^b $P < 0.05$, 与 T2DM-NAO 组比较, ^c $P < 0.05$ 。

3 讨论

随着生活水平的提高,我国的肥胖发生率在迅速增长,肥胖可导致代谢异常和各种疾病,包括糖尿病、高血脂、高血压、冠心病、胰腺炎和肿瘤等^[10]。在中国,与肥胖相关的2型糖尿病的发生率在近10年中增加了50%^[11]。而糖尿病无法治愈,必须通过健康教育、改变饮食以及生活习惯,甚至长期注射药物等手段进行治疗。肥胖是发生糖尿病(主要是2型糖尿病)的重要危险因素之一。在长期肥胖人群中,糖尿病的患病率明显增加,可高达普通人群的5倍以上。另一方面,2型糖尿病患者中的80%都是肥胖者^[12]。发生肥胖的时间越长,糖尿病发生的风险越高。腹部型肥胖者糖尿病发生的风险远大于臀部型肥胖者,腰围/臀围的比值具有显著的意义^[13]。2型糖尿病是内分泌代谢疾病,其主要表现是持续性的血糖升高,2型糖尿病患者胰岛素的抵抗与内脏脂肪含量存在相关关系^[14-15]。袁姿等^[16]的研究显示腹型肥胖者2型糖尿病的发生发展与IL-6等炎症细胞因子密切相关,IL-6对肝脏的调节作用以及IL-6本身对胰岛细胞的毒性影响是可能的作用原因。

MicroRNA是一类内源性的具有调控功能的非编码RNA,长度约为20~25个核苷酸,microRNA参与各种各样的调节途径,包括发育、细胞增殖和凋亡、脂肪代谢等^[17]。寻找疾病相关的microRNA并发进行发病机理研究,应用于疾病的诊断和治疗,日益受到研究者的关注。已有研究报告,miR-21靶向JAK2/STAT3通路,发挥抑制炎症反应的作用^[18],miR-21的主要生物学作用是抑制炎症反应,miR-21表达量增多是机体自我保护性的代偿调节炎症反应和介导调节炎症细胞因子的释放^[19]。扎西吉^[20]等发现miR-21可能通过影响Th17/Treg平衡,调控IL-10、IL-17、IL-23、IL-6、TGF- β 等细胞因子水平,促进自身免疫性肝病进展。

腹型肥胖者外周血miR-21表达对其糖代谢紊乱及糖尿病的发生具有一定的预测作用,鉴于糖尿病至今没有治愈的方法,早发现、早诊断成为减缓糖尿病切实可行手段,腹型肥胖患者外周血miR-21监测对于糖尿病早期筛查具有重要意义。同时在检验监测到腹型肥胖者外周血miR-21表达量异常时,及早评估、及早干预,有望大大降低腹型肥胖者的糖尿病发生风险。

参考文献

- [1] Alma CP, Gerardo M, Abraham PT, et al. Micro-RNAs as Potential Predictors of Response to Breast Cancer Systemic Therapy: Future Clinical Implications [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6): 1182-7118.
- [2] Zhang TN, Li D, Xia J, et al. Non-coding RNA: a potential biomarker and therapeutic target for sepsis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(53).
- [3] Rutnam ZJ, Wight TN, Yang BB. miRNAs regulate expression and function of extracellular matrix molecules [J]. *Matrix Biol*, 2013, 32(2): 74-85.
- [4] Rounak N, Homer BL, Sachin M, et al. Identification of Promising Urinary MicroRNA Biomarkers in Two Rat Models of Glomerular Injury [J]. *Toxicological Sci An Official J Soci Toxicol*, 2015, (1): 1.
- [5] JC P, MA C. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? [J]. *Diabetologia*, 1998, 41(10): 1241.
- [6] 周巧, 马渝, 肖玲. 脓毒症患者血清miRNA-21和PCT动态表达及其临床意义 [J]. *重庆医科大学学报*, 2018, 43(7): 907-912.
- [7] 李大勇, 刘冠兰, 袁新科. 脓毒症合并急性肾损伤患者血清miR-21、miR-233和miR-107的表达水平及临床意义 [J]. *热带医学杂志*, 2018, 18(12): 1580-1584.
- [8] 美国糖尿病学会(ADA)2016指南: 糖尿病血糖控制诊疗标准 [J]. *中国全科医学*, 2016, 19(13): 1555-1555.
- [9] 何秉贤, 郭艳英, 严卫丽, 等. 判断肥胖的新标准——腰围指数的提出及其临床意义 [J]. *中华全科医师杂志*, 2006, 5(10): 603-606.
- [10] 高萌, 陈铮鸣, 黄涛, 等. 中国成年人代谢异常相关的体质指数和腰围切点研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2019, 40(12): 1533-1540.
- [11] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and Ethnic Pattern of Diabetes and Prediabetes in China in 2013 [J]. *JAMA*, 2017, 317(24): 2515.
- [12] 中华医学会内分泌学分会. 中国2型糖尿病合并肥胖综合管理专家共识 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2016, 10(9): 392-394.
- [13] 赵楠, 许杰, 李晓晨, 等. 腹部脂肪分布对2型糖尿病患者人体成分及胰岛功能的影响 [J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2019, 39(6): 361-367.
- [14] 李华峰, 张广凤, 赵文杰, 等. 2型糖尿病内脏脂肪含量与胰岛 β 细胞功能及胰岛素抵抗的关系研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(14): 150-169.
- [15] 李伟, 张晨鑫, 王玲, 等. 2型糖尿病合并肥胖患者腹部脂肪分布与胰岛素抵抗的相关性研究 [J]. *重庆医学*, 2017, 46(26): 3632-3634.
- [16] 周少恩, 王晔. 2型糖尿病的预防与控制 [J]. *华南预防医学*, 2015, 41(2): 195-198.
- [17] Wu M, Gu JT, Yi B, et al. microRNA-23b regulates the expression of inflammatory factors in vascular endothelial cells during sepsis [J]. *Exp Therapeutic Med*, 2015, 9(4): 1125-1132.

(下转第1478页)

副溶血性弧菌质粒 DNA 参考物质的研制

林晓峰¹ 努色热提·阿布都沙拉木¹ 袁暮云² 许龙岩^{2*} 陈瑶^{1*}

[摘要] 目的 研制一种质粒 DNA 参考物质,包含副溶血性弧菌检测常用的目的靶基因——耐热直接溶血素(*tdh*)、不耐热直接溶血素(*tlh*)、和耐热相关溶血素(*trh*)、跨膜转录激活蛋白(*toxR*)基因序列,为副溶血性弧菌病原体的快速鉴定提供相关技术支持。**方法** 使用人工 DNA 合成技术合成所需目的基因,构建重组质粒,并对其纯度、均匀性、稳定性、标准值、不确定度及在实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)中的应用进行评价。**结果** 质粒 DNA 参考物质的纯度高,均匀性、稳定性良好,可用于检测副溶血性弧菌的的荧光定量 PCR 检验,与传统的基因组核酸参考品有可比性。**结论** 该质粒 DNA 参考物质适用于以 *tdh*、*trh*、*tlh* 及 *toxR* 基因为靶标实时荧光定量 PCR 检测,为病原体的定性定量检测提供了技术支持,保证了检测结果的可靠性和可比性。

[关键词] 副溶血性弧菌;质粒 DNA 参考物质;实时荧光定量聚合酶链式

Preparation of plasmid DNA reference material for *Vibrio parahaemolyticus*

LIN Xiaofeng¹, Nusereti Abudushalamu¹, YUAN Muyun², XU Longyan^{2*}, CHEN Yao^{1*}

(1. School of Labotary and Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510515; 2. Inspection and Quarantine Technology Center of Guangzhou Customs (IQTC), Guangzhou, Guangdong, China, 510623)

[ABSTRACT] **Objective** To develop a plasmid DNA reference material, including the target genes commonly used for detection of *Vibrio parahaemolyticus* - *tdh*, *trh*, *tlh* and *toxR* gene sequences, to provide relevant technical support for the rapid identification of pathogens of *Vibrio parahaemolyticus*. **Method** The artificial DNA synthesis technology was used to synthesize the desired gene, construct a recombinant plasmid, and sequence the genes, using ultraviolet spectrophotometry, a number of laboratories jointly set the value of its purity, uniformity, stability, standard and the uncertainty were checked, and the application of real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) to its nucleic acid detection was evaluated. **Result** The plasmid DNA reference material has high purity, good uniformity and stability, and can be used to detect a variety of real-time fluorescent quantitative polymerase chain reactions of *Vibrio parahaemolyticus* with reliable results. **Conclusion** The plasmid DNA reference material is suitable for real-time fluorescence quantitative PCR detection with *tdh*, *trh*, *tlh* and *toxR* genes as targets, provides technical support for the qualitative and quantitative detection of pathogens, and ensures the reliability and comparability of the detection results.

[KEY WORDS] *Vibrio parahaemolyticus*; Plasmid DNA standard material; Quantitative Real-time PCR

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)是一种革兰氏阴性嗜盐性细菌,由 VP 引起的食源性疾病已超过沙门氏菌,跃居于食源性致病菌的

首位,成为当前世界上分布最广泛、最常见的疾病之一,是国内外极为重视的公共卫生安全问题之一^[1]。一系列研究表明致病性 VP 的毒力因子主

基金项目:广东省科技计划项目(2017A040405043);国家标准样品研复制计划项目(S2019154)

作者单位:1. 南方医科大学检验与生物技术学院,广东,广州 510515

2. 广州海关检验检疫技术中心,广东,广州 510623

*通信作者:陈瑶, E-mail: yaoc@i.smu.edu.cn; 许龙岩, E-mail: xuly@iqtc.cn

要有溶血性毒素、脂多糖、尿素酶等。其中,溶血素类毒力因子包括 *tdh*、*tlh*、*trh* 和能刺激 *tdh* 的溶血功能 *toxR*^[2-3]。在 VP 检测中同时检测特异性和毒力基因将有利于我们快速判断 VP 感染的危险性。具有序列和量值可溯源性的参考物质将极大提高检测能力和实验室之间结果的可参考性^[4-6]。目前应用于副溶血弧菌检测的核酸参考品尚十分缺乏,主要为从副溶血弧菌培养物中提取的细菌基因组。基因组 DNA 作为参考品,难以同时为多个靶标提供可溯源的定量参考,无法在多种检测试剂和方法之间提供可参比的参考性^[6-7]。因此,本研究拟构建包含多个检测靶标的质粒核酸参考品,提高 VP 核酸检测结果的可比性,解决病原核酸检测能力快速发展与缺乏参考材料之间的矛盾。

1 材料与方法

1.1 质粒构建

副溶血性弧菌检测常用的目的基因序列 *tdh* 选取 (LOCUS BA000032)、*trh* (GenBank: GU971654.1)、*tlh* (GenBank: EF640376.1)、*toxR* (847892 - 848770 LOCUS AB063113)。在选取基因的时候,尽量包含基因全长,以保证所制备的核酸参考物质可以模拟基因的完整的形态。以人工合成的方法将这四个基因串联在一起(以不相关的基因片段 *aagtcg* 隔开),并克隆到 pUC57 中以形成重组质粒(图 1),大量培养重组大肠杆菌,经提取和纯化获得重组质粒 DNA (pDNA)^[8-9]。

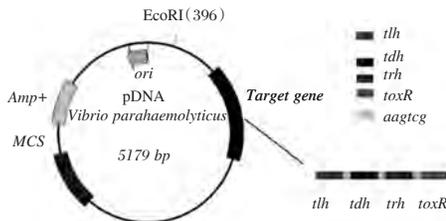


图 1 重组质粒示意图

Figure 1 Map of plasmid reference material

1.2 纯度检验

采用紫外分光光度法对质粒 DNA 的纯度进行鉴定,通过测出样品在 260 nm、280 nm、230 nm 波段的紫外光下的吸光度值 (A_{260} , A_{280} , A_{230}),确定样品纯度,排除 RNA 和蛋白质污染。

1.3 均匀性研究

按照《JJG1006-1994 一级标准物质技术规范》^[6]使用紫外法对所制备的质粒 DNA 参考物质

的均匀性进行检验。瓶间均匀度检验:随机选择 10 管 pDNA,并用 UV 重复测量每管中提取的 1 μ L 样品 3 次,取平均值。瓶内均匀度检验,随机选择 9 管 pDNA,并从每管样品的上层,中层和下层提取 1 μ L 测试样品,紫外分光光度法用于定量样品 DNA 含量。通过方差分析(F 检验法)分析测量结果并进行判断。根据公式①计算质粒 DNA 的瓶间不均匀性引起的不确定度 (u_b):

$$U_b = \sqrt{(Q_1/v_1 - Q_2/v_2)/n} \quad (1)$$

其中: Q_1 为组间差方和, Q_2 为组内差方和, v_1 为组间自由度, v_2 为组内自由度, n 为组内测量次数。

1.4 稳定性研究

监测质粒 DNA 在储存期间的长期稳定性,为期一年。每月对质粒 DNA 参考物质随机抽取 3 瓶,每个样品的浓度重复测定 3 次,综合整理数据,对质粒 DNA 参考物质的长期稳定性和不确定度的进行评估。进一步根据公式②计算质粒 DNA 在 12 个月内的长期稳定性引起的不确定度 (u_s):

$$u_s = S_{(\beta_1)} \times N \quad (2)$$

其中: β_1 是稳定性线性模型中的斜率, $S_{(\beta_1)}$ 是斜率的标准偏差, N 是稳定性评估的总时间, $N=12$ 个月。

1.5 标准值的确定

质粒 DNA 参考物质的浓度由 8 家实验室用紫外方法协同测定,并通过统计检查确认每组数据没有异常值和显著差异后,将 8 家实验室的测试结果平均值取作质粒 DNA 参考物质的标准值。根据公式③计算质粒 DNA 在定值过程引入的不确定度 (u_q):

$$u_q = \frac{s}{\sqrt{p}} \quad (3)$$

其中: s 为总平均值的标准偏差, p 为实验室数目。

1.6 标准值的不确定度评估

质粒 DNA 参考物质的不确定度主要来源于三部分,第一部分是由不均匀性带来的不确定度 (u_b),第二部分是长期保存稳定性引入的不确定度 (u_s),第三部分即定值时由定值方法和仪器引入的不确定度 (u_q)。然后按照公式④计算参考物质的标准不确定度:

$$U_{CRM} = \sqrt{(u_b)^2 + (u_s)^2 + (u_q)^2} \quad (4)$$

计算扩展不确定度时,应将标准不确定度乘以包含因子 (k)。所以,扩展相对不确定度按公式⑤计算:

$$U_{CRM} = U_{cm} \times 2 \quad (5)$$

1.7 qPCR 实验

通过紫外法分别对提取的质粒 DNA 参考物质及从 VP 标准菌株和分离菌株中提取的 gDNA 进行定量。根据公式⑥计算每微升质粒 DNA 和基因组 DNA (gDNA) 的拷贝数。

$$\text{copies}/\mu\text{L} = 6.02 \times 10^{23} (\text{copies}/\text{mol}) \times \text{DNA mass concentration (g}/\mu\text{L}) \text{ ⑥}$$

$$660 \times (\text{DNA size bp}) (\text{g}/\text{mol})$$

根据副溶血性弧菌基因组大小 3.29 Mbp 估算 gDNA 的拷贝数,并基于 5 179 bp 估算重组质粒 DNA 的拷贝数。制备 10 倍稀释系列制备 2×10^6 、 2×10^5 、 2×10^4 、 2×10^3 、 2×10^2 和 2×10^1 copies/mL 稀释的样品。质粒 DNA 和 gDNA 均通过 qPCR 建立标准曲线。PCR 方案如下: 94°C 变性 10 min 后,在 94°C 下 30 s, 58°C 下 45 s 扩增 40 个循环。见表 1。

表 1 *tdh*, *trh*, *tlh* 和 *toxR* 基因的引物和扩增片段大小

Table 1 Primer and amplicon for *tdh*, *trh*, *tlh* and *toxR*

靶标基因	引物序列	扩增子长度
<i>tdh</i>	5'-GGCTGACATCCTACATGACTG-3'	83 bp
	5'-AGAATGACCGTGCTTATAGCC-3'	
<i>trh</i>	5'-CGGTCAATCGGTTTTTACAAC-3'	97 bp
	5'-AGAAAGAGCTGCCATCGTATAG-3'	
<i>tlh</i>	5'-TGTTTCGAGACGCTAACTTCTG-3'	149 bp
	5'-AACTTCTCAGCACCAGACG-3'	
<i>toxR</i>	5'-AGCAGTACGCAAATCGGTAG-3'	121 bp
	5'-CAATCGTTGAACCAGAAGCG-3'	

1.8 标准曲线的建立

通过用质粒 DNA 参考物质建立 qPCR 的检测限 (Limit of detection, LOD) 和定量限 (Limit of quantification, LOQ) 来评估 qPCR 的检测范围。并评估扩增效率 (e) 和斜率 (K)。通过统计分析标准曲线的扩增效率 (e) 和斜率 (K), 以评估 gDNA 的可替换性。

1.9 统计学分析

使用 SPSS 12.0 和 Graphpad 5.0 软件进行统计分析。均匀性测试使用单因素方差分析。稳定性分析使用单向线性回归分析来判定 pDNA 的长期稳定性。使用配对 *t* 检验分析 pDNA 与 gDNA 的适用性结果。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 质粒序列的准确性验证

成功合成了含有副溶血性弧菌 *tdh*、*trh*、*tlh* 及

toxR 基因的 DNA 片段,并将其插入克隆载体 pUC57 中,形成重组质粒 pDNA。pDNA 经提取纯化后,经核酸电泳和测序证实,重组质粒中插入片段的序列准确度为 100%,符合预期。见图 2。

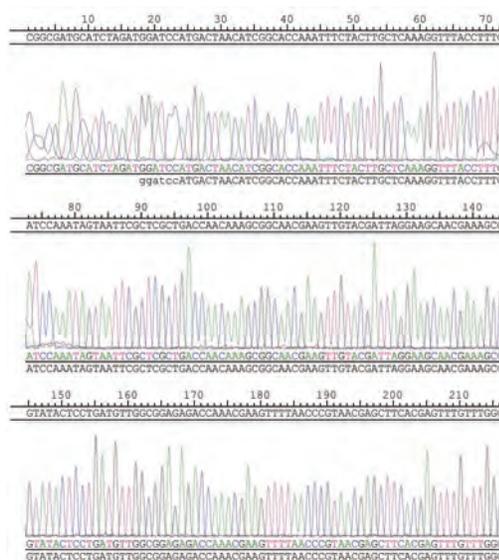


图 2 重组质粒 DNA 的测序图

Figure 2 Sequencing diagram of recombinant plasmid pDNA

2.2 纯度验证

通过紫外法测的 pDNA 的 A_{260}/A_{280} 的比值为 (1.897 ± 0.236) , 比值在 1.8~2.0 间,且 A_{260}/A_{230} 的比值大于 2.0。

2.3 均匀性检验

分析结果表明,按照方差分析法 (F-检验法) 在 95% 置信水平下,可以判断质粒 DNA 的特性值在瓶内均匀性上差异无统计学意义。在瓶间均匀性分析中, $F > F_{0.05}$, 通过比较物质的不均匀所引起的标准偏差 (S_H) 和方法测量所造成的标准偏差 (S_2), 由于两者相近,故瓶间不均匀性所产生的标准偏差最终需要合成到标准不确定度中。见表 2。

表 2 副溶血性弧菌 pDNA 均匀性检测的统计结果

Table 2 Statistic results of homogenous test of pDNA VP

	Q ₁	Q ₂	F	F _{0.05}
瓶内	2.64	72.29	0.49	F _{0.05} (2,27)3.35
瓶间	29.06	16.93	3.80	F _{0.05} (9,20)2.39

注:根据公式(1)最终计算得出的瓶间均匀性不确定度 (u_b) 为 0.892 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4 稳定性检验

通过线性回归模型作为经验模型对 pDNA VP 进行长期稳定性评价,通过 12 个月采样分析 pDNA

VP的浓度建立单项线性回归方程 $Y=\beta_1+\beta_0$, 自由度为 $n-2$ 和 $P=0.95$ (95%置信水平) 的学生分布 t -因子等于 0.183, 结果提示 $|\beta_1| < t_{0.95, n-2} \cdot S(\beta_1)$ ($n-2$ 是自由度, $S(\beta_1)$ 是斜率的不确定性)。见表3。

表3 副溶血性弧菌 pDNA 长期稳定性的统计结果
Table 3 Statistic results of short-term stability of pDNA VP

	β_1 (斜率)	β_0 (截距)	S (β_1)	$t_{0.95, n-2} \cdot S$ (β_1)
单向线性回归 分析方程	0.032	29.959	0.101	0.183

注:进一步根据公式②计算质粒DNA在12个月内的长期稳定性引起的不确定度(u_s),最终计算得出的稳定性不确定度(u_s)为 1.212 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5 标准值的确定

通过8家实验室使用紫外分光光度法测定质粒DNA的浓度,并通过统计学检验以所测定数据的总平均值 $\chi^2=29.62 \mu\text{g/mL}$ 为标准值。根据公式③计算质粒DNA在定值过程引入的不确定度(u_q):最终计算得出的定值过程引入的不确定度(u_q)为 0.296 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.6 标准值的不确定度评估

质粒DNA的不确定度包括来自于瓶间不均匀性引入的不确定度(u_n)、长期保存稳定性引入的不确定度(u_s)、定值时引入的不确定度(u_q)。根据公式④⑤计算质粒DNA的标准不确定度和扩展不确定度。最终计算得到标准不确定度(U_{cm})为 1.534 $\mu\text{g/mL}$, 扩展不确定度(U_{CRM})为 3.068 $\mu\text{g/mL}$ ($k=2$)。

2.7 qPCR 标准曲线的建立

图3所示为使用所制备的质粒DNA参考物质作为参照标准,建立qPCR检测的标准曲线。各标准曲线的线性见表4。

2.8 质粒DNA参考物质与副溶血性弧菌基因组DNA(gDNA)的可替代性研究

通过评估斜率和截距,在95%置信度下,可认为gDNA建立的标准曲线与质粒DNA参考物质建立的标准曲线之间没有显著差异($P<0.05$)。见表5。

3 讨论

核酸技术的广泛使用,让核酸检测参考品的需求进一步提高。传统的基因组参考品存在以下问题:①单一菌株参考品难以覆盖所有的检测靶标。实际操作中需要使用多种基因组参考品,绘

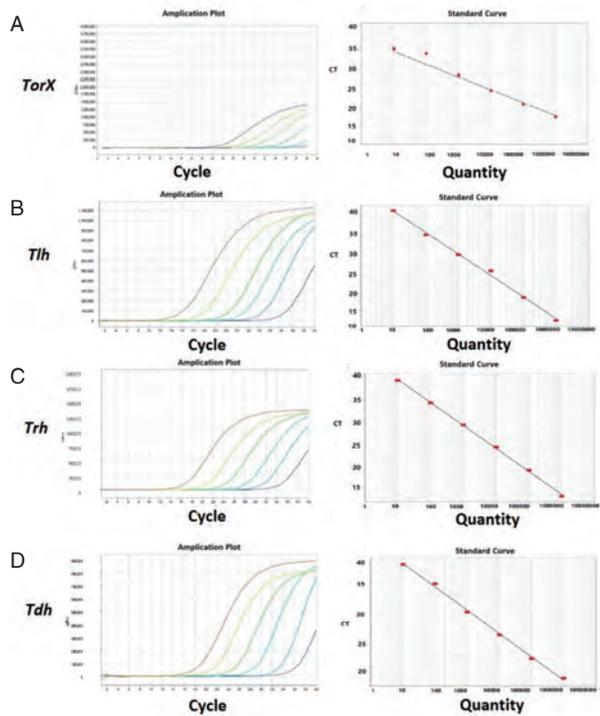


图3 副溶血弧菌 pDNA 建立 *tdh*, *trh*, *tlh* 和 *toxR* 基因的标准曲线

Figure 3 Standard curve of *tdh*, *trh*, *tlh* and *toxR* established by pDNA VP

表4 副溶血弧菌 pDNA 建立的标准曲线数据

Table 4 Data for the standard curve established by pDNA VP

靶标基因	标准曲线	相对系数 R^2	扩增效率 (%)	LOD (copy/mL)	LOQ (copy/mL)
<i>torx</i>	$y=40.75-3.337x$	0.997	94.984	450	10^1
<i>tlh</i>	$y=39.574-3.649x$	0.999	86.639	133	10^1
<i>tdh</i>	$y=36.675-3.58x$	0.999	90.252	165	10^1
<i>trh</i>	$y=40.708-3.643x$	0.998	88.147	754	10^1

制多条标准曲线才能完成病原体的全面的检验。②序列和量值难以溯源,可以作为定性检测,但是无法对不同实验室之间的结果进行比较,也无法对实验室能力进行评定。③生物安全性问题。因此,亟待研发安全稳定,能够提供量值溯源能力的新型参考物质^[10-11]。目前在双歧杆菌, H7 亚型禽流感病毒等多种病原体检测的过程中,质粒参考物质的使用已经得到了验证^[12-13]。人工DNA合成技术为核酸参考物质的制备提供了新思路,这项技术可以通过人工合成来获得完整的基因,并实现将多个检测靶标自由组合起来作为检测靶标,进而实现同时对多个检测目的基因的检测进行质量参考。

表5 副溶血弧菌 pDNA 和 gDNA 标准品代替性研究
Table 5 Substitution of pDNA VP and genomic DNA reference material

靶标基因	扩增效率(%)				斜率(K)(n=3)			
	质粒	基因组	t 值	P 值	质粒	基因组	t 值	P 值
<i>tdh</i>	0.9026	0.9023	0.6613	0.9535	-3.580	-3.553	0.8310	0.4438
<i>trh</i>	0.8815	0.8839	0.4465	0.6739	-3.643	-3.622	0.3578	0.7351
<i>tlh</i>	0.8664	0.8638	0.8124	0.4535	-3.649	-3.537	0.0628	0.9523
<i>toxR</i>	0.9499	0.9450	0.2827	0.7876	-3.337	-3.378	1.1466	0.3634

在此次实践中,本文研制的检测质粒 DNA 参考物质涵盖副溶血性弧菌多个检测目的基因(*tdh*、*trh*、*tlh* 及 *toxR* 基因),序列正确,纯度高,均匀性好、可在-20℃条件下稳定保存一年以上,并通过联合定值的方式,使得标准品的量值可以溯源。相对于常用基因组参考品,质粒参考品弥补了现时检测中需要使用多种菌株基因组才能完成对副溶血弧菌特异性和毒力因子分析的短板。值得一提的是,使用基因组 DNA 和质粒 DNA 作为模板生成的标准曲线非常吻合,换言之,本品可以代替副溶血性弧菌基因组 DNA 用于副溶血性弧菌的核酸检测^[13-14]。

因此,副溶血性弧菌 *tdh*、*trh*、*tlh* 及 *toxR* 基因检测质粒 DNA 参考物质的研制,为副溶血性弧菌的相关核酸检测提供了量值溯源的参照标准,为副溶血性弧菌检测实验室的质量控制提供了有力保障。该质粒 DNA 参考物质的推广应用,可进一步提高各实验室副溶血性弧菌相关检测项目的水平和效率,保障各实验室测量结果的可比性,准确性,提升各实验室间检测结果的认可度。

参考文献

[1] 温灿,顾小松,王荣智. 副溶血弧菌检测方法研究进展[J]. 福建农业学报, 2015(7): 709-717.
[2] 吕蓓,吴龙飞,张英英,等,李秋月. 132株副溶血性弧菌毒力基因及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(8): 941-943.

[3] 季霄雷,许海燕,苏婧,等. 82株副溶血性弧菌毒力基因及耐药性分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(1): 37-40.
[4] 朱海,张佳峰,李庆阁,等. 快速检测副溶血弧菌及其毒力株方法的建立[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2007, 27(7): 664-668.
[5] 许如苏,林志雄,林彩华,等. 多重荧光 PCR 检测水产品致病细菌方法的建立与应用研究[J]. 广东畜牧兽医科技, 2011, 36(4): 22-27.
[6] Xu L, Chen H, Canales M, et al. Use of synthesized double-stranded gene fragments as qPCR standards for the quantification of antibiotic resistance genes[J]. J Microbiol Met, 2019, 164: 105670.
[7] Ballari RV, Martin A, Gowda LR. A calibrator plasmid for quantitative analysis of insect resistant maize (Yieldgard MON 810)[J]. Food Chem, 2013, 140(1-2): 382-389.
[8] 许丽,梁文,李妍,等. 一种质粒 DNA 标准物质的定值数据统计及不确定度评定[J]. 中国测试, 2014, 40(z1): 9-13.
[9] 肖维威,张宝,赵卫,等. 用于筛查转基因作物成分的质粒标准分子的研制[J]. 生命科学研究, 2019, 23(3): 192-199.
[10] 於颖,顾其芳,陈敏,等. 肉制品中沙门菌实时荧光定量聚合酶链反应标准质粒的构建[J]. 上海预防医学, 2017, 29(4): 273-276, 280.
[11] 高晓琳,贾瑞贞,谢亮,等. 不同双歧杆菌标准品制备法的比较研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2016, 47(4): 605-608.
[12] 高志强,张鹤晓,蒲静,等. H7 亚型禽流感病毒核酸标准品制备及双探针荧光 RT-PCR 检测研究[J]. 中国兽医杂志, 2014, 50(11): 13-15, 18.
[13] 于婷,孙楠,曲守方,等. 耳聋基因突变检测国家参考品的研制[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1): 6-10, 15.
[14] 胡秀华,何苗,刘丽,等. 水中轮状病毒实时定量 PCR 外标准品的构建[J]. 环境科学, 2008, 29(2): 380-385.

(上接第 1473 页)

[18] 常方圆,冯泽瑞,许迎春,等. miR-21 在黄芪甲苷保护 ox-LDL 诱导的内皮细胞炎症损伤过程中的作用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(4): 276-282.
[19] 贾启明,张涛,贺娜娜,等. 脓毒症患者循环 miR-21、miR-155 变化与炎症细胞因子和心功能障碍的相关性[J]. 分子

诊断与治疗杂志, 2020, 12(4): 433-436.
[20] 扎西吉,咸育婷. 自身免疫性肝病患者外周血 miR-21、miR-155 表达及其与 Th17、Treg 细胞平衡的关系[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2020, 29(5): 581-586.

直肠癌患者 *BRMS1* mRNA、*PTN* mRNA 的表达及临床意义

马欢^{1*} 焦英华¹ 李曙光² 张贤雨¹ 魏玉磊³ 田桂英¹ 卢秀荣¹ 原娜¹

[摘要] 目的 研究乳腺癌转移抑制基因(*BRMS1*)及多效生长因子(*PTN*)在直肠癌患者的表达情况及其与病理参数、预后的关系。方法 选取2016年1月至2017年5月本院收治的73例直肠癌患者临床资料,收集肿瘤组织及肿瘤旁(距离直肠癌组织5 cm以上)的正常直肠粘膜组织,分别作为直肠癌组($n=73$)和癌旁组($n=73$)。采用多元 Logistic 回归分析影响直肠癌患者预后生存的危险因素,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线研究 *BRMS1* mRNA、*PTN* mRNA 对患者预后生存的影响。结果 直肠癌组 *BRMS1* mRNA 表达水平较癌旁正常组织低,*PTN* mRNA 阳性率较癌旁正常组织高,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。组织高分化、淋巴结无转移、I+II期、无血性转移、浸润深度未及浆膜、肿瘤距肛缘距离 ≤ 7 cm者 *BRMS1* mRNA 表达水平较组织中低分化、淋巴结转移、III+IV期、血性转移、浸润深度达浆膜、肿瘤距肛缘距离 >7 cm者高,*PTN* mRNA 阳性率水平较组织中低分化、淋巴结转移、III+IV期、血性转移、浸润深度达浆膜、肿瘤距肛缘距离 >7 cm者低,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。组织中低分化、浸润及浆膜、TNM分期:III+IV期、淋巴结转移、*BRMS1* mRNA 低表达及 *PTN* mRNA 阳性表达为影响直肠癌患者预后生存的独立危险因素($P<0.05$)。*BRMS1* mRNA 高表达组平均生存时间长于低表达组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 *BRMS1* mRNA、*PTN* mRNA 在直肠癌患者中呈异常状态,并与患者预后生存关系密切,可作为预测直肠癌患者预后生存的分子标志物和肿瘤治疗的潜在的靶点。

[关键词] 直肠癌; *BRMS1*; *PTN*; 病理参数

Expression and clinical significance of *BRMS1* mRNA and *PTN* mRNA in patients with rectal cancer

MA Huan^{1*}, JIAO Yinghua¹, LI Shuguang², ZHANG Xianyu¹, WEI Yulei³, TIAN Guiying¹, LU Xiurong¹, YUAN Na¹

(1. Department of Radiotherapy, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 2. Department of Gastrointestinal Oncology Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 3. Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] Objective To study the expression of breast cancer metastasis suppressor (*BRMS1*) and Pleiotrophin (*PTN*) in patients with rectal cancer, and their relationship with pathological parameters and prognosis. Methods The clinical data of 73 patients with rectal cancer admitted to our hospital from January 2016 to May 2017 were selected. The tumor tissue and the normal rectal mucosa tissue adjacent to the tumor (more than 5 cm from the rectal cancer tissue) were collected as the rectal cancer tissue group ($n=73$) and the

基金项目:张家口市科技攻关计划项目(1321064D)

作者单位:1. 河北北方学院附属第一医院放疗科,河北,张家口 075000

2. 河北北方学院附属第一医院胃肠肿瘤外科,河北,张家口 075000

3. 河北北方学院附属第一医院胸外科,河北,张家口 075000

*通信作者:马欢, E-mail: yeyuxiang19550322@163.com

adjacent normal tissue group ($n=73$). Multivariate Logistic regression was used to analyze the risk factors that affect the prognosis of patients with rectal cancer. Kaplan-Meier survival curve was drawn to study the effect of *BRMS1*mRNA and *PTN*mRNA on the prognosis of patients. **Results** The expression level of *BRMS1*mRNA in the rectal cancer tissue group was lower than that in the normal tissues adjacent to the cancer, and the positive rate of *PTN*mRNA was higher than that of the normal tissues adjacent to the cancer, the differences are statistically significant ($P<0.05$). The expression level of *BRMS1*mRNA in patients who had well-differentiated tissues, no lymph node metastasis, were at stage I + II, no blood metastasis, and whose infiltration depth did not involve the serosal membrane, and tumor distance from anal margin was ≤ 7 cm was higher than that of patients who had medium and low differentiated tissue, lymph node metastasis, bloody metastasis, and were stage III + IV, and whose infiltration depth involved the serosal membrane, and tumor distance from anal margin was >7 cm, the differences are statistically significant ($P<0.05$). Poor differentiation in tissues, serosal infiltration and TNM staging: stage III+IV, lymph node metastasis, low expression of *BRMS1*mRNA and positive expression of *PTN*mRNA were independent risk factors affecting the prognosis and survival of patients with rectal cancer ($P<0.05$). The average survival time of the *BRMS1*mRNA high expression group was longer than that of the low expression group, the differences are statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of *BRMS1*mRNA and *PTN*mRNA are abnormal in patients with rectal cancer, and are closely related to the prognosis of patients. They can be used as molecular markers for predicting the prognosis of patients with rectal cancer and potential targets for tumor therapy.

[KEY WORDS] Rectal cancer; *BRMS1*mRNA; *PTN*; Pathological parameters

直肠癌是指发生在齿状线至直肠乙状结肠交界处的肿块,是消化道最常见的恶性肿瘤,直肠癌患者临床典型症状以排便习惯改变、里急后重、肛门坠胀等为主,当肿瘤侵犯膀胱、尿道、阴道等周围脏器时可引起尿路刺激症状、骶部及会阴部疼痛及下肢水肿等,此外,直肠癌还可累及多器官,引起重要器官功能不全,具有较高的死亡率^[1]。消化道恶性肿瘤微转移是影响患者预后生存的关键,而浸润和转移作为一个复杂的过程,涉及肿瘤细胞和细胞外基质的某些重要物质的相互作用^[2]。近年来,分子生物学的研究发现某些肿瘤转移抑制基因对抑制肿瘤细胞侵袭有重要作用,故相关分子指标成为研究的热点^[3]。其中,乳腺癌转移抑制基因(breast cancer metastasis suppressor1, *BRMS1*)及多效生长因子(Pleiotrophin, *PTN*)分别作为重要的肿瘤转移抑制基因及生长因子,在细胞增殖与转移中均发挥关键作用^[4-5]。本研究就直肠癌患者*BRMS1*mRNA、*PTN*mRNA的表达及临床意义进行分析,旨在为临床治疗提供思路,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年1月至2017年5月本院收治的73例直肠癌患者临床资料,纳入标准:①所有患者有

明确的病理学诊断依据,均确诊为直肠癌;②入组前未接受放疗及化疗;③肿瘤直径 ≤ 5 cm;④临床资料完整且真实;排除标准:①合并血液疾病者;②严重精神疾患或痴呆等无法配合本研究者;③存在除直肠癌以外其他原发性恶性肿瘤者;④合并风湿免疫及结缔组织病变者。其中男性41例,女性32例;年龄35~72岁,平均年龄(56.45 ± 5.71)岁。收集肿瘤组织及肿瘤旁(距离直肠癌组织5 cm以上)的正常直肠粘膜组织,分别作为直肠癌组($n=73$)和癌旁组($n=73$)。本研究经本院伦理委员会批准,受试者及家属均签署知情同意书。

1.2 研究方法

收集所有患者临床资料,比较*BRMS1*mRNA、*PTN*mRNA在直肠癌及癌旁正常组织的表达情况;分析*BRMS1*mRNA、*PTN*mRNA与直肠癌患者各病理参数的相关性,记录所有患者在随访时间内存活及死亡情况,采用多元Logistic回归分析影响直肠癌患者预后生存的危险因素,绘制Kaplan-Meier生存曲线研究*BRMS1*mRNA、*PTN*mRNA对患者预后生存的影响。

1.3 观察指标

1.3.1 主要仪器与试剂

ABI PRISM 7000 荧光定量PCR分析仪购自美国应用生物系统公司,Biophotometer 核酸测定

仪购自德国Eppendoff公司。Trizol RNA提取试剂盒、M-MLVcDNA合成试剂盒、PCR反应试剂、RNase-free试剂购自试剂由上海生物工程有限公司提供, BRMS1及3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH) RT引物、荧光定量PCR引物、荧光探针及用来制作标准曲线的人工合成BRMS1及GAPDHcDNA均购自上海基康生物技术有限公司。即用型非生物素免疫组化Elivision TM plus免疫组化检测试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司, 人重组PTN细胞因子、PTN单克隆抗体以及PTN多克隆抗体购自美国SantaCruz公司, 光学显微镜购自德国Leica公司。

1.3.2 BRMS1mRNA、PTNmRNA的表达检测

BRMS1mRNA的表达检测: BRMS1上游引物5'-GACCGCCAGAGCCrIIIG-GA3'; 下游引物: 5'-CTGCCTCTGGCGTGCAG-3'; 荧光探针: 5-FAM-CAGCTCTGAArrGGTGG-MGB-3'; GAPDH上游引物: 5'-CATCAATGACCCCTIIG-3'; 下游引物: 5'-CATGGGTGGAATCATATTFGGAAC-3'; 荧光探针: 5'-VIC-CCTCAACTACATGGTITAC-MGB-3'。取组织50~100 μg, Trizol法提取组织总RNA, 核酸蛋白紫外分析检测RNA质量和浓度。以RT-PCR试剂盒试剂进行RT反应。首先反转录为c-DNA, 反应条件: 37℃ 1 h, 95℃ 10 min 灭活MMLV, 终止逆转录。PCR反应条件: 94℃ 1 min; 58℃ 1 min, 72℃ 1 min, 循环35次, 最后72℃延长7 min。行1.5%琼脂糖电泳鉴定, 用凝胶成像分析系统检测BRMS1和β-action mRNA的表达强度。PTNmRNA的表达检测采用原位杂交法, 严格按照说明书进行操作, 阴性对照则使用PBS替代杂交液。

1.4 随访方法

随访从患者术后开始, 直至患者死亡或本研究的随访结束, 为期3年, 截止于2020年5月31日。患者的随访时间分布在2至36个月, 平均随访时间为(29.98±2.64)个月。对患者随访的方式主要采用电话随访及患者来院复查为主。在本研究中, 总生存时间(overall Survival, OS)表示直肠癌患者从手术治死亡的时长^[6]。

1.5 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行统计分析, 计数资料以n(%)表示, 行 χ^2 检验, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 行t检验; 以Kaplan-Meier生存曲线研究

BRMS1mRNA、PTNmRNA对患者预后生存的影响, 采用多元Logistic回归分析影响直肠癌患者预后生存的危险因素, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组BRMS1mRNA、PTNmRNA的表达情况比较

直肠癌组BRMS1mRNA表达水平较癌旁正常组织低, PTNmRNA阳性率较癌旁正常组织高, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组BRMS1mRNA、PTNmRNA的表达情况比较
[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of BRMS1mRNA and PTNmRNA expression in 2 groups [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	BRMS1mRNA	PTNmRNA 阳性
直肠癌组	73	0.59±0.06	59(80.82)
癌旁组	73	0.87±0.07	21(28.77)
χ^2 值		25.948	39.929
P值		<0.001	<0.001

2.2 BRMS1mRNA、PTNmRNA与直肠癌患者不同病理参数的关系

不同性别、年龄者BRMS1mRNA、PTNmRNA表达差异无统计学意义, 组织高分化、淋巴结无转移、I+II期、无血性转移、浸润深度未及浆膜、肿瘤距肛缘距离≤7 cm者BRMS1mRNA表达水平较组织中低分化、淋巴结转移、III+IV期、血性转移、浸润深度达浆膜、肿瘤距肛缘距离>7 cm者高, PTNmRNA阳性率较水平较组织中低分化、淋巴结转移、III+IV期、血性转移、浸润深度达浆膜、肿瘤距肛缘距离>7 cm者低, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 患者预后情况及影响患者预后生存的单因素和多因素分析

截至随访结束, 73例直肠癌患者生存49例, 死亡24例, 死亡率为32.88%。

组织中低分化、浸及浆膜、TNM分期: III+IV期、淋巴结转移、BRMS1mRNA低表达及PTNmRNA阳性表达为影响直肠癌患者预后生存的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 BRMS1mRNA、PTNmRNA表达与直肠癌患者预后生存的关系

不同BRMS1mRNA、PTNmRNA表达情况下Keplan-meier生存曲线明显不同。见图1。

表2 BRMS1mRNA、PTNmRNA与直肠癌患者不同病理参数的关系 ($\bar{x} \pm s$)

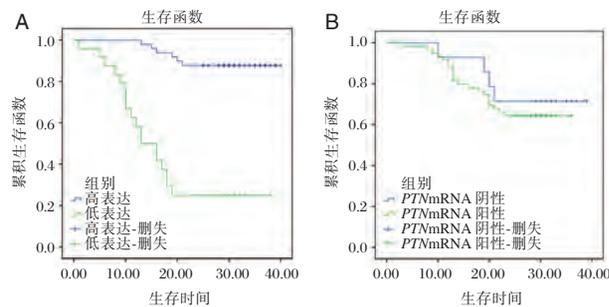
Table 2 Relationship between BRMS1mRNA, PTNmRNA and different pathological parameters in patients with rectal cancer ($\bar{x} \pm s$)

	病理参数 (n=73)	BRMS1mRNA	t值	P值	PTNmRNA 阳性(n=59)	χ^2 值	P值
性别	男	41	0.73±0.12	0.756	34(57.63)	0.002	0.961
	女	32	0.71±0.09		35(59.32)		
年龄(岁)	<55	35	0.69±0.15	1.830	27(45.76)	0.587	0.444
	≥55	38	0.63±0.13		32(54.24)		
组织分化	高分化	48	0.71±0.19	3.191	35(59.32)	7.239	0.007
	中低分化	25	0.59±0.13		24(40.68)		
淋巴结转移	无	50	0.76±0.14	6.232	37(62.71)	4.765	0.029
	有	23	0.53±0.16		22(37.29)		
TNM分期	I+II	45	0.87±0.16	10.017	31(52.54)	10.778	0.001
	III+IV	28	0.51±0.13		28(47.46)		
血性转移	无	40	0.89±0.32	7.513	28(47.46)	6.686	0.010
	有	33	0.43±0.16		31(52.54)		
浸润深度	未及浆膜	52	0.86±0.13	10.977	39(66.10)	3.953	0.047
	浸及浆膜	21	0.53±0.07		20(33.90)		
肿瘤距肛缘距离(cm)	≤7	39	0.73±0.28	4.093	27(45.76)	7.258	0.007
	>7	34	0.49±0.21		32(54.24)		

表3 影响直肠癌患者预后生存的单因素和多因素分析

Table 3 Single factor and multiple factor analysis of prognostic survival in patients with rectal cancer

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR	95%CI	P值	OR	95%CI	P值
肿瘤距肛缘距离(>7 cm vs ≤7 cm)	0.764	0.664	0.594	-	-	-
分化程度(中低分化 vs 高分化)	0.849	0.168	0.016	0.835	0.146	<0.001
浸润深度(浸及浆膜 vs 未及浆膜)	0.823	0.669	0.638	-	-	-
TNM分期(III+IV期 vs I+II期)	0.794	0.131	0.009	0.893	0.189	<0.001
淋巴结转移(有 vs 无)	0.726	0.189	0.013	0.724	0.163	<0.001
BRMS1mRNA表达(低表达 vs 高表达)	0.971	0.261	0.045	0.789	0.261	<0.001
PTNmRNA表达(阳性 vs 阴性)	0.879	0.159	0.033	0.894	0.127	<0.001



注:A为BRMS1mRNA表达与直肠癌患者预后生存的关系;B为PTNmRNA表达与直肠癌患者预后生存的关系。

图1 BRMS1mRNA、PTNmRNA表达与直肠癌患者预后生存的关系

Figure 1 BRMS1mRNA and PTNmRNA expression and prognosis survival in patients with rectal cancer

3 讨论

直肠癌是临床多发的恶性肿瘤,近年来我国直肠癌发病率逐年上升,占肿瘤的死因亦顺位前

移^[7]。尽管目前直肠癌的外科手术已取得长足的进步,但术后复发转移及死亡的风险仍较高^[8]。本组研究结果基本与既往研究相似,故寻求有效治疗靶点对降低直肠癌患者死亡率有重要意义。

肿瘤转移侵袭是导致患者死亡的重要原因,其过程包含肿瘤细胞的移行、扩散、浸润及在转移部位的繁殖等。在恶性肿瘤的转移过程中,转移抑制基因的作用十分关键^[9]。BRMS1基因编码一种转移抑制因子,在多种类型的肿瘤转移中均有报道^[10]。研究表明具有高度转移潜能的恶性肿瘤细胞,一般表现为BRMS1表达降低或缺失,将BRMS1转染到这些细胞中,可抑制其转移潜能。Sadat等^[11]发现BRMS1的表达与乳腺癌淋巴结转移呈负相关,表明BRMS1有抑制肿瘤转移的作用。Penglong等^[12]则发现BRMS1L的过表达抑制了上皮性卵巢癌细胞的迁移和侵袭,认为其可作

为 *BRMS1L* 可作为上皮性卵巢癌患者预后的生物标志物和潜在的治疗靶点。虽然 *BRMS1* 基因的肿瘤转移抑制作用得到证实,但其作用机制仍不清楚。由于 *BRMS1* 可使缝隙连接蛋白亚基 Cx43 表达上调,恢复癌细胞与正常组织细胞间隙连接及信号传导,抑制癌细胞脱离原发灶而发生转移,故可推测 *BRMS1* 抑制直肠癌转移的机制可能与细胞间隙连接、信号传导有关^[13]。本研究结果提示 *BRMS1L* 参与直肠癌的转移与侵袭。结果证实 *BRMS1* mRNA 表达情况与直肠癌的恶化程度关系密切,可将其作为预测直肠癌患者预后的分子标志物之一。

PTN 基因是已知的生长因子中最保守的基因之一,其与肿瘤发生和发展的关系得到多项研究的认证^[14]。*PTN* 基因作为一种原癌基因,属 MDK 家族。体外培养发现,*PTN* 可促进胚胎神经元的分化和神经突的生长,并可促进纤维细胞的肺裂增殖,故 *PTN* 也被称作轴突生长刺激因子^[15]。本研究结果说明 *PTN* 与直肠癌的发生、转移和侵袭关系密切。与 Wang 等^[16] 研究结果相似,进一步提示其可作为潜在的治疗靶点,进而提高患者生存时限。此外,本研究结果显示组织中低分化、浸及浆膜、TNM 分期: III+IV 期、淋巴结转移为影响直肠癌患者预后生存的独立危险因素。因此,需加强对直肠癌的早期筛查、早期诊断、早期治疗,并重视对合并高危因素患者的预后评估,进一步提高治愈率。

综上所述, *BRMS1* mRNA、*PTN* mRNA 在直肠癌患者中呈异常状态,并与患者预后生存关系密切,可作为预测直肠癌患者预后生存的分子标志物和肿瘤治疗的潜在的靶点。本研究中存在一些不足之处在于纳入样本量较少,随访方式缺乏临床验证,未来可扩大样本量,加强随访真实性。

参考文献

- [1] 莫琳,刘保荣.腹腔镜与开腹直肠癌根治术对直肠癌患者机体炎症和免疫功能的影响[J].解放军医药杂志,2017,29(12):28-31.
- [2] 王勇,王莉.直肠癌不同术式对患者围术期 Treg/Th17 免疫平衡,应激水平以及肿瘤生物学指标的影响[J].医学分子生物学杂志,2019,16(2):175-179,191.
- [3] Lv J, Yang H, Wang X, et al. Decreased *BRMS1L* expression is correlated with glioma grade and predicts poor survival in glioblastoma via an invasive phenotype [J]. *Cancer Biomarkers*, 2018, 48(23):1-6.
- [4] Qiao X, Yang X, Zhou Y, et al. Characterization of *DAPK1* as a novel transcriptional target of *BRMS1* [J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(5):481-185.
- [5] Chudgar NP, Liu Y, Montecalvo J, et al. Abstract 4840: SNP rs1052566 (Ala273Val) in *BRMS1* variant2 promotes metastasis in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13):4840-4840.
- [6] Sun X, Wang M, Liu H, et al. MicroRNA-423 enhances the invasiveness of hepatocellular carcinoma via regulation of *BRMS1* [J]. *Am J Trans Res*, 2017, 9(12):5576-5578.
- [7] 肖建国.直肠癌术后并发急性坏死性筋膜炎及脓毒性休克诊治体会[J].临床误诊误治,2017,30(2):62-65.
- [8] Qiu R, Shi H, Wang S, et al. *BRMS1* coordinates with *LSD1* and suppresses breast cancer cell metastasis [J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(10):2030-2045.
- [9] Dou J, Zhou Y, Liu X, et al. *BRMS1* participates in regulating cell sensitivity to DNA interstrand crosslink damage by interacting with *FANCI* [J]. *Oncol Rep*, 2018, 41(1):484-486.
- [10] Hashemi ZS, Moghadam MF, Khalili S, et al. Additive effect of metastamiR-193b and breast cancer metastasis suppressor 1 as an anti-metastatic strategy [J]. *Breast Cancer*, 2019, 26(2):215-228.
- [11] Zahra SH, Mehdi FM, Saeed K, et al. Additive effect of metastamiR-193b and breast cancer metastasis suppressor 1 as an anti-metastatic strategy [J]. 2018, 71(59):489-492.
- [12] Cao PH, Zhao S, Sun Z, et al. *BRMS1L* suppresses ovarian cancer metastasis via inhibition of the β -catenin-wnt pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 32(26):1985-1989.
- [13] 陈纪飞,戴盛明.血浆甲基化 Septin9 基因:一个有潜力的结直肠癌早期筛查标志物[J].分子诊断与治疗杂志,2017,9(2):132-136.
- [14] Liu L, Feng L, Nan C, et al. *CREB3L1* and *PTN* expressions correlate with prognosis of brain glioma patients [J]. *Bioence Rep*, 2018, 64(29):594-596.
- [15] Sun H, He L, Ma L, et al. LncRNA *CRNDE* promotes cell proliferation, invasion and migration by competitively binding miR-384 in papillary thyroid cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(66):871-875.
- [16] Wang K, Yin YH, Yang ZQ, et al. *Hmgb3* Induces the Differentiation of Uterine Stromal Cells Through Targeting *Ptn* [J]. *Rep sci*, 2018, 14(165):454-459.

宫颈病变与Treg转录因子表达及细胞因子水平的关系

梅琳琳 王雅莉* 田晓娜 宋双

【摘要】 目的 研究宫颈病变与Treg转录因子表达及细胞因子水平的关系。方法 选择2015年3月至2018年12月期间在本院接受手术切除的宫颈癌、宫颈上皮内瘤变(CIN)患者及子宫肌瘤患者,分别留取宫颈癌组织、CIN组织、正常宫颈组织,检测Foxp3及增殖基因cyclinD1、p53的表达、IL-10、TGF- β 1的含量。结果 宫颈癌组织中Foxp3、cyclinD1的表达及IL-10、TGF- β 1的含量明显高于CIN组织和正常宫颈组织,p53的表达明显低于CIN组织和正常宫颈组织,差异有统计学意义($P<0.05$);高危HPV感染、FIGO分期Ⅲ~Ⅳ期、低分化、有淋巴结转移的宫颈癌组织中Foxp3的表达及IL-10、TGF- β 1的含量明显高于无高危HPV感染、FIGO分期Ⅰ~Ⅱ期、中高分化、无淋巴结转移的宫颈癌组织,差异有统计学意义($P<0.05$);Foxp3的表达及IL-10、TGF- β 1的含量与CyclinD1的表达呈正相关,与p53的表达呈负相关。**结论** Treg转录因子Foxp3表达及细胞因子IL-10、TGF- β 1含量增加与宫颈癌的发生与发展有关。

【关键词】 宫颈癌; Treg; Foxp3; IL-10; TGF- β 1; 增殖基因

Relationship between cervical lesions and Treg transcription factor expression and cytokine levels

MEI Linlin, WANG Yali*, TIAN Xiaona, SONG Shuang

(Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, First Gynecology Ward, Zhengzhou, Henan, China, 450007)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between cervical lesions and Treg transcription factor expression and cytokine levels. **Methods** Patients with cervical cancer, cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and uterine leiomyoma who underwent surgical resection in our hospital from March 2015 to December 2018 were selected. Cervical cancer tissues, CIN tissues and normal cervical tissues were collected, the expression of Foxp3, cyclinD1, p53 and the contents of IL-10, TGF- β 1 were detected. **Results** The expressions of Foxp3, cyclinD1 and the levels of IL-10, TGF- β 1 in cervical cancer tissues were significantly higher than those in CIN tissues and normal cervical tissues. The expression of p53 in cervical cancer tissues were significantly lower than those in CIN tissues and normal cervical tissues. The difference was statistically significance ($P<0.05$). The expressions of Foxp3, cyclinD1 and the levels of IL-10, TGF- β 1 in cervical cancer tissues with high-risk HPV infection, FIGO stage Ⅲ-Ⅳ, poor-differentiated, lymph node metastasis were significantly higher than those in cervical cancer tissues without high-risk HPV infection, FIGO stage Ⅰ-Ⅱ, moderately to well-differentiated, non-lymph node metastasis. The difference was statistically significance ($P<0.05$). The expression of Foxp3 and the levels of IL-10 and TGF- β 1 were positively correlated with the expression of CyclinD1, and negatively correlated with the expression of p53. **Conclusion** The expression of Treg transcription factor Foxp3 and the increase of IL-10 and TGF- β 1 are related to the occurrence and development of cervical cancer.

[KEY WORDS] Cervical cancer; Treg; Foxp3; IL-10; TGF- β 1; Proliferative genes

作者单位:郑州大学附属郑州中心医院妇科一病区,河南,郑州 450007

*通信作者:王雅莉, E-mail:duping9130135@163.com

宫颈癌(cervical cancer)是女性最常见的生殖系统恶性肿瘤,发病率及病死率均呈逐年升高趋势,严重威胁我国女性的健康^[1-2]。近年来,越来越多的学者开始关注宫颈癌的发病机制,其中免疫逃逸与宫颈癌之间的关系被多项研究证实,多种免疫细胞在宫颈癌病灶及患者外周血中均存在异常^[3-5]。调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)是CD4+T细胞中具有免疫抑制作用的亚群,在转录因子Foxp3的作用下分化成熟并通过分泌白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)以及转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)来实现对免疫应答的负性调控,能够抑制机体的抗肿瘤免疫应答、促进肿瘤细胞发生免疫逃逸^[6-8]。本研究将观察了宫颈癌组织中Treg转录因子Foxp3表达及细胞因子IL-10、TGF-β1含量的变化并分析了其与临床病理特征、增殖基因表达的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选择2015年3月至2018年12月期间在本院接受手术切除的宫颈癌患者,入组标准:①经术后病理诊断为宫颈癌;②临床病理资料完整;③留取宫颈癌组织。④所有患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①术前未接受放疗、生物治疗;②既往有其他恶性肿瘤病史。选择同期在本院接受手术切除的宫颈上皮内瘤变(CIN)患者及接受子宫切除术的子宫肌瘤患者,分别留取CIN组织及正常宫颈组织。宫颈癌患者共84例,年龄38~62岁、平均(47.62±7.23)岁;CIN患者共38例,年龄33~59岁、平均(46.48±8.65)岁;子宫肌瘤患者共60例,年龄38~64岁、平均(48.14±9.14)岁。宫颈癌患者、CIN患者、子宫肌瘤患者一般资料比较,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 试剂与仪器

采用RIPA裂解液(上海碧云天公司)、BCA试剂盒(上海碧云天公司),Foxp3、cyclinD1、p53的单克隆一抗(SantaCruz公司),IL-10、TGF-β1的酶联免疫吸附法(Elisa)检测试剂盒(上海西唐公司),凝胶成像仪(Bio-rad公司)。

1.3 方法

1.3.1 Foxp3、cyclinD1、p53 表达的检测

取适量宫颈癌组织、CIN组织、正常宫颈组织,加入RIPA裂解液提取蛋白,采用BCA试剂盒检

测总蛋白含量,取30 μg总蛋白与上样缓冲液混合,加入聚丙烯酰胺凝胶后进行电泳、电转膜,用5%脱脂牛奶封闭NC膜两小时后4℃孵育1:1 000稀释的Foxp3、cyclinD1、p53、β-actin第一抗体过夜;第二天用第二抗体孵育NC膜两小时后加入ECL显影液,在凝胶成像仪中曝光得到蛋白条带,以β-actin为内参、根据条带灰度值计算蛋白表达量。

1.3.2 IL-10、TGF-β1 含量的检测

取适量宫颈癌组织、CIN组织、正常宫颈组织,加入RIPA裂解液提取蛋白,采用Elisa试剂盒检测IL-10、TGF-β1的含量。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计学分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用方差分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组组织中Foxp3表达及IL-10、TGF-β1含量的比较

与正常宫颈组织比较,宫颈癌及CIN组织中Foxp3的表达量及IL-10、TGF-β1的含量均明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与CIN组织比较,宫颈癌组织中Foxp3的表达量及IL-10、TGF-β1的含量均明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见图1、表1。

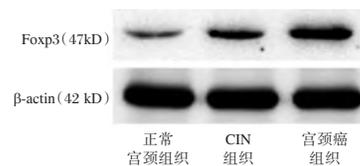


图1 宫颈癌、CIN及正常宫颈组织中Foxp3的蛋白条带
Figure 1 Protein bands of Foxp3 in cervical cancer, CIN and normal cervical tissues

表1 宫颈癌、CIN及正常宫颈组织中Foxp3表达量及IL-10、TGF-β1含量的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Foxp3 expression, IL-10 and TGF-β1 Contents in each groups ($\bar{x} \pm s$)

组织来源	n	Foxp3 表达量	IL-10 (ng/mL)	TGF-β1 (ng/mL)
正常宫颈组织	60	0.93±0.15	0.83±0.17	0.74±0.20
CIN组织	38	1.44±0.20 ^a	1.51±0.32 ^a	1.32±0.28 ^a
宫颈癌组织	84	1.89±0.41 ^{ab}	2.11±0.52 ^{ab}	1.89±0.44 ^{ab}
F值		189.938	237.751	203.475
P值		0.000	0.000	0.000

注:与正常宫颈组织比较,^a $P<0.05$;与CIN组织比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 宫颈癌中 Foxp3、IL-10、TGF-β1 表达的相关性

宫颈癌中 Foxp3 的表达量与 IL-10、TGF-β1 的含量均呈正相关关系, r 分别为 0.351、0.283, $P < 0.05$ 。

2.3 不同临床病理特征宫颈癌组织中 Foxp3 表达及 IL-10、TGF-β1 含量的比较

不同年龄、病灶直径的宫颈癌组织中, Foxp3 的

表达量及 IL-10、TGF-β1 的含量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 高危 HPV 感染、FIGO 分期 III~IV、低分化、有淋巴结转移的宫颈癌组织中 Foxp3 的表达量及 IL-10、TGF-β1 的含量明显高于无高危 HPV 感染、FIGO 分期 I~II 期、中高分化、无淋巴结转移的宫颈癌组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 不同临床病理特征宫颈癌组织中 Foxp3 表达量及 IL-10、TGF-β1 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Foxp3 expression, IL-10 and TGF-β 1 Contents in cervical cancer tissues with different clinicopathological characteristics ($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	分类	n	Foxp3 表达量	IL-10 (ng/mL)	TGF-β1 (ng/mL)
年龄	<40 岁	34	1.95±0.48	2.06±0.48	1.86±0.51
	≥40 岁	46	1.88±0.37	2.17±0.60	1.93±0.36
	t 值		0.737	0.886	0.720
	P 值		0.463	0.378	0.474
病灶直径	<3 cm	28	1.99±0.51	2.02±0.42	1.85±0.34
	≥3 cm	52	1.85±0.35	2.19±0.66	1.95±0.52
	t 值		1.448	1.233	0.916
	P 值		0.152	0.221	0.362
高危型 HPV 感染	否	18	1.51±0.34	1.67±0.38	1.45±0.34
	是	62	2.21±0.62	2.58±0.61	2.32±0.51
	t 值		4.580	5.985	6.796
	P 值		0.000	0.000	0.000
FIGO 分期	I~II	46	1.58±0.31	1.75±0.33	1.58±0.38
	III~IV	34	2.19±0.59	2.51±0.57	2.20±0.47
	t 值		5.990	7.509	6.520
	P 值		0.000	0.000	0.000
组织分化程度	低分化	33	2.13±0.66	2.60±0.59	2.26±0.50
	中高分化	47	1.64±0.28	1.62±0.42	1.51±0.37
	t 值		4.549	8.685	7.713
	P 值		0.000	0.000	0.000
淋巴结转移	否	48	1.67±0.33	1.61±0.29	1.40±0.30
	是	32	2.14±0.62	2.63±0.63	2.37±0.56
	t 值		4.407	9.790	10.050
	P 值		0.000	0.000	0.000

2.4 各组组织中 cyclinD1、p53 表达的比较

与正常宫颈组织比较, 宫颈癌及 CIN 组织中 *cyclinD1* 的表达量明显增加, *p53* 的表达量明显减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 CIN 组织比较, 宫颈癌组织中 *cyclinD1* 的表达量明显增加, *p53* 的表达量明显减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2、表 3。

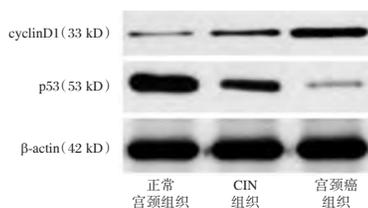


图 2 宫颈癌、CIN 及正常宫颈组织中 *cyclinD1*、*p53* 蛋白条带

Figure 2 Protein bands of CyclinD1 and p53 in cervical cancer, CIN and normal cervical tissues

表 3 各组组织中 *cyclinD1*、*p53* 表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of CyclinD1 and p53 expression in each groups ($\bar{x} \pm s$)

组织来源	n	<i>cyclinD1</i>	<i>p53</i>
正常宫颈组织	60	0.92±0.16	1.05±0.23
CIN 组织	38	1.26±0.20 ^a	0.55±0.08 ^a
宫颈癌组织	84	2.02±0.42 ^{ab}	0.22±0.05 ^{ab}
F 值		175.582	332.842
P 值		0.000	0.000

注: 与正常宫颈组织比较, ^a $P < 0.05$; 与 CIN 组织比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.5 宫颈癌中 Foxp3 表达量及 IL-10、TGF-β1 含量与 *cyclinD1*、*p53* 表达量的相关性

Foxp3 的表达量及 IL-10、TGF-β1 的含量与 *CyclinD1* 的表达量呈正相关, 与 *p53* 的表达量呈负相关, 见表 4。

表4 宫颈癌中 Foxp3 表达量及 IL-10、TGF- β 1 含量与 cyclinD1、p53 表达量的相关性Table 4 Correlation between Foxp3 expression, IL-10, TGF- β 1 and CyclinD1, p53 expression in cervical cancer

指标	Foxp3		IL-10		TGF- β 1	
	r	P值	r	P值	r	P值
CyclinD1	0.348	<0.05	0.372	<0.05	0.294	<0.05
p53	-0.371	<0.05	-0.409	<0.05	-0.421	<0.05

3 讨论

免疫逃逸与多种恶性肿瘤的发生发展均存在密切关系。近年来,免疫逃逸在宫颈癌的发生发展过程中的作用也受到了越来越多的关注^[9],已有多项研究报道宫颈癌患者外周血中 Treg 细胞的比例以及血清中 Treg 细胞因子的含量均明显增多^[10-12]。Treg 是具有免疫抑制作用的 CD4+T 细胞亚群, Foxp3 是该细胞亚群的标志性转录因子,能够介导 Treg 的分化成熟;分化成熟的 Treg 能够分泌具有免疫抑制活性的 IL-10、TGF- β 1,抑制多种免疫细胞的分化成熟、免疫细胞因子的分泌,进而实现对免疫应答的负性调控^[13-15]。

高危型 HPV 感染是宫颈癌发病的独立危险因素,局部组织中感染高危型 HPV 后,病毒基因会整合进入宿主细胞的基因组,引起宿主细胞内多种基因表达的改变,进而通过相应基因的功能来影响细胞的生物学特性^[16]。本研究结果说明高危型 HPV 感染可能增加 Foxp3 的表达并促进 Treg 分化成熟、分泌 IL-10 及 TGF- β 1;而不断分化成熟的 Treg 又能介导免疫抑制作用、抑制免疫应答对病毒的清除,进而造成的高危型 HPV 的持续感染。由此,高危型 HPV 感染与 Treg 分化成熟形成了相互促进、相互增强的循环,共同参与了宫颈癌的发生发展。

在宫颈癌的发生发展过程中,当宫颈癌细胞发生免疫逃逸后,癌细胞会出现过度的增殖、迁移、侵袭,进而引起肿瘤相应病理特征的改变。本研究通过分析不同病理特征宫颈癌中 Treg 的差异可知:随着 FIGO 分期增加、分化降低、淋巴结发生转移, Foxp3 的表达明显升高,说明 Treg 的增加能够促进宫颈癌的病理进程。在宫颈癌的病理进程中,癌细胞的恶性增殖是重要的生物学特征, cyclinD1 及 p53 是与增殖密切相关的基因,前者加速细胞周期并促进增殖,后者诱导细胞凋亡并抑制增殖^[17]。研究发现 Treg 的增多能够造成促增殖

基因 cyclinD1 表达增多、增殖抑制基因 p53 表达减少,说明 Treg 细胞功能的改变与增殖基因表达的异常有关。这也与宫颈癌病理特征的改变相吻合,进而说明 Treg 增多促进了宫颈癌病情的发展。

综上所述,宫颈癌组织中 Treg 转录因子 Foxp3 及细胞因子 IL-10、TGF- β 1 的表达明显增加且与病理特征有关,高危型 HPV 感染可能是促进 Treg 分化成熟的因素之一,而 Treg 分化成熟后又能够促进癌细胞的增殖并引起病情的发展。在今后的研究中,可以设计宫颈癌移植瘤动物模型来验证 Treg 对肿瘤生长、肿瘤细胞增殖的影响。

参考文献

- [1] 郑文龙,张辉,王德征,等.天津市1999-2015年宫颈癌死亡率和过早死亡损失寿命年变化趋势分析[J].中华流行病学杂志,2019,40(1):64-69.
- [2] 悠清,李辉章,龚巍巍,等.2015年浙江省肿瘤登记地区恶性肿瘤发病与死亡分析[J].中国肿瘤,2019,28(1):12-22.
- [3] 杨潇,王艳清,鲜舒,等.免疫检测点在宫颈癌中的研究进展[J].肿瘤学杂志,2018,24(3):258-263.
- [4] Bacolod MD, Barany F, Pilonis K, et al. Pathways- and epigenetic - based assessment of relative immune infiltration in various types of solid tumors [J]. Adv Cancer Res, 2019, 142:107-143.
- [5] Paaso A, Jaakola A, Syrjänen S, et al. From HPV Infection to Lesion Progression: The Role of HLA Alleles and Host Immunity[J]. Acta Cytol, 2019, 63(2):148-158.
- [6] Ou Y, Cannon MJ, Nakagawa M. Regulatory T Cells in Gynecologic Cancer[J]. MOJ Immunol, 2018, 6(2):34-42.
- [7] Toker A, Ohashi PS. Expression of costimulatory and inhibitory receptors in FoxP3+ regulatory T cells within the tumor microenvironment: Implications for combination immunotherapy approaches[J]. Adv Cancer Res, 2019, 144:193-261.
- [8] Polanczyk MJ, Walker E, Haley D, et al. Blockade of TGF- β signaling to enhance the antitumor response is accompanied by dysregulation of the functional activity of CD4+CD25+ Foxp3+ and CD4+CD25-Foxp3+ T cells [J]. J Transl Med, 2019, 17(1):219.
- [9] 盛磊,茹明芳,武贵臻,等.维吾尔族妇女宫颈癌患者的免疫状态及其与临床病理因素的关系[J].癌变·畸变·突变,2016,28(5):369-371+376.
- [10] Chang WC, Li CH, Chu LH, et al. Regulatory T Cells Suppress Natural Killer Cell Immunity in Patients With Human Cervical Carcinoma [J]. Int J Gynecol Cancer, 2016, 26(1):156-62.
- [11] Wang B, Wang H, Li P, et al. Relationships of interleukin-10 with the regulatory T cell ratio and prognosis of cervical cancer patients [J]. Clinics (Sao Paulo), 2018, 3(73):e679.
- [12] 胡彤,李晓瑛. Treg、TGF- β 1、VEGF (下转第1492页)

PG、MG7-Ag联合G-17检测对胃癌前病变、胃癌的诊断及鉴别诊断

文采 肖明娜 朴善英*

[摘要] **目的** 分析胃蛋白酶原(PG)、胃癌单克隆抗体(MG7-Ag)联合胃泌素-17(G-17)检测对胃癌前病变、胃癌的诊断价值。**方法** 收集2018年6月至2019年1月本院收治符合纳入标准的胃癌患者126例设为胃癌组,依据组织病理学肿瘤细胞不同分化程度将分为高分化组($n=38$)、中分化组($n=52$)及低分化组($n=36$),同时选取同期本院正常健康体检者51例(健康对照组)、胃癌前病变患者112例(胃癌前病变组),胃癌前病变组再次分为浅表性胃炎组($n=38$)、胃溃疡组($n=46$)、慢性萎缩性胃炎组($n=28$)。比较不同人群PG、MG7-Ag、G-17指标水平,计算HP阳性感染率,对比不同检测对胃癌前病变、胃癌的诊断效能。**结果** 胃癌组MG7-Ag、G-17表达水平高于胃癌前病变组、健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),胃癌前病变组PG I、PGR表达水平显著高于健康对照组、胃癌组,胃癌组PGR水平显著低于胃癌前病变组、健康对照组,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。低分化组MG7-Ag高于高分化、中分化组,高分化组G-17水平显著低于中分化组、低分化组,差异均具有统计学意义($P<0.05$);高、中、低分化胃癌患者PG I、PG II、PGR水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。慢性萎缩性胃炎组G-17、PGR、PG I水平显著低于浅表性胃炎组、胃溃疡组,浅表性胃炎组PG II低于其余两组,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。胃癌组HP阳性率高于胃癌前病变组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。PG+G-17+MG7-Ag+HP检测胃癌、浅表性胃炎、胃溃疡、慢性萎缩性胃炎特异度、灵敏度显著高于单一检测($P<0.05$)。**结论** PG、MG7-Ag及G-17与胃癌疾病发生、进展存在一定联系,通过检测上述指标水平,可有效综合评估患者病情,联合检测可提高诊断灵敏度、特异度。

[关键词] PG; MG7-Ag; G-17; 胃癌前病变; 胃癌

Diagnosis and differential diagnosis of PG, MG7 - Ag combined with G - 17 detection for gastric precancerous lesions and gastric cancer

WEN Cai, XIAO Mingna, PU Shanying*

(Health Management Center, the First People's Hospital of Chenzhou City, Hunan Province, Chenzhou, Hunan, China, 423000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the diagnostic value of pepsinogen (PG), MG - Antigen7 - Ag (MG7 - Ag) combined with gastrin-17 (Gastrin-17, G-17) detection for gastric precancerous lesions and gastric cancer. **Methods** 126 patients with gastric cancer who met the inclusion criteria were collected from June 2018 to January 2019 and set as the gastric cancer group. According to the different differentiation levels of histopathological tumor cells, they will be divided into a highly differentiated group ($n=38$) and a moderately differentiated group ($n=52$) and poorly differentiated group ($n=36$). At the same time, 51 cases with normal healthy physical examination in this hospital (healthy control group) and 112 cases with gastric precancerous lesions (superficial gastritis group) were selected. Patients in the gastric precancerous lesion group were again divided into superficial gastritis group ($n=38$), gastric ulcer group ($n=46$), and chronic atrophic gastritis group

基金项目:湖南省自然科学基金项目(18JJ6235)

作者单位:湖南省郴州市第一人民医院健康管理中心,湖南,郴州 423000

*通信作者:朴善英, E-mail:46976946@qq.com

($n=28$). The indicator levels of PG, MG7-Ag, and G-17 in different populations were compared, the HP positive infection rate was calculated, and the diagnostic efficiency of different tests for gastric precancerous lesions and gastric cancer were compared. **Results** The expression levels of MG7-Ag and G-17 in the gastric cancer group were higher than those in the gastric precancerous lesion group and the healthy control group ($P<0.05$). The expression levels of PG I and PGR in the gastric precancerous lesion group were significantly higher than those in the healthy control group and gastric cancer group. The PGR level in the gastric cancer group was significantly lower than that in the gastric precancerous lesion group and the healthy control group. The difference between the groups was statistically significant ($P<0.01$). MG7-Ag in the low differentiation group was higher than that in the high differentiation group and moderate differentiation group, and the G-17 level in the high differentiation group was significantly lower than that in the moderate differentiation group and low differentiation group ($P<0.05$). There was no significant difference in the levels of PG I, PG II and PGR among patients with high, medium and low differentiation of gastric cancer ($P>0.05$). The levels of G-17, PGR and PG I in the chronic atrophic gastritis group were significantly lower than those in the superficial gastritis group and gastric ulcer group. The PG II in the superficial gastritis group was low than that in the other two groups ($P<0.05$). The positive rate of HP in the gastric cancer group was higher than in the gastric precancerous lesion group ($P<0.05$). The specificity and sensitivity of PG+G-17+MG7-Ag+HP in detecting gastric cancer, superficial gastritis, gastric ulcer and chronic atrophic gastritis were significantly higher than those of single test ($P<0.05$). **Conclusion** PG, MG7-Ag and G-17 are related to the occurrence and progression of gastric cancer. The detection of the above indicators can effectively evaluate the patient's condition, and the combined detection can improve the sensitivity and specificity of diagnosis.

[KEY WORDS] PG; MG7-Ag; G-17; Gastric precancerous lesions; Gastric cancer

胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤之一,据不完全统计,我国胃癌死亡率为25.2/10万(男性32.8/10万、女性17/10万),约占全部肿瘤死亡的23.2%^[1]。随着病理研究的深入,目前临床发现胃癌病情发生、进展模式为:正常胃黏膜—浅表性胃炎—萎缩性胃炎—肠上皮化生—不典型增生—胃癌,基于上述因素,早期发现、控制病情发展,在降低胃癌发生率、病死率中意义重大^[2]。胃疾病常见检查方法有胃镜、消化钡餐影像学及实验室检查。目前临床初步认为胃癌发生发展过程与幽门螺杆菌(*helicobacter pylori*, HP)有关,但单一检测HP对胃疾病鉴别诊断提高资料存在局限性。近年来较多学者认为胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)、胃癌单克隆抗体(MG-antigen7-Ag, MG7-Ag)及胃泌素-17(gastrin-17, G-17)等因子关系密切,实验室血清学检查具有无创、简便易行等优势,对上述血清学指标进行联合检测,在早期诊断胃癌、癌前病变中可行性高^[3-4]。本研究将探究PG+MG7-Ag+G-17联合检查的临床应用价值,为临床提供相关参考资料,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年6月至2019年1月本院收治的胃

癌患者126例设为胃癌组,依据组织病理学肿瘤细胞不同分化程度将其分为高分化组($n=38$)、中分化组($n=52$)及低分化组($n=36$)。其中男78例,女48例,年龄27~71岁,平均年龄(48.28 ± 6.11)岁。纳入标准:经过手术或病理活检确诊为原发性胃癌;年龄>18周岁;入组前未接受放疗及化疗;临床资料完整无丢失。排除标准:合并血液疾病者;合并精神疾病或者长期药物依赖史者;7天内使用黏膜保护剂及慢性肝病者。

选取同期本院收治的胃癌前病变患者112例患者纳入胃癌前病变组,其中男性64例,女性48例,年龄22~70岁,平均年龄(46.96 ± 8.07)岁,依据组织病理学肿瘤细胞不同分化程度将分为浅表性胃炎组38例、胃溃疡组46例、慢性萎缩性胃炎组28例。纳入标准:经过内镜或病理检查明确诊断为胃癌前病变者;年龄>18周岁;入组前1个月未服用抑酸、护胃剂药物者。排除标准:合并恶性肿瘤或血液疾病者;长期药物依赖史者。同时选取于本院正常健康体检者55例设为健康对照组,排除既往胃部手术者,其中男性33例,女性22例,年龄22~70岁,平均年龄(47.25 ± 7.53)岁。3组研究对象性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义,具有可比性($P>0.05$)。本研究经本院医学伦理委员会批准,

患者及其家属签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 观察指标

收集3组受试者临床资料,比较PG、MG7-Ag、G-17表达水平差异,胃癌组及胃癌前病变组HP感染率,对比不同检测手段对胃癌前病变、胃癌的诊断灵敏度、特异度。

1.2.2 主要仪器与试剂

采取各组受试者清晨空腹外周血3~5 mL于采血管内,分离血清密封后置-20℃冰箱待检。①应用芬兰Biohit公司ELISA试剂盒检测PG I、PG II、G-17及MG7-Ag水平,根据结果进行PG I/PG II比值计算,获取PGR值,所有操作均严格按试剂说明书进行,MG7-Ag>3 U/mL为阳性。②应用快速尿素酶试验或碳13/14呼气试验检测HP阳性。

1.3 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行统计分析。计数资料以n(%)表示,行 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组采用方差分析,两两比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群PG、MG7-Ag、G-17表达水平情况

2.1.1 3组受检者PG、MG7-Ag、G-17表达水平差异对比

胃癌组MG7-Ag、G-17表达水平显著高于胃癌前病变组、健康对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);胃癌前病变组PG I、PGR表达水平显著高于健康对照组、胃癌组;胃癌组PGR水平显著低于胃癌前病变组、健康对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 3组受检者PG、MG7-Ag、G-17表达水平差异对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of PG, MG7-Ag and G-17 among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PG I ($\mu\text{g/mL}$)	PGII ($\mu\text{g/mL}$)	PGR	MG7-Ag (U/mL)	G-17 (pmol/L)
健康对照组	51	116.36 \pm 30.25	8.49 \pm 3.26	12.63 \pm 5.41	1.43 \pm 0.50	8.36 \pm 4.02
胃癌前病变组	112	140.32 \pm 52.02 ^a	14.25 \pm 4.82 ^a	14.36 \pm 6.25 ^a	1.52 \pm 0.45	13.25 \pm 5.02 ^a
胃癌组	126	77.66 \pm 34.51 ^{ab}	20.78 \pm 9.33 ^{ab}	3.94 \pm 1.59 ^{ab}	2.91 \pm 1.07 ^{ab}	23.15 \pm 9.74 ^{ab}
F值	-	68.29	62.31	164.62	114.99	93.61
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a与健康对照组相比, $P < 0.05$;^b与胃癌前病变组相比, $P < 0.05$ 。

2.1.2 不同分化程度胃癌患者PG、MG7-Ag、G-17表达水平对比

低分化组MG7-Ag最高于中分化组、高分化组,高分化组G-17水平低于中分化组、低分化组,

差异均具有统计学意义($P < 0.05$);高、中、低分化胃癌患者PG I、PG II、PGR水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 不同分化程度胃癌患者PG、MG7-Ag、G-17表达水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of expression levels of PG, Mg7-AG and G-17 in gastric cancer patients with different degrees of differentiation ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PG I ($\mu\text{g/mL}$)	PG II ($\mu\text{g/mL}$)	PGR	MG7-Ag (U/mL)	G-17 (pmol/L)
高分化组	38	77.45 \pm 29.63	23.84 \pm 7.46	3.46 \pm 2.01	2.51 \pm 0.56	21.25 \pm 4.15
中分化组	52	81.15 \pm 31.69	21.69 \pm 9.11	3.51 \pm 2.13	2.93 \pm 0.71 ^a	25.36 \pm 7.42 ^a
低分化组	36	75.78 \pm 30.45	17.36 \pm 9.59	3.94 \pm 2.39	3.26 \pm 0.68 ^a	27.63 \pm 10.51 ^a
F值	-	0.36	5.22	0.56	12.06	6.59
P值	-	0.700	0.006	0.572	0.004	0.001

注:^a与高分化组相比, $P < 0.05$ 。

2.1.3 不同癌前疾病患者PG、MG7-Ag、G-17表达水平对比

慢性萎缩性胃炎组G-17、PGR、PG I水平显著低于浅表性胃炎组、胃溃疡组,浅表性胃炎组PG II低于慢性萎缩性胃炎组、胃溃疡组,差异均具有

统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.2 不同人群HP感染情况

胃癌组HP阳性率高于胃癌前病变组HP阳性率,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表3 不同癌前疾病患者PG、MG7-Ag、G-17表达水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of expression levels of PG, Mg7-AG and G-17 in patients with different precancerous diseases ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PG I (μg/mL)	PG II (μg/mL)	PGR	MG7-Ag(U/mL)	G-17(pmol/L)
浅表性胃炎组	38	119.65±41.08	10.05±4.39	12.71±5.36	1.56±0.31	10.82±4.51
胃溃疡组	46	170.85±43.15 ^a	20.47±6.49 ^a	7.15±3.54 ^a	1.86±0.53 ^a	14.96±6.10 ^a
慢性萎缩性胃炎组	28	80.49±31.69 ^a	17.48±7.15 ^a	5.09±1.32 ^a	1.62±0.21 ^b	4.39±2.07 ^{ab}
F值	-	46.97	31.72	35.26	6.59	41.69
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	<0.001

注:^a与健康对照组相比, $P<0.05$;^b与胃癌前病变相比, $P<0.05$ 。

表4 不同人群HP感染情况 [$n(\%)$]

Table 4 HP infection in different populations [$n(\%)$]

组别	n	HP阳性例数
胃癌前病变组	112	64(57.14)
浅表性胃炎	38	16(42.10)
胃溃疡	46	36(78.26)
慢性萎缩性胃炎	28	12(42.85)
χ^2 值	-	14.219
P值	-	<0.001
胃癌组	126	108(85.71)
高分化	38	32(84.21)
中分化	52	44(84.61)
低分化	36	32(88.88)
χ^2 值	-	0.418
P值	-	0.811

2.3 联合诊断对胃癌前病变、胃癌的诊断效能

PG+G-17+MG7-Ag+HP检测胃癌、浅表性胃炎、胃溃疡、慢性萎缩性胃炎特异度、灵敏度显著高于单一检测($P<0.05$),见表5。

3 讨论

胃癌早期胃癌生存率达到90%以上,到了中晚期生存率大大降低,故探究胃癌疾病发生机制、提高早期检出率意义重大。Endo等人^[5]认为HP感染是胃癌发生的危险因素,但对于HP感染纳入患者均多与晚期癌症有关,尚未对早期胃癌组织中HP的流行率进行相关研究。PG作为胃蛋白酶

表5 联合诊断对胃癌前病变、胃癌的诊断效能(%)

Table 5 Diagnostic efficacy of combined diagnosis for precancerous lesions and gastric cancer (%)

类别	胃癌组(n=63)		浅表性胃炎组(n=19)		胃溃疡组(n=23)		慢性萎缩性胃炎组(n=14)	
	特异度	灵敏度	特异度	灵敏度	特异度	灵敏度	特异度	灵敏度
HP阳性	39.68 ^a	42.85 ^a	52.63 ^a	57.89 ^a	52.17 ^a	69.56 ^a	50.00 ^a	57.14 ^a
PG(PG I +PG II)	36.50 ^a	41.26 ^a	47.36 ^a	52.63 ^a	47.82 ^a	43.47 ^a	42.85 ^a	50.00 ^a
G-17	44.44 ^a	47.61 ^a	42.10 ^a	47.36 ^a	69.56 ^a	60.86 ^a	64.28 ^a	57.14 ^a
MG7-Ag	57.14 ^a	63.49 ^a	52.63 ^a	57.89 ^a	78.26 ^a	82.60 ^a	71.42 ^a	64.28 ^a
PG+G-17+MG7-Ag	87.30	85.71	68.42 ^a	73.68 ^a	82.60 ^a	86.95	78.57	64.28
PG+G-17+MG7-Ag+HP	90.47	88.88	78.94	84.21	78.26	91.30	85.71	71.42

注:^a与PG+G-17+MG7-Ag+HP相比, $P<0.05$ 。

的前体,主要在胃体、胃底黏液细胞中分泌PG I、PG II。Gastrin属于胃肠激素,主要作用为刺激胃酸腺区黏膜、十二指肠黏膜两大区域,抑制DNA、RNA及蛋白质的合成。近年来较多国外文献研究认为,胃癌前病变患者机体Gastrin高分状态积极参与了胃黏膜癌变的过程^[6-9]。临床发现存在较多有价值的肿瘤标志物,国外已有文献报道了PG及G-17可用于评估胃黏膜发生胃癌前状态,国外专家共识均表示可采用血清学指标筛查慢性萎缩性胃炎与早期胃癌^[10-12]。上世纪末已有学者对胃癌患者血清MG7-Ag采用免疫聚合酶链

反应技术开展相关研究,通过免疫组化研究发现MG7-Ag主要表达于胃癌组织中,而正常健康者消化道组织中表达水平低,基于MG7-Ag相关行为特征,临床在选择合理生物学时机后,对抗原-抗体结合率进行检测,可对机体肿瘤相关抗原量进行定量评估^[13-15]。Hp感染可导致慢性活动性胃炎,其中细菌主要定植于胃内,且随着炎症的进展,可造成肠化生、黏膜收缩,最终转变为胃癌。Hp感染是导致慢性胃癌、消化性溃疡的主要病因,另一方面,Hp的细胞相关基因A毒素均可能与胃癌的发生存在相关性。本组研究结果证实PG、G-17、

MG7-Ag三者联合HP检测可有效提高诊断效能,在胃黏膜疾病的大规模筛查具有实用价值,联合检测可取长补短,可在临床早期胃癌筛查、诊断中获益。这与梁晓燕等^[16]的研究结果相似,其认为联合检测PG、G-17、HP可帮助临床筛查胃癌前病变及胃癌,具有重要的临床价值。

综上所述,PG、MG7-Ag及G-17与胃癌疾病发生、进展存在一定联系,通过检测上述指标水平,可有效综合评估患者病情,联合检测可提高诊断灵敏度、特异度,有望应用于临床,提升早期胃癌的检出水平。

参考文献

[1] Song M, Camargo MC, Weinstein SJ, et al. Family history of cancer in first-degree relatives and risk of gastric cancer and its precursors in a Western population [J]. *Gastric Cancer*, 2018, 56(5):1041-1046.

[2] 田敬华, 杨金玲, 秦杰, 等. miR-34启动子甲基化在胃癌发病过程中的作用研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(1):23-27.

[3] 曹少祥, 李华顺, 谭海洋, 等. p38MAPK信号转导通路在COX-2抑制剂联合顺铂诱导人胃癌SGC7901细胞凋亡中的作用机制[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 30(9):12-17.

[4] Cho JH, Jeon SR, Kim HG, et al. The serum pepsinogen levels for risk assessment of gastric neoplasms: New proposal from a case-control study in Korea [J]. *Medicine*, 2017, 96(29):e7603.

[5] Endo S, Ohkusa T, Saito Y, et al. Detection of *Helicobacter pylori* infection in early stage gastric cancer. A comparison between intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas [J]. *Cancer*, 2015, 75(9):2203-2208.

[6] Marcis L, Jin YP, Raul M. Multicentric randomised study of *Helicobacter pylori* eradication and pepsinogen testing for prevention of gastric cancer mortality: the GISTAR study [J].

BMJ Open, 2017, 24(12):1258-1260.

[7] Jingyi J, Shixuan S, Nannan D, et al. Correlation between negative expression of pepsinogen C and a series of phenotypic markers of gastric cancer in different gastric diseases [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(6):4068.

[8] Yu G, Wang GX, Wang HG, et al. The value of detecting pepsinogen and gastrin-17 levels in serum for pre-cancerous lesion screening in gastric cancer [J]. *Neoplasma*, 2019, 66(4):1258-1261.

[9] Ye D, Xu G, Ma W, et al. Significant function and research progress of biomarkers in gastric cancer (Review) [J]. *Oncol Letters*, 2019, 39(2):1536-1542.

[10] 邵建富, 李兴海, 马文杰, 等. TGF- β 1对胃癌细胞增殖, 凋亡及miR-302a和AKT通路的影响[J]. *医学分子生物学杂志*, 2020, 41(1):46-51.

[11] Jingyi J, Shixuan S, Nannan D, et al. Correlation between negative expression of pepsinogen C and a series of phenotypic markers of gastric cancer in different gastric diseases [J]. *Can Med*, 2018, 7:4068.

[12] Wang X, Liu Y, Diao Y, et al. Gastric cancer vaccines synthesized using a TLR7 agonist and their synergistic antitumor effects with 5-fluorouracil [J]. *J Trans Med*, 2018, 16(1):120.

[13] Hosam E, Sameh E, El-Sayed EHG, et al. Assessment of the Correlation Between Preoperative and Immediate Postoperative Gastric Volume and Weight Loss After Sleeve Gastrectomy Using Computed Tomography Volumetry [J]. *World J Surgery*, 2018, 29(1):1-8.

[14] 穆素恩, 薛辉, 杨俭. 血清胃蛋白酶原、同型半胱氨酸、血管内皮生长因子、胃肠激素及胃电参数对早期胃癌筛查价值[J]. *临床误诊误治*, 2019, 31(8):158-159.

[15] Xu Y, Miremadi A, Link A, et al. Feasibility of combined screening for upper gastrointestinal adenocarcinoma risk by serology and Cytosponge testing: the SUGAR study [J]. *J Clin Pathol*, 2019, 31(1):570.

[16] 梁晓燕, 伦伟健, 贾柳萍, 等. 联合检测胃蛋白酶原、胃泌素17及幽门螺旋杆菌对胃癌前病变及胃癌的诊断价值[J]. *临床医学工程*, 2018, 25(12):1617-1618.

(上接第1487页)

在宫颈癌患者外周血中的表达水平及其临床意义[J]. *医学临床研究*, 2019, 36(1):204-205.

[13] Tanaka A, Sakaguchi S. Targeting Treg cells in cancer immunotherapy [J]. *Eur J Immunol*, 2019, 49(8):1140-1146.

[14] Cezar-Dos-Santos F, Ferreira RS, Okuyama NCM, et al. FOXP3 immunoregulatory gene variants are independent predictors of human papillomavirus infection and cervical cancer precursor lesions [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(8):2013-2025.

[15] Bahrami A, Fereidouni M, Pirro M, et al. Modulation of regulatory T cells by natural products in cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 459:72-85.

[16] 严鸣光, 殷卫兵. 高危型HPV基因型在门诊就诊人群中的分布特征[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(1):30-33,42.

[17] Shi Q, Xu L, Yang R, et al. Ki-67 and P16 proteins in cervical cancer and precancerous lesions of young women and the diagnostic value for cervical cancer and precancerous lesions [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(2):1351-1355.

急性心肌梗死患者术前 A/G、NT-proBNP 在 PCI 术后预后中的评估价值分析

张佩雯^{1*} 吴胜福² 陈文君¹

[摘要] 目的 分析急性心肌梗死(AMI)患者术前白蛋白球蛋白比值(A/G)、氮末端脑钠肽前体(NT-proBNP)对其在行经冠状动脉介入治疗手术(PCI)术后预后中的评估价值。方法 选取本院2017年1月至2019年7月收治的178例AMI患者作为研究对象,所有患者均符合AMI临床诊断标准。其中经PCI治疗患者121例设为PCI组,未经PCI治疗患者57例设为对照组,对比两组A/G、NT-proBNP、ABL(白蛋白)、GLB(球蛋白)表达情况。根据PCI术后是否出现心脏不良事情对PCI治疗患者再次分为预后良好与预后不良组,采用logistic多因素回归分析影响其预后的相关因素。结果 两组A/G、NT-proBNP表达水平存在明显差异,PCI组患者A/G、ABL水平高于对照组,NT-proBNP、GLB水平低于对照组($P<0.05$);在不同预后AMI患者中,年龄、吸烟史、LVEF、CRP(C反应蛋白)、ABL、GLB、A/G、NT-proBNP比较,差异有统计学意义($P<0.05$),预后良好患者无吸烟史患者、LVEF(左心室射血分数)、ABL、A/G、高于预后不良组,年龄、CRP、GLB水平低于预后不良组。Logistic回归分析结果显示:年龄(≥ 65 岁)、CRP(≥ 45 mg/L)是影响AMI患者PCI术后出现心脏不良事件的独立危险因素,LVEF、A/G、NT-proBNP属于预后的保护因素($P<0.05$)。结论 A/G、NT-proBNP水平与患者预后相关,属于AMI患者PCI术后预后保护因素,可为其术后评估提供参考。

[关键词] 急性心肌梗死;白蛋白球蛋白比值;NT-proBNP;PCI术后;评估价值

Analysis of the value of preoperative albumin-globulin ratio and NT-proBNP in prognosis of patients with acute myocardial infarction after PCI

ZHANG Peiwen^{1*}, WU Shengfu², CHEN Wenjun¹

(1. Emergency Department of Wuhan Central Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China, 430030; 2. Department of Critical Medicine, Minda Hospital Affiliated to Hubei University of Nationalities, Enshi, Hubei, 445000)

[ABSTRACT] Objective To analyze the evaluation value of preoperative albumin-globulin ratio (A/G) and the N-Terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in prognosis of patients with AMI after PCI. Method A total of 178 patients with AMI treated in our hospital from January 2017 to July 2019 were selected as the research objects, and all patients met the clinical diagnostic criteria of AMI. Among them, 121 patients treated with PCI were selected as the PCI group, and 57 patients without PCI treatment were selected as the control group. The expression levels of A/G, NT-proBNP, ABL and GLB were measured and compared between the two groups. Patients with PCI were further divided into groups with good prognosis and poor prognosis according to whether cardiac adverse events occurred after PCI. Logistic multivariate regression analysis was used to analyze the relevant factors affecting its prognosis. Results There were significant

基金项目:2018年湖北省自然科学基金面上项目(2018CFB468)

作者单位:1. 华中科技大学同济医学院武汉市中心医院急诊科,湖北,武汉 430030

2. 湖北民族大学附属民大医院重症医学科,湖北,恩施 445000

*通信作者:张佩雯, E-mail: jmrr15141@sina.com

differences in the expression levels of A/G and NT-proBNP between the two groups. The levels of A/G and ABL in the PCI group were higher than those in the control group, and the levels of NT-proBNP and GLB were lower than those in the control group ($P < 0.05$). Among patients with different prognosis, there were significant differences in age, smoking history, LVEF, CRP, ABL, GLB, A/G, and NT-proBNP ($P < 0.05$). The number of patients with good prognosis without smoking history, LVEF, ABL, A/G, were higher than those with poor prognosis group, and the age, levels of CRP, and GLB were lower than those with the poor prognosis group. Logistic regression analysis showed that age (≥ 65 years) and CRP (≥ 45 mg/L) were independent risk factors for cardiac adverse events after PCI in AMI patients. LVEF, A/G, and NT-proBNP were protective factors for prognosis ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of A/G and NT-proBNP are related to the prognosis of patients, and they are the prognostic factors of AMI patients after PCI, which can provide a reference for their postoperative evaluation.

[KEY WORDS] Acute myocardial infarction; Albumin-globulin ratio; NT-proBNP; PCI; Evaluation value

在冠状动脉病变的基础之上出现冠状动脉的血供急剧下降,甚至是出现中断的可能,导致心肌出现严重持久的缺血情况,从而出现心肌坏死在临床上称此现象为急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)^[1]。在临床上表现为出现持久性的胸骨后剧烈疼痛、心率失常、发热、心力衰竭等。近年来 AMI 发病率为逐年上升趋势,死亡率也居高不下,严重威胁了人民的生命健康安全^[2]。早发现、早治疗是此病的关键所在,在其治疗中有效开通相关梗死动脉进行血运重建治疗对患者预后改善和心功能改善有重要的意义^[3]。经冠状动脉介入治疗手术(Percutaneous coronary intervention, PCI)属于 AMI 患者常用治疗手段,但有文献指出此手术治疗会破坏患者冠状动脉内膜,患者部分斑块可能会缺失、溃疡等表现,而此损害也会成为后续出现血小板形成血块的基础^[4]。术后的不良事件也会直接影响到患者的治疗效果以及预后情况^[5]。因此本文旨在分析 AMI 患者术前白蛋白球蛋白比值(Albumin globulin ratio, A/G)、氮末端脑钠肽前体(N-terminal pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP)对其在行 PCI 术后预后中的评估价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院 2017 年 1 月至 2019 年 7 月收治的 178 例 AMI 患者作为研究对象,所有患者均符合 AMI 临床诊断标准^[6],经 PCI 治疗患者 121 例设为 PCI 组,其中男 71 例,女 50 例,年龄 38~75 岁(51.74±5.67)岁;未经 PCI 治疗患者 57 例设为对照组,其中男 35 例,女 22 例,年龄 35~75 岁(52.11±

5.87)岁。合并基础疾病:糖尿病、高血压、心脏病等。两组患者一般临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者一般临床资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

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

组别	年龄(岁)	男/女	合并基础疾病(例)	LVEF(%)
PCI组($n=121$)	51.74±5.67	71/50	44(36.36)	47.87±10.68
对照组($n=57$)	52.11±5.87	35/22	27(47.36)	48.55±10.53
t/χ^2 值	0.401	0.120	1.957	0.398
P 值	0.688	0.730	0.162	0.691

纳入标准:研究对象均符合《急性心肌梗死诊断和治疗指南》^[6];患者家属均知晓本研究内容和目的,同意配合并签署知情同意书;此研究经医院伦理会批准;无其他心脏疾病。排除标准:伴严重的心、肾、肝、造血系统方面疾病者;有其他心脏疾病者;存在精神障碍者;不配合治疗者;既往存在 AMI 治疗史;存在慢急性感染、血液疾病、免疫系统类疾病患者。

1.2 方法

所有研究对象均在入院后进行外周静脉血采集,进行相关处理后使用全自动分析仪,测定患者血清中白蛋白(albumin, ABL)、球蛋白(Globulin, GLB)、A/G、C 反应蛋白(C-reactive protein, CPR)水平,使用采用德国罗氏公司(Roche)的罗氏 Cardiac Reader 进行血浆 NT-proBNP 检测,参考范围 75 岁以下为 <125 ng/L。超声心动图检查:仪器选择:美国通用公司生产的 Voluson E6 型彩超诊断仪,选择患者心尖标准四腔观切面,测定患者左心室射血分

数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)水平。

1.3 观察指标

对比经 PCI 治疗者与未治疗者 A/G、NT-proBNP、ABL、GLB 表达情况,分析经 PCI 治疗后不同预后情况 AMI 患者的临床资料,了解影响其预后的相关因素。

1.4 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;计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用

χ^2 检验;影响患者 PCI 术后相关性分析使用 Logistic 多因素回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 A/G、NT-proBNP、ABL、GLB 表达水平比较

PCI 组患者 A/G、ABL 水平高于对照组,NT-proBNP、GLB 水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 A/G、NT-proBNP 表达水平对比 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of A/G and NT NT-proBNP expression levels between 2 groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	A/G(%)	NT-proBNP(ng/L)	ABL(g/L)	GLB(mg/L)
PCI组(n=121)	0.25±0.08	1342.11±88.67	38.78±5.63	30.33±4.12
对照组(n=57)	0.19±0.07	2975.12±174.36	33.68±3.54	34.26±4.72
t 值	4.853	82.903	6.274	5.662
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 不同预后 AMI 患者临床资料比较

在不同预后 AMI 患者中,年龄、吸烟史、LVEF、CRP、ABL、GLB、A/G、NT-proBNP 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),预后良好患者无吸烟史患者、LVEF、ABL、A/G、高于预后不良组于,年龄、CRP、GLB 水平低于预后不良组($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同预后 AMI 患者临床资料比较

Table 3 Comparison of clinical data of AMI patients with different prognosis

因素	预后良好 预后不良		χ^2 值	P 值
	(n=88)	(n=33)		
年龄	≥65 岁	21	27	33.6820.000
	<65 岁	67	6	
性别	男	51	20	0.070 0.792
	女	37	13	
吸烟史	有	27	24	17.4000.000
	无	61	9	
LVEF(%)	≥50	57	12	7.904 0.005
	<50	31	21	
CRP(mg/L)	≥45	33	26	16.3750.000
	<45	55	7	
ABL(g/L)	≥39	54	13	4.688 0.030
	<39	34	20	
GLB(g/L)	≥32	32	29	25.4780.000
	<32	56	4	
A/G	≥1.19	63	10	11.1250.001
	<1.19	36	23	
NT-proBNP(ng/L)	≥1340	38	22	7.736 0.005
	<1340	60	11	

2.2 影响 AMI 患者 PIC 预后情况多元性 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析结果显示年龄(≥65 岁)、

CRP(≥45 mg/L)是影响 AMI 患者 PCI 术后出现心脏不良事件的独立危险因素,LVEF、A/G、NT-proBNP 属于预后的保护因素,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

3 结论

血液存在高凝状态导致血栓形成将患者冠状动脉循环堵塞最终造成患者出现心肌急性缺血,在 AMI 患者发病中凝血—纤溶系统发挥着重要的作用。在以往对 AMI 患者的预后情况分析中多集中与 D-二聚体和血小板凝集因子,但随着研究的进一步探索发现血清 C 反应蛋白表达水平也可为 AMI 患者病情与预后评估提供参考,提示着 AMI 发展与患者体内炎症反应密切相关^[7-8]。在以往文献中有提出,稳定型心绞痛患者体内 Th17/Treg 比值失衡会导致其病情进展,进一步影响了动脉粥样硬化稳定性,也介导其炎症反应,充分说明 AMI 与患者自身免疫状态密切相关^[9]。血清中 ABL 属于细胞外抗氧化剂,可起到抑制血小板活化以及聚集作用。在 Yixin Xu 等^[10]人文献中发现初发 AMI 患者的风险与其血清中 ABL 表达为负相关,属于剂量-效应关系。NT-proBNP 来源于心肌细胞,在体内脑钠肽裂解的过程中产生,其在血浆中的稳定性较高,半衰期也较长。在心肌梗死后其会表现为急剧增加,但与心肌酶不同的是 NT-proBNP 并非来源于坏死细胞,其是属于心脏存活细胞所合成的,其只代表功能代偿^[11-12]。随着患者心室扩

表4 影响AMI患者PCI预后情况多元性Logistic回归分析

Table 4 Multivariate logistic regression analysis of PCI prognosis in patients with AMI

因素	回归系数	标准误差	Wald χ^2 值	OR	(95%CI)	P值
年龄	0.330	0.011	1.163	1.390	(1.361~1.421)	0.021
吸烟史	0.151	0.335	0.187	1.162	(0.603~2.224)	0.631
LVEF	-0.533	0.183	1.231	0.586	(0.409~0.840)	0.033
CRP	0.555	0.212	4.562	1.741	(1.149~2.639)	<0.001
ABL	0.151	0.335	2.314	1.162	(0.603~2.242)	0.112
GLB	0.167	0.331	1.032	1.181	(0.617~2.260)	0.342
A/G	-0.25	0.05	6.485	0.778	(0.706~0.858)	<0.001
NT-proBNP	-0.411	0.185	6.899	0.662	(0.463~0.949)	<0.001

张及压力超负荷增 NT-proBNP 在血浆中的释放量也随之成比例增加,其中左室室壁张力大小直接影响着 NT-proBN 的释放。急性心肌梗死中交感神经系统及肾素-血管紧张素-醛固酮系均会被激活,三者均可促进 NT-proBN 的合成^[13]。

在本文研究结果提示经 PCI 治疗后对患者病情有所改善,降低血浆 NT-proBNP 释放,改善心功能、血液粘稠度以及应激水平。在以往研究中有提出,年龄在 65 岁以上者进行 PCI 手术风险高,由于年龄增长患者机体调节能力以及各种器官的功能均明显下降,因此,对于老年患者老说疾病、手术都属于应激时间,导致其在术后恢复情况不如年龄较小患者,预后不佳的机率大^[14-15]。CRP 可反映出患者炎症反应的严重程度,由于 AMI 发生过程中存在大量的不稳定斑块,斑块的发生发展与炎症反应存在密切相关,提示患者 CRP 表达越高,其体内炎症反应越严重,斑块也更多,对患者手术后康复情况影响大^[16]。

LVEF、A/G、NT-proBNP 为保护因素,可较为准确的反应出患者左心整体收缩功能,在以往文献中指出对于 AMI 早期诊断不能使用 LVEF 进行判断,但对患者心功能损伤、心肌损伤程度做出准确的评估,此外也有文献指出,左心室收缩功能下降是导致 AMI 患者在院内死亡的高危因素中^[17]。而在术前患者 LVEF 水平更低则说明患者的左心室收缩功能损伤程度更高,直接影响到患者预后。在以往文献中提出^[18],NT-proBNP 水平高低与患者的左室重塑有相关性,可为患者预后提供参考,本研究结果提示其心室损伤情况严重,及时的进行 PCI 手术及时开通血管,可最大限度的抢救心肌缺血,改善患者心功能。预后不良者 A/G 比值要低于预后良好者,GLB 为组成血浆蛋白重要的成员之一,可反映机体血流以及血液粘稠度, GLB 表达增加也提示患者血液粘稠度增加,出现血栓风险增加^[19]。ABL 降低提示机体应激反应,

在疾病和手术的刺激下,患者应激反应增加,ABL 消耗也随之增加。而 ABL 对血小板活化以及聚集有抑制作用,降低后其作用减低,提示 A/G 水平与患者血流变学相关,在上述综合因素作用下,导致 PCI 患者术后预后不良机率增加^[20]。

综上所述,A/G、NT-proBNP 水平与患者预后相关,属于 AMI 患者 PCI 术后预后保护因素,可为其术后评估提供参考。

参考文献

- [1] 侯经远, 谢运泉, 赵平森, 等. 中国南方客家人群乙醛脱氢酶 2 基因多态性与急性心肌梗死的相关性研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 27(3):170-175.
- [2] 刘亚萍. 误诊疾病数据库 2004—2013 年单病种误诊文献研究:急性心肌梗死[J]. 临床误诊误治, 2016, 29(7):44-45.
- [3] 王海平, 梁振洋, 韩雅玲, 等. 早发 ST 段抬高急性心肌梗死患者的临床特点及预后分析[J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(4):279-284.
- [4] 唐玉立, 宿润霞, 张红艳. 杏丁注射液治疗梗死后心绞痛临床疗效观察[J]. 保健医学研究与实践, 2015, 12(3):56-57.
- [5] Wan-Zhi Chen, Shi-Tong Yu, Rong Xie, et al. Preoperative albumin/globulin ratio has predictive value for patients with laryngeal squamous cell carcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8(29):48240-48247.
- [6] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会, 《中国循环杂志》编辑委员会. 急性心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2001, 29(12):710-725.
- [7] Zhen Chen, Yingjie Shao, Hongwei Yao, et al. Preoperative albumin to globulin ratio predicts survival in clear cell renal cell carcinoma patients[J]. Oncotarget, 2015, 8(29):45-46.
- [8] Kim, IJ, Moon, J Youn, et al. Prognostic value of preoperative N-terminal pro-brain natriuretic peptide in non-cardiac surgery of elderly patients with normal left ventricular systolic function [J]. Geriatrics Gerontol Int, 2016, 16(10):1109-1116.
- [9] 王何平, 张建薇. 老年高尿酸血症并发急性心肌梗死患者危险因素分析[J]. 华南预防医学, 2020, 46(4):427-429.

(下转第 1500 页)

血清凋亡分子 caspase-3、P53 与突发性耳聋病情及治疗效果的相关性

王智超¹ 乐海桂^{2*}

[摘要] **目的** 研究血清凋亡分子 caspase-3、P53 与突发性耳聋病情及治疗效果的相关性。**方法** 选择 2018 年 9 月至 2019 年 6 月本院耳鼻喉科收治的 50 例突发性耳聋患者作为观察组,取同期体检的 50 例健康志愿者作为对照组,检测血清中 caspase-3、P53 的含量。评估观察组患者的病情及疗效,采用 ROC 曲线分析 caspase-3、P53 对疗效的预测价值。**结果** 观察组患者血清中 caspase-3、P53 的含量高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),且不同听力损伤程度及听力曲线类型患者比较,血清 caspase-3、P53 含量比较,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组中 caspase-3、P53 含量>中位数患者的治疗总有效率低于 caspase-3、P53 含量≤中位数的患者,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 caspase-3、P53 含量对疗效具有预测价值,最佳截点分别为 14.76 pg/mL、0.835 ng/mL。**结论** 血清凋亡分子 caspase-3、P53 增多与突发性耳聋的发生、病情加重及治疗效果可能有关。

[关键词] 突发性耳聋; 凋亡; caspase-3、P53; 疗效

Correlation between serum apoptosis molecules caspase-3, p53 and the disease condition and therapeutic effect of sudden deafness

WANG Zhichao¹, YUE Haigui^{2*}

(1. Otorhinolaryngology Department, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China, 430022; 2. Otorhinolaryngology Department, Sinopharm Dongfeng Maojian Hospital, Shiyan, Hubei, China, 442012)

[ABSTRACT] **Objective** To study the correlation between serum apoptotic molecules Caspase-3, p53 with the disease condition and the therapeutic effect of sudden deafness. **Methods** 50 patients with sudden deafness admitted to our hospital from September 2018 to June 2019 were selected as the observation group, and 50 healthy volunteers were selected as the control group. The serum levels of Caspase-3 and p53 were detected. The disease condition and curative effect of the observation group were evaluated, and the predictive value of Caspase-3 and p53 on curative effect was analyzed by ROC curve. **Results** The levels of serum caspase-3 and p53 in the observation group were higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$), and the differences of serum caspase-3 and p53 levels of patients with different degree of hearing impairment and type of hearing curve, the difference was statistically significant ($P<0.05$); the total effective rate of patients with Caspase-3, p53 content > median in the observation group was lower than that in the patients with caspase-3 and p53 content ≤ median, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum Caspase-3 and p53 levels have predicted value on curative effect, the best cut-off points 14.76 pg/mL, 0.835 ng/mL respectively. **Conclusion** The increase in serum apoptotic molecules caspase-3 and P53 is related to the occurrence, aggravation of the disease and the therapeutic effect of sudden deafness.

[KEY WORDS] Sudden deafness; Apoptosis; Caspase-3, p53; Curative effect

基金项目:湖北省自然科学基金青年项目(2017CFB269)

作者单位:1. 华中科技大学同济医学院附属协和医院耳鼻喉科,湖北,武汉 430022

2. 国药东风茅箭医院耳鼻喉科,湖北,十堰 442012

*通信作者:乐海桂, E-mail:yaquewu1971q@163.com

突发性耳聋是耳鼻咽喉科的常见疾病,以不明原因的瞬间听力损失为特征,以单侧发病多见,伴有耳闷胀感、耳鸣、眩晕等症状^[1]。目前,该病的发病机制尚不清楚,相关研究认为耳蜗微循环障碍、细胞凋亡异常激活可能与突发性耳聋的发生有关^[2-3]。P53蛋白及含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(cysteinyI aspartate specific proteinase-3, caspase-3)是两种参与耳蜗组织中细胞凋亡调控的分子,P53通过caspase依赖和caspase非依赖两种途径引起级联反应、促进细胞凋亡,caspase-3则直接执行细胞凋亡的过程。冷辉的动物实验发现,在顺铂诱导耳聋小鼠的耳蜗组织中caspase-3及P53表达增加^[4],但caspase-3及P53是否与突发性耳聋的发病有关并未见相关报道。因此,本研究将具体分析血清凋亡分子caspase-3、P53与突发性耳聋病情及治疗效果的相关性,旨在为阐明突发性耳聋的发病机制、发现突发性耳聋新的病情评价标志物提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2018年9月至2019年6月东风茅箭医院耳鼻喉科收治的50例突发性耳聋患者作为观察组,其中男性28例、女性22例,年龄37~59岁、平均(47.47±8.95)岁;另取同期体检的50例健康志愿者作为对照组,其中男性30例、女性20例,年龄35~60岁、平均(48.32±9.37)岁,两组间一般资料的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①符合《突发性耳聋诊断和治疗指南(2015)》^[5]中突发性耳聋的诊断标准并进行治疗;②入组时留取血清标准;③临床资料完整;排除标准:①合并中耳病变;②遗传及药物因素引起的听力下降;③既往有耳鼻手术史。

1.2 血清caspase-3、P53的检测

观察组患者入院后采集外周静脉血5~8 mL,对照组志愿者体检时采集外周静脉血5~8 mL,静置凝血后3 000转/分离心10 min,分离血清后采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海西唐公司)检测caspase-3、P53的含量,按照试剂盒说明书进行实验操作。

1.3 突发性耳聋病情的评估

采用听力损伤程度及听力曲线类型评估突发性耳聋的病情,听力损伤程度包括听阈26~40 d分贝听力水平(Decibel Hearing Level, BHL)的轻度缺

失、41~60 d BHL的中度缺失、61~80 d BHL的重度缺失、≥81 d BHL的极重度缺失;听力曲线类型包括≤1 k Hz任意频率下降>15 d BHL的低中频下降型、2 k Hz以上频率下降>15 d BHL的中高频下降型、各频率听阈均有下降且(0.5~4.0)k Hz听阈均值<80 d BHL的平坦下降型、各频率听阈均有下降且(0.5~4.0)k Hz听阈均值≥80 d BHL的全聋型。

1.4 治疗效果的评估

治疗后参照《突发性耳聋诊断和治疗指南(2015)》^[5]评估疗效,受损频率听力恢复正常为痊愈、听力增加30 d BHL为显效、听力增加15~30 d BHL为有效、听力增加<15 d BHL为无效。总有效为痊愈、显效及有效。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0及Prism6.0软件进行数据分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示、两组间比较采用 t 检验、多组间比较采用方差分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示、组间比较采用 χ^2 检验,预测疗效采用ROC曲线分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清caspase-3、P53含量的比较

与对照组比较,观察组患者血清中caspase-3、P53的含量明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清caspase-3、P53含量的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum caspase-3 and p53 contents between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Caspase-3(pg/mL)	P53(pg/mL)
观察组	50	17.67±5.29	0.98±0.29
对照组	50	6.58±1.31	0.39±0.10
t 值		14.389	13.600
P 值		0.000	0000

2.2 观察组中不同病情患者血清caspase-3、P53含量的比较

观察组中不同听力损伤程度血清caspase-3、P53含量及听力曲线类型患者比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 观察组中不同caspase-3、P53含量患者治疗效果的比较

与观察组中caspase-3、P53含量≤中位数的患者比较,caspase-3、P53含量>中位数患者的治疗总有效率较低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表2 观察组中不同病情患者血清 caspase-3、P53 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum caspase-3 and p53 contents in patients with different diseases condition in the observation group ($\bar{x} \pm s$)

病情	分类	n	Caspase-3 (pg/mL)	P53 (pg/mL)
听力损伤程度	轻度	11	8.95±2.44	0.54±0.14
	中度	19	15.52±4.08	0.79±0.22
	重度	13	22.13±5.77	1.21±0.29
	极重度	7	28.93±7.74	1.76±0.35
	F 值		28.391	23.575
	P 值		0.000	0.000
听力曲线类型	平坦型	15	7.58±2.23	0.49±0.14
	低中频下降型	18	14.58±3.24	0.80±0.24
	中高频下降型	7	26.39±8.85	1.22±0.31
	全聋型	10	32.26±9.12	1.87±0.36
	F 值		34.184	32.389
	P 值		0.000	0.000

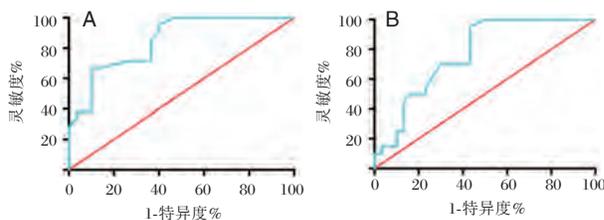
表3 观察组中不同 caspase-3、P53 含量患者治疗效果的比较 [n(%)]

Table 3 Comparison of treatment effect of patients with different levels of Caspase-3 and p53 in the observation group [n(%)]

指标	分类	n	总有效	无效
Caspase-3	>中位数	25	19(76.0)	6(24.0)
	≤中位数	25	11(44.0)	14(56.0)
	χ ² 值		5.333	
	P 值		0.021	
P53	>中位数	25	20(80.0)	5(20.0)
	≤中位数	25	10(40.0)	15(60.0)
	χ ² 值		8.333	
	P 值		0.004	

2.4 血清 caspase-3、P53 含量预测疗效的 ROC 曲线分析

血清 caspase-3、P53 含量预测疗效的 ROC 曲线下面积为 0.771 (95%CI: 0.642~0.899)。根据约登指数最大值确定最佳截点分别为 14.76 pg/mL、0.835 ng/mL。见图 1。



A 为血清 caspase-3 含量预测疗效的 ROC 曲线; B 为血清 P53 含量预测疗效的 ROC 曲线。

图1 血清 caspase-3、P53 含量预测疗效的 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve of serum caspase-3, P53 content predicting curative effect

3 讨论

突发性耳聋是造成听力损伤、影响生活质量的常见原因,表现为感音神经性耳聋,伴有耳闷胀感、耳鸣、眩晕等症状。该病的病理生理改变复杂,关于致病因素、发病机制等均不十分清楚,临床治疗常采用激素、改善循环、高压氧等方式,但疗效差异较大^[6-8]。目前关于突发性耳聋的研究认为,听力损伤程度及听力曲线类型影响治疗效果,听力损伤程度越高以及全聋型患者的治疗效果较差^[9-10]。

近些年,越来越多的学者开始关注突发性耳聋的发病机制,也有多种标志物被证实对治疗效果具有评估价值。微循环障碍、细胞凋亡等引起耳蜗功能降低是目前已知与感音神经性耳聋发生密切相关的因素,血管硬化、内皮损伤、血栓形成等引起耳蜗微循环障碍后,局部毛细胞会发生过度凋亡,进而引起听力降低^[11-12]。已有研究报道,胆固醇代谢指标、同型半胱氨酸代谢指标、C 反应蛋白、内皮细胞特异性分子-1 等与微循环障碍相关的标志物在突发性耳聋患者血清中存在异常且与预后及疗效有关^[13-16],但凋亡标志物在突发性耳聋病情评估中的作用尚不清楚。

本研究选择凋亡分子 caspase-3 及 P53 作为评估突发性耳聋的标志物。已有动物实验表明,在顺铂诱导耳聋小鼠的耳蜗组织中 caspase-3 及 P53 的表达均明显增加,P53 能够通过信号转导促进 caspase-3 表达,进而由 caspase-3 来执行细胞凋亡过程。P53 及 caspase-3 异常高表达能够释放进入血液循环,脑血管疾病相关的研究证实,脑梗死患者血清中 P53 及 caspase-3 的含量明显增加且与神经损伤程度密切相关。本研究结果表明 P53 及 caspase-3 的增多与突发性耳聋的发病有关,这也与既往其他学者关于凋亡与突发性耳聋的相关研究结果吻合。

突发性耳聋的病情轻重不一,听力损伤程度及听力曲线类型是评估病情的常用方法,听力损伤程度越重、提示病情越重;听力曲线类型中全聋型的病情最重,中高频下降型可能由毛细胞损伤引起、病情较重,由内耳血管痉挛引起的平坦型及内耳膜迷路积水引起的低中频下降型病情较轻。本研究结果发现:随着听力损伤程度及听力曲线类型的加重,血清中 P53 及 caspase-3 的含量明显增加,表明 P53 及 caspase-3 的增加与突发性耳聋病情的加重有关。已有研究表明,听力损伤程度及听力曲线类型

是影响突变型耳聋治疗效果的因素,本研究结果发现:P53及caspase-3含量增加会使治疗总有效率降低,且P53及caspase-3对疗效具有预测价值。

综上所述,血清凋亡分子caspase-3、P53增多与突发性耳聋的发生、病情加重及治疗效果可能有关,未来caspase-3、P53有望作为突发性耳聋的病情评估标志物用于临床,同时也为今后研究细胞凋亡在突发性耳聋中的作用机制提供了新思路。

参考文献

[1] Kuo CY, Chung CH, Wang CH, et al. Increased incidence in hospitalised patients with sudden sensorineural hearing loss: a 14-year nationwide population-based study [J]. *Int J Audiol*, 2019, 58(11):769-773.

[2] Ali AH, Salahuddin Z, Salim R. Sudden sensorineural hearing loss: A missed opportunity for treatment [J]. *Malays Fam Physician*, 2018, 13(3):29-30.

[3] Chen X, Fu YY, Zhang TY. Role of viral infection in sudden hearing loss [J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(7):2865-2872.

[4] 冷辉,孙海波,马贤德,等.川芎嗪对顺铂诱导的豚鼠耳聋模型耳蜗组织p53及caspase3表达影响[J].*辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(7):17-20.

[5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会.突发性耳聋诊断和治疗指南(2015) [J].*中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 50(6):443-447.

[6] Liu XH, Liang F, Jia XY, et al. Hyperbaric Oxygen Treatment Improves Hearing Level via Attenuating TLR4/NF- κ B Mediated Inflammation in Sudden Sensorineural Hearing Loss Patients [J]. *Biom Env Sci*, 2020, 33(5):331-337.

[7] Han JJ, Jung JY, Park KH, et al. Nimodipine and Steroid Combination Therapy for Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss [J]. *Otol Neurotol*, 2020, 41(7):e783-e789.

[8] Tong B, Niu K, Ku W, et al. Comparison of Therapeutic Results with/without Additional Hyperbaric Oxygen Therapy in Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss: A Randomized Prospective Study [J]. *Audiol Neurootol*, 2020, 12:1-6.

[9] 胡潇红,宁荣霞.突发性耳聋的发病机制与治疗康复现状 [J].*中国康复*, 2020, 35(9):496-500.

[10] 陆俊,洪惠敏,沈伟,等.突发性耳聋120例疗效与预后的影响因素分析 [J].*上海医药*, 2016, 37(5):45-48.

[11] Rodrigues JC, Bachi ALL, Silva GAV, et al. New Insights on the Effect of TNF Alpha Blockade by Gene Silencing in Noise-Induced Hearing Loss [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8):2692.

[12] Fröhlich F, Gröschel M, Strübing I, et al. Apoptosis in the cochlear nucleus and inferior colliculus upon repeated noise exposure [J]. *Noise Health*, 2018, 20(97):223-231.

[13] 邵敏敏,胡建文,项松洁,等.血清总胆固醇水平对全聋型突发性耳聋预后影响的前瞻性队列研究 [J].*中国循证医学杂志*, 2018, 18(1):8-12.

[14] Huang Y, Lv T, Xie M, et al. Blood homocysteine and folic acid levels may provide reference value for the treatment of sudden total frequency deafness [J]. *Ann Palliat Med*, 2019, 8(5):604-610.

[15] Öçal R, Akın Öçal FC, Güllüev M, et al. Is the C-reactive protein/albumin ratio a prognostic and predictive factor in sudden hearing loss? [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2020, 86(2):180-184.

[16] Gündoğan F, Bayram A, Kalkan M, Plasma levels of endothelial cell-specific molecule-1 and pentraxin-3 in idiopathic sudden sensorineural hearing loss [J]. *J Laryngol Otol*, 2018, 132(11):995-999.

(上接第1496页)

[10] Yixin Xu, Xuezhong Xu, Cheng Xi, et al. Prognostic value of preoperative albumin to globulin ratio in elderly patients with rectal cancer [J]. *Medicine*, 2019, 98(24):16066.

[11] 袁李礼,胡松,刘翔.基于代谢组学的急性心肌梗死患者PCI术后近期预后的初步研究 [J].*中国医师杂志*, 2018, 20(7):1046-1048.

[12] 王倩梅,贾文元,赵鹏,等.U50488H对感染性休克大鼠的脏器保护作用 [J].*中华急诊医学杂志*, 2019, 28(8):989-994.

[13] Hiroyuki Fujikawa, Yuji Toiyama, Yasuhiro Inoue, et al. Prognostic Impact of Preoperative Albumin-to-Globulin Ratio in Patients with Colon Cancer Undergoing Surgery with Curative Intent [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(3):1335-1342.

[14] 刘亚萍,杨婷婷,胡秀芬,等.N末端脑钠肽前体诊断不完全川崎病急性期临床意义 [J].*中国实用儿科杂志*, 2016, 31(5):365-368.

[15] 周莉莎,赵珍珍,李贵星,等. Value of hs-cTnT and NT-proBNP in patients with acute myocardial infarction prognosis%hs-cTnT和NT-proBNP在急性心肌梗死患者预后中的

价值研究 [J].*中国实验诊断学*, 2016, 20(11):1859-1863.

[16] 鲁敏,孙琳,秦兴雷.前白蛋白和N末端脑利钠肽前体对老年心力衰竭患者预后的影响 [J].*中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 33(9):848-851.

[17] Fei Zhang, Peng Sun, ZhiQiang Wang, et al. Low preoperative albumin - globulin score predicts favorable survival in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(21):13-14.

[18] 刘玉杰.主动脉内球囊反搏联合PCI改善急性心肌梗死合并心源性休克患者预后的研究 [J].*海南医学院学报*, 2016, 22(1):66-67.

[19] Marlin Wayne Causey MD, Niten Singh MD. Clinical Implications of B-type Natriuretic Peptide (BNP) and N-terminal proBNP (NT-proBNP) In the Care of the Vascular Surgery Patient [J]. *Seminars in Vascular Surgery*, 2015, (27):3-4.

[20] 刘锦全.急性心肌梗死治疗期间血压变异性、尿酸酸的变化及其与冠脉Gensini积分的关系 [J].*热带医学杂志*, 2016, 16(10):1316-1319.

RDW在COPD患者并发不同程度肺动脉高压的表达及相关性

梁彩妮^{1*} 廖永城² 邱宇² 陈茂豪¹

[摘要] **目的** 探究红细胞分布宽度(RDW)在慢性阻塞性肺疾病(COPD)并发不同程度肺动脉高压(PH)患者中的表达及相关性。**方法** 选取本院2018年1月至2020年1月收治190例COPD患者,根据患者肺动脉收缩压(SPAP)分为正常组($n=83$)、轻度PH组($n=56$)、中度PH组($n=30$)和重度PH组($n=21$),对比4组肺功能、血气指标、心功能、血清炎症细胞因子、尿酸(UA)、脑钠肽(BNP)及RDW等指标,直线相关性分析RDW与各指标的相关性,受试者工作特征曲线(ROC)评估RDW对于COPD合并PH的价值。**结果** 重度PH组FEV1、FEV1/FVC、PaO₂、SaO₂均<中度PH组<轻度PH组<正常组,PaCO₂、MPA、RVOTD、RV、IL-6、IL-8、TNF- α 、hs-CRP、UA、BNP及RDW均>中度PH组>轻度PH组>正常组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。各组性别、年龄、吸烟率、LVEF、LVESD、LVEDD、E/A比较差异无统计学意义($P>0.05$)。相关性分析结果显示,COPD并发不同程度PH患者RDW与IL-6、TNF- α 、hs-CRP、BNP及COPD并发PH严重程度存在正相关性($P<0.05$),与其余指标无相关性($P>0.05$)。以RDW、BNP作为COPD并发PH的预测指标进行ROC曲线分析结果显示,RDW诊断COPD并发PH的AUC为0.848(95%CI:0.786~0.910),BNP诊断COPD并发PH的AUC为0.856(95%CI:0.785~0.927)。**结论** RDW与COPD患者机体炎症状态存在密切关系,有助于评估COPD并发肺动脉高压患者病情发生发展。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病;肺动脉高压;红细胞分布宽度;相关性

Expression and correlation of RDW in COPD patients with different degrees of pulmonary hypertension

LIANG Caini^{1*}, LIAO Yongcheng², QIU Yu², CHEN Maohao¹

(1. Department of Radiology, The Second People's Hospital of Shantou, Shantou, Guangdong, China, 515041; 2. Department of Internal Medicine, The Second People's Hospital of Shantou, Shantou, Guangdong, China, 515041)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the expression and correlation of red blood cell distribution width (RDW) in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) complicated with pulmonary hypertension (PH). **Methods** A total of 190 COPD patients were selected in this hospital from January 2018 to January 2020, and according to the pulmonary artery systolic pressure (SPAP), patients were divided into the normal group ($n=83$), the mild PH group ($n=56$), the moderate PH group ($n=30$) and the severe PH group ($n=21$). The lung function, blood gas indexes, heart function, serum inflammatory cytokines, uric acid (UA), brain natriuretic peptide (BNP) and RDW were measured and compared in 4 groups. The correlation between RDW and various indicators was analyzed, and the receiver operating characteristic curve (ROC) was used to

基金项目:汕头市科技计划项目(汕府科[2017]119号-1)

作者单位:1. 广东省汕头市龙湖区第二人民医院放射科,广东,汕头 515041

2. 广东省汕头市龙湖区第二人民医院内科,广东,汕头 515041

*通信作者:梁彩妮, E-mail:cidangyisihuan@163.com

evaluate the value of RDW for COPD combined with PH. **Results** The indicators of FEV1, FEV1/FVC, PaO₂, SaO₂: The severe PH group < the moderate PH group < the mild PH group < the normal group. PaCO₂, MPA, RVOTD, RV, IL-6, IL-8, TNF- α , hs-CRP, UA, BNP and RDW: The severe PH group > the moderate PH group > the mild PH group > the normal group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in gender, age, smoking rate, LVEF, LVESD, LVEDD, E/A among the groups ($P > 0.05$). Correlation analysis results showed that RDW of patients with COPD complicated with PH of varying degrees was positively correlated with IL-6, TNF- α , hs-CRP, BNP, and COPD with PH severity ($P < 0.05$), but no correlation with other indicators ($P > 0.05$). RDW and BNP were used as predictors of COPD with PH and ROC curve analysis results show that the AUC of RDW for the diagnosis of COPD with PH was 0.848 (95% CI: 0.786-0.910), and the AUC of BNP for the diagnosis of COPD with PH was 0.856 (95% CI: 0.785-0.927). **Conclusion** RDW is closely related to the inflammatory state of COPD patients, which helps to evaluate the development of COPD patients with pulmonary hypertension.

[KEY WORDS] Chronic obstructive pulmonary disease; Pulmonary hypertension; Red blood cell distribution width; Correlation

慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)为临床上发病率较高的一类慢性呼吸道疾病,其主要特点为不完全可逆性阻塞通气功能障碍。COPD晚期并发肺动脉高压(Pulmonary hypertension, PH)是改变患者预后的主要原因,也是导致患者死亡的主要因素^[1]。COPD并发PH的机制复杂,研究认为吸烟、低氧血症的COPD患者存在肺血管结构异常和血管内皮功能障碍,从而导致肺血管收缩、内皮源性收缩血管因子和舒张血管因子平衡失调及血管阻力增加进而导致了继发性肺动脉高压的发生^[2-3]。目前,对于COPD肺动脉高压的检测以超声和肺动脉导管直接测量为主,因而通过寻找便捷、高效的检测方法对于预测COPD患者PH发生及提升诊断准确性具有重要意义。红细胞分布宽度(Red blood cell distribution width, RDW)为评估红细胞异质的参数,可作为呼吸系统疾病、心血管疾病、恶性肿瘤等的有效预测指标^[4]。近年来有研究显示^[5],RDW与肺动脉高压存在相关性,但其能否作为COPD患者PH发生发展评估的可靠指标仍需探究。因此,本研究对RDW在COPD患者并发不同程度肺动脉高压的表达及相关性进行了研究,具体如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2018年1月至2020年1月收治190例COPD患者。根据COPD患者肺动脉收缩压^[7](Systolic pulmonary artery pressure, SPAP)分为正

常组(PAP<35 mmHg)、轻度PH组(35 mmHg≤PAP<50 mmHg)、中度PH组(50 mmHg≤PAP<70 mmHg)和重度PH组(≥70 mmHg)。

纳入标准:①符合COPD稳定期的诊断标准^[6];②均自愿签署知情同意书;③依从性良好,能够配合完成研究;④本研究内容获得医学伦理委员会批准通过。排除标准:①合并哮喘、肺癌等其他呼吸道疾病者;②肝、肾等重要脏器功能障碍、急慢性感染、免疫功能障碍、脑血管疾病、内分泌疾病及心血管疾病史者;③临床资料缺失者;④存在交流障碍者。各组性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 肺功能检测及血气分析

所有患者采用Master Sreen Diffusior肺功能检测仪(德国Jaeger公司)测定第1秒用力呼气量(FEV1)、用力肺活量(FVC)、并计算用力呼气量占用力肺活量比值(FEV1/FVC)。所有患者抽取股动脉或桡动脉血1mL,采用CCX Y04111020型血气分析仪(美国Nova Biomedical公司)测定动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血氧饱和度(SaO₂)明显降低,二氧化碳分压(PaCO₂)。

1.2.2 心脏彩超检查

所有患者采用三尖瓣压差法检测SPAP,采用Vivid7-BT06型彩色多普勒超声诊断仪(美国GE公司)行超声心动图检测,测量肺动脉主干内径(MPA)、右心室流出道内径(RVOTD)、右心室前后径(RV)评估右心室负荷,测定左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、

左心室舒张早期(E)与收缩期(A)二尖瓣前向血流速度,并计算左心室射血分数(LVEF)和E/A评估左心室收缩功能和舒张功能。

1.2.3 实验室指标检测

所有患者采集空腹静脉血 3 mL 置入肝素钠抗凝管中,3 000 r/min 离心 10 min 收集血清,-70℃ 保存待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清白介素-6(IL-6)、IL-8、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、超敏C反应蛋白(hs-CRP),试剂盒购自上海生工生物工程技术有限公司;采用化学发光免疫分析法(CMIA)测定脑钠肽(BNP)水平,采用尿酸酶-过氧化物酶法测定,试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。RDW 采用全自动血液分析仪进行检测。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析,计数资料 $n(\%)$ 比表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两两比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;RDW 与各指标的相关性采用 Pearson 相关分析;受试者工作特征曲线(Receiver operating characteristic, ROC)分析 RDW 对于 COPD 并发 HP 的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床一般资料及实验室指标比较

FEV1、FEV1/FVC、PaO₂、SaO₂ 水平比较:重度 PH 组 < 中度 PH 组 < 轻度 PH 组 < 正常组,PaCO₂、MPA、RVOTD、RV、IL-6、IL-8、TNF-α、hs-CRP、UA、BNP 及 RDW 均 > 中度 PH 组 > 轻度 PH 组 > 正常组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。各组性别、年龄、吸烟率、LVEF、LVESD、LVEDD、E/A 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 COPD 合并 PH 患者 RDW 水平与各指标的相关性分析

相关性分析结果显示,COPD 并发不同程度 PH 患者 RDW 与 IL-6、TNF-α、hs-CRP、BNP 及 COPD 并发 PH 严重程度存在正相关性($P < 0.05$),与其余指标无相关性($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 ROC 曲线分析

以 RDW、BNP 作为 COPD 并发 PH 的预测指标进行 ROC 曲线分析结果显示,RDW 诊断 COPD 并发 PH 的 AUC 为 0.848(95%CI:0.786~0.910),BNP 诊断 COPD 并发 PH 的 AUC 为 0.856(95%CI:0.785~0.927)。见图 1。

表 1 各组临床一般资料及实验室指标比较 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of general clinical data and laboratory indicators of each groups [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

项目	正常组($n=83$)	轻度 PH 组($n=56$)	中度 PH 组($n=30$)	重度 PH 组($n=21$)	F/χ^2 值	P 值
性别(男/女)	48/35	34/22	18/12	13/8	0.379	0.945
年龄(岁)	61.3±4.4	59.8±4.6	60.7±4.3	60.8±4.5	0.463	0.644
吸烟率(%)	23(27.7)	17(30.4)	9(30.0)	6(28.6)	0.133	0.988
FEV1(%)	2.0±0.4	1.8±0.3 ^a	1.4±0.2 ^{ab}	1.2±0.3 ^{abc}	8.563	0.000
FEV1/FVC(%)	52.3±3.5	48.5±3.3 ^a	40.7±3.1 ^{ab}	36.1±2.6 ^{abc}	19.840	0.000
PaO ₂ (mmHg)	67.3±3.5	60.6±5.5 ^a	53.7±5.0 ^{ab}	50.3±5.3 ^{abc}	13.949	0.000
SaO ₂ (%)	90.4±7.6	87.3±6.5 ^a	84.2±6.4 ^{ab}	80.6±6.9 ^{abc}	5.372	0.000
PaCO ₂ (mmHg)	44.2±3.9	49.6±4.2 ^a	60.1±3.1 ^{ab}	67.5±4.4 ^{abc}	23.829	0.000
MPA(mm)	25.5±1.8	23.5±1.1 ^a	21.8±1.6 ^{ab}	20.2±1.3 ^{abc}	12.663	0.000
RVOTD(mm)	31.3±2.7	29.1±2.0 ^a	27.4±1.6 ^{ab}	26.3±1.4 ^{abc}	11.747	0.000
RV(mm)	27.2±1.9	24.3±1.6 ^a	22.5±1.4 ^{ab}	20.8±1.6 ^{abc}	14.201	0.000
LVEF(%)	63.3±5.8	61.9±5.4	63.2±5.6	62.7±5.9	0.422	0.674
LVESD(mm)	45.6±4.0	46.2±4.4	46.0±4.2	45.8±4.5	0.200	0.842
LVEDD(mm)	30.3±2.6	30.9±2.8	31.1±2.9	30.4±2.7	0.156	0.876
E/A	0.8±0.3	0.8±0.3	0.8±0.3	0.9±0.4	1.271	0.207
IL-6(pg/mL)	10.1±2.4	12.9±1.8 ^a	14.6±2.3 ^{ab}	17.7±1.7 ^{abc}	13.648	0.000
IL-8(μg/L)	65.3±5.9	77.3±5.4 ^a	94.5±9.2 ^{ab}	108.4±10.2 ^{abc}	18.593	0.000
TNF-α(μg/L)	55.5±6.9	67.6±6.3 ^a	76.5±8.6 ^{ab}	88.4±8.5 ^{abc}	18.599	0.000
hs-CRP(mg/L)	10.3±2.2	13.6±1.8 ^a	16.1±2.4 ^{ab}	18.3±2.0 ^{abc}	15.147	0.000
UA(μmol/L)	240.8±18.1	275.3±14.7 ^a	353.6±22.2 ^{ab}	393.5±24.7 ^{abc}	31.943	0.000
BNP(pg/mL)	51.6±5.4	134.4±13.2 ^a	173.6±13.5 ^{ab}	192.6±23.5 ^{abc}	27.314	0.000
RDW(%)	12.2±1.1	13.6±1.3 ^a	14.6±0.9 ^{ab}	15.9±1.5	12.739	0.000

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与轻度 PH 组比较,^b $P < 0.05$;与中度 PH 组比较,^c $P < 0.05$ 。

表2 COPD合并PH患者RDW水平与各指标的相关性
Table 2 Correlation analysis of RDW level and various indicators in patients with COPD and PH

项目	RDW		项目	RDW	
	r值	P值		r值	P值
PH严重程度	0.492	0.000	LVEDS	0.154	0.113
FEV1	0.170	0.080	LVEDD	0.178	0.067
FEV1/FVC	0.146	0.134	E/A	0.181	0.062
PaO ₂	0.158	0.104	IL-6	0.557	0.000
SaO ₂	0.152	0.118	IL-8	0.165	0.09
PaCO ₂	0.177	0.068	TNF-α	0.627	0.000
MPA	0.142	0.145	hs-CRP	0.735	0.000
RVOTD	0.130	0.182	UA	0.149	0.126
RV	0.163	0.093	BNP	0.546	0.000
LVEF	0.155	0.111	-	-	-

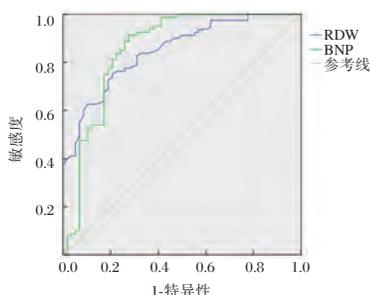


图1 RDW及BNP诊断COPD发生PH的ROC曲线
Figure 1 ROC curve of RDW and BNP diagnosis of PH in COPD

3 讨论

COPD并发肺动脉高压是导致患者病情急速进展和预后不良的严重并发症,患者存在不同程度血管内皮细胞功能改变、血管收缩、肺部损伤、肺部血管重塑及炎症反应等,患者常伴有内皮素、尿酸、BNP、炎症因子等的改变^[8-9]。本研究结果提示,相比于单纯COPD患者,COPD并发肺动脉高压患者肺功能明显降低,病情明显加重。COPD合并肺动脉高压肺通气功能严重受损,患者FEV1/FVC及FEV1明显降低,长时间的通气受损导致PaCO₂升高及PaO₂降低。同时,COPD并发肺动脉高压患者MPA、RVOTD、RDW也明显升高,提示COPD并发肺动脉高压存在明显的右心室功能不全。

研究显示^[10],IL-6与COPD并发肺动脉高压形成存在密切关系。CRP为一种急性时相反应蛋白,是系统炎症的有效标志物,其参与了COPD病情发生发展及并发肺动脉高压的病理过程^[11]。TNF-α为炎症诱导因子,可调控和介导肺血管结构重构,在肺动脉高压的发展中发挥关键作用。

IL-8为趋化因子家族的一种,参与了对炎症反应的调节。肺动脉高压以肺血管阻力增高为主要特征,这主要是COPD患者病情多反复且机体存在明显的炎症,导致临近小动脉受累及,引发血管炎、管腔狭窄、管壁增厚甚至闭塞,从而使血管阻力增加,产生肺动脉高压^[12]。BNP不仅是左心衰竭的敏感指标,也是右心室功能不全及肺动脉高压的有效指示指标。研究证实^[13],血清BNP水平与COPD急性加重相关,是COPD预后不良的独立危险因素。

RDW反映了红细胞体积大小变异系数,红细胞的生成、成熟、转运等过程若受到疾病的影响都可以影响RDW水平,因此RDW指标具有准确性、客观性的特点。研究显示^[14],RDW可影响急性肺动脉栓塞患者血流动力学参数,并与急性肺动脉栓塞病死率存在密切关系。COPD患者呼吸系统长期处于低血氧、应激及炎症状态,导致局部肺毛细血管损伤,肺组织受损,肺部血流阻力增大,导致肺动脉压升高,炎症因子升高从而影响到血细胞的生长过程,导致RDW升高^[15]。研究显示,IL-6、TNF-α等炎症细胞因子可抑制促红细胞生成素的分泌和活性影响红细胞成熟,导致RDW升高^[16],因此RDW对于反应单纯COPD及COPD并发肺动脉高压患者机体炎症水平具有较好的意义。本研究结果提示RDW在一定程度上可预测COPD并发肺动脉高压的发生。同时,RDW检测具有简便、快捷、无创的特点,因而可作为COPD继发肺动脉高压的预测因子之一。

综上所述,RDW与COPD患者机体炎症状态存在密切关系,有助于评估COPD并发肺动脉高压患者病情发生发展。

参考文献

- [1] 徐向前,徐倍琪,郭晓燕,等.加味川芎平喘合剂治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期合并肺动脉高压的临床疗效观察[J].中华中医药杂志,2019,34(7):3338-3340.
- [2] LaFon DC, Bhatt SP, Labaki WW, et al. Pulmonary artery enlargement and mortality risk in moderate to severe COPD: results from COPDGene[J]. Eur Res J, 2020,55(2):1901812.
- [3] Gredic Marija, Blanco Isabel, Kovacs Gabor, et al. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease[J]. British J pharmacol, 2020,21(5):892-905.
- [4] Rahimirad S, Ghafari M, Ansarin K, et al. Elevated red blood cell distribution width predicts mortality in acute exacerbation of COPD[J]. Pneumologia (下转第1509页)

N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP 在鼻咽癌放疗后骨转移中诊断及预后中的价值

王林¹ 纪东^{1*} 许全一²

[摘要] 目的 探究N端骨钙素(N-Osrteoc)、 β -胶原特殊系列(β -Crosslaps)、总I型胶原氨基端延长肽(TPINP)在鼻咽癌放疗后骨转移中诊断及预后中的价值。方法 选取本院2015年3月至2018年3月鼻咽癌放疗后骨转移患者89例作为转移组,放疗后未发生骨转移患者37例作为未转移组。比较两组临床资料、血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平,采用Pearson相关性分析转移组血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP与常规肿瘤标志物相关性,受试者工作特征(ROC)曲线评价上述指标诊断价值,随访2年,统计转移组2年生存率,并采用Kaplan-Meier曲线进行生存分析。结果 转移组血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平高于未转移组($P<0.05$);血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP与CEA、CYFRA21-1呈正相关($P<0.05$);血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平联合检测诊断鼻咽癌放疗后骨转移的AUC最大,为0.872,敏感度为82.02%,特异度为83.78%;血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP高危患者2年生存率低于低危患者($P<0.05$)。结论 临床可通过监测N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平评估鼻咽癌患者放疗后骨转移情况,有利于为患者预后评估提供参考依据。

[关键词] N-Osrteoc; β -Crosslaps; TPINP; 鼻咽癌; 骨转移; 肿瘤标志物; 预后

The value of N - Osrteoc, β - Crosslaps and TPINP in the diagnosis and prognosis of bone metastases after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma

WANG Lin¹, JI Dong^{1*}, XU Tongyi²

(1. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000; 2. Emergency Department of the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] Objective To explore the value of N-terminal osteocalcin (N-Osrteoc), β -collagen special series (β -Crosslaps), and total type I collagen N-terminal extension peptide (TPINP) in the diagnosis and prognosis of bone metastases after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. Methods From March 2015 to March 2018 in our hospital, 89 patients with bone metastasis after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma were selected as the metastasis group, and 37 patients without bone metastasis after radiotherapy were selected as the non-metastasis group. The clinical data, serum N-Osrteoc, β -Crosslaps, and TPINP levels were measured and compared between the two groups. Pearson correlation was used to analyze the correlation between serum N-Osrteoc, β -Crosslaps, TPINP and conventional tumor markers in the metastasis group. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic value of the above indicators, followed up for 2 years, the 2-year survival rate of the metastasis group was counted, and the Kaplan-Meier curve was used for survival analysis. Results The levels of serum N-Osrteoc, β -Crosslaps and TPINP in the metastasis group were higher than those in the non-metastasis group ($P<0.05$). Serum N-Osrteoc, β -Crosslaps, TPINP were positively correlated with CEA and CYFRA21-1 ($P<0.05$). The combined detection of serum

基金项目:安徽省自然科学基金项目(1608085MH163)

作者单位:1. 安徽省芜湖市第二人民医院耳鼻喉头颈外科,安徽,芜湖 241000

2. 安徽省芜湖市第二人民医院急诊科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:纪东, E-mail: x05532006@163.com

N - Osrteoc, β - Crosslaps, and TPINP levels in the diagnosis of bone metastases after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma has the largest AUC of 0.872, sensitivity of 82.02%, and specificity of 83.78%. The 2-year survival rate of high-risk patients with serum N-Osrteoc, β -Crosslaps, and TPINP was lower than that of low-risk patients ($P < 0.05$). **Conclusion** Monitoring the levels of N-Osrteoc, β -Crosslaps, and TPINP can be used to assess bone metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma after radiotherapy, which is helpful to provide a reference for the prognosis evaluation of patients.

[KEY WORDS] N - Osrteoc; β - Crosslaps; TPINP; Nasopharyngeal carcinoma; Bone metastasis; Tumor markers; Prognosis

鼻咽癌为临床常见恶性肿瘤,其中95%以上为低分化鳞状细胞癌,具有较高的恶性程度,易发生骨、肝、肺转移,其中骨转移发生率达7.1%~63.9%^[1-2]。放射性核素骨显像可通过骨盐代谢及骨骼血供情况评估恶性肿瘤患者是否发生骨转移,但对于隐匿病灶检出率有限^[3]。骨髓细胞代谢产物对肿瘤细胞有趋化作用,从而导致肿瘤发生骨转移,促使成骨细胞形成骨基质,破骨细胞降解骨基质,造成骨代谢紊乱,同时引起相应骨转换标志物表达水平异常变化^[4]。因此,科学筛选骨转换标志物作为监测指标,对鼻咽癌放疗后骨转移诊断、病情控制及预后评估具有重要意义。N端骨钙素(N-Osrteoc)、 β -胶原特殊系列(β -Crosslaps)、总I型胶原氨基端延长肽(TPINP)均为常用骨转换标志物,但其在鼻咽癌放疗后骨转移患者中诊断价值如何,临床鲜有研究,基于此,本研究从骨代谢角度对鼻咽癌放疗后患者进行观察,旨在弥补影像学检查和常规肿瘤标志物对骨转移诊断和预后评价的不足。现将具体结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2015年3月至2018年3月鼻咽癌放疗后骨转移患者89例作为转移组,放疗后未发生骨转移患者37例作为未转移组。入选标准:经内镜病理检查确诊为鼻咽癌;转移组均行放射性核素骨显像检查确诊;均知情本研究并签署同意书。排除标准:影响骨代谢的内分泌疾病,近3个月内出现过骨折或接受双磷酸盐、激素、钙制剂治疗者;合并其他恶性肿瘤者。

1.2 方法

取晨空腹静脉血3 mL,室温凝固,以3 500 r/min的转速离心10 min(离心半径:8 cm),分离取上层血清,置于-80℃恒温箱待测。采用德国罗氏公司CobasE-601全自动电化学发光免疫分析仪及

配套试剂盒以电化学发光免疫法测定N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP、癌胚抗原(CEA)及细胞角蛋白19片段21-1(CYFRA21-1)水平。

1.3 观察指标

①比较两组临床资料,包括年龄、性别、病理类型(角化癌、未分化型非角化癌、分化型非角化癌)、临床分期(I b期、II期、III期)、肿瘤家族史、卡氏功能(KPS)评分(>70分、 ≤ 70 分)、血红蛋白(Hb)是否正常、常规肿瘤标志物(CEA、CYFRA21-1)。②比较两组血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平。③采用Pearson相关性分析转移组血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP与常规肿瘤标志物相关性。④受试者工作特征(ROC)曲线评价血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平对鼻咽癌放疗后骨转移的诊断价值。⑤随访2年,统计转移组2年生存率。⑥采用Kaplan-Meier曲线对鼻咽癌放疗后骨转移患者进行生存分析。

1.4 统计学处理

采用SPSS 23.0软件进行处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验,等级资料采用Ridit检验,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,用 t 检验,采用Pearson相关系数模型分析相关性;采用ROC曲线,获取曲线下面积、置信区间、敏感度、特异度及cut-off值,用DeLong检验,采用Kaplan-Meier曲线进行生存分析,均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

两组病理类型、肿瘤家族史、KPS评分、Hb等资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组年龄、性别、临床分期、血清CEA、CYFRA21-1水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

2.2 两组血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平

转移组血清N-Osrteoc、 β -Crosslaps、TPINP水平高于未转移组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

表1 两组临床资料比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of clinical data between 2 groups [n(%)]

资料	转移组 (n=89)	未转移组 (n=37)	t/χ ² / u 值	P 值
年龄(岁)				
≥50	61(68.54)	12(32.43)	13.981	<0.001
<50	28(31.46)	25(67.57)		
性别				
男	58(65.17)	7(18.92)	22.384	<0.001
女	31(34.83)	30(81.08)		
病理类型				
角化癌	9(10.11)	4(10.81)	0.244	0.885
未分化型	7(7.87)	2(5.41)		
非角化癌	73(82.02)	31(83.78)		
临床分期				
I b 期	13(14.61)	12(32.43)	3.103	0.002
II 期	29(32.58)	17(45.95)		
III 期	47(52.81)	8(21.62)		
肿瘤家族史				
有	11(12.36)	3(8.11)	0.145	0.704
无	78(87.64)	34(91.89)		
KPS 评分(分)				
>70	50(56.18)	25(67.57)	1.407	0.236
≤70	39(43.82)	12(32.43)		
Hb				
正常	82(92.13)	34(91.89)	0.002	0.963
异常	7(7.87)	3(9.11)		
常规肿瘤标志物				
CEA (ng/mL)	20.61±4.27	13.25±3.71	9.143	<0.001
CYFRA21-1 (ng/mL)	22.86±6.65	15.63±4.92	5.964	<0.001

表2 两组血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum N-Osrteoc, β-Crosslaps and TPINP levels between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	N-Osrteoc (μg/L)	β-Crosslaps (ng/L)	TPINP (μg/L)
转移组	89	18.34±4.49	681.16±225.44	87.52±29.01
未转移组	37	14.13±3.76	430.57±142.39	46.29±15.57
t 值		5.016	8.866	8.158
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 转移组血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 与常规肿瘤标志物相关性

Pearson 相关性分析,转移组血清 N-Osrteoc($r=$

0.881、0.800)、β-Crosslaps($r=0.789、0.773$)、TPINP($r=0.770、0.760$)与 CEA、CYFRA21-1 呈正相关($P<0.05$),见图 1。

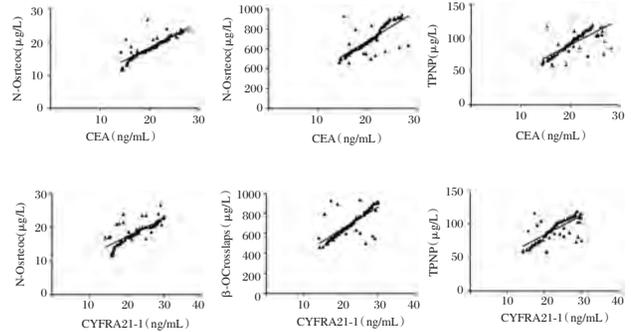


图1 转移组血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 与常规肿瘤标志物相关性

Figure 1 The correlation between serum N-Osrteoc, β-Crosslaps, TPINP and conventional tumor markers in metastasis group

2.4 多元线性回归分析

将年龄、性别、临床分期、血清 CEA、CYFRA21-1 等其他因素控制后,血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 仍与鼻咽癌放疗后骨转移显著相关($P<0.05$),见表 3。

表3 多元线性回归分析

Table 3 Multiple linear regression analysis

自变量	偏回归系数	标准误差	偏回归系数(标准化)	t 值	P 值
常量	11.178	1.052	-	11.537	<0.001
N-Osrteoc	0.826	0.030	0.861	13.304	<0.001
β-Crosslaps	0.903	0.022	0.920	14.097	<0.001
TPINP	0.795	0.019	0.811	12.596	<0.001

2.5 血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 对鼻咽癌放疗后骨转移的诊断价值

根据两组血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 水平绘制 ROC 曲线,结果显示,见表 4、图 2。

表4 血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 对鼻咽癌放疗后骨转移的诊断价值

Table 4 The diagnostic value of serum N-Osrteoc, β-Crosslaps and TPINP for bone metastases after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma

指标	AUC	95%CI	cut-off 值	敏感度(%)	特异度(%)	P 值
N-Osrteoc	0.744	0.658~0.817	>17.53 μg/L	60.67	81.08	<0.001
β-Crosslaps	0.827	0.749~0.888	>590.89 ng/mL	69.66	81.08	<0.001
TPINP	0.791	0.710~0.859	>67.79 μg/L	64.04	83.78	<0.001
联合检测	0.872	0.800~0.924		82.02	83.78	<0.001

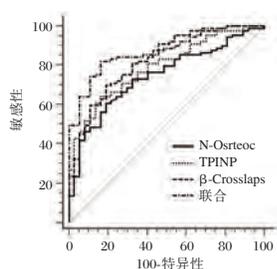


图2 血清 N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP 对鼻咽癌放疗后骨转移的诊断价值

Figure 2 The diagnostic value of serum N-Osrteoc, β-Crosslaps, and TPINP for bone metastasis after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma

2.6 转移组2年生存率

随访2年,转移组失访3例。86例鼻咽癌放疗后骨转移患者,2年生存率为67.44%(58/86)。

2.7 生存分析

根据转移组血清 N - Osrteoc、β - Crosslaps、TPINP 平均值作为界限,分为高危患者、低危患者,KM 曲线分析,血清 N - Osrteoc、β - Crosslaps、TPINP 高危患者2年生存率低于低危患者($\chi^2=4.993、3.980、4.291,P=0.025、0.046、0.038$),见图3。

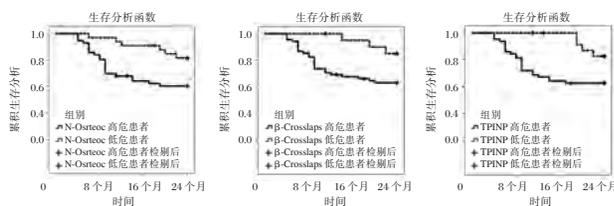


图3 生存分析

Figure 3 Survival analysis

3 讨论

骨转移是鼻咽癌放疗后最常见的转移部位,目前临床多采用影像学方法或肿瘤标志物检测诊断骨转移,影像学检查对骨转移部位、数量、大小均具有较好的分辨率,但费用高,不适用于短期多次复查或长期监测。临床证实,骨转移是骨形成、骨吸收相关细胞因子构成网络并互相作用的过程,能诱导成骨细胞或破骨细胞数量及活性改变,导致正常骨组织中骨合成动态平衡打破,进而形成骨转移灶,骨转换标志物随之发生相应变化^[5]。因此,骨转换标志物有望为评价鼻咽癌骨转移提供新方向。

骨钙素(BGP)由成熟的成骨细胞合成,其中约1/3表现为N-Osrteoc,N-Osrteoc具有较好的稳

定性,可维持骨正常矿化速率,其含量可特异性反映成骨速率^[6-7];TPINP由成骨细胞合成释放,反映成骨细胞合成骨胶原能力,二者均可用于评估成骨细胞活力^[8-9]。同时学者陈雪等^[10]对卵巢癌患者血清N-Osrteoc水平进行监测发现,患者发生骨转移后N-Osrteoc水平显著升高,且随着骨转移病灶数目增加,其血清N-Osrteoc水平均逐渐升高,对病情评估及预后预测具有重要价值。方美群等^[11]研究指出,TPINP、N-Osrteoc二者可作为肺癌患者骨转移诊断、疗效评估的有效指标。TPINP、N-Osrteoc仅可反映患者骨形成情况,而鼻咽癌患者放疗后骨转移的发生是由骨形成与骨吸收共同作用的病理结果,故需联合其他指标进行诊断。

β-Crosslaps是I型胶原纤维在破骨细胞吸收骨质的过程中降解产生的末端肽,其释放入血后可反映骨基质吸收情况,在评估破骨细胞活性方面具有较高的敏感性、特异性^[12-14]。庞艳等^[15]研究证实,β-Crosslaps诊断对卵巢癌骨转移具有较高的辅助诊断价值,在骨转移诊断及病情监测中有重要意义。鼻咽癌患者肿瘤细胞分泌的甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)能促进破骨细胞介导骨吸收,从而形成骨转移病灶,随着肿瘤细胞生长与侵袭,骨组织损伤程度增加,骨代谢微环境遭到破坏,造成β-Crosslaps水平升高,因此推测β-Crosslaps与鼻咽癌患者放疗后骨转移有关。

为进一步明确联合诊断效果,本研究发现,年龄≥50岁、男性、Ⅲ期是发生骨转移的影响因素,提示临床需针对上述高风险群体强化病情评价机制,联合检测血清N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP以提高诊断效能。本研究结果可见骨代谢异常严重的鼻咽癌患者放疗后生存率更低,可为患者预后评估提供新方案。但鼻咽癌不同类型骨转移患者,如溶骨型、移成骨型临床需结合具体病情予以强化对症治疗,以控制转移灶,N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP水平在鼻咽癌放疗后不同类型骨转移患者是否存在差异仍需临床进一步深入探究,以期鉴别患者骨转移类型提供新途径。

综上所述,鼻咽癌放疗后骨转移患者肿瘤标志物、N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP水平异常升高,临床可通过监测N-Osrteoc、β-Crosslaps、TPINP水平评估鼻咽癌患者放疗后骨转移情况,有利于为患者预后评估提供参考依据。

参考文献

- [1] 冯睡,尹金淑,谢洪,等.血清EGFL7、MTA1表达与鼻咽癌患者临床特征及预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):616-620.
- [2] 潘莉莉,黄华艺.表皮生长因子受体与鼻咽癌的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2017,9(2):121-126.
- [3] 朱家伦,杨传周,陈富坤,等.放射性核素骨显像在鼻咽癌患者中的应用价值[J].中国肿瘤临床与康复,2018,25(6):714-716.
- [4] 朱礼.肺癌骨转移血清肿瘤标志物水平及放疗对血清PINP和 β -CTX水平的影响分析[J].河北医学,2017,23(3):394-398.
- [5] 白平,陈皎皎,胡静,等.独活补骨方联合唑来膦酸治疗恶性肿瘤骨转移的临床观察[J].南京中医药大学学报,2017,33(2):133-135.
- [6] Liu B, Gan F S, Ge Y, et al. Clinical Efficacy Analysis of Percutaneous Kyphoplasty Combined with Zoledronic Acid in the Treatment and Prevention of Osteoporotic Vertebral Compression Fractures[J]. J Invest Surg, 2018,31(5):425-430.
- [7] 陈智能,徐杰,叶俊材,等.三期辨证中药复方对老年性骨质疏松髋部骨折患者骨代谢标志物的影响[J].中华中医药杂志,2018,33(7):3196-3199.
- [8] Liu ZL, Wang C, Chen HJ, et al. Bone metastasis from lung cancer identified by genetic profiling[J]. Oncol Lett, 2017, 13(2):847-850.
- [9] 任彬彬,宋晓磊,刘永涛,等.伊班膦酸钠对糖皮质激素诱导骨质疏松患者骨代谢指标的影响[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(1):19-22,28.
- [10] 陈雪,李秋菊,杨利丽,等.卵巢癌骨转移患者的血清 β -CTX、N-MID和 β -Crosslaps表达水平及临床意义[J].癌症进展,2019,17(2):207-209,230.
- [11] 方美群,孙雅逊.血清骨代谢指标变化对肺癌患者骨转移的诊断治疗及预后评估的应用价值[J].中华全科医学,2018,16(9):1455-1458.
- [12] Song B B, Li X, Zhou Q, et al. Application of Bone Turnover Markers PICP and β -CTX in the Diagnosis and Treatment of Breast Cancer with Bone Metastases[J]. Clin lab, 2018,64(1):11-16.
- [13] C-T Zuo, D-C Yin, H-X Fan, et al. Study on diagnostic value of PINP and β -CTX in bone metastasis of patients with breast cancer and the correlation between them[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019,23(12):5277-5284.
- [14] Tonko Gulin, Ivan Kruljac, Lora Kirigin, et al. Advanced Age, High β -CTX Levels, and Impaired Renal Function are Independent Risk Factors for All-Cause One-Year Mortality in Hip Fracture Patients[J]. Calcif Tissue Int, 2016,98(1):67-75.
- [15] 庞艳,阳义.血清骨转换标志物在卵巢癌骨转移诊断中的应用[J].中华肿瘤防治杂志,2017,24(18):1315-1318.

(上接第1504页)

- (Bucharest, Romania), 2016,65(2):85-89.
- [5] 卢仁辉,刘培杰,杜莎莎,等.RDW、CHE及TEG参数与重症肺炎机械通气治疗患者病情的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):621-624.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2013,36(4):255-264.
- [7] Lopez-Candales A, Dohi K, Rajagopalan N, et al. Defining normal variables of right ventricular size and function in pulmonary hypertension: an echocardiographic study[J]. Postgrad Med J, 2008,84(987):40-45.
- [8] 苗苗,卜小宁.慢性阻塞性肺病患者血浆脑钠肽增高的机制[J].首都医科大学学报,2016,37(5):583-587.
- [9] 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.
- [10] 陈代刚,杜飞.辛伐他汀对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清炎症因子、肺动脉高压及肺功能的影响[J].中国老年学杂志,2017,37(14):3523-3524.
- [11] 江雁琼.RDW、HNL和CRP在慢性阻塞性肺疾病患者中的表达及意义[J].实用医学杂志,2018,34(16):2740-2743.
- [12] Yang J, Liu C, Li L, et al. Red Blood Cell Distribution Width Predicts Pulmonary Hypertension Secondary to Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. Canadian Res J, 2019, 2019(1):38533454.
- [13] 张明,彭夏莹,刘守智,等.慢性阻塞性肺疾病急性加重患者肺动脉与主动脉直径比 >1 和血浆尿钠肽、C反应蛋白、白细胞介素6的相关性分析[J].中国呼吸与危重监护杂志,2015,14(3):255-259.
- [14] 徐文文,崔建国,马慧,等.红细胞分布宽度预测急性肺栓塞患者发生慢性血栓栓塞性肺动脉高压的价值探讨[J].中华老年医学杂志,2016,35(6):581-586.
- [15] Ozgul G, Seyhan EC, Özgül MA, et al. Red Blood Cell Distribution Width in Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Healthy Subjects[J]. Archivos de bronconeumologia, 2017,53(3):107-113.
- [16] Riou M, Alfati A, Charles AL, et al. New Insights into the Implication of Mitochondrial Dysfunction in Tissue, Peripheral Blood Mononuclear Cells, and Platelets during Lung Diseases. [J]. J clin med, 2020,9(5):1253.

急性脑梗死患者血清 Caspase-3 含量与早期神经功能恶化的相关性研究

揣兰香 邢效如 孙志 秦晓 袁富玲*

[摘要] **目的** 研究急性脑梗死(ACI)患者血清 Caspase-3 含量与早期神经功能恶化(END)的相关性。**方法** 选择2017年7月至2019年12月期间本院收治的110例ACI患者作为ACI组、同期在本院体检的60例健康志愿者作为对照组,采用酶联免疫吸附法检测血清中Caspase-3的含量,采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评价END,采用logistic回归模型分析END的影响因素,采用ROC曲线分析Caspase-3对END的预测价值。**结果** ACI组的血清Caspase-3含量高于对照组[(17.07±5.34)ng/mL vs. (11.74±3.85)ng/mL]且ACI组大面积梗死、重型患者的血清Caspase-3含量高于中小面积梗死、轻-中型患者;ACI组中END患者的NIHSS评分≥15分比例、hs-CRP及Caspase-3含量高于非END患者;Caspase-3是END的影响因素且对END具有预测价值。**结论** ACI患者血清Caspase-3含量增加且与病情加重及END有关。

[关键词] 急性脑梗死; Caspase-3; 早期神经功能恶化; 预测; 影响因素

Correlation between serum caspase - 3 content and early neurological deterioration in patients with acute cerebral infarction

CHUAI Lanxiang, XING Xiaoru, SUN Zhi, QIN Xiao, YUAN Fuling*

(Department of Neurology, 983 Hospital, Joint Logistics Support Force, Tianjin, China, 300142)

[ABSTRACT] **Objective** To study the correlation between serum caspase - 3 content and early neurologic deterioration (END) in patients with acute cerebral infarction (ACI). **Methods** 110 patients with ACI admitted to the Department of Neurology from July 2017 to December 2019 were selected as ACI group, and 60 healthy volunteers in 983 Hospital, Joint Logistics Support Force during the same period were selected as the control group. The content of Caspase-3 in serum was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), END was evaluated by NIHSS, and the influencing factor of END was analyzed by logistic regression model and the predictive value of Caspase - 3 for END was analyzed by ROC curve. **Results** serum caspase-3 content in ACI group was higher than that in control group [(17.07±5.34)ng/mL vs. (11.74±3.85)ng/mL], and serum caspase-3 level in patients with large area infarction and severe infarction was higher than that in patients with small and medium - area infarction and mild - middle infarction; NIHSS score≥15 incidence, hs-CRP and caspase-3 of END patients in ACI group were higher than those of non END patients; caspase-3 was the influencing factor of END and had predictive value for END. **Conclusion** serum caspase-3 content in patients with ACI increases, which relates to the severity of the disease and END.

[KEY WORDS] Acute cerebral infarction; Caspase-3; Early Neurological Deterioration; Prediction; Influencing Factors

作者单位: 联勤保障部队第九八三医院神经内科, 天津 300142

*通信作者: 袁富玲, E-mail: shunsh154055@163.com

急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)是临床常见的心脑血管疾病,以颅内动脉血栓栓塞或血栓形成引起的脑组织缺血缺氧损害为特征,致死率和致残率均较高。早期神经功能恶化(early neurological deterioration, END)是ACI常见的并发症,约5%~40%ACI患者入院后会发生END,而END会影响ACI预后并增加致残率、致死率^[1-2]。因此,在ACI发病后早期预测END并进行干预有助于改进治疗结局。细胞凋亡在ACI神经损害中起重要作用,含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(cysteinyll aspartate specific proteinase, Caspase-3)是细胞凋亡的执行分子,多项基础研究发现ACI脑组织中Caspase-3的表达增加^[3-4],高峰^[5]的临床研究发现ACI患者血清中Caspase-3的含量明显升高,但Caspase-3增加是否与END有关尚未清楚。因此,本研究将以ACI患者为对象,通过Logistic回归模型及ROC曲线分析血清Caspase-3含量与END的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2017年7月至2019年12月期间本院收治的110例ACI患者作为ACI组。ACI组中男性62例、女性48例,年龄41~66岁、平均(51.37±10.25)岁;对照组中男性59例、女性41例,年龄40~60岁、平均(50.12±11.78)岁。两组间一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:①符合ACI的诊断标准^[6];②发病后48h内入院;③接受保守治疗;④临床资料完整。排除标准:①入院后接受介入或溶栓治疗;②既往有脑梗死、脑出血、脑外伤病史;③合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病。另取同期在本院体检的60例健康志愿者作为对照组。研究经医院伦理委员会批准及受试者知情同意。

1.2 血清Caspase-3含量的检测

入院时采集ACI组患者的肘静脉血约5 mL,体检时采集对照组志愿者的肘静脉血约5 mL,静置凝血后3 000 r/min离心10 min,分离血清后采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海西唐公司,规格96T,批号F0037)检测Caspase-3含量,按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 END的评价

采用美国国立卫生研究院卒中量表^[7](National institutes of health stroke scale, NIHSS)进行评价,END的标准如下:入院时及入院后3 d内至少

每天评价1次,入院3 d内NIHSS评分增加 ≥ 2 分,或运动功能评分增加 ≥ 1 分,或出现意识障碍加重且头颅影像学检查排除出血转化。

1.4 临床资料的收集

根据患者的病历收集以下资料:性别、年龄、吸烟史、高血压史、糖尿病史、冠心病史、随机血糖、总胆固醇、甘油三酯、超敏C反应蛋白(hs-CRP)、脑梗死体积、神经损伤程度。脑梗死体积根据入院时MRI检查结果进行计算,计算公式为梗死灶最大长径 \times 与长径垂直的直径 \times MRI扫描阳性层数 \times 层厚 $\times \pi/6$,梗死灶体积 $\leq 10.0 \text{ cm}^3$ 为中小面积、 $>10 \text{ cm}^3$ 为大面积;神经损伤程度根据入院时NIHSS评分判断,评分 ≤ 15 分为轻中型、 ≥ 16 分为重型。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,两组间比较采用卡方检验;END的影响因素采用logistic回归分析,Caspase-3预测END采用ROC曲线分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ACI组与对照组血清Caspase-3含量的比较

与对照组比较,ACI组患者血清中Caspase-3的含量明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清Caspase-3含量的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum caspase-3 content between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Caspase-3(ng/mL)
ACI组	110	17.07±5.34
对照组	60	11.74±3.85
t 值		8.225
P 值		0.000

2.2 ACI组中不同病情患者血清Caspase-3含量的比较

与ACI组中中小面积梗死患者比较,大面积梗死患者血清中Caspase-3的含量明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与ACI组中轻-中型患者比较,重型患者血清中Caspase-3的含量明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 ACI组中END患者与非END患者临床资料及血清Caspase-3含量的比较

与ACI组中非END患者对比,END患者性别、年龄、吸烟史、高血压史、糖尿病史、冠心病史、

表2 ACI组中不同病情患者血清 Caspase-3 含量的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum caspase-3 levels in patients with different diseases in ACI group ($\bar{x}\pm s$)

病情	分类	n	Caspase-3
梗死面积	中小面积	67	14.02±4.77
	大面积	43	21.82±6.09
	t 值		7.500
	P 值		0.000
神经损伤程度	轻-中型	62	14.88±5.11
	重型	48	19.90±5.98
	t 值		4.958
	P 值		0.000

随机血糖、总胆固醇、甘油三酯比较,差异无统计学意义($P>0.05$),NIHSS 评分 ≥ 15 的比例、血清中 hs-CRP 及 Caspase-3 的含量均明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 ACI组中END患者与非END患者临床资料及血清 Caspase-3 含量的比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 3 Comparison of clinical data and serum caspase-3 levels between END patients and non END patients in ACI group [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

指标	END 患者 (n=18)	非END 患者 (n=92)	χ^2/t 值	P 值
男性	12(66.67)	50(54.35)	0.929	0.335
年龄(岁)	52.28±11.74	50.93±10.24	0.499	0.619
吸烟史	7(38.89)	38(41.30)	0.036	0.849
高血压史	11(61.11)	45(48.91)	0.896	0.344
糖尿病史	7(38.89)	37(40.22)	0.011	0.916
冠心病史	4(22.22)	22(23.91)	0.024	0.877
NIHSS ≥ 15	12(66.67)	36(39.13)	4.641	0.031
随机血糖(mmol/L)	7.68±2.02	7.11±1.85	1.176	0.242
总胆固醇(mmol/L)	6.67±1.04	6.22±1.21	1.474	0.143
甘油三酯(mmol/L)	2.33±0.45	2.18±0.61	0.990	0.324
hs-CRP(mg/L)	29.57±8.32	22.12±7.67	3.717	0.001
Caspase-3(ng/mL)	20.45±6.04	16.41±4.96	3.046	0.003

2.4 ACI组患者END影响因素的 logistic 回归分析

以ACI患者是否发生END为应变量,以NIHSS评分、hs-CRP、Caspase-3为自变量,在 logistic 回归模型中进行分析可知:Caspase-3是ACI患者发生END的影响因素,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 ACI组患者END影响因素的 logistic 回归分析
Table 4 Logistic regression analysis of influencing factors of END in ACI group

因素	β 值	OR 值	95%CI	Wald/ χ^2 值	P 值
NIHSS 评分	1.029	1.485	0.737~5.584	1.328	0.128
hs-CRP	0.838	1.337	0.838~6.282	1.039	0.209
Caspase-3	0.773	1.504	1.084~8.782	6.382	0.007

2.5 血清 Caspase-3 含量预测 ACI 患者 END 的 ROC 曲线分析

血清 Caspase-3 含量预测 ACI 患者 END 的 ROC 曲线下面积为 0.720(95%CI:0.586~0.854, $P<0.05$)。根据约登指数最大值确定最佳截断值为 15.72 ng/mL,灵敏度为 53.26%、特异性为 88.89%。见图1。

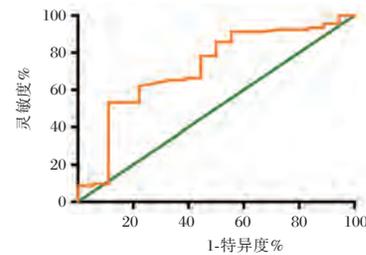


图1 血清 Caspase-3 含量预测 ACI 患者 END 的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of serum caspase-3 level predicting end in patients with ACI

3 讨论

END 是 ACI 患者常见的并发症,具体是指 ACI 发生后的 24~72 h 内、患者经过干预及治疗神经功能仍持续减退的状况。既往研究显示,ACI 患者入院后的 END 发生率约 5%~40%,且 END 会影响 ACI 预后、增加 ACI 的致残率及致死率。国内学者的多项临床研究发现,中医疗法对 END 具有防治价值。参麦注射液、银杏二萜内酯、通栓活络汤、针刺等治疗能够降低 END 的发生率^[8-10]。因此,ACI 发病后早期准确评估病情并预测 END、针对可能发生 END 的患者进行治疗,有助于减少 END 的发生并优化治疗结局。

ACI 后神经功能损害的病理生理机制复杂,包括炎症、氧化应激、细胞凋亡等多个环节,其中细胞凋亡与神经功能损害的关系在近些年备受关注^[11-13]。Caspase-3 是细胞凋亡的执行分子,其表达增加能够促进细胞发生凋亡。ACI 相关的基础研究发现,缺血脑组织中 Caspase-3 的表达水平明显增加^[3-4];ACI 相关的临床研究发现,ACI 患者血清中 Caspase-3 的含量明显增加^[5]。本研究对 ACI 患者的分析显示:与健康志愿者比较,ACI 患者血清中 Caspase-3 的含量明显增加且随着脑梗死面积增加、神经损伤程度加重,血清中 Caspase-3 的含量呈升高趋势。以上结果表明 Caspase-3 增多与 ACI 的发病及病情加重有关,但 Caspase-3 增加是否与 END 的发生有关尚不清楚。

END的发病机制尚不十分清楚,国内多项关于END的研究发现,ACI病情本身与END的发生不直接相关,ACI患者入院时NIHSS评分与END的无相关关系^[14-15],本研究发现发生END的ACI患者入院时NIHSS评分较未发生END的患者升高,但经Logistic回归分析、入院时NIHSS评分不是END的影响因素。国内陈捷的研究发现,血清CXCL16及HSP70增多与END的发病有关,CXCL16是重要的趋化因子,能够促进炎症细胞在脑梗死局部浸润并通过炎症反应、细胞凋亡来引起神经损害;HSP70则是在凋亡、炎症、缺血等刺激下合成的分子伴侣,在脑梗死发病中起到代偿性的保护作用^[16]。基于此推测细胞凋亡可能在END中发挥作用,因此本研究将进一步分析Caspase-3增多与END的关系。

本研究结果显示:END患者血清中Caspase-3的含量明显高于未发生END的患者;在Logistic回归模型中进行分析,Caspase-3是ACI患者发生END的影响因素。由此表明Caspase-3增多与ACI患者发生END有关。进一步通过ROC曲线确认Caspase-3与END的关系可知:血清Caspase-3含量对END的发生具有预测价值。以上结果说明Caspase-3增多与ACI发病后END的发生密切相关,Caspase-3增多可能通过加重细胞凋亡来介导END的发生。因为细胞凋亡的调控机制复杂,线粒体途径、死亡受体途径、内质网应激途径均可激活caspase-3并促进细胞凋亡,因此未来细胞凋亡有望成为研究END发病机制的靶点,可以分别研究不同凋亡调控途径在END发病中的作用。

综上所述,ACI患者血清Caspase-3含量增加且与病情加重及END的发生有关,未来细胞凋亡有望成为研究END发病机制的靶点,靶向抑制细胞凋亡也有望成为防治END新的治疗思路。

参考文献

- [1] Chang Y, Kim J, Kim MH, et al. Interarm Blood Pressure Difference is Associated with Early Neurological Deterioration, Poor Short-Term Functional Outcome, and Mortality in Noncardioembolic Stroke Patients [J]. *J Clin Neurol*, 2018, 14(4):555-565.
- [2] Tschirret O, Moreno Legast G, Mansuy A, et al. Impact of Brain Atrophy on Early Neurological Deterioration and Outcome in Severe Ischemic Stroke Treated by Intravenous Thrombolysis [J]. *Eur Neurol*, 2018, 79(5-6):240-246.
- [3] Wang Y, Gu J, Hu L, et al. miR-130a alleviates neuronal apoptosis and changes in expression of Bcl-2/Bax and caspase-3 in cerebral infarction rats through PTEN/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3):2119-2126.
- [4] Xie YL, Zhang B, Jing L. MiR-125b blocks Bax/Cytochrome C/Caspase-3 apoptotic signaling pathway in rat models of cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting p53 [J]. *Neurol Res*, 2018, 40(10):828-837.
- [5] 高峰,迟景宏,王欣平,等.急性脑梗死患者血清Caspase-3和神经元特异性烯醇化酶的表达及意义[J].*中国老年学杂志*, 2018, 38(1):73-75.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014[J].*中华神经科杂志*, 2015, 48(4):246-257.
- [7] 张磊(整理),刘建民(整理).美国国立卫生研究院卒中量表[J].*中华神经外科杂志*, 2012,28(5):455-455.
- [8] 刘云平,赵洪海,张贺齐,等.参麦注射液治疗急性缺血性脑卒中早期神经功能恶化的疗效及对血清细胞因子水平的影响[J].*中国医院用药评价与分析*, 2020, 20(3):286-289.
- [9] 黄志鑫,李东航,王喜江,等.银杏二萜内酯联合双抗治疗轻型缺血性脑卒中的近远期效果[J].*中国医学创新*, 2020, 17(6):1-5.
- [10] 庞海英,杜宗攀,李杰,等.通栓活络汤联合针刺补救治疗对超早期rt-PA静脉溶栓后早期神经功能恶化后循环脑梗死患者预后的影响[J].*现代中西医结合杂志*, 2019, 28(10):1065-1070.
- [11] Tschirret O, Moreno Legast G, Mansuy A, et al. Impact of Brain Atrophy on Early Neurological Deterioration and Outcome in Severe Ischemic Stroke Treated by Intravenous Thrombolysis [J]. *Eur Neurol*, 2018, 79(5-6):240-246.
- [12] Orsini F, Fumagalli S, Császár E, et al. Mannose-Binding Lectin Drives Platelet Inflammatory Phenotype and Vascular Damage After Cerebral Ischemia in Mice via IL (Interleukin) -1 α [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(11):2678-2690.
- [13] Wang QC, Lu L, Zhou HJ. Relationship between the MAPK/ERK pathway and neurocyte apoptosis after cerebral infarction in rats [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(12):5374-5381.
- [14] 蔡俊秀,樊露,张伟晴,等.急性后循环脑梗死患者早期神经功能恶化的影响因素分析[J].*中华老年心脑血管病杂志*, 2019, 21(8):852-855.
- [15] Huang YC, Tsai YH, Lee JD, et al. A Novel Neuroimaging Model to Predict Early Neurological Deterioration After Acute Ischemic Stroke [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2018, 15(2):129-137.
- [16] 陈捷,程亚玲,陈海燕,等.血清趋化因子CXCL16和热休克蛋白70水平与急性脑梗死患者早期神经功能恶化的关系[J].*实用医学杂志*, 2019, 35(24):3803-3807.

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

刘婧* 刘妮英 蒋依伶

[摘要] **目的** 分析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。**方法** 分析2016年9月至2019年9月于本院收治的105例未足月早产胎膜早破患者的临床资料,采用随机数字法为研究组和对照组,对照组予以硫酸镁治疗,研究组予以硫酸镁联合盐酸利托君治疗。对比两种治疗的临床疗效、外周血细胞因子变化及患者阴道分娩率、新生儿情况。**结果** 研究组临床总有效率、阴道分娩率高于对照组,新生儿Apgar评分及出生体重均高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);治疗后,研究组肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、胎儿纤维连接蛋白(fFN)、一氧化氮(NO)、前列腺素2(PGE₂)、胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP-1)水平下降程度大于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);研究组平均宫缩抑制时间、平均药物显效时间均短于对照组,而平均孕龄延长更长时间更长,差异具有统计学意义($P<0.05$);两组不良反应发生率对比差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 硫酸镁联合盐酸利托君治疗未足月早产胎膜早破患者临床疗效佳,预后情况较好。

[关键词] 胎膜早破; 早产; 硫酸镁; 盐酸利托君

The clinical value analysis of magnesium sulfate combined with ritodrine hydrochloride in the treatment of preterm premature rupture of membranes

LIU Jing*, LIU Niying, JIANG Yiling

(Department of Obstetrics, Hospitals of Traditional Chinese and Western Medicine in Hubei, Wuhan, Hubei, China, 430015)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the clinical value of magnesium sulfate combined with ritodrine hydrochloride in the treatment of preterm premature rupture of membranes. **Method** The clinical data of 105 patients with preterm premature rupture of fetal membranes in our hospital from September 2016 to September 2019 were analyzed. According to the random number method, they were divided into the study group and the control group. The control group was treated with magnesium sulfate, and the study group was treated with magnesium sulfate and ritodrine hydrochloride. The clinical efficacy, changes in peripheral blood cytokines, vaginal delivery rates, and neonatal conditions between two groups were compared. **Results** The total effective rate and the vaginal delivery rate of the study group were significantly higher than those of the control group, and the Apgar score and birth weight of the newborns were significantly higher than those of the control group, and the differences between the two groups were statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of Tumor Necrosis Factor (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6), Fetal Fibronectin (fFN), Nitric Oxide (NO), Prostaglandin E₂ (PGE₂), Insulin-like Growth Factor Binding Protein (IGFBP-1) decreased more than those in the control group. The difference between the two groups was statistically significant ($P<0.05$). The average uterine contraction inhibition time and the average drug effective time in the study group were shorter than those in the control group, and the average gestational age prolonged longer, the difference was statistically significant ($P<0.05$); There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the

基金项目:湖北省卫计委科研项目(JX6B36)

作者单位:湖北省中西医结合医院产科,湖北,武汉 430015

*通信作者:刘婧, E-mail: 2500988757@qq.com

two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Magnesium sulfate combined with ritodrine hydrochloride has a good clinical effect and a good prognosis in the treatment of preterm premature rupture of membranes.

[KEY WORDS] Premature rupture of fetal membranes; Premature delivery; Magnesium sulfate; Ritodrine hydrochloride

产妇在临产前出现胎膜自然破裂被称为胎膜早破,是围生期最常见的并发症之^[1]。一旦发生胎膜早破,不仅要减少母体可能出现的不良现象,更要减少围生儿的疾病发生及死亡率,因此如何预防孕产妇发生胎膜早破和改善新生儿不良症状是目前临床上研究的重点^[2]。临床上普遍认为,当机体局部组织出现损伤时就可能导致宫腔内局部状态发生改变,甚至流产,而这一过程中肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor, TNF- α)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6)促进了机体的免疫调节和炎性因子的分泌,致使局部组织发生炎性反应^[3]。若TNF- α 、IL-6在胎盘中被大量分泌,对妊娠状态的改变具有重要意义^[4]。硫酸镁是临床上治疗胎膜早破的常用药物之一,但该药物起效较慢,对部分患者效果不明显^[5]。盐酸利托君具有抑制子宫平滑肌收缩频率和强度的作用^[6]。故本研究对未足月早产胎膜早破患者加用盐酸利托君与硫酸镁联合治疗,探讨用药方法对患者的临床疗效、细胞因子及预后的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院于2016年9月至2019年9月收治的105例未足月早产胎膜早破患者的临床资料,采用随机数字法分为研究组($n=53$)和对照组($n=52$)。研究组予以硫酸镁联合盐酸利托君治疗,对照组患者予以单用硫酸镁治疗。纳入标准:①患者均经B超检查检测结果胎儿正常,查胎心正常;②本研究经伦理委员会同意,临床资料完整。排除标准:①对此次试验药物出现过敏患者;②羊水指数检测异常孕妇。其中研究组年龄平均(26.89 ± 2.46)岁,孕周28~33周,平均孕周(29.34 ± 1.26)周;对照组年龄平均(27.77 ± 2.96)岁,孕周29~34周,平均孕周(29.07 ± 1.85)周。两组患者年龄、孕周等一般资料的比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 试剂

25%硫酸镁溶液(天津药业焦作有限公司)、盐

酸利托君(信东生技股份有限公司)、10%葡萄糖注射液(北京双鹤药业股份有限公司)。

1.2.2 用药方法

所有孕产妇入院后均予以足月胎膜早破常规护理及对症治疗,清洁孕产妇外阴,嘱患者卧床休息保持高臀位,对孕产妇及胎儿的各项生命体征予以动态监测等。对照组患者予以单用硫酸镁治疗,首次冲击量治疗将20 mL的25%硫酸镁溶液与100 mL的10%葡萄糖注射液混合并在30 min内快速静脉滴注,待子宫收缩强度和频率得到抑制后,改用60 mL的25%硫酸镁溶液与1 000 mL的10%葡萄糖注射液混合后静脉滴注,待患者宫缩症状消失后停止给药,患者硫酸镁摄入每天不超过30 g。研究组患者硫酸镁联合盐酸利托君治疗,首先予以患者60 mL的25%硫酸镁溶液与1 000 mL的10%葡萄糖注射液混合后静脉滴注,在此基础上联合10 mg盐酸利托君与100 mL 10%葡萄糖注射液混合静脉滴注,根据患者宫缩抑制情况适当调节滴注速度。

1.3 观察指标

①对比两组患者临床疗效情况;临床疗效判定^[7]:显效、有效、无效。②对比两组患者治疗前后外周血细胞因子包括TNF- α 、IL-6、胎儿纤维连接蛋白(Fetal Fibronectin, fFN)、一氧化氮(Nitric Oxide, NO)、前列腺素2(Prostaglandin, PGE₂)、胰岛素样生长因子结合蛋白(Insulin-like Growth Factor Binding Protein, IGFBP-1)含量水平;治疗前后抽取患者2 mL外周静脉血,离心后取上清液待检,使用北京生化科技有限公司生产的试剂盒严格按操作步骤运用ELISA法对细胞因子IL-2、TNF- α 、NO、fFN、IGFBP、PGE₂水平进行检测。③对比两组患者治疗后临床指标(平均宫缩抑制时间、平均药物显效时间、平均孕龄延长时间)情况;④对比两组患者妊娠结局及新生儿出生情况;⑤对比两组患者治疗后不良反应的发生情况。

1.4 统计学方法

应用SPSS 18.00统计学软件分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较

研究组临床总有效率明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组患者临床疗效情况比较 [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
研究组	53	28(52.83)	24(45.28)	1(1.89)	52(98.11)
对照组	52	19(36.54)	27(51.92)	6(11.54)	46(88.46)
χ^2 值	-	-	-	-	3.930
P 值	-	-	-	-	<0.05

表2 两组患者治疗前后细胞因子变化情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	IL-6(pg/mL)	TNF- α (ng/mL)	NO(μ mol/L)	fFN(ng/mL)	IGFBP-1(ng/mL)	PGE ₂ (pg/mL)
研究组	治疗前	38.89 \pm 4.73	3.93 \pm 0.62	31.17 \pm 3.62	15.17 \pm 2.62	68.01 \pm 12.12	68.51 \pm 7.38
	治疗后	9.98 \pm 1.57	2.43 \pm 0.41	24.31 \pm 3.17	7.31 \pm 2.17	54.03 \pm 10.69	43.31 \pm 5.03
	t 值	-	42.231	14.691	10.379	16.820	6.298
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
对照组	治疗前	38.92 \pm 4.51	3.84 \pm 0.77	31.13 \pm 3.26	15.13 \pm 4.26	68.13 \pm 11.99	68.14 \pm 8.00
	治疗后	15.72 \pm 1.33 ^a	3.12 \pm 0.49 ^a	28.58 \pm 3.27 ^a	9.58 \pm 2.27 ^a	60.11 \pm 9.71 ^a	52.07 \pm 5.35 ^a
	t 值	-	35.580	5.689	3.982	8.291	3.748
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与研究组相比,^a $P<0.05$ 。

表3 两组患者治疗后临床指标情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	平均宫缩抑制时间(h)	平均孕龄延长时间(d)	平均药物显效所用时间(h)
研究组	53	2.17 \pm 0.83	17.26 \pm 5.81	20.71 \pm 6.55
对照组	52	4.43 \pm 1.37	10.33 \pm 5.19	29.02 \pm 6.63
t 值	-	10.246	6.442	6.461
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

表4 两组患者妊娠结局及新生儿出生情况比较 [$n(\%)$]

组别	n	妊娠结局		新生儿情况	
		阴道	剖宫产	出生体重(kg)	Apgar评分
研究组	53	49(92.45)	4(7.54)	3.35 \pm 1.02	9.36 \pm 2.27
对照组	52	40(76.92)	12(23.08)	2.34 \pm 1.16	7.63 \pm 2.14
t/χ^2 值	-	-	4.901	4.740	4.017
P 值	-	-	0.027	<0.001	<0.001

2.2 两组患者不良反应发生情况对比

对照组治疗后出现了胸闷1例、恶心呕吐1例,

2.2 两组患者治疗前后细胞因子水平变化情况比较

与治疗前相比,治疗后两组患者的IL-6、TNF- α 、NO、fFN、IGFBP-1、PGE₂水平含量均有所下降,且研究组下降程度明显大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 两组患者治疗后临床指标情况比较

研究组患者的平均宫缩抑制时间、平均药物显效时间明显短于对照组,平均孕龄延长明显长于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 两组患者妊娠结局及新生儿出生情况比较

研究组阴道分娩率明显高于对照组,且新生儿出生体重、Apgar评分均明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

不良反应发生率为3.77%;研究组出现3例恶心呕吐,1例胸闷,2例心率加速,不良反应发生率为11.54%,差异无统计学意义($\chi^2=2.167, P=0.141$)。

3 讨论

硫酸镁是目前临床上治疗胎膜早破的首选药物,可通过镁离子与钙离子相互拮抗而抑制宫缩,但如果体内镁离子浓度超过一定剂量,会产生较高的毒性,对人体造成一定的不良反应^[8]。盐酸利托君是一种 β_2 受体激动剂,可抑制体内肌球蛋白轻链激酶活化,从而有效抑制子宫平滑肌收缩^[9]。国外研究报道称^[10]大部分患者经硫酸镁治疗后能有效的抑制宫缩,达到缓解症状的目的,但仍有少量患者病情控制不佳进而导致早产,若上述两种药物联合使用可有效加强其宫缩抑制情况^[11]。而在本研究中发现这与上述研究结果一致。

有相关研究证实,IL-6、TNF- α 等细胞因子将促进机体内局部的组织损伤发生炎症反应,引起宫腔内环境组织发生变化,导致患者保胎失败^[12]。其中IL-6、TNF- α 水平增高,将直接介导组

织损伤,从而造成局部组织损伤,使宫腔内局部状态受到影响,造成流产^[13]。而fFN、IGFBP-1是反映分娩发生情况的指标,当孕产妇即将分娩时,其含量将达到高峰^[14]。PGE₂是前列腺素中的一种,具有引产及促进宫颈成熟的作用,有研究指出,PGE₂在早孕妇女体内的表达显著高于足月妊娠及晚期妊娠妇女,在一定程度上表明PGE₂水平过高将诱导早产的发生^[15-16]。NO是能促进PGE₂含量增加的气体信号因子,在免疫调节、细胞毒性反应中发挥着重要作用^[17]。孕子宫内一旦发生感染,NO的分泌将大量增加,对胎膜早破早期的诊断及预防具有重要作用^[18]。而本研究发现,两种治疗方法均可有效控制孕产妇体内的上述炎症因子水平,而硫酸镁、盐酸利托君联合使用达到的效果更优;治疗后,联合用药的孕产妇的平均宫缩抑制时间、平均药物显效时间明显缩短,平均孕龄延长时间更长,这与胡琦芬等人^[19]研究结果一致。这说明临床上可通过抑制上述细胞因子的分泌和增加,达到减少炎症反应,抑制宫缩的目的。

本研究还发现,两组患者用药后均有可能出现呕吐、胸闷等不良反应,而研究组还出现心率加速现象,考虑为两种药物半衰期的不同,药物联合使用引起的毒副作用所致。易菁等人^[20]发现两组不良反应发生情况对比具有差异性,与本文存在差异,可能是本研究研究人数较少造成,具体情况还需进一步予以讨论研究。

综上所述,硫酸镁联合盐酸利托君可有效治疗未足月早产胎膜早破,可有效缓解频繁子宫收缩所带来的症状,延长妊娠时长,提高分娩质量,值得推广应用。

参考文献

- [1] 李艳芳. 未足月胎膜早破产妇产周、分娩时机对母婴结局的影响研究[J]. 中国全科医学, 2017, 20(1):40-42.
- [2] 贾峥, 张文新, 李丽莉, 等. 染色体拷贝数变异国家参考品的制备及标定[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(4):256-262, 294.
- [3] 朱意, 路妍妍, 田耕. 未足月胎膜早破产妇产及新生儿结局的影响因素分析[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(12):2422-2423.
- [4] 陈朝红. 硫酸镁联合盐酸利托君治疗未足月胎膜早破患者的临床效果[J]. 医疗装备, 2018, 31(3):111-112.
- [5] 孙红霞. 未足月胎膜早破应用盐酸利托君+硫酸镁治疗的效果[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2019, 6(4):102-103.
- [6] 张继红, 张禹, 胡桂梅. 羊水补充疗法联合盐酸利托君对未足月胎膜早破患者妊娠结局的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2018, 41(05):103-104.
- [7] 王艳. 盐酸利托君治疗早产胎膜早破的临床效果研究[J]. 中外医学研究, 2016, 14(23):110-111.
- [8] Doret M, Kayem G. [Tocolysis for preterm labor without premature preterm rupture of membranes][J]. J De Gynecol Obstetrique Et Biologie De La Rep, 2016, 44(9):89-92.
- [9] 张玉红. 早产胎膜早破患者应用硫酸镁和盐酸利托君联合治疗的效果探讨[J]. 重庆医学, 2017, 45(46):46.
- [10] Juliana SE, Renato Augusto Moreira de Sá, Paulo Roberto Nassar de Carvalho, et al. Neonatal outcome in women with preterm premature rupture of membranes (PPROM) between 18 and 26 weeks[J]. J Mat Fetal Med, 2016, 29(7):1108-1112.
- [11] 邢小芬, 韩云志, 尹红亚, 等. 盐酸利托君与硫酸镁联合治疗早产胎膜早破的临床疗效分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(12):69-75.
- [12] 鲍晨怡, 蒋晨昱, 刘兴会. 最新未足月胎膜早破临床指南解读[J]. 实用妇产科杂志, 2019, 35(7):498-501.
- [13] 吴丽群, 许群, 高洁, 等. 细胞因子在未足月胎膜早破并发绒毛膜羊膜炎的变化及诊断价值[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(3):100-104.
- [14] Su AK, Park KH, Lee SM. Non-Invasive Prediction of Histologic Chorioamnionitis in Women with Preterm Premature Rupture of Membranes[J]. 2016, 57(2):461-468.
- [15] 吴燕, 吴庆珠, 周爱梅. 孕产妇胎膜早破并发生殖道感染影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 28(6):13-14.
- [16] 陈小斌, 黄岭, 乔宠. 未足月胎膜早破患者新生儿呼吸系统病变预测[J]. 现代妇产科进展, 2018, 27(11):33-39.
- [17] 冯琼, 于文亮, 王君, 等. 专项护理对未足月胎膜早破患者保胎时间、分娩方式、母婴并发症的影响[J]. 中国医药导报, 2017, 14(26):146-148.
- [18] Sentilhes L, Sénat MV, Ancel PY, et al. [Prevention of spontaneous preterm birth (excluding preterm premature rupture of membranes): Guidelines for clinical practice - Text of the Guidelines (short text)][J]. 2016, 45(10):1446-1456.
- [19] 胡琦芬. 盐酸利托君联合硫酸镁治疗未足月早产胎膜早破的疗效及预后分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2019, 16(2):157-159.
- [20] 易菁, 梁海英, 刘国成. 盐酸利托君和硫酸镁联合治疗对先兆早产患者血清NO、IL-6、PGE₂水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(10):2150-2152.

肝癌患者手术前后血清 AFP、 γ -GT、ApoA1 水平变化及临床意义

黄庆国* 汤鸿 李鹏泽 朱载阳

[摘要] **目的** 探讨肝癌患者手术前后血清甲胎蛋白(AFP)、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)、载脂蛋白 A1(ApoA1)水平变化情况及临床意义。**方法** 选取2013年1月至2017年12月间收治的180例行肝癌手术治疗的患者的临床资料,评估患者术前、术后AFP、 γ -GT、ApoA1水平变化情况,分析术前AFP、 γ -GT、ApoA1水平与临床病理特征的关系,随访记录患者生存期,观察术前、术后AFP、 γ -GT、ApoA1与肝癌复发、患者生存的关系。**结果** 术后7d,肝癌患者AFP、 γ -GT均低于术前、ApoA1均高于术前,差异均有统计学意义($P<0.05$);ROC曲线显示:手术前后AFP、 γ -GT和术后ApoA1均是诊断肝癌复发的有效指标,术前AFP诊断肝癌复发AUC(0.695);肝癌术前AFP、 γ -GT的高值者在多发肿瘤、有门静脉癌栓、组织低分化中占比均高于低值者($P<0.05$),肝癌术前ApoA1高值者肿瘤多发、组织低分化中占比均低于低值者($P<0.05$),肝癌术前AFP高值者累及脉管中占比均高于低值者($P<0.05$),肝癌术前 γ -GT高值者淋巴结转移者占比高于低值者,差异均有统计学意义($P<0.05$);术后AFP、 γ -GT高值者生存率均低于低值者、生存期均短于低值者,术后ApoA1高值者生存率高于低值者、生存期长于低值者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 肝癌患者术后AFP、 γ -GT降低,ApoA1上升,监测手术前后AFP、 γ -GT水平及其变化趋势能为预测患者预后提供参考。

[关键词] 甲胎蛋白; γ -谷氨酰转肽酶; 载脂蛋白 A1

Changes of serum AFP, γ -GT, ApoA1 levels before and after operation in patients with liver cancer and their clinical significance

HUANG Qingguo*, TANG Hong, LI Pengze, ZHU Zaiyang

(Department of Surgery, Sichuan Integrative Medicine Hospital, Chengdu, Sichuan, China, 610081)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the changes and clinical significance of serum alpha-fetoprotein (AFP), γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) and apolipoprotein A1 (ApoA1) in patients with liver cancer before and after surgery. **Methods** The clinical data of 180 patients undergoing liver cancer surgery from January 2013 to December 2017 were retrospectively analyzed. The AFP, γ -GT and ApoA1 before and after surgery were measured and evaluated. The relationship between levels of AFP, γ -GT and ApoA1 before surgery and clinicopathological features was analyzed. The survival time of patients was recorded at follow-up. The relationship between AFP, γ -GT and ApoA1 before and after surgery and liver cancer recurrence and patient survival was observed. **Results** At 7d after surgery, the AFP and γ -GT levels were lower than those before surgery, while the ApoA1 was higher than that before surgery ($P<0.05$). ROC curve showed that AFP and γ -GT before and after surgery and ApoA1 after surgery were effective indicators for the diagnosis of liver cancer recurrence, and the AUC of AFP before surgery in the diagnosis of liver cancer recurrence was 0.695. The proportions of patients with high AFP and high γ -GT before liver cancer surgery in multiple tumors, portal

基金项目:四川省卫生厅科研课题(120116)

作者单位:四川省中西医结合医院外科,四川,成都市 610081

*通信作者:黄庆国, E-mail: 1097804639@qq.com

vein thrombosis and poor tissue differentiation were higher than those of patients with low values ($P<0.05$), and the proportions of patients with high ApoA1 before liver cancer surgery in multiple tumors and poor tissue differentiation were lower than those of patients with low value ($P<0.05$), and the proportion of patients with high AFP before liver cancer surgery in vascular involvement was higher than that of patients with low value ($P<0.05$), and the proportion of patients with high γ -GT before liver cancer surgery in lymph node metastasis was higher than that of patients with low value ($P<0.05$). The survival rates of patients with high AFP and high γ -GT after surgery were lower than those of patients with low values, and the survival times were shorter than those of patients with low values, and the survival rate of patients with high ApoA1 after surgery was higher than that of patients with low value, and the survival time was longer than that of patients with low value ($P<0.05$). **Conclusion** AFP and γ -GT in liver cancer patients after surgery decreased, and ApoA1 increased. Monitoring the levels of AFP and γ -GT before and after surgery and their changing trends can provide references for predicting the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Alpha-fetoprotein; γ -glutamyltranspeptidase; Apolipoprotein A1

原发性肝癌是临床上常见的恶性肿瘤之一,手术是肝癌最主要的根治性治疗手段,但术后5年总生存率仅为50%,5年复发率可达60%~70%乃至更高^[1]。因此,如何降低术后复发与转移、延长患者生存期,成为相关领域的研究重点。在术后定期随访中,采用效率较高的血清指标预测患者预后,对复发转移高危患者个性化监测、及时治疗十分重要。姚明解等学者^[2]的研究显示,术前甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein, AFP)与肝癌患者的预后有关。谢青云等学者^[3]的研究也显示,血清AFP、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)水平与肝癌患者介入治疗手术效果相关。近年来肝癌的脂质代谢异常逐渐被关注,与正常细胞相比,肿瘤细胞的脂肪酸则从头合成增强^[4]。肝脏是载脂蛋白A1(Apolipoprotein A1, ApoA1)的主要合成器官^[5],ApoA1是高密度脂蛋白的主要蛋白质成分^[6],ApoA1能反映机体脂代谢情况,且与肝功能关系密切。但目前较少有研究关注肝癌患者手术后AFP、 γ -GT、ApoA1对患者预后的影响,现将探究肝癌患者手术前后AFP、 γ -GT、ApoA1水平变化情况及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料与试剂

1.1.1 临床资料

选择本院2013年1月至2017年12月间收治的180例行肝癌手术治疗的患者的临床资料。其中男性144例、女性36例,年龄40~78岁,平均年龄(53.27±11.84)岁。乙肝表面抗原阳性者156例,合并其他肝病者52例,有肝癌家族史者21例。肿瘤

数量:单发者140例、多发者40例。有门静脉癌栓者26例。分化程度:低分化者21例、中分化及高分化者159例。有淋巴结转移者27例。累及脉管者114例。

纳入标准:①均经病理检查确诊为原发性肝癌者;②符合肝癌根治术指征者;③首次手术治疗者;④术前未接受放化疗等抗癌治疗者;⑤所有患者及家属均已签署知情同意书。排除标准:①其他器官严重功能不全者、严重全身性疾病者;合并其他恶性肿瘤;②免疫性疾病者。

1.1.2 试剂/仪器

AFP测定试剂盒(化学发光法),由亚辉龙生物科技有限公司提供; γ -GT试剂盒,由江莱生物科技有限公司提供;ApoA1试剂盒(免疫比浊法),由生之源生物科技有限公司提供。仪器:CTK132C型自动离心机(湘仪仪器有限公司)、AU480型自动生化分析仪(日本奥林巴斯株式会社)。

1.2 方法

所有肝癌患者均于术前、术后7d分别采集空腹外周静脉血3 mL,3 500 r/min离心5 min后,收集上清液-20℃保存待测,采用化学发光法测定患者AFP水平,采用酶联免疫法测定 γ -GT水平,采用免疫比浊法测定ApoA1水平。

1.3 统计学处理方法

采用SPSS 19.0软件进行分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,呈正态分布行 t 检验,偏态分布计量数据以中位数(四分位间距)表示,行非参数检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,生存期对比采用log-rank法,

$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌手术前后 AFP、 γ -GT、ApoA1 水平变化情况

肝癌患者术后 7 d, 肝癌患者 AFP 均低于术前, ApoA1 均高于术前, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 肝癌手术前后 AFP、 γ -GT、ApoA1 水平变化情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

时间	<i>n</i>	AFP($\mu\text{g/L}$)	γ -GT(U/L)	ApoA1(g/L)
术前	180	313.17 \pm 87.93	72.25 \pm 4.97	0.79 \pm 0.32
术后 7 d	180	23.71 \pm 5.04	58.53 \pm 10.60	0.89 \pm 0.22
<i>t</i> 值	-	44.094	15.723	-3.455
<i>P</i> 值	-	<0.0001	<0.0001	<0.0001

表 2 手术前后 AFP、 γ -GT、ApoA1 与肝癌复发的关系

指标	AUC	最佳临界值	敏感度(%)	特异度(%)	95%CI	<i>P</i> 值	
术前	AFP	0.695	327.35	0.628	0.691	0.610~0.771	<0.001
	γ -GT	0.639	75.49	0.490	0.881	0.552~0.720	0.007
	ApoA1	0.550	0.78	0.549	0.583	0.462~0.635	0.334
术后	AFP	0.617	27.80	0.392	0.893	0.529~0.699	0.024
	γ -GT	0.639	62.87	0.510	0.810	0.564~0.731	0.003
	ApoA1	0.610	0.710	0.431	0.881	0.523~0.694	0.037

2.2 手术前后 AFP、 γ -GT、ApoA1 与肝癌复发的关系

2.2 手术前后 AFP、 γ -GT、ApoA1 与肝癌复发的关系

ROC 曲线显示手术前后 AFP、 γ -GT 和术后 ApoA1 均是诊断肝癌复发的有效指标, ROC 曲线下面积(AUC)中, 术前 AFP 诊断肝癌复发 AUC 最大, 为 0.695, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1、表 2。

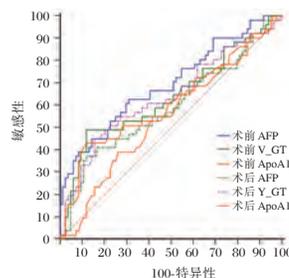


图 1 手术前后 AFP、 γ -GT、ApoA1 诊断肝癌术后复发的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curves of AFP, γ -GT and ApoA1 before and after surgery in the diagnosis of recurrence after liver cancer surgery

2.3 术前 AFP、 γ -GT、ApoA1 水平与临床病理特征的关系

肝癌术前 AFP、 γ -GT 的高值者在多发肿瘤、有门静脉癌栓、组织低分化中占比均高于低值者 ($P < 0.05$), 肝癌术前 ApoA1 高值者肿瘤多发、组织低分化中占比均低于低值者 ($P < 0.05$), 肝癌术前 AFP 高值者累及脉管中占比均高于低值者 ($P < 0.05$), 肝癌术前 γ -GT 高值者淋巴结转移者占比高于低值者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 术后 AFP、 γ -GT、ApoA1 与患者生存的关系

术后 AFP、 γ -GT 高值生存率、生存期均低于低值者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 术后 ApoA1 高值者生存率、生存期高于生存期低值者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4、图 2。

2.5 随访结果

180 例患者随访至 12 个月复发 55 例、1 年复发率 30.56%, 18 个月总复发 68 例、总复发率 37.78%。180 例患者随访至 12 个月生存 141 例、1 年生存率

78.33%, 18 个月总生存 121 例、总生存率 67.22%。

3 讨论

目前已有部分研究探讨如何预测肝癌患者的不良预后风险, 血清指标检测操作便利、可行性高, 在肝癌诊治及疗效评估中发挥重要作用。有研究显示, 术前 AFP 是影响肝癌患者术后复发、预后的独立危险因素^[7-8]。但不同研究在手术前后 AFP 预测肝癌预后的效能、最佳临界值方面, 仍存在分歧。同时有研究发现, HBV 相关肝癌患者血清 ApoA1 水平与其 TNM 分期等多个临床特征均相关^[9]。还有证据显示, γ -GT 是诊断肝癌、评估肝癌疗效的有效指标^[10-11]。而脂质分子及其衍生物与临床结局之间的相关性已在许多癌症中得到广泛证实, 但 ApoA1 等在预测肝癌预后的价值仍未知, 故本研究进行探讨。

AFP 是一种特异程度较高的肝癌标志物, 常在肝癌患者中高表达。影像学检查显示, AFP 阳

表3 术前 AFP、 γ -GT、ApoA1 水平与临床病理特征的关系 [n(%)]

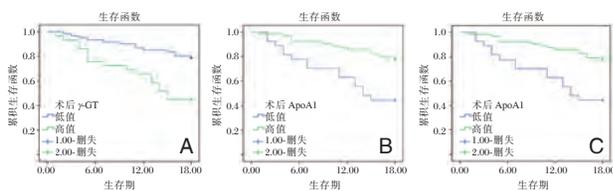
Table 3 Relationship between levels of AFP, γ -GT and ApoA1 before surgery and clinicopathological features [n(%)]

临床病理特征	n	AFP(μ g/L)		γ -GT(U/L)		ApoA1(g/L)		
		高值(n=77)	低值(n=103)	高值(n=49)	低值(n=131)	高值(n=96)	低值(n=84)	
肿瘤数量	多发	40	26(33.77)	14(13.59)	24(48.98)	16(12.21)	14(14.58)	26(30.95)
	单发	140	51(66.23)	89(86.41)	25(51.02)	115(87.79)	82(85.42)	58(69.05)
χ^2 值			10.375		27.890		6.945	
P值			0.001		<0.0001		0.008	
门静脉癌栓	有	26	16(20.78)	10(9.71)	18(36.73)	8(6.11)	12(12.50)	14(16.67)
	无	154	61(79.22)	93(90.29)	31(63.27)	123(93.89)	84(87.50)	70(83.33)
χ^2 值			4.370		27.069		0.629	
P值			0.037		<0.0001		0.428	
分化程度	低	21	16(20.78)	5(4.85)	12(24.49)	9(6.87)	4(4.17)	17(20.24)
	中高	159	61(79.22)	98(95.15)	37(75.51)	122(93.13)	92(95.83)	67(79.76)
χ^2 值			10.843		10.743		11.228	
P值			0.001		0.001		0.001	
淋巴结转移	有	27	12(15.58)	15(14.56)	15(55.56)	12(9.16)	11(11.46)	16(19.05)
	无	153	65(84.42)	88(85.44)	34(22.22)	119(90.84)	85(88.54)	68(80.95)
χ^2 值			0.036		12.871		2.024	
P值			0.849		<0.0001		0.155	
累及脉管	有	114	63(81.82)	51(49.51)	30(61.22)	84(64.12)	64(66.67)	50(59.52)
	无	66	14(18.18)	52(50.49)	19(38.78)	47(35.88)	32(33.33)	34(40.48)
χ^2 值			19.800		0.129		0.984	
P值			<0.0001		0.720		0.321	

表4 术后 AFP、 γ -GT、ApoA1 与患者生存期的关系

Table 4 Relationship between AFP, γ -GT and ApoA1 after surgery and patient survival time

指标水平	术后 AFP		术后 γ -GT		术后 ApoA1	
	生存率	生存期	生存率	生存期	生存率	生存期
高值	30.00(12/39)	10.00(4.25, 18.00)	44.64(25/56)	15.00(6.00, 18.00)	77.37(106/137)	18.00(18.00, 18.00)
低值	78.57(109/141)	18.00(18.00, 18.00)	77.42(96/124)	18.00(18.00, 18.00)	34.88(15/43)	14.00(7.00, 18.00)
χ^2/Z 值	30.026	26.497	18.809	11.727	26.814	11.605
P值	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.001	<0.0001	0.001



注:A为AFP; B为术后 γ -GT; C为ApoA1。

图2 术后 AFP、 γ -GT、ApoA1 高值和低值患者生存曲线
Figure 2 Survival curves of patients with postoperative high and low AFP, γ -GT, ApoA1

性肝癌的病灶往往分期更晚、生物学行为危险程度更高^[12]。分子医学相关文献则指出,AFP mRNA 阳性表达与门静脉侵犯、肝内转移相关,与患者术后复发转移关联密切^[13]。本研究结果显示术前 AFP 高值肝癌人群具有更多复发危险因素。值得关注的是,术后 AFP 高水平患者术后复发风险也更高,推测其原因可能是,高 AFP 水平表示患者手

术切除范围不足、循环肿瘤数量较多及更多的微血管侵犯等。在患者生存中也可观察到,术后 AFP 高值者生存期和生存率也更低。

本研究结果这说明 γ -GT 水平与肝癌肿瘤组织侵袭程度相关。 γ -GT 在肝脏内合成,主要分布在肝细胞膜和微粒体上,其作用是催化谷胱甘肽上氨酰基的转移^[14]。因此当患者表现出异常升高的 γ -GT 水平时,考虑肝细胞癌变后合成过多 γ -GT,生理功能恢复不佳,术后 γ -GT 高值肝癌患者生存期、生存率均更差。本研究结果显示,术前 ApoA1 不是预测肝癌复发的有效指标,但术后 ApoA1 高值者生存期更长、总生存率更高。近年来,异常脂代谢已被证实是癌细胞中至关重要的代谢重编程过程^[15]。载脂蛋白 A 在胆固醇代谢中起重要作用,其降低可能与癌变肝细胞功能损害有关,致使患者脂代谢异常。术后 ApoA1 水平高说 (下转第 1526 页)

OSAHS患者相关炎性因子的表达与动脉粥样硬化的相关性分析

班健* 罗雁 韦圳原

[摘要] **目的** 分析阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者相关炎性因子的表达及其动脉粥样硬化的相关性。**方法** 对本院呼吸内科收治的65例OSAHS患者根据睡眠呼吸暂停低通气指数(AHI)分为轻度(22例)、中度(23例)和重度(20例)3组,予以持续气道内正压(CPAP)治疗;并选取同时段予以常规体检的健康人群(25例)作为对照组,监测四组人群白细胞介素-18(IL-18)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、内皮素-1(ET-1)水平、颈动脉内膜中膜厚度(IMT)以及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-ch)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-ch)、甘油三酯表达情况。**结果** 对照组平均血氧饱和度(SaO₂)、最低SaO₂指数最高,AHI及颈动脉IMT以及IL-18、TNF- α 、ET-1、HDL-ch水平最低,四组LDL-ch、甘油三酯水平对比无统计学意义($P>0.05$);OSAHS患者中,随病情的加重,其平均SaO₂、最低SaO₂逐渐降低;AHI、颈动脉IMT及上述炎性因子逐渐升高,组间对比具有统计学意义($P<0.05$);治疗后,OSAHS患者最低SaO₂均明显上升,AHI及上述炎性因子明显降低($P<0.05$);而颈动脉IMT、LDL-ch、HDL-ch以及甘油三酯三组对比无统计学意义($P>0.05$);经相关性分析,OSAHS患者上述炎性因子水平与平均SaO₂、最低SaO₂呈负相关,与AHI和颈动脉IMT呈正相关($P<0.05$)。**结论** OSAHS患者其颈动脉IMT增厚,其炎性因子水平与病情严重程度呈正相关。

[关键词] OSAHS; 动脉粥样硬化; IL-18、TNF- α 、ET-1

Correlation analysis between related inflammatory factors in patients with OSAHS and atherosclerosis

BAN Jian*, LUO Yan, WEI Zhenyuan

(Department of Respiratory, Qinzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qinzhou, Guangxi, China, 535099)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the expression of related inflammatory factors in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome (OSAHS) and the correlation with atherosclerosis. **Method** 65 patients with OSAHS admitted to our department of respiratory medicine were selected and were divided into the mild group (22 cases), the moderate group (23 cases) and the severe (20 cases) group according to the sleep apnea hypopnea index (AHI). The patients were treated with continuous positive airway pressure (CPAP), and healthy subjects (25 patients) who underwent routine physical examination at the same time were selected as the control group, and interleukin-18 (IL-18), tumor necrosis factor- α (TNF- α), endothelin-1 (ET-1) levels and carotid intima-media thickness (IMT), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-ch), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-ch), and triglycerides were monitored in four groups. **Results** The average oxygen saturation (SaO₂) and the lowest SaO₂ index were the highest in the control group, and the AHI, carotid IMT and IL-18, TNF- α , and ET-1 were the lowest, and there was no significant difference in LDL-ch and tri-

基金项目:广西自然科学基金项目(2015GXNSFBA139132)

作者单位:钦州市中医医院呼吸内科,广西,钦州 535099

*通信作者:班健, E-mail:342669671@qq.com

glyceride levels in the four groups ($P>0.05$). In patients with OSAHS, the average SaO_2 and the lowest SaO_2 decreased gradually with the severity of the disease, and AHI, carotid IMT and the above inflammatory factors gradually increased, and the differences in the four groups were statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the lowest SaO_2 in patients with OSAHS significantly increased, AHI, carotid IMT and the above inflammatory factors significantly decreased ($P<0.05$). There was no significant difference between the three groups in the carotid IMT, LDL-ch, HDL-ch, and triglycerides ($P>0.05$). Correlation analysis showed that the levels of above inflammatory factors in OSAHS patients were negatively correlated with mean SaO_2 and lowest SaO_2 , and positively correlated with AHI and carotid IMT ($P<0.05$). **Conclusion** In patients with OSAHS, the carotid IMT is thickened, and the level of inflammatory factors is positively correlated with the severity of the disease.

[KEY WORDS] OSAHS; Atherosclerosis; IL-18, TNF- α , ET-1

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (Obstructive Sleep Apnea Hypopnea Syndrome, OSAHS) 是指在睡眠时出现上气道组织阻塞或坍塌, 从而引起睡梦中出现呼吸暂停、打呼噜等症状的综合性疾病^[1]。有研究显示, OSAHS 是心脑血管疾病发生的独立危险因素之一^[2]。而动脉粥样硬化是发生心脑血管疾病的重要基础, 其中炎性因子白细胞介素-18 (Interleukin-18, IL-18)、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、内皮素-1 (Endothelin-1, ET-1) 是引起动脉粥样硬化的常见炎症因子^[3]。本研究对收治的 OSAHS 患者进行持续气道内正压 (Continuous Positive Airway Pressure, CPAP) 治疗, 记录其血浆中的 IL-18、TNF- α 、ET-1 水平含量和颈动脉内膜中膜厚度 (Intima-Media Thickness, IMT)、高密度脂蛋白胆固醇 (High-Density Lipoprotein, HDL-ch)、低密度脂蛋白胆固醇 (Low-Density Lipoprotein, LDL-ch) 以及甘油三酯等血脂指标的变化情况, 分析 OSAHS 患者炎性因子的表达及与动脉粥样硬化的相关性, 为其诊断及治疗提供有效的临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究为期 2 年, 65 例对象为于本院呼吸内科接受持续气道内正压治疗 (CPAP) 的年龄处于 25~67 岁, 平均 (43.72 \pm 9.55) 岁的 OSAHS 患者, 其中男 35 例, 女 30 例, 依据睡眠呼吸暂停低通气指数 (Apnea Hypopnea Index AHI)^[4] 分为轻度组、中度组和重度组。纳入标准: ①经多导睡眠监测 (PSG) 仪等检查确诊为 OSAHS 患者; ②近一个月内未发生感染、创伤或进行手术; 排除标准: ①伴有恶性肿瘤、冠心病、糖尿病等病史; ②合并严重

心、肝、肾功能不全; ③长期服用抗凝或非甾体类抗炎药物; ④合并自身免疫性疾病、脂肪肝等其他影响炎性因子的疾病。再选取 25 例同时间段予以健康体检的人群作为对照组, 男 14 例, 女 11 例, 平均 (43.07 \pm 9.51) 岁。各组基线资料比较无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 试剂/仪器

多导睡眠监测仪 (澳大利亚 Compumedics 公司)、Autospirit 型呼吸机 (澳大利亚 Resmed 公司)、HDL5000 型彩色多普勒超声诊断仪 (美国飞利浦公司)、酶联免疫吸附法试剂盒 (美国 Biosource 公司)、放射免疫法试剂盒 (北京科美东雅生物技术有限公司)、Au2700 型全自动生化分析仪 (日本奥林巴斯公司)、生化分析试剂盒 (上海申能生物科技有限公司)。

1.2.2 治疗及监测

选用呼吸机对 CAPA 压力滴定及最佳有效正压进行滴定, 并根据病情进行压力调节; 当各症状消失则表示此 CAPA 压力为最佳压力^[5]。以此最佳压力进行时长 5~8 h, 治疗压力 8~15 cm H₂O 的为期 3 个月的连续治疗。期间运用多导睡眠监测仪对各组人群睡眠情况及 SaO_2 等进行实时监测, 并对各数据进行人工计算。利用彩色多普勒超声诊断仪同步连接肢体导联心电图, 在患者颈总动脉分叉处近端后壁 1.5 cm 处对颈动脉 IMT 进行测量, 测量 3 次并取其平均值。监测完毕后, 抽取 5 mL 清晨空腹静脉血, 予以抗凝、离心。IL-18 和 TNF- α 水平含量采用酶联免疫吸附法测定; ET-1 采用放射免疫法测定; HDL-ch、LDL-ch、甘油三酯则运用全自动生化分析仪检测。

1.3 判定指标

睡眠质量根据睡眠呼吸障碍标准^[6]判定:呼吸暂停:低通气:伴有 SaO₂下降≥4%且气流降低正常气流强度 30%以上现象>10s 或伴有 SaO₂下降≥3%且气流降低高出正常气流强度 50%以上现象>10 s。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 18.00 统计学软件进行分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t*/*F* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验。相关性分析运用 Pearson 相关

进行分析 *P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对比各组睡眠及颈动脉 IMT 情况

对照组 HDL-ch、平均 SaO₂、最低 SaO₂均明显高于 OSAHS 患者,AHI 及颈动脉 IMT 均显著偏低 (*P*<0.05),LDL-ch、甘油三酯差异无统计学意义 (*P*>0.05);OSAHS 患者随病情的不断加重,其平均 SaO₂、最低 SaO₂呈降低趋势;AHI 和颈动脉 IMT 则呈上升趋势 (*P*<0.05),见表 1。

表 1 各组睡眠及动脉粥样硬化指标情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of sleep and atherosclerosis indicators in each group ($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组 (<i>n</i> =25)	OSAHS 患者			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
		轻度组	中度组	重度组		
平均 SaO ₂ (%)	95.56±2.23	93.10±2.52 ^a	88.79±5.43 ^{ab}	83.26±2.62 ^{abc}	52.91	<0.001
最低 SaO ₂ (%)	92.13±3.14	86.13±5.15 ^a	82.17±5.51 ^{ab}	71.64±5.46 ^{abc}	68.81	<0.001
AHI(次/h)	2.13±1.01	10.31±2.54 ^a	22.64±3.78 ^{ab}	40.61±5.35 ^{abc}	515.71	<0.001
LDL-ch(mmol/L)	2.86±0.83	2.90±0.82	2.94±0.77	2.96±0.85	0.07	0.977
HDL-ch(mmol/L)	1.23±0.24	1.03±0.15 ^a	1.07±0.18 ^a	0.99±0.22 ^a	6.39	<0.001
甘油三酯(mmol/L)	1.03±0.51	2.21±2.04	1.54±1.58	2.01±1.85	2.60	0.058
颈动脉 IMT(mm)	0.66±0.09	0.74±0.12 ^a	0.87±0.18 ^{ab}	1.06±0.15 ^{abc}	34.84	<0.001

注:与对照组相比,^a*P*<0.05;与轻度组相比^b*P*<0.05;与中度组相比,^c*P*<0.05。

2.2 对比各组炎症因子水平情况

四组人群中,对照组 IL-18、TNF-α、ET-1 水平

均为最低,随病情严重程度逐渐上升 (*P*<0.05),见表 2。

表 2 各组炎症因子水平情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of levels of inflammatory factors in each group ($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组	OSAHS 患者			<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
		轻度组	中度组	重度组		
IL-18(ng/L)	249.86±76.23	352.67±76.13 ^a	601.02±84.54 ^{ab}	797.61±112.34 ^{abc}	175.58	<0.001
TNF-α(ng/L)	12.33±3.39	17.64±3.01 ^a	23.74±2.98 ^{ab}	36.07±3.37 ^{abc}	221.63	<0.001
ET-1(ng/L)	0.61±0.13	0.82±0.14 ^a	1.05±0.22 ^{ab}	1.67±0.31 ^{abc}	104.70	<0.001

注:与对照组相比,^a*P*<0.05;与轻度组相比^b*P*<0.05;与中度组相比,^c*P*<0.05。

2.3 对比 OSAHS 患者治疗前后颈动脉 IMT、炎症因子水平及睡眠情况

患者治疗后最低 SaO₂与治疗前相比明显上升,AHI、IL-18、TNF-α、ET-1 均降低 (*P*<0.05),颈动脉 IMT、HDL-ch、LDL-ch 以及甘油三酯均无明显变化 (*P*>0.05);见表 3。

2.4 OSAHS 患者炎症因子与动脉粥样硬化的相关性的相关性

经 Pearson 相关性分析,OSAHS 患者炎症因子 IL-18、TNF-α、ET-1 水平与平均 SaO₂、最低 SaO₂呈负相关,与 AHI 和颈动脉 IMT 呈正相关 (*P*<0.05)。见表 4。

3 讨论

有研究显示,OSAHS 发作频繁,将导致心衰、心律失常,严重时发生脑损害还将导致智力减退、行为异常等现象。研究表明,颈动脉 IMT 的变化在发生脑卒中、心肌梗死以及血管动脉粥样硬化等心血管病变中可作为相关参考依据^[7]。本研究通过对健康人群和 OSAHS 患者的颈动脉 IMT 变化情况可知 OSAHS 患者的颈动脉 IMT 明显厚于健康人群,且随 OSAHS 病情的不断恶化而变厚,这与既往研究结果^[8]一致。因此 OSAHS 患者发生心脑血管病变的概率会随其病情转恶情况而不断上升。

表3 OSAHS患者治疗前后动脉粥样硬化指标、炎症因子水平及睡眠情况 ($n=65, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Indexes of atherosclerosis, inflammatory factor levels, and sleep status before and after treatment in patients with OSAHS ($n=65, \bar{x} \pm s$)

指标	治疗前	治疗后	t值	P值
最低 SaO ₂ (%)				
轻度				
中度	90.87±7.94	97.86±8.77	3.701	<0.001
重度	74.15±3.88	87.85±7.13	7.548	<0.001
AHI(次/h)				
轻度	30.31±3.93	7.52±3.04	21.514	<0.001
中度	36.23±5.19	8.34±2.57	23.095	<0.001
重度	47.64±6.56	9.20±3.14	23.637	<0.001
颈动脉 IMT (mm)				
轻度	0.93±0.12	0.90±0.07	1.013	0.317
中度	0.96±0.11	0.91±0.09	1.687	0.099
重度	0.98±0.14	0.91±0.10	1.820	0.077
IL-18(ng/L)				
轻度	356.98±73.63	272.48±68.10	3.952	<0.001
中度	612.48±82.46	300.47±75.46	13.387	<0.001
重度	754.23±120.45	339.35±88.42	12.417	<0.001
TNF-α(ng/L)				
轻度	19.31±3.06	13.57±2.84	6.449	<0.001
中度	25.77±2.45	14.64±3.26	13.089	<0.001
重度	35.28±3.88	16.43±3.35	16.445	<0.001
ET-1(ng/L)				
轻度	0.85±0.17	0.68±0.15	3.517	0.001
中度	1.47±0.26	0.71±0.16	11.939	<0.001
重度	1.72±0.29	0.79±0.20	11.806	<0.001
LDL-ch (mmol/L)				
轻度	2.28±0.74	2.25±0.77	0.132	0.896
中度	2.56±0.85	2.33±0.72	0.990	0.328
重度	2.63±0.92	2.45±0.78	0.667	0.509
HDL-ch (mmol/L)				
轻度	1.05±0.27	1.03±0.26	0.250	0.804
中度	1.06±0.25	1.03±0.27	0.391	0.697
重度	1.02±0.24	0.99±0.25	0.387	0.701
甘油三酯 (mol/L)				
轻度	2.10±1.32	1.87±1.21	0.603	0.550
中度	2.16±1.38	1.75±1.17	1.087	0.283
重度	2.11±1.34	1.78±1.16	0.833	0.410

而在动脉粥样硬化的病变过程中炎症反应也发挥了不可忽视的作用^[9]。在本研究中健康体检者的炎症因子 IL-18、TNF-α、ET-1 水平就明显低于 OSAHS 患者。其中 IL-18 就是在炎症反应症中具有多向性效应的炎症因子,有实验证明,在发生动脉粥样硬化伴有斑块形成及增大的过程中,IL-18 具有促进炎症细胞快速增加,加速动脉粥样硬化狭

表4 OSAHS患者炎症因子与动脉粥样硬化的相关性的相关性

Table 4 Correlation between inflammatory factors and atherosclerosis in OSAHS patients

影响因素	IL-18		TNF-α		ET-1	
	R值	P值	R值	P值	R值	P值
颈动脉 IMT	0.845	<0.05	0.819	<0.05	0.828	<0.05
平均 SaO ₂	-0.809	<0.05	-0.856	<0.05	0.834	<0.05
最低 SaO ₂	-0.877	<0.05	-0.812	<0.05	-0.873	<0.05
AHI	0.879	<0.05	0.848	<0.05	0.827	<0.05

窄的效果^[10]。TNF-α 是一种由巨噬细胞和单核细胞产生的炎症因子,具有促进炎症细胞增殖分化的功能^[11]。ET-1 又称为内皮源性血管收缩因子,是调节心血管功能的重要因子之一,具有很强的收缩血管的作用,其水平含量有效的反映出血管内皮发生的紊乱,相关研究表明,炎症因子的变化情况与 OSAHS 患者的颈动脉 IMT 具有重要联系^[12]。本研究结果这提示炎症因子 IL-18、TNF-α、ET-1 可作为 OSAHS 患者其病变程度的重要参考依据。

目前临床上对于 OSAHS 患者主要通过呼吸机治疗,但其疗效与动脉粥样硬化等心脑血管疾病的相关性的研究较少,国外学者 Petra^[13]认为,运用呼吸机治疗 OSAHS 患者可通过外部增加的持续正压来缓解睡眠呼吸时的低通气及暂停症状,纠正低氧血症金额高碳酸血症,从而抑制炎症因子的增加及氧化应激反应的发生,延缓动脉粥样硬化的进程^[14]。而本研究结果这提示不同严重程度 OSAHS 患者经 CPAP 治疗可有效提高其血氧饱和度,降低其 AHI 和炎症因子水平,CPAP 治疗效果佳。本研究经 Pearson 相关性分析,OSAHS 患者的炎症因子水平与平均 SaO₂、最低 SaO₂呈负相关,与 AHI 和颈动脉 IMT 呈正相关,进一步推进研究结果。而对颈动脉 IMT 的影响较小,可能是本研究研究人数及时间有限的原因,还值得进一步探讨研究。

综上所述,OSAHS 患者其相关炎症因子水平 IL-18、TNF-α、ET-1 水平与动脉粥样硬化进程具有密切联系。CPAP 可有效促进 OSAHS 患者病情缓解。

参考文献

[1] 李静,武瑞芳. 无创机械通气治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的疗效及对患者血清炎症因子的影响[J]. 中国基层医药, 2018, 25(20):2638-2641.
 [2] 徐林,罗义华,李霞. 血小板生长因子、白介素-17 在肺纤维化诊断及预后的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2):132-135.

- [3] 刘杰峰, 庞剑. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者体内相关炎症因子水平改变及其与嗜睡情况的相关性分析[J]. 中国临床医学, 2017, 23(2):23-24.
- [4] 蔡伟, 张秀伟, 杨健, 等. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者血炎症因子水平与动脉粥样硬化相关性及其与干预治疗的研究[J]. 慢性病学杂志, 2016, 17(10):1074-1077.
- [5] 孙念, 叶京英, 倪鑫, 等. 体位相关性阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者临床特征分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 51(11):801-805.
- [6] 梁送民, 陈仲春, 黄晶晶, 等. 便携式睡眠监测仪对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的诊断价值分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 51(3):209-211.
- [7] Daniel B. Harmon, Prasad Srikakulapu, Jennifer L. Kaplan, et al. Protective Role for B-1b B Cells and IgM in Obesity-Associated Inflammation, Glucose Intolerance, and Insulin Resistance [J]. *Arteriosclerosis Thromb Vascular Biol*, 2016, 36(4):116.
- [8] 缪碧芳, 沈宁, 肖建宏, 等. 持续气道正压通气治疗对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征合并高血压患者降压效果的 Meta 分析[J]. 解放军医学杂志, 2016, 41(11):12-14.
- [9] 周晓蕾, 赵志国, 袁彦丽, 等. 持续正压通气治疗对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者巨噬细胞移动抑制因子和 C 反应蛋白的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 32(4):123-126.
- [10] 袁平, 王文君, 李东风, 等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者巨噬细胞移动抑制因子的表达及其与血管内皮细胞损伤的关系研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(11):871-875.
- [11] 秦璐, 赵颖, 佟隽瑶, 等. 颈动脉粥样硬化伴 OSAHS 患者的颈动脉超声研究[C]// 中国睡眠研究会第十届全国学术年会, 2018.
- [12] 王艳梅, 陈爱荣. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征与炎症因子及代谢指标的研究进展[J]. 中西医结合心血管病杂志(电子版), 2016, 3(18):19-21.
- [13] Petra Haberzettl, Daniel J. Conklin, Wesley T. Abplanalp. Inhalation of Fine Particulate Matter Impairs Endothelial Progenitor Cell Function Via Pulmonary Oxidative Stress [J]. *Arteriosclerosis Thrombosis & Vasc Biol*, 2017, 38(1):117.
- [14] 刘林生, 周建英, 罗巍, 等. CPAP 治疗 OSAHS 伴动脉粥样硬化患者对动脉粥样硬化的稳定作用[J]. 中国医药指南, 2015, 12(12):12.

(上接第 1521 页)

明病灶清除有效、肝功能恢复情况良好,进而改善患者预后。

综上所述,肝癌患者术后 AFP 和 γ -GT 水平下降、ApoA1 水平升高,术前后 AFP 和 γ -GT 预测肝癌术后复发、生存效能良好,术后 ApoA1 则是预测肝癌患者预后的有效指标。

参考文献

- [1] 程书蕙,陈波,李晔雄. 原发性肝癌术后辅助治疗的研究进展[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2019, 28(3):233-237.
- [2] 姚明解,陈华楠,钱相君,等. 乙型肝炎病毒感染相关肝癌患者术前异常凝血酶原和甲胎蛋白水平对其预后影响的研究[J]. 中国实用内科杂志, 2019, 39(7):640-643.
- [3] 谢青云,雷泽华,高峰畏,等. 原发性肝癌 TACE 介入治疗前后血清 AFP、AKP、 γ -GT 水平的变化[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(10):101-104.
- [4] 林叶昕,安方梅,占强. MicroRNAs 调控脂代谢相关蛋白影响肝细胞癌发病机制的研究进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(3):219-222.
- [5] 李宏良,张东军,孙志坚. 肝病患者血清前白蛋白、载脂蛋白-A1、胆碱酯酶、 γ -谷氨酰转肽酶、凝血酶原时间、总胆汁酸的变化及临床意义[J]. 中华传染病杂志, 2016, 34(3):182-185.
- [6] Yao X, Gordon EM, Figueroa DM, et al. The Emerging Roles of Apolipoprotein E and Apolipoprotein A-I in the Pathogenesis and Treatment of Lung Disease [J]. *Am J Res Cell Mol Biol*, 2016, 55(2):159-169.
- [7] 李风伟,邹奇飞,薛辉,等. 术前糖类抗原 19-9 水平评估不同甲胎蛋白水平肝细胞癌切除术后患者的预后[J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(6):603-609.
- [8] 杨针,汪建林,尚润泽,等. 术前血清甲胎蛋白水平与肝细胞癌术后患者早期复发的相关性分析[J]. 中华肝胆外科杂志, 2018, 24(3):179-183.
- [9] 高国生,董飞波,颜卫华. 血清载脂蛋白 A-1 检测在 HBV 相关肝癌中的临床价值[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(4):109-112.
- [10] 王军梅,莫扬. 肝癌血清 AFP、CEA、GGT 和 AFU 水平检测的临床意义[J]. 肝脏, 2019, 24(2):208-210.
- [11] 谢青云,雷泽华,高峰畏,等. 原发性肝癌 TACE 介入治疗前后血清 AFP、AKP、 γ -GT 水平的变化[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(10):101-104.
- [12] 程建飞,唐荣,吴鲜花,等. AFP 阳性与阴性表达型肝细胞癌患者的超声造影表现及差异分析[J]. 中国超声医学杂志, 2019, 35(8):712-716.
- [13] 牛楠,任旋磊,沙洪存等. 联合检测外周血 AFPmRNA、h-TERTmRNA、CD44v6mRNA 和 MAGEmRNA 对原发性肝癌术后复发的预测价值[J]. 中华普通外科杂志, 2017, 32(9):778-782.
- [14] 黄学胜,李继泉,罗俊峰,等. IGF-2、AFP、ALP、 γ -GT 在原发性肝癌模型小鼠血清中的表达水平[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(18):3210-3214.
- [15] Ma MZ, Yuan SQ, Chen YM, et al. Preoperative apolipoprotein B/apolipoprotein A1 ratio: A novel prognostic factor for gastric cancer [J]. *Oncotargets and Therapy*, 2018, 11(16):2169-2176.

大面积脑梗死患者外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平变化及意义

刘磊* 董海 何仲春 徐丽娟

[摘要] **目的** 观察大面积脑梗死患者外周血辅助性T细胞1(Th1)、辅助性T细胞2(Th2)、辅助性T细胞17(Th17)、调节性T细胞(Treg)水平变化及意义。**方法** 选取2017年2月至2019年2月本院收治的大面积脑梗死患者98例作为观察组,同期行体检的正常人员53例作为对照组。比较两组Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平以及白介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素-14(IL-4)与 γ -干扰素(IFN- γ)的含量;观察组患者行磁敏感加权成像(SWI)影像检测,分析梗死面积、梗死灶数量与Th1、Th2、Th17、Treg的相关性;观察组患者常规治疗1个月后,比较观察组患者治疗前后的Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平与IL-17、TNF- α 、IL-4与IFN- γ 。**结果** 观察组Th2、Treg水平显著低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);观察组治疗前Th2、Treg水平显著低于治疗后,差异具有统计学意义($P<0.05$);观察组Th1、Th17、IL-17、TNF- α 、IL-4与IFN- γ 水平显著高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),观察组治疗前Th1、Th17、IL-17、TNF- α 、IL-4与IFN- γ 水平显著高于治疗后,差异具有统计学意义($P<0.05$);观察组患者外周血Th2、Treg细胞水平与脑梗死病灶数量、病灶体积、病灶深度呈负相关性($P<0.05$),观察组患者外周血Th1、Th17细胞水平与大面积脑梗死病灶数量、病灶体积、病灶深度呈正相关性($P<0.05$);logistics回归分析结果显示,外周血Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平与大面积脑梗死诊断结果具有显著相关性($P<0.05$)。**结论** 大面积脑梗死病情发展与患者外周血Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平密切相关,Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平可作为大面积脑梗死发病的独立危险因素。

[关键词] 大面积脑梗死; Th1; Th2; Th17; Treg

Changes and significance of peripheral blood Th1, Th2, Th17 and Treg cells in patients with massive cerebral infarction

LIU Lei*, DONG Hai, HE Zhongchun, XU Lijuan

(The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan, China, 610500)

[ABSTRACT] **Objective** To observe the changes and significance of peripheral blood Th1, Th2, Th17 and Treg cells in patients with massive cerebral infarction. **Methods** 98 patients with massive cerebral infarction admitted to the hospital between February 2017 and February 2019 were selected as the observation group, and 53 normal people who complete physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of Th1, Th2, Th17, Treg cells, interleukin-17 (IL-17) and tumor necrosis factor α (TNF- α) were measured and compared. Patients in the observation group completed susceptibility weighted imaging (SWI). The correlation between the infarct size, number of infarcts and Th1, Th2, Th17, Treg cells was analyzed. After 1 month of routine treatment, the levels of Th1, Th2, Th17, Treg cells, IL-17, TNF- α , IL-4 and IFN- γ in the observation group before and after treatment were compared. **Results** Th2 and Treg in the observation group were significantly lower than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). Besides, Th2 and Treg in observation group before treatment were significantly lower than those after treatment, with statistical significance ($P<0.05$). Th1, Th17, IL-17, TNF- α , IL-4 and IFN- γ were

基金项目:四川省卫生和计划生育委员会科研课题(16PJ098)

作者单位:成都医学院第一附属医院,四川,成都 610500

*通信作者:刘磊, E-mail: syos59023@sina.com

significantly higher than those in the control group, with statistical significance ($P < 0.05$). Besides, the above indicators in the observation group before treatment were significantly higher than those after treatment, with statistical significance ($P < 0.05$). The levels of Th2 and Treg cells in peripheral blood were negatively correlated with the number, volume and depth of cerebral infarction lesions ($P < 0.05$). However, the levels of Th1 and Th17 cells in peripheral blood were positively correlated with the number, volume and depth of cerebral infarction lesions ($P < 0.05$). Logistics regression analysis showed that the levels of Th1, Th2, Th17 and Treg cells in peripheral blood were significantly correlated with the diagnostic results of massive cerebral infarction ($P < 0.05$). Conclusion The development of large-area cerebral infarction is closely related to the levels of Th1, Th2, Th17 and Treg cells in the peripheral blood of patients. The levels of Th1, Th2, Th17 and Treg cells can be used as independent risk factors for the onset of large-area cerebral infarction.

[KEY WORDS] Massive cerebral infarction; Th1; Th2; Th17; Treg

脑梗死是一种由多种诱因引起的患者脑组织局部血液供应不足或血管受损出血,造成脑组织坏死或软化的疾病^[1]。患者发病前往往无特殊表现,易被忽视。脑梗死病情发展迅速,大面积脑梗死致死致残率高,严重影响患者生存时间^[2-3]。大面积脑梗死的发病是一个复杂的生理过程,涉及多种免疫机制,免疫调节T细胞是脑梗死发病中的重要组成部分。孙德锦等人^[4]研究发现脑梗死患者免疫调节的T细胞亚群分布与病情的发展密切相关。但目前关于大面积脑梗死患者免疫调节T细胞亚群分布特点的研究较少。本研究旨在探讨大面积脑梗死患者外周血辅助性T细胞1(T-helper cell 1, Th1)、辅助性T细胞2(T-helper cell 2, Th2)、辅助性T细胞17(T-helper cell 17, Th17)、调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)水平变化及意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年2月至2019年2月本院收治的大面积脑梗死患者98例作为观察组,选取临床同期体检的正常人员53例作为对照组。其中,观察组中男53例,女45例,年龄27~79岁,平均年龄(48.89±7.14)岁;对照组中男32例,女21例,年龄35~80岁,平均年龄(49.53±6.98)岁。两组患者的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首次发病,经磁敏感加权成像(susceptibility weighted imaging, SWI)检测诊断,梗死体积 $> 10 \text{ cm}^3$,符合大面积脑梗死的诊断标准^[5];②患者及其家属签署知情同意书且同意进行研究;③发病至入院时间 $< 48 \text{ h}$ 。排除标准:①合并患有其他功能性障碍疾病;②有其他恶性肿瘤或未控制的感染病灶;③孕期或哺乳期妇女;④合

并严重的肝肾功疾病、血液系统疾病及自身免疫性疾病。本研究经医院伦理会批准。

1.2 方法

1.2.1 采血检测方法

两组患者于采血前空腹8~12 h,采集外周血5 mL,以有荧光标记的Th1、Th2、Th17、Treg单克隆抗体对外周血进行标记。以流式细胞仪(美国Beckman Coulter Gallios)检测Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平。蛋白分析仪(西门子BioSystems A15)行散射免疫比浊法检测,测定患者免疫细胞因子白介素-17(interleukin17, IL-17)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-14(interleukin14, IL-4)与 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)的含量。

1.2.2 SWI检查方法及判断

采用SWI-MRI扫描影像结果对两组研究对象进行诊断。选取美国GE公司的1.5T MRI仪进行检测,观察组研究对象采用仰卧体位,头前脚后进入。SWI-MRI原始图像经EWS 2.7工作站处理,以3D MIP软件分析形成最小强度投影,得到SWI的最终图像^[5],根据T1WI、T2WI、SWI高低信号的变化,由1名资深主任医师与2名副主任医师,以双盲法评估梗死区域的病灶数量及程度,先经由2名副主任医师进行评判,意见不一致时交由主任医师进行评判。

1.3 统计学处理

采用SPSS 18.0统计学软件进行数据分析,计数资料用 $n(\%)$ 率表示,采用 χ^2 检验,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验,梗死面积、梗死灶数量、免疫细胞因子与Th1、Th2、Th17、Treg的相关性采用Spearman秩相关分析,采用logistics回归分析细胞水平与大面积梗死诊断的相关性, $P < 0.05$ 表示差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与 IL-17、TNF- α 、IL-4、IFN- γ 含量比较

观察组患者 Th1、Th17、IL-17、TNF- α 、IL-4 与 IFN- γ 显著高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),观察组患者 Th2、Treg 显著低于对

照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 观察组患者治疗前后 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与 IL-17、TNF- α 、IL-4、IFN- γ 含量比较

观察组患者治疗前 Th2、Treg 显著低于治疗后,差异具有统计学意义($P<0.05$);观察组患者治疗前 Th1、Th17、IL-17、TNF- α 、IL-4 与 IFN- γ 显著高于治疗后,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 两组患者 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与 IL-17、TNF- α 、IL-4、IFN- γ 含量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of Th1, Th2, Th17, Treg cells, IL-17, TNF- α , IL-4 and IFN- γ between 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Th1(%)	Th2(%)	Th17(%)	Treg(%)	IL-17(ng/L)	TNF- α (ng/L)	IFN- γ (ng/L)	IL-4(ng/L)
观察组	98	19.14 \pm 5.53	1.39 \pm 0.32	18.47 \pm 3.15	2.24 \pm 0.41	35.79 \pm 0.02	68.79 \pm 11.02	18.79 \pm 3.07	15.79 \pm 3.22
对照组	53	11.59 \pm 3.47	2.68 \pm 0.76	5.89 \pm 1.21	4.19 \pm 0.57	24.43 \pm 0.87	44.43 \pm 10.87	4.43 \pm 0.87	7.43 \pm 1.87
t值		8.850	6.629	15.639	7.541	8.805	12.444	13.172	9.805
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表2 观察组患者治疗前后 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与 IL-17、TNF- α 、IL-4、IFN- γ 含量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of Th1, Th2, Th17, Treg cells, IL-17, TNF- α , IL-4 and IFN- γ in the observation group before and after treatment ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Th1(%)	Th2(%)	Th17(%)	Treg(%)	IL-17(ng/L)	TNF- α (ng/L)	IFN- γ (ng/L)	IL-4(ng/L)
治疗前	98	19.14 \pm 5.53	1.39 \pm 0.32	18.47 \pm 3.15	2.24 \pm 0.41	35.79 \pm 0.02	68.79 \pm 11.02	18.79 \pm 3.07	15.79 \pm 3.22
治疗后	98	13.54 \pm 3.31	2.14 \pm 0.71	8.81 \pm 2.12	3.48 \pm 0.34	26.44 \pm 0.88	48.45 \pm 9.83	8.47 \pm 0.87	9.42 \pm 1.87
t值		6.823	5.629	11.647	5.514	7.812	10.245	11.873	7.834
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 观察组患者 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与梗死体积、梗死灶数量、免疫细胞因子相关性分析

SWI 检查结果显示,98 例大面积脑梗死患者中大面积脑梗死病灶数量 357 个,其中,脑皮质病灶数量 208 个,深部白质病灶数量 149 个;10 cm³<梗死灶体积<15 cm³ 37 例,15 cm³<梗死灶体积<25 cm³ 32 例,梗死灶体积>25 cm³ 29 例。Spearman 相关系数分析显示,观察组患者外周血 Th2、Treg 细胞水平与脑梗死病灶数量、病灶体积、病灶深度呈负相关性($P<0.05$),观察组患者外周血 Th1、Th17 细胞水平与大面积脑梗死病灶数量、病灶体积、病灶深度呈正相关性($P<0.05$)。见表3。

2.4 外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平对大面积脑梗死的诊断与预后价值

以大面积脑梗死诊断结果为因变量(因变量赋值:未发生脑梗死为0,发生脑梗死为1),以外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平为自变量进行 logistics 回归分析,结果显示外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与大面积脑梗死诊断结果具有显著相关性($P<0.05$)。见表4。

表3 观察组患者外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of peripheral blood Th1, Th2, Th17 and Treg in observation group

	脑梗死病灶数量		脑梗死病灶体积		脑梗死病灶深度	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
Th1	0.337	<0.05	0.313	<0.05	0.314	<0.05
Th2	-0.515	<0.05	-0.412	<0.05	-0.506	<0.05
Th17	0.531	<0.05	0.427	<0.05	0.514	<0.05
Treg	-0.441	<0.05	-0.353	<0.05	-0.340	<0.05

表4 外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞水平与大面积脑梗死诊断结果的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between the levels of peripheral blood Th1, Th2, Th17 and Treg cells and the diagnosis results of massive cerebral infarction

因素	β	SE	Wald χ^2	OR	95%CI	P值
Th1	0.052	0.023	4.693	1.042	1.012~1.104	0.028
Th2	-0.173	0.054	4.232	1.169	0.753~0.993	0.037
Th17	0.087	0.036	4.956	1.188	1.013~1.174	0.024
Treg	-0.113	0.048	4.754	1.096	1.021~1.195	0.013

3 讨论

大面积脑梗死的发病涉及多种免疫机制,是

一个复杂的生理过程。脑梗死患者的病情发展迅速,增加了治疗难度,影响预后效果与生活质量^[6]。杨晓军等人^[7]的研究发现,大面积脑梗死容易影响患者的免疫细胞水平。脑梗死患者病情发展受到体内免疫调节T细胞亚群分布与炎症因子等免疫学机制的影响^[8-9]。机体免疫系统通过对免疫调节中的T细胞调节,如Th细胞、细胞毒性T细胞(cytotoxic T cells, Tc)、Treg细胞,在大面积脑梗死部位造成免疫抑制,避免因脑损伤的神经元暴露而导致自身免疫性疾病的发生^[10]。本研究旨在探讨大面积脑梗死患者外周血Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平变化及意义。

本研究结果显示外周血中Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平与IL-17、TNF- α 含量的变化,与大面积脑梗死的发病进程密切相关,可作为大面积脑梗死中重要的生物学标志物,与刘红等人^[11]的研究结果相一致。分析结果产生原因可能是脑梗死发生早期,患者体内免疫调节T细胞的不同亚群主要聚集在损伤脑组织周围,包括CD8+T细胞、CD4+T细胞、NKT细胞等,其中Th细胞是CD4+T细胞的重要亚群,主要分为Th1与Th2两种亚群。Th1由CD4+T细胞分化而成,可以诱导IL-2与IFN- γ 等免疫细胞因子的分泌,Th2能介导B淋巴细胞的体液免疫过程,分泌IL-4与IL-10等细胞因子。Th17和Treg细胞是由初始T细胞分化而成的不同亚型,两者在功能上存在拮抗效应,Th17可诱导神经元释放IL-17与TNF- α ,梗死发生早期Th1、Th17细胞水平增多,导致外周血IFN- γ 、IL-17含量上升。沙鹏等人^[12]的研究发现,Th17/Treg与脑梗死的严重程度密切相关,Th17、Treg能参与调控梗死区域脑组织细胞的凋亡过程,与本研究中结果相一致。Treg具有免疫抑制功能,在脑梗死发生的早期分布于脑组织神经元周围,外周血中含量较少,可诱导TNF- α 分泌,抑制CD8+T细胞、CD4+T细胞与初始T细胞的增殖与分化,起到保护神经元暴露的作用。亓敏等人^[13]的研究结果显示,采用脑心通胶囊治疗后,患者脑梗死程度得到一定控制,脑组织代偿性分泌Treg,导致外周血中Treg含量逐渐上升,随着病情好转,外周血中的Th1、Th17呈下降趋势,与本研究中观察组患者治疗前Th2、Treg显著低于治疗后的结果相一致。Spearman相关系数分析结果显示治疗后随病情恢复,Th1/Th2与Th17/

Treg呈下降趋势,调节体内IFN- γ 、IL-4、IL-17与TNF- α 等炎症因子下降^[14-15]。

综上所述,面积脑梗死病情发展与患者外周血Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平密切相关,Th1、Th2、Th17、Treg细胞水平可能可作为大面积脑梗死发病的独立危险因素。

参考文献

- [1] 陶珍,崔连奇,赵磊,等. NLR、血清CHE、Ang-1与ACI患者病情变化的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5):575-578+586.
- [2] Pasha SA, Ranganathan LN, Setty VK, et al. Acute ischaemic stroke as a manifestation of pituitary apoplexy in a young lady[J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(5):3-5.
- [3] 秦慧兵,张保朝,张小林,等. 血清MCP-1, HMGB1, APN, oxLDL水平与老年脑梗死病情及颈动脉粥样硬化关系[J]. 华南预防医学, 2020, 46(1):79-82.
- [4] 孙德锦,曾庆宏,姜建东,等. 脑梗死急性期患者辅助性T细胞亚群及其细胞因子IFN- γ 、IL-4的变化及意义[J]. 北京医学, 2016, 38(2):105-109.
- [5] 马永青,尹喜,王成伟. 磁敏感加权血管成像对脑微出血的诊断及对急性脑梗死预后的评估[J]. 中国医学影像学杂志, 2019, 27(8):584-588.
- [6] 李昱晓,周红青,刘鸣. 大面积脑梗死发生和预后相关因素研究[J]. 华西医学, 2018, 33(6):684-690.
- [7] 杨晓军,邢瑞斌,田晓玲,等. 重症脑梗死患者血清免疫炎症性细胞因子水平变化研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(31):3511-3513.
- [8] 高雪,余传庆,张梅,等. 外周血调节性T细胞及炎症因子表达与急性脑梗死TOAST亚型及脑梗死后感染风险的关系研究[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(11):1116-1123.
- [9] 庄献博,徐光军,王未飞,等. 阿托伐他汀对急性脑梗死患者外周血辅助性T细胞17及调节性T细胞平衡的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2015, 17(10):1096-1098.
- [10] 任青青,钱伟东. 辅助性T细胞17/调节性T细胞与急性脑梗死关系的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25(2):5-7.
- [11] 刘红. 依达拉奉对脑梗死患者Th1/Th2及红细胞免疫的影响[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(9):1286-1288.
- [12] 沙鹏,韩琦. 外周血Th17/Treg平衡与脑梗死的相关性研究[J]. 中国综合临床, 2019, 35(2):155-158.
- [13] 亓敏,曲芸芸. 脑心通胶囊调节急性脑梗死患者Th17/Treg平衡及相关细胞因子水平的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(17):2092-2095.
- [14] 赵大聪,鲁广华,郭江,等. SWI在超急性大面积脑梗死中的应用价值[J]. 实用放射学杂志, 2016, 32(4):514-517.
- [15] 任丽,黄铭娜,冯季灵,等. 急性脑梗死合并2型糖尿病患者外周血T淋巴细胞亚群比例异常观察[J]. 心脑血管病防治, 2018, 18(6):457-460.

血清 IL-6、sICAM-1 在新生儿肺炎细菌性感染鉴别诊断及疗效评价中的应用

刘珍¹ 陈丹¹ 魏莹亚² 陈晓利³ 孙晓敏^{1*}

[摘要] 目的 探讨血清 IL-6、sICAM-1 在新生儿肺炎(NP)细菌性感染鉴别诊断及疗效评价中的应用。方法 选取2019年1月至2019年12月本院收治的83例NP患儿为肺炎组,另选取同期在本院儿保科正常体检的40例正常新生儿作为对照组。采集对照组和肺炎组患儿入院时的静脉血,检测血清 IL-6、sICAM-1 水平,对肺炎组患儿进行痰培养试验,根据感染病原体类型分为细菌感染组46例和非细菌感染组37例,检测细菌感染组患儿病情痊愈时 IL-6、sICAM-1 水平。血清 IL-6、sICAM-1 对 NP 细菌性感染的诊断效能分析应用受试者工作特征曲线(ROC),并计算曲线下面积(AUC)。结果 细菌感染组患儿的血清 IL-6、sICAM-1 水平明显高于非细菌感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 IL-6、sICAM-1 的 AUC 分别为 0.952、0.796,对疾病具有较高的诊断价值;同时,IL-6 的 AUC 显著高于 sICAM-1 ($P<0.05$)。细菌感染组患儿急性期时的血清 IL-6、sICAM-1 明显高于对照组,治疗后恢复期时的上述指标明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 血清 IL-6、sICAM-1 在诊断 NP 细菌性感染中具有重要的临床检测意义。

[关键词] 新生儿肺炎;细菌性感染;白细胞介素-6;可溶性细胞间粘附分子1;疗效评价

Application of serum IL - 6 and sICAM - 1 in the differential diagnosis of neonatal pneumonia bacterial infection and evaluation of curative effect

LIU Zhen¹, CHEN Dan¹, WEI Yingya², CHEN Xiaoli³, SUN Xiaomin^{1*}

(1. Department of General Internal Medicine, the Affiliated Children's Hospital of Zhengzhou University / Henan Children's Hospital / Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Department of Neonatology, the Affiliated Children's Hospital of Zhengzhou University / Henan Children's Hospital / Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 3. Department of Child Healthcare, the Affiliated Children's Hospital of Zhengzhou University / Henan Children's Hospital / Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 45000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application of serum interleukin-6 (IL-6) and soluble intercellular adhesion molecules-1 (sICAM-1) in the differential diagnosis of neonatal pneumonia (NP) bacterial infection and evaluation of curative effect. **Methods** A total of 83 children with NP admitted to our hospital from January 2019 to December 2019 were selected as the pneumonia group, and 40 normal newborns who had a normal physical examination in the pediatric care department of our hospital during the same period were selected as the control group. The venous blood of children in the control group and the pneumonia group was collected when they were admitted to the hospital, and the levels of serum IL-6 and sICAM-1 were detected. The sputum culture test was performed on the children in the pneumonia group. According to the type of infec-

基金项目:河南省医学科技攻关计划(2018020578)

作者单位:1. 郑州大学附属儿童医院/河南省儿童医院/郑州儿童医院普内一科,河南,郑州 450000

2. 郑州大学附属儿童医院/河南省儿童医院/郑州儿童医院新生儿科,河南,郑州 450000

3. 郑州大学附属儿童医院/河南省儿童医院/郑州儿童医院儿童保健科,河南,郑州 450000

*通信作者:孙晓敏, E-mail: xxvb05706@sina.com

tious pathogens, they were divided into 46 cases of the bacterial infection group and 37 cases of the non-bacterial infection group. The level of IL-6 and sICAM-1 were detected when the newborns in the bacterial infection group recovered. The diagnostic efficacy of serum IL-6 and sICAM-1 on NP bacterial infections was analyzed using receiver operating characteristic curve (ROC), and area under the curve (AUC) was calculated. **Results** The levels of serum IL-6 and sICAM-1 in the bacterial infection group were significantly higher than those in the non-bacterial infection group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). AUC values of serum IL-6 and sICAM-1 were 0.952 and 0.796, respectively, which had high diagnostic value for the disease. The AUC of IL-6 was significantly higher than that of sICAM-1 ($P < 0.05$). The levels of serum IL-6 and sICAM-1 in the bacterial infection group were significantly higher than those in the control group during the acute phase, which were significantly decreased during the recovery phase after treatment. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum IL-6 and sICAM-1 have important clinical detection significance in the diagnosis of NP bacterial infection.

[KEY WORDS] Neonatal pneumonia; Bacterial infection; Interleukin-6; Soluble intercellular adhesion molecule 1; Curative effect evaluation

新生儿肺炎(neonatal pneumonia, NP)是小儿常见病、多发病,亦是导致患儿死亡的重要原因之一^[1-2]。由于婴幼儿肺炎病原早期确诊困难,临床难以及时有效区分肺炎是由细菌、病毒还是非典型病原体(包括肺炎支原体、肺炎衣原体等)所引发,使得抗菌药物滥用,治疗效果也大打折扣。超敏C反应蛋白(hs-CRP)是临床常用指标之一,可评价炎性反应是否由细菌感染引起,并能从一定程度反映细菌感染的严重程度^[3]。然而该指标受其他因素影响较大,灵敏度不够高,临床显示大量细菌感染的肺炎患者的hs-CRP检测结果均呈阴性,易造成误诊进而延误患者的治疗^[4]。血清白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、可溶性细胞间粘附分子1(soluble adhesion molecules-1, sICAM-1)是近年来发现的鉴别诊断肺炎细菌性感染的有效指标,且能一定程度反映患者病情进展^[5-6]。然而,其用于NP的鉴别诊断和疗效评价在国内研究较少。本研究分析了血清IL-6、sICAM-1在NP细菌性感染患儿治疗前后的含量变化及其在非细菌性感染患儿中的差异,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2019年12月本院收治的83例NP患儿为肺炎组。纳入标准:①均符合《实用儿科学》中关于NP的相关诊断标准^[7];②临床表现为气喘、咳嗽、肺部湿罗音等呼吸系统症状和体征;③入院前病程<7d;④入组前未接受过相关治疗。排除标准:①合并其它感染或其它感染性疾病患儿;②合并免疫性疾病患儿;③合并风湿性

疾病、肺结核患儿;④血糖较高的患儿或超重儿;⑤先天畸形、染色体异常、先天性遗传代谢异常;⑥严重围生期窒息。另选取同期在本院儿保科正常体检的40例正常新生儿作为对照组,体检结果正常,排除标准同肺炎组患儿。肺炎组:男47例,女36例;平均日龄(14.41±4.52)d;平均体重(3.52±0.46)kg。对照组:男25例,女15例;平均日龄(13.78±4.34)d;平均体重(3.44±0.43)kg。本研究经医院道德伦理委员会批准,患儿家属均知情同意。两组患儿在性别、日龄、体重方面比较均衡可比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 两组患儿一般资料对比($\bar{x} \pm s$)

组别	n	男/女(例)	日龄(d)	体重(kg)
肺炎组	83	47/36	14.41±4.52	3.52±0.46
对照组	40	25/15	13.78±4.34	3.44±0.43
t/ χ^2 值		0.384	0.733	0.922
P值		0.536	0.465	0.358

1.2 方法

采集对照组和肺炎组患儿入院时(急性期)的静脉血4mL,3500r/min离心15min后提取血清,存于-80℃冰箱待测。采用化学发光免疫分析法检测血清IL-6水平(购自上海信裕生物科技有限公司,规格:96T),采用仪器为全自动化学发光分析仪(瑞士罗氏公司,型号:cobase 411);采用酶联免疫吸附法检测血清sICAM-1水平(购自美国R&D公司,规格:96T),所有操作步骤严格遵循试剂盒操作说明。

对肺炎组患儿进行血清学检测及痰培养试验,病毒性肺炎检测方法是血清学测病毒抗体,细菌性

肺炎检测方法是细菌培养及鉴定。根据感染病原体类型分为细菌感染组和非细菌感染组,于细菌感染组患儿治疗7~20 d,体温、血常规白细胞复常且临床症状明显改善时(恢复期)再次采集静脉血4 mL,离心分离血清,检测其IL-6、sICAM-1水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对所得数据进行分析,计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验、单因素方差分析比较;计数资料均以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。血清IL-6、sICAM-1指标对NP细菌性感染的诊断效能分析采用受试者工作特征曲线(ROC),并计算曲线下面积(AUC)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病原体NP患儿血清IL-6、sICAM-1比较

细菌感染组患儿的血清IL-6、sICAM-1水平明显高于非细菌感染组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 不同病原体NP患儿血清IL-6、sICAM-1比较 $(\bar{x} \pm s)$
Table 2 Comparison of serum IL-6 and sICAM-1 in children with NP caused by different pathogens $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	IL-6 (pg/mL)	sICAM-1 (μg/L)
细菌感染组	46	245.63±79.31	361.63±68.33
非细菌感染组	37	33.59±15.63	252.18±55.27
<i>t</i> 值		15.996	7.884
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.2 血清IL-6、sICAM-1对NP细菌性感染的诊断价值分析

将肺炎组、对照组患者作为研究对象,将肺炎组患者赋值为1,对照组患者赋值为0,分割点设为1,ROC分析显示血清IL-6、sICAM-1诊断NP细菌性感染的最佳节点值分别为99.72 pg/mL、308.77 μg/L,二者的AUC分别为0.952、0.796,对疾病具有较高的诊断价值;经 Z 检验比较,IL-6的AUC显著高于sICAM-1, ($P < 0.05$),见表3、图1。

表3 血清IL-6、sICAM-1在NP细菌性感染的鉴别诊断
Table 3 Differential diagnosis value of serum IL-6 and sICAM-1 in NP bacterial infection

指标	最佳 临界值	灵敏度 (%)	特异性	AUC	SE值	95%CI
IL-6 (pg/mL)	99.72	80.43	97.30	0.952	0.0195	0.882~0.987
sICAM-1 (μg/L)	308.77	78.26	78.38	0.796	0.0506	0.693~0.876

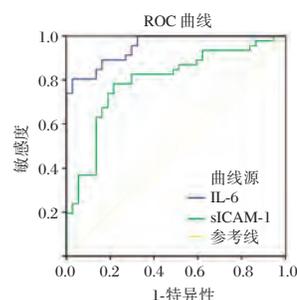


图1 血清IL-6、sICAM-1鉴别诊断NP细菌性感染的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of serum IL-6 and sICAM-1 in differential diagnosis of NP bacterial infection

2.3 NP细菌性感染患儿治疗前后血清IL-6、sICAM-1比较

细菌感染组患儿急性期、恢复期和对照组患儿3组间的血清IL-6、sICAM-1水平差异有统计学意义($P < 0.05$),细菌感染组患儿急性期时的血清IL-6、sICAM-1明显高于对照组,治疗后恢复期时的上述指标明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 NP细菌性感染患儿不同病程血清IL-6、sICAM-1比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 4 Comparison of serum IL-6 and sICAM-1 in children with NP bacterial infection $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	IL-6 (pg/mL)	sICAM-1 (μg/L)
细菌感染组	46		
急性期		245.63±79.31	361.63±68.33
恢复期		13.51±6.73	154.79±31.42
对照组	40	11.48±6.41	142.75±30.84
<i>F</i> 值		366.267	299.839
<i>P</i> 值		0.000	0.000

3 讨论

现阶段,对于NP的临床诊断主要参考疾病症状、体征、痰病原菌培养及胸部X射线检查等^[8]。然而,由于不同病原所引发的NP其早期临床症状、体征难以区分,使得临床医生在运用抗菌药物缺乏有效参考^[9]。痰培养作为诊断感染指标的“金标准”,尽管其特异性较高,但其耗时较长,易耽误疾病的早期治疗。因此,及时、有效地鉴别NP的病原对于患儿的治疗具有十分重要的意义^[10]。

IL-6是机体受到炎症刺激后由内皮细胞、B细胞、T细胞及单核-巨噬细胞等所分泌的一种细胞因子,是临床常见的炎症因子之一,能反映机体炎症状态,影响机体免疫功能^[11]。本研究检测了不同病原体感染的肺炎患儿血清IL-6,结果显示,细菌

感染组患儿的IL-6水平明显高于非细菌感染组,且细菌感染组患儿急性期时的血清IL-6水平明显高于对照组,治疗后恢复期时的上述指标明显下降,提示IL-6可能参与肺炎的病理生理过程,检测血清IL-6水平有助于细菌感染的鉴别,这可能与不同病原体的致病机制有关。既往研究表明,IL-6高表达可能具有双重效应^[12-13]:①作为一种信号来调动机体的防御反应,分化、下调肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等所引发的前炎症反应,并在中性粒细胞凋亡过程起到一定的诱导作用,使得机体的炎症反应得以缓解;②造成免疫功能失调,如促使巨噬细胞产生转化生长因子 β ,进而引发损伤后免疫功能抑制。当细菌进入患儿下呼吸道后会引发炎症反应,以消灭入侵的病原菌,在炎症反应中,AMs首先被激活,然后释放IL-6、TNF- α 等炎症因子,使得血清IL-6水平迅速升高。

sICAM-1是细胞表面跨膜糖蛋白抗原,由血清中ICAM-1水解而来,能够间接反映血清ICAM-1水平^[14]。ICAM-1主要分布于淋巴细胞、上皮细胞、白细胞和血管内皮细胞表面,当机体出现炎症时,细胞表面表达或脱落的ICAM-1增加,sICAM-1水平亦增高^[15]。本研观察到细菌感染患儿的ICAM-1水平是肺炎病情加重的重要因子,IL-6、sICAM-1指标对于评估NP细菌性感染患儿治疗效果意义重大^[16]。研究显示^[17],当机体发生感染时,血管内皮及上皮细胞表面产生ICAM-1,介导炎症细胞尤其是嗜酸性粒细胞的聚集及跨血管内皮转移,导致肺脏及支气管损伤,故而使的sICAM-1呈明显高表达。

ROC曲线分析发现二者的诊断效能均较高,且IL-6的诊断效能明显优于sICAM-1,提示血清IL-6、sICAM-1可作为鉴别NP患儿是否为细菌性感染的重要指标之一,且以IL-6指标的价值更高。

综上所述,血清IL-6、sICAM-1可能参与NP细菌性感染的病理生理过程,可作为诊断NP细菌性感染的重要指标,值得临床进一步探究。

参考文献

[1] Ginsburg AS, Meulen ST, Klugman KP. Prevention of neonatal pneumonia and sepsis via maternal immunisation [J]. *Lancet Glob Health*, 2014, 2(12):679-680.

[2] 王灿,蔡康兴,陈龙,等.基于随机双盲安慰剂对照试验的一氧化碳吸入疗法在新生儿肺炎应用的安全性研究[J].*中国循证儿科杂志*,2015,10(3):171-175.

[3] 孙春荣,黄琳娜,崔晓阳,等.老年重症肺炎患者血清hs-CRP水平变化及临床意义[J].*分子诊断与治疗杂志*,2018,10(5):347-351.

[4] 杨青原,符珍珠,陈连凤.血清PCT、IL-6和hs-CRP早期诊断新生儿肺炎的临床价值研究[J].*中国煤炭工业医学杂志*,2019,22(2):140-145.

[5] 黄光举,张慧玉,田玲,等.血清IL-6、TNF- α 、IL-10的动态监测在儿童重症肺炎中临床意义[J].*中国实验诊断学*,2015,19(6):1010-1011.

[6] 胡晶,朱敏,苏华平,等.肺炎患儿血清G-CSF、sTREM-1、sICAM-1水平的变化及意义[J].*检验医学与临床*,2018,15(6):817-820.

[7] 胡亚美,江载芳,申昆玲,等.《实用儿科学》[M].北京:人民卫生出版社,2015:488-498.

[8] 中华人民共和国卫生部.医院感染诊断标准(试行)[J].*中华医学杂志*,2001,81(5):61-67.

[9] 陈梅,姜利军,郑芳.新生儿肺炎病原菌分布及耐药性分析[J].*中华医院感染学杂志*,2014,24(5):1276-1278.

[10] Chapman E, Reveiz L, Illanes E, et al. Antibiotic regimens for management of intra-amniotic infection [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, 19(12):976-986.

[11] 张淑英,李银红,蒋英亮.中药穴位贴敷对小儿细菌性肺炎(风热闭肺型)患者WBC、CRP、IL-6的影响及疗效观察[J].*中国中医急症*,2015,24(9):1662-1664.

[12] Weldearegawi B, Ashebir Y, Gebeye E, et al. Emerging chronic non-communicable diseases in rural communities of Northern Ethiopia: evidence using population-based verbal autopsy method in Kilite Awlaelo surveillance site [J]. *Health Policy Plan*, 2013, 28(8):891-898.

[13] 贾凯.血清IL-6与PCT在新生儿肺炎早期诊断中的检测意义[J].*中国医药导刊*,2017,19(6):95-96.

[14] 李艳丽,孙德俊,康瑞霞,等.血清MCP-1、sICAM-1及PCT对老年社区获得性肺炎严重程度的诊断价值[J].*检验医学与临床*,2018,15(5):645-647.

[15] 左玉,王震文,王栋,等.血清MCP-1、sTREM-1、sICAM-1在肺炎患儿表达水平及其与病情严重程度的相关性分析[J].*标记免疫分析与临床*,2019,26(7):1186-1195.

[16] 陈丹,任彦红,郭青,等.IL-6/IL-10比值用于评估入院肺炎患儿疾病严重程度的应用价值[J].*临床肺科杂志*,2019,24(4):688-691.

[17] 杨进如,杨念,刘松学,等.血清CD64、CD54、sTREM-1及炎症因子在儿童细菌性肺炎进展中的表达水平分析[J].*中华医院感染学杂志*,2017,27(13):3066-3068+3072.

创伤性四肢骨折患者血清FIB、FDP、D-D和TAT水平与血栓形成的关系

田丰 杨家赵 徐玮 夏睿 方诗元*

[摘要] **目的** 探究创伤性四肢骨折患者血清纤维蛋白原(FIB)、纤维蛋白降解产物(FDP)、D-二聚体(D-D)和凝血酶-抗凝血酶Ⅲ复合物(TAT)水平与血栓形成的关系,为预防创伤性四肢骨折患者血栓形成提供参考。**方法** 采集2018年2月至2020年1月收治的创伤性四肢骨折并发深静脉血栓46例作为DVT组,选取同期收治创伤性四肢骨折未发生DVT 46例作为非DVT组,并选取同期健康体检者46例作为对照组,均留取完整血样,DVT组、非DVT组均检测术前、术后1、3 d FIB、FDP、D-D水平及凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、TAT的变化,对照组仅入院时筛查以上指标的变化,分析创伤性四肢骨折上述指标与血栓形成的关系,受试者特征工作曲线(ROC)分析各参数预测创伤性骨折血栓形成的价值。**结果** FIB、FDP、D-D、TAT比较:DVT组>非DVT组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);DVT组术前、术后1、3 d FIB、FDP、D-D、TAT均高于非DVT(差异有统计学意义 $P<0.05$);术前FIB、FDP、D-D、TAT均为创伤性四肢骨折患者血栓形成影响因素($P<0.05$);D-D单独预测血栓形成效能最高,敏感度、特异性分别为73.17%、100.00%,其次为FDP、TAT、FIB,四者联合预测效能单独诊断,敏感度、特异性分别为97.56%、100.00%。**结论** 创伤性四肢骨折患者FIB、FDP、D-D、TAT均较正常人高,出现DVT患者上述指标浓度高于非DVT患者,D-D预测创伤性四肢骨折血栓形成效能最高,四者联合可提高DVT早期检出率。

[关键词] 创伤性四肢骨折;纤维蛋白原;D-二聚体;纤维蛋白降解产物;凝血酶-抗凝血酶Ⅲ复合物

Relationship between serum FIB, FDP, D-D and TAT levels and thrombosis in patients with traumatic limbs fractures

TIAN Feng, YANG Jiazhao, XU Wei, XIA Rui, FANG Shiyuan*

(Department of Orthopedics and Trauma, the First Affiliated Hospital of USTC, Hefei, Anhui, China, 230001)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum fibrinogen (FIB), fibrin degradation products (FDP), D-dimer (D-D) and thrombin-antithrombin Ⅲ complex (TAT) levels and thrombosis in patients with traumatic limbs fractures, to provide reference for preventing thrombosis. **Methods** A retrospective collection was performed on the 46 patients with traumatic limbs fractures and deep vein thrombosis (DVT) who were admitted from February 2018 to January 2020 (DVT group), while another 46 patients with traumatic limb fractures and without DVT during the same period were enrolled as the non-DVT group. And 46 healthy controls during the same period were enrolled as the control group. Complete blood samples were collected. The DVT group and non-DVT group were tested for changes in FIB, FDP and D-D levels, prothrombin time (PT), activated partial prothrombin time (APTT) and TAT before surgery, at 1d and 3d after surgery. The changes of the above indexes were screened in the control group at admission. The relationship between the above indexes and thrombosis was analyzed. The value of each parameter in predicting

基金项目:安徽省科技攻关计划(1904a0802036)

作者单位:中国科学技术大学附属第一医院创伤骨科,安徽,合肥230001

*通信作者:方诗元, E-mail:fangshiyuan2008@126.com

thrombosis was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** FIB, FDP, D-D and TAT were the highest in the DVT group, followed by the non-DVT group, and were the lowest in the control group ($P<0.05$). Before surgery, 1 d and 3 d after surgery, FIB, FDP, D-D and TAT in the DVT group were higher than those in the non-DVT group ($P<0.05$). Preoperative FIB, FDP, D-D and TAT were all influencing factors of thrombosis in patients with traumatic limbs fractures ($P<0.05$). The efficiency of D-D alone was the highest in predicting thrombosis, and the sensitivity and specificity were 73.17% and 100.00%, followed by FDP, TAT and FIB. The combined predictive efficiency of the four was higher than that of alone, and the sensitivity and specificity were 97.56% and 100.00%, respectively. **Conclusion** The FIB, FDP, D-D and TAT in patients with traumatic limbs fractures are higher than those in normal people. The concentrations of the above indicators in DVT patients are higher than those in non-DVT patients. The efficiency of D-D alone is the highest in predicting thrombosis of traumatic limbs fractures. The combination of the four can improve early detection rate of DVT.

[KEY WORDS] Traumatic limb fracture; Fibrinogen; D-dimer; Fibrin degradation products; Thrombin-antithrombin III complex

随交通事故、高处坠落等意外事故发生率逐渐增多,创伤性四肢骨折发生率逐渐升高^[1]。创伤性四肢骨折发生时,机体处于剧烈应激反应状态,自身骨质破坏,血管壁受损,创伤性炎性因子释放增多,导致凝血-纤溶系统活化,血液处于高凝状态,深静脉血栓形成(Deep venous thrombosis, DVT)风险较高,一旦栓子脱落可能造成肺栓塞,威胁患者生命安全^[2]。而大部分创伤性四肢骨折并发DVT时无明显症状,多依据影像学检查(彩色多普勒超声、血管造影)及Wells评分,存在一定滞后性^[3]。越来越多证据显示,凝血、纤溶活性因子与血栓形成密切相关,已证实D-二聚体(D-dimer, D-D)可预测肺栓塞发生风险,且与病情严重程度有关^[4-5]。但对创伤性四肢骨折患者凝血、纤溶系统改变及其与预测血栓形成的价值鲜少见系统化报道。本文将收治的创伤性四肢骨折并DVT患者凝血、纤溶因子进行检测,并与非DVT、正常人进行对照,以期对创伤性四肢骨折血栓形成预防提供指导。

1 资料与方法

1.1 临床资料

采集2018年2月至2020年1月收治的创伤性四肢骨折并发深静脉血栓46例作为DVT组,按1:1比例选取同期收治创伤性四肢骨折未发生DVT 46例作为非DVT组。DVT组男29例,女17例;平均年龄(49.51 ± 10.43)岁;身体质量指数(Body mass index, BMI)平均(22.71 ± 3.11) kg/m^2 ;骨折类型:开放性骨折26例,闭合性骨折20例;致伤原因:交通事故30例,高处坠落12例,暴力撞击

4例。非DVT组男30例,女16例;平均年龄(48.79 ± 11.51)岁;BMI平均(22.97 ± 3.45) kg/m^2 ;骨折类型:开放性骨折27例,闭合性骨折19例;致伤原因:交通事故31例,高处坠落12例,暴力撞击3例。并选取同期健康体检者46例作为对照组,经体格检查身体健康、无血栓史及抗栓药物服用史。对照组中男28例,女18例;平均年龄(48.95 ± 10.75)岁;BMI平均(22.87 ± 3.25) kg/m^2 。三组性别、年龄、BMI对比,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:首次创伤性四肢骨折急诊入院,以交通事故、高处坠落、暴力撞击为诱因,经影像学证实四肢骨折;年龄 >16 岁;静脉彩超及血管造影证实术前未合并DVT;均采集完整血样;DVT组术后1~3 d经彩色多普勒超声证实出现DVT(管腔内存在实质性回声;静脉血栓不能被压瘪;彩超证实血栓处缺乏自主或激惹血流,血流速度减慢)^[6];临床资料完整。**排除标准:**既往有静脉血管管腔阻塞史;严重心肝肾肺功能障碍;严重脑血管病;原发性凝血、纤溶异常疾病;严重感染;有抗凝药物服用史;合并糖尿病、高血压;合并全身恶性肿瘤;病情不稳定或存在大出血者;血管断裂者;孕期、哺乳期女性。

1.2 方法

DVT组、非DVT组术前、术后1、3 d均采集外周空腹肘静脉血5 mL,置于含枸橼酸钠真空管内保存,离心后分离血清,超低温保存待测。对照组体检当日采集外周空腹肘静脉血5 mL。采用凝固法测定纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)、纤维蛋白降解产物(Fibrin degradation products, FDP)水平及凝血酶原时间(Prothrombin time, PT)、活化部分

凝血酶原时间(Activated partial prothrombin time, APTT),免疫比浊法测定D-D水平,发灰底物法测定凝血酶-抗凝血酶Ⅲ复合物(Thrombin - antithrombin Ⅲ compounds, TAT)水平,上述参数均上美国BECKMAN COULTER ACL Advance型全自动凝血分析仪(仪器配套试剂)测定,严格按试剂、仪器使用标准操作程序操作。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0软件处理数据,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验;多组比较行单因素方差分析,组内多重对比行LSD-t检验,计数

资料用n(%)表示,进行 χ^2 检验,各参数对创伤性四肢骨折血栓形成的影响采用Logistic回归分析,受试者特征工作曲线(Receiver operating characteristic curve, ROC)分析凝血、纤溶参数预测血栓形成的价值;P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组凝血、纤溶参数比较

3组PT、APTT比较差异无统计学意义(P>0.05),FIB、FDP、D-D、TAT比较:DVT组>非DVT组>对照组差异有统计学意义(P<0.05)。表1。

表1 3组凝血、纤溶参数对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of coagulation and fibrinolysis parameters among the 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别		FIB(g/L)	FDP(μ g/L)	D-D(μ g/L)	PT(s)	APTT(s)	TAT(μ g/L)
对照组	46	2.61±0.53	3.79±1.15	229.63±50.14	12.14±2.14	26.31±4.45	1.45±0.36
非DVT组	46	3.45±0.51 ^a	19.12±4.77 ^a	379.52±66.75 ^a	12.43±1.98	26.44±4.15	3.15±0.65 ^a
DVT组	46	3.99±0.43 ^{ab}	35.75±10.23 ^{ab}	571.43±115.58 ^{ab}	12.67±2.33	26.57±3.78	4.87±1.61 ^{ab}
F值		91.937	273.904	199.271	0.698	0.045	128.341
P值		<0.001	<0.001	<0.001	0.499	0.956	<0.001

注:与对照组比较,^aP<0.05;与非DVT组比较,^bP<0.05。

2.2 DVT组与非DVT组术前、术后1、3d凝血、纤溶参数比较

非DVT组术前、术后不同时间各凝血、纤溶参

数比较差异无统计学意义(P>0.05);DVT组术前、术后1、3d FIB、FDP、D-D、TAT均高于非DVT组差异有统计学意义(P<0.05),表2。

表2 DVT组与非DVT组术前、术后1、3d凝血、纤溶参数比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of coagulation and fibrinolysis parameters between DVT group and non-DVT group before, 1 and 3 days after operation ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	FIB(g/L)	FDP(μ g/L)	D-D(μ g/L)	PT(s)	APTT(s)	TAT(μ g/L)
非DVT组(n=46)	术前	3.45±0.51	19.12±4.77	379.52±66.75	12.43±1.98	26.44±4.15	3.15±0.65
	术后1d	3.51±0.67	20.26±5.17	389.14±75.14	12.51±2.23	26.79±4.36	3.33±0.79
	术后3d	3.61±0.75	21.52±5.96	390.25±79.99	11.99±2.51	27.11±5.31	3.31±0.98
DVT组(n=46)	术前	3.99±0.43	35.75±10.23	571.43±115.58	12.67±2.33	26.57±3.78	4.87±1.61
	术后1d	4.26±0.76 ^{ab}	40.14±6.97 ^{ab}	635.52±69.98 ^{ab}	12.71±2.14	26.78±4.11	5.57±1.23 ^{ab}
	术后3d	4.98±0.57 ^{ab}	45.52±12.31 ^{ab}	695.14±101.45 ^{ab}	12.58±2.36	27.17±5.54	5.98±1.45 ^{ab}
F _{组间}		100.227	152.899	193.724	0.822	0.241	33.895
P _{组间}		<0.001	<0.001	<0.001	0.442	0.787	<0.001
F _{时间}		56.983	70.929	83.663	0.172	0.292	20.592
P _{时间}		<0.001	<0.001	<0.001	0.843	0.747	<0.001
F _{交互}		47.676	51.874	74.556	0.202	0.298	19.484
P _{交互}		<0.001	<0.001	<0.001	0.817	0.743	<0.001

注:与同组术前比较,^aP<0.05;与非DVT组同时间点比较,^bP<0.05。

2.3 术前凝血、纤溶参数对创伤性四肢骨折血栓形成的影响分析

Logistic回归分析显示:术前FIB、FDP、D-D、TAT均为创伤性四肢骨折患者血栓形成影响因素(P<0.05),其中D-D、TAT影响最大,其次为FDP、FIB。见表3。

2.4 术前凝血、纤溶参数预测创伤性四肢骨折血栓形成价值分析

FIB、FDP、D-D、TAT凝血、纤溶指标中D-D单独预测创伤性四肢骨折血栓形成效能最高,约登指数最大时对应cut-off为384.10 μ g/L,曲线下面积(Area under the curve, AUC)为0.916,敏感度、特

表3 术前凝血、纤溶参数对创伤性四肢骨折血栓形成的影响分析

Table 3 Analysis of the influence of preoperative coagulation and fibrinolysis parameters on thrombosis in traumatic limb fractures

指标	β 值	S.E.	Wald/ χ^2	OR值	95%CI	P值
FIB	0.655	0.236	7.703	1.925	1.212~3.057	0.006
FDP	0.711	0.267	7.091	2.036	1.206~3.436	0.008
D-D	0.997	0.165	36.511	2.710	1.961~3.745	<0.001
PT	0.052	0.236	0.049	1.053	0.663~1.673	0.826
APTT	0.067	0.177	0.143	1.069	0.756~1.513	0.705
TAT	0.985	0.103	91.453	2.678	2.188~3.277	<0.001

异性分别为73.17%、100.00%，其次为FDP、TAT、FIB，四者联合预测效能单独诊断。见表4、图1。

表4 术前凝血、纤溶参数预测创伤性四肢骨折血栓形成价值分析

Table 4 Value analysis of preoperative coagulation and fibrinolysis parameters in predicting thrombosis in traumatic limb fractures

参数	cut-off	AUC	95%CI	约登指数	敏感(%)	特异(%)	P值
FIB	>3.55	0.820	0.685~0.914	0.669	78.05	88.89	<0.001
FDP	>19.88	0.885	0.763~0.958	0.816	92.68	88.89	<0.001
D-D	>384.10	0.916	0.802~0.976	0.732	73.17	100.00	<0.001
TAT	>3.61	0.852	0.723~0.937	0.596	70.73	88.89	<0.001
四者联合	-	0.978	0.891~0.999	0.976	97.56	100.00	<0.001

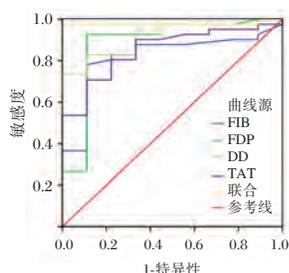


图1 术前凝血、纤溶参数预测创伤性四肢骨折血栓形成价值分析

Figure 1 Value analysis of preoperative coagulation and fibrinolysis parameters in predicting thrombosis in traumatic limb fractures

本研结果支撑上述Korte等^[9]提出凝血因子与血栓形成相关的结论，考虑机制为：①FIB及FDP均与机体凝血功能有关，其浓度上调通常提示凝血、纤溶活性变化，促凝血酶生成增多，血液流速减缓，血栓形成风险高，有更高的DVT发生可能性；②D-D为继发性纤溶亢进的特异性代谢物质，与体内纤维蛋白堵塞密切相关^[10]；TAT与凝血酶活性有关，对血液高凝状态敏感度较高，上述浓度上调均预示止凝血、抗凝血动态平衡改变，凝血亢

3 讨论

统计报道，创伤性四肢骨折患者DVT发生风险明显高于正常人^[7]。本研究发现，创伤性四肢骨折后发生DVT、未发生DVT及正常人凝血-纤溶指标FIB、FDP、D-D、TAT存在显著差异，创伤性四肢骨折以上参数较正常人高，而DVT组上述指标由高于非DVT组，支撑张峰等^[8]观点，提示创伤性四肢骨折后患者血管壁遭到破坏，大量炎症因子释放，凝血-纤溶动态平衡打破，促凝血酶释放，机体血液呈明显高凝状态；且并DVT患者凝血-纤溶紊乱更严重，促凝血因子浓度更高，引起微小颗粒聚集堵塞血管，造成血栓形成，与DVT发生及进展密切相关。

进增强，抗凝血功能减退，有更高的血栓形成风险。故必须重视创伤性四肢骨折患者凝血功能的监测，明确凝血、纤溶活性因子变化，以预防DVT发生，促进骨折修复。

PT、APTT均为与凝血功能相关的因子，前者反映外源性凝血途径凝血因子活性，后者与反映内源性凝血途径凝血因子活性^[11]。汤然钧等^[12]调查发现，创伤性骨折患者PT、APTT均缩短。本研究结果提示创伤性四肢骨折后DVT形成与内、外源性凝血因子改变无明显关联。此外，本研究结果与Negreva等^[13]结论相同，当D-D>384.10 μg/L时预测DVT敏感度、特异性分别为73.17%、100.00%，对诊断DVT价值较高。但单独诊断敏感度欠缺，故为提高DVT检出率，本研究发现四者联合诊断（并联）较单独诊断价值更高，可提高敏感度、特异性，因此建议当单独D-D无法预测DVT时或对单独诊断存疑患者建议联合FIB、FDP、D-D、TAT筛查，以提高DVT早期检出率。

综上，创伤性四肢骨折患者FIB、FDP、D-D、TAT较正常人高，尤其DVT患者上述浓度高于非DVT者，四者均与血栓形成密切（下转第1543页）

血清 KL-6、LDH 水平对结缔组织病合并间质性肺炎患者病情及预后的评估价值

崔艳香* 刘晓莉 周丽萍

[摘要] **目的** 探究血清涎液化糖链抗原-6(KL-6)和乳酸脱氢酶(LDH)对结缔组织病合并间质性肺炎患者病情及预后的评估价值。**方法** 选取2014年1月至2016年6月入院确诊为结缔组织病患者137例,根据患者临床表征和影像学资料分为间质性肺炎组($n=71$)和无间质性肺炎组($n=66$);另选取同期体检健康者($n=45$)作对照组,比较各组血清 KL-6、LDH、C反应蛋白(CRP)及D-二聚体(DD)水平。**结果** 间质性肺炎组血清 KL-6、LDH、CRP 及 DD 水平均高于无间质性肺炎组和对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);不同影像分型合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较差异无统计学意义($P>0.05$);不同影像分级合并间质性肺炎患者上述血清标志物水平的比较差异具有统计学意义($P<0.05$),且Ⅲ级组 KL-6、LDH、CRP 及 DD 水平高于Ⅰ级、Ⅱ级组,差异具有统计学意义($P<0.05$);活动组患者 KL-6、LDH、CRP 及 DD 水平高于非活动组,差异具有统计学意义($P<0.05$);死亡组 KL-6、LDH、CRP 及 DD 水平高于存活组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 血清 KL-6、LDH 可作为结缔组织病合并间质性肺炎的生物学标志物,对患者病情及预后有一定的评估价值。

[关键词] 涎液化糖链抗原-6;乳酸脱氢酶;结缔组织病;间质性肺炎

Evaluation value of serum KL-6 and LDH levels in conditions and prognosis of patients with connective tissue disease combined with interstitial pneumonia

CUI Yanxiang*, LIU Xiaoli, ZHOU Liping

(Department of Laboratory Medicine, Huangdao District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qingdao, Shandong, China, 266000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the evaluation value of serum Krebs von den Lungen-6 (KL-6) and lactate dehydrogenase (LDH) in conditions and prognosis of patients with connective tissue disease (CTD) combined with interstitial pneumonia (IP). **Methods** During the period from January 2014 to June 2016, 137 patients who were confirmed with CTD and were admitted to the hospital were enrolled. According to clinical features and imaging data of patients, they were divided into the IP group ($n=71$) and the non-IP group ($n=66$). The healthy people ($n=45$) who underwent physical examination in the same period were enrolled as the control group. The levels of serum KL-6, LDH, C-reactive protein (CRP) and D-dimer (DD) were measured and compared among all groups. **Results** The levels of serum KL-6, LDH, CRP and DD in the IP group were higher than those in the non-IP group and the control group ($P<0.05$). There were no significant differences in levels of the above serum marks among IP patients with different imaging types ($P>0.05$). There were significant differences in levels of the above serum marks among IP patients with different imaging grades ($P<0.05$). The levels of KL-6, LDH, CRP and DD in the grade Ⅲ group were higher than those in the grade Ⅰ and grade Ⅱ groups ($P<0.05$). The levels of KL-6, LDH, CRP and DD in the active group were higher than those in the inactive group ($P<0.05$). The levels of KL-6, LDH, CRP and DD in the death group

基金项目:青岛市2017年度中医药科研计划(2017-zyx079)

作者单位:青岛市黄岛区中医医院检验科,山东,青岛 266000

*通信作者:崔艳香, E-mail: drbnh594413@sina.com

were higher than those in the survival group ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum KL-6 and LDH can be used as biomarkers of connective tissue disease complicated with interstitial pneumonia, and have certain evaluation value for the patient's condition and prognosis.

[KEY WORDS] Krebs von den Lungen-6; Lactate dehydrogenase; Connective tissue disease; Interstitial pneumonia

结缔组织病是自身免疫功能异常引起全身慢性炎症疾病的总称,包括系统性红斑狼疮、系统性硬化症、类风湿性关节炎等^[1]。目前,结缔组织病的发病机制和病因尚不完全清楚,可能与免疫、遗传及病毒感染等有关,其中自身免疫功能在此类疾病中的作用已得到广泛认可^[2]。肺部富含疏松结缔组织,是结缔组织病最容易累及的器官,其中间质性肺炎是结缔组织病常见的并发症之一,且此类患者预后不良^[3]。因此,准确评估患者病情,对于改善其预后具有重要的临床意义。临床上常通过患者临床症状、动脉血气分析结果、影像学表现及肺功能检测情况等综合评估合并间质性肺炎患者疾病活动和预后,但上述检查依赖于特定仪器,且检测结果可重复性较差。目前,研究发现许多血清标志物对于结缔组织病合并间质性肺炎的早期诊断、病情及预后评估有较高的应用价值,如涎液化糖链抗原-6(krebs von den Lungen-6, KL-6)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等^[4-5]。本研究将观察血清 KL-6、LDH 对结缔组织病合并间质性肺炎患者病情及预后的评估价值,旨在为结缔组织病结合间质性肺炎的病情评估和临床治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 1 月至 2016 年 6 月入院确诊为结缔组织病患者 137 例为研究对象,年龄 23~79 岁,平均年龄(51.27±13.86)岁;男性 22 例,女性 115 例;另选取同期体检健康者 45 例作对照组,年龄 21~75 岁,平均年龄(49.42±15.61)岁;男性 12 例,女性 33 例。受试者均签署知情同意书。两组年龄、性别资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),均衡可比。

纳入标准:①入组病患符合结缔组织病的相关诊断标准^[6-7];②体检健康者各项实验室检测指标均处于正常范围。排除标准:①合并其他肺部疾病;②原有心、肝、肾等严重疾病;③合并恶性肿瘤、血

液系统疾病、感染等;④就诊时出现多器官衰竭;⑤精神异常、神志不清者;⑥未完成随访者;⑦严重营养不良者。本研究已获得医院伦理委员会批准。

1.2 间质性肺炎的诊断及分类标准

根据 2013 年美国胸科学会/欧洲呼吸病学会国际专家共识的诊断标准^[8],并结合影像学、实验室检查及肺功能检测结果进行综合判断,将结缔组织病患者分为 71 例间质性肺炎组和 66 例无间质性肺炎组;由 2 名资深放射科医师分别阅片,对合并间质性肺炎患者进行分型,包括寻常型间质性肺炎(usual interstitial pneumonia, UIP)、非特异性间质性肺炎(nonspecific interstitial pneumonia, NSIP)及未定型(表征或病变混合存在)^[8];通过高分辨计算机断层成像对患者病变范围进行分级,包括 I 级、II 级和 III 级^[9];根据间质性肺炎病情活动评估标准^[10],将结缔组织病合并间质性肺炎患者分为活动组和非活动组。随访患者至 2019 年 6 月 30 日,采用门诊复查、电话等方式记录患者病情进展和死亡情况,并根据随访情况,将结缔组织病合并间质性肺炎患者分为存活组和死亡组。

1.3 试剂和仪器

KL-6 检测试剂盒购自日本富士瑞必欧株式会社,应用化学发光免疫分析仪(美国 BECKMAN COULTER, 型号为 DXI800)检测;LDH 检测试剂盒购自美国德灵公司,应用全自动生化分析仪(瑞士罗氏公司,型号为 COBAS C501)检测;CRP 和 DD 试剂盒购自上海时代生物科技有限公司,应用酶标仪(美国 BIO-RAD, 型号为 iMark680)检测。

1.4 方法

采集受试者空腹状态静脉血 5 mL, 2 000 rpm 离心 10 min 后分离上层血清,检测血清 KL-6、LDH、CRP 及 D-二聚体(D-dimer, DD)的含量,其中 KL-6 采用酶促化学发光免疫法检测,LDH 采用速率法检测,CRP 和 DD 采用酶联免疫吸附法检测。

1.5 统计学方法

采取 SPSS 17.0 统计学软件,符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组组间比较采用 t 检验,

多组组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-q法;计数资料以n(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清标志物水平比较

间质性肺炎组血清KL-6、LDH、CRP及DD水平均高于无间质性肺炎组和对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),无间质性肺炎组上述因子水平高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表1。

2.2 不同影像分型合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较

不同影像分型合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 不同影像分级合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较

不同影像分级合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中Ⅲ级组合并间质性肺炎患者血清KL-6、LDH、CRP及DD水平均高于Ⅰ级、Ⅱ级组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表1 两组及对照组血清标志物水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum markers levels between 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	KL-6(U/mL)	LDH(U/L)	CRP(mg/L)	DD(mg/L)
间质性肺炎组	71	1263.51±354.27 ^{ab}	362.59±124.64 ^{ab}	31.46±10.57 ^{ab}	1.65±0.47 ^{ab}
无间质性肺炎组	66	249.35±76.31 ^a	215.46±65.87 ^a	3.69±1.16 ^a	0.72±0.23 ^a
对照组	45	137.64±32.68	151.97±37.23	1.63±0.52	0.15±0.04
F值		475.509	87.710	401.649	316.400
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与对照组比较,^a $P<0.05$;与无间质性肺炎组比较,^b $P<0.05$ 。

表2 不同影像分型合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum markers in IP patients with different imaging types ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	KL-6(U/mL)	LDH(U/L)	CRP(mg/L)	DD(mg/L)
UIP组	29	1184.25±385.21	327.64±110.39	28.58±9.42	1.54±0.40
NSIP组	24	1297.46±321.58	359.42±137.85	26.35±8.23	1.77±0.54
未定型组	18	1032.67±330.74	378.31±128.72	33.12±11.49	1.63±0.46
F值		2.921	0.993	2.591	1.604
P值		0.061	0.376	0.082	0.209

表3 不同影像分级合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum markers levels in IP patients with different imaging grades ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	KL-6(U/mL)	LDH(U/L)	CRP(mg/L)	DD(mg/L)
Ⅰ级组	20	1084.32±316.58	289.67±87.69	22.37±7.10	1.32±0.35
Ⅱ级组	26	1286.37±342.65	329.61±95.28	32.54±10.34 ^a	1.61±0.50
Ⅲ级组	25	1350.14±369.74 ^a	435.19±145.32 ^{ab}	39.45±12.62 ^{ab}	1.93±0.63 ^{ab}
F值		3.491	10.157	14.822	7.839
P值		0.036	<0.001	<0.001	<0.001

与Ⅰ级组比较,^a $P<0.05$;与Ⅱ级组比较,^b $P<0.05$ 。

2.4 不同病情活动情况合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较

与非活动组比较,活动组患者血清KL-6、LDH、CRP及DD水平均升高,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表4。

2.5 不同预后情况合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较

随访期间,19名合并间质性肺炎患者出现低氧血症、呼吸衰竭而死亡;与存活组比较,死亡组

患者血清KL-6、LDH、CRP及DD水平均升高,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表5。

3 讨论

间质性肺炎主要病理学改变为肺泡、肺间质及支气管周围出现不同程度的炎症细胞浸润及纤维化,上述改变将会引起肺泡细胞损伤和凝血纤溶水平紊乱,严重影响患者呼吸功能,甚至缩短生存期^[11]。结缔组织病合并间质性肺炎的发病率

表4 不同病情活动情况合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较

Table 4 Comparison of serum markers levels in IP patients with different disease activity

组别	n	KL-6(U/mL)	LDH(U/L)	CRP (mg/L)	DD(mg/L)
活动组	42	1372.82±385.29	416.57±131.39	37.69±11.48	1.98±0.61
非活动组	29	1156.31±293.47	329.64±98.57	26.34±8.23	1.39±0.35
t值		2.555	3.021	4.570	4.696
P值		0.013	0.004	<0.001	<0.001

表5 不同预后情况合并间质性肺炎患者血清标志物水平的比较

Table 5 Comparison of serum markers levels in IP patients with different prognosis

组别	n	KL-6(U/mL)	LDH(U/L)	CRP (mg/L)	DD(mg/L)
存活组	52	1129.48±298.62	305.24±95.48	23.91±8.15	1.25±0.37
死亡组	19	1398.57±378.68	432.52±135.47	39.45±12.58	1.92±0.63
t值		3.123	4.423	6.098	5.524
P值		0.003	<0.001	<0.001	<0.001

高,且大部分患者预后较差,早期启动免疫治疗可有效阻止肺泡间隔进展为纤维化改变,有效改善患者预后^[12]。因此,寻找灵敏、简便的实验室指标用于评估患者病情及预后尤为重要。

KL-6属于粘液素黏蛋白家族,当Ⅱ型肺泡上皮细胞、支气管上皮细胞增殖受损时,会分泌大量KL-6进入肺泡和血液中,引起血清KL-6水平升高,故KL-6水平与肺部疾病的发生发展密切相关^[13]。血清LDH、CRP均是临床上常用的炎症指标,结缔组织病活动时期常伴有不同程度的全身性炎症反应,因此上述因子也可用于此类疾病活动性的评价^[14]。DD是反映凝血纤溶状态的重要指标,可用于血栓病情严重程度的判断。袁思捷等^[15]研究指出,DD可用于间质性肺炎的临床诊断。本研究结果与郭利利等^[16]研究结果相符,该研究也指出KL-6在特发性及结缔组织病继发间质性肺炎患者中特异性升高。提示结缔组织病患者存在间质性肺炎,临床医师需要高度警惕此类情况,立即完善相应检查,及时制定治疗方案。

影像学上将间质性肺炎分为3种类型,包括寻常型间质性肺炎UIP、非特异性间质性肺炎NSIP及未定型的间质性肺炎。本研究分析提示上述指标的表达与间质性肺炎的类型无关。Wang等^[17]研究指出,结缔组织病合并间质性肺炎患者血清KL-6水平与肺部影像学参数相关,可用于患者的早期诊断和病情评估,与本研究结果不符,考虑是本研究纳入病例数较少存在偏倚性引起的,还需要大样本数据进一步分析。病变范围分级中Ⅲ级患者血清KL-6、LDH、CRP及DD水平均高于Ⅰ级、Ⅱ级者,且处于疾病活动期患者上述指标水平也

高于非活动者,均提示KL-6、LDH、CRP及DD对患者病情判断有重要价值。近年来,国内外学者已逐渐将血清标志物用于结缔组织病合并间质性肺炎患者的预后评估。Wakamatsu等^[18]回顾性分析特发性肺间质患者随访资料,发现连续KL-6监测可用于评估患者预后。本研究随访观察结果表明KL-6、LDH、CRP及DD可能对结缔组织病合并间质性肺炎患者预后情况有一定预测作用。后期将继续探究其预测临界值,以构建结缔组织病合并间质性肺炎患者的危险分层体系,从而达到高效治疗和改善预后的目的。

本研究将结缔组织病中各类疾病统一分析,对结缔组织病合并间质性肺炎与血清标志物(KL-6、LDH)水平的关系有了一个全局的认识,证实上述血清因子是评价合并间质性肺炎病情及预后的有效生物标志物,但无法区分间质性肺炎类型,后续将进一步深入探究这些血清指标在结缔组织病合并间质性肺炎诊疗中的价值。

参考文献

- [1] María LA, Paulin F, Toledo HM, et al. Undifferentiated connective tissue disease and interstitial lung disease: Trying to define patterns[J]. *Reumatol Clin*, 2016, 14(2):75-80.
- [2] Targońska-Stepniak B. Rheumatoid arthritis as a connective tissue disease[J]. *Wiad Lek*, 2018, 71(1):47-51.
- [3] Deng M, Tang L, Huang D, et al. Vitamin D deficiency in connective tissue disease-associated interstitial lung disease[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2018, 36(6):1049-1055.
- [4] Oguz EO, Kucuksahin O, Turgay M, et al. Association of serum KL-6 levels with interstitial lung disease in patients with connective tissue disease: a cross-sectional study[J]. *Clin Rheumatol*, 2016, 35(3):663-666.

- [5] 张继云, 穆清爽, 赵旌, 等. 结缔组织病相关肺间质病患者血清和支气管肺泡灌洗液生物学标志物的表达及其临床意义[J]. 广西医学, 2017, 39(12):1773-1776.
- [6] van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, et al. 2013 Classification Criteria for Systemic Sclerosis: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative [J]. *Arthritis Rheumat*, 2013, 65(11): 2737-2747.
- [7] Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides [J]. *Arthritis Rheumat*, 2013, 65(1):1-11.
- [8] Travis WD, Costabel U, Hansell DM, et al. An official American thoracic society/European respiratory statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(6): 733-748.
- [9] Homma Y, Saiki S, Doi O, et al. Clinical criteria for definition of idiopathic interstitial pneumonia (IIP) [J]. *Nihon Kyōbu Shikkan Gakkai Zasshi*, 1992, 30(7):1371-1377.
- [10] 刘倩, 赵振军, 张晓. 血清KL-6检测在结缔组织病肺间质病变中的意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2016, 20(6):396-399.
- [11] Choi Y, Liu TT, Pankratz DG, et al. Identification of usual interstitial pneumonia pattern using RNA-Seq and machine learning: Challenges and solutions [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(2):101.
- [12] 王汉萍, 郭潇潇, 周佳鑫, 等. 免疫检查点抑制剂相关肺炎的临床诊治建议[J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22(10):621-626.
- [13] 王冉冉, 朱剑, 张江林. KL-6在间质性肺疾病诊治中的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(4):92-95.
- [14] Gudmann NS, Hirata S, Karsdal MA, et al. Increased remodelling of interstitial collagens and basement membrane is suppressed by treatment in patients with rheumatoid arthritis: serological evaluation of a one-year prospective study of 149 Japanese patients [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2018, 36(3): 462-470.
- [15] 袁思捷, 谢海庭, 李忠丽. 超敏反应蛋白、纤维蛋白原和D-二聚体在结缔组织病相关间质性肺炎中的临床意义[J]. 南方医科大学学报, 2017, 37(3):415-419.
- [16] 郭利利, 曹孟淑, 王鑫, 等. 特发性与结缔组织病继发性间质性肺炎患者外周血浆KL-6表达及意义[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2019, 18(2):128-133.
- [17] Wang Y, Chen S, Lin Z, et al. Imaging and serum biomarkers in connective tissue disease-associated interstitial lung diseases: correlation between lung ultrasound B-lines and KL-6 levels [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 78(4):573-575.
- [18] Wakamatsu K, Nagata N, Kumazoe H, et al. Prognostic value of serial serum KL-6 measurements in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Res Inv*, 2017, 55(1):16-23.

(上接第1538页)

相关,D-D预测创伤性四肢骨折后DVT形成价值最高, 四者联合诊断可提高DVT检出率。但本研究样本数量少, 且为回顾性分析, 尚存在局限, 有待扩充样本量、展开多中心随机对照研究充实该结论。

参考文献

- [1] Lin GH, Huang YJ, Huang CY, et al. Trajectories of quality of life in patients with traumatic limb injury: a 2-year follow-up study [J]. *Qual Life Res*, 2016, 25(9):2283-2293.
- [2] Williams JR, Little MT, Kramer PA, et al. Incidence of Pre-operative Deep Venous Thrombosis in Isolated Calcaneal Fractures [J]. *J Orthop Trauma*, 2016, 30(7):e242-e245.
- [3] 张芳, 马少燕, 吴旭娟. 血管彩色多普勒超声联合D-二聚体增高及Wells评分对下肢深静脉血栓的诊断分析[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(10):1637-1639.
- [4] Nobes J, Messow CM, Khan M, et al. Age-adjusted D-dimer excludes pulmonary embolism and reduces unnecessary radiation exposure in older adults: retrospective study [J]. *Postgrad Med J*, 2017, 93(1101):420-424.
- [5] Kwon D, Milliron M. Update: D-dimer Test for Excluding the Diagnosis of Pulmonary Embolism [J]. *Ann Emerg Med*, 2017, 70(3):e31-e32.
- [6] 张永东, 曹艳红. 彩色多普勒超声在下肢深静脉血栓患者中的诊断价值[J]. 血栓与止血学, 2019, 25(6):958-959.
- [7] 冯振中, 廖有乔, 王维. 四肢及骨盆骨折患者DVT发生率及相关影响因素分析[J]. 创伤外科杂志, 2019, 21(9):683-686.
- [8] 张峰, 施翔, 曹真虎. 创伤性四肢骨折患者凝血指标的改变与血栓形成的关系[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(6):833-835.
- [9] Korte W, Poon MC, Iorio A, et al. Thrombosis in Inherited Fibrinogen Disorders [J]. *Transfusion Med Hemother*, 2017, 44(2):70-76.
- [10] 徐玉秀, 张成伟, 鹿勇. 血常规参数、血浆D-二聚体在败血症诊断及预后应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1):64-68.
- [11] 方磊. 凝血指标和D-二聚体及FDP水平检测对骨折病人的临床意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2020, 45(2):249-251.
- [12] 汤然钧, 曹杨. 探讨创伤性骨折术后深静脉血栓的形成与凝血功能指标的相关性[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(12):144-145.
- [13] Negreva M, Georgiev S, Prodanova K, et al. Early Changes in the Antithrombin and Thrombin-Antithrombin Complex in Patients With Paroxysmal Atrial Fibrillation [J]. *Cardiol Res*, 2016, 7(3):89-94.

甲状腺癌细针穿刺组织中CEACAM1表达量及其与肿瘤恶性程度的相关性

徐显昌¹ 周宁^{2*} 陈志刚¹

[摘要] 目的 分析甲状腺癌细针穿刺组织中癌胚抗原黏附分子1(CEACAM1)表达量及其与肿瘤恶性程度的相关性。方法 选取2018年04月至2020年4月于本院行甲状腺结节细针穿刺活检的118例患者为研究对象,根据穿刺后病理检查结果分为甲状腺癌55例(甲状腺癌组)和良性甲状腺肿瘤63例(甲状腺良性肿瘤组),测定CEACAM1表达量、血清肿瘤标记物[细胞角蛋白19片段(Cyfra21-1)、半乳糖血凝素-3(Cal-3)、癌胚抗原(CEA)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)]、增殖基因[叉头框蛋白A1(FOXA1)、瘦素受体(ObR)、增殖细胞核抗原(PCNA)]和侵袭基因[BCL6共抑制因子样蛋白1(BCORL1)、S100钙结合蛋白A4(S100A4)、特异AT序列结合蛋白1(SATB1)、人Twist相关蛋白1(Twist1)]表达量,并分析CEACAM1与Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1的相关性。结果 甲状腺癌组CEACAM1表达量和阳性率高于甲状腺良性肿瘤组,差异具有统计学意义($P<0.05$);甲状腺癌组血清Cyfra21-1、Cal-3、CEA及MMP-9水平和FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1蛋白表达量高于甲状腺良性肿瘤组,差异具有统计学意义($P<0.05$);Spearman相关分析显示CEACAM1表达量与Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1呈正相关性($P<0.05$)。结论 甲状腺癌细针穿刺组织中CEACAM1呈高表达,且与肿瘤恶性程度呈正相关。

[关键词] 甲状腺癌;细针穿刺组织;癌胚抗原黏附分子1;肿瘤恶性程度

Expression level of CEACAM1 in fine needle aspiration tissue of thyroid cancer and its correlation with tumor malignancy

XU Xianchang¹, ZHOU Ning^{2*}, CHEN Zhigang¹

(1. Department of General Surgery, Jiangyou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Mianyang, Sichuan, China, 621700; 2. Department of Pathology, 404 Hospital, Mianyang, Sichuan, China, 621000)

[ABSTRACT] Objective To analyze the expression level of carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) in fine needle aspiration tissue of thyroid cancer and its correlation with tumor malignancy. Methods A total of 118 patients who underwent fine needle aspiration biopsy of thyroid nodules in the hospital from April 2018 to April 2020 were enrolled as the research objects. According to the pathologic examination results after puncture, there were 55 cases of thyroid cancer (thyroid cancer group) and 63 cases of benign thyroid tumor (thyroid benign tumor group). The expression levels of CEACAM1, serum tumor markers [cytokeratin 19 fragment (Cyfra21-1), galactose hemagglutinin-3 (Cal-3), carcinoembryonic antigen (CEA), matrix metalloproteinase - 9 (MMP - 9)], proliferation genes [forkhead box protein A1 (FOXA1), leptin receptor (ObR), proliferating cell nuclear antigen (PCNA)] and invasion genes [BCL6 co-

基金项目:四川省中医药管理局重点项目(2019F015)

作者单位:1. 四川省绵阳市江油市中医医院普外科,四川,绵阳 621700

2. 四川绵阳四〇四医院病理科,四川,绵阳 621000

*通信作者:周宁, E-mail:guan84606243957790@163.com

repressor protein 1 (BCORL1), S100 calcium binding protein A4 (S100A4), specific AT sequence binding protein 1 (SATB1), human Twist related protein 1 (Twist1)] were detected. The correlation between CEACAM1 and Cyfra21-1, Cal-3, CEA, MMP-9, FOXA1, ObR, PCNA, BCORL1, S100A4, SATB1, Twist1 was analyzed. **Results** The expression level and positive rate of CEACAM1 in the thyroid cancer group were higher than those in the benign thyroid tumor group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum Cyfra21-1, Cal-3, CEA and MMP-9, FOXA1, ObR, PCNA, BCORL1, S100A4, SATB1 and Twist1 in the thyroid cancer group were higher than those in benign thyroid tumor group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that expression level of CEACAM1 was positively correlated with Cyfra21-1, Cal-3, CEA, MMP-9, FOXA1, ObR, PCNA, BCORL1 S100A4, SATB1 and Twist1 ($P<0.05$). **Conclusion** CEACAM1 is highly expressed in fine needle aspiration tissue of thyroid cancer, and is positively correlated with the degree of tumor malignancy.

[KEY WORDS] Thyroid cancer; Fine needle aspiration tissue; Carcinoembryonic antigen adhesion molecule 1; Tumor malignancy

甲状腺癌是最常见的甲状腺恶性肿瘤,其发病率占内分泌肿瘤的首位^[1]。临床常采用手术联合化疗治疗,可提高患者生存率。据报道显示,甲状腺癌患者5年生存率达90%^[2]。但仍有部分甲状腺癌患者因局部复发、浸润及远处转移导致预后较差,这与癌细胞的增殖和侵袭密切相关,但目前关于甲状腺癌细胞增殖和侵袭的调控机制尚未明确^[3]。细针穿刺能够准确判断组织性质。癌胚抗原黏附分子(carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule, CEACAM)是细胞跨膜糖蛋白,在肿瘤发生、发展中具有重要作用^[4]。研究证实,甲状腺癌患者CEACAM1水平呈高表达^[5]。为进一步明确甲状腺癌细针穿刺组织中CEACAM表达与病情发展变化的关系,本研究分析甲状腺癌组织中CEACAM表达与肿瘤恶性程度的相关性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年4月至2020年4月于本院行甲状腺结节细针穿刺活检的118例患者为研究对象。纳入标准:①均经甲状腺超声证实存在甲状腺结节,符合细针穿刺活检的指征,且经病理检查确诊为甲状腺癌和良性甲状腺肿瘤;②年龄:30~75岁;③入院前半年内无外科手术史;排除标准:①严重肝肾功能不全者;②合并自其他恶性肿瘤者;③合并桥本氏甲状腺炎、甲状腺功能减退和亢进等;④合并全身感染性疾病。根据穿刺后病理检查结果分为甲状腺癌组和良性甲状腺肿瘤组。其中,甲状腺癌组($n=55$):男24例,女21例,年龄:30~75岁,平均(50.36±6.57)岁;肿瘤直径4~13 mm,平均

(6.92±1.22)mm;甲状腺良性肿瘤组($n=63$):男34例,女30例,年龄:30~74岁,平均(51.17±6.64)岁;肿瘤直径3~15 mm,平均(7.51±1.26)mm。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会批准,所有受试者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 mRNA含量和阳性表达率测定

超声定位后确认所有研究对象甲状腺病灶部位,于超声下进行细针穿刺,获得甲状腺病灶后抽提组织中的RNA并反转录为cDNA,然后使用试剂盒扩增目的基因CEACAM1和内参基因actin,计算mRNA含量:RNA浓度=(OD₂₆₀~320)×稀释倍数×0.04 μg/μL。OD₂₃₀, 260, 280, 320分别是盐浓度、核酸、蛋白质等有机物和背景(溶液浑浊度)的吸光度值。对肿瘤组织中CEACAM1染色,显微镜下观察并判断染色强度及染色阳性细胞率^[6]。

1.2.2 血清肿瘤标记物检测

入院后第二天采集患者空腹外周静脉血4 mL在3 000 r/min下离心10 min,进行离心沉淀细胞,采用罗氏全自动化学发光免疫分析仪(北京迈润医疗医疗器械有限公司,型号:Cobas e 60)测定血清细胞角蛋白19片段(serum cytokeratin 19 fragment, Cyfra21-1)、半乳糖血凝素-3(galactose hemagglutinin-3, Cal-3)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)水平。

1.2.3 增殖、侵袭基因

甲状腺癌患者均接受手术切除肿瘤,取术中肿瘤组织样本,用常规Western免疫印迹法测定

FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 蛋白表达:内参抗体为 beta-tubulin 抗体,试剂准备后进行单层贴壁细胞总蛋白的提取、组织中总蛋白的提取及加药物处理的贴壁细胞总蛋白的提取,然后制作标准曲线,检测样品含的蛋白量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件处理数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,各变量间相关性采用 Spearman 相关分析、以相关系数 r 表示两资料间的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CEACAM1 表达量比较

甲状腺癌组 CEACAM 表达量和阳性率高于甲状腺良性肿瘤组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 CEACAM1 表达量比较 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of CEACAM1 expression between 2 groups [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

指标	n	mRNA 含量	阳性表达率
甲状腺癌组	55	0.99±0.07	44(80.00)
甲状腺良性肿瘤组	63	0.20±0.04	15(23.81)
t/χ^2 值		76.443	24.877
P 值		0.000	0.000

2.2 两组血清肿瘤标记物含量比较

甲状腺癌组血清 Cyfra21-1、Cal-3、CEA 及 MMP-9 水平均高于甲状腺良性肿瘤组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组肿瘤组织增殖基因蛋白表达量比较

甲状腺癌组增殖基因 FOXA1、ObR、PCNA 蛋白表达量高于甲状腺良性肿瘤组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组肿瘤组织侵袭基因蛋白表达量比较

甲状腺癌组侵袭基因 BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 蛋白表达量高于甲状腺良性肿瘤组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 两组血清肿瘤标记物含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum tumor markers between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	Cyfra21-1 (ng/mL)	Cal-3 (ng/mL)	CEA ($\mu\text{g/L}$)	MMP-9 (ng/mL)
甲状腺癌组	55	16.77±0.36	7.46±2.33	30.29±6.04	14.49±4.03
甲状腺良性肿瘤组	63	5.57±0.20	4.81±0.52	17.68±4.12	8.20±2.27
t 值		212.320	8.785	13.387	10.613
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 两组肿瘤组织增殖基因蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of protein expression levels of tumor proliferation genes between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	FOXA1	ObR	PCNA
甲状腺癌组	55	173.21±20.14	149.75±16.28	194.71±25.08
甲状腺良性肿瘤组	63	98.74±15.22	99.05±12.46	100.0±18.37
t 值		20.300	19.125	23.594
P 值		0.000	0.000	0.000

2.5 CEACAM mRNA 表达量与 Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 相关性分析

Spearman 相关分析显示,CEACAM mRNA 表达量与 Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 呈正相关性 ($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

CEACAM 是癌胚抗原家族成员之一,属于免疫球蛋白家族,由 583 个氨基酸组成,主要分布于上皮细胞、内皮细胞、粒细胞、淋巴细胞和肿瘤细胞中,参与细胞生长、分化、凋亡、细胞间黏附,并调节免疫^[6-7]。大量研究证实,CEACAM1 在肿瘤发生发展中具有重要作用^[8-9]。CEACAM1 可介导肿瘤细胞黏附,调节肿瘤细胞增殖、凋亡及分化,参与肿瘤血管和淋巴管生成过程,并抑制免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤,促进肿瘤侵袭和迁移^[10]。张钢等^[11]报道显示,CEACAM1 在前列腺癌中呈低表达,可作为早期诊断因子。国外报道显示,CEACAM1 在直肠

表 4 两组肿瘤组织侵袭基因蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of protein expression levels of tumor invasion genes between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	BCORL1	S100A4	SATB1	Twist1
甲状腺癌组织	55	164.37±15.39	187.68±20.01	191.60±22.17	183.21±17.65
甲状腺良性肿瘤组织	63	96.83±11.27	98.16±17.03	95.86±18.24	99.02±14.33
t 值		27.421	26.254	25.728	28.582
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表5 CEACAM mRNA 表达量与 Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、1FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 相关性分析

Table 5 Correlation analysis between CEACAM mRNA expression and Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、1FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1

指标	CEACAM mRNA 表达量	
	r 值	P 值
Cyfra21-1	0.377	<0.001
Cal-3	0.365	<0.001
CEA	0.401	<0.001
MMP-9	0.369	<0.001
FOXA1	0.358	<0.001
ObR	0.366	<0.001
PCNA	0.381	<0.001
BCORL1	0.388	<0.001
S100A4	0.390	<0.001
SATB1	0.405	<0.001
Twist1	0.403	<0.001

癌及癌旁组织中表达减低甚至缺失,这种减低和缺损导致癌细胞活跃期提前,促进直肠癌发生发展^[12]。同时赵丹等^[13]报道显示,CEACAM1 在甲状腺癌,非小细胞中呈高表达,可一定程度促进肿瘤组织本身的增殖和进展。而本研究结果,提示 CEACAM1 高表达可能与甲状腺癌发生有关。

Giovanella 等^[14]报道甲状腺癌患者血清 Cyfra21.1 水平与肿瘤恶性程度相关。Cyfra21-1 为细胞角蛋白 19 的可溶性片段,作为新的上皮来源性质的肿瘤标志物,在肿瘤中应用较为广泛;Cal-3 是半乳糖特意凝集素,对细胞增殖、细胞与细胞外基质相互作用及血管形式具有促进效应;CEA 是酸性糖蛋白,主要形成于胚胎,健康人血清呈低表达,当机体细胞一旦出现癌变其可重新合成;MMP9 是降解细胞外基质和基底膜中 IV 型胶原的主要成员,对肿瘤侵袭和转移具有重要作用^[15]。研究表明,甲状腺癌患者血清 Cyfra21-1、Cal-3、CEA 水平较甲状腺良性肿瘤患者较高^[16]。而本研究也支持了这一观点,结果提示甲状腺癌患者存在血清指标的含量异常。肿瘤增殖及侵袭基因蛋白表达量可反映肿瘤恶性程度。诸多研究证实,FOXA1、ObR、PCNA 与甲状腺癌增殖相关,可促进肿瘤细胞增殖^[17]。而 BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 是目前研究较多的甲状腺癌侵袭基因,其中 BCORL1、S100A4 可促进肿瘤细胞侵袭和转移;SATB1 可促进甲状腺癌上皮细胞转化;Twist1 可通过 NF- κ B 信号通路实现促侵袭作用^[18]。本研究结果提示甲状腺癌细胞的

侵袭和转移活性高于甲状腺良性肿瘤。由此可见,CEACAM1 对早期诊断和预后评估中具有重要意义,临床可将其作为参考。

综上所述,甲状腺癌细针穿刺组织中 CEACAM 呈高表达,且与 Cyfra21-1、Cal-3、CEA、MMP-9、FOXA1、ObR、PCNA、BCORL1、S100A4、SATB1、Twist1 呈正相关性。

参考文献

- [1] 李训海,冯新献,殷德涛,等.精细化被膜解剖法在分化型甲状腺癌手术中的应用价值[J].中国普通外科杂志,2017,26(5):567-572.
- [2] 席雪华,高琼,张波,等.超声评估持续/复发及转移性分化型甲状腺癌的研究进展[J].北京医学,2018,40(11):1064-1066,1069.
- [3] 盛建国,王斌,刁宗平,等.甲状腺癌细针穿刺组织中 BRMS1 和 Cx43 的表达量及其与肿瘤恶性程度的相关性[J].海南医学院学报,2016,22(17):2032-2034.
- [4] 段佳文,林杨,郭飞,等.结直肠癌组织中癌胚抗原相关细胞黏附分子-1 的表达变化及其意义[J].山东医药,2018,116(3):63-65.
- [5] 吴龙凤,曹德明,华肖杭,等.血清癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 检测法在诊断甲状腺癌中的应用价值[J].当代医药论丛,2019,17(1):178-179.
- [6] Kfir-Elirachman K, Ortenberg R, Vigel B, et al. Regulation of CEACAM1 Protein Expression by the Transcription Factor ETS-1 in BRAF-Mutant Human Metastatic Melanoma Cells [J]. Neoplasia, 2018, 20(4):401-409.
- [7] 夏龙飞,刘玉君,张军民,等.CEACAM-1 在结直肠癌中的表达及与肿瘤血管生成,转移的相关性研究[J].中国医药导报,2019,16(2):94-97.
- [8] Hu JM, Liu K, Liu JH, et al. The increased number of tumor-associated macrophage is associated with overexpression of VEGF-C, plays an important role in Kazakh ESCC invasion and metastasis [J]. Exp Mol Pathol, 2017, 102(1):15-21.
- [9] 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.
- [10] 李国雷,靳振生,谭国梁,等.食管腺癌组织 CEACAM1 表达临床意义[J].中华肿瘤防治杂志,2018,25(20):1435-1439,1445.
- [11] 张钢,赵海军,邓军,等.前列腺癌中 CEACAM6 和 ANG2 的表达及其临床意义[J].医学临床研究,2016,33(11):2252-2254.
- [12] Zhang Y, Cai P, Li L, et al. Co-expression of TIM-3 and CEACAM1 promotes T cell exhaustion in colorectal cancer patients [J]. Int Immunopharmacology, 2017, 43(12):210-218.
- [13] 赵丹,张宇.甲状腺癌患者外周血 CEACAM1 水平及其临床意义[J].中国普通外科杂志,2015,24(11):31-35.
- [14] Giovanella L, Imperiali M, Trimboli (下转第 1551 页)

血清 BSP、SOST 及 Ca^{2+} 水平与维持性血液透析患者腹主动脉钙化的关系

司江涛 崔文军 安乾 王颖 吴斐 李阳 王广华 王梦宇 王兵*

[摘要] **目的** 探讨维持性血液透析(MHD)患者血清骨唾液酸蛋白(BSP)、骨硬化蛋白(SOST)及 Ca^{2+} 水平与腹主动脉钙化的关系。**方法** 选取2018年6月至2020年3月在本院血液净化中心规律行MHD治疗的患者70例,透析时间3个月以上;采用腹部侧位X线片来评估患者腹主动脉钙化情况,计算腹主动脉钙化评分(AACs),并根据AACs评分将MHD患者分为无/轻度钙化组(AACs \leq 4分)和中重度钙化组(AACs $>$ 4分);所有病例透析前检测血红蛋白、白蛋白、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)、糖化血红蛋白、血脂、 Ca^{2+} 、磷、骨唾液酸蛋白(BSP)、骨硬化蛋白(SOST)水平。**结果** 70例MHD患者中,无/轻度钙化组28例(40.00%),中重度钙化组42例(60.00%);无/轻度钙化组和中重度钙化组年龄、透析龄、 Ca^{2+} 、磷、BSP、SOST比较,差异有统计学意义($P<0.05$);Pearson相关性分析显示,AACs与年龄、透析龄、 Ca^{2+} 、磷、BSP及SOST均呈显著正相关($P<0.05$);多因素Logistic回归分析提示,透析龄长($OR=1.204, 95\%CI: 1.086\sim 1.336$),BSP水平升高($OR=1.445, 95\%CI: 1.073\sim 1.946$)及SOST水平升高($OR=2.252, 95\%CI: 1.353\sim 3.749$)是MHD患者腹主动脉中重度钙化的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** MHD患者多伴有腹主动脉钙化,透析龄长以及BSP、SOST水平增加是MHD患者腹主动脉中重度钙化的独立危险因素。

[关键词] 维持性血液透析;腹主动脉钙化;骨唾液酸蛋白;骨硬化蛋白

Relationship between serum BSP, SOST, Ca^{2+} levels and abdominal aortic calcification in patients undergoing maintenance hemodialysis

SI Jiangtao, CUI Wenjun, AN Qian, WANG Ying, WU Fei, LI Yang, WANG Guanghua, WANG Mengyu, WANG Bing*

(Department of Vascular Surgery, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum bone sialoprotein (BSP), sclerostin (SOST), Ca^{2+} levels and abdominal aortic calcification in patients undergoing maintenance hemodialysis (MHD). **Methods** Seventy patients who underwent regular MHD in blood purification center in the hospital from June 2018 to March 2020 were enrolled. The abdominal aortic calcification was evaluated by abdominal lateral X-ray films. The abdominal aortic calcification scores (AACs) were calculated. According to different AACs, MHD patients were divided into the non/mild calcification group (AACs not higher than 4 points) and the moderate-severe calcification group (AACs higher than 4 points). The dialysis time was over 3 months. Before dialysis, the levels of hemoglobin, albumin, triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), glycosylated hemoglobin, blood lipid, Ca^{2+} , phosphorus, BSP and SOST were measured and compared. **Results** Among the 70 patients with MHD, 28 cases (40.00%) were in the non/mild calcification group and 42 cases (60.00%) were in the moderate-severe calcification group. The differences in age, dialysis age, Ca^{2+} , phosphorus, BSP and SOST

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019T03014)

作者单位:郑州大学第五附属医院血管外科,河南,郑州 450000

*通信作者:王兵, E-mail: sjtao2007@163.com

were statistically significant between the non/mild calcification group and the moderate-severe calcification group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that AACs were significantly positively correlated with age, dialysis age, calcium, phosphorus, BSP and SOST ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis indicated that the age of dialysis ($OR=1.204$, $95\%CI: 1.086\sim 1.336$), increased level of BSP ($OR=1.445$, $95\%CI: 1.073\sim 1.946$) and increased level of SOST ($OR=2.252$, $95\%CI: 1.353\sim 3.749$) were independent risk factors for moderate to severe abdominal aortic calcification in MHD patients ($P<0.05$). **Conclusion** MHD patients are mostly accompanied with abdominal aortic calcification. Long dialysis age and increased levels of BSP and SOST are independent risk factors for moderate and severe calcification in MHD patients.

[KEY WORDS] Maintenance hemodialysis; Abdominal aortic calcification; Bone sialoprotein; Sclerostin

维持性血液透析(maintenance hemodialysis, MHD)是终末期肾脏病(end-stage renal disease, ESRD)患者最主要的治疗形式,国内接受MHD治疗的ESRD患者约占80%以上^[1]。流行病学资料显示,心血管并发症是影响MHD患者预后的重要因素,约占MHD患者死亡原因的50%以上^[2]。以往研究表明,血管钙化是导致MHD患者心血管并发症的主要原因^[3]。骨唾液酸蛋白(bone sialoprotein, BSP)、骨硬化蛋白(sclerostin, SOST)等骨相关蛋白失衡可能参与了血管钙化发生机制^[4-5],但其在MHD患者表达如何及与MHD患者血管钙化的关系尚未完全明确。本研究通过分析MHD患者血清BSP、SOST、Ca²⁺等指标与MHD患者腹主动脉钙化程度的关系,旨在深入了解影响MHD患者血管钙化的相关因素,以为临床干预提供依据,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2018年6月至2020年3月在本院血液净化中心规律行维持性血液透析治疗的MHD患者70例。纳入标准:①年龄18岁及以上;②行MHD治疗3个月以上。排除标准:①既往有心肌梗死、脑血管病史者;②合并恶性肿瘤;③有甲状旁腺切除术史;④近1个月内有严重感染史者。其中女性27例,男性43例;年龄29~75岁,平均(56.52±7.84)岁,透析龄5~70(47.29±10.71)月;高血压肾病19例,慢性肾小球肾炎26例,糖尿病肾病13例,其他12例。本研究经本院伦理委员会审批通过,受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

收集记录入组MHD患者一般临床资料;所有病例透析前,抽取清晨空腹静脉血10 mL,检测血

红蛋白、白蛋白、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL-C)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL-C)、糖化血红蛋白、血脂、Ca²⁺、磷、BSP、SOST水平。BSP、SOST水平检测均使用酶联免疫吸附法测定,检测试剂盒购自广州德为生物科技有限公司。

根据2017改善全球肾脏病预后组织推荐意见,采用腹部侧位X线片来评估患者腹主动脉钙化情况,采用半定量积分方法由两位放射科医师对患者第1至4节腰椎骨对应的腹主动脉前壁和后壁钙化情况进行双盲评分^[6],计算腹主动脉钙化评分(abdominal aortic calcification score, AACs),AACs区间0~24分,取两位医师评分的均值作为最终结果。参考文献^[7]将MHD患者根据腹主动脉钙化程度分为无或轻度钙化组(AACs≤4分)和中重度钙化组(AACs>4分)。

1.3 统计学处理

使用SPSS 20.0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;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;相关性分析采用Pearson相关性分析法;多因素分析采用多因素Logistic回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料及实验室检查结果比较

所有70例MHD患者中,无或轻度钙化组共28例(40.00%),中重度钙化组42例(占60.00%)。无/轻度钙化组和中重度钙化组患者的性别、血红蛋白、白蛋白、高血压患病比例、糖化血红蛋白、TC、TG、HDL-C、LDL-C比较,差异无统计学意义($P>0.05$);两组年龄、透析龄、Ca²⁺、磷、BSP、SOST比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 两组一般资料及实验室检查结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general information and laboratory examination results between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

临床资料	无/轻度钙化组 (n=28)	中重度钙化组 (n=42)	χ^2/t 值	P值
性别				
男(例)	18	25		
女(例)	10	17	0.161	0.688
年龄(岁)	53.21±7.96	58.73±7.62	2.917	0.005
透析龄(月)	36.98±9.45	54.17±12.13	6.323	0.000
血红蛋白(g/L)	109.91±18.83	112.34±16.98	0.562	0.576
白蛋白(g/L)	37.05±5.10	35.87±4.74	0.990	0.326
高血压(例)	11	18	0.088	0.766
糖化血红蛋白(%)	5.28±1.04	5.51±1.13	0.861	0.392
TC(mmol/L)	3.79±0.84	3.85±0.80	0.301	0.764
TG(mmol/L)	1.56±0.49	1.62±0.44	0.534	0.595
HDL-C(mmol/L)	1.52±0.55	1.43±0.47	0.733	0.466
LDL-C(mmol/L)	2.27±0.60	2.46±0.71	1.165	0.248
总Ca ²⁺ (mmol/L)	2.06±0.24	2.20±0.27	2.220	0.030
无机磷(mmol/L)	1.67±0.48	1.90±0.44	2.066	0.043
BSP(ng/mL)	16.81±4.62	23.97±3.76	7.118	0.000
SOST(ng/mL)	2.10±0.68	2.87±0.74	4.403	0.000

2.2 AACs与临床指标的相关性分析

Pearson相关性分析显示,AACs与年龄、透析龄、Ca²⁺、磷、BSP及SOST呈显著正相关($P < 0.05$),与血红蛋白、白蛋白、糖化血红蛋白、TC、TG、HDL-C、LDL-C相关性不显著($P > 0.05$)。见表2。

表2 AACs与临床指标的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between AACs and clinical indicators

项目	r值	P值
年龄(岁)	0.487	0.004
透析龄(月)	0.425	0.006
血红蛋白(g·L ⁻¹)	0.127	0.301
白蛋白(g·L ⁻¹)	-0.208	0.249
糖化血红蛋白(%)	0.153	0.290
TC(mmol·L ⁻¹)	0.096	0.435
TG(mmol·L ⁻¹)	0.132	0.297
HDL-C(mmol·L ⁻¹)	-0.165	0.276
LDL-C(mmol·L ⁻¹)	0.226	0.218
总Ca ²⁺ (mmol·L ⁻¹)	0.359	0.037
无机磷(mmol·L ⁻¹)	0.376	0.030
BSP(ng·mL ⁻¹)	0.502	0.003
SOST(ng·mL ⁻¹)	0.464	0.004

2.3 影响MHD患者腹主动脉钙化的多因素Logistic回归分析

以MHD患者是否合并中重度腹主动脉钙化作为因变量(1=中重度钙化,0=无/轻度钙化),将表1中无/轻度钙化组和中重度钙化组差异有统计学意义的变量作为自变量纳入多因素Logistic回

归模型分析,结果提示透析龄长,BSP及SOST水平是MHD患者腹主动脉中重度钙化的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

表3 影响MHD患者腹主动脉钙化的多因素Logistic回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of multiple factors influencing abdominal aortic calcification in MHD patients

变量	β值	SE值	Wald/ χ^2 值	OR(95%CI)	P值
透析龄	0.186	0.053	12.316	1.204(1.086~1.336)	0.000
BSP	0.368	0.152	5.861	1.445(1.073~1.946)	0.016
SOST	0.812	0.260	9.754	2.252(1.353~3.749)	0.002

3 讨论

ESRD患者表现为不可逆性肾功能损伤,需要进行肾脏替代治疗以维持生命机能。据报道,ESRD死亡率居第11位,在我国约有200~300万ESRD患者,且目前仍呈升高趋势^[8]。目前临床治疗ESRD的方法主要包括血液透析、腹膜透析及肾移植等,其中以MHD方案最为普遍^[9]。血管钙化是ESRD患者发生心血管事件的重要危险因素。相关研究显示,ESRD患者血管钙化发生率高达80~90%,且以腹主动脉钙化明显^[10]。本研究结果与夏雪等^[3]研究中73.61%的钙化率结果较为一致,说明MHD患者普遍伴有血管钙化表现。

既往研究显示,MHD患者血管钙化的发生、发展与透析龄密切相关^[11]。本研究结果显示,在校正相关混杂因素后,透析龄是MHD患者腹主动脉中重度钙化的独立危险因素之一,与上述研究结果一致。随着透析龄的增长,MHD患者血管钙化的发生率明显增加且钙化程度加剧,考虑与MHD治疗只能替代部分肾脏功能,机体毒素对患者各组织器官造成的损害随着透析时间延长而加剧。除此之外,还可能与血液透析过程中患者血液动力学改变以及透析对血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)凋亡和骨特异性分化的促进作用有关^[12]。提示对于MHD患者,随着透析龄增加,应特别重视血管钙化的发生。

以往多认为血管钙化是由于体内Ca²⁺、磷水平增高,导致矿物质沉积引起的异位钙化^[13]。最新的研究发现,血管钙化与骨钙化相似具有病理机制,是VSMC介导的主动过程^[14]。相关性分析结果显示血清BST水平与AACs呈显著正相关。通

过多因素 Logistic 回归提示血清 BST 水平增加是腹主动脉重度钙化的独立危险因素。

近年来,研究发现血管钙化是由多种钙化调控分子参与的主动调节过程,是钙化促进因素与抑制因素失衡的结果^[15]。有研究表明重度血管钙化的患者中血清 SOST 水平相对较高^[16]。SOST 是由骨细胞分泌的一种分泌型糖蛋白,有研究指出 SOST 可能通过阻滞 WNT/ β -链蛋白信号通路调节 MHD 患者血管钙化过程^[17]。另外,本研究未发现以往研究^[18]中血磷、血钙等传统血管钙化危险因素是 MHD 患者腹主动脉中重度钙化的独立危险因素,考虑其主要原因为部分患者经药物治疗后钙、磷水平基本控制在正常范围。

综上所述,MHD 患者多伴有腹主动脉钙化,透析龄长以及 BSP、SOST 水平增加是 MHD 患者腹主动脉中重度钙化的独立危险因素。

参考文献

[1] 王涛. 终末期肾脏病患者治疗方式选择的医学伦理探讨[J]. 中国血液净化, 2016, 15(7):329-331.

[2] 徐冷楠, 陈献广, 李天慧, 等. 单中心 20 年间维持性血液透析患者死亡原因分析[J]. 中华老年医学杂志, 2018, 37(10):1111-1114.

[3] 夏雪, 王德光, 郝丽, 等. 血液透析患者血管钙化及相关影响因素的调查分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2018, 22(8):864-866.

[4] 戴璇, 李月红, 姜埃利, 等. 骨硬化蛋白在慢性肾脏病发病及血管钙化中作用的研究进展[J]. 山东医药, 2019, 59(32):96-99.

[5] Effat F, Ghatreh SK, Hashemzadeh CM. Oxidized Low-Density Lipoprotein and Upregulated Expression of Osteonectin and Bone Sialoprotein in Vascular Smooth Muscle Cells[J]. Lab Med, 2014, 45(4):297-301.

[6] Wheeler DC, Winkelmayer WC. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Preven-

tion, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Foreword [J]. Der Nephrol, 2017, 113(1):1-4.

[7] Verbeke F, Van Biesen W, Honkanen E, et al. Prognostic value of aortic stiffness and calcification for cardiovascular events and mortality in dialysis patients outcome of the calcification outcome in renal disease (CORD) study [J]. Clin J Soc Nephrol, 2011, 6(1):153-159.

[8] 顾乡, 方向华. 老年人慢性肾脏病诊断标准和分期以及流行病学研究现状[J]. 中华老年医学杂志, 2016, 35(5):556-559.

[9] 李菊, 李建兰, 高爱民. 中国终末期肾病患者行维持性血液透析的流行病学现状[J]. 实用临床医药杂志, 2018, 22(21):168-170.

[10] 伍宏伟, 张洋洋, 余宗超, 等. 骨唾液酸蛋白与维持性血液透析患者腹主动脉钙化的关系[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2018, 27(1):29-34.

[11] 张曼, 张京慧, 温小军. 老年血液透析患者血清 hs-CRP、Fetuin-A 水平与心脏瓣膜钙化和血管钙化的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):296-299.

[12] 于长青, 林洪丽. 透析患者血管钙化的机制及进展[J]. 中国血液净化杂志, 2017, 16(6):361-363.

[13] 牛蒙, 孙建平. 维持性血液透析患者钙磷代谢紊乱影响因素[J]. 山东医药, 2014, 54(41):101-103.

[14] 刘海玲, 冯景辉. 血管平滑肌细胞与血管钙化的机制及进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2017, 9(11):1398-1400.

[15] 孙安子, 赵建荣. 慢性肾脏病血管钙化机制的研究进展[J]. 山东医药, 2019, 59(14):106-108.

[16] 高永宁, 王莉华, 侯晶晶, 等. 尿毒症患者血清骨硬化蛋白的变化与血管钙化相关性分析[J]. 国际泌尿系统杂志, 2019, 39(5):856-859.

[17] Brandenburg VM, Kramann R, Koos R, et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study [J]. BMC Nephrol, 2013, 14(1):219.

[18] 刘红勇, 张运强, 李敏佳, 等. 维持性血液透析患者合并血管钙化情况的观察[J]. 新医学, 2017, 48(12):864-868.

(上接第 1547 页)

P. Role of serum cytokeratin 19 fragment (Cyfra 21.1) as a prognostic biomarker in patients with differentiated thyroid cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):7359.

[15] 孔海霞, 李洪娟, 徐婧玥, 等. 肺癌患者血清 MMP-9、HE4、CYFRA21-1、CEA、NSE 水平变化及其临床意义[J]. 山东医药, 2017, 57(32):73-75.

[16] 王淑文, 王燕翔, 张硕, 等. 甲状腺癌超声血管化指数, 血

流指数与肿瘤恶性程度的相关关系[J]. 安徽医学, 2017, 38(10):813-815.

[17] 宋虎, 徐溢新, 许腾, 等. Lin28A 基因过表达促进结肠癌细胞的增殖和侵袭[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 140(26):163-165.

[18] 余秋. TI-RADS 分级与甲状腺癌灶内癌基因、侵袭分子表达的相关性[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(15):70-73.

GSP、ACA 及 APCR 在胫骨平台骨折患者近期预后中的预测价值

李德欣^{1*} 李涛² 张伟涛¹

[摘要] 目的 研究糖化血清蛋白(GSP)、抗心磷脂抗体(ACA)及活化蛋白C抵抗(APCR)在胫骨平台骨折患者近期预后中的预测价值。方法 分析2018年1月至2019年1月本院收治的57例胫骨平台骨折患者临床资料(骨折组),按预后分为有效组($n=37$)和无效组($n=20$);另选取同期本院进行健康体检的50名健康人群作为对照组。对比不同人群GSP、ACA、APCR指标差异,采用ROC曲线分析GSP、ACA、APCR及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值,采用Logistic回归分析影响胫骨平台骨折患者近期预后的危险因素。结果 骨折组GSP水平、ACA及APCR阳性率较对照组高,差异具有统计学意义($P<0.05$);有效组GSP水平、ACA及APCR阳性率较无效组低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。采用ROC曲线分析GSP、ACA、APCR及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值,各指标曲线下面积分别为0.732、0.545、0.740及0.836,其中以联合检测的预测价值最佳。经非条件多因素Logistic回归模型分析得,术后并发深静脉血栓、GSP: $<122\ \mu\text{mol/L}$ 或 $>236\ \mu\text{mol/L}$ 、ACA阳性及APCR阳性为影响胫骨平台骨折患者近期预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 胫骨平台骨折患者GSP水平较高,ACA、APCR的表达以阳性为主;GSP、ACA及APCR是胫骨平台骨折患者近期预后的危险因素,联合检测三指标可作为预测患者预后并发静脉血栓的有效手段。

[关键词] 糖化血清蛋白;抗心磷脂抗体;活化蛋白C抵抗;胫骨平台骨折

Predictive value of GSP, ACA and APCR in the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau

LI Dexin^{1*}, LI Tao², ZHANG Weitao¹

(1. Department of Orthopaedics, Shangqiu Third People's Hospital, Shangqiu, Henan, China, 476000;

2. Department of Orthopaedics, Luoyang Orthopaedic-Traumatological Hospital of Henan Province, Luoyang, Henan, China, 471000)

[ABSTRACT] Objective To study the predictive value of glycosylated serum proteins (GSP), anti cardiolipin antibody (ACA) and activated protein C resistance (APCR) in the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau. Methods The clinical data of 57 patients with fracture of tibial plateau (fracture group) admitted in the Department of Orthopedics, From January 2018 to January 2019 were analyzed and they were divided into the effective group ($n=37$) and the ineffective group ($n=20$) according to prognosis. In addition, 50 healthy people who underwent health examinations in this hospital during the same period were selected as the control group. The differences in GSP, ACA, and APCR indexes between different populations were compared. The ROC curve was used to analyze the predictive value of GSP, ACA, APCR and the combined detection of the three indicators in the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau.

基金项目:河南省教育厅科研计划项目(19A320025)

作者单位:1. 商丘市第三人民医院骨科,河南,商丘 476000

2. 河南省洛阳正骨医院骨科,河南,洛阳 471000

*通信作者:李德欣, E-mail: qejst40yizf@sina.cn

Logistic regression analysis was used to analyze the risk factors that affect the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau. **Results** The GSP level and positive rates of ACA and APCR in the fracture group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The GSP level and positive rates of ACA and APCR in the effective group were lower than those in the ineffective group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve was used to analyze the predictive value of GSP, ACA, APCR and the combined detection of the three indicators in the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau. The area under the curve of each indicator and three combined was 0.732, 0.545, 0.740 and 0.836, respectively, and the combined detection has the best predictive value. According to the analysis of unconditional multivariate logistic regression model, postoperative complications of deep vein thrombosis, GSP: <122 or >236 $\mu\text{mol/L}$, positive ACA and positive APCR are independent risk factors affecting the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau ($P<0.05$). **Conclusion** Patients with fracture of tibial plateau have higher GSP level, and the expressions of ACA and APCR are mainly positive; GSP, ACA and APCR are the risk factors that affect the short-term prognosis of patients with fracture of tibial plateau. The combined detection of the three indicators can be used as an effective means to predict the prognosis of patients with venous thrombosis.

[KEY WORDS] Glycosylated serum proteins; Anti cardiolipin antibody; Activated protein C resistance; Fracture of tibial plateau

胫骨平台指胫骨与股骨下端接触的平面,是膝关节的重要负荷结构^[1]。胫骨平台骨折是临床多见的内骨折,患者可由不同程度的关节面压缩与移位,预后不良者会产生畸形愈合、创伤后关节炎、膝关节僵硬及运动功能障碍^[2]。因此对高危胫骨平台骨折患者进行早期干预,对改善近期预后具有重要临床价值^[3]。目前常采用X线摄片等影像学技术对胫骨平台患者进行诊断及随访,然而影像学检测技术对早期关节软骨的改变并不敏感,故寻求一种新型的预后指标成为当前研究的热点^[4]。糖化血清蛋白(glycated serum proteins, GSP)是糖与血清蛋白结合形成铜氨化合物,临床实践显示急性创伤性骨折后其水平显著升高,可能与预后深静脉血栓等血管疾病发生相关,考虑其可作为预测骨折患者预后的相关指标^[5]。此外,近年来的一些研究发现,抗心磷脂抗体(anti cardiolipin antibody, ACA)与活化蛋白C抵抗(activated protein c resistance, APCR)等指标均与骨折预后关系密切^[6]。本研究就GSP、ACA及APCR在胫骨平台骨折患者近期预后中的预测价值进行研究,旨在为临床治疗提供思路,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2018年1月至2019年1月本院收治的57例胫骨平台骨折患者临床资料(骨折组),男36例,女21例,平均年龄(43.51±5.47)岁;根据Schatzker分型^[6]分为:Ⅲ型23例,Ⅳ型17例,Ⅴ型10例,Ⅵ型7

例。根据预后情况分为有效组($n=37$)和无效组($n=20$)。胫骨平台骨折患者纳入标准:①均确诊为胫骨平台骨折;②临床资料完整者;排除标准:①合并内分泌疾病、陈旧性骨折等;②合并心、肝、肾、脑等重要器官严重疾病者;③入组前6个月内服用影响骨质代谢药物;④合并精神疾病者;⑤合并急慢性感染性疾病者。另选取同期本院进行健康体检的50名健康人群作为对照组,其中男27例,女23例,年龄平均(43.17±5.61)岁。本研究经本院医学伦理委员会批准,患者及其家属签署知情同意书。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。

表1 两组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

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

组别	n	平均年龄 (岁)	性别(例)		BMI (kg/m^2)	居住区域	
			男	女		城镇	乡村
骨折组	57	43.51±5.47	36	21	23.14±1.38	41	16
对照组	50	43.17±5.61	27	23	23.54±1.65	37	13
t/χ^2 值		0.317	0.923		1.365	0.058	
P值		0.752	0.337		0.175	0.810	

1.2 方法

完善所有骨折患者基础治疗和影像学、二便常规、血常规等相关检查,通过手术治疗使骨折复位。对比骨折组和对照组以及不同预后患者治疗前GSP、ACA、APCR指标差异,采用ROC曲线分析GSP、ACA、APCR及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值,采用Logistic回归分析影响胫骨平台骨折患者近期(术后3周)预后

的危险因素。

1.3 试剂和仪器

采用果糖胺法检测 GSP 水平,试剂盒购自上海基免生物科技有限公司,严格按照试剂盒说明操作,健康成年人糖化血清蛋白 122~236 $\mu\text{mol/L}$ ^[7]。采用酶联免疫吸附法检测 ACA 阳性率(待测血清 OD 值>试剂盒的 Cutoff 样本 OD 值为阳性),试剂盒购自上海太阳生物制品有限公司;采用 Dahlback 法检测 APCR 阳性率(标准化的 APC 敏感比值 ≤ 0.68 为阳性^[6]),试剂盒购自日本协和公司。

1.4 疗效判定^[9]

所有患者最终疗效由 2 名副主任医师评估:有效、无效。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 18.0 统计学软件进行分析,计量资

料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较用 F 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用 ROC 曲线分析 GSP、ACA、APCR 及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值,胫骨平台骨折患者近期预后的影响因素采用 Logistic 回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨折组和对照组 GSP、ACA、APCR 比较

骨折组 GSP 水平、ACA 及 APCR 阳性率较对照组高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.2 有效组和无效组 GSP、ACA、APCR 比较

有效组 GSP 水平、ACA 及 APCR 阳性率较无效组低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 两组 GSP、ACA、APCR 比较 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 2 Comparison of GSP, ACA and APCR between 2 groups [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

组别	n	GSP($\mu\text{mol/L}$)	ACA(n=47)		APCR(n=47)	
			阳性	阴性	阳性	阴性
骨折组	57	456.71 \pm 13.17	48(84.21)	9(15.79)	45(78.95)	12(21.05)
对照组	50	155.31 \pm 10.55	6(12.00)	44(88.00)	4(8.00)	46(92.00)
t/χ^2 值	-	129.425	55.560		54.010	
P 值	-	<0.001	<0.001		<0.001	

表 3 有效组和无效 GSP、ACA、APCR 比较 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 3 Comparison of effective group and invalid GSP, ACA and APCR [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

组别	n	GSP($\mu\text{mol/L}$)	ACA(n=37)		APCR(n=37)	
			阳性	阴性	阳性	阴性
有效组	37	277.13 \pm 7.95	7(18.92)	30(81.08)	10(27.03)	27(72.97)
无效组	20	498.35 \pm 10.82	18(90.00)	2(10.00)	15(75.00)	5(25.00)
t/χ^2 值	-	121.487	26.639		12.134	
P 值	-	<0.001	<0.001		<0.001	

2.3 GSP、ACA、APCR 及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值

采用 ROC 曲线分析 GSP、ACA、APCR 及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值,各指标曲线下面积分别为 0.732、0.545、0.740 及 0.836,其中以联合检测的预测价值最佳,见图 1。

2.4 影响胫骨平台骨折患者近期预后的多因素分析

经非条件多因素 Logistic 回归模型分析得,术后并发深静脉血栓、GSP: $< 122 \mu\text{mol/L}$ 或 $> 236 \mu\text{mol/L}$ 、ACA 阳性及 APCR 阳性为影响胫骨平台骨折患者近期预后的独立危险($P < 0.05$),见表 5。

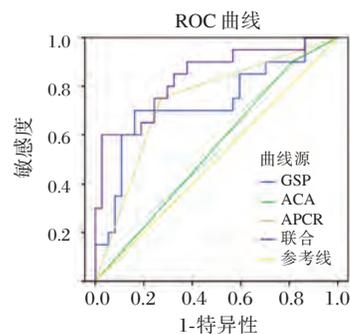


图 1 GSP、ACA、APCR 及三者联合检测对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值

Figure 1 Predictive value of GSP, ACA, APCR and combined detection in patients with fracture of tibial plateau

表5 影响胫骨平台骨折患者近期预后的多因素分析

Table 5 Multi-factor analysis of recent prognosis of patients with tibial plateau fracture

影响因素	回归系数	标准误	Wald/ χ^2 值	OR	95%CI	P值
术后并发深静脉血栓(参照组:无)	0.713	0.144	4.331	2.04	1.54~2.71	0.013
有吸烟史(参照组:无)	0.846	0.713	4.651	2.33	0.58~9.43	0.611
多发骨折(参照组:单发骨折)	0.853	0.515	4.765	2.35	0.86~6.44	0.753
GSP:<122 $\mu\text{mol/L}$ 或>236 $\mu\text{mol/L}$ (参照组:122~236 $\mu\text{mol/L}$)	0.964	0.135	4.953	2.62	2.01~3.42	<0.001
ACA阳性(参照组:阴性)	0.756	0.144	4.437	2.13	1.61~2.82	<0.001
APCR阳性(参照组:阴性)	0.748	0.245	4.356	2.11	1.31~3.42	<0.001

3 讨论

胫骨平台由胫骨上端的干骺端及两个关节面组成,是前交叉韧带、后交叉韧带、内外侧副韧带等多个韧带的附着点之一。由于胫骨平台主要由松质骨构成,其骨密度较低,因而极易在发生撞击、跌倒、坠楼等意外伤害时发生塌陷性骨折。夏海等^[10]认为感染、深静脉血栓形成、复位不良、关节僵直及关节炎等胫骨平台骨折术后常见并发症的发生率较高。在本研究中亦显示术后并发深静脉血栓为影响胫骨平台骨折患者近期预后的多因素,故如何有效改善患者近期预后成为临床关注的焦点。

近年来,骨折患者一些血清指标表达情况的变化引起重视。林志勇等^[11]指出,下肢创伤性骨折病人存在GSP水平的改变,且其改变与IL-6、TNF- α 等炎症因子及术后并发症密切相关。本研究结果与李晓楠等^[12]研究结果类似。进一步分析其原因,可能与预后深静脉血栓等血管疾病发生有关:GSP是血液中葡萄糖与蛋白质发生非酶促糖化反应形成的醛酮复合产物,由于急性创伤性骨折后有效循环血容量降低和周围血管收缩,导致组织缺氧,机体所需要的大部分能力只能从无氧酵解中获取,而无氧酵解所产生的能量远低于有氧氧化,进而导致糖原加速分解,从而血糖升高。

ACA是一种含磷脂的自身抗体,能通过结合负电磷脂,影响多种反应体系,导致人体的凝血功能紊乱。近年来的研究表明ACA可使血管内皮细胞合成前列环素减少,从而增加血栓形成的危险。此外,ACA可导致血管内皮细胞损伤,降低纤溶活性,从而促进血栓的形成。Johnson等^[13]研究发现,ACA在静脉血栓栓塞患者中的检出率较高。类似的,董玉金等^[14]通过探讨创伤骨折患者深静脉血栓形成的危险因素,发现四肢骨折后

ACA阳性者均发生深静脉血栓,提示ACA阳性对创伤患者发生深静脉血栓有预测价值。本研究结果进一步证实ACA与骨折患者后并发症相关,进而影响近期预后。

APCR是静脉血栓形成的主要原因,其可通过影响活化蛋白C对凝血因子的降解功能,以及血管内皮上血栓调节因子依赖的蛋白C活性等机制,从而使机体进入高凝状态,促进血栓形成^[15]。Takeshi等^[16]在对下肢骨科手术患者静脉血栓栓塞和出血事件的发生率研究中,发现APCR阳性与静脉血栓关系密切,可对患者预后造成影响。本研究结果证实联合检测可提高对GSP、ACA、APCR对胫骨平台骨折患者近期预后的预测价值。

此外,进行非条件多因素Logistic回归模型分析,结果说明胫骨平台骨折患者GSP水平及ACA、APCR的表达情况对预测患者预后有一定临床价值。

综上所述,胫骨平台骨折患者GSP水平较高,ACA、APCR的表达以阳性为主,GSP、ACA及APCR是胫骨平台骨折患者近期预后的危险因素,联合检测三指标可作为预测患者预后并发静脉血栓的有效手段。

参考文献

- [1] 张军胜,赵波.多层螺旋CT对膝关节损伤后胫骨平台隐匿性骨折早期诊断的效果及价值[J].解放军医药杂志,2018,30(8):96-99.
- [2] Xu YL, Wang JX, Han MT, et al. Relationship between different subtypes of anticardiolipin antibody, anti- β_2 glycoprotein 1 antibody and IVF outcome[J]. J Rep Med, 2019, 45(14):151-155.
- [3] Schleicher ED, Mayer R, Wagner EM, et al. Is serum fructosamine assay specific for determination of glycated serum protein?[J]. Clin Chem, 2019, 13(2):320-323.
- [4] 庄献博,王未飞,单广振,等.青中年缺血性脑卒中患者血清抗心磷脂抗体免疫球蛋白G、白细胞介素-17、超敏C反应蛋白水平变化的意义[J].中华诊断学电子杂志,2017,5(1):51-54.

(下转第1560页)

结直肠癌 TRDMT-1、CEACAM-1 的表达及与肿瘤生物学特性的相关性

冯婧* 赵凯 周鑫

[摘要] 目的 分析 tRNA 天冬氨酸甲基转移酶 1 (TRDMT-1)、癌胚抗原相关细胞黏附分子-1 (CEACAM-1) 在结直肠癌中的表达及与肿瘤生物学特性的相关性。方法 收集 62 例结直肠癌患者的临床资料, 同选取本组患者距离肿瘤组织 < 5 cm 的正常组织肠黏膜组织作为参照, 对比 TRDMT-1、CEACAM-1 不同表达微淋巴管密度 (LMVD) 的差异, 分析影响结直肠癌患者预后死亡的危险因素。结果 结直肠癌的 TRDMT-1、CEACAM-1 阳性表达率分别为 61.29%、64.52%; 癌旁正常组织分别为 27.42%、30.65%, 明显低于结直肠癌组织, 且结直肠癌组织中的 LMVD 值亦显著高于癌旁正常组织 ($t=22.976, P<0.05$)。结直肠癌组织中 TRDMT-1、CEACAM-1 表达均与肿瘤浆膜浸润、TNM 分期、肝转移、淋巴结转移、脉管浸润有关 ($P<0.05$), 而 TRDMT-1 表达与肿瘤直径、组织学分化程度关系密切 ($P<0.05$)。结直肠癌组织中 TRDMT-1、CEACAM-1 阳性表达者 LMVD 值均显著高于 TRDMT-1、CEACAM-1 阴性表达者 ($P<0.05$)。非条件多因素 Logistic 回归分析结果显示, TRDMT-1、CEACAM-1 阳性表达是影响结直肠癌患者预后死亡的危险因素 ($P<0.05$)。结论 TRDMT-1、CEACAM-1 的高表达及 LMVD 的升高与结直肠癌的生物学行为和进展关系密切, 临床上可根据 TRDMT-1、CEACAM-1 表达情况对患者进行病情评估、预后监测。

[关键词] tRNA 天冬氨酸甲基转移酶 1; 癌胚抗原相关细胞黏附分子-1; 结直肠癌; 肿瘤生物学特性

Expression of TRDMT - 1 and CEACAM - 1 in colorectal cancer and its correlation with tumor biological characteristics

FENG Jing*, ZHAO Kai, ZHOU Xin

(Department of Gastroenterology, Jintan People's Hospital Of Jiangsu University, Jintan, Jiangsu, 213200)

[ABSTRACT] Objective To analyze the expression of tRNA aspartic acid methyltransferase 1 (TRDMT-1), carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule-1 (CEACAM-1) in colorectal cancer and its correlation with tumor biological characteristics. Method The clinical data of 62 patients with colorectal cancer were selected. The normal intestinal mucosal tissues less than 5 cm from the tumor tissue of patients in this group were selected as a reference. The differences in lymphatic micro-vessel density (LMVD) of patients with different expressions of TRDMT-1 and CEACAM-1 were compared, and risk factors affecting the prognosis of patients with colorectal cancer were analyzed. Results The positive expression rates of TRDMT - 1 and CEACAM - 1 in colorectal cancer were 61.29% and 64.52%, respectively. The positive expression rates of TRDMT-1 and CEACAM-1 in normal tissues adjacent to cancer were 27.42% and 30.65%, respectively, which were significantly lower than those in colorectal cancer tissues, and the LMVD value in colorectal cancer tissues was also significantly higher than that in normal cancer tissues ($t=22.976, P<0.05$).

基金项目:江苏省科技厅社会发展面上项目(BE2017592)

作者单位:江苏大学附属金坛人民医院消化内科,江苏,金坛 213200

*通信作者:冯婧, E-mail:jlkeen53rrhr@sina.cn

The expressions of TRDMT-1 and CEACAM-1 in colorectal cancer tissues were related to tumor serous infiltration, TNM staging, liver metastasis, lymph node metastasis, and vascular invasion ($P<0.05$). The expression of TRDMT-1 was closely related to the tumor diameter and the degree of histological differentiation ($P<0.05$). The LMVD values of patients with positive expression of TRDMT-1 and CEACAM-1 in colorectal cancer were significantly higher than those with negative expression of TRDMT-1 and CEACAM-1 ($P<0.05$). Unconditional multivariate logistic regression analysis showed that the positive expressions of TRDMT-1 and CEACAM-1 were the risk factors affecting the death prognosis of patients with colorectal cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The high expression of TRDMT-1 and CEACAM-1 and the increase of LMVD are closely related to the biological behavior and progression of colorectal cancer. Clinically, patients can be evaluated and monitored for prognosis based on the expression of TRDMT-1 and CEACAM-1.

[KEY WORDS] tRNA aspartic acid methyltransferase 1; Cancer embryo antigen-related cell adhesion molecules1; Colorectal cancer; Tumor biological characteristics

结直肠癌又称为大肠癌,指大肠黏膜上皮和腺体发生的恶性肿瘤,具有较高的病死率,这主要与缺乏早期诊断的生物学指标有关,此外与肿瘤的浸润和转移也具有一定关系^[1-2]。肿瘤细胞的生长主要依靠新生血管为其提供新陈代谢的基本物质,肿瘤血管密度越大,血供越丰富,生长越快,发生转移的风险也相应增高^[3]。癌胚抗原相关细胞黏附分子-1(cancer embryo antigen-related cell adhesion molecules1,CEACAM-1)属于癌胚抗原家族成员之一,可促进血管形成,具有调控细胞增殖、分化及凋亡的作用^[4]。tRNA 天冬氨酸甲基转移酶1(tRNA aspartic acid methyltransferase 1,TRDMT1)的结构、序列与DNA 胞嘧啶甲基转移酶家族成员具有一定相似性。既往研究显示,TRDMT1在血液恶性肿瘤中呈高表达^[5]。故本研究分析TRDMT-1、CEACAM-1在结直肠癌中的表达及与肿瘤生物学特性的相关性,以此提高对该病的诊治水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集本院2017年4月至2018年6月收治且经手术或穿刺活检确诊的62例结直肠癌患者的临床资料其中男39例,女23例;平均年龄(58.74±18.31)岁;组织学分化程度:高分化15例,中分化28例,低分化19例;有淋巴结转移者35例;25例肿瘤浸润深度未及外膜,其余37例侵及外膜。同选取本组患者距离肿瘤组织<5cm的正常组织肠黏膜组织作为参照(见图1)。纳入标准:①术前未接受化疗、放疗或其他治疗手段;②临床资料完整;③无其它恶性疾病;④未合并其他脏器肿瘤;⑤所有患者均自愿参与本次研究,且签署知情同意书。排除标准:

①复发性肿瘤;②转移瘤;③伴有心脑血管疾病及其他手术禁忌症者;④过敏体质。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化检测

采用S-P免疫组化染色,首先进行标本准备:组织切片后脱蜡、水化。然后根据S-P免疫组化染色法对TRDMT-1、CEACAM-1进行检测。兔抗人TRDMT1-1单克隆抗体,兔抗人单克隆浓缩型CEACAM-1抗体。检测过程严格按照说明进行。一抗阴性对照使用PBS(磷酸盐缓冲液)进行代替。

1.2.2 微淋巴管密度(lymphatic microvessel density,LMVD)检测

采用CD34抗体标记肿瘤微血管细胞质,根据Weidner法^[6],在200倍光镜下取4个热点区,观察着色的内皮细胞簇和单个的内皮细胞作为微血管并计数,获取其平均值即为LMVD值。

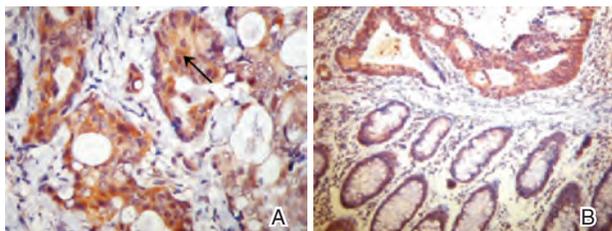
1.2.3 染色结果判断^[7]

TRDMT-1、CEACAM-1阳性存在于细胞质中,以棕黄色、褐色颗粒为主(见图1)。评分标准采用ASCO/CAP发布的检测指南以1%为阳性界值判断肿瘤细胞阳性率,根据整张切片的平均着色情况判断肿瘤细胞染色强度。参照Allred评分方法对肿瘤细胞阳性率和染色强度进行分级。0分:无阳性细胞表达,1分:阳性表达率<10%,2分:阳性表达率为10%~50%,3分:阳性表达率为50%~75%,4分:阳性表达率>75%。染色强度判定:0分,无色;1分,淡黄色;棕黄色,2分;棕褐色,3分。总积分:上述2项评分的乘积。阳性:总积分>4分。

1.3 观察指标

观察TRDMT-1、CEACAM-1及LMVD在癌旁正常组织与结直肠癌中的表达情况及与结直肠癌

病理因素的关系,并分析 TRDMT-1、CEACAM-1 不同表达水平的 LMVD 值,术后对患者进行两年随访,分析患者预后情况及影响其预后的相关因素。



注:A为正常癌旁组织中的表达;B为结直肠癌组织表达。

图1 CEACAM-1在正常癌旁组织、结直肠癌组织中的表达(ISH,×400)

Figure 1 The expression of CEACAM-1 in normal adjacent tissues and colorectal cancer tissues (ISH,×400)

表1 TRDMT-1、CEACAM-1及LMVD在不同组织中的表达 [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Expressions of TRDMT-1, CEACAM-1 and LMVD in different tissues [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

组别	n	CEACAM-1		TRDMT-1		LMVD
		阴性	阳性	阴性	阳性	
结直肠癌	62	22(35.48)	40(64.52)	24(38.71)	38(61.29)	14.29±2.79
癌旁正常组织	62	43(69.35)	19(30.65)	45(72.58)	17(27.42)	4.42±1.14
t/ χ^2 值		14.259		14.409		22.976
P值		0.001		0.001		0.001

2.2 TRDMT-1、CEACAM-1在结直肠癌中的表达与其临床病理因素的关系

结直肠癌组织中 TRDMT-1、CEACAM-1 表达均与肿瘤浆膜浸润、TNM 分期、肝转移、淋巴结转移、脉管浸润有关 ($P<0.05$), CEACAM-1 表达与肿瘤直径、组织学分化程度无关,差异无统计学意义 ($P>0.05$),而 TRDMT-1 表达与肿瘤直径、组织学分化程度关系密切 ($P<0.05$)。TRDMT-1、CEACAM-1 在有浆膜浸润、肝转移、淋巴结转移、脉管浸润且 TNM 分期晚的组织中阳性表达率较高 ($P<0.05$)。见表 2。

2.3 TRDMT-1、CEACAM-1在结直肠癌中的表达与LMVD的关系

TRDMT-1、CEACAM-1 阳性表达者 LMVD 值均显著高于 TRDMT-1、CEACAM-1 阴性表达者 ($P<0.05$)。见表 3。

2.4 影响结直肠癌患者预后死亡的危险因素分析

术后对患者进行两年随访,62 例患者中,死亡 13 例(20.97%),生存 49 例(79.03%)。结果显示,浆膜浸润、分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、LMVD 值、TRDMT-1 及 CEACAM-1 是影响结直肠癌患者

1.4 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,两两比较采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用非条件多因素 Logistic 回归分析影响结直肠癌患者预后死亡的危险因素,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TRDMT-1、CEACAM-1及LMVD在不同组织中的表达

结直肠癌的 CEACAM-1、TRDMT-1 阳性表达率高于癌旁正常组织差异有统计学意义 ($P<0.05$);结直肠癌组织中的 LMVD 值显著高于癌旁正常组织 ($P<0.05$)。见表 1。

预后死亡的危险因素 ($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

据临床相关报道显示,青年人结直肠癌患者预后 5 年生存率显著优于 60 岁以上老年结直肠癌患者。因此,早期诊断是提高结直肠癌临床疗效的关键^[8]。癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA)-75 等肿瘤标志物是临床上常用于早期检测结直肠癌的指标,但其检测结果常常无法令人满意,故寻找一更为敏感,特异性更高的结直肠癌早期诊断方法成为了目前防控工作的重点^[9]。

肿瘤 DNA 异常甲基化是肿瘤进展的表观遗传机制之一,TRDMT-1 可通过催化 DNA 分子胞嘧啶 5 号碳原子结合甲基团促使其形成甲基化 DNA^[10]。TRDMT-1 表达异常可导致 DNA 异常甲基化。目前发现肿瘤发生、发展与 DNA 甲基转移酶密切相关,其在肿瘤多呈高表达,可导致抑癌基因高甲基化并失活,缺失促凋亡分子,或使其表达下调,进而使癌细胞增殖加快。王琼^[11]等研究报道过,TRDMT-1 在胃癌组织中的阳性表达显著高于癌旁正常组织,可促进胃癌发生、发展,评估预

表2 TRDMT-1、CEACAM-1在结直肠癌中的表达与其临床病理因素的关系 [n(%)]

Table 2 Correlation between the expression of TRMT1 and CEACAM-1 in colorectal cancer and its clinicopathological factors [n(%)]

病理因素	n	TRDMT-1 阳性(n=38)	χ^2 值	P值	CEACAM-1 阳性(n=40)	χ^2 值	P值
肿瘤直径	≥5 cm	30(78.95)	13.252	0.001	23(57.50)	0.050	0.822
	<5 cm	8(21.05)			17(42.50)		
浆膜浸润	有	30(78.95)	4.250	0.039	32(80.00)	6.010	0.014
	无	8(21.05)			8(20.00)		
TNM分期	I+II	7(18.42)	3.994	0.046	7(17.50)	5.573	0.018
	III+IV	31(81.58)			33(82.50)		
组织学分化程度	高分化	10(26.32)	8.400	0.015	9(22.50)	0.261	0.878
	中分化	12(31.58)			18(45.00)		
	低分化	16(42.11)			13(32.50)		
肝转移	有	15(39.47)	5.194	0.023	16(40.00)	6.581	0.010
	无	23(60.53)			24(60.00)		
淋巴结转移	有	27(71.05)	8.513	0.004	28(70.00)	8.417	0.004
	无	11(28.95)			12(30.00)		
脉管浸润	有	18(47.37)	6.057	0.014	18(45.00)	4.459	0.035
	无	20(52.63)			22(55.00)		

表3 TRDMT-1、CEACAM-1在结直肠癌中的表达与LMVD的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Relationship between the expression of TRMT-1 and CEACAM-1 and LMVD in colorectal cancer ($\bar{x} \pm s$)

项目	LMVD值	t值	P值	
CEACAM-1	阴性	9.91±2.14	13.440	0.001
	阳性	17.36±2.06		
TRDMT-1	阴性	9.81±2.79	10.322	0.001
	阳性	16.80±2.47		

后。但目前有关TRDMT-1在结直肠癌中的研究非常欠缺。

CEACAM-1是一种跨膜糖蛋白,是癌胚抗原家族及免疫超蛋白家族黏附分子之一,广泛分布于人体上皮细胞、淋巴细胞等多种细胞中。最早是在Okegawa T等^[12]研究木瓜蛋白酶不溶性质膜成分的某些作用和功能中被发现的。通过不同剪切方式可生成不同的亚型,按照胞内段的长短可

表4 影响结直肠癌患者预后死亡的危险因素分析

Table 4 Analysis of risk factors affecting prognosis and death of colorectal cancer patients

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
肿瘤直径: ≥5 cm(参照组: <5 cm)	1.103	0.867~1.404	0.835	-	-	-
浆膜浸润: 有(参照组: 无)	1.709	1.093~2.672	0.004	1.848	1.038~3.288	0.014
肿瘤分化程度: 低(参照组: 中高)	1.881	1.003~3.530	0.012	1.480	1.138~1.924	0.023
TNM分期: III+IV(参照组: I+II)	1.793	1.034~3.110	0.009	1.560	1.052~2.314	0.006
淋巴结转移: 有(参照组: 无)	1.619	1.024~2.562	0.026	1.589	1.047~2.412	0.007
TRDMT-1 阳性(参照组: 阴性)	1.690	1.105~2.587	0.015	1.828	1.050~3.183	0.019
CEACAM-1 阳性(参照组: 阴性)	1.744	1.039~2.925	0.008	1.802	1.074~3.024	0.025
LMVD值升高(参照组: 降低)	1.728	1.030~2.899	0.016	1.831	1.043~3.214	0.003

分为CEACAM-1-L和CEACAM-1-S两个亚组^[13]。前者可通过其磷酸化参与细胞内信号的转导,有效抑制下游信号;后者含有原肌球蛋白、肌动蛋白的结构域,可有效调节细胞骨架。随着临床研究的不断深入,发现CEACAM-1还参与了胰岛素代谢、调节细胞增殖、血管淋巴结新生等病理生理过程^[14]。Arabzadeh A^[15]等研究发现,CEACAM-1参与了肿瘤微血管的异质性生成过程,认为其可能是肿瘤新生血管的标志物,可作为肿瘤靶向治疗的靶点。

本组研究表明TRDMT-1、CEACAM-1高表达可促进肿瘤发生、发展,影响肿瘤直径及浸润深度,导致肿瘤侵袭性增强,加快淋巴结转移。此外,TRDMT-1在结直肠癌中的表达与LMVD具有一定关系,故通过阻断TRDMT-1性好传导可有效抑制肿瘤新生血管形成,阻断肿瘤营养供应渠道,进而延缓肿瘤发生、发展。与此同时,TRDMT-1、CEACAM-1阳性表达率越高,LMVD值也越高,肿瘤内部血管生成加快,为癌细胞生长提供丰富的营

养,使其生长加快、侵袭力更强。且通过检测 TRD-MT-1、CEACAM-1 表达可有效评估患者预后情况。

综上所述,TRDMT-1、CEACAM-1 的高表达及 LMVD 的升高与结直肠癌的生物学行为和进展关系密切,临床上可根据 TRDMT-1、CEACAM-1 表达情况对患者进行病情评估、预后监测。

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] 谢英超,周春莲,徐伟文. ctDNA 检测在结直肠癌临床诊疗中的应用进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2):73-78+90.
- [3] 贺亚妮,毕鑑红,李清峰,等. 不同浓度羟考酮对结直肠癌细胞生物学行为的影响[J]. 临床误诊误治, 2018, 31(7):96-98.
- [4] Mar AC, Chu CH, Lee TC. Abstract 83: Irinotecan resistance in type 2 interleukin-1 receptor overexpressed colorectal cancer cells is overcome by inhibitor of MEK [J]. Cancer Res, 2017, 77(13 Supplement):83-83.
- [5] 董红霞,梁浩. 不同国家人群幽门螺杆菌感染与结直肠癌相关性的 Meta 分析[J]. 解放军医学杂志, 2015, 40(3):236-241.
- [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] 冯闰,朱小敏,汪玉君. 腹腔镜手术与开腹手术治疗结直肠癌的临床疗效比较[J]. 保健医学研究与实践, 2019, 16(2):60-62.
- [8] Zaidi S, Chen J, Korkut A, et al. Mo1971-Crosstalk Between Ceacam and Tgf- β Signaling Pathways and their Role in Colorectal Cancer[J]. Gastroenterology, 2018, 154(6):S-868.
- [9] 韩忠,周锐,谈顺,等. CEACAM1 在肺癌组织的表达及其与 VEGF 和 MVD 的相关性[J]. 中国热带医学, 2017, 17(6):553-555.
- [10] 夏龙飞,刘玉君,张军民,等. CEACAM-1 在结直肠癌中的表达及与肿瘤血管生成、转移的相关性研究[J]. 中国医药导报, 2019, 16(2):94-97.
- [11] 王琼,陆向东,李懿萍,等. TRDMT1 蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(6):524-527.
- [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] 郭飞,林杨,张鹏程,等. 结直肠癌组织中 CEACAM-1、NET-1 的表达变化及其意义[J]. 山东医药, 2018, 58(23):48-50.
- [15] Arabzadeh A, Mcgregor K, Valérie Breton, 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.
- [5] 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.
- [6] Mathonnet F, Mazancourt PD, Denninger MH, et al. Role of factor VIII on activated protein C resistance ratio in inflammatory diseases[J]. British J Haematol, 2015, 95(2):423-425.
- [7] 张擎柱,张义,何志勇,等. 可视三窗口的改良后内侧倒“L”入路治疗复杂胫骨平台骨折 19 例临床观察[J]. 临床误诊误治, 2018, 31(10):37-41.
- [8] Gong YL, Li YF, et al. Anticardiolipin antibodies in concurrent poststreptococcal glomerulonephritis and autoimmune hemolytic anemia: A case report[J]. Archivos argentinos de pediatria, 2018, 43(15):741-745.
- [9] 董泽民,马信文,边绍清. 不同外科治疗方案在胫骨平台骨折不愈并发慢性感染患者中的疗效[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(6):1337-1340.
- [10] 夏海,范晓华,焦兆德,等. 胫骨平台骨折术后并发症的 Meta 分析[J]. 实用骨科杂志, 2015, 21(11):993-997.
- [11] 林志勇,魏人前,邓睿,等. 糖化血清蛋白在预测下肢创伤性骨折病人近期预后中的价值[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(2):219-222.
- [12] 李晓楠,刘军权. 创伤性骨折患者血糖和糖化血清蛋白检测价值比较[J]. 检验医学, 2015, 30(2):152-155.
- [13] Johnson SR, Hakami N, Ahmad Z, et al. OP0122 Venous thromboembolism in systemic sclerosis: prevalence, risk factors and impact on survival [J]. Ann Rheum Dis, 2017, 76(2):103-106.
- [14] 董玉金,张铁慧,钟声,等. 创伤骨折患者深静脉血栓形成的危险因素分析[J]. 中华骨科杂志, 2015, 11(35):1083.
- [15] Nowak-Göttl U, Koch HG, Aschka I, et al. Resistance to activated protein C (APCR) in children with venous or arterial thromboembolism [J]. British J Haematol, 2015, 92(4):1431-1435.
- [16] Takeshi F, Masao A, Yasuyuki A, et al. Incidence of venous thromboembolism and bleeding events in patients with lower extremity orthopedic surgery: a retrospective analysis of a Japanese healthcare database [J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1):55.

(上接第 1555 页)

CRSwNP患者 *YKL-40*、*TLR4* 基因表达及嗜酸性粒细胞水平与复发的相关性

董春花* 张英 岳光浩

[摘要] **目的** 分析慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)患者几丁质酶3样蛋白1(*YKL-40*)、Toll样受体4(*TLR4*)基因表达、核因子活化B细胞 κ 轻链增强子(*NF- κ B*)水平及嗜酸性粒细胞(EOS)水平与疾病复发的相关性。**方法** 纳入2016年5月至2019年1月本院收治的159例CRS患者资料,按是否伴鼻息肉分为伴息肉组($n=84$)、不伴息肉组($n=75$),选取同期本院收治的71例单纯外伤性鼻中隔偏曲患者作为对照组,同时将伴息肉组患者按治疗后是否复发分为复发组($n=45$)及非复发组($n=39$)。实时荧光定量PCR法(Q-PCR)检测伴息肉组、不伴息肉组和对照组*YKL-40*、*TLR4*、*NF- κ B*基因表达及EOS水平;采用多元Logistic分析影响CRSwNP患者复发的危险因素。**结果** 伴息肉组*YKL-40*、*TLR4*、*NF- κ B*的mRNA水平、外周血及组织EOS比例较未伴息肉组和对照组高,差异具有统计学意义($P<0.05$);84例伴息肉组患者截至随访日期共有45例复发,复发率为53.57%;复发组和非复发组在年龄、性别、外周血淋巴细胞比例、流涕评分及鼻塞评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$);而复发组合并哮喘比例、嗅觉障碍评分、*YKL-40*、*TLR4*、*NF- κ B*的mRNA水平及外周血、组织EOS比例较非复发组高,组织淋巴细胞比例及组织浆细胞较复发组低,差异均有统计学意义($P<0.05$);高*YKL-40*、*TLR4*、*NF- κ B*的mRNA表达量及组织EOS增多是影响CRSwNP患者复发的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** *YKL-40*、*TLR4*、*NF- κ B*及组织EOS比例在CRSwNP中呈高表达,可作为影响CRSwNP预后复发的独立危险因素,对临床预测CRSwNP患者病情发展有重要意义。

[关键词] 慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉; *YKL-40*; *TLR4*; EOS

Correlation between *YKL-40*, *LR4* gene expression, eosinophi level and relapse in patients with chronic sinusitis with nasal polyps

DONG Chunhua*, ZHANG Ying, YUE Guanghao

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai, China, 810001)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between the gene expression of Chitinase-3-like protein 1 (*YKL-40*) and Toll-like receptor 4 (*TLR4*), the levels of nuclear factor kappa B and Eosinophi (EOS) and disease relapse in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP). **Methods** The clinical data of 159 CRS patients admitted to our hospital from May 2016 to January 2019 were included. They were divided into the polyps group ($n=84$) and the non-polyps group ($n=75$) according to whether they were accompanied by polyps. And 71 patients with pure traumatic nasal deviation who were admitted to our hospital at the same time were selected as the control group. At the same time, patients in polyps group were divided into the relapse group ($n=45$) and the non-relapse group ($n=39$) according to whether they relapsed after treatment. Real-time fluorescent quantitation polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect the *YKL-40*, *TLR4* and *NF- κ B* gene expression and EOS level of patients in the polyps group, the non-polyps group and the control group. The multivariate Logistic model was used to analyze the risk factors affecting the

基金项目:青海省科技厅项目(2019-SF-183)

作者单位:青海大学附属医院耳鼻咽喉头颈外科,青海,西宁 810001

*通信作者:董春花, E-mail: lmgab099524@sina.com

relapse of patients with CRSwNP. **Results** The *YKL-40*, *TLR4*, mRNA level of *NF-κB* and the percentage of EOS in peripheral blood and tissues in the polyps group were higher than those in the non-polyps group and the control group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). As of the follow-up date, 84 patients in the polyp group had 45 recurrences, and the recurrence rate was 53.57%. There was no significant difference in age, gender, ratio of lymphocyte in peripheral blood, running nose score and nasal congestion score between the relapse group and the non-relapse group. However, the proportion of asthma, dysosmia score, *YKL-40*, *TLR4*, mRNA level of *NF-κB*, and the percentage of EOS in peripheral blood and tissues in the relapse group were higher than those in the non-relapse group, and the proportion of lymphocytes in tissue and plasma cells in tissue were lower than those in the relapse group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). High expression levels of *YKL-40*, *TLR4*, and mRNA of *NF-κB*, and increased EOS in tissue are independent risk factors that affect the relapse of CRSwNP patients ($P<0.05$). **Conclusion** The *YKL-40*, *TLR4*, *NF-κB* and EOS rate in tissue are highly expressed in patients with CRSwNP, which can be used as independent risk factors affecting the prognosis relapse of CRSwNP, and is of great significance for clinical prediction of the disease progression of CRSwNP patients.

[KEY WORDS] Chronic sinusitis with nasal polyp; *YKL-40*; *TLR4*; EOS

慢性鼻-鼻窦炎(chronic sinusitis, CRS)是发生在鼻-鼻窦的持续12周以上的慢性炎性反应,有较高的发病率。该症主症为鼻塞或黏脓涕,次要症状为头部、脸面部胀痛及嗅觉障碍,此外在鼻内镜检查中还可见中鼻道、嗅裂有分泌物,鼻粘膜呈充血、水肿状态或出现息肉^[1]。CRS伴鼻息肉(chronic sinusitis with nasal polyp, CRSwNP)是CRS的亚型之一,感染、免疫、鼻腔结构异常、鼻粘膜功能异常及基因遗传等均是该症发生的基本病因。由于该症有一定复发性,对参与预后及复发的相关指标进行观察于临床治疗有重要意义。CRSwNP的组织学类型主要有嗜酸性粒细胞(eosinophi, EOS)型及非EOS型,EOS是鼻息肉的重要致病物质,可参与炎症的发展过程^[2]。几丁质酶3样蛋白1(chitinase-3-like protein 1, *YKL-40*)是人类组织中最常见的糖蛋白,研究表明其为炎症标志物之一,在众多疾病的发生中起着关键作用^[3]。Toll样受体4(toll-like receptor 4, *TLR4*)作为I型跨膜糖蛋白受体,可诱导核因子活化B细胞κ轻链增强子(nuclear factor kappa B, *NF-κB*)信号通路的激活,进而促进炎症反应^[4]。本研究就CRS伴鼻息肉患者*YKL-40*、*TLR4*及EOS的变化与其预后复发的相关性进行研究,探讨其在CRSwNP患者发生和发展中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年5月至2019年1月本院收治的

159例CRS患者资料,按是否伴息肉分为伴息肉组($n=84$)、不伴息肉组($n=75$),纳入标准:均满足《中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)》诊断标准^[5]者;临床资料完整;排除标准:入组前1月内接受糖皮质激素类药物、抗菌药物治疗者,存在肿瘤、免疫系统疾病、其他呼吸道疾病及高血压、糖尿病、冠心病、高血脂等基础疾病者。选取同期本院收治的71例单纯外伤性鼻中隔偏曲患者作为对照组,3组性别、年龄、体重、吸烟史等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 3组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of general data of the 3 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	性别 (男/女)	年龄	BMI (kg/m ²)	吸烟史
伴息肉组	84	45/39	46.13±5.33	21.79±1.35	46
不伴息肉组	75	42/33	45.79±5.48	21.85±1.27	43
对照组	71	40/31	46.21±5.31	21.66±1.29	41
<i>F</i> / χ^2 值		0.147	0.13	0.40	0.169
<i>P</i> 值		0.929	0.880	0.669	0.919

1.2 方法

1.2.1 研究方法

收集所有研究对象临床及随访资料,记录所有患者*YKL-40*、*TLR4*、*NF-κB*、EOS水平及CRSwNP患者预后复发情况,采用多元Logistic分析影响复发的危险因素。

1.2.2 *YKL-40*、*TLR4*及EOS水平检测方法

采集所有研究对象鼻窦粘膜,使用生理盐水清洗表面后保存在10%甲醛溶液中并置于-80℃

恒温箱,分为三份。YKL-40、TLR4、NF-κB 检测:3组留取标本经生理盐水冲洗后保存于-70℃冰箱中备检。检测方法采用荧光染料法反转录实时荧光定量 PCR:取出冻存的组织,采用 TRIZOL 总 RNA 提取试剂盒(美国 Invitrogen 公司)提取总 RNA,按逆转录试剂盒(武汉默沙克生物科技有限公司)将总 RNA 逆转录,得到 cDNA,以 cDNA 为模板用 PCR 试剂盒(宝生物工程(大连)有限公司)进行检测。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,其中,YKL-40 引物序列上游:5'-TGAG - GCATCGCAATGTAAG - 3',下游:5'-AAGGGGAAG-TAGGATAGGGG-3';TLR4 引物序列上游:5'-TGTC- CTCCCCTCCAGGTAAGT-3',下游:5'-GATTGCT-CAGACCTGGCAGTT-3';NF-κB 序列上游:5'-TCCAGAAGTATTTCAACCA-CAG-3',下游:5'-GCCT- TCACATACATAACGGA-3'。PCR 反应条件:连续反应 38 个循环,分别是 90℃ 60 s;92℃ 30 s;56℃ 30 s;74℃ 30 s。每个标本均设 3 个平行反应复孔,参照每孔 Ct 值进行分析。外周血 EOS 来自入组时血常规检测。

1.2.3 随访及治疗

所有伴鼻息肉患者均行内镜下鼻窦手术治疗,自出院后开展随访(电话随访及面对面随访),随访时间截止 2020 年 4 月。随访中若患者症状未缓解,可给予激素治疗。复发标准^[5]:鼻塞、流涕、嗅觉障碍等症状评分;采用视觉模拟量表(VAS)^[6]评价:0分、0~3分轻度、4~7分重度、8~10分重度。

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($\bar{x} \pm s$)描述,两组间用 *t* 检验,多组间用 *F* 检验;计数资料用 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验;影响 CRSwNP 患者复发的危险因素使用 Logistic 回归分析,以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3组 YKL-40、TLR4、NF-κB 表达情况、外周血及组织 EOS 比例比较

伴息肉组 YKL-40、TLR4、NF-κB 的 mRNA 水平、外周血及组织 EOS 比例较未伴息肉组和对照组高,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 3组 YKL-40、TLR4、NF-κB mRNA 水平及组织 EOS 比例比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of YKL-40, TLR4, NF-κB mRNA levels and tissue EOS proportion in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	YKL-40 mRNA	TLR4 mRNA	NF-κB mRNA	组织 EOS 比例 (%)	外周血 EOS 计数 (L ⁻¹ , ×10 ⁹)
伴息肉组	84	0.97±0.31	0.93±0.15	0.89±0.13	4.97±1.57	0.31±0.12
不伴息肉组	75	0.71±0.25	0.67±0.13	0.65±0.11	3.21±1.56	0.14±0.05
对照组	71	0.49±0.13	0.43±0.12	0.31±0.05	2.19±1.03	0.07±0.01
<i>F</i> 值		73.67	265.94	595.57	76.50	196.26
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 CRSwNP 患者复发情况

84 例伴息肉组患者截至随访前共有 45 例复发,复发率为 53.57%;按是否复发分为复发组(*n*=45)及非复发组(*n*=39)。

2.3 影响 CRSwNP 患者复发的单因素分析

复发组和非复发组在年龄、性别、外周血淋巴细胞比例、流涕评分及鼻塞评分比较差异无统计学意义(*P*>0.05),而复发组合并哮喘比例、嗅觉障碍评分、YKL-40、TLR4、NF-κB 的 mRNA 水平及外周血、组织 EOS 比例较非复发组高,组织淋巴细胞比例及组织浆细胞较复发组低,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

2.4 影响 CRSwNP 患者复发的多因素分析

高 YKL-40、TLR4、NF-κB 的 mRNA 表达量及

组织 EOS 增多是影响 CRSwNP 患者复发的独立危险因素(*P*<0.05)。见表 4。

3 讨论

CRSwNP 患者的临床症状可随鼻息肉体积的增大而加重,且常并发支气管哮喘、分泌性中耳炎等症状,进而对呼吸系统造成一定影响,造成生活质量的降低。CRSwNP 的发病机制较为复杂,目前主要存在细菌生物膜、超抗原及变态反应三种假说。YKL-40 是一种分泌型糖蛋白,属于 18 糖基水解酶家族,近年的研究表明其可识别细胞外基质中的透明质酸,并可在炎症反应的细胞增殖、分化及组织重塑等病理过程中发挥重要作用^[7]。周凌等^[8]研究显示,血清 YKL-40 与社区获得性肺炎

表3 影响CRSwNP患者复发的单因素分析($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Single factor analysis of the influence on the recurrence of CRSwNP patients ($\bar{x} \pm s$)

类别	复发组(n=45)	非复发组(n=39)	t/ χ^2 值	P值
性别				
男	23	15		
女	22	14	0.003	0.959
年龄(岁)	47.33±5.11	47.51±5.27	0.159	0.874
外周血淋巴细胞比例(%)	35.86±5.31	34.89±5.36	0.831	0.408
鼻塞评分(分)	7.45±1.05	7.37±1.13	0.336	0.738
流涕评分(分)	5.89±2.13	5.21±2.01	1.498	0.138
合并哮喘(n)	13	3	6.088	0.014
嗅觉障碍评分(分)	4.95±1.03	1.24±0.86	17.757	0.001
YKL-40 mRNA	1.13±0.51	0.85±0.43	2.697	0.009
TLR4 mRNA	1.19±0.23	0.91±0.15	6.496	0.001
NF- κ B mRNA	1.31±0.65	0.89±0.51	3.258	0.002
组织EOS比例(%)	5.23±1.57	4.55±1.39	2.087	0.040
外周血EOS计数(L ⁻¹ , ×10 ⁹)	0.55±0.13	0.29±0.11	9.810	0.001

表4 影响CRSwNP患者复发的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of the influence of recurrence in crswnp patients

变量	回归系数	标准误	WALD/ χ^2	OR	95%CI	P值
合并哮喘比例高	0.931	0.615	1.339	2.537	0.760~8.469	1.307
高嗅觉障碍评分	1.137	0.953	2.546	3.117	0.484~20.184	1.751
高YKL-40MRNA水平	1.697	0.513	4.156	5.458	1.997~14.917	0.001
高TLR4MRNA水平	1.791	0.413	4.798	5.995	2.669~13.470	0.001
高NF- κ BMRNA水平	1.635	0.535	4.681	5.129	1.798~14.638	0.001
外周血EOS增多	1.371	0.941	2.591	3.939	0.623~24.912	1.395
组织EOS增多	1.659	0.219	5.311	5.254	3.420~8.071	0.001

的发病有关。类似的,何作华等^[9]研究发现重症肺炎患者体内YKL-40水平显著升高,提示YKL-40与炎症性疾病有密切关系。

NF- κ B作为一种核转录因子,可参与炎症反应、肿瘤生成和细胞凋亡,是机体免疫系统重要的组成部分^[11]。TLR4作为一种跨膜蛋白,其胞外大量的亮氨酸重复序列结构域对结合配体功能有重要意义^[12]。近年来YKL-40、TLR4、NF- κ B在CRSwNP发病机制中的作用受到关注,本研究结果证实YKL-40、TLR4、NF- κ B的mRNA水平变化可体现CRSwNP发生和发展程度。

EOS颗粒由于含有大量毒性产物,包括嗜酸细胞阳离子蛋白、白三烯、趋化因子等,可造成气道解剖结构和功能的异常,导致多种呼吸道疾病的发生^[13-14]。此外,EOS活化后嗜酸细胞阳离子蛋白呈高表达状态,可加速炎性浸润^[15]。本研究结果表明CRSwNP患者鼻粘膜炎性浸润严重。

相关研究指出CRSwNP患者复发率可达50%~70%^[16],因此经手术治疗后再次手术率较高。本研究结果基本与既往研究报道相似。进一步分析影响CRSwNP患者复发的相关因素,马越等^[17]通过收集22例CRSwNP患者临床资料,发现YKL在

CRSwNP鼻窦粘膜组织中高表达,且与TLR4呈负相关,提示二者可能存在交互作用,同时参与CRSwNP患者病情的发展。而本研究通过将相关的变量纳入Logistic回归分析结果说明高YKL-40、TLR4、NF- κ B的mRNA表达量及组织EOS增多可作为预测CRSwNP预后复发的相关指标。

综上所述,本研究提示YKL-40、TLR4、NF- κ B及组织EOS比例在CRSwNP中呈高表达,可作为影响CRSwNP预后复发的独立危险因素,对临床预测CRSwNP患者病情发展有重要意义。

参考文献

- [1] 张大威,丘小汕,何健荣,等.广州地区579例儿童过敏性鼻炎患者吸入过敏原的临床分析[J].分子诊断与治疗杂志,2015,27(3):171-175.
- [2] 朱建光,杨国庆.外路鼻腔泪囊吻合术与鼻内窥镜下鼻腔泪囊吻合术治疗慢性泪囊炎效果对比研究[J].解放军医药杂志,2015,26(8):72-74.
- [3] 岑瑞祥,许昱,万浪,等.内窥镜鼻窦手术后应用重组人表皮生长因子效果观察[J].临床误诊误治,2015,30(3):101-104.
- [4] 赵付英,姜岳,于骋,等.一例鼻窦炎的社区接诊和签约管理思路[J].中华全科医师杂志,2019,18(1):90-94.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学(下转第1569页)

系统性红斑狼疮患者外周血 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平变化的临床意义

仲华 王朝辉 林志强 戴许阳 薄德映 王亚南 张磊 翟志佳 焦路阳*

[摘要] 目的 探究系统性红斑狼疮(SLE)患者外周血 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平变化及其临床意义。方法 选择2017年3月至2019年6月本院风湿免疫科及肾内科收治的145例SLE患者及100例查体的健康体检者作为研究对象,测定两组受试者外周血 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平。收集SLE患者临床指标,根据SLE疾病活动性指数(SLEDAI)评分将患者分为活动组及非活动组,比较CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平差异并分析SLE患者 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平与临床参数的相关性。结果 对照组受试者 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞计数、百分比均高于SLE组,比较差异均具有统计学意义($P<0.05$)。活动组患者C3、C4补体水平及CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞计数、百分比均低于非活动组,差异具有统计学意义($P<0.05$),SLEDAI评分、C反应蛋白(CRP)、血沉(ESR)、抗dsDNA抗体、抗C1q抗体水平高于非活动组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。Pearson相关性分析示,CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平与SLEDAI、CRP水平呈负相关($P<0.05$),与C3、C4补体水平呈正相关($P<0.05$);Logistic多因素分析示,C3补体、ESR、抗dsDNA抗体、CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞计数及百分比与SLE活动度独立相关($P<0.05$)。ROC曲线示,CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞计数及CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞百分比评估SLE活动度的曲线下面积分别为0.752、0.794,当截点值为144.08个/ μL 、11.44%时,约登指数最大。结论 SLE患者存在CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平的降低,且其水平与SLE患者活动度密切相关,检测其水平或可为SLE患者病情评估提供一定参考。

[关键词] 系统性红斑狼疮;自然杀伤细胞;系统性红斑狼疮疾病活动指数

Clinical significance of changes in peripheral blood CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cells in patients with systemic lupus erythematosus

ZHONG Hua, WANG Zhaohui, LIN Zhiqiang, DAI Xuyang, BO Deying, WANG Yanan, ZHANG Lei, ZHAI Zhijia, JIAO Luyang*

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital Of Xinxiang Medical University, WeiHui, HeNan, China, 453100)

[ABSTRACT] Objective To explore the changes of peripheral blood CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cells in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and their clinical significance. Methods A total of 145 patients with SLE who were admitted to the Department of Rheumatology and Nephrology in the hospital between March 2017 and June 2019, and 100 healthy subjects were selected as the research group. The levels of peripheral blood CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cells in both groups were measured, and clinical indexes of patients with SLE were collected. Patients were divided into active group and inactive group according to the SLEDAI score. The levels of peripheral blood CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cells in different groups were compared, and their correlation with clinical parameters in patients with SLE was analyzed. Results CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cell count and percentage in the control group were high than those in the SLE group. The differences of CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201802359)

作者单位:新乡医学院第一附属医院检验科,河南,卫辉 453100

*通信作者:焦路阳, E-mail:jiaoluyang2009@163.com

cell count and percentage between the groups were statistically significant ($P<0.05$). Complement C3 and C4 levels, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK cell count and percentage in the active group were lower than those in the inactive group ($P<0.05$). SLEDAI score, C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), anti-dsDNA antibody and anti-C1q antibody levels in the active group were higher than those in the inactive group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that levels of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK cells were negatively correlated with SLEDAI score and CRP levels ($P<0.05$), but were positively correlated with complement C3 and C4 levels ($P<0.05$). Multivariate Logistic analysis showed that complement C3, ESR, anti-dsDNA antibody, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK cell count and percentage were independently correlated with the activity of SLE ($P<0.05$). ROC curve showed that the area under the curve values of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK cell count and percentage for evaluating the activity of SLE were 0.752 and 0.794, respectively. When the cut-off values were 144.08 cells/ μ L and 11.44%, the Youden index was the largest. **Conclusion** There is a decrease in CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK cells in SLE patients, and the number is closely related to the activity of SLE patients. Therefore, the number of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK cells may provide a certain reference for the evaluation of SLE patients.

[KEY WORDS] Systemic lupus erythematosus; Natural killer cells; Systemic lupus erythematosus disease activity index

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种常见可累及多系统损伤的免疫性疾病, 自身抗体形成、补体系统激活、炎症细胞浸润及免疫复合物沉积是其主要病理变化, 免疫异常是 SLE 发生的重要原因^[1]。当前研究表明, SLE 患者存在多种免疫调节机制的异常, 自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 介导的固有免疫在其中占据重要地位^[2]。NK 细胞表面有多种非特异性抗原受体, 可识别并杀伤病毒感染细胞及肿瘤细胞。有学者推断, NK 细胞可能可通过介导免疫耐受丧失、免疫效应引起组织病理损伤从而参与 SLE 发病及进展中的所有过程, 分析 NK 细胞在 SLE 患者中的水平变化并探讨其与 SLE 发生、发展、病情的关系可为 SLE 发病机制的研究提供理论支持, 也可为 SLE 病情评估提供新思路^[3-4]。CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK 细胞是 NK 细胞的主体, 本研究以 CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK 细胞为主要研究指标, 分析其在 SLE 患者中的表达水平及与患者疾病活动度的相关性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2017 年 3 月至 2019 年 6 月本院风湿免疫科及肾内科收治的 145 例 SLE 患者作为研究对象。纳入标准: 符合美国风湿学会制定的 SLE 诊断及分类标准^[5]; 临床资料及实验室生化指标资料完整; 自愿加入本研究并签署同意书。排除标准: 合并感染性疾病者、恶性肿瘤、血液系统疾病、心

血管疾病者; 合并其他系统性自身免疫病者; 近期有输血史者; 非 SLE 所致精神病患者。对照组为同期查体的 100 例健康体检者, 对照组受试者排除 SLE 疾病, 经详细体格检查及病史、家族史询问, 无自身免疫性疾病及其他慢性基础疾病。

SLE 组患者男性 10 例, 女性 135 例, 年龄 25~44 岁, 平均 (35.12 \pm 9.45) 岁, 根据 SLE 疾病活动性指数 (SLE disease activity index, SLEDAI) 评分^[6], 处于活动期 (SLEDAI \geq 5 分) 患者 57 例, 非活动期 (SLEDAI $<$ 5 分) 患者 88 例。对照组男性 7 例, 女性 93 例, 年龄 22~46 岁, (35.01 \pm 9.35) 岁。SLE 患者及对照组受试者性别组成及年龄比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准, 患者及对照组受试者知情并签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集 SLE 患者临床资料, 主要包括性别、年龄、补体 C3、补体 C4、C 反应蛋白 (C reactive protein, CRP)、血沉 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、抗 c1q 抗体、抗 dsDNA 抗体水平, 这些指标均由本院检验科检验。

1.2.2 NK 细胞计数

SLE 患者于入院当日采集晨起空腹静脉血, 对照组于查体当日采集, 采用 EDTA 抗凝处理, 将抽取的抗凝外周静脉血 1 mL 置入 BD Trucount 绝对计数管内; 取 20 μ L 流式细胞仪-6 色试剂加至试剂管底部, 加入 50 μ L 抗凝全血, 充分混匀并在室温、避光条件下孵育 15 min, 加入 450 μ L BD

FACS 溶血素充分混匀,避光孵育 15 min;采用 mindray 公司 BriCyte E6 型流式细胞仪进行检测, MRFlow 软件进行亚群计数。流式细胞仪-6 色试剂(包括小鼠抗人 CD3-FITC、小鼠抗人 CD16-PE、小鼠抗人 CD56-PE、小鼠抗人 CD4-PE-Cy7、小鼠抗人 CD8-APC-Cy7、小鼠抗人 CD45-Per CP-Cy5.5、小鼠抗人 CD19-APC)购自 BD 生物科技有限公司。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 18.0 进行数据统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本 t 检验,不符合正态分布的计量资料以中位数 \pm 四分位数间距 $[M, (P25\% \sim P75\%)]$ 表示,采用 Mann-Whitey 秩和检验,采用 Pearson 相关检验分析指标相关关系,采用 Logistic 多因素回归分析 SLE 患者活动度与临床指标之间的关系,绘制受试者特征工作曲线(ROC 曲线)分析指标评估 SLE 活动度的价值,

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SLE 患者及对照组受试者 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞水平比较

对照组受试者 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞计数、百分比分别为 $[401(228, 645)]$ 个/ μL 、 $[19.24(9.88, 22.85)]\%$, SLE 组分别为 $[152(66, 202)]$ 个/ μL 、 $[11.24(4.71, 15.96)]\%$,组间比较差异均具有统计学意义($U=22.456, 19.653, P < 0.05$)。

2.2 活动组及非活动组患者临床参数及 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞水平比较

活动组患者补体 C3、C4 水平及 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞计数、百分比均低于非活动组,差异具有统计学意义($P < 0.05$), ESR、CRP、抗 dsDNA 抗体、抗 C1q 抗体水平高于非活动组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 入组受试者活动性指标及 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞水平比较

Table 1 Comparison of activity index and LEVELS of CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cells in enrolled subjects

项目	活动组($n=57$)	非活动组($n=88$)	U/t 值	P 值
SLEDAI 评分(分)	7(5, 8)	2(1, 3)	10.247	<0.001
补体 C3(g/L)	0.77 \pm 0.23	1.02 \pm 0.41	4.193	<0.001
补体 C4(g/L)	0.11 \pm 0.05	0.19 \pm 0.09	6.122	<0.001
ESR(mm/h)	35.29(20.14, 55.29)	22.56(10.27, 39.65)	6.523	<0.001
CRP(mg/L)	12.01(2.14, 20.36)	3.26(1.11, 7.96)	8.956	<0.001
抗 dsDNA 抗体(IU/mL)	145.25(44.18, 356.93)	4.55(0, 66.96)	6.341	<0.001
抗 C1q 抗体(RU/mL)	30.24(9.86, 60.23)	3.88(0.41, 8.56)	7.456	<0.001
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞计数(个/ μL)	127(55, 189)	188(101, 296)	3.748	<0.001
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞百分比(%)	8.56(3.52, 10.24)	13.33(5.01, 16.52)	4.012	<0.001

2.3 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞水平与活动性指标简单相关关系

Pearson 相关性分析示, CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞水平与 SLEDAI、CRP 水平呈负相关($P < 0.05$), 与补体 C3、C4 水平呈正相关($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 SLE 患者活动度与临床指标之间的相关性分析

以 SLE 活动度作为因变量,以患者临床参数作为自变量, Logistic 多因素分析显示补体 C3、ESR、抗 dsDNA 抗体、CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞计数及百分比与 SLE 活动度独立相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞水平与活动性指标简单相关关系

Table 2 Simple correlation between the level of CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK cells and activity index

指标	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞计数(个/ μL)		CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞(%)	
	r 值	P 值	r 值	P 值
SLEDAI 评分(分)	-0.355	<0.001	-0.363	0.001
补体 C3(g/L)	0.352	0.120	0.301	0.048
补体 C4(g/L)	0.296	0.039	0.345	0.028
ESR(mm/h)	-0.256	0.078	-0.196	0.204
CRP(mg/L)	-0.311	0.004	-0.296	0.036
抗 dsDNA 抗体(IU/mL)	-0.162	0.201	-0.201	0.096
抗 C1q 抗体(RU/mL)	-0.155	0.256	-0.214	0.087

表3 SLE患者活动度与临床指标之间的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between SLE patients' activity and clinical indicators

指标	单因素分析			多因素分析		
	OR	95%CI	P值	OR	95%CI	P值
补体 C3(g/L)	0.722	0.580~0.899	0.004	0.694	0.694~0.864	<0.001
补体 C4(g/L)	0.774	0.513~1.168	0.224			
ESR(mm/h)	1.394	1.141~1.702	0.001	1.293	1.044~1.607	0.019
CRP(mg/L)	1.239	0.975~1.573	0.080			
抗 dsDNA 抗体(IU/mL)	1.493	1.109~2.012	0.009	1.366	1.018~1.833	0.038
抗 C1q 抗体(RU/mL)	1.292	0.959~1.740	0.093			
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞计数(个/ μ L)	0.798	0.653~0.974	0.027	0.752	0.606~0.933	0.010
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞百分比(%)	0.739	0.580~0.943	0.015	0.752	0.594~0.951	0.018

2.5 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平对 SLE 活动度的评估价值分析

ROC 曲线示,CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞计数及 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞百分比评估 SLE 活动度的曲线下面积分别为 0.752(95% CI:0.674~0.829)、0.794(95% CI: 0.727~0.865),当截点值为 144.08 个/ μ L(敏感度:68.2%、特异度 75.4%)、11.44%(敏感度:62.6%、特异度 76.5%)时,约登指数最大(分别为 0.436、0.391)。见图 1。

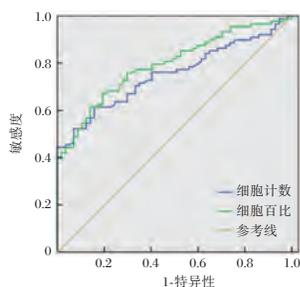


图1 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平评估 SLE 活动度受试者特征工作曲线

Figure 1 Receiver characteristic working curve of CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK cell level to assess SLE activity

3 讨论

NK 细胞归属于固有淋巴细胞,其前体为造血干细胞,在骨髓中分化后进入外周血。NK 细胞的主要生物学特点为可直接杀伤感染细胞或肿瘤细胞而无需抗原激活,因此其在特定情况下也可直接杀伤靶细胞^[7]。除细胞杀伤作用,NK 细胞也可分泌多种趋化因子及细胞因子,调节免疫反应。SLE 作为一种复杂的自身免疫性疾病,在自身抗体形成、补体激活、免疫复合物沉积及炎症细胞浸润过程中均有 NK 细胞的参与,目前已有较多研究报道了 SLE 患者可伴有 NK 细胞计数的减少^[8-9]。

本研究结果提示 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞可能参与 SLE 发病的过程。既往有研究认为,NK 细胞在不同的自身免疫性疾病中可出现不同的表现^[10-11]。本研究中所研究的 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞为 NK 细胞的主体,其数目及百分比的明显降低推测其可能在 SLE 发生过程中发挥一定作用,这一结果与 Lu 等^[12]人研究结果类似。

SLE 临床表现存在高度异质性,在治疗时多根据受累器官及疾病活动度进行风险及效益评估,在达到控制效果的基础上降低药物不良反应,在这一过程中,疾病活动度的评估具有重要临床意义。目前临床多根据血常规、血沉、肝肾功能、免疫球蛋白、补体及抗体浓度判定活动度^[13-14],但发现更多新的生物学指标有利于临床进行更精确的个体化治疗。为探究 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞对 SLE 患者病情的关系及评估价值,本研究结果提示 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平或可评估 SLE 患者病情活动度,可用于辅助治疗及评估。这一结果与曹慧霞^[15]、Lin 等人^[16]的研究结果一致。目前 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞与 SLE 发生及发展的关系仍未明确,推测活动期 SLE 患者体内存在大量抗体及免疫复合物,这些物质可能导致 NK 细胞的减少及功能的降低,而 SLE 患者 NK 细胞的降低减轻机体对适应性免疫细胞的调节效应,导致适应性及固有免疫的失衡,造成机体免疫的进一步失衡^[17]。如上文所示,CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平与 SLE 活动度相关,其水平或可为早期评估 SLE 病情提供一定参考。本研究结果提示其对 SLE 患者活动度有一定评估价值,可作为辅助评估指标用于临床。

综上,SLE 患者存在 CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK 细胞水平的降低,且其水平与 SLE 患者活动度密切相关,检测其水平或可为 SLE 患者病情评估提供一

定参考。本研究存在一定局限性,本研究区分患者活动度的标准为 SLEDAI 评分,该评分标准本身存在一定局限,且目前较少有采用 ROC 曲线分析 CD3⁺CD16⁺CD56⁺NK 细胞评估 SLE 病情的研究,这一结论仍尚需更多研究证实;另一方面,本研究样本量较少,未来仍有待进一步扩大样本进行验证。

参考文献

- [1] Chen DQ, Cancienne JM, Werner BC, et al. Is osteonecrosis due to systemic lupus erythematosus associated with increased risk of complications following total hip arthroplasty [J]. *Int Orthop*, 2018, 5(11):333-336.
- [2] Dufva O, Kankainen M, Kelkka T, et al. Aggressive natural killer-cell leukemia mutational landscape and drug profiling highlight JAK-STAT signaling as therapeutic target [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):258-261.
- [3] Zahran AM, Abdel-Rahim MH, Elsayh KI, et al. Natural killer and natural killer T Cells in juvenile systemic lupus erythematosus: Relation to disease activity and progression [J]. *Arch Immunol Ther Exp*, 2019, 11(10):77-79.
- [4] 李雪, 黄自坤, 邓桢. 系统性红斑狼疮患者外周血 NK 细胞 TIGIT 的表达和意义[J]. *免疫学杂志*, 2018, 11(7):55-59.
- [5] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9):1725.
- [6] Vitali C, Bencivelli W, Mosca M, et al. Development of a clinical chart to compute different disease activity indices for systemic lupus erythematosus [J]. *J Rheum*, 1999, 26(2):498-501.
- [7] 杨军平, 秦秋实, 白高波, 等. 类风湿关节炎患者外周血 NK 细胞抑制性受体 TIGIT 基因的表达及意义[J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(9):762-767.
- [8] 黄自坤, 曾璐璐, 罗清. 系统性红斑狼疮患者外周血 NK 细胞 TIM-3 表达和意义[J]. *免疫学杂志*, 2020, 36(3):55-58.
- [9] 秦岭, 邱志锋, 谢静, 等. 系统性红斑狼疮合并机会性感染的疾病谱及其外周血淋巴细胞亚群特点分析[J]. *中华内科杂志*, 2018, 11(1):32-36.
- [10] Kristensen AB, Kent SJ, Parsons MS. Contribution of NK cell education to both direct and anti-HIV-1 antibody-dependent NK cell functions [J]. *J Virol*, 2018, 5(12):17-22.
- [11] 蓝艳, 郭静. 白细胞介素-21 与系统性红斑狼疮之关系研究进展[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2015, 7(2):127-131.
- [12] Lu ZM, Li J, Ji J, et al. Altered peripheral lymphocyte subsets in untreated systemic lupus erythematosus patients with infections [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2019, 52(4):8131-8135.
- [13] Zeng Y, Lin Y, Wang X, et al. Assessment of a high-avidity IgG ANAs for the diagnosis and activity prediction of systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Rheumatol*, 2020, 7(7):225-228.
- [14] Ceccarelli F, Perricone C, Cipriano E, et al. Usefulness of composite indices in the assessment of joint involvement in systemic lupus erythematosus patients: correlation with ultrasonographic score [J]. *Lupus*, 2019, 28(3):383-388.
- [15] 曹慧霞, 董洋, 张丽娜, 等. CD3⁺CD16⁺CD56⁺NK 细胞与系统性红斑狼疮活动的相关性研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2019, 23(12):815-819.
- [16] Lin SJ, Kuo ML, Hsiao HS, et al. Cytotoxic function and cytokine production of natural killer cells and natural killer t-like cells in systemic lupus erythematosus regulation with interleukin-15 [J]. *Med Inflamm*, 2019, 5(11):55-59.
- [17] 马金凤, 李彩霞, 吴德沛, 等. Tim-3 在急性髓系白血病患者 NK 细胞上的表达特征及其临床意义[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(9):755-758.

(上接第 1564 页)

- 组. 中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018) [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 54(2):81-100.
- [6] 朱丽敏, 袁宏伟, 李真. 鼻内镜术联合鼻甲切除术对慢性鼻-鼻窦炎患者临床症状及嗅觉功能的影响 [J]. *保健医学研究与实践*, 2018, 15(5):69-71.
- [7] 杨宇秀, 刘建明, 叶颖俊. TMCO1 基因蛋白通道的功能性质及与疾病的关系研究进展 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2018, 14(4):252-255.
- [8] 周凌, 蒋丕萍, 邹外龙. 老年社区获得性肺炎患者血清 YKL-40 和 CCL18 水平变化及临床意义 [J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(10):10.
- [9] 何作华, 张童, 肖凯. PCT、CRP、APOC1、SPA 和 YKL-40 在重症肺炎中的检测意义 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(3):473-476.
- [10] 胡晓清, 郑小艳, 马文霞, 等. 星状神经节阻滞在慢性鼻窦炎合并高血压患者围手术期中的应用 [J]. *中华医学杂志*, 2020, 105(33):591-2595.
- [12] 徐定远, 台勇, 孙占伟, 等. 单侧鼻腔-鼻窦病变的 CT 诊断 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(9):918-920.
- [13] Wang Z, Wang Z, Zhu J, et al. Vitamin K2 can suppress the expression of Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4, and inhibit calcification of aortic intima in ApoE^{-/-} mice as well as smooth muscle cells [J]. *Vascular*, 2017, 26(1):18-26.
- [14] 王敏, 任海棠, 张劲, 等. 非侵袭性真菌性鼻-鼻窦炎患者免疫指标研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(5):95-98.
- [15] Zhao HM, Xu R, Huang XY, et al. Curcumin improves regulatory T cells in gut-associated lymphoid tissue of colitis mice [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(23):5374.
- [16] 徐松波, 尤国军, 吴目武, 等. 鼻腔鼻窦解剖结构异常对慢性鼻-鼻窦炎发病影响的临床研究 [J]. *中华解剖与临床杂志*, 2019, 24(4):386-389.
- [17] 高圆, 郑铭, 何小金, 等. 合并慢性鼻-鼻窦炎的免疫球蛋白 G4 相关性疾病 18 例临床分析 [J]. *中华风湿病学杂志*, 2018, 22(1):24-28.

CIP2A、VCAM-1 及 TRF1 在脑胶质瘤中的表达及临床意义

董留建¹ 王树凯² 冯书彬² 冯强² 吕强² 李涛² 裴航² 齐林^{2*}

[摘要] **目的** 分析蛋白磷酸酶2A的癌性抑制因子(CIP2A)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)及端粒结合蛋白-1(TRF1)在脑胶质瘤中的表达及临床意义。**方法** 收集本院2016年3月至2018年4月收治的77例脑胶质瘤患者脑组织标本(脑胶质瘤组)。同期选取50例非肿瘤患者颅脑外伤行减压而切除的脑组织标本作为对照组。比较2组CIP2A、VCAM-1及TRF1表达情况,分析CIP2A、VCAM-1及TRF1表达与脑胶质瘤临床病理特征的关系;采用多元Logistic回归分析影响脑胶质瘤患者预后死亡的独立危险因素。**结果** 对照组CIP2A、VCAM-1阳性表达率显著低于脑胶质瘤组,TRF1阳性表达率显著高于脑胶质瘤组,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。低分级脑胶质瘤者CIP2A、VCAM-1阳性表达率明显低于高级别脑胶质瘤者,TRF1阳性表达率明显高于高级别脑胶质瘤者,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。经非条件多因素logistic回归模型分析结果显示:年龄(>45岁)、病理分级(高级别)、CIP2A(阳性)和VCAM-1(阳性)、TRF1(阴性)影响是脑胶质瘤患者预后死亡的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** CIP2A、VCAM-1及TRF1在脑胶质瘤中的表达与其病理分级有关,可作为判断脑胶质瘤恶性程度及评估其预后的参考指标。

[关键词] 蛋白磷酸酶2A的癌性抑制因子;血管细胞黏附分子-1;端粒结合蛋白-1;脑胶质瘤

Expressions and clinical significance of CIP2A, VCAM-1 and TRF1 in glioma

DONG Liujian¹, WANG Shukai², FENG Shubin², FENG Qiang², LV Qiang², LI Tao², PEI Hang, QI Lin^{2*}

(1. Department of Neurosurgery, Henan children's Hospital (Zhengzhou children's Hospital); 2. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the expression and clinical significance of cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A (CIP2A), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and telomere repeat binding-1 factor-1 (TRF1) in glioma. **Method** The brain tissue specimens of 77 patients with glioma who were admitted to our hospital from March 2016 to April 2018 were collected (glioma group). At the same time, 50 brain specimens of non-tumor patients with craniocerebral trauma underwent decompression and resection were selected as the control group. The expressions of CIP2A, VCAM-1 and TRF1 between the two groups were compared, and the relationship between the expressions of CIP2A, VCAM-1 and TRF1 and the clinicopathological characteristics of glioma was analyzed. Multiple logistic regression was used to analyze the independent risk factors affecting the death prognosis of patients with glioma. **Results** The positive expression rate of CIP2A and VCAM-1 in the control group was significantly lower than that in the glioma group, and the positive expression rate of TRF1 was significantly higher than that in the glioma group, and differences are statistically significant ($P<0.05$). The positive expression rate of CIP2A and VCAM-1 in patients with low-grade gliomas was significantly lower than those in patients with high-grade gliomas, and the positive expression rate of TRF1 was significantly higher than that in patients with high-grade gliomas, and differences are statistically significant ($P<0.05$). The results of unconditional multivariate logistic regression model analysis show that: age (>45 years old), patho-

基金项目:河南省科技攻关计划(2017020202)

作者单位:1. 河南省儿童医院(郑州儿童医院)神经外科,河南,郑州450018

2. 郑州大学第一附属医院神经外科,河南,郑州450018

*通信作者:齐林, E-mail: laiqiao7355009@163.com

logical grade (high grade), CIP2A (positive) and VCAM-1 (positive), TRF1 (negative) are independent risk factors that affect the death prognosis of patients with glioma ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of CIP2A, VCAM-1 and TRF1 in gliomas is related to its pathological grade, and can be used as a reference index for judging the malignant degree of gliomas and evaluating its prognosis.

[KEY WORDS] Cancer inhibitor of protein phosphatase 2A; Vascular cell adhesion molecule-1; Telomere binding protein-1; Glioma

脑胶质瘤是由神经外胚叶衍化而来的胶质细胞发生的肿瘤,是颅内肿瘤中最为常见的一种疾病,占颅脑肿瘤的40%~50%^[1]。据临床相关资料显示,近30年来,原发性恶性脑肿瘤发生率逐年递增,年增长率约为1.2%,中老年人尤为明显^[2]。有相关文献报道,我国脑胶质瘤年死亡人数达3万人,预后较差,5年生存率不足5%^[3]。目前,随着肿瘤免疫治疗的进展,多靶点的分子免疫治疗已逐渐成为临床研究的焦点。蛋白磷酸酶2A的癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)是一种癌蛋白,具有转化人永生细胞能力。血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)属于免疫球蛋白超家族的成员之一,是一种重要的细胞黏附分子^[4]。端粒结合蛋白-1 (telomere repeat binding factor-1, TRF1)在端粒结合因子家族中具有极其重要的作用。目前已有研究认为CIP2A、VCAM-1及TRF1与脑胶质瘤的发生、发展关系密切^[5]。故本组研究就CIP2A、VCAM-1及TRF1在脑胶质瘤中的表达及临床意义进行了分析,以此为多靶点的分子免疫治疗提供可靠的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集本院2016年3月至2018年4月本院收治的77例脑胶质瘤患者脑组织标本(脑胶质瘤组),其中,男性34例,女性43例,年龄,平均年龄(36.14±7.08)岁。按世界卫生组织(World Health Organization, WHO)(2016年)中枢神经系统肿瘤分类标准进行分级^[6]: I~II级为低级别胶质瘤,共37例(I级21例,II级患者16例),III~VI级为高级别胶质瘤,共40例(III级28例,VI级12例);肿瘤位置矢状窦镰旁23例,凸面24例,蝶骨嵴18例,鞍旁12例;肿瘤直径:≤5 cm者27例,>5 cm者50例。同期选取50例非肿瘤患者颅脑外伤行减压而切除的脑组织标本作为对照组,其中,男性23例,女性27例,年龄,平均年龄(36.25±7.04)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:①两组均未合并其他严重疾病者;②两组影像学资料和病理资料无丢失或缺损;③脑胶质瘤组术前未接受放疗、化疗者;④两组年龄均>18岁,且无意识障碍;排除标准:①两组合并血液系统、免疫功能障碍者;②两组哺乳期或妊娠期孕妇;③两组合并心、肝、肾等功能异常者;④二次手术者。本研究通过本院医学伦理委员会批准,受试者及家属签署知情同意书。

1.2 方法

收集两组患者的脑组织标本及临床资料,并采用S-P免疫组织化学染色法检测CIP2A、VCAM-1及TRF1。CIP2A抗体为兔抗人CIP2A抗体,试剂盒购于北京博奥森生物技术公司;VCAM-1抗体为兔抗人VCAM-1多克隆抗体,试剂盒购自美国Abcam公司;TRF1抗体为羊抗人TRF1多克隆抗体,试剂盒购自圣克鲁斯生物技术(上海)有限公司,具体操作严格按照说明书执行。染色结果判断^[7]:根据阳性细胞百分比、染色强度判定(0、1、2、3分。染色强度判定:0分无色,1分淡黄色,棕黄色2分,棕褐色3分。总积分:上述2项评分的乘积。阳性:总积分≥3分)。

1.3 观察指标

①比较对照组与脑胶质瘤组CIP2A、VCAM-1及TRF1表达情况。②分析CIP2A、VCAM-1及TRF1表达与脑胶质瘤临床病理特征的关系。③对患者进行2年随访,分析其预后生存与死亡情况,并影响脑胶质瘤患者预后死亡的独立危险因素。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件包处理。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验;影响因素采用多元Logistic回归分析, $P<0.05$ 为差异间具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者CIP2A、VCAM-1及TRF1表达情况比较
脑胶质瘤组CIP2A、VCAM-1阳性表达率显著

低于脑胶质瘤组,TRF1 阳性表达率显著高于脑胶质瘤组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组CIP2A、VCAM-1及TRF1表达情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of CIP2A, VCAM-1 and TRF1 expressions between 2 groups [n(%)]

组别	n	CIP2A 阳性	VCAM-1 阳性	TRF1 阳性
对照组	50	23(48.00)	22(44.00)	45(90.00)
脑胶质瘤组	77	69(89.61)	68(88.31)	39(50.65)
χ^2 值	-	28.879	28.831	20.961
P值	-	0.001	0.001	0.001

2.2 脑胶质瘤患者CIP2A、VCAM-1及TRF1表达与其临床病理特征的关系

低分级脑胶质瘤患者CIP2A、VCAM-1阳性表达率明显低于高级别脑胶质瘤者,TRF1阳性表达率明显高于高级别脑胶质瘤者,差异均具有统计

学意义($P<0.05$);脑胶质瘤患者CIP2A、VCAM-1及TRF1阳性表达与其性别、年龄、肿瘤直径、肿瘤位置无关($P>0.05$)。见表2。

2.3 影响脑胶质瘤预后死亡的单因素分析

术后对患者进行2年随访,预后死亡15例(19.48%),生存62例(80.52%)。患者年龄、肿瘤病理分级、CIP2A、VCAM-1阳性表达及TRF1阴性表达与脑胶质瘤患者预后死亡呈相关性,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 影响脑胶质瘤预后死亡的多因素分析

logistic回归模型分析,年龄>45岁、病理分级高级别、CIP2A和VCAM-1阳性表达及TRF1阴性表达是影响脑胶质瘤患者预后死亡的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表2 脑胶质瘤患者CIP2A、VCAM-1及TRF1表达与其临床病理特征的关系 [n(%)]

Table 2 Correlation between CIP2A, VCAM-1 and TRF1 expression and their clinicopathological characteristics in glioma patients [n(%)]

临床病理特征	CIP2A 阳性	χ^2 值	P值	VCAM-1 阳性	χ^2 值	P值	TRF1 阳性	χ^2 值	P值	
年龄(岁)	≤45	32(46.38)	0.038	0.846	31(45.59)	0.317	0.573	18(46.15)	0.011	0.915
	>45	37(53.62)			37(54.41)			21(53.85)		
性别	男	31(44.93)	0.160	0.689	28(41.18)	2.094	0.148	16(41.03)	0.314	0.575
	女	38(55.07)			40(58.82)			23(58.97)		
肿瘤直径(cm)	≤5	24(34.78)	0.023	0.879	25(36.76)	0.738	0.390	17(43.59)	2.522	0.112
	>5	45(65.22)			43(63.24)			22(56.41)		
病理分级	低级别	30(43.48)	5.565	0.018	28(41.18)	11.017	0.001	29(74.36)	21.910	0.001
	高级别	39(56.52)			40(58.82)			10(25.64)		
肿瘤位置	矢状窦镰旁	21(30.43)	1.593	0.661	18(26.47)	5.587	0.134	11(28.21)	0.753	0.861
	凸面	20(28.99)			23(33.82)			13(33.33)		
	蝶骨嵴	17(24.64)			15(22.06)			8(20.51)		
	鞍旁	11(15.94)			12(17.65)			7(17.95)		

表3 影响脑胶质瘤预后死亡的单因素分析 [n(%)]

Table 3 Single factor analysis of prognosis and death of glioma [n(%)]

因素	n	死亡	生存	χ^2 值	P值	
年龄(岁)	≤45	35	2(13.33)	33(53.23)	7.752	0.005
	>45	42	13(86.67)	29(46.77)		
性别	男	34	9(60.00)	25(40.32)	1.897	0.168
	女	43	6(40.00)	37(59.68)		
肿瘤直径(cm)	≤5	27	7(46.67)	20(32.26)	1.101	0.294
	>5	50	8(53.33)	42(67.74)		
病理分级	低级别	37	1(6.67)	36(58.06)	12.782	0.001
	高级别	40	14(93.33)	26(41.94)		
肿瘤位置	矢状窦镰旁	23	3(20.00)	20(32.26)	0.955	0.812
	凸面	24	5(33.33)	19(30.65)		
	蝶骨嵴	18	4(26.67)	14(22.58)		
	鞍旁	12	3(20.00)	9(14.52)		
CIP2A	阳性	69	10(66.67)	59(95.16)	10.533	0.001
	阴性	8	5(33.33)	3(4.84)		
VCAM-1	阳性	68	11(73.33)	57(91.94)	4.049	0.044
	阴性	9	4(26.67)	5(8.06)		
TRF1	阳性	39	0(0.00)	39(62.90)	19.119	0.001
	阴性	38	15(100.00)	23(37.10)		

表4 影响脑胶质瘤预后死亡的多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors affecting prognosis and death of glioma

变量	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR	95%CI	P值
年龄>45岁	0.589	0.213	8.145	1.802	1.187~2.736	<0.001
病理分级高级别	0.783	0.245	11.062	2.188	1.354~3.537	<0.001
CIP2A 阳性	0.674	0.263	10.124	1.962	1.172~3.285	<0.001
VCAM-1 阳性	0.715	0.247	8.628	2.044	1.260~3.317	<0.001
TRF1 阴性	0.624	0.239	9.526	1.866	1.168~2.982	<0.001

3 讨论

脑胶质瘤是中枢神经系统常见的肿瘤,发病缓慢,一般为数周至数月,少数可达数年。脑胶质瘤的发病机制目前尚未明确,认为可能与放射线、病毒感染、细菌感染、遗传等因素有关^[8]。国内外有研究显示,CIP2A、VCAM-1及TRF1在肝癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌及子宫内膜癌等多种肿瘤中呈高表达,进一步推测其参与了肿瘤的发生、发展^[9]。但迄今为主,国内鲜有学者报道CIP2A、VCAM-1及TRF1在脑胶质瘤中的表达情况及三种蛋白的相互作用在脑胶质瘤发生、发展中的具体作用^[10]。

CIP2A属癌蛋白,在多种不同实体肿瘤中均呈高表达,可充当各种肿瘤的预后标志物^[11]。高飞等^[12]研究发现,CIP2A可有效抑制蛋白磷酸酶2A(PP2A)的活性,而PP2A属于一种蛋白激酶和信号蛋白,可调控多个细胞转化,其活性受到抑制是细胞异常增殖的重要条件之一。Pradip等^[13]研究表明,CIP2A在人体大部分正常组织中不表达或呈极低表达,而在头部肿瘤、胃癌等永生化细胞中呈高表达。本组研究结果与上述文献基本相符。刘莉等^[14]研究表明,CIP2A表达与脑胶质瘤严重程度关系密切。高飞等^[12]研究分析了CIP2A蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义,发现CIP2A阳性表达与患者性别、年龄、肿瘤位置及病理类型无关。本研究结果提示CIP2A表达在评估脑胶质瘤病情方面具有一定作用。

VCAM-1是重要的血管细胞调节因子。Nadia等^[15]研究表明,VCAM-1主要分布在血管内皮细胞、巨噬细胞和树突状细胞表面,对其作用的研究主要集中在免疫炎症反应。目前有关VCAM-1在脑胶质瘤中表达水平研究结果各有千秋。Cheng等^[16]研究认为,肿瘤细胞通过多种不同的途径刺激血管生成,同时抑制VCAM-1表达,可有效减少免疫细胞浸润,降低免疫应答。但严立冬等^[17]研究认

为,脑胶质瘤细胞本身和细胞内VCAM-1呈高表达,VCAM-1可促进肿瘤细胞沿血管迁移和侵袭,增强肿瘤细胞免疫逃逸。本组研究结果推测,VCAM-1可通过参与调解细胞免疫功能等机制在胶质瘤恶性发展过程中发挥重要作用。

TRF1是端粒结合蛋白复合体家族成员之一,可促使端粒三级结构T环(T-100p)的形成,被认为可以负性调节端粒酶活性。Bejarano等^[18]研究发现,肿瘤的癌变程度与TRF1水平呈负相关。随着对端粒结合蛋白复合体家族的不断深入研究发现,在子宫内膜癌、结直肠癌中端粒相关因子的表达对其长度具有负反馈调节作用。本研究结果表明脑胶质瘤恶性程度越高,TRF1表达出现明显下调。

综上所述,CIP2A、VCAM-1及TRF1在脑胶质瘤中的表达与其病理分级有关,可作为判断脑胶质瘤恶性程度及评估其预后的参考指标。

参考文献

- [1] 王宝,孙媛,宋康,等.应激性高血糖对颅脑损伤患者炎症状态和外周血乳酸、MMP-9水平以及28天死亡率的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(1):39-43.
- [2] 白庆岭,胡长伟,彭营影,等.脑胶质瘤预后影响因素分析[J].临床误诊误治,2018,31(7):97-100.
- [3] 王唯斯,李翔宇,郝西琳,等.基于TCGA数据集分析脑胶质瘤中TEFM基因mRNA的表达及意义[J].解放军医药杂志,2019,31(5):15-21.
- [4] 盛雪平,刘秋菊,张旭阳,等.认知行为疗法、药物及联合治疗在脑卒中后睡眠障碍中的应用效果[J].保健医学研究与实践,2018,15(4):47-50.
- [5] 王建村,全兴云,彭定婷,等.组蛋白乙酰化激活人脑胶质瘤中胶质细胞源性神经营养因子转录的机制研究[J].四川大学学报(医学版),2019,50(5):1564-1566.
- [6] 焦保华,赵宗茂,杨建凯.从神经外科临床角度解读《2016年世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类》[J].河北医科大学学报,2018,39(12):7-9.
- [7] 王龙,蒋航,陈图南,等.TAS102选择性抑制ATRX缺失胶质瘤细胞的实验研究[J].第三军医大学学报,2019,41(24):2393-2400.

(下转第1577页)

血清 fFN、MMP-9、IL-6 水平与自发性早产的相关性分析

陈婷^{1*} 郭晓静² 白婧³

[摘要] 目的 分析血清中 fFN、MMP-9、IL-6 水平与自发性早产的相关性。方法 选取 2016 年 10 月至 2019 年 6 月于本院产检并分娩的妇女作为研究对象,将自发性早产分娩者 86 例纳入早产组,另选择同期正常分娩孕妇 40 例作为对照组。采用酶联吸附免疫沉淀法(ELISA)对两组孕妇血清 fFN、MMP-9、IL-6 水平进行检测,分析三者含量在正常分娩孕妇与自发性早产孕妇中的差异;探究三者单独及联合预测自发性早产的效果以及导致自发性早产的独立危险因素。结果 早产组 fFN、MMP-9、IL-6 含量高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);ROC 曲线分析结果显示 fFN、MMP-9、IL-6 三者分别诊断自发性早产的 AUC 分别为 0.734、0.701、0.791,低于三者联合的 0.912,差异具有统计学意义($P<0.05$);Logistic 回归分析显示, fFN ≥ 89.62 ng/mL、IL-6 ≥ 32.41 pg/mL、MMP-9 ≥ 6.96 pg/mL 是导致自发性早产产生的独立危险因素($P<0.05$)。结论 自发性早产的发生与血清 fFN、MMP-9、IL-6 水平升高密切相关,且三者联合诊断对自发性早产的预测具有较高的价值。

[关键词] fFN; MMP-9; IL-6; 自发性早产

Correlation analysis between serum fFN, MMP-9, IL-6 levels and spontaneous preterm delivery

CHEN Ting^{1*}, GUO Xiaojing², BAI Jing³

(1. Department Of Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 2. Department Of Operation Room, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 3. Department Of the Outpatient, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] Objective To analyze the correlation between serum fFN, MMP-9, IL-6 levels, and spontaneous preterm labor. Methods The women who underwent production inspection and labor in the hospital from October 2016 to June 2019 were enrolled as the research subjects. The 86 women undergoing spontaneous preterm labor were included in the preterm labor group, while another 40 women who underwent normal labor during the same period were enrolled as the control group. The levels of serum fFN, MMP and IL-6 in both groups were detected using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The differences in the above indexes between the two groups were analyzed. The effect of the three alone and their combination for predicting spontaneous preterm labor, and independent risk factors of spontaneous preterm labor were explored. Results The contents of fFN, MMP-9 and IL-6 in the preterm labor group were higher than those in the control group ($P<0.05$). The results of ROC curve analysis showed that AUC values of fFN, MMP-9 and IL-6 for

基金项目:河北省卫计委 2017 年度医学科研计划项目(20180695)

作者单位:1. 河北北方学院附属第一医院产科,河北,张家口 075000

2. 河北北方学院附属第一医院手术室,河北,张家口 075000

3. 河北北方学院附属第一医院门诊部,河北,张家口 075000

*通信作者:陈婷, E-mail: gualishui795@163.com

the diagnosis of spontaneous preterm labor were 0.734, 0.701 and 0.791, lower than that of their combination (0.912) ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that $fFN \geq 89.62$ ng/mL, $IL-6 \geq 32.41$ pg/mL, and $MMP-9 \geq 6.96$ pg/mL were independent risk factors for spontaneous preterm delivery ($P < 0.05$). Conclusion The occurrence of spontaneous preterm labor is closely related to the increase of serum fFN , $MMP-9$ and $IL-6$ levels, and the combined diagnosis of the three has a high value in the prediction of spontaneous preterm labor.

[KEY WORDS] fFN ; $MMP-9$; $IL-6$; Spontaneous preterm labor

早产为常见产科疾病之一,其妊娠期较正常分娩缩短为28周至37周。临床数据表明早产的发生率为10%左右,且近年来存在明显的上升趋势^[1]。自发性早产为早产的一种,占全部早产的75%左右^[2]。自发性早产产生原因多样,包括孕妇年龄、宫颈状况、孕妇心理状况、感染等。研究表明,早产的发生与孕期体内细胞因子的水平存在相关性,如胎儿纤维连接蛋白(fetal fibronectin, fFN)、环氧化酶2(cyclooxygenase-2, $COX2$)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, $MMP-9$)、白细胞介素6(interleukin 6, $IL-6$)等^[3]。本研究拟通过对自发性早产及正常孕妇血清 fFN 、 $MMP-9$ 、 $IL-6$ 水平分析,探讨三者早产相关研究中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年10月至2019年6月本院产检并

分娩的孕妇作为研究对象,将自发性早产分娩者86例纳入早产组,同时选取本院正常分娩孕妇40例作为对照组。早产组纳入标准:①临床特征符合自发性早产诊断标准^[4];②单胎妊娠者;③月经周期规律者;④孕周在30周以上;排除标准:①胎盘位置异常者;②有感染性疾病者;③存在严重内外科疾病者;④有免疫治疗史者;⑤糖尿病、高血压患者;⑥孕期工作较繁忙者。本研究经本院医学伦理委员会批准,受试者均签署知情同意书。两组研究对象一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表1。

1.2 方法

分别在两组孕30周时进行血清样本采集,采用肘静脉抽取的方法取血样5 mL,4 000 rpm离心10 min,取上清液进行相关指标的检测。 fFN 、 $MMP-9$ 及 $IL-6$ 检测采用酶联免疫吸附沉淀法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA),

表1 两组孕妇一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	年龄	孕龄	体质指数(BMI)	宫颈长度(cm)	产次(次)
早产组	86	28.68±2.92	32.15±2.86	21.35±2.22	3.52±0.42	1.42±0.21
对照组	40	27.91±2.69	32.43±2.93	21.17±2.69	3.64±0.51	1.51±0.37
<i>t</i> 值		1.412	0.508	0.396	1.393	1.737
<i>P</i> 值		0.161	0.613	0.693	0.166	0.085

利用美国贝克曼公司UniCel DxI800全自动免疫分析系统测定。 fFN 试剂盒购自上海古朵生物科技有限公司, $MMP-9$ 检测试剂盒购自上海信裕生物工程有限公司, $IL-6$ 试剂盒购自美国ThermoFisher。具体检测步骤按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用*t*检验,计数资料以*n*(%)表示,采用 χ^2 检验;采用ROC曲线评估血清 fFN 、 $MMP-9$ 及 $IL-6$ 单独及联合对自发性早产的预测价值;通过多元Logistic回归进行多因素生存分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 fFN 、 $MMP-9$ 、 $IL-6$ 水平比较

早产组 fFN 、 $MMP-9$ 、 $IL-6$ 水平明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

表2 两组血清 fFN 、 $MMP-9$ 、 $IL-6$ 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum fFN , $MMP-9$ and $IL-6$ levels between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	fFN (ng/mL)	$MMP-9$ (pg/mL)	$IL-6$ (pg/mL)
早产组	86	113.26±13.58	8.24±2.13	35.72±4.21
对照组	40	24.33±3.79	2.62±0.86	18.16±3.54
<i>t</i> 值		03.339	16.062	22.873
<i>P</i> 值		0.001	0.000	0.000

2.2 fFN、MMP-9、IL-6水平单独及联合对自发性早产的预测价值

分别绘制血清fFN、MMP-9、IL-6水平单独及联合预测自发性早产的ROC曲线,确定最佳截断值联合诊断自发性早产的AUC为0.912,高于fFN、MMP-9、IL-6单独诊断,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见图1,表3。

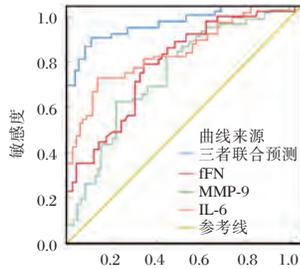


图1 fFN、MMP-9、IL-6水平单独及联合预测患者自发性早产的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of fFN, MMP-9 and IL-6 levels alone and combined to predict spontaneous preterm labor in patients

表3 血清fFN、MMP-9、IL-6水平单独及联合预测自发性早产的价值

Table 3 The value of serum fFN, MMP-9 and IL-6 levels in predicting spontaneous preterm labor alone and in combination

项目	截断值	AUC	95%CI
fFN(ng/mL)	89.62	0.734	0.659~0.818
MMP-9(pg/mL)	6.96	0.701	0.612~0.805
IL-6(pg/mL)	32.41	0.791	0.672~0.841
三者联合		0.912	0.878~0.956

表4 自发性早产相关因素多元Logistic回归分析

Table 4 Correlation factors of spontaneous preterm birth multivariate Logistic regression analysis

组别	B	SE	Wald	OR值	95%CI	P值
fFN \geq 89.62 ng/mL	1.316	0.541	5.917	3.728	1.291~10.766	0.015
IL-6 \geq 32.41 pg/mL	0.824	0.398	4.286	2.280	1.045~4.973	0.039
MMP-9 \geq 6.96 pg/mL	1.686	0.521	10.472	5.398	1.944~14.987	0.001

时,孕妇体内绒毛膜基质受损被产生的蛋白酶水解,导致fFN释放异常^[9]。对于临床有早产相关症状的孕妇而言,子宫fFN含量50 μ g/L为危险值,当含量大于此数值时,其早产风险与fFN含量呈正相关^[10]。本研究中早产组fFN含量显著高于对照组,与上述研究结果相符。

MMP-9为MMPs蛋白酶家族中的一种,参与了细胞外基质的合成分解,对血管功能影响密切相关^[11]。其能够对胎膜的主要组成成分IV型胶原进行降解,增强子宫平滑肌的功能,促进子宫收

2.3 影响自发性早产的多因素logistic回归分析

以孕妇自发性早产是否发生作为因变量,根据ROC曲线得到的截断值,以fFN、MMP-9、IL-6水平为自变量,列入Logistic回归分析,结果表明fFN \geq 89.62 ng/mL、IL-6 \geq 32.41 pg/mL、MMP-9 \geq 6.96 pg/mL是导致自发性早产产生的独立危险因素($P<0.05$),见表4。

3 讨论

早产为常见的产期并发症,发生率在5%~15%之间,可能导致胎儿器官畸形,呼吸系统损伤、脑功能受损等严重问题^[5]。引发早产的因素众多,包括孕妇身体特征(年龄、高血压、宫颈长度)、心理状况(压力、抑郁)等^[6]。近年来,随着人们对产期护理的重视,孕期监护技术有了较大的提升,早产的发生率得到了一定的降低,但效果并不明显^[7]。近年来,利用细胞因子对早产进行预测被证实具有良好的临床效果。

fFN为高分子糖蛋白,主要存在与孕妇血液及羊水中,对胎盘的固定具有重要作用。通常孕妇妊娠前期血液中fFN含量较为稳定,临近分娩时,fFN与相关组织脱离导致含量发生变化。临床研究表明,fFN在血浆中的水平能够对分娩时间、引产的难易程度、胎膜破损风险进行良好的评估,可根据fFN水平变化预测自发性早产^[8]。研究表明,正常妇女孕期在23周以上时,fFN的释放受到绒毛膜的阻碍,其水平相对较低,当早产先兆发生

缩,含量的多少对胶原的降解程度有着直接的影响^[12]。正常妊娠期妇女体内MMP-9含量稳定,当炎症反应发生时,机体产生大量的炎症因子,数量众多的炎症因子激活MMP-9,MMP-9含量的升高又将细胞因子激活,产生一系列反应使得孕子宫收缩,导致相关临床症状的产生^[13]。

目前研究表明,感染所导致的炎症因子水平上升与早产的发生联系密切^[14]。IL-6等炎症因子在机体炎症反应中发挥重要作用,可对孕期妇女子宫蜕膜、绒毛膜细胞产生刺激,使机体相关激素

含量上升,诱发子宫收缩,同时,子宫的收缩会使蜕膜绒毛细胞产生损伤,该损伤导致 IL-6 含量再次上升,如此反复循环导致早产的发生。当下对于 IL-6 预测早产的研究主要集中在血清及羊水中。结果与上述结论相似,表明 IL-6 水平与自发性早产的发生存在紧密联系。

本研究利用 ROC 曲线结果表明三者单独预测都具有一定可行性且三者联合效果更佳。本研究进一步利用 logistic 分析结果表明 fFN \geq 89.62 ng/mL、IL-6 \geq 32.41 pg/mL、MMP-9 \geq 6.96 pg/mL 是导致自发性早产产生的独立危险因素,因此,根据孕期三种因素水平对孕妇进行干预性治疗存在良好的临床应用前景。

综上所述,自发性早产的发生与多种因素相关,fFN、MMP-9、IL-6 水平过高都是产生自发性早产的危险因素,血清 fFN、MMP-9、IL-6 的监测对于自发性早产发生的预测具有良好的临床意义。

参考文献

[1] 李妍,张华,马秀华.分娩恐惧与自发性早产的关系[J].中国生育健康杂志,2020,31(3):243-245.
 [2] 陈海燕,戴玉娟,李兴文,等.宫颈长度与双胎自发性早产的相关性研究[J].中国超声医学杂志,2019,35(9):820-823.
 [3] 耿倩,常颖.早产炎症病因的研究进展[J].国际妇产科学杂志,2018,45(1):19-22.
 [4] 丰有吉.实用妇产科学(精)[M].人民卫生出版社,2013.
 [5] Castro AZ, Moreira AR, Oliveira J, et al. Clinical impact and cost analysis of the use of either the Xpert MTB Rif test

or sputum smear microscopy in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in Rio de Janeiro, Brazil[J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2018, 51(5):631-637.
 [6] 方霞.妇产科临床早产危险因素[J].中国社区医师,2020,36(26):23-24.
 [7] 廖华.自发性早期早产的治疗进展[J].实用妇产科杂志,2016,32(8):581-584.
 [8] Ravi M, Beljorie M, El Masry K. Evaluation of the quantitative fetal fibronectin test and PAMG-1 test for the prediction of spontaneous preterm birth in patients with signs and symptoms suggestive of preterm labor[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2019, 32(23):3909-3914.
 [9] Czuczwar P, Stepniak A, Szkodziak P, et al. Amenorrhea after chemoembolization and suction curettage of caesarean scar pregnancy[J]. Ginekologia polska, 2017, 88(11):637-638.
 [10] 张云,汪亚丽,吴颖佳. PAPP-A、fFN、抑制素 A 联合检测预测先兆流产结局的效果研究[J].中国妇幼保健,2019,34(24):5734-5737.
 [11] 李燕,张金玲,安文茜,等.宫内感染产妇血清及羊水 MMP-2、MMP-9 含量与新生儿脑损伤的相关性分析[J].中国医师杂志,2020,22(4):574-576.
 [12] 张秀玲,杨晓静,范引侠,等.ox-AAT、HMGB1、MMP-9 在胎膜早破孕妇中的表达及意义[J].现代生物医学进展,2017,17(30):5929-5932.
 [13] 田恬,王爱芹.牙周炎孕妇龈沟液及血清中 MMP-9 和 MMP-25 检测对早产的预测价值[J].滨州医学院学报,2020,43(2):129-131.
 [14] 付成娟,刘青,刘刚,等.产妇产内感染相关炎症因子与早产儿脑损伤的相关性分析[J].神经损伤与功能重建,2018,13(9):476-478.

(上接第 1573 页)

[8] 张墨轩,赵亚运,司茂飞,等.血管细胞黏附分子-1 在脑膜瘤组织的表达及临床意义[J].中华实验外科杂志,2019,36(7):1326.
 [9] Peng FW, Hong QC, Chuan BZ, et al. Molecular and clinical characterization of PTPN2 expression from RNA-seq data of 996 brain gliomas[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1):145.
 [10] 盛旭东,李文,张俊锋,等. RNA 干扰抑制癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 表达对人脑胶质瘤 SHG44 细胞化疗敏感性的影响[J].实用医学杂志,2019,47(16):132-135.
 [11] 孙茹.端粒保护蛋白 TRF2 在肿瘤发生和治疗中作用机制的研究进展[J].中国肿瘤临床,2017,54(16):2345-2347.
 [12] 高飞,张立翔,姚研. MACC1 和 CIP2A 蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义[J].实用预防医学,2018,25(1):107-110.
 [13] Pradip D, Yuliang S, Jennifer C, et al. Abstract 1348: GDC-0032, a p110 beta sparing PI3K inhibitor is highly efficient on PIK3CA-mutated and HER2-amplified breast cancer model [J]. cancer Res, 2017, 77(13):1348-1348.

[14] 刘莉,孔梅. CIP2A、IGF-2、PCNA、NGF 及 c-Myc 在老年胶质瘤中的表达及其与预后的关系[J].癌症进展,2017,14(9):1324-1326.
 [15] Nadia F, Ackerman NL, Fuente RLDL, et al. Dosimetric evaluation of radionuclides for VCAM-1-targeted radionuclide therapy of early brain metastases [J]. Theranostics, 2018, 8(1):292-303.
 [16] Cheng V, Soto MS, Khrapitchev AA, et al. VCAM-1-targeted MRI Enables Detection of Brain Micrometastases from Different Primary Tumors[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(2):4987.
 [17] 严立冬,桂卉,杨卓顺,等.上调细胞周期相关蛋白-1 的表达对脑胶质瘤 U251 细胞的增殖和迁移能力的影响[J].医学研究生学报,2018(1):13-18.
 [18] Bejarano L, Schuhmacher AJ, Méndez M, et al. Inhibition of TRF1 Telomere Protein Impairs Tumor Initiation and Progression in Glioblastoma Mouse Models and Patient-Derived Xenografts[J]. Cancer Cell, 2017, 32(5):590-607.

美托洛尔治疗扩张型心肌病慢性心力衰竭的临床价值分析

周政* 刘高俊 刘超

[摘要] **目的** 分析美托洛尔治疗扩张型心肌病慢性心力衰竭疗效及对患者血浆 Periostin 蛋白水平和心功能的影响。**方法** 选取本院2018年4月至2019年10月收治的92例DCM慢性心力衰竭患者的临床资料,根据患者治疗方案的不同将其分为对照组和观察组,给予对照组常规方法治疗。观察组患者在此基础上加用美托洛尔进行治疗,比较两组患者的临床治疗效果及治疗前后心功能的变化,分析不同患者治疗前后血浆 Periostin 蛋白、血浆脑钠肽、高敏肌钙蛋白T水平。**结果** 临床疗效:治疗后,观察组总有效率为91.30%;对照组46例患者总有效率为76.09%,观察组总有效率明显优于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。心功能情况:治疗前,各项心功能指标比较($P>0.05$)。治疗后,两组LVEDD、LVESD、LVEF水平均有明显改善,而观察组改善情况显著高于对照组($P<0.05$);治疗前,两组患者的血浆 Periostin、BNP及Hs-cTnT水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,两组患者的血浆 Periostin、BNP及Hs-cTnT水平显著降低,且观察组上述指标均明显低于对照组($P<0.05$)。**结论** 美托洛尔治疗对DCM慢性心力衰竭患者临床治疗效果显著,可有效改善患者心功能,降低患者血浆 Periostin 蛋白水平,值得广泛应用。

[关键词] 扩张型心肌病慢性心力衰竭;血浆 Periostin 蛋白;美托洛尔;心功能

Analysis of the clinical value of metoprolol in the treatment of chronic heart failure caused by dilated cardiomyopathy

ZHOU Zheng*, LIU gaojun, LIU Chao

(The Fourth People's Hospital of Sichuan Province, Chengdu, Sichuan, China, 610000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the efficacy of metoprolol in the treatment of dilated cardiomyopathy of chronic heart failure and its effect on plasma periostin protein level and cardiac function. **Methods** The clinical data of 92DCM patients with chronic heart failure admitted to our hospital from April 2018 to October 2019 were selected. The patients were divided into the control group and the observation group according to different treatments, and the control group was treated with conventional treatment. The observation group was supplemented with metoprolol. The clinical effects and the changes of cardiac function before and after treatment between the two groups were compared. The level of plasma periostin protein, brain natriuretic peptide and high-sensitivity troponin T were analyzed before and after treatment. **Results** Clinical efficacy: After treatment, the total effective rate of the observation group was 91.30%; the total effective rate of the control group in the 46 patients was 76.09%, and the total effective rate of the observation group was significantly better than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Cardiac function: Before treatment, the indexes of cardiac function were compared ($P>0.05$). After treatment, the levels of LVEDD, LVESD, and LVEF significantly improved in 2 groups, while the improvement in the observation

基金项目:四川省科学技术厅科技计划重点研发项目(2017FZ0042)

作者单位:四川省第四人民医院,四川,成都 610000

*通信作者:周政, E-mail:49048032@qq.com

group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). ③ Before treatment, there were no significant differences in levels of plasma periostin protein, BNP and Hs-cTnT between the two groups ($P > 0.05$). After treatment, the levels of plasma periostin protein, BNP and Hs-cTnT significantly reduced in the two groups, and all of them in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). Conclusion Metoprolol therapy has a significant clinical treatment effect on patients with DCM and chronic heart failure, which can effectively improve the heart function of patients and reduce the level of plasma periostin protein in patients, which is worthy of wide application.

[KEY WORDS] Dilated cardiomyopathy of chronic heart failure; Plasma periostin protein; Metoprolol; Cardiac function

扩张型心肌病(Dilated cardiomyopathy, DCM)是临床较为常见的一种心肌疾病,主要以心腔扩大、心肌收缩功能障碍为特征^[1]。该病病因至今尚未明确,目前已发现本病与下列因素有关:病毒感染、遗传和基因、细胞免疫、血管活性物质与心肌微血管痉挛、代谢异常、中毒等^[2-3]。该病好发年龄为30~50岁,男性患者多于女性,起病较为缓慢,临床表现为各种类型的心律失常、心力衰竭^[4]。美托洛尔属于2A类即无部分激动活性的 β 1-受体阻断药,对治疗心力衰竭伴有心动过速者有一定的作用,其次用于心律失常、特发性扩张型心肌病患者也具有较高的价值。既往有研究显示, β 1-受体阻断药已经成为临床上治疗DCM的有效药物之一^[5]。血浆Periostin蛋白主要由心肌成纤维细胞表达,直接分泌^[6]。心肌纤维化是DCM患者心衰进展的重要病理生理基础。而在临床上,慢性心力衰竭是导致DCM患者住院、就诊的主要原因。故本组研究将分析美托洛尔治疗扩张型心肌病慢性心力衰竭疗效及对患者血浆Periostin蛋白水平和心功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2018年4月至2019年10月收治的92例DCM慢性心力衰竭患者作为研究对象,根据治疗方案的不同分为对照组和观察组,每组各46例。对照组:男性26例,女性20例;年龄36~70岁,平均年龄为(56.34±7.09)岁。观察组:男性25例,女性21例;年龄34~70岁,平均年龄为(55.06±6.37)岁。纳入标准:①符合慢性心力衰竭的诊断标准者^[7];②影像学资料和病理资料完整;③既往重大无手术史;④患者均签署知情同意书。排除标准:①急性心力衰竭等禁忌证及不能耐受者;②心动过缓;③患有精神疾病者;④严重肾功能

不全者。

1.2 方法

对照组患者进行强心剂、 β -受体阻断剂、利尿剂以及血管紧张素转化酶抑制剂等常规方法治疗。观察组除进行常规治疗之外,再使用美托洛尔(阿斯利康公司生产,25 mg/片,国药准字H32025391)联合治疗,7 mg为起始剂量,每日2次,药物剂量可根据患者的治疗情况进行调整,最大剂量不要超过100 mg/d。采用超声心动图测量患者治疗前后的左室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF),左室舒张末期内径(Left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末期内径(Left ventricular end systolic diameter, LVESD)。3周随访1次,注意观察患者心率、收缩压、舒张压及心电图。

各临床指标检测:空腹抽取患者5 mL静脉血,置于EDTA抗凝管中,随后离心收集血浆,放置-20℃的冰箱保存,采用酶联免疫吸附测定方法检测Periostin水平。血浆脑钠肽(Brain Natriuretic Peptide, BNP)、高敏肌钙蛋白T(High sensitivity troponin T, Hs-cTnT)采用电化学发光免疫分析仪检测。

1.3 观察指标

比较不同组别患者的临床疗效及治疗前后患者的心功能变化,分析两组患者治疗前后的血浆Periostin蛋白水平。临床疗效根据《心力衰竭诊断与治疗指南》中的标准^[8]评定,显效:治疗后,患者心功能等级不低于2级;有效:治疗后,患者心功能等级提高1级或以上;无效:治疗后临床症状、体征、心功能等级均无任何改变。

1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组别患者临床资料比较

两组患者在性别、平均年龄、体重指数、吸烟史、高血压史比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

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

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

组别	性别 (男/女)	平均 年龄	体重 指数	吸烟史	高血压
对照组 ($n=46$)	26/20	56.34±7.09	7.32±1.89	20(43.48)	16(34.78)
观察组 ($n=46$)	25/21	55.06±6.37	7.46±1.99	16(34.78)	18(39.13)
t/χ^2 值	0.044	0.644	0.245	0.730	0.187
P 值	0.834	0.523	0.808	0.393	0.666

2.2 两组别患者临床治疗效果比较

治疗后,观察组总有效率明显高于对照组,两组比较差异显著($P<0.05$)。见表2。

表2 两组别患者临床治疗效果比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of clinical treatment effect of 2 groups of patients ($\bar{x}\pm s$)

组别	显效	有效	无效	总有效率
对照组($n=46$)	20(43.48)	15(32.61)	11(23.91)	35(76.09)
观察组($n=46$)	24(52.17)	18(39.13)	4(8.70)	42(91.30)
χ^2 值	0.348	0.425	3.903	3.903
P 值	0.555	0.514	0.048	0.048

2.3 两组别患者治疗前后心功能情况比较

治疗前,两组患者的心功能各项指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,观察组心功能改善情况与对照组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组心功能情况比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of cardiac function between the 2 groups [$n(\%)$]

组别	时间	LVEDD (mm)	LVESD (mm)	LVEF
对照组 ($n=46$)	治疗前	59.51±3.35	46.25±3.51	37.07±2.51
	治疗后	56.21±3.49 ^a	40.16±2.46 ^a	42.26±4.05 ^a
观察组 ($n=46$)	治疗前	59.64±3.47	45.09±3.55	36.62±2.40
	治疗后	50.54±3.28 ^{ab}	33.17±2.09 ^{ab}	47.64±4.97 ^{ab}

2.4 两组患者治疗前后血浆 Periostin、BNP 及 Hs-cTnT 水平比较

治疗前,两组患者的血浆 Periostin、BNP 及

Hs-cTnT 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,两组患者的血浆 Periostin、BNP 及 Hs-cTnT 水平显著降低,且观察组上述指标均明显低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 两组患者治疗前后血浆 Periostin、BNP 及 Hs-cTnT 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of plasma levels of Periostin, BNP and HS cTnT between the 2 groups before and after treatment ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	Periostin (ng·L ⁻¹)	BNP (pg/mL)	Hs-cTnT (ng/mL)
对照组 ($n=46$)	治疗前	103.24±16.67	1031.10±31.52	0.041±0.0025
	治疗后	81.69±10.07	568.21±22.10	0.011±0.0011
观察组 ($n=46$)	治疗前	105.78±17.41	1042.41±33.51	0.045±0.0023
	治疗后	74.31±7.29	301.20±19.52	0.008±0.0090

2.5 不良反应

两组患者均未出现严重不良反应,观察组患者治疗后,仅发生1例恶心、1例口干,不良反应发生率为8.70%(2/23)。

3 讨论

心力衰竭为一复杂的临床综合征,为各种心脏病的严重和终末阶段,发病率高,已经成为21世纪最重要的心血管病症之一。慢性心力衰竭是由于任何原因的初始心肌损伤,从而导致患者的心脏功能和结构发生变化,最后导致心室一系列功能下降^[9]。慢性衰竭已经逐渐成为我国公共卫生的突出问题;根据以往国内进行的一项大规模心力衰竭流行病学调查显示:心衰患病率已达0.9%^[10]。导致慢性心力衰竭发生的原因有冠心病、高血压等,DCM是除这两种原因之外导致慢性心力衰竭的主要原因之一^[11]。临床在治疗DCM慢性心力衰竭的原则上同其他原因导致的充血性慢性心力衰竭的治疗原则基本一致^[12-13]。

以往认为慢性心力衰竭是通过治疗之后也无法痊愈的一种疾病,因为临床上以往治疗心力衰竭的药物只能暂时改善患者的临床症状,无法延长患者的生存率。潘金生^[14]等研究表明,利用 β -受体阻断药治疗慢性心衰患者,可有效改善其心功能,抑制内分泌系统激活,降低心肌耗氧量,缓解疾病的进展^[15]。美托洛尔是一种常用的心脏选择性 β -受体阻断药能抑制心脏和血管重构,有效减慢患者的心率,减少心肌耗氧量,降低

患者心源性猝死的几率^[16]。对于DCM慢性心力衰竭患者具有良好的治疗作用,可有效降低血浆 Periostin、BNP及Hs-cTnT水平和改善心功能^[17]。因此可有效评估DCM慢性心力衰竭患者的预后情况。

除美托洛尔外,螺内酯、卡维地洛、普伐他汀、伊那普利等均是临床上治疗慢性心力衰竭的药物。刘伟^[18]研究分析了卡维地洛联合依那普利治疗老年慢性心力衰竭的疗效,结果显示,两者联合治疗的总有效率明显高于单一依那普利,可显著改善患者心功能。白芸^[19]等研究探讨了美托洛尔联合贝那普利治疗慢性充血性心力衰竭患者心功能及血浆N-末端B型利钠肽原(NT-proBNP)水平的影响,研究结果表明,两种药物联合使用可提高患者运动耐力,改善其心功能,缓解心衰。本研究基于上述文献,分析了美托洛尔治疗扩张型心肌病慢性心力衰竭的临床价值,结果显示,观察组患者的LVEF水平明显增加,LVEDD和LVESD水平明显缩小,与文献报道基本一致。说明使用美托洛尔治疗DCM慢性心力衰竭患者能显著提高治疗的效果。使用美托洛尔的患者血浆Periostin水平下降幅度较常规治疗的大。李善淑^[20]等研究显示,Periostin蛋白可为今后心衰的诊断、治疗、预后提供临床价值。本组研究结果显示,治疗后,两组患者血浆Periostin水平均有所下降,但观察组患者的血浆Periostin水平明显低于对照组。更进一步证实了美托洛尔在治疗DCM慢性心力衰竭中的价值。

综上所述,采用美托洛尔可有效治疗DCM慢性心力衰竭患者,改善患者心功能,降低患者血浆Periostin蛋白水平,值得广泛应用。

参考文献

[1] 贾敏, 张晓辉, 张淑苗, 等. 2013-2017年慢性肺源性心脏病文献计量学分析[J]. 预防医学情报杂志, 2019, 35(5): 516-520.

[2] 袁小媚, 王文艳, 孔洪. 扩张型心肌病患者应用左西孟旦临床疗效研究[J]. 职业卫生与病伤, 2017, 32(6): 372-375.

[3] 侯磊. 多巴酚丁胺联合参附注射液治疗扩张型心肌病心力衰竭的效果观察[J]. 保健医学研究与实践, 2017, 14(2): 70-72.

[4] 刘南朝, 周有华. 曲美他嗪联合瑞舒伐他汀对老年缺血性心肌病心力衰竭患者心功能及N-脑钠肽前体的影响[J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12(3): 124-126.

[5] 王海燕, 王海霞, 尹黎英, 等. 小剂量螺内酯联合美托洛尔对慢性心力衰竭患者血浆N-末端脑钠肽前体C反应蛋白水平及心功能的影响[J]. 中国药物与临床, 2015, 14(4): 532-533.

[6] 盖郁博, 李春媛, GAIYu-bo, 等. 芪苈强心胶囊联合美托洛尔对慢性心力衰竭患者的疗效及血浆脑钠肽和高敏肌钙蛋白T的影响[J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(11): 92-94.

[7] 许顶立, 马壮. 2018英国国家卫生与临床优化研究所成人慢性心力衰竭诊断与管理指南更新解读[J]. 中国全科医学, 2019, 22(17): 2015-2019.

[8] Jiang-Jin Li, Xiao-Li Xiang, Xiao-Yi Tian, et al. Clinical Research on Brain Natriuretic Peptide Guiding the Application of β 1 Receptor Blocker in Patients with Moderate to Severe Heart Failure[J]. Acta Cardiologica Sinica, 2015, 31(1): 52-58.

[9] 齐洪娜, 关玉龙, 张玮, 等. 大株红景天注射液联合美托洛尔对慢性心力衰竭患者氧化应激及心功能的影响[J]. 中国心血管病研究, 2016, 14(1): 59-63.

[10] 罗世强, 严提珍, 唐宁, 等. 采用多重连接依赖式探针扩增技术对先天性心脏病患儿进行基因拷贝数变异分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015, 7(1): 33-37.

[11] 房慧娟, 韩波, 朱梅, 等. 扩张型心肌病患者外周血抗 β 1肾上腺素能受体抗体与结缔组织生长因子表达的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(1): 30-33.

[12] 邹长虹, 黄燕, 周琼, 等. 分析住院扩张型心肌病患者长期随访期间超声指标的变化对预后的影响[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(z1): 80-81.

[13] Vincent Yi-Fong Su, Yu-Sheng Chang, Yu-Wen Hu, et al. Carvedilol, Bisoprolol, and Metoprolol Use in Patients With Coexistent Heart Failure and Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. Medicine, 2016, 95(5): e2427.

[14] 潘金生, 刘应才, 王耀辉, 等. 美托洛尔对扩张型心肌病患者外周血单个核细胞炎症细胞因子表达和核转录因子 κ B/p65活化的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2016, 31(11): 1142-1145.

[15] 田辉, 李龙, 邓维杰. 美托洛尔联合螺内酯治疗慢性心功能不全的疗效及对心功能与血浆NT-proBNP水平的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(13): 4605-4608.

[16] Alireza Nazeri, MacArthur A. Elayda, Ana Maria Segura, et al. Comparative Efficacy of Nebivolol and Metoprolol to Prevent Tachycardia-Induced Cardiomyopathy in a Porcine Model [J]. Texas Heart Institute Journal, 2016, 43(6): 477-481.

[17] 陆铭, 蒋庆渊, 刘春兰, 等. 美托洛尔缓释片对慢性心力衰竭患者炎症因子及心功能的影响[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(10): 977-980.

[18] 刘伟. 卡维地洛联合依那普利对老年慢性心力衰竭的疗效评价[J]. 医学综述, 2015, 21(6): 1146-1148.

[19] 白芸, 龙启福. 美托洛尔联合贝那普利对慢性充血性心力衰竭患者心功能及NT-proBNP水平的影响[J]. 药物评价研究, 2017, 40(11): 1601-1605.

[20] 李善淑, 杨国杰, 李栋博, 等. 扩张型心肌病慢性心力衰竭患者血浆Periostin蛋白水平的变化[J]. 临床心血管病杂志, 2018, 34(8): 45-48.

PCI术后肺部感染患者血清 miR-146a、Galectin-3 表达及与抗感染疗效的关系

林强^{1*} 魏天龙² 罗练³ 陈瑜瑾⁴ 李翔¹

[摘要] 目的 探讨经皮冠状动脉介入治疗(Percutaneous coronary intervention, PCI)术后肺部感染患者血清 miR-146a、半乳糖凝集素-3(Galectin-3)表达及与抗感染疗效的关系。方法 选取本院收治的 507 例 PCI 术患者作为研究对象,根据有无肺部感染分为感染组($n=76$)和未感染组($n=431$)。比较两组不同时间血清 miR-146a、Galectin-3、肺部感染评分(Clinical pulmonary infection score, CPIS)、急性生理和慢性健康(APACHE II)评分,分析各指标诊断价值。结果 术后 1、3、7 d 感染组血清 miR-146a、Galectin-3 水平高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$);术后 1、3、7 d 感染组 CPIS、APACHE II 评分高于未感染组($P<0.05$);术后 3 d 血清 miR-146a、Galectin-3 与术后 3 d CPIS 评分、APACHE II 评分呈正相关($P<0.05$);术后 3 d miR-146a、Galectin-3 联合诊断 PCI 术后肺部感染的 AUC 值大于任一指标单独检测($P<0.05$);术后 1、3、7 d 有效患者血清 miR-146a、Galectin-3 水平低于无效患者($P<0.05$)。结论 PCI 术后肺部感染患者血清 miR-146a、Galectin-3 表达与 CPIS、APACHE II 评分关系密切,可作为临床诊断的客观依据,且高表达患者常规抗感染治疗效果欠佳,临床需结合其表达情况早期调整治疗方案以促进病情转归。

[关键词] 经皮冠状动脉介入治疗;肺部感染;miR-146a;半乳糖凝集素-3;受试者工作曲线

Expression of serum miR - 146a and Galectin - 3 in patients with pulmonary infection after PCI and their relationship with anti-infection efficacy

LING Qiang^{1*}, WEI Tianlong², LUO Lian³, CHEN Yujin⁴, LI Xiang¹

(1. Department of Cardiology, Luzhou people's Hospital, Luzhou, Sichuan, China, 646000; 2. Department of Cardiology, Mianyang 404 hospital, Mianyang, Sichuan, China, 621000; 3. Department of Cardiology, Chengdu 363 hospital, Chengdu, Sichuan, China, 610000; 4. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, China, 646000)

[ABSTRACT] Objective To explore the relationship between serum miR - 146a and Galectin - 3 expression in patients with pulmonary infection after percutaneous coronary intervention (PCI) and their anti-infective efficacy. Methods A total of 507 patients who underwent PCI in our hospital were selected as the research subjects. They were divided into an infected group ($n=76$) and an uninfected group ($n=431$) according to the presence or absence of pulmonary infection. The serum miR - 146a, Galectin - 3, clinical pulmonary infection score (CPIS), acute physiology and chronic health (APACHE II) score were compared between the two groups at different times, and the diagnostic value of each index was analyzed. Results The levels of serum miR-146a and Galectin-3 in the infected group were higher than those in the uninfected group at 1 day, 3 days, and 7 days after operation, and the difference was statistically significant ($P<0.05$); the CPIS and

基金项目:四川省预防医学会医院感染预防与控制研究基金资助项目(SCGK2015007)

作者单位:1. 泸州市人民医院心内科,四川,泸州 646000

2. 绵阳 404 医院心内科,四川,绵阳 621000

3. 成都 363 医院心内科,四川,成都 610000

4. 西南医科大学附属第一医院心内科,四川,泸州 646000

*通信作者:林强, E-mail: 1393718578@qq.com

APACHE II scores in the infected group were higher than those in the uninfected group on 1 day, 3 days, and 7 days after operation ($P<0.05$); serum miR-146a and Galectin-3 at 3 days postoperatively were positively correlated with CPIS score and APACHE II score at 3 days postoperatively ($P<0.05$); at 3 days after operation, the AUC value of miR-146a and Galectin-3 combined to diagnose pulmonary infection after PCI was greater than that of any indicator alone ($P<0.05$); serum miR-146a and Galectin-3 levels of effective patients were lower than those of ineffective patients on 1 day, 3 days, and 7 days after operation ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of serum miR-146a and Galectin-3 in patients with pulmonary infection after PCI is closely related to the CPIS and APACHE II scores, which can be used as an objective basis for clinical diagnosis. Moreover, the effect of conventional anti-infective therapy in patients with high expression is not good, and the clinical need to adjust the treatment plan in combination with its expression in order to promote the outcome of the disease.

[KEY WORDS] Percutaneous coronary intervention; Pulmonary infection; miR-146a; Galectin-3; Receiver operating curve

经皮冠状动脉介入治疗(Percutaneous coronary intervention, PCI)术是当前治疗心肌梗死常用手段,可迅速疏通狭窄、闭塞血管管腔,改善心肌血流灌注。PCI术虽具微创性,但仍属侵入性操作,不同程度损害冠脉引发局部炎症反应,加之此类患者多为中老年群体,且常伴多种基础疾病,自身免疫功能弱,而呼吸系统与外界联通,PCI术后易发生肺部感染,影响病情康复^[1]。目前临床主要采取肺部感染评分(CPIS)、急性生理和慢性健康(APACHE II)评分系统评价PCI术后肺部感染病情程度以指导治疗,但其共性易受评价者主观因素影响,缺乏病情分级客观依据^[2]。近年,miRNA作为全新的基因调控分子已被医学界所认识,有研究证实,miR-146a在气道、血管局部炎症反应中发挥关键作用,可能参与炎性疾病病理生理过程^[3];Galectin-3已被临床应用于感染性疾病严重程度的评价,但鲜见有关PCI术后,尤其伴肺部感染方面的评价,本研究对此探究,旨在明确PCI术后肺部感染患者血清miR-146a、Galectin-3表达,为临床合理治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2019年12月我院收治的507例行PCI术患者作为研究对象,根据有无肺部感染分为感染组($n=76$)和未感染组($n=431$)。纳入标准:急性心肌梗塞患者;经冠状动脉造影检查存在不同程度冠状动脉狭窄情况;均行PCI术;患者、家属知情研究,签署同意书。排除标准:入组前已伴感染性疾病者;伴其他部位感染者;存在免疫系统缺陷者;合并恶性肿瘤疾病者;存在肝肾功能障碍者。两组年龄、性别、体质指数、合并症、PCI术用时、手术类型等基础资料均衡可比($P>0.05$),见表1。本研究经本院医学伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

所有患者入院均了解胸痛情况,完善心电图相关检查,常规予以抗血小板、抗凝、原发疾病治疗等,根据病情特征选择急诊手术或择期手术。PCI术采取标准方案实施,术后继续予以抗凝、抗

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

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

一般资料	感染组($n=76$)	未感染组($n=431$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	58.64±5.31	57.65±5.11	1.188	0.235
性别				
男	43(56.58)	219(50.81)		
女	33(43.42)	212(49.19)	0.860	0.354
体质指数(kg/m ²)	21.03±0.85	20.96±0.83	0.676	0.500
合并症				
高血压	15(19.74)	64(14.85)	1.173	0.279
高血脂	12(15.79)	51(11.83)	0.929	0.335
脑血管疾病	10(13.16)	30(6.96)	3.415	0.065
PCI术用时(min)	25.41±3.05	25.16±3.11	0.648	0.517
手术类型				
急诊手术	44(57.89)	256(59.40)		
择期手术	32(42.11)	175(40.60)	0.060	0.806

血小板等对症支持治疗。感染患者符合《肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识(2017年版)》^[4]诊断标准,早期均经验性予以抗感染治疗,待得出病原体培养结果针对性予以抗感染治疗,同时注意维持酸碱、水电解质平衡。

1.2.2 检测方法

miR-146a检测:均于晨空腹以真空管取新鲜抗凝血2 mL,采取人外周血淋巴细胞分离液,收集淋巴细胞,加TRIzol置液氮保存备用;检测用实时定量PCR试剂盒(上海通蔚实业有限公司)测miR-146a水平。Galectin-3检测:均于晨空腹以真空管取新鲜抗凝血2 mL,离心(半径8 cm,转速3 500 r/min)取血清,以上海通蔚实业有限公司Galectin-3酶联免疫试剂盒测Galectin-3水平。

1.3 观察指标

①对比两组术前、术后1、3、7 d血清miR-146a、Galectin-3水平。②对比两组术前、术后1、3、7 d肺部感染评分(CPIS)、急性生理和慢性健康(APACHE II)评分。CPIS评分^[5]:包括白细胞计数、体温、气管分泌物、氧合情况、肺部浸润影进展、X线胸片、气管吸分泌物培养,共7项,最高分12分,得分越高症状越严重,≤6分可停用抗菌药物;APACHE II评分:包括直肠温度、平均动脉压、心率、呼吸频率等,共71分,17分以上属重症。③分析血清miR-146a、Galectin-3水平与CPIS评分、APACHE

II评分相关性。④分析血清miR-146a、Galectin-3单独及联合诊断PCI术后肺部感染的价值。⑤对比不同抗感染疗效患者术后1、3、7 d血清miR-146a、Galectin-3水平。疗效标准^[6]:有效:发热、咳嗽、气促、肺啰音等症状缓解或完全消失,胸片示肺部炎症吸收;无效:症状、体征未改善。

1.4 统计学处理

采用SPSS 21.0统计分析软件,计数资料以例数描述,采用 χ^2 检验,计量资料采取Bartlett方差齐性检验与Kolmogorov-Smirnov正态性检验,均确认具备方差齐性且近似服从正态分布,以平均数±标准差描述,两组间比较采用独立样本t检验。ROC曲线分析诊断价值。Pearson相关性系数分析相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组各血清表达、CPIS、APACHE II评分

感染组术后1、3、7 d血清miR-146a、Galectin-3水平、CPIS、APACHE II评分高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),不同时间点比较,感染组术后1、3、7 d血清miR-146a、Galectin-3水平、CPIS、APACHE II评分高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),感染组和未感染组术后3 d血清miR-146a、Galectin-3水平、CPIS、APACHE II评分均高于术前、术后1、7 d($P<0.05$)。见表2。

表2 两组各血清表达($\bar{x}\pm s$)
Table 2 The expression of serum of the two groups ($\bar{x}\pm s$)

指标	组别	n	术前	术后1 d	术后3 d	术后7 d
miR-146a	感染组	76	3.99±1.20	6.01±1.80	7.64±2.30	5.23±1.57
	未感染组	431	3.78±1.13	4.21±1.23	5.34±1.60	3.66±0.33
	F _{组间} (P)			37.256(<0.001)		
	F _{时间} (P)			12.711(<0.001)		
	F _{交互} (P)			9.433(<0.001)		
Galectin-3 (ng/mL)	感染组	76	15.02±4.31	21.61±6.08	27.12±8.14	17.73±5.32
	未感染组	431	14.33±4.28	15.53±4.65	18.98±5.70	12.41±3.73
	F _{交互} (P)			25.834(<0.001)		
	F _{组间} (P)			16.924(<0.001)		
	F _{时间} (P)			11.558(<0.001)		
CPIS 评分	感染组	76	5.33±0.78	6.12±0.69	7.33±0.65	6.08±0.54
	未感染组	431	5.42±0.69	5.64±0.71	6.02±0.77	5.47±0.61
	F _{组间} (P)			17.337(<0.001)		
	F _{时间} (P)			8.694(<0.001)		
	F _{交互} (P)			10.210(<0.001)		
APACHE II 评分	感染组	76	4.54±1.02	5.58±1.23	7.26±1.19	6.89±1.21
	未感染组	431	4.49±1.13	4.62±1.07	5.33±1.24	4.56±1.11
	F _{组间} (P)			14.629(<0.001)		
	F _{时间} (P)			17.238(<0.001)		
	F _{交互} (P)			10.921(<0.001)		

2.2 各血清指标与 CPIS、APACHE II 评分相关性

以相关系数 $r > 0.6$ 为准, 术后 3 d 血清 miR-146a、Galectin-3 与术后 3 d CPIS 评分、APACHE II 评分呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各血清指标与 CPIS、APACHE II 评分相关性

指标	miR-146a		Galectin-3		
	r 值	P 值	r 值	P 值	
CPIS 评分	术后 1 d	0.481	<0.05	0.485	<0.05
	术后 3 d	0.511	<0.05	0.451	<0.05
	术后 7 d	0.504	<0.05	0.446	<0.05
APACHE II 评分	术后 1 d	0.502	<0.05	0.474	<0.05
	术后 3 d	0.499	<0.05	0.513	<0.05
	术后 7 d	0.513	<0.05	0.462	<0.05

2.3 ROC 分析各指标单一及联合诊断价值

分别绘制术后 3 d miR-146a、Galectin-3 单独及联合诊断 PCI 术后肺部感染的 ROC 曲线, 得到 AUC 值依次为两者联合 > 术后 3 d miR-146a > 术后 3 d Galectin-3。见图 1、表 4。

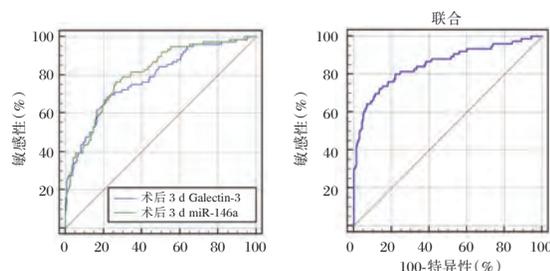


图 1 各指标单一及联合诊断价值的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of the single and combined diagnostic value of each index

表 4 ROC 分析各指标单一及联合诊断价值

Table 4 ROC analysis of the single and combined diagnostic value of each index

指标	AUC	95%CI	临界值	敏感度 (%)	特异度 (%)
术后 3 d miR-146a	0.805	0.768~0.839	>6.5	76.32	73.55
术后 3 d Galectin-3	0.781	0.743~0.817	>25.18 ng/mL	68.42	77.96
两者联合	0.853	0.819~0.882	-	72.37	86.08

2.4 不同疗效患者各血清表达

经抗感染治疗, 有效 51 例, 无效 25 例。组间比较, 有效患者术后 1、3、7 d 血清 miR-146a、Galectin-3 水平低于无效患者 ($P < 0.05$), 不同时间点比

较, 有效患者术后 1、3、7 d 血清 miR-146a、Galectin-3 水平低于无效患者 ($P < 0.05$), 有效和无效患者术后 3 d 血清 miR-146a、Galectin-3 水平均低于术前、术后 1、7 d ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 不同疗效患者各血清表达 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Serum expression of patients with different therapeutic effects ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	n	术前	术后 1 d	术后 3 d	术后 7 d
miR-146a	有效	51	3.95±1.28	5.58±1.67	7.05±2.11	4.67±1.41
	无效	25	4.01±1.16	6.89±2.07	8.84±2.07	6.37±1.69
	F _{组间} (P)			14.694 (<0.001)		
	F _{时间} (P)			22.671 (<0.001)		
	F _{交互} (P)			11.558 (<0.001)		
Galectin-3 (ng/mL)	有效	51	14.96±4.49	19.67±5.90	24.96±6.44	15.58±5.03
	无效	25	15.14±4.28	25.57±5.87	31.53±6.69	22.12±4.78
	F _{组间} (P)			8.442 (<0.001)		
	F _{时间} (P)			19.785 (<0.001)		
	F _{交互} (P)			10.227 (<0.001)		

3 讨论

心肌梗死会引起持久且严重的心肌缺血, 此时患者左室收缩功能降低, 易致肺瘀血, 造成肺部毛细血管压升高引起肺水肿, 同时 PCI 术会增加机

体应激刺激而增加肺感染风险^[7]。临床数据显示, PCI 术后肺部感染率约 23.8%, 且同等方案治疗, 疗效存有差异, 部分患者未达预期效果^[8]。

CPIS、APACHE II 评分系统是临床评价肺部感染病情程度及预后的常用工具, 其易受操作者

主观因素影响^[9]。血液学检查具有操作简便、结果客观等优势,本研究发现,感染患者术后1、3、7 d 血清 miR-146a、Galectin-3 水平呈单峰规律变化,与学者 Zhou Y、江伟伟等^[10-11]研究结果近似,主要是因术后 3 d 为感染高发期,一般此阶段予以抗感染治疗,术后 7 d 各指标水平趋于恢复。Galectin-3 是促炎因子家族主要成员,主要由巨噬细胞分泌,可通过激活磷脂酰肌醇-3-蛋白激酶 β 信号途径激活中性粒细胞、黏附及单核细胞,参与、介导炎症反应发生,诱导脉管、气管系统结构异常。病毒性心肌炎小鼠模型研究表明,Galectin-3 可通过抑制免疫反应激活以保护心肌组织细胞免受免疫损害^[12]。基于此,分析 Galectin-3 介导 PCI 术后肺部感染的机制可能是:一方面机体在心肌缺氧、PCI 术操作等应激刺激下激活 Galectin-3 表达系统,发挥心肌保护作用,若刺激持续存在致 Galectin-3 表达失衡可加重炎性损害,增加易感性;另一方面 Galectin-3 过表达抑制免疫活性,机体防御能力降低。miR-146a 是具内源性免疫应答调节作用的基因调控分子。研究显示,miR-146a 高表达可强化单核巨噬细胞对细胞内结核分枝杆菌灭杀能力^[13]。因此,推测 PCI 术后肺部感染时会激活 miR-146a 高表达,以强化巨噬细胞对致病菌吞噬能力,限制感染病情进展。本研究感染组术后外周血 miR-146a 表达均高于术前,术后 3 d 达到峰值,此变化规律与病情转归生理过程相符,上述推測得到证实。

炎症反应在肺部感染中发挥关键作用,而 Galectin-3 作为重要促炎因子,还参与促纤维化反应、诱导成纤维细胞增殖、转化等过程,其过表达会加重肺损害,不利于病情转归。而 miR-146a 表达虽利于清除致病菌,但病理研究显示,miR-146a 参与冠脉粥样硬化病理生理过程,其过表达是心肌损害的潜在独立危险因素^[14]。因此,PCI 术后肺部感染中 miR-146a 可能同时存在表达受抑制状态,且 miR-146a、Galectin-3 对免疫功能具有一定负向调控作用,影响抗感染治疗效果。ROC 曲线分析显示,术后 3 d miR-146a、Galectin-3 联合诊断 PCI 术后肺部感染的 AUC 值 0.853 最大,可

为临床诊疗提供参考依据。但本研究尚未明确 miR-146a、Galectin-3 对免疫功能的负向调控机制,需进一步探究。

参考文献

- [1] Zeymer U. Diagnosis and initial management of acute myocardial infarction[J]. MMW Fortschr Med, 2019,161(4):34-36.
- [2] 苏谦,于真真,郑娟娟.重症监护护理评分系统和急性生理慢性健康状况评价系统 II 对 CICU 的护理人员工作的影响[J]. 国际护理学杂志, 2019,38(8):1030-1033.
- [3] 顾桂芳,丁月平. miR-146a 基因 rs2910164 位点基因多态性与慢性阻塞性肺疾病风险相关性[J]. 浙江中西医结合杂志, 2019,29(11):903-905.
- [4] 中华医学会呼吸病学分会. 肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识(2017年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017,40(8):578-583.
- [5] 谢柏梅,敬梅,路晓艳,等. CPIS 评分及血清 PCT 在慢性阻塞性肺疾病呼吸机相关性肺炎诊断和预后判断中的应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2018,17(15):1617-1620.
- [6] 杨萍,房晴晴,罗琳娜,等. 头孢哌酮钠舒巴坦钠联合左氧氟沙星治疗哮喘并肺部感染患者的临床疗效及其对肺功能的影响[J]. 实用心脑血管病杂志, 2018,26(03):154-156.
- [7] Vylegzhanina AV, Kogan AE, Katrukha IA, et al. Full-Size and Partially Truncated Cardiac Troponin Complexes in the Blood of Patients with Acute Myocardial Infarction[J]. Clin Chem, 2019,65(7):882-892.
- [8] 曹玲,仲悦萍,施金龙,等. 颅内动脉瘤介入术后肺部感染的病原菌分布及其耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(15):2308-2312.
- [9] 丘文清,琚雄飞,刘雪梅,等. 惠州市 5 例人感染 H7N9 禽流感病例临床表现及流行病学特征分析[J]. 华南预防医学, 2015,41(4):353-355.
- [10] Zhou Y, He CH, Yang DS, et al. Galectin-3 Interacts with the CHI3L1 Axis and Contributes to Hermansky-Pudlak Syndrome Lung Disease[J]. J Immunol, 2018,200(6):2140-2153.
- [11] 江伟伟. miRNA-142-3p 对肺泡巨噬细胞炎症过程负向调控研究[D]. 第二军医大学, 2017:1-54.
- [12] 汤道文,程景林,戚金威. 带有 caspase 富集功能域的凋亡抑制因子对急性病毒性心肌炎小鼠心肌的保护作用[J]. 安徽医学, 2016,38(6):667-671.
- [13] 程龙. miR-146a 在结核分枝杆菌感染肺泡 II 型细胞中对 TLRs 信号通路的免疫调控作用研究[D]. 宁夏大学, 2015:1-66.
- [14] 张圆芳. 基于 miR-146a、miR-155 调控 NF- κ B 信号通路探讨芍药甘草汤治疗颈型颈椎病颈肌炎症损伤的作用机制[D]. 福建中医药大学, 2017:1-54.

EB病毒实验室检测技术研究进展

麻婷婷 许四宏 周海卫*

[摘要] EB病毒是一种普遍存在的病原体,主要由口腔分泌物传播,与多种恶性肿瘤密切相关。EBV的检测方法主要包含血清学和分子生物学方法,各种检测方法各有优缺点。实际应用时应根据临床需求选择合适的检测手段,必要时可两种或多种方法联合使用。目前还需要更进一步的证据和共识推动EBV实验室检测技术的标准化,为EBV相关临床病症的诊断和治疗提供更可靠的依据。本文介绍了EBV检测技术现状,为EBV相关疾病的诊断、治疗和预后等提供参考。

[关键词] EBV检测技术;抗体检测;核酸检测

Progress of researches on Epstein-Barr virus laboratory detection technology

MA Tingting, XU Sihong, ZHOU Haiwei*

(Division II of Diagnostic for Infectious Diseases, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, 100050)

[ABSTRACT] Epstein-Barr virus is a ubiquitous pathogen, which is mainly transmitted by oral secretions and is closely related to a variety of malignant tumors. EBV detection methods mainly include serological and molecular biology methods, each of which has advantages and disadvantages. Selection of the appropriate method depends on the clinical needs, and multiple methods can be used in combination when necessary. To provide a more reliable basis and reference for the diagnosis and treatment of EBV-related clinical conditions, further evidence and consensus are needed to promote the standardization of EBV laboratory testing technology. This article introduces the current status of EBV detection technology and provides references for the diagnosis, treatment and prognosis of EBV-related diseases.

[KEY WORDS] EBV detection technology; Antibody detection; Nucleic acid testing

EB病毒(epstein-barr virus, EBV)于1964年在伯基特淋巴瘤(burkitt's lymphoma, BL)的活组织检查中发现并分离^[1]。EBV属于 γ 疱疹病毒亚家族,是9种已被确认的仅感染人类的病毒之一^[2]。EBV为二十面体、十二聚体门户结构(病毒的基因组转位装置)和衣壳相关的表皮复合体结构^[3]。EBV基因组约172 kb,由一个能编码多于85种基因的线性双链DNA分子组成。其编码基因目前已知有6种核抗原(EBV nuclear antigen, EBNA), 3种潜伏膜蛋白(latent membrane protein, LMP), 小非聚腺苷化RNAs, EBV编码的小RNA(EBV

encoded small RNA, EBER)1和2,微小RNA和几种早期裂解基因^[4]。

EBV主要在口咽部上皮细胞增殖,口咽分泌物中存在大量病毒,排毒时间可达数月,某些病毒携带者甚至可间断或持续排毒数年。EBV可感染T淋巴细胞、B淋巴细胞、鼻咽和口咽鳞状上皮细胞、唾液腺和胃腺、甲状腺腺上皮细胞、平滑肌和卵泡树突状细胞等多种细胞和组织。依据国际癌症研究署对致癌因子的分类标准,EBV被列为第一类癌因子^[5]。EBV感染与霍奇金淋巴瘤(hodgkin's lymphoma, HL)、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin

基金项目:国家科技重大专项(2018ZX10102001)

作者单位:中国食品药品检定研究院传染病诊断试剂二室,北京 100050

*通信作者:周海卫, E-mail:zhouhaiwei@nifdc.org.cn

lymphoma, NHL)、BL、鼻咽癌及部分类型胃癌和乳腺癌等有关^[6-8]。EB病毒感染孕妇后,会导致流产、胎死宫内、早产、胎儿畸形及新生儿感染等情况。EBV感染儿童后的主要引发传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)、EBV相关嗜血淋巴组织增多症和X连锁淋巴组织增生综合征等。EBV有多种实验室检测技术,本文主要介绍各种检测技术的特点和预期用途,以便选择有效的方法精准的监测和诊断疾病。

1 EBV 检测技术

EBV在原发感染上皮细胞后,潜伏感染B淋巴细胞^[5]。正常携带者体内,病毒持续存在于记忆B细胞内,开始产生免疫球蛋白^[9]。EBV感染B细胞后,延迟程序相关的基因和转录本会得到表达,使病毒在记忆B细胞中保持休眠状态,在B细胞存在的任意粘膜部位间歇性地激活。EBV进入B细胞后以两种形态存在,第一种是病毒基因组直接整合至宿主基因组上以原病毒形式存在,第二种是以圆形游离态存在于细胞核内,通过表达延迟基因,驱动宿主细胞的延迟和存活。B细胞内延迟基因的表达使其转化为淋巴细胞系而导致形成B细胞源性淋巴瘤。在免疫功能正常的个体内,EBV特异性淋巴细胞发挥作用使病毒的滴度受到抑制^[10]。然而,EBV在上皮细胞裂解期基因表达时,病毒可转为潜伏期基因表达,导致上皮细胞向永久增殖细胞转化,形成上皮细胞源性恶性肿瘤。EBV检测应用主要有以下几方面:①以EBV作为生物标记物诊断和评估肿瘤扩散及治疗监测,②EBV感染疾病的感染阶段分期,③器官移植和免疫缺陷疾病患者的EBV相关疾病的早筛和监测等。目前,EBV的检测方法主要包含血清学和分子生物学方法^[11]。

1.1 EBV 细胞培养检测

细胞培养技术是一种精确的半定量方法,但EBV仅在非洲淋巴瘤细胞、IM患者血液、健康人脑细胞和白血病细胞等培养中繁殖,其生长条件要求比较苛刻,细胞培养技术需要专业人员在特殊实验室里操作,价格昂贵,且培养耗时较长(4~8周)。目前该技术主要用于检测和半定量病毒或潜伏感染的B淋巴细胞;其在临床使用较少。

1.2 EBV 原位杂交检测

原位杂交是检测组织样本中EBV的金标准。EBV的转录本在其感染的肿瘤细胞和IM患者的

淋巴细胞中均得到表达。EBV主要转录本是定位于细胞核或细胞质的EBER1和EBER2。EBER1和EBER2可以抑制干扰素介导的细胞凋亡和抗病毒活性。与处于沉默状态的病毒基因组相比它们有很高的拷贝数,可以作为检测组织样本中EBV潜伏感染的标记物^[12]。原位杂交使用EBV转录本作为标记物。该方法主要依据组织的细胞学和病理学对EBV定位。由于EBV相关的恶性肿瘤在早期已存在,EBER信号也用于相关肿瘤的早期筛查。也可利用EBER信号早期识别由EBV引起的移植后淋巴增生性疾病(post-transplant lymphoproliferative disorder, PTL)及鉴别诊断包括IM、HL和/或NHL的疾病。该方法存在局限性如在口腔毛状粘膜白斑病中,EBV转录本可能会下调。由于RNA降解检测结果可能会出现假阴性。该方法只适用于细胞,操作繁琐耗时,同时需要特殊的技能。

1.3 EBV 嗜异凝集抗体检测

嗜异凝集抗体检测(heterophile antibody test, HAb)是常用的血清学试验,是一种简单但非特异性的检测。HAb依赖于患者的血清或血浆对马、山羊或绵羊红细胞的凝集能力。正常情况下,抗体在IM患者中能检测到,但在许多其他疾病中没有。在EBV感染过程中,85%~90%的成年人和青少年呈阳性,其中约50%在第一周的HAb检测呈阳性^[13]。HAb通常用于原发性和复发性感染的诊断和筛查,它是IM的一种敏感诊断测试。但是该方法存在非特异性,无法与其他原发性疾病(如病毒性肝炎、风疹、疟疾和艾滋病)、恶性肿瘤和自身免疫性疾病区分。只有大约10%~30%的两岁以下儿童和50%的2~5岁儿童呈阳性,因此国内不推荐HAb用于诊断儿童EBV原发性感染引起的IM^[14-15]。

1.4 EBV 特异性抗体检测

人类抵挡病毒入侵的第一道防线是免疫系统,其中的自然杀伤细胞和淋巴细胞发挥主要作用。然而,这种防御系统无法全部摧毁病毒,只可以使病毒维持较低的浓度或处于休眠状态。EBV感染细胞以后,可表达衣壳抗原(viral capsid antigen, VCA)、早期抗原(early antigen, EA)、膜抗原(membrane protein, MA)和EBNA等,每种抗原会表达刺激相应抗体的产生,具体过程参见图1。原发感染过程中VCA首先刺激产生IgM和IgG抗体,IgM抗体在最早出现持续1~2个月,IgG抗体出现较迟持续数年。但原发性感染的儿童和成人

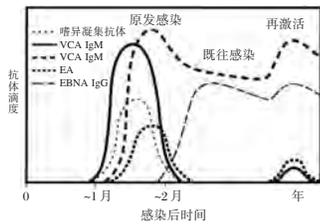


图1 EBV感染后不同抗体的滴度变化^[17]

Figure 1 Titer changes of different antibodies after EBV infection^[17]

并不总是VCA IgM抗体呈阳性^[16]。EA是在病毒进入增殖期初期时形成的抗原,其IgG抗体于发病后3~4周达高峰,可持续3~6个月是新近感染或EBV活跃增殖的标志。MA的IgG抗体和EBNA的IgG抗体于发病后3~4周出现,终生持续存在,均是既往感染的标志。

与HAb相比特异的EBV抗体测试较为繁琐耗时,更昂贵。而且,这些检测需要特殊的底物或抗原。针对EBV抗体(VCA-IgG、VCA-IgM、EBNA-IgG、EBNA-IgM和EA-IgG)有不同类型的特异检测。特异抗体检测在我国鼻咽癌临床检测中应用广泛。《鼻咽癌标志物临床应用专家共识》指出EBV是鼻咽癌标志物中应用最广泛、最成熟的诊断和预后判断标志物^[18]。其中VCA-IgM抗体可以作为急性感染的标志物,适用于病毒感染早期诊断;VCA-IgG抗体可以用于鼻咽癌筛查和早期诊断;NA-IgG抗体的滴度动态监测对鼻咽癌的疗效监测和预后判断有一定作用。多种抗体与DNA联合检测能大大提高鼻咽癌检测的敏感度。EBV抗体检测常规包括免疫荧光法(immunofluorescence assays, IFAs),酶联免疫法(enzyme immunoassays, EIAs)和与化学发光免疫分析法(chemiluminescence immunoassay, CLIA)联合的western blot检测。

IFAs是金标参照法,经常用于检测EBV转化的BL细胞系(如Raji细胞系),EIAs对该检测的特异性与IFAs相似。因利用合成或纯化天然蛋白,EIAs是检测EBV特异性检测的主要方法。IFAs特异性较高,可以推算EBV感染的分期,但其高度可变,缺乏标准化。EIAs更加快速,可以大批量自动化检测,价格较低,但也欠缺标准化。一项研究表明,有些EIAs与参考的IFAs在感染分期方面结果非常一致,因此可能成为金标准IFAs的替代品^[19]。EIAs和IFAs仍需要免疫印迹和特异性IgG抗体的亲和测试辅助诊断测试以确证急性感染或

其他感染阶段。CLIA可以区分原发性感染和复发性感染且敏感度和特异性较好。Western blot具有高特异性,能够从血清中对EBV感染阶段分期,是针对几种抗原的EBV的特异性抗体检测,但是其缺乏缓冲条件及重组抗原和细胞系裂解物的结合的标准且价格昂贵。为了更准确地诊断EBV相关疾病仍需要一些辅助诊断试验如亲和性试验^[20]。

亲和性检测是抗原-抗体复合物与尿素短暂孵育后测定其亲水性。高活性抗体能够与抗原结合,而低活性抗体在添加尿素后亲和性被消除^[21]。亲和性提供了抗体与多价抗原结合强度的信息。特异性抗体检测主要用于确定病毒感染状态又可以用于疾病鉴别诊断;抗VCA-IgG、抗VCA-IgM和抗EBNA-IgG抗体三者的检测结果可以评价患者免疫功能状态及EBV感染的分期^[14]。VCA IgG亲和度检测可以在VCA IgM缺失的情况下区分原发性和既往感染。然而由于母体抗体的存在,亲和性检测不能用于新生儿^[20]。

1.5 EBV核酸载量检测

在过去的20年里,使用核酸扩增技术检测外周血中的EBV载量已经成为诊断和监测免疫缺陷宿主EBV感染和相关疾病的重要工具。实体器官接受者、干细胞移植接受者和其他免疫缺陷宿主中,EBV病毒载量检测可以帮助诊断和管理EBV相关疾病。最重要的限制因素是缺乏定义临床相关断点的数据和适用于所有机构的试验的性能规范。由于EBV载量监测尚未在实验室之间标准化,因此确定载量水平和EBV疾病同这些患者中存在的可能性联系时存在困难。虽然在一个实验室EBV病毒载量结果的连续监控已被证明与疾病结果是一致的,但是不同实验室之间EBV载量测定的结果与疾病的关系无法确定。因此,各机构需要审查其EBV载量的测定结果并将其与临床相关事件相关联,以确定患者的适当阈值。由于各实验室的结果不一致,接受连续监测的患者即使在出院后也需在同一实验室进行病毒载量测量,以确保随时间推移的病毒载量的可靠性。尽管世界卫生组织(world health organization WHO)已建立了第一代EBV核酸国际标准品(NIBSC编号为09/260),我国器审中心也已发布《EB病毒核酸检测试剂注册技术审查指导原则》对试剂研发及生产进行指导,同时行业标准《EB病毒核酸检测试剂盒(荧光PCR法)》也正在制定中,但EBV载量测定仍

需要进一步标准化^[22]。定量聚合酶链反应方法依赖于保守核酸序列的扩增,并利用荧光探针或插入染料来量化目的核酸。由于反应混合物包含在无菌、封闭的容器中,扩增子污染的风险较低。但是,不同实验室间诊断工具、设备和程序的变化可能会使检测结果不同。而且,对于用于研究 EBV-DNA 的理想样本类型(组织、外周血单核细胞、血清或血浆)存在很大争议^[23]。EBV-DNA 的研究对免疫缺陷患者很有价值,因为他们的病毒载量比健康携带者高,特别是对于血清学检测结果阴性或不明确的患者^[24]。此外,EBV-DNA 可在与 EBV 相关的恶性肿瘤患者血液中裂解肿瘤的游离体或病毒粒子中检测到^[24]。除了由于血脑屏障的保护而导致血液水平下降的艾滋病相关脑瘤患者外,检测 EBV-DNA 对 EBV 相关肿瘤患者非常有价值。

2 总结与展望

研究表明 EBV 与肿瘤(免疫细胞性淋巴瘤、BL、HL、NHL 和鼻咽癌)和许多自身免疫性疾病(类风湿关节炎、干燥综合征、系统性红斑狼疮和多发性硬化)存在相关性。上述 EBV 病毒检测方法各有优缺点,应根据实际情况选择合适的检测手段,必要时可将两种或多种方法联合使用,保证检测结果更真实可靠。同时,需要进一步的证据和共识来对程序标准化,如样品类型、制备、引物/探针设计、设备、方案、报告单元和干预阈值。因此,研究者在努力阐明 EBV 相关疾病发病机制和研发保护性疫苗的同时还需要标准化这些指标,为 EBV 相关临床病症的诊断和治疗提供更可靠的依据和参考。

参考文献

[1] Balfour HH Jr, Schmeling DO, Grimm-Geris JM. The promise of a prophylactic Epstein-Barr virus vaccine [J]. *Pediatr Res*, 2020, 87(2):345-352.

[2] Germini D, Sall FB, Shmakova A, et al. Oncogenic Properties of the EBV ZEBRA Protein [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6):1479.

[3] Li Z, Zhang X, Dong L, et al. CryoEM structure of the tegumented capsid of Epstein-Barr virus [J]. *Cell Res*, 2020, 30(10):873-884.

[4] Neves M, Marinho-Dias J, Ribeiro J, et al. Epstein-Barr virus strains and variations: Geographic or disease-specific variants? [J]. *Med Virol*, 2017, 89(3):373-387.

[5] Esau D. Viral Causes of Lymphoma: The History of Epstein-Barr Virus and Human T-Lymphotropic Virus 1 [J]. *Virology (Auckl)*, 2017, 8:1-5.

[6] Iizasa H, Kim H, Kartika AV, et al. Role of Viral and Host microRNAs in Immune Regulation of Epstein-Barr Virus-Associated Diseases [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:367.

[7] 刘春艳, 谢正德. EB 病毒感染相关疾病的实验室诊断 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2016, 31(22):1691-1696.

[8] 郭建巍. EB 病毒感染的核酸检测:标本类型的选择 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2016, 8(3):145-149.

[9] Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(3):803-821.

[10] Hatton OL, Harris-Arnold A, Schaffert S, et al. The interplay between Epstein-Barr virus and B lymphocytes: implications for infection, immunity, and disease [J]. *Immunol Res*, 2014, 58(2-3):268-276.

[11] 张旭. EB 病毒检测及其临床应用的研究进展 [J]. *检验医学*, 2018, 33(3):259-263.

[12] Pathmanathan R, Prasad U, Sadler R, et al. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 1995, 333(11):693-698.

[13] Nagpal B, Sreeshyla H, Kishore A, et al. Evaluation of infectious mononucleosis status among a cohort of dental students [J]. *Int J Adv Med*, 2016, 3(1):116-119.

[14] Dunmire SK, Verghese PS, Balfour HH Jr. Primary Epstein-Barr virus infection [J]. *J Clin Virol*, 2018, 102:84-92.

[15] 谢正德, 刘春艳, 艾军红. EB 病毒感染实验室诊断及临床应用专家共识 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2018, 32(1):2-8.

[16] Sumaya CV, Ench Y. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. II. Heterophil antibody and viral-specific responses [J]. *Pediatrics*, 1985, 75(6):1011-1019.

[17] Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases [J]. *J Mol Diagn*, 2001, 3(1):1-10.

[18] 肖志强. 《鼻咽癌标志物临床应用专家共识》解读 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12(1):14-20.

[19] Gärtner BC, Hess RD, Bandt D, et al. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003, 10(1):78-82.

[20] de Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions [J]. *World J Virol*, 2012, 1(1):31-43.

[21] Niller HH, Bauer G. Epstein-Barr Virus: Clinical Diagnostics [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1532:33-55.

[22] Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, et al. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques [J]. *Biologicals*, 2016, 44(5):423-433.

[23] Kedi W, Dongjiang X, Zhi L, et al. The rational specimen for the quantitative detection of Epstein-Barr virus DNA load [J]. *ClinChem Lab Med*, 2019, 57(5):759-765.

[24] AbuSalah MAH, Gan SH, Al-Hatamleh MAI, et al. Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein-Barr Virus [J]. *Pathogens*, 2020, 9(3):226.

中山大学中山眼科中心特需医疗中心

中山大学中山眼科中心特需医疗中心位于广州市天河区金穗路7号,中山大学中山眼科中心特需医疗中心成立于2002年5月,依托于中山大学中山眼科中心及国家临床重点学科眼科学专业;由特需门诊、特需病区、重症疑难眼病转诊会诊中心、远程转诊会诊中心及干部保健中心等部分组成。在中山眼科中心领导的高度重视和各临床科室及职能科室的大力支持下,特需医疗中心在全院范围内开通了医疗绿色通道,医疗工作采取病区专管与各专科协管的双重管理模式,针对重症疑难眼病组织院内外专家会诊、提供多专科联合诊疗模式,始终秉承“以病人为中心,以医疗质量为核心”的服务理念,配备经验丰富的多个亚专业眼科专家教授和训练有素的护理人员,以顶尖眼科医疗专业技术为依托,配置先进完善的诊疗设备,流程便捷,环境优雅舒适,实施一站式服务,致力于为社会各人士提供“优质、舒适、便捷、创新”的高端眼科医疗服务。

科室近三年主持国家级重点项目2项,国家自然科学基金项目10余项,省部级重大专项多项,项目经费总额近4000万元。获国家科学技术进步二等奖1项,广东省科学技术进步一等奖1项、二等奖1项及三等奖1项,广东省丁颖科技奖2项,广州市科学技术奖励二等奖1项。近年来承担国家自然科学基金项目近10项和省部级科研项目15项。获广东省科学技术奖二等奖1项。获授权国家发明专利8项。发表科研论文200余篇,其中SCI收录文章80余篇。主编及参编专著20余部。近3年共培养50余名博士及硕士毕业生,在读全日制硕士及博士研究生60余名。

学术带头人张少冲教授,二级主任医师,三级教授,博士生导师。中国医师协会眼科学分会眼底病专业委员会常务委员,广东省医师协会眼科学常务委员、眼底病组组长;广东省医学会涉外与特需医疗服务分会副主任委员;广东省眼健康协会防盲治盲专业委员会副主任委员;广东省医学会老年医学分会副主任委员;广东省医学会眼科学分会常务委员;中央保健会诊专家、广东省干部保健专家。中国人民政治协商会议越秀区第十二、十三、十四届委员会委员,哥伦比亚大学眼科研究所访问学者。《GRAEF ARCH CLIN EXP》、《INT OPHTHALMOL》、《ADVANCES IN THERAPY》特约审稿专家,《中国实用眼科杂志》、《中华眼底病杂志》编委;中华眼科杂志、中华医学杂志英文版等期刊编委和审稿专家。先后主持及参与国家自然科学基金、国家眼科学重点实验室创新基金、广东省自然科学基金、广州市科技局等科研项目10余项,发表科技论文60余篇,其中SCI论文30余篇;获得Storz和Alcon优秀论文奖。研究成果获教育部提名国家科学技术进步奖一等奖、二等奖以及广东省科学技术进步二等奖;主编《临床眼底病》外科卷、《眼科解剖与临床》,并参编多部眼科专著。培养和招收博士后、博士及硕士研究生30余名。



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，中山大学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。

