



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

# 分子诊断与治疗杂志

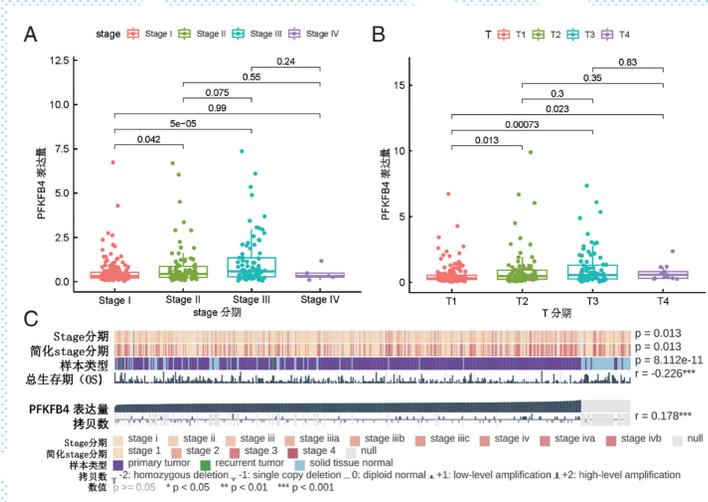
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2021年1月 第13卷 第1期 总第77期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 13 Number 1 January 2021



注: A-B 为 stage 分期、T 分期与 *PFKFB4* 表达量相关性分析; C 为在 MEXPRESS 数据库中, *PFKFB4* 与临床病理特征的关系。

图(P27) *PFKFB4* 表达量与 LIHC 患者临床病理特征相关性分析

Figure (P27) Correlation analysis between *PFKFB4* expression and clinicopathological features of LIHC

中山大学 主管

中国科技核心期刊 (中国科技论文统计源期刊)

中国核心期刊 (遴选) 数据库收录期刊

中国期刊全文数据库全文必录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

中文生物医学期刊文献数据库 CMCC 收录期刊

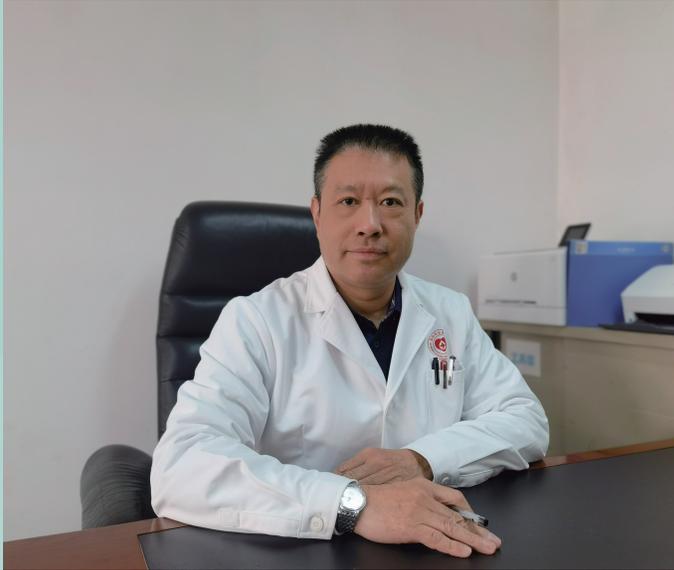
中国生物医学期刊引文数据库 CMCI 收录期刊

中国学术期刊影响因子年报统计源期刊

ISSN 1674-6929



## 曾劲峰



曾劲峰,男,现任深圳市血液中心检验科主任,主任技师

长期从事血液安全检测工作。目前负责深圳市血液中心的血液安全筛查和核酸检测工作,指导完成了我科新的血液筛查自动化检测技术应用、全自动化核酸检测技术的应用。在保障血液安全工作的前提下,指导

血液筛查新技术的应用及研发;新发再发输血传染病检测技术的应用评估;细胞治疗质量监控技术研发等多项工作。作为主要项目成员参与多项国家重大科研项目。

现为《中国输血杂志》、《国际检验医学》编委

中国生物技术协会生物诊断分会常务委员

中国生物技术协会生物诊断分会血液筛查专业技术学组组长

国家卫健委临床检验中心血液筛查室间质量评价专家委员会委员;

广东省基层医药学会输血专业委员会第一届常务委员

中国输血协会经血传播疾病专业委员会委员

中国医学装备协会输血医学装备技术专业委员会委员

广东省医疗器械管理学会委员、医疗器械临床试验检查员

深圳市医学会检验专业委员会委员

深圳市医师协会检验医师分会常务理事

# 分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2021 年 1 月 第 13 卷 第 1 期 总第 77 期 Bimonthly Volume 13 Number 1 January 2021

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

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

地址 广州市天河区天河北路 179 号祥龙大厦 11 楼 (510620)  
电话 (020) 32290789-206, 32290789-201  
电子邮箱 jmdt@vip.163.com  
刊号 ISSN 1674-6929  
CN 44-1656/R  
邮发代号 46-283  
发行单位 广东省报刊发行局  
发行范围 国内外公开发售  
广告发布登记通知书 440100190057  
印刷 天意有福科技股份有限公司  
出版日期 2021 年 1 月 18 日  
定价 RMB 15.00 元

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

**Add** 11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620  
**Tel** (020) 32290789-206, 32290789-201  
**E-mail** jmdt@vip.163.com  
**CSSN** ISSN 1674-6929  
CN 44-1656/R  
**Printing** TianYi Yofus Technology Co., Ltd.  
**Publish Date** 2021.1.18  
**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](http://www.istic.ac.cn)

2020年12月



# 分子诊断与治疗杂志

月刊 2021年1月 第13卷 第1期

## 目次

### 述评

新发突发传染病防控中对粤港澳桂片区输血安全的思考 ..... 曾劲峰 赵钰 王立林(1)

### 论著

两种糖化血红蛋白临床检验方法的一致性评价 ..... 张小静 潘晓芳 邢立森 等(4)

吉林省2018-2020年甲型H3N2亚型流感病毒耐药基因分析 ..... 李静 柳鸿敏 侯程程 等(8)

Naa10p、TSGF及RUNx2在口腔黏膜癌前病变、口腔鳞癌中的应用  
..... 刘春丽 王国杰 郑朝辉 等(12)

PCOS患者子宫内膜厚度与血清AMH、糖脂代谢的相关性研究 ..... 张静 刘文涛 连玉兴(17)

hs-CRP、WBC及PCT检测诊断儿童呼吸道感染 ..... 谢永祥 徐佳佳 杨旭(21)

基于TCGA数据库分析*PFKFB4*在肝细胞癌的临床意义及分子机制  
..... 段怡平 陈梁玥 柳家翠 等(25)

经输尿管导管RSUG在复杂肾结石经皮肾镜治疗中的诊治价值  
..... 刁长会 王雷 邱晓东 等(30)

TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 在脓毒症性急性肾损伤中的价值及与NGAL的关系  
..... 韩梅 高梦颖 郭鹏 等(34)

TGF- $\beta$ 1、Smad7及VEGF在脑胶质瘤中表达及与病理特征、预后的关系  
..... 谢云鹏 柳新 刘兵 等(38)

D-D、FIB及PAI-1在创伤性脊柱骨折表达及术后静脉血栓的预测  
..... 陈昌礼 银保 徐德兴 等(43)

胎盘CD68、PD-1、IL-10与妊娠并HCV感染关系及对母婴结局的影响  
..... 李璨 周亚丹 高利伟(47)

PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平与急性百草枯中毒患者的预后的相关性  
..... 康莹 刘玉环 王华丽(51)

YKL-40、TSH、ES、VEGF与甲状腺癌结构性复发的相关性 ..... 林前煌 徐小虹 郭润生(55)

探讨渗出性胸腔积液ADA、CEA对良恶性胸腔积液的诊断价值  
..... 斯明园 徐大林 江海兵 等(59)

HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5的表达及与患者临床特征的相关性分析  
..... 董幼溪 王文博 史坚 等(63)

目标导向液体治疗对冠脉搭桥手术患者rSO<sub>2</sub>、POCD的影响  
..... 高巍巍 王莉 郭琼梅 等(67)

乳腺癌中miR-141表达与临床病理特征、Keap1/Nrf2通路及预后的关系 ..... 邵坤 朱芳恒(72)

鉴别1家庭 $\alpha$ 地贫基因罕见突变及其家庭遗传分析 ..... 梁伟达 曾劲伟 薛家权 等(76)

小儿哮喘患儿经普米克令舒联合孟鲁司特治疗前后肺功能及免疫学细胞因子水平变化研究  
..... 余忠红 谢盛慧 刘铸容(79)

ER、PR 以及 Ki-67 状态与乳腺癌新辅助化疗疗效的相关性 ..... 邓丁梅 叶娴 温润耀 等(83)

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  
..... 张丽 李友云 王永超 等(87)

UA、DD 及 HCY 水平对急性冠脉综合征患者 PCI 术后再次狭窄的影响  
..... 杨旭 贾亚丹 张云飞 等(91)

血清和肽素、VEGF 在 DN 患者早期疾病严重程度的关系研究 ..... 丁卫 冯妍 王秭莹(95)

IL-37 对变应性鼻炎患者相关细胞因子免疫调控研究 ..... 王亚茹(99)

炎症性肠病患者脊柱关节炎的表现特点 ..... 王慧玲 赵静 李刚(103)

PI、RI 联合 sFh-1/PLCF 检测对妊娠中晚期孕妇产子痫的预测价值  
..... 周隽 唐佳 郑钊平等(107)

血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 的表达水平与胃癌诊断的相关性  
..... 杜记涛 曹建 赵稳 等(111)

β2-MG、UACR 及 Cys-C 对原发性老年高血压肾损伤的预测价值  
..... 周敏 薛文翠 马玮龙(115)

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  
..... 白兴合 代玉川 刘平等(119)

Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白在子宫内膜癌中的表达及预后价值 ..... 杨海霞 路易玲 黄骏(123)

妊娠期糖尿病孕妇 VEGF 和 SFRP-5 与胰岛素抵抗的相关性分析 ..... 杨敏 杨艳 叶佳(128)

不同剂量生长抑素对肝硬化伴食管胃底静脉曲张 GAS、HGB、GLC 的影响  
..... 杨岳 李宝纯 霍建凤(132)

脐带血 PCT、TNF-α、IL-6 对新生儿宫内细菌感染的诊断价值 ..... 董景玉(136)

HCMV 感染新生儿外周血和脑脊液中 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平及临床意义  
..... 胡冰 周栩平 时英才 等(140)

内镜下套扎联合药物治疗对肝硬化上消化道出血患者 hs-CRP 水平、肝功能的影响  
..... 陈欣 戴军 余珊(144)

T3、T4、早期乳酸清除率及 HBP 蛋白与重症肺炎病情程度及预后的关系  
..... 石宏哲 王海霞 秦铮 等(148)

外周血 FGF2、VEGFA 及循环肿瘤细胞含量水平与肺癌转移的相关性  
..... 韩媛媛 魏玉磊 章春芝(152)

糖浆联合西替利嗪对过敏性咳嗽患儿血清总 IgE、IgA 及补体 C3 水平的影响  
..... 万斌 何森 郭春艳(156)

## 专 栏

循环肿瘤细胞检测在妊娠绒毛膜癌中的应用  
..... 中国抗癌协会肿瘤标志专委会 CTC 技术专家委员会  
中国 CTC 产业联盟、广东省医学会精准医学与分子诊断学分会(160)

## 综 述

C/EBP 同源蛋白功能研究进展 ..... 段卓 苏振宏 方大维 等(165)

## 专家风采

曾劲峰 ..... (封二)

## 实验室巡礼

深圳市血液中心检验科 ..... (封三)

# JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 13 Number 1 January 2021

---

## CONTENTS

### COMMENTS

- Consideration on blood transfusion safety in Guangdong, Hong Kong, Macao and Guangxi In the prevention and control of emerging infectious diseases  
*ZENG Jinfeng, ZHAO Yu, WANG Lilin* ..... (1)

### ORIGINAL ARTICLES

- Consistency Evaluation of Two Kinds of Clinical Examination Methods for Glycated Hemoglobin  
*ZHANG Xiaojing, PAN Xiaofang, XING Lisen, ZHANG Runfeng, LI Yangling, WU Jingbiao* ..... (4)
- Genetic analysis of drug resistance of influenza A (H3N2) virus in Jilin province from 2018 to 2020  
*LI Jing, LIU Hongmin, HOU Chengcheng, WU Donglin, YANG Xianda* ..... (8)
- Application of Naa10p, TSGF and RUNx2 in the oral mucosal precancerous lesions and oral squamous cell carcinoma  
*LIU Chunli, WANG Guojie, ZHENG Chaohui, CAO Rui* ..... (12)
- Study on the correlation between endometrial thickness and serum AMH, glucose and lipid metabolism with polycystic ovarian syndrome  
*ZHANG Jing, LIU Wentao, LIAN Yuxing* ..... (17)
- The levels of serum hs-CRP, PCT and WBC count in the diagnosis of respiratory tract infection in children  
*XIE Yongxiang, XU Jiajia, YANG Xu* ..... (21)
- Analysis of the clinical significance and molecular mechanism of *PFKFB4* in hepatocellular carcinoma based on the TCGA database  
*DUAN Yiping, CHEN Liangyue, LIU Jiacui, HUANG Ben, CHENG Qingyuan, MA Tiantian, ZHU Cuiwen, QIN Fei* ..... (25)
- The diagnosis and treatment value of RSUG via ureteral catheter in percutaneous nephroscope treatment of complex kidney stones  
*DIAO Changhui, WANG Lei, QIU Xiaodong, LI Jianhua* ..... (30)
- The value of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in septic acute kidney injury and their relationship with NGAL  
*HAN Mei, GAO Mengying, GUO Peng, ZHANG Junli, WANG Fan, LIANG Dan* ..... (34)
- Expression of TGF- $\beta$ 1, Smad-7 and VEGF in glioma and their relationship with pathological characteristics and prognosis  
*XIE Yunpeng, LIU Xin, LIU Bing, YU Miao, HU Tiemin* ..... (38)
- Expression of D-D, FIB and PAI-1 in traumatic spinal fractures and its predictive value for postoperative venous thrombosis  
*CHEN Changli, YIN Bao, XU Dexing, CHEN Shuo* ..... (43)
- The relationship between placental CD68, PD-1, IL-10 and pregnancy complicated by HCV infection and the influence on maternal and infant outcomes  
*LI Li, ZHOU Yadan, GAO Liwei* ..... (47)
- Correlation of PA-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac levels with prognosis of patients with acute paraquat poisoning  
*KANG Ying, LIU Yuhuan, WANG Huali* ..... (51)
- The correlation between YKL-40, TSH, ES, VEGF and structural recurrence of thyroid cancer  
*LIN Qianhuang, XU Xiaohong, GUO Runsheng* ..... (55)
- Diagnostic Value of Exudative Pleural Effusion ADA and CEA in Benign and Malignant Pleural Effusion  
*SI Mingyuan, XU Dalin, JIANG Haibing, JIANG Haibo, XIAO Jie* ..... (59)
- The expression of HIF-1 $\alpha$ , G6PD and PDCD5 and its correlation with clinical features of patients  
*DONG Youxi, WANG Wenbo, SHI Jian, SHI Zhenwei* ..... (63)
- The effect of goal-oriented fluid therapy on rSO<sub>2</sub> and POCD in patients undergoing coronary artery bypass surgery  
*GAO Weiwei, WANG Li, GUO Qiongmei, ZHOU Changhao, LU Xuezi, WANG Yuanyuan, DU Liang* ..... (67)
- Relationship between the expression of miR-141 and clinicopathological features, Keap1 / Nrf2 pathway and prognosis in breast cancer  
*SHAO Kun, ZHU Fangheng* ..... (72)

Identification of a novel mutation of HBA2 gene in a family and its family genetic analysis <i>LIANG Weida, ZENG Jingwei, XUE Jiaquan, LIN Yue, CHEN Xiaolong</i> .....	(76)
Changes of lung function and immunocytokine levels in children with asthma before and after treatment with Pulmicort-Respules combined with montelukast <i>YU Zhonghong, XIE Shenghui, LIU Zhurong</i> .....	(79)
Correlation of ER, PR, and Ki-67 status with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer <i>DENG Dingmei, YE Xian, WEN Runyao, ZHANG Yujuan, YE Jiansen</i> .....	(83)
Predictive value of miR-21-5p expression in peripheral blood on the outcome of intrauterine insemination in infertile women with polycystic ovary syndrome <i>ZHANG Li, LI Youyun, WANG Yongchao, XING Sujuan, ZHAO Huiling</i> .....	(87)
Effects of UA, DD and HCY levels on re-stenosis in patients with acute coronary syndrome after PCI <i>YANG Xu, JIA Yadan, ZHANG Yunfei, GUO Shuling</i> .....	(91)
Study on the relationship between copeptin and VEGF in the severity of early disease in patients with diabetic nephropathy <i>DING Wei, FENG Yan, WANG Zixuan</i> .....	(95)
Study on the immunoregulation of IL-37 on related cytokines in patients with allergic rhinitis <i>WANG Yaru</i> .....	(99)
Features of spondyloarthritis in patients with inflammatory bowel disease <i>WANG Huiling, ZHAO Jing, LI Gang</i> .....	(103)
Predictive value of the impedance of the PI, RI combined with the ratio of sFh-1/PLCF for eclampsia of pregnant women in the middle and late pregnancy <i>ZHOU Jun, TANG Jia, ZHENG Zhaoping, LIN Chunxia, CHEN Yali</i> .....	(107)
Correlation of serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 expression levels with diagnosis of gastric cancer <i>DU Jitao, CAO Jian, ZHAO Wen, WAN Xiangbin, LI Zhi</i> .....	(111)
Predictive value of $\beta$ 2-MG, UACR and Cys-C on renal damage of patients with senile primary hypertension <i>ZHOU Min, XUE Wencui, MA Weilong, LI Xia, YU Honglei</i> .....	(115)
Expression of plasma BNP, CRP and HbA1c in patients with chronic heart failure combined with diabetes and its correlation with classification of cardiac function <i>BAI Xinghe, DAI Yuchuan, LIU Ping, WANG Yanling, WANG Lei</i> .....	(119)
Expression and prognostic value of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein in endometrial carcinoma <i>YANG Haixia, LU Yiling, HUANG Jun</i> .....	(123)
Correlation between VEGF and SFRP-5 and Insulin Resistance in pregnant women with gestational diabetes mellitus <i>YANG Min, YANG Yan, YE Jia</i> .....	(128)
Effect of different doses of somatostatin on the GAS, HGB and GLC in patients with liver cirrhosis combined with esophageal and gastric varices <i>YANG Yue, LI Baochun, HUO Jianfeng</i> .....	(132)
The diagnostic value of umbilical cord blood PCT, TNF- $\alpha$ , IL-6 to intrauterine bacterial infection in newborns <i>DONG Jingyu</i> .....	(136)
The levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid of neonates infected with HCMV and their clinical significance <i>HU Bing, ZHOU Xuping, SHI Yingcai, WANG Xiang</i> .....	(140)
Effect of endoscopic variceal ligation combined with drug therapy on the level of hs-CRP and liver function in patients with liver cirrhosis combined with upper gastrointestinal hemorrhage <i>CHEN Xin, DAI Jun, YU Shan</i> .....	(144)
The relationship between T3, T4, early lactate clearance rate, HBP protein and the severity and prognosis of severe pneumonia <i>SHI Hongzhe, WANG Haixia, QIN Zheng, ZHAO Cuimei, SUN Shuyan, CHI Weihua</i> .....	(148)
Correlation between levels of FGF2, VEGFA and circulating tumor cells in peripheral blood and lung cancer metastasis <i>HAN Yuanyuan, WEI Yulei, ZHANG Chunzhi</i> .....	(152)
Effect of Xikening Syrup combined with cetirizine on serum total IgE, IgA and complement C3 levels in children with allergic cough <i>WAN Bin, HE Miao, GUO Chunyan</i> .....	(156)

## COLUMN

Application of circulating tumor cell detection in gestational choriocarcinoma <i>CTC Technical Expert Committee, Chinese Anti-Cancer Association Tumor Marker Committee China CTC Industry Alliance</i> .....	(160)
---	-------

## REVIEWS

Research Progress of C/EBP-homologous protein <i>DUAN Zhuo, SU Zhenhong, FANG Dawei, XIE Xiaolin, XIE Jumin</i> .....	(165)
--	-------

## 新发突发传染病防控中对粤港澳桂片区输血安全的思考

曾劲峰 赵钰 王立林\*

**[摘要]** 当下全球范围内新发突发传染病频发,严重威胁人类生命健康,对全球政治、经济和社会发展都造成巨大冲击。输血是临床治疗和抢救患者的重要手段,保障血液贮存充足、血液质量和输血安全是应对此类重大公共卫生危机事件的关键点。本文将对在新发突发传染病防控中,采供血机构及相关行业的专业人员储备、政策法规推广执行、技术平台建设、信息资源共享等方面保障输血安全进行思考探讨。

**[关键词]** 新发突发传染病;输血安全;一带一路

### Consideration on blood transfusion safety in Guangdong, Hong Kong, Macao and Guangxi In the prevention and control of emerging infectious diseases

ZENG Jinfeng, ZHAO Yu, WANG Lili\*

(Shenzhen blood center, Shenzhen, Guangdong, China, 518035)

**[ABSTRACT]** At present, the emerging infectious diseases pandemic is frequenting globally, and remains a huge threat to human life and health, and has a great impact on global politics, economy and social development. Blood transfusion is an important means of clinical treatment and rescue of patients. This paper discusses the protection of blood transfusion safety in the prevention and control of emerging infectious diseases, such as professional personnel reserve, promotion and implementation of policies and regulations, construction of technology platform, information resource sharing and so on.

**[KEY WORDS]** Emerging infectious diseases; Blood transfusion safety; The Belt and Road Initiative

新世纪以来,西非埃博拉病毒、中东呼吸综合征冠状病毒、寨卡病毒、新型冠状病毒(Corona virus disease 2019, COVID-19)等新发和再发传染病的肆虐,对各国民众的健康及社会经济发展已造成重大影响。故此类重大公共卫生事件必然成为保障“一带一路”在全球合作发展中不可或缺的重要内容。粤港澳桂作为“一带一路”海路及陆路的桥头堡<sup>[1-2]</sup>,在高致病性传染病防控和血液安全保障中具有尤为重要的地位。在当前形势下,区域内相关行业应当结合实际情况完善采血站工作,强化质量管理,引进新技术、新方法,提高血液产品质量,最

大限度降低输血传染性疾病的发生及传播。

### 1 粤港澳桂团结合作,捍卫“一带一路”输血安全

#### 1.1 建设传染病检测平台与储备专业技术人员

血站传染病检测平台的建设,需要有充足的专业技术及培训人员储备、规范的仪器环境评价体系及严格的质量控制体系,在“人机料法环”的不断磨合中寻求最佳配置。另外,传染病检测平台在开展包括转录介导的实时荧光核酸恒温扩增检测技术(Simultaneous Amplification and Testing,

基金项目:2020年度广东省医学基金项目(A2020259);深圳市医学重点学科建设经费(SZ XK070);深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201811092)

作者单位:深圳市血液中心,广东,深圳 518035

\*通信作者:王立林, E-mail: lilywang0724@163.com

TMA)、实时荧光聚合酶链反应(Real-time polymerase chain reaction, Real-time PCR)的传统核酸扩增检测技术,以及酶联免疫吸附剂测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、化学发光免疫分析技术(chemiluminescence immunoassay, CLIA)的血清学检测技术的同时,可尝试逐步引进如宏基因组测序技术、核酸质谱检测等新技术、新方法,在危急关头发挥血站高通量、高质量筛查病原的应急能力的重要保障。

### 1.2 做好传染病流行病学调研与风险评估

作为“一带一路”对外交流频繁、人员往来密集的口岸城区,粤港澳桂的采供血行业必须对血液安全事件秉承高度警戒的传统。通过区域合作,及时做好献血人群传染病特别是经血传染病的流行病学调查,分析其流行规律和发生率,准确预警风险事件,实现防控关口前移,也可以利用大数据进行传染病风险评估。通过建立合理的模型,如SI、SIR、SIRS、SEIR传染病模型(SI、SIR、SIRS、SEIR Mathematical models of epidemic diseases),来模拟传染病类突发公共卫生事件,将为传染病评估和应对提供积极有效的依据,并为政府制定防疫政策提供科学依据。

### 1.3 加强管理与宣传

血站工作人员和相关医务人员是保障输血安全的核心,设备设施是保障输血安全的重要因素,加强和完善人员的培养与设施管理工作时刻不能懈怠。应当结合当前最新的技术规范和制度法规对工作人员进行定期培训,切实提高其对传染病防控、输血安全的认知、职业技能和责任心。同时必须加强对设备设施的规范管理和定期检查力度,保证相关保存设备质量达标。严格把控血液流程各个质量关键点,提高血站应对和解决问题的能力。另一方面,要加强社会宣传,如充分借助传统媒体及网络媒体的宣传作用,提高民众对传染病及输血安全的科学认知,增强民众对无偿献血、互助献血的了解和参与意识。做好这些日常工作是我们在应对新发突发传染病时,能保障血源充足、安全、稳定供应的坚实基础。

## 2 发挥粤港澳桂区域合作优势,促进经验总结分享

随着全球范围内新发突发传染病频发,特别是近来新冠肺炎疫情常态化,采供血行业面临持

久严峻的考验。以新冠为例,新冠病毒经呼吸道飞沫、密切接触及高浓度气溶胶传播,虽然尚无明确病例感染由输血传播,但采供血行业从献血者招募到血样采集运输,到血液检测,再到血液的分发使用各环节都存在潜在病毒污染和传播风险<sup>[3-4]</sup>。如何确保血站工作人员和无偿献血者安全,保障血液安全供应,需要考虑整体工作流程的风险因素,制定积极稳妥的应对策略<sup>[5]</sup>。结合血站工作特点,主动完善应急储备,为应对新发突发传染病此类公共卫生事件提供保障。同时发挥区域合作优势,促进经验总结分享,使得行而有效的经验方法能得到迅速推广,惠及整个行业及民众。2020年的防疫实践证明,以下措施尤为重要。

### 2.1 严格执行行业法规制度,及时学习践行疫情防控相关文件

自1998年颁布实施《中华人民共和国献血法》以来,我国无偿献血事业有了长足发展。随后国家相关部门陆续出台了《血站管理办法》、《血站质量管理规范》、《血站实验室管理规范》、《血站技术操作规程》、《成分血及全血质量标准》等一系列法规性文件及国家行业标准<sup>[6]</sup>,并逐年完善更新。实践证明这些文件的实施,是规范采供血机构的质量管理,提高血液质量,保障用血安全,满足日益增长的临床用血需求的基本保障,在执行中不可有任何偏离。

新冠疫情初期,国家卫生健康委员会办公厅、中央军委后勤保障部卫生局于2020年2月10日发布《关于做好新型冠状病毒肺炎疫情期间血液安全供应保障工作的通知》,及时从献血者招募、问询、血液调配等方面指导全国血站工作;世界卫生组织(WHO)于2020年3月20日发布《COVID-19大流行期间保持安全和充足血液供应暂行指南》,7月10日,该文补充更新为《COVID-19大流行期间保持安全和充足血液供应及COVID-19恢复期血浆采集暂行指南》,与前版相比,《指南》新增16篇参考文献,纳入若干具有代表性的最新研究内容,在献血者延期献血、献血后病情报告等方面做了更新,增加了COVID-19恢复期血浆采集内容<sup>[7]</sup>。我国卫生健康委、中央军委后勤保障部卫生局,为全面推进新冠肺炎康复者恢复期血浆救治工作,保障捐献血浆者和患者安全,鼓励康复者捐献血浆,提升重症、危重症患者治愈率,早在2020

年2月14日,出台了《新冠肺炎康复者恢复期血浆临床治疗方案》试行第一版,随后,3月4日试行第二版出台。方案明确了捐献血浆者招募标准和实验室检测要求。在方案的指引下,采供血行业圆满完成康复者血浆采集环节的工作。我们深感,在整个行业面对突如其来的公共卫生事件,短时间内可以借鉴的处理方法极少,除了发挥主观能动性,制定符合自身条件切实可行的措施,最大限度确保各环节的防疫安全时,密切关注政策方针,及时执行国家层面或上一级管理部门的最新文件至为重要。国家层面的政策指引,体现了我国政治制度的优势。

## 2.2 对标行业工作指引,及时调整完善工作

2020年11月13日,国家卫生健康委办公厅、中央军委后勤保障部卫生局下发《关于印发血站秋冬季新冠肺炎疫情防控工作指引的通知》。指引首先明确血站防控新冠肺炎疫情的基本原则和要求,详细规范采供血工作链上包括献血服务、血液制备、血液检测、血液发放和运输等一系列岗位人员的个人防护要求,规范工作场所的清洁与消毒措施;从献血者招募的细节,献血前教育与征询内容,到如何与确认感染新冠病毒献血者沟通都有标准规范操作,易于理解学习和具体实施;在直接接触献血者及血液样本的采供血和实验室检测环节,对血液采集、成分制备、血液储存、运输与供应和实验室管理等方面,按照人员样本均为假想感染源的处理标准,规范每个操作细节,同时提出的污染样本泄露处理的应急预案,让各个操作岗位能准确应对最坏的局面。为落实通知精神,必须做好常规使用设备与备用设备的维护、校准、性能监测和比对工作,确保备用设备随时可以应急启用。粤港澳桂片区作为“一带一路”海路及陆路的桥头堡及国际防疫一线,都应配备常规血液核酸筛查和新冠病毒,核酸检测通用设备,做好技术储备,在出现新冠肺炎病例社区传播的流行地区,可对献血者进行新冠病毒核酸和/或IgM抗体检测<sup>[5]</sup>。

## 2.3 建立粤港澳桂片区传染病防控应急“人员信息快捷双通道”

粤港澳桂片区的特殊地理位置及在实施“一带一路”战略任务中的重要地位,要求本片区必须建立“人员信息快捷双通道”,以便利采供血专业人员往来以及高危传染风险人群信息通报,以利

相互支援传染病防控物资和医疗设备,最大限度减少疫情对各地产生的不良影响。

## 2.4 粤港澳桂片区合作防疫中的可行方式

粤港澳桂片区合作防疫工作须分不同传染病类别制定明确目标,能体现片区合作的针对性与实际应用价值;可确定项目分工合作,亦可平行实施,相互比对,还可一地先行试点,对全片区发挥示范的效应。粤港澳桂片区可建立定期线上或线下交流机制,及时汇总情况,分析讨论,形成共识,促进血液安全工作扎实稳步推进。

## 3 促进粤港澳桂片区医疗健康大数据分享在输血安全中的应用

大数据是人工智能技术向实际应用转化的基础和支撑。在输血安全领域,医疗健康大数据的深度挖掘、广泛应用,能够为采供血行业整个流程质量控制、技术管理、流程优化、效率提升、资源管理等提供强大技术支持。

### 3.1 建立粤港澳桂片区医疗健康大数据共享制度

为实现粤港澳桂片区医疗健康大数据共享,须建立合理有序的数据要素及应用软件兼容通用系统。目前各医疗健康大数据信息软件数据库尚不能互访,接口不能通用<sup>[8]</sup>,给各地区血站数据共享带来极大不便;信息软件配合血站新业务、新需求进行的升级改进尚处于“各自为战”状况,难以及时在行业内推广优化;健康大数据信息软件的升级,亟待完善市场化机制,提高参与人员的积极性<sup>[9]</sup>;另则挖掘整理大数据库中与输血安全管理的信息端口及区域信息互动网络平台均未建立,也是本片区看亟待完成的任务。我国香港、澳门成熟的电子交叉配血信息管理系统经验<sup>[10-11]</sup>可在片区内推广,并成为实现粤港澳桂片区医疗健康大数据共享机制的基础。

### 3.2 加强医疗数据的隐私保护

在实现片区医疗健康大数据共享机制过程中,须加强医疗数据的隐私保护。涉及个人隐私权和数据成果产权的保护、数据授权使用管理细则都需细化完善。医疗数据质量、数据规模、数据维度及数据治理策略等务必达到专业化标准。在医疗健康大数据分享过程中还需要建立临床专家、技术工程师、管理者在数据使用中的责任权益管理规范<sup>[12]</sup>,促进医疗健康大数据分享在输血安全中的应用。

(下转第16页)

## 两种糖化血红蛋白临床检验方法的一致性评价

张小静\* 潘晓芳 邢立森 张润锋 李杨玲 吴静标

**[摘要]** 目的 使用线性回归方法和 Bland-Altman 分析法评估两种糖化血红蛋白检测系统检测结果的相关性和一致性。方法 选取 99 例患者全血样本,分别使用糖化血红蛋白对照系统和考核系统检测,对两种检测系统的检测结果进行相关性分析与 Bland-Altman 分析。结果 对照系统和考核系统间的决定系数  $R^2=0.9779$  ( $P=0.0000$ ),表明两种检测系统的测量结果之间具有显著的相关性。Bland-Altman 一致性分析结果表明:界外点数(比率)4.04%。结论 两种检测系统对糖化血红蛋白检测结果一致性良好。

**[关键词]** 糖化血红蛋白; HbA1c; Bland-Altman 分析

### Consistency Evaluation of Two Kinds of Clinical Examination Methods for Glycated Hemoglobin

ZHANG Xiaojing\*, PAN Xiaofang, XING Lisen, ZHANG Runfeng, LI Yangling, WU Jingbiao

(Division IV of General Laboratory, Guangdong Medical Devices Quality Surveillance and Test Institute, Guangzhou, Guangdong, China, 510663)

**[ABSTRACT]** **Objective** Consistency evaluation of two kinds of clinical examination for Glycated Hemoglobin (HbA1c) with linear correlation and Bland-Altman analysis. **Methods** Control system and assessment system were used to test the HbA1c of venous blood samples from 99 cases of patients, the results are analysed with correlation and Bland-Altman analysis. **Results** The determination coefficient  $R^2$  is 0.9779, which shows that there is a good relationship between control system and assessment system; Bland-Altman consistency analysis shows that the maximum points out (ratio) is 4.04%. **Conclusion** There is a good consistency for HbA1c between control system and assessment system.

**[KEY WORDS]** Glycated Hemoglobin; HbA1c; Bland-Altman

糖化血红蛋白(Glycated Hemoglobin, HbA1c)作为糖尿病早期诊断和病后血糖监测的重要指标,是评估糖尿病病人长期糖化控制的主要度量<sup>[1]</sup>。2011年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐采用 HbA1c 作为糖尿病的诊断金标准生物标志物<sup>[2]</sup>。《中国 2 型糖尿病防治指南》建议用 HbA1c 评估患者的血糖控制情况<sup>[3]</sup>。实验室检测中,有新的检验方法或检验仪器时,为保证测量结果的一致性,需要评价新的检验方法或检验仪器的结果的一致性,以保证新检测系统的测量结果

与旧检测系统的结果一致。本文使用对照和考核系统的糖化血红蛋白检测试剂进行检测,除常规的统计方法外,还使用了 Bland-Altman 分析法,以期全面比对两个检测系统的检测方法一致性。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

##### 1.1.1 检测样本

2019年3月至6月收集本院检验科的99名受试者静脉全血样本,保存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中,收集

基金项目:心血管疾病床旁快速检测及信息化管理系统的开发与应用(201802010048)

作者单位:广东省医疗器械质量监督检验所综合检验四室,广东,广州 510663

\*通信作者:张小静, E-mail:875468891@qq.com

注:张小静和潘晓芳共为第一作者

完毕后试验前一次性解冻后进行测试。

### 1.1.2 仪器和试剂

①对照系统仪器:全自动糖化血红蛋白分析仪(型号:HA-8180,厂家:ARKRAY Factory, Inc.)。②考核系统仪器:全自动糖化血红蛋白分析仪(型号:HA-120,厂家:广东优尼德生物科技有限公司(以下简称优尼德))。③对照系统试剂:洗脱缓冲液 ELUENT 80A 和 80B(高效液相色谱法(HPLC 法))(批号分别为:8H1321 和 8H1331)、HbA1c 溶血剂(批号:8H1361)、HbA1c 校准品(批号:8H1327)、HbA1c 质控品(批号:8H1326),以上厂家均为 ARKRAY Factory, Inc.。④考核系统试剂:糖化血红蛋白 A1c 洗脱缓冲液 A 试剂盒和 B 试剂盒(高效液相色谱法)(批号分别为:2820190101 和 2920190101)、HbA1c 溶血剂(批号:3020190101)、HbA1c 校准品(批号:HJ20190101)、HbA1c 质控品(批号:HZ20190101),以上厂家均为优尼德。

### 1.2 检测方法

分别用考核系统和对照系统单次检测 99 例全血样本。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行基础数据、分布频数、线性相关分析和回归分析、对数据进行正态性 D'Agostino 检验和 t 检验,对试验的系统误差进行分析。并用 Medcalc V19.0.4 进行 Bland-Altman 分析。参照《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》、《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》、EP9-A、《医学统计学》等法规性文件和书籍,对表检测结果行统计学分析<sup>[4-7]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 检测结果

99 例全血样本分别在对照系统和考核系统的糖化血红蛋白检测试剂中分别进行测试,每个样本均是单次测定。对照系统和考核系统检测结果及两者配对差值。见表 1。

### 2.2 一致性分析

#### 2.2.1 基础计算

对照系统、考核系统及两个系统的各个统计量计算结果。见表 2。

#### 2.2.2 数据分布频数图

结果表明对照系统、考核系统的测量结果主要集中在 5.42 和 6.42 之间。见图 1。

表 1 对照系统和考核系统检测结果和配对差值

Graph 1 Results of control system, assessment system, and paired difference results

编号	对照系统	考核系统	配对差值	编号	对照系统	考核系统	配对差值
1	5.8	5.9	-0.1	51	5.1	4.8	0.3
2	5.7	5.7	0	52	5.5	5.3	0.2
3	8.5	8.5	0	53	6.7	6.8	-0.1
4	6.0	5.7	0.3	54	6.8	6.9	-0.1
5	5.7	5.7	0	55	5.4	5.4	0
6	5.8	6.2	-0.4	56	4.6	4.6	0
7	8.5	8.5	0	57	6.5	6.5	0
8	5.4	5.4	0	58	5.1	4.8	0.3
9	5.7	5.9	-0.2	59	8.4	8.3	0.1
10	6.3	5.8	0.5	60	6.0	6.1	-0.1
11	5.2	4.9	0.3	61	5.2	5.1	0.1
12	6.2	5.4	0.8	62	5.8	5.7	0.1
13	5.8	5.7	0.1	63	5.4	5.6	-0.2
14	5.7	5.6	0.1	64	5.5	5.6	-0.1
15	5.3	5.1	0.2	65	7.1	7.4	-0.3
16	5.4	5.3	0.1	66	5.5	5.6	-0.1
17	5.8	5.7	0.1	67	6.2	6.3	-0.1
18	6.3	6.1	0.2	68	5.6	5.3	0.3
19	6.0	6.2	-0.2	69	5.1	5.1	0
20	5.2	5.2	0	70	5.8	6.0	-0.2
21	5.6	5.7	-0.1	71	7.2	7.3	-0.1
22	5.5	5.7	-0.2	72	6.2	6.1	0.1
23	8.9	9.3	-0.4	73	4.9	5.0	-0.1
24	6.0	6.1	-0.1	74	6.2	6.2	0
25	6.3	6.3	0	75	5.4	5.6	-0.2
26	5.2	4.9	0.3	76	5.4	5.4	0
27	5.5	5.7	-0.2	77	5.7	5.9	-0.2
28	5.4	5.3	0.1	78	6.2	6.1	0.1
29	6.8	6.9	-0.1	79	5.5	5.8	-0.3
30	5.7	5.7	0	80	6.1	6.5	-0.4
31	5.5	5.6	-0.1	81	5.9	6.0	-0.1
32	7.5	8.0	-0.5	82	5.4	5.8	-0.4
33	5.9	6.3	-0.4	83	6.5	6.8	-0.3
34	5.6	5.8	-0.2	84	5.8	6.3	-0.5
35	5.9	6.0	-0.1	85	6.0	6.1	-0.1
36	5.5	5.4	0.1	86	12.2	12.5	-0.3
37	5.1	5.2	-0.1	87	6.8	7.1	-0.3
38	6.1	6.3	-0.2	88	5.8	5.7	0.1
39	5.1	5.6	-0.5	89	5.8	5.9	-0.1
40	5.7	5.8	-0.1	90	4.9	4.9	0
41	5.9	6.0	-0.1	91	6.5	6.7	-0.2
42	7.3	7.3	0	92	10.8	11.0	-0.2
43	6.4	6.5	-0.1	93	5.8	5.9	-0.1
44	5.8	6.2	-0.4	94	10.1	10.6	-0.5
45	12.8	12.8	0	95	5.6	5.6	0
46	7.6	7.8	-0.2	96	6.1	6.1	0
47	5.6	5.7	-0.1	97	5.5	5.6	-0.1
48	4.6	4.6	0	98	5.2	5.6	-0.4
49	5.5	5.6	-0.1	99	5.4	5.6	-0.2
50	5.4	5.5	-0.1	平均值	6.1	6.2	/

2.2.2.1 线性相关分析 以对照系统为自变量 X,考核系统为因变量 Y,作散点图,  $R^2=0.9779$ ,两个检测系统之间的结果具有良好的线性关系。见图 2。

2.2.2.2 线性回归分析 回归模型 F 检验和回归系数 b 的 t 检验:  $H_0: b=0, H_1: b \neq 0, \alpha=0.05$ , 作数据分

表2 基础计算结果

Table 2 Basic calculation results

统计量	对照系统	考核系统	配对差值
平均	6.143	6.212	-0.069
标准误差	0.138	0.144	0.022
中位数	5.8	5.8	-0.1
众数	5.8	5.7	-0.1
标准差	1.371	1.428	0.216
方差	1.880	2.040	0.047
峰度	9.8431	8.8428	2.1016
偏度	2.9038	2.7437	0.6082
区域	8.2	8.2	1.3
最小值	4.6	4.6	-0.5
最大值	12.8	12.8	0.8
求和	608.2	615	-6.8
观测数	99	99	99
置信度(95.0%)	0.2735	0.2848	0.0432

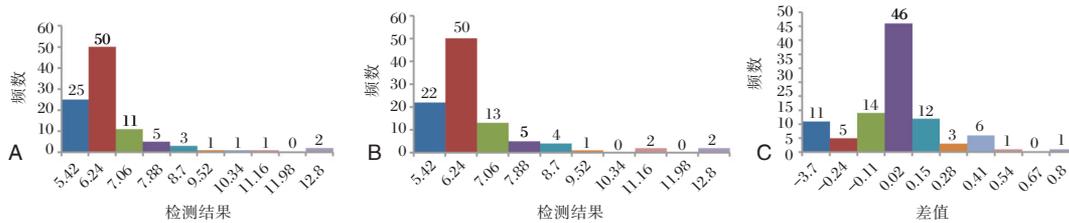
析与统计检验,两种检测系统的测量结果间存在着显著的直线关系,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

### 2.2.3 Bland-Altman 分析

Bland-Altman 分析,仅有 4/99(4.04%)界外点数,对照系统、考核系统的测量结果一致。见图3。

### 2.2.4 分析系统误差

2.2.4.1 D'Agostino 检验 采用D(D'Agostino)检验进行正态性检验,建立假设: $H_0$ :数据总体服从正态分布, $H_1$ :数据总体不服从正态分布, $\alpha=0.05$ ,作数据分析与统计检验,对照系统、考核系统的测量结果服从正态分布。见表4。



注:A 对照系统测量结果; B:考核系统测量结果; C:配对差值分布频数图。

图1 对照系统、考核系统及配对差值分布频数图

Figure 1 Distribution frequency graph of control system, assessment system results and paired difference results

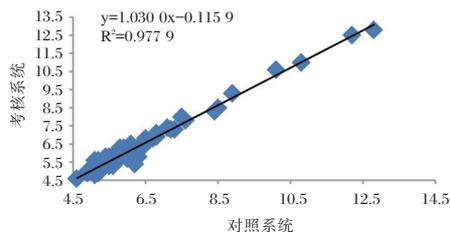


图2 对照系统与考核系统测量结果散点图

Figure 2 Scatter plot of control system and assessment system results

2.2.4.2 t 检验数据分析 Spearman 进行分析, 95%CI: 0.901 0~0.954 3。两种检测系统直线相关关系成立( $r=0.932 5, t=25.436, P=0.000$ )。

## 3 讨论

糖尿病是临床上发病率最高的慢性病之一,长期处于高血糖的患者,会引发糖尿病并发症,并引起糖尿病患者残疾或死亡,因此做到早发现、早预防、早治疗是降低糖尿病发病率和死亡率的关键<sup>[8]</sup>。

表3 数据直线回归分析结果

Table 3 Linear regression analysis results

项目	统计值	项目	统计值	项目	统计值
回归方程	Y=1.030 0X-0.115 9	系数 b 检验	b=1.030 0	截距 a 检验	a=-0.115 9
SS 回	195.46, v=1	t 值(b)	65.444 9	t 值(a)	-1.170 0
SS 剩	4.43, v=97	概率 P(b)	0.000 0	概率 P(a)	0.244 9
F 值	4 283.035 6	系数 b S	0.0157 4	截距 a S	0.099 05
概率 P	0.000 0	系数 95%CI	0.998 8~1.061 3	截距 95%CI	-0.312 5~-0.080 7
	$P<0.05$ , 拒绝 $H_0$ , 接受 $H_1$ , 表		$P<0.05$ , 拒绝 $H_0$ , 接受 $H_1$ , 表		$P>0.05$ , 接受 $H_0$ , 表
检验结果	明两种检测系统的测量结果间存在着显著的直线关系。	检验结果	明两种检测系统的测量结果间存在着显著的直线关系。	检验结果	明截距与 0 值差异无统计学意义。

HbA1c 可以规避服用药物和胰岛素、短时间血糖波动、饮食和运动情况等影响,使糖尿病的诊断更稳定,结果更可靠,是评价长期血糖控制的金标准<sup>[9-10]</sup>。

Bland-Altman 法作为新的图形分析法,可以从集中趋势、离散趋势、同步变化程度多角度评价新旧检验方法或检验系统的一致性,弥补了 t 检验、

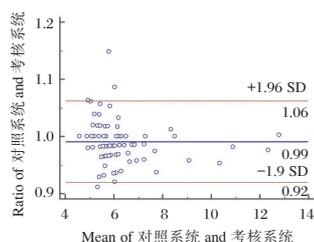


图3 对照系统和考核系统检测结果的Bland-Altman图

Figure 3 Bland-Altman diagram of control system and assessment system

表4 数据差值正态性检验结果

Table 4 Normality of difference between control system and assessment system

项目	对照系统		考核系统		配对差值	
	Z/ $\chi^2$ 值	P值	Z/ $\chi^2$ 值	P值	Z/ $\chi^2$ 值	P值
偏度G1	7.322 9	0.000 0	7.111 2	0.000 0	2.432 3	0.015 0
峰度G2	5.344 8	0.000 0	5.170 5	0.000 0	2.784 6	0.005 4
D'AGOSTINO	82.191 8	0.000 0	77.303 8	0.000 0	13.669 9	0.001 1

HbA1c 标准化工作组建议,以糖尿病控制与并发症研究(Diabetes Control and Complications Trial, DCCT)中所“指定的方法”——高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)作为检测糖化血红蛋白的金标准,希望以此使大多数的实验方法能够参照“指定的方法”实现标准化<sup>[14]</sup>。2002年美国糖尿病协会(American Diabetes Association, ADA)将HPLC法作为监测糖尿病控制的金标准,并规定所有糖尿病患者均应测定HbA1c<sup>[15]</sup>。

ARKRAY Factory, Inc.公司的高效液相色谱系统被中国三甲等大型医院广泛应用,在中国市场占有率高,检测糖化血红蛋白口碑好<sup>[16-18]</sup>。美国HbA1c标准化计划使用离子交换HPLC为“参考方法”,是目前为HbA1c测定的指定比对方法<sup>[19]</sup>。本文选用优尼德的糖化血红蛋白A1c洗脱缓冲液A试剂盒(高效液相色谱法),原理实际上就是HPLC法,该方法具有检测结果变异系数小、可以通量检测的优势。利用Bland-Altman法作为图形分析法,可以从集中趋势、离散趋势、同步变化程度多角度评价两种检验方法的一致性,弥补t检验、相关分析和回归分析的不足。结果表明优尼德和ARKRAY Factory, Inc.公司两种检测系统对糖化血红蛋白测量结果一致性良好,优尼德的检测系统适用于糖化血红蛋白检测。Bland-Altman分析显示界外点数/总分析样本数为4/99,只有4.04%不在 $[\bar{d} - 1.96Sd, \bar{d} + 1.96Sd]$ 内,对照系统与

相关分析和回归分析的不足,是评价两种检验方法一致性的标准方法之一<sup>[11]</sup>。

临床上检测血清糖化血红蛋白的方法主要有离子交换高效液相色谱分析法、微柱法、电泳法、亲和层析法、免疫法5种<sup>[12-13]</sup>。美国临床化学协会(American Association for Clinical Chemistry, AACC)糖化血红蛋白标准化分会和国际临床化学和实验医学联合会(International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC)

考核系统测量结果测量结果一致性良好。D'Agostino检验结果表明99例样本不服从正态分布,t检验、线性相关分析和回归分析都表明考核系统与对照系统测量结果之间具有良好线性关系。

但是此次实验尚有不足,首先是分析样本数量不大;其次是未引入国际标准品或者国家标准品。未来将通过比对或参加原卫生部林建中心室间质评等方式进一步进行试剂考核来确证该体系的临床符合率,并对试剂的稳定性、可重复性、批间差等相关性能验证进一步开展。

#### 参考文献

- [1] 王冬环, 陈文祥, 纪立农, 等. 糖化血红蛋白测定专家共识[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(12):853-858.
- [2] González VN, Castro RJ, Gómez GP, et al. Characterization of glycosylated hemoglobin based on Raman spectroscopy and artificial neural networks[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2021, 247:119077.
- [3] 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]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1):4-69.
- [4] 体外诊断试剂临床研究技术指导原则(国食药监械[2014]16号), 国家食品药品监督管理局发布.
- [5] 体外诊断试剂临床试验技术指导原则(国食药监械[2014]16号), 国家食品药品监督管理局发布.
- [6] EP09-A2-IR.Method comparison and bias estimation using patient samples: approved guideline (2nd ed)[S].
- [7] 颜虹. 医学统计学(第3版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [8] 唐妍妍. 糖化血红蛋白、血脂、颈动脉硬化与脑循环障碍相关性分析[D]. 衡阳, 南华大学, 2020.

(下转第11页)

## 吉林省2018-2020年甲型H3N2亚型流感病毒耐药基因分析

李静 柳鸿敏 侯程程 吴东林 杨显达\*

**[摘要]** **目的** 掌握2018-2020年吉林省内H3N2亚型流感流行株对金刚烷胺类药物以及神经氨酸酶抑制剂类药物的耐药情况,为流感的临床治疗及预防控制提供参考依据。**方法** 选取甲型H3N2亚型流感毒株34株,对M2和NA基因进行PCR扩增,测序后对耐药位点进行分析。**结果** 2018-2020年吉林省分离到流感毒株981株,其中甲型流感病毒毒株934株,乙型流感毒株47株。在分离到的甲型流感病毒毒株中,57.49%为H1N1pdm亚型毒株,39.61%为H3N2亚型毒株。对34株H3N2亚型流感病毒测序结果显示M2基因S31N耐药位点上发生了突变;在NA耐药相关基因位点E119V、Q136K、D151A、I222V、H274Y、R292K、N294S均未发生突变。**结论** 吉林省2018-2020年以甲型流感流行为主。34株甲型H3N2亚型流感病毒均对金刚烷胺类药物耐药,但仍对神经氨酸酶抑制剂敏感。

**[关键词]** 甲型H3N2亚型流感病毒;耐药基因分析;金刚烷胺类药物;神经氨酸酶抑制剂

### Genetic analysis of drug resistance of influenza A (H3N2) virus in Jilin province from 2018 to 2020

LI Jing, LIU Hongmin, HOU Chengcheng, WU Donglin, YANG Xianda\*

[Jilin Provincial Center for Disease Control and Prevention (Public Health Research Institute), Changchun, Jilin, China, 130062]

**[ABSTRACT]** **Objective** To master Amantadine drugs and Neuraminidase inhibitors resistant situation of A(H3N2) epidemic strains from 2018 to 2020, provides some basis for the clinical treatment, and prevention and control. **Methods** 34 strains of influenza A (H3N2) were selected. M2 and NA genes were amplified by PCR, and the drug resistance sites were analyzed after sequencing. **Results** From 2018 to 2020, 981 influenza strains were isolated in Jilin Province, including 934 influenza A strains and 47 influenza B strains. Among the isolated influenza A virus strains, 57.49% were H1N1pdm subtype strains, and 39.61% were H3N2 subtype strains. Sequencing of 34 strains of H3N2 subtype influenza virus showed a mutation at the S31N resistance site of the M2 gene. There were no mutations in E119V, Q136K, D151A, I222V, H274Y, R292K, and N294S related to NA drug resistance. **Conclusion** The prevalence of influenza A in Jilin Province from 2018 to 2020 is dominant. 34 strains of influenza A H3N2 subtype viruses are resistant to amantadine drugs, but are still sensitive to neuraminidase inhibitors.

**[KEY WORDS]** Influenza A (H3N2) virus; Genetic analysis of drug resistance; Amantadine drugs; Neuraminidase inhibitors

流感病毒是引起人类呼吸道感染的常见病原,是人类面临的主要公共健康问题之一<sup>[1]</sup>,每年都会造成3 000~5 000万人感染呼吸道疾病,导致25~50万

人死亡,给全球带来严重的经济损失<sup>[2]</sup>。甲型H3N2亚型流感首次大爆发发生于1968年并引起20世纪的第三次流感大流行,造成约300万人死亡,又被称为

基金项目:国家科技重大专项(2017ZX10103007-003)

作者单位:吉林省疾病预防控制中心(吉林省公共卫生研究院)病毒所,吉林,长春 130062

\*通信作者:杨显达, E-mail: flemingyang@163.com

“香港流感”。从此后甲型 H3N2 亚型流感一直在人群中呈季节性流行并逐年发生变异,较 H1N1pdm 亚型和乙型流感病毒, H3N2 亚型抗原进化快,感染症状重,更易引起流行<sup>[3-4]</sup>。目前流感的防治措施主要是疫苗接种和抗流感病毒药物,流感疫苗接种用于预防流感,抗流感病毒药物用于预防性用药和临床治疗。抗流感病毒药物主要包括 M2 离子通道阻断剂,即金刚烷胺类药物<sup>[5]</sup>,如金刚烷胺、金刚乙胺,以及靶向神经氨酸酶抑制剂类药物(neuraminidase inhibitor, NAI),如奥司他韦、扎那米韦等<sup>[6]</sup>。由于抗病毒药物的广泛使用以及流感病毒的不断变异,流感病毒耐药株呈增长趋势,为更好的指导临床用药和治疗,对流感毒株的耐药性监测具有十分重要的意义。为了解吉林省甲型 H3N2 亚型流感病毒的耐药基因特征及耐药情况,本研究对流感毒株进行 M2 和 NA 基因扩增并进行了基因序列比对,分析吉林省甲型 H3N2 亚型流感病毒毒株的耐药位点变化。

## 1 材料与方 法

### 1.1 标本来源

采集 2018 年 4 月至 2020 年 3 月吉林省内 13 家国家级流感监测哨点医院具有流感样症状(体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ,伴咳嗽或者咽痛之一)的流感样病例标本,发热 3 天内患者的咽拭子或鼻咽拭子。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 核酸检测

使用用 QIAamp Viral RNA kit (Qiagen) 试剂盒(货号:52904)提取核酸,具体操作参照说明书。使用 Thermo fisher 公司 AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagent Kit 进行流感病毒亚型 Real-time PCR 检测,相关引物及探针序列参考《全国流感监测技术指南(2017 年版)》<sup>[7]</sup>,检测所使用的引物及探针序列由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。

#### 1.2.2 流感病毒分离与鉴定

核酸检测阳性标本接种于狗肾细胞(MDCK)对进行流感病毒分离。7 天内发生细胞病变的细胞使用红细胞凝集方法进行试验,对于 HA $\geq 1:8$  的毒株进行红细胞凝集抑制试验对流感病毒亚型进行鉴定,鉴定试剂由国家流感中心提供。所有毒株均经过国家流感中心复核鉴定后用于本研究分析。

### 1.3 病毒选择

随机挑选 2018-2020 年流感监测年度 34 株甲型 H3N2 亚型流感毒株。

### 1.4 序列扩增

流感毒株进行核酸提取后,使用上海伯杰公司季节性流感病毒 H3N2 亚型全基因扩增试剂盒对 M 和 NA 基因进行扩增。按照试剂说明书配制 PCR 反应体系,反应条件为:50 $^{\circ}\text{C}$  30 min; 94 $^{\circ}\text{C}$  3 min; 35 个循环(94 $^{\circ}\text{C}$  30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$  30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  1.5 min); 72 $^{\circ}\text{C}$  7 min。取扩增产物 5  $\mu\text{L}$ , 1% 琼脂糖凝胶电泳。电压 80 V, 电泳时间为 40 min, 凝胶成像仪观察电泳结果,将阳性条带送公司测序。

### 1.5 序列分析

采用 Bioedit 和 Mega7.0 分析软件对 M2 基因和 NA 基因进行比对、分析核酸序列和氨基酸序列。以 WHO 北半球 H3N2 流感疫苗推荐株 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(2018-2019), A/Kansas/14/2017(2019-2020)作为参比序列(来源于 GISAID 数据库)。

### 1.6 统计学方法

利用 Excel 工作表对数据进行整理、汇总、分类以及比例计算。采用 Bioedit 和 Mega7.0 分析软件对 M2 基因和 NA 基因进行比对、分析核酸序列和氨基酸序列。

## 2 结 果

### 2.1 甲型 H3N2 流感流行情况

2018-2020 年度,吉林省共采集流感样病例标本 17 930 份,分离到流感毒株 981 株,其中甲型流感病毒毒株 934 株,乙型流感毒株 47 株。在分离到的甲型流感病毒毒株中,57.49% 为 H1N1pdm 亚型毒株,39.61% 为 H3N2 亚型毒株。见表 1。

### 2.2 M2 基因耐药位点分析

吉林省 2018-2020 年度 34 株 H3N2 亚型流感病毒在 M2 耐药相关基因位点 L26F、V27A、A30T、G34E 均未发生突变,但全部在 S31N 基因位点上发生了突变,即对金刚烷胺类抗病毒药物产生耐药。见图 1。

### 2.3 NA 基因耐药位点分析

吉林省 2018-2020 年度 34 株 H3N2 亚型流感病毒在 NA 耐药相关基因位点 E119V、Q136K、D151A、I222V、H274Y、R292K、N294S 及 R371K 均未发生突变,即对 NAI 敏感。见图 2。

表1 吉林省2018-2020年流感病毒毒株结果 [n(%)]

Table 1 Results of influenza virus strains in 2018-2020 in Jilin Province [n(%)]

监测时间	标本数	分离毒株数	A型流感毒株			B型流感毒株	
			A(H1N1)	A(H3N2)	H1N1pdm	Victoria系	Yamaga系
2018.4-2019.3	9 036	561 (6.21)	0	12 (2.14)	505 (90.02)	3 (0.53)	41 (7.31)
2019.4-2020.3	8 894	420 (4.72)	0	358 (85.24)	59 (14.05)	3 (0.71)	0 (0.00)
合计	17 930	981 (5.47)	0	370 (37.72)	564 (57.49)	6 (0.61)	41 (4.18)

1. AKansas/14/2017_MP_(2019-2020)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
2. ASingapore/NFIMH-16-0019/2016_MP_(2018-2019)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
3. AJilinhujiang/17/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
4. AJilinnanguan/125/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
5. AJilinningjiang/158/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S N P L V V A A N I I G
6. AJilinchaojiang/114/17/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
7. AJilinZhenhai/164/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
8. AJilinnongshan/113/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S N P L V V A A N I I G
9. AJilinchaojiang/1148/2018H3	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S N P L V V A A N I I G
10. AJilintexi/1258/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
11. AJilintexi/1266/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
12. AJilinchuanyang/1258/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
13. AJilinZhenhai/1178/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S N D P L V V A A N I I G
14. AJilinchaojiang/1353/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
15. AJilinnongshan/1268/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
16. AJilinchaojiang/11097/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
17. AJilinchaojiang/1572/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
18. AJilinZhenhai/1108/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
19. AJilinjinyuexiaoxin/32/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
20. AJilinchaojiang/11304/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
21. AJilinchaojiang/135/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
22. AJilinchuanyang/11408/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
23. AJilinchaojiang/1607/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
24. AJilintexi/1218/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
25. AJilintexi/122/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
26. AJilintaobei/1653/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
27. AJilinZhenhai/1632/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
28. AJilintaobei/134/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
29. AJilindongchang/1568/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
30. AJilindongchang/13/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
31. AJilinnongshan/1671/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
32. AJilinhunjiang/1639/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
33. AJilinhunjiang/15/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
34. AJilinyanji/1720/2019(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D L L V V A A N I I G
35. AJilinyanji/112/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G
36. AJilinyanji/114/2020(H3)	M S L L T E V E T P I R N E W G C R C N D S S D P L V V A A N I I G

图1 M2基因耐药位点比对结果

Figure 1 Comparison results of drug resistance sites of the M2 gene

毒株名称/基因位点	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	119	136	151	222	274	282	371	
ASingapore/NFIMH-16-0019/2016 NA	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AKansas/14/2017 NA	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinnongshan/17/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinnanguan/125/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinnongshan/158/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinchaojiang/114/17/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinZhenhai/164/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinnongshan/113/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinchaojiang/1148/2018H3	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilintexi/1258/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinchuanyang/1258/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinZhenhai/1178/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinchaojiang/1353/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinchaojiang/11097/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinchaojiang/1572/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilintexi/1218/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilintexi/122/2020(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilintaobei/1653/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinZhenhai/1632/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilintaobei/134/2020(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilindongchang/1568/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilindongchang/13/2020(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinnongshan/1671/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinhunjiang/1639/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinhunjiang/15/2020(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinyanji/1720/2019(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinyanji/112/2020(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R
AJilinyanji/114/2020(H3)	M	N	P	N	Q	K	I	I	T	I	G	S	V	S	L	T	I	S	T	I	E	Q	D	I	H	R	N	R

图2 2018-2020年吉林省H3N2亚型流感毒株NA基因氨基酸耐药位点突变情况

Figure 2 Amino acid mutation relate with neuraminidase resistance of H3N2 influenza strains in Jilin Province during 2018-2020

3 讨论

流行性感冒一直以来严重威胁人类健康,流感病毒是正粘病毒科,分为甲(A)、乙(B)、丙(C)、丁(D)4型<sup>[8]</sup>,其中甲、乙两个型别是季节性流感的主要病原。甲型流感病毒抗原性易发生变异,多次

引起世界性大流行。流感疫苗是预防流感病毒感染的最主要手段<sup>[9]</sup>,由于H3N2亚型很难在鸡胚中生长良好,且在抗原决定簇区域发生数个鸡胚适应性突变,与流行株的抗原特性有差异<sup>[10]</sup>,另外病毒快速和显著的变异,也阻止机体产生持久的保护性免疫<sup>[11]</sup>。抗病毒药物主要用于流感治疗以及暴露后的预防用药。M2离子通道阻断剂已经在临床应用大约六十年了,自从2019年H1N1流感大流行时已经出现耐药情况<sup>[12]</sup>。自2000年代中期以来,H3N2亚型也已经开始出现耐药性。为掌握吉林省内H3N2亚型流感流行株对金刚烷胺类药物以及神经氨酸酶抑制剂类药物的耐药情况,开展本次研究。据相关文献报道,与M2基因耐药有关的分子标记有L26F、V27A、A30T、S31N和G34E,其中任何一个发生变异,金刚烷胺类药物则无法与M2蛋白离子通道结合,从而产生耐药现象。本次研究结果与国内相关报道结果一致<sup>[5,13]</sup>。NA基因耐药有关的分子标记有E119V/I、Q136K、D151A、I222V、H274Y、R292K、N294S和R371K,只要其中任意位点发生突变,病毒即对NAI产生耐药现象<sup>[14-15]</sup>。其中NA基因第274位和294位突变导致对奥司他韦和帕拉米韦耐药,第119位突变导致对奥司他韦和扎扎那米韦耐药<sup>[12]</sup>。但仍然要保持高度重视,由于神经氨酸酶抑制剂在临床中的广泛应用及H3N2流感病毒的不断变异,已在临床中出现神经氨酸酶抑制剂敏感感染度降低的病例<sup>[16-17]</sup>,以及由于NA基因上H275Y的变异导致出现澳大利亚、日本等国家A(H1N1)pdm09耐药毒株的聚集性病例和散发病例<sup>[18]</sup>。在临床治疗中,应选择多种治疗方式联合使用,减少药物压力产生的耐药株,同时坚持长期、持续的流感毒株耐药性监测,以便及时发现本省内药物敏感度降低的毒株,为流感的防控以及指导抗流感药物的选择和使用提供实验依据。

参考文献

[1] 周百灵, 杨光能, 陈俊伶, 等. 56℃加热灭活对流感病毒核酸检测结果影响的初步研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4):441-444.

- [2] 徐姿,柯美霞,崔大伟,等. 2007-2017年中国甲型H3N2流感病毒HA基因特征分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(12):937-941.
- [3] Chong Y, Matsumoto S, Kang D, et al. Ikematsu H. Consecutive influenza surveillance of neuraminidase mutations and neuraminidase inhibitor resistance in Japan[J]. Inf wenza Oth-er Res pir Viruses, 2019, 13: 115-122.
- [4] 曹蓝,鲁恩洁,李魁彪,等. 2017年广州市16株H3N2流感病毒耐药基因分子特征分析[J]. 现代预防医学, 2019; 46(9): 1693-1697.
- [5] 付倩,文奇,周银古,等. 新余市甲型流感病毒M基因进化及金刚烷胺类耐药性分析[J]. 实验与检验医学, 2017, 035(6):870-873.
- [6] 姜彩肖,韩光跃,李岩,等. 2018-2019年流感流行季节河北省流感病毒对神经氨酸酶抑制剂的的耐药性研究[J]. 中华疾病预防控制中心杂志, 2020, 24(2): 233-236.
- [7] 中国国家流感中心. 全国流感监测技术指南(2017年版)[S/OL]. [2017-09-23]. <http://ivdc.chinacdc.cn/cnic/zyzx/jc-fa/201709/P020170930331067634607.pdf>.
- [8] 陈国清,李春香,邵荣标,等. 2015-2017年盐城市甲型H3N2流感病毒HA1、NA基因分子特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2018, 22(9):36-41.
- [9] 范颖,李雪云,房师松,等. 2017年深圳地区A/H3N2亚型流感病毒HA和NA基因的分子进化特征[J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 23(9): 1114-1120.
- [10] 李希妍,成艳辉,谭敏菊,等. 2013-2014年度中国H3N2亚型流感病毒病原学特征分析[J]. 病毒学报, 2015(1):30-35.
- [11] Michal Mandelboim, Aharon Glatman - Freedman, Yaron Drori, et al. Ineffectiveness of the 2014-2015 H3N2 influenza vaccine[J]. Oncotarget, 2015, 7(2):1185-1192.
- [12] Gubareva LV, Besselaar TG, Daniels RS, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2015-2016[J]. Anti Res, 2017, 146:12-20.
- [13] 孙海波,刘双,王璐璐,等. 辽宁省2014-2016年季节性A(H3N2)流感病毒耐药基因分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(2): 157-159.
- [14] Angie L, Besselaar TG, Daniels RS, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and status of novel antivirals 2016-2017[J]. Anti Res, 2018, 157:38-46.
- [15] 王慎骄,祈贤,邓斐,等. 2017年江苏省H3N2流感病毒血凝素与神经氨酸酶分子特征及耐药性分析[J]. 医学研究生学报, 2019, 32(12): 1254-1258.
- [16] Angie L, Terry G. B, Rod S.D, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and status of novel antivirals, 2016-2017[J]. Anti Res, 2018, 157:38-46.
- [17] 鄢翠林,崔大伟. 2016-2017年我国甲型流感病毒H3N2亚型HA和NA基因的分子特征分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(1):66-69.
- [18] 黄维娟,谭敏菊,李希妍,等. 2013-2017年中国大陆流行的A(H3N2)亚型流感病毒对神经氨酸酶抑制剂的敏感性分析[J]. 病毒学报, 2018, 34(6): 793-799.

(上接第7页)

- [9] 韩芳. 糖化血红蛋白和糖耐量试验两种诊断方法对糖尿病患者尿微量白蛋白的影响[D]. 山东大学, 2019.
- [10] 周晓惠,李广琦,陈玮. 糖化白蛋白对糖尿病血糖管理的意义[J]. 包头医学院学报, 2019, 35(4):3-4.
- [11] 闻浩,刘玉秀,于浩. 医疗设备Bland-Altman一致性分析中文报告的系统评价[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(11):1191-1197.
- [12] 刘琦浩. 糖化血红蛋白检测技术的临床应用评价及展望[J]. 医疗装备, 2018, 31(4):202-203.
- [13] 贺乐奇,沈芳,李鹏,等. 氨基甲酰血红蛋白对3种糖化血红蛋白检测方法干扰研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(15):1899-1901.
- [14] Paleari R, Mosca A. Standardization of the HbA2 Assay[J]. EJIFCC, 2018, 29(4):298-302.
- [15] Alpesh G, Yashdeep G, Rajiv S, et al. American Diabetes Association "Standards of Medical Care-2020 for Gestational Diabetes Mellitus": A Critical Appraisal[J]. Diabetes Therapy, 2020, 11(8): 1639-1644.
- [16] 金宏伟,黄回滨,王欣欣. ARKRAYHA-8180全自动糖化血红蛋白分析仪性能评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(6):729-735.
- [17] 黄月,王媛,李偲银,等. 糖化血红蛋白原装进口试剂和国产配套试剂的对比性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(8):1393-1397.
- [18] 汪浩,邹文静. BIO-RAD VARIANT II糖化血红蛋白仪和arkray HA-8160糖化血红蛋白仪对糖化蛋白A1c检测结果的分析[J]. 医疗装备, 2015, 28(14):27.
- [19] American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes - 2020[J]. Diabetes Care, 2020, 43(Suppl 1): S1-S212.

## Naa10p、TSGF及RUNx2在口腔黏膜癌前病变、口腔鳞癌中的应用

刘春丽<sup>1\*</sup> 王国杰<sup>2</sup> 郑朝辉<sup>1</sup> 曹瑞<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 分析N端 $\alpha$ 位乙酰基转移酶10蛋白(Naa10p)、肿瘤特异性生长因子(TSGF)及人侏儒相关转录因子2(RUNx2)联合检测在口腔黏膜癌前病变、口腔鳞癌(OSCC)诊断及鉴别诊断中的应用价值。方法 选取2018年4月至2020年4月本院口腔科收治的65例OSCC患者,最终62例满足纳入标准,作为OSCC组。选取同期收治的50例癌前病变(扁平苔藓、白斑、红斑、慢性溃疡长期不愈)患者为癌前病变组,同时选取同期体检的40例健康者为正常对照组。收集所有研究对象临床资料,比较OSCC组、癌前病变组及正常对照组Naa10p、TSGF及RUNx2表达水平差异,分别对比Naa10p、TSGF及RUNx2单独及联合用于诊断OSCC的临床诊断性能(灵敏度、特异性及准确度);比较不同临床分期OSCC患者Naa10p、TSGF及RUNx2表达情况,采用ROC曲线分析Naa10p、TSGF、RUNx2单项及联合检测水平对OSCC的预测价值。结果 三组Naa10p、TSGF水平及RUNx2阳性率比较:OSCC组>癌前病变组>正常对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。Naa10p、TSGF及RUNx2联合检测的敏感性、准确性均高于任何单一血清检测,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。Ⅲ、Ⅳ期Naa10p、TSGF水平及RUNx2阳性率高于Ⅰ、Ⅱ期患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。采用ROC曲线分析Naa10p、TSGF、RUNx2单项及联合检测OSCC的预测价值,Naa10p、TSGF、RUNx2单项及联合检测曲线下面积分别为0.694、0.677、0.830、0.883,各指标曲线下面积以联合检测最大。结论 Naa10p、TSGF及RUNx2表达在OSCC患者显著升高,且与患者临床分期密切相关,联合三者检测可作为预测OSCC发生的有效手段,临床上应重视三者水平的检测,进而改善患者预后。

**[关键词]** Naa10p; TSGF; RUNx2; 口腔黏膜癌前病变; 口腔鳞癌

### Application of Naa10p, TSGF and RUNx2 in the oral mucosal precancerous lesions and oral squamous cell carcinoma

LIU Chunli<sup>1\*</sup>, WANG Guojie<sup>2</sup>, ZHENG Chaohui<sup>1</sup>, CAO Rui<sup>1</sup>

(1. Department of Stomatology, Second Affiliated Hospital of Xingtai Medical College, Xingtai, Hebei, China, 054000; 2. Department of Radiology, Xingtai Third Hospital, Xingtai, Hebei, China, 054000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the application value of combined detection of N -  $\alpha$  - acetyltransferase 10 protein (Naa10p), Tumor Supplied Group of Factors (TSGF), and Runt - related Transcription Factor 2 (RUNx2) in the diagnosis and differential diagnosis of oral mucosal precancerous lesions and oral squamous cell carcinoma (OSCC). **Method** 65 OSCC patients who were admitted to the Department of Stomatology in our hospital from April 2018 to April 2020 were selected. 62 patients met the inclusion criteria and were recruited as the OSCC group. 50 patients with precancerous lesions (lichen planus, leukoplakia, erythema, chronic ulcers that do not heal for a long time) were selected as the precancerous lesion group, and 40 normal subjects who received physical examination during the same period were selected as the health control group. The clinical data of all subjects were collected, and the differences in the expression levels of

基金项目:邢台市科技计划项目(2017ZC044)

作者单位:1. 邢台医专第二附属医院口腔科,河北,邢台 054000

2. 邢台市第三医院放射科,河北,邢台 054000

\*通信作者:刘春丽, E-mail: faxiaolian6215@163.com

Naa10p, TSGF and RUNx2 in the OSCC group, precancerous lesion group and the control group were measured and compared. The clinical diagnostic performance (sensitivity, specificity, and accuracy) of Naa10p, TSGF, RUNx2 alone and their combination to diagnose OSCC were compared, respectively. The expressions of Naa10p, TSGF and RUNx2 in OSCC patients at different clinical stages were compared, and the ROC curve was used to analyze the predictive value of Naa10p, TSGF, RUNx2 and the combined detection for OSCC.

**Results** The levels of Naa10p, TSGF and RUNx2 positive rates in the three groups were compared: OSCC group > precancerous lesion group > normal control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The sensitivity and accuracy of the combined detection of Naa10p, TSGF and RUNx2 were higher than those of any single serum detection, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The level of Naa10p, TSGF and the positive rate of RUNx2 in patients at the stage III and IV were higher than those in patients at the stage I and II, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The areas under the Naa10p, TSGF, RUNx2 and combined detection curves were 0.694, 0.677, 0.830, and 0.883, respectively. The area under the curve of combined detection was the largest. **Conclusion** The combined detection of Naa10p, TSGF and RUNx2 can be used as an effective means to predict the occurrence of OSCC. Clinically, the detection of the three levels should be emphasized to improve the prognosis of patients.

**[KEY WORDS]** Naa10p; TSGF; RUNx2; Precancerous lesions of oral mucosa; Oral squamous cell carcinoma

口腔鳞状细胞癌(Oral squamous cell carcinoma, OSCC)是指发生于口腔内,以鳞状细胞为主的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。目前 OSCC 的死亡率仍居高不下,寻求有效的肿瘤标志物以提高该病检出率并对预后进行有效评估有重要意义<sup>[2]</sup>。近年来研究发现 N 端  $\alpha$  位乙酰基转移酶 10 蛋白(N- $\alpha$ -acetyltransferase 10 protein, Naa10p)在多种恶性肿瘤中高表达,其分泌与口腔颌面部肿瘤关系密切<sup>[3]</sup>。而肿瘤特异性生长因子(Tumor Supplied Group of Factors, TSGF)是数种国际公认的与恶性肿瘤生长相关的糖类物质和代谢物的统称,人侏儒相关转录因子 2(Runt-related Transcription Factor 2, RUNx2)作为表观遗传学上驱动上皮-间叶细胞转化的异质性关键转录因子,临床试验证明均两者是肿瘤的早期发现、术后及放、化疗、转移、复发的重要指标<sup>[4]</sup>。本研究探讨 Naa10p、TSGF 及 RUNx2 三者联合检测在口腔黏膜癌前病变、OSCC 诊断及鉴别诊断中的应用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 4 月至 2020 年 4 月本院口腔科收治的 65 例 OSCC 患者,所有患者均经病理学检查确诊。纳入标准:①所有患者有明确的病理学诊断依据,均确诊为 OSCC<sup>[5]</sup>;②入组前未接受放疗及化疗;③临床资料完整且真实;排除标准:①合并血

液疾病者;②严重精神疾患或痴呆等无法配合本研究;③存在除 OSCC 以外其他原发性恶性肿瘤者;④合并风湿免疫及结缔组织病变者。最终 62 例满足纳入标准,作为 OSCC 组。男性 32 例,女性 30 例,平均年龄(60.53 $\pm$ 5.76)岁。

选取同期收治的 50 例诊断为癌前病变(扁平苔藓、白斑、红斑、慢性溃疡长期不愈)者为癌前病变组,所有患者均经临床体征或活检确诊<sup>[6]</sup>。男性 26 例,女性 24 例,平均年龄(60.47 $\pm$ 5.74)岁。同时选取同期体检的 40 例正常者为正常对照组,均经口腔检查确诊无牙周粘膜疾病和全身检查确诊无系统性疾病。男性 22 例,女 18 例,平均年龄(60.39 $\pm$ 5.84)岁。3 组资料在性别、年龄比较差异无统计学意义,具有可比性( $P > 0.05$ )。本研究已获得本院医学伦理委员会批准,所有受试者知情且签订相关协议。

### 1.2 观察指标

#### 1.2.1 检测方法

采集受试者空腹静脉血 8 mL,离心(3 000 r/min, 5 min)取血清。检测 Naa10:采用酶联免疫吸附法检测,将血清标本置于酶标板标准孔、样品孔中,封板孵育;每孔加入 100  $\mu$ L 检测溶液 A,封板;每孔加入 100  $\mu$ L 检测溶液 B,封板孵育,洗板 5 次;每孔加入 90  $\mu$ L 酶标试剂,更换封板膜,孵育;每孔加 50  $\mu$ L 终止液,于波长 450 nm 读取光密度(OD)值,根据标准曲线计算标本 Naa10p 浓度值。

检测 TSGF: TSGF 试剂盒购自福建新大陆生物技术有限公司,严格按照说明书进行操作。用上海分析仪总厂 722 s 分光光度计测定。以 >71 U/mL 为阳性<sup>[7]</sup>。

收集所有研究对象病理检查时获取的口腔粘膜,检测 Runx2: 采用免疫组化法进行检测,鼠抗人 Runx2 单克隆抗体购自美国 Abnova 公司,免疫组化采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶连接法(strept avidin-peroxidase, SP), SP 试剂盒购自北京中山生物科技有限公司。用已知阳性的人类胎盘组织做阳性对照;用 PBS 代替一抗做阴性对照。染色结果判定标准<sup>[8]</sup>: 按阳性细胞数比例分为 0 分、1 分、2 分、3 分、4 分;同时根据细胞染色强度加以评分,无着色计 0 分,浅黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。两种计分的乘积为每例的加权分数,加权分数为 0 为阴性,

其余均为阳性。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,计数资料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料采用  $(\bar{x} \pm s)$  描述,两组间采用  $t$  检验,多组间采用  $F$  检验;采用 ROC 曲线分析 Naa10p、TSGF、RUNx2 单项及联合检测水平对 OSCC 的预测价值;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 OSCC 组、癌前病变组及正常对照组 Naa10p、TSGF 表达比较

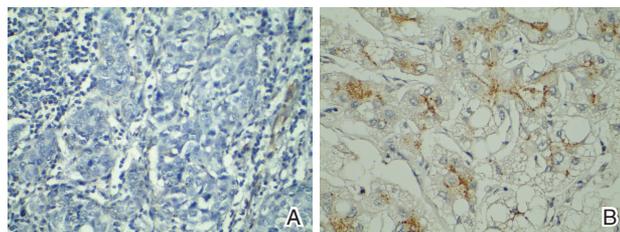
3 组 Naa10p、TSGF 水平及 RUNx2 阳性率比较: OSCC 组 > 癌前病变组 > 正常对照组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 1。RUNX2 染色图见图 1。

表 1 3 组 Naa10p、TSGF 表达比较 [ $n(\%)$ ,  $(\bar{x} \pm s)$ ]

Table 1 The expression of Naa10p and TSGF in the 3 groups [ $n(\%)$ ,  $(\bar{x} \pm s)$ ]

组别	n	Naa10p (pg/mL)	TSGF (U/mL)	RUNx2	
				阴性	阳性
OSCC 组	62	225.43±97.85	79.59±5.71	11 (17.74)	51 (82.26)
癌前病变组	50	98.07±32.51 <sup>a</sup>	66.16±4.97 <sup>a</sup>	19 (38.00) <sup>a</sup>	32 (62.00) <sup>a</sup>
正常对照组	40	68.59±30.14 <sup>ab</sup>	57.81±4.12 <sup>ab</sup>	35 (87.50) <sup>ab</sup>	5 (12.50) <sup>ab</sup>
F/ $\chi^2$ 值	-	82.534	238.013	49.276	
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001	

注:与 OSCC 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与癌前病变组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。



注: A 为 OSCC 患者 Runx2 阴性表达; B 为 OSCC 患者 Runx2 阳性表达。

图 1 OSCC 患者 Runx2 阴、阳性表达免疫组化图 (SP, ×400)

Figure 1 Runx2 negative and positive expression

immunohistostaining image of OSCC patients (SP, ×400)

### 2.2 Naa10p、TSGF 及 RUNx2 单独及联合检测诊断 OSCC 的诊断价值

Naa10p、TSGF 及 RUNx2 联合检测的敏感性、准确性均高于任何单一血清检测,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 不同临床分期 OSCC 患者 Naa10p、TSGF 及 RUNx2 表达比较

Ⅲ、Ⅳ期 Naa10p、TSGF 水平及 RUNx2 阳性率

表 2 Naa10p、TSGF、RUNx2 单独及联合检测诊断 OSCC 的诊断价值 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Diagnostic value of Naa10p, TSGF and RUNx2 alone and combined in the diagnosis of OSCC [ $n(\%)$ ]

检查方法	病理诊断		敏感性 (%)	特异性 (%)	准确性 (%)
	良性 (n=50)	恶性 (n=62)			
Naa10p	36 (72.00)	43 (69.35)	69.35 <sup>a</sup>	72.00	70.54 <sup>a</sup>
TSGF	39 (78.00)	42 (67.74)	67.74 <sup>a</sup>	78.00	72.32 <sup>a</sup>
RUNx2	35 (70.00)	45 (72.58)	72.58 <sup>a</sup>	70.00	71.43 <sup>a</sup>
Naa10p+TSGF+RUNx2 <sup>①</sup>	40 (80.00)	57 (91.94)	91.94	80.00	86.61
$\chi^2$ 值	-		12.588	1.813	10.245
P 值	-		0.006	0.612	0.017

注:与 ① 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

均高于 I、II 期患者,差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.4 ROC 曲线分析

Naa10p、TSGF、RUNx2 单项及联合检测曲线下面积分别为 0.694、0.677、0.830、0.883,各指标曲线下面积以联合检测最大。见表 4、图 2。

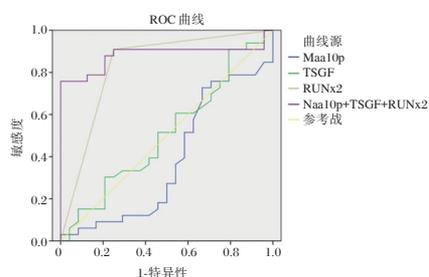
表3 不同临床分期 OSCC 患者 Naa10p、TSGF 表达比较  
( $\bar{x} \pm s$ )

分期	n	Naa10p(pg/mL)	TSGF(U/mL)	RUNx2	
				阴性	阳性
I+II	30	201.79±60.84	84.32±2.47	10	20
III+IV	32	294.26±65.71	73.57±2.68	2	30
t值	-	5.739	16.392	7.276	
P值	-	<0.001	<0.001	0.007	

表4 Naa10p、TSGF、RUNx2 单项及联合检测对 TOSCC 的预测价值

Table 4 Predictive value of Naa10p, TSGF, RUNx2 single and combined tests to TOSCC

预测因子	最佳临界值	敏感度	特异度	AUC	95%CI
Naa10p	13.46	0.694	0.72	0.383	0.229~0.537
TSGF	10.59	0.677	0.78	0.510	0.356~0.664
RUNx2	19.53	0.726	0.700	0.830	0.711~0.948
Naa10p+TSGF+RUNx2	15.61	0.919	0.800	0.883	0.785~0.980
预测指数模型	1.85	0.834	0.743	0.884	0.764~0.674

图2 Naa10p、TSGF、RUNx2 单项及联合检测 ROC 曲线分析  
Figure 2 ROC curve analysis for Naa10p, TSGF, RUNx2 single test and combined test

### 3 讨论

口腔颌面部恶性肿瘤包括 OSCC、腺性上皮癌、基底细胞癌等,其中以 OSCC 最为常见<sup>[9-10]</sup>。有学者发现肿瘤标志物的成分改变与局部组织细胞代谢密切相关,检测肿瘤附近体液中的肿瘤标志物较检测外周血的阳性率高,这为进一步探讨 OSCC 发病机制并优化诊疗方案提供了新的思路<sup>[11]</sup>。

Naa10p 是 N-乙酰基转移酶家族成员之一,其在多种肿瘤组织中高表达<sup>[12]</sup>。Rosenberger 等<sup>[13]</sup>报道 Naa10p 可能具有 DNA 修复的功能,在 DNA 双链损伤修复过程中发挥重要的作用。Naa10p 主要通过 NF- $\kappa$ B 通路的激活作用来抑制凋亡,但其介导的蛋白质 N 端氨基酸乙酰化又是凋亡过程所需要的重要步骤,因此 Naa10p 在肿瘤细胞的凋亡过

程中起双重作用。本研究结果表明 Naa10p 参与了 OSCC 的发生发展过程。

TSGF 是由肿瘤细胞产生的一种多肽类物质,其随着肿瘤细胞的形成与增长,并逐渐释放到外周血液中。临床研究发现,TSGF 对于肿瘤相关的代谢状态具有直观的反应作用;同时本类指标在肿瘤发生之初即在血液中呈现高表达状态,因此其也作为临床研究中与恶性肿瘤密切相关的一类重要指标。Gao 等<sup>[14]</sup>研究表明,血清 TSGF 对一些恶性肿瘤的早期诊断具有广谱、灵敏的特点。本次研究结果提示血清 TSGF 的检测对 OSCC 的诊断具有一定的价值。

RunX2 是 Runx 转录因子家族成员的重要组成部分,由于 Runx2 作为重要的成骨细胞分化转录因子,参与调控成骨细胞分化过程中的钙化过程,因此其对成骨细胞的成熟和稳定起了重要的调节作用。Mette 等<sup>[15]</sup>研究发现,Runx2 在人类乳腺癌组织中的表达与其在乳腺癌微钙化形成关系密切。近年来相关学者亦指出,分析 RunX2 的表达及其与临床病理参数的关系对早期评估肿瘤生物学行为具有一定参考价值<sup>[16]</sup>。本研究结果提示通过检测该指标表达变化,可为临床早期诊断 OSCC 提供有效参考价值,这也为临床研究 OSCC 的发病机制提供了新思路、新方法。

临床用于肿瘤检测的血清肿瘤标志物较多,但在众多的肿瘤标志物中,往往因敏感度和特异度不够理想,从而在肿瘤的筛查和辅助诊断中存在一定局限性,导致阳性率降低。本研究利用 ROC 曲线分析了 Naa10p、TSGF、RUNx2 单项及联合检测 OSCC 的预测价值,结果显示各指标曲线下面积以联合检测最大,这表明联合检测可显著提高 OSCC 患者诊断的阳性率,有利于口腔鳞癌的早期诊断。

综上,Naa10p、TSGF 及 RUNx2 表达在 OSCC 患者显著升高,且与患者临床分期密切相关,联合三者检测可作为预测 OSCC 发生的有效手段,临床上应重视三者水平的检测,进而改善患者预后。

### 参考文献

- [1] 唐欣轶,周辉, TANG, 等. 口腔鳞癌组织中 ALG-2, HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 的表达水平及临床意义[J]. 解放军医药杂志, 2017, 29(3):48-51.
- [2] 章恒,朱成斌,岳雯,等. 西帕依固龈液对头颈部肿瘤放疗期间口咽部黏膜的保护作用研究[J]. 临床误诊误治, 2018, 31(10):39-42.

- [3] 黄佳欣, 邵婷如, 陈跃川, 等. 长链非编码RNA在口腔鳞状细胞癌中的研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(2):120-124.
- [4] Fang CY, Wu CZ, Chen PN, et al. Antimetastatic potentials of salvianolic acid A on oral squamous cell carcinoma by targeting MMP-2 and the c-Raf/MEK/ERK pathway[J]. Environ Toxicol, 2018, 33(5):545-554.
- [5] Luo K, He J, Yu D, et al. MiR-149-5p regulates cisplatin chemosensitivity, cell growth, and metastasis of oral squamous cell carcinoma cells by targeting TGFβ2[J]. Int J Clin Exp, 2019, 12(10):4947-4949.
- [6] Yun W, Xiaojie Z, Zhi W, et al. LncRNA-p23154 promotes the invasion-metastasis potential of oral squamous cell carcinoma by regulating Glut1-mediated glycolysis[J]. Cancer Lett, 2018, 43(48):4749-4753.
- [7] Etemad - Moghadam S, Alaeddini M. Upregulation of ADAM10 in Oral Squamous Cell Carcinoma and its correlation with EGFR, Neovascularization and Clinicopathologic Factors[J]. J Cranio maxillofacial Surg, 2019, 59(79):9794-9796.
- [8] Thomson PJ. Perspectives on Oral Squamous Cell Carcinoma Prevention-Proliferation, Position, Progression and Prediction[J]. J Oral pathol Med, 2018, 67(79):1713-1715.
- [9] 刘怡然, 陈亦斌, 杨晓梅. ALCAM在不同肿瘤中的表达及其作用[J]. 医学分子生物学杂志, 2018, 15(6):440-444.
- [10] Wu LH, Jiang YT, Zheng ZC, et al. mRNA and piRNA profile in chemical-induced oral squamous cell carcinoma mice model[J]. Exp Anim, 2019, 69(2):168-177.
- [11] Tanaka F, Yoshimoto S, Okamura K, et al. Nuclear PKM2 promotes the progression of oral squamous cell carcinoma by inducing EMT and post-translationally repressing TGIF2[J]. Oncotarget, 2018, 9(73):5977-5981.
- [12] Liu H, Gong X, Yang K. Overexpression of the clock gene Per2 suppresses oral squamous cell carcinoma progression by activating autophagy via the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. J Cancer, 2020, 11(12):3655-3666.
- [13] Rosenberger L, Ezquer M, Lillo-Vera F, et al. Stem cell exosomes inhibit angiogenesis and tumor growth of oral squamous cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):4977-4980.
- [14] Gao JY, Tian G, Han X, et al. Twentyfour signature genes predict the prognosis of oral squamous cell carcinoma with high accuracy and repeatability[J]. Mol Med Rep, 2018, 9(49):3464-3469.
- [15] Mette M, Mads S, Julie SB, et al. Oral mucosa tissue gene expression profiling before, during, and after radiation therapy for tonsil squamous cell carcinoma[J]. Plos One, 2018, 13(1):703-709.
- [16] Chen YJ, Liao YJ, Lin F, et al. Shared functional modules for nasopharyngeal and oral squamous cell carcinoma identified by network analysis of transcriptomes[J]. Hereditas, 2019, 41(2):146-157.

(上接第3页)

#### 4 结束语

为应对各类重大疫情的防控需求,在“一带一路”战略背景下,粤港澳桂片区进一步加强输血安全的人文交流,建立相互交流及对外沟通的有效制度。可从地缘优势入手,携手并肩,加强合作,共同保障地区输血安全,促进地方经济发展繁荣,为新发突发传染病防控,保障国家输血安全作贡献。

#### 参考文献

- [1] 黄群慧, 王健. 粤港澳大湾区: 对接“一带一路”的全球科技创新中心[J]. 经济体制改革, 2019, 214(1):53-60.
- [2] 黄非, 陈红彦, 李弘扬, 等. “一带一路”倡议背景下的粤港澳大湾区协同发展——第一届粤港澳“一带一路”倡议论坛: 强化大湾区优势互补(2017)会议综述[J]. 华南理工大学学报(社会科学版), 2018, 20(1): 21-29.
- [3] Chang L, Yan Y, Zhao L, et al. No evidence of SARS-CoV-2 RNA among blood donors: A multicenter study in Hubei, China[J]. Transfusion, 2020, 60(9): 2038-2046.
- [4] Cappy P, Candotti D, Sauvage V, et al. No evidence of SARS-CoV-2 transfusion transmission despite RNA detection in blood donors showing symptoms after donation[J]. Blood, 2020, 136(16): 1888-1891.
- [5] 张立波, 庞蓉蓉, 鲍晶晶, 等. 血站实验室新型冠状病毒相关检测平台的建立与安全防护[J]. 临床输血与检验, 2020, 22(3): 246-249.
- [6] 曾劲峰. 当前形势下提升输血安全的几点思考[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(10):1297-1298.
- [7] Maghsudlu M, Eshghi P, Amini KAS, et al. Blood supply sufficiency and safety management in Iran during the COVID-19 outbreak[J]. Vox Sang, 2020, Online ahead of print.
- [8] 舒影岚, 陈艳萍, 吉臻宇, 等. 健康医疗大数据研究进展[J]. 中国医学装备, 2019, 16(1): 143-147.
- [9] 王雪, 刘景鑫, 张洪侠, 等. 医学健康大数据平台建设实践与探索[J]. 国际护理学杂志, 2020, 39(22): 4031-4040.
- [10] 朱霞蔚, 卢根杰, 陈科达, 金青, 陈巍, 周洁. 精准电子交叉配血技术临床应用价值探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(12):1453-1455.
- [11] 马鸿娟. 电子交叉配血研究现状[J]. 继续医学教育, 2017, 31(7):143-145.
- [12] 范佳正, 邹萍萍. 互联网背景下现代医院档案管理改革策略和模式创新[J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(14): 7-9.

## PCOS 患者子宫内膜厚度与血清 AMH、糖脂代谢的相关性研究

张静<sup>1</sup> 刘文涛<sup>1\*</sup> 连玉兴<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的** 探究多囊卵巢综合征(PCOS)患者子宫内膜厚度与血清抗缪勒管激素(AMH)、糖脂代谢相关性。**方法** 选择2018年3月至2020年8月于本院接受检查的PCOS女患132例,选择同期本院体检门诊进行健康体检女性47例,比较两组患者的子宫内膜厚度、血清AMH、糖脂代谢指标[空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及胰岛 $\beta$ 细胞功能(HOMA- $\beta$ );总胆固醇(TCHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)]水平的变化,分析PCOS患者子宫内膜厚度与血清AMH及糖脂代谢指标之间的关系。**结果** 与对照组相比,观察组患者的子宫内膜厚度明显增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),观察组血清AMH、FPG、FINS、HOMA-IR、HOMA- $\beta$ 、TCHO、TG、LDL-C水平也呈显著性升高( $P<0.05$ ),且HDL-C水平明显降低( $P<0.05$ )。Pearson相关分析显示,PCOS女性子宫内膜厚度与血清AMH、FINS、TCHO、TG、LDL-C水平呈正相关关系,与HDL-C水平呈负相关关系( $P<0.05$ );与FPG、HOMA-IR、HOMA- $\beta$ 水平无相关关系( $P>0.05$ )。**结论** PCOS女性子宫内膜增厚且其厚度与血清AMH、FINS、TCHO、TG、LDL-C水平关系密切,为临床制定治疗方案提供客观数据。

**[关键词]** 多囊卵巢综合征;子宫内膜厚度;血清抗缪勒管激素;糖脂代谢指标

### Study on the correlation between endometrial thickness and serum AMH, glucose and lipid metabolism with polycystic ovarian syndrome

ZHANG Jing<sup>1</sup>, LIU Wentao<sup>1\*</sup>, LIAN Yuxing<sup>2</sup>

[(1. The Sixth People's Hospital of Anyang city (Stomatological Hospital), Department of Laboratory Medicine, Anyang, Henan, China, 455000; 2. The Sixth People's Hospital of Anyang (Stomatological Hospital), Department of Obstetrics and Gynecology, Anyang, Henan, China, 455000)]

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the correlation between endometrial thickness in women with polycystic ovarian syndrome (PCOS) and serum anti-Müllerian hormone (AMH) and glucose and lipid metabolism. **Method** For retrospective analyses, we selected 132 female patients with PCOS who were examined in the laboratory of our hospital from March 2018 to August 2020, and 47 women who came to our hospital's physical examination clinic for health examination were selected during the same period. The endometrium of the two groups were compared. Thickness, serum AMH, glucose and lipid metabolism index [fasting plasma glucose (FPG), fasting insulin (FINS), insulin resistance index (Homeostasis model assessment insulin resistance index, HOMA-IR) and islet  $\beta$  cells Function (Homeostasis model assessment- $\beta$ , HOMA- $\beta$ ); total cholesterol (TCHO), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (High density lipoprotein cholesterol, HDL-C), low density fat The changes in low-Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C)] levels were examined to analyze the relationship between the endometrial thickness of PCOS patients and serum

基金项目:河南省卫生厅基金项目(20170625x)

作者单位:1. 安阳市第六人民医院(口腔医院)检验科,河南,安阳455000

2. 安阳市第六人民医院(口腔医院)妇产科,河南,安阳455000

\*通信作者:刘文涛, E-mail:18568882390@126.com

AMH and glucose and lipid metabolism indicators. **Results** The thickness of the endometrium in the observation group increased significantly ( $P<0.05$ ), and the serum AMH, FPG, FINS, HOMA-IR, HOMA- $\beta$ , TCHO, TG, and LDL-C levels also increased significantly ( $P<0.05$ ), and the level of HDL-C was significantly reduced ( $P<0.05$ ), compared to the control group. Pearson correlation analysis showed that the endometrial thickness of PCOS women was positively correlated with serum AMH, FINS, TCHO, TG, and LDL-C levels, and negatively correlated with HDL-C ( $P<0.05$ ). There was no correlation with FPG, HOMA-IR, and HOMA- $\beta$  levels ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The endometrium in women with PCOS is thickened, and its thickness is closely related to the serum AMH, FINS, TCHO, TG, and LDL-C levels, providing objective data for clinical treatment.

**[KEY WORDS]** Polycystic ovarian syndrome; Endometrial thickness; Serum anti-Mullerian hormone; Glucose and lipid metabolism index

多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)是年轻女性患不孕症的主要因素之一,临床表现为卵巢多囊性改变,排卵障碍,严重者长期无排卵,对患者身体健康及家庭生活造成严重损害<sup>[1]</sup>。本病具有较高的发病率,据统计,5%~10%的适龄生育女性患有该病,且在不孕女性群体中占比可达30%~40%,75% PCOS 女性为无排卵型<sup>[2]</sup>。血清抗缪勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)是一种二聚蛋白,属于TGF- $\beta$ 家族的糖蛋白,在初级卵泡阶段由GCs分泌,且在可选择的卵泡阶段分泌最多<sup>[3]</sup>。有研究已证实,PCOS患者的血清AMH水平比健康女性高2~3倍,且生殖功能障碍的严重程度与血清AMH水平呈正相关关系<sup>[4]</sup>。PCOS患者的胰岛素抵抗、血脂异常、肥胖、内皮功能障碍和全身炎症发生率较高,而PCOS患者的胰岛素抵抗导致高胰岛素血症,高胰岛素血症增加垂体分泌黄体生成素和卵泡膜细胞产生雄激素<sup>[5]</sup>。本研究分析PCOS患者子宫内膜厚度与血清AMH及糖脂代谢指标之间的关系,为临床治疗PCOS提供客观的实验室数据,现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2018年3月至2020年8月于本院接受检查的PCOS女患132例,选择同期来本院体检门诊进行健康体检女性47例。其中,对照组患者最大年龄41岁,最小年龄23岁;最大身体质量指数(Body Mass Index, BMI)为26.8 kg/m<sup>2</sup>,最小BMI为18.5 kg/m<sup>2</sup>;最大腰臀比(Waist-to-Hip Ratio, WHR)为0.78,最小WHR为0.69;观察组患者最大年龄41岁,最小年龄24岁;最大BMI为27.3 kg/m<sup>2</sup>,最小BMI为18.5 kg/m<sup>2</sup>;最大WHR为0.78,最小

WHR为0.70;两组患者的一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。见表1。

表1 两组患者的一般资料比较情况( $\bar{x}\pm s$ )

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

组别	n	年龄(岁)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	WHR
对照组	47	34.73±2.58	24.92±1.04	0.72±0.18
观察组	132	35.01±1.98	24.76±1.17	0.73±0.24
t值		0.676	0.828	0.298
P值		0.501	0.409	0.766

纳入标准:观察组:①符合中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组联合制定的《多囊卵巢综合征中国诊疗指南》<sup>[6]</sup>中关于PCOS的诊断标准;②近期末接受激素治疗者;③临床病例资料及辅助检查完整者。对照组:①月经周期正常,既往无妇科病史者;②临床病例资料及辅助检查完整者。所有患者及家属均知情同意,本实验通过医院伦理委员会批准。

排除标准:①合并血液系统疾病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤者;②伴有严重的心脏、肝脏、肾脏功能损害者;③诊断为其他子宫病变者;④伴有激素异常分泌、甲状腺功能异常者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 对照组和PCOS组子宫内膜厚度测定

采用全数字彩色多普勒超声诊断仪对两组患者行阴式检查,测量宫底2.0 cm处冠状面前后壁内膜同子宫肌层交界处强回声之间的距离,即为子宫内膜厚度。

#### 1.2.2 对照组和PCOS组血清AMH检测

于受试者月经期第3~5 d清晨空腹抽取两组患者静脉血3~5 mL,1 000~2 000转/min,离心15 min,采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清AMH,具体操作步骤严格按照

血清抗缪勒管激素测定试剂盒(ELISA法)使用说明进行(合肥莱尔生物科技有限公司)。

### 1.3 观察指标

检测空腹血糖(FPG)、总胆固醇(TCHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C);空腹胰岛素(FINS),并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及胰岛β细胞功能(HOMA-β)。其中,HOMA-IR=FPG×FINS/22.5,正常值为1;HOMA-β=20×FINS/(FPG-3.5),正常值为100%。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析。计量资料若满足正态分布,则采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组之间的差异采用两独立 $t$ 检验,各指标之间的相关性采用Pearson相关性分析。计量资料若不满足正态分布,则采用中位数和四分位间距表示,两组之间的差异采用秩和检验,各指标之间的相关性采用Spearman相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者的子宫内膜厚度及血清AMH水平比较

与对照组相比较,观察组患者的子宫内膜厚度显著性增加,且血清AMH水平也呈显著性升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 两组患者的子宫内膜厚度及血清AMH水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	子宫内膜厚度(mm)	血清AMH(ng/mL)
对照组	47	5.44±1.15	4.31±1.28
观察组	132	8.56±1.98	7.29±1.63
$t$ 值		12.973	11.343
$P$ 值		0.000	0.000

### 2.2 两组患者的血糖相关指标比较

与对照组相比较,观察组患者的FPG、FINS、HOMA-IR、HOMA-β水平均明显升高,比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.3 两组患者的血脂相关指标比较

与对照组相比较,观察组患者的TCHO、TG、LDL-C水平明显升高,HDL-C水平明显降低,比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表4。

### 2.4 PCOS女性子宫内膜厚度和血清AMH、糖脂代谢相关性情况

PCOS女性子宫内膜厚度与血清AMH、FINS、TCHO、TG、LDL-C水平呈正相关关系,差

表3 两组患者的血糖指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of blood glucose indicators between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	$n$	FPG (mmol/L)	FINS (pmol/L)	HOMA-IR	HOMA-β (%)
对照组	47	4.87±0.86	63.85±5.72	1.27±0.22	46.08±5.52
观察组	132	5.52±0.63	75.68±7.38	1.53±0.18	55.79±8.04
$t$ 值		4.748	11.235	8.006	9.102
$P$ 值		0.000	0.000	0.000	0.000

表4 两组患者的血脂指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of blood lipid indexes between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	$n$	TCHO (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)
对照组	47	4.31±1.02	1.62±0.37	54.58±11.77	122.56±12.15
观察组	132	5.45±0.78	1.79±0.58	49.38±8.17	134.44±11.98
$t$ 值		6.971	2.300	2.798	5.817
$P$ 值		0.000	0.023	0.007	0.000

异有统计学意义( $P < 0.05$ );与HDL-C水平呈负相关,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与FPG、HOMA-IR、HOMA-β水平无关,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表5。

表5 PCOS女性子宫内膜厚度和血清AMH、糖脂代谢相关性

Table 5 Correlation between endometrial thickness and serum AMH, glucose and lipid metabolism in women with PCOS

指标	$r$ 值	$P$ 值
血清AMH	0.266	0.002
FPG	0.127	0.147
FINS	0.207	0.017
HOMA-IR	0.152	0.082
HOMA-β	0.163	0.062
TCHO	0.256	0.003
TG	0.318	0.002
HDL-C	-0.324	0.006
LDL-C	0.304	0.000

## 3 讨论

PCOS是临床上较为常见的与育龄期妇女相关的生殖与内分泌代谢疾病,其发病机制复杂,发病症状严重,临床结局极差,因此,PCOS患者的代谢特征为目前临床研究热点,目的是降低PCOS患者群,规避远期并发症的发生<sup>[7]</sup>。PCOS患者由于内分泌失调,雄激素过高,导致卵泡发育不成熟甚至不排卵、子宫内膜持续性受到雌激素的刺激而无孕激素的拮抗,导致PCOS患者的月经周期紊乱,增加了子宫内膜异常增生的发生率,同时也增加了PCOS患者发生子宫内膜

癌的风险。这与王琳等人<sup>[8]</sup>等人的研究结果相符合。

血清 AMH 由卵泡颗粒细胞产生,对细胞发育和分化具有调控作用,且不受女性月经周期的影响,为较为理想的评估女性卵巢功能的血清生物标志物<sup>[9]</sup>。血清 AMH 水平与小卵泡状态相关,有研究表明,小卵泡数量增多,抑制了卵泡生长,导致血清 AMH 水平升高,同时血清 AMH 水平升高又可导致卵泡生长发育受阻<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,观察组患者的血清 AMH 水平显著性升高,考虑是由于 PCOS 患者的小卵泡数量增加,导致血清 AMH 分泌增多,直接影响女性卵巢功能状态,参与抑制原始卵巢募集、延迟卵泡发育。这与刘文娟<sup>[11]</sup>等人的研究结果相符合。

PCOS 患者在临床表现方面,除了有生殖功能障碍外,同时伴有内分泌代谢异常,如血糖、血脂的代谢异常,PCOS 的特征性表现之一便是胰岛素抵抗,而血脂异常和胰岛素抵抗密切相关。本研究结果表明 PCOS 患者发生胰岛素抵抗,机体内代偿性胰岛素水平增高,发生高胰岛素血症,这主要是通过破坏下丘脑-垂体-卵巢轴而发病的<sup>[12]</sup>。而 PCOS 患者多伴有雄激素水平升高,过高的雄激素促进体内脂肪分解,血脂水平随之升高,升高的血脂水平又进一步刺激胰岛素的分泌,增加胰岛素抵抗<sup>[13]</sup>。

Pearson 相关分析这表明 PCOS 与血清 AMH 水平关系密切,PCOS 患者的小卵泡数量增多,由其分泌的 AMH 水平也随之升高,抑制雌激素的生成,使得雄激素水平不断积累,卵泡发育受到阻碍,子宫内膜异常增生<sup>[14]</sup>;胰岛素抵抗是 PCOS 患者发病的关键病理环节,逐渐加重的胰岛素抵抗使得胰岛素水平增多,与子宫内膜上的受体相结合的几率增大,导致子宫内膜不断增厚<sup>[15]</sup>;血脂水平的升高促使体内脂质合成增多,最终导致子宫内膜增生紊乱,子宫内膜厚度不断增加<sup>[16]</sup>,提示了胰岛素抵抗与 PCOS 的排卵功能障碍关系密切。

综上所述,PCOS 女性子宫内膜增厚,且其厚度与血清 AMH、FINS、TCHO、TG、LDL-C 水平关系密切,针对此类患者,可采取降低血清 AMH 水平、调糖降脂等手段治疗,为临床制定治疗方案提供客观数据。

## 参考文献

- [1] 陈粉合,杨海霞,王琰. 多囊卵巢综合征患者血清 Galectin3、Ang II 变化与胰岛素抵抗关系[J]. 华南预防医学, 2020,3(46):315-317.
- [2] 马莉. 定坤丹联合来曲唑对 PCOS 患者促排卵周期中的临床疗效分析[J]. 黑龙江医药, 2018,31(5):1035-1037.
- [3] Dewailly D, Robin G, Peigne M, et al. Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. [J]. Hum Rep Update, 2016,22(6):709-724.
- [4] 唐婕,吴韶清,许遵鹏,苏洁玲. 血清抗苗勒氏管激素水平在多囊卵巢综合征患者中的诊断价值[J]. 热带医学杂志, 2019,19(11):1386-1388.
- [5] Tarkesh T, Namavar Jahromi B, Hejazi N, et al. Beneficial health effects of Menaquinone-7 on body composition, glycaemic indices, lipid profile, and endocrine markers in polycystic ovary syndrome patients[J]. Food Sci Nutrit, 2020,8(10):5612-5621.
- [6] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. 中华妇产科杂志, 2018,53(1):2-6.
- [7] 李威,陈静,匡洪影,艾雯霞. PCOS 卵巢局部胰岛素信号通路异常对卵巢细胞生殖内分泌功能的影响[J]. 医学研究杂志, 2020,49(1):13-17.
- [8] 王琳,耿女,曾彬,等. 血清内脂素水平与多囊卵巢综合征患者子宫内膜病理状态的关系分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020,12(7):64-67.
- [9] 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.
- [10] XINYU Q, YANLI P, JIE Q. The role of anti-Müllerian hormone in the pathogenesis and pathophysiological characteristics of polycystic ovary syndrome [J]. Eur J Obstet Gynecol Rep Biol, 2016,199:82-87.
- [11] 刘文娟,孙小红,刘晓娟,等. 炔雌醇环丙孕酮片联合二甲双胍对多囊卵巢综合征患者血清 DHEA、AMH 及 SHBG 水平的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2020,30(12):109-113.
- [12] 卜琦. 多囊卵巢综合征发病机制和胰岛素抵抗相关问题的研究进展[J]. 海南医学, 2020,31(10):1324-1326.
- [13] 邱德稳. 不同血脂水平多囊卵巢综合征患者血糖和血清胰岛素的影响[J]. 检验医学与临床, 2020,17(16):2350-2352.
- [14] 郝栋栋,钟兴明,韦相才. AMHR、INSR 及其基因甲基化与 PCOS 相关病变关系研究进展[J]. 临床医学, 2014,34(1):114-116.
- [15] 李慕白,陈靖馨,王婷婷,等. 多囊卵巢综合征子宫内膜胰岛素抵抗的研究进展[J]. 中国医药导报, 2019,16(29):49-52.
- [16] 李欢,王倩,陈圆辉,等. 多囊卵巢综合征糖脂代谢异常对卵母细胞及胚胎发育影响的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019,39(7):574-578.

## hs-CRP、WBC及PCT检测诊断儿童呼吸道感染

谢永祥<sup>1\*</sup> 徐佳佳<sup>2</sup> 杨旭<sup>3</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨超敏C反应蛋白(hs-CRP)、白细胞(WBC)及降钙素原(PCT)检测对儿童呼吸道感染的诊断价值。**方法** 选取2015年1月至2019年1月本院儿科收治的呼吸道感染患儿102例,根据呼吸道感染类型,分为支原体感染组( $n=24$ )、病毒感染组( $n=30$ )、细菌感染组( $n=48$ )。另选同期进行健康体检健康儿童作为健康对照组( $n=45$ )。比较各组研究对象的hs-CRP、WBC、PCT水平、阳性率及诊断呼吸道感染的准确性。**结果** 3组患儿hs-CRP、WBC、PCT水平均显著高于健康对照组;hs-CRP水平细菌感染组>支原体感染组>病毒感染组;WBC、PCT水平细菌感染组>病毒感染组>支原体感染组;差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与治疗前比较,治疗后3组患儿hs-CRP、WBC、PCT水平均显著下降,且恢复至正常水平,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。3组患儿hs-CRP阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。细菌感染组患儿WBC、PCT阳性率显著高于支原体感染组、病毒感染组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。hs-CRP、WBC、PCT联合指标检测诊断儿童呼吸道感染的特异性(96.87%)、灵敏度(98.91%)、AUC(0.955)均显著高于单一指标和两两联合指标,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** hs-CRP、WBC、PCT检测对儿童呼吸道感染均有一定的诊断价值,但3者联合指标检测诊断准确性更高,可鉴别疾病类型,临床应用价值更高。

**[关键词]** 超敏C反应蛋白;白细胞;降钙素原

### The levels of serum hs-CRP, PCT and WBC count in the diagnosis of respiratory tract infection in children

XIE Yongxiang<sup>1\*</sup>, XU Jiajia<sup>1</sup>, YANG Xu<sup>2</sup>

(1. Chuzhou City Vocational College, Anhui Province; 2. Department of Pediatrics, Chuzhou First People's Hospital, Chuzhou, Anhui, China, 239000; 3. Department of Clinical Laboratory, Chuzhou First People's Hospital, Chuzhou, Anhui, China, 239000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the diagnostic value of hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP), white blood cell (WBC) and procalcitonin (PCT) in children with respiratory tract infection. **Methods** A total of 102 children with respiratory tract infection admitted to the pediatric department of this hospital from January 2015 to January 2019 were selected. According to the types of respiratory tract infection, they were divided into the mycoplasma infection group ( $n=24$ ), viral infection group ( $n=30$ ), and bacterial infection group ( $n=48$ ). Another 45 healthy children who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the healthy control group ( $n=45$ ). The hs-CRP, WBC, PCT level, positive rate, and the diagnostic accuracy of respiratory tract infection in each group were compared. **Results** The levels of hs-CRP, PCT and WBC count in the three groups was significantly higher than those in the healthy control group. The levels of hs-CRP, PCT and WBC count in the bacterial infection group was significantly higher than those in the mycoplasma infection group and the virus infection group ( $P<0.05$ ). Compared with before treatment, the hs-CRP, WBC, PCT levels of the three groups decreased significantly and returned to normal level, differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the positive rate of hs-crp among

基金项目:安徽省自然科学基金项目(1808085MH293)

作者单位:1. 安徽省滁州城市职业学院,安徽,滁州, 239000

2. 安徽省滁州市第一人民医院儿科,安徽,滁州 239000

3. 安徽省滁州市第一人民医院检验科,安徽,滁州 239000

\*通信作者:谢永祥, E-mail:xyx12356286576xyx@163.com

the three groups ( $P>0.05$ ). The positive rates of WBC and PCT in the bacterial infection group were significantly higher than those in the mycoplasma infection group and the virus infection group ( $P<0.05$ ). The specificity (96.87%), sensitivity (98.91%), and AUC (0.955) of the combined detection of hs-CRP, WBC and PCT in the diagnosis of respiratory infections in children were significantly higher than the single and the pairwise combined indicators, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The hs-CRP, WBC and PCT tests have certain diagnostic value for children's respiratory tract infection, but the combined indicator of the three has higher diagnostic accuracy, can distinguish the type of disease, and has higher clinical application value.

**[KEY WORDS]** Hypersensitive C-reactive protein; White blood cell; Procalcitonin

儿童呼吸道感染大多是由致病微生物(支原体、病毒、细菌等)引起,患病率高,严重时极易引起患儿死亡<sup>[1-2]</sup>。因此高效准确诊断呼吸道感染的方式对临床及时干预具有重要价值。目前临床诊断感染应用最为广泛的是血常规指标,其中白细胞(white blood cell, WBC)水平变化可提示全身细菌感染<sup>[3-4]</sup>;超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)在感染早期可辅助鉴别细菌感染和病毒感染<sup>[3]</sup>;降钙素原(procalcitonin, PCT)是近年广泛用于感染检测的标志物<sup>[5]</sup>。目前国内外对呼吸道感染的诊断较为广泛<sup>[6]</sup>,但针对hs-CRP、WBC、PCT单一和联合指标的研究较为局限。因此,本研究旨在探讨hs-CRP、WBC及PCT不同联合方法的检测在儿童呼吸道感染中的诊断价值,为临床及时治疗提供理论依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年1月至2019年1月安徽省滁州市第一人民医院儿科收治的呼吸道感染患儿102例,男54例,女48例。平均年龄(3.41±0.62)岁;病程1~7 d,平均病程(3.43±0.31)天。根据呼吸道感染类型,分为支原体感染组( $n=24$ )、病毒感染组( $n=30$ )、细菌感染组( $n=48$ )。另选同期进行健康体检的45例健康儿童作为健康对照组( $n=45$ )。健康组儿童男23例,女22例;平均年龄(3.22±0.51)岁。纳入标准:①患儿均诊断为呼吸道感染<sup>[7]</sup>;②入院时体温超过38.5℃,均有发热、流涕、咳嗽等症状;③入院前无免疫抑制剂治疗史;④不伴有其他呼吸道过敏性疾病。排除标准:①患儿入院前存在抗生素治疗史;②近期有糖皮质激素治疗史;③近期应用血浆、白蛋白等相关血液制品;④伴有重要脏器病变或功能丧失。本实验经伦理委员会同意,所有患儿及健康儿童家属对本研究内容完全知情,且均签署知情同意书。

### 1.2 hs-CRP、WBC、PCT检测方法

4组研究对象在早晨空腹时采集静脉血2 mL,温浴半小时,将其置于离心机中,3 500 r/min离心5分钟后吸取上层血清,利用全自动生化分析仪(奥林巴斯,型号:AU600),按照免疫比浊法进行hs-CRP检测,正常值范围为0~5 mg/L;将2 mL静脉血在乙二胺四乙酸二钾管中静置10分钟,经5次混匀后,采用全自动五分类血球仪(北京希尔恒信科技有限公司,型号:Penra 80)检测WBC,正常值范围为(4~10) $10^9/L \times 10^9/L$ ;利用全自动免疫分析仪(西门子,ADVIA Centaur CP型号),按照电化学发光法进行PCT检测,正常值范围(0~0.5) ng/mL。超过正常值范围即为阳性结果。

### 1.3 观察指标

①4组研究对象hs-CRP、WBC、PCT水平比较;②3组患儿治疗前后hs-CRP、WBC、PCT水平及阳性率比较;③hs-CRP、WBC、PCT单一或联合检测诊断儿童呼吸道感染的价值比较。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析;符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用方差分析,多个样本间的两两比较采用LSD-t检验;计数资料用( $n$ )来表示,数据比较采用 $\chi^2$ 检验;运用受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)分析hs-CRP、WBC、PCT检测诊断儿童呼吸道感染的准确性评估和诊断价值。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

4组研究对象的一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。见表1。

### 2.2 4组研究对象hs-CRP、WBC、PCT水平比较

4组患儿hs-CRP水平比较结果:细菌感染组>支原体感染组>病毒感染组;WBC、PCT水平比较结果:细菌感染组>病毒感染组>支原体感染组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表1 4组患者一般资料比较 [n(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 1 Comparison of general data of 4 groups of patients [n(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

组别	n	性别		平均年龄(岁)	平均病程(年)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )
		男	女			
支原体感染组	24	13(54.17)	11(45.83)	3.41±0.61	3.43±0.35	22.84±2.36
病毒感染组	30	16(53.33)	14(46.67)	3.42±0.63	3.44±0.32	22.34±2.64
细菌感染组	48	25(52.08)	23(47.92)	3.40±0.62	3.42±0.30	22.56±2.41
健康对照组	45	24(53.33)	21(46.67)	3.41±0.63	3.22±0.51	22.65±2.52
F/χ <sup>2</sup> 值		1.205		1.142	1.252	1.024
P值		0.741		0.789	0.712	0.825

表2 4组研究对象 hs-CRP、WBC、PCT 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of hs-CRP、WBC、PCT Levels among 4 Groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	hs-CRP (mg/L)	WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	PCT (ng/mL)
支原体感染组	24	4.61±2.32	9.52±3.26	1.41±0.11
病毒感染组	30	4.59±2.33	9.54±3.25	1.42±0.12
细菌感染组	48	32.35±14.64 <sup>ab</sup>	18.83±7.38 <sup>ab</sup>	3.15±0.87 <sup>ab</sup>
健康对照组	45	3.24±1.95 <sup>abc</sup>	7.51±3.12 <sup>abc</sup>	0.30±0.12 <sup>abc</sup>
F值		11.142	14.252	15.024
P值		0.000	0.000	0.000

注:与支原体感染组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与病毒感染组相比较,<sup>b</sup>P<0.05;与细菌感染组比较,<sup>c</sup>P<0.05。

### 2.3 3组患儿治疗前后 hs-CRP、WBC、PCT 水平比较

与治疗前比较,治疗后3组患儿 hs-CRP、WBC、PCT 水平均下降至正常水平,差异有统计学意义(P<0.05)。组间比较,3组患儿治疗后 hs-CRP、WBC、PCT 水平比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表3。

### 2.4 3组患儿 hs-CRP、WBC、PCT 阳性率比较

3组患儿 hs-CRP 阳性率比较,差异无统计学意义(P>0.05)。细菌感染组患儿 WBC、PCT 阳性率显著高于支原体感染组、病毒感染组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

表3 3组患儿治疗前、治疗后 hs-CRP、WBC、PCT 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of hs-CRP、WBC、PCT levels before and after treatment of 3 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	hs-CRP(mg/L)		WBC(×10 <sup>9</sup> /L)		PCT(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
支原体感染组	24	4.61±2.32	3.16±0.64 <sup>c</sup>	9.52±3.26	8.51±2.36 <sup>c</sup>	1.41±0.11	0.34±0.14 <sup>c</sup>
病毒感染组	30	4.59±2.33	3.17±0.64 <sup>c</sup>	9.54±3.25	8.49±2.37 <sup>c</sup>	1.42±0.12	0.33±0.12 <sup>c</sup>
细菌感染组	48	32.35±14.64 <sup>ab</sup>	3.15±0.65 <sup>c</sup>	18.83±7.38 <sup>ab</sup>	8.53±2.38 <sup>c</sup>	3.15±0.87 <sup>ab</sup>	0.35±0.13 <sup>c</sup>
F值		11.142	0.892	14.252	0.741	15.024	0.712
P值		0.000	0.412	0.000	0.453	0.000	0.476

注:与支原体感染组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与病毒感染组相比较,<sup>b</sup>P<0.05;与治疗前比较,<sup>c</sup>P<0.05。

表4 3组患儿 hs-CRP、WBC、PCT 阳性率比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of hs-CRP、WBC、PCT Positive Rates in 3 Groups [n(%)]

组别	hs-CRP	WBC	PCT	hs-CRP 联合 WBC	hs-CRP 联合 PCT	WBC 联合 PCT	三项联合
支原体感染组	24(91.67)	6(25.00)	5(20.83)	12(50.00)	11(45.83)	15(62.50)	20(83.33)
病毒感染组	30(90.00)	7(23.33)	8(26.67)	16(53.33)	15(50.00)	18(60.00)	25(83.33)
细菌感染组	45(93.75)	34(70.83) <sup>ab</sup>	40(83.33) <sup>ab</sup>	46(95.83) <sup>ab</sup>	45(93.75) <sup>ab</sup>	43(89.58) <sup>ab</sup>	48(100.00) <sup>ab</sup>
χ <sup>2</sup> 值	2.254	17.328	18.241	19.671	22.301	7.613	2.084
P值	0.145	0.000	18.241	0.000	0.000	0.022	0.352

注:与支原体感染组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与病毒感染组相比较,<sup>b</sup>P<0.05。

## 2.5 hs-CRP、WBC、PCT 检测诊断儿童呼吸道感染的准确性评估

hs-CRP、WBC、PCT 两两联合指标检测诊断儿童呼吸道感染的特异性、灵敏度、AUC 均显著高于单一指标,低于三者联合检测的特异性(96.87%)、灵敏度(98.91%)、AUC(0.955)指标,差异有统计学意义(P<0.05)。见表5。

## 3 讨论

呼吸道感染是临床多发于儿童阶段的感染性疾病,且有风湿热、心肌炎等合并症风险<sup>[8]</sup>。目前临床诊断儿童呼吸道感染常采用血常规进行辅助诊断<sup>[9]</sup>。临床研究表明,细菌感染的发生与 hs-CRP、PCT 等炎性因子有关。hs-CRP 由肝细胞合成,病原微生物、机体损伤等炎性刺激均会引起其水平升高<sup>[10]</sup>。WBC 是人体极为重要的一类免疫细胞,具有抵抗病原体,参与免疫反应,吞噬抗原复合物等作用<sup>[11]</sup>,当病原体侵入人体后,WBC 可穿过毛细血管壁集中至病原体入侵的部位,通过吞噬或产生抗体等方式杀死、降解或消灭病原体。PCT 是机体在

表5 hs-CRP、WBC、PCT检测诊断儿童呼吸道感染的准确性评估

Table 5 hs-CRP、WBC、PCT Assessment of the Accuracy of Detection and Diagnosis of Respiratory Infection in Children

组别	最佳截定点	特异性(%)	灵敏度(%)	AUC	95%CI	P值
hs-CRP	6.75	86.24 <sup>a</sup>	98.32	0.873	0.745~0.957 <sup>a</sup>	0.015
WBC	14.54	73.57 <sup>a</sup>	72.82 <sup>a</sup>	0.719	0.674~0.812 <sup>a</sup>	0.016
PCT	1.99	95.24	90.75 <sup>a</sup>	0.893	0.854~0.949 <sup>a</sup>	0.014
hs-CRP联合WBC	6.92	88.35 <sup>a</sup>	97.36	0.926	0.907~0.943 <sup>a</sup>	0.010
hs-CRP联合PCT	7.24	95.28	98.20	0.905	0.863~0.945 <sup>a</sup>	0.013
WBC联合PCT	6.67	94.32	95.36 <sup>a</sup>	0.943	0.921~0.961	0.012
三者联合	6.32	96.87	98.91	0.955	0.885~0.986	0.011

注:三者联合指标是指hs-CRP、WBC、PCT联合;与联合指标比较,<sup>a</sup>P<0.05。

感染刺激下产生的一类糖蛋白,是甲状旁腺C细胞合成的降钙素肽前体,能够有效地反映炎症活跃的程度。机体出现全身细菌感染时,在炎症因子促进下会出现水平升高的情况<sup>[12]</sup>,病毒感染所致的急性上呼吸道感染患者,其机体内释放的 $\gamma$ -干扰素会阻断PCT的合成。

相关研究发现,PCT、hs-CRP、WBC三者联合检测能够提高小儿呼吸道感染的诊断准确率<sup>[13]</sup>。本研究结果显示hs-CRP、WBC、PCT两两联合指标检测诊断儿童呼吸道感染的阳性率、特异性、灵敏度、AUC均显著高于单一指标,低于三者联合检测,表明三者联合检测对疾病鉴别准确性更高。原因可能在于:①细菌感染后,机体加速分泌和释放hs-CRP、WBC,使得血清hs-CRP和外周血WBC水平升高;②细菌感染产生内毒素,刺激体内PCT大量合成释放,使得血清PCT水平升高;③WBC易受到生理性高峰等肺感染性因素的影响,因此WBC在诊断早期呼吸道感染时灵敏度、特异度较低。在儿童阶段,应激反应、组织损伤以及非感染性炎症反应也会影响hs-CRP水平,因此hs-CRP可作为早期呼吸道感染的敏感性非特异性指标。而PCT水平与感染范围、类型及严重程度相关,其水平变化伴随全身炎症反应而变化,因此其诊断效果优于WBC和hs-CRP。但三者联合诊断准确性更高,优于独立指标和两两联合检测。

综上所述,hs-CRP、WBC、PCT检测对儿童呼吸道感染均有一定的诊断,三者联合指标检测诊断准确性更高,可鉴别呼吸道感染类型,对临床治疗和用药具有指导作用。

## 参考文献

- [1] 邹丽容,武婕,宋颖超,等. 2009-2011年广东省急性呼吸道感染者病毒病原学分析[J]. 华南预防医学, 2016, 42(2): 108-112.

- [2] 孙志豪,张荣华,钟超珍. 东莞市2017-2018年儿童下呼吸道感染病例监测结果[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(4): 329-337.
- [3] 杜向阳,张文英,闫琳. CD64结合血常规在重症患者感染性发热与非感染性发热诊断及鉴别诊断中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10): 1384-1387.
- [4] Alejandre C, Guitart C, Balaguer M, et al. Use of procalcitonin and C-reactive protein in the diagnosis of bacterial infection in infants with severe bronchiolitis. [J]. Eur J Pediatr, 2020, 15(12): 831-834.
- [5] 吴春霞,敖道呼,牡兰,等. 巴特日-7治疗儿童反复呼吸道感染的效果[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(16): 2548-2552.
- [6] Konsen H, Lebbink M, Mul J, et al. Risk factors for atopic diseases and recurrent respiratory tract infections in children [J]. Pediatr Pulmonol, 2020, 55(11): 785-787.
- [7] 李立,廖星,赵静,等. 中国小儿急性上呼吸道感染相关临床指南的解读[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(8): 1510-1513.
- [8] Muloiwana R, Dube FS, Nicol MP, et al. Co-detection of Bordetella pertussis and other respiratory organisms in children hospitalised with lower respiratory tract infection [J]. Sci Rep-Uk1, 2020, 10(1): 16412.
- [9] 李大利. 分析血常规检验在小儿细菌性感染中的诊断价值[J]. 中国医药指南, 2020, 18(5): 20.
- [10] 李观华,方筱,张启贵,等. 外周血T淋巴细胞亚群联合PCT、WBC、CRP检测在细菌感染中的诊断价值[J]. 当代医学, 2020, 26(25): 105-107.
- [11] Amir N, Ebrahim S, Mohammad K, et al. Comparison of serum procalcitonin level with erythrocytes sedimentation rate, C-reactive protein, white blood cell count, and blood culture in the diagnosis of bacterial infections in patients hospitalized in Motahhari hospital of Urmia (2016) [J]. Trop J Pharm Res, 2018, 9(4): 2147-2149.
- [12] Janjam H, Alladi MD, Kalyana C, et al. Serum procalcitonin as a biomarker of bloodstream infection & focal bacterial infection in febrile patients [J]. Indian J Med Res, 2020, 151(4): 839-841.
- [13] 林银花. PCT、hs-CRP、WBC在小儿呼吸道感染诊断中的价值[J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(18): 128-129.

· 论 著 ·

## 基于TCGA数据库分析 *PFKFB4* 在肝细胞癌的临床意义及分子机制

段怡平<sup>1</sup> 陈梁玥<sup>1</sup> 柳家翠<sup>1</sup> 黄奔<sup>1</sup> 程庆元<sup>1</sup> 马甜甜<sup>1</sup> 朱翠雯<sup>1</sup> 秦菲<sup>2\*</sup>

**[摘要]** 目的 研究6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶4(*PFKFB4*)在肝细胞肝癌(LIHC)中表达和甲基化与预后的关系,分析*PFKFB4*在LIHC恶性进展中的作用机制。方法 从TCGA数据库下载LIHC的RNA-seq数据和临床信息,分析比较*PFKFB4*在LIHC样本和正常样本中的表达差异,利用卡方检验分析*PFKFB4*与患者临床特征的关系。通过Kaplan-Meier法和Cox风险回归分析*PFKFB4*在LIHC中的预后价值。利用基因富集分析(GSEA)探索*PFKFB4*参与的分子通路,并通过MethSurv和TCGA Wanderer等在线数据库分析*PFKFB4*与LIHC发展有关的甲基化位点。结果 *PFKFB4*在LIHC样本中的表达水平显著上调,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其表达与患者的Stage分期呈显著负相关( $P<0.05$ ),*PFKFB4*高表达组的患者总体生存率(OS)比低表达组更差( $P<0.05$ ),可作为LIHC的独立预后因子( $HR=1.908, 95\%CI: 1.332\sim 2.733, P<0.05$ )。GSEA分析结果提示,*PFKFB4*可能参与糖酵解、细胞自噬和P53等信号通路,并通过*PFKFB4*的去甲基化调控*PFKFB4*的表达,影响预后。结论 *PFKFB4*的低甲基化水平使*PFKFB4*在LIHC中显著上调,可通过多条分子通路调控LIHC的发生发展,是LIHC的独立预后因子。

**[关键词]** 肝细胞癌; *PFKFB4*; TCGA; GSEA; 甲基化

### Analysis of the clinical significance and molecular mechanism of *PFKFB4* in hepatocellular carcinoma based on the TCGA database

DUAN Yiping<sup>1</sup>, CHEN Liangyue<sup>1</sup>, LIU Jiacui<sup>1</sup>, HUANG Ben<sup>1</sup>, CHENG Qingyuan<sup>1</sup>, MA Tiantian<sup>1</sup>, ZHU Cuiwen<sup>1</sup>, QIN Fei<sup>2\*</sup>

(1. Dept. of Radiology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. Gene Diagnosis Center, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

**[ABSTRACT]** **Objective** To study the relationship between the expression and methylation of fructose-6-phosphate-2-kinase / fructose-2-diphosphatase 4 (*PFKFB4*) in liver hepatocellular carcinoma (LIHC) and prognosis, and analyze the mechanism of *PFKFB4* in the malignant progression of LIHC. **Methods** Download RNA-seq data and the clinical information of LIHC from the TCGA database, and the expression levels of *PFKFB4* in LIHC tissue and normal tissue were analyzed and compared. Chi-square test was used to analyze the relationship between *PFKFB4* and the clinical characteristics of patients. The Kaplan-Meier method and Cox risk regression was used to analyze the prognostic value of *PFKFB4* in LIHC. Gene enrichment analysis (GSEA) was used to explore the molecular pathways that *PFKFB4* involved, and then online analysis of

基金项目:国家自然科学基金(81472033、30901308),湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019M203),武汉市应用基础研究(2017060201010171),湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H0028),湖北省卫生和计划生育委员会青年人才项目(WJ2015Q021),武汉大学中南医院科技创新培育基金(xpy2018031、xpy20160054),武汉大学大学生创新项目(MS2017045、S2018301747)

作者单位:1. 武汉大学中南医院影像科,湖北,武汉 430071

2. 武汉大学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

\*通信作者:秦菲, E-mail: dewrosy520@163.com

MethSurv and TCGA Wanderer database was used to find the methylation sites related to the development of LIHC. **Results** The expression of *PFKFB4* in LIHC samples was significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ), and its expression was significantly negative correlated with stage of patients ( $P < 0.05$ ). The overall survival rate (OS) of patients in the high expression group of *PFKFB4* was worse than that in the low expression group ( $P < 0.05$ ), which can be used as an independent prognostic factor of LIHC ( $HR = 1.908$ ,  $95\%CI: 1.332 \sim 2.733$ ,  $P < 0.05$ ). GSEA analysis results suggest that *PFKFB4* may be involved in glycolysis, autophagy and P53 signaling pathways, and regulate the expression of *PFKFB4* through the demethylation of *PFKFB4*, and affect the prognosis. **Conclusion** The hypomethylation level of *PFKFB4* significantly upregulates *PFKFB4* in LIHC, which can regulate the occurrence and development of LIHC through multiple molecular pathways, and is an independent prognostic factor of LIHC.

[KEY WORDS] LIHC; *PFKFB4*; TCGA; GSEA; Methylation

肝癌为常见的恶性肿瘤,以肝细胞癌(Liver hepatocellular carcinoma, LIHC)为主,肝癌病例数的增长最为迅速,且5年总体生存率(overall survival, OS)仅为18%。对于早期肝癌患者,手术切除仍是最主要的治疗方法<sup>[1-2]</sup>,然而多数患者难以早期发现,且术后5年复发率高,预后较差<sup>[3]</sup>。因此,寻找新型有效的分子靶标,对改善LIHC的预后具有重要意义。6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶4(6-phosphofructo-2-kinase-fructose-2,6-bisphosphatase 4, *PFKFB4*),其编码的蛋白质可合成果糖2,6-二磷酸酯(Fructose-2,6-diphosphate, F26BP),刺激糖酵解<sup>[4]</sup>。*PFKFB4*在多种肿瘤过表达,以满足癌细胞的生物需求。*PFKFB4*参与各种生物学过程,包括细胞周期、自噬和转录调控<sup>[5]</sup>,且提示抑制*PFKFB4*表达可能是有效的癌症治疗策略<sup>[6]</sup>。近年来,有研究证实*PFKFB4*与乳腺癌<sup>[7]</sup>、小细胞肺癌<sup>[8]</sup>、膀胱癌<sup>[9]</sup>、胃癌<sup>[10]</sup>进展密切相关,使患者预后较差。然而,*PFKFB4*在LIHC发挥的作用和分子机理仍未阐明。本研究通过分析TCGA数据库探讨*PFKFB4*在LIHC患者中的预后价值,并预测其可能的分子机制,为LIHC提供新的分子靶标。

## 1 资料与方法

### 1.1 数据的下载与预处理

在癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)检索并下载LIHC的RNA表达数据(HTSeq-FPKM, level 3)包括374例肿瘤样本和50例正常样本及424例临床数据。利用软件Strawberry Perl 5.30.1将基因表达数据整理成基因表达矩阵用于后续分析,并删除临床特征不明确和生存时间缺失的患者数据。

### 1.2 *PFKFB4*表达与临床病理特征和预后相关性分析

使用R 4.0.2软件提取*PFKFB4*在LIHC组织样本和正常组织样本中的mRNA表达量数据并分析比较两组的表达水平差异,根据*PFKFB4*在LIHC中的表达量中位值将患者分为高表达和低表达组。通过IBM SPSS Statistics 25.0软件利用卡方检验分析*PFKFB4*表达与临床病理特征之间的相关性。利用R 4.0.2软件通过Kaplan-Meier法分析两组之间OS的差异,使用单因素和多因素Cox回归分析*PFKFB4*在LIHC的预后价值。

利用MEXPRESS在线数据库(<https://mexpress.be/>)分析*PFKFB4*基因与临床病理特征的联系。同时,通过GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)、OncoLnc数据库(<http://www.oncolnc.org/>)和Kaplan Meier-plotter数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)验证*PFKFB4*的生存分析结果。

### 1.3 基因富集分析

利用GSEA 4.1.0软件以Molecular Signature Database (MsigDB)数据库中的c2.cp.kegg.v7.0.symbols.gmt数据集作为功能基因集对*PFKFB4*进行基因富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)。采用缺省加权富集统计的方法,随机组合次数设1000次,其他参数均设为默认值。

使用DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行GO(本体论)富集分析,根据P-value从小到大选取前十个富集通路作图。

### 1.4 DNA甲基化分析

通过MethSurv在线数据库(<https://biit.cs.ut.ee/methsurv/>)对*PFKFB4*甲基化位点在LIHC患者中的分布情况进行分析,同时,利用UALCAN在线数据库分析*PFKFB4*在LIHC患者肿瘤组织和

正常组织中的 DNA 甲基化水平差异,再通过 TCGA Wanderer 数据库 (<http://maplab.imppc.org/wanderer/>)分析 *PFKFB4* 相关甲基化位点。

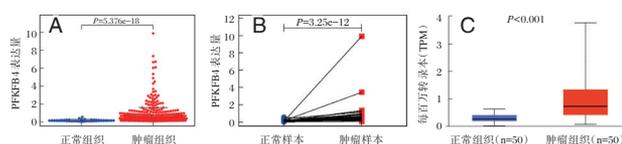
### 1.5 统计学分析

采用软件 SPSS 25.0 进行数据分析,计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验、Wilcoxon 秩和检验,将 LIHC 患者的年龄、性别、TNM 分期等临床指标进行量化赋值,利用 Cox 比例风险回归模型进行单因素和多因素分析,生存分析采用 KM 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 *PFKFB4* 在 LIHC 组织中的表达

TCGA-LIHC 数据集分析显示, *PFKFB4* 在 LIHC 样本中的表达量高于正常样本,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 1A-B)。UALCAN 数据库分析结果也显示, *PFKFB4* 在 LIHC 组织中表达显著上调 ( $P < 0.05$ ) (图 1C)。



注: A 为在 TCGA-LIHC 数据集中, *PFKFB4* 在肝正常组织和 LIHC 组织中的表达差异; B 为 50 对配对的 LIHC 组织和癌旁组织中 *PFKFB4* 的表达水平比较; C 为 UALCAN 数据库中, *PFKFB4* 在 LIHC 和肝正常组织中的表达差异。

图 1 *PFKFB4* 在 LIHC 组织和正常组织的差异表达

Figure 1 Differential expression of *PFKFB4* in LIHC tissues and normal tissues

### 2.2 *PFKFB4* 表达与临床病理特征相关性分析

*PFKFB4* 表达水平与 TNM 分期 ( $P < 0.05$ ) 和 T 分期显著相关 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。Stage 分期 II、III 期的 *PFKFB4* 表达水平显著高于 I 期,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而 Stage 分期 IV 期由于样本数太少,故结果存在偏倚 (图 2A); T 分期的 T2、T3、T4 期患者的 *PFKFB4* 表达水平均显著高于 T1 期患者的表达水平,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 2B)。MEXPRESS 分析结果显示, *PFKFB4* 的表达量与 LIHC 患者的 Stage 分期、样本类型及患者 OS 呈显著负相关 ( $P < 0.05$ ) (图 2C)。

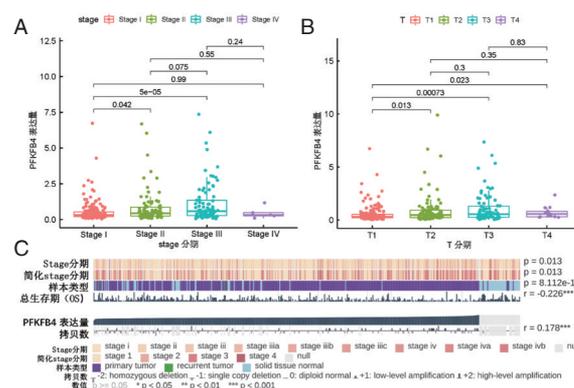
### 2.3 *PFKFB4* 表达与 LIHC 患者预后的关系

单因素和多因素 Cox 回归分析结果表明, *PFKFB4* ( $HR=1.91, 95\% CI: 1.48 \sim 2.97, P < 0.05$ ) 可以作为 LIHC 患者的独立预后因素 (表 2)。在 TCGA-

表 1 *PFKFB4* 表达与 LIHC 患者临床病理特征的相关性分析 [ $n(\%)$ ]

Table 1 Relationship between *PFKFB4* expression and clinicopathological characteristics of patients [ $n(\%)$ ]

临床病理特征	分类	低表达	高表达	$\chi^2$ 值	P 值
年龄 (岁)	$\leq 65$	78 (33.19)	87 (37.02)	1.915	0.166
	$> 65$	40 (17.02)	30 (12.77)		
性别	男	85 (36.17)	76 (32.34)	1.364	0.243
	女	33 (14.04)	41 (17.45)		
Stage 分期	I + II	91 (38.72)	72 (30.64)	6.711	0.010
	III + IV	27 (11.49)	45 (19.15)		
T 分期	T <sub>1</sub> +T <sub>2</sub>	92 (39.15)	75 (31.91)	5.491	0.019
	T <sub>3</sub> +T <sub>4</sub>	26 (11.06)	42 (17.87)		
M 分期	M <sub>0</sub>	116 (49.36)	115 (48.94)	0.000	1.000
	M <sub>1</sub>	2 (0.85)	2 (0.85)		
N 分期	N <sub>0</sub>	116 (49.36)	115 (48.94)	0.000	1.000
	N <sub>1</sub>	2 (0.85)	2 (0.85)		



注: A-B 为 stage 分期、T 分期与 *PFKFB4* 表达量相关性分析; C 为在 MEXPRESS 数据库中, *PFKFB4* 与临床病理特征的关系。

图 2 *PFKFB4* 表达量与 LIHC 患者临床病理特征相关性分析

Figure 2 Correlation analysis between *PFKFB4* expression and clinicopathological features of LIHC

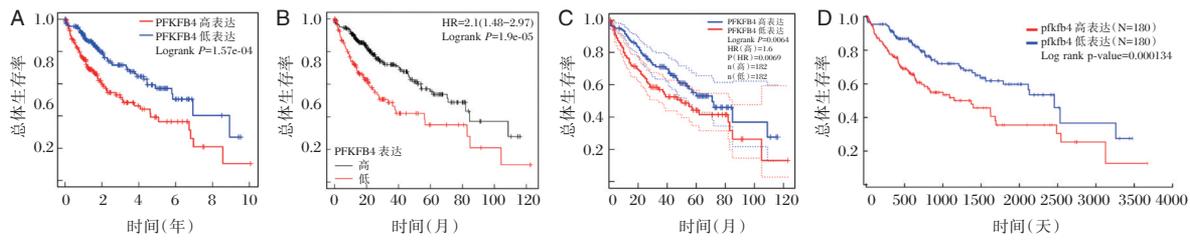
LIHC 数据集中,在 LIHC 患者中, *PFKFB4* 高表达提示不良预后,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 3A)。Kaplan Meier-plotter ( $HR=2.10, 95\% CI: 1.33 \sim 2.73, Logrank P < 0.05$ )、GEPIA ( $HR=1.6, P < 0.05$ ) 和 OncoLnc 在线数据库分析结果均显示 *PFKFB4* 高表达与较差的 OS 有关 (图 3B-D)。

表 2 单因素和多因素 Cox 回归分析

Table 2 Univariate and multivariate cox regression analysis of *PFKFB4* in LIHC

因素	单因素 cox 回归分析			多因素 cox 回归分析		
	HR 值	95%CI	P 值	HR 值	95%CI	P 值
年龄	1.005	0.987~1.023	0.591	1.009	0.989~1.029	0.374
性别	0.780	0.487~1.249	0.301	1.002	0.594~1.692	0.993
Stage 分期	1.865	1.456~2.388	$< 0.001^*$	0.921	0.346~2.451	0.870
T 分期	1.804	1.434~2.270	$< 0.001^*$	1.808	0.756~4.322	0.183
M 分期	3.850	1.207~12.281	0.023 <sup>†</sup>	1.453	0.385~5.486	0.581
N 分期	2.022	0.494~8.276	0.328	1.576	0.215~11.551	0.654
<i>PFKFB4</i>	2.166	1.557~3.013	$< 0.001^*$	1.908	1.332~2.733	$< 0.001^*$

注: \* $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。



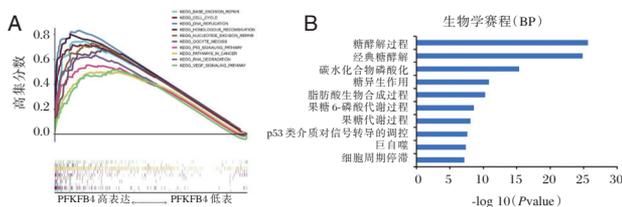
注:A为TCGA数据库;B为Kaplan Meier-plotter数据库;C为GEPIA数据库;D为OncoLnc数据库。

图3 PFKFB4表达在LIHC中的预后分析

Figure 3 Prognostic analysis of PFKFB4 expression in LIHC

### 2.4 GSEA功能富集分析

在KEGG数据集中,通过GSEA分析预测,PFKFB4可能参与了DNA复制、同源重组、碱基和核酸切除修复、细胞周期、RNA降解和P53信号通路(图4A)。String数据库确定与PFKFB4相关性最强的50个基因,利用GO分析发现PFKFB4在糖酵解、细胞自噬和P53介导的生物学过程(BP)中可能发挥重要作用(图4B)。



注:A为GSEA对KEGG通路富集结果;B为BP的GO分析。

图4 PFKFB4的功能富集分析和GO分析

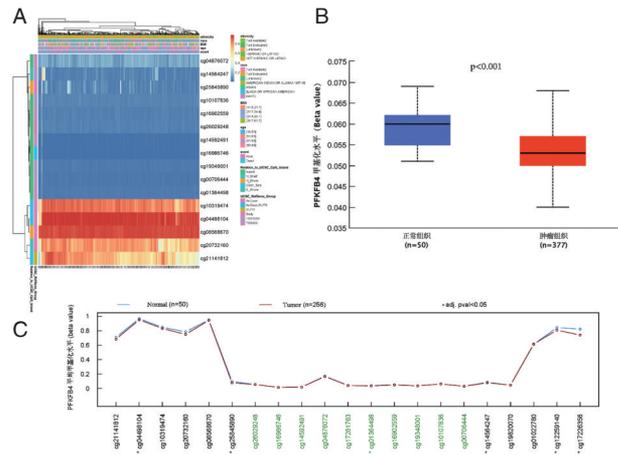
Figure 4 Functional enrichment analysis and GO analysis of PFKFB4

### 2.5 PFKFB4基因甲基化分析

PFKFB4的甲基化位点cg16986746和cg08568670是LIHC患者中甲基化水平最低和最高的两个位点(图5A),UALCAN数据库分析结果显示其在LIHC样本中的整体甲基化水平比正常样本低,并与PFKFB4的表达量呈显著负相关( $P < 0.05$ )(图5B)。TCGA Wanderer分析结果发现PFKFB4与LIHC发生发展相关的甲基化位点有6个,分别是cg04498104、cg25845890、cg01364498、cg14564247、cg12259140、cg17226356,均维持低甲基化修饰水平( $P < 0.05$ )(图5C)。

### 3 讨论

PFKFB4属于双功能酶家族,可动态调节6-磷酸果糖和F26P的水平,而F26P是糖酵解途径的关键酶磷酸果糖激酶1的变构激活剂<sup>[11]</sup>。



注:A为PFKFB4的甲基化位点的在LIHC患者的分布情况;B为UALCAN数据库中PFKFB4在LIHC组织和正常组织的甲基化水平差异;C为TCGA Wanderer数据库分析PFKFB4在LIHC中有意义的低甲基化位点。

图5 PFKFB4与LIHC预后相关甲基化位点分析

Figure 5 Analysis of PFKFB4 methylation sites associated with the prognosis of LIHC

PFKFB4控制着成年细胞的糖酵解速率,且在PI3K-AKT信号通路中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。p53可下调PFKFB4的表达,而PFKFB4的耗尽会减弱p53缺陷细胞的合成活性,沉默PFKFB4可诱导体内p53缺陷癌细胞凋亡<sup>[6]</sup>。PFKFB4通过激活致癌类固醇受体共激活因子3调节转录细胞重编程<sup>[7]</sup>,是癌症快速增殖和转移的标志<sup>[13]</sup>。PFKFB4在多种肿瘤中过表达,可促进癌细胞代谢及增殖,导致癌症的恶化<sup>[10,14]</sup>。

增强的肿瘤糖酵解作用(Warburg效应)为促进癌细胞的增殖和转移提供了代谢基础,PFKFB4高表达的乳腺癌患者预后很差,被证实是乳腺癌的独立预后因子<sup>[15]</sup>。PFKFB4可抑制抑癌基因的表达,保证胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,可作为胃癌潜在的分子靶标<sup>[16]</sup>。PFKFB4在前列腺的小细胞癌组织中过表达,促进葡萄糖降解,与肿瘤的

侵袭性相关,可能是重要的分子靶标<sup>[17]</sup>。通过分析黑素瘤细胞系对低氧条件的反应,对高表达和低表达 *PFKFB4* 的患者分别进行 Kaplan-Meier 生存分析,*PFKFB4* 高表达会导致黑色素瘤患者的预后不良<sup>[18]</sup>。癌症的标志之一是 DNA 甲基化异常,这与基因表达异常有关。转移性基因的低甲基化和激活是癌细胞的特征<sup>[19]</sup>,癌基因的低甲基化水平可激活癌基因高表达,促进肿瘤的发生发展,提示患者的不良预后。但仍未有研究探讨 *PFKFB4* 在 LIHC 的预后价值以及分子机制。

本研究通过分析结果提示着 LIHC 的恶性进展。生存分析结果显示,*PFKFB4* 上调的患者 OS 较差。Cox 回归分析表明 *PFKFB4* 可作为 LIHC 的独立预后因子。同时,功能富集分析发现 *PFKFB4* 可能参与了一些癌症相关通路,为进一步探索其在 LIHC 发生发展中的分子机制提供了基础。

*PFKFB4* 能促进小细胞肺癌 (Small Cell Lung Carcinoma, SCLC) 的化学耐药且与不良预后相关,可作为 SCLC 潜在的治疗靶点及化疗反应的预测因素<sup>[8]</sup>。膀胱癌标本中的 *PFKFB4* 高表达,可导致肿瘤细胞代谢异常,阻断 *PFKFB4* 的表达可能成为膀胱癌有效的治疗策略,这为探索膀胱癌的治疗方法提供了新的研究方向<sup>[9]</sup>。Hu 等人<sup>[20]</sup>证实 *PFKFB4* 是胰腺癌中蛋白酶体抑制剂的潜在生物标志物,且可用于监测治疗反应。因此,可通过检测 *PFKFB4* 表达量和甲基化水平,以判断是否满足使用分子抑制剂的条件,从而有效治疗 LIHC 患者。

综上所述,*PFKFB4* 在 LIHC 中异常上调,其过表达和低甲基化水平也提示着患者较差的总体生存期及肿瘤的恶性发展,且主要参与糖酵解和 P53 等信号通路的调控。*PFKFB4* 是 LIHC 治疗潜在的新型分子靶标。

## 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1):7-30.
- [2] 周永杰,石毓君. 肝细胞肝癌靶向治疗与分子病理分型:现状与挑战[J]. 西南医科大学学报, 2019, 42(5):498-500.
- [3] 肖奇贵,王铮,杨勤玲,等. 肝癌切除术前患者血清 sP-selectin, sICAM-1 水平变化及其临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9):1208-1212.
- [4] Pilkis SJ, Claus TH, Kurland IJ, et al. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: A metabolic signaling enzyme [J]. Ann Rev Biochem, 1995, 64:799-835.
- [5] Yi M, Ban Y, Tan Y, et al. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 3 and 4: A pair of valves for fine-tuning of glucose metabolism in human cancer [J]. Mol metab, 2019, 20:1-13.
- [6] Ros S, Flöter J, Kaymak I, et al. 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 4 is essential for p53-null cancer cells [J]. Oncogene, 2017, 36(23):3287-3299.
- [7] Dasgupta S, Rajapakshe K, Zhu B, et al. Metabolic enzyme pfkfb4 activates transcriptional coactivator src - 3 to drive breast cancer [J]. Nature, 2018, 556(7700):249-254.
- [8] Wang Q, Zeng F, Sun Y, et al. Etk interaction with pfkfb4 modulates chemoresistance of small-cell lung cancer by regulating autophagy [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(4):950-962.
- [9] Zhang H, Lu C, Fang M, et al. Hif-1 $\alpha$  activates hypoxia-induced pfkfb4 expression in human bladder cancer cells [J]. Biochem Biophysical Res Commun, 2016, 476(3):146-152.
- [10] Minchenko OH, Tsuchihara K, Minchenko DO, et al. Mechanisms of regulation of pfkfb expression in pancreatic and gastric cancer cells [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(38):13705-13717.
- [11] 余朝军,赵宁辉. 双功能酶 6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-双磷酸酶 4(PFKFB4)在肿瘤中的作用与研究进展[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(3):166-170.
- [12] Figueiredo AL, Maczkowiak F, Borday C, et al. Pfkfb4 control of akt signaling is essential for premigratory and migratory neural crest formation [J]. Development, 2017, 144(22):4183-4194.
- [13] Ward PS, Thompson CB. Metabolic reprogramming: A cancer hallmark even warburg did not anticipate [J]. Cancer Cell, 2012, 21(3):297-308.
- [14] Lee MO, You CH, Son MY, et al. Pro-fibrotic effects of pfkfb4-mediated glycolytic reprogramming in fibrous dysplasia [J]. Biomaterials, 2016, 107:61-73.
- [15] Yao L, Wang L, Cao ZG, et al. High expression of metabolic enzyme pfkfb4 is associated with poor prognosis of operable breast cancer [J]. Cancer Cell Int, 2019, 19:165-165.
- [16] 王鸣,孙梯业. PFKFB4 对胃癌细胞侵袭和迁移能力的影响及其作用机制[J]. 实用肿瘤学杂志, 2020, 34(1):37-42.
- [17] Li W, Cohen A, Sun Y, et al. The role of cd44 in glucose metabolism in prostatic small cell neuroendocrine carcinoma [J]. Mol Cancer Res, 2016, 14(4):344-353.
- [18] Trojan SE, Piwowar M, Ostrowska B, et al. Analysis of malignant melanoma cell lines exposed to hypoxia reveals the importance of pfkfb4 overexpression for disease progression [J]. Anticancer Res, 2018, 38(12):6745-6752.
- [19] Cheishvili D, Boureau L, Szyf M. DNA demethylation and invasive cancer: Implications for therapeutics [J]. British J pharmacol, 2015, 172(11):2705-2715.
- [20] Hu S, Jin Y, Liu Y, et al. Synthesis and mechanistic studies of quinolin-chlorobenzothioate derivatives with proteasome inhibitory activity in pancreatic cancer cell lines [J]. Eur J Med Chem, 2018, 15:884-895.

## 经输尿管导管RSUG在复杂肾结石经皮肾镜治疗中的诊治价值

刁长会 王雷 邱晓东 李建华\*

**【摘要】** **目的** 探讨经输尿管导管逆行超声造影在复杂肾结石患者经皮肾镜治疗中的应用价值。**方法** 选取本院2017年1月至2019年3月收治的复杂肾结石患者106例作为研究对象。按照随机数字表法分两组,各53例。两组均行经皮肾镜治疗,对照组给予传统单纯超声定位引导,观察组给予经输尿管导管逆行超声造影引导。比较两组手术情况、住院时间、穿刺情况、结石清除情况、术前、术后1、3 d肾功能指标、炎性因子水平及并发症发生率,并随访6个月,统计对比两组结石复发率。**结果** 观察组术中失血量少于对照组,手术时间、住院时间短于对照组,一次性穿刺成功率、I期结石清除率高于对照组( $P<0.05$ );两组术后1、3 d血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)和胱抑素C(Cys-C)、尿酸(BUA)、血管紧张素II(Ang II)、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、C反应蛋白(CRP)水平高于治疗前,观察组低于对照组( $P<0.05$ );观察组并发症发生率5.66%低于对照组20.75%( $P<0.05$ );随访6个月,两组结石复发率相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂肾结石患者经皮肾镜治疗中,效果显著,安全性高,且复发率低。

**【关键词】** 经输尿管导管逆行超声造影;复杂肾结石;经皮肾镜治疗;肾功能;炎性因子

### The diagnosis and treatment value of RSUG via ureteral catheter in percutaneous nephroscope treatment of complex kidney stones

DIAO Changhui, WANG Lei, QIU Xiaodong, LI Jianhua\*

(Department of Urology, The First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu, Henan, China, 476100)

**【ABSTRACT】** **Objective** To explore the application value of retrograde contrast-enhanced ultrasound via ureteral catheter in the percutaneous nephrolithiasis treatment of patients with complex renal stones. **Methods** A total of 106 patients with complex renal stones treated in our hospital from January 2017 to March 2019 were selected as the research objects and grouped according to random number table method, 53 cases each. Both groups were treated with percutaneous nephroscope, the control group was given traditional ultrasound positioning guidance alone, and the observation group was given retrograde contrast-enhanced ultrasound guidance via ureteral catheter. The operation status, hospitalization time, puncture status, stone removal status, renal function indexes, levels of inflammatory factors before and after 1, 3 days after the operation and the incidence of complications were compared between the two groups. Followed up for 6 months, and the recurrence rates of stones in the two groups were statistically compared. **Results** The intraoperative blood loss of the observation group was less than that of the control group, and the operation time and hospital stay were shorter than those of the control group. The success rate of one-time puncture and the removal rate of stage I stones were higher than those of the control group ( $P<0.05$ ). Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), cystatin C (Cys-C), blood uric acid (BUA), angiotensin II (Ang II), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), C-reactive protein (CRP) levels in the two groups were higher than before treatment on

基金项目:国家自然科学基金项目(81702503)

作者单位:河南省商丘市第一人民医院泌尿外科,河南,商丘476100

\*通信作者:李建华, E-mail:lijianhua5890@163.com

the 1st and 3rd day after operation, while the observation group was lower than the control group ( $P<0.05$ ). The complication rate of the observation group was 5.66% lower than that of the control group 20.75% ( $P<0.05$ ). After 6 months of follow-up, there was no significant difference in the recurrence rate of stones between the two groups ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Retrograde contrast-enhanced ultrasound via ureteral catheter is used in the percutaneous nephrolithiasis treatment of patients with complex kidney stones, with significant effects, high safety, and low recurrence rate.

**[KEY WORDS]** Retrograde contrast-enhanced ultrasound via ureteral catheter; Complex renal stones; Percutaneous nephroscope; Renal function; Inflammatory factors

肾结石是泌尿外科常见疾病,其中复杂性肾结石指结石直径 $\geq 2.5$  cm的肾结石治疗难度较大<sup>[1]</sup>。经皮肾镜治疗术为目前临床治疗复杂性肾结石的首选术式,但在建立通道及碎石过程中易引发出血、感染、上尿路穿孔、胸膜和腹腔脏器损伤、肾功能受损等并发症,且对于多发结石及巨大鹿角状结石,难以一次清除<sup>[2]</sup>。而明确结石位置、选取最合理途径穿刺为目前临床降低复杂性肾结石手术风险的关键<sup>[3-4]</sup>。目前临床主要采用超声实时定位,但在多发结石以及巨大鹿角状结石等的引导定位中效果有限。随着医学技术的发展,经输尿管导管逆行超声造影引导穿刺逐渐应用于经皮肾镜治疗。肾结石本身及其所致梗阻、感染等

会导致肾功能损伤,增加炎性应激。经输尿管导管逆行超声造影能否降低肾功能损伤,减轻炎性应激,临床相关报道鲜少,基于此,本研究将侧重从肾功能损伤及炎性应激等方面分析该引导方式在经皮肾镜治疗中的应用价值。现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院2017年1月至2019年3月收治的复杂肾结石患者106例作为研究对象。按照随机数字表法分2组:观察组( $n=53$ )和对照组( $n=53$ )。两组一般资料对比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

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

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

组别	$n$	年龄 (岁)	性别		结石最 长径 (cm)	患侧		结石类型						
			男	女		左侧	右侧	多发性	不完全 铸形	完全 铸形肾	鹿角 状肾	马蹄 肾伴肾	孤立肾	海绵肾
观察组	53	41.69 $\pm$ 5.78	35(66.04)	18(33.96)	4.15 $\pm$ 0.50	23(43.40)	30(56.60)	23(43.40)	12(22.64)	6(11.32)	6(11.32)	4(7.55)	1(1.89)	1(1.89)
对照组	53	40.93 $\pm$ 6.01	33(62.26)	20(37.74)	4.20 $\pm$ 0.47	25(47.17)	28(52.83)	28(52.83)	13(24.53)	3(5.66)	7(13.21)	5(9.43)	2(3.77)	1(1.89)
$\chi^2$ 值		0.664	0.164	0.530	0.152						1.584			
$P$ 值		0.509	0.685	0.597	0.696						0.954			

纳入标准:①均符合肾结石诊断标准<sup>[5]</sup>;②结石直径 $\geq 2.5$ cm;③采用泌尿系统超声及CT检查确诊;④知情本研究并签署同意书。排除标准:①凝血功能异常;②发病前合并泌尿系统感染者;③术前肾功能严重障碍者;④免疫功能异常者;⑤手术禁忌。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 治疗方法

两组均行经皮肾镜治疗,观察组给予经输尿管导管逆行超声造影引导,全身麻醉,取截石位,患侧输尿管置导管后转俯卧位,垫高患侧腹部使腰背在同一平面内;采用18G肾穿刺针于超声引导下沿穿刺架穿刺,穿刺入肾周筋膜后调节为对比脉冲序列成像模式,缓慢沿输尿管导管推注声

诺维混悬液至目标盏显影确切,继续将针穿入目标肾盏;穿刺成功后置入斑马导丝,扩张通道至F22,推入合适的Amplatz鞘,建立碎石取石通道,使用第4代EMS碎石系统碎石。对照组给予传统单纯超声定位引导,其他操作同观察组。

#### 1.2.2 检测方法

取晨空腹静脉血6 mL,离心(转速:3 000 r/min,离心半径:15 cm,离心时间:15 min),分离取上层血清,均分为两份,一份采用肌氨酸氧化酶法测定胱抑素C(Cys-C)、血尿酸(BUA)水平,试剂盒购自天津中新科炬生物制药有限公司;另一份采用酶联免疫吸附法测定中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、血管紧张素II(Ang II)、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、

C反应蛋白(CRP)水平。所有操作均由相同检验科高年资医师按试剂盒说明书严格完成。

### 1.3 观察指标

比较两组穿刺情况、结石清除情况。比较两组术前、术后1、3 d肾功能指标。比较两组术前、术后1、3 d血清炎性因子水平。比较两组并发症发生率,包括输尿管损伤、尿瘘、感染、出血等。术后随访6个月,统计对比两组结石复发率,结石清除后经超声或CT检查显示再次出现结石为复发。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0 统计分析软件,计数资料以  $n$  (%)表示,两组间比较采用  $\chi^2$  检验;符合正态分布的计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,组内比较采用配对  $t$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 手术情况及住院时间

观察组术中失血量少于对照组,手术时间、住院时间短于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表2。

表2 两组手术情况及住院时间比较  $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of operation status and hospitalization time between 2 groups  $(\bar{x} \pm s)$

组别	$n$	术中失血量(mL)	手术时间(min)	住院时间(d)
观察组	53	120.91±32.26	87.02±15.18	6.90±1.75
对照组	53	183.35±51.17	102.44±19.25	10.83±2.08
$t$ 值		7.515	4.579	10.525
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 穿刺情况、结石清除情况

观察组一次性穿刺成功率、I期结石清除率高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表3。

表3 两组穿刺情况、结石清除情况比较 [ $n$ (%)]

Table 3 Comparison of puncture and stone removal between 2 groups [ $n$ (%)]

组别	$n$	穿刺情况		结石清除情况	
		一次穿刺成功	2次穿刺成功	I期清除	II期清除
观察组	53	48(90.57)	5(9.43)	50(94.34)	3(5.66)
对照组	53	38(71.70)	15(28.30)	40(75.47)	13(24.53)
$\chi^2$ 值		6.163		7.361	
$P$ 值		0.013		0.007	

### 2.3 肾功能指标

两组术后1、3 d血清Cys-C、BUA、NGAL高于治疗前,观察组低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表4。

表4 两组肾功能指标比较  $(\bar{x} \pm s)$

Table 4 Comparison of renal function indexes between 2 groups  $(\bar{x} \pm s)$

时间	组别	$n$	Cys-C ( $\mu\text{g/L}$ )	BUA ( $\mu\text{mol/L}$ )	NGAL ( $\mu\text{g/L}$ )	
术前	观察组	53	510.17±61.77	352.24±37.74	3.52±0.57	
	对照组	53	512.23±64.20	355.11±40.02	3.56±0.60	
	$t$ 值		0.168	0.380	0.352	
			$P$ 值	0.867	0.705	0.726
术后1 d	观察组	53	663.39±80.16 <sup>a</sup>	413.10±66.29 <sup>a</sup>	4.73±0.66 <sup>a</sup>	
	对照组	53	782.04±101.32 <sup>a</sup>	484.31±80.05 <sup>a</sup>	5.39±0.72 <sup>a</sup>	
	$t$ 值		6.686	4.988	4.919	
			$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001
术后3 d	观察组	53	584.49±65.57 <sup>a</sup>	382.24±30.24 <sup>a</sup>	3.91±0.49 <sup>a</sup>	
	对照组	53	651.10±74.38 <sup>a</sup>	417.19±34.35 <sup>a</sup>	4.48±0.65 <sup>a</sup>	
	$t$ 值		4.891	5.560	5.098	
			$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与本组术前相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.4 炎性因子

术后1、3 d两组血清CRP、Ang II、IFN- $\gamma$ 水平高于治疗前,观察组低于对照组( $P < 0.05$ ),见表5。

表5 两组炎性因子比较  $(\bar{x} \pm s)$

Table 5 Comparison of inflammatory factors between 2 groups  $(\bar{x} \pm s)$

时间	组别	$n$	CRP (mg/L)	Ang II (pg/mL)	IFN- $\gamma$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	
术前	观察组	53	4.17±1.12	3.57±1.02	10.03±1.76	
	对照组	53	4.30±1.33	3.60±1.06	10.10±1.81	
	$t$ 值		0.544	0.149	0.202	
			$P$ 值	0.587	0.882	0.840
术后1 d	观察组	53	11.46±2.26 <sup>a</sup>	5.72±1.34 <sup>a</sup>	16.03±3.37 <sup>a</sup>	
	对照组	53	14.21±2.74 <sup>a</sup>	9.61±2.05 <sup>a</sup>	20.24±4.01 <sup>a</sup>	
	$t$ 值		5.637	11.563	5.851	
			$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001
术后3 d	观察组	53	6.49±1.83 <sup>a</sup>	4.43±1.13 <sup>a</sup>	12.27±3.11 <sup>a</sup>	
	对照组	53	10.03±2.51 <sup>a</sup>	7.15±1.96 <sup>a</sup>	15.18±3.72 <sup>a</sup>	
	$t$ 值		8.297	8.753	4.370	
			$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与本组术前相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.5 并发症发生情况

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

表6 两组并发症发生情况比较 [ $n$ (%)]

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

组别	$n$	输尿管损伤	尿瘘	感染	出血	总发生率
观察组	53	1(1.89)	0(0.00)	1(1.89)	1(1.89)	3(5.66)
对照组	53	3(5.66)	2(3.77)	3(5.66)	3(5.66)	11(20.75)
$\chi^2$ 值						5.267
$P$ 值						0.022

### 2.6 两组结石复发率

随访6个月,对照组失访3例,观察组失访2

例。观察组结石复发率(3.92%),对照组结石复发率(8.00%),两组比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.539, P=0.463$ )。

### 3 讨论

复杂性肾结石为泌尿外科治疗难点,既往临床多在经皮肾镜治疗过程中采用超声实时定位,能有效显示肾脏及周围结构,确保穿刺路径内不出现重要器官,减少手术副损伤,且无电离辐射<sup>[6-7]</sup>,但对结石形态复杂者仍难以准确定位,无法建立有效通道。因此,仍需进一步寻找更为精准的定位方式。

为进一步提高超声引导穿刺效果,本研究将经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂肾结石患者经皮肾镜治疗中,与常规超声引导相比,其具有以下优势:①不依赖于患侧肾脏功能,可在肾功能受损的肾脏中获得比较满意影像;②可根据需求即时增加造影剂量,无需等待排泄过程,实时监测患者肾结石状态;③对无积液或积液较少的肾盏仍可准确穿刺,有利于提高穿刺成功率;④穿刺过程可准确从肾盏穹窿部进针,减少穿刺过程中造成的出血;⑤术前即可明确定位存在结石的肾盏,减少术中反复寻找引起的出血,缩短手术时间,减轻肾损害。本研究结果与王赫等<sup>[8]</sup>研究结果相似,且观察组并发症发生率较低,主要与其能有效定位,减少无效穿刺次数,降低手术副损伤有关。Cys-C是肾功能损伤的高敏感性指标,在肾功能损伤早期即可出现血清CysC水平上升<sup>[9]</sup>;BUA可作为判断肾损伤程度及相关预后评估的重要指标<sup>[10]</sup>;肾小管出现损伤时NGAL血清水平明显增加,且增加水平与肾功能变化密切相关<sup>[11]</sup>。本研究还发现,两种引导方式均可造成肾损伤,但观察组损伤程度低于对照组,进一步客观证实其微创性。

全身炎症应激反应可刺激下丘脑-肾素-血管紧张素系统,导致Ang II水平等应激激素大量合成<sup>[12]</sup>。应激刺激下,机体单核巨噬细胞、成纤维细胞等分泌CRP、IFN- $\gamma$ 等多种刺激因子,诱导炎症反应<sup>[13]</sup>。经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂肾结石患者能减少手术时间及出血量,降低患者感染风险,减少对促炎因子的刺激,有效减轻炎症应激。本研究随访6个月,观察组结石复发率虽较低,但组间对比,差异无统计学意义,因此,经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂肾结石患者经皮肾镜治疗后复发风险,仍需进一步扩大样本量,延

长随访时间进一步证实。

综上,经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂肾结石患者经皮肾镜治疗中,能有效减少术中失血量,提高一次穿刺成功率及I期结石清除率,缩短手术时间,减轻肾损伤及炎症应激,降低并发症发生风险,促进患者及早恢复出院,且复发率低。

### 参考文献

- [1] 王大明,于德新,谢栋栋,等.改良俯卧分腿位双镜联合处理复杂性肾结石合并同侧输尿管结石的临床研究[J].中华泌尿外科杂志,2019,40(9):685-689.
- [2] Abourbih S, Alsayouf M, Yeo A, et al. Renal Pelvic Pressure in Percutaneous Nephrolithotomy: The Effect of Multiple Tracts[J]. J Endouro, 2017,31(10):1079-1083.
- [3] 段波,陈斌,黄海超,等.针道法辅助标准经皮肾镜取石术治疗复杂性上尿路结石的临床研究[J].中华外科杂志,2018,56(10):768-771.
- [4] 杨杰,尹勇,聂明,等.超声引导下经上盏入路经皮肾镜治疗鹿角形肾结石疗效分析[J].四川大学学报:医学版,2017,48(2):324-325.
- [5] Dion M, Ankawi G, Chew B. CUA guideline on the evaluation and medical management of the kidney stone patient? 2016 update[J]. Can Urol Assoc J, 2016,10(11-12):E347-58.
- [6] Kyriazis I, Kallidonis P, Vasilas M, et al. Challenging the wisdom of puncture at the calyceal fornix in percutaneous nephrolithotripsy: feasibility and safety study with 137 patients operated via a non-calyceal percutaneous track [J]. World J Urol, 2017,35(5):795-801.
- [7] Celik H, Camtosun A, Altintas R, et al. Percutaneous nephrolithotomy in children with pediatric and adult-sized instruments [J]. J Pediatr Urol, 2016,12(6):399.e1-399.e5.
- [8] 王赫,张羽白,孙长华.经输尿管导管逆行超声造影引导经皮肾镜治疗复杂肾结石[J].医学研究杂志,2019,48(1):108-110,17.
- [9] Feng J, Chen HW, Pi LJ, et al. Protective effect of tanshinone IIA against cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats through inhibiting the Cys-C/Wnt signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017,8(6):10161-10170.
- [10] 谢希,刘莉莉,李书会.尿毒症患者血液透析前后血清NT-proBNP、BUA、cTnT水平变化及其临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(4):320-324,328.
- [11] Ejaz AA, Alquadan KF, Dass B, et al. Effects of Serum Uric Acid on Estimated GFR in Cardiac Surgery Patients: A Pilot Study[J]. Am J Nephrol, 2016,42(6):402-409.
- [12] 王永洪,王依宁,王健,等.老年结直肠癌患者术后肺部感染对RAAS的影响及其机制研究[J].中华医院感染学杂志,2019,29(14):2172-2175.
- [13] Haas CM, Maywald M, Goetzenich A, et al. Proton, ump inhibitors elevate infection rate in cardiothoracic surgery patients by influencing PMN function in vitro and in vivo[J]. J Leukoc Biol, 2018,103(4):777-788.

## TNF- $\alpha$ 及 IL-1 $\beta$ 在脓毒症性急性肾损伤中的价值及与NGAL的关系

韩梅<sup>1\*</sup> 高梦颖<sup>1</sup> 郭鹏<sup>2</sup> 张军立<sup>1</sup> 王帆<sup>1</sup> 梁丹<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨炎症因子水平对脓毒症性急性肾损伤(SI-AKI)的预测价值及即时检测NGAL对监测全身炎症反应的意义。**方法** 共纳入脓毒症患者48例,入院后0、12、24、48、72 h监测尿量及血肌酐水平,依据KDIGO标准进行SI-AKI诊断及分期,分为:KDIGO 1、KDIGO 2、KDIGO 3及无肾损伤(non-AKI)四个时期。采集患者入院后各项临床参数,并计算APACHE II及SOFA评分。按照预设的5个时间点留取血液标本,并应用ELISA检测血浆中NGAL、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-10。利用AUC评价预测价值,并分析NGAL与炎症因子之间的相关性。**结果** 伴随SI-AKI的出现,血中TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 水平均出现了升高,但均只在KDIGO 3期显著升高,与non-AKI、KDIGO 1及KDIGO 2相比较,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。KDIGO 1-2期中TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 水平与non-AKI时期比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。TNF- $\alpha$ 与IL-1 $\beta$ 预测KDIGO 3期发生的AUC分别是0.897、0.909,显示有着良好的预测价值。TNF- $\alpha$ 预测KDIGO 3的截断值为416.77 pg/mL,其敏感性为86.7%,特异性为73.4%;IL-1 $\beta$ 的截断值为1 766.43 pg/mL,预测的敏感性为87.8%,特异性为76.7%。在non-AKI及SI-AKI的不同时期IL-10的水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。NGAL与TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 均显著正相关(TNF- $\alpha$   $r = 0.949$ , IL-1 $\beta$   $r = 0.931$ ,  $P < 0.05$ ),而与IL-10无相关性( $r = 0.245$ ,  $P > 0.05$ )。**结论** 血中致炎因子TNF- $\alpha$ 与IL-1 $\beta$ 对重度SI-AKI有着良好的预测价值,并与NGAL密切相关,即时检测NGAL将有助于评价SI-AKI病人全身炎症反应状态,值得进一步研究评价。

**[关键词]** 脓毒症;急性肾损伤;中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;肿瘤坏死因子 $\alpha$ ;白细胞介素1 $\beta$

### The value of TNF- $\alpha$ and IL-1 $\beta$ in septic acute kidney injury and their relationship with NGAL

HAN Mei<sup>1\*</sup>, GAO Mengying<sup>1</sup>, GUO Peng<sup>2</sup>, ZHANG Junli<sup>1</sup>, WANG Fan<sup>1</sup>, LIANG Dan<sup>1</sup>

(1. Emergency Department, The Second Hospital of Hebei Medical University, Xinhua, Hebei, China, 050000; 2. Department of Plastic Surgery, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Xinhua, Hebei, China, 050000)

**[ABSTRACT]** **Objective** Explore their roles in the development of sepsis-induced acute kidney injury (SI-AKI) and analyze their correlations with plasma NGAL to monitor systemic inflammatory responses. **Methods** A total of 48 patients with sepsis were enrolled. Urine volume and blood creatinine levels were monitored at 0, 12, 24, 48, and 72 hours after admission. SI-AKI diagnosis and staging were performed according to KDIGO standards, and they were divided into: KDIGO 1, KDIGO 2, KDIGO 3 and four periods of non-AKI. Collect various clinical parameters after admission, and calculate APACHE II and SOFA scores. According to the preset 5 time points, blood samples were collected, and ELISA was used to detect NGAL, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 in plasma. Use AUC to evaluate the predictive value and analyze the

基金项目:河北省重点研发计划自筹项目(172777161)

作者单位:1. 河北医科大学第二医院急诊科,河北,新华 050000

2. 河北医科大学第四医院整形外科,河北,新华 050000

\*通信作者:韩梅, E-mail: hm102335@163.com

correlation between NGAL and inflammatory factors. **Results** With the occurrence of SI-AKI, the levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  were significantly increased at KDIGO 3, compared with non-AKI, KDIGO 1 and KDIGO 2 ( $P < 0.05$ ). However, no significant difference in TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels in KDIGO 1 and KDIGO 2 was detected, compared with those in non-AKI ( $P > 0.05$ ). The area under the curve (AUC) of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  were 0.897 and 0.909, respectively. The cut-off value of KDIGO 3 predicted by TNF- $\alpha$  was 416.77 pg/mL, with a sensitivity of 86.7% and specificity of 73.4%. The cut-off value of IL-1 $\beta$  was 1 766.43 pg/mL, and the sensitivity of prediction was 87.8%, and the specificity was 76.7%. There was no significant difference in the level of IL-10 between the non-AKI and SI-AKI group ( $P > 0.05$ ). NGAL was positively correlated with TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  (TNF- $\alpha$   $r = 0.949$ ; IL-1 $\beta$   $r = 0.931$ ,  $P < 0.05$ ), but not correlated with IL-10 ( $r = 0.245$ ,  $P > 0.05$ ). **Conclusion** Pro-inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  have good predictive values for severe stage of SI-AKI. Plasma NGAL has a positive correlation with TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , which may be useful to monitor systemic inflammatory responses.

**[KEY WORDS]** Sepsis; Acute kidney injury; Neutrophil gelatinase-associated with lipocalin; Tumor necrosis factor  $\alpha$ ; Interleukin-1 $\beta$

脓毒症是由感染导致的机体功能失调及器官功能障碍,因感染引发的全身炎症反应是导致损伤的关键因素<sup>[1]</sup>。适度的炎症反应是有益的,但若炎症反应放大并持续存在,即可引发组织器官的损伤和功能障碍<sup>[2]</sup>。脓毒症极易引发急性肾损伤(sepsis-induced acute kidney injury, SI-AKI),虽然关于SI-AKI的发病机制尚未完全明确,但已有研究表明炎症因子水平可能与SI-AKI的发生、发展密切相关<sup>[3]</sup>。对机体炎症反应的监测将有助于明确SI-AKI患者的病情并用于指导临床治疗。近十几年来,中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophils enzyme related lipid carrier protein gelatin, NGAL)被证明是SI-AKI良好的诊断标志物<sup>[4-7]</sup>,并可开展床旁即时监测,但通过监测NGAL来反应SI-AKI时的炎症反应状态尚未见报道。本研究通过动态观察脓毒症病人SI-AKI不同时期血中炎症介质肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$ (Interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白介素10(Interleukin 10, IL-10)及NGAL水平的变化,探讨炎症因子对肾损伤发生发展的预测价值,并评价NGAL对监测炎症反应的意义。报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集2018年6月至2020年6月本院综合ICU收治的脓毒症患者,依照《第三届脓毒症与脓毒症休克国际共识》<sup>[8]</sup>的标准纳入病例。排除标准:①不足18岁;②慢性肾功能衰竭患者;③炎性肠病患者;④肾移植患者;⑤心肺复苏术后患者;⑥入院前已有急性肾损伤的患者;⑦72小时

内待测样本未能全部收集。入院后跟踪观察5个时间点(0、12、24、48及72 h)的情况,依据改善全球肾病预后组织(Kidney Disease Improving Global Outcomes, KDIGO)标准<sup>[9]</sup>进行SI-AKI诊断及分期,如果血肌酐水平和尿量的分级不一致,则采纳较重的等级。分为:KDIGO 1、KDIGO 2、KDIGO 3及无肾损伤时期(non-AKI)。共计纳入48例患者,其中男性(66.67%),平均年龄(62.72 $\pm$ 14.4)岁。本研究符合伦理学标准,经医院伦理委员会批准,所有患者或家属知情同意。

表1 病人一般资料 [n(%)]

Table 1 General information of patients [n(%)]

指标	百分比	$\chi^2$ 值	P值
年龄	$\geq 65$	18(56.25)	5.894 0.432
	$< 65$	14(43.75)	
性别	男	21(65.62)	4.755 0.058
	女	11(34.38)	
BMI	$< 18.5$	4(12.50)	8.049 0.036
	18.5~24.9	14(43.75)	
	25~29.9	12(37.50)	
	30~34.9	2(6.25)	
合并症	糖尿病	12(37.50)	2.464 0.028
	高血压	11(34.37)	
	脑血管疾病	4(12.50)	
	心血管疾病	16(50.00)	
	慢性肺部疾病	4(12.50)	
	肝硬化	1(3.13)	
	腹部手术	7(21.88)	
脓毒症病因	肺炎	10(31.25)	7.636 0.000
	腹腔内感染	11(34.37)	
	泌尿系感染	3(9.38)	
	软组织感染	3(9.38)	
	多部位感染	5(15.62)	
	非-AKI	48(30.00)	
KDIGO 1	29(18.12)		
KDIGO 2	33(20.63)		
KDIGO 3	50(31.25)		

注: BMI为体重指数, AKI为急性肾损伤, KDIGO为改善全球肾病预后组织

## 1.2 方法

### 1.2.1 基础数据

记录患者的性别、年龄、脓毒症病因及合并症。收集患者入院后72 h内的临床参数。其中血乳酸使用电极法测定;C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)采用免疫比浊法测定;并计算急性生理与慢性健康评分系统 II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, APACHE II)及序贯器官衰竭评估评分(Sequential Organ Failure Assessment, SOFA)。

### 1.2.2 SI-AKI分期

监测患者入院后每小时的尿量,并采用酶法检测患者预设时间点的血肌酐水平,依据KDIGO标准进行分期。

### 1.2.3 血NGAL, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 和IL-10的检测

按照预设时间点留取抗凝血液标本3 mL, 3 000 g离心15 min后分离血浆保存于-80 $^{\circ}$ C待测。应用NGAL、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-10酶联免疫

吸附法(ELISA)测定。NGAL试剂盒购自于美国R&D公司, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-10试剂盒购自于武汉华美生物工程有限公司。

### 1.3 统计方法

数据采用SPSS 23.0软件分析;计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间均数比较采用单因素方差分析;计数资料采用 $n(\%)$ ;各指标间的关系应用双侧Pearson检验行一元线性相关分析,诊断试验采用受试者工作特征曲线下面积AUC评估炎症因子对SI-AKI的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 脓毒症病不同时期临床参数比较

血肌酐水平及SOFA、APACHE II评分在KDIGO 1-3期均显著升高,而尿量在SI-AKI的各期中显著降低,与non-AKI期相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 脓毒症病人不同时期临床参数的比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

参数	non-AKI	KDIGO1	KDIGO2	KDIGO3	F值	P值
平均动脉压(mmHg)	76.31 $\pm$ 12.25	80.02 $\pm$ 9.73	86.50 $\pm$ 8.43	82.35 $\pm$ 12.32	0.862	0.612
心率(bpm)	112.33 $\pm$ 30.25	118.46 $\pm$ 25.87	125.00 $\pm$ 32.65	130.42 $\pm$ 26.76	2.648	0.243
乳酸(mmol/l)	2.20 $\pm$ 1.03	3.46 $\pm$ 1.08	3.51 $\pm$ 1.69	3.41 $\pm$ 1.07	2.763	0.092
呼吸机辅助呼吸	21(43.75)	13(56.52)	16(59.26)	23(54.76)	-	0.844
呋塞米(20mg/次)	7(9.72)	6(13.33)	10(18.86)	50(71.42)	-	0.026
肌酐( $\mu$ mol/l)	44.84 $\pm$ 26.37	96.56 $\pm$ 22.27	148.53 $\pm$ 48.24	315.46 $\pm$ 40.38	92.443	0.000
尿量(ml/h)	71.82 $\pm$ 18.46	56.77 $\pm$ 15.32	52.76 $\pm$ 13.35	10.31 $\pm$ 8.16	40.712	0.000
CRP(mg/L)	128.77 $\pm$ 54.28	176.25 $\pm$ 20.08	187.26 $\pm$ 39.81	165.27 $\pm$ 34.55	2.648	0.069
APACHEII	17.21 $\pm$ 3.98	17.46 $\pm$ 2.89	17.88 $\pm$ 3.08	24.51 $\pm$ 6.92	4.553	0.014
SOFA	7.669 $\pm$ 2.16	13.69 $\pm$ 1.88	14.46 $\pm$ 4.21	14.51 $\pm$ 3.87	8.463	0.001

### 2.2 血中TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平对SI-AKI的预测价值

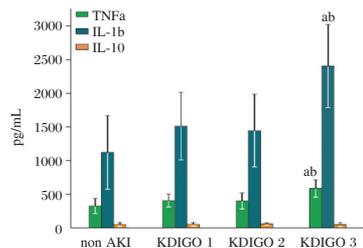
伴随SI-AKI的出现, TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 水平均呈现出了升高趋势,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );IL-1 $\beta$ 水平的升高程度略高于TNF- $\alpha$ ,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。KDIGO 3期的TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 水平与KDIGO 1-2期相比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。KDIGO 1-2期的TNF- $\alpha$ 及IL-1 $\beta$ 水平与non-AKI期相比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表3。

结果显示TNF $\alpha$ 预测KDIGO 3期发生的AUC

是0.897,血浆TNF- $\alpha$  > 416.77 pg/mL预测的敏感性为86.7%,特异性为73.4%。IL-1 $\beta$ 预测KDIGO 3期发生的AUC为0.909,血浆IL-1 $\beta$  > 1766.43 pg/mL预测的敏感性为87.8%,特异性为76.7%。而该期SCr的AUC是0.826, SCr > 316.26  $\mu$ mol/L预测KDIGO 3期的敏感性为74.4%,特异性为81.0%。在入院后的72 h内IL-10的水平无显著变化, SI-AKI各时期(KDIGO 1-3)的IL-10水平与non-AKI期相比差异无统计学意义( $P < 0.05$ )。见图1、图2。

表3 SI-AKI不同时期炎症因子及NGAL水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

参数(pg/mL)	non-AKI	KDIGO 1	KDIGO 2	KDIGO 3	F值	P值(组间)
TNF- $\alpha$	303.57 $\pm$ 108.52	415.31 $\pm$ 97.45	406.76 $\pm$ 109.57	567.88 $\pm$ 126.50	7.099	0.001
IL-1 $\beta$	1044.18 $\pm$ 521.46	1482.61 $\pm$ 489.84	1468.32 $\pm$ 506.41	22.02.55 $\pm$ 578.73	7.688	0.001
IL-10	49.97 $\pm$ 29.38	52.74 $\pm$ 25.98	57.39 $\pm$ 17.95	47.11 $\pm$ 30.24	0.705	0.554
NGAL	212.03 $\pm$ 62.42	248.52 $\pm$ 56.96	278.24 $\pm$ 68.82	423.55 $\pm$ 71.63	15.614	0.000



注:与 non-AKI 相比, <sup>a</sup> $P < 0.001$ ; 与 KDIGO 1 或 KDIGO 2 相比, <sup>b</sup> $P < 0.01$

图1 脓毒症病人 SI-AKI 不同时期 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-10 水平比较

Figure 1 Comparison of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 levels in patients with sepsis at different stages of SI-AKI

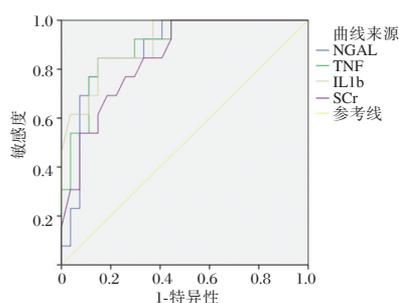


图2 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、NGAL 及 SCr 对重度 SI-AKI 的预测价值

Figure 2 Predictive value of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , NGAL and SCr for severe SI-AKI

### 2.3 NGAL 对 SI-AKI 的预测价值及与炎症因子的相关性分析

预测 KDIGO 3 发生的 AUC 为 0.883, NGAL > 284.32 pg/mL 预测 KDIGO 3 的敏感性为 85.2%, 特异性为 86.6%。NGAL 与 TNF- $\alpha$  及 IL-1 $\beta$  均显著正相关 (TNF- $\alpha$   $r = 0.949$ , IL-1 $\beta$   $r = 0.931$ ,  $P < 0.05$ ), 而与 IL-10 无相关性 ( $r = 0.245$ ,  $P > 0.05$ )。见图 3。

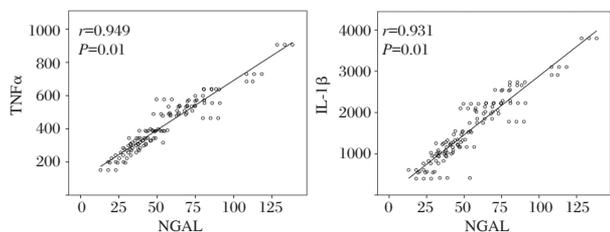


图3 SI-AKI 病人血中 NGAL 与 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平有着良好的相关性

Figure 3 Plasma NGAL correlated well with TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  levels in patients with SI-AKI

### 3 讨论

急性肾损伤是脓毒症常见的合并症,接近 70% 的危重症病人会出现急性肾损伤,并导致死亡率明

显增加<sup>[10]</sup>。近年来的研究表明炎症反应导致的肾小管上皮细胞的坏死、凋亡和自噬反应可能是其主要机制<sup>[11]</sup>。众多炎症因子参与了肾组织中白细胞的趋化、聚集及激活,这将导致炎症反应的传播和放大及肾小管上皮细胞的损伤,从而出现了 SI-AKI<sup>[12]</sup>。在组织感染引发脓毒症时,最早出现的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  为核心致炎因子,并与 IL-10 等抗炎因子相抗衡,与肾损伤密切相关<sup>[2]</sup>。因此,监测炎症因子水平可能对 SI-AKI 具有预测、诊断和判定预后的价值。

方红龙的研究报道了血中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 的水平与 SI-AKI 病人的肾脏替代治疗及死亡率具有良好的相关性<sup>[13-14]</sup>,提示炎症因子水平与重度肾损伤及恶性预后有关。本研究观察了脓症患者 72 小时内 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10 的水平与 SI-AKI 发生、发展的关系,所得结果与以往研究有所不同。笔者发现致炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的水平与 KDIGO 3 期关系密切,且两者的预测价值相近,均较血肌酐更加灵敏,显示了对重度肾损伤时期有着良好的诊断价值;但 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平在轻度肾损伤时期,也就是 KDIGO 1-2 期,并未出现明显的升高。这一观察结果表明在促进 SI-AKI 发生、发展的众多因素中,炎症反应可能并不是肾损伤启动的主要原因,而是导致损伤进展、恶化的关键因素。抑制炎症反应可能会避免肾功能持续下降及肾脏替代治疗,并可能降低病死率。此外,IL-10 在 SI-AKI 的不同时期与 non-AKI 期相比,差异均无显著性,提示抗炎反应在 SI-AKI 的发生、发展中的作用还需要进一步研究和讨论。

血中致炎因子对 SI-AKI 有着良好的预测价值,也提示应寻找适合临床开展的检测指标来反应炎症因子水平。NGAL 属于脂质运载蛋白家族,不仅与肾脏的发育有关,还与肾小管损伤程度密切相关,因其能够作为 AKI 的早期生物学标志物而被临床广泛关注<sup>[15]</sup>。本研究结果表明 NGAL 与血中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平密切相关,监测 NGAL 水平将有助于评价 SI-AKI 患者的全身炎症反应状态,值得进一步研究探讨。

综上所述,脓症患者血中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平可作为 SI-AKI 发生发展的预测指标,对重度 SI-AKI 有着良好的预测价值,但 IL-10 未发现有着相应的诊断价值。此外,NGAL 水平与 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  密切相关,监测 NGAL 有助于跟踪和评估炎症反应状态及肾损伤的进展。

(下转第 42 页)

## TGF- $\beta$ 1、Smad7及VEGF在脑胶质瘤中表达及与病理特征、预后的关系

谢云鹏<sup>1</sup> 柳新<sup>2</sup> 刘兵<sup>1</sup> 于淼<sup>1</sup> 呼铁民<sup>1\*</sup>

**[摘要]** 目的 分析转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)、Smad-7及血管内皮生长因子(VEGF)在脑胶质瘤中表达及与病理特征、预后的关系。方法 收集57例2017年5月至2019年1月于本院神经外科行肿瘤切除术的胶质瘤患者,据预后情况分为生存组( $n=41$ )及死亡组( $n=16$ )。同时选取50例无任何肿瘤性疾病的脑外伤患者的新鲜脑组织,作为对照组。分析TGF- $\beta$ 1、Smad7及VEGF与脑胶质瘤患者各病理参数的相关性,采用多元Logistic回归分析影响脑胶质瘤患者预后生存的危险因素,绘制Kaplan-Meier生存曲线研究TGF- $\beta$ 1、Smad7及VEGF对患者预后生存的影响。结果 实验组TGF- $\beta$ 1、Smad7、VEGF高表达率较对照组高( $P<0.05$ )。TGF- $\beta$ 1、Smad7及VEGF表达与脑胶质瘤患者组织分化程度、WHO分级有显著相关性( $P<0.05$ )。死亡组TGF- $\beta$ 1、Smad7、VEGF高表达率较生存组高( $P<0.05$ )。组织中低分化、WHO分级:Ⅲ+Ⅳ级、TGF- $\beta$ 1、VEGF及Smad7高表达是影响脑胶质瘤患者预后生存的独立危险因素( $P<0.05$ )。TGF- $\beta$ 1低表达组、Smad7低表达组、VEGF低表达组平均生存时间较高表达组长( $P<0.05$ )。结论 TGF- $\beta$ 1、Smad7、VEGF在脑胶质瘤患者中呈高表达状态,可VEGF在脑胶质瘤中低表达TGF- $\beta$ 1、Smad7蛋白高表达及VEGF蛋白低表达参与脑胶质瘤临床生物学进展,并与患者预后生存关系密切。

**[关键词]** TGF- $\beta$ 1; Smad7; VEGF; 脑胶质瘤

### Expression of TGF- $\beta$ 1, Smad-7 and VEGF in glioma and their relationship with pathological characteristics and prognosis

XIE Yunpeng<sup>1</sup>, LIU Xin<sup>2</sup>, LIU Bing<sup>1</sup>, YU Miao<sup>1</sup>, HU Tiemin<sup>1\*</sup>

(1. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000; 2. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), Smad-7 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in glioma and their relationship with pathological characteristics and prognosis. **Methods** The tumor tissues of 60 patients with glioma who underwent tumor resection in the Department of Neurosurgery of the Affiliated Hospital of Chengde Medical College from May 2017 to November 2019 were collected. In the end, 57 patients meeting the inclusion and exclusion criteria of this study were regarded as the experimental group. According to the prognosis during the follow-up period, they were divided into survival group ( $n=41$ ) and death group ( $n=16$ ). At the same time, 50 fresh brain tissues of brain trauma patients without any tumor diseases were selected as the control group. The expressions of TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF in the experimental group and the control group were compared. The correlation between TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF and the pathological parameters of patients with glioma was analyzed,

基金项目:承德市科学技术研究与发展计划项目(201804A035)

作者单位:1.承德医学院附属医院神经外科,河北,承德 067000

2.承德医学院附属医院肿瘤科,河北,承德 067000

\*通信作者:呼铁民, E-mail:cyfysjwk1@163.com

and the survival and death of all patients with glioma during the follow-up period were recorded. Multivariate Logistic regression was used to analyze the risk factors that affect the prognosis of patients with glioma, and the Kaplan-Meier survival curve was drawn to study the effects of TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF on the prognosis of patients. **Results** The high expression rate of TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF in the experimental group was higher than that in the control group ( $P<0.05$ ). The expression of TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF was significantly correlated with the degree of tissue differentiation and WHO classification in patients with glioma ( $P>0.05$ ). The high expression rate of TGF- $\beta$ 1, VEGF and Smad7 in the death group were higher than those in the survival group ( $P<0.05$ ). Poorly differentiated tissue, TNM staging: III+IV, high expression of TGF- $\beta$ 1, VEGF, and Smad7 were independent risk factors affecting the prognosis survival of patients with glioma ( $P<0.05$ ). The average survival time of TGF- $\beta$ 1 low expression group, Smad7 low expression group and VEGF low expression group was longer than that of low expression group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF are highly expressed in patients with glioma. The high expression of TGF- $\beta$ 1, Smad7 and VEGF protein are involved in the clinical biological progress of glioma, and are closely related to the prognosis and survival of patients.

[KEY WORDS] TGF- $\beta$ 1; Smad7; VEGF; Glioma

脑胶质瘤(brain gliomas)是最常见的发生于神经外胚层的上皮性原发性颅内肿瘤,早期诊断与治疗对于改善患者预后具有重要的意义<sup>[1]</sup>。转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1)可促进肿瘤细胞的恶性转化、增殖、浸润和转移,而 Smad-7(small mothers against add-7)在 TGF- $\beta$ 1 信号途径的反馈及交叉调控中起关键作用。此外,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)具有促进血管新生的作用。既往均存在对 TGF- $\beta$ 1、Smad7、VEGF 在胶质瘤中的表达及其意义的相关研究<sup>[2]</sup>,本研究通过探讨其在胶质瘤发生发展中的作用及其相互关系,为临床治疗提供新思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集 57 例 2017 年 5 月至 2019 年 1 月于承德医学院附属医院神经外科行肿瘤切除术的胶质瘤患者的肿瘤组织作为实验组,纳入标准:①经病理检查均确诊为脑胶质瘤<sup>[3]</sup>;②所有入选患者的胶质瘤均为原发,术前均未接受过放疗和化疗;排除标准:①合并血液疾病者;②存在其他恶性肿瘤者;③合并风湿免疫及结缔组织病变者。据预后情况分为生存组( $n=41$ )及死亡组( $n=16$ )。

同时选取 50 例同期于本院行内减压手术的经电子计算机断层扫描等影像学检测证实无任何肿瘤性疾病的脑外伤患者的正常脑组织,作为对照组。实验组与对照组一般资料比较差异无

统计学意义,具有可比性( $P>0.05$ )。本研究经本院医学伦理委员会批准通过,所有家属均签署知情同意书。

### 1.2 实验方法

主要试剂:鼠抗人 TGF- $\beta$ 1 单克隆抗体、兔抗人 Smad7 多克隆抗体及 SABC 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,鼠抗人 VEGF 单克隆抗体、通用型链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin peroxidase, SP)试剂盒、3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)试剂盒购于北京中山生物技术有限公司。

检查步骤:标本 4  $\mu$ m 连续 3 张切片,切片脱蜡水化,抗原修复 15 min,3% 双氧水室温孵育,再用 10% 正常山羊血清室温封闭 10 min。加一抗工作液 4 $^{\circ}$ C 过夜,第 2 天加二抗室温孵育,再加 SP 室温孵育,最后镜下控制 DAB 显色,苏木精对比染色,脱水,透明,中性树脂封固,镜下观察,计数评分,拍照。

结果判定标准<sup>[4-5]</sup>:采用 Volm 双评分法进行判定,在染色均匀的肿瘤区,选取 5 个高倍镜视野( $\times 400$ )综合染色阳性细胞数与染色强度判断结果:阴性(-):0 分,弱阳性(+):1~2 分,中度阳性(++):3~4 分,强阳性(+++):5~6 分,以(-)及(+)作为弱表达,(++)及(+++)作为强表达。

### 1.3 随访方法

本研究随访从患者术后开始,直至患者死亡或本研究的随访结束;随访方式以来院复查为主(特殊情况采用电话随访);总生存时间表示患者从手术治疗至死亡的时长<sup>[6]</sup>。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行统计分析,计数资料以n(%)表示,采用χ<sup>2</sup>检验;采用多元Logistic回归分析影响脑胶质瘤患者预后生存的危险因素,Kaplan-Meier生存曲线分析TGF-β1、Smad7及VEGF与患者预后生存的关系。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

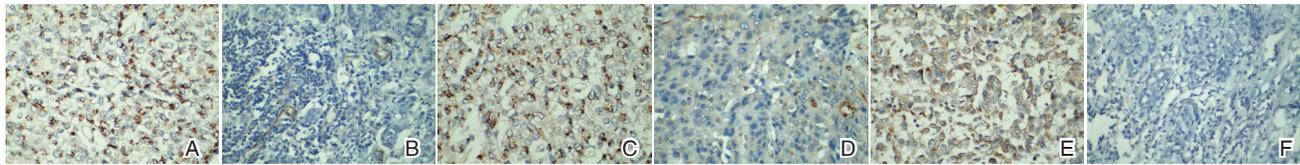
### 2.1 TGF-β1、Smad7及VEGF表达情况

实验组TGF-β1、Smad7及VEGF高表达率较对照组高,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1、图1。

表1 实验组与对照组TGF-β1、Smad7及VEGF表达比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of TGF-β1, Smad7 and VEGF expression between the two groups [n(%)]

组别	n	TGF-β1		Smad7		VEGF	
		低表达	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达
实验组	57	12(21.05)	45(78.95)	17(29.82)	40(70.18)	14(24.56)	43(75.44)
对照组	50	44(88.00)	6(12.00)	39(78.00)	11(22.00)	40(80.00)	10(20.00)
χ <sup>2</sup> 值		47.856		17.952		32.748	
P值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A为TGF-β1高表达;B为TGF-β1低表达;C为Smad7高表达;D为Smad7低表达;E为VEGF高表达;F为VEGF低表达。

图1 TGF-β1、Smad7和VEGF在脑胶质瘤组织免疫组化实验图(SP,×400)

Figure 1 Immunohistochemical study of TGF-β1, Smad7 and VEGF in gliomas (SP, ×400)

表2 TGF-β1、Smad7及VEGF与脑胶质瘤患者不同病理参数的关系 [n(%)]

Table 2 Relationship between TGF-β1, Smad7, VEGF and different pathological parameters in patients with glioma [n(%)]

病理参数	例数 (n=57)	TGF-β1				Smad7				VEGF				
		低表达 (n=12)	高表达 (n=45)	χ <sup>2</sup> 值	P值	低表达 (n=40)	高表达 (n=17)	χ <sup>2</sup> 值	P值	低表达 (n=14)	高表达 (n=43)	χ <sup>2</sup> 值	P值	
性别	男	30	6(20.00)	24(80.00)	0.04	0.83	7(23.33)	23(76.67)	1.27	0.25	7(23.33)	23(76.67)	0.052	0.820
	女	27	6(22.22)	21(77.78)	2	7	10(37.04)	17(62.96)	5	9	7(25.93)	20(74.07)		
年龄(岁)	<50	29	6(20.69)	23(70.31)	0.00	0.94	19(31.03)	20(68.97)	0.01	0.90	8(27.59)	21(72.41)	0.292	0.589
	≥50	28	6(21.43)	22(78.57)	5	5	18(28.57)	20(71.43)	4	6	6(21.43)	22(78.57)		
组织分化	高分化	32	10(31.25)	22(68.75)	4.56	0.03	15(46.87)	17(53.13)	10.1	0.00	3(9.38)	29(90.62)	9.081	0.003
	中低分化	25	2(8.00)	23(92.00)	5	3	2(8.00)	23(92.00)	34	1	11(44.00)	14(56.00)		
WHO分期	I+II	34	11(32.35)	23(67.65)	6.47	0.01	16(47.06)	18(52.94)	11.9	0.00	12(35.29)	22(64.71)	5.238	0.022
	III+IV	23	1(4.35)	22(95.65)	4	1	1(4.35)	22(95.65)	58	1	2(8.70)	21(91.30)		
肿瘤部位	小脑幕下	31	7(22.58)	24(77.42)	0.09	0.75	8(25.81)	23(74.19)	0.52	0.46	8(25.81)	23(74.19)	0.057	0.812
	小脑幕上	26	5(19.23)	21(80.77)	5	7	9(34.62)	17(65.38)	4	9	6(23.08)	20(76.92)		
瘤体最长径(cm)	≤3	30	7(23.33)	22(76.67)	0.26	0.60	9(30.00)	21(70.00)	0.00	0.97	8(26.67)	22(73.33)	0.151	0.697
	>3	27	5(18.52)	22(81.48)	2	9	8(29.63)	19(70.37)	1	6	6(22.22)	21(77.78)		

### 2.2 TGF-β1、Smad7及VEGF表达与脑胶质瘤不同病理参数的关系

TGF-β1、Smad7及VEGF表达与脑胶质瘤患者组织分化程度、WHO分级有显著相关性(P<0.05),见表2。

### 2.3 生存组与死亡组TGF-β1、Smad7及VEGF表达比较

死亡组TGF-β1、Smad7及VEGF高表达率较生存组高,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

### 2.4 影响脑胶质瘤患者预后生存的单、多因素分析

组织中低分化、WHO分级:III+IV级和TGF-β1、VEGF高表达及Smad7高表达是影响脑胶质瘤患者预后生存的独立危险因素(P<0.05)。见表4。

### 2.5 TGF-β1、Smad7及VEGF与患者预后生存的相关性分析

TGF-β1低表达组、Smad7低表达组、VEGF低表达组平均生存时间较高表达组长,差异有统计学意义(P<0.05)。见图2。

表3 生存组与死亡组 TGF-β1、Smad7 及 VEGF 表达比较 [n(%)]

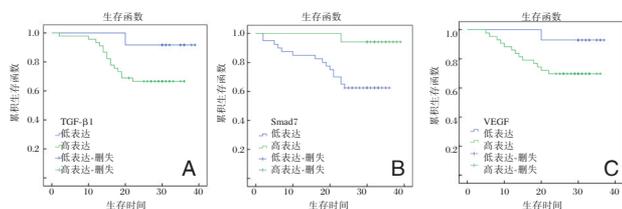
Table 3 Comparison of TGF-β1, Smad7 and VEGF expression between survival group and death group [n(%)]

组别	n	TGF-β1		Smad7		VEGF	
		低表达	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达
死亡组	16	0(0.00)	16(100.00)	1(6.25)	15(93.75)	1(6.25)	15(93.75)
生存组	41	12(29.27)	31(75.61)	16(39.02)	25(60.98)	13(31.71)	28(68.29)
χ <sup>2</sup> 值		5.605		5.907		4.025	
P值		0.018		0.015		0.045	

表4 影响脑胶质瘤患者预后生存的单、多因素分析

Table 4 Univariate and multivariate analysis of prognosis and survival in patients with glioma

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
分化程度(中低分化 vs 高分化)	1.094	0.593	0.024	0.941	0.123	0.007
WHO 分级(Ⅲ级+Ⅳ级 vs I+Ⅱ级)	1.432	0.341	0.008	0.989	0.261	0.004
TGF-β1(高表达 vs 低表达)	0.996	0.331	0.036	0.916	0.416	<0.001
Smad7(高表达 vs 低表达)	1.258	0.132	0.017	0.766	0.341	<0.001
VEGF(高表达 vs 低表达)	1.529	0.264	0.006	0.923	0.258	<0.001



注: A 为 TGF-β1 表达与患者预后生存的相关性分析; B 为 Smad7 表达与患者预后生存的相关性分析; C 为 VEGF 表达与患者预后生存的相关性分析。

图2 TGF-β1、Smad7 及 VEGF 表达情况下 Kaplan-meier 生存曲线图

Figure 2 different TGF-β1, smad7 and VEGF expression situation-meier survival curves

### 3 讨论

研究发现,胶质瘤的发生、发展是许多基因及细胞因子共同作用的结果,故开发脑胶质瘤早期诊断的标记物成为目前治疗胶质瘤研究的方向<sup>[7]</sup>。

TGF-β 在调节多种类型细胞的分化、增殖、凋亡、粘附和细胞外基质的合成中发挥重要的作用;同时还具有抗炎、抑制免疫,影响血细胞生成、血管生成、细胞趋化等功能<sup>[8]</sup>。既往研究显示,肿瘤细胞中 TGF-β 的过表达可造成免疫功能障碍,使肿瘤细胞逃避机体的免疫排斥;同时还可促进血管内皮细胞增生,有利于肿瘤组织血管形成<sup>[9]</sup>。Shima D T 等<sup>[10]</sup>对不同级别膀胱癌的免疫组化分析发现,TGF-β1 在不同级别膀胱组织中表达呈上升趋势,这与本研究结果相似,提示其在脑胶质瘤的发生、发展及预后中有着重要的影响。Smad7 是

TGF-β 作用的靶基因之一,临床研究显示,其可通过竞争性抑制 R-Smad 与转化生长因子受体的结合,阻断 R-Smad 磷酸化;另外,Smad7 还可通过泛素化作用及促进 TGF-β 受体的降解,抑制 TGF-β 信号的传递<sup>[11]</sup>。Jiang 等<sup>[12]</sup>分别对肝细胞癌及胃癌组织 Smad7 的表达情况进行了检测,在两种肿瘤中,Smad7 的表达均增加,这与本研究结果相似,进一步证实 Smad7 的过表达是促进肿瘤细胞生长的重要机制。VEGF 是目前已知作用最强、专属性最高的促血管生长因子,其对内皮细胞的增生有强烈的刺激作用,可增加血管通透性,加速肿瘤血管内皮细胞的增殖和迁移,进而促进肿瘤血管形成<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,在脑胶质瘤患者中 VEGF 低表达组平均生存时间长于高表达组,提示 VEGF 在肿瘤转移及侵袭力的增加方面发挥着重要作用。

此外,本研究采用多元 Logistic 回归分析结果显示,组织中低分化、WHO 分级:Ⅲ+Ⅳ级、TGF-β1、VEGF 高表达及 Smad7 低表达是影响脑胶质瘤患者预后生存的独立危险因素,提示临床治疗中需加强对合并高危因素患者的干预,以改善患者预后,提高生存时限<sup>[14]</sup>。

综上,TGF-β1、Smad7、VEGF 在脑胶质瘤患者中高表达,可参与脑胶质瘤临床生物学进展,并与患者预后生存关系密切。

### 参考文献

[1] 冯毅,黄琦丹,陈家康.抑制 TC-1 表达对胶质瘤细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响[J].医学分子生物学杂志,2019,15(5):474-477.

- [2] 骆春林, 骆曼, 李灵毅. 系统规范化心理护理对脑胶质瘤患者应激状况及生活质量的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2018, 15(6):65-67.
- [3] Graziano F, Bavisotto CC, Gammazza A, et al. Chaperonology: The Third Eye on Brain Gliomas[J]. Brain sci, 2018, 8(6):110-115.
- [4] Anzalone N, Castellano A, Cadioli M, et al. Brain Gliomas: Multicenter Standardized Assessment of Dynamic Contrast-enhanced and Dynamic Susceptibility Contrast MR Images [J]. Radiology, 2018, 56(15):170362.
- [5] Bangalore YCG, Shah BR, Yu FF, et al. A novel fully automated MRI-based deep-learning method for classification of 1p/19q co-deletion status in brain gliomas [J]. Neuro Oncol Adv, 2020, 26(15):1-6.
- [6] Keski-Oja J, Koli K. Transforming Growth Factor-Beta[M]. Encyclopedia of Cancer. 2017, 54(46):1645-1649.
- [7] 军伟, 唐晓平, 张涛, 等. 精确放疗联合替莫唑胺化疗脑胶质瘤术后残留病灶近期效果观察[J]. 解放军医药杂志, 2018, 30(5):38-41.
- [8] Fu M, Han F, Feng C, et al. Based on arterial spin labeling helps to differentiate high-grade gliomas from brain solitary metastasis: A systematic review and meta-analysis [J]. Medicine, 2019, 98(19):15578-15580.
- [9] 李奕彤, 郭文昌, 张勇乾, 等. 高级别脑胶质瘤患者术后应用调强适形放疗联合替莫唑胺化疗的临床效果, 近期预后及对血清标志物的影响[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(12):38-43.
- [10] Shima DT, Gougos A, Miller JW, et al. Cloning and mRNA expression of vascular endothelial growth factor in ischemic retinas of Macaca fascicularis [J]. Invest Ophthalmol Vis sci, 2018, 37(7):1334-1335.
- [11] Hamdi H, Abid-Essefi S, Eyer J. Cytotoxic and genotoxic effects of epoxiconazole on F98 glioma cells [J]. Chemosphere, 2019, 229(29):314-323.
- [12] Jiang J, Bai L, Zhang X, et al. Diffusion Weighted Imaging of Brain Gliomas in the Differential Diagnosis Value [J]. Iran J Public Health, 2020, 26(46):1643-1647.
- [13] 申荣华, 谢静, 刘燕, 等. HIF-1 $\alpha$ 、VEGF及TIMP与心脏瓣膜置换术后并发压力性损伤的相关性研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10):1367-1370.
- [14] Zucker S, Mirza H, Conner CE, et al. Vascular endothelial growth factor induces tissue factor and matrix metalloproteinase production in endothelial cells: conversion of prothrombin to thrombin results in progelatinase A activation and cell proliferation [J]. Thorac Cardiovasc Surg 2017, 65(5):403-409.

(上接第37页)

## 参考文献

- [1] 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.
- [2] Anderberg SB, Luther T, Frithiof R. Physiological aspects of Toll-like receptor 4 activation in sepsis-induced acute kidney injury[J]. Acta Physiol (Oxf), 2017, 219(3): 573-588.
- [3] Girardot T, Schneider A, Rimmelé T. Blood Purification Techniques for Sepsis and Septic AKI [J]. Semin Nephrol, 2019, 39(5): 505-514.
- [4] Zhu L, Shi D. [Early diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and interleukin-18 in patients with sepsis-induced acute kidney injury [J]. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 2016, 28(8): 718-722.
- [5] 刘立志, 曾梦君, 蒋继贫. NGAL、KIM-1 和 PCT 在脓毒症 AKI 中的标志物作用[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(03): 1408-1413.
- [6] 王海霞, 牟洪宾, 於江泉, 等. NGAL、KIM-1、TIMP-2 对脓毒症所致 AKI 早期诊断价值的前瞻性临床队列研究[J]. 中华重症医学电子杂志(网络版), 2019, 5(2): 120-126.
- [7] 王彩纹, 王小中. 急性肾损伤早期的分子标志物——NGAL[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 1(2): 125-128.
- [8] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-10.
- [9] Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury[J]. Nephron Clin Pract, 2012, 120(4): c179-84.
- [10] Wald R, McArthur E, Adhikari NK, et al. Changing incidence and outcomes following dialysis-requiring acute kidney injury among critically ill adults: a population-based cohort study[J]. Am J Kidney Dis, 2015, 65(6): 870-7.
- [11] Gomez H, Ince C, De Backer D, et al. A unified theory of sepsis-induced acute kidney injury: inflammation, microcirculatory dysfunction, bioenergetics, and the tubular cell adaptation to injury[J]. Shock, 2014, 41(1): 3-11.
- [12] Castoldi A, Braga TT, Correa-Costa M, et al. TLR2, TLR4 and the MYD88 signaling pathway are crucial for neutrophil migration in acute kidney injury induced by sepsis. PLoS One, 2012, 7(5): e37584.
- [13] 方红龙, 陈梅琴, 王丹琼, 胡建华, 罗建, 张伟文. 脓症患者血炎症细胞因子水平对急性肾损伤发生的预测价值[J]. 现代实用医学, 2019, 31(9): 1160-1162+1283.
- [14] 郭皓, 栾玉杰. 脓毒症急性肾损伤 Toll 样受体 4 及炎症因子表达和临床意义[J]. 中国综合临床, 2015, (4): 295-298.
- [15] 杨俊生, 覃学勇, 王军. 急性肾损伤的早期生物学标志物的研究现状[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(8):1057-1060.

## D-D、FIB 及 PAI-1 在创伤性脊柱骨折表达及术后静脉血栓的预测

陈昌礼 银保 徐德兴 陈硕\*

**[摘要]** **目的** 探讨D-二聚体(D-D)、纤维蛋白原(FIB)及纤溶酶元激活物抑制剂(PAI-1)在创伤性脊柱骨折中的表达及对术后静脉血栓事件的预测价值。**方法** 选取2017年3月至2020年3月本院接收的100例创伤性脊柱骨折患者设为研究组,选取同期并将同期检查的78例健康人群设为对照组。根据是否发生静脉血栓事件将发生静脉血栓的患者设为A组( $n=56$ ),未发生静脉血栓的患者设为B组( $n=44$ )。收集所有研究对象的一般资料,比较各组D-D、FIB及PAI-1差异;统计创伤性脊柱骨折术后发生静脉血栓事件情况;采用ROC曲线分析D-D、FIB及PAI-1及三者联合对创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件的预测价值,采用Logistic回归分析影响创伤性脊柱骨折术后出现静脉血栓事件的危险因素。**结果** 研究组患者D-D、FIB及PAI-1水平明显高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );100例患者中有56例出现术后静脉血栓事件,发生率为56.00%;A组患者D-D、FIB及PAI-1水平明显高于B组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );高血压、基础疾病、手术时间、D-D、FIB、PAI-1为影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的单因素( $P<0.05$ );有高血压病史、基础疾病 $\geq 2$ 种、D-D、FIB及PAI-1异常升高为影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的独立危险因素( $P<0.05$ )。D-D曲线下面积为0.693,FIB曲线下面积为0.828,PAI-1曲线下面积为0.901,三者联合曲线下面积为0.947,在D-D、FIB、PAI-1指标中,以联合检测下面积值最大。**结论** D-D、FIB及PAI-1水平检测创伤性脊柱骨折中术后出现静脉血栓事件具有重要价值,临床可根据其指标进行相关监测。

**[关键词]** D-D; FIB; PAI-1; 创伤性脊柱骨折

### Expression of D-D, FIB and PAI-1 in traumatic spinal fractures and its predictive value for postoperative venous thrombosis

CHEN Changli, YIN Bao, XU Dexing, CHEN Shuo\*

(Department of Orthopedics, Dujiangyan People's Hospital, Dujiangyan, Sichuan, China, 611830)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the expression of D-dimer (D-D), fibrinogen (FIB) and plasmin activator inhibitor (PAI-1) in traumatic spinal fractures and their predictive value for postoperative venous thrombosis. **Methods** The 100 patients with traumatic spine fractures treated in our hospital from March 2017 to March 2020 were selected as the study group. 78 healthy people examined during the same period were set as the control group. According to whether a venous thrombosis event occurred, patients with venous thrombosis were set as group A ( $n=56$ ), and patients without venous thrombosis were set as group B ( $n=44$ ). The general data of all patients were collected, and the differences between the two groups in D-D, FIB and PAI-1 were compared. The occurrence of venous thrombosis after traumatic spine fracture was counted. The ROC curve was used to analyze the predictive value of D-D, FIB and PAI-1 and the combination of them for venous thrombotic events after traumatic spine fractures, and Logistic regression was used to analyze the risk factors of venous thrombosis after traumatic spinal fracture. **Results** The levels of D-D, FIB and PAI-1 in the study group were significantly higher than those in the control group, and the difference was

基金项目:四川省卫生和计划委员会科研课题(1702569)

作者单位:都江堰市人民医院骨科,四川,都江堰 611830

\*通信作者:陈硕, E-mail:2674722589@qq.com

statistically significant ( $P<0.05$ ). In the 100 patients, 56 had postoperative venous thrombosis events. The incidence was 56.00%. The levels of D-D, FIB, and PAI-1 in group A were significantly higher than those in group B, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Hypertension, underlying diseases, operation time, D-D, FIB, and PAI-1 are single factors that affect the occurrence of venous thrombosis after traumatic spinal fracture surgery ( $P<0.05$ ). The history of hypertension, underlying diseases  $\geq 2$  types, abnormal increasing of D-D, FIB and PAI-1 were independent risk factors affecting the occurrence of venous thrombosis after traumatic spinal fracture ( $P<0.05$ ). The area under the D-D curve was 0.693, the area under the FIB curve was 0.828, the area under the PAI-1 curve was 0.901, and the area under the combined curve was 0.947. Among the D-D, FIB, and PAI-1 indicators, the area under the combined curve was the largest.

**Conclusion** D-D, FIB and PAI-1 levels are of great value in detecting venous thrombosis in patients with traumatic spine fractures, and clinical monitoring can be carried out based on their indicators.

**[KEY WORDS]** D-dimer; FIB; PAI-1; Traumatic spinal fracture

脊椎骨折是创伤外科中常见的疾病,其常合并脊髓损伤,具有较高的致残性;多数患者只能长期卧床,易引发泌尿系感染、胃肠功能紊乱等多种并发症,对患者身体健康造成严重影响<sup>[1]</sup>。手术治疗是现临床的主要方式,但研究发现其术后易发生不同程度的静脉血栓事件,发病率高达52%以上,是威胁患者生命的潜在影响因素<sup>[2]</sup>。因此,如何保障创伤性脊柱骨折手术治疗的有效性,降低术后静脉血栓事件的发生成为广大临床工作者研究的热点<sup>[3]</sup>。D-二聚体(D-Dimer, D-D)是目前临床发现可激发纤溶的分子标志物,其作为交联纤维蛋白的降解产物,与肺栓塞、深静脉血栓等凝血疾病息息相关<sup>[4]</sup>。纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)是重要的凝血因子之一,在血液凝固过程中具有重要作用;而相关研究发现,静脉血栓事件与纤溶酶元激活物抑制剂(Plasminogen activator inhibitor type-1, PAI-1)表达具有相关性<sup>[5]</sup>。本文对D-D、FIB及PAI-1在创伤性脊柱骨折中的表达及对术后静脉血栓事件的预测价值进行分析,报道如下:

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年3月至2020年3月本院收治的100例接受手术治疗的创伤性脊柱骨折患者作为研究组。其中男58例,女42例,平均(67.41±5.71)岁。纳入标准:①所有患者均为外伤所致,经临床表现,实验室检查确诊,符合中华创伤骨科诊断标准<sup>[6]</sup>;②临床资料完整且真实者;③均予以手术治疗;排除标准:①存在其他部位骨折或有陈旧性骨折者;②存在凝血功能障碍者;③近期予以激素等药物治疗影响凝血者;④合并急性慢性感染性疾

病及恶性肿瘤患者;⑤合并严重肝肾疾病者。

选取同期检查的78例健康人群设为对照组,男44例,女34例,平均(67.69±5.75)岁。两组基线资料比较差异无统计学意义,具有可比性( $P>0.05$ )。本研究经医院伦理委员会批准,受试者签署知情同意书。

### 1.2 研究方法

入院后抽取受检者次日清晨空腹静脉血3 mL,置于肝素锂抗凝管中,在低温离心机中离心(3 000 r/min, 15 min)。取400  $\mu$ L血浆送检,采用日本SYS-MEX CA7000全自动血凝分析仪及配套试剂盒检测D-D、FIB水平。API-1水平运用酶联免疫吸附双抗夹心法进行检测,试剂盒为上海鑫乐生物科技有限公司生产。相关操作严格按照实验流程进行。根据是否发生静脉血栓事件将发生静脉血栓的患者设为A组( $n=56$ ),未发生静脉血栓的患者设为B组( $n=44$ )。

### 1.3 观察指标

①对比两组D-D、FIB及PAI-1水平;②统计创伤性脊柱骨折术后发生静脉血栓事件情况;③以Logistic回归模型分析影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的危险因素;④采用ROC曲线分析D-D、FIB及PAI-1检测及三者联合检测对创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件的预测价值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行 $t$ 检验;采用多元Logistic回归分析影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的独立危险因素;采用ROC曲线分析D-D、FIB及PAI-1及三者联合对创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件患者的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 D-D、FIB 及 PAI-1 比较

研究组患者术后 D-D、FIB 及 PAI-1 水平明显高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 两组 D-D、FIB 及 PAI-1 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	D-D(mg/L)	FIB(g/L)	PAI-1(ng/L)
对照组	78	0.25±0.10	2.83±1.07	23.04±4.02
研究组	100	0.39±0.12	5.21±1.15	81.52±17.82
t 值	-	8.297	14.121	28.408
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 比较 A、B 两组 D-D、FIB 及 PAI-1 水平

A 组患者 D-D、FIB 及 PAI-1 水平明显高于 B 组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 A、B 组 D-D、FIB 及 PAI-1 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	D-D(mg/L)	FIB(g/L)	PAI-1(ng/L)
A 组	56	0.43±0.15	6.07±1.21	96.01±21.04
B 组	44	0.30±0.10	3.14±1.15	53.46±9.16
t 值	-	4.947	12.283	12.505
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的危险因素分析

通过 Logistic 回归模型分析得出:有高血压病史、基础疾病 $\geq 2$ 种、D-D、FIB 及 PAI-1 异常升高为影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.4 D-D、FIB、PAI-1 及三者联合检测创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件的诊断价值

根据 ROC 曲线得出,三者联合曲线下面积为 0.947,在 D-D、FIB、PAI-1 指标中,以联合检测下面积值最大。见表 4、图 1。

表 4 D-D、FIB、PAI-1 及三者联合检测创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of d-D, FIB, PAI-1 and the three combined to detect venous thrombosis events after traumatic spine fracture

预测指标	Cut-off 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	95%CI
D-D(mg/L)	25.10	61.94	62.81	0.24	0.693	0.537~0.849
FIB(g/L)	26.41	72.02	73.57	0.45	0.828	0.703~0.952
PAI-1(ng/L)	25.42	75.81	71.46	0.47	0.901	0.811~0.992
三者联合检测	-	89.54	89.93	0.79	0.947	0.889~1.000

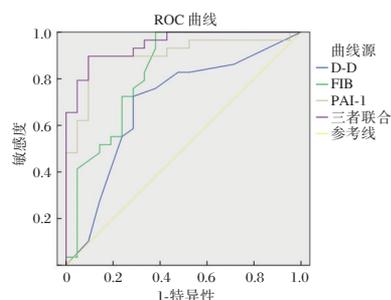


图 1 D-D、FIB、PAI-1 及三者联合检测创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件的诊断价值

Figure 1 Diagnostic value of d-D, FIB, PAI-1 and the three combined to detect venous thrombosis events after traumatic spine fracture

## 3 讨论

随着社会工业化的快速发展,脊柱骨折的发生率显著增加<sup>[7]</sup>。相关研究表明,创伤性脊柱骨折患者围手术期凝血动态平衡被打破,手术创伤带来的急性应激反应可引起炎症、凝固及组织再生等一系列变化,影响静脉血流速度,使血液处于高凝状态<sup>[8]</sup>。Shank 等<sup>[9]</sup>研究发现,创伤性脊柱骨折术后患者需卧床休养,加重了静脉血流的瘀滞。

D-D 是纤维蛋白单体经活化因子 XIII 交联后,经纤溶酶原水解所产生的一种特异性降解产物<sup>[10]</sup>。其来源于纤溶酶溶解的交联蛋白凝块,是目前临床

表 3 影响创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件发生的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors influencing the occurrence of venous thrombosis after traumatic spinal fracture

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR	95%CI	P 值	OR 值	95%CI	P 值
年龄(<60 岁 vs $\geq 60$ 岁)	1.139	0.713~1.513	0.569	-	-	-
入院至手术时间(<6 h vs $\geq 6$ h)	1.065	1.341~1.912	0.727	-	-	-
高血压病史(有 vs 无)	1.791	1.325~1.616	0.019	1.857	1.257~1.754	0.041
基础疾病(<2 种 vs $\geq 2$ 种)	1.716	1.236~1.497	0.010	1.598	1.364~1.885	0.023
手术时间(120 min vs $\geq 120$ min)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	1.268~1.779	0.538
D-D(异常升高 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.6369	1.365~1.784	0.035
FIB(异常升高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
PAI-1(异常升高 vs 正常)	1.658	1.575~1.587	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017

上了解继发性纤维蛋白溶解功能的一个明显指标<sup>[11]</sup>。纤维蛋白降解产物D-D的水平升高,表明体内存在频繁的纤维蛋白降解过程<sup>[12]</sup>。Joaquim等<sup>[13]</sup>本研究结果提示D-D与创伤性脊柱骨折术后静脉血栓事件密切相关。

FIB由肝细胞合成,在转换成纤维蛋白后可诱导血小板活化,增加血液粘稠度,具有高效止血功能<sup>[14]</sup>。临床表示,其是一种急性时相反应蛋白,在毒血症、脑血栓、恶性肿瘤等疾病及外科手术、放射治疗中呈高表达状态,是机体的一种非特异性反应<sup>[15]</sup>。Hongbin等学者<sup>[16]</sup>对下肢骨折术后形成深静脉血栓事件研究发现,FIB水平较非深静脉血栓形成的患者高。既往学者报道,FIB浓度与静脉血栓发生率及严重程度密切相关<sup>[17]</sup>。本研究中,创伤脊柱骨折患者FIB水平显著高于正常人水平,出现静脉血栓事件的患者FIB水平明显高于未出现静脉血栓事件患者FIB水平。考虑其原因与FIB表达机制有关,FIB可增强红细胞和血小板聚集性,使血液黏度提高,让血液处于高凝、高黏状态,影响组织血液灌注,导致血栓形成。

PAI-1是一种具有调节机体纤溶酶原活性的平衡的功效的抑制剂,作用于组织性纤溶酶原激活物,其活性的强弱对机体纤溶的调节过程具有重要影响。相关研究证实,PAI-1表达增加将加速激活血小板,降低纤溶活性,加速血栓的形成<sup>[18]</sup>。本研究结果说明出现术后静脉血栓患者机体纤溶活性低,血栓形成更快。而通过ROC曲线分析提示联合检测三指标可作为预测患者术后静脉血栓事件发生的有效手段。由于本研究年限较短,纳入样本量较少,研究结果难免存在偏倚,后续仍将继续深入研究。

综上所述,D-D、FIB及PAI-1水平在创伤性脊柱骨折患者中呈异常表达状态,其水平是影响创伤性脊柱骨折中术后出现静脉血栓事件的独立危险因素,联合三指标检测对评估患者病情变化及术后静脉血栓事件有重要价值。

### 参考文献

- [1] 周铁,刘明轩.骨质疏松性胸腰段脊柱骨折PVP治疗后邻椎再发骨折情况及影响因素分析[J].临床误诊误治,2020,33(1):75-78.
- [2] Yao X, Zhang Y, Hao J, et al. Deferoxamine promotes recovery of traumatic spinal cord injury by inhibiting ferroptosis [J]. Neural Regen Res, 2019, 14(2):314-316.
- [3] Bartlett RD, Phillips JB, Choi D. P25 Hydrogel systems to enhance the delivery of cell therapy for traumatic spinal cord injury[J]. J Neurol Neurosurg Ps, 2019, 90(3):e31-e32.
- [4] Cao H, Zhang Y, Chu Z, et al. MAP-1B, PACS-2 and AH-CYL1 are regulated by miR-34A/B/C and miR-449 in neuroplasticity following traumatic spinal cord injury in rats: Preliminary explorative results from microarray data [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4):246-247.
- [5] Khalid SI, Nunna RS, Maasarani S, et al. Pharmacologic and cellular therapies in the treatment of traumatic spinal cord injuries: A systematic review [J]. J Clin Neurosci, 2020, 79:12-20.
- [6] 罗先正,郭艾,王宝军.骨质疏松症与脊柱骨折[J].中华创伤骨科杂志,2004,6(2):121-124.
- [7] 王叶新,孟纯阳,李庆伟,等.经皮穿刺椎体成形术联合鲑鱼降钙素治疗老年骨质疏松性脊柱压缩骨折的疗效分析[J].保健医学研究与实践,2017,14(4):45-48.
- [8] Pajenda G, Mousavi M. Traumatic and posttraumatic deformity of the thoracic and lumbar spine [J]. Die Wirbelsule, 2019, 3(3):189-197.
- [9] Shank CD, Walters BC, Hadley MN. Current Topics in the Management of Acute Traumatic Spinal Cord Injury [J]. Neurocritical Care, 2019, 30(2):261-271.
- [10] 张健昌,赖燕波,李盘石,等.血清BUN、D-D、Lac、sCHE水平对重症肺炎生存预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,32(3):116-120.
- [11] Hamilton K, Josiah DT, Tierney M, et al. Surgical Practice in Traumatic Spinal Fracture Treatment with Regard to the SLICS and TLICS Systems: A Review of 58 Patients at the University of Wisconsin [J]. World Neurosurgery, 2019, 12(4):276-279.
- [12] Nanclares BVC, Padilla-Zambrano HS, El-Menyar A, et al. WACEM Consensus Paper on Deep Venous Thrombosis after Traumatic Spinal Cord Injury [J]. J Emerg, Trauma Shock, 2019, 12(2):461-463.
- [13] Joaquim AF, Schroeder GD, Patel AA, et al. Clinical and radiological outcome of non-surgical management of thoracic and lumbar spinal fracture-dislocations-a historical analysis in the era of modern spinal surgery [J]. J Spinal Cord Med, 2020, 43(1):447-449.
- [14] 李晓娟,李铁威.纤维蛋白原在心血管疾病中的临床应用价值[J].中国循环杂志,2017,32(12):1240-1242.
- [15] HE XX, Wang G, Guo X, et al. Changes and Clinical Significance Observation on FIB, DD and FDP in Renal Impairment of Hypertension [J]. J Modern Laborat Med, 2016, 12(3):174-177.
- [16] Hongbin Z. Expression of D-dimer in malignant pleural effusion and its diagnostic value [J]. Anhui Med Pharmaceutical J, 2019, 20(10):618-619.
- [17] Yi QL, Di D, Orthopedics DO. Relationship between the expression of APCR, ACA and P-selectin and deep venous thrombosis in patients with traumatic fractures of the lower limbs [J]. J Traumatic Surgery, 2019, 16(5):384-387.
- [18] Lessing NL, Lazaro A, Zuckerman SL, et al. Nonoperative treatment of traumatic spinal injuries in Tanzania: who is not undergoing surgery and why [J]. Spinal Cord, 2020(4):1-9.

· 论 著 ·

## 胎盘CD68、PD-1、IL-10与妊娠并HCV感染关系及对母婴结局的影响

李璨\* 周亚丹 高利伟

**[摘要]** **目的** 探究胎盘CD68、程序性死亡受体-1(PD-1)、白细胞介素10(IL-10)与妊娠并丙型肝炎病毒(HCV)感染关系及对母婴结局的影响。**方法** 选取本院2016年10月至2019年10月妊娠并HCV感染患者116例作为观察组,同期非HCV感染妊娠孕妇58例作为对照组。比较两组、不同HCV病毒载量患者胎盘CD68、PD-1阳性细胞数及IL-10水平,分析三者与HCV病毒载量的关系;并对比两组间、观察组胎盘不同CD68、PD-1、IL-10表达患者母婴结局。**结果** 观察组胎盘CD68、PD-1阳性细胞数低于对照组,IL-10高于对照组,差异有统计学意义( $U=7.258, 6.346, 15.669, P<0.05$ );胎盘CD68、PD-1高表达患者产妇新生儿不良结局发生率低于低表达患者,IL-10高表达患者产妇新生儿不良结局发生率高于低表达患者,差异有统计学意义( $\chi^2=7.107, 9.175, 7.306, P<0.05$ );胎盘CD68、PD-1阳性细胞数与HCV病毒载量呈负相关,IL-10水平与HCV病毒载量呈正相关( $r=-0.741, -0.644, 0.561, P<0.05$ )。**结论** 胎盘CD68、PD-1表达下降、IL-10表达升高可能参与胎盘抗病毒免疫,从而对母婴结局产生不良影响。

**[关键词]** CD68; 程序性死亡受体-1; 白细胞介素10; 丙型肝炎病毒感染

### The relationship between placental CD68, PD-1, IL-10 and pregnancy complicated by HCV infection and the influence on maternal and infant outcomes

LI Li\*, ZHOU Yadan, GAO Liwei

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

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the relationship between placental CD68, programmed death receptor-1 (PD-1), interleukin 10 (IL-10) and pregnancy complicated by hepatitis C virus (HCV) infection and their influence on maternal and infant outcomes. **Methods** 116 pregnant women with HCV infection in our hospital were taken as the observation group, and 58 pregnant women without HCV infection during the same period were taken as the control group. The number of placental CD68 and PD-1 positive cells and IL-10 levels of the two groups and patients with different HCV viral load were compared, and the relationship between the three and the HCV viral load was analyzed. The maternal and infant outcomes of patients with different placental CD68, PD-1 and IL-10 expression between the two groups were compared. **Results** The number of placental CD68 and PD-1 positive cells in the observation group was lower than those in the control group, and IL-10 was higher than that of the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The incidence of adverse maternal and neonatal outcomes in patients with high placental CD68 and PD-1 expression was lower than that in patients with low expression. The incidence of adverse maternal and neonatal outcomes in patients with high IL-10 expression was higher than that in patients with low expression, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The number of placental CD68 and PD-1 positive cells was negatively correlated with HCV viral load, and IL-10 level was positively correlated with HCV viral load ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The decreased expression of CD68 and PD-1 in the placenta and the increased expression of IL-10 may partici-

基金项目:河南省医学科技攻关项目(201820775)

作者单位:郑州大学附属郑州中心医院产一科,河南,郑州 450007

\*通信作者:李璨, E-mail: zszylili@126.com

pate in the placental antiviral immunity, which will adversely affect the maternal and infant outcome.

[KEY WORDS] CD68; Programmed death receptor-1; Interleukin 10; Hepatitis C virus infection

相关研究显示,母婴垂直传播是慢性丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV)感染患儿的重要传播途径之一<sup>[1-4]</sup>,发生风险可达10%<sup>[5]</sup>,多通过宫内、产道感染。HCV母婴传播机制较为复杂,研究已证实机体固有免疫、获得性免疫共同参与HCV感染过程<sup>[6]</sup>。鉴于胎盘组织中免疫机制在妊娠并HCV感染中的作用尚未完全明确,本研究综合分析胎盘CD68、PD-1、IL-10与妊娠并HCV感染关系及对母婴结局的影响,报道如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取本院2016年10月至2019年10月妊娠并HCV感染患者116例作为观察组,另选取同期正常妊娠孕妇58例作为对照组。纳入标准:①观察组产前均经酶联免疫吸附试验(ELISA)法、荧光定量PCR法检测显示HCV呈阳性;②对照组产前均

经血清学ELISA法、荧光定量PCR法等检测显示HCV呈阴性;③两组均为单胎妊娠;④患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①近期有HCV相关治疗者;②爆发性肝衰竭黄疸者;③药物性肝炎或乙型肝炎病毒、甲型肝炎病毒等其他病毒性肝炎者。两组基本资料均衡可比( $P>0.05$ ),见表1。本研究经院医学伦理委员会审批同意。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 胎盘IL-10检测方法

胎盘娩出后,5 min内严格遵照无菌操作规范采集1 cm<sup>3</sup>母体面脐带根部胎盘组织:生理盐水冲洗2~3次后,电子天平称重,加入生理盐水50 mg/mL,低温环境下手动研磨标本、生理盐水混合液,均匀后加入2.5 mL EP管内,3 000 r/min,4℃低温离心20 min,收集上清液,-70℃保存待检。采用ELISA法检测胎盘组织匀浆中IL-10水平,试剂盒购自上海岚派生物科技有限公司。

表1 两组一般资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

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

组别	n	年龄(岁)	体质量(kg)	孕周(周)	孕次(次)	新生儿体质量(kg)
观察组	116	30.19±1.50	62.89±4.02	39.15±0.40	1.48±0.13	3.20±0.35
对照组	58	29.86±1.35	63.11±4.24	39.21±0.46	1.51±0.17	3.15±0.29
t值		1.413	0.334	0.887	1.291	0.938
P值		0.159	0.739	0.377	0.198	0.349

#### 1.2.2 胎盘CD68、PD-1检测方法

采用全自动免疫组化染色仪(型号:MY-AU60)以免疫组织化学染色法测定胎盘CD68、PD-1阳性细胞数,仪器及试剂盒均购自上海永创医疗器械有限公司,石蜡包埋,切片,二甲苯梯度脱蜡,酒精梯度脱水,微波抗原修复,使用双氧水(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,3%)清除内源性过氧化物酶,滴加抗体,显色,酒精梯度脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。判读标准<sup>[7]</sup>:光学显微镜下探查切片染色情况,细胞浆及细胞核内有棕黄色颗粒视为阳性,并根据染色强度进行分级。0分,胞内无染色、染色不清,与背景颜色一致,均为均匀淡黄色;1分,细胞浆及细胞核内可见少量淡黄色颗粒,并超出背景颜色;2分,细胞浆及细胞核内可见较多深棕色颗粒;3分,细胞浆及细胞核内可见大量深棕色颗粒。阳性细胞百分率:无阳性细胞为0分;阳性细胞百分率<25.0%为1分;25.0%≤阳性细胞百分率≤50.0%为2分;阳性细胞百分率>50.0%为3分。染色强度分级与

阳性细胞百分率分级相乘积分≥2分表示阳性表达。

#### 1.2.3 HCV载量检测方法

采用全自动PCR检测仪(型号:SLAN<sup>®</sup>-48P)以RT-PCR法检测HCV载量,仪器及试剂盒均购自上海宏石医疗科技有限公司,严格按照仪器、试剂盒说明书执行。

### 1.3 观察指标

①比较两组胎盘CD68、PD-1阳性细胞数及IL-10水平。②观察组不同病毒载量患者胎盘CD68、PD-1阳性细胞数及IL-10水平。③比较两组母婴结局。④观察组不同胎盘CD68、IL-10、PD-1表达患者母婴结局。⑤分析胎盘CD68、IL-10、PD-1与HCV病毒载量相关性。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件处理数据;符合正态分布计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,两两比较采用t检验,偏态分布数据以M(P25-P75)表示,组间比较

用 Mann-Whitney U 检验;计数资料用  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 进行线性相关性分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组胎盘 CD68、PD-1 阳性细胞数及 IL-10 水平比较

观察组胎盘 CD68、PD-1 阳性细胞数低于对照组, IL-10 高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P <$

0.05), 见表 2、图 1。

### 2.2 观察组不同 HCV 病毒载量患者胎盘 CD68、IL-10、PD-1 水平比较

观察组 116 例妊娠并 HCV 感染患者平均 HCV 病毒载量为  $(5.18 \pm 0.75) \text{lgIU/mL}$ 。根据此水平分为高病毒载量患者与低病毒载量患者。高病毒载量患者胎盘 CD68、PD-1 阳性细胞数低于低病毒载量患者, IL-10 高于低病毒载量患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

表 2 两组胎盘 CD68、PD-1 阳性细胞数及 IL-10 水平比较

Table 2 Comparison of placenta CD68, PD-1 positive cells and IL-10 levels in placenta between the two groups

组别	<i>n</i>	CD68(个)	PD-1(个)	IL-10(ng/L)
观察组	116	0.35(0.26~0.46)	1.21(0.83~1.51)	354.79(254.86~446.52)
对照组	58	2.04(1.58~2.46)	3.50(3.00~4.06)	111.63(78.22~150.32)
<i>U</i> 值		7.258	6.346	15.669
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

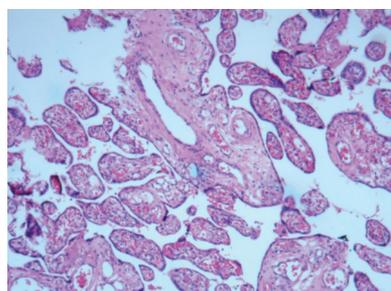


图 1 胎盘 CD68、PD-1 免疫组织化学染色图(SP,  $\times 200$ )  
Figure 1 immunohistochemical staining of placenta CD68 and PD-1 in placenta (SP,  $\times 200$ )

### 2.3 两组母婴结局比较

观察组产妇、新生儿不良结局发生率高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。

### 2.4 观察组不同胎盘 CD68、IL-10、PD-1 表达患者母婴结局比较

根据观察组胎盘 CD68、IL-10、PD-1 表达均数为界, 分为高表达、低表达患者。胎盘 CD68、PD-1 高表达患者产妇、新生儿不良结局发生率低于低表达患者, IL-10 高表达患者产妇、新生儿不良结局发生率高于低表达患者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 5。

### 2.5 胎盘 CD68、IL-10、PD-1 与 HCV 病毒载量相关性

胎盘 CD68、PD-1 阳性细胞数与 HCV 病毒载量呈负相关 ( $r_1 = -0.741, P_1 < 0.001; r_2 = -0.644, P_2 < 0.001$ ), IL-10 水平与 HCV 病毒载量呈正相关 ( $r_3 = 0.561, P_3 < 0.001$ ), 见图 2。

表 3 两组胎盘 CD68、PD-1 阳性细胞数及 IL-10 水平比较

Table 3 Comparison of placenta CD68, PD-1 positive cells and IL-10 levels in placenta of two groups

组别	<i>n</i>	CD68(个)	PD-1(个)	IL-10(ng/L)
高病毒载量患者	46	0.25(0.18~0.32)	1.01(0.78~1.27)	406.41(302.66~510.16)
低病毒载量患者	70	0.43(0.31~0.55)	1.28(0.95~1.61)	314.07(227.87~400.27)
<i>U</i> 值		5.867	4.339	9.205
<i>P</i> 值		<0.001	0.012	<0.001

表 4 两组产妇结局比较 [ $n(\%)$ ]

Table 4 Comparison of maternal and neonatal outcomes between 2 groups [ $n(\%)$ ]

组别	<i>n</i>	胎膜早破	妊娠期肝内胆汁淤积	妊娠期高血压综合征	产后出血	产妇不良结局发生率	宫内窘迫	新生儿窒息	低体重儿	早产	新生儿不良结局发生率
观察组	116	9(7.76)	6(5.17)	9(7.76)	14(12.07)	38(32.76)	6(5.17)	13(11.21)	15(12.93)	6(5.17)	40(34.48)
对照组	58	3(5.17)	1(1.72)	2(3.45)	1(1.72)	7(12.07)	1(1.72)	4(6.90)	1(1.72)	2(3.45)	8(13.79)
$\chi^2$ 值						8.633					8.286
<i>P</i> 值						0.003					0.004

表5 观察组不同胎盘CD68、IL-10、PD-1表达患者产妇及新生儿结局比较[n(%)]

Table 5 Comparison of maternal and neonatal outcomes of patients with different placental CD68, IL-10 and PD-1 expression in observation group [n(%)]

时间	组别	n	产妇患者不良结局发生率	新生儿患者不良结局发生率
CD68	低表达患者	50	24(48.00)	25(50.00)
	高表达患者	66	16(24.24)	13(19.70)
	$\chi^2$ 值		7.107	11.860
	P值		0.008	0.001
PD-1	低表达患者	53	26(49.06)	23(43.40)
	高表达患者	63	14(22.22)	15(23.81)
	$\chi^2$ 值		9.175	5.013
	P值		0.003	0.025
IL-10	低表达患者	69	17(24.64)	16(23.19)
	高表达患者	47	23(48.94)	22(46.81)
	$\chi^2$ 值		7.306	7.081
	P值		0.007	0.008

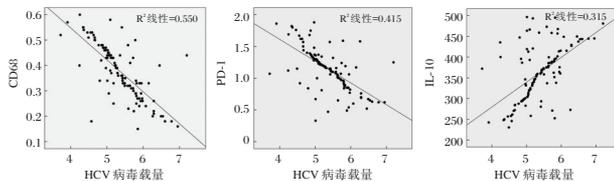


图2 胎盘CD68、IL-10、PD-1与HCV病毒载量相关性

Figure 2 Correlation between placenta CD68, IL-10, PD-1 and HCV viral load in placenta

### 3 讨论

本研究通过免疫组织化学染色法可知,观察组胎盘CD68、PD-1阳性细胞数低于对照组。提示胎盘CD68、PD-1可能参与妊娠并HCV患者发生、发展。CD68是一种以巨噬细胞为主的炎症细胞,在细胞摄粒作用、溶酶体运输过程中扮演重要角色<sup>[8]</sup>。PD-1及其主要配体PD-L1是负性共刺激信号之一,可负向调控T细胞介导的免疫反应,甚至形成免疫耐受<sup>[9]</sup>。提示HCV感染一定程度会降低胎盘免疫功能,引发自身免疫应答,进而抑制胎盘CD68、PD-1表达,而胎盘CD68、PD-1低表达会破坏胎儿抵御病原体侵入的第一层免疫屏障,难以识别病毒,从而导致病毒免疫逃逸,诱发HCV持续感染。另外,本研究还发现,高病毒载量妊娠并HCV患者胎盘CD68、PD-1阳性细胞数低于低病毒载量患者,可能归因于HCV分泌相关病毒抗原激活肝脏免疫抑制效应,导致巨噬细胞出现低反应性,影响抗原提呈过程,进而为HCV藏匿、复制提供场所及传播媒介,增加HCV垂直传播风险<sup>[10]</sup>。本研究进一步分析,胎盘CD68高表达患者产妇、

新生儿不良结局发生率低于低表达患者,这可能是由于母体肝脏共同承担产妇及胎儿解毒及代谢作用,而胎盘CD68低表达可能会引发HCV持续感染,加重肝功能损伤,降低醛固酮灭活能力,增加子宫收缩频率、程度,进而增加产妇、新生儿不良结局发生风险。然而,胎盘PD-1低表达对妊娠并HCV感染患者母婴结局的影响机制尚未完全明确,结合既往研究结果<sup>[11]</sup>推测可能与PD-1/PD-L1信号通路调节Treg/Th17细胞平衡,引发母胎免疫耐受有关。

病毒感染外周血中存在Th1/Th2偏移现象,主要表现为Th2型免疫应答。本研究经ELISA法检测发现,高病毒载量患者胎盘IL-10高于低病毒载量患者,可见胎盘IL-10表达与妊娠并HCV感染病毒载量存在一定关系。IL-10是母胎界面最主要的Th2型细胞因子,既可促进Th2分化增殖,又能抑制Th1分化增殖。这可能归因于胎盘IL-10水平上调通过免疫抑制,导致Th1/Th2细胞因子平衡偏移,从而抑制HCV特异性免疫应答,减弱机体抗炎及抗病毒能力,增加胎盘HCV病毒清除难度,引发HCV感染。本研究还指出,胎盘IL-10高表达患者产妇、新生儿不良结局发生率高于低表达患者,这可能归因于胎盘IL-10高表达一方面可促使胎盘大量分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$ ,增加胎盘局部及血循环中炎症浓度,进而增强免疫排斥反应,降低母体免疫耐受,影响产妇结局;另一方面机体Th1/Th2偏移,可抑制肝细胞能量代谢,加重肝脏功能损伤,增强母体对胎儿免疫排斥,导致围产儿死亡。

综上所述,胎盘CD68、PD-1表达下降、IL-10表达升高可能参与胎盘抗病毒免疫,诱导妊娠并HCV感染持续存在,从而对母婴结局产生不良影响。

### 参考文献

- [1] Marshall AD, Cunningham EB, Nielsen S, et al. Restrictions for reimbursement of interferon-free direct-acting antiviral drugs for HCV infection in Europe [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2017, 1253(17):30284-30294.
- [2] 饶展宏,詹志强,孙群露,等. 2016年深圳市宝安区抗-HCV阳性病例流行病学史分析[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(7):981-985.
- [3] 赵宇腾,蔡衍珊,徐慧芳,等. 广州市2014-2016年丙型肝炎病毒性肝炎流行特征分析[J]. 华南预防医学, 2018, 44(2):157-160.
- [4] 王方平,张平安,杨晓燕. 维甲酸诱导基因I和慢性丙型肝炎的研究进展[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2018, 32(4):445-448.

(下转第54页)

## PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平与急性百草枯中毒患者的预后的相关性

康莹<sup>1\*</sup> 刘玉环<sup>1</sup> 王华丽<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的** 探究肺泡-动脉氧分压差(PA-aO<sub>2</sub>)、动脉血二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>)和血乳酸(Lac)水平与急性百草枯中毒(APP)患者的预后的相关性。**方法** 选取2018年8月至2020年8月就诊于本院的126例APP患者,根据3个月随访情况,分为存活组57例和死亡组69例,另选取同期于本院进行健康体检的健康人群45例作为对照组,检测3组PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平。**结果** 与对照组比较,APP患者PA-aO<sub>2</sub>和Lac水平显著升高,PaCO<sub>2</sub>水平显著降低,且死亡组变化幅度显著大于存活组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );PA-aO<sub>2</sub>和Lac与存活组呈负相关,与死亡组呈正相关,PaCO<sub>2</sub>与存活组呈正相关,与死亡组呈负相关( $P<0.05$ );PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac联合检测对APP患者预后的预测价值显著高于单一指标,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平与APP患者预后密切相关,值得临床参考。

**[关键词]** 肺泡-动脉氧分压差;动脉血二氧化碳分压;血乳酸;急性百草枯中毒

### Correlation of PA - aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac levels with prognosis of patients with acute paraquat poisoning

KANG Ying<sup>1\*</sup>, LIU Yuhuan<sup>1</sup>, WANG Huali<sup>2</sup>

(1. Emergency Department, Central Hospital of Zhumadian, Zhumadian, Henan, China, 463000;

2. Radiotherapy Department, Central Hospital of Zhumadian, Zhumadian, Henan, China, 463000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the correlation between the difference of Alveolar arterial oxygen partial pressure (PA-aO<sub>2</sub>), arterial carbon dioxide tension (PaCO<sub>2</sub>) and blood lactic acid (Lac) levels and the prognosis of patients with acute paraquat poisoning (APP). **Methods** 126 cases of APP patients in our hospital from August 2018 to August 2020 were selected and divided into survival group (57 cases) and death group (69 cases) according to the 3-month follow-up. Another 45 healthy people who had physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The levels of PA-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac in the three groups were detected. **Results** Compared with the control group, the levels of PA-aO<sub>2</sub> and Lac in app patients were significantly higher than those in the survival group, and the changes of PaCO<sub>2</sub> in the death group were significantly greater than those in the survival group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); PA-aO<sub>2</sub> and Lac were negatively correlated with the survival group, and positively correlated with the death group; PaCO<sub>2</sub> was positively correlated with the survival group, and negatively correlated with the death group; the combined detection of pa-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac could predict the prognosis of APP patients. The predictive value of the latter was significantly higher than that of single index, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** PA-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac levels are closely related to the prognosis of APP patients and are worthy of clinical reference.

**[KEY WORDS]** Difference of alveolar arterial oxygen partial pressure; Arterial carbon dioxide tension; Lactic acid; Acute paraquat poisoning; prognosis

基金项目:河南省卫生厅基金项目(20190418)

作者单位:1. 河南省驻马店市中心医院急诊科,河南,驻马店 463000

2. 河南省驻马店市中心医院放疗科,河南,驻马店 463000

\*通信作者:康莹, E-mail:43661796@qq.com

百草枯作为一种高效广谱杂环类有机除草剂,其毒性作用极强,可经消化道、呼吸道、皮肤等吸收引起急性百草枯中毒(acute paraquat poisoning, APP)。APP病程进展迅速,可累及心、肺、肝、肾等重要器官,造成多功能的脏器损伤,严重威胁了人类的生活质量和生命安全。针对APP的治疗,目前临床尚无特效疗法,多采取抗氧化剂、免疫抑制剂、血液灌注等对患者进行治疗,虽取得了一定的成效,但患者预后并不理想,同时上述疗法还可能会造成过度医疗、增加患者的痛苦、治疗费用高等。相关研究显示,评估患者预后可为临床决策和治疗提供指导<sup>[1]</sup>。有学者发现,机体发生APP后,其呼吸功能明显受损<sup>[2]</sup>,而肺泡-动脉氧分压差(difference of alveolar arterial oxygen partial pressure, PA-aO<sub>2</sub>)、动脉血二氧化碳分压(arterial carbon dioxide tension, PaCO<sub>2</sub>)、血乳酸(lactic acid, Lac)水平能够有效反映气体的交换功能。但目前临床多关注于APP疾病本身的治疗<sup>[3-4]</sup>,对其预后探究的研究相对较少,值得深入研究。因此,本研究主要是探究PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平与APP患者预后的相关性,旨在为临床治疗APP提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年8月至2020年8月就诊于本院的126例APP患者作为观察组,其中,男56例,女70例;平均年龄(41.75±6.96)岁;中毒剂量20~260 mL,平均(53.14±4.20)mL;中毒至就诊时间4~21 h,平均(11.67±2.44)h;根据3个月的随访情况,将患者分为存活组57例和死亡组69例,另选取同期于本院进行健康体检的健康人群45例作为对照组,其中,男19例,女26例;平均年龄(42.13±6.81)岁。

纳入标准:①尿液百草枯点滴实验检查为阳性的患者;②口服中毒的患者;③临床资料完整的受试者;④临床依从性较高的受试者;⑤患者或其家属签

订知情同意书。排除标准:①既往存在肝肾功能障碍、合并肺部疾病的受试者;②合并免疫系统疾病、感染等受试者;③合并其他药物中毒的受试者;④妊娠或哺乳期妇女;⑤中途退出研究的受试者。

### 1.2 检测方法

在受试者被纳入研究后的第2天清晨抽取其空腹动脉血3 mL,采用血气分析仪(南京利艾成贸易有限公司, GEM Premier 3500)对肺泡氧分压、动脉氧分压、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平进行检测,再计算PA-aO<sub>2</sub>=肺泡氧分压-动脉氧分压。

### 1.3 观察指标

①比较3组PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平;②采用Pearson相关系数分析PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平与APP患者预后的相关性;③采用受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线评价PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac对APP患者预后的预测价值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0进行统计学分析,计量资料( $\bar{x} \pm s$ )进行表示,采用 $t$ 进行检验;计数资料用 $n$ (%)表示,采用 $\chi^2$ 进行检验;多组间比较采用 $F$ 值进行检验;Pearson相关系数分析PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平与APP患者预后的相关性;ROC曲线评价PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac对APP患者预后的预测效能; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组一般资料比较

3组在性别、年龄以及存活组和死亡组在中毒剂量、中毒至就诊时间的比较中,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。见表1。

### 2.2 3组PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>和Lac水平的比较

3组间PA-aO<sub>2</sub>和Lac水平比较结果:死亡组>存活组>对照组差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );PaCO<sub>2</sub>比较结果:对照组,存活组>死亡组,均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表1 3组一般资料比较 [ $n$ (%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 1 Comparison of 3 groups of general information [ $n$ (%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

一般资料	$n$	性别		平均年龄(岁)	平均中毒剂量(mL)	平均中毒至就诊时间(h)
		男	女			
对照组	45	19(42.22)	26(57.78)	42.13±6.81	-	-
存活组	57	25(43.86)	32(56.14)	42.06±6.83	52.67±4.16	11.72±2.46
死亡组	69	31(44.93)	38(55.07)	41.54±7.11	53.44±4.25	11.59±2.47
$F/t$ 值		0.023		0.374	0.459	0.452
$P$ 值		0.887		0.708	0.639	0.503

表2 3组 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Comparison of PA-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac levels among 3 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	n	PA-aO <sub>2</sub> (mmHg)	PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	Lac(mmol/L)
对照组	45	11.23±2.07	35.55±4.22	2.03±0.57
存活组	57	31.57±2.62	30.01±6.01	4.49±1.18
死亡组	69	35.48±2.67	27.16±6.85	5.75±1.32
F值		7.527	6.524	5.473
P值		0.002	0.017	0.032

### 2.3 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平与 APP 患者预后相关性的分析

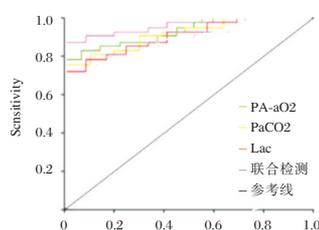
PA-aO<sub>2</sub> 和 Lac 与存活组呈负相关,与死亡组呈正相关,PaCO<sub>2</sub> 与存活组呈正相关,与死亡组呈负相关,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平与 APP 患者预后相关性的分析Table 3 Correlation between PA-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and Lac levels and prognosis of APP patients

指标	n	PA-aO <sub>2</sub>		PaCO <sub>2</sub>		Lac	
		r值	P值	r值	P值	r值	P值
存活组	57	-0.229	0.021	0.322	0.001	-0.599	0.003
死亡组	69	0.261	0.002	-0.369	0.031	0.512	0.023

### 2.4 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>、Lac 及其联合检测对 APP 患者预后的预测效能的评价

PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 均可有效预测 APP 患者的预后,而其联合检测的灵敏度、特异性、准确度,阳性预测值、阴性预测值、ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)均显著高于单一指标检测的值,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图1、表4。

图1 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>、Lac 及其联合检测对 APP 患者预后的 ROC 曲线Figure 1 ROC curve of PA-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, Lac and their combined detection on prognosis of APP patients表4 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>、Lac 及其联合检测对 APP 患者预后的预测效能的评价Table 4 Evaluation of predictive efficacy of pa-aO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, lac and their combined detection on prognosis of APP patients

指标	最佳界限值	灵敏度(%)	特异性(%)	准确度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	AUC	95%CI
PA-aO <sub>2</sub>	31.61(mmHg)	89.32	46.92	64.57	71.52	74.74	0.686	0.553~0.800
PaCO <sub>2</sub>	28.51(mmHg)	85.73	84.39	75.49	68.12	85.65	0.677	0.512~0.838
Lac	2.30(mmol/L)	71.42	81.17*	72.63	74.96	71.67*	0.843	0.773~0.875
联合检测	-	97.15	91.39	89.18	86.56	90.43	0.949	0.837~0.984

## 3 讨论

APP 是由百草枯引起的一种恶性疾病,其主要作用于肺,在早期一般表现为急性呼吸窘迫综合征或急性肺损伤,随着病情的发展,及出现肺间质和肺泡内纤维化,是导致 APP 患者死亡的重要原因<sup>[5]</sup>。有研究发现,机体发生 APP 后,其 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平发生了显著性的变化<sup>[6-7]</sup>,因此推测其与 APP 的发生、发展以及预后存在着密切的联系,但目前国内关于其之间具体的相关性的研究不多。因此,本研究主要是检测 APP 患者 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平,观察其与预后的关系,旨在改善 APP 患者的生存质量。

朱保月等<sup>[8]</sup>研究发现,经治疗,APP 患者 Lac 水平明显下降,PaO<sub>2</sub> 出现显著升高,且治疗效果越好,变化幅度越大。本研究与上述研究结果基本相符。白枯草在机体中的代谢较为缓慢,主动转运后主要蓄积于肺组织中,并在其中生成大量超氧离子,经转化后形成羟自由基,其毒性更强,进而损伤了肺泡毛细血管,引起肺泡细胞的变形、肿胀以及坏死,对肺泡表面生成活性物质产生了抑制作用,导致肺泡形成透明膜、肺水肿、肺淤血,最终引发低氧血症<sup>[9]</sup>。PaCO<sub>2</sub> 指是物理溶解二氧化碳产生的张力,能够衡量机体肺泡的通气情况,进而反映呼吸因素对酸碱平衡所产生的影响,其正常参考值一般为 35~45 mmHg,一旦出现失衡,则表明机体的换气功能出现障碍<sup>[10]</sup>;Lac 主要反映机体内环境和氧合状态,当机体处于缺氧状态时,则会导致无氧酵解的增多,进而使机体大量生成 Lac,引起 Lac 水平的升高<sup>[11]</sup>。因此,机体发生 APP 后,其 PA-aO<sub>2</sub>、Lac 水平将明显升高,PaCO<sub>2</sub> 显著降低。

研究结果发现,PA-aO<sub>2</sub>、Lac 水平与 APP 患者死亡呈正相关,PaCO<sub>2</sub> 与患者死亡呈负相关,与既往研究结果基本一致<sup>[12-13]</sup>,表明,APP 患者预后越差,PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平变化越显著,机体呼吸功能越差,提示在临床治疗中,可通过改善 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平,提高 APP 患者的呼吸

功能,进而改善其预后。

PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 是非侵入性的、简单的一种临床检测方法,被广泛应用于机体呼吸功能的检测中,并取得了较为显著的成效,但经临床长期的实践表明,单一指标检测的特异性、敏感性以及准确性尚存在不足,限制了其临床的应用<sup>[14-15]</sup>。苏泽虎等<sup>[16]</sup>研究显示,PA-aO<sub>2</sub>、Lac 可有效预测 APP 患者的预后,但两者联合检测预测 APP 患者预后的准确性、灵敏度、特异性更高;上述研究结果表明,单一指标检测的值难免会具有一定的局限性,而联合检测则在一定程度上弥补了单一指标所检测的不足,因此,提示临床可通过联合 PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 共同评估 APP 患者的预后,以为临床治疗提供更多参考。

综上所述,APP 患者 PA-aO<sub>2</sub>、Lac 水平显著升高,PaCO<sub>2</sub> 显著降低,且其与患者预后呈密切的相关性,对临床治疗 APP 有着积极的参考意义。

### 参考文献

- [1] Zhu BY, Xiao QM, Gao X, et al. The assessment value of urinary NGAL combined with blood NLR in the early prognosis of patients with acute paraquat poisoning [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2020, 38(2): 137-140.
- [2] Li C, Hu D, Xue W, et al. Treatment outcome of combined continuous venovenous hemofiltration and hemoperfusion in acute paraquat poisoning: A prospective controlled trial [J]. Crit Care Med, 2018, 46(1): 100-107.
- [3] 宫平,肖青勉,李百艳,等.百草枯解毒成方辅助治疗对急性百草枯中毒患者血 I 型胶原蛋白和 III 型前胶原肽及转化生长因子 β1 的影响[J]. 中国医药, 2020, 15(3): 419-422.
- [4] He F, Zhou A, Feng S, et al. Mesenchymal stem cell therapy for paraquat poisoning: A systematic review and meta-analysis of preclinical studies [J]. Plos One, 2018, 13(3): 748-751.
- [5] 沈梦晓,刘金龙,韩蕾,等.鲁西南地区儿童急性百草枯中毒流行病学特征及肺间质纤维化相关因素分析[J]. 中国小儿急救医学, 2020, 27(1): 30-34.
- [6] Mu YY. Effects of ulinastatin combined with Xuebijing Injection on arterial blood gas index and the incidence of multiple organ dysfunction syndrome in patients with acute paraquat poisoning [J]. Forgn Med Sci, 2018, 39(2): 159-161.
- [7] Chen F, Liu Z, Li W, et al. The significance of serum HMGB1 level in humans with acute paraquat poisoning [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 737-739.
- [8] 朱保月,苏晓阳,王岩,等.连续血液灌流对急性百草枯中毒患者血清白介素-18 水平及预后的影响[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(2): 231-234, 238.
- [9] 黄铭,黄伟.大剂量氨溴索联合乙酰半胱氨酸在百草枯中毒肺纤维化患者早期应用中的疗效观察[J]. 中华全科医学, 2018, 16(12): 152-155.
- [10] 尹晶,陈文涛,郁毅刚.重症 COPD 患者 IL33/ST2 比值与血气指标,氧化应激反应程度的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3): 305-308.
- [11] Michelle MP, Charis K, Bircan Er, et al. Urinary organic acids as biomarkers in the assessment of pulmonary function in children with asthma [J]. Nutr Res, 2018, 61(1): 31-40.
- [12] 曹昌魁,刘锐,李亮,等.创伤患者中性粒细胞/淋巴细胞比值和乳酸水平与创伤严重程度及预后的关系[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(8): 830-834.
- [13] 晁琳琳,刘振宁,贾佩佩.早期动脉二氧化碳分压联合乳酸评估急性百草枯中毒患者预后的价值[J]. 临床急诊杂志, 2020, 21(9): 683-688.
- [14] Gong XL, Chen JJ, Zhang GQ, et al. Correlation study on expression of microRNA-21 in peripheral blood and prognosis of paraquat poisoning [J]. J Clin Emerg, 2018, 19(11): 765-770.
- [15] 郝改领,徐丽娟,张楠,等.外周血核转录因子 κB、神经元特异度烯醇化酶与乳酸联合检测在评估热性惊厥患儿预后中的价值[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(3): 559-563.
- [16] 苏泽虎,苏任腾,王泽伟,等.肺泡动脉氧分压差与血乳酸水平动态监测对急性百草枯中毒患者的预后预测研究[J]. 临床医学工程, 2020, 27(9): 1163-1164.

(上接第 50 页)

- [5] Tovo P A. Vertically acquired hepatitis C virus infection: Correlates of transmission and disease progression [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(4): 1382.
- [6] 叶文辉,徐翼.丙型肝炎病毒母婴垂直传播机制及危险因素研究进展[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(6): 477-479.
- [7] 孙杨燕.妊娠合并 HCV 感染的母婴结局及胎盘中 IL-2, IL-6, CD3, CD68, PD-1 表达的研究[D]. 东南大学, 2015: 1-46.
- [8] De Luca A, Lorenzini P, Castagna A, et al. Active HCV Replication but Not HCV or CMV Seropositive Status Is Associated With Incident and Prevalent Type 2 Diabetes in Persons Living With HIV [J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2017, 75(4): 465-471.
- [9] 禹环,符丽梅.弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者 PD-L1/PD-L2 表达水平与临床病理及预后的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9): 1163-1166+1170.
- [10] Xiao W, Jiang LF, Deng XZ, et al. PD-1/PD-L1 signal pathway participates in HCV F protein-induced T cell dysfunction in chronic HCV infection [J]. Immunol Res, 2016, 64(2): 412-423.
- [11] 王宁,姜凤良. Th1/Th2, Th17/Treg 细胞与母胎免疫耐受和病理妊娠[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(1): 136-139.

## YKL-40、TSH、ES、VEGF与甲状腺癌结构性复发的相关性

林前煌 徐小虹 郭润生\*

**[摘要]** **目的** 探究YKL-40、TSH、ES、VEGF与甲状腺癌结构性复发的相关性研究。**方法** 选取2018年2月至2020年2月本院收诊的112例分化型甲状腺癌患者,发生结构性复发22例,未发生结构性复发90例,同期来本院50例健康人为对照组。收集患者资料,分析YKL-40与分化型甲状腺癌结构性复发的相关性。**结果** 复发组YKL-40、TSH、VEGF、ES显著高于未复发组和对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。年龄、肿瘤大小、病理类型、TNM分期、术前淋巴转移、病灶类型、术后辅助治疗、YKL-40、TSH、VEGF、ES过表达是影响分化型甲状腺癌患者的结构性复发的相关危险因素( $P<0.05$ )。年龄 $\geq 60$ 岁、肿瘤 $\geq 2$  cm、TNM分期、术前淋巴转移、术后未进行辅助治疗、YKL-40及TSH, VEGF, ES过表达是复发的独立危险因素( $P<0.05$ )。YKL-40、VEGF、ES过度表达与分化型甲状腺癌结构性复发显著正相关性( $r=0.546, 0.695, 0.478, P<0.05$ )。YKL-40、TSH、ES、VEGF联合诊断分化型甲状腺癌的特异性(92.13%)和灵敏度(95.46%)显著高于单一指标诊断,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** YKL-40、TSH、ES、VEGF与分化型甲状腺癌结构性复发密切相关。

**[关键词]** 分化型甲状腺;几丁质酶-3样蛋白1;结构性复发

### The correlation between YKL-40, TSH, ES, VEGF and structural recurrence of thyroid cancer

LIN Qianhuang, XU Xiaohong, GUO Runsheng\*

(General Surgery Department, Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai, China, 201800)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the correlation between YKL-40, TSH, ES, VEGF and structural recurrence of thyroid cancer. **Methods** A total of 112 patients with differentiated thyroid cancer admitted to this hospital from February 2018 to February 2020 were selected. 22 cases had structural recurrence and 90 cases had no structural recurrence. During the same period, 50 healthy people came to this hospital selected as the control group. Collect patient data and analyze the correlation between YKL-40 and structural recurrence of differentiated thyroid cancer. **Results** The YKL-40, TSH, VEGF, ES of the relapsed group were significantly higher than those of the non-relapsed group and the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Age, tumor size, pathological type, TNM stage, preoperative lymphatic metastasis, lesion type, postoperative adjuvant therapy, YKL-40, TSH, VEGF, ES overexpression are related risk factors that affect the structural recurrence of differentiated thyroid cancer patients ( $P<0.05$ ). Age $\geq 60$  years, tumor $\geq 2$  cm, TNM staging, preoperative lymphatic metastasis, no adjuvant therapy after surgery, YKL-40 and TSH, VEGF, ES overexpression are independent risk factors for recurrence ( $P<0.05$ ). YKL-40 is significantly positively correlated with structural recurrence of differentiated thyroid cancer ( $r=0.546, 0.695, 0.478, P<0.05$ ). The specificity (92.13%) and sensitivity (95.46%) of YKL-40, TSH, ES and VEGF combined

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(15411970500)

作者单位:上海健康医学院附属嘉定区中心医院普外科,上海201800

\*通信作者:郭润生, E-mail:grs982600@163.com

diagnosis of differentiated thyroid cancer were significantly higher than those of single indicator, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** YKL-40, TSH, ES, VEGF are closely related to the structural recurrence of differentiated thyroid cancer.

**[KEY WORDS]** Differentiated thyroid; Chitinase-3 like protein 1; Structural relapse

甲状腺癌可分为未分化型与分化型,其中分化型甲状腺癌最为常见。目前多采用手术切除甲状腺及清扫淋巴结,术后并给予辅助治疗该疾病,且治疗疗效较满意,但部分患者仍会出现复发或转移情况,最终导致患者死亡<sup>[1]</sup>。影响甲状腺癌患者术后复发的相关因素较多<sup>[2]</sup>。血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是血管生成的促进因子,与肿瘤侵袭转移具有密切联系;内皮抑素(Endostatin, ES)是血管生成抑制因子,能抑制肿瘤新生血管生长<sup>[3]</sup>。几丁质酶3样蛋白1(chitinase-3-like-1 protein, YKL-40)又称几丁质酶样蛋白-40,是一种炎症标志物,在组织重构中发挥重要作用<sup>[4]</sup>。既往研究显示,在类风湿性关节炎、支气管哮喘等疾病中,血清YKL-40表达水平升高<sup>[5]</sup>。肿瘤标记物相关研究显示,YKL-40在胃癌、肝细胞癌、结肠癌中均有表达,且与患者生存时间有关<sup>[6]</sup>。目前有关YKL-40与术后复发关系的研究较少。甲状腺球蛋白水平是检测分化型甲状腺癌复发的重要指标,且灵敏度和特异性高。本研究分析了YKL-40、TSH、ES、VEGF与甲状腺球蛋白水平的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年2月至2020年2月本院收诊的112例分化型甲状腺癌患者作为观察组,以同期来本院体检的50例健康人为对照组。观察组中发生结构性复发的有22例为复发组,未发生结构性复发的有90例为未复发组。3组一般资料均衡可比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。纳入标准:①病理确诊为分化型甲状腺癌诊断<sup>[7]</sup>;②年龄 $\geq 18$ 岁,且年龄 $\leq 76$ 岁;③首次复发转移;④临床资料完整者。排除标准:①严重器官衰竭;②放疗、化疗治疗史;③术前12周内接受激素类药物;④合并其他严重疾病者。研究经院伦理委员会同意,患者及患者家属自愿签署知情同意书。

### 1.2 方法

收集患者资料,包括病史、性别、病理类型、年

表1 3组一般资料比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

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

一般资料	n	平均年龄 (岁)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	性别(例)	
				男	女
对照组	50	57.96 $\pm$ 9.13	22.13 $\pm$ 1.08	29(58.00)	21(42.00)
复发组	22	58.74 $\pm$ 10.11	22.09 $\pm$ 1.02	13(59.09)	9(40.91)
未复发组	90	58.49 $\pm$ 10.02	22.15 $\pm$ 1.11	54(60.00)	36(40.00)
F值		0.594	0.234	0.301	
P值		0.137	0.428	0.692	

龄、肿瘤直径、肿瘤分期、手术方式、辅助治疗、病灶类型、术前淋巴转移等。

清晨空腹,抽取静脉血5 mL,以2500 r/min转速,进行15 min离心,取上清液,放置低温冰箱。所有操作均严格按照试剂盒说明书执行完成。酶联免疫吸附测定法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)检测YKL-40、VEGF、ES,试剂盒购自江莱公司,规格48t;双抗体夹心法检测促甲状腺激素(Thyroid Stimulating Hormone, TSH),试剂盒购自上海中信亚特斯公司,规格96t;化学免疫发光法检测甲状腺球蛋白,试剂盒购自贝克曼公司,规格:2 $\times$ 50测试/盒。

### 1.3 观察指标

比较3组血清YKL-40、TSH、VEGF、ES表达水平;分析影响分化型甲状腺癌患者的结构性复发的相关危险因素;分析YKL-40、TSH、VEGF、ES与分化型甲状腺癌患者复发的相关性。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 23.0软件进行数据分析;计量资料的表示以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较以 $t$ 检验,多组间进行方差分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;单因素及多因素Logistic分析影响因素;Pearson分析相关性。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组血清YKL-40、TSH、VEGF、ES表达水平比较

与对照组比,复发组与未复发组YKL-40、TSH、VEGF、ES水平较高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与未复发组比,复发组显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 3组血清YKL-40、TSH、VEGF、ES表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of the expression levels of serum YKL-40, TSH, VEGF and ES in 3 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	n	YKL-40(μg/L)	TSH(μIU/mL)	VEGF(ng/L)	ES(μg/L)
对照组	50	96.35±30.49	1.56±1.03	120.51±35.19	19.54±5.38
复发组	22	170.25±60.47 <sup>ab</sup>	4.51±0.89	652.73±150.48	40.63±9.06
未复发组	90	145.68±37.12 <sup>a</sup>	3.73±0.91	276.45±80.23	27.46±7.25
F值		20.964	8.514	16.493	15.892
P值		0.001	0.023	0.007	0.005

## 2.2 影响分化型甲状腺癌患者结构性复发的单因素分析

年龄、肿瘤大小、病理类型、TNM分期、术前淋巴转移、病灶类型、术后辅助治疗以及YKL-40、TSH、VEGF、ES过表达是影响结构性复发的相关危险因素,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 影响结构性复发的单因素分析 [ $n(\%)$ ]

Table 3 Single factor analysis of structural recurrence [ $n(\%)$ ]

项目	复发组 (n=22)	未复发组 (n=90)	$\chi^2$ 值	P值
性别				
男	13(59.09)	54(60.00)	0.369	0.796
女	9(40.91)	36(40.00)		
年龄				
<60岁	3(13.64)	51(56.67)	6.321	0.024
≥60岁	19(86.36)	39(43.33)		
肿瘤大小				
≥2cm	17(77.27)	50(55.56)	7.749	0.018
<2cm	5(22.73)	40(44.44)		
手术方式				
全切	10(45.45)	38(42.22)	0.473	0.264
次全切	12(54.55)	52(57.78)		
病理类型				
乳头状瘤	14(63.64)	37(41.11)	6.846	0.020
滤泡状瘤	8(36.36)	53(58.89)		
TNM分期				
I~II期	9(40.91)	57(63.33)	8.541	0.005
III~IV期	13(59.09)	33(36.67)		
术前淋巴转移				
是	18(81.82)	75(83.33)	10.206	0.003
否	4(18.18)	15(16.67)		
病灶类型				
单发	12(54.55)	63(70.00)	6.634	0.007
多发	10(45.45)	27(30.00)		
术后辅助治疗				
是	8(36.36)	64(71.11)	11.362	0.001
否	14(63.64)	26(28.89)		
YKL-40过表达	16(72.73)	20(22.22)	10.591	0.002
TSH过表达	17(77.27)	18(20.00)	12.530	<0.001
VEGF过表达	14(63.64)	22(24.44)	11.025	0.003
ES过表达	15(68.18)	24(26.67)	8.659	0.004

## 2.3 影响分化型甲状腺癌患者结构性复发的多因素 Logistic 分析

年龄≥60岁、肿瘤直径≥2cm、TNM分期、术前淋巴转移、术后未辅助治疗以及YKL-40、TSH、VEGF、ES过表达是结构性复发的独立危险因素,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表4。

## 2.4 YKL-40、TSH、VEGF、ES与甲状腺球蛋白的相关性分析

YKL-40、VEGF、ES过度表达与甲状腺球蛋白水平呈正相关性( $r_1=0.546, r_2=0.695, r_3=0.478, P_1=0.002, P_2=0.001, P_3=0.04$ )。TSH与其无统计学意义( $r=0.034, P=0.563$ )。

表4 影响结构性复发的多因素 Logistic 分析

Table 4 Multi-factor Logistic analysis of the structural recurrence

项目	β值	S.E.值	Wald值	P值	OR值	95%CI
年龄≥60岁	0.364	2.634	3.962	0.036	5.321	2.157~8.432
肿瘤直径≥2cm	0.592	0.132	6.047	0.025	3.596	2.034~5.117
病理类型	0.713	0.217	8.523	0.003	4.512	1.685~9.352
TNM分期	0.651	0.345	7.621	0.018	3.467	1.593~7.421
术前淋巴转移	0.846	0.273	5.492	0.024	5.216	2.947~8.203
多发病灶	0.121	0.059	1.053	0.327	0.628	0.348~2.039
术后未辅助治疗	0.624	0.434	8.201	0.004	2.824	1.021~5.114
YKL-40过表达	0.496	0.175	10.016	0.001	4.651	1.237~8.593
TSH过表达	0.362	0.231	9.584	0.002	3.624	1.359~7.596
VEGF过表达	0.299	0.389	6.593	0.009	3.296	1.593~6.847
ES过表达	0.354	0.274	7.432	0.005	2.968	1.027~5.634

## 2.5 YKL-40、TSH、ES、VEGF在分化型甲状腺癌诊断中的临床价值分析

YKL-40、TSH、ES、VEGF联合诊断的特异性和灵敏度显著高于单一指标诊断的特异性和灵敏度,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表5。

## 3 讨论

分化型甲状腺癌的恶性程度较低,但部分患者经规范化治疗后仍有复发的可能。YKL-40是一种糖化蛋白,由巨噬细胞、平滑肌细胞、中性粒细胞分泌,参与炎症反应。既往研究表明,YKL-40是甲状腺乳头状瘤的血清生标志物<sup>[8]</sup>。赵明英<sup>[9]</sup>等分析肝细胞癌患者YKL-40水平变化,术后预后不良组血清YKL-40显著高于预后良好组。YKL-40水平升高可导致细胞迁移、组织重塑,引起血管内皮细胞损伤。YKL-40能够影响组织内成纤维细胞分化及增生,推测其参与肿瘤的浸润与转移。苏春霞<sup>[10]</sup>等的分析显示,肺癌患者血清中YKL-40含量显著高于正常人,癌细胞转移组显著高于未转移组。本研究中,复发组YKL-40水平显著高于未复发组和对照组,YKL-40过表达是影响甲状腺癌复发的独立危险因素,且与甲状腺球蛋白水平呈正相关性。说明分化型甲状腺癌复发患者血清YKL-40水平升高,其过表达与甲状腺复发密切相关。本研究结果与以上研究相符合。

表5 YKL-40、TSH、ES、VEGF在分化型甲状腺癌诊断中的临床价值

Table 5 Clinical value of YKL-40, TSH, ES and VEGF in the diagnosis of differentiated thyroid carcinoma

变量	最佳截断点	特异性(%)	灵敏度(%)	AUC	95%CI	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	P值
YKL-40	160.35( $\mu\text{g/L}$ )	81.42	83.05	0.541	0.256~0.832	79.56	77.41	0.002
TSH	4.12( $\mu\text{IU/mL}$ )	82.06	85.74	0.328	0.168~0.417	80.34	78.12	0.004
VEGF	451.78( $\text{ng/L}$ )	80.59	81.18	0.175	0.113~0.431	77.20	75.49	0.008
ES	35.69( $\mu\text{g/L}$ )	83.47	84.52	0.201	0.162~0.385	76.41	75.83	0.007
联合	-	92.13	95.46	0.638	0.362~0.954	91.23	90.57	0.001

本研究中,年龄、肿瘤直径、TNM分期、术前淋巴转移、术后未辅助治疗是独立危险因素。年龄较高的患者,常合并代谢性疾病,此外手术创伤,可加重机体免疫功能低下。术后营养吸收差,免疫力降低,因此复发风险高<sup>[11]</sup>。恶性肿瘤直径是肿瘤分期的重要标准,直径越大,浸润性越高,增加手术难度,会导致切除不彻底,术后复发风险高。多发病灶及术前已发生淋巴结转移的患者,肿瘤对组织侵犯较大,局部手术难以完全清除。陈旭<sup>[12]</sup>等研究显示,高龄、肿瘤直径大、多发病灶均是影响分化型甲状腺癌复发的独立危险因素。本研究与陈旭等的研究结果相一致。有研究表明,病理分期越高,恶性程度越高<sup>[13]</sup>。本研究中与以上研究相符合。

TSH是促甲状腺激素合成的重要因子,其与分化型甲状腺癌的发生发展密切相关。既往有研究显示,甲状腺癌患者TSH水平显著高于良性结节,进行TSH抑制治疗,可降低复发率<sup>[14]</sup>。VEGF、ES在多种恶性肿瘤中均呈高表达状态<sup>[15]</sup>。VEGF是新血管生成的重要因子,能诱导细胞增殖,促进病灶细胞侵袭、转移。吴红敏<sup>[16]</sup>等的研究表明,VEGF可用于辅助预测术后复发。ES是肿瘤细胞产生的蛋白酶前体,有抑制血管生成的作用。本研究中,复发组TSH、VEGF、ES水平显著高于未复发组和对照组,TSH、VEGF、ES过表达是影响甲状腺癌复发的危险因素,且与甲状腺球蛋白水平密切相关。

综上所述,YKL-40、TSH、ES、VEGF与分化型甲状腺癌患者结构性复发密切相关。针对以上危险因素,临床需积极采取措施,预防复发转移,以提高患者生命质量。

## 参考文献

- [1] Twining CL, Lupo MA, Tuttle RM. Implementing Key Changes in the American Thyroid Association 2015 Thyroid Nodules/Differentiated Thyroid Cancer Guidelines Across Practice Types[J]. *Endocr Pract*, 2018, 24(9):833-840.
- [2] 邵礼成, 菅洪健, 陈广辉, 等. 中青年分化型甲状腺癌患者术后复发与生存分析[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(2):274-277.
- [3] 左湘川, 胡淑芳, 荣太梓. 分化型甲状腺癌术后复发或转移患者血清内皮抑素和血管内皮生长因子水平变化及临床意义[J]. *中国综合临床*, 2017, 33(12):1101-1104.
- [4] Vega A, Sanchez-Niño MD, Ortiz A, et al. The new marker YKL-40, a molecule related to inflammation, is associated with cardiovascular events in stable haemodialysis patients [J]. *Clin Kidney J*, 2019, 13(2):172-178.
- [5] Deng X, Liu Y, Luo M, et al. Circulating miRNA-24 and its target YKL-40 as potential biomarkers in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38):63038-63046.
- [6] 王凯, 高帅, 等. 原发性肝癌的分子诊断标记物研究进展 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(1):1-5.
- [7] 李小毅, 张波, 林岩松. 成人甲状腺结节与分化型甲状腺癌诊治指南(2015年美国甲状腺协会)解读[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 52(004):309-315.
- [8] Makki FM, Taylor SM, Shahnavaz A, et al. Serum biomarkers of papillary thyroid cancer [J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 42(1):16-19.
- [9] 赵明英, 李春林. 血清 YKL-40 联合 AFP 在肝细胞癌手术患者中的水平及其对预后状况的影响 [J]. *肝胆外科杂志*, 2019, 27(05):27-29.
- [10] 苏春霞, 王凌, 孟秀清, 等. 人类软骨糖蛋白-39 在非小细胞肺癌患者血清中的含量与临床意义研究 [J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(7):1081-1083.
- [11] Li GP, Lei JY, You JY, et al. Independent predictors and lymph node metastasis characteristics of multifocal papillary thyroid cancer [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(5):9619-9622.
- [12] 陈旭, 姜吉. 老年分化型甲状腺癌患者术后复发转移的影响因素 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(10):2076-2078.
- [13] Wang TS, Evans DB. Commentary on: occult lymph node metastasis and risk of regional recurrence in papillary thyroid cancer after bilateral prophylactic central neck dissection: a multi-institutional study [J]. *Surgery*, 2017, 161(2):472-474.
- [14] Golbert L, De AC, Faccin CS, et al. Serum TSH levels as a predictor of malignancy in thyroid nodules: a prospective study [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11):123-125.
- [15] Wang LJ, Bao R, Zou LF, et al. Significance of expression of Endoglin (CD105) and Endostatin in thyroid carcinoma [J]. *Chin J Biol*, 2017, 30(1):63-67.
- [16] 吴红敏, 宋珍珠, 闫瑞红. 分化型甲状腺癌术后复发/转移患者血管内皮生长因子检测的临床意义 [J]. *中国基层医药*, 2016, 23(8):1207-1210.

## 探讨渗出性胸腔积液 ADA、CEA 对良恶性胸腔积液的诊断价值

斯明园<sup>1</sup> 徐大林<sup>1\*</sup> 江海兵<sup>1</sup> 姜海波<sup>1</sup> 肖洁<sup>2</sup>

**【摘要】** **目的** 探究渗出性胸腔积液腺苷脱氨酶(ADA)、癌胚抗原(CEA)对良恶性胸腔积液的诊断价值。**方法** 选择2017年1月至2020年8月本院收治的106例渗出性胸腔积液患者,将患者分为恶性组( $n=36$ )和良性组( $n=70$ )。对两组患者胸水 ADA、胸水 CEA、血清 CEA 水平进行比较,采用单因素、多因素 Logistic 回归分析胸水 ADA、CEA 和血清 CEA 与良恶性胸腔积液的相关性。运用受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)评估渗出性胸腔积液 ADA、CEA 对良恶性胸腔积液的诊断价值。**结果** 恶性组患者胸水 ADA 水平明显低于良性组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),恶性组患者胸水 CEA 和血清 CEA 水平明显高于良性组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。单因素和多因素 Logistic 回归分析,结果显示,胸水 ADA、胸水 CEA、血清 CEA、胸水 CEA/血清 CEA $>1$  是影响患者发生恶性胸腔积液的独立危险因素( $P<0.05$ ),且联合指标诊断渗出性胸腔积液良恶性胸腔积液的特异性(86.87%)、灵敏度(89.91%)、AUC(0.895)均明显高于单一指标( $P<0.05$ )。**结论** 渗出性胸腔积液 ADA、CEA 诊断积液良恶性的准确度均较高,但联合指标的灵敏度、准确性和诊断价值更高。

**【关键词】** 渗出性胸腔积液;腺苷脱氨酶;癌胚抗原;良恶性胸腔积液

### Diagnostic Value of Exudative Pleural Effusion ADA and CEA in Benign and Malignant Pleural Effusion

SI Mingyuan<sup>1</sup>, XU Dalin<sup>1\*</sup>, JIANG Haibing<sup>1</sup>, JIANG Haibo<sup>1</sup>, XIAO Jie<sup>2</sup>

(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Lujiang People's Hospital, Lujiang, Anhui, China, 231500; 2. Department of Respiration, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To explore the diagnostic value of adenosine deaminase (ADA) and carcinoembryonic antigen (CEA) for benign and malignant pleural effusions in exudative pleural effusion. **Methods** The 106 patients with exudative pleural effusion admitted to our hospital from January 2017 to August 2020 were selected, and the patients were divided into malignant group ( $n=36$ ) and benign group ( $n=70$ ). The levels of pleural fluid ADA, pleural fluid CEA, and serum CEA were compared between the two groups of patients. Single-factor and multivariate Logistic regression was used to analyze the correlation between pleural fluid ADA, CEA, serum CEA and benign and malignant pleural effusion. The receiver operating characteristic (ROC) area under the curve (AUC) was used to evaluate the diagnostic value of exudative pleural effusion ADA and CEA for benign and malignant pleural effusion. **Results** The ADA level of pleural fluid in the malignant group was significantly lower than that in the benign group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of pleural fluid CEA and serum CEA in the malignant group were significantly higher than those in the benign group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Univariate and multivariate Logistic regression analysis showed that pleural fluid ADA, pleural fluid CEA, serum CEA,

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2008085QH356)

作者单位:1. 庐江县人民医院呼吸与危重症医学科,安徽,庐江 231500

2. 安徽医科大学第二附属医院呼吸科,安徽,合肥 230000

\*通信作者:徐大林, E-mail: Xudl401@sina.com

pleural fluid CEA/serum CEA>1 were independent risk factors affecting patients with malignant pleural effusion ( $P<0.05$ ). And the specificity (86.87%), sensitivity (89.91%) and AUC (0.895) of the combined indicators in diagnosing benign and malignant pleural effusion with exudative pleural effusion were significantly higher than the single indicator ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Exudative pleural effusion ADA and CEA have higher accuracy in diagnosing benign and malignant effusion, but the sensitivity, accuracy and diagnostic value of the combined indicators are much higher.

**[KEY WORDS]** Exudative pleural effusion; Adenosine deaminase; Carcinoembryonic antigen; Benign and malignant pleural effusion

渗出性胸腔积液是指由于血管通透性增加,导致血液成分沿着通透性增加的途径进入至胸膜腔引起的病理性积液<sup>[1]</sup>,导致疾病的主要因素包括炎症性疾病和肿瘤性疾病,如肺炎、结核、风湿免疫性疾病以及肿瘤等,均表现为渗出液<sup>[2]</sup>。渗出性胸腔积液通常病因较为复杂多样,由于病因多样,其治疗方式以及患者预后转归也存在较大差异,因此,对渗出性胸腔积液的致病因素、积液性质进行明确诊断,从而进行对症治疗,对改善患者临床症状和预后转归具有重要价值。目前临床大多采用经皮穿刺活检、DNA定量分析等方式,但穿刺活检为有创检查,对患者会造成一定损伤,并存在并发症风险,通常患者接受程度较低<sup>[3]</sup>;DNA分析的病理操作要求较高,而对血清和胸水中的肿瘤标志物进行实验室检查,其实用性更强,临床操作也相对简单。腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)和癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)均为与胸腔积液相关的肿瘤标记物<sup>[4]</sup>。故探讨ADA、CEA对积液性质的诊断价值,对提高临床诊断准确性具有重要意义。然而目前国内对胸腔积液的研究,大多针对其治疗方法、预后评估等方面,很少有研究生物学指标的诊断价值<sup>[5-6]</sup>。因此,本研究将探讨ADA、CEA对良恶性胸腔积液的诊断价值,为临床选择适宜的治疗方案,改善患者临床症状提供理论依据。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年1月至2020年8月本院收治的106例渗出性胸腔积液患者的临床资料。其中男56例,女50例。平均年龄( $57.34\pm 9.16$ )岁。根据患者胸膜穿刺活检、痰检、影像学检查或诊断性治疗结果,将患者分为恶性组( $n=36$ )和良性组( $n=70$ )。其中36例恶性胸腔积液患者包括20例肺腺癌,9例肺鳞癌,7例小细胞肺癌。

纳入标准:①符合渗出性胸腔积液诊断标准<sup>[7]</sup>;②临床资料完整;③年龄超过18周岁;④经B超或CT证实有中量以上的胸腔积液。所有患者及家属均签知情同意书。排除标准:①患有心脑血管严重疾病;②患有重要脏器严重功能丧失或病变;③实验室检查资料不完整;④入院前近期有相关治疗史。本实验通过医院伦理会批准。

### 1.2 胸水ADA、CEA和血清CEA检测方法

患者在入院当天进行经胸膜腔穿刺抽取胸腔积液或者持续胸腔闭式引流,取5 mL胸水进行胸水常规生化检查。所取胸水经过肝素(江苏大同盟制药有限公司,国药准字H20163060)抗凝后,将其置于离心机中,通过2 000 r/min的速度离心10 min后吸取上层清液。利用生化分析仪(北京中西远大科技有限公司,M401542型号)测定胸水ADA水平,利用电化学发光仪(天津市兰力科化学电子技术有限公司,LK5100型号)测定CEA水平,试剂盒均购自上海佰晔生物科技公司。患者在入院当日早晨空腹时采集2 mL静脉血,将其置于离心机中,通过3 000 r/min的速度离心15 min后吸取上层血清,采用电化学发光仪检测血清CEA水平。

### 1.3 阳性判断标准

按照试剂盒标注的ADA、CEA临界值:ADA临界值为40 U/L,阳性为低于临界值;CEA临界值为10 ng/L,阳性为高于临界值。

### 1.4 观察指标

①比较恶性组和良性组患者胸水ADA、CEA和血清CEA水平的差异。②两组患者一般资料和实验室检查结果的单因素分析。③多因素Logistic回归分析ADA、CEA与渗出性胸腔积液的积液性质的相关性。④渗出性胸腔积液ADA、CEA对良恶性胸腔积液的诊断价值。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件进行分析。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用

$t$  检验;计数资料用  $n(\%)$  来表示,用  $\chi^2$  检验。用单因素和多因素 Logistic 回归分析胸水 ADA、CEA 和血清 CEA 与良恶性胸腔积液的相关性。运用受试者工作特征 (Receiver Operating Characteristics, ROC) 曲线下面积 (Area under curve, AUC) 评估渗出性胸腔积液 ADA、CEA 对良恶性胸腔积液的诊断价值。当  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者 ADA、CEA 水平比较

恶性组患者胸水 ADA 水平显著低于良性组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),恶性组患者胸水 CEA 和血清 CEA 水平显著高于良性组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组患者胸水 ADA、CEA 和血清 CEA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of thoracic ADA, CEA and SERUM CEA levels between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	恶性组 ( $n=36$ )	良性组 ( $n=70$ )	$t$ 值	$P$ 值
胸水 ADA(U/L)	13.25 $\pm$ 8.31	41.62 $\pm$ 22.35	15.113	0.000
胸水 CEA(ng/mL)	476.71 $\pm$ 221.35	2.14 $\pm$ 1.63	20.368	0.000
血清 CEA(ng/mL)	42.32 $\pm$ 23.56	2.21 $\pm$ 1.31	17.824	0.000

### 2.2 单因素分析两组患者的个体和临床特征

对两组患者性别、年龄、体质量指数 (Body Mass Index, BMI)、咯血、胸痛等进行比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。两组患者胸水 ADA、胸水 CEA、血清 CEA、胸水 CEA/血清 CEA 比较,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组患者一般资料比较 [ $n(\%)$ ]

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

影响因素	恶性组 ( $n=36$ )	良性组 ( $n=70$ )	$\chi^2$ 值	$P$ 值
性别	男	19(52.76)	37(52.86)	1.256 0.772
	女	17(47.24)	33(47.14)	
年龄	<50	9(25.00)	18(25.71)	1.928 0.452
	$\geq 50$	27(75.00)	52(74.29)	
BMI	正常	30(83.33)	58(82.86)	2.634 0.132
	下降	6(16.67)	12(17.14)	
咯血	有	3(8.33)	6(8.57)	2.152 0.241
	无	34(91.67)	64(91.43)	
胸痛	有	6(16.67)	12(17.14)	1.125 0.825
	无	30(83.33)	58(82.86)	
胸水 ADA	阴性	2(5.56)	66(94.29)	18.952 0.000
	阳性	34(94.44)	4(5.71)	
胸水 CEA	阴性	2(5.56)	65(92.86)	19.352 0.000
	阳性	34(94.44)	5(7.14)	
血清 CEA	阴性	3(8.33)	67(95.71)	18.036 0.000
	阳性	33(91.67)	3(4.29)	
胸水 CEA/血清 CEA	>1	34(94.44)	4(5.71)	17.325 0.000
	<1	2(5.56)	66(94.29)	

### 2.3 ADA、CEA 与渗出性胸腔积液的积液性质相关性的多因素 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析结果显示,胸水 ADA、胸水 CEA、血清 CEA、胸水 CEA/血清 CEA > 1 是影响患者发生恶性胸腔积液的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 Logistic 回归分析表

Table 3 Logistic regression analysis Table

指标	回归系数	标准误	Wald	OR	95%CI	$P$ 值
胸水 ADA	1.662	0.318	24.532	1.356	0.658~2.763	0.000
胸水 CEA	1.411	0.276	21.854	1.962	1.254~3.631	0.000
血清 CEA	1.059	0.205	18.369	1.102	0.405~1.814	0.000
胸水 CEA/血清 CEA > 1	0.952	0.361	15.245	1.241	0.517~2.059	0.000

### 2.4 渗出性胸腔积液 ADA、CEA 对良恶性胸腔积液的诊断价值

胸水 ADA、胸水 CEA、血清 CEA、胸水 CEA/血清 CEA > 1 联合指标诊断渗出性胸腔积液良恶性胸腔积液的特异性 (86.87%)、灵敏度 (89.91%)、AUC (0.895) 均明显高于单一指标,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 渗出性胸腔积液 ADA、CEA 对良恶性胸腔积液的诊断价值 AUC 比较

Table 4 AUC comparison of the diagnostic value of ADA and CEA for effusion pleural effusion in benign and malignant pleural effusion

指标	最佳截定点	特异性 (%)	灵敏度 (%)	AUC	95%CI	$P$ 值
胸水 ADA	18.21	79.24 <sup>a</sup>	87.32 <sup>a</sup>	0.873	0.745~0.857 <sup>a</sup>	0.015
胸水 CEA	2.15	78.57 <sup>a</sup>	88.82 <sup>a</sup>	0.864	0.774~0.912 <sup>a</sup>	0.016
血清 CEA	2.24	74.69 <sup>a</sup>	80.46 <sup>a</sup>	0.808	0.724~0.873 <sup>a</sup>	0.013
胸水 CEA/血清 CEA > 1	1.13	76.35 <sup>a</sup>	82.37 <sup>a</sup>	0.831	0.741~0.892 <sup>a</sup>	0.017
联合	10.51	86.87	89.91	0.895	0.812~0.936	0.011

注:联合指标是指胸水 ADA、胸水 CEA、血清 CEA、胸水 CEA/血清 CEA 联合;与联合指标比较,<sup>a</sup>  $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

目前临床诊断良恶性渗出性胸腔积液的金标准为抽取胸腔积液并分析其中的细菌、炎性因子以及肿瘤细胞等,但一般免疫学指标或细胞学、细菌性检查诊断敏感性较差,且花费时间较长<sup>[8]</sup>。因此,探讨准确高效诊断方法对明确胸腔积液的良恶性具有重要临床价值。

ADA 是与感染时免疫应答中起重要作用的淋巴细胞活化具有重要关联的一类核酸代谢巯基酶<sup>[9]</sup>,其中胸水 ADA 活性可用于结核性和癌性胸

膜炎的鉴别诊断<sup>[10]</sup>。CEA属于一类具有人类胚胎抗原特性的广谱性肿瘤标志物<sup>[11]</sup>,可存在于内胚层细胞分化而来的癌症细胞表面和正常胚胎的消化管组织中以及正常人血清中,其水平明显升高主要发生在癌症中晚期<sup>[12]</sup>。

李锐成等<sup>[13]</sup>学者研究发现,与肺癌性胸腔积液组比较,结核性胸腔积液组患者胸腔积液样本中ADA水平显著升高,CEA水平显著降低。并且ROC显示ADA、B7-H4蛋白、CEA三者联合检测可明显提高结核性胸腔积液和肺癌性胸腔积液的诊断效能。徐远久等<sup>[14]</sup>学者研究发现,联合多种指标可明确病因及指导治疗,且与结核性胸腔积液组比较,恶性胸腔积液组患者胸腔积液CEA、乳酸脱氢酶、血CEA及胸腔积液CEA/血CEA水平及阳性率均显著升高,胸腔积液ADA水平以及阳性率显著降低。本研究结果表明不同性质的胸腔积液患者胸水ADA、CEA和血清CEA水平存在明显差异,胸水ADA、CEA、血清CEA、胸水CEA/血清CEA是影响患者发生恶性胸腔积液的危险因素,并且对渗出性胸腔积液的良恶性质的鉴别诊断存在较高的敏感度,但其联合指标的诊断效能优于独立指标。原因可能在于:①ADA在淋巴细胞中水平较其他人体细胞和组织更高,尤其是在T淋巴细胞中含量要高于B淋巴细胞中,而患者在结核和炎症感染时,患者体内主要启动细胞免疫反应,引起T淋巴细胞大量增殖,因此,结核性等良性渗出性胸腔积液患者胸水中ADA水平相对较高。当胸水ADA水平超过临界值时,可以和癌性胸腔积液鉴别;②CEA能够经过转换、分泌等途径进入胸腔积液和血液循环中,CEA在正常人血清中水平很低,而当胸膜细胞发生恶性病变或癌变时,CEA重新活化,大量产生并进入胸腔积液中,因此恶性胸腔积液患者胸水CEA和血清CEA水平明显高于良性患者。

综上所述,渗出性胸腔积液患者胸水ADA、胸水CEA、血清CEA以及胸水CEA/血清CEA>1指标联合检测的诊断效能优于独立指标,具有更高的诊断价值,值得临床推广应用。

## 参考文献

- [1] Bansal S, Mittal S, Tiwari P, et al. Rigid Mini-Thoracoscopy Versus Semirigid Thoracoscopy in Undiagnosed Exudative Pleural Effusion: The MINT Randomized Controlled Trial [J]. *J Bronchology Interv Pulmonol*, 2020, 27(3):163-171.
- [2] Wei YQ, Shen KK, Lv TF, et al. Comparison between closed pleural biopsy and medical thoracoscopy for the diagnosis of undiagnosed exudative pleural effusions: a systematic review and meta-analysis [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(3):446-458.
- [3] 徐建明, 闵志雪, 李清贤. 经皮胸膜活检在渗出性胸腔积液中的临床应用评价[J]. *国际医药卫生导报*, 2018, 24(03):346-348.
- [4] 何丽美, 赵子文. 联合检测ADA、CEA和CYFRA21-1对鉴别结核性和恶性胸腔积液的诊断价值[J]. *热带医学杂志*, 2015, 15(7):914-916.
- [5] He ZX, Wang S, Qiao GL, et al. Clinical efficacy of intracavitary infusions of autologous dendritic cell/cytokine-induced killer cell products for the treatment of refractory malignant pleural effusions and ascites [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(7):745-749.
- [6] 谢军平, 彭赖水, 徐慧, 等. livin蛋白在肺癌胸腔积液中的表达及其评估晚期肺癌预后的价值[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(13):2099-2103.
- [7] 刘斌, 李玺, 卢燕珊, 等. 胸水单核细胞比例联合胸水ADA、胸水CEA检测对良恶性胸腔积液的诊断价值[J]. *中国实用医药*, 2019, 14(17):56-58.
- [8] Muhammad SE, Hussein SM, Mohammad M, et al. Thoracoscopic pleural cryobiopsy versus conventional forceps biopsy in diagnosis of exudative pleural effusion of unknown etiology [J]. *Egypt J Bronchol*, 2019, 13(2):162-169.
- [9] 徐雪勤, 马永磊, 杨喜勇. HBP、ADA、CHE鉴别急性细菌性脑膜炎病原菌的价值及其与病情的关联性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(6):741-745.
- [10] Xu HY, Li CY, Su SS, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy with combination of adenosine deaminase and interferon- $\gamma$  immunospot assay in a tuberculosis-endemic population: A prospective cohort study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(47):968-971.
- [11] Polivka J, Windrichova J, Pesta M, et al. The Level of Preoperative Plasma KRAS Mutations and CEA Predict Survival of Patients Undergoing Surgery for Colorectal Cancer Liver Metastases [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(9):2147-2150.
- [12] Kato H, Kishiwada M, Hayasaki A, et al. Role of Serum Carcinoma Embryonic Antigen (CEA) Level in Localized Pancreatic Adenocarcinoma: CEA Level Before Operation is a Significant Prognostic Indicator in Patients With Locally Advanced Pancreatic Cancer Treated With Neoadjuvant Therapy Followed by Surgical Resection: A Retrospective Analysis [J]. *Ann Surg*, 2020, 25(11):1593-1596.
- [13] 李锐成, 郜赵伟, 张惠中, 等. 胸腔积液中B7-H4蛋白联合ADA和CEA水平检测在胸腔积液鉴别诊断中的应用价值[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46(3):614-619.
- [14] 徐远久, 鲁小龙, 何佳虹. 改良胸膜活检术联合生物标志物等对不明原因胸腔积液的诊断价值[J]. *重庆医学*, 2017, 46(25):3515-3517.

## HIF-1 $\alpha$ 、G6PD 及 PDCD5 的表达及与患者临床特征的相关性分析

董幼溪<sup>1</sup> 王文博<sup>1</sup> 史坚<sup>2</sup> 史振伟<sup>3\*</sup>

**[摘要]** 目的 分析肾透明细胞癌(CCRCC)缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )、6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)及程序性细胞死亡因子5(PDCD5)的表达及与患者临床特征的相关性。方法 纳入2017年2月至2018年2月于本院接受诊治的61例CCRCC患者,根据预后生存情况分为:生存组44例,死亡组17例。收集肿瘤组织及肿瘤旁正常肾脏粘膜组织,分别作为CCRCC组( $n=61$ )和癌旁正常组织组( $n=61$ )。比较HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5在CCRCC组织及癌旁组织的表达情况;分析HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5患者各临床特征的相关性,并采用多元Logistic回归分析影响CCRCC患者预后生存的危险因素。结果 CCRCC组织HIF-1 $\alpha$ 、G6PD阳性表达率高于癌旁正常组织组,PDCD5阳性表达率低于癌旁正常组织组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5表达情况与CCRCC患者肿瘤直径、病理分期、TNM分期及WHO/ISUP分级呈显著相关性( $P<0.05$ )。死亡组pT1-2期、I~II期、WHO/ISUP分级1~2级、HIF-1 $\alpha$ 阴性、G6PD阴性及PDCD5阳性者较生存组少,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。TNM分期III~IV期、HIF-1 $\alpha$ 阳性、G6PD阳性及PDCD5阴性为影响CCRCC患者预后生存的独立危险因素( $P<0.05$ )。结论 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD、PDCD5在CCRCC组织中异常表达,可作为预测CCRCC患者预后的潜在分子标志物和治疗靶点。

**[关键词]** 肾透明细胞癌;缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; G6PD; PDCD5

### The expression of HIF-1 $\alpha$ , G6PD and PDCD5 and its correlation with clinical features of patients

DONG Youxi<sup>1</sup>, WANG Wenbo<sup>1</sup>, SHI Jian<sup>2</sup>, SHI Zhenwei<sup>3\*</sup>

[1. Department of Nephrology, General Emergency Hospital, Beijing, China, 100028; 2. Department of Cardiology and Vascular Surgery, the First Central Hospital of Baoding, Baoding, Hebei, China, 071000; 3. Department of Nephrology, Beijing Huaxin hospital (the First Affiliated Hospital of Tsinghua University), Beijing, China, 100028]

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression of Hypoxia inducible factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and the programmed cell death 5 (PDCD5) of clear cell renal carcinoma (CCRCC) and its correlation with clinical features of patients. **Methods** 61 patients with CCRCC who were diagnosed and treated in our hospital from February 2017 to February 2018 were included. According to the prognosis, they were divided into: 44 cases in the survival group and 17 cases in the death group. The tumor tissue and the normal renal mucosa tissue adjacent to the tumor were collected as the CCRCC group ( $n=61$ ) and the adjacent normal tissue group ( $n=61$ ). The expressions of HIF-1 $\alpha$ , G6PD and PDCD5 in CCRCC tissues and adjacent tissues were measured and compared. The correlation between the clinical characteristics of HIF-1 $\alpha$ , G6PD and PDCD5 patients was analyzed, and multiple logistic regression was used to analyze the risk factors that affect the prognostic survival of CCRCC patients. **Results** The positive expression rate of HIF-

基金项目:北京市科技计划项目(Z171100004116015)

作者单位:1. 应急总医院肾内科,北京 100028

2. 保定市第一中心医院心脏血管外科,河北,保定 071000

3. 北京华信医院(清华大学第一附属医院)肾内科,北京 100028

\*通信作者:史振伟, E-mail: shizhenwei2008@126.com

1 $\alpha$  and G6PD in CCRCC tissue was higher than those of normal tissues adjacent to cancer, and the positive expression rate of PDCD5 was lower than that of normal tissues adjacent to cancer ( $P<0.05$ ). The expression of HIF-1 $\alpha$ , G6PD and PDCD5 is related to tumor diameter, pathological stage, TNM stage and WHO/ISUP classification ( $P<0.05$ ). The death group had fewer patients with pT1-2, I ~ II, WHO/ISUP grade 1-2, HIF-1 $\alpha$  negative, G6PD negative, and PDCD5 positive than the survival group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). NM stages III ~ IV, HIF-1 $\alpha$  positive, G6PD positive and PDCD5 negative were independent risk factors affecting the prognosis of CCRCC patients ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The abnormal expression of HIF-1 $\alpha$ , G6PD, and PDCD5 in CCRCC tissues can be used as potential molecular markers and therapeutic targets for predicting the prognosis of CCRCC patients.

**[KEY WORDS]** Renal clear cell carcinoma; Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ; G6PD; PDCD5

肾透明细胞癌 (clear cell renal carcinoma, CCRCC) 是一种典型的肾皮质肿瘤, 临床患者复发、转移甚至死亡率较高, 寻求有效监测指标对改善 CCRCC 患者预后具有重要价值<sup>[1]</sup>。在活体内的研究发现缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (Hypoxia inducible factor 1-alpha, HIF-1 $\alpha$ ) 在大多数肾透明细胞癌组织中上调, 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) 作为戊糖磷酸途径代谢途径的限速酶, 程序性细胞死亡因子 5 (programmed cell death 5, PDCD5) 作为一种肿瘤抑制基因, 三者恶性肿瘤中的应用价值是目前的研究热点<sup>[2-3]</sup>。本研究就 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD 及 PDCD5 在 CCRCC 中的表达及与预后的相关性进行分析, 以期为临床治疗提供新靶点。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

纳入 2017 年 2 月至 2018 年 2 月于本院收治的 61 例 CCRCC 患者, 纳入标准: ①所有患者有明确的病理学诊断依据<sup>[4]</sup>; ②入组前未接受放化疗; 排除标准: ①合并血液疾病者; ②严重精神疾患或痴呆等无法配合本研究; ③存在除 CCRCC 以外其他原发性恶性肿瘤者; ④合并风湿免疫及结缔组织病变者。据预后生存情况分为生存组 44 例, 死亡组 17 例。收集肿瘤组织及肿瘤旁 (距离 CCRCC 组织 3 cm 以上) 的正常肾脏粘膜组织, 作为 CCRCC 组 ( $n=61$ ) 和癌旁正常组织组 ( $n=61$ )。本研究经医院伦理委员会批准, 所有研究对象知情且签署同意书。

主要试剂: 一抗山羊抗 G6PD 多克隆抗体 (工作浓度 1:200) 购自美国 santa cruz 公司, 兔抗人 PDCD5 多克隆抗体 (工作浓度 1:150)、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗均购自北京博奥森生物技术有限公司, 浓缩型鼠抗人 HIF-1 $\alpha$  单克隆抗体 (工作浓度 1:20) 购自北京中杉金桥生物技术公司。即用型快速

免疫组化 SP 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司; 以丹麦 Dako 公司提供的阳性切片作为阳性对照。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 检测步骤

将所收集的组织制作成厚度 4  $\mu\text{m}$  的切片, 实验步骤按照说明书进行。烘烤石蜡切片, 予脱水、脱蜡; 3% 过氧化氢中浸泡 15 min, 随后用 PBS (pH 7.4) 冲洗 3 次 (每次间隔 3 min); 加入柠檬酸钠缓冲液 (pH 6.0) 中放入高压锅, 修复抗原; 加入一抗工作液, 置 4 $^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜; 第二天用 PBS 冲洗 3 次 (每次间隔 5 min) 后加二抗工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h; 最后 DBA 显色 10 min, 苏木素复染, 待脱水后中性树胶封片。

#### 1.2.2 结果判定<sup>[5-6]</sup>

G6PD 蛋白主要在细胞浆内表达, PDCD5 蛋白主要位于细胞浆和细胞核, HIF-1 $\alpha$  阳性表达细胞呈棕黄色颗粒, 主要分布于细胞核。以肿瘤细胞内出现定位清晰的棕黄色或棕褐色颗粒为阳性, 按阳性细胞百分率 (A 值) 评分: <25% 为 1 分, 25%~50% 为 2 分, >50% 为 3 分; 按染色强度 (B 值) 评分: 不着色为 0 分, 浅棕黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。两种计分的乘积为每例的加权分数, 加权分数为 0 为阴性, 其余均为阳性。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析, 计数资料以  $n(\%)$  表示, 采用  $\chi^2$  检验; 采用多元 Logistic 回归分析影响 CCRCC 患者预后生存的危险因素, 以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

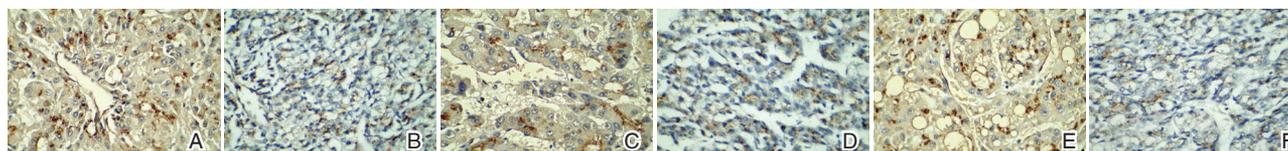
### 2.1 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD 及 PDCD5 的表达

CCRCC 组 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD 阳性表达率高于癌旁正常组织组, PDCD5 阳性表达率低于癌旁正常组织组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 1、图 1。

表1 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5在CCRCC组织及癌旁组织的表达比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of HIF-1, G6PD and PDCD5 expression in CCRCC tissues and adjacent tissues [n(%)]

组别(n)	HIF-1 $\alpha$		G6PD		PDCD5	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
CCRCC组(61)	49(70.33)	12(19.67)	48(78.69)	13(21.31)	11(18.03)	50(81.97)
癌旁正常组织组(61)	8(13.11)	53(86.89)	3(4.92)	58(95.08)	54(88.52)	7(11.48)
$\chi^2$ 值	55.353		68.227		60.885	
P值	<0.001		<0.001		<0.001	



注: A为HIF-1 $\alpha$ 阳性表达; B为HIF-1 $\alpha$ 阴性表达; C为G6PD阳性表达; D为G6PD阴性表达; E为PDCD5阳性表达; F为PDCD5阴性表达。

图1 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD和PDCD5在CCRCC组织中免疫组化阴性、阳性表达情况(SP,  $\times 400$ )

Figure 1 Immunohistochemical negative and positive expression of HIF-1, G6PD and PDCD5 in CCRCC tissues (SP,  $\times 400$ )

## 2.2 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5与CCRCC患者各病理参数的相关性

HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5表达情况与CCRCC患者年龄、性别、手术方式、镜下坏死和肉瘤样特征程度比较,差异无统计学意义( $P >$

0.05),与肿瘤直径、病理分期、TNM分期及世界卫生组织/国际泌尿外科病理学会(World Health Organization/National Nosocomial Infections Surveillance, WHO/ISUP)分级比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 HIF-1 $\alpha$ 、G6PD及PDCD5与CCRCC患者各病理参数的相关性 [n(%)]

Table 2 Correlation of HIF-1, G6PD and PDCD5 with pathological parameters of CCRCC patients [n(%)]

病理参数	n	HIF-1 $\alpha$ (n=61)		$\chi^2$ 值	P值	G6PD (n=61)		$\chi^2$ 值	P值	PDCD5 (n=61)		$\chi^2$ 值	P值					
		阳性 (n=49)	阴性 (n=12)			阳性 (n=48)	阴性 (n=13)			阳性 (n=11)	阴性 (n=50)							
年龄(岁)	>60	35	29(59.18)	6	50.00	0.332	0.564	29(60.42)	6	46.15	0.851	0.356	6	54.55	29	58.00	0.044	0.834
	$\leq 60$	26	20(40.82)	6	50.00			19(39.58)	7	53.85			5	45.45	21	42.00		
性别	男	32	25(51.02)	7	58.33	0.207	0.649	25(52.08)	7	53.85	0.013	0.910	5	45.45	27	54.00	0.264	0.607
	女	29	24(48.98)	5	41.67			23(47.92)	6	46.15			6	54.55	23	46.00		
手术方式	保留肾单位	39	31(63.27)	8	66.67	0.048	0.826	31(64.58)	8	61.54	0.041	0.839	7	63.64	32	64.00	0.399	0.528
	根治术	22	18(36.73)	4	33.33			17(35.42)	5	38.46			4	36.36	18	36.00		
肿瘤最大直径(cm)	$\leq 4$	30	20(40.82)	10	83.33	6.972	0.008	19(39.58)	11	84.62	8.300	0.004	1	9.09	29	58.00	8.630	0.03
	>4	31	29(59.18)	2	16.67			29(60.42)	2	15.38			10	90.91	21	42.00		
病理分期	pT1~2	29	19(38.78)	10	83.33	7.674	0.006	17(35.42)	12	92.31	13.276	<0.001	2	18.18	27	54.00	4.638	0.031
	pT3~4	32	30(61.22)	2	16.67			31(64.58)	1	7.69			9	81.82	23	46.00		
TNM分期	I~II期	34	23(46.94)	11	91.67	7.817	0.005	23(47.92)	11	84.62	5.584	0.018	1	9.09	33	66.00	11.836	0.001
	III~IV期	27	26(53.06)	1	8.33			25(52.08)	2	15.38			10	90.91	17	34.00		
WHO/ISUP分级	1~2级	33	22(44.90)	11	91.67	8.491	0.004	21(43.75)	12	92.31	9.713	0.002	1	9.09	32	64.00	10.947	0.001
	3~4级	28	27(55.10)	1	8.33			27(56.25)	1	7.69			10	90.91	18	36.00		
镜下坏死	是	23	16(32.65)	7	58.33	2.706	0.100	16(33.33)	7	53.85	1.833	0.176	5	45.45	18	36.00	0.005	0.941
	否	38	33(67.35)	5	41.67			32(66.67)	6	45.15			6	54.55	32	64.00		
肉瘤样特征	是	26	21(42.86)	5	41.67	0.006	0.940	20(41.67)	6	46.15	0.084	0.772	4	36.36	22	44.00	0.215	0.643
	否	35	28(57.14)	7	58.33			28(58.33)	7	53.85			7	63.61	28	56.00		

## 2.3 影响CCRCC患者预后生存的单因素分析

生存组与死亡组年龄、性别、肉瘤样特征、肿瘤最大直径比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),死亡组pT1-2期、I~II期、WHO/ISUP分级1~2级、HIF-1 $\alpha$ 阴性、G6PD阴性及PDCD5阳性者较生存组少,差

异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

## 2.4 影响CCRCC患者预后生存的多因素分析

TNM分期III~IV期、HIF-1 $\alpha$ 阳性、G6PD阳性及PDCD5阴性为影响CCRCC患者预后生存的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表4。

表3 影响CCRCC患者预后生存的单因素分析 [n(%)]

因素	n	生存组 (n=39)	死亡组 (n=22)	$\chi^2/t$ 值	P值
年龄(岁)					
>60	35	23(58.97)	12(54.55)	0.113	0.737
≤60	26	16(41.03)	10(45.45)		
性别				1.724	0.189
男	32	18(46.15)	14(63.64)		
女	29	21(53.85)	8(36.36)		
肉瘤样特征				0.041	0.839
是	26	17(43.59)	9(40.91)		
否	35	22(56.41)	13(59.09)		
肿瘤最大直径(cm)				0.396	0.529
≤4	30	18(46.15)	12(54.55)		
>4	31	21(53.85)	10(45.45)		
病理分期				8.495	0.004
pT1~2	29	24(61.54)	5(22.73)		
pT3~4	32	15(38.46)	17(77.27)		
TNM分期				19.673	<0.001
I~II期	34	30(76.92)	4(18.18)		
III~IV期	27	9(23.08)	18(81.82)		
WHO/ISUP分级				22.687	<0.001
1~2级	33	30(76.92)	3(13.64)		
3~4级	28	9(23.08)	19(86.36)		
HIF-1 $\alpha$				4.983	0.026
阳性	49	28(71.79)	21(95.45)		
阴性	12	11(28.21)	1(4.55)		
G6PD				5.768	0.016
阳性	48	27(69.23)	21(95.45)		
阴性	13	12(30.77)	1(4.55)		
PDCD5				4.235	0.040
阳性	11	10(25.64)	1(4.55)		
阴性	50	29(74.36)	21(95.45)		

表4 影响CCRCC患者预后生存的多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors affecting the survival of CCRCC patients

影响因素	回归系数	标准误	Wald/ $\chi^2$ 值	P值	OR值	95%CI
病理分期(pT1~2vs pT3~4)	0.974	0.875	4.792	0.131	2.649	0.477~14.717
TNM分期(I~II期 vs III~IV期)	0.985	0.131	4.291	0.006	2.678	2.071~3.462
WHO/ISUP分级(1~2级 vs 3~4级)	1.060	0.943	4.897	0.095	2.886	0.455~18.325
HIF-1 $\alpha$ (阳性 vs 阴性)	0.948	0.152	4.187	<0.001	2.581	1.916~3.476
G6PD(阳性 vs 阴性)	1.312	0.134	4.567	<0.001	3.714	2.856~4.829
PDCD5(阳性 vs 阴性)	0.935	0.228	4.835	<0.001	2.547	1.629~3.982

高表达和高活性,并与肿瘤的恶性程度呈正相关,这与本研究结果相似,这提示肿瘤细胞中G6PD异常激活可能是细胞代谢重编程的关键分子。此外本研究结果显示,G6PD为影响CCRCC患者预后生存的危险因素,提示G6PD参与肿瘤浸润与转移。

PDCD5是一个高度保守的基因,在50种人类组织中广泛表达,其中在成年心、肾脏、睾丸、垂体腺、肾上腺呈高表达<sup>[15]</sup>。本研究应用免疫组织化学方法对PDCD5在CCRCC组织及癌旁正常组织中的表达进行了检测,并探讨了其与CCRCC患者预后的关系,发现PDCD5作为肿瘤的凋亡促进基

### 3 讨论

近年来CCRCC全世界的发病率呈明显增高的趋势,研究认为该症的发生和发展实际是多种肿瘤相关基因表达失常或许多肿瘤抑制基因失活所致<sup>[7-8]</sup>。

缺氧现象在多种实体肿瘤中广泛存在,而在肿瘤细胞中积聚了大量HIF-1 $\alpha$ 及相关大分子复合物,主要用于与缺氧反应基因的缺氧反应元件相结合,促进缺氧反应基因的转录,进而加速肿瘤细胞对缺氧的一系列适应性反应,可促进肿瘤的生长、浸润和转移<sup>[9]</sup>。本研究显示,CCRCC组织中HIF-1 $\alpha$ 以阳性表达为主,说明HIF-1 $\alpha$ 参与了CCRCC的发生。

在对结肠癌的研究中,按照Dukes分级,C、D级结肠癌HIF-1 $\alpha$ 的表达与A、B级有显著差异,提示HIF-1 $\alpha$ 与肿瘤的侵袭性和转移有关<sup>[10]</sup>。本研究进一步说明HIF-1 $\alpha$ 可作为判断CCRCC预后的有价值指标。

代谢重编程是肿瘤细胞的基本特征之一,既往研究推测其主要原因在于G6PD可扭转代谢通路中各物质的走向,在糖、脂肪、氨基酸、核酸等代谢的平衡中发挥重要作用<sup>[11]</sup>。研究表明,正常细胞G6PD表达与活性及整体代谢稳态均受到严格调控<sup>[12]</sup>。然而,G6PD在膀胱癌<sup>[13]</sup>、乳腺癌<sup>[14]</sup>等肿瘤组织中呈现

因在临床上具有潜在的应用价值,随着研究的不断深入,PDCD5有可能成为一种新的肿瘤分子标记物和临床治疗的新靶点,为恶性肿瘤的早期诊断和治疗提供新的思路。

综上,HIF-1 $\alpha$ 、G6PD、PDCD5在CCRCC组织中异常表达,可作为预测CCRCC患者预后的潜在分子标志物和治疗靶点。

### 参考文献

- [1] 成南峰,梁万锋,李元宽.后腹腔镜根治术治疗肾癌效果及对促肾上腺皮质激素,皮质醇, $\beta$ -内啡肽的影响[J].解放军医药杂志,2017,29(2):78-81. (下转第71页)

## 目标导向液体治疗对冠脉搭桥手术患者 rSO<sub>2</sub>、POCD 的影响

高巍巍<sup>1</sup> 王莉<sup>1</sup> 郭琼梅<sup>1</sup> 周长浩<sup>1</sup> 卢学姿<sup>2</sup> 王媛媛<sup>3</sup> 杜亮<sup>1\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探究目标导向液体治疗对冠脉搭桥手术患者脑氧饱和度(rSO<sub>2</sub>)、认知功能障碍(POCD)的影响。**方法** 选取本院122例行全身麻醉冠脉搭桥患者,采取目标导向液体治疗的80例患者作为研究组,采取常规液体治疗的42例患者作为对照组。比较两组术前30 min(T<sub>0</sub>)、麻醉诱导后15 min(T<sub>1</sub>)、术中1 h(T<sub>2</sub>)、2 h(T<sub>3</sub>)、3 h(T<sub>4</sub>)、术毕(T<sub>5</sub>)时 rSO<sub>2</sub>、中心静脉血氧饱和度(ScvO<sub>2</sub>)、容量负荷指标[心输出量(CO)、每搏量变异度(SVV)]、血流动力学[平均动脉压(MAP)、心率(HR)、心脏指数(CI)、中心静脉压(CVP)]、血乳酸(Lac)水平及术后 POCD 发生率。**结果** 研究组 T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub> 时 CO、rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>、CI 水平高于对照组,SVV 低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。研究组术后 POCD 发生率(31.25%)低于对照组(54.76%),差异有统计学意义(P<0.05)。**结论** 冠脉搭桥手术患者术中采取目标导向液体治疗,能进一步改善 rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub> 及心脏容量负荷,获得更稳定血流动力学,同时能有效下调血 Lac 水平,降低 POCD 发生率。

**[关键词]** 冠脉搭桥手术;目标导向液体治疗;认知功能障碍;血流动力学

### The effect of goal-oriented fluid therapy on rSO<sub>2</sub> and POCD in patients undergoing coronary artery bypass surgery

GAO Weiwei<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, GUO Qiongmei<sup>1</sup>, ZHOU Changhao<sup>1</sup>, LU Xuezi<sup>2</sup>, WANG Yuanyuan<sup>3</sup>, DU Liang<sup>1\*</sup>

(1. Department of Anesthesiology, The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000; 2. Department of Anesthesiology, Tianjin Stomatology Hospital, Tianjin, China, 300041; 3. Department of Anesthesiology, Hospital of Rongcheng County, Baoding, Hebei, China, 071700)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the effects of goal-oriented fluid therapy on regional cerebral oxygen saturation (rSO<sub>2</sub>) and postoperative cognitive dysfunction (POCD) in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery, and to analyze its related mechanisms. **Methods** A total of 122 patients with coronary artery bypass graft under general anesthesia were selected in our hospital, 80 patients with goal-oriented fluid therapy were used as the study group, and 42 patients with conventional fluid therapy were used as the control group. The rSO<sub>2</sub>, central venous oxygen saturation (ScvO<sub>2</sub>), volume load index [cardiac output (CO), stroke volume variability (SVV)], hemodynamics [mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), cardiac index (CI), central venous pressure (CVP)], blood lactic acid (Lac) levels at 30 min before operation (T<sub>0</sub>), 15 min after induction of anesthesia (T<sub>1</sub>), 1 h (T<sub>2</sub>), 2 h (T<sub>3</sub>), 3 h (T<sub>4</sub>) during the operation, and after operation (T<sub>5</sub>), and the incidence of postoperative POCD were compared between the two groups. **Results** The CO, rSO<sub>2</sub>, ScvO<sub>2</sub>, CI of the study group was higher than that of the control group at T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub>, and the SVV was lower than that of the control group, the difference was statistically significant (P<0.05). The CI of the study group was

基金项目:河北省卫生和健康委员会科研基金项目(20190418)

作者单位:1. 河北医科大学第一医院麻醉科,河北,石家庄 050000

2. 天津市口腔医院麻醉科,天津 300041

3. 容城县人民医院麻醉科,河北,保定 071700

\*通信作者:杜亮, E-mail: 157642689@qq.com

higher than the control group at T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub>, and the CVP was lower than the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The blood Lac of the study group at T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub> was lower than that of the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The incidence of postoperative POCD in the study group (31.25%) was lower than that in the control group (54.76%), and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The use of goal-oriented fluid therapy in patients undergoing coronary artery bypass surgery can further improve rSO<sub>2</sub>, ScvO<sub>2</sub> and cardiac volume load, obtain more stable hemodynamics, and effectively down-regulate blood Lac and serum inflammatory factor levels, and reduce the incidence of POCD.

**[KEY WORDS]** Coronary artery bypass graft surgery; Goal-oriented fluid therapy; Postoperative cognitive dysfunction; Hemodynamics

冠脉搭桥手术是目前治疗冠心病最有效的治疗方案之一,随着冠心病发病率越来越高,冠心病患者需要行搭桥手术的比例日益提高<sup>[1]</sup>。冠脉搭桥术中不可避免会对患者的心脏进行搬动、扭转及固定器的挤压,加之患者多伴有心脏收缩及舒张功能受损,且术前限制容量摄入易导致术中低血压,尤其是心脏侧壁与下壁的血管暴露,加重血流动力学的改变,造成包括心肌在内的多器官组织灌注减少,氧供需失衡,从而导致术后认知功能障碍(Postoperative cognitive dysfunction, POCD)等并发症增加,延长术后监护室滞留及住院时间<sup>[2-3]</sup>。因此维护血流动力学平稳,保障脏器组织有效灌注和良好氧供尤为重要。目标导向液体治疗是维持围术期理想循环状态的有效方法,通过制定血流动力学指标为导向的个体化液体治疗方案,可最大程度增加心输出量,维持有效的

循环灌注,以保证组织器官的氧供<sup>[4-5]</sup>。本研究分析目标导向液体治疗对冠脉搭桥手术患者脑氧饱和度(Regional cerebral oxygen saturation, rSO<sub>2</sub>)、POCD的影响,旨在为临床提供数据参考。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5月本院122例冠脉搭桥患者作为研究对象,采取目标导向液体治疗的80例患者作为研究组,采取常规液体治疗的42例患者作为对照组。对比两组性别、年龄、体质指数(Body mass index, BMI)、手术时间、美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)分级<sup>[6]</sup>、术前心梗病史,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

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

Table 1 Comparison of 2 groups of general information [ $n(\%), (\bar{x} \pm s)$ ]

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	手术时间(min)	术前心梗病史 (有/无)	ASA 分级	
							Ⅱ级	Ⅲ级
研究组	80	34/46	65.28±4.85	25.31±1.14	162.58±28.61	39/41	32(40.00)	19(45.24)
对照组	80	18/24	64.37±4.68	25.60±1.08	159.83±27.45	18/24	48(60.00)	23(54.76)
t/χ <sup>2</sup> 值		0.001	0.997	1.359	0.511	0.384	0.311	
P值		0.970	0.321	0.177	0.610	0.535	0.577	

纳入标准:①均符合冠脉搭桥手术指征<sup>[7]</sup>;②年龄55~75岁;③ASA分级为Ⅱ或Ⅲ级;④术前无精神病史、认知功能障碍及药物滥用史<sup>[8]</sup>;⑤患者及家属知晓本研究,已签署同意书。排除标准:①左室射血分数<20%者;②心胸比>0.75%者;③重症肺动脉高压患者;④右心衰竭患者;⑤严重肝肾功能不全者;⑥血液系统疾病患者;⑦恶性肿瘤患者;⑧严重代谢性疾病患者;⑨合并感染性疾病、骨折等可能影响本研究指标检测者。本实验经医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

手术均由同一组医生择期进行,患者术前常规禁食、禁饮,进入手术室后需开放左上肢静脉,酒精棉球清洁患者额部皮肤,两个rSO<sub>2</sub>电极片对称放置于患者额部中线两侧,应用近红外组织血氧参数无损监测仪(购自苏州爱琴生物电子医疗有限公司)持续监测rSO<sub>2</sub>。于右颈内静脉和左桡动脉穿刺置管监测中心静脉压(Central venous pressure, CVP)和平均动脉压(Mean arterial pressure, MAP),同时持续监测心输出量(Cardiac out-

pu, CO)、心率(Heart rate, HR)、心脏指数(Cardiac index, CI)、每搏量变异度(Stroke volume variation, SVV),均由同一组麻醉医生常规行麻醉诱导,麻醉药物注射完毕2 min后行气管插管,完成后行机械通气。研究组采取目标导向液体治疗,对照组采取常规液体治疗,术中醋酸钠林格注射液(湖南科伦制药有限公司,国药准字H20173311)与聚明胶肽(武汉华龙生物制药有限公司,国药准字H42020001)的用量:研究组维持SVV为13%、尿量>1 mL/(kg·h)、血红蛋白>80 g/L、CVP 5~12 cmH<sub>2</sub>O;对照组维持无创血压90~100/60~70 mmHg或者不低于基础值的30%、CVP 5~12 cmH<sub>2</sub>O、尿量>1 mL/(kg·h)、血红蛋白>80 g/L。醋酸钠林格氏注射液与聚明胶肽的比例维持在2:1。

### 1.3 观察指标

①两组术前30 min(T<sub>0</sub>)、麻醉诱导后15 min(T<sub>1</sub>)、术中1 h(T<sub>2</sub>)、2 h(T<sub>3</sub>)、3 h(T<sub>4</sub>)、术毕(T<sub>5</sub>)时容量负荷指标,包括CO、SVV。②两组T<sub>0</sub>~T<sub>5</sub>时rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>。③两组T<sub>0</sub>~T<sub>5</sub>时血流动力学指标,包括MAP、HR、CI、CVP。④两组T<sub>0</sub>~T<sub>5</sub>时血乳酸(Lactate, Lac)水平,采用快速血气分析仪监测各时间点左桡动脉Lac水平。⑤术后3 d内,统计两组POCD发生率,POCD参照国内相关指南<sup>[8]</sup>进行诊断。

### 1.5 统计学方法

数据处理采用SPSS 22.0软件,计数资料 $n$

(%),采用 $\chi^2$ 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 容量负荷指标

T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub>时研究组CO较对照组高,SVV较对照组低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.2 不同时间点rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>变化情况

T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub>时研究组rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>较对照组高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.3 血流动力学

T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub>时研究组CI较对照组高,CVP较对照组低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表4。

### 2.4 血Lac

T<sub>2</sub>~T<sub>5</sub>时研究组血Lac较对照组低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表5。

### 2.5 POCD发生率

研究组术后POCD发生率31.25%(25/80)低于对照组54.76%(23/42)( $\chi^2=6.380, P=0.012$ )。

## 3 讨论

本研究中常规液体治疗控制参数为无创血压、尿量、血红蛋白及CVP,患者均能耐受手术,术中无心血管意外发生,但术后POCD发生率为54.76%,虽为一过性障碍,但不利于患者术后康

表2 两组不同时间点容量负荷指标变化情况( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Changes of Capacity Load Index at Different Time Points in Two Groups ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	$n$	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
CO(min/L)	研究组	80	5.84±1.02	5.52±1.15	4.31±0.72	4.44±0.87	4.36±0.81	5.39±1.23
	对照组	42	6.03±1.13	5.80±1.23	3.78±0.65	3.46±0.73	3.07±0.69	3.85±1.05
	$t$ 值		0.942	1.247	3.991	6.235	8.779	6.898
	$P$ 值		0.348	0.215	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
SVV(%)	研究组	80	12.61±1.21	12.23±1.25	11.31±1.34	10.37±1.30	11.12±1.28	7.11±1.06
	对照组	42	12.58±1.17	12.40±1.14	14.18±2.02	15.20±2.01	13.56±1.67	9.03±1.14
	$t$ 值		0.132	0.735	9.384	16.054	8.984	9.261
	$P$ 值		0.896	0.464	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 两组不同时间点rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>变化情况( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Changes of rSO<sub>2</sub> and ScvO<sub>2</sub> in the two groups at different time points ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	例数	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
rSO <sub>2</sub>	研究组	80	69.63±5.21	84.36±7.04	83.72±6.67	83.19±6.52	82.06±8.13	81.37±7.06
	对照组	42	70.18±4.85	82.71±6.39	76.03±6.12	74.54±6.20	71.09±7.34	72.81±6.93
	$t$ 值		0.567	1.269	6.221	7.079	7.136	6.403
	$P$ 值		0.572	0.207	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
ScvO <sub>2</sub>	研究组	80	56.57±4.39	60.13±6.24	66.79±7.06	72.49±7.59	76.67±8.02	78.43±8.27
	对照组	42	56.14±5.02	58.74±5.81	59.13±5.92	60.21±6.35	61.05±6.88	64.48±7.11
	$t$ 值		0.489	1.197	6.007	8.963	10.716	9.275
	$P$ 值		0.626	0.234	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表4 两组不同时间点血流动力学指标变化情况 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 4 Changes of hemodynamic indexes in two groups at different time points ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	n	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
MAP(mmHg)	研究组	80	75.12±4.76	78.69±6.02	80.93±6.38	82.06±6.74	80.47±6.20	80.03±5.81
	对照组	42	75.46±5.12	79.10±5.84	82.65±7.10	83.12±7.25	81.06±6.57	80.54±6.13
	t值		0.365	0.361	1.289	0.804	0.489	0.452
	P值		0.716	0.719	0.200	0.423	0.626	0.652
HR(次/min)	研究组	80	83.24±8.41	76.59±9.15	73.72±8.93	73.60±7.62	72.12±6.86	78.13±7.34
	对照组	42	85.02±9.26	78.20±8.87	75.10±9.02	74.16±8.15	72.23±7.04	76.79±6.67
	t值		0.964	0.933	0.808	0.377	0.083	0.988
	P值		0.337	0.353	0.421	0.707	0.934	0.325
CI[L/(min·m <sup>2</sup> )]	研究组	80	3.01±0.34	3.15±0.42	3.46±0.45	3.53±0.37	3.44±0.35	3.61±0.41
	对照组	42	2.96±0.31	3.08±0.36	3.02±0.39	3.10±0.40	3.03±0.38	2.85±0.32
	t值		0.795	0.917	5.365	5.930	5.968	10.451
	P值		0.428	0.361	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
CVP(cmH <sub>2</sub> O)	研究组	80	6.56±1.14	7.06±1.20	7.22±1.01	9.13±1.25	9.78±1.30	8.69±1.08
	对照组	42	6.61±1.08	7.13±1.15	7.95±1.16	12.20±1.46	13.31±1.71	13.02±2.03
	t值		0.234	0.311	3.602	12.155	12.748	15.405
	P值		0.815	0.757	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表5 两组不同时间点血Lac比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 5 Comparison of blood Lac between two groups at different time points ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
研究组	80	2.06±0.30	3.78±0.41	4.31±0.72	4.48±0.85	3.65±0.79	2.49±0.31
对照组	42	2.02±0.27	3.82±0.53	5.43±0.86	6.52±1.03	6.13±0.94	5.51±0.62
t值		0.724	0.462	7.627	11.694	15.416	35.927
P值		0.471	0.645	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

复。目标导向性液体治疗具有准确评估容量状态的优势,其应用效果已得到临床普遍认可<sup>[9]</sup>。早期目标导向液体治疗协作组提出,外科输液应满足以下4个目标:CVP 8~12 mmHg、MAP≥65 mmHg、尿量>0.5 mL/(kg·h)、混合静脉氧饱和度≥70%<sup>[10]</sup>。健康成年男性正常血容量约为70 ml/kg,内脏血容量占全血容量25%左右,快速失血时,内脏血容量发挥缓冲作用,2/3左右的内脏血(>800 mL)在数秒内进入全身循环,达到维持心排出量稳定的目的<sup>[11]</sup>。因此,监测心脏排量变化情况具有重要指导意义。SVV作为心脏前负荷反应性、功能性指标,来源于动脉压力的变化,能敏感、动态反映患者的血容量状况,与容量变化具有良好相关性<sup>[12]</sup>。文献报道<sup>[13]</sup>指出,监测右颈内静脉和左桡动脉CVP、MAP,同时持续监测CO、CI、SVV,可更精准、更有效补充血容量,维持重要脏器的血流灌注,有助于改善患者的预后情况。本研究中目标导向液体治疗以SVV 13%、尿量>1 mL/(kg·h)、血红蛋白>80 g/L、CVP 5~12 cmH<sub>2</sub>O为维持目标,结果发现,患者围术期MAP、HR与常规液体治疗患者无明显差异,但CI、CVP及CO、SVV均明显优于常规液体治疗患者,提示目标导向液体治疗以SVV为主要监测参数,能进一步改善患者围术期心脏容量负荷,从而获得更稳定血流动力学。

有研究<sup>[14]</sup>证实,目标导向性液体治疗可改善口腔颌面部肿瘤患者术中的脑氧代谢,改善脑灌注,有利于减少术后认知障碍的发生。本研究发现,目标导向液体治疗能明显提高患者围术期rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>,术后POCD发生率为31.25%,明显低于常规液体治疗,提示目标导向液体治疗能有效改善脑部氧供,这与患者心脏容量负荷、血流动力学得到进一步改善密切相关,从而有效减轻缺血缺氧对脑组织造成的损害,降低POCD发生率。此外,本研究还发现,目标导向液体治疗在降低患者围术期动脉血中Lac含量方面具有明显优势,提示其能有效改善组织灌注,可见目标导向液体治疗有助于保护血管内皮功能,维持血流动力学稳定,减少POCD发生。

综上所述,目标导向液体治疗能显著改善冠脉搭桥手术患者围术期心脏容量负荷,进一步下调动脉血Lac水平,获得更稳定血流动力学,且能提高rSO<sub>2</sub>、ScvO<sub>2</sub>,改善脑组织氧供,降低POCD发生率。

#### 参考文献

- [1] 米怀雪,张申. 盐酸右美托咪定在体外循环下不停跳冠脉搭桥术中的应用效果[J]. 山东医药, 2020, 60(1): 71-73.

- [2] Wang M, Su P, Liu Y, et al. Abnormal expression of circRNA\_089763 in the plasma exosomes of patients with post-operative cognitive dysfunction after coronary artery bypass grafting[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(3):2549-2562.
- [3] Kiabi FH, Soleimani A, Habibi MR. Neuroprotective Effect of Low Mean Arterial Pressure on Postoperative Cognitive Deficit Attenuated by Prolonged Coronary Artery Bypass Time: A Meta-Analysis[J]. *Braz J Cardiovasc Surg*, 2019, 34(6):739-748.
- [4] 徐桂萍, 吴丽, 阿里木江·司马义, 等. 目标导向液体治疗对肥胖患者术后康复的影响[J]. *临床麻醉学杂志*, 2020, 36(4):35-38.
- [5] Chong MA, Wang Y, Berbenetz NM, et al. Does goal-directed haemodynamic and fluid therapy improve peri-operative outcomes? : A systematic review and meta-analysis [J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2018, 35(7):469-483.
- [6] 王晓伟, 孙天胜, 张建政, 等. 美国麻醉医师协会分级对老年髋部骨折患者预后的预测作用[J]. *中华创伤杂志*, 2020, 36(1):51-57.
- [7] Aldea GS, Bakaeen FG, Pal J, et al. The Society of Thoracic Surgeons Clinical Practice Guidelines on Arterial Conduits for Coronary Artery Bypass Grafting [J]. *Ann Thorac Surg*, 2016, 101(2):801-809.
- [8] 中国痴呆与认知障碍指南写作组, 中国医师协会神经内科医师分会, 认知障碍疾病专业委员会. 2018中国痴呆与认知障碍诊治指南(五):轻度认知障碍的诊断与治疗[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(17):1294-1301.
- [9] Voldby AW, Aaen AA, Møller AM, et al. Goal-directed fluid therapy in urgent Gastrointestinal Surgery - study protocol for A Randomised multicentre Trial: The GAS-ART trial [J]. *BMJ Open*, 2018, 8(11):e022651.
- [10] 包娜仁, 程佳音, 马虹. 非停跳冠状动脉搭桥患者早期不同入液量对搭桥期间血流动力学及组织氧合的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(3):106-110.
- [11] 焦磊, 沈聪, 李萌, 等. 基于计算机辅助检测对健康成人肺内血管容积的CT定量分析[J]. *实用放射学杂志*, 2018, 34(7):1018-1021, 1043.
- [12] 梁冰, 曹阳, 罗建华, 等. 每搏量变异度与校正左室射血时间作为不停跳冠脉搭桥手术容量管理指标的效果比较[J]. *广东医学*, 2018, 39(10):66-69.
- [13] 张双银, 华玉芳, 韩芳霞, 等. 基于PiCCO的目标导向容量管理在非停跳冠状动脉搭桥术围手术期的应用[J]. *中国医师进修杂志*, 2020, 43(7):577-581.
- [14] 林雅贻. 目标导向液体治疗对口腔颌面部肿瘤手术患者术中rSO<sub>2</sub>及POCD的影响[D]. 福建:福建医科大学, 2018.

(上接第66页)

- [2] Lorente D, Trilla E, Meseguer A, et al. The role of STAT3 protein as a prognostic factor in the clear cell renal carcinoma. Systematic review [J]. *Actas Urol Esp*, 2019, 56(34):9464-9467.
- [3] Helén N, Lindgren D, Axelson H, et al. Features of increased malignancy in eosinophilic clear cell renal cell carcinoma [J]. *The J Pathol*, 2020, 24(36):546-548.
- [4] Kubiliute R, Zukauskaitė K, Zalimas A, et al. 25P DNA methylation biomarkers of clear cell renal carcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(54):S1224-S1225.
- [5] Wu TK, Wei CW, Pan YR, et al. The uremic toxin p-cresyl sulfate induces proliferation and migration of clear cell renal cell carcinoma via microRNA-21/ HIF-1 $\alpha$  axis signals [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):3207.
- [6] Gedye C, Pook DW, Krieger LEM, et al. UNISON: Nivolumab then ipilimumab + nivolumab in advanced nonclear cell renal cell carcinoma (ANZUP 1602) [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(6):768-768.
- [7] Lee J, Kim TI, Kang JM, et al. Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency among malaria patients in Upper Myanmar [J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1):131-135.
- [8] 王芳, 相龙全, 李倩, 等. 乳头状肾细胞癌实性亚型1例报道并文献复习[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 68(4):137-140.
- [9] Mansuri MS, Singh M, Jadeja SD, et al. Association of glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) 3'UTR polymorphism with vitiligo and in vitro studies on G6PD inhibition in melanocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2019, 93(2):133-135.
- [10] Dangthu Q, Jang SH, Lee CW. Biochemical comparison of two glucose 6-phosphate dehydrogenase isozymes from a cold-adapted *Pseudomonas mandelii* [J]. *Extremophiles*, 2020, 24(3):8935-8937.
- [11] 孙超, 王学民, 曹赫然, 等. miR-338-3p 靶向 TCF4 对人肾癌细胞增殖、凋亡和转移的调节 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2019, 16(1):62-68.
- [12] 钟华, 戚龙, 王少清. 老年慢性肾脏病患者衰弱现状及康复策略 [J]. *保健医学研究与实践*, 2019, 16(2):8-12.
- [13] Ebru T, Fulya OP, Hakan A, et al. Analysis of various potential prognostic markers and survival data in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Int Braz J Urol*, 2017, 43(3):440-454.
- [14] Yang HC, Wu YH, Yen WC, et al. The Redox Role of G6PD in Cell Growth, Cell Death, and Cancer [J]. *Cells*, 2019, 8(9):1055-1057.
- [15] Zhang Q, Yi XJ, Yang Z, et al. Overexpression of G6PD Represents a Potential Prognostic Factor in Clear Cell Renal Cell Carcinoma [J]. *J Cancer*, 2017, 8(4):665-668.

## 乳腺癌中 miR-141 表达与临床病理特征、Keap1/Nrf2 通路及预后的关系

邵坤 朱芳恒\*

**[摘要]** **目的** 研究乳腺癌中 miR-141 表达与临床病理特征、KELCH 样 ECH 关联蛋白 1 (Keap1)/核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)通路及预后的关系。**方法** 选择 2014 年 3 月至 2015 年 3 月期间在本院接受手术治疗的乳腺癌患者作为研究对象,检测乳腺癌组织和癌旁组织中 miR-141、Keap1、Nrf2 的表达水平,随访乳腺癌患者的总生存期和无病生存期。**结果** 乳腺癌组织中 miR-141 的表达水平低于癌旁组织 ( $P<0.05$ );不同肿瘤直径、TNM 分期的乳腺癌组织比较,miR-141 表达水平比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );与 miR-141 表达水平<中位数的乳腺癌组织比较,miR-141 表达水平 $\geq$ 中位数的乳腺癌组织中 Keap1 的表达水平明显降低、Nrf2 的表达水平明显增加 ( $P<0.05$ );与 miR-141 表达水平<中位数的乳腺癌患者比较,miR-141 表达水平 $\geq$ 中位数的乳腺癌患者总生存期及无病生存期均明显延长 ( $P<0.05$ )。**结论** 乳腺癌中 miR-141 表达降低与病理特征恶化、Keap1/Nrf2 通路改变、预后变差有关。

**[关键词]** 乳腺癌; miR-141; Keap1; Nrf2; 预后

### Relationship between the expression of miR-141 and clinicopathological features, Keap1 / Nrf2 pathway and prognosis in breast cancer

SHAO Kun, ZHU Fangheng\*

(Department of Pathology, Xinxiang Central Hospital, Henan Province, Xinxiang, Henan, China, 453000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To study the relationship between miR-141 expression and clinicopathological features, kelch like ECH associated protein 1 (Keap1) / nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) pathway and prognosis in breast cancer. **Methods** From March 2014 to March 2015, breast cancer patients who received surgical treatment in our hospital were selected as the research objects. The expression levels of miR-141, Keap1 and Nrf2 in breast cancer tissues and adjacent tissues were detected. The overall survival and disease-free survival of breast cancer patients were followed up. **Result** The expression level of miR-141 in breast cancer tissues was lower than that in adjacent tissues ( $P<0.05$ ). The expression levels of miR-141 in breast cancer tissues with different tumor diameters and TNM stages were significantly different ( $P<0.05$ ). Compared with the breast cancer tissues with miR-141 expression level<median, the expression level of Keap1 significantly decreased, the expression level of Nrf2 significantly increased in breast cancer tissues with miR-141 expression level  $\geq$  median. Compared with breast cancer patients with miR-141 expression level<median, the overall survival and disease-free survival of patients with miR-141 expression level  $\geq$  median significantly prolonged ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The decreased expression of miR-141 in breast cancer is related to the deterioration of pathological features, the changes of Keap1/Nrf2 pathway, and the worsening of prognosis.

**[KEY WORDS]** Breast cancer; miR-141; Keap1; Nrf2; Prognosis

基金项目:河南省医学科技攻关项目(2018020927)

作者单位:河南省新乡市中心医院病理科,河南,新乡 453000

\*通信作者:朱芳恒, E-mail: shengshui1965@163.com

乳腺癌居女性恶性肿瘤发病率第一位,严重威胁女性健康<sup>[1-2]</sup>。近些年,乳腺癌的诊疗技术取得了长足进步,手术切除联合放化疗、靶向治疗、内分泌治疗的综合治疗方案显著改善患者预后。尽管如此,仍有部分患者因为局部复发、远处转移而死亡,但目前乳腺癌复发、转移的调控机制尚不明确,临床上也缺乏能够有效预测乳腺癌预后的标志分子。微小RNA (microRNA, miR) 是一族非编码小分子RNA,多种miRs在恶性肿瘤的发病中起促癌或抑癌作用,是备受关注的恶性肿瘤标志物分子<sup>[3-5]</sup>。根据常景芝<sup>[6]</sup>的细胞实验研究结果,miR-141靶向负调控KELCH样ECH关联蛋白1 (Kelch Like ECH Associated Protein 1, KEAP1),进而激活下游核因子E2相关因子2 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)、降低氧化应激水平并抑制乳腺癌细胞的活力。本研究将以乳腺癌患者为对象,观察乳腺癌中miR-141表达与临床病理特征、Keap1/Nrf2通路及预后的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2014年3月至2015年3月期间在本院接受手术治疗的乳腺癌患者142例作为研究对象,年龄29~72岁,平均(54.59±10.85)岁。入组标准:①接受乳腺癌根治术或改良根治术;②经术后病理诊断乳腺癌,病理类型为浸润性导管癌;③临床病理资料完整;④随访资料完整。排除标准:①术前进行放化疗、内分泌治疗;②发生远处转移;③既往有其他恶性肿瘤病史。本研究取得医院伦理委员会批准及患者知情同意。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 miR-141 表达的检测

取乳腺癌组织和癌旁组织,采用miR提取分离试剂盒(北京天根公司)分离组织中的miR,采用miR cDNA第一链合成试剂盒(北京天根公司)将组织中的miRNA反转录为cDNA,采用miR荧光定量检测试剂盒对cDNA中的miR-141和U6进行检测,配置PCR反应体系如下: cDNA 2 μL、反应预混液 10 μL、10 μmol/L的上游引物和下游引物各0.6 μL、去离子水 6.8 μL,在PCR仪上按照95℃预变性3 min后95℃ 5 s、60℃ 15 s的程序反应40个循环,得到循环曲线后以U6为内参计算miR-141的表达量。

#### 1.2.2 Keap1、Nrf2 表达的检测

取乳腺癌组织和癌旁组织各约20 mg,加入

RIPA裂解液(上海碧云天公司)后匀浆,匀浆液离心后得到蛋白样本,采用BCA试剂盒(上海碧云天公司)检测蛋白浓度后取含有30 μg蛋白的样本进行western blot检测,将样本加入SDS-聚丙烯酰胺凝胶并进行电泳,而后电转移至PVDF膜,5%脱脂牛奶室温封闭PVDF膜1 h,4℃孵育Keap1(1:1 000稀释,Abcam公司)、Nrf2抗体(1:2 000稀释,Abcam公司)、β-actin抗体(1:5 000稀释,Sigma公司)过夜;第二天,室温孵育HRP二抗(1:2 000稀释,Abcam公司)1 h,在凝胶成像系统(上海天能公司)中曝光得到蛋白条带,根据条带灰度值计算Keap1、Nrf2的表达水平。

#### 1.2.3 预后的随访

采用门诊或住院复查、电话回访的方式进行随访,随访截止日期2020年3月31日。总生存期指病理确诊日期至死亡日期或末次随访日期的时间,无病生存期指病理确诊日期至疾病出现进展的日期或末次随访日期的时间。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计处理,计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用 $t$ 检验,多组间比较采用方差分析,总生存期及无病生存期用Kaplan-Meier曲线描述、两组间比较采用log-rank检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 浸润性导管癌的HE染色

浸润性导管癌的HE染色见图1,具有典型的浸润性导管癌病理特征。

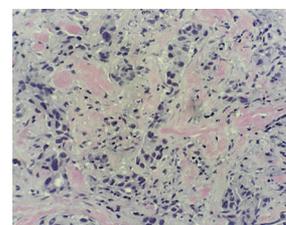


图1 浸润性导管癌的HE染色图(×200)

Figure 1 HE staining of invasive ductal carcinoma (×200)

2.2 乳腺癌组织及癌旁组织中miR-141表达的比较  
与癌旁组织(1.00±0.24)比较,乳腺癌组织(0.73±0.16)中miR-141的表达水平明显降低,差异有统计学意义( $t=11.154, P < 0.05$ )。

2.3 不同临床病理特征乳腺癌组织中miR-141表达的比较

不同年龄、分子亚型、组织学分级的乳腺癌组

织比较, miR-141 表达水平的差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 不同肿瘤直径、TNM 分期的乳腺癌组织比较, miR-141 表达水平比较, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 不同临床病理特征乳腺癌组织中 miR-141 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of miR-141 expression in breast cancer tissues with different clinicopathological features ( $\bar{x} \pm s$ )

临床病理特征	分类	n	miR-141	t/F 值	P 值
年龄	<50 岁	88	0.74±0.13	1.150	0.252
	≥50 岁	54	0.71±0.18		
肿瘤直径	<2 cm	74	0.80±0.20	5.360	0.000
	≥2 cm	68	0.65±0.12		
TNM 分期	I ~ II	94	0.79±0.20	5.475	0.000
	III	48	0.62±0.11		
	IV	48	0.62±0.11		
分子亚型	Luminal A 型	12	0.77±0.20	0.833	0.285
	Luminal B 型	68	0.72±0.18		
	HER-2 型	28	0.68±0.16		
	三阴性	34	0.63±0.12		
组织学分级	1-2	104	0.74±0.20	1.447	0.150
	3	38	0.69±0.12		

### 2.4 不同 miR-141 表达水平的乳腺癌组织中 Keap1、Nrf2 表达的比较

与 miR-141 表达水平<中位数的乳腺癌组织比较, miR-141 表达水平≥中位数的乳腺癌组织中 Keap1 的表达水平明显降低、Nrf2 的表达水平明显增加, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见图 2、表 2。

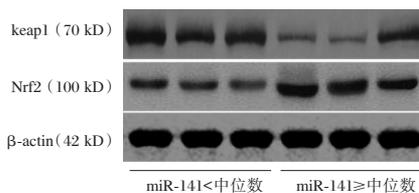


图 2 不同 miR-141 表达水平的乳腺癌组织中 Keap1、Nrf2 的蛋白条带

Figure 2 Protein bands of Keap1 and Nrf2 in breast cancer tissues with different miR-141 expression levels

表 2 不同 miR-141 表达水平的乳腺癌组织中 Keap1、Nrf2 表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of Keap1 and Nrf2 expression in breast cancer tissues with different miR-141 expression levels ( $\bar{x} \pm s$ )

miR-141 表达水平	n	Keap1	Nrf2
<中位数	71	0.73±0.20	0.46±0.08
≥中位数	71	0.33±0.09	0.81±0.24
t 值		15.358	11.658
P 值		0.000	0.000

### 2.5 不同 miR-141 表达水平的乳腺癌患者预后的比较

经 log rank 检验: 与 miR-141 表达水平<中位数的乳腺癌患者比较, miR-141 表达水平≥中位数

的乳腺癌患者总生存期及无病生存期均明显延长 ( $P<0.05$ )。见图 3。

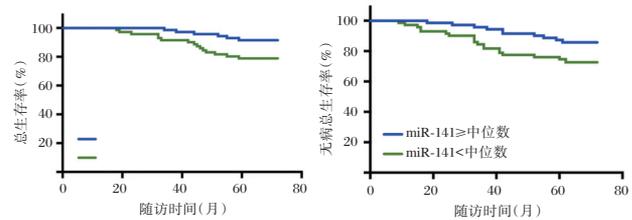


图 3 不同 miR-141 表达水平的乳腺癌患者总生存期及无病生存期的 Kaplan-Meier 曲线

Figure 3 Kaplan Meier curve of overall survival disease free survival in breast cancer patients with different miR-141 expression levels

## 3 讨论

miR 是在恶性肿瘤发病中起重要生物学作用的非编码小分子 RNA, 其中 miR-141 是一种已知的具有抑癌作用的 miR<sup>[7]</sup>。国内常景芝的细胞实验发现, 过表达 miR-141 抑制乳腺癌细胞的活力<sup>[6]</sup>。除此之外, 国外多项研究在其他恶性肿瘤细胞中证实了 miR-141 的抑癌作用, Liang Z<sup>[8]</sup>、Zhao Y<sup>[9]</sup>、Zhao Z<sup>[10]</sup> 的研究分别证实 miR-141 对结直肠癌细胞、肝癌细胞、头颈部恶性肿瘤细胞的增殖具有抑制作用。本研究将在上述实验研究的基础上, 在乳腺癌患者中探究 miR-141 表达的变化及临床意义。

虽然近些年关于乳腺癌发病机制的研究不断深入, 靶向治疗、内分泌治疗也在乳腺癌治疗中取得了积极价值, 但乳腺癌患者仍不可避免出现复发和转移, 整体预后并不理想。因此, 寻找在乳腺癌发病及病理进程中起关键作用的分子, 不仅能够发现新的病情及预后评价标志物提供思路, 还能够为阐明疾病发病机制、发现新的治疗靶点提供依据。本研究的分析发现: 乳腺癌组织中 miR-141 的表达水平低于癌旁组织, 且随着肿瘤直径增加、TNM 分期增加, 乳腺癌组织中 miR-141 的表达水平进一步降低。以上结果表明 miR-141 表达降低与乳腺癌的发生及病理特征恶化有关, 可能的机制是 miR-141 的低表达使其抑癌作用削弱, 进而促进了乳腺癌的发生及病理进展。

根据常景芝的细胞实验结果, miR-141 发挥抑制乳腺癌活力的作用与调控 Keap1/Nrf2 通路有关<sup>[6]</sup>。Keap1/Nrf2 通路的主要生物学功能是调控细胞氧化应激水平, Keap1 是抗氧化分子 Nrf2 的

上游抑制分子,通过抑制 Nrf2 的表达及功能来降低细胞的抗氧化能力,进而使细胞内活性氧簇生成增多、氧化应激水平增加。在乳腺癌及其他恶性肿瘤的发病过程中,氧化应激处于相对较高的水平,Keap1 的表达增加、Nrf2 的表达减少<sup>[11-12]</sup>。本研究观察了 miR-141 与 Keap1/Nrf2 通路的关系,结果显示:miR-141 表达水平<中位数的乳腺癌组织中 Keap1 的表达水平增加、Nrf2 的表达水平降低,表明乳腺癌中低表达的 miR-141 与 Keap1 表达增加、Nrf2 表达降低有关,可能通过调控 Keap1/Nrf2 通路参与乳腺癌的发生及病理进展。

miR-141 的抑癌作用已经在多种恶性肿瘤中得到证实,胃癌、胰腺癌、前列腺癌相关的临床研究证实,肿瘤病灶内低表达的 miR-141 与预后不良有关<sup>[13-15]</sup>。本研究在发现乳腺癌中 miR-141 表达降低后,进一步对患者的预后进行了随访,通过比较随访过程中总生存期及无病生存期的差异可知:与 miR-141 表达水平<中位数的乳腺癌患者比较,miR-141 表达水平≥中位数的乳腺癌患者总生存期及无病生存期均明显延长,表明乳腺癌中 miR-141 的低表达与生存期缩短、预后不良有关,与 miR-141 在其他恶性肿瘤中与预后相关的报道一致。

综上所述,乳腺癌中 miR-141 表达降低与病理特征恶化、Keap1/Nrf2 通路改变、预后变差有关,未来 miR-141 有望成为评估乳腺癌病情及预后新的标志物,也能为研究乳腺癌的发病机制、发现新的治疗靶点提供新思路。

#### 参考文献

- [1] 何明艳,朱碧琪,钟媛,等. 2005-2013年中国女性乳腺癌发病及死亡趋势分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 23(1): 10-14.
- [2] 张雪莹. 苏州市女大学生乳房自检情况及影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2018, 44(5): 32-36.
- [3] Elango R, Alsaleh KA, Vishnubalaji R, et al. MicroRNA Expression Profiling on Paired Primary and Lymph Node Metastatic Breast Cancer Revealed Distinct microRNA Profile Associated With LNM[J]. Front Oncol, 2020, 19(10): 756.
- [4] Fawzy MS, Toraih EA, Alelwani W, et al. The prognostic value of microRNA-biogenesis genes Argonaute 1 and 2 variants in breast cancer patients[J]. Am J Transl Res, 2020, 12(5): 1994-2006.
- [5] 皮益苑,周爽,简鸣,等. LncRNA 中 miRNA 海绵活性与肿瘤的研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(3): 230-234.
- [6] 常景芝,陈剑,芦琨,等. MicroRNA-141 靶向 Keap1 调控 Nrf2/ARE 信号通路对乳腺癌 T47 D 细胞活力的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(7): 1245-1249.
- [7] Zhou M, Wu Y, Li H, et al. MicroRNA-144: A novel biological marker and potential therapeutic target in human solid cancers[J]. J Cancer, 2020, 11(22): 6716-6726.
- [8] Liang Z, Li X, Liu S, et al. MiR-141-3p inhibits cell proliferation, migration and invasion by targeting TRAF5 in colorectal cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 514(3): 699-705.
- [9] Zhao Y, Xu Z, Zhou J, et al. miR-141 inhibits proliferation, migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cells by directly downregulating TGFβR1 [J]. Oncol Rep, 2019, 42(5): 1656-1666.
- [10] Zhao Z, Gao D, Ma T, et al. MicroRNA - 141 suppresses growth and metastatic potential of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(3): 921-932.
- [11] Almeida M, Soares M, Ramalhinho AC, et al. Prognosis of hormone-dependent breast cancer seems to be influenced by KEAP1, NRF2 and GSTM1 genetic polymorphisms [J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(3): 3213-3224.
- [12] Cheng KC, Lin RJ, Cheng JY, et al. FAM129B, an antioxidative protein, reduces chemosensitivity by competing with Nrf2 for Keap1 binding[J]. EBioMedicine, 2019, 45: 25-38.
- [13] Ye Y, Yuan XH, Wang JJ, et al. The diagnostic value of miRNA - 141 in prostate cancer: A systematic review and PRISMA - compliant meta - analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(22): e19993.
- [14] Du F, Yu C, Li R, et al. Expression of miR-141 and YAP1 in gastric carcinoma and modulation of cancer cell proliferation and apoptosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(2): 559-567.
- [15] Xu D, Yang F, Wu K, et al. Lost miR-141 and upregulated TM4SF1 expressions associate with poor prognosis of pancreatic cancer: regulation of EMT and angiogenesis by miR-141 and TM4SF1 via AKT [J]. Cancer Biol Ther, 2020, 21(4): 354-363.

# 鉴别1家庭 $\alpha$ 地贫基因罕见突变及其家庭遗传分析

梁伟达\* 曾劲伟 薛家权 林粤 陈小龙

**[摘要]** 目的 对1例罕见 $\alpha$ 地贫基因进行鉴别并对其家庭遗传进行分析。方法 对家庭成员进行血常规和血红蛋白电泳分析,使用PCR-反向点杂交法(PCR-RDB)检测地中海贫血基因分型,使用一代测序(Sanger)鉴别基因罕见突变。结果 该家庭父亲携带--<sup>SEA</sup>地贫基因型,母亲携带罕见 $\alpha$ 地贫基因型IVS-II-55(T->G)和IVS-II-119(-G,+CTCGCCC),儿子遗传了--<sup>SEA</sup>和罕见 $\alpha$ 地贫基因型。结论 广东地区发现新型罕见 $\alpha$ 地贫基因突变,当发现基因型与血液学表型不符合时,应进行测序确认,避免漏诊误诊。

**[关键词]** 地中海贫血;  $\alpha$ 地贫基因突变; 遗传分析

## Identification of a novel mutation of HBA2 gene in a family and its family genetic analysis

LIANG Weida\*, ZENG Jingwei, XUE Jiaquan, LIN Yue, CHEN Xiaolong

(Clinical laboratory of Foshan Chancheng Hospital, Foshan, Guangdong, China, 528000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To identify a novel mutation of thalassemia gene in a family and analyze its heredity. **Methods** Phenotype of the family members was analyzed by Hemoglobin electrophoresis, PCR-reverse dot blot was used to detect the genotype of thalassemia and Sanger sequencing was used to identify the novel mutations. **Results** The father of the family carries alpha-SEA genotype, the mother carries the rare thalassemia genotype of IVS-II-55 (T->G) and IVS-II-119 (-G, +CTCGCCC), and the son inherits alpha-SEA and the rare thalassemia genotype. **Conclusion** A new type of HBA2 gene mutation was found in Guangdong. When the genotype was found to be inconsistent with the hematological phenotype, sequencing should be carried out to avoid misdiagnosis.

**[KEY WORDS]** Fhalassemia; Alpha-Thalassemia; Geneticanalysis

地中海贫血(简称地贫)是一种常染色体隐性遗传疾病,该病会导致患者血红蛋白(Hemoglobin, HB)表达异常<sup>[1]</sup>。 $\alpha$ 地贫源于 $\alpha$ 珠蛋白基因突变,在我国南方特别是广东广西两省携带者众多,广东人群的 $\alpha$ 地贫基因携带率约为8.5%<sup>[2-3]</sup>,由于其发病率高,影响大<sup>[4]</sup>,目前我国把它作为一个产前筛查的常规项目。常规检测方法只能检测到常见的基因型,稀有基因型很容易漏诊<sup>[5]</sup>,给产前筛查带来挑战。本研究对一个家庭中 $\alpha$ 地贫基因一种新型罕见突变进行鉴别,并对该家庭地贫基因进行遗传分析。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

先证者男性,27岁,贫血貌,患者因备孕行地贫

基因分型检测,使用PCR-反向点杂交法(Polymerase Chain Reaction-Reverse Dot Blot, PCR-RDB)<sup>[6]</sup>基因分型检测结果为--<sup>SEA</sup>纯合子,与血常规和血红蛋白电泳表型不符。为明确其基因型及遗传特性,同时对其父亲和母亲地贫基因进行分析。

### 1.2 血红蛋白电泳

采用法国CAPILLARYS 2 FLEX PIERCING全自动毛细管电泳仪进行分析,使用仪器配套的试剂严格按照标准操作规范完成实验。

### 1.3 PCR-RDB法检测地贫基因分型

按照深圳亚能生物技术有限公司提供的试剂盒说明书进行操作。先提取DNA,然后对DNA进行PCR扩增,扩增条件:50℃ 15 min, 96℃ 15 min, 62℃ 50 s, 72℃ 75 s, 然后进入循环(97℃ 45 s,

作者单位:佛山市禅城区中心医院检验科,广东,佛山 528000

\*通信作者:梁伟达, E-mail: lwdxyf@163.com

59℃ 50 s, 72℃ 75 s)35次,最后 72℃延伸 5 min。扩增产物滴在包被有基因突变特异性探针膜上进行杂交,观察检测膜条上各位点信号的有无,判断待检样品基因型。

### 1.4 α地贫基因测序

使用 Sanger 法测序,由深圳亚能生物技术有限公司提供基因测序服务。

### 1.5 统计与分析

地贫基因参考序列(NG\_000006.1)下载自美国国立生物技术信息中心(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>),使用 ClustalX2 对测序结果进行序列比对及突变分析。

## 2 结果

### 2.1 血常规及血红蛋白电泳结果

该家庭父亲和先证者的平均红细胞体积(Mean Corpuscular Volume MCV)降低,红细胞数量(Red Blood Count RBC)代偿性增高,铁蛋白(Ferritin Fer)HB 正常,血红蛋白 A2(Hemoglobin A2 HBA2)下降,有地贫表征,母亲各项指标正常。见表 1。

表 1 家庭成员红细胞常规数据及血红蛋白电泳结果  
Table 1 Routine data of red blood cells and Hemoglobin electrophoresis results of family members

项目	父亲	母亲	先证者
年龄(岁)	54	53	27
Hb(g/L)	138	123	141
RBC×10 <sup>12</sup> /L	6.20 ↑	4.13	6.63 ↑
MCV(fL)	68.4 ↓	89.8	64.0 ↓
MCHC(g/L)	325	332	333
Fer(μg/L)	43.50	36.89	42.55
HBA%	97.9	97.3	98.0
HBA2%	2.1 ↓	2.7	2.0 ↓
HBF%	0.0	0.0	0.0
HBH%	0.0	0.0	0.0

注:↑高于正常值;↓低于正常值;正常参考值标准参考广东省妇幼保健院地贫初筛实验室;Hb:血红蛋白 MCHC:平均红细胞血红蛋白浓度 HB“X”%:血红蛋白“X”所占百分比

### 2.2 地贫基因分型检测结果

该家庭父亲地贫基因型为--<sup>SEA</sup>杂合型,母亲未发现中国人常见地贫基因突变,父亲和母亲地贫基因分型与表型相符。见图 1。

### 2.3 地贫基因测序结果

父亲地贫基因 Sanger 测序结果显示出一条完整的 α 序列,结合 PCR-RDB 结果,判定父亲地贫基因型为--<sup>SEA</sup>杂合型(见图 2B);母亲地贫基因型有两处罕见突变型,其中一处为 IVS-II-55(T->G)

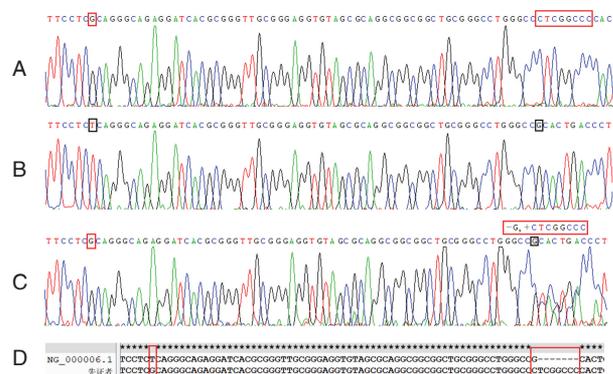


注:A:先证者;B:先证者父亲;C:先证者母亲

图 1 家庭成员地贫基因分型结果

Figure 1 Genotyping results of thalassemia in family members

纯合突变,即 α2 基因第二个内含子第 55 位由 T 变成 G,另一处为 IVS-II-119(-G,+CTCGGCC)杂合突变,即 α2 基因第二个内含子第 119 位由 G 变成 CTCGGCCC(见图 2C);先证者地贫基因 Sanger 测序结果显示出 IVS-II-55(T->G)和 IVS-II-119(-G,+CTCGGCC)两处纯合突变,结合 PCR-RDB 结果,先证者为罕见突变型杂合--<sup>SEA</sup>型(见图 2A)。该罕见突变型与参考序列的比对见图 2D。



注:红色方框表示突变位点,黑色方框表示突变前位点;A:先证者;B:先证者父亲;C:先证者母亲;D:先证者 α 地贫基因序列与参考序列比对结果。

图 2 家庭成员地贫基因测序结果

Figure 2 Red box indicates mutation site, Black box indicates pre mutation site

### 2.4 家系遗传分析

通过上述测序和基因分型结果综合分析,先证者的罕见基因突变来自于母亲,而--<sup>SEA</sup>地贫基因来自于父亲,从表征上看,该罕见基因突变没有对患者表型产生影响,但会导致常见地贫基因型检测结果的误判,影响产前筛查而导致错误的引产。

## 3 讨论

地中海贫血是一种常染色体隐性遗传疾病,变异种类繁多,目前宾夕法尼亚大学地贫数据库公开显示共有 1 783 种突变类型([http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/query\\_vars3](http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/query_vars3)),并且新的影响人类健康的突变类型也在不断发现中,如 2012 年

报道的 $\beta$ 型CD27(GCC-GAC)突变<sup>[7]</sup>,2016年报道的 $\alpha$ 型\*92A>G突变<sup>[8]</sup>,由于其变异种类的复杂性以及不断新增的新型变异给人类健康造成很大影响,给产前筛查工作带来新的挑战<sup>[9]</sup>。

本文鉴别的这种罕见 $\alpha$ 地贫基因突变在宾夕法尼亚大学地贫数据库以及美国国立生物技术信息中心(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)中均未有记录,发生在IVS-II-55(T>G),该位点位于 $\alpha 2$ 地贫基因内含子II的第55个碱基,由T变成G,还有一个突变发生在IVS-II-119(-G,+CTCGGCCC),该位点位于 $\alpha 2$ 地贫基因内含子II的第199个碱基,缺失G而被CTCGGCCC序列取代。内含子突变不会影响最终蛋白翻译的结果,因为mRNA在成熟过程中会把内含子剪切掉,但是最新研究表明,内含子的突变可以导致非典型剪接位点的激活或剪接调控元件的改变,从而影响mRNA剪切和蛋白翻译<sup>[10]</sup>。中国南方地区最常见的例子如 $\beta 654$ 型(dbSNPrs34451549),其突变发生在 $\beta$ 基因内含子II的第654个碱基,部分患者出现较明显的贫血症状。有些地贫患者虽没有明显的表征,但是药物代谢会发生变化,譬如磺胺类药物会导致某些地贫患者高铁血红蛋白血症<sup>[11]</sup>。本文发现的该型突变未出现明显的表型症状,但其血红蛋白的合成、修饰以及药物代谢可能与常人不同,需要进一步研究。2016年我国广西区报道过与本文相同的突变,其突变概率大约为0.184%<sup>[12]</sup>,而本文发现的病例在广东地区,其突变概率还有待进一步收集数据统计分析。由于该突变经常合并--<sup>SEA</sup>型,结果使患者患有较严重的贫血,提示在产前筛查中应特别留意。

目前临床应用的地贫基因检测主要是采用商品化试剂盒,其检测范围有限,不能检测出所有地贫基因突变,广东地区很多医院使用深圳亚能生物技术有限公司的商品化试剂盒,只能检测出 $\alpha^{CS}$ 、 $\alpha^{QS}$ 、 $\alpha^{WS}$ 共3种 $\alpha$ 基因点突变,--<sup>SEA</sup>、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 等主要3种 $\alpha$ 基因缺失型,以及 $\beta 654$ 、 $\beta E$ 、41-42等17种 $\beta$ 地贫,罕见或未知突变类型检测不出,造成漏检。因此在临床工作中,地贫基因诊断应基于表型与基因型相结合的原则,当受检者血液学表型与常规检测的地贫基因型不符时,可能存在罕见或未知突

变,须进一步进行检测确认。临床产前诊断中更要注重对胎儿的结果判读,对于PCR-RDB法测出的“纯合子”的结果必须要结合临床表型、家系分析、影像结果进行综合分析,以免造成过失引产。本文丰富了中国人罕见地贫的数据,为临床诊断、遗传咨询、产前筛查提供帮助。

## 参考文献

- [1] Yin A, Li B, Luo M, et al. The prevalence and molecular spectrum of alpha- and beta-globin gene mutations in 14,332 families of Guangdong Province, China[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89855.
- [2] 兰菲菲,梁凯玲,杜丽,等. 广东地区地中海贫血孕妇全微量元素含量分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015, 7(6):397-400+354.
- [3] Jin L, Gao Y, Ye J, et al. Clinical Usefulness of Measuring Red Blood Cell Distribution Width in Patients with Hepatitis B Virus-Related Acute-On-Chronic Liver Failure[J]. Clin Laborat, 2017, 63(9): 1403-1410.
- [4] 韦逢逢. 地中海贫血筛查产前筛查的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(27):46, 71.
- [5] 徐韞健,廖颖茵,高俊等广东地区地中海贫血筛查者的基因检测和类型分析,实用医学杂志, 2019, 35(2) 285-289.
- [6] 韩媛媛,戴薇,刘兴梅,等 13738 例孕妇的地中海贫血筛查及基因检测结果分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(4):588-591.
- [7] 李敏敏,邹亚伟,张碧云,等. 1例罕见 $\beta$ 地中海贫血基因突变及其家系分析[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(03): 309-312.
- [8] 颜善活,劳可干,符可鹏,等. 一种罕见 $\alpha$ -地贫基因突变 HbH 病(--(SEA)/ $\alpha$ (\*92A>G) $\alpha$ )的家系分析与基因诊断[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(09):1295-1298.
- [9] 徐湘民. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版, 2011: 36-39.
- [10] Vaz-drago R, Custodio N, Carmo-fonseca M. Deep intronic mutations and human disease[J]. Hum Genet, 2017, 136(9): 1093-1111.
- [11] Tsai TC, Peng SK, Shih YR, et al. Sulfadiazine-induced methemoglobinemia in a boy with thalassemia[J]. Can J Anaesth. 2005, 52(9):1002-3.
- [12] Pang W, Weng X, Ye X, et al. Identification of a variation in the IVSII of alpha2 gene and its frequency in the population of Guangxi [J]. Gene, 2016, 583(1): 24-28.

· 论 著 ·

## 小儿哮喘患儿经普米克令舒联合孟鲁司特治疗前后肺功能及免疫学细胞因子水平变化研究

余忠红\* 谢盛慧 刘铸容

**[摘要]** **目的** 分析小儿哮喘患儿经普米克令舒联合孟鲁司特治疗前后肺功能及免疫学细胞因子水平变化。**方法** 选取2018年3月至2019年3月本院儿科收治的哮喘患儿86例,中途退出4例,最终纳入82例。按照治疗方法将其分为联合组和单一组,各组41例。单一组在常规治疗基础上增加孟鲁司特钠咀嚼片,联合组在单一组基础上增加普米克令舒。比较治疗前后对2组肺功能,包括用力肺活量(FVC)、第一秒用力呼气量(FEV1)及第一秒用力呼气量/用力肺活量(FEV1/FVC);临床疗效、治疗前后哮喘发作持续时间及次数;IgE、TSLP水平及外周血TLRs表达情况。**结果** 联合组治疗后FVC、FEV1、FEV1/FVC水平均高于单一组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );IgE及TSLP水平下降程度较单一组更为显著,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );TLR2及TLR4表达强度变化均较单一组更为显著,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。2组治疗前两组哮喘发作次数和发作持续时间间比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而治疗后联合组哮喘发作次数和发作持续时间均小于单一组( $P<0.05$ ),且联合组临床总有效率较单一组高( $P<0.05$ )。**结论** 普米克令舒联合孟鲁司特治疗可改善哮喘患儿肺功能和免疫功能,并参与调节TLRs信号通路,临床疗效显著,值得推广。

**[关键词]** 支气管哮喘; 炎性反应; TLRs信号通路; 免疫功能

### Changes of lung function and immunocytokine levels in children with asthma before and after treatment with Pulmicort-Respules combined with montelukast

YU Zhonghong\*, XIE Shenghui, LIU Zhurong

Department of Pediatrics, Deyang People's Hospital, Deyang, Sichuan, China 618000

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the changes of lung function and cytokine levels in children with asthma before and after treatment with Pulmicort-Respules combined with montelukast. **Methods** 86 children with asthma treated in our pediatric department from March 2018 to March 2019 were selected, 4 patients withdrew midway and 82 patients were finally included. According to the treatment method, they were divided into a combination group and a single group, with 41 cases in each group. The single group were supplemented with montelukast sodium chewable tablets based on conventional treatment, and the combination group were supplemented with Pulmicort-Respules based on treatment of single group. Pulmonary function was compared between the two groups before and after treatment, including forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV1), forced expiratory volume in the first second/forced vital capacity (FEV1/FVC). Clinical efficacy, duration and times of asthma attacks before and after treatment were compared. IgE, TSLP levels and TLRs expression in peripheral blood were analyzed. **Results** After treatment, the levels of FVC, FEV1, FEV1/FVC in the combination group were higher than those in the single group. The decreasing of IgE and TSLP levels was more significant than that of the single group, and

基金项目:四川省医学科研青年创新课题计划(Q16029)

作者单位:德阳市人民医院儿科,四川,德阳 618000

\*通信作者:余忠红, E-mail:270441054@qq.com

the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The changes of TLR2 and TLR4 expression in the combination group were more significant than those in the single group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no statistically significant difference in the times of asthma attacks and duration between the two groups before treatment ( $P>0.05$ ), while the times of asthma attacks and duration of attacks in the combination group were lower than those in the single group after treatment ( $P<0.05$ ), and the total clinical effective rate of the combination group was higher than that of the single group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Pulmicort-Respules combined with montelukast can improve the lung function and immune function of children with asthma and participate in the regulation of TLRs signaling pathway. The clinical effect is significant and it is worthy of promotion.

**[KEY WORDS]** Bronchial asthma; Inflammatory response; TLRs signaling pathway; Immune function

支气管哮喘简称哮喘,是发生在呼吸道内的慢性非特异性炎症反应。哮喘的发病率在不同地区、种族和年龄上均存在很大的差别<sup>[1]</sup>。哮喘作为小儿多发的呼吸道疾病,其患病率在0~30%之间,且随着工业化的发展逐渐有上升和低龄化趋势。哮喘病因复杂,目前认为支气管哮喘是一种多种细胞作用下的慢性气道持续的炎症性疾病。同时相关的独立危险因素很多,且本病具有基因遗传性,患儿发病常于过敏性吸入、感染、大气污染、香烟暴露等有关,因此遗传因素和环境因素共同作用可导致小儿哮喘的发生<sup>[2]</sup>。哮喘的典型症状为夜间或凌晨发作(加重)的反复咳嗽、气短、胸闷,严重病例可存在呼吸困难、躁动、言语不清、意识丧失等哮喘危急状态症状,同时,各种严重并发症也可导致患儿病情变重甚至引起死亡<sup>[3]</sup>。由于慢性炎症对气道的损伤,容易导致呼吸道的重塑。反复发作的哮喘可使患儿肺功能逐渐下降,导致其无法进行剧烈活动<sup>[4-5]</sup>。如未及时治疗,可严重影响身体和心理的健康发育,甚至发展为肺气肿、肺源性心脏病,最终因心力衰竭、呼吸衰竭而死亡<sup>[6-7]</sup>。哮喘的治疗以争取控制症状、维持正常肺功能为主要目标,长期进行规范的个体化治疗可积极控制长期反复的炎症反应,改善患儿肺功能、提高其免疫力<sup>[8]</sup>。本研究将分析普米克令舒联合孟鲁司特治疗患儿肺功能及外周血IgE、TSLP和TLRs水平的影响。现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年3月至2019年3月本院儿科收治的哮喘患儿86例,中途退出4例,最终纳入82例。按照治疗方法将其分为联合组和单一组,各组41例。其中联合组男21例,女20例,平均年龄(7.89±2.13)岁,病程3~25个月,平均(7.58±1.49)个月。单

一组男19例,女22例,平均年龄(7.75±2.04)岁,病程3~26个月,平均(7.61±1.44)个月。两组一般资料和临床基线资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

纳入标准:①本研究已通过医学伦理委员会批准;②符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)》<sup>[9]</sup>;③患儿家属接受本研究,并签署相关协议书;④年龄在1岁以上者;⑤血常规及胸片检查结果均在正常范围内者。排除标准:①近一月内存在呼吸道感染史者;②心、肺、肝、肾等重要脏器或系统功能严重障碍者;③合并重度心力衰竭或呼吸衰竭者;④近一月内使用激素类药物治疗方案者;⑤对本研究所用药物过敏者;⑥临床资料不完整或中途退出本研究者;⑦存在严重精神疾患或家族史等无法配合研究者。

### 1.2 研究方法

所有患儿入院后均完善查体、胸部X线检查、肺功能检测等实验室检查,并给予止咳平喘、抗感染、吸氧和吸痰等常规治疗。单一组在常规治疗基础上增加孟鲁司特钠咀嚼片(鲁南贝特制药有限公司,批号:国药准字H20083330),规格:5 mg×12片/盒。用法:一日一次,每日睡前服用。联合组在单一组基础上增加普米克令舒(吸入用布地奈德混悬液)(Astra-Zeneca Pty Ltd,批号:注册证号H20140475),规格:1 mg/2 mL×5支。用法:溶于2.0 mL生理盐水中,雾化吸入。每日2日,每次吸入15 min,每次治疗后嘱患儿漱口。持续治疗1周。

### 1.3 观察指标

①肺功能,治疗前后对2组肺功能,包括用力肺活量(FVC)、第一秒用力呼气量(FEV1)及第一秒用力呼气量/用力肺活量(FEV1/FVC)进行比较。2组治疗前后哮喘发作持续时间及次数。

③IgE及TSLP水平:治疗前后抽取2组患儿静脉血,离心10 min分离血清,以ELISA法测定IgE及TSLP水平。④外周血TLRs表达情况:治疗前后抽取2组患儿静脉血,采用实时荧光定量PCR检测TLRsmRNA的表达情况。

#### 1.4 疗效标准

疗效判定标准<sup>[9]</sup>如下:①显效:患儿症状及肺部体征完全消失;②有效:患儿症状和肺部体征有一定程度好转;③无效:患儿症状及肺部体征未见好转,甚至有所加重。总有效率=(显效例数+有效例数)/41×100%。

#### 1.5 统计学处理

采用SPSS 18.0进行统计分析,计量资料用

( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行 $t$ 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组治疗前后肺功能比较

联合组治疗后FVC、FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>/FVC水平均高于单一组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.2 两组治疗前后IgE及TSLP水平比较

治疗后单核细胞TLR2水平表达增强,而TLR4水平表达下降( $P < 0.05$ );联合组TLR2及TLR4表达强度变化均较单一组更为显著,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表1 2组患者治疗前后肺功能比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of lung function before and after treatment in the 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	FVC(L/s)		FEV <sub>1</sub> (%)		FEV <sub>1</sub> /FVC(%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
联合组	41	1.08±0.12	1.36±0.46	53.21±8.75	79.63±7.81	52.73±4.97	72.35±6.41
单一组	41	1.07±0.13	1.11±0.25	54.65±8.41	65.51±6.32	53.13±4.88	62.13±4.72
t值		0.362	3.058	0.760	7.279	0.368	8.221
P值		0.718	0.003	0.450	0.001	0.714	0.001

表2 2组治疗前后IgE、TSLP、TLRs水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of IgE、TSLP and TLRs levels before and after treatment in the 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IgE(IU/L)		TSLP(ng/L)		TLR2(pg/mL)		TLR4(pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
联合组	41	182.71±16.35	71.37±13.46	2.62±0.45	1.58±0.31	1.39±0.21	1.69±0.28	1.98±0.29	1.64±0.25
单一组	41	185.13±15.76	78.64±14.12	2.51±0.47	1.69±0.54	1.41±0.25	1.51±0.13	1.91±0.31	1.79±0.23
t值		0.682	2.386	1.083	2.594	0.392	3.73	1.056	2.827
P值		0.497	0.019	0.282	0.011	0.696	0.001	0.294	0.006

### 2.3 TLRs水平、哮喘发作次数和发作持续时间比较

两组治疗前哮喘发作次数和发作持续时间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而治疗后联合组哮喘发作次数和发作持续时间均小于单一组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 两组治疗前后哮喘发作次数和发作持续时间比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of asthma attack and duration before and after treatment in the 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	发作次数(次)		发作持续时间(h)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
联合组	41	5.61±1.24	1.51±0.57	8.69±1.79	3.15±0.85
单一组	41	5.74±1.25	3.16±1.09	8.73±1.86	5.71±1.23
t值		0.473	6.399	0.099	10.964
P值		0.638	0.001	0.921	0.001

### 2.4 两组临床疗效比较

联合组和单一组的临床总有效率分别为

97.56%、85.37%;联合组临床总有效率较单一组高( $P < 0.05$ )。见表4。

表4 两组临床疗效比较[n(%)]

Table 4 Comparison of clinical effects of the 2 groups [n(%)]

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
联合组	41	32(78.05)	8(19.51)	1(2.44)	97.56(40)
单一组	41	27(65.85)	8(19.51)	6(14.63)	85.37(35)
$\chi^2$ 值					3.905
P值					0.048

## 3 讨论

近20年来我国儿童哮喘发病率呈明显上升趋势,已接近发达国家水平;但对于哮喘的控制仍不够理想,因而儿童哮喘已经成为重要的医疗和社会问题之一。小儿哮喘的发病机制受到多方面因素的相互作用,变态反应就是其中之一<sup>[10]</sup>。而变态反应的发生是由于变应原进入具有过敏体质的

患儿体内,在T淋巴细胞等的传递下导致B淋巴细胞合成特异性IgE,并结合于嗜碱性粒细胞与肥大细胞表面的IgE受体<sup>[11]</sup>。当变应原再次入侵患儿体内后,可与嗜碱性粒细胞与肥大细胞表面的IgE结合,从而引起一系列细胞内反应,并使多种可导致平滑肌收缩的活性介质大量分泌,加速炎症细胞浸润。而炎症细胞在多种介质的作用下又可加重气道病变以及炎症反应,进而产生哮喘的临床症状<sup>[12]</sup>。哮喘的发生涉及多种炎症细胞的相互作用,并与IgE有关。而在朱建光<sup>[13]</sup>等对胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)在哮喘患儿中产生的作用的研究中,发现TSLP在儿童哮喘的发生和发展中有关键的作用,并与IgE呈正相关性,因而可将其作为诊断儿童哮喘的指标之一及治疗新靶点。因而将TLR2与TLR4的表达情况作为哮喘反复发作的相关指标,可对临床疗效提供数据基础。

目前关于治疗小儿哮喘的方式较多,非特异性免疫疗法是临床上安全性最高、疗效最佳的治疗手段,常用的药物包括皮质激素、细胞免疫调节剂、非特异性免疫增强剂、抗过敏药、免疫抑制剂和中药制剂等。为保证患儿身心正常发育,避免治疗中不良反应的发生,选取最佳的治疗方案有重要意义<sup>[14]</sup>。孟鲁司特是比较常用的药物。其作为一种非激素类抗炎药,为白三烯受体拮抗剂。但该药以治疗轻度哮喘为主,对于中重度哮喘还需联合激素治疗。受到患儿哮喘发作程度、并发症及合并感染等因素的影响,临床上可单一用药也可联合用药。普米克令舒是一类新近的非卤素的具有糖皮质激素活性的类固醇药物,可直接作用于细胞膜mGR,抑制Ca<sup>2+</sup>离子通道,减少炎症细胞的数目。进而对炎症反应进行干扰并阻断其浸润,从而达到控制气道局部炎症的目的。

本研究结果说明普米克令舒联合孟鲁司特治疗可显著改善肺功能。在外周血IgE、TSLP和TLRs水平的影响方面,楼英萍<sup>[15]</sup>等研究认为联合治疗可调节TLRs信号通路,改善炎症反应,进一步提示联合治疗对改善哮喘患儿的免疫功能有重要价值。

综上所述,普米克令舒联合孟鲁司特治疗可改善哮喘患儿肺功能和免疫功能,并参与调节TLRs信号通路,临床疗效显著,值得推广。

## 参考文献

- [1] Huang CQ, Li W, Wu B, et al. *Pheretima aspergillum* decoction suppresses inflammation and relieves asthma in a mouse model of bronchial asthma by NF- $\kappa$ B inhibition [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189, 35(9):22-30.
- [2] Thomson, Neil C, Rubin, et al. Bronchial Thermoplasty for Asthma [J]. *Clin Chest Med*, 2015, 31(1):135-140.
- [3] Behera D, Inderpaul Singh Sehgal. Bronchial asthma--Issues for the developing world [J]. *Ind J Med Res*, 2015, 141(4):380-382.
- [4] Ai J, Xie Z, Qing X, et al. Clinical Effect of Endoscopic Vidian Neurectomy on Bronchial Asthma Outcomes in Patients with Coexisting Refractory Allergic Rhinitis and Asthma [J]. *Am J Rhinol Allerg*, 2018, 32(3):139-146.
- [5] Mosunmola Florence Tunde-Ayinmode. Children with bronchial asthma assessed for psychosocial problems in a teaching hospital in Nigeria [J]. *AfrHealth Sci*, 2015, 15(2):690-700.
- [6] 王玲,魏研荣,王丽霞,等. 乌鲁木齐地区维吾尔族ORM-DL3基因单核苷酸多态位点与哮喘易感性的研究 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(01):17-22.
- [7] Zaidi S, Tavernier G, Ryan D, et al. P243 Specific antibody deficiency to streptococcus pneumoniae and haemophilus influenzae in asthma and fungal disease [J]. *Thorax*, 2016, 71 (Suppl 3):A219-.
- [8] 付艳华,娄飞. 甲基强的松龙在重症哮喘患者院前急救中的应用效果分析 [J]. *保健医学研究与实践*, 2015, 12(4):50-51.
- [9] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版) [J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(3):167-181.
- [10] 洪建国,鲍一笑. 重视儿童支气管哮喘的规范化诊治 [J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(3):161-162.
- [11] Ren YF, Li H, Xing XH, et al. Preliminary study on pathogenesis of bronchial asthma in children [J]. *Pediatric Res*, 2015, 77(4):506-510.
- [12] Redegeld A, Yu YX, Kumari S, et al. Non-IgE mediated mast cell activation [J]. *Immunol Rev*, 2018, 282(1):87-113.
- [13] 朱建光,沈露,张潮,等. 儿童哮喘患者血清IL-33和TSLP水平检测的临床意义及与IgE相关性分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(1):64-67.
- [14] Jie Zan, Hao Zhang, Min-yi Lu, et al. Isosteviol sodium injection improves outcomes by modulating TLRs/NF- $\kappa$ B-dependent inflammatory responses following experimental traumatic brain injury in rats [J]. *Neuroreport*, 2018, 29(10):1.
- [15] 楼英萍,傅兰兰,吴蓉洲. 匹多莫德联合维生素D治疗反复呼吸道感染对TLRs信号通路和炎性因子的影响 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 28(15):2270-2274.

· 论 著 ·

## ER、PR 以及 Ki-67 状态与乳腺癌新辅助化疗疗效的相关性

邓丁梅\* 叶娴 温润耀 张玉娟 叶建森

**[摘要]** 目的 探究雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)以及 Ki67 抗原(Ki67)状态与乳腺癌(BC)新辅助化疗疗效的相关性。方法 选取本院 2015 年 12 月至 2020 年 5 月 216 例乳腺癌患者,术前均进行新辅助化疗。采用免疫组织化学染色检测 ER、PR、Ki-67,评价疗效,分析 ER、PR、Ki-67 与疗效的关系。结果 总有效率为 87.04%(188/216),病理完全缓解(pCR)为 15.74%(34/216)。化疗后 ER 阳性率、PR 阴性率增加,与化疗前相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。化疗后 Ki-67 阴性率显著高于化疗前,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ER、PR、Ki-67 状态与新辅助化疗治疗疗效均无显著相关性( $P>0.05$ ,  $r=0.632$ )。ER 阴性表达是预测新辅助化疗疗效 pCR 的独立因素,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 PR、Ki-67 状态与乳腺癌新辅助化疗疗效无明显的联系,ER 与其呈负相关。

**[关键词]** 新辅助化疗; 乳腺癌; Ki67 抗原; 孕激素受体; 雌激素受体; 相关性分析

### Correlation of ER, PR, and Ki-67 status with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer

DENG Dingmei\*, YE Xian, WEN Runyao, ZHANG Yujuan, YE Jiansen

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

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the correlation between estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and Ki67 antigen (Ki67 antigen, Ki67) status and the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer (BC). **Methods** From December 2015 to May 2020 in our hospital, 216 breast cancer patients received neoadjuvant chemotherapy before surgery. Immunohistochemical staining was used to detect ER, PR, Ki-67; evaluate the efficacy; analyze the relationship between ER, PR, Ki-67 and the efficacy. **Results** The total effective rate was 87.04% (188/216), and the pathologic complete response (pCR) was 15.74% (34/216). The positive rate of ER and negative rate of PR increased after chemotherapy, and the difference was not statistically significant compared with before chemotherapy ( $P>0.05$ ). The Ki-67 negative rate after chemotherapy was significantly higher than before chemotherapy, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant correlation between ER, PR, Ki-67 status and the efficacy of neoadjuvant chemotherapy (all  $P>0.05$ ,  $r=0.632$ ). The negative expression of ER was an independent factor predicting the pCR of neoadjuvant chemotherapy, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** There is no obvious relationship between PR and Ki-67 status and the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. ER was negatively correlated with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy.

**[KEY WORDS]** Neoadjuvant chemotherapy; Breast cancer; Ki67 antigen; Progesterone receptor; Estrogen receptor; Correlation analysis

基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(A2018195)

作者单位:广东省东莞市东莞市人民医院乳腺科,广东,东莞 523000

\*通信作者:邓丁梅, E-mail: deng664178222@163.com

乳腺癌(Breast Cancer, BC)是女性高发的恶性肿瘤,其发病率持续升高,威胁生命健康<sup>[1]</sup>。临床多采用化疗与手术联合治疗,以降低乳腺癌患者病死率。常规化疗具有一定的治疗作用,但仍有部分患者较不敏感。新辅助化疗是在外科手术前使用具有细胞毒性的药物治疗恶性肿瘤,消除病变及转移病灶,降低肿瘤分期<sup>[2]</sup>。新辅助化疗已被广泛用于乳腺癌治疗中,能提高保乳治疗效果<sup>[3]</sup>。既往研究显示,新辅助化疗后患者发生病理完全缓解(pathologic complete response, pCR)预后效果更佳<sup>[4]</sup>。进行化疗前寻找能够有效预测治疗效果的指标,根据患者对化疗敏感性给予个体化的治疗,对提高疗效及生存率具有十分重要的意义。雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)以及Ki67抗原(Ki67 antigen, Ki67)是评估预后的重要指标,能够预测化疗、靶向治疗的临床疗效<sup>[5]</sup>。目前有关ER、PR、Ki-67状态对术前新辅助化疗疗效的预测仍有争议。本研究分析ER、PR及Ki-67状态与化疗疗效的关系及其预测作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年12月21日至2020年5月31日本院收诊的216例乳腺癌作为此次的研究对象,平均年龄(52.29±10.56)岁。TNM分期:50例Ⅱ<sub>A</sub>期;75例Ⅱ<sub>B</sub>期;72例Ⅲ<sub>A</sub>期;12例Ⅲ<sub>B</sub>期;7例Ⅲ<sub>C</sub>期。疾病类型:其他10例,13例浸润性小叶癌,193例浸润性导管癌。病灶部位:左乳120例,右乳96例。分型:luminalA型51例、luminalB型85例、三阴型60例、her2型20例;绝经情况:绝经前170例,绝经后46例。纳入标准:①均符合乳腺癌诊断<sup>[6]</sup>,经组织活检确诊;②患者及患者家属自愿签署知情同意书;③女性,首次发病;④均符合手术指征,行新辅助化疗;⑤年龄≥18岁且年龄≤69岁。排除标准:①中途退出者;②乳腺癌手术史;③男性乳腺癌;④伴有其他恶性肿瘤;⑤临床资料不完整;⑥肝肾功能不全者;⑦双乳癌;⑧超声、X线检查显示远处转移;⑨化疗前接受其他治疗者。

### 1.2 方法

化疗药物:采用吡柔比星(生产厂家:海正辉瑞制药有限公司,国药准字H20045983),10mg;表柔比星[生产厂家:辉瑞制药(无锡)有限公司;国药准字H20000496],10mg;环磷酰胺(德国爱斯达大药厂,进口药品注册证号H20110407)0.2g;多西他赛(江

苏奥赛康药业股份有限公司,国药准字H20080443);Aventis Pharma S.A. 国药准字J20090104),40mg;20mg;曲妥珠单抗(罗氏公司,国药准字H20170037),440mg;卡铂(齐鲁制药有限公司,国药准字H10920028),0.1g;帕妥珠单抗(Roche Diagnostics GmbH,进口药品注册证号S20180029),420mg。

新辅助化疗方案包括:9例AC-T(吡柔比星/表柔比星、环磷酰胺、序贯多西他赛)、15例AC-TH(吡柔比星/表柔比星、环磷酰胺、序贯多西他赛和曲妥珠单抗),28例AC-THP化疗(吡柔比星/表柔比星、环磷酰胺、序贯多西他赛和曲妥珠单抗及帕妥珠单抗),140例TAC化疗(多西他赛、吡柔比星/表柔比星、环磷酰胺),11例TCH(多西他赛、卡铂、曲妥珠单抗),13例TCHP化疗(多西他赛、卡铂、曲妥珠单抗和帕妥珠单抗)。化疗2~6个疗程。134例完成既定方案。化疗后进行手术。术前超声穿刺、术后标本,进行免疫组织化学染色。免疫组织化学染色检测ER Elisa试剂盒(捷世康,GLK7610)、PR Elisa试剂盒(cusabio,CSB-E13058h-1)以及Ki-67 Elisa试剂盒(百奥莱博,K18947-VBA)。化疗前后所有患者均成功进行检测。

### 1.3 观察指标

判定标准<sup>[7]</sup>:高倍镜(×400)下取10视野,计算百分比。ER、PR、Ki-67阳性细胞:棕黄色颗粒;ER、PR的表达情况观察细胞染色比例高于等于10%为阳性,细胞染色比例低于10%为阴性。Ki-67抗原的表达情况为:高于5%为阳性,Ki-67低于5%为阴性。最终染色结果以Allred score系统进行评分判定,计算两组的染色指数<sup>[8]</sup>。

国际评价标准<sup>[9]</sup>:临床完全缓解(clinical complete response, cCR):所有目标病灶完全消失;临床部分缓解(clinical partial response, cPR):目标病灶的直径总和低于基线≥30%;疾病稳定(stable disease, SD):直径缩小低于30%、增加低于20%;疾病进展(progressive disease, PD):有新病灶,直径和相对增加至少20%;总有效率(response rate, RR)=[(cCR+cPR)]/n×100%。病理完全缓解(pathologic complete response, pCR):病灶从病理学上完全变成原位癌或者完全消失。

### 1.4 统计学方法

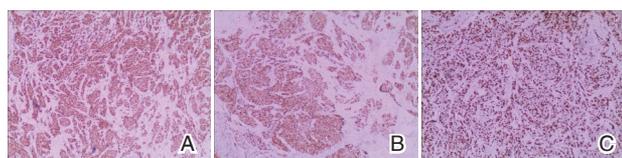
采用SPSS 25.0软件进行数据分析;计数资料以n(%)表示,行 $\chi^2$ 检验;计量资料以( $\bar{x} \pm s$ ),两两比较采用t检验,多个样本均数比较采用单因素方

差分析,组间两两比较采用LSD-t检验;Pearson系数分析ER、PR、Ki-67与新辅助化疗疗效的相关性;采用单因素及多因素分析ER、PR、Ki-67预测化疗疗效的临床价值。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ER、PR和ki-67表达阳性

ER、PR和ki-67在细胞核表达,细颗粒状,黄褐色或棕褐色;ER和ki-67表达情况较PR更均匀密集,ER染色指数为 $(4.09 \pm 1.05)$ ;PR的染色指数为 $(3.17 \pm 0.92)$ ;ki-67染色指数 $(4.37 \pm 1.21)$ ;两两相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图1。



注:A为ER,B为PR,C为ki-67

图1 ER、PR和ki-67表达阳性(SP,×400)

Figure 1 ER, pr and ki-67 protein expression (SP,×400)

### 2.2 乳腺癌患者新辅助化疗疗效

化疗后,cCR患者有83例(38.43%);cPR患者

有105例(55.85%);SD患者有20例(9.26%);PD患者有8例(3.70%);总有效188例(87.04%)pCR患者有34例,占15.74%。

### 2.3 化疗前、后ER、PR以及Ki-67表达比较

化疗后ER阳性率、PR阴性率高于化疗前,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与化疗前比,化疗后Ki-67阴性率显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.4 ER、PR以及Ki-67状态与疗效的相关性

ER、PR、Ki-67的状态与临床疗效均无显著相关性( $P > 0.05$ ,  $r = 0.632$ );与ER阳性组比,ER阴性组pCR更高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与PR阳性组比,PR阴性组pCR更高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Ki-67阳性组与阴性组pCR比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

### 2.5 ER、PR、Ki-67预测新辅助化疗疗效的单因素分析

ER、PR预测pCR的阴性表达率显著高于阳性表达率,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),ER、PR预测cCR的阴性表达率显著高于阳性表达率,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Ki-67表达不能用于预测pCR、cCR,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表3。

表1 化疗前、后ER、PR以及Ki-67表达比较[n(%)]

Table 1 Comparison of ER, PR and Ki-67 expression before and after chemotherapy [n(%)]

组别	ER		PR		Ki-67	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
化疗前	140(64.81)	76(35.19)	138(63.89)	78(36.11)	134(62.04)	82(37.96)
化疗后	168(77.78)	48(22.22)	120(55.56)	96(44.44)	98(45.37)	118(54.63)
$\chi^2$ 值	1.675		0.532		7.649	
P值	0.098		0.167		0.024	

表2 ER、PR以及Ki-67状态与疗效的相关性[n(%)]

Table 2 Correlation between ER, PR and Ki-67 status and efficacy [n(%)]

组别	ER		PR		Ki-67	
	阳性(n=140)	阴性(n=76)	阳性(n=138)	阴性(n=78)	阳性(n=134)	阴性(n=82)
cCR	42(50.60)	41(49.40)	38(45.78)	45(54.22)	46(55.42)	37(44.58)
cPR	78(74.29)	27(25.71)	77(73.33)	28(26.67)	70(66.67)	35(33.33)
SD	16(80.00)	4(20.00)	18(90.00)	2(10.00)	13(65.00)	7(35.00)
PD	4(50.00)	4(50.00)	5(62.50)	3(37.50)	5(62.50)	3(37.50)
pCR	16(47.06)	18(52.94) <sup>a</sup>	13(38.24)	21(61.76) <sup>a</sup>	27(79.41)	7(20.59)
$\chi^2$ 值	2.965		1.746		3.521	
P值	0.321		0.543		0.695	

注:与阳性组比,<sup>a</sup> $P < 0.05$

### 2.6 ER、PR、Ki-67预测新辅助化疗疗效的多因素分析

ER阴性表达是预测pCR的独立因素,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。PR、Ki-67不是预测pCR、cCR的独立因素( $P > 0.05$ )。见表4。

## 3 讨论

新辅助化疗的重要目的是进行术前药敏试验,评估患者的治疗效果,为手术后是否进行辅助

表3 ER、PR、Ki-67 预测新辅助化疗疗效的单因素分析  
Table 3 Single factor analysis of ER, PR, Ki-67 in predicting the efficacy of neoadjuvant chemotherapy

影响因素	n	pCR	$\chi^2$ 值	P值	cCR	$\chi^2$ 值	P值	
ER	阳性	140	18(12.86)	8.420	0.003	42(30.00)	7.492	0.004
	阴性	76	16(21.05)			41(53.95)		
PR	阳性	138	13(9.42)	4.967	0.005	38(27.54)	5.413	0.008
	阴性	78	21(26.72)			45(57.69)		
Ki-67	阳性	134	27(20.15)	0.157	0.349	46(34.33)	0.209	0.241
	阴性	82	7(8.54)			37(45.12)		

表4 ER、PR、Ki-67 预测新辅助化疗疗效的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of ER, PR, Ki-67 predicting the efficacy of neoadjuvant chemotherapy

影响因素	pCR					cCR				
	$\beta$ 值	Wald/ $\chi^2$ 值	OR值	95%CI	P值	$\beta$ 值	Wald/ $\chi^2$ 值	OR值	95%CI	P值
ER	-1.654	11.123	0.201	0.074~0.358	0.074	-0.903	3.562	0.359	0.103~1.132	0.002
PR	0.305	0.087	1.132	0.311~4.516	0.695	0.175	0.091	1.086	0.415~2.679	0.583
Ki-67	0.192	0.093	1.187	0.403~4.328	0.412	0.614	0.834	1.578	0.562~3.483	0.675

调节生长因子相关通路。新辅助化疗治疗可改变ER、PR状态。PR是ER的靶基因,也是重要的效应因子,两者生物学效应密切相关。新辅助化疗治疗可影响乳腺癌患者ER、PR状态,本研究中,化疗后ER阳性及PR阴性表达增加,但与化疗前无明显差异,与沈方媛<sup>[12]</sup>等的研究结果相一致。有研究显示,新辅助化疗后,ER未发生显著改变,PR发生显著改变<sup>[13]</sup>。本研究与此研究存在差异。可能与纳入样本量及研究对象不同有关。ER阳性表达表明肿瘤细胞分化较高,不易发生远处转移,预后较好。

Ki-67是细胞核增殖标志物,是指导治疗的重要指标。研究证实,Ki-67在宫颈癌、胃癌、结直肠癌等的表达水平升高,且随着其表达增加,患者预后越差,其在预测临床疗效中也具有一定的指导意义<sup>[14]</sup>。本研究中,化疗后Ki-67阴性表达率显著增加,说明新辅助化疗可降低Ki-67表达,但Ki-67状态与化疗疗效无显著相关性。

本研究选取样本量少;由于患者身体素质及肿瘤因素,研究结果存在片面性。因此需扩大样本量进行多中心研究。

综上所述,PR、Ki-67状态与乳腺癌新辅助化疗疗效无明显的联系,ER与乳腺癌新辅助化疗疗效具呈负相关。

### 参考文献

[1] Ramteke P, Seenu V, Prashad R, et al. Alteration in steroid hormone and Her - 2/neu receptor status follow ing neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer: Experience at a tertiary care centre in India [J]. Indian J Cancer,

2016, 53 (3):366-371.

[2] 虞敏,彭世军,周勇,等. 曲妥珠单抗联合紫杉醇新辅助化疗对HER-2阳性乳腺癌病灶内细胞增殖、侵袭的影响[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(20):2818-2821.

[3] Li H, Yao L, Jin P, et al. MRI and PET/CT for evaluation of the pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A systematic review and meta - analysis [J]. Breast, 2018, 40(50):106-115.

[4] 孙少甫,潘亚军,栾春. 乳腺癌中lncRNA ITGA9-AS1表达与病理特征及新辅助化疗疗效的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(09):1264-1267.

[5] Johnston S, Puhalla S, Wheatley D, et al. Randomized Phase II Study Evaluating Palbociclib in Addition to Letrozole as Neoadjuvant Therapy in Estrogen Receptor - Positive Early Breast Cancer: PALLET Trial [J]. J Clin Oncol, 2019, 37(3):178-189.

[6] 邵志敏,李俊杰. 2015版《中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范》:外科部分解读[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2016, 10(1):1-5.

[7] 李荣军,崔艳芬. 新辅助化疗对乳腺癌手术患者ER、PR、HER-2及Ki67的影响[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(17):3186-3189.

[8] 何蕾蕾,赵弓泉,马宁,等. 不同固定时间对乳腺浸润性癌非特殊型组织ER、PR免疫组化染色的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2020, 5(21):27-29.

[9] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2):228-247.

[10] 王光辉,唐亚楠,陈楠,等. 新辅助化疗对乳腺癌患者ER、PR、HER-2及Ki67表达的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2018, 39(4):542-545.

[11] 张毅,闫国诚,王建军. 乳腺癌新辅助化疗对癌组织ER、PR、HER-2及Ki67水平的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(8):839-842.

治疗及治疗方案的制定提供指导意义<sup>[10]</sup>。本研究中,化疗治疗总有效率为87.04%,其中pCR为15.74%。本研究结果与张毅<sup>[11]</sup>等研究报道相近。研究发现部分患者对新辅助化疗并不敏感,此类患者进行化疗时不能提高疗效,可能会引起严重不良反应。术前检验疾病预测因子判断患者能否采用新辅助化疗方式。

ER、PR是一种调节蛋白,也是性激素受体,能

· 论 著 ·

## 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

张丽\* 李友云 王永超 邢素娟 赵慧玲

**【摘要】** 目的 研究外周血 miR-21-5p 表达对多囊卵巢综合征(PCOS)不孕患者人工授精(IUI)结局的预测价值。方法 选择2017年1月至2019年12月期间在本院接受IUI的178例PCOS不孕患者作为PCOS组,同期体检的102例月经周期正常且已婚已育女性作为对照组,检测外周血 miR-21-5p 的表达水平,判断PCOS组患者IUI结局并分为临床妊娠和未临床妊娠,采用ROC曲线分析 miR-21-5p 对IUI结局的预测价值、采用logistic回归分析IUI结局的影响因素。结果 PCOS组外周血 miR-21-5p 的表达水平低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )且PCOS组中未临床妊娠患者的外周血 miR-21-5p 表达水平低于临床妊娠患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ );经ROC曲线分析,miR-21-5p 对PCOS组患者IUI结局具有预测价值;经logistic回归分析,miR-21-5p、抗苗勒氏管激素、优势卵泡数目是PCOS组患者妊娠结局的影响因素。结论 PCOS不孕患者外周血 miR-21-5p 表达减少且对IUI结局具有预测价值。

**【关键词】** 多囊卵巢综合征;不孕;miR-21-5p;人工授精

### Predictive value of miR - 21 - 5p expression in peripheral blood on the outcome of intrauterine insemination in infertile women with polycystic ovary syndrome

ZHANG Li\*, LI Youyun, WANG Yongchao, XING Sujuan, ZHAO Huiling

(Department of Reproductive Medicine, Xinxiang Central Hospital, Xinxiang, Henan, China, 453000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To study the predictive value of miR-21-5p expression in peripheral blood on the outcome of intrauterine insemination (IUI) in infertile women with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Method** 178 PCOS infertile patients who received IUI in our hospital from January 2017 to December 2019 were selected as the PCOS group, and 102 married and fertile women with normal menstrual cycle in the same period were selected as the control group. The expression level of miR-21-5p in peripheral blood was detected. The IUI outcome of PCOS group was judged and divided into clinical pregnancy patients and non-clinical pregnancy patients. ROC curve was used to analyze the predictive value of miR-21-5p on IUI outcome, logistic regression was used to analyze the influencing factors of IUI outcome. **Result** The expression level of miR-21-5p in the PCOS group was lower than that in the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ), and the expression level of miR-21-5p in non-clinical pregnancy patients in the PCOS group was lower than that of clinical pregnancy patients, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); by ROC curve analysis, miR-21-5p had predictive value on IUI outcome in the PCOS group; by logistic regression analysis, miR-21-5p, anti AMH and the number of dominant follicles were influencing factors for pregnancy outcome of the PCOS group. **Conclusion** the expression of miR-21-5p in peripheral blood of infertile patients with PCOS decreases and has predictive value on outcome of IUI.

**【KEY WORDS】** Polycystic ovary syndrome; Infertility; miR-21-5p; Intrauterine insemination

基金项目:新乡市科技攻关项目(10KSGN542)

作者单位:新乡市中心医院生殖医学科,河南,新乡 453000

\*通信作者:张丽, E-mail: man2004122@163.com

多囊卵巢综合征(Polycystic ovary syndrome, PCOS)是育龄期女性常见的内分泌疾病,以雄激素增多、胰岛素抵抗、排卵障碍为特征,是目前临床上无排卵性不孕的主要原因。人工授精(intra-uterine insemination, IUI)是治疗不孕症的有效手段,操作相对简单、成本低廉且治疗过程接近自然受孕过程,对于反复诱导排卵仍未能妊娠的PCOS患者可选择IUI<sup>[1-2]</sup>。但是,目前IUI治疗PCOS不孕的临床妊娠率较低,影响PCOS不孕患者IUI妊娠结局的因素复杂、机制也不十分明确<sup>[3]</sup>。微小RNA(microRNA, miRNA)是近些年生殖医学领域受到越来越多关注的一类非编码小分子RNA,能够在转录后水平调节多种基因的表达,进而实现对卵巢功能、子宫内膜容受性的调控<sup>[4]</sup>。国内李红娟关于PCOS的动物实验发现,miR-21-5p在PCOS大鼠中表达减少且过表达miR-21-5p对卵巢颗粒细胞的增殖具有促进作用、凋亡具有抑制作用<sup>[5]</sup>,但miR-21-5p在PCOS不孕中的作用及其与妊娠结局的关系尚不清楚。因此,本研究将分析外周血miR-21-5p表达的变化及其对IUI结局的预测价值。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选择2017年1月至2019年12月期间在本院接受IUI的178例PCOS不孕患者作为PCOS组,纳入标准:①符合PCOS诊断标准<sup>[6]</sup>;②未避孕性生活1年以上的不孕者;③女方输卵管造影及B超证实至少1侧输卵管通畅;④男方精液常规符合IUI标准。排除标准:①生殖系统畸形或其他疾病导致的不孕;②因多卵泡发育或无优势卵泡发育而取消周期的患者;③IUI过程中精液液化异常、处理后精子密度 $<2 \times 10^6/\text{mL}$ 、A+B级精子回收率 $<20\%$ ;④合并恶性肿瘤、糖尿病等。另取同期体检的102例月经周期正常且已婚已育女性作为对照组。PCOS组年龄26~36岁、平均 $(32.74 \pm 7.82)$ 岁,BMI $(24.37 \pm 7.82) \text{ kg/m}^2$ ;对照组年龄25~37岁、平均年龄 $(33.12 \pm 8.51)$ 岁,BMI $(23.51 \pm 9.29) \text{ kg/m}^2$ 。两组间一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有患者均知情,本实验通过医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 外周血miR-21-5p表达的检测

取两组受试者的空腹外周静脉血3 mL,采用

北京天根公司生产的试剂盒进行检测。首先,采用miRNA提取试剂盒分离提取外周血中的总miRNA,而后用miRNA cDNA第一链合成试剂盒将miRNA反转录为对应的cDNA,最后miRNA荧光定量PCR检测试剂盒进行PCR检测,分别使用目的基因miR-21-5p及内参基因U6的特异性引物,按照下列程序进行反应:95℃预变性3 min后95℃15 s、60℃34 s循环40次,得到反应的循环曲线及循环阈值(Ct),以U6为内参、按照公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算miR-21-5p的表达水平。

#### 1.2.2 IUI方法

首先在月经第3~5 d时进行促排卵治疗,方案包括克罗米芬、(HMG)、克罗米芬联合HMG;监测优势卵泡,当直径达14 mm后每日监测尿LH,出现LH峰当日或优势卵泡直径达18 mm后,使用重组人绒毛膜促性腺激素(hCG)250  $\mu\text{g}$ ,24~36 h后进行IUI。IUI后进行黄体支持,给予黄体酮胶囊100 mg口服2次/日,连续服用14 d。

#### 1.2.3 临床资料的收集

查阅PCOS组患者的病历并收集以下临床资料:年龄、BMI、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、抗苗勒氏管激素(AMH)、高雄激素血症、促排卵方案、优势卵泡数目。

#### 1.2.4 IUI结局的判断

IUI后14 d查血及尿hCG以确定是否生化妊娠;35 d后行阴道B超检查,见到宫内孕囊、胚芽、心管搏动确定为临床妊娠。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件统计分析,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间的比较采用 $t$ 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,用 $\chi^2$ 检验,miR-21-5p对IUI结局的预测价值采用ROC曲线分析,IUI结局的影响因素采用logistic回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组外周血miR-21-5p表达的比较

与对照组 $(0.93 \pm 0.22)$ 比较,PCOS组 $(0.59 \pm 0.18)$ 患者外周血miR-21-5p的表达水平明显降低,差异有统计学意义( $t=13.470, P < 0.05$ )。

### 2.2 PCOS组中临床妊娠患者与未临床妊娠患者外周血miR-21-5p表达的比较

与PCOS组中临床妊娠患者 $(0.41 \pm 0.13)$ 比较,未临床妊娠患者 $(0.63 \pm 0.17)$ 外周血miR-21-5p的

表达水平明显降低,差异有统计学意义( $t=6.497$ ,  $P<0.05$ )。

### 2.3 miR-21-5p 预测 PCOS 组患者临床妊娠的 ROC 曲线分析

绘制 miR-21-5p 预测 PCOS 组患者 IUI 后临床妊娠的 ROC 曲线,曲线下面积为 0.852 (95% CI: 0.785 4~0.919 1,  $P<0.001$ ),根据约登指数最大值确定最佳截断值为 0.522,该截断值预测临床妊娠的灵敏度为 85.71%、特异性为 76.00%。见图 1。

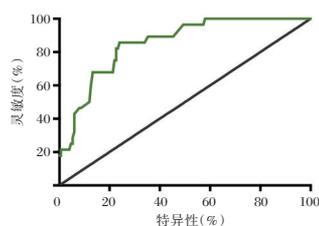


图 1 miR-21-5p 预测 PCOS 组患者临床妊娠的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of miR-21-5p in predicting clinical pregnancy in PCOS group

### 2.4 PCOS 组中临床妊娠患者与未临床妊娠患者临床资料的比较

PCOS 组中临床妊娠患者与未临床妊娠患者比较,年龄、BMI、FSH、LH、促排卵方案的差异无统计学意义( $P>0.05$ ),高雄激素血症、AMH、优势卵泡数目的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 PCOS 组中临床妊娠患者与未临床妊娠患者临床资料的比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

Table 1 Comparison of clinical data between patients with clinical pregnancy and patients without clinical pregnancy in PCOS group [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

临床资料	临床妊娠患者 ( $n=28$ )	未临床妊娠患者 ( $n=150$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄(岁)	32.04±7.56	32.98±7.92	0.580	0.562
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.94±5.67	24.55±7.93	0.389	0.698
FSH(U/L)	6.51±1.24	6.84±1.05	1.482	0.140
LH(U/L)	8.74±1.21	8.48±1.46	0.886	0.377
AMH(ng/mL)	10.92±2.81	8.37±2.14	5.492	0.000
高雄激素血症	2(7.14%)	38(25.33%)	4.481	0.034
优势卵泡数≥2个	22	74	8.119	0.004

### 2.5 PCOS 组患者妊娠结局影响因素的 logistic 回归分析

以 PCOS 组患者妊娠结局作为应变量,以妊娠患者与未临床妊娠患者比较的单因素分析中有统计学差异的因素作为自变量,进行 logistic 回归分析可知:miR-21-5p、AMH、优势卵泡数目是 PCOS 组患者妊娠结局的影响因素。见表 2。

表 2 PCOS 组患者妊娠结局影响因素的 logistic 回归分析

Table 2 Logistic regression analysis of influencing factors of pregnancy outcome in PCOS group

因素	$\beta$ 值	OR 值	95%CI	Wald $\chi^2$ 值	$P$ 值
miR-21-5p	0.472	1.441	1.173~2.485	6.575	0.002
AMH	0.547	1.227	1.027~2.916	3.948	0.041
高雄激素血症	-0.374	0.839	0.636~1.744	1.171	0.203
优势卵泡数	0.557	1.328	1.093~2.474	4.775	0.032

## 3 讨论

IUI 是治疗不孕症常用的辅助手段,通过导管将优化后的精液注入宫腔,操作简单、损伤小且治疗过程接近自然受孕过程,易于被患者接受。PCOS 是不孕的常见病因之一,对于反复诱导排卵仍未能妊娠的 PCOS 患者,IUI 是一线治疗方案。但是,IUI 治疗 PCOS 不孕的妊娠率较低,影响妊娠结局的因素十分复杂,相关的分子机制也未完全阐明。

卵巢储备功能反映了女性生育潜能,具体是指卵巢内存留卵泡的数量及其发育为优质卵泡的能力。AMH 由窦卵泡合成并分泌,是反映卵巢储备功能的理想指标,在 PCOS 发病过程中窦卵泡数量增加、AMH 分泌也异常增多<sup>[7]</sup>。根据国内谢言信<sup>[8]</sup>的研究,AMH 对 PCOS 不孕患者 IUI 治疗的周期取消、妊娠结局均具有预测价值,预测周期取消的 ROC 曲线下面积达 0.731、而预测妊娠结局的 ROC 曲线下面积仅 0.585,提示虽然卵巢储备功能评价指标 AMH 对 PCOS 不孕患者 IUI 结局具有预测价值,但预测效能较弱、ROC 曲线下面积较小。因此,需要寻找对 PCOS 不孕患者 IUI 结局具有更强预测效能的指标。

颗粒细胞是卵巢中重要的功能细胞,PCOS 发病过程中颗粒细胞的过度凋亡会使卵泡发育停滞在次级卵泡阶段,进而出现卵巢多囊改变<sup>[9-10]</sup>。miRNA 是颗粒细胞增殖及凋亡重要的上游调控分子<sup>[11-12]</sup>,李红娟<sup>[5]</sup>的研究中显示在 PCOS 大鼠卵巢中 miR-21-5p 的表达减少,过表达 miR-21-5p 能够抑制卵巢颗粒细胞凋亡。本研究结果表明 miR-21-5p 表达减少与 PCOS 不孕的发生有关,可能机制是 miR-21-5p 低表达促进了颗粒细胞凋亡、影响卵泡发育及卵巢储备功能。

PCOS 不孕患者 IUI 治疗后妊娠结局的影响因素复杂,国内多项相关的研究表明 AMH、优势卵泡数目及多项精子指标均是 PCOS 不孕患者 IUI

结局的影响因素<sup>[13-16]</sup>。本研究在入组时排除了可能影响 IUI 结局的男性精子因素,对 miR-21-5p 及其他临床因素对 IUI 结局的影响进行了 logistic 回归分析,结果显示:miR-21-5p、AMH、优势卵泡数目是 PCOS 不孕患者妊娠结局的影响因素。其中 miR-21-5p 与 PCOS 不孕患者妊娠结局相关的结果与 miR-21-5p 抑制颗粒细胞凋亡的生物学作用吻合,也与本研究已经发现的 PCOS 不孕患者 IUI 治疗后未临床妊娠患者 miR-21-5p 表达减少的结果一致;AMH、优势卵泡数目与 PCOS 不孕患者妊娠结局相关的结果与国内已有的相关研究结果一致。

综上所述,PCOS 不孕患者外周血 miR-21-5p 表达减少且对 IUI 结局具有预测价值,未来 miR-21-5p 有可能成为研究 PCOS 不孕分子机制的靶点。

### 参考文献

- [1] Atalay E, Ozaksit MG, Tokmak A, et al. Intrauterine insemination versus timed intercourse in ovulation induction cycles with clomiphene citrate for polycystic ovary syndrome: A retrospective cohort study [J]. *J Gynecol Obstet Hum Rep*, 2019, 48(10):805-809.
- [2] 张先锋,肖丹,郭佳.血清和肽素水平与 PCOS 患者糖代谢相关指标水平的关系研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(7):905-909.
- [3] Salilew-Wondim D, Gebremedhn S, Hoelker M, et al. The Role of MicroRNAs in Mammalian Fertility: From Gametogenesis to Embryo Implantation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 585.
- [4] Xu H, Zhou M, Cao Y, et al. Genome-wide analysis of long noncoding RNAs, microRNAs, and mRNAs forming a competing endogenous RNA network in repeated implantation failure [J]. *Gene*, 2019, 15(720): 144056.
- [5] 李红娟,唐小珂,王雅莉.微RNA-21-5p 靶向 PDCD4 基因对多囊卵巢综合征大鼠卵巢颗粒细胞增殖、凋亡的影响及其分子机制研究[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2019, 25(4): 450-454.
- [6] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组.多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(1): 2-6.
- [7] Grbavac I, Zec I, Ljiljak D, et al. Undetectable Serum Levels of Anti-Müllerian Hormone in Women with Ovarian Hyperstimulation Syndrome During In Vitro Fertilization and Successful Pregnancy Outcome: Case Report [J]. *Acta Clin Croat*, 2018, 57(1):177-180.
- [8] 谢言信,赵雅男,林海燕,等.抗苗勒氏管激素在多囊卵巢综合征患者行人工授精预测价值的评估[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2019, 40(1): 90-97.
- [9] Salehi R, Mazier HL, Nivet AL, et al. Ovarian mitochondrial dynamics and cell fate regulation in an androgen-induced rat model of polycystic ovarian syndrome [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):1021.
- [10] Azhary JMK, Harada M, Takahashi N, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Activated by Androgen Enhances Apoptosis of Granulosa Cells via Induction of Death Receptor 5 in PCOS [J]. *Endocrinology*, 2019, 160(1):119-132.
- [11] Tu J, Cheung AH, Chan CL, et al. The Role of microRNAs in Ovarian Granulosa Cells in Health and Disease [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 21(10): 174.
- [12] O'Doherty AM, O'Brien YM, Browne JA, et al. Expression of granulosa cell microRNAs, AVEN and ATRX are associated with human blastocyst development [J]. *Mol Rep*, 2018, 85(11):836-848.
- [13] 徐仰英,王海燕,乔杰,等.影响宫腔内人工授精妊娠率的临床因素分析[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2013, 45(6): 887-891.
- [14] 吴荣,吴欢,王超,等.多囊卵巢综合征不孕症人工授精失败的危险因素 Logistic 回归分析[J]. *中国性科学*, 2019, 28(7): 76-80.
- [15] 刘盼,郭丽娜,赵敏英,等.影响多囊卵巢综合征患者宫腔内人工授精成功率的因素分析[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2018, 37(5): 367-371.
- [16] 刘霞,王琳.多囊卵巢综合征所致不孕者不同卵泡期 HMG 促排卵方案的效果随访分析[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(1): 32-34.

(上接第 86 页)

- [12] 沈方媛,曾斌,吴慧,等.新辅助化疗对不同分子亚型乳腺癌免疫标记表达的影响[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2018, 39(3):229-235.
- [13] Petruolo OA, Pilewskie M, Patil S, et al. Standard pathological features can be used to identify a subset of estrogen receptor-positive, HER2 negative patients likely to benefit from neoadjuvant chemo-therapy [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(9):2556-2562.
- [14] 王海瑞,廖光东,陈汶,等.p16/Ki-67 免疫细胞化学双染在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2017, 39(8):636-640.

## UA、DD及HCY水平对急性冠脉综合征患者PCI术后再次狭窄的影响

杨旭\* 贾亚丹 张云飞 郭树领

**[摘要]** 目的 探讨血尿酸(UA)、D二聚体(DD)及同型半胱氨酸(HCY)水平对急性冠脉综合征(ACS)患者经皮冠状动脉介入(PCI)术后再次狭窄的影响。方法 选取2016年6月至2020年9月本院住院部治疗的96例ACS患者,根据PCI术后有无再次狭窄分为:PCI术后再次狭窄组(46例,其中轻度狭窄22例,中度狭窄14例,重度狭窄10例)、PCI术后未再次狭窄组(50例),分别对比2组及不同程度狭窄的ACS患者UA、DD及HCY水平。分析影响ACS患者PCI术后再次狭窄的相关危险因素。结果 PCI术后再次狭窄组DD、UA、HCY水平均显著高于PCI术后未再次狭窄组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。重度狭窄ACS患者DD、UA、HCY水平高于中度狭窄及轻度狭窄ACS患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。中度狭窄ACS患者DD、UA、HCY水平高于轻度狭窄的ACS患者( $P<0.05$ )。高血压史、糖尿病史、陈旧性心肌梗死史、既往PCI史、中风病史、DD异常升高、UA异常升高、HCY异常升高为影响ACS患者PCI术后再次狭窄的独立危险因素( $P<0.05$ )。DD、UA、HCY及三者联合检测RCC曲线下面积分别为:0.883、0.677、0.768、0.943,各指标曲线下面积以联合检测最大。结论 DD、UA、HCY三者联合检测对ACS患者PCI术后冠脉再次狭窄发生的预测价值较高,临床使用价值大。

**[关键词]** UA; DD; HCY; 急性冠脉综合征; PCI术

### Effects of UA, DD and HCY levels on re-stenosis in patients with acute coronary syndrome after PCI

YANG Xu\*, JIA Yadan, ZHANG Yunfei, GUO Shuling

(Department of Cardiology, Xuchang Central Hospital, Xuchang, Henan, China, 461000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the effect of uric acid (UA), D-dimer (DD) and homocysteine (HCY) levels on the re-stenosis after percutaneous coronary intervention (PCI) in patients with acute coronary syndrome (ACS). **Methods** 96 ACS patients treated in this inpatient department from June 2016 to September 2020 were selected. According to whether there was re-stenosis or not after PCI, they were divided into: re-stenosis group after PCI (46 cases, including 22 cases with mild stenosis, 14 cases with moderate stenosis, and 10 cases with severe stenosis), and non-re-stenosis group (50 cases) after PCI. The levels of UA, DD and HCY in the two groups and in ACS patients with different degrees of stenosis were compared. The related risk factors that affect ACS patients with re-stenosis after PCI were analyzed. **Results** The levels of DD, UA and HCY in the re-stenosis group after PCI were significantly higher than those in the non-re-stenosis group after PCI, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of DD, UA, and HCY in patients with severe stenosis were higher than those with moderate stenosis and those with mild stenosis. The difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of DD, UA and HCY in ACS patients with moderate stenosis were higher than those in ACS patients with mild stenosis ( $P<0.05$ ). History of hypertension, diabetes, history of

基金项目:河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20191117)

作者单位:许昌市中心医院心内科,河南,许昌 461000

\*通信作者:杨旭, E-mail: wang73584chen541@163.com

old myocardial infarction, history of previous PCI, history of stroke, abnormal increase in DD, abnormal increase in UA, and abnormal increase in HCY were independent risk factors for re-stenosis in ACS patients after PCI ( $P < 0.05$ ). ④The area under the RCC curve of DD, UA, HCY and the three joint detections were 0.883, 0.677, 0.768, 0.943, and the area under the curve of joint detection was the largest. **Conclusion** The combined detection of DD, UA, and HCY has a higher predictive value for the recurrence of coronary artery stenosis after PCI in ACS patients, and has great clinical value.

**[KEY WORDS]** UA; DD; HCY; Acute Coronary Syndrome; PCI

急性冠状动脉综合征(Acute coronary syndrome, ACS)是一种因急性心肌缺血引起的疾病,以胸痛、上腹部疼痛为特征性表现,该病起病急、病情危重,患者预后差<sup>[1]</sup>。及时抢救是改善ACS患者预后的关键,目前临床主要通过经皮冠状动脉介入(Percutaneous coronary intervention, PCI)术治疗,以尽早开通梗死动脉,降低死亡率,改善患者预后<sup>[2]</sup>。相关研究显示,一些生化指标在冠心病进展中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。血浆凝血指标水平可预测首次心血管事件已有较多学者报道<sup>[4]</sup>。尿酸(Uric acid, UA)作为发生ACS的危险因素,其对ACS患者PCI术后再次狭窄的影响方面报道尚少。既往学者报道,D二聚体(D-Dimer, DD)在判断ACS患者预后的灵敏度和特异度较高<sup>[5]</sup>。近年来,DD及同型半胱氨酸(Homocysteine, HCY)与ACS发生的相关性一直是临床研究的热点,相关研究表明,二者可能为ACS患者PCI术后再次狭窄的独立预测因素<sup>[6]</sup>。本研究将探讨ACS患者血清UA、DD及HCY水平对PCI术后再次狭窄的影响现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

对2016年6月至2020年9月本院住院部治疗的96例ACS患者的临床资料进行收集、整理。根据PCI术后有无再次狭窄分为:PCI术后再次狭窄组(46例,其中轻度狭窄22例,中度狭窄14例,重度狭窄10例)、PCI术后未再次狭窄组(50例)。

纳入标准:①均符合中华医学会心血管病学分会制定的诊断ACS的相关诊断标准<sup>[7]</sup>;②年龄在80岁以下;③均在入院后1周内实施PCI术。排除标准:①合并血液系统疾病、感染、恶性肿瘤、严重肝肾功能不全者;②伴有痛风,且纳入研究前3个月内服用过影响UA、DD及HCY水平的药物者;③严重冠状动脉狭窄( $\geq 75\%$ )者。2组患者基线资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

表1 2组患者基线资料对比 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 1 Comparison of baseline data between 2 groups

组别	n	性别		平均年龄 (岁)	平均体重 (kg)
		男	女		
PCI术后再次狭窄组	46	26(56.52)	20(43.48)	55.41±3.31	63.54±1.23
PCI术后未再次狭窄组	50	28(56.00)	22(44.00)	55.48±3.39	63.62±1.31
t/ $\chi^2$ 值	-	-	0.003	0.102	0.308
P值	-	-	0.959	0.919	0.759

## 1.2 方法

### 1.2.1 DD、UA水平检测

PCI术后1h内从动脉中提取血液,置于肝素钠抗凝管中,在低温离心机中离心(3 000 r/min, 15 min)。取400  $\mu$ L血浆送检,采用日本SYSMEX CA7000全自动血凝分析仪及配套试剂盒检测DD水平。血清DD正常参考值:20~400  $\mu$ g/L<sup>[8]</sup>。采用深圳迈瑞公司生产的BS-400型全自动生化分析仪检测UA水平。检测过程严格按照说明书进行。血清UA正常参考值:90~420  $\mu$ mol/L<sup>[9]</sup>。

### 1.2.2 HCY水平检测

所有患者均于术后第二天清晨采取静脉血,采用循环酶法测定血清Hcy水平。血清Hcy正常参考值:5~15  $\mu$ mol/L<sup>[10]</sup>。

### 1.2.3 冠状动脉造影

采用荷兰飞利浦公司血管造影机(型号:FD20),采用标准Judkins法对所有患者行选择性冠状动脉造影。造影结果由两名心内科副主任医师采用定量分析法独自分析、判断,取平均值。第2次复查冠状动脉造影显示支架内狭窄 $\geq 50\%$ 者定义为PCI术后再次狭窄<sup>[11]</sup>。血管动脉粥样硬化狭窄程度:<39%为轻度狭窄,40%~75%为中度狭窄,>75%为重度狭窄<sup>[12]</sup>。

## 1.3 观察指标

收集患者的病例资料,包括:高血压史、糖尿病史、陈旧性心肌梗死史、既往PCI史、中风病史

等。先对比 PCI 术后再次狭窄组及 PCI 术后未再次狭窄组 DD、UA、HCY 水平。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计数资料用  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料采用  $(\bar{x} \pm s)$  描述,组间比较行  $t$  检验;多组间比较行  $F$  检验;影响 PCI 术后再次狭窄的相关因素采用 Logistic 回归分析;绘制 ROC 曲线,以分析 DD、UA、HCY 及三者联合检测对 PCI 术后再次狭窄的预测价值;以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 2 组 DD、UA、HCY 水平比较

PCI 术后再次狭窄组 DD、UA、HCY 水平均显著高于 PCI 术后未再次狭窄组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 2 组 DD、UA、HCY 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of DD, UA and Hcy levels in 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	DD ( $\mu\text{g/L}$ )	UA ( $\mu\text{mol/L}$ )	HCY ( $\mu\text{mol/L}$ )
PCI 术后再次狭窄组	46	454.32±26.37	478.35±22.77	29.65±8.72
PCI 术后未再次狭窄组	50	359.08±19.20	305.15±15.65	13.65±5.54
<i>t</i> 值	-	20.344	43.727	10.819
<i>P</i> 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 影响 ACS 患者 PCI 术后再次狭窄的相关因素分析

Table 4 Analysis of related factors influencing restenosis in ACS patients after PCI

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
年龄(岁)( $\geq 65$ vs $< 65$ )	1.139	0.713~1.513	0.569	-	-	-
性别(男 vs 女)	1.658	0.892~3.081	0.644	-	-	-
平均体重(高 vs 低)	1.791	0.325~1.616	0.119	-	-	-
高血压史(有 vs 无)	1.716	1.236~1.497	0.010	1.598	1.364~1.885	0.023
糖尿病(有 vs 无)	1.568	1.354~1.685	0.034	1.458	1.234~1.785	0.041
陈旧性心肌梗死(有 vs 无)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	1.368~1.779	0.038
既往 PCI 史(有 vs 无)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.6369	1.365~1.784	0.035
中风病史(有 vs 无)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
DD(异常升高 vs 正常)	1.658	1.587~1.975	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017
UA(异常升高 vs 正常)	1.654	1.352~1.884	0.011	1.623	1.265~1.596	0.026
HCY(异常升高 vs 正常)	1.254	1.234~1.579	0.024	1.547	1.325~1.587	0.031

面积分别为:0.885、0.758、0.825、0.951,各指标曲线下面积以联合检测最大。见表 5 及图 1。

## 3 讨论

ACS 发病以冠脉粥样硬化为基础,而冠脉粥样硬化发生、进展可能与炎症、血栓形成、血管内皮功能损伤等有关,其中炎症贯穿全程。ACS 症状较轻

### 2.2 不同狭窄程度的 ACS 患者 DD、UA、HCY 水平比较

重度狭窄 ACS 患者 DD、UA、HCY 水平高于中度狭窄及轻度狭窄 ACS 患者,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。中度狭窄 ACS 患者 DD、UA、HCY 水平高于轻度狭窄的 ACS 患者,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 同狭窄程度的 ACS 患者 DD、UA、HCY 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of DD, UA and Hcy levels in ACS patients with the same degree of stenosis ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	DD( $\mu\text{g/L}$ )	UA( $\mu\text{mol/L}$ )	HCY( $\mu\text{mol/L}$ )
轻度狭窄	22	422.11±19.08	453.36±20.72	25.88±7.30
中度狭窄	14	445.91±22.17	485.18±23.60	32.69±10.55
重度狭窄	10	469.93±27.25	509.35±26.68	39.88±12.95
<i>F</i> 值	-	17.110	22.340	7.410
<i>P</i> 值	-	<0.001	<0.001	0.002

### 2.3 影响 ACS 患者 PCI 术后再次狭窄的相关因素分析

高血压史、糖尿病史、陈旧性心肌梗死史、既往 PCI 史、中风病史、DD 异常升高、UA 异常升高、HCY 异常升高为影响 ACS 患者 PCI 术后再次狭窄的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

### 2.4 DD、UA、HCY 及三者联合检测对预测 ACS 患者 PCI 术后再次狭窄的预测价值

DD、UA、HCY 及三者联合检测 RCC 曲线下

者多表现出高尿酸,而严重患者则会引发急性心肌梗塞,甚至猝死。既往学者研究指出,ACS 患者 PCI 术后再狭窄的发生与纤溶酶等因素有关<sup>[13]</sup>。

DD 是纤溶酶破坏损伤部位的纤维蛋白而产生的,它代表了活性血栓的产生和溶解。在 ACS 发生的病理过程中,DD 的生成速度要快于其他标志物,因此 DD 对血管动脉粥样硬化狭窄具有更高的灵敏

表5 DD、UA、HCY及三者联合检测对预测ACS患者PCI术后再次狭窄的预测价值

Table 5 Predictive value of DD, UA, Hcy and their combination in predicting restenosis after PCI in ACS patients

预测指标	最佳临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	95%CI
DD	26.32	0.885	0.914	0.885	0.727~0.978
UA	26.25	0.865	0.921	0.758	0.624~0.854
HCY	26.35	0.859	0.903	0.825	0.635~0.910
三者联合检测	26.47	0.954	0.944	0.951	0.000~1.000
预测指数模型	1.852	0.898	0.930	0.886	0.658~0.985

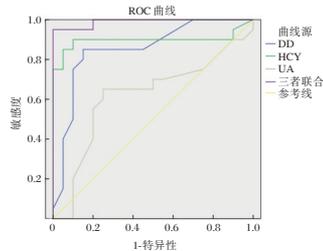


图1 DD、UA、HCY及三者联合检测对预测ACS患者PCI术后再次狭窄的预测价值

Figure 1 The predictive value of DD, UA, Hcy and their combination in predicting restenosis after PCI in ACS patients

度<sup>[14]</sup>。近年来,有较多研究发现DD在判断ACS患者预后具有较高的灵敏度和特异性<sup>[15]</sup>。本研究结果与这一研究结果与Beiranvand等学者<sup>[16]</sup>报道结果一致。

Hcy是机体内氨基酸和半胱氨酸代谢的重要产物,已有相关研究证实其为引发动脉粥样硬化的典型性危险因素<sup>[17]</sup>。虽然在致病机理方面还尚未阐明,但是分析Hcy的作用机制可发现,ACS患者PCI术后再狭窄的人群Hcy水平要明显高于PCI术后未发生再次狭窄的人群,Hcy是引发ACS患者PCI术后冠脉再次狭窄的独立危险因素。考虑原因为Hcy的异常升高可促使患者凝血因子和内皮细胞的产生与激活,促进纤溶酶原激活抑制剂的表达,抑制血栓调节素的表达,干扰患者体内血管的纤溶活性,导致血小板加速聚集,引发PCI术后冠脉再次狭窄。

Theocharidou E等<sup>[18]</sup>学者报道,高尿酸会增加ACS患者PCI术后冠脉再次狭窄的风险,危害患者生命健康,导致其预后不佳。分析导致ACS患者PCI术后冠脉再次狭窄的原因:①尿酸可刺激血小板生成,促进血小板黏附、聚集,并通过嘌呤代谢途径促进血栓形成,增加冠脉栓塞可能。②高尿酸状态下,尿酸盐结晶更容易析出,随着时间推移,在血管壁沉积并造成血管壁的损伤。③再灌注治疗后,

高尿酸水平多伴有氧自由基生成增加,可能会导致PCI术后无复流现象。本研究中进一步证实三者联合检测可作为预测ACS患者PCI术后冠脉再次狭窄的重要指标。

综上所述,DD、UA、HCY三者联合检测对ACS患者PCI术后冠脉再次狭窄发生的预测价值较高,临床使用价值大。而DD、UA、HCY上升多少可以预测ACS患者PCI术后再次发生冠脉狭窄,可作为后期研究的一个方向。

## 参考文献

- [1] 邢红宇,卢瑞丽,梁宁,等. 遗忘性轻度认知功能障碍与MTHFR C677T基因多态性及血浆同型半胱氨酸水平研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(1):28-33.
- [2] 谢晓莉,王山斌. 超声心动图联合双源CT对冠状动脉狭窄程度及心功能的诊断价值[J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(4):48-51.
- [3] 周景昱,张亮,雷晓琳,等. 安石榴甙改善缺血再灌注大鼠心脏功能及对炎性因子表达的影响[J]. 医学分子生物学杂志, 2019, 16(6):542-546.
- [4] 王杰,吴莹莹,韩凌颖. 早期康复在行经皮冠状动脉介入术急性心肌梗死患者护理中的应用效果[J]. 保健医学研究与实践, 2020, 17(1):74-78.
- [5] Sergio S, Stefano C, Alessandro P, et al. Vertebral Doppler Bunny Waveform Suggesting Subclavian Stenosis and Influencing Coronary Artery Bypass Technique [J]. Texas Heart Ins J, 2020, 47(23):64-69.
- [6] Arslan F, Voskuil M. The management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: early invasive strategy for all? [J]. Netherlands Heart J, 2017, 25(3):170-172.
- [7] Wells S, Kerr A, Eadie S, et al. Development and validation of a cardiovascular risk score for patients in the community after acute coronary syndrome[J]. Heart, 2019, 96(9):708-713.
- [8] Hashemi J, Rai S, Ghafghazi S, et al. Blood residence time to assess significance of coronary artery stenosis [J]. Sci Rep, 2020, 10(1):64-78.
- [9] Worme MD, Tan MK, Armstrong DWJ, et al. Prior and New Onset Atrial Fibrillation and Associated Outcomes in Acute Coronary Syndromes (From the Global Registry of Acute Coronary Events [GRACE])[J]. Am J Cardiol, 2018, 15(15):291-299.
- [10] Fallahi H, Shirani E, Zohravi E. Hemodynamic analysis of coronary artery bypass grafting with elastic Walls and different stenosis [J]. Sci Iranica, 2020, 58(2):87.
- [11] Kishi S, Tiago AM, Cerci RJ, et al. Comparative effectiveness of coronary artery stenosis and atherosclerotic plaque burden assessment for predicting 30-day revascularization and 2-year major adverse cardiac events [J]. Int J Cardiovascular Imaging, 2020, 25(3):181-185.

(下转第98页)

· 论 著 ·

## 血清和肽素、VEGF在DN患者早期疾病严重程度的关系研究

丁卫<sup>1\*</sup> 冯妍<sup>2</sup> 王祜萱<sup>3</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨血清和肽素、血管内皮细胞生长因子(VEGF)水平与早期糖尿病肾病(DN)患者疾病严重程度的关系。**方法** 选取2017年2月至2018年1月本院确诊的单纯2型糖尿病患者80例(T2DM组)、24 h尿清蛋白排泄率(UAER)范围30~300 mg/24 h的T2DM患者80例(微量组)、UAER>300 mg/24 h的T2DM患者80例(大量组);对比3组的血清和肽素、VEGF、肾动脉收缩期峰值血流速度(PSV)、舒张期血流速度(EDV)、阻力指数(RI),采用简单线性相关法分析上述指标与UAER的相关性。**结果** 大量组患者的血清和肽素、VEGF水平显著高于微量组、对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),微量组血清和肽素、VEGF水平显著高于T2DM组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );大量组肾动脉PSV、EDV测定值低于微量组、T2DM组( $P<0.05$ ),微量组肾动脉PSV、EDV测定值低于T2DM组( $P<0.05$ );大量组患者的肾动脉RI测定值高于微量组、T2DM组( $P<0.05$ ),微量组RI测定值高于T2DM组( $P<0.05$ );DN患者的血清和肽素、VEGF与水平与UAER呈现正相关关系( $P<0.05$ ),肾动脉PSV、EDV与UAER呈负相关关系( $P<0.05$ ),肾动脉RI值与UAER呈正相关关系( $P<0.05$ )。**结论** DN患者存在血清和肽素和VEGF水平升高,其可能通过引起肾血管损害参与糖尿病肾病发生及进展过程。

**[关键词]** 和肽素;血管内皮细胞生长因子;糖尿病肾病;肾动脉;血流参数

### Study on the relationship between copeptin and VEGF in the severity of early disease in patients with diabetic nephropathy

DING Wei<sup>1\*</sup>, FENG Yan<sup>2</sup>, WANG Zixuan<sup>3</sup>

(1. Department of Nephrology, Central Hospital of Chaoyang City in Liaoning, Chaoyang, Liaoning, China, 122000; 2. Department of Psychology, Liaoning Armed Police Corps Hospital, Shenyang, Liaoning, China, 110034; 3. The Second Department of Internal Medicine, Liaoning Armed Police Corps Hospital, Shenyang, Liaoning, China, 110034)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate relationship of copeptin, vascular endothelial growth factor (VEGF) with degree of early diabetic nephropathy (DN). **Methods** 80 patients with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) who had a diagnosis of simple type 2 diabetes were selected into T2DM group, 80 patients with T2DM who was complicated by 24 hours of urinary albumin excretion rate (UAER) ranging from 30 to 300 mg/24h were selected in micro-group, 80 patients with T2DM who was complicated by UAER>300 mg/24h were selected into large group in our hospital from Feb 2017 to Jan 2018, level of copeptin and VEGF in serum, renal artery systolic peak blood flow velocity (PSV) and diastolic blood flow velocity (EDV), resistance index (RI) were contrasted among three groups. The relationship of copeptin, VEGF, PSV, EDV and RI were analyzed with simple linear correlation analysis in early DN. **Results** The levels of copeptin and

基金项目:辽宁省科技厅科学技术计划(20172233205)

作者单位:1. 辽宁省朝阳市中心医院肾内科,辽宁,朝阳 122000

2. 武警辽宁总队医院心理科,辽宁,沈阳 110034

3. 武警辽宁总队医院内二科,辽宁,沈阳 110034

\*通信作者:丁卫, E-mail: ddsewqq@163.com

VEGF in serum were significantly higher in the large group than in the micro-group and the T2DM group ( $P < 0.05$ ). The levels of copeptin and VEGF in serum were significantly higher in the micro-group than the T2DM group ( $P < 0.05$ ); PSV and EDV of renal artery were lower in the large group than in the micro-group and the T2DM group ( $P < 0.05$ ). PSV and EDV of renal artery were lower in the micro-group than in the T2DM group ( $P < 0.05$ ); RI was higher in the large group than that in the micro-group and the T2DM group ( $P < 0.05$ ). RI was in the micro-group higher than in the T2DM group ( $P < 0.05$ ). The levels of copeptin and VEGF in serum were positively correlated with UAER ( $P < 0.05$ ), PSV and EDV were negatively correlated with UAER ( $P < 0.05$ ). RI was positively correlated with UAER ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** DN patients have elevated serum levels of copeptin and VEGF, which may be involved in the occurrence and progression of diabetic nephropathy by causing renal vascular damage.

**[KEY WORDS]** Copeptin; Vascular endothelial growth factor; Diabetic nephropathy; Renal artery; Blood flow parameters

2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)的发病率逐年增加,是目前影响中老年人生活质量的主要慢性病之一。T2DM不仅发生糖代谢紊乱,而且多数还伴有脂质和蛋白质的代谢紊乱,能够引起微血管的病变<sup>[1]</sup>,如肾小球动脉的广泛损害,最终导致糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的发生<sup>[2]</sup>,导致患者生活质量的明显下降。在糖尿病的管理过程中预防和控制DN的发生是主要的目标之一。糖尿病引起的微血管损害与微炎症状态及多种细胞因子的表达异常有关,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是调节血管通透性因子,参与并促进内皮细胞的增殖和分裂,可以增加血管通透性,还可以参与肾小球的滤过过程和蛋白尿的调节功能,被认为是研究DN的炎症发生发展机制的标志物<sup>[3]</sup>。肾动脉血流阻力指数(Renal artery resistance index, RI)是评价肾脏血管阻力状态的重要指标,也是反映DN患者早期微血管病变的一个较为敏感的指标<sup>[4]</sup>。本研究就早期糖尿病肾病患者血清和肽素、血管生长因子及肾血流参数与早期糖尿病肾病疾病严重程度的关系,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年2月至2018年1月本院确诊的单纯2型糖尿病患者80例(T2DM组),平均年龄( $64.8 \pm 10.5$ )岁,男44例、女36例,体质指数(BMI) ( $22.8 \pm 2.6$ ) $\text{kg}/\text{m}^2$ ,合并疾病:血脂异常22例、冠心病3例;吸烟27例、饮酒29例。按《肾病糖尿病防治指南》标准<sup>[5]</sup>,24h尿清蛋白排泄率(UAER)范围30~300mg为微量蛋白尿,UAER>300mg为大量蛋白尿,选择UAER 30~300mg/24h的T2DM患者80例

(微量组),平均年龄( $64.2 \pm 9.4$ )岁,男42例、女38例,BMI情况( $23.0 \pm 2.5$ ) $\text{kg}/\text{m}^2$ ,合并疾病:血脂异常24例、冠心病1例;吸烟24例、饮酒26例。UAER>300mg/24h的T2DM患者80例(大量组),平均年龄( $65.2 \pm 8.6$ )岁,男40例、女40例,BMI( $23.0 \pm 2.1$ ) $\text{kg}/\text{m}^2$ ,合并疾病:血脂异常25例、冠心病5例;吸烟30例、饮酒25例。3组患者的年龄、性别、BMI、合并疾病、吸烟及饮酒等基线资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

纳入标准:①糖尿病患者的诊断依据1999年世界卫生组织糖尿病专业委员会制定的诊断标准<sup>[2]</sup>;②患者年龄范围19~79岁;③糖尿病肾病的诊断标准参考《肾病糖尿病防治指南》<sup>[5]</sup>;④本研究获得医学伦理委员会的批准、获得研究对象的知情同意。排除标准:①原发性肾脏疾病;②血液系统疾病;③伴有其他系统感染性疾病;④高血压肾病;⑤肾脏结核、风湿性疾病、系统性红斑狼疮肾炎;⑥长期使用糖皮质激素、免疫抑制剂的患者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 血清指标检测

患者入组后采集空腹静脉血2mL,离心血清,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中VEGF和血清和肽素水平,检测仪器为Multiskan Sky酶标仪(赛默飞世尔公司),检测波长为450nm,试剂盒由美国R&D提供,检测过程严格按照试剂及仪器使用说明书进行。

#### 1.2.2 肾动脉血流参数检测

所有患者接受彩色多普勒超声检查,采用美国Philips IU22彩色多普勒超声诊断仪,探头频率为3~5Hz。在检查时,患者侧卧位,探头置于外侧腰部第8至第11肋间,进行肾冠状面和横断面检查,

观察肾脏的形状、结构,内部回声和周围的组织之间的关系,然后测量肾脏的大小。患者屏住呼吸,测量收缩期峰值速度(PSV),舒张末期血流速度(EDV),计算阻力值(RI),测量3次取平均值。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0版本进行数据分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-t检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;相关性分析采用Pearson线性相关分析法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组患者的血清和肽素、VEGF水平比较

3组血清和肽素、VEGF水平比较结果:大量组>微量组>T2DM组,比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 3组患者的血清和肽素、VEGF水平比较 $(\bar{x} \pm s)$   
Table 1 Comparison of copeptin and VEGF in serum among 3 groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	和肽素(pg/mL)	VEGF(ng/L)
T2DM组	80	89.6±12.0	288.3±84.1
微量组	80	124.8±22.1 <sup>a</sup>	412.1±150.8 <sup>a</sup>
大量组	80	151.7±29.0 <sup>ab</sup>	638.7±177.3 <sup>ab</sup>
F值		33.918	41.764
P值		0.000	0.000

注:同T2DM组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,同微量组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.2 3组患者的肾动脉血流参数比较

3组患者中肾动脉血流参数PSV、EDV比较结果:T2DM组>微量组>大量组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),RI比较结果:大量组>微量组>T2DM组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 3组患者的肾动脉血流参数比较 $(\bar{x} \pm s)$   
Table 2 Comparison of renal artery blood flow parameters among 3 groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	PSV(cm/s)	EDV(cm/s)	RI
T2DM组	80	57.41±6.20	18.66±3.25	0.67±0.04
微量组	80	49.04±5.33 <sup>a</sup>	14.20±2.67 <sup>a</sup>	0.71±0.06 <sup>a</sup>
大量组	80	40.29±4.81 <sup>ab</sup>	9.57±2.55 <sup>ab</sup>	0.76±0.06 <sup>ab</sup>
F值		21.063	35.816	17.449
P值		0.000	0.000	0.000

注:同T2DM组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,同微量组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.3 血清和肽素、VEGF水平及肾血流参数与UAER的相关性

经线性相关法分析, DN患者的血清和肽素、VEGF与水平与UAER呈现正相关关系( $r_1=0.514$ ,  $r^2=0.422$ ,  $P < 0.05$ ), 肾动脉PSV、EDV与UARE呈

负相关关系( $r_1=0.476$ ,  $r_2=-0.462$ ,  $P < 0.05$ ), 肾动脉RI值与UARE呈正相关关系( $r=0.506$ ,  $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

DN是糖尿病患者中较常见的微血管病变之一,其特征微血管基底膜增厚伴有微循环功能障碍<sup>[3]</sup>, DN早期肾小球微血管结构和功能损害,肾小动脉扩张,导致肾血流量增加,肾小球内压升高,影响肾小球正常的滤过作用<sup>[6]</sup>。肾小球滤过率增加、灌注增加和肾小囊高压。最终导致不可逆的肾小球结构损害。肾小球灌注障碍及基底膜增厚最终导致肾小球排泄功能障碍,导致蛋白尿的发生,其中约有30%~45%的患者最终转化为大量蛋白尿,进展为肾功能衰竭<sup>[5]</sup>。

在肾脏微血管的结构损害过程中,有多种细胞因子的参与,VEGF可以通过改变内皮细胞的结构和功能来促进内皮细胞的增殖过程和肾小球毛细血管的通透性,使细胞外基质(ECM)的合成增加,与系膜细胞表面的VEGF受体结合,促进肾小球系膜细胞胶原合成,参与DN的发展过程<sup>[7]</sup>。精氨酸加压素(AVP)主要由下丘脑细胞神经元分泌,具有调节渗透压,血流动力学和内分泌功能的生物活性<sup>[8-9]</sup>。和肽素是AVP的衍生物,在血液中的摩尔浓度和AVP一致,具有稳定性并且易于检测<sup>[10]</sup>。和肽素不仅对于糖尿病和心血管疾病具有预测作用,对心脏和肾脏不良事件的结果也有较好的预测<sup>[11]</sup>。在对不同肾脏损害程度的DN患者分析发现,大量组血清和肽素和VEGF水平升高的更为明显,提示和肽素及VEGF在DN患者肾小球滤过率损害过程中可能发挥着重要的作用, DN的病理变化早期临床表现为肾脏肥大和肾小球血流增加,随后是系膜细胞增生和肾小球基底膜增厚,最终能导致肾小球硬化<sup>[12]</sup>。何雪华等<sup>[13]</sup>研究指出,肾血流参数的变化可以反映DN发病过程的一系列变化。PSV与肾血管的血液供应和充盈程度有关;EDV反映肾血流灌注;RI与血管弹性有关<sup>[14]</sup>。糖尿病患者的肾小球具有高度滤过性,随着肾脏灌注量逐渐升高,肾小球毛细血管基底膜逐渐增厚,使管腔狭窄,损伤血管内皮细胞,尿液检测出微量白蛋白,血流减慢,PSV、EDV下降,RI增加<sup>[15]</sup>。结果表明,PSV、EDV和RI参数可以用于判断DN患者微血管病变程度。

在进一步的相关性说明在DN过程中VEGF及和肽素对肾小球滤过率损害程度具有预测价值,

而且肾小球滤过率的损害程度与肾脏血流动力学的改变有关,提示 VEGF 及和肽素可能通过对肾小球血管内皮损害,最终引起肾脏微血管的结构和血流动力学变化,最终导致肾脏结构和功能的改变。

综上所述, DN 患者血清和肽素和 VEGF 的水平升高,其具有对血管结构和功能的调节作用,可能参与了肾脏微血管结构和功能变化的过程,最终导致肾脏结构及血流动力学的变化,引起肾脏结构和功能的损害。

### 参考文献

- [1] 严宇, 操炎庆, 程锦. miR-155、miR-26a 对 T2DM 患者脂代谢、血管并发症的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(09): 1251-1255.
  - [2] 钱淑霞, 沈宇斐, 张晓玲, 等. 2 型糖尿病对脑梗死患者血小板衍生内皮细胞生长因子和血管内皮细胞生长因子的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(7): 783-785.
  - [3] Xiao Y, Guo SQ, Zhang YL, et al. Diabetic nephropathy: serum miR-9 confers a poor prognosis in and is associated with level changes of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium - derived factor [J]. *Biotechnol Lett*, 2017, 39(4): 1-8.
  - [4] 刘艳秋, 解长银, 王志伟, 等. 糖尿病肾病患者血清和肽素与降钙素原水平的变化及意义[J]. 广东医学, 2017, 38(6): 888-890.
  - [5] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南[J]. 中华糖尿病杂志, 2019, 11(1): 15-25.
  - [6] 杨敏, 于菁, 马小羽, 等. 初诊 2 型糖尿病患者不同尿蛋白白阶段血清 betatrophin、脂联素及白细胞介素 1 $\beta$  水平的关联性研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 33(2): 116-119.
  - [7] Zitouni K, Tinworth L, Earle KA. Ethnic differences in the +405 and +460 vascular endothelial growth factor polymorphisms and peripheral neuropathy in patients with diabetes residing in a North London, community in the United Kingdom [J]. *BMC Neurol*, 2017, 17(1): 125-126.
  - [8] Hu X, Zhang X, Jin G, et al. Geniposide reduces development of streptozotocin-induced diabetic nephropathy via regulating nuclear factor-kappa B signaling pathways [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2017, 31(1): 54-63.
  - [9] 李玲, 于文君, 严妍, 等. 胰高血糖素样肽-1 受体激动剂调节 2 型糖尿病糖脂代谢研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(10): 991-995.
  - [10] Cui W, Min X, Xu XH, et al. Role of Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 in Diabetic Nephropathy [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 125(2): 1-14.
  - [11] Pandey A, Gaikwad, Anil Bhanudas. Compound 21 and Telmisartan combination mitigates type 2 diabetic nephropathy through amelioration of caspase mediated apoptosis [J]. *BiochemBiophys Res Commun*, 2017, 487(4): 827-833.
  - [12] 朱汝霞, 黄炫庚, 陈冰, 等. 检测 2 型糖尿病患者颈动脉流体动力学和血清炎症因子的意义[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(6): 752-754.
  - [13] 郑芳, 胡寅进, 何胜洪. 彩色多普勒超声对 2 型糖尿病患者脾动脉结构及血流动力学变化观察[J]. 东南国防医药, 2019, 21(1): 84-86.
  - [14] Wang ZB, Su Z, Li Y, et al. LY333531, a PKC $\beta$  inhibitor, attenuates glomerular endothelial cell apoptosis in the early stage of mouse diabetic nephropathy via down-regulating swiprosin-1 [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(7): 1009-1023.
  - [15] Xu LL, Niu M, Yu WH, et al. Associations between FGF21, osteonectin and bone turnover markers in type 2 diabetic patients with albuminuria [J]. *J Diabetes Complication*, 2017, 31(3): 583-588.
- 
- (上接第 94 页)
- [12] Ismail N, Jordan KP, Rao S, et al. Incidence and prognostic impact of post discharge bleeding post acute coronary syndrome within an outpatient setting: A systematic review [J]. *BMJ Open*, 2019, 9(2): 233-237.
  - [13] Magnoni M, Berteotti M, Ceriotti F, et al. Serum uric acid on admission predicts in-hospital mortality in patients with acute coronary syndrome [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 18(23): 725-731.
  - [14] Wright EA, Steinhubl SR, Jones JB, et al. Medication burden in patients with acute coronary syndromes [J]. *Am J Managed Care*, 2017, 23(4): 64-78.
  - [15] Singh MKC, Rashid SNA, Hamid SA, et al. Correlation and assessment of coronary artery luminal stenosis: Post-mortem computed tomography angiogram versus histopathology [J]. *Forens Sci Int*, 2020, 16(25): 64-45.
  - [16] Beiranvand B, Hajizadeh E, Rasekhi A, et al. Recurrent Event Analysis of Coronary Artery Stenosis in Patients Undergoing Angioplasty [J]. *Iranian Red Crescent Med J*, 2020, 23(18): 64-70.
  - [17] Hashimoto M, Mogi K, Sakurai M, et al. Novel off-pump coronary artery bypass grafting in a patient with right coronary artery stenosis and ureteral tumor [J]. *J Card Surger*, 2020, 35(12): 22-25.
  - [18] Theocharidou E, Gossios TD, Karagiannis A. Acute Coronary Syndrome in Patients With Inflammatory Bowel Diseases: The Plaque and the Thrombus [J]. *Angiology*, 2017, 18(23): 64-69.

## IL-37对变应性鼻炎患者相关细胞因子免疫调控研究

王亚茹

**【摘要】** 目的 探究白介素37(IL-37)在变应性鼻炎(AR)患者外周血单核细胞(PBMCs)的表达水平及对相关细胞因子的免疫调控分析。方法 选取120例AR患者作为研究组,另选择同期健康志愿者120例作为对照组,检测各组血清IL-37蛋白及mRNA表达,辅助性T细胞1(Th1)、Th2、Th17、CD4+CD25+调节性T细胞(Treg细胞)和Foxp3+CD4+CD25+Treg细胞百分比及相关细胞因子水平;提取2组PBMCs,并应用浓度为100、200 ng/mL的重组人IL-37蛋白(rIL-37)干预,分析干预前后相关细胞因子水平变化。结果 研究组血清IL-37水平及IL-37 mRNA表达均显著低于对照组, Th1细胞、Th17细胞百分比及Th1/Th2比例显著高于对照组, Th2细胞、CD4+CD25+Treg细胞、Foxp3+CD4+CD25+Treg细胞百分比显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17水平显著高于对照组, IL-4、IL-10、IL-27、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$ 1水平显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。血清IL-37与IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17存在负相关性,与IL-4、IL-10、IL-27、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$ 1存在正相关性( $P<0.05$ )。rIL-37干预后,研究组IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17、IL-27、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$ 1各指标变化更加显著,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。200 ng/mL组干预PBMCs细胞各细胞因子变化水平相较于100 ng/mL组各指标变化更显著( $P<0.05$ )。结论 变应性鼻炎患者IL-37表达明显下降,进而影响了Th1/Th2、Th17/Treg细胞平衡,导致抑炎因子水平降低,促炎因子水平升高,在AR发病中具有重要作用。

**【关键词】** 变应性鼻炎; 白介素37; 辅助性T细胞; 调节性T细胞; 细胞因子

### Study on the immunoregulation of IL-37 on related cytokines in patients with allergic rhinitis

WANG Yaru

(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the Second Hospital of Chaoyang City, Liaoning Province, Chaoyang, Liaoning, China, 122000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To explore the expression level of interleukin 37 (IL-37) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of patients with allergic rhinitis (AR) and analyze the immunoregulation of related cytokines. **Methods** 120 patients with AR were selected as the research group, and another 120 healthy volunteers during the same period were selected as the control group. Serum IL-37 protein and mRNA expression, helper T cell 1 (Th1), Th2, Th17, CD4+CD25+ regulatory T cells (Treg cells) and Foxp3+CD4+CD25+Treg cell percentages and related cytokine levels were detected in each group. The recombinant human IL-37 protein (rIL-37) at concentrations of 100 ng/mL and 200 ng/mL was used to intervene to analyze the changes in related cytokine levels before and after the intervention. **Results** The serum IL-37 level and IL-37 mRNA expression in the study group were significantly lower than those in the control group. The percentages of Th1 cells and Th17 cells and Th1/Th2 ratio were significantly higher than those in the control group. Th2 cells, CD4+CD25+Treg cells, Foxp3+ The percentage of CD4+CD25+Treg cells was significantly lower than that of the control group ( $P<0.05$ ). The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and IL-17 in the study group were

基金项目: 朝阳市卫生健康委科研项目(C2019246)

作者单位: 辽宁省朝阳市第二医院耳鼻喉头颈外科, 辽宁, 朝阳 122000

通信作者: 王亚茹, E-mail: m18004219298@163.com

significantly higher than those in the control group, and the levels of IL-4, IL-10, IL-27, IFN- $\gamma$ , and TGF- $\beta$  1 were significantly lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Serum IL-37 is negatively correlated with IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, and positively correlated with IL-4, IL-10, IL-27, IFN- $\gamma$ , and TGF- $\beta$ 1 ( $P < 0.05$ ). After the intervention of rIL-37, the indicators of IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-27, IFN- $\gamma$ , and TGF- $\beta$ 1 in the study group changed more significantly, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the 100 ng/mL group, the changes in the levels of cytokines in the intervention PBMCs of the 200 ng/mL group were more significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of IL-37 in patients with allergic rhinitis is significantly decreased, which affects the balance of Th1/Th2, Th17/Treg cells, resulting in a decrease in the level of anti-inflammatory factors and an increase in the level of pro-inflammatory factors, which play an important role in the pathogenesis of AR.

**[KEY WORDS]** Allergic rhinitis; Interleukin 37; Helper T cells; Regulatory T cells; Cytokines

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是患者接触过敏原后由免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)介导的多种免疫活性细胞和相关细胞因子参与的、大量炎症递质释放的鼻粘膜慢性炎症反应疾病<sup>[1]</sup>。研究认为<sup>[2]</sup>,辅助性T细胞1(helper T cell 1, Th1)/Th2细胞免疫失衡、调节性T细胞(regulatory T cells)水平异常的自身免疫耐受和气道变应性反应发挥了重要作用。这些细胞可分泌白介素6(Interleukin 6, IL-6)、IL-17、IFN- $\gamma$ 等多种免疫和炎症调控因子,在变应性疾病的发生和发展中存在重要作用。但是,目前对于AR具体的免疫调控机制尚未十分明确。IL-37为新发现的炎症抑制因子,可广泛下调机体固有免疫及获得性免疫应答,其在健康个体中几乎不表达,但在炎症组织中存在明显高表达<sup>[3]</sup>。前期研究显示<sup>[4]</sup>,在支气管哮喘疾病患者中血清IL-37水平明显降低,并参与了支气管哮喘的免疫炎症过程,但对于AR患者IL-37是否存在类似的免疫调控机制尚不清楚。因此,本研究对AR患者IL-37表达情况及重组人IL-37蛋白(rIL-37)对相关免疫细胞因子的影响进行了研究,以期阐明AR的发病机制提供依据,具体如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

2017年8月至2019年12月120例AR患者作为研究组,其中男71例,女49例,平均年龄(28.9 $\pm$ 3.6)岁。纳入标准:①根据患者症状体征,结合鼻内镜、CT影像学资料等检查确诊,符合AR的诊断标准<sup>[5]</sup>;②均自愿参与本研究并签署知情同意书;③均临床资料完整,能够配合完成研究。排除标准:①合并呼吸道和变应性疾病史者;②近期接受局部或全身糖皮质激素、抗组胺或免疫治疗者;

③合并免疫缺陷疾病、恶性肿瘤、心血管疾病、精神疾病及重要脏器功能障碍者。另选择同期健康志愿者120例作为对照组,平均年龄(29.2 $\pm$ 3.7)岁,均吸入性变应原皮肤点刺阴性,无变应性鼻炎症状,无其他疾病史,自愿参与本研究并签署知情同意书。本研究获得本院医学伦理委员会通过。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本采集

所有研究对象均于清晨抽取6 mL空腹静脉血,肝素抗凝。2 mL经3 000 r/min离心15 min分离血清,-20 $^{\circ}$ C保存待测,取2 mL检测IL-37 mRNA表达,另外2 mL检测免疫细胞百分比。

#### 1.2.2 实时荧光定量反转录聚合酶链反应(Real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase reaction, RT-PCR)检测IL-37 mRNA表达

取2 mL静脉血,提取外周血单核细胞(Peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)并分离培养。取细胞依照Trizol和逆转录试剂盒(购自Invitrogen公司)及SYBR Green试剂盒(购自TAKARA公司)抽提总RNA,并取1ng反转录合成cDNA。IL-37及内参 $\beta$ -actin引物由上海生工生物工程有限公司合成。引物序列:IL-37:上游:5'-TTCTTTGCATTAGCCTCATCCTT-3',下游:5'-CGTGCTGATTCCTTTTGGGC-3'; $\beta$ -actin:上游:5'-CACTGTGTTGGCGTACAGGT-3',下游:5'-TCATCACCATTGGCAATGAG-3'。反应条件:95 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 40个循环, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s。根据每孔CT值进行统计学分析。

#### 1.2.3 流式细胞术(Flow Cytometry, FCM)检测免疫细胞百分比

Th1细胞、Th2细胞、Th17细胞百分比检测,取200  $\mu$ L外周血,加入等体积1640细胞培养液(购

自美国 Gibco 公司),加入 19  $\mu\text{L}$  浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 PMA (佛波酯,购自 MultiSciences 公司),6  $\mu\text{L}$  浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的莫能霉素工作液和 6  $\mu\text{L}$  浓度为 0.1  $\text{mg}/\text{mL}$  的离子霉素工作液(均购自美国 Invitrogen 公司),37 $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 5 h。分别加入 CD4-FITC、CD8-APC 和 CD3-PE-CY7 单克隆抗体(购自美国 BD 公司),室温避光孵育 15 min。PBS 冲洗,加入 100  $\mu\text{L}$  破膜剂,室温避光孵育 15 min, PBS 冲洗 2 次。加入 IL-4-PE 和 IFN- $\gamma$ -PE-CY5 单克隆抗体(购自美国 BD 公司)混匀,室温避光孵育 20 min。PBS 洗涤重悬细胞, FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)检测。

CD4+CD25+Treg 细胞、Foxp3+CD4+CD25+Treg 细胞百分比检测,取 50  $\mu\text{L}$  外周血,加入 CD4-FITC、CD25-PE(购自美国 BD 公司)充分混匀,室温避光孵育 15min,固定剂固定 15 min, PBS 冲洗,1 500 r/min 离心 15 min 取沉淀,加入 5  $\mu\text{L}$  的 Foxp3-PE-CY5, 15 min, PBS 200  $\mu\text{L}$  重悬, FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)检测。

#### 1.2.4 酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清指标

取预先分离的血清,采用 ELISA 法检测 IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17、IL-27、IL-37、干扰素  $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)水平,试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司,严格依照试剂盒说明书执行各项操作。

#### 1.2.5 rIL-37 干预

取适量 PBMCs,分别加入浓度为 100  $\text{ng}/\text{mL}$  和 200  $\text{ng}/\text{mL}$  的 rIL-37 干预,ELISA 法检测干预前后免疫相关细胞因子水平。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,两两比较采用  $t$  检验,多组间比较采用  $F$  检验;血清 IL-37 与相关细胞因子的相关性分析采用 Pearson 检验。 $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IL-37 水平比较

研究组血清 IL-37 蛋白水平及 mRNA 表达均显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 IL-37 蛋白及 mRNA 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of serum IL-37 levels and IL-37 mRNA expression levels in the two groups( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	IL-37( $\text{ng}/\text{mL}$ )	IL-37 mRNA
对照组	120	55.7 $\pm$ 5.2	2.0 $\pm$ 0.3
研究组	120	21.6 $\pm$ 3.9	0.4 $\pm$ 0.1
$t$ 值		57.469	55.426
$P$ 值		0.000	0.000

### 2.2 研究组及对照组免疫细胞及相关细胞因子水平比较

研究组 Th1 细胞、Th17 细胞百分比及 Th1/Th2 比例显著高于对照组, Th2 细胞、CD4+CD25+Treg 细胞、Foxp3+CD4+CD25+Treg 细胞百分比显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17 水平显著高于对照组,IL-4、IL-10、IL-27、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$ 1 水平显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 两组免疫细胞及相关细胞因子水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of the levels of immune cells and related cytokines in 2 groups( $\bar{x}\pm s$ )

指标	对照组 ( $n=120$ )	研究组 ( $n=120$ )	$t$ 值	$P$ 值
Th1 (%)	7.6 $\pm$ 1.4	14.7 $\pm$ 2.5	27.144	0.000
Th2 (%)	5.1 $\pm$ 1.2	2.0 $\pm$ 0.7	24.444	0.000
Th1/Th2 (%)	4.0 $\pm$ 0.5	11.6 $\pm$ 1.9	42.375	0.000
Th17 (%)	0.9 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 1.1	30.745	0.000
CD4+CD25+Treg (%)	8.2 $\pm$ 1.5	2.8 $\pm$ 0.5	37.412	0.000
Foxp3+CD4+CD25+Treg (%)	7.8 $\pm$ 1.7	2.6 $\pm$ 0.5	32.146	0.000
IL-1 $\beta$ ( $\text{ng}/\text{mL}$ )	192.8 $\pm$ 20.6	243.8 $\pm$ 20.8	19.084	0.000
IL-4 ( $\text{ng}/\text{mL}$ )	67.2 $\pm$ 8.1	12.7 $\pm$ 1.4	72.629	0.000
IL-6 ( $\text{pg}/\text{mL}$ )	155.1 $\pm$ 13.2	198.7 $\pm$ 16.3	22.771	0.000
IL-10 ( $\text{pg}/\text{mL}$ )	221.7 $\pm$ 19.8	186.5 $\pm$ 19.2	13.981	0.000
IL-17 ( $\text{pg}/\text{mL}$ )	584.1 $\pm$ 48.1	667.9 $\pm$ 63.3	11.547	0.000
IL-27 ( $\text{pg}/\text{mL}$ )	526.2 $\pm$ 50.3	451.8 $\pm$ 55.9	10.838	0.000
IFN- $\gamma$ ( $\text{ng}/\text{mL}$ )	64.6 $\pm$ 6.9	24.5 $\pm$ 2.8	58.991	0.000
TGF- $\beta$ 1 ( $\text{pg}/\text{mL}$ )	0.5 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	15.492	0.000

### 2.3 血清 IL-37 与免疫相关细胞因子水平相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示,血清 IL-37 与 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17 存在负相关性,与 IL-4、IL-10、IL-27、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$ 1 存在正相关性( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.4 rIL-37 干预前后研究组和对照组相关细胞因子水平比较

将研究组和对照组提取 PBMCs 采用 100  $\text{ng}/\text{mL}$  和 200  $\text{ng}/\text{mL}$  rIL-37 干预后,2 组 PBMCs 细胞 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17 分泌水平较干预前明显降低,而 IL-4、IL-10、IL-27、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$ 1 均较干预前出现明显升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。200  $\text{ng}/\text{mL}$

表3 血清IL-37与免疫相关细胞因子水平相关性分析

Table 3 Correlation analysis between serum IL-37 and immune-related cytokine levels

指标	IL-37	
	r值	P值
IL-1 $\beta$	0.357	0.000
IL-4	0.408	0.000
IL-6	0.435	0.000
IL-10	0.390	0.000
IL-17	0.422	0.000
IL-27	0.441	0.000
IFN- $\gamma$	0.374	0.000
TGF- $\beta$ 1	0.386	0.000

组干预PBMCs细胞各细胞因子变化水平相较于100 ng/mL组各指标变化更显著,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

### 3 讨论

AR主要为特异性IgE介导,并由树突状细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等多种炎性介质和免疫细胞参与的慢性气道炎症疾病<sup>[6]</sup>。AR不仅严重影响了患者的生活质量,甚至有可能威胁患者的生命安全。多项研究证实<sup>[7-8]</sup>,T淋巴细胞于AR的异

表4 rIL-37干预前后研究组和对照组相关细胞因子水平比较

Table 4 Comparison of related cytokine levels in the study group and the control group before and after rIL-37 intervention

指标	对照组		F值	P值	研究组		F值	P值		
	干预前	干预后			干预前	干预后				
		100 ng/mL			200 ng/mL	100ng/mL			200ng/mL	
IL-1 $\beta$ (ng/mL)	192.8 $\pm$ 20.6	166.3 $\pm$ 19.1 <sup>a</sup>	154.7 $\pm$ 16.6 <sup>ab</sup>	15.776	0.000	243.8 $\pm$ 20.8	212.7 $\pm$ 22.6 <sup>a</sup>	185.4 $\pm$ 19.2 <sup>ab</sup>	22.600	0.000
IL-4 (ng/mL)	67.2 $\pm$ 8.1	72.7 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>	77.9 $\pm$ 7.0 <sup>ab</sup>	11.425	0.000	12.7 $\pm$ 1.4	25.4 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>	38.7 $\pm$ 3.3 <sup>ab</sup>	79.453	0.000
IL-6 (pg/mL)	155.1 $\pm$ 13.2	145.6 $\pm$ 11.4 <sup>a</sup>	140.1 $\pm$ 10.9 <sup>ab</sup>	9.599	0.000	198.7 $\pm$ 16.3	176.7 $\pm$ 20.5 <sup>a</sup>	161.3 $\pm$ 18.4 <sup>ab</sup>	16.667	0.000
IL-10 (pg/mL)	221.7 $\pm$ 19.8	234.6 $\pm$ 21.5 <sup>a</sup>	237.9 $\pm$ 25.2 <sup>ab</sup>	5.537	0.000	186.5 $\pm$ 19.2	209.7 $\pm$ 21.5 <sup>a</sup>	227.1 $\pm$ 26.0 <sup>ab</sup>	13.760	0.000
IL-17 (pg/mL)	484.1 $\pm$ 48.1	442.9 $\pm$ 44.6 <sup>a</sup>	421.0 $\pm$ 36.4 <sup>ab</sup>	11.459	0.000	667.9 $\pm$ 63.3	578.8 $\pm$ 56.8 <sup>a</sup>	510.2 $\pm$ 51.9 <sup>ab</sup>	21.104	0.000
IL-27 (ng/mL)	526.2 $\pm$ 50.3	551.4 $\pm$ 51.2 <sup>a</sup>	569.8 $\pm$ 52.8 <sup>ab</sup>	6.549	0.000	451.8 $\pm$ 55.9	473.4 $\pm$ 52.1 <sup>a</sup>	498.6 $\pm$ 50.3 <sup>ab</sup>	6.817	0.000
IFN- $\gamma$ (ng/mL)	64.6 $\pm$ 6.9	70.9 $\pm$ 6.2 <sup>a</sup>	74.5 $\pm$ 6.2 <sup>ab</sup>	11.691	0.000	24.5 $\pm$ 2.8	33.2 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>	41.7 $\pm$ 3.6 <sup>ab</sup>	41.313	0.000
TGF- $\beta$ 1 (pg/mL)	0.5 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.8 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	14.697	0.000	0.3 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.6 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	23.238	0.000

注:与干预前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与100 ng/mL比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

常免疫反应相关。Th细胞可通过增生扩散激活其他类型的能直接产生免疫反应的免疫效应细胞, Th细胞可分为Th1、Th2、Treg和Th17等不同亚型。其中,Th1/Th2细胞平衡对于维持机体正常的体液免疫和细胞免疫至关重要。Th17细胞为CD4+Z效应T细胞亚群的一种,可分泌IL-17及少量IL-22,参与介导组织炎症和自身免疫性疾病。研究证实<sup>[9-10]</sup>,在哮喘或受过敏原刺激的AR患者中,存在Th1/Th2平衡被破坏及Th17细胞比例升高的情况;本研究对于AR患者及健康人群对比Th1、Th2及Th17细胞百分比结果得到了类似的结论。Treg细胞功能与Th17细胞相反,其为“抑炎细胞”,两者平衡有助于维持机体稳定的免疫状态。

IL-37是最新发现的IL-1家族的一员,其为抑炎因子的一种,IL-37在健康个体中几乎不表达,但在炎症组织中呈明显高表达。研究认为<sup>[11]</sup>,IL-37可通过巨噬细胞有效抑制促炎细胞因子的产物合成和释放,抑制树突细胞的活性和TLR诱导的促炎因子释放。另有研究提出<sup>[12]</sup>,IL-37可减少哮喘动物模型Th2细胞介导的变应性炎症反应,因此IL-37可能在变应性疾病中发挥重要作用。丁庆

雄研究中明确指出<sup>[13]</sup>,在变应性鼻炎患儿的鼻腔灌洗液中IL-37b表达显著降低。本研究结果提示,Ril-37干预可降低促炎性细胞因子水平,促进抗炎性细胞因子表达。研究证实<sup>[14]</sup>,IL-37可通过下调STAT3信号和STAT6信号通路,促使IL-4、IL-6、STAT3、STAT6磷酸化水平降低,来抑制Th2和Th17细胞表达。另有研究指出<sup>[15]</sup>,沉默内源性IL-37,并用LPS刺激可导致IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-17等促炎细胞因子水平增加。IL-37可被多种生物触发器激活,因此在AR患者中,受Th1/Th2、Th17/Treg免疫细胞平衡失调及相关细胞因子异常表达的影响,其被广泛激活而作用于全身多种炎症物质,发挥抑制疾病进展的作用。

综上所述,变应性鼻炎患者IL-37表达明显下降,进而影响了Th1/Th2、Th17/Treg细胞平衡,导致抑炎因子水平降低,促炎因子水平升高,在AR发病中具有重要作用。

### 参考文献

- [1] 孙丽芳,付笑迎,杨方华,等.深圳地区493例儿童变应性鼻炎过敏原检测结果分析[J].分子诊断与治疗杂志,2017,9(3):181-185. (下转第106页)

## 炎症性肠病患者脊柱关节炎的表现特点

王慧玲\* 赵静 李刚

**[摘要]** **目的** 探讨炎症性肠病(IBD)患者的肠外表现—脊柱关节炎的发生情况,为后续炎症性肠病患者的诊断治疗提供借鉴。**方法** 分析2016年9月至2020年9月本院收治的210例炎症性肠病患者(其中溃疡性结肠炎/UC组138人,克罗恩病/CD组72人)肠道病变分布情况,并分析UC组及CD组患者脊柱关节炎各种分型的发生率及两组之间表达的差异。**结果** UC患者的临床表现以直肠炎,左半结肠炎及全结肠炎为主。CD患者的临床表现以回结肠炎,末端回肠炎及结肠炎为主。IBD患者肠外脊柱关节炎总发生率为UC:20.3%,CD:36.1%;两组中轴型关节炎发病率较低,且在UC与CD患者之间没有差异;外周型关节炎CD组的发生率均高于UC组,差异有统计学意义( $P=0.013$ ),外周型发病率由高到低依次为:关节炎,肌腱炎,指/趾炎;本研究中,中轴型+外周型关节炎在UC和CD患者中的发病率相同。**结论** 炎症性肠病患者脊柱关节炎发生率较高,临床医生在诊治过程中应提高对炎症性肠病肠外关节表现的认识,根据患者的临床表现和医学检查结果对患者进行综合诊断,合理地选择治疗方法和药物,有效地提高治疗效果,改善患者的症状。

**[关键词]** 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 脊柱关节炎

### Features of spondyloarthritis in patients with inflammatory bowel disease

WANG Huiling\*, ZHAO Jing, LI Gang

(1. Department of Clinical Laboratory, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Hennan, China, 450000; 2. People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Hennan, China, 450000; 3. People's Hospital of Henan University, Zhengzhou, Hennan, China, 450000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the extraintestinal manifestations of patients with inflammatory bowel disease (IBD)—the occurrence of spondyloarthritis, and to provide reference for the diagnosis and treatment of patients with IBD. **Methods** Retrospective analysis of the distribution of intestinal lesions of 210 patients with IBD (138 cases for ulcerative colitis/UC group and 72 cases for Crohn's disease/CD group) in Henan Provincial People's Hospital from September 2016 to September 2019. The incidence of various types of spondyloarthritis in patients with UC and CD, as well as the differences between the two groups were analyzed. **Results** The main manifestations of patients with UC were proctitis, left semi-colitis and total colitis. The main manifestations of patients with CD were ileocolitis, terminal ileocolitis and colitis. The total incidence of spondyloarthritis in IBD patients was UC: 20.3%, CD: 36.1%. The incidence of axial spondyloarthritis was low and there was no difference between UC and CD patients. The incidence of peripheral spondyloarthritis in patients with CD was higher than that of UC patients, and the difference was statistically significant ( $P=0.013$ ). The incidence of arthritis was the highest, followed by tendonitis, and finger/toe inflammation. In this study, the incidence of patients with both axial spondyloarthritis and peripheral spondyloarthritis was the same in patients with UC and CD. **Conclusion** The incidence of spondyloarthritis in patients with IBD was relatively high. The clinicians should improve their understanding of the spondyloarthritis in the diagnosis and treatment of IBD. With the purpose of improving the treatment effect and the symptoms of patients, they

基金项目:河南省科技攻关计划(182102310597)

作者单位:1. 河南省人民医院检验科,河南,郑州 450000

2. 郑州大学人民医院,河南,郑州 450000

3. 河南大学人民医院,河南,郑州 450000

\*通信作者:王慧玲, E-mail:58781502@qq.com

should make a comprehensive diagnosis and give a reasonable treatment according to the clinical manifestations and the medical tests.

[KEY WORDS] Inflammatory bowel disease; UC; CD; Spondyloarthritis

炎症性肠病(Inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因不明的慢性非特异性肠道炎症性疾病,主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)及溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC),该病好发于15~30岁的青壮年,病情迁延反复、难以治愈,严重影响了患者的生活质量<sup>[1]</sup>。IBD患者的肠外并发症复杂多样,其中脊柱关节炎最为常见,在IBD患者中发生率为2%~46%<sup>[2-3]</sup>。脊柱关节炎可导致IBD患者生活质量下降及工作能力受限,对病人和整个社会造成重大负担<sup>[4-6]</sup>,如果不及时有效的治疗,可导致周围关节和脊柱的严重变形。因此,及时发现IBD患者脊柱关节炎的并发症并给与充分的治疗可有效预防患者发生关节变形,对改善患者的生活质量至关重要。随着病程的延长,IBD患者脊柱关节炎发病率不断升高,但相关报道目前较少。本研究主要探讨2016年9月至2020年9月河南省人民医院收治的210例炎症性肠病患者脊柱关节炎的发生情况,为后续炎症性肠病患者的诊断治疗提供借鉴,具体报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

收集本院经住院诊断为炎症性肠病210例的患者(其中UC组138人,CD组72人)的临床资料,采用中华医学会消化病学分会推荐的UC及CD诊断标准<sup>[7]</sup>,重新确定诊断。诊断标准:在排除肠道感染性疾病及其他非感染性疾病的基础上,根据患者临床表现、结肠镜检查 and 黏膜活组织病理检查、小肠钡剂造影检查或CT肠道显像等做出临床诊断。确诊病例为经病情观察3个月符合IBD病程经过和(或)通过手术取得病理诊断者。患者肠外关节表现经相关的专科医师会诊帮助明确诊断,中轴型关节炎的诊断主要依靠炎性腰背痛的临床特征和骶髂关节炎的影像特点,外周型关节炎的诊断主要依靠炎症症状,同时需排除其他特定类型关节炎。本研究参与的患者均知情同意并签署知情同意书,并获得医院伦理委员会批准。

### 1.2 研究方法

通过查阅病历的形式采集,记录UC及CD患者性别、年龄、婚姻状况、教育水平及其他系统并发症情况等一般情况;疾病分型、肠道病变范围及

各型的发生率(%),并分析UC及CD患者脊柱关节炎各种类型的发生率(%)及比较两组之间表达的差异。

### 1.3 统计学分析方法

采用SPSS 16.0统计软件进行统计数据处理。计数资料用 $n(\%)$ 表示,用 $\chi^2$ 检验。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间用 $t$ 检验,多组间用卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者的一般情况比较

该研究共纳入210例炎症性肠病患者,发病率由高到低依次为:25~50岁, $\leq 25$ 岁, $\geq 50$ 岁;男性患者几乎为女性患者的2倍;未婚患者占比超过50%;教育水平大学以上占主要部分;62.9%患者合并其他系统并发症;患者病程1~10年占比最多;所纳入210例炎症性肠病患者中,除脊柱关节炎外,其他常见的关节外表现主要有:皮肤结节红斑,眼睛葡萄膜炎及脓皮病。见表1。

表1 炎症性肠病患者一般特征比较

Table 1 Demographic and clinical characteristics of patients ( $n=210$ ) with IBD

		$n(\%)$	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄/岁	$\leq 25$	56(26.7)	718	0
	25~50	134(63.8)		
	$\geq 50$	20(9.5)		
性别	男	114(54.3)	3.086	0.079
	女	96(45.7)		
婚姻状况	未婚	138(65.7)	704	0
	已婚	66(31.4)		
	离异	6(2.9)		
教育水平	无	38(18.1)	709	0
	大学	109(51.9)		
	研究生	63(30.0)		
其他系统并发症	糖尿病	11(5.2)	5040	0
	高血压	11(5.2)		
	高血脂	12(5.7)		
	其他	54(25.7)		
	多种并发症	58(27.6)		
病程/年	无	78(37.1)	696	0
	1~10	133(63.3)		
	11~20	65(31.0)		
除关节炎外其他肠外并发症	$\geq 20$	12(5.7)	61.381	0
	皮肤结节红斑	7(3.3)		
	眼睛葡萄膜炎	10(4.8)		
	脓皮病	3(1.4)		
	总计/ $n$	210		

## 2.2 IBD患者肠炎各类型发病情况比较

UC患者的临床表现按照发病率由高到低依次为:直肠炎,左半结肠炎,全结肠炎及直肠乙状结肠炎。CD的患者临床表现按照发病率由高到低依次为:回结肠炎,末端回肠炎,结肠炎,近端小肠炎,广泛小肠及大肠炎。见表2。

表2 炎症性肠病患者疾病分布 [n(%)]

IBD类型		n=210	$\chi^2$ 值	P值
UC	直肠炎	45(32.6)	1172	0
	直肠乙状结肠炎	7(5.1)		
	左半结肠炎	40(28.9)		
CD	全结肠炎	36(26.1)	1093	0
	结肠炎	17(23.6)		
	回结肠炎	30(41.7)		
	末端回肠	19(26.4)		
	近端小肠炎	4(5.6)		
广泛小肠及大肠炎		2(2.8)		

## 2.3 IBD患者关节障碍发生情况

表3显示IBD患者肠外脊柱关节炎总发生率为UC:20.3%,CD:36.1%;二者中轴型关节炎发病率较低,且在UC与CD患者之间没有差异;外周型关节炎CD组的发生率均高于UC组,二者总体差异有统计学意义( $P=0.013$ ),按照发病率由高到低依次为:关节炎,肌腱炎,指/趾炎;本研究中,中轴型+外周型关节炎在UC和CD患者中的发病率相同。

表3 IBD患者关节障碍表现 [n(%)]

	UC	CD	$\chi^2$ 值	P值
中轴型				
强直性脊柱炎	3(2.2)	3(4.2)	0.149	0.411
骶髂关节炎	4(2.9)	2(2.8)	0	0.96
外周型				
关节炎	9(6.5)	8(11.1)	1.339	0.247
肌腱炎	5(3.6)	5(6.9)	1.151	0.283
指/趾炎	3(2.2)	4(5.6)	0.794	0.195
中轴型+外周型	4(2.9)	4(5.6)	0.331	0.34

## 3 讨论

炎症性肠病为目前消化专业研究的热点和难点之一,其发病机制尚不明确。大多研究认为,炎症性肠病的发病原因与肠道自身免疫系统、感染因素、环境因素及遗传因素等均有一定的相关性<sup>[8-9]</sup>。流行病学研究显示:炎症性肠病发病率在西方国家逐渐趋于稳定,但是在发展中国家仍呈逐年增高的趋势<sup>[10]</sup>。随着病程的延长,炎症性肠病的并发症与肠外表现发生率增高。炎症性肠病

肠外表现的发病机制可能与免疫系统异常的全身反应、免疫复合物沉积、炎性介质作用、肠道黏膜屏障功能受损及有毒物质吸收等因素有关<sup>[11-12]</sup>。

炎症性肠病好发于青壮年人群,本研究中显示在25~50岁阶段人群中,占比最高(63.8%),其次为<25岁人群,近年来有关小儿炎症性肠病的报道屡见不鲜<sup>[13]</sup>。

IBD引起的脊柱关节炎可分为中轴型和外周型<sup>[14]</sup>。中轴型主要表现为强直性脊柱炎和骶髂关节炎。外周型关节炎又可分为1型和2型,1型为非对称性少关节炎,一般病变关节少于5个,常与IBD的活动性相关;2型为对称性多关节炎,与IBD的活动度没有相关性<sup>[15]</sup>。外周型主要包括关节炎,肌腱炎,指/趾炎。关节炎可发生于每一个关节,但以大关节为主;肌腱炎最常发生于脚跟及跖肌筋膜处;指/趾炎较为少见,主要表现为所有的手指或脚趾均发炎肿胀,即所谓的香肠状手指或脚趾。

脊柱关节炎是炎症性肠病最常见的肠外表现,本研究显示在炎症性肠病患者中,轴型关节炎总发生率为9.5%,外周型关节炎总发生率为20%,与文献报道基本一致<sup>[16]</sup>。CD组患者中外周型关节炎的发病率明显高于UC组,与文献报道一致<sup>[17-18]</sup>。中轴型关节炎包括强直性脊柱炎及骶髂关节炎的发病率均较低,可能是由于中轴型关节炎临床症状不典型,患者因未感觉明显不适而未就医行相关检查,从而导致漏诊。

合并关节表现的炎症性肠病的治疗原则主要包括:有效的控制肠道炎症;进行骨密度检测;预防骨质疏松,其措施主要包括:减少负重运动、戒烟、补充钙及维生素D。目前炎症性肠病生物治疗的进展极大的改善了患者关节炎的症状及预后。合并脊柱关节炎的IBD患者机体功能和总体健康指数往往更差,应警惕并重视对这类患者的管理,在诊治过程中提高对炎症性肠病肠外关节表现的认识,根据患者的临床表现症状和医学检查结果对患者进行综合诊断,合理地选择治疗方法和药物,有效地提高治疗效果,改善患者的症状,提高患者的生活质量。

## 参考文献

- [1] Pizarro TT, Stappenbeck TS, Rieder F, et al. Challenges in IBD Research: Preclinical Human IBD Mechanisms [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25(Suppl 2): S5-S12.
- [2] Finucci A, Ditto MC, Parisi S, et al. Rheumatic manifestations in inflammatory bowel disease [J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2020.

- [3] Atzeni F, Defendenti C, Ditto MC, et al. Rheumatic manifestations in inflammatory bowel disease [J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(1):20-23.
- [4] Finucci A, Ditto MC, Parisi S, et al. Rheumatic manifestations in inflammatory bowel disease [J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2020.
- [5] Zhao SS, Robertson S, Reich T, et al. Prevalence and impact of comorbidities in axial spondyloarthritis: systematic review and meta-analysis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59(Supplement\_4):iv47-47iv57.
- [6] Weinstein SL. The Burden of Musculoskeletal Conditions [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2016, 98(16):1331.
- [7] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年,北京)[J]. *中华消化杂志*, 2018, 38(5):292-311.
- [8] Ananthakrishnan AN, Bernstein CN, Iliopoulos D, et al. Environmental triggers in IBD: a review of progress and evidence [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(1):39-49.
- [9] Mentella MC, Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, et al. Nutrition, IBD and Gut Microbiota: A Review [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4):944.
- [10] Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. *Lancet*, 2018, 390(10114):2769-2778.
- [11] Parkes M, Cortes A, van Heel DA, et al. Genetic insights into common pathways and complex relationships among immune-mediated diseases [J]. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(9):661-673.
- [12] van Sommeren S, Janse M, Karjalainen J, et al. Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel disease: from shared genetics to shared biological pathways [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(6):987-994.
- [13] 杨志, 王玲, 孙子发, 等. 婴儿型炎症性肠病1例并文献分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(72):1112-1114+1128.
- [14] Raychaudhuri SP, Deodhar A. The classification and diagnostic criteria of ankylosing spondylitis [J]. *J Autoimmun*, 2014, 48-49:128-133.
- [15] Arvikar SL, Fisher MC. Inflammatory bowel disease associated arthropathy [J]. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2011, 4(3):123-131.
- [16] Karreman MC, Luime JJ, JMW H, et al. The Prevalence and Incidence of Axial and Peripheral Spondyloarthritis in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis [J]. *J Crohns Colitis*, 2017, 11(5):631-642.
- [17] Salvarani C, Fries W. Clinical features and epidemiology of spondyloarthritis associated with inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(20):2449-2455.
- [18] Gravalles EM, Kantrowitz FG. Arthritic manifestations of inflammatory bowel disease [J]. *Am J Gastroenterol*, 1988, 83(7):703-709.

(上接第102页)

- [2] Erkan K, Bozkurt ML, Artaç H, et al. The role of regulatory T cells in allergic rhinitis and their correlation with IL-10, IL-17 and neopterin levels in serum and nasal lavage fluid [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2020, 277(4):1109-1114.
- [3] Lei H, Sun Y, Quan S. IL-37 relieves allergic inflammation by inhibiting the CCL11 signaling pathway in a mouse model of allergic rhinitis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(4):3114-3121.
- [4] Kim DH, Kim SW, Kim SW, et al. Interleukin-37 relieves allergic inflammation in a house dust mite allergic rhinitis murine model [J]. *Iran J Allergy Asthma Imm*, 2017, 16(5):404-417.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南: 2009年, 武夷山 [J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 44(12):977-978.
- [6] 徐璇, 姚艳玲, 陈彦球, 等. 血小板在变应性鼻炎发病机制中的研究进展 [J]. *热带医学杂志*, 2015, 15(11):1584-1587.
- [7] Kaminuma O, Nishimura T, Saeki M, et al. T Cell-Mediated Nasal Hyperresponsiveness in Allergic Rhinitis [J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(1):36-40.
- [8] 彭慧慧, 冷建杭, 沈俊娅, 等. Th17/Treg 和 Th1/Th2 细胞失衡对变应性鼻炎发病机制的研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(18):2234-2237.
- [9] 付海生. 鼻炎康片联合丙酸氟替卡松鼻喷剂对过敏性鼻炎的鼻腔功能和血清相关因子的影响 [J]. *中南医学科学杂志*, 2018, 46(6):650-652.
- [10] 徐红, 刘月辉. IL-37 靶向 TSLP 减轻变应性鼻炎炎症反应的研究进展 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2019, 25(6):606-609.
- [11] 秦啸峰, 李艳, 李陈铎, 等. 人 IL-37b 转基因对小鼠哮喘模型作用的研究 [J/OL]. *微生物学免疫学进展*, 2020(5):1-10.
- [12] Shilovskiy IP, Dyneva ME, Kurbacheva OM, et al. The Role of Interleukin-37 in the Pathogenesis of Allergic Diseases. [J]. *Acta Naturae*, 2019, 11(4):54-64.
- [13] 丁庆雄. 过敏性鼻炎患儿血浆 IL-37b 水平的检测及临床意义 [J]. *广东医学院学报*, 2015, 33(4):469-471.
- [14] Wang J, Shen Y, Li C, et al. IL-37 attenuates allergic process via STAT6/STAT3 pathways in murine allergic rhinitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69(1):27-33.
- [15] 陈诗皓, 杜晓楠, 李艳, 等. IL-37 对粉尘螨诱导气道上皮及固有免疫细胞产生 IL-6 的作用研究 [J]. *微生物学免疫学进展*, 2017, 45(4):1-7.

· 论 著 ·

## PI、RI 联合 sFh-1/PLCF 检测对妊娠中晚期孕妇产前子痫的预测价值

周隽<sup>1</sup> 唐佳<sup>1</sup> 郑钊平<sup>1</sup> 林春霞<sup>1</sup> 陈亚丽<sup>2\*</sup>

**【摘要】** **目的** 探讨子宫动脉血流阻力联合可溶性血管内皮生长因子受体-1(sFh-1)、胎盘生长因子(PLCF)的比值检测对妊娠中晚期孕妇产前子痫的预测价值。**方法** 收集2016年2月至2020年2月在本院治疗的106例中晚期孕妇产前子痫前期患者的临床资料(轻度子痫前期56例,重度子痫前期50例)设为观察组,选取同期在本院孕检的正常妊娠孕妇80例设为对照组。对比观察组、对照组及轻度子痫前期组、重度子痫前期组孕妇阻力指数(RI)、搏动指数(PI)值及sFh-1/PLCF水平,以Logistic回归模型分析影响妊娠中、晚期孕妇发生子痫的危险因素,采用ROC曲线分析PI、RI联合sFh-1/PLCF检测对妊娠中晚期孕妇发生子痫前期的预测价值。**结果** 观察组孕妇RI、PI、sFh-1/PLCF水平均显著高于对照组孕妇,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。重度子痫前期孕妇RI、PI、sFh-1/PLCF水平均显著高于轻度子痫前期孕妇,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。初孕、高血压、糖尿病、PI、RI、sFh-1/PLCF为影响中、晚期孕妇发生子痫的独立危险因素( $P<0.05$ )。PI、RI、sFh-1/PLCF及三者联合曲线下面积分别为0.748、0.763、0.739、0.919,联合检测最高。**结论** 孕中晚期孕妇PI、RI、sFh-1/PLCF水平明显高于正常妊娠孕妇,测定孕妇外周血sFh-1/PLCF水平,可提高子宫动脉血流阻力指数监测在孕妇产前子痫前期预测中的价值。

**【关键词】** 子宫动脉血流阻力; sFh-1/PLCF; 子痫

### Predictive value of the impedance of the PI, RI combined with the ratio of sFh-1/PLCF for preeclampsia of pregnant women in the middle and late pregnancy

ZHOU Jun<sup>1</sup>, TANG Jia<sup>1</sup>, ZHENG Zhaoping<sup>1</sup>, LIN Chunxia<sup>1</sup>, CHEN Yali<sup>2\*</sup>

(1. Department of Obstetrics, Longquan hospital, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China, 610100; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, West China Second Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China, 610100)

**【ABSTRACT】** **Objective** To explore the predictive value of the impedance of the uterine artery blood flow combined with ratio detection of soluble fms-like tyrosine kinase receptor 1 (sFh-1) to placental growth factor (PLCF) for preeclampsia of pregnant women in the middle and late pregnancy. **Methods** The clinical data of 106 pregnant women with preeclampsia (56 cases with mild preeclampsia, 50 cases with severe preeclampsia) in middle and late pregnancy who were treated in our hospital from February 2016 to February 2020 were collected and set as the observation group. 80 pregnant women with normal pregnancy undergoing pregnant examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The resistance index (RI), pulsation index (PI) values and sFh-1/PLCF levels of pregnant women in the observation group, the control group, the mild preeclampsia group, and the severe preeclampsia group were compared. Logistic regression model was used to analyze the risk factors of preeclampsia in pregnant women in the middle and late pregnancy. The ROC curve was used to analyze the predictive value of PI, RI combined with sFh-1/PLCF de-

基金项目:四川省卫健委课题(16ZD037)

作者单位:1. 四川大学华西医院龙泉医院产科,四川,成都 610100

2. 四川大学华西第二医院妇产科,四川,成都 610100

\*通信作者:陈亚丽, E-mail:yalichen182@163.com

tection for the occurrence of preeclampsia of pregnant women in the middle and late pregnancy. **Results** The levels of RI, PI, and sFh-1/PLCF in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of RI, PI, and sFh-1/PLCF of pregnant women with severe preeclampsia were significantly higher than those of pregnant women with mild preeclampsia, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The first pregnancy, hypertension, diabetes, PI, RI, and sFh-1/PLCF were independent risk factors for preeclampsia in pregnant women in the middle and late pregnancy ( $P<0.05$ ). The area under the curve of PI, RI, sFh-1/PLCF and combined curve of the three indicators were 0.748, 0.763, 0.739, 0.919, respectively, and the area under the combined detection was the highest. **Conclusion** The PI, RI, and sFh-1/PLCF levels of pregnant women in the second and third trimesters are significantly higher than those of normal pregnant women. Measuring the sFh-1/PLCF level in the peripheral blood of pregnant women can improve the value of uterine artery blood flow resistance index monitoring in the prediction of preeclampsia during pregnancy.

[**KEY WORDS**] Impedance of the uterine artery blood flow; sFh-1/PLCF; Preeclampsia

子痫前期是常见的产科并发症之一,据有关学者的研究报道,子痫前期在全部妊娠期妇女的发生率在7%左右,严重者会造成产妇和围产儿死亡,威胁产妇和围产儿的生命健康<sup>[1]</sup>。由于子痫的发病机制尚未明确,广大学者对该病不断研究,发现子痫只发生于妊娠期妇女<sup>[2]</sup>。较多学者报道胎盘可能产生一种或多种循环因子,这些因子进入母体血液就会诱发子痫<sup>[3-4]</sup>。可溶性血管内皮生长因子受体-1 (Soluble fms-like tyrosine kinase receptor 1, sFh-1)及胎盘生长因子(PLacental growth factor, PLCF)在子宫胎盘血管重塑中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。多普勒超声是一种非创伤性检查,可通过检测孕子宫动脉血流阻力的大小了解胎盘血管阻力状态,已被广泛应用于孕妇相关疾病的诊断。本研究旨在探讨子宫动脉血流阻力联合sFh-1/PLCF检测对妊娠中晚期孕女子痫的预测价值,以期提高临床对妊娠期孕女子痫前期的诊断率,从而改善产妇及围产儿预后。现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集2016年2月至2020年2月在本院治疗的中晚期孕女子痫前期患者的106例,设为观察组(轻度子痫前期56例,重度子痫前期50例)。平均年龄( $25.17\pm 1.12$ )岁;孕次1~3次,平均孕周( $28.14\pm 1.10$ )周。选取同期在本院孕检的正常妊娠孕妇80例,设为对照组,平均年龄( $25.24\pm 1.19$ )岁;孕次1~4次,平均孕周( $28.18\pm 1.12$ )周。两组产妇的一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究通过医院伦理委员会批准,受试者均签署

知情同意书。

纳入标准:①均存在血压高还存在不同程度恶心呕吐、右上腹痛、胸闷、视力模糊、眼冒金花、忧虑、易激动等先兆子痫的症状<sup>[6]</sup>;②孕期产检资料完整,产检规律,均为孕中、晚期新发子痫前期;③产妇及胎儿在妊娠期经B超检查正常(无胎盘形态、位置异常);④均为单胎孕妇。排除标准:①流产史、既往胎盘粘连史;②合并血液系统疾病者;③合并心、肝、肾等重要器官严重疾病者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 子宫动脉多普勒超声检查

对两组孕妇于孕中、晚期(中期:孕20~24周;晚期:孕30~34周)进行两次子宫动脉多普勒超声检查(仪器:GE-730、Aloke-5型彩色多普勒超声仪,探头频率:3.5~5.0 MHz)。将探头放置于孕妇的左、右髂窝处,以斜矢状切面对部分宫颈和部分子宫侧壁进行显示。对双侧子宫动脉血流的阻力指数(Resistance Index, RI)、搏动指数(Pulsatility index, PI)值进行测量和记录,并取平均值<sup>[7]</sup>。

#### 1.2.2 sFh-1/PLCF水平检测方法

取孕妇空腹外周静脉血5 mL装入抗凝管中,待自凝后取血清3 000 rpm 4℃离心5 min,吸取上清液,置于-22℃冰箱保存待检测。采用美国R&D公司人可溶性血管内皮生长因子受体-1 ELISA试剂盒,通过双抗夹心法酶联免疫吸附试验测定1sFh-1/PLCF水平,计算sFlt-1/PLCF比值。操作严格按试剂盒说明书进行。

### 1.3 观察指标

对比两组产子宫动脉血流阻力参数(RI、PI)及sFh-1/PLCF水平,以Logistic回归模型分析影响

孕中、晚期孕妇发生子痫的危险因素,采用ROC曲线分析RI、PI、sFh-1/PLCF检测及三者联合检测对孕中、晚期孕妇发生子痫的预测价值。

### 1.4 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,行t检验;绘制ROC曲线,并计算下曲线面积,评估RI、PI、sFh-1/PLCF及联合检测对孕中、晚期孕妇发生子痫的准确性;通过Logistic回归模型分析影响相关危险因素,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 2组孕子宫动脉血流阻力指数及sFh-1/PLCF水平比较

观察组孕妇RI、PI、sFh-1/PLCF水平均显著高于对照组孕妇,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 2组孕妇RI、PI、sFh-1/PLCF水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of RI, PI, sfh-1 / PLCF levels of pregnant women between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	RI	PI	sFh-1/PLCF
对照组	80	0.50±0.04	0.85±0.08	6.95±4.22
观察组	106	0.55±0.05	0.94±0.09	55.65±17.56
t值	-	7.344	7.079	24.267
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001

表3 影响中、晚期孕妇发生子痫的危险因素分析

Table 3 Risk factors of eclampsia in middle and late pregnant women

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
年龄(<30岁 vs ≥30岁)	1.139	0.713~1.513	0.569	-	-	-
产次(1次 vs ≥2次)	1.065	1.912~1.341	0.727	-	-	-
初孕(是 vs 否)	1.791	1.225~1.616	0.025	1.524	1.324~1.885	0.034
高血压(是 vs 否)	1.716	1.236~1.497	0.010	1.598	1.364~1.885	0.023
糖尿病(是 vs 否)	1.668	1.204~1.456	0.026	1.568	1.321~1.789	0.041
RI(异常增高 vs 正常)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	1.268~1.779	0.538
PI(异常增高 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.636	1.365~1.784	0.035
sFh-1/PLCF(异常增高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008

表4 PI、RI、sFh-1/PLCF及三者联合检测中、晚期孕妇发生子痫的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of PI, RI, sfh-1 / PLCF and 3 of them eclampsia in middle and late pregnant women

预测指标	最佳临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	95%CI
PI	25.10	80.58	89.65	0.748	0.087~0.918
RI	26.41	88.35	88.65	0.763	0.592~0.933
sFh-1/PLCF	25.42	86.49	85.62	0.739	0.576~0.903
三者联合检测	27.59	93.56	95.14	0.919	0.000~1.000
预测指数模型	1.586	87.62	88.65	0.852	0.586~0.924

### 2.2 不同程度子痫前期孕妇动脉血流阻力指数及sFh-1/PLCF水平比较

重度子痫前期孕妇RI、PI、sFh-1/PLCF水平均显著高于轻度子痫前期孕妇,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 不同程度子痫孕妇RI、PI、sFh-1/PLCF水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of RI, PI, sfh-1/plcf levels in different degree of eclampsia ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	RI	PI	sFh-1/PLCF
轻度	56	0.52±0.05	0.92±0.09	19.54±13.54
重度	50	0.57±0.06	0.96±0.10	72.15±20.14
t值	-	4.678	2.168	15.931
P值	-	<0.001	0.033	<0.001

### 2.3 影响中、晚期孕妇发生子痫的危险因素分析

年龄、产次不是影响中、晚期孕妇发生子痫的单因素及独立危险因素( $P > 0.05$ );初孕、高血压、糖尿病、PI、RI、sFh-1/PLCF为影响中、晚期孕妇发生子痫的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.4 PI、RI、sFh-1/PLCF及三者联合检测中、晚期孕妇发生子痫的诊断价值

PI、RI、sFh-1/PLCF及三者联合曲线下面积分别为0.748、0.763、0.739、0.919,各指标曲线下面积以联合检测最大。见表4、图1。

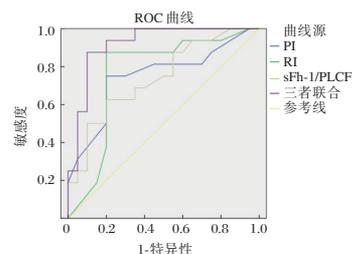


图1 PI、RI、sFh-1/PLCF及三者联合检测中、晚期孕妇发生子痫的诊断价值ROC曲线图

Figure 1 Diagnostic value of combined detection of Pi, Ri, SFH-1/PLCF and three of them in mid and late pregnant women with ECLAMPSIA

### 3 讨论

子痫是严重危害母婴健康的发生于妊娠期的疾病,为产科较常见的并发症之一。以往,临床对子痫前期的诊断多通过检测孕妇血压和尿蛋白,但患者出现血压和尿蛋白改变时,通常为病情进展期,若未及时对子痫前期进行诊断会耽误治疗,最终只能采取终止妊娠的手段保障孕妇生命安全。

通过监测子宫动脉血流参数预测早发型子痫前期已在临床广泛使用,但其受孕周的限制,过早或过晚检测均无法准确判断出孕妇是否发生子痫。为寻求更为理想的诊断子痫前期的实验室指标,较多学者对此不断进行深入研究,发现 sFh-1 及 PLCF 间的协调平衡在胎盘血管床的发育过程中起着关键作用<sup>[8]</sup>。本研究通过对比孕中晚期产妇发生子痫前期的孕妇及正常妊娠孕妇 PI、RI、sFh-1/PLCF 水平,观察组孕妇 RI、PI、sFh-1/PLCF 水平均显著高于对照组孕妇;而重度子痫前期孕妇 RI、PI、sFh-1/PLCF 水平均明显高于轻度子痫前期孕妇。大量研究表明,在正常妊娠过程中,孕妇血清中 sFh-1、PLCF 浓度与孕周的关系密切,二者在妊娠早期水平较低,在孕 30 周左右时水平达到高峰,发生子痫前期的孕妇外周血 sFh-1 要显著高于妊娠期未发生子痫的孕妇,而 PLCF 浓度低于妊娠期未发生子痫的孕妇<sup>[9]</sup>。Binder 等学者<sup>[10-11]</sup>指出,为满足胎盘及胎儿的生长需求,孕妇局部血管会发生变化,特别是孕 20 周以上的孕妇变化最为明显,此时期孕妇机体血管重塑活动力存在,但活动速度会明显降低,导致滋养叶细胞缺血缺氧,引发子痫。

本研究通过 Logistic 回归模型分析影响中、晚期孕妇发生子痫的相关因素,得出:初孕、高血压、糖尿病、PI、RI、sFh-1/PLCF 为影响中、晚期孕妇发生子痫的独立危险因素,这与 Cheng 等人<sup>[12]</sup>的研究结果一致。大量的临床研究证实高血压、糖尿病是子痫前期的高危因素<sup>[13]</sup>。Virtanen 等学者<sup>[14]</sup>研究发现孕期合并高血压、糖尿病等病史的孕妇发生子痫的风险会明显提高,可能为内科基础病会引发全身血管内皮损伤引发全身小动脉痉挛有关,最终诱发子痫。采用 ROC 曲线分析 PI、RI、sFh-1/PLCF 及三者联合检测孕中晚期孕妇发生子痫的诊断价值,发现各指标曲线下面积以联合检测最大,可见三者联合检测价值相对较高。但由于本研究纳入时间较短,后续将进一步扩大样本量,丰富实验方法,以获得更有价值的研究结果。

综上所述,孕中晚期孕妇 PI、RI、sFh-1/PLCF 水平与正常妊娠期孕妇存在显著差异,测定孕妇外周血 sFh-1/PLCF 水平,可提高子宫动脉血流阻力指数监测在孕期子痫预测中的价值。

### 参考文献

- [1] 李彦曦,黄勇,刁蓉. 子宫动脉栓塞联合宫腔镜治疗子宫切口瘢痕妊娠的临床价值分析[J]. 解放军医药杂志, 2018, 30(6):61-63.
- [2] 吴茜,桂定清,张立忆. 子宫动脉栓塞术联合宫腔镜下刮宫术与药物联合刮宫术治疗宫颈妊娠临床效果分析[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(2):71-74.
- [3] 程惠,周曙光. PLGF、IL-6 与妊娠期高血压病情程度及母婴结局的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5):674-677.
- [4] 邓飞涛,宋婷,张青苗,等. 妊娠期糖尿病胎鼠肺组织中 p-mTOR、HIF-1 $\alpha$  及 VEGF-A 表达的研究[J]. 医学分子生物学杂志, 2018, 15(5):309-314.
- [5] 王小红. 强化护理干预对中晚期妊娠合并前置胎盘患者产后大出血的预防效果[J]. 保健医学研究与实践, 2018, 15(2):66-69.
- [6] Grammatico AL, Catton HL, Hilton D. Ischaemic stroke and pre-eclampsia in the third trimester of pregnancy: a diagnostic and therapeutic challenge [J]. BMJ Case Rep, 2019, 12(12):229-635.
- [7] De Boogert A, De Jong-Pleij E, Ribbert L, et al. Facial shape; height and width in the second and third trimester of pregnancy[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2017, 11(20):1-7.
- [8] 李玉琴,郭红. 联合检测 PAPP-A、AFP 和 uE3 对孕早中期子痫前期的预测价值[J]. 中国妇幼健康研究, 2017, 13(25):36-45.
- [9] Atiba AS, Akindele RA, Bello NO, et al. Serum Magnesium Levels in Second and Third Trimesters of Pregnancy in Patients That Developed Pre-Eclampsia and Feto-Maternal Outcome [J]. Open J Obstetr Gynecol, 2020, 10(1):108-117.
- [10] Katja M, Villa PM, Jaakko M, et al. Prediction of pre-eclampsia and its subtypes in high-risk cohort: hyperglycosylated human chorionic gonadotropin in multivariate models [J]. BMC Pregnanc Childbirth, 2018, 18(1):279.
- [11] Maryam K, Shohreh B. OP 1 Comparing the pregnancy outcome in nuliparas both with and without microalbuminuria at the end of the second trimester of pregnancy [J]. Pregnancy Hypertens, 2017, 13(16):65-545.
- [12] Cheng YK, Law LW, Leung TY, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor in Chinese pregnant women during second and third trimesters [J]. Hong Kong Med J, 2018, 24(3):45-47.
- [13] Clare BK, Michelle BH, Jeremy YY, et al. Circulating adipokines are associated with pre-eclampsia in women with type 1 diabetes [J]. Diabetologia, 2017, 60(12):2514-2524.
- [14] Virtanen A, Huttala O, Tihtonen K, et al. Angiogenic capacity in pre-eclampsia and uncomplicated pregnancy estimated by assay of angiogenic proteins and an in vitro vasculogenesis/angiogenesis test [J]. Angiogenesis, 2019, 22(1):67-74.

## 血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 的表达水平与胃癌诊断的相关性

杜记涛 曹建 赵稳 万相斌 李智\*

**[摘要]** 目的 探究血清 miR-135、miR-601、糖类抗原 72-4(CA72-4)及糖类抗原 19-9(CA19-9)的表达水平与胃癌(GC)诊断的相关性。方法 选取2015年1月至2020年10月本院106例GC患者作为观察组,健康人群45例作为对照组,检测并比较两组血清 miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9表达水平;Pearson相关系数分析各指标与GC发生相关性;受试者工作特征(ROC)曲线评价各指标对GC诊断效能。结果 与对照组比较,观察组血清 miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9表达水平升高差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清 miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9与GC的发生呈正相关( $P<0.05$ );血清 miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9联合诊断GC灵敏度、特异性、准确度,阳性预测值、阴性预测值、ROC曲线下面积(area under curve, AUC)显著高于单一指标( $P<0.05$ )。结果 血清 miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9的表达水平与GC的发生呈正相关。

**[关键词]** miR-135; miR-601; 糖类抗原 72-4; 糖类抗原 19-9; 胃癌

### Correlation of serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 expression levels with diagnosis of gastric cancer

DU Jitao, CAO Jian, ZHAO Wen, WAN Xiangbin, LI Zhi\*

(Department of General Surgery, Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University/Henan Cancer Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450003)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the correlation between the expression levels of serum miR-135, miR-601, carbohydrate antigen 72-4 (CA72-4) and carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) and the diagnosis of gastric cancer (GC). **Methods** A total of 106 GC patients who were treated in our hospital from January 2015 to October 2020 were selected as the observation group, and 45 healthy people who underwent a physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group to detect and compare the serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 expression levels; receiver operator characteristic (ROC) curve to evaluate the effects of serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 on GC Diagnostic power; Pearson correlation coefficient analysis of the correlation between serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 and the occurrence of GC. **Results** Compared with the control group, the serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 expression levels in the observation group were significantly increased ( $P<0.05$ ). Serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 were positively correlated with the occurrence of GC ( $P<0.05$ ). The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, negative predictive value, and area under curve (AUC) of serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 in combined diagnosis of GC were significantly higher than single Indicator ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression levels of serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 were positively correlated with the occurrence of GC, which has a high reference value for the clinical diagnosis of GC.

**[KEY WORDS]** miR-135; miR-601; Carbohydrate antigen 72-4; Carbohydrate antigen 19-9; Gastric cancer

基金项目:河南省医学科技攻关计划省部共建项目(SB201901104)

作者单位:郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院普外科,河南,郑州 450003

\*通信作者:李智, E-mail:275829123@qq.com

胃癌(gastric carcinoma, GC)是临床常见的一种消化系统的恶性肿瘤,其最先发生于机体胃黏膜上皮细胞,好发于中老年群体中,且男性发病率明显高于女性<sup>[1]</sup>。据相关调查研究显示,目前全球范围内GC的发病率和死亡率已分别跃居恶性肿瘤的第5位和第3位,而我国GC发病率、死亡率分别位于全部恶性肿瘤第2位,第3位,远远高于世界的平均水平<sup>[2]</sup>。大部分GC患者在早期无明显临床症状,仅有少数患者表现为消化不良、饱胀不适等非特异性症状,因此很容易被忽略,进而使患者错过最佳治疗时机。目前临床多通过组织活检和胃镜对GC患者进行诊断,但其侵入性较强,因此还需寻找其他高效安全的诊断方法。研究表明,miR-135、miR-601在癌症的发生发展中发挥着重要的作用<sup>[3-4]</sup>;由于肿瘤标志物具有检测快速、简单、创伤小等优势被临床广泛应用肿瘤的诊断中,而糖类抗原72-4(cancer antigen 72-4, CA72-4)、糖类抗原19-9(cancer antigen 19-9, CA19-9)是临床常见的消化系统肿瘤标志物。但目前关于其诊断GC的研究还相对较少。因此,本研究主要是探究血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9的表达水平与GC诊断的相关性,旨在为GC的临床诊治提供更多参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年1月至2020年10月就诊于本院的106例GC患者作为观察组,其中男83例,女23例;平均年龄(65.76±3.67)岁;GC类型:腺癌91例,粘液腺癌6例,印戒细胞癌4例,其他类型5例;TNM肿瘤分期:I期46例,II期16例,III期30例,IV期14例;另选取同期于本院进行健康体检的健康人群45例作为对照组,平均年龄(66.02±3.54)岁;两组在性别、年龄的比较中差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

纳入标准:①参照《胃癌规范化诊疗指南(试行)》<sup>[5]</sup>中GC的诊断标准,所有患者均确诊为GC;②未接受过相关治疗的患者;③临床依从性较高的受试者;④患者或其家属签订知情同意书。排除标准:①合并其他肿瘤疾病的受试者;②合并胃肠道及肝胆疾病的患者;③中途退出的受试者;④临床资料不完整的受试者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品的制备

在受试者被纳入研究后的第2天清晨抽取其空

腹肘静脉血6 mL,置于EP管内,在常温下静置1 h后,采用离心法分离出血清,将等分为两份置于干燥试管内,于-25℃保存待测。

#### 1.2.2 血清miR-135、miR-601水平的检测

取其中一份待测样品,采用总RNA抽提试剂(TRIZol试剂,上海杰美基因医药科技有限公司)将其总RNA分离,采用实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)对miR-135、miR-601的表达进行检测。其中miR-135的上游引物是:5'-ATGTACGCTACTGTGAGCTG-3',下游引物是5'-GTCAGCGAGTGAGCATAG-3';miR-601的上游引物是5'-GATGACTGTATGACTCTCAG-3',下游引物是5'-AGTGTACTACATAGTACG-3'。反应的体系共20 μL,分为10 μL TaqMan 2×Universal PCR Master Mix、1 μL TaqMan MicroRNA Assay、1.33 μL cDNA、7.67 μL ddH<sub>2</sub>O,充分混合。扩增的条件是10 min 95℃预变性、15 s 95℃变性、60 s 60℃复性,内参照为U6,共循环45次,实验开展3次。所用仪器由美国ABI公司提供,试剂盒由新海基因检测有限公司提供。计算方法为:用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法( $\Delta Ct=Ct_{\text{目的基因}}-Ct_{U6}$ )。

#### 1.2.3 血清CA72-4、CA19-9水平的检测

取另一份待测样品,采用电化学发光法对血清CA72-4、CA19-9水平进行检测,所用试剂盒由上海罗氏制药有限公司提供。

### 1.3 观察指标

①比较两组血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9的表达水平;②采用Pearson相关系数分析血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9水平与GC发生的相关性;③采用受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线评价血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9对GC的诊断效能。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0进行统计学分析,符合正态分布,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )进行表示,采用 $t$ 检验;计数资料采用例 $n(\%)$ 进行表示,采用 $\chi^2$ 检验; $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9表达水平的比较

观察组血清miR-135、miR-601、CA72-4及

CA19-9表达水平均显著高于对照组,差异均具有统计学意义( $t_1=7.018, t_2=7.523, P<0.05$ )。见图1。

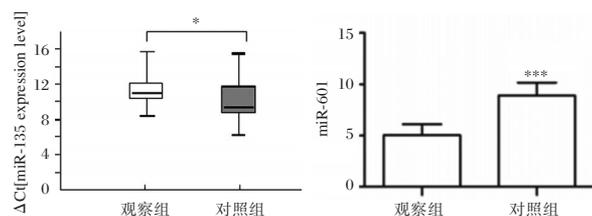


图1 两组血清 miR-135、miR-601 表达水平的比较

Figure 1 Comparison of serum miR-135 and miR-601 expression levels between 2 groups

## 2.2 血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 水平与 GC 发生的相关性分析

根据 Pearson 相关分析结果可知,血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 与 GC 的发生呈正相关,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 水平与 GC 发生的相关性分析

Table 1 Analysis of the correlation between serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 levels and the occurrence of GC

指标	观察组(n=106)		对照组(n=45)	
	r 值	P 值	r 值	P 值
miR-135	0.227	0.022	-0.259	0.002
miR-601	0.320	0.001	-0.367	0.032
CA72-4	0.597	0.003	-0.592	0.004
CA19-9	0.436	0.002	-0.510	0.024

表2 血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 对 GC 诊断效能的评价

Table 2 Evaluation of serum miR-135, miR-601, CA72-4 and CA19-9 for diagnosis of gastric cancer

指标	最佳界限值	灵敏度(%)	特异性(%)	准确度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	AUC	95%CI
miR-135	9.27	91.27 <sup>a</sup>	87.25 <sup>a</sup>	81.46 <sup>a</sup>	79.16 <sup>a</sup>	80.76 <sup>a</sup>	0.908 <sup>a</sup>	0.846~0.969 <sup>a</sup>
miR-601	6.62	80.36 <sup>a</sup>	86.15 <sup>a</sup>	78.98 <sup>a</sup>	71.59 <sup>a</sup>	74.72 <sup>a</sup>	0.790 <sup>a</sup>	0.721~0.920 <sup>a</sup>
CA72-4	8.22(ng/mL)	61.26 <sup>a</sup>	74.54 <sup>a</sup>	72.98 <sup>a</sup>	74.98 <sup>a</sup>	71.65 <sup>a</sup>	0.697 <sup>a</sup>	0.639~0.756 <sup>a</sup>
CA19-9	27.65(ng/mL)	60.23 <sup>a</sup>	72.70 <sup>a</sup>	70.98 <sup>a</sup>	71.55 <sup>a</sup>	70.28 <sup>a</sup>	0.679 <sup>a</sup>	0.622~0.736 <sup>a</sup>
联合诊断	-	98.79	92.15	89.54	86.16	87.41	0.994	0.871~0.999

注:与联合检测相比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

被临床迫切需要。目前临床主要通过形态学对 GC 患者进行诊断,活检病理诊断是其金标准,但由于其属于侵入性检查,患者耐受程度较低且不适于反复检查。miRNA 是由肿瘤细胞主动分泌的一种小分子,其表达水平能够随着肿瘤的生成与凋零发生显著性的变化,对临床多种恶性肿瘤的早期诊断、治疗以及预后都有着重要的指导意义。

Yin 等<sup>[7]</sup>研究结果显示,GC 患者血清 miR-135、CA19-9 水平明显高于健康人群;Min 等<sup>[8]</sup>研究显

## 2.3 血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 对 GC 诊断效能的评价

血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 均可有效诊断 GC,联合诊断的灵敏度、特异性、准确度,阳性预测值、阴性预测值、ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)均显著高于单一指标诊断的值,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。见图2、表2。

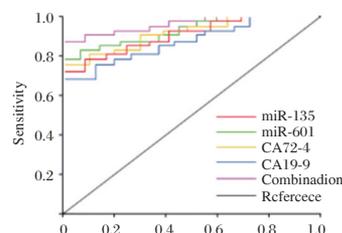


图2 血清 miR-135、miR-601、CA72-4、CA19-9 及其联合检测对 GC 诊断的 ROC 曲线

Figure 2 ROC curve of serum miR-135, miR-601, CA72-4, CA19-9 and their combined detection for GC diagnosis

## 3 讨论

GC 作为世界范围内的恶性肿瘤,全球每年新发确诊病例达到了 95 万例,死亡病例达到了 72 万例,对人类的健康及生命安全造成了严重的威胁<sup>[6]</sup>。由于 GC 患者早期临床症状并不显著,导致大多数患者在确诊时一般已至肿瘤的中晚期了,而早发现、诊断、治疗是提高 GC 患者生存质量的主要方法之一,因此一种高效的早期诊断方法

示,与癌旁正常组织相比,GC 组织 miR-601 明显上调;韩莹波等<sup>[9]</sup>学者发现,GC 患者血清 CA72-4、CA19-9 的表达水平高于正常人群;在本研究结果与上述研究结果完全相符,表明 GC 患者血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 的表达水平显著上调。miRNA 在真核生物中广泛存在,是基因调控机体网络的重要组成部分之一,通常是通过调节机体细胞基因的表达影响机体各项病理生理过程<sup>[10]</sup>,目前已有研究结果显示,miR-135、miR-601 在多种

癌症高表达<sup>[11-12]</sup>;CA72-4是高分子量的一种粘蛋白,由单克隆抗体B72.3和CC 49确定,在健康机体内,其含量一般较低,但在多种肿瘤组织中呈高表达<sup>[13]</sup>;CA19-9作为E-选择素(E-selectin)配体,是一种糖类抗原,是上皮的源性肿瘤广谱的标志物,在血管的内皮细胞与肿瘤细胞间的黏附中发挥着重要的作用,被临床广泛用于胃癌的诊断、病情评估以及预后推测中<sup>[14]</sup>。综合上述提示,miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9可作为GC诊断的重要临床指标,进而为临床治疗提供指导。

于伟等<sup>[15]</sup>研究结果显示,GC患者血清CA72-4、CA19-9水平高于胃良性疾病患者和健康人群,而胃良性疾病患者有明显高于健康人群。与上述研究结果基本相符,同时还发现,血清miR-135、miR-601水平与GC的发生也呈正相关,上述研究结果表明,可根据机体血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9水平的变化情况对GC进行早期诊断。

肿瘤标志物是非侵入性的、简单的一种临床诊断方法,被广泛用于肿瘤的早期诊断、疗效判断以及预后评估中,并取得了较为显著的效果,但临床多项研究表明,单一肿瘤标志物特异性、敏感性以及准确性较低,限制了其临床应用<sup>[16-17]</sup>;本研究结果显示,血清miR-135、miR-601诊断GC的效能较高,但仍存在一定的不足之处,为进一步提高GC的早期诊断效能,于是本研究将血清miR-135、miR-601与肿瘤标志物CA72-4、CA19-9进行联合,结果发现其诊断GC的特异性、灵敏度、准确度以及AUC等均明显升高,结果表明,单一指标检测的值难免会具有一定的局限性,而联合检测则在一定程度上弥补了单一指标所检测的不足,因此,提示可联合血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9共同诊断GC。

综上所述,血清miR-135、miR-601、CA72-4及CA19-9的表达水平在GC患者中显著上调,与GC的发生呈正相关,且四个指标联合诊断GC的灵敏度、特异性以及准确度更高,对临床早期诊断GC有着较高的参考价值。

## 参考文献

- [1] 许欢,李科,梁颖茹,等. 2004-2016年广州市胃癌流行情况及发病趋势[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(11): 835-839.
- [2] 杨玲. 胃癌影像学检查的研究现状及进展[J]. 实用放射学杂志, 2018, 34(7): 1127-1129.
- [3] Zhang XZ, Mao HL, Zhang SJ, et al. lncRNA PCAT18 inhibits proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells through miR-135b suppression to promote CLDN11 expression[J]. Life Sci, 2020, 249(15): 478-482.
- [4] Du H, Wang X, Dong R, et al. miR-601 inhibits proliferation, migration and invasion of prostate cancer stem cells by targeting KRT5 to inactivate the Wnt signaling pathway [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(12): 4361-4379.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 胃癌规范化诊疗指南(试行) [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2013, 12(8): 56-63.
- [6] Li WT, Li Q, Wei LQ, et al. Rosmarinic acid analogue-11 induces apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells via the epidermal growth factor receptor (EGFR) / Akt / Nuclear factor kappa B (NF-κB) pathway. [J]. Med Sci Monit Basic Res, 2019, 25(1): 63-75.
- [7] Yin LK, Xu GX, Zhu YT, et al. Expression of miR-23a and miR-135 and tumor markers in gastric cancer patients and the significance in diagnosis [J]. Oncol Lett, 2019, 18(6): 5853-5858.
- [8] Min C, Zhang A, Qin J. Increased expression of miR-601 is associated with poor prognosis and tumor progression of gastric cancer[J]. Diagn Pathol, 2019, 14(1): 107-113.
- [9] 韩莹波,崔丹,董红梅,等. 血清MG-Ag、CEA、CA19-9和CA72-4联合检测对胃癌的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(3): 426-427.
- [10] 相绿竹,王晔,陈文,等. miR-182-5p调节细胞自噬促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5): 596-600+638.
- [11] Zhou J, Chen Q. Poor expression of microRNA-135b results in the inhibition of cisplatin resistance and proliferation and induces the apoptosis of gastric cancer cells through MST1-mediated MAPK signaling pathway[J]. FASEB J, 2018, 33(3): 3420-3436.
- [12] 田雯,陈珑,马艳华,等. 血清miR-135及miR-601在胃癌患者中的表达及其诊断价值[J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(8): 593-598.
- [13] 董晓微,崔学强,张俊华,等. 血清肿瘤标志物CA19-9、CA72-4、CEA、PG I联合检测对胃癌的诊断及预后价值分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(17): 2185-2188.
- [14] 江冬莲,曹仕琼,江燕莉,等. 华蟾素胶囊联合XELOX方案治疗晚期胃癌临床疗效及对患者免疫状态和血清CEA、CA19-9、MMP-14水平的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2018, 26(9): 778-782.
- [15] 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.
- [16] 秦瑞峰,张佳,霍浩然,等. 腹腔镜胃癌切除术后检测血清CA19-9、CA72-4、CEA、PG I的临床意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2019, 22(12): 987-989.
- [17] 杨丽萍,田家强. 肿瘤标志物CA19-9、AFP、CEA及CA72-4联合诊断老年消化系统恶性肿瘤的价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(16): 2026-2029.

## $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C对原发性老年高血压肾损伤的预测价值

周敏\* 薛文翠 马玮龙 李霞 于红蕾

**【摘要】目的** 分析 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C对原发性老年高血压肾损伤的预测价值研究。**方法** 选取2017年1月至2020年1月本院接收的90例原发性老年高血压患者临床资料,为研究组,根据是否合并肾损伤分为两组,将合并肾损伤者设为A组( $n=52$ )例,将未合并肾损伤者设为B组( $n=38$ )例;同时选取64例同期健康体检人群作为对照组。对比不同人群 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平;采用多元Logistic回归分析影响原发性老年高血压合并肾损伤的独立危险因素;应用ROC曲线分析 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C对原发性老年高血压合并肾损伤的预测价值。**结果** 研究组患者 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );A组患者 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平高于B组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );通过Logistic回归模型分析影响原发性老年高血压合并肾损伤的相关因素,得出:收缩压、舒张压、 $\beta$ 2-MG、UACR、Cys-C、血脂异常为影响原发性老年高血压合并肾损伤的单因素( $P<0.05$ ),进一步分析发现舒张压异常、收缩压异常、 $\beta$ 2-MG、UACR、Cys-C异常升高为影响原发性老年高血压合并肾损伤的独立危险因素( $P<0.05$ ); $\beta$ 2-MG、UACR、Cys-C及三者联合约登指数分别为0.626、0.638、0.624、0.788; $\beta$ 2-MG、UACR、Cys-C及三者联合曲线下面积分别为0.699、0.821、0.712、0.923,各指标曲线下面积以联合检测最大。**结论**  $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平异常是影响原发性老年高血压合并肾损伤的独立危险因素,联合指标检测对评估患者病情有重要价值。

**【关键词】** 原发性老年高血压;肾损伤; $\beta$ 2-MG;UACR;Cys-C

### Predictive value of $\beta$ 2-MG, UACR and Cys-C on renal damage of patients with senile primary hypertension

ZHOU Min\*, XUE Wencui, MA Weilong, LI Xia, YU Honglei

(Department of Geriatrics, Qinhuangdao Military Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

**【ABSTRACT】Objective** To analyze the predictive value of  $\beta$ 2-MG, UACR and Cys-C on renal damage of patients with senile primary hypertension. **Methods** The clinical data of 90 patients with senile primary hypertension treated in our hospital from January 2017 to January 2020 were selected and were set as the research group. They were divided into two groups according to whether they had kidney injury or not. Those with renal injury were set as group A ( $n=52$ ), and those without renal injury were set as group B ( $n=38$ ). At the same time, 64 cases with healthy physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of  $\beta$ 2-MG, UACR and Cys-C in different people were compared. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the independent risk factors affecting senile primary hypertension combined with renal injury. The ROC curve was used to analyze the predictive value of  $\beta$ 2-MG, UACR and Cys-C for senile primary hypertension combined with renal injury. **Results** The levels of  $\beta$ 2-MG, UACR, and Cys-C in the research group were higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The levels of  $\beta$ 2-MG, UACR and Cys-C in group A were higher than those in group B, difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The logistic regression model is used to analyze the related factors that affect primary elderly hypertension with renal

基金项目:秦皇岛市科学技术研究与发展计划(201805A105)

作者单位:秦皇岛军工医院老年病科,河北,秦皇岛 066000

\*通信作者:周敏, E-mail:s9xlnp@163.com

injury, and it is concluded that systolic blood pressure, diastolic blood pressure,  $\beta$ 2-MG, UACR, Cys-C, and dyslipidemia were the single factors that affect senile primary hypertension combined with renal injury ( $P < 0.05$ ). Further analysis revealed that abnormal diastolic blood pressure, abnormal systolic blood pressure, abnormal increasing of  $\beta$ 2-MG, UACR, and Cys-C were independent risk factors affecting senile primary hypertension combined with renal injury ( $P < 0.05$ ). The Youden Index of  $\beta$ 2-MG, UACR, Cys-C and the combination of them were 0.626, 0.638, 0.624, and 0.788, respectively. The area under the curve of  $\beta$ 2-MG, UACR, Cys-C and the three combined curves were 0.699, 0.821, 0.712, 0.923, respectively, and the area under the combined curve was the highest. **Conclusion** Abnormal levels of  $\beta$ 2-MG, UACR, and Cys-C are independent risk factors that affect senile primary hypertension combined with renal injury. The detection of combined indicators is of great value in evaluating the patient's condition.

**[KEY WORDS]** Senile primary hypertension; Renal injury;  $\beta$ 2-MG; UACR; Cys-C

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,是最常见的心血管疾病。高血压可分为原发性和继发性两种,其中,原发性高血压占95%以上<sup>[1]</sup>。据统计,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<sup>[2]</sup>。 $\beta$ 2-微球蛋白(beta 2-microglobulin,  $\beta$ 2-MG)是由人体有核细胞合成的低分子蛋白,由肾脏分解代谢,相关学者指出其水平与肾功能损害呈正相关;半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(cystatin-C, Cys-c)作为反映早期肾功能损害的敏感指标,对监测患者肾功能情况具有重要作用<sup>[3]</sup>。而尿微量白蛋白/尿肌酐比值(urinary microalbumin/creatinine ratio, UACR)作为临床上准确可观反应肾功能损伤情况的指标,具有相对恒定、重复性高的优势,在临床广泛应用<sup>[4]</sup>。本研究就 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C检测在原发性老年高血压患者中的水平及其对肾损伤的预测价值研究,旨在为临床治疗提供思路,现报道如下。

## 1 一般资料

### 1.1 资料与方法

选取2017年1月至2020年1月本院接收的90例原发性老年高血压患者作为研究组,其中男46例,女44例,平均年龄(71.41 $\pm$ 3.71)岁。同时,根据是否合并肾损伤分为两组,将合并肾损伤者设为A组( $n=52$ )例,将未合并肾损伤者设为B组( $n=38$ )例。纳入标准:①年龄 $\geq 60$ 岁;②患者临床表现及实验室相关检查符合高血压合并肾损伤诊断标准<sup>[5]</sup>;③临床资料完整者;④研究均经医学伦理委员会批准,受试者签署知情同意书。排除标准:①继发性高血压、糖尿病、自身免疫性疾病等患者;②合并肝肾功能严重不全及恶性肿瘤疾病者;③合并痴呆

等精神疾患无法配合本研究开展者。另选取64例同期健康体检的人群作为对照组,男31例,女33例,平均年龄(71.69 $\pm$ 3.75)岁。各组基线资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 $\beta$ 2-MG及Cys-C检测

采用免疫比浊法,入院24 h内对所有受检者进行静脉抽血4 mL,将抽取的血样放置不含抗凝剂的试管内,于常温下静置30 min,然后进行15 min、1 000 r/min的离心操作,取血清,于-20 $^{\circ}$ C下保存等待检测。试剂盒由宁波美康生物科技有限公司提供,具体操作严格按照说明书执行。

#### 1.2.2 UACR检测方法

留取所有受检者入院后次日清晨尿液,用散射比浊法检测尿微量白蛋白,用酶促动力法检测尿肌酐,计算UACR值。

### 1.3 观察指标

所有患者入院后均给予对症支持治疗,包括降压、利尿等。对比各组 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平;采用多元Logistic回归分析影响原发性老年高血压合并肾损伤的独立危险因素;采用ROC曲线分析 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平对原发性老年高血压合并肾损伤的预测价值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )描述,行 $t$ 检验;采用多元Logistic回归分析影响原发性老年高血压合并肾损伤的独立危险因素;采用ROC曲线分析 $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平对原发性老年高血压合并肾损伤的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 β2-MG、UACR 及 Cys-C 水平比较

研究组患者 β2-MG、UACR 及 Cys-C 水平高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组 β2-MG、UACR 及 Cys-C 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of β 2-mg, UACR and Cys-C levels between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	β2-MG(mg/L)	UACR(μg/mg)	Cys-C(mg/L)
研究组	90	3.49±0.27	60.72±28.15	3.64±0.28
对照组	64	0.87±0.09	24.12±9.24	0.81±0.12
t 值	-	74.104	10.016	75.991
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 A 组与 B 组患者 β2-MG、UACR 及 Cys-C 水平比较

A 组患者 β2-MG、UACR 及 Cys-C 水平高于 B 组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 A、B 组患者 β2-MG、UACR 及 Cys-C 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of β 2-mg, UACR and Cys-C levels between group A and B group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	β2-MG(mg/L)	UACR(μg/mg)	Cys-C(mg/L)
A 组	52	5.16±0.91	61.72±28.64	5.14±0.84
B 组	38	2.08±0.09	26.26±7.34	2.03±0.21
t 值	-	20.758	7.445	22.288
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 影响原发性老年高血压合并肾损伤的危险因素分析

通过 Logistic 回归模型分析得出:舒张压异常、收缩压异常、β2-MG、UACR、Cys-C 异常升高为影响原发性老年高血压合并肾损伤的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表3。

### 2.4 β2-MG、UACR、Cys-C 水平对原发性老年高血压合并肾损伤的预测价值

ROC 曲线显示:β2-MG、UACR、Cys-C 及三者联合约登指数分别为 0.626、0.638、0.624、0.788;β2-MG 下面积为 0.699,UACR 下面积为 0.821,Cys-C 下面

积为 0.712,β2-MG、UACR 及 Cys-C 联合曲线下面积为 0.923,以联合检测下面积值最大。见表4、图1。

表4 β2-MG、UACR、Cys-C 水平对原发性老年高血压合并肾损伤的预测价值

Table 4 The predictive value of β 2-mg, UACR and Cys-C levels on renal injury in elderly patients with essential hypertension

预测因子	最佳临界值	敏感度	特异度	Z 值	AUC	95%CI
β2-MG	28.96	0.864	0.762	0.626	0.699	0.522~0.875
UACR	30.25	0.871	0.767	0.638	0.821	0.697~0.944
Cys-C	35.40	0.893	0.731	0.624	0.712	0.537~0.886
三者联合	39.14	0.975	0.813	0.788	0.923	0.843~1.000
预测指数模型	1.85	0.834	0.743	0.577	0.884	0.764~1.000

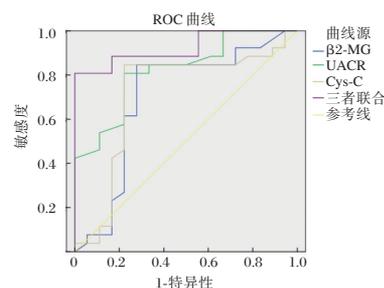


图1 β2-MG、UACR、Cys-C 水平对原发性老年高血压合并肾损伤的预测价值

Figure 1 The predictive value of β 2-mg, UACR and Cys-C levels on renal injury in elderly patients with essential hypertension

## 3 讨论

近年来,随着生活水平的不断提升及老龄化进程的加快,原发性老年高血压的发病率显著升高<sup>[6]</sup>。相关研究表明,老年人高血压患者血压波动较大,易导致肾脏高、低灌注水平反复出现,诱发严重肾脏损害,甚至出现肾功能不全,引发尿毒症,造成不可逆转的危险<sup>[7]</sup>。因此寻求正确判断病情严重程度、评估患者预后成为临床研究者关注重点<sup>[8]</sup>。

表3 影响原发性老年高血压合并肾损伤的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors of renal injury in elderly patients with essential hypertension

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	-	-	-
冠心病(有 vs 无)	1.658	0.892~3.081	0.644	-	-	-
收缩压(正常 vs 异常)	1.791	1.325~1.616	0.019	1.857	1.257~1.754	0.041
舒张压(正常 vs 异常)	1.716	1.236~1.497	0.010	1.598	1.364~1.885	0.023
血脂异常(有 vs 无)	1.765	1.212~1.535	0.015	1.685	0.268~1.779	0.538
β2-MG(异常升高 vs 正常)	1.831	1.644~1.972	0.016	1.6369	1.365~1.784	0.035
UACR(异常升高 vs 正常)	1.586	1.357~1.867	0.022	1.754	1.452~1.885	0.008
Cys-C(异常升高 vs 正常)	1.658	1.587~1.575	0.004	1.658	1.369~1.789	0.017

Cys-C是一种低分子多肽链,其在血清浓度中生成的速度不受饮食、炎症、疾病等影响,经肾小球滤过,是临床中对肾小球滤过情况反映的有效指标<sup>[9]</sup>。近年来,较多学者发现Cys-C较肌酐更早的发现肾小球滤过的衰减,对反映肾小球滤过率具有更高的特异及敏感性<sup>[10]</sup>。相关学者对高血压患者进行研究,发现高血压肾损害的人群Cys-C水平表达显著高于高血压肾脏未影响及正常人群<sup>[11]</sup>。李晓杰等<sup>[12]</sup>对高血压肾脏损害的人群研究发现,Cys-C水平与疾病严重程度呈正相关。本研究结果进一步证明Cys-C水平变化与原发老年高血压合并肾损伤密切相关,可作为评估肾损害的有效指标。

$\beta$ 2-MG由淋巴细胞和有核细胞分泌,属于小分子蛋白,可自由通过肾小球滤过膜,在近曲肾小管中重吸收降解为氨基酸<sup>[13]</sup>。 $\beta$ 2-MG在健康人血清中浓度极低,当出现肾脏损害,排除烧伤、炎症等情况后,其水平可在数小时在血浆中迅速升高<sup>[14]</sup>。既往临床对高血压肾病患者研究发现,当肾功能损害越严重, $\beta$ 2-MG水平阳性检出率越高,提示其水平检测对肾功能损害患者具有重要意义<sup>[15]</sup>。本研究显示, $\beta$ 2-MG水平在高血压合并肾损害患者的患者明显升高,考虑其原因与肾小球滤过膜上硫酸乙酰素合成减少,肾小球滤过膜电荷选择性屏障受损有关。

UACR是临床上早期检测肾功能损害的有效指标。其中,尿微量白蛋白是临床预测糖尿病、高血压、心血管疾病、血管损伤的敏感标志。国际上也认为,尿微量白蛋白排出量增加与疾病早期改变密切相关,对疾病的早期诊治具有重要参考价值<sup>[16]</sup>。而尿肌酐作为早期反应肾功能损伤的内源性标志,可在临床蛋白尿出现前升高。但大量研究发现,单独检测尿微量白蛋白及尿肌酐易受感染、血压、运动等影响<sup>[17]</sup>。

综上所述, $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平在原发老年高血压中呈异常状态; $\beta$ 2-MG、UACR及Cys-C水平异常是影响原发老年高血压合并肾损伤的独立危险因素,联合指标检测对评估患者病情有重要价值。

## 参考文献

- [1] 崔秀卿,邢金梅,赵秋兰,等.老年原发性高血压患者血浆 $\beta$ 2微球蛋白、踝肱指数与血压变异性的相关性研究[J].临床误诊误治,2019,34(7):44-48.
- [2] 王焱,仰大贵,杨令芝.乳腺癌组织SPRY4-IT1表达水平及其对患者远期生存的预测价值[J].华中科技大学学报(医学版),2019,21(2):407-408.
- [3] Wang WT, Liang JH, Wang L, et al. The prognostic value of 25-hydroxy vitamin D deficiency and its interaction with c-Myc expression in diffuse large B cell lymphoma[J]. Ann Hematol, 2020, 12(2):274-276.
- [4] Uzun S, Korkmaz Y, Würdemann N, et al. HPV-status and its correlation to the expression of VEGFR2 in cancer cells and in blood vessels of OPSCC[J]. Laryngo Rhino Otologie, 2019, 98(S02):186-189.
- [5] 李敏侠,孙雪峰.高血压肾损害研究进展[J].临床内科杂志,2016,32(5):293-295.
- [6] 孙敏英,利耀辉,刘览,等.神经前体细胞表达发育调控样蛋白4基因多态性与广州市居民原发性高血压及其危险因素关联研究[J].分子诊断与治疗杂志,2017,9(3):154-159.
- [7] Yatong W, Xinhong HU, Lijuan L, et al. The Relationship between Serum miRNA-21 and Clinicopathological Features of Renal Cell Carcinoma and Its Predictive Value for Postoperative Recurrence[J]. Practical J Cancer, 2019,13(3):416-418.
- [8] Bo W, Guang-Hua H, Department CM. Expression of soluble vascular adhesion protein-1 in peripheral blood of patients with essential hypertension and its clinical significance [J]. clin Res Pract, 2019, 10(2):264-267.
- [9] Sun PB, Kong Y, Liu RZ, et al. Expression of GRIM-19 and COX-2 in Human Non-small Cell Lung Cancer and its Clinical Significance [J]. World Latest Med Inf, 2019, 18(3):404-408.
- [10] 徐丽文,梁啞迪.贝那普利抗氧化作用对糖尿病合并高血压患者血管内皮细胞生长因子和NF- $\kappa$ B的表达的影响[J].医学分子生物学杂志,2019,16(3):269-272.
- [11] Vorsprach M, Arens C, Knipping S, et al. Expression of COX-1, COX-2, 5-LOX and  $\beta$ 2-MG in nasal polyps and bronchial tissue of patients with aspirin exacerbated airway disease [J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2019, 15(1):310-313.
- [12] 李晓杰.益气养阴汤对妊娠期高血压患者血清Hcy、Cys-C水平及妊娠结局的影响[J].中国中医药现代远程教育,2019,16(3):144-146.
- [13] 李武昌.阿托伐他汀联合氨氯地平治疗高血压合并冠心病的临床效果研究[J].保健医学研究与实践,2017,14(6):62-64.
- [14] Shichijo S, Okura T, Nagao T, et al. Abstract P1119: Serum Gdf-15 is a Determinant Factor of Renal Vascular Resistance in Patients With Essential Hypertension [J]. Hypertension, 2019, 74(Suppl\_1):578-579.
- [15] Hitsumoto T. Correlation Between the Cardio-Ankle Vascular Index and Renal Resistive Index in Patients With Essential Hypertension[J]. Cardiol Res, 2020, 11(2):106-112.
- [16] Chenghua S. Application of Dynamic Electrocardiogram and Dynamic Blood Pressure in Patients with Essential Hypertension and Renal Hypertension [J]. Chin Forgn Med Res, 2019, 22(5):167-169.
- [17] Wang RR, He M, Ou XF, et al. The predictive value of RDW in AKI and mortality in patients with traumatic brain injury[J]. J Clin Laborat Analys, 2020, 34(10):342-346.

## 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

白兴合<sup>1\*</sup> 代玉川<sup>1</sup> 刘平<sup>2</sup> 王艳玲<sup>3</sup> 王磊<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 分析慢性心力衰竭(CHF)合并糖尿病患者血浆脑钠肽(BNP)、C-反应蛋白(CRP)和糖化血红蛋白(HbA1c)的表达及与心功能分级的相关性。方法 选取本院2019年4月至2020年10月收治且经临床确诊的144例CHF合并糖尿病患者作为研究组,心功能分级:Ⅱ级48例,Ⅲ级60例,Ⅳ级36例。同期纳入90例本院门诊健康体检者作为对照组。比较不同组别血浆BNP、CRP和HbA1c水平,并分析上述因子水平与CHF合并糖尿病患者心功能的相关性。结果 研究组血浆BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI显著高于对照组,LVEF显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Ⅱ级组、Ⅲ级组、Ⅳ级组血浆BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI均显著高于对照组,LVEF显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。随着心功能下降,血浆BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI逐渐上升,LVEF逐渐下降( $P<0.05$ );BNP、CRP、HbA1c与LVEDVI呈显著正相关,与LVEF呈显著负相关,与心功能分级呈显著正相关( $P<0.05$ )。结论 CHF合并糖尿病患者的血浆BNP、CRP、HbA1c水平均明显上升,且与其心功能分级具有一定相关性,通过检测上述因子水平可有效评估患者心功能。

**[关键词]** 慢性心力衰竭合并糖尿病;血浆脑钠肽;C-反应蛋白;糖化血红蛋白;心功能

### Expression of plasma BNP, CRP and HbA1c in patients with chronic heart failure combined with diabetes and its correlation with classification of cardiac function

BAI Xinghe<sup>1\*</sup>, DAI Yuchuan<sup>1</sup>, LIU Ping<sup>2</sup>, WANG Yanling<sup>3</sup>, WANG Lei<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining, Shandong, China, 272029; 2. Department of Medical Imaging, Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining, Shandong, China, 272029; 3. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining, Shandong, China, 272029)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression of plasma brain natriuretic peptide (BNP), C-reactive protein (CRP) and HaemoglobinA1c (HbA1c) in patients with chronic heart failure (CHF) combined with diabetes and its correlation with classification of cardiac function. **Methods** 144 patients with CHF and diabetes who were admitted to this hospital from April 2019 to October 2020 and were diagnosed by the clinic were selected as the research objects and included in the study group. The cardiac function classification is as follows: 48 cases in grade II, 60 cases in grade III, 36 cases in grade IV. In the same period, 90 cases with healthy physical examination in the outpatient department of this hospital were included as the control group. The levels of BNP, CRP and HbA1c in different groups were compared, and the correlation between the levels of these factors and the cardiac function of patients with CHF and diabetes was analyzed. **Results** The levels of plasma BNP, CRP, HbA1c and LVEDVI in the study group were significantly higher than those in the

基金项目:山东省重点研发计划项目(2019GSF118251)

作者单位:1. 济宁医学院附属医院内科,山东,济宁 272029

2. 济宁医学院附属医院医学影像科,山东,济宁 272029

3. 济宁医学院附属医院神经内科,山东,济宁 272029

\*通信作者:白兴合, E-mail: qllboanx7anw6@163.com

control group, and the LVEF was significantly lower than that in the control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of BNP, CRP, HbA1c and LVEDVI in the grade II, III and IV groups were significantly higher than those in the control group, and the LVEF was significantly lower than that in the control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). With the declining of heart function, plasma BNP, CRP, HbA1c levels and LVEDVI gradually increased, and LVEF gradually decreased ( $P<0.05$ ). BNP, CRP, HbA1c were positively correlated with LVEDVI, negatively correlated with LVEF, and positively correlated with classification of cardiac function ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The levels of plasma BNP, CRP, and HbA1c in patients with CHF and diabetes mellitus have been significantly increased, and have a certain correlation with their cardiac function classification. The detection of the levels of the above factors can effectively assess the cardiac function of patients.

**[KEY WORDS]** Chronic heart failure with diabetes; Plasma brain natriuretic peptide; C-reactive protein; HaemoglobinA1c; Cardiac function

心力衰竭是各种心脏疾病导致心功能不全的一种综合征,以呼吸困难、疲乏以及肺淤血与体循环淤血为主要临床表现<sup>[1]</sup>。根据心力衰竭起病及病情发展可分为急性心力衰竭和慢性心力衰竭。慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)多好发于老年患者,死亡率呈上升趋势<sup>[2]</sup>。既往研究显示糖尿病是发生CHF的独立危险因素,糖尿病患者中CHF伴发率高发10%以上,使患者病死率、致残率增高<sup>[3-4]</sup>。糖尿病可通过代谢、血流动力学等因素导致机体交感神经功能障碍,进一步引起一氧化氮的生物利用度下降、蛋白激酶C $\beta$ 表达上升,且与糖尿病高血糖及胰岛素抵抗的损伤叠加,最终导致内皮功能严重受损,心肌血供减少,逐步形成CHF<sup>[5]</sup>。本组研究拟通过观察CHF合并糖尿病患者血浆脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和糖化血红蛋白(HaemoglobinA1c, HbA1c)水平与其心功能的关系,探讨上述因子在CHF合并糖尿病的危险分层及预后评估中的价值。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院2019年4月至2020年10月收治且经临床确诊的CHF合并糖尿病患者作为研究对象。纳入标准:①均为CHF合并糖尿病患者,符合CHF、糖尿病诊断标准<sup>[6]</sup>;②心功能NYHA分级II~IV级;③临床资料完整,无缺损或丢失;④患者均自愿参与本次研究,且签署知情同意书。排除标准:①急性心功能不全;②近期参加过其他临床试验者;③妊娠期孕妇或哺乳期产妇;④电解质紊乱;⑤合并心源性休克、严重心律失常、

II度II型以上的房室传导阻滞。共纳入144例CHF合并糖尿病患者作为研究组,心功能分级:II级48例,III级60例,IV级36例。同期纳入90例本院门诊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( $P>0.05$ ),具有可比性。见表1。

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

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

组别	$n$	性别 (男/女)	年龄 (岁)	体重指数 ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	吸烟史
对照组	90	46/44	61.07 $\pm$ 7.41	21.56 $\pm$ 3.28	40(44.44)
研究组	144	80/64	60.44 $\pm$ 6.03	21.62 $\pm$ 3.24	68(47.22)
$\chi^2/t$ 值		0.440	0.711	0.137	0.172
$P$ 值		0.507	0.478	0.891	0.678

### 1.2 方法

#### 1.2.1 血浆BNP、CRP和HbA1c水平检测

所有受检者正常饮食,每天碳水化合物保持不低于250g。采血前禁食12h,于次日清晨空腹抽取5mL静脉血,分离血浆,低温保存。采用双抗夹心免疫酶法检测血浆BNP,试剂盒由美国贝克曼库尔特提供,检测仪器:DXI800美国贝克曼库尔特全自动免疫分析仪。采用透射法检测CRP,试剂盒由瑞士罗氏公司提供,检测仪器:瑞士罗氏COBAS8000全自动生化分析仪。采用离子交换层析法检测HbA1c,检测仪器日本爱科来HA-8180全自动糖化血红蛋白分析仪及其配套试剂盒。具体操作严格按照说明书执行。

#### 1.2.2 心功能指标检测

心功能指标检测使用二维超声行床旁检查,取胸骨旁左心室长轴切面,测量左室舒张末期前后径(Left ventricular end diastolic diameter,

LVEDd)、室间隔厚度(Interventricular septum, IVS)及左室后壁厚度(Left ventricular posterior wall, LVPW);经心尖四腔切面,采用二维双平面面积长度测定法,测定左心室收缩末期容积(Left ventricular end systolic volume, LVESV)、左心室舒张末期容积(Left ventricular end diastolic volume, LVEDV);计算左心室舒张末期容积指数(Left ventricular end diastolic volume index, LVEDVI)和射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)。

### 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,两组比较采用 $t$ 检验,多组比较采用方差分析;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;相关性采用Spearman相关性分析法,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI、LVEF比较

研究组血浆BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI显著高于对照组,LVEF显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 两组BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI、LVEF比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of BNP, CRP and HbA1c levels, LVEDVI and LVEF between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	BNP(ng/L)	CRP(mg/L)	HbA1c(%)	LVEDVI(mL/m <sup>2</sup> )	LVEF(%)
对照组	90	63.54±25.11	1.74±0.52	6.74±1.81	32.54±11.36	62.18±3.66
研究组	144	426.31±37.58	11.26±2.04	8.65±1.62	74.29±13.64	44.63±2.95
<i>t</i> 值		80.947	43.368	8.384	24.249	40.301
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 对照组与不同NYHA心功能分级患者间BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI、LVEF比较

Ⅱ级组、Ⅲ级组、Ⅳ级组血浆BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI均显著高于对照组,LVEF

显著低于对照组,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。随着心功能下降,血浆BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI逐渐上升,LVEF逐渐下降,组间两两比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 对照组与不同NYHA心功能分级患者间BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI、LVEF比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of BNP, CRP and HbA1c levels, LVEDVI and LVEF between the control group and patients with different NYHA cardiac function grades ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	BNP(ng/L)	CRP(mg/L)	HbA1c(%)	LVEDVI(mL/m <sup>2</sup> )	LVEF(%)
对照组	90	63.54±25.11	1.74±0.52	6.74±1.81	32.54±11.36	62.18±3.66
Ⅱ级组	48	486.54±46.05	5.44±1.63	8.74±3.12	67.52±25.41	46.45±2.32
Ⅲ级组	60	997.01±46.09	12.43±2.65	10.75±2.84	76.23±29.78	42.63±2.75
Ⅳ级组	36	1201.33±141.42	17.26±5.84	13.36±3.43	88.25±27.56	35.11±3.96
<i>F</i> 值		3805.73	352.29	61.92	73.06	791.28
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 BNP、CRP及HbA1c水平与LVEDVI、LVEF的相关性

BNP、CRP、HbA1c与LVEDVI呈显著正相关,与LVEF呈显著负相关( $P < 0.05$ ),见表4和图1。

表4 BNP、CRP及HbA1c水平与LVEDVI、LVEF的相关性

Table 4 Correlation between BNP, CRP and HbA1c levels and LVEDVI and LVEF

心功能指标	BNP		CRP		HbA1c	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
LVEDVI	0.576	0.012	0.606	0.006	0.467	0.023
LVEF	-0.753	0.005	-0.823	0.019	-0.771	0.016

### 2.4 BNP、CRP及HbA1c水平与心功能分级的相关性

经相关分析表明,BNP、CRP及HbA1c水平与心功能分级呈正相关( $r=0.814, P=0.002$ )。

## 3 讨论

CHF是一种以呼吸困难、乏力等为主要表现的复杂的临床综合征<sup>[7]</sup>。CHF是由于原发性心肌损害(如冠心病、心肌病、心肌炎、心肌代谢障碍性疾病),心脏负荷过重所引起的。糖尿病患者发生心衰的原因包括糖尿病心肌病、心肌缺血及冠状动脉疾病等<sup>[8]</sup>。心衰是多种心血管疾病的终末期

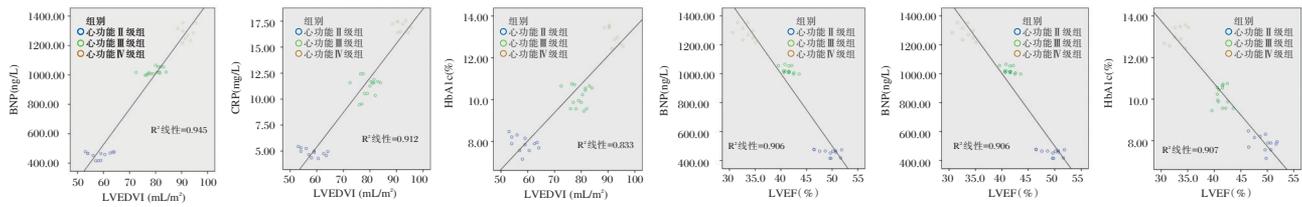


表2 两组BNP、CRP、HbA1c水平及LVEDVI、LVEF比较

Table 2 Comparison of BNP, CRP and HbA1c levels, LVEDVI and LVEF between the two groups

阶段,对患者的生活质量造成严重影响,且病死率高<sup>[9]</sup>。心衰早期多无特异性征兆,早期预防、控制危险因素发展至心脏病的过程至关重要。

BNP主要由心室心肌细胞合成和分泌,为心脏利钠肽的一种,可抑制血管紧张素分泌,利钠、利尿,舒张血管平滑肌,扩张血管,因此心室存在负荷过重或心肌缺血时BNP分泌增多,从而引起其生理活性的表达增强<sup>[10-11]</sup>。Osteresch等<sup>[12]</sup>研究发现,在心力衰竭时BNP水平会显著上升,这是由于心力衰竭的发生影响心室负荷,进而发生改变,BNP会以脉冲方式释放入血。Lazareva等<sup>[13]</sup>报道证实,CHF合并糖尿病患者治疗后BNP水平会显著降低,可见随着心功能的改善,BNP分泌会显著减少。

炎症反应在CRP的发病机制中具有重要作用,CRP是一种能在Ca<sup>+</sup>存在时与肺炎链球菌的荚膜C多糖结合的蛋白质,具有促进吞噬、调理免疫及激活补体的作用<sup>[14]</sup>。在炎症反应过程中由白细胞介素-6等细胞因子介导由肝脏产生,具有特定的病理生理作用。Klimczak等<sup>[15]</sup>研究发现,CRP在冠心病、动脉粥样硬化、心力衰竭、糖尿病及心肌梗死等疾病患者的血循环中均有升高。Sun等<sup>[16]</sup>报道显示,CRP是冠心病、原发性高血压、动脉硬化、糖尿病及并发症等的危险因素,且其水平与心力衰竭的严重程度呈正相关,多元回归分析显示CRP升高是CHF患者临床终点时间发生的独立预测因子,并且能提供心力衰竭危险分层。

HbA1c是血液葡萄糖通过非酶作用,经细胞膜和红细胞内血红蛋白-缬氨酸结合形成的产物,可通过改变红细胞对氧的亲合力,使组织与细胞缺氧。国外报道发现,HbA1c水平的升高,加重了心脏微血管病变和心肌代谢紊乱,可引起心肌广泛灶性坏死等损害,易出现心衰、心律失常;可以引起血液黏度增高,HbA1c与血压及胆固醇水平等因素一样,可以作为预测心血管疾病的指标<sup>[17]</sup>。表明BNP、CRP、HbA1c水平与糖尿病合并CHF患者心功能状

态有良好的相关性,可作为反应糖尿病合并CHF心功能状态的间接指标。

综上所述,CHF合并糖尿病患者的血浆BNP、CRP、HbA1c水平均明显上升,且与其心功能分级具有一定相关性,通过检测上述因子水平可有效评估患者心功能。

### 参考文献

- [1] 刘松年, 伍星, 荆凌华. HCY与2型糖尿病合并冠心病患者心率变异性及心律失常的相关性研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5): 140-144.
- [2] Watanabe K, Miyabe R, Fujisawa T, et al. Utility of SGLT2 Inhibitors in Patients with Chronic Heart Failure with Diabetes Mellitus[J]. J Card Fail, 2017, 23(10):S67.
- [3] 周文秀, 刘芳, 杨俊. 炎症反应和交感神经系统在慢性心力衰竭大鼠中枢调控中的相互作用[J]. 解放军医药杂志, 2017, 29(1):31-34.
- [4] Abe K, Yano T, Katano S, et al. Utility of the sarcopenia index for assessment of muscle mass and nutritional status in patients with chronic heart failure: Comparison with anthropometric parameters[J]. Geriatr Gerontol Int, 2020, 32(12):67-71.
- [5] Fukuoka S, Dohi K, Ishiyama M, et al. P5007 Acute natriuretic activity of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor in heart failure patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Eur Heart J, 2019, 14(1):1-4.
- [6] Imazu M, Fukuda H, Kanzaki H, et al. Plasma indoxyl sulfate levels predict cardiovascular events in patients with mild chronic heart failure[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):16528.
- [7] Cosmi F, Shen L, Magnoli M, et al. Treatment with insulin is associated with worse outcome in patients with chronic heart failure and diabetes[J]. Eur J heart failure, 2018, 20(5):888.
- [8] 李聪伟, 李倩, 郭兰, 等. 芦丁对1型糖尿病小鼠肝功能及肝组织形态学的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2018, 49(3):71-74.
- [9] Gilles B, Nicolas V, Malha S, et al. Effects of a cardiac rehabilitation programme on plasma cardiac biomarkers in patients with chronic heart failure[J]. Eur J Prev Cardiol, 2017, 13(4):53.

(下转第127页)

· 论 著 ·

## Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白在子宫内膜癌中的表达及预后价值

杨海霞\* 路易玲 黄骏

**[摘要]** **目的** 分析原癌基因细胞增殖核抗原 Ki-67 (Ki-67)、肿瘤相关长链非编码 RNA 5 (CARLo-5) 及雷帕霉素不敏感的 mTOR 伴侣蛋白 (Rictor) 在子宫内膜癌中的表达及对远期预后生存的影响。**方法** 分析 2014 年 1 月至 2015 年 1 月本院收治的 63 例子宫内膜癌患者标本组织 (为子宫内膜癌组) 及肿瘤旁 (距离癌组织 5cm 以上) 的正常组织 (为癌旁组织组)。比较 2 组 Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白的表达情况; 绘制 Kaplan-Meier 生存曲线研究 Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白对患者预后的影响, 并采用多元 Logistic 回归分析影响子宫内膜癌患者预后生存的危险因素。**结果** Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白在子宫内膜癌组织中阳性表达率均高于癌旁组织组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Kaplan-meier 生存曲线显示: Ki-67 阴性组平均生存时间较阳性组长, CARLo-5 阴性组平均生存时间较阳性组长, Rictor 蛋白阴性组平均生存时间较阳性组长, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。临床分期、组织分化程度、预后评分、Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白表达子宫内膜癌患者是影响子宫内膜癌患者预后的单因素 ( $P < 0.05$ ); 经非条件多因素 Logistic 回归模型分析可知, 低分化组织、预后评分  $\geq 7$  分、存在脉管瘤栓、肌层浸润  $\geq 1/2$  及 Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白高表达为影响子宫内膜癌患者预后死亡的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。**结论** Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白可作为预测子宫内膜癌患者远期预后的分子标志物和肿瘤治疗的潜在的靶点; 对合并高危因素者临床需采取有效措施进行干预, 以提高远期生存率。

**[关键词]** Ki-67; CARLo-5; Rictor 蛋白; 子宫内膜癌

### Expression and prognostic value of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein in endometrial carcinoma

YANG Haixia\*, LU Yiling, HUANG Jun

(Department of Gynecology, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression of proto-oncogene cell proliferation nuclear-associated antigen Ki-67 (Ki-67), cancer-associated region long noncoding RNAs 5 (CARLo-5) and rapamycin Insensitive Companion of mTOR (Rictor) in endometrial cancer and its influence on long-term prognostic survival. **Methods** The clinical data of 63 patients with endometrial cancer admitted to this hospital from January 2014 to January 2015 were analyzed, and the endometrial tumor tissue and the normal tissue adjacent to the tumor (more than 5 cm from the cancer tissue) were collected as the endometrial cancer group and the adjacent tissue group. The expression of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein in the two groups were compared. The survival and death of all patients during the follow-up period were recorded, Kaplan-Meier survival curve was drawn to study the effects of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein on the prognosis of patients, and multiple logistic regression analysis was used to analyze the risk factors affecting the prognostic survival of patients with endometrial cancer. **Results** ① The positive expression rates of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein in endometrial cancer tissue were higher than those in the adjacent tissue group, and the

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (2014020812)

作者单位: 郑州市第七人民医院妇科, 河南, 郑州 450000

\*通信作者: 杨海霞, E-mail: rongsai32328139@163.com

difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). ② After follow-up for 5 years, the survival rate of 63 endometrial patients was 55.56%, and the mortality rate was 44.44%. ③ The Kaplan-meier survival curve showed that the average survival time of the Ki-67 negative group was longer than that of the positive group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The average survival time of CARLo-5 negative group was longer than that of positive group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The average survival time of the Rictor protein negative group was longer than that of the positive group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). ④ The 5-year survival rate of patients with clinical stage III~IV, poorly differentiated tissue, prognostic score  $\geq 7$ , vascular tumor thrombus, myometrial invasion  $\geq 1/2$ , and high expression of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein significantly reduced. Clinical stage, degree of tissue differentiation, prognostic score, Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein expression are the single factors affecting the prognosis of patients with endometrial cancer ( $P<0.05$ ). The analysis of unconditional multivariate logistic regression model shows that poorly differentiated tissue, prognostic score  $\geq 7$ , presence of blood vessel invasion, myometrial infiltration  $\geq 1/2$ , and high expression of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein are independent risk factors that affect the prognostic death of endometrial cancer patients ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Ki-67, CARLo-5 and Rictor proteins can be used as molecular markers for predicting the long-term prognosis of endometrial cancer patients and potential targets for tumor treatment; effective measures are needed to intervene clinically for patients with high-risk factors to improve the long-term survival rate.

**[KEY WORDS]** Ki-67; CARLo-5; Rictor protein; Endometrial cancer

子宫内膜癌是发生于子宫内膜的一组上皮性恶性肿瘤,原癌基因激活、抑癌基因失活或突变、抗凋亡基因过度表达在本症的发生和发展中起着重要作用<sup>[1]</sup>。与其相关的原癌基因细胞增殖核抗原 Ki-67 (nuclear-associated antigen Ki-67, Ki-67)、肿瘤相关长链非编码 RNA 5 (cancer-associated region long non-coding RNA 5, CARLo-5) 及雷帕霉素不敏感的 mTOR 伴侣蛋白 (Rapamycin Insensitive Companion of mTOR, Rictor) 在肿瘤增殖、转移和侵袭等过程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。本研究 Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白在子宫内膜癌中的表达及对远期预后生存的影响进行分析,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2014 年 1 月至 2015 年 1 月本院收治的 63 例子宫内膜癌患者临床资料,平均年龄 ( $41.53 \pm 3.61$ ) 岁;根据国际妇产科联盟修订的手术病理分期<sup>[3]</sup>分为 I 期 10 例,II 期 19 例,III 期 21 例和 IV 期 13 例。纳入标准:①所有患者均病理学检查确诊<sup>[4]</sup>;②术前未开展化疗、放疗或性激素类治疗;③B 超及 CT 等影像学资料未见明显的转移灶;④临床资料完整且真实。排除标准:①手术禁忌症者;②子宫内膜转移性癌;③既往有恶性肿瘤病史。收集子宫内膜肿瘤组织及肿瘤旁(距离癌组

织 5 cm 以上)的正常组织,分别作为子宫内膜癌组和癌旁组织组。本研究已获得本院伦理委员会批准,所有患者均签订知情同意书。

### 1.2 观察指标

#### 1.2.1 主要试剂与仪器

兔抗人 DK2 抗体、兔抗人 CDKN1A 抗体购自美国 Proteintech 公司;羊抗兔荧光二抗购自美国 ROCKLAND 公司;野生型 Ki-67 抗体购自美国 abcam 公司;鼠抗人 Rictor 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司;免疫组化检测试剂盒、山羊抗小鼠二抗、DAB 显色试剂盒购自北京中衫金桥生物技术有限公司;光学显微镜 (BX41 型) 购自日本 PLYM-PUS 公司。所有组织标本均为常规石蜡包埋组织,制成厚 4  $\mu\text{m}$  的病理切片,行免疫组织化学染色,操作步骤严格按试剂盒说明进行<sup>[5]</sup>。

#### 1.2.2 结果判定

免疫组化结果由 2 位病理科主任医师评估,光学显微镜下每张切片随机观察 5 个高倍 ( $\times 200$ ) 视野,每个视野计数 200 个肿瘤细胞, Ki-67、CARLo-5 染色均定位于细胞核, Rictor 染色定位于细胞质或细胞膜,阳性表达均为棕黄色颗粒。依据切片中细胞染色强度和阳性细胞染色范围判定染色结果显微镜下双盲法阅片<sup>[6]</sup>,染色分为 0 分、1 分、2 分、3 分、4 分。染色强度评分:0 分(基本不着色),1 分(浅黄色),2 分(棕黄色),3 分(棕褐色);两者相乘最终得分:0 分为阴性,1~2 分为弱表达,3~4 分为中度表达,

5~6分为强表达,大于2分都认定为阳性表达。

### 1.3 随访方法

随访从患者术后开始,直至患者死亡或本研究的随访结束,为期5年,截止于2019年12月。患者的随访时间分布在20至60个月,平均随访时间为(46.71±5.93)个月。对患者随访的方式主要采用电话随访、微信随访及患者来院复查为主。在本研究中,总生存时间(Overall Survival, OS)表示患者从手术治死亡的时长。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行统计分析,计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用t检验;计数资料以n

(%)表示,行 $\chi^2$ 检验;以Kaplan-Meier生存曲线分析Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白对患者预后的影响,并采用多元Logistic回归分析影响子宫内癌患者预后生存的危险因素,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

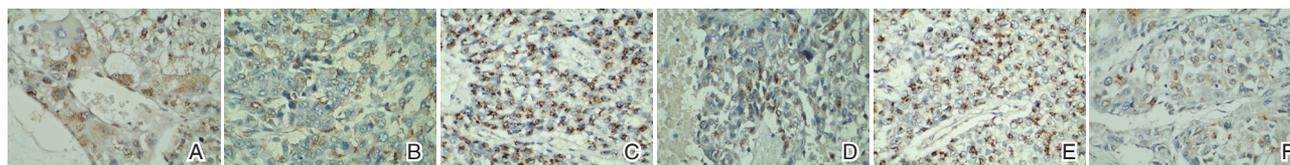
### 2.1 Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白在子宫内癌及癌旁组织的表达

Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白在子宫内癌组织中阳性表达率均高于癌旁组织组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1、图1。

表1 Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白在子宫内癌及癌旁组织的表达情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of the expression of KI-67, CARLo-5 and Rictor proteins in endometrial carcinoma and para-carcinoma tissues [n(%)]

组别	n	Ki-67		CARLo-5		Rictor蛋白	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
子宫内癌组织组	63	53(84.13)	10(15.87)	50(79.37)	13(20.63)	49(77.78)	14(22.22)
癌旁组织组	63	14(22.22)	49(77.78)	11(17.43)	52(82.54)	16(25.40)	47(74.60)
$\chi^2$ 值		48.481		48.334		34.606	
P值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A为Ki-67阳性表达;B为Ki-67阴性表达;C为CARLo-5阳性表达;D为CARLo-5阴性表达;E为Rictor阳性表达;F为Rictor阴性表达。

图1 Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白在子宫内癌组织的表达(SP, ×400)

Figure 1 Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein expression in endometrial cancer tissues (SP, ×400)

### 2.2 63例子宫内癌患者5年内预后生存情况

5年随访后,63例子宫内癌患者生存35例,死亡28例,生存率为55.56%,死亡率为44.44%。

### 2.3 Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白表达与子宫内癌远期预后生存的关系

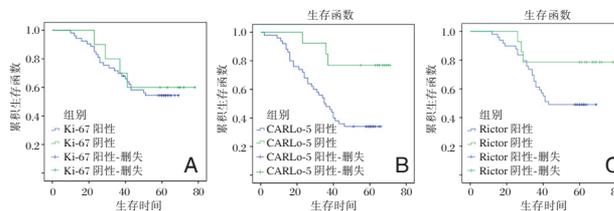
Ki-67、ARLo-5和Rictor蛋白阴性组中位生存时间均较阳性组长,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图2。

### 2.4 影响子宫内癌患者预后的单因素分析

临床分期、组织分化程度、预后评分、Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白表达子宫内癌患者是影响子宫内癌患者预后的单因素( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.5 影响子宫内癌患者预后的多因素分析

经非条件多因素Logistic回归模型分析可知,



注:A为不同Ki-67表达生存情况比较;B为不同CARLo-5表达生存情况比较;C为不同Rictor蛋白表达生存情况比较。

图2 Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白不同表达情况下Keplan-meier生存曲线图

Figure 2 Keplan-meier survival curve under different expressions of Ki-67, CARLo-5 and Rictor protein

低分化组织、预后评分 $\geq 7$ 分、存在脉管瘤栓、肌层浸润 $\geq 1/2$ 及Ki-67、CARLo-5及Rictor蛋白高表达为影响子宫内癌患者预后死亡的独立危险因素( $P < 0.05$ ),见表3。

表2 影响子宫内膜癌患者预后的单因素分析 [n(%)]

Table 2 Single factor analysis of prognosis of patients with endometrial cancer [n(%)]

临床特征	例数(n=63)	5年总生存(n=35)	5年总死亡(n=28)	$\chi^2$ 值	P值	
年龄(岁)	≥55	31	16(45.71)	15(53.57)	0.384	0.535
	<55	32	19(54.29)	13(46.43)		
病理类型	子宫内膜样内膜癌	30	18(51.43)	12(42.86)	0.458	0.498
	浆乳癌或透明细胞癌	33	17(48.57)	16(57.14)		
临床分期	I期~II期	25	19(54.29)	6(21.43)	7.016	0.008
	III~IV期	38	16(45.71)	22(78.57)		
组织分化程度	高中分化	29	25(71.43)	4(14.29)	20.446	<0.001
	低分化	34	10(28.57)	24(85.71)		
预后评分(分)	≥7	24	5(14.29)	19(67.86)	18.930	<0.001
	<7	39	30(85.71)	9(32.14)		
脉管瘤栓	有	20	5(14.29)	15(53.57)	11.080	<0.001
	无	43	30(85.71)	13(46.43)		
肌层浸润	<1/2	21	16(45.71)	5(17.86)	5.432	0.020
	≥1/2	42	19(54.29)	23(82.14)		
Ki-67	阳性	53	26(74.29)	27(96.43)	5.712	0.017
	阴性	10	9(25.71)	1(3.57)		
CARLo-5	阳性	50	24(68.57)	26(92.86)	5.602	0.018
	阴性	13	11(31.43)	2(7.14)		
Rictor 蛋白	阳性	49	24(68.57)	25(89.29)	3.862	0.049
	阴性	14	11(31.43)	3(10.71)		

表3 影响子宫内膜癌患者预后死亡的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of prognostic factors in patients with endometrial cancer

影响因素	回归系数	标准误	Wald $\chi^2$ 值	P值	OR值	95%CI
临床分期III~IV期(参照组:I~II期)	0.791	0.731	6.951	0.026	2.21	0.53~9.24
组织分化程度低分化(参照组:中高分化)	0.765	0.164	6.749	0.021	2.15	1.56~2.96
预后评分≥7分(参照组:<7分)	0.761	0.135	6.981	0.020	2.14	1.64~2.79
存在脉管瘤栓(参照组:无)	0.896	0.179	6.343	0.31	2.45	1.72~3.48
肌层浸润≥1/2(参照组:<1/2)	0.794	0.162	6.592	0.028	2.21	1.61~3.03
Ki-67 阳性(参照组:阴性)	0.864	0.189	6.484	0.034	2.37	1.64~3.44
CARLo-5 阳性(参照组:阴性)	0.941	0.263	6.395	0.041	2.56	1.53~4.29
Rictor 蛋白阳性(参照组:阴性)	0.789	0.169	6.861	0.022	2.20	1.58~3.07

### 3 讨论

多种原癌基因及抑癌基因在子宫内膜癌的发生发展中起着非常重要的作用,寻求可确切反应子宫内膜癌进展的动态生物学指标成为临床关注的焦点<sup>[7]</sup>。

Ki-67是一种核增殖标志基因,主要反应细胞的增殖状态,是目前检测肿瘤细胞增殖活性最可靠的指标<sup>[8]</sup>。Ki-67在细胞增殖的各期(G1,S,G2和M)中均有表达,但在细胞静止期G0期不表达,故在病理报告中的指数高低与许多肿瘤分化程度、浸润、转移及预后密切相关<sup>[9]</sup>。Sarah等<sup>[10]</sup>发现Ki-67评分与临床病理变量和肿瘤特异性生存率有关。这与本研究结果相似,证实Ki-67在子宫内膜癌中的表达与患者预后存在明显相关性,检测Ki-67的表达对判断子宫内膜癌疾病进展及评估预后具有重要价值。

CARLo-5是目前非编码RNA研究的热点,由于其在转录调控、转录后调控和表观遗传调控中的

不同功能,使其正在成为肿瘤发生研究的新目标<sup>[11]</sup>。关于其在子宫内膜癌中的表达及影响的相关报道较少,本文通过对子宫内膜癌组织癌旁正常组织进行检测,发现CARLo-5在子宫内膜癌组织中阳性表达率均高于癌旁组织,推测CARLo-5在子宫内膜癌发生发展过程中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。并且在非条件多因素Logistic回归模型分析中亦显示,CARLo-5高表达为影响子宫内膜癌患者预后死亡的独立危险因素,均表明CARLo-5蛋白可能作用于肿瘤的进展与患者的不良预后相关,提示其有望成为子宫内膜癌治疗的新的靶标。

Rictor蛋白是mTORC2的特征性支架蛋白,何春锋等<sup>[13]</sup>的鼠研究发现,Rictor高表达状态可促进肿瘤细胞增殖、转移和侵袭,抑制Rictor基因表达能显著抑制T24细胞增殖,促进肿瘤细胞死亡,诱使细胞停滞在G1期,并能有效抑制裸鼠移植瘤的生长,本研究结果提示Rictor蛋白可作为评价子宫内膜癌患者预后的潜在分子标志物之一。

国内外已有较多文献报道了子宫内膜癌预后的相关因素,认为子宫内膜癌的预后可能与年龄、生育史、病理类型、组织学分级、手术-病理分期、宫颈受累、肌层浸润、淋巴转移等多种因素有关,但文献报道的结果不一<sup>[14-15]</sup>。这与本研究经非条件多因素 Logistic 回归模型分析结果相似,提示临床需重视合并高危因素者临床的干预。

综上所述, Ki-67、CARLo-5 及 Rictor 蛋白在子宫内膜癌中表达水平的异常与患者预后生存关系密切,可作为预测子宫内膜癌患者远期预后的分子标志物和肿瘤治疗的潜在的靶点;对合并高危因素者临床需采取有效措施进行干预,以提高远期生存率。

### 参考文献

- [1] Michal A, Piotr C, Eliza K, et al. Minichromosome Maintenance Proteins MCM-3, MCM-5, MCM-7, and Ki-67 as Proliferative Markers in Adrenocortical Tumors [J]. *Anticancer Res*, 2019, 41(35):639-643.
  - [2] 舒新红, 范红莉, 李小燕. 子宫内膜癌患者肿瘤组织和血清中 SOX1 和 VIM 启动子的甲基化检测及其临床意义 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(5):301-306.
  - [3] 赵冰, 焦得闯, 乔江华, 等. 三阴性乳腺癌组织 Ki-67 指数预后价值分析 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(13):888-893.
  - [4] 彭荫伟. 小分子 Survivin 抑制剂 YM155 对子宫颈癌 Si-Ha 和 ME-180 细胞增殖、凋亡的影响及机制研究 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2018, 15(5):320-326.
  - [5] 夏朝晖, 李文敏, 何雯. 子宫内膜癌 PR、ER、PTEN、p53 及 Ki-67 的表达情况及其与预后的相关性分析 [J]. *解放军医药杂志*, 2017, 29(7):22-25.
  - [6] Stephan N, Julia S, Meike F, et al. Investigation of serum Ki-67 as a biomarker in tumor-bearing dogs [J]. *Res Vet Sci*, 2017, 43(50):411-414.
  - [7] 崔彭华, 张玉娟, 邵雪斋, 等. 子宫内膜癌组织 LSD1、HE4、CA125 及 CA19-9 变化及临床意义 [J]. *临床误诊误治*, 2019, 32(1):19-22.
  - [8] 赵玮琪, 邓泽文, 鄢明蓉, 等. 226 例晚期子宫内膜癌的临床病理特征及治疗与其预后的相关因素分析 [J]. *实用妇产科杂志*, 2017, 33(7):506-511.
  - [9] 金澄宇, 王伟琦, 陈康, 等. 肺腺癌患者表皮生长因子受体基因突变情况及与 Ki-67 和甲状腺转录因子-1 阳性表达的关系 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2018, 32(3):60-62.
  - [10] Sarah K, Vanitha NS, James B, et al. Ki-67 in endometrial cancer: scoring optimization and prognostic relevance for window studies [J]. *Modern Pathol*, 2017, 30(3):459-468.
  - [11] 王娟, 李军, 郭灿灿. 雌激素受体、孕激素受体、p53 及 Ki-67 在子宫内膜癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系 [J]. *海南医学*, 2017, 28(2):211-213.
  - [12] 林莉, 张婉怡, 李冠琳, 等. 妊娠期糖尿病孕妇胎盘中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路的表达情况 [J]. *中华围产医学杂志*, 2019, 22(4):240-246.
  - [13] 何春峰, 张青川, 刘永. RNAi 沉默 rictor 基因表达抑制人膀胱癌 T24 细胞体内外生长 [J]. *中国癌症杂志*, 2019, 29(3):193-200.
  - [14] 韦明珠, 赵振华, 孙爱静, 等. 磁共振扩散加权成像与宫颈癌细胞增殖活性 PCNA、Ki-67 表达相关性的研究 [J]. *中华全科医学*, 2017, 15(3):495-497.
  - [15] Dou CQ, Sun LY, Xin J, et al. Long non-coding RNA CARLo-5 promotes tumor progression in hepatocellular carcinoma via suppressing miR-200b expression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(41):70172-70182.
- 
- (上接第 122 页)
- [10] 刘晶. 协同护理模式对慢性心力衰竭患者自我护理能力及生活质量的影响 [J]. *保健医学研究与实践*, 2018, 15(1):88-90.
  - [11] Fujimura Y, Yamauchi Y, Murase T, et al. Relationship between plasma xanthine oxidoreductase activity and left ventricular ejection fraction and hypertrophy among cardiac patients [J]. *Plos One*, 2017, 12(8):e0182699.
  - [12] Osteresch R, Diehl K, Köhl M, et al. Impact of right heart function on outcome in patients with functional mitral regurgitation and chronic heart failure undergoing percutaneous edge-to-edge-repair [J]. *J Int Cardiol*, 2018, 96(36):e7980.
  - [13] Lazareva NV, Oshchepkova EV, Orlovsky AA, et al. Clinical characteristics and quality assessment of the treatment of patients with chronic heart failure with diabetes mellitus [J]. *Ter Arkh*, 2020, 92(4):37-44.
  - [14] Kopecky J, Stoláriková E, Veleba J, et al. Metformin in patients with diabetes and chronic heart failure affects gut incretin release [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 275(6):4878.
  - [15] Klimczak TD, Berg VVD, Strachinaru M, et al. P1640 Longitudinal patterns of NT-proBNP, troponin T and CRP in relation to the dynamics of echocardiographic parameters in heart failure patients [J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(Supplement\_1):254-255.
  - [16] Sun Y, Oxnard J, New BJ, et al. P5004 Peripheral neuropathy and increased risk of heart failure: a population-based longitudinal cohort study [J]. *Eur Heart J*, 2019, 44(6):364-374.
  - [17] Buse JB, Wexler DJ, Tsapas A, et al. 2019 update to: Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) [J]. *Diabetologia*, 2020, 63(2):221-228.

## 妊娠期糖尿病孕妇 VEGF 和 SFRP-5 与胰岛素抵抗的相关性分析

杨敏\* 杨艳 叶佳

**[摘要]** **目的** 分析妊娠期糖尿病(GDM)孕妇孕期血清血管内皮生长因子(VEGF)和分泌型卷曲相关蛋白5(SFRP-5)的表达及其与胰岛素抵抗(IR)的相关性。**方法** 选取2019年1月至10月就诊于本院的3004例妊娠期孕妇的临床治疗资料,根据妊娠期糖尿病诊断标准择取妊娠期糖尿病孕妇279例作为研究组,另选取63例同时间段进行产检结果正常的孕妇作为对照组,观察两组孕妇的血清VEGF、SFRP-5及IR的表达情况,分析其相关性。**结果** 研究组VEGF水平显著高于对照组,SFRP5蛋白和SFRP5 mRNA表达水平显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );研究组FPG、空腹胰岛素、HOMA-IR等指标水平含量均明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );经Spearman相关性分析,妊娠期糖尿病孕妇孕期的BMI指数与VEGF、SFRP5的表达无关,而FPG、空腹胰岛素、HOMA-IR与VEGF的表达呈正相关,与SFRP5的表达呈负相关( $P<0.05$ )。**结论** 妊娠期糖尿病孕妇VEGF水平越高,则会引起SFRP5水平降低,胰岛素抵抗增加。

**[关键词]** 妊娠期糖尿病; SFRP-5; VEGF; IR; 孕期

### Correlation between VEGF and SFRP-5 and Insulin Resistance in pregnant women with gestational diabetes mellitus

YANG Min\*, YANG Yan, YE Jia

(Department of Obstetrics, Jiangjin District Maternal and Child Health Hospital, Chongqing, China, 402260)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and secreted frizzled-related protein 5 (SFRP-5) of pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM) and its correlation with insulin resistance (IR). **Methods** The clinical data of 3004 pregnant women treated in our hospital from January to October 2019 were selected. According to the diagnostic criteria of gestational diabetes, 279 pregnant women with gestational diabetes mellitus were selected as the study group, and another 63 pregnant women with normal result of birth examination during the same period were selected as the control group. The serum VEGF, SFRP-5 levels and IR of pregnant women between the two groups were observed and their correlations were analyzed. **Results** The VEGF level in the study group was significantly higher than that in the control group, while the protein and mRNA levels of SFRP5 in the study group were significantly lower than those in the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of FPG, fasting insulin, and HOMA-IR in the study group were significantly higher than those in the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). According to the Spearman correlation analysis, the BMI index of pregnant women with gestational diabetes mellitus was not related to the expression of VEGF and SFRP5. FPG, fasting insulin, and HOMA-IR were positively correlated with VEGF expression and negatively correlated with SFRP5 expression ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The higher the level of VEGF in pregnant women with gestational diabetes, the lower the level of SFRP5 and the increase in insulin resistance.

**[KEY WORDS]** Gestational diabetes mellitus; SFRP-5; VEGF; IR; Pregnancy

基金项目:重庆市卫生和计划生育委员会重点项目(2015ZDXM028)

作者单位:江津区妇幼保健院产科,重庆402260

\*通信作者:杨敏, E-mail:3395783084@qq.com

若孕妇在妊娠前糖代谢正常,仅在妊娠期间才出现的空腹血糖、糖耐量的异常和糖尿病则称为妊娠期糖尿病(Gestational Diabetes Mellitus, GDM),妊娠期糖尿病患者若长期未予以控制或治疗将对母体及胎儿造成无法挽回的影响<sup>[1]</sup>。在妊娠早中期,随孕周数的增加,胎儿对营养物质的需求量不断增加,而其主要的能量来源就是通过胎盘从母体获取葡萄糖,此时孕妇血浆葡萄糖水平将随妊娠时间的延长而降低,致使孕妇空腹血糖降低约10%<sup>[2]</sup>。到达妊娠中晚期,孕妇体内胎盘分泌的抗胰岛素样物质将大量增加,导致降低孕妇对胰岛素的敏感性,从而使孕妇胰岛素分泌受限引起血糖升高,引发孕妇GDM或加重其病情<sup>[3]</sup>。临床上认为,糖代谢异常是引起GDM的主要病因之一,而胰岛细胞功能失常和胰岛素抵抗(Insulin Resistance, IR)与该疾病的发生有重要联系<sup>[4]</sup>。近年来有大量研究显示,孕妇体内的异常的脂肪因子表达也将引发妊娠期糖尿病的产生,其中分泌型卷曲相关蛋白5(Secretory Crimp-Associated Protein 5, SFRP5)在GDM的发病过程中具有重要作用<sup>[5]</sup>。而关于探讨GDM孕妇孕期血清血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)水平变化的相关研究较少<sup>[6]</sup>。本研究通过分析本院确诊的妊娠期糖尿病孕妇孕期的VEGF、SFRP5及IR表达变化情况,探讨其相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年1月至10月于本院就诊的3 004例妊娠期妇女,经口服糖耐量(Oral glucose tolerance test, OGTT)实验确诊妊娠期糖尿病孕妇279例,并作为研究组;再选取同时间段进行孕检,各项结果均正常的孕妇作为对照组。

纳入标准:①孕妇均否认孕前患有糖尿病,且无糖尿病家族史;②年龄处于20~34岁间;③孕前体重指数(Body mass index, BMI)指数均小于24 kg/m<sup>2</sup>。排除标准:①合并有其他内科疾病或感染性疾病患者;②孕前就患有高血压、糖尿病、甲亢等慢性疾病或合并有其他系统性疾病患者;③妊娠期间有激素等药物服用或治疗史;④临床资料不完整者。对照组和研究组年龄及孕周比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),研究组BMI指数明显高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组孕妇一般资料情况比较( $\bar{x}\pm s$ )

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

组别	n	年龄(岁)	孕周(周)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )
对照组	63	28.48±7.18	26.64±1.57	26.38±1.84
研究组	279	28.03±7.27	26.29±1.63	27.05±2.04
t值	-	0.446	1.550	2.396
P值	-	0.657	0.122	<0.05

### 1.2 仪器与试剂

全自动酶标仪(美国BIO-TEK)、酶联免疫吸附法试剂盒(南京建成生物工程研究所)、全自动生化分析仪(日立7170A)、全自动生化分析仪检测试剂盒(上海申能生物科技有限公司)、Trizol试剂盒(上海名劲生物科技有限公司)。

### 1.3 检测方法

#### 1.3.1 BMI指数检测

对患者的身高、体重进行测量,并根据计算公式BMI=体重(kg)/[身高(m)]<sup>2</sup>计算出患者体重指数BMI。

#### 1.3.2 VEGF、SFRP5水平及SFRP5 mRNA检测

抽取所有孕妇5 mL清晨空腹静脉血,肝素抗凝,离心后取上清置于-80℃超低温冰箱中待检。采用双抗夹心酶联免疫吸附法对已分离保存的孕妇血清VEGF、SFRP5蛋白水平进行检测;患者分娩或剖宫产时取患者皮下脂肪组织,提取脂肪细胞,加入Trizol试剂盒提取总RNA, RNA浓度利用分光光度法进行测定以及凝胶电泳实验测定其完整性,测定完成后进行逆转录-聚合酶链反应,反应结束后取10 μL予以电泳检测并对SFRP5及内参条带灰度值进行分析。其中SFRP5 mRNA表达检测时条件为:反转录反应:37℃、15 min;反转录酶的失活,5 s;反应结束后:-20℃保存。并以机体脂肪、肌肉作模板,以-actin为内参照物,予以RT-PCR检测,其上游引物序列:5'-CTGGGACAAGAAGAATAA-3';下游:5'-AAGAAAGGGTAGTAGGGGA-3'。-actin上游引物序列:5'-CCCTGAACCCCTAAGGC-CAACCGTGAAAA-3';下游:5'-TCTCCGGAGTCCATCACAATGCCTGTG-3'。

#### 1.3.3 胰岛素抵抗指数(Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance, HOMA-IR)检测

采用化学发光免疫分析法对空腹胰岛素水平进行测定,使用日立7170A型全自动生化分析仪并采用上海申能生物科技有限公司生产的试剂盒对患者空腹血糖(Fasting plasma glucose, FPG)进

行测定。并根据公式(胰岛素×FPG)/22.5对患者胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)进行计算。

#### 1.4 观察指标

①对比两组孕妇血清 VEGF 蛋白、SFRP5 蛋白及 SFRP5 mRNA 水平情况;②对比两组孕妇胰岛素抵抗相关指数(FPG、空腹胰岛素、HOMA-IR)情况;③结合两组各指标表达情况,对比分析妊娠期糖尿病孕妇孕期血清 VEGF 和 SFRP5 的表达与 IR 的相关性。

#### 1.5 统计学方法

应用 SPSS 18.0 软件进行数据分析。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  $\chi^2$  检验,运用 Spearman 进行相关分析,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组孕妇血清 VEGF、SFRP5 水平情况比较

对照组 VEGF 水平显著低于研究组,血清 SFRP5 蛋白、SFRP5 mRNA 水平表达,显著高于对研究组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组孕妇血清 VEGF、SFRP5 水平情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	VEGF(ng/L)	SFRP5(pg/mL)	SFRP5 mRNA
对照组	63	45.28±4.61	14.41±1.30	0.25±0.05
研究组	279	90.54±6.44	10.75±0.52	0.20±0.03
$t$ 值	-	52.785	36.066	10.383
$P$ 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 对比两组孕妇胰岛素抵抗相关指数情况

对照组 FPG、空腹胰岛素、HOMA-IR 等指标水平含量均明显低于研究组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 两组孕妇胰岛素抵抗情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	FPG	空腹胰岛素 (mmol/L)	HOMA-IR (mmol/L)
对照组	63	4.19±0.52	3.73±0.42	0.83±0.19
研究组	279	5.80±0.93	5.67±0.38	1.57±0.23
$t$ 值	-	13.270	35.882	23.764
$P$ 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 妊娠期糖尿病孕妇孕期血清 VEGF 和 SFRP5 的表达与 IR 的相关性分析

经 Spearman 相关分析,妊娠期糖尿病孕妇的 BMI 指数与 VEGF、SFRP5 的表达无关,FPG、空腹

胰岛素、HOMA-IR 与 VEGF 的表达呈正相关,FPG、空腹胰岛素、HOMA-IR 与 SFRP5 的表达呈负相关关系,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 妊娠期糖尿病孕妇孕期血清 VEGF 和 SFRP-5 的表达与 IR 的相关性分析

Table 4 Correlation between expression of VEGF and SFRP-5 and IR in pregnant women with gestational diabetes mellitus

自变量	VEGF(ng/mL)		SFRP5(ng/L)	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	0.254	0.264	0.363	0.145
FPG(mmol/L)	0.568	0.005	-0.992	<0.001
空腹胰岛素(mmol/L)	0.728	0.003	-0.648	0.004
HOMA-IR	0.498	0.012	-0.721	0.003

## 3 讨论

随着我国生活水平的不断上升,人们的生活条件也不断提高,而大部分女性处于孕期时均认为多吃富含营养的食物对胎儿发育有好处,缺失了食物的均衡调配,从而导致妊娠期糖尿病的发生,目前我国孕妇妊娠糖尿病的患病几率正逐年上升<sup>[7]</sup>。

妊娠可使无糖尿病的孕妇发生 GDM,也使原有糖尿病前期患者的病情加重<sup>[8]</sup>。有相关研究显示,孕妇长期处于高血糖状态可使胚胎发育产生异常甚至死亡,据调查,高血糖所致的流产发生率高达 15%~30%<sup>[9]</sup>。同时也有学者认为,由于妊娠期糖尿病孕妇存在严重的胰岛素抵抗和高胰岛素血症等情况将加倍诱导患者并发妊娠期高血压疾病、妊娠期感染、巨大儿等严重后果,且对胎儿及胎儿出生后的都影响深远<sup>[10-11]</sup>。

目前对于妊娠期糖尿病的发病机制及原因仍存在争议,但大部分学者均认为该疾病与孕妇的胰岛素抵抗具有重要联系<sup>[12]</sup>。由于胰岛素可促进人体脂类、蛋白质、糖类的代谢,而妊娠期孕妇由于雌激素分泌增加将导致胰岛素的敏感性降低从而引起胰岛素抵抗<sup>[13]</sup>。而妊娠期糖尿病孕妇的糖耐量的失衡将增加胰岛素抵抗作用<sup>[14]</sup>。在本研究中也发现,较体检正常的孕妇来说,妊娠期糖尿病孕妇的 FPG、空腹胰岛素、HOMA-IR 等指标水平均明显偏高,这也进一步验证了上述说法,说明了患有妊娠期糖尿病的孕妇与健康孕妇相比具有更严重的胰岛素抵抗现象。

妊娠期孕妇的体重均会随孕期的延长而增加,脂肪也一样。而有大量医学研究发现,脂肪组

织中存在大量的可调节人体器官活动的脂肪因子,其中SFRP5就是众多脂肪因子中的一种,对机体糖、脂的代谢以及胰岛素抵抗具有重要意义<sup>[15-16]</sup>。有小鼠实验发现,将SFRP5注入小鼠体内将加速小鼠脂肪的氧化及葡萄糖的摄取,从而改善胰岛素的敏感程度<sup>[17]</sup>。而VEGF是一种促进血管内皮细胞的增殖和迁移的促血管生长因子,对妊娠期胎盘血管的形成具有重要意义,若机体处于缺血、缺氧以及炎症反应时将大量分泌<sup>[18]</sup>。本研究中,妊娠期糖尿病的孕妇VEGF水平远远高于健康孕妇,而SFRP5水平偏低,这进一步证明了VEGF、SFRP5的表达与妊娠期胰岛素抵抗作用有紧密联系。

综上所述,妊娠期糖尿病孕妇孕期的血清VEGF和SFRP5蛋白表达及与IR具有相关性,可能是孕妇的VEGF的升高和SFRP5的降低加强了对胰岛素的抵抗作用。可根据孕妇血清VEGF、SFRP5的水平对孕妇的胰岛素抵抗情况进行评估,临床上将其作为妊娠期糖尿病孕妇的预防及诊断的重要依据。

### 参考文献

- [1] 李华,殷红梅,李英.尿酸联合糖化血红蛋白早期检测对高龄孕妇妊娠期糖尿病发病的预测[J].分子诊断与治疗杂志,2018,10(6):411-416.
- [2] Kramer CK, Campbell S, Retnakaran R, et al. Gestational Diabetes and the Risk of Cardiovascular Disease in Women: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Diabetologia*, 2019, 62(6):905-914.
- [3] 尹经霞,杨刚毅,张利莉,等.不同糖耐量人群血浆分泌性卷曲相关蛋白5水平与胰岛素抵抗的相关性研究[J].中国糖尿病杂志,2013,21(4):235-237.
- [4] 张丽科,余学高,黄彬,等.胎儿染色体非整倍体无创检测在产前诊断中的应用价值[J].分子诊断与治疗杂志,2018,10(2):96-102.
- [5] 陈凤玲,孙东华,杨洪英,等.分泌性卷曲相关蛋白5在妊娠期糖尿病患者脂肪中的表达及其与胰岛素抵抗相关性研究[J].临床和实验医学杂志,2019,18(6):623-626.
- [6] Zhang B, Gong YH, Xue HM, et al. Vitamin D and Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review Based on Data Free of Hawthorne Effect [J]. *BJOG*, 2018, 125(7):784-793.
- [7] Yu WY, Sun W, Yu DJ, et al. Adipose-derived stem cells improve neovascularization in ischemic flaps in diabetic mellitus through HIF-1 $\alpha$ /VEGF pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(1):10.
- [8] 赵丽君,邹大中,等.高龄孕产妇与适龄孕产妇围生期血液学检验指标变化及妊娠结局比较[J].解放军医药杂志,2016,28(5):105-108.
- [9] Zhang DM, Huang R, Xiao Y, et al. Secreted Frizzled-Related Protein 5(SFRP5) in Patients with Obstructive Sleep Apnea [J]. *Chin Med SCI J*, 2017, 32(4):211.
- [10] Jaikanth C, Gurumurthy P, Indhumathi T, et al. Emergence of sfrp5 as a pleiotropic adipocytokine and its association with wnt signaling [J]. *Minerva End*, 2017, 42(3):280-289.
- [11] 冯艳,宋新娜,徐晓萌,等.妊娠期糖尿病患者铁代谢与部分应激激素及胰岛素抵抗的关系[J].中华内分泌代谢杂志,2018,34(7):563-566.
- [12] Hajifaraji M, Dolatkhan N. Gestational diabetes mellitus and associated challenges from the perspective of nutrition science: A review article [J]. *J Mazand Univers Med Sci*, 2017, 27(149):202-224.
- [13] Goodarzi-khoigani M, Mazloomi mahmoodabad S, Baghiani Mogadam M, et al. Prevention of Insulin Resistance by Dietary Intervention among Pregnant Mothers: A Randomized Controlled Trial [J]. *Int J Prev Med*, 2017, 8(1):85.
- [14] 李琳.妊娠期糖尿病患者血清胎球蛋白A、C反应蛋白水平与糖脂代谢的相关性[J].山东医药,2017,57(30):53-54.
- [15] Carstensenkirberg M, K Röhrig, Niersmann C, et al. Sfrp5 erhöht die glukosestimulierte, aber nicht die basale Insulinsekretion in INS-1E Zellen der Ratte [J]. *Diabetol Stoffwechsel*, 2017, 12(3):213.
- [16] Johanna P, Jari PL, Thomas LT, et al. Differential regulation of angiogenic cellular processes and claudin-5 by histamine and VEGF via PI3K-signaling, transcription factor SNAI2 and interleukin-8 [J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(1):109-124.
- [17] 王莹.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.
- [18] Jaikanth C, Gurumurthy P, Indhumathi T, et al. Emergence of sfrp5 as a pleiotropic adipocytokine and its association with wnt signaling [J]. *Minerva Endocrinol*, 2017, 42(3):280-289.

## 不同剂量生长抑素对肝硬化伴食管胃底静脉曲张 GAS、HGB、GLC 的影响

杨岳<sup>1\*</sup> 李宝纯<sup>1</sup> 霍建凤<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨不同剂量生长抑素对肝硬化伴食管胃底静脉曲张患者胃泌素(GAS)、血红蛋白(HGB)及胰高血糖素(GLC)的影响。**方法** 收集2018年12月至2019年12月在本院治疗的106例肝硬化伴食管胃底静脉曲张患者的临床资料,根据药物使用剂量不同分为A组(53例,标准剂量生长抑素联合普萘洛尔治疗)和B组(53例,加倍剂量生长抑素联合普萘洛尔治疗)。对比两组患者治疗后临床疗效、治疗前后GAS、HGB、GLC水平、住院指标及血流动力学指标水平,观察2组患者治疗后不良反应发生情况。**结果** B组总有效率(90.57%)高于A组(71.70%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与治疗前比较,两组GAS、GLC明显下降,HGB明显升高,差异有统计意义( $P<0.05$ );治疗后B组患者GAS、GLC低于A组,HGB高于A组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。A组住院时间、止血时间均长于B组,输血量高于B组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与治疗前比较,两组患者CVP、PVP均明显下降,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );治疗后B组患者CVP、PVP明显低于A组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );两组治疗前后VPV水平相近,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。A组患者治疗后不良反应总发生率为5.66%明显低于B组16.98%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 加倍剂量生长抑素联合普萘洛尔治疗临床疗效好,可有效改善患者GAS、HGB、GLC水平及血流动力学指标,并缩短患者住院时间、止血时间,安全性高,临床应用价值大。

**[关键词]** 生长抑素;普萘洛尔;GAS;HGB;GLC

### Effect of different doses of somatostatin on the GAS, HGB and GLC in patients with liver cirrhosis combined with esophageal and gastric varices

YANG Yue<sup>1\*</sup>, LI Baochun<sup>1</sup>, HUO Jianfeng<sup>2</sup>

(1. Department of Gastroenterology, Qinhuangdao Second Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066600;

2. Department of Respiratory Medicine, Qinhuangdao Second Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066600)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the effect of different doses of somatostatin on gastrin (GAS), haemoglobin (HGB) and glucagon (GLC) in patients with liver cirrhosis combined with esophageal and gastric varices. **Methods** The clinical data of 106 patients with liver cirrhosis combined with esophageal and gastric varices who were treated in our hospital from December 2018 to December 2019 were collected. According to the different dosages of drugs, they were divided into group A (53 cases, standard dose of somatostatin combined with propranolol) and group B (53 cases, double dose of somatostatin combined with propranolol). The clinical efficacy, levels of GAS, HGB, GLC, hospitalization indicators (hospitalization time, bleeding time, blood transfusion) and hemodynamic indicator levels before and after treatment were compared between the two groups. The incidence of adverse reactions after treatment was observed between the 2 groups. **Results** The total effective rate of group B (90.57%) was higher than that of group A (71.70%). The difference between the two groups was statistically significant ( $P<0.05$ ). Compared with those before treatment, the levels of GAS and GLC of patients in the two groups significantly decreased, and the level of HGB significantly increased

基金项目:秦皇岛市科学技术研究与发展计划(201805A075)

作者单位:1. 秦皇岛市第二医院消化内科,河北,秦皇岛 066600

2. 秦皇岛市第二医院呼吸内科,河北,秦皇岛 066600

\*通信作者:杨岳, E-mail: idef8n@163.com

and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, the levels of GAS and GLC in group B were significantly lower than those in group A, and the level of HGB was significantly higher than that in group A, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The hospitalization time and bleeding time in group A were longer than those in group B, and the blood transfusion volume was higher than that in group B, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Compared with those before treatment, the CVP and PVP of the two groups significantly decreased, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, the levels of CVP and PVP in group B were significantly lower than those in group A ( $P<0.05$ ). The levels of VPV before and after treatment in the two groups were similar, and the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). The total incidence of adverse reactions in group A patients after treatment was 5.66%, which was significantly lower than 16.98% in group B ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Doubled-dose somatostatin combined with propranolol has a good clinical effect, can effectively improve the patients' GAS, HGB, GLC levels and hemodynamic indicators, and shorten the patient's hospital stay, bleeding time. It has high safety, and great clinical application value.

**[KEY WORDS]** Somatostatin; Propranolol; GAS; HGB; GLC

肝硬化是临床常见的慢性进行性肝病,中晚期并发症包括肝性脑病、肝肾综合征等,食管胃底静脉曲张为其最常见的并发症<sup>[1-2]</sup>。有学者报道普萘洛尔口服后可有效降低机体心排血量,促进内脏血管收缩,减少门静脉血流量并降低门静脉压力<sup>[3-4]</sup>。既往文献报道生长抑素可通过收缩内脏血管和抑制内源性血管舒张物质的活性,其与普萘洛尔联合使用治疗食管胃底静脉曲张,疗效较好<sup>[5]</sup>。胃泌素(Gastrin, GAS)是一种重要的胃肠激素,可以促进胃酸、胃液、胃蛋白的分泌,临床多通过检测其水平了解患者肝肾肾功能情况;胰高血糖素(Glucagon, GLC)可加速机体代谢,并促进身体内毒素的代谢;血红蛋白(Haemoglobin, HGB)是红细胞的主要成分,运输氧气和二氧化碳,维持机体的正常代谢。本研究将探讨不同剂量生长抑素联合普萘洛尔治疗对肝硬化伴食管胃底静脉曲张患者 GAS、HGB 及 GLC 水平的影响。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集2018年12月至2019年12月在本院治疗的肝硬化伴食管胃底静脉曲张106例患者的临床资料。根据治疗药物剂量不同,设为A组和B组,每组各53例。A组:男31例,女22例;平均年龄(59.24±4.19)岁;乙型肝炎肝硬化29例,丙型肝炎肝硬化11例,酒精性肝硬化13例。B组:男33例,女20例;平均年龄(59.17±4.12)岁;乙型肝炎肝硬化32例,丙型肝炎肝硬化10例,酒精性肝硬化11例。两组患者的一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

纳入标准:①内窥镜检查及实验室检查诊断

为肝硬化(出血12~24h内进行食管胃十二指肠镜检查,内镜下可见曲张静脉活动性出血、在未发现其他部位有出血病灶但有明显静脉曲张的基础上发现血栓头)<sup>[6]</sup>,且行胃镜检查证实有食管或/和胃底静脉曲张<sup>[7]</sup>;②年龄大于18岁,小于80岁;③治疗前采用过生长抑素或普萘洛尔治疗者;④研究经医学伦理委员会批准,受试者签署知情同意书。排除标准:①对治疗药物过敏者;②合并凝血功能障碍或合并血液系统疾病者;③治疗依从性不佳,无法配合医护人员完成检查者。

### 1.2 方法

两组患者入院后均进行止血、补液、输血、保肝、营养支持等基础治疗;两组患者均予以普萘洛尔(生产厂家:亚邦药业集团有限公司,国药准字:H32020133)治疗,每日早中晚各服用10mg(口服),调整用量使心率降低25%,且确保心率 $\geq 60$ /min。

两组使用的生长抑素(生产企业:南京长澳制药有限公司;国药准字:H20043583;规格3mg)均为静脉注射治疗。A组予以标准剂量组生长抑素治疗首剂静脉注射4.1mL(250 $\mu$ g)后,再给予生长抑素以4.1mL/h(250 $\mu$ g/h)持续静脉泵入;B组予以加倍剂量生长抑素治疗,首剂静脉注射8.2mL(500 $\mu$ g)后,再给予生长抑素以8.2mL/h(500 $\mu$ g)持续静脉泵入,两组均持续治疗5天。

### 1.3 指标

#### 1.3.1 临床疗效

观察两组患者治疗后呕血、便血等临床症状发生情况评估两组患者治疗后临床疗效<sup>[8]</sup>。分为显效、有效、无效。总有效率=(显效率+有效率)/总例数 $\times 100\%$ 。

### 1.3.2 GAS、HGB及GLC检查方法

2组(入院前及治疗2周后)抽取外周静脉血3 mL,离心、分离血清后检测GAS、HGB及GLC水平。相关试剂、仪器及样本均由广州健仑生物科技有限公司提供,所有标本在采集2 h内完成检测,相关操作严格按照实验流程进行。

### 1.3.3 住院指标

对比两组患者住院指标,包括:住院时间、止血时间、输血量。

### 1.3.4 血流动力学指标

治疗前和治疗结束后,确保入组患者空腹状态,患者保持仰卧位,采用iE33飞利浦多普勒超声诊断仪探查门静脉主干,取样长度设为3 cm,取样线与血流呈60°角,测量中心静脉压(CVP)、门静脉压(PVP)、门静脉血流速度(VPV),每项指标均连续测量3次取平均值,所有操作步骤严格按照说明书进行。

### 1.3.5 不良反应

观察两组治疗后不良反应发生情况(肝肾功能指标异常、腹痛、恶心呕吐、脸红)。

## 1.4 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,采用 $t$ 检验;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 治疗疗效

B组患者总有效率(90.56%)高于A组(71.70%),差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组患者临床疗效情况比较 [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	显效	有效	无效	总有效率
A组	53	20(37.74)	18(33.96)	15(28.30)	38(71.70)
B组	53	24(45.28)	24(45.28)	5(9.43)	48(90.57)
$\chi^2$ 值	-	-	-	-	6.163
$P$ 值	-	-	-	-	0.013

表2 两组患者治疗前后GAS、HGB及GLC水平 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 The levels of gas, HGB and GLC in 2 groups before and after treatment ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	GAS(ng/L)		HGB(ng/L)		GLC(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	53	120.54±15.68	89.58±6.45 <sup>a</sup>	88.65±10.04	97.65±11.24 <sup>a</sup>	112.51±12.52	61.54±6.20 <sup>a</sup>
B组	53	121.35±15.80	70.14±5.12 <sup>a</sup>	88.15±9.88	109.25±12.54 <sup>a</sup>	113.41±12.82	50.14±7.14 <sup>a</sup>
$t$ 值	-	0.265	17.186	0.258	5.015	0.366	8.777
$P$ 值	-	0.792	<0.001	0.797	<0.001	0.715	<0.001

注:与治疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 两组患者治疗前后GAS、HGB及GLC水平

与治疗前比较,两组GAS、GLC水平均明显下降,HGB水平明显升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );治疗后B组GAS、GLC显著低于A组,HGB显著高于A组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

### 2.3 两组患者住院指标对比

A组住院时间、止血时间均长于B组,输血量高于B组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 两组患者住院指标对比 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of hospitalization indexes between the

two groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	住院时间(d)	止血时间(d)	输血量(U)
A组	53	12.54±2.45	9.58±4.58	6.51±2.01
B组	53	10.41±2.04	7.29±3.45	4.58±1.55
$t$ 值	-	4.841	3.022	5.536
$P$ 值	-	<0.001	0.003	<0.001

### 2.4 两组患者治疗前后血流动力学指标比较

与治疗前比较,两组CVP、PVP均明显下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );治疗后B组CVP、PVP水平明显低于A组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );两组治疗前后VPV相近,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表4。

### 2.5 不良反应发生情况

A组治疗后不良反应总发生率(5.66%)明显低于B组(16.98%),差异具有统计学意义( $\chi^2=4.296, P=0.038$ )。

## 3 讨论

上消化道出血是肝硬化患者中最常发生的病症之一,肝硬化患者中有一半以上合并有食管胃底静脉曲张,该病出血量大、止血困难,患者病死率较高。发生食管胃底静脉曲张主要因为肝硬化门静脉高压,临床治疗该病的方法主要包括药物治疗和手术治疗两种方式,但手术治疗术中操作难度大、且部分基层医院缺乏手术条件,临床普及困难。如何使用合理的药物止血并控制出血量成为临床治疗食管胃底静脉曲张的一大难点。

表4 两组患者治疗前后血流动力学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 4 Comparison of hemodynamic indexes between 2 groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CVP		PVP		VPV	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	53	10.18±3.15	9.28±2.58 <sup>a</sup>	30.25±2.80	25.65±1.38 <sup>a</sup>	22.12±5.54	22.04±5.35
B组	53	10.22±3.18	8.25±2.08 <sup>a</sup>	30.37±2.87	21.15±1.10 <sup>a</sup>	22.18±5.61	22.08±5.40
t值		0.065	2.263	0.218	18.564	0.055	0.038
P值		0.948	0.026	0.828	<0.001	0.956	0.969

注:与治疗前比较,<sup>a</sup>P<0.05。

有学者研究指出<sup>[9]</sup>,普萘洛尔作为非选择性β受体阻滞剂,可长效降低门静脉压力,并通过β1受体阻滞作用,降低患者内脏循环血容量。Chiu等学者<sup>[10]</sup>报道,肝硬化伴食管胃底静脉曲张患者口服普萘洛尔后,门静脉血流量及门静脉压力会明显降低。本研究结果与既往学者报道结果一致<sup>[11]</sup>,可见加倍剂量的生长抑素治疗疗效更好。

据Yang等<sup>[12]</sup>学者报道,加倍剂量生长抑素可有效减少肝硬化合并食管胃底静脉曲张破裂出血患者内镜术及套扎术后再出血的发生。生长抑素可调节胃肠激素,对肝硬化伴食管胃底静脉曲张患者胃泌素、胰高血糖素水平有显著改善作用<sup>[13]</sup>。患者体内血容量减少,HGB水平会明显下降,生长抑素是人工合成的14肽长效生长激素,可保护胃黏膜、黏膜上皮细胞,促进血小板凝集、减少凝血因子的丢失,使HGB水平上升,最终达到止血的目的<sup>[14]</sup>。双倍生长抑素的使用大大缩短了患者住院时间、止血时间,减少输血量。

陈长旦等学者<sup>[15]</sup>通过动物实验证明,生长抑素可通过抑制胰高血糖素水平加速内脏相关收缩、减少内脏血流,从而降低门静脉压力、曲张静脉的腔内压和管壁张力,起到防止破裂出血的作用。本研究结果进一步证实双倍剂量生长抑素在肝硬化合并食管胃底静脉曲张患者中的治疗疗效。

综上所述,加倍剂量生长抑素联合普萘洛尔治疗临床疗效好,可有效改善患者GAS、HGB、GLC水平及血流动力学指标,并缩短患者住院时间、止血时间,安全性高,临床应用价值大。但由于本研究样本量偏小,存在一定的抽样误差,研究结果难免存在偏倚,后续将扩大样本量以减少偏倚,以获得更为准确的研究结果服务于临床。

#### 参考文献

[1] 周莹,张军霞,黄舒,等.高灵敏度HBV DNA检测在乙型肝炎相关性肝细胞肝癌中的临床应用价值研究[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(5):365-368.

- [2] 侯春阳,马玉梅,刘莉,等.慢性乙型肝炎及乙型肝炎后肝硬化、肝癌患者外周血辅助性T淋巴细胞表达水平分析[J].临床误诊误治,2017,30(5):98-101.
- [3] 石薇,陈永顺.MIP-1α,RANTES在肝癌患者外周血中的表达及临床意义[J].医学分子生物学杂志,2018,15(4):223-226.
- [4] 邱华荣,刘科,王洪英.内镜下不同方法治疗肝硬化致食管胃底静脉曲张的效果及短期复发率比较[J].解放军医药杂志,2018,30(9):34-36.
- [5] 王慧,张恩,王勇,等.利福昔明联合门冬氨酸鸟氨酸治疗肝硬化肝性脑病的效果A[J].保健医学研究与实践,2017,14(1):51-52.
- [6] Shunsuke N, Atsunori T, Shuji T. Re-examination using newly proposed diagnostic criteria of acute-on-chronic liver failure in Japan[J]. Hepatol Res, 2018, 49(1):118-119.
- [7] 张博.肝硬化食管胃底静脉曲张破裂出血治疗方法探讨[J].中国卫生标准管理,2019,10(4):61-63.
- [8] 张向文,史小平,房振良,等.CT诊断肝硬化食管胃静脉曲张的价值分析[J].中国医药科学,2019,9(9):165-168.
- [9] Men C, Zhang G. Endoscopic ultrasonography predicts early esophageal variceal bleeding in liver cirrhosis: A case report [J]. Medicine, Baltimore, 2017, 96(17):e6749.
- [10] Chiu KW, Lin TL, Yong CC, et al. Endoscopic injection sclerotherapy for pediatric bleeding esophageal varices complicated by gastric vein, main portal vein, splenic mesenteric junction, and splenic vein occlusion: a case report [J]. BMC Gastroenterol, 2019, 19(1):35-45.
- [11] Zhu QJ, Wang WJ, Zhao JF, et al. Transient Elastography Identifies the Risk of Esophageal Varices and Bleeding in Patients With Hepatitis B Virus-Related Liver Cirrhosis [J]. Ultrasound Quarterly, 2018, 34(19):1-15.
- [12] Yang HY, Zhong Z, Gu NY, et al. Analysis on risk factors and nursing strategies of cirrhosis with upper gastrointestinal hemorrhage [J]. Nursing Pract Res, 2018, 19(29):65.
- [13] De Faria A, Dias C, Dias ML, et al. Feasibility of transnasal endoscopy in screening for esophageal and gastric varices in patients with chronic liver disease [J]. Endosc Int Open, 2017, 5(7):646-651.
- [14] 何永康,袁雪梅.乙型肝炎肝硬化合并上消化道出血与幽门螺杆菌感染关系的临床研究[J].中华中西医结合肝病杂志,2017,27(5):272-275.
- [15] 陈长旦,张文,郑秀金,等.脑钠肽在肝硬化食管胃底静脉曲张内镜治疗中的意义[J].临床消化病杂志,2018,30(2):94-97.

## 脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 对新生儿宫内细菌感染的诊断价值

董景玉

**[摘要]** **目的** 分析脐带血降钙素原(PCT)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )联合白细胞介素-6(IL6)检测对新生儿宫内细菌感染的诊断价值研究。**方法** 选取2017年1月至12月在本院接诊的98例有宫内细菌感染高危因素的新生儿,并按照新生儿感染的结局将其分为两组,其中感染组45例,无感染组53例。收集所有研究对象临床资料,比较感染组和无感染组脐带血PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6表达水平差异,分别对比PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6单独及联合用于诊断宫内细菌感染的临床诊断性能(灵敏度、特异性及准确度);采用ROC曲线分析PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值。**结果** 无感染组PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6水平均低于感染组,差异有统计学意义( $P>0.05$ )。无感染组PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6阳性率均低于感染组,差异有统计学意义( $P>0.05$ )。采用ROC曲线分析PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值,PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6单项及联合检测曲线下面积分别为0.807、0.701、0.817、0.908,各指标曲线下面积以联合检测最大。**结论** 脐带血PCT、TNF- $\alpha$ 及IL-6联合三者检测可作为预测宫内细菌感染发生的有效手段,临床上应检测其水平并及时进行干预,进而提高诊治率。

**[关键词]** 脐带血; PCT; TNF- $\alpha$ ; IL-6; 新生儿宫内细菌感染

### The diagnostic value of umbilical cord blood PCT, TNF- $\alpha$ , IL-6 to intrauterine bacterial infection in newborns

DONG Jingyu

(Neonatology Department, Tongzhou District, Beijing, China, 101100)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the diagnostic value of procalcitonin (PCT), tumor necrosis factor -  $\alpha$  (TNF -  $\alpha$ ) in umbilical cord blood combined with interleukin - 6 (IL - 6) detection for neonatal intrauterine bacterial infection. **Methods** 98 Newborns with high risk factors of intrauterine bacterial infections who were admitted in our hospital from January 2017 to Detember 2017 were selected, and they were divided into two groups according to the outcome of neonatal infections, including 45 cases in the infected group and 53 cases in the non-infected group. The clinical data of all subjects were collected, and the differences in the expression levels of PCT, TNF- $\alpha$ , and IL-6 in cord blood between the infected group and the non-infected group were compared. The clinical diagnostic efficiency (sensitivity, specificity, and accuracy) of PCT, TNF- $\alpha$ , IL-6 alone and their combination in the diagnosis of intrauterine bacterial infections were compared, respectively. The ROC curve was used to analyze the predictive value of PCT, TNF- $\alpha$ , IL-6 single and combined detection for intrauterine bacterial infection. **Results** The levels of PCT, TNF- $\alpha$  and IL-6 in the uninfected group were lower than those in the infected group, and the difference was statistically significant ( $P>0.05$ ). The positive rates of PCT, TNF- $\alpha$  and IL-6 in the uninfected group were lower than those in the infected group, and the difference was statistically significant ( $P>0.05$ ). The ROC curve was used to analyze the predictive value of single PCT, TNF- $\alpha$ , IL-6 and combined detection levels for intrauterine bacterial infection.

基金项目:北京市通州区科技计划项目(KJ2017LX064)

作者单位:北京市通州区妇幼保健院儿科,北京 101100

通信作者:董景玉, E-mail: mianxujin9814@163.com

The area under the curve of single PCT, TNF- $\alpha$ , IL-6 and the combined test were 0.807, 0.701, 0.817, 0.908, respectively, and the area under the combined curve was the largest. **Conclusion** The combined detection of PCT, TNF- $\alpha$  and IL-6 in cord blood can be used as an effective means to predict the occurrence of intrauterine bacterial infection. Clinically, its level should be detected and timely intervention should be carried out to improve the diagnosis rate.

**[KEY WORDS]** Umbilical cord blood; PCT; TNF- $\alpha$ ; IL-6; Intrauterine bacterial infection in neonates

新生儿宫内感染是儿科常见病、多发病,其致病病原包括细菌、病毒、螺旋体等<sup>[1]</sup>。新生儿宫内感染是由病原微生物侵犯导致羊水、胎膜、胎盘感染所致,研究表明,宫内细菌感染会导致胎儿脑白质受损,而致新生儿脑白质软化,情况严重者甚至将发生死亡<sup>[2]</sup>。早期诊断对于促使临床及早干预,降低新生儿的死亡率具有重要的价值,然而在新生儿宫内细菌感染的诊断中,仍缺乏有效的检测手段<sup>[3]</sup>。脐带血是胎儿娩出、脐带结扎并离断后残留在胎盘和脐带中的血液,由于脐带血检测具有安全无创、方便的特点,故其在早期判断新生儿是否存在宫内感染的价值引发热议<sup>[4]</sup>。目前,主要用于新生儿宫内细菌感染的实验室指标主要有白细胞介素-6 (Interleukin, IL6) 以及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor necrosis factor $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )<sup>[5]</sup>。此外,研究显

示降钙素原 (procalcitonin, PCT) 在机体出现感染后可明显上升,因此亦可作为早期细菌感染的敏感性指标之一<sup>[6]</sup>。本研究就脐带血 PCT、TNF- $\alpha$  联合 IL-6 检测对新生儿宫内细菌感染的诊断价值进行研究,旨在为新生儿宫内细菌感染的诊断提供参考,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 1 月至 12 月在本院接诊的有宫内细菌感染高危因素的新生儿,最后纳入符合要求的新生儿共 98 例,并按照新生儿感染的结局将其分为两组,其中感染组 45 例,无感染组 53 例。本研究经医院伦理委员会批准通过。两组一般资料比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) 见表 1。

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

Table 1 Comparison of general data between 2 groups [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

组别	$n$	性别		分娩方式		妊娠时间		体重(kg)	母亲年龄(岁)
		男	女	顺产	剖宫产	27~37周	38~42周		
感染组	45	30	15	29	16	15	30	3.21 $\pm$ 0.51	31.20 $\pm$ 1.74
无感染组	53	33	20	32	21	10	43	3.15 $\pm$ 0.53	31.15 $\pm$ 1.71
$t/\chi^2$ 值		0.205		0.171		2.680		0.568	0.143
$P$ 值		0.650		0.679		0.102		0.571	0.887

纳入标准:①有新生儿宫内感染高危因素之一<sup>[7]</sup>:胎膜早破 18 小时;羊水 III 度粪污染或者有臭味;胎儿宫内窘迫;新生儿在出生时有过窒息情况发生;母亲在妊娠晚期出现发热或者血 CRP、WBC 等升高。②孕妇及家属知情同意,并签署知情同意书;③临床资料完整。排除标准:①合并有重大内科疾病史的孕妇分娩的新生儿;②合并有生殖道畸形的孕妇娩出的新生儿。

### 1.2 研究方法

收集所有研究对象临床资料,比较感染组和无感染组脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达水平差异,分别对比 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单独及联合用于诊断宫内细菌感染的临床诊断性能(灵敏度、特异性及准确度);采用 ROC 曲线分析 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单项及

联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值。

### 1.3 诊断标准

细菌感染的诊断标准<sup>[8]</sup>:血培养为阳性,临床表现为皮肤发灰、呼吸暂停、呼吸  $> 60$  次/min、呼吸功能不全、血压降低、嗜睡、心动过缓或过速、肌张力减低,出生 2 d 内 CRP  $> 10$  mg/L。

### 1.4 检测方法

在新生儿娩出后的 10 min 内,收集两组的脐带血,离心 (3 500 r/min, 5 min, 离心半径 8 cm) 后取分离血清。分离出血清后置于罗氏 E411 全自动电化学发光分析仪中检测 PCT 水平。通过酶联免疫吸附法 (Enzyme Linked Immune Sorbent Assay, ELISA) 测定两组的脐带血 TNF- $\alpha$ 、IL-6 浓度,北京贝瑞恩

科技有限公司提供试剂并进行检测。根据 ELISA 试剂盒说明书步骤操作。脐带血 PCT $\geq$ 0.5 ng/mL 计为阳性结果, IL-6 $>$ 23 ng/L 计为阳性结果, TNF- $\alpha$  $>$ 4.3 ng/mL 计为阳性;三个指标联合检测判断阳性结果时其中一个出现阳性结果则计为阳性<sup>[9-10]</sup>。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计数资料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料采用  $(\bar{x} \pm s)$  描述,行  $t$  检验;采用 ROC 曲线分析 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平

无感染组 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均低于感染组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 两组脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of PCT, TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in cord blood between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	PCT (ng/mL)	TNF- $\alpha$ (ng/mL)	IL-6 (ng/L)
感染组	45	2.94 $\pm$ 1.03	5.97 $\pm$ 2.11	32.43 $\pm$ 11.51
无感染组	53	0.41 $\pm$ 0.15	2.73 $\pm$ 1.05	17.41 $\pm$ 7.02
<i>t</i> 值	-	17.679	9.842	7.925
<i>P</i> 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 两组脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 阳性率

无感染组 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 阳性率均低于感染组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.3 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值

ROC 曲线显示,PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单项及联合检测曲线下面积 AUC 分别为 0.807、0.701、0.817、0.908,各指标曲线下面积以联合检测最大。见表 4、图 1。

表 3 两组脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 阳性率比较 [ $n(\%)$ ]

Table 3 Comparison of the positive rates of PCT, TNF- $\alpha$  and IL-6 in cord blood between 2 groups [ $n(\%)$ ]

组别	<i>n</i>	PCT (ng/mL)		TNF- $\alpha$ (ng/mL)		IL-6 (ng/L)	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
感染组	45	40 (88.89)	5 (11.11)	31 (68.89)	14 (31.11)	36 (80.00)	9 (20.00)
无感染组	53	13 (24.53)	40 (75.47)	9 (16.98)	44 (83.02)	16 (30.19)	37 (69.81)
$\chi^2$ 值	-	40.594		27.145		24.244	
<i>P</i> 值	-	< 0.001		< 0.001		< 0.001	

表 4 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值

Table 4 Predictive value of PCT, tnf- $\alpha$ , IL-6 single and combined detection levels on intrauterine bacterial infection

预测因子	最佳 临界值	敏感度 (%)	特异度 (%)	AUC	95%CI
PCT	9.74	0.74	0.81	0.807	0.717~0.898
TNF- $\alpha$	9.06	0.81	0.85	0.701	0.595~0.807
IL-6	10.73	0.79	0.83	0.817	0.728~0.906
PCT+TNF- $\alpha$ +IL-6	11.87	0.93	0.87	0.908	0.846~0.969
预测指数模型	3.85	0.834	0.743	0.884	0.764~0.674

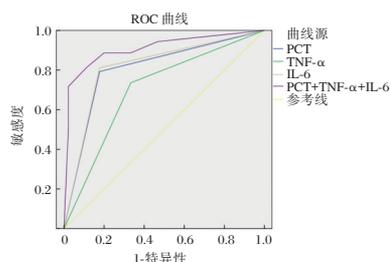


图 1 脐带血 PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6 单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve analysis of the predictive value of single and combined detection levels of PCT, TNF- $\alpha$  and IL-6 in cord blood for intrauterine bacterial infection

## 3 讨论

细菌感染是新生儿宫内感染的常见类型,主要途径为阴道上行感染,可引起早产、肺炎、肺出血、呼吸窘迫综合征、败血症等<sup>[11]</sup>。该症病情进展迅速,严重者预后不良,故早期诊断新生儿宫内感染,不仅可以减少临床上抗生素的滥用,还能及时缓解新生儿病情,是决定治疗预后的关键<sup>[12]</sup>。随着医疗诊断技术的发展,新生儿宫内感染诊断手段趋于成熟,目前羊水或脐血细菌培养为本症诊断的金标准。但由于羊水采集及羊水中细胞因子的浓度判断的困难,且很多细胞因子半衰期短,检测过程和程序较为复杂,也不易作为临床常用的早期判断指标。故本研究对有宫内细菌感染高危因素的新生儿脐带血中炎症反应指标进行检测,以期早期发现胎儿在宫内感染情况,减少病死率和疾病的发生率,提高其生存质量<sup>[13]</sup>。

PCT 是一种糖蛋白,主要由甲状腺 C 细胞分泌。PCT 在正常机体内含量极低,当机体感染时,其在 IL-6 等细胞因子刺激下,可在肺、肾、肝脏及

肌肉等多种器官实质细胞中大量释放,参与炎症反应<sup>[14]</sup>。本研究结果与上述研究一致,提示PCT在新生儿宫内细菌感染患儿血清中高表达。

白细胞介素(Interleukin, IL)是由多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子,与血细胞生长因子同属于细胞因子IL-6是IL家族重要成员,主要由单核巨噬细胞、Th2细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞产生。本研究显示,感染相关的脐带血中IL-6均有显著增高,这与Alemkere等<sup>[15]</sup>研究一致,这也证实了脐带血中IL-6的升高比脐带血细菌培养更能预示宫内感染的发生这一结论。

TNF- $\alpha$ 是一种产生的具有广泛生物学活性的多肽调节因子,由单核巨噬细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、中性粒细胞、B细胞、CD4+T细胞等产生,可被多种刺激物诱导发生。既往研究显示,TNF- $\alpha$ 作用与其在组织中的浓度有关,低水平时在组织修复、炎症应答中起作用,对机体有利;而当TNF- $\alpha$ 大量释放可以引起组织免疫损伤<sup>[16]</sup>。本研究结果提示TNF- $\alpha$ 的升高是判定胎儿在宫内发生炎症反应有显著意义的细胞因子。

为进一步分析PCT、TNF- $\alpha$ 、IL-6单项及联合检测水平对宫内细菌感染的预测价值,本研究利用ROC曲线进行分析。结果显示,PCT+TNF- $\alpha$ +IL-6的曲线下面积、敏感性、特异性最高,与Wilson等<sup>[17]</sup>研究基本一致,说明三者联合检测较单一指标检测诊断价值更高。

综上所述,脐带血PCT、TNF- $\alpha$ 及IL-6检测表达在发生宫内细菌感染的新生儿中显著升高,联合三者检测可作为预测宫内细菌感染发生的有效手段,临床上应检测其水平并及时进行干预,进而提高诊出率。但本研究样本量较少,同时围生期干扰因素较多,需要进一步扩大样本量证实PCT、TNF- $\alpha$ 联合IL-6对新生儿宫内细菌感染早期诊断价值。

## 参考文献

- [1] 李国伟, 仰大贵, 郭小峰, 等. 新生儿细菌性感染治疗前后血清PCT, hs-CRP及WBC水平变化及临床意义[J]. 解放军医药杂志, 2020, 31(8):91-95.
- [2] 曹慧. 匹多莫德辅助治疗手足口病合并细菌感染的疗效观察[J]. 保健医学研究与实践, 2018, 15(3):50-54.
- [3] 赵舒祺, 刘靖华. Rab蛋白在吞噬体成熟中的作用[J]. 医学分子生物学杂志, 2017, 14(6):360-364.
- [4] 王皓, 马四清, 孙斌. 不同细菌感染对脓毒症病情严重程度及预后的影响观察[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(12):72-77.
- [5] Karmouty KZE, Sayed EYE, Ahmed OA, et al. Evaluating tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in spontaneous bacterial peritonitis[J]. Egyptian Liver J, 2017, 7(2):9-12.
- [6] 仵晓峰, 王冉, 李宛玲. 剖宫产产妇产后感染患者血清TNF- $\alpha$ , PCT, IL-1 $\beta$ 水平的变化及其意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4):115-118.
- [7] Lee WJ, Lee TA, Calip GS, et al. Risk of Serious Bacterial Infection Associated with Tumor Necrosis Factor-Alpha Inhibitors in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease[J]. Inflamm Bowel Dis, 2018, 24(4):880-883.
- [8] Chalid MT. Effect of Synbiotic on Interleukin 10 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Serum Level in Pregnant Women with Bacterial Vaginosis[J]. Res J Obstetr Gynecol, 2018, 11(91):14-19.
- [9] Fan AH, Dai YZ. Efficacy of procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and interleukin-6(IL-6) dynamic monitoring on evaluation of children with severe pneumonia and prediction of acute respiratory distress syndrome (ARDS) [J]. J Clin Pulmonar Med, 2019, 43(46):5977-5980.
- [10] Jingrong D, Qiaoling H, Ping H. Influence on the contents of tumor necrosis factor- $\alpha$  interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 in the neonatal hyperoxic lung injury [J]. Med Forum, 2017, 31(26):451-453.
- [11] Mukai H, Takahashi M, Watanabe Y. Potential usefulness of Brevibacillus for bacterial cancer therapy: intratumoral provision of tumor necrosis factor- $\alpha$  and anticancer effects [J]. Cancer Gene Therap, 2017, 65(49):5649-5653.
- [12] Mithal LB, Palac HL, Ram Y, et al. Cord Blood Acute Phase Reactants Predict Early Onset Neonatal Sepsis in Pre-term Infants [J]. Plos One, 2017, 12(1):8675-8677.
- [13] Olguner SK, Boyar B, Alabaz D, et al. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 beta levels in cerebrospinal fluid examination for the diagnosis of ventriculoperitoneal shunt-related ventriculitis [J]. Childs Nerv Syst, 2019, 63(77):7243-7246.
- [14] Nadia B, Luca S, Noria S, et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha Targeting Can Protect against Arthritis with Low Sensitization to Infection [J]. Front Immunol, 2017, 8(53):1417-1419.
- [15] Alemkere G, Tenna A, Engidawork E, et al. Antibiotic use practice and predictors of hospital outcome among patients with systemic bacterial infection: Identifying targets for antibiotic and health care resource stewardship [J]. Plos One, 2019, 14(2):3561-3563.
- [16] Russcher A, Enders A, Brouwer CSD, et al. Diagnosis of intrauterine parvovirus B19 infection at birth-Value of DNA detection in neonatal blood and dried blood spots [J]. J Clin Virol, 2020, 129(56):104481-104482.
- [17] Wilson J, Baskerville J, Zarabi S. BET 2: Can procalcitonin accurately diagnose serious bacterial infection in emergency department patients with SIRS? [J]. Emergenc Med J Emj, 2017, 34(9):620-622.

## HCMV 感染新生儿外周血和脑脊液中 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 水平及临床意义

胡冰\* 周翔平 时英才 王翔

**[摘要]** 目的 探讨人巨细胞病毒(HCMV)感染新生儿后外周血和脑脊液中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、脂肪细胞补体相关蛋白 30(Acrp30)、基质金属蛋白酶-3(MMP-3)水平及临床意义。方法 选取 2017 年 10 月至 2019 年 10 月收治的 196 例 HCMV 感染新生儿(病例组),选取同期 80 例健康新生儿(对照组)。比较两组新生儿外周血和脑脊液中的 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 水平以及病例组治疗前、后各指标水平的变化,评估各指标对 HCMV 感染的预测价值。结果 病例组新生儿外周血和脑脊液 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 水平均高于对照组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。外周血和脑脊液 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 预测 HCMV 感染的灵敏度分别为 75.51%、88.27%、83.16%、75.51%、82.14%、64.29%,特异度分别为 81.15%、88.75%、80.00%、70.00%、87.50%、76.25%。治疗后,HCMV 感染新生儿的外周血和脑脊液 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 水平均低于治疗前,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 外周血和脑脊液 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 水平可为新生儿 HCMV 感染以及预后评估提供参考,具有一定的临床辅助诊断价值。

**[关键词]** 人巨细胞病毒;脑脊液;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;脂肪细胞补体相关蛋白 30;基质金属蛋白酶-3

### The levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid of neonates infected with HCMV and their clinical significance

HU Bing\*, ZHOU Xuping, SHI Yingcai, WANG Xiang

(Department of Pediatrics, Zhumadian Central Hospital, Henan Province, Zhumadian, Henan, China, 463000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), adipocyte complement-related protein of 30 (Acrp30) and matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) in peripheral blood and cerebrospinal fluid of neonates infected with human cytomegalovirus (HCMV) and their clinical significance. **Methods** Between October 2017 and October 2019, 196 HCMV-infected neonates (case group) and 80 healthy neonates (control group) were enrolled in this study. The levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30, and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid of the two groups were compared. And the levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30, and MMP-3 of the case group before and after treatment were compared. The predictive value of each indicator for HCMV infection was evaluated. **Results** The levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30, and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid in the case group were higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The sensitivities of peripheral blood and cerebrospinal fluid TNF- $\alpha$ , Acrp30, and MMP-3 for predicting HCMV infection were 75.51%, 88.27%, 83.16%, 75.51%, 82.14%, and 64.29%, while the specificities were 81.15%, 88.75%, 80.00%, 70.00%, 87.50%, and 76.25%. After treatment, the levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid in the case group were lower than those before treatment ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid can pro-

基金项目:河南省科技厅科技发展项目(172102310512)

作者单位:河南省驻马店市中心医院新生儿科,河南,驻马店 463000

\*通信作者:胡冰, E-mail:mangliu6969817698@163.com

vide references for neonatal HCMV infection and prognosis assessment and have certain clinical auxiliary diagnostic value.

[KEY WORDS] Human cytomegalovirus; Cerebrospinal fluid; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Adipocyte complement-related protein of 30; Matrix metalloproteinase-3

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是新生儿感染的常见病毒,感染率约为0.5%~2.5%,绝大多数为先天性感染或围产期母婴传播导致<sup>[1-2]</sup>。HCMV主要侵犯中枢神经、消化道、呼吸系统,造成新生儿脑积水、智力损害、黄疸、肝脾肿大、肺炎、呼吸衰竭等<sup>[3-4]</sup>。近年来研究发现,炎性介质、脂肪因子在HCMV感染导致的各脏器组织损害中具有重要作用:肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是临床常见的炎症介质,其水平直接反映机体炎症情况<sup>[5]</sup>;脂肪细胞补体相关蛋白30(adipocyte complement related protein of 30, Acrp30)是脂肪细胞分泌的特异性蛋白质,目前发现与中枢神经系统疾病密切相关<sup>[6]</sup>;基质金属蛋白酶-3(matrix metallo proteinases-3, MMP-3)在神经元凋亡机制中发挥关键作用,与炎症反应也有一定关联<sup>[7]</sup>。本研究探讨新生儿外周血和脑脊液中TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3水平与HCMV感染的关联及预测价值,为临床诊治及预后评估提供参考,报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年10月至2019年10月收治的196例HCMV感染新生儿(病例组)。男102例,女94例;胎龄33<sup>+2</sup>~40<sup>+5</sup>周,平均胎龄(37.45 $\pm$ 1.26)周;早产儿76例,足月儿120例;确诊感染时的新生儿日龄3~25 d,平均日龄(12.55 $\pm$ 3.01)d。纳入标准:①HCMV-DNA检测阳性,或血清HCMV-IgG或IgM抗体阳性,或从尿液、血液、唾液中分离出HCMV<sup>[8]</sup>;②患儿出生28 d内。排除标准:①新生儿先天性疾病;②新生儿缺血缺氧性脑病、化脓性脑膜炎、颅内出血、肺炎、败血症、血液病等;③合并肝炎病毒、弓形虫、梅毒、风疹病毒等感染疾病;④手术创伤史。选取同期80例健康新生儿(对照组),男43例,女37例;胎龄34<sup>+1</sup>~40<sup>+3</sup>周,平均胎龄(37.80 $\pm$ 1.33)周;早产儿25例,足月儿55例。病例组、对照组新生儿的性别、胎龄比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究通过医院伦

理委员会审核,新生儿父母签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本采集

所有新生儿于出生次日采集外周静脉血5 mL,3 000 rpm分离10 min,取上层血清待检。同时行腰椎穿刺,采集脑脊液5 mL,具体步骤:新生儿处于侧卧位弓背,双下肢屈曲。利多卡因常规麻醉后,选择髂嵴水平与L3-L4椎间隙的交点进针,依次刺入皮下组织、韧带、硬脊膜,有突破感提示进入蛛网膜下腔,然后抽出针芯,收集脑脊液5 mL送检。

#### 1.2.2 检验方法

根据酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)双抗体夹心法的原理检测外周血和脑脊液中TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3。试剂盒购自美国伯腾BioTek公司,检测仪器为美国伯腾BioTek 800TS多功能酶标仪。完全按说明书进行操作。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )描述,采用 $t$ 检验。绘制ROC曲线并选取最佳截断值对应的灵敏度、特异度、曲线下面积AUC值。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组新生儿外周血TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3水平比较

病例组新生儿外周血TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3水平均高于对照组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组新生儿外周血TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Levels of TNF- $\alpha$ , Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood of 2 groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	TNF- $\alpha$ (ng/L)	Acrp30(ng/L)	MMP-3(ng/L)
病例组	196	23.48 $\pm$ 5.15	30.53 $\pm$ 6.75	1.12 $\pm$ 0.28
对照组	80	10.22 $\pm$ 2.57	7.89 $\pm$ 2.38	0.67 $\pm$ 0.15
$t$ 值		21.925	29.240	13.591
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 两组新生儿脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平比较

病例组新生儿脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平均高于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 两组新生儿脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Levels of TNF-α, Acrp30 and MMP-3 in cerebrospinal fluid of 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TNF-α (ng/L)	Acrp30 (ng/L)	MMP-3 (ng/L)
病例组	196	10.59±3.35	11.06±2.15	0.62±0.18
对照组	80	4.86±1.18	3.39±1.07	0.33±0.10
t 值		14.912	30.386	8.891
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 外周血和脑脊液中 TNF-α、Acrp30、MMP-3 对 HCMV 感染的预测价值

外周血和脑脊液指标对 HCMV 感染的诊断效能由高到低依次为: Acrp30、TNF-α、MMP-3, 截断值、灵敏度、特异度。见表3、图1。

表3 外周血和脑脊液中 TNF-α、Acrp30、MMP-3 对 HCMV 感染的预测价值

Table 3 The predictive value of TNF-α, Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid in HCMV infection

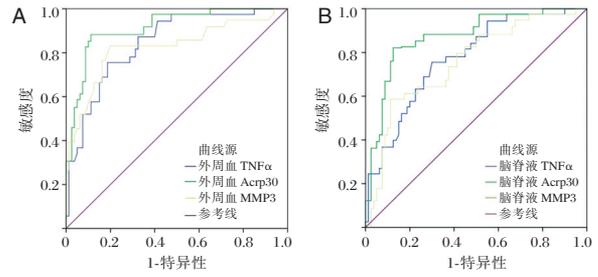
指标	AUC	95%CI	截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数
外周血						
TNF-α	0.845	0.793~0.897	15.50	75.51	81.15	0.568
Acrp30	0.914	0.877~0.951	18.00	88.27	88.75	0.770
MMP-3	0.827	0.777~0.876	0.87	83.16	80.00	0.632
脑脊液						
TNF-α	0.774	0.712~0.835	7.63	75.51	70.00	0.455
Acrp30	0.872	0.824~0.920	7.20	82.14	87.50	0.696
MMP-3	0.756	0.692~0.820	0.47	64.29	76.25	0.405

### 2.4 HCMV 感染新生儿治疗前后外周血和脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平变化

治疗后, HCMV 感染新生儿的外周血和脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平均低于治疗前, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表4。

## 3 讨论

新生儿 HCMV 感染又称为巨细胞包涵体病, 这是因为 HCMV 病毒侵入寄主细胞生成大量重组蛋白, 聚集在细胞核或细胞质中, 表达量越高越容易形成, 主要病理学特征为细胞变大, 核内和胞浆内出现包涵体<sup>[9-10]</sup>。HCMV 感染对优生优育影响



注: A: 外周血 TNF-α、Acrp30、MMP-3 预测 HCMV 感染的 ROC 曲线; B: 脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 预测 HCMV 感染的 ROC 曲线。

图1 外周血和脑脊液中 TNF-α、Acrp30、MMP-3 对 HCMV 感染的预测价值

Figure 1 The predictive value of TNF-α, Acrp30 and MMP-3 in peripheral blood and cerebrospinal fluid in HCMV infection

表4 HCMV 感染新生儿治疗前后外周血和脑脊液 TNF-α、Acrp30、MMP-3 水平变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Changes of TNF-α, Acrp30 and MMP-3 levels in peripheral blood and cerebrospinal fluid of neonates with HCMV infection before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	治疗前	治疗后	t 值	P 值
外周血				
TNF-α	23.48±5.15	13.18±3.01	35.343	<0.001
Acrp30	30.53±6.75	13.22±3.86	45.681	<0.001
MMP-3	1.12±0.28	0.75±0.19	22.043	<0.001
脑脊液				
TNF-α	10.59±3.35	5.63±1.86	26.656	<0.001
Acrp30	11.06±2.15	5.02±1.43	47.240	<0.001
MMP-3	0.62±0.18	0.40±0.12	20.533	<0.001

极大, 先天性感染的胎儿极易发生流产、死胎、早产, 在存活的胎儿中表现为多器官损害。围生期感染的新生儿易发生肺炎、呼吸衰竭, 是新生儿致死的主要原因之一<sup>[11]</sup>。HCMV 感染相关疾病的机制较为复杂, 目前仍未研究透彻, 有研究表明这可能与炎症介质、脂肪因子的免疫防御有关<sup>[12]</sup>。

TNF-α 是常见的炎症介质, 参与机体细胞免疫和杀伤肿瘤细胞。有研究报道在新生儿 HCMV 感染中可见血清 TNF-α、IFN-γ、IL-10 等细胞因子表达水平上升<sup>[13]</sup>。本研究结果与 Wang 等<sup>[14]</sup>的报道相符, 表示 HCMV 感染新生儿的外周血和脑脊液 TNF-α 水平显著上升, 这说明 HCMV 感染会刺激机体发生炎症反应, 引起外周血和脑脊液 TNF-α 水平上升, 当患儿得到有效治疗后外周血和脑脊液 TNF-α 水平又逐渐下降, 提示治疗有效, 机体炎症反应减轻。TNF-α 抗 HCMV 病毒的机制尚不清楚, 有研究分析可能与抑制病毒 RNA 复制、蛋白翻译, 减弱病毒颗粒的致病性有关<sup>[15]</sup>。在中枢神

经系统中, TNF- $\alpha$  可调节中枢刺激巨噬细胞分泌白细胞介素, 共同介导炎症反应。

Acrp30 最早被发现为调节机体糖脂代谢的特异性激素, 与心脑血管疾病有着密切关系<sup>[16]</sup>。近年来发现 Acrp30 也是影响中枢神经系统的细胞因子之一, 与神经系统损害和大脑认知功能异常有关。本研究发现 HCMV 感染新生儿的外周血和脑脊液 Acrp30 水平均高于健康新生儿。邹飞<sup>[17]</sup>的研究也表示新生儿 HCMV 感染致脑发育异常的患儿脑脊液 Acrp30 水平显著升高, 这与本研究结果相似。分析 Acrp30 在 HCMV 感染中的机制: Acrp30 与炎症具有一定关联, 有文献报道 Acrp30 抑制单核巨噬细胞的吞噬功能, 抑制血管内皮细胞黏附分子的表达, Acrp30 还可以上调 TNF- $\alpha$  水平, 促进炎症反应<sup>[18]</sup>。

MMP-3 是基质金属蛋白酶家族中的一员, 主要作用是降解细胞外基质中的各种蛋白成分, 同时也充当病毒感染引起炎症反应的介质。本研究发现 HCMV 感染新生儿的外周血和脑脊液 MMP-3 水平均高于健康新生儿, Wang 等<sup>[19]</sup>分析 HCMV 感染新生儿血清和脑脊液中细胞因子的变化, 同样发现患儿 MMP-3 水平呈上升趋势, 本研究结论与之相似。该研究还进一步表示 HCMV 感染新生儿脑脊液 MMP-3 水平变化可以作为评估 HCMV 感染患儿神经损伤程度预后判断的参考指标, 协助临床治疗。上述均提示 MMP-3 水平升高在 HCMV 感染过程中起到重要作用。

综上所述, 本研究评价外周血和脑脊液 TNF- $\alpha$ 、Acrp30、MMP-3 对 HCMV 感染的预测价值, 灵敏度分别为 75.51%、88.27%、83.16%、75.51%、82.14%、64.29%, 特异度分别为 81.15%、88.75%、80.00%、70.00%、87.50%、76.25%, 可为新生儿 HCMV 感染以及预后评估提供参考, 具有一定的临床辅助诊断价值。

#### 参考文献

- [1] Buxmann H, Hamprecht K, Meyer M, et al. Primary human cytomegalovirus (HCMV) infection in pregnancy [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2017, 114(4):45-52.
- [2] Gerna G, Lilleri D. Human cytomegalovirus (HCMV) infection/re-infection: development of a protective HCMV vaccine [J]. *New Microbiol*, 2019, 42(1):1-20.
- [3] Zhang XY, Fang F. Congenital human cytomegalovirus infection and neurologic diseases in newborns [J]. *Chin Med J*, 2019, 132(17):2109-2118.
- [4] Hamprecht K, Goelz R. Postnatal cytomegalovirus infection through human milk in preterm infants: transmission, clinical presentation, and prevention [J]. *Clin Perinatol*, 2017, 44(1):121-130.
- [5] Salomon BL, Leclerc M, Tosello J, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  and regulatory T cells in oncoimmunology [J]. *Front Immunol*, 2018, 12(9):444.
- [6] Wang HZ, Wang QL. Research progress of Acrp30/adiponectin [J]. *J Med Molecular Biology*, 2018, 25(2):102-105.
- [7] Zhu W, Kong W, Li T, et al. Correlation between NMDA receptor expression and MMP-3 expression in hippocampal neurons of young rats with epilepsy [J]. *Chin J Clin Neur*, 2018, 23(2):99-102.
- [8] Zavattoni M, Furione M, Arossa A, et al. Diagnosis and counseling of fetal and neonatal HCMV infection [J]. *Early Hum Dev*, 2014, 90(1):29-31.
- [9] Plotkin SA, Boppana SB. Vaccination against the human cytomegalovirus [J]. *Vaccine*, 2019, 37(50):7437-7442.
- [10] 付岳, 王瑞霞, 邹迎曙, 等. 人巨细胞病毒核酸标准物质研制与应用 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017, 9(6):367-370, 385.
- [11] Zhang XT, Yu ZF, Han ZL, et al. Diagnosis and treatment of neonatal cytomegalovirus pneumonia [J]. *Chin Matern Child Health Care*, 2018, 6(1):3597-3600.
- [12] Hammer Q, Rückert T, Borst EM, et al. Peptide-specific recognition of human cytomegalovirus strains controls adaptive natural killer cells [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(5):453-463.
- [13] Xiao HL, Zha L, Deng M, et al. Detection of cytokines in infants with cytomegalovirus hepatitis [J]. *J Clin Lab Sci*, 2019, 8(1):62-63.
- [14] Wang J, Sun HM, Wang HQ, et al. Changes and significance of serum IL-18 and TNF- $\alpha$  levels in infants with cytomegalovirus hepatitis before and after treatment [J]. *Anhui Med J*, 2015, 36(12):1517-1519.
- [15] Forte E, Swaminathan S, Schroeder MW, et al. Tumor necrosis factor alpha induces reactivation of human cytomegalovirus independently of myeloid cell differentiation following posttranscriptional establishment of latency [J]. *mBio*, 2018, 9(5):1560-1568.
- [16] Combs TP, Wagner JA, Berger J, et al. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPAR $\gamma$  agonists: a potential mechanism of insulin sensitization [J]. *Endocrinology*, 2020, 143(3):998-1007.
- [17] 邹飞. 巨细胞病毒感染致新生儿脑发育异常及其对细胞因子的调节作用 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
- [18] Lee CJ, Wang CC, Chen M, et al. Development of an inflammatory tissue-selective chimeric TNF receptor [J]. *Cytokine*, 2019, 1(113):340-346.
- [19] Wang S, Zou F, Wu S, et al. Changes of cytokines in serum and cerebrospinal fluid of neonates with human cytomegalovirus infection [J]. *Chin J Applied Clin Pediatrics*, 2019, 34(11):823-826.

## 内镜下套扎联合药物治疗对肝硬化上消化道出血患者hs-CRP水平、肝功能的影响

陈欣\* 戴军 余珊

**【摘要】** **目的** 分析内镜下套扎联合药物治疗对肝硬化上消化道出血患者hs-CRP水平、肝功能的影响。**方法** 选取本院2017年6月至2020年8月收治且经临床确诊的100例肝硬化上消化道出血患者作为研究对象。根据不同的治疗方法分为联合组( $n=52$ 例,内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗)与单一组( $n=48$ 例,内镜下套扎治疗),比较两组围手术期相关指标、超敏C反应蛋白(hs-CRP)、皮质醇及胰高血糖素水平、肝功能指标谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清总胆红素(TBIL)、血流动力学指标及不良反应。**结果** 联合组输血量、住院时间、止血时间及症状改善时间显著低于单一组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后,两组患者血清学因子hs-CRP、皮质醇及胰高血糖素水平、肝功能指标ALT、AST、TBIL及血流动力学指标门静脉血流量、脾静脉血流量、门静脉内径及脾静脉内径均较治疗前明显下降,且联合组上述指标均显著低于单一组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );两组均无严重不良反应发生。**结论** 内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗肝硬化上消化道出血疗效确切,可有效改善患者肝功能、静脉曲张血流动力学,止血效果显著,且具有一定安全性。

**【关键词】** 内镜下套扎术;奥美拉唑钠;肝硬化上消化道出血;肝功能

### Effect of endoscopic variceal ligation combined with drug therapy on the level of hs-CRP and liver function in patients with liver cirrhosis combined with upper gastrointestinal hemorrhage

CHEN Xin\*, DAI Jun, YU Shan

(Endoscopy Center, Department of Gastroenterology, Panzhihua Central Hospital, Panzhihua, Sichuan, China, 617000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To analyze the effect of endoscopic variceal ligation combined with drug therapy on the level of high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and liver function in patients with liver cirrhosis combined with upper gastrointestinal hemorrhage. **Methods** 100 patients with liver cirrhosis combined with upper gastrointestinal hemorrhage who were admitted to our hospital from June 2017 to August 2020 and were clinically diagnosed were selected as the research objects. According to different treatment methods, they were divided into a combined group ( $n=52$  cases, endoscopic variceal ligation combined with omeprazole sodium) and a single group ( $n=48$  cases, endoscopic variceal ligation). The clinical efficacy, perioperative indicators, hs-CRP, cortisol and glucagon levels, and liver function indicators Alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino Aspartate aminotransferase (AST), serum total bilirubin (TBIL), hemodynamic indicators and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The blood transfusion volume, hospitalization time, bleeding time and the improvement time of symptoms in the combined group were significantly lower than those in the single group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment,

基金项目:四川省科技厅面上项目(17YYJC1816)

作者单位:攀枝花市中心医院消化科内镜中心,四川,攀枝花 617000

\*通信作者:陈欣, E-mail: liang040678@163.com

the serum factors of patients in the two groups: hs-CRP, cortisol and glucagon levels, liver function indicators: ALT, AST, TBIL and hemodynamic indicators: blood flow in portal vein, blood flow in splenic vein, inner diameter in portal vein and splenic vein were significantly lower than those before treatment, and the above indicators of the combined group were significantly lower than those of the single one, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). No serious adverse reactions occurred in both groups. **Conclusion** Endoscopic variceal ligation combined with omeprazole sodium has a definite effect in the treatment of patients with liver cirrhosis combined with upper gastrointestinal hemorrhage, which can effectively improve the liver function and hemodynamics of varicose veins in patients with significant hemostatic effects and a certain degree of safety.

**[KEY WORDS]** Endoscopic variceal ligation; Omeprazole sodium; Liver cirrhosis combined with upper gastrointestinal hemorrhages; Liver function

肝硬化晚期常因肝脏硬化、肝小叶及血管解剖结构破坏而出现多种严重并发症,其中上消化道出血是最为常见的并发症<sup>[1]</sup>。据相关资料显示,在首次出血患者中,最终再次出血几率可高达50%以上,病死率为20%~40%,对患者生命安全造成极大威胁<sup>[2-3]</sup>。近年来,随着内镜技术的不断进步与发展,内镜下套扎术因创伤小、止血效果好、安全性高等特点成为治疗肝硬化上消化道出血患者的首选治疗手术<sup>[4]</sup>。临床实践证实,该术式止血效果虽好,但无法解决患者再出血问题,且肝功能、免疫功能等可能受到影响,其中血清超敏C反应蛋白(High sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)是由肝脏合成的因一系列感染或炎症因素的刺激而产生的急性时相反应物质,可反映患者炎症状态<sup>[5]</sup>。故本研究选取了100例肝硬化上消化道出血患者作为研究对象,分析内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗的临床效果,并探讨其对患者肝功能、血清炎症因子的影响,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院2017年6月至2020年8月收治且经临床确诊的肝硬化上消化道出血患者作为研究对象。纳入标准:①所有患者均符合《慢性乙型肝炎防治指南》中肝硬化失代偿临床诊断标准<sup>[6]</sup>;②临床各方面资料完整;③未合并其他严重恶性疾病;

④既往无内镜治疗或介入治疗史;⑤所有患者均自愿参与本次研究,并签署知情同意书。排除标准:①入院时即有消化道大出血、肝癌、其他部位感染等疾病;②合并胃底静脉曲张;③妊娠期或哺乳期孕妇;④过敏体质;⑤心律失常者。最终共纳入100例患者,根据不同的治疗方法分为联合组( $n=52$ 例)与单一组( $n=48$ 例),两组一般资料组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性,见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 方法

两组患者入院后均完善相关检查,给予吸氧、补充血容量等常规治疗。单一组在此基础上采用内镜下套扎术治疗,具体如下:术前进行心电监护,建立静脉通道,利多卡因咽喉麻醉,利用胃镜观察出血的具体位置及食管静脉曲张程度,随后退镜并经套扎装置安装于胃镜头端,再入镜,距离食管齿状线2~3 cm左右的位置对准靶静脉,自上而下进行螺旋式套扎,每次套扎6~12环,环间距为2 cm左右,退出套扎套扎。联合组患者在单一组基础上联合奥美拉唑钠治疗,具体方法为:在套扎术完成后于被套扎的曲张静脉注射40 mg奥美拉唑钠(南京海润医药有限公司,国药准字H20058021)+100 mL生理盐水,1次/12 h,3 d为1个疗程。两组术后均给予抗感染、抑制酸等支持治疗,术后2周复查胃镜,观察是否需重复治疗。

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

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

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	出血量(mL)	肝功能 ChildPugh 分级		
					A级	B级	C级
联合组	52	27/25	46.08±7.21	574.76±86.33	9(17.31)	25(48.08)	18(34.62)
单一组	48	22/26	47.48±8.35	581.48±90.71	10(20.83)	24(50.00)	14(29.17)
$\chi^2/t$ 值		0.370	0.899	0.380		0.414	
P值		0.543	0.371	0.705		0.813	

### 1.3 观察指标

#### 1.3.1 围手术期相关指标

比较两组患者止血时间、输血量、住院时间及症状改善时间。

#### 1.3.2 血清因子

检测指标包括 hs-CRP、皮质醇、胰高血糖素。于治疗前后分别空腹抽取患者 3 mL 静脉血,常规抗凝、离心,低温保存。hs-CRP 采用酶联免疫吸附实验法检测,采用德国 Herrenberg 生物试剂公司的 hs-CRP 酶联免疫试剂盒,检测仪器芬兰 Wellscan 公司 MK3 型全自动酶标仪;皮质醇、胰高血糖素均采用放射性免疫法检测,试剂盒由京科美东雅生物技术研究所提供,检测仪器英国 DFM-96 型 10 管放射免疫 Y 计数器。

#### 1.3.3 肝功能

检测肝功能指标谷氨酸氨基转移酶 (Alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (Aspartate aminotransferase, AST)、血清总胆红素 (Total bilirubin, TBIL)。于治疗前后分别空腹抽取患者 3 mL 静脉血,常规抗凝、离心,低温保存。均采用速率法检测。检查仪器:全自动生化分析仪,日本东芝医疗器械制造有限公司。试剂:ALT、AST 试剂均为北京利德曼生化技术有限公司生产;TBIL 试剂由北京九强生物技术有限公司生产。

#### 1.3.4 血流动力学指标

使用彩超检查两组治疗前后门静脉血流量、脾静脉血流量、门静脉内径、脾静脉内径。

#### 1.3.5 不良反应

比较两组患者治疗后呕吐、头痛等药物不良反应发生情况。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料采用  $(\bar{x} \pm s)$  描述,两组间采用 *t* 检验,多组间采用方差检验;计数资料通过  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组围手术期相关指标比较

联合组输血量、住院时间、止血时间及症状改善时间显著低于单一组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组围手术期指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

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

组别	<i>n</i>	输血量 (mL)	住院时间 (d)	止血时间 (h)	症状改善时间 (h)
联合组	52	243.42±50.42	6.14±2.46	15.93±2.54	24.19±3.56
单一组	48	399.69±77.14	11.63±2.11	23.41±3.14	51.36±5.71
<i>t</i> 值		12.080	11.931	13.142	28.789
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 两组患者治疗前后血清因子比较

治疗后,两组患者血清学因子 hs-CRP、皮质醇及胰高血糖素水平、肝功能指标 ALT、AST、TBIL 及血流动力学指标门静脉血流量、脾静脉血流量、门静脉内径及脾静脉内径均较治疗前明显下降,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.3 不良反应

两组治疗后均未出现严重不良反应。

## 3 讨论

肝硬化上消化道出血是常见的一种急危重症,同时也是导致肝硬化患者死亡的主要原因<sup>[7]</sup>。因

表 3 两组患者治疗前后血清因子、肝功能指标及血流动力学指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of serum factors between the two groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	联合组 (52)		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	单一组 (48)		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
hs-CRP (μg/L)	15.26±2.36	5.31±0.35	30.074	<0.001	15.57±2.38	10.61±0.52 <sup>a</sup>	14.106	<0.001
皮质醇 (μg/L)	357.45±10.31	274.53±8.37	44.388	<0.001	357.06±10.53	295.27±8.68 <sup>a</sup>	31.371	<0.001
胰高血糖素 (ng/L)	215.63±15.13	146.71±10.43	27.045	<0.001	215.13±15.43	175.73±10.25 <sup>a</sup>	14.736	<0.001
ALT (U/L)	36.79±27.87	20.11±12.31	3.475	<0.001	35.86±26.68	27.26±10.25 <sup>a</sup>	2.085	0.040
AST (U/L)	48.49±23.57	33.68±17.76	3.619	<0.001	48.83±22.62	40.35±18.06 <sup>a</sup>	2.030	0.045
TBIL (μmol/L)	32.80±25.61	19.57±5.34	3.515	<0.001	33.72±26.05	24.69±7.69 <sup>a</sup>	2.303	0.024
门静脉血流 (mL/min)	785.15±164.63	546.36±95.14	9.056	<0.001	785.26±164.14	664.23±95.56 <sup>a</sup>	4.415	<0.001
脾静脉血流 (mL/min)	384.63±73.31	203.37±56.13	14.157	<0.001	384.14±73.72	286.16±56.67 <sup>a</sup>	7.300	<0.001
门静脉内径 (mm)	11.42±1.16	7.21±1.03	19.570	<0.001	11.72±1.18	9.12±1.06 <sup>a</sup>	11.356	<0.001
脾静脉内径 (mm)	7.21±1.01	4.09±0.92	16.468	<0.001	7.51±1.04	6.14±0.96 <sup>a</sup>	6.706	<0.001

注:<sup>a</sup>与联合组治疗后比较, $P < 0.05$ 。

此,不断寻找有效的治疗方法以提高止血成功率、降低病死率成为临床研究热点之一<sup>[8]</sup>。内镜下套扎术是目前治疗上消化道出血的常用方法,具有操作简便、安全性高的特点<sup>[9]</sup>。内镜下套扎术止血效果虽好,但只阻断了静脉表面的血流,无法改善静脉周围黏膜下的侧支循环及门静脉压力,静脉周围及黏膜下侧支循环常会破坏已结扎的曲张静脉,从而发生再出血,导致预后不良<sup>[10]</sup>。Coysh等<sup>[11]</sup>报道,通过对比单一内镜套扎术与内镜套扎术联合药物注射治疗肝硬化食管静脉曲张破裂出血的疗效发现,仅单一内镜套扎术治疗虽可有效止血,但其临床总体疗效不佳。本组研究采用的药物主要为奥美拉唑钠,奥美拉唑钠又称为质子泵阻断药,为脂溶性弱碱性药物,作用于胃黏膜壁细胞,降低壁细胞中的H-K-ATP酶的活性,从而抑制基础胃酸和刺激引起的胃酸分泌,进而降低胃酸对胃黏膜的腐蚀破坏,有助于胃黏膜血液循环改善,缓解血管痉挛,有利于恢复胃上皮细胞功能。可见本组研究采用内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗,取得满意效果。

hs-CRP是肝脏合成的一种急性时相反应蛋白,是判断机体炎症反应的敏感指标。Vagishwari等<sup>[12]</sup>研究通过探讨注射用特利加压素联合注射用奥美拉唑治疗肝硬化上消化道出血的临床疗效发现,特利加压素联合注射用奥美拉唑治疗可降低肝硬化消化道出血患者血清hs-CRP水平。上消化道出血的病因多种多样,主要是应激反应的产生,为作用于脑-垂体-肾上腺轴的神经内分泌反应。皮质醇可有效反映出机体的氧化应激状态。Parul等<sup>[13]</sup>研究发现,上消化道出血可导致患者皮质醇分泌增多。胰高血糖素具有扩张血管、增加门静脉血流量等作用。国外研究显示,奥美拉唑钠可抑制胰高血糖素的分泌,阻断内脏血管收缩、扩张,进而起到止血作用<sup>[14]</sup>。本研究结果表明内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗改善机体炎症反应和微循环效果更为佳。研究结果还显示,治疗后两组静脉血流量、脾静脉血流量、门静脉内径及脾静脉内径均明显改善,以联合组改善更显著,与Biolato等<sup>[15]</sup>报道基本相符。表明单一治疗及联合治疗均能明显减少脏内血流量,而联合治疗效果更有优势。

综上所述,内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗肝硬化上消化道出血疗效确切,可有效改善患者肝功能、静脉曲张血流动力学,止血效果显著,且具有一定安全性。

## 参考文献

- [1] 邵小梅,杨杨,韩丽霞. 胰抑素C和肝动脉阻力指数在肝硬化患者中的临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(5):365-368.
- [2] 何兴兵,李强,刘世祥. 生长抑素联合埃索美拉唑治疗肝硬化合并上消化道出血临床观察[J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(4):96-99, 103.
- [3] Czaplewski E. Massive upper gastrointestinal bleeding post-Whipple's surgery from anastomotic varices due to mesenteric hypertension[J]. Endoscopy, 2018, 50(7):E159-E162.
- [4] 姜宗飞,朱司泉,李强,等. 人脑动静脉畸形出血相关的危险因素及其病灶的内皮祖细胞与SDF-1的关系[J]. 四川大学学报(医学版), 2020, 51(4):453-456.
- [5] 石薇,陈永顺. MIP-1 $\alpha$ , RANTES在肝癌患者外周血中的表达及临床意义[J]. 医学分子生物学杂志, 2018, 15(4):223-226.
- [6] Pinson RF, Herbert GS, Francis JM. A Case of Upper Gastrointestinal Bleeding Due to a Large Gastric Lipoma Within a Hiatal Hernia: 2584 [J]. Am J Gastroenterol, 2017, 112(15):S1413.
- [7] 王慧,张恩,王勇,等. 利福昔明联合门冬氨酸鸟氨酸治疗肝硬化肝性脑病的效果观察[J]. 保健医学研究与实践, 2017, 14(1):51-52.
- [8] Ghanimeh MKA, Isseh M, Caines A, et al. Massive Upper Gastrointestinal Bleeding Due to Buried Bumper Syndrome Treated by Over-the-Scope Clip Placement: 2110 [J]. Am J Gastroenterol, 2018, 113(Supplement): S1201-S1202.
- [9] 侯春阳,马玉梅,刘莉,等. 慢性乙型肝炎及乙型肝炎后肝硬化、肝癌患者外周血辅助性T淋巴细胞表达水平分析[J]. 临床误诊误治, 2017, 30(5):98-101.
- [10] Men C, Zhang G. Endoscopic ultrasonography predicts early esophageal variceal bleeding in liver cirrhosis: A case report [J]. Medicine, 2017, 96(17):e6749.
- [11] Coysh T, Zonoozi S, Jayasooriya N, et al. PTU-073Title: is portal vein diameter being reported in abdominal ultrasound scans of decompensated liver cirrhosis patients? [J]. Gut, 2017, 66(Suppl 2):A87-89.
- [12] Vagishwari M, Jim H, Won C. Mo1204 - Trend of Mortality in Non-Variceal Upper Gastrointestinal Bleeding in Patients with Liver Cirrhosis and Chronic Liver Disease [J]. Gastroenterology, 2018, 154(6):706-708.
- [13] Parul T, Kirles B, Stacey B, et al. Tu1559 - Predictors of 30-Day Readmission after Hospitalization for Upper Gastrointestinal Bleeding in Patients with Cirrhosis [J]. Gastroenterology, 2018, 154(6):1251-1252.
- [14] Mathieu H, Roland A, Etienne A, et al. Efficacy and tolerance of early administration of tranexamic acid in patients with cirrhosis presenting with acute upper gastrointestinal bleeding: a study protocol for a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial (the EXARHOSE study) [J]. BMJ Open, 2018, 8(8):e021943.
- [15] Biolato M, Tarli C, Marrone G, et al. Gallbladder perforation without cholecystitis in a patient awaiting liver transplantation: a peculiar case report of anaemia in cirrhosis [J]. BMC Gastroenterol, 2019, 19(1):165-166.

## T3、T4、早期乳酸清除率及HBP蛋白与重症肺炎病情程度及预后的关系

石宏哲<sup>1\*</sup> 王海霞<sup>1</sup> 秦铮<sup>1</sup> 赵翠梅<sup>1</sup> 孙淑艳<sup>1</sup> 池卫华<sup>2</sup>

**【摘要】** 目的 分析甲状腺激素、早期乳酸清除率及肝素结合蛋白检测对重症肺炎病情程度及预后的评估价值。方法 选取2018年9月至2020年5月本院接收的75例重症肺炎患者,据急性生理与慢性健康评分将所有患者分为A组(21例)、B组(28例)、C组(26例);据28d内疾病转归情况分为生存组(51例)和死亡组(24例);选取35例同期接受健康体检者作为对照组。采用多元Logistic回归分析影响重症肺炎患者预后的独立危险因素;采用ROC曲线分析甲状腺激素、早期乳酸清除率及HBP水平对重症肺炎患者预后生存的预测价值。结果 T3、T4及6h乳酸清除率比较:对照组>A组>B组>C组,HBP水平比较:对照组<A组<B组<C组差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Fine V级以上、高龄、血红蛋白<90 g/L、机械通气和T3、T4、早期乳酸清除率及HBP水平异常为影响重症肺炎患者预后生存的独立因素( $P<0.05$ )。T3、T4、早期乳酸清除率、HBP水平及四者联合诊断重症肺炎的曲线下面积以联合检测最大。结论 T3、T4、早期乳酸清除率及HBP水平异常可评估重症肺炎患者病情的严重程度,是影响患者预后生存的独立危险因素。

**【关键词】** 重症肺炎;甲状腺激素;早期乳酸清除率;HBP蛋白

### The relationship between T3, T4, early lactate clearance rate, HBP protein and the severity and prognosis of severe pneumonia

SHI Hongzhe<sup>1\*</sup>, WANG Haixia<sup>1</sup>, QIN Zheng<sup>1</sup>, ZHAO Cuimei<sup>1</sup>, SUN Shuyan<sup>1</sup>, CHI Weihua<sup>2</sup>

(1. Department of Critical Care Medicine, Qinhuangdao Workers' Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066200; 2. Department of Imaging, Qinhuangdao Workers' Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066200)

**【ABSTRACT】** **Objective** To analyze the value of thyroid hormone, early lactate clearance rate and heparin-binding protein (HBP) detection for the severity and prognosis of severe pneumonia. **Methods** 75 patients with severe pneumonia accepted by our hospital from September 2018 to May 2020 were selected. According to acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) scores, all patients were divided into three groups: group A (21 cases), group B (28 cases), C Group (26 cases). 75 patients were divided into the survival group (51 cases) and the death group (24 cases) according to the disease outcome within 28 days. At the same time, 35 cases with normal physical examination results were selected as the control group. Thyroid hormones [triiodothyronine (T3), thyroxine (T4)], early lactate clearance rate and HBP levels in the three groups A, B, C and the control group were measured and compared. The multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the independent risk factors affecting the prognosis of patients with severe pneumonia. The ROC curve was used to analyze the predictive value of thyroid hormone, early lactate clearance and HBP level on the prognosis of patients with severe pneumonia. **Results** T3, T4 and 6h lactic acid clearance rates among the four groups are as follows: the control group>group A>group B>group C.

基金项目:秦皇岛市重点研发计划科技支撑项目(201805A066)

作者单位:1. 秦皇岛市工人医院重症医学科,河北,秦皇岛 066200

2. 秦皇岛市工人医院影像科,河北,秦皇岛 066200

\*通信作者:石宏哲, E-mail: renbuzi5062840958@163.com

Comparison of HBP level: the control group<A group<B group<C group ( $P<0.05$ ). Fine grade V or higher, advanced age, hemoglobin<90 g/L, mechanical ventilation and T3, T4, early lactate clearance and abnormal HBP level are independent factors that affect the prognostic survival of patients with severe pneumonia ( $P<0.05$ ). The area under the combined curve in area under the curve of T3, T4, early lactate clearance and HBP curve and the area under the combined curve was the largest. **Conclusion** T3, T4, early lactate clearance, and abnormal HBP levels can assess the severity of patients with severe pneumonia, and are independent risk factors that affect the prognosis of patients with severe pneumonia.

[KEY WORDS] Severe pneumonia; Thyroid hormone; Early lactate clearance rate; HBP protein

重症肺炎是指在肺炎病程中,除具有常见呼吸系统症状外,尚有呼吸衰竭和其他系统明显受累表现的危重阶段<sup>[1]</sup>。早期诊断重症肺炎,准确判断疾病发展程度和评估患者预后对提高生存率情况尤为重要<sup>[2]</sup>。由于重症肺炎患者出现严重感染、缺血缺氧、休克、应激反应等,体内血清甲状腺激素水平常有不同程度降低,故相关研究将其作为反映疾病严重程度的一项有效指标<sup>[3]</sup>。血乳酸浓度作为反映外周组织关注情况和细胞内是否缺氧的敏感指标,动脉早期(6 h)乳酸清除率可有效评价重症感染性疾病病情程度及预后<sup>[4]</sup>。此外,肝素结合蛋白(heparin-binding protein, HBP)作为多形核白细胞分泌的重要颗粒蛋白,其与重症感染之间的关系也越来越引起研究者的重视<sup>[5]</sup>。本研究就甲状腺激素、早期乳酸清除率及HBP检测对重症肺炎病情程度、预后的评估价值进行分析,现报道如下。

## 1 一般资料

### 1.1 资料与方法

选取2018年9月至2020年5月本院接收的75例重症肺炎患者临床资料,纳入标准:①符合重症肺炎诊断标准<sup>[6]</sup>;②年龄在18岁以上;③临床资料完整者;排除标准:①入组前3月内有抗生素、糖皮质激素、免疫抑制剂等药物使用史者;②合并慢性阻塞性肺疾病、肺结核等肺部疾患者;③合并心脑血管疾病、肝肾功能严重不全、凝血功能障碍者;④合并恶性肿瘤疾病者;⑤合并痴呆等精神疾患无法配合本研究开展者。

根据急性生理与慢性健康(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分<sup>[7]</sup>将所有患者分为三组:A组(0~19分,21例)、B组(20~29分,28例)、C组( $\geq 30$ 分,26例)。根据28 d内疾病转归情况再将75例重症肺炎患者分为生存组(51例)和死亡组(24例)。

同时选取35例同期于本院接受健康体检结果正常者且临床资料完整者作为对照组,A、B、C及对照组四组间性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 观察指标

#### 1.2.1 甲状腺激素检测

入院24 h内抽取患者3 mL静脉血,离心、分离血清,采用时间分辨荧光免疫分析法检测T3、T4水平,仪器使用美国雅培公司生产的ABBOTT AXSYM Plus全自动化学发光免疫分析仪,试剂盒由南京建成生物科技有限公司提供。正常参考值范围是:T3: 1.34~2.73 nmol/L, T4: 6.09~12.23  $\mu\text{g/dL}$ <sup>[8]</sup>。操作严格按试剂说明书进行,质控检测均在范围内。

#### 1.2.2 早期乳酸清除率计算

采用GEM Premier 3000仪器检测患者入院时及入院6 h时动脉血乳酸水平,并计算6 h乳酸清除率,6 h乳酸清除率=(初始血乳酸值-6 h后血乳酸值)/初始血乳酸值 $\times 100\%$ <sup>[9]</sup>。

#### 1.2.3 HBP检测

HBP检测采用酶联免疫吸附法,入院24 h内对全部患者进行静脉抽血3 mL,将抽取的血样放置不含抗凝剂的试管内,于常温下静置30 min,然后进行15 min、1 000 r/min的离心操作,取血清,于-20℃下保存等待检测。试剂盒由上海莱尔生物科技公司提供,具体操作严格按照说明书执行。正常值范围:10 ng/mL<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,两组间比较采用 $t$ 检验,多组间采用 $F$ 检验;采用多元Logistic回归分析影响分析影响重症肺炎患者预后的独立危险因素;采用ROC曲线分析甲状腺激素、早期乳酸清除率及HBP水平对重症肺炎患者预后生存的预测价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 四组 T3、T4、6 h 乳酸清除率及 HBP 水平比较

四组间 T3、T4 及 6h 乳酸清除率比较:对照组>A 组>B 组>C 组,四组间 HBP 水平比较:对照组<A 组<B 组<C 组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 四组 T3、T4、6 h 乳酸清除率及 HBP 水平比较  
( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of lactate clearance rate and HBP level at T3, T4 and 6 h in 4 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	T3(nmol/L)	T4( $\mu\text{g/L}$ )	6 h 乳酸清除率(%)	HBP (ng/mL)
A 组	21	1.36 $\pm$ 0.58 <sup>abc</sup>	6.57 $\pm$ 1.34 <sup>abc</sup>	26.56 $\pm$ 7.48 <sup>abc</sup>	17.63 $\pm$ 5.31 <sup>abc</sup>
B 组	28	0.91 $\pm$ 0.42 <sup>ab</sup>	4.38 $\pm$ 1.06 <sup>ab</sup>	20.31 $\pm$ 6.53 <sup>ab</sup>	35.75 $\pm$ 6.87 <sup>ab</sup>
C 组	26	0.57 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	3.27 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>	17.58 $\pm$ 4.31 <sup>a</sup>	57.31 $\pm$ 9.75 <sup>a</sup>
对照组	35	1.98 $\pm$ 0.56	9.85 $\pm$ 1.11	29.37 $\pm$ 7.59	9.45 $\pm$ 2.33
F 值		49.15	197.90	19.52	306.84
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 B 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 C 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 影响重症肺炎患者预后生存单因素分析

年龄、合并基础疾病、机械通气、长期卧床、白细胞水平、Fine V 级以上、T3、T4、6 h 乳酸清除率及 HBP 水平异常是影响重症肺炎患者预后生存单因素( $P<0.05$ ),见表 2。

### 2.3 影响重症肺炎患者预后生存多因素分析

Fine V 级以上、高龄和 T3、T4、6 h 乳酸清除率及 HBP 水平异常为影响重症肺炎患者预后生存多因素( $P<0.05$ ),见表 3。

### 2.4 甲状腺激素、早期乳酸清除率及 HBP 水平对重症肺炎患者预后生存的预测价值

T3、T4、早期乳酸清除率及 HBP 水平及四者联合曲线下面积分别为 0.895、0.873、0.921、0.855、0.995、0.884,各指标曲线下面积以联合检测最大,见图 1。

表 2 影响重症肺炎患者预后生存单因素分析 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Univariate analysis of prognosis and survival in patients with severe pneumonia [ $n(\%)$ ]

因素		生存组 (n=51)	死亡组 (n=24)	$\chi^2$ 值	P 值
性别	男	28(54.90)	12(50.00)	0.158	0.691
	女	23(45.10)	12(50.00)		
年龄(岁)	<60	38(74.51)	5(20.83)	19.222	<0.001
	$\geq 60$	13(25.49)	19(79.17)		
机械通气	是	14(27.45)	18(75.00)	15.084	<0.001
	否	37(72.55)	6(25.00)		
合并基础疾病	是	12(23.53)	19(79.17)	20.833	<0.001
	否	39(76.47)	5(20.83)		
长期卧床	是	21(41.18)	20(83.33)	7.587	0.006
	否	30(58.82)	4(16.67)		
白细胞( $\times 10^9/L$ )	$\geq 3.0$	20(39.22)	18(75.00)	8.361	0.004
	<3.0	31(60.78)	6(25.00)		
Fine V 级以上	是	20(39.22)	21(87.50)	15.353	<0.001
	否	31(60.78)	3(12.50)		
T3	正常	30(58.82)	2(8.33)	12.242	<0.001
	异常	21(41.18)	22(91.67)		
T4	正常	25(49.02)	3(12.50)	9.303	0.002
	异常	26(50.98)	21(87.50)		
6h 乳酸清除率	正常	30(58.82)	6(25.00)	7.480	0.006
	异常	21(41.18)	18(75.00)		
HBP	正常	23(45.10)	5(20.83)	4.107	0.043
	异常	28(54.90)	19(79.17)		

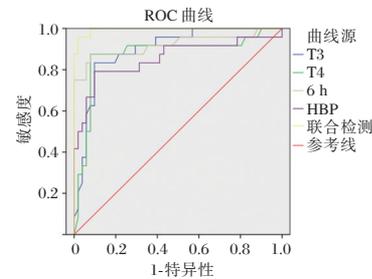


图 1 ROC 曲线预测图

Figure 1 Prediction of ROC curve

## 3 讨论

重症肺炎是指终末气道、肺泡、肺间质的炎症,可由病原微生物、理化因素、免疫损伤、过敏及药物。寻求正确判断病情严重程度、评估患者预

表 3 影响重症肺炎患者预后生存多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of prognosis and survival in patients with severe pneumonia

影响因素	回归系数	标准误	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR 值	95%CI 值
年龄( $\geq 60$ 岁 vs <60岁)	0.761	0.135	4.261	<0.001	2.14	1.64~2.79
Fine V 级以上(是 vs 否)	0.694	0.112	4.369	<0.001	2.00	1.61~2.49
白细胞( $\geq 3.0 \times 10^9/L$ vs <3.0 $\times 10^9/L$ )	0.845	0.664	4.164	0.073	2.33	0.63~8.55
合并基础疾病(是 vs 否)	0.925	0.631	4.355	0.065	2.52	0.73~8.69
机械通气(是 vs 否)	0.764	0.581	4.311	1.025	2.15	0.69~6.70
T3(正常 vs 异常)	0.815	0.135	4.957	<0.001	2.26	1.73~2.94
T4(正常 vs 异常)	0.764	0.115	4.454	<0.001	2.15	1.71~2.69
6h 乳酸清除率(正常 vs 异常)	0.713	0.162	4.429	<0.001	2.04	1.49~2.81
HBP 水平(正常 vs 异常)	0.689	0.135	4.421	<0.001	1.99	1.53~2.60
长期卧床(是 vs 否)	0.613	0.539	4.524	1.350	1.85	0.64~5.31

后情况的有效指标,可为治疗提供有效证据已成为相关基础和临床研究者关注的重点。

乳酸是体内糖代谢的中间产物,既往通过检测动脉血乳酸水平变化,可判断机体氧生理代谢及组织灌注状态。近年来,较多研究发现了6 h乳酸清除率在评估组织灌注状态的价值。严春苗等<sup>[10-11]</sup>认为,复苏6 h的乳酸清除率有助于医务人员判断患者病情是否出现改善,其还可成为预测患者预后情况的独立因素。这与本研究结果基本一致,证明6 h乳酸清除率水平的变化可作为评估其预后的有效指标。

HBP在炎症反应中的价值主要包括两方面:一方面,其可以激活单核细胞和巨噬细胞,释放肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、干扰素- $\gamma$ 等炎性介质,具有显著的抗菌活性、趋化特性及调节炎症反应作用;另一方面,其还可修饰内皮细胞,引起血管泄漏,促进白细胞由毛细血管向感染部位转移。张晓彤等<sup>[12]</sup>通过对比矽肺合并重症感染者及未合并感染者体内HBP水平,相关性分析显示HBP与白细胞、C反应蛋白、降钙素原等因子指标呈正相关性。这与本研究结果相似,证实HBP在重症感染患者中具有较高的诊断效能。

本研究中,重症肺炎死亡组患者T3、T4水平异常占比显著高于生存组。其机理可能为:①重症肺炎患者处于高应激状态,其肝肾功能可出现不同程度的障碍,引起甲状腺激素异常代谢,并抑制T4转化<sup>[13]</sup>。②危重状态下,患者营养状况低下,白蛋白、甲状腺球蛋白下降,可引起T3、T4水平下降。③T4与甲状腺蛋白结合受到抑制。④呼吸道疾病大多是因为感染诱发缺氧加重,感染可产生一系列细胞因子抑制T4脱碘为T3<sup>[14]</sup>。此外,本研究采用ROC曲线分析T3、T4、早期乳酸清除率及HBP水平及四者联合对重症肺炎患者预后生存的预测价值,结果发现各指标曲线下面积以联合检测最大,进一步提示临床可通过联合检测多项指标提高对重症肺炎患者预后情况的评估价值。

综上,T3、T4、早期乳酸清除率及HBP水平在重症肺炎患者中呈异常表达状态,T3、T4、早期乳酸清除率及HBP水平异常是影响重症肺炎患者预后生存的独立危险因素,联合四指标检测对评估患者病情变化及预后情况有重要价值。

## 参考文献

- [1] 刘瑞莹,李群,杨帅,等. ALB、CD64及BCL-2在重症肺炎中的表达及与病情严重程度、预后的关系研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(12): 1708-1712.
- [2] 黄君华. 乳酸清除率对老年重症创伤患者的预后评估价值[J]. 中华全科医学, 2017, 15(7): 1271-1272.
- [3] 郑瑄,杨炜,朱贤斌. 小剂量糖皮质激素联合大环内酯类药物对MP致咳嗽变异性哮喘血清细胞因子水平影响[J]. 医学分子生物学杂志, 2017, 14(4): 230-233.
- [4] 高延秋,张根生,李双凤,等. 血管外肺水指数联合血管内皮生长因子受体1对重症肺炎ARDS合并感染性休克患者预后的评估[J]. 中华急诊医学杂志, 2018, 27(12): 1381-1387.
- [5] 高雪花,李培杰,曹雯. 中心静脉-动脉二氧化碳分压差与动脉-中心静脉氧含量差的比值联合乳酸清除率指导脓毒症休克早期复苏治疗[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(7): 504-508.
- [6] 王婷婷,单凤玲,陆汉魁. 不同化学发光免疫分析系统检测亚临床甲状腺功能减退症血清促甲状腺激素的结果对比[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2017, 37(6): 342-345.
- [7] 陈绵军,陈军,谭德敏,等. 血清Copeptin、MMP-9及MEWS评分对老年重症肺炎患者的预后评估研究[J]. 中华急诊医学杂志, 2018, 27(3): 271-274.
- [8] 虞竹溪,陈显成,张北源,等. 动态监测外周血CD14<sup>+</sup>单核细胞HLA-DR在重症肺炎患者预后评估中的意义[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2018, 15(3): 280-283.
- [11] Aibiki M, Yamashita S. A Perspective on Post-Cardiac Arrest Syndrome II Prognostic Value of Early Lactate Clearance in Patients with Post-Cardiac Arrest Syndrome[J]. On Academic, 2018, 7(3): 33-48.
- [9] 孙玲玲,蔡国龙,严静. 肝素结合蛋白与感染相关的研究进展[J]. 中华重症医学电子杂志(网络版), 2017, 3(2): 148-152.
- [10] 马丽平,刘妍,王聪,等. 老年重症肺炎患者预后影响因素分析[J]. 临床误诊误治, 2017, 30(11): 63-66.
- [11] 严春苗,黄吁宁,张秋元,等. 老年脑出血患者医院获得性重症肺炎的床旁超声影像特点及预后分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(22): 5094-5097.
- [12] 张晓彤,宋文炜,刘亚萍,等. 肝素结合蛋白在矽肺并发重症感染患者中的诊断价值[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2020, 38(3): 207-210.
- [13] Chen W, You J, Chen J, et al. Combining the serum lactic acid level and the lactate clearance rate into the CLIF-SOFA score for evaluating the short-term prognosis of HBV-related ACLF patients[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2020, 14(1): 1-7.
- [14] 俞建峰,谈铁武,周仪,等. 早期血小板变化在预测老年重症肺炎患者预后中的价值[J]. 中华老年医学杂志, 2018, 37(11): 1238-1242.

## 外周血 FGF2、VEGFA 及循环肿瘤细胞含量水平与肺癌转移的相关性

韩媛媛\* 魏玉磊 章春芝

**【摘要】** 目的 分析外周血成纤维细胞生长因子2(FGF2)、血管内皮生长因子A(VEGFA)及循环肿瘤细胞(CTC)含量水平与肺癌转移的相关性。**方法** 选取2019年3月至2020年3月在本院进行手术治疗的肺癌患者74例作为研究对象,所有患者均经手术病理学证实为原发性肺癌,检测患者癌组织及癌旁组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平,分析其与临床病理学的关系,并采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)评估其与肺癌患者淋巴结转移的相关性。**结果** 肺癌患者癌组织的 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达阳性率均高于癌旁组织,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 阳性表达与组织学类型、肿瘤大小、分化程度、年龄无关( $P>0.05$ ),与淋巴结是否转移、PTMN分期有关( $P<0.05$ );ROC曲线显示,联合检测的 AUC 为 0.889 (0.807~0.971,  $P<0.000$ ),诊断指数最大(敏感性 90.39%, 特异性 91.25%, 准确度 92.44%)。**结论** 外周血 FGF2、VEGFA、CTC 参与肺癌的发生、发展,与淋巴结转移密切相关,对肺癌转移的转移具有重要的预测价值。

**【关键词】** 成纤维细胞生长因子2;血管内皮生长因子A;循环肿瘤细胞;肺癌转移

### Correlation between levels of FGF2, VEGFA and circulating tumor cells in peripheral blood and lung cancer metastasis

HAN Yuanyuan\*, WEI Yulei, ZHANG Chunzhi

(Department of Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

**【ABSTRACT】 Objective** To analyze the correlation between the levels of fibroblast growth factor 2 (FGF2), vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and circulating tumor cells (CTC) in peripheral blood and lung cancer metastasis. **Methods** A total of 74 patients with lung cancer who underwent surgical treatment in the hospital from March 2019 to March 2020 were enrolled as the research objects. All were confirmed with primary lung cancer by surgical pathology. The expression levels of FGF2, VEGFA and CTC in cancer tissues and adjacent tissues were detected. Their relationship with clinical pathology was analyzed. And their correlation with lymph node metastasis in lung cancer patients was analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC curve). **Results** The positive expression rates of FGF2, VEGFA and CTC in cancer tissues were higher than those in adjacent tissues ( $P<0.05$ ). The positive expression of FGF2, VEGFA and CTC in cancer tissues were not related to histological types, tumor size, differentiation degree or age ( $P>0.05$ ), while related to lymph node metastasis and PTMN staging ( $P<0.05$ ). ROC curves showed that AUC of combined detection was 0.889 (0.807~0.971,  $P<0.000$ ). Its diagnosis index was the greatest (sensitivity: 90.39%, specificity: 91.25%, accuracy: 92.44%). **Conclusion** FGF2, VEGFA and CTC in peripheral blood are involved in the occurrence and development of lung cancer, which are closely related to lymph node metastasis, and are of important predictive value for lung cancer metastasis.

**【KEY WORDS】** Fibroblast growth factor 2; Vascular endothelial growth factor A; Circulating tumor cell; Lung cancer metastasis

基金项目:2019年张家口市级科技计划自筹经费项目(1921056D)

作者单位:河北北方学院附属第一医院胸心外科,河北,张家口 075000

\*通信作者:韩媛媛, E-mail:zai80548133548@163.com

肺癌是起源于支气管粘膜或腺体的恶性肿瘤,也称为支气管肺癌。吸烟、大气污染、遗传是引发肺癌的重要因素<sup>[1-2]</sup>。近年来肺癌的发病率增长较快,对人们的健康和生命安全造成严重威胁。肺癌患者病情进展快,肺癌远处转移是导致患者死亡的主要原因<sup>[3]</sup>。肺癌的转移可以通过多种途径,而淋巴转移是最主要的途径。外周血成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor 2, FGF2)、血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)是特异性的淋巴管内皮细胞标志物,有研究认为其与淋巴转移密切相关<sup>[4]</sup>。循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是由于肿瘤病灶发生脱落从而进入外周血中的各类肿瘤细胞的统称,具有转移的潜能<sup>[5]</sup>。本研究通过分析外周血 FGF2、VEGFA 及 CTC 含量水平与肺癌转移的相关性,为临床诊疗提供依据,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年3月至2020年3月在本院进行手术治疗的74例肺癌患者,其中男46例,女28例;平均(60.28±5.43)岁;鳞癌25例,腺癌19例,小细胞肺癌17例,腺鳞癌4例,肺泡细胞癌4例,大细胞癌3例,癌肉瘤2例。

纳入标准:①经手术病理学证实为原发性肺癌;②资料完整;③入组之前未行手术治疗、放化疗等抗肿瘤治疗。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②临床分期或转移情况不能确定者;③依从性差。本研究经过本院医学伦理委员会批准,受试者签署研究知情同意书。

### 1.2 检测方法

外周血 FGF2、VEGFA 检测方法:采用免疫组化法检测 FGF2、VEGFA 在癌组织及癌旁组织中的表达水平,FGF2 鼠抗人多克隆抗体购自艾美捷科技有限公司,VEGFA 兔抗人多克隆抗体及免疫组化试剂盒均购自上海闵巨生物科技有限公司。

选用真空血管,采集肘正中静脉血 8 mL,加入 EDTA 抗凝。②肿瘤细胞富集:采用免疫磁珠富集肿瘤细胞,将富集的肿瘤细胞均匀涂抹在载玻片上,常温风干,用 4% 的多聚甲醛固定 5 min, PBS 溶液清洗 3 次,每次 3 min,常温干燥,置于 -70℃ 冰箱保存干燥。③免疫细胞化学染色(Envision

法):取出切片, PBS 洗三次,加入细胞角蛋白抗体,放置于 4℃ 的冰箱过夜,之后用 PBS 清洗三次,加入二抗(Envision),置于 37℃ 恒温箱中 20 min, PBS 洗三次, DAB 溶液显色,再用苏木素复染 3 min, 酸酒精分化、脱水,采用透明、中性树胶进行封片。

### 1.3 阳性标准

FGF2、VEGFA 阳性标准<sup>[6]</sup>:根据每张切片的着色按照棕褐色、棕黄色、淡黄色、无着色计为 3~0 分。按照着色面积,无着色、<1/3, 1/3~2/3, >2/3 计分 0~3 分,两项总分之和大于 3 分即为阳性。

CTC 阳性标准:光镜观察细胞呈长形、圆形或椭圆形,长径大于 10 μm,有完整的细胞形态,细胞质呈蓝黑色或褐色,核浆比失常。国际目前无标准的 CTC 阳性判定标准,本研究以见到 CTC 即为阳性。

### 1.4 观察指标

①比较肺癌组织与癌旁组织中外周血 FGF2、VEGFA 及 CTC 含量水平。②分析癌组织中 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平与病理特征的相关性分析,病理特征包括淋巴结转移、组织学类型、肿瘤大小、PTMN 分期、分化程度、年龄。③绘制 ROC 曲线,评估 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平对肺癌患者淋巴结转移的预测价值。

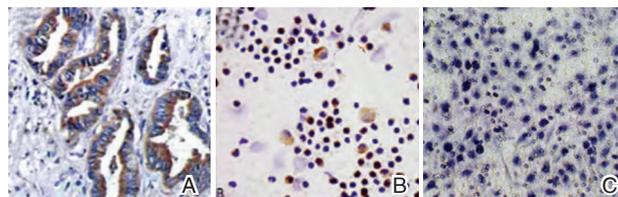
### 1.5 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计数资料以 % 表示,行  $\chi^2$  检验,采用 ROC 曲线评估癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平与肺癌患者淋巴结转移的相关性,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 VEGFA、CTC 以及 FGF2 免疫组化染色结果

VEGFA、CTC 以及 FGF2 免疫组化染色阳性结果。见图 1。



注:A为 VEGFA 阳性; B 为 CTC 阳性; C 为 FGF2 阳性。

图1 VEGFA、CTC 以及 FGF2 免疫组化染色结果(×100)

Figure 1 Immunocytochemical staining results of VEGFA, CTC and FGF2 (×100)

## 2.2 肺癌患者癌组织与癌旁组织的 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达情况

肺癌患者癌组织的 FGF2、VEGFA 及 CTC 表

达阳性率均高于癌旁组织,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 肺癌患者癌组织与癌旁组织的 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达情况 [n(%)]

Table 1 Expression of FGF2, VEGFA and CTC in cancer tissues and adjacent tissues of patients with lung cancer [n(%)]

组织类型	n	FGF2		VEGFA		CTC	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
癌组织	74	54(72.97)	20(27.03)	56(75.68)	18(24.32)	51(68.92)	23(31.08)
癌旁组织	74	11(14.86)	63(85.14)	17(22.97)	57(77.03)	13(17.57)	61(82.43)
$\chi^2$ 值		50.723		41.116		39.753	
P值		0.000		0.000		0.000	

## 2.3 癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达与肺癌患者临床病理特征的关系

癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 阳性表达与组织学类型、肿瘤大小、分化程度、年龄无关 ( $P > 0.05$ ), 与淋巴结是否转移、PTMN 分期有关 ( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达与肺癌患者临床病理特征的关系 [n(%)]

Table 2 The relationship between the expression of FGF2, VEGFA and CTC and clinicopathological characteristics of lung cancer patients [n(%)]

临床特征	n	FGF2 阳性	VEGFA 阳性	CTC 阳性
淋巴结转移	有	49 42(85.71) <sup>a</sup>	43(87.76) <sup>a</sup>	40(81.63) <sup>a</sup>
	无	25 11(44.00)	13(52.00)	11(44.00)
组织学类型	鳞癌	23 17(73.91)	18(78.26)	16(69.57)
	腺癌	18 14(77.78)	15(83.33)	13(72.22)
	小细胞肺癌	16 13(81.25)	12(75.00)	12(75.00)
	其他	13 10(76.92)	11(84.62)	10(76.92)
肿瘤大小	<5 cm	43 33(76.74)	34(79.07)	31(72.09)
	≥5 cm	31 21(67.74)	22(70.97)	20(64.52)
PTMN 分期	I~II	34 21(61.76)	22(64.71)	19(55.88)
	III~VI	40 33(82.50) <sup>a</sup>	34(85.00) <sup>a</sup>	32(80.00) <sup>a</sup>
	低分化	15 10(66.67)	11(73.33)	10(66.67)
	中分化	32 24(75.00)	24(75.00)	22(69.75)
年龄	>60岁	27 20(74.07)	21(77.78)	19(70.37)
	≤60岁	38 28(73.68)	29(76.32)	27(71.05)
		36 26(72.22)	27(75.00)	24(66.67)

注:<sup>a</sup>  $P < 0.05$ 。

## 2.4 癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平对淋巴结转移的预测价值

联合检测的 AUC 为 0.889 (0.807~0.971,  $P < 0.000$ ), 诊断指数最大(敏感性 90.39%, 特异性 91.25%, 准确度 92.44%)。见表3和图2。

## 3 讨论

肺癌是全球肿瘤发病率和死亡率最高的癌

表3 癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平对淋巴结转移的预测价值

Table 3 The predictive value of FGF2, VEGFA and CTC expression levels in cancer tissues for lymph node metastasis

血清指标	AUC	95%CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)
FGF2	0.689	0.555~0.823	71.43	78.25	79.43
VEGFA	0.813	0.707~0.920	82.37	85.38	86.79
CTC	0.863	0.767~0.959	83.52	81.36	82.57
联合检测	0.889	0.807~0.971	90.39	91.25	92.44

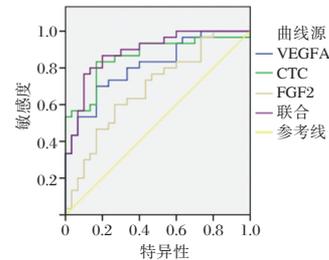


图2 癌组织 FGF2、VEGFA 及 CTC 表达水平评估肺癌患者淋巴结转移的 ROC 曲线

Figure 2 ROC curve of the expression levels of FGF2, VEGFA and CTC in evaluating lymph node metastasis in patients with lung cancer

种,肺癌主要分为非小细胞肺癌(Non small cell lung cancer, NSCLC)和小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC),非小细胞肺癌约占肺癌的85%<sup>[7]</sup>。肺癌的常见治疗方法为手术治疗、放化疗等,近年来医学技术不断进步,然而肺癌患者的5年生存率并没有显著改善,肺癌的转移是造成患者病情复发及死亡的主要原因<sup>[8]</sup>。肺癌转移的途径有局部浸润、淋巴道转移、血行转移,其中以淋巴道转移最为常见<sup>[9]</sup>。肺癌转移是一个复杂的生物学过程,研究肿瘤的转移与发展过程,对患者病情的治疗与预后具有重要价值。

本研究结果提示 FGF2、VEGFA 及 CTC 阳性表达均可作为肺癌转移的标志物。分析可能的原

因是肿瘤细胞需要得到血液的供应,新生血管的生成是必不可少的条件,VEGFA具有分泌功能,对刺激血管的生产具有调控作用,恶性肿瘤都会通过血液传播转移到身体的其他器官,而肿瘤转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因<sup>[10]</sup>。FGF2与肝素结合具有广泛的促有丝分裂和血管生成活性,这种蛋白与多种生物学过程有关,如肢体和神经系统发育、伤口愈合和肿瘤生长<sup>[11]</sup>。CTC能逃避机体免疫,在原发或远处脏器驻留,从而形成复发、转移病灶。CTC是病灶转移的关键部分,对转移肿瘤患者进行预后评估是目前CTC临床应用最广泛的领域,恶性肿瘤患者治疗前后的CTC类型和数目的变化具有重要的预后提示价值<sup>[12]</sup>。赵伟等<sup>[13]</sup>研究认为FGF2、VEGFA参与恶性肿瘤侵袭与转移过程,VEGFA可刺激血管内皮细胞的增殖,在恶性肿瘤中含量更高,FGF2在多种肿瘤组织及体液中均能检测出,对肿瘤具有促进作用,与本研究结果提示FGF2、VEGFA及CTC可能参与肿瘤的发生、发展过程。吕福有等<sup>[14]</sup>研究认为VEGFA可促进淋巴管内皮细胞的增殖,促使淋巴结转移。本文研究结果显示FGF2、VEGFA及CTC联合检测的AUC为0.889,诊断指数最大(敏感性90.39%,特异性91.25%,准确度92.44%)。FGF2能够提升肿瘤细胞的侵袭能力,使得肿瘤细胞迁移活动增强,增加淋巴结转移的可能性。VEGFA促进肿瘤细胞的增殖,也可增加新生淋巴,增加淋巴转移的风险。CTC是远处转移的前提,有研究认为CTC在肺癌的复发与转移中起到重要作用,可作为检测病情进展的重要指标<sup>[15]</sup>。Ippokratis等<sup>[16]</sup>研究发现在小细胞肺癌一个化疗周期后CTC检出率明显降低,在疾病进展期CTC检出率和数量明显增加,研究认为CTCs的增加和PD患者非凋亡CTCs的增加可能是OS降低的独立预后因素。三个指标联合检测可提高临床评估肺癌患者淋巴结转移的准确性,有助于医生评估病情的进展,及时采取治疗措施,延长患者的生存期。

综上所述,FGF2、VEGFA及CTC在肺癌患者的肿瘤组织中阳性表达水平较高,参与肿瘤的侵袭与转移过程,对临床治疗与预后评估具有重要的指导价值。本研究存在一些不足之处,研究选取的病例较少,需要后续增加样本量,进一步探讨

FGF2、VEGFA及CTC与临床病理特征及预后的预测价值。

## 参考文献

- [1] Xu W, Kewei M, Zhiguang Y, et al. Systematic Correlation Analyses of Circulating Tumor Cells with Clinical Variables and Tumor Markers in Lung Cancer Patients [J]. *J Cancer*, 2017, 8(15):3099.
- [2] 梁乃超. MMP-9和VEGF在非小细胞肺癌患者中的表达情况[J]. *医学综述*, 2017, 23(9):1867-1869, 1873.
- [3] 吴方, 焦娟, 杨家树, 等. 循环肿瘤细胞检测在肺癌中的研究进展[J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(8):593-595.
- [4] 袁晓晗, 杨杰, 秦婷婷, 等. VEGFA和VEGFR2对肺腺癌患者术后无病生存的预测价值[J]. *肿瘤*, 2017, 37(7):716-722.
- [5] 吴方, 焦娟, 杨家树, 等. 循环肿瘤细胞检测在肺癌中的研究进展[J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(8):593-595.
- [6] Zhou B, Ma R, Si W, et al. MicroRNA-503 targets FGF2 and VEGFA and inhibits tumor angiogenesis and growth [J]. *Cancer Letters*, 2013, 333(2):159-169.
- [7] 孙季萍, 潘宏铭, 楼芳. 非小细胞肺癌脑膜转移治疗进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24(6):563-570.
- [8] 赵效, 张冰海. 介入放射学在肺癌治疗中的应用[J]. *实用放射学杂志*, 2020, 36(4):669-671.
- [9] 王志维, 牛玉旭, 林辉. 趋化因子受体9、血管内皮生长因子及基质金属蛋白酶2、9在非小细胞肺癌组织中的表达及临床意义[J]. *广西医学*, 2016, 38(10):1377-1380.
- [10] 袁晓晗, 杨杰, 秦婷婷, 等. CD151在VEGFA和VEGFR阳性肺腺癌患者中的临床价值[J]. *肿瘤*, 2017, 37(10):1069-1078.
- [11] Yuan H, Li ZM, Shao J, et al. FGF2/FGFR1 regulates autophagy in FGFR1-amplified non-small cell lung cancer cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):72.
- [12] 何文杰, 江波, 金从国, 等. 老年晚期非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与EGFR-TKI疗效的相关性研究[J]. *重庆医学*, 2016, 45(32):4507-4510.
- [13] 赵伟, 马英, 孔申嘉, 等. FGF2、VEGFA表达水平与非小细胞肺癌转移的相关性分析[J]. *解放军医药杂志*, 2020, 32(1):34-37.
- [14] 吕福有. 血管内皮生长因子-A与血管内皮生长因子-C在非小细胞肺癌中表达及与淋巴结转移的相关性[J]. *国际免疫学杂志*, 2017, 40(3):263-267.
- [15] 范军振, 吕亚莉, 王波, 等. 非转移性非小细胞肺癌患者循环肿瘤细胞与临床病理特征的关系[J]. *诊断病理学杂志*, 2018, 25(4):281-284, 288.
- [16] Ippokratis M, Eleni P, Athanasios K, et al. Phenotypic characterization of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with small cell lung cancer [J]. *Plos One*, 2017, 12(7):e0181211.

## 糖浆联合西替利嗪对过敏性咳嗽患儿血清总 IgE、IgA 及补体 C3 水平的影响

万斌<sup>1\*</sup> 何淼<sup>2</sup> 郭春艳<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的** 探究过敏性咳嗽患儿采用息可宁糖浆联合西替利嗪的治疗疗效。**方法** 选择本院 2018 年 6 月至 2019 年 6 月期间收治的 156 例过敏性咳嗽患儿为研究对象,按照随机数字表分组要求将患儿分为对照组( $n=78$ )与联合组( $n=78$ ),对照组予息可宁糖浆治疗,联合组在对照组基础上加用西替利嗪。比较两组患儿治疗前后临床症状评分,血清中总免疫球蛋白 E(IgE)、IgA 及补体 C3 水平,治疗效果与复发频率,咳嗽相关时间,安全性。**结果** 两组患儿治疗后日间、夜间咳嗽评分以及 VAS 评分较治疗前改善,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),治疗后联合组患儿上述临床症状评分高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );与治疗前比较,两组患儿治疗后血清中总 IgE 水平下降,总 IgA 与补体 C3 水平上升,前后比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),治疗后联合组患儿血清中总 IgE 水平显著低于对照组,总 IgA 与补体 C3 水平高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );联合组患儿咳嗽减少、夜间以及日间咳嗽停止时间等咳嗽相关症状改善时间短于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );联合组患儿治疗总有效率高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),联合组患儿复发频率低于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );联合组与对照组患儿不良反应发生率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 过敏性咳嗽患儿采用息可宁糖浆联合西替利嗪治疗可以有效改善患儿咳嗽相关临床症状,降低患儿复发频率,纠正血清总 IgE、IgA 及补体 C3 紊乱水平,治疗效果显著。

**[关键词]** 息可宁糖浆;西替利嗪;过敏性咳嗽

### Effect of Xikening Syrup combined with cetirizine on serum total IgE, IgA and complement C3 levels in children with allergic cough

WAN Bin<sup>1\*</sup>, HE Miao<sup>2</sup>, GUO Chunyan<sup>2</sup>

(1.Department of Pediatrics, Shiyan People's Hospital Affiliated to Hubei Medical University, Shiyan, Hubei, China, 442000; 2.Department of Pediatrics, Baihe Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ankang City, Shanxi Province, Ankang, Shanxi, China, 725800)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the curative effect of Xikening Syrup combined with cetirizine in children with allergic cough. **Methods** A total of 156 children with allergic cough who were admitted and treated in the hospital between June 2018 and June 2019 were selected as the research subjects. They were divided into control group ( $n=78$ ) and combined group ( $n=78$ ) according to random number table. The control group was treated with Xikening Syrup, and the combined group was treated with Xikening Syrup combined with cetirizine. The clinical symptom scores, serum total immunoglobulin (Ig) E, IgA and complement component 3 levels, treatment effect, recurrence frequency, cough-related time and safety were compared between the 2 groups. **Results** After treatment, daytime and nighttime cough scores and VAS scores of both groups were improved ( $P<0.05$ ), and the above-mentioned clinical symptom scores of combined group were higher

基金项目:湖北省自然科学基金项目(2018CFB412)

作者单位:1. 湖北医药学院附属十堰市人民医院儿科,湖北,十堰 442000

2. 陕西省安康市白河县中医院儿科,陕西,安康 725800

\*通信作者:万斌, E-mail: qujy599282@sina.cn

than those of the control group ( $P<0.05$ ). After treatment, serum total IgE levels were decreased, while total IgA and complement C3 levels were increased in both groups ( $P<0.05$ ). Besides, serum total IgE levels were lower in combined group than those in the control group, and total IgA and complement C3 levels were higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The improvement time of cough-related symptoms was shorter in the combined group than the control group ( $P<0.05$ ). The total response rate of the combined group was higher than that of the control group ( $P<0.05$ ), and the recurrence frequency was lower in the combined group than the control group ( $P<0.05$ ). There was no statistically significant difference in the incidence of adverse reactions between the 2 groups ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The treatment with Xikening Syrup combined with cetirizine for children with allergic cough can effectively improve the cough-related clinical symptoms, reduce recurrence frequency, and correct serum total IgE, IgA and complement C3 disorders, with significant therapeutic effect.

[KEY WORDS] Xikening Syrup; Cetirizine; Allergic cough

过敏性咳嗽作为哮喘特殊疾病类型,亦被称作咳嗽变异型哮喘,其临床特征为咳嗽长时间不愈,容易复发<sup>[1]</sup>。流行性研究显示,上呼吸道感染、季节变化、刺激性或者变应原等侵入等均为导致过敏性咳嗽主要原因,近期因为环境变化以及生活饮食方案改变导致其在儿童中发病率越来越高<sup>[2-3]</sup>。临床对于过敏性咳嗽主张应用糖皮质激素或者支气管扩张剂进行治疗,虽然治疗效果尚可,但是治疗后容易出现依赖性,长时间应用会降低治疗效果<sup>[4]</sup>。息可宁糖浆作为祛痰药,具有有效解痉、止咳作用,治疗安全性高<sup>[5]</sup>;西替利嗪则是抗组胺药物,抗过敏效果持续,不会抑制中枢系统功能<sup>[6]</sup>。目前尚未有研究探究息可宁糖浆与西替利嗪联合用于治疗过敏性咳嗽疗效,本研究就近期收治过敏性咳嗽患儿作为研究对象,以明确两者联用在过敏性咳嗽上治疗效果。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选择本院2018年6月至2019年6月期间收治的156例过敏性咳嗽患儿为研究对象,按照随机数字表分组要求将患儿分为对照组( $n=78$ )与联合组( $n=78$ ),对照组中男与女依次为46例,女32例;平均 $(8.51\pm 3.17)$ 岁;病程1~7个月,平均 $(3.54\pm 1.08)$ 个月。联合组中男与女依次为40例、38例;平均 $(8.64\pm 3.03)$ 岁;病程1~7个月,平均 $(3.69\pm 1.20)$ 个月。两组患儿一般资料经比较显示差异无统计学意义( $P>0.05$ ),存在可比性。

纳入标准:①依据对应诊断标准<sup>[7]</sup>确定为过敏性咳嗽;②咳嗽时间超过30d,经常在清晨或者夜间咳嗽;③运动、特殊气味或者冷空气等刺激下病情加重;④影像检查未发现感染征象且痰少;⑤长

期抗菌药物治疗无效,但是应用支气管舒张剂行诊断治疗患儿咳嗽情况改善;⑥存在自身或者家族哮喘史、过敏史;⑦患儿家属对研究知情,同时研究已经得到医院伦理会批准同意。排除标准:①并发其他感染者;②身体重要器官如颅脑、肝脏等部位病变者;③对研究所用药物过敏者;④非过敏性咳嗽。

### 1.2 方法

对照组予息可宁糖浆(史达德药业(北京)有限公司;国药准字H11021834,规格:120mL)治疗,按照患儿体重进行用药,用药剂量不能超过2 mL/kg,按照患儿年龄1~3岁、4~6岁、7~9岁、10~12岁每次分别用药4~6、7~9、10~12、13~15 mL,每天口服3~4次。联合组在对照组基础上加用西替利嗪。联合组息可宁糖浆用药方式、剂量、次数与对照组相同。西替利嗪滴剂(Bright Future Pharmaceuticals Factory;批准文号:HC20150029,规格:20 mL)按照患儿年龄进行用药,不超过6岁者以0.5 mL/次进行西替利嗪滴剂口服用药,高于6岁者以1 mL/次剂量口服用药,每天用药1次。两组患儿治疗时间均为2周。

### 1.3 观察指标

比较两组患儿治疗前后临床症状评分,血清中总免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)、IgA及补体C3(complement component 3)水平,咳嗽相关时间,治疗效果与复发频率,安全性。①血清指标水平测定:在患儿治疗前后1d清晨收集空腹静脉血离心后获得上清液,应用免疫比浊法测定总IgE、IgA及补体C3水平。②咳嗽相关时间:记录患儿治疗期间中咳嗽减少、夜间以及日间咳嗽停止时间。③安全性:记录患儿治疗过程中出现皮疹、头晕、心悸等不良反应发生情况。

#### 1.4 评价标准

临床症状评分:主要对患儿咳嗽症状<sup>[8]</sup>进行评分及视觉模拟(visual analogue scale, VAS)<sup>[9]</sup>咳嗽症状评分。上述评分均由患儿家属在治疗前后进行评估。

治疗效果:依据VAS评分<sup>[10]</sup>结果予以评估, VAS变化率=(治疗前VAS评分-治疗后VAS评分)/治疗前VAS评分×100%,治愈、显效、有效以及无效VSA变化率范围分别为95%以上、70%~94%、30%~69%以及29%以下。总有效率为治愈率、显效率与有效率之和,而复发频率为患儿治疗完成3个月期间病情复发次数。

#### 1.5 统计学方法

应用SPSS 18.0软件予以分析,呈正态分布计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,差异对比应用 $t$ 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,应用 $\chi^2$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患儿治疗前后临床症状评分比较

两组患儿治疗后日间、夜间咳嗽评分以及VAS评分较治疗前显著改善,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),治疗后联合组患儿日间、夜间咳嗽评分以及VAS评分等临床症状评分显著高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组患儿治疗前后临床症状评分比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of clinical symptom scores between the 2 groups before and after treatment ( $\bar{x}\pm s$ )

指标	时间	对照组 ( $n=78$ )	联合组 ( $n=78$ )	$t$ 值	$P$ 值
日间咳嗽症状评分	治疗前	2.32±0.49	2.24±0.57	0.940	0.349
	治疗后	1.64±0.66 <sup>a</sup>	0.94±0.53 <sup>a</sup>	7.304	<0.001
夜间咳嗽症状评分	治疗前	2.06±0.68	2.10±0.74	0.352	0.726
	治疗后	1.47±0.51 <sup>a</sup>	0.74±0.28 <sup>a</sup>	11.081	<0.001
VAS评分	治疗前	7.32±1.35	7.46±1.64	0.582	0.561
	治疗后	3.18±1.27 <sup>a</sup>	1.28±0.59 <sup>a</sup>	11.983	<0.001

注:与治疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 两组患儿治疗前后血清中总IgE、IgA及补体C3水平比较

与治疗前比较,两组患儿治疗后血清中总IgE水平下降,总IgA与补体C3水平上升,前后比较差

异具有统计学意义( $P<0.05$ ),治疗后联合组患儿血清中总IgE水平显著低于对照组,总IgA与补体C3水平明显高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 两组患儿治疗前后血清中总IgE、IgA及补体C3水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of serum total IgE, IgA and C3 levels between the 2 groups before and after treatment ( $\bar{x}\pm s$ )

指标	时间	对照组 ( $n=78$ )	联合组 ( $n=78$ )	$t$ 值	$P$ 值
总IgE(IU/mL)	治疗前	128.64±19.93	130.41±20.33	0.549	0.584
	治疗后	46.72±8.64 <sup>a</sup>	16.51±3.27 <sup>a</sup>	28.881	<0.001
总IgA(g/L)	治疗前	0.76±0.23	0.79±0.21	0.851	0.396
	治疗后	1.03±0.46 <sup>a</sup>	1.67±0.62 <sup>a</sup>	7.322	<0.001
补体C3(g/L)	治疗前	0.89±0.28	0.96±0.35	1.379	0.170
	治疗后	1.06±0.43 <sup>a</sup>	1.59±0.61 <sup>a</sup>	6.272	<0.001

注:与治疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 两组患儿咳嗽相关症状改善时间比较

联合组患儿咳嗽减少、夜间以及日间咳嗽停止时间等咳嗽相关症状改善时间显著短于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 两组患儿咳嗽相关症状改善时间比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of improvement time of cough related symptoms between the 2 groups ( $\bar{x}\pm s$ )

分组	例数	咳嗽减少 时间(d)	夜间咳嗽停止 时间(d)	日间咳嗽停止 时间(d)
对照组	78	4.17±1.26	6.95±3.64	8.18±2.94
联合组	78	2.19±1.01	4.09±2.33	6.53±1.32
$t$ 值		10.829	5.844	7.262
$P$ 值		0.000	0.000	0.000

### 2.4 两组患儿治疗效果与复发频率比较

联合组患儿治疗总有效率明显高于对照组,差异具有统计学意义(96.15% vs 86.62%,  $P<0.05$ ),联合组患儿复发频率显著低于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

### 2.5 两组患儿治疗安全性比较

联合组患儿治疗期间出现皮疹、头晕、心悸分别2例、2例以及1例,对照组患儿治疗期间出现皮疹、心悸分别1例和2例,两组不良反应发生率比较差异无统计学意义(6.41% vs 3.85%,  $P>0.05$ )。

表4 两组患儿治疗效果与复发频率比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

Table 4 Comparison of treatment effect and recurrence frequency between the 2 groups [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

组别	$n$	病愈	显效	有效	无效	总有效率	复发频率(次)
对照组	78	26(33.33)	24(30.77)	16(20.51)	12(15.38)	66(86.62)	3.32±1.05
联合组	78	30(38.46)	29(37.18)	16(20.51)	3(3.85)	75(96.15)	1.29±0.52
$\chi^2/t$ 值						4.721	15.301
$P$ 值						0.030	0.000

### 3 讨论

过敏性咳嗽是造成儿童慢性咳嗽重要原因之一,其多发生于春季与秋季,主要表现为在清晨和夜间出现刺激性咳嗽,应用抗生素药物治疗无效<sup>[11]</sup>。相关研究显示近40%左右过敏性咳嗽患儿病情会进一步恶化,容易进展为支气管哮喘,严重影响患儿正常生活,因此,患儿及时接受有效治疗对于改善患儿病情意义重大<sup>[12]</sup>。

联合组予以息可宁糖浆以及西替利嗪联合治疗后,患儿咳嗽相关症状改善时间以及评分均优于对照组,分析原因可能为息可宁糖浆多种有效成分如愈创木酚甘油醚、消旋盐酸甲麻黄碱以及马来酸氯苯那敏可以发挥祛痰、改善鼻塞以及止咳作用,而西替利嗪经由减轻气管敏感性发挥止咳作用,两种药物联合应用可以一同发挥补充以及协同作用,有效提高止咳治疗效果<sup>[13-14]</sup>。国外研究者发现息可宁糖浆中有效成分愈创木酚甘油醚可以抑制粘蛋白产生,刺激胃迷走神经受体,并通过减少分泌粘液粘着性、表面张力以及增加水合作用降低粘液分泌粘滞性,帮助清除上下呼吸道积聚黏液分泌物,并增加粘液纤毛清除气道,进而达到止咳目的<sup>[15]</sup>。洪爽等<sup>[16]</sup>研究则显示支原体肺炎伴喘息患儿采用愈创木酚那敏联合红霉素治疗,其治总有效率达至88.75%,该研究认为愈创木酚那敏中愈创木酚甘油醚可以有效减少痰液黏稠度,盐酸甲麻黄碱则可以减轻鼻部充血与肿胀程度,马来酸氯苯那敏则经由其显著抗组胺作用改善毛细血管通透性以及微血管扩张。

本研究结果显示联合组用药方式可以有效纠正患儿免疫球蛋白水平紊乱,改善补体C3水平。梁敏等<sup>[17]</sup>研究认为哮喘患儿应用布地奈德联合西替利嗪治疗经过改善患儿TLR4、STAT1 mRNA水平调节Th1/Th2免疫失衡情况,减轻患儿哮喘病情,减轻气道炎症。联合组患儿临床症状显著改善,体内免疫功能紊乱被纠正,C3水平改善,所以治疗总有效率较对照组好,复发频率较对照组低等。最后安全性分析显示联合组与对照组不良反应发生率比较差异无统计学意义,显示息可宁糖浆加用西替利嗪安全性好。

综上,息可宁糖浆联合西替利嗪用于过敏性咳嗽患儿可以有效改善患儿咳嗽相关症状,纠正机体免疫功能紊乱,调节补体C3水平,减少患儿咳嗽复发频率,治疗效果显著,安全性好。

### 参考文献

- [1] Lin L, Chen Z, Cao Y, et al. Normal saline solution nasal-pharyngeal irrigation improves chronic cough associated with allergic rhinitis[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2017, 31(2):96-104.
- [2] Song WJ, Kim HJ, Shim JS, et al. Diagnostic accuracy of fractional exhaled nitric oxide measurement in predicting cough-variant asthma and eosinophilic bronchitis in adults with? chronic cough: A? systematic review and meta-analysis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140(3):701-709.
- [3] 王玲,魏研荣,王丽霞,等. 乌鲁木齐地区维吾尔族ORMDL3基因单核苷酸多态位点与哮喘易感性的研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(1):17-22.
- [4] 郭书宁,刘华,黄邦. 祛风宣肺健脾法治疗小儿过敏性咳嗽风邪犯肺证临床研究[J]. *新中医*, 2019, 51(3):204-206.
- [5] 郝欧美,王雪峰,魏巍,等. 中医内外合治综合方案改善小儿病毒性肺炎中医证候的多中心随机对照研究[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(11):5216-5220.
- [6] 张成斌,杨旭平,黄毅岚,等. 非索非那定与西替利嗪治疗过敏性鼻炎疗效及安全性的Meta分析[J]. *中国全科医学*, 2017, 20(8):964-968.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2009版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2009, 32(6):407-413.
- [8] 陈啸洪,张佩红,李华俊,等. 氨溴特罗联合孟鲁司特对儿童咳嗽变异性哮喘的症状评分和肺功能的影响[J]. *中国全科医学*, 2011, 14(17):1966-1967.
- [9] 郭洁,刘洁云,吴雅俊,等. 小儿治咳灵片对发作期小儿咳嗽变异性哮喘气道反应性的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(18):204-209.
- [10] 马荣,高荣林,齐文升,等. 白牛宣肺汤治疗感染后咳嗽的随机双盲对照临床研究[J]. *中医杂志*, 2017, 58(20):1755-1759.
- [11] Imai E, Enseki M, Nukaga M, et al. A lung sound analysis in a child thought to have cough variant asthma: A case report[J]. *Allergol Int*, 2018, 67(1):150-152.
- [12] Chen FJ, Huang XY, Lin GP, et al. Validity of Fractional Exhaled Nitric Oxide and Small Airway Function Indices in Diagnosis of Cough Variant Asthma[J]. *J Asthma*, 2017, 55(1):750-755.
- [13] 郝欧美,王雪峰,魏巍,等. 中医内外合治综合方案改善小儿病毒性肺炎中医证候的多中心随机对照研究[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(11):5216-5220.
- [14] Nayak AS, Berger WE, Laforce CF, et al. Randomized, placebo-controlled study of cetirizine and loratadine in children with seasonal allergic rhinitis [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2017, 38(3):222-230.
- [15] Ohar JA, Donohue JF, Spangenthal S. The Role of Guafenesin in the Management of Chronic Mucus Hypersecretion Associated with Stable Chronic Bronchitis: A Comprehensive Review[J] *Chronic Obstr Pulm Dis*, 2019, 6(4):341-349.
- [16] 洪爽,赵扬,白小玲,等. 红霉素联合愈创木酚那敏治疗肺炎支原体感染伴喘息患儿的疗效及对ECP、IL-8和肺功能的影响[J]. *医学临床研究*, 2017, 34(8):1645-1647.
- [17] 梁敏,边俊梅,李弯,等. 布地奈德联合西替利嗪对哮喘轻度中度发作患儿外周血TLR4及STAT1表达的影响[J]. *现代免疫学*, 2018, 38(6):461-465.

## 循环肿瘤细胞检测在妊娠绒毛膜癌中的应用

中国抗癌协会肿瘤标志专委会 CTC 技术专家委员会

中国 CTC 产业联盟

广东省医学会精准医学与分子诊断学分会

**【摘要】** 循环肿瘤细胞检测是液体活检的重要基石之一,具有方便、快捷、准确、无创、实时动态、可重复等优势,可为肿瘤的诊断分期、个体化治疗、预后评估、复发转移检测及新药开发等提供重要的临床价值。循环肿瘤细胞检测的临床应用前景广泛,越来越多的研究不断地关注其在妊娠绒毛膜癌早期筛查、预后评估、动态实时检测等方面的临床意义,但是目前循环肿瘤细胞检测在妊娠绒毛膜癌的临床应用方面仍存在不少急需解决的问题。因此制定本共识拟对循环肿瘤细胞检测在妊娠绒毛膜癌中的应用起到推动及指导作用,从而为其临床诊疗提供方便、可行、高效的检测方法。

**【关键词】** 循环肿瘤细胞检测;妊娠绒毛膜癌;专家共识

### Application of circulating tumor cell detection in gestational choriocarcinoma

(CTC Technical Expert Committee, Chinese Anti-Cancer Association Tumor Marker Committee; China CTC Industry Alliance; Precision Medicine and Molecular Diagnostics Branch of Guangdong Medical Association)

**【ABSTRACT】** Circulating tumor cell (CTC) detection is one of the important cornerstones of liquid biopsy. It has the advantages of convenience, speed, accuracy, non-invasive, real-time dynamics, and repeatability. It can provide important clinical value for tumor diagnosis and staging, individualized treatment, prognostic evaluation, recurrence and metastasis detection, and new drug development. The clinical application prospects of CTC detection are broad, and more and more research continue to pay attention to its clinical significance in early screening, prognostic evaluation, and dynamic real-time detection of gestational choriocarcinoma (GC). However, there are some problems in the clinical application of CTC detection in GC. Therefore, this consensus is formulated to promote and guide the application of CTC detection in GC, to provide a convenient, feasible and efficient detection method for its clinical diagnosis and treatment.

**【KEY WORDS】** CTC; Gestational choriocarcinoma; Expert consensus

妊娠绒毛膜癌(gestational choriocarcinoma, GC)是高侵袭性、高度恶性和罕见的一种妊娠滋养细胞肿瘤。GC发病率具有明显的地域差异,在中国约1/2 882次妊娠,在东南亚约9.2/4万次妊娠,日本约3.3/4万次妊娠,而北美和欧洲相对较低,约1/4万次妊娠<sup>[1-2]</sup>。当前,基于化疗等多种治疗方法的应用以及监测β-绒毛膜促性腺激素(beta human chorionic gonadotropin, β-HCG)水平波动来评估疾病变化,使大部分GC得以有效治疗<sup>[3-4]</sup>。但由于GC极易发生血源性播散,造成肺、肝、中枢神经系统转移,仅通过β-HCG水平监测并不能完全揭示和评估某些病例表现出的

早期及多处转移状态、化疗耐药等重要临床信息<sup>[5]</sup>。此外,由于国际妇产科联盟(the International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期和国际妇产科联盟/世界卫生组织(the International Federation of Gynecology and Obstetrics/World Health organization, FIGO/WHO)预后评分系统主要依赖影像学检查和实验室β-HCG检查,不能在早期区分出可能产生化疗耐药的病例。因此,进一步探索有效的临床指标以评估病情、动态监测病情变化、评价治疗反应及精准判断预后,对妊娠绒毛膜癌的临床管理具有重要意义。

## 1 循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)概念及特点

### 1.1 CTCs的概念

CTCs的来源主要为癌症原发灶或转移灶,进入血液循环进行播散,在肿瘤病灶形成、发展和转移过程中发挥重要作用。进入循环系统的CTCs绝大多数被机体免疫系统消灭或经诱导发生自身凋亡,而部分CTCs则经历上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)或间质-上皮转化过程(mesenchymal-epithelial transition, MET)获得高度侵袭性,从而形成新的病灶,据研究进入循环的CTCs最后约0.01%可形成新病灶<sup>[6]</sup>。

### 1.2 CTCs的特点

典型的CTCs可表达上皮性标记物,如细胞角蛋白或上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)而基本不表达造血细胞标记物,如CD45。CTCs在血液中十分罕见,每毫升血液中大约只有1~100个,虽然增加血液样本量是提高检测效率的有效解决方案,但可能造成患者的潜在危害增加,且在实际应用有具有局限性。此外,CTCs的异质性也是检测中的一个主要障碍,因为不同亚群的CTCs在生物标志物表达方面有着显著差异。同时,根据目前的单细胞分析,发现CTCs蛋白质表达还存在时间和空间异质性,表明除了CTCs数量以外,不同的CTCs可能包含不同的生物学信息<sup>[7-8]</sup>。类似于肿瘤细胞的时间和空间异质性,CTCs的表型在患者的不同疾病时期可发生转变,从而反映肿瘤发生转移、耐药和免疫逃逸等特点。因此,对CTCs的检测和研究对GC的临床应用以及基础研究具有重要意义。

## 2 CTCs的检测技术

CTCs在外周血中分布极其稀少,在常用的7.5 mL外周血中仅能捕获数个CTCs。因此目前的检测策略一般分为两步,首先根据其特性进行分离富集,再对富集的可疑细胞进行鉴定,以确定是否为CTCs<sup>[9]</sup>。

### 2.1 CTCs分离富集技术

CTCs与正常血液中存在的细胞在物理特性和生物学特性方面均存在差异,这些差异是用来分离富集CTCs的理论基础。

#### 2.1.1 基于物理特性的分离富集技术

应用CTC物理特性(如大小、密度、电荷等)进行分离富集可不破坏CTCs形态,不依赖CTCs的表面抗原,同时兼容多种下游分析技术,利于后续对单个CTCs进行形态学、免疫细胞学及生物信息学特征的研究。见表1。

表1 CTC分离富集技术

Table 1 CTC separation and enrichment technology

CTC分离富集技术	
物理学方法	ISET系统 <sup>[10]</sup> CTC-Biopsy系统 <sup>[11]</sup> Clearcell FX系统 <sup>[12]</sup> Parsortix系统 <sup>[13]</sup> OncoQuick系统 <sup>[14]</sup> DEPArray系统 <sup>[15]</sup>
生物学方法	
阳性选择	CellSearch系统 <sup>[16]</sup> CTC-Chip系统 <sup>[17]</sup> AdnaTest 癌细胞检测系统 <sup>[18]</sup> MACS系统 <sup>[18]</sup> RARE系统 <sup>[18]</sup> MagSweeper系统 <sup>[19]</sup> GEDI系统 <sup>[20]</sup> GO nanosheets系统 <sup>[21]</sup> VeriFAST系统 <sup>[22]</sup> Immuno-microbubbles系统 <sup>[23]</sup> GILUPI CellCollector系统 <sup>[24]</sup>
阴性选择	Cyttel系统 <sup>[25]</sup>
物理+生物学方法	NanoVelcro系统 <sup>[26]</sup>

#### 2.1.2 基于肿瘤细胞生物学特性的分离富集技术

该技术是依据免疫学原理,应用磁珠、黏附、白细胞去除等方法通过细胞表面分子标记进行阳性或阴性选择进行CTCs的分离富集。阳性富集是利用肿瘤相关抗原的特异性抗体对CTCs进行捕获,阴性富集是利用白细胞特异性表面抗原去除白细胞后富集CTCs。阳性富集方法有CellSearch系统、CTC-Chip系统、AdnaTest 癌细胞检测系统、MACS系统、RARE系统、MagSweeper系统、GEDI系统、GO nanosheets系统、VeriFAST系统、Immuno-microbubbles系统、GILUPI CellCollector系统等。阴性富集方法有Cyttel系统。

#### 2.1.3 基于肿瘤细胞学物理特性以及生物学特性结合的分离富集技术

以上两种方式各有优缺点,因此将两种方法结合的NanoVelcro系统,不仅利用了CTC的物理特性,还综合了表面的CD147以及EpCAM分子特征,从而进一步提高CTC分离富集效率。

CTCs作为一种直观可靠的肿瘤检测指标,可成为妊娠绒毛膜癌辅助分期、预后判断、疗效及复

发监测等诊疗过程中重要的检测手段。目前, CTCs 检测方法虽种类繁多,但在妊娠绒毛膜癌中尚无高效准确的整体解决方案,尤其在自动化结果判读等方面,因此亟需发展更加灵敏、特异、快速的检测体系。

### 3 CTCs 检测流程

目前商品化的 CTCs 检测平台众多,而 Cytolumina 公司的 NanoVelcro 系统通过将纳米材料微孔滤膜过滤装置与细胞表面的 CD147 和 EpCAM 分子结合,从而提高 GC 中 CTC 的检测效率,其在目前众多检测技术中具有代表性,下面简述该系统的检测流程。

收集 GC 患者的外周血(7.5 mL),保存在 CellSave 管中(管中包含固定剂)。置入集成设备中进行 PBS 冲洗后,加入固定剂和通透剂进行孵育约 30 分钟,随后加入抗 EpCAM 和抗 CD147 抗体,最后进入微流控装置进行分离富集。鉴定方法采用三色免疫细胞化学方法用来确定。该方法包括 TRITC 结合抗 CD45 抗体(CD45 标记白细胞),FITC-结合抗 HCG 抗体(HCG, 标记妊娠绒毛膜癌细胞蛋白质)以及 DAPI 进行核染色,分离的细胞中呈现 HCG+ 和 DAPI+ 则被鉴定为 CTCs。

### 4 CTCs 的临床意义

#### 4.1 CTCs 与妊娠绒毛膜癌预后

多年来, FIGO 分期和 FIGO/WHO 预后评分系统不仅在反映妊娠绒毛膜癌致远处转移方面发挥了关键作用,而且在某种程度上可用于评估妊娠绒毛膜癌患者的预后<sup>[27]</sup>。然而 FIGO 分期和 FIGO/WHO 预后评分系统有一些局限性,因为它们主要基于影像学检查和实验室检查,未能识别可能发展为化疗耐药性的病例。此外,高水平的  $\beta$ -绒毛膜促性腺激素不能同时反映疾病风险和预后<sup>[28]</sup>。最新研究表明 CTCs 计数在妊娠绒毛膜癌患者中的具有预后评价意义<sup>[29]</sup>。大约 96% 的妊娠绒毛膜癌患者在 7.5 mL 血液中包含  $\geq 2$  个 CTCs<sup>[16]</sup>,同时所有 FIGO 分期 IV 期的患者在化疗前检测到 CTCs  $\geq 2$ <sup>[30]</sup>。研究表明每 7.5 mL  $\geq 6$  个 CTCs 可以作为妊娠绒毛膜癌患者预后不良的标志<sup>[29]</sup>。随着妊娠绒毛膜癌进展,如 FIGO 分期所反映的, CTCs  $\geq 6$  的患者百分比逐渐增加。对于

FIGO III 期或者 IV 期患者,在单因素分析中,以治疗前存在 6 个 CTCs 为分层依据可以有效区分无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总体生存期(overall survival, OS)。2000 年修正的 FIGO 妊娠滋养层肿瘤分类中包括了经典的解剖预后因素。因此, CTC 计数作为是否发生转移可供参考的指标,可能有助于在妊娠绒毛膜癌诊断时对 FIGO 分期进行更准确地分层<sup>[31]</sup>。

#### 4.2 CTCs 与妊娠绒毛膜癌转移

CTC 计数在评估妊娠绒毛膜癌是否发生转移中也存在作用,并提示 CTC 计数  $\geq 6$  的患者全身多器官转移的风险增加。虽然妊娠绒毛膜癌中肺转移最常见,但脑转移患者常因颅内出血或颅内压升高而出现严重的神经系统症状<sup>[32]</sup>。如果转移部位位于纵膈、松果体或腹膜后组织,单次组织活检很难在术前诊断<sup>[33]</sup>。因此,“液体 CTC 活检”不仅能反映妊娠绒毛膜癌的转移过程,而且比在特定时间进行的单个组织活检更能提供生物标志物状态方面的信息。

#### 5.3 CTCs 与妊娠绒毛膜癌治疗

在临床中,大约 30% 的患者(FIGO 评分为 6 分或更低,被认为具有较低的耐药风险)最终对甲氨蝶呤或放线菌素 D 单药化疗产生耐药性<sup>[34]</sup>。主要基于 FIGO/WHO 预后评分系统的妊娠绒毛膜癌的化疗方案的制定,可能不能动态真实地代表异质性肿瘤。传统上,  $\beta$ -HCG 是诊断妊娠绒毛膜癌和评估疾病状态的理想肿瘤标志物<sup>[34]</sup>。然而,越来越多的关于假阳性检测结果的证据引起了人们对未来  $\beta$ -HCG 临床应用的关注,这就产生了对妊娠绒毛膜癌患者新指标的需求。FIGO 评分和  $\beta$ -HCG 水平作为预后标记,与研究中 CTC 计数为 6 作为分类标志的二分变量相比,这些标记在单因素和多因素分析中表现出较差的区分能力。

目前,对于妊娠绒毛膜癌在化疗缓解后何时停止化疗尚无国际公认的指南。一些专家建议,当检测不到血清  $\beta$ -HCG 时立即停止化疗,特别是对低风险妊娠绒毛膜癌患者<sup>[35]</sup>。也有专家建议首次血清高血糖-HCG 结果正常后提供额外的两个疗程,甚至 3~4 疗程<sup>[35]</sup>。有研究表明,在化疗前后两个时间点 CTCs 数量对预后提示作用<sup>[36]</sup>。首先,治疗前的 CTCs 计数  $< 6$  的妊娠绒毛膜癌患者的 PFS 比那些 CTCs 计数  $\geq 6$  的妊娠绒毛膜癌患者的 PFS 更长,提示简便的 CTC 计数评估可以用来评估患者是

否受益于当前的化疗方案<sup>[36]</sup>。另外,化疗一周后CTC数仍然为或变成 $\geq 6$ 的妊娠绒毛膜癌患者,更倾向为耐药,提示可能需要变更治疗方案<sup>[29]</sup>。

## 5 展望

CTCs起源于原发灶或转移病灶并扩散至外周血循环,是肿瘤血行转移的来源,具有重要的临床价值,尤其是可作为多种不同癌症类型的预后标志物。CTC检测作为一种简单、无创、易于重复的“液体活组织检查”,提供了在治疗过程中实时动态监测肿瘤状态的机会。作为一种新的生物标志物,CTCs还有助于肿瘤生长和转移的关键生物学机制研究。由于妊娠绒毛膜癌的研究目前缺乏充足的组织标本、理想的细胞系和动物模型,增加了CTCs在妊娠绒毛膜癌的研究的挑战性。同时,CTCs在术前系统治疗的早期诊断、评估和管理,以及术后微小残留疾病和癌症复发的动态检测方面的应用研究尚不充分,需要更深入的临床探索。另外,不同CTC检测技术系统对GC患者中CTCs数量与临床指标之间的关系的截断值需作相应的检测与验证,以便为临床诊疗提供更精准的指导。

虽然CTCs目前在妊娠绒毛膜癌的诊治中没有广泛应用,但是CTCs检测和计数在血源性传播的妊娠绒毛膜癌中应用前景明朗。CTCs计数有助于对高危妊娠绒毛膜癌患者进行分层,以便进行早期临床干预和评估化疗效果,实现个体化治疗。本共识的制定旨在对CTCs检测在妊娠绒毛膜癌中的应用起到初步的释疑及指导作用,未来还需要更大标本量,更详尽的研究提供更充分有力的证据用于临床。

## 参考文献

- [1] Lurain JR. Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 203(6):531-539.
- [2] 张志庸. 协和胸外科学[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 2010, 512-518.
- [3] Alifrangis C, Agarwal R, Short D, et al. EMA/CO for High-Risk Gestational Trophoblastic Neoplasia: Good Outcomes With Induction Low-Dose Etoposide-Cisplatin and Genetic Analysis[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(2):280-286.
- [4] Cagayan MS, Lu-Lasala LR. Management of gestational trophoblastic neoplasia with metastasis to the central nervous system: A 12-year review at the Philippine General Hospital [J]. *J Rep Med*, 2006, 51(10):785-792.
- [5] Savage P. Clinical observations on chemotherapy curable malignancies: unique genetic events, frozen development and enduring apoptotic potential [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15:11.
- [6] Zhe X, Cher ML, Bonfil RD. Circulating tumor cells: finding the needle in the haystack [J]. *Am J Cancer Res*, 2011, 1(6):740-751.
- [7] Ignatiadis M, Dawson SJ. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA for precision medicine: dream or reality? [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(12):2304-2313.
- [8] Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6):453-458.
- [9] Paterlini - Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions [J]. *Cancer Lett*, 2007, 253(2):180-204.
- [10] Vona G, Sabile A, Louha M, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(1):57-63.
- [11] Zheng L, Zou K, Yang C, et al. Inflammation-based indexes and clinicopathologic features are strong predictive values of preoperative circulating tumor cell detection in gastric cancer patients [J]. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(9):1125-1132.
- [12] Lee Y, Guan G, Bhagat AA. ClearCell<sup>®</sup> FX, a label-free microfluidics technology for enrichment of viable circulating tumor cells [J]. *Cytometry A*, 2018, 93(12):1251-1254.
- [13] Hvichia GE, Parveen Z, Wagner C, et al. A novel microfluidic platform for size and deformability based separation and the subsequent molecular characterization of viable circulating tumor cells [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(12):2894-2904.
- [14] Rosenberg R, Gertler R, Friederichs J, et al. Comparison of two density gradient centrifugation systems for the enrichment of disseminated tumor cells in blood [J]. *Cytometry*, 2002, 49(4):150-158.
- [15] Gupta V, Jafferji I, Garza M, et al. ApoStream<sup>(™)</sup>, a new dielectrophoretic device for antibody independent isolation and recovery of viable cancer cells from blood [J]. *Biomicrofluidics*, 2012, 6(2):24133.
- [16] Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(20):6897-6904.
- [17] Ozkumur E, Shah AM, Ciciliano JC, et al. Inertial focusing for tumor antigen-dependent and -independent sorting of rare circulating tumor cells [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(179):179ra47.
- [18] Mostert B, Sleijfer S, Foekens JA, et al. Circulating tumor cells (CTCs): detection methods and their clinical relevance in breast cancer [J]. *Cancer Treat Rev*, 2009, 35(5):463-474.

- [19] Talasaz AH, Powell AA, Huber DE, et al. Isolating highly enriched populations of circulating epithelial cells and other rare cells from blood using a magnetic sweeper device [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(10):3970-3975.
- [20] Kirby BJ, Jodari M, Loftus MS, et al. Functional characterization of circulating tumor cells with a prostate-cancer-specific microfluidic device [J]. Plos One, 2012, 7(4):e35976.
- [21] Yoon HJ, Kim TH, Zhang Z, et al. Sensitive capture of circulating tumour cells by functionalized graphene oxide nanosheets [J]. Nat Nanotechnol, 2013, 8(10):735-741.
- [22] Casavant BP, Guckenberger DJ, Berry SM, et al. The Veri-FAST: an integrated method for cell isolation and extracellular/intracellular staining [J]. Lab Chip, 2013, 13(3):391-396.
- [23] Shi G, Cui W, Benchimol M, et al. Isolation of rare tumor cells from blood cells with buoyant immuno-microbubbles [J]. Plos One, 2013, 8(3):e58017.
- [24] Saucedo-Zeni N, Mewes S, Niestroj R, et al. A novel method for the in vivo isolation of circulating tumor cells from peripheral blood of cancer patients using a functionalized and structured medical wire [J]. Int J Oncol, 2012, 41(4):1241-1450.
- [25] Zhang Y, Wang F, Ning N, et al. Patterns of circulating tumor cells identified by CEP8, CK and CD45 in pancreatic cancer [J]. Int J Cancer, 2015, 136(5):1228-1233.
- [26] Jan YJ, Chen JF, Zhu Y, et al. NanoVelcro rare-cell assays for detection and characterization of circulating tumor cells [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2018, 125:78-93.
- [27] Shih I-M. Gestational trophoblastic neoplasia - pathogenesis and potential therapeutic targets [J]. Lancet Oncology, 2007, 8(7):642-650.
- [28] Essel KG, Bruegl A, Gershenson DM, et al. Salvage chemotherapy for gestational trophoblastic neoplasia: Utility or futility? [J]. Gynecol Oncol, 2017, 146(1):74-80.
- [29] Zhou Z, Huang G, Fu Q, et al. circRNA.33186 Contributes to the Pathogenesis of Osteoarthritis by Sponging miR-127-5p [J]. 2019, 27(3):531-541.
- [30] Schoenberger S, Okpanyi V, Calaminus G, et al. EPCAM-A novel molecular target for the treatment of pediatric and adult germ cell tumors [J]. Genes Chromos Cancer, 2013, 52(1):24-32.
- [31] Ignatiadis M, Lee M, Jeffrey SS. Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA: Challenges and Opportunities on the Path to Clinical Utility [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(21):4786-4800.
- [32] Small W, Lurain JR, Shetty RM, et al. Gestational trophoblastic disease metastatic to the brain [J]. Radiology, 1996, 200(1):277-280.
- [33] Franke FE, Pauls K, Kerkman L, et al. Somatic isoform of angiotensin I-converting enzyme in the pathology of testicular germ cell tumors [J]. Hum Pathol, 2000, 31(12):1466-1476.
- [34] McNeish IA, Strickland S, Holden L, et al. Low-risk persistent gestational trophoblastic disease: outcome after initial treatment with low-dose methotrexate and folinic acid from 1992 to 2000 [J]. J Clin Oncol, 2002, 20(7):1838-1844.
- [35] Nadhan R, Vaman JV, Nirmala C, et al. Insights into dovetailing GTD and Cancers [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2017, 114:77-90.
- [36] Hou M, Zheng Y, Ding Z, et al. The role of a semi-automated NanoVelcro system in capturing circulating tumor cells and evaluating their prognostic value for gestational choriocarcinoma [J]. Biomater Sci, 2019, 7(3) 1200-1210.

## 循环肿瘤细胞检测在妊娠绒毛膜癌中的应用专家共识(2020)讨论专家 (按姓氏笔画排序)

王芳 中山大学附属肿瘤医院  
 王爽 南方医科大学南方医院  
 尹伟国 广东省清远市人民医院  
 成志强 深圳市人民医院  
 朱正 深圳市龙岗区中心医院  
 刘晶 广东省妇幼保健院  
 刘传勇 广东省茂名市人民医院  
 孙世珺 广东省中山市人民医院  
 李伟松 赣南医学院第一附属医院  
 杨峥 中山大学附属第七医院  
 何丹 中山大学附属第三医院  
 何善阳 广东省人民医院

沈宏伟 中山大学附属第一医院  
 陈洪雷 武汉大学中南医院  
 赵宋礼 广东省佛山市三水区人民医院  
 胡志远 国家纳米科学中心  
 柯尊富 中山大学附属第一医院  
 侯敏志 中山大学孙逸仙纪念医院  
 黄文勇 南昌大学第二附属医院  
 黄卓雅 广东省惠州市人民医院  
 曾超 中山大学附属第八医院  
 曾宪荣 加州大学洛杉矶分校医学院  
 秘书组:李淑华,任丽娟,陈丽丽

## C/EBP同源蛋白功能研究进展

段卓<sup>1</sup> 苏振宏<sup>1,2</sup> 方大维<sup>3</sup> 谢小林<sup>4</sup> 解举民<sup>1,2\*</sup>

**[摘要]** C/EBP(CCAAT enhancer binding protein)同源蛋白(CHOP)通过显性负调控的方式抑制转录因子C/EBP和肝富集转录激活蛋白(LAP)。CHOP是内质网应激介导的细胞凋亡通路中重要的中间信号分子。本文综述了CHOP蛋白的分子特征;CHOP在细胞凋亡,自噬和焦亡中参与的信号通路及调控作用;CHOP在内质网应激引发的缺血再灌注相关的肾脏、肝脏功能损伤、炎症、帕金森、糖尿病、肿瘤等疾病中发挥的重要调控作用,为临床上多种疾病的诊断与治疗提供新的靶点,扩展新的思路。

**[关键词]** CHOP; 内质网应激; 细胞凋亡; 帕金森病; 肿瘤

### Research Progress of C/EBP-homologous protein

DUAN Zhuo<sup>1</sup>, SU Zhenhong<sup>1,2</sup>, FANG Dawei<sup>3</sup>, XIE Xiaolin<sup>4</sup>, XIE Jumin<sup>1,2\*</sup>

(1. Medical College of Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei, China, 435003; 2. Hubei Key Laboratory of renal Disease Occurrence and Intervention, Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei, China, 435003; 3. General Surgery Department, Huangshi Second People's Hospital, Huangshi, Hubei, China, 435000; 4. Medical Department, Huangshi Psychiatric Hospital, Huangshi, Hubei, China, 435003)

**[ABSTRACT]** C/EBP (CCAAT enhancer binding protein) homologous protein (CHOP) inhibits the transcription factor C/EBP and liver - enriched transcriptional activator protein (LAP) through a dominant negative regulation. CHOP is an important intermediate signal molecule in the apoptosis pathway mediated by endoplasmic reticulum stress. This article reviews the molecular characteristics of CHOP protein, the signal pathway and regulation of CHOP in apoptosis, autophagy, and pyroptosis. CHOP plays an important regulatory role in kidney, liver damage, inflammation, parkinsonism, diabetes, tumors, and other diseases related to ischemia - reperfusion caused by endoplasmic reticulum stress, providing new targets for the diagnosis and treatment of a variety of clinical diseases.

**[KEY WORDS]** CHOP; ER stress; Cell apoptosis; Parkinson's disease; Tumor

CHOP也称DNA损伤诱导转录因子3(DNA Damage Inducible Transcript 3, DDIT3),在细胞凋亡、自噬和分化过程中起重要作用<sup>[1]</sup>。CHOP在内质网应激时,表达上调,被认为是内质网应激启动细胞凋亡的标志性蛋白<sup>[2]</sup>。细胞凋亡是由基因控制的细胞程序性死亡的生理过程<sup>[3]</sup>。细胞凋亡主要分为内源性途径(线粒体途径)、外源性途径(死亡受

体途径)和内质网应激诱导的凋亡途径<sup>[4]</sup>。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)导致内质网腔内错误折叠与未折叠蛋白聚集以及钙离子平衡紊乱,激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)等细胞凋亡信号通路<sup>[5]</sup>。正常情况下,内质网应激对机体没有很大影响,但UPR的长时间激活可能上调CHOP表达,引起细胞凋亡<sup>[4]</sup>。

基金项目:湖北省自然科学基金(2018CFB406);湖北理工学院人才引进项目(19XJK02R)

作者单位:1. 湖北理工学院医学院,湖北,黄石 435003

2. 肾脏疾病发生与干预湖北省重点实验室,湖北理工学院医学院,湖北,黄石 435003

3. 黄石市第二人民医院普通外科,湖北,黄石 435000

4. 黄石市精神病医院医务科,湖北,黄石 435003

\*通信作者:解举民, E-mail: xiejm922@163.com

本文就 CHOP 蛋白的分子特征、CHOP 与细胞凋亡、自噬和焦亡以及 CHOP 与相关疾病作一综述。

## 1 CHOP 蛋白

CHOP 是碱性亮氨酸拉链结构 (basic leucine zipper, bZIP) 蛋白样转录因子蛋白家族中的一员, 属于 CCAAT/增强结合蛋白家族 (C/EBPs)<sup>[6]</sup>, 可以通过 bZIP 结构域与 DNA 结合域形成二聚体<sup>[7]</sup>。1992 年, Ron 等用 <sup>32</sup>P 标记的 cDNA 和二聚化结构域“拉链探针”分离出一种新的 C/EBP 同源蛋白, 与鼠 GADD153 蛋白同源性较高, 故又将其称作 CHOP/GADD153<sup>[8]</sup>。CHOP 蛋白的分子结构如图 1, 分子量为 29kDa, 由 169 个(人)或 168 个(啮齿动物)氨基酸残基组成<sup>[9]</sup>。CHOP 蛋白的氨基端(aa: 1-101)为转录激活域, 羧基端(aa: 102-169)可以形成二聚体与 DNA 结合<sup>[10]</sup>。CHOP 不能形成同型二聚体, 但可与活化转录因子 C/EBP 家族成员和 LAP 形成稳定异二聚体, 是基因转录的负显性抑制剂<sup>[6]</sup>。CHOP 也可以激活某些靶基因。研究证明, CHOP 与 AP-1 因子结合时, 可以激活 AP-1 靶基因<sup>[9]</sup>。

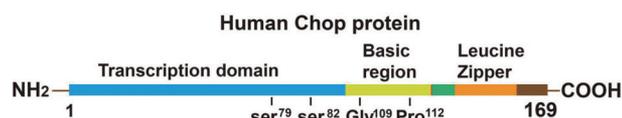


图 1 CHOP 的分子结构

## 2 CHOP 与细胞凋亡

内质网应激诱发细胞凋亡有 3 条途径: CHOP/GADD153 通路、Caspase 通路和 JNK 通路<sup>[11]</sup>。CHOP/GADD153 在内质网应激下, 通过诱导 UPR 介导细胞凋亡<sup>[12]</sup>。细胞中 UPR 包含 PKP 样内质网激酶通路 (protein kinase RNA-like ER kinase, PERK)、肌醇酶 1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE1) 通路和活化转录因子 6 (Activating Transcription Factor 6, ATF6) 介导的通路<sup>[13]</sup>。正常情况下, UPR 的这三种跨膜蛋白 PERK、IRE1 和 ATF6 分别与葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulate protein 78/immunoglobulin binding protein, GRP78/BiP) 相互结合, 形成稳定复合物。当发生 ERS 时, 葡萄糖调节蛋白 GRP78/BiP 与三种跨膜蛋白解离, 而与未折叠蛋白或者错误折叠蛋白发生聚合, 触发 UPR<sup>[14]</sup>。过度 ERS 时, GRP78 通过介导 PERK、IRE1 和 ATF6, 激活下游凋亡信号分子如 CHOP、

JNK、caspase-12 等诱导细胞凋亡<sup>[15]</sup>。

PERK 是内质网 I 型跨膜蛋白激酶, 与 BiP 解离后, PERK 发生二聚化和自身磷酸化, 促使真核启动因子 2 $\alpha$  (eukaryotic translation initiation factor 2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ ) 的 51 位丝氨酸发生特异性磷酸化<sup>[11]</sup>, 磷酸化的 eIF2 $\alpha$  可以激活 ATF4 mRNA 的生成。合成后的 ATF4 进入细胞核促进 CHOP 基因的表达, 参与细胞凋亡<sup>[16]</sup>。IRE1 也是内质网 I 型跨膜蛋白激酶, 激活的 IRE1 与 BiP 解离之后形成同源二聚体, 具有核糖核酸内切酶活性, 能特异性剪切 X-盒结合蛋白-1 (X-box-binding protein-1, XBP) mRNA 前体, 使之成为有活性的转录激活因子 XBP-1S (Spliced XBP-1, XBP-1S), 而 XBP-1S 可以上调 CHOP 蛋白的表达, 参与细胞凋亡<sup>[17]</sup>。

ATF6 是内质网 II 型跨膜蛋白激酶。发生 ERS 与 BiP 解离后, ATF6 减少, 由内质网转移至高尔基体, 随之在位点 1-蛋白酶 (site-1 protease, S1P) 和位点 2-蛋白酶 (site-2 protease, S2P) 的切割下水解<sup>[18]</sup>。活化后的 ATF6 可以上调 XBP-1 mRNA 表达, 刺激 CHOP、内质网分子伴侣基因等的表达<sup>[19]</sup>。

自噬对细胞维持能量平衡和生长调节有重要作用, 正常情况下, 自噬处于较低水平, 但当细胞处于应激状态时, 自噬活性明显上调<sup>[20]</sup>。研究发现转录激活因子 ATF4 和 CHOP 单独或联合可以诱导一系列自噬基因的表达<sup>[21]</sup>。ATF4、CHOP 能够结合自噬相关基因启动子顺式作用元件 GTGCAACC 区域直接诱导自噬相关基因 *Atg10*, *Atg5*, *p62* 和 *ATG7* 等表达<sup>[22]</sup>。

CHOP 基因启动子上含有 ATF6、ATF4 和 XBP-1 的特异性结合位点, 当细胞发生过度 ERS 时, CHOP 表达增加。CHOP 可以下调 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, *Bcl-2*) 和 *GRP78/BiP* 的表达<sup>[23]</sup>, 上调促凋亡基因 *Bad/Bak* 的表达, 并转向线粒体, 引起线粒体膜上 *Bad/Bak* 的构象变化, 破坏线粒体膜的完整性<sup>[24]</sup>。同时, *Bcl-2* 的表达会导致胱抑素 C 从线粒体膜间隙释放到胞质, 使 Caspase-12 活化, 启动 Caspase 级联反应, 诱导细胞凋亡<sup>[25]</sup>。近来新发现了另一凋亡通路 CHOP-ERO1 $\alpha$ -IP3R, 其中 ERO1 $\alpha$  与 IP3 受体结合诱导 Ca<sup>2+</sup> 释放, 通过激活钙依赖蛋白激酶诱发凋亡<sup>[26]</sup>。

## 3 CHOP 与疾病

### 3.1 肾脏疾病

肾脏缺血再灌注损伤是一种由供血障碍引起

的疾病<sup>[27]</sup>。缺血再灌注的过程与ERS相关<sup>[28]</sup>。为研究CHOP在缺血再灌注诱导的急性肾损伤中的作用,研究者分别使用CHOP基因敲除型和野生型肾脏缺血再灌注损伤小鼠模型,观察它们肾脏功能损伤的程度,结果发现在野生型小鼠中,CHOP表达升高,而CHOP敲除的小鼠肾脏功能损伤减轻。表明缺血再灌注可诱导ERS,激活CHOP相关凋亡信号,造成肾脏功能和组织学损伤<sup>[29]</sup>。

### 3.2 肝脏疾病

ERS也参与肝脏缺血再灌注损伤过程,研究发现在合并糖尿病肝疾病患者的肝组织中,ATF6-CHOP信号通路被特异性激活,敲除CHOP基因后显著缓解高血糖加重的肝脏缺血再灌注损伤和炎症反应<sup>[30]</sup>。在HCC(肝细胞癌)小鼠模型中CHOP表达上调,通过基因表达谱分析,CHOP的缺失降低了肝脏基础炎症信号的水平,推测CHOP是多种慢性肝病中HCC发生发展的共同促进因子<sup>[31]</sup>。

### 3.3 炎症

感染和多种炎症刺激均能引起ERS/UPR<sup>[32]</sup>。在炎症性结肠炎的发展过程中发现未折叠蛋白反应在患者结肠上皮细胞中被激活,通过PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP和ATF6-CHOP等通路推动炎症进展<sup>[33]</sup>。也有研究发现在中枢神经系统的炎症中,CHOP通过诱导caspase-11间接调控炎症的进展<sup>[34]</sup>。

### 3.4 帕金森病

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是中老年人常见的一种神经退行性疾病,其病理特征之一为路易小体(leywy body, LB)的形成,路易小体主要成分为 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn)。当 $\alpha$ -syn异常聚集过多时,激活Caspase通路使神经元细胞死亡<sup>[35]</sup>。研究发现,黑质内 $\alpha$ -syn聚集过多的神经元大鼠模型中BiP、CHOP蛋白的表达都显著增高<sup>[36]</sup>。且在PD小鼠模型中,CHOP/ATF4复合物可以诱导Tribble同源蛋白3(TRIB3)的表达,TRIB3下调泛素E3连接酶Parkin蛋白,诱导细胞凋亡<sup>[37]</sup>。

### 3.5 糖尿病

在糖尿病周围神经病变(DPN)中,内质网应激可以诱导糖尿病中枢神经和周围神经损伤,通过PERK-ATF4-CHOP通路促进DPN的发生<sup>[38]</sup>。此外,脂联素(APN)是糖尿病的一种生物标志物,在研究血脑屏障渗透性APN肽(APNp)对糖尿病老鼠脑出血(ICH)的神经保护作用机制中,发现APNp可以抑制ATF4-CHOP通路诱导神经细胞凋

亡,明显减轻糖尿病小鼠脑出血后神经细胞凋亡、神经功能缺损和脑水肿<sup>[39]</sup>。

### 3.6 肿瘤

肿瘤细胞普遍存在于低血缺氧的微环境中,为适应环境的影响,肿瘤细胞激活ERS/UPR,通过多种机制促进肿瘤细胞生存和增值<sup>[40]</sup>。在食管鳞状上皮癌组织中发现CHOP的表达明显高于正常食管鳞状上皮,表明在正常黏膜癌变的过程中为适应环境变化,细胞启动ERS,上调CHOP的表达<sup>[41]</sup>。研究发现,黄嘌呤通过激活CHOP参与的ERS/UPR,诱导神经胶质瘤细胞凋亡并抑制肿瘤生长,提示黄嘌呤素可以作为神经胶质瘤治疗的潜在药物<sup>[42]</sup>。

## 4 讨论与展望

CHOP的功能研究对多种疾病的发生、发展及治疗具有重大的意义,有助于进一步认识疾病的发生、发展的本质,也为临床多种疾病的治疗提供新的理论依据。但CHOP介导的内质网应激过程,尤其是下游相关信号分子,及凋亡途径还需要进一步明确。不用物种或同一物种不同细胞中CHOP参与的凋亡途径有所不同。CHOP蛋白功能及分子机制研究有望为帕金森、肿瘤等多种疾病的诊断与治疗提供新的靶点,扩展新的思路。

### 参考文献

- [1] Minogue PJ, Beyer EC, Berthoud VM. CHOP is dispensable for lens transparency in wild-type and connexin50 mutant mice [J]. Mol Vision, 2019, 25: 535-545.
- [2] Kim I, Xu WJ, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities [J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(12): 1013-30.
- [3] 叶清华. Caspase-3与细胞凋亡研究进展[J]. 饮食科学, 2019, 10: 270.
- [4] Hu H, Tian MX, Ding C, et al. The C/EBP Homologous Protein (CHOP) Transcription Factor Functions in Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Apoptosis and Microbial Infection [J]. Fron Immunol, 2018, 9: 3083.
- [5] Guan BJ, Krokowski D, Majumder M, et al. Translational control during endoplasmic reticulum stress beyond phosphorylation of the translation initiation factor eIF2 $\alpha$  [J]. J Biol Chem, 2014, 289(18): 12593-12611.
- [6] Ubeda M, Vallejo M, Habener JF. CHOP enhancement of gene transcription by interactions with Jun/Fos AP-1 complex proteins [J]. Mol cell Biol, 1999, 19(11): 7589-7599.
- [7] Batchvarova N, Wang XZ, Ron D. Inhibition of adipogenesis by the stress-induced protein CHOP (Gadd153) [J]. EMBO J, 1995, 14(19): 4654-4661.

- [8] Ron D, Habener JF. CHOP, a novel developmentally regulated nuclear protein that dimerizes with transcription factors C/EBP and LAP and functions as a dominant-negative inhibitor of gene transcription[J]. *Genes Dev*, 1992, 6(3): 439-453.
- [9] Li YM, Guo YS, Tang J, et al. New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress[J]. *Acta Biochim Biophysica Sin*, 2014, 46(8): 629-640.
- [10] 李剑, 罗子国. CHOP 在内质网应激介导凋亡中的作用[J]. *检验医学与临床*, 2011, 8(2): 208-211.
- [11] 张利平, 孟燕, 元小冬, 钱琳琳, 张萍淑. 内质网应激及介导细胞凋亡信号转导研究进展[J]. *生物医学工程与临床*, 2018, 2: 214-220.
- [12] Minamino T, Kitakaze Mi. ER stress in cardiovascular disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 48(6): 1105-1110.
- [13] 石菲菲, 查必祥, 袁爱红, 等. 电针对 STZ-DM 大鼠胰腺组织 CHOP、PERK、ATF6、IREmRNA 表达和蛋白含量的影响[J]. *中医药临床杂志*, 2019, 31(1): 111-114.
- [14] 叶勇, 赵海霞, 张长城. 内质网应激的信号通路及其与细胞凋亡相关疾病关系的研究进展[J]. *山东医药*, 2019, 59(17): 98-101.
- [15] Gong J, Wang XZ, Wang T, et al. Molecular signal networks and regulating mechanisms of the unfolded protein response[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2017, 18(1): 1-14.
- [16] Liu HC, Xiong C, Liu JW, et al. Aspirin exerts anti-tumor effect through inhibiting Blimp1 and activating ATF4/CHOP pathway in multiple myeloma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 110005.
- [17] 朱小娟. 内质网源性转录因子 CHOP 在贲门癌中的作用机制及临床研究[D]. 河南科技大学, 2015.
- [18] Shen JS, Chen X, Hendershot L, et al. ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of Golgi localization signals[J]. *Dev Cell*, 2002, 3(1): 99-111.
- [19] Yang H, Niemeijer M, Water B, et al. ATF6 Is a Critical Determinant of CHOP Dynamics during the Unfolded Protein Response[J]. *ISci*, 2020, 23(2): 100860.
- [20] 沈宝玉, 杨根梦, 李媛媛, 等. 可卡因诱导神经细胞自噬的研究进展[J]. *昆明医科大学学报*, 2020, 41(1): 163-167.
- [21] 李翡翠. 辐射通过内质网应激诱导 CHOP 和 JNK 的表达对乳腺癌细胞自噬和凋亡的调节机制研究[D]. 中国科学院研究生院(近代物理研究所), 2016.
- [22] B'chir W, Maurin AC, Carraro V, et al. The eIF2 $\alpha$ /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(16): 7683-7699.
- [23] Katayama T, Imaizumi K, Honda A, et al. Disturbed activation of endoplasmic reticulum stress transducers by familial Alzheimer's disease-linked presenilin-1 mutations[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(46): 43446-43454.
- [24] Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress[J]. *Cell death differ*, 2004, 11(4): 381-389.
- [25] Wu J, Kaufman R.J. From acute ER stress to physiological roles of the Unfolded Protein Response[J]. *Cell death differ*, 2006, 13(3): 374-484.
- [26] 杜海林. 同型半胱氨酸 PERK 磷酸化激活 CHOP-ERO1 $\alpha$  通路介导心肌细胞凋亡[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2018.
- [27] 任燕, 崔建民, 沈文. 肾脏缺血再灌注损伤的功能 MRI 实验研究进展[J]. *国际医学放射学杂志*, 2019, 42(6): 688-691.
- [28] 周鹏, 邱雪峰, 赵晓智, 告示. CHOP 在肾脏缺血再灌注损伤中的作用[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2017, 22(12): 949-952+969.
- [29] 董彪. 内质网源性转录因子 CHOP 在肾脏缺血再灌注损伤中的作用和机制研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2014.
- [30] 杨超. 高血糖激活 Kupffer 细胞 ATF6-CHOP 通路在肝脏缺血再灌注损伤中的作用及其机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2018.
- [31] Yang JR, Yao FH, Zhang JG, et al. Ischemia-reperfusion induces renal tubule pyroptosis via the CHOP-caspase-11 pathway[J]. *Am J Physiol. Renal Physiol*, 2014, 306(1): F75-84.
- [32] 王镜淇, 龚国清. 内质网应激与炎症反应的研究进展[J]. *药学研究*, 2017, 36(5): 279-282.
- [33] 郭腾飞, 轩青霞, 吴玉丹, 等. GRP78-ATF6-CHOP 通路相关分子在葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎中的表达[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(6): 806-811.
- [34] Lin WS, Harding H.P, Ron D, et al. Endoplasmic reticulum stress modulates the response of myelinating oligodendrocytes to the immune cytokine interferon-gamma[J]. *J Cell Biol*, 2005, 169(4): 603-612.
- [35] 祁雪. Parkin 与线粒体稳定相关的帕金森病机制研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2016.
- [36] 马骏, 王中明, 王述菊, 等. 电针对帕金森病模型大鼠黑质内 Bip、CHOP 蛋白达的影响[J]. *上海针灸杂志*, 2018, 37(1): 86-91.
- [37] Aime P, Karuppagounder SS, Rao A, et al. The drug adaptaquin blocks ATF4/CHOP-dependent pro-death Trib3 induction and protects in cellular and mouse models of Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 136: 104725.
- [38] 杨鑫伟, 高变娥, 姚伟洁, 等. C/EBP 同源蛋白 siRNA 对糖尿病周围神经病变大鼠脊髓 PERK-ATF4-CHOP 通路 mRNA 的影响[J]. *中国糖尿病杂志*, 2019, 27(2): 127-131.
- [39] Wu X, Luo JN, Liu HX, et al. Recombinant adiponectin peptide promotes neuronal survival after intracerebral haemorrhage by suppressing mitochondrial and ATF4-CHOP apoptosis pathways in diabetic mice via Smad3 signalling inhibition[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(2): e12759.
- [40] 欧阳仲瑞, 柴双, 赵海杞, 等. 内质网应激 PERK 通路在肿瘤中的研究进展[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2018, 32(1): 38-41.
- [41] 陈海. CHOP/GADD153 在食管鳞癌中的表达及临床意义[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2014.
- [42] Ma YY, Di ZM, Cao Q, et al. Xanthatin induces glioma cell apoptosis and inhibits tumor growth via activating endoplasmic reticulum stress-dependent CHOP pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(3): 404-414.

## 深圳市血液中心检验科

深圳市血液中心检验科在2016年获得中国合格评定国家认可委员会(CNAS)颁发的ISO 15189医学实验室认可证书和认可通知书,成为国内第四家、广东省首家获此资格的采供血机构。中心检验科严格按照国家相关规定,对献血者血液进行输血性传播疾病的血液筛查工作,是国内首家通过国家卫生健康委员会验收,率先在对临床用血开展HBV-HCV-HIV血液三联核酸筛查的采供血机构,有效缩短HBV-HCV-HIV病毒窗口期,保障临床用血安全。

2018年5月深圳市血液中心通过国家食品药品监督管理总局“医疗器械临床试验机构备案管理信息系统”成功备案(备案号:械临机构201800106),成为全国血站系统第一家、广东省第二十家、深圳市第五家成功取得备案资质的医疗器械临床试验机构,标志着深圳市血液中心具备了开展相关医疗器械和体外诊断试剂临床试验研究的平台和资质。迄今已完成10余家国内外知名临床诊断企业临床试验及临床评估,为血筛生物诊断试剂公司创建临床试验评估平台,开展项目设计、部分操作、资源调配、数据统计分析、撰写文章等专业服务。

深圳市血液中心自2014年经中国医药生物技术协会生物诊断技术分会申请批准,组建“血液筛查技术专业学组”,一直致力于推动我国血液筛查质量标准与国际接轨,促进行业新技术、新方法的开发应用,确保提升临床用血安全。以深圳市血液中心为主办方,检验科为主办科室,每年常规开展国家级、省级输血专业全国范围继续教育会议,汇集业内专家,聚焦行业热点。迄今已举办各级继续教育项目10余次,培训从业人员5000余人次。

检验科重视参与卫健委临检中心血筛质量研究工作,先后参加了2006年“核酸筛查试点”项目,2015年“血站实验室酶免试剂质量监测”项目,2017年“血站实验室化学发光多中心评估”项目,为2012年核酸检测纳入《血站技术操作规程(2012版)》,2015年化学发光技术列入《血站技术操作规程(2015版)》提供实践支撑。在行业新技术、新方法的应用,产品质量升级方面始终走在前列。

2018年9月,深圳市血液中心与个体化细胞治疗技术国家地方联合工程实验室联合成立“细胞质量监测技术联合实验室”,是深圳市发展细胞治疗“创新链+产业链”的一个重要支撑和创新载体,用“科技+标准”手段打造创新药研发及产业的软环境。通过申报细胞质量检测技术深圳市地标、团标,为深圳临床用细胞质量“把关”,推动个体化细胞治疗技术向临床治疗工具转化,促进深圳细胞治疗产业的健康发展。

检验科常年接收全国及省内各血站检验人员进修学习;承担深圳大学、南方医科大学、大连医科大学、蚌埠医学院等医科院校输血及相关专业实习课程;承担对口帮扶地区(广西百色、贵州贵阳、广东河源)等地的业务培训与技术指导。

检验科科研团队先后主持申报多项省市局级科研立项,发表相关国内外文章多篇。



### 杂志简介：

《分子诊断与治疗杂志》于 2009 年 5 月创刊，是由中山大学主管，《中国家庭医生》杂志社有限公司主办，中山大学达安基因股份有限公司承办的面向国内外公开发行的分子医学权威性刊物，也是我国第一份以分子诊断与治疗学科为主要内容的分子医学专业学术期刊。本刊以传播分子医学理念、报道分子医学前沿、倡导分子医学创新、促进分子医学进步为办刊宗旨。主要刊登我国医学分子诊断和分子治疗相关领域中的基础理论研究、临床实践和技术方法的最新研究成果以及国内分子医学新技术、新理论和新进展等方面的文章。目前有编委及审稿专家 80 余人。在编委会和审稿专家及编辑部的共同努力下，于 2016 年被收录为“中国科技核心期刊”（中国科技论文统计源期刊）。

目前有“述评”、“论著”、“综述”、“前沿进展”、“专家笔谈”、“讲座”、“动态”和“专栏”等栏目。涵盖基因诊断、免疫诊断、核酸分子诊断、蛋白分子诊断、信号分子诊断、分子影像诊断、诊断仪器应用、基因治疗、核酸分子治疗、蛋白分子治疗等内容。

