



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

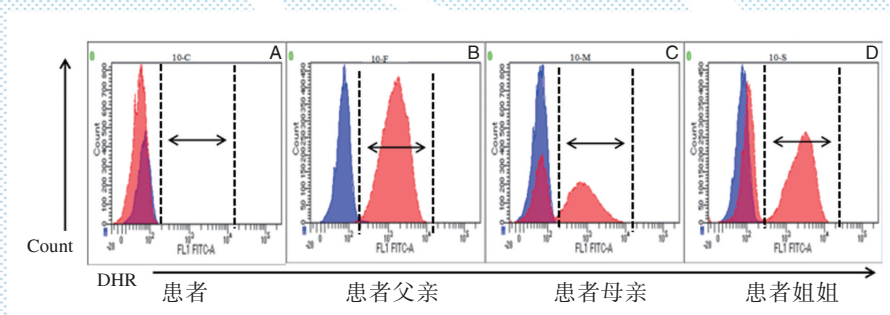
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022 年 4 月 第 14 卷 第 4 期 总第 92 期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 4 April 2022



注:蓝色峰对照管 PBS 刺激,红色峰检测管 PMA 刺激。

图(583) 例 10 X-CGD 患者及家系成员中性粒细胞活化率分析

Figure(583) Analysis of neutrophil activation rate of 10 X-CGD patients and family members

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 CMC 收录期刊

中国学术期刊影响因子年报统计源期刊

ISSN 1674-6929

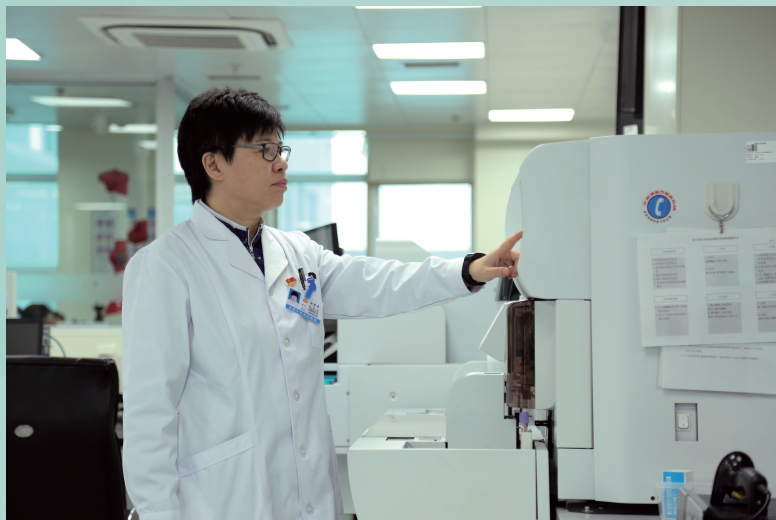


9 771674 692228

04>



杜彦丹



杜彦丹,《分子诊断与治疗杂志》第五届编辑委员会编委。

1969年6月出生。2009年毕业于哈尔滨医科大学研究生学院,硕士学位。主任检验师,教授,硕士生导师。现任内蒙古林业总医院(内蒙古民族大学第二临床医学院)副院长、检验科主任、临床检验诊断教研室主任。内蒙古自治区

草原英才、全区“五一巾帼标兵”、内蒙古自治区突出贡献专家、北疆管理英才、内蒙古自治区抗击新冠肺炎疫情“先进个人”、内蒙古民族大学科技创新先进个人、内蒙古民族大学第四届科尔沁学者。担任中华检验医学教育学会内蒙古分院副院长、中国研究型医院学会检验专业委员会委员、全国卫生产业企业管理协会实验医学(转化)专家委员会委员、内蒙古自治区医学会检验分会副主任委员、内蒙古自治区医师协会检验医师分会副会长、为CNAS ISO15189评审员、第五届《国际检验医学杂志》编委。

杜彦丹教授长期从事森林脑炎、布鲁氏菌病实验室诊断及实验室质量管理研究。森林脑炎实验室诊断方面“液质联用技术在蜱传脑炎代谢组学中的应用研究”这一课题取得了阶段性的成果,证实基于液质联用技术的代谢组学可以应用于森林脑炎诊断的研究中,并发现森林脑炎存在特异性代谢产物,可能成为临床实验室诊断有效的新手段。已发表7篇论文,其中4篇论文被SCI收录,3篇国家级核心期刊。布鲁氏菌病实验室诊断方面已完成微流控芯片全自动检测布鲁氏菌核酸的全部流程。发表1篇核心期刊论文。承担及完成的省部级研究课题14项。获省部级科技进步二、三等奖共五项(署名第一共3项,第三共2项);实用新型专利1项,发明专利1项。发表相关论文近30篇,其中SCI收录6篇。主编专著2部培养和招收硕士研究生8名,已毕业的研究生中2人论文获内蒙古民族大学优秀硕士生论文,1人被评为优秀硕士毕业生。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 4 月 第 14 卷 第 4 期 总第 92 期 Monthly Volume 14 Number 4 April 2022

主管	中山大学
主办	《中国家庭医生》杂志社有限公司
承办	广州达安基因股份有限公司
总编辑	张翼鹏
顾问	申子瑜
主编	李明
编辑部主任	蒋析文
编辑部副主任	刘悦
编辑部	《分子诊断与治疗杂志》编辑部
编辑	李晓兰 李彩珍 莫源浩
出版	《中国家庭医生》杂志社有限公司
地址	广州市天河区天河北路 179 号祥龙大厦 11 楼 (510620)
电话	(020) 32290789-206, 32290789-201
电子邮箱	jmdt@vip.163.com
刊号	ISSN 1674-6929
	CN 44-1656/R
邮发代号	46-283
发行单位	广东省报刊发行局
发行范围	国内外公开发售
广告发布登记通知书	440100190057
印刷	天意有福科技股份有限公司
出版日期	2022 年 4 月 18 日
定价	RMB 15.00 元
Responsible Institution	Sun Yat-sen University
Sponsor	China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.
Organizer	Daan Gene Co., Ltd.
Editor in Chief	ZHANG Yipeng
Consultant	SHEN Ziyu
Editor in Chief	LI Ming
Managing Director	JIANG Xiwen
Associate Editor	LIU Yue
Editorial Office	<JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office
Editors	LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao
Editing	China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.
Add	11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620
Tel	(020) 32290789-206, 32290789-201
E-mail	jmdt@vip.163.com
CSSN	ISSN 1674-6929
	CN 44-1656/R
Printing	TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date	2022.4.18
Price	RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

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

分子诊断与治疗杂志

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

特颁发此证书。

中国科学技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038

www.istic.ac.cn

2021年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年4月 第14卷 第4期

目次

述评

流行性脑脊髓膜炎的实验室分子诊断研究进展 石刚 徐颖华 叶强(539)

论著

妊娠期糖尿病患者血清 sdLDL-C、HbA1c 水平与血脂和胰岛素抵抗的关系
..... 陆逊 王敬 张雯雯 等(543)

胎儿染色体非整倍体检测试剂盒质量分析 曲守方 胡泽斌 孙楠 等(548)

血 AFP/CEA 与 HCY 联合检测在诊断原发性肝细胞癌中的应用
..... 余道武 余天雾 苟毅 等(552)

癫痫持续状态患者血清 NSE、TNF- α 及 GAL 水平与脑电图异常程度的关系
..... 赵安容 王圣之 崔利君 等(556)

Nugent 评分方法技术改良及在细菌性阴道病诊断中的应用评价 牛婧 李娇 李娜 等(560)

TSLP、INF- γ 及 IL-33 诊断儿童咳嗽变异性哮喘的价值 张艳玲 王侠 郭子宽(565)

VSD 治疗对骨科创面感染患者 CRP、WBC 及 ESR 水平的影响 郭亚萍 冷华平 宋娇(569)

ACA、ANA 与不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的关系
..... 张翠雯 林玉仪 吴婉如 等(573)

CEA、AFP 及 CYFRA21-1 在 NSCLC 中的表达及与病理特征和预后的关系
..... 杨芳 王雅 梁丽红 等(577)

X 连锁慢性肉芽肿病临床特征与基因诊断
..... 郭明发 贾静 王亚峰 等(581)

脑梗死急性期患者血清 PAI-1、ICAM-1 和 GMP-140 的水平变化及临床意义
..... 张琦 刘汉臣 王杰斌(585)

血清 HbA1C、ACR 与 2 型糖尿病早期肾脏损害的关系 李苏艳 杨修军 游庆华(589)

血清 PG I、PG II 及 CEA 水平联合检测诊断胃癌的实验研究 章向文 何鹏 郭田发 等(593)

脑动脉瘤患者术后颅内感染血清 IL-8、MCP-1、WBC 变化特征分析
..... 杨炳男 邵秋季 梁晓东 等(597)

妊娠期再发性念珠菌性阴道炎患者的阴道菌群多样性研究
..... 唐莉 隗伏冰 隗洪进 等(601)

组蛋白去乙酰化酶 3、TGF- β 1 在狼疮肾炎组织病理中的表达及其临床意义
..... 史添立 罗贞 焦石(606)

卵泡液中 GDF-9、SCF、ACTC 及 FS 与 PCOS 患者卵泡发育的关系 刘建梅(610)

复发性鼻咽癌患者血清 sCD44s、MIP-3 α 水平及与经鼻内镜治疗疗效的相关性
..... 胡金成 黄妙铭 毛志强 等(614)

PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 在 IVIG 无反应川崎病中表达及意义
..... 牛冬春 吴岫 宋玉莹(618)

血清 CYFRA21-1、TSGF 及 miR-93 检测在鼻咽癌早期诊断中的应用	柳帅 王振鹏 张治文 等(623)
血清 E2、P、VEGF 及子宫内膜厚度在异位妊娠早期诊断中的应用	邹丹 周素芳 赵爱琴 等(627)
妊娠期高血压疾病孕妇血清 AGEs、TGF- β 1、PAPP-A 及 RBP4 变化及临床意义	程华英 胡娅萍 郑璇 等(631)
经皮 RFA 治疗原发性肝癌的效果及对血清 TGF- β 1、EGR2 水平的影响	杜炜玮 段铮 胡斌(635)
一种无创的子宫内膜获取方法在子宫内膜病变的诊断价值	高璐璐 曾莉 吴艳婷(639)
血清 PCT、IL6、NT-proBNP 联合 hs-TnT 在早期急诊脓毒症患者诊断中的临床意义	王伟 刘丰芹 贾方兰(643)
喉癌组织中 Sox2、cMyc 表达与其临床病理特征及预后的相关性	何晓丽 江洪 邓夏(647)
血清 Flt3L 和 Gas6 水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染预测价值分析	陈瑜 陶石 胡敏 等(652)
高血压性脑出血血清 NSE、IL-6 及 TIMP-1 水平变化与神经功能的关系	白永杰 王艳阳 周俊梅 等(656)
HD 联合 HP 对尿毒症患者 IL-6、TNF- α 、PCT 水平及临床疗效分析	王艳姣 张锡友 纪芳(660)
SMAD5-AS1 干扰对人食管癌细胞株 Eca109 增殖的影响及机制	赵芳 伦淑敏 高照伟 等(664)
FNAC 联合 BRAF V600E 基因突变检测在甲状腺乳头状癌诊断中的作用及临床意义	赵丽辉 孙世珺 易冰 等(669)
老年高血压 NSF-1、25(OH)D 及 Hcy 水平与骨质疏松的关系	周亚捷 姚反修 杨默 等(673)
小剂量阿司匹林对多囊卵巢综合征患者的影响	李吉 葛敏(677)
沙库巴曲缬沙坦治疗射血分数保留型心衰临床效果	刘莉 刘燕 卢京九(680)
急性心肌梗死患者血清 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 水平与 LVEF 的关系	刘金林 赵世林 肖竹青(685)
龈沟液中 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平与牙周牙髓联合病变病情程度及治疗效果的关系	张雪楠 曲妍 王立新(688)
2 型糖尿病患者 miR-375、miR-126 表达水平及与胰岛素抵抗关系	翟倩倩 覃艳 朱云峰 等(693)
血清 ApoA、LDH 和 ALP 在慢性心力衰竭中的表达及临床意义	李四荣 孔令超 李根海 等(697)
灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗对 AMI 心功能、CK-MB 及 PAI-1 的影响	邓海燕 陶元 王芳 等(701)
rh-bFGF 对肛周脓肿患者术后创面菌群、创面渗出和肉芽生长情况的影响	倪佳敏 施爱萍 徐玲 等(705)
骨折延迟愈合患者血清 FDP、sVCAM-1 和 BMP-2 的变化及临床意义	孟来波 董延龙 陈洪安(709)
综 述	
EGFR-TKIs 在晚期 NSCLC 中的耐药机制及临床应对策略的研究进展	焦赵爽 王萍(713)
专家风采	
杜彦丹	(封二)
实验室巡礼	
内蒙古林业总医院检验科	(封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 4 April 2022

CONTENTS

COMMENTS

Progress of research on molecular diagnosis for meningococcal meningitis

SHI Gang, XU Yinghua, YE Qiang (539)

ORIGINAL ARTICLES

Relationship between serum sdLDL-C, Hba1c levels and blood lipids and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus

LU Xun, WANG Jing, ZHANG Wenwen, CHEN Xihan (543)

Quality analysis for fetal chromosomal aneuploidy detection kit

QU Shoufang, HU Zebin, SUN Nan, HUANG Chuanfeng, HUANG Jie (548)

Application of serum AFP/CEA and HCY combined detection in the diagnosis of primary hepatic carcinoma

YU Daowu, YU Tianwu, GOU Yi, YANG Lumeng (552)

Relationship between serum NSE, TNF- α and GAL levels and abnormality of electroencephalogram in patients with status epilepticus

ZHAO Anrong, WANG Shengzhi, CUI Lijun, LI Bo (556)

Technical improvement of Nugent scoring method and evaluation of its application in the diagnosis of bacterial vaginosis

NIU Jing, LI Jiao, LI Na, SUN Jing, ZHANG Jing, WANG Yawen (560)

Value of TSLP, INF- γ and IL-33 in the diagnosis of cough variant asthma in children

ZHANG Yanling, WANG Xia, GUO Zikuan (565)

Effects of VSD treatment on the levels of CRP, WBC and ESR in patients with orthopedic wound infection

GUO Yaping, LENG Huaping, SONG Jiao (569)

Relationship between anticardiolipin antibody, antinuclear antibody and pregnancy outcomes of infertility patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer

ZHANG Cuiwen, LIN Yuyi, WU Wanru, HUANG Xiuzhi (573)

Relationship between the expression of CEA, AFP and CYFRA21-1 in NSCLC and pathological characteristics and prognosis

YANG Fang, WANG Ya, LIANG Lihong, LI Miaomiao, WANG Wei (577)

Clinical features and gene diagnosis of X-linked chronic granulomatosis

GUO Mingfa, JIA Jing, WANG Yafeng, ZHU Yingying, SHI Lihuan, LIU Junshan, LIU Wei (581)

Changes and clinical significance of serum PAI-1, ICAM-1 and GMP-140 levels in patients with acute cerebral infarction

ZHANG Qi, LIU Hanchen, WANG Jiebin (585)

Relationship between serum HbA1C, ACR and early kidney damage in type 2 diabetes mellitus

LI Suyan, YANG Xiujun, YOU Qinghua (589)

Experimental study on the combined detection of serum PG I, PG II and CEA levels in the diagnosis of gastric cancer

ZHANG Xiangwen, HE Peng, GUO Tianfa, GHEN Hu (593)

Analysis of changes in serum IL-8, MCP-1 and WBC in patients with postoperative intracranial infection after cerebral aneurysm

YANG Bingnan, SHAO Qiuji, LIANG Xiaodong, LI Jinghua, SHI Xiwen (597)

Diversity of vaginal flora in pregnant women with recurrent vaginal candidiasis

TANG Li, YU Fubing, YU Hongjin, LIU Peiyu, SAN Cuiping, ZHONG Wenbin, LIU Yuhua, GUO Haishan (601)

Expression of histone deacetylase 3 and TGF- β 1 in histopathology of lupus nephritis and its clinical significance

SHI Tianli, LUO Zhen, JIAO Shi (606)

Relationship between GDF-9, SCF, ACTC and FS in follicular fluid and follicular development in patients with PCOS

LIU Jianmei (610)

The changes of serum sCD44s and MIP-3 α levels in patients with recurrent nasopharyngeal carcinoma and their correlation with the therapeutic effect of endoscopic sinus surgery

HU Jincheng, HUANG Miaoming, MAO Zhiqiang, JIANG Di, YE Yudong, FU Ming (614)

Expression and significance of PBN, CRP, sCD40L and G-CSF in IVIG-unresponsive Kawasaki disease <i>NIU Dongchun, WU Shen, SONG Yuying</i>	(618)
Application of serum CYFRA21-1, TSGF and miR-93 in the diagnosis of early nasopharyngeal carcinoma <i>LIU Shuai, WANG Zhenpeng, ZHANG Zhiwen, SONG Zhaoying</i>	(623)
Application of serum E2, P, VEGF and endometrial thickness in early diagnosis of ectopic pregnancy <i>ZOU Dan, ZHOU Sufang, ZHAO Aiqin, ZHANG Xiaoyan</i>	(627)
Changes and clinical significance of serum AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 in pregnant women with gestational hypertension <i>CHENG Huaying, HU Yaping, ZHENG Xuan, MEI Junhua</i>	(631)
Effect of percutaneous RFA in the treatment of primary liver cancer and its influence on serum TGF- β 1, EGR2 levels <i>DU Weiwei, DUAN Zheng, HU Bin</i>	(635)
The diagnostic value of a non-invasive endometrial acquisition method in endometrial diseases <i>GAO Lulu, ZENG Li, WU YanTing</i>	(639)
Clinical significance of serum PCT, IL6, NT-proBNP combined with hs-TnT in the diagnosis of early emergency sepsis patients <i>WANG Wei, LIU Fengqin, JIA Fanglan</i>	(643)
Correlation of Sox2 and cMyc expression in laryngeal carcinoma with clinicopathological features and prognosis <i>HE Xiaoli, JIANG Hong, DENG Xia</i>	(647)
Predictive value of serum Flt3L and Gas6 levels for pulmonary infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma after rituximab chemotherapy <i>CHEN Yu, TAO Shi, HU Min, FU Caibo</i>	(652)
Relationship between the changes of serum NSE, IL-6, TIMP-1 levels and neurological function in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage <i>BAI Yongjie, WANG Yanyang, ZHOU Junmei, GUO Hua</i>	(656)
Analysis of HD combined with HP on the levels of IL-6, TNF- α , PCT and its clinical efficacy in patients with uremia <i>WANG Yanjiao, ZHANG Xiyong, JI Fang</i>	(660)
Effect of SMAD5-AS1 interference on the proliferation of human esophageal cancer cell line Eca109 <i>ZHAO Fang, LUN Shumin, GAO Zhaowei, DUAN Lijuan, YANG Haijun</i>	(664)
The role and clinical significance of FNAC combined with <i>BRAF V600E</i> mutation detection in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma <i>ZHAO Lihui, SUN Shijun, YI Bing, ZENG Yumei</i>	(669)
Relationship between NSF-1, 25(OH)D and Hcy levels and osteoporosis in elderly hypertensive patients <i>ZHOU Yajie, YAO Fanxiu, YANG Mo, LUO Xiaohua, HAN Xiaoxia, LI Anqi, CAO Tingting</i>	(673)
Effect of low-dose aspirin on patients with polycystic ovary syndrome <i>LI Ji, GE Min</i>	(677)
Clinical effect of shacubacrevalsartan in the treatment of ejection fraction-preserved heart failure <i>LIU Li, LIU Yan, LU Jingjiu</i>	(680)
Relationship between serum NT-proBNP, VEGF and ox-LDL levels and LVEF in patients with AMI <i>LIU Jinlin, ZHAO Shilin, XIAO Zhuqing</i>	(685)
Relationship between the levels of IL-1 β , hs-CRP, LPS in gingival crevicular fluid and the severity of combined periodontal and pulpal lesions and the therapeutic effect <i>ZHANG Xuenan, QU Yan, WANG Lixin</i>	(688)
Expression levels of miR-375 and miR-126 in patients with type 2 diabetes mellitus and their relationship with insulin resistance <i>ZHAI Qianqian, QIN Yan, ZHU Yunfeng, WANG Tao</i>	(693)
Expression and clinical significance of serum ApoA, LDH and ALP in chronic heart failure <i>LI Sirong, KONG Lingchao, LI Genhai, WANG Lilan, WANG Yijun</i>	(697)
Effect of breviscapine combined with isosorbide mononitrate treatment on AMI cardiac function, CK-MB and PAI-1 <i>DENG Haiyan, TAO Yuan, WANG Fang, ZHENG Wenquan, QIAO Zengyong</i>	(701)
Effects of rh-bFGF on the postoperative wound flora, wound exudate and granulation growth in patients with perianal abscess <i>NI Jiamin, SHI Aiping, XU Ling, LI Gang</i>	(705)
Changes and clinical significance of serum FDP, sVCAM-1, BMP-2 in patients with delayed fracture union <i>MENG Laibo, DONG Yanlong, CHEN Hongan</i>	(709)

REVIEWS

Research progress on the drug resistance mechanism and clinical overcoming strategies of EGFR-TKIs in advanced non-small cell lung cancer <i>JIAO Zhaoshuang, WANG Ping</i>	(713)
--	-------

· 述 评 ·

流行性脑脊髓膜炎的实验室分子诊断研究进展

石刚 徐颖华* 叶强*

[摘要] 流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)是由脑膜炎奈瑟菌(*Nm*)引起的一种急性呼吸道传染病。快速、准确、灵敏的实验室检测方法可为流脑临床诊断和流行病学监测研究提供可靠的手段和依据。随着生物技术的发展,基于不同技术原理的快速检测方法被开发并应用于流脑实验室检测,显著提高了不同层级实验室 *Nm* 检测率和灵敏度,减少了流脑早期诊断所需的时间。本文就目前国内外流脑实验室快速和分子诊断的研究进展作一综述,以为后续流脑的预防和控制奠定一定基础。

[关键词] 流行性脑脊髓膜炎; Real-time PCR; LAMP; 线性探针技术; 全基因组测序

Progress of research on molecular diagnosis for meningococcal meningitis

SHI Gang, XU Yinghua*, YE Qiang*

(NHC Key Laboratory of Biotechnology Product Verification Methods and Standardization, China Institute for Food and Drug Control, Beijing, China, 102629)

[ABSTRACT] Meningococcal meningitis is an acute respiratory infectious disease caused by *Neisseria meningitidis* (*Nm*). Rapid, accurate and sensitive laboratory testing methods can provide reliable means and basis for clinical diagnosis and epidemiological monitoring of meningitis. With the development of biotechnology, rapid detection methods based on different technical principles have been developed and applied to the laboratory detection of meningitis, which has significantly improved the rate and sensitivity of detection for *Nm* in laboratories at different levels and reduced the time required for early diagnosis of meningitis. This article reviews the current research progress in rapid and molecular diagnosis of meningococcal meningitis, to lay a certain foundation for the follow-up prevention and control of meningitis.

[KEY WORDS] Meningococcal meningitis; Real-time PCR; LAMP; Line-probe assay; Whole genome sequencing

流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)是由脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*, *Nm*)引起的一种急性呼吸道传染病^[1-2]。根据细菌表面荚膜多糖的不同,将 *Nm* 可分为 12 个血清群,但绝大多数流脑病例是由 A、B、C、W、X 和 Y 血清群菌株所引起^[3-4]。*Nm* 经呼吸道感染后临床症状轻重悬殊,轻可表现为持续无症状带菌状态,而暴发型病情凶险,进展极其迅速,可在 24 h 内死亡^[5]。研究发现 10%~20% 的存活者可能会有脑部损伤、失聪等后

遗症^[6-7]。随着近几十年的脑膜炎球菌疫苗的广泛使用,大幅度降低流脑发病率。但据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计报道,在 2019 年全世界仍有 250 万流脑病例,其中包括近 20 万死亡病例,严重影响人们生命健康^[8]。可靠、灵敏的实验室诊断方法可为流脑临床诊断和流行病学监测研究提供可靠的手段和依据。随着生物技术的发展,基于不同技术原理的快速分子检测方法被开发和应用,显著提高了不同层级实验室

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)、国家科技重大专项(2018ZX10102-001)

作者单位:中国食品药品检定研究院,国家卫生健康委员会生物技术产品检定方法及其标准化重点实验室,北京 102629

*通信作者:叶强, E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn; 徐颖华, E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

Nm 检出率和灵敏度,并减少了诊断侵袭性脑膜炎球菌疾病所需的时间^[7-8]。本文就目前国内外流脑实验室快速分子诊断的研究进展作一综述,以期后续流脑的预防和控制奠定一定基础。

1 传统的细菌培养法

传统的细菌培养法作为细菌性脑膜炎实验室诊断的金标准,是通过疑似患者脑脊液(CerebroSpinal Fluid, CSF)进行细菌培养检测,但检测结果易受CSF采集及运输保存方式、疑似患者免疫状态、以及是否服用过抗生素等因素影响,且检测时间长、检出率低、不利于疑似患者的快速诊断和治疗,远远不能满足目前的临床诊断需要^[9]。

2 快速检测和分子检测方法

2.1 快速检测方法

研究人员应用抗A、W135、Y和C群*Nm*多糖的单克隆抗体,构建双重免疫学快速检测方法。通过与细菌培养法及PCR方法的平行验证研究,证实所建立的快速检测方法对参考菌株的敏感性和特异性为100%,而对CSF样品所含A、W135、Y和C群*Nm*的敏感性和特异性为93.8%~100%^[10-11]。

在非洲一项历经5年的快速检测试纸条的现场评估研究发现,现场工作人员和参考实验室专业人员检测2 095份CSF样品的分析结果一致性高达94%,且检测结果与细菌培养和实时PCR检测结果的一致性为89%,方法的灵敏度和特异性分别为91.5%和84.6%。表明该方法可经过培训但非专业的工作人员操作并可获得良好的检测结果,尤其适合卫生设施相对简单的基层使用^[12]。

2.2 环介导等温扩增

环介导等温扩增(Loop mediated isothermal amplification, LAMP)是在21世纪初发展起来的新技术。该方法仅需简单的水浴,但仍具有高效扩增和特异性高的优点,被广泛用于不同病原体的分子诊断^[13-15]。研究人员应用LAMP检测技术对*Nm*分子诊断方法研究,发现含高拷贝靶基因的样本可在16 min出现阳性颜色变化,方法的最低检出限为6个拷贝,通过与391例临床样品常规实时PCR检测结果比较,LAMP方法灵敏度和特异性分别为100%和98.9%,极大节省了检测成本和时间^[16]。该方法被英国贝尔法斯特皇家儿童医院

作为急诊实验室诊断手段之一^[17]。同时,通过对DNA进行引物与探针的改变,不断完善和改进LAMP检测方法,包括开发出可检测几种脑膜炎相关病原体的多重LAMP检测方法,成本低、灵敏度为90.9%、特异性为100%^[18]。由于LAMP检测对设备的要求不高,因此对于资源有限的实验室或者基层医院是一种很有吸引力、能用于脑膜炎等传染病的分子实验室诊断方法。

2.3 线性探针技术

线性探针技术(line-probe assay, LipA)是通过DNA扩增-杂交反应来检测*Nm*基因位点突变状态,用于CSF标本中*Nm*及耐药性的检测分析。Ahmet Soysal等^[19]应用该技术对751例CSF样本进行了脑膜炎病原体诊断,并与PCR方法进行比较。发现127例为肺炎链球菌阳性,53例为b型流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae type b*, Hib)阳性,41例为*Nm*阳性,以PCR结果为参照,LipA对肺炎链球菌、Hib和*Nm*的特异性为88%,建议LipA检测可用于细菌性脑膜炎病原体CSF标本临床分子诊断和流行病学监测研究。

2.4 PCR检测技术

与传统细菌培养方法相比,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测方法不会因服用抗生素或样品运送与处理而导致待检测样品中活菌死亡而影响^[20-21]。研究发现常规PCR对流脑诊断阳性率达91%~100%,假阴性少见,小于5%^[22]。Whiley等^[23]报道的流脑双重PCR检测方法,即在同一PCR反应体系中加入针对*Nm*两个靶基因*porA*与*ctrA*的两对引物进行扩增,提高试验的灵敏度和特异性。

目前采用PCR不仅可以检测细菌靶基因,也可分析感染菌株的血清群。研究人员应用多重PCR方法对2015-2018年在土耳其收集994例疑似脑膜炎患者的CSF样本进行分析,发现89例为*Nm*感染,随后对不同血清群特异性包括针对X群*Nm*的*ctrA*基因、B、C、W和Y群*Nm*的特异性*siaD*基因和A群*Nm*的*orf-2*基因引物进行PCR扩增,结果证实绝大多数流脑感染为B群流脑,共45例,而W群流脑病例为9例^[24]。

尽管PCR检测方法是一种快速、准确、灵敏度高与特异性强的检测流脑感染方法,但其实际应用和所用检测靶基因还未在全世界范围内形成统一的规定^[25]。例如,在欧盟,仅有25%的病例仅是

通过PCR确诊,而在英国和爱尔兰,这一比例约为50%;在美国,CDC直到2010年以后才在其病例定义中将PCR作为实验室诊断确诊检测方法^[26]。

2.5 检测多种呼吸道病原体的多重实时PCR

为了满足临床诊断需要,近几年,多重实时PCR(Multiplex Real-time PCR polymerase Chain Reaction, MRT-PCR)技术应用越来越广泛。研究人员建立可同时检测肺炎链球菌(靶基因 *plyA*)、*Hib*(靶基因 *bexA*)和 *Nm*(靶基因 *ctrA* 和 *sodC*)的多重实时PCR方法^[27]。在一份收集122份疑似流脑患者CSF样本比较分析中,发现50例阳性样本,包括32例肺炎链球菌、12例 *Nm* 和1例b型流感嗜血杆菌,MRT-PCR提高了疑似流脑患者的阳性检出率,进一步增加了反应的灵敏度和特异性^[28]。

任红宇等^[29]研究人员通过优化单一PCR扩增体系及扩增程序,建立了检测 *Nm*、*Hib*、肺炎链球菌等8种病原体的多重实时PCR方法,此方法具有较高的灵敏度,且检测快速,适合临床疑似细菌性脑膜炎感染病例的检测与筛查,提高阳性诊断率。

尽管CSF的常规化学和细胞分析可能有助于迅速区分细菌和病毒感染,但无法确定具体的病因^[30-31]。为了助力精准诊断,研究人员建立检测CSF中14种病原微生物(细菌、病毒、真菌)的多重实时PCR方法,研究结果表明该方法的细菌性病原体阳性检出符合率为97.5%,病毒为90.1%,真菌为52%,实验反应时间不超过60分钟,与常规PCR方法比较,阴性符合率大于99.9%^[32],且能够检测到单独的、有针对性检测而不被发现的混合感染病例。因此,MRT-PCR也必将推动临床实验室快速、精准检测能力的发展。

2.6 全基因组测序方法

宏基因组二代测序(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)由于可以不依赖于培养结果,直接从样本中获得病原体的核酸序列信息,被越来越多地应用于包括对细菌性脑膜炎在内的各种病原体引起中枢神经系统感染的诊断。

研究人员通过对mNGS诊断感染性脑膜炎和脑炎的情况进行了为期一年的研究,共检测出32例感染,而常规直接检测(即指CSF培养、PCR或抗原检测,不包括血清学检测或CSF以外的样本检测)仅检测出27例;其中19例用常规检测和宏基因组方法均检测出病原体;结果表明,CSF样本的宏基因组测序在诊断传染性脑膜炎和脑炎的有

效性,有助于改善脑膜炎和脑炎的病原体诊断,并在部分病例中对医生的治疗方案有指导作用^[33]。通过对95例患者样本进行盲法mNGS测试来评估诊断的准确性,与原始临床诊断结果相比,mNGS方法的灵敏度和特异性分别为73%和99%。随后对从一组患有脑膜炎、脑炎和或脊髓炎的儿科患者中收集的20份阳性CSF样本进行mNGS挑战试验,相对于CSF的常规细菌培养检测,发现mNGS方法在检测致病性病原体方面的敏感性和特异性分别为92%和96%。这些结果进一步证实了mNGS方法直接检测病原体分析性能。mNGS的优势在于,不依赖针对目标病原体的经验知识,能够在一次化验诊断中检测出更多的感染因子。通过一次分析来识别潜在病因综合谱—病毒、细菌、真菌和寄生虫,是一种很有前景的传染病诊断方法^[34]。

3 小结与展望

在长期研究建立与发展的流脑实验室诊断方法中,经典的细菌培养法虽然特异性好,但耗时长,灵敏度低,不利于疑似患者的快速诊断和治疗。近些年开发的流脑快速检测试纸条方法、简便、快捷,适合于基层医院开展,具有较大的实用性。毋庸置疑,以PCR为基础的分子检测方法是流脑诊断技术中灵敏度和特异性最高的检测方法,是流脑诊断技术一次里程碑的进展,只要严格规范操作,避免假阳性、阴性结果出现,LAMP检测是一种恒温核酸扩增的新型技术,具有特异性高、时间短、操作简单等优点,适用于不用层级实验室。事实上,在一些国家,已经批准涵盖多种呼吸道病原体检测的商业化PCR试剂盒用于临床实验室诊断用^[22]。但不可否认,虽然PCR检测成本持续在下降,在一些资源匮乏和缺乏训练有素工作人员的国家 and 地区要引进PCR检测方法还是具有一定难度。为了更好的加强流脑的预防和控制,全球脑膜炎球菌倡议组织推荐,有条件的省级或地市级实验室都应开展PCR检测 *Nm* 方法,可快速获得(在数小时内)检测结果。此外,建议也应对使用的PCR检测方法进行验证,并不取代细菌培养方法,并通过后者获取细菌资源,共同促进流脑感染的防控^[35]。

mNGS分析的特异性仅次于金标准细菌培养方法,通过对脑膜炎和其他临床症患者的早期临床研究,证实了直接通过对标本进行mNGS分析能够获得具有挑战性的感染诊断。然而,在已发

表的回顾性病例研究中,由于应用mNGS检测而有益于临床治疗的患者比例较低,且检测成本较高,这提升了我们对患者“何时进行检测”以及mNGS检测适合哪些患者理解的重要性^[36]。此外,在临床试验室实施mNGS还面临参考标准、生物信息学分析以及不同国家公共卫生政策和监管等问题。

当前我国流脑实验室诊断相关研究很少,而流行病学监测研究均需要可靠的实验室检测方法。因此,加强流脑感染的实验室分子诊断的研究是我国目前的当务之急。只有可靠的流脑实验室诊断和检测方法才能提供更加全面的流脑流行病学和实验室监测数据。因此,为了系统评价我国流脑的疾病负担,建议进一步加强流脑监测能力,尤其是一些地区尚不具备流脑实验室监测能力,推荐将检测病原体敏感的RT-PCR方法用于哨点检测,提高病原体阳性检出率。

参考文献

- [1] 刘钢,江载芳,申昆玲,等. 诸福棠. 脑膜炎奈瑟菌脑膜炎. 实用儿科学[M]. 第8版. 北京:人民卫生出版社, 2014: 990-997.
- [2] POLLARD AJ. Meningococcal infections/(American) KASPER DL, FAUCI AS. Harrison's infectious disease: 3rd edition; English edition [M]. Beijing: Beijing Allied Publishing Company, 2017:466-475.
- [3] 董梅,陈军,陈维欣,等. 2005-2016年北京市侵袭性脑膜炎奈瑟菌分子分型特征研究[J]. 疾病监测, 2018, 33(8): 632-635.
- [4] 吴升伟,刘淳婷,王寅寅,等. 2006-2017年贵州省脑膜炎奈瑟菌多位点序列分型[J]. 中国疫苗和免疫, 2020, 26(6): 647-651+665.
- [5] 中华预防医学会. 脑膜炎奈瑟菌感染的临床学进展[J]. 中国疫苗和免疫, 2019, 25(2): 238-242.
- [6] Vázquez JA, Taha MK, Findlow J, et al. Global Meningococcal Initiative: guidelines for diagnosis and confirmation of invasive meningococcal disease[J]. Epidemiol Infect, 2016, 144(14): 3052-3057.
- [7] Martín-Torres F. Deciphering the Burden of Meningococcal Disease: Conventional and Under-recognized Elements[J]. J Adolesc Health, 2016, 59(2 Suppl): S12-20.
- [8] Reese H E, Ronveaux O, Mwenda J M, et al. Invasive meningococcal disease in Africa's meningitis belt: more than just meningitis?[J] J Infect Dis, 2019, 220(Supplement 4): S263-S265.
- [9] Stein-Zamir C, Shoob H, Abramson N, et al. Invasive meningococcal disease epidemiology and characterization of *Neisseria meningitidis* serogroups, sequence types, and clones; implication for use of meningococcal vaccines[J]. Hum Vaccin Immunother, 2019, 15(1): 242-248.
- [10] Sobanski MA, Barnes RA, Coakley WT, et al. Detection of meningococcal antigen by latex agglutination[J]. Methods Mol Med, 2001, 67: 41-59.
- [11] Chanteau S, Darteville S, Mahamane AE, et al. New rapid diagnostic tests for *Neisseria Meningitidis* serogroups A W135 C and Y[J]. PLoS Med, 2006, 3(9): e337.
- [12] Collard JM, Wang X, Mahamane AE, et al. A five-year field assessment of rapid diagnostic tests for meningococcal meningitis in Niger by using the combination of conventional and real-time PCR assays as a gold standard[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2014, 108(1): 6-12.
- [13] Waterfield T, Fairley D, Blackwood B, et al. A systematic review of the diagnostic accuracy of Loop-mediated-isothermal AMPlification (LAMP) in the diagnosis of invasive meningococcal disease in children[J]. BMC Pediatr, 2019, 19(1): 49.
- [14] Wong YP, Othman S, Lau YL, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of microorganisms[J]. J Appl Microbiol, 2018, 124(3): 626-643.
- [15] Diallo K, Feteih VF, Ibe L, et al. Molecular diagnostic assays for the detection of common bacterial meningitis pathogens: A narrative review [J]. EBioMedicine, 2021, 65: 103274.
- [16] McKenna JP, Fairley DJ, Shields MD, et al. McCaughey C. Development and clinical validation of a loop-mediated isothermal amplification method for the rapid detection of *Neisseria meningitidis* [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 69(2): 137-144.
- [17] Bourke TW, McKenna JP, Coyle PV, et al. Diagnostic accuracy of loop-mediated isothermal amplification as a near-patient test for meningococcal disease in children: an observational cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(5): 552-8.
- [18] D'Inzeo T, Menchinelli G, De Angelis G, et al. Implementation of the eazyplex® CSFdirect panel assay for rapid laboratory diagnosis of bacterial meningitis: 32-month experience at a tertiary care university hospital [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39(10): 1845-1853.
- [19] Soysal, A., Toprak, D. G., Türkoğlu, S., et al. Evaluation of the line probe assay for the rapid detection of bacterial meningitis pathogens in cerebrospinal fluid samples from children [J]. BMC Microbiol, 2017, 17(1): 14.
- [20] Soeters HM, Diallo AO, Bicaba BW, et al. Bacterial Meningitis Epidemiology in Five Countries in the Meningitis Belt of Sub-Saharan Africa 2015-2017 [J]. J Infect Dis, 2019, 220(Suppl 4): S165-S174.
- [21] Mularski A, Žaba C. Fatal meningococcal meningitis in a 2-year-old child: A case report [J]. World J Clin Cases, 2019, 7(5): 636-641.
- [22] Van de beek D, Brouwer M, Hasbun R, et al. Community acquired bacterial meningitis [J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2 16074.

· 论 著 ·

妊娠期糖尿病患者血清 sdLDL-C、HbA1c 水平与血脂和胰岛素抵抗的关系

陆逊* 王敬 张雯雯 陈希罕

[摘要] 目的 探讨妊娠期糖尿病(GDM)患者血清小而密低密度脂蛋白胆固醇(sdLDL-C)、糖化血红蛋白(HbA1c)水平与血脂和胰岛素抵抗的关系。方法 选取2018年1月至2020年12月北京市朝阳区妇幼保健院的87例GDM患者与43例正常孕妇的临床资料进行分析,其中GDM患者设立为观察组,正常孕妇设立为对照组,对比两组年龄、孕周、BMI、FPG、餐后2h血糖(2hPG)、空腹胰岛素(FINS)、sdLDL-C、HbA1c、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)变化,采用分层回归模型分析sdLDL-C、HbA1c与血脂和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)的关系。结果 两组在年龄、孕周、BMI等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$);观察组的FPG、2hPG、FINS、sdLDL-C、HbA1c、TG、TC、HDL-C、HOMA-IR高于对照组,而LDL-C低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。分层回归分析显示,TG、HDL-C会对sdLDL-C产生显著的正向影响关系($t=4.897, 3.070, P<0.05$);而TC、LDL-C未对sdLDL-C产生影响关系($P>0.05$)。针对模型2,其在模型1的基础上加入“HOMA-IR”后,差异无统计学意义($P>0.05$);TG、HDL-C会对HbA1c产生显著的正向影响关系($t=2.774, 5.636, P<0.05$);而LDL-C会对HbA1c产生显著的负向影响关系($t=-4.615, P<0.05$);TC未对HbA1c产生影响关系($P>0.05$)。针对模型2,其在模型1的基础上加入“HOMA-IR”后,F值呈现出显著性变化,HOMA-IR会对HbA1c产生显著的正向影响关系($t=5.620, P<0.05$)。结论 妊娠期糖尿病患者sdLDL-C、HbA1c水平与血脂和胰岛素抵抗具有一定相关性,有望作为诊断GDM的客观指标。

[关键词] 妊娠期糖尿病;小而密低密度脂蛋白胆固醇;糖化血红蛋白;血脂;胰岛素抵抗

Relationship between serum sdLDL-C, HbA1c levels and blood lipids and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus

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

(Department of Laboratory Medicine, Beijing Chaoyang District Maternal and Child Health Care Hospital, Beijing, China, 100021)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum small and dense low-density lipoprotein cholesterol (sdLDL-C), glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels and blood lipids and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** The clinical data of 87 GDM patients and 43 normal pregnant women in the Maternal and Child Health Hospital of Chaoyang District, Beijing from January 2018 to December 2020 were selected for analysis. GDM patients were set up as the observation group, and normal pregnant women were set up as the control group. The two group age, gestational age, BMI, FPG, 2h postprandial blood glucose (2hPG), fasting insulin (FINS), sdLDL-C, HbA1c, triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), insulin resistance index (HOMA-IR) changes were compared. The hierarchical regression model was used to analyze the relationship between sdLDL-C, HbA1c and blood lipids

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

作者单位:北京市朝阳区妇幼保健院检验科,北京 100021

*通信作者:陆逊, E-mail: lx8210a@163.com

and insulin resistance index (HOMA-IR). **Results** There was no statistically significant difference between the two groups in general data such as age, gestational age, and BMI ($P>0.05$). The FPG, 2hPG, FINS, sdLDL-C, HbA1c, TG, TC, HDL-C, HOMA-IR in the observation group was higher than those in the control group, while LDL-C was lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Hierarchical regression analysis showed that TG and HDL-C had a significant positive influence on sdLDL-C ($t=4.897, 3.070, P<0.05$); while TC and LDL-C had no influence on sdLDL-C ($P>0.05$). For model 2, after adding "HOMA-IR" on the basis of model 1, the difference was not statistically significant ($P>0.05$). TG and HDL-C had a significant positive influence on HbA1c ($t=2.774, 5.636, P<0.05$); while LDL-C had a significant negative influence on HbA1c ($t=-4.615, P<0.05$). TC has no influence on HbA1c ($P>0.05$). For model 2, after adding "HOMA-IR" to model 1, the F value showed a significant change, And HOMA-IR had a significant positive influence on HbA1c ($t=5.620, P<0.05$). **Conclusion** The levels of sdLDL-C and HbA1c in patients with gestational diabetes mellitus have a certain correlation with blood lipids and insulin resistance, and are expected to be used as objective indicators for the diagnosis of GDM.

[KEY WORDS] GDM; sdLDL-C; Blood lipids; Insulin resistance

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 为妊娠期常见并发症之一。经流行病学调查^[1]发现, 孕妇妊娠期间发生糖代谢异常几率约为 1.00%~14.00%, 会随着病情发展, 影响妊娠结局。GDM 发病机制较为复杂, 其中胰岛素抵抗、脂质代谢异常参与了 GDM 的发生发展。有研究^[2]显示, 血清小而密低密度脂蛋白胆固醇 (small dense low density lipoprotein cholesterol, sdLDL-C) 与脂质代谢、胰岛素抵抗有关。也有研究^[3]表示, 在胰岛素抵抗、脂质代谢异常过程中糖化血红蛋白 (hemoglobin A1c, HbA1c) 具有重要作用。但目前关于 sdLDL-C、HbA1c 与血脂、胰岛素抵抗关系的研究报道较少, 尚不了解它们之间的关系和具体作用机制。据此, 本研究选取 87 例 GDM 患者与 43 例正常孕妇的临床资料进行研究, 旨在探讨 GDM 患者血清 sdLDL-C、HbA1c 水平与血脂和胰岛素抵抗的关系, 以为临床提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

分析 2018 年 1 月至 2020 年 12 月北京市朝阳区妇幼保健院诊治的 87 例 GDM 患者与 43 例正常孕妇的临床资料, 其中 GDM 患者设立为观察组, 正常孕妇设立为对照组。GDM 诊断标准: 符合“妊娠合并糖尿病--临床实践指南 (第 2 版)”^[4]中关于 GDM 的诊断标准, 并两次及以上空腹血糖 (Fasting blood glucose, FPG) ≥ 5.1 mmol/L。纳入标准: ①年龄 25~35 岁; ②孕周 24~32 周; ③临床资料完整; ④单胎。排除标准: ①合并妊娠期高血压;

②既往存在流产史; ③伴有严重心功能不全; ④既往存在糖尿病史。本研究对既往的临床资料进行研究, 故豁免患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 调查内容及其方法

设计统一的病例调查表, 由专业医师收集 GDM 患者与正常孕妇的临床资料, 包括年龄、孕周、孕前体质质量指数 (Body Mass Index, BMI)、FBG、餐后 2 h 血糖 (2h - postprandial plasma glucose, 2hPG)、空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)、sdLDL-C、HbA1c、三酰甘油 (triacylglycerol, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、胰岛素抵抗指数 (HOMA-HOMA-insulin resistance index, HOMA-IR)。

1.2.2 标本采集和检测方法

于受试者孕 24~32 周采集清晨空腹静脉血 3 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液待检, 采用日立 7600-020 型全自动生化分析仪测定 TG (试剂盒由上海复星长征医学科学有限公司提供, 批号: 20110811)、TC (浙江东方基因生物制品有限公司生产, 批号 2400057)、HDL-C (试剂盒由上海复星长征医学科学有限公司提供, 批号: 20110815)、LDL-C (试剂盒由上海复星长征医学科学有限公司提供, 批号: 20110912)、FBG (四川迈克科技股份有限公司, 批号: 0605061)、2hPG (四川迈克科技股份有限公司, 批号: 0605061); 采用 AU5800 生化分析仪 (Beeckman 公司生产) 测定

sdLDL-C(试剂盒为伊普诺康公司生产的配套试剂盒,批号:2018090401);采用HLC-723G8型号全自动糖化血红蛋白分析仪[日本东曹株式会社(TOSOH CORPORATION)生产]测定HbA1c(试剂盒由北京九强公司提供,批号:20111127);采用Cobase601型全自动电化学发光仪(瑞士罗氏)测定FINS(试剂盒由北京北方生物技术研究所生产,批号:051020);采用稳定模型计算HOMA-IR,其公式 $HOMA-IR = (FINS \times FBG) \div 22.5$ 。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件分析;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用独立样本 t 检验;sdLDL-C、HbA1c与血脂、胰岛素抵抗的关系采用分层回归模型分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

两组在年龄、孕周、BMI等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组的FPG、2hPG、FINS、sdLDL-C、HbA1c、TG、TC、HDL-C、HOMA-IR高于对照组,而LDL-C低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 血清sdLDL-C与血脂和胰岛素抵抗的分层回归分析

TG、HDL-C会对sdLDL-C产生显著的正向影响关系($P < 0.05$);TC、LDL-C未对sdLDL-C产生影响关系($P > 0.05$);针对模型2,其在模型1的基础上加入“HOMA-IR”后,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表1 两组一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

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

指标	观察组($n=87$)	对照组($n=43$)	t 值	P 值
年龄(岁)	27.96 $\pm$ 3.52	27.88 $\pm$ 3.61	0.121	0.904
孕周(周)	28.12 $\pm$ 2.65	28.08 $\pm$ 2.71	0.080	0.936
BMI(kg/m^2)	28.52 $\pm$ 2.45	28.47 $\pm$ 2.51	0.109	0.914
FPG(mmL/L)	5.49 $\pm$ 1.25	4.65 $\pm$ 1.01	3.830	<0.001
2hPG(mmL/L)	10.05 $\pm$ 2.36	7.36 $\pm$ 1.88	6.518	<0.001
FINS(MIU/L)	25.62 $\pm$ 4.65	11.92 $\pm$ 2.11	18.380	<0.001
sdLDL-C(mmL/L)	1.28 $\pm$ 0.25	1.07 $\pm$ 0.14	5.119	<0.001
HbA1c(%)	9.28 $\pm$ 1.65	5.24 $\pm$ 1.15	14.406	<0.001
TG(mmL/L)	2.45 $\pm$ 0.55	1.94 $\pm$ 0.23	5.825	<0.001
TC(mmL/L)	5.51 $\pm$ 1.62	4.93 $\pm$ 1.03	2.141	0.034
HDL-C(mmL/L)	1.35 $\pm$ 0.25	1.09 $\pm$ 0.14	6.338	<0.001
LDL-C(mmL/L)	2.56 $\pm$ 0.36	3.11 $\pm$ 0.54	6.902	<0.001
HOMA-IR	4.92 $\pm$ 1.45	1.92 $\pm$ 0.21	13.472	<0.001

2.3 HbA1c与血脂和胰岛素抵抗的分层回归分析

TG、HDL-C会对HbA1c产生显著的正向影响关系($P < 0.05$);LDL-C会对HbA1c产生显著的负向影响关系($P < 0.05$);TC未对HbA1c产生影响关系($P > 0.05$);针对模型2,其在模型1的基础上加入“HOMA-IR”后,F值呈现出显著性变化,HOMA-IR会对HbA1c产生显著的正向影响关系($P < 0.05$)。见表3。

3 讨论

GDM为产科常见疾病之一,是指孕妇妊娠前糖代谢正常,妊娠期糖代谢异常。据研究^[5]报道,孕妇长时间的糖代谢异常可对母婴生命安全造成不利影响,同时也会引起流产、早产、巨大儿、羊水过多、胎儿宫内窘迫、胎儿畸形等不良结局。究其作用机制分析,可能是母体血糖过高导致胎儿血糖增高,通过影响母体和胎儿胰岛素分泌、脂肪合成,引发不良妊娠结局,譬如羊水过多,与胎儿长期暴露在高血

表2 血清sdLDL-C与血脂和胰岛素抵抗的分层回归分析

Table 2 Hierarchical regression analysis of serum sdLDL-C and blood lipids and insulin resistance

模型	非标准化系数		t 值	P 值	β 值	R^2	调整 R^2	F 值	P 值	ΔR^2	ΔF 值 ²	P 值
	β 值	标准错误										
分层1	常数	0.393	0.106	3.719	<0.001							
	TG	0.199	0.041	4.897	<0.001	0.436						
	TC	0.014	0.012	1.165	0.246	0.087	0.514	0.499	33.109	<0.001	0.514	33.109
	HDL-C	0.277	0.090	3.070	0.003	0.290						
	LDL-C	-0.023	0.031	-0.759	0.449	-0.048						
分层2	常数	0.387	0.106	3.655	<0.001							
	TG	0.187	0.042	4.413	<0.001	0.409						
	TC	0.012	0.012	0.953	0.342	0.073	0.519	0.499	26.730	<0.001	0.004	1.103
	HDL-C	0.235	0.099	2.371	0.019	0.246						
	LDL-C	-0.005	0.035	-0.153	0.878	-0.011						
	HOMA-IR	0.013	0.013	1.050	0.296	0.102						

注:因变量为sdLDL-C。

表3 HbA1c与血脂和胰岛素抵抗的分层回归分析

Table 3 Hierarchical regression analysis of HbA1c and blood lipids and insulin resistance

模型		非标准化系数		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	β 值	R^2	调整 R^2	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	ΔR^2	ΔF 值	<i>P</i> 值
		B	标准错误										
分层1	常数	2.387	1.024	2.331	0.021	—							
	TG	1.092	0.394	2.774	0.006	0.237							
	TC	0.113	0.118	0.956	0.341	0.069	0.553	0.539	38.722	<0.001	0.553	38.722	<0.001
	HDL-C	4.929	0.875	5.636	<0.001	0.511							
	LDL-C	-1.374	0.298	-4.615	<0.001	-0.283							
分层2	常数	2.095	0.919	2.279	0.024	—							
	TG	0.517	0.367	1.407	0.162	0.112							
	TC	0.002	0.108	0.016	0.987	0.001	0.644	0.630	44.874	<0.001	0.091	31.584	<0.001
	HDL-C	2.948	0.860	3.430	0.001	0.306							
	LDL-C	-0.540	0.305	-1.769	0.079	-0.111							
	HOMA-IR	0.615	0.109	5.620	<0.001	0.469							

注:因变量为HbA1c。

糖环境中具有直接关系^[6];胎儿宫内窘迫也是受高血糖影响,通过损伤胎盘毛细血管壁,导致血管痉挛、狭小,最终在其作用下引起血流量减少及胎盘供氧、供血异常^[7]。目前临床针对该病发病机制尚未完全阐述,仅认为它的出现可能与糖类代谢、脂类代谢、胰岛素抵抗等具有密切联系。据相关研究^[8]报道,人体内脂质代谢和糖代谢相互影响、相互作用,即脂质代谢的紊乱会进一步加重胰岛素抵抗,而胰岛素抵抗也会进一步影响脂质代谢。

胰岛素抵抗为GDM发病的重要核心;而HbA1c是反映血糖水平的客观指标,由葡萄糖和血红蛋白A通过不可逆非酶反应结合而生,具有变异性小、指标稳定及不受其他因素影响等优点^[9]。据研究^[10]指出,随着胰岛素抵抗现象的加重,HbA1c水平也会随之增加。究其原因分析可能是胰岛素抵抗持续存在,会使胰岛 β 细胞分泌胰岛素功能呈代偿状况,随着病程进展,胰岛 β 细胞进入失代偿状态,引起HbA1c升高^[11]。另外,在胰岛素抵抗的影响下,也会引起脂质代谢紊乱,譬如能通过抑制内皮细胞的质蛋白酶,减弱对TG的清除,导致其大量滞留于血液循环中;另外,胰岛素抵抗现象的发生也会加速脂肪分解,通过增加血浆游离脂肪酸,引起TG大量产生,且释放入血^[12];而TG长时间处于高表达状态中,也会打破LDL-C、HDL-C平衡,引起血清HDL-C下降和LDL-C上升,加重胰岛素抵抗^[13]。在HbA1c与血脂和胰岛素抵抗的分层回归分析中,模型1得出TG、HDL-C、LDL-C会对HbA1c产生影响;模型2得出,HOMA-IR也会对HbA1c产生影响,说明HbA1c与血脂、胰岛素抵抗具有密切联系。

sdLDL-C属心脑血管疾病发生的危险因素,同时也是评估脂代谢紊乱的重要指标^[14]。在胰岛素抵抗的影响下,GDM患者不仅会出现脂代谢异常,还会导致脂蛋白出现“量”的改变,如LDL-C颗粒直径的变小,经分析与高TG血症有关,可能是在TG长时间处于高表达状态的影响下,导致胆固醇酯转移蛋白活性降低,通过促使极低密度脂蛋白(Very Low Density Lipoprotein, VLDL)向LDL-C、HDL-C传递大量的TG,形成富含TG,缺乏TC的LDL-C颗粒,而这种颗粒对肝脂酶十分敏感,能在肝脂酶的作用下大量水解,形成sdLDL-C颗粒^[15-16]。另外,在胰岛素抵抗的影响下,也会导致sdLDL-C颗粒形成。针对胰岛素抵抗与sdLDL-C的关系,本文结果得出HOMA-IR并不会对sdLDL-C产生影响,但TG、HDL-C会对sdLDL-C产生影响,故本文推测胰岛素抵抗与sdLDL-C之间的关系并不是直接通过高胰岛素血症来产生联系,而是通过影响脂质代谢来发挥作用。

综上所述,妊娠期糖尿病患者sdLDL-C、HbA1c水平与血脂和胰岛素抵抗具有一定相关性,能为临床诊治提供重要参考。

参考文献

- [1] 高芳凤,王荣兰,吴培梨,等.海口市妊娠期糖尿病孕妇糖尿病知识知晓状况及其影响因素[J].华南预防医学,2019,45(5):461-464.
- [2] 王莹,白凤琴,周尧.妊娠期糖尿病患者血清胎球蛋白A、胰岛素抵抗指数水平及其临床意义研究[J].中国妇幼保健,2019,34(9):1986-1988.
- [3] 杨春生,刘志艳,张砚卿,等.血清Hcy、sdLDL-C、Lp-PLA2水平与急性脑梗死严重程度及阿替普酶溶栓效果的关系[J].标记免疫分析与临床,2020,27(4):618-621.

- [4] 杨慧霞. 妊娠合并糖尿病——临床实践指南(第2版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013.
- [5] 高伟聪,李丽,张中华,等. 多囊卵巢综合征合并糖尿病患者血清视黄醇结合蛋白4、血管内皮生长因子、糖化血红蛋白水平变化与胰岛素抵抗的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2019,34(12):2692-2694.
- [6] 康倩. 妊娠糖尿病患者血清促代谢因子水平与血脂、胰岛素抵抗指数及胰岛 β 细胞功能指数相关性[J]. 医学临床研究, 2019,36(3):532-534.
- [7] 李庆,徐金玲,方红娟,等. 妊娠期糖尿病患者血清IL-17、IL-1 β 、IL-10水平变化及其与胰岛素抵抗、血脂的关系[J]. 山东医药, 2019,59(4):52-54.
- [8] 许位,张园园,高敬华,等. 急性脑梗死患者血清sdLDL-C与PTX-3水平与颈动脉粥样硬化斑块性质的关系[J]. 中风与神经疾病杂志, 2019,36(8):704-707.
- [9] Lan Y, Liu H, Liu J, et al. The Relationship Between Serum Bilirubin Levels and Peripheral Arterial Disease and Gender Difference in Patients With Hypertension: BEST Study[J]. Angiology, 2020,71(4):340-348.
- [10] 邵立龙,边波萍,郭燕,等. 妊娠期糖尿病患者血清小而密低密度脂蛋白胆固醇与血脂和胰岛素抵抗的关系[J]. 中国卫生检验杂志, 2019,29(13):1608-1609+1622.
- [11] 候斐,张琳,高琳,等. 妊娠糖尿病病人血清25-羟维生素D与糖化血红蛋白及胰岛素抵抗的相关性分析[J]. 安徽医药, 2019,23(11):2163-2165.
- [12] 范世珍,周新荣,于波海. 血清小而密低密度脂蛋白胆固醇与2型糖尿病患者胰岛素抵抗的相关性分析[J]. 中国实验诊断学, 2020,24(1):42-45.
- [13] 温洁,刘萍,郭蕊. 血清中OPG、TNF- α 和脂联素对妊娠期糖尿病的的诊断分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(4):450-453+468.
- [14] Zarrabi M, Gholijani N, Shenavandeh S, et al. IL-38 serum levels in patients with Behcet's disease and the relationship with clinical features[J]. Eur Cytokine Netw, 2019,30(3):82-87.
- [15] 孟宪涛,郭占军. 血清小而密低密度脂蛋白胆固醇和同型半胱氨酸与颈总动脉内膜中膜厚度的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2019,16(21):3135-3137+3140.
- [16] 李道麟,董平栓,赵江峰,等. 冠心病患者血清Lp-PLA2、sdLDL-C水平变化及临床意义[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019,11(3):316-319.

(上接第542页)

- [23] Whitley DM, Crisante ME, Syrmis MW, et al. Detection of *Neisseria Meningitidis* in clinical samples by a duplex real-time PCR targeting the porA and ctrA genes[J]. Mol Diagn, 2003,7(3-4):141-145.
- [24] Ceyhan M, Ozsurekci Y, Tanır Basaranoglu S, et al. Multi-center Hospital-Based Prospective Surveillance Study of Bacterial Agents Causing Meningitis and Seroprevalence of Different Serogroups of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* Type b, and *Streptococcus pneumoniae* during 2015 to 2018 in Turkey[J]. mSphere, 2020, 5(2):e00060-20.
- [25] European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of invasive bacterial diseases. in Europe, 2011. ECDC-website [EB/OL] [2021-10-25] (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/invasive-bacterial-diseases-surveillance-2011.pdf>)
- [26] Centers for Disease Control and Prevention. Meningococcal disease (*Neisseria meningitidis*). 2015 case definition. CDC website [EB/OL] [2021-10-25] (<https://ndc.services.cdc.gov/case-definitions/meningococcal-disease-2015>)
- [27] Haddad-Boubaker S, Lakhali M, Fathallah C, et al. Molecular diagnosis of bacterial meningitis by multiplex real time PCR in Tunisian children[J]. J Infect Dev Ctries, 2018, 12(4):235-243.
- [28] Erdem H, Cag Y, Ozturk-Engin D, et al. Results of a multinational study suggest the need for rapid diagnosis and early antiviral treatment at the onset of herpetic meningoencephalitis[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015,59(6):3084-3089.
- [29] 任红宇,安淑一,李马超,等. 细菌性脑膜炎多重聚合酶链反应检测方法的研究[J]. 中国疫苗和免疫, 2010,16(1):47-51.
- [30] van Etteken CN, van de Beek D, Brouwer MC. Update on community-acquired bacterial meningitis: guidance and challenges[J]. Clin Microbiol Infect, 2017,23(9):601-606.
- [31] Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, et al. Evaluation of a Commercial Multiplex Molecular Panel for Diagnosis of Infectious Meningitis and Encephalitis[J]. J Clin Microbiol, 2018,56(4):e01927-17.
- [32] 李栋方,邓巧儿,何展文,等. 儿童难治性细菌性脑膜炎临床分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2021, 24(3):185-189.
- [33] Miller S, Naccache SN, Samayoa E, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. Genome Res, 2019, 29(5):831-842.
- [34] Piantadosi A, Mukerji SS, Ye S, et al. Enhanced Virus Detection and Metagenomic Sequencing in Patients with Meningitis and Encephalitis[J]. mBio, 2021,12(4):e114321.
- [35] WHO. Defeating bacterial meningitis by 2030[EB/OL] [2021-10-25] <https://www.who.int/emergencies/diseases/meningitis/meningitis-2030.pdf>
- [36] Filkins L M, Bryson A L, Miller S A, et al. Navigating clinical utilization of direct-from-specimen metagenomic pathogen detection: clinical applications, limitations, and testing recommendations[J]. Clin Chem, 2020,66(11):1381-1395.

胎儿染色体非整倍体检测试剂盒质量分析

曲守方 胡泽斌 孙楠 黄传峰* 黄杰*

【摘要】目的 使用高通量测序用外周血胎儿染色体非整倍体(T21、T18和T13)国家参考品,评价国内的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)的质量。**方法** 依据企业各自的注册产品标准或产品技术要求,使用不同的试剂盒检测国家参考品。提取国家参考品的血浆游离DNA,通过接头连接等步骤构建文库。将文库纯化后,使用不同原理的测序仪进行检测。然后将测序数据按照试剂盒配套的软件进行分析,获得染色体非整倍体的检测结果。**结果** 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。胎儿游离DNA 5%浓度的国家检测限参考品结果均是相应染色体三体;3.5%浓度的国家检测限参考品,准确检出率均不低于96%(>48/50)。70%和30%嵌合比例的国家嵌合体参考品结果均为相应染色体三体。国家微缺失微重复参考品中18号染色体微重复参考品结果均是18三体,其余参考品结果均不是21、18和13三体。**结论** 抽检的胎儿染色体非整倍体21三体、18三体和13三体检测试剂盒均符合各自产品技术要求中阴性参考品符合率、微缺失微重复参考品符合率、嵌合体参考品符合率和检测限的要求,符合国家体外诊断试剂监督抽验的要求。

【关键词】 胎儿游离DNA; 无创产前基因检测; 染色体非整倍体; 三体

Quality analysis for fetal chromosomal aneuploidy detection kit

QU Shoufang, HU Zebin, SUN Nan, HUANG Chuanfeng*, HUANG Jie*

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

【ABSTRACT】 Objective To evaluate the quality of fetal trisomy 21, trisomy 18 and trisomy 13 of chromosomal aneuploidy detection kits (High-Throughput Sequencing) by detecting national reference materials of fetal chromosomal aneuploidy abnormality (T21, T18 and T13) in peripheral blood for next generation sequencing. **Methods** According to the enterprise's respective registered product standards or product technical requirements, different kits are used to detect the national reference products. The plasma cell-free DNA of the national reference product was extracted, and the library was constructed through the steps of linker ligation. After the library was purified, it was detected using sequencers of different principles. Then, the sequencing data was analyzed according to the software provided with the kit to obtain the detection result of chromosomal aneuploidy. **Results** National negative reference products with normal chromosomes or other chromosomal abnormalities were not found to be trisomy 21, 18 and 13. The results of the national detection limit reference materials with a concentration of 5% of fetal cell-free DNA were all corresponding chromosomal trisomies; the national detection limit reference materials with a concentration of 3.5% has an accurate detection rate of not less than 96% (>48/50). The national chimerism reference materials with 70% and 30% chimerism were all corresponding chromosome trisomy. Among the national microdeletion and microduplication reference materials, the results of the chromosome 18 microduplication reference materials were all trisomy 18, and the other reference materials were not trisomy 21, 18 and 13. **Conclusion** The sampled fetal chromosomal aneuploidy trisomy 21, trisomy 18 and trisomy 13 detection kits all meet the compliance rates of negative reference products, microdeletion and microduplication reference products, and chimera reference products in

作者单位: 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

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

注: 曲守方和胡泽斌为共同第一作者

the technical requirements of their respective products and detection limit requirements. It meets the requirements of the national in vitro diagnostic reagent supervision and sampling test.

[KEY WORDS] Circulating cell-free fetal DNA; Non-invasive prenatal genetic testing; Chromosomal aneuploidy; Trisomy

染色体非整倍体(Chromosome Aneuploidies)是指相对于人正常的46条染色体而言,某一条或几条染色体数目增加或减少,与婴幼儿期显著的发病率和死亡率有着密切的关系。其中唐氏综合征(Trisomies 21)、爱德华氏综合征(Trisomies 18)和帕陶氏综合征(Trisomies 13)是临床上最常见的染色体非整倍体疾病^[1-3]。产前诊断金标准方法是以创伤性的手术取材方法结合实验室细胞遗传学诊断对胎儿染色体进行核型分析,但有创取样容易导致破水、羊膜炎、阴道出血、胎儿刺伤甚至是流产等问题^[4]。

随着母体游离胎儿DNA(cell-free fetal DNA, cfDNA)的发现和高通量测序技术的发展成熟,无创胎儿染色体疾病产前检测(Noninvasive Prenatal Testing, NIPT)成为可能^[5]。中国食品药品检定研究院于2014年研制高通量测序用外周血胎儿染色体非整倍体(T21、T18和T13)国家参考品,用于NIPT试剂盒的上市前的注册检测。2021年国家药品监督管理局批准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)行业标准的发布,用于规范该类产品的标准。本研究使用国家药品监督管理局批准的胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒,对产品技术要求中的阴性参考品符合率、检测限、微缺失微重复参考品符合率和嵌合体参考品符合率等项目进行考察,评价市场上使用的NIPT试剂盒质量。

1 材料和方法

1.1 材料

高通量测序用外周血胎儿染色体非整倍体(T21、T18和T13)国家参考品,中国食品药品检定研究院提供。

胎儿染色体非整倍体(T13/T18/T21)检测试剂盒(可逆末端终止测序法)(简称试剂盒A)和Next-Seq CN500基因测序仪,杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司提供。

胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(可逆末端终止测序法)(简称试剂盒B)和Next-Seq550AR基因测序仪,安诺优达基因科技(北京)

有限公司提供。

胎儿染色体非整倍体(T13、T18、T21)检测试剂盒(可逆末端终止测序法)(简称试剂盒C)和NextSeq550AR基因测序仪,杭州杰毅麦特医疗器械有限公司提供。

胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)(简称试剂盒D)和BGISEQ-500基因测序仪,华大生物科技(武汉)有限公司提供。

胎儿染色体非整倍体21三体、18三体和13三体检测试剂盒(半导体测序法)(简称试剂盒E)和DA8600半导体测序仪,广州市达瑞生物技术股份有限公司提供。

胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒(半导体测序法)(简称试剂盒F)和BioelectronSeq 4000测序仪,东莞博奥木华基因科技有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 血浆游离DNA提取

采用试剂盒说明书推荐的核酸提取试剂,提取国家参考品的血浆游离DNA。

1.2.2 文库的制备

采用6家胎儿染色体非整倍体检测试剂盒,对血浆游离DNA进行文库构建。先将血浆游离DNA片段末端修复,然后在DNA片段末端进行接头连接(或者继续进行PCR扩增),获得文库。使用核酸提取或纯化试剂对文库进行纯化,测定各个文库的浓度,并进行文库的质量检测。

1.2.3 测序

将定量的文库,按照试剂盒规定的比例进行混合。将混合文库加到测序芯片上,使用胎儿染色体非整倍体(T13/T18/T21)检测试剂盒配套的基因测序仪检测。

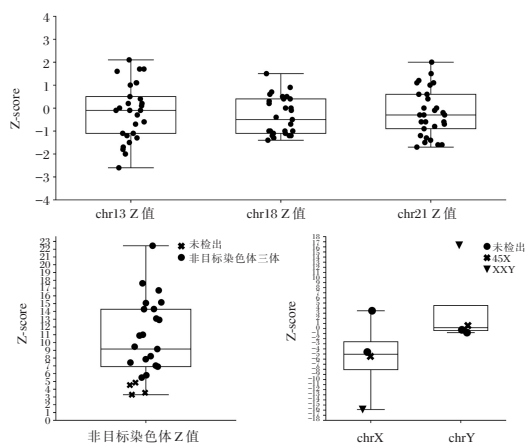
1.2.4 数据分析

使用试剂盒说明书指定的数据分析软件,进行序列比对及数据统计分析。计算13号、18号、21号染色体的Z值。根据试剂盒的参考值范围和Z值大小,进行样本染色体非整倍体的判定,如果样本的染色体Z值大于等于或者大于试剂盒的相应染色体参考值,判定为该染色体非整倍体。

2 结果

2.1 阴性参考品符合率

对于胎儿游离DNA 10%浓度的国家阴性参考品,包括29个非21、18和13三体的其他染色体非整倍体样本和6个染色体正常的阴性样本,6个不同试剂盒结果显示均未检出21三体、18三体和13三体。对于其他染色体非整倍体样本,试剂盒C不仅报告试剂盒范围内的21、18和13号染色体非整倍体的结果,Z值均小于3.2;而且报告对性染色体和试剂盒范围外的其他染色体非整倍体的结果,对于25个其他染色体非整倍体样本检出了21个相应染色体非整倍体阳性,4个性染色体非整倍体样本检出了2个阳性。见图1。



注:样本13号、18号或者21号染色体Z值 ≥ 3.2 时判定为该染色体三体阳性。

图1 试剂盒C阴性参考品的结果

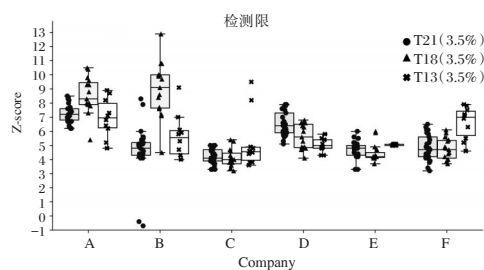
Figure 1 Results of national negative reference by kit C

2.2 检测限

对于72个胎儿游离DNA 5%浓度的T21、T18和T13样本(包括高GC PCR产物和胆红素的干扰样本)和50个胎儿游离DNA 3.5%浓度的T21、T18和T13样本的国家检测限参考品,5%浓度的国家检测限参考品结果显示试剂盒均能正确检出相应染色体三体,准确检出率均是100%;3.5%浓度国家检测限参考品结果显示试剂盒B检出48个,准确检出率为96%;其余试剂盒均检出50个,准确检出率是100%。见图2。

2.3 微缺失微重复参考品符合率

对于胎儿游离DNA 10%浓度的国家微缺失微重复参考品,包括2个18号染色体微重复的样本和8个其他染色体微缺失的样本,18号染色体微



注:样本21号、18号或者13号染色体报告为阳性的Z值:试剂盒A和D ≥ 3.0 ,试剂盒B ≥ 4 ,试剂盒C ≥ 3.2 ,试剂盒E和F ≥ 3 。

图2 国家检测限参考品结果(3.5%)

Figure 2 Results of national limit reference (3.5%)

重复的样本结果显示试剂盒均能正确检出18三体高风险,18号染色体的Z值均大于试剂盒的阳性判断值,同时13三体低风险和21三体低风险,见图3;而另外8个其他染色体微缺失的样本结果显示试剂盒均未检出21三体、18三体和13三体。

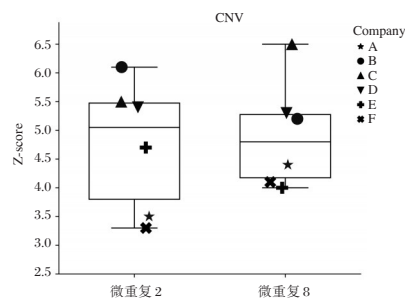


图3 18号染色体国家微重复参考品的结果

Figure 3 Results of national microduplication reference with chromosome 18

2.4 嵌合体参考品符合率

对于70%和30%嵌合比例的国家嵌合体参考品,试剂盒能够全部正确检出相应染色体三体,相应染色体的Z值均大于试剂盒的阳性判断值,表明试剂盒能够正确检测出一定嵌合比例的嵌合体样本。见图4。

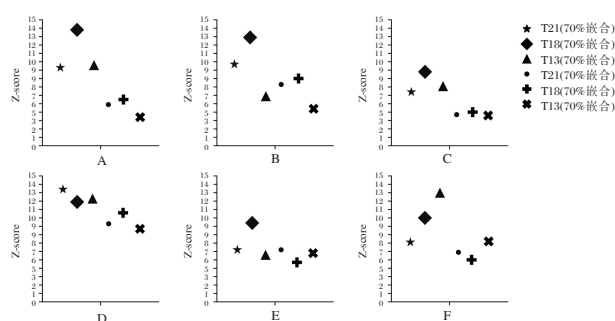


图4 国家嵌合体参考品的结果

Figure 4 Results of national chimera reference

3 讨论

随着出生缺陷防控的需求和优生优育意识的增强,产前筛查和诊断越来越受到重视。与传统的绒毛活检、羊水穿刺或者脐静脉血穿刺等介入性检测相比,NIPT因其操作便捷、安全性高和准确率高等多方面的优势受到青睐^[6-7]。从目前注册检测的试剂盒情况可以看到,胎儿染色体非整倍体(T21、T18、T13)检测试剂盒的发展呈现多家生产企业、多种高通量测序平台(联合探针锚定聚合测序法、可逆末端终止测序法和半导体测序法)和多种检测方法(如全基因组低深度的高通量测序法、基于SNP位点的靶向测序技术和基因芯片技术等)的特点。随着行业技术水平的提高,NIPT针对于胎儿染色体异常的检测也由21号、18号和13号染色体三体进一步扩展至性染色体数目异常、其他的常染色体数目异常以及各种染色体微缺失/微重复等^[8-10]。

本研究参考拟实施的推荐性行业标准YY/T 1801-2021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),使用国家参考品对批准上市的胎儿染色体非整倍体检测试剂盒的质量进行评价^[11-12]。研究报道cffDNA含量低于4%时,NIPT检测可能失败或出现假阴性结果^[13]。现有的商业NIPT分析需要至少4%的胎儿比例^[14-15]。因此国家检测限参考品设置了5%和3.5%胎儿DNA浓度的不同21号、18号和13号染色体三体样本,用于对试剂盒的检测限性能评价。随着检测技术的提高,国家参考品的检测限要求对胎儿DNA浓度3.5%的检测限参考品由至少10个以上的检出提高到必须有25个以上的检出。3.5%浓度的国家检测限参考品的检测结果表明试剂盒的正确检出率均大于50%。国家嵌合体参考品设置了70%和30%嵌合比例的不同三体样本,用于对试剂盒的嵌合体检测性能的评价。嵌合体参考品的检测结果表明试剂盒均能正确检出30%嵌合比例三体样本。18号染色体国家微重复参考品包含了18号染色体20 Mb以上重复,要求试剂盒均能检出18号染色体三体,结果表明试剂盒能够满足要求。本次研究结果显示抽检的产品均无不合格的产品。但是通过对国家参考品的检测结果进行分析时,发现有的产品的软件解读结果存在着超出检测范围的内容,包括对性染色体非整倍体和试剂盒范围外的其他染色体非整倍

体的检测结果,并不符合批准的试剂盒对胎儿染色体非整倍体疾病21-三体综合征、18-三体综合征和13-三体综合征进行产前辅助判断的范围,建议应对产品的分析软件进行相应的修改。本次抽检到的产品在行业标准实施前都已获得注册证,企业都以各自的产品标准或产品技术要求作为其检验的执行标准,但其产品标准或产品技术要求中检测项目与行业标准还是存在一定的差异和问题,企业需要根据行业标准及国家参考品的要求,对自身的技术要求进一步完善,从而保证检测试剂盒的有效性。

参考文献

- [1] Asim A, Kumar A, Muthuswamy S, et al. Down syndrome: an insight of the disease[J]. J Biomed Sci, 2015, 22(1):41.
- [2] Cavadin A, Morris JK. Revised estimates of the risk of fetal loss following a prenatal diagnosis of trisomy 13 or trisomy 18[J]. Am J Med Genet A, 2017, 173(4):953-958.
- [3] Roberts W, Zurada A, Zurada-Zielińska A, et al. Anatomy of trisomy 18[J]. Clin Anat, 2016, 29(5):628-632.
- [4] 虞荷莲,金敏菲,申屠敏,等.孕中期诊断性羊膜腔穿刺术的安全性探讨[J].实用医学杂志,2009,25(18):3118-3120.
- [5] Lo YM, Chan KC, Sun H, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus[J]. Sci Transl Med, 2010, 2(61):61ra91.
- [6] 蔡奥捷,朱朝锋,薛淑文,等.无创产前筛查对胎儿染色体非整倍体检出的临床价值探讨[J].中华妇产科杂志,2017,52(11):765-769.
- [7] 王贺,肖晓素,西仁娜依.545例NIPT筛查高风险孕妇的产前诊断结果分析[J].中国实验诊断学,2021,25(11):1596-1599.
- [8] 王路明,周赤燕,胡月,等.12085例无创产前基因检测在胎儿染色体异常筛查中的临床应用[J].中华医学遗传学杂志,2020,37(10):1069-1073.
- [9] 陆姿恺奕,仇英,陈艺升,等.N2PT及NIPT-plus在IVF胎儿染色体异常筛查中的应用研究[J].检验医学,2021,36(4):392-395.
- [10] Agatisa PK, Mercer MB, Leek AC, et al. A first look at women's perspectives on noninvasive prenatal testing to detect sex chromosome aneuploidies and microdeletion syndromes[J]. Prenatal Diagnosis, 2015, 35(7):692.
- [11] 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):991-994+1000.
- [12] Qu S, Zhang Y, Yang X, et al. The Setup and Application of Reference Material in Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Testing[J]. Gynecol Obstet Invest, 2021, 86(1-2):123-131.
- [13] 李佳欣,魏媛,赵扬玉.胎儿游离DNA浓度低导致无创产前检测失败的相关因素研究进展[J].中华围产医学杂志,2019,22(1):30-34.

(下转第555页)

血 AFP/CEA 与 HCY 联合检测在诊断原发性肝细胞癌中的应用

余道武¹ 余天雾¹ 苟毅¹ 杨陆蒙^{2*}

[摘要] **目的** 探讨血甲胎蛋白/癌胚抗原(AFP/CEA)与血浆同型半胱氨酸(HCY)联合检测在诊断肝细胞癌(HCC)中的应用价值。**方法** 选取2016年6月到2018年9月在重庆医科大学附属永川医院收治的85例HCC患者作为HCC组,选取同期收治的100例非HCC患者为对照组。记录年龄、吸烟史、饮酒史、Child-Pugh分级等一般资料,采用ELISA法检测HCY水平,ROCHE化学发光仪检测患者血清AFP、CEA水平,多因素Logistic回归分析影响HCC发生的危险因素,ROC分析血AFP/CEA与HCY联合诊断HCC的诊断价值。**结果** HCC组存在饮酒史、吸烟史所占比例明显高于非HCC组,血HCY、AFP、CEA和AFP/CEA水平明显高于非HCC组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Logistic分析结果显示,合并饮酒史、HCY升高、AFP升高、CEA升高和AFP/CEA比值升高均为影响HCC的独立危险因素($P<0.05$)。ROC分析结果显示,AFP/CEA联合HCY诊断HCC的AUC为0.918,明显高于AFP/CEA或者HCY单独检测($P<0.05$)。TNM分期为Ⅱ期组患者血清HCY、AFP和AFP/CEA水平明显高于Ⅰ期组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 血AFP/CEA与HCY联合检测对HCC具有较高的诊断价值,临床可根据其水平变化预测HCC发生和进展。

[关键词] 甲胎蛋白;癌胚抗原;血浆同型半胱氨酸;肝细胞癌

Application of serum AFP/CEA and HCY combined detection in the diagnosis of primary hepatic carcinoma

YU Dawu¹, YU Tianwu¹, GOU Yi¹, YANG Lumeng^{2*}

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Yongchuan, Chongqing, China, 402160; 2. Department of Vascular Surgery of Mammary Hernia, Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Yongchuan, Chongqing, China, 402160)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value of combined detection of serum alpha fetoprotein/carcino-embryonic antigen (AFP/CEA) and plasma homocysteine (HCY) in the diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** 85 patients confirmed with HCC admitted to Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University from June 2016 to September 2018 were selected as the HCC group. 100 non-HCC patients who were admitted in same period were enrolled as the control group. The general data such as gender, age, smoking history, drinking history and Child-Pugh classification in both groups were recorded. HCY level was detected by ELISA. The serum AFP and CEA levels were detected by ROCHE chemiluminescence instrument. The multivariate Logistic regression analysis was performed to analyze risk factors influencing occurrence of HCC. ROC analysis was performed to analyze diagnostic value of serum AFP, CEA AFP/CEA combined with HCY for HCC. **Results** The proportion of drinking history and smoking history in the HCC group were significantly higher than that in the non-HCC group, and the blood levels of HCY, AFP, CEA and AFP/CEA were significantly higher than those in the non-HCC group, with statistical

基金项目:永川区自然科学基金计划(Ycstc,2019nb0201)

作者单位:1. 重庆医科大学附属永川医院肝胆外科,重庆 402160

2. 重庆医科大学附属永川医院乳甲癌血管外科,重庆 402160

*通信作者:杨陆蒙, E-mail:453264409@qq.com

significance ($P<0.05$). Logistic analysis showed that drinking history, HCY increasing, AFP increasing, CEA increasing and AFP/CEA increasing were all independent risk factors influencing HCC ($P<0.05$). The results of ROC analysis showed that the AUC of serum AFP, CEA, AFP/CEA, HCY and AFP/CEA combined with HCY for diagnosis of HCC were 0.808, 0.756, 0.860, 0.752 and 0.918, respectively. The AUC of AFP/CEA combined with HCY for diagnosis of HCC was significantly higher than that of AFP/CEA or HCY alone ($P<0.05$). The levels of HCY, AFP and AFP/CEA in TNM stage II group were significantly higher than those in TNM stage I group ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of AFP/CEA and HCY has a high diagnostic value for HCC, and the occurrence and progression of HCC can be predicted clinically based on the changes of its levels.

[KEY WORDS] AFP; CEA; HCY; HCC

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种常见的原发性肝癌,早期缺乏典型的临床症状,就诊时大多已发展为中晚期,临床预后较差^[1]。目前,临床常采用血清甲胎蛋白(Alpha fetoprotein, AFP)联合超声检查方法来诊断,但研究显示,AFP对一些早期较小的肝癌诊断敏感性不理想^[2]。寻找新的高敏感性的指标进行联合检测,以提高临床HCC的早期诊断率具有重要意义。癌胚抗原(Carcino-embryonic antigen, CEA)是一种广谱的肿瘤标识物,在多种恶性肿瘤中具有阳性表达^[3]。临床研究显示,AFP/CEA可以提高AFP和CEA对HCC的诊断价值,更准确地区分转移性和原发性肝癌^[4]。血浆同型半胱氨酸(Homocysteine, HCY)是蛋氨酸代谢过程中的中间产物,其合成与代谢与肝功能密切相关,可用于临床HCC的诊断^[5]。本研究将分析血AFP/CEA与HCY联合检测在诊断HCC中的应用价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年6月到2018年9月在重庆医科大学附属永川医院收治的85例HCC患者作为HCC组。纳入标准:经组织学穿刺活检确诊为HCC患者^[6]。排除标准:合并其它系统恶性肿瘤者;合并严重心脑血管系统疾病者;合并免疫系统疾病者;妊娠期或哺乳期患者;合并血液系统疾病者;临床资料不完整者。HCC患者根据UICC/AJCC第7版TNM分期^[7], I期28例, II期57例。选取同期收治的100例非HCC患者为对照组,疾病类型:慢性肝炎48例、肝硬化38例、继发性肝癌8例、其它肝脏病变者6例。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 检测指标

记录两组患者的性别、年龄、吸烟史(连续或

累计吸烟6个月或以上)、饮酒史(存在长期饮酒超过5年,且平均每天饮酒量 >40 g/d)、Child-Pugh分级^[8]等一般资料。于入院第2 d清晨,采集空腹血液3~5 mL,离心(3 500 rpm, $r=10$ cm, 10 min),取上清。采用ELISA法检测HCY水平(试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司),采用贝克曼Access 2全自动发光分析仪及配套检测试剂检测患者血清AFP、CEA水平,严格按操作说明进行操作。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件进行分析,计量资料均以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料均以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用多因素Logistic回归分析影响HCC发生的独立危险因素;采用ROC分析AFP/CEA联合HCY对HCC的诊断价值,曲线下面积(AUC)表示预测价值;以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般临床资料

HCC组饮酒史、吸烟史所占比例明显高于非HCC组,血HCY、AFP、CEA和AFP/CEA水平明显高于非HCC组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 多因素Logistic回归分析影响HCC发生的因素

选择2.1中影响HCC发生的差异有统计学意义的变量进行赋值,非HCC=0, HCC=1;无饮酒史=0, 有饮酒史=1;无吸烟史=0, 有吸烟史=1。采用直接进入法将单因素分析有差异的变量带入方程进行Logistic回归分析,结果显示,合并饮酒史、HCY升高、AFP升高、CEA升高和AFP/CEA比值升高均为影响HCC发生的独立危险因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 血AFP/CEA与HCY联合检测对HCC的诊断价值

AFP/CEA联合HCY诊断HCC的AUC为0.918优于单一检测($P<0.05$)。见表3、图1。

表1 HCC患者的一般临床资料 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]Table 1 General clinical data of HCC patients [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

一般资料	<i>n</i>	HCC组 (<i>n</i> =85)	对照组 (<i>n</i> =100)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄	185	52.34±10.27	51.27±10.85	0.685	0.494
性别					
男	153	72(84.71)	81(81.00)	0.441	0.507
女	32	13(15.29)	19(19.00)		
饮酒史					
有	70	41(48.24)	29(29.00)	7.228	0.007
无	115	44(51.76)	71(71.00)		
吸烟史					
有	57	33(38.82)	24(24.00)	4.736	0.030
无	128	52(61.18)	76(76.00)		
Child-Pugh 分级					
A	48	18(21.18)	30(30.00)	1.981	0.376
B	104	50(58.82)	54(54.00)		
C	33	17(20.00)	16(16.00)		
HCY($\mu\text{mol/L}$)	185	20.85±6.41	14.76±4.22	7.733	<0.001
AFP(ng/mL)	185	223.64±107.45	41.52±15.76	16.746	<0.001
CEA(ng/mL)	185	9.26±4.71	3.71±1.24	11.335	<0.001
AFP/CEA	185	22.47±6.57	14.16±4.27	10.340	<0.001

表2 多因素 Logistic 回归分析影响 HCC 发生的因素

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting the occurrence of HCC

一般资料	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	<i>P</i> 值
饮酒史	0.636	0.314	4.103	1.889	1.021~3.495	0.043
吸烟史	0.547	0.341	2.573	1.728	0.886~3.372	0.109
HCY	0.654	0.308	4.509	1.923	1.052~3.517	0.034
AFP	0.712	0.274	6.752	2.038	1.191~3.487	0.010
CEA	0.668	0.306	4.766	1.950	1.071~3.553	0.030
AFP/CEA	0.735	0.263	7.810	2.085	1.245~3.492	0.005

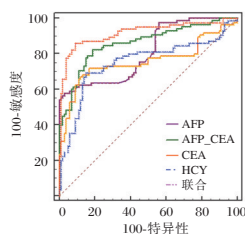


图1 血 AFP/CEA 与 HCY 联合检测对 HCC 的诊断价值

Figure 1 The diagnostic value of combined detection of blood AFP/CEA and HCY for HCC

2.4 HCC 患者血 AFP/CEA 和 HCY 与 TNM 分期之间的关系

Ⅱ期患者血清 HCY、AFP 和 AFP/CEA 水平明显高于Ⅰ期患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 HCC 患者血 AFP/CEA 和 HCY 与 TNM 分期之间的关系 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 The relationship between blood AFP/CEA and HCY and TNM staging of HCC patients ($\bar{x} \pm s$)

	<i>n</i>	HCY ($\mu\text{mol/L}$)	AFP (ng/mL)	CEA (ng/mL)	AFP/CEA
Ⅰ期	28	18.21±5.47	190.59±58.46	8.75±2.55	21.57±5.49
Ⅱ期	57	22.16±6.13	239.67±70.34	9.51±2.86	24.65±6.31
<i>t</i> 值		2.890	3.188	1.192	2.204
<i>P</i> 值		0.005	0.002	0.237	0.030

3 讨论

HCC 是一种常见的恶性肿瘤,目前临床医师主要根据患者病情发展采取个体化的综合治疗,早期诊断和治疗是改善患者预后的关键。AFP 是目前评估 HCC 最敏感最常用的指标,但近年来研究显示,AFP 对于早期肝癌的诊断存在一定的局限性^[9]。本研究分析了影响 HCC 发生的因素,发现合并饮酒史为影响 HCC 发生的危险因素。廖玉宜等^[10]研究显示,长期饮酒会使血液中乙醇浓度升高,导致酒精性肝炎和肝硬化等的发生,增加 HCC 发生的风险,与本研究结果基本一致。

本研究中,HCC 患者体内的 AFP 和 CEA 水平显著升高。AFP 为一种白蛋白家族的糖蛋白,参与调节机体多种生物学过程,在多种肿瘤中均可表现出较高浓度,临床常用于 HCC 的诊断^[11]。CEA 是从结肠癌和胚胎组织中提取的一种可溶性糖蛋白,在多种恶性肿瘤中均具有高表达^[12]。本研究中,AFP 升高、CEA 升高和 AFP/CEA 比值升高均为影响 HCC 发生的独立因素,且 AFP/CEA 比值对 HCC 的诊断价值高于 AFP 或 CEA 单独诊断,提示临床可优先选择 AFP/CEA 诊断 HCC。临床研究显示,CEA 是一种广谱的肿瘤相关抗原,不能作为诊断某种恶性肿瘤的特异性指标,临床常采用联合诊断来提高其诊断价值^[13]。王铮等^[14]研究显示,AFP 与 CEA 联合检测可以提高对 HCC 的诊断价值,与本研究结果基本一致,提示临床可优

表3 血 AFP/CEA 与 HCY 联合检测诊断 HCC 的 ROC 特征

Table 3 ROC characteristics of combined detection of blood AFP/CEA and HCY in the diagnosis of HCC

组别	截点值	敏感性(%)	特异性(%)	95%CI	AUC	<i>P</i> 值
HCY	19.55 $\mu\text{mol/L}$	69.41	85.00	0.684~0.813	0.752 ^{ab}	<0.001
AFP	110 ng/mL	90.00	61.18	0.744~0.862	0.808 ^a	<0.001
CEA	5.79 ng/mL	68.24	87.00	0.687~0.816	0.756 ^{ab}	<0.001
AFP/CEA	18.07	82.35	81.00	0.801~0.906	0.860 ^a	<0.001
HCY 联合 AFP/CEA		85.88	91.00	0.869~0.954	0.918	<0.001

注:与 HCY 联合 AFP/CEA 相比,^a $P<0.05$;与 AFP/CEA 相比,^b $P<0.05$ 。

先采用AFP/CEA进行HCC诊断。

本研究中,HCC患者体内的HCY水平显著升高,且HCY水平升高是影响HCC发生的独立因素。HCY是一种含硫氨基酸,在体内有两种代谢途径,少部分HCY在维生素B6的参与下生成半胱氨酸,大部分在维生素B12和叶酸的作用下生成蛋氨酸^[15]。肝脏是HCY的主要代谢场所,肝功能异常可影响HCY在体内的代谢过程,导致血HCY累积,水平异常升高。肖健等^[16]研究显示,血清HCY水平与肝脏的病变程度有关,有望应用于肝脏疾病的诊断和预后评估。张庚等^[17]研究显示,血浆HCY水平可以在一定程度上反映肝脏的损伤程度,对HCC具有一定的诊断价值,与本研究结果基本一致,提示临床可根据患者的HCY水平预测其肝功能损伤程度。本研究中,AFP/CEA比值联合HCY对HCC患者的临床诊断价值显著高于单独诊断,提示临床可联合检测AFP/CEA和HCY,以提高HCC的检出率。本研究分析了HCC患者血HCY、AFP和AFP/CEA水平与TNM分期之间的关系,发现TNM分期为Ⅱ期组患者血清HCY、AFP和AFP/CEA水平明显高于Ⅰ期组。结合本研究结果说明,临床医师可根据HCY、AFP和AFP/CEA水平评估HCC患者的病情发展,指导临床治疗。

综上所述,合并饮酒史、HCY升高、AFP升高、CEA升高和AFP/CEA比值升高均为影响HCC发生的独立危险因素,AFP/CEA比值联合HCY对HCC患者的临床诊断价值显著高于AFP/CEA或者HCY单独诊断,临床可联合检测患者的血清AFP/CEA和HCY,以提高HCC的诊断率。

参考文献

- [1] 许立国,冯广森,林亚超,等.细胞免疫联合手术对结直肠癌肝转移患者生存质量的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(4):295-302.
- [2] 陆兴热,骆葱,陈凤羽,等.AFP、GP73、SOD联合检测在原发性肝癌患者诊断中应用价值[J].中国普通外科杂志,2016,25(7):1076-1080.
- [3] Felberg NT, Michelson JB, Shields JA. Cea family syndrome—Abnormal carcino embryonic antigen (CEA) levels in asymptomatic retinoblastoma family members[J]. Cancer, 2015, 37(3):1397-1402.
- [4] 翁洋,王吉魁,温艳惠,等.血清AFP、CEA、CA19-9和CA125检测在原发性和转移性肝细胞癌诊断中的临床价值[J].中国医科大学学报,2016,45(5):470-472.
- [5] 辛敬平,鲁莉.原发性肝癌患者血清D-二聚体和同型半胱氨酸检测的临床价值[J].血栓与止血学,2014,20(1):33-34.
- [6] 中国抗癌协会肝癌专业委员会,中华医学会肝病学会分会肝癌学组,中国抗癌协会病理专业委员会等.原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015年版)[J].中华肝胆外科杂志,2015,23(5):321-327.
- [7] Kee K, Wang J, Lin C, et al. Validation of the 7th Edition TNM Staging System for Hepatocellular Carcinoma: An Analysis of 8,828 Patients in a Single Medical Center[J]. Dig Dis Sci, 2013, 58(9):2721-2728.
- [8] Arda K, Ofelli M, Çalikoglu U, et al. Hepatic vein Doppler waveform changes in early stage (Child-Pugh A) chronic parenchymal liver disease[J]. J Clin Ultrasound, 1997, 25(1):15-19.
- [9] 徐伟红,姚怡婷,曹华.血清GP73、AFP-L3、AFP及AFU检测在原发性肝癌诊断中的应用评价[J].中华检验医学杂志,2016,39(4):262-266.
- [10] 廖玉宜,陈思东,黄芊芊,等.HBV感染、饮酒与吸烟对原发性肝癌的协同作用[J].现代预防医学,2014,41(18):3366-3372.
- [11] Ghosh S, Bhowmik S, Majumdar S, et al. The exosome encapsulated microRNAs as circulating diagnostic marker for hepatocellular carcinoma with low alpha-fetoprotein[J]. Int J Cancer, 2020, 147(10):2934-2947.
- [12] Veisi M Z, Hashemi GN, Shakouri KM, et al. CEA plasmid as therapeutic DNA vaccination against colorectal cancer[J]. Iran J Immunol, 2019, 16(3):235-245.
- [13] Campos-da-Paz M, Dórea JG, Galdino AS, et al. Carcinoembryonic antigen (CEA) and hepatic metastasis in colorectal cancer: update on biomarker for clinical and biotechnological approaches[J]. Recent Pat Biotechnol, 2018, 12(4):269-279.
- [14] 王铮.血清肿瘤标志物的联合检测在原发性肝癌中的诊断价值[J].中华肿瘤防治杂志,2018,25(S1):90-92.
- [15] 赵彦楠,杨博逸,孙贵范,等.同型半胱氨酸与主要慢性病关系研究进展[J].中国公共卫生,2015,31(2):241-245.
- [16] 肖健,熊怀民,钱建平,等.血清同型半胱氨酸在肝炎、肝硬化及肝癌中的诊断价值研究[J].中国卫生检验杂志,2015,25(14):2315-2318.
- [17] 张庚,刘广召,冯桂银,等.中晚期肝癌患者血清血管内皮生长因子、乏氧诱导因子-1 α 和同型半胱氨酸联合检测的临床价值[J].中华实验外科杂志,2017,34(9):1557-1559.
- [14] Teder H, Paluoja P, Rekker K, et al. Computational framework for targeted high-coverage sequencing based NIPT[J]. PLoS One, 2019, 14(7):e0209139.
- [15] Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2013, 41(1):26-32.

(上接第551页)

癫痫持续状态患者血清NSE、TNF- α 及GAL水平与脑电图异常程度的关系

赵安容¹ 王圣之² 崔利君¹ 李波^{1*}

[摘要] 目的 分析血清神经元特异烯醇化酶(NSE)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及甘丙肽(GAL)在癫痫持续状态患者中的表达与脑电图异常的关系。方法 分析2017年3月至2019年4月巴中市中心医院癫痫持续状态患者136例临床资料设为观察组,另选65例同期体检健康者为对照组。分析两类患者NSE、TNF- α 与GAL水平差异。同时对上述指标与脑电图异常的关系进行观察;并根据观察组2年随访结果分析不同预后患者NSE、TNF- α 与GAL水平。结果 观察组发作2、24 h时的NES、TNF- α 与GAL水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。经脑电图检查显示:观察组轻度异常患者15例、中度69例、重度52例;不同患者NES、TNF- α 与GAL水平指标水平比较:重度异常组>中度异常组>轻度异常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。脑电图与NES、TNF- α 与GAL水平相关性分别为($r=0.767, 0.311, 0.372, P$ 均 <0.005)。观察组预后良好者60例、不良者76例;分析其就诊时发作2 h内、24 h后NES、TNF- α 与GAL水平预后良好者明显低于预后不良者;发作2h内预后良好、预后不良者NES水平与发作24h比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 癫痫持续状态患者血清NES、TNF- α 与GAL水平与脑电图存在明显正相关关系,且可能参与患者疾病预后。

[关键词] 癫痫持续状态;脑电图异常;神经元特异烯醇化酶;肿瘤坏死因子- α ;甘丙肽

Relationship between serum NSE, TNF- α and GAL levels and abnormality of electroencephalogram in patients with status epilepticus

ZHAO Anrong¹, WANG Shengzhi², CUI Lijun¹, LI Bo^{1*}

(1. Department of Neurology, Bazhong Central Hospital, Bazhong, Sichuan, China, 636000; 2. Digestive Internal Medicine, Bazhong Central Hospital, Bazhong, Sichuan, China, 636000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the expressions of serum neuron-specific enolase (NSE), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and galanin (GAL) in patients with status epilepticus and abnormal EEG. **Methods** The clinical data of 136 patients with status epilepticus in Bazhong Central Hospital from March 2017 to April 2019 were analyzed and set as the observation group, and 65 healthy people who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The differences in the levels of NSE, TNF- α and GAL between the two groups of patients were analyzed. At the same time, the relationship between the above indicators and abnormal EEG was observed; and the levels of NSE, TNF- α and GAL in patients with different prognosis were analyzed according to the 2-year follow-up results of the observation group. **Results** The levels of NES, TNF- α and GAL in the observation group at 2 and 24 hours after seizure were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The EEG examination showed that there were 15 cases of mild abnormalities, 69 cases of moderate abnormalities and 52 cases of severe abnormalities in the observation group. Comparison of NES, TNF- α and GAL levels in different patients: the severe abnormality group > the moderate abnormality group >

基金项目:四川省卫生和计划生育委员会科研课题(17PJ400)

作者单位:1.巴中市中心医院神经内科,四川,巴中 636000

2.巴中市中心医院消化内科,四川,巴中 636000

*通信作者:李波, E-mail: sichlbo@163.com

the mild abnormality group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The correlations between EEG and NES, TNF- α and GAL levels were 0.767, 0.311, 0.372 ($P<0.05$). There were 60 cases with good prognosis and 76 cases with poor prognosis in the observation group; analysis of the levels of NES, TNF- α and GAL within 2 hours and 24 hours after the onset of the patients with good prognosis was significantly lower than that of those with poor prognosis. The level of NES in patients with good prognosis and poor prognosis within 2 hours of attack was significantly different from that within 24 hours of attack ($P<0.05$).

Conclusion Serum NES, TNF- α and GAL levels in patients with status epilepticus were significantly positively correlated with EEG, and may be involved in the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Status epilepticus; Abnormal EEG; NSE; TNF- α

癫痫是临床常见的神经系统疾病;其发病机制复杂,至今认为明确,但医学界普遍认为神经免疫调节网络失衡是导致其发生的主要原因之一^[1]。癫痫持续状态是患者癫痫发作时间持续5分钟以上无法停止,在临床中致死率、致残率极高,而且部分得到救治患者可因此出现不可逆脑损伤^[2]。炎症状态会刺激神经元持续性放电会导致大脑胶质细胞功能障碍,细胞凋亡速度加快加重癫痫发作频率与时间。神经元特异烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)与甘丙肽(Galanin, GAL)在临床中被认为与癫痫的发生有密切关系;而脑电图是目前临床中诊断癫痫的首选方法,也是最有价值的方式^[3-4]。临床中对于癫痫持续状态患者脑电图异常情况的研究较少,而癫痫持续状态患者脑电图结果与NSE、TNF- α 与GAL水平存在何种关系,目前也未阐明。本文旨在探讨NSE、TNF- α 与GAL水平与患者脑电图的关系,为癫痫持续状态患者的诊断及后续治疗提供相应帮助。报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取巴中市中心医院2019年3月至2021年4月癫痫持续状态患者进行筛选,符合标准者共136例将其设置为观察组;另选本院同期体检健康者65例为对照组。观察组男性70例、女性66例;平均年龄(48.3 ± 15.2)岁;病程平均(6.0 ± 1.0)年。对照组男性38例、女性27例;平均年龄(47.8 ± 15.3)岁。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①观察组患者临床资料完整无缺失;②对照组均为巴中市中心医院同期体检健康者无各类急慢性疾病;③观察组符合国际抗癫痫联盟制定的癫痫发作与癫痫综合征诊断指南标准^[5];④观察组患者均在癫痫发作时意识尚未恢复又再次

发作癫痫或是发作时间 >5 min无法自行停止。排除标准:①患有各类急慢性疾病;②心、肝、肾患有严重疾病或是各项对应检查结果 ≥ 2 项指标与正常值存在明显差异;③患有精神抑郁类疾病者且长期服用治疗药物者;④继发性癫痫者;⑤近3个月内服用过免疫制剂、激素类药物者;⑥内分泌功能紊乱;⑦有脑卒中、脑出血、脑部手术史者;⑧神经系统疾病。本研究已通过单位伦理委员会通过。所有入试者及家属均知情并签署同意书。

1.2 方法

抽取两组研究对象外周血5 mL(观察组抽取其癫痫发作后2 h内与24 h后血液),3 000 r/min离心5 min, $r=13.5$ cm,留取血清放入 -70°C 环境中保存,采用酶联免疫吸附法对NES、TNF- α 与GAL水平。试剂盒生产商为上海恒远生物科技有限公司。

脑电图检查:采用16导数字化无纸记录脑电图仪对观察组患者进行检查,根据国际10/20系统安置头皮电极,使用平均参考导联与双极导联进行扫描记录。检查过程中让患者作出睁眼、闭眼等行为,同时进行闪光刺激与过度换气诱发实验,患者脑电图记录时间需 >30 min。

1.3 观察指标

异常脑电图评定标准^[6]:轻度异常: α 节律呈现规则或是不稳定表现,患者睁眼时无明显消失或是抑制反应表现, β 波出现高波幅,且Q波在各区活动增加,也可表现为主要活动区活动增加,在过度唤起时Q波出现高幅波动。中度异常: α 节律出现明显不对称,甚至出现消失,Q波活动呈现弥散性,Q波可出现活动阵发性发作,过度换气后高波幅 δ 波成群出现。重度异常:Q波、 δ 波的活动出现弥散性发作, α 波变慢或是消失, δ 波阵发性出现或是自发并伴有高波幅棘波、棘慢综合波、尖波;偶尔出现暴发性活动。

对观察组患者进行随访2年,采用Engel分级^[7]对不同类型患者预后情况进行判断,I级:患者药物

或是手术治疗后到随访结束癫痫未发作,Ⅱ级:癫痫发作次数显著减少,1年内发作次数 ≤ 2 次,Ⅳ级:发作次数 >3 次/年,但发作频率减少75%;Ⅳ级患者发作次数无减少,甚至出现增加。预后良好:Ⅰ级,预后不良:Ⅱ~Ⅳ级;记录不同预后患者NES、TNF- α 与GAL水平,并分析不同脑电图结果患者预后情况。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计学分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,符合正态分布的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,NES、TNF- α 与GAL水平采用独立样本 t 检验与单因素方差分析,相关性分析采用kendall,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组NES、TNF- α 与GAL水平比较

观察组发作2、24 h时的NES、TNF- α 与GAL水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组NES、TNF- α 与GAL水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 nes and TNF in two groups- α Comparison with gal level ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间点	n	NES($\mu\text{g/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	GAL(ng/L)
观察组	发作2 h内	136	65.71 $\pm$ 7.98 ^a	68.79 $\pm$ 8.62 ^a	123.36 $\pm$ 23.45 ^a
	发作24 h后	136	64.88 $\pm$ 8.02 ^a	67.39 $\pm$ 8.73 ^a	122.65 $\pm$ 25.30 ^a
对照组		65	12.30 $\pm$ 1.03	4.01 $\pm$ 7.87	106.85 $\pm$ 7.82
F值			1418.819	1482.402	13.930
P值			<0.05	<0.05	<0.05

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 不同脑电图结果患者NES、TNF- α 与GAL水平比较及相关性

不同脑电图结果患者NES、TNF- α 、GAL水平在发作2 h内、24 h后比较结果:重度异常组 $>$ 中度异常组 $>$ 轻度异常组。差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2、图1A~C。

2.2.1 NES、TNF- α 与GAL水平与脑电图相关性

脑电图与NES、TNF- α 与GAL水平相关性分别为($r=0.767, 0.311, 0.372, P$ 均 < 0.05)。

2.3 不同预后患者NES、TNF- α 与GAL水平比较

观察组136例患者均得到随访,其中预后良好者60例、不良者76例;分析其就诊时发作2 h内、24 h后NES、TNF- α 与GAL水平预后良好者明显低于预后不良者,差异有统计学意义($P < 0.05$);发作2 h内预后良好、预后不良者NES水平与发作24 h比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

3 讨论

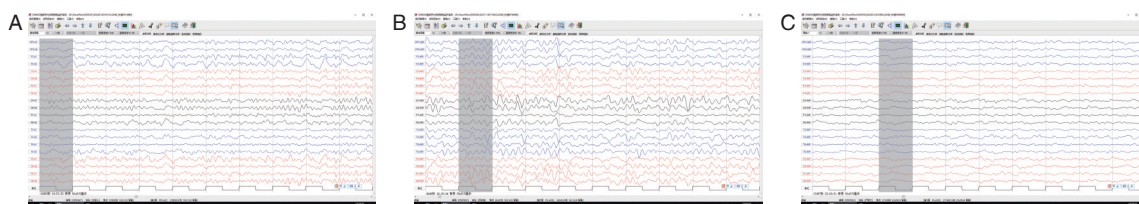
近年来根据统计研究我国癫痫发病率得到了明显上升,且呈现年轻化趋势,部分患者因对抗癫痫治疗存在错误理解,拒绝服用药物或是服药依从性较差,病情控制较差,且癫痫发作存在突然性,若患者在公共场合或是独处时发病,对其心理、生理造成的损害无法量化预估^[8]。而癫痫持续状态的发作时因时间长,在公共场所发生时不仅对患者造成严重影响对他人造成的视觉、心理冲

表2 不同脑电图结果患者NES、TNF- α 与GAL水平比较及相关性($\bar{x} \pm s$)

Table 2 nes and TNF in patients with different EEG results- α Comparison and correlation with gal level ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	发作2 h内			发作24 h后		
		NES($\mu\text{g/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	GAL(ng/L)	NES($\mu\text{g/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	GAL(ng/L)
轻度异常组	15	51.64 $\pm$ 4.87 ^{ab}	57.58 $\pm$ 9.63 ^{ab}	96.73 $\pm$ 26.50 ^{ab}	53.60 $\pm$ 8.12 ^{ab}	55.21 $\pm$ 11.86 ^{ab}	98.31 $\pm$ 27.03 ^{ab}
中度异常组	69	63.10 $\pm$ 3.10 ^a	68.17 $\pm$ 5.53 ^a	119.23 $\pm$ 17.32 ^a	64.16 $\pm$ 5.15 ^a	67.87 $\pm$ 6.26 ^a	119.80 $\pm$ 19.82 ^a
重度异常组	52	73.23 $\pm$ 4.92	72.85 $\pm$ 8.73	136.53 $\pm$ 21.31	69.09 $\pm$ 7.79	70.27 $\pm$ 7.65	133.45 $\pm$ 25.81
F值		190.949	25.341	25.943	32.779	23.359	14.548
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.05	<0.05	<0.05

注:与重度组比较,^a $P < 0.05$;与中度组比较,^b $P < 0.05$ 。



注:A为轻度;B为中度;C为重度。

图1 本文典型轻度患者脑电图检查结果

Figure 1 EEG results of typical mild patients in this paper

表3 不同预后患者 NES、TNF- α 与 GAL 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Nes and TNF in patients with different prognosis- α Comparison with gal level ($\bar{x} \pm s$)

预后	n	发作 24 h 内			发作 24 h 后		
		NES($\mu\text{g/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	GAL(ng/L)	NES($\mu\text{g/L}$)	TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	GAL(ng/L)
预后良好	60	58.86 $\pm$ 5.17 ^a	65.41 $\pm$ 8.23	112.59 $\pm$ 22.38	61.69 $\pm$ 7.80	64.94 $\pm$ 9.78	114.01 $\pm$ 24.22
预后不良	76	71.11 $\pm$ 5.15 ^b	71.46 $\pm$ 8.01	131.87 $\pm$ 20.73	67.40 $\pm$ 7.31	69.33 $\pm$ 7.30	129.47 $\pm$ 24.16
t 值		13.750	4.316	5.199	4.387	2.998	3.700
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.05	<0.05	<0.05

注:与发作 24 h 预后良好比较比较, *P<0.05;与发作 24 h 预后不良比较, ^bP<0.05。

击较大,围观群众想帮助患者也可能因不知正确的方法,造成自身或是患者受伤,引起社会舆论关注;若患者独处时发病,因未得到及时救治可造成患者脑部不可逆损伤,严重可因此造成患者终身残疾或是死亡的发生^[9-10]。

癫痫发作的主要特征为神经元重复过度异常放电,且经过多年研究,炎症因子与神经元内分泌细胞与其发病存在密切关系。发病时因神经元异常发病诱使神经出现损伤,进而破坏血脑屏障与周围神经胶质细胞^[11-12]。NES、TNF- α 与 GAL 已被多类研究证实在癫痫患者疾病中的价值,本文分析其在癫痫持续状态患者中的水平发现:在发病 2 h 内与 24 h 后,上述指标水平并不存在明显差异,但远高于对照组;随后根据患者脑电图结果对异常程度分组再度观察发现脑电图异常程度越高 2 h 内与 24 h 后 NES、TNF- α 与 GAL 水平也越高。分析原因:癫痫发作时巨噬细胞会产生大量自由基,血脑屏障被破坏后血液中 NSE、TNF- α 浓度随之上升,且研究表明两者与神经细胞损伤存在正相关,脑电图结果异常程度越高则表明患者脑部异常放电情况越严重,因此当患者脑电图结果为重度异常时,神经元内细胞受损程度不断提升,抑制 NSE、TNF- α 分泌能力逐渐下降,上述指标无法得到制衡,会进一步分泌损害大脑神经,所以表达水平会更高^[13-14]。GAL 作为一种神经递质物,其具有对海马区锥体细胞兴奋后突触电位抑制作用,当脑部神经元放电频率过高时,GAL 会大量分泌来组织神经元兴奋,当其呈现高水平表达时,是在降低神经元兴奋度起到缓解癫痫的作用^[15]。本文分析 NES、TNF- α 与 GAL 水平与脑电图结果的相关性发现,其相互之间为正相关关系,这表明当上述指标水平升高时脑电图异常程度也将随之升高;反之则下降。

本文对患者进行了 2 年随访,根据其预后结果对发作 2 h 时、发作 24 h 后 NES、TNF- α 与 GAL 水平进行观察发现:预后良好与预后不良者两个时点

NES、TNF- α 与 GAL 水平均存在明显差异,其中预后良好、不良者发作 2 h 时 NES 与发作 24 h 后水平存在明显差异;另外两项指标却不存在差异。主要原因为:癫痫发生时 NSE 在人体脑脊液中也异常兴奋,并通过受损血脑屏障进入人体血液中,癫痫持续状态发作时神经元与神经胶质细胞坏死持续时间长,细胞浆内蛋白外泄进一步刺激了 NSE 表达,NSE 不断分泌诱使神经元细胞持续兴奋放电频率、时间增加,脑部神经刺激不断提升,所以脑电图检查与 NSE 相关程度会更高^[16]。

本文虽得出了相关的研究结果与结论,但本研究为回顾性分析,纳入样本量较少且未对其他影响结果的因素以及患者治疗药物的使用进行考虑,同时观察组患者 NES、TNF- α 与 GAL 水平为疾病发作 2 h 内与 24 h 后所测结果,无稳定期结果,在对预后的判定上可能存在一定局限。因此,后续要加大样本量并对影响结果各类因素予以考量进一步分析。

综上所述,血清 NES、TNF- α 与 GAL 水平与癫痫持续状态患者脑电图结果间存在显著相关关系,且可能参与患者疾病预后。但因本文存在一定局限性不足,后续要进一步分析研究为该病患者的治疗康复提供更全面的数据理论支持。

参考文献

- [1] Krylov VV, Rak VA, Tokarev AS, et al. Stereotactic Radio-surgery in the Complex Treatment of Patients With Epilepsy Associated With Various Structural Brain Lesions[J]. Russian Sklifosovsky J Emergency Medical Care, 2021, 10(1):73-82.
- [2] Hamilton KE, Shelton CM, James W, et al. Persistent Hypersomnolence Following Clobazam in a Child With Epilepsy and Undiagnosed CYP2C19 Polymorphism[J]. J Pediatr Pharmacol Ther, 2020, 25(4):320-327.
- [3] Epstein SE, Lipinski MJ, Luger D. persistent inflammation, stem cell - induced systemic anti - inflammatory effects, and need for repeated stem cell injections: critical concepts influencing optimal stem cell strategies for treating acute myocardial infarction and heart failure[J]. 2019, 7(4):8524.

(下转第 564 页)

Nugent 评分方法技术改良及在细菌性阴道病诊断中的应用评价

牛婧^{1,3} 李娇⁴ 李娜⁴ 孙婧³ 张静³ 王亚文^{1,2*}

[摘要] 目的 针对 Nugent 评分方法在采样检测过程中的不定量、不精准带来的诊断结果差异的问题,建立改良细菌性阴道病(BV)的分泌物涂片的定量检测方法,通过与传统采样方法的诊断结果进行比较,探讨分析前操作规范在 Nugent 评分方法诊断 BV 的重要作用。方法 通过选取不同重量的阴道分泌物在规定的面积下进行涂布,对菌群镜下分布情况进行评价,制定标准化阴道分泌物取样及涂片方案,建立改良 BV 诊断方法。随机选取 233 例女性作为研究对象,分别使用改良方法及传统方法同步进行检测,比较两种方法在菌群密集度、多样性、Nugent 评分的差异,并对这两种方法进行方法学评价。结果 建立改良方法为取样一平勺(约重 0.01 g),涂片面积 20 mm×20 mm。改良方法与传统方法的菌群密集度比较,差异有统计学意义($P<0.05$);改良方法与传统方法多样性比较,差异有统计学意义($P<0.05$);改良方法与传统方法 Nugent 评分结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。改良方法与传统方法对 BV 的诊断结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。两种方法的方法学评价结果显示,改良方法优于传统方法($P<0.05$)。结论 建立分析前的定量操作规范,是对 Nugent 评分标准在诊断细菌性阴道病的准确性的前提条件,改良方法的建立和使用可提高 BV 诊断的一致性和准确性。

[关键词] 细菌性阴道病; Nugent 评分; 改良方法; 方法学评价

Technical improvement of Nugent scoring method and evaluation of its application in the diagnosis of bacterial vaginosis

NIU Jing^{1,3}, LI Jiao⁴, LI Na⁴, SUN Jing³, ZHANG Jing³, WANG Yawen^{1,2*}

(1. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, China, 710061; 2. Biological Sample Information Resource Center of the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, China, 710061; 3. Department of Laboratory Medicine, Xi'an Trade Union Hospital, Xi'an, Shaanxi, China, 710061; 4. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, China, 710061)

[ABSTRACT] **Objective** To establish a quantitative detection method of modified bacterial vaginosis (BV) secretion smear, and to compare the diagnostic results with traditional sampling methods to explore the important role of pre-analytical practice in the diagnosis of BV by Nugent scoring method. **Methods** Our improved BV diagnosis method was established by developing a standardized vaginal secretion sampling and smear plan after selecting vaginal secretions of different weights and spreading them under a prescribed area and then evaluating the distribution of the microflora. A total of 233 women were randomly selected as the research subjects, and the improved method and the traditional method were used for simultaneous detection. The differences in bacterial density, diversity and Nugent score of the two methods were compared, and the methodological evaluation of the two methods was carried out. **Results** The improved method was established by sampling a flat spoon (about 0.01 g in weight) with a smear area of (20×20) mm. There was a statistically

作者单位:1. 西安交通大学第一附属医院检验科,陕西,西安 710061

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

3. 西安工会医院检验科,陕西,西安 710061

4. 西安交通大学第一附属医院妇产科,陕西,西安 710061

*通信作者:王亚文, E-mail: wangyw1269@mail.xjtu.edu.cn

significant difference in bacterial density between the improved method and the traditional method ($P<0.05$). There was a statistically significant difference in diversity between the improved method and the traditional method ($P<0.05$); the Nugent score between the improved method and the traditional method showed a statistically significant difference ($P<0.05$). There was a statistically significant difference in the diagnostic results of BV between the improved method and the traditional method ($P<0.05$). The methodological evaluation results of the two methods showed that the improved method was superior to the traditional method ($P<0.05$). **Conclusion** Establishing the quantitative operation specification before analysis is the precondition for the accuracy of Nugent scoring standard in diagnosing bacterial vaginosis. The establishment and use of improved methods can improve the consistency and accuracy of BV diagnosis.

[KEY WORDS] Bacterial vaginosis; Nugent score; Improved method; Methodological evaluation

细菌性阴道病(Bacterial vaginosis, BV)是由加德纳菌、厌氧菌等增多,乳酸杆菌减少,阴道生态系统改变而引起的阴道感染性疾病^[1]。BV是育龄期女性中最常见的阴道感染性疾病之一^[2],有研究表明其感染率在20%~60%^[3],且BV患者中约50%无临床症状表现^[4]。BV可诱发多种妇科疾病,如尿道炎、其他类型的阴道炎、子宫内膜炎、妇科肿瘤^[5],也可导致多种产科疾病,如早产、羊膜炎、羊水感染、绒毛膜炎、新生儿感染等^[6-7]。另外由于BV与其他性传播疾病,如人类免疫缺陷病毒、单纯疱疹病毒Ⅱ型、沙眼衣原体和淋病奈瑟菌的感染有关^[8-9],BV已成为全球关注的主要问题。因此,对BV早诊断、早治疗对女性生殖道健康具有非常重要的意义。在诊断BV的实验室方法中以Nugent革兰染色评分方法作为诊断和疗效观察的金标准^[10]。但Nugent评分方法缺乏标准化的分析前条件,传统方法为使用无菌阴道窥器暴露阴道,使用无菌棉拭子拭取阴道内侧面分泌物从左至右在载玻片上涂片后送检。因为不同的操作者在阴道分泌物的采样量、均匀性和涂布厚度均没有质量控制,在没有涂片标准要求下的采样结果其差异非常大,严重影响了诊断其结果的一致性和准确性^[11]。因此,本研究旨在建立Nugent评分前的样本采集与涂布的标准化质量规范,以提高BV诊断的准确性,并对改良方法进行评价。

1 材料与方法

1.1 研究对象

随机选取2018年5月至2018年8月在西安交通大学第一附属医院妇科门诊就诊的10例女性作为研究对象进行改良方法的建立实验,233例研究对象进行改良方法和传统方法的比较和评价实验。纳入标准:①符合阴道微生态评价的临床应用专家共识^[12];②就诊24 h内无性生活史、阴道上

药史、阴道灌洗史;③对本研究签署知情同意书。排除标准:①月经期妇女;②合并精神疾病,不能判断自身症状者。本研究经院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂

分析天平(生产厂家:赛多利思;型号:BSA224S-SW;精密度0.000 1 g)、显微镜(生产厂家:奥林巴斯;型号:C31)、革兰氏染色液(生产厂家:珠海贝索生物技术有限公司;批号:C210801;规格:龙胆紫液×250 mL、碘溶液×250 mL、脱色液×250 mL、沙黄溶液×250 mL)、量勺、一次性无菌棉拭子、载玻片、涂布棒。

1.3 Nugent评分方法分析前技术改良方法的建立与评价

1.3.1 涂片范围的设计

在(76×26)mm的载玻片上分别选择(10×10, 20×20, 20×30)mm,设计涂片范围,并用划线笔进行确定,选择涂片面积大小易于涂布操作及镜下观察。

1.3.2 阴道分泌物取样量的设计

①选取10位患者,由医生取足量的阴道分泌物,分别使用预定量勺取样称重,取样量分别为半勺、一平勺、两平勺,每个样本同一体积取样三次,分别使用分析天平进行称重,计算均数(X)、标准差(SD)和变异系数(CV),测算取样最佳重量。②使用涂布棒,分别将这30个样本按三种体积、三种面积,在载玻片上进行均匀涂片。③将这30个样本进行革兰染色后在显微镜油镜下进行观察,认为镜下细菌分布均匀无聚集时为涂片薄厚合适,选择薄厚合适的取样量作为改良方法的阴道分泌物取样量。

1.4 改良方法与传统方法的比较

1.4.1 比较结果判读方法

233例研究对象分别使用传统方法(将阴道分泌物从左至右进行涂片)及改良方法(采用标准的涂片量及标准的涂片范围进行涂片),镜下分别观

察菌群密集度、多样性、Nugent 评分结果及 BV 诊断结果并记录,比较两组结果的差异性。分别对传统方法和改良方法的菌群密集度和菌群多样性的镜检结果进行数值化,以“+”为 1、“++”为 2、“+++”为 3、“++++”为 4 进行量化值计算,对两种方法的 BV 诊断结果进行数值化,以“BV 阴性”为 0,“中间型 BV”为 1,“BV 阳性”为 2 进行量化值计算,分别计算同一患者样本采用两种方法检测结果的差异,差异结果为传统方法量化值减去改良方法量化值,差异 $\neq 0$ 即为有差异,差异率为(差值 $\neq 0$ 的样本例数/总检测例数) $\times 100\%$ 。两种方法的 Nugent 评分差异结果为传统方法的评分减去改良方法的评分,差异 $\neq 0$ 即为有差异,差异率为(差值 $\neq 0$ 的样本例数/总检测例数) $\times 100\%$ [12]。

1.4.2 染色结果判读方法

按照 2016 年中华医学会妇产科分会发布的阴道微生态评价的临床应用专家共识 [12] 及 2021 年细菌性阴道病诊治指南 [13] 中革兰染色 Nugent 评分标准,对菌群密集度、多样性进行标准化评价以及 BV 的诊断。Nugent 评分以 BV 阳性(细菌性阴道病): ≥ 7 分;中间型 BV:4~6 分;BV 阴性(正常):0~3 分。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行数据处理;计数资料以 $n(\%)$ 描述,方法间进行配对卡方检验;方法评价采用受试者工作特征(ROC)曲线;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 改良方法建立结果

涂片范围为 20 mm $\times$ 20 mm 时涂片面积大小合适,易于涂布以及镜下观察,最终涂片范围选择 20 mm $\times$ 20 mm 的面积进行定量涂布。阴道分泌物在 20 mm $\times$ 20 mm 范围内均匀涂片,半勺取样量镜下菌量较少稀薄,菌群分步少,易漏诊和错误判读,见图 1A;二平勺取样量镜下菌群聚集成团,不易于观察计数,见图 1C;一平勺取样量镜下菌群分布均匀,无聚集成团的现象,见图 1B;最终选择分泌物取样量一平勺,即 0.01 g。改良方案最终确定为:取 0.01 g 阴道分泌物,在载玻片上 20 mm $\times$ 20 mm 范围内进行均匀涂片,染色后进行后续观察和 Nugent 评分。

2.2 改良方法与传统方法对菌群密集度差异分析

传统方法与改良方法的菌群密集度结果见表 1。两种方法的差异率为 56.2% (131/233),改良

方法与传统方法密集度比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2。

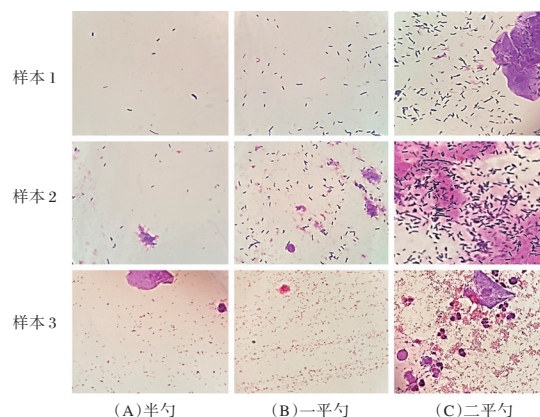


图1 阴道分泌物不同取样量在 20 mm $\times$ 20 mm 面积下涂片革兰染色结果(革兰染色, $\times 1\ 000$)

Figure 1 Gram staining results of smear under different sampling quantities of vaginal secretions at 20 mm $\times$ 20 mm area (Gram staining, $\times 1\ 000$)

表1 传统方法与改良方法菌群密集度结果 [$n(\%)$]

Table 1 Results of flora density of traditional and improved methods [$n(\%)$]

方法	密集度		
	++	+++	++++
传统方法	170(73.0)	24(10.3)	39(16.7)
改良方法	65(27.9)	116(49.8)	52(22.3)

表2 传统方法与改良方法密集度差异结果 [$n(\%)$]

Table 2 Results of the difference in density between the traditional method and the improved method [$n(\%)$]

密集度差异	n	χ^2 值	P 值
有差异	131(56.2)	101.9	< 0.05
密集度差值 > 0	11(4.7)		
密集度差值 < 0	120(51.5)		
无差异			
密集度差值 $= 0$	102(43.8)		

2.3 改良方法与传统方法对菌群多样性分析

传统方法与改良方法的菌群多样性结果,见表 3。改良方法与传统方法多样性比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表3 传统方法与改良方法菌群多样性结果 [$n(\%)$]

Table 3 Results of flora diversity of traditional and improved methods [$n(\%)$]

方法	多样性		
	++	+++	++++
传统方法	187(80.3)	42(18.0)	4(1.7)
改良方法	159(68.2)	68(29.2)	6(2.6)

表4 传统方法与改良方法多样性差异结果 [n(%)]

Table 4 Diversity differences between traditional methods and improved methods [n(%)]

多样性差异	n	χ^2 值	P值
有差异	48(20.6)	19.9	<0.05
密集度差值>0	10(4.3)		
密集度差值<0	38(16.3)		
无差异			
密集度差值=0	185(79.4)		

2.4 Nugent 评分结果差异分析

两种方法的Nugent评分结果,见表5。改良方法与传统方法Nugent评分结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表6、图2。

表6 传统方法与改良方法Nugent评分差异结果 [n(%)]

Table 6 Difference results between traditional method and improved method Nugent score [n(%)]

Nugent评分差异	n	χ^2 值	P值
有差异	150(64.4)	107.9	<0.05
密集度差值>0	17(7.3)		
密集度差值<0	133(57.1)		
无差异			
密集度差值=0	83(35.6)		

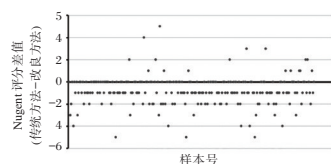


图2 传统方法与改良方法的Nugent评分差

Figure 2 Nugent score difference between traditional and improved methods

2.3 改良方法与传统对233例患者细菌性阴道病诊断结果的比较

改良方法与传统方法对BV的诊断结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表7。

2.4 传统方法与改良方法的方法学评价

两种方法的方法学评价结果显示,改良方法(AUC 0.696)优于传统方法(AUC 0.662)。见表8、图3。

3 讨论

Nugent评分标准是目前临床诊断中诊断BV的一种重要方法。但Nugent评分标准缺乏标准化

表7 传统方法与改良方法Nugent评分诊断BV结果 [n(%)]

Table 7 Traditional and improved methods Nugent score in the diagnosis of BV [n(%)]

传统方法	改良方法			合计
	0~3分	4~6分	≥7分	
0~3分	144(61.8)	7(3.0)	3(1.3)	154(66.1)
4~6分	2(0.9)	25(10.7)	15(6.4)	42(18.0)
≥7分	2(0.9)	5(2.1)	30(12.9)	37(15.9)
合计	148(63.5)	37(15.9)	48(20.6)	233(100.0)
χ^2 值		7.978		
P值		0.046		

表8 传统方法与改良方法的方法学评价结果

Table 8 Methodological evaluation results of traditional and improved methods

方法	特异度	灵敏度	总符合率	约登指数	LR+	LR-	AUC
传统方法	0.71	0.62	0.64	0.33	2.14	0.54	0.662
改良方法	0.76	0.64	0.67	0.4	2.67	0.47	0.696

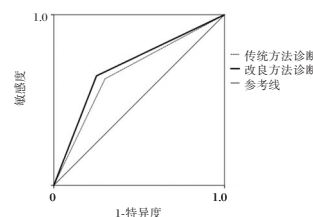


图3 传统方法与改良方法的ROC曲线

Figure 3 ROC curves of traditional and improved methods

的分析前条件,因为不同的取样工具和程序导致阴道分泌物标本的均匀性和涂片厚度不同,这些差异都将影响其结果的解释^[11]。因此,在进行Nugent评分时应有量化的规范操作,才能实现质量控制。本研究针对Nugent评分方法的分析前处理进行标准化的制定及操作,用制定的改良方法涂片后在镜下观察菌群密集度、多样性以及进行Nugent评分,并将结果与传统方法涂片后的相关结果进行比较分析,结果都具有统计学差异。并以医生诊断为阴道炎作为标准,比较两种方法诊断结果的准确性,并对两种方法进行方法学评价,得出结果:改良方法对BV的诊断结果优于传统方法。

本研究的局限性在于改良方法并非绝对量化,由于采样工具以及涂片工具为自我研制,采样

表5 传统方法与改良方法Nugent评分结果 [n(%)]

Table 5 Nugent score results of traditional and improved methods [n(%)]

方法	Nugent评分							
	1分	2分	3分	4分	5分	6分	7分	8分
传统方法	140(60.1)	7(3.0)	7(3.0)	18(7.7)	17(7.3)	7(3.0)	31(13.3)	6(2.6)
改良方法	59(25.3)	59(25.3)	30(12.9)	3(1.3)	19(8.2)	15(6.4)	32(13.7)	16(6.9)

量无法精准定量仍可导致部分误差。在今后的工作中,需要进一步制定商业化的采样工具采样涂片为Nugent评分方法分析前处理提供可推广的支持,改良方法得以推广应用于诊断BV的工作中。

综上所述,本研究认为建立分析前操作规范及定量采样,规定面积下涂布,是对Nugent评分标准在诊断细菌性阴道病的准确性的前提条件,改良方法的建立和使用可提高BV诊断的准确性。

参考文献

- [1] Redelinghuys MJ, Geldenhuys J, Jung H, et al. Bacterial Vaginosis: Current Diagnostic Avenues and Future Opportunities[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:354.
- [2] Peebles K, Velloza J, Balkus JE, et al. High Global Burden and Costs of Bacterial Vaginosis: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Sex Transm Dis, 2019, 46(5):304-311.
- [3] Bautista CT, Wurapa E, Sateren WB, et al. Bacterial vaginosis: a synthesis of the literature on etiology, prevalence, risk factors, and relationship with chlamydia and gonorrhea infections[J]. Mil Med Res, 2016, 3:4.
- [4] Vodstrcil LA, Muzny CA, Plummer EL, S et al. Bacterial vaginosis: drivers of recurrence and challenges and opportunities in partner treatment[J]. BMC Med, 2021, 19(1):194.
- [5] Bagnall P, Rizzolo D. Bacterial vaginosis: A practical review [J]. JAAPA, 2017, 30(12):15-21.
- [6] Coudray MS, Madhivanan P. Bacterial vaginosis-A brief synopsis of the literature[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2020, 245:143-148.
- [7] Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy[J]. BJOG, 2009, 116(10):1315-1324.
- [8] Bitew A, Abebaw Y, Bekele D, et al. Prevalence of Bacterial Vaginosis and Associated Risk Factors among Women Complaining of Genital Tract Infection [J]. Int J Microbiol, 2017, 2017:4919404.
- [9] Bautista CT, Wurapa EK, Sateren WB, et al. Association of Bacterial Vaginosis With Chlamydia and Gonorrhea Among Women in the U.S. Army[J]. Am J Prev Med, 2017, 52(5):632-639.
- [10] Joseph RJ, Ser HL, Kuai YH, et al. Finding a Balance in the Vaginal Microbiome: How Do We Treat and Prevent the Occurrence of Bacterial Vaginosis? [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(6):719.
- [11] Verstraelen H, Verhelst R. Bacterial vaginosis: an update on diagnosis and treatment [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2009, 7(9):1109-1124.
- [12] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 阴道微生态评价的临床应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(10):721-723.
- [13] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 细菌性阴道病诊治指南(2021修订版)[J]. 中华妇产科杂志, 2021, 56(1):3-6.
- [4] Schoettler M, Duncan C, Lehmann L, et al. Severe, persistent neurotoxicity after transplant-associated thrombotic microangiopathy in a pediatric patient despite treatment with eculizumab.[J]. Pediatr transplantat, 2019, 23(3):13381.
- [5] Thomas, Rhys. International league against epilepsy - ScienceDirect[J]. Progr Neurol Psychiatry, 2011, 14(6):32-32.
- [6] Khoa TQ, Ha VQ, Toi VV. Higuchi Fractal Properties of Onset Epilepsy Electroencephalogram [J]. Comput Math Methods Med, 2012, 2012:461426.
- [7] Engel JJ, Ness PV, Rasmussen TB, et al. Outcome with respect to epileptic seizures[J]. Surg Treatm Epileps, 1993:609-621.
- [8] 刘毅, 郑艳. 济南市癫痫患儿流行病学调查研究与护理防范对策[J]. 护理实践与研究, 2019, 16(12):8-9.
- [9] Serdyuk SE, Davtyan KV, Burd SG, et al. "Ictal" Bradyarrhythmias in Patients with Drug-Resistant Epilepsy: Results of Long-Term Heart Rhythm Monitoring [J]. Kardiologiia, 2021, 60(12):90-96.
- [10] Michael BN, Thoralf O, Julika P, et al. Polyamine Modulation of Anticonvulsant Drug Response: A Potential Mechanism Contributing to Pharmacoresistance in Chronic Epilepsy [J]. J Neurosci, 2021, 38(24):5596-5605.
- [11] Long X, Luo Z, Rr T. Comparison of three administration modes for establishing a zebrafish seizure model induced by N-Methyl-D-aspartic acid[J]. World J Psychiatry, 2020, 10(7):150-161.
- [12] 颜甘玲, 蔡明玲. 复方丹参滴丸联合抗癫痫药物对外伤性癫痫患者炎症因子和生化指标的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(21):2328-2331.
- [13] Pawe G, Agata C, Nadia SG, et al. Determination of neuron-specific enolase in patients with midgut-type tumour treated with somatostatin analogues [J]. Endokrynol Pol, 2021, 72(4):308-318.
- [14] 刘云鹏, 孟凡刚, 韩春雷, 等. 微小RNA let-7b通过结合STAT3抑制颞叶癫痫大鼠海马胶质细胞的活化[J]. 中华神经外科杂志, 2019, 35(4):400-406.
- [15] Serdyuk SE, Davtyan KV, Burd SG, et al. "Ictal" Bradyarrhythmias in Patients with Drug-Resistant Epilepsy: Results of Long-Term Heart Rhythm Monitoring [J]. Kardiologiia, 2021, 60(12):90-96.
- [16] 阮卫云, 李卫征, 郭燕燕. 脑电图联合血清神经元特异性烯醇化酶、胶质纤维蛋白和S-100β对癫痫病情评估的意义[J]. 中华生物医学工程杂志, 2021, 27(2):198-200.

(上接第559页)

· 论 著 ·

TSLP、INF- γ 及IL-33诊断儿童咳嗽变异性哮喘的价值张艳玲^{1*} 王侠² 郭子宽¹

【摘要】目的 观察血清胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、干扰素- γ (INF- γ)、白细胞介素-33(IL-33)诊断儿童咳嗽变异性哮喘(CVA)的价值。**方法** 选取2020年6月至2020年12月北京京都儿童医院收治的50例儿童CVA患者为观察组,另选同期治疗的50例支气管炎患儿作为对照组,检测两组入院时的用力肺活量(FVC)、第一秒用力呼气量(FEV1)、最大呼气峰流量(PEF)与血清免疫球蛋白E(IgE)、TSLP、INF- γ 、IL-33指标,并分析四项血清指标联合诊断儿童CVA的价值。**结果** 观察组支气管激发试验阴性例数低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组FVC、FEV1、PEF水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组IgE、TSLP、IL-33水平低于对照组,INF- γ 高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。FVC、FEV1、PEF: I期>II期>III期>IV期, IgE、TSLP、IL-33: I期<II期<III期<IV期, INF- γ : I期>II期>III期>IV期,差异均有统计学意义($P<0.05$)。IgE联合TSLP、INF- γ 、IL-33诊断儿童CVA的AUC为0.940,大于IgE单独诊断($P<0.05$)。**结论** 血清IgE联合TSLP、INF- γ 、IL-33可进一步优化儿童CVA诊断效能。

【关键词】 儿童咳嗽变异性哮喘; 胸腺基质淋巴细胞生成素; 干扰素- γ ; 白细胞介素-33

Value of TSLP, INF- γ and IL-33 in the diagnosis of cough variant asthma in childrenZHANG Yanling^{1*}, WANG Xia², GUO Zikuan¹

(1. Department of Central Laboratory, Beijing Jingdu Children's Hospital, Beijing, China, 102208;

2. Department of Laboratory Medicine, Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453003)

[ABSTRACT] Objective To observe the value of serum thymic stromal lymphopoietin (TSLP), interferon- γ (INF- γ) and interleukin-33 (IL-33) in the diagnosis of children with cough variant asthma (CVA).

Methods Fifty children with CVA (observation group) and 50 children with bronchitis (control group) were enrolled in this study from June to December 2020. The forced vital capacity (FVC), the forced expiratory volume in one-second (FEV1), the maximum peak expiratory flow (PEF) and serum immunoglobulin E (IgE), TSLP, INF- γ , IL-33 were detected in the two groups upon admission. The value of four serum indicators in the combination to diagnose children with CVA was analyzed. **Results** The number of negative cases of bronchial provocation test in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of FVC, FEV1 and PEF in the observation group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of IgE, TSLP, and IL-33 in the observation group were lower than those in the control group, and INF- γ was higher than that in the control group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). FVC, FEV1, PEF: stage I > stage II > stage III > stage IV, IgE, TSLP, IL-33: stage I < stage II < stage III < stage IV, INF- γ : stage I > stage II > stage III > stage IV, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The AUC of IgE combined with TSLP, INF- γ and IL-33 in the diagnosis of children's CVA was greater than that of IgE alone ($P<0.05$). **Conclusion** Serum IgE combined with TSLP, INF- γ and IL-33 can optimize the diagnostic efficiency for children with CVA.

[KEY WORDS] Cough variant asthma in children; TSLP; INF- γ ; IL-33

基金项目:福棠儿童科学基金项目(FTCSF-2018-01)

作者单位:1. 北京京都儿童医院中心实验室, 北京 102208

2. 河南省新乡医学院医学检验学院, 河南, 新乡 453003

*通信作者:张艳玲, E-mail: zhangyl0406@163.com

儿童咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)曾称“过敏性支气管炎”或“隐匿性哮喘”,于1972年被Gluser首次正式命名为CVA^[1]。西医学者认为CVA与典型哮喘并发病理一致,均表现为气道变应性炎症,但存在疾病严重程度上的差异,CVA属于轻微气道炎症^[2]。儿童CVA的临床实际诊断过程中,若仅以患儿的发病症状咳嗽作为评估指标,则特异性低,且由于儿童CVA病理症状与支气管炎、支原体感染、肺炎等呼吸系统疾病相似,故误诊率较高^[3-4]。为提高儿童CVA的早期诊治效率,有必要规范其诊断方法。目前有关肺功能、血清免疫球蛋白E(Immunoglobulin E, IgE)指标检查CVA的研究较多,均证实CVA的诊断中具有较高价值^[5]。为进一步丰富儿童CVA的检查指标,本研究对肺支原体感染患儿与CVA患儿入院时的血清TSLP、INF- γ 、IL-33指标进行比较,并通过ROC曲线分析血清IgE联合TSLP、INF- γ 、IL-33在儿童CVA中的诊断价值。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月至2021年5月北京京都儿童医院收治的50例儿童CVA患者为观察组,另选同期治疗的50例肺支原体感染患儿作为对照组。纳入标准:①观察组根据《中国支气管哮喘防治指南》^[6]确诊,对照组根据《儿科学》^[7]确诊;②年龄5~12岁;③临床各项记录资料齐全。排除标准:①观察组合并除CVA外的呼吸系统疾病,对照组合并除肺支原体感染外的呼吸系统疾病;②确诊其他严重全身性感染疾病或自身免疫性疾病;③合并心、肝、肾等器官功能性疾病;④确诊精神疾病或认知障碍。本研究符合《赫尔辛基宣言》原则,患儿监护人已签署知情同意书。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

1.2 方法

1.2.1 血清指标检测

入院当天,两组均采集空腹静脉血3 mL,常规离心(转速:3 000 r/min,半径:10 cm,时间:10 min)分离上清液,采用酶联免疫吸附法(相关试剂盒均购自上海仁捷生物科技有限公司)检测儿童血清IgE、胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)	身高(cm)	体重(kg)
		男	女			
对照组	50	27(54.00)	23(46.00)	8.54 $\pm$ 2.19	125.54 $\pm$ 10.56	25.79 $\pm$ 7.11
观察组	50	26(52.00)	24(48.00)	8.61 $\pm$ 2.23	126.01 $\pm$ 11.23	25.84 $\pm$ 7.09
χ^2 值		0.040		0.158	0.216	0.035
P 值		0.841		0.875	0.830	0.972

lymphopoietin, TSLP)、干扰素- γ (interferon- γ , INF- γ)、白细胞介素-33(interleukin-33, IL-33)水平。

1.2.2 呼吸功能指标检测

通过肺功能检测仪检测用力肺活量(forced vital capacity, FVC)、第一秒用力呼气量(forced expiratory volume in one-second, FEV1)、最大呼气峰流量(peak expiratory flow, PEF)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行独立样本 t 检验,多组间比较行单因素方差分析(两两比较采用LSD- t 检验);计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验;血清IgE联合TSLP和INF- γ 、IL-33诊断效能由受试者工作特征(ROC)曲线评估,各血清指标单一及联合诊断的曲线下面积值(AUC)由非参数检验比较;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组儿童的支气管激发试验比较

观察组支气管激发试验阴性例数低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组儿童的支气管激发试验比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of bronchial provocation test between the two groups of children [$n(\%)$]

组别	n	阴性	极轻度 (I期)			
			轻度 (II期)	中度 (III期)	重度 (IV期)	
对照组	50	43(86.00)	6(12.00)	1(2.00)	0(0.00)	0(0.00)
观察组	50	0(0.00)	5(10.00)	20(40.00)	16(32.00)	9(18.00)
χ^2 值				78.150		
P 值				<0.05		

2.2 两组儿童的呼吸功能指标比较

观察组FVC、FEV1、PEF水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.3 两组儿童的相关血清指标比较

观察组IgE、TSLP、IL-33水平低于对照组,

表3 两组儿童的呼吸功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of respiratory function indicators between the two groups of children ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FVC(L)	FEV1(L)	PEF(L/s)
对照组	50	2.66±0.45	1.90±0.41	2.81±0.49
观察组	50	2.20±0.39	1.61±0.43	2.54±0.45
t值		5.462	3.451	2.870
P值		<0.05	0.05	0.05

INF- γ 高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组儿童的相关血清指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of related serum indicators between the two groups of children ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IgE (IU/mL)	TSLP (ng/mL)	INF- γ (ng/L)	IL-33 (pg/mL)
对照组	50	457.31±50.03	3.65±0.91	5.36±1.01	18.28±3.97
观察组	50	412.95±35.67	2.42±0.52	6.42±0.86	13.53±2.49
t值		5.105	8.298	5.650	7.167
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.4 不同分期CVA儿童的呼吸功能、相关血清指标比较

FVC、FEV1、PEF、INF- γ : I期>II期>III期>IV期, IgE、TSLP、IL-33: I期<II期<III期<IV期, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表5。

2.5 血清TSLP、INF- γ 、IL-33指标单一及联合鉴别诊断儿童CVA的价值

血清IgE联合TSLP、INF- γ 、IL-33鉴别诊断儿童CVA的AUC为0.940, 大于IgE单独诊断 ($P < 0.05$)。见表6、图1。

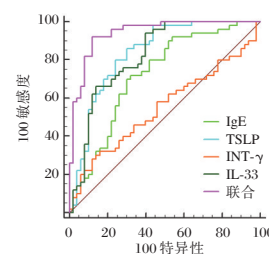


图1 各血清指标单一及联合诊断儿童CVA的ROC曲线图

Figure 1 ROC curve of single serum indicator and serum indicators in combination to diagnose children with CVA

3 讨论

CVA属于支气管哮喘的前期表现, 若患者未能获得及时、有效的诊治, 延误病情后患者极易因环境刺激诱发更严重的哮喘, 导致治疗难度加大。本文研究结果表明支气管激发试验与FVC、FEV1、PEF在CVA患儿与肺炎原体感染患儿之间具有一定鉴别效果, 原因可能在于这两类疾病发病机制、生理病变特征等存在差异, 虽然两者均会对患儿的肺功能产生不良影响, 但CVA患儿肺功能障碍程度更严重。刘莎等^[8]研究指出, CVA患儿的肺功能与其他慢性呼吸系统疾病患儿存在明显差异, 与本研究结论部分相符。Sun等^[9]研究则指出, 肺功能检查有助于区分CVA患儿、呼吸系统感染疾病患儿, 并降低误诊风险, 这一定程度上支持了本研究结论。

CVA与气道炎症相关, 柳萍飞^[10]的研究提到, 当患者发病时, 呼吸道中Th2淋巴细胞数量较多, 而Th1淋巴细胞数量较少, 不同种类淋巴细胞恒

表5 不同分期CVA儿童的呼吸功能、相关血清指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of respiratory function and related serum indicators among children with CVA in different stages ($\bar{x} \pm s$)

分期	n	FVC(L)	FEV1(L)	PEF(L/s)	IgE(IU/mL)	TSLP(ng/mL)	INF- γ (ng/L)	IL-33(pg/mL)
I期	5	2.37±0.11	1.95±0.12	2.77±0.12 ^a	389.31±12.03	2.01±0.11	6.76±0.21 ^a	12.21±0.48 ^a
II期	20	2.19±0.14 ^a	1.76±0.15 ^a	2.57±0.14 ^a	403.50±10.71 ^a	2.29±0.10 ^a	6.33±0.12 ^a	13.59±0.60 ^a
III期	16	2.08±0.11 ^{ab}	1.51±0.18 ^{ab}	2.40±0.17 ^{ab}	414.09±13.26 ^{ab}	2.58±0.12 ^{ab}	6.09±0.17 ^{ab}	14.38±0.51 ^{ab}
IV期	9	1.91±0.09 ^{abc}	1.29±0.04 ^{abc}	2.28±0.09 ^{abc}	428.75±9.87 ^{abc}	2.74±0.09 ^{abc}	5.87±0.11 ^{abc}	15.22±0.59 ^{abc}
F值		19.140	32.861	17.250	15.934	73.759	48.031	37.239
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

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

表6 各血清指标鉴别诊断儿童CVA的价值分析

Table 6 Analysis of the value of each serum indicator in the diagnosis of children with CVA

检测指标	AUC	95%CI	约登指数	cut-off	敏感性(%)	特异性(%)	P值
IgE	0.722	0.623~0.807	0.400	449.24 IU/mL	72.00	68.00	<0.05
TSLP	0.835	0.747~0.902	0.560	2.99 ng/mL	80.00	76.00	<0.05
INF- γ	0.549	0.446~0.649	0.160	6.86 ng/L	28.00	88.00	0.405
IL-33	0.822	0.733~0.892	0.540	19.40 pg/mL	94.00	60.00	<0.05
联合	0.940	0.874~0.978	0.800	0.516	92.00	88.00	<0.05

定状态打破是导致炎症的主要原因。王飞等^[11]研究发现,IgE刺激与之结合的免疫细胞成为致敏原,引发CVA这类变态反应性疾病。INF- γ 属于Th1淋巴细胞分泌产物,在CVA患者体内表现为水平降低;IL-33属于Th2淋巴细胞分泌产物,在CVA患者体内表现为水平升高。Ravanetti等^[12]与汪在华等^[13]的研究指出,IL-33属于小静脉血管内皮细胞表达产物,其高度选择性表达部位处于体内的淋巴结、派耶斯斑块、扁桃腺中,可激活核因子 κ B(参与炎症反应等)和丝裂原活化蛋白激酶(调控炎症、癌化等生理过程),并在体外驱动Th2细胞极化。胡晓丽等^[14]研究指出,TSLP对淋巴细胞、树突状细胞成熟、增殖、分化等过程十分关键,属于一类较新型的炎症指标,在CVA患者发病过程中可能发挥了主要作用。本研究结果提示相对于呼吸系统感染疾病患儿,CVA患者的炎症因子水平波动幅度较小。原因在于,虽然CVA会引起呼吸道炎症反应,但儿童肺炎原体感染患者的感染征象更为显著,其呼吸道组织的炎症反应更加严重,相比于肺炎原体感染患儿,CVA对机体内部IgE、TSLP、INF- γ 、IL-33指标波动水平的影响性更小。此外,本研究结果证明CVA患儿病情越严重,其肺功能越差,相关炎症反应也更严重,这与Si等^[15]研究结论部分相符。本研究通过ROC曲线分析,结果发现血清IgE联合TSLP、INF- γ 、IL-33鉴别诊断儿童CVA的AUC大于IgE单独诊断,证实联合其它三项血清指标更有助于提高儿童CVA的确诊率。杜阿妮等^[16]研究也提到,联合指标检测更有利于鉴别CVA,提高诊断效能。

综上所述,血清TSLP、INF- γ 、IL-33指标联合诊断儿童CVA的效能较为突出,存在较高的临床应用价值。

参考文献

- [1] Uryashev MO, Ponomareva IV, Bhar M, et al. The cough variant asthma[J]. Ter Arkh, 2020,92(3):98-101.
- [2] Li AH, Gao YH, Liu YM, et al. Montelukast sodium combined with budesonide for cough variant asthma in children[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020,34(6):2295-2297.
- [3] Kunc P, Fabry J, Zatzko T, et al. Cough reflex sensitivity and fractional exhaled nitric oxide in children with asthma[J]. Physiol Res, 2020,69(3):455-461.
- [4] Wei H, Li W, Jiang Z, et al. Clinical efficacy of montelukast sodium combined with budesonide or combined with loratadine in treating children with cough variant asthma and influence on inflammatory factors in the serum[J]. Exp Ther Med, 2019,18(1):411-417.
- [5] 买智涛,姜明明,万善志. FeNO联合血清ECP、IgE检测对支气管哮喘的临床诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(5):625-628.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组,中华医学会全科医学分会. 中国支气管哮喘防治指南(基层版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013,36(5):331-336.
- [7] 桂永浩,薛辛东. 儿科学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社, 2015:23-45.
- [8] 刘莎,刘芳君,符州,等. 气道反应性测定在婴幼儿咳嗽变异性哮喘诊断中的价值[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020,35(21):1624-1628.
- [9] Sun W, Liu HY. Montelukast and Budesonide for Childhood Cough Variant Asthma[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2019,29(4):345-348.
- [10] 柳萍飞. 咳嗽变异性哮喘患儿肠道菌群及血清干扰素- γ 和白介素-4水平的变化[J]. 中国微生态学杂志, 2020,32(4):78-80.
- [11] 王飞,季涛云,王亚军,等. 咳嗽变异性哮喘患儿血清总IgE、VEGF、IL-4、IL-5、IL-13及外周血EOS表达水平与临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2019,24(2):266-270.
- [12] Ravanetti L, Dijkhuis A, Dekker T, et al. IL-33 drives influenza-induced asthma exacerbations by halting innate and adaptive antiviral immunity[J]. J Allergy Clin Immunol, 2019,143(4):1355-1370.
- [13] 汪在华,彭惠兰,饶凯成. 皮下免疫治疗在变应性鼻炎伴咳嗽变异性哮喘患儿中的二级预防作用及对血清sIgG4、IL-27和IL-33水平的影响[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020,34(9):793-798.
- [14] 胡晓丽,杨勇,王渊,等. 呼出气一氧化氮与胸腺基质淋巴细胞生成素在咳嗽变异性哮喘中的临床意义[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2020,14(4):250-254.
- [15] Si Z, Zhang B. Amygdalin Attenuates Airway Epithelium Apoptosis, Inflammation, and Epithelial-Mesenchymal Transition through Restraining the TLR4/NF- κ B Signaling Pathway on LPS-Treated BEAS-2B Bronchial Epithelial Cells[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2021,182(10):997-1007.
- [16] 杜阿妮,曹蓉,赵智凝. 血清ECP、IgE和外周血EOS联合检测对CVA与哮喘的鉴别诊断[J]. 西南国防医药, 2018,28(11):60-62.

· 论 著 ·

VSD 治疗对骨科创面感染患者 CRP、WBC 及 ESR 水平的影响

郭亚萍^{1*} 冷华平² 宋娇³

[摘要] **目的** 探讨负压封闭引流(VSD)技术对骨科创面感染患者C反应蛋白(CRP)、白细胞计数(WBC)、红细胞沉降率(ESR)水平的影响。**方法** 选取郑州颐和医院骨科2017年5月至2019年5月108例创面感染患者,根据不同治疗方案分为VSD组(52例)、常规治疗组(56例),比较两组治疗前后CRP、WBC、ESR水平,观察两组临床疗效及围手术期指标:抗生素应用时间、感染控制时间、伤口愈合时间、住院时间,并分析两组治疗安全性。**结果** 治疗后,两组CPR、WBC、ESR水平均下降,且VSD组低于常规治疗组,差异有统计学意义($P<0.05$)。VSD组总有效率高于常规治疗组,差异有统计学意义($P<0.05$)。VSD组抗生素应用时间、感染控制时间、伤口愈合时间、住院时间均短于常规治疗组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** VSD技术治疗骨折创面感染患者疗效好,可降低患者血清炎症指标水平,促进患者创面康复。

[关键词] 骨科创面感染; VSD; RP; WBC; ESR

Effects of VSD treatment on the levels of CRP, WBC and ESR in patients with orthopedic wound infection

GUO Yaping^{1*}, LENG Huaping², SONG Jiao³

(1. Department of Comprehensive Diagnosis and Treatment area, Zhengzhou Yihe Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450046; 2. Department of Orthopedics, Zhengzhou Yihe Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450046; 3. Department of Laboratory Medicine, Zhengzhou Yihe Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450046)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of negative pressure sealing drainage (VSD) technology on the levels of C-reactive protein (CRP), white blood cell count (WBC) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) in orthopedic wound infection patients. **Methods** 108 patients with wound infections [VSD group (52 cases), conventional treatment group (56 cases)] in the Department of Orthopedics, Zhengzhou Yihe Hospital from May 2017 to May 2019 were enrolled as the research objects. CRP, WBC, ESR levels before and after treatment were compared between the two groups, the clinical efficacy, and perioperative indicators (antibiotic application time, infection control time, wound healing time, hospital stay) of the two groups were observed, and the treatment safety of the two groups were analyzed. Results After treatment, the levels of CPR, WBC, and ESR all decreased in the two groups, and the VSD group was lower than the conventional treatment group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The total effective rate of the VSD group was higher than that of the conventional treatment group (94.23% vs 78.56%), the difference was statistically significant ($P<0.05$). The antibiotic application time, infection control time, wound healing time, and hospitalization time in the VSD group were shorter than those in the conventional treatment

基金项目:河南省医学科技攻关计划(LHGJ20170968)

作者单位:1. 郑州颐和医院综合诊疗区, 河南, 郑州 450046

2. 郑州颐和医院骨科, 河南, 郑州 450046

3. 郑州颐和医院检验科, 河南, 郑州 450046

*通信作者:郭亚萍, E-mail: guoyaping11@163.com

group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups (VSD group: 16.07% vs. conventional treatment group: 23.31%) ($P>0.05$). **Conclusion** VSD technology has good therapeutic effect in the treatment of patients with fracture wound infection, which can reduce the level of serum inflammation indicators and promote the recovery of patients' wounds.

[KEY WORDS] Orthopedic wound infection; VSD; RP; WBC; ESR

骨折临床发病率高,易对患者正常肢体功能造成严重影响。骨折术后感染创面一直是临床医师面临的难题,及时、有效控制感染及修复创面对患者预后具有重要意义。临床对于骨折创面感染患者的常规治疗方案包括清创、灌洗引流治疗等,均取得一定治疗效果,但由于治疗疗程较长,长期感染控制效果一般^[1-2]。负压封闭引流(vacuum sealing drainage, VSD)技术在处理创面时体现了使引流区“零积聚”、保持创面湿润、材料透明便于观察等优势,逐渐在四肢软组织创面治疗中广泛应用^[3-4]。C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞计数(white blood cell count, WBC)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)均是临床评估患者机体炎症程度的相关指标^[5],本研究旨在观察VSD治疗对骨科创面感染患者RP、WBC、ESR水平的控制效果,分析VSD在骨折创面感染患者中的应用价值。现研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取郑州颐和医院骨科2017年5月至2019年5月108例发生创面感染患者的临床资料进行研究。纳入标准:①符合《医院感染诊断标准》^[6]中感染诊断标准者;②均无法实施I期缝合治疗;③治疗依从性佳;④患者均对研究知情并签署同意书。排除标准:①合并恶性肿瘤或严重心肝肾功能不全者;②陈旧性、病理性开放性骨折及闭合性骨折患者;③精神智力障碍者。根据患者自行选择治疗方案的差异分为:VSD组(52例)和常规治疗组(56例)。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院伦理委员会批准。

1.2 方法

所有患者术前完善X线检查,在生命体征平稳的状态下进行硬膜外阻滞或全身麻醉,术前均给予抗生素抗感染治疗并清洁创面。常规治疗组采用传统清创方案:清创后用湿纱布填充腔隙和缺损创面,外覆盖干纱布,对腔隙较深者可放置引流条引流脓液、渗出液,并根据渗出液病原学培养予以敏感抗生素冲洗,敷料渗湿即予以更换纱布,待创面肉芽组织符合要求即予以II期缝合。

VSD组予以VSD持续负压引流装置(采购自武汉维斯公司)治疗:初始24 h给予负压180 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)持续负压吸引,后续以负压250~400 mmHg吸引,保持创面VSD敷料为轻度凹陷状态,可予以敏感抗生素冲洗,7 d后撤去VSD装置,观察肉芽组织生长情况,若生长不佳,继续予以换药清创处理,再更换VSD装置,直至创面肉芽组织生长良好可予以II期缝合。

1.3 观察指标

1.3.1 炎症指标水平

两组在治疗前及完成治疗后1 d清晨抽取空腹静脉血6 mL(共两份血液标本,每份3 mL),一份经离心处理(3 000 r/min, 20 min, r为10 cm)取上清液检测CRP[免疫比浊法(德国,罗氏P800型全自动生化分析仪)]。另外一份采用乙二胺四乙酸二钾抗凝全血,检测ESR、WBC[全自动血细胞分析仪(希森美康,型号: XN350)]。上述检测过程均严格按照说明进行。

1.3.2 临床疗效

疗效标准^[7]:①治愈:患者的创面在2周内完全愈合且创伤处表皮覆盖完好,无需再换药治疗。②有效:伤口缝合后,分泌物减少,切口皮肤

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

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

组别	n	性别		平均年龄 (岁)	侧别		受伤原因		
		男	女		左侧	右侧	车祸	摔伤	高空坠落
VSD组	52	27(51.92)	25(48.08)	45.93±12.19	34(65.38)	18(34.62)	31(59.62)	15(28.85)	6(11.54)
常规治疗组	56	30(53.57)	26(46.43)	45.23±11.74	40(71.43)	16(28.57)	34(60.71)	16(28.57)	6(10.71)
t/χ^2 值		0.029		0.304	0.457		0.023		
P值		0.864		0.762	0.499		0.989		

间断愈合状态,拆线后,伤口仍有少量分泌物,且有新的肉芽长出,经短期换药愈合。③无效:伤口缝合后,创面感染无改善,分泌物增加,皮肤组织坏死,拆线后,切口裂开,仍有大量分泌物,经短期换药仍不愈合。总有效率=[(治愈+有效)/总例数]×100%。

1.3.3 围手术期指标

记录比较两组抗生素应用时间、感染控制时间、伤口愈合时间、住院时间。

1.3.4 不良反应

观察记录两组不良反应发生情况,不良反应

包括:出血、疼痛、发热等。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组炎性指标比较

治疗后,两组CPR、WBC、ESR水平均下降,且VSD组低于常规治疗组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后炎性指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of inflammatory indexes between the two groups before and after treatment $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	CPR(mg/L)		WBC($\times 10^9/L$)		ESR(mm/h)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
VSD组	52	39.31±7.31	18.59±3.64 ^a	15.24±2.23	6.57±1.24 ^a	28.46±4.17	12.46±2.89 ^a
常规治疗组	56	39.78±7.61	28.27±5.45 ^a	15.76±2.46	10.79±1.86 ^a	27.94±3.89	19.58±3.43 ^a
t 值		0.327	10.769	1.148	13.763	0.670	11.620
P 值		0.744	<0.001	0.254	<0.001	0.504	<0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组临床疗效比较

VSD组总有效率高于常规治疗组(94.23% vs 78.56%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组临床疗效比较 $[n(\%)]$

Table 3 Comparison of the clinical efficacy between the two groups $[n(\%)]$

组别	n	治愈	有效	无效	总有效率
VSD组	52	28(53.84)	21(40.39)	3(5.77)	49(94.23)
常规治疗组	56	24(42.86)	20(35.71)	12(21.43)	44(78.56)
χ^2 值					5.528
P 值					0.019

2.3 两组围手术期指标比较

VSD组抗生素应用时间、感染控制时间、伤口愈合时间、住院时间均短于常规治疗组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组围手术期指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 4 Comparison of the perioperative indicators between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	抗生素应用时间(d)	感染控制时间(d)	伤口愈合时间(d)	住院时间(d)
VSD组	52	8.42±1.17	11.89±1.22	15.88±1.76	19.45±3.74
常规治疗组	56	11.38±2.14	18.31±2.15	20.79±2.68	25.14±4.25
t 值		8.823	18.889	11.162	7.363
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 两组不良反应比较

两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

表5 两组不良反应发生率比较 $[n(\%)]$

Table 5 Comparison of the incidence of adverse reactions between the two groups $[n(\%)]$

组别	n	出血	疼痛	发热	不良反应总发生率
VSD组	52	2(3.85)	5(9.62)	2(3.85)	9(16.07)
常规治疗组	56	3(5.34)	8(14.29)	2(3.57)	13(23.21)
χ^2 值					0.580
P 值					0.446

3 讨论

骨折创伤患者若出现创面感染严重时可能发生骨髓炎,甚至可能导致终生关节功能受限^[8]。临床对骨折创面感染患者的传统治疗方法是对创面进行持续灌注冲洗加置管持续冲洗引流,以达到控制感染的目的。但该治疗方案仅适用于创面较小的患者,对于感染进展较快的患者来说,传统治疗方案治疗疗程较长,同时伤口需长期、频繁的换药也会增加患者的家庭经济负担^[9-10]。VSD技术为德国UIm大学创外科博士首创的治疗方案,通过聚乙烯或聚氨酯材料包裹多侧孔引流管,将泡沫敷料裁剪后直接置于创面,用半通透性的薄膜

密封后进行负压引流^[11]。

相关研究显示,创面感染患者进行VSD治疗疗效较好,创面处于封闭微环境,能隔绝创面与外环境之间感染的机会,促进局部微循环,改善机体炎症状态^[12]。文献报道,在炎症性疾病、感染性疾病中,患者血清CPR、WBC、ESR表达水平会异常升高,三者可作为评估机体炎症状态的关键标志物^[13]。本次研究结果证实VSD技术对骨折创面感染患者血清炎症指标水平控制较好。

既往研究报道,VSD技术在治疗创伤感染、软组织缺损等方面应用广泛,取得了良好效果^[14]。本次研究结果提示对骨折创面感染患者采用VSD技术治疗能显著提高治疗疗效。主要原因可能为:VSD技术是在持续的负压吸引下进行引流,可彻底地把创面内的渗液、脓液和脱落坏死组织引流出来,创面清洁程度较好。相对于传统治疗方案来说,VSD技术具有引流彻底、引流管不易堵塞的优势,治疗效果理想。

有学者研究指出,在管腔密封状态良好且管腔未出现堵塞的情况下,VSD技术保持有效引流的时间为5~7 d,无需对伤口进行频繁换药,操作简便,患者接受度高^[15]。本研究发现,VSD组抗生素应用时间、感染控制时间、伤口愈合时间、住院时间均短于常规治疗组。VSD技术引流中持续负压下创面,与具备良好吸附性和透水性的敷料紧密、完全贴合,为创面营造一个良好的封闭、湿润的环境,能快速控制感染。同时,VSD治疗中,中心负压会向创面中心牵拉创周皮肤,有助于缩小创面,促进肉芽组织生长,加速创面愈合^[16]。

本研究进一步对两组治疗方案的安全性进行观察,结果显示两组不良反应发生率比较差异无统计学意义,可见VSD治疗并未增加不良反应发生率。但本次研究中,有患者出现出血症状,提示临床在对骨折创面感染患者进行VSD治疗前需彻底止血,对有凝血功能障碍疾病的患者或是创面暴露较大血管的患者禁止使用VSD治疗。同时,也有患者出现疼痛、发热的症状,提示临床医师需根据患者临床反应判断抗生素使用时间,以促进患者康复。

综上所述,对骨折创面感染患者予以VSD技术治疗能显著提高治疗疗效,控制血清炎症指标水平,促进患者创面康复。

参考文献

- [1] 胡思科. 封闭负压引流术联合银离子冲洗治疗感染创面的实验室指标及临床分析[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(2):104-107.
- [2] 曹军军, 杨寅, 张延平, 等. 一期全厚皮片原位回植联合VSD治疗下肢大面积皮肤撕脱伤的疗效观察[J]. 创伤外科杂志, 2020, 22(9):17-20.
- [3] 成鑫, 汤俊. 新型生物敷料结合VSD对Ⅱ度烧伤创面恢复及炎症应激反应的影响[J]. 药物生物技术, 2020, 27(1):52-55.
- [4] 柴志勇, 黄琪. VSD联合替加环素持续灌洗引流治疗广泛耐药革兰氏阴性菌骨髓炎[J]. 中国现代手术学杂志, 2021, 25(3):134-137.
- [5] 吴英, 刘成桂. 外周血miR-23b-3p表达水平对重症肺炎患儿病情及预后的评估价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10):1332-1335+1340.
- [6] 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):7-12.
- [7] 张仲传, 朱勋兵, 徐洋洋, 等. VSD联合臭氧水治疗骨科感染性创面的临床研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2020, 45(8):58-61.
- [8] 程海霞, 吴松梅, 明晓锋, 等. VSD对骨折创面感染患者血清炎症因子及骨性标志物的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(23):3598-3602.
- [9] Gu X, Chen W, Yuan K, et al. The efficacy of artificial dermis combined with continuous vacuum sealing drainage in deep neck multiple spaces infection treatment[J]. Medicine, 2021, 100(7):53-56.
- [10] 杨德猛, 王长庚, 陈媛, 等. VSD治疗骨科创伤合并感染创面的疗效观察[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(5):3-5.
- [11] Cheng J, Zhang Q, Feng S, et al. Clover-Style Fasciocutaneous Perforator Flap for Reconstruction of Massive Sacral Pressure Sores[J]. Ann Plast Surg, 2021, 86(11):91-94.
- [12] 杜伟力, 沈余明, 胡晓骅, 等. 下肢关节部位外伤行骨科内固定手术后切口感染创面临床治疗方法探讨[J]. 中华烧伤杂志, 2021, 37(3):1-9.
- [13] 王军松, 郭徽, 康晓琦, 等. 开放性肢体骨折内固定术后感染患者的ESR与CRP和WBC[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(12):35-39.
- [14] 赵扶海, 王光辉. 急性软组织损伤合并糖尿病患者应用VSD的临床疗效分析[J]. 临床急诊杂志, 2019, 20(7):568-571.
- [15] Okkabaz N, Esen E, Schwartzberg DM, et al. Hand-Crafted Endoluminal Vacuum-Assisted Drainage for Anastomotic Leak After IPAA[J]. Dis Colon Rectum, 2019, 62(10):1259-1262.
- [16] Li YN, Al-Alawi K, Breatnach C, et al. Hybrid Subxiphoid Periventricular Approach as an Alternative Access in Neonates and Small Children Undergoing Complex Congenital Heart Interventions[J]. Ped Cardiol, 2020, 25(5):1-7.

· 论 著 ·

ACA、ANA与不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的关系

张翠雯 林玉仪 吴婉如 黄修治*

【摘要】目的 探讨抗心磷脂抗体(ACA)、抗核抗体(ANA)与不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的关系。**方法** 选取2019年1月至2021年12月在惠州市中心人民医院收治的行体外受精-胚胎移植的98例患者作为研究对象,依据妊娠结局分为妊娠结局良好组66例和妊娠结局不良组32例。对比两组基础资料及实验室指标检查结果,Logistic多因素分析不良妊娠结局的影响因素,ROC曲线分析ACA、ANA对不孕症患者行体外受精-胚胎移植后不良妊娠结局的诊断价值。**结果** 不良组患者ACA阳性、ANA阳性及ACA+ANA阳性检出率高于良好组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic多因素分析显示,ACA阳性、ANA阳性及ACA+ANA阳性是不孕症患者行体外受精-胚胎移植后不良妊娠结局的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,ACA+ANA联合检测时敏感度、特异度较高($P<0.05$)。**结论** ACA与ANA阳性表达是导致不孕症患者行体外受精-胚胎移植出现不良妊娠结局的主要原因,临床中及早进行ACA与ANA水平的检测对减少患者不良妊娠结局具有重要意义。

【关键词】 抗心磷脂抗体; 抗核抗体; 不孕症; 体外受精-胚胎移植

Relationship between anticardiolipin antibody, antinuclear antibody and pregnancy outcomes of infertility patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer

ZHANG Cuiwen, LIN Yuyi, WU Wanru, HUANG Xiuzhi*

(Department of Obstetrics and Gynecology, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516001)

[ABSTRACT] Objective To investigate the relationship between anticardiolipin antibody (ACA), antinuclear antibody (ANA) and pregnancy outcomes of infertility patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer. **Methods** A total of 98 patients who underwent *in vitro* fertilization-embryo transfer admitted to Huizhou Central People's Hospital from January 2019 to December 2021 were selected as the research subjects. According to the pregnancy outcomes, they were divided into a good pregnancy outcome group of 66 cases and a poor pregnancy outcome group of 32 cases. The basic data and laboratory indicator test results were compared between the two groups. Logistic multivariate analysis was used to observe the influencing factors of adverse pregnancy outcomes, ROC curve was used to analyze the diagnostic value of ACA and ANA in infertility patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer for adverse pregnancy outcomes. **Results** The detection rates of ACA positive, ANA positive and ACA+ANA positive in the poor group were higher than those in the good group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic multivariate analysis showed that ACA positive, ANA positive and ACA+ANA positive were independent risk factors for adverse pregnancy outcomes after IVF-embryo transfer in infertile patients ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the combined detection of ACA + ANA had high sensitivity and specificity. **Conclusion** The positive expression of ACA and ANA is the main reason for the adverse pregnancy outcomes of infertile patients

基金项目: 惠州市科技计划项目(2019Y041)

作者单位: 惠州市中心人民医院, 妇产科, 广东, 惠州 516001

*通信作者: 黄修治, E-mail: hxiuzhi@126.com

undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. Early detection of ACA and ANA levels in clinical practice is of great significance to reduce the adverse pregnancy outcomes of patients.

[KEY WORDS] ACA; ANA; Infertility; *In vitro* fertilization-embryo transfer

不孕症是指夫妻双方在未采取避孕措施的情况下同房一年以上,没有怀孕。最新研究发现,我国不孕症的发病率约为8%~17%,且发病率呈成年上升趋势^[1]。体外受精-胚胎移植俗称“试管婴儿”,是一种先进的人工辅助助孕技术,是目前治疗不孕症的主要手段。随着各项技术的成熟,以及细胞培养液的完善、医务人员经验的丰富,该技术的成功率约为40%~50%^[2]。但行体外受精-胚胎移植患者在多因素共同作用下,如抗心磷脂抗体阳性、抗核抗体阳性等,均对其治疗结局会产生一定影响^[3]。抗心磷脂抗体(antixardiolipin antibody, ACA)属于自身免疫性抗体,与细胞核中的多种成分发生反应,刺激机体产生自身免疫性抗体。抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)又称为抗核酸抗原抗体,是女性群体常见的自身抗体之一。大量的研究证实,免疫因素的介入可能会改变胎盘组织和功能,导致不良妊娠结局^[4]。因此,本研究旨在探讨不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局的危险因素及ACA、ANA检测的意义,以期不良妊娠结局的早期病因筛查提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年12月在惠州市中心人民医院收治的行体外受精-胚胎移植的98例患者作为研究对象。纳入标准:①符合《妇产科学(第8版)》^[5]中不孕症的诊断标准;②同居一年以上,确诊不孕症并行体外受精-胚胎移植者;③配合度高;④无代谢、内分泌及免疫系统疾病;⑤6个月内未接受其他相关治疗,如促性腺激素治疗、细胞毒药物或盆腔放射性治疗;⑥临床资料完整者;⑦所有研究对象均知情且同意本次研究。排除标准:①高龄不孕症且合并恶性肿瘤、严重肾衰竭等影响生存的重大疾病者;②排卵障碍性疾病;③子宫肌瘤、子宫腺肌症;④既往有反复流产史;⑤合并HPV感染;⑥需行卵泡浆内单精子注射或IVF不受精行补救卵泡浆内单精子注射。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

对符合本次研究纳入标准的患者进行问卷调

查,体检以及血清相关指标检测,问卷内容包含基础资料及实验室指标检查结果:年龄、孕周、孕次、体重指数(Body Mass Index, BMI)、收缩压、舒张压、内分泌异常情况、孕前是否调理、吸烟史、饮酒史;体检包括测量谷丙转氨酶(Glutamic Pyruvic Transaminase, GPT 又称 ALT)、谷草转氨酶(Aspartate Transaminase, AST)、肌酐(Creatinine, Cr)、空腹血糖、餐后2 h血糖、ACA、ANA,比较两组相关资料和指标水平。

1.3 实验室指标水平检测

采集两组受试者的空腹静脉血用于相关指标检测,指标包括ALT、AST、Cr、空腹血糖、餐后2 h血糖。采用全自动生化分析仪(厂家:德国罗氏诊断有限公司,型号:cobas 8000)及配套试剂盒检测ALT、AST、Cr、空腹血糖、餐后2 h血糖。ACA采用酶联免疫吸附法检测,使用美国TRINTY公司生产的试剂盒,通过比值半定量测量评估测量结果,阴性:比值<1;阳性:比值≥1,ANA采用间接免疫荧光技术检测,使用德国欧蒙公司生产的试剂盒,阳性:滴度≥1:100^[6-7]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 23.0统计学软件进行数据分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,行独立样本 t 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,Logistic回归分析不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的独立影响因素,通过绘制受试者工作特征曲线(ROC)评价ACA、ANA单独检测、联合检测对不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的评估价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基础资料及实验室指标检查比较

两组患者的年龄、孕周、孕次、BMI、收缩压、舒张压、内分泌异常情况、孕前调理情况、吸烟史、饮酒史、ALT、AST、Cr、空腹血糖、餐后2 h血糖水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),不良组的ACA阳性、ANA阳性以及ACA+ANA阳性检出率均高于良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组患者基础资料及实验室指标检查比较
[($\bar{x} \pm s$), n(%)]Table 1 Comparison of the basic data and laboratory indexes of the two groups of patients [($\bar{x} \pm s$), n(%)]

项目	不良组 (n=32)	良好组 (n=66)	t/χ^2 值	P值
年龄/岁	27.25±3.33	27.84±3.68	0.767	0.444
孕周/周	30.46±5.38	30.73±4.92	0.247	0.805
孕次/次	1.56±0.46	1.60±0.55	0.355	0.723
BMI/(kg/m ²)	23.48±1.60	23.24±1.35	0.776	0.439
收缩压(mmHg)	135.15±17.81	132.32±15.61	0.803	0.423
舒张压(mmHg)	84.64±5.89	82.45±6.37	1.634	0.105
内分泌异常情况				
是	15(46.8)	29(43.9)	0.075	0.784
否	17(53.2)	37(56.1)		
孕前调理情况				
是	21(65.6)	46(69.6)	0.165	0.684
否	11(34.4)	20(30.4)		
吸烟史				
是	12(37.5)	23(34.8)	0.066	0.797
否	20(62.5)	43(65.2)		
饮酒史				
是	10(31.2)	26(39.3)	0.615	0.432
否	22(68.8)	40(60.7)		
ALT(U/L)	28.42±5.34	28.31±5.62	0.092	0.926
AST(U/L)	31.12±6.87	32.26±6.53	0.796	0.427
Cr(μmol/L)	84.43±10.76	84.69±10.81	0.111	0.911
空腹血糖(mmol/L)	4.33±1.01	4.45±1.23	0.477	0.634
餐后2h血糖(mmol/L)	7.52±1.36	7.71±1.15	0.721	0.472
ACA阳性				
是	18(56.2)	20(30.3)	6.112	0.013
否	14(43.8)	46(69.7)		
ANA阳性				
是	19(56.3)	25(37.8)	4.025	0.044
否	13(43.7)	41(62.2)		
ACA+ANA阳性				
是	21(65.6)	19(28.7)	12.106	0.000
否	11(34.4)	47(71.3)		

2.2 不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局影响因素的 Logistic 回归分析

以不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局为因变量,赋予ACA阳性(是=0,否=1),ANA阳性(是=0,否=1),ACA+ANA阳性(是=0,否=1),Logistic回归分析结果显示,ACA阳性、ANA阳性以及ACA+ANA阳性是不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局的独立影响因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 ACA、ANA 以及 ACA+ANA 对不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的诊断效能评估

ROC曲线分析,ACA+ANA联合检测时AUG提示为0.892,敏感度为96.33%,特异度为84.59%,优于单一检测($P<0.05$)。见表3、图1。

表2 不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局影响因素的 Logistic 回归分析

Table 2 Logistic regression analysis of the influencing factors of adverse pregnancy outcomes in infertile patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer

相关因素	β 值	S.E.值	χ^2 值	OR值	95%CI	P值
ACA	0.351	0.165	4.525	1.420	1.028~1.962	0.033
ANA	1.232	0.516	5.700	3.428	1.246~9.424	0.016
ACA+ANA	1.573	0.685	5.273	4.821	1.251~18.459	0.021

表3 ACA、ANA 以及 ACA+ANA 对不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的诊断效能评估

Table 3 Evaluation of diagnostic efficacy of ACA, ANA and ACA+ANA on pregnancy outcomes of infertility patients undergoing IVF-embryo transfer

危险因素指标	AUC	95%CI	敏感度	特异性
ACA	0.710	0.614~0.825	0.785	0.795
ANA	0.723	0.625~0.938	0.768	0.773
ACA+ANA	0.892	0.685~1.942	0.963	0.846

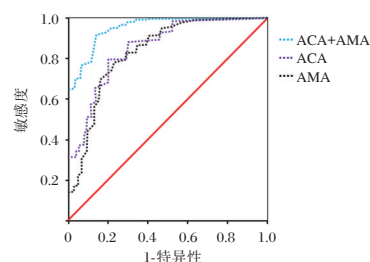


图1 ACA、ANA 以及 ACA+ANA 的 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis of ACA, ANA and ACA+ANA

3 讨论

体外受精-胚胎移植虽能够改善促排卵方案和提高胚胎培育技术,但临床妊娠率始终在50%左右徘徊,且妊娠期属于一个复杂的生理过程,持续时间较长,过程中可能出现多种不良妊娠疾病^[5]。近年来,免疫性因素如ACA、ANA等在不孕症中逐步引起关注。胚胎对于母体来说是一种半同种移植物,整个妊娠过程属于一种特殊免疫状态,胚胎能够逃避母体的免疫攻击主要源于母体正常的免疫机制^[8]。有研究提示,ACA可能通过与细胞核中多种成分结合来影响受精卵细胞分裂,进而导致妊娠失败;ANA则与复发性流产、反复体外受精-胚胎移植失败等多种不良妊娠结局的关系密切^[9]。因此,检测ACA及ANA对于不孕症患者行体外受精-胚胎移植患者不良妊娠结局的评估意义重大。

ACA是一种以血小板和内皮细胞膜上带负电荷的心磷脂作为靶抗原的自身抗体,为抗磷脂抗体的

一种,主要见于系统性红斑狼疮等自身免疫疾病或腺病毒等病毒感染中^[10]。韦志萍^[11]研究显示,ACA是引起多种不良妊娠疾病主要的自身抗体。本研究结果显示,不良妊娠组患者ACA阳性检出率显著高于妊娠良好组,这一研究结果与以往相关研究结果相似。提示为ACA阳性可以作为不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局的客观评价指标。在体外受精-胚胎移植过程中,雌激素和孕激素水平升高促使母体凝血功能受影响,血小板聚集、血液流动受阻形成血栓,造成胎盘梗死、习惯性流产等不良妊娠结局^[12]。卫爱武等^[13]研究显示,血清ACA水平与血小板聚集率呈正相关关系,说明ACA与受损的血小板内膜上磷脂相结合,产生抗原抗体反应,进一步加速血栓形成。ANA是细胞核内DNA、RNA、蛋白质等物质的分子复合物产生的自身抗体,主要见于类风湿性疾病等自身免疫系统疾病中^[14-15]。余倩等^[16]研究发现,ANA阳性是不良妊娠结局的独立影响因素。本研究结果提示为ANA阳性可以作为不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局的客观评价指标。原因考虑为:①ANA具有RNA多聚酶的作用,作用于RNA转录期,使DNA复制过程受影响,进而引发流产;②同时,ANA还会损伤细胞的结构和功能,促使机体免疫反应发生异常,从而发生不良妊娠疾病;③ANA通过影响精子质量来影响胚胎发育,导致胚胎发育失败,并引发体外受精-胚胎移植失败;蒋元华等^[17]研究中,ANA阳性可能影响体外受精-胚胎移植的胚胎着床或胚胎发育,主要原因是ANA与细胞核中有关成分结合,通过影响受精卵细胞分裂来引发妊娠失败。

本研究结果还显示,ACA阳性、ANA阳性以及ACA+ANA阳性是不孕症患者行体外受精-胚胎移植不良妊娠结局的独立影响因素,与张凤敏^[18]研究结果相似。采用ROC曲线分析结果显示,ACA、ANA联合检测时曲线下面积最大,且具有较高的敏感度和特异度。可见及早对行体外受精-胚胎移植的不孕患者加强ACA、ANA以及ACA+ANA联合检测,可以预测其妊娠结局,利于临床及早制定针对性方案,从而改善妊娠结局。

综上所述,ACA与ANA阳性表达是导致不孕症患者行体外受精-胚胎移植出现不良妊娠结局的主要原因,临床中及早进行ACA与ANA水平的检测对减少患者不良妊娠结局具有重要意义。

参考文献

- [1] 康冰,孟鸿雁,闫清鑫,等. 温针灸治疗输卵管阻塞不孕症的临床疗效观察[J]. 上海针灸杂志, 2021,40(2):174-179.
- [2] 李晓梅. 高龄妇女再生育能力的孕前评估及干预措施[J]. 中国当代医药, 2018,25(17):29-32.
- [3] 王亚楠,赵映,余思奕,等. 对JAMA“针刺与假针刺影响体外受精女性活产率”一文的思考和分析[J]. 中国针灸, 2019,39(7):787-791.
- [4] 张小芳. 不良妊娠结局528例病因及相关因素分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2021,29(6):873-876.
- [5] 谢幸,苟文丽. 妇产科学(第8版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013: 75-79.
- [6] 张婷,段云寿. 特异性自身抗体对自身免疫性疾病的诊断价值[J]. 实用检验医师杂志, 2019,11(1):19-21.
- [7] 赵海平,李俊琦,赵文华. 抗核抗体谱联合抗核抗体在自身免疫性疾病诊断中的应用效果[J]. 中外医疗, 2020,39(6):15-17+23.
- [8] 冯煜,刘博,杨一华,等. 抗核抗体阳性与复发性流产关系的Meta分析[J]. 广西医学, 2019,41(14):1808-1812.
- [9] 阮加里,朱丹,李阳阳,等. 外周血NK细胞动态监测与遗传性易栓症患者妊娠结局的相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2020,36(5):594-599.
- [10] 张园,蒋春艳,吴畏,等. 中重度子宫内膜异位症患者血清中抗核抗体、抗心磷脂抗体和抗 β_2 糖蛋白1抗体的检测价值[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2020,39(2):97-100.
- [11] 韦志萍,林忠. EmAb、ACA及PDW联合检测在复发性流产临床诊断中的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(6):977-980.
- [12] Coksuer H, Akdemir Y, Ulas Barut M. Improved in vitro fertilization success and pregnancy outcome with autologous platelet-rich plasma treatment in unexplained infertility patients that had repeated implantation failure history[J]. Gynecol Endocrinol, 2019,35(9):815-818.
- [13] 卫爱武,宋艳丽,肖惠冬子,等. 丹寿汤对抗磷脂抗体致妊娠丢失动物模型胎盘组织血小板活化因子受体、血管内皮生长因子mRNA表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2019,30(9):2093-2096.
- [14] 袁峰,袁晓华,胡盈,等. 不同亚型抗磷脂抗体表达D二聚体与妊娠期高血压患者不良妊娠结局的关系[J]. 中国临床医生杂志, 2019,47(10):1229-1232.
- [15] 陆碧玉,黄李霜,黄诚,等. 抗核抗体对体外受精-胚胎移植结局的影响研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2021,29(3):405-408.
- [16] 余倩,王露,王文,李丽. 不良妊娠结局的危险因素及血清中抗核抗体和抗心磷脂抗体检测的临床意义[J]. 广西医科大学学报, 2020,37(3):454-458.
- [17] 蒋元华,毛文琪,曾梅芳,等. 抗核抗体与体外受精-胚胎移植临床结局的相关性分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2021,13(4):33-36+41.
- [18] 张凤敏,郝伟明,李红霞,等. 辅助生殖助孕患者胚胎停育相关危险因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2021,36(15):3534-3537.

· 论 著 ·

CEA、AFP及CYFRA21-1在NSCLC中的表达及与病理特征和预后的关系

杨芳^{1*} 王雅² 梁丽红¹ 李苗苗¹ 王维¹

[摘要] **目的** 分析血清癌胚抗原(CEA)、甲胎蛋白(AFP)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21-1)在非小细胞肺癌(NSCLC)患者中的表达及与病理特征和预后的关系。**方法** 收集2018年9月至2020年9月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的92例NSCLC患者(NSCLC组),另选取同期89例健康体检志愿者(对照组)。收集患者一般资料,比较两组血清CEA、AFP、CYFRA21-1表达水平,分析CEA、AFP、CYFRA21-1与NSCLC病理特征和预后的关系。**结果** NSCLC组患者血清中CEA、AFP、CYFRA21-1表达水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Ⅲ~Ⅳ期、低分化、淋巴结转移者CEA、AFP、CYFRA21-1阳性率明显高于Ⅰ~Ⅱ期、中高分化、无淋巴结转移者,差异有统计学意义($P<0.05$),在不同年龄、性别、病理类型之间CEA、AFP、CYFRA21-1阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。92例患者根据预后情况分为预后良好组71例,预后不良组21例。TNM分期、组织分化、CEA、AFP、CYFRA21-1为影响NSCLC患者预后的单因素($P<0.05$)。经多元Logistic回归分析可知,TNM分期、组织分化、CEA、AFP、CYFRA21-1为影响NSCLC患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 血清CEA、AFP、CYFRA21-1在NSCLC患者中的表达均上调,与患者病理特征和预后密切相关,可能可作为预后评估的有效指标。

[关键词] CEA; AFP; CYFRA21-1; NSCLC

Relationship between the expression of CEA, AFP and CYFRA21-1 in NSCLC and pathological characteristics and prognosisYANG Fang^{1*}, WANG Ya², LIANG Lihong¹, LI Miaomiao¹, WANG Wei¹

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

2. Department of General, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China, 100021)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the expression of serum carcinoembryonic antigen (CEA), alpha fetoprotein (AFP) and cytokeratin fragment (CYFRA21-1), pathological characteristics and prognosis in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 92 NSCLC patients (NSCLC group) admitted to Beijing University of Century Tank Hospital from September 2018 to September 2020 were collected, and 89 volunteers (control group) who had physical examination during the same period in this hospital were selected. The general data of patients were collected, and the expression levels of CEA, AFP, CYFRA21-1 in the serum of different groups were compared, and the relationship between the levels of CEA, AFP and CYFRA21-1 and the pathological characteristics and prognosis of NSCLC was analyzed. **Results** The expression levels of CEA, AFP, and CYFRA21-1 in the serum of NSCLC patients were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The positive rates of CEA, AFP, and CYFRA21-1 in patients with stage III~IV, poor differentiation, and lymph node metastasis were significantly higher than those of stage I~II, moderate and high differentiation, and no lymph node metastasis ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the positive rates of CEA, AFP, and CYFRA21-1 among different age, gender, pathological

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7204212)

作者单位:1.首都医科大学附属北京世纪坛医院肿瘤科,北京 100038

2.中国医学科学院肿瘤医院综合科,北京 100021

*通信作者:杨芳, E-mail: yangfang@bjsjth.cn

type ($P>0.05$). According to the prognosis, 92 patients were divided into a good prognosis group (71 cases) and a poor prognosis group (21 cases). TNM staging, tissue differentiation, CEA, AFP, CYFRA21-1 and NSCLC were the single factors affecting the prognosis of NSCLC patients ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that TNM staging, tissue differentiation, CEA, AFP, and CYFRA21-1 were independent risk factors affecting the poor prognosis of NSCLC patients ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of serum CEA, AFP, and CYFRA21-1 in NSCLC patients are all up-regulated, which are closely related to the pathological characteristics and prognosis of patients and may be effective indicators for prognostic evaluation.

[KEY WORDS] CEA; AFP; CYFRA21-1; NSCLC

非小细胞肺癌(Non small cell lung cancer, NSCLC)为肿瘤科常见恶性肿瘤,早期症状隐匿,发现时80%处于中晚期,易错过最佳治疗时间^[1]。肿瘤标志物的发展有效地提高了肿瘤早期诊断率,为肿瘤早期治疗带来了曙光,同时为肿瘤患者治疗后转移、复发提供有效检测指标,对患者预后评估有重要的参考价值。癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)在临床中为肺癌诊断的常用肿瘤标志物,有较高的敏感度^[2]。甲胎蛋白(Alpha fetoprotein, AFP)作为糖蛋白的一种,在肝癌诊断中具有较高特异性,有研究显示AFP在肺癌患者也有明显升高趋势^[3]。细胞角蛋白19片段(Cytokeratin fragment, CYFRA21-1)为近年新发现的与肺癌有关的肿瘤标志物,与恶性肿瘤分化、增值、迁移等过程密切相关^[4]。本文将通过检测CEA、AFP、CYFRA21-1在NSCLC患者中的表达水平,分析三者与NSCLC的病理特征以及预后的关系,以期为临床诊疗NSCLC提供更全面参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年9月至2020年9月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的92例NSCLC患者(NSCLC组),其中男69例、女23例,平均年龄为(60.32±3.48)岁。纳入标准:①均经临床病理诊断确诊为NSCLC者^[5];②在检查前均未进行放疗或化疗;③临床资料完整。排除标准:①存在血液系统或免疫系统疾病者;②合并存在心、肝、肾等严重原发性疾病者;③合并其他肿瘤者;④存在严重并发症者。另选取本院89例同期健康体检志愿者(对照组),其中男68例,女21例,平均年龄为(60.45±3.23)岁,身体健康无肺部或其他影响本研究疾病存在。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 收集资料

收集患者临床资料,包括年龄、性别、病理特征等,病理特征包括:TNM分期^[5](Ⅰ~Ⅱ期、Ⅲ~Ⅳ期)、组织分化(低分化、中高分化)、淋巴结转移、病理类型(鳞癌、腺癌)。并对患者进行为期6个月随访,了解患者预后情况,随访截止至2021年3月31日,根据治疗后是否有转移复发分为预后良好组与预后不良组。

1.2.2 血清CEA、AFP、CYFRA21-1检测

NSCLC患者在入院后次日清晨抽取空腹静脉血液3 mL,健康体检志愿者则在体检当日清晨抽取空腹静脉血液3 mL。将所获血液使用低速离心机3 000 r/min(离心半径为13 cm)离心10 min,获取上清液待检。使用电化学发光法检测CEA、AFP、CYFRA21-1,仪器为罗氏公司所提供的ELECSYS2010型全自动电化学发光免疫分析仪,试剂为仪器所配套,检验步骤严格根据试剂所配套说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析CEA、AFP、CYFRA21-1与NSCLC患者预后的关系,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组CEA、AFP、CYFRA21-1表达水平比较

NSCLC组患者血清中CEA、AFP、CYFRA21-1表达水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 CEA、AFP、CYFRA21-1与NSCLC患者病理特征的关系

Ⅲ~Ⅳ期、低分化、淋巴结转移者CEA、AFP、CYFRA21-1阳性率明显高于Ⅰ~Ⅱ期、中高分化、无淋巴结转移者,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同年龄、性别、病理类型之间CEA、AFP、CYFRA21-1

表1 两组CEA、AFP、CYFRA21-1表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of CEA, AFP, and CYFRA21-1 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CEA($\mu\text{g/L}$)	AFP(ng/mL)	CYFRA21-1(ng/mL)
对照组	89	3.16 $\pm$ 0.48	0.66 $\pm$ 0.13	2.13 $\pm$ 0.68
NSCLC组	92	28.11 $\pm$ 6.54	18.46 $\pm$ 3.59	12.64 $\pm$ 4.16
t值		35.893	46.741	23.530
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 CEA、AFP、CYFRA21-1与NSCLC患者病理特征的关系[n(%)]

Table 2 The relationship between CEA, AFP, CYFRA21-1 and pathological characteristics of NSCLC patients [n(%)]

病理特征	CEA阳性(n=79)	χ^2 值	P值	AFP阳性(n=58)	χ^2 值	P值	CYFRA21-1阳性(n=72)	χ^2 值	P值
年龄									
≥60岁	55(69.62)	1.264	0.260	39(67.24)	0.001	0.968	49(68.06)	0.066	0.796
<60岁	24(30.38)			19(32.76)			23(31.94)		
性别									
男	49(62.03)	0.001	0.973	38(65.52)	0.844	0.358	41(56.94)	3.529	0.062
女	30(37.97)			20(34.48)			31(43.06)		
TNM分期									
I~II期	40(50.63)	8.331	0.003	18(31.03)	11.630	<0.001	27(37.50)	6.691	0.009
III~IV期	39(49.37)			40(68.98)			45(62.50)		
组织分化									
低分化	45(56.96)	14.495	<0.001	38(65.52)	17.315	<0.001	41(56.94)	8.549	0.003
中高分化	34(43.04)			20(34.48)			31(43.06)		
淋巴结转移									
是	48(60.76)	9.263	0.002	33(56.89)	10.545	<0.001	48(66.67)	6.689	0.009
否									
病理类型									
鳞癌	39(49.37)	0.532	0.465	28(48.28)	1.447	0.228	37(51.39)	1.328	0.249
腺癌	40(50.63)			30(51.72)			35(48.61)		

表3 CEA、AFP、CYFRA21-1与NSCLC患者预后关系[n(%)]

Table 3 The relationship between CEA, AFP, CYFRA21-1 and the prognosis of NSCLC patients [n(%)]

因素	预后良好组(n=71)	预后不良组(n=21)	χ^2 值	P值
年龄				
≥60岁	49(69.01)	13(61.90)	0.372	0.541
<60岁	22(30.99)	8(38.10)		
性别				
男	45(63.38)	12(57.14)	0.267	0.605
女	26(36.62)	9(42.86)		
TNM分期				
I~II期	38(53.52)	3(14.29)	10.098	0.001
III~IV期	33(46.48)	18(85.71)		
组织分化				
低分化	28(39.44)	17(80.95)	11.178	<0.001
中高分化	43(60.56)	4(19.05)		
淋巴结转移				
是	35(49.30)	15(71.43)	3.199	0.073
否	36(50.70)	6(28.57)		
病理类型				
鳞癌	35(49.30)	9(42.86)	0.269	0.603
腺癌	36(50.70)	12(57.14)		
CEA($\mu\text{g/L}$)				
≥28	13(18.31)	18(85.71)	32.957	<0.001
<28	58(81.69)	3(14.29)		
AFP(ng/mL)				
≥18	25(35.21)	16(76.19)	11.016	0.001
<18	46(64.79)	5(23.81)		
CYFRA21-1(ng/mL)				
≥12	28(39.44)	19(90.48)	16.895	<0.001
<12	43(60.56)	2(9.52)		

2.4 影响NSCLC患者预后多因素分析

待分析因素的意义及赋值见表4,经多元Logistic回归分析可知,TNM分期、组织分化、CEA、AFP、CYFRA21-1为影响NSCLC患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。见表5。

阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 CEA、AFP、CYFRA21-1与NSCLC患者预后关系

92例患者根据预后情况分为预后良好组71例,预后不良组21例。TNM分期、组织分化、CEA、AFP、CYFRA21-1为影响NSCLC患者预后的单因素($P<0.05$)。见表3。

表4 待分析因素的意义及赋值

Table 4 Significance and assignment of factors to be analyzed

因素	代表意义	赋值
X ₁	TNM分期	0=I~II期;1=III~IV期
X ₂	组织分化	0=中高分化;1=低分化
X ₃	CEA	0=<28 $\mu\text{g/L}$;1= $\geq$ 28 $\mu\text{g/L}$
X ₄	AFP	0=<18 ng/mL ;1= $\geq$ 18 ng/mL
X ₅	CYFRA21-1	0=<12 ng/mL ;1= $\geq$ 12 ng/mL

表5 影响NSCLC患者预后多因素

Table 5 Multiple factors affecting the prognosis of NSCLC patients

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
X ₁	0.306	0.117	7.926	1.357	1.079~1.707	<0.001
X ₂	0.415	0.213	8.163	1.302	1.021~1.660	<0.001
X ₃	0.399	0.157	6.109	1.490	1.033~2.150	<0.001
X ₄	0.667	0.135	4.629	1.948	1.495~2.538	0.023
X ₅	0.506	0.221	5.18	1.658	1.075~2.557	0.001

3 讨论

肿瘤标志物是由肿瘤细胞异常所产生和释放出的特异性物质,或是肿瘤刺激正常组织所产生的物质,是反映肿瘤发生、发展的有效指标,是临床中广泛使用的诊断方法^[6]。

CEA为酸性糖蛋白,具有人类胚胎抗原特异性,在恶性肿瘤与胚胎组织中可检测出,为结肠癌诊断的标志物。有研究显示,CEA可在肺癌中表达,

且以肺腺癌中高表达更明显,可为肺癌临床诊断提供重要参考依据^[7]。Peng等^[8]通过比较不同分期、不同组织分化肺癌患者血清中CEA表达水平,发现CEA水平与患者分期、组织分化程度存在密切的联系。陈坚等人^[9]研究则发现,晚期肺癌患者中CEA水平明显高于早期,且CEA水平越高者其生存期限越短。在本研究中,NSCLC患者血清CEA水平也明显高于对照组,与上述文献研究结果相符,提示CEA与肺癌发生存在一定的联系。CYFRA21-1是构成细胞骨架的间丝状物质,在癌变发生时,细胞角蛋白刺激CYFRA21-1释放,促进肿瘤细胞转移、增殖,患者血液中CYFRA21-1水平也随之升高^[10]。有研究发现,CYFRA21-1在肺癌患者血清中的表达会明显增加,且与肺癌患者的临床分期、浸润程度存在密切的相关性^[11]。同时也有研究表明,CYFRA21-1升高是因为角蛋白分解产生而不是由于细胞崩解外溢所致,与神经特异性烯醇化酶(neuron specific enolase,NSE)机制不同,无一过性升高,可以反映治疗后肿瘤缩小的程度;对肺癌具有较高的诊断效能,其水平变化可作为肺癌患者预后评估的有效指标^[12]。在本研究中,NSCLC患者血清CYFRA21-1水平明显高于对照组,与上述研究结果相符,提示CYFRA21-1在肺癌发展过程中可能存在着重要的作用。

AFP为胚胎时期通过肝细胞、卵黄囊所合成,也可由肾脏、肠胃道黏膜少量合成,其在胚胎时期最高可达到3 mg/mL,在胎儿出生后合成会受到一定程度的抑制,逐渐消失,在成人血清中含量低,以往常作为肝癌诊断的临床指标^[13]。有研究发现AFP在健康人群、肺部良性疾病、肺癌中表达存在差异,在肺癌患者中其表达水平明显高于另外两组^[14]。在本研究中,NSCLC患者血清的AFP水平也明显高于对照组,与上述文献研究结果相符。

在以往研究表明,肿瘤分化程度越低、TNM分期越高、淋巴结转移均是预示着患者预后不良的高危因素^[15]。本文研究结果提示三者水平变化可为NSCLC患者病理分期、分型、病情监测提供全面参考信息。进一步Logistic回归分析显示,CEA、AFP、CYFRA21-1与TNM分期、组织分化同为影响患者预后的独立危险因素,提示三者对NSCLC患者预后评估有着重要的参考价值。

综上所述,血清CEA、AFP、CYFRA21-1在NSCLC患者中的表达均上调,与患者病理特征和预后密切相关,可能可作为预后评估的有效指标。

参考文献

- [1] 刘小云, 吴小延, 邵琼, 等. 基于分子标签二代测序技术的非小细胞肺癌驱动基因变异分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(6):468-473.
- [2] 贾原菊, 郭雪, 姚春勇. 祛毒扶正汤联合GC化疗方案对非小细胞肺癌患者化疗延迟率、通过率及CYFRA21-1、CK19-2G2的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(15):67-70.
- [3] Song B, Shi P, Xiao J, et al. Utility of red cell distribution width as a diagnostic and prognostic marker in non-small cell lung cancer[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):15717.
- [4] 尚大雷, 陈书成. SPECT骨显像联合血清CYFRA21-1、CEA诊断NSCLC患者骨转移的临床价值分析[J]. 中国CT和MRI杂志, 2020, 18(5):143-146.
- [5] 陈亚新, 孟凡亮. miR-125a-5p在非小细胞肺癌血清中的表达及其意义[J]. 安徽医学, 2019, 40(1):38-41.
- [6] Bello M, Filiberti RA, Alama A, et al. The role of CEA, CYFRA21-1 and NSE in monitoring tumor response to Nivolumab in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients[J]. J Transl Med, 2020, 17(1):74.
- [7] 覃远静, 王雪梅, 童燕娜, 等. 肿瘤血清标志物水平升高与非小细胞肺癌患者发生脑转移的关系[J]. 中华保健医学杂志, 2020, 22(2):194-196.
- [8] Peng SJ, Wang CF, Yu YJ, et al. CYFRA21-1/TG ratio as an accurate risk factor to predict eye metastasis in nasopharyngeal carcinoma: A STROBE-compliant article[J]. Medicine, 2020, 99(46):73.
- [9] 陈坚, 王棣, 向小俐, 等. 血清TK1, CD147, VEGF, CYFRA21-1和CEA联合检测对非小细胞肺癌的诊断价值研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(7):1135-1140.
- [10] 杨桂学, 李冉华, 曾涛, 等. 肿瘤标志物预测NSCLC患者EGFR突变概率数学模型的建立与评价[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(21):77-81.
- [11] 陈雯微. 血清CEA, CA125及Cyfra21-1水平与中晚期非小细胞肺癌患者的临床特征与预后相关性分析[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(11):122-124.
- [12] Yang J, Tang A, Ma J, et al. The reference intervals for CA125, CA15-3, CA19-9, CA72-4, AFP, CEA, NSE and CYFRA21-1[J]. Sand J Clin Lab Invest, 2019, 22(2):1-4.
- [13] 栗劲松, 丁佑铭. 联合GGT, GP73, AFP诊断早期原发性肝癌的价值[J]. 肝胆外科杂志, 2019, 27(5):38-41.
- [14] Zheng Q, Zhang L, Tu M, et al. Development of a panel of autoantibody against NSG1 with CEA, CYFRA21-1, and SCC-Ag for the diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Chim Acta, 2021, 520(6):88-93.
- [15] Wei Z, Yanling L, Fanlei K, et al. Correlations of pathological stage and prognosis of NSCLC patients with changes in serum CEA and CYFRA 21-1 and CT characteristics[J]. Pan-minerva Med, 2020, 62(1):33-37.

· 论 著 ·

X连锁慢性肉芽肿病临床特征与基因诊断

郭明发¹ 贾静² 王亚峰¹ 朱莹莹¹ 史利欢¹ 刘俊闪¹ 刘炜^{1*}

【摘要】 目的 分析X连锁慢性肉芽肿病(X-CGD)的临床特征与实验室诊断方法。方法 分析郑州大学附属儿童医院河南省儿童医院血液肿瘤科2015年10月至2019年5月间收治的11例X-CGD患者的临床资料,对患者与家系成员进行中粒细胞呼吸爆发及基因检查。结果 患者中性粒细胞呼吸爆发试验显示中性粒细胞活化率均<10%,其中6例患者母亲及3例患者姐姐呈现双峰表型;所有患者经Sanger测序均显示为CYBB基因突变,其中5例为自发突变、6例为X连锁突变;家系分析显示CYBB基因突变来自母亲,由母亲X染色体遗传,其中女儿为携带者,男性多发病;随访结果显示控制感染可延长存活,造血干细胞移植治疗可恢复中性粒细胞呼吸爆发功能。结论 X连锁慢性肉芽肿病临床起病早,反复感染常见;可采用流式细胞术行中性粒细胞呼吸爆发实验有助于疾病的快速筛查,但临床确诊仍依赖基因诊断,同时基因诊断有助于明确患者家系成员基因型,明确遗传方式,为遗传咨询及产前诊断提供依据。

【关键词】 X连锁慢性肉芽肿;基因诊断;中粒细胞呼吸爆发试验;CYBB基因

Clinical features and gene diagnosis of X-linked chronic granulomatosis

GUO Mingfa¹, JIA Jing², WANG Yafeng¹, ZHU Yingying¹, SHI Lihuan¹, LIU Junshan¹, LIU Wei^{1*}

(1. Department of Hematology and Oncology, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan Children's Hospital, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450003; 2. Department of Laboratory Medicine, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450003)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the clinical features and laboratory diagnosis methods of X-linked chronic granulomatous disease (X-CGD). **Methods** The clinical data of 11 patients with X-CGD admitted to the Department of Hematology and Oncology, Henan Provincial Children's Hospital, Children's Hospital of Zhengzhou University from October 2015 to May 2019 were analyzed. **Results** The patient's neutrophil respiratory burst test showed that the neutrophil activation rate was less than 10%, of which 6 patients' mothers and 3 patients' sisters showed a bimodal phenotype. All patients were sequenced by Sanger and showed CYBB gene mutations, of which 5 cases were spontaneous mutations and 6 cases were X-linked mutations. Pedigree analysis showed that the CYBB gene mutation came from the mother and was inherited by the mother's X chromosome, and the daughter was a carrier, and males frequently had the disease. Follow-up results show that control of infection can prolong survival, and hematopoietic stem cell transplantation can restore neutrophil respiratory burst function. **Conclusion** X-linked chronic granulomatosis has an early clinical onset, and repeated infections are common. Flow cytometry can be used to perform neutrophil respiratory burst test to help rapid disease screening, but clinical diagnosis still depends on genetic diagnosis. At the same time, genetic diagnosis can help to determine the genotype of the patient's family members, and to clarify the inheritance mode, and provide a basis for genetic counseling and prenatal diagnosis.

【KEY WORDS】 X-CGD; Genetic diagnosis; Neutrophil respiration burst experiment; CYBB gene

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201702320)、河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190966)

作者单位:1. 郑州大学附属儿童医院河南省儿童医院血液肿瘤科河南省小儿血液医学重点实验室, 河南, 郑州 450003

2. 郑州大学附属儿童医院河南省儿童医院检验科, 河南, 郑州 450003

*通信作者:刘炜, E-mail: liuweixinxiang123@163.com

慢性肉芽肿病(chronic granulomatous disease, CGD)是一种以皮肤、肺及淋巴结广泛肉芽肿性损害为特点的遗传性粒细胞杀菌功能缺陷的原发性吞噬细胞免疫缺陷病,属于单基因遗传病,多为性连锁隐性遗传。由于患者体内吞噬细胞编码还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶复合物的相关基因缺陷,导致中性粒细胞呼吸爆发障碍,不能有效的产生超氧阴离子(O_2^-)及其代谢物来杀死过氧化物酶阳性细菌和真菌^[1]。X连锁慢性肉芽肿病(X-linked chronic granulomatous disease, X-CGD)多以男性发病,女性为基因携带为特点,发病多在2岁以内,少数可晚至10岁以后。多数X-CGD是由于患者CYBB基因编码区和剪接区突变引起,而非由基因调控区发生缺失引起,大多数突变影响mRNA和(或)蛋白的稳定性,造成反复且严重感染,以及过度炎症反应的影响^[2]。该病临床症状呈现多样性,容易忽视,导致临床延期诊断。故本文通过总结分析诊治的X-CGD患者的临床特点,以及相关实验室检查,对该病进行总结,旨在帮助临床医生诊断及对患者家庭进行遗传咨询、产前诊断提供帮助。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

分析2015年10月至2019年5月间郑州大学附属儿童医院确诊的11例X-CGD患者,均为男孩,均来自河南省内不同地区。临床资料,见表1。纳入标准:所有经临床确诊的X-CGD患者,排除标准:合并其他类型的免疫缺陷病者,以及家系成员不愿意参加本研究者。本研究获得所有患者监护人知情同意,研究经院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 病史采集及实验室检查

收集11例患者发病时的一般临床资料、临床症状及家族史情况、实验室常规检查及病原学检查等。

1.2.2 中粒细胞呼吸爆发试验

取患者、家系成员及健康对照者新鲜静脉EDTA抗凝血1 mL,2 h内进行检测。处理步骤如下:①取两支流式反应管,各加入50 μ L全血,其中对照管加入50 μ L磷酸盐缓冲液(PBS),刺激管加50 μ L佛波酯(Sigma, 10 μ g/mL)工作液,混匀,37℃,孵育15 min;②每支反应管中分别加入25 μ L二氢罗丹明-123(Dihydrorhodamine-123, DHR-123)(Sigma, 30 μ g/mL)工作液,混匀,37℃避光孵育5 min;③每支反应管加入1 mL溶血素(BD FACS Lysing Solution),室温避光10 min;④400 g,离心5 min,弃上清,PBS洗涤2次,离心弃上清,加200 μ L PBS上机检测。本实验采用FACSCanto II流式细胞仪(BD公司,美国),以对照管调节仪器电压,设置阴性区间,采用BD Diva软件分析刺激管检测发出阳性信号的细胞比例,报告中性粒细胞活化率即阳性信号的粒细胞占全部粒细胞的比例。

1.2.3 基因测序

对所有患者及其家系成员进行基因诊断,采集静脉EDTA-K₂抗凝血2 mL,送至北京迈基诺医学检验所进行Sanger测序。

2 结果

2.1 中性粒细胞活化率分析

11例患者及家系成员均行中粒细胞呼吸爆发试验检查,其中所有患者中性粒细胞活化率均

表1 11例X-CGD患者的临床资料

Table 1 Clinical data of 11 X-CGD patients

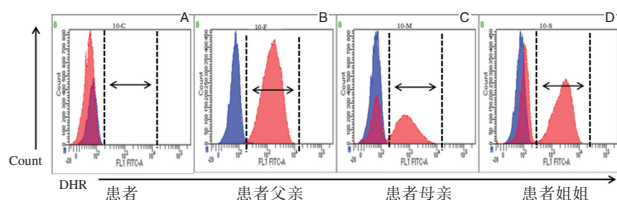
患者	性别	发病年龄(d)	诊断年龄	临床表现	随访情况	家族史
1	男	9	1.75 y	溃疡性结肠炎、腹泻、便血、卡介苗病	存活	1舅舅夭折
2	男	7	17 d	肺炎、败血症、呼吸衰竭	死亡	否认
3	男	14	34 d	肺炎	存活	1舅舅、1哥哥夭折
4	男	10	46 d	曲霉菌性肺炎、卡介苗病	存活	3舅舅夭折
5	男	25	1.5 y	肺炎、真菌感染、卡介苗病	死亡	否认
6	男	22	42 d	曲霉菌性肺炎、败血症、卡介苗病	死亡	否认
7	男	10	51 d	肺炎、巨细胞病毒肝炎	存活	否认
8	男	7	54 d	肺炎、腹泻	存活	否认
9	男	30	1.67 y	肺炎、卡介苗病	存活	1哥哥夭折
10	男	20	6 m	肺炎	存活	1哥哥夭折
11	男	15	45 d	肺炎	存活	否认

<10%;其中6例患者母亲呈携带者双峰表型(例1、3、4、5、9、10),3例患者姐姐也呈现携带者表型(例3、9、10),而患者父亲中性粒细胞活化率呈现正常阳性信号。见表2、图1。

表2 11例X-CGD患者级家系成员的中粒细胞活化率及基因突变

Table 2 Neutrophil activation rate and gene mutations of 11 X-CGD patient-level family members

患者	中粒细胞活化率(%)					基因突变	变异来源	携带者
	患者	父亲	母亲	姐姐1	姐姐2			
1	3.6	98.2	59.6	—	—	CYBB	母亲	母亲
2	1.2	98.7	96.3	96.6	97.8	CYBB	自发	—
3	3.1	98.1	30.9	97.4	38.6	CYBB	母亲	母亲、姐姐2
4	1.8	99.7	40.5	—	—	CYBB	母亲	母亲
5	0.4	99.3	27.8	—	—	CYBB	母亲	母亲
6	1.9	99.7	97.8	—	—	CYBB	自发	—
7	0.6	99.6	96.1	—	—	CYBB	自发	—
8	2.6	99.2	99.6	—	—	CYBB	自发	—
9	8.7	99.7	14.2	98.4	42.5	CYBB	母亲	母亲、姐姐2
10	0.8	98.6	57.0	63.1	—	CYBB	母亲	母亲、姐姐
11	4.5	97.5	96.8	—	—	CYBB	自发	—



注:蓝色峰对照管PBS刺激,红色峰检测管PMA刺激。

图1 例10 X-CGD患者及家系成员中性粒细胞活化率分析
Figure 1 Analysis of neutrophil activation rate of 10 X-CGD patients and family members

2.3 基因测序结果

经Sanger测序分析,所有患者均显示为CYBB基因突变,其中自发突变5例(例2、6、7、8、11),母系来源突变6例(例1、3、4、5、9、10),典型基因分析来自10号病例,患者呈现CYBB基因半合子变异、患儿父亲无变异、患儿母亲及姐姐呈现杂合变异。见表2、图2。

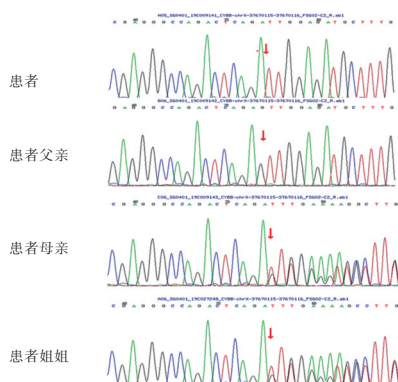


图2 例10 X-CGD患者及家系成员基因诊断分析
Figure 2 Genetic diagnosis analysis of 10 X-CGD patients and family members

2.4 家系分析

X-CGD患者为先症者,其CYBB基因突变来自母亲,由母亲X染色体遗传,其中女儿为携带者,男性多发病,典型家系分析来自10号病例。见图3。

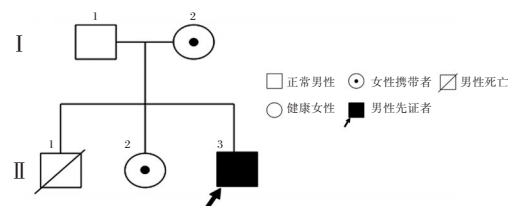


图3 例10 X-CGD患者遗传家系分析
Figure 3 Analysis of the genetic family of 10 X-CGD patients

2.5 随访结果

本研究中11例患者中,1例患者以“溃疡性结肠炎”反复多次就诊多家医院,出生9天即起病,1岁9月在本院第二次入院通过中性粒细胞活化率筛查为疑似病例,经基因诊断确诊。3例患者死亡,其中2例在他院经历较长时间抗感染治疗,入院明确诊断时已进入感染终末期阶段。8例存活患者中,其中2例经造血干细胞移植治疗后检测中性粒细胞呼吸爆发功能正常,中性粒细胞活化率>90%;其余6例经控制感染后暂时存活。

3 讨论

慢性肉芽肿是一种罕见的遗传性疾病,可分为X-CGD和常染色体隐性遗传CGD。其发病率约为1/20万人,欧美国家报道发病率大约1/25万~

1/20万^[3],目前我国尚无确切的发病率数据报道。由于患者体内NADPH氧化酶复合物的某些成分缺失或减少,不能有效地产生具有杀菌活性的超氧阴离子及其代谢产物,从而吞噬细胞无法产生“呼吸爆发”,导致机体对多种病原体感染无法清除,造成过氧化氢酶阳性细菌,侵袭性真菌,结核分枝杆菌等感染^[4-6]。CGD患者常以肺部感染为主要表现,包括肺炎与肺脓肿,其他症状包括淋巴结炎、皮肤和胃肠道感染^[7-8]。本组中10例(90.9%)患者以肺炎为主要病因入院,且以新生儿期起病为主,年龄低于国内已有报道^[9],且患者从发病到诊断时间明显缩短,可能与该疾病的快速筛查意识提高有关系。

NADPH氧化酶复合物是由5个吞噬氧化酶phox亚基组成的多组分酶^[10],5个吞噬氧化酶亚基gp91、p22、p47、p67和p40的编码基因分别CYBB、CYBA、NCF1、NCF2、NCF4。其中CYBB基因缺陷常引起引起X-CGD,表现为男性患病,女性携带。CYBB基因突变在欧洲和美国报道比例分别为67%、70%^[5],国内上海和重庆报道比例为89.1%、83.3%^[2,6]。

CGD实验室传统诊断依赖硝基四唑氮蓝(Nitro blue tetrazolium chloride, NBT)还原实验,存在操作复杂、繁琐且结果不客观等缺点^[10],20世纪90年代后期,DHR-123经流式细胞术测定细胞内活性氧开始应用于临床。无荧光染料DHR-123,进入中性粒细胞后,可被中粒细胞呼吸爆发过程产生的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)氧化为荧光物质DHR-123,发出荧光,被流式细胞仪捕获,可直接反映中性粒细胞的活化能力^[11]。健康人群中性粒细胞活化在检测图上呈现显著的阳性位移群,而X-CGD患者几乎没有移位;且X-CGD携带者中粒细胞存在两个不同群体即部分正常位移,部分没有位移,呈现双峰表型^[12]。本研究中11例X-CGD患者中粒细胞活化率均<10%,且检测图上几乎无位移。研究显示X-CGD携带者中粒细胞活化率范围在20%~80%,极少情况下只有10%中粒细胞活化率也具有正常的宿主防御能力^[13]。本研究的家系成员中粒细胞呼吸爆发试验显示:6例患者母亲中粒细胞活化率在14.2%~59.6%之间;3例患者同胞姐姐中粒细胞活化率38.6%~63.1%之间,患者父亲均呈现典型的阳性位移群。采用流式细胞术检测中性粒细胞活化率,有助于快速筛查X-CGD患者,但其明确诊断仍需要基因诊断。

综上所述,X-CGD临床起病早,反复重症感染

常见,由于临床病例少见,易被忽视。随着流式细胞仪在基层医院的普及,采用流式细胞术-DHR检测能简单快捷检测中性粒细胞活化率,对于低年龄起病的过氧化氢酶阳性细菌感染、真菌感染、卡介苗接种异常等疑似CGD患者,建议开展检测中粒细胞呼吸爆发实验。目前遗传性疾病,尤其是单基因遗传病的临床确诊需要采用基因诊断,主要技术有基于PCR扩增技术和基因测序技术等^[14-15],明确单基因遗传病的临床诊断需对患者及其家系成员进行基因分析,明确其遗传方式,同时对家系中基因携带者进行必要的遗传咨询和产前诊断,对避免基因缺陷儿的出生,提供优生优育的指导策略。

参考文献

- [1] Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee[J]. J Clin Immunol, 2020, 40(1): 24-64.
- [2] Wang S, Wang T, Xiang Q, et al. Clinical and Molecular Features of Chronic Granulomatous Disease in Mainland China and a XL-CGD Female Infant Patient After Prenatal Diagnosis[J]. J Clin Immunol, 2019, 39(8): 762-775.
- [3] Roos D. Chronic granulomatous disease [J]. Br Med Bull, 2016, 118(1): 50-63.
- [4] Thomsen IP, Smith MA, Holland SM, Creech CB. A Comprehensive Approach to the Management of Children and Adults with Chronic Granulomatous Disease [J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2016, 4(6): 1082-1088.
- [5] Marciano BE, Spalding C, Fitzgerald A, et al. Common severe infections in chronic granulomatous disease [J]. Clin Infect Dis, 2015, 60(8): 1176-83.
- [6] 禹定乐, 王文建, 郑跃杰, 等. 儿童慢性肉芽肿病研究进展. 中华实用儿科临床杂志, 2020, 35(11): 877-880.
- [7] Arnold DE, Heimall JR. A Review of Chronic Granulomatous Disease [J]. Adv Ther, 2017, 34(12): 2543-2557.
- [8] 周钦华, 刘丹如, 王莹, 等. 慢性肉芽肿病的实验室诊断 [J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(5): 337-343.
- [9] Yu HH, Yang YH, Chiang BL. Chronic Granulomatous Disease: a Comprehensive Review [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2021, 61(2): 101-113.
- [10] Sacco KA, Smith MJ, Bahna SL, et al. NADPH Oxidase-Specific Flow Cytometry Allows for Rapid Genetic Triage and Classification of Novel Variants in Chronic Granulomatous Disease [J]. J Clin Immunol, 2020, 40(1): 191-202.
- [11] Yu JE, Azar AE, Chong HJ, Jongco AM 3rd, Prince BT. Considerations in the Diagnosis of Chronic Granulomatous Disease [J]. J Pediatric Infect Dis Soc, 2018, 7(suppl_1): S6-S11.

· 论 著 ·

脑梗死急性期患者血清PAI-1、ICAM-1和GMP-140的水平变化及临床意义

张琦^{1*} 刘汉臣¹ 王杰斌²

[摘要] 目的 分析脑梗死急性期患者血清纤溶酶原激活剂抑制物-1(PAI-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血小板 α 颗粒膜蛋白-140(GMP-140)的水平变化及临床意义。**方法** 选取2017年5月至2020年4月开滦总医院林西医院收治的98例脑梗死患者作为研究组,选取同时间段57例健康体检者作为对照组。比较两组以及急性期、恢复期脑梗死患者的PAI-1、ICAM-1、GMP-140水平,分析影响脑梗死急性期患者预后的单因素、多因素。**结果** 研究组PAI-1、ICAM-1、GMP-140水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。急性期患者PAI-1、ICAM-1、GMP-140水平均高于恢复期,差异有统计学意义($P<0.05$)。年龄、性别、吸烟等非影响脑梗死急性期患者预后的单因素($P>0.05$),高血压、PAI-1、ICAM-1、GMP-140为影响脑梗死急性期患者预后的单因素($P<0.05$)。经多因素Logistic回归模型分析结果得出,高血压、PAI-1、ICAM-1、GMP-140为脑梗死急性期患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。**结果** PAI-1、ICAM-1、GMP-140与脑梗死急性期的发生发展有着密切联系,可作为判断脑梗死急性期患者病情变化及预后的标志。

[关键词] PAI-1; ICAM-1; GMP-140; 脑梗死急性期

Changes and clinical significance of serum PAI-1, ICAM-1 and GMP-140 levels in patients with acute cerebral infarction

ZHANG Qi^{1*}, LIU Hanchen¹, WANG Jiebin²

(1. The Second Ward, Department of Neurology, Linxi Hospital, Kailuan General Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063103; 2. The First Ward, Department of Neurology, Linxi Hospital, Kailuan General Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063103)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of serum plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), platelet α -granule membrane protein-140 (GMP-140) levels in patients with cerebral infarction and clinical significance. **Methods** The clinical data of 98 patients with cerebral infarction admitted in Linxi Hospital of Kailuan General Hospital from May to April 2017 to April 2020 were selected as the research group, and another 57 cases who had health examination during the same period were selected as the control group. The levels of PAI-1, ICAM-1 and GMP-140 in the two groups and in patients with acute and convalescent cerebral infarction were compared, and the single factor and multiple factors affecting the prognosis of patients with acute cerebral infarction were analyzed. **Results** The levels of PAI-1, ICAM-1, and GMP-140 in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of PAI-1, ICAM-1 and GMP-140 in patients in the acute stage were higher than those in the recovery stage, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Age, gender, smoking and other factors did not affect the prognosis of patients with acute cerebral

基金项目:河北省卫生厅科研基金项目(20211285)

作者单位:1. 开滦总医院林西医院神经内科二病区,河北,唐山 063103

2. 开滦总医院林西医院神经内科一病区,河北,唐山 063103

*通信作者:张琦, E-mail: zhangqi25_hi@163.com

infarction ($P>0.05$). Hypertension, PAI-1, ICAM-1 and GMP-140 were the single factors affecting the prognosis of patients with acute cerebral infarction ($P<0.05$). The results of multi-factor Logistic regression model showed that high blood pressure, PAI-1, ICAM-1, GMP-140 were independent risk factors for the prognosis of patients with cerebral infarction ($P<0.05$). **Conclusion** PAI-1, ICAM-1, GMP-140 are closely related to the occurrence and development of cerebral infarction in the acute phase, and can be used as markers for judging the changes and prognosis of patients with cerebral infarction in the acute phase.

[KEY WORDS] PAI-1; ICAM-1; GMP-140; Cerebral infarction

脑梗死又称缺血性脑卒中,属于脑血管疾病,是由机体脑部供血出现异常,导致脑部缺氧、缺血,最终脑部出现坏死而引起的^[1]。脑梗死多发于中老年人群,临床多表现为头晕头痛、局部偏瘫、肢体活动受阻、丧失语言功能等症状,临床分为急性期和恢复期,其中急性期脑梗死具有发病急、病情进展快的特点,且具有一定的致残率和死亡率,对患者及家庭造成严重影响^[2]。有研究认为急性期脑梗死与血小板活化、纤溶系统有着密切的联系,血小板 α 颗粒膜蛋白-140(platelet α -granule membrane protein-140, GMP-140)、纤溶酶原激活剂抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)作为血小板活化以及纤溶系统标志物,临床将其水平变化作为脑梗死诊断的参考依据^[3]。有学者提出细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)水平的变化也可作为脑梗死的诊断依据^[4]。本研究对脑梗死急性期患者血清 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平变化进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年5月至2020年4月开滦总医院林西医院收治的98例脑梗死患者作为研究组。纳入标准:①经MRI、CT等检测证实,符合2015年中华医学会神经科学会制定的脑梗死诊断标准^[5-6];②在本院医治且临床资料齐全,无缺损或丢失。排除标准:①其它恶性肿瘤者;②患有精神障碍,无法配合治疗者;③具有出血性疾病或凝血障碍者;④中途退出研究者。其中急性期(病程 <7 d)59例,恢复期(病程 >30 d)39例。选取同时间段57例健康体检者作为对照组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经医院伦理委员会批准且受试者或家属知情研究并签署同意书。

1.2 检测方法

收集所有参与研究者早晨空腹静脉血10 mL,分为两份。一份使用离心机3 000 r/min($r=10$ cm)

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

Table 1 Comparison of data between the two groups

[$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]						
组别	n	性别 (男/女)	平均年龄 (岁)	体质量 (kg/m ²)	吸烟	喝酒
研究组	98	59/39	63.58 $\pm$ 7.73	23.05 $\pm$ 3.86	50(51.02)	59(60.20)
对照组	57	34/23	62.86 $\pm$ 8.13	22.98 $\pm$ 4.58	32(56.14)	29(50.88)
t/χ^2 值		0.005	0.575	0.102	0.379	1.278
P 值		0.946	0.566	0.919	0.538	0.258

分离血清,10 min后取出低温保存。使用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测 ICAM-1,试剂盒购自上海研域化学试剂有限公司。一份加入109 mmol/L 枸橼酸钠溶液0.3 mL并置于抗凝管中,使用离心机以3 000 r/min($r=10$ cm)分离,10min后取上清液低温保存待检。通过ELISA检测 PAI-1、GMP-140,试剂盒由上海太阳生物公司提供。严格按照使用说明书进行操作检测。

1.3 随访

随访患者发病三个月后的恢复情况,以美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale, NIHSS)^[7]评分系统为标准进行评价,以发生中风、复发或死亡作为预后不良的标准。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析影响脑梗死急性期患者预后的因素,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平比较

研究组 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.2 急性期和恢复期 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平比较

急性期患者 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平均高于恢复期,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表2 两组组患者PAI-1、ICAM-1、GMP-140水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of the levels of PAI-1, ICAM-1, and GMP-140 between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PAI-1(ng/L)	ICAM-1(μ g/L)	GMP-140(mg/L)
研究组	98	117.86 $\pm$ 30.16	112.18 $\pm$ 30.59	26.61 $\pm$ 11.86
对照组	57	93.85 $\pm$ 12.03	86.49 $\pm$ 10.25	17.85 $\pm$ 8.13
t值		5.744	6.136	4.939
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表3 急性期与恢复期PAI-1、ICAM-1、GMP-140水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of the levels of PAI-1, ICAM-1, and GMP-140 between acute and convalescent patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PAI-1(ng/L)	ICAM-1(μ g/L)	GMP-140(mg/L)
急性期	59	127.23 $\pm$ 33.02	120.34 $\pm$ 33.49	29.88 $\pm$ 12.01
恢复期	39	103.68 $\pm$ 14.96	99.84 $\pm$ 12.86	21.66 $\pm$ 9.08
t值		4.174	3.644	3.639
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 影响脑梗死急性期患者预后的单因素分析

通过为期3个月的随访得知,急性期患者预后良好17例,预后不佳42例。单因素分析结果显示,年龄、性别、吸烟等非影响脑梗死急性期患者预后的单因素($P>0.05$),高血压、PAI-1、ICAM-1、GMP-140为影响脑梗死急性期患者预后的单因素($P<0.05$)。见表4。

表4 分析影响脑梗死急性期患者预后的单因素

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

变量	预后不良 (n=17)	预后良好 (n=42)	χ^2 t值	P值
年龄(岁)	64.78 $\pm$ 7.19	63.95 $\pm$ 7.49	1.800	0.077
体质量(kg/m ²)	23.36 $\pm$ 4.01	22.91 $\pm$ 3.49	0.430	0.669
性别	男 13(76.47) 女 4(23.53)	31(73.81) 11(26.19)	0.045	0.832
吸烟	有 10(58.82) 无 7(41.18)	18(42.86) 23(54.76)	1.237	0.266
喝酒	有 12(70.59) 无 5(29.41)	21(50.00) 21(50.00)	2.081	0.149
高血压	有 15(88.24) 无 2(11.76)	19(45.24) 23(54.76)	9.163	0.002
糖尿病	有 11(64.71) 无 6(23.29)	19(45.24) 23(54.76)	1.835	0.176
PAI-1(ng/L)	143.39 $\pm$ 38.02	120.69 $\pm$ 14.96	3.317	0.002
ICAM-1(μ g/L)	146.28 $\pm$ 34.59	109.84 $\pm$ 13.83	5.826	<0.001
GMP-140(mg/L)	37.84 $\pm$ 12.46	26.66 $\pm$ 9.03	3.847	<0.001

2.4 影响脑梗死急性期患者预后的多因素分析

经多因素 Logistic 回归模型分析结果得出,高血压、PAI-1、ICAM-1、GMP-140为影响脑梗死急性期患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表5。

表5 分析影响脑梗死急性期患者预后的多因素

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

组别	回归系数	标准误	wald χ^2 值	OR	95%CI	P值
高血压(有 vs 无)	0.596	0.163	6.319	1.815	1.319~2.498	<0.001
PAI-1(ng/L)	0.621	0.296	6.580	1.861	1.042~3.324	<0.001
ICAM-1(μ g/L)	0.682	0.267	6.523	1.978	1.172~3.338	<0.001
GMP-140(mg/L)	0.703	0.326	6.638	2.020	1.066~3.827	<0.001

3 讨论

脑梗死又称“中风”“脑卒中”,临床认为脑梗死急性期是由脑部出现血液灌流障碍,脑组织出现变性或坏死引起的。医学上认为脑梗死急性期是由于动脉粥样硬化斑块破裂形成血栓,导致动脉血管发生闭塞而引起的。脑梗死以局灶性神经功能缺损的症状和体征为特征,如偏瘫、失语、共济失调等,部分可表现为头痛、呕吐、昏迷等全脑症状^[8]。脑梗死急性期死亡率和致残率较高,早期诊断、治疗对于脑梗死急性期预后尤为重要^[9]。有研究认为在脑梗死急性期发展过程中伴有炎症反应的存在^[10]。有学者认为 ICAM-1 可作为临床检测脑梗死急性期预后参考指标^[11]。对此,本文对脑梗死患者的 ICAM-1 水平进行研究,但单一指标无法对脑梗死进行全面有效的评价,因此本文还对脑梗死患者 PAI-1、GMP-140 水平进行研究。

本研究发现脑梗死患者的 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平高于健康人群,这与既往研究结果相似^[12]。黏附分子具有多种生物学活性,其中 ICAM-1 是最重要的白细胞-内皮细胞间黏附分子之一,其在脑缺血及再灌注损伤中起重要作用,可介导白细胞黏附于血管内皮,促进白细胞移行、渗出、参与炎症反应。当内皮细胞受损时,黏附分子增加,ICAM-1 水平会随之增长。脑梗死急性期血小板前列腺素代谢旺盛,血小板呈高反应性^[13]。GMP-140 能特异性地反映血小板的活化程度,当血小板受到刺激,血小板内 GMP-140 可脱落成微粒被释放至血浆内,也可被血浆内的蛋白酶水解形成小片段进入血浆,从而出现 GMP-140 水平增长^[14]。有研究认为血浆 PAI-1 水平升高与心肌梗死、动脉粥样硬化、血管再狭窄等心脑血管病变的形成关系密切^[15]。本研究认为 PAI-1 来自血小板 α 颗粒及增生的平滑肌细胞,当血小板活化释放时,PAI-1 被释放到血液中,因此检测出 PAI-1 水平高于健康健康人群。

有研究认为 PAI-1、ICAM-1、GNP-140 水平在不同时期脑梗死患者中有着不同的表达^[16]。本研究发现,脑梗死急性期患者 PAI-1、ICAM-1、GMP-140 水平高于恢复期,研究结果与上述报道结果相似。汪东良等^[17]认为血清 PAI-1 与病情严重程度呈正相关,其认为 PAI-1 可为临床评价病情严重程度提供重要的参考价值。本研究认为,PAI-1、ICAM-1、GMP-140 与脑梗死发展密切相关,可有效反映出病变部位炎症反应的活跃程度。本研究还发现,PAI-1、ICAM-1、GMP-140 为影响患者预后的因素,这与既往研究结果相似^[18]。可能原因在于:ICAM-1、GNP-140 水平升高时可促进血栓形成、发展;PAI-1 含有可降解交叉联结的纤维蛋白,利于血栓的降解作用,从而对脑梗死急性期患者预后产生影响。

综上所述,PAI-1、ICAM-1、GMP-140 与脑梗死急性期的发生发展有着密切联系,可作为判断脑梗死急性期患者病情变化及预后的标志。

参考文献

- [1] 张皓春,陈忠,文泽贤,等. 急性脑梗死患者外周血 miR-497 表达与炎症氧化应激的关系及对预后的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(2):305-308.
- [2] 郭鹏,任凯夕,沈金金. 脑梗死患者血清 miR-497, TNF- α 表达水平变化及其临床意义[J]. 卒中与神经疾病, 2020, 27(6):758-761, 766.
- [3] Wang S, Ma T, Wang L, et al. Effect of acupuncture on cerebrovascular reserve in patients with acute cerebral infarction: protocol for a randomized controlled pilot study[J]. *Trials*, 2017, 18(1):13-17.
- [4] 徐品丽,李文宝,冯大勇,等. 急性脑梗死患者血清趋化素和网膜素-1 水平的变化及意义[J]. 广东医学, 2019, 40(3):427-431.
- [5] Zhu H, Zhao T, Liu J. Role of Paraoxonase 1 Activity and Oxidative/Antioxidative Stress Markers in Patients with Acute Cerebral Infarction[J]. *Clin Laborat*, 2018, 64(6):1049-1053.
- [6] 秦雪,赵伟金,董春瑶. 急性缺血性脑卒中患者血清 PAI-1、A β 水平及其与病情严重程度的相关性分析[J]. 临床急诊杂志, 2017, 18(4):270-272, 276.
- [7] Zhang YZ, Wang J, F Xu. Circulating miR-29b and miR-424 as Prognostic Markers in Patients with Acute Cerebral Infarction[J]. *Clin Lab*, 2017, 63(10):1667-1671.
- [8] 谷黎丽,田勇武,贺丹. 不同 TOAST 分型急性脑梗死患者血清 hs-CRP 和 LDL 水平变化及临床意义[J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(5):514-519, 524.
- [9] Li L, Ren S, Hao X, et al. Efficacy of Minimally Invasive Intervention in Patients With Acute Cerebral Infarction[J]. *J Cardio Pharmacol*, 2019, 73(73):22-26.
- [10] 孙秀海,代学良,刘洪义. 缺血性卒中患者血清和脑脊液 CysC 及 PAI-1 水平变化及其临床意义[J]. 神经损伤与功能重建, 2018, 13(1):31-32.
- [11] Deguchi I, Osada T, Takao M. Prescription status of oral anticoagulants in patients with acute cerebral infarction with non-valvular atrial fibrillation at the time of stroke onset[J]. *J Cardiol*, 2020, 75(5):544-548.
- [12] 李敏,林海,王晨. 凝血指标、同型半胱氨酸评估急性脑梗死患者病情的价值分析[J]. 血栓与止血学, 2020, 26(6):967-968.
- [13] 祝善尧,葛伟,张欢,等. 血栓通联合阿司匹林对急性脑梗死患者凝血纤溶功能及血清神经递质的影响[J]. 临床神经病学杂志, 2020, 33(1):27-31.
- [14] 王禹,李秀娥,赵曼,等. 急性脑梗死患者的 NT-proBNP 和 Hcy 及部分凝血纤溶指标变化的临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(3):89-91.
- [15] Zhang H, Li CL, Wan F, et al. Efficacy of cattle encephalon glycoside and ignotin in patients with acute cerebral infarction: a randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(7):266-272.
- [16] Sun M, Huo XX, Ren G, et al. Dynamic Changes in miR-124 levels in Patients with Acute Cerebral Infarction[J]. *Int J Neurosci*, 2019, 129(7):31-39.
- [17] 汪东良,王锦华,韩威威,等. 血清学标志物 A β 1-42、sICAM-1、VILIP-1 对脑梗死后血管性痴呆的预测价值[J]. 中华全科医学, 2019, 17(2):225-229.
- [18] Oliver MF, Opie LH. Sex-Specific Management in Patients With Acute Myocardial Infarction and Cardiogenic Shock: A Substudy of the CULPRIT-SHOCK Trial[J]. *Cir Cardiovasc Interv*, 2020, 13(3):409-410.
- [12] Jafarian A, Shokri G, Shokrollahi Barough M, Moin M, Pourpak Z, Soleimani M. Recent Advances in Gene Therapy and Modeling of Chronic Granulomatous Disease[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2019, 18(2): 131-142.
- [13] Berrón-Ruiz L, Morín-Contreras A, Cano-García V, et al. Detection of inheritance pattern in thirty-three Mexican males with chronic granulomatous disease through 123 dihydrorho-
- [14] 郭奕斌,梁宇静,郭东炜. 单基因遗传病基因诊断技术研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016, 8(1):46-53.
- [15] 蔡奥捷,薛淑文,孔祥东. 高通量测序背景下的单基因遗传病分子诊断进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(2):73-77+84.

(上接第 584 页)

· 论 著 ·

血清HbA1C、ACR与2型糖尿病早期肾脏损害的关系

李苏艳¹ 杨修军¹ 游庆华^{2*}

【摘要】目的 探讨糖化血红蛋白A1c(HbA1c)、尿微量白蛋白(U-malb)/尿肌酐(Cr)比值(ACR)与2型糖尿病(T2DM)及早期糖尿病肾脏疾病(EDN)的关系。**方法** 选取本院2018年4月至2021年8月期间确诊的46例EDN患者为研究对象(EDN组),同期选取本院住院治疗的49例单纯T2DM患者作为T2DM组。采用全自动糖化血红蛋白仪检测血清HbA1C水平,采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清胱抑素C(CysC)、U-malb水平,采用全自动生化分析仪检测血尿素氮(BUN)、尿Cr水平, $ACR=U\text{-malb}/Cr$,采用校正eMDRD方程计算肾小球滤过率(GFR);收集受试者空腹血糖(FPG)、餐后2h血糖(2hPG)等一般资料;Pearson法分析EDN患者血清HbA1C、ACR水平与各指标的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析HbA1C、ACR对EDN的诊断价值。**结果** EDN组HbA1C、ACR、CysC、FPG、2hPG水平及病程高于T2DM组,GFR水平低于T2DM组,差异有统计学意义($P<0.05$)。EDN患者HbA1C与ACR呈正相关($r=0.530, P<0.05$),且HbA1C、ACR与病程、FPG、2hPG、CysC呈正相关($P<0.05$),与GFR呈负相关($P<0.05$),与BUN无明显相关性($P>0.05$)。HbA1C、ACR单独及二者联合诊断EDN的曲线下面积(AUC)分别为0.850、0.898、0.935,其中HbA1C、ACR单独诊断AUC均小于联合诊断AUC($Z=1.876, 2.595, P<0.05$),特异度分别为0.63、0.80、0.75,敏感度分别为0.97、0.84、0.99。

结论 HbA1C、ACR均与T2DM、EDN有关,二者联合检测可作为诊断EDN的辅助指标。

【关键词】 2型糖尿病;早期肾脏损害;糖化血红蛋白;尿微量白蛋白/尿肌酐比值

Relationship between serum HbA1C, ACR and early kidney damage in type 2 diabetes mellitus

LI Suyan¹, YANG Xiujun¹, YOU Qinghua²

(1. Huainan Chaoyang Hospital, Huainan, Anhui, China, 232001; 2. Department of Pathology, Shanghai Pudong hospital, Shanghai, China, 201399)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c), urinary microalbumin (U-malb)/creatinine (Cr) ratio (ACR), type 2 diabetes mellitus (T2DM) and early diabetic nephropathy (EDN). **Methods** A total of 46 EDN patients diagnosed in this hospital from April 2018 to August 2021 were selected as the research object (EDN group), 49 patients with simple T2DM who were hospitalized in our hospital during the same period were selected as the T2DM group. Automatic glycosylated hemoglobin analyzer was used to detect the serum HbA1C level, enzyme-linked immunosorbent (ELISA) method was used to detect the serum cystatin C (CysC) and U-malb levels, automatic biochemical analyzer was used to detect blood urea nitrogen (BUN) and urine Cr levels, $ACR=U\text{-malb}/Cr$, the corrected eMDRD equation was used to calculate the glomerular filtration rate (GFR). The subjects' fasting blood glucose (FPG), 2h postprandial blood glucose (2hPG) and other general data were collected; Pearson method was used to analyze the correlation between serum HbA1C and ACR levels in EDN patients with various indicators. The receiver operator characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the diagnostic value of HbA1C and

基金项目:上海市卫生和计划生育委员会科研课题(201540169)

作者单位:1. 淮南朝阳医院,安徽,淮南232001

2. 上海市浦东医院病理科,上海201399

*通信作者:游庆华, E-mail: yqh95888@sina.com

ACR for EDN. **Results** The levels of HbA1c, ACR, CysC, FPG, 2hPG and course of disease in the EDN group were higher than those in the T2DM group, and the level of GFR was lower than that in the T2DM group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). In EDN patients, HbA1C was positively correlated with ACR ($r=0.530$, $P<0.05$), and HbA1C and ACR were positively correlated with disease duration, FPG, 2hPG, and CysC ($P<0.05$), and negatively correlated with GFR ($P<0.05$). There was no significant correlation with BUN ($P>0.05$). The area under the curve (AUC) of HbA1C, ACR alone and the combined diagnosis of EDN was 0.850, 0.898, and 0.935, respectively, the AUC of HbA1C and ACR alone was less than the AUC of combined diagnosis ($Z=1.876$, 2.595 , $P<0.05$), the specificity was 0.63, 0.80, and 0.75, and the sensitivity was 0.97, 0.84, and 0.99, respectively. **Conclusion** HbA1C and ACR are both related to T2DM and EDN, and the combined detection of the two can be used as an auxiliary indicator for the diagnosis of EDN.

[KEY WORDS] T2DM; Early kidney damage; Glycosylated hemoglobin; ACR

早期糖尿病肾脏疾病(early diabetic nephropathy, EDN)是2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者最常见的并发症之一,若不能及时检出进而有效控制,患者有可能从早期的轻度损伤进展到终末期的肾功能衰竭^[1-2]。因此,早期及时的诊断出EDN对患者的治疗及病情控制显得尤为重要。糖化血红蛋白A1c(Hemoglobin A1c, HbA1c)是一种反映近期血糖控制水平的良好指标,在T2DM病情评定及预后评估中有重要价值^[3-4]。尿微量白蛋白/尿肌酐比值(urinary microalbumin/creatinine ratio, ACR)作为近年来研究人员提出的临床新指标,可早期反映患者肾脏损伤情况^[5]。本研究将HbA1C、ACR作为评估EDN的检查手段,比较单纯T2DM、EDN患者中HbA1C、ACR水平的差异,并探究两指标对EDN的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取淮南朝阳医院2018年4月至2021年8月期间确诊的46例EDN患者为研究对象(EDN组),平均年龄(59.94 ± 9.42)岁;同期选取本院治疗的49例单纯T2DM患者作为T2DM组,平均年龄(60.26 ± 9.73)岁。纳入标准:①T2DM患者符合诊断标准^[6],EDN经临床诊断符合《中国成人糖尿病肾脏病临床诊断的专家共识》^[7];②受试者病历资料齐全,且研究经伦理委员会批准;③年龄>18岁者;④1个月内未使用免疫抑制剂或影响肾功能的药物。⑤所有患者及家属均知情同意。排除标准:①伴有贫血、肾炎及其他肾脏疾病者;②伴有甲状腺功能亢进、甲状腺功能减退等甲状腺疾病者;③伴有肿瘤等恶性疾病者;④伴有严重心脑血管疾病、感染性疾病者。收集受试者性别、年龄、体

重指数(BMI)、病程、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、餐后2h血糖(2h plasma glucose, 2hPG)等一般资料。

1.2 主要试剂与仪器

CysC ELISA试剂盒(厂家:上海聚创医药科技有限公司,规格:48T,批号:210537);U-malb ELISA试剂盒(厂家:上海聚创医药科技有限公司,规格:96T,批号:210501)。全自动生化分析仪(型号:7600)购自日本日立公司;全自动糖化血红蛋白仪(型号:MQ-2000PT)购自上海伊沐医疗器械有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 样品采集及保存

采集受试者入院后晨起空腹静脉血样及晨尿,血样离心后收集上层血清,均置于 -80°C 保存待测。

1.3.2 血清HbA1C、ACR及肾功能指标测定

采用全自动糖化血红蛋白仪及其配套试剂检测血清HbA1C水平,采用酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测血清胱抑素C(cystatinC, CysC)、尿微量白蛋白(urinary microalbumin, U-malb)水平,采用全自动生化分析仪检测血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿肌酐(creatinine, Cr)水平, $\text{ACR}=\text{U-malb}/\text{Cr}$,操作步骤均按试剂盒及仪器说明书进行。采用校正eMDRD方程计算肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR), $\text{GFR}(\text{mL}/\text{min}/1.73\text{ m}^2)=186\times[\text{CX3Pcr}]^{-1.154}\times[\text{年龄}]^{-0.206}\times[\text{女性}\times 0.742]\times[\text{中国人}\times 1.233]$ 。其中女性系数为0.742,男性系数为1.000,中国人系数为1.233, CX3Pcr为校正后的Cr值。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行数据处理;计量资料符合正态分布并以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验进行两组间比较;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验进行组间比较;采用 Pearson 法分析 EDN 患者血清 HbA1C、ACR 水平与各指标的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析 HbA1C、ACR 对 EDN 的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 T2DM 组、EDN 组一般临床资料比较

T2DM 组、EDN 组男性比例、年龄、BMI、SBP、DBP、TG、TC、HDL-C、LDL-C 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。EDN 组病程、FPG、2hPG 高于 T2DM 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 T2DM 组、EDN 组一般临床资料比较 [$n(\%)$], $(\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of general clinical data between T2DM group and EDN group [$n(\%)$], $(\bar{x} \pm s)$]

项目	T2DM 组 ($n=49$)	EDN 组 ($n=46$)	t/χ^2 值	P 值
男性	17(34.69)	18(39.13)	0.201	0.654
年龄(岁)	60.26 $\pm$ 9.73	59.94 $\pm$ 9.42	0.163	0.871
BMI(kg/m ²)	24.08 $\pm$ 2.12	23.82 $\pm$ 2.16	0.592	0.555
SBP(mmHg)	121.16 $\pm$ 13.72	123.89 $\pm$ 14.13	0.955	0.342
DBP(mmHg)	75.70 $\pm$ 8.97	77.36 $\pm$ 8.72	0.914	0.363
病程(年)	6.54 $\pm$ 2.31	10.86 $\pm$ 2.53	8.699	0.000
TG(mmol/L)	1.94 $\pm$ 0.37	2.01 $\pm$ 0.35	0.946	0.347
TC(mmol/L)	4.48 $\pm$ 0.65	4.59 $\pm$ 0.82	0.727	0.469
HDL-C(mmol/L)	1.12 $\pm$ 0.28	1.09 $\pm$ 0.38	0.440	0.661
LDL-C(mmol/L)	2.71 $\pm$ 0.52	2.75 $\pm$ 0.59	0.351	0.726
FPG(mmol/L)	8.79 $\pm$ 1.03	11.54 $\pm$ 2.71	6.614	0.000
2hPG(mmol/L)	9.85 $\pm$ 2.14	12.76 $\pm$ 1.94	6.929	0.000

2.2 T2DM 组、EDN 组肾功能指标水平比较

EDN 组、T2DM 组 BUN 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。EDN 组 CysC 水平高于 T2DM 组,GFR 低于 T2DM 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 T2DM 组、EDN 组肾功能指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of renal function indexes between T2DM group and EDN group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GFR(mL/min/1.73 m ²)	BUN(mmol/L)	CysC(mg/L)
T2DM 组	49	105.72 $\pm$ 9.13	4.52 $\pm$ 1.11	0.82 $\pm$ 0.23
EDN 组	46	66.75 $\pm$ 7.86	4.57 $\pm$ 1.34	1.16 $\pm$ 0.31
t 值		22.230	0.199	6.096
P 值		0.000	0.843	0.000

2.3 T2DM 组、EDN 组血清 HbA1C、ACR 水平比较

EDN 组血清 HbA1C、ACR 高于 T2DM 组,差

异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 T2DM 组、EDN 组血清 HbA1C、ACR 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum HbA1C and ACR levels between T2DM group and EDN group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HbA1C(%)	ACR(mg/g)
T2DM 组	49	8.72 $\pm$ 1.78	12.42 $\pm$ 3.31
EDN 组	46	10.98 $\pm$ 1.64	80.43 $\pm$ 16.45
t 值		6.424	28.345
P 值		0.000	0.000

2.4 EDN 患者血清 HbA1C、ACR 水平与各指标的相关性分析

Pearson 法分析结果显示,EDN 患者 HbA1C 与 ACR 呈正相关($P < 0.05$),且 HbA1C、ACR 与病程、FPG、2hPG、CysC 呈正相关($P < 0.05$),与 GFR 呈负相关($P < 0.05$),与 BUN 无明显相关性($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 EDN 患者血清 HbA1C、ACR 水平与各指标的相关性

Table 4 Correlation between serum HbA1C, ACR levels and various indexes in patients with EDN

指标	病程	FPG	2hPG	GFR	BUN	CysC
HbA1C	r 值	0.489	0.519	0.507	-0.513	0.218
	P 值	0.009	0.007	0.007	0.004	0.058
ACR	r 值	0.497	0.524	0.512	-0.509	0.104
	P 值	0.010	0.005	0.004	0.008	0.002

2.5 血清 HbA1C、ACR 水平对 EDN 的诊断价值

以 HbA1C、ACR 单个指标检验值及二者联合预测概率值为检验变量绘制 ROC 曲线,结果显示,血清 HbA1C、ACR 及二者联合诊断 EDN 的曲线下面积(AUC)分别为 0.850(95% CI: 0.794~0.906)、0.898(95% CI: 0.856~0.941)、0.935(95% CI: 0.902~0.968),其中 HbA1C、ACR 单独诊断 AUC 均小于联合诊断 AUC($Z=1.876, 2.595, P < 0.05$),特异度分别为 0.63、0.80、0.75,敏感度分别为 0.97、0.84、0.99。见图 1。

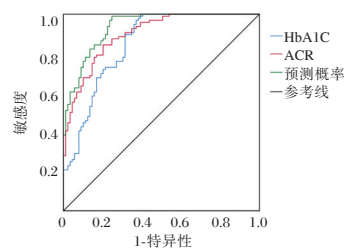


图 1 血清 HbA1C、ACR 诊断 EDN 的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of serum HbA1C and ACR in diagnosis of EDN

3 讨论

T2DM患者体内代谢异常,会导致其微血管发生病理性改变,进而引发EDN等各种并发症^[8]。EDN早期肾损伤无特异性临床症状,其尿常规检查中尿蛋白也可能是阴性,易造成漏诊、误诊^[9]。许多T2DM患者因未察觉而并没有充分重视,导致最终发展为尿毒症等终末期疾病,治疗会比早期肾脏疾病更加棘手,严重威胁其生命健康^[10]。

BUN、CysC、GFR是目前临床中检测肾功能损伤常用的生化指标,但受人体肾脏强大的代偿功能影响,BUN在肾功能出现轻度损伤时水平变化并不明显,只有在肾功能损伤的终末期才能检测到其水平的明显变化^[11-12]。本研究结果同样显示,EDN组CysC水平高于T2DM组,GFR低于T2DM组,而两组BUN水平比较,差异无统计学意义,证实了以上观点。

U-malb是检测肾损伤较为敏感的一项指标,也是EDN的重要标志物^[13]。24 h尿白蛋白排泄率是检测U-malb的“金标准”,但其标本收集较为费时、过程繁琐、患者依从性较差,且U-malb受尿液浓度影响较大,往往会引起结果出现误差^[14]。因此,目前国内外研究人员推荐检测随机尿或晨尿ACR来代替U-malb^[15]。本研究结果中,EDN患者ACR水平高于单纯T2DM患者,差异有统计学意义。推测肾功能正常的人体内,尿Cr的浓度维持在一定范围内,而U-malb变化范围可能与尿Cr浓度呈正比,因此二者比值ACR基本固定,而T2DM患者肾小球滤过膜通透性发生改变,使得肾功能及肾小球重吸收能力下降,U-malb大量生成,ACR出现大幅升高。因此提示ACR可一定程度表征T2DM的早期肾损伤。HbA1C是体内血红蛋白与葡萄糖结合后生成的一种物质,当其检测浓度升高,代表患者疾病程度加重^[16]。本研究结果表明,EDN患者血清HbA1C水平明显升高,且其浓度高低与ACR呈正相关。有关研究显示,血糖较高可造成肾脏等相应靶器官损害,导致肾实质的增生及肾微小血管出现狭窄,血流量减少,肾脏负担加重,肾功能下降,U-malb检测量升高,最终出现EDN^[17]。而本研究中HbA1C、ACR与肾功能指标CysC、GFR均有一定相关性,进一步提示HbA1C、ACR与肾脏损伤的关系密切。进一步采用ROC曲线分析HbA1C、ACR对EDN的诊断价值,结果显示,二者联合后能有效提升诊断AUC,且敏感度也有一定提升,提示临床中可将两指标结合

尽早评估T2DM患者早期肾损伤,在临床应用中有十分可观的优势。

综上所述,血清HbA1C、尿ACR可作为EDN的早期标志物,两项指标联合检测可一定程度提高检出率,避免漏诊和误诊。临床中确诊T2DM的患者可定期进行血清HbA1C、尿ACR联合检测,有利于早期发现EDN的发生。同时提示临床控制血糖,降低血清HbA1C浓度及尿ACR水平,对防治T2DM并发症的发生发展有重要意义。但本研究样本量有限,HbA1C、ACR的临床价值仍需多中心、大样本量的研究来证实。

参考文献

- [1] Luo JL, Chen JS, Sun Y, et al. Quantitative contrast-enhanced ultrasound of renal perfusion: a technology for the assessment of early diabetic nephropathy in cynomolgus macaques with type 2 diabetes mellitus [J]. *Abdom Radiol*, 2019, 44(1):1850-1857.
- [2] Farias-Basulto A, Martínez-Ramírez HR, Gómez-García EF, et al. Circulating levels of soluble klotho and fibroblast growth factor 23 in mexican diabetic patients and its association with early nephropathy [J]. *Arch Med Res*, 2018, 49(7):451-455.
- [3] Bbba B, Sn A, Bb A, et al. Effect of diabetes self-management education (DSME) on glycated hemoglobin (HbA1c) level among patients with T2DM: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2021, 15(1):177-185.
- [4] 朱大龙, 起家军, 苏青, 等. 中国成人2型糖尿病患者糖化血红蛋白控制目标及达标策略专家共识[J]. *中华糖尿病杂志*, 2020, 12(1):1-12.
- [5] Perrenoud L, Kruse NT, Andrews E, et al. Uric acid lowering and biomarkers of kidney damage in CKD stage 3: a post hoc analysis of a randomized clinical trial [J]. *Kidney Med*, 2020, 2(2):155-161.
- [6] 应令雯, 周健. 2017年ADA糖尿病医学诊疗标准解读[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2017, 9(1):48-55.
- [7] 中华医学会内分泌学分会. 中国成人糖尿病肾脏病临床诊断的专家共识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2015, 31(10):379-385.
- [8] Tao SB, Li LZ, Li L, et al. Understanding the gut-kidney axis among biopsy-proven diabetic nephropathy, type 2 diabetes mellitus and healthy controls: an analysis of the gut microbiota composition [J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56(5):581-592.
- [9] Li Y, Zhou HM, Li YL, et al. PTPN2 improved renal injury and fibrosis by suppressing STAT-induced inflammation in early diabetic nephropathy [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6):4179-4195.

· 论 著 ·

血清PG I、PG II及CEA水平联合检测诊断胃癌的 实验研究

章向文^{1*} 何鹏¹ 郭田发¹ 陈虎²

[摘要] **目的** 探讨血清胃蛋白酶原 I (PG I)、PG II 及癌胚抗原(CEA)联合检测对于胃癌的诊断价值。**方法** 选取全椒县人民医院经胃镜取活组织病理学检查证实为胃癌的患者 80 例(胃癌组)、仅病理学检查证实为胃炎的患者 80 例(胃炎组)、同期健康体检对象 80 例(对照组),检测三组血清 PG I、PG II 及 CEA 水平,并采用受试者工作曲线(ROC)分析三种指标单独应用和联合应用鉴别诊断胃癌的临床价值。**结果** 3 组血清 PG I、PG I/PG II 水平比较,胃癌组<胃炎组<对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);CEA、PG II 水平组间比较,胃癌组>胃炎组>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。胃癌组的血清 PG I、PG I/PG II 及 CEA 三者联合应用鉴别诊断胃癌的灵敏度为 0.96、特异度为 0.83、漏诊率为 0.04、误诊率为 0.17、AUC 值 0.904。**结论** 血清 PG I、PG II 及 CEA 水平联合检测诊断胃癌能显著提高诊断的灵敏度,具有重要的临床价值。

[关键词] 胃蛋白酶原 I;胃蛋白酶原 II;癌胚抗原;胃癌

Experimental study on the combined detection of serum PG I, PG II and CEA levels in the diagnosis of gastric cancer

ZHANG Xiangwen^{1*}, HE Peng¹, GUO Tianfa¹, CHEN Hu²

(1. Department of Laboratory Medicine, Quanjiao people's Hospital, Chuzhou, Anhui, China, 239500;

2. Department of general surgery, the Fourth Affiliatal of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230022)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical value of the combined detection of serum pepsinogen I (PG I), PG II and carcinoembryonic antigen(CEA) for the diagnosis of gastric cancer. **Methods** Eighty patients (gastric cancer group) confirmed by gastroscopy for histopathological examination in Quanjiao People's Hospital, 80 patients (gastritis group) who were gastritis confirmed only by pathological examination, and 80 healthy control subjects (control group) during the same period were selected. The serum levels of PG I, PG II, and CEA in the three groups were measured, and the clinical value of the three indicators alone and in combination for the differential diagnosis of gastric cancer was analyzed using the receiver operating curve (ROC). **Results** Comparison of serum PG I, PG I/PG II levels among the three groups, gastric cancer group < gastritis group < control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). CEA and PG II levels between groups, gastric cancer group > gastritis group > control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity of serum PG I, PG I/PG II and CEA in gastric cancer group for differential diagnosis of gastric cancer was 0.96, specificity was 0.83, missed diagnosis rate was 0.04, misdiagnosis rate was 0.17, and AUC value was 0.904. **Conclusion** The combined detection of serum PG I, PG II, and CEA levels in the diagnosis of gastric cancer can significantly improve the diagnostic sensitivity and has important clinical value.

[KEY WORDS] Pepsinogen I; Pepsinogen II; Carcinoembryonic antigen; Gastric cancer

基金项目:国家和省级重点专科建设计划项目(Z155080000004)

作者单位:1. 安徽省全椒县人民医院检验科,安徽,全椒 239500

2. 安徽省医科大学第四附属医院普外科,安徽,合肥 230022

通信作者:陈虎, E-mail: Chenhu23@163.com

有研究指出,2018年我国部分地区胃癌的平均发病率高达10.6%,排第3位,严重影响了患者3年或者5年的生存率^[1-3]。胃癌的早期诊断,对于胃癌患者的根治性手术治疗具有重要意义,其能够指导临床上胃癌的早期干预,进而提高胃癌的治疗效果。对血清肿瘤指标进行检测,有利于对恶性肿瘤患者的早期诊断。血清中胃蛋白酶原(Pepsinogen, PG) I是胃酸腺体细胞的分泌的糖蛋白成分,其能够反映胃酸腺体细胞的功能状态,在胃酸腺体细胞病变的过程中,PGI的表达浓度可明显的下降^[4];PG II主要由于胃底部腺体细胞分泌,能够反应患者胃底部黏膜组织的病变或者损伤过程,在腺管萎缩或者肠道上皮化生的过程中,PGII水平可反馈性的上升^[5];癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是一种广谱的肿瘤标志物,可在肿瘤发生时从细胞膜脱落入血,能够作为肿瘤诊断指标之一^[6]。为了揭示PG I、PG II及CEA在胃癌患者中的表达情况,并探讨其对胃癌的诊断价值,本次研究选取本院经胃镜取活组织病理学检查证实为胃癌的患者80例,探讨了PG I、PG II及CEA的诊断学价值和意义,现将结果进行如下报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年1月至2021年1月全椒县人民医院经胃镜取活组织病理学检查证实为胃癌的患者80例为胃癌组,其中男性患者46例、女性患者34例,平均年龄(54.6±13.7)岁,TNM分期:I期患者15例、II期患者32例、III期患者28例、IV期患者5例;分化程度:高分化患者20例、中分化患者36例、低分化患者24例。患者符合中国临床肿瘤协会CSCO《原发性胃癌诊疗指南》^[7]中关于胃癌的诊断标准,并经胃镜活组织病理学检查确诊。经病理学检查证实为胃炎的患者80例为胃炎组,胃炎组,其中男性患者45例、女性患者35例,平均年龄(52.5±14.0)岁;浅表性胃炎患者45例、萎缩性胃炎患者35例。同期健康体检对象80例为对照组,平均年龄(55.2±14.0)岁,男性患者42例、女性患者38例。三组研究对象的年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①所有纳入对象均经过胃镜取组织活检或术后病理学检查证实;②患者均接受了PG I、PG II及CEA检查。排除标准:①合并甲状腺功能疾病;②近2个月具有免疫治疗病史、糖皮

质激素类药物治疗史;③伴有全身感染性疾病;④转移性胃癌;⑤其他部位恶性肿瘤;⑥具有放疗病史。本研究所有入试者均签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会批准后实施。

1.2 方法

采集3组研究对象清晨空腹静脉血5 mL,采用化学发光法(美国西门子ADVIA Centaur XP)测定CEA水平;采用合肥必欧瀚酶联免疫法(ELISA)检测试剂盒测定PG I、PG II值并计算PG I/PG II值;比较三组研究对象在PG I、PG II、PG I/PG II及CEA水平;检测指标的正常范围:PG I 70~165 μg/L,PG II 3~15 μg/L,PG I/PG II 7~20,CEA <5 μg/L^[8]。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行数据分析。符合正态分布的计量数据采用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较用 t 检验,组内采用LSD- t 检验,多组间用方差分析;计数资料用 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验;绘制ROC曲线并计算曲线下面积及相关诊断学指标(灵敏度、特异度、漏诊率、误诊率、AUC值); P 值<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组血清PG I、PG II及CEA水平比较

3组血清PG I、PG I/PG II水平比较,胃癌组<胃炎组<对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);CEA、PG II水平组间比较,胃癌组>胃炎组>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 3组血清PG I、PG II及CEA水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum PG I, PG II and CEA levels among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	PG I (μg/L)	PG II (μg/L)	PG I/PG II	CEA (μg/L)
胃癌组	80	37.15±6.20 ^{ab}	11.81±3.20 ^{ab}	3.15±0.88 ^{ab}	12.46±6.19 ^{ab}
胃炎组	80	46.68±8.14 ^b	11.52±3.09 ^a	4.05±1.04 ^b	3.09±1.81 ^b
对照组	80	56.92±9.22	10.44±2.91	5.45±0.95	2.30±0.94
<i>F</i> 值		18.293	2.481	17.226	180.476
<i>P</i> 值		0.000	0.116	0.000	0.000

注:与胃炎组比较,^a $P<0.05$;与对照组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 血清PG I、PG I/PG II及CEA三者单独应用及联合应用鉴别诊断胃癌的价值

血清PG I、PG I/PG II及CEA三者联合应用鉴别诊断胃癌的灵敏度为0.96、特异度为0.83、漏诊率为0.04、误诊率为0.17、AUC值0.904。见表2、图1。

表2 血清PG I、PG I/PG II及CEA三者单独应用及联合应用鉴别诊断胃癌的价值

Table 2 The value of serum PG I, PG I/PG II and CEA alone and combined in differential diagnosis of gastric cancer

诊断指标	临界值	灵敏度	特异度	漏诊率	误诊率	AUC值
PG I	40.4 $\mu\text{g/L}$	0.64	0.79	0.36	0.21	0.696
PG I/PG II	3.67	0.71	0.84	0.29	0.16	0.786
CEA	9.62 $\mu\text{g/L}$	0.85	0.77	0.15	0.23	0.807
PG I+PG I/PG II+CEA		0.96	0.83	0.04	0.17	0.904

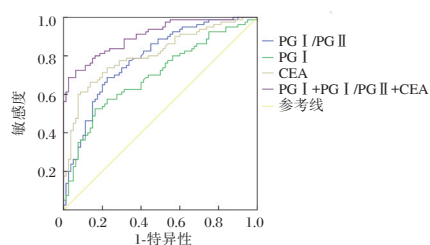


图1 血清PG I、PG I/PG II及CEA三者单独应用及联合应用鉴别诊断胃癌的ROC曲线图

Figure 1 ROC curve of serum PG I, PG I/PG II and CEA for differential diagnosis of gastric cancer by single and combined use

3 讨论

有研究指出,遗传因素和饮食习惯的改变都是促进胃黏膜上皮细胞的病变因素,增加胃癌的发生率,尤其是在合并有消化系统恶性肿瘤家族史的患者中,胃癌的发病风险可进一步的上升^[9]。临床随访观察发现,早期发现胃癌可以实现90%以上的五年生存率,但中晚期患者即使采用手术治疗五年生存率依旧低于30%,综合性治疗措施治疗后的总体生存时间不足36个月^[10-11]。因此,实现对胃癌早期诊断对于降低死亡率具有重要的意义。虽然内镜下可疑病灶组织的活检,是临床上诊断胃癌的金标准,但内镜检查属于侵入性检查,不适感较为明显、费用偏高,患者的接受程度较低。因此,需要寻找潜在可行且无创的筛选胃癌的方法。

PG是由胃黏膜分泌的具有特异性的消化酶前体,在胃酸的作用下转化为具有活性的胃蛋白酶。人体内主要有两种类型的胃蛋白酶原PG I和PG II,PG I浓度约为PG II的5到6倍^[12]。PGI主要由胃黏膜腺体细胞分泌,在腺体细胞功能正常或者轻度的炎症性刺激下,PGI可显著的释放。而在胃黏膜上皮细胞异常病变的过程中,腺体细胞DNA的异常扩增,能够导致分泌PGI功能的下降,造成循环血中的PG I显著的下降^[4];PG II是胃底部细胞分

泌的糖蛋白成分,在胃体部或者幽门部位腺体细胞异常病变的过程中,由于PG I的分泌功能障碍,可反馈性诱导PG II的合成和分泌^[5];有研究^[13]认为PG在一定程度上对判定慢性萎缩性胃炎、消化性溃疡等胃部病变有指导意义。但Kim^[14]等认为PG的性别差异主要与激素差异有关,而与胃癌或萎缩性胃炎无关。CEA属于免疫球蛋白家族,参与细胞黏附过程,其升高与许多恶性肿瘤相关,如食管癌,结肠直肠癌和胃癌等^[15]。正常情况下,人的血清中CEA含量极低,当发生肺、肠、胃、泌尿系等发生恶性肿瘤后,会发现CEA过量表达^[16]。虽然CEA被广泛应用于胃癌的诊断,筛查和监测,但敏感度和特异度较低,价值并不高。血清PG是有着“血清学活检”的称号,近年来成为诊断和筛查胃癌的焦点。本研究的重点是评估PG与CEA联合诊断的价值,为临床早期诊断胃癌提供科学依据。

本次研究结果提示了PG I、PG I/PG II及CEA的表达异常均可以参与到胃癌的发生与发展中。本文通过汇集不同的相关文献,认为PG I、PG I/PG II及CEA的表达异常主要与下列几个方面的因素有关^[8,17-18]:①胃上皮黏膜细胞的病变,导致腺体细胞正常分泌功能的障碍,抑制了PGI的分泌导致PG I、PG I/PG II的显著下降;②CEA广泛存在于内胚叶起源的消化系统肿瘤中,成人胃肠道会有少量合成,但不进入血液,当发生肿瘤时从细胞膜脱落入血,血清中CEA表达明显升高。有研究人员^[19]发现,在胃癌患者中,PG I的表达浓度能够平均下降30%以上,尤其是在发生了淋巴结转移或者远处转移的患者中,PG I的表达下降更为明显。但部分研究者认为,在胃癌患者中PG II蛋白的表达浓度可同样明显的下降^[16],本次研究并未发现相关结论,考虑可能与PG II蛋白的检测灵敏度或者胃癌患者的临床分期的差别较大有关。对于PG I、PG I/PG II及CEA的诊断学分析研究可见,单独的相关指标的检测,可以在胃癌患者的血清学诊断过程中发挥一定的作用,但是单独诊断的灵敏度或者特异度却较低,阳性预测值或者阴性预测值均不理想。而联合PG I、PG I/PG II及CEA进行诊断后,其诊断的灵敏度或者特异度均明显上升,达到80%~90%,提示了血清PG I、PG I/PG II及CEA可作为胃癌筛查的血清学参考指标,对胃癌筛查工作具有重要的指导意义,但还需进一步验证。

本次研究的创新性在于探讨了PG I、PG I/PG II及CEA的诊断临界值及效能的问题。综上所述,在胃癌患者中,PG I、PG I/PG II及CEA的表达均明显下降,同时联合PG I、PG I/PG II及CEA进行诊断,能够提高胃癌的血清学诊断水平。

参考文献

- [1] 冯马,宗安,曹思曼,等.中国目前的癌症形势:2018年全球癌症统计数据的好消息还是坏消息?[J].癌症社区,2019,39(22):1-12.
- [2] Sundar R, Qamra A, Tan A L K, et al. Transcriptional analysis of immune genes in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer and association with clinical outcomes [J]. Gastric Cancer, 2018,34(6):90-93.
- [3] Qian H, Appiah-Kubi K, Wang Y, et al. The clinical significance of platelet-derived growth factors (PDGFs) and their receptors (PDGFRs) in gastric cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2018, 127(6): 15-28.
- [4] 朱钜铭,周芳,温东辉.血清胃功能三项联合Hp检测在胃癌筛查中的临床研究[J].现代诊断与治疗,2021,32(1):121-122.
- [5] 樊景云,姚勇,奉镭,等.血浆miR-27b-3p、PG联合G-17在早期胃癌筛查中的应用价值[J].标记免疫分析与临床,2021,28(9):1556-1559+1578.
- [6] 菲,李迎,李新锋.CEA联合CA242检测对胃癌诊断及预后判断的效果[J].实用癌症杂志,2020,35(8):1298-1301.
- [7] 国家卫生健康委员会.胃癌诊疗规范(2018年版)[J].中华消化病与影像杂志(电子版),2019,9(3):118-144.
- [8] 于伟,赵娜.PG I、PG II、CEA、CA242、CA19-9和CA72-4在胃癌诊断中的应用价值[J].实用癌症杂志,2019,34(12):2017-2019.
- [9] Zhang Q, Shan F, Li Z, et al. A prospective study on the changes and clinical significance of pre-operative and post-operative circulating tumor cells in resectable gastric cancer[J]. J Transl Med, 2018, 16(1):90-92.
- [10] Fujiya K, Tokunaga M, Nishiwaki N, et al. Feasibility of Laparoscopic Distal Gastrectomy for Stage I Gastric Cancer in Patients Outside of Clinical Trials[J]. J Gastrointest Surg, 2018,28(5):45-47.
- [11] 孟鑫.胃癌诊断中应用肿瘤标志物CA199、CEA和CA125的评价[J].中国卫生标准管理,2015,5(23):76-77.
- [12] 颜页,金尹,吴建胜.胃蛋白酶原联合幽门螺杆菌在胃癌及癌前病变风险评估中的有效性及局限性研究[J].中国实用内科杂志,2021,41(11):974-977.
- [13] 方年富,何庆霞,杨卫生,等.胃蛋白酶原、胃泌素17与胃癌前病变进展风险的纵向研究[J].临床医学进展,2019,9(10):1133-1137.
- [14] Kim HY, Kim N, Kang JM, et al. Clinical meaning of pepsinogen test and Helicobacter pylori serology in the health check-up population in Korea[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2009,21(6):606-612.
- [15] 张自森,刘世佳,徐倩,等.胃癌患者组织与血清CEA水平的关系及临床意义[J].河南医学研究,2019,28(8):1366-1369.
- [16] 林凯,宋莎莎,章礼久.胃蛋白酶原、癌胚抗原、黏蛋白类癌胚抗原联合检测对胃癌的诊断及鉴别诊断效能[J].山东医药,2017,57(47):95-97.
- [17] 王慧,张思森,徐小艳,等.联合检测PG、G-17和NEDD9在胃癌诊断中的价值[J].中国癌症防治杂志,2021,13(1):71-75.
- [18] 陈秀勤,梁乃旭.早期胃癌临床诊断中血清胃蛋白酶原检测的应用价值研究进展[J].中国现代医生,2021,59(17):184-188.
- [19] 贾萌萌,周英发,赵治国,等.血清胃蛋白酶原和IL-23用于胃癌早期诊断的价值[J].郑州大学学报(医学版),2017,52(3):366-370.

(上接第592页)

- [10] Yagoglu AI, Dizdar OS, Erdem S, et al. The effect of linagliptin on renal progression in type-2 diabetes mellitus patients with chronic kidney disease: A prospective randomized controlled study[J]. Nefrología (Engl Ed), 2020, 40(6):664-671.
- [11] 张莉.血清胱抑素C与尿微量白蛋白/肌酐比值联合检测在糖尿病早期肾损伤中的诊断价值[J].临床检验杂志(电子版),2020,9(3):267-268.
- [12] Zhu HH, Liu X, Zhang CN, et al. Association of urinary acidification function with the progression of diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes[J]. J Diab Complication, 2019, 33(11):107419-107432.
- [13] Bai X, Luo Q, Tan K, et al. Diagnostic value of VDBP and miR-155-5p in diabetic nephropathy and the correlation with urinary microalbumin[J]. Exp Ther Med, 2020, 20(5):86-99.
- [14] Yang MZ, Kan L, Wu LY, et al. Effect of baicalin on renal function in patients with diabetic nephropathy and its therapeutic mechanism[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(3):2071-2076.
- [15] 胡国红,张婷婷,王煜,等.尿白蛋白/肌酐比值正常的2型糖尿病患者肾脏损害的影响因素探讨[J].四川医学,2020,41(2):113-117.
- [16] Bozkur E, Dogansen SC, Akdeniz YS, et al. Relationship of HbA1c with plasma atherogenic index and non-HDL cholesterol in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Int J Diabetes Dev C, 2021, 41(1):302-306.
- [17] Srilakshmi P, Ye-Ruva R, Prathibha BK, et al. Role of HbA1c and microalbuminuria in diabetic-hypertensive individuals: An index for the diabetic nephropathy[J]. Int J Clin Biochem Res, 2019, 6(1):126-128.

· 论 著 ·

脑动脉瘤患者术后颅内感染血清 IL-8、MCP-1、WBC 变化特征分析

杨炳男¹ 邵秋季¹ 梁晓东¹ 李静华² 史锡文^{1*}

【摘要】目的 探究脑动脉瘤患者术后颅内感染与血清白细胞介素-8(IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、白细胞(WBC)的关系。**方法** 选取2019年6月至2021年7月河南省人民医院行脑动脉瘤夹闭术患者112例,根据术后感染情况分为重度感染组(4例)、中度感染组(11例)、轻度感染组(16例)和未感染组(81例)。比较4组患者血清IL-8、MCP-1、WBC水平,并采用Spearman相关性分析法检测患者血清IL-8、MCP-1、WBC水平变化情况与颅内感染的相关性,探讨IL-8、MCP-1、WBC对于颅内感染的诊断效能。**结果** 感染组IL-8、MCP-1、WBC水平显著高于未感染组,差异有统计学意义($t=29.950, 27.233, 35.375, P<0.01$);不同程度组血清IL-8、MCP-1、WBC水平比较结果:重度感染组>中度感染组>轻度感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman相关性结果显示,患者血清中的IL-8、MCP-1、WBC水平与患者颅内感染程度呈正相关($P<0.05$)。ROC曲线显示,血清IL-8、MCP-1及WBC联合诊断颅内感染AUC为0.906,诊断敏感度为96.77%,特异度为85.19%,优于单一诊断($P<0.05$)。**结论** 血清IL-8、MCP-1、WBC与患者颅内感染程度呈正相关,且三者联合检测有助于提高脑动脉瘤患者术后颅内感染的诊断效能。

【关键词】 脑动脉瘤夹闭术; 白细胞介素-8; 单核细胞趋化蛋白-1; 白细胞; 颅内感染

Analysis of changes in serum IL-8, MCP-1 and WBC in patients with postoperative intracranial infection after cerebral aneurysm

YANG Bingnan¹, SHAO Qiuji¹, LIANG Xiaodong¹, LI Jinghua², SHI Xiwen^{1*}

(1. Department of Neurosurgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000;

2. Department of Cardiac Surgery 2, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between postoperative intracranial infection and serum interleukin-8 (IL-8), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and white blood cells (WBC) in patients with cerebral aneurysm. **Methods** A total of 112 patients with cerebral aneurysm clipping in Henan Provincial People's Hospital from June 2019 to July 2021 were selected and divided into the severe infection group (4 cases), the moderate infection group (11 cases), the mild infection group (16 cases) and the uninfected group (81 cases). The levels of serum IL-8, MCP-1 and WBC in the four groups were compared and Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between the changes of serum IL-8, MCP-1 and WBC levels and intracranial infection. The diagnostic performance of WBC for intracranial infection was observed. **Results** The levels of IL-8, MCP-1 and WBC in the infected group were significantly higher than those in the uninfected group, the levels of IL-8, MCP-1 and WBC: severe infection group > moderate infection group > mild infection group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The Spearman correlation results showed that the serum levels of IL-8, MCP-1 and WBC were positively correlated with the degree of intracranial infection ($P<0.05$). The ROC curve showed that the combined AUC of serum IL-8, MCP-1

基金项目:河南省自然科学基金(222300420357)

作者单位:1. 河南省人民医院神经外科,河南,郑州450000

2. 河南省人民医院心脏外科2,河南,郑州450000

*通信作者:史锡文, E-mail:txzz2022@126.com

and WBC for the diagnosis of intracranial infection was 0.906, the diagnostic sensitivity was 96.77%, and the specificity was 85.19%. **Conclusion** Serum IL-8, MCP-1 and WBC are positively correlated with the degree of intracranial infection in patients, and the combined detection of the three was helpful to improve the diagnostic efficiency of postoperative intracranial infection in patients with cerebral aneurysm.

[KEY WORDS] Brain aneurysm clipping; Interleukin-8; Monocyte chemoattractant protein-1; Leukocytes; Intracranial infection

脑动脉瘤被定义为颅内动脉血管局部异常扩张引起的瘤状突起,一旦破裂可引起蛛网膜下腔出血,导致患者头痛、恶心呕吐,甚至陷入昏迷^[1]。脑动脉瘤夹闭术为治疗脑动脉瘤的常用手术方法,主要机制为通过开颅夹闭脑动脉瘤,使其隔绝于血液循环从而起到抑制破裂出血的作用。但开颅手术后机体创伤性大、免疫能力差,易引发颅内感染,病情凶险进展迅速,治疗难度大,不仅对患者术后神经功能的恢复造成影响,还对患者的生命安全造成了严重威胁^[2]。脑脊液穿刺是临床诊断颅内感染的金标准,但其属有创操作,费用昂贵且患者耐受性较低,在临床常规筛查中受限。因此,有必要探寻更简便、高效的颅内感染诊断指标。大量研究表明,细胞因子在颅内感染的发生发展过程中发挥了重要作用,如血清白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白细胞(white blood cell, WBC),上述指标检测方便且价格低廉^[3-5]。但目前国内外对颅内肿瘤切除术后患者血清 IL-8、MCP-1、WBC 水平变化特征与颅内感染是否相关的报道不多。本研究探究脑动脉瘤患者术后颅内感染与血清 IL-8、MCP-1、WBC 的关系,以期临床脑动脉瘤患者术后颅内感染的诊断提供依据。报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2019年6月至2021年7月河南省人民医院行脑动脉瘤夹闭术患者112例,根据术后感染情况分为重度感染组(4例)、中度感染组(11例)、轻度感染组(16例)和未感染组(81例)。纳入标准:①经数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)或头颈CT血管成像(CT angiography, CTA)^[6]确诊为脑动脉瘤并于本院行脑动脉瘤夹闭术;②年龄≥18岁;③颅内感染按照《医院感染诊断标准》^[7]判定,具体表现为发热、脑脊液中白细胞数目增加超过 10^6 个/L、脑脊液或引流液病原菌培

养阳性;④患者家属知情并签署同意书。排除标准:①合并其他自身免疫性疾病或血液系统疾病;②合并严重心脑血管疾病;③精神疾病或意识障碍;④合并脑膜炎等颅内感染性疾病。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经河南省人民医院医学伦理会审批并通过。

表1 各组一般资料比较 $[(\bar{x}\pm s)]$

Table 1 Comparison of general data of each groups $[(\bar{x}\pm s)]$

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	性别(男/女)
重度感染组	4	59.03±8.24	2/2
中度感染组	11	58.57±10.27	7/4
轻度感染组	16	59.19±9.67	9/8
未感染组	81	57.19±8.04	46/35
<i>F</i> / χ^2 值		0.331	0.007
<i>P</i> 值		0.803	0.994

1.2 检测方法

两组均于术后采集空腹静脉血5 mL, 25℃静置2 h后取血清置于离心机中, 500 r/min离心10 min, $r=5$ cm后取上层血清保存于冰箱中待测。IL-8、MCP-1的测定采用固相夹心法酶联免疫吸附实验使用ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)进行, WBC浓度采用全自动生化分析仪AU5800(BECKMAN COULTER公司)测定。

1.3 统计学方法

采用SPSS Statistics 21统计学软件进行分析。计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;多组间比较采用单因素方差分析。指标之间的相关性采用Spearman相关分析,诊断效能评价用ROC曲线分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染组与未感染组 IL-8、MCP-1 及 WBC 水平比较

感染组 IL-8、MCP-1 及 WBC 水平均显著高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 感染组与未感染组IL-8、MCP-1及WBC水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the levels of IL-8, MCP-1 and WBC between the infected group and the uninfected group ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	IL-8(pg/mL)	MCP-1(μ g/L)	WBC($\times 10^9$ /L)
感染组	31	16.86 $\pm$ 2.43	95.93 $\pm$ 12.69	7.10 $\pm$ 2.06
未感染组	81	7.13 $\pm$ 2.02	40.02 $\pm$ 11.04	0.31 $\pm$ 0.13
t值		29.950	27.233	35.375
P值		<0.05	<0.05	<0.05

2.2 不同感染程度的各指标水平比较

IL-8、MCP-1、WBC水平比较结果:重度感染组>中度感染组>轻度感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 不同感染程度的各指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of index levels for different degrees of infection ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	IL-8(pg/mL)	MCP-1(μ g/L)	WBC($\times 10^9$ /L)
重度感染组	4	27.33 $\pm$ 2.94 ^{ab}	130.29 $\pm$ 16.22 ^{ab}	12.54 $\pm$ 4.02 ^{ab}
中度感染组	11	19.57 $\pm$ 3.27 ^a	105.58 $\pm$ 12.21 ^a	9.17 $\pm$ 1.69 ^a
轻度感染组	16	12.39 $\pm$ 1.07	80.56 $\pm$ 9.63	4.34 $\pm$ 0.47
F值		78.286	13.655	43.972
P值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与轻度感染比较,^a $P<0.05$;与中度感染组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 脑动脉瘤夹闭术后患者血清IL-8、MCP-1、WBC与颅内感染的相关性

Spearman相关性分析结果显示,患者血清IL-8、MCP-1、WBC水平与患者颅内轻度、中度、重度感染呈正相关($P<0.05$)。见表4。

表4 血清IL-8、MCP-1、WBC与颅内感染的相关性

Table 4 Correlation of serum IL-8, MCP-1, WBC and intracranial infection						
组别	IL-8		MCP-1		WBC	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
轻度感染组	0.439	0.008	0.389	0.049	0.672	0.034
中度感染组	0.258	0.006	0.363	0.033	0.507	0.028
重度感染组	0.219	0.026	0.315	0.004	0.442	0.002

2.4 血清IL-8、MCP-1及WBC对脑动脉瘤夹闭术后患者颅内感染的诊断价值

ROC曲线显示,血清IL-8、MCP-1及WBC联

合诊断颅内感染AUC为0.906,95%CI为0.786~0.996,诊断敏感度为0.968,特异度为0.852,优于单一检测($P<0.05$)。见表5,图1。

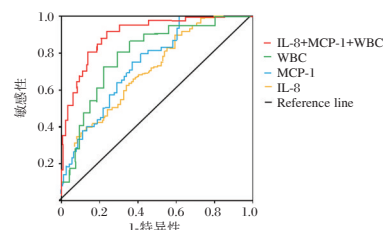


图1 IL-8、MCP-1及WBC对脑动脉瘤夹闭术后患者颅内感染的诊断价值

Figure 1 Diagnostic value of IL-8, MCP-1 and WBC for intracranial infection in patients after cerebral aneurysm clipping

3 讨论

目前,颅内感染的早期诊断主要依靠患者体温、脑脊液实验室检查、CRP水平等临床指标辅助,但这些指标均非特异性且操作较为复杂,而颅内感染易受多种因素影响^[8-9]。颅内感染诊断的金标准是脑脊液或引流液病原菌培养呈阳性,但由于取样过程和细菌培养方法的限制,脑脊液常规和生化检测的敏感性和特异性不高^[10]。因此,探索一种更好的检测早期颅内感染的方法非常重要。

本研究结果与何斌等^[11]的研究结果相符合。上述结果说明这些指标在脑动脉瘤夹闭术后颅内感染患者中呈现高表达,且随着感染程度的加重,IL-8、MCP-1、WBC水平越高,可能是颅内感染的早期有效诊断指标。分析原因可能与上述三种指标在机体中的作用机制有关。

IL-8是中性粒细胞、T细胞和嗜碱性粒细胞在炎症因子和细菌刺激下的趋化因子,当机体经历创伤或感染等时,组织损伤或细菌内毒素会刺激炎症细胞,导致炎症介质的释放,因此体内IL-8水平迅速上升^[12-13]。IL-8还与肿瘤细胞的发生与发展关系密切,是参与肿瘤新生血管形成的重要因子之一。机体发生感染后IL-8能够很快释放入

表5 IL-8、MCP-1及WBC对脑动脉瘤夹闭术后患者颅内感染的诊断价值

Table 5 Diagnostic value of IL-8, MCP-1 and WBC for intracranial infection in patients after cerebral aneurysm clipping						
指标	AUC	95%CI	截断值	灵敏度	特异度	P值
IL-8	0.685	0.571~0.642	9.05 pg/mL	0.645	0.630	<0.05
MCP-1	0.812	0.581~0.807	53.67 μ g/L	0.677	0.654	<0.05
WBC	0.868	0.740~0.984	1.15 $\times 10^9$ /L	0.903	0.765	<0.05
IL-8+MCP-1+WBC	0.906	0.786~0.996	9.05 pg/mL+53.67 μ g/L+1.15 $\times 10^9$ /L	0.968	0.852	<0.05

血,通过对其进行检测能了解感染程度。宋钦等^[14]通过联合检测降钙素原(PCT)和IL-6、IL-8、IL-10提高了高血压脑出血患者开颅手术后颅内感染的诊断灵敏度。MCP-1是调节单核细胞/巨噬细胞迁移和浸润的关键趋化因子之一,通常在促炎性刺激或病毒等病理性条件下形成,能直接趋化诱导临近的受体细胞,诱导小胶质细胞产生TNF- α ,促进T淋巴细胞产生炎症因子,激活丝裂原活化蛋白激酶和NF- κ B通路,进而促进炎症的发病进程。MCP-1与其受体CCR2结合后会激活并增强单核细胞和其他促进炎症的免疫细胞的表达到达感染部位,同时MCP-1也可以通过参与维持体内平衡和器官组织的正常生理过程从而控制细胞增殖与迁移^[15]。此外,动脉瘤血管破裂引起血管内皮损伤,导致分泌细胞因子和MCP-1等趋化因子增多,趋化因子的表达升高可以激活宿主免疫系统并靶向感染部位,对病原体进行清除^[16]。因此机体发生感染后MCP-1水平有所上升。WBC是机体防御系统的重要组成部分,通过吞噬和产生抗体等方式来抵御和消灭入侵的病原微生物。白细胞增多是感染的常见体征,尤其是细菌感染,因此WBC是临床诊断临床感染性疾病的常用标志物。张二辉等^[17]通过检测神经外科术后患者血清PCT、CRP与WBC等指标,发现血清PCT与WBC为神经外科术后患者颅内感染的早期有效诊断指标。刘佳等^[18]也报道,WBC在病毒、呼吸道细菌感染性疾病中具有较高的诊断价值。Spearman相关性结果进一步印证了IL-8、MCP-1与WBC可作为颅内感染的早期有效诊断指标,具有较高的诊断价值。

综上,血清IL-8、MCP-1、WBC与患者颅内感染程度呈正相关,且三者联合检测有助于提高脑动脉瘤患者术后颅内感染的诊断效能。本研究还存在许多不足之处:①研究样本量较少,可能导致结果出现一定偏倚。②血清IL-8、MCP-1及WBC的阳性结果根据本地区临床检测数据进行判断,可能与相关文献的标准有一定差别。希望将来可进行多中心、大样本的前瞻性研究,以便更清楚地阐述与IL-8、MCP-1、WBC的检测对脑动脉瘤患者术后颅内感染的临床价值。

参考文献

- [1] Maye MOF, Bertrand X. Subarachnoid hemorrhage resulting from a ruptured aneurysm: management in an emergency department[J]. Rev Med Liege, 2018, 73(5-6):344-350.
- [2] 郭致飞,赵兵,吴德俊,等. 颅底肿瘤开颅手术后颅内感染相关危险因素分析[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2021, 21(8):659-664.
- [3] 林哲,王丹丹,曾永婷. CD64联合SAA、CRP诊断老年颅脑手术患者颅内感染的临床价值[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(16):3487-3490.
- [4] Park SY, Kwon JS, Kim JY, et al. Severe fever with thrombocytopenia syndrome-associated encephalopathy/encephalitis [J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24(4):432.e1-432.e4.
- [5] Fontes FL, de Araújo LF, Coutinho LG, et al. Genetic polymorphisms associated with the inflammatory response in bacterial meningitis[J]. BMC Med Genet, 2015, 16:70.
- [6] 刘斌,任伯,毛文静,等. CT血管成像检查对急性脑梗死患者颈动脉狭窄及脑侧支循环的诊断价值[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2018, 20(2):137-140.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5):314-320.
- [8] Frösen J, Cebal J, Robertson AM, et al. Flow-induced, inflammation-mediated arterial wall remodeling in the formation and progression of intracranial aneurysms [J]. Neurosurg Focus, 2019, 47(1):E21.
- [9] Montes K, Jenkinson H, Habib OB, et al. Corrected white blood cell count, cell index, and validation of a clinical model for the diagnosis of health care-associated ventriculitis and meningitis in adults with intracranial hemorrhage [J]. Clin Neurol Neurosurg, 2019, 178:36-41.
- [10] 鲍茹,李永凤,陈莹. 脑脊液HBP、LDH、 β 2MG水平对化脓性脑膜炎患儿的诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(11):1896-1899+1904.
- [11] 何斌,郑兵,顾应江. 颅内肿瘤切除术后颅内感染血清IL-8、MCP-1、WBC变化[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(16):2478-2481.
- [12] 王军锋. 血清IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 检测结果对预防儿童肺炎支原体肺炎的临床意义[J]. 华南预防医学, 2017, 43(1):83-85.
- [13] Morichi S, Urabe T, Morishita N, et al. Pathological analysis of children with childhood central nervous system infection based on changes in chemokines and interleukin-17 family cytokines in cerebrospinal fluid[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(1):e22162.
- [14] 宋钦,江文昊,黄有胜,等. 降钙素原和IL-6、IL-8、IL-10联合检测在高血压脑出血患者开颅手术后颅内感染诊断中的临床价值研究[J]. 中国医药科学, 2019, 215(23):210-213+233.
- [15] Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 101(Pt B):107598.
- [16] 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):72-75.
- [17] 张二辉,白奎,王玉珍,等. 血清与脑脊液炎症标记物及WBC计数在神经外科术后颅内感染的诊断价值[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(4):374-379.
- [18] 刘佳,孙成栋,张雪梅,等. WBC、CRP/LYM%、PLT在病毒、呼吸道细菌感染中诊断效能[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(6):938-941+946.

• 论 著 •

妊娠期再发性念珠菌性阴道炎患者的阴道菌群多样性研究

唐莉 隗伏冰* 隗洪进 刘珮瑜 伞翠平 钟文彬 刘玉华 郭海珊

[摘要] **目的** 分析妊娠期外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)患者治疗前后阴道菌群结构及其变化情况,探讨妊娠期VVC再发机理。**方法** 选取2018年11月至2019年8月在东莞市妇幼保健院就诊的妊娠期VVC患者36例和健康孕妇20例,动态采集3个时间点的阴道分泌物,并根据阴道分泌物镜检结果分为未再发组、再发组、持续阳性组。所有样本做16S rDNA V3区高通量测序,比较各组之间阴道菌群差异。**结果** 不同分组及采样点之间细菌Alpha多样性比较差异无统计学意义($P>0.05$)。共发现11个门类的细菌,以厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门为主。共发现132个属类的细菌,其中以乳杆菌属、双歧杆菌属、普雷沃菌属、链球菌属和小杆菌属为主。主成分分析可将样本分两类,第一类以厚壁菌门为主要优势菌,第二类以放线菌门为主要优势菌。与健康孕妇对比分析,持续感染组双歧杆菌属的丰度从5%下降到0.5%,再发组普雷沃菌属丰度从1.5%下降到0.4%,再发阶段下降显著($P<0.05$)。健康孕妇组以卷曲乳杆菌为优势菌,其他三组均以嗜性乳杆菌为优势菌。**结论** 阴道细菌中除有大量乳酸杆菌外,还存在双歧杆菌、普雷沃菌等差异菌属,这些细菌丰度的改变可能与VVC的发生、发展以及预后相关。

[关键词] 念珠菌性阴道炎;阴道菌群;高通量测序;妊娠

Diversity of vaginal flora in pregnant women with recurrent vaginal candidiasis

TANG Li, YU Fubing*, YU Hongjin, LIU Peiyu, SAN Cuiping, ZHONG Wenbin, LIU Yuhua, GUO Haishan (Department of Gynecology, Dongguan City Maternal and Child Health Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the vaginal flora and its changes in patients with vulvovaginal candidiasis (VVC) during pregnancy before and after treatment, in order to explore the mechanism of VVC recurrence during pregnancy. **Methods** 36 VVC patients and 20 healthy pregnant women were selected in Dongguan City Maternal and Child Health Hospital from November 2018 to August 2019. The vaginal discharge were collected dynamically at three time points and were divided into the non-recurrence group, the recurrence group and the persistent positive group according to the experimental results. NGS of 16S rDNA V3 region was used to compare the differences of vaginal flora among groups. **Results** There was no significant difference in Alpha diversity among different groups and sampling sites ($P>0.05$). A total of 11 species of bacteria were found, mainly Firmicutes, Actinobacteria and Bacteroidetes. A total of 132 Genera of bacteria were found, among which Lactobacillus, Bifidobacterium, Prevotella, Streptococcus and Dialister. Principal component analysis can divide the samples into two categories, the first type has Firmicutes as the main dominant bacteria, and the second type has Actinobacteria as the main dominant bacteria. Compared with healthy pregnant women, the abundance of Bifidobacterium in the persistent infection group decreased from 5% to 0.5%, and the abundance of Prevotella in the recurrence group decreased from 1.5% to 0.4%, with a significant decrease in the recurrence stage ($P<0.05$). Lactobacillus crispatus was the dominant bacteria in the healthy pregnant women

基金项目:东莞市社会科技发展项目(重点)(2018507150071620);中国疾病预防控制中心妇幼保健中心“2017年度合生元母婴营养与健康研究项目”(2017FYH010)

作者单位:东莞市妇幼保健院妇科,广东,东莞 523000

*通信作者:隗伏冰, E-mail: tangdai02@163.com

group, and *Lactobacillus inerts* was the dominant bacteria in the other three groups. **Conclusion** In addition to a large number of *Lactobacilli* in vaginal bacteria, there are also differential bacteria such as *Bifidobacterium* and *Prevotella*. The changes in the abundance of these bacteria may be related to the occurrence, development and prognosis of VVC.

[KEY WORDS] *Candida vaginitis*; Vaginal flora; High throughput sequencing; Pregnancy

外阴阴道假丝酵母菌病(Vulvovaginal candidiasis, VVC)也称念珠菌性阴道炎,为最常见外阴阴道感染性疾病之一,据统计^[1],75%妇女一生中至少患过1次VVC,6%~9%妇女患有复发性VVC(1年内有症状并经真菌学证实发作4次或以上),而1年内发作次数不足4次,不能诊断为复发性VVC者,定义为VVC再发^[2]。基于16S rDNA的测序是近年来微生物领域最具突破性的技术,它提供丰富的全局性物种类群信息,可在微生物集群的层面揭示它们之间的相互作用^[3]。本文采用16S rDNA测序法分析妊娠期再发性VVC患者的阴道细菌多样性,与妊娠期单纯性VVC患者和健康孕妇的阴道菌群结果进行比较,揭示菌群结构改变与VVC发生发展的相互关系。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2018年11月至2019年8月期间在东莞市妇幼保健院首次确诊为妊娠期VVC患者36例和健康孕妇20例。动态采集36例妊娠期VVC患者3个时间点的阴道分泌物(Y):Y1为VVC治疗前,Y2为治疗结束后7日,Y3对于再发患者为首次再发时采集(孕24周内),对于未再发患者为孕24周左右采集,如Y2镜检见真菌,Y3于重复治疗7日后采集。根据患者3个时间点的阴道分泌物镜检结果将妊娠期VVC患者分为A组未再发组(9例)、B组再发组(14例)、C组持续阳性组(13例)。因此,AY1表示A组第1个时间点的所有阴道分泌物,以此类推AY2、AY3、BY1、BY2、BY3、CY1、CY2、CY3。

妊娠期VVC患者纳入标准:①年龄20~40岁,孕周<12周;②临床症状为外阴瘙痒、灼痛,白带增多等;③体征为外阴潮红、水肿,阴道内见较多白色豆渣样或凝乳样分泌物;④实验室镜检发现念珠菌菌丝或培养有念珠菌生长。排除标准:①复发性VVC;②其它阴道炎如细菌性阴道病、滴虫性阴道炎等;③对治疗药物过敏;④排除糖尿病、免疫系统性疾病、恶性肿瘤等各种急慢性疾病。研

究期间剔除标准:①随访期间出现流产或失访者;②入组患者治疗后镜检真菌阳性,重复治疗镜检真菌转为阴性者。本研究治疗使用克霉唑0.5 g(德国拜耳制药)单次阴道用药。研究对象知情同意,研究经院伦理委员会批准同意。

1.2 标本收集

动态采集妊娠期VVC患者3个时间点的阴道分泌物(Y)。患者采取膀胱截石位,研究者使用一次性无菌窥阴器撑开阴道,用3根一次性无菌阴道拭子分别于阴道壁中下1/3处轻轻旋转至少10次,保证样本量充足,然后将其放入含有3 mL保存液的试管中充分涮洗,室温下放置1周内转运至实验室提取阴道分泌物基因组DNA。

1.3 基因组DNA提取

含阴道分泌物的保存液转移至2 mL离心管中高速离心,去除上清液。加入250 μ L Buffer ATL、250 μ L Buffer AL和20 μ L Proteinase K至样本中,颠倒或涡旋混匀,65℃水浴15~30 min。按照TIANamp Stool DNA Kit(天根生化科技有限公司)说明书操作提取DNA。

1.4 16S rDNA高通量测序

将提取到的总DNA作为模板,并且对其细菌16S rDNA V3区片段进行PCR扩增。PCR反应条件:98℃变性2 min,35个循环为94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s。扩增产物使用Agencourt AMPure XP kit(贝克曼库尔特有限公司)进行纯化,然后在晶芯®BioelectronSeq4000基因测序仪(北京博奥晶典生物技术有限公司)上进行高通量测序。

1.5 测序数据分析

测序下机数据使用QIIME2^[4]软件(version 2019.10.0)进行处理。首先,使用q2-cutadapt去除PCR引物序列。然后,使用quality-filter对数据质量进行质控并过滤和使用deblur进行数据降噪。接着,使用vsearch按97%相似性进行操作单元(operational taxonomic units, OTUs)分析。代表OUT序列依据Greengenes数据库(v13_8)应用feature-classifier进行物种注释。最后,使用Kruskal-Wallis检验分析组间差异菌属。

1.6 统计分析

应用 R 软件进行统计分析;计数资料采用 (%)表示;计量资料采用 Kruskal-Wallis 检验进行比较分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高通量测序结果

共完成 128 个样品测序,获得 63 731 465 条 Reads,每个样品平均 497 902 条 Reads,最少的样本为 25 418 条 Reads。QIIME2 软件注释结果显示,分别在 A 组未再发组、B 组再发组、C 组持续阳性组和 N 组健康孕妇组中鉴定出 542、572、572、418 条 OTUs。见图 1。

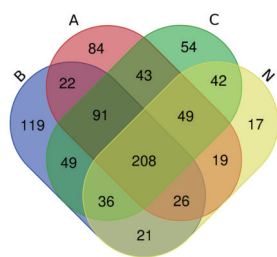
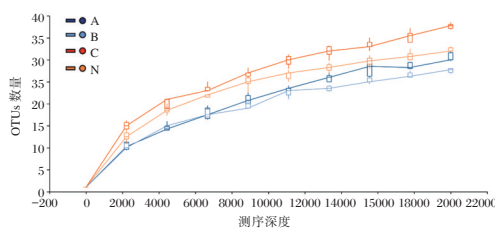


图 1 不同组间 OTUs 的韦恩图

Figure 1 Venn diagram of OTUs among different groups

2.2 细菌 Alpha 多样性分析

随着取样量的增加,各分组中的菌群 OTU 趋于稳定,提示测序量较合理,见图 2。各分组及采样点之间的 Alpha 多样性比较,差异无统计学意义(所有分组 Kruskal-Wallis p -value=0.45; pairwise Kruskal-Wallis q -value 均大于 0.05),见图 3。



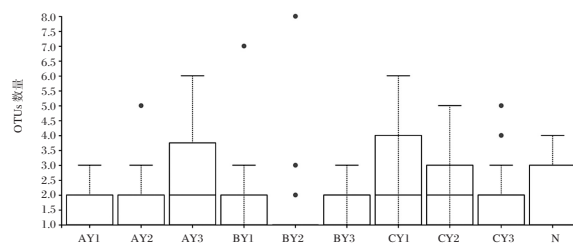
注:A 为未再发组;B 为再发组;C 为持续阳性组;N 为健康孕妇组。

图 2 不同分组的稀释曲线图

Figure 2 Dilution curves of different groups

2.3 物种注释结果

在门水平上,共发现 11 个门。A 组未再发组、B 组再发组、C 组持续阳性组、N 组健康孕妇组均以厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门占主要比例,分别位列前三位。在属水平上,共发现 132 个属。A 组未再发组中占比超过 0.5% 的主要属类,依次为乳

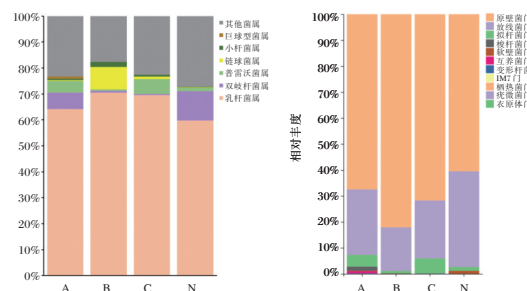


注:Y1 为 VVC 治疗前,Y2 为治疗结束后 7 日,Y3 对于再发患者为首次再发时采集(孕 24 周内),对于未再发患者为孕 24 周左右采集。

图 3 不同分组及时间点的 Alpha 多样性(Shannon 指数)分布

Figure 3 Alpha diversity (Shannon index) distribution for different groups and time points

杆菌属 64.12%、双歧杆菌属 6.44%、普雷沃菌属 4.48%、巨球型菌属 0.72% 和小杆菌属 0.54%。B 组再发组中依次为乳杆菌属 70.50%、链球菌属 8.56%、小杆菌属 2.02%、普雷沃菌属 0.66% 和双歧杆菌属 0.66%。C 组持续阳性组中依次为乳杆菌属 69.53%、普雷沃菌属 5.79%、链球菌属 1.00% 和小杆菌属 0.65%。N 组健康孕妇组中依次为乳杆菌属 59.73%、双歧杆菌属 11.32% 和普雷沃菌属 1.46%。见图 4。



注:左图为门水平物种组成;右图为属水平物种组成。

图 4 不同分组的细菌门和属水平物种组成

Figure 4 The horizontal species composition of the bacterial phyla and genera in different groups

2.4 差异菌属分析

所有的样本前三个主要优势菌门分别为厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门,通过聚类分析可以分为两大类,其中第一类以厚壁菌门为主要优势菌,占 75.2% (94/125),而第二类以放线菌门为主要优势菌,占 24.8% (31/125),见图 5、图 6。通过主成分分析,可知前两个组分的解释度为 99.89%。由于第二类阴道细菌谱的样本在每个分组中的样本例数较少,未能进行有效的统计检验,因此,本文主要讨论第一类样本。

在第一类的 94 个样本中,通过在属水平的组间对比分析,发现差异菌属。在治疗前,AY1 与 N

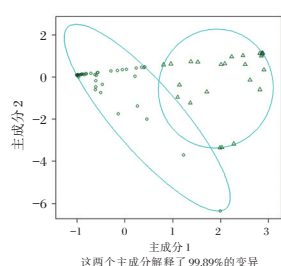


图5 所有样本主成分分析结果

Figure 5 Principal component analysis results of all samples

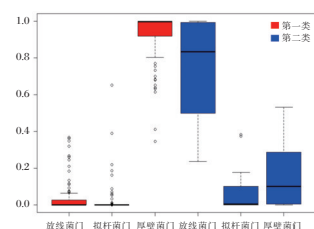


图6 两类样本间菌群丰度比较

Figure 6 Comparison of bacterial abundance between 2 groups

组健康孕妇组比较,丙酸杆菌属和韦荣氏球菌属丰度显著增加,劳尔氏菌属的丰度显著降低;BY1与N组健康孕妇组比较,普雷沃菌属、放线菌属、弯曲杆菌属和嗜酸菌属丰度显著降低;CY1与N组健康孕妇组比较,韦荣氏球菌属、孪生球菌属和小杆菌属的丰度显著增加,双歧杆菌属丰度显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。在未再发组中,AY3与N组

健康孕妇组比较,巨球型菌属丰度显著增加,丙酸杆菌属丰度显著增加,与AY1类似;在再发组中,BY3与健康孕妇组(N组)比较,普雷沃菌属、棒杆菌属、嗜酸菌属、*Finegoldia*、*Anaerococcus*、弯曲杆菌属、卟啉单胞菌属显著降低;在持续阳性组中,CY3与N组健康孕妇组比较,韦荣氏球菌属丰度显著下降,双歧杆菌属丰度也下降,差异无统计学意义($P>0.05$),考虑个别样本差异因素。见表1。乳杆菌属主要包括卷曲乳杆菌、嗜性乳杆菌及其他乳杆菌。N组健康孕妇组以卷曲乳杆菌为优势菌,三组妊娠期VVC患者均以嗜性乳杆菌为优势菌。见表2。

3 讨论

女性阴道微生态是由阴道微生物、内分泌系统、阴道解剖结构及阴道局部免疫系统共同组成的生态系统^[5]。本研究通过16s rDNA测序技术在妊娠期VVC患者阴道细菌门水平发现,厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门为主要优势菌门,进一步在属水平探讨占比最大的乳杆菌属。乳杆菌属归类于厚壁菌门,不少学者发现乳杆菌属中的多个菌种对维持阴道微生态具有重要作用^[6-7],其中卷曲乳杆菌具有抑真菌作用,而嗜性乳杆菌则可能影响真菌治愈^[8-9],这两种菌在本研究中为健康孕妇及患病孕妇的差异菌。

表1 差异菌属分析($\bar{x}\pm s$)Table 1 Analysis of Different Bacteria ($\bar{x}\pm s$)

分组对比	菌属	第一类	第二类	H	P值
AY1 vs N	丙酸杆菌属	$(1.64\times 10^{-5})\pm(1.71\times 10^{-5})$	$(5.53\times 10^{-6})\pm(1.76\times 10^{-5})$	6.0 272	0.0 141
	韦荣氏球菌属	$(3.93\times 10^{-6})\pm(9.60\times 10^{-6})$	0.00±0.00	5.1 852	0.0 228
	劳尔氏菌属	$(2.12\times 10^{-6})\pm(4.39\times 10^{-6})$	0.00±0.00	5.1 852	0.0 228
BY1 vs N	普雷沃菌属	$(4.17\times 10^{-5})\pm(8.30\times 10^{-5})$	$(1.57\times 10^{-2})\pm(4.30\times 10^{-2})$	10.0 050	0.0 016
	放线菌属	0.00±0.00	$(1.75\times 10^{-4})\pm(6.70\times 10^{-4})$	6.0 350	0.0 140
	弯曲杆菌属	0.00±0.00	$(7.90\times 10^{-5})\pm(1.47\times 10^{-4})$	5.1 059	0.0 238
	嗜酸菌属	$(8.52\times 10^{-6})\pm(2.08\times 10^{-5})$	$(1.01\times 10^{-4})\pm(1.42\times 10^{-4})$	4.9 818	0.0 256
CY1 vs N	韦荣氏球菌属	$(6.21\times 10^{-3})\pm(1.39\times 10^{-2})$	0.00±0.00	8.0 328	0.0 046
	双歧杆菌属	$(5.28\times 10^{-3})\pm(1.79\times 10^{-2})$	$(5.16\times 10^{-2})\pm(2.23\times 10^{-1})$	6.1 947	0.0 128
	孪生球菌属	$(2.16\times 10^{-3})\pm(4.94\times 10^{-3})$	0.00±0.00	5.8 263	0.0 158
	小杆菌属	$(1.09\times 10^{-2})\pm(1.16\times 10^{-2})$	$(1.34\times 10^{-3})\pm(4.10\times 10^{-3})$	4.0 624	0.0 438
AY3 vs N	巨球型菌属	$(2.02\times 10^{-2})\pm(6.02\times 10^{-2})$	$(1.17\times 10^{-6})\pm(5.24\times 10^{-6})$	4.9 012	0.0 268
	丙酸杆菌属	$(1.47\times 10^{-4})\pm(4.25\times 10^{-4})$	$(5.53\times 10^{-6})\pm(1.76\times 10^{-5})$	4.8 399	0.0 278
BY3 vs N	普雷沃菌属	$(1.66\times 10^{-2})\pm(4.43\times 10^{-2})$	$(1.57\times 10^{-2})\pm(4.30\times 10^{-2})$	8.2 417	0.0 041
	棒杆菌属	$(3.66\times 10^{-6})\pm(1.42\times 10^{-5})$	$(2.74\times 10^{-4})\pm(6.32\times 10^{-4})$	7.0 358	0.0 080
	嗜酸菌属	$(5.97\times 10^{-6})\pm(1.46\times 10^{-5})$	$(1.01\times 10^{-4})\pm(1.42\times 10^{-4})$	6.9 751	0.0 083
	<i>Finegoldia</i>	$(1.11\times 10^{-5})\pm(3.33\times 10^{-5})$	$(6.98\times 10^{-5})\pm(1.15\times 10^{-4})$	5.8 437	0.0 156
	<i>Anaerococcus</i>	$(3.43\times 10^{-7})\pm(1.33\times 10^{-6})$	$(6.95\times 10^{-5})\pm(1.35\times 10^{-4})$	3.9 988	0.0 455
	弯曲杆菌属	$(1.26\times 10^{-6})\pm(4.88\times 10^{-6})$	$(7.90\times 10^{-5})\pm(1.47\times 10^{-4})$	3.9 988	0.0 455
	卟啉单胞菌属	0.00±0.00	$(4.69\times 10^{-5})\pm(1.15\times 10^{-4})$	3.9 507	0.0 469
CY3 vs N	韦荣氏球菌属	$(9.33\times 10^{-4})\pm(2.21\times 10^{-3})$	0.00±0.00	5.8 263	0.0 158
	双歧杆菌属	$(7.52\times 10^{-3})\pm(2.58\times 10^{-2})$	$(5.16\times 10^{-2})\pm(2.23\times 10^{-1})$	0.3 560	0.5 507

表2 不同分组间乳杆菌种属丰度对比 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of abundance of Lactobacillus species among different groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	菌属	丰度	与N组对比	
			H	P值
N	嗜性乳杆菌	(2.63×10^{-1}) $\pm$ (4.24×10^{-1})		
	卷曲乳杆菌	(3.87×10^{-1}) $\pm$ (4.24×10^{-1})		
	其他乳杆菌	(2.40×10^{-4}) $\pm$ (4.63×10^{-4})		
AY1	嗜性乳杆菌	(5.74×10^{-1}) $\pm$ (5.00×10^{-1})	3.1 812	0.0 745
	卷曲乳杆菌	(1.80×10^{-1}) $\pm$ (3.69×10^{-1})	3.9 379	0.0 472
	其他乳杆菌	(1.01×10^{-3}) $\pm$ (1.89×10^{-3})	3.6 732	0.0 553
BY1	嗜性乳杆菌	(4.89×10^{-1}) $\pm$ (4.81×10^{-1})	3.9 845	0.0 459
	卷曲乳杆菌	(2.47×10^{-1}) $\pm$ (4.29×10^{-1})	0.8 021	0.3 705
	其他乳杆菌	(4.17×10^{-4}) $\pm$ (5.12×10^{-4})	0.3 704	0.1 749
CY1	嗜性乳杆菌	(4.84×10^{-1}) $\pm$ (4.45×10^{-1})	2.5 756	0.1 085
	卷曲乳杆菌	(1.61×10^{-1}) $\pm$ (3.48×10^{-1})	1.2 429	0.2 649
	其他乳杆菌	(1.05×10^{-3}) $\pm$ (1.20×10^{-3})	3.9 169	0.0 478
AY3	嗜性乳杆菌	(4.29×10^{-1}) $\pm$ (4.34×10^{-1})	0.9 934	0.3 189
	卷曲乳杆菌	(2.33×10^{-1}) $\pm$ (3.73×10^{-1})	1.7 531	0.1 855
	其他乳杆菌	(1.32×10^{-3}) $\pm$ (3.21×10^{-3})	3.9 169	0.1 844
BY3	嗜性乳杆菌	(5.08×10^{-1}) $\pm$ (4.41×10^{-1})	1.7 750	0.1 828
	卷曲乳杆菌	(1.73×10^{-1}) $\pm$ (3.43×10^{-1})	1.2 429	0.1 712
	其他乳杆菌	(4.51×10^{-4}) $\pm$ (6.41×10^{-4})	3.9 169	0.1 058
CY3	嗜性乳杆菌	(5.39×10^{-1}) $\pm$ (4.60×10^{-1})	1.7 948	0.1 803
	卷曲乳杆菌	(1.47×10^{-1}) $\pm$ (3.15×10^{-1})	1.4 338	0.2 311
	其他乳杆菌	(6.99×10^{-4}) $\pm$ (6.78×10^{-4})	3.9 169	0.0 478

本研究发现阴道细菌中除了有大量的乳酸杆菌外,还存在一定多样性的细菌菌落,这些细菌丰度的改变可能与念珠菌阴道炎的发生、发展以及预后相关。本研究在C组持续感染组中发现双歧杆菌丰度的大幅度减少,在C组持续感染组的Y1时间点中,双歧杆菌属的丰度从5%下降到0.5%,而在Y3时间点中,丰度仍维持在0.7%。双歧杆菌属于生理性有益菌,具有生物屏障、营养作用、抗肿瘤作用、免疫增强作用、改善胃肠道功能、抗衰老等多种重要的生理功能^[10]。双歧杆菌与乳杆菌类似,能够抑制有害细菌的生长,抵抗病原菌的感染,其产生的醋酸、丙酸、丁酸及乳酸等有机酸对于维持阴道PH值也是非常重要^[11-12]。此外,在B组再发组中发现普雷沃菌属在Y1时间点中,其丰度较健康孕妇降低,从1.5%下降到0.4%,而在再发阶段(Y3时间点),仍然显著下降。由于BY3中有一个样本的普雷沃菌为15%。排除该样本后,BY3中的平均丰度为0.7%。因此,普雷沃菌属在再发组中是显著下降的。普雷沃菌属是近年来从类杆菌属中分出的一个新菌属,主要聚集于正常人体的口腔、女性生殖道等部位,组成这些部位的正常菌群,是常见的条件致病菌之一^[13],其主要产物是乙酸和琥珀酸及少量的异丁酸、异戊酸和乳

酸,健康条件下对阴道PH值有调节作用^[14]。

综上所述,本研究发现妊娠期再发性念珠菌性阴道炎患者及健康孕妇阴道中存在一定多样性的细菌群,其中卷曲乳杆菌及嗜性乳杆菌为较显著差异菌。此外,还发现双歧杆菌属和普雷沃菌属等差异菌属,提示这些菌属丰度的改变可能与疾病的预后有关,或许可以作为治疗妊娠期VVC的预后预测指标及个性化治疗的靶标位点,但其对疾病预后的作用及机制仍需要探索。

参考文献

- [1] Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis [J]. Am J Obstet Gynecol, 2016, 214(1): 15-21.
- [2] 刘朝晖, 廖秦平. 外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)诊治规范修订稿[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012(6): 401-402.
- [3] 王庆忠, 范云, 沈祁烨. 人类微生物组学与健康及其临床检验的需求[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(1): 67-72.
- [4] Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 [J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(8): 852-857.
- [5] 郑介婷, 张子康, 操龙斌, 等. 女性阴道微生态与HPV感染相关性研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4): 509-513.
- [6] Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 Suppl 1(Suppl 1): 4680-4687.
- [7] 肖冰冰, 廖秦平. 利用DNA指纹图谱技术对健康女性阴道菌群多样性的分析[J]. 北京大学学报(医学版), 2012, 44(2): 281-287.
- [8] 张旭, 李婷, 牛小溪, 等. 阴道上皮细胞、白假丝酵母菌及卷曲乳杆菌相互作用的扫描电镜观察[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(9): 618-622.
- [9] 马啸. 复发性外阴阴道假丝酵母菌病患者阴道微生物的物种组成及其动态变化研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [10] 徐营, 李霞, 杨利国. 双歧杆菌的生物学特性及对人体的生理功能[J]. 微生物学通报, 2001, 28(6): 94-96.
- [11] Lee S, Oh KY, Hong H, et al. Community State Types of Vaginal Microbiota and Four Types of Abnormal Vaginal Microbiota in Pregnant Korean Women [J]. Front Public Health, 2020, 8: 507024.
- [12] Bozzi Cionci N, Baffoni L, Gaggia F, et al. Therapeutic Microbiology: The Role of Bifidobacterium breve as Food Supplement for the Prevention/Treatment of Paediatric Diseases [J]. Nutrients, 2018, 10(11): 1723.
- [13] 陈佳宁, 吕志, 苏建荣, 等. 乳酸杆菌与细菌性阴道病相关致病菌之间的关系[J]. 首都医科大学学报, 2013, 34(4): 535-539.
- [14] Lin CY, Lin CY, Yeh YM, et al. Severe preeclampsia is associated with a higher relative abundance of Prevotella bivia in the vaginal microbiota [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 18249.

组蛋白去乙酰化酶3、TGF- β 1在狼疮肾炎组织病理中的表达及其临床意义

史添立^{1*} 罗贞¹ 焦石²

[摘要] 目的 探讨组蛋白去乙酰化酶3(HDAC3)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)在系统性红斑狼疮患者肾脏病理中的表达及其临床意义。方法 选取2017年6月至2020年9月海口市人民医院诊治的53例系统性红斑狼疮患者为SLE组;及10例原发性肾病综合征(NS)为对照组。比较两组患者肾脏病理组织中的表达情况,分析其表达水平与狼疮肾炎(LN)患者的各种临床表现、实验室特征以及肾脏病理类型的关系。应用 t 检验及单因素方差分析进行组间比较,Pearson或Spearman检验进行相关分析。结果 HDAC3主要表达于肾脏肾小管上皮细胞中。SLE组患者肾组织中HDAC3的表达水平高于对照组[(6.32 $\pm$ 2.31) vs (3.12 $\pm$ 1.81)],差异有统计学意义($P<0.05$)。伴有肾间质纤维化的LN患者HDAC3表达高于无纤维化患者[(6.78 $\pm$ 2.19) vs (2.43 $\pm$ 2.01)],差异有统计学意义($P<0.05$)。肾脏组织HDAC3、TGF- β 1表达均与血肌酐、浆膜炎、口腔溃疡、关节炎、间质性肺炎、神经系统损害、24小时尿蛋白及血液系统损害有关($P<0.05$)。肾小球组蛋白乙酰化酶3表达的水平与TGF- β 1主要表达水平呈正相关($r=0.745, P<0.05$)。结论 LN患者的肾小球HDAC3、TGF- β 1的表达水平较对照组增高,伴有肾间质纤维化的LN患者HDAC3表达高于无纤维化患者,考虑HDAC3可能参与LN患者纤维化的发病。

[关键词] 系统性红斑狼疮;组蛋白去乙酰化酶3;转化生长因子- β

Expression of histone deacetylase 3 and TGF- β 1 in histopathology of lupus nephritis and its clinical significance

SHI Tianli^{1*}, LUO Zhen¹, JIAO Shi²

(1. Department of Nephrology, Haikou Municipal People's Hospital, Haikou, Hainan, China, 570208;

2. Department of Nephrotic Rheumatology, Zhongshan City Boai Hospital, Zhongshan, Guangdong, China, 510603)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of histone deacetylase 3(HDAC3) and TGF- β 1 in renal tissues and clinical significance of patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** Fifty-three patients with systemic lupus erythematosus diagnosed and treated in Haikou People's Hospital from June 2017 to September 2020 were selected as the SLE group; and 10 patients with primary nephrotic syndrome (NS) were selected as the control group. The expression in renal pathological tissue of the two groups of patients was compared, and the relationship between its expression level and various clinical manifestations, laboratory characteristics and renal pathological types of lupus nephritis (LN) patients was analyzed. The t test and one-way ANOVA were used for comparison between groups, and Pearson or Spearman test was used for correlation analysis. **Results** HDAC3 is mainly expressed in renal tubular epithelial cells. The expression level of HDAC3 in renal tissue of the SLE group was significantly higher than that of the control group (6.32 $\pm$ 2.31 vs 3.12 $\pm$ 1.81), ($P<0.05$). The expression of HDAC3 in LN patients with renal interstitial fibrosis was higher than

基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(19A200052)

作者单位:1. 海口市人民医院肾内科,海南,海口 570208

2. 中山市博爱医院肾病风湿科,广东,中山 510603

*通信作者:史添立, E-mail:chentaidong3683@163.com

that in patients without fibrosis (6.78 ± 2.19) vs (2.43 ± 2.01), ($P < 0.05$). The expressions of HDAC3 and TGF- $\beta 1$ in kidney tissue were related to serum creatinine, serositis, oral ulcers, arthritis, interstitial pneumonia, nervous system damage, 24-hour urine protein and blood system damage ($P < 0.05$). The expression level of histone acetylase 3 was positively correlated with the main expression level of TGF- $\beta 1$ ($r = 0.745$, $P < 0.05$).

Conclusion The expression levels of HDAC3 and TGF- $\beta 1$ in glomeruli of LN patients were higher than those in the control group, which were closely related to interstitial fibrosis of LN patients, suggesting that HDAC3 may be involved in the pathogenesis of LN patients with fibrosis.

[KEY WORDS] Systemic lupus erythematosus; Histone deacetylase 3; Transforming growth factor- $\beta 1$

系统性红斑狼疮是一种累及多系统的自身免疫病,狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)主要致死原因^[1]。肾间质纤维化为后期慢性病理表现,组蛋白乙酰化酶去乙酰化是调控基因表达的重要方式,参与各种生理病理过程^[2]。HDAC3作为组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)家族中一员,近来有研究表明 HDAC 在参与肾脏病发生与发展并发挥重要作用^[3]。转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)能够促进成纤维细胞增殖,诱导肾小管上皮细胞向间充质细胞转变(epithelial mesenchymal transition, EMT),调节细胞外基质合成增加,是肾脏纤维化最关键作用因子^[4]。本研究检测 HDAC3、TGF- $\beta 1$ 的表达及评估肾间质纤维化的关系,探讨 HDAC3、TGF- $\beta 1$ 与狼疮肾间质纤维化三者之间的关系。为下一步将组蛋白去乙酰化酶抑制剂做为肾间质纤维化的临床治疗潜在的实用价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2017 年 6 月至 2020 年 9 月海口市人民医院收治的 LN 患者 53 例,其中男性患者 11 例,女性 42 例;平均年龄(34.12 ± 12.04)岁。SLE 诊断符合 2019 年 EULAR 的系统性红斑狼疮(SLE)分类标准^[5],LN 均经肾脏病理检查确诊,肾脏病理分型是依据 2003 年国际肾脏病学会(ISN)/RPS 制定的分类标准确定^[6]。同时选取相对应时间内收治的原发性肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)患者 10 例作为对照组,其中男性 6 例,女性 4 例;平均年龄(35.10 ± 4.36)岁。NS 的分类诊断依据为大量蛋白尿(尿蛋白定量 24 h > 3.5 g)、低蛋白血症(血清白蛋白 ≤ 30 g/L)^[7]、高脂血症、水肿,并除外其他继发因素。所有患者均行肾脏组织活检。所有患者及家属均知情同意。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 标本处理

狼疮性肾炎患者进行肾脏病理检查并进行病理分型登记,肾组织常规进行 HE 染色、PAS 染色、PASM 染色、Masoon 三色染色及肾脏病理指数评分(包括活动指数及慢性指数)^[8]。计算肾间质纤维组织相对面积(Masoon 染色法观察肾间质绿染区面积/视野总面积 $\times 100\%$)^[9]。

1.2.2 免疫组织化学方法检测肾脏 HDAC3 和 TGF- $\beta 1$ 表达情况

①实验方法:取狼疮患者肾脏病理组织切片烤干,试剂 HDAC3 及 TGF- $\beta 1$ 采用 Abcam 厂家,二抗 Leica novocastra NovoLink 聚合物检测系统 RE7280-K 检测试剂盒 lot: 6078783。将已烤干的切片脱蜡;新鲜配制抗原修复液选用选自基因科技(上海有限公司)GT100411(50X 浓缩液)40 mL + 2L 蒸馏水(抗原修复工作液 pH9.0)高压锅内混匀;将已冲洗干净组织切片加热煮沸后冷却后将组织切片用流水冲洗干净移至蒸馏水中浸泡 2 min。3% H_2O_2 中浸泡 8 min,流水冲洗蒸馏水冲洗。取出切片, PBS 冲洗;甩去待测组织切片上多余的 PBS 后滴加一抗抗体,阳性、阴性对照片上也滴加同样的抗体,对照片上滴加 PBS 缓冲液。将切片放入孵育盒至冰箱中孵育 18~24 小时后放置室温 30 min 恢复室温;用 PBS 洗 3 次,滴加 NovoLink 聚合物检测系统 RE7159 后放入 37℃ 恒温箱中孵育 30 min。之后 PBS 洗 3 次,滴加 NovoLink 聚合物检测系统 RE7161 后孵育 30 min。PBS 洗 3 次,将切片使用 NovoLink 聚合物检测系统试剂盒中的试剂 RE7163 2 mL 和 NovoLink 聚合物检测系统试剂盒中的试剂 RE7162 20 μ L 混匀 DAB 显色液中显色 5 min,在显微镜下控制染色的强度;将切片置自来水中终止显色,再用流水冲洗 10 min;苏木素染液复染 1 min,0.5% 盐酸酒精分化 3 秒钟;流水冲洗 10 min,返蓝;脱水、透明、封

片、镜检;②判读方法^[10]:在高倍镜下观察,分析每个视野中阳性细胞数的平均数作为该切片的阳性细胞百分比进行积分:0%~5%为0分,6%~25%为1分,25%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分;染色强度以多数阳性细胞呈现的染色特征为标准计分:无染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。二者相加,0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~5分为中等阳性(++),6~7分为强阳性(+++),其中(-)和(+)记为低表达组,(++)和(+++)记为高表达组。染色强度:弱染色:在40X物镜视野才能看到细胞染色。强染色:在4X或10X物镜视野能看到的细胞染色。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,计数资料用 n 表示,行 χ^2 检验。计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组间用 F 检验。Pearson (正态分布) 或 Spearman (非正态分布) 检验进行相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 SLE患者临床表现与肾脏组织 HDAC3、TGF- β 1 表达的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The relationship between clinical manifestations of SLE patients and the expression of HDAC3 and TGF- β 1 in renal tissue ($\bar{x} \pm s$)

临床表现	n	HDAC3 表达	t 值	P 值	TGF- β 1 表达	t 值	P 值
血肌酐升高	是	42	6.53 $\pm$ 2.02	6.677	<0.001	4.43 $\pm$ 1.67	5.964
	否	11	3.35 $\pm$ 1.21			2.11 $\pm$ 0.98	
浆膜炎	是	17	6.87 $\pm$ 2.00	4.715	<0.001	6.34 $\pm$ 2.15	4.495
	否	36	3.98 $\pm$ 1.76			3.87 $\pm$ 1.00	
口腔溃疡	是	21	6.32 $\pm$ 2.10	6.839	<0.001	5.87 $\pm$ 1.78	6.100
	否	32	2.90 $\pm$ 1.12			3.67 $\pm$ 1.21	
关节炎	是	33	5.93 $\pm$ 1.76	12.441	<0.001	4.66 $\pm$ 1.08	4.673
	否	20	1.73 $\pm$ 0.65			1.23 $\pm$ 0.54	
间质性肺炎	是	14	8.21 $\pm$ 2.67	20.003	<0.001	4.11 $\pm$ 1.88	4.002
	否	39	3.32 $\pm$ 1.28			1.84 $\pm$ 0.45	
神经系统损害	是	18	6.57 $\pm$ 2.14	10.132	<0.001	5.65 $\pm$ 2.10	3.786
	否	35	3.12 $\pm$ 1.00			2.11 $\pm$ 1.25	
24小时尿蛋白大于3.5g	是	30	6.56 $\pm$ 1.97	11.234	<0.001	5.97 $\pm$ 2.14	8.121
	否	23	3.23 $\pm$ 1.21			1.88 $\pm$ 0.98	
血液系统损害	是	28	5.85 $\pm$ 1.79	6.908	<0.001	6.44 $\pm$ 1.89	4.037
	否	25	2.67 $\pm$ 1.01			2.65 $\pm$ 1.01	

2.2 SLE患者临床表现与肾脏组织 HDAC3 和 TGF- β 1 表达的关系

肾脏组织 HDAC3、TGF- β 1 表达均与血肌酐、浆膜炎、口腔溃疡、关节炎、间质性肺炎、神经系统损害、24小时尿蛋白及血液系统损害有关 ($P < 0.05$)。见表1。

2.3 肾脏组织中 HDAC3 表达与 TGF- β 1 表达的关系

肾脏组织 HDAC3 表达与 TGF- β 1 表达呈正相关

2 结果

2.1 两组患者肾脏组织中 HDAC3、TGF- β 1 表达的比较

HDAC3 主要表达于肾脏肾小管上皮细胞中。SLE 组患者肾组织中 HDAC3 的表达水平高于对照组 [(6.32 $\pm$ 2.31 vs 3.12 $\pm$ 1.81)], 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。伴有肾间质纤维化的 LN 患者 HDAC3 表达高于无纤维化患者 [(6.78 $\pm$ 2.19) vs (2.43 $\pm$ 2.01)], 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图1。

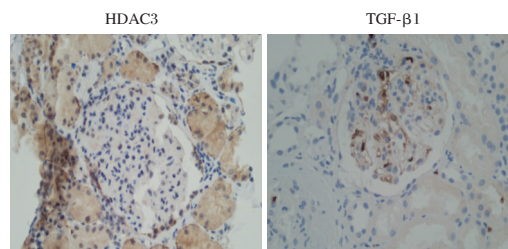


图1 肾脏组织中 HDAC3 和 TGF- β 1 表达 (SP, $\times 400$)

Figure 1 HDAC3 and TGF- β 1 expression in kidney tissue (SP, $\times 400$)

($r = 0.745$, $P < 0.001$)。

3 讨论

LN 是 SLE 的严重并发症,其发病机制涉及自身抗体与自身抗原形成免疫复合物沉积、细胞浸润、足细胞和内皮细胞损伤等^[5-6]。越来越多研究显示,表观遗传学变化在 LN 发生发展中起到重要作用^[7-8]。HDAC 是一组表观遗传修饰蛋白,通过

催化组蛋白或非组蛋白赖氨酸残基的去乙酰化调节基因表达。HDAC可以参与SLE在内的多种免疫疾病的发生发展^[7]。HDAC3是HDAC家族重要成员之一,可以在细胞核和细胞浆中穿梭。HDAC3在人体各个组织中均有表达,在细胞增殖、分化、细胞周期调控、免疫系统发育中发挥重要作用^[8]。近年来研究发现,HDAC3与肾脏疾病的发生密切相关,例如肾癌、肾纤维化、慢性肾病、多囊肾、糖尿病肾病等^[9],在哺乳动物中,组蛋白的乙酰化受到组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和HDACs的动态调控。通常情况下,HDACs通过去乙酰化赖氨酸残基和恢复染色质组蛋白的正电荷导致染色质凝聚,阻碍转录因子的进入,最终抑制相关基因表达。其机制可能与HDAC3调控免疫炎症、氧化应激等有关^[10]。肾间质纤维化以肾成纤维细胞异常活化及增生为特点,特征性改变包括 α -SMA表达及细胞外基质成分的增加。成纤维细胞的活化及增殖需要大量的生长因子及细胞因子如TGF- β 1、血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子、白介素6(IL-6)等的参与^[11]。TGF- β 1是一种具有多种功能的蛋白多肽,其主要来源自淋巴细胞、单核细胞、血小板和肝枯夫氏细胞等,与免疫炎症损伤、组织纤维化密切相关^[12]。既往研究已证实,TGF- β 1与LN的发生有关,并且参与纤维化的过程^[13]。本研究结果进一步说明HDAC3与LN肾组织纤维化有密切的关系,其可能机制为在肾脏纤维化形成过程中,HDACs的上调了影响促纤维化生长因子、细胞信号分子、细胞外基质蛋白和肾脏抗纤维化蛋白的表达。例如,HDACs抑制剂可明显上调抗纤维化蛋白Klotho及BMP-7的水平,最终抑制肾脏纤维化的进展^[14]。也有研究表明,肾小管上皮细胞HDAC3特异性敲除或使用HDAC3特异性抑制剂RGFP966均可减轻输尿管结扎引起的肾脏纤维化,其机制可能与HDAC3对抗纤维化蛋白Klotho的抑制有关^[15-16]。另外也有研究发现,HDAC依赖的Bmp7转录调控,可以促进TGF- β 1表达,进而参与肾脏纤维化^[17]。以上均为HDAC3参与肾纤维化的可能机制,但仍需进一步研究证实。此外,本研究结果提示HDAC3可能也参与在狼疮病情活动方面的机制,但需进一步大样本证实。本研究目前存在一定的局限性:①为单中心研究,样本量较小;②未对患者进行随访,不能明确HDAC3

与TGF- β 1与SLE患者预后的关系;③本研究仅检测了患者肾组织中HDAC3与TGF- β 1的表达,未直接验证二者的相互调控关系及具体的机制;④未检测HDAC3相关组蛋白的表达水平及意义。

综上,LN患者的肾组织HDAC3和TGF- β 1的表达水平明显升高,另外HDAC3和TGF- β 1与LN纤维化密切相关,伴有肾间质纤维化LN患者的HDAC3和TGF- β 1表达水平高于无纤维化患者,未来需要进一步开展细胞及动物研究,明确HDAC3与TGF- β 1的相互调控关系及其机制。

参考文献

- [1] Obrișcă B, Sorohan B, Tuță L, et al. Advances in Lupus Nephritis Pathogenesis: From Bench to Bedside [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7): 3766.
- [2] Xiang X, Dong G, Zhu J, et al. Inhibition of HDAC3 protects against kidney cold storage/transplantation injury and allograft dysfunction [J]. Clin Sci (Lond), 2022, 136(1): 45-60.
- [3] Zhang L, Cao W. Histone deacetylase 3 (HDAC3) as an important epigenetic regulator of kidney diseases [J]. J Mol Med (Berl), 2022, 100(1): 43-51.
- [4] Wu W, Huang XR, You Y, et al. Latent TGF- β 1 protects against diabetic kidney disease via Arkadia/Smad7 signaling [J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(13): 3583-3594.
- [5] Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus [J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(6): 736-745.
- [6] 曾彩虹, 刘志红. ISN/RPS狼疮性肾炎病变定义及分型修订共识 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2019, 28(1): 47-51.
- [7] 李玉婷, 付萍. IL-17, p-S6在狼疮性肾炎患者肾脏组织中的表达 [J]. 皮肤病与性病, 2020, 42(6): 783-787.
- [8] Zhao H, Pan S, Duan J, et al. Integrative Analysis of m(6) A Regulator-Mediated RNA Methylation Modification Patterns and Immune Characteristics in Lupus Nephritis [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 724837.
- [9] Ren J, Catalina MD, Eden K, et al. Selective Histone Deacetylase 6 Inhibition Normalizes B Cell Activation and Germinal Center Formation in a Model of Systemic Lupus Erythematosus [J]. Front Immunol, 2019, 10: 2512.
- [10] Chen Z, Huo D, Li L, et al. Nuclear DEK preserves hematopoietic stem cells potential via NCoR1/HDAC3 - Akt1/2 - mTOR axis [J]. J Exp Med, 2021, 218(5): e20201974.
- [11] Jiménez-Urbe AP, Gómez-Sierra T, Aparicio-Trejo OE, et al. Backstage players of fibrosis: NOX4, mTOR, HDAC, and S1P; companions of TGF- β [J]. Cell Signal, 2021, 87: 110123.

卵泡液中 GDF-9、SCF、ACTC 及 FS 与 PCOS 患者卵泡发育的关系

刘建梅

【摘要】目的 探讨多囊卵巢综合征(PCOS)患者卵泡液中干细胞因子(SCF)、生长分化因子-9(GDF-9)、激活素(ACTA)及卵泡抑素(FS)的变化与卵泡发育的关系。**方法** 选取林州市人民医院2017年1月至2021年4月实施体外受精治疗的PCOS患者42例(PCOS组)、正常排卵妇女42例作为对照组,检测两组的卵泡液中GDF-9、SCF、ACTC及FS水平、血清中促卵泡生成素(FSH)、雌激素(E2)、黄体生成素(LH)、孕酮(P),并对比两组的卵母细胞MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率差异。**结果** PCOS组患者的卵泡液中的GDF-9、SCF、ACTC水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);PCOS组患者的卵泡液中的FS水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);PCOS组患者的血清中LH水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);PCOS组患者的血清中FSH、E2、P水平与对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);PCOS组患者的卵母细胞MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PCOS患者卵泡液中的GDF-9、SCF、ACTC水平降低,FS水平显著升高,这些指标的变化可能与PCOS患者卵泡发育不良有关。

【关键词】 多囊卵巢综合征;干细胞因子;生长分化因子-9;激活素;卵泡抑素;卵泡发育

Relationship between GDF-9, SCF, ACTC and FS in follicular fluid and follicular development in patients with PCOS

LIU Jianmei

(Department of Obstetrics and Gynecology, Linzhou People's Hospital, Linzhou, Henan, China, 456500)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between the changes of SCF, GDF-9, ACTA and FS in follicular fluid of PCOS patients and follicular development. **Methods** From January 2017 to April 2021, 42 patients with PCOS who underwent in vitro fertilization in Linzhou People's Hospital (PCOS group) and 42 normal ovulation women were selected as the control group. GDF-9, SCF, ACTC and FS levels in serum follicular fluid, FSH, E2, LH, P in serum were detected. The difference of MII rate, normal fertilization rate and high quality embryo rate between the two groups was compared. **Results** The levels of GDF-9, SCF and ACTC in the follicular fluid of the patients in the PCOS group were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The FS level in the follicular fluid of patients in the PCOS group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The serum LH level in the PCOS group was significantly lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The serum levels of FSH, E2 and P in the PCOS group were not significantly different from those in the control group ($P>0.05$). The MII rate, normal fertilization rate and high quality embryo rate of the oocytes in the PCOS group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of GDF-9, SCF and ACTC in follicular fluid of patients with PCOS were decreased, and the level of FS was significantly increased. The changes may be related to follicular dysplasia in PCOS patients.

【KEY WORDS】 PCOS; SCF; GDF-9; ACTA; FS; Follicular development

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018072313)

作者单位:河南省林州市人民医院妇产科,河南,林州 456500

多囊卵巢综合征(Polycystic Ovary Syndrome, PCOS)的发生,能够导致患者高雄激素血症的发生,增加了患者继发性不孕的发生风险^[1]。流行病学研究发现,PCOS的发病率可超过485/1万人左右,同时在肥胖或者相关家族史的人群中,PCOS的发病率可进一步的上升^[2-3]。卵泡发育的障碍,在影响到PCOS的病情进展过程中具有核心的作用。不同的细胞因子,均能够影响到卵泡细胞的募集和成熟。干细胞因子(Stem cell factor, SCF)的表达上升,能够提高卵泡上皮细胞的分化成熟能力,提高卵泡细胞的定向诱导成熟程度^[4];生长分化因子-9(Growth differentiation factor-9, GDF-9)的表达,能够通过提高卵泡细胞的核基因转录激活程度,提高优势卵泡的发育成熟速度^[5];激活素(Activin, ACTA)能够通过提高颗粒细胞或者卵泡细胞膜表面的雌激素受体的敏感性,进而参与到PCOS的病情进展过程^[6];卵泡抑素(Follistatin, FS)能够通过抑制卵泡细胞DNA的扩增,降低卵泡细胞的富集过程,进而干预到卵泡的发育^[7]。为了揭示GDF-9、SCF、ACTA及FS的表达与PCOS患者卵泡发育的关系,从而为临床上PCOS患者的病情评估提供参考,本次研究选取实施体外受精治疗的PCOS患者42例,探讨了卵泡液体中相关因子的表达,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取林州市人民医院2017年1月至2021年4月实施体外受精治疗的PCOS患者42例(PCOS组),年龄平均(29.5 ± 2.8)岁,病程(3.9 ± 1.5)年,体质指数(Body mass index, BMI) (24.2 ± 2.0) kg/m²、正常排卵妇女42例作为对照组,年龄平均(29.3 ± 3.0)岁, BMI (24.0 ± 2.2) kg/m²。两组研究对象的年龄、BMI比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

纳入标准:①PCOS的诊断标准参考中华医学会制定的标准^[8];②PCOS患者主要表现为无排卵、稀发排卵、高雄激素血症;③超声检查发现一侧卵巢中2~9 mm的小卵泡个数 ≥ 12 个和(或)一侧卵巢体积 ≥ 10 cm³;④对照组为正常排卵的妇女;⑤本研究经医学伦理委员会的批准(伦研批[2016]第14号),所有入试者均知情并签署同意书。排除标准:①伴有全身感染性疾病;②恶性肿瘤;③具有放化疗病史、免疫治疗病史;④伴有垂

体、肾上腺、甲状腺等其他内分泌系统疾病。

1.2 指标检测方法

检测两组的卵泡液中GDF-9、SCF、ACTC及FS水平、血清中促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH)、雌激素(Estrogen, E2)、黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)、孕酮(progesterone, P),并对比两组的卵母细胞体外成熟(M II期)率、正常受精率、优质胚胎率差异。

在超促排卵后,在超声引导下进行卵泡的穿刺取卵。穿刺取卵的过程中留取一个纯卵泡液,3~5 mL, 1 500 r/min离心15 min(离心半径13 cm)收集上清液。采用贝克曼库尔特公司生产的DX800免疫发光仪器及配套试剂进行FS检测,采用电化学发光法检测FSH、E2、LH、P等性激素的检测,室内质量控制符合标准。

在每个聚苯乙烯板中加入上述液体0.1 mL, 4℃过夜孵育,加入磷酸盐缓冲液(Phosphate buffer, PBS)洗涤3次,每次3 min,在每个聚苯乙烯板孔中加入GDF-9、SCF、ACTC抗体(1:800购自南京伯斯金生物公司), 37℃孵育30 min,加入磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次,每次3 min,每孔中加入TMB溶液底物0.1 mL, 37℃20 min,加入2M硫酸0.05 mL终止反应,采用DG5033A酶标仪(南京华东电子科技公司)进行OD值检测。

1.3 统计学方法

采用SPSS 16.0软件版本进行数据统计分析。本研究中符合正态分布的计量数据表述采用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用两组独立样本的t检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,。

2 结果

2.1 两组卵泡液中的GDF-9、SCF、ACTC及FS水平比较

PCOS组患者的卵泡液中的GDF-9、SCF、ACTC水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);PCOS组患者的卵泡液中的FS水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组研究对象的血清生殖激素水平比较

PCOS组患者的血清中LH水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);PCOS组患者的血清中FSH、E2、P水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表1 两组卵泡液中的GDF-9、SCF、ACTC及FS水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of GDF-9, SCF, ACTC and FS levels in follicular fluid of two groups of subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	GDF-9 (ng/L)	SCF (ng/L)	ACTC (pg/mL)	FS (pg/mL)
PCOS组	42	126.4±11.0	21.1±4.8	67.8±8.5	1.35±0.22
对照组	42	138.2±13.9	23.6±4.2	115.8±24.8	1.04±0.45
<i>t</i> 值		-4.314	-2.540	-11.866	4.011
<i>P</i> 值		0.000	0.013	0.000	0.000

表2 两组研究对象的血清生殖激素水平比较 ($\bar{x} \pm s$, mU/mL)Table 2 Comparison of serum reproductive hormone levels in two groups of subjects ($\bar{x} \pm s$, mU/mL)

组别	<i>n</i>	FSH	E2	LH	<i>P</i> 值
PCOS组	42	7.41±1.78	4894.2±408.5	1.42±0.37	1.08±0.29
对照组	42	8.20±1.85	4779.0±429.1	1.84±0.49	0.97±0.26
<i>t</i> 值		-1.994	1.260	-4.433	1.830
<i>P</i> 值		0.049	0.211	0.000	0.071

2.3 两组研究对象的卵母细胞MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率比较

PCOS组患者的卵母细胞MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组研究对象的卵母细胞MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of oocyte MⅡ rate, normal fertilization rate and high-quality embryo rate between two groups of subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	卵母细胞MⅡ率 (%)	正常受精率 (%)	优质胚胎率 (%)
PCOS组	42	71.9±6.8	64.9±5.2	40.8±14.8
对照组	42	84.8±8.0	73.3±7.0	60.7±18.0
<i>t</i> 值		-7.962	-6.243	-5.534
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

3 讨论

家族性的遗传易感基因的携带,雌激素受体敏感性的改变,均能够促进PCOS的发生,增加远期妊娠结局的恶化风险^[9]。特别是在体重指数大于28的人群中,PCOS的发病率可进一步的上升,其体内胰岛素抵抗、高雄激素血症的表现更为明显^[10]。卵泡成熟程度或者优势卵泡的形成,能够在PCOS的治疗过程中发挥作用,且能够在提高胚胎移植、增加宫内妊娠成功率等方面发挥作用^[11]。但迄今为止临床上缺乏对于PCOS患者卵泡发育成熟调控的相关机制研究,本次研究通过对于PCOS

患者卵泡液中GDF-9、SCF、ACTC及FS的分析研究,不仅能够揭示PCOS卵泡发育障碍的原因,同时还能够为临床上PCOS患者卵泡定向诱导成熟、胚胎移植成功率的提升提供理论基础。

GDF-9是分化诱导因子,其能够通过诱导卵泡膜细胞及其细胞质内细胞器的组装,提高卵泡细胞的成熟能力和内分泌功能。GDF-9不仅能够影响到卵泡细胞的结构发育成熟,同时还能够提高卵泡细胞内性激素囊泡转运机制的成熟,稳定性激素的分泌过程;SCF是干细胞分化调控因子,其能够提高卵泡细胞核DNA持续性自我增殖过程,提高损伤DNA的损伤,改善卵泡细胞的无氧糖酵解及有氧氧化的能力;ACTC的表达,能够通过激活卵泡细胞的旁分泌和内分泌的功能,提高相关卵泡细胞对于促性腺激素的敏感性,从而参与到卵泡生理功能的维持过程中;FS作为抵抗素家族成员,其对于卵泡细胞内的c-kit信号通路的拮抗作用,能够降低卵泡细胞对于卵泡雌激素(FSH)的敏感性,导致其发育障碍^[12]。部分研究者探讨了SCF的表达与PCOS的关系,认为SCF的表达下降是PCOS发生的危险性因素^[4],但对于GDF-9、ACTC及FS的分析研究不足。

本次研究可以发现,在PCOS患者卵泡液体中,GDF-9、SCF、ACTC的表的浓度明显的下降,而FS的表达浓度明显的上升,提示了GDF-9、SCF、ACTC及FS的差异性表达,推测相关细胞因子的表达均影响到了PCOS卵泡的发育过程。深入探讨GDF-9、SCF、ACTC及FS的表达对于PCOS病情的影响,考虑由于其对于卵泡颗粒细胞或者膜细胞的下列影响有关^[13-14]:①GDF-9的下降影响到了卵泡膜细胞细胞壁及细胞内囊泡结构的成熟,导致优势卵泡形成障碍;②SCF、ACTC的表达下降,不仅能够影响到优势卵泡的形成,同时还能够导致卵泡发育停滞,并影响到原始卵泡向初级卵泡的转换;③FS的表达上升,能够阻断下游c-kit信号通路,导致下游信号通路转导障碍,进而抑制了卵泡的发育成熟。余雁等^[15]研究者也发现,在PCOS患者中,GDF-9的表达浓度可下降35%~55%,特别是在PCOS病程较长或者性激素紊乱较为明显的患者中,GDF-9的表达浓度下降更为明显。PCOS组患者的血清中黄体生成素(LH)水平显著的低于对照组,差异较为明显,提示了PCOS患者卵泡液体中存在明显的LH的分泌障碍,LH

高峰的形成异常能够导致不同阶段卵泡转化和成熟的异常,进而加剧 PCOS 的病情进展程度。PCOS 组患者,其卵母细胞 MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率显著的低于对照组,提示了 PCOS 组临床结局的恶化,这主要由于 GDF-9、SCF、ACTC 的表达异常,导致卵泡结构和数量的异常,导致优势卵泡生理功能的丧失,进而干预到其妊娠结局。

综上所述,在 PCOS 患者卵泡液体中,GDF-9、SCF、ACTC 的表达明显下降,而 FS 的表达明显上升,同时 PCOS 患者的卵母细胞 MⅡ率、正常受精率、优质胚胎率明显下降。本次研究与国内外相关研究的创新之处在于探讨了卵泡液体中 GDF-9、SCF、ACTC 的表达,而非血清中 GDF-9、SCF、ACTC 的表达,相同之处在于探讨了生殖性激素水平的变化。

参考文献

- [1] 曹正,刘颖,丛宇婷,等.多囊卵巢综合征相关雄性激素的液相色谱-串联质谱检测[J].分析测试学报,2020,39(1):146-151.
- [2] 程瑶瑶,李建辉,王淳,陈娟.PCOS 患者 GDF-9、BMP-15、BAX 表达特点及其与卵巢储备功能的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(2):225-228+233.
- [3] 周晓燕,汤美玲,马娟,等.多囊卵巢综合征患者体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响因素及预测[J].中国妇产科临床杂志,2020,21(4):370-373.
- [4] 刘菡文,覃莲菊,崔毓桂.间充质干细胞分泌因子调节氧化应激的作用[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2019,38(6):493-497.
- [5] 胡静,张琼,张云江.多囊卵巢综合征患者卵丘细胞凋亡与骨形成蛋白及生长分化因子表达的关系[J].临床和实验医学杂志,2019,18(10):1042-1045.
- [6] 田丽槟,明小琼,陈莉莉.患者卵巢组织中激活素 A 及其受体的表达水平与临床意义[J].川北医学院学报,2021,36(2):166-170.
- [7] 苏艳姣.补肾养宫汤加加减联合克罗米芬治疗肾虚血瘀型多囊卵巢综合征的效果观察[J].医学理论与实践,2022,35(6):1005-1007.
- [8] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组.多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J].中华妇产科杂志,2018,53(1):2-6.
- [9] Jiefan, Gao, Yangyang, Song, Donghui, Wang, et al. Serum Levels of PDGF, EGF, and sFlt-1 in Patients with Polycystic Ovary Syndrome and Their Predictive Effects on Pregnancy Outcomes[J]. Evid complement alternat med: eCAM, 2021, 2021:7118464.
- [10] He F, Li Y. The gut microbial composition in polycystic ovary syndrome with insulin resistance: findings from a normal-weight population[J]. J ovarian Res, 2021, 14(1):50.
- [11] Gorsic, Lidija K, Dapas, Matthew, Legro, Richard S, et al. Functional Genetic Variation in the Anti-Mullerian Hormone Pathway in Women With Polycystic Ovary Syndrome [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(7):2855-2874.
- [12] 彭琼,胡秀镒,陈爱中.探讨多囊卵巢综合征与亚临床甲状腺功能减退的相互作用[J].湖南师范大学学报(医学版),2018,15(2):174-177.
- [13] Daghestani M H. Evaluation of biochemical, endocrine, and metabolic biomarkers for the early diagnosis of polycystic ovary syndrome among non-obese Saudi women [J]. Int J Gynecol Obstet, 2018, 142(2):162-169.
- [14] 顾卓伟,路瑶,高华,等.育龄期未生育 PCOS 患者子宫体积与临床标志物的相关性分析[J].中国妇幼健康研究,2017,28(9):1065-1068.
- [15] 余雁,周丽,全进毅.骨形态发生蛋白 15(BMP15)/生长分化因子 9(GDF9)在卵巢功能及女性生育过程中的作用[J].生殖与避孕,2015,35(6):409-414.

(上接第 609 页)

- [12] Manson SR, Song JB, Hruska KA, et al. HDAC dependent transcriptional repression of Bmp-7 potentiates TGF- β mediated renal fibrosis in obstructive uropathy [J]. J Urol, 2014, 191(1): 242-252.
- [13] Rashad NM, El-Shabrawy RM, Said D, et al. Serum Levels of Transforming Growth Factor Beta -1 (TGF- β 1) as An Early No Invasive Marker for Diagnosis of Lupus Nephritis in Systemic Lupus Erythematosus Patients [J]. Egypt J Immunol, 2019, 26(1): 31-42.
- [14] Islam R, Dash D, Singh R. Intranasal curcumin and sodium butyrate modulates airway inflammation and fibrosis via HDAC inhibition in allergic asthma [J]. Cytokine, 2022, 149: 155720.
- [15] SARKAR R, BANERJEE S, AMIN SA, et al. Histone deacetylase 3(HDAC3) inhibitors as anticancer agents: A review [J]. Eur J Med Chem, 2020, 192(4): 112171.
- [16] Manson SR, Song JB, Hruska KA, et al. HDAC dependent transcriptional repression of Bmp-7 potentiates TGF- β mediated renal fibrosis in obstructive uropathy [J]. J Urol, 2014, 191(1): 242-252.
- [17] Lin W, Zhang Q, Liu L, et al. Klotho restoration via acetylation of peroxisome proliferation-activated receptor γ reduces the progression of chronic kidney disease [J]. Kidney Int, 2017, 92: 669-679.

复发性鼻咽癌患者血清 sCD44s、MIP-3 α 水平及与经鼻内镜治疗疗效的相关性

胡金成 黄妙铭 毛志强 蒋迪 叶宇东 傅明*

【摘要】目的 探讨复发性鼻咽癌(NPC)患者血清可溶性标准 CD44(sCD44s)、巨噬细胞炎性蛋白-3 α (MIP-3 α)水平变化及与经鼻内镜治疗疗效的相关性。**方法** 选取2018年6月至2021年1月东莞市人民医院耳鼻喉科26例复发性NPC患者作为观察组,另选取26例NPC治疗后放射性颅底骨坏死患者(无复发)作为对照组。对比两组临床资料、血清sCD44s、MIP-3 α 水平变化,分析复发性NPC影响因素及血清sCD44s、MIP-3 α 水平与临床病理特征的关系,绘制受试者工作曲线(ROC)评价血清sCD44s、MIP-3 α 水平对复发性NPC的预测价值,并对联合预测阳性、阴性患者经鼻内镜治疗远期疗效。**结果** 两组年龄、T分期、N分期、临床分期及初治后血清sCD44s、MIP-3 α 水平相比,差异有统计学意义($P<0.05$);Logistic回归分析显示,年龄、T分期、N分期、临床分期、初治后血清sCD44s、MIP-3 α 水平均为复发性NPC影响因素($P<0.05$);复发性NPC患者初治后血清sCD44s、MIP-3 α 水平与T分期、N分期及临床分期呈正相关关系($P<0.05$);ROC曲线显示,血清sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后)联合预测复发性NPC的AUC最大,为0.939,具有良好预测效能,最佳敏感度、特异度分别为80.77%、96.15%;联合预测阳性患者1年病死率高于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 初治后血清sCD44s、MIP-3 α 与NPC复发及临床病理特征有关,联合检测可有效预测复发性NPC,且对NPC经鼻内镜治疗疗效有一定预测价值,为及时采取有效、个体化治疗提供依据。

【关键词】 复发性鼻咽癌;可溶性标准 CD44;巨噬细胞炎性蛋白-3 α ;鼻内镜

The changes of serum sCD44s and MIP-3 α levels in patients with recurrent nasopharyngeal carcinoma and their correlation with the therapeutic effect of endoscopic sinus surgery

HU Jincheng, HUANG Miaoming, MAO Zhiqiang, JIANG Di, YE Yudong, FU Ming*

(Department of Otolaryngology, Dongguan People's Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the changes in serum soluble CD44 standard (sCD44s) and macrophage inflammatory protein - 3 α (MIP - 3 α) levels in patients with recurrent nasopharyngeal carcinoma (NPC) and their correlation with the therapeutic efficacy of endoscopic sinus surgery. **Methods** From June 2018 to January 2021, 26 patients with recurrent NPC in our hospital were selected as the observation group, and 26 patients with radioactive skull base osteonecrosis (without recurrence) after NPC treatment were selected as the control group. The clinical data, serum levels of sCD44s and MIP-3 α were compared between the two groups. The influencing factors of recurrent NPC and the relationship between serum sCD44s and MIP - 3 α levels and clinicopathological characteristics were analyzed. A receiver operating curve (ROC) was drawn to evaluate the predictive value of serum sCD44s and MIP-3 α levels for recurrent NPC. The long-term effects of combined nasal endoscopic treatment of patients with positive and negative predictions were compared. **Results** There were statistically significant differences between the two groups in age, T stage, N stage, clinical stage and serum sCD44s and MIP-3 α levels after initial treatment ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that age, T stage,

基金项目:2020年东莞市社会科技发展(一般)项目(202050715001775)

作者单位:东莞市人民医院耳鼻喉科,广东,东莞523000

*通信作者:傅明, E-mail: fumingchn@163.com

N stage, clinical stage, serum sCD44s and MIP-3 α levels after initial treatment were all influencing factors for recurrent NPC ($P<0.05$). Serum sCD44s and MIP-3 α levels in patients with recurrent NPC after initial treatment were positively correlated with T stage, N stage and clinical stage ($P<0.05$). The ROC curve showed that the combination of serum sCD44s and MIP-3 α levels (after initial treatment) had the largest AUC for predicting recurrent NPC, which was 0.939, which had good predictive effect. The best sensitivity and specificity were 80.77% and 96.15% respectively. The 1-year mortality rate of combined predictive positive patients was higher than that of negative patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** After initial treatment, serum sCD44s and MIP-3 α are related to NPC recurrence and clinicopathological characteristics. Combined detection can effectively predict recurrent NPC, and has a certain predictive value for the efficacy of endoscopic treatment of NPC, providing a basis for timely effective and individualized treatment.

[KEY WORDS] NPC; sCD44s; MIP-3 α ; Nasal endoscopy

鼻咽癌(Nasopharyngeal carcinoma, NPC)是我国南方地区发生率较高的恶性肿瘤,居于头颈部肿瘤发病率首位^[1]。NPC对放疗较为敏感,首选放射治疗,放疗后5年生存率达59.0%~76.1%^[2]。局部复发和远处转移仍是NPC放疗失败的主要原因^[3]。NPC局部复发多发生在治疗后3年内,若早期诊治仍可获得较好预后,尤其挽救性手术的介入,使复发性NPC患者的疗效有了明显提高。鼻内镜手术可较完整切除NPC放疗后复发病变,是治疗复发性NPC安全、有效的术式。研究证实,可溶性标准CD44(Soluble CD44 standard, sCD44s)、巨噬细胞炎性蛋白-3 α (Macrophage inflammatory protein-3 α , MIP-3 α)作为NPC辅助诊断指标有一定临床意义,且与NPC复发、转移及预后有关^[4]。本研究首次进行复发性NPC患者血清sCD44s、MIP-3 α 水平变化及与经鼻内镜治疗疗效的相关研讨,旨在为复发性NPC早期诊治及疗效、预后评估提供参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2021年1月东莞市人民医院耳鼻咽喉科26例复发性NPC患者作为观察组,另选取26例NPC治疗后放射性颅底骨坏死患者(无复发)作为对照组。根据美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)分期标准^[5]分为T分期、N分期、临床分期。其中观察组T分期:T1期6例、T2期7例、T3期8例、T4期5例;N分期:N0期10例、N1期8例、N2期6例、N3期2例;临床分期:I期6例、II期5例、III期10例、IV期5例;对照组:T分期:T1期12例、T2期9例、T3期3例、T4期2例;N分期:N0期11例、

N1期10例、N2期4例、N3期1例;临床分期:I期11例、II期8例、III期5例、IV期2例;纳入标准:均经活检病理证实为NPC^[6];观察组为首次放疗后复发,行鼻内镜治疗;所有患者及家属知情同意。排除标准:经淋巴结转移或全身远处转移;严重凝血功能障碍;严重肝、肾、心功能不全;体质差或年老患者无法耐受手术。本研究经医院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

血清sCD44s、MIP-3 α 水平检测:初治前及入组24h内抽取外周静脉血5mL,离心(半径8cm, 3500 r/min, 9 min),取血清,采用酶联免疫吸附法检测sCD44s(Bender MedSystems公司试剂盒)、MIP-3 α (USCN公司试剂盒)。

鼻内镜治疗:①病变局限鼻咽腔:术前鼻腔冲洗、抗炎、镇静用药。平卧位,气管插管全麻,0.1%肾上腺素棉片使鼻腔黏膜充分收缩,距复发灶0.5cm切开黏膜至骨质(电刀),沿切口剥离黏膜(神经剥离离子),全部切除复发病灶及其他组织。术毕行后鼻孔填塞。②鼻腔或鼻窦病变:0.1%肾上腺素棉片收缩双侧鼻腔黏膜,鼻内窥镜定位肿物并将其切除,刮匙搔刮窥内至无肿物残留。冲洗鼻腔,行鼻腔或鼻道填塞。

1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 描述,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,两组间用 t 检验;影响因素采用Logistic回归分析;采用Spearman分析相关性;评估价值采用受试者工作特征(ROC)曲线,获取AUC、置信区间、敏感度、特异度及cut-off值,联合预测实施Logistic二元回归拟合,返回预测概率 $\text{logit}(p)$,将其作为独立检验变量。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料、血清 sCD44s、MIP-3 α 水平变化

两组年龄、T分期、N分期、临床分期及初治后血清 sCD44s、MIP-3 α 水平相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组临床资料、血清 sCD44s、MIP-3 α 水平变化
[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Clinical data, serum LEVELS of sCD44s and MIP-3 α in the two groups [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

指标	观察组 ($n=26$)	对照组 ($n=26$)	χ^2/t 值	P 值
性别				
男	20(76.92)	21(80.77)	0.115	0.734
女	6(23.08)	5(19.23)		
年龄				
<50岁	14(53.85)	22(84.62)	5.778	0.016
≥ 50 岁	12(46.15)	4(15.38)		
T分期				
T1、T2	13(50.00)	21(80.77)	5.438	0.020
T3、T4	13(50.00)	5(19.23)		
N分期				
N0、N1	18(69.23)	24(92.31)	4.457	0.035
N2、N3	8(30.77)	2(7.69)		
临床分期				
I、II	11(42.31)	19(73.08)	5.042	0.025
III、IV	15(57.69)	7(26.92)		
sCD44s ($\mu\text{g/L}$)				
初治前	549.74 $\pm$ 56.19	537.39 $\pm$ 50.25	0.835	0.408
初治后	584.31 $\pm$ 60.25	480.25 $\pm$ 78.43	5.365	<0.001
MIP-3 α (pg/mL)				
初治前	87.68 $\pm$ 25.25	83.27 $\pm$ 24.92	0.634	0.529
初治后	92.47 $\pm$ 30.06	53.56 $\pm$ 17.12	5.735	<0.001

2.2 复发性 NPC 影响因素分析

Logistic 回归分析,可知年龄、T分期、N分期、临床分期、初治后血清 sCD44s、MIP-3 α 水平均为复发性 NPC 影响因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 血清 sCD44s、MIP-3 α 水平与临床病理特征的关系

复发性 NPC 患者初治后血清 sCD44s、MIP-3 α

水平在 T分期、N分期及临床分期方面相比,差异有统计学意义($P<0.05$),经 Spearman 进行相关性分析得出,复发性 NPC 患者初治后血清 sCD44s、MIP-3 α 水平与 T分期、N分期及临床分期呈正相关关系($P<0.05$)。见表3,图1。

表3 血清 sCD44s、MIP-3 α 水平与临床病理特征的关系
Table 3 The relationship between serum LEVELS of sCD44s and MIP-3 α and clinicopathological features

指标	n	sCD44s ($\mu\text{g/L}$)	t 值	P 值	MIP-3 α (pg/mL)	t 值	P 值
T分期							
T1、T2	13	565.94 $\pm$ 46.41	2.096	0.047	89.17 $\pm$ 18.13	2.425	0.023
T3、T4	13	602.68 $\pm$ 42.89			107.77 $\pm$ 20.89		
N分期							
N0、N1	18	570.26 $\pm$ 47.24	2.190	0.039	92.72 $\pm$ 17.69	2.693	0.013
N2、N3	8	615.92 $\pm$ 53.25			114.08 $\pm$ 20.85		
临床分期							
I、II	11	554.36 $\pm$ 48.61	2.577	0.017	87.31 $\pm$ 21.36	2.188	0.039
III、IV	15	606.37 $\pm$ 52.37			106.65 $\pm$ 22.89		

2.4 血清 sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后)对复发性 NPC 的预测价值

绘制 ROC 曲线,发现血清 sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后)联合预测复发性 NPC 的 AUC 最大,为 0.939,具有良好预测效能,最佳敏感度、特异度分别为 80.77%、96.15%。见图2。

2.5 联合预测阳性、阴性患者经鼻内镜治疗远期疗效对比

联合预测阳性患者1年病死率高于阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表2 复发性 NPC 影响因素分析

Table 2 Analysis of influencing factors of recurrent NPC

因素	赋值	β 值	S.E. 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
年龄	<50岁=1, ≥ 50 岁=2	1.404	0.331	17.990	4.071	2.745~6.038	<0.05
T分期	T0-T2=1, T3-T4=2	1.535	0.327	22.041	4.642	3.025~7.124	<0.05
N分期	N0-N1=1, N2-N3=2	1.466	0.319	21.106	4.330	2.982~6.287	<0.05
临床分期	I-II期=1, III-IV期=2	1.555	0.302	26.512	4.735	3.145~7.129	<0.05
sCD44s(初治后)	$\leq$ 平均值=1, $>$ 平均值=2	1.659	0.325	26.056	5.254	3.025~9.125	<0.05
MIP-3 α (初治后)	$\leq$ 平均值=1, $>$ 平均值=2	1.611	0.320	25.342	5.007	3.124~8.026	<0.05

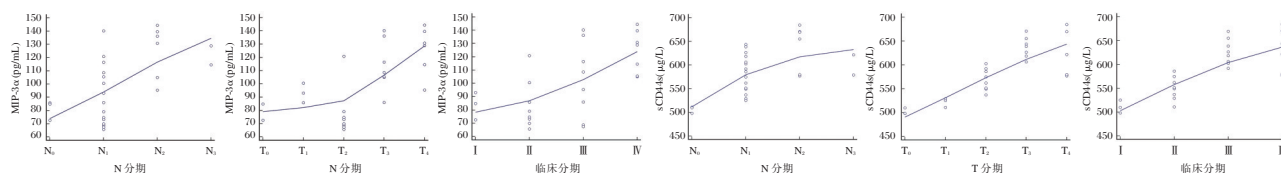


图1 血清 MIP-3 α 、sCD44s 与临床病理特征的关系

Figure 1 The relationship between miP-3 α , sCD44s and clinicopathological features

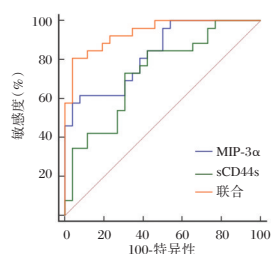


图2 血清sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后)对复发性NPC的预测价值

Figure 2 The predictive value of serum sCD44s and MIP-3 α levels (after initial treatment) for recurrent NPC

表4 联合预测阳、阴性患者经鼻内镜治疗远期疗效对比 [n(%)]

Table 4 Comparison of long-term efficacy of nasal endoscopy combined with prediction of positive and negative patients [n(%)]

联合预测	n	6个月病死率	1年病死率
阳性	22	2(9.09)	6(27.27)
阴性	30	0(0.00)	1(3.33)
t值			4.358
P值		0.174	0.037

3 讨论

NPC首选放射治疗,但局部复发是放射失败的主要原因之一,研究报道,NPC首程放疗后5年累计复发率为8.2%~22.0%^[7]。早诊断、早治疗是人们对肿瘤治疗的一种共识。而如何及时有效地监测及评估NPC放疗后局部复发是亟待解决的课题。

广泛的良性淋巴细胞浸润是NPC重要病理特征^[8]。目前,肿瘤浸润淋巴细胞特征尚未阐明,但在NPC微环境中肿瘤细胞与肿瘤浸润淋巴细胞的交互作用可能与肿瘤形成密切相关,而细胞因子在此交互作用中可能发挥关键介导作用。有证据显示,趋化性细胞因子可通过促进血管生成、吸引内皮细胞、影响癌细胞移动性等方式,在肿瘤生长、增殖、转移中起重要作用^[9]。MIP-3 α 属CC亚族的趋化性细胞因子,可诱导白细胞在炎症反应部位聚集,通过淋巴组织调节白细胞通量,参与多种恶性肿瘤发生、发展。本研究数据提示MIP-3 α 参与NPC放疗后局部复发。进一步分析发现,复发性NPC患者初治后血清MIP-3 α 水平与T分期、N分期及临床分期呈正相关关系。浸润T淋巴细胞可能通过分泌细胞因子、膜结合配体促进肿瘤

生长;同时,瘤内调节性T淋巴细胞可增强局部免疫抑制,促进NPC细胞逃避抗肿瘤免疫应答^[10]。CCL20基因编码的MIP-3 α 蛋白是未成熟树突状细胞、T细胞强有力的趋化物^[11]。此可能为MIP-3 α 促进NPC复发灶进展的重要机制之一。

CD44s是具有高度异质性的细胞表面跨膜糖蛋白,通过与细胞外基质中的络氨酸激酶受体、胶原蛋白、透明质酸、血管内皮细胞、肝细胞生长因子等的黏附,介导细胞增殖分化、粘附迁移,在恶性肿瘤发生发展中发挥重要作用^[12]。本研究数据提示CD44s参与复发性NPC发生、进展。孙德宇等^[13]研究显示,CD44表达与NPC淋巴结转移有关,且CD44 mRNA高表达提示转移淋巴结对放疗敏感性较差。推测CD44s高表达可能为复发性NPC放射性抵抗的原因之一。鉴于上述结论,本研究创新性采用血清sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后)对复发性NPC进行联合预测,ROC曲线显示,联合预测AUC达0.939,高于单独预测,具有良好预测效能。临床可同时检测血清sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后),为NPC复发预测提供更全面、可靠的参考信息。

复发性NPC治疗手段有限,再次放疗存在放疗抵抗,5年生存率仅12.6%~22.3%,且再程需加大放射剂量,可导致严重耳、口、眼、鼻及颅脑并发症^[14]。而挽救性手术不仅直接切除射线不敏感甚至抗拒病灶,且后遗症较放疗后后遗症显著减轻,是复发性NPC患者的理想选择^[15]。鼻内镜手术克服了传统手术创伤大、显露不满意等缺点,具有视野清晰、结构损伤少、术后恢复快等优点,提高全切率及手术安全性,改善患者预后^[16]。本研究发现,NPC患者经鼻内镜治疗后,联合预测阳性者1年病死率高于阴性患者,提示sCD44s、MIP-3 α 水平(初治后)对NPC患者预后具有一定预测价值,以指导临床治疗,改善患者预后。

综上所述,初治后血清sCD44s、MIP-3 α 与NPC复发及临床病理特征有关,联合检测可有效预测复发性NPC,且对NPC经鼻内镜治疗疗效具有一定预测价值,对临床治疗具有指导意义。

参考文献

- [1] Liu Y, Feng J, Zhao M, et al. JNK pathway inhibition enhances chemotherapeutic sensitivity to Adriamycin in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2):1790-1794.

(下转第622页)

PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 在 IVIG 无反应川崎病中表达及意义

牛冬春^{1*} 吴岫¹ 宋玉莹²

〔摘要〕 目的 分析无反应性川崎病(KD)患儿外周血中性粒细胞计数(PBN)、C反应蛋白(CRP)、可溶性CD40配体(sCD40L)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)水平变化及对并发冠状动脉病变(CAL)的预测价值。方法 选取2016年5月至2021年5月河南红阳工业有限责任公司职工医院KD患儿118例,根据IVIG治疗反应性分为IVIG无反应组($n=22$)与IVIG敏感组($n=96$),另选取同期60例健康儿童为健康对照组,比较3组外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平,根据有无并发CAL将IVIG无反应组分为并发CAL患儿、无CAL患儿,比较两组外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平,评价上述外周血各指标对IVIG无反应KD并发CAL的预测价值。结果 外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平比较:IVIG无反应组>IVIG敏感组>健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);VIG无反应组CAL发生率高于IVIG敏感组,差异有统计学意义($\chi^2=8.005, P=0.005$);IVIG无反应组并发CAL患儿外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平高于无CAL患儿,差异有统计学意义($P<0.05$);外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF联合的AUC为0.968,优于单一诊断($P<0.05$)。结论 IVIG无反应KD患儿外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平过度高表达,联合检测上述指标水平可为临床评估IVIG治疗效果、预测并发CAL提供参考依据。

〔关键词〕 川崎病;中性粒细胞计数;C反应蛋白;可溶性CD40配体;粒细胞集落刺激因子;冠状动脉病变

Expression and significance of PBN, CRP, sCD40L and G-CSF in IVIG-unresponsive Kawasaki disease

NIU Dongchun^{1*}, WU Shen¹, SONG Yuying²

(1. Department of Pediatrics, staff hospital of Henan Hongyang Industry Co., Ltd., Nanyang, Henan, China, 474678; 2. Laboratory Department of staff hospital of Henan Hongyang Industry Co., Ltd., Nanyang, Henan, China, 474678)

〔ABSTRACT〕 **Objective** To analyze the changes in the levels of peripheral blood neutrophil count (PBN), C-reactive protein (CRP), soluble CD40 ligand (sCD40L), and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in children with intravenous immunoglobulin (IVIG) anergy Kawasaki disease (KD) and its predictive value for complicated coronary artery lesions (CAL). **Methods** A total of 118 children with KD in staff hospital of Henan Hongyang Industry Co., Ltd. from May 2016 to May 2021 were selected and divided into IVIG anergy group ($n=22$) and IVIG sensitive group ($n=96$) according to the IVIG treatment response. In addition, 242 healthy children during the same period were selected as healthy control group. The levels of PBN, CRP, sCD40L, and G-CSF in the peripheral blood of the three groups were compared. According to the presence or absence of CAL, the anergy components of IVIG were divided into children with CAL and children without CAL. The baseline data, peripheral blood PBN, CRP, sCD40L, and G-CSF levels were com-

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201504011)

作者单位:1. 河南红阳工业有限责任公司职工医院儿科,河南,南阳 474678

2. 河南红阳工业有限责任公司职工医院检验科,河南,南阳 474678

*通信作者:牛冬春, E-mail: niudongchun@163.com

pared. The predictive value of the above-mentioned peripheral blood indicators on IVIG anergy KD complicated by CAL was evaluated. **Results** Comparison of the levels of PBN, CRP, sCD40L and G-CSF in peripheral blood: IVIG anergy group>IVIG sensitive group>healthy control group ($P<0.05$). The incidence of CAL in the IVIG anergy group was higher than in the IVIG sensitive group ($\chi^2=8.005, P=0.005$). The levels of PBN, CRP, sCD40L, and G-CSF in the peripheral blood of children with CAL in the IVIG anergy group were higher than those of children without CAL ($P<0.05$). The AUC of peripheral blood PBN, CRP, sCD40L and G-CSF in the combined prediction of IVIG anergy KD children with CAL was the largest, which was 0.968 ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of PBN, CRP, sCD40L, and G-CSF in the peripheral blood of children with IVIG anergy KD are overexpressed. The combined detection of the above index levels can provide a reference for clinical evaluation of IVIG treatment effects and prediction of concurrent CAL.

[**KEY WORDS**] KD; PBN; CRP; sCD40L; G-CSF; CAL

川崎病(Kawasaki disease, KD)是一种好发于≤5岁婴幼儿的自身免疫性血管炎综合征^[1-2],静脉注射大剂量丙种球蛋白(intravenous immunoglobulin, IVIG)是其主要治疗手段,但仍有10%~20%患儿对首次IVIG治疗无效,易并发冠状动脉病变(coronary artery lesions, CAL)^[3-4]。相关研究认为^[5],KD所致CAL是儿童后天性心脏病发生最常见因素,亦是成人缺血性心脏病发生率升高重要原因。因此,如何抑制CAL发生、增强临床治疗效果是目前儿科医生亟需解决的问题。资料显示,CAL是由免疫细胞活化、炎症介质失衡、血管内皮细胞凋亡等因素所致^[6-7],可能受中性粒细胞计数(Peripheral number of neutrophil, PBN)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、可溶性CD40配体(soluble CD40 ligand, sCD40L)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)等细胞因子影响。但目前临床关于外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平联合预测KD并发CAL报道较少。本研究尝试分析IVIG无反应性KD患儿外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平变化及对并发CAL的预测价值,旨在为临床拟定相应治疗方案、促进预后改善提供循证支持。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取2016年5月至2021年5月河南红阳工业有限责任公司职工医院KD患儿118例,根据IVIG治疗反应性分为IVIG无反应组($n=22$)与IVIG敏感组($n=96$),另选取同期60例健康儿童为健康对照组。其中IVIG无反应组:女6例,男16例,年龄平均(3.28 ± 0.69)岁;IVIG敏感组:女30例,男66例,年龄平均(3.32 ± 0.71)岁;健康对照组:女12例,男48例,年龄平均(3.35 ± 0.62)岁。3组年龄、性别

等基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本院伦理委员会经审核评议同意本研究,所有研究对象监护人均知情同意。

纳入标准:①IVIG无反应组、IVIG敏感组均符合KD诊断标准^[8],且就诊前均未接受IVIG、阿司匹林等药物治疗;符合以下至少1项临床表现者即可判断为IVIG无反应:发病10 d内接受首次IVIG治疗2 d后,体温仍 $>38^{\circ}\text{C}$ 或治疗后2~7 d(甚至2周)内再次发热;②健康对照组体检及询问病史后无其他任何急、慢性疾病。排除标准:①合并自身免疫系统疾病或严重感染性疾病者;②近12周内有关节炎治疗史者;③合并肝肾等重要脏器器质性病变者。

1.2 方法

外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF检测:治疗前空腹取外周血8 mL,其中一管3 mL,乙二胺四乙酸二钾抗凝,采用全自动血细胞分析仪测定PBN;另一管5 mL,常规离心处理[$1\ 200\times g$ 离心12 min(离心半径10 cm)],取上清液, -80°C 低温保存。采用上海江莱生物科技有限公司酶联免疫吸附法试剂盒测定血清sCD40L、G-CSF水平;采用北京美康基因科学股份有限公司免疫比浊法试剂盒测定血清CRP水平。

治疗方法:KD患儿初始均予以静脉注射IVIG(2 g/kg ,持续1 d或 1 g/kg ,持续2 d)联合阿司匹林($30\sim50\text{ mg/kg}$)治疗,确认IVIG无反应性后每日静脉注射 $2\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{次})$ 甲泼尼龙治疗,持续3 d。

KD并发CAL相关情况:IVIG无反应组、IVIG敏感组均进行二维超声心动图检查,统计IVIG无反应组、IVIG敏感组并发CAL情况,其中CAL诊断标准^[8]:冠脉直径 $<4\text{ mm}$ 或冠脉与主动脉比值(Coronary artery/aorta, CA/AO) >0.16 或冠脉局部内径较邻近处扩大 ≥ 1.5 倍表示单纯冠状动脉扩张;

冠脉直径 5~8 mm 或 CA/AO 值为 0.3~0.6 或呈瘤样扩张提示冠状动脉瘤。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据统计。计量资料用($\bar{x} \pm s$)描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用 SNK-q 检验,两组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示、 χ^2 检验;采用 Logistic 多因素回归分析 IVIG 无反应性 KD 并发 CAL 的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线,检验外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 水平单一及联合对 IVIG 无反应性 KD 并发 CAL 的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组外周血各指标水平

三组外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 水平比较:IVIG 无反应组>IVIG 敏感组>健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PBN ($\times 10^9/L$)	CRP (mg/L)	sCD40L (ng/mL)	G-CSF ($\mu g/L$)
IVIG 无反应组	22	10.60 $\pm$ 3.72	76.59 $\pm$ 12.87	28.31 $\pm$ 5.25	705.84 $\pm$ 149.67
IVIG 敏感组	96	8.76 $\pm$ 2.84	54.84 $\pm$ 8.69	19.62 $\pm$ 3.96	575.59 $\pm$ 103.84
健康对照组	60	4.85 $\pm$ 1.77	7.64 $\pm$ 2.05	7.71 $\pm$ 2.19	267.18 $\pm$ 49.83
F 值		205.226	3568.631	1158.607	971.881
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 IVIG 无反应组与 IVIG 敏感组 CAL 发生情况

IVIG 无反应组 CAL 发生率 31.82% 高于 IVIG 敏感组 15.63%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 IVIG 无反应组有无并发 CAL 患儿外周血各指标水平

IVIG 无反应组并发 CAL 患儿外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 水平高于无 CAL 患儿, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 IVIG 无反应组有无并发 CAL 患儿外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of peripheral blood PBN, CRP, sCD40L and G-CSF levels in children with or without CAL in IVIG non-responding group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PBN($\times 10^9/L$)	CRP(mg/L)	sCD40L (ng/mL)	G-CSF($\mu g/L$)
并发 CAL 患儿	4	13.37 $\pm$ 4.49	105.98 $\pm$ 32.74	39.78 $\pm$ 12.45	846.79 $\pm$ 153.61
无 CAL 患儿	18	9.24 $\pm$ 2.85	62.37 $\pm$ 17.09	22.74 $\pm$ 8.19	637.38 $\pm$ 114.89
t 值		4.037	6.338	5.907	5.510
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 IVIG 无反应组与敏感组 CAL 发生情况比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of the incidence of CAL between the IVIG non-responsive group and the IVIG sensitive group

组别	n	单纯冠状动脉扩张	冠状动脉瘤	总发生率
IVIG 无反应组	22	5(22.73)	2(9.09)	7(31.82)
IVIG 敏感组	96	13(13.54)	2(2.08)	15(15.63)
χ^2 值				8.005
P 值				0.005

2.4 IVIG 无反应性 KD 患儿并发 CAL 的影响因素

以 IVIG 无反应性 KD 并发 CAL 为因变量, 0=无, 1=有; 纳入发热持续时间、白细胞计数、外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 作为自变量, 采用非条件逐步回归分析, 结果显示, 发热持续时间 ≥ 10.13 d、白细胞计数 $\geq 14.79 \times 10^9/L$ 、PBN $\geq 10.59 \times 10^9/L$ 、CRP ≥ 76.59 mg/L、sCD40L ≥ 28.31 ng/ml、G-CSF ≥ 705.84 $\mu g/L$ 是 IVIG 无反应性 KD 并发 CAL 的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 外周血各指标对 IVIG 无反应性 KD 并发 CAL 的预测价值

外周血 PBN、CRP、sCD40L、G-CSF 联合的 AUC 为 0.968, 优于单一诊断($P < 0.05$)。见表 5、图 1。

3 讨论

PBN 具有强大的吞噬杀菌作用, 可识别并结合吞噬物质, 杀伤并降解病原体^[9]。G-CSF 是一种促细胞增殖因子, 主要产生于骨髓基质细胞, 不仅可与 PBN 结合, 产生生物效应, 调控机体 PBN 增殖、分化及释放, 还能介导多种白介素释放, 加剧机体炎症反应^[10]。本研究结果说明 PBN、G-CSF 相互影响、相互诱导, 在 KD 患儿 IVIG 治疗中起着重要作用。另外, 尹薇等^[11]研究指出, G-CSF 有望成为预测 CAL 指标之一。本研究通过对比表明, IVIG 无反应 KD 并发 CAL 患儿外周血 PBN、G-CSF 水平高于无 CAL 患儿, 考虑这可能是由于外周血 PBN、G-CSF 水平表达上调会增加白介素 1、

表4 IVIG无反应性KD患儿并发CAL影响因素的Logistic回归方程分析

Table 4 Logistic regression equation analysis of the influencing factors of CAL in children with IVIG-unresponsive KD

	影响因素	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	P值
发热持续时间	<10.13 d				1.000		
	≥ 10.13 d	0.668	0.280	5.693	1.950	1.172~3.246	0.009
白细胞计数	<14.79 $\times 10^9$ /L				1.000		
	$\geq 14.79 \times 10^9$ /L	0.724	0.239	9.169	2.062	1.346~3.159	<0.001
PBN	<10.59 $\times 10^9$ /L				1.000		
	$\geq 10.59 \times 10^9$ /L	0.653	0.246	7.041	1.921	1.274~2.896	<0.001
CRP	<76.59 mg/L				1.000		
	≥ 76.59 mg/L	0.758	0.275	7.591	2.133	1.420~3.205	<0.001
sCD40L	<28.31 ng/mL				1.000		
	≥ 28.31 ng/mL	0.654	0.252	6.734	1.923	1.185~3.121	<0.001
G-CSF	<705.84 μ g/L				1.000		
	≥ 705.84 μ g/L	0.679	0.261	6.771	1.972	1.285~3.027	<0.001

表5 ROC分析结果

Table 5 ROC analysis results

指标	AUC	95% CI	cut-off值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
PBN	0.793	0.658~0.893	>10.41 $\times 10^9$ /L	82.35	74.29	<0.001
CRP	0.812	0.679~0.907	>94.88 mg/L	70.59	91.43	<0.001
sCD40L	0.800	0.666~0.898	>38.52 ng/ml	58.82	88.57	<0.001
G-CSF	0.850	0.724~0.934	>706.81 μ g/L	88.24	68.57	<0.001
联合	0.968	0.878~0.997		94.12	94.29	<0.001

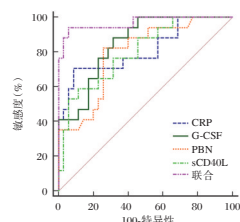


图1 外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF对IVIG无反应性KD并发CAL的预测价值

Figure 1 The predictive value of peripheral blood PBN, CRP, sCD40L and G-CSF in IVIG-unresponsive KD complicated with CAL

肿瘤坏死因子- α 等多种炎性细胞因子,分泌大量黏附分子与趋化因子,诱导血小板聚集、黏附于受损血管表面,介导血管壁免疫损伤反应,引起血管内皮损伤,从而增加CAL发生风险。推测抑制外周血PBN、G-CSF表达可能是降低IVIG无反应性KD并发CAL风险的重要途径,但具体作用机制有待今后多中心研究证实。

CRP作为一种炎症标志物,在机体组织受损或感染时可显著增加,有研究指出,其可直接参与炎症与心血管病变过程^[12]。sCD40L是炎症反应过程中重要信号传导因子,广泛存在于活化的血小板,通过与其相应受体结合,可参与免疫、炎症反应启动与调控过程^[13]。本研究数据表明,外周

血CRP、sCD40L水平在IVIG无反应性KD患儿中异常高表达,可能与外周血CRP、sCD40L升高一定程度会加重机体炎症反应,导致IVIG抵抗有关。另外,有学者认为^[14],CRP、sCD40L与冠状动脉损伤程度均存在密切联系。且刘奇峰等^[15]研究指出,CRP ≥ 100 mg/L是KD患儿并发CAL的独立危险因素,但关于外周血sCD40L在KD并发CAL中的作用机制临床尚未明确。本研究经Logistic多因素回归分析结果佐证了外周血CRP、sCD40L可能参与IVIG无反应性KD并发CAL病理进程。但ROC曲线分析发现,外周血CRP、sCD40L预测IVIG无反应性KD患儿并发CAL的敏感度分别为70.59%、58.82%,均较低,可见仅用CRP、sCD40L单项指标预测并发CAL存在一定限制。为进一步提高预测效能,本研究绘制联合ROC曲线提示早期共同检测外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF有望成为临床预测IVIG无反应性KD并发CAL的潜在有效途径,有助于指导临床针对性治疗。另外,李腾^[16]通过回顾性分析245例KD患儿临床资料还发现,白细胞计数升高亦是KD发生CAL的危险因素,支持本研究观点,故在评估IVIG无反应性KD并发CAL影响因素时,还应将白细胞计数纳入考虑范围内,以减少数据偏倚。

综上所述,IVIG无反应KD患儿外周血PBN、CRP、sCD40L、G-CSF水平过度高表达,联合检测上述指标水平可为临床评估IVIG治疗效果、预测并发CAL提供参考依据。

参考文献

- [1] 杨艳章,王莉,杨艳芳,等.川崎病患儿并发冠状动脉病变相关危险因素与治疗分析[J].中国妇幼保健,2019,34

- (14):3244-3246.
- [2] Marchesi A, Rigante D, Cimaz R, et al. Revised recommendations of the Italian Society of Pediatrics about the general management of Kawasaki disease[J]. *Ital J Pediatr*, 2021, 47(1):16.
 - [3] 朱丹颖,宋思瑞,张晗,等. 川崎病丙种球蛋白无反应评分模型的建立与研究[J]. *国际儿科学杂志*, 2018, 45(7):532-536+542.
 - [4] 肖兰. 静脉丙种球蛋白无反应川崎病预测评分系统研究进展[J]. *儿科学杂志*, 2019, 25(2):55-58.
 - [5] Maccora I, Calabri GB, Favilli S, et al. Long-term follow-up of coronary artery lesions in children in Kawasaki syndrome[J]. *Eur J Pediatr*, 2021, 180(1):271-275.
 - [6] 纪建兵,王正军,康云峰. 川崎病患儿冠状动脉损害与血清CRP、MMP-9及NF- κ B的关系[J]. *交通医学*, 2019, 33(3):260-262.
 - [7] 陈芑嫒,杨超,李刚,等. 系统性免疫-炎症指数对川崎病患儿冠脉扩张的预测价值[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(16):2003-2006.
 - [8] McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al. Diagnosis, Treatment, and Long-Term Management of Kawasaki Disease: A Scientific Statement for Health Professionals From the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(17):e927-e999.
 - [9] 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.
 - [10] 李艳,崔婧芳,蔡萍. 胎膜早破患者TIMP-2、G-CSF水平与绒毛膜羊膜炎关系探讨[J]. *中国计划生育学杂志*, 2020, 28(3):428-431+封3.
 - [11] 尹薇,刘亚黎,邓淑珍,等. 川崎病患儿血清细胞因子及外周血中性粒细胞的变化及其在预测冠状动脉损害中的意义[J]. *临床心血管病杂志*, 2005, 21(4):237-238.
 - [12] 王亚洲,黄琴,李小明,等. 川崎病冠状动脉损害与发热持续时间的相关性[J]. *昆明医科大学学报*, 2020, 41(2):87-90.
 - [13] Zhang X, Ding J, Xia S. A preliminary study of MMP-9 and sCD40L in patients with coronary slow flow[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(1):657-663.
 - [14] 梁善福,孙运,陈丰毅,等. 冠心病患者血清Cys-C、ICTP、MMP2、sCD40L水平变化与冠脉病变程度的关系[J]. *中国现代医药杂志*, 2020, 22(2):40-43.
 - [15] 刘奇峰,胡永科,杜欣. 川崎病患儿并发冠状动脉损害情况及影响因素分析[J]. *四川解剖学杂志*, 2019, 27(2):80-82.
 - [16] 李腾. 川崎病患儿并发冠状动脉损害的危险因素分析[D]. 济南:济南大学, 2019.

(上接第617页)

- [2] 王传喜,刘少峰,马俊,等. 鼻咽癌放疗性后鼻孔闭锁的手术治疗及术后复发相关因素分析[J]. *中国眼耳鼻喉科杂志*, 2018, 18(6):416-419.
- [3] Yeung D, Yeung Z, Wong E, et al. Neck lymph node status on survival of regionally recurrent or persistent nasopharyngeal carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):5622.
- [4] 王力福. 消癌平注射液联合顺铂和卡培他滨治疗局部晚期鼻咽癌的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(3):719-723.
- [5] 洪英极. 验证鼻咽癌AJCC/UICC第八版分期系统及新分期建议[D]. 汕头:汕头大学, 2020.
- [6] 孙笑晗,李娜. 西班牙医学肿瘤学会鼻咽癌临床指南(2017)介绍[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2019, 033(2):57-59.
- [7] You R, Liu YP, Lin DC, et al. Clonal Mutations Activate the NF- κ B Pathway to Promote Recurrence of Nasopharyngeal Carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(23):5930-5943.
- [8] 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.
- [9] Qiao N, Wang L, Wang T, et al. Inflammatory CXCL12CXCR4/CXCR7 axis mediates G-protein signaling pathway to influence the invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6):8169-8179.
- [10] 金光裕,岳艳. 巨噬细胞阳性蛋白-3 α 、半胱氨酸蛋白酶抑制剂A及前梯度蛋白-2在鼻咽癌患者中的表达及预后判断[J]. *中国眼耳鼻喉科杂志*, 2020, 20(4):316-320.
- [11] 郭小琦,刘宏涛,梁英平. 小细胞肺癌组织中MIP-3 α 和CCR6表达与术后复发转移及预后的关系[J]. *医学分子生物学杂志*, 2019, 16(6):575-581.
- [12] 王娟,宋伟国,申震,等. 宫颈鳞癌中CD44分子变异体的表达分析[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(5):691-695.
- [13] 孙德宇,李霞,王海东,等. CD44表达与鼻咽癌淋巴结转移及放疗敏感性关系研究[J]. *中国肿瘤*, 2011, 20(6):469-472.
- [14] Hu CY, Huang SF, Ho WL, et al. Nasopharyngeal carcinoma with mastoid recurrence after concurrent chemoradiotherapy masquerading as acute otomastoiditis[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2017, 44(6):754-757.
- [15] 李明,蔡晶,储开岳,等. 基于X线容积成像技术探讨在线红外定位系统在鼻咽癌放射治疗中的应用价值[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2020, 26(1):45-50.
- [16] 毛晓春,项洋锋,姜琳,等. 31例局部复发鼻咽癌的鼻内镜手术治疗及预后影响因素分析[J]. *中国医师杂志*, 2018, 20(8):1159-1163.

• 论 著 •

血清 CYFRA21-1、TSGF 及 miR-93 检测在鼻咽癌早期诊断中的应用

柳帅¹ 王振鹏¹ 张治文² 宋照营^{1*}

【摘要】 目的 分析血清细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、恶性肿瘤特异性生长因子(TSGF)、微小 RNA-93(miR-93)检测在鼻咽癌早期诊断中的应用价值。**方法** 选取 2018 年 6 月至 2020 年 6 月于安阳市中医院接受诊疗的 78 例早期鼻咽癌患者为鼻咽癌组,根据鼻咽癌临床分期标准分为 I 期 48 例、II 期 30 例。另选取同期的 78 例鼻咽炎患者为鼻咽炎组,选取同期体检的 78 例健康人为对照组。比较各组血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 水平,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析其诊断价值。**结果** CYFRA21-1、TSGF、miR-93 水平:鼻咽癌组>鼻咽炎组>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。II 期血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 水平高于 I 期,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 联合诊断鼻咽癌 AUC 为 0.938,敏感度、特异度分别为 91.03%、85.90%,高于单一指标诊断($P<0.05$)。**结论** 血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 均可作为早期鼻咽癌的血清标志物,联合三者检测可进一步提升早期鼻咽癌的诊断效能,为鼻咽癌的早期诊断提供可靠的诊断依据。

【关键词】 鼻咽癌;细胞角蛋白 19 片段;恶性肿瘤特异性生长因子;微小 RNA-93

Application of serum CYFRA21 - 1, TSGF and miR - 93 in the diagnosis of early nasopharyngeal carcinoma

LIU Shuai¹, WANG Zhenpeng¹, ZHANG Zhiwen², SONG Zhaoying^{1*}

(1. Department of Otolaryngology, Anyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Anyang, Henan, China, 455000; 2. Department of Laboratory Medicine, Anyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Anyang, Henan, China, 455000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the application value of serum cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1), tumor specific growth factor (TSGF) and microRNA-93 (miR-93) in the diagnosis of early nasopharyngeal carcinoma. **Methods** 78 patients with early nasopharyngeal carcinoma who were diagnosed and treated in Anyang Hospital of Traditional Chinese Medicine between June 2018 and June 2020 were selected as nasopharyngeal carcinoma group, 78 patients with nasopharyngitis were selected as nasopharyngitis group, and 78 healthy adults were selected as the control group. Serum levels of CYFRA21-1, TSGF and miR-93 were compared among the groups, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to analyze the diagnostic value of the three indicators. **Results** The levels of CYFRA21-1, TSGF and miR-93 decreased in order from the nasopharyngeal carcinoma group, the nasopharyngitis group, to the control group, with statistically significant differences among the groups ($P<0.05$). The levels of CYFRA21-1, TSGF and miR-93 were higher in stage II than in stage I, with statistically significant differences ($P<0.05$). ROC curve analysis found that the AUC of combined diagnosis with the three indicators was 0.938, and the sensitivity and specificity were 91.03% and 85.09%, which were higher than those of single diagnosis. **Conclusion** Serum

作者单位:1.安阳市中医院耳鼻喉科,河南,安阳 455000

2.安阳市中医院检验科,河南,安阳 455000

*通信作者:宋照营, E-mail:ls840201@163.com

CYFRA21-1, TSGF and miR-9 can be used as serum markers of early nasopharyngeal carcinoma, especially TSGF. Combined use of the three indicators can further improve the diagnostic efficiency for nasopharyngeal carcinoma.

[KEY WORDS] Nasopharyngeal carcinoma; Cytokeratin 19 fragment; Tumor specific growth factor; MicroRNA-93

鼻咽癌指发生于鼻咽腔顶部和侧壁的恶性肿瘤,是我国常见的恶性肿瘤之一。由于鼻咽癌病理位置隐匿,且早期表现无明显特征,多数患者就诊时已显示转移^[1-2]。目前,临床主要依靠影像学、病理活检、细胞涂片等方式进行检查。研究认为鼻咽癌肿瘤标志物或相关指标有助于早期诊断鼻咽癌^[3]。血清细胞角蛋白 19 片段(cytokeratin 19 fragment, CYFRA21-1)、恶性肿瘤特异性生长因子(tumor specific growth factors, TSGF)是临床常见的血清肿瘤标志物,研究显示鼻咽癌等恶性肿瘤患者具更高的血清 CYFRA21-1、TSGF 水平,两者可作为临床诊断早期鼻咽癌的辅助血清肿瘤标志物^[4-5],但血清 CYFRA21-1、TSGF 诊断早期鼻咽癌的特异度欠佳^[6-7]。

miR-93 是具有调控作用的非编码 RNA,最新研究认为 miR-93 与鼻咽癌肿瘤生成/侵袭/转移、细胞有丝分裂、信号转导通路等紧密相关^[8]。本研究将通过分析 CYFRA21-1、TSG 及 miR-93 检测对早期鼻咽癌的诊断应用价值,以期对早期鼻咽癌的临床诊治提供参考,具体报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 6 月至 2020 年 6 月于安阳市中医院接受诊疗的 78 例早期鼻咽癌患者为鼻咽癌组。纳入标准:①磁共振成像(MRI)检查、病理活检综合确诊早期鼻咽癌;②年龄 ≥ 18 岁;③符合鼻咽癌临床分期标准^[9], I 期 48 例、II 期 30 例;④临床资料完善。排除标准:①合并其他恶性肿瘤疾病;②确诊严重器质性疾病;③确诊神经系统病变;④存在认知障碍。另选取同期 78 例鼻咽炎患者为鼻咽炎组,选取同期体检的 78 例健康成人作为对照组。三组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。本研究符合《赫尔辛基宣言》原则。

1.2 方法

抽取所有受试者空腹肘部静脉血 3 mL,放入 EDTA 抗凝管中,12 000 rpm(离心半径 10 cm)离心处理 15 min 得血清与血浆,将血清置于 -20°C 保

表 1 三组的一般资料比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

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

组别	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)
	男	女		
鼻咽癌组	58(74.35)	20(25.64)	55.16 $\pm$ 5.09	24.98 $\pm$ 2.69
鼻咽炎组	59(75.64)	19(24.35)	56.91 $\pm$ 7.12	24.74 $\pm$ 2.77
对照组	61(78.21)	17(21.79)	55.57 $\pm$ 6.28	24.81 $\pm$ 3.05
F/ χ^2 值	0.856		1.689	0.147
P值	0.214		0.187	0.863

存待测。采用 Elecsys1010 型电化学发光免疫分析仪及其配套试剂盒(瑞士 Roche 公司)检测 CYFRA21-1;采用生化比色法检测 TSGF,试剂盒购于新大陆生物技术有限公司;采用荧光定量 PCR 检测 miR-93 水平,试剂盒购自新大陆生物技术有限公司,引物序列由赛百慷(上海)生物科技股份有限公司合成。

1.3 统计学方法

采用统计学软件 SPSS24.0 分析整理数据,计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(两两比较采用 LSD- t 检验);计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;Logistic 回归分析构建血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 联合诊断模型,模型拟合度采用 Hosmer-Lemeshow 检验,绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析诊断价值,曲线下面积值(area under the ROC curve, AUC)的比较采用非参数检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清指标比较

鼻咽癌组、鼻咽炎组 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 水平均显著高于对照组,且鼻咽癌组 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 水平显著高于鼻咽炎组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.2 早期鼻咽癌患者不同临床分期的血清指标比较

II 期血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 水平高于 I 期($P<0.05$)。见表 3。

表2 三组血清指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of serum indexes of the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CYFRA21-1 (ng/mL)	TSGF (U/L)	miR-93
鼻咽癌组	78	2.70±0.63 ^{ab}	79.14±15.22 ^{ab}	17.06±5.82 ^{ab}
鼻咽炎组	78	1.99±0.49	60.49±18.24	11.58±3.03
对照组	78	1.58±0.35	55.11±15.15	4.05±0.95
F值		98.93	48.88	227.13
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比,^a $P<0.05$;与鼻咽炎组相比,^b $P<0.05$ 。

表3 早期鼻咽癌患者不同临床分期的血清指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of serum indexes among patients with early nasopharyngeal carcinoma in different clinical stages ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CYFRA21-1 (ng/mL)	TSGF (U/L)	miR-93
I期	48	2.43±0.65	75.35±14.29	15.07±5.31
II期	30	3.13±0.62	85.21±16.05	20.25±6.20
t值		4.709	2.827	3.928
P值		<0.001	0.006	<0.001

表4 各项血清指标联合诊断早期鼻咽癌的价值分析

Table 4 Value of the combination of serum indexes in the diagnosis of early nasopharyngeal carcinoma

检测指标	临界值	AUC	敏感度(%)	特异度(%)	95%CI	P值
CYFRA21-1	2.43 (ng/mL)	0.813	85.90	62.82	0.743~0.871	<0.001
TSGF	67.14 (kU·L ⁻¹)	0.820	80.77	74.36	0.750~0.877	<0.001
miR-93	16.3	0.756	53.85	93.59	0.680~0.821	<0.001
联合		0.938	91.03	85.90	0.887~0.970	<0.001

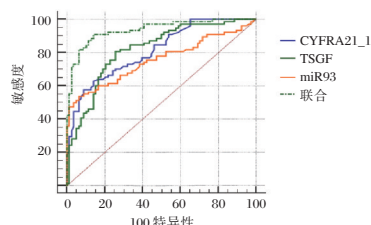


图1 联合诊断早期鼻咽癌的价值

Figure 1 The value of combined diagnosis of early nasopharyngeal carcinoma

的早期诊断一直是临床关注的焦点,于高危鼻咽癌的早发现、早诊断及早治疗有重要意义^[11]。

血清 CYFRA21-1 是指细胞角质蛋白 19 片段,其广泛分布于鳞状上皮和组织表面,正常状态下以寡聚物的形式存在,含量极低。以往研究证实恶性肿瘤患者血清 CYFRA21-1 水平存在异常升高现象^[12]。本研究结果显示,鼻咽癌患者血清 CYFRA21-1 水平显著高于鼻咽炎及健康人群,且 II 期患者血清 CYFRA21-1 水平明显高于 I 期患者,说明鼻咽癌分期越高, CYFRA21-1 水平越高,这与以往报道结论相符^[13]。究其原因,当鳞状上皮组织

2.3 血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 及其联合诊断早期鼻咽癌的价值

ROC 曲线分析显示 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 联合诊断鼻咽癌 AUC 为 0.938,敏感度、特异度分别为 91.03%、85.90%,高于单一指标诊断 ($P<0.05$),见表 4、图 1。

3 讨论

鼻咽癌是我国相对高发的疾病,相关研究显示,早期鼻咽癌患者的 5 年生存率可达 95%,而晚期患者低于 70%,因此早期诊断尤为重要^[10]。目前,鼻咽癌诊断多数为存在临床症状时,通过病理学检查与多聚酶联检查为参考诊断。但早期鼻咽癌临床症状不明显,且病理检查在一定程度上受采样、病变部位等因素影响,存在漏诊、误诊风险。探究可靠的血清肿瘤生物标志物用于鼻咽癌

恶变激活蛋白酶后,激活的蛋白酶可加快降解细胞速度,使细胞中大量角蛋白碎片断释放入血液,导致血清 CYFRA21-1 水平升高。在诊断价值上,本研究 ROC 曲线分析显示 CYFRA21-1 诊断鼻咽癌的灵敏度与特异度分别为 85.90%、62.82%,虽 AUC 高于血清 TSGF、miR-93,但其特异性不甚理想,分析可能与相关上皮起源的肿瘤均可表达细胞角质蛋白 19 片段有关,由此也可见,单一血清 CYFRA21-1 诊断早期鼻咽癌存在局限性。

TSGF 是肿瘤特异性生长因子,与肿瘤细胞及肿瘤细胞周围毛细血管增生密切相关,作为广谱的肿瘤生物标志物,其在乳腺癌、肝癌等多种恶性肿瘤疾病中均有异常高表达现象。本研究结果显示,鼻咽癌组 TSGF 水平显著高于鼻咽炎及健康对照组。随着恶性肿瘤的形成及增殖,TSGF 可逐渐被释放至外周血,因此在恶性肿瘤形成早期 TSGF 便可明显上升^[14]。本研究结果还显示,II 期患者血清 TSGF 水平明显高于 I 期患者,说明鼻咽癌分期越高,TSGF 水平越高。既往研究报道,血清 TSGF 可作为临床监测肿瘤消长的标志物,但 TSGF 监测也

存在一定局限性,其不仅可促进肿瘤血管的增生,对非肿瘤血管同样起到作用^[15]。本研究 ROC 曲线分析结果显示,TSGF 诊断鼻咽癌的特异度相对欠佳,仅为 74.36%,敏感度也仅为 80.77%、74.36%,由此可见,血清 TSGF 虽可作为临床诊断早期鼻咽癌的血清标志物,但其效能仍有提升空间。

miR-93 是临床发现的一种非编码短序小 RNA,其可发挥抑制癌基因的作用,同时作为检测早期癌症的分子标记,其能预测或早期诊断喉鳞癌等肿瘤疾病^[16]。本研究结果显示,鼻咽癌患者的 miR-93 水平显著高于鼻咽炎组及对照组,且伴随肿瘤分期的增加,血清 miR-93 水平显著上升。李中华等^[17]研究也显示 miR-93 在鼻咽癌组织中具有较高表达。既往研究也显示,miR-93 参与鼻咽癌发展进程,促进癌细胞的增殖及侵袭,且可通过靶向上调表皮生长因子与白细胞介素 8 的表达促进肿瘤血管的生成^[18]。在诊断价值上,本研究 ROC 曲线分析显示,miR-93 诊断鼻咽癌的灵敏度与特异度分别为 53.85%、93.59%,虽特异性较高,但敏感度不足 60%。基于不同血清肿瘤生物标志物诊断早期鼻咽癌的优劣势,本研究将血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 进行联合检测,结果显示三者联合诊断鼻咽癌 AUC 上升至 0.938,显著高于单一指标诊断。何平等^[19]研究也联合 VCA-IgA、CEA 及 CYFRA21-1 等指标诊断早期鼻咽癌,认为上述指标联合检测有助于提高诊断效能,这一定程度支持了本研究结论。

综上所述,血清 CYFRA21-1、TSGF、miR-93 均可作为临床诊断早期鼻咽癌的血清肿瘤生物标志物,且上述三种血清指标联合检测可进一步提升诊断效能,弥补单一血清指标辅助诊断的局限性。

参考文献

- [1] 程一鸣,李刚,王振明,等. 血清 miR-196a-5p, miR-105-5p 在良恶性肺结节鉴别诊断中的价值[J]. 国际肿瘤学杂志, 2021, 48(5): 282-286.
- [2] 张海晨,王浩,宋云霄,等. 多项肿瘤标志物联合检测模型在肺癌诊断中的应用价值[J]. 检验医学, 2018, 16(7): 590-596.
- [3] 王强,陈传艳,王东生,等. 血清 HE4、CEA、NSE 和 Cyfra21-1 联合检测在肺癌中的诊断价值[J]. 重庆医学, 2017, 46(26): 3721-3722, 3729.
- [4] Wang J, Jiang W, Zhang T, et al. Increased CYFRA 21-1, CEA and NSE are Prognostic of Poor Outcome for Locally Advanced Squamous Cell Carcinoma in Lung: A Nomogram and Recursive Partitioning Risk Stratification Analysis [J]. Transl Oncol, 2018, 11(4): 999-1006.
- [5] 宋辉,时栋,张溪夏,等. miR-342 靶向 LGR5 对鼻咽癌 CNE-1 细胞增殖与侵袭的影响[J]. 解剖科学进展, 2019, 25(4): 111-114.
- [6] 陈玲玲,林勇,叶小凯,等. 血清 CEA、CYFRA21-1 及 TSGF 在肺癌化疗前后的表达变化及意义[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(12): 1928-1930.
- [7] 孙燕翔,黄建平,杨乐,等. 诊断甲状腺肿瘤过程中实施血清细胞白蛋白 19 片段(CYFRA21-1), 肿瘤特异性生长因子(TSGF)检测的临床意义分析[J]. 临床检验杂志(电子版), 2017, 6(4): 680.
- [8] 金澄宇,杨勇伟. 非小细胞肺癌患者胸腔镜与开胸手术前后血清肿瘤标志物及血浆 miR 相关指标和创伤应激指标变化比较[J]. 生物医学工程与临床, 2018, 22(3): 103-108.
- [9] Nakamura T, Ide H, Eguchi R, et al. CYFRA 21-1 as a tumor marker for squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. Dis Esophagus, 2017, 11(1): 35-39.
- [10] 李伟利,周烈伟. CYFRA21-1, Granulysin, miR-17-5p 和 miR-20a 联合对早期鼻咽癌的诊断价值[J]. 解剖学研究, 2019, 18(4): 274-277.
- [11] Wang WT, Guo CQ, Cui GH, et al. Correlation of plasma miR-21 and miR-93 with radiotherapy and chemotherapy efficacy and prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(37): 5604-5618.
- [12] 索生红,杨永成. 联合检测血清 PG I、PG II、TK1、TSGF、CEA 与 CA724 水平对胃癌的诊断价值[J]. 内科急危重症杂志, 2018, 24(3): 244-247.
- [13] 章凯,王建洪,罗小邹,等. 鼻咽癌易感 TERT 基因的多种靶 microRNA 在鼻咽癌患者血清中表达量变化及其临床诊断价值[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2018, 25(1): 21-24.
- [14] 周小军,周凤姣. 鼻咽癌及其高危者血清肿瘤特异性生长因子表达水平研究[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2018, 26(4): 250-252, 260.
- [15] 王林,纪东,许全一. N-Orsteoc、 β -Crosslaps、TPINP 在鼻咽癌放疗后骨转移中诊断及预后中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11): 1505-1509.
- [16] 时宗芬,张配,鲁星月,等. 下调 miR-205-5p 增强 3-溴丙酮酸对人鼻咽癌 CNE2Z 细胞的凋亡诱导作用[J]. 南方医科大学学报, 2019, 19(10): 1166-1172.
- [17] 李中华. 血清 miR-93 联合 EB 病毒相关免疫球蛋白对鼻咽癌患者调强放疗预后评估价值[J]. 临床军医杂志, 2019, 47(3): 94-96.
- [18] 赵伟曼,董智勇,时宗芬,等. 下调 miR-205-5p 增强鼻咽癌细胞 HNE1/DDP 对顺铂诱导凋亡的敏感性[J]. 药学报, 2019, 54(7): 1200-1206.
- [19] 何平,王丛,雷杰,等. 血清 VCA-IgA、CEA 及 CYFRA21-1 水平与鼻咽癌临床分期的关系[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 14(9): 432-433.

• 论 著 •

血清 E2、P、VEGF 及子宫内膜厚度在异位妊娠早期诊断中的应用

邹丹 周素芳 赵爱琴 张小燕*

【摘要】目的 探究血清雌二醇(E2)、孕酮(P)、血管内皮生长因子(VEGF)及子宫内膜厚度在异位妊娠的水平变化及临床诊断价值。**方法** 选取2019年5月至2021年5月苏州高新区人民医院妇产科收治的疑似异位妊娠孕妇114例为研究对象,其中经病理学或手术检查确诊的79例为病例组,其他35例为对照组。比较两组孕妇血清E2、P、VEGF水平差异,并使用彩色多普勒超声仪测定两组孕妇的子宫内膜厚度,以ROC曲线分析各项指标单独或联合诊断早期异位妊娠的价值。**结果** 病例组孕妇的血清E2、P及子宫内膜厚度低于对照组,VEGF水平显著高于对照组,差异均有统计学意义($t=7.654, P<0.05$)。二元Logistic分析显示,E2、P水平降低,VEGF水平升高及子宫内膜厚度降低均为异位妊娠的危险因素($P<0.05$)。ROC显示,E2、P、VEGF、子宫内膜厚度对异位妊娠诊断的AUC分别为0.795、0.904、0.838、0.861,四项联合检测的AUC为0.978,敏感度、特异度为100%、85.7%,优于单一检测($P<0.05$)。**结论** 异位妊娠孕妇血清E2、P、VEGF检测及子宫内膜厚度的检查对疾病的早期诊断具价值较高,四者联合诊断的敏感度及特异性更高。

【关键词】 异位妊娠; 子宫内膜厚度; 雌二醇; 孕酮; 血管内皮生长因子

Application of serum E2, P, VEGF and endometrial thickness in early diagnosis of ectopic pregnancy

ZOU Dan, ZHOU Sufang, ZHAO Aiqin, ZHANG Xiaoyan*

(Department of Obstetrics & Gynecology, Jiangsu Suzhou High Tech Zone People's Hospital, Suzhou, Jiangsu, China, 215129)

[ABSTRACT] Objective To explore the application value of serum estradiol (E2), progesterone (P), vascular endothelial growth factor (VEGF) and endometrial thickness in the early diagnosis of ectopic pregnancy. **Methods** A total of 114 pregnant women with suspected early ectopic pregnancy who were admitted to the Department of Obstetrics and Gynecology, Suzhou High-tech Zone People's Hospital from May 2019 to May 2021 were selected as the research objects, of which 79 cases were confirmed by pathological or surgical examination as the case group, and the other 35 cases for the control group. The differences in serum E2, P, and VEGF levels of the two groups of pregnant women were detected, and the endometrial thickness of the two groups of pregnant women was measured by Color Doppler ultrasound. The ROC curve was used to analyze the value of each index alone or in combination in diagnosing early ectopic pregnancy. **Results** The serum E2, P and endometrial thickness of pregnant women in the case group were lower than those in the control group, while the level of VEGF was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). Binary Logistic analysis showed that decreased E2 and P levels, increased VEGF level and decreased endometrial thickness were risk factors for ectopic pregnancy ($P<0.05$). The results of ROC curve showed that the AUC of E2, P, VEGF, and endometrial thickness for the diagnosis of ectopic pregnancy were 0.795, 0.904, 0.838, and 0.861, respectively. The AUC of the four combined detection was 0.978, and the sensitivity and specificity

基金项目:苏州高新区人民医院院管科研(SYSD2015065)

作者单位:苏州高新区人民医院妇产科,江苏,苏州 2151129

*通信作者:张小燕, E-mail:gansu197410@163.com

were 100% and 85.7%, better than single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The detection of serum E2, P, VEGF and endometrial thickness in ectopic pregnancy and puerperium have higher value for the early diagnosis of the disease, and the sensitivity and specificity of the combination of the four are higher.

[KEY WORDS] Ectopic pregnancy; Endometrial thickness; E2; P; VEGF

异位妊娠是指受精卵着床于子宫腔外并进行发育的异常妊娠过程,其在妇产科已较为常见^[1]。近年来的数据显示,异位妊娠的发生率渐高,发生后可能引起孕妇下腹部疼痛及出血,严重时可能危及生命,故异位妊娠的早期诊断及治疗尤为重要^[2-3]。临床体征、腹腔镜检查、超声检查及实验室检查等对异位妊娠的诊断价值已得到证实,但均存在一定缺陷^[4]。其中对于症状典型患者通过临床体征、超声及实验室检查等均可确诊,但对于症状不典型者,其诊断的敏感性及其特异性均较低,难以确诊;而腹腔镜检查对异位妊娠诊断的敏感性及其特异性高,但其受限于有创性,难以普及。研究联合超声及实验室检查,分析血清雌二醇(estradiol, E2)、孕酮(progesterone, P)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及子宫内膜厚度在异位妊娠早期诊断中的价值,以期对早期异位妊娠的筛查提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年5月至2021年5月苏州高新区人民医院妇产科收治的疑似异位妊娠孕妇114例为研究对象,其中经病理学或手术检查筛选出79例异位妊娠孕妇为病例组。纳入标准:①符合《中华妇产科学》^[5]中诊断标准;②停经6~8周并伴有下腹隐痛或阴道出血者;③经B超检查未确诊,经随访手术病理检查确诊者;④孕周<10周。排除标准:①严重内分泌疾病者;②子宫畸形者;③合并恶性肿瘤;④严重心肝肾等脏器疾病;⑤精神障碍者。其余35例正常早孕孕妇为对照组,经B超检查可见胎心搏动。两组孕妇年龄、BMI、孕次、产次及孕周等比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会批准,孕妇及家属均知情同意并签署同意书。

1.2 检查方法

血清E2、P、VEGF检测:采集所有受试者肘静脉血5 mL,室温下静置1 h后进行离心,离心半径10 cm,速度3 000 rpm,10 min,完成后取上层血

清,于-80℃保存备测。血清E2、P水平均采用贝克曼DXI800免疫分析系统以放射免疫法测定;血清VEGF水平采用ELISA法检测(试剂盒均购自上海博湖生物科技有限公司)。

子宫内膜厚度:孕妇均行仰卧位,设置探头频率为3.5~5 MHz,检查前中度充盈膀胱,采用飞利浦彩色多普勒超声诊断仪对孕妇下腹部进行多方位检查,详细记录孕子宫大小、宫腔内情况,并测量其子宫内膜厚度。

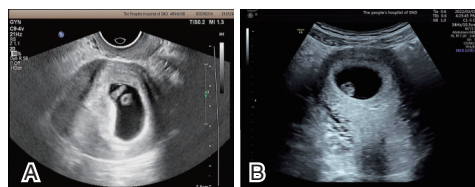
1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0分析数据,计数资料 $n(\%)$ 表示,行交叉表 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行独立样本 t 检验;以ROC曲线评估预测价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕妇B超检查影像图

孕妇B超检查影像图:附件区可找到胎囊样结构,其周围可见到回声较强的蜕膜及滋养层血流,胎囊内发现胎芽及胎心搏动或卵黄囊。见图1。



注:A为B超彩色图;B为B超检查胎心图。

图1 影像图

Figure 1 Hyperimage Fig

2.2 两组孕妇一般资料比较

两组孕妇的年龄、BMI、孕周、初孕妇、经孕妇、既往流产史比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.3 两组孕妇血清学指标及子宫内膜厚度比较

病例组孕妇的血清E2、P水平及子宫内膜厚度均显著低于对照组,VEGF水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.4 两组孕妇多因素回归分析

以“组别”为因变量(赋值:0=病例组,1=对

表1 两组孕妇一般资料比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$ Table 1 General data of pregnant women were compared between the two groups $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

组别	n	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	孕周(周)	初孕妇	经孕妇	既往流产史
病例组	79	27.87±6.08	21.36±2.45	6.86±0.69	38(48.10)	41(51.90)	7(8.86)
对照组	35	28.57±6.28	21.65±2.28	6.86±0.85	19(54.29)	16(45.71)	4(11.43)
χ^2/t 值		-0.560	0.024	0.592		0.371	0.183
P 值		0.577	0.981	0.555		0.542	0.668

表2 两组孕妇血清E2、P、VEGF及子宫内膜厚度比较 $(\bar{x} \pm s)$ Table 2 Comparison of serum E2, P, VEGF and endometrial thickness in the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	E2(pmol/L)	P(nmol/L)	VEGF(ng/L)	子宫内膜厚度(mm)
病例组	79	1942.36±348.52	20.15±6.82	218.21±52.98	8.13±1.48
对照组	35	2548.21±584.20	36.19±10.80	142.60±36.84	10.69±1.84
t 值		-6.878	-9.593	7.654	-7.923
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

照组),以“E2、P、VEGF及子宫内膜厚度定量参数”为自变量,纳入 Logistic 回归分析。二元 Logistic 回归结果显示,E2、P、VEGF及子宫内膜厚度均为异位妊娠的影响因素($P<0.05$)。见表3。

表3 两组孕妇多因素回归分析

Table 3 Multivariate regression analysis of two groups of pregnant women

变量	B 值	S.E. 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
E2	0.005	0.001	24.868	1.005	1.003~1.007	<0.001
P	0.259	0.058	20.168	1.295	1.157~1.450	<0.001
VEGF	-0.072	0.017	18.676	0.930	0.900~0.961	<0.001
子宫内膜厚度	1.497	0.278	29.072	4.470	2.594~7.703	<0.001

2.5 血清学指标及子宫内膜厚度对异位妊娠的诊断价值

ROC 结果显示,E2、P、VEGF及子宫内膜厚度对早期异位妊娠诊断的 AUC 分别为 0.795、0.904、0.838、0.861,联合预测 AUC 为 0.978,敏感度、特异度为 100%、85.7%,优于单一检测($P<0.05$)。见表4、图2。

3 讨论

异位妊娠的发生率较高,其中主要以输卵管

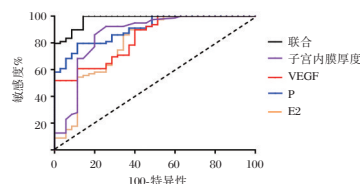


图2 ROC 曲线

Figure 2 ROC curves

妊娠为主,而流产、输卵管破裂及阴道出血为其主要表现,严重时可能造成死亡^[6]。近年来的研究显示,异位妊娠的发生率呈逐年递增,这不仅与微生物感染、性传播及宫内节育器的使用等致病因素有关,而且与医疗诊断技术的提高有关^[7]。

E2 为性激素之一,可与孕激素共同调节妊娠过程。已有研究指出,妊娠早期,E2 主要为卵巢分泌,母体经雌激素刺激后可造成子宫内膜进一步增生,促使其血液供应,该过程对妊娠的维持具有重要作用^[8]。且 E2 对输卵管的发育具有促进作用,可进一步增加输卵管上皮细胞分泌,并加快纤毛的生长,促使受精卵经输卵管进入子宫腔。因此当孕妇血清 E2 水平出现降低时,可造成受精卵进入子宫内的时间显著延长,提高胚泡在输卵管中着床的发生率,增大输卵管异位妊娠风险。另郑春娇^[9]等研究指出,异位妊娠孕妇血清中 E2 水平显著低于正常宫内妊娠孕妇。该结果即证实血清 E2 与异位妊娠之间的关系。本研究结果与赵骏达^[10]等研究的结果具有一致性,即证实血清 E2 对早期异位妊娠的诊断价值。

孕酮亦为激素的一种,其主要由卵巢、胎盘等产生,在胚泡成功着床中具有重要作用。已有研究指出,当孕妇孕周小于 8 周时,其机体血清 P 主要由卵巢黄体产生,而当孕周大于 8 周时,由胎盘分泌 P,并

表4 血清学指标及子宫内膜厚度对异位妊娠的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of serum E2, P, VEGF and endometrial thickness for ectopic pregnancy

项目	AUC	标准误	95% CI	临界值	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	P 值
E2	0.795	0.051	0.694~0.895	2335.48	0.528	89.9	62.9	<0.001
P	0.904	0.027	0.851~0.958	25.01	0.683	79.7	88.6	<0.001
VEGF	0.838	0.039	0.762~0.913	202.09	0.519	51.9	100.0	<0.001
子宫内膜厚度	0.861	0.045	0.772~0.949	9.80	0.667	92.4	74.3	<0.001
联合	0.978	0.011	0.957~1.000	5602.19	0.857	100.0	85.7	<0.001

在孕12周内维持稳定^[11]。但对于异位妊娠孕妇而言,其卵巢滋养层尚处于不完善状态,可降低滋养层细胞的活力,促使卵泡周围的血液供给不足,进一步造成黄体发育不良,降低孕妇血清P水平。另一方面,孕妇血清P水平下降可降低输卵管生理活性,造成卵泡滞留于输卵管中发生异位妊娠。本研究结果说明血清P对早期异位妊娠存在一定的诊断价值。

VEGF为高效促血管生长因子,其主要由血管内皮细胞、炎性细胞及滋养细胞等分泌而成。已有研究指出,VEGF具有促进血管内皮细胞增生作用,因此可形成新生血管,该过程在受精卵的受精及着床及胎儿生长中均具有重要作用^[12]。近年来的研究发现,与健康对孕妇比较,异位妊娠孕妇血清VEGF水平明显偏高,其原因为:对异位妊娠而言,其子宫内膜与输卵管解剖结构具有较大差异,其蜕膜形成不完整,致使胚泡发育存在缺氧情况,在该一状态下可对滋养细胞产生刺激作用进而合成VEGF^[13]。另国外研究显示,受精卵着床为炎性反应的一种,且细胞因子的旁分泌过程可介导受精卵着床,因此可增加血管通透性及细胞外液,进一步促进胎盘活化因子及受体活性升高,造成VEGF合成及分泌增加^[14]。本研究中,与对照组比较,异位妊娠孕妇的血清VEGF水平明显升高,且其水平升高为异位妊娠的危险因素。另血清VEGF诊断早期异位妊娠的AUC分别为0.838,敏感度、特异度为51.9%、100%。提示血清VEGF对早期异位妊娠诊断的准确性较好。

超声诊断技术为早期异位妊娠诊断的方式之一。已有研究指出,孕妇子宫内膜厚度可随机体性激素分泌的变化而变化^[15]。若超声检查显示子宫内膜厚度较厚,且呈现均匀强回声,提示早孕可能;若孕妇子宫内膜较薄且回声减弱,则存在异位妊娠可能。另据文献报道,子宫内膜形态变化具有一定的周期性,其增生早期可呈逐渐增厚趋势^[16]。但对于异位妊娠孕妇而言,受精卵着床的位置不同,其绒毛发育及血液供应也具有一定差异,因此激素的分泌也不同,故其导致的子宫内膜厚度也具有差异。本研究结果提示子宫内膜厚度对早期异位妊娠诊断的价值较高。

异位妊娠孕妇血清E2、P、VEGF检测及子宫内膜厚度的检查对疾病的早期诊断具价值较高,但联合预测的AUC、敏感度、特异度分别为0.978、100%、85.7%,均高于单项预测,提示联合诊断可提高异位妊娠的敏感度及特异性。

参考文献

- [1] Nishio N, Kido A, Kurata Y, et al. Investigation of clinical utility of contrast-enhanced MRI in the diagnosis of ectopic pregnancy[J]. Clin Radiol, 2020, 75(7):543-551.
- [2] 颜雪萍,田圆,吴青京.血清 β -HCG、P及阴道超声评估在未破裂宫外孕诊断中的应用[J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):353-357.
- [3] 黄荣,吴丹,卢士莲.子宫内膜厚度、绒毛膜促性腺激素、孕酮联合诊断早期异位妊娠价值[J].中国计划生育学杂志, 2019, 27(9):1177-1179.
- [4] 李红静,方美群,吴筱花.联合检测 β -hCG、P及ET对早期异位妊娠患者的诊断价值[J].中国妇幼保健研究, 2019, 30(5):629-632.
- [5] 曹泽毅,沈铿,马彦彦,等.中华妇产科学:临床版[J].人民卫生出版社, 2010.
- [6] Dooley WM, Chaggar P, De Braud LV, et al. Effect of morphological type of extrauterine ectopic pregnancy on accuracy of preoperative ultrasound diagnosis [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2019, 54(4):538-544.
- [7] Exler S, Daiminger A, Grothe M, et al. Primary cytomegalovirus (CMV) infection in pregnancy: Diagnostic value of CMV PCR in saliva compared to urine at birth[J]. J Clin Virol, 2019, 117:33-36.
- [8] 卢祥章,邓艳君.子宫动脉血流多普勒参数结合血清SDC-1、VEGF-A对子宫内膜异位症的诊断价值及相关性分析[J].影像科学与光化学, 2021, 39(4):6.
- [9] 郑春娇,郑春玉,陈小娟,等.血清血管内皮生长因子、泌乳素和人附睾蛋白4联合检测对子宫内膜异位症的诊断价值[J].中国临床医生杂志, 2020, 48(1):110-112.
- [10] 赵骏达,古力其曼·艾孜木江,马俊旗.超声测定子宫内膜厚度与雌二醇、PAPP-A联合检测在早期异位妊娠诊断中的应用价值[J].中国计划生育学杂志, 2021, 29(5):980-982, 987+封3.
- [11] Hoenderboom BM, van Benthem BHB, van Bergen JEAM, et al. Relation between Chlamydia trachomatis infection and pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy and tubal factor infertility in a Dutch cohort of women previously tested for chlamydia in a chlamydia screening trial[J]. Sex Transm Infect, 2019, 95(4):300-306.
- [12] 刘文博,陈玲玲,高星.异位妊娠早期患者血清人绒毛膜促性腺激素、妊娠相关蛋白A、子宫内膜厚度变化及意义[J].中国临床医生杂志, 2019, 47(11):1349-1351.
- [13] 李未今,汪晓华,张乐琴.人绒毛膜促性腺激素、孕酮及子宫内膜厚度联合检测在异位妊娠早期诊断中的价值[J].中国妇幼保健, 2020, 35(4):700-703.
- [14] 王煜,李瑞,陶绍辉.异位妊娠患者子宫内膜厚度、凝血功能及相关因子水平的检测意义[J].血栓与止血学, 2022, 28(3):458-459.
- [15] 魏顺英,王烈宏,祁青玲,等.子宫内膜异位症患者血清与腹腔液中CRP、IL-8、VEGF的表达及临床意义[J].中国医药导报, 2019, 16(12):89-92+104.
- [16] 蒋伶,窦曦,陈勇,等.IL-32、PAI-1、VEGF在子宫内膜异位症患者血清中的表达及临床意义[J].海南医学, 2019, 30(7):817-820.

· 论 著 ·

妊娠期高血压疾病孕妇血清 AGEs、TGF- β 1、PAPP-A 及 RBP4 变化及临床意义

程华英¹ 胡娅萍² 郑璇¹ 梅军华^{3*}

【摘要】目的 探讨妊娠期高血压疾病(HDCP)孕妇血清晚期糖基化终末产物(AGEs)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、妊娠相关蛋白 A(PAPP-A)及视黄醇结合蛋白 4(RBP4)变化及临床意义。**方法** 选取 HDCP 孕妇 180 例(HDCP 组)及同期健康孕妇 100 例(对照组)为研究对象,HDCP 组孕妇根据病情严重程度又可分为单纯性妊娠期高血压(GHP 组)98 例、轻度子痫前期(MPE 组)52 例和重度子痫前期(SPE 组)30 例,检测血清 AGEs、TGF- β 1、PAPP-A 及 RBP4 水平浓度,分析不同病情严重程度 HDCP 孕妇各指标的差异。**结果** HDCP 组孕妇血清 AGEs、TGF- β 1 及 RBP4 水平高于对照组,PAPP-A 水平低于对照组,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线结果显示,各指标诊断 HDCP 的 AUC 由高到低依次为 TGF- β 1、RBP4、PAPP-A、AGEs,且均 >0.7 ,具有一定的诊断价值($P<0.05$)。不同病情严重程度 HDCP 孕妇血清 AGEs、TGF- β 1 及 RBP4 水平比较:SPE 组 $>$ MPE 组 $>$ GHP 组,差异具有统计学意义($P<0.05$);PAPP-A 水平比较:SPE 组 $<$ MPE 组 $<$ GHP 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,孕妇血清与血清 AGEs、TGF- β 1 及 RBP4 水平与病情严重程度呈显著正相关($P<0.05$),PAPP-A 水平与病情严重程度呈显著负相关($P<0.05$)。**结论** HDCP 孕妇可出现血清 AGEs、TGF- β 1 及 RBP4 水平的升高及 PAPP-A 水平下降,与病情严重程度密切相关,通过检测孕妇血清 AGEs、TGF- β 1、PAPP-A 及 RBP4 有助于评估 HDCP 的病情严重程度。

【关键词】 妊娠期高血压疾病;晚期糖基化终末产物;转化生长因子- β 1;妊娠相关蛋白 A;视黄醇结合蛋白 4

Changes and clinical significance of serum AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 in pregnant women with gestational hypertension

CHENG Huaying¹, HU Yaping², ZHENG Xuan¹, MEI Junhua^{3*}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan Kangjian maternal and infant hospital, Wuhan, Hubei, China, 430000; 2. Department of Obstetrics, Hubei maternal and child health hospital, Wuhan, Hubei, China, 430000; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Huanggang Central Hospital of Yangze University, Huanggang, Hubei, China, 438000)

【ABSTRACT】Objective To investigate the changes and clinical significance of advanced glycosylation end products (AGEs), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and retinol binding protein (RBP4) in serum of pregnant women with hypertensive disorder complicating pregnancy (HDCP). **Methods** A total of 180 pregnant women with HDCP (HDCP group) and 100 healthy pregnant women at the same time (control group) were selected as research subjects. According to the severity of their disease, pregnant women in the HDCP group were divided into simple gestational hypertension (GHP group) 98 cases, mild preeclampsia (MPE group) 52 cases and severe preeclampsia (SPE group) 30 cases. Serum levels of AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 were detected, and to analyze the differences of various indicators and reference ranges of HDCP in pregnant women. **Results** The

基金项目:中国管理科学研究院教育科学研究所科教创新研究重点课题(KJCX5408)

作者单位:1. 武汉康健妇婴医院妇产科,湖北,武汉 430000

2. 湖北省妇幼保健院产科,湖北,武汉 430000

3. 长江大学附属黄冈市中心医院妇产科,湖北,黄冈 438000

*通信作者:梅军华, E-mail:179095929@qq.com

serum levels of AGEs, TGF- β 1 and RBP4 in the HDCP group were higher than those in the control group, while the level of PAPP-A was lower than that in the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The results of ROC curve showed that the AUC of each indicator in the diagnosis of HDCP from high to low was TGF- β 1, RBP4, PAPP-A, and AGEs, all of which were greater than 0.7, with certain diagnostic value ($P<0.05$). Comparison of serum AGEs, TGF- β 1 and RBP4 levels in HDCP pregnant women with different disease severity: the SPE group > the MPE group > the GHP group, the difference was statistically significant ($P<0.05$); PAPP-A level comparison: the SPE group < the MPE group < the GHP group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that AGEs, TGF- β 1 and RBP4 levels were significantly positively correlated with the severity of disease in pregnant women ($P<0.05$), while PAPP-A levels were significantly negatively correlated with the severity of disease ($P<0.05$). **Conclusion** In pregnant women with HDCP, increased levels of AGEs, TGF- β 1 and RBP4 and decreased levels of PAPP-A are closely related to the severity of the disease. Detection of AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 in pregnant women is helpful for evaluating the severity of HDCP.

[KEY WORDS] HDCP; AGEs; TGF- β 1; PAPP-A; RBP4

妊娠期高血压疾病(hypertensive disorder complicating pregnancy, HDCP)是孕妇常见的妊娠期内科并发症,主要表现为血压升高、水肿、蛋白尿等,包括有妊娠期高血压(gestational hypertension, GHP)、子痫前期(preeclampsia, PE)、子痫等。HDCP的发生可导致孕妇出现各系统功能损害及不良妊娠预后的发生,严重时还可导致孕产妇及新生儿死亡。目前,此病的治疗尚无特效方法,需严密监测孕期母儿情况,在病情加重时及时终止妊娠以保证母儿生命安全。HDCP的发病机制仍不完全清楚,认为可能与遗传、免疫失衡、氧化应激、炎症、胎盘功能异常等多种因素有关^[1-3],全身小动脉痉挛及内皮细胞功能的损害是其主要的病理变化。研究发现^[4],胎盘晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs)及其受体在血管内皮细胞及胎盘滋养细胞中表达量较高,而且与炎症反应密切相关,认为可能AGEs介导的炎症损伤与子痫前期的发生密切相关。转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)为转化因子家族成员,为多功能细胞因子,研究发现妊娠子宫滋养细胞及蜕膜中有TGF- β 1 mRNA的表达^[5],因此认为可能参与了胎盘相关功能的调节,而且与炎症反应也密切相关。妊娠相关蛋白A(pregnancy-associated plasma protein-A, PAPP-A)为胎盘滋养细胞产生的糖蛋白化合物,能反应出滋养细胞的功能状态^[6]。视黄醇结合蛋白4(retinol binding protein, RBP4)为体内运转维生素A视黄醇类活性代谢物的蛋白质之一,可参与胰岛素抵抗和高胰岛素血症过程^[7]。本研究对HDCP孕妇血清AGEs、TGF- β 1、

PAPP-A及RBP4的变化进行了研究,尝试分析其在HDCO发生及发展中可能所起的作用,为HDCP孕妇的病情评估提供参考依据。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2021年12月期间在武汉康健妇婴医院住院治疗的HDCP孕妇180例为研究对象(HDCP组),纳入标准:①符合HDCP的诊断标准^[8]。②单胎妊娠。③自愿参与本次研究。排除标准:①合并有肝肾、心肺等其他实质性脏器功能异常者。②合并有其他妊娠期合并症或并发症。③合并有免疫功能障碍或凝血功能障碍。④合并恶性肿瘤、急慢性传染病等。⑤合并有精神或智力无碍性疾病者。⑥双胎或多胎妊娠。⑦辅助生殖技术受孕者。HDCP组孕妇年龄平均(28.54 ± 3.49)岁,孕周平均(35.22 ± 3.10)周,根据病情严重程度又可分为单纯性妊娠期高血压(GHP组)98例、轻度子痫前期(MPE组)52例和重度子痫前期(SPE组)30例。选取同期门诊产检的健康孕妇100例为对照(对照组),年龄平均(28.20 ± 3.58)岁,孕周平均(25.16 ± 3.17)周。各组孕妇的年龄、孕周比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经伦理委员会批准。

1.2 方法

空腹抽取孕妇外周静脉血5 mL置于无菌试管内,以2 500 r/min的转速离心10 min,离心半径8 cm,分离取得的血清检测AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平浓度,AGEs及其受体TGF- β 1水平浓度以酶联免疫吸附法,检测试剂盒购自美国RB

公司;PAPP-A采用双抗体酶联免疫吸附法检测,检测试剂盒购自上海劲马试验设备有限公司;RBP4采用免疫比浊法检测,检测试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司。操作步骤严格按照试剂盒操作说明书进行。

记录GHP组、MPE组、SPE组及对照组上述各指标水平,分别绘制ROC曲线分析各指标对HDGP的诊断价值,同时通过明确健康孕妇与GHP孕妇、GHP孕妇与MPE孕妇、MPE孕妇与SPE孕妇各指标的最佳截点值,总结不同病情严重程度孕妇上述指标的参考值范围。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采取方差分析,两两比较采用 t 检验,相关性分析采取Spearman相关分析,绘制ROC曲线分析相关指标对HDGP的诊断价值及不同病情严重程度孕妇相关指标的参考值范围。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HDGP组与对照组孕妇水平血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平比较

HDGP组孕妇血清AGEs、TGF- β 1及RBP4水平高于对照组,PAPP-A水平低于对照组,比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 HDGP组与对照组孕妇水平血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AGEs (ng/mL)	TGF- β 1 (ng/mL)	PAPP-A (mU/L)	RBP4 (μ g/mL)
HDGP组	180	42.79 $\pm$ 4.17	8.08 $\pm$ 1.38	2924.40 $\pm$ 742.61	9.02 $\pm$ 3.17
对照组	100	38.99 $\pm$ 4.55	6.63 $\pm$ 0.90	3642.56 $\pm$ 708.82	6.16 $\pm$ 1.99
t 值		7.084	9.444	7.880	8.160
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平对HDGP的诊断价值

ROC曲线结果显示,各指标诊断HDGP的AUC由高到低依次为TGF- β 1、RBP4、PAPP-A、AGEs,且均>0.7,具有一定的诊断价值($P < 0.05$)。见表2,图1。

2.3 不同病情严重程度HDGP孕妇血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平比较

不同病情严重程度HDGP孕妇血清AGEs、

表2 血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平对HDGP的诊断效能参数

Table 2 Diagnostic efficacy parameters of SERUM AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 levels for HDGP

指标	截点值	约登指数	敏感度	特异度	AUC	95%CI
AGEs(ng/mL)	40.60	0.387	0.717	0.670	0.732	0.670~0.794
TGF- β 1(ng/mL)	7.32	0.483	0.683	0.800	0.809	0.759~0.859
PAPP-A(mU/L)	3221.52	0.448	0.678	0.770	0.753	0.693~0.813
RBP4(μ g/mL)	8.07	0.444	0.594	0.850	0.777	0.724~0.830

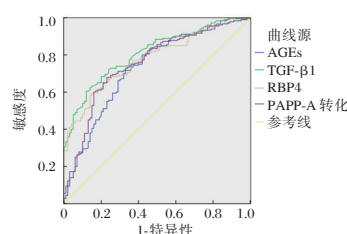


图1 血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4诊断HDGP的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 in serum for HDGP diagnosis

TGF- β 1及RBP4水平比较:SPE组>MPE组>GHP组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);PAPP-A水平比较:SPE组<MPE组<GHP组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同病情严重程度HDGP孕妇组血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 levels in the HDGP group with different severity of disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AGEs (ng/mL)	TGF- β 1 (ng/mL)	PAPP-A (mU/L)	RBP4 (μ g/mL)
GHP组	98	41.12 $\pm$ 3.72	7.29 $\pm$ 0.93	3233.06 $\pm$ 727.95	7.84 $\pm$ 2.25
MPE组	52	43.70 $\pm$ 3.70 ^a	8.49 $\pm$ 0.97 ^a	2656.20 $\pm$ 537.17 ^a	9.21 $\pm$ 2.93 ^a
SPE组	30	46.67 $\pm$ 3.23 ^{ab}	9.95 $\pm$ 1.09 ^{ab}	2380.98 $\pm$ 606.25 ^{ab}	12.57 $\pm$ 3.50 ^{ab}
F 值		29.015	92.966	25.286	35.700
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与GHP组比较,^a $P < 0.001$,与MPE组比较,^b $P < 0.001$ 。

2.4 HDGP孕妇病情严重程度与血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平的相关性

Spearman相关分析显示,孕妇血清与血清AGEs、TGF- β 1及RBP4水平与病情严重程度呈显著正相关($P < 0.05$),PAPP-A水平与病情严重程度呈显著负相关($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

HDGP是导致母儿不良预后的主要原因之一,

表4 HDCP孕妇病情严重程度与血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4水平的相关性

Table 4 Correlation between the severity of HDCP and serum levels of AGEs, TGF- β 1, PAPP-A and RBP4 in pregnant women

项目		AGEs	TGF- β 1	PAPP-A	RBP4
HDCP孕妇病情	<i>r</i> 值	0.485	0.688	-0.480	0.466
严重程度	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

也是导致孕产妇死亡的主要病因之一。HDCP的发病原因较为复杂,目前认为是多因素共同作用所致^[1-3],炎症免疫过度激活、子宫螺旋动脉重铸不足、血管内皮损伤、家族遗传等是目前认可的HDCP发展机制学说。胎盘在HDCP的发生及发展中均起到了核心作用,因此适时终止妊娠是阻止病情进一步发展的唯一有效方法。

AGEs是葡萄糖、脂肪、核酸的氨基、酮基、醛基等在无酶条件下反应形成的糖基化终产物,在体内可与其受体结合从而诱导机体炎症反应及氧化应激的发生,同时可调控TGF- β 1等细胞因子的表达,通过影响基质金属酶的产生从而起到抑制基质降解的作用,最终可导致血管壁增厚导致血管腔狭窄。氧化应激同时也可促使AGEs的表达上调^[9],加剧氧化应激及炎症反应,使得机体组织损伤更为严重。研究发现^[10-11],PE孕妇可出现AGEs表达的上调,AGEs上调可导致孕妇胎盘滋养细胞功能及形态发生异常,子宫螺旋动脉重铸不足,胎盘供血出现异常。TGF- β 1在机内主要通过旁分泌或自分泌方式调节细胞的生长和分化,在妊娠后滋养细胞及子宫蜕膜中可出现TGF- β 1的表达^[5],而且随着孕周增加表达水平逐渐升高,在孕34周时可达高峰,在PE患者中可出现TGF- β 1的明显升高,与AGEs结合共同影响到滋养细胞、子宫螺旋动脉的形态和功能,导致PE的发生。PAPP-A主要是胎盘组织产生,在孕早期就可在血清中检出,随着孕周增加逐渐增加,孕晚期可达高峰,可反应胎盘功能状态^[6],如出现胎盘功能不良可影响到PAPP-A的分泌,研究发现HDCP孕妇PAPP-A下降^[12-13],推测可能是因为胎盘功能不良PAPP-A分泌不足,因此使得胰岛素样生长因子处于结合状态,胰岛素样生长因子不足,影响到滋养细胞和胎盘功能,这成为引发PE发生的重要原因之一。RBP4属于体内负责运转维生素A视黄醇类活性代谢物的一类蛋白质,正常妊娠状态下可

随着妊娠孕周增加而升高,研究证实HDCP孕妇可出现血清RBP4的升高^[14-16],本研究结果提示上述各指标变化与HDCP的发病密切相关。分析不同病情严重程度HDCP孕妇上述指标的变化,结果显示随着HDCP孕妇病情的加重血清AGEs、TGF- β 1、RBP4出现升高趋势,与病情严重程度之间有正相关性,而PAPP-A则出现下降趋势,与病情严重程度之间有负相关,提示血清上述各指标变化与HDCP病情发展也密切相关。

综上所述,HDCP孕妇可出现血清AGEs、TGF- β 1及RBP4水平的升高及PAPP-A水平下降,与病情严重程度密切相关,通过检测孕妇血清AGEs、TGF- β 1、PAPP-A及RBP4变化有助于评估病情严重程度。本研究也存在一些局限性,本研究为回顾性研究,对于尝试对不同病情严重程度HDCP孕妇上述指标参考值范围的总结,样本量较小,且均为本院患者,因此很难得出可靠的结论,仍需进行进一步大样本、多中心的前瞻性研究对参考值范围进行分析及修正。

参考文献

- [1] 杨孜. 妊娠期高血压疾病在真实临床世界实践之辨析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35(4): 408-416.
- [2] 杨洁琼, 张丛, 狄文. 蜕膜化缺陷在子痫前期发病机制中的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48(5): 490-493.
- [3] 周蓓, 谢恺俐. 子痫前期发病机制研究进展[J]. 中南大学学报: 医学版, 2020, 45(9): 1136-1141.
- [4] Krishnasamy S, Rajaraman B, Ravi V, et al. Association of advanced glycation end products (AGEs) with endothelial dysfunction, oxidative stress in gestational diabetes mellitus (GDM)[J]. Int J Diabetes Dev C, 2020, 40(2): 276-282.
- [6] Khamoushi T, Ahmadi M, Ali-Hassanzadeh M, et al. Evaluation of Transforming Growth Factor- β 1 and Interleukin-35 Serum Levels in Patients with Placenta Accreta [J]. Lab Med, 2021, 52(3): 245-249.
- [7] 汤海华, 朱景明, 凌玲. 妊娠相关血浆蛋白-A对妊娠期高血压疾病孕妇胎盘病理改变的影响研究[J]. 中国医药科学, 2020, 10(6): 108-110.
- [8] Jafari-Gharabaghloou D, Vaghari-Tabari M, Oghbaei H, et al. Role of adipokines in embryo implantation [J]. Endocr Connect, 2021, 10(11): R267-R278.
- [9] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2020), 2020, 55(4): 227-238.
- [10] Yamagishi S, Matsui T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy[J]. Oxidat Med cell Longev, 2010, 3(2): 101-108.

(下转第638页)

· 论 著 ·

经皮 RFA 治疗原发性肝癌的效果及对血清 TGF- β 1、EGR2 水平的影响

杜炜玮^{1*} 段铮² 胡斌²

[摘要] **目的** 探讨经皮射频消融术(RFA)治疗原发性肝癌的效果及对血清转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、生长反应蛋白2(EGR2)水平的影响。**方法** 选取2018年1月至2021年3月河南省中医院收治的115例原发性肝癌患者,根据治疗的不同分为研究组(经皮RFA治疗, $n=59$)和对照组(肝动脉化疗栓塞治疗, $n=56$)。比较两组临床疗效、免疫功能(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)、血清TGF- β 1及EGR2水平、不良反应。**结果** 研究组总有效率(76.27%)高于对照组(57.14%),差异有统计学意义($P<0.05$)。与治疗前相比,两组治疗后CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、EGR2均上升,CD8⁺及TGF- β 1均下降,其中以研究组最为显著,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应发生情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 经皮RFA治疗原发性肝癌的效果确切,可有效改善机体免疫功能及血清TGF- β 1、EGR2水平,且安全性较高,临床应用前景可观。

[关键词] RFA; 原发性肝癌; TGF- β 1; EGR2

Effect of percutaneous RFA in the treatment of primary liver cancer and its influence on serum TGF- β 1, EGR2 levels

DU Weiwei^{1*}, DUAN Zheng², HU Bin²

(1. Department of Oncology, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (The Second Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine), Zhengzhou, Henan, China, 450002;
2. Department of Tumor Zone 2, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (The Second Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine), Zhengzhou, Henan, China, 450002)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of percutaneous radiofrequency ablation (RFA) in the treatment of primary liver cancer and its influence on serum transform growth factor- β 1 (TGF- β 1), Growth Reactive Protein 2 (EGR2) levels. **Methods** 115 patients with primary liver cancer admitted in Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2018 to March 2022 were selected, and according to the different treatment methods, they were divided into the study group (transdermal RFA treatment, $n=59$) and the control group (Hepatic artery chemical embolization treatment, $n=56$). The clinical efficacy, immune function (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺), serum TGF- β 1, EGR2 levels and adverse reactions between the two groups were compared. **Results** The total effective rate in the study group (76.27%) was higher than that in the control group (57.14%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with before treatment, CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the two groups increased, and CD8⁺, TGF- β 1 decreased, among which the research group was the most significant, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in adverse reactions in two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The percutaneous RFA has exactly effects on the treatment of primary liver cancer, which effectively improves the body's immune function and serum TGF- β 1, EGR2 levels, with high safety and promising clinical application prospects.

[KEY WORDS] RFA; Primary liver cancer; TGF- β 1; EGR2

基金项目:河南省科技攻关社会发展项目(201802310437)

作者单位:1. 河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)肿瘤内科,河南,郑州 450002

2. 河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)肿瘤二区,河南,郑州 450002

*通信作者:杜炜玮, E-mail: 13523506760@163.com

原发性肝癌是指起源于肝细胞或肝内胆管细胞的恶性肿瘤,好发于40~49岁人群^[1]。据统计,原发性肝癌已经成为继食管癌、胃癌之后的第3大消化系统恶性肿瘤,在我国每年有高达11万人死于肝癌,占据全球肝癌死亡数的45%左右^[2]。临床对于原发性肝癌的治疗以手术切除为首选方案,但由于患者早期无典型症状,多数患者确诊时病情已处于中晚期,致使无法手术切除^[3]。肝动脉化疗栓塞为中晚期原发性肝癌患者常用的治疗方式,但对肿瘤细胞破坏的效果并不理想^[4]。经皮射频消融术(radio frequency ablation, RFA)为新兴的一种局部毁损肿瘤的微创方式,有报道显示,RFA对原发性肝癌能达到较为理想的整体灭活效果^[5]。本研究就经皮RFA治疗原发性肝癌的效果及对血清转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β , TGF- β 1)、生长反应蛋白2(Early growth response protein 2, EGR2)水平的影响进行分析。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2021年3月河南省中医院收治的115例原发性肝癌患者,根据治疗的不同分为研究组(经皮RFA治疗, $n=59$)和对照组(肝动脉化疗栓塞治疗, $n=56$)。纳入标准:①患者皆符合《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》诊断标准^[6];②经穿刺活检确诊为原发性肝癌,且失去手术机会;③癌细胞未出现远处转移者;④临床资料完整;⑤本研究经医院伦理委员会批准且患者或家属已签署相关协议。排除标准:①合并严重心、脑、血管等重要脏器疾病者;②存在明显的黄疸、腹水、恶液质者;③本次治疗前已进行过相关治疗者;④合并血液系统疾病、免疫系统疾病、严重感染者;⑤存在其他相关肝炎病毒感染者。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

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

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

组别	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	肿瘤直径 (cm)	Child-Pugh 分级	
					A 级	B 级
研究组	59	46/13	60.57 $\pm$ 9.33	4.08 $\pm$ 0.62	47(79.66)	12(20.34)
对照组	56	47/9	57.49 $\pm$ 11.25	3.89 $\pm$ 0.75	43(76.78)	13(23.21)
χ^2/t 值		0.660	1.601	1.484	0.140	
P 值		0.416	0.112	0.141	0.709	

1.2 治疗方法

对照组:采取肝动脉化疗栓塞治疗。使用Seldinger穿刺技术,选择股动脉作为穿刺点,经腹腔动脉至肝动脉造影,探查肿瘤位置、大小、形态、周围血供及动静脉瘘情况,将导管插至肿瘤供血动脉中后,注入1 000~2 000 mg的5-氟尿嘧啶、10~20 mg丝裂霉素、50~80 mg顺铂、20~40 mg阿霉素,采用超液碘化油进行血管栓塞。

研究组:采取经皮RFA治疗。选用射频手术电极,操作步骤如下:患者全身麻醉后,常规消毒铺巾,经超声引导定位,确定肝脏肿瘤的位置、大小及数目,选择最佳穿刺点及穿刺路径,在超声设备监视下避开胆管及血管等重要组织,将射频手术电极经皮插入肝内瘤体,操作功率为自动功率,直径模式,如肿瘤较大时可采用多点消融,射频手术电极尽量在肝内变换穿刺,防止术后出血。消融范围覆盖整个瘤体,尽量使肿瘤消融的边界大于瘤体边缘(0.5~1.0)cm。

两组治疗后术后均行护肝、抗感染、维持水电解质平衡等对症治疗。

1.3 检测方法

抽取患者治疗前、治疗3个月后清晨空腹静脉血10 mL,共分为2管,1管直接采用贝克曼库尔特EPICS XL型流式细胞仪检测T淋巴细胞亚群CD₃⁺、CD₄⁺、CD₈⁺、CD₄⁺/CD₈⁺水平;1管予以离心(3 500 r/min, 15 min, $r=10$ cm)后取分离血清,采用酶联免疫吸附法(Enzyme Linked Immune Sorbent Assay, ELISA)法测定TGF- β 1、EGR2水平;相关试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.4 观察指标

1.4.1 临床疗效

根据实体瘤疗效评价标准(Response evaluation criteria in solid tumor, RECIST)^[7]评估治疗后3个月的疗效,分为:完全缓解(Epidermal growth factor receptor, CR):肿瘤病灶完全消失,并且1个月后复查结果不变;部分缓解(Partial response, PR):肿瘤的病灶体积减少等于或超过1/2;病情稳定(Stable disease, SD):肿瘤的病灶体积减少<1/2,1个月后复查结果无明显改变;病情进展(Progressive disease, PD):治疗后,肿瘤的病灶体积增加,甚至出现新病灶。治疗总有效率=[(CR+PR)/总病例数]×100%。

1.4.2 不良反应

不良反应包括发热、骨髓抑制、转氨酶升高、腹痛、消化道反应等。

1.5 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

研究组总有效率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	CR	PR	SD	PD	总有效率
研究组	59	7(11.86)	38(64.41)	10(16.95)	4(6.78)	45(76.27)
对照组	56	3(5.36)	29(51.79)	14(25.00)	10(17.86)	32(57.14)
χ^2 值						4.751
P 值						0.029

2.2 两组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平比较

与治疗前相比,各组治疗后 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 均上升、CD8⁺ 均下降,其中以研究组最为显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 两组 TGF- β 1、EGR2 水平比较

与治疗前相比,治疗后两组 TGF- β 1 水平下降、EGR2 水平上升,其中以研究组最为显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组 TGF- β 1、EGR2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of TGF- β 1 and EGR2 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TGF- β 1 (ng/mL)		EGR2 (ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	59	198.23 $\pm$ 18.45	105.25 $\pm$ 15.42 ^a	89.16 $\pm$ 17.64	308.45 $\pm$ 47.29 ^a
对照组	56	204.68 $\pm$ 19.37	134.89 $\pm$ 17.25 ^a	91.58 $\pm$ 19.41	281.34 $\pm$ 35.22 ^a
t 值		1.829	9.725	0.700	3.472
P 值		0.070	<0.001	0.485	0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组不良反应比较

两组不良反应发生情况比较差异无统计意义($P > 0.05$)。见表 5。

表 3 两组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the two groups of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ (%)		CD4 ⁺ (%)		CD8 ⁺ (%)		CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	59	60.29 $\pm$ 4.38	69.32 $\pm$ 3.47 ^a	27.45 $\pm$ 3.58	38.64 $\pm$ 4.62 ^a	31.23 $\pm$ 3.14	23.24 $\pm$ 3.86 ^a	1.06 $\pm$ 0.25	1.95 $\pm$ 0.54 ^a
对照组	56	61.69 $\pm$ 3.14	65.89 $\pm$ 3.88 ^a	28.17 $\pm$ 4.06	34.52 $\pm$ 4.07 ^a	32.29 $\pm$ 3.32	27.44 $\pm$ 3.25 ^a	0.98 $\pm$ 0.24	1.43 $\pm$ 0.39 ^a
t 值		1.961	5.002	1.010	5.064	1.760	6.295	1.749	5.893
P 值		0.052	<0.001	0.315	<0.001	0.081	<0.001	0.083	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表 5 两组不良反应发生情况比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of adverse reactions between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	发热	骨髓抑制	转氨酶升高	腹痛	消化道反应	总发生率
研究组	59	4(6.79)	3(5.08)	2(3.39)	4(6.78)	5(8.47)	18(30.51)
对照组	56	6(10.71)	4(7.14)	4(7.14)	3(5.36)	9(16.07)	26(46.43)
χ^2 值							3.083
P 值							0.079

3 讨论

原发性肝癌起病较为隐匿,早期缺乏典型症状,随着肿瘤的增大和转移,才可扪及肿块,出现黄疸、上消化道出血、肝性脑病、腹部疼痛以及肾功能衰竭等,此时多数患者无法进行手术切除^[8]。对于不能进行切除术者,过去常予以药物以维持或者延缓疾病的发展,但总体效果欠佳。

肝动脉化疗栓塞治疗通过往肝动脉内推注栓塞剂或者化疗药物,选择性地阻断肿瘤细胞的供血动脉,以造成肿瘤细胞的缺血、缺氧,达到阻断肿瘤细胞生长途径、致使微小转移病灶凋亡的作用,同时推注的化疗药物可保持较高的化疗药物浓度,降低肿瘤细胞的复发及转移^[9]。但据相关研究发现,采取肝动脉化疗栓塞治疗后癌细胞的完全坏死率仅可达 5% 左右,剩余的癌细胞仍会继续出现增殖、转移,远期疗效并不理想^[10]。经皮 RFA 治疗是通过高频电流从非绝缘电极尖端进入肿瘤周围组织,损伤肿瘤组织让其坏死、变性、脱落,达到消融病灶的目的^[11]。本研究发现,研究组总有效率明显高于对照组,这与既往 Zhang 等^[12]研究结果相似,说明经皮 RFA 治疗原发性肝癌的效果更为显著。相关研究证实,原发性肝癌患者细胞免疫功能存在明显的失衡情况,主要表现在 CD8⁺ 细胞占比的上升以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值的下降^[13]。本研究结果提示两种治疗方式皆可有效改善患者机体的细胞免疫功能,提高机体免疫力,且研究组对于患者细胞免疫功能的调节效果优于对照组。这可能与经

皮RFA杀灭了肿瘤组织,使肿瘤组织的免疫抑制因子产生减少,解除了宿主的免疫抑制状态相关。TGF- β 1是一类多功能的细胞因子,研究显示,在肿瘤的发生、发展过程中,TGF- β 1可通过抑制细胞生长周期,发挥抑制肿瘤细胞以及正常细胞生长的作用^[14]。但随着肿瘤的发生、发展,TGF- β 1会转变为肿瘤生长刺激因子,促进肿瘤细胞的生长、转移以及浸润。EGR2为早期生长反应基因家族中的一员,在多种肿瘤中发挥抑癌基因的功能,能有效抑制肝癌细胞增殖^[15]。本研究中,与治疗前相比,治疗后两组TGF- β 1水平下降、EGR2水平上升,其中以研究组更为显著。证实了研究组在降低患者TGF- β 1水平、改善EGR2水平方面优于对照组,能够有效抑制患者肿瘤的生长。另外,在对患者进行治疗时还需要考虑到安全性,因此本文还对患者的不良反应发生情况进行了统计,发现两组不良反应情况比较差异无统计学意义,安全性较佳,证明经皮RFA治疗对患者机体的影响较小。

综上所述,经皮RFA治疗原发性肝癌的效果确切,可有效改善机体免疫功能及血清TGF- β 1、EGR2水平,且安全性较高,临床应用前景可观。

参考文献

- [1] 程柳, 郭涛, 王浩. RFA联合TACE治疗肝癌的疗效及预后影响因素分析[J]. 西南国防医药, 2019, 29(5): 593-596.
- [2] 孙玉, 张洪海, 生守鹏, 等. 经肝动脉化疗栓塞术联合射频消融治疗巴塞罗那B期原发性肝癌的效果及预后影响因素分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(4): 818-824.
- [3] 符白玉, 林怡, 徐琪, 等. mFOLFOX6化疗联合射频消融治疗原发性肝癌的疗效及机制研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1): 69-73.
- [4] Nault JC, Cheng AL, Sangro B, et al. Milestones in the pathogenesis and management of primary liver cancer[J]. J Hepatol, 2020, 72(2): 209-214.
- [5] 李圳, 杨兴武, 王乾, 等. 肝动脉化疗栓塞联合射频消融治疗原发性小肝癌的临床效果[J]. 肝胆胰外科杂志, 2019, 31(12): 731-736.
- [6] 王伟林. 《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》解读[J]. 华西医学, 2018, 33(4): 385-387.
- [7] 张萍, 艾斌. 实体瘤免疫治疗疗效评价标准[J]. 国际肿瘤学杂志, 2016, 43(11): 848-851.
- [8] Sparchez Z, Mocan T, Hajjar NA, et al. Percutaneous ultrasound guided radiofrequency and microwave ablation in the treatment of hepatic metastases. A monocentric initial experience[J]. Med Ultrason, 2019, 21(3): 492-498.
- [9] Florio AA, Graubard BI, Yang B, et al. Oophorectomy and risk of non-alcoholic fatty liver disease and primary liver cancer in the Clinical Practice Research Datalink[J]. Eur J Epidemiol, 2019, 34(9): 871-878.
- [10] 王森, 郭志. 消积活血抗癌方联合实时虚拟导航系统引导的射频消融治疗原发性肝癌的临床研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(10): 2381-2384.
- [11] Liu Z, Mao X, Jiang Y, et al. Changing trends in the disease burden of primary liver cancer caused by specific etiologies in China[J]. Cancer Med, 2019, 8(12): 249-253.
- [12] Zhang Z, Zeng P, Gao W, et al. Exploration of the Potential Mechanism of Calculus Bovis in Treatment of Primary Liver Cancer by Network Pharmacology[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2021, 24(1): 472-476.
- [13] Chang TS, Yang YH, Chen WM, et al. Long-term risk of primary liver cancers in entecavir versus tenofovir treatment for chronic hepatitis B[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 225-228.
- [14] Takagi K, Midorikawa Y, Takayama T, et al. Effects of Pyrrole-Imidazole Polyamides Targeting Human TGF- β 1 on the Malignant Phenotypes of Liver Cancer Cells[J]. Molecules, 2020, 25(12): 1285-1289.
- [15] Zhao J, Song Y, Liu L, et al. Effect of arsenic trioxide on the Tregs ratio and the levels of IFN- γ , IL-4, IL-17 and TGF- β 1 in the peripheral blood of severe aplastic anemia patients[J]. Medicine, 2020, 93(26): 630-637.
- [11] Akasaka J, Naruse K, Sado T, et al. Involvement of receptor for advanced glycation endproducts in hypertensive disorders of pregnancy[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(21): 5462.
- [12] Garcomez E, Bobadilla-Bravo M, Diaz-Diaz E, et al. High Plasmatic Levels of Advanced Glycation End Products are Associated with Metabolic Alterations and Insulin Resistance in Preeclamptic Women[J]. Curr Mol Med, 2020, 20(9): 751-759.
- [13] 杨扬. 子宫动脉血流多普勒检查及血清学指标联合预测妊娠期高血压疾病的价值分析[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(22): 4376-4378.
- [14] 王娜, 张小环, 陈丽珍, 等. 血清低氧诱导因子-1 α , 胎盘生长因子及妊娠相关血浆蛋白A检测对子痫前期的预测价值[J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(1): 108-111.
- [15] 栾青春, 杨玉侠, 邢运贞, 等. 妊娠期高血压疾病糖脂代谢及其与血清Visfatin, RBP4浓度的相关性分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2021, 32(7): 991-994.
- [16] 王彬, 赵立武, 董嘉良. 血清 β 2-微球蛋白、RBP4及尿NGAL联合检测在诊断妊娠期高血压早期肾损害价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(8): 698-701.

(上接第634页)

· 论 著 ·

一种无创的子宫内膜获取方法在子宫内膜病变的诊断价值

高璐璐 曾莉* 吴艳婷

【摘要】目的 探讨一种无创的子宫内膜获取方法在子宫内膜病变的诊断价值及应用前景。**方法** 2020年10月至2021年10月间南通市妇幼保健院收治的100例因异常子宫出血就诊患者的临床资料,所有患者均分别采用月经杯留取子宫内膜及宫腔镜诊刮术获取子宫内膜组织学标本,另选取50份因非“子宫内膜原因”、子宫肌瘤行子宫切除者子宫内膜标本为正常对照组。评价两种方法取材满意度情况,并以诊断性刮宫组织学病理为金标准,评价月经杯留取子宫内膜在诊断子宫内膜病变的诊断效能。采用免疫组化检测Ki67、PCNA蛋白在子宫内膜病变组织中表达情况。**结果** 诊刮取材满意度明显优于月经杯留取子宫内膜,差异有统计学意义($Z=121.396, P<0.05$)。诊刮共检出81例子宫内膜病变,检出率为81.0%,月经杯留取子宫内膜共检出23例子宫内膜病变,检出率为23.0%。子宫内膜病变组织中的Ki67蛋白和PCNA蛋白阳性表达率均明显高于正常子宫内膜组织,差异有统计学意义($\chi^2=4.687, 10.570, P<0.05$)。**结论** 月经杯留取子宫内膜为一种无创、无痛、非侵入性的子宫内膜获取方法,结合现有实验室检测技术,可更好地为子宫内膜病变的诊断提供服务。

【关键词】 无创;子宫内膜获取方法;子宫内膜病变

The diagnostic value of a non-invasive endometrial acquisition method in endometrial diseases

GAO Lulu, ZENG Li*, WU Yanting

(Department of Gynecology, Nantong Maternal and Child Health Hospital, Nantong, Jiangsu, China, 226000)

【ABSTRACT】 Objective To explore the diagnostic value and application prospect of a non-invasive endometrial acquisition method in endometrial diseases. **Methods** A retrospective analysis of the clinical data of 100 patients with abnormal uterine bleeding admitted to Nantong Maternity and Child Health Hospital from October 2020 to October 2021. All patients were treated with menstrual cups to retain the endometrium and hysteroscopic curettage. Histological specimens of the endometrium were obtained surgically, and 50 endometrial specimens of hysterectomy due to non-“endometrial reasons” and uterine fibroids were selected as the normal controls. The satisfaction of the two methods was evaluated, and the diagnostic efficacy of the menstrual cup in the diagnosis of endometrial lesions was evaluated by taking the histological pathology of diagnostic curettage as the gold standard. The expression of Ki67 and PCNA protein in endometrial lesions was detected by immunohistochemistry. **Results** Satisfaction with scraping and collecting material was significantly better than that with menstrual cup collecting endometrial, and the difference was statistically significant ($Z=121.396, P<0.05$). A total of 81 cases of endometrial lesions were detected by curettage, with a detection rate of 81.0%, and a total of 23 cases of endometrial lesions were detected in the menstrual cups, with a detection rate of 23.0%. The positive expression rates of Ki67 protein and PCNA protein in endometrial lesions were significantly higher than those in normal endometrial tissue, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.687, 10.570, P<0.05$). **Conclusion** Menstrual cup retention of endometrium is a non-invasive, painless and non-invasive method of obtaining the endometrium. Combined with the existing laboratory detection

基金项目:南通市市级科技计划项目(JCZ2008)

作者单位:南通市妇幼保健院妇科,江苏,南通 226000

*通信作者:曾莉, E-mail: ziyangzengli@163.com

technology, it can better provide services for the diagnosis of endometrial lesions.

[KEY WORDS] Non-invasive; Endometrial acquisition method; Endometrial disease

子宫内膜病变为妇科常见病,病变类型包括子宫内膜增生、子宫内膜息肉、子宫内膜炎以及早期子宫内膜癌等^[1]。目前,评估子宫内膜病变的检查方法包括诊断性刮宫、经阴道超声检查(Transvaginal ultrasound, TVS)、CT检查、宫腔镜检查、子宫内膜活检、子宫内膜细胞学检测等^[2]。TVS、CT检查对判断病变浸润深度、宫颈是否受累及有无淋巴转移方面有一定优势,但价格相对偏高,一般只作为对已确诊子宫内膜癌患者术前检查及分期依据。而诊断性刮宫、宫腔镜检查、子宫内膜活检、子宫内膜细胞学检测均为侵入性或半侵入性操作,常伴随疼痛及内膜损伤,不能反复取材,且一定程度上增加宫腔感染的风险^[3-4]。因此,有必要寻找一种无创、经济、可重复性强子宫内膜获取方式用于子宫内膜病变诊断。本研究通过一种无创、无痛、非侵入性方式获取子宫内膜,即月经杯留取子宫内膜,探讨其在子宫内膜病变中的诊断价值及应用前景,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年10月至2021年10月间南通市妇幼保健院收治的100例因异常子宫出血就诊患者的临床资料。年龄平均(33.61 ± 8.59)岁,体质指数(Body mass index, BMI)平均(22.63 ± 2.63) kg/m²。纳入标准:①因异常子宫出血就诊,TVS检查提示子宫内膜异常回声或增厚;②临床资料完整。排除标准:①阴道活动性大出血;②合并急性生殖道感染;③就诊前已确诊子宫内膜癌;④合并严重肝、肾功能障碍;⑤妊娠、哺乳期以及绝经期妇女;⑥临床资料不完整。本研究获医院伦理委员会批准,所有患者及家属均知情并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 采集标本

采集标本前行TVS检查评估患者子宫内膜厚度,先用月经杯留取月经血提取子宫内膜,送病理及免疫组化检验。当天随后行宫腔镜诊刮术,术前口服卡前列甲酯栓,留取子宫内膜获取组织学标本,送病理检验。

留取月经血:置月经杯于阴道内,膀胱截石位平卧检查床,消毒外阴,窥阴器暴露宫颈,血管钳将

消毒硅胶月经杯卷曲成C型放置阴道内,将杯口放置宫颈外口下缘,松开血管钳,杯口自然弹开,血管钳固定,上推月经杯下缘,至杯口贴近穹窿,血管钳固定月经杯另一手退出松开并退出窥阴器,自由活动后4小时取出月经杯:平卧检查床,消毒外阴,带消毒手套,手指沿阴道后壁摸至杯口,稍挤压杯口致松动,消除负压,缓慢牵出月经杯,取出过程中杯口向上以防月经血翻撒,月经血倒入50 mL消毒离心管,盖紧离心管盖,4℃保存待检。提取月经血子宫内膜:向装有月经血的离心管中加入1:1 PBS液混匀,月经血倒入100目金属滤网,滤掉月经血,留取疏松、呈网状、半透明的内膜碎片,滤纸吸去游离的水分及血液,称重后置入冻存管中,迅速放入液氮,30 min后转移至-80℃冰箱长期存放。

1.2.2 免疫组化

采用免疫组化SP法检测月经杯留取子宫内膜获得组织标本及因非“子宫内膜原因”、子宫肌瘤行子宫切除者子宫内膜标本中的Ki67、PCNA蛋白情况。①取组织石蜡包块,常规切片(4 μm)、脱蜡处理→②高压修复抗原→③阻断灭活内源性过氧化物酶→④滴加羊血清封闭→⑤滴加采用PBS稀释兔抗人Ki67一抗(稀释比为1:50)/兔抗人PCNA一抗(稀释比为1:100),PBS冲洗→⑥滴加经辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗→⑦滴加链霉素抗生素蛋白-过氧化物酶(SP)→⑧DAB显色→⑨苏木素复染→⑩脱水、透明、封片、镜检。设置PBS代替一抗为阴性对照。Ki67、PCNA蛋白阳性标准:细胞核染色呈棕黄色即为阳性。

1.3 观察指标

评价两种方法取材满意度情况,以诊刮为金标准,评价月经杯留取子宫内膜在子宫内膜病变的诊断价值,并分析Ki67、PCNA蛋白在子宫内膜病变组织中表达情况。

诊断价值:灵敏度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)*100%;特异度=真阴性例数/(假阳性例数+真阴性例数)*100%;阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)*100%;阴性预测值=真阴性例数/(假阴性例数+真阴性例数)*100%;诊断符合率=(真阳性例数+真阴性例数)/(真阳性例数+假阳性例数+真阴性例数+假阴性例数)。

取材满意度^[5];同时符合以下条件则为满意,反之则为不满意。①宫腔镜检查可见宫腔四壁、宫底及双侧输卵管开口处均出现明显擦痕;②腺上皮细胞量够、保存完好,且包含5堆及以上子宫内膜细胞。

1.4 统计学方法

数据采用SPSS 22.0软件处理。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。取材满意度采用Mann-Whitney U 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种取材方法的取材满意度比较

诊刮取材满意度明显优于月经杯留取子宫内膜,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两种取材方法的取材满意度比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of material satisfaction between the two material taking methods [$n(\%)$]

分组	n	满意	不满意
月经杯留取子宫内膜	100	23(23.00)	77(77.00)
诊刮	100	99(99.00)	1(1.00)
Z值		121.396	
P值		<0.001	

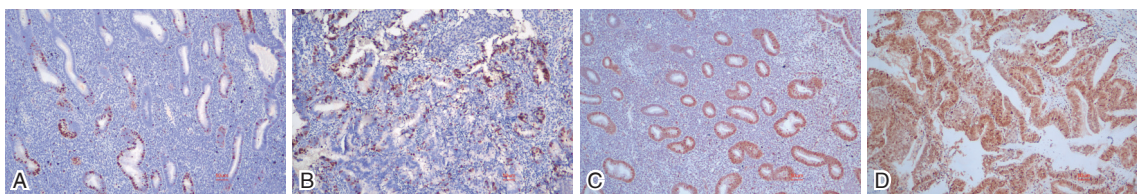
2.2 月经杯留取子宫内膜对子宫内膜病变的诊断效能

诊刮共检出81例子宫内膜病变,检出率为81.0%,月经杯留取子宫内膜共检出23例子宫内膜病变,检出率为23.0%。见表2。

表2 月经杯留取子宫内膜与诊刮结果比较

Table 2 Comparison of endometrial and diagnostic cureff results for menstrual cup

诊刮		月经杯留取子宫内膜		敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	诊断符合率 (%)
		+	-					
子宫内膜增生	+	10	31	24.4	77.8	83.3	18.4	34.0
	-	2	7					
子宫内膜息肉	+	10	22	31.3	80.0	90.9	15.4	37.8
	-	1	4					
子宫内膜炎	+	2	3	40.0	66.7	66.7	40.0	50.0
	-	1	2					
子宫内膜癌	+	1	2	33.3	50.0	50.0	33.3	40.0
	-	1	1					



注:a,b分别为正常子宫内膜及癌组织中Ki67蛋白表达情况;c,d分别为正常子宫内膜及癌组织中PCNA蛋白表达情况。

图1 Ki67蛋白和PCNA蛋白在子宫内膜病变组织中的表达(SP,×100)

Figure 1 Expression of Ki67 protein and PCNA protein in endometrial lesion tissue (SP,×100)

2.3 Ki67蛋白和PCNA蛋白在子宫内膜病变组织中的表达

子宫内膜病变组织中的Ki67蛋白和PCNA蛋白阳性表达率均明显高于正常子宫内膜组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3及图1。

表3 Ki67蛋白和PCNA蛋白在子宫内膜病变组织中的表达 [$n(\%)$]

Table 3 Expression of Ki67 protein and PCNA protein in endometrial lesion tissue [$n(\%)$]

分组	n	Ki67蛋白		PCNA蛋白	
		+	-	+	-
子宫内膜病变组织	23	13(56.52)	10(43.48)	14(60.87)	9(39.13)
正常子宫内膜组织	50	15(30.00)	35(70.00)	11(22.00)	39(78.00)
χ^2 值		4.687		10.570	
P值		0.030		0.001	

3 讨论

目前,可用于子宫内膜病变检查方法众多,各有其优缺点^[6]。宫腔镜下诊断性刮宫被认为是诊断子宫内膜病变的金标准,但宫腔镜下诊刮费用高、操作繁琐、创伤大,且有出血、感染、粘连、穿孔等相关并发症^[7]。舒珊等^[8]通过无创收集月经血、过滤获取子宫内膜的取材方式,研究子宫内膜异位症差异蛋白的表达及其功能,发现月经血子宫内膜免疫组化与诊刮获得子宫内膜组织免疫组化

结果一致,为月经血用于子宫内膜异位症及子宫内膜病变的研究提供了理论基础。

本研究中所采用的月经杯留取月经血获取子宫内膜是一种无创、无痛、非侵入性的子宫内膜获取方法,取材方便,操作简单,可重复性强,患者可自行控制,更易被患者接受^[9]。本研究结果表明,月经杯留取子宫内膜相较刮宫取材满意度较低,提示此方法在取材效果方面仍有待提高。诊断结果比较,诊刮共检出81例子官内膜病变,以子宫内膜增生及子宫内膜息肉为主,与大多数研究结果一致;月经杯留取子宫内膜共检出23例子官内膜病变,其中,10例子官内膜增生、10例子官内膜息肉、2例子官内膜炎、子宫内膜癌1例,对于子宫内膜息肉检出高可能与息肉有细小根蒂,容易脱落有关,而对3例子官内膜癌可检出1例,说明月经杯留取子宫内膜也是一种可早期筛查子宫内膜癌的方法^[10]。月经杯留取子宫内膜诊断子宫内膜病变敏感度均较低,分析可能与其留取子宫内膜量不足有关,而特异度、阳性预测值均尚可,说明月经杯留取子宫内膜为一种敏感度适中,特异性较强的取材方法,后续如何提高该方法诊断敏感度为该方法应用至临床急需解决问题^[11]。

Ki67和PCNA都是肿瘤细胞增殖因子。Ki67是一种增殖细胞相关的核抗原,其阳性率越高,肿瘤生长越快,能判断肿瘤细胞活跃程度。大量研究表明,Ki67在多种恶性肿瘤细胞中均有显著性改变,如胃癌、甲状腺癌、胰腺癌、卵巢癌、肾上腺皮质癌及宫颈鳞癌等^[12]。王彦秋等^[13]研究了Ki67在正常子宫内膜、子宫内膜增生及子宫内膜癌中的表达趋势,结果显示Ki67与内膜病变的发生密切相关,可将其作为一个评价子宫内膜恶性进展的生物学指标。PCNA是增殖核抗原,与细胞DNA的合成密切关系,并在细胞的增殖启动上起着重要作用。翁亚茜等^[14]研究发现PCNA的高表达与肿瘤的早期发生有关。Usta A等^[15]研究发现PCNA的异常阳性表达可能在子宫内膜增殖症及恶性转变过程中发挥着一定的作用。寻找一个可靠的组织学标记物评价子宫内膜增生及进展具有重要意义。本研究表明可能有癌变风险,结合月经杯留取子宫内膜的病理检查能为子宫内膜病变诊断提供更有力依据。

总之,本研究通过一种新的方式获取子宫内膜组织,研究其在子宫内膜增生疾病中的灵敏度及特异度,可为今后子宫内膜增生疾病的随访和治疗提供依据,可减少对女性子宫内膜创伤,且安全无痛,

促进女性健康。但该方法不足在于单独应用诊断敏感度、特异度及诊断符合率均较低,若是能有效提高以上指标,相信其将具有较广泛应用前景。

综上所述,月经杯留取子宫内膜为一种无创、无痛、非侵入性的子宫内膜获取方法,结合现有实验室检测技术,可更好地为子宫内膜病变的诊断提供服务。

参考文献

- [1] 陈慧敏,周涵,钟玲,等.经阴道三维超声鉴别诊断子宫内膜病变类型及子宫内膜癌分期的价值[J].中国医学装备,2021,18(10):83-87.
- [2] Lv SL, Wang Q, Li Y, et al. A Clinical Comparative Study of Two Different Endometrial Cell Samplers for Evaluation of Endometrial Lesions by Cytopathological Diagnosis [J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 10551-10557.
- [3] 吴华臣,黄迎春,韩欣红,等.经阴道超声与宫腔镜对子宫内膜病变患者的诊断价值比较研究[J].现代生物医学进展,2018,18(14):2683-2687.
- [4] Karpova AE, Shabalova IP, Sozaeva LG, et al. Comprehensive approach to diagnostic cytology in endometrial pathology (review of literature) [J]. Klin Lab Diagn, 2021, 66(2): 87-94.
- [5] 王海燕,周健,任玲,等.子宫内膜细胞采集器筛查子宫内膜癌临床分析[J].徐州医学院学报,2016,36(7):433-435.
- [6] 崔卓.阴道超声联合宫腔细胞学检查在绝经后妇女子宫内膜病变中的诊断价值[J].中国妇幼保健,2018(3):683-685.
- [7] 花茂方,姚军,蒋巧玲.宫腔镜定位刮宫术对围绝经期异常子宫出血的诊断价值[J].现代医学,2020,48(4):481-484.
- [8] 舒珊,樊庆泊,郎景和.月经血子宫内膜作为无创取材组织来源的研究[J].中华妇产科杂志,2019,54(8):527-533.
- [9] 李丰鑫,窦磊,田东立,等.子宫内膜病变筛查中负压型子宫内膜取样器的应用价值[J].中国医科大学学报,2018,47(12):1116-1118+1132.
- [10] 蒋英,翟妍,王秋石,等.子宫内膜取样器用于子宫内膜组织学诊断的可行性研究[J].首都医科大学学报,2019,40(6):851-856.
- [11] 全诗敏,隋燕霞,柳雨,等.一次性子宫内膜取样器筛查子宫内膜癌的应用价值[J].实用妇产科杂志,2019,35(4):313-316.
- [12] 马春艳.卵巢癌组织中Ki67蛋白的表达及临床病理特征与预后的相关性[J].河北医学,2019,25(7):1102-1104.
- [13] 王彦秋,郑爱华,段丽艳.子宫内膜癌中FasL和Ki67的表达及临床意义[J].现代肿瘤医学,2019,27(11):1979-1983.
- [14] 翁亚茜,鲍伟杰,梁瑞敏,等.MAPK信号通路调控子宫内膜癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J].临床与病理杂志,2019,39(3):470-478.
- [15] Usta A, Turan G, Altun E, et al. The Usefulness of CD34, PCNA Immunoreactivity, and Histopathological Findings for Prediction of Pain Persistence After the Removal of Endometrioma [J]. Reprod Sci, 2019, 26(2): 269-277.

· 论 著 ·

血清 PCT、IL6、NT-proBNP 联合 hs-TnT 在早期急诊脓毒症患者诊断中的临床意义

王伟¹ 刘丰芹² 贾方兰^{3*}

[摘要] **目的** 探讨血清降钙素原(PCT)、白细胞介素-6(IL-6)、N-末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、高敏心肌钙蛋白 T(hs-TnT)在早期急诊脓毒症患者中的诊断价值。**方法** 选取 88 例 2018 年 5 月至 2021 年 5 月就诊于东营区人民医院的脓毒症患者作为研究组,选取 53 例同期健康体检者为对照组,另选取 38 例同期内毒素血症患者作为非脓毒症组,比较三组及不同病情程度脓毒症患者血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平,并比较不同病情程度患者序贯器官衰竭(SOFA)评分、急性生理与慢性健康评分状况 II(APACHE II)评分, Pearson 相关性分析上述血清指标与 SOFA、APACHE II 评分相关性,受试者工作特征曲线(ROC)评估血清指标联合对早期急诊脓毒症患者的诊断价值,比较高危、低危组生存率。**结果** 3 组血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平比较:研究组>非脓毒症组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);重症组血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平及 APACHE II、SOFA 评分较轻症组高,差异有统计学意义($P<0.05$);经 Pearson 相关性分析, PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 与 APACHE II、SOFA 评分呈显著正相关($P<0.05$);PCT、IL-6、NT-proBNP、hs-TnT 联合诊断敏感度为 84.09%,特异度为 86.79%, AUC 值为 0.930,优于单一诊断($P<0.05$);与 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 高危组病死率相比,低危组病死率较低,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 在早期急诊脓毒症患者中呈高表达,对于早期急诊脓毒症患者具有一定诊断价值,为临床评估预后提供比较可靠依据。

[关键词] 血清降钙素原; 白细胞介素-6; N-末端脑钠肽前体; 高敏心肌钙蛋白 T

Clinical significance of serum PCT, IL6, NT-proBNP combined with hs-TnT in the diagnosis of early emergency sepsis patients

WANG Wei¹, LIU Fengqin², JIA Fanglan^{3*}

(1. Public Health Department, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000;
2. Dental Department, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000, 3. Traditional Chinese Medicine Department, Dongying New District Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate serum procalcitonin (PCT), interleukin-6 (IL-6), N-terminal precursor brain natriuretic peptide (NT-proBNP), high-sensitivity cardiac troponin T (hs-TnT) Diagnostic value in early emergency sepsis patients. **Methods** A total of 88 patients with sepsis who were treated in our hospital from May 2018 to May 2021 were selected as the experimental group, and 38 healthy subjects during the same period were selected as the control group, The serum levels of PCT, IL6, NT-proBNP and hs-TnT were compared between the two groups and patients with different disease degrees, and the sequential organ failure (SOFA) scores and acute physiology and chronic health status II (APACHE II) scores in patients with different disease degrees were compared. Pearson correlation analysis was performed to analyze the correlation between the above serum indicators and SOFA and APACHE II scores. The receiver operating characteristic curve (ROC) was used to evaluate the diagnostic value of serum indicators combined in patients

基金:山东省中医药科技发展计划项目(2019-0468)

作者单位:1. 东营区人民医院公共卫生科, 山东, 东营 257000

2. 东营区人民医院口腔科, 山东 东营 257000

3. 东营市东营区新区医院中医科, 山东, 东营 257000

*通信作者:贾方兰, E-mail:2836345009@qq.com

with early emergency sepsis, and compared the survival rates of high-risk and low-risk groups. **Results** Comparison of serum PCT, IL6, NT-proBNP, hs-TnT levels among the three groups: study group > non-sepsis group > control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum PCT, IL6, NT-proBNP, hs-TnT levels and APACHE II and SOFA scores in the severe group were higher than those in the mild disease group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The combined diagnostic sensitivity of PCT, IL-6, NT-proBNP and hs-TnT was 84.09%, the specificity was 86.79%, and the AUC value was 0.930, which was better than the single diagnosis ($P<0.05$). Compared with the high-risk group of PCT, IL6, NT-proBNP, and hs-TnT, the low-risk group had a lower mortality, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Serum PCT, IL6, NT-proBNP, and hs-TnT are highly expressed in patients with early emergency sepsis, which have certain diagnostic value for patients with early emergency sepsis, and provide a relatively reliable basis for clinical evaluation and prognosis.

[KEY WORDS] Serum procalcitonin; Interleukin-6; N-terminal pro-brain natriuretic peptide; High-sensitivity cardiac troponin T

脓毒症为一种由感染引起的全身性炎症反应综合征,具有病死率高、病情发展迅速等特点,且近年来其发病人数逐渐上升^[1]。相关研究结果表明^[2],早期脓毒症患者病死率随确诊时间延长而提高。因此,临床应尽早对其病情进行评估,并制定相应治疗方案,以改善预后。以往临床常采用细菌培养、聚合酶链式反应进行早期诊断评估,但所需时间较长,易延误最佳治疗时机^[3]。相关研究表明^[4],血清白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、血清降钙素原(Procalcitonin, PCT)、N-末端脑钠肽前体(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)等指标与脓毒症病情具有密切关系,可用于评估预后情况。高敏心肌钙蛋白T(High Sensitivity Troponin T, hs-TnT)为第五代心肌细胞损伤标志物,可有效反映脓毒症患者心肌损伤程度^[5]。本研究选取本院脓毒症患者,旨在探讨血清PCT、IL6、NT-proBNP联合hs-TnT的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取88例2018年5月至2021年5月就诊于东营区人民医院的脓毒症患者作为研究组,其中男55例,女33例,平均年龄(42.36 ± 3.94)岁;体质指数平均(22.85 ± 0.72) kg/m^2 ;选取53例同期健康体检者为对照组,其中男32例,女21例,平均年龄(42.85 ± 4.08)岁;体质指数平均(23.08 ± 0.76) kg/m^2 ;另选取38例同期内毒素血症患者作为非脓毒症组,其中男23例,女15例,平均年龄(41.85 ± 3.56)岁;体质指数平均(22.78 ± 0.64) kg/m^2 ;根据快速器官衰竭(Quick sequential organ failure assessment, qSOFA)评分^[6]对研究组患者病情程度进行评估,其中

qSOFA ≥ 2 分为重症组($n=36$),qSOFA < 2 分为轻症组($n=52$);三组基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会审核批准。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准:研究组均经《2008国际严重脓毒症和脓毒性休克治疗指南》^[7]中相关标准确诊;非脓毒症组均经临床相关检查确诊内毒素血症;预计生存时间 > 24 h;发病至入ICU时间 < 24 h;患者及家属知情本研究并签署同意书。排除标准:合并其他免疫缺陷疾病;入院前长期使用抗凝、激素类药物;合并心血管、肾、肝及造血系统严重疾病;合并恶性肿瘤者。

1.3 方法

1.3.1 治疗方法

研究组均给予美罗培南及痰热清治疗。美罗培南 2 g+ 0.9% 无菌生理盐水 100 mL 静脉滴注, 2 次/d;每次间隔 8 小时。痰热清 20 mL+ 0.9% 无菌生理盐水 250 mL 静脉滴注,每日 1 次;所有患者均连续治疗 2 周,根据《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》^[8]中相关标准进行预后评估。

1.3.2 检查方法

研究组采集入院 24 h 内外周静脉血 5 mL, 非脓毒症组、对照组采集空腹状态下外周静脉血 5 mL, 经离心半径 10 cm、3 000 r/min 离心 12 min 后收集血清, -20°C 保存。采用酶联免疫吸附法对两组血清 PCT、IL6 水平进行检测,试剂盒由九强及诺尔曼公司提供;采用电化学发光免疫法对两组血清 NT-proBNP 水平进行检测,试剂盒由德国产贝克曼公司提供;采用日本东芝全自动生化分析仪对两组血清 hs-TnT 水平进行检测。

1.4 观察指标

①比较入院时研究组、非脓毒症组、对照组血

清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平。②比较入院时不同病情程度患者血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平及急性生理与慢性健康评分状况 II (Acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II) 评分^[9], 其中 APACHE II 总分 71 分, 分数越高表示患者病情越严重; 序贯器官衰竭 (sequential organ failure assessment, SOFA)^[10] 评分总分 24 分, 分数越高表示患者病情越严重。③分析上述血清指标水平与 APACHE II、SOFA 评分相关性以及对早期急诊脓毒症患者的诊断价值。④随访 28 d 后, 根据 ROC 最佳截断值分为高危、低危组, 统计 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 高危、低危组病死例数, 并比较生存率。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件处理数据, 计数资料用 $n(\%)$ 表示, 行 χ^2 检验, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 行 t 检验, 采用 Pearson 进行相关性分析, 采用受试者工作特征曲线 (ROC) 及曲线下面积 (AUC) 评估诊断价值。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平比较

3 组血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平研究组 > 非脓毒症组 > 对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum PCT, IL6, NT proBNP and HS TNT levels between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PCT (ng/mL)	IL6 (ng/mL)	NT-proBNP (pg/mL)	hs-TnT (mg/L)
研究组	88	5.23±1.14	37.28±3.27	423.26±35.48	28.35±3.86
非脓毒症组	38	1.86±0.38	12.75±1.38	274.52±28.63	10.16±1.73
对照组	53	0.67±0.15	3.15±0.85	225.36±23.74	3.28±0.64
<i>F</i> 值		566.581	3612.954	760.048	1422.619
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同病情程度血清指标水平及相关评分比较 重症组血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水

表 2 不同病情程度血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PCT (ng/mL)	IL6 (ng/mL)	NT-proBNP (pg/mL)	hs-TnT (mg/L)	APACHE II (分)	SOFA (分)
重症组	36	8.35±1.56	42.58±5.36	492.74±38.53	34.26±4.23	21.58±2.59	8.67±1.85
轻症组	52	3.07±1.12	33.61±2.95	375.16±20.15	24.26±3.37	11.37±1.96	3.96±1.46
<i>t</i> 值		18.492	10.078	18.656	12.319	21.043	13.327
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

平及 APACHE II、SOFA 评分较轻症组高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 相关性分析

经 Pearson 相关性分析发现, PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 与 APACHE II、SOFA 评分呈显著正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 与 APACHE II、SOFA 评分相关性分析

Table 3 Correlation Analysis between serum PCT, IL6, NT proBNP, HS TNT and Apache II and sofa scores

指标	PCT		IL6		NT-proBNP		hs-TnT	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
APACHE II	0.728	<0.05	0.647	<0.05	0.684	<0.05	0.674	<0.05
SOFA	0.742	<0.05	0.653	<0.05	0.696	<0.05	0.685	<0.05

2.4 诊断价值分析

PCT、IL-6、NT-proBNP、hs-TnT 联合诊断敏感度为 84.09%, 特异度为 86.79%, AUC 值为 0.930, 优于单一诊断。见表 4、图 1。

表 4 血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 的 ROC 曲线分析
Table 4 ROC curve analysis of serum PCT, IL6, NT proBNP and HS TNT

检测指标	AUC	截断值	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	<i>P</i> 值
PCT	0.740	5.36 ng/mL	0.660~0.811	60.23	81.13	<0.001
IL6	0.803	39.54 ng/mL	0.727~0.865	71.59	75.47	<0.001
NT-proBNP	0.749	431.29 pg/mL	0.669~0.818	70.45	81.13	<0.001
hs-TnT	0.781	30.16 mg/L	0.703~0.846	55.68	94.34	<0.001
联合诊断	0.930	—	0.874~0.966	84.09	86.79	<0.001

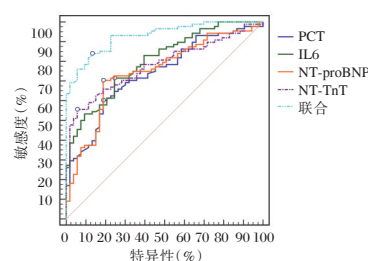


图 1 血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 的 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis of serum PCT, IL6, NT proBNP and HS TNT

2.5 血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 与脓毒症患者预后关系

随访 28 d 后, 88 例患者共病死 29 例。根据 ROC 曲线分析得到血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 的最佳截断值, 以入院时 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 分别 >5.36 ng/mL ($n=34$)、 >39.54 ng/mL ($n=39$)、 >431.29 pg/mL ($n=35$)、 >30.16 mg/L ($n=32$) 为高危组, 分别病死 19 例、22 例、23 例、20 例, 低危组分别病死 10 例、7 例、6 例、9 例。与 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 高危组病死率相比, 低危组病死率较低 ($P<0.05$)。见表 5。

表 5 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 高危、低危组病死率比较

Table 5 Comparison of mortality between high-risk and low-risk groups of PCT, IL6, NT proBNP and HS TNT

组别	PCT (ng/mL)	IL6 (ng/mL)	NT-proBNP (pg/mL)	hs-TnT (mg/L)
高危组	55.88(19/34)	56.41(22/39)	65.71(23/35)	62.50(20/32)
低危组	18.52(10/54)	14.29(7/49)	11.32(6/53)	16.07(9/56)
χ^2 值	13.183	17.441	28.227	19.867
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

脓毒症为一种全身感染性疾病, 其早期临床表现缺乏特异性, 多通过细菌培养及聚合酶链式反应进行诊断, 但细菌培养时间大多数需要 48 h 以上, 而聚合酶链式反应分析技术操作过程较为复杂, 从而延误最佳诊治时间, 影响预后效果。

近年来 SOFA 评分被用于脓毒症病情评估, 通过对患者收缩压、精神状态等参数进行测定, 可在临床无血液检查结果情况下对病情进行评估。相关研究结果表明^[11], SOFA 评分可用于重症监护病房患者预后的预测, 但单独采用 SOFA 评分敏感度较低, 无法用于早期脓毒症的筛查中。本研究结果提示血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平与脓毒症病情具有一定联系, 分析其原因可能在于, 当出现全身性感染时, 内毒素刺激组织发生炎症反应, 机体激活免疫反应, 粘附的单核细胞与脂肪细胞直接接触, 致使器官功能出现障碍, 诱导全身多种组织细胞分泌释放 PCT, 促使 PCT 水平升高; 脓毒症患者存在较为严重的细胞免疫缺陷, 机体 T、B 淋巴细胞调节紊乱, 致使血液中存在较高的循环免疫复合物, 且当巨噬细胞吞噬抗原时, IL-6 可作用于血管内皮细胞, 引起病理性质

损伤, 促进疾病发展; 脓毒症患者可同时存在心脏舒张、收缩功能障碍, 致使 NT-proBNP 水平升高, 且当血清 IL-6 水平升高时, 可刺激心肌细胞 BNP 表达, 促使 NT-proBNP 分泌释放, 此外, 脓毒症患者存在不同程度器官功能障碍引发炎症, 而炎症因子可损伤肾功能, 从而致使 NT-proBNP 水平提高; 脓毒症患者机体存在大量炎症因子及活性氧自由基, 可直接对心肌细胞造成损伤, 当受到细菌感染时内毒素可对心肌细胞造成毒性作用, 此外, 脓毒症可引起微循环障碍, 而微循环障碍可致使心肌细胞缺血及再灌注损伤, 从而引起 hs-TnT 水平提高^[12-13]。宋振举等^[14]研究结果显示, 血清 IL-1、IL6 等炎症指标水平与脓毒症患者病情具有相关性。王婷婷等^[15]研究结果显示, hs-TnT 可有效反映脓毒症患者病情程度, 与预后具有一定相关性。本研究经相关性研究发现, PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 与 APACHE II、SOFA 评分呈显著正相关, 表明上述指标水平随脓毒症病情严重而提高。

本研究进一步对脓毒症患者预后生存情况进行分析, 结果发现, PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 高危组、低危组间病死率比较具有显著差异, 提示上述指标可作为评估脓毒症患者预后的重要指标, 临床应结合患者血清指标水平尽早给予相应干预措施, 以改善预后。

综上所述, 血清 PCT、IL6、NT-proBNP、hs-TnT 水平变化与脓毒症患者病情程度密切相关, 临床可根据其高水平进行诊断及病情评估, 可作为脓毒症预后预测因子。

参考文献

- [1] 熊兴江. 基于临床重症病例的麻黄附子细辛汤方证特征及其治疗脓毒症, 多脏器功能衰竭, 气管插管术后高热不退, 急性心梗合并糖尿病末梢神经病变剧烈疼痛研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(18): 3869-3875.
- [2] 于佳, 陈淘江, 王冬梅, 等. 炎症因子、凝血指标和内皮细胞损伤标记物在恶性血液病脓毒症早期诊断中的应用[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(8): 688-693.
- [3] 蔡耿鑫, 周媛, 温妙云. 单细胞测序和数字 PCR 技术筛选单核细胞差异基因集对脓毒症早期诊断的临床意义[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(7): 779-785.
- [4] Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and Septic Shock - Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making[J]. Med Clin North Am. 2020, 104(4): 573-585.
- [5] 谢胜, 王国标. 肌钙蛋白 IN 末端脑钠肽前体检测对脓毒症心肌损伤早期诊断及预后评估的价值[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(22): 3123-3124.

(下转第 651 页)

· 论 著 ·

喉癌组织中 Sox2、cMyc 表达与其临床病理特征及预后的相关性

何晓丽* 江洪 邓夏

【摘要】目的 探究喉癌组织中 Sox2、cMyc 表达与其临床病理特征及预后的相关性。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2021 年 1 月重庆医科大学附属永川医院收治的 98 例喉癌组织(作为喉癌组)及相应癌旁正常组织(作为癌旁组)。比较两组中 Sox2、cMyc 阳性表达率,分析喉癌组织中 Sox2、cMyc 表达与病理特征、预后的关系。**结果** 喉癌组的 Sox2、cMyc 阳性表达率均高于癌旁组,差异有统计学意义($P<0.05$)。喉癌组织的 Sox2、cMyc 阳性表达与 T 分期、淋巴结转移有关($P<0.05$);与年龄、性别、吸烟史、饮酒史、临床分期、临床分型、分化程度无明显相关性($P>0.05$)。本研究喉癌患者的 1 年总生存率为 85.71% (84/98)。Sox2 阳性表达组(80.82%) 1 年生存率低于阴性表达组(100.00%), cMyc 阳性表达组(80.28%) 1 年生存率低于阴性表达组(100.00%), 差异均有统计学意义($P<0.05$)。单因素分析结果显示,淋巴结转移、临床分期、T 分期、Sox2 及 cMyc 是影响喉癌预后的危险因素($P<0.05$)。Cox 回归分析显示, T 分期、淋巴结转移、Sox2 阳性、cMyc 阳性为喉癌预后不良的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** 喉癌组织中 Sox2、cMyc 阳性表达与 T 分期、淋巴结转移及预后密切相关,可作为喉癌预后不良的独立评估指标。

【关键词】 喉癌; 病理特征; 预后; SOX2; cMyc

Correlation of Sox2 and cMyc expression in laryngeal carcinoma with clinicopathological features and prognosis

HE Xiaoli*, JIANG Hong, DENG Xia

(Department of Otolaryngology and Head and Neck Surgery, Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing, China, 402160)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the correlation between the expression of Sox2 and cMyc in laryngeal carcinoma and its clinicopathological features and prognosis. **Methods** The expression of Sox2 and cMyc in 98 cases of laryngeal carcinoma and adjacent normal tissues treated in Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University from January 2017 to January 2021 was detected by immunohistochemical method, and the relationship between the expression of Sox2 and cMyc and pathological features and prognosis of laryngeal carcinoma was analyzed. **Results** The positive expression rates of Sox2 and cMyc in the laryngeal cancer group were higher than those in the para-cancer group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The positive expressions of Sox2 and cMyc in laryngeal carcinoma tissues were correlated with T stage and lymph node metastasis, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). There was no significant correlation with age, sex, and smoking history, drinking history, clinical stage, clinical typing and differentiation degree ($P>0.05$). The 1-year survival rate of laryngeal cancer patients in this study was 85.71% (84/98). The 1-year survival rate in the Sox2 positive expression group (80.82%) was lower than that in the negative expression group (100.00%), and the 1-year survival rate in the cMyc positive expression group (80.28%) was lower than that in the negative expression group (100.00%), with statistical significance ($P<$

基金项目:重庆市卫计委医学科研项目(2019MSXM227)

作者单位:重庆医科大学附属永川医院耳鼻咽喉头颈外科,重庆 402160

*通信作者:何晓丽, E-mail:hexiaoli2022@163.com

0.05). Univariate analysis showed that lymph node metastasis, clinical stage, T stage, Sox2 and cMyc were the risk factors affecting the prognosis of laryngeal cancer ($P<0.05$). Cox regression analysis showed that T stage, lymph node metastasis, positive Sox2 and positive cMyc were independent influencing factors for poor prognosis of laryngeal cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expressions of Sox2 and cMyc in laryngeal cancer tissues are closely related to T stage, lymph node metastasis and prognosis, and can be used as independent evaluation indicators for poor prognosis of laryngeal cancer.

[KEY WORDS] Laryngeal cancer; Pathological feature; Prognosis; SOX2; cMyc

喉癌是常发于头颈部的恶性肿瘤之一,其中鳞状细胞癌是其最主要的病理类型,可高达90%以上^[1]。近年来随着人们生活行为习惯的改变,喉癌的发病率及死亡率不断上升,严重危害患者的生命安全。国内的流行病学调查表明,喉癌的5年生存率不到80%;而美国的研究也显示,在过去40年里,喉癌的5年生存率已经从原来的66%降低至63%^[2-3]。因此,针对喉癌患者预后生存率较差等问题,寻找与其病理特征、预后相关的特异性标志物已成为当前研究的热点之一,对于喉癌的病情监测、预后评估及靶向治疗新靶点的提示等均具有重要的意义。而随着分子生物学的快速发展,喉癌预后评价的分子生物学指标体系也得到不断补充和完善。研究表明^[4-6], Sox2、cMyc是多种恶性肿瘤预后不良的风险因素,然而目前关于二者与喉癌的发生发展存在何种关联尚不清楚。本研究检测98例喉癌组织中SOX2、cMyc的表达情况,并分析探讨二者与喉癌患者临床病理特征及预后的相关性。报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2017年1月至2021年1月重庆医科大学附属永川医院二耳鼻喉头颈科收治的98例经病理确诊的喉癌患者为研究对象。其中男性55例,女性43例;年龄平均(61.84±9.57)岁。分化程度:高分化35例,中分化36例,低分化27例。T分期:T1+T2期47例,T3+T4期51例;淋巴结转移:有36例,无62例;临床分型:声门上型38例,声门型54例,声门下型6例;临床分期:I+II期50例,III+IV期48例。以98例喉癌患者的肿瘤部位取材的喉癌组织标本作为喉癌组,同时以98例患者对应癌旁正常组织(即距离肿瘤切缘0.5 cm以上部位)取材标本作为癌旁组。

纳入标准:①癌组织经术后病理学诊断均为鳞状细胞癌^[7];②均为初次治疗且近期未接受放化

疗或其他治疗者;③均有完整的临床资料及随访记录;④患者或家属均知情并签署同意书。排除标准:①合并其他恶性肿瘤患者;②伴有重要脏器功能障碍者;③肿瘤已出现远处转移者;④依从性极差或中途退出研究者。本研究已获得医院伦理研究委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂

兔抗人SOX2单克隆抗体,兔抗人CMYC单克隆抗体,免疫组化EnVision二抗,均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 免疫组化法检测 Sox2、cMyc 的表达

取石蜡包埋切片,进行常规脱蜡和水化处理,采用柠檬酸钠缓冲液进行热抗原修复,以3% H₂O₂溶液于室温孵育15 min, PBS洗涤2次,每次5 min。滴加兔抗人SOX2、CMYC单克隆抗体(1:200),4℃孵育过夜,复温后再次进行3次PBS洗涤(5 min/次),使用DAKO EnVision二抗系统室温孵育30 min。室温下进行DAB显色约5 min,苏木素复染2 min,采用中性树胶将冲洗干燥后的切片进行封片,镜检。以PBS作为一抗作阴性对照。全部染色切片由2位工作经验≥5年的资深病理医师进行双盲法阅片,独立评估免疫组化结果。免疫组化阳性判定标准^[8]:SOX2、CMYC的阳性着色表达于肿瘤细胞胞质或细胞核中,呈棕黄色或棕褐色细小颗粒。①着色强度评分:与背景对比,无色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色或黑色为3分。②阳性细胞比例评分:随机采集10个代表性视野,根据公式“阳性细胞比例=阳性细胞数/肿瘤细胞数×100%”进行阳性细胞比例计算。以阳性细胞比例<5%为0分,阳性细胞比例5%~25%为1分,阳性细胞比例26%~50%为2分,阳性细胞比例51%~75%为3分,阳性细胞比例>75%为4分。将着色强度评分与阳性细胞比例评分相乘,其乘积总分≤3分为阴性、>3分为阳性。

1.2.3 随访

所有患者均通过电话或门诊复诊形式随访,以患者死亡为终点事件,本研究中末次随访截止日期为2021年12月31日,无失访。随访时间至少1年,生存84例,死亡14例。

1.3 统计学方法

应用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;并以Cox风险比例模型分析Sox2、cMyc表达与喉癌预后的关系。以Kaplan-Meier法绘制生存曲线,并以Log-Rank法进行组间生存差异检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

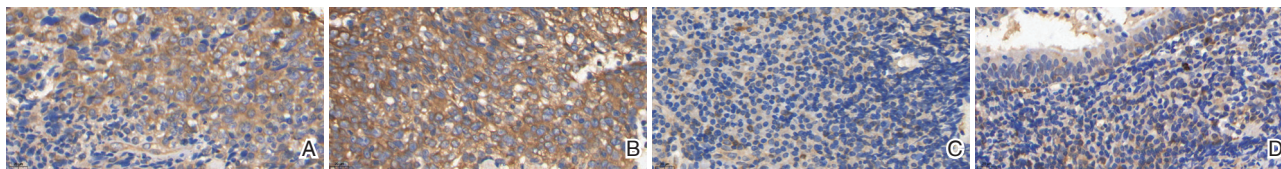
2.1 喉癌和癌旁组织中Sox2、cMyc阳性表达率比较

喉癌组的Sox2、cMyc阳性表达率均明显高于癌旁组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1、图1。

表1 喉癌和癌旁组织中Sox2、cMyc的表达率比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of Sox2 and cMyc expression in laryngeal carcinoma and adjacent tissues [$n(\%)$]

组织	<i>n</i>	Sox2	cMyc
喉癌组	98	73(74.49)	71(72.45)
癌旁组	98	9(9.18)	16(16.33)
χ^2 值		85.881	62.522
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001



注:A为喉癌组织SOX2表达;B为喉癌组织cMyc表达;C为正常组织SOX2表达;D为正常cMyc表达。

图1 喉癌和癌旁组织中Sox2、cMyc的表达(SP, ×200)

Figure 1 Expression of Sox2 and cMyc in laryngeal carcinoma and adjacent tissues (SP, ×200)

2.2 Sox2、cMyc阳性表达与临床病理特征的关系

喉癌组织的Sox2、cMyc阳性表达与T分期、淋巴结转移有关($P<0.05$);而与年龄、性别、吸烟史、饮酒史、临床分期、临床分型、分化程度无明显相关性($P>0.05$)。见表2。

2.3 影响喉癌预后的单因素分析

本研究喉癌患者的1年生存率为85.71%(84/98)。单因素分析结果显示,淋巴结转移、临床分期、T分期、Sox2及cMyc是影响喉癌预后的危险因素($P<0.05$)。见表3。

表2 Sox2、cMyc阳性表达与临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

Table 2 Correlation between positive expression of Sox2 and cMyc and clinicopathological features [$n(\%)$]

因素		Sox2 阳性($n=73$)	χ^2 值	<i>P</i> 值	cMyc 阳性($n=71$)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	<60	27(36.99)	1.146	0.285	27(38.03)	2.454	0.117
	≥60	46(63.01)			44(61.97)		
性别	男	44(60.27)	2.003	0.157	42(59.15)	0.962	0.327
	女	29(12.33)			29(40.85)		
饮酒史	有	54(73.97)	2.105	0.147	53(74.65)	1.248	0.264
	无	19(26.03)			18(25.35)		
吸烟史	有	53(72.60)	0.677	0.411	52(73.24)	0.212	0.645
	无	20(27.40)			19(26.76)		
淋巴结转移	有	34(46.58)	11.924	0.001	35(49.30)	17.496	0.000
	无	39(53.42)			36(50.70)		
临床分期	I+II期	34(46.58)	2.263	0.133	35(49.30)	0.307	0.580
	III+IV期	39(53.42)			36(50.70)		
T分期	T1+T2期	44(60.27)	17.388	0.000	42(59.15)	9.890	0.002
	T3+T4期	29(39.73)			29(40.85)		
临床分型	声门上型	26(35.62)	1.680	0.432	24(33.80)	2.768	0.251
	声门型	43(58.90)			42(59.15)		
	声门下型	4(5.79)			5(7.04)		
分化程度	高分化	29(39.73)	2.257	0.324	25(35.21)	0.194	0.908
	中分化	26(35.62)			27(38.03)		
	低分化	18(24.66)			19(26.76)		

表3 影响喉癌预后的单因素分析 [n(%)]

Table 3 Single factor analysis of prognosis of laryngeal cancer

		[n(%)]			
因素	n	1年生存率	χ^2 值	P值	
年龄(岁)	<60	42	38(90.48)	1.361	0.243
	≥60	56	46(82.14)		
性别	男	55	46(83.64)	0.442	0.506
	女	43	38(88.37)		
饮酒史	有	76	63(82.89)	1.292	0.256
	无	22	21(95.45)		
吸烟史	有	73	61(83.56)	0.503	0.478
	无	25	23(92.00)		
淋巴结转移	有	36	26(72.22)	8.459	0.004
	无	62	58(93.55)		
临床分期	I+II期	50	47(94.00)	5.724	0.017
	III+IV期	48	37(77.08)		
T分期	T1+T2期	47	45(95.74)	7.421	0.006
	T3+T4期	51	39(76.47)		
临床分型	声门上型	38	32(84.21)	0.175	0.916
	声门型	54	47(87.04)		
	声门下型	6	5(83.33)		
分化程度	高分化	35	29(82.86)	1.443	0.486
	中分化	36	30(83.33)		
	低分化	27	25(92.59)		
Sox2	阳性	73	59(80.82)	4.137	0.042
	阴性	25	25(100.00)		
cMyc	阳性	71	57(80.28)	4.705	0.030
	阴性	27	27(100.00)		

2.4 影响喉癌患者预后的Cox回归分析

以喉癌患者预后为因变量进行Cox多因素回归分析,结果显示,T分期、淋巴结转移、Sox2阳性、cMyc阳性为喉癌预后不良的独立影响因素($P<0.05$),见表4。Sox2阳性表达组(80.82%)1年生存率低于阴性表达组(100.00%),cMyc阳性表达组(80.28%)1年生存率低于阴性表达组(100.00%),差异均有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

喉癌是指起源于喉黏膜的一种头颈部原发性肿瘤,恶性程度较高,预后较差^[8]。目前喉癌的治疗手段主要有手术、放化疗等,但预后仍不够理想^[9]。至今临床上仍未阐明喉癌确切的发病机制,

但研究已证实癌基因的复杂调控参与恶性肿瘤的进展过程,同时也是诱发喉癌患者不良预后的关键因素之一^[10]。SOX2基因是一种干细胞转录因子,在维持胚胎干细胞的全能性中扮演着重要角色。现代研究已将SOX2基因确定为鳞状细胞癌基因谱,其异常表达与胰腺癌、乳腺癌、肾癌等多种恶性肿瘤的生长、浸润及转移有关,但目前关于其在喉癌中的研究较少^[11]。cMyc基因属于一种原癌基因,不仅参与细胞周期的调控过程,还可作为转录蛋白发挥促进或抑制细胞增殖、分化的双向调节作用。研究表明^[12],cMyc的表达与子宫内膜癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤、肺癌等肿瘤的发生发展密切相关,但目前cMyc在喉癌的研究鲜见报道。

本研究结果提示喉癌患者肿瘤组织中的Sox2、cMyc表达异常,可能会促进患者肿瘤恶性进展,进而导致不良预后。cMyc基因位于染色体8q24,具有双向调节作用,其编码产物在机体新血管生成、细胞增殖分化等病理及生理过程均可扮演着核心角色^[13]。cMyc在健康机体细胞中的表达很少,但一旦发生过度表达,可通过激活一系列细胞相关调节因子的表达而促使细胞从静止期向分裂周期过渡,从而起到抑制细胞的凋亡及促进细胞的增殖的作用,进而诱导肿瘤的生长、转移^[14]。SOX2基因位于染色体3q26.33,是SOX基因家族的主要成员之一,具有高迁移率族(HMG)特征性结构域,可参与机体的组织、胚胎发育以及干细胞的自我更新、分化等的调控过程中^[15]。孟新雨等^[16]的研究发现,SOX2蛋白在喉癌组织的表达水平较癌旁组织更高,且其表达与淋巴结转移、T分期有关,与本研究结果基本一致。原因可能是由于SOX2的异常表达使机体肿瘤或胚胎干细胞相关凋亡及阻滞因子的活性受到干扰,从而促进了肿瘤细胞的侵袭、迁移进程。本研究结果提示SOX2、cMyc可能参与促进了喉癌的恶化过程,有可能成为病情监测与预后评估的重要指标之一。

表4 影响喉癌患者预后的Cox回归分析

Table 4 Cox regression analysis of influence on prognosis of patients with laryngeal cancer

变量	赋值	β 值	S.E值	Wald值	HR值	95%CI	P值
淋巴结转移	有=1,无=0	0.874	0.315	7.698	2.397	1.293~4.442	0.006
临床分期	III+IV期=1, I+II期=0	0.524	0.337	2.418	1.689	0.872~3.271	0.120
T分期	T3+T4期=1, T1+T2期=0	0.525	0.210	6.250	1.691	1.120~2.551	0.012
Sox2	阳性=1, 阴性=0	0.517	0.146	12.539	1.677	1.260~2.232	0.000
cMyc	阳性=1, 阴性=0	0.496	0.168	8.717	1.642	1.182~2.282	0.003

综上所述,喉癌组织中的 *Sox2*、*cMyc* 异常高表达,且其表达与 T 分期、淋巴结转移及预后密切相关,其表达情况可反映喉癌患者病情进展和预后状况,有可能成为喉癌肿瘤进展检测及预后评估的特异性指标。但本研究的样本量较小,仍需扩大样本进行进一步的前瞻性分析以验证。同时,关于 *Sox2*、*cMyc* 具体如何调节喉癌生长、浸润的通路机制问题,未来仍需学者继续进行研究以阐明。

参考文献

- [1] Obid R, Redlich M, Tomeh C. The Treatment of Laryngeal Cancer [J]. Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2019, 31(1):1-11.
- [2] 陶磊,周梁,吴海涛,等.喉癌环状软骨上喉部分切除术 298 例远期疗效分析[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 53(2):97-104.
- [3] 沈海龙,朱君伟,韩燕勋,等.喉鳞状细胞癌生物标志物的研究进展[J].中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2021, 29(5): 395-400.
- [4] Wang J, Li M, Chen D, et al. Expression of C-myc and β -catenin and their correlation in triple negative breast cancer [J]. Minerva Med, 2017, 108(6):513-517.
- [5] Zhang XH, Wang W, Wang YQ, et al. The association of SOX2 with clinical features and prognosis in colorectal cancer: A meta-analysis[J]. Pathol Res Pract, 2020, 216(1):152769.
- [6] 温子海,吕巧云,李晓华.干细胞转录因子 OCT4、SOX2 在食管鳞癌组织中表达及与预后的关系[J].中国组织工程研究, 2017, 21(17):2741-2745.
- [7] 孙平丽,高洪文.喉癌前病变和鳞状细胞癌的病理诊断及进展[J].中华病理学杂志, 2021, 11(11):1311-1315.
- [8] Badwal JS. Total Laryngectomy for Treatment of T4 Laryngeal Cancer: Trends and Survival Outcomes[J]. Pol Przegl Chir, 2018, 91(3):30-37.
- [9] 魏鑫鑫,李晓玲,黄维平,等.TKTL1 和 WISP-1 在喉癌患者病灶组织中的表达及对预后的影响[J].分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(12):1977-1980+1985.
- [10] Gao P, Gong L, Wang X. Induction chemotherapy in patients with resectable laryngeal cancer: A meta-analysis [J]. Mol Clin Oncol, 2018, 9(2):155-162.
- [11] Novak D, Hüser L, Elton JJ, Umansky V, Altevogt P, Utikal J. SOX2 in development and cancer biology [J]. Semin Cancer Biol, 2020, 67(Pt 1):74-82.
- [12] Mastronikolis N, Ragos V, Kyrodimos E, et al. Mechanisms of C-myc oncogenic activity in head and neck squamous cell carcinoma [J]. J BUON, 2019, 24(6):2242-2244.
- [13] Tsounis D, Falidas E, Monastirioti AE, et al. C-myc oncogene activation in pharyngeal-esophageal squamous cell carcinoma [J]. J BUON, 2021, 26(4):1686-1687.
- [14] Zinzalla G. Biophysical and Structural Methods to Study the bHLHZip Region of Human c-MYC [J]. Methods Mol Biol, 2021, 2318:21-43.
- [15] Hüser L, Novak D, Umansky V, et al. Targeting SOX2 in anticancer therapy [J]. Expert Opin Ther Targets, 2018, 22(12): 983-991.
- [16] 孟欣雨,崔颖,穆兰,等.SOX2、SOX7 蛋白在喉癌及癌旁组织中的表达及其临床意义[J/OL].听力学及言语疾病杂志: 1 - 5 [2022 - 01 - 28].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1391.R.20210820.1100.057.html>

(上接第 646 页)

- [6] 姚咏明,黄立锋,林洪远.《2008 国际严重脓毒症和脓毒性休克治疗指南》概要[J].中国危重病急救医学, 2008, 20(3):135-138.
- [7] 胡盼,刘蕾,唐昊,等.qSOFA 评分在灾害创伤患者早期脓毒症中的诊断效能[J].中华灾害救援医学, 2017, 5(5): 251-254.
- [8] 中华医学会重症医学分会.中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J].中华内科杂志, 2015, 54(6):557-581.
- [9] 陈德,梁譔,牛小伟,等.血浆可溶性晚期糖基化终末产物受体和 APACHE II 评分对脓毒症预后的评价[J].中国急救医学, 2015, 35(3):207-210.
- [10] 谢俊涛,陈钦桂.序贯器官衰竭评估评分对老年脓毒症患者预后的预测价值[J].中华老年医学杂志, 2020, 39(8): 914-918.
- [11] Chae BR, Kim YJ, Lee YS. Prognostic accuracy of the sequential organ failure assessment (SOFA) and quick SOFA for mortality in cancer patients with sepsis defined by systemic inflammatory response syndrome (SIRS) [J]. Support Care Cancer, 2020, 28(2):653-659.
- [12] 陆洋,沈浩亮,崔晓莉,等.C-反应蛋白和 NT-pro BNP 对老年脓毒症患者死亡和多器官衰竭的预测价值[J].中国老年学杂志, 2021, 41(18):4011-4014.
- [13] Lucas G, Bartolf A, Kroll N, et al. Procalcitonin (PCT) Level in the Emergency Department Identifies a High-Risk Cohort for All Patients Treated for Possible Sepsis [J]. Ejifcc, 2021, 32(1):20-26.
- [14] 宋振举,郇珊珊,童朝阳,等.脓毒症患者血清炎症/抗炎症细胞因子浓度与预后的相关性研究[J].中国急救医学, 2008, 28(9):785-787.
- [15] 王婷婷,姜利.高敏肌钙蛋白 T 与重症患者脓毒症及预后的关系[J].中华内科杂志, 2017, 56(10):738-742.

血清 Flt3L 和 Gas6 水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染预测价值分析

陈瑜* 陶石 胡敏 符才波

【摘要】目的 探讨血清 FMS 样酪氨酸激酶 3 配体(Flt3L)和生长停滞特异性蛋白 6(Gas6)水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的诊断价值。**方法** 选取 2019 年 7 月至 2021 年 7 月在海南医学院第一附属医院血液内科收治的 116 例非霍奇金淋巴瘤患者作为研究对象,根据利妥昔单抗化疗后是否发生肺部感染分为肺部感染组 48 例、非肺部感染组 29 例以及未感染组 39 例。对比三组患者一般资料情况以及实验室指标水平,Logistic 回归分析化疗后发生肺部感染的危险因素,ROC 曲线分析其危险因素对患者化疗后发生肺部感染的预测价值。**结果** 三组肺部疾病史、血清 Flt3L、Gas6 水平比较:肺感染组>非肺部感染组>未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),Logistic 回归分析显示,血清 Flt3L、Gas6 水平升高是患者化疗后发生肺部感染的独立危险因素($P<0.05$),ROC 曲线图结果显示,血清 Flt3L、Gas6 水平联合预测非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的曲线下面积(AUC)为 0.879,高于单一检测($P<0.05$)。**结论** 非霍奇金淋巴瘤患者血清 Flt3L 和 Gas6 水平升高是利妥昔单抗化疗后发生肺部感染的独立危险因素,早期联合检测血清 Flt3L 和 Gas6 水平有利于预测患者化疗后感染情况和病情判断。

【关键词】 血清 FMS 样酪氨酸激酶 3 配体;生长停滞特异性蛋白 6;非霍奇金淋巴瘤;肺部感染

Predictive value of serum Flt3L and Gas6 levels for pulmonary infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma after rituximab chemotherapy

CHEN Yu*, TAO Shi, HU Min, FU Caibo

(Hematology Department, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan, China, 570100)

[ABSTRACT] Objective To investigate the value of serum FMS-like tyrosine kinase 3 ligand (Flt3L) and growth arrest-specific protein 6 (Gas6) levels in the diagnosis of pulmonary infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma after rituximab chemotherapy. **Methods** 116 patients with non-Hodgkin's lymphoma who were admitted to the Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University from July 2019 to July 2021 were selected as the research subjects. According to whether pulmonary infection occurred after rituximab chemotherapy, they were divided into 48 cases of pulmonary infection group, 29 cases of non-pulmonary infection group and 39 cases of non-infection group. The general data and laboratory index levels of the three groups of patients were compared. Logistic regression was used to analyze the risk factors of pulmonary infection after chemotherapy, and the ROC curve was used to analyze the predictive value of the risk factors for the occurrence of pulmonary infection in patients after chemotherapy. **Results** Comparison of the history of lung disease, serum Flt3L and Gas6 levels among the three groups: lung infection group > non-pulmonary infection group > lung infection group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that elevated serum Flt3L and Gas6 levels were independent risk factors for pulmonary infection after chemotherapy ($P<0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the AUC values of serum Flt3L, Gas6

基金来源:吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金(320.3750.18389)

作者单位:海南医学院第一附属医院血液内科,海南,海口 570100

*通信作者:陈瑜, E-mail: hainchy@163.com

and combined detection for pulmonary infection were 0.848, 0.758 and 0.892 respectively ($P<0.05$).

Conclusion Elevated serum Flt3L and Gas6 levels in patients with non-Hodgkin lymphoma are independent risk factors for pulmonary infection after rituximab chemotherapy. Early combined detection of serum Flt3L and Gas6 levels is helpful for predicting the infection status and disease judgment of patients after chemotherapy.

[KEY WORDS] Serum FMS-like tyrosine kinase 3 ligand; Growth arrest-specific protein 6; Non-Hodgkin's lymphoma; Pulmonary infection

非霍奇金淋巴瘤是一类具有高度异质性的淋巴细胞增生疾病,按其来源分为B细胞、T细胞和NK细胞淋巴瘤,目前发病率在不同年龄阶段呈上升趋势^[1]。利妥昔单抗化疗是临床用于治疗非霍奇金淋巴瘤的重要手段,但因利妥昔单抗具有免疫抑制的作用,患者受其影响,容易导致免疫力下降,继而引发肺部感染,不利于预后。肿瘤合并感染是非霍奇金淋巴瘤发生死亡的原因之一,因此,早期预测肺部感染的发生,并给予针对性治疗,可以减少非霍奇金淋巴瘤患者肺部感染发生率,进一步减少死亡率。相关研究显示,FMS样酪氨酸激酶3配体(Flt3 ligand, Flt3L)和生长停滞特异性蛋白6(growth arrest-specific protein 6, Gas6)与反应机体的感染有关^[2-3]。但二者在非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的研究报道鲜少。借此,本研究将评估血清Flt3L和Gas6水平在非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后的水平变化情况,探讨其在肺部感染患者中的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年7月至2021年7月在海南医学院第一附属医院血液内科收治的116例非霍奇金淋巴瘤患者作为研究对象,其中男67例,女49例,年龄10~85岁。纳入标准①符合非霍奇金淋巴瘤的临床诊断标准^[4],且经病理组织学证实;②所有患者均为初治;③均经过6个疗程利妥昔单抗化疗;④临床资料完整者;⑤无其他肿瘤疾病史;⑥患者及家属知情同意。排除标准:①伴有影响血清Flt3L和Gas6水平的血管疾病(血液系统疾病、免疫系统疾病、全身性感染、休克、肾功能损伤等);②近1个月有使用抗生素治疗;③伴有其他重要脏器疾病;④伴有精神障碍。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 肺部感染评估

参考最新临床肺部感染相关标准^[4]评估患者是否发生肺部感染,将116例患者分为肺部感染组48例,非肺部感染组29例以及未感染组39例。

1.3 观察指标

收集非霍奇金淋巴瘤患者的临床资料[性别、年龄、BMI、吸烟史、糖尿病史、高血压史、肺部疾病史、肿瘤分期(I期、II期、III期、IV期)^[5]、病理分型(B淋巴瘤、T淋巴瘤)^[1]、国际预后评分(International Prognostic Index, IPI)^[6]、左心射血分数以及利妥昔单抗的总剂量,实验室指标包括血红蛋白、 β 2-微球蛋白、血清乳酸脱氢酶、Flt3L和Gas6。

1.4 国际预后指数(international prognostic index, IPI)评分^[6]

非霍奇金淋巴瘤国际预后评分包括年龄、行为状态、Ann Arbor分期、乳酸脱氢酶(LDH)、结外病变受侵部位数五项指标,每一个预后不可因素计1分,共5分,评分愈高表面危险程度愈高。

1.5 实验室指标检测

采集所有患者空腹外周静脉血4 mL,用肝素抗凝,离心机以3 000 r/min速度离心10 min,离心半径为10 cm,取上清液,-20℃以下冷藏备用。采用全自动生化分析仪(厂家:美国贝克曼库公司,型号:AU5800)及配套试剂盒以比色法检测血红蛋白、血清乳酸脱氢酶,以化学发光法检测 β 2-微球蛋白,以酶联免疫吸附法检测血清Flt3L、Cas6水平,检测期间严格遵守操作规范。

1.6 统计学方法

采用SPSS 15.0统计学软件进行数据处理,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间用独立样本 t 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,肺部疾病史、血清Flt3、Cas6水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的影响,采用Logistic回归分析检验,绘制受试者工作特征曲线(ROC曲线),检验血清Flt3、Cas6水平预测非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非霍奇金淋巴瘤患者的临床相关项目比较

三组患者性别、年龄、BMI、吸烟史、糖尿病史、高血压史、肿瘤分期、病理分型、国际预后评分、左

心射血分数、利妥昔单抗的总剂量、血红蛋白、 $\beta 2$ -微球蛋白(mg/mL)、血清乳酸脱氢酶比较,差异无统计学意义($P>0.05$),三组患者肺部疾病史、

血清 Flt3L、Gas6 水平比较:肺感染组>非肺部感染组>未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 非霍奇金淋巴瘤患者的临床相关项目比较 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of clinically relevant items in patients with non-Hodgkin lymphoma [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

项目		肺部感染组(<i>n</i> =48)	非肺部感染组(<i>n</i> =29)	未感染组(<i>n</i> =39)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别(例)	男	26(54.16)	16(55.18)	25(64.10)	0.977	0.613
	女	22(45.84)	13(44.82)	14(35.90)		
年龄(岁)		50.34±5.68	50.59±5.92	51.83±6.03	0.751	0.474
	BMI(kg/m ²)	23.03±1.25	23.49±1.68	22.96±1.34	1.371	0.257
吸烟史	是	21(43.75)	14(48.28)	22(56.41)	1.391	0.498
	否	27(56.25)	15(51.72)	17(43.59)		
糖尿病	是	16(33.33)	11(37.94)	17(43.58)	0.961	0.618
	否	32(66.67)	18(62.06)	22(56.42)		
高血压	是	17(35.41)	13(44.83)	18(46.15)	1.212	0.545
	否	31(64.59)	16(55.17)	21(53.85)		
肺部疾病史	有	29(60.41)	19(64.52)	14(35.89)	7.463	0.023
	无	19(39.59)	10(34.48)	25(64.11)		
肿瘤分期	I	10(20.83)	6(20.68)	9(23.07)	0.384	0.998
	II	12(25.00)	8(27.58)	10(25.64)		
	III	14(29.17)	9(31.03)	12(30.76)		
	IV	12(25.00)	6(20.71)	8(20.53)		
组织病理分型	B 淋巴瘤	44(91.66)	27(93.11)	36(92.30)	0.05	0.973
	T 淋巴瘤	4(8.34)	2(6.89)	3(7.70)		
	国际预后评分	2.53±0.48	2.47±0.39	2.50±0.51	0.150	0.860
	左心射血分数(%)	63.89±5.19	64.18±4.95	64.56±5.23	0.182	0.833
	利妥昔单抗的总剂量(g)	8.23±1.95	8.03±1.97	8.39±2.05	0.272	0.761
	血红蛋白(g/L)	99.76±10.38	103.03±10.95	104.74±11.87	2.284	0.106
	β2-微球蛋白(mg/mL)	3.02±1.07	2.96±0.87	2.68±0.79	1.522	0.221
	血清乳酸脱氢酶(U/L)	264.31±22.78	259.83±21.79	256.71±23.68	1.214	0.300
	细胞沉淀率(mm/h)	17.48±2.16	16.60±1.96	16.53±2.08	2.749	0.068
	Flt3L(pg/mL)	81.76±5.69	83.45±6.67	95.34±5.21	58.570	0.000
	Gas6(mg/mL)	20.17±4.56	18.52±3.10	14.34±2.47	28.725	0.000

2.2 非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染 Logistic 回归分析

血清 Flt3L、Cas6 水平升高是非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的危险因素($OR>1$, $P<0.05$)。见表 2。

2.3 血清 Flt3L、Gas6 对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的预测效能

ROC 曲线图结果显示,血清 Flt3L、Gas6 水平联合预测非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的曲线下面积(AUC)为 0.879,高于单一检测($P<0.05$)。见表 3,图 1。

3 讨论

非霍奇金淋巴瘤主要在淋巴结、脾脏,胸腺等部位病变,是免疫功能异常、病毒感染、细胞感染

表 2 非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的 Logistic 回归分析

Table 2 Logistic regression analysis of pulmonary infection in patients with non-Hodgkin lymphoma after rituximab chemotherapy

因素	β 值	S.E 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
肺部疾病史	-0.105	0.176	0.355	0.900	0.637~1.270	0.550
Flt3L(pg/mL)	0.305	0.145	4.424	1.356	1.021~1.802	0.035
Gas6(mg/mL)	0.657	0.298	4.860	1.929	1.075~3.459	0.027

以及遗传等多因素共同作用的结果,该病发病率、危害性均高,严重危害患者身体健康。化疗是非霍奇金淋巴瘤常用治疗方法,但单独应用化疗时效果欠佳。利妥昔单抗用作嵌合抗 CD20 单克隆抗体药物,也是目前临床上标准治疗药物,与化疗药物联合使用可以增强对肿瘤细胞的敏感性。

表3 血清 Flt3L、Gas6 对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的预测效能

Table 3 Predictive efficacy of serum Flt3L and Gas6 on pulmonary infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma after rituximab chemotherapy

指标	AUG	最佳截断值	95%CI	敏感度	特异度	P值
Flt3L	0.718	79.67 pg/mL	0.696~0.825	0.585	0.792	<0.05
Gas6	0.702	19.23 mg/mL	0.684~0.793	0.731	0.812	<0.05
联合检测	0.879	-	0.717~0.903	0.875	0.854	<0.05

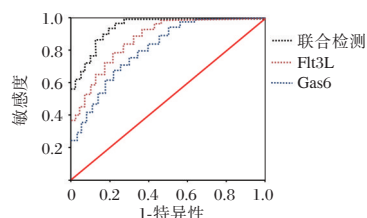


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

崔岗^[6]研究显示,利妥昔单抗用于在免疫抑制治疗下治疗非霍奇金淋巴瘤可以抑制肿瘤恶性特性。但长期使用利妥昔单抗会引起感染、血液事件、心血管事件等不良反应。相关研究发现,应用利妥昔单抗治疗的不良反应约为14%~53%,且多为肺部感染^[7]。因此,非霍奇金淋巴瘤患者应用利妥昔单抗治疗需预防肺部感染的发生。

Flt3L是一种可以刺激早期造血的细胞因子,与Flt3L-受体特异性结合,对多种干细胞、血细胞、前体细胞的生成与分化具有促进作用。还能与多种细胞因子协同,提高造血功能以及免疫功能。Gas6是依赖维生素K蛋白,通过Tyro3、Axl、Mer受体相结合,产生各种生物学效应,包括增殖效应、炎症抑制效应等^[8]。Gas6可通过白细胞来增加机体炎症反应,促进吞噬和抗凋亡,相关研究提示,Gas6与C反应蛋白、白细胞介素10等炎症因子相关^[9]。因此,检测血清Flt3L、Gas6水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染的预测有一定价值。

化疗患者免疫力较差,机体处于慢性微炎状态,容易继发呼吸道感染,且向下蔓延,引起肺部感染^[10]。有肺部疾病史患者呼吸道上皮细胞坏死,上皮纤毛运动功能受损等原因,导致呼吸系统的防御功能下降,易发生肺部感染^[11]。本研究肺部感染组和非肺部感染组有肺部疾病史比例高于非感染组,证实了肺部疾病史与之相关,与白丹^[12]研究结果相似。通过分析临床特点发现,肺部感

染组血清Flt3L、Gas6水平较高,认为血清Flt3L、Gas6水平升高患者有肺部感染倾向,与不良预后特征相关,与相关研究结果相似^[13-14]。Logistic多因素回归分析显示,血清Flt3L、Gas6水平对于判断非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后是否肺部感染有重要价值,其水平升高与发生肺部感染有关。晏黎^[15]等学者研究发现,血清Flt3L、Gas6水平与非霍奇金淋巴瘤化疗后的感染相关,可作为临床辅助评估肺部感染的重要指标。ROC曲线图结果显示,血清Flt3L、Gas6水平对非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染预测的AUG值分别是0.718、0.702,进一步证实了血清Flt3L、Gas6与非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗后肺部感染相关,可作为预测利妥昔单抗化疗后肺部感染的良好指标。二者联合检测时AUG值为0.879,敏感度和特异度分别是87.50%、85.41%,均高于单独检测,因此,非霍奇金淋巴瘤患者利妥昔单抗化疗期间通过监测血清Flt3L、Gas6水平可以早期患者肺部感染情况,同时,积极采取干预措施可以降低利妥昔单抗化疗后肺部感染的发生率,提高预后。

综上所述,非霍奇金淋巴瘤患者血清Flt3L和Gas6水平升高是利妥昔单抗化疗后发生肺部感染的独立危险因素,早期联合检测血清Flt3L和Gas6水平有利于预测患者化疗后感染情况和病情判断。

参考文献

- [1] 陈丽妹,陈宁斌,陈岩松,等.降钙素原在非霍奇金淋巴瘤合并感染中的诊断价值[J].福建医药杂志,2021,43(3):67-69.
- [2] Pham TNQ, Meziane O, Miah MA, et al. Flt3L-Mediated Expansion of Plasmacytoid Dendritic Cells Suppresses HIV Infection in Humanized Mice [J]. Cell Rep, 2019, 29(9): 2770-2782.e5.
- [3] Tutusaus A, Marí M, Ortiz-Pérez JT, et al. Role of Vitamin K-Dependent Factors Protein S and GAS6 and TAM Receptors in SARS-CoV-2 Infection and COVID-19-Associated Immunothrombosis [J]. Cells, 2020, 9(10): 2186.
- [4] 石远凯,牛奕.美国国家综合癌症网非霍奇金淋巴瘤治疗指南2007年第一版介绍.中华肿瘤杂志,2007,29(11): 879-880.
- [5] 崔岗.利妥昔单抗联合改良CHOP方案治疗非霍奇金淋巴瘤患者的效果[J].中国民康医学,2020,32(22):39-41.
- [6] Kupik O, Akin S, Tuncel M, et al. Comparison of clinical and PET-derived prognostic factors in patients with non-Hodgkin lymphoma: a special emphasis on bone marrow involvement [J]. Nucl Med Commun, 2020, 41(6): 540-549.

(下转第659页)

· 论 著 ·

高血压性脑出血血清NSE、IL-6及TIMP-1水平变化与神经功能的关系

白永杰^{1*} 王艳阳¹ 周俊梅¹ 郭华²

[摘要] **目的** 分析高血压性脑出血患者血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)、白介素6(IL-6)、基质金属蛋白酶组织抑制剂-1(TIMP-1)水平变化与神经功能的关系。**方法** 收集2019年1月至2021年1月郑州市第二人民医院收治的121例高血压性脑出血患者作为观察组,其中NIHSS评分 ≤ 15 分59例(轻度),NIHSS评分16分~30分32例(中度),NIHSS评分 ≥ 31 分30例(重度)。另选取本院同期行健康体检的108例志愿者作为对照组。比较不同人群、观察组发病后24 h、3 d、7 d以及不同NIHSS评分患者NSE、IL-6、TIMP-1水平变化,分析NSE、IL-6、TIMP-1水平变化与NIHSS评分的关系。**结果** 观察组NSE、IL-6、TIMP-1水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同时间段高血压性脑出血患者NSE、IL-6、TIMP-1表达水平:发病后24 h>发病后3 d>发病后7 d,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同NIHSS评分NSE、IL-6、TIMP-1水平:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。经Pearson相关性分析,NSE、IL-6、TIMP-1与高血压性脑出血患者NIHSS评分均为正相关($P < 0.05$)。**结论** NSE、IL-6、TIMP-1水平变化与高血压性脑出血患者神经功能损伤之间有一定的联系,可为患者病情严重程度评估提供参考,以指导临床治疗。

[关键词] 高血压性脑出血; NSE; IL-6; TIMP-1; 神经功能

Relationship between the changes of serum NSE, IL-6, TIMP-1 levels and neurological function in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage

BAI Yongjie^{1*}, WANG Yanyang¹, ZHOU Junmei¹, GUO Hua²

(1. Department of Neurology, Zhengzhou Second Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Department of Emergency, Zhengzhou Second Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the changes of serum neuron specific enolase (NSE), interleukin 6 (IL-6) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) levels and neurological function in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage. **Methods** The clinical data of 121 patients with hypertensive intracerebral hemorrhage admitted to The Second People's Hospital of Zhengzhou from January 2019 to January 2021 were collected as the observation group, including 59 cases with NIHSS score ≤ 15 points (mild); 32 cases with NIHSS score 16-30 points (moderate); 30 cases with NIHSS score ≥ 31 points (severe); 108 volunteers who underwent physical examination during the same period in our hospital were selected as the healthy control group. The changes of NSE, IL-6, TIMP-1 levels in different populations, observation group at 24 h, 3 d, and 7 d after the onset of the disease and patients with different NIHSS scores were compared, and the relationship between the changes of NSE, IL-6, TIMP-1 levels and NIHSS scores was analyzed. **Results** The levels of NSE, IL-6, and TIMP-1 in the observation group were significantly higher

基金项目:河南省医学科技攻关项目(201702306)

作者单位:1. 郑州市第二人民医院神经内科,河南,郑州 450000

2. 郑州市第二人民医院急诊科,河南,郑州 450000

*通信作者:白永杰, E-mail: baiyongjie@126.com

than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of NSE, IL-6, and TIMP-1 in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage in different time periods were as follows: 24h after the onset of the disease > 3 d after the onset of the disease > 7 d after the onset of the disease, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of NSE, IL-6 and TIMP-1 in different NIHSS scores were the severe group > the moderate group > the mild group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The Pearson correlation analysis showed that NSE, IL-6, TIMP-1 and NIHSS scores of patients with hypertensive intracerebral hemorrhage were all positively correlated ($P<0.05$).

Conclusion There is a certain correlation between the changes of NSE, IL-6 and TIMP-1 levels and neurological impairment in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage, which can provide reference for the evaluation of the severity of the patient's condition and guide clinical treatment.

[KEY WORDS] Hypertensive intracerebral hemorrhage; NSE; IL-6; TIMP-1; Nerve function

高血压性脑出血有着较高的发病率、致残率、致死率,治疗后多数患者可遗留神经功能障碍。及时对患者病情进行评估,有利于指导临床选择合适的治疗方法^[1]。在脑出血后脑细胞膜完整性受损、血-脑屏障被破坏,神经元特异性烯醇化酶(Neuron specific enolase, NSE)被释放到血液中, NSE可有效反映神经纤维损伤情况,在神经纤维破裂及膜完整性被破坏后 NSE 表达明显上升^[2]。基质金属蛋白酶组织抑制剂-1(Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1)可参与基质金属蛋白酶9(Matrix metalloproteinase 9, MMP-9)的反馈性调节过程,对 MMP-9 激活及其他金属蛋白酶的释放有调节作用^[3]。以往研究发现,炎症反应是导致继发性脑损伤的重要原因^[4]。白介素 6(Interleukin, IL-6)是具有多种生物学活性的细胞因子,可参与炎症细胞募集,促进黏附分子表达, IL-6 与高血压患者的血压水平之间存在相关性^[5]。美国国立卫生研究卒中量表(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)是临床中用于评估脑损伤患者神经功能状态的常用量表,对患者治疗方式选择及预后评估有一定的参考价值^[6]。本文研究将通过分析高血压性脑出血患者血清 NSE、IL-6、TIMP-1 水平变化情况,了解三因子与患者 NIHSS 评分之间的相关性,进行一步探讨三因子在高血压性脑出血病情评估中的使用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2019 年 1 月至 2021 年 1 月郑州市第二人民医院收治的 121 例高血压性脑出血患者作为观察组,其中男 69 例,女 52 例,平均年龄(63.24 ± 3.44)岁,平均病程(5.11 ± 1.54)h;根据 NIHSS^[6]分

为: NIHSS 评分 ≤ 15 分 59 例(轻度), NIHSS 评分 16 分~30 分 32 例(中度), NIHSS 评分 ≥ 31 分 30 例(重度)。纳入标准:①既往存在明确高血压病史;②脑出血发病 2 d 内就诊;③符合《高血压性脑出血中国多学科诊治指南》中相关诊断标准^[6]。排除标准:①合并存在心、肝、肾等严重原发疾病;②既往存在开颅手术史者;③原发或继发性脑室出血、蛛网膜下腔出血、脑疝者;④多灶性脑出血者;⑤为动脉瘤、动脉畸形或海绵状血管瘤引发出血者。另选取本院同期行健康体检的 108 例志愿者作为对照组,其中男 64 例,女 44 例,平均年龄(64.52 ± 3.21)岁,入选者在年龄、性别一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者及家属已签署知情同意书。

1.2 NSE、IL-6、TIMP-1 检测方法

观察组患者在入院后即刻、24 h、3、7 d 清晨行空腹静脉抽血检查,对照组在体检当日空腹静脉抽血,每次均抽取 3 mL 血液,使用 3 000 r/min 离心机(离心半径为 10 cm)离心 10 min,获取上清液待检。使用酶联免疫法检测 NSE、IL-6、TIMP-1, NSE、IL-6 试剂盒均为自美国 R&D 公司提供, TIMP-1 试剂盒由北京博奥生物科技公司提供。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验;使用 Pearson 检验分析相关性,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 NSE、IL-6、TIMP-1 水平比较

观察组入院后即刻 NSE、IL-6、TIMP-1 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表1 两组NSE、IL-6、TIMP-1水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of NSE, IL-6 and TIMP-1 levels between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NSE(pg/mL)	IL-6(μ g/L)	TIMP-1(ng/mL)
对照组	108	6.62 $\pm$ 2.85	5.11 $\pm$ 1.21	71.52 $\pm$ 10.63
观察组	121	17.70 $\pm$ 3.65	28.24 $\pm$ 5.58	254.45 $\pm$ 15.58
t值		25.385	42.192	102.550
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 高血压性脑出血患者不同时间段NSE、IL-6、TIMP-1水平变化

不同时间段高血压性脑出血患者中NSE、IL-6、TIMP-1表达水平:发病后24 h>发病后3 d>发病后7 d,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 高血压性脑出血患者不同时间段NSE、IL-6、TIMP-1水平变化($\bar{x} \pm s$)Table 2 Changes of NSE, IL-6 and TIMP-1 levels in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage in different time periods ($\bar{x} \pm s$)

时间段	n	NSE(pg/mL)	IL-6(μ g/L)	TIMP-1(ng/mL)
发病后24 h	121	23.51 $\pm$ 2.52	38.59 $\pm$ 3.24	291.85 $\pm$ 15.11
发病后3 d	121	18.55 $\pm$ 3.22 ^a	26.85 $\pm$ 2.87 ^a	230.58 $\pm$ 14.96 ^a
发病后7 d	121	15.69 $\pm$ 2.77 ^{ab}	22.58 $\pm$ 2.31 ^{ab}	183.65 $\pm$ 14.85 ^{ab}
F值		232.99	1036.49	1588.75
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与发病后24 h比较,^a $P<0.05$;与发病后3 d比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 不同NIHSS评分NSE、IL-6、TIMP-1水平变化

不同NIHSS评分NSE、IL-6、TIMP-1水平:重度组>中度组>轻度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 不同NIHSS评分NSE、IL-6、TIMP-1水平变化($\bar{x} \pm s$)Table 3 Changes in NSE, IL-6 and TIMP-1 levels in different NIHSS scores ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NSE(pg/mL)	IL-6(μ g/L)	TIMP-1(ng/mL)
轻度	59	13.54 $\pm$ 2.68	23.84 $\pm$ 2.54	211.94 $\pm$ 14.69
中度	32	17.96 $\pm$ 2.99 ^a	28.58 $\pm$ 3.67 ^a	279.62 $\pm$ 14.66 ^a
重度	30	25.64 $\pm$ 3.55 ^{ab}	36.57 $\pm$ 3.88 ^{ab}	311.24 $\pm$ 15.30 ^{ab}
F值		143.33	137.70	461.58
P值		<0.001	<0.01	<0.001

注:^a为与轻度比较, $P<0.05$; ^b为与中度比较, $P<0.05$ 。

2.4 NSE、IL-6、TIMP-1与NIHSS评分相关性

经Pearson相关性分析,NSE、IL-6、TIMP-1与高血压性脑出血患者NIHSS评分均为正相关($r=0.635, 0.499, 0.611, P$ 均 <0.05)。见图1。

3 讨论

高血压性脑出血属于非创伤因素导致的脑实

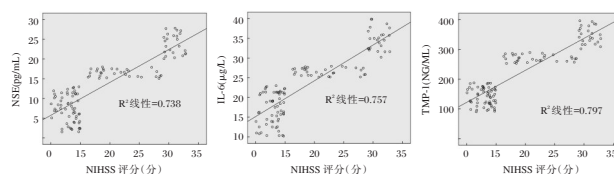


图1 NSE、IL-6、TIMP-1与NIHSS评分相关性散点图

Figure 1 Scatter plot of correlation between NSE, IL-6, TIMP-1 and NIHSS score

质出血,及时对患者病情进行评估,了解患者病情进展对患者预后及治疗方式选择有积极意义。

NSE在神经组织中广泛存在,可作为限速酶参与机体神经节细胞糖酵解的过程,为神经元活性和突触化的标志物^[7]。有研究显示,NSE可作为量化神经元损伤程度的有效指标,在脑出血患者中NSE表达明显升高^[8]。李琳瑕等人^[9]研究发现,在脑屏障受损后,NSE被释放到血液中,脑损伤越严重NSE表达水平越高,在治疗后患者NSE水平则逐渐降低,提示NSE与脑损伤程度及预后可能存在密切联系。本研究发现,NSE在高血压性脑出血患者中表达水平明显上升,在发病后24 h到达高峰期,随后下降,且患者神经功能损伤程度越严重NSE水平越高,提示在急性期时神经细胞损伤,NSE大量释放到血液中,随着时间延长其表达水平降低,且与患者神经功能损伤程度密切相关。

TIMP-1是金属蛋白酶家族的调控因子,为MMP-9机体特异性内源性抑制剂^[10]。临床中发现TIMP-1在与相同比例的MMP-9结合后可抑制蛋白酶活性,从而降低患者脑血屏障损伤程度^[11]。以往研究发现,在正常情况下低水平的TIMP-1与MMP-9之间可相互作用以维持细胞外基质的动态平衡,在机体发生应激情况时,MMP-9表达上调,同时也引起TIMP-1高表达^[12]。研究显示,脑组织受损严重者TIMP-1表达水平明显上升,可加剧脑组织功能损伤,导致神经纤维细胞电生理稳定性下降,最终促进了神经功能缺损^[13]。在本研究中,高血压性脑出血患者TIMP-1水平明显高于对照组,在发病后24 h内达到高峰,且与患者神经缺损程度密切相关,分析TIMP-1水平上升可能与金属蛋白酶诱导的负反馈调节机制有关。

IL-6是脑组织炎症反应中的炎性细胞因子,脑组织损伤的过程中,创伤会导致全身发生炎症反应,引起白细胞分泌出大量的IL-6,脑组织中胶质细胞中IL-6表达及外周血液中IL-6含量明显上

升^[14]。血清中 IL-6 水平急剧上升可导致巨噬细胞活化,进而引起神经系统再次损伤,同时破坏脑血屏障,增加血管通透性,加重患者脑水肿。有研究显示,IL-6 高表达与脑组织损伤之间密切相关^[15]。本研究显示,观察组 IL-6 表达水平高于对照组,且在 24 h 内 IL-6 水平达到高峰,随后为逐渐下降趋势。进一步分析发现,IL-6 与患者神经功能受损程度呈正相关,提示 IL-6 表达水平可反映出患者病情进展情况。分析原因可能与高浓度 IL-6 可激活中性粒细胞与血管内皮细胞,释放大量促炎介质,趋化于脑组织受损局部,直接损伤血管内皮细胞及神经元细胞,导致脑出血血肿周围组织炎性浸润,破坏血脑屏障,进一步扩大血肿面积,加重脑组织缺血、缺氧,影响神经功能有关。

综上所述,NSE、IL-6、TIMP-1 水平变化与高血压性脑出血患者神经功能损伤之间有一定的联系,可为患者病情严重程度评估提供参考,以指导临床治疗。

参考文献

- [1] 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(8):1056-1059+1068.
- [2] 宋永福,何升学,赵金兵,等.高血压性基底节区脑出血患者血清 S100 钙结合蛋白 B,神经特异性烯醇化酶水平对病情的评估及预后的预测价值[J].临床神经病学杂志,2020,33(1):17-22.
- [3] 潘红,许赞兴,孟舒婷.血清 HMGB-1, MIF, TIMP-1 在评估脑出血患者预后中的价值[J].中南医学科学杂志,2020,48(3):51-53+65.
- [4] 韩贤达,虞信维.自发性脑出血患者血液净化前后血清 C-反应蛋白、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 水平参考价值分析[J].中国卫生检验杂志,2019,29(11):1360-1362.
- [5] 魏俊,杨珉,王威.亚低温联合阿替普酶对急性脑梗死患者脑血流和神经功能恢复的影响[J].东南国防医药,2020,22(3):36-39.
- [6] 中华医学会神经外科学分会,中国医师协会急诊医师分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组,等.高血压性脑出血中国多学科诊治指南[J].中华神经外科杂志,2020,36(8):757-770.
- [7] 张海垠,黄艳丽.hs-CRP、NSE 在急性脑出血患者诊治过程中的应用价值[J].中国实验诊断学,2019,23(7):1119-1121.
- [8] 付慧,熊虹,康文清,等.S100B 蛋白、NSE 与 HIE 患儿病情严重程度及神经行为功能相关性分析[J].检验医学,2020,35(4):300-303.
- [9] 李琳瑕,王树泉,王斌,等.高血压脑出血患者 TIMP-1、MMP-9、NSE、IL-18 水平变化对神经功能影响[J].心脑血管病防治,2019,19(4):307-310.
- [10] 刘付锋,孙远远,陈景景,等.脑出血大鼠血肿周围脑组织含水量与 MMP-9、IL-6 及 TIMP-1 表达水平的相关性研究[J].现代生物医学进展,2020,20(9):1652-1655.
- [11] 李红云,王中琳.补阳还五汤对脑出血大鼠模型相关蛋白表达的作用[J].世界中医药,2020,15(9):64-68.
- [12] Dias F, Teixeira AL, Nogueira I, et al. Plasma Extracellular Vesicle-Derived TIMP-1 mRNA as a Prognostic Biomarker in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: A Pilot Study [J]. Internat J Molec Sci, 2020, 21(13):4624.
- [13] Vira HJ, Pradhan VD, Umare VD, et al. Expression of the matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in systemic lupus erythematosus patients [J]. Neth J Med, 2020, 78(5):261-269.
- [14] 吴林,黄晓丹,陈炜,等.逐瘀安脑丸对高血压性脑出血患者临床疗效及炎症因子影响[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(1):10-12.
- [15] 郭异之,蒋宇钢,刘军.血清 HIF-1 α 、IL-6 对重型颅脑损伤患者近期预后的预测价值[J].中国神经精神疾病杂志,2019,45(6):365-369.

(上接第 655 页)

- [7] 闻洁曦,张华,侯世芳,等.利妥昔单抗治疗重症肌无力的临床疗效分析[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2020,27(1):35-39.
- [8] Shafit-Zagardo B, Gruber RC, DuBois JC. The role of TAM family receptors and ligands in the nervous system: From development to pathobiology [J]. Pharmacol Ther, 2018, 188: 97-117.
- [9] 刘力,张敬蕊,陈莹.重度子痫前期患者血清 GAS6 与其他炎症因子的相关性研究[J].天津医药,2020,48(1):68-70.
- [10] 刘宇,王垚.老年肺癌患者化疗后肺部感染的病原菌分布及其对免疫功能的影响[J].现代肿瘤医学,2019,27(2):233-236.
- [11] 雷小妮,侯小娟.肝癌外科手术后肺部并发症危险因素分析[J].胃肠病学和肝病杂志,2017,26(4):404-406.
- [12] 白丹,向雯,陈心足,等.胃癌术后肺部感染发生因素及围手术期干预措施[J].中华胃肠外科杂志,2021,24(2):185-190.
- [13] 黄琨波.血清 FGF-23、Gas6 水平对急性心肌梗死的诊断分析[J].中外医学研究,2021,19(10):93-95.
- [14] 宋辉,于艺冰,郭媛媛.FMS 样酪氨酸激酶 3 配体在急性髓系白血病患者血清中的表达及其临床意义[J].东南大学学报(医学版),2021,40(1):41-45.
- [15] 晏黎,黄伟,饶亚华,等.血清 Flt3L 和 Gas6 对非霍奇金淋巴瘤患者化疗后感染的诊断价值[J].中华检验医学杂志,2021,44(10):937-942.

HD联合HP对尿毒症患者IL-6、TNF- α 、PCT水平及临床疗效分析

王艳姣* 张锡友 纪芳

【摘要】目的 探讨血液透析(HD)联合血液灌流(HP)对尿毒症患者白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、降钙素原(PCT)水平及临床疗效的影响。**方法** 选取2019年1月至2021年1月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的98例尿毒症患者,按照不同治疗方式分为研究组(HD联合HP, $n=51$)和对照组(HD, $n=47$)。比较两组临床疗效、炎症因子[IL-6、TNF- α 、PCT]、钙磷代谢(血钙、血磷)、免疫功能[免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)、补体C₃和C₄]水平。**结果** 研究组总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组血钙均上升,IL-6、TNF- α 、PCT、血磷均下降,且研究组显著低于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.581, P<0.05$)。治疗后,两组IgA、IgG、IgM、C₃、C₄均上升,且研究组IgA、IgM、C₃、C₄高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 尿毒症患者采取HD联合HP治疗疗效确切,可有效改善IL-6、TNF- α 、PCT水平及免疫功能,纠正钙磷代谢失常,值得临床推广应用。

【关键词】 IL-6; TNF- α ; HP; 钙磷代谢; 尿毒症

Analysis of HD combined with HP on the levels of IL-6, TNF- α , PCT and its clinical efficacy in patients with uremia

WANG Yanjiao*, ZHANG Xiyu, JI Fang

(Department of Hematology and Renal Lymphoma, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

【ABSTRACT】 Objective To explore the influence of Hemodialysis (HD) combined with hemoperfusion (HP) on the levels of Interleukin-6 (IL-6), Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Procalcitonin (PCT) and its clinical efficacy in patients with uremia. **Methods** 98 patients with uremia admitted to Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University were selected. Following the doctor's advice, they were divided into a study group (HD combined with HP, $n=51$) and a control group (HD, $n=47$). The clinical efficacy, inflammatory factors [IL-6, TNF- α , PCT], calcium and phosphorus metabolism (blood calcium, blood phosphorus), immune function [Immunoglobulin A (IgA), Immunoglobulin G (IgG), Immunoglobulin M (IgM), complement C₃ and C₄] between the two groups were compared. **Results** The total effective rate in the study group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.581, P<0.05$). After treatment, blood calcium increased, IL-6, TNF- α , PCT and blood phosphorus decreased in the two groups, and the study group was significantly lower than the control group, with statistical significance ($P<0.05$). After treatment, the levels of IgA, IgG, IgM, C₃, and C₄ in the two groups increased, and IgA, IgM, C₃, and C₄ in the study group were higher than those in the control group ($P<0.05$). **Conclusion** HD combined with HP in patients with uremia has a definite effect, which can effectively improve IL-6, TNF- α , PCT levels and immune function, and correct calcium and phosphorus metabolism disorders. It is worthy of clinical application.

【KEY WORDS】 IL-6; TNF- α ; HP; Calcium and phosphorus metabolism; Uremia

基金项目:北京市科学技术委员会课题(Z191100000417035)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院血液肾内淋巴瘤科,北京 100038

*通信作者:王艳姣, E-mail: wangyanjiao@bjsjth.cn

慢性肾功能衰竭是目前临床肾内科中较为常见和较为严重的疾病之一,随着病情的进展,最终将导致尿毒症的出现^[1]。尿毒症是肾衰竭的终末期,浮肿、尿少、疲乏无力、充血性心力衰竭为该疾病主要的临床症状,目前血液透析(Hemodialysis, HD)为临床上治疗尿毒症的主要手段之一,可显著延长患者生存期^[2]。长时间的HD治疗可给患者带来一定的痛苦,造成患者微炎症的状态以及钙磷代谢紊乱现象,还可导致患者出现一系列并发症,严重危及患者的生活质量^[3]。研究显示,采用血液灌流(Hemoperfusion, HP)联合治疗可弥补HD的不足之处,增加对中、大毒素分子及炎症介质的清除,提升治疗效果^[4]。本研究就HD联合HP治疗对尿毒症患者白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor, TNF- α)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)水平及临床疗效进行分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 基本资料

选取2019年1月至2021年1月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的98例尿毒症患者,按照不同治疗方式分为研究组(HD联合HP, $n=51$)和对照组(HD, $n=47$)。纳入标准:①皆满足世界卫生组织(World Health Organization, WHO)规定的尿毒症诊断标准^[5];②对治疗无禁忌症者;③临床资料完整无缺漏。排除标准:①合并其他器官组织恶性肿瘤或自身免疫缺陷性疾病、严重感染者;②存在肾移植、腹膜透析者;③存在先天性免疫性疾病者;④本次治疗前1个月内应用免疫抑制剂者;⑤精神认知障碍者。两组基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准,受试者或家属已签署知情同意书。

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

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

组别		平均年龄 (岁)	性别 (男/女)	透析时间 (月)	体质量指数 (kg/m ²)	原发病			
						慢性肾小球肾炎	高血压肾病	糖尿病肾病	慢性肾盂肾炎
研究组	51	58.17±9.25	33/18	22.35±6.14	19.62±2.14	16(31.37)	17(33.33)	12(23.53)	6(11.76)
对照组	47	56.37±8.42	36/11	21.19±6.57	20.18±1.87	15(31.91)	18(38.30)	9(19.15)	5(10.64)
χ^2/t 值		1.005	1.660	0.903	1.374		0.418		
P 值		0.318	0.198	0.369	0.173		0.937		

1.2 方法

所有患者皆予以常规对症支持治疗,给予叶酸、碳酸钙、铁剂、促红细胞生成素等治疗。对照组予以HD治疗:机器采用德国费森尤斯聚枫膜F6型HD机,膜面积为1.5 m²,碳酸氢盐透析液,抗凝处理选用低分子肝素,血流量:200~250 mL/min,流量:50 mL/min。透析时间为4 h/次,3次/周,连续治疗12周。研究组予以HD与HP联合治疗:HD方法同对照组;血液灌流治疗:仪器采用一次性树脂灌流器(型号:HA-80,珠海丽珠医用生物材料有限公司),将灌流器串联在透析机之前,持续灌流2 h,于饱和后取下,再继续透析2 h,连续治疗12周。

1.3 检测

收集两组患者治疗前、后清晨空腹静脉血5 mL,离心(3 500 r/min, 5 min, $r=8$ cm)后取分离血清,置-20℃保存。采用酶联免疫吸附法检测IL-6、TNF- α ,试剂盒由北京华夏远洋科技有限公司提

供;使用化学发光法检测PCT、血钙、血磷水平,试剂盒由德国罗氏公司提供;采用免疫散射比浊法检测免疫球蛋白A(Immunoglobulin A, IgA)、免疫球蛋白G(Immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白M(Immunoglobulin M, IgM)含量及C₃和C₄补体水平,试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供。详细步骤严格按照说明书执行。

1.4 临床疗效^[6]

显效:患者纳差、水肿、恶心、骨痛及皮肤瘙痒等症状消失,血清学指标较前改善超过60%;有效:临床症状基本得以缓解,血清学指标较前改善30%~60%。无效:临床症状未得到明显缓解,血清学指标改善不足30%甚至加重。总有效率=[(显效+有效)/总例数]×100%。

1.5 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

研究组总有效率(96.08%)高于对照组(82.98%),差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 临床疗效比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of clinical efficacy [$n(\%)$]					
组别	n	显效	有效	无效	总有效率
研究组	51	24(47.06)	25(49.02)	2(3.92)	49(96.08)
对照组	47	13(27.66)	26(55.32)	8(17.02)	39(82.98)
χ^2 值					4.581
P 值					0.032

2.2 两组 IL-6、TNF- α 、PCT 水平比较

治疗前各组 IL-6、TNF- α 、PCT 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后各组 IL-6、TNF- α 、PCT 水平均下降,且研究组显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.3 两组患者治疗前后血钙、血磷水平比较

治疗前2组血钙、血磷水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组血钙均上升、血磷均下降,以研究组最为显著($P<0.05$)。见表4。

2.4 两组治疗前后免疫功能比较

治疗前2组 IgA、IgG、IgM、C₃、C₄水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组 IgA、IgG、IgM、C₃、C₄水平均上升,且研究组 IgA、IgM、C₃、C₄高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表4 两组患者治疗前后血钙、血磷水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of blood calcium and phosphorus levels before and after treatment in the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血钙 (mmol/L)		血磷 (mmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	51	2.13 $\pm$ 0.29	2.42 $\pm$ 0.18 ^a	2.14 $\pm$ 0.25	1.65 $\pm$ 0.21 ^a
对照组	47	2.08 $\pm$ 0.32	2.31 $\pm$ 0.15 ^a	2.05 $\pm$ 0.23	1.94 $\pm$ 0.24 ^a
t 值		0.811	3.271	1.850	6.378
P 值		0.419	0.002	0.067	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

据统计,我国成年人慢性肾脏病的患病率已达10.8%,且呈年轻化趋势,其中慢性肾衰患者总数估计在100万例左右;尿毒症即为慢性肾衰的终末期,是威胁患者身体健康的重要阶段^[7]。目前HD是临床上维持尿毒症患者的生命以及缓解其病情恶化的主要方法^[8]。

HD主要是采用半透膜的原理,采用人工干预的方式,进行物质的交换,以清除患者体内多余的水和代谢产物,以起到血液净化、改善水电解质和酸碱失衡的目的^[9]。HD对小分子毒素物质的清除效果十分显著,但相关研究显示,HD并不能有效过滤大分子毒素,而这些大分子毒素在机体长时间蓄积会导致神经、循环系统的失常,提升并发症的发生几率^[10]。HP治疗是利用活性炭、树脂、氧化淀粉等吸附剂清除患者血液中的内毒素、蛋白质等,以发挥血液净化的目的^[11]。HP主要针对的毒素分子为中、大分子^[12]。Huu等^[13]研究指

表3 两组治疗前后 IL-6、TNF- α 、PCT 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of IL-6, TNF- α and PCT levels before and after treatment in the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-6 (ng/L)		TNF- α (ug/L)		PCT (ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	51	86.24 $\pm$ 13.42	42.17 $\pm$ 9.33 ^a	7.24 $\pm$ 1.96	2.14 $\pm$ 0.65 ^a	4.23 $\pm$ 1.28	1.31 $\pm$ 0.37 ^a
对照组	47	82.19 $\pm$ 12.15	56.32 $\pm$ 10.46 ^a	6.83 $\pm$ 2.05	1.62 $\pm$ 0.48 ^a	3.84 $\pm$ 1.15	0.95 $\pm$ 0.29 ^a
t 值		1.562	7.078	1.012	4.474	1.582	5.330
P 值		0.122	<0.001	0.314	<0.001	0.117	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

表5 两组治疗前后免疫功能比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Comparison of immune function between the two groups before and after treatment ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IgA (g/L)		IgG (g/L)		IgM (g/L)		C ₃ (g/L)		C ₄ (g/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	51	0.45 $\pm$ 0.13	1.84 $\pm$ 0.29 ^a	7.62 $\pm$ 1.48	10.63 $\pm$ 2.12 ^a	0.38 $\pm$ 0.08	1.47 $\pm$ 0.08 ^a	0.76 $\pm$ 0.14	1.16 $\pm$ 0.17 ^a	0.29 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.14 ^a
对照组	47	0.50 $\pm$ 0.15	1.46 $\pm$ 0.24 ^a	8.02 $\pm$ 1.53	9.86 $\pm$ 1.83 ^a	0.41 $\pm$ 0.10	1.17 $\pm$ 0.14 ^a	0.81 $\pm$ 0.15	1.03 $\pm$ 0.12 ^a	0.31 $\pm$ 0.07	0.58 $\pm$ 0.11 ^a
t 值		1.767	7.033	1.315	1.917	1.646	13.153	1.707	4.339	1.522	7.036
P 值		0.080	<0.001	0.192	0.058	0.103	<0.001	0.091	<0.001	0.131	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

出,将HP与HD联合应用,可发挥优势互补、全面净化的效果。此外,近年来多个研究结果均显示,尿毒症患者普遍合并微炎症状态,而微炎症状态最为直接的表现是周身循环系统中IL-6、TNF- α 、PCT等炎症因子浓度的上升,继而可引起多种炎症相关性并发症,加重尿毒症的发展^[14]。本研究结果进一步证实了HP联合HD治疗对减轻炎症反应的效果明显优于单一进行HD疗法。

钙磷代谢紊乱是尿毒症患者较为常见的一种并发症,通常钙磷代谢是经由甲状旁腺素(Parathyroid hormone, PTH)-维生素D轴维持人体血钙及血磷含量,但肾衰竭会导致PTH-维生素D轴功能减弱,致使机体代偿机制受到进一步损害,继而引起血钙含量降低和血磷含量上升^[15]。本研究结果显示,治疗后研究组血钙、血磷含量均优于对照组,说明HP联合HD治疗可有效维持机体钙磷代谢的均衡。Vinicius等^[16]研究指出,尿毒症患者由于肾功能的严重受损,会导致机体的免疫功能异常,尤其是IgA、IgG、IgM、C₃、C₄的异常。相关研究显示,与健康人群相比,尿毒症患者普遍存在免疫球蛋白降低现象^[17]。本研究通过分析显示,治疗后各组IgA、IgG、IgM、C₃、C₄水平均出现上升,这说明两种治疗方案均可改善患者IgA、IgG、IgM、C₃、C₄水平,且研究组治疗后IgA、IgM、C₃、C₄明显高于对照组,这说明HP联合HD治疗较单一HD更能有效改善患者IgA、IgG、IgM、C₃、C₄水平,从而纠正免疫功能。

综上所述,尿毒症患者采取HD联合HP治疗疗效确切,可有效改善IL-6、TNF- α 、PCT水平及免疫功能,纠正钙磷代谢失常,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 常艳丽,李华丽.不同血液透析方法对尿毒症患者毒素清除效果及自主神经病变的改善情况分析[J].湖南中医药大学学报,2018,38(A01):609-610.
- [2] Wang H, Zhang Z, Sun J. The clinical evaluation of combined detection of microcirculation, lipid metabolism, and inflammatory-related factors in the treatment of diabetic nephropathy with atorvastatin[J]. Eur J Inflamm, 2019, 17(7):242-246.
- [3] Wang Y, Jiang W, Zhang Z, et al. Tumor Reoxygenation and Blood Perfusion Enhanced Photodynamic Therapy using Ultrathin Graphdiyne Oxide Nanosheets[J]. Nano Letters, 2019, 19(6):357-361.
- [4] Tzeng HT, Chyuan IT. Immunometabolism in systemic lupus erythematosus: Relevant pathogenetic mechanisms and potential clinical applications[J]. J Form Med Associat, 2021, 31(1):466-468.
- [5] 邓湘佐,高利丽,宋晓平,等.甲钴胺联合血液透析治疗尿毒症患者周围神经病变的效果及对患者血清微炎症介质水平的影响[J].现代生物医学进展,2018,18(5):951-954.
- [6] Li W H, Yin Y M, Chen H, et al. Curative effect of neutral macroporous resin hemoperfusion on treating hemodialysis patients with refractory uremic pruritus[J]. Medicine, 2017, 96(12):652-655.
- [7] Richter GM, Jochen K, Matthias M, et al. A combined epigenome- and transcriptome- wide association study of the oral masticatory mucosa assigns CYP1B1 a central role for epithelial health in smokers[J]. Clin Epigenetics, 2019, 11(1):105-106.
- [8] Lyons JJ, Milner JD. The clinical and mechanistic intersection of primary atopic disorders and inborn errors of growth and metabolism[J]. Immunol Rev, 2019, 287(1):135-144.
- [9] 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.
- [10] 仲雅,李亚娟,齐小玲,等.血液透析联合血液灌流对慢性肾衰竭患者临床疗效,肾功能及血清炎症因子的影响[J].解放军医药杂志,2020,32(12):77-80.
- [11] 孙艺青,樊占宏,郑拓康,等.血液灌流联合连续性静脉-静脉血液滤过对百草枯中毒疗效的Meta分析[J].中华危重病急救医学,2020,32(6):726-731.
- [12] 邓伟谦.比较血液透析滤过和血液灌流联合血液透析对尿毒症患者血清钙磷及甲状旁腺激素清除效果的影响[J].中国急救医学,2018,38(z2):114-115.
- [13] Huu DN, Quy Q, Hai N, et al. A Combination of Hemodialysis with Hemoperfusion Helped to Reduce the Cardiovascular-Related Mortality Rate after a 3-Year Follow-Up: A Pilot Study in Vietnam[J]. Blood Purificat, 2020, 50(1):1-8.
- [14] Gu YH, Yang X H, Pan L H, et al. Additional hemoperfusion is associated with improved overall survival and self-reported sleep disturbance in patients on hemodialysis[J]. The Intern J artif organs, 2019, 42(7):145-147.
- [15] Yokoyama K, Kurita N, Fukuma S, et al. Frequent monitoring of mineral metabolism in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism: associations with achievement of treatment goals and with adjustments in therapy[J]. Nephrol Dial Transplant, 2017, 32(3):20-23.
- [16] Vinicius C, Marcelo MR, Kevin NK, et al. Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation[J]. Nutrients, 2018, 10(11):441-448.
- [17] Yokokawa T, Ikura Y, Okabe H, et al. Dextran deposition in reticuloendothelial organs in hemodialysis patients: A forgotten adverse effect of low molecular weight dextran[J]. Hemodial Int, 2020, 24(3):214-218.

SMAD5-AS1 干扰对人食管癌细胞株 Eca109 增殖的影响及机制

赵芳¹ 伦淑敏¹ 高照伟¹ 段丽娟¹ 杨海军^{2*}

[摘要] 目的 观察长链非编码核糖核酸(LncRNA)信号传导蛋白 Sma 和 Mad 相关蛋白同源物 5(SMAD5)反义核糖核酸 1(SMAD5-AS1)干扰对人食管癌细胞株 Eca109 增殖的影响,并初步探讨可能的机制。方法 取人食管癌细胞株 Eca109 培养传代,分别转染 SMAD5-AS1 siRNA 沉默质粒、阴性对照质粒,并记为 siRNA-1 组、siRNA 阴性对照组,另取未转染细胞记为对照组,每组设置 3 个复孔。实时逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)检测各组 SMAD5-AS1、表观遗传诱导 LncRNA-1 (EPIC1)信使核糖核酸(mRNA)表达;细胞计数试剂-8(CCK-8)法检测各组细胞增殖活性;流式细胞仪检测各组细胞周期分布;RT-qPCR 检测各组细胞周期 D1(cyclinD1)、促凋亡基因(Bad)、抗凋亡基因(Bcl-2) mRNA 表达;蛋白质免疫印迹法(WB)检测各组细胞 cyclinD1、Bad、Bcl-2 蛋白表达。结果 各组细胞 SMAD5-AS1、EPIC1 mRNA 表达水平比较:对照组>siRNA 阴性对照组>siRNA-1 组,差异有统计学意义($P<0.05$);各组细胞增殖活性比较:siRNA-1 组>siRNA 阴性对照组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);与对照组和 siRNA 阴性对照组比较,siRNA-1 组 cyclinD1 和 Bcl-2 mRNA 与蛋白表达均下降,差异有统计学意义($P<0.05$),G₁/S 期细胞占比、Bad mRNA 及蛋白表达均升高,差异有统计学意义($P<0.05$),上述指标 siRNA 阴性对照组和对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 SMAD5-AS1 干扰可抑制人食管癌细胞株 Eca109 增殖,将其阻滞于 G₁/S 期,推测与下调 EPIC1、cyclinD1 及 Bcl-2 表达,上调 Bad 表达有关。

[关键词] 长链非编码核糖核酸; 信号传导蛋白 Sma 和 Mad 相关蛋白同源物 5 反义核糖核酸 1; 食管癌; 增殖

Effect of SMAD5-AS1 interference on the proliferation of human esophageal cancer cell line Eca109

ZHAO Fang¹, LUN Shumin¹, GAO Zhaowei¹, DUAN Lijuan¹, YANG Haijun^{2*}

(1. Central Laboratory of Henan Anyang Cancer Hospital, Anyang, Henan, China, 455000; 2. Department of Pathology, Anyang Cancer Hospital, Anyang, Henan, China, 455000)

[ABSTRACT] **Objective** To observe the effect of long chain noncoding RNA (LncRNA) signal transduction protein Sma and Mad related protein homologue 5 (SMAD5) antisense RNA 1 (SMAD5-AS1) interference on the proliferation of human esophageal cancer cell line Eca109, and to explore its signal pathway regulation mechanism. **Methods** Human esophageal cancer cell line Eca109 was cultured and subcultured, and transfected with SMAD5-AS1 siRNA silencing plasmid and negative control plasmid, respectively, and recorded as the siRNA-1 group and the siRNA-negative control group. In addition, untransfected cells were recorded as the control group, and 3 multiple wells were set in each group. The messenger ribonucleic acid (mRNA) expressions of SMAD5-AS1 and epigenetic LncRNA-1 (EPIC1) were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR). Cell proliferation activities were detected by cell counting

基金项目:安阳市科技计划项目(20200301)

作者单位:1. 河南省安阳市肿瘤医院中心实验室,河南,安阳 45500

2. 安阳市肿瘤医院病理科,河南,安阳 455000

*通信作者:杨海军, E-mail: yhj1972@126.com

kit-8 (CCK-8) assay. Cell cycle distributions of each group were detected by flow cytometry. The mRNA expressions of cyclinD1, pro-apoptotic gene (Bad) and anti-apoptotic gene (Bcl-2) were detected by RT-qPCR. The protein expressions of cyclinD1, Bad and Bcl-2 were detected by western blotting (WB). **Results** Comparison of SMAD5-AS1 and EPIC1 mRNA expression levels in each group: the control group > the siRNA-negative control group > the siRNA-1 group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Comparison of cell proliferation activity in each group: the siRNA-1 group > the siRNA-negative control group > the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with the control group and the siRNA-negative control group, the expressions of cyclinD1 and Bcl-2 mRNA and protein in the siRNA-1 group were decreased, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The proportions of cells in G₁/S phase and expressions of Bad mRNA and protein were increased ($P<0.05$) in the siRNA-1 group, and there was no statistical significance in the above indicators between the siRNA negative control group and the control group ($P>0.05$). **Conclusion** SMAD5-AS1 interference can inhibit the proliferation of human esophageal cancer cell lines Eca109 and block them in G₁/S phase, which is presumed to be related to down-regulation of EPIC1, cyclinD1 and Bcl-2 expressions and up-regulation of Bad expression.

[KEY WORDS] Long non-coding RNA; Signal transduction proteins Sma and Mad related protein homolog 5 antisense RNA 1; Esophageal cancer; Proliferation

食管癌是食管鳞状上皮或腺上皮异常增生导致的恶性病变,是消化道常见恶性肿瘤之一,食管癌的发病率占全世界所有癌症诊断的3.2%,死亡率占所有癌症死亡的5.3%,且食道癌病死率逐年上升^[1-2]。当前最常用治疗方式为以外科手术为主同时结合放化疗方式综合治疗,尽管该治疗方式可有效根治早期恶性肿瘤,但对晚期恶性肿瘤只能达到姑息性治疗作用,多数患者死于肿瘤的复发和转移,因此抑制肿瘤的增殖转移成为当今提高患者生存率的重要的治疗方式之一^[3]。长链非编码核糖核苷酸(LncRNA)可调控肿瘤的增殖、侵袭和转移,有研究指出沉默表达 LncRNA 信号传导蛋白 Sma 和 Mad 相关蛋白同源物 5(SMAD5)反义核糖核酸 1(SMAD5-AS1)后可抑制鼻咽癌癌细胞增殖^[4]。本实验室前期研究证实 SMAD5-AS1 干扰可影响食管癌细胞增殖能力,然而其作用机制仍不清楚。表观遗传诱发 LncRNA1(EPIC1)参与癌细胞增殖^[5]。细胞周期蛋白 D1(cyclinD1)是调节细胞周期的重要蛋白,参与调控食管癌细胞的增殖^[6]。B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)是抗凋亡基因,BCL-2/BCL-XL 死亡相关启动子(Bad)是促凋亡基因,有研究表明 Bcl-2 和 Bad 参与食管癌细胞的增殖^[7]。然而 SMAD5-AS1 能否调控 EPIC1、cyclinD1、Bad 和 Bcl-2 表达调控食管癌细胞增殖未知。本研究选取食管癌细胞株 Eca109 开展细胞试验,研究 SMAD5-AS1 调控食管癌细胞 Eca109 增殖的作用并初步探讨可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验细胞与试剂

人食管癌细胞株 Eca109(由中国科学院上海细胞库提供);大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞(购自上海钰博生物科技有限公司,生产批号:YB-L033);无菌 1640 液体细胞培养基(RPMI-1640)(购自 Hyclone 公司,生产批号:SH30809.01B);胎牛血清、减血清培养基(Opti-MEM)(均购自 Gibco 公司,生产批号:10270-106、31985-062);磷酸盐缓冲溶液(PBS)、0.25%胰蛋白酶(均购自 solarbio,生产批号:P1010、T1350);脂质体转染(Lipofectamine[®] RNAiMAX)试剂盒(购自 Invitrogen 公司,生产批号:13778030);小干扰 SMAD5-AS1 RNA (si-SMAD5-AS1)、SMAD5-AS1、EPIC1、cyclinD1、Bcl-2 和 Bad 聚合酶链反应(PCR)扩增引物、pLVX-IRES-ZsGreen1-si-SMAD5-AS1 质粒(均由武汉华联科生物技术有限公司合成);细胞计数试剂-8(CCK8)(购自 solarbio 公司,生产批号:CA1210);兔抗人 cyclinD1、Bcl-2、Bad 和内参基因磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体(一抗)、山羊抗兔 cyclinD1、Bcl-2、Bad 和 GAPDH 辣根过氧化物酶标记多克隆抗体(二抗)(均购自武汉华联科生物技术有限公司;生产批号:PAB30598、LS-B6772、PAB32756、PAB36269、SAB43714、ab182858、SAB32651、SAB13529);吐温-20(Tween-20)、细胞快速裂解液和二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓

度测定试剂盒(均购自 solarbio, 生产批号: T8220-100、R0010、PC0020)

1.1.2 实验设备

SW-CJ-1D型超净工作台(购自苏州智净净化设备有限公司);311型CO₂恒温培养箱(购自 Thermo 公司);DMIL LED型倒置荧光显微镜(购自 Leica 公司);Icen-24R型高速冷冻离心机、Nano-300型微量分光光度计和 AMR-100型酶标仪(均购自杭州奥盛仪器有限公司);CFX-Connect 96型荧光定量PCR仪(购自美国 Bio-Rad 公司);Tanon-5200型全自动化学发光分析仪(购自上海天能科技有限公司);mini protean 3 cell型电泳仪(购自 BIO-RAD)。

1.2 方法

1.2.1 细胞复苏与传代

细胞复苏:37℃水浴迅速融化冻存细胞,待完全融化后,加入 RPMI-1640 培养液,离心,弃上清,加 RPMI-1640 培养液,37℃、5%CO₂的培养箱恒温培养。细胞传代:无菌操作弃培养液,PBS洗涤,37℃ 0.25%胰酶消化,制备细胞悬液,培养箱培养待用。

1.2.2 siRNA 质粒构建

从 NCBI 数据库中查找 SMAD5-AS1 信息(NR_026763.1),根据 siRNA 设计工具设计针对 SMAD5-AS1 的 siRNA 序列(si-SMAD5-AS1 序列:5' - CCGATAAGCGCGGATCCTTATCT - 3')。pLVX-IRES-ZsGreen1-si-SMAD5-AS1 质粒委托武汉华联科生物技术有限公司构建。

1.2.3 转染

将细胞接种至 6 孔板,当细胞融合度达到 90% 时,以 Lipofectamine® RNAiMAX 脂质体法进行转染,按试剂盒操作说明进行实验:向转染试剂中缓慢加入 pLVX-IRES-ZsGreen1-si-SMAD5-AS1 质粒,培养 4 h,换液继续培养 48 h,将该组细胞记为 siRNA-1 组;同法获得转染空载质粒的细胞,记为 siRNA 阴性对照组。另取未处理细胞记为对照组。每组细胞设置 3 个复孔。

1.2.4 各组细胞 SMAD5-AS1、EPIC1 信使核糖核酸(mRNA)表达检测

向各组细胞中加入细胞裂解液,提取细胞总 RNA。反转录为 cDNA 后进行 PCR 扩增反应。反应条件:95℃ 3 min;95℃ 5 s、56℃ 10 s、72℃ 25 s 40 个循环;65℃ 5 s。引物序列见表 1。用相对定量法^[8]对比各组待测基因 mRNA 表达差异。本研究选取 GAPDH 作为内参基因,以 2^{-ΔΔCt}表示各组待

测基因 mRNA 表达倍比关系。

表 1 PCR 所需引物序列

Table 1 Primer sequences required for PCR

引物名称	序列	扩增片段大小(bp)
SMAD5-AS1-F	5'-GACGCTGCTTTGGCATTCTC-3'	221
SMAD5-AS1-R	5'-TGCTTCTATGCTGGGTGACT-3'	
EPIC1-F	5'-TATCCCTCAGAGCTCCTGCT-3'	239
EPIC1-R	5'-AGGCTGGCAAGTGTGAATCT-3'	
GAPDH-F	5'-GGGAACTGTGGCGTGAT-3'	299
GAPDH-R	5'-GAGTGGGTGTCGCTGTTGA-3'	

1.2.5 各组细胞增殖活性检测

采用 CCK8 法检测细胞增殖活性。收集细胞,将细胞分于 96 孔板,调整细胞悬液浓度为 3×10³ 个/孔,100 μL/孔,37℃、5%CO₂培养过夜,细胞贴壁后继续培养 48 h;加入 10 μL/孔 CCK8 溶液,继续培养 4 h;酶标仪检测 450 nm 处吸光度值。各组细胞增殖抑制率=(对照组平均吸光度值-转染组平均吸光度值)/对照组平均吸光度值×100.00%。

1.2.6 各组细胞细胞周期检测

收集各组细胞,离心弃上清,PBS 重悬细胞,调整细胞浓度为 1×10⁶ 个/mL;离心,加 70%乙醇固定 4℃过夜;离心弃上清,PBS 洗涤;加入 100 μL 核糖核酸酶 A(RNaseA),37℃水浴孵育 30 min;加入 400 μL 碘化丙啶(PI),流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.7 各组细胞 cyclinD1、Bad、Bcl-2 mRNA 表达检测

检测方法同上,引物序列见表 2。

表 2 PCR 所需引物序列

Table 2 Primer sequences required for PCR

引物名称	序列	扩增片段大小(bp)
cyclinD1-F	5'-GGCCACTTGTCATGTTCTG-3'	89
cyclinD1-R	5'-GGATGGAGTTGTGCGGTGTA-3'	
Bad-F	5'-CCATCGGAAGTTTTGGGTT-3'	124
Bad-R	5'-GACGCAACGGTTAAACCTG-3'	
Bcl-2-F	5'-CTGGTGGACAACATCGC-3'	135
Bcl-2-R	5'-GGAGAAATCAAACAGAGGC-3'	
GAPDH-F	5'-GGGAACTGTGGCGTGAT-3'	299
GAPDH-R	5'-GAGTGGGTGTCGCTGTTGA-3'	

1.2.8 各组细胞 cyclinD1、Bad、Bcl-2 蛋白表达检测

取各组细胞,加入细胞裂解液,4℃充分裂解细胞,离心,取上清。BCA 法测定蛋白质含量,调整蛋白质终浓度为 5 μg/μL。每孔上样量 4 μL。蛋白质免疫印迹法电泳,转膜,5%脱脂奶粉室温封闭 4℃过夜,加入一抗孵育 1 h,含 0.05% Tween-20 的 PBS 洗涤,加入二抗,室温孵育 1 h。显色反应后,

全自动化学发光分析仪中检测, TANON GIS 软件读取相关条带灰度值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间用方差分析, SNK- q 检验每两样之间差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组细胞 SMAD5-AS1、EPIC1 mRNA 表达水平检测

各组细胞 SMAD5-AS1、EPIC1 mRNA 表达水平比较: 对照组 > siRNA 阴性对照组 > siRNA-1 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 SMAD5-AS1、EPIC1 表达倍比关系 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SMAD5-AS1	EPIC1
对照组	3	1.079 $\pm$ 0.209	1.029 $\pm$ 0.203
siRNA 阴性对照组	3	1.034 $\pm$ 0.204 ^a	1.014 $\pm$ 0.201 ^a
siRNA-1 组	3	0.633 $\pm$ 0.119 ^{ab}	0.209 $\pm$ 0.041 ^{ab}
F 值		5.456	23.784
P 值		0.045	0.001

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 siRNA 阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.2 各组细胞增殖活性比较

各组细胞增殖活性比较: siRNA-1 组 > siRNA 阴性对照组 > 对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 各组细胞增殖抑制率 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	增殖抑制率 (%)
对照组	3	0
siRNA 阴性对照组	3	-0.010 $\pm$ 0.007 ^a
siRNA-1 组	3	0.211 $\pm$ 0.041 ^{ab}
F 值		81.036
P 值		0.000

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 siRNA 阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.3 各组细胞周期分布比较

与对照组和 siRNA 阴性对照组比较, siRNA-1 组细胞 G₀/G₁ 期细胞占比升高、S 期和 G₂/M 期占比下降 ($P = 0.043$, $P = 0.046$; $P = 0.043$, $P = 0.029$; $P = 0.002$, $P = 0.002$); 对照组和 siRNA 阴性对照组差异无统计学意义 ($P = 0.967$; $P = 0.874$; $P = 0.875$)。见图 1。

2.4 各组细胞 cyclinD1、Bad、Bcl-2 mRNA 表达比较

与对照组和 siRNA 阴性对照组比较, siRNA-1 组 cyclinD1 和 Bcl-2 mRNA 表达均显著下降 ($P < 0.05$), Bad mRNA 表达显著上升 ($P < 0.05$); 对照组

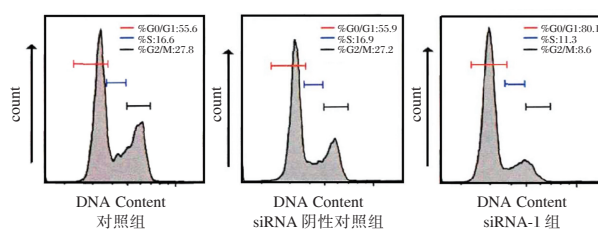


图 1 各组细胞周期分布

和 siRNA 阴性对照组差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 cyclinD1、Bad、Bcl-2 表达倍比关系 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	cyclinD1	Bad	Bcl-2
对照组	3	1.004 $\pm$ 0.187	1.010 $\pm$ 0.190	0.998 $\pm$ 0.186
siRNA 阴性对照组	3	1.047 $\pm$ 0.191	0.953 $\pm$ 0.172	0.908 $\pm$ 0.169
siRNA-1 组	3	0.420 $\pm$ 0.075 ^{ab}	6.010 $\pm$ 1.181 ^{ab}	0.200 $\pm$ 0.034 ^{ab}
F 值		14.324	51.946	26.733
P 值		0.005	0.000	0.001

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 siRNA 阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.5 各组细胞 cyclinD1、Bad、Bcl-2 蛋白表达比较

与对照组和 siRNA 阴性对照组比较, siRNA-1 组 cyclinD1 和 Bcl-2 蛋白质下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), Bad 蛋白表达显著上升 ($P < 0.05$); 对照组和 siRNA 阴性对照组差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 6。

表 6 各组细胞 cyclinD1、Bad、Bcl-2 蛋白相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	cyclinD1	Bad	Bcl-2
对照组	3	0.569 $\pm$ 0.039	0.331 $\pm$ 0.018	0.556 $\pm$ 0.035
siRNA 阴性对照组	3	0.557 $\pm$ 0.036	0.319 $\pm$ 0.016	0.516 $\pm$ 0.032
siRNA-1 组	3	0.471 $\pm$ 0.022 ^{ab}	0.423 $\pm$ 0.020 ^{ab}	0.440 $\pm$ 0.023 ^{ab}
F 值		7.790	29.731	11.248
P 值		0.021	0.001	0.009

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 siRNA 阴性对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

SMAD5-AS1 可调控癌细胞增殖, cyclinD1、抗凋亡基因 Bcl-2 和促凋亡基因 Bad 参与食管癌细胞增殖^[9-10]。然而 SMAD5-AS1 能否通过调节 cyclinD1、Bcl-2 和 Bad 表达调节食管癌细胞增殖尚未有研究报道。故本研究选取食管癌细胞株 Eca109, 研究 SMAD5-AS1 干扰通过调控 cyclinD1、Bcl-2 和 Bad 表达对食管癌细胞增殖能力的作用机制。

本研究结果表明 SMAD5-AS1 干扰可有效下调 SMAD5-AS1 和 EPIC1 mRNA 的表达, 使癌细胞周

期 G₁/S 阻滞,抑制癌细胞增殖。LncRNA 的转录本长度大于 200 个核苷酸,其中转录方向与邻近基因转录方向相反的 LncRNA 为反义 LncRNA,有研究表明反义 LncRNA 参与癌细胞增殖^[11]。SMAD5-AS1 是反义 LncRNA,下调 SMAD5-AS1 表达可有效抑制鼻咽癌细胞增殖、侵袭和迁移^[12]。EPIC1 是一种 LncRNA,有研究表明 EPIC1 沉默表达后,胰腺癌细胞 G₁/S 周期阻滞,抑制胰腺癌细胞增殖^[13]。本研究与前述研究结果一致,提示 SMAD5-AS1 沉默表达可能通过抑制 SMAD5-AS1 和 EPIC1 的表达,使细胞 G₁ 期阻滞,无法进入 S 期,阻止癌细胞分裂,从而抑制癌细胞增殖。然而又有研究指出 SMAD5-AS1 与能够促进癌症发展的小核糖核酸(miRNA)-135b-5p 特异性结合,导致下调 SMAD5-AS1 时 miRNA-135b-5p 表达上升进而促进肿瘤发展^[14]。也有研究表明在骨肉瘤细胞过表达 EPIC1 通过促进 MEF2D 泛素化抑制细胞增殖^[15]。本研究与前述两者研究结果相反,可能由于不同的作用机制导致。

本研究结果表明 SMAD5-AS1 干扰可有效下调 cyclinD1 和 Bcl-2 表达水平,上调 Bad 表达水平。cyclinD1 是 G₁/S 特异性周期蛋白,促使细胞由 G₁ 期向 S 期转换,促进细胞增殖,研究发现肿瘤中 cyclinD1 过度表达,敲除 cyclinD1 后细胞在 G₁ 期阻滞,无法进入 S 期,抑制癌细胞增殖^[16]。抗凋亡基因 Bcl-2 可抑制细胞凋亡,促凋亡基因 Bad 可促进细胞凋亡,研究表明在肿瘤组织中抑制 Bcl-2 表达、促进 Bad 表达可有效抑制癌细胞的增殖能力。本研究前述研究结果一致,SMAD5-AS1 沉默表达后,细胞周期蛋白 cyclinD1、抗凋亡基因 Bcl-2 表达被抑制,同时促凋亡基因 Bad 表达被促进,抑制癌细胞增殖能力。

综上所述,本研究设计合成特异性靶向 SMAD5-AS1 的 siRNA 序列转染至食管癌细胞中,证实抑制 SMAD5-AS1 表达可显著抑制食管癌细胞增殖能力,为食管癌的治疗提供新的药物研发方向;SMAD5-AS1 干扰,使细胞 G₁/S 期阻滞,可能通过抑制 EPIC1、cyclinD1 和 Bcl-2 表达,促进 Bad 表达达到有效抑制癌细胞增殖的作用。

参考文献

- [1] Uhlenhopp DJ, Then EO, Sunkara T, et al. Epidemiology of esophageal cancer: update in global trends, etiology and risk factors[J]. Clin J Gastroenterol, 2020, 13(6):1010-1021.
- [2] Qiu MJ, Yang SL, Wang MM, et al. Prognostic evaluation of esophageal cancer patients with stages I ~ III [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(14):14736-14753.
- [3] Jung MK, Schmidt T, Chon SH, et al. Current surgical treatment standards for esophageal and esophagogastric junction cancer[J]. Ann N Y Acad Sci, 2020, 1482(1):77-84.
- [4] Zheng YJ, Zhao JY, Liang TS, et al. Long noncoding RNA SMAD5-AS1 acts as a microRNA-106a-5p sponge to promote epithelial mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma[J]. FASEB J, 2019, 33(11):12915-12928.
- [5] Wang J, Yang S, Ji Q, et al. Long Non-coding RNA EPIC1 Promotes Cell Proliferation and Motility and Drug Resistance in Glioma[J]. Mol Ther Oncolytics, 2020, 17(2):130-137.
- [6] 张其良, 曹文理, 邓全军. 在食管癌细胞增殖过程中蛋白酶激活受体-2(PAR-2)对细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)的调控机制[J]. 中国应用生理学杂志, 2019, 35(6):559-562.
- [7] Chai L, Yang G. MiR-216a-5p targets TCTN1 to inhibit cell proliferation and induce apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cell Mol Biol Lett, 2019, 24(1):1-13.
- [8] Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method[J]. Nat Protoc, 2008, 3(6):1101-1108.
- [9] 刘倩, 肖磊, 刘辉, 等. 长链非编码 RNA SMAD5-AS1 的 siRNA 在卵巢癌治疗中的应用:CN107354159A[P]. 中国, CN107354159A, 2017-08-03.
- [10] 尹小菲, 冯艳艳, 康文全. 丹酚酸 A 对食管癌细胞增殖与凋亡的影响及其机制[J]. 中南大学学报(医学版), 2020, 45(11):1269-1275.
- [11] Mo S, Zhang L, Dai W, et al. Antisense lncRNA LDLRAD4-AS1 promotes metastasis by decreasing the expression of LDLRAD4 and predicts a poor prognosis in colorectal cancer [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2):155-160.
- [12] Li S, Zhao B, Zhao H, et al. Silencing of Long Non-coding RNA SMAD5-AS1 Reverses Epithelial Mesenchymal Transition in Nasopharyngeal Carcinoma via microRNA-195-Dependent Inhibition of SMAD5 [J]. Front Oncol, 2019, 9(2):1246-1263.
- [13] Xia P, Liu P, Fu Q, et al. Long noncoding RNA EPIC1 interacts with YAP1 to regulate the cell cycle and promote the growth of pancreatic cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 522(4):978-985.
- [14] Zhao CC, Jiao Y, Zhang YY, et al. Lnc SMAD5-AS1 as ceRNA inhibit proliferation of diffuse large B cell lymphoma via Wnt/ β -catenin pathway by sponging miR-135b-5p to elevate expression of APC[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(4):252-266.
- [15] Zhao W, Zhang D, Qin P, et al. Long non-coding RNA EPIC1 inhibits viability and invasion of osteosarcoma cells by promoting MEF2D ubiquitylation [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 128(2):566-573.
- [16] 田春阳, 刘晓政, 范军朝. 二甲双胍联合 miR-145 对胃癌 BGC823 细胞增殖凋亡及 AKT 信号通路的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(9):1498-1502.

· 论 著 ·

FNAC联合 *BRAF* V600E 基因突变检测在甲状腺乳头状癌诊断中的作用及临床意义赵丽辉¹ 孙世珺^{1*} 易冰¹ 曾玉梅²

[摘要] **目的** 探讨联合甲状腺细针穿刺细胞学检查(FNAC)和丝/苏氨酸特异性激酶(*serine-threonine protein kinase, BRAF*)V600E 基因突变检测在甲状腺乳头状癌(PTC)诊断中的作用及临床病理意义。**方法** 收集2017年11月至2020年10月广东省中山市人民医院601例甲状腺结节FNAC病例,用ARMS方法检测甲状腺肿瘤中*BRAF* V600E 基因突变情况,分析*BRAF* V600E 基因突变与甲状腺乳头状癌临床病理特征之间的关系。**结果** 在甲状腺乳头状癌中*BRAF* V600E 基因突变率是65.87%(137/208),而在其它类型甲状腺癌及甲状腺良性结节中未发现*BRAF* V600E 基因突变。联合FNAC及*BRAF* V600E 基因突变检测将诊断甲状腺结节敏感性由50.94%和64.62%提高到83.02%,差异有统计学意义($P<0.05$)。*BRAF* 基因突变状态与PTC是否伴有钙化灶、结节性甲状腺肿、肿瘤最大径、临床分期相关($P<0.05$);患者年龄、性别、肿瘤部位、病理亚型,是否伴有淋巴细胞性甲状腺炎无明显相关性($P>0.05$)。**结论** *BRAF* V600E 基因突变与PTC的发生密切相关,联合FNAC及*BRAF* V600E 基因突变检测有助于提高PTC的早期诊断,*BRAF*基因突变与PTC的肿瘤大小、是否伴有钙化、结甲及临床分期有关,与其它临床病理特征未见相关性。

[关键词] *BRAF*基因突变; FNAC; 甲状腺乳头状癌; PCR

The role and clinical significance of FNAC combined with *BRAF* V600E mutation detection in the diagnosis of papillary thyroid carcinomaZHAO Lihui¹, SUN Shijun^{1*}, YI Bing¹, ZENG Yumei²

(1. Molecular Diagnostic Center, Zhongshan Hospital of Sun Yat-sen University, Zhongshan City, Zhongshan, Guangdong, China, 528403; 2. Pathology Department, Zhongshan Hospital of Sun Yat-sen University, Zhongshan City, Zhongshan, Guangdong, China, 528403)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the role and clinicopathological significance of fine-needle aspiration cytology (FNAC) combined with serine-threonine protein kinase (*BRAF*) V600E mutation detection in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma (PTC). **Method** 601 cases of thyroid nodules FNAC were collected from Zhongshan City People's Hospital, Guangdong Province from November 2017 to October 2020 and ARMS was applied to detect the mutation of *BRAF* V600E in thyroid tumors. The relationship was analyzed between *BRAF* V600E mutation and clinicopathological characteristics of PTC. **Result** The mutation rate of *BRAF* V600E in PTC is 65.87% (137/208), while no mutation was detected in other types of thyroid cancer and benign thyroid nodules. FNAC combined with *BRAF* V600E mutation detection increases the sensitivity of diagnosing thyroid nodules from 50.94%, 64.62% to 83.02%, with statistical significance ($P<0.05$). *BRAF* mutation is related to PTC calcification, nodular goiter, tumor maximum diameter and clinical stage ($P<0.05$). There was no significant correlation between patients' age, gender, tumor location, pathological subtype, and whether they were accompanied by lymphocytic thyroiditis ($P>0.05$). **Conclusion** *BRAF* V600E mutation is closely related to the occurrence of PTC. FNAC combined with *BRAF* V600E mutation detection can improve

基金项目: 中山市科技局科研立项(2019B1105)

作者单位: 1. 中山大学附属中山市人民医院分子诊断中心, 广东, 中山 528403

2. 中山大学附属中山市人民医院病理科, 广东, 中山 528403

*通信作者: 孙世珺, E-mail: 395273998@qq.com

the early diagnosis of PTC. *BRAF* mutation is related to the size of PTC tumor, calcification, nodular goiter, and clinical stage, but has no correlation with other clinicopathological characteristics.

[KEY WORD] *BRAF* mutation; FNAC; Papillary thyroid carcinoma; PCR

甲状腺癌是内分泌器官最常见的恶性肿瘤,其发病率逐年增高,不同组织学类型和亚型的甲状腺癌具有不同的细胞来源、肿瘤特征和预后。其中甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)最常见,约占甲状腺癌的85%~90%^[1-2]。*BRAF*基因在多种恶性肿瘤中发生突变,研究证实,V600E是*BRAF*突变最常见的突变位点,在PTC中*BRAF* V600E突变的发生率为40%~80%^[3-5]。研究显示*BRAF* V600E与PTC不良临床病理结果有很强的相关性,如复发增加^[6]、对放射性碘的摄取减弱及治疗失败等^[7-8]。PTC原发灶的*BRAF* V600E基因突变与远处转移灶的摄碘能力下降有关^[9]。甲状腺细针穿刺细胞学检查(fine needle aspiration cytology, FNAC)可在术前明确甲状腺结节性质,为甲状腺疾病个体化精准治疗提供依据,是甲状腺诊治决策的关键,近几年在广东省甲状腺肿瘤患者诊断中的运用较为广泛。本研究探讨*BRAF*基因突变在PTC早期诊断、治疗策略选择及预后判断中的意义。

1 资料和方法

1.1 一般资料

分析自2017年11月至2020年10月于中山市人民医院就诊的甲状腺结节患者601例,均在B超引导下细针穿刺(FNA),穿刺新鲜细胞液给予细胞学诊断及*BRAF*基因检测,检测后保守治疗344例,手术治疗257例,手术后病理结果确诊为恶性肿瘤212例,其中PTC患者208例,男性44例,女性164例,年龄平均(42.03±10.21)岁,甲状腺滤泡性癌患者2例,甲状腺髓样癌2例。良性病变45例,其中结节性甲状腺肿40例,滤泡腺瘤2例,桥本甲状腺炎2例,透明变梁状肿瘤1例。纳入标准:①术前有彩超记录且评估结节为可疑恶性(TI-RAS分类4类及以上结节);②术前行FNA及穿刺液*BRAF*基因检测;③行甲状腺手术治疗;④术后病理明确。排除标准:①多次手术患者;②非本院行FNA及*BRAF*基因检测;③病历资料不完整。所有患者穿刺及术前均签署知情同意书。本研究经过院伦理委员会批准同意。

1.2 试剂和方法

601例甲状腺结节患者均行*BRAF* V600E基因

检测,检测试剂为人类*BRAF*基因V600E突变检测试剂盒(厂家:厦门艾德生物医药科技有限公司;批号:11220070701X;规格:24人份/盒),用于*BRAF*基因V600E体细胞突变(即1799T>A)检测。PCR使用扩增阻滞突变系统(amplification refractory mutation system, ARMS)法,RT-PCR仪为上海宏石荧光定量PCR仪(规格型号:SLAN-96S)。临床医师在超声引导下,定位穿刺结节,用细针准确进行穿刺后,将穿刺出的新鲜细胞液一针注入液基保存瓶编号标记后送往病理科进行液基细胞学诊断,另一针注入预装有200 μL DTL裂解液的1.5 mL离心管中,编号标记后送往分子诊断中心进行*BRAF*基因检测。标本保存在4℃,不超过72 h。核酸提取采用FFPE DNA核酸提取试剂(厦门艾德生物医药科技有限公司),并使用微量紫外分光光度仪进行质控及浓度测定。PCR上机时将样品浓度稀释至1 μg/L,浓度不足1 μg/L的标本,DNA按原浓度上机。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析;计数资料以n(%)表示,行卡方检验;以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 甲状腺结节术后患者*BRAF* V600E基因突变情况

257例患者中,术后病理结果确诊为PTC 208例,*BRAF* V600E基因突变型137例,突变率为65.87%(137/208),野生型71例,占34.13%(71/208),甲状腺其他类型癌(甲状腺滤泡癌2例,甲状腺髓样癌2例)及甲状腺良性病变(结节性甲状腺肿40例,滤泡腺瘤2例,桥本甲状腺炎2例,透明变梁状肿瘤1例)均未检测到*BRAF* V600E基因突变,甲状腺结节中,PTC与其它癌变及良性病变*BRAF* V600E基因突变比较,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

2.2 *BRAF* V600E基因检测与液基细胞学诊断结果

术后病理结果确诊为恶性肿瘤的212例中,*BRAF* V600E基因突变阳性208例(均为PTC),突变阴性4例;术前FNAC细胞学诊断结果为恶性肿

表1 甲状腺结节术后患者 *BRAF* 基因突变的比较 [$n(\%)$]Table 1 Comparison of *BRAF* gene mutations in patients after thyroid nodule surgery [$n(\%)$]

甲状腺结节	<i>n</i>	<i>BRAF</i> V600E 基因		χ^2 值	<i>P</i> 值
		<i>BRAF</i> 突变型	<i>BRAF</i> 野生型		
甲状腺乳头状癌	208	137(65.87)	71(34.13)	69.12	<0.001
其他类型甲状腺癌	4	0(0.00)	4(100.00)	4.00	0.046
甲状腺良性病变	45	0(0.00)	45(100.00)	45.00	<0.001

瘤 108 例,可疑恶性肿瘤 76 例,滤泡性肿瘤 2 例,非典型病变 21 例,良性病变 4 例,无法诊断 1 例,病理结果为甲状腺良性病变 45 例,均为 *BRAF* V600E 阴性,术前 FNAC 细胞学诊断结果可疑恶性肿瘤 19 例,滤泡性肿瘤 1 例,非典型病变 11 例,良性病变 12 例,无法诊断 2 例。在病理确诊的 212 例甲状腺癌中, FNAC 诊断为恶性肿瘤 108 例,敏感性 50.94%(108/212); *BRAF* V600E 基因检测突变阳性 137 例,敏感性 64.62%(137/212), FNAC + *BRAF* V600E 两种诊断方法联合检测敏感性 83.02%(176/212),联合检测使诊断的检出率明显提高。见表 2。

2.3 甲状腺乳头状癌 *BRAF* V600E 基因突变状态与患者临床病理特征的关系

PTC 伴有钙化灶患者 *BRAF* V600E 基因突变率明显高于 PTC 不伴有钙化灶患者,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。PTC 不伴有结节性甲状腺肿的患者 *BRAF* V600E 基因突变率明显高于 PTC 伴有结节性

表2 *BRAF* V600E 基因检测与液基细胞学(FNAC)诊断结果Table 2 *BRAF* V600E gene testing and fluid based cytology (FNAC) diagnosis results

Bethesda 分类	<i>n</i>	病理恶性		病理良性	
		<i>BRAF</i> 阳性	<i>BRAF</i> 阴性	<i>BRAF</i> 阳性	<i>BRAF</i> 阴性
无法诊断 I	3	1	0	0	2
良性病变 II	16	0	4	0	12
非典型病变 III	32	8	13	0	11
滤泡性肿瘤 IV	3	0	2	0	1
可疑恶性肿瘤 V	95	56	20	0	19
恶性肿瘤 VI	108	72	36	0	0
合计	257	137	75	0	45

甲状腺肿患者,差异有统计学意义 ($P<0.05$),肿瘤最大直径 <1.0 cm 的 PTC 患者 *BRAF* V600E 基因突变率明显高于最大直径 ≥ 1.0 cm 的 PTC 患者,差异有统计学意义 ($P<0.05$); TNM 分期 III~IV 期的 PTC 患者 *BRAF* V600E 基因突变率明显高于 I~II 期的 PTC 患者,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

超声引导下的细针穿刺 (fine-needle aspiration, FNA) 是甲状腺结节良恶性甄别的首选方法^[10], 2017 版 Bethesda 系统 (TBSRTC), 将甲状腺细针穿刺后的病理学结果分为六类, 并对每种分类提供了恶性风险判断与临床处理原则^[11]。但细胞形态学的观察范围有限, 仍有占比较大的 III 至 V 类结果不能定性。中国甲状腺癌诊疗规范 (2018 年

表3 甲状腺乳头状癌 *BRAF* 基因突变与临床病理特征的关系 [$n(\%)$]Table 3 Relationship between *BRAF* gene mutation and clinicopathological features in papillary thyroid carcinoma [$n(\%)$]

	临床病理特征	<i>n</i>	<i>BRAF</i> 突变阳性	<i>BRAF</i> 突变阴性	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别	女性	164	105 (64.0)	59 (36.0)	1.17	0.2794
	男性	44	32 (72.7)	12 (27.3)		
年龄	<50	157	103 (65.6)	54 (34.4)	0.02	0.8875
	≥ 50	51	34 (24.8)	17 (23.9)		
病理亚型	乳头状癌滤泡亚型	70	37 (52.9)	33 (47.1)	5.28	0.0713
	微小乳头状癌	130	89 (68.5)	41 (31.5)		
	其它	8	4 (50.0)	4 (50.0)		
肿瘤穿刺部位	右侧	95	66 (69.5)	29 (30.5)	1.02	0.3125
	左侧	85	53 (62.4)	32 (37.6)		
	峡部+其他	28	18 (64.3)	10 (35.7)		
是否伴有钙化灶	是	89	66 (74.2)	23 (25.8)	4.76	0.0292
	否	119	71 (59.7)	48 (40.3)		
伴结节性甲状腺肿	是	92	50 (54.3)	42 (45.7)	9.73	0.0018
	否	116	87 (75.0)	29 (25.0)		
慢性淋巴细胞性甲状腺炎	是	24	13 (54.2)	11 (45.8)	1.65	0.1987
	否	184	124 (67.4)	60 (32.6)		
肿瘤最大直径	0~1.0	143	87 (60.8)	56 (39.2)	5.14	0.0234
	≥ 1.0	65	50 (36.5)	15 (21.1)		
TNM 分期	I~II 期	122	69 (56.6)	53 (43.4)	11.3	0.0039
	III~IV 期	86	68 (79.1)	18 (20.9)		

版)认为,经 FNA 不能确定良恶性的甲状腺结节,可对穿刺标本进行某些甲状腺癌的分子标记物检测^[10] *BRAF* 基因是 *RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK* 信号通路最为关键的激活因子,参与调控细胞生长、分化和凋亡等^[12]。 *BRAF* 突变主要有两种类型:发生于 exon11 上的甘氨酸环,如 *G463*、*G465*、*G468* 等的点突变;发生在 *Exon15* 激活区,其中约 90% 位于第 1 799 核苷酸上, *T* 突变为 *A* (*T1799A*),导致其编码的缬氨酸由谷氨酸取代。 *BRAF* V600E 突变检测在甲状腺术前治疗决策的影响不容忽视,突变状态不仅可以提高细胞学恶性结节的诊断率,也为难治性甲状腺癌的靶向药物 *BRAF* V600E 抑制剂(如威罗菲尼)治疗提供病理依据^[13]。研究显示, *BRAF* 基因在 PTC 中的突变率可达 60%~80%,在亚洲人群中, *BRAF* 突变率甚至更高, *BRAF* 在 FTC 中较少突变,在良性结节罕见突变^[14]。术前检测 *BRAF* V600E 突变状况,有助于 PTC 的诊断和临床预后预测,便于制定个体化的诊治方案^[10]。

本研究结果与既往研究报道数据基本相符,提示 *BRAF* V600E 基因突变与 PTC 密切相关。

Brown 等^[15] 研究认为, *BRAF* 基因检测联合 FNA 细胞学检查大幅提高了穿刺的敏感度。本研究结果显示联合检测使诊断的敏感性由 50.94% 提高到 83.02%,明显提高了甲状腺恶性结节的检出率,因此,联合 FNAC 及 *BRAF* V600E 基因突变检测有助于 PTC 的早期诊断。研究报道, *BRAF* 基因突变假阳性非常低, FNA 细胞标本伴 *BRAF* 突变可以高度怀疑恶性结节^[10]。在本次研究中,发现一例患者 *BRAF* V600E 基因突变阳性,但术后病理结果为结节性甲状腺肿,经再次广泛取材,重新病理检测结果为甲状腺微小乳头状癌。因此, *BRAF* V600E 基因检测结果对病理组织漏检也有一定帮助。

Changlin Li 的最新报道证实,肿瘤组织钙化与 PTC 的侵袭性呈正相关^[16]。本研究结果提示 *BRAF* 基因突变更易发生在肿瘤直径小于 1cm 的 PTC 中,在伴有钙化、不伴结节性甲状腺肿、临床分期较高的甲状腺乳头状癌 *BRAF* V600E 基因突变率较高。慢性淋巴细胞性甲状腺炎(chronic lymphocytic thyroiditis, CLT)又称伴桥本氏甲状腺炎,是原发性甲状腺功能减退症最主要的原因。Ju-Han Lee 等^[17] 基于 10648 例 PTC 患者的荟萃分析显示, PTC 与 CLT 显著相关, CLT 的合并率为

23.2%,比合并良性甲状腺结节性疾病高 2.8 倍。本研究中,甲状腺乳头状癌合并 CLT 的比例为 11.5%,低于文献报道,但在两组间 *BRAF* 基因突变率无明显差异。因此, PTC 患者 *BRAF* V600E 基因突变状态与是否伴有钙化灶、是否伴有结节性甲状腺肿及肿瘤最大径、TNM 分期相关,在伴有钙化、肿瘤最大径小于 1.0 cm、不伴结节性甲状腺肿、临床分期较高的甲状腺乳头状癌中 *BRAF* V600E 基因突变率较高。 *BRAF* V600E 基因突变状态与 PTC 患者年龄、性别、病理亚型、肿瘤穿刺部位、慢性淋巴细胞性甲状腺炎等无明显相关。

综上所述,本组研究中山市地区甲状腺癌患者 *BRAF* V600E 基因突变主要发生在甲状腺乳头状癌患者中,其它组织学类型的甲状腺癌 *BRAF* V600E 基因突变率较低, PTC 患者女性发病率高于男性。 *BRAF* V600E 基因突变更易发生在肿瘤直径小于 1 cm 的 PTC 中,在伴有钙化灶、不伴结节性甲状腺肿、临床分期较高的 PTC 中 *BRAF* 基因突变率越高,预后越差。 *BRAF* V600E 基因检测结果对防止病理组织漏检也有一定帮助,尤其是微小癌。联合 FNAC 及 *BRAF* 基因的检测有助于 PTC 的早期发现、早期诊治和预后判断。

参考文献

- [1] Xing MZ. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(3): 184-199.
- [2] Tang KT, Lee CH. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: pathogenic role and clinical implications [J]. J Chin Med Assoc, 2010, 73(3): 113-128.
- [3] Lee SE, Hwang TS, Choi YL, et al. Molecular Profiling of Papillary Thyroid Carcinoma in Korea with a High Prevalence of BRAF(V600E) Mutation [J]. Thyroid, 2017, 27(6): 802-810.
- [4] 张冲, 古虎霞, 刘定荣, 等. BRAF~(V600E) 突变对甲状腺乳头状癌 HMGB1 及 MMP-9 表达的影响 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(3): 372-375+379.
- [5] Rashid FA, Munkhdelger J, Fukuoka J, et al. Prevalence of BRAF (V600E) mutation in Asian series of papillary thyroid carcinoma-a contemporary systematic review [J]. Gland Surg, 2020, 9(5): 1878-1900.
- [6] Riesco-Eizaguirre G, Gutierrez-Martinez P, Garcia-Cabezas MA, et al. The oncogene BRAF V600E is associated with a high risk of recurrence and less differentiated papillary thyroid carcinoma due to the impairment of Na⁺/I⁻ targeting to the membrane [J]. Endocr Relat Cancer, 2006, 13(1): 257-269.
- [7] Campenni A, Ruggeri RM, Siracusa M, et al. Combined BRAF (V600E) analysis and (99m) Tc - MIBI scintigraphy (下转第 676 页)

• 论 著 •

老年高血压 NSF-1、25(OH)D 及 Hcy 水平与骨质疏松的关系

周亚捷¹ 姚反修² 杨默² 罗晓华² 韩晓霞¹ 李安琪² 曹婷婷^{2*}

[摘要] **目的** 探讨老年高血压摄食抑制因子-1(NSF-1)、25羟基维生素 D[25-(OH)D]、同型半胱氨酸(Hcy)水平与骨质疏松的关系。**方法** 选取2018年5月至2020年4月郑州大学第五附属医院收治的157例老年高血压患者,根据骨密度分为骨量正常组、骨量减少组以及骨质疏松组。比较三组 NSF-1、25(OH)D、Hcy 以及不同部位 BMD 水平;分析老年高血压患者 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平与 BMD 的相关性。**结果** 三组 NSF-1、Hcy 水平比较:骨质疏松组>骨量减少组>骨量正常组,三组 25(OH)D 水平及股骨颈、L1~L4 的 BMD 比较:骨质疏松组<骨量减少组<骨量正常组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。经 Spearman 分析得出,老年高血压患者 NSF-1、Hcy 水平与股骨颈及 L1~L4 的 BMD 呈负相关($P<0.05$),25(OH)D 水平与股骨颈及 L1~L4 的 BMD 呈正相关($P<0.05$)。**结论** 老年高血压患者 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平与骨质疏松风险增加存在明显的相关性,临床工作者可通过加强监测上述三项指标,有助于及时指导患者进行预防和诊治,降低骨质疏松发生的风险。

[关键词] 老年高血压; NSF-1; 骨质疏松; 25(OH)D; Hcy

Relationship between NSF-1, 25(OH)D and Hcy levels and osteoporosis in elderly hypertensive patients

ZHOU Yajie¹, YAO Fanxiu², YANG Mo², LUO Xiaohua², HAN Xiaoxia¹, LI Anqi², CAO Tingting^{2*}

(1. Department of Nursing, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Department of Geriatrics, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the feeding inhibitory Nesfatin-1 (NSF-1), 25-Hydroxy vitamin D (25-(OH)D), and homocysteine (Hcy) levels and osteoporosis in elderly hypertensive patients. **Methods** 157 elderly hypertensive patients admitted to the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University from May 2018 to April 2020 were selected, according to the bone mineral density, they were divided into the normal bone mass group, the osteopenia group and the osteoporosis group. The levels of NSF-1, 25(OH)D, Hcy and BMD in different parts of the three groups were compared; the correlation between the levels of NSF-1, 25(OH)D, Hcy and BMD in elderly hypertensive patients was analyzed. **Results** Comparison of NSF-1 and Hcy levels in the three groups: osteoporosis group > osteopenia group > normal bone mass group, comparison of 25(OH)D levels and BMD of femoral neck and L1-L4 in the three groups: osteoporosis Group < Bone loss group < Normal bone mass group, the differences were all statistically significant ($P<0.05$). Spearman analysis showed that the levels of NSF-1 and Hcy in elderly hypertensive patients were negatively correlated with the BMD of the femoral neck and L1-L4 ($P<0.05$), and the 25(OH)D level was positively correlated with the BMD of the femoral neck and L1-L4. Correlation ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of NSF-1, 25(OH)D, Hcy in elderly hypertensive patients are significantly correlated with the increased risk of os-

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190411)

作者单位:1. 郑州大学第五附属医院护理部,河南,郑州 450000

2. 郑州大学第五附属医院老年科,河南,郑州 450000

*通信作者:曹婷婷, E-mail: caotingting1711@126.com

teoporosis. Clinicians can strengthen monitoring of above three indicators in elderly hypertensive patients to help timely guidance patients for prevention and diagnosis, and reduce the risk of osteoporosis.

[KEY WORDS] Elderly hypertension; NSF-1; Osteoporosis; 25(OH)D; Hcy

骨质疏松症是由于骨量减低和骨微结构遭到破坏而引起的脆性提升以及骨折的代谢性病变,以中老年人多发^[1]。由于骨质疏松症患者骨密度以及骨强度的减低,致使在日常活动中受到轻微外伤即可引发骨折情况^[2]。高血压是指体内循环的血压水平超过正常范围的疾病状态,为最常见的心血管疾病。据相关研究统计,我国高血压患病率达12%,其中老年人约占25%,对患者的身体健康及生活质量造成严重影响^[3]。既往常认为高血压和骨质疏松为独立的两种疾病,相互间并无相关性,但相关研究显示老年高血压患者更易出现骨质疏松症,这两种疾病的发生密切相关^[4-5]。近年来,有研究显示摄食抑制因子-1(Nesfatin-1, NSF-1)、25羟基维生素D[25-Hydroxy vitamin D, 25-(OH)D]、同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)与骨代谢有关^[6]。本研究就老年高血压患者 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平与骨质疏松的关系进行研究,旨在为临床预防和治疗老年高血压患者发生骨质疏松症的风险提供参考依据,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年5月至2020年4月郑州大学第五附属医院收治的157例老年高血压患者的临床资料进行分析。纳入标准:①皆满足《中国高血压防治指南(2018修订版)》中关于高血压的诊断标准^[7];②骨质疏松患者满足《骨质疏松的影像学及骨密度诊断专家共识》中相关诊断标准^[8];③临床资料完整,无缺损或丢失;④患者年龄均≥60岁。排除标准:①患有免疫系统疾病者;②患有严重肝肾功能不全者;③存在影响骨代谢疾病者;④患有内分泌系统疾病者;⑤存在恶性肿瘤者、感染性疾病者;⑥存在血液系统疾病者;⑦近6个月内存在骨折史者。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 骨密度(Bone mineral density, BMD)测量

仪器为美国GE公司的Lunar Prodigy(DEXA)骨密度测量仪。检测患者股骨颈及L1~L4椎体正位

的BMD, BMD通常用T值表示, $T \text{ 值} = (\text{测量值} - \text{骨峰值}) \div \text{正常成人骨密度标准差}$ 。判定标准^[9]:骨量正常: $T \text{ 值} \geq -1.0SD$; 骨量减少: $-2.5SD < T \text{ 值} < -1.0SD$; 骨质疏松: $T \text{ 值} \leq -2.5SD$ 。根据骨密度的不同将患者分为骨量正常组、骨量减少组以及骨质疏松组。

1.2.2 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平检测

抽取所有受检者5 mL清晨空腹静脉血,进行3 000 r/min离心,离心10 min, $r=10 \text{ cm}$,取上清液,放置于 -20°C 中保存,待检。采用酶联免疫吸附法检测 NSF-1 水平,试剂盒由南京建成生物公司提供;采用电化学发光法检测 25(OH)D 水平,试剂盒购自罗氏公司;采用化学发光免疫分析法 Hcy,试剂盒由上海申能生物科技股份有限公司提供。操作严格按照说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较行 t 检验,多组间比较行 F 检验;采用 *Spearman* 分析老年高血压患者 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平与 BMD 的相关性;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组基本资料比较

经测量发现,骨量正常的为50例,骨量减少的为56例,骨质疏松的为51例。三组基本资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 三组基本资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of three groups of basic data ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	男/女	平均年龄(岁)	体重指数(kg/m^2)
骨质疏松组	50	37/13	72.46±9.35	23.08±3.27
骨量减少组	56	39/17 ^a	71.89±10.52 ^a	22.89±2.73 ^a
骨量正常组	51	33/18 ^{ab}	74.26±10.33 ^{ab}	23.59±2.84 ^{ab}
<i>F</i> 值		1.029	0.79	0.79
<i>P</i> 值		0.598	0.457	0.454

注:^a与骨质疏松组对比, $P > 0.05$ 。^b与骨量减少组对比, $P > 0.05$ 。

2.2 三组 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平比较

三组 NSF-1、Hcy 水平比较:骨质疏松组>骨量减少组>骨量正常组,三组 25(OH)D 水平比较:骨质疏松组<骨量减少组<骨量正常组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 三组 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of nsf-1, 25 (OH) D and Hcy levels in three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NSF-1 (ng/mL)	25(OH)D (μ g/L)	Hcy (μ mol/L)
骨质疏松组	50	5.47 $\pm$ 1.69	5.27 $\pm$ 1.54	19.86 $\pm$ 6.28
骨量减少组	56	3.92 $\pm$ 1.28 ^a	13.27 $\pm$ 3.86 ^a	12.96 $\pm$ 3.61 ^a
骨量正常组	51	3.38 $\pm$ 1.12 ^{ab}	25.46 $\pm$ 6.35 ^{ab}	8.53 $\pm$ 2.84 ^{ab}
F 值		31.32	273.00	83.02
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与骨质疏松组对比,^a $P<0.05$ 。与骨量减少组对比,^b $P<0.05$ 。

2.3 三组不同部位 BMD 水平比较

三组股骨颈及 L1~L4 的 BMD 比较:骨质疏松组<骨量减少组<骨量正常组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 三组不同部位骨密度水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of bone mineral density levels in different parts of the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	股骨颈 BMD(g/m^2)	L1~L4 BMD(g/m^2)
骨质疏松组	50	0.62 $\pm$ 0.07	0.76 $\pm$ 0.17
骨量减少组	56	0.83 $\pm$ 0.05 ^a	1.00 $\pm$ 0.21 ^a
骨量正常组	51	1.09 $\pm$ 0.11 ^{ab}	1.31 $\pm$ 0.26 ^{ab}
F 值		439.16	81.98
P 值		<0.001	<0.001

注:与骨质疏松组对比,^a $P<0.05$ 。与骨量减少组对比,^b $P<0.05$ 。

2.4 老年高血压患者 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平与 BMD 的相关性分析

经 Spearman 分析得出,老年高血压患者 NSF-1 水平与股骨颈及 L1~L4 的 BMD 呈负相关关系($r=-0.854$, $P<0.001$; $r=-0.839$, $P<0.001$),老年高血压患者 25(OH)D 水平与股骨颈及 L1~L4 的 BMD 呈正相关关系($r=0.827$, $P<0.001$; $r=0.841$, $P<0.001$),老年高血压患者 Hcy 水平与股骨颈及 L1~L4 的 BMD 呈负相关关系($r=-0.789$, $P<0.001$; $r=-0.792$, $P<0.001$)。

3 讨论

高血压病是由于遗传因素、饮食因素以及体重等因素所引起的血压调节功能障碍,随着高血压病情的进一步发展,患者会出现头痛、头晕、注意力不集中以及记忆力减退等表现,此外亦会增加心血管以及脑血管疾病的发病率^[10]。骨质疏松是由于骨骼吸收、再形成过程失调引起的整体骨量流失,据报道,每年因骨质疏松症导致的骨折约 150 万人,骨质疏松症已成为一个危害公众健康的疾病^[11]。据相关研究指出,由于老年高血压患者肾脏

对钙滤出率的提升,引发了甲状旁腺功能的亢进,增加了破骨细胞溶骨活性,交感兴奋负性调节成骨代谢通路,从而造成对骨代谢的伤害,诱发骨质疏松^[12]。据不完全统计,老年高血压患者发生骨质疏松的风险为正常人群的 2~3 倍^[13]。因此,对老年高血压患者发生骨质疏松的情况予以早期预测,对降低老年高血压患者发生骨质疏松具有重要意义。

Sato 等^[14]研究指出,NSF-1 可能与胰岛素具有相同的作用,可降低血糖,亦可促使骨性关节炎病理过程中炎症因子水平的降低,刺激成骨细胞的增殖,NSF-1 可能与一些骨病存在一定联系。本研究结果与既往 Kasher 等^[15]研究结果相似,提示患者体内 NSF-1 可能参与老年高血压患者骨质疏松的发生发展过程中。

25(OH)D 为维生素 D 在体内最主要的存在形式,其可通过促进钙、磷自小肠重吸收,促进血液中骨钙、磷的增加,以推动骨钙和钙结合蛋白的合成,推动骨的无机盐化,刺激成骨细胞,以使钙、磷沉着于骨。相关研究指出,25(OH)D 具有预防低钙、骨质疏松、感染等作用^[16]。本研究显示,三组 25(OH)D 水平比较:骨质疏松组<骨量减少组<骨量正常组,这与 Young 等^[17]研究相似,提示该因子可在一定程度上反映 BMD 的程度,可能是预防骨质疏松发生的保护因素。

近年一些研究发现,Hcy 的表达可能同 BMD 存在相关性,随着血清中 HCY 的表达水平不断升高,骨折的危险也随之增加^[18]。究结果推测原因可能是由于高血压病导致患者体内维生素 D 缺乏以及胰岛素抵抗等水平的变化,从而引起 NSF-1、Hcy 水平的改变,继而导致患者 BMD 的下降。

综上所述,老年高血压患者 NSF-1、25(OH)D、Hcy 水平与骨质疏松风险增加存在明显的相关性,临床工作者可通过加强监测上述三项指标,以助于及时指导患者进行预防和诊治,降低骨质疏松发生的风险。

参考文献

- [1] 吴伟东,方红槟,吴大华,等.髋关节置换辅助维生素 D 治疗老年骨质疏松股骨颈骨折的远期疗效及对 BMP-7/25-(OH)-D-3 水平的影响[J].中华内分泌外科杂志,2021,15(6):641-645.
- [2] Robles MJ, Esperanza A, Arnau-Barrés I, et al. Frailty, Falls and Osteoporosis: Learning in Elderly Patients Using a Theatrical Performance in the Classroom [J]. J Nutrit Health Aging, 2019, 23(8):562-567.

- [3] Lee J, Kwon BC, Choi HG. Analyses of the relationship between hyperuricemia and osteoporosis[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):543-549.
- [4] Choi HG, Kong G. Association between chronic rhinosinusitis and osteoporosis: a case-control study using a national sample cohort[J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2019, 9(7):583-587.
- [5] Anett V, Levente B, Katalin S, et al. The risk of fracture and prevalence of osteoporosis is elevated in patients with idiopathic inflammatory myopathies: cross-sectional study from a single Hungarian center[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1):426-429.
- [6] Lfdahl E, Sderlund C, Rdegran G. Bone mineral density and osteoporosis in heart transplanted patients: A single-center retrospective study at Skne University Hospital in Lund 1988-2016[J]. *Clin Transplant*, 2019, 33(3):445-453.
- [7] 唐新华. 从《中国高血压防治指南》修订谈防治策略的变化[J]. *心脑血管病防治*, 2020, 20(1):21-24.
- [8] 程晓光, 袁慧书, 程敬亮, 等. 骨质疏松的影像学及骨密度诊断专家共识[J]. *中国骨与关节杂志*, 2020, 9(9):666-673.
- [9] Zong L, Cai L, Liang J, et al. Exposure to Famine in Early Life and the Risk of Osteoporosis in Adulthood: a Prospective Study - ScienceDirect[J]. *Endocr Pract*, 2019, 25(4):299-305.
- [10] 陈曦, 张娜, 胡广梅. CysC、 β 2-MG、IL-1 β 、IL-18对高血压患者早期肾损伤的预测价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(4):594-597+601.
- [11] 伍瓚, 范忠明, 徐永强. PKP治疗老年骨质疏松性胸腰椎压缩骨折疗效分析[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2020, 35(3):256-257.
- [12] Park HY, Ha JY, Kim KW, et al. Effect of lumbar spinal stenosis on bone mineral density in osteoporosis patients treated with ibandronate[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2021, 22(1):489-493.
- [13] 姚斌, 陆国强, 李海东. 老年人群高血压与骨质疏松关系的临床研究[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(4):616-618.
- [14] Sato H, Takai C, Kazama JJ, et al. Serum hepcidin level, iron metabolism and osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):646-649.
- [15] Kasher M, Williams F, Freidin MB, et al. An in-depth study of the associations between osteoarthritis- and osteoporosis-related phenotypes at different skeletal locations[J]. *Osteoporosis Int*, 2020, 31(11):1425-1429.
- [16] Tembo MC, Holloway-Kew KL, Sui SX, et al. Prevalence of Frailty in Older Men and Women: Cross-Sectional Data from the Geelong Osteoporosis Study[J]. *Calcif Tissue Int*, 2020, 127(3):629-634.
- [17] Young HE, Ward WE. The Relationship Between Polycystic Ovarian Syndrome, Periodontal Disease, and Osteoporosis[J]. *Reprod Sci*, 2020, 28(S1):229-236.
- [18] Xia J, Xie SY, Liu KQ, et al. Systemic evaluation of the relationship between psoriasis, psoriatic arthritis and osteoporosis: observational and Mendelian randomisation study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 82(11):892-897.

(上接第672页)

- can be a useful diagnostic tool in differentiated thyroid cancer patients with incomplete bio-chemical response to first radioiodine therapy (RAIT): a pilot investigation[J]. *J Endocrinol Invest*, 2018, 41(11):1283-1288.
- [8] Dominguez Ayala M, Exposito Rodriguez A, Bilbao Gonzalez A, et al. BRAF V600E mutation in papillary thyroid cancer and its effect on postoperative radioiodine (^{131}I) therapy: Should we modify our therapeutic strategy?[J]. *Cir Esp*, 2018, 96(5):276-282.
 - [9] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会甲状腺癌专家委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)持续/复发及转移性分化型甲状腺癌诊疗指南-2019[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2019, 32(12):1051-1079.
 - [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 甲状腺癌诊疗规范(2018年版)[J/CD]. *中华普通外科学文献(电子版)*, 2019, 13(1):1-15.
 - [11] Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology[J]. *Thyroid*, 2017, 27:1341-1346.
 - [12] Pasquale, Pisapia, Francesco, Pepe, Antonino, Iaccarino, Roberta, Sgariglia, Mariantonia, Nacchio, Gianluca, Russo, Gianluca, Gragnano, Umberto, Malapelle, Giancarlo, Troncone. BRAF: ATwo-FacedJanus[J]. *Cells*, 2020, 9(12): DOI: 10.3390/cells9122549.
 - [13] 赵洁, 黄美玲, 易军. 难治性甲状腺癌的精准靶向治疗进展[J]. *癌症进展*, 2018, 16(6):678-682.
 - [14] Mayson SE, Haugen BR. Molecular diagnostic evaluation of thyroid nodules[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019, 48(1):85-97.
 - [15] Brown AE, Lim KS, Corpus G, et al. Detection of BRAF mutation in the cyto centrifugation supernatant fluid from fine-needle aspiration of thyroid lesions may enhance the diagnostic yield[J]. *Cytojournal*, 2017, 14(1):4.
 - [16] Li C, Zhou L, Dionigi G, et al. The Association Between Tumor Tissue Calcification, Obesity, and Thyroid Cancer Invasiveness In A Cohort Study[J]. *Endocr Pract*, 2020, 26(8):830-839.
 - [17] Lee JH, Kim Y, Choi JW, et al. The association between papillary thyroid carcinoma and histologically proven Hashimoto's thyroiditis: a meta-analysis[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 168(3):343-349.

· 论 著 ·

小剂量阿司匹林对多囊卵巢综合征患者的影响

李吉¹ 葛敏^{2*}

【摘要】目的 探讨小剂量阿司匹林辅助治疗对多囊卵巢综合征患者妊娠率及子宫内膜发育情况及相关激素水平的影响分析。**方法** 选取苏州明基医院2017年1月至2020年1月收治的80例多囊卵巢综合征患者作为研究对象,按照随机数字表法分为观察组($n=40$)和对照组($n=40$),其中对照组采取单纯的来曲唑诱导排卵,观察组则在对照组的基础上采取小剂量阿司匹林进行治疗,分别对两组患者的子宫内膜发育情况、排卵率和妊娠率进行客观比较,并对两组患者治疗前后的激素水平进行评定和比较,随访两组患者的复发情况。**结果** 两组间的PI、RI、PSV、EDV、内膜厚度比较,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组患者的排卵率(85.00%)和妊娠率(30.00%)高于对照组的排卵率(50.00%)和妊娠率(17.50%),差异有统计学意义($P<0.05$);治疗前后,两组患者的LH、FSH以及T水平比较,其中观察组的评分相对更低,差异有统计学意义($P<0.05$);随访一年发现,观察组患者的复发率明显更低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 小剂量阿司匹林辅助来曲唑治疗可改善多囊卵巢综合征患者的子宫内膜受容性,调节患者的激素水平,提高其排卵率和妊娠率。

【关键词】 小剂量;阿司匹林;多囊卵巢综合征;子宫内膜;妊娠

Effect of low-dose aspirin on patients with polycystic ovary syndrome

LI Ji¹, GE Min^{2*}

(1. Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou, Jiangsu, 215000;
2. Obstetrics and Gynecology, BenQ Medical Center, Suzhou, Jiangsu, China, 215000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the effect of low-dose aspirin adjuvant therapy on pregnancy rate and endometrial development in patients with polycystic ovary syndrome. **Methods** A total of 80 patients with polycystic ovary syndrome who were admitted to Suzhou BenQ Medical center from January 2017 to January 2020 were selected as the research objects and divided into an observation group ($n=40$) and a control group ($n=40$) according to the random number table method. The control group was treated with letrozole to induce ovulation, and the observation group was treated with low-dose aspirin on the basis of the control group. The endometrial development, ovulation rate and pregnancy rate of the two groups were compared objectively, and the hormone levels of the two groups of patients before and after treatment were evaluated and compared, and the recurrence of the two groups of patients was followed up. **Results** There were significant differences in PI, RI, PSV, EDV, and intimal thickness between the two groups ($P<0.05$). The ovulation rate (85.00%) and pregnancy rate (30.00%) in the observation group were higher than those in the control group (50.00%) and pregnancy rate (17.50%), the difference was statistically significant ($P<0.05$). Before and after treatment, compared the LH, FSH and T levels of the two groups of patients, the scores of the observation group were relatively lower, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After one year of follow-up, it was found that the recurrence rate of patients in the observation group was significantly lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Low-dose aspirin-assisted letrozole treatment can improve endometrial receptivity in patients with polycystic ovary syndrome, regulate patients' hormone levels, and increase their ovulation and pregnancy rates.

【KEY WORDS】 Low dose; Aspirin; Polycystic ovary syndrome; Endometrium; Gestation

基金项目:江苏省2017年高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才项目(LGY2017057)

作者单位:1. 苏州大学附属第一医院妇产科,江苏,苏州 215000

2. 苏州明基医院妇产科,江苏,苏州 215000

*通信作者:葛敏, E-mail: 154130220@qq.com

多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)是内分泌科中常见的病症之一,主要发生在育龄期的女性当中,一般表现为雄激素过高、排卵稀发、性激素水平分泌紊乱等,其可能会引起患者排卵异常、肥胖和痤疮等,严重者会造成不孕^[1-3]。有研究表明^[4],多囊卵巢综合征的发生可能是受到遗传基因、炎症反应、胰岛素抵抗以及免疫应激作用等影响。目前,临床中针对多囊卵巢综合征的治疗以药物治疗为主,其可降低体内雄激素水平,发挥出促排卵的效果。其中,来曲唑可以在促进排卵上起到一定的作用,但其对改善患者妊娠率的效果欠佳^[5-7]。笔者通过对本院收治的多囊卵巢综合征患者在来曲唑的基础上实施小剂量阿司匹林进行治疗,并与单纯来曲唑进行比较,拟为综合提高患者的排卵率和妊娠率提供更多的参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取苏州明基医院2017年1月至2020年1月收治的80例多囊卵巢综合征患者作为研究对象,纳入标准:①符合多囊卵巢综合征的相关诊断;②影像学可见卵巢多囊;③无相关的药物过敏史等。排除标准:①合并其他严重的恶性肿瘤;②合并严重的心脑血管疾病。采用随机数字表法分为观察组和对照组,各40例,其中对照组平均年龄(25.11 ± 3.70)岁,平均病程(10.74 ± 2.12)月;观察组平均年龄(27.01 ± 3.92)岁,平均病程(11.03 ± 2.04)月。所有患者均签署知情同意书。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

对照组采取单纯的来曲唑诱导排卵,即在患者月经来潮第五天口服来曲唑片(江苏恒瑞医药股份有限公司生产,国药准字H19991001),每次2.5 mg,每天一次。观察组则在对照组的基础上采取小剂量阿司匹林(拜耳医药保健有限公司生产,国药准字J20130078)进行治疗,每次100 mg,每天一次。两组患者均需连续治疗5天。采用B超监测患者的排卵情况,并在排卵后给予黄体支持,14 d后检测患者的人绒毛膜促性腺激素(Human Chorionic Gonadotropin, β -HCG)明确其是否怀孕。

1.3 观察指标

①分别对两组患者的子宫内膜发育、排卵率和妊娠率进行客观比较,并对两组患者治疗前后的激素水平的进行评定和比较,并随访两组患者的复发

情况。②激素水平:在患者治疗前后收集晨起空腹静脉血液离心得到上清液,采用德国罗氏Cobas e 601 电化学发光免疫分析仪测定促黄体生成素(Luteinizing Hormone, LH)、血清促卵泡刺激素(Follicle stimulating hormone, FSH)以及T水平。③子宫内膜发育:采用飞利浦EPIQ5 配套阴道探头经阴道B超检测患者子宫内膜厚度、收缩期血流峰值速度(Peak systolic velocity, PSV)、舒张末期血流速度(End-diastolic volume EDV)、子宫动脉搏动指数(Pulsatility Index, PI)和阻力指数(Resistance index, RI)。

1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件包进行数据处理;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的子宫内膜发育情况比较

两组间的PI、RI、PSV、EDV、内膜厚度比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组患者的子宫内膜发育情况比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of endometrial development between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	PI	RI	PSV (cm/s)	EDV (cm/s)	内膜厚度 (mm)
观察组	2.19 ± 0.41	0.74 ± 0.15	18.05 ± 2.98	6.54 ± 1.51	8.77 ± 1.92
对照组	2.74 ± 0.54	1.20 ± 0.22	14.66 ± 2.03	5.30 ± 1.01	7.05 ± 1.40
t 值	2.525	3.001	5.551	3.160	3.325
P 值	0.040	0.032	< 0.001	0.030	0.027

2.2 两组患者的排卵率和妊娠率比较

观察组患者的排卵率和妊娠率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组患者的排卵率和妊娠率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of ovulation rate and pregnancy rate between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	排卵率	妊娠率
观察组	40	34(85.00)	12(30.00)
对照组	40	20(50.00)	7(17.50)
χ^2 值		11.168	4.235
P 值		0.001	0.002

2.3 两组患者的LH、FSH以及T水平比较

治疗前后,两组患者的LH、FSH以及T水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中观察组下降水平更为显著($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组患者的LH、FSH以及T水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of LH, FSH and T levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LH(U/L)		FSH(U/L)		T(μ mmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	40	14.45 $\pm$ 2.18	8.23 $\pm$ 1.24	8.72 $\pm$ 1.19	5.46 $\pm$ 0.69	86.58 $\pm$ 7.77	51.45 $\pm$ 5.40
对照组	40	14.50 $\pm$ 2.17	11.86 $\pm$ 0.21	8.51 $\pm$ 1.14	6.89 $\pm$ 0.88	86.57 $\pm$ 7.75	76.21 $\pm$ 6.24
t值		0.212	3.489	0.253	2.365	0.158	9.450
P值		0.380	0.018	0.356	0.040	0.269	<0.001

2.4 两组患者停药后的复发情况比较

观察组患者的复发率明显更低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 两组患者的复发情况比较 [$n(\%)$]Table 4 Comparison of recurrence between 2 groups [$n(\%)$]

组别	n	复发
观察组	40	0(0.00)
对照组	40	7(17.50)
χ^2 值		4.514
P值		0.004

3 讨论

多囊卵巢综合征在临床的发生率较高,多发生于育龄期的女性中,主要的临床表现为不育、月经异常和多毛,且易于发生性激素分泌紊乱和卵巢功能异常等^[8]。多项研究认为^[9],多囊卵巢综合征的发生会引起肥胖、痤疮和不孕等,且其为高血压和冠心病的危险因素,严重影响到患者的生命安全。临床认为,多囊卵巢综合征是导致年轻妇女月经紊乱的最常见的原因之一,故而加强对多囊卵巢综合征患者的内分泌调节,以促进胚胎发育显得尤为重要^[10]。

以往,临床针对多囊卵巢综合征的治疗方案主要为来曲唑片口服,此类药物可以在一定程度上帮助患者增加排卵率,但仍然存在部分患者药物抵抗的情况,致使排卵后患者妊娠率仍然较低^[11]。国外有学者认为^[12],单纯使用来曲唑治疗多囊卵巢综合征的临床疗效欠佳,应该结合其他药物进行治疗以提高疗效。我国有学者^[13]研究亦证实了上述论点,其通过来曲唑结合中药方治疗多囊卵巢综合征大鼠,结果发现,两种药物比单纯来曲唑治疗的效果更佳。阿司匹林具备了抑制血小板活性作用,其可在降低血管阻力的基础上减少微血栓和局部血液循环状态^[14]。本研究通过对收治的多囊卵巢综合征患者在来曲唑治疗的基础上结合小剂量阿司匹林进行治疗,从表2的结果发现,观察组患者的排卵率和妊娠率均高于对照组,分析原因可能是由

于单纯来曲唑治疗的抗雌激素作用致子宫内膜变薄,故而导致患者不易于胚胎着床,而结合小剂量阿司匹林则可以有助于提高子宫内膜容受性,进而提高患者的排卵率和妊娠率。研究发现,影响子宫内膜受容性的因素较多,其中属子宫内膜血流微循环异常较为常见,影响卵泡发育。而本研究结果说明了小剂量阿司匹林可以提高患者的子宫内膜受容性,在一定程度上促进了卵泡发育。分析原因可能是由于所用药物通过介导前列环素(Prostacyclin, PGI₂)和血栓素 A₂(Thromboxane A₂, TXA₂)在体内平衡的作用,降低了患者子宫血液黏稠度,致使患者的血液循环正常,进而促进子宫内膜发育,与上述表2中的结论基本一致。临床提出,多囊卵巢综合征患者的LH水平会异常上升,以及患者体内存在一定的炎症因子,致使患者的排卵障碍。另外,从其他的研究中发现了^[15],前列环素 E₂(Prostacyclin E₂, PGE₂)可间接调节LH生成的细胞因子。在本文中,治疗前后,两组患者的LH、FSH以及T水平比较,其中观察组下降水平更为显著。由此可见,来曲唑结合小剂量阿司匹林可能是通过抑制环氧化物酶活性和PGE₂合成等,进而间接降低了LH水平,亦在一定程度上降低了患者的FSH和T的合成。此外,因阿司匹林本身具抗炎作用,可以消除卵巢组织局部炎症,促进排卵。但是本研究亦存在了局限性,如选取的样本量较少,且未对肥胖与非肥胖及非胰岛素抵抗等患者间进行对比,尚待进一步研究以证实结果。

综上所述,小剂量阿司匹林辅助来曲唑治疗可改善多囊卵巢综合征患者的子宫内膜容受性,调节患者的激素水平,提高其排卵率和妊娠率。

参考文献

- [1] 杨优洲, 潘芳, 俞瑾, 等. 中西医结合治疗克罗米芬无反应多囊卵巢综合征的临床研究[J]. 中医药信息, 2019, 36(4): 65-70.

(下转第684页)

沙库巴曲缬沙坦治疗射血分数保留型心衰临床效果

刘莉* 刘燕 卢京九

【摘要】目的 探究射血分数保留型心衰(HFPEF)患者经沙库巴曲缬沙坦治疗后的临床疗效。**方法** 选取阜南县中医院2019年1月至2021年11月收治的124例HFPEF患者为本次研究对象,根据随机数字表法,将入选患者分为观察组($n=62$ 例)及对照组($n=62$ 例)。两组患者接受常规抗心衰治疗,对照行缬沙坦分散片治疗,观察组行沙库巴曲缬沙坦治疗。对组间总有效率进行对比,评价终点事件。比较治疗前后的左心室射血分数(LVEF)、左心室收缩末期容积(LVESV)、左心室舒张末期容积(LVEDV)、白介素6(IL-6)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平、6分钟步行距离(6MWT)、氨基末端B型钠尿肽原(NT-proBNP)、尿酸(UA)水平。**结果** 观察组患者总有效率明显高于对照组,终点事件发生率明显低于对照组,两组比较差异具有统计学意义($\chi^2=0.8248, P<0.05$)。治疗前,两组患者LVEF、LVESV、LVEDV、TNF- α 、hs-CRP、IL-6、UA、NT-proBNP、6MWT水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组患者LVEF、6MWT较治疗前呈现显著增高趋势,LVESV、LVEDV、TNF- α 、hs-CRP、IL-6水平、UA、NT-proBNP水平呈明显下降趋势,且观察组患者的上述指标均优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 沙库巴曲缬沙坦治疗HFPEF效果理想,其可改善患者的心功能及步行距离等指标,抑制炎症反应,对UA、NT-proBNP水平起到明显的调节作用,且终点事件发生风险低,药物具有较高的安全性和有效性。

【关键词】 沙库巴曲缬沙坦;射血分数保留型心衰;心功能;尿酸

Clinical effect of shacubacrevalsartan in the treatment of ejection fraction - preserved heart failure

LIU Li*, LIU Yan, LU Jingjiu

(Department of Internal Medicine, Funan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Funan, Anhui, China, 236300)

【ABSTRACT】 Objective To explore the clinical efficacy of sarubacrevalsartan in heart failure with preserved ejection fraction (HFPEF). **Methods** A total of 124 HFPEF patients admitted to Funan County Hospital from 12019 to November 2021 were selected as the study subjects, and the selected patients were divided into the observation and control groups according to the randomized figures table method. Both groups were treated with conventional anti-heart failure, the control group ($n=62$ patients) received valsartan tablets, and the observation group ($n=62$ patients) received sarubactelsovalsartan. End-point events were evaluated by comparing the total response efficiency between the groups. The left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular end-systolic volume (LVESV), left ventricular end-diastolic volume (LVEDV), interleukin-6 (IL-6), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) level, 6-minute walking distance (6MWT), amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP), serum uric acid (UA) level were compared. **Results** Compared with the control group, the total effective rate and the total incidence of end-point events in the observation group were 95.16% and 4.84%, respectively, and the difference between the two groups was statistically significant ($P<0.05$). Before treatment, there was no significant difference in the levels

基金项目:安徽省医学会急诊临床研究项目(ky2018009)

作者单位:阜南县中医院内科,安徽,阜南 236300

*通信作者:刘莉, E-mail: anhuiliuli7204@163.com

of LVEF, LVESV, LVEDV, TNF- α , hs-CRP and IL-6 between the two groups ($P>0.05$). After treatment, the LVEF of the two groups of patients showed a significantly higher trend than before treatment, and the levels of LVESV, LVEDV, TNF- α , hs-CRP, and IL-6 showed a significant downward trend, and the above indicators in the observation group were better than those in the control group. There was statistical significance ($P<0.05$). There were significant differences in the levels of 6MWT, UA and NT-proBNP between the two groups, and interaction effects ($P<0.05$). **Conclusion** Sacubitril-valsartan has an ideal effect in the treatment of HFPEF. It can improve the patient's cardiac function and walking distance and other indicators, inhibit the inflammatory response, and significantly regulate the levels of UA and NT-proBNP, and the risk of end-point events is low. The drug has high safety and efficacy.

[KEY WORDS] Shakubactrevaline; HFPEF; Cardiac function; Blood uric acid

在各种类型心脏病中,患者病情一旦进展至终末阶段即可诱发心力衰竭,其中射血分数保留型心衰(Ejection fraction-preserved heart failure, HFPEF)属于一种心力衰竭常见类型,其约占心力衰竭总发生率的56%,目前,HFPEF发病率较高,每年均呈现增加趋势。对于HFPEF需进行及时有效的救治,否则其可致残,甚至致死^[1]。血管紧张素转换酶抑制剂或血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂是治疗心肌梗死或心力衰竭的有效药物。沙库巴曲缬沙坦是一种新型神经激素抑制剂,其能明显抑制脑啡肽酶活性,增加利钠肽等,该药物可改善心衰患者的预后。目前,多项大规模临床证实^[2],沙库巴曲缬沙坦治疗HFPEF具有明显的疗效,多数患者经治疗后能获得较好的预后效果,该药物是多个心衰指南均有推荐的疗效药物。但沙库巴曲缬沙坦能否对炎症水平^[3]、运动耐力、心衰严重程度及心功能指标起到较好的改善作用,目前临床需要更多数据加以支持。选取本院收治的124例HFPEF为研究对象,旨在探究沙库巴曲缬沙坦治疗患者的疗效价值。结果如下。

1 临床资料与方法

1.1 临床资料

选取阜南县中医院2019年1月至2021年11月收治的124例HFPEF患者为本次研究对象。纳入标准:①与HFPEF相关诊断标准相符^[4];②年满

60周岁;③纽约心脏协会(New York Heart Association, NYHA)心功能分级为Ⅱ~Ⅳ级^[5]。排除标准:①中重度肾功能不全;②沙库巴曲缬沙坦药物过敏者;③恶性肿瘤;④急性心肌梗死;⑤难治性高血压;⑥预期寿命不足1年;⑦缩窄性心包炎;⑧限制性心肌病;⑨心血管系统疾病;⑩冠心病等疾病。入选患者均分为观察组($n=62$)、对照组($n=62$),分组方法为随机数字表法,两组患者在年龄、体重、NYHA分级均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。入试者及家属均签署知情同意书。本研究符合《赫尔辛基宣言》伦理审查标准。

1.2 方法

两组患者给予常规对症治疗,在此基础上,对照组:给予本组患者缬沙坦分散片(桂林华信制药有限公司,国药准字H20080820,规格80 mg)治疗,起始剂量40 mg/次,2次/d,而后根据患者的实际情况将剂量调整至维持剂量,80 mg/次,2次/d,连续治疗6个月。

观察组:在常规治疗基础上,给予本组患者沙库巴曲缬沙坦(北京诺华制药有限公司,国药准字J20190002,规格100 mg)治疗,起始剂量为50 mg/次,2次/d;而后根据患者的实际情况将剂量调整至维持剂量,200 mg/次,2次/d,连续治疗6个月。

1.3 观察指标

①心功能:治疗前后,选择一名高年资的超声医生应用彩色多普勒超声诊断仪对患者实施超声

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

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

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	BMI(kg)	性别		NYHA 分级		
				男	女	Ⅱ级	Ⅲ级	Ⅳ级
观察组	62	65.64±8.79	66.94±6.41	33(53.23)	29(46.77)	18(29.03)	23(37.1)	21(33.87)
对照组	62	65.78±8.58	66.77±6.31	35(56.45)	27(43.55)	19(30.65)	24(38.71)	19(30.65)
<i>t</i> / χ^2 值		0.090	0.149		0.130		-0.330	
<i>P</i> 值		0.929	0.882		0.718		0.742	

心电图检查,检测两组患者的左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室收缩末期容积(Left ventricular end-systolic volume, LVESV)及左心室舒张末期容积(Left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)。

②炎症因子:于治疗前后,分别采集两组患者的空腹静脉血 5 mL,以 3 000 r/min 离心 5 min,实施血清分离,应用酶联免疫吸附试验对两组患者的白介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、超敏 C 反应蛋白(Hypersensitivity to the C-reactive protein, hs-CRP)及肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF- α) 水平。

③6 分钟步行试验(A 6-minute walk trial, 6MWT):在 6 分钟步行试验专用区,长度为 30 m,让患者尽可能快的行走,如有必要可自行调整速度,可慢下来或稍作停歇,测量 6 分钟行走的总距离。

④血尿酸(Blood uric acid, UA)及氨基末端 B 型钠尿肽原(Amin-terminaL type B naturetic peptidogen, NT-proBNP):治疗前后,采集患者 3 mL 晨起空腹静脉血,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清置于聚乙烯管中,放置冰箱中保存待测,应用电化学发光法检测两组患者的 NT-proBNP 水平,借助全自动生化分析仪检测两组患者的 UA 水平。

⑤终点事件:治疗后,统计两组患者急性心梗、心源性死亡、心衰住院及急性心梗发生率。

1.4 疗效判定

根据患者治疗前后 NYHA 心功能分级,其疗效判定标准如下^[6]:患者治疗后, NYHA 心功能分级较治疗前改善 2 级及 2 级以上,为显效;患者治疗后, NYHA 心功能分级较治疗前改善 1 级,为有效;患者治疗后, NYHA 心功能无改善,甚至下降,为无效;总有效率为(显效+有效)/62 例 $\times 100\%$ 。

1.5 统计方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间数据比较采用独立样本 t 检验,不同时点定量比较采用重复测量方差分析,总有效率、终点事件发生率等计数资料采用 χ^2 检验;有效率采用秩和检验;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者疗效比较

124 例经药物治疗后,显效 58 例、有效 49 例、无效 17 例。观察组整体疗效显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	显效率	有效率	无效率	总有效率
观察组	62	30(48.39)	29(46.77)	3(4.84)	59(95.16)
对照组	62	28(45.16)	20(32.26)	14(22.58)	48(77.42)
χ^2 值			-3.341		8.248
P 值			0.001		0.004

2.2 两组患者心功能比较

治疗前,两组 LVEF、LVESV、LVEDV 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),干预后,两组 LVESV、LVEDV 较治疗前均有明显下降, LVEF 较治疗前均有明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者心功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cardiac function between the two patient groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	n	治疗前	治疗后
LVEF (%)	观察组	62	53.94 $\pm$ 2.97	59.91 $\pm$ 3.59 ^a
	对照组	62	53.66 $\pm$ 2.81	55.67 $\pm$ 3.25 ^a
	t 值		0.539	6.894
P 值			0.591	<0.001
LVESV (mL)	观察组	62	189.63 $\pm$ 6.34	165.33 $\pm$ 3.23 ^a
	对照组	62	189.76 $\pm$ 6.71	171.60 $\pm$ 5.97 ^a
	t 值		0.111	7.273
P 值			0.912	<0.001
LVEDV (mL)	观察组	62	232.74 $\pm$ 6.90	202.9 $\pm$ 3.73 ^a
	对照组	62	232.82 $\pm$ 6.83	214.42 $\pm$ 5.39 ^a
	t 值		0.065	13.839
P 值			0.948	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组患者炎症因子比较

治疗前,两组患者的 TNF- α 、hs-CRP、IL-6 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,观察组患者的 TNF- α 、hs-CRP、IL-6 水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组患者 6MWT、UA、NT-proBNP 水平比较

治疗前,两组患者的 6MWT、UA、NT-proBNP 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,观察组患者的 UA、NT-proBNP 水平明显低于对照组,6MWT 显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

2.5 两组患者终点事件比较

124 例患者经治疗后,引发急性心梗者 12 例,心源性死亡者 2 例,因心衰住院者 9 例,急性心梗 1 例;观察组患者终点事件总发生率,显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 6。

表4 两组治疗前后炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of inflammatory factors before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	n	治疗前	治疗后
TNF- α (pg/mL)	观察组	62	12.49 $\pm$ 3.46	6.4 $\pm$ 2.14 ^a
	对照组	62	12.59 $\pm$ 3.46	9.68 $\pm$ 2.9 ^a
	t值		0.161	7.166
	P值		0.872	<0.001
IL-6 (pg/mL)	观察组	62	33.92 $\pm$ 5.33	15.91 $\pm$ 4.31 ^a
	对照组	62	33.78 $\pm$ 5.29	22.87 $\pm$ 5.03 ^a
	t值		0.147	8.273
	P值		0.884	<0.001
hs-CRP (mg/L)	观察组	62	12.74 $\pm$ 2.54	6.13 $\pm$ 1.04 ^a
	对照组	62	12.80 $\pm$ 2.56	8.60 $\pm$ 1.43 ^a
	t值		0.131	10.999
	P值		0.896	<0.001

注:与同组治疗前比较,^aP<0.05。表5 两组患者6MWT、UA、NT-proBNP水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of 6MWT scores, UA, and NT-proBNP Levels in the two patient groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	n	治疗前	治疗后
UA (μ mol/L)	观察组	62	395.82 $\pm$ 123.63	103.93 $\pm$ 58.76 ^a
	对照组	62	394.57 $\pm$ 124.02	258.8 $\pm$ 78.69 ^a
	t值		0.056	12.417
	P值		0.955	<0.001
NT-proBNP (pg/mL)	观察组	62	1003.56 $\pm$ 152.84	429.96 $\pm$ 75.29 ^a
	对照组	62	1003.84 $\pm$ 152.92	789.89 $\pm$ 89.70 ^a
	t值		0.010	24.200
	P值		0.992	<0.001
6MWT (m)	观察组	62	337.68 $\pm$ 32.62	456.79 $\pm$ 34.89 ^a
	对照组	62	337.94 $\pm$ 32.8	389.71 $\pm$ 33.51 ^a
	t值		0.044	10.918
	P值		0.965	<0.001

注:与同组治疗前比较,^aP<0.05。

表6 两组患者终点事件比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of endpoint events between the two patient groups [n(%)]

组别	n	急性心梗	心源性死亡	因心衰住院	急性心梗	总发生率
观察组	62	2(3.23)	0(0)	1(1.61)	0(0)	3(4.84)
对照组	62	10(16.13)	2(3.23)	8(12.9)	1(1.61)	21(33.87)
χ^2 值						16.740
P值						<0.001

3 讨论

冠心病、高血压、心肌病(扩张型或肥厚型)等病之后常继发 HFPEF,诱发本病的因素与心肌缺血、肥大致心肌顺应性降低、心室松弛功能不全等密切相关。老年人是 HFPEF 的好发群体。女性绝经后,其雌激素水平呈现明显下降趋势,那么将会

削弱对心血管的保护作用,故女性 HFPEF 患者的发生率明显低于男性 HFPEF 患者。随着我国老龄化问题的日益加剧^[7],HFPEF 的患病率及住院率呈现逐年增加趋势。既往研究表明,传统抗心衰药物以利尿剂、Ca²⁺通道阻滞剂、血管紧张素受体阻断剂等为主,这些药物证实对射血分数降低型心衰有效,临床症状显著缓解,多数患者预后良好,但上述药物仅能改善 HFPEF 的临床症状,却无法提升整体的治疗疗效,终点事件发生风险较高,这可能是药物 HFPEF 病理机制和射血分数降低型心衰不同。

沙库巴曲缬沙坦临床典型药物,能有效治疗心衰^[8],其属于复方机制,此药物组成部分有二:一是脑啡肽酶抑制剂沙库巴曲;二是药物不仅能对血管起到扩张作用,对脑啡肽酶的升高也能明显抑制。对血管紧张素 II 具有阻断之效果^[9],机体醛固酮的释放相应减少,本研究显示,与对照组相比,观察组的总有效率较高,终点事件总发生率更低。证实沙库巴曲缬沙坦能够提升 HFPEF 的整体疗效,不良事件发生风险明显降低。原因在于沙库巴曲缬沙坦能起到扩张血管、排钠利尿之作用,从而提高治疗整体效率,安全性较高。

HFPEF 患者心功能受损严重,典型表现为心输出量下降^[10]。LVEDV、LVESV 指标为心室容积参数,其异常增高表示患者可能处于心室重构的状态^[11-12]。本研究结果证实沙库巴曲缬沙坦有助于改善 HFPEF 的心功能,减轻心肌损伤,提高运动耐力。分析原因可能为以下几点:①沙库巴曲缬沙坦能激起神经兴奋性,减少尿潴留,缓解临床症状,改善心功能。②沙库巴曲缬沙坦能抑制脑啡肽酶的生成,扩张血管^[13-14],能充分对心肌纤维化起到抑制作用,从而减轻心肌损伤,缓解心衰程度,促进运动耐力的提高。另外,本研究显示,两组患者的 TNF- α 、hs-CRP、IL-6 水平较治疗前呈明显降低趋势,且观察组患者的上述指标降低幅度更大。该药物具有明显的抗炎作用。具体原因为:沙库巴曲缬沙坦增加环磷酸鸟苷的生成,对氧化应激反应和炎症反应能起到抑制作用,而沙库巴曲缬沙坦也能生成一氧化氮合成酶,从而抑制炎症因子的释放^[15]。

综上所述,沙库巴曲缬沙坦能明显改善 HFPEF 患者心功能,提高运动耐力,控制心衰进展,有效抑制炎症和氧化应激反应,且终点事件发生风险

较小,可确保临床用药安全的同时提高患者的整体疗效。但本文存在样本量较小等问题,期望今后扩大样本量、延长随访时间进行更深入的研究。

参考文献

- [1] 石宇杰,王剑飞,韩运峰,等.沙库巴曲缬沙坦治疗射血分数保留心力衰竭的疗效研究[J].中国循证心血管医学杂志,2020,12(1):83-86.
- [2] 詹雯雯,张海祥,刘园园,等.沙库巴曲缬沙坦治疗老年射血分数保留心力衰竭的效果及对炎症因子和生活质量的影响[J].临床误诊误治,2021,34(6):29-34.
- [3] 周旋.沙库巴曲缬沙坦治疗慢性心力衰竭的临床观察[J].国际医药卫生导报,2021,27(6):894-896.
- [4] 方理刚.射血分数保留心力衰竭的分类及诊断[J].临床内科杂志,2020,37(7):463-466.
- [5] 韩大兴,王芳芳,周宇廷,等.慢性心力衰竭患者血清肌钙蛋白I脑钠肽与纽约心脏病协会心功能分级及心脏超声参数相关性分析[J].山西医药杂志,2017,46(9):1022-1024.
- [6] 魏莉娜,王月平,朱秋霞,等.左西孟旦联合沙库巴曲缬沙坦对慢性心衰患者血流动力学和运动能力的影响[J].现代生物医学进展,2020,20(22):4315-4318.
- [7] 马丽萍.沙库巴曲缬沙坦对糖尿病合并心力衰竭患者的疗效观察[J].中国药物与临床,2021,21(10):1703-1705.
- [8] 邓哲,梁凤楚,吴爵非.性别在射血分数保留性心力衰竭中的差异及相关机制[J].心血管病学进展,2021,42(10):897-900.
- [9] 蒋湘翎,项国华,李燕真.盐酸替罗非班联合药物洗脱支架治疗老年AAMI患者效果[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):216-219,224.
- [10] Jennifer L, Guillaume B, Antonio VP. Lipotoxicity: a driver of heart failure with preserved ejection fraction? [J]. Clinica Lscience (London, England: 1979), 2021, 135(19):2265-2283.
- [11] 庞翀,郑菊,王彩虹,等.沙库巴曲缬沙坦治疗老年射血分数降低型心力衰竭患者的临床疗效[J].中国临床药理学杂志,2021,37(20):2731-2733,2737.
- [12] 徐海燕,刘海浪,谷阳,等.沙库巴曲缬沙坦治疗老年射血分数减低的慢性心力衰竭患者的疗效观察[J].中华老年心脑血管病杂志,2020,22(5):479-482.
- [13] Pascual-Figal DA, Bayes-Genis A, M Díez-Díez, et al. CLonal Hematopoiesis and Risk of Progression of Heart Failure With Reduced Left Ventricular Ejection Fraction [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2021, 77(14):1747-1759.
- [14] 于越,许菲,周芳,等.沙库巴曲缬沙坦治疗射血分数降低心力衰竭患者的回顾性研究[J].南京医科大学学报(自然科学版),2020,40(5):697-701.
- [15] 夏玲,黄治霞,刘东,等.慢性心力衰竭患者实验室指标与心功能水平相关性研究[J].华南预防医学,2020,46(4):447-449.

(上接第679页)

- [2] 程瑶瑶,李建辉,王淳,等. PCOS患者GDF-9、BMP-15、BAX表达特点及其与卵巢储备功能的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(2):225-228+233.
- [3] 常惠,潘玲文秀,王喜军,等.代谢综合征不同组分对多囊卵巢综合征不孕患者排卵结局的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(11):494-498.
- [4] 季晓媛,王佳怡,赵纯,等.不同内膜准备方案对多囊卵巢综合征患者冻融胚胎移植周期临床结局的影响[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2019,38(1):18-21.
- [5] 谷牧青,李扬璐,程姣姣,等.达英-35对多囊卵巢综合征患者代谢与性激素的影响[J].首都医科大学学报,2019,40(4):560-565.
- [6] 张丽,李友云,王永超,等.外周血miR-21-5p表达对多囊卵巢综合征不孕患者人工授精结局的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):87-90.
- [7] 李红然,张育婧,李春美,等.多囊卵巢综合征不孕患者血清抗苗勒管激素水平与药物诱导排卵反应的关系[J].中华实用诊断与治疗杂志,2020,5(3):308-311.
- [8] 李砚,王运萍,姚念玲,等.达英-35联合二甲双胍治疗多囊卵巢综合征对性激素、胰岛素抵抗的影响[J].海南医学,2019,30(17):33-35.
- [9] 李亚,刘敬,谢丽娟,等.不同扳机方式对多囊卵巢综合征高反应患者体外受精胚胎移植结局的影响[J].中国循证医学杂志,2019,6(9):1024-1029.
- [10] 吴亚琴,金芙蓉.尿促性素联合来曲唑对多囊卵巢综合征患者性激素水平及妊娠状况的影响[J].中国妇幼保健,2020,35(15):2853-2855.
- [11] 陈艳,李源,李海静.阿司匹林联合地屈孕酮治疗多囊卵巢综合征的临床疗效[J].安徽医学,2020,41(5):89-92.
- [12] Grzesiak M, Burzawa G, Kurowska P, et al. Altered vitamin D3 metabolism in the ovary and periovarian adipose tissue of rats with letrozole-induced PCOS [J]. Histochem Cell Biology, 2021, 155(9):1-16.
- [13] 江璐,蔡冬明,张海洲.甘草素对来曲唑诱导的多囊卵巢综合征大鼠的保护作用及机制研究[J].中国医院药学杂志,2020,40(7):77-80+85.
- [14] 赵晓丹,郑晓红,许晓立,等.腹腔镜下卵巢打孔术联合来曲唑治疗难治性多囊卵巢综合征对患者卵巢储备功能及卵巢间质血流动力学的影响[J].河北医药,2020,42(17):51-54.
- [15] 张伟,韩毓,曹学智,等.地屈孕酮片联合阿司匹林肠溶片治疗多囊卵巢综合征的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2019,35(3):30-33.

• 论 著 •

急性心肌梗死患者血清 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 水平与 LVEF 的关系

刘金林* 赵世林 肖竹青

【摘要】目的 分析急性心肌梗死(AMI)患者血清 N 端脑钠肽前体(NT-proBNP)、血管内皮生长因子(VEGF)、氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)水平与左室射血分数(LVEF)的关系。**方法** 选取2018年6月至2019年8月北京市大兴区中西医结合医院收治的112例AMI患者为研究对象,入院时进行超声心电图检查,根据检查结果将患者分为心功能正常组($n=57$)与心功能不全组($n=55$),检测两组血清 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 水平,分析其与 LVEF 的相关性,并采用 ROC 曲线分析 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 对心功能不全的诊断效能。**结果** 心功能不全组 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 水平显著高于心功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。心功能不全组的 LVEF 显著低于心功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。NT-proBNP、VEGF 及 ox-LDL 同 LVEF 呈负相关($P<0.05$)。NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 对 LVEF 的 AUC 分别为 0.809、0.753、0.934,且 ox-LDL 的 AUC 高于 VEGF 及 NT-proBNP($P<0.05$)。**结论** NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 水平在急性心肌梗死心功能不全患者中表达较高,三者同 LVEF 均呈负相关,ox-LDL 可作为 AMI 患者心功能不全诊断的敏感标志物。

【关键词】 N 端脑钠肽前体; 血管内皮生长因子; 氧化型低密度脂蛋白; 急性心肌梗死; 左室射血分数

Relationship between serum NT-proBNP, VEGF and ox-LDL levels and LVEF in patients with AMI

LIU Jinlin*, ZHAO Shilin, XIAO Zhuqing

(Beijing Daxing District Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Beijing, China, 100076)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the relationship between serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), vascular endothelial growth factor (VEGF) and oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) levels and left ventricular ejection fraction (LVEF) in patients with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** 112 patients with AMI admitted to Beijing Daxing District Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine were selected as the research subjects between June 2018 and August 2019. All underwent echocardiography at admission. According to the examination results, patients enrolled were divided into the normal cardiac function group ($n=57$) and the cardiac insufficiency group ($n=55$). Serum NT-proBNP, VEGF and ox-LDL levels were detected, and their correlation with LVEF were analyzed. The diagnostic efficiencies of NT-proBNP, VEGF and ox-LDL for cardiac insufficiency were analyzed using the ROC curve. **Results** The levels of NT-proBNP, VEGF and ox-LDL in the cardiac insufficiency group were significantly higher than those in the normal cardiac function group, with statistically significant differences ($P<0.05$). The LVEF in the cardiac insufficiency group was significantly higher than that in the normal cardiac function group, with statistically significant difference ($P<0.05$). NT-proBNP, VEGF and ox-LDL were negatively correlated with LVEF ($P<0.05$). The AUC values of NT-proBNP, VEGF and ox-LDL to diagnose cardiac insufficiency were 0.809, 0.753 and 0.934, respectively. The AUC of ox-LDL was higher than that of VEGF or NT-proBNP ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of NT-proBNP, VEGF and ox-LDL are highly expressed in patients with

基金项目:北京市大兴区科技发展规划项目(KT2016000414)

作者单位:北京市大兴区中西医结合医院,北京 100076

*通信作者:刘金林, E-mail:liuchangliu2001@sina.com

cardiac insufficiency in acute myocardial infarction, and all three are negatively correlated with LVEF. ox-LDL can be used as a sensitive marker for the diagnosis of cardiac insufficiency in patients with AMI.

[KEY WORDS] NT-proBNP; ox-LDL; NT-proBNP; AMI; LVEF

急性心肌梗死(Acute Myocardial Infarction, AMI)在老年人中发生率较高,具有发病快、死亡率和致残率极高、病情凶险等特征,严重威胁患者生命安全^[1-2]。临床上常用于检测AMI的手段为心电图检测,其中左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)作为反映心室射血功能的重要指标,与心肌收缩能力密切相关,当LVEF低于50%时视为心功能不全^[3-5]。研究表明血清N端脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)水平同AMI患者心功能密切相关,且对心血管疾病的诊断及预后都具有较大价值。孙亚武等人^[6]研究发现AMI患者的血清NT-proBNP可预测发病后的左心室重构情况。顾遵才等人^[7]研究表明血清VEGF可作为不良心脏事件的预测指标。国外临床表明,循环ox-LDL水平同缺血性脑卒中、冠状动脉再狭窄及急性心肌梗死存在直接相关性^[8]。本研究将通过检测急性AMI患者血清NT-proBNP、VEGF、ox-LDL水平,分析其与LVEF的关系,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2018年6月至2019年8月北京市大兴区中西医结合医院收治的112例AMI患者为研究对象,根据美国心脏彩超学会的建议^[9],结合入院时患者的超声心电图检查结果将55例患者为心功能不全组(LVEF<0.50),57例患者为心功能正常组(LVEF≥0.50)。其中,心功能不全组男39例,女16例;平均年龄(61.28±2.52)岁;平均入院发病时间(8.02±0.65)h;心功能正常组男40例,女17例;平均年龄(61.32±2.49)岁;平均入院发病时间(8.05±0.61)h。纳入标准:①参考世界卫生组织急性心肌梗死的诊断标准^[10];②持续胸痛在半小时以上;③肌钙蛋白I或心肌酶升高两倍以上(同正常上限相比);④心电图检查显示胸导联抬高高于2 mV,有两个以上相邻的导联ST段肢体导联抬高高于1 mV。排除标准:①血栓性疾病、肾功能不全、心脏瓣膜病、肿瘤、扩张性心肌病患者;②配

合度较差的患者;③患有严重精神类疾病,有明显自残倾向,或反复受伤者;④中途退出此次研究者。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经院伦理委员会同意,患者或家属签署出具相关知情同意书。

1.2 方法

患者入院后采用超声心电图检测仪(荷兰飞利浦,探头型号:S5-1)检测LVEF水平,频率为3.5~5.5 Hz。根据检查结果确定分组,LVEF<50%为心功能不全组,LVEF≥50%为心功能正常组。采用NT-proBNP检测仪(德国罗氏,型号:E-170)检测两组NT-proBNP水平,所用试剂购自武汉明德生物科技股份有限公司;采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测患者VEGF及ox-LDL水平,所用试剂购自上海生工生物工程有限公司。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.00统计软件进行数据分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,进行 t 检验;相关性分析采用Pearson检验;采用ROC曲线评估诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清指标比较

心功能不全组NT-proBNP、VEGF、ox-LDL水平显著高于心功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清指标比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	NT-proBNP (pg/mL)	VEGF (μg/L)	ox-LDL (mmol/L)
心功能不全组	55	621.25±114.63	96.63±6.25	3.96±0.31
心功能正常组	57	452.57±105.31	85.27±10.93	3.11±0.43
<i>t</i> 值		8.114	6.720	11.963
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组LVEF水平比较

心功能不全组的LVEF水平显著低于心功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

2.3 NT-proBNP、VEGF及ox-LDL同LVEF的相关性分析

采用Pearson相关分析法分析NT-proBNP、

表2 两组LVEF水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of LVEF between the two groups

组别	n	LVEF
心功能不全组	55	37.27±10.13
心功能正常组	57	59.12±8.25
t值		12.537
P值		<0.001

VEGF及ox-LDL同LVEF的相关性,结果显示NT-proBNP、VEGF、ox-LDL同LVEF呈负相关($r=-0.403$ 、 -0.528 、 -0.516 , $P<0.05$)。

2.4 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL对LVEF的诊断价值

NT-proBNP、VEGF、ox-LDL对LVEF的AUC分别为0.809、0.753、0.934,且ox-LDL的AUC高于NT-proBNP及VEGF($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL对LVEF的诊断价值

Table 3 The diagnostic value of NT-proBNP, VEGF and ox-LDL for LVEF

指标	敏感度	特异度	AUC	95%CI
NT-proBNP(pg/mL)	0.564	0.895	0.809	0.724~0.877
VEGF(μ g/L)	0.927	0.544	0.753	0.663~0.830
ox-LDL(mmol/L)	0.982	0.737	0.934	0.871~0.972

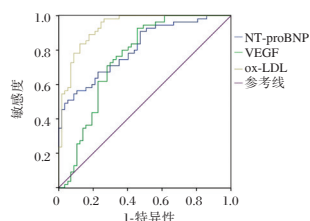


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

随着近年来人们物质生活水平的逐渐提高,生活方式出现较大变化,高油脂、高糖饮食及长时间静坐等日常生活习惯的养成,促使心脑血管疾病发病率较高,严重威胁人们生命安全。AMI主要是由冠状动脉出现粥样斑块性破裂,导致血栓形成,冠状动脉被阻塞,出现持续且严重的局部心肌缺血甚至坏死所致^[11]。患者发病后心肌酶水平升高,心电图也会发生明显变化,所以一般通过影像学检测手段可帮助确诊,但所需时间较长,可能延误最佳治疗时机^[12]。因此,心功能标志物对AMI患者的早期诊断、治疗及预后都具有重要意义。

NT-proBNP作为一种由心室分泌的诊断心脏功能的标志物,同BNP相比,半衰期较长,且无生

理活性,稳定性较高,更适用于临床检验。NT-proBNP广泛分布于心肌细胞和心房中,属于多肽类激素,具有抑制交感神经、扩管、利尿、排钠等作用,对于维持正常的心脏功能和结构也具有积极意义^[13]。VEGF是一种功能强大且作用效应多样的细胞因子,具有提高血管通透性、促进内皮细胞增殖及促进血管生成等特点,在改善AMI患者心肌缺血方面起着重要作用^[14]。ox-LDL参与冠状动脉粥样硬化的发展过程,在诱发内皮细胞产生损伤后继而促进冠状动脉粥样硬化的发生^[15]。本研究结果表明,心功能不全组NT-proBNP、VEGF、ox-LDL水平显著高于心功能正常组,LVEF显著低于心功能正常组。推测血清NT-proBNP、VEGF、ox-LDL水平作为评价心功能的常用指标,可能参与AMI发病过程,其水平的升高反映患者心功能遭到破坏。另外,本研究发现VEGF同LVEF呈负相关,推测可能是当血管受到损伤后,新生成的血管中约有四分之一的内皮细胞是由血管中的内皮祖细胞分化产生,缺血及组织损伤促使炎症细胞和实质细胞合并进而大量释放VEGF来促进新血管生成,导致机体血清VEGF水平升高,但与此同时心肌供血不足导致心脏射血功能异常,LVEF降低,因此VEGF同LVEF呈负相关。张名扬等^[16]人报道,AMI患者中NT-proBNP与LVEF呈负线性相关,与本文研究结果一致。AMI心功能不全患者因疾病影响刺激NT-proBNP大量分泌,血清NT-proBNP水平升高,同时由于冠状动脉粥样斑块破裂致使血清ox-LDL水平升高,而ox-LDL又易被吞噬细胞吞噬,产生泡沫细胞,损伤内皮细胞,促进内皮素释放,内皮素作为持久且强烈的缩血管类多肽,可促使冠状动脉痉挛,加剧心肌缺血,导致心脏射血功能障碍,LVEF降低,进一步证实本研究的NT-proBNP、ox-LDL与LVEF呈负相关这一结论,同上述报道的研究结果相似。研究结果证实ox-LDL可作为诊断AMI患者心功能不全的标志物。

综上所述,NT-proBNP、VEGF、ox-LDL水平在急性心肌梗死心功能不全患者中表达较高,三者同LVEF均呈负相关,其中ox-LDL可用于AMI患者心功能不全的诊断。

参考文献

- [1] 黄东辉,张文良,孙皓,等.辽宁省农村地区急性心肌梗死患者院前延迟时间影响因素研究[J].中国全科医学,2018,21(20):2469-2474. (下转第692页)

龈沟液中 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平与牙周牙髓联合病变病情程度及治疗效果的关系

张雪楠 曲妍 王立新*

[摘要] 目的 探讨龈沟液中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)、内毒素(LPS)水平与牙周牙髓联合病变病情程度、治疗效果的关系。方法 选取首都医科大学附属北京康复医院2020年1月至2021年8月收治的牙周牙髓联合病变患者96例作为研究对象,根据临床附着水平(CAL)分为轻度25例、中度41例、重度30例,比较不同病情程度患者龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平,采用单因素、多因素分析牙周牙髓联合病变患者疗效的影响因素,受试者工作特征(ROC)曲线探讨龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS对疗效的预测价值。结果 龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平随病情程度增加呈升高趋势,重度患者>中度患者>轻度患者,比较差异有统计学意义($P<0.05$);单因素分析:不同疗效患者病程、病情程度、治疗2、4周后显效者龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$);多因素分析:病程>3年、病情程度为重度、治疗2周后、治疗4周后龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平是牙周牙髓联合病变患者疗效的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析治疗2周后、治疗4周后龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS均具有一定预测价值,治疗4周后龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS联合预测AUC(0.933)>治疗2周后(0.882),敏感度为84.81%,特异度为94.12%。结论 龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平随牙周牙髓联合病变病情加重而升高,是影响牙周牙髓联合病变患者疗效的独立危险因素,三者联合检测在疗效评估中具有较高预测价值。

[关键词] 牙周牙髓联合病变;白细胞介素-1 β ;超敏C反应蛋白;内毒素;牙周指数

Relationship between the levels of IL-1 β , hs-CRP, LPS in gingival crevicular fluid and the severity of combined periodontal and pulpal lesions and the therapeutic effect

ZHANG Xuenan, QU Yan, WANG Lixin*

(Department of Stomatology, Beijing Rehabilitation Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100144)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the levels of interleukin-1 β (IL-1 β), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and endotoxin (LPS) in gingival crevicular fluid and the severity of combined periodontal and pulpal lesions and the therapeutic effect. **Methods** A total of 96 patients with periodontal and endodontic lesions who were admitted to Beijing Rehabilitation Hospital affiliated to Capital Medical University from January 2020 to August 2021 were selected as the research subjects. According to the clinical attachment level (CAL), they were divided into mild 25 cases and moderate 41 cases. 30 cases of severe, gingival crevicular fluid IL-1 β , hs-CRP and LPS levels of patients with different disease degrees were compared, and univariate and multivariate analysis were used to analyze the influencing factors of curative effect in patients with periodontal and endodontic lesions, and receiver operating characteristics (ROC) curve was used to investigate gingival crevicular fluid IL-1 β Predictive value of hs-CRP and LPS for efficacy. **Results** The levels of IL-1 β , hs-CRP and LPS in gingival crevicular fluid tended to increase with the severity of the disease. Severe patients > moderate patients > mild patients, and the difference was statistically significant

基金项目:科技发展专项立项任务(2020-048)

作者单位:首都医科大学附属北京康复医院口腔科,北京100144

*通信作者:王立新, E-mail: wanglixinlilly@sina.com

($P<0.05$). There were statistically significant differences in the course of disease, the degree of disease, and the levels of IL-1 β , hs-CRP, and LPS in the gingival crevicular fluid of the markedly effective patients after 2 weeks of treatment and 4 weeks after treatment ($P<0.05$). Multivariate analysis: disease duration >3 years, severe disease severity, gingival crevicular fluid IL-1 β , hs-CRP and LPS levels after 2 weeks of treatment and 4 weeks after treatment were independent risk factors for the curative effect of patients with periodontal-endodontic combined lesions ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that IL-1 β , hs-CRP, and LPS in gingival crevicular fluid had certain predictive value after 2 weeks and 4 weeks after treatment. The combination of IL-1 β , hs-CRP and LPS in gingival crevicular fluid predicted AUC after 4 weeks of treatment (0.933) $>$ after 2 weeks of treatment (0.882), the sensitivity was 84.81%, and the specificity was 94.12%. **Conclusion** The levels of IL-1 β , hs-CRP and LPS in gingival crevicular fluid increase with the exacerbation of periodontal and pulp lesions. They are the independent risk factors for the efficacy of patients with combined periodontal and pulp disease.

[KEY WORDS] Combined periodontal-endodontic lesions; IL-1 β ; hs-CRP; LPS; Periodontal index

牙周牙髓联合病变患病率随我国人口老龄化趋势加剧呈明显升高态势,严重影响患者生活质量^[1-2]。相关研究发现,炎症反应是牙周牙髓联合病变的关键因素,机体遭受致病菌细胞中脂多糖刺激,促使白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、超敏C反应蛋白(High sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)等炎症因子合成释放,进而破坏牙齿支持组织,诱发一系列病理改变^[3-4]。但关于龈沟液中L-1 β 、hs-CRP、内毒素(Lipolysaccharide, LPS)与病情及疗效关联性鲜有研究。本研究首次分析龈沟液中L-1 β 、hs-CRP、LPS水平与牙周牙髓联合病变患者病情程度、治疗效果的关系。报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取首都医科大学附属北京康复医院2020年1月至2021年8月收治的牙周牙髓联合病变患者96例作为研究对象,均经症状、查体及X线片检查明确诊断,且符合《牙周病学第四版》中的诊断标准^[5]。排除根管变异、钙化者;排除妊娠期或哺乳期女性;排除急性牙周炎脓肿、龋齿、隐裂或装有正畸装置者;排除精神行为异常者。其中男53例,女43例;年龄平均(52.31 $\pm$ 5.49)岁;体质指数平均(22.84 $\pm$ 2.05)kg/m²;病程平均(2.90 $\pm$ 0.58)年;根据临床附着水平(CAL)^[6]分为轻度25例、中度41例、重度30例。所有患者均知情本研究,且自愿签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会审批同意。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

在根管治疗1周后行全口龈下刮治术与根面平整术。取局部麻醉,在牙周探针指导下使用手动

刮治器行龈下刮治与根面平整,于24 h内完成,上午实施单侧2象限内刮治,下午实施对侧2象限内刮治,刮治结束后观察根面,保证完全清除牙石,根面光滑坚硬,最后应用过氧化氢溶液(3.0%)、氯化钠溶液(0.9%)反复交替冲洗牙周袋,并将盐酸米诺环素软膏置入牙周袋内,加强口腔卫生指导。

1.2.2 检测方法

餐后120 min,采集龈沟液,具体步骤:清除龈沟液收集部位龈上牙石与菌斑,清水漱口后,棉卷隔湿,轻吹牙龈60 s,将无菌滤纸条(2 mm $\times$ 8 mm)插入牙体近中、远中、颊侧、舌侧龈沟位置,遇轻微阻力时停止,停留30 s后取出,每次测量间隔时间20 min。同一患者所有龈沟液滤纸均置入同一微离心管内,电子天平称其重量,与采集前微离心管重量相减,获取龈沟液重量(误差 $d=0.000$ 1 g)^[7]。每只冻存管仅收集1例患者龈沟液,在4 $^{\circ}$ C条件下以5 000r/min的速率离心3 min,半径3 cm,取上清液,在-70 $^{\circ}$ C冰箱低温保存。采用酶联免疫吸附法检测龈沟液IL-1 β 水平,试剂盒购自艾美捷科技有限公司,货号:583311-96;采用全自动微粒子化学发光免疫分析仪(美国雅培公司)以化学发光免疫法检测龈沟液hs-CRP水平,试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司;采用鲎试剂法检测龈沟液LPS水平,试剂盒购自上海坤肯生物化工有限公司。所有检测操作步骤均根据仪器、试剂盒说明书进行,且均由同一检查者完成。

1.3 疗效判定标准^[8]

疗效评估均由同一检查者完成。炎症与自觉症状基本消失,牙龈出血、红肿消失,牙周袋、牙齿咀嚼功能恢复正常为显效;炎症好转,自觉症状明显减轻,牙龈出血、红肿减轻,牙周袋变浅,牙齿咀嚼功能改善为有效;未达到显效、有效为无效。总

有效率=显效率+有效率。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件分析处理数据,计数资料用 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD- t 检验,通过 Logistic 进行多因素回归分析,采用 ROC 曲线分析预测价值, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病情程度患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平

龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平随病情程度增加呈升高趋势,重度患者>中度患者>轻度患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同病情程度患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 IL-1 in gingival crevicular fluid of patients with different disease severity β 、Comparison of hs CRP and LPS levels ($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	IL-1 β (ng/mL)	hs-CRP(ng/mL)	LPS($\times 10^7$ EU/L)
轻度患者	25	6.89 $\pm$ 1.04	9.26 $\pm$ 1.45	5.15 $\pm$ 0.87
中度患者	41	8.03 $\pm$ 1.21	12.13 $\pm$ 2.03	7.36 $\pm$ 1.32
重度患者	30	10.34 $\pm$ 1.68	15.07 $\pm$ 2.81	10.59 $\pm$ 1.72
F 值		48.977	48.397	111.666
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 牙周牙髓联合病变患者疗效的单因素分析

不同疗效患者病程、病情程度、治疗 2 周后、治疗 4 周后显效者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 牙周牙髓联合病变患者疗效的多因素分析

以牙周牙髓联合病变患者疗效作为自变量,单因素纳入 Logistic 回归模型,结果显示,病程>3 年、病情程度为重度、治疗 2、4 周后龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平是牙周牙髓联合病变患者疗效的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 对疗效的预测价值

ROC 曲线分析,龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 联合治疗 2 周后 AUC 值为 0.882,治疗 4 周 AUC 为 0.933,优于单一指标治疗($P < 0.05$)。见表 4、图 1。

3 讨论

IL-1 β 可刺激造血细胞、T、B 细胞增殖、分化,抑制金属蛋白酶活性,激活宿主细胞对细菌感染的免疫反应。本研究结果显示,重度牙周牙髓联合病变患者龈沟液中 IL-1 β 水平高于中度患者、轻度患者,且通过比较可知治疗 4 周后显效者龈沟液 IL-1 β 水平明显低于有效者、无效者,这可能归因于 IL- β 水平升高,可诱导成纤维细胞胶原酶、IL-6 释放,增加白细胞、巨噬细胞含量,进而参与细胞外基质分解、代谢、牙周免疫破坏过程;而牙周常

表 2 牙周牙髓联合病变患者疗效的单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 single factor analysis of curative effect in patients with combined periodontal and dental pulp lesions [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

	资料	显效($n=52$)	有效($n=27$)	无效($n=17$)	F/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	≥ 60	44(84.62)	23(85.19)	14(82.35)	0.068	0.966
	< 60	8(15.38)	4(14.81)	3(17.65)		
性别	男	29(55.77)	15(55.56)	9(52.94)	0.043	0.979
	女	23(44.23)	12(44.44)	8(47.06)		
体质指数(kg/m 2)	≥ 24	27(51.92)	14(51.85)	8(47.06)	0.131	0.937
	< 24	25(48.08)	13(48.15)	9(52.94)		
病程(年)	< 3	40(76.92)	12(44.44)	6(35.29)	13.291	0.001
	≥ 3	12(23.08)	15(55.56)	11(64.71)		
病情程度	轻度	17(32.69)	6(22.22)	2(11.76)	8.863	0.031
	中度	26(50.00)	10(37.04)	5(29.41)		
	重度	9(17.31)	11(40.74)	10(58.82)		
龈沟液 IL-1 β (ng/mL)	治疗前	8.31 $\pm$ 1.72	8.52 $\pm$ 1.65	8.81 $\pm$ 1.50	0.604	0.549
	治疗 2 周后	6.46 $\pm$ 0.79	7.28 $\pm$ 0.93	8.08 $\pm$ 1.12	23.167	<0.001
	治疗 4 周后	5.27 $\pm$ 0.55	6.36 $\pm$ 0.70	7.21 $\pm$ 0.87	64.059	<0.001
龈沟液 hs-CRP(ng/mL)	治疗前	12.17 $\pm$ 1.63	12.33 $\pm$ 1.81	12.64 $\pm$ 2.02	0.466	0.629
	治疗 2 周后	8.14 $\pm$ 1.57	9.92 $\pm$ 1.80	11.79 $\pm$ 2.14	30.494	<0.001
	治疗 4 周后	5.91 $\pm$ 1.06	7.65 $\pm$ 1.37	9.44 $\pm$ 1.85	50.396	<0.001
龈沟液 LPS($\times 10^7$ EU/L)	治疗前	7.78 $\pm$ 1.18	7.72 $\pm$ 1.35	7.94 $\pm$ 1.41	0.161	0.852
	治疗 2 周后	4.45 $\pm$ 1.09	5.97 $\pm$ 1.53	7.13 $\pm$ 1.22	34.045	<0.001
	治疗 4 周后	2.76 $\pm$ 0.82	4.06 $\pm$ 1.31	6.28 $\pm$ 2.09	50.742	<0.001

表3 牙周牙髓联合病变患者疗效的多因素分析

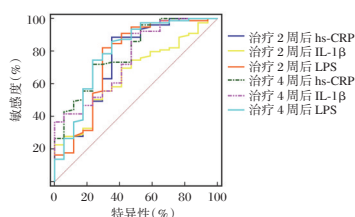
Table 3 multivariate analysis of curative effect in patients with combined periodontal and pulp lesions

变量	β 值	S.E. 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
病程>3年	0.803	0.306	6.884	2.232	1.523~3.271	<0.001
病情程度为重度	1.269	0.351	13.067	3.557	2.069~6.114	<0.001
治疗2周后 IL-1 β	1.022	0.314	10.594	2.779	1.805~4.278	<0.001
治疗2周后 hs-CRP	1.374	0.402	11.679	3.950	2.151~7.255	<0.001
治疗2周后 LPS	1.261	0.368	11.741	3.529	1.746~7.132	<0.001
治疗4周后 IL-1 β	1.246	0.329	14.342	3.476	2.001~6.039	<0.001
治疗4周后 hs-CRP	1.683	0.436	14.900	5.382	3.210~9.022	<0.001
治疗4周后 LPS	1.759	0.504	12.176	5.805	3.028~11.127	<0.001

表4 ROC 分析结果

Table 4 ROC analysis results

指标	AUC	95% CI	Z 值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P 值
治疗2周后 IL-1 β	0.658	0.554~0.752	2.248	≤ 7.21 ng/mL	69.62	58.82	0.025
治疗2周后 hs-CRP	0.750	0.651~0.833	3.264	≤ 11.70 ng/mL	88.61	64.71	0.001
治疗2周后 LPS	0.758	0.660~0.840	3.248	$\leq 6.44 \times 10^7$ EU/L	82.28	70.59	0.001
联合治疗2周后	0.882	0.801~0.939	6.560	<0.001	93.67	76.47	0.882
治疗4周后 IL-1 β	0.754	0.655~0.836	3.834	≤ 7.58 ng/mL	91.14	52.94	<0.001
治疗4周后 hs-CRP	0.793	0.698~0.869	4.749	≤ 7.70 ng/mL	72.15	76.47	<0.001
治疗4周后 LPS	0.792	0.697~0.868	4.110	$\leq 4.30 \times 10^7$ EU/L	74.68	76.47	<0.001
联合治疗4周后	0.933	0.863~0.974	16.035	<0.001	84.81	94.12	0.933

图1 龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 对疗效的预测价值Figure 1 gingival crevicular fluid IL-1 β 、Predictive value of hs CRP and LPS in curative effect

规治疗有助于抑制局部牙龈表面牙菌斑沉积,控制局部炎症发展,改善牙周、牙髓碱性微环境,从而促进牙体修复^[9]。进一步绘制 ROC 曲线分析可知,龈沟液中 IL-1 β 预测治疗4周后疗效敏感度高达 91.14%,说明龈沟液 IL-1 β 可作为评估牙周牙髓联合病变患者疗效的敏感性指标。

hs-CRP 是一种反映全身炎症反应的敏感因子,研究认为,其水平变化可有效反映牙周组织损伤情况^[10]。本研究发现,龈沟液中 hs-CRP 水平随病情程度加重呈上升趋势,与蔡洁明等^[11]报道相似,这可能是由于龈沟液 hs-CRP 水平表达上调,可促使局部中性粒细胞酶释放,进而破坏牙体骨质成分,诱导牙周、牙龈组织细胞凋亡,改变牙周微生物环境,从而加重牙周、牙髓组织损伤。进一步经 ROC 曲线发现,当最佳截断值为 7.70 ng/mL 时,治疗4周后龈沟液 hs-CRP AUC 最大,为 0.793,

与薛媛等^[12]观点一致,有力佐证了龈沟液 hs-CRP 有望成为牙周牙髓联合病变治疗的新靶点。

Raheja J 等^[13]认为 LPS 是牙周炎引发牙周牙髓联合病变的重要因素之一。同时报道还显示,LPS 含量在牙周、牙髓病变患者牙髓组织中呈异常高表达状态,支持本研究观点^[14-16]。说明龈沟液 LPS 参与牙周牙髓联合病变的发生、发展。考虑机制在于 LPS 水平上调,不仅可直接作用于牙髓组织,诱导血小板向血管内皮细胞黏附、聚集,从而增加弥漫性血管内凝血发生率,还能抑制细胞增殖,刺激牙髓、牙本质,继而影响牙髓细胞损伤修复。本研究结果显示,治疗4周后龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 联合预测 AUC 均高于上述指标单一预测,且预测特异度高达 94.12%,可见临床通过动态监测龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平,有助于评估牙周牙髓联合病变疗效。

综上可知,龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平随牙周牙髓联合病变病情加重而升高,是影响牙周牙髓联合病变疗效的独立危险因素,三者联合检测在疗效评估中具有较高预测价值,有望成为治疗牙周牙髓联合病变的新的参考指标。

参考文献

- [1] 沈玥,古丽努尔·阿吾提. 影响牙周-牙髓联合病变预后的相关因素研究进展[J]. 口腔医学, 2016, 36(8): 765-768.
- [2] 范美君,王金龄,赵焱. 盐酸米诺环素软膏局部用药联合 Vitapex 糊剂根管注射治疗牙周牙髓联合病变患者疗效观

- 察[J]. 中国地方病防治杂志, 2018, 33(3): 337-339.
- [3] 颜孟雄, 黄婧, 杨再波. 慢性牙周炎龈沟液 IL-10、IL-23、MCP-1 与牙周指数的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(2): 255-258.
- [4] 侯佳, 杨建新. 清胃散火汤辅助 Vitapex 糊剂根管充填治疗牙周-牙髓联合病变疗效及对 PAI、PPD、CAL 和炎症因子的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(18): 1954-1957.
- [5] 孟焕新. 牙周病学第四版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 189-194.
- [6] Rodríguez Franco NI, Moral de la Rubia J, Alcázar Pizaña AG. Predictive Model of Clinical Attachment Loss and Oral Health-Related Quality of Life through Depressive Symptomatology, Oral Hygiene Habits, and Proinflammatory Biomarkers: A Pilot Study[J]. Dent J (Basel), 2020, 8(1): 20.
- [7] 薛媛, 赵文峰, 刘继延. 龈沟液中 MCP-1 联合 hs-CRP 对牙周炎疗效评价的临床意义[J]. 临床口腔医学杂志, 2017, 33(9): 553-556.
- [8] 闫福华. 牙周-牙髓联合病变的规范化诊疗[J]. 中华口腔医学杂志, 2014, 49(3): 133-137.
- [9] 赵燕娟, 李荣华, 任刚, 等. 低能量激光联合牙周基础治疗对种植体周围炎龈沟液中 IL-8、b-FGF 及 IL-1 β 水平的影响[J]. 国际生物医学工程杂志, 2019, 42(2): 130-133.
- [10] 彭曼斯, 韩淋畴, 何升腾, 等. 清胃固齿汤联合米诺环素治疗慢性牙周炎疗效以及对菌群代谢的影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(7): 1739-1742.
- [11] 蔡洁明, 杨伟明, 舒传继, 等. 牙周基础治疗对牙周炎病人 PLI、PD 及静脉血和龈沟液中 hs-CRP 表达水平的影响[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(7): 915-918.
- [12] 薛媛, 赵文峰, 刘继延. 龈沟液中 MCP-1 联合 hs-CRP 对牙周炎疗效评价的临床意义[J]. 临床口腔医学杂志, 2017, 33(9): 553-556.
- [13] Raheja J, Tewari S, Tewari S, et al. Evaluation of Efficacy of Chlorhexidine Intracanal Medicament on the Periodontal Healing of Concomitant Endodontic-Periodontal Lesions Without Communication: An Interventional Study[J]. J Periodontol, 2014, 85(8): 1019-1026.
- [14] Tominari T, Ichimaru R, Yoshinouchi S, et al. Effects of O-methylated (-) - epigallocatechin gallate (EGCG) on LPS-induced osteoclastogenesis, bone resorption, and alveolar bone loss in mice[J]. FEBS Open Bio, 2017, 7(12): 1972-1981.
- [15] 吴忠敏, 简从相, 李晨军, 等. 低氧条件下红景天苷对脂多糖诱导牙周膜细胞表达活性氧及炎症因子的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2016, 26(5): 288-293.
- [16] 张静, 魏琳, 李九军, 等. 自锁托槽矫治器对正畸患者龈沟液炎症因子水平的影响[J]. 实验与检验医学, 2019, 37(2): 233-235+303.

(上接第 687 页)

- [2] 李小娟, 曹劝省, 汪砚雨. 急性心肌梗死 PCI 术后患者的血清 NT-proBNP、ICTP、MMP-9 水平及其临床意义研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1): 31-34+48.
- [3] Miranda DF, Lobo AS, Walsh B, et al. New Insights Into the Use of the 12-Lead Electrocardiogram for Diagnosing Acute Myocardial Infarction in the Emergency Department[J]. Can J Cardiol, 2018, 34(2): 132-145.
- [4] 赵聪, 何青. 急性心肌梗死诊断新型标志物的应用进展[J]. 中华全科医师杂志, 2016, 15(9): 725-730.
- [5] 吕亚峰, 廉湘琳. 心电图 T 波动态变化与急性心肌梗死患者左心室射血分数的关联性分析[J]. 中国地方病防治杂志, 2017, 32(10): 1122-1123.
- [6] 孙亚武, 陆曙. 急性心肌梗死后不同时点血浆 NT-proBNP 水平与左心室重构相关性的比较[J]. 临床心血管病杂志, 2015, 31(12): 1291-1292.
- [7] 顾遵才, 李勋, 王正忠, 等. 血清血管内皮生长因子 B 检测在急性心肌梗死患者预后评判中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(6): 611-614.
- [8] Itabe H, Kato R, Sawada N, et al. The significance of oxidized low-density lipoprotein in body fluids as a marker related to diseased conditions[J]. Curr Med Chem, 2019, 26(9): 1576-1593.
- [9] Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2015, 28(1): 1-39.
- [10] 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.
- [11] Hanifi N, Rezaee E, Rohani M. Time-to-Treatment and Its Association With Complications and Mortality Rate in Patients With Acute Myocardial Infarction: A Prospective Cohort Study[J]. J Emerg Nurs, 2021, 47(2): 288-298.
- [12] 潘延平, 王海燕. 床旁快速心梗三合一检查在急性心肌梗死诊断中的临床应用价值[J]. 陕西医学杂志, 2016, 45(5): 566-567.
- [13] Shehata M, Samir A, Dardiri M. Prognostic impact of intensive statin therapy on N-terminal pro-BNP level in non-ST-segment elevation acute myocardial infarction patients[J]. J Interv Cardiol, 2017, 30(6): 514-521.
- [14] 戚凤君, 张涛, 董志, 等. 瑞舒伐他汀对经皮冠状动脉介入治疗的急性心肌梗死患者炎症因子与血管内皮细胞因子的影响[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(12): 1887-1890.
- [15] 李宝亮, 苏华, 马俊帅, 等. 氧化修饰低密度脂蛋白和 I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶的表达式与急性心肌梗死患者冠状动脉斑块稳定性的关系[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(17): 1841-1843+1847.
- [16] 张明扬, 赵艳军, 李富利, 等. NT-proBNP 和左心室射血分数对急性心肌梗死危险程度的早期评估[J]. 中国医药导刊, 2017, 19(10): 997-1001.

· 论 著 ·

2型糖尿病患者 miR-375、miR-126 表达水平及与胰岛素抵抗关系

翟倩倩* 覃艳 朱云峰 王涛

【摘要】目的 探究2型糖尿病(T2DM)患者微小RNA-375(miR-375)、miR-126表达水平及其与胰岛素抵抗的关系。**方法** 选择2019年1月至2019年12月新乡医学院第一附属医院收治的80例T2DM患者,根据空腹血糖(FPG)及口服葡萄糖耐量试验(OGTT)结果分为T2DM前期组32例、T2DM组48例,另选择血糖、血脂正常的40例健康人为对照组,检测各组miR-375、miR-126、空腹血糖(FPG)、空腹血胰岛素(FIns)水平,计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),分析miR-375、miR-126水平与HOMA-IR的关系。**结果** FPG、餐后2h血糖(2hPG)、HOMA-IR、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、FIns及miR-375表达水平:对照组<T2DM前期组<T2DM组,差异有统计学意义($P<0.05$)。高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平:对照组>T2DM前期组>T2DM组,差异有统计学意义($P<0.05$)。T2DM前期组、T2DM组miR126表达水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但T2DM前期组、T2DM组miR126表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。T2DM患者miR-375表达与FPG、2hPG、FIns、HOMA-IR呈正相关($r=0.461, 0.523, 0.506, 0.624, P<0.05$),miR126表达与FPG、2hPG、FIns、HOMA-IR呈负相关($r=-0.349, -0.457, -0.423, -0.439, P<0.05$)。miR-375表达上调、miR126表达下调是影响T2DM患者HOMA-IR的危险因素($P<0.05$)。**结论** T2DM患者血浆miR-375表达上调、miR-126表达下调,且表达水平与胰岛素抵抗密切相关。

【关键词】 2型糖尿病; miR-375; miR-126; 胰岛素抵抗

Expression levels of miR-375 and miR-126 in patients with type 2 diabetes mellitus and their relationship with insulin resistance

ZHAI Qianqian*, QIN Yan, ZHU Yunfeng, WANG Tao

(Second Ward, Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan, China, 453100)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the expression levels of microRNA-375 (miR-375) and miR-126 in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and their relationship with insulin resistance. **Methods** A total of 80 patients with T2DM admitted to the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University were selected from January 2019 to December 2019, including the pre-T2DM group (32 cases) and the T2DM group (48 cases). Another 40 healthy people with normal blood glucose and blood lipids were selected as the control group. The levels of miR-375, miR-126, fasting plasma glucose (FPG) and fasting blood insulin (FIns) were detected in each group. The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated, and the relationship between levels of miR-375 and miR-126 and HOMA-IR was analyzed. **Results** The levels of FPG, 2h postprandial blood glucose (2hPG), HOMA-IR, triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and FIns and expression of miR-375 were shown as control group <pre-T2DM group <T2DM group, and the level of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was shown as

基金项目:河南省科技攻关计划(201903213);河南省社会科学界联合会调研课题(SK1-2021-1426)

作者单位:新乡医学院第一附属医院内分泌科二病区,河南,新乡 453100

*通信作者:翟倩倩, E-mail: qianqiantalk2021@163.com

control group > pre-T2DM group > T2DM group ($P<0.05$), and the expression of miR126 in the pre-T2DM group and T2DM group was lower than that in the control group ($P<0.05$). The expression of miR-375 in patients with T2DM was positively correlated with FPG, 2hPG, FIns and HOMA-IR ($r=0.461, 0.523, 0.506, 0.624, P<0.05$), and expression of miR126 was negatively correlated with FPG, 2hPG, FIns and HOMA-IR ($r=-0.349, -0.457, -0.423, -0.439, P<0.05$). The up-regulated expression of miR-375 and the down-regulated expression of miR126 were risk factors for HOMA-IR in T2DM patients ($P<0.05$). **Conclusion** Plasma miR-375 expression is up-regulated and miR-126 expression is down-regulated in patients with T2DM, and the expression level is closely related to insulin resistance.

[KEY WORDS] Type 2 diabetes mellitus; miR-375; miR-126; Insulin resistance

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是全球范围内流行的慢性非传染性疾病,以胰岛素抵抗和胰岛素敏感性下降导致的慢性血糖水平进行性升高为特征^[1]。数据显示,我国糖尿病患者约1.8亿,预计至2040年将增至4.15亿,糖尿病患病状况不容乐观,对其防治至关重要^[2]。T2DM病因和发病机制尚未完全阐明,胰岛 β 细胞功能受损、胰岛素抵抗是目前已知T2DM发生、发展的重要机制,但二者的具体分子调控机制仍不清楚^[3]。随着分子水平研究的不断发展,最新研究显示,多种微小核糖核酸(microRNA, miRNA)在胰岛细胞发育、 β 细胞分化及胰岛素分泌中发挥着重要作用,参与T2DM的发生发展,有望为T2DM发病机制研究及临床诊断、治疗新靶点提供新的方向^[4-5]。miR-375是在胰岛细胞中特异性表达的miRNA,在维持正常的 α 细胞和 β 细胞数量、调节胰腺发育等方面发挥重要作用,与胰岛素分泌相关^[6]。miR-126是多功能miRNA,可通过调控胰岛素受体底物1的表达,参与胰岛素抵抗^[7]。本研究旨在分析T2DM患者血浆miR-375、miR-126表达水平及其与胰岛素抵抗关系,为临床T2DM发生机制和诊疗提供参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年1月至2019年12月新乡医学院第一附属医院收治80例T2DM患者为研究对象,

分为T2DM前期组32例和T2DM组48例,T2DM标准:存在口渴多饮、多尿、多食等典型症状和/或FPG ≥ 7.0 mmol/L和/或餐后2h血糖(2 hour plasma glucose, 2hPG) ≥ 11.1 mmol/L;T2DM前期标准:包括空腹血糖受损(6.1 mmol/L $\leq$ FPG <7.0 mmol/L和/或2hPG ≥ 7.8 mmol/L)和糖耐量异常(FPG <7.0 mmol/L和/或 7.8 mmol/L $\leq$ 2hPG <11.1 mmol/L)^[8]。纳入标准:①T2DM组符合《中国2型糖尿病防治指南》^[8]中的T2DM诊断标准,T2DM前期组符合《中国2型糖尿病防治指南》^[8]中T2DM前期标准;②年龄18~80岁;③可配合研究进行相关指标检测。排除标准:①存在恶性肿瘤;②存在严重心、脑、肝等重要脏器功能障碍;③存在甲状腺功能紊乱等其他内分泌疾病;④存在免疫性疾病;⑤合并急慢性感染;⑥凝血功能异常。另选取同期行健康体检的40例健康人作为对照组。各组一般资料比较差异无统计意义($P>0.05$),见表1。研究纳入对象均已签署知情同意书,研究经院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血糖、血脂检测及胰岛素抵抗评估

受试者均采集空腹8h的晨起外周静脉血标本及餐后2h静脉血标本各3 mL,3 000 r/min离心处理15 min,取上清液,使用全自动生化分析仪以葡萄糖氧化酶法测定血糖(FPG、2hPG)水平及血脂[血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(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

表1 三组研究对象一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of general data among the three groups of study subjects ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
对照组	40	23/17	54.37 $\pm$ 6.52	23.12 $\pm$ 2.72	122.62 $\pm$ 16.24	80.46 $\pm$ 11.18
T2DM前期组	32	18/14	56.28 $\pm$ 7.16	23.58 $\pm$ 4.21	126.32 $\pm$ 15.37	79.17 $\pm$ 10.86
T2DM组	48	28/20	55.73 $\pm$ 7.84	22.79 $\pm$ 3.24	125.87 $\pm$ 14.21	80.22 $\pm$ 12.37
χ^2/t 值		0.034	0.773	0.518	0.697	0.143
P值		0.983	0.464	0.597	0.500	0.867

醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)],以电化学发光法测定空腹胰岛素(fasting serum insulin, FIns)水平;以稳态模型评估胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR), $HOMA-IR = FPG \times FIns / 22.5$ 。

1.2.2 血浆 miR-375、miR-126 表达水平检测

采集受试者空腹清晨静脉血标本 2 mL,以 Trizol 法提取血清总 RNA,采用 miR cDNA 第一链合成试剂盒反转录合成 cDNA,采用荧光实时反转录聚合酶链法检测 miR-375、miR-126 表达水平,扩增程序:95℃ 15 min, 94℃ 15 s, 55℃ 30 s, 70℃ 30 s (收集荧光信号),扩增 40 个循环,扩增完毕后以 U6 为内参分析数据,计算 Δ 循环阈值(Ct),miR-375、miR-126 的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示。

表 2 三组研究对象血糖、血脂及胰岛素抵抗水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of blood glucose, blood lipids and insulin resistance among the three groups of study subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FPG (mmol/L)	2hPG (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	FIns (μU/mL)	HOMA-IR
对照组	40	5.02±0.79	5.78±0.82	3.78±0.92	1.31±0.94	1.57±0.38	1.89±0.83	4.92±3.12	1.10±0.56
T2DM 前期组	32	6.13±1.54 ^a	9.03±1.67 ^a	4.11±1.06 ^a	1.74±1.03 ^a	1.23±0.32 ^a	2.27±0.82 ^a	8.61±4.92 ^a	2.34±1.32 ^a
T2DM 组	48	9.68±3.28 ^{ab}	18.64±5.32 ^{ab}	4.86±1.12 ^{ab}	2.03±1.11 ^{ab}	0.96±0.29 ^{ab}	3.89±0.94 ^{ab}	9.63±6.54 ^{ab}	4.14±2.08 ^{ab}
<i>F</i> 值		51.694	168.931	11.399	4.958	33.883	60.304	9.605	43.931
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.009	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与 T2DM 前期组比较,^b*P*<0.05。

2.2 3 组研究对象血浆 miR-375、miR126 表达水平比较

血浆 miR-375 表达水平:对照组<T2DM 前期组<T2DM 组,差异有统计学意义(*P*<0.05);T2DM 前期组、T2DM 组 miR126 表达水平低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05),但 T2DM 前期组、T2DM 组 miR126 表达水平比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 3。

表 3 3 组研究对象血浆 miR-375、miR126 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of expression levels of plasma

组别	<i>n</i>	miR-375	miR126
对照组	40	1.00±0.23	3.16±0.48
T2DM 前期组	32	3.03±0.64 ^a	1.15±0.26 ^a
T2DM 组	48	3.58±0.79 ^{ab}	1.00±0.24 ^a
<i>F</i> 值		203.935	490.900
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与 T2DM 前期组比较,^b*P*<0.05。

2.3 T2DM 患者血浆 miR-375、miR126 表达水平与血糖、HOMA-IR 的相关性

相关性分析显示,T2DM 患者血浆 miR-375 表

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)形式表示,组间比较行 *t* 检验,多组间比较行方差分析;计数资料以 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Pearson 相关分析法,以 logistics 回归分析识别影响 HOMA-IR 的风险因素,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组研究对象血糖、血脂及胰岛素抵抗水平比较

FPG、2hPG、HOMA-IR、TG、TC、LDL-C、FIns 水平:对照组<T2DM 前期组<T2DM 组,HDL-C 水平:对照组>T2DM 前期组>T2DM 组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

达与 FPG、2hPG、FIns、HOMA-IR 呈正相关(*r*=0.461,0.523,0.506,0.624,均 *P*<0.05),miR126 表达与 FPG、2hPG、FIns、HOMA-IR 负相关(*r*=-0.349,-0.457,-0.423,-0.439,均 *P*<0.05)。

2.4 影响 T2DM 患者 HOMA-IR 的 logistics 回归分析

Logistics 回归分析显示,血浆 miR-375 表达上调、miR126 表达下调是影响 T2DM 患者 HOMA-IR 的危险因素(*P*<0.05)。见表 4。

表 4 影响 2 型糖尿病 HOMA-IR 的 logistics 回归分析

Table 4 Logistics regression analysis affecting HOMA-IR in type 2 diabetes mellitus

变量	β 值	SE 值	Wald 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
TG	0.339	0.152	4.974	1.404	1.042~1.891	0.026
HDL-C	-1.971	0.701	7.906	0.139	0.035~0.550	0.005
miR-375	0.647	0.132	24.025	1.910	1.174~2.474	<0.001
miR-126	-0.712	0.313	0.517	0.491	0.266~0.906	0.023

3 讨论

胰岛通过 β 细胞和 α 细胞分泌的胰岛素和胰高血糖素发挥维持葡萄糖稳态的核心作用,胰岛

素抵抗即胰岛素敏感性和反应性下降,会使胰岛素水平无法维持葡萄糖稳态,是T2DM的主要发病机制之一^[9-10]。此外,T2DM患者血糖代谢异常的同时也往往存在血脂代谢异常,且与胰岛素抵抗密切相关。本研究结果说明随着T2DM发生、发展,患者糖脂代谢异常和胰岛素抵抗逐步加重,与既往研究结果一致^[11]。miRNA是与代谢疾病密切相关的微小非编码RNA,通过转录后水平调控基因表达能够调节胰腺 β 细胞的生存、凋亡、增殖和分化等,影响胰岛素分泌和胰岛素抵抗状态,作为葡萄糖动态平衡的调节器,间接地控制葡萄糖和脂质代谢,参与T2DM及其并发症的发生、发展^[12]。

miR-375是在胰岛细胞检测到的最丰富的miRNA,可直接作用于靶蛋白重组胰岛素样生长因子1的表达,从而抑制葡萄糖介导的 β 细胞胰岛素分泌;还可通过调控相关通路,抑制其蛋白质表达,促进胰岛 β 细胞凋亡等;miR-375可通过调控多个靶基因发挥调节胰腺发育、胰腺细胞生长和增殖、胰岛素分泌的作用,但目前其精准调控T2DM的机制仍有待深入研究^[13]。动物实验显示,miR-375能够调控胰岛 α 和 β 细胞的生长,影响血糖稳态^[14]。本研究结果说明miR-375与T2DM患者糖脂代谢水平密切相关,参与T2DM的进展。logistics回归分析也显示血浆miR-375上调是影响HOMA-IR的独立危险因素,提示miR-375可能通过影响血糖代谢调节胰岛素抵抗状态,促进T2DM的发生、发展。

miR-126是糖尿病中最广泛研究的miRNA,可通过减少趋化因子配体2分泌抑制脂肪组织胰岛素抵抗,但其还会抑制胰岛素受体底物-1、磷酸肌醇3激酶调节亚单位、蛋白激酶B的表达,调控胰岛 β 细胞的增殖,调节胰岛的生长发育,并使肝组织对胰岛素的反应性下降,胰岛素代偿性增多,出现肝细胞胰岛素抵抗^[15]。此外,miR-126在血管形成、重塑及血管炎性反应等方面还具有重要作用^[16]。本研究结果表明miR-126与T2DM发生、发展有关。本研究还显示,miR126表达下调是影响HOMA-IR水平的独立危险因素,说明血浆miR126表达可能受糖脂代谢的调控,参与T2DM的胰岛素抵抗。

综上所述,T2DM患者血浆miR-375表达上调、miR-126表达下调,二者均与T2DM糖脂代谢调控机制有关,是影响患者HOMA-IR水平的独立危险因素。

参考文献

- [1] 杜金红,王中正,郭亚娜. 尿酸和胰岛功能与2型糖尿病患者血液流变学相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):300-304.
- [2] Ogunsina K, Dibaba DT, Akinyemiju T. Association between life-course socio-economic status and prevalence of cardio-metabolic risk factors in five middle-income countries[J]. J Glob Health, 2018, 8(2): 020405.
- [3] Marott SCW, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, et al. Causal Associations in Type 2 Diabetes Development[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(4):1313-1324.
- [4] Eliasson L, Esguerra JLS. MicroRNA Networks in Pancreatic Islet Cells: Normal Function and Type 2 Diabetes[J]. Diabetes, 2020, 69(5):804-812.
- [5] Honardoost M, Keramati F, Arefian E, et al. Network of three specific microRNAs influence type 2 diabetes through inducing insulin resistance in muscle cell lines[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(2):1532-1538.
- [6] Dumortier O, Fabris G, Pisani DF, et al. microRNA-375 regulates glucose metabolism-related signaling for insulin secretion[J]. J Endocrinol, 2020, 244(1):189-200.
- [7] 谈晓娅,童强. 格列美脲联合二甲双胍对初诊2型糖尿病患者糖脂代谢、胰岛功能及血清miR-126表达的影响[J]. 中国药房, 2018, 29(4):505-508.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2017年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4):292-344.
- [9] Hamid AMS, Kanwal R, Aamira L, et al. Biochemical investigation of gender-specific association between insulin resistance and inflammatory biomarkers in types 2 diabetic patients[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106:285-291.
- [10] Kabadi UM. Major Pathophysiology in Prediabetes and Type 2 Diabetes: Decreased Insulin in Lean and Insulin Resistance in Obese[J]. J Endocr Soc, 2017, 1(6): 742-750.
- [11] Zhang Y, Bai R, Liu C, Ma C, et al. MicroRNA Single Nucleotide Polymorphisms and Diabetes Mellitus: A Comprehensive Review[J]. Clin Genet, 2019, 95(4):451-461.
- [12] 庞邵杰,满青青,宋爽,等. 不同血糖代谢状态下老年人血脂与胰岛素抵抗的关系研究[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(6):629-635.
- [13] Sedgeman LR, Beysen C, Ramirez Solano MA, et al. Beta cell secretion of miR-375 to HDL is inversely associated with insulin secretion[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):3803-3809.
- [14] Guay C, Regazzi R. New emerging tasks for microRNAs in the control of β -cell activities[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1861(12 Pt B):2121-2129.
- [15] Pishavar E, Behravan J. miR-126 as a Therapeutic Agent for Diabetes Mellitus[J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(22):3309-3314.
- [16] 宋白利,付留俊,刘婕,等. 新诊断2型糖尿病患者血清miR-126表达水平与非酒精性脂肪性肝病的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2018, 26(10):812-816.

• 论 著 •

血清 ApoA、LDH 和 ALP 在慢性心力衰竭中的表达及临床意义

李四荣* 孔令超 李根海 王丽兰 王逸君

【摘要】目的 研究血清载脂蛋白 A (ApoA)、乳酸脱氢酶 (LDH) 及碱性磷酸酶 (ALP) 在慢性心力衰竭 (CHF) 中的表达及临床意义。**方法** 选取 2018 年 1 月至 2020 年 4 月芜湖市第五人民医院收治的 86 例 CHF 患者作为研究组,另选取同期于本院进行健康体检的 88 例健康人群作为对照组。比较两组 ApoA、LDH、ALP 水平;比较不同预后患者的 ApoA、LDH、ALP 水平;分析影响 CHF 患者预后的相关危险因素;分析 ApoA、LDH、ALP 对 CHF 患者预后的预测价值。**结果** 研究组患者 ApoA 低于对照组,LDH、ALP 高于对照组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。预后不良组患者 ApoA 低于预后良好组,LDH、ALP 高于预后良好组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。经 Logistic 回归模型分析得出:高血压、糖尿病、心功能分级、ApoA 异常降低、LDH 及 ALP 异常升高为影响 CHF 患者预后的独立危险因素 ($P<0.05$)。ApoA、LDH、ALP 三者联合诊断 CHF 患者预后的曲线下面积 (AUC) 为 0.992,大于三者单独检测 ($P<0.05$)。**结论** CHF 患者血清中 ApoA 异常降低,LDH、ALP 异常升高,三者联合检测对患者预后具有重要评估作用。

【关键词】 慢性心力衰竭; ApoA; LDH; ALP

Expression and clinical significance of serum ApoA, LDH and ALP in chronic heart failure

LI Sirong*, KONG Lingchao, LI Genhai, WANG Lilan, WANG Yijun

(Department of Cardiovascular Medicine, the Fifth People's Hospital of Wuhu City, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] Objective To study the expression of serum apolipoprotein A (ApoA), lactate dehydrogenase (LDH) and alkaline phosphatase (ALP) in chronic heart failure (CHF) and its clinical significance. **Methods** The clinical data of 86 CHF patients admitted to the Fifth People's Hospital of Wuhu City from January 2018 to April 2020 were selected as the study group. In addition, 88 healthy people in the hospital underwent health checkup were selected as the control group. The levels of ApoA, LDH, and ALP between the two groups were compared; the levels of ApoA, LDH, and ALP in patients with different prognosis were compared. The related risk factors that affected the prognosis of CHF patients were analyzed. The predictive value of ApoA, LDH, and ALP levels on the prognosis of CHF patients was analyzed. **Results** ApoA in the study group was lower than that in the control group, LDH and ALP were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). ApoA in the poor prognosis group was lower than that in the good prognosis group, LDH and ALP were higher than those in the good prognosis group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Logistic regression model analysis showed that hypertension, diabetes, cardiac function classification, abnormally decreased ApoA, abnormally increased LDH and ALP were independent risk factors affecting the prognosis of CHF patients ($P<0.05$). The prognostic area under the curve (AUC) of ApoA, LDH, and ALP in the combined diagnosis of CHF patients was 0.992, which was greater than that of the three alone ($P<0.05$). **Conclusion** In CHF patients, serum ApoA is

基金项目:安徽省自然科学基金(1608085QA13)

作者单位:芜湖市第五人民医院心血管内科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:李四荣, E-mail: lisirong7120@163.com

abnormally decreased, while LDH and ALP are abnormally increased. The combined detection of the three plays an important role in evaluating the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Chronic heart failure; ApoA; LDH; ALP

心力衰竭(Heart failure, HF)是心脏收缩和舒张功能出现障碍,从而引起回心血量排出受阻、动脉血液灌溉不足、静脉血液淤积的一类心脏循环障碍症候群^[1]。临床上根据 HF 发生急缓分为急性心力衰竭(Acute heart failure, AHF)和慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)^[2]。目前,CHF 的发病率呈逐年上升趋势,患者猝死发生率为正常人群的 5 倍^[3]。CHF 早期临床症状表现不典型,病情复杂预后差,确诊时易错过最佳治疗时机,早期评估 CHF 患者的病情程度,并对患者的预后进行判断具有重要意义^[4]。临床研究资料显示,血清载脂蛋白 A(Apolipoprotein A, ApoA)、乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)及碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)与 CHF 病情的发生和发展有关,三者的表达在 CHF 患者中起着重要作用^[5-6]。目前有关三者对 CHF 患者预后的价值分析报道较少,本文将研究 ApoA、LDH 及 ALP 在 CHF 患者中的表达及临床意义。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 1 月至 2020 年 4 月芜湖市第五人民医院收治的 86 例 CHF 患者为研究组。纳入标准:①均满足《中国心力衰竭诊断和治疗指南》中关于慢性心力衰竭的诊断标准^[7],且经影像学等专科检查确诊;②病历资料及随访资料完整无缺损;③均存在不同程度的临床症状,包括:呼吸困难、气喘、乏力、活动耐量减低等;④无肥厚型、扩张型心脏病和自身免疫性疾病。排除标准:①有血液系统或传染性疾病者;②合并恶性肿瘤疾病者;③合并其他重要脏器功能异常者;④合并精神疾病或认知障碍者;⑤合并甲状腺功能异常者;⑥合并严重感染者。其中男 52 例,女 34 例;平均年龄(61.02±6.48)岁;根据美国纽约心脏病学会心功能分级标准^[8](New York heart association class, NYHA):Ⅱ级 33 例,Ⅲ级 28 例,Ⅳ级 25 例。另选取同期于本院进行健康体检的 88 例健康人群作为对照组,其中男 61 例,女 27 例;平均年龄(59.77±7.12)岁。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义

($P>0.05$)。本研究通过医院伦理委员批准同意,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

所有研究对象在空腹状态下进行抽血,血量 5 mL,标本使用乙二胺四乙酸抗凝处理后 3 000 r/min($r=13$ cm)离心 15 min,取上清液备用。采用酶联免疫法检测 LDH、ALP 水平;采用免疫透射比浊法检测 ApoA 水平,使用全自动分析仪进行分析,仪器选择为罗氏 C8000 全自动化分析仪,试剂为仪器所配套试验试剂,操作严格按照说明书进行。参考范围:ApoA: <1.0 g/L 为异常降低;LDH: >240 U/L 为异常升高;ALP: >140 U/L 为异常升高^[9]。

1.3 随访

对患者进行为期 1 年的随访(随访截止时间:2021 年 4 月),发生心血管事件(包括心源性死亡、心肌梗死复发、心力衰竭、靶血管重建、恶性心律失常等)^[10]的为预后不良组,反之则为预后良好组,并对比两组间 ApoA、LDH、ALP 表达水平。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析,以($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,采用 t 检验;采用 Logistic 回归模型分析影响 CHF 患者预后的相关危险因素;采用 ROC 曲线分析检测 ApoA、LDH、ALP 水平对 CHF 患者预后的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 ApoA、LDH 及 ALP 表达水平比较

研究组患者的 ApoA 水平低于对照组,LDH、ALP 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 不同人群中 ApoA、LDH 及 ALP 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of ApoA, LDH and ALP expression levels in different populations($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ApoA(g/L)	LDH(U/L)	ALP(U/L)
研究组	86	0.41±0.21	288.52±18.94	174.21±20.15
对照组	86	1.23±0.31	123.01±9.87	38.95±3.94
<i>t</i> 值		20.382	72.520	61.777
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同预后患者中 ApoA、LDH 及 ALP 表达水平比较

随访结束后,86例患者中有25例发生心血管事件(预后不良组)。预后不良组患者的 ApoA 水平低于预后良好组,LDH、ALP 水平均高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同预后患者中 ApoA、LDH 及 ALP 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of ApoA, LDH and ALP expression levels in patients with different prognosis ($\bar{x}\pm s$)				
组别	n	ApoA(g/L)	LDH(U/L)	ALP(U/L)
预后不良组	25	0.29±0.18	301.22±12.27	192.31±17.45
预后良好组	61	0.46±0.23	283.32±11.95	166.79±9.44
t 值		5.754	9.749	12.035
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

2.3 影响 CHF 患者预后的相关危险因素分析

经 Logistic 回归模型分析得出:高血压、糖尿病、心功能分级、ApoA 异常降低、LDH 及 ALP 异常升高为影响 CHF 患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 ApoA、LDH、ALP 水平检测对 CHF 患者预后的预测价值

ApoA、LDH、ALP 三者联合诊断 CHF 患者预后的曲线下面积(AUC)为0.992,大于三者单独检测($P<0.05$)。见表4、图1。

表4 ApoA、LDH、ALP 水平对 CHF 患者预后的预测价值

Table 4 The predictive value of detection of ApoA, LDH, and ALP levels on the prognosis of CHF patients						
预测因子	敏感度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P 值
ApoA	0.864	0.762	0.758	0.653~0.862	0.626	<0.05
LDH	0.871	0.767	0.863	0.782~0.944	0.638	<0.05
ALP	0.893	0.731	0.973	0.000~1.000	0.624	<0.05
ApoA+LDH+ALP	0.975	0.813	0.992	0.000~1.000	0.788	<0.05

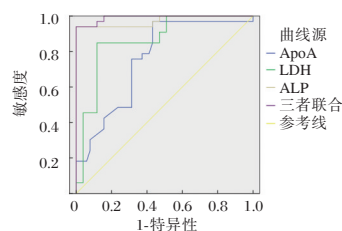


图1 ApoA、LDH、ALP 水平对 CHF 患者预后的预测价值

Figure 1 The prognostic value curve of ApoA, LDH, and ALP level detection for CHF patients

3 讨论

据临床统计,CHF 发病率随着年龄的增加而上升,随着我国社会老龄化的发展,CHF 发病率逐年增高^[11]。在 CHF 疾病发展过程中,多数患者均出现心功能进行性恶化,继而出现活动受限、体力下降、各症状加重等现象,给患者预后造成严重影响。相关文献报道,CHF 的发病机制和病因尚不完全明确,但可知其与炎症因子、血小板机制、氧化应激等有关^[10]。寻找有效的生物血清检测指标,对患者的预后进行有效评估是治疗 CHF 患者的重要举措。

据国内外相关报道,CHF 的发生发展与动脉粥样硬化、高密度脂蛋白异常降低等病理改变有关^[12-13]。ApoA 是高密度脂蛋白的主要脂蛋白成分,参与了胆固醇外周至肝脏的逆转运,具有刺激动脉平滑肌增殖、清除机体内过多脂质的作用。临床研究证实,ApoA 水平与动脉粥样硬化病变紧密相关,能够直接反映高密度脂蛋白数量,可作为判断患者心脑血管健康状况的重要指标^[14]。本文研究发现,CHF 患者的 ApoA 水平低于健康人群,且通过预后对比得出预后不良患者的 ApoA 水平低于预后良好者,说明 ApoA 在 CHF 患者机体内呈现低水平表达,且其水平高低对患者预后具有一定影响。

表3 影响 CHF 患者预后的相关危险因素分析

Table 3 Analysis of related risk factors affecting the prognosis of CHF 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
性别(男 vs 女)	1.139	0.713~1.513	0.569			
年龄(<60岁 vs ≥60岁)	1.658	0.892~3.081	0.644			
吸烟史(有 vs 无)	1.672	1.112~2.514	0.026	1.714	0.867~3.391	0.578
BMI(≥25.0 kg/m ² vs <25.0 kg/m ²)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	0.268~1.779	0.538
高血压(有 vs 无)	1.614	1.143~2.280	0.020	1.672	1.072~2.609	0.012
糖尿病(有 vs 无)	1.829	1.022~3.274	0.023	1.972	1.091~3.564	0.010
心功能分级(Ⅲ~Ⅳ级 vs Ⅱ级)	1.791	1.325~1.616	0.019	1.857	1.257~1.754	0.041
ApoA(异常降低 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.637	1.365~1.784	0.035
LDH(异常升高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
ALP(异常升高 vs 正常)	1.658	1.587~1.575	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017

既往文献显示,血清生化指标 LDH、ALP 对 CHF 敏感性较高,对评估患者病情具有积极作用^[15]。LDH 属氢转移酶,与细胞代谢、缺氧、无氧酵解、活性状态和恶性转化等密切相关,是目前临床上判断心肌受损的有效指标^[16]。研究显示,心肌受损后 24~48 h 内 LDH 活力的敏感指数及特异性均升高,体内发生缺血缺氧,使心肌消耗性损伤增加,导致 LDH 血液浓度升高^[17]。ALP 是一种在碱性条件下催化磷酸基团水解和转移的金属蛋白酶,临床上已证实 ALP 是血管钙化途径中的促进因子^[18]。在本文研究结果中,CHF 患者的 LDH、ALP 水平均高于健康人群,且在预后不良患者中的表达水平高于预后良好者,这与既往文献报道结果相符合^[19]。说明 LDH、ALP 在 CHF 患者机体内会出现不同程度的异常升高,积极检测 LDH、ALP 水平变化对 CHD 患者具有重要作用。

大量研究发现,糖尿病、高血压、心功能分级等是心血管事件发生的高危因素^[20]。本文采用 Logistic 回归模型分析得出,高血压、糖尿病、心功能分级、ApoA 异常降低、LDH 及 ALP 异常升高为影响 CHF 患者预后的独立危险因素,这与上述研究报道相符。ROC 曲线分析显示,ApoA、LDH、ALP 三者联合诊断 CHF 患者预后的 AUC 为 0.992,大于三者单独检测,提示三者联合检测能够有效评估 CHD 患者病情预后,对临床治疗工作的开展具有重要意义。

综上所述,CHF 患者血清中 ApoA 异常降低,LDH、ALP 异常升高,且三者为影响 CHF 患者预后的独立危险因素,三者联合检测对患者预后具有重要评估作用。

参考文献

- [1] 李会东,邢柏.乳酸脱氢酶对感染性休克患者预后的评估价值[J].中国急救医学,2019,39(3):211-215.
- [2] 白兴合,代玉川,刘平,等.慢性心力衰竭合并糖尿病患者血浆 BNP、CRP 和 HbA1c 的表达及与心功能分级的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):119-122.
- [3] Aldahl M, Jensen AC, Davidsen L, et al. Associations of serum potassium levels with mortality in chronic heart failure patients[J]. Eur Heart J, 2017, 38(38):2890-2896.
- [4] 王欢,胡元会,吴华芹,等.Ⅱ型肾综合征患者肾小球滤过率与超氧化物歧化酶、乳酸脱氢酶的相关性研究[J].中国循证心血管医学杂志,2017,9(3):342-344.
- [5] Angelis A, Chrysoshoou C, Tzorovili E, et al. The Mediterranean Diet Benefit on Cardiovascular Hemodynamics and Renal Function in Chronic Heart Failure Male Patients by Decoding Central and Peripheral Vessel Rheology [J]. Nutrients, 2020, 13(1):39-45.
- [6] 李文安,刘凯,江帆,等.急性失代偿性心力衰竭患者血清碱性磷酸酶与肾功能恶化的相关性研究[J].中国全科医学,2018,21(7):818-821.
- [7] 张鹏.依那普利联合美托洛尔治疗对心力衰竭患者血浆载脂蛋白 A、载脂蛋白 B 及 NT-proBNP 水平的影响[J].标记免疫分析与临床,2018,25(8):1179-1183.
- [8] Ikeda S, Matsushima S, Okabe K, et al. P6283 Downregulation of Tim44 exacerbates oxidative stress-induced ROS production and cardiomyocytes death by reducing mitochondrial SOD2 [J]. Eur Heart J, 2019, 40(1):2654-2657.
- [9] 孟晓京,项宁,刘亚军.载脂蛋白 E、热休克蛋白 27 在慢性心力衰竭患者中表达及临床意义[J].心脑血管病防治,2019,19(1):57-60.
- [10] 刘泉,张森,沈红军.慢性心力衰竭病人血清和肽素及 N 末端 B 型利钠肽原浓度变化及其临床意义[J].中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(16):2015-2018.
- [11] 程燃,何云燕,张佳星.心力衰竭患者血清脑钠肽、同型半胱氨酸和血脂联合检测的临床意义[J].重庆医学,2017,46(18):2483-2485.
- [12] Morais ERD, Rassi S. Determinants of the Distance Covered During a Six - Minute Walk Test in Patients with Chronic Heart Failure [J]. Int J Card, 2018, 26(52):548-551.
- [13] Testa G, Cacciatore F, Bianco A, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and long-term mortality in elderly subjects with chronic heart failure [J]. Aging Clin Exp Res, 2017, 29(6):1157-1164.
- [14] 陶锐.载脂蛋白 A1/载脂蛋白 B 比值与心力衰竭的相关性分析[J].心血管康复医学杂志,2019,28(6):718-721.
- [15] 李宏波,旦锋,阮文辉,等.MRI 结合血清 ALP、LDH 检测在骨肉瘤早期诊断及预后评估的临床价值[J].中国 CT 和 MRI 杂志,2018,16(12):133-135.
- [16] 彭雪,王文娟,牛洁婷.血清胎盘生长因子与老年慢性心力衰竭患者血清 NT-proBNP 和近期预后的相关性分析[J].河北医科大学学报,2019,40(7):768-772.
- [17] 罗磊.慢性心力衰竭病人血清 Hcy 水平的变化及其临床意义[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(5):759-762.
- [18] Fan Zeyuan, Li Yang, Ji Hanhua, et al. Efficacy of Oral Nicorandil to Prevent Contrast - Induced Nephropathy in Patients with Chronic Renal Dysfunction Undergoing an Elective Coronary Procedure [J]. Kidney Blood Press Res, 2019, 44(6):1372-1382.
- [19] 陈严,王丹.血清 ApoA-1 与慢性心力衰竭严重程度及其预后的关系[J].浙江医学,2019,41(4):332-336.
- [20] Gang Wang, Shan Fu, Dechuan Li, Yinbo Chen. Expression and clinical significance of serum NT5E protein in patients with colorectal cancer [J]. Canc biomark, 2019, 24(4):461-468.

· 论 著 ·

灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗对 AMI 心功能、CK-MB 及 PAI-1 的影响

邓海燕 陶元 王芳 郑文权 乔增勇*

[摘要] **目的** 探讨灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗对急性心肌梗死(AMI)心功能、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1)水平的影响。**方法** 选取2016年6月至2019年9月上海交通大学附属第六人民医院南院住院部收治的227例AMI患者,根据治疗方案不同分为对照组119例(单一单硝酸异山梨酯片治疗)、观察组108例(单硝酸异山梨酯片+灯盏花素分散片治疗)。比较两组临床疗效,比较治疗前后CK-MB、PAI-1水平及心功能指标[左室舒张末期内径(LVEDD)、每搏量(SV)、左心室射血分数(LVEF)、左房内径(LAD)]改善情况,观察治疗过程中不良反应总发生率。**结果** 观察组患者总有效率显著高于对照组(88.89% vs 77.31%),差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后两组CK-MB、PAI-1水平均明显下降,且观察组下降幅度显著大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后两组患者LVEDD、SV、LVEF、LAD水平均得到改善,且观察组上述指标改善幅度均大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应总发生率(7.41% vs 5.88%)比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 对AMI患者予以灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗可提高治疗疗效,改善心功能,降低CK-MB、PAI-1水平,是一种安全的治疗方案。

[关键词] 灯盏花素;单硝酸异山梨酯;急性心肌梗死;心功能;CK-MB;PAI-1

Effect of breviscapine combined with isosorbide mononitrate treatment on AMI cardiac function, CK-MB and PAI-1

DENG Haiyan, TAO Yuan, WANG Fang, ZHENG Wenquan, QIAO Zengyong*

(Department of Cardiovascular Medicine, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital South Campus, Shanghai, China, 201499)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effects of breviscapine combined with isosorbide mononitrate treatment on acute myocardial infarction (AMI) cardiac function, creatine kinase isoenzyme (CK-MB) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. **Methods** The 227 patients with AMI admitted to the Academic Department of the Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University from June 2016 to September 2019 were selected, and according to the different treatment plans, they were divided into 119 cases in the control group (single isosorbide mononitrate tablets) and 108 cases in the observation group (isosorbide mononitrate tablets + scutellarin dispersible tablets). The clinical efficacy of the two groups were compared, the levels of CK-MB, PAI-1, and the improvement of cardiac function indexes [Left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), stroke volume (SV), left ventricular ejection fraction (LVEF), left atrial diameter (LAD)] before and after treatment were compared, and the total incidence of adverse reactions during the treatment were observed. **Results** The total effective rate of patients in the observation group was significantly higher than that in the control group (88.89% vs 77.31%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of CK-MB and PAI-1 in the two groups decreased significantly, and the decrease in the observation group was significantly greater than that in the control group, and the difference was

基金项目:上海市科学技术委员会(18DZ2260236)

作者单位:上海交通大学附属第六人民医院南院心内科,上海 201499

*通信作者:乔增勇, E-mail: qiaozy6666@163.com

statistically significant ($P<0.05$). Compared with those before treatment, the levels of LVEDD, SV, LVEF, and LAD in the two groups were improved after treatment, the improvement of the above indicators in the observation group was greater than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the total incidence of adverse reactions between the two groups (7.41% vs 5.88%), and the difference was statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** Breviscapine combined with isosorbide mononitrate in the treatment of AMI patients can improve the therapeutic effect and heart function, and reduce the levels of CK-MB and PAI-1, which is a safe treatment plan.

[KEY WORDS] Breviscapine; Isosorbide mononitrate; AMI; Cardiac function; CK-MB; PAI-1

急性心肌梗死 (Acute myocardial infarction, AMI) 是临床常见的心血管疾病, 该病为冠状动脉斑块破裂引发局部动脉血运不畅, 导致心肌细胞缺血、缺氧所致^[1]。AMI 起病急、病情危重, 患者大多预后差。据既往学者报道, AMI 是全球致死致残的主要原因之一^[2], 因此对 AMI 进行早期诊治对改善预后意义重大。肌酸激酶同工酶 (Creatine kinase isoenzyme, CK-MB) 在心肌严重损伤后释放, 是用于诊断 AMI 的最早标志物^[3]。纤溶酶原激活物抑制物-1 (Plasminogen activator inhibitor, PAI-1) 是纤溶系统的重要抑制因子, PAI-1 水平紊乱会引起动脉粥样硬化形成、斑块破裂等, 进而加重患者病情^[4]。单硝酸异山梨酯是治疗心血管疾病的常用药物, 相关研究发现, 其能有效控制心肌耗氧量, 减轻心脏负荷, 显著降低 AMI 患者 CK-MB 水平, 但长期服用易产生耐受性^[5]。近年来有研究发现, 从灯盏细辛中提取出来的灯盏花素治疗 AMI 疗效理想^[6]。本研究旨在探讨灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗对 AMI 心功能、CK-MB 及 PAI-1 水平的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 6 月至 2019 年 9 月上海交通大学附属第六人民医院南院住院部收治的 227 例 AMI 患者。纳入标准: ①所有患者均符合 AMI 的诊断标准, 心电图显示 2 个以上相邻导联 ST 段损伤性抬高和/或伴有异常 Q 波^[7]; ②年龄在 80 岁以下; ③纳入研究前 1 个月内未服用过影响激素水平的

药物。排除标准: ①合并免疫系统疾病、血液系统疾病、感染性疾病者; ②合并恶性肿瘤、严重肝肾功能不全者; ③合并风湿性心脏病、心肌炎、心脏瓣膜疾病等疾病者。根据治疗方案不同分为对照组 119 例 (单一单硝酸异山梨酯片治疗)、观察组 108 例 (单硝酸异山梨酯片+灯盏花素分散片治疗)。两组基线资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。本研究经院医学伦理委员会审核批准, 受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

两组均在入院后绝对卧床休息, 予以吸氧、连续心电监护 1 周。口服硝酸甘油治疗。对照组以单硝酸异山梨酯片 (生产厂家: 鲁南贝特制药) 口服, 20 mg/次, 2 次/d。观察组: 予以单硝酸异山梨酯片 (服用方法同对照组) 口服+灯盏花素分散片 (生产厂家: 漯河南街村全威制药) 口服治疗。灯盏花素分散片服用方法: 每次 2 片, 3 次/d。以 1 个月为 1 疗程, 两组均连续服用 2 个疗程。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

疗效判断标准^[8]: 痊愈、显效、有效、无效。

1.3.2 CK-MB 及 PAI-1 检测方法

两组研究对象均于治疗前、治疗结束后清晨行空腹肘前静脉采血 5 mL, 注入 EDTA 及抑肽酶的试管中, 立即进行超高速离心 (3 000 r/min, $r=10$ cm, 20 min), 分离血浆, 置于 -70°C 冰箱保存, 待检。采用酶联免疫吸附双抗体夹心法检测 CK-MB、PAI-1 水平, 仪器: 日立 7600 全自动生化

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

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

组别	n	性别		年龄 (岁)	体重 (kg)	梗死部位		
		男	女			前、侧壁	下、后壁	心内膜下
观察组	108	74 (68.52)	34 (31.48)	58.41 $\pm$ 3.31	63.51 $\pm$ 1.23	30 (27.78)	45 (41.67)	33 (30.56)
对照组	119	79 (66.37)	40 (33.61)	58.48 $\pm$ 3.39	63.64 $\pm$ 1.31	35 (29.41)	48 (40.34)	36 (30.25)
t/ χ^2 值		0.117		0.102	0.308	0.079		
P 值		0.732		0.919	0.759	0.961		

分析仪及配套试剂盒。

1.3.3 心功能

根据美国卡维地洛(US Carvedilol)研究标准^[9],比较并分析两种患者治疗前、治疗结束后的心功能指标。采用超声心动图测定左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)、每搏量(stroke volume, SV)、左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左房内径(Left atrial diameter, LAD)。

1.3.4 不良反应

从两组患者开始治疗时开始观察不良反应事件(血压下降、心源性休克、治疗过程中出现再梗死)发生情况,并将不良反应事件详细记录在病历报告本中。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

观察组患者总有效率显著高于对照组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	痊愈	显效	有效	无效	总有效率
观察组	108	18(16.67)	45(41.67)	33(30.56)	12(11.11)	96(88.89)
对照组	119	16(13.45)	43(36.13)	33(27.73)	27(22.69)	92(77.31)
χ^2 值						5.334
P 值						0.021

2.2 两组治疗前后CK-MB、PAI-1水平比较

治疗前,两组CK-MB、PAI-1水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,两组CK-MB、PAI-1水平均明显下降,且观察组下降幅度显著大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组治疗前后CK-MB及PAI-1水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of CK-MB and PAI-1 levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEDD(mm)		SV(mL)		LVEF(%)		LAD(mm)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	108	51.63±6.33	46.28±5.68 ^a	35.76±10.35	52.73±12.46 ^a	45.31±5.65	55.14±6.88 ^a	43.65±5.24	36.89±4.13 ^a
对照组	119	51.89±6.45	9.81±6.05 ^a	35.91±10.67	46.46±11.30 ^a	45.54±5.69	51.75±6.41 ^a	43.29±5.17	40.26±4.75 ^a
		0.306	4.520	0.107	3.976	0.305	3.843	0.521	5.678
		0.760	<0.001	0.915	<0.001	0.761	<0.001	0.603	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组治疗前后CK-MB及PAI-1水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of CK-MB and PAI-1 levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CK-MB(U/L)		PAI-1(pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	108	53.63±7.42	28.89±3.37 ^a	1162.45±735.31	671.14±582.78 ^a
对照组	119	53.14±7.35	37.32±3.98 ^a	1153.89±731.34	839.32±667.45 ^a
t 值		0.499	17.132	0.088	2.013
P 值		0.618	<0.001	0.930	0.045

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组治疗前后心功能比较

治疗前,两组LVEDD、SV、LVEF、LAD水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后两组患者上述指标均得到改善,观察组改善幅度均大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组不良反应比较

两组不良反应总发生率(7.41% vs 5.88%)比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

表5 两组不良反应发生率比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of the incidence of adverse reactions between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	血压下降	心源性休克	治疗过程中出现再梗死	总发生率
观察组	108	4(3.70)	2(1.85)	2(1.85)	8(7.41)
对照组	119	4(3.36)	1(0.84)	2(1.68)	7(5.88)
χ^2 值					0.213
P 值					0.644

3 讨论

AMI的发病是复杂的遗传因素与环境因素相互作用的结果,具有极高的发病率及病死率,已经成为中老年人首要的死亡病因。近年来受环境因素、饮食习惯、不良生活习惯等因素的影响,AMI发病率呈不断增长的趋势^[10]。防治和降低AMI的发病率及死亡率已成为临床医师重点关注及研究的热点。

单硝酸异山梨酯属于硝酸酯类抗心绞痛药物,既往研究显示,对处于发病早期的AMI患者采用单硝酸异山梨酯治疗,对降低患者心肌张力、

血压发挥了关键作用^[11]。孙成磊等^[12]发现,通过单硝酸异山梨酯治疗后,AMI患者心肌功能、冠脉血流均得到显著改善,心律失常发生率明显降低。但也有学者研究发现,部分AMI患者在经过单硝酸异山梨酯治疗后,临床症状并未得到明显改善,甚至出现恶化^[13]。有学者通过动物实验发现,灯盏花素具有调节血管内皮功能、降低血脂、减轻炎症反应、抑制血小板凝集等诸多作用^[14]。目前,灯盏花素已在治疗糖尿病、类风湿性关节炎、脑梗死、脑血栓等疾病中得到广泛应用。本研究对AMI患者予以灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗,发现联合治疗的患者总有效率高达88.89%,显著高于采用单一单硝酸异山梨酯治疗的AMI患者。AMI病程长,患者需长期服药,而长期服药单硝酸异山梨酯后患者易出现耐受性,难以到达预期治疗疗效。对AMI患者采用灯盏花素治疗,可有效缓解患者心痛的临床症状,显著提高临床治疗疗效。

PAI-1是一种单链糖蛋白,在人体内广泛分布。相关研究证实高水平的PAI-1会引起动脉粥样硬化斑块形成、破裂,进一步诱发血栓形成,PAI-1可作为预测稳定性心绞痛患者首次发生AMI的关键指标之一^[15]。研究发现,CK-MB主要来源于心肌细胞,且在心血管疾病患者中表达水平较高^[16]。本文研究结果显示,两组CK-MB、PAI-1水平均明显下降,且观察组下降幅度显著大于对照组,这一研究结果与Yan等^[17]所得结果相符。证实AMI患者在通过增加灯盏花素治疗后,AMI患者心肌功能恢复更快。

LVEDD、SV、LVEF、LAD等心功能指标可直接反应患者心功能状态^[18]。治疗后观察组上述指标改善幅度均大于对照组,提示灯盏花素能有效改善AMI患者心室充盈压,降低心肌氧耗和室壁应力,还能够改善冠状动脉血流动力学,促进心功能恢复。且灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗并未增加AMI患者不良反应发生率,可见灯盏花素安全性较高。

综上所述,对AMI患者予以灯盏花素联合单硝酸异山梨酯治疗可提高治疗疗效,改善心功能,降低CK-MB、PAI-1水平,是一种安全的治疗方案,临床应用前景广阔。

参考文献

- [1] 王思铭,张丽华,白雪珂,等. 2001-2015年中国非ST段抬高心肌梗死住院患者心肌标志物检测的变化趋势[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2020, 20(5):19-22.
- [2] Wilcox RG, Lippe G, Olsson CG, et al. Trial of tissue plasminogen activator for mortality reduction in acute myocardial infarction. Anglo-Scandinavian Study of Early Thrombolysis (ASSET)[J]. Lancet, 2018, 10(8610):525-530.
- [3] 肖丹丹,张勇,陈秀红,等. AMI患者发病后血浆UCA1, CK-MB, cTnI变化及其诊断价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1):111-115.
- [4] Kashiwagi R, Rui S, Masumoto M, et al. AS3288802, a highly selective antibody to active plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), exhibits long efficacy duration in cynomolgus monkeys[J]. Biologicals, 2020, 67(12):58-59.
- [5] 秦林燕,陈森. 单硝酸异山梨酯注射液联合舒血宁治疗急性心肌梗死合并急性左心衰疗效分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(1):35-40.
- [6] 赵君,张允岭,支英杰,等. 灯盏花素注射剂治疗急性脑梗死有效性和安全性的随机对照试验系统评价和Meta分析[J]. 中医杂志, 2019, 60(2):123-130.
- [7] 吴杰. 急性心肌梗死心电图诊断标准的变化及面临的问题[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2012, 26(3):270-271.
- [8] Richard L, Klein G, Orr JM. Simultaneous measurement of plasma isosorbide dinitrate, isosorbide-2-mononitrate, and isosorbide-5-mononitrate by gas-liquid chromatography [J]. Clin Chem, 2019, 64(12):12-14.
- [9] Colucci WS, Packer M, Bristow MR, et al. Carvedilol inhibits clinical progression in patients with mild symptoms of heart failure. US Carvedilol Heart Failure Study Group [J]. Circulation, 2019, 94(11):284-287.
- [10] 杨丽华,郝信磊. 灯盏花素注射液联合替罗非班治疗急性心肌梗死的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(4):767-771.
- [11] 赵躬英,黄刚,张眉,等. 经桡动脉入径直接经皮冠状动脉介入术联合单硝酸异山梨酯治疗急性ST段抬高型心肌梗死患者临床效果分析[J]. 临床军医杂志, 2019, 47(2):41-44.
- [12] 孙成磊,宋毅,程国良,等. 单硝酸异山梨酯注射液治疗心血管疾病有效性及安全性的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(2):104-108.
- [13] 苏靖涵,徐卉,徐国良. 灯盏花素治疗老年冠心病心绞痛有效性及安全性的Meta分析[J]. 中国中医急症, 2019, 28(4):75-78.
- [14] 丁丹,焦丽华,王雪臣,等. 灯盏花素对大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌细胞凋亡及NF- κ B通路信号分子 α 7nAChR, p65, I κ B- α 的影响[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(12):1480-1483.
- [15] 林涌波. 复方丹参滴丸联合氯吡格雷对冠心病患者血清CysC、MMP-9、PAI-1的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(4):772-774.
- [16] 李彦勇. 比索洛尔联合硝酸甘油及阿司匹林对老年冠心病心绞痛患者症状改善及血清NT-pro BNP、CK-MB水平的影响[J]. 现代诊断与治疗, 2019, 30(9):1435-1436.
- [17] Yan F, Feng J, Li W, et al. A Preliminary Study on the Effect and Mechanism of Breviscapine for Improving Insulin Resistance in HepG2 Cells [J]. J Card Pharmacol, 2020, 76(13):47-50.
- [18] 鲜文. 重组人BNP联合黄芪注射液对AMI PCI术后心力衰竭患者心功能及血清炎症因子的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2019, 28(4):424-428.

· 论 著 ·

rh-bFGF对肛周脓肿患者术后创面菌群、创面渗出和肉芽生长情况的影响

倪佳敏¹ 施爱萍² 徐玲¹ 李刚^{1*}

【摘要】目的 探究重组人碱性成纤维细胞生长因子(rh-bFGF)对肛周脓肿患者术后创面菌群、创面渗出和肉芽生长情况的影响。**方法** 选取张家港市第一人民医院肛肠外科2019年1月至2021年1月期间收治的肛周脓肿患者80例,随机数表法将其分为对照组和观察组各40例,均行手术治疗。术后对照组采用浸有甲硝唑的凝胶纱条填塞切口,观察组采用浸有重组人表皮因子的凝胶纱条填塞切口,比较两组术后创面菌群、创面渗出和肉芽生长情况。**结果** 两组患者均治愈后出院,差异无统计学意义($P>0.05$);观察组的总住院天数和治疗总费用均低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。两组的创面无菌生长情况差异无统计学意义($P>0.05$),两组检测的创面菌群均以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主,差异无统计学意义($P>0.05$)。术后7 d、术后14 d,两组的创面渗出、肉芽生长评分均低于术后3 d,且术后3 d、术后7 d、术后14 d,观察组的创面渗出、肉芽生长评分均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 重组人碱性成纤维细胞生长因子能够有效改善肛周脓肿患者术后创面渗出情况、促进肉芽生长,同时还能够缩短住院时间、减少治疗总费用。

【关键词】 重组人碱性成纤维细胞生长因子; 肛周脓肿; 创面菌群; 创面渗出; 肉芽生长

Effects of rh-bFGF on the postoperative wound flora, wound exudate and granulation growth in patients with perianal abscess

NI Jiamin¹, SHI Aiping², XU Ling¹, LI Gang^{1*}

(1. Department of Anorectal Surgery, the Affiliated Zhangjiagang Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu, China, 215600; 2. Zhangjiagang Center for Disease Control and Prevention, Suzhou, Jiangsu, China, 215600)

【ABSTRACT】 Objective To explore the effect of the recombinant human alkaline fibroblast growth factor (rh-bFGF) on the postoperative wound flora, wound exudate and granulation growth in patients with perianal abscess. **Methods** Eighty patients of perianal abscess admitted to the Anorectal Surgery Department of Zhangjiagang First People's Hospital from January 2019 to January 2021 were selected and divided into the control group and the observation group, with 40 cases in each group. All perianal absctomy was performed. After surgery, the control group was filled with gel gauze impregnated with metronidazole, and the observation group was filled with gel gauze impregnated with rh-bFGF. The postoperative wound flora, wound exudation and granulation growth were compared between the two groups. **Results** Both groups were discharged after cure with no significant difference ($P>0.05$). The total hospital stay and total treatment cost in the observation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the aseptic growth of the wound between the two groups ($P>0.05$), and the wound microflora detected in the two groups were mainly Escherichia coli and Klebsiella

基金名称:国家自然科学基金资助项目(81702323)

作者单位:1. 苏州大学附属张家港医院肛肠外科,江苏,苏州 215600

2. 张家港市疾病预防控制中心,江苏,苏州 215600

*通信作者:李刚, E-mail:lee871998@163.com

pneumoniae, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). At 7 d and 14 d after surgery, the scores of wound exudation and granulation growth in both groups were lower than those at 3d after operation. And at 3 d, 7 d, and 14 d after surgery, the wound exudation and granulation growth scores in the observation group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$).

Conclusion rh-bFGF can effectively improve postoperative wound exudation and promote granulation growth in patients with perianal abscess, and can also shorten hospital stay and reduce the total cost of treatment.

[KEY WORDS] rh-bFGF; Perianal abscess; Wound flora; Wound exudation; Granulation growth

肛周脓肿是指肛管直肠周围间隙或软组织发生的急性或慢性化脓性感染^[1]。其发病起源为肛窦感染,是肛周被大肠埃希菌为主的革兰阴性菌感染而引起的急性发病^[2]。男性的发病率高于女性。肛周脓肿患者发病急,病程发展迅速,若治疗不及时,有发展为败血症和脓毒血症的危险^[3]。手术治疗是肛周脓肿临床治疗的首选。此外,术后创面的愈合也是顺利康复的关键。重组人表皮生长因子是一种在基因重组技术支持下人工合成的多肽,具有促进细胞增殖和再生的作用^[4]。重组人表皮生长因子在烧伤外科和体表创伤等的治疗中较为广泛,但在肛周脓肿的治疗中鲜有报道。本研究通过对照分析,探究重组人碱性成纤维细胞生长因子(Recombinant Human Basic Fibroblast Growth Factor, rh-bFGF)对肛周脓肿患者术后创面菌群、创面渗出和肉芽生长情况的影响,旨在为肛周脓肿的术后康复提供参考依据。现将报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取张家港市第一人民医院肛肠外科2019年1月至2021年1月期间收治的肛周脓肿患者80例,随机数表法将其分为对照组和观察组,各40例。其中对照组男37例、女3例,平均年龄(41.75 ± 11.10)岁,手术方式为肛周脓肿切开术19例、肛周脓肿切开引流术18例、其他3例;观察组男38例、女2例,平均年龄(39.10 ± 9.70)岁,手术方式为肛周脓肿切开术26例、肛周脓肿切开引流术13例、其他1例。纳入标准:①均符合肛周脓肿的诊断标准^[5]:经肛门镜检查后发现感染现象,且轻轻按压流出脓液,外周中性粒细胞和白细胞数量升高;②所有入试者均知情同意本次研究;③意识清晰、无交流障碍;④均为首次接受治疗;⑤无手术治疗禁忌证。排除标准:①合并重要器官损伤或重大

病变患者;②入组前1个月接受过抗生素治疗或糖皮质激素治疗;③合并精神类疾病患者;④合并消化道疾病、恶性肿瘤患者;⑤中途退出研究患者。两组的性别、年龄、手术类型比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会的批准。

1.2 方法

两组患者均行常规术前检查,术前12 h禁食、禁饮,常规消毒、局部麻醉后行肛周脓肿手术治疗。治疗后,先采用消毒生理盐水棉球擦拭干净切口表面,确定没有脓液继续流出后进行创面塞填,对照组采用浸有甲硝唑氯化钠注射液(生产厂家:华夏生生药业(北京)有限公司,批号:国药准字H20163300,规格:100 mL:甲硝唑0.5 g与氯化钠0.8 g)的凝胶纱条填塞切口,观察组采用浸有重组人表皮因子(生产厂家:南海朗肽制药有限公司,批号:国药准字S20043006,规格:7万IU)的凝胶纱条填塞切口,每日更换2次,直至创面愈合。

1.3 观察指标

①手术指标:出院情况、总住院天数、治疗总费用。②创面菌群情况:治疗2周后,在患者创面清洁、消毒、换药前用无菌棉签蘸取两组患者的创面分泌物,采用高通量测序仪(生产厂家:瑞士罗氏公司,型号:454)检测创面菌群情况。③创面渗出情况^[6]:分别于术后3、7、14 d评价,渗透纱布<4层记为0分,渗透纱布为4~7层记为1分,渗透纱布8~11层记为2分,渗透纱布12层及以上记为3分。④肉芽生长情况^[7]:分别于术后3、7、14 d评价,创面基本愈合,肉芽良好生长记0分;创面新组织旺盛,呈鲜红色和颗粒状记为1分;创面新组织生长旺盛,呈淡红色,创面基本平坦记为2分;创面新组织基本不生长或生长缓慢,呈暗灰色,切口下凹、局部糜烂坏死记为3分。

1.4 统计学方法

使用SPSS 22.0软件行数据分析。计数资料

用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;正态分布的计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行独立样本 t 检验及配对样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的手术指标比较

两组患者均治愈后出院,差异无统计学意义($P>0.05$);观察组的总住院天数和治疗总费用均低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组的手术指标比较 $(\bar{x}\pm s)$

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

组别	<i>n</i>	出院情况(治愈)	住院天数(d)	治疗总费用(元)
对照组	40	40	8.95±2.86	7969.47±1355.79
观察组	40	40	6.43±0.68	6732.74±889.46
χ^2 值		0.000	4.824	5.427
<i>P</i> 值		1.000	<0.001	<0.001

表2 两组的创面菌群情况

Table 2 Wound microflora of the two groups

组别	<i>n</i>	无菌生长	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	粪肠球菌	金黄色葡萄球菌	摩氏摩根菌	奇异变形菌	无乳链球菌	布氏柠檬酸杆菌
对照组	40	14	23	2	0	0	0	0	0	1
观察组	40	12	15	7	1	2	1	1	1	0
χ^2 值		0.228	3.208	3.130	1.013	2.051	1.013	1.013	1.013	1.013
<i>P</i> 值		0.633	0.073	0.077	0.314	0.152	0.314	0.314	0.314	0.314

表3 两组的创面渗出情况 $(\bar{x}\pm s)$

Table 3 Wound exudation of the two groups $(\bar{x}\pm s)$

组别	<i>n</i>	术后3 d	术后7 d	术后14 d
对照组	40	2.88±0.33	2.05±0.32 ^a	1.43±0.59 ^{ab}
观察组	40	2.28±0.45	1.70±0.46 ^a	0.85±0.36 ^{ab}
<i>t</i> 值		6.800	3.950	5.307
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与本组术后3 d比较,^a $P<0.05$;与本组术后7 d比较,^b $P<0.05$ 。

表4 两组的肉芽生长情况 $(\bar{x}\pm s)$

Table 4 Granulation growth of the two groups $(\bar{x}\pm s)$

组别	<i>n</i>	术后3 d	术后7 d	术后14 d
对照组	40	2.73±0.45	2.05±0.22 ^a	1.58±0.59 ^{ab}
观察组	40	2.08±0.27	1.83±0.38 ^a	0.85±0.36 ^{ab}
<i>t</i> 值		7.834	3.169	6.680
<i>P</i> 值		0.000	0.002	0.000

注:与本组术后3 d比较,^a $P<0.05$;与本组术后7 d比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨论

肛周脓肿主要发生部位为肛管、直肠周围和软组织间隙^[8]。由于肛周脓肿脓液窜及的脓腔位

2.2 两组的创面菌群情况

两组的创面无菌生长情况差异无统计学意义($P>0.05$),两组检测的创面菌群均以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 两组的创面渗出情况

观察组术后3 d、术后7 d、术后14 d的创面渗出评分均低于对照组;术后7 d、术后14 d,两组的创面渗出评分均低于术后3 d;术后14 d两组的创面渗出评分均低于术后7 d;组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 两组的肉芽生长情况

观察组术后3 d、术后7 d、术后14 d的肉芽生长评分均低于对照组;术后7 d、术后14 d,两组的肉芽生长评分均低于术后3 d;术后14 d两组的肉芽生长评分均低于术后7 d;组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

置在肛提肌以上,采用手术治疗的创面往往较大,同时肛门自身特殊的生理结构和功能,创口处于开放状态、容易给创面带来污染,同时创面处理不当则多伴有细菌和坏死组织堆积,继而加重感染、导致创面彻底愈合的时间较长^[9]。严重还会造成脓毒症、组织坏死的后果^[10]。为了促进术后伤口愈合,过去临床上对于肛周脓肿术后切口的处理方式常常为采用浸有抗感染药物(例如甲硝唑)的纱条塞填并以敷料固定^[11]。但这种等待创面自行愈合的方法所需要的时间较长、容易再次发生感染和假性愈合的情况^[12]。因此寻找新的切口处理方式是影响肛周脓肿术后创面愈合的关键环节之一。

本研究结果说明rh-bFGF能够改善肛周脓肿术后的创面渗出情况、促进肉芽生长和伤口愈合。rh-bFGF是一种具有促进细胞生长作用的重组多肽,在烧伤、体表创伤等多种外科手术中都具有广泛的应用。其促进创口愈合的机制为:在切

口愈合过程中, rh-bFGF 能够调控多种细胞基因表达, 例如促进上皮细胞的再生, 从而促进表皮细胞重建^[13]; 调控参与角朊细胞的增殖、分化过程, 促进角朊细胞生长, 有助于肛周上皮组织重构^[14]; 促进纤维细胞合成胶原纤维, 从而加速创面纤维化, 有利于创面愈合^[15]; 促进皮肤与黏膜创面组织中 DNA 或者 RNA 合成, 加速创面肉芽组织生成, 缩短肉芽生长时间^[16]。此外, 手术结束后, 位于肛门括约肌附近的创面由于临近肠道, 将会受到肠道菌群环境的影响, 患者术后进行排便时也容易污染创面, 导致多种细菌感染。本研究结果说明 rh-bFGF 的抗菌作用与甲硝唑相似, 具有较好的安全性, 不会增加术后感染的风险, 但是研究中发现, 除了大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌等革兰阴性菌外, 观察组的脓液检查中还发现了粪肠球菌、金黄色葡萄球菌、异变形菌、无乳链球菌几类革兰阳性菌。提示 rh-bFGF 有可能会提高革兰阳性菌感染的概率。甲硝唑是一种广泛用于厌氧菌感染的抗生素, 属于硝基咪唑类药物^[17], 其抗菌谱包括脆弱类杆菌、产气芽孢杆菌、消化球菌属、消化链球菌属等^[18]。而上述抗菌谱类别大部分归于革兰阳性菌类, 提示甲硝唑的抗革兰阳性菌作用强于 rh-bFGF。因此, 临床上可以根据患者的具体情况, 谨慎选择切口处理方式。此外, 本研究结果提示 rh-bFGF 能够促进肛周脓肿术后切口愈合是一种更为经济的方法, 能够减轻患者的治疗费用负担, 更快帮助患者恢复日常生活。

综上, 重组人碱性成纤维细胞生长因子能够有效改善肛周脓肿患者术后创面渗出情况、促进肉芽生长, 同时还能够缩短住院时间、减少治疗总费用。但由于本研究取样较少、随访时间较短, 可能导致结果存在一定的偏移, 需要后续扩大样本、延长随访时间来进一步验证。

参考文献

- [1] Amato A, Bottini C, Nardi PD, et al. Study the Incidence of Fistula- in- Ano in Subsequent to Anal Abscess[J]. Colorectal technology, 2020, 24(2): 127-143.
- [2] 朱绒绒, 韩丽君, 陈恬静. 银芪合剂治疗高位肛周脓肿术后创面愈合情况的临床研究[J]. 中国中医急症, 2021, 30(7): 1195-1198.
- [3] 王琳, 赵俊飞, 唐茂山, 等. 苦劳汤坐浴辅助肛周脓肿内口封闭联合负压封闭引流技术治疗高位肛周脓肿临床观察[J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(1): 103-107.
- [4] Li S, Liu Y, Huang Z, et al. Efficacy and safety of nano-silver dressings combined with recombinant human epidermal growth factor for deep second-degree burns: A meta-analysis[J]. Burns, 2020, 47(3): 643-653.
- [5] 魏秀芝, 殷骅, 胡晶晶, 等. 腔内双平面超声联合超声造影在诊断肛周脓肿的应用价值[J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(9): 1053-1056.
- [6] 刘县宝, 石荣. 促进肛周脓肿术后创面愈合的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(6): 1211-1214.
- [7] 纪达, 王建民, 赵兴明. 解毒清创方口服及熏洗对肛周脓肿术后创面愈合的影响[J]. 环球中医药, 2021, 14(8): 1533-1536.
- [8] Lv BL, Feng WZ, Wang Y, et al. A Review on Treating Postoperative Perianal Abscess by the TCM External Therapy[J]. World J Int Tradit West Med, 2020, 6(7): 43-50.
- [9] 柳春生, 李积良, 王继宁. 肛痈促愈汤在促进肛周脓肿术后创面愈合的作用及对血管内皮因子的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(12): 205-208.
- [10] 徐跃军, 郭志伟, 陈艳, 等. 复方多黏菌素 B 软膏联合中药坐浴对老年肛周脓肿术后病人伤口愈合效果及血清表皮生长因子表达的影响[J]. 实用老年医学, 2021, 35(1): 41-44.
- [11] 石健, 孙春元, 鲍炳州, 等. 吗啉硝唑治疗肛周脓肿根治术后感染的临床疗效[J]. 中华普通外科杂志, 2021, 36(1): 50-52.
- [12] 马志琼, 黄小瑜, 何娇. 肛周脓肿或肛瘘术后影响创面愈合质量的危险因素分析[J]. 临床误诊误治, 2020, 33(2): 76-80.
- [13] 张庆普, 赵付生, 曲明, 等. 高压氧结合重组牛碱性成纤维细胞生长因子治疗肛肠病术后患者的临床效果[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(18): 2799-2803.
- [14] 李宏, 吴绍华, 邱明星, 等. 碱性成纤维细胞生长因子及胰岛素样生长因子 1 对精原干细胞增殖凋亡影响的机制[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(19): 3017-3022.
- [15] 王芳, 费晓磊, 李梦洁. 一清胶囊联合重组牛碱性成纤维细胞生长因子凝胶治疗复发性口腔溃疡的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2021, 36(2): 373-377.
- [16] 张子茜, 杨荣丽, 张兰, 等. 羟氯喹联合外用重组牛碱性成纤维细胞生长因子, 重组人源Ⅲ型胶原蛋白治疗玫瑰痤疮疗效观察[J]. 中国中西医结合皮肤性病学期杂志, 2020, 19(2): 163-165.
- [17] 焦峰, 黄海进, 仲艳阳, 等. 单纯性肛周脓肿切开引流术后使用抗生素对肛瘘形成的影响[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(17): 2395-2398.
- [18] 陈莎, 蒋晓梅, 毛艳菲. 不同方式抗生素治疗细菌性肝脓肿患者的临床分析[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(11): 1192-1196.

· 论 著 ·

骨折延迟愈合患者血清FDP、sVCAM-1和BMP-2的变化及临床意义

孟来波¹ 董延龙¹ 陈洪安^{2*}

【摘要】目的 探讨骨折延迟愈合患者血清纤维蛋白降解产物(FDP)、可溶性血管细胞黏附分子(sVCAM-1)和骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的变化及临床意义。**方法** 选取2017年8月至2019年9月洛阳市孟津区中医院收治的122例骨折患者,将患者分为A组($n=59$,骨折正常愈合)与B组($n=63$,骨折延迟愈合)。比较两组患者1周、4周及8周后血清纤维蛋白降解产物(FDP)、可溶性血管细胞黏附分子-1(sVCAM-1)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)水平、红细胞聚集指数、变形指数、电泳指数、血浆黏度、全血黏度(高切)、全血还原黏度(高切)水平和红细胞聚集率。**结果** 骨折4、8周后,B组血清FDP、sVCAM-1高于A组,BMP-2水平低于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。骨折4、8周后,B组红细胞聚集指数、变形指数、电泳指数高于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。骨折4、8周后,B组血浆黏度、全血黏度(高切)和全血还原黏度(高切)水平高于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。B组的红细胞聚集率低于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 骨折延迟患者FDP、sVCAM-1、BMP-2及血液流变学指标的变化明显,有助于临床上判断患者骨折延迟的发生,以利于临床早期干预。

【关键词】 骨折延迟愈合; FDP; sVCAM-1; BMP-2

Changes and clinical significance of serum FDP, sVCAM-1, BMP-2 in patients with delayed fracture union

MENG Laibo¹, DONG Yanlong¹, CHEN Hongan^{2*}

(1. Department of Orthopedics, Mengjin District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Luoyang City, Luoyang, Henan, China, 471100; 2. Department of Orthopedics, the Third People's Hospital of Luoyang City, Luoyang, Henan, China, 471002)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the changes and clinical significance of serum FDP, sVCAM-1 and BMP-2 in patients with delayed fracture healing. **Methods** 122 fracture patients treated in Mengjin District Hospital of Traditional Chinese Medicine of Luoyang from August 2017 to September 2019 were selected, and the patients were divided into the group A ($n=59$, normal fracture union) and the group B ($n=63$, delayed fracture union). The levels of serum fibrin degradation product (FDP), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), erythrocyte aggregation index, deformation index, electrophoresis index, plasma viscosity, whole blood viscosity (high shear) and whole blood reduced viscosity (high shear) level and red blood cell aggregation rate were compared between the two groups after 1, 4 and 8 weeks. **Results** After 4 and 8 weeks of fracture, the levels of serum FDP and sVCAM-1 in the group B were higher than those in the group A, and the levels of BMP-2 were lower than those in the group A ($P<0.05$). After 4 and 8 weeks of fracture, the erythrocyte aggregation index, deformation index and electrophoresis index in the group B were higher than those in the group A ($P<0.05$). After 4 and 8 weeks of fracture, the levels of

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201702103)

作者单位:1. 洛阳市孟津区中医院骨科, 河南, 洛阳 471100

2. 洛阳市第三人民医院骨科, 河南, 洛阳 471002

*通信作者:陈洪安, E-mail: 1213722306@qq.com

plasma viscosity, whole blood viscosity (high shear) and whole blood reduced viscosity (high shear) in the group B were significantly higher than those in the group A ($P<0.05$). The erythrocyte aggregation rate in the group B was significantly lower than that in the group A ($P<0.05$). **Conclusion** The changes of FDP, sVCAM-1, BMP-2 and hemorheological indexes in patients with delayed fracture are obvious, which is helpful to clinically judge the occurrence of delayed fracture in patients and facilitate early clinical intervention.

[KEY WORDS] Delayed fracture union; FDP; sVCAM-1; BMP-2

骨折正常愈合对于大多数患者而言所需时间一般在4个月之内,在此时间段内未达到骨折愈合的标准称为骨折延迟愈合,它是骨折范围内较为严重的并发症,是常见的疑难杂症^[1]。骨折延迟愈合在临床发病率上虽不高,但是严重影响着患者的治疗效果^[2-3]。骨折延迟愈合对患者可造成关节发生伸直、肢体缩短及机体功能丧失,如何预测骨折延迟愈合的发生有助于更好地了解疾病^[4]。有研究表明,骨折延迟愈合患者会对自身血清纤维蛋白降解产物(Fibrinogen Degradation Product, FDP)、可溶性血管细胞黏附分子-1(Soluble vascular cell adhesion molecule-1, sVCAM-1)、骨形态发生蛋白-2(Bone morphogenetic protein-2, BMP-2)产生一系列的影响^[5]。本研究将骨折愈合延迟患者监测血清FDP、sVCAM-1和BMP-2的变化、血流变中红细胞变化、血液黏度变化及红细胞聚集率,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析2017年8月至2019年9月本院收治的骨折患者的临床资料,选取其中59例骨折正常愈合的患者设为A组,选取其中63例骨折延迟愈合的患者设为B组。纳入标准:均符合骨折的诊断标准^[6];患者或家属签署同意书;临床资料完整无欠缺。排除标准:急慢性肝功能障碍;合并其他严重器质性疾病;妊娠期患者。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

分别取两组患者1、4、8周后的空腹外周静脉

血各5 mL,采用美国BECKMAN离心机进行离心,转速为5 000 r/min,离心半径为10 cm,离心处理15 min后,取上清液进行检测。采用酶联免疫吸附法检测两组患者骨折1、4、8周后血清FDP、sVCAM-1、BMP-2水平、红细胞聚集指数、变形指数、电泳指数、血浆黏度、全血黏度(高切)和全血还原黏度(高切)水平,试剂盒由上海钰博生物科技有限公司提供,酶标仪为美国biotek ELx808吸收光酶标仪。所有操作均按说明书进行。红细胞聚集率评估^[7]:在显微镜下观察患者红细胞聚集情况,轻度:红细胞粘连,一般为3~5个红细胞成串连接;中度:红细胞形成缙钱状;重度:可见红细胞成团状。

1.3 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组血清FDP、sVCAM-1、BMP-2水平比较

骨折1周后两组血清FDP、sVCAM-1、BMP-2水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),骨折4、8周后,B组血清FDP、sVCAM-1高于A组,BMP-2水平低于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.2 两组血流变中红细胞相关指标比较

骨折1周后两组红细胞聚集指数、变形指数、电泳指数比较差异无统计学意义($P>0.05$),骨折4、8周后,B组红细胞聚集指数、变形指数、电泳指数高于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表1 两组患者一般资料情况 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

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

组别	n	男/女	平均年龄	骨折类型		骨折部位			
				闭合性骨折	开放性骨折	胫腓骨骨折	尺桡骨骨折	肱骨干骨折	其他
A组	59	28/31	48.58±5.54	32(54.24)	27(45.76)	14(23.73)	16(27.12)	18(30.51)	11(18.6463)
B组	63	31/32	49.54±5.32	30(47.62)	33(52.38)	16(25.40)	18(28.57)	16(25.40)	13(20.63)
t/χ^2 值		0.037	0.976		0.533	0.045	0.032	0.396	0.076
P 值		0.846	0.330		0.464	0.830	0.858	0.529	0.782

表2 两组血清FDP、sVCAM-1、BMP-2水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of serum FDP, sVCAM-1 and BMP-2 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sVCAM-1 ($\mu\text{g/L}$)			FDP (mg/L)			BMP-2 (pg/mL)		
		骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周	骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周	骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周
A组	59	417.59 $\pm$ 34.29	480.42 $\pm$ 39.58 ^a	550.28 $\pm$ 40.39 ^{ab}	10.21 $\pm$ 1.98	8.28 $\pm$ 9.24 ^a	4.23 $\pm$ 1.52 ^{ab}	144.85 $\pm$ 12.58	125.35 $\pm$ 10.25 ^a	117.26 $\pm$ 6.87 ^{ab}
B组	63	418.65 $\pm$ 35.64	570.95 $\pm$ 45.36 ^a	659.87 $\pm$ 51.98 ^{ab}	10.23 $\pm$ 1.58	9.64 $\pm$ 3.28 ^a	5.62 $\pm$ 1.23 ^{ab}	146.58 $\pm$ 11.59	115.54 $\pm$ 9.88 ^a	100.25 $\pm$ 7.22 ^{ab}
t值		0.167	11.712	12.942	0.062	1.097	5.569	0.791	5.409	13.312
P值		0.868	<0.001	<0.001	0.951	0.275	<0.001	0.431	0.005	<0.001

注:与同组骨折后1周比较,^a $P<0.05$,与同组骨折后4周比较,^b $P<0.05$ 。表3 两组血流变中红细胞相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of red blood cell related indicators of blood rheology between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	红细胞聚集指数			红细胞变形指数			红细胞电泳指数		
		骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周	骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周	骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周
A组	59	4.11 $\pm$ 0.51	4.78 $\pm$ 0.54 ^a	5.17 $\pm$ 0.74 ^{ab}	1.12 $\pm$ 0.32	1.52 $\pm$ 0.22 ^a	1.82 $\pm$ 0.16 ^{ab}	7.22 $\pm$ 0.88	8.32 $\pm$ 1.05 ^a	7.56 $\pm$ 0.78 ^{ab}
B组	63	4.16 $\pm$ 0.56	6.21 $\pm$ 0.64 ^a	7.26 $\pm$ 0.58 ^{ab}	1.24 $\pm$ 0.43	2.36 $\pm$ 0.19 ^a	2.66 $\pm$ 0.26 ^{ab}	7.52 $\pm$ 0.89	10.36 $\pm$ 1.22 ^a	12.33 $\pm$ 1.29 ^{ab}
t值		0.514	13.293	17.422	1.739	22.612	21.319	1.871	9.869	24.511
P值		0.608	<0.001	<0.001	0.085	<0.001	<0.001	0.064	<0.001	<0.001

注:与同组骨折后1周比较,^a $P<0.05$,与同组骨折后4周比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 两组血流变中血液黏度比较

骨折1周后两组血浆黏度、全血黏度(高切)和全血还原黏度(高切)水平比较差异无统计学

意义($P>0.05$),骨折4、8周后,B组血浆黏度、全血黏度(高切)和全血还原黏度(高切)水平高于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 两组血流变中血液黏度指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of blood viscosity indexes in hemorheology between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血浆黏度			全血黏度(高切)			全血还原黏度(高切)		
		骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周	骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周	骨折后1周	骨折后4周	骨折后8周
A组	59	1.55 $\pm$ 0.23	1.58 $\pm$ 0.15 ^a	1.39 $\pm$ 0.13 ^{ab}	6.67 $\pm$ 0.58	6.98 $\pm$ 0.64 ^a	7.33 $\pm$ 0.61 ^{ab}	7.06 $\pm$ 0.55	7.19 $\pm$ 0.62 ^a	6.48 $\pm$ 0.44 ^{ab}
B组	63	1.52 $\pm$ 0.19	1.88 $\pm$ 0.17 ^a	1.92 $\pm$ 0.23 ^{ab}	6.54 $\pm$ 0.59	8.76 $\pm$ 0.72 ^a	9.44 $\pm$ 0.88 ^{ab}	7.03 $\pm$ 0.72	9.33 $\pm$ 0.55 ^a	
t值		0.787	10.308	15.527	1.226	14.395	15.293	0.257	20.196	34.695
P值		0.433	<0.001	<0.001	0.225	<0.001	<0.001	0.797	<0.001	<0.001

注:与同组骨折后1周比较,^a $P<0.05$,与同组骨折后4周比较,^b $P<0.05$ 。

2.4 两组红细胞聚集率比较

B组的红细胞轻度聚集率、中重度聚集率高于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表5 两组红细胞聚集率比较 [$n(\%)$]Table 5 Comparison of red blood cell aggregation rate between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	无聚集	轻度聚集	中重度聚集
A组	59	55(93.22)	3(5.08)	1(1.69)
B组	63	23(36.51)	31(50.79)	9(14.29)
χ^2 值		42.497	29.504	6.419
P值		<0.001	<0.001	0.011

3 讨论

骨折发生后的愈合过程是一个较为重要的时

期,骨折恢复需要重新建立起骨折处组织的结构,从而恢复机体的正常生理功能及原有的生物学特征^[8]。

sVCAM-1是临床中常见的细胞外基质黏附因子,可导致机体炎症反应的发生^[9]。FDP是血液发生血栓状态下纤溶系统活性改变的分子标志物,可以反映出纤溶过程的变化,同时可以作为血栓被溶解的标志^[10]。BMP-2在骨组织再生和修复中发挥着重要的作用,主要对未分化间充质细胞和骨系细胞起到募集和分化作用,也可诱导成骨细胞标志物上升,促进细胞外基质钙化。国内外学者研究认为,骨折延迟愈合患者与骨折正常愈合患者比较,其血清sICAM-1、sVCAM-1明显升高,BMP-2明显降低,在临床治疗上应针对上述变化采取有效的干预措施^[11]。本文研究结果提示

FDP、sVCAM-1、BMP-2在检测骨折延迟愈合患者中有重要的指导意义,可作为早期判断骨折患者愈合程度的参考标准。

检测骨折延迟愈合患者中血流变中红细胞相关指标具有一定的意义,红细胞聚集指数能够反映出红细胞聚集程度,红细胞聚集指数增高则表示聚集性增强,易引起血液灌流障碍;变形指数则反映出红细胞在血液中的流动变形情况,其指数高低直接反映血液流动快慢和红细胞寿命的长短;红细胞电泳指数出现增高时,则提示红细胞聚集性增强,血液黏度增加,更容易形成血栓性疾病。本文研究结果说明B组患者容易出现血液黏度升高的情况及血栓的病理性变化,这都是造成骨折延迟愈合的重要因素。

张文莉等^[12]研究认为,血浆黏度水平的升高可能是引起骨折延迟愈合的重要因素,对于骨折患者的临床治疗具有重要临床意义。血流变中血液黏度亦是反映骨折延迟愈合患者愈合情况的重要指标。血浆黏度是反映血液流动性的指标之一,全血黏度(高切)和全血还原黏度(高切)亦反映血液黏度^[13]。康立恒等^[14]研究认为,骨折愈合延迟会导致骨折患者处在慢性炎症反应状态,改变患者血液流变学,动态检测患者血液流变学指标可作为诊断及了解病情的指标,预防骨折不良的发生。本次研究结果中,骨折4、8周后,B组血浆黏度、全血黏度(高切)和全血还原黏度(高切)水平高于A组,表明B组患者机体炎症反应更为明显,血液较为粘稠、血流速度慢,与上述研究中血液流变学指标可作为诊断骨折延迟愈合的观点一致。

红细胞聚集率能够反映局部微循环情况,有助于了解机体血运状况。国内外学者研究显示,骨折延迟愈合患者微循环状态较差,积极干预可避免发生骨折延迟愈合的风险^[15]。本文研究中,B组的红细胞聚集率低于A组,提示骨折延迟愈合患者微循环作用降低,临床可通过红细胞聚集率判断骨折延迟愈合患者的恢复情况。

综上所述,骨折延迟患者FDP、sVCAM-1、BMP-2及血液流变学指标的变化明显,有助于临床上判断患者骨折延迟的发生,以便及早进行干预。

参考文献

- [1] 李志鹏,徐磊.杜仲补肾健骨颗粒对骨折不愈合患者sICAM-1、sVCAM-1及骨诱导蛋白BMP-2及微循环因子的影响[J].现代中西医结合杂志,2018,37(7):749-752.
- [2] Markus H, Daniela K, Thomas G, et al. Different Kinetics of Bone Markers in Normal and Delayed Fracture Healing of Long Bones[J]. Clin Chem, 2020, 12(12):16-20.
- [3] 梁玉祥,袁峰,喻杉,等.慢性骨髓炎患者血清TNF- α ,IL-1, BMP-2动态水平变化及临床意义[J].西部医学,2020,32(8):1142-1145.
- [4] 李魁章,赵延君,杨伟华,等.选择性手术治疗复杂Pilon骨折的临床分析[J].生物骨科材料与临床研究,2020,17(6):48-51.
- [5] Simpson CR, Kelly HM, Murphy CM. Synergistic use of bio-materials and licensed therapeutics to manipulate bone remodelling and promote non-union fracture repair[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2020, 160(33):212-233.
- [6] 王郑浩,李开南.基于CT三维重建技术绘制骨折地图的临床应用进展[J].中华创伤骨科杂志,2020,22(2):175-179.
- [7] 徐向阳,孙军平,李云朋,等.IGF1,TNF α ,NF κ B p65亚基预测胫骨平台骨折术后愈合延迟的价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(8):1333-1336.
- [8] 倘艳锋,杨玉霞,李红军,等.经皮自体骨髓浓集液和富血小板血浆联合注射治疗骨折延迟愈合[J].中国修复重建外科杂志,2020,34(9):1130-1135.
- [9] 葛向荣,马红霞,林继红.胫骨骨折患者术后血清IGF-1, β -CTX,CYR61蛋白的表达与延迟愈合的关系[J].创伤外科杂志,2020,22(3):205-208.
- [10] 陈伟,李鹏,万永建,等.创伤性骨折延迟愈合患者血清骨转化标志物的表达水平及意义[J].东南大学学报:医学版,2021,40(2):225-229.
- [11] Okadak K, Kawaok, Nakai D, et al. Role of Macrophages and Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Delayed Bone Repair in Diabetic Female Mice[J]. Int J Mol Sci, 2022,23(1):478.
- [12] 张文莉,孙萍,杜彦懿,等.骨折延迟愈合患者血液流变学、血清黏附分子及骨代谢指标的检测及临床意义[J].中国卫生检验杂志,2018,28(16):2001-2006.
- [13] Bernaus M, Slobogean GP, Bzovsky S, et al. Early Radiographic Union Score for Hip Is Predictive of Femoral Neck Fracture Complications Within 2 Years[J]. J Orthop Trauma, 2019, 34(6):234-241.
- [14] 康立恒,袁宝明,彭传刚,等.微创钢板内固定治疗股骨干多段骨折髓内钉内固定术后骨折延迟愈合1例[J].中国骨与关节损伤杂志,2018,33(12):1338-1339.
- [15] 彭定兴,贺前松,罗军,等.何氏生骨散外敷治疗骨折延迟愈合及不愈合的临床研究[J].中华中医药杂志,2020,35(11):5865-5868.

• 综 述 •

EGFR-TKIs 在晚期 NSCLC 中的耐药机制及临床应对策略的研究进展

焦赵爽 王萍*

【摘 要】 肺癌是我国最主要的癌症死亡原因之一。近年来以表皮生长因子受体(EGFR)突变为主要的靶向治疗取得了显著的成效,已成为非小细胞肺癌(NSCLC)不可或缺的重要治疗手段。然而,接受 EGFR-TKIs 治疗的患者不可避免的会出现获得性耐药。EGFR-TKIs 耐药机制复杂,包括 EGFR 修饰、旁路激活、下游通路激活、致癌基因融合以及组织学/表型转化等。根据这些机制发展而来的应对策略,如第四代 EGFR-TKIs 的开发、不同 TKIs 的联合使用等,展现出良好的应用前景。本文就 EGFR-TKIs 在晚期 NSCLC 中的耐药机制及临床应对策略的研究进展进行综述。

【关键词】 非小细胞肺癌;表皮生长因子受体激酶抑制剂;耐药机制;临床应对策略

Research progress on the drug resistance mechanism and clinical overcoming strategies of EGFR-TKIs in advanced non-small cell lung cancer

JIAO Zhaoshuang, WANG Ping*

(Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

【ABSTRACT】 In China, lung cancer is one of the leading causes of cancer death. In recent years, targeted therapy based on EGFR mutations has achieved remarkable effects and has become an indispensable treatment for NSCLC. However, patients treated with EGFR-TKIs will inevitably develop acquired drug resistance. The resistance mechanisms of EGFR-TKIs are complex, including EGFR modification, bypass activation, downstream pathway activation, oncogene fusion, and histological or phenotypic transformation. Coping strategies based on these mechanisms, such as the development of fourth-generation EGFR-TKIs and the combination of different TKIs, have shown great application prospects. This article reviews the research progress of resistance mechanisms and clinical overcoming strategies to EGFR-TKIs in advanced non-small cell lung cancer.

【KEY WORDS】 NSCLC; EGFR-TKIs; Resistance mechanism; Clinical overcoming strategies

2020年,我国肺癌新发病例82万、死亡71万,居各类癌症首位^[1]。非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)是肺癌最主要的亚型,约占85%^[2]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, *EGFR*)基因是NSCLC最常见的驱动基因,约占51.4%^[3]。酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs),能竞争结合ATP结合

位点,阻断*EGFR*磷酸化,促进细胞凋亡。2003年首个EGFR-TKI吉非替尼(Gefitinib)获FDA批准用于治疗晚期NSCLC,由此开启了肺癌的精准医疗时代。针对*EGFR*突变阳性的患者,EGFR-TKIs显著提高了患者的疗效、改善生活质量。然而大多数患者在服用一段时间后不可避免的发生耐药,疾病再次进展。不同EGFR-TKIs耐药机制不

作者单位:武汉大学中南医院病理科,湖北,武汉 430071

通信作者:王萍, E-mail: wangp0816@163.com

尽相同,可分为 *EGFR* 依赖性和非依赖性。因此, *EGFR*-TKIs 治疗过程中,再次组织活检、血浆基因监测有助于发现特定的耐药机制,指导有效的临床干预。本文旨在对近年来 *EGFR*-TKIs 耐药机制及耐药后可行的治疗策略进行综述,为晚期 NSCLC 治疗提供参考。

1 *EGFR* 突变概述

EGFR 突变主要集中在 18~21 外显子,其中 19del 和 L858R 最为常见(约 90%),这部分患者对 *EGFR*-TKIs 响应较好,故常称为经典突变。除此之外,还有一些占比较小且种类繁多的非经典突变,包括 G719X、E709X、18del、19ins、20ins、S768I、T790M、L861Q 等,占有所有 *EGFR* 突变的 10.7%~16%^[4]。此类患者除 T790M 和 20ins 外,对一代和二代 *EGFR*-TKIs 均敏感。T790M 和 20ins 是传统的耐药位点, T790M 阳性患者首选第三代 *EGFR*-TKIs。20ins 是非经典突变中最常见的突变类型,占有所有 *EGFR* 突变的 4%~10%^[5],除 A763_Y764insFQEA 外,对 *EGFR*-TKIs 均表现为耐药。针对 20ins 突变的患者,当前仅埃万妥单抗获 FDA 批准用于化疗失败后的二线治疗^[6]。此外,正在研发的 Pozitotinib (NCT05045404)、Mobocertinib (NCT04535557) 以及国产新药 PLB1004 (CTR20201030) 等,针对 20ins 突变均展现出较好的抑制活性。

2 *EGFR* 依赖性耐药机制及应对策略

2.1 获得性 T790M 突变

被称为“关守突变 (gatekeeper mutation)”的 T790M 是一/二代 *EGFR*-TKIs 获得性耐药的最常见类型,约占 50~60%^[7]。AURA3 试验^[8]中, T790M 阳性的肺腺癌患者,与化疗相比,二线奥希替尼治疗可显著延长 PFS (10.1 vs 4.4 个月)。FLAURA 研究^[9]中,一线使用奥希替尼,中位 PFS 达 18.9 个月,患者总生存期达 40 个月以上,显著高于一代 TKIs 的 30.6 个月。

针对 T790M 突变的第三代 *EGFR*-TKIs,除奥希替尼外,还有阿美替尼、伏美替尼、艾维替尼、BPI-7711 等,见图 1、表 1。近期,阿美替尼和伏美替尼已先后获 NMPA 批准用于 T790M 突变的晚期 NSCLC 患者的二线治疗,而拉泽替尼在 T790M 突变的 NSCLC 的 I/II 期试验中也显示出良好的安全性和抗肿瘤活性(总缓解率为 57.9%,疾病控制率为 89.5%)^[10],为 T790M 耐药突变的晚期 NSCLC 患者提供更多的选择。

2.2 C797X 突变

C797X (主要是 C797S) 突变是目前报道的奥希替尼最常见的 *EGFR* 依赖性耐药机制。在 AURA3 试验^[8]中,二线奥希替尼治疗进展的患者中 14%~25% 检测出 C797S 突变。而一线奥希替尼进展后 C797S 突变的发生率较低,仅 7%^[9]。这些

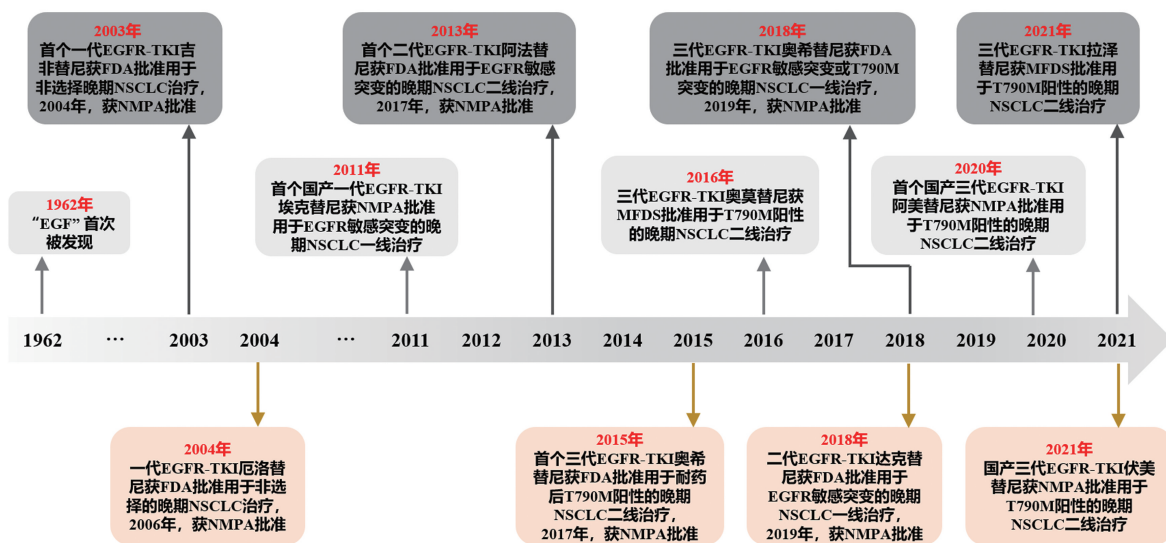


图1 已获批上市的EGFR-TKIs盘点

Figure 1 Summary of EGFR-TKIs that have been approved for the treatment of advanced NSCLC

表1 针对特定EGFR耐药突变而研发的新型第三代、四代EGFR-TKIs(尚未获批)

Table 1 New third- and fourth-generation EGFR-TKIs developed for specific EGFR resistance mutations (not yet approved)

药物名称	生产商	试验阶段	针对的耐药位点	临床试验 ID	招募状态
第三代 EGFR-TKIs					
艾维替尼(Abivertinib)	艾森生物	II 期临床	T790M	NCT03300115	Unknown
贝福替尼(BPI-D0316)	贝达药业	II 期临床	T790M	NCT03861156	Active, not recruiting
Rezivertinib(BPI-7711)	贝尔达药业	III 期临床	T790M	NCT03866499	Recruiting
ASK120067	奥赛康药业	III 期临床	T790M	NCT04143607	Recruiting
奥瑞替尼(SH-1028)	圣和药业	III 期临床	T790M	NCT04239833	Not yet recruiting
BPI-15086	贝达药业	I 期临床	T790M	NCT02914990	Completed
RX518(CK-101)	润新生物	I / II 期临床	T790M	NCT02926768	Active, not recruiting
ZN-e4 (KP-673)	Zentalis Pharmaceuticals	I / II 期临床	T790M	NCT03446417	Recruiting
TAS-121	Taiho Pharmaceutical	I 期临床	T790M	JapicCTI-142651	Completed
Rociletinib(CO-1686)	Clovis Oncology	III 期临床	T790M	NCT02322281	Terminated
第四代 EGFR-TKIs					
EAI045		临床前	L858R/T790M/C797S		
JBj-04-125-02		临床前	L858R/T790M/C797S		
BLU945		临床前	T790M/C797S		
TQB3804	正大天晴	I 期临床	T790M/C797S	NCT04128085	Recruiting
CH7233163	罗氏	临床前	T790M、T790M/C797S		
BBT-176	Bridge Biotherapeutics	I / II 期临床	T790M/C797S	NCT04820023	Recruiting
BPI-361175	贝达药业	临床前	T790M/C797S		
BI-4020	Boehringer Ingelheim	临床前	19del/T790M/C797S		
JND3229		临床前	19del/T790M/C797S		
AZ7608		临床前	T790M/C797S		

患者仍保留了 T790M 突变,表现为 *EGFR* 敏感突变/T790M/C797S 三重突变^[11]。研究显示,66%的 T790M/C797S 突变表现为顺式突变(位于相同等位基因),而 34%为反式突变^[12]。目前对于 C797S 耐药突变的应对策略主要分为三个方面:首先,在不存在 T790M 突变的情况下,仅表现为 C797S 的 NSCLC 患者仍对一/二代 EGFR-TKIs 敏感;其次,当 T790M 与 C797S 为反式突变(在不同等位基因)时,可将三代 TKIs 与一代或二代联用。Arulanda 等^[13]首次报道了 1 例二线奥希替尼治疗后出现 T790M/C797S 反式突变,改用奥希替尼联合吉非替尼治疗后,病情迅速得到缓解;然而,当 T790M/C797S 为顺式突变时,患者对现有的 EGFR-TKIs 均表现出耐药性^[14]。除奥希替尼外,据报道其他三代 EGFR-TKIs,如 Lazertinib^[10]、olmutinib、abivertinib 等,也对 C797S 突变耐药。针对三代 EGFR-TKIs 的耐药问题,第四代 EGFR 靶向药正在研发或已处于临床试验当中,如 JBJ-04-125-02 体内实验显示对 L858R、L858R/T790M 及

L858R/T790M/C797S 突变均具有较强的抑制作用,且能单药使用,具有良好的应用前景^[15]。值得注意的是,*ALK* 抑制剂布加替尼对 C797S 介导的耐药也具有较好的体内活性^[16]。

2.3 其他 EGFR 依赖性耐药机制

G796X 是另一种少见的 EGFR 三级突变,目前报道的主要为 G796R/S/D。G796X 是一种被称为“溶剂前沿(solvent-front)”的突变,通过干扰 TKIs 附着,而使其无法发挥抗肿瘤作用。Klempner^[17]等报道了 1 例二线奥希替尼治疗后出现 *EGFR* L858R/T790M/cis-G796S 突变。Lin^[18]等计算机模拟显示 G796 突变干扰了奥希替尼与 *EGFR* 激酶结构域的苯基芳环结合,从而诱发耐药。研究发现在缺乏 T790M 突变的情况下,G796X 突变表现为对一/二代 TKIs 敏感,而 T790M 与 G796X 共存时,则表现为 EGFR-TKIs 耐药。在临床工作中,本团队首次发现 1 例二线奥希替尼治疗进展后出现 *EGFR* L858R/T790M/cis-G796S/del 多重突变(如图 2),改用化疗+贝伐单抗后,患者病情趋于稳定。

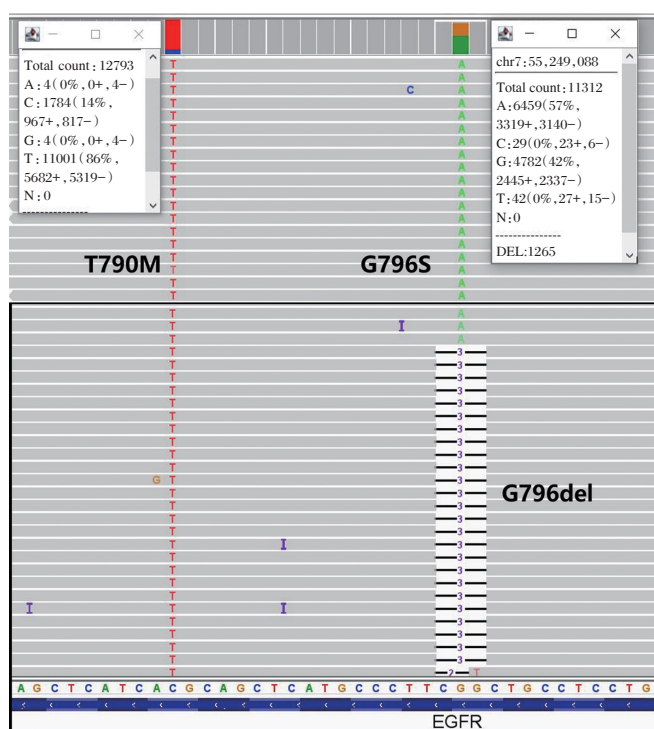


图2 二线奥希替尼耐药后出现EGFR L858R/T790M/cis-G796S/del 多重突变

Figure 2 EGFR L858R/T790M/cis-G796S/del multiple mutations after second-line osimertinib resistance

在奥希替尼治疗进展的后续分析中,研究者还观察到其他与耐药相关的 *EGFR* 罕见突变,如 L718Q、G724S、L769X、L792H 等,这些突变主要集中在 *EGFR* 的 18 和 20 号外显子,有趣的是,在无 T790M 突变共存时,它们对一/二代 EGFR-TKIs 敏感。另有研究报道,三代 TKIs,如奥希替尼、rociletinib^[19],二线治疗进展后出现了 *EGFR* 野生型等位基因的扩增。Watanabe^[20]等报道了一项临床前研究,体外实验显示 HSP90 抑制剂能克服 *EGFR* 蛋白过表达介导的三代 EGFR-TKIs (奥希替尼和 TAS-121) 耐药。

3 非 EGFR 依赖性耐药机制及应对策略

3.1 *MET* 扩增

间质表皮转化因子 (Mesenchymal-epithelial transition factor, *MET*) 基因扩增作为 NSCLC 原发驱动基因时发生率较低,仅 2%~4%,但却是 EGFR-TKIs 治疗过程中最常见的非 *EGFR* 依赖性耐药原因,其耐药机制可能与 STAT、MAPK 和 PI3K-Akt 等旁路激活有关。Wang^[21]等发现,对于 EGFR-TKIs 治疗进展后出现 *MET* 扩增的患者,可联合克唑替尼。值得注意的是, *MET* 14 号外显子跳跃突变 (*MET*

exon 14 skipping) 常作为原发驱动基因,在肺腺癌中约占 3%~4%,而继发于 EGFR-TKIs 治疗进展后者却不多见。Suzawa^[22]等最新报道了 1 例 *EGFR*-L858R 的肺腺癌患者,一线厄洛替尼治疗进展后出现 T790M 和 *MET* exon 14 skipping 突变,奥希替尼联合克唑替尼取得了较好的临床疗效。

3.2 *HER2* 扩增

AURA3^[8]和 FLAURA^[9]研究中奥希替尼耐药后分别有 5% 和 2% 的患者出现人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor 2, *HER2*) 基因扩增。针对 *HER2* 扩增介导的 EGFR-TKIs 耐药,EGFR-TKIs 和 *HER2* 抑制剂联用可能使患者获益。一项临床前研究^[23]显示, *HER2* 扩增驱动的耐药细胞系对奥希替尼联合 T-DM1 (曲妥单抗-药物偶联物) 敏感。

3.3 RAS-RAF-MEK、PI3K-Akt 通路激活

RAS-RAF-MEK 位于 *EGFR* 信号通路的下游,激活后能促进细胞增殖且不受 EGFR 调控。该通路的异常活跃与 *KRAS* 突变或扩增、*NRAS* 突变、*BRAF* V600E 突变等有关。体外实验^[24]显示,MEK 抑制剂司美替尼或 CI-1040 联合吉非替尼能克服 ERK 通路持续激活介导的 TKIs 耐药。此外, Ho^[25]

等也发现在 *BRAF* V600E 介导的奥希替尼耐药中联用康奈非尼 (*BRAF* V600E 抑制剂) 时效果显著。PI3K-Akt 旁路是另一条重要的 EGFR-TKIs 耐药通路, 可被 *PIK3CA* 突变或扩增和 *PTEN* 失活激活。*PIK3CA* 扩增或突变占一代 EGFR-TKIs 耐药的 3~5%, 和奥希替尼耐药的 5~12%^[26]。体外研究表明, PI3K 抑制剂的联合使用是此类患者的有效治疗策略^[27]。

3.4 其他罕见基因改变

二线奥希替尼耐药后, 在 4~7% 的患者中发现了罕见的驱动基因融合, 包括 *RET* (*RET-ERC1*、*RET-CCDC6*、*RET-NCOA4*), *BRAF* (*BRAF-AGK*、*BRAF-ESYT2*、*BRAF-PCBP2*、*BRAF-BAIAP2L1*), *NTRK1-TPM3*, *ROS1-GOPC* 和 *FGFR3-TACC3* 等^[26]。研究显示^[28], 奥希替尼联合 BLU-667 (*RET* 抑制剂) 对 *RET* 融合介导的 EGFR-TKIs 耐药的患者有效, 提示不同的 TKIs 联用或许能绕开这些耐药机制而发挥抗肿瘤作用。

3.5 组织学和表型转化

组织学转化是 EGFR-TKIs 重要的获得性耐药机制, 常表现为肺腺癌患者接受 EGFR-TKIs 治疗后, 组织学类型转变为小细胞癌 (SCLC), 即 SCLC 转化。一代 EGFR-TKIs 耐药的患者中 14% 发生了 SCLC 转化^[29]。而一线或二线奥希替尼治疗时, SCLC 转化发生率相似为 4~15%。与基因突变不同, 明确组织学转化的发生与否必需依赖再次活检而非血浆分析。SCLC 转化的机制目前尚不清楚, 但有研究显示, 抑癌基因 *RBI*、*TP53* 可能发挥重要作用。Offin^[30] 等发现, *EGFR/RBI/TP53* 突变共存时 18% 的患者发生了 SCLC 转化, 而仅 *EGFR* 突变的患者中却没有观察到 SCLC 转化的发生。因此, 血浆基因分析时发现 *RBI* 或 *TP53* 基因改变的患者, 在无其他明确耐药机制存在的情况下, 应考虑 SCLC 转化的可能。

癌细胞通过丢失 E-钙粘蛋白而失去上皮特征, 导致波形蛋白表达增加并转化为间充质表型, 即上皮间质转化 (EMT)。最新研究显示^[31], EMT 与 EGFR-TKIs 获得性耐药有关。多种调节因子参与 EMT 的发生, 其中 SNAIL、ZEB 和 TWIST 家族发挥重要作用^[32]。Yochum^[33] 等发现 TWIST1 过表达与一代和三代 EGFR-TKIs 耐药有关, 随后的体内实验证明 TWIST1 抑制剂 harmine 能有效克服 EMT 介导的 EGFR-TKIs 耐药。

4 前景与展望

EGFR-TKIs 在 *EGFR* 突变的晚期 NSCLC 患者的治疗中取得了显著成效。但耐药是其不可避免的临床结局。尽管临床前研究在克服耐药性方面取得了显著进展, 但铂类化疗仍是目前唯一指南推荐的用于奥希替尼耐药的治疗手段。

当前 EGFR-TKIs 耐药机制及临床应对策略仍是研究的热点。连续的血浆基因监测可能有助于更早识别获得性 *EGFR* 依赖性和非依赖性耐药突变的发生, 且不受空间异质性的影响。但与组织样本不同的是, 血浆监测可能存在灵敏度低、无法发现组织学转化等问题。针对奥希替尼耐药的第四代 EGFR-TKIs, 如 EAI045、JBJ-04-125-02 和 BLU-945 等, 以及不同抑制剂的联合使用, 如吉非替尼与其他靶向药物 (如 MEK 抑制剂等), 表现出了显著的肿瘤抑制活性, 但有效性和安全性仍需在实际世界中得到进一步验证。因此, 未来还需要更多的研究, 以丰富我们对肿瘤异质性以及获得性耐药的复杂致癌信号通路的理解, 从而指导临床决策, 预测并最终规避疾病进展。

参考文献

- [1] Runggay H, Shield K, Charvat H, et al. Global burden of cancer in 2020 attributable to alcohol consumption: a population-based study[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22(8):1071-1080.
- [2] 沈智俊, 刘世国. 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[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(11):1439-1442+1447.
- [3] Thai AA, Solomon BJ, Sequist LV, et al. Lung cancer[J]. *Lancet*, 2021, 398(10299):535-554.
- [4] Zhang B, Wang S, Qian J, et al. Complex epidermal growth factor receptor mutations and their responses to tyrosine kinase inhibitors in previously untreated advanced lung adenocarcinomas[J]. *Cancer*, 2018, 124(11):2399-2406.
- [5] Meador CB, Sequist LV, Piotrowska Z. Targeting EGFR Exon 20 Insertions in Non-Small Cell Lung Cancer: Recent Advances and Clinical Updates[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(9):2145-2157.
- [6] Syed YY. Amivantamab: First Approval[J]. *Drugs*, 2021, 81(11):1349-1353.
- [7] Park S, Ahn MJ. Osimertinib in central nervous system progressive EGFR-mutant lung cancer: do we need to detect T790M? [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(11):1582.
- [8] Papadimitrakopoulou VA, Wu YL, Han JY, et al. Analysis of resistance mechanisms to osimertinib in patients with EG-

- FR T790M advanced NSCLC from the AURA3 study [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29: viii741.
- [9] Soria JC, Ramalingam SS. Osimertinib in EGFR Mutation-Positive Advanced NSCLC [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(13):1262-1263.
- [10] Ahn MJ, Han JY, Lee KH, et al. Lazertinib in patients with EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer: results from the dose escalation and dose expansion parts of a first-in-human, open-label, multicentre, phase 1-2 study [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(12):1681-1690.
- [11] 刘小云, 吴小延, 邵琼, 等. 基于分子标签二代测序技术的非小细胞肺癌驱动基因变异分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(6):468-473.
- [12] Ricordel C, Friboulet L, Facchinetti F, et al. Molecular mechanisms of acquired resistance to third-generation EGFR-TKIs in EGFR T790M-mutant lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(5):858.
- [13] Arulananda S, Do H, Musafer A, et al. Combination Osimertinib and Gefitinib in C797S and T790M EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(11):1728-1732.
- [14] Lee C, Kim M, Kim DW, et al. Acquired Resistance Mechanism of EGFR Kinase Domain Duplication to EGFR TKIs in Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Cancer Res Treat*, 2021 May 3.
- [15] To C, Jang J, Chen T, Park E, Mushajiang M, De Clercq DJH, Xu M, Wang S, Cameron MD, Heppner DE, Shin BH, Gero TW, Yang A, Dahlberg SE, Wong KK, Eck MJ, Gray NS, Jänne PA et al. Single and Dual Targeting of Mutant EGFR with an Allosteric Inhibitor [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(7):926-943.
- [16] Wang Y, Yang N, Zhang Y, et al. Effective Treatment of Lung Adenocarcinoma Harboring EGFR - Activating Mutation, T790M, and cis-C797S Triple Mutations by Brigatinib and Cetuximab Combination Therapy [J]. *J Thorac Oncol*, 2020, 15(8):1369-1375.
- [17] Klempner SJ, Mehta P, Schrock AB, et al. Cis-oriented solvent-front EGFR G796S mutation in tissue and ctDNA in a patient progressing on osimertinib: a case report and review of the literature [J]. *Lung Cancer (Auckl)*, 2017, 8:241-247.
- [18] Lin L, Lu Q, Cao R, et al. Acquired rare recurrent EGFR mutations as mechanisms of resistance to Osimertinib in lung cancer and in silico structural modelling [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(11):4005-4015.
- [19] Nukaga S, Yasuda H, Tsuchihara K, et al. Amplification of EGFR Wild-Type Alleles in Non-Small Cell Lung Cancer Cells Confers Acquired Resistance to Mutation-Selective EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(8):2078-2089.
- [20] Watanabe S, Goto Y, Yasuda H, et al. HSP90 inhibition overcomes EGFR amplification-induced resistance to third-generation EGFR-TKIs [J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(5):631-642.
- [21] Wang Y, Tian P, Xia L, et al. The clinical efficacy of combinatorial therapy of EGFR-TKI and crizotinib in overcoming MET amplification-mediated resistance from prior EGFR-TKI therapy [J]. *Lung Cancer*, 2020, 146:165-173.
- [22] Suzawa K, Offin M, Schoenfeld AJ, et al. Acquired MET Exon 14 Alteration Drives Secondary Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor in EGFR - Mutated Lung Cancer [J]. *JCO Precis Oncol*, 2019, 3:PO.19.00011.
- [23] La Monica S, Cretella D, Bonelli M, et al. Trastuzumab emtansine delays and overcomes resistance to the third-generation EGFR - TKI osimertinib in NSCLC EGFR mutated cell lines [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):174.
- [24] Qu Y, Wu X, Yin Y, et al. Antitumor activity of selective MEK1/2 inhibitor AZD6244 in combination with PI3K/mTOR inhibitor BEZ235 in gefitinib-resistant NSCLC xenograft models [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33(1):52.
- [25] Ho CC, Liao WY, Lin CA, et al. Acquired BRAF V600E Mutation as Resistant Mechanism after Treatment with Osimertinib [J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(3):567-572.
- [26] Oxnard GR, Hu Y, Mileham KF, et al. Assessment of Resistance Mechanisms and Clinical Implications in Patients With EGFR T790M-Positive Lung Cancer and Acquired Resistance to Osimertinib [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(11):1527-1534.
- [27] Sato H, Yamamoto H, Sakaguchi M, et al. Combined inhibition of MEK and PI3K pathways overcomes acquired resistance to EGFR-TKIs in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(10):3183-3196.
- [28] Piotrowska Z, Isozaki H, Lennerz JK, et al. Landscape of Acquired Resistance to Osimertinib in EGFR-Mutant NSCLC and Clinical Validation of Combined EGFR and RET Inhibition with Osimertinib and BLU-667 for Acquired RET Fusion [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(12):1529-1539.
- [29] Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 3(75):75ra26.
- [30] Offin M, Chan JM, Tenet M, et al. Concurrent RB1 and TP53 Alterations Define a Subset of EGFR-Mutant Lung Cancers at risk for Histologic Transformation and Inferior Clinical Outcomes [J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(10):1784-1793.
- [31] Clement MS, Gammelgaard KR, Nielsen AL, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a resistance mechanism to sequential MET-TKI treatment of MET-amplified EGFR-TKI resistant non-small cell lung cancer cells [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(5):1904-1914.
- [32] Brabletz T, Kalluri R, Nieto MA, et al. EMT in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(2):128-134.
- [33] Yochum ZA, Cades J, Wang H, et al. Targeting the EMT transcription factor TWIST1 overcomes resistance to EGFR inhibitors in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(5):656-670.

内蒙古林业总医院检验科

内蒙古林业总医院检验科位于内蒙古呼伦贝尔市牙克石市林城路81号,建于1953年,现有面积约2470平方米,是内蒙古自治区唯一一家同时通过中国合格评定国家认可委员会ISO15189和美国病理学家学会(College of American Pathologists, CAP)双认可的实验室。现有技术人员33人,其中高级职称9人,中级职称12人,初级职称10人全部具有内蒙古自治区临床检验中心颁发的临床基因扩增实验室上岗证;其中硕士9人,硕士生导师5人,中国合格评定国家认可委员会外审员3人。

检验科是内蒙古民族大学临床检验诊断学硕士研究生学科培养点、国家级住院医师规范化培训基地、内蒙古自治区医疗卫生重点学科、呼伦贝尔市临床医学领先学科、呼伦贝尔市医学检验质量质控中心。设临床化学室、临床免疫室、临床微生物室、临床血液/体液室、门/急诊检验室、临床PCR实验室、遗传实验室共7个实验室。实验室拥有全自动智能采血系统、SYSMEX XN-9000全自动血液体液分析流水线、DI-60全自动阅片仪、SYSMEX UF5000+UC3500全自动尿液分析仪流水线、LEICA DM 2500 LED多目教学显微镜、AU5831全自动生化分析仪、罗氏Cobas e602电化学发光仪、MALDI-TOP质谱仪、ABI DX品牌在内的6台实时荧光定量PCR扩增仪、AB SCIEX 4500液质串联质谱仪、安诺优达550AR基因测序仪等,满足临床检验诊断专业工作、教学和科研全部需求。

检验科开展项目455项,其中包括肿瘤基因测序、药物基因多态性检测、白血病分型、染色体检测、免疫固定电泳、乙/丙型肝炎病毒核酸检测、结核分枝杆菌核酸检测、HPV病毒分型、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌基因检测等疑难项目。我院拥有国家蝉传疾病研究所,检验科现在已建设呼伦贝尔首个生物样本库,引进了测序仪和质谱仪,近10余年来,对于常见的森林脑炎及布鲁氏菌病实验室诊断做了大量的临床研究。先后获得内蒙古自治区科技进步二等奖1项,内蒙古自治区科技进步三等奖2项,呼伦贝尔市科技进步三等奖2项;内蒙古自然科学基金面上项目3项;内蒙古自治区卫健委科研项目8项,内蒙古民族大学科研立项7项,呼伦贝尔市科技厅科研立项1项;发表论文100余篇,包括SCI收录11篇,核心期刊16篇;主编著作4部,参编省级教材1部,申请技术专利3项。培养硕士研究生13名,医学检验专业住培学员5名,培训实习生和进修生200余名。

学科带头人杜彦丹长期从事森林脑炎、布氏杆菌病的分子诊断研究,是内蒙古自治区草原英才、



全区“五一巾帼标兵”、内蒙古自治区突出贡献专家、北疆管理英才、内蒙古民族大学科技工作先进个人、呼伦贝尔英才、科技创新先进个人、百名领军人才、科尔沁学者、呼伦贝尔市五一劳动奖章获得者。同时是3个国家级学术团体中任副主任委员;1个自治区级学术团体中任主任委员;2个国家级核心期刊任编委。

杂志简介：

《分子诊断与治疗杂志》于 2009 年 5 月创刊，是由中山大学主管，《中国家庭医生》杂志社有限公司主办，广州达安基因股份有限公司承办的面向国内外公开发行的分子医学权威性刊物，也是我国第一份以分子诊断与治疗学科为主要内容的分子医学专业学术期刊。本刊以传播分子医学理念、报道分子医学前沿、倡导分子医学创新、促进分子医学进步为办刊宗旨。主要刊登我国医学分子诊断和分子治疗相关领域中的基础理论研究、临床实践和技术方法的最新研究成果以及国内分子医学新技术、新理论和新进展等方面的文章。目前有编委及审稿专家 80 余人。在编委会和审稿专家及编辑部的共同努力下，于 2016 年被收录为“中国科技核心期刊”（中国科技论文统计源期刊）。

目前有“述评”、“论著”、“综述”、“前沿进展”、“专家笔谈”、“讲座”、“动态”和“专栏”等栏目。涵盖基因诊断、免疫诊断、核酸分子诊断、蛋白分子诊断、信号分子诊断、分子影像诊断、诊断仪器应用、基因治疗、核酸分子治疗、蛋白分子治疗等内容。

