



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

分子诊断与治疗杂志

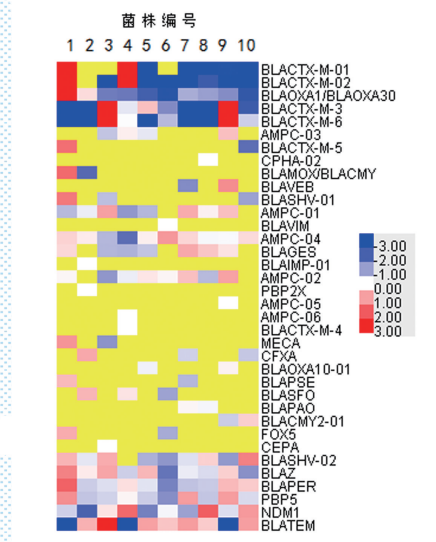
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022年1月 第14卷 第1期 总第89期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 1 January 2022



注:黄色为未检出。

图(34) 10株鼠伤寒沙门菌β内酰胺类耐药基因热点分布图

Figure(34) Hot spot distribution of beta-lactamase genes in 10 isolates of *Salmonella typhimurium*

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



王明义



王明义,1973年12月出生。2014年毕业于江苏大学临床检验诊断学专业,获医学博士学位。美国亚利桑那大学、济南军区总医院博士后,韩国江原大学访问学者。

主任技师(一级),二级岗位,博士生导师。现任威海市立医院党委委员,医学检验科学科带头人,中心实验室主任。获山东省有突出贡献的中青年专家,山东省临床检验重点专科建设单位学科带头人,威海市有突出贡献的中青年专家,威海市医疗卫生首席专家。担任中国生物化学与分子生物学会临床医学专业分会委员,山东省医学会微生物与免疫学分会副主任委员、山东省研究型医院协会专业分会副主任委员。担任“Frontiers in oncology”等杂志的审稿专家。

王明义教授长期从事感染免疫和肿瘤免疫,主持完成了《幽门螺杆菌强毒株诱导胃癌发生分子机制及临床应用》,首次明确了幽门螺杆菌强毒株关键毒力因子,提出了其诱导胃癌发生的分子新机制。合作研制了幽门螺杆菌毒力分型检测试剂,将强毒株的靶向根除方案纳入了地区早癌筛查体系,降低了胃癌发病率。成果获山东省科学技术二等奖1项。

主持完成了《临床病原微生物分子特征及其致病机制研究》,明确了多种病原微生物分子特征及其致病机制,合作研制了传染病化学发光检测体系。研发产品已推广至21个省和直辖市,成果获山东省科学技术二等和三等奖各1项。

新冠疫情期间,首次提出腹泻在新冠患者临床诊断中的价值及上呼吸道和下呼吸道标本在新冠实验室诊断中的优势等理论,学术成果已发表在Gut(IF 23.0)等国际Top期刊上,并被临床广泛应用。

近五年主持和参加了国家和省部级基金项目10项,以通讯作者或第一作者发表相关论文50余篇,其中SCI收录文章17篇。参与编写著作3部,包括教育部规划教材1部。授权发明专利3项。以第一位获省市级科研奖励10项,包括山东省科学技术二等奖2项,山东省科学技术三等奖1项。培养和招收博士后、博士及硕士研究生20余名,已毕业的研究生中1人论文获“学业奖学金”一等奖。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 1 月 第 14 卷 第 1 期 总第 89 期 Monthly Volume 14 Number 13 January 2022

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

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

地址 广州市天河区天河北路 179 号祥龙大厦 11 楼 (510620)
电话 (020) 32290789-206, 32290789-201
电子邮箱 jmdt@vip.163.com
刊号 ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
邮发代号 46-283
发行单位 广东省报刊发行局
发行范围 国内外公开发售
广告发布登记通知书 440100190057
印刷 天意有福科技股份有限公司
出版日期 2022 年 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 Daan Gene Co., Ltd.
Editor in Chief ZHANG Yipeng
Consultant SHEN Ziyu
Editor in Chief LI Ming
Managing Director JIANG Xiwen
Associate Editor LIU Yue
Editorial Office <JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office
Editors LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao
Editing China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.

Add 11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620
Tel (020) 32290789-206, 32290789-201
E-mail jmdt@vip.163.com
CSSN ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R
Printing TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date 2022.1.18
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。

中国科学院信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038 www.istic.ac.cn

2021年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年1月 第14卷 第1期

目次

述评

临床宏基因组测序中正常有菌部位临床标本的处理办法 梁志坤 王琳 吴轶兰 等(1)

论著

阶梯式耳聋基因诊断策略及其临床实践 刘畅 黄演林 汪安石 等(6)

三种结核抗体联合检测对活动性肺结核的诊断价值 韩伟 崔俊伟 黄健 等(10)

CK18-M30和内毒素在大鼠非酒精性脂肪肝病中的促进作用 耿妍 史海涛 耿燕(14)

心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6和TNF- α 与心肌酶谱的关系及临床价值
..... 刘江波 赵晓宁 姚明杨 等(19)

老年脑出血开颅术后不同类型病原菌颅内感染对脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平的影响
..... 张人菁 黄焰霞 邓云新 等(23)

血清ADA、LDH及EBV-DNA对儿童传染性单核细胞增多症的诊断意义
..... 胡杰 李文博 张帆(28)

2020年昆明市儿童医院非伤寒沙门菌分子分型和 β 内酰胺类耐药基因特征分析
..... 王海平 许彬 黄海林 等(32)

胎盘组织中IGFBP-1、VCAM-1、AQP3与妊娠期糖尿病的相关性
..... 王娜 张小环 李燕 等(36)

弥漫性大B细胞淋巴瘤中miR-34a、FOXP1表达的相关性及临床意义
..... 陈思言 杨丽华 张伶俐 等(40)

血清ProGRP与CYFRA21-1水平辅助肺鳞癌诊断及预后的研究 陈军 范洪峰 芮晓艳(45)

NT-ProBNP、CRP联合尿酸及超声心动图对冠心病合并心力衰竭的诊断
..... 赵雪利 张德贤 王彦婷 等(49)

PTC组织中MTA1、Gankyrin表达的变化与术后复发、转移的关系
..... 潘晓培 钱连连 李红强 等(54)

肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分在呼吸机相关性肺炎早期诊断中的价值
..... 罗源 许继梅 王继灵(58)

丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染的疗效及其对CGRP、BDNF影响
..... 黄贞仪 郭林 罗珠河(63)

LncRNA PTPRG-AS1通过靶向miR-5590-3p调控乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的研究
..... 高媛媛 胡萍 赵艳姣 等(67)

两种品牌血培养瓶抗生素吸附能力对比研究 王萌 周义正 罗金柱 等(73)

2型糖尿病合并冠心病患者miR-26a与心电图校正QT间期的关系及临床意义
..... 李智慧 安晓飞 彭梦乐 等(77)

血清IL-6、IL-17水平对AECOPD合并肺部感染的早期诊断价值及病原菌分析
..... 刘巍 马青松(82)

18F-FDG PET/CT SUV_{max}、TLG 及 MTV 与 GIST 恶性程度的关系
 杨朝辉 邓绍强 顾发见 等(86)

重症胰腺炎患者 Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 与并发胰腺感染的关系分析
 毕正强 冯雅建 尹成龙(91)

血清 TNF- α 、cTn I、MIF 在病毒性心肌炎的诊断效果评估 王伟红 张燕(95)

张家口市 4 868 例女性人乳头瘤病毒感染分析 李林臣 雷彦 韩会贤 等(99)

糖皮质激素、特布他林联合治疗对 AECOPD 患者 TK1、TR6 及 TNF- α 的影响
 邓彩云 黄珍玉 谢世良 等(103)

血清 CEACAM-1、CA199、MIC-1 联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值
 张金令 王青青 魏艳蕾 等(108)

ESR、LDH 及 IL-2 检测在高血压性脑出血术后发生颅内感染的诊断价值
 李润峰 王万卿 李万军 等(112)

Logistic 回归预测模型联合炎症标志物对尿毒症血液透析患者并发感染的预测价值
 李孜垚 梁绍钦 赵振伶 等(116)

HDP 患者 H2S、PLGF 联合 Lp-PLA2 测定对子痫前期的预测价值..... 赵珂 朱小红 刘丹丹(120)

外周血 ET-1、MMP-9、RDW-CV 与急性脑梗死病情的关系及对预后的预测价值
 袁治玲 苏洲 袁燕 等(124)

血清白细胞介素-10 水平在急性胰腺炎诊断及治疗中的应用 陶珊 沈磊 刘玮玮 等(129)

Hcy、LPA 及 TGF- β 1 在创伤性骨折下肢静脉栓塞中的预测价值 丁丁 赵志坚 陈坤峰(133)

ACS 患者血清 GGT、BNP 及 CRP 水平与冠状动脉病变程度的关系
 鞠丹丹 张玥 国莉莉 等(137)

脓毒症患者外周血 miR-98-5p 与全身炎症反应激活及预后的相关性研究
 巫兴阳 汪飞 杨呈浩 等(141)

联合 cTnI、Mb 和 miR-133 检测在 AVM 患儿诊断及预后中的作用
 张小建 张军毅 冯嵩 等(145)

心力衰竭合并肺动脉高压患者 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平变化及临床意义
 孙彦彦 卢甲 王卫平(149)

PKRP、TURP 治疗前列腺增生疗效及对 ET-1、PGE2 和 IL-6 的影响 秦悦 白冰 张海芳(153)

蚌埠地区 3 408 例女性宫颈 HPV 感染状况及基因亚型分布 王中安 郭清江 乔林爽 等(157)

特步他林并布地奈德治疗对急性支气管哮喘患者 IL-5、IL-10 及 TNF- α 的影响
 黄莹 郑秀琴 陈岚(161)

惠州地区亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性特征分析 钟泽艳 陈迪娜 杨坤祥 等(165)

PD-L1、Beclin-1、P62 在 NSCLC 中的表达与复发转移的关系 景正全 吴大富 陈明(168)

带状疱疹患者血清中 ESR、CRP、IL-1、免疫球蛋白与后遗神经痛的关系
 田苗 许济 陈斌 等(173)

综 述

乙肝表面抗原定量与 HBV-DNA 相关性的研究进展 王光彦 慕晓琼 曾昭杰 等(177)

专家风采

王明义 (封二)

实验室巡礼

威海市立医院中心实验室 (封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 1 January 2022

CONTENTS

COMMENTS

Treatment methods of clinical specimens of normal bacteria in mNGS

LIANG Zhikun, WANG Lin, WU Yilan, WANG Mingyi (1)

ORIGINAL ARTICLES

A step-by-step approach for hearing loss diagnosis and its clinical practice

LIU Chang, HUANG Yanlin, WANG Anshi, ZHANG Yan, DING Hongke, ZENG Yukun,
LIU Yuan, LIU Ling, WU Jing, YIN Aihua (6)

Value of combined detection of anti-*Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody and LAM-IgG in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis

HAN Wei, CUI Junwei, HUANG Jian, PAN Yanjing, DONG Wei, GAO Panpan (10)

Promotion of CK18-M30 and endotoxin in non-alcoholic fatty liver disease in rats

GENG Yan, SHI Haitao, GENG Yan (14)

Relationship between serum PCT, IL-6 and TNF- α and myocardial zymogram in patients with myocardial infarction complicated with pulmonary infection and its clinical value

LIU Jiangbo, ZHAO Xiaoning, YAO Mingyang, RAN Qian, CHOU Ruili, ZHANG Jinying, LIU Zhiyuan (19)

Effects of intracranial infection of different types of pathogenic bacteria on the levels of NSE, NLRP3 and HBP in cerebrospinal fluid after craniotomy in elderly patients with cerebral hemorrhage

ZHANG Renjing, HUANG Yanxia, DENG Yunxin, CHEN Dechang (23)

The diagnostic value of serum ADA, LDH and EBV-DNA load detection in children with infectious mononucleosis

HU Jie, LI Wenbo, ZHANG Fan (28)

Molecular typing of non-typhoid *Salmonella* and analysis of β -lactam resistance gene characteristics in Kunming Children's Hospital in 2020

WANG Haiping, XU Bin, HUANG Hailin, LI Jue, LI Xiaojuan, OU Xiaoyan, JIANG Li (32)

Correlation between IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 in placental tissues and gestational diabetes mellitus

WANG Na, ZHANG Xiaohuan, LI Yan, QIU Xuezhou, LAN Lan (36)

Correlation and clinical significance of miR-34a and FOXP1 expression in diffuse large B-cell lymphoma

CHEN Siyan, YANG Lihua, ZHANG Lingli, DONG Shi, LI Yaqiong, GONG Jichang,
LUO He, WEI Zhonghua, LI Xianli (40)

Study on the level of serum ProGRP and CYFRA21-1 assisting the diagnosis and prognosis of lung squamous cell carcinoma

CHEN Jun, FAN Hongfeng, RUI Xiaoyan (45)

NT-ProBNP, CRP combined with uric acid and echocardiography in the diagnosis of coronary heart disease complicated with heart failure

ZHAO Xueli, ZHANG Dexian, WANG Yanting, LIU Tengfei (49)

Relationship between the expression changes of MTA1 and Gankyrin in PTC tissues and postoperative recurrence and metastasis

PAN Xiaopei, QIAN Lianlian, LI Hongqiang, WANG Huihui (54)

The application of pulmonary ultrasound combined with CRP, PCT, sTREM-1 detection and CPIS score in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia

LUO Yuan, XU Jimei, WANG Jiling (58)

Efficacy of butylphthalide in the treatment of cerebral hemorrhage complicated with pulmonary infection and its effect on CGRP and BDNF

HUANG Zhenyi, GUO Lin, LUO Zhuhe (63)

LncRNA PTPRG-AS1 regulates breast cancer cell proliferation, migration and invasion by targeting miR-5590-3p

GAO Yuanyuan, HU Ping, ZHAO Yanjiao, HUANG Ying (67)

Comparative study on antibiotic adsorption capacity of two brands of blood culture bottles

WANG Meng, ZHOU Yizheng, LUO Jinzhu, LI Chengbin, GONG Quan (73)

Relationship between miR-26a expression and electrocardiographic corrected QT interval in type 2 diabetes mellitus complicated with coronary heart disease patients and its clinical significance <i>LI Zhihui, AN Xiaofei, PENG Mengle, YU Ruijing</i>	(77)
The value of serum IL-6 and IL-17 levels in the early diagnosis of AECOPD complicated with pulmonary infection and analysis of pathogenic bacteria <i>LIU Wei, MA Qingsong</i>	(82)
Relationship between 18F-FDG PET/CT, SUVmax, TLG, MTV and the malignant degree of GIST <i>YANG Zhaohui, DENG Shaoqiang, GU Fajian, QING Renqiang</i>	(86)
Relationship between Ranson score, APACHE II score, PCT and concurrent pancreatic infection in patients with severe acute pancreatitis <i>BI Zhengqiang, FENG Yajian, YIN Chenglong</i>	(91)
Evaluation of serum TNF- α , cTn I and MIF in the diagnosis of viral myocarditis <i>WANG Weihong, ZHANG Yan</i>	(95)
Analysis of 4 868 cases of female human papillomavirus infection in Zhangjiakou city <i>LI Linchen, LEI Yan, Han Huixian, XIE Guifang, LI Kaiyuan, LI Heyun, WANG Yuanyuan, CHANG Pengfei</i>	(99)
Effects of glucocorticoid and terbutaline combined therapy on TK1, TR6 and TNF- α in patients with AECOPD <i>DENG Caiyun, HUANG Zhenyu, XIE Shiliang, ZHENG Yamei</i>	(103)
Clinical value of combined detection of serum CEACAM-1, CA199 and MIC-1 in the diagnosis of pancreatic cancer <i>ZHANG Jinling, WANG Qingqing, WEI Yanlei, CHEN Xiuxia</i>	(108)
Diagnostic value of ESR, LDH and IL-2 detection in intracranial infection after hypertensive intracerebral hemorrhage <i>LI Runfeng, WANG Wanqing, LI Wanjun, LI Yuehe</i>	(112)
Predictive value of logistic regression prediction model combined with inflammatory markers on complicated infection in uremic hemodialysis patients <i>LI Ziyao, LIANG Shaoqin, ZHAO Zhenling, YU Ruibo</i>	(116)
Predictive value of H2S, PLGF combined with Lp-PLA2 assay for preeclampsia in patients with HDP <i>ZHAO Ke, ZHU Xiaohong, LIU Dandan</i>	(120)
Relationship between ET-1, MMP-9, RDW-CV and acute cerebral infarction and their prognostic value <i>YUAN Zhiling, SU Zhou, YUAN Yan, ZHOU Yanxia</i>	(124)
Application of serum interleukin-10 level in diagnosis and treatment of acute pancreatitis <i>TAO Shan, SHEN Lei, LIU Weiwei, ZHENG Yinong, WANG JiaYu, WEI Wei, DU Yong</i>	(129)
Predictive value of Hcy, LPA and TGF- β 1 in lower extremity venous embolism in traumatic fractures <i>DING Ding, ZHAO Zhijian, CHEN Kunfeng</i>	(133)
Relationship between the levels of serum GGT, BNP and CRP and the severity of coronary artery lesions in patients with ACS <i>JU Dandan, ZHANG Yue, GUO Lili, ZHANG Yanyan</i>	(137)
Correlation of peripheral blood miR-98-5p with systemic inflammatory response activation and prognosis in patients with sepsis <i>WU Xingyang, WANG Fei, YANG Chenghao, HUANG Xiaoyong, SHU Yan</i>	(141)
Application of combined detection of cTnI, Mb and miR-133 in the diagnosis and prognosis of children with AVM <i>ZHANG Xiaojian, ZHANG Junyi, FENG Song, LI Dan</i>	(145)
Changes and clinical significance of Gal-3, HMGB1 and copeptin levels in patients with pulmonary hypertension and heart failure <i>SUN Yanyan, LU Jia, WANG Weiping</i>	(149)
Efficacy of PKRP and TURP in the treatment of benign prostatic hyperplasia and their effects on ET-1, PGE2 and IL-6 <i>QIN Yue, BAI Bing, ZHANG Haifang</i>	(153)
HPV infection and gene subtype distribution in 3 408 women in Bengbu area <i>WANG Zhongan, GUO Qingjiang, QIAO Linshuang, GUO Pengfei</i>	(157)
Effects of terbutaline and budesonide on IL-5, IL-10 and TNF- α in patients with acute bronchial asthma <i>HUANG Ying, ZHENG Xiuqin, CHEN Lan</i>	(161)
Analysis of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in Huizhou area <i>ZHONG Zeyan, CHEN Dina, Yang Kunxiang, CHEN Jianhong</i>	(165)
Expression of PD-L1, Beclin-1 and P62 in NSCLC and their relationship with recurrence and metastasis <i>JING Zhengquan, WU Dafu, CHEN Ming</i>	(168)
Relationship between ESR, CRP, IL-1, immunoglobulin and afterneuralgia in patients with herpes zoster <i>TIAN Miao, XU Ji, CHEN Bin, YOU Fang, LI Hua, LI Shilin</i>	(173)

REVIEWS

Research progress on the correlation between hepatitis B surface antigen quantitative detection technology and HBV-DNA <i>WANG Guangyan, MU Xiaoqiong, ZENG Zhaojie, PANG Jianli, LI Chunyan</i>	(177)
---	-------

临床宏基因组测序中正常有菌部位临床标本的处理办法

梁志坤¹ 王琳¹ 吴轶兰¹ 王明义^{2*}

【摘要】 病原宏基因组高通量测序(mNGS)能覆盖较大范围的病原体,病毒、细菌、真菌、寄生虫都能被同时检测,不论临床样本培养成功与否,只要含有可检测到的DNA或RNA即可。各专家共识中指出各部位感染均具有一定的临床价值,要结合不同标本类型与检出病原微生物的种类进行解读。虽然无菌部位标本的诊断价值优于正常有菌部位,但是正常有菌部位(如呼吸道、尿液、开放性伤口等)样本病原的检测在感染性疾病诊断中也是必不可少的。有菌部位样本复杂多样,为提高检测结果的灵敏性,在不影响样本中病原体含量的前提下会采用不同的方法对样本进行处理。为方便医疗工作者及科研人员了解具体的处理办法,本文对主要的有菌部位样本(鼻咽拭子、肺泡灌洗液、痰液、粪便、尿液、牙菌斑和唾液)处理方法进行综述。

【关键词】 宏基因组测序;有菌部位样本;样本处理

Treatment methods of clinical specimens of normal bacteria in mNGS

LIANG Zhikun¹, WANG Lin¹, WU Yilan¹, WANG Mingyi^{2*}

(1. Research Center of Medical and Pharmaceutical Bioengineering, Ministry of Health, National and Regional Joint Engineering Laboratory for Clinical Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Province Nucleic Acid Molecular Diagnostics Engineering Technology Research Center, Guangdong Provincial Clinical Medical Molecular Diagnostics Engineering Technology Center, DAAN Gene Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong, 510665; 2. The Central laboratory of Weihai Municipal Hospital, Weihai, Shandong, China, 264200)

【ABSTRACT】 Pathogen metagenomic next-generation sequencing (mNGS) can cover a wide range of pathogens. Viruses, bacteria, fungi, and parasites can be detected at the same time. Whether the clinical samples are successfully cultured or not, as long as they contain DNA or RNA, they can be detected. The consensus of various experts pointed out that the infection of each site has certain clinical value, and the interpretation should be combined with the types of different specimens and the types of pathogenic microorganisms detected. Although the diagnostic value of aseptic part specimens is better than that of normal bacterial parts, the detection of pathogens in samples from normal bacterial parts (such as respiratory tract, urine, open wounds, etc.) is also essential in the diagnosis of infectious diseases. Samples of bacterial parts are complex and diverse. In order to improve the sensitivity of the detection results, different methods will be used to process the samples without affecting the pathogen content in the samples. In order to facilitate medical workers and scientific researchers to understand the specific treatment methods, this article reviews the treatment of the main bacterial samples (nasopharyngeal swabs, alveolar lavage fluid, sputum, feces, urine, dental plaque and saliva) method.

【KEY WORDS】 mNGS; Normal bacterial parts; Sample processing

据世界卫生组织统计,全球感染性疾病导致患者死亡占全部死因的25%以上,每年约1 300万儿童死于感染性疾病。在中国,感染性疾病占有

疾病的50%以上^[1-4]。根本原因是病原诊断技术无法满足临床要求,如传统的培养技术,受培养条件和抗生素使用等影响,培养阳性率较低;传统分子

基金项目:广东省省级科技计划项目(2018B020207006);广州市健康医疗协同创新重大计划(201803040009)

作者单位:1. 卫生部医药生物工程研究中心,临床医学分子诊断国家地方联合工程实验室,广东省核酸分子诊断工程技术研究中心,广东省临床医学分子诊断工程技术中心,广州达安基因股份有限公司,广东,广州,510665

2. 威海市立医院中心实验室,山东,威海264200

*通信作者:王明义, E-mail: wangmingyi1973@outlook.com

诊断技术通常只能使用特异性的引物或探针检测非常有限的数个靶标,一定程度上限制了其临床应用。而病原宏基因组高通量测序技术(Metagenomic next-generation sequencing, mNGS)依靠其无偏倚、随机的特性不仅可以检测一致病原体的基因组,也可以对新发病原体感染鉴定发挥重要作用^[5]。

临床样本类型多种多样,按采集部位,可分为无菌部位(血、无菌体液、组织等)样本和正常有菌部位(呼吸道、尿液、开放性伤口等)样本^[5-6]。虽然《宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识》中指出无菌部位标本的诊断价值优于正常有菌部位,但是很多研究和报道也证实各部位感染均具有一定的临床价值^[7-8]。因此,正常有菌部位(如呼吸道、尿液、开放性伤口等)样本病原的检测在感染性疾病诊断中也是必不可少的。为方便医疗工作者及科研人员了解具体的处理办法,本文对有菌部位样本处理方法进行综述。

1 病原宏基因组高通量测序技术原理

mNGS 检测需经过样本前处理、核酸提取、文库制备、上机测序、数据库对比、报告生成及结果解读等一系列过程^[7],见图1。mNGS 检测技术直接从样本中获得病原体的核酸信息,再通过生物信息学的方法对得到的序列进行比对分析^[8],可以同时检测较大范围的病原体,病毒、细菌、真菌、寄生虫等^[5]。

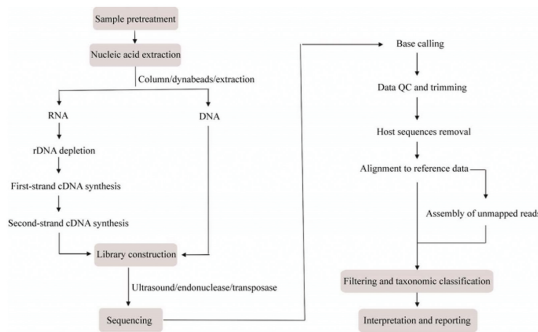


图1 mNGS 技术原理^[5]

Figure 1 mNGS technology principle^[5]

目前,传统的病原诊断技术有微生物的培养和分离、特异性病原抗体的检测和微生物核酸(DNA或RNA)检测(PCR)等^[9](图2),且只能检测一种或多种病原体。对于不同的病原体,不同技术的检测方法有着不同的灵敏度,所以mNGS技术不能完全替代传统病原诊断技术。因此,需要根据诊断需求选择合适的检测方法。

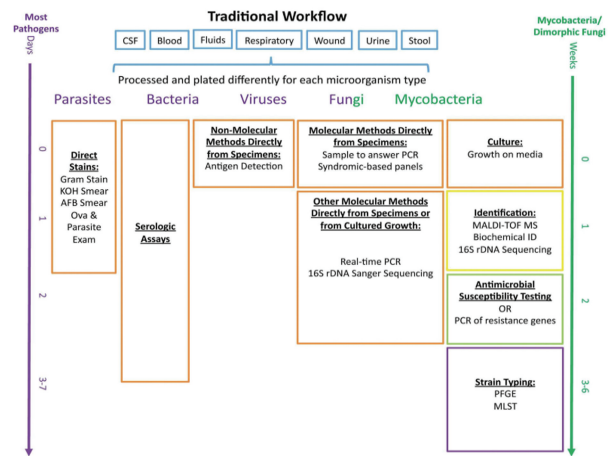


图2 传统微生物检测技术流程^[9]

Figure 2 Traditional microbial detection technology process^[9]

2 不同类型标本处理方法

要实现mNGS技术对所有潜在病原微生物无偏倚地检测^[5, 10],样本前处理和核酸提取方法就需要兼容不同微生物的特征,例如增加玻璃珠研磨样本,对样本进行离心或过滤以对某种病原体进行富集。需要针对样本的类型做一定前处理,如痰液和肺泡灌洗液样本,黏性较高,需要进行液化处理^[8],液化方法见表1。

上述方法各有优缺点。其次,需要根据痰液、肺泡灌洗液样本的粘稠程度,加入一定比例 DTT 或者 NaOH,较难做成标准化的预处理流程。而且,NaOH 的强碱性,一定程度上影响提取试剂的提取效果。

以下总结了不同实验室针对感染性疾病主要代表类型的正常有菌部位样本处理方法及核酸提取方法。

2.1 呼吸道样本

呼吸道分为上、下两部分。鼻、咽、喉合称上呼吸道。气管、支气管和肺部器官,合称下呼吸道。呼吸道样本样本处理方法如下:

2.1.1 上呼吸道样本

鼻咽拭子和口咽拭子,先使用 70~200 μL PBS 或者样本保存液,将微生物冲洗下来。按照 QIAamp Viral RNA 提取试剂盒说明书进行提取,分为裂解、结合、漂洗、洗脱四个步骤,使用快速离心柱或真空操作简化从无细胞体液中纯化病毒 RNA 的流程。病毒 RNA 特异性结合到 QIAamp 硅膜上,然后用水或试剂盒提供的缓冲液洗脱高纯度病毒

表1 液化方法汇总

Table 1 Summary of liquefaction methods

痰液液化方法	简单原理	优点	缺点
直接水煮法	煮沸 10 min 后将上清液进行 PCR 扩增检测反应	方便快捷、成本低	容易造成部分液化不全、基因组断裂
NaOH 处理	4% 或 1 M NaOH 溶液液化处理后 再提取	来源方便、反应时间足够长, 能够完全液化痰液	但碱性较强, 容易将宿主和细菌的 DNA 均变性、解链, 使 DNA 降解严重, 一定程度上影响提取试剂的提取效果
变性剂+超声波法	先用二硫苏糖醇(DTT)、巯基乙醇等变性剂变性和超声波法联合预处理后再提取	能在一定程度上液化痰液	巯基乙醇具有剧烈毒性和挥发性气味, 且超声会使宿主和微生物的 DNA 均被碎片化
蛋白酶 K	加入 0.2 mg/mL 蛋白酶 K, 于 55°C 条件下水浴 3 h 或者过夜消化后再提取	只要酶足够多、时间足够长, 可以完全实现液化	成本较高、蛋白酶 K 消耗大、时间较长

RNA, 该试剂盒可在 QIAcube 全自动化核酸纯化提取仪上自动纯化。

2.1.2 下呼吸道样本

胸腔积液样本处理方法如下: 可使用 MagNA-Lyzer[®] 仪 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) 加上 SeptiFast Lysis kit (Roche, Mannheim, Germany) 对细菌进行机械破壁来获得 DNA, 然后在 MagNA Pure 紧凑型自动化仪器上进行 DNA 提取和纯化 (Roche, Mannheim, Germany)^[11]。

MagNALyzer[®] 仪可以对较厚细胞壁、难裂解的革兰式阳性菌和真菌进行预处理, 加上 SeptiFast Lysis kit 使其核酸能更好的释放出来。

痰液样本处理方法如下: 不同呼吸道标本的病原类型不一样。一般上呼吸道样本中含有的病原主要是病毒, 可采用病毒提取试剂盒来提取核酸。下呼吸道样本中含有大量的细菌、真菌, 需要研磨破壁处理, 提高核酸提取效率, 从而提高 mNGS 对真菌检测的灵敏度。不同的呼吸道标本的病原丰度也不一样, 其入源核酸占比不同, 往往会导致 mNGS 检测性能的差异。例如, 肺泡灌洗液中含有大量的宿主细胞, 可能导致入源核酸挤占大量的数据量, 导致假阴性结果。所以需要对本样本适当去除入源核酸, 反向富集病原体, 从而提升阳性检出率。见表 2~3。

表2 肺泡灌洗液处理方法

Table 2 Approach of bronchoalveolar lavage fluid

序号	肺泡灌洗液样本处理方法	简单原理	优点
方法 1 ^[11]	玻璃珠+TIANamp Micro DNA Kit (天根)	提取前使用 1 g 0.5 mm 玻璃珠对样本进行预处理	革兰式阳性菌和真菌更好的释放核酸
方法 2 ^[12]	600 μL DirectZol, 600 μL 裂解液或 200 μL DNA/RNA Shield (Zymo)+0.1 mm 或 0.5 mm 的玻璃珠+0.15 g 或 0.38 g 蛋白酶 K+Zymo ZR-Duet DNA/RNA MiniPrep Kit	预处理使用裂解液+玻璃珠, 处理后使用蛋白酶 K 去除蛋白残留, 上清液进行核酸提取	裂解液+玻璃珠可以更好地使真菌破壁, 释放核酸
方法 3 ^[13]	Qiagen EZ1 kit	柱提法	可以搭配 EZ1 Advanced-全自动样品制备工作站使用

表3 痰液处理方法

Table 3 Approach of sputum

序号	痰液样本处理方法	简单原理	优点
方法 1 ^[14]	DTT+TIANamp Micro DNA Kit	提取前使用 0.1% 的 DTT 在室温液化 30 min 后, 再进行核酸提取	DTT 液化痰液样本, 方便后续核酸提取
方法 2 ^[15]	DNase I+MoBio PowerSoil DNA Isolation kit	DNase I (脱氧核糖核酸酶 I) 将单链和双链 DNA 酶切成含 5' 磷酸的寡脱氧核糖核苷酸, 去除部分宿主 DNA	可以降低宿主 DNA, 提高病原的检出率

2.2 粪便

粪便是主要的肠道样本。肠道传染病包括细菌引起的细菌性痢疾、伤寒、副伤寒、霍乱、副霍乱以及食物中毒等;阿米巴原虫引起的阿米巴痢疾;相关病毒引起的病毒性肝炎、脊髓灰质炎(小儿麻痹)等。

粪便样本处理方法如下:肠道样本中病原体核酸占比远大于其他样本类型,可以采用自动化提取系统,在一个相对封闭的提取环境,减少对环境和和其他样本的污染。粪便样本含有复杂的微生物组,正常菌群的信息背景高,这会降低 mNGS 的灵敏度。可以使用专门针对粪便样本的富集方法(如:珠磨处理)减少信息背景,提高 mNGS 检测病原的灵敏度。见表4。

2.3 尿液

尿路感染是最普遍的社区获得性和医院获得性感染,存在于肾脏,输尿管,膀胱和尿道等泌尿系统的各个部位。研究表明尿路感染是由多种病原微生物引起的,其中大多数是大肠埃希菌,肺炎克雷伯菌,奇异变形杆菌,粪肠球菌和腐生葡萄球菌。尿路感染主要发生在育龄妇女,老年人和免疫力低下和

尿路异常的人中^[20]。

尿液样本处理方法如下:尿液样本的提取也可以使用相对封闭的自动化提取仪,减少环境的污染,减少假阳性的检出率。cfDNA 也广泛存在尿液当中,可以选择 cfDNA 提取试剂盒进行 cfDNA 的提取。此外,尿液样本在采集的时候容易受环境的污染,应注意人为污染,这样有利于病原的检出。见表5。

2.4 牙菌斑

口腔是一个充满各种微生物的环境,而牙菌斑就像是由不同细菌组成的“细菌社区”,这些“社区”定居于牙面、牙与牙之间或者在假牙(义齿、修复体)表面。牙菌斑是基质包裹的互相黏附或黏附于牙面、牙间或修复体表面的软而未矿化的细菌性群体,为不能被水冲去或漱掉的一种细菌性生物膜。牙菌斑样本处理方法如下:牙菌斑又分平画面牙菌斑和窝沟牙菌斑,前者早期以球菌和杆菌为主,大多为革兰阳性菌,链球菌为主要菌群,后者以革兰阳性菌和段杆菌为主,偶见酵母菌。根据牙菌斑的病原丰度来看,在提取核酸前可以使用溶菌酶来提高核酸提取效率。见表6。

表4 粪便处理方法

Table 4 Approach of stool

序号	粪便样本处理方法	简单原理	优点
方法 1 ^[16]	离心+自动 MagNA Pure LC 系统	离心富集病毒,使自动 MagNA Pure LC 系统提取核酸	可以减少提取中污染,更好地富集病毒,提高病毒的核酸量
方法 2 ^[17]	Qiagen QIAamp DNA Stool Mini Kit + 无 DNase 的 RNase	核酸提取后使用无 DNase 的 RNase 去除 RNA 污染	可以较好地去除 RNA 污染,提高 DNA 的纯度
方法 3 ^[18]	PowerFecal DNA isolation kit + Zymo DNA clean-up and concentrator kit		
方法 4 ^[19]	直径 0.1 mm 的氧化锆/二氧化硅珠+苯酚:氯仿:异戊醇+SDS+QIAamp mini spin columns	使用氧化锆/二氧化硅珠对样本进行预处理,苯酚:氯仿:异戊醇法提取核酸,提取后对核酸进行纯化	有利于真菌、革兰氏阳性菌的核酸提取

表5 尿液处理方法汇总

Table 5 Approach of urine

序号	尿液样本处理方法	简单原理	优点
方法 1 ^[21]	NucliSENS easyMag platform (Biomérieux)	自动化提取仪	可以建立标准化的提取流程,减少人为污染
方法 2 ^[19]	离心+Qiagen CircuLating Nucleic Acid Kit	离心后,留上清进行核酸提取	适合 cfDNA 的提取

表6 牙菌斑处理方法

Table 6 Approach of dental black plaque

序号	牙菌斑样本处理方法	简单原理	优点
方法 1 ^[22]	DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit	裂解液具有较强的裂解效果	适用于难裂解的微生物
方法 2 ^[23]	乙二胺四乙酸(EDTA)+溶菌酶+Wizard Genomic DNA Purification kit	EDTA 可与蛋白和多聚糖形成复合物,有效去除蛋白等,溶菌酶破坏微生物的细胞壁	EDTA 可有效去除蛋白,提高核酸的纯度

3 小结

近年来世界卫生组织和国家卫生健康委员会多次强调控制抗生素滥用的重要性,对临床病原诊断提出了更高的要求。在mNGS检测技术的湿实验部分,仍面临的四大技术挑战是:①如何克服样本中宿主核酸和样本病理的特性;②如何真正实现对病原微生物无偏倚地检测;③如何针对不同种类临床样本,选择合适的前处理程序;④如何克服检测背景的干扰。各专家共识中也指出样本前处理和核酸提取为mNGS技术流程的质量控制的重要节点^[24]。

本文阐述了主要正常有菌部位样本的特性及处理方法,并举例、对比了不同样本的国内外提取试剂盒厂家的优缺点。综上,在研究中需要根据实验目的及研究重点来选择样本前处理方法和核酸提取方法。

参考文献

- [1] WHO. The top 10 causes of death [J]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>, 2020.
- [2] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(6): 341-355.
- [3] Bharucha T, Oeser C, Ballou XF, et al. STROBE-metagenomics: a STROBE extension statement to guide the reporting of metagenomics studies [J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(10): e251-e260.
- [4] Fenollar F, Raouf D. MoleculLar diagnosis of bloodstream infections caused by non-cµLivable bacteria [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2007, 30 Suppl 1(Suppl 1): S7-15.
- [5] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(2): 107-120.
- [6] 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用共识专家组, 中国研究型医院学会脓毒症与休克专业委员会, 中国微生物学会微生物毒素专业委员会, 等. 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识(第一版)[J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32(5): 531-536.
- [7] 中华医学会检验医学分会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(12):1181-1195
- [8] 郭凌云, 李勤静, 刘钢, 等. 二代测序技术在临床微生物领域中的应用进展 [J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(5): 396-399.
- [9] Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the Promises and Hurdles of Metagenomic Next-Generation Sequencing as a Diagnostic Tool for Infectious Diseases [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 66(5): 778-778.
- [10] Gu W, Miller S, Chiu C. Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 319-338.
- [11] Chen Z, Cheng H, Cai Z, et al. Identification of Microbiome Etiology Associated With Drug Resistance in Pleural Empyema [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 637018.
- [12] Chen X, Ding S, Lei C, et al. Blood and Bronchoalveolar Lavage Fluid Metagenomic Next-Generation Sequencing in Pneumonia [J]. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2020, 2020(4): 1-9.
- [13] Zinter MS, Dvorak CC, Mayday MY, et al. Pulmonary Metagenomic Sequencing Suggests Missed Infections in Immunocompromised Children [J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 68(11): 1847-1855.
- [14] Duan H, Li X, Mei A, et al. The diagnostic value of metagenomic next-generation sequencing in infectious diseases [J]. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1): 62.
- [15] Bacci G, Taccetti G, Dolce D, et al. Untargeted Metagenomic Investigation of the Airway Microbiome of Cystic Fibrosis Patients with Moderate-Severe Lung Disease [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(7): 1003.
- [16] Mohammad HA, Madi NM, Al-Nakib W. Analysis of viral diversity in stool samples from infants and children with acute gastroenteritis in Kuwait using Metagenomics approach[J]. *Viral J*, 2020, 17(1):10.
- [17] Jie Z, Xia H, Zhong SL, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):845.
- [18] Zhang X, Zhao A, Sandhu AK, et al. Functional Deficits in Gut Microbiome of Young and Middle-Aged Adults with Prediabetes Apparent in Metabolizing Bioactive (Poly) phenols [J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3595.
- [19] Magruder M, Sholi A N, Gong C, et al. Gut uropathogen abundance is a risk factor for development of bacteriuria and urinary tract infection [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5521.
- [20] Li M, Yang F, Lu Y. Identification of *Enterococcus faecalis* in a patient with urinary-tract infection based on metagenomic next-generation sequencing: a case report [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 467.
- [21] Janes VA, Laan J, Matamoros S, et al. *Thermus thermophilus* DNA can be used as internal control for process monitoring of clinical metagenomic next-generation sequencing of urine samples [J]. *J Microbiol Methods*, 2020, 176: 106005.
- [22] Veses V, González-torres P, Carbonetto B, et al. Dental black plaque: metagenomic characterization and comparative analysis with white-plaque [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 15962.
- [23] Xie G, Chain PS, Lo CC, et al. Community and gene composition of a human dental plaque microbiota obtained by metagenomic sequencing[J]. *Mol Oral Microbiol*, 2010,25(6):391-405.
- [24] 刘东来, 张春涛, 王佑春, 等. 病原宏基因组高通量测序技术质量控制与评价的挑战和思考 [J]. *生物工程学报*, 2021, 36(12): 2598-609.

阶梯式耳聋基因诊断策略及其临床实践

刘畅 黄演林 汪安石 张彦 丁红珂 曾玉坤 刘渊 刘玲 吴菁 尹爱华*

[摘要] **目的** 建立阶梯式耳聋基因诊断策略,应用于临床诊疗实践,以提高诊断效率、降低检测成本改善病人管理。**方法** 选取2017年1月至2020年12月广东省妇幼保健院医学遗传中心226例耳聋患者进行基因诊断。阶梯式诊断策略第一阶梯采用微阵列芯片法对受检者进行*GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4*及线粒体*DNA 12S rRNA*基因上中国人群耳聋基因变异热点检测。第二阶梯基因诊断采用Sanger测序法对受检者进行*GJB2*、*SLC26A4*等中国人群中较常见的耳聋基因测序。第三阶梯基因诊断采用全外显子组测序法,主要用于第一、二阶梯未检出或检出结果不能解释表型的耳聋病患,但对于有急切产前诊断需求等检测时间窗较短的耳聋患者可直接接受高通量测序检测。**结果** 第一阶梯基因检测为14例病患明确分子诊断(诊断率8.5%),第二阶梯基因检测为24例病患明确分子诊断(诊断率15.9%),第三阶梯基因检测额外提高了32.4%的诊断率。而在选择直接接受全外显子组测序检测的人群中诊断率为44.3%。**结论** 本研究建立了一种阶梯式耳聋基因诊断策略,并将其应用于临床诊疗,实践效果显示分层递进式检测更为经济。但对于部分检测时间窗较短的耳聋患者,直接行高通量测序检测,效率更高。明确耳聋患者分子诊断有助于提高病人管理、改善患者预后、规范遗传咨询及再发风险评估。

[关键词] 遗传性耳聋; 基因诊断; Sanger测序法; 微阵列芯片法; 全外显子组测序法

A step-by-step approach for hearing loss diagnosis and its clinical practice

LIU Chang, HUANG Yanlin, WANG Anshi, ZHANG Yan, DING Hongke, ZENG Yukun, LIU Yuan, LIU Ling, WU Jing, YIN Aihua*

(Medical Genetic Center, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510010)

[ABSTRACT] **Objective** To establish a stepwise approach for hearing loss diagnosis and apply it to clinical practice to improve the diagnosis efficiency, reduce the testing costs, and improve the patient management. **Methods** A total of 226 hearing loss patients were enrolled from January 2017 to December 2020 for genetic diagnosis. The first step of the stepwise approach used the allele-specific PCR-based universal array to detect hot-spot mutations in *GJB2*, *GJB3*, *SLC26A4* and mitochondrial *DNA 12S rRNA* genes. Sanger sequencing was used as the second step to examine the comparatively common hearing loss-associated genes in Chinese population, such as *GJB2* and *SLC26A4* genes. The whole exome sequencing was used as the third step to detect hearing loss patients who were not molecularly diagnosed in the first and second steps. But for patients with a short detection time window, the next generation sequencing can be employed directly. **Results** The first step genetic testing confirmed molecular diagnosis for 14 patients (diagnosis rate 8.5%), the second step genetic testing confirmed molecular diagnosis for 24 patients (diagnosis rate 15.9%), and the third step genetic testing increased an additional 32.4% of diagnosis rate. The diagnostic rate was 44.3% in the population who chose to undergo direct whole-exome sequencing testing. **Conclusion** This study established a step-by-step deafness genetic diagnosis strategy and applied it to clinical diagnosis and treatment. The practice effect showed that the stratified progressive detection was more economical. However, for some deaf patients with a

基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(A2020302)

作者单位:广东省妇幼保健院医学遗传中心,广东,广州511400

*通信作者:尹爱华, E-mail: yinaihua0131@163.com

short detection time window, it is more efficient to directly perform high-throughput sequencing detection. A clear molecular diagnosis of deafness patients can help improve patient management, improve patient prognosis, standardize genetic counseling, and assess recurrence risk.

[KEY WORDS] Hereditary hearing loss; Genetic diagnosis; Sanger sequencing; Allele-specific PCR-based universal array; Whole-exome sequencing

耳聋是人类常见的疾病之一,与遗传因素密切相关^[1-2]。据报道,约50%的语前聋与遗传因素有关,且遗传因素在许多迟发性进行性听力下降、年龄相关性耳聋的发生中也发挥着不可忽视的作用^[1-4]。明确致病基因变异、阐明分子致病机制,可为临床诊断、治疗和预防提供重要依据^[3-5]。迄今为止,超过200个综合征性(syndromic hearing loss, SHL)和非综合征性耳聋(non-syndromic hearing loss, NSHL)基因被发现(<http://deafnessvariationdatabase.org>)^[3-4]。在中国耳聋人群中,较常见的致聋基因包括*GJB2*、*SLC26A4*和线粒体*DNA 12S rRNA*基因,约占耳聋病例的30%~40%^[5]。高度的遗传异质性给耳聋的分子诊断带来巨大的挑战。耳聋基因的变异类型多样,包括点变异、小片段插入缺失(Indel)、拷贝数变异(Copy number variation, CNV)、结构变异(Structural variation, SV)等,单一检测技术难以奏效^[6]。目前,用于遗传性耳聋诊断的方法主要包括基因芯片、基因Sanger测序以及基于下一代测序(next-generation sequencing, NGS)技术的目标耳聋基因靶向捕获测序、全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)及全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)等^[7-8]。Sanger测序在包括*GJB2*、*SLC26A4*等较常见的致聋基因检测中发挥着重要作用,同时对于可产生特征性临床表型的少数基因的检测也具有一定意义^[3]。在充分考虑检测效能、检测成本、检测时间等因素的前提下,本单位制定了一套阶梯式基因诊断策略,并将其应用于耳聋患者分子诊断的临床实践。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2017年1月至2020年12月广东省妇幼保健院医学遗传中心226例耳聋患者进行基因诊断。纳入的人群均为感音神经性耳聋或混合性耳聋患者,排除单纯的传导性耳聋患者。对入组耳聋患者进行病史收集及体格检查,包括详细的过往病史、耳聋家族史、听力学检查情况、发病年龄

及诱因、感染史、氨基糖苷类药物接触史等。226例耳聋患者中男134例、女92例(男女比例1.5:1),其中语前聋(发病年龄≤3岁)203例(89.8%)、语后聋23例(10.2%),有耳聋家族史12例(5.3%)、无耳聋家族史209例(92.5%)、耳聋家族史不详5例(2.2%),有氨基糖苷类药物接触史11例(4.9%)、无氨基糖苷类药物接触史209例(92.5%)、氨基糖苷类药物接触史不详6例(2.7%)。患者听力损失程度如下:轻度2例(0.9%)、中度16例(7.1%)、重度129例(57.1%)、极重度40例(17.7%)、听力损失程度不详39例(17.2%)。本研究经院伦理委员会审核通过。受检者(监护人)充分知情同意,并签署知情同意书。

1.2 阶梯式基因诊断策略

本研究根据广东省聋病诊疗的基本情况,综合考虑各项实验技术的检测效力、检测时间与检测成本,设计了一套适合广东地区实际情况的聋病阶梯式基因诊断策略。见图1。阶梯式诊断策略第一阶梯基因诊断采用微阵列芯片法对受检者进行*GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4*及线粒体*DNA 12S rRNA*基因上的中国人群耳聋基因变异热点检测。第二阶梯基因诊断用于第一阶梯基因诊断未检出或仅检出单个常染色体隐性遗传致病变异的病患,采用Sanger测序法对受检者进行*GJB2*基因、*SLC26A4*基因等中国人群中较常见的耳聋基因测序。对于可产生特征性临床表型的少数基因,因其临床表型对耳聋基因的检测具有指向性,也常应用候选基因筛选的策略在第二阶梯基因诊断中进行分子遗传学诊断。第三阶梯基因诊断主要用于第一、二阶梯基因诊断未检出或检出结果不能解释表型的耳聋病患,但对于由表型判断为非*GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4*及线粒体*DNA 12S rRNA*基因变异致聋患者、部分综合征性耳聋患者、有急切产前诊断需求等检测时间窗较短的耳聋患者可直接接受高通量测序检测。

1.3 第一检测阶梯——微阵列芯片法

采集受检者外周血2 mL,提取基因组DNA。使用微阵列芯片法晶芯®九项遗传性耳聋基因检测试

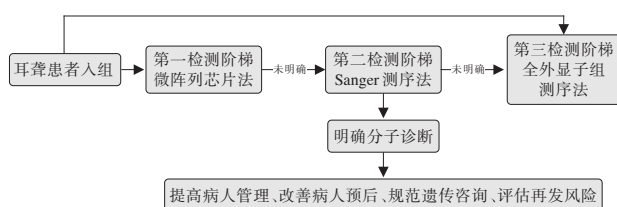


图1 阶梯式耳聋基因诊断策略

Figure 1 A stepwise approach for the genetic diagnosis of hearing loss

剂盒(北京博奥生物有限公司,国食药监械(准)字2009第3400725)对受检者进行 *GJB2* 基因 c. 35 del G、c. 176_191 del 16bp、c. 235 del C、c.299_300 del AT、*GJB3* 基因 c. 538 C>T、*SLC26A4* 基因 c. 2168 A>G、c. 919_2 A>G、线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因 m. 1494 C>T、m. 1555 A>G 中国人群耳聋基因变异热点筛查。根据试剂盒说明书,通过多重不对称等位基因特异性 PCR 扩增获得大量单链 DNA,PCR 产物变性后与芯片杂交,芯片洗涤后经晶芯 LuxScan 10K-B 微阵列芯片扫描仪(北京博奥生物有限公司)扫描成像并使用配套软件进行结果判读^[9]。

1.4 第二检测阶梯——Sanger 测序法

对 *GJB2*、*SLC26A4* 等基因编码区及侧翼序列使用巢式聚合酶链式反应扩增,引物序列及 PCR 反应条件参见文献^[10-11],扩增产物送广州天一辉远基因科技有限公司进行测序。DNA 测序结果用 Mutation Surveyor 软件(SoftGenetics, State College, PA)与 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)公布的参考序列进行序列比对与分析。

1.5 第三检测阶梯——全外显子组测序法

质检合格的基因组 DNA 经超声破碎仪打断、末端修复、扩增、纯化等操作制备测序文库,采用特异性的捕获探针(Roche NimbleGen, Madison, WI)杂交富集目标区域的 DNA 序列,目标区域包括 OMIM 相关的约 5 000 个靶基因的全部外显子区及上下游各 30 bp 内含子区和已知的深度内含子区变异,随后在 Illumina NovaSeq 6000 平台上进行二代测序。使用 NextGENe 软件将测序 Reads 与人的参考基因组(GRCh37/hg19)进行序列比对。单个核苷酸变异(SNV/indels)分析方法为:通过变异的人群频率数据库(ExAC、gnomAD、1000 genomes 等)对高频变异进行过滤,参考 dbSNP、OMIM、ClinVar、Varsome、HGMD、LOVD、Deafness Variation Database 等多种数据库对致病变异位点进行评估,应用 Varsome 网站及 pliceAI 软件

(BayesDel_addAF、DANN、DEOGEN2、EIGEN、FATHMM-MKL、M-CAP、MVP、MutationAssessor、MutationTaster、REVEL、SIFT 及 GERP) 等对变异的保守性和致病性进行预测^[11-12]。根据美国医学遗传学学会(American College of Medical Genetics, ACMG)指南对点变异和拷贝数变异的致病性进行分类(PMID: 25741868)。

2 结果

2.1 第一检测阶梯——微阵列芯片法

165 例耳聋患者接受了第一阶梯基因诊断,28 例检出芯片所包含的变异热点。其中,12 例为 *GJB2* 基因、*SLC26A4* 基因致病变异的纯合或复合杂合形式,基因型可解释临床表型。1 例携带线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因 m.1494 C>T 同质性变异、1 例携带线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因 m.1555 A>G 同质性变异,与其接触氨基糖苷类药物后出现听力损失的病史符合。另有 14 例携带 *GJB2* 基因、*SLC26A4* 基因上芯片所包含的单等位基因致病变异,进入第二检测阶梯。

2.2 第二检测阶梯——Sanger 测序法

检出 24 例 *GJB2* 基因、*SLC26A4* 基因致病变异的纯合或复合杂合形式,其中 14 例为 *GJB2* 基因致病变异的纯合或复合杂合子、10 例为 *SLC26A4* 基因致病变异的纯合或复合杂合子,基因型可解释临床表型。另有 21 例携带 *GJB2* 基因、*SLC26A4* 基因致病变异的杂合形式,建议进入第三检测阶梯。

2.3 第三检测阶梯——全外显子组测序法

共 95 个耳聋病患接受了外显子组测序检测,38 例明确了分子诊断,诊断率为 40%。38 例明确分子诊断的病例中 14 例系由 *GJB2* 基因、*SLC26A4* 基因变异致聋。余 24 例明确分子诊断病例的致病变异分布于 15 个基因,其中 7 个遵循常染色体隐性遗传模式、8 个遵循常染色体显性遗传模式,见图 2。

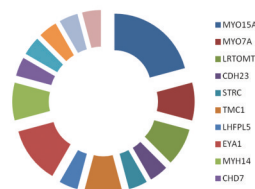


图2 确诊病例的耳聋基因变异谱

Figure 2 Genetic spectrum of diagnosed patients with hearing loss

3 讨论

本研究根据广东省聋病诊疗的基本情况,综合考虑各项实验技术的检测效力、检测时间与检测成本,设计了一套适合广东地区实际情况的聋病的阶梯式基因诊断策略。阶梯式诊断策略第一阶梯基因诊断采用微阵列芯片法对受检者进行 *GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4* 及线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因上的9个中国人耳聋基因变异热点检测,检测成本为335元、报告时间为一周。本研究通过第一阶梯基因检测为14例病患明确分子诊断(诊断率8.5%),并为另外14例病患提示了变异基因。第二阶梯基因诊断采用 Sanger 测序法对受检者进行 *GJB2*、*SLC26A4* 等中国人群中较常见的耳聋基因编码区及侧翼序列测定,检测成本为450元、报告时间为一至三周。本研究结果提示另外21例携带 *GJB2*、*SLC26A4* 基因编码区杂合性致病变异。第一、二阶梯基因诊断未检出或检出结果不能解释表型的34例聋病患,进入第三检测阶梯,外显子组测序为其中11例明确了分子诊断,诊断率32.4%。由于外显子组测序的成本高达3360元、报告时间为四周,93例经第一、二阶梯基因检测未能明确诊断的聋病患选择退出研究。另有61例由表型判断为非 *GJB2*、*GJB3*、*SLC26A4* 或线粒体 *DNA 12S rRNA* 基因变异致聋患者、部分综合征性耳聋患者、有急切产前诊断需求等检测时间窗较短的聋病患者选择直接接受全外显子组测序检测,其中27例明确了分子诊断,诊断率44.3%。这27例直接接受全外显子组测序检测而明确诊断的病例中14例系由 *GJB2* 基因、*SLC26A4* 基因变异致聋(占比51.9%),这部分病例本可通过第一、二阶梯基因检测进行诊断,但由于有急切产前诊断需求检测时间窗较短等个人原因而选择直接接受外显子组测序检测。所有微阵列芯片法及外显子组测序法检出的致病变异、疑似致病变异及意义不明的基因变异均通过 Sanger 测序法进行验证,符合率100%。对于有条件的患者家庭,进行家系验证。

本研究中第一、二阶梯基因诊断的检测成本为785元、报告时间为二至四周,诊断率23.0%,第三阶梯基因诊断的检测成本为3360元、报告时间为四周,可额外提高32.4%的诊断率。而直接选择外显子组测序则检测成本为3360元、报告时间为四周,诊断率44.3%。可见,通过阶梯式基因诊断策略,从中国人耳聋基因变异热点入手,到 *GJB2*、*SLC26A4* 等常见耳聋基因编码区及侧翼序列

测定,再扩大范围到全外显子测序,呈分层递进式检测,更为经济。但对于有急切产前诊断需求等检测时间窗较短的耳聋患者,直接选择外显子组测序检测更为高效。因而,在现行医保政策下,综合考虑各项实验技术的检测效力、检测时间与检测成本,结合广东省聋病诊疗的临床实践情况,本研究认为阶梯基因诊断策略是有意义的,有保留的必要,而根据实际情况有部分患者可直接选择外显子组测序检测。明确耳聋患者分子诊断有助于提高病人管理、改善患者预后、规范遗传咨询及进行再发风险评估,具有十分重要的临床意义^[4,12]。

参考文献

- [1] Wilson BS, Tucci DL, Merson MH, O'Donoghue GM. Global hearing health care: new findings and perspectives [J]. *Lancet*, 2017, 390(10111):2503-2515.
- [2] Liu C, Wang A, Huang Y, et al. Development of a community-based hearing loss prevention and control service model in Guangdong, China [J]. *BMC Public Health*, 2019, 19(1):1601.
- [3] 王翠翠,袁慧军.高通量测序技术在遗传性耳聋研究中的应用及研究进展[J]. *遗传*, 2017, 39(3):208-219.
- [4] Alford RL, Arnos KS, Fox M, et al. American College of Medical Genetics and Genomics guideline for the clinical evaluation and etiologic diagnosis of hearing loss [J]. *Genet Med*, 2014, 16(4):347-355.
- [5] Michels TC, Duffy MT, Rogers DJ. Hearing Loss in Adults: Differential Diagnosis and Treatment [J]. *Am Fam Physician*, 2019, 100(2):98-108.
- [6] 袁慧军,卢宇.新一代测序技术在遗传性耳聋基因研究及诊断中的应用[J]. *遗传*, 2014, 36(11):1112-1120.
- [7] 袁永一,戴朴.遗传性耳聋规范化筛查与诊断的探讨[J]. *中华耳科学杂志*, 2019, 17(5):611-615.
- [8] Zou S, Mei X, Yang W, et al. Whole-exome sequencing identifies rare pathogenic and candidate variants in sporadic Chinese Han deaf patients [J]. *Clin Genet*, 2020, 97(2):352-356.
- [9] 刘畅,张彦,丁红珂,等.32497例正常听力孕龄女性耳聋基因携带率与突变谱调查[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017, 9(5):325-327+340.
- [10] Dai P, Yu F, Han B, et al. *GJB2* mutation spectrum in 2,063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment [J]. *J Transl Med*, 2009, 7:26.
- [11] Wu L, Liu Y, Wu J, et al. Study on the relationship between the pathogenic mutations of *SLC26A4* and CT phenotypes of inner ear in patient with sensorineural hearing loss [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(3):BSR20182241.
- [12] García-García G, Berzal-Serrano A, García-Díaz P, et al. Improving the Management of Patients with Hearing Loss by the Implementation of an NGS Panel in Clinical Practice [J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(12):1467.

三种结核抗体联合检测对活动性肺结核的诊断价值

韩伟* 崔俊伟 黄健 潘艳静 董伟 高盼盼

[摘要] **目的** 分析结核分枝杆菌免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)抗体及结核分枝杆菌糖脂免疫球蛋白G(LAM-IgG)联合检测对活动性肺结核的诊断价值。**方法** 选取2019年3月至2020年7月新乡医学院附属第一医院收治的106例活动性肺结核患者作为观察组(根据患者病情变化分期分为三个亚组:进展期28例、好转期41例、稳定期37例),选取101例同期住院治疗非活动性肺结核患者作为对照组,99例健康体检人群为健康组。比较各组结核分枝杆菌IgG、IgM抗体及LAM-IgG表达情况,并计算结核分枝杆菌IgG、IgM抗体、LAM-IgG单独以及联合检测对活动性肺结核的诊断敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值。**结果** 结核分枝杆菌IgG、IgM抗体及LAM-IgG阳性表达情况:观察组>对照组>健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。肺结核患者结核分枝杆菌不同时期IgG、IgM抗体、LAM-IgG阳性表达情况:进展期>好转期>稳定期,病灶 ≥ 3 肺野患者结核分枝杆菌IgG、IgM抗体、LAM-IgG阳性表达率明显高于病灶 < 3 肺野患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。以痰培养检查作为金标准,106例患者痰培养阳性率为37.74(40/106)。IgG+IgM+LAM-IgG联合检测对活动性肺结核诊断敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为92.50%、98.46%、94.87%、95.52%,联合诊断活动性肺结核效能明显高于三者单独检测($P<0.05$)。**结论** 结核分枝杆菌IgG、IgM抗体及LAM-IgG联合检测可提高对活动性肺结核诊断效能,其阳性表达率与患者病情严重程度密切相关。

[关键词] 结核分枝杆菌IgG; IgM抗体; LAM-IgG; 活动性肺结核

Value of combined detection of anti-*Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody and LAM-IgG in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis

HAN Wei*, CUI Junwei, HUANG Jian, PAN Yanjing, DONG Wei, GAO Panpan

(Department of Tuberculosis, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453100)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the value of combined detection of *Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody and LAM-IgG in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. **Methods** 106 patients with active pulmonary tuberculosis admitted to this hospital from March 2019 to July 2020 were selected as the observation group (according to the patient's disease changes, they were divided into three subgroups: 28 cases in advanced stage, 41 cases in improvement stage, and 37 cases in stable stage). In the same period, 101 patients with inactive tuberculosis were selected as the control group, and 99 patients who had healthy physical examination were selected as the healthy group. The levels of *Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody and LAM-IgG in the different groups were compared. The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of single detection and combined detection of *Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody, and LAM-IgG in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis were calculated. **Results** The titers of anti-*Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody and LAM-IgG in the observation group were significantly higher than those in the control group and the healthy group, and the titers in the healthy group were the lowest ($P<0.05$). The titers of *Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody, and LAM-IgG in patients

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(2018020344)

作者单位:新乡医学院第一附属医院结核内科,河南,新乡 453100

*通信作者:韩伟, E-mail:hanwei13938737910@163.com

with pulmonary tuberculosis in the advanced stage were significantly higher than those in the improvement stage and the stable stage. The titers in the stable stage were the lowest ($P < 0.05$). The titers of *Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody, and LAM-IgG in patients with lesions ≥ 3 lung fields were significantly higher than those in patients with lesions less than 3 lung fields ($P < 0.05$). Sputum culture examination was used as the gold standard. The positive rate of sputum cultures in 106 patients was 37.74% (40/106). The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of the combined detection of IgG + IgM + LAM-IgG in the diagnosis of active tuberculosis were 92.50%, 98.46%, 94.87%, and 95.52%, respectively. The efficacy of combined examination in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis was significantly higher than that of the three were detected independently ($P < 0.05$). **Conclusion** The combined detection of *Mycobacterium tuberculosis* IgG, IgM antibody and LAM-IgG can improve the diagnostic efficacy of active pulmonary tuberculosis, and its positive expression rate is closely related to the severity of the patient's illness.

[KEY WORDS] *Mycobacterium tuberculosis* IgG; IgM antibody; LAM-IgG; Active pulmonary tuberculosis

肺结核是由于结核杆菌感染导致的慢性传染性疾病,可累及全身各个系统,严重威胁人类健康。由于耐药菌的出现及扩展、获得性免疫缺陷综合征(Acquired immunodeficiency syndrome, HIV)以及肺结核控制规划不完善导致全球结核病呈现明显上升趋势^[1]。在肺结核的防治过程中,早期发现并行规范的治疗十分重要。细菌学检查为目前诊断肺结核的金标准,但抗酸染色检查敏感性低,分离培养花费时间长。如何对肺结核快速准确诊断是目前临床研究热点,尤其对活动性肺结核诊断更是困难,寻找敏感性、特异性高,简便、快速的诊断方法是目前临床研究热点课题之一^[2]。本文使用结核分枝杆菌免疫球蛋白G(Immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白M(Immunoglobulin GM, IgM)抗体及血清结核分支杆菌糖脂免疫球蛋白G(*Mycobacterium tuberculosis* glycolipid immunoglobulin G, LAM-IgG)联合检测,分析其对活动性肺结核的诊断价值,旨在为临床诊疗提供参考依据。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7月新乡医学院附属第一医院收治的活106例活动性肺结核患者作为观察组。其中男75例,女31例,平均年龄(52.11 ± 6.47)岁。纳入标准:①符合《肺结核活动性判断规范及临床应用专家共识》中相关诊断标准^[3];②临床资料完整;③有咳嗽、消瘦、乏力等临床表现,X线检查肺部有渗出性病变、干酪性病变并周边渗出性病变、空洞等情况。排除标准:①临床资

料缺乏;②存在严重靶器官疾病者;③合并感染性疾病者。根据患者病情变化分期分为三个亚组^[4]:进展期:出现新的活动性肺结核,可见病灶增大、增多,有空洞或空洞变大,痰菌检查转(+),临床症状进展)28例;好转期(病灶消失好转,空洞缩小或消失,痰菌(-),临床症状改善)41例;稳定期[空洞消失、痰菌(-)持续6个月以上;空洞存在但痰菌转(-)1年以上]37例。选取101例同期住院治疗非活动性肺结核患者为对照组,其中男71例,女30例,平均年龄(52.26 ± 6.10)岁,疾病类型:支气管炎、肺炎等。选择同期99例健康体检人群作为健康组,其中男68例,女31例,平均年龄(51.87 ± 6.59)岁,入选者身体健康,无肺结核感染。三组人员一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体检测

使用胶体金法进行检测,试剂盒均为北京建乃喜生物技术有限公司提供,检测步骤严格遵循试剂所配套说明书进行。

1.2.2 LAM-IgG 检测

采取受试者静脉血液1 mL,将血液离心后获取上清液,检测用试剂包括脂阿拉伯甘露糖抗原和胶体金标本抗人IgG单克隆抗体探针,对照试剂为美国DynaGen公司所提供的结核快捷诊断试剂盒。所有操作均严格按照试剂所配套说明书进行操作。

1.2.3 痰培养

MGIT 960 培养操作按《结核病诊断实验室检验规程》^[4]进行。将标本经过NALC-4%NaOH处

理后,静置 15 min,然后加入 0.067 mol/L pH 6.8 的磷酸盐缓冲液(PBS)行 3 000 r/min 低温离心 15 min 弃上清,将所得菌悬液加入到 BACTEC MGIT 960 培养管中进行培养,孵育 42 d,实时监测并读取结果。

1.2.4 X线检查

所有患者均进行 X 线检查,检查仪器为日本东芝 10B-500 m A,了解患者肺部病灶情况。

1.3 观察指标

比较各组结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况,并计算结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体、LAM-IgG 单独以及联合检测对活动性肺结核的诊断敏感度(真阳性数/(真阳性数+假阴性数)×100%)、特异度(真阴性数/(真阴性数+假阳性数)×100%)、阳性预测值(真阳性数/(真阳性数+假阳性数)×100%)、阴性预测值(真阴性数/(真阴性数+假阴性数)×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

采用($\bar{x} \pm s$)描述,使用 *t* 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况

各组结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 阳性表达情况:观察组>对照组>健康组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 不同临床分期活动性肺结核患者结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况

肺结核患者结核分枝杆菌不同时期 IgG、IgM 抗体、LAM-IgG 阳性表达情况:进展期>好转期>稳定期,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

2.3 不同病变范围活动性肺结核患者结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况

病灶≥3 肺野患者结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 阳性表达率均明显高于病灶<3 肺野患者,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 1 各组结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况 [*n*(%)]

Table 1 expression of Mycobacterium tuberculosis IgG, IgM antibody and Lam IgG in different populations [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	IgG		IgM		LAM-IgG	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
观察组	106	37(34.91)	69(65.09)	45(42.45)	61(57.55)	38(35.85)	68(64.15)
对照组	101	10(9.90)	91(90.10)	21(20.79)	80(79.21)	6(5.94)	95(94.06)
健康组	99	4(4.04)	95(95.96)	5(5.05)	94(94.95)	2(2.02)	97(97.98)
χ^2 值		40.081		48.305		55.621	
<i>P</i> 值		<0.001		<0.001		<0.001	

表 2 不同临床分期活动性肺结核患者结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况 [*n*(%)]

Table 2 expression of Mycobacterium tuberculosis IgG, IgM antibody and Lam IgG in patients with active pulmonary tuberculosis at different clinical stages [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	IgG		IgM		LAM-IgG	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
进展期	28	21(75.00)	7(25.00)	19(67.86)	9(32.14)	24(85.71)	4(14.29)
好转期	41	11(26.83)	30(73.17)	12(29.27)	29(70.73)	10(24.39)	31(75.61)
稳定期	37	6(16.22)	31(83.78)	7(18.92)	30(81.08)	6(16.22)	31(83.78)
χ^2 值		26.31		17.857		37.832	
<i>P</i> 值		<0.001		<0.001		<0.001	

表 3 不同病变范围活动性肺结核患者结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体及 LAM-IgG 表达情况 [*n*(%)]

Table 3 expression of Mycobacterium tuberculosis IgG, IgM antibody and Lam IgG in patients with active pulmonary tuberculosis in different lesion areas [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	IgG		IgM		LAM-IgG	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
病灶≥3 肺野	69	63(91.30)	6(8.70)	60(86.96)	9(13.04)	66(95.65)	3(4.35)
病灶<3 肺野	37	25(67.57)	12(32.43)	21(56.76)	16(43.24)	27(72.97)	10(27.03)
χ^2 值		14.818		12.188		11.512	
<i>P</i> 值		<0.001		<0.001		<0.001	

2.4 结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体、LAM-IgG 单独以及联合检测对活动性肺结核的诊断效能比较

以痰培养检查作为金标准,106例患者痰培养阳性率为37.74(40/106)。联合诊断活动性肺结核效能明显高于三者单独检测($P<0.05$)。见表4。

表4 结核分枝杆菌 IgG、IgM 抗体、LAM-IgG 单独以及联合检测对活动性肺结核的诊断效能比较

检查方法	敏感度(%)	特异度(%)	阳性预测值	阴性预测值
IgG	80.00	93.84	86.48	88.41
IgM	75.00	78.46	66.67	83.61
LAM-IgG	82.50	93.84	86.84	89.70
联合检测	92.50	98.46	94.87	95.52

3 讨论

临床中诊断肺结核标准为痰标本检测,此检测特异性高,但是漏诊率较高,且所需时间长,难以做到快速诊断,如果患者无痰、痰涂片阴性,此检测方法更难以做出准确判断^[5]。

肺结核与人的免疫机制存在着密切的联系。相关研究显示,肺结核杆菌再次对机体造成侵犯时,体内的B淋巴细胞可产生IgG、IgM类免疫球蛋白,并使其发生变化,且在患者痊愈之后的一年左右时间IgG、IgM等免疫球蛋白仍会呈现阳性,在临床中可通过检测免疫球蛋白来了解患者结核感染情况^[6]。有文献研究显示,IgG、IgM在肺结核患者中检出率与机体的免疫情况、疾病程度存在密切的联系^[7]。病程越长、病情越严重越易出现免疫应答,IgG、IgM表达会明显增加。免疫水平高的患者中其免疫应答程度也高,阳性率也增加,反之,阳性率较低^[8]。

LAM蛋白抗体属于结核杆菌特异性糖脂,也是特异性的非蛋白结合杆菌抗原,在结核杆菌表面糖脂结构中广泛存在,控制机体免疫系统对结合杆菌的免疫调节情况^[9-10]。有研究显示,LAM蛋白对巨噬细胞有抑制作用,可抑制巨噬细胞对结核杆菌的杀伤作用,且抗原性高,能刺激患者机体产生抗体,是临床检查中特异性较高的分子^[11-13]。在机体出现结核杆菌感染时会刺激机体产生LAM-IgG抗体。Moure等人^[12]研究发现,LAM-IgG可能与结核发病有着重要的联系,为重要的致病因子。

本研究中,不同人群IgG、IgM、LAM-IgG阳性表达率比较可发现,结核分枝杆菌IgG、IgM抗体及LAM-IgG阳性表达情况为:观察组>对照组>健康组,提示三种因子可为活动性肺结核临床诊断提供参考,对活动性肺结核与非活动性肺结核有鉴别价值^[14]。在不同临床分期活动性肺结核患者中,进展期IgG、IgM、LAM-IgG阳性表达率明显高于稳定期和好转期,病灶范围超过3肺野者IgG、IgM、LAM-IgG检出阳性率也高于病灶范围低于3肺野者,与以往文献研究结果相符,说明检测IgG、IgM、LAM-IgG表达情况对患者病情评估有较大应用价值^[15-16]。经痰培养检查可知106例患者中阳性率为37.74(40/106),以此为基准,发现IgG、IgM、LAM-IgG三者联合检测敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为92.50%、98.46%、94.87%、95.52%,提示三者联合诊断活动性肺结核诊断效能高,可有效提高诊断敏感度、特异度,与以往文献研究结果相符^[17-18]。

综上所述,结核分枝杆菌IgG、IgM抗体及LAM-IgG联合检测可提高对活动性肺结核诊断效能,其阳性表达率与患者病情严重程度密切相关,临床中可通过监测三种因子变化情况,对活动性肺结核患者病情进行监测以评估患者病情。

参考文献

- [1] 殷晓云,朱晓燕,朱捷,等.多种免疫学检测方法在诊断肺结核与肺外结核时的效能分析[J].临床肺科杂志,2019,14(9):1660-1664.
- [2] 张信鸽,刘新,赵丹晖. IFN- γ , IL-6, IL-2R在初治型肺结核患者血清中的变化意义研究[J].分子诊断与治疗杂志2020,12(6):777-780.
- [3] 国家感染性疾病临床医学研究中心,深圳市第三人民医院,中国防痨杂志编辑委员会.肺结核活动性判断规范及临床应用专家共识[J].中国防痨杂志,2020,42(4):301-307.
- [4] 王甦民.《结核病诊断实验室检验规程》修改的意义[C].2006中国防痨协会全国学会会议.
- [5] 赵建.血清结核分枝杆菌IgG抗体诊断活动性肺结核的临床结果研究[J].检验医学与临床,2019,16(9):1292-1294.
- [6] 陈振华,刘彬彬,陈忠南,等.病原学阴性初治肺结核患者诊断模型的建立及初步评价[J].中国防痨杂志,2020,42(3):266-271.
- [7] 李艳芳,陈骥,范凌.肺结核患者治疗前后血清甘露糖结合凝集素,巨噬细胞炎症蛋白-1 α 及C反应蛋白水平变化及其临床意义[J].标记免疫分析与临床,2020,27(1):110-114.
- [8] 孙宇峰,张明新,隋文君,等. γ -干扰素释放试验联合肿瘤标志物CA-125在活动性肺结核诊断中的应用[J].中华医学杂志,2019,99(8):599-604. (下转第18页)

CK18-M30 和内毒素在大鼠非酒精性脂肪肝病中的促进作用

耿妍¹ 史海涛^{2*} 耿燕³

[摘要] 目的 探讨细胞角蛋白 18-M30 片段(CK18-M30)、内毒素在大鼠非酒精性脂肪肝病(NAFLD)转化为非酒精性脂肪性肝炎(NASH)中的促进作用。方法 26 只大鼠随机分为 3 组,对照组(NC 组):普通饮食;NAFLD 组:高脂饮食喂养 8 周;NASH 组:高脂饮食喂养 12 周。生化仪测定血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST);光度法测定血清内毒素(ET);ELISA 检测血清 IL-18、CK18-M30, RT-PCR 分析粪便肠道菌群;行苏木精伊红(HE)染色观察肝脏及末端回肠组织病理。结果 NAFLD 及 NASH 组相比 NC 组,小肠黏膜结构由轻到重受到破坏。NAFLD 组及 NASH 组大鼠血清 ET、CK18-M30、肝脂肪变性程度及 NAFLD 活动度积分(NAS)、大肠杆菌属计数显著高于 NC 组,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属计数显著低于 NC 组,差异有统计学意义($P<0.05$);NASH 组大鼠血清 ET、CK18-M30、肝脂肪变性程度及 NAS 显著高于 NAFLD 组,差异有统计学意义($P<0.05$);NASH 组大鼠血清 ALT、AST、IL-18 显著高于 NC 组及 NAFLD 组,差异有统计学意义($P<0.05$),而 NAFLD 组与 NC 组间差异无统计学意义($P>0.05$)。相关性分析表明 ET 与大肠杆菌属、IL-18、ALT、AST、NAS 均呈正相关($P<0.05$),与乳酸杆菌属、双歧杆菌属呈负相关($P<0.05$)。CK18-M30 与 ALT、AST、IL-18、NAS 均呈正相关($P<0.05$)。结论 NAFLD 大鼠早期存在肠源性内毒素血症,肠道屏障的损伤可能是内毒素升高的始动因素,肠源性内毒素又可引发肝内炎症反应,导致 NASH 发生。CK18-M30 可作为 NASH 预测的重要因素。

[关键词] 肠道菌群;内毒素;非酒精性脂肪肝;细胞角蛋白 18-M30

Promotion of CK18-M30 and endotoxin in non-alcoholic fatty liver disease in rats

GENG Yan¹, SHI Haitao^{2*}, GENG Yan³

(1. Department of Pediatrics, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xian, Shaanxi, China, 710000; 2. Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xian, Shaanxi, China, 710000; 3. Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xian, Shaanxi, China, 710000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the promoting effects of CK18-M30 and enterotoxin in the transformation of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) into non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in rats. **Methods** Twenty-six rats were randomly divided into three groups: NC group: normal diet; NAFLD group: high-fat diet for 8 weeks; NASH group: high-fat diet for 12 weeks. Serum ALT and AST were measured by biochemical analyzer. Serum endotoxin (ET) were detected by spectrophotometry. Serum IL-18 and CK18-M30 were detected by ELISA. Intestinal flora was analyzed by RT-PCR. Histopathology of liver and terminal ileum were observed by HE staining. **Results** Compared with the NC group, the small intestinal mucosal structure was damaged from mild to severe in the NAFLD and NASH group. Serum ET, CK18-M30,

基金项目:陕西省重点研发计划(2017SF-100)

作者单位:1. 西安交通大学第二附属医院小儿内科,陕西,西安 710000

2. 西安交通大学第二附属医院消化内科,陕西,西安 710000

3. 西安交通大学第二附属医院检验科,陕西,西安 710000

*通信作者:史海涛, E-mail: shihaitao7@163.com

the degree of hepatic steatosis, NAS and the counts of *Escherichia coli* in the NAFLD and NASH group rats were significantly higher than those in the NC group, while the counts of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* were significantly lower than those in the NC group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Serum ET, CK18-M30, steatosis degree and NAS in the NASH group were significantly higher than those in the NAFLD group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The serum ALT, AST and IL-18 in the NASH group were significantly higher than those in the NC group and NAFLD group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), but there was no difference between the NAFLD group and the NC group ($P > 0.05$). Correlation analysis showed that ET was positively correlated with *Escherichia coli*, IL-18, ALT, AST and NAS ($P < 0.05$), and negatively correlated with *Lactobacillus* and *bifidobacteria* ($P < 0.05$). CK18-M30 was positively correlated with ALT, AST, IL-18 and NAS ($P < 0.05$). **Conclusion** NAFLD rats have enterogenic endotoxemia in the early stage, and the damage of the intestinal barrier may be the initiating factor for the increase of endotoxin. CK18-M30 may serve as an important factor in NASH prediction.

[KEY WORDS] Intestinal flora; Endotoxin; NAFLD; CK18-M30

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率逐年增加,已成为全球第一大慢性肝病,且是终末期肝病的主要原因^[1-2]。最重要的是,非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)中多达20%的患者可能发展为肝硬化或肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[3]。因此,对NAFLD患者进行准确的诊断并对其进行早期预防和治疗具有重要的意义。近年来国外研究表明,细胞角蛋白18-M30片段(cytokeratin-18 M30 fragment, CK18-M30)可用于作为预测NAFLD的新的血清学指标,特别是用于区分NASH和NAFLD^[4]。此外,NAFLD确切的发病机制仍不十分明确,普遍认为其与糖脂代谢异常、胰岛素抵抗、炎症、氧化应激及肠道菌群等有关。目前尚没有基于确实证据的获批药物用于NAFLD的治疗。由此可见,揭示NAFLD的发病机制,寻找更有效的治疗靶点及药物是脂肪肝研究领域的热点及难点。本研究通过高脂膳食建立大鼠NAFLD模型,以探讨CK18-M30与NAFLD的相关性,旨在为NAFLD发现新的、无创性的血清学诊断指标提供科学依据,并分析肠源性内毒素与NAFLD的相关性,探讨肠道菌群在NAFLD的作用,以期为NAFLD的防治提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SD雄性大鼠[动物合格证号:skxk(shaan)2018-001]购自西安交通大学医学院动物实验中心。粪便总DNA提取试剂盒购自北京艾德莱试剂有限公司(DN2301)。实时定量PCR反应试剂

盒购自日本TaKaRa公司(RR430A)。ELISA试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司(IL18/F15950, ck18/F5922)。内毒素 endotoxin, ET)检测试剂盒(北京金山川科技发展有限公司,批号:EC200310)

1.2 实验动物与分组

8周龄雄性SD大鼠26只(SPF级),平均体重160g左右,购自西安交通大学医学院动物实验中心。分笼饲养于西安交通大学医学院动物实验中心(动物实验条件符合二级标准)。高脂饲料配方:10%猪油、2%胆固醇、5%蔗糖、0.5%猪胆盐、82.5%基础饲料;普通饲料购自西安交通大学医学院动物实验中心。

26只大鼠随机分为3组,NC组($n=6$):普通饮食;NAFLD组($n=12$):高脂饮食喂养8周;NASH组($n=8$):高脂饮食喂养12周。各组动物于喂养周数结束时采用10%水合氯醛3.5 ml/kg麻醉处死大鼠,留取肝脏、末端回肠组织、血、粪便标本。NAFLD及NASH组在喂养结束时先处死一只大鼠采用肝脏组织HE染色确保模型建立成功。

1.3 实验方法

1.3.1 血清生化指标检测

全自动生化分析仪(贝克曼全自动生化分析仪AU5800/5811)检测血清:胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、谷丙转氨酶(Alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(Aspartate Aminotransferase, AST)。光度法测定血清ET。采用ELISA法检测血清IL-18、CK18-M30。

1.3.2 肝脏组织及回肠粘膜HE染色

分别取各组大鼠肝脏及回肠组织,置于4%的多聚甲醛溶液中,常规制成石蜡切片,行HE染

色。在光学显微镜下依据美国国立卫生研究院 NASH 临床网病理工作组指南^[5], 及《2010 年非酒精性脂肪肝病诊疗指南》^[6] 内容对肝组织切片在病理学和形态学上进行评价。

1.3.3 肠道粪便中乳酸杆菌属、大肠杆菌属、双歧杆菌属的测定

严格按照北京艾德莱试剂粪便总 DNA 提取试剂盒及日本 TaKaRa 公司荧光实时 PCR 反应试剂盒操作。以 DNA 为模板, PCR 扩增大肠杆菌属, 乳酸杆菌属, 双歧杆菌属, 标准品为内参。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 22.0 软件包进行数据分析; 计数资料采用 $(\bar{x} \pm s)$, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LDL-t 检验; 采用 Pearson 相关分析和 Spearman 秩相关分析自变量和因变量之间的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况及饮食变化

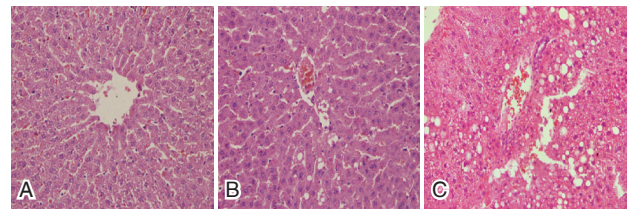
实验过程中, 各组大鼠均无死亡。NC 组大鼠皮毛光泽, 活动多, 反应灵敏。NAFLD 及 NASH 组大鼠皮毛暗淡无光泽, 活动减少, 反应降低。

2.2 肝脏病理变化

NC 组可见肝细胞呈条索状排列。NAFLD 组肝细胞排列整齐, 可见散在小泡性脂滴浸润, 无明显炎症细胞及坏死。NASH 组可见肝细胞排列明显紊乱, 存在大量脂肪空泡, 伴有大量炎性细胞浸润。见图 1。

2.3 肠道病理改变

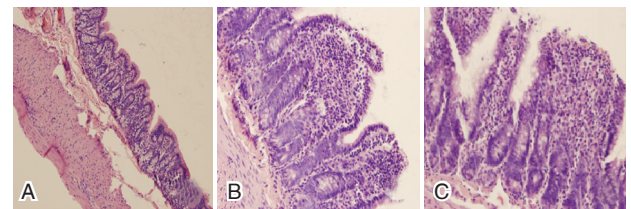
NC 组可见小肠粘膜表面微绒毛排列整齐, 结构清晰。NAFLD 组小肠粘膜上皮细胞结构紊乱, 细胞游离面微绒毛短小, 可见少许炎性细胞浸润, 伴灶性糜烂; NASH 组小肠黏膜上皮细胞结构不清晰, 细胞游离面微绒毛排列紊乱甚至消失, 可见大量炎性细胞浸润。见图 2。



注: A 为 NC 组; B 为 NAFLD 组; C 为 NASH 组

图 1 各组大鼠肝脏病理改变 (HE, ×400)

Figure 1 Pathological changes of liver of rats in each group (HE, ×400)



注: A 为 NC 组; B 为 NAFLD 组; C 为 NASH 组。

图 2 各组大鼠小肠粘膜病理改变 (HE, ×400)

Figure 2 Pathological changes of small intestinal mucosa of rats in each group (HE, ×400)

2.4 各组大鼠血清指标的比较

NAFLD 组、NASH 组 ET、CK18-M30 高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); NASH 组 ET、CK18-M30 高于 NAFLD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); NASH 组 ALT、AST、IL-18 高于 NC 组及 NAFLD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), NAFLD 组与 NC 组间相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.5 各组大鼠肝脏脂肪变性及炎症活动度

NASH 及 NAFLD 组大鼠肝脂肪变性程度及非酒精性脂肪肝活动度积分 (NAFLD activity score, NAS) 均高于 NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), NASH 组脂肪变性程度及 NAS 高于 NAFLD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.6 各组大鼠肠道菌群的比较

NAFLD 组、NASH 组大肠杆菌属计数均高于 NC 组, 而双歧杆菌属、乳酸杆菌属计数低于 NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), NASH 组大肠杆

表 1 各组血清转氨酶、内毒素、IL-18 及 CK18(M30) 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum transaminase, endotoxin, IL18 and CK18(M30) of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	ET(pg/mL)	IL-18(ng/L)	CK18-M30(IU/L)
NC 组	6	47.69±10.39	140.67±13.27	4.28±1.65	85.23±8.61	113.33±15.19
NAFLD 组	12	50.58±12.63	156.75±13.19	15.43±4.64 ^a	88.61±9.63	125.75±12.51 ^a
NASH 组	8	92.62±15.42 ^{ab}	215.13±29.74 ^{ab}	42.31±8.01 ^{ab}	120.38±13.76 ^{ab}	143.87±14.66 ^{ab}
F 值		1.231	1.512	20.361	1.651	1.348
P 值		0.005	0.013	0.001	0.017	0.003

注: 与 NC 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 NAFLD 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

表2 各组肝脏脂肪变性程度及NAS相比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of hepatic steatosis degree and NAS of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	脂肪变性程度				NAS
		0	1	2	3	
NC组	6	6	0	0	0	0.40 ± 0.54
NAFLD组	12	0	8	3	1	1.58 ± 0.67 ^a
NASH组	8	0	0	3	5	4.67 ± 0.71 ^{ab}
F值						1.381
P值						0.003

注:与NC组比较,^a $P < 0.05$;与NAFLD组比较,^b $P < 0.05$ 。

菌属计数高于NAFLD组,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属计数低于NAFLD组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 各组大肠杆菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属计数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The results of intestinal flora in rats were compared ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	大肠杆菌属 (mmol/L)	双歧杆菌属 (mmol/L)	乳酸杆菌属 (mmol/L)
NC组	6	8.41 ± 0.96	9.23 ± 0.65	8.38 ± 0.72
NAFLD组	12	9.54 ± 0.69 ^a	8.36 ± 0.57 ^a	7.33 ± 0.49 ^a
NASH组	8	10.27 ± 0.75 ^{ab}	6.53 ± 0.69 ^{ab}	5.69 ± 0.58 ^{ab}
F值		13.352	15.618	14.837
P值		0.000	0.001	0.001

注:与NC组比较,^a $P < 0.05$;与NAFLD组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.7 大鼠血清ET与肠道菌群、转氨酶、IL-18、NAS的相关性分析

pearson相关分析及spearman秩相关分析表明,ET与大肠杆菌属、IL-18、ALT、AST、NAS均呈正相关($P < 0.05$),与乳酸杆菌属、双歧杆菌属呈负相关($P < 0.05$)。见表4。

2.8 大鼠血清CK18-M30与ALT、AST、IL-18、NAS的相关性分析

pearson相关分析及spearman秩相关分析表明,CK18-M30与ALT、AST、IL-18、NAS均呈正相关($P < 0.05$)。见表5。

3 讨论

非酒精性脂肪肝的发病率逐年升高,其发展到NASH、肝硬化甚至肝癌时,严重危害人民健

表5 CK18-M30与ALT、AST、IL-18、NAS的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of CK18-M30 with ALT、AST、IL-18 and NAS

项目	ALT		AST		IL-18		NAS	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
CK18-M30	0.348	0.000	0.762	0.001	-0.683	0.005	0.890	0.000

康。因此对NAFLD早期诊断具有重要意义。目前,多个血清生物标记物如TNF- α 、IL-6、IL-10、miRNA^[7]等在NAFLD患者体内呈现不同程度的改变。其中细胞因子CK18-M30是肝内主要的中间丝蛋白,是各种肝脏疾病细胞凋亡过程中形态学变化的特征^[8]。已有研究发现,NAFLD患者体内CK18-M30的水平均显著升高,CK18-M30水平是NASH的独立预测指标^[9]。这与本研究是一致的,本研究在此基础上通过行相关性分析发现,CK18-M30与炎症因子、转氨酶及NAS均呈正相关,推断CK18-M30可成为预测NAFLD的血清学指标。

目前,对于NAFLD的发病机制仍不明确,近年来,肠道菌群作为“微生物器官”对人体健康的影响受到广泛关注。高美丽等^[10]研究证实,通过调节肠道微生物生态可改善患者肝功能及血清炎症指标。目前研究已证实肠道菌群失调在NAFLD的发病及进展中起着重要的作用。肠道菌群过度生长导致肠黏膜屏障功能破坏,使得内毒素移位至肝脏,进而激活库普弗细胞与其特异性受体CD14和TLR4相结合,通过激活下游的NF- κ B等信号通路释放一系列氧自由基和炎症因子造成肝脏微环境变化,继而诱发或加剧肝脏发生炎症和氧化应激损伤^[11-13]。因此肠道微生物生态、肠道屏障、内毒素及与NAFLD之间是相互关联的。

现有研究表明肠道菌群失调与NAFLD的发生发展密切相关。NAFLD患者肠道菌群结构同正常人群相比存在显著差异,表现为有益菌的减少,有害菌的增加^[14-15],肠道菌群过度生长可破坏肠黏膜屏障功能,使得内毒素移位至肝脏,继而诱发或加剧肝脏发生炎症和氧化应激损伤,导致肝脏脂肪变性、炎症及纤维化的发生及进展。本实验通过高脂饮食诱导大鼠NAFLD及NASH模型,

表4 ET与肠道菌群、IL-18、ALT、AST、NAS的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of intestinal flora with endotoxin and liver fat chang

项目	大肠杆菌属		乳酸杆菌属		双歧杆菌属		IL-18		ALT		AST		NAS	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
ET	0.593	0.001	-0.814	0.003	-0.683	0.001	0.675	0.000	0.766	0.000	0.859	0.001	0.781	0.000

检测各组血清中 ET 水平,同时与转氨酶、炎症因子、NAS、肠道菌群行相关性分析,明确内毒素在 NAFLD 进展为 NASH 中的发挥重要作用,与之前研究是一致的,而内毒素进入血循环是以哪种吸收途径进行的,仍需要进一步研究证实。

综上所述,CK18-M30 有助于 NAFLD 的早期诊断及预测 NASH 的发生,NAFLD 的发病机制较复杂,目前仍无理想的治疗药物,设想可采用调整肠道微生态的药物来减轻肝损伤,并有助于延缓 NAFLD 的发生发展。

参考文献

- [1] Mikolaevi I, Kaniaj TF, and Targher, G. Nonalcoholic fatty liver disease - a growing public health problem [J]. *Croat Med*, 2021, 62(1):1-3.
- [2] Estes C, Razavi H, Loomba R, et al. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease [J]. *Hepatology*, 2018, 67(1), 123-133.
- [3] Michelotti GA, Machado MV, Diehl AM, NAFLD, NASH and liver cancer *Nature Reviews* [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10(11):656-665.
- [4] Caviglia GP, Pellicano R. Serum Cytokeratin-18 Levels for Liver Fibrosis Prediction [J]. *Hepat Mon*, 2015, 15(8): e30853.
- [5] Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings [J]. *Hepat*, 2011, 53(3):810-820.
- [6] 中华医学会肝病学、分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 中国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版)[J]. *中国医学前沿杂志*, 2010, 4(7):4-10.
- [7] 万红, 燕树勋, 闫诏, 等. 肥胖患者外周血 miR-155 表达与非酒精性脂肪肝病发病的关系 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(4): 539-542.
- [8] Malhi H, Gores GJ. Cellular and molecular mechanisms of liver injury [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(6):1641-1654.
- [9] Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, et al. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steato-hepatitis: a multicenter validation study [J]. *Hepatology*, 2009, 50(4):1072-1078.
- [10] 高美丽, 何文艳, 安红杰, 等. APN、TNF- α 及 Fibroscan 受控衰减参数在非酒精性脂肪肝中的变化 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(4):671-674.
- [11] Dai X, Hou H, et al. Microbial Metabolites: Critical Regulators in NAFLD [J]. *Front Microbiol*. 2020.11, 567654.
- [12] Akash M, Fiyyaz F, Rasool M.H. Gut Microbiota and Metabolic Disorders: Advances in Therapeutic Interventions [J]. *Immunol*, 2019, 39(4):223-237.
- [13] Safari Z, Gérard P. The links between the gut microbiome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(8):1541-1558.
- [14] Aron-Wisnewsky J, Vigliotti C, et al. Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17, 279-297.
- [15] 唐外姣, 周本杰. 肠道菌群失调-非酒精性脂肪肝病治疗新靶点 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(22):2000-2006.
- [9] 龚清河. 结核抗体检测联合结核菌纯蛋白衍生物试验辅助诊断肺结核的价值 [J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(21): 3384-3388.
- [10] Ma Z, Ji X, Yang H, et al. Screening and evaluation of Mycobacterium tuberculosis diagnostic antigens [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2020, 39(5):16-17.
- [11] Amiano NO, Morelli MP, Pellegrini JM, et al. IFN- γ and IgG responses to Mycobacterium tuberculosis latency antigen Rv2626c differentiate remote from recent tuberculosis infection [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):85-87.
- [12] Moure AL, Narula G, Sorrentino F, et al. A MymA bioactivated thioalkyl-benzoxazole prodrug family active against Mycobacterium tuberculosis [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(9):58-59.
- [13] 李志鹏. 活动性肺结核患者外周血 PDGF-BB 与 IP-10 水平及其诊断价值 [J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(11):2000-2003, 2019.
- [14] Kaneko S, Tsuruta N, Yamaguchi K, et al. Mycobacterium tuberculosis infection in psoriatic patients treated with biologics: Real-world data from 18 Japanese facilities [J]. *J Dermatol*, 2020, 47(2):45-48.
- [15] 管立学, 李海波, 褚锦锦, 等. 外周血结核感染 T 细胞斑点试验对活动性结核的诊断价值 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(3):340-345.
- [16] Makarov V, Salina E, Reynolds RC, et al. Molecule Property Analyses of Active Compounds for Mycobacterium tuberculosis [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(17):8917-8955.
- [17] 李丹, 陈丽茹, 刘玉洁. 4 种方法检测对痰菌阴性肺结核的诊断价值研究 [J]. *西南国防医药*, 2019, 29(3): 341-343.
- [18] 罗微, 王倩, 杜岩青, 等. 结核分枝杆菌脂糖 ManLAM 对 CE 蛋白抗原诱导的 B 细胞活化的影响 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2020, 40(2):129-135.

(上接第 13 页)

心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6和TNF- α 与心肌酶谱的关系及临床价值

刘江波¹ 赵晓宁¹ 姚明杨¹ 冉倩¹ 仇瑞莉² 张金盈³ 刘志远^{1*}

[摘要] 目的 探究心肌梗死合并肺部感染患者血清降钙素原(PCT)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与心肌酶谱的关系及临床价值。方法 选取2017年6月至2019年6月南阳市中心医院收治的急性心肌梗死患者160例(心梗组)作为研究对象,根据是否合并肺部感染分为合并感染组($n=42$)和单纯心梗组($n=118$),另选同期体检的健康人群80例作为对照组。检测所有受试者血清PCT、IL-6、TNF- α 、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)及肌酸激酶同工酶(CKMB)水平,采用pearson相关分析急性心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6、TNF- α 与心肌酶谱的关系,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清PCT、IL-6及TNF- α 水平对心肌梗死合并肺部感染患者的诊断价值。结果 心梗组患者血清PCT、IL-6、TNF- α 、AST、LDH、CK及CKMB水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。合并感染组患者血清PCT、IL-6、TNF- α 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。pearson相关分析结果显示,在急性心肌梗死患者合并肺部感染患者体内,血清PCT、IL-6、TNF- α 与AST、LDH、CK、CKMB均呈现显著正相关关系($P<0.05$);ROC曲线分析结果显示,PCT、IL-6、TNF- α 水平对于诊断急性心肌梗死患者合并肺部感染均有一定的价值($P<0.05$),PCT+IL-6+TNF- α 联合检测的AUC、灵敏度与准确度均高于PCT、IL-6及TNF- α 单独检测($P<0.05$)。结论 急性心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6和TNF- α 呈高表达水平,与血清心肌酶谱呈现一定正相关关系,且血清PCT、IL-6和TNF- α 联合检测可提高急性心肌梗死患者的肺部感染检出率。

[关键词] 急性心肌梗死;肺部感染;血清降钙素原;白细胞介素-6;肿瘤坏死因子- α

Relationship between serum PCT, IL-6 and TNF - α and myocardial zymogram in patients with myocardial infarction complicated with pulmonary infection and its clinical value

LIU Jiangbo¹, ZHAO Xiaoning¹, YAO Mingyang¹, RAN Qian¹, CHOU Ruili², ZHANG Jinying³, LIU Zhiyuan^{1*}

(1. Department of Cardiology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000; 2. Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang, Henan, China, 473000; 3. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum procalcitonin (PCT), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor - α (TNF - α) and myocardial enzyme spectrum in patients with myocardial infarction and pulmonary infection. **Methods** From June 2017 to June 2019, 160 patients with acute myocardial infarction (MI group) in Nanyang Central Hospital were selected as the study objects. According to whether they were combined with pulmonary infection, they were divided into two groups: the

基金项目:国家自然科学基金项目(81570274)

作者单位:1. 南阳市中心医院心内科,河南,南阳 473000

2. 南阳医专第一附属医院消化科,河南,南阳 473000

3. 郑州大学第一附属医院心内科,河南,郑州 450000

*通信作者:刘志远, E-mail:liuzhiyuan1974a@126.com

combined infection group ($n=42$) and the single MI group ($n=118$). Another 80 healthy people who had experience in our hospital at the same time were selected as the control group. The levels of serum PCT, IL-6, TNF- α , AST, LDH, CK and CKMB were measured in all subjects. The relationship between serum PCT, IL-6, TNF- α and myocardial enzymes in patients with acute myocardial infarction and pulmonary infection was analyzed by Pearson correlation. The working characteristic curve of subjects was used to analyze the effects of serum PCT, IL-6 and TNF- α levels on myocardial infarction and the diagnostic value of pulmonary infection.

Results The levels of PCT, IL-6, TNF- α , AST, LDH, CK and CKMB in the MI group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The serum levels of PCT, IL-6 and TNF- α in the patients with infection were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). There was no significant difference in sex ratio, age, smoking history, drinking history, serum AST, LDH, CK and CKMB between the two groups ($P>0.05$). Pearson correlation analysis showed that in patients with acute myocardial infarction and pulmonary infection, serum PCT, IL-6, TNF- α and AST, LDH, CK, CKMB all showed significant positive correlations ($P<0.05$). The ROC curve showed that the levels of PCT, IL-6, and TNF- α had certain value in the diagnosis of pulmonary infection in patients with acute myocardial infarction ($P<0.05$). The AUC of PCT + IL-6 + TNF- α sensitivity and accuracy of combined detection were higher than those of PCT, IL-6 and TNF- α alone ($P<0.05$).

Conclusion Serum PCT, IL-6 and TNF- α are highly expressed in patients with acute myocardial infarction complicated with pulmonary infection, which were positively correlated with serum myocardial enzyme spectrum, and the combined detection of serum PCT, IL-6 and TNF- α could improve the accuracy of diagnosis for pulmonary infection in patients with acute myocardial infarction.

[KEY WORDS] Acute myocardial infarction; Pulmonary infection; PCT IL-6; TNF- α

急性心肌梗死是临床上常见的心血管系统疾病,是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死^[1]。临床表现为剧烈而持久的胸骨后疼痛,伴有心肌酶高表达,且可并发心律失常或心力衰竭,死亡率较高,严重影响患者的生存质量^[2]。肺部感染是急性心肌梗死患者常见的院内并发症之一,不但延长了患者的住院时间,还可能导导致患者左心功能进一步受损,增加了其死亡的风险^[3]。因此,及时的诊断治疗对于改善急性心肌梗死合并肺部感染患者预后,提高其生存质量,均具有重要价值^[4]。近年来不断有研究报道,急性心肌梗死合并肺部感染患者血清炎症因子呈高表达状态,血清炎症因子的升高会进一步加重患者动脉粥样硬化,进而形成恶性循环,加重了病情^[5-6]。基于此,本研究主要探讨了血清降钙素原(procalcitonin, PCT)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)三种临床常检炎症因子与急性心肌梗死合并肺部感染患者病情的关系及其临床意义。报告如下。

1 资料与分析

1.1 临床资料

选取2017年6月至2019年6月南阳市中心医院收治的急性心肌梗死患者160例(心梗组)作为研

究对象,将心梗组患者根据是否合并肺部感染分为合并感染组($n=42$)和单纯心梗组($n=118$);另选同期进行体验的健康人群80例作为对照组,本研究已经医院医学伦理委员会批准。纳入标准:符合中华医学会心血管病学分会拟定的《急性心肌梗死诊断与治疗指南》中对急性心肌梗死的疾病诊断标准^[7];临床资料完整;患者均了解本研究并自愿签署知情同意书。排除标准:有急性心肌炎、阻塞性肺疾病者;免疫功能严重障碍者;肝、肾器官严重疾病者;存在精神疾病、意识模糊等难以沟通者。心梗组男性83例,女性77例,年龄平均年龄(56.14 ± 10.43)岁。对照组男性41例,女性39例,平均年龄(56.83 ± 9.76)岁。两组受试者的性别、年龄对比,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

①抽取所有受试者清晨空腹时静脉血5 mL,离心($2\ 000\ \text{r/min}$)15 min,取上清液置于 -20°C 冰箱中保存备用。②检测血清炎症因子:应用酶联免疫吸附法检测血清IL-6、TNF- α ,采用电化学发光法检测血清PCT,试剂盒均购自美国RD公司;③检测血清心肌酶谱:检测血清谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)及肌酸激酶同工酶(creatine kinase iso-

enzyme, CKMB),应用酶偶联法,采用雅培 AEROSET全自动生化分析仪及相关配套试剂,严格参照说明书进行操作。

1.3 肺部感染的诊断

肺部感染诊断标准^[8]:出现咳嗽、咳痰或痰液性质改变症状,且伴有发热、白细胞与中性粒细胞升高,入院后X光检查肺部炎症病变,或呼吸道分泌物分离得到病原体。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计学软件处理数据,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,用t检验;计数资料用n(%)表示,用卡方检验;采用pearson相关性分析急性心肌梗死患者合并肺部感染患者血清PCT、IL-6、TNF- α 与心肌酶谱的关系;采用ROC曲线分析血清PCT、IL-6、TNF- α 对急性心肌梗死患者合并肺部感染的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 心梗组和对照组受试者血清指标对比

心梗组患者血清PCT、IL-6、TNF- α 、AST、LDH、CK及CKMB水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 心梗组和对照组受试者血清指标对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum indexes of subjects in myocardial infarction group and control group ($\bar{x} \pm s$)

指标	心梗组(n=160)	对照组(n=80)	t值	P值
PCT($\mu\text{g/L}$)	1.37 \pm 0.64	0.029 \pm 0.012	26.822	<0.001
IL-6($\mu\text{g/L}$)	16.43 \pm 5.35	6.13 \pm 1.51	16.871	<0.001
TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	7.81 \pm 3.25	3.39 \pm 1.17	11.778	<0.001
AST(U/L)	66.42 \pm 7.03	31.55 \pm 4.26	40.756	<0.001
LDH(U/L)	361.45 \pm 58.47	163.18 \pm 30.87	77.470	<0.001
CK(U/L)	287.66 \pm 61.43	136.75 \pm 19.02	21.445	<0.001
CKMB(U/L)	35.22 \pm 6.54	17.89 \pm 4.28	21.499	<0.001

2.2 合并感染组和单纯心梗组患者临床资料对比

合并感染组患者血清PCT、IL-6、TNF- α 水平明显高于单纯心梗组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者性别比例、年龄、吸烟史、饮酒史、血清AST、LDH、CK及CKMB水平对比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 急性心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6、TNF- α 水平与心肌酶谱的关系

通过pearson相关分析结果显示,在急性心肌梗死患者合并肺部感染患者体内,血清PCT、IL-6、

表2 合并感染组和单纯心梗组患者临床资料对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of clinical date between combined infection group and simple myocardial infarction group ($\bar{x} \pm s$)

临床资料	合并感染组(n=42)	单纯心梗组(n=118)	t值	P值
性别(男/女)	22/20	61/57	0.006	0.939
年龄(岁)	56.31 \pm 10.05	55.78 \pm 10.82	0.278	0.781
吸烟史(例)	19(45.23)	47(39.83)	0.374	0.541
饮酒史(例)	22(52.38)	59(0.50)	0.070	0.791
PCT($\mu\text{g/L}$)	3.10 \pm 1.45	0.76 \pm 0.28	16.762	0.000
IL-6($\mu\text{g/L}$)	18.66 \pm 6.83	15.64 \pm 4.47	3.241	0.002
TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	10.25 \pm 4.56	6.94 \pm 2.03	6.338	0.000
AST(U/L)	67.58 \pm 7.45	66.01 \pm 7.11	1.214	0.227
LDH(U/L)	368.35 \pm 60.77	359.00 \pm 57.09	0.896	0.372
CK(U/L)	295.34 \pm 62.48	284.93 \pm 58.73	0.970	0.334
CKMB(U/L)	36.11 \pm 7.01	34.90 \pm 6.38	1.028	0.305

TNF- α 与AST、LDH、CK、CKMB均呈现显著正相关关系($P < 0.05$)。见表3。

表3 急性心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6、TNF- α 水平与心肌酶谱的关系

Table 3 The relationship between serum PCT, IL-6, TNF- α levels and myocardial enzyme spectrum in acute myocardial infarction complicated with lung infection

因子	统计值	AST	LDH	CK	CKMB
PCT	r值	0.474	0.393	0.551	0.613
	P值	0.002	0.010	0.000	0.000
IL-6	r值	0.338	0.329	0.499	0.529
	P值	0.029	0.033	0.000	0.000
TNF- α	r值	0.347	0.323	0.454	0.573
	P值	0.024	0.037	0.003	0.000

2.4 血清PCT、IL-6、TNF- α 水平诊断急性心肌梗死患者合并肺部感染的ROC曲线分析

ROC曲线结果显示,PCT、IL-6、TNF- α 水平对于诊断急性心肌梗死患者合并肺部感染均有一定的价值($P < 0.05$),且PCT+IL-6+TNF- α 联合检测的AUC、灵敏度与准确度均高于PCT、IL-6及TNF- α 单独检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表4 血清PCT、IL-6、TNF- α 水平诊断急性心肌梗死患者合并肺部感染的ROC曲线分析

Table 4 ROC curve analysis of serum PCT, IL-6, TNF- α levels in the diagnosis of acute myocardial infarction complicated with pulmonary infection

项目	AUC	截断值($\mu\text{g/L}$)	灵敏度	特异度	准确度	P值
检测PCT	0.762	0.870	0.810	0.754	76.88	<0.001
检测IL-6	0.724	15.89	0.720	0.703	70.63	<0.001
检测TNF- α	0.718	6.51	0.773	0.729	73.13	<0.001
PCT+IL-6+TNF- α 联合检测	0.809	0.759+15.35+6.14	0.856	0.805	81.88	<0.001

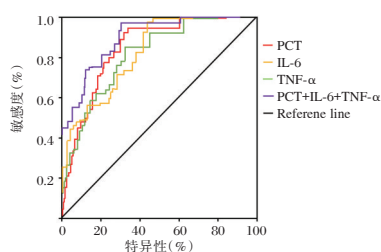


图1 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve

3 讨论

随着人们生活方式和饮食习惯的改变,以及人口老龄化的加剧,心血管疾病的患病率呈逐年增长的趋势^[9]。急性心肌梗死是一类较常见的心血管疾病,该病常并发肺部感染^[10]。原因是该病急性发作时,可引起心功能衰退,以及不同程度的肺淤血、肺水肿,导致患者免疫功能降低,从而机体对病原菌的防御力减弱,增加了被病菌感染的概率^[11]。而急性心肌梗死引起的心功能不全和肺部感染可相互作用,相互促进,加重了病情,增加了患者的死亡率^[12]。

临床上常通过心肌酶系检查来评估患者的心功能,心肌酶谱的改变是急性心肌梗死患者典型的血清生化水平变化,其水平的升高可作为临床心肌损害的标志物^[13]。

近年来不断有研究证实免疫因素在心血管疾病的发生、进展中具有重要作用,其中炎性因子因其在急性心肌梗死合并肺部感染的发展中具有指导作用而受到广泛关注^[14]。PCT主要在甲状腺及肺神经内分泌细胞中产生,健康人群血清中PCT水平含量极少,然而在细菌感染6h后PCT含量急剧增加,12~48h达高峰,在早期炎症性疾病及细菌感染的早期诊断具有重要意义^[15-16]。蒋全坤等^[17]在探究血清PCT水平对心力衰竭合并肺部感染的研究中证实,心力衰竭合并肺部感染患者血清PCT明显高于单纯心力衰竭患者,提示PCT对于心力衰竭合并肺部感染具有指导作用。IL-6是前炎性细胞因子之一,具有促炎作用,主要由单核巨噬细胞、T淋巴细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞合成,可在感染引发的急性炎症反应中诱导急性期反应中急性期反应蛋白的生成^[18]。史国华^[19]在瑞舒伐他汀对冠心病急性心肌梗死患者血清炎性因子的影响探究中发现,应用瑞舒伐他汀治疗后急性心肌梗死患者血清IL-6明显降低,提示急性心肌梗死患者血清IL-6含量较高。TNF-α由单核-巨噬细胞产生,

具有多种生物活性,是机体受到刺激后最早产生的炎性因子之一^[20]。TNF-α可引起内皮细胞损伤,升高黏附分子和其他炎性介质的表达水平,在动脉粥样硬化的发生、发展中发挥重要作用^[21]。本研究结果提示血清PCT、IL-6及TNF-α水平在急性心肌梗死合并肺部感染的发生、发展中起着重要作用,可能作为急性心肌梗死合并肺部感染患者的诊断指标。

通过pearson相关分析结果进一步提示PCT、IL-6、TNF-α可能会促进病情的发展,ROC曲线分析结果提示联合PCT、IL-6、TNF-α水平对于区分单纯急性心肌梗死与合并肺部感染的急性心肌梗死患者有一定应用价值。

综上所述,急性心肌梗死合并肺部感染患者血清PCT、IL-6和TNF-α呈高表达水平,与血清心肌酶谱呈现一定正相关关系,同时血清PCT、IL-6和TNF-α联合检测可有效提高急性心肌梗死患者肺部感染的检出率。

参考文献

- [1] 刘杏珍,伍敏莉,谢丽芬,等. 优化急救流程在基层胸痛中心急性心肌梗死患者救治中的作用效果[J]. 中国医药科学, 2021, 11(13): 99-102+114.
- [2] Bajaj A, Sethi A, Rathor P, et al. Acute Complications of Myocardial Infarction in the Current Era: Diagnosis and Management[J]. J Investig Med, 2015, 63(7): 844-55.
- [3] 谭琳,李倩,胡月,等. 急性心肌梗死患者医院感染危险因素的Meta分析[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(11): 983-988.
- [4] Mauro A, Bonaventura A, Mezzaroma E, et al. NLRP3 Inflammasome in Acute Myocardial Infarction[J]. J Card Pharmacol, 2019, 74(3): 175-187.
- [5] Vitkon-Barkay I, Lazarovitch T, Marchaim D, et al. Usefulness of Serum Procalcitonin as a Marker for Coexisting Infection in Patients With Acute Myocardial Infarction[J]. Am J Cardiol, 2018, 122(5): 729-734.
- [6] 常方圆,孙泽刚,郝恩刚,等. 非ST抬高急性冠脉综合征患者并发肺部感染的危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(20): 4675-4677+4692.
- [7] 高润霖. 急性心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2001(12): 9-24.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试分)[S]. 2001: 3.
- [9] Rose J, Voora D, Lucas J, et al. Gene Expression Profiles Link Respiratory Viral Infection, Platelet Response to Aspirin, and Acute Myocardial Infarction[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0132259.

(下转第27页)

老年脑出血开颅术后不同类型病原菌颅内感染对脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平的影响

张人菁 黄焰霞 邓云新 陈德昌*

【摘要】目的 探讨老年脑出血开颅术后不同类型病原菌颅内感染对脑脊液神经特异性烯醇化酶(NSE)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)、肝素结合蛋白(HBP)水平的影响。**方法** 选取2019年8月至2021年10月上海交通大学医学院附属瑞金医院116例老年脑出血开颅术患者,根据术后并发颅内感染与否分为感染组35例,非感染组81例。比较两组患者基本情况、术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平,Logistic回归分析老年脑出血开颅术后颅内感染影响因素,术后行腰椎穿刺采集脑脊液,进行病原菌培养,对比感染组不同病原菌类型患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平,并绘制ROC曲线,评价脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平对颅内感染的诊断价值。**结果** 感染组患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平均高于非感染组患者,差异有统计学意义($P<0.05$);Logistic回归分析可知,NSE、NLRP3、HBP水平均与老年脑出血开颅术后颅内感染独立相关($P<0.05$);35例老年脑出血开颅术后颅内感染患者共分离出42例病原菌,其中革兰氏阴性菌占45.24%,革兰氏阳性菌54.76%;老年脑出血开颅术后颅内革兰氏阴性菌感染患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平均高于革兰氏阳性菌感染患者,差异有统计学意义($P<0.05$);ROC曲线显示,脑脊液NSE、NLRP3、HBP联合诊断老年脑出血开颅术后颅内感染的AUC值最高,诊断效能良好($P<0.05$)。**结论** 老年脑出血开颅术后颅内感染患者脑脊液NSE、NLRP3、HBP明显升高,检测上述指标水平有助于诊断颅内感染及鉴别革兰氏阴性菌与革兰氏阳性菌感染。

【关键词】 脑出血; 颅内感染; 神经特异性烯醇化酶; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3; 肝素结合蛋白

Effects of intracranial infection of different types of pathogenic bacteria on the levels of NSE, NLRP3 and HBP in cerebrospinal fluid after craniotomy in elderly patients with cerebral hemorrhage

ZHANG Renjing, HUANG Yanxia, DENG Yunxin, CHEN Dechang*

(Department of Critical Medicine, Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, China, 201821)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the value of intracranial infection of different types of pathogenic bacteria on cerebrospinal fluid neuron-specific enolase (NSE), nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3), and heparin-binding protein (HBP) after craniotomy in elderly patients with cerebral hemorrhage. **Methods** A retrospective selection of 116 elderly patients with cerebral hemorrhage craniotomy in our hospital from August 2019 to October 2021 were divided into 35 patients in the infected group and 81 patients in the non-infected group according to whether they had complicated intracranial infection after surgery. The basic conditions of the two groups of patients were compared, the expressions of NSE, NLRP3, and HBP in the cerebrospinal fluid after the operation were measured and analyzed. Logistic

基金项目:上海市嘉定区卫生健康委员会青年基金(2019-QN-04);上海交通大学医学院附属瑞金医院北院研究基金(2019ZY22)

作者单位:上海交通大学医学院附属瑞金医院重症医学科,上海市201821

*通信作者:陈德昌, E-mail:cdc20816@163.com

regression was used to analyze the factors affecting the intracranial infection after the craniotomy of the elderly with cerebral hemorrhage. After lumbar puncture was performed to collect cerebrospinal fluid, and pathogenic bacteria were cultured. The postoperative cerebrospinal fluid NSE, NLRP3, and HBP levels of patients with different types of pathogens in the infection group were compared, and ROC curves were drawn to evaluate the diagnostic value of NSE, NLRP3 and HBP levels in cerebrospinal fluid for intracranial infection. **Results** The postoperative cerebrospinal fluid NSE, NLRP3 and HBP levels in the infection group were higher than those in the non-infection group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that the levels of NSE, NLRP3 and HBP were independently correlated with intracranial infection after craniotomy in elderly patients with cerebral hemorrhage ($P<0.05$). A total of 42 pathogenic bacteria were isolated from 35 elderly patients with cerebral hemorrhage and intracranial infection after craniotomy, among which, Gram-negative bacteria accounted for 45.24% and Gram-positive bacteria 54.76%. The levels of NSE, NLRP3 and HBP in cerebrospinal fluid of elderly patients with intracranial gram-negative bacterial infection after craniotomy were significantly higher than those of patients with gram-positive bacterial infection ($P<0.05$). The ROC curve showed that the combination of cerebrospinal fluid NSE, NLRP3, and HBP had the highest AUC value in diagnosing intracranial infection after craniotomy in elderly patients with cerebral hemorrhage, and the diagnostic efficiency was good. **Conclusion** Cerebrospinal fluid NSE, NLRP3, and HBP were significantly increased in elderly patients with intracranial infection after craniotomy with cerebral hemorrhage. The detection of the above indicators is helpful for the diagnosis of intracranial infection and the identification of gram-negative and gram-positive bacterial infections.

[KEY WORDS] Cerebral hemorrhage; Intracranial infection; NSE; HLRP3; HBP

脑出血急性起病,病情进展快,死亡率和致残率高,其中老年患者约占40%,是脑出血发病主体^[1-2]。老年脑出血常采取开颅手术治疗,颅内感染是术后常见并发症之一,增加医疗成本及住院时间,且危及患者生命^[3]。脑脊液常规、生化检测方便简单,在神经外科术后颅内感染诊断中具有重要地位^[4]。已有研究报道,脑脊液神经特异性烯醇化酶(Neuron specific enolase, NSE)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)、肝素结合蛋白(Heparin binding protein, HBP)等指标用于神经外科术后颅内感染诊断^[5]。但以往研究中常未区分神经外科术后颅内感染患者是否为开颅手术,有研究明确指出,接受开颅手术、未接受开颅手术患者的感染在病原学、治疗等方面均不同^[6]。本研究尝试分析老年脑出血开颅术后不同类型病原菌颅内感染对脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平的影响。报道如下。

1 资料与方法

1.1 对象

选取2019年8月至2021年10月上海交通大学医学院附属瑞金医院116例老年脑出血开颅术患者,根据术后并发颅内感染与否分为感染组35例,非感染组81例。纳入标准:均经头颅CT、磁共振成像(MRI)等确诊为脑出血,行开颅术治疗;术

后48h~2周腰穿采集脑脊液标本;感染组符合《中国神经外科重症患者感染诊治专家共识(2017)》^[7]中颅内感染诊断标准。排除标准:术前3个月内存在颅内感染;合并全身其他部位感染;脑脊液标本采集前2周内使用抗生素;二次开颅手术;严重心、肝、肾等脏器功能障碍。本研究患者家属均知情同意,并经医院伦理委员会审核批准通过。

1.2 方法

腰穿采集脑脊液标本3 mL,采用酶联免疫吸附法测定NSE、NLRP3、HBP,均采用上海通蔚生物有限公司试剂盒。

1.3 统计学处理

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,两组间比较采用独立样本 t 检验;Logistic回归分析老年脑出血开颅术后颅内感染影响因素;诊断价值采用受试者工作特征(ROC)曲线,获取AUC,联合预测实施Logistic二元回归拟合,返回预测概率 $\text{logit}(p)$,将其作为独立检验变量。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基本情况比较

感染组患者性别、年龄、体质指数、手术时机及手术时间非感染组患者相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组患者基本情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of basic information between the two groups [n(%)]

指标		感染组 (n=35)	非感染组 (n=81)	χ^2 值	P值
性别	男	22(62.86)	52(64.20)	0.019	0.890
	女	13(37.14)	29(35.80)		
年龄(岁)	60~70	11(31.43)	38(46.91)	2.402	0.121
	>70	24(68.57)	43(53.09)		
体质量指数(kg/m ²)	<23	15(42.86)	47(58.02)	2.260	0.133
	≥23	20(57.14)	34(41.98)		
手术时机	急诊	28(80.00)	63(77.78)	0.071	0.789
	择期	7(20.00)	18(22.22)		
手术时间(h)	<3	18(51.43)	56(69.14)	3.318	0.069
	≥3	17(48.57)	25(30.86)		

2.2 两组患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平比较

感染组患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平均高于非感染组患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of postoperative cerebrospinal fluid NSE, NLRP3 and HBP levels between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NSE($\mu\text{g/mL}$)	NLRP3(pg/mL)	HBP($\mu\text{g/L}$)
感染组	35	10.69±3.34	104.39±12.37	32.80±10.27
非感染组	81	5.67±1.69	88.69±10.25	17.85±5.41
t值		10.748	7.104	10.250
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 老年脑出血开颅术后颅内感染影响因素分析

Logistic 回归分析,可知术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平均与老年脑出血开颅术后颅内感染独立相关($P < 0.05$)。见表3。

表3 老年脑出血开颅术后颅内感染影响因素分析

Table 3 Analysis of influencing factors of intracranial infection after craniotomy for senile intracerebral hemorrhage

因素	β 值	S.E.值	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
NSE	1.713	0.357	23.037	5.548	3.251~9.469	<0.05
NLRP3	1.674	0.320	27.353	5.331	3.442~8.258	<0.05
HBP	1.753	0.341	26.440	5.774	3.675~9.073	<0.05

注:NSE、NLRP3、HBP赋值:以平均数为界,<平均数=1,≥平均数=2。

2.4 老年脑出血开颅术后颅内感染患者病原菌分布

35例老年脑出血开颅术后颅内感染患者共分离出42例病原菌,其中革兰氏阴性菌占45.24%(19/42),革兰氏阳性菌54.76%(23/42)。见表4。

2.5 不同类型病原菌颅内感染患者脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平比较

老年脑出血开颅术后颅内革兰氏阴性菌感染

表4 老年脑出血开颅术后颅内感染患者病原菌分布

Table 4 distribution of pathogens in elderly patients with intracranial infection after craniotomy for intracerebral

病原菌	hemorrhage	
	株数(n)	构成比(%)
革兰氏阴性菌		
鲍曼不动杆菌	10	23.81
铜绿假单胞杆菌	6	14.29
肺炎克雷伯菌	3	7.14
革兰氏阳性菌		
金黄色葡萄球菌	10	23.81
凝固酶阴性葡萄球菌	7	16.67
表皮葡萄球菌	4	9.52
粪肠球菌	2	4.76
合计	42	100

患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平均高于革兰氏阳性菌感染患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表5 不同类型病原菌颅内感染患者脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of NSE, NLRP3 and HBP levels in cerebrospinal fluid of patients with intracranial infection of different types of pathogens ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NSE($\mu\text{g/mL}$)	NLRP3(pg/mL)	HBP($\mu\text{g/L}$)
革兰氏阴性菌	16	12.89±3.75	113.00±15.72	40.65±13.02
革兰氏阳性菌	19	8.84±1.74	97.14±12.11	26.19±8.07
t值		4.209	3.371	4.017
P值		<0.001	0.002	<0.001

2.6 脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平对颅内感染的诊断价值

绘制ROC曲线,评价术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平对老年脑出血开颅术后颅内感染的诊断价值,发现三者联合诊断AUC值最大,诊断效能良好($P < 0.05$)。见图1、表6。

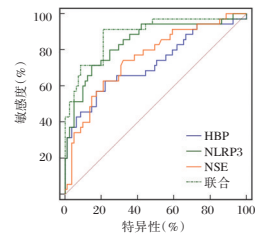


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

NSE是糖酵解关键酶,绝大部分分布于中枢神经系统,定位于脑灰质神经细胞和末梢神经元,

表6 脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平对颅内感染的诊断价值

Table 6 diagnostic value of cerebrospinal fluid NSE, NLRP3 and HBP levels in intracranial infection

指标	AUC	95%CI	Z值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
NSE	0.754	0.666~0.830	5.121	>7.25 μg/mL	74.29	67.90	<0.001
NLRP3	0.844	0.765~0.905	8.110	>98.97 pg/mL	71.43	85.19	<0.001
HBP	0.725	0.635~0.804	4.027	>30.73 μg/L	62.86	77.78	<0.001
联合诊断	0.887	0.815~0.938	10.513		91.43	79.01	<0.001

是神经元损害的敏感标志物^[8]。本研究数据显示,感染组患者术后脑脊液NSE水平均高于非感染组患者,术后脑脊液NSE水平为颅内感染影响因素。NSE是神经组织病理损伤的特异性生化指标,脑损伤时,神经细胞崩解,血脑屏障破坏,NSE进入脑脊液中,使其浓度增高。颅内感染可导致不同程度脑实质损害,进而引起脑脊液NSE水平升高。这与文献报道的癫痫、颅脑外伤、缺氧性脑损伤等所致脑组织损伤的结果相似^[9]。

HBP是来源于中性粒细胞的颗粒蛋白,作为炎性蛋白,可通过中和脂多糖的类脂A起到抗菌作用,还能趋化中性粒细胞、单核细胞、T淋巴细胞,促进细胞因子释放及白细胞募集,同时,可增加血管内皮通透性,诱导白细胞至感染部位^[10-11]。近年来,HBP在局灶性感染、全身性感染疾病方面应用价值的报道不断增多^[12-14]。本研究发现,脑出血开颅手术后颅内感染患者脑脊液HBP高水平,为颅内感染影响因素。颅内感染患者伴发炎症反应会引起脑脊液中性粒细胞水平增加,细菌或其毒素刺激中性粒细胞释放大量HBP。既往也有研究探讨脑脊液HBP水平与颅内感染的相关性,如刘美等^[15]研究显示,开颅术后细菌性颅内感染患者脑脊液HBP水平显著高于未感染患者,且升高幅度与感染严重程度和疾病预后相关;刘俊等^[16]研究表明,相较于脑脊液WBC、GLU等传统指标,脑脊液HBP对开颅术后早期颅内感染具有更高诊断价值。均支持本研究结论。

炎症小体在固有免疫和炎症反应中发挥重要作用,目前,NLRP3是经鉴定的研究最为广泛、机制最为复杂的炎症小体。肖汉森等^[17]研究显示,炎症小体的异常激活与肠道病毒71型(EV71)感染的小鼠中枢神经系统炎症和神经元损伤密切相关。本研究数据显示,术后脑脊液NLRP3高水平为老年脑出血开颅术后颅内感染危险因素。NLRP3可被多种形态结构和分子序列完全不同的模式分子活化,可感应病毒、细菌等病原微生物的入

侵^[18]。但NLRP3相关活化机制尚未阐明,需进一步综合利用细胞生物学、结构生物学、生物化学等手段进一步探究,鉴定关键蛋白或信号通路。

本研究还发现,老年脑出血开颅术后颅内革兰氏阴性菌感染患者术后脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平均高于革兰氏阳性菌感染患者。提示脑脊液NSE、NLRP3、HBP对颅内感染病原菌鉴别具有一定价值。考虑与革兰氏阴性菌主要结构成分脂多糖特异性通过Toll样受体诱发更为严重的免疫-炎性反应有关。另外,本研究发现NSE、NLRP3、HBP联合诊断老年脑出血开颅术后颅内感染的AUC值最高,提示各指标联合可为临床诊断老年脑出血开颅术后颅内感染提供更有效量化参考。虽联合检测达到了更高的灵敏度,但值得注意的是其特异性却不如NLRP3单个指标,联合诊断特异度为79.01%与NLRP3特异度85.19%相差较小,并无统计学差异,加之联合诊断综合考虑AUC值、特异度及敏感度等,故特异度的微小差异可忽略不计。

综上所述,脑脊液NSE、NLRP3、HBP是老年脑出血开颅术后颅内感染良好的诊断指标,且有助于鉴别革兰氏阴性菌与革兰氏阳性菌感染,指导抗生素治疗。

参考文献

- [1] 贾维建,陈锦景,朱春然. 早期中性粒细胞与淋巴细胞比值的变化在预测脑出血预后评估中的价值[J]. 中华生物医学工程杂志, 2019, 25(2): 243-247.
- [2] 王丹,王新志,陈婧,等. 早期免疫营养干预对高血压脑出血患者免疫功能影响[J]. 华南预防医学, 2019, 45(6): 540-543.
- [3] 张晓蕾,纪媛媛,王军,等. 开颅手术患者颅内感染的情况调查与危险因素分析[J]. 中国医药导报, 2020, 17(11): 124-127.
- [4] Zhai T, Fu ZL, Qiu YB, et al. Application of combined cerebrospinal fluid physicochemical parameters to detect intracranial infection in neurosurgery patients [J]. BMC Neurol, 2020, 20(1): 213.
- [5] 崔大勇,王新,张博. 血清及脑脊液NLRP3、PCT、CRP水平对脑出血微创穿刺术后颅内感染的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(3): 421-423.

- [6] 管军,张建秋,邓超,等. 脑脊液肝素结合蛋白鉴别细菌性颅内感染的临床价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2020,30(18):2768-2771.
- [7] 胡潇云,吕鑫,王颀,等. 536例开颅手术患者手术部位感染影响因素的Logistic回归分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(8):1175-1179.
- [8] 中华医学会神经外科学分会,中国神经外科重症管理协作组. 中国神经外科重症患者感染诊治专家共识(2017)[J]. 中华医学杂志, 2017,97(21):1607-1614.
- [9] Grnhj MH, Sejbæk T, Hansen RW, et al. Serum levels of neurofilament light chain, neuron-specific enolase and S100 calcium-binding protein B during acute bacterial meningitis: a prospective cohort study [J]. *Infectious Dis (Lond)*, 2021, 53(6):409-419.
- [10] 迟宝权,刘亚静,崔雷雷,等. 椎基底动脉狭窄与老年后循环脑梗死患者神经功能及血清炎症相关因子的关系[J]. 中国老年学杂志, 2019,39(10):2319-2322.
- [11] Mercier E, Tardif PA, Cameron PA, et al. Prognostic value of neuron-specific enolase (NSE) for prediction of post-concussion symptoms following a mild traumatic brain injury: a systematic review [J]. *Brain Inj*, 2018,32(1):29-40.
- [12] 石春霞,陈倩,王瑶,等. 肝功能衰竭并感染患者血清正五聚蛋白3和肝素结合蛋白及降钙素原水平变化[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019,33(12):1188-1190.
- [13] 吴苑,郑微,李靖,等. 尿液中肝素结合蛋白和白介素6及白细胞计数水平对细菌性尿路感染诊断的应用价值[J]. 中华检验医学杂志, 2019,42(4):312-317.
- [14] Zhou Y, Liu Z, Huang J, et al. Usefulness of the heparin-binding protein level to diagnose sepsis and septic shock according to Sepsis-3 compared with procalcitonin and C reactive protein: a prospective cohort study in China [J]. *BMJ Open*, 2019,9(4):e026527.
- [15] 刘美,唐小娟,曲波,等. 脑脊液肝素结合蛋白检测在颅内感染性疾病的临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2019,42(7):557-563.
- [16] 刘俊,湛允波,刘献志. 肝素结合蛋白在开颅术后早期颅内感染的诊断价值[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2021,26(3):114-117.
- [17] 肖汉森,谢茜,钟家禹,等. 波形蛋白对EV71感染小鼠脑组织引起NLRP3炎性小体活化的影响[J]. 南方医科大学学报, 2018,38(6):704-710.
- [18] Su Z, Niu Q, Huang Z, et al. Association of nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing protein 3 polymorphisms with systemic lupus erythematosus disease activity and biomarker levels: A case-control study in Chinese population [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020,99(35):e21888.

(上接第22页)

- [10] Musher D, Abers M, Corrales-Medina V. Acute Infection and Myocardial Infarction [J]. *N Engl J Med*, 2019,380(2):171-176.
- [11] 屈永生,蔡瑞珍,张静,等. 急性心肌梗死患者肺部感染多药耐药菌及危险因素研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2017,27(9):1967-1970.
- [12] 吴美华,肖祖克,杨小刚,等. 社区获得性肺部感染与急性心肌梗死的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2016,36(21):5296-5298.
- [13] 陈英,曹佳宁,杨承健,等. 心肌酶谱异常、心电图ST段抬高误诊心肌梗死病例分析[J]. 临床心血管病杂志, 2017,33(11):1128-1130.
- [14] Selvasandran K, Makhoul G, Jaiswal PK, et al. A Tumor Necrosis Factor- α and Hypoxia-Induced Secretome Therapy for Myocardial Repair [J]. *Ann Thorac Surg*, 2018,105(3):715-723.
- [15] 张文海,梁艳平,杨建,等. 冠心病患者肺部感染对IL-6与降钙素原及瘦素的影响分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016,26(17):3912-3914.
- [16] Tang JH, Gao DP, Zou PF. Comparison of Serum PCT and CRP Levels in Patients Infected by Different Pathogenic Microorganisms: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 51(7):e6783.
- [17] 蒋全坤,王百鸣. 血清降钙素原检测在老年心力衰竭合并肺部感染患者中的应用[J]. 中国老年学杂志, 2019,39(9):2058-2061.
- [18] Shahrivari M, Wise E, Resende M, et al. Peripheral Blood Cytokine Levels After Acute Myocardial Infarction: IL-1 β - and IL-6-Related Impairment of Bone Marrow Function [J]. *Circ Res*, 2017,120(12):1947-1957.
- [19] 史国华. 瑞舒伐他汀对冠心病急性心肌梗死患者血清炎症因子及免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019,39(12):2851-2853.
- [20] 周立军,鲍迎春,方裕,等. 血必净注射液改善心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗后肺部感染的疗效研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2018,28(22):3393-3396+3404.
- [21] Cheng Y, Feng Y, Xia Z, et al. ω -Alkynyl arachidonic acid promotes anti-inflammatory macrophage M2 polarization against acute myocardial infarction via regulating the cross-talk between PKM2, HIF-1 α and iNOS [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017,1862(12):1595-1605.

血清 ADA、LDH 及 EBV-DNA 对儿童传染性单核细胞增多症的诊断意义

胡杰 李文博* 张帆

【摘要】 目的 探究血清腺苷脱氨酶(ADA)、乳酸脱氢酶(LDH)及EB病毒(EBV)-DNA对小儿传染性单核细胞增多症(IM)的诊断价值。**方法** 选取安徽六安市人民医院儿科2018年1月至2021年1月收治的IM患儿98例作为研究组,以及同期正常体检儿童40例作为对照组。比较两组的血清ADA、LDH水平及EBV-DNA阳性检出率,运用Pearson相关分析血清ADA、LDH、EBV-DNA相关性。并通过受试者工作特征(ROC)曲线评估各个指标IM的诊断效能。**结果** 研究组血清ADA、LDH水平和EBV-DNA均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组EBV-DNA阳性率为89.8%(88/98),对照组阳性率为5.0%(2/40),两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。血清ADA、LDH、EBV-DNA之间均呈正相关($P<0.05$)。血清ADA、LDH、EBV-DNA的AUC面积分别为0.872,0.833,0.893。**结论** 血清ADA、LDH及EBV-DNA均能够有效诊断小儿传染性单核细胞增多症,值得推广使用。

【关键词】 血清ADA; LDH; EBV-DNA; 小儿传染性单核细胞增多症; 诊断

The diagnostic value of serum ADA, LDH and EBV-DNA load detection in children with infectious mononucleosis

HU Jie, LI Wenbo*, ZHANG Fan

(Department 1 of Pediatrics, Lu'an People's Hospital, Lu'an, Anhui, China, 237000)

【ABSTRACT】 **Objective** To explore the diagnostic value of serum Adenosine deaminase (ADA), lactate dehydrogenase (LDH), and EB virus (EBV)-DNA detection in children infectious mononucleosis (IM). **Methods** From January 2018 to January 2021, 98 children with infectious mononucleosis in Department of Pediatrics, Lu'an people's Hospital, Anhui Province were selected as the research group, and 40 healthy children who passed the physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of serum ADA, LDH and the positive detection rate of EBV-DNA were compared between the two groups. The correlation of serum ADA, LDH and EBV-DNA was analyzed by Pearson correlation, and the diagnostic efficacy of each index was evaluated through the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The serum levels of ADA, LDH and EBV-DNA in the study group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); the positive rate of EBV-DNA in the study group was 89.8% (88/98), and the positive rate in the control group was 5.0% (2/40), the difference between the two groups was statistically significant ($P<0.05$). Serum ADA, LDH and EBV-DNA were positively correlated ($P<0.05$), and LDH was also positively correlated with EBV-DNA ($P<0.05$). The AUC areas of serum ADA, LDH, and EBV-DNA loads were 0.872, 0.833, and 0.893, respectively. **Conclusion** Serum ADA, LDH and EBV-DNA load detection can effectively diagnose infectious mononucleosis in children, and it is worthy of popularization.

【KEY WORDS】 Serum ADA; LDH; EBV-DNA load; Infectious mononucleosis in children; Diagnosis

基金项目:2018年安徽省医学会急诊临床研究项目(ky2018008)

作者单位:六安市人民医院儿科一病区,安徽,六安237000

*通信作者:李文博, E-mail:282951560@qq.com

传染性单核细胞增多症(Infectious mononucleosis, IM)是因感染EB病毒(Epstein Barr virus EBV)而引起的传染性自限性疾病,多发于青少年及儿童^[1-2]。据统计全球90%左右的人感染过EBV,该病毒潜伏期儿童多为4~15 d,而成人多为10 d,且多数被感染者仅有上呼吸道症状,只有小部分转化为IM。发热、咽峡炎和颈淋巴结肿大为典型IM临床“三联征”,同时该病还可合并肝脾肿大,外周血中异型淋巴细胞及淋巴细胞增高等症状。虽然IM病程多呈自限性且多数患者预后良好,但部分患者也可发生嗜血综合征等并发症,危及生命^[3-4]。且支原体及巨细胞病毒等微生物感染也会出现IM类似临床表现,因此病例的不典型性及体征的多样化增加IM临床诊断难度。近年来EBV-DNA检测广泛运用于IM的诊断中,可快速、准确地帮助医师在早期明确病因,但因EBV潜伏时间较长,在EBV感染早期,患儿机体免疫系统未能及时产生相应抗体或免疫力低下,均能导致早期抗体检测为阴性,因此临床探索其它对IM具有诊断效能的生化指标具有重要意义。腺苷脱氨酶(Adenosine deaminase, ADA)是一种与T细胞介导的细胞免疫有关的核酸代谢酶,而乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)是参与糖异生和糖酵解的重要酶类。张莉等研究发现,IM患儿血清ADH及LDH较正常患儿均显著升高^[5]。临床鲜少将EBV-DNA检测及血清ADH、LDH检测同时运用于IM的诊断中。本研比较三者对IM的诊断效能,以期提高IM的实验室诊断水平。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取安徽六安市人民医院儿科2018年1月至2021年1月传染性单核细胞增多症患者98例作为研究组,以及同期体检合格的健康儿童40例作为对照组。研究组男57例,女41例,平均年龄(5.84±1.76)岁,对照组男23例,女17例,平均年龄(5.74±1.91)岁,两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已征得医院伦理委员会的批准同意。

1.2 诊断标准

符合《儿童主要非肿瘤性EB病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则建议》^[6]中关于小儿传染性单核细胞增多症的标准,临床表现为发热、咽扁桃体炎、颈淋巴结肿大、外周异性淋巴细胞比例 ≥ 0.10 等,且满足实验室指标检查。

1.3 纳入和排除标准

纳入标准:①确诊为小儿IM。临床IM诊断标准如下,a、患儿具备扁桃体肿大、咽痛及急性咽峡炎典型“三联征”、或肝、脾、淋巴结肿大表现。b、血常规检查显示,白细胞增多,在白细胞分类中显示淋巴细胞绝对值超过 $5.0 \times 10^9/L$ 或淋巴细胞占50%以上。c、血清相关抗体检查显示,抗EBV-CA-IgG抗体及EBV-CA-IgM抗体均呈阳性,而抗EBV-NA-IG阴性,或抗EBV-CA-IgM抗体呈阳性低亲和力抗体,而抗EBV-CA-IgM抗体呈阴性,抑或嗜异性凝集试验为阳性。满足血清抗体检测任意一项结果,同时具有临床症状或血常规检查指标即可诊断为IM^[7];②未接触过任何治疗;③入试者监护人均签署知情同意书。排除标准:①心、肝等脏器功能受损;②EBV之外的病毒感染者;③具有免疫缺陷或其他免疫系统疾病。

1.4 方法

取患儿空腹8 h静脉血4 mL,2 mL静置30 min后,以3 000 rpm高速离心10 min后取其上清液,使用深圳市库贝尔生物科技有限公司生产的iChem-335全自动生化分析仪及上海酶联生物科技有限公司生产的QIYBO上海-过氧化物酶试剂盒,通过双试剂过氧化物酶法测定ADA水平;使用赛默飞世尔科技有限公司生产的Attune CytPix流式细胞仪及上海雅吉生物科技有限公司生产的DTNB速率比色法检测试剂盒,通过速率法测定LDH水平;2 mL经过乙二胺四酸二钾进行抗凝后,加入有淋巴细胞分离液的试管中,离心半径18 cm,2 000 rpm离心20 min后吸取白细胞层,加入1.5 mL离心管,离心半径10 cm,12 000 rpm离心5 min后去上清,沉淀中加入DNA提取液,使用南京贝登电子商务有限公司生产的c1000荧光定量PCR仪及西格玛奥德里奇(上海)贸易生产的默克DNA试剂盒,通过荧光PCR技术检测EBV-DNA。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间对比采用两独立样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间对比采用卡方(χ^2)检验;指标之间的相关性采用Pearson相关分析(用相关系数 r 表示);诊断效能评价用受试者工作特征曲线(ROC)分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清 ADA、LDH 水平比较

研究组 ADA、LDH 水平均明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者血清 ADA、LDH 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum ADA and LDH levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ADA(U/L)	LDH(U/L)
对照组	40	24.49±2.88	303.15±24.72
研究组	98	40.52±6.91	495.35±42.49
<i>t</i> 值		24.750	19.181
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 两组患者 EBV-DNA 阳性结果比较

研究组 EBV-DNA 阳性率高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者 EBV-DNA 阳性结果比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of the positive results of EBV-DNA between the two groups [$n(\%)$]

组别	例数	阴性	阳性
对照组	40	38(95.0)	2(5.0)
研究组	98	10(10.2)	88(89.8)
χ^2 值			57.939
<i>P</i> 值			<0.001

2.3 血清 ADA、LDH 与 EBV-DNA 的相关性分析

血清 ADA 与 LDH、ADA 与 EBV-DNA、LDH 与 EBV-DNA 均呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 血清 ADA、LDH 与 EBV-DNA 的相关性

Table 3 The correlation between serum ADA, LDH and EBV-DNA

项目	ADA		LDH		EBV-DNA	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
ADA	1		0.880	<0.001	0.911	<0.001
LDH	0.880	<0.001	1		0.927	<0.001
EBV-DNA	0.911	<0.001	0.927	<0.001	1	

2.4 血清 ADA、LDH 与 EBV-DNA 诊断传染性单核细胞增多症的 ROC 曲线

ROC 曲线结果显示, EBV-DNA 临界值为 704.43 拷贝/mL 时, 诊断价值最佳; 其次为 ADA, 最后是 LDH。见表 4 和图 1。

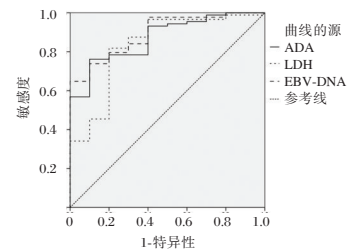


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

IM 是因为 EBV 与 B 淋巴细胞上的受体结合, 使得抗原表达变化, 并通过免疫应激反应促使 T 淋巴细胞异常增殖和分化, 进而引起全身淋巴结肿大及内脏器官病变的一种自限性疾病。IM 的临床症状多为发热、头痛、恶心、乏力等, 小部分患儿可出现脾破裂、肝功能异常、肾功能损害、自身免疫性溶血性贫血等严重临床症状, 更甚者还会发展为致死性 IM, 大大提高患儿死亡风险, 并且 IM 发病难以察觉, 病症又复杂多样, 常导致漏诊和误诊发生^[8]。因此, 早期诊断 IM 对患儿治疗和预后具有重要意义。

ADA 可参与嘌呤核苷代谢过程, 通过催化作用将腺嘌呤核苷变为次黄嘌呤核苷, 再经核苷磷酸化酶作用生成次黄嘌呤, 其代谢缓和终产物为尿酸。在人体各个组织中均能发现 ADA, 其主要存在于胸腺、脾和淋巴细胞中, 肝、肺、肾和骨骼肌等处含量较低。ADA 能参与淋巴细胞增殖、分化和成熟等过程, 主要以 T 淋巴细胞为主, 是 T 淋巴细胞活化的一个非特异性指标^[9-10]。ADA 还与机体细胞免疫活性密切相关, 通过测定血液、体液中 ADA 及其同工酶水平, 对某些疾病诊断、鉴别诊断具有巨大作用^[11]。本研究结果表明 ADA 活性变化对于 IM 早期诊断可能具有潜在价值。同时 ROC 曲线分析显示, 血清 ADA 临界值为 39.44 U/L, 其敏感度和特异性分别为 76.12% 和 87.62%。IM 患儿血清 ADA 活性增加可能是由于 EBV 感染机体后, B 淋巴细胞携带 EBV 基因, 并表达相应抗原, 刺激 T 淋巴细胞异常增殖和分化, 形成异型淋

表 4 血清 ADA、LDH 与 EBV-DNA 诊断效能

Table 4 Diagnostic efficacy of serum ADA, LDH and EBV-DNA

项目	AUC	95%CI	临界值	约登指数	敏感性	特异性	<i>P</i> 值
ADA	0.872	0.777~0.996	39.44	0.667	0.761	0.903	<0.001
LDH	0.833	0.688~0.978	418.76	0.604	0.818	0.796	0.001
EBV-DNA	0.893	0.808~0.979	704.43	0.630	0.898	0.950	<0.001

巴细胞。有研究显示,血清 ADA 活性变化与异型淋巴细胞有相关性,IM 患儿异性淋巴细胞水平增加,会释放大量 ADA,导致其水平增加^[12]。

LDH 是参与糖酵解和催化乳酸和丙酮酸之间氧化还原反应的重要酶类,其存在于机体所有组织细胞胞质内,其中以肾脏含量较高,可用于诊断肝脏疾病和恶性肿瘤^[13]。本研究结果表明 LDH 活性变化对于 IM 早期诊断可能具有潜在价值。同时 ROC 曲线分析显示,血清 LDH 临界值为 418.76U/L,其敏感度和特异性分别为 81.81%和 79.58%。EB 病毒会与 B 淋巴细胞上的 EBV 受体结合,使感染后的 B 细胞表面抗原变化,导致 T 细胞异常增殖和分化,杀伤感染 B 细胞,同时侵犯组织器官,使得 LDH 活性增加。相比于 ADA,LDH 诊断特异性较低,因为当其他含有 LDH 的组织损伤时,也会导致 LDH 活性升高。虽然如此,但 LDH 却能有效反映 IM 患儿组织器官损伤状况,能作为诊断 IM 病情严重程度依据,值得进一步观察。

近年来,临床中已普遍应用定量 PCR 技术检测外周血 EBV-DNA,该技术成为诊断 EBV 相关性疾病的重要方法之一^[14-15]。由于 EBV 感染引起的相关疾病病情轻重不等,预后不一,稍有疏忽极有可能导致漏诊、误诊,增加病情发展的风险。同时有研究表明治疗前血清 EBV-DNA 水平高者治疗后更易复发,提示 EBV-DNA 检测的重要意义^[16]。因此定量检测外周血 EBV-DNA 能更好反应体内 EBV 增殖情况,在判断 EBV 感染病情转归方面比血清学抗体检测更具价值。本研究结果表明 EBV-DNA 对于 IM 诊断具有显著意义。同时 EBV-DNA 与血清 ADA、LDH 均为正相关,原因可能是 EBV 感染后,患儿肝脏组织受损,导致血清 ADA、LDH 水平上升,产生更多的异型淋巴细胞,杀伤感染 B 细胞,导致 EBV-DNA 大量进入血液,导致病毒血症。还有研究显示 IM 患儿外周血中 EBV-DNA 与临床表现严重程度成正相关,这对患者病情严重程度监测有重要指导意义^[17]。因此,EBV-DNA 对于诊断 IM 具有重大价值。

综合上述,EBV 感染致传染性单核细胞增多症患儿临床症状不显著,容易误诊、漏诊。血清 ADA、LDH 及 EBV-DNA 检测能够有效诊断小儿传染性单核细胞增多症,有助于 IM 患儿早期接受治疗,减轻疾病严重程度,实现预后改善,值得推广使用。

参考文献

- [1] 祁正红,陈雪夏,林先耀,等. 传染性单核细胞增多症患儿外周血淋巴细胞亚群、细胞因子、TLRs 的表达变化及其临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(12): 51-56.
- [2] 刘娟,冀旭峰,刘玲玲,等. 高荧光淋巴细胞百分比对传染性单核细胞增多症的诊断价值[J]. 检验医学, 2021, 36(8): 855-856.
- [3] 王焯,连清荣,许群山,等. 厦门市儿童 EB 病毒感染情况及病毒载量分析[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(11):2513-2516.
- [4] 陈淑云. 末梢血检测淋巴细胞亚群对传染性单核细胞增多症患儿的诊断价值[J]. 医药论坛杂志, 2021, 42(1):29-31+35.
- [5] 张莉,朱红胜,马钧,等. 血清 ADA、LDH 及外周血淋巴细胞亚群比例联合检测对传染性单核细胞增多症的诊断价值[J]. 检验医学, 2020, 35(9):881-884.
- [6] 林盛静. EB 病毒致传染性单核细胞增多症患者血清 DNA 峰值载量与肝损害分析[J]. 浙江医学, 2018, 40(20):76-77+82.
- [7] 中华医学会儿科学分会感染学组,全国儿童 EB 病毒感染协作组. 儿童主要非肿瘤性 EB 病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则建议[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(8):563-568.
- [8] Petrovskaya MS, Krichevskaya GI, Denisova EV, et al. Importance of Epstein-Barr virus infection in pathogenesis of proliferative complications in children with endogenous uveitis [J]. Russ J Infect Immun, 2020, 9(6): 800-804.
- [9] 赵昕峰,吴亦栋,陈刚,等. 血清腺苷脱氨酶在儿童传染性单核细胞增多症诊断中的应用[J]. 中华传染病杂志, 2019, 37(1):38-40.
- [10] 张莉,朱红胜,马钧,等. 血清 ADA、LDH 及外周血淋巴细胞亚群比例联合检测对传染性单核细胞增多症的诊断价值[J]. 检验医学, 2020(9):881-884.
- [11] 刘文田,唐芳华,刘玉花,等. 血清 TNF- α 、SAA、ADA 对儿童 EBV 相关传染性单核细胞增多症的诊断价值研究[J]. 河北医科大学学报, 2021, 42(4):470-473+486.
- [12] 沈伟,韦永琼,廖志勇,等. 血清 ADA、CD4/CD8 及 RL 在 EBV-IM 中的诊断价值[J]. 四川医学, 2020, 41(12):1231-1233.
- [13] 孙真真,刘丹丹,王小利,等. 外周血 NLR 对 IM 患儿发生肝损伤风险的预测价值[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(9):1169-1172.
- [14] 邓坤仪,彭建明,范汉恭,等. 三种实验室检测方法在儿童传染性单核细胞增多症的诊断应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016, 8(1):37-41+72.
- [15] 崔佳丽,刘秀珍,任晋峰,等. 邯郸地区 EB 病毒感染儿童外周血 PLR、NLR 水平与 EB 病毒载量相关性研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(8):1096-1098.
- [16] Jiang SY, Yang JW, Shao JB, et al. Real-time polymerase chain reaction for diagnosing infectious mononucleosis in pediatric patients: A systematic review and meta-analysis [J]. J Med Virol, 2016, 88(5):871-876.
- [17] Ito Y, Suzuki M, Kawada JI, et al. Diagnostic values for the viral load in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic active Epstein-Barr virus disease [J]. J Infect Chemother, 2016, 22(4):268-271.

2020年昆明市儿童医院非伤寒沙门菌分子分型和β内酰胺类耐药基因特征分析

王海平 许彬 黄海林 李珏 李小娟 欧晓燕 蒋立*

[摘要] **目的** 分析2020年昆明市腹泻患儿中分离的非伤寒沙门菌株的分子分型及耐药基因特征,为儿童非伤寒沙门菌感染防治提供参考依据。**方法** 收集2020年1至12月昆明市儿童医院实验室确诊的41例沙门菌感染病例的相关信息,并对分离到的菌株进行血清型分型及脉冲场凝胶电泳分型分析;在此基础上对菌株进行药敏试验及β内酰胺类耐药基因高通量荧光定量PCR检测。**结果** 2020年昆明市儿童医院确诊的41例沙门菌感染患者主要集中在夏秋季,1岁以下儿童占到了确诊数的44%,男性患儿明显高于女性;在分离的41株沙门菌中,30株为鼠伤寒沙门菌,部分菌株分子分型相似性系数较高;分离的鼠伤寒沙门菌对部分青霉素类及氨基糖苷类抗生素耐药率达到了100%,β内酰胺类耐药基因 bla_{TEM} 及 $bla_{CTX-M3/6}$ 、 bla_{OXA1} 在分析的菌株中携带表达较高。**结论** 鼠伤寒沙门菌是昆明市地区儿童非伤寒沙门菌感染的主要病原体,菌株间较高的同源性提示患者有相同暴露源的可能,携带耐药基因 bla_{TEM} 及 $bla_{CTX-M3/6}$ 、 bla_{OXA1} 是造成菌株多重耐药的主要原因之一。

[关键词] 非伤寒沙门菌;分子分型;耐药基因;儿童

Molecular typing of non-typhoid *Salmonella* and analysis of β-lactam resistance gene characteristics in Kunming Children's Hospital in 2020

WANG Haiping, XU Bin, HUANG Hailin, LI Jue, LI Xiaojuan, OU Xiaoyan, JIANG Li*

(Department of Clinical Laboratory, Kunming Children's Hospital, Kunming, Yunnan, China, 650100)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the molecular typing and drug resistance gene characteristics of non-typhoid *Salmonella* strains isolated from children with diarrhea in Kunming in 2020, to provide reference for the prevention and control of non-typhoid *Salmonella* infection in children. **Methods** The information of 41 children with salmonella infection in Kunming Children's Hospital was collected in 2020, and the isolates were serotyped and analyzed by pulsed field gel electrophoresis. Based on the results, the drug sensitivity test and high-throughput fluorescence quantitative PCR detection of β-lactamase-related drug resistance genes were carried out on the strains. **Results** In 2020, the 41 cases of *Salmonella* infection confirmed by Kunming Children's Hospital were mainly concentrated in summer and autumn, and children under 1 year old accounted for 44% of the confirmed cases, and male children were significantly higher than women. Among the 41 isolated *Salmonella* strains, 30 were *Salmonella* typhimurium, and some strains had higher molecular typing similarity coefficients. The isolated *Salmonella* typhimurium was resistant to some penicillin and aminoglycoside antibiotics up to 100%, and the β-lactam resistance genes bla_{TEM} , $bla_{CTX-M3/6}$ and bla_{OXA1} were highly expressed in the analyzed strains. **Conclusions** *Salmonella* typhimurium is the main pathogen of non-typhoid *Salmonella* infection in children in Kunming. The high homology among the strains suggests that the patients may have the same exposure source, and the drug-resistant genes bla_{TEM} , $bla_{CTX-M3/6}$ and bla_{OXA1} are one of the main reasons for the multiple drug resistance of the strains

[KEY WORDS] Non-typhoid salmonella; Molecular typing; Resistance gene; Children

基金项目:云南省教育厅科学研究基金(2021J0287);昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目(20201101112);

昆明市“春城计划”高层次人才引进工程青年人才专项。

作者单位:昆明市儿童医院检验科,云南,昆明650100

*通信作者:蒋立, E-mail:674415753@qq.com

据世界卫生组织估计,全球每年约有5.5亿人患腹泻病,其中约半数均为五岁以下儿童,沙门菌是造成腹泻病的四大病因之一^[1]。沙门菌是一种肠杆菌科的革兰氏阴性杆菌,迄今已发现超过两千余种血清型。我国《传染病防治法》^[2]规定,沙门菌中的伤寒/副伤寒感染属于乙类传染病,伤寒/副伤寒以外的其他沙门菌感染则被归属到丙类传染病中的“其他感染性腹泻”进行报告管理。中国疾病控制信息系统资料显示,2014-2015年全国累计报告其他感染性腹泻病例1 805 161例,5岁以下儿童占总报告病例数的53.7%,非伤寒沙门菌感染居细菌性病原菌的首位,占细菌性腹泻确诊病例数的65.5%^[3]。因此,非伤寒沙门菌感染是严重威胁我国儿童健康的儿科常见消化系统疾病。本研究旨在对2020年昆明市儿童医院感染性腹泻儿童中分离到的非伤寒沙门菌进行分子分型及耐药基因分析,从而了解昆明地区儿童感染非伤寒沙门菌的流行特征及耐药分布,为儿童非伤寒沙门菌感染防治提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2020年1至12月在昆明市儿童医院消化内科就诊512例病例。纳入标准:年龄 ≤ 5 岁,临床表现每日大便3次以上,伴有大便性状或量的改变的患者,及大便或血标本中分离到沙门菌者。排除标准:年龄 > 5 岁,未出现明显胃肠道症状者,或大便或血标本中未分离到沙门菌者。病例信息收集经患者监护人知情同意。研究经本院伦理委员会审批通过。

1.2 细菌分离及培养

1.2.1 粪便标本

采集患者有脓血、粘液部分的粪便2~3 g,液状粪便取絮状物1~2 mL,对于排便困难的婴幼儿使用肛拭采样,标本盛于粪便采集盒中及时送检;送检标本接种到10 mL亚硒酸盐增菌肉汤(Catalog No. HB8606,海博生物,青岛)中,同时接种到MAC、SS琼脂平板(Catalog No. 20172400133,安图生物,郑州)35℃培养;接种平板过夜后,挑取可疑菌落做生化初步鉴定,生化结果符合者使用兰州生物制品研究所有限责任公司的沙门氏菌属诊断血清进行血清凝集试验;增菌标本每日观察,见

浑浊生长,接种于MAC、SS琼脂平板35℃培养,使用以上方法进行细菌分离及检定。

1.2.2 血液标本

采集部位使用70%酒精擦拭,采集患儿血液2~4 mL,使用BD BACTEC™血培养瓶(Catalog No. 8090998)在BD BACTECTM FX(碧迪公司)系统中进行培养,血培养报阳后,使用革兰染色方法见革兰阴性杆菌,接种于MAC、SS琼脂平板,使用以上描述方法进行细菌分离及检定。

1.3 抗生素药物敏感试验

以上分离的沙门菌株使用梅里埃AST-GN14药敏卡(Catalog No. 22096)在VITEK 2-compact全自动微生物鉴定/药敏分析系统(梅里埃公司)中进行分析,了解分离沙门菌的抗生素耐药率情况。

1.4 沙门菌分子分型

使用脉冲场凝胶电泳(PFGE)方法将菌株在CHEF-DRIII(Bio-Rad Laboratories公司)电泳仪中进行电泳。获得的PFGE图像录入BioNumerics (Version 8.0)软件包进行处理。实验步骤根据PulseNet-沙门菌标准操作程序(<https://www.cdc.gov/pulsenet/>)进行。菌株间相似性系数(SD)达到85%作为判断菌株同源的标准。

1.5 耐药基因检测

使用高通量荧光定量PCR(HT-qPCR)方法对以上分离的菌株的56种 β 内酰胺类抗生素耐药基因在StepOnePlus™实时荧光定量PCR仪(美国Thermo公司)进行定量分析。各检测样本的Ct(Threshold of cycle)值,以Ct值 ≤ 31 为判断基线。耐药基因含量采用相对定量的方法进行计算, $\Delta Ct = Ct$ 值-待测组内参基因Ct值(16S rRNA基因),相对含量变化 $F = 2^{-\Delta Ct}$ 。结果使用Heml软件(Heml 1.0)绘制热度图,描述耐药基因在不同菌株中的分布。

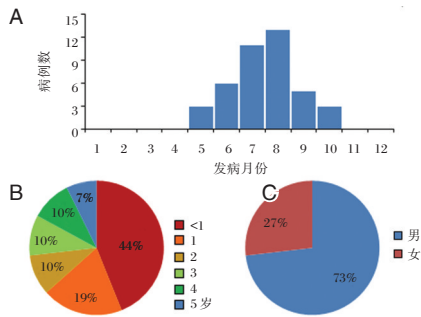
2 结果

2.1 患者流行病学特征

病例主要集中在夏秋季,其中7~8月是发病的高峰,见图1A。超过90%的病例为5岁以下儿童,其中1岁以下儿童占到了确诊数的44%,见图1B。患者中男性患者居多,男女性别比例为2.7:1。见图1C。

2.2 病原学特征

在分离到的41株沙门菌中,鼠伤寒沙门菌有30株,占分离菌株总数的73%。见表1。



注:A为患者发病时间分布;B为患者年龄构成;C为患者性别构成。

图1 沙门菌感染确诊患者基本情况分布图

Figure 1 Characteristics of patients with laboratory confirmed Salmonella infection

表1 2020年昆明市儿童医院分离沙门菌株的血清型构成
Table 1 Serotypes of Salmonella isolates from Kunming children's Hospital in 2020

菌株血清型	菌株数(n=41)	占比(%)
鼠伤寒沙门菌	30	73.17
乙型副伤寒沙门菌	3	7.32
纽波特沙门菌	2	4.88
甲型副伤寒沙门菌	1	2.44
未分型	5	12.19

优势血清型的10株鼠伤寒沙门菌的PFGE分子分型结果见图2。该10株菌株可分为5个群,其中5、10、6、7、4号菌株为一群,2、8号菌株为一群,其余1、3、9号菌株各为一群。

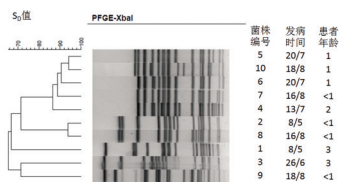


图2 10株鼠伤寒沙门菌PFGE分析图

Figure 2 PFGE analysis of 10 isolates of Salmonella typhimurium

2.3 菌株耐药特征

分离的41株沙门菌中对一代头孢(头孢唑林)、氨基糖苷类抗生素(阿米卡星、庆大霉素)的耐药率达100%。其中30株鼠伤寒沙门菌对青霉素类抗生素(氨苄西林)的耐药率也达到了100%,对喹诺酮类抗生素(环丙沙星、左氧氟沙星)的耐药率明显高于其他型沙门菌。见表2。

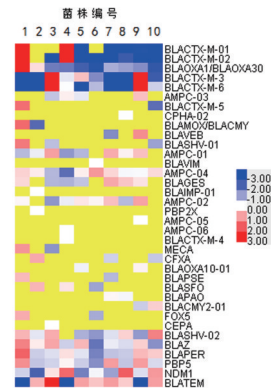
对以上进行分子分型的10株鼠伤寒沙门菌使用HT-qPCR方法检测了其耐药基因的分布情况。在检测的56种β内酰胺类耐药基因中,发现了34

表2 2020年昆明市儿童医院分离沙门菌株的耐药率
[n(%)]

Table 1 Antibiotics resistance rate of Salmonella isolates from Kunming Children's Hospital in 2020 [n(%)]

抗生素	鼠伤寒沙门菌(n=30)		其他沙门菌(n=11)	
	耐药	中介	耐药	中介
阿莫西林/克拉维酸	0(0.00)	4(13.33)	0(0.00)	3(27.27)
氨苄西林	30(100.00)	0(0.00)	7(63.64)	0(0.00)
哌拉西林	16(53.33)	13(43.33)	8(72.73)	0(0.00)
头孢唑林	30(100.00)	0(0.00)	11(100.00)	0(0.00)
头孢曲松	14(46.67)	0(0.00)	3(27.27)	0(0.00)
头孢他啶	11(36.67)	0(0.00)	3(27.27)	0(0.00)
头孢吡肟	8(26.67)	0(0.00)	3(27.27)	0(0.00)
美罗培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
厄他培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
氨基曲南	13(43.33)	0(0.00)	3(27.27)	0(0.00)
环丙沙星	7(23.33)	7(23.33)	1(9.10)	2(18.18)
左氧氟沙星	5(16.67)	15(50.00)	0(0.00)	9(81.82)
阿米卡星	30(100.00)	0(0.00)	11(100.00)	0(0.00)
庆大霉素	30(100.00)	0(0.00)	11(100.00)	0(0.00)
四环素	23(76.67)	0(0.00)	8(72.73)	0(0.00)
复方新诺明	12(40.00)	0(0.00)	1(9.10)	0(0.00)

种耐药基因。其中 *blaTEM*、*blaCTX-M3/6*、*bla-OXA1*、*blaZ*、*blaPER*、*PBP5*、*NDM1* 耐药基因在检测的10个菌株中均有发现。其中 *blaCTX-M3/6* 在1、3、4、9号菌株中呈高分布, *blaTEM* 在3号菌株中呈高分布, *blaOXA1* 在1号菌株中呈高分布。见图3。



注:黄色为未检出。

图3 10株鼠伤寒沙门菌β内酰胺类耐药基因热点分布图
Figure 3 Hot spot distribution of beta-lactamase genes in 10 isolates of Salmonella typhimurium

3 讨论

本研究发现,2020年昆明市儿童医院收治的沙门菌感染腹泻儿童主要集中在夏秋季,接近半数患者年龄小于1岁,男性患者明显高于女性;鼠伤寒沙门菌是本地区流行的优势血清型,部分菌株分子

分型存在高度集中趋势,提示其存在同源性的可能;分离的菌株有较高的耐药率,鼠伤寒沙门菌的多重耐药率尤其明显, β 内酰胺类耐药基因,*blaTEM*、*blaCTX-M3/6*、及*blaOXA1*在分析的菌株中均有发现。

国内一大型调查收集了2007-2016年上海、新疆、福建、广西、以及重庆5个省市的非伤寒沙门菌感染资料^[4],结果显示患者主要集中在 ≤ 1 岁及 ≥ 60 岁年龄组,男性构成明显高于女性,发病时间与雨季相关,主要集中在5-10月之间。本研究观察的昆明地区非伤寒沙门菌流行特征与该大型研究基本一致。

目前由于沙门菌核酸检测技术参考品的缺乏,沙门菌的鉴定仍主要依靠传统血清学分型^[5]。在之前的我国五省市的非伤寒沙门菌调查中,分离菌株血清型占前三位的分别是肠炎沙门菌、猪霍乱沙门菌、以及鼠伤寒沙门菌^[4]。河南省5岁以下腹泻儿童粪便中非伤寒沙门菌检出较高的分别是肠炎沙门菌,4,5,12:i:-型沙门菌,和鼠伤寒沙门菌^[6]。而在安徽马鞍山分离的非伤寒沙门菌优势血清型为阿贡纳沙门菌、肠炎沙门菌、和鼠伤寒沙门菌^[7]。在本调查中发现鼠伤寒沙门菌是昆明地区流行优势血清型,而肠炎沙门菌与猪霍乱沙门菌未有分离发现。这表明不同地区的流行菌株构成存在明显差异。PFGE分子分型技术被广泛应用于细菌同源性分析^[8]。本研究使用该技术对昆明地区分离的菌株进行同源性分析发现,部分菌株间存在较集中的趋势,这提示,尽管以上菌株同源性较高的病人发病时间不同,但可能存在共同暴露源的可能。

本研究分离到的30株鼠伤寒沙门菌对氨苄西林、头孢唑林、及氨基糖苷类抗生素的耐药率达到100%,多重耐药率达到了93.33%(28/30),对临床首选儿科用药头孢他定和头孢曲松的耐药率分别高达36.67%及46.67%。徐州地区2014-18年5年的监测数据显示,鼠伤寒菌也是呈逐年上升趋势,多重耐药率达到了90.28%,对头孢他定和头孢曲松的耐药率分别达25.0%和37.50%^[9]。本研究检出耐药水平明显高于徐州地区。本研究进一步对菌株携带的 β 内酰胺类耐药基因进行检测,发现了34种耐药基因,其中*blaTEM*、*blaCTX-M3/6*、及*blaOXA1*耐药基因携带量较为突出。而在福建省的调查,中,*blaTEM*、*blaCTX-M*、*blaOXA*耐药基因携带

率在腹泻患者菌株中分别为55.74%、16.39%、和19.67%,在健康人员来源株中分别为22.73%、0%、和18.18%^[10-11]。昆明地区菌株耐药基因携带率明显高于福建地区。以上结果提示,昆明地区非伤寒沙门菌的耐药情况较为严峻,对儿童沙门菌感染使用抗生素治疗带来了巨大的挑战。

综上,鼠伤寒沙门菌是昆明市地区儿童非伤寒沙门菌感染的主要病原体,菌株间较高的同源性提示患者有相同暴露源的可能,耐药基因*blaCTX-M3/6*、*blaTEM*、及*blaOXA1*是造成菌株多重耐药的主要原因之一。关于儿童感染非伤寒沙门菌的主要感染途径,菌株的来源等,有待进一步流行病学研究调查。

参考文献

- [1] 世界卫生组织. 沙门氏菌(非伤寒)[DB/OL]. [2021-01-11] [https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- [2] 中华人民共和国传染病防治法; 2020 [2021-08-05]. <http://www.npc.gov.cn/npc/c238/202001/99a493d03774811b053f0f0e38078.shtml>
- [3] 张平, 张静. 我国2014-2015年其他感染性腹泻监测现状分析[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(4): 424-430.
- [4] Zhan Z, Xu X, Gu Z, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of invasive non-typhoidal Salmonella in China, 2007-2016 [J]. Infect Drug Resist, 2019, 12: 2885-2897.
- [5] 努色热提·阿布都沙拉木, 袁慕云, 林晓峰, 等. 伤寒沙门氏菌质粒DNA参考物质的研制[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(12): 1740-1744.
- [6] 穆玉姣, 张白帆, 李懿, 等. 2011-2013年河南省沙门菌污染分布状况及其耐药研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(8): 748-752.
- [7] 洪颖, 王利, 陈谨, 等. 2010-2018年安徽省马鞍山市腹泻患者中非伤寒沙门菌的分子分型与耐药性研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(8): 646-653.
- [8] 李飞, 李丽娟, 梁德志, 等. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌耐药特征及其耐药机制的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2): 101-106+40.
- [9] 王路梅, 郭惠, 童晶, 等. 婴幼儿腹泻人群中鼠伤寒沙门菌的流行病学及多重耐药特征研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(8): 636-642.
- [10] 邱玉锋, 陈建辉, 黄梦颖, 等. 福建省鼠伤寒沙门菌 β -内酰胺耐药表型及ESBLs耐药基因分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(10): 944-949.
- [11] 邱玉锋, 陈建辉, 黄梦颖, 等. 福建鼠伤寒沙门菌耐药谱特征分析[J]. 预防医学论坛, 2018, 24(10): 721-724.

胎盘组织中IGFBP-1、VCAM-1、AQP3与妊娠期糖尿病的相关性

王娜* 张小环 李燕 邱雪洲 兰岚

[摘要] **目的** 探究妊娠期糖尿病(GDM)患者胎盘组织中胰岛素生长因子结合蛋白1(IGFBP-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、水通道蛋白3(AQP3)与胰岛素抵抗及妊娠结局的关系。**方法** 选取郑州大学附属南阳市中心医院120例单胎妊娠的GDM患者(GDM组)及同期接受分娩的80例糖耐量正常者(健康对照组)为研究受试者。分娩后收集胎盘组织1g,检测并比较两组受试者IGFBP-1、VCAM-1、AQP3基因表达差异及胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、胰岛 β 细胞功能指数(HOMA- β)水平,经Pearson相关分析评估GDM患者IGFBP-1、VCAM-1、AQP3基因表达与胰岛素指标的相关性。根据GDM组不良妊娠结局发生情况将其分为结局正常组及结局异常组两亚组,分别比较不同妊娠结局亚组间IGFBP-1、VCAM-1、AQP3基因表达差异,经Spearman相关分析评估GDM患者IGFBP-1、VCAM-1、AQP3基因表达与妊娠结局之间的相关性。**结果** GDM组胎盘组织中IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量及HOMA- β 水平显著低于健康对照组,VCAM-1的mRNA相对表达量、HOMA-IR水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);经Pearson相关分析,GDM组患者IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量与HOMA-IR均具有负相关性($P<0.05$),与HOMA- β 呈正相关性($P<0.05$),而VCAM-1与HOMA-IR具有正相关性($P<0.05$),与HOMA- β 呈负相关性($P<0.05$);GDM组胎盘组织中IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量显著低于健康对照组,VCAM-1的mRNA相对表达量显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);经Spearman相关分析,GDM组患者妊娠结局与IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量具有负相关性($P<0.05$),与VCAM-1 mRNA相对表达量具有正相关性($P<0.05$)。**结论** 胎盘组织中IGFBP-1、VCAM-1、AQP3对评估GDM患者胰岛素抵抗及妊娠结局有重要意义。

[关键词] 妊娠期糖尿病;胰岛素生长因子结合蛋白1;血管细胞黏附分子-1;水通道蛋白3

Correlation between IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 in placental tissues and gestational diabetes mellitus

WANG Na*, ZHANG Xiaohuan, LI Yan, QIU Xuezhou, LAN Lan

(Department of Obstetrics, Nanyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and aquaporin 3 (AQP3) in placental tissues and insulin resistance and pregnancy outcomes of patients with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** A total of 120 GDM patients with singleton pregnancies (GDM group) and 80 patients with normal glucose tolerance who received delivery during the same period (healthy control group) were selected as the research subjects. 1g placental tissue was collected after delivery, and the gene expressions of IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 and levels of homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and homeostasis model assessment of β -cell function (HOMA- β) were detected and compared between the two groups. The

基金项目:河南省科技发展计划项目(172102310172)

作者单位:郑州大学附属南阳市中心医院产科,河南,南阳 473000

*通信作者:王娜, E-mail:sharen Yue3284@163.com

correlation between gene expressions of IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 and insulin indicators in GDM patients was evaluated by Pearson correlation analysis. According to the occurrence of adverse pregnancy outcomes in GDM group, they were divided into the normal outcome subgroup and abnormal outcome subgroup. The differences in gene expressions of IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 were compared between different pregnancy outcome subgroups, and the correlation between gene expressions of IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 and pregnancy outcomes in GDM patients was evaluated by Spearman correlation analysis. **Results** The relative mRNA expression of IGFBP-1 and AQP3 and the level of HOMA- β in placental tissues in the GDM group were significantly lower than those in the healthy control group, while the relative mRNA expression of VCAM-1 and the level of HOMA-IR were significantly higher than those in the healthy control group ($P<0.05$). The Pearson correlation analysis showed that the relative mRNA expressions of IGFBP-1 and AQP3 in the GDM group were negatively correlated with HOMA-IR ($P<0.05$), and positively correlated with HOMA- β ($P<0.05$). However, VCAM-1 had a positive correlation with HOMA-IR ($P<0.05$), and a negative correlation with HOMA- β ($P<0.05$). The relative mRNA expressions of IGFBP-1 and AQP3 in the placental tissues in the GDM group were significantly lower than those in the healthy control group, while the relative mRNA expression of VCAM-1 was significantly higher than that in the healthy control group ($P<0.05$). According to Spearman correlation analysis, pregnancy outcome in the GDM group was negatively correlated with relative mRNA expressions of IGFBP-1 and AQP3 ($P<0.05$), and positively correlated with relative expression of VCAM-1 mRNA ($P<0.05$). **Conclusion** IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 in placental tissues are of great significance for evaluating insulin resistance and pregnancy outcomes of GDM patients.

[KEY WORDS] Gestational diabetes mellitus; Placental tissues; Insulin-like growth factor binding protein-1; Vascular cell adhesion molecule-1; Aquaporin 3; Insulin resistance; Pregnancy outcomes

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是指妊娠期出现或首次发现的葡萄糖不耐受现象,是妊娠期最常见的并发症之一^[1]。早诊断、早治疗对改善妊娠期糖尿病患者临床结局有着极其重要意义。目前,临床针对GDM发病机理尚未十分明确,考虑与多因素作用而导致的胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能障碍有关^[2]。胰岛素生长因子结合蛋白1(insulin-like growth factor binding protein-1, IGFBP-1)广泛存在人体各组织内,可促进或抑制细胞生长增殖及分化,在胎盘组织中的过度表达于胎儿生长发育具有密切联系^[3]。血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)是免疫球蛋白超家族中的重要一员,可通过介导白细胞粘附,从而导致血管内皮细胞功能受损^[4]。水通道蛋白3(aquaporin 3, AQP3)主要表达于胎盘组织中,在水和甘油中起到介导作用,国内外研究发现其水平与羊水量具有显著相关性^[5]。但以上指标是否与GDM胰岛素抵抗及妊娠结局有关,目前未见相关报道。据此,本研究通过GDM患者胎盘组织中IGFBP-1、VCAM-1、AQP3与胰岛素抵抗及妊娠结局的关系,旨在为GDM的早诊断、早治疗提供新

的参考根据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2020年6月于郑州大学附属南阳市中心医院住院并分娩的120例GDM患者(GDM组),纳入标准:①符合GDM诊断标准^[6]者;②单胎头位妊娠者;③临床各项检查资料完整者。排除标准:①妊娠前患有糖尿病者;②凝血功能障碍者;③心肝肾功能不全者;④沟通障碍或精神疾病者;⑤双胎或以上妊娠者;⑥合并妊娠期高血压病、妊娠期甲状腺功能异常等其他妊娠期并发症者;⑦具有家族遗传史疾病者。随机选取同期接受分娩的80例糖耐量正常者为健康对照组。GDM组年龄35~66岁,平均年龄(47.90 \pm 4.25)岁,体质指数(Body Mass Index, BMI)19~26 kg/m²,平均BMI(22.36 \pm 2.47) kg/m²;健康对照组年龄34~65岁,平均年龄(47.21 \pm 3.14)岁,BMI 20~26 kg/m²,平均BMI(23.01 \pm 3.14) kg/m²。两组受试者年龄、BMI比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究已获得医院伦理委员会批准,患者均自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 生化指标检测

入组首日常规静脉采血后保存待测,通过恩普 A8040 全自动生化分析仪(深圳市恩普电子技术有限公司)检测空腹胰岛素水平(fasting insulin, FINs)水平,并通过胰岛素耐受性稳态模型计算其胰岛素抵抗指数^[7](homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR),胰岛 β 细胞功能指数^[8](homeostasis model assessment of β -cell function, HOMA- β)。

1.2.2 胎盘组织基因表达

采用定量逆转录聚合酶链反应检测患者胎盘组织中IGFBP-1、VCAM-1、AQP3相对表达量,具体步骤参考试剂盒说明书。

1.3 统计学方法

采用SPSS 18.0软件进行统计分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间采用单因素方差分析,统计学有意义的结果进一步采用SNK- q 检验;相关性采用Pearson、Spearman分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IGFBP-1、VCAM-1、AQP3检测结果比较

GDM组胎盘组织中IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量显著低于健康对照组,VCAM-1的mRNA相对表达量显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 IGFBP-1、VCAM-1、AQP3检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGFBP-1	VCAM-1	AQP3
GDM组	120	0.18 \pm 0.06	0.98 \pm 0.23	0.94 \pm 0.25
健康对照组	80	0.34 \pm 0.08	0.43 \pm 0.08	1.81 \pm 0.47
t 值		20.334	20.561	17.001
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 胰岛素指标比较

GDM组HOMA-IR水平显著高于健康对照组,HOMA- β 水平显著低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 IGFBP-1、VCAM-1、AQP3与胰岛素抵抗相关性分析

经Pearson相关分析,GDM组患者IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量与HOMA-IR均具有负相关性($P < 0.05$),与HOMA- β 呈正相关性($P <$

表2 两组HOMA-IR、HOMA- β 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of levels of HOMA-IR and HOMA- β between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HOMA-IR	HOMA- β
GDM组	120	3.78 \pm 1.92	150.16 \pm 81.72
健康对照组	80	1.75 \pm 0.84	302.39 \pm 106.28
t 值		12.201	11.426
P 值		<0.001	<0.001

0.05),而VCAM-1与HOMA-IR具有正相关性($P < 0.05$),与HOMA- β 呈负相关性($P < 0.05$)。见表3。

表3 GDM患者IGFBP-1、VCAM-1、AQP3与胰岛素抵抗相关性分析

Table 3 Correlation between IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 and insulin resistance in GDM patients

指标	HOMA-IR		HOMA- β	
	r 值	P 值	r 值	P 值
IGFBP-1	-0.394	<0.001	0.314	<0.001
VCAM-1	0.484	<0.001	-0.354	<0.001
AQP3	-0.352	<0.001	0.402	<0.001

2.4 不同妊娠结局亚组间IGFBP-1、VCAM-1、AQP3基因表达差异

GDM组胎盘组织中IGFBP-1、AQP3的mRNA相对表达量显著低于健康对照组,VCAM-1的mRNA相对表达量显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 不同妊娠结局亚组间IGFBP-1、VCAM-1、AQP3的mRNA相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of mRNA relative expressions of IGFBP-1, VCAM-1 and AQP3 among different pregnancy outcomes subgroups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGFBP-1	VCAM-1	AQP3
结局异常亚组	38	0.10 \pm 0.07	1.23 \pm 0.14	0.71 \pm 0.24
结局正常亚组	82	0.21 \pm 0.06	0.86 \pm 0.26	1.05 \pm 0.26
t 值		8.854	8.225	6.824
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 IGFBP-1、VCAM-1、AQP3与妊娠结局相关性分析

经Spearman相关分析,GDM组患者妊娠结局与IGFBP-1($r=3.556$)、AQP3($r=-3.014$)的mRNA相对表达量具有负相关性($P < 0.05$),与VCAM-1($r=3.274$)mRNA相对表达量具有正相关性($P < 0.05$)。

3 讨论

目前,临床诊断GDM的方法仍依赖于OGTT,血糖一项及以上达到或超过异常标准可诊断^[9]。

但随着孕周增加,患者体内拮抗胰岛素样物质增加,导致其对胰岛素的敏感性下降。故部分患者孕中期 OGTT 正常,导致该部分患者出现漏诊或确诊延迟,进而引起严重后果^[10]。因此,寻找新的生物标志物,对于 GDM 的发现和具有重要意义。

胎盘是妊娠期间母体与胎儿进行物质交换的主要场所,GDM 患者因疾病影响,其胎盘内不良环境是胎儿产生不良妊娠结局的重要原因^[11]。本研究结果显示,GDM 组胎盘组织中 IGFBP-1、AQP3 的 mRNA 相对表达量显著低于健康对照组,而 VCAM-1 的 mRNA 相对表达量显著高于健康对照组。分析原因,可能是因为 IGFBP-1 于胎盘组织内主要发挥着促进或抑制细胞生长增殖分化的作用,可直接影响到胎儿生长发育。IGFBP-1 通过与 IGF II 结合,并抑制其活性,从而促进蛋白酶的分泌并抑制滋养层细胞的增殖,导致胎盘绒毛缺血缺氧,最终导致 GDM 发病。以往针对 IGFBP-1 水平的测定多以血清及阴道分泌物为样本,且研究表明孕期检测其水平可有效预测产科相关并发症发生风险。Erdemoglu 等^[12]学者研究中,快速测定孕产妇阴道分泌物中的 IGFBP-1 水平,结果发现其诊断早期胎膜早破的敏感度可高达 97.0%,证实 IGFBP-1 水平变化与妊娠结局间存在密切联系。胎盘滋养层内细胞的吞噬作用与转运蛋白介导是母婴营养交换的主要机制,AQP3 是胎盘中跨膜蛋白的一种,其表达对水分子的运输存在显著影响,是母婴间液体交换及羊水量生成的关键蛋白。GDM 患者胎盘血流灌注显著降低,进而导致其 AQP3 高度表达。VCAM-1 是临床常见的内皮细胞功能损伤标志物,其高度表达可导致血管内皮损伤,进而诱发胰岛素抵抗。Liang 等^[13]研究发现 GDM 患者血清及脐带血 VCAM-1 水平异常升高。本研究选取胎盘组织检测,同样显示 GDM 患者 VCAM-1 水平高度表达。证实 GDM 患者体内确实存在胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能障碍的情况。

经相关性分析,GDM 组患者 IGFBP-1、VCAM-1、AQP3 的 mRNA 相对表达量与 HOMA-IR、HOMA- β 及妊娠结局均具有一定相关性。研究发现 GDM 并分娩巨大儿的患者其胎盘中 IGFBP-1 的表达水平较对照组更低。考虑 IGFBP-1 是机体葡萄糖内环境稳定的主要物质,主要通过 IGF 结合发挥其调节作用,当胎盘内 IGFBP-1 表达下降时,游离

的 IGF 则增多,并与相应受体结合,促进细胞过度生长,加重 GDM 病情,并增加巨大儿等不良妊娠结局发生率。VCAM-1 是一类单链糖蛋白,正常生理条件下不表达,当血管内皮细胞损伤后异常升高,细胞膜外含有 6 个功能区,可对淋巴细胞等与血管内皮细胞的粘附产生作用^[14]。GDM 患者血管内皮损伤则导致 VCAM-1 表达增加,从而诱导胰岛素抵抗,胎盘血流受阻,滋养细胞功能异常,增加不良妊娠风险。AQP3 可参与羊水量的生成及吸收,高表达的 AQP3 可导致胎盘局部螺旋小动脉水肿,从而引起血流抵抗,导致胎盘失养,加重病情的同时对母婴结局不利。

综上所述,GDM 组患者 IGFBP-1、AQP3 的 mRNA 相对表达量与 HOMA-IR 及妊娠结局均具有负相关性,与 HOMA- β 呈正相关性,而 VCAM-1 与 HOMA-IR 及妊娠结局具有正相关性,与 HOMA- β 呈负相关性,临床可根据其表达水平预测妊娠结局。

参考文献

- [1] Pantham P, Aye ILMH, Powell TL. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus [J]. *Placenta*, 2015, 36(7):709-715.
- [2] Amin M, Suksomboon N, Poolsup N, et al. Comparison of Glyburide with Metformin in Treating Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Clin Drug Investigat*, 2015, 35(6):343-351.
- [3] Gligorijević N, Penezić A, Nedić O. Influence of glyco-oxidation on complexes between fibrin (ogen) and insulin-like growth factor-binding protein-1 in patients with diabetes mellitus type 2 [J]. *Free Radical Res*, 2016, 51(1):64-72.
- [4] Schmidt AM, Crandall J, Hori O, et al. Elevated plasma levels of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in diabetic patients with microalbuminuria: a marker of vascular dysfunction and progressive vascular disease [J]. *British J Haematol*, 2015, 92(3):747-750.
- [5] Srichumchit S, Luewan S, Tongsong T. Outcomes of pregnancy with gestational diabetes mellitus [J]. *Int J Gynecol Obstetr*, 2015, 131(3):251-254.
- [6] Hoffman L, Nolan C, Wilson JD, et al. Gestational diabetes mellitus-management guidelines: The Australasian Diabetes in Pregnancy Society [J]. *Med J Australia*, 1998, 169(2):93-97.
- [7] Ding YS, Li SG, Ma RL, et al. Association of homeostasis model assessment of insulin resistance, adiponectin, and low-grade inflammation with the course of the metabolic syndrome [J]. *Clin Biochem*, 2015, 48(7-8):503-507.

(下转第 44 页)

弥漫性大B细胞淋巴瘤中 miR-34a、FOXP1 表达的相关性及临床意义

陈思言¹ 杨丽华^{2*} 张伶俐¹ 董时¹ 李亚琼¹ 龚吉昌¹ 罗河¹ 魏中华¹ 李先莉¹

[摘要] 目的 研究弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)中微小RNA(miR)-34a、叉头框蛋白P1(FOXP1)表达的相关性及临床意义。方法 选择2018年2月至2019年7月期间经达州市中心医院病理确诊的DLBCL组织79例和反应性增生淋巴结组织60例,采用荧光定量PCR检测miR-34a的表达水平、western blot检测FOXP1的表达水平,分析miR-34a与FOXP1的相关性。随访并分析不同miR-34a、FOXP1表达的DLBCL患者无进展生存情况的差异。结果 DLBCL组织中miR-34a的表达水平低于反应性增生淋巴结组织、FOXP1的表达水平高于反应性增生淋巴结组织,差异有统计学意义($P<0.05$);DLBCL组织中miR-34a与FOXP1具有负相关关系($r=-0.528, P<0.05$);与临床分期I~II期、LDH正常、IPI评分0~1分、GCB亚型DLBCL组织比较,临床分期III~IV期、LDH升高、IPI评分 ≥ 2 分、Nom-GCB亚型DLBCL组织中miR-34a的表达水平明显降低、FOXP1的表达水平明显升高差异有统计学意义($P<0.05$);miR-34a表达水平 \geq 中位数的DLBCL患者无进展生存时间较miR-34a表达水平 $<$ 中位数的DLBCL患者延长,FOXP1表达水平 \geq 中位数的DLBCL患者无进展生存时间较FOXP1表达水平 $<$ 中位数的DLBCL患者缩短。结论 miR-34a低表达、FOXP1高表达与DLBCL的病理进展及预后恶化有关。

[关键词] 弥漫性大B细胞淋巴瘤;微小RNA-34a;叉头框蛋白P1

Correlation and clinical significance of miR-34a and FOXP1 expression in diffuse large B-cell lymphoma

CHEN Siyan¹, YANG Lihua^{2*}, ZHANG Lingli¹, DONG Shi¹, LI Yaqiong¹, GONG Jichang¹, LUO He¹, WEI Zhonghua¹, LI Xianli¹

(1. Department of Hematology, Dazhou Central Hospital, Dazhou, Sichuan, China, 635099; 2. Department of Laboratory, Dazhou Central Hospital, Dazhou, Sichuan, China, 635099)

[ABSTRACT] **Objective** To study the correlation and clinical significance of microRNA (miR)-34a and forkhead box protein P1 (FOXP1) expression in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). **Methods** From February 2018 to July 2019, 79 cases of DLBCL and 60 cases of reactive hyperplasia lymph node tissues confirmed by pathology in our hospital were selected. The expression level of miR-34a was detected by fluorescence quantitative PCR, and the expression level of FOXP1 was detected by Western blot. The correlation between miR-34a and FOXP1 was analyzed. The progression free survival of DLBCL patients with different expression of miR-34a and FOXP1 was followed up and analyzed. **Result** The expression level of miR-34a in DLBCL tissue was lower than that in reactive proliferative lymph node tissue, and the expression level of FOXP1 was higher than that in reactive proliferative lymph node tissue ($P<0.05$), and there was a negative correlation between miR-34a and FOXP1 in DLBCL tissue; compared with clinical stage I~II, normal LDH, IPI score 0-1, GCB subtype DLBCL tissue, the expression level of miR-34a significantly

基金项目:达州市级科技计划(指导性)项目(MDS18203)

作者单位:1.达州市中心医院血液内科,四川,达州 635099

2.达州市中心医院检验科,四川,达州 635099

*通信作者:杨丽华, E-mail:happyvik@163.com

decreased and the expression level of FOXP1 significantly increased in clinical stage III~IV, increased LDH, IPI score ≥ 2 , non GCB subtype DLBCL tissue. The progression free survival time of DLBCL patients with miR-34a expression level \geq median was longer than that of DLBCL patients with miR-34a expression level $<$ median, and the progression free survival time of DLBCL patients with FOXP1 expression level \geq median was shorter than that of DLBCL patients with FOXP1 expression level $<$ median. Conclusion Low expression of miR-34a and high expression of FOXP1 are associated with the occurrence, pathological progression and prognosis of DLBCL.

[KEY WORDS] Diffuse large B-cell lymphoma; MicroRNA-34a; Forkhead box protein P1

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)是最常见的非霍奇金淋巴瘤亚型,具有高度异质性和侵袭性^[1-2],发病机制至今未完全阐明。近些年,微小 RNA(microRNA, miR)在血液系统恶性肿瘤发病中的作用受到越来越多关注,miR 通过靶向调控抑癌基因或原癌基因的方式起到促癌或抑癌作用。MiR-34a 是一种具有抑癌作用的 miR,相关的临床研究证实 miR-34a 在 DLBCL^[3]、急性髓细胞白血病^[4]、慢性淋巴细胞性白血病^[5]患者中表达降低,但 miR-34a 在 DLBCL 发病过程中表达变化的临床意义及生物学意义尚不清楚。武君的细胞实验研究证实,miR-34a 对 DLBCL 细胞凋亡具有促进作用,靶向抑制原癌基因叉头框蛋白 P1(forkhead box protein 1, FOXP1)是 miR-34a 发挥促凋亡作用的分子机制^[6]。本研究将以 DLBCL 患者为对象,探究 DLBCL 中 miR-34a、FOXP1 表达的相关性及临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2016 年 2 月至 2019 年 7 月在达州市中心医院血液内科诊断为 DLBCL 的 70 例患者,另取同期经病理确诊为反应性增生淋巴结组织的 80 例患者作为对照。DLBCL 患者中男性 51 例、女性 29 例,年龄平均(52.32 \pm 10.37)岁;反应性淋巴结增生患者中男性 36 例、女性 24 例,年龄平均(49.95 \pm 10.75)岁。DLBCL 患者与反应性淋巴结增生患者一般资料的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。所有患者及家属均知情同意,本实验经医院伦理委员会批准。

纳入指标:①经病理学确诊为 DLBCL^[7];②未接受过任何放化疗;③临床病理资料完整。排除标准:①中枢神经系统、血管、纵膈大 B 细胞淋巴瘤;②合并或既往有其他恶性肿瘤;③合并自身免疫性疾病、急慢性感染。

1.2 研究方法

1.2.1 miR-34a 表达水平的检测

取 DLBCL 组织与反应性增生淋巴结组织,采用北京天根生化公司的试剂盒进行实验。首先提取组织中的 miR,而后反转录合成 cDNA,配置荧光定量 PCR 反应体系对 cDNA 进行扩增,反应体系如下:体系:cDNA 1 μ L、反应混合液 10 μ L、正向引物和反向引物各 0.5 μ L、去离子水补足体系至 20 μ L,分别使用目的基因 miR-34a 引物(上游序列:5'-TAGCGATTATGCTAGCTAG-3',下游序列为试剂盒内的通用引物序列)及内参基因 U6 引物(上游序列:5'-TATCGTTAGTAGCTAGCTAG-3',下游序列:5'-TAGCTATTAGCTAGCTAGA-3')。在 PCR 仪(美国 Bio-rad 公司)上设置反应程序为:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min、95 $^{\circ}$ C 15 s 及 60 $^{\circ}$ C 34 s 重复 40 个循环,得到 miR-34a 及 U6 的循环曲线,以 U6 为内参,按照公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 miR-34a 的表达水平。

1.2.2 FOXP1 表达水平的检测

取 DLBCL 组织与反应性增生淋巴结组织,加入组织裂解液(上海碧云天公司)提取组织蛋白,检测蛋白浓度后取 20 μ g 蛋白进行 western blot 检测,进行电泳分离不同分子量的蛋白,电转移到 PVDF 膜,5%脱脂牛奶室温封闭 PVDF 膜 1 h,1:1 000 稀释的 FOXP1 一抗(Abcam 公司)及 1:5 000 稀释的 β -actin 一抗(Sigma 公司)4 $^{\circ}$ C 孵育 PVDF 膜过夜,次日 1:1 000 稀释的二抗孵育 PVDF 膜 1h,最后显影得到蛋白条带,以 β -actin 的条带灰度值为内参,计算 FOXP1 的表达水平。

1.2.3 在线生物信息学分析

在 TargetScan 网站进行生物信息学分析,输入 FOXP1 基因信息,分析 FOXP1 基因 mRNA 3'UTR 中与 miR-34a 互补配对结合的碱基位点。

1.2.4 预后随访

采用门诊复查、电话回访等方式进行随访,随访截止日期 2020 年 12 月 31 日,随访内容为疾病

进展,记录无进展生存情况。

1.2.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件及 Prism6.0 软件进行统计学分析及制图,计量资料以均($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验;无进展生存率以 K-M 曲线描述,两组间无进展生存率比较采用 Log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DLBCL 组织与反应性增生淋巴结组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的比较

DLBCL 组织中 miR-34a 的表达水平低于反应性增生淋巴结组织,FOXP1 的表达水平高于反应性增生淋巴结组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 DLBCL 组织与反应性增生淋巴结组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table1 comparison of miR-34-a and FOXP1 expression in DLBCL and reactive proliferative lymph nodes ($\bar{x} \pm s$)

组织来源	n	miR-34a	FOXP1
DLBCL 组织	70	0.71±0.20	1.22±0.30
反应性增生淋巴结组织	60	1.00±0.26	0.59±0.12
<i>t</i> 值		7.179	15.248
<i>P</i> 值		0.000	0.000

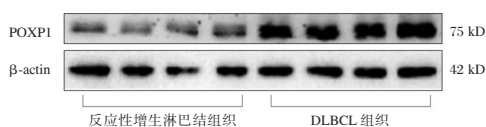


图 1 Western blot 检测

Figure 1 Detected by western blot

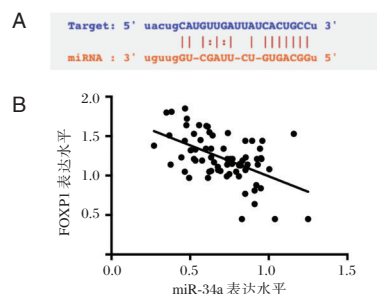
表 2 不同临床病理特征 DLBCL 组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of miR-34a and FOXP1 expression levels in DLBCL tissues with different clinicopathological characteristics ($\bar{x} \pm s$)

项目	n	miR-34a	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	FOXP1	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别	男	45	0.69±0.18	0.966	1.24±0.27	0.675	0.501
	女	25	0.74±0.25		1.19±0.34		
年龄	≤60 岁	22	0.74±0.28	0.900	1.27±0.39	0.855	0.396
	>60 岁	48	0.69±0.18		1.20±0.28		
临床分期	I~II	30	0.79±0.26	3.109	1.07±0.34	3.069	0.003
	III~IV	40	0.63±0.18		1.29±0.26		
LDH	正常	19	0.82±0.28	3.179	0.91±0.39	4.493	0.000
	升高	51	0.65±0.16		1.28±0.27		
IPI 评分	0~1	38	0.79±0.25	3.282	1.08±0.34	3.144	0.002
	≥2	32	0.61±0.20		1.32±0.29		
Hans 分型	GGB 亚型	25	0.80±0.26	3.589	1.02±0.34	3.767	0.001
	Non-GGB 亚型	45	0.62±0.16		1.31±0.29		

2.2 DLBCL 组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的相关性

经在线生物信息学分析,FOXP1 基因 mRNA 3' UTR 中含有 miR-34a 的结合序列;经 Pearson 检验,DLBCL 组织中 miR-34a 表达水平与 FOXP1 表达水平具有负相关关系($r = -0.528, P = 0.000$)。见图 2。



注:A 为 miR-34a 靶向 FOXP1 的在线生物信息学分析;B 为 miR-34a 与 FOXP1 相关性的 Pearson 检验分析。

图 2 DLBCL 组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的相关性
Figure 2 Correlation of miR-34a and FOXP1 expression levels in DLBCL

2.3 不同临床病理特征 DLBCL 组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的比较

不同性别、年龄的 DLBCL 组织中 miR-34a、FOXP1 表达水平的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);临床分期 III~IV 期、LDH 升高、IPI 评分 ≥2 分、Nom-GCB 亚型 DLBCL 组织中 miR-34a 的表达水平低于临床分期 I~II 期、LDH 正常、IPI 评分 0~1 分、GCB 亚型 DLBCL 组织,FOXP1 的表达水平高于临床分期 I~II 期、LDH 正常、IPI 评分 0~1 分、GCB 亚型 DLBCL 组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 不同 miR-34a 表达水平 DLBCL 患者预后的比较

DLBCL 组织中 miR-34a 表达水平的中位数为 0.723 5, miR-34a 表达水平 $\geq 0.723 5$ 的 DLBCL 患者无进展生存时间较 miR-34a 表达水平 $< 0.723 5$ 的 DLBCL 患者延长, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3。

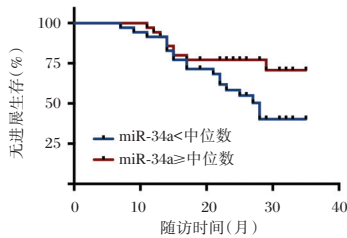


图3 不同 miR-34a 表达水平 DLBCL 患者无进展生存的 K-M 侵袭

Figure 3 K-M curve of progression free survival in DLBCL patients with different miR-34a expression levels

2.5 不同 FOXP1 表达水平 DLBCL 患者预后的比较

DLBCL 组织中 miR-34a 表达水平的中位数为 1.21, FOXP1 表达水平 ≥ 1.21 的 DLBCL 患者无进展生存时间较 FOXP1 表达水平 < 1.21 的 DLBCL 患者缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

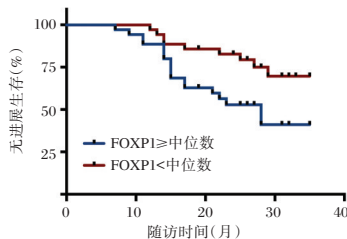


图4 不同 FOXP1 表达水平 DLBCL 患者无进展生存的 K-M 曲线

Figure 4 K-M curve of progression free survival in DLBCL patients with different FOXP1 expression levels

3 讨论

DLBCL 具有高度异质性和侵袭性, 发病机制未完全阐明, 原癌基因激活、抑癌基因失活可能与疾病的发生有关, 探究 DLBCL 发病过程中原癌基因及抑癌基因的调控机制有助于深入认识疾病的发病机制。miRs 是一类长度 18-25nt 的非编码 RNA, 具有广泛的生物学作用, 能够在转录后水平负调控基因表达, 多种原癌基因、抑癌基因的表达均受到 miRs 调控。因

此, miRs 成为了近些年研究恶性肿瘤发病机制的热门分子。

miR-34a 是一种具有抑癌作用的 miR, Chou KY^[8]、Li HL^[9]、Dong B^[10]、Xu XP^[11] 的研究分别在膀胱癌细胞、卵巢癌细胞、前列腺癌细胞、肝癌细胞中证实过表达 miR-34a 对癌细胞增殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为具有抑制作用。在血液系统恶性肿瘤的发病过程中, Balatti V^[4]、Huang Y^[5] 的研究分别在急性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞性白血病患者中检测到 miR-34a 表达降低, 表明 miR-34a 的低表达参与血液系统恶性肿瘤的发病。武君的研究通过细胞实验证实 miR-34a 对 DLBCL 细胞凋亡具有促进作用^[6], 本研究在此基础上检测了 DLBCL 组织中 miR-34a 表达的变化, 与反应性增生淋巴结组织比较, DLBCL 组织中 miR-34a 的表达明显降低, 与 miR-34a 在其他血液系统恶性肿瘤中低表达的趋势一致, 同时也提示 miR-34a 低表达与 DLBCL 的发病有关。

根据两项关于 DLBCL、慢性淋巴细胞白血病的细胞实验结果, miR-34a 的抑癌作用与靶向抑制 FOXP1 表达有关^[6, 12]。FOXP1 是重要的原癌基因, 在结直肠癌、肺癌的发病过程中, FOXP1 通过激活下游细胞周期蛋白、趋化因子受体促进癌细胞的增殖、迁移及侵袭^[13-14]。本研究结果提示原癌基因 FOXP1 高表达与 DLBCL 发病有关且 miR-34a 可能靶向 FOXP1 并参与 DLBCL 的发病。

在阐明 DLBCL 中 miR-34a、FOXP1 表达的变化及相关性后, 本研究进一步分析了 DLBCL 中 miR-34a/FOXP1 轴变化的临床意义。在 DLBCL 病理进展过程中, 临床分期增加、LDH 升高, 反映预后的 IPI 评分增加, Hans 分型也由预后较好的 GCB 亚型向预后较差的 non-GCB 亚型转换^[15-16]。本研究通过比较不同病理特征 DLBCL 可知: 随着临床分期增加、LDH 升高、IPI 评分增加及 Hans 分型变为 non-GCB 亚型, DLBCL 中 miR-34a 的表达降低、FOXP1 的表达增加, 提示 miR-34a、FOXP1 表达的变化与 DLBCL 病理进展有关。同时, 本研究还对 DLBCL 患者的无进展生存情况进行了随访, 随着 miR-34a 表达降低、FOXP1 表达增加, 患者的无进展生存时间明显缩短, 提示 miR-34a、FOXP1 表达的变化与 DLBCL 的预后有关。

综上所述, miR-34a 低表达、FOXP1 高表达可能与 DLBCL 的发生、病理进展及预后恶化有关, 与之相关可能的分子机制是 miR-34a 靶

向 FOXP1。但本研究存在局限之处,即对 DLBCL 预后的随访时间较短,无法得到足够数据分析总生存期,今后应扩大样本量、延长随访时间。

参考文献

- [1] Yin X, Xu A, Fan F, et al. Incidence and Mortality Trends and Risk Prediction Nomogram for Extranodal Diffuse Large B-Cell Lymphoma: An Analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End Results Database [J]. *Front Oncol*, 2019, 12(9): 1198.
- [2] Luo H, Yi P, Wang W, et al. Clinicopathological Features, Treatment, and Prognosis in Primary Diffuse Large B Cell Lymphoma of the Breast: A Retrospective Study of 46 Patients [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 17(25): 8671-8682.
- [3] 刘宜平, 胡宏, 许芳, 等. miR-34a 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达与临床预后的关系 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2017, 25(2): 455-459.
- [4] Balatti V, Tomasello L, Rassenti LZ, et al. miR-125a and miR-34a expression predicts Richter syndrome in chronic lymphocytic leukemia patients [J]. *Blood*, 2018, 132(20): 2179-2182.
- [5] Huang Y, Zou Y, Lin L, et al. Identification of serum miR-34a as a potential biomarker in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 22(4): 799-805.
- [6] 武君, 梁艳, 张森森, 等. miRNA-34a 靶向调控叉头框蛋白 P1 对活化 B 细胞样弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞凋亡的影响 [J]. *癌症进展*, 2020, 18(12): 1211-1216.
- [7] 中华医学会血液学分会, 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会. 中国弥漫大 B 细胞淋巴瘤诊断与治疗指南 (2013 年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(9): 816-819.
- [8] Chou KY, Chang AC, Tsai TF, et al. MicroRNA-34a-5p serves as a tumor suppressor by regulating the cell motility of bladder cancer cells through matrix metalloproteinase-2 silencing [J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(3): 911-920.
- [9] Li HL, Duan YA, Zhao N. MiR-34a-5p directly targeting TRIM44 affects the biological behavior of ovarian cancer cells [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(3): 1250-1260.
- [10] Dong B, Xu GC, Liu ST, et al. MiR-34a affects G2 arrest in prostate cancer PC3 cells via Wnt pathway and inhibits cell growth and migration [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(16): 8349-8358.
- [11] Xu XP, Peng XQ, Yin XM, et al. miR-34a-5p suppresses the invasion and metastasis of liver cancer by targeting the transcription factor YY1 to mediate MYCT1 upregulation [J]. *Acta Histochem*, 2020, 122(6): 151576.
- [12] Cerna K, Oppelt J, Chochola V, et al. MicroRNA miR-34a downregulates FOXP1 during DNA damage response to limit BCR signalling in chronic lymphocytic leukaemia B cells [J]. *Leukemia*, 2019, 33(2): 403-414.
- [13] Gong T, Li Y, Feng L, et al. CASC21, a FOXP1 induced long non-coding RNA, promotes colorectal cancer growth by regulating CDK6 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12): 12086-12106.
- [14] Sheng H, Li X, Xu Y. Knockdown of FOXP1 promotes the development of lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(4): 537-545.
- [15] 胡名娟, 李国伟, 欧阳小明. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤中 MYC 和 BCL-2 蛋白共表达的临床病理意义 [J]. *中南医学科学杂志*, 2017, 45(3): 283-287.
- [16] 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.
- (上接第 39 页)
- [8] Seok KG, Gil KS, Soo KH, et al. The relationship between chronic kidney function and homeostasis model assessment of insulin resistance and beta cell function in Korean adults with or without type 2 diabetes mellitus [J]. *Endocrine J*, 2017, 64(12): 1181-1190.
- [9] Monroy G, Tundidor D, Orellana I, et al. Antenatal oral glucose tolerance test in women with gestational diabetes mellitus: Fasting plasma glucose is the best predictor of both large for-gestational-age newborns and postpartum glucose tolerance [J]. *Minerva Endocrinol*, 2016, 42(4): 311-317.
- [10] Zeng Z, Xu Y, Zhang B. Antidiabetic Activity of a Lotus Leaf Selenium (Se)-Polysaccharide in Rats with Gestational Diabetes Mellitus [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2017, 176(2): 321-327.
- [11] Staniewski PJ, Szukiewicz D, Pyzlak M, et al. Impact of pre-gestational and gestational diabetes mellitus on the expression of glucose transporters GLUT-1, GLUT-4 and GLUT-9 in human term placenta [J]. *Endocrine*, 2016, 55(3): 799-808.
- [12] Erdemoglu E, Mungan T. Significance of detecting insulin-like growth factor binding protein-1 in cervicovaginal secretions: comparison with nitrazine test and amniotic fluid volume assessment [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2015, 83(7): 622-626.
- [13] Liang KW, Sheu HH, Lee WJ, et al. Differential expression of circulating vascular cell adhesion molecule-1 in subjects with coronary artery disease and cardiac syndrome X without known diabetes mellitus [J]. *Biomarkers*, 2017, 22(1-8): 798-804.
- [14] Sun X, Zhang Z, Ning H, et al. Sitagliptin down-regulates retinol-binding protein 4 and reduces insulin resistance in gestational diabetes mellitus: a randomized and double-blind trial [J]. *Met Brain Dis*, 2017, 32(3): 1-6.

血清 ProGRP 与 CYFRA21-1 水平辅助肺鳞癌诊断及预后的研究

陈军 范洪峰 芮晓艳*

[摘要] **目的** 探究血清神经内分泌素释放肽前体(ProGRP)与细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)在肺鳞癌诊断及预后监测中的应用。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2019 年 12 月安徽省滁州市第一人民医院收治的 102 例肺鳞癌为观察组,同期 38 例肺部良性病变患者为对照组,分析 ProGRP、CYFRA21-1 对肺鳞癌的诊断价值;并对 102 例肺鳞癌患者进行为期 2 年的随访,比较 ProGRP、CYFRA21-1 不同表达患者生存情况。**结果** 观察组 ProGRP、CYFRA21-1 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线显示 ProGRP、CYFRA21-1 诊断肺鳞癌的 AUC 分别为 0.779、0.808。ProGRP、CYFRA21-1 在 TNM 期 III~IV 期、有淋巴结转移、浸润程度 T3~T4 患者中的高表达率显著高于 I~II 期、无淋巴结转移、浸润程度 T1~T2 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析图显示,ProGRP、CYFRA21-1 高表达总体生存率明显低于低表达患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 血清 ProGRP、CYFRA21-1 对鉴别肺鳞癌与肺部良性病变,判断分期、浸润程度和淋巴结转移,以及判断鳞癌患者预后有一定参考价值。

[关键词] 神经内分泌素释放肽前体;细胞角蛋白 19 片段;肺鳞癌;诊断;预后

Study on the level of serum ProGRP and CYFRA21-1 assisting the diagnosis and prognosis of lung squamous cell carcinoma

CHEN Jun, FAN hongfeng, RUI Xiaoyan*

(Department of Respiratory and Critical Care, the First People's Hospital of Chuzhou City, Chuzhou, Anhui, China, 239000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application of serum neuronal precursor gastrin-releasing peptide (ProGRP) and cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1) in the diagnosis and prognosis monitoring of lung squamous cell carcinoma. **Methods** A total of 102 cases of lung squamous cell carcinoma admitted to the First People's Hospital of Chuzhou City, Anhui Province from January 2017 to December 2019 were selected as the observation group, and 38 patients with benign lung lesions in the same period were selected as the control group. The diagnostic value of ProGRP and CYFRA21-1 in lung squamous cell carcinoma was analyzed. 102 patients with squamous cell carcinoma of the lung were followed up for 2 years to compare the survival of patients with different expressions of ProGRP and CYFRA21-1. **Results** The levels of ProGRP and CYFRA21-1 in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The ROC curve showed that the AUCs of ProGRP and CYFRA21-1 in the diagnosis of lung squamous cell carcinoma were 0.779 and 0.808, respectively. The high expression rates of ProGRP and CYFRA21-1 in TNM stage III~IV patients with lymph node metastasis and invasion degree T3~T4 were significantly higher than those in patients with stage I~II, no lymph node metastasis, and infiltration degree T1~T2 ($P<0.05$). The Kaplan-Meier survival analysis chart showed that the overall survival rate of patients with high expression of ProGRP and CYFRA21-1 was significantly lower than that of patients with low expression ($P<0.05$). **Conclusion** Serum

基金项目:2020年度安徽省自然科学基金项目(2008085QC112)

作者单位:安徽省滁州市第一人民医院呼吸与危重症学科,安徽,滁州 239000

*通信作者:芮晓艳, E-mail: Ruixiaoyan@126.com

ProGRP and CYFRA21-1 have certain reference value for distinguishing lung squamous cell carcinoma from benign lung lesions, judging the stage, degree of invasion and lymph node metastasis, and judging the prognosis of squamous cell carcinoma patients.

[KEY WORDS] Pro - Gastrin - Releasing Peptide; Cytokeratin 19 fragment; Lung squamous cell carcinoma; Diagnosis; Prognosis

肺鳞癌即肺鳞状细胞癌,是非小细胞肺癌中的独特病理类型,其发病率较高,仅次于肺腺癌,发病率占肺癌的25%~30%,其生长速度较快,需尽早确诊,及时治疗,以改善患者预后,延长生存时间^[1-2]。血清肿瘤标志物为临床早期诊断癌症、监测预后的重要指标,且具有简单、快速、安全等优势。胃泌素释放肽前体(Pro-Gastrin-Releasing Peptide, ProGRP)、细胞角蛋白19片段(cytokeratin 19 fragment, CYFRA21-1)均为非小细胞肺癌的特异性肿瘤标志物,中华医学会检验分会、卫生部临床检验中心等《在《肿瘤标志物的临床应用建议》^[3]》中提出,ProGRP、CYFRA21-1可作为肺癌筛查、诊断、预后评估和疗效监测的指标。并且近年来越来越多研究证实,ProGRP、CYFRA21-1在肺癌的发生、进展中发挥重要作用^[4],可用于肺癌的早期诊断,但其对患者预后监测作用的报道尚少。本研究对ProGRP、CYFRA21-1在肺鳞癌诊断及预后监测中的应用进行分析,旨在为肺鳞癌的诊治提供参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年1月至2019年12月滁州市第一人民医院呼吸科收治的102例肺鳞癌作为观察组,其中男55例,女47例;年龄平均(65.23±10.38)岁;体质量指数(BMI)平均(22.58±1.79)kg/m²;肿瘤直径平均(3.24±0.83)cm;TNM分期:I期14例,II期36例,III期35例,IV期17例。观察组纳入标准:①符合《中华医学会肺癌临床诊疗指南(2018版)》^[5]中肺鳞癌诊断标准,并经病理检查确诊;②均接受ProGRP与CYFRA21-1检查者;排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②妊娠或哺乳期妇女;③合并严重心脑血管或肝肾功能异常等疾病者;④失去随访者。

另随机选取同期在本院经肺纤维镜、CT等检查确诊为肺部良性病变的38例患者作为对照组,其中男21例,女17例;年龄平均(63.50±11.16)岁;

BMI平均(22.23±1.68)kg/m²;疾病类型:肺炎15例,肺结核9例,支气管炎6例,支气管扩张5例,肺气肿3例。两组性别、年龄、BMI比较差异无统计学意义($P>0.05$)。所有入试者均签署知情同意书。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

于治疗前或体检前采集观察组和对照组空腹静脉血5min,静置30min后加速3000r/min加速离心(半径10cm),离心15min,分离血清,采用梅里埃VIDAS全自动免疫分析仪和电化学发光法检测ProGRP、CYFRA21-1水平,试剂盒均购自上海博谷生物科技有限公司,检测步骤严格参照试剂说明书:①样本中加入固相抗体,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤;②加入血清标本,充分反应后形成抗原复合物,PBS洗涤,去除杂质;③样本中加入酶标抗体,待与固相免疫复合物充分发硬后PBS洗去残余酶标抗体,固相载体上的酶量可定量反映受检物质水平;④加入反应底物和酶催化底物,参照颜色反应定性或定量分析抗原物质。

1.3 预后评估

对肺鳞癌102例患者进行电话、门诊等随访2年,随访截至值2021年12月。随访第1年每3月1次,第2年,每6月1次。患者总生存时间未确诊到随访结束或死亡的时间。

1.4 统计学处理

采用软件SPSS 22.0处理数据,计量资料符合正态分布,用($\bar{x}\pm s$)表示,采用独立样本 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;诊断价值采用受试者工作特征曲线(ROC)进行分析;采用Kaplan-Meier生存曲线进行生存情况分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组ProGRP、CYFRA21-1水平比较

观察组ProGRP、CYFRA21-1水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组 ProGRP、CYFRA21-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	ProGRP (ng/L)	CYFRA21-1 (ng/mL)
观察组	102	64.47±13.44	4.81±2.36
对照组	38	50.86±8.58	2.27±1.15
t 值		8.042	10.896
P 值		0.000	0.000

2.2 ProGRP、CYFRA21-1 对鉴别肺鳞癌与肺部良性病变的价值分析

ROC 曲线分析显示,ProGRP、CYFRA21-1 诊断肺鳞癌的 AUC 分别为 0.779、0.808,根据最佳临界值,当 ProGRP 高于 60.86 ng/L 时,其敏感度为 55.9%,特异度为 92.1%;当 CYFRA21-1 高于 4.15 ng/mL 时,其敏感度为 53.9%,特异度为 97.4%。见表 2、图 1。

表2 ProGRP、CYFRA21-1 对肺鳞癌的诊断价值分析

Table 2 Analysis of the diagnostic value of ProGRP and CYFRA21-1 for lung squamous cell carcinoma

指标	AUC	标准错误	95%CI	cut-off 值	约登指数	敏感性(%)	特异性(%)	P 值
ProGRP (ng/L)	0.779	0.038	0.703-0.854	60.86	0.480	55.9	92.1	0.000
CYFRA21-1 (ng/mL)	0.808	0.036	0.737-0.879	4.15	0.513	53.9	97.4	0.000

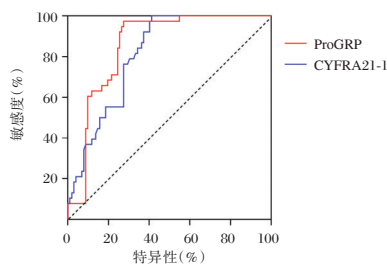


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

2.3 肺鳞癌患者中 ProGRP、CYFRA21-1 表达与临床病理特征的关系

102 例患者中 66 例 ProGRP 表达 ≥ 60.86 ng/L 的定义为高表达组,另外 36 例定义为低表达组;58 例 CYFRA21-1 ≥ 4.15 ng/L 的定义为高表达组,另外 44 例定义为低表达。ProGRP、CYFRA21-1 在 TNM 期 III~IV 期、有淋巴结转移、浸润程度 T3~T4 患者中的高表达率高于 I~II 期、无淋巴结转移、浸润程度 T1~T2 患者差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表3 肺鳞癌患者中 ProGRP、CYFRA21-1 表达与临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

Table 3 Relationship between the expression of ProGRP and CYFRA21-1 and clinicopathological characteristics in patients with lung squamous cell carcinoma [$n(\%)$]

临床特征	分类	ProGRP		χ^2 值	P 值	CYFRA21-1		χ^2 值	P 值
		高表达 (n=66)	低表达 (n=36)			高表达 (n=58)	低表达 (n=44)		
TNM 期	I~II 期	20 (30.30)	33 (91.67)	35.140	0.000	13 (22.41)	40 (90.91)	47.025	0.000
	III~IV 期	46 (69.70)	3 (8.33)			45 (77.59)	4 (9.09)		
淋巴结转移	有	39 (59.09)	0 (0)	34.442	0.000	37 (63.79)	2 (4.55)	37.189	0.000
	无	27 (40.91)	36 (100.00)			21 (36.21)	42 (95.45)		
浸润程度	T1~T2	29 (43.94)	32 (88.89)	19.579	0.000	24 (41.38)	37 (84.09)	18.987	0.000
	T3~T4	37 (56.06)	4 (11.11)			34 (58.62)	7 (15.91)		
分化程度	中低分化	40 (60.61)	19 (52.78)	0.585	0.444	33 (56.90)	26 (59.09)	0.049	0.824
	高分化	26 (39.39)	17 (47.22)			25 (43.10)	18 (40.91)		

2.4 肺鳞癌患者中 ProGRP、CYFRA21-1 表达与预后的关系

随访至 2020 年 12 月 31 日,102 例患者存活 48 例,死亡 54 例,生存率为 47.06% (48/102),总生存时间为 (31.92±12.67) 月。ProGRP、CYFRA21-1 高表达者存活率低于低表达者,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4、图 2。

表4 肺鳞癌患者中 ProGRP、CYFRA21-1 表达与预后的关系 [$n(\%)$]

Table 4 The relationship between the expression of ProGRP and CYFRA21-1 and the prognosis in patients with lung squamous cell carcinoma [$n(\%)$]

生存状态	ProGRP		CYFRA21-1	
	高表达 (n=66)	低表达 (n=36)	高表达 (n=58)	低表达 (n=44)
生存	18 (27.27)	30 (83.33)	13 (22.41)	35 (79.55)
死亡	48 (72.73)	6 (16.67)	45 (77.59)	9 (20.45)
χ^2 值	29.385		32.779	
P 值	0.000		0.000	

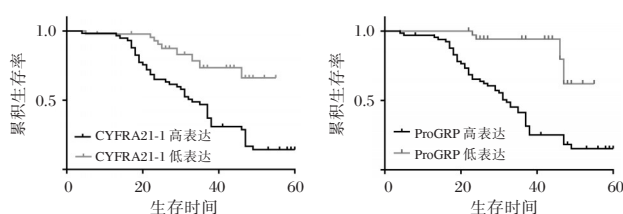


图2 ProGRP、CYFRA21-1 表达与预后的关系

Figure 2 The relationship between the expression of ProGRP and CYFRA21-1 and prognosis

3 讨论

肺癌是发病率最高的一种肿瘤,死亡率也较高,而肺鳞癌作为肺癌的一种,病因尚不明确,可能是由吸烟、空气污染、电离辐射、基因突变、遗传等多种因素相互作用引起的^[6-7]。本研究发现,肺鳞癌患者诊断初的血清 ProGRP、CYFRA21-1 水平可以辅助鉴别肺鳞癌与肺部良性病变,尤其特异度很高,且与患者肿瘤的 TNM 分期、浸润程度和淋巴结转移等相关。ProGRP 为 GRP 前体,是带有信号肽的蛋白质裂解产物,其结构稳定、半衰期长,可在血液中稳定存在,已成为早期诊断肺癌的新型标志物^[8-9]。ProGRP 属肺癌自主生长因子,正常情况下,由人体脑组织、胃神经纤维及胎儿肺部分泌,但人体出现肺癌后,肺癌细胞可合成、分泌 ProGRP,而 ProGRP 又可促进肿瘤生长、转移和侵袭。以往报道^[10]显示,ProGRP 在肺癌患者血清中高表达,动态观察 ProGRP 水平对判断患者病情、评估预后有一定价值。CYFRA21-1 为细胞角蛋白 19 的可溶性片段,可构成细胞骨架丝状物,当细胞发生癌变后,机体会大量分泌 CYFRA21-1,促进癌细胞增殖、转移^[11]。本研究结果提示 ProGRP、CYFRA21-1 表达上调可能参与肺鳞癌发生过程。ROC 曲线结果显示,ProGRP、CYFRA21-1 对肺鳞癌的诊断的 AUC 分别为 0.779、0.808,诊断的敏感度分别为 55.9%、53.9%,特异度分别为 92.1%、97.4%,提示 ProGRP、CYFRA21-1 对肺鳞癌具有一定的诊断价值。该结果与王宇琛^[12]等研究结果具有一致性,且其敏感度低可能与筛查的患者临床表现不明显及肿瘤较小有关。

另有报道^[13]称,ProGRP、CYFRA21-1 水平与肺鳞癌病理分期、转移、浸润等病理特征关系密切。本研究将 102 例肺鳞癌患者根据 ProGRP、

CYFRA21-1 水平分为高表达组和低表达组,分析结果显示 ProGRP、CYFRA21-1 在 TNM 期 III~IV 期、有淋巴结转移、浸润程度 T3~T4 患者中的高表达率高于 I~II 期、无淋巴结转移、浸润程度 T1~T2 患者。这是因为 ProGRP、CYFRA21-1 参与着肿瘤进展,例如 ProGRP 由肺癌细胞分泌后,可通过旁分泌机制促进肿瘤组织生长,诱导肿瘤细胞转移、侵袭;CYFRA21-1 在正常组织及良性疾病中含量较低,而在肺癌组织中大量存在,水平与肿瘤恶性程度成正比,可促进肿瘤进展。报道^[14-15]显示,高水平 ProGRP、CYFRA21-1 提示肺癌处在进展期或预后不良。本研究对 102 例患者随访至 2020 年 12 月 31 日,结果存活 48 例,死亡 54 例,生存率为 47.06% (48/102),总生存时间为 (31.92±12.67),并且 ProGRP、CYFRA21-1 高表达总体生存率明显低于低表达患者,提示 ProGRP、CYFRA21-1 水平可监测预后。李燕舞等^[16]分析 ProGRP、CYFRA21-1 在肺鳞癌中的表达水平与预后关系的报道中表示,ProGRP、CYFRA21-1 在肺鳞癌中表达水平升高,且与病理特征有关,可用于评估患者预后,与本研究结果类似。这是因为高水平 ProGRP、CYFRA21-1 往往提示肿瘤病理分期较高,恶性程度较高,导致患者治疗后预后效果较差,从而生存率较低。

综上所述,检测血清 ProGRP、CYFRA21-1 水平有助于鉴别肺鳞癌与肺部良性病变,当患者 ProGRP、CYFRA21-1 水平升高时,诊断肺鳞癌更为可靠。肺鳞癌患者 ProGRP、CYFRA21-1 高表达者存活率明显低于低表达者,预后较差。但本研究仍有一定限制,例如研究样本量较小,研究中心单一,未分析 ProGRP、CYFRA21-1 在不同病理类型肺癌中的表达差异等,可能会对研究结果造成一定影响,后期可在此基础上进行验证性探究。

参考文献

- [1] Juarez-Flores A, Zamudio GS, MV José. Novel gene signatures for stage classification of the squamous cell carcinoma of the lung[J]. Sci Rep, 2021, 11(4835): 1-10.
- [2] 赵仁成, 雷林, 蔡日东, 等. 2001-2015 年深圳市肺癌发病特征分析[J]. 中国慢性病预防与控制, 2019, 27(6): 475-478.
- [3] 中华医学会检验分会, 卫生部临床检验中心, 中华检验医学杂志编辑委员会. 肿瘤标志物的临床应用建议[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(2): 103-116.

(下转第 53 页)

NT-ProBNP、CRP联合尿酸及超声心动图对冠心病合并心力衰竭的诊断

赵雪利* 张德贤 王彦婷 刘滕飞

[摘要] **目的** 探讨N末端B型利钠肽(NT-ProBNP)、C反应蛋白(CRP)联合尿酸(UA)及超声心动图对冠心病合并心力衰竭的诊断价值。**方法** 选取2018年6月至2020年12月首都医科大学附属北京世纪坛医院住院部收治的135例冠心病合并心力衰竭患者作为观察组;以同期进行治疗的102例冠心病患者作为单纯冠心病组;选取同期110例健康体检者设为对照组。比较三组及不同心功能分级的冠心病合并心力衰竭患者NT-ProBNP、CRP及UA水平及心功能参数指标水平。绘制ROC曲线,分析NT-ProBNP、CRP、UA水平及心功能参数指标对患者心功能分级的预测价值。**结果** 三组NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV比较:观察组>单纯冠心病组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。三组LVEF比较:观察组<单纯冠心病组<对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同心功能分级的患者NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV比较:IV级>III级>II级>I级,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同心功能分级的患者LVEF比较:IV级<III级<II级<I级,差异有统计学意义($P<0.05$)。NT-ProBNP+CRP+UA+超声心动图心功能参数四者联合检测冠心病合并心力衰竭诊断的灵敏度(0.989)、特异度(0.993)、AUC(0.980)均显著高于单一指标检测($P<0.05$)。**结论** NT-ProBNP+CRP+UA+超声心动图心功能参数联合检测可为强化冠心病合并心力衰竭诊断、判断预后提供参考。

[关键词] NT-ProBNP; CRP; UA; 超声心动图; 冠心病合并心力衰竭

NT-ProBNP, CRP combined with uric acid and echocardiography in the diagnosis of coronary heart disease complicated with heart failure

ZHAO Xueli*, ZHANG Dexian, WANG Yanting, LIU Tengfei

(Department of Cardiovascular Medicine, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of the N-terminal pro brain natriuretic peptide (NT-ProBNP), C-reactive protein (CRP), Uric acid (UA) and echocardiography in coronary heart disease complicated with heart failure. **Methods** 135 patients with coronary heart disease and heart failure admitted to the inpatient department of Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from June 2018 to December 2020 were selected as the observation group. 102 patients with coronary heart disease who were treated in this hospital during the same period were taken as the simple coronary heart disease group. 110 healthy subjects in the hospital were set as a control group. The levels of NT-ProBNP, CRP, UA and cardiac function parameters were compared among the three groups and in patients with coronary heart disease and heart failure with different cardiac function grades. The ROC curve was drawn to analyze the predictive value of NT-ProBNP, CRP, UA levels and cardiac function parameters on the cardiac function classification of patients. **Results** Comparison of NT-ProBNP, CRP, UA, LVEDV, LVESV among the three groups: observation

基金项目:首都医科大学附属北京世纪坛医院实验室院内开放课题(2019-KF28)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院心血管内科,北京 100038

*通信作者:赵雪利, E-mail: zhaoxueli@bjsjth.cn

group > pure coronary heart disease group > control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Comparison of LVEF among the three groups: observation group < pure coronary heart disease group < control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Comparison of NT-ProBNP, CRP, UA, LVEDV, LVESV in patients with different cardiac function grades: grade IV > grade III > grade II > grade I, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Comparison of LVEF in patients with different cardiac function grades: grade IV < grade III < grade II < grade I, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The sensitivity (0.989), specificity (0.993) and AUC (0.980) of NT-ProBNP + CRP + UA + echocardiographic cardiac function parameters in the combined detection of coronary heart disease combined with heart failure were significantly higher than the single indicator detection ($P < 0.05$). **Conclusion** The combined detection of the NT-ProBNP + CRP + UA + echocardiographic cardiac function parameters can provide a reference for strengthening the diagnosis and prognosis of coronary heart disease complicated with heart failure.

[KEY WORDS] NT-ProBNP; CRP; UA; Echocardiography; Coronary heart disease with heart failure

冠心病在中老年人群中较高的发病率,该病为冠状动脉粥样硬化导致血管腔狭窄或闭塞,引发心肌缺血、缺氧或坏死^[1]。冠心病合并慢性心力衰竭为临床常见的心血管疾病,具有较高的致死率,严重威胁患者生命健康,对该病的早期诊断及治疗是改善患者预后的关键^[2]。N末端B型利钠肽(N-Terminal pro brain natriuretic peptide, NT-ProBNP)是脑钠肽(Brain Natriuretic Peptide, BNP)裂解后的片段,研究发现其相当于BNP,在轻度心功能不全、慢性心力衰竭患者中检测价值更大^[3-5]。C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、尿酸(Uric acid, UA)等指标均与冠心病患者预后密切相关^[6]。超声心动图具有无创性、操作简单、便捷等优势,在冠心病合并慢性心力衰竭患者中的应用逐渐广泛^[7]。本研究旨在通过评估NT-ProBNP、CRP、UA和超声心动图心功能参数测量值,判断冠心病合并慢性心力衰竭患者病情,并比较这些指标预测冠心病合并慢性心力衰竭患者病情严重程度的实用性。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2020年12月首都医科大

学附属北京世纪坛医院住院部收治的135例冠心病合并心力衰竭的患者作为观察组。纳入标准:①均经冠脉造影检查确诊为冠心病合并慢性心力衰竭^[8];②均存在左室松弛性异常、舒张期扩张异常、充盈异常、僵硬度异常;③影像资料、临床资料无缺失者。排除标准:①碘对比剂过敏者;②因精神障碍、语言障碍无法配合治疗者;③合并肝、肾、心等重要器官恶性肿瘤者。以同期进行治疗的102例冠心病患者作为单纯冠心病组;选取同期110例健康体检者设为对照组。三组性别、年龄的一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或其家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 NT-ProBNP、CRP及UA检测方法

对照组于体检当日、冠心病合并心力衰竭组及单纯冠心病组患者于入院后次日清晨8:00空腹抽取肘静脉血4 mL,其中2 mL用含0.109 mol/L枸橼酸1:9抗凝,3 500 r/min离心10 min分离血浆。采用免疫比浊法检测CRP水平(奥林巴斯AU400全自动生化分析仪;宁波美康免疫比浊CRP检测试剂),采用酶比色测定法检测UA(奥林巴斯

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)	病程(年)	NYHA 分级			
		男	女			I级	II级	III级	IV级
观察组	135	91(67.41)	44(32.59)	72.14±5.12	7.58±1.88	31(22.96)	35(25.93)	39(28.89)	30(22.22)
单纯冠心病组	102	69(67.65)	33(32.35)	71.85±4.95	7.67±1.95	22(21.57)	28(27.45)	29(28.43)	23(22.55)
对照组	110	75(68.18)	35(31.82)	71.41±4.38					
F/ χ^2 值			0.017	0.690	0.359			0.108	
P值			0.992	0.502	0.720			0.991	

AU400全自动生化分析仪;杭州健立生物科技有限公司UA检测试剂),采用学发光法检测NT-ProBNP水平(美国贝克曼库尔特DXI800全自动免疫分析仪;河南华程氏生物科技股份有限公司NT-ProBNP检测试剂)。

1.2.2 超声心动图检查方法

所有操作及测量均由同一超声心电图医师完成。采用IE型超声心动图仪,三维超声X4探头,频率为2~4 MHz。受检者取左侧卧位,同步显示心电图。在心尖生窗取心尖四腔心肌两腔心,切面应用双平面simpson法测量左心室舒张末容积(leftventricular end-diastolic volume, LVEDV)、左心室收缩末容积(Left Ventricular End-Systolic Volume, LVESV)、左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件包进行统计处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较采用 F 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估诊断价值,计算曲线下面积(AUC),AUC值越高,诊断价值越高;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数测量值比较

三组NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV比较:观察组>单纯冠心病组>对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。三组LVEF比较:观察组<单纯冠心病组<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 不同心功能分级的冠心病合并心力衰竭患者NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数测量值比较

不同心功能分级的患者NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV比较:Ⅳ级>Ⅲ级>Ⅱ级>Ⅰ级,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同心功能分级的患者LVEF比较:Ⅳ级<Ⅲ级<Ⅱ级<Ⅰ级,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.3 NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数指标对冠心病合并心力衰竭患者心功能分级的预测价值

NT-ProBNP+CRP+UA+超声心动图心功能参数四者联合检测冠心病合并心力衰竭灵敏度(0.989)、特异度(0.993)、AUC(0.980)均显著高于单一指标检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表2 三组NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数测量值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of three groups of NT-ProBNP, CRP, UA levels and echocardiographic cardiac function parameters measured values ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NTProBNP(pg/mL)	CRP(mg/L)	UA(μ mol/L)	LVEDV(v/mL)	LVESV(v/mL)	LVEF(%)
观察组	135	2025.25±451.23	20.78±4.56	510.10±72.63	118.24±40.36	58.46±10.15	57.13±7.25
单纯冠心病组	102	443.65±88.46 ^a	11.65±2.14 ^a	437.56±66.32 ^a	89.24±37.41 ^a	43.73±7.56 ^a	62.41±8.67 ^a
对照组	110	90.74±22.83 ^{ab}	6.42±1.45 ^{ab}	284.54±51.42 ^{ab}	78.29±22.68 ^{ab}	34.11±6.27 ^{ab}	66.14±11.08 ^{ab}
F 值		1610.800	643.730	375.630	43.670	266.530	64.180
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与观察组比较,^a $P < 0.05$;与单纯冠心病组比较,^b $P < 0.05$ 。

表3 不同心功能分级的冠心病合并心力衰竭患者NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数测量值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of NT-ProBNP, CRP, UA levels and echocardiographic cardiac function parameters measured values in patients with coronary heart disease complicated by heart failure with different cardiac function classifications ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NT-ProBNP(pg/mL)	CRP(mg/L)	UA(μ mol/L)	LVEDV(v/mL)	LVESV(v/mL)	LVEF(%)
I级	31	1728.42±399.46	14.56±3.65	440.97±65.56	90.78±27.93	45.27±7.14	65.91±9.11
II级	35	1880.34±411.41 ^a	18.36±4.11 ^a	489.65±71.26 ^a	107.32±38.45 ^a	53.25±7.88 ^a	59.23±8.35 ^a
III级	39	2111.56±459.65 ^{ab}	21.12±4.82 ^{ab}	523.13±75.43 ^{ab}	126.44±43.57 ^{ab}	65.43±11.43 ^{ab}	54.86±7.03 ^{ab}
IV级	30	2388.83±540.24 ^{abc}	29.59±5.69 ^{abc}	588.45±77.89 ^{abc}	148.69±51.26 ^{abc}	69.11±14.25 ^{abc}	48.56±4.33 ^{abc}
F 值		12.470	58.370	22.250	11.410	35.520	29.670
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

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

表4 NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数指标对冠心病合并心力衰竭患者心功能分级的预测价值
Table 4 The predictive value of NT-ProBNP, CRP, UA levels and echocardiographic cardiac function parameters in predicting the classification of cardiac function in patients with coronary heart disease and heart failure

预测指标	敏感度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P值
NT-ProBNP	0.841	0.866	0.856	0.774~0.937	0.707	<0.001
CRP	0.784	0.793	0.783	0.689~0.876	0.577	<0.001
UA	0.884	0.897	0.871	0.803~0.939	0.781	<0.001
超声心动图心功能参数	0.911	0.928	0.907	0.847~0.967	0.839	<0.001
四者联合检测	0.989	0.993	0.980	0.960~1.000	0.982	<0.001

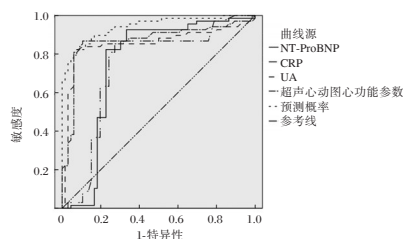


图1 ROC预测图

Figure 1 ROC prediction chart

3 讨论

心力衰竭是冠心病患者心脏结构及功能损害的终末阶段,近年来冠心病合并心力衰竭患者死亡率居高不下^[9]。早期判断冠心病合并慢性心力衰竭患者病情变化对尽早干预治疗、改善患者预后具有重要意义。临床急需寻找新型的生化标志物,提高冠心病合并心力衰竭早期诊断率,以降低心力衰竭发病率、死亡率,提高患者生存期。

在心力衰竭发生发展过程中,许多体液调节因子参与了心血管系统的调节。NT-ProBNP是近年来用于判断心力衰竭患者预后的重要生化指标,NT-ProBNP无生理活性,半衰期长于BNP,已有多项研究证实NT-ProBNP在心力衰竭的诊断中是准确的,可作为心力衰竭患者死亡的独立预测因子^[10-11]。CRP是临床用于反映急性炎症反应的检测指标,在炎症及组织发生损伤后8h内,血清CRP浓度会急剧增高,并与炎症损伤程度呈正相关^[12]。UA是核酸中一种嘌呤代谢产物,可通过肾脏排出体外,小部分在肾小管被重吸收^[13]。但心血管疾病患者血清中UA均处于较高水平,多余的尿酸便会在体内聚集,出现高UA。临床研究中,UA与冠心病合并心力衰竭患者的关系研究较少,但已有较多研究报道高水平UA是心血管疾病发生的危险因素^[14-15]。本研究比较了不同人群中NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV、LVEF水平,

结果显示:三组NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV比较:观察组>单纯冠心病组>对照组,三组LVEF比较:观察组<单纯冠心病组<对照组,与既往研究结果相符^[16]。可见在冠心病合并心力衰竭患者、单纯冠心病患者、健康人群中NT-ProBNP、CRP、UA表达水平不同,证实三者可作为诊断冠心病合并心力衰竭的标志物。

冠心病合并心力衰竭患者存在左心室结构异常,会导致左心室局部容积扩大,引起收缩功能欠佳^[17]。本研究进一步分析不同心功能分级的冠心病合并心力衰竭患者NT-ProBNP、CRP、UA水平及超声心动图心功能参数指标水平差异,结果显示:四组NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV比较:IV级>III级>II级>I级,四组LVEF比较:IV级<III级<II级<I级。可见随着心功能分级的加重,患者NT-ProBNP、CRP、UA、LVEDV、LVESV水平逐渐升高,LVEF水平逐渐下降,推测四者可作为评估冠心病合并心力衰竭患者心功能分级的生化指标。

绘制ROC曲线,结果显示:NT-ProBNP+CRP+UA+超声心动图心功能参数四者联合检测冠心病合并心力衰竭灵敏度、特异度、AUC均显著高于单一指标检测。提示联合四项指标诊断冠心病合并心力衰竭患者心功能分级的能力较单一指标诊断能力强,可提高预测准确性。但由于本研究条件有限,仍存在一定不足,期待在后续研究中通过动物实验证实这一结论。

综上所述,NT-ProBNP+CRP+UA+超声心动图心功能参数联合检测可为强化冠心病合并心力衰竭诊断、判断预后提供参考。

参考文献

- [1] 臧冬梅,孟祥慧,杜玉杰,等.通心络胶囊联合地高辛对慢性心力衰竭患者的临床疗效[J].微循环学杂志,2020,30(1):29-33.

- [2] 王晓玲, 张立杰, 肖四海, 等. 冠心病患者血清 NT-proBNP、尿酸和 hs-CRP 水平与冠状动脉病变的关系[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(3):217-219+242.
- [3] 闫孝永. 血浆肌钙蛋白 I 和 NT-proBNP 含量对儿童肺炎合并心力衰竭的诊断价值[J]. 江苏大学学报(医学版), 2017, 27(4):312-315.
- [4] 沈怡晴. 超声心动图联合血清检测 NT-proBNP 及 Hcy 对 CHF 的诊断价值分析[J]. 西南国防医药, 2019, 29(3):347-349.
- [5] 龙竞伟, 李平. 肌钙蛋白 T 和 CRP 与 NT-proBNP 联合检测在慢性心力衰竭早期诊断的价值[J]. 中华全科医学, 2020, 17(3):435-437.
- [6] 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.
- [7] 汪润, 曹高镇, 林庆陕. GDF-15、ST-2、NT-proBNP 在不同左室射血分数心力衰竭患者中的表达水平以及联合应用价值[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(1):73-76, 80.
- [8] Gao Y, Gao Y, Zhu R, et al. Shenfu injection combined with furosemide in the treatment of chronic heart failure in patients with coronary heart disease: A protocol of randomized controlled trial [J]. Medicine, 2021, 100(3):24-27.
- [9] 贾磊, 高钊. 冠心病不稳定型心绞痛合并冠脉狭窄患者 CRP、Angptl2、CTRP1 水平变化及临床意义[J]. 海南医学, 2020, 47(8):966-968.
- [10] 朱秀兰, 谢凤. 老年慢性心力衰竭病人血清卵磷脂蛋白 1 水平与 NT-proBNP 及超声心动图指标的相关性分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(21):3-6.
- [11] 刘菲, 赵洋洋, 武鑫, 等. 联合检测脂联素和 NT-proBNP 在小儿肺炎合并心力衰竭中的诊断价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(6):936-938.
- [12] 白兴合, 代玉川, 刘平, 等. 慢性心力衰竭合并糖尿病患者血浆 BNP、CRP 和 HbA1c 的表达及与心功能分级的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1):119-122+127.
- [13] 张若尘, 马爱群, 卢群. PON1 浓度在冠心病合并肥胖患者中的变化及其与代谢状态、炎性反应的相关性[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2020, 20(4):31-35.
- [14] Held C, Hadziosmanovic N, Hagstrom E, et al. 2212 Body mass index and its association to cardiovascular outcomes in patients with stable coronary heart disease - experiences from the STABILITY study [J]. Eur Heart J, 2019, 39(1):5-11.
- [15] Tomasdottir M, Held C, Hadziosmanovic N, et al. Risk Markers of Incident Atrial Fibrillation in Patients with Coronary Heart Disease [J]. Am Heart J, 2021, 96(6):98-101.
- [16] 陈岗, 康妮娜. 冠心病患者血清 PAPP-A、PC、hs-CRP 水平与冠脉病变程度及预后的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 26(3):78-81.
- [17] Cenko E, Schaar M, Yoon J, et al. Sex-Related Differences in Heart Failure After ST-Segment Elevation Myocardial Infarction [J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 74(19):2379-2389.

(上接第 48 页)

- [4] 刘志华, 卢旭妹, 容元. 血清标志物 CYFRA21-1、SCC、NSE、CEA 及 ProGRP 联合检测在非小细胞性肺癌中的诊断价值[J]. 河北医药, 2019, 41(10):26-30.
- [5] 中华医学会, 中华医学会儿科分会, 中华医学杂志社. 中华医学会肺癌临床诊疗指南(2018 版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(12):30.
- [6] Limberis CL, Nayler S, Rapoport BL. A Rare Case of Synchronous Waldenström's Macroglobulinemia and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma with a Lung Mass: A Diagnostic and Management Dilemma [J]. Case Rep Oncol, 2020, 13(3):1474-1482.
- [7] 曾玉环, 夏亮, 许燕君, 等. 2014 年广东省肿瘤登记地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(5):623-626.
- [8] 刘彦明, 何珊, 张健, 吴良银, 蔡文灿. 两种方法 SCCA 检测结果与组织鳞癌病理诊断的符合率比较[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(5):823-826.
- [9] 高翔, 陈艳炯. 血清肿瘤标志物 NSE、CEA、SCC、ProGRP 及 CYFRA21-1 对肺癌病理类型的鉴别诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(3):366-368.
- [10] 王欣欣, 黄松洁, 于洋, 等. 血清 ProGRP、SCCAg 及 HE4 与非小细胞肺癌患者病理特征的关系及其诊断价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(13):2497-2501.
- [11] 赵虹, 纪秋野, 王博扬. 流式荧光发光法联合检测肺癌患者血清 CEA、CYFRA21-1、CA125 及 NSE 的性能评价[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(8):1434-1437.
- [12] 王宇琛, 章春芝, 王大伟, 等. 血清 CYfra21-1、LDH、NSE 水平检测在肺癌患者辅助诊断中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9):1226-1229, 1233.
- [13] 刘道利, 邱芳华, 周伟青, 等. ProGRP、CYFRA21-1 和胱抑素 C 联合检测对不同病理类型肺癌的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(1):9-12.
- [14] 陈雯微. 血清 CEA、CA125 及 Cyfra21-1 水平与中晚期非小细胞肺癌患者的临床特征与预后相关性分析[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(11):122-124.
- [15] 应晓珍, 林霞, 鲍黎明, 等. 非小细胞肺癌患者血清癌胚抗原、神经元特异性烯醇化酶、胃泌素释放肽前体水平与患者预后关系研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(10):1211-1213.
- [16] 李燕舞, 殷俊, 梁秋萍, 等. 血清肿瘤相关标志物在肺鳞癌中的表达水平与预后的关系[J]. 西部医学, 2021, 33(1):84-88.

PTC组织中MTA1、Gankyrin表达的变化与术后复发、转移的关系

潘晓培* 钱连连 李红强 王慧慧

[摘要] **目的** 探讨甲状腺乳头状癌(PTC)组织中肿瘤转移相关基因蛋白1(MTA1)、癌性锚蛋白重复序列(Gankyrin)蛋白的表达与肿瘤术后复发、转移的关系。**方法** 选取郑州大学第一附属医院2017年1月至2019年3月手术治疗的173例PTC患者术后标本作为PTC组,另选取同期手术获取的甲状腺良性肿瘤组织160例作为良性病变组;采用免疫组化染色检测两组标本中的MTA1、Gankyrin蛋白表达,分析不同年龄、性别、TNM分期、肿瘤病灶大小、淋巴结转移组织中MTA1、Gankyrin蛋白表达情况,采用Logistic回归分析法分析上述各项指标与PTC术后转移复发的关系。**结果** PTC组MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性表达率均高于良性病变组,差异有统计学意义($P<0.05$);PTC标本中MTA1蛋白阳性表达在不同TNM分期、是否发生淋巴结转移、是否出现术后复发转移的患者中比较,差异有统计学意义($P<0.05$);Gankyrin蛋白阳性表达率在术后是否出现复发转移的PTC组织中比较,差异有统计学意义($P<0.05$);Logistic回归分析结果显示,MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性表达及TNM分期为Ⅲ期+Ⅳ期是在术后出现复发转移的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** MTA1表达与PTC恶性程度增加有关,MTA1蛋白、Gankyrin蛋白表达增强可能会增大PTC患者术后复发转移的风险。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;肿瘤转移相关基因蛋白1;Gankyrin蛋白;复发;转移

Relationship between the expression changes of MTA1 and Gankyrin in PTC tissues and postoperative recurrence and metastasis

PAN Xiaopei*, QIAN Lianlian, LI Hongqiang, WANG Huihui

(Department of Thyroid Surgery Division 1, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 470000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of tumor metastasis-associated gene protein 1 (MTA1) and Gankyrin protein in thyroid papillary carcinoma (PTC) and the recurrence and metastasis of tumor. **Methods** The postoperative specimens of 173 patients with PTC who were surgically treated in the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2017 to March 2019 were selected as the PTC group, and 160 cases of benign thyroid tumor tissue obtained by surgery during the same period were selected as the benign lesion group. Immunohistochemical staining was used to detect the expressions of MTA1 and Gankyrin proteins in the two groups of specimens, and the expressions of MTA1 and Gankyrin proteins in different age, gender, TNM stage, tumor lesion size, and lymph node metastases were analyzed. Logistic regression analysis was used to analyze the relationship between the above indicators and the recurrence and metastasis after PTC. **Results** The positive expression rates of MTA1 protein and Gankyrin protein in the PTC group were higher than those in the benign lesion group, the difference was statistically significance ($P<0.05$). The positive expression rate of Gankyrin protein was compared in PTC tissues with or without recurrence and metastasis after operation, and the difference was statistically significant ($P<0.05$).

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190148)

作者单位:郑州大学第一附属医院甲状腺外科,河南,郑州470000

*通信作者:潘晓培, E-mail: panxiaopei633843@163.com

Logistic regression analysis showed that positive expression of MTA1 protein and Gankyrin protein and TNM stage III+IV were independent risk factors for recurrence and metastasis after surgery ($P<0.05$). **Conclusion**

The expression of MTA1 is related to the increased malignancy of PTC, and the enhanced expression of MTA1 protein and Gankyrin protein may increase the risk of postoperative recurrence and metastasis in PTC patients.

[KEY WORDS] PTC; MTA1; Gankyrin protein; Recurrence; Metastasis

临床上甲状腺乳头状癌(Papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见的甲状腺恶性肿瘤。在长期精神压力或者高碘摄入的群体中,PTC的发病率可进一步上升^[1]。虽然经外科治疗大部分PTC患者能够获得较好的临床疗效,但肿瘤的转移、复发仍然是影响预后的主要因素^[2],临床上缺乏对于PTC临床复发或者转移风险的评估指标,而通过对于PTC发病过程中复发或者转移风险预测指标的研究,能够为临床上PTC的治疗方案的制定提供参考。肿瘤相关蛋白在肿瘤细胞的生物学特征调控过程中发挥重要作用。肿瘤转移相关基因蛋白1(Tumor metastasis related gene protein 1, MTA1)是肿瘤细胞转移调控相关因子,其能够通过促进癌细胞上皮-间质转换提高肿瘤细胞的增殖浸润程度^[3-4];癌性锚蛋白重复序列(Cancerous ankyrin repeat, Gankyrin)是癌细胞增殖调控因子,其对于癌细胞干细胞特性的维持作用,能够显著提高残留肿瘤细胞的复发风险^[5]。为了揭示MTA1、Gankyrin的表达与PTC患者的病情关系,为临床PTC的诊疗提供参考,本次研究探讨了PTC患者中MTA1、Gankyrin的表达情况,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取郑州大学第一附属医院2017年1月至2019年3月手术治疗的173例PTC患者术后标本作为PTC组,其中男56例、女117例,年龄平均(48.5±9.7)岁;TNM分期标准^[3]:I期44例、II期76例、III期41例、IV期12例;病灶直径≥2.0 cm 75例、<2.0 cm 98例;淋巴结转移阳性74例;术后5年复发23例、转移9例。另选取同期手术获取的甲状腺良性肿瘤组织160例作为良性病变组,其中男55例、女105例,年龄平均(46.3±9.0)岁;其中甲状腺腺瘤90例、结节性甲状腺肿47例、其他23例;两组研究对象年龄、性别比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 诊断标准

PTC的诊断标准参考中华医学会制定的标

准^[6]:①患者年龄≤79岁;②手术标本均来源于手术后;③手术前患者未接受放疗、免疫治疗;④本研究符合《赫尔辛基宣言》中医学临床实验相关标准,基础资料完整。⑤所有受试者均知情同意。排除标准:①急性心肌梗死;②合并其它器官系统恶性肿瘤;③既往具有甲状腺手术史;④其他系统的严重疾病。

1.3 方法

①免疫组化染色:采用免疫组化进行MTA1蛋白、Gankyrin蛋白的检测:PTC组织标本常规甲醛固定,石蜡包埋切片,二甲苯及酒精脱蜡至水化,EDTA修复抗原,3% H₂O₂孵育20 min封闭过氧化物酶,加入山羊血清37℃温育10 min,加入MTA1、Gankyrin第一抗体(MTA1:兔来源浓度1:100,购自ABGENT公司;Gankyrin:兔来源浓度1:100,购自Abcam公司),4℃孵育过夜,次日置于室温30 min后,PBS清洗3次,甩干,加入生物素荧光标记的二抗(南京碧云天生物公司浓度:1:2 000)3 mL,37℃孵育20~30 min,PBS清洗3次,每次5 min,加入HRP辣根酶标记链霉卵白素(武汉生之源生物公司试剂盒批号:20178496),HRP-DAB底物显色试剂盒(PA110)显色,自来水冲洗,复染,脱水、透明、封片。

②结果判定^[4]:MTA1蛋白阳性着色主要定位于细胞核,Gankyrin蛋白的阳性着色主要定位于细胞质、细胞膜,呈黄色、棕黄色、褐色表达,a.根据着色强度:0分为无色、1分为淡黄色、2分为棕黄色、3分为褐色;b.根据阳性细胞比例:阳性细胞数目所占比例≤10%为1分、阳性细胞所占比例11%~50%为2分、阳性细胞数51%~75%为3分、阳性细胞数所占比例>75%为4分,两种积分相乘总分<3分为阴性、≥3分为阳性。

1.4 统计分析

采用SPSS 21.0软件进行数据分析统计,计量资料采用($\bar{x}±s$)表示,两组间比较采用t检验;计数资料用n(%)表示,行 χ^2 检验;PTC术后复发转移影响因素分析采用二元Logistic回归分析法; $P<$

0.05为差异有统计学意义。

2 结果

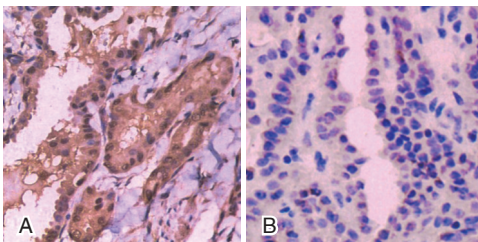
2.1 PTC组和良性病变组标本中MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性表达率比较

PTC组患者MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性表达率均高于良性病变组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1、图1。

表1 MTA1、Gankyrin蛋白阳性表达率比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of positive expression rates of MTA1 protein and Gankyrin protein [$n(\%)$]

组别	n	MTA1蛋白		Gankyrin蛋白	
		阳性	阴性	阳性	阴性
PTC组	173	118(68.21)	55(31.79)	128(73.99)	45(26.01)
良性病变组	160	47(29.38)	113(70.63)	41(25.63)	119(74.38)
χ^2 值		50.144		77.788	
P值		0.000		0.000	



注:A、B分别为MTA1、Gankyrin蛋白阳性表达。

图1 PTC组织中MTA1、Gankyrin蛋白阳性表达(SP, $\times 200$)

Figure 1 MTA1 and Gankyrin proteins were positively expressed in PTC tissue (SP, $\times 200$)

2.2 PTC标本中MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性与患者病理学特征及术后复发转移的关系

PTC标本中MTA1蛋白阳性表达在不同TNM分期、是否发生淋巴结转移、是否出现术后复发转移的患者中比较,差异有统计学意义($P < 0.05$); Gankyrin蛋白阳性表达率在术后是否出现复发转移的PTC组织中比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 影响PTC术后复发转移的多因素分析

采用Logistic回归分析PTC术后复发转移的危险因素,结果显示,MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性表达及TNM分期为Ⅲ期+Ⅳ期是在术后出现复发转移的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

3 讨论

甲状腺癌是由于不同因素诱导的甲状腺上皮细胞的异常增殖及细胞永生性。近年来随着生活

表2 PTC标本中MTA1蛋白、Gankyrin蛋白阳性表达与患者病理学特征及术后复发转移的关系 [$n(\%)$]

Table 2 Relationship between the positive expression of MTA1 protein and Gankyrin protein in PTC specimens and pathological characteristics and postoperative recurrence and metastasis [$n(\%)$]

因素	n	MTA1阳性	Gankyrin阳性
年龄(岁)	≥ 45	107	76(71.03)
	< 45	66	42(63.64)
	χ^2 值		1.029
	P值		0.311
性别	男	56	34(60.71)
	女	117	84(71.79)
	χ^2 值		2.144
	P值		0.143
TNM分期	I期+II期	120	75(62.50)
	III期+IV期	53	43(81.13)
	χ^2 值		5.885
	P值		0.015
病灶直径	≥ 2.0 cm	75	57(76.00)
	< 2.0 cm	98	61(62.24)
	χ^2 值		3.707
	P值		0.054
淋巴结转移	阳性	74	58(78.38)
	阴性	99	60(60.61)
	χ^2 值		6.668
	P值		0.013
复发转移	是	32	27(84.38)
	否	141	91(64.54)
	χ^2 值		4.732
	P值		0.030

表3 Logistic回归分析结果

Table 3 Logistic regression analysis results

参数	β 值	SE值	Walds χ^2 值	OR值	95%CI	P值
TNM Ⅲ期+Ⅳ期	0.617	0.297	4.316	1.853	1.035~3.317	0.048
病灶直径	0.702	0.415	2.861	2.018	0.895~4.551	0.117
淋巴结转移	1.396	0.904	2.385	4.039	0.687~23.756	0.183
MTA1蛋白	0.884	0.421	4.409	2.421	1.061~5.524	0.047
Gankyrin蛋白	0.529	0.224	5.577	1.697	1.094~2.633	0.032

压力的增加和工作节奏的加快,甲状腺恶性肿瘤的发病具有显著低龄化趋势。其中PTC占到了所有甲状腺恶性肿瘤的35%以上,是甲状腺恶性肿瘤的主要类型之一,由于其在甲状腺恶性肿瘤中占有较高的比例,因此PCT的临床治疗在甲状腺外科中尤其受到重视^[7-8]。PTC术后的复发转移,不仅是影响患者预后的主要因素,而且复发后的再次外科治疗,发生副损伤的机率增高,增加了PTC患者的致残风险。现阶段缺乏对于PTC患者复发转移的相关因素的预测评估,主要通过其临

床及影像特征,目前尚且缺乏有效的血清学指标。虽然甲状腺球蛋白等血管因子,能够在甲状腺恶性肿瘤的复发转移评估过程中发挥作用,但依靠甲状腺球蛋白等指标预测 PTC 复发转移风险的灵敏度不足 35%,其对于 PTC 患者临床结局预测的可靠性较低^[9-10]。本次研究通过对 PTC 患者病灶组织中 MTA1、Gankyrin 的表达分析,不仅能够揭示 PTC 患者的病情进展内在机理,同时能够为临床上 PTC 的治疗提供复发预测指标。

MTA1 是转移调控相关因子,其主要表达于癌细胞间质及癌细胞线粒体中。MTA1 结构上包括有 4-5 个磷酸化巯基结构,能够通过结合癌细胞膜表面糖蛋白受体,进而诱导癌细胞生物学行为的恶化;Gankyrin 是癌细胞增殖转录调控因子,其对于肿瘤细胞转录上游启动子的激活,能够显著加剧癌细胞核 DNA 的扩增。部分研究者探讨了 MTA1 在甲状腺癌患者病灶组织中的表达情况,认为在甲状腺癌患者中,MTA1 蛋白的表达阳性率明显上升^[11],但缺乏对于 Gankyrin 的表达与 PTC 的关系研究。

本次研究通过免疫组化,揭示了 MTA1、Gankyrin 蛋白在 PTC 患者病灶组织中的表达情况,发现在 PTC 患者中,MTA1、Gankyrin 蛋白的表达阳性率水平均明显上升,表明 MTA1、Gankyrin 蛋白的高表达均能够影响到甲状腺恶性肿瘤的病情进展过程。之所以存在较高的 MTA1、Gankyrin 表达,主要由于甲状腺乳头状癌细胞异常癌变的过程中,部分癌细胞的异常凋亡能够显著促进癌细胞内 MTA1、Gankyrin 蛋白的释放^[12-13]。在不同的临床病理特征的患者中,可以发现在 TNM 分期较晚、发生了淋巴结转移或者复发转移的患者中,MTA1 蛋白的表达阳性率较高,提示了 MTA1 蛋白的高表达能够显著促进 PTC 患者的整体性病情的进展。这主要由于 MTA1 的上升,能够提高乳头状癌细胞的浸润和粘附能力,促进了其对于淋巴结内皮组织的浸润,进而促进了淋巴结转移的发生^[14]。而 MTA1 对于残留癌细胞内 MAPK 或者 AKT 信号通路的激活,能够显著加剧肿瘤细胞的自我增殖效应,促进癌细胞的复发转移^[15-16];在出现复发转移的 PTC 患者中,Gankyrin 蛋白的表达阳性率较高,表明 Gankyrin 同样能够显著影响到甲状腺肿瘤的病情进展过程。这主要由于 Gankyrin 能够通过影响到乳头状上皮细胞癌基因的表达,维持癌细胞干细胞特性,提高

了甲状腺乳头状癌细胞的“上皮-间质”转换风险,促进了术后复发转移^[17]。但在不同临床分期或者淋巴结转移的患者中,Gankyrin 的表达并无明显的差异,提示 Gankyrin 并不能影响到乳头状癌细胞对于淋巴结组织的粘附能力^[18-20]。危险因素分析发现,MTA1 蛋白、Gankyrin 蛋白阳性表达及 TNM 分期为 III 期+IV 期是在术后出现复发转移的独立危险因素,临床上对于相关 PTC 患者,应增加临床干预,进而改善 PTC 的临床结局。

综上所述,MTA1 表达与 PTC 恶性程度增加有关,MTA1 蛋白、Gankyrin 蛋白表达增强可能会增大 PTC 患者术后复发转移的风险。

参考文献

- [1] 张美华,薛静,辛勇,等. 甲状腺癌患者化疗前后血红蛋白、癌胚抗原、糖类抗原 19-9 和糖类抗原 125、糖类抗原 50 水平变化与价值研究[J]. 实验与检验医学, 2019, 37(3): 505-507.
- [2] Li H, Weng J, Shi Y, et al. An improved deep learning approach for detection of thyroid papillary cancer in ultrasound images[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 45-49.
- [3] 郭玲,李莲娣,周淑芬,等. 肿瘤转移相关基因 1 和血管内皮生长因子在卵巢癌中表达的临床意义[J]. 中国现代医生, 2017, 55(24): 8-10.
- [4] 田晓芳,刁海丹. 肿瘤转移相关基因-1 及 p73 在子宫内腺癌中的表达及临床意义分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2017, 9(6): 55-58.
- [5] 王灵巧,陈济安,舒为群. 原癌基因 Gankyrin 及其在肿瘤发生中的作用研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2015, 27(1): 71-74.
- [6] 中国抗癌协会. 甲状腺微小乳头状癌诊断与治疗中国专家共识(2016 版)中国抗癌协会甲状腺癌专业委员会(CATO)[J]. 中国肿瘤临床, 2016, 26(10): 405-411.
- [7] Yan S, Zhao W, Wang B, et al. Preoperative injection of carbon nanoparticles is beneficial to the patients with thyroid papillary carcinoma[J]. Medicine, 2018, 97(27): 364-369.
- [8] Okuyama C, Kimura M, Oda M, et al. A Case of Thyroid Papillary Carcinoma: Remarkable Decrease in Multiple Lung Metastases within 40 Years after a Single Administration of Radioiodine without Thyroidectomy and with Later Anaplastic Transformation[J]. Case Rep Oncol, 2017, 35(8): 928-937.
- [9] 孙希刚,赵芳,周振虎. 甲状腺球蛋白对甲状腺癌术后碘 131 治疗预后的预测价值研究[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(1): 67-71.
- [10] 田军军,陶然,沈银峰,等. 甲状腺癌患者血清甲状腺球蛋白以及抗甲状腺球蛋白抗体水平与肺转移、骨转移的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(12): 1679-1681+1685.

(下转第 62 页)

肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分在呼吸机相关性肺炎早期诊断中的价值

罗源¹ 许继梅² 王继灵^{1*}

[摘要] 目的 探讨肺部超声联合C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、可溶性髓系细胞触发受体-1(sTREM-1)检测及临床肺部感染评分(CPIS评分)在呼吸机相关性肺炎(VAP)早期诊断中的应用价值。方法 选取2018年1月至2021年6月合肥市第二人民医院收治的临床疑似为VAP患者125例作为研究对象,根据胸部CT与气道分泌物细菌半定量培养结果将其分为VAP组56例与非VAP组69例。比较两组患者肺部超声检查结果与CRP、PCT、sTREM-1水平及CPIS评分,CPIS评分与CRP、PCT、sTREM-1水平的相关性采用Spearman等级相关分析,并采用受试者特异曲线(ROC)曲线评价肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1水平及CPIS评分对VAP的诊断效果。结果 VAP组患者CRP、PCT、sTREM-1水平明显高于非VAP组,差异有统计学意义($P<0.05$)。VAP患者CPIS评分与CRP、PCT、sTREM-1水平呈正相关性($r=0.705, 0.562, 0.781$,均 $P<0.05$)。VAP组患者肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分单项及联合检测阳性检出率均高于非VAP组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组患者肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分联合诊断阳性检出率均分别明显高于单项检测($P<0.05$)。ROC曲线分析显示肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分诊断VAP的AUC值0.962、灵敏度98.21%及特异度94.20%,均大于90%,其阳性似然比、阴性似然比分别为16.94、0.02。结论 肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分对VAP早期诊断有较高灵敏度与特异度,且CPIS评分与CRP、PCT、sTREM-1水平呈正相关性,可作为VAP早期诊断的辅助手段。

[关键词] 肺部超声; CRP; PCT; sTREM-1; CPIS评分; 呼吸机相关性肺炎

The application of pulmonary ultrasound combined with CRP, PCT, sTREM-1 detection and CPIS score in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia

LUO Yuan¹, XU Jimei², WANG Jiling^{1*}

(1. Department of Respiratory Medicine, The Second People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 230000; 2. Department of Ultrasound, The Second People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the application value of pulmonary ultrasound combined with C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) detection and clinical pulmonary infection score (CPIS score) in the early diagnosis of ventilator-associated pneumonia (VAP). **Methods** 125 patients with suspected VAP admitted to our hospital from January 2018 to June 2021 were selected as the study subjects, according to the results of semi-quantitative culture of bacteria in chest CT and airway secretions, they were divided into the VAP group (56 cases) and the non-VAP group (69 cases). The lung ultrasonography results, CRP, PCT, sTREM-1 levels and CPIS scores were compared between the two groups. The correlation between CPIS scores and CRP, PCT, and sTREM-1 levels was analyzed by Spearman rank correlation analysis, and the subject-specific curve (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic effect of lung ultrasound, CRP, PCT, sTREM-1 levels and CPIS score in the

基金项目:安徽省教育厅高校科学研究项目(KJ2020A0217);合肥市卫计委2018应用医学研究项目(hwk2018yb005)

作者单位:1. 合肥市第二人民医院呼吸科,安徽,合肥230000

2. 合肥市第二人民医院超声科,安徽,合肥230000

*通信作者:王继灵, E-mail: lyli0719@163.com

diagnosis of VAP. **Results** CRP, PCT and sTREM-1 in the VAP group were significantly higher than those in the non-VAP group ($P<0.05$). The Spersman grade correlation analysis showed that CPIS scores of VAP patients were positively correlated with CRP, PCT and sTREM-1 levels ($P<0.05$). The positive detection rates of lung ultrasound, CRP, PCT, sTREM-1 and CPIS scores in the VAP group were higher than those in the non-VAP group ($P<0.05$). The positive detection rates of lung ultrasound combined with CRP, PCT, sTREM-1 and CPIS scores in the two groups were significantly higher than those of single test ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the AUC value of lung ultrasound combined with CRP, PCT, sTREM-1 and CPIS scores for the diagnosis of VAP was 0.962, the sensitivity was 98.21% and the specificity was 94.20%, which were all greater than 90%. The positive and negative likelihood ratios were 16.94, 0.02 respectively. **Conclusion** Pulmonary ultrasound combined with CRP, PCT, sTREM-1 detection and CPIS score has high sensitivity and specificity for the early diagnosis of VAP, and the CPIS score is positively correlated with the levels of CRP, PCT and sTREM-1, which can be used as an assistant means for the early diagnosis of VAP.

[KEY WORDS] Pulmonary ultrasound; CRP; PCT; sTREM-1; CPIS score; VAP

呼吸机相关性肺炎(Ventilator-associated pneumonia, VAP)是重症医学科(ICU)内接受机械通气过程中患者最严重的并发症之一^[1],多发生在有创机械通气48 h后或拔管48 h内,临床研究发现VAP的发生与患者肺部原发疾病、年龄、机械通气持续时间、住ICU时间、患者神志情况及医护人员手部带菌等因素密切相关^[2]。根据我国《VAP诊断、预防和治疗指南》对VAP临床诊断主要依靠临床症状、感染相关生物标志物、影像学表现以及微生物学检查^[3]。目前临床上发现VAP肺实变的影像学手段主要有床边胸部X线和CT检查,但均有其不足之处:床边胸部X线准确性和可靠性较低、且辐射暴露等不足,使其临床应用价值有限;胸部CT检查因放射线暴露及费用昂贵等原因无法在孕妇、儿童及危重症患者中普及。因此寻找一种有效可靠且无创、无辐射的诊断方法,以早期诊断机械通气患者的肺实变,是目前研究的热点问题^[4]。随着临床诊断技术的快速发展,肺部超声在临床上得以广泛应用,为VAP早期诊断提供了一种新的方法^[5]。多项临床研究发现感染相关生物标志物[C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、可溶性髓系细胞触发受体-1(soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1, sTREM-1)]与VAP的发生、发展关系密切,因此近年来随着临床研究的深入,感染相关生物标志物已成为对VAP进行临床诊断和预后评估的辅助检查手段^[6-7]。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2018年1月至2021年6月合肥市第二人

民医院收治的临床疑诊为VAP患者125例作为研究对象,根据胸部CT与气道分泌物细菌半定量培养结果将其分为VAP组56例与非VAP组69例。其中VAP组包括男性患者35例、女性患者21例,非VAP组包括男性患者39例、女性患者30例。

纳入标准:①对VAP的诊断参照《VAP诊断、预防和治疗指南》^[8](2013年中华医学会重症医学分会制定)。VAP疑诊标准^[9]:通过胸部影像学检查,发现进展性或新出现肺部浸润性病变,同时合并以下两个以上的症状和体征:体温 $<36^{\circ}\text{C}$ 或 $>38^{\circ}\text{C}$;外周白细胞计数 $<4\times 10^9$ 或 $>10\times 10^9$;氧合指数 <300 ;出现脓性分泌物或气道分泌物明显增加。②所有患者机械通气时间均48 h以上;③所有患者及家属均签署患者知情同意书,并经本院伦理委员会审核通过。排除标准:①患者病历资料不完整;②患者因肺部感染而行机械通气;③明确病原菌感染患者;④患者有免疫功能疾病;⑤恶性肿瘤患者;⑥患者因外伤或胸部手术无法行肺部超声检查。

1.2 肺部超声检查

对所有患者立即经气管导管内吸引留取分泌物进行细菌半定量培养,并在24 h内进行胸部CT,所使用64排CT机购自Simeons公司,均由2名放射科医师完成并由2名医师独立、随机阅片进行诊断并出具报告。

肺部超声检查先于胸部CT。使用美国DMS生产的terason t3000机型彩色多普勒超声仪连接3.5 MHz~10 MHz的L12-3线阵探头,将患者胸壁根据腋前线、腋后线分为前、侧、后三个分区,再分别将每个分区分为上部、下部,左右两侧共分为12个区域。分别对每个区域进行肺部超声扫查,发现以下征象即可判断肺部超声检查结果阳性:①胸膜

下小片实变;②大片肺实变;③动态支气管充气征。
④静态支气管充气征。所有肺部超声检查均由具有超声检查资质的医生独立完成,并出具报告。

1.3 检测指标与方法

①均于清晨空腹静脉采血约5 mL于无抗凝剂的采血管,3 500 r/min离心10 min(离心半径10 cm)后取上层血清于Ependorff管内,置于-20℃冰箱保存待测;其中CRP水平采用酶联免疫吸附法进行测定、PCT水平采用定量发光免疫分析法测定。收集所有患者肺泡灌洗液标本,sTREM-1水平采用酶联免疫吸附法进行测定。②患者肺部感染程度采用临床肺部感染评分量表(CPIS评分)^[10]进行评分,共包括体温、白细胞计数、气管分泌物、氧合情况以及X胸片浸润影几个项目,评分范围0分~12分,当评分≤6分时表示可停用抗生素。

1.4 评价标准

CRP临界值为10 mg/L、PCT临界值为0.74 ng/mL、sTREM-1临界值为125.16 ng/L^[11]、CPIS评分临界值为6分,CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分单项检测结果高于临界值即为阳性^[10]。在肺部超声检查联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分结果中若任一项检测结果为阳性,则联合检测结果即为阳性,否则肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分检测结果为阴性,其中阳性结果可预测发生VAP。VAP诊断“金标准”:经胸部CT与气道分泌物细菌半定量培养结果(细菌数>10⁴/CFU)加以确诊为VAP。

1.5 统计学处理

采用统计软件SPSS 21.0进行分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用*t*检验,计数资料以*n*(%)表示,采用 χ^2 检验,两变量的相关性采用Spersman等级相关分析,采用ROC曲线评价肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分对VAP的诊断效果,并计算曲线下面积(AUC),以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基线资料比较

两组患者性别比、平均年龄、APACHE II评分、体温、白细胞计数、患者来源及机械通气时间比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);两组患者CPIS评分、脓性分泌物及气道分泌物培养比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

表1 两组患者基线资料比较 [*n*(%),($\bar{x}\pm s$)]

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

项目	VAP组 (<i>n</i> =56)	非VAP组 (<i>n</i> =69)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别比(男/女)	35/21	39/30	0.614	>0.05
平均年龄(岁)	71.81±11.73	72.57±11.25	0.582	>0.05
APACHE II评分(分)	18.19±3.41	17.52±3.26	0.916	>0.05
CPIS评分(分)	6.88±2.15	5.59±2.07	2.793	<0.05
体温(℃)	38.07±0.74	37.69±0.69	1.208	>0.05
白细胞计数($\times 10^9/L$)	11.04±2.83	10.11±2.69	1.431	>0.05
脓性分泌物[<i>n</i> (%)]	42(75.00)	29(42.03)	5.918	<0.05
气道分泌物培养[<i>n</i> (%)]			7.104	<0.05
+	0(0.00)	19(27.54)		
++	0(0.00)	24(34.78)		
+++	18(32.14)	15(21.74)		
++++	38(67.86)	11(15.94)		
机械通气时间(d)	13.96±2.81	13.68±2.66	1.025	>0.05

2.2 两组患者CRP、PCT、sTREM-1水平比较

VAP组患者CRP、PCT、sTREM-1水平高于非VAP组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表2 两组患者CRP、PCT、sTREM-1水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of CRP, PCT and sTREM-1 levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CRP(mg/L)	PCT(ng/mL)	sTREM-1(ng/L)
VAP组	56	140.71±1.54	4.28±0.31	151.28±39.36
非VAP组	69	15.25±1.19	0.65±0.09	90.88±21.14
<i>t</i> 值		4.163	14.847	3.902
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

2.3 Spersman相关性分析

采用Spersman等级相关分析表明VAP患者CPIS评分与CRP、PCT、sTREM-1水平均分别呈正相关性(*r*=0.705、0.562、0.781,均*P*<0.05)。

2.4 肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分单项及联合检测阳性检出率比较

VAP组患者肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分单项及联合检测阳性检出率均高于非VAP组,两组患者肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分联合诊断阳性检出率均高于单项检测(*P*<0.05)。见表3。

2.5 肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分对VAP的诊断效果分析

对肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分诊断VAP的效果进行ROC曲线分析,结果显示肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分诊断VAP的AUC值0.962、灵敏度0.982及特异度0.942,其阳性似然比、阴性似然比分别为16.94、0.02。见表4、图1。

表3 肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分单项及联合检测阳性检出率比较 [n(%)]

Table 3 Comparison of positive rates of single and combined detection of pulmonary ultrasound, CRP, PCT, sTREM-1 and CPIS scores [n(%)]

组别	n	肺部超声	CRP	PCT	sTREM-1	CPIS评分	联合检测
VAP组	56	48(85.71)	40(71.43)	37(66.07)	42(75.00)	38(67.86)	55(98.21)
非VAP组	69	3(4.35)	2(2.90)	2(2.90)	1(1.45)	2(2.90)	4(5.80)
χ^2 值		6.984	8.903	7.591	23.478	7.711	5.097
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分单项检测与联合检测阳性检出率比较,均 $P<0.05$ 。

表4 肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分对VAP的诊断效果分析

Table 4 Analysis of diagnostic effect of pulmonary ultrasound, CRP, PCT, sTREM-1 and CPIS score on VAP

项目	AUC	95%CI	灵敏度	特异度	阳性似然比	阴性似然比	P值
肺部超声	0.907	0.846~0.968	0.857	0.957	19.71	0.15	<0.001
CRP	0.843	0.766~0.920	0.714	0.971	24.64	0.29	<0.001
PCT	0.816	0.734~0.898	0.661	0.971	22.79	0.35	<0.001
sTREM-1	0.868	0.796~0.940	0.750	0.986	51.75	0.25	<0.001
CPIS评分	0.825	0.745~0.905	0.679	0.971	23.41	0.33	<0.001
联合检测	0.962	0.924~1.000	0.982	0.942	16.94	0.02	<0.001

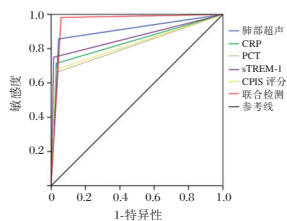


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

VAP是指ICU内气管插管或切开患者接受机械通气过程中患者最严重的并发症之一,是一种细菌感染性疾病,可通过引发感染相关生物标志物级联反应,使CRP、PCT、sTREM-1水平发生变化,且CRP、PCT、sTREM-1水平变化可为VAP的临床诊断及预后评估提供参考^[12]。根据2013年中华医学会重症医学分会制定的VAP临床诊断标准,主要依靠临床症状、感染相关生物标志物、影像学表现以及微生物学检查^[13-14]。

CRP是一种急性期反应蛋白,在病理状态下通过肝脏合成、分泌,由于同时受到感染性因素及肺感染性因素的影响,使得其在VAP诊断中敏感度较低,其诊断结果仅可以作为参考^[15]。PCT是一种氨基酸的无激素活性糖蛋白,在健康人群血液、脑脊液中浓度极低,在病理状态下由甲状腺C细胞产生,使其浓度迅速升高,是鉴别诊断脓毒症、多脏器功能衰竭以及严重细菌、真菌、寄生虫感染的常用指标,具有较高的敏感度与特异度^[16]。而sTREM-1是属于免疫球蛋白超家族一类

细胞膜受体,临床研究发现sTREM-1浓度变化与肺部感染、脓毒症等感染性疾病关系密切,当炎症反应发生时血清、胸腹腔积液及支气管肺泡灌洗液等体液中sTREM-1浓度会迅速升高,近年来已广泛应用于感染性疾病的临床诊断及预后判断^[17]。CPIS评分系统是由Pugin等提出,可对VAP患者临床表现、微生物学和影像学结果进行综合评估,主要用于诊断肺部感染程度,也可用于指导抗生素调整,具有较高的敏感度与特异度^[18]。

为提高肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分对VAP诊断的准确度与敏感度,弥补单项检测的不足,本研究探讨了肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分在VAP早期诊断中的应用价值。研究结果表明VAP患者CRP、PCT、sTREM-1水平越高,则患者肺部感染程度越严重。对肺部超声与CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分诊断VAP的效果进行ROC曲线分析,结果显示肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1及CPIS评分诊断VAP的AUC值高于单项检测,灵敏度及特异度均高于90%,表明肺部超声联合感染相关生物标志物检测及CPIS评分的诊断效能明显优于单项指标,具有更高的灵敏度。本研究存在以下局限性:所选取的样本数目偏少,研究人员之间的差异可能造成各分类变量统计结果的偏差,因此肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分对VAP早期诊断的临床价值仍有待于扩大样本数目进一步深入探讨。

总之,肺部超声联合CRP、PCT、sTREM-1检测及CPIS评分可明显提高VAP早期诊断的灵敏度与

特异度,且 CPIS 评分与 CRP、PCT、sTREM-1 水平呈正相关性,可作为 VAP 早期诊断的辅助手段。

参考文献

- [1] 吴莽,杨艳菊,柳叔宝. 医院呼吸机相关性肺炎病原学特征分析[J]. 西北国防医学杂志, 2018,39(12):799-802.
- [2] 张玉景,李鹏,张君利,等. 血清 PCT 及 CPIS 评分对慢性阻塞性肺疾病患者呼吸机相关性肺炎的诊断及预后评估[J]. 临床肺科杂志, 2017,22(3):470-473.
- [3] Sharafkhan M, Abdolrazaghnejad A, Zarinfar N, et al. Safety and efficacy of N-acetyl-cysteine for prophylaxis of ventilator-associated pneumonia: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial[J]. Med Gas Res, 2018,8(1): 19-23.
- [4] Park CH, Ju HK, Han JY, et al. Complete nucleotide sequences and construction of full-length infectious cDNA clones of cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) in a versatile newly developed binary vector including both 35S and T7 promoters[J]. Virus Genes, 2017,53(2):286-299.
- [5] 周权,徐化强,鞠涛,等. 胸腺肽对重症呼吸机相关性肺炎患者心肌相关标志物和 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 疑难病杂志, 2017,16(12):1229-1232.
- [6] Jeong IB, Na MJ, Son JW, et al. High-dose Sulbactam Treatment for Ventilator-Associated Pneumonia Caused by Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii [J]. Korean J Crit Care Med, 2016,31(4):308-316.
- [7] 陈少霖,张卫星,张声,等. 可溶性髓样细胞触发受体-1 在呼吸机相关性肺炎的早期诊断及预后评估中的临床应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2017,27(13):2968-2971.
- [8] 邓毅,谭媛,杨伟丽,等. 呼吸机相关性肺炎新生儿血清及支气管肺泡灌洗液中炎症因子和氧化指标的动态变化及其临床意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2017,36(4):603-608.
- [9] Tomulić Brusich K, Acan I, Višković Filipčić N. Ventilator-Associated Pneumonia: Comparing Cadaveric Liver Transplant and Non-Transplant Surgical Patients[J]. Acta Clin Croat, 2016, 55(3):360-369.
- [10] J Bickenbach I, G Marx. Diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients: what is the meaning of the CPIS? [J]. Minerva Anestesiol, 2013,79(12).
- [11] Andre C Kalil, Mark L Metersky, Michael Klompas, et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society[J]. Clin Infect Dis, 2016,63(5):e61-e111.
- [12] 肖爱兵,龚仕金,宋佳,等. 不同肺部超声征象诊断呼吸机相关性肺炎的价值[J]. 浙江医学, 2017,39(22):1991-1994.
- [13] McMullen KM, Boyer AF, Schoenberg N, et al. Surveillance versus clinical adjudication: differences persist with new ventilator-associated event definition [J]. Am J Infect Control, 2015,43(6):589-591.
- [14] 席红利,杨丽娜,李娟. 呼吸机相关性肺炎患者病原菌检测的意义及其 PCT、CRP、肺功能的变化研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018,39(13):1602-1605,1609.
- [15] 谢朝云,覃家露,熊芸,等. 呼吸机相关性肺部多耐药菌感染的影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2018,28(13):2067-2071.
- [16] 任柳琼,吕发勤,冯聪,等. 床旁超声在呼吸机相关性肺炎诊断中的临床应用研究[J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2016,13(7):542-546.
- [17] 王婵,徐丽瑾,王鑫,等. 呼吸机相关性肺炎新生儿血清、肺泡灌洗液及呼出气冷凝液中 sTREM-1 水平检测的临床意义[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2018,10(11):37-41.
- [18] 谢柏梅,敬梅,路晓艳,等. CPIS 评分及血清 PCT 在慢性阻塞性肺疾病呼吸机相关性肺炎诊断和预后判断中的应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2018,17(15):1617-1620.
- [11] 殷德涛,张乐乐,马润声,等. 肿瘤转移相关基因蛋白 1、基质金属蛋白酶-2 和卷曲螺旋结构域 67 蛋白在甲状腺乳头状癌中的表达及临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2017,34(12):2204-2208.
- [12] 潘宗富,方琦璐,张轶雯,等. 基于生物信息学的未分化甲状腺癌恶性机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2018,35(11):1606-1612.
- [13] 赵雨,郁林娜,高庆军,等. 甲状腺乳头状癌转移潜在相关蛋白及作用机制研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2019,26(4):503-507.
- [14] 赵爱国,张双林,厉永强,等. 转移相关蛋白 1 在甲状腺癌组织的表达及其与上皮-间充质转化的关系[J]. 中华实验外科杂志, 2021,38(6):1075-1078.
- [15] 徐晓峰. MTA1 通过 AKT/mTOR/4E-BP1 信号通路促进子宫内膜癌进展的机制研究[D]. 南京:南京医科大学, 2019.
- [16] 南鹏. MTA1 通过激活 MEK/ERK/p90RSK 信号通路促进食管鳞癌发生发展[D]. 北京:中国医学科学院北京协和医学院, 2019.
- [17] 徐锦叶,沈沁彦,邢萍,等. Gankyrin 在甲状腺乳头状癌的表达及临床意义[J]. 中国细胞生物学报, 2014,36(12):1661-1667.
- [18] 霍青峰,张生来,张文杰. 甲状腺乳头状癌免疫逃逸机制进展[J]. 中华实验外科杂志, 2018,35(2):366-369.
- [19] 潘宗富,方琦璐,张轶雯,等. 基于生物信息学的未分化甲状腺癌关键发病机制及其潜在干预靶点研究[J]. 浙江大学学报(医学版), 2018,47(2):187-193.
- [20] 许超,盛以泉,葛丽卫,等. CD56 表达与甲状腺乳头状癌临床病理特征的关系及对远处转移的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(10):1363-1366.

(上接第 57 页)

丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染的疗效及其对CGRP、BDNF影响

黄贞仪^{1*} 郭林¹ 罗珠河²

【摘要】目的 探讨丁苯酞治疗合并脑出血合并肺部感染的疗效及其对降钙素基因相关肽(CGRP)、脑源性神经营养因子(BDNF)影响。**方法** 选择2018年1月至2020年6月惠州市第一人民医院收治的124例脑出血合并肺部感染患者,按照随机数字表法分为对照组和观察组,每组各62例。对照组采用常规治疗,观察组在对照组的基础上采用丁苯酞氯化钠注射液治疗,两组均治疗14 d。观察两组治疗前后国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、血清CGRP、BDNF水平,比较两组临床疗效,观察两组治疗期间不良反应发生情况。**结果** 治疗后两组NIHSS评分均降低,且观察组更低,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后两组血清CGRP水平均下降,且观察组更低,差异均有统计学意义($P<0.05$);治疗后两组血清BDNF水平均升高,且观察组更高,差异均有统计学意义($P<0.05$);观察组总有效率比对照组高差异有统计学意义(64.52% vs. 46.77%, $P<0.05$);两组治疗期间不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 采用丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染患者,疗效显著,可调节患者血清CGRP、BDNF水平,改善患者的神经功能,且安全可靠。

【关键词】 丁苯酞;肺部感染;脑出血;降钙素基因相关肽;脑源性神经营养因子

Efficacy of butylphthalide in the treatment of cerebral hemorrhage complicated with pulmonary infection and its effect on CGRP and BDNF

HUANG Zhenyi^{1*}, GUO Lin¹, LUO Zhuhe²

(1. Department of Pharmacy, Huizhou First People's Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516001;

2. Department of Pharmacy, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516001)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the efficacy of butylphthalide in the treatment of cerebral hemorrhage complicated with pulmonary infection and its effect on calcitonin gene-related peptide (CGRP) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). **Methods** A total of 124 patients with cerebral hemorrhage and pulmonary infection admitted to Huizhou First People's Hospital from January 2018 to June 2020 were selected and divided into control group and observation group according to the random number table method, with 62 cases in each group. The control group was treated with conventional treatment, and the observation group was treated with butylphthalide sodium chloride injection on the basis of the control group. Both groups were treated for 14 days. The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) scores, serum CGRP and BDNF levels were observed before and after treatment in the two groups. The clinical efficacy of the two groups were compared. The occurrence of adverse reactions during the treatment period of the two groups were observed. **Results** After treatment, the NIHSS scores of the two groups were decreased ($P<0.05$), and the observation group was even lower, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the serum CGRP levels in the two groups were decreased, and the observation group was lower, and the differ-

基金项目:惠州市科技计划项目(2017Y045)

作者单位:1. 惠州市第一人民医院药学部,广东,惠州 516001

2. 惠州中心人民医院药学部,广东,惠州 516001

*通信作者:黄贞仪, E-mail: huangzhenyi0606@163.com

ences were statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of serum BDNF in the two groups were increased, and the observation group was higher, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The total effective rate in the observation group was higher than that in the control group (64.52% vs. 46.77%, $P<0.05$). There were no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups during treatment ($P>0.05$). **Conclusion** The use of butylphthalide in the treatment of patients with cerebral hemorrhage complicated by pulmonary infection has a significant effect, can regulate the serum CGRP and BDNF levels of patients, and improve the neurological function of patients, and it is safe and reliable.

[KEY WORDS] Butylphthalide; Pulmonary infection; Cerebral hemorrhage; CGRP; BDNF

脑出血是临床中较为常见的一类脑血管疾病,具有高发病率、高死亡率的特点,严重影响患者的生命健康^[1]。脑出血易并发肺部感染,这与抗生素误用、患者自身免疫力低、侵入性操作等多种因素相关,其可引起窒息、呼吸困难等不良预后。相关研究指出^[2],降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptid, CGRP)广泛分布于中枢、外周等神经系统中,在中枢神经系统中,可与多种神经递质共存,当脑出血发生时,可引起CGRP异常升高,可通过活化炎性反应的其他产物,来加重患者的神经功能损伤。脑出血发生后,脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)为机体重要的神经营养因子,其及其受体在神经系统广泛表达,具有支持肾上腺素神经原、降低外源性损伤等作用,当脑出血发生时,可引起大量神经细胞坏死,从而降低神经细胞的保护作用,形成BDNF浓度降低,神经细胞损伤等现象^[3]。脑出血合并肺部感染会加重患者的神经功能损伤,有研究指出^[4],丁苯酚可抑制抑制炎症,改善缺血脑卒中患者的神经功能,但其应用于脑出血合并肺部感染的研究较少,且其对血清CGRP、BDNF的影响尚不清楚。本研究将探讨苯酞治疗脑出血合并肺部感染的疗效及其对血清CGRP、BDNF的影响,以期为临床治疗脑出血合并肺部感染患者提供一定的指导依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

经医院医学伦理委员会批准,选择2018年1月至2020年6月惠州市第一人民医院收治的124例脑出血合并肺部感染患者,按照随机数字表法分为对照组和观察组,每组各62例。其中对照组中男38例、女24例;年龄平均(56.47±6.32)岁;发病时间(21.35±3.28)h;合并症:高血压18例、糖尿病16例、冠心病9例;脑出血部位:脑室内出血4例、小脑出血10例、基底节区出血48例;脑出血量(35.78±

3.41)mL;疾病严重程度:轻度18例、中度34例、重度10例。观察组中男40例、女22例;年龄平均(56.54±6.28)岁;发病时间(21.39±3.34)h;合并症:高血压16例、糖尿病15例、冠心病10例;脑出血部位:脑室内出血5例、小脑出血12例、基底节区出血45例;脑出血量(35.84±3.43)mL;疾病严重程度:轻度20例、中度33例、重度9例。两组性别、年龄、发病时间、合并症、脑出血部位、脑出血量、疾病严重程度等基线比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①患者均符合《中国脑出血诊治指南(2019)》^[5]中脑出血的诊断标准,并经头部电子计算机断层扫描仪(CT)等影像学确诊;②发病3d内入院;③患者在住院期间并发肺部感染,肺部感染的诊断标准(符合以下三项即可)^[6]:1)体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$,2)有咳嗽、咳痰症状,3)单侧肺或双侧肺有啰音,4)X射线显示肺部有炎性改变,5)经痰培养有致病菌生长,6)白细胞计数(WBC) $\geq 10.0 \times 10^9/\text{L}$;④患者及家属均签署知情同意书;⑤入院前无肺部感染。排除标准:①合并血液系统或内分泌系统疾病者;②合并恶性肿瘤者;心、肝等重要脏器严重病变者;③脑梗死及其他脑血管疾病者;④风湿免疫疾病或免疫系统缺陷者;⑤对本研究药物过敏者;⑥患精神疾病或存在认知障碍者。

1.2 研究方法

1.2.1 治疗方法

对照组采用常规治疗。入院后给予患者液体支持、维持血糖平衡、抗感染等基础治疗。降颅压治疗,根据患者病情静脉滴注20%甘露醇注射液(国药准字H14020779,广东怡翔制药有限公司,规格为250 mL:50g)125~250 mL;降压治疗:给予患者口服缬沙坦(国药准字H20040217,北京诺华制药有限公司,规格为80 mg),80 mg/次,2次/d,最高剂量 ≤ 160 mg。观察组:在对照组的基础上采用丁苯酞氯化钠注射液治疗。静脉滴注丁苯酞氯化钠注射液(国药准字H20100041,石药集团恩必普药

业有限公司,规格为100 mL:丁苯酞25 mg与氯化钠0.9 g),100 mL/次,2次/d。2组均持续治疗14 d。

1.2.2 观察指标

①观察2组治疗前后神经功能:治疗前1 d、治疗14 d后分别采用国立卫生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale,NIHSS)^[7]评估2组神经功能,分值0~42分,分值越高代表患者的神经功能越差。②观察2组治疗前后血清学指标:治疗前1 d、治疗14 d后分别采集2组空腹静脉血3 mL,离心15 min,离心半径为10 cm,离心转速为3 000 r/min,取上清液待测。采用酶联免疫吸附法检测2组血清CGRP、BDNF水平,试剂盒购自上海研生实业有限公司。③观察2组临床疗效^[8]:痊愈:与治疗前相比,NIHSS评分降低>90%,患者体征和临床症状完全消除;显效:与治疗前相比,NIHSS评分降低46%~90%,患者体征和临床症状明显好转;有效:与治疗前相比,NIHSS评分降低18%~<46%,患者体征和临床症状有所好转;无效:与治疗前相比,NIHSS评分降低<18%,患者体征和临床症状基本上无变化甚至恶化。总有效率=(痊愈+显效+有效)例数/总例数×100%。④观察2组治疗期间不良反应发生情况:包括谷草转氨酶升高、恶心、呕吐等。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行数据统计分析,符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间用t检验;计数资料以n(%)表示,采取 χ^2 检验,理论频数为1~5则需校正,<1则采用Fisher's精确检验,等级分布资料行秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后NIHSS评分比较

治疗前两组NIHSS评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组NIHSS评分均降低,比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组治疗前后NIHSS评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of NIHSS scores before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NIHSS评分(分)	
		治疗前	治疗后
对照组	62	27.32±4.45	13.58±3.27 ^a
观察组	62	27.41±4.53	9.24±2.15 ^a
t值		0.112	8.732
χ^2 值		0.911	<0.001

注:与治疗前的同组相比,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组治疗前后血清CGRP、BDNF水平比较

治疗前两组血清CGRP、BDNF水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组血清CGRP水平均下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗后两组血清BDNF水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后血清CGRP、BDNF水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum CGRP and BDNF levels before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CGRP(ng/L)		BDNF(pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	62	56.28±9.36	44.69±7.63 ^a	18.28±3.69	23.17±4.32 ^a
观察组	62	56.37±9.41	28.54±4.86 ^a	18.37±3.56	26.85±4.96 ^a
t值		0.053	14.057	0.138	4.405
P值		0.958	<0.001	0.890	<0.001

注:与治疗前的同组相比,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组临床疗效比较

观察组总有效率比对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组临床疗效比较[n(%)]

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

组别	n	无效	有效	显效	痊愈	总有效率
对照组	62	33(53.23)	11(17.74)	16(25.81)	2(3.22)	29(46.77)
观察组	62	22(35.48)	14(22.58)	20(32.26)	6(9.68)	40(64.52)
Z/ χ^2 值						3.954
P值						0.047

2.4 两组治疗期间不良反应发生情况比较

两组治疗期间不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表4 两组治疗期间不良反应发生情况比较[n(%)]

Table 4 Comparison of adverse reactions between the two groups during treatment [n(%)]

组别	n	谷草转氨酶升高	恶心	呕吐	不良反应总发生率
对照组	62	1(1.61)	0(0.00)	2(3.23)	3(4.84)
观察组	62	2(3.23)	1(1.61)	3(4.84)	6(9.68)
χ^2 值		0.342		0.208	1.078
P值		0.559	0.315	0.648	0.491

3 讨论

脑出血患者机体代谢紊乱,脑出血相关感染为脑出血患者常见的并发症之一,目前已成为临床研究的热点。相关研究^[9]指出,脑出血并发肺部感染的发生率为20%左右,并发肺部感染不仅会加重患者的病情,引起预后不良,而且可在一定程

度上增加治疗费用、延长住院时间。脑出血患者血清炎性因子水平与患者预后及神经损伤密切相关,所涉及的炎性因子居多,包括 CGRP 等,并且 CGRP 与神经功能关系密切,其表达可加重神经功能的损伤^[10]。因此,寻求一种有效的治疗方案治疗脑出血合并肺部感染患者具有重要意义。

本研究结果显示,治疗后,观察组 NIHSS 评分更低,且观察组总有效率更高,提示丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染患者疗效确切,有助于改善患者的神经功能。丁苯酞进入血液循环后,能够抑制机体内花生四烯酸的表达,增加抗氧化酶活血,进而减轻氧化应激反应对机体神经细胞的损伤。相关研究指出^[11],丁苯酞作为一种神经保护药物,可改善出血脑区的微循环、缩小局部脑组织水肿面积、减少缺氧导致的神经元凋亡、减轻脑组织损伤、可减轻血-脑脊液屏障的破坏,改善患者的神经功能。脑出血患者脑组织缺氧,可促进机体分布在周围神经系统和中枢神经系统的内源性血管舒张剂 CGRP 的合成,CGRP 作为一种生物活性肽,具有广泛的生物活性,可活化多种炎症细胞,可加重损伤神经功能^[12];BDNF 作为一种神经营养因子,主要分布在杏仁核、纹状体、海马以及下丘脑等,在各种类型的脑缺血和脑出血中低表达,可与特定受体结合后,表现出促进多种神经元细胞增殖分化等作用,此外 BDNF 不仅参与学习记忆过程,而且可保护神经功能^[13]。相关研究^[14]指出,丁苯酞具有与天然左旋芹菜甲素相同的结构,其具有较高的脂溶性,能够直接作用于出血部位,阻碍脑出血引起的脑损伤的多个病理环节,效果明显。研究^[15]表明,丁苯酞诱导一氧化氮合酶的活性增加,有助于氧化氮的释放与分泌,进而缓解脑出血患者的血管痉挛,从而有助于患者脑部血液循环的恢复。国内有研究^[16]证实,依达拉奉联合丁苯酞能够有效改善高血压脑出血患者的血管内皮功能与脑血管功能,并可降低 CGRP 水平。本研究结果提示采用丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染患者,可调节患者血清 CGRP、BDNF 水平,丁苯酞能够降低线粒体电子传递链细胞色素,对 caspase-3 激活产生抑制,从而阻碍神经细胞凋亡。丁苯酞主要成分作为一种脂溶性药物,能够透过血脑屏障来清除过氧化自由基,抑制血小板聚集、进而抑制神经胶质的活化,保护血管内皮功能、改善血流灌注及缺血区域的微循环^[17-18]。本研究结果显

示,治疗过程中对照组中有 3 例出现不良反应,观察组中有 6 例出现不良反应,2 组治疗过程中不良反应发生率相近,提示采用丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染患者,并不会显著增加用药的不良反应,且安全可靠,可进一步推广。

综上所述,采用丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染患者,疗效显著,可调节患者血清 CGRP、BDNF 水平,改善患者的神经功能,且安全可靠。然而,本研究选取病例有限,研究结果可能存在一定偏倚,仍需进行多中心、大样本研究,深入分析丁苯酞治疗脑出血合并肺部感染的疗效及其对 CGRP、BDNF 影响。

参考文献

- [1] Hostettler IC, Seiffge DJ, Werring DJ. Intracerebral hemorrhage: an update on diagnosis and treatment [J]. *Exp Rev Neurother*, 2019, 19(7):679-694.
- [2] Borkum JM. CGRP and Brain Functioning: Cautions for Migraine Treatment [J]. *Headache*, 2019, 59(8):1339-1357.
- [3] Chow R, Wessels JM, Foster WG. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression and function in the mammalian reproductive Tract [J]. *Hum Reprod Update*, 2020, 26(4):545-564.
- [4] 刘海超, 闫建炜, 温宏峰, 等. 丁苯酞联合阿替普酶治疗对急性缺血性脑卒中患者神经功能凝血功能血清 TNF- α hs-CRP Hcy 水平的影响 [J]. *河北医学*, 2021, 27(1):150-156.
- [5] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑出血诊治指南(2019) [J]. *中华神经科杂志*, 2019, 52(12):994-1005.
- [6] 齐俊英, 田德英. 感染性疾病诊疗指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2013: 124-135.
- [7] Siegler JE, Boehme AK, Kumar AD, et al. What change in the National Institutes of Health Stroke Scale should define neurologic deterioration in acute ischemic stroke? [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2013, 22(5):675-682.
- [8] 王昕, 张英房, 王宏艳. 乌司他丁治疗脑出血并肺部感染患者的疗效及对炎性细胞因子的影响 [J]. *河北医药*, 2021, 43(3):428-430.
- [9] 张花平, 宋贺, 张博, 等. 物理疗法辅助治疗高血压脑出血术后肺部感染的随机、对照、开放研究 [J]. *安徽医药*, 2020, 24(12):2382-2386.
- [10] 张岚亭, 杨潇, 于志峰. 固本扶正醒脑方对急性脑出血患者血肿吸收、神经功能及细胞炎性因子的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(31):3471-3475.
- [11] 陈飞宇, 方小云, 陈光烈, 等. 丁苯酞对脑出血合并肺部感染患者神经功能与炎性因子表达的影响 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(20):3088-3090+3119.

(下转第 72 页)

LncRNA PTPRG-AS1 通过靶向 miR-5590-3p 调控乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的研究

高媛媛¹ 胡萍² 赵艳姣¹ 黄英^{1*}

[摘要] 目的 探讨 LncRNA PTPRG-AS1 对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及可能机制。方法 以正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 为对照, qRT-PCR 法检测乳腺癌细胞系 (MCF-7、T47D 和 BT549) 中 LncRNA PTPRG-AS1 和 miR-5590-3p 表达。分别转染 si-LncRNA PTPRG-AS1、miR-5590-3p mimics、共转染 si-LncRNA PTPRG-AS1 与 anti-miR-5590-3p 至乳腺癌 MCF-7 细胞, 用 CCK-8 法检测细胞增殖, Transwell 检测检测细胞迁移和侵袭, 蛋白质印迹法检测细胞中 CyclinD1、MMP2 和 MMP9 蛋白表达。双荧光素酶报告基因实验验证 LncRNA PTPRG-AS1 和 miR-5590-3p 的调控关系。结果 与 MCF-10A 细胞比较, 乳腺癌细胞系 (MCF-7、T47D 和 BT549) 中 LncRNA PTPRG-AS1 表达升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), miR-5590-3p 表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。敲减 LncRNA PTPRG-AS1 或过表达 miR-5590-3p 后, MCF-7 细胞增殖活性、迁移数、侵袭数及细胞中 CyclinD1、MMP2 和 MMP9 蛋白表达均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。LncRNA PTPRG-AS1 靶向负调控 miR-5590-3p。敲减 miR-5590-3p 逆转了敲减 LncRNA PTPRG-AS1 对 MCF-7 细胞增殖、迁移和侵袭的影响。结论 LncRNA PTPRG-AS1 可能靶向下调 miR-5590-3p 促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 乳腺癌; LncRNA PTPRG-AS1; miR-5590-3p; 增殖; 迁移; 侵袭

LncRNA PTPRG-AS1 regulates breast cancer cell proliferation, migration and invasion by targeting miR-5590-3p

GAO Yuanyuan¹, HU Ping², ZHAO Yanjiao¹, HUANG Ying^{1*}

(1. Department of Oncology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia, China, 750001; 2. Department of Oncology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia, China, 750001)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effect of LncRNA PTPRG-AS1 on the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells and its possible mechanism. **Methods** With normal breast epithelial cells MCF-10A as a control, the expression of LncRNA PTPRG-AS1 and miR-5590-3p in breast cancer cell lines (MCF-7, T47D and BT549) was detected by qRT-PCR. Breast cancer MCF-7 cells were transfected with si-LncRNA PTPRG-AS1 or miR-5590-3p mimics, or co-transfected with si-LncRNA PTPRG-AS1 and anti-miR-5590-3p, and CCK-8 method was used to detect cell proliferation; Transwell was used to detect cell migration and invasion. The protein expression of CyclinD1, MMP2 and MMP9 in cells were detected by Western blotting. The dual luciferase reporter gene experiment verified the regulatory relationship between LncRNA PTPRG-AS1 and miR-5590-3p. **Results** Compared with MCF-10A cells, the expression of LncRNA PTPRG-AS1 in breast cancer cell lines (MCF-7, T47D and BT549) was increased ($P < 0.05$), but the expression of miR-5590-3p decreased ($P < 0.05$). After knocking down LncRNA PTPRG-AS1 or

基金项目:宁夏医科大学校级科研项目资助(XM2021010)

作者单位:1.宁夏医科大学总医院肿瘤内三科,宁夏,银川 750001

2.宁夏医科大学总医院肿瘤内一科,宁夏,银川 750001

*通信作者:黄英, E-mail:huangying403@163.com

overexpressing miR-5590-3p, the proliferation activity of MCF-7 cells, the number of migration and invasion, and the protein expression of CyclinD1, MMP2 and MMP9 were all reduced ($P < 0.05$). LncRNA PTPRG-AS1 could target and negatively regulate miR-5590-3p. Knocking down miR-5590-3p reversed the effect of knocking down LncRNA PTPRG-AS1 on the proliferation, migration and invasion of MCF-7 cells.

Conclusion LncRNA PTPRG-AS1 may target down-regulation of miR-5590-3p to promote breast cancer cell proliferation, migration and invasion.

[KEY WORDS] Breast cancer; LncRNA PTPRG-AS1; miR-5590-3p; proliferation; Migration; invasion

乳腺癌是发生于女性的常见肿瘤,且其发病呈年轻化趋势^[1]。近年来,乳腺癌的诊断和治疗有了极大提高,但仍有部分患者易复发和转移^[2]。因此,进一步探究乳腺癌发生发展的分子机制,探索乳腺癌的治疗靶标具有十分重要的意义。蛋白酪氨酸磷酸酶受体G的反义RNA1 (protein tyrosine phosphatase receptor type G antisense RNA 1, PTPRG-AS1)是一种长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA),其在上皮性卵巢癌^[3]、胃癌^[4]和鼻咽癌^[5]等多种肿瘤中表达上调,促进这些肿瘤的发展进程。然而,lncRNA PTPRG-AS1对乳腺癌发生发展的影响还未知。Starbase靶基因在线软件预测显示,PTPRG-AS1可能与微小RNA (microRNA, miR)-5590-3p存在靶向调控关系。miR-5590-3p在三阴性乳腺癌组织及细胞中表达下调,过表达miR-5590-3p阻碍了三阴性乳腺癌细胞增殖和迁移,miR-5590-3p可作为该肿瘤治疗的分子靶点^[6]。本研究主要观察了PTPRG-AS1对乳腺癌细胞恶性行为(增殖、迁移和侵袭)及其能否靶向miR-5590-3p发挥作用,以期了解其对乳腺癌发生发展的影响,为乳腺癌的治疗提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

正常乳腺上皮细胞MCF-10A及乳腺癌细胞系(MCF-7、T47D和BT549),中国科学院上海细胞库;细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒(规格500 T, 20210117)、RPMI 1640培养液(规格500 mL, 20210315)、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白检测试剂盒(规格50 T, 20201218)和双荧光素酶活性检测试剂盒(规格100 T, 20200312),北京索莱宝;胎牛血清(规格100 mL, 20210116),浙江天杭生物科技股份有限公司;RNA抽提试剂盒(规格100 mL, 20201213)、逆转录试剂盒(规格20 μ L 反应 \times 100次, 20201109)和聚合酶链式反应(polymerase chain re-

action, PCR)试剂盒(规格200 Rxns, 20210123),大连宝生物;LipofectamineTM 2000试剂盒(规格0.75 mL, 20210425),美国Invitrogen公司;引物序列、LncRNA PTPRG-AS1小干扰RNA (si-LncRNA PTPRG-AS1)、小干扰RNA阴性对照序列 (si-NC)、miR-5590-3p模拟物(mimics)和抑制剂(anti-miR-5590-3p)、模拟对照序列(miR-NC)和抑制剂阴性序列(anti-miR-NC)、LncRNA PTPRG-AS1野生型(WT)和突变型(MUT)荧光素酶报告基因载体,上海生工; β -肌动蛋白(β -actin, 规格100 μ L, ab156302)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)2(规格100 μ L, ab92536)和MMP9(规格100 μ L, ab283575)抗体,中国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

复苏正常乳腺上皮细胞MCF-10A及乳腺癌细胞系(MCF-7、T47D和BT549),均用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液(完全培养液)置于CO₂培养箱中培养。

1.2.2 实时定量PCR (real-time quantitative PCR, qRT-PCR)法检测LncRNA PTPRG-AS1和miR-5590-3p表达

将2.5 mL MCF-10A、MCF-7、T47D和BT549细胞(5.0×10^4 个/mL)均接种至6孔板,培养24 h后,弃培养液,用RNA抽提试剂盒提取细胞中总RNA。逆转录后,行PCR反应。 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算LncRNA PTPRG-AS1相对甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、miR-5590-3p相对U6的表达量。见表1。

1.2.3 MCF-7细胞转染

将MCF-7细胞接种至6孔板(5.0×10^4 个/mL),培养24 h后,用LipofectamineTM 2000脂质体法,分别转染si-NC(1组)、si-LncRNA PTPRG-AS1(2组)、miR-NC(3组)、miR-5590-3p mimics(4组)、共转染si-LncRNA PTPRG-AS1与anti-miR-NC(5组)、si-LncRNA PTPRG-AS1与anti-miR-

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	上游	下游
LncRNA PTPRG-AS1	5'-AAGCCAAGCAGTCAGAAGCA-3'	5'-GAGCCCTGACAGCCTAATGA-3'
GAPDH	5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'	5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'
miR-5590-3p	5'-CCCCCTTGTCATGTTCTGATCTT-3'	5'-GCAGAGGAAATGAAACCAGTATGT-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

5590-3p(6组)。转染12 h后,换为完全培养液。培养24 h后,qRT-PCR法检测细胞中LncRNA PTPRG-AS1或miR-5590-3p表达验证转染效果。同时设置正常对照(normal control,NC)组,不进行任何转染操作,常规培养。

1.2.4 CCK-8检测细胞增殖活性

将200 μ L各组MCF-7细胞(5.0×10^4 个/mL)接种至96孔板,培养24 h。加10 μ L CCK-8,孵育2 h,用酶标仪(450 nm)测吸光度(A)值。

1.2.5 Transwell检测细胞迁移和侵袭

侵袭:将4 $^{\circ}$ C冰箱中融化的Matrigel基质胶铺于Transwell小室上室,自然晾干。然后接种100 μ L各组MCF-7细胞(5.0×10^4 个/mL)加至上室。另取500 μ L完全培养液加至下室。培养24 h后,弃培养液,将细胞用多聚甲醛固定、结晶紫染色后,显微镜观察,计数。迁移实验除不铺Matrigel基质胶外,步骤同侵袭实验。

1.2.6 蛋白质印迹法测 CyclinD1、MMP2 和 MMP9蛋白表达

将2.5 mL各组MCF-7细胞(5.0×10^4 个/mL)接种至6孔板,培养24 h,弃培养液。用RIPA试剂提取细胞中总蛋白,BCA法测蛋白浓度后,电泳实验将蛋白分离,并转至PVDF膜,用5%脱脂奶粉封闭2 h。然后分别用稀释的CyclinD1(1:500)、MMP2(1:1 000)、MMP9(1:1000)、 β -actin(1:1 000)一抗于4 $^{\circ}$ C冰箱中孵育过夜,洗膜后,再用山羊抗兔二抗(1:2 000)37 $^{\circ}$ C孵育1 h。加显影液,避光显影,曝光拍照。

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验

将2.5 mL MCF-7细胞(5.0×10^4 个/mL)接种至6孔板,培养24 h,用LipofectamineTM 2000脂质体法,分别共转染LncRNA PTPRG-AS1-WT与miR-5590-3p mimics(或miR-NC)、LncRNA PTPRG-AS1-MUT与miR-5590-3p mimics(或miR-NC)。转染12 h后,换为完全培养液。培养24 h后,裂解细胞。用离心半径10 cm的离心机离心(3 500 r/min、10 min),收集上清液,检测荧光素酶活性。

1.3 统计学分析

SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较用独立样本t检验;多组间比较用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌细胞与正常乳腺上皮细胞中LncRNA PTPRG-AS1和miR-5590-3p表达的比较

与正常乳腺上皮细胞MCF-10A比较,乳腺癌细胞系(MCF-7、T47D和BT549)中LncRNA PTPRG-AS1表达升高,miR-5590-3p表达降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),且乳腺癌MCF-7细胞中LncRNA PTPRG-AS1和miR-5590-3p表达较MCF-10A细胞差异尤甚。见表2。

表2 乳腺癌细胞与正常乳腺上皮细胞中LncRNA PTPRG-AS1和miR-5590-3p表达的比较($\bar{x} \pm s$, n=9)

组别	LncRNA PTPRG-AS1	miR-5590-3p
MCF-10A	1.00 \pm 0.11	1.00 \pm 0.10
MCF-7	3.42 \pm 0.27 ^a	0.41 \pm 0.03 ^a
T47D	2.63 \pm 0.21 ^a	0.51 \pm 0.05 ^a
BT549	2.18 \pm 0.17 ^a	0.58 \pm 0.05 ^a
F值	232.973	152.528
P值	0.000	0.000

注:与MCF-10A比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 敲减LncRNA PTPRG-AS1抑制乳腺癌细胞MCF-7增殖、迁移和侵袭

与NC组或1组比较,2组MCF-7细胞中LncRNA PTPRG-AS1表达降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。2组MCF-7细胞增殖活性、迁移数、侵袭数及细胞中CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达均低于NC组或1组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图1、表3。

2.3 过表达miR-5590-3p抑制MCF-7乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭

与3组比较,4组MCF-7细胞中miR-5590-3p

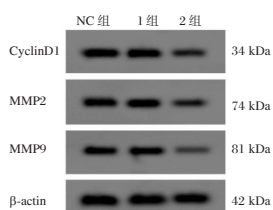


图1 CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达

Figure 1 The protein expression of CyclinD1, MMP2 and MMP9

表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。4组MCF-7细胞增殖活性、迁移数、侵袭数及细胞中CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达均低于3组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见图2、表4。

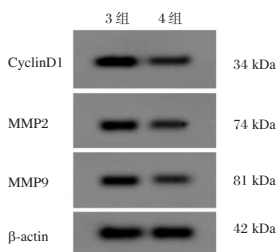


图2 CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达

Figure 2 The protein expression of CyclinD1, MMP2 and MMP9

2.4 LncRNA PTPRG-AS1 靶向调控 miR-5590-3p

Starbase 靶基因在线软件预测显示的LncRNA PTPRG-AS1与miR-5590-3p的结合位点见图3。共转染LncRNA PTPRG-AS1-WT与miR-5590-3p的MCF-7细胞荧光素酶活性低于共转染LncRNA

PTPRG-AS1-WT与miR-NC的MCF-7细胞,差异有统计学意义($P<0.05$);共转染LncRNA PTPRG-AS1-MUT与miR-5590-3p的MCF-7细胞荧光素酶活性与共转染LncRNA PTPRG-AS1-MUT与miR-NC的MCF-7细胞比较差异无统计学意义($P=0.630$),见表5。同时,si-LncRNA PTPRG-AS1组MCF-7细胞中miR-5590-3p表达为 2.46 ± 0.22 ,高于si-NC组miR-5590-3p的表达量(1.00 ± 0.09),差异有统计学意义($t=18.427, P<0.05$)。

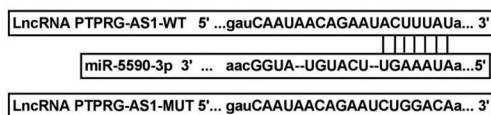


图3 LncRNA PTPRG-AS1与miR-5590-3p核苷酸序列的结合位点

Figure 3 The binding sites of nucleotide sequence between LncRNA PTPRG-AS1 and miR-5590-3p

表5 荧光素酶活性检测结果($\bar{x}\pm s, n=9$)

Table 5 Test results of luciferase activity ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	荧光素酶活性	
	WT	MUT
miR-NC组	1.00±0.08	1.00±0.10
miR-5590-3p组	0.41±0.03 ^a	0.98±0.07
t值	20.716	0.492
P值	0.000	0.630

注:与miR-NC比较,^a $P<0.05$ 。

2.5 敲减 miR-5590-3p 逆转敲减 LncRNA PTPRG-AS1 对 MCF-7 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

与5组比较,6组MCF-7细胞中miR-5590-3p

表3 敲减LncRNA PTPRG-AS1抑制乳腺癌细胞MCF-7增殖、迁移和侵袭($\bar{x}\pm s, n=9$)

Table 3 Knockdown of LncRNA PTPRG-AS1 inhibits the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells MCF-7 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	LncRNA PTPRG-AS1	CyclinD1	MMP2	MMP9	A值	细胞迁移数量(个)	细胞侵袭数量(个)
NC组	1.00±0.10	0.91±0.08	0.81±0.06	0.75±0.08	1.086±0.08	231±19.68	163±14.03
1组	1.02±0.11	0.92±0.09	0.83±0.07	0.73±0.07	1.081±0.09	227±18.64	159±11.95
2组	0.45±0.04 ^a	0.45±0.04 ^a	0.41±0.03 ^a	0.35±0.03 ^a	0.534±0.05 ^a	116±8.97 ^a	71±6.51 ^a
F值	119.203	120.913	161.234	112.426	159.866	141.103	191.109
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与NC组比较,^a $P<0.05$ 。

表4 过表达miR-5590-3p抑制乳腺癌细胞MCF-7增殖、迁移和侵袭($\bar{x}\pm s, n=9$)

Table 4 Overexpression of miR-5590-3p inhibits the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells MCF-7 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	miR-5590-3p	CyclinD1	MMP2	MMP9	A值	细胞迁移数量(个)	细胞侵袭数量(个)
3组	1.00±0.11	0.90±0.07	0.82±0.07	0.76±0.07	1.083±0.09	229±17.56	167±13.54
4组	2.84±0.23 ^a	0.48±0.04 ^a	0.43±0.04 ^a	0.38±0.03 ^a	0.581±0.05 ^a	102±9.73 ^a	68±6.39 ^a
t值	21.651	15.628	14.512	14.969	14.628	18.978	19.837
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与3组比较,^a $P<0.05$ 。

表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。6组MCF-7细胞增殖活性、迁移数、侵袭数及细胞中CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达均高于5组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见图4、表6。

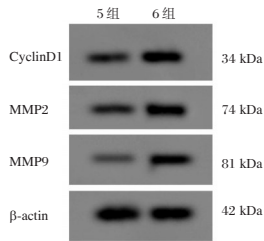


图4 Western Blot 检测 CyclinD1、MMP2 和 MMP9 蛋白的表达

Figure 4 Western Blot detects the protein expression of CyclinD1, MMP2 and MMP9

3 讨论

乳腺癌发病隐匿,部分患者在确诊时常伴随局部或远处转移,严重威胁女性生命健康和安全。探究乳腺癌发生发展的分子机制可为其治疗提供新靶点。lncRNA 是一类长链非编码 RNA,其在真核生物中广泛存在。随着对 lncRNA 研究的深入,发现 lncRNA 可发挥 miRNA 海绵作用调控 miRNA 靶基因的表达,进而参与调控肿瘤细胞的恶性行为,可作为肿瘤治疗的分子靶点^[7]。

作为一种 lncRNA, PTPRG-AS1 也参与肿瘤的发展进程。研究显示,上皮性卵巢癌组织中 PTPRG-AS1 的表达明显高于癌旁组织,其表达与患者远处转移及预后息息相关,PTPRG-AS1 是上皮性卵巢癌总生存期和无病生存期的独立预后因素,其可作为该肿瘤的预后生物标志物^[8];非小细胞肺癌组织中 PTPRG-AS1 表达上调,其通过靶向集合 miR-200c-3p 上调转录因子 4(transcription factor 4, TCF4)的表达促进非小细胞肺癌细胞的活力和放射抗性^[9];骨肉瘤组织和细胞系中 PTPRG-AS1 表达上调,敲减 PTPRG-AS1 降低了体外骨肉瘤细

胞的侵袭和迁移能力,PTPRG-AS1 可能对骨肉瘤细胞转移具有促进作用^[10]。本研究结果表明,PTPRG-AS1 在乳腺癌细胞系中表达上调,敲减 PTPRG-AS1 的乳腺癌细胞增殖活性、迁移数及侵袭数均降低,说明敲减 PTPRG-AS1 阻碍了乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭,提示 PTPRG-AS1 也可作为乳腺癌治疗的分子靶点。CyclinD1 参与调控细胞周期,其表达增加促进细胞增殖^[11]。MMP2 和 MMP9 是基质金属蛋白酶家族成员,可通过降解细胞外基质促进肿瘤细胞迁移及侵袭^[12]。本研究结果表明,敲减 PTPRG-AS1 降低了乳腺癌细胞中 CyclinD1、MMP2 和 MMP9 蛋白表达,这进一步说明敲减 PTPRG-AS1 抑制了乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭。

为了进一步探究敲减 lncRNA PTPRG-AS1 阻碍乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭的分子机制,本研究证实了 lncRNA PTPRG-AS1 可靶向结合并负向地调控 miR-5590-3p 的表达。miR-5590-3p 在多种肿瘤中异常表达。肾癌组织中 miR-5590-3p 表达下调,上调 miR-5590-3p 对肾癌细胞恶性行为具有显著抑制作用^[13];miR-5590-3p 表达的下调增强前列腺癌细胞的增殖和侵袭能力,敲减 miR-5590-3p 有可能起到治疗前列腺癌的作用^[14];miR-5590-3p 在胃癌中表达降低,上调 miR-5590-3 通过靶向抑制 RNA 解旋酶 5(DEAD box helicase 5, DDX5)的表达降低了体外胃癌细胞的增殖及体内肿瘤生长,miR-5590-3p 对胃癌发展起抑制作用^[15]。本研究结果显示,miR-5590-3p 在乳腺癌细胞系中的表达明显低于乳腺上皮细胞,过表达 miR-5590-3p 降低了乳腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭性,这与 miR-5590-3p 在上述其他肿瘤中的研究结果一致,提示 miR-5590-3p 在乳腺癌中也发挥抑癌基因作用,上调其表达有可能起到治疗乳腺癌的作用。此外,本研究结果还表明,敲减 miR-5590-3p 逆转了敲减 lncRNA PTPRG-AS1 对乳腺癌细胞增殖、

表6 敲减 miR-5590-3p 逆转敲减 lncRNA PTPRG-AS1 对 MCF-7 增殖,迁移和侵袭的影响 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

Table 6 Knocking down miR-5590-3p reverses the effect of knocking down lncRNA PTPRG-AS1 on the proliferation, migration and invasion of MCF-7 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	miR-5590-3p	CyclinD1	MMP2	MMP9	A 值	细胞迁移数量	细胞侵袭数量
5组	1.00±0.11	0.47±0.04	0.40±0.03	0.34±0.03	0.538±0.05	119±10.61	73±6.92
6组	0.43±0.04 ^a	0.92±0.09 ^a	0.85±0.08 ^a	0.73±0.07 ^a	1.023±0.09 ^a	203±17.94 ^a	168±15.82 ^a
t 值	14.610	13.707	15.801	15.363	14.132	12.091	16.505
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与5组比较,^a $P<0.05$ 。

迁移及侵袭的阻碍作用,这进一步提示敲减 LncRNA PTPRG-AS1 可能通过靶向上调来阻碍乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭,但 LncRNA PTPRG-AS1 具体调控的 miR-5590-3p 的靶基因还有待进一步探究。

综上,乳腺癌细胞系中 LncRNA PTPRG-AS1 表达上调,而 miR-5590-3p 表达下调;敲减 LncRNA PTPRG-AS1 对乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭发挥显著抑制作用,其可能通过靶向负调控 miR-5590-3p 发挥作用,LncRNA PTPRG-AS1/miR-5590-3p 轴可能为乳腺癌的治疗提供了新靶点,但尚需进一步在体内研究 LncRNA PTPRG-AS1/miR-5590-3p 轴对乳腺癌肿瘤发生发展的影响。

参考文献

- [1] 宫晓红, 綦霞, 寇大庆. LncRNA PTENP1 调控 PTEN 介导的乳腺癌转移[J]. 解剖科学进展, 2019, 25(5):68-72.
- [2] Fan T, Wang CQ, Li XT, et al. MiR-22-3p suppresses cell migration and invasion by targeting PLAGL2 in breast cancer [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2021, 31(8):937-940.
- [3] Shi JJ, Xu XJ, Zhang D, et al. Long non-coding RNA PTPRG-AS1 promotes cell tumorigenicity in epithelial ovarian cancer by decoying microRNA-545-3p and consequently enhancing HDAC4 expression[J]. J Ovarian Res, 2020, 13(1): 127.
- [4] Binang HB, Wang YS, Tewara MA, et al. Expression levels and associations of five long non-coding RNAs in gastric cancer and their clinical significance [J]. Oncol Lett, 2020, 19(3):2431-2445.
- [5] Yi L, Ouyang L, Wang S, et al. Long noncoding RNA PTPRG-AS1 acts as a microRNA-194-3p sponge to regulate radiosensitivity and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells via PRC1[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10):19088-19102.
- [6] Liang F, Fu X, Wang LL. miR-5590-3p-YY1 feedback loop promotes the proliferation and migration of triple-negative breast cancer cells [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(10): 18415-18424.
- [7] 雍嘉欣, 韦权峰, 刘尚辉. 基于 TCGA 和 GEO 数据库的胃癌 lncRNA 筛选与 ceRNA 网络构建[J]. 生物技术进展, 2022, 12(1):149-157.
- [8] Ren XY, Yang WB, Tian Y. Overexpression of long noncoding RNA PTPRG-AS1 is associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer[J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2020, 66(7):948-953.
- [9] Ma Q, Niu RG, Huang W, et al. Long noncoding RNA PTPRG antisense RNA 1 reduces radiosensitivity of nonsmall cell lung cancer cells via regulating miR-200c-3p/TCF4 [J]. Technol Cancer Res Treat, 2020, 19.
- [10] Ge RL, Yang P, Wen BT. Upregulation of long-noncoding RNA PTPRG-AS1 can predict the poor prognosis and promote migration and invasion in patients with osteosarcoma [J]. Oncol Lett, 2021, 21(6):464.
- [11] Ouyang T, Qin Y, Luo KK, et al. miR-486-3p regulates CyclinD1 and promotes fluoride-induced osteoblast proliferation and activation[J]. Environ Toxicol, 2021, 36(9):1817-1828.
- [12] Zou M, Zhang Q. miR-17-5p accelerates cervical cancer cells migration and invasion via the TIMP2/MMPs signaling cascade[J]. Cytotechnology, 2021, 73(4):619-627.
- [13] Yang Y, Dong MH, Hu HM, et al. LncRNA FGD5-AS1/miR-5590-3p axis facilitates the proliferation and metastasis of renal cell carcinoma through ERK/AKT signalling [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(17):8756-8766.
- [14] Luo ZF, Peng Y, Liu FH, et al. Long noncoding RNA SNHG14 promotes malignancy of prostate cancer by regulating with miR-5590-3p/YY1 axis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(9):4697-4709.
- [15] Wu N, Han YY, Liu HM, et al. miR-5590-3p inhibited tumor growth in gastric cancer by targeting DDX5/AKT/mTOR pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(3):1491-1497.

(上接第 66 页)

- [12] 张家森, 赵玉, 李鹏涛. CGRP、IGF-1、Bcl-2 蛋白在急性脑梗死病情评估与预后预测中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 85(9):1423-1426.
- [13] 吴晓宇, 刘洪霞, 王均. NEIHE 和 SCPD 对高血压性脑出血患者临床疗效、预后及 BDNF 和 NSE 的影响[J]. 广东医学, 2021, 42(1):80-84.
- [14] 胡艳芹, 卜晓刚, 高玲霞, 等. 奥拉西坦联合丁苯酞治疗老年高血压脑出血临床疗效及安全性分析[J]. 解放军医药杂志, 2018, 30(3):94-97.
- [15] 吉晓天, 周少珑. 丁苯酞联合醒脑静治疗高血压性脑出血的临床疗效及对脑水肿、血流参数的影响[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(1):186-189.
- [16] 刘杨, 吴功祥, 杨静. 丁苯酞联合依达拉奉对高血压脑出血患者脑血管功能及降钙素基因相关肽和沉默信息调节因子 1 水平的影响[J]. 中国医药, 2020, 15(5): 703-707.
- [17] 余建萍, 张黎黎, 何仲春, 等. 开窍醒神汤联合丁苯酞注射液治疗脑梗死急性期的临床疗效及其对 NSE、炎症因子表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(12):1448-1452.
- [18] 于晓辉, 张俊良, 黄双凤, 等. 丁苯酞联合美金刚早期治疗急性缺血性卒中后失语的有效性和安全性研究[J]. 中国卒中杂志, 2021, 16(2):175-180.

两种品牌血培养瓶抗生素吸附能力对比研究

王萌¹ 周义正² 罗金柱² 李承彬^{1*} 龚权³

[摘要] **目的** 比较美国BD Bactec树脂需氧瓶和溶血素厌氧瓶与法国梅里埃BacT/Alert树脂血培养瓶的抗生素吸附能力。**方法** 选用临床常用抗生素:亚胺培南、万古霉素、氨苄西林、头孢曲松、甲硝唑、美罗培南、米卡芬净,按照一定浓度与标准菌株和无菌羊血混合,同时接种于2种品牌血培养瓶,记录不同血培养瓶五天内的阳性报警情况及检出时间,对比各血培养瓶的抗生素吸附能力。**结果** 需氧瓶组:氨苄西林BMX-FA与BD-FA瓶检出率相同,均为100%,且BMX-FA较BD-FA瓶检出时间长(11.04±0.24 h vs 10.45±0.45 h),差异有统计学意义($t=2.59, P<0.05$);含亚胺培南及头孢曲松组中,2种血培养瓶均未检出;含万古霉素组,BD-FA比BMX-FA瓶的检出率低,分别为40%和100%,且BMX-FA比BD-FA瓶的检出时间更短(15.70±0.76 h vs 21.50±0.71 h)差异有统计学意义($P<0.05$);含米卡芬净组,BD-FA比BMX-FA瓶的检出率低,分别为60%和100%,且BMX-FA比BD-FA瓶检出时间更短(61.06±10.42 h vs 94.20±1.74 h),差异有统计学意义($t=12.49, 7.01, P<0.05$)。厌氧瓶组:含亚胺培南、万古霉素、氨苄西林、甲硝唑、美罗培南的BD-FN瓶均未检出,BMX-FN瓶检出率均为100%;含头孢曲松组,2种血培养瓶均未检出。**结论** 法国梅里埃BacT/Alert树脂血培养瓶的抗生素吸附能力总体上优于美国BD Bactec树脂需氧瓶和溶血素厌氧瓶,临床可根据抗生素使用情况选择合适的血培养瓶。

[关键词] 树脂血培养瓶; 抗生素吸附能力; 检出时间; 血流感染

Comparative study on antibiotic adsorption capacity of two brands of blood culture bottles

WANG Meng¹, ZHOU Yizheng², LUO Jinzhu², LI Chengbin^{1*}, GONG Quan³

(1. Department of Laboratory Medicine, Jingzhou Hospital Affiliated to Yangtze University, Jingzhou, Hubei, China, 434020; 2. Department of Laboratory Medicine, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou, Hubei, China, 434020; 3. Yangtze University School of Medicine, Jingzhou, Hubei, China, 433023)

[ABSTRACT] **Objective** To compare the antibiotic adsorption capacity of American BD Bactec resin aerobic and Bactec-Lytic/10 anaerobic bottles with French bioMérieux BacT/Alert resin blood culture bottles. **Methods** The commonly used antibiotics of imipenem, vancomycin, ampicillin, ceftriaxone, metronidazole, meropenem, micafungin were applied in this study. According to a certain concentration, the standard strains and sterile sheep blood were mixed and inoculated into two brands of blood culture bottles at the same time. recorded the positive alarm conditions and detection time of the different blood culture bottles within five days, compared the antibiotic adsorption capacity of each blood culture bottle. **Results** Aerobic bottle group: Ampicillin BMX-FA and BD-FA bottles have the same detection rate of 100%, and BMX-FA has a longer detection time than BD-FA bottles (11.04±0.24 vs 10.45±0.45 h), and the differences were statistically significant ($t=2.59, P<0.05$). In the imipenem and ceftriaxone groups, the two blood culture bottles were not detected. In the vancomycin groups, the detection rate of BD-FA bottles was lower than Bthat of BMX-FA bottles, which were 40% and 100%, the time to detection of BMX-FA was shorter than BD-FA bottles (15.70±

基金项目:荆州市2020年度科技计划项目(2020CB2021-15);2019年湖北省中央引导地方科技发展专项(2019ZYYD066)

作者单位:1.长江大学附属荆州医院医学检验部,湖北,荆州434020

2.湖北省荆州市中心医院医学检验部,湖北,荆州434020

3.长江大学医学部,湖北,荆州434023

*通信作者:李承彬, E-mail:2388879241@qq.com

0.76 vs 21.50±0.71 h). In the micafungin groups, the detection rate of BD-FA bottles was lower than that of BMX-FA bottles, which were 60% and 100%, and the detection time of BMX-FA was shorter than that of BD-FA bottles (61.06±10.42 vs 94.20±1.74 h), and the differences were statistically significant ($t=12.49, 7.01, P<0.05$). anaerobic bottles group: BD - FN bottles containing imipenem, vancomycin, ampicillin, metronidazole, meropenem were not detected, the detection rates of BMX - FN bottles were 100%. In the group containing ceftriaxone, neither of the two blood culture bottles was detected. **Conclusion** The antibiotic adsorption capacity of BacT/Alert resin blood culture bottles was generally better than that of Bactec resin aerobic and Bactec-Lytic/10 anaerobic bottles, and the appropriate blood culture bottles can be selected according to the use of antibiotics.

[KEY WORDS] Resin blood culture bottle; Antibiotic adsorption capacity; Time to detection; Bloodstream infection

血流感染的患病率高,如果不能及时治疗将导致严重后果,血培养是血流感染诊断的金标准^[1]。为提高血流感染的检出率,通过体外模拟菌血症环境进行对比实验以选择性能较佳的血培养瓶逐渐成为热门方法临床上送检的血液标本大多含有一定浓度抗生素,因此不同厂家都在原培养瓶的基础上提高抗生素吸附性能^[2-3]。由于含有的介质不同,不同血培养瓶所具有的抗生素吸附能力也有所不同。近年来,国外已有关于梅里埃与BD树脂瓶进行比较的文献研究^[4-9]。然而国内对在我国新上市的BacT/Alert树脂血培养瓶抗生素吸附能力的研究鲜有报道。因此,本研究通过体外模拟实验比较法国梅里埃BacT/Alert树脂血培养瓶与美国BD Bactec树脂需氧瓶和溶血素厌氧瓶的抗生素吸附能力,为临床上选择性能较佳的诊断工具提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

法国梅里埃BacT/Alert树脂血培养瓶与美国BD Bactec树脂需氧瓶和溶血素厌氧瓶。

1.2 仪器与试剂

BACTEC FX 400型号血培养系统(美国BD公司)及其配套的Bactec树脂需氧瓶、溶血素厌氧瓶(以下简称为BD-FA, BD-FN瓶), Bact /Alert 3D 240型号血培养系统(法国梅里埃公司)及其配套BacT/Alert树脂需氧和树脂厌氧瓶、无抗生素吸附物质的标准需氧瓶和厌氧瓶(以下简称为BMX-FA, BMX-FN、BMX-SA、BMX-SN瓶),血培养瓶均在有效期内, BD-FA批号:0217225; BD-FN批号:0217236; BMX-FA批号:4100080; BMX-FN批号:4056920; BMX-SA批号:105516; BMX-SA批号:1056750。标准菌株:大肠埃希菌 ATCC25922,金黄色葡萄球菌 ATCC29213,肺炎链球菌

ATCC49619,脆弱拟杆菌 ATCC25285,光滑念珠菌 ATCC90030(来源于美国模式培养物集存库, ATCC)。实验所用抗生素品种包括亚胺培南、万古霉素、氨苄西林、头孢曲松、甲硝唑、美罗培南、米卡芬净(均来自于大连美仑生物技术有限公司)。磷酸盐缓冲溶液(蒙博生物科技有限公司), 无菌羊血(北京奥科赛德生物技术有限公司)。

1.3 方法

通过查阅临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) M100、抗微生物治疗指南2018版(热病)、临床微生物检验程序验证指南2018版(CNAS-GL028)等相关文献^[10-12],设计临床正在使用的常规抗生素及特殊抗生素的实验组合。阳性对照组:加入无菌羊血和菌悬液,每种类型血瓶3个重复;阴性对照组:BMX-SA瓶加入无菌羊血和抗生素溶液,每种抗生素3个重复;实验组:加入无菌羊血、菌悬液和抗生素溶液,每种类型血瓶5个重复。根据CLSI M100的指南使用合适的溶剂和稀释剂,亚胺培南采用无菌的磷酸盐缓冲液作为溶剂和稀释剂,其他抗生素采用无菌蒸馏水作为溶剂和稀释剂。根据热病制备每种抗生素最高血药浓度(PSL),亚胺培南为40 μg/mL、万古霉素50 μg/mL、氨苄西林100 μg/mL、头孢曲松150 μg/mL、美罗培南49 μg/mL、米卡芬净10 μg/mL、甲硝唑25 μg/mL等,预试验时发现甲硝唑10%PSL才能得出阳性结果,因此本次实验甲硝唑浓度配置为2.5 μg/mL。标准菌株传代两次,培养18 h~24 h,制备0.5麦氏浓度的菌悬液,然后用生理盐水倍比稀释,制备终浓度为10² CFU/mL的菌悬液,根据CNAS-GL028要求最终加入血培养瓶的细菌浓度为5~30 CFU/瓶,需添加适量的新鲜无菌血液(成人瓶5~10 mL,儿童瓶1~3 mL),因此本实验中每瓶加入0.3 mL菌

悬液, 9 mL 无菌新鲜羊血模拟人体正常采血。根据每种抗生素标准品中附带的说明书和 CLSI M100 中制备抗生素溶液的步骤, 制备最终加入量为 0.5 mL 的抗生素溶液备用。首先采用 75% 酒精消毒瓶口, 加入 9 mL 无菌新鲜羊血, 按不同分组加入 0.3 mL 制备好的菌悬液, 0.5 mL 抗生素溶液或生理盐水, 颠倒混匀, 尽快放入血培养仪器中孵育, 记录不同血培养瓶五天内的阳性报警情况及检出时间 (time to detection, TTD)。阴性判断标准: 五天内未报阳性且转种培养结果为阴性的血培养瓶判定为阴性瓶; 阳性判断标准: 五天内报阳性, 转种培养结果为阳性, 质谱仪鉴定结果验证为加入菌种的血培养瓶判定为阳性瓶^[13]。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析; 不同培养瓶对细菌的 TTD, 样本呈正态分布, 采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组数据之间的比较采用 *t* 检验的方法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同需氧瓶细菌 TTD 比较

阳性对照组均报阳, 检出率均为 100% (3/3),

阴性对照组均报阴, 抗生素有效。在加入抗生素的需氧瓶实验组中, 含氨苄西林的大肠埃希菌组, BD-FA 与 BMX-FA 瓶检出率相同, 均为 100% (5/5)。BMX-FA 瓶 TTD 较 BD-FA 瓶长, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。含亚胺培南的大肠埃希菌及含头孢曲松的大肠埃希菌和肺炎链球菌中, 两种品牌需氧瓶均未检出。含万古霉素的金黄色葡萄球菌中, BD-FA 比 BMX-FA 瓶的检出率低, 分别为 40% (2/5) 和 100% (5/5) 且 BD-FA 瓶的检出时间更长 ($P < 0.05$); 含米卡芬净的光滑念珠菌中, BD-FA 比 BMX-FA 瓶的检出率低, 分别为 60% (3/5) 和 100% (5/5) 且 BD-FA 瓶检出时间更长, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同厌氧瓶的细菌检出时间

两种品牌的厌氧瓶阳性对照组均报阳, 检出率均为 100% (3/3), 每种抗生素的阴性对照组均报阴, 抗生素有效。含亚胺培南、万古霉素、氨苄西林、甲硝唑、美罗培南抗生素的 BD-FN 瓶均未出现阳性结果, 而 BMX-FN 检出率均为 100% (5/5)。含头孢曲松的大肠埃希菌和肺炎链球菌的两种品牌血培养瓶均未获得阳性结果。见表 2。

表 1 菌液浓度 10^2 CFU/mL 包含抗菌药物的需氧瓶检出率和检出时间 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 The detection rate and detection time of aerobic bottles containing antibacterial drugs with a bacterial concentration of 10^2 CFU/mL $(\bar{x} \pm s)$

标准菌株	抗菌药物	药物浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	检出率 (%)		检出时间 (h)		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
			BMX-FA	BD-FA	BMX-FA	BD-FA		
大肠埃希菌 ATCC25922	亚胺培南	40	NG	NG	NG	NG	2.59	0.03
	氨苄西林	100	100 (5/5)	100 (5/5)	11.04 \pm 0.24	10.45 \pm 0.45		
金黄色葡萄球菌 ATCC29213	头孢曲松	150	NG	NG	NG	NG	12.49	<0.01
	万古霉素	50	100 (5/5)	80 (4/5)	15.70 \pm 0.76	21.50 \pm 0.71		
肺炎链球菌 ATCC49619	头孢曲松	150	NG	NG	NG	NG	7.01	<0.01
光滑念珠菌 ATCC90030	米卡芬净	10	100 (5/5)	60 (3/5)	61.06 \pm 10.42	94.20 \pm 1.74		

注: NG 表示未出现阳性结果。

表 2 菌液浓度 10^2 CFU/mL 包含抗菌药物的厌氧瓶检出率和检出时间 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 The detection rate and detection time of anaerobic bottles containing antibiotics at a concentration of 10^2 CFU/mL $(\bar{x} \pm s)$

标准菌株	抗菌药物	药物浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	检出率 (%)		检出时间 (h)	
			BMX-FN	BD-FN	BMX-FN	BD-FN
大肠埃希菌 ATCC25922	亚胺培南	40	100 (5/5)	NG	12.38 \pm 0.22	NG
	氨苄西林	100	100 (5/5)	NG	10.45 \pm 0.45	NG
金黄色葡萄球菌 ATCC29213	头孢曲松	150	NG	NG	NG	NG
	万古霉素	50	100 (5/5)	NG	16.50 \pm 1.84	NG
肺炎链球菌 ATCC49619	头孢曲松	150	NG	NG	NG	NG
脆弱拟杆菌 ATCC25285	甲硝唑	2.5	100 (5/5)	NG	70.70 \pm 8.03	NG
	美罗培南	49	100 (5/5)	NG	45.70 \pm 1.96	NG

注: NG 表示未出现阳性结果。

3 讨论

近年来随着抗生素的广泛使用,采血时患者往往正在接受抗生素治疗,这些抗生素可能抑制细菌的检出,通过对抗生素使用前后血培养的研究证实使用抗生素之后的培养不太可能会检出微生物^[14]。目前我国各大医院使用的进口血培养瓶多来源于美国BD与法国生物梅里埃公司。为了能帮助临床选择合适的血培养瓶,本研究模拟菌血症环境进行对比实验,研究两种品牌含树脂的血培养瓶的抗生素吸附能力。本次实验结果表明,BMX-FA瓶的抗生素吸附能力总体上比BD-FA瓶更好,特别是在万古霉素和米卡芬净组中,主要原因是法国梅里埃更新了树脂的材质,采用APB(聚合物吸附珠),它拥有更大的接触表面积,抗生素的吸附能力和吸附速率更好^[9]。碳青霉烯类抗生素的吸附能力是梅里埃专利技术,需要严格的厌氧环境,血瓶中的半胱氨酸共价键才能有效破坏碳青霉烯类抗生素的活性^[9]。因此在亚胺培南抗生素组中,只有BMX-FN瓶报阳,而梅里埃需氧瓶BMX-FA瓶未报阳,也证明了临床上同时采集厌氧、需氧瓶进行培养的重要性。虽然BD-FN瓶中含有洗涤剂皂甙用于白细胞裂解以利于细胞内外细菌的生长,但是其不含任何抗生素吸附剂功能^[15],本次实验中BD-FN瓶出现了全部阴性的结果,显示出BD-FN瓶无抗生素吸附能力。因此,对于已经使用抗生素后再采集血培养的患者,应该慎重选择BD-FN瓶。本次实验中含有头孢曲松药物的血培养瓶均未有细菌生长,这与Dieter Mitteregger等^[2]和Giulia Menchinelli等^[8]研究结果类似,说明目前两种品牌的树脂瓶对头孢曲松的吸附能力尚不足,也是研究者们未来研发的方向。

综上所述,临床使用碳青霉烯类、万古霉素和米卡芬净等抗生素时,尽量使用BMX-FA/FN瓶采集血培养来提高阳性率和缩短TTD;怀疑患者厌氧菌感染时,在已使用甲硝唑和美罗培南抗生素治疗的情况下,尽量不要选择可能无抗生素吸附能力的BD-FN瓶采集血培养。由于时间和成本限制,BD-FN瓶有无抗生素吸附能力有待于进一步研究。另外,头孢曲松的阴性结果表明继续进行该类研究的必要性,从而为患者选择更优的血培养瓶以进行及时的治疗。同时提醒临床上,提高病原菌的检出率,在抗生素应用之前对患者进行

血培养标本采集的重要性。为了应对病原菌的性状变化,未来该类实验将在模拟实验的基础上以病人血培养开展大量的临床实验,将更能体现不同树脂的检测能力与抗生素吸附能力,为临床上提供更省时与可靠的工具。

参考文献

- [1] Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, et al. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 697.
- [2] Mitteregger D, Barousch W, Nehr M, et al. Neutralization of Antimicrobial Substances in New BacT/Alert FA and FN Plus Blood Culture Bottles [J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(5): 1534-1540.
- [3] Opota O, Croxatto A, Prod'homme G, et al. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(4): 313-22.
- [4] Lovern D, Katzin B, Johnson K, et al. Antimicrobial binding and growth kinetics in BacT/ALERT® FA Plus and BACTEC® Aerobic/F Plus blood culture media [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016, 35(12): 2033-2036.
- [5] Grupper M, Nicolau DP, Aslanzadeh J, et al. Effects of Clinically Meaningful Concentrations of Antipseudomonal β -Lactams on Time to Detection and Organism Growth in Blood Culture Bottles [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(12): 3502-3512.
- [6] Chen Iris H, Nicolau David P, Kuti Joseph L. Recovery of Gram-Negative Bacteria from Aerobic Blood Culture Bottles Containing Antibiotic Binding Resins after Exposure to β -Lactam and Fluoroquinolone Concentrations [J]. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(10): 1-11.
- [7] Chen Iris H, Nicolau David P, Kuti Joseph L. Effect of Clinically Meaningful Antibiotic Concentrations on Recovery of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolates from Anaerobic Blood Culture Bottles with and without Antibiotic Binding Resins [J]. *J Clin Microbiol*, 2019, 57(12): 1-9.
- [8] Liotti G M F M, Giordano L, Angelis G D, et al. Efficient Inactivation of Clinically Relevant Antimicrobial Drug Concentrations by BacT/Alert or Bactec Resin-Containing Media in Simulated Adult Blood Cultures [J]. *Antim Agents Chem*, 2019, 63(7): 1-10.
- [9] Chung Y, Kim IH, Han M, et al. A comparative evaluation of BACT/ALERT FA PLUS and FN PLUS blood culture bottles and BD BACTEC Plus Aerobic and Anaerobic blood culture bottles for antimicrobial neutralization [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019, 38(12): 2229-2233.
- [10] CLSI. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirty-first Informational Supplement" CLSI document M100-S31. Wayne, PA; Clinical and Laboratory Standard Institute [S]. 2021.

(下转第81页)

2型糖尿病合并冠心病患者 miR-26a 与心电图校正 QT 间期的关系及临床意义

李智慧^{1*} 安晓飞¹ 彭梦乐² 于瑞静²

[摘要] **目的** 研究2型糖尿病(T2DM)合并冠心病(CHD)患者外周血 miR-26a 表达水平与心电图校正 QT(QTc)间期的关系及临床意义。**方法** 将2018年1月至2020年12月河南省直第三人民医院收治的135例T2DM患者,根据冠状动脉CT血管成像检查分为合并CHD的T2DM+CHD组(80例),不合并CHD的T2DM组(55例);同期体检的健康志愿者(100例)作为对照组。计算心电图QT间期、QTc间期,评估冠脉斑块稳定性,检测外周血 miR-26a 表达水平及血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、丙二醛(MDA)、8-羟基脱氧鸟苷酸(8-OHdG)、超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)的含量。**结果** T2DM+CHD组患者的 miR-26a 表达水平低于T2DM组、对照组,QTc间期高于T2DM组、对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);T2DM+CHD组中软斑块患者的 miR-26a 表达水平低于混合斑块患者、钙化斑块患者,QTc间期高于混合斑块患者、钙化斑块患者,差异有统计学意义($P<0.05$);T2DM+CHD组患者的 miR-26a 表达水平与QTc间期呈负相关($r=-0.500$, $P<0.05$);miR-26a 表达水平、QTc间期对T2DM+CHD组患者的软斑块具有一定的诊断价值($P<0.05$)。**结论** T2DM合并CHD患者的 miR-26a 表达降低、心电图QTc间期增加与冠脉斑块性质有关,miR-26a 表达的降低可能引起QTc间期的变化且这一作用可能与炎症反应、氧化应激反应的激活有关。

[关键词] 2型糖尿病;冠心病;miR-26a;校正QT间期

Relationship between miR-26a expression and electrocardiographic corrected QT interval in type 2 diabetes mellitus complicated with coronary heart disease patients and its clinical significance

LI Zhihui^{1*}, AN Xiaofei¹, PENG Mengle², YU Ruijing²

(1. Department of Function, the Third People's Hospital of Henan, Zhengzhou, Henan, China, 450000;
2. Department of Laboratory Medicine, the Third People's Hospital of Henan, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between miR-26a expression in peripheral blood and electrocardiographic corrected QT (QTc) interval in type 2 diabetes mellitus (T2DM) complicated with coronary heart disease (CHD) patients and its clinical significance. **Methods** A total of 135 T2DM patients admitted to the Third People's Hospital of Henan from January 2018 to December 2020 were divided into the T2DM + CHD group (80) and without CHD according to coronary CT angiography group (55). Healthy volunteers in the same period were selected as the control group (100). QT interval and QTc interval of ECG were calculated, the stability of coronary plaque was evaluated, miR-26a expression in peripheral blood and serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-6, ICAM-1, VCAM-1, MDA, 8-OHdG, SOD and GSH were measured. **Results** The level of miR-26a expression in the T2DM + CHD group were lower than those in the

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018020578)

作者单位:1.河南省直第三人民医院功能科,河南,郑州 450000

2.河南省直第三人民医院检验科,河南,郑州 450000

*通信作者:李智慧, E-mail: qingkongwanlz@163.com

T2DM group and the control group, and the QTc interval was higher than that in the T2DM group and the control group ($P<0.05$). In the T2DM + CHD group, the level of miR-26a expression in soft plaque patients was lower than that in mixed plaque patients and calcified plaque patients, and the QTc interval was higher than that in mixed plaque and calcified plaque patients ($P<0.05$). The level of miR-26a expression was negatively correlated with QTc interval in the T2DM + CHD group. miR-26a expression level and QTc interval had certain diagnostic value for the soft plaques of T2DM + CHD patients ($P<0.05$). **Conclusion** The decreased miR-26a expression and increased QTc interval in T2DM patients with CHD are related to the character of coronary plaque. The decreased miR-26a expression may induce the change of QTc interval and this effect may be related to the activation of inflammation and oxidative stress response.

[KEY WORDS] T2DM; Coronary heart disease; miR-26a; Corrected QT interval

冠心病(Coronary heart disease, CHD)是2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者常见的并发症之一,冠脉粥样斑块的性质是影响病情转归的重要因素,软斑块患者发生急性冠脉综合征的风险明显高于混合斑块及钙化斑块患者^[1-2]。冠状动脉CT血管成像(coronary computed tomography angiography, CCTA)是临床上诊断CHD并评估斑块性质的常用方法,因为检查中需要使用造影剂,所以不适用于CHD病情及斑块性质变化的连续动态评估。CHD发病过程中心肌缺血会出现QT间期延长等心电图变化,有研究证实心电图校正QT(QT correction, QTc)间期延长与2型糖尿病患者多种心血管危险因素存在相关性^[3-4]。另有研究报道,微小RNA(microRNA, miR)-26a在心血管系统中发挥重要的调控作用,一方面miR-26a影响心脏电生理,过表达miR-26a能够发挥抗心律失常作用^[5],另一方面miR-26a影响动脉粥样硬化进程,miR-26a表达降低与斑块增厚有关^[6]。但目前miR-26a及QTc间期在T2DM合并CHD患者斑块性质评估中的价值尚不清楚。因此,本研究将以T2DM合并CHD为对象,分析外周血miR-26a表达水平与心电图QTc间期的相关性及其临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2018年1月至2020年12月期间在河南省直第三人民医院接受CCTA检查的135例T2DM患者,80例合并CHD的患者作为T2DM+CHD组,55例未合并CHD的患者作为T2DM组,纳入标准:①T2DM符合《中国2型糖尿病防治指南(2017年版)》中的诊断标准^[7];②CHD符合《稳定性冠心病诊断与治疗指南》中的诊断标准^[8];③均接受CCTA检查。排除标准:①既往有心肌梗死、脑梗死等病史;②合并心脏瓣膜病、心律失常或有起搏

器植入病史;③正在服用可能影响心律的药物;④合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、急慢性感染。另取同期在本院体检的100例健康志愿者作为对照组。T2DM+CHD组中男性48例、女性32例,年龄平均(52.49±9.38)岁;T2DM组中男性29例、女性26例,年龄平均(50.83±11.23)岁;对照组中男性63例、女性37例,年龄平均(49.59±8.38)岁。3组间一般资料的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 QT间期及QTc间期评估方法

T2DM患者在CCTA前进行心电图检查,对照组在体检时进行心电图检查,记录QT间期及RR间期,按照公式(QT间期/RR间期^{1/2})计算QTc间期^[9]。

1.3 CCTA检查方法

T2DM患者接受CCTA检查,检查前2~3 min给予硝酸甘油舌下含服,而后使用双筒高压注射器向外周静脉注射非离子型对比剂60 mL,速率(4.5~5.0)mL/s,采用人工智能触发扫描系统确定延迟时间,其他参数包括电压120 kV、电流280 mA、层厚0.75 mm、球管旋转时间0.33 s/r。参照《稳定性冠心病诊断与治疗指南》^[8],根据扫描结果,管腔狭窄≥25%认为存在冠状动脉粥样硬化,测量斑块CT值并判断斑块性质:软斑块的CT值≤60 HU、混合斑块的CT值60-130 HU、钙化斑块的CT值≥130 HU。

1.4 外周血miR-26a表达水平的检测方法

取三组的外周抗凝血样本,采用全血RNA提取试剂盒(赛默飞世尔公司)提取RNA,采用一步加A法miR反转录试剂盒(哈尔滨海基生物科技有限公司)将进行反转录,得到cDNA后采用荧光定量PCR检测,分别扩增miR-26a及U6,以U6为内参,计算miR-26a的表达水平。

1.5 血清指标检测方法

T2DM患者在CCTA前收集外周静脉血5 mL,静置30 min后在离心机中按照温度4℃、离心力

3 000 g 离心 10 min (半径为 10 cm), 收集血清后采用酶联免疫吸附法试剂盒 (上海酶联公司, 中国) 检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、细胞间黏附分子-1 (Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1 (Vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、8-羟基脱氧鸟苷酸 (8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG) 的含量, 采用分光光度法 (北京索莱宝公司, 中国) 检测丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、还原型谷胱甘肽 (Gutathione, GSH) 的含量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS21.0 软件录入数据, 计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析、进一步采用 LSD-t 法两两比较, 两组间比较采用 *t* 检验, 相关性分析采用 Pearson 检验, QTc 间期对软斑块的诊断价值采用 ROC 曲线分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组外周血 miR-26a 表达水平、QTc 间期的比较

T2DM+CHD 患者的外周血 miR-26a 表达水平低于 T2DM 组、对照组, QTc 间期均高于 T2DM 组、对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); T2DM 组的外周血 miR-26a 表达水平低于 QTc 间期与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 3组外周血 miR-26a 表达水平、QTc 间期的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of miR-26a expression level in peripheral blood and QTc interval among 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-26a 表达水平	QTc 间期 (ms)
T2DM+CHD 组	80	0.42 \pm 0.16 ^a	392.62 \pm 93.63 ^a
T2DM 组	55	0.95 \pm 0.21 ^b	304.57 \pm 64.41 ^b
对照组	100	1.00 \pm 0.19	301.77 \pm 69.38
<i>F</i> 值		31.594	25.584
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注: 与对照组比较 ^a $P < 0.05$; 与 T2DM+CHD 组比较 ^b $P > 0.05$ 。

2.2 T2DM+CHD 组中不同冠脉斑块性质患者外周血 miR-26a 表达水平、QTc 间期的比较

T2DM+CHD 组中冠脉软斑块患者的外周血 miR-26a 表达水平低于混合斑块及钙化斑块患者, QTc 间期均高于混合斑块及钙化斑块患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 混合斑块患者的外周血 miR-26a 表达水平、QTc 间期与钙化斑块患者比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 冠脉斑块性质与 miR-26a 表达水平、QTc 间期的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Relationship between coronary plaque characteristics and miR-26a expression, QTc interval ($\bar{x} \pm s$)

冠脉斑块性质	<i>n</i>	miR-26a 表达水平	QTc 间期 (ms)
软斑块	21	0.32 \pm 0.11 ^a	451.51 \pm 92.97 ^a
混合斑块	34	0.45 \pm 0.13 ^b	371.59 \pm 82.72 ^b
钙化斑块	25	0.47 \pm 0.20	371.77 \pm 90.16
<i>F</i> 值		21.932	34.491
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注: 与钙化斑块患者比较 ^a $P < 0.05$; 与软斑块患者比较 ^b $P > 0.05$ 。

2.3 T2DM+CHD 组中外周血 miR-26a 表达水平与 QTc 间期的相关性

经 Pearson 检验, T2DM+CHD 组中外周血 miR-26a 表达水平与 QTc 间期具有负相关关系 ($r = -0.500, P < 0.05$)。见图 1。

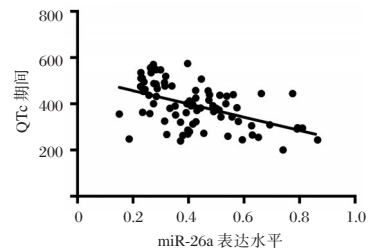


图 1 T2DM+CHD 组中外周血 miR-26a 表达水平与 QTc 间期的相关性

Figure 1 Correlation of miR-26a expression level in peripheral blood and QTc interval in T2DM+CHD group,

2.4 外周血 miR-26a 表达水平、QTc 间期对 T2DM+CHD 患者冠脉软斑的诊断价值

外周血 miR-26a 表达水平、QTc 间期诊断 T2DM+CHD 患者冠脉软斑的曲线下面积分别为 0.770 (95% CI: 0.653~0.888)、0.737 (95% CI: 0.604~0.870), 截断值为 0.362、455 ms, 对应的灵敏度分别为 72.88%、83.05%, 特异性分别为 76.19% 和 61.90%。见图 2。

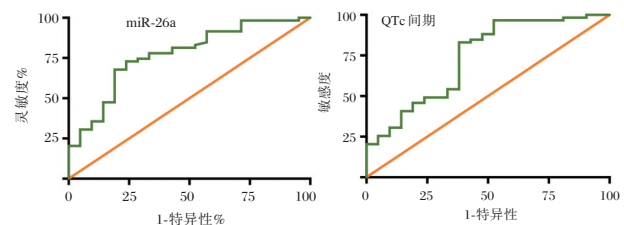


图 2 miR-26a 表达水平、QTc 间期对冠脉软斑的诊断价值
Figure 2 The diagnosis value of miR-26a expression level, QTc for coronary soft plaque

2.4 T2DM+CHD 组中不同 miR-26a 表达患者血清炎症细胞因子的比较

T2DM+CHD 组 miR-26a 表达 ≥ 0.362 患者的血清 TNF- α 、IL-6、ICAM-1、VCAM-1 含量低于 miR-26a 表达 < 0.362 的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 T2DM+CHD 组中不同 miR-26a 表达患者血清炎症细胞因子的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum inflammatory cytokines between patients with different miR-26a expression in T2DM+CHD group ($\bar{x} \pm s$)

miR-26a	n	TNF- α (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)	ICAM-1 (ng/mL)	VCAM-1 (ng/mL)
≥ 0.362	23	22.55 \pm 7.41	76.52 \pm 10.35	247.46 \pm 52.77	231.27 \pm 45.67
< 0.362	57	31.92 \pm 9.71	95.61 \pm 18.57	314.58 \pm 73.52	274.51 \pm 89.45
t 值		4.669	5.856	4.5777	2.857
P 值		0.000	0.000	0.000	0.005

2.5 T2DM+CHD 组中不同 QTc 间期患者血清氧化应激指标的比较

T2DM+CHD 组 QTc 间期 ≥ 455 ms 患者的血清 MDA、8-OHdG 含量低于 QTc 间期 < 455 ms 的患者,SOD、GSH 含量高于 QTc 间期 < 455 ms 的患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 T2DM+CHD 组中不同 QTc 间期患者血清氧化应激指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum oxidative stress indexes between patients with different different QTc interval in T2DM + CHD group ($\bar{x} \pm s$)

QTc 间期	n	MDA (μ mol/mL)	8-OHdG (ng/mL)	SOD (U/mL)	GSH (U/mL)
≥ 455 ms	23	7.03 \pm 1.32	10.94 \pm 2.36	68.63 \pm 9.04	58.72 \pm 10.08
< 455 ms	57	8.19 \pm 1.85	14.58 \pm 3.26	51.32 \pm 9.29	42.57 \pm 7.76
t 值		3.154	5.571	7.691	6.894
P 值		0.002	0.000	0.000	0.000

3 讨论

我国近些年的 T2DM 发病率不断升高,相应血管并发症的发生率也呈增加趋势。CHD 是 T2DM 常见的血管并发症,流行病学资料显示,T2DM 合并 CHD 患者表现出更为严重的冠脉狭窄程度及斑块稳定性,相较冠脉狭窄程度,斑块稳定性是影响预后更为重要的因素。T2DM 合并冠脉软斑块患者发生急性冠脉综合征的风险更高^[9-10]。因此,在临床实践中需要准确评估 T2DM 合并 CHD 患者的冠脉斑块性质。

miR-26a 是一种具有心血管保护作用的 miR,在冠心病、脑梗死等患者的外周血中均呈低表达趋势^[11-12],本研究表明低表达的 miR-26a 与 T2DM 患者发生 CHD 有关。

国内赵欣^[5]的研究显示,miR-26a 参与心脏电生理的调控,过表达 miR-26a 具有抗心律失常的作用。在心肌发生缺血缺氧损伤的过程中,心脏电生理也会发生相应变化,通过心电图检查能够评估心脏电生理的变化、进而反映心肌损伤的程度。心电图 QT 间期是心室除极开始至复极结束的时间间隔,用 RR 间期进行校正得到 QTc 间期能够更准确的评价心肌电生理状况。当心肌发生损伤时,心电图会出现 QTc 间期延长的表现。有研究证实,ST 段抬高心肌梗死患者 QTc 间期延长且与预后有关^[13-14];另有糖尿病相关的研究证实,QTc 间期延长是糖尿病患者发生颈动脉粥样硬化的危险因素^[15]。本研究的分析证实,与不合并 CHD 的 T2DM 患者及健康志愿者比较,T2DM 合并 CHD 患者的 QTc 间期均延长,提示在 T2DM 患者发生 CHD 的过程中可能存在心肌缺血缺氧损伤、心电图检查表现出 QT 间期的变化。

本研究结果提示在 T2DM 患者发生 CHD 的过程中低表达的 miR-26a 可能影响心脏电生理、造成 QTc 间期延长。进而本研究还分析了这两项指标与 CHD 冠脉斑块性质的关系,通过 CCTA 检查将 CHD 冠脉斑块性质分为软斑块、混合斑块和钙化斑块,通过比较不同斑块性质 T2DM 合并 CHD 患者 miR-26a 表达水平、QTc 间期的差异可知:与混合斑块和钙化斑块患者比较,软斑块患者的 miR-26a 表达降低、QTc 间期明显延长,提示 miR-26a 的低表达及 QTc 间期延长与斑块稳定性降低有关。进一步通过 ROC 曲线分析证实,miR-26a 及 QTc 间期对 T2DM 合并 CHD 患者的软斑块具有诊断价值。

在 T2DM 患者 CHD 的发病过程中,miR-26a 造成 QTc 间期延长以及斑块性质改变的相关分子机制可能是炎症反应及氧化应激反应的持续激活,多种炎症细胞因子及氧化应激产物可造成内皮损伤、导致斑块稳定性降低,同时也会引起心肌间质损害、改变心肌电生理并出现心脏传导系统异常,在心电图上表现为 QTc 间期的延长^[16]。TNF- α 、IL-6、ICAM-1、VCAM-1 是目前已知与 CHD 发病密切相关的炎症细胞因子,介导炎症反应的级联放大激活^[17];MDA 和 8-OHdG 是细胞发生氧化应激损伤的产物,SOD 和 GSH 则是起到细胞保护作用的抗氧化酶、在氧化

应激损伤过程中消耗增加^[18]。本研究结果提示T2DM患者CHD的发病过程中,炎症反应及氧化应激反应的激活与斑块性质变化、QTc间期延长相关。

综上所述,本研究通过一些列临床数据的收集及血清指标的检测表明QTc间期在T2DM合并CHD患者斑块稳定性评估中的价值,检测QTc间期对冠脉软斑块具有诊断价值,并且通过血清炎症指标及氧化应激指标的检测证实QTc间期在冠脉斑块稳定性变化中延长可能与炎症反应及氧化应激反应的激活有关。

参考文献

- [1] Shiga Y, Idemoto Y, Tashiro K, et al. Regression and Stabilization of Coronary Vulnerable Plaque by Evolocumab as Assessed by Multidetector Row Computed Tomography [J]. *Intern Med*, 2020, 59(19):2391-2395.
- [2] Kim H, Kim JY, Min PK, et al. Outcomes and Associated Factors of Discrepant Coronary and Carotid Atherosclerosis [J]. *Int Heart J*, 2020, 61(6):1142-1149.
- [3] 任卉, 许樟荣, 王爱红, 等. 2型糖尿病患者校正QT间期延长与多种心血管危险因素的相关性[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2011, 10(4):301-304.
- [4] Kobayashi S, Nagao M, Asai A, et al. Severity and multiplicity of microvascular complications are associated with QT interval prolongation in patients with type 2 diabetes [J]. *J Diabet Investig*, 2018, 9(4):946-951.
- [5] 赵欣, 夏时俊, 孙鹏瑜, 等. miR-26通过负向调控Ang II/KLF4/TGF- β 通路抑制心房颤动易感性及心房纤维化[J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(6):549-554.
- [6] 冯莹. 2型糖尿病患者血清miR-26a与IMT和颈动脉粥样硬化斑块之间的关系[J]. *国际医药卫生导报*, 2020, 26(24):3775-3778.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2017年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4):292-344.
- [8] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组, 中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会. 稳定性冠心病诊断与治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(9):680-694.
- [9] Park GM, Lee CH, Lee SW, et al. Impact of Diabetes Control on Subclinical Atherosclerosis: Analysis from Coronary Computed Tomographic Angiography Registry [J]. *Diabet Metab J*, 2020, 44(3):470-479.
- [10] Laimoud M, Faris F, Elghawaby H. Intravascular evaluation of coronary atherosclerotic lesions among Egyptian diabetic patients with acute coronary syndromes [J]. *Egypt Heart J*, 2018, 70(4):237-241.
- [11] Velle-Forbord T, Eidlaug M, Debik J, et al. Circulating microRNAs as predictive biomarkers of myocardial infarction: Evidence from the HUNT study [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 289:1-7.
- [12] Liang Z, Chi YJ, Lin GQ, et al. MiRNA-26a promotes angiogenesis in a rat model of cerebral infarction via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(11):3485-3492.
- [13] Yeh KH, Chang YT, Juang JJ, et al. Combined corrected QT interval and growth differentiation factor-15 level has synergistic predictive value for long-term outcome of angiographically confirmed coronary artery disease [J]. *Int J Clin Pract*, 2021, 24:e14180.
- [14] Wattoo MA, Tabassum M, Bhutta KR, et al. Correlation of Prolonged Corrected QT Interval With Ventricular Arrhythmias and In-Hospital Mortality Among ST-Elevation Myocardial Infarction Patients: A Mystique or Lucidity? [J]. *Cureus*, 2020, 12(12):e12356.
- [15] 段琛, 金志宏, 谢晓亮, 等. 老年2型糖尿病患者心电图校正QT间期延长与颈动脉粥样硬化的相关性[J]. *中华老年医学杂志*, 2020, 39(7):783-786.
- [16] Serban RC, Balan AI, Perian M, et al. Atrial electrical remodeling induced by chronic ischemia and inflammation in patients with stable coronary artery disease [J]. *Chin J Physiol*, 2019, 62(1):11-16.
- [17] Ma CY, Xu ZY, Wang SP, et al. Change of Inflammatory Factors in Patients with Acute Coronary Syndrome [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131(12):1444-1449.
- [18] Noshin TF, Ali MR, Banik S. Increased oxidative stress and altered serum macro-minerals and trace elements levels are associated with coronary artery disease [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2021, 64:126707.
- [11] David N. Gilbert, Henry F. Chambers, George M. Eliopoulos. 桑福德抗微生物治疗指南新译第48版[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2018:93-98.
- [12] 中国合格评定国家认可委员会. 临床微生物检验程序验证指南 CNAS-GL028[S]. 2018.
- [13] 徐英春. 临床微生物学血培养操作规范[J]. *中华检验医学杂志*, 2004(2):63-65.
- [14] Grace CJ, Leiberman J, Pierce K, et al. Usefulness of blood culture for hospitalized patients who are receiving antibiotic therapy [J]. *Clin Infect Dis*, 2001, 32:1651-1655.
- [15] Mueller-Premru M, Jeverica S, Papst L, et al. Performance of two blood culture systems to detect anaerobic bacteria. Is there any difference? [J]. *Anaerobe*, 2017, 45:59-64.

(上接第76页)

血清 IL-6、IL-17 水平对 AECOPD 合并肺部感染的早期诊断价值及病原菌分析

刘巍¹ 马青松^{2*}

[摘要] 目的 分析血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-17(IL-17)水平对慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)合并肺部感染的早期诊断价值及病原菌情况。方法 选取2018年12月至2020年12月首都医科大学附属北京潞河医院呼吸内科收治的203例AECOPD患者作为研究对象,根据患者是否合并肺部感染将121例患者作为感染组,82例患者作为非感染组,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中IL-6、IL-17水平,采用受试者工作特征曲线(ROC)评估IL-6、IL-17诊断效能,检测患者痰液病原菌分布情况,分析AECOPD合并肺部感染的危险因素。结果 感染组血清IL-6、IL-17水平高于非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$);IL-6对AECOPD合并肺部感染的诊断AUC为0.753,IL-17对AECOPD合并肺部感染的诊断曲线下面积(Area Under Curve, AUC)为0.781,联合诊断对AECOPD合并肺部感染的诊断AUC为0.894(95%CI:0.814~0.997),明显高于单项($P<0.05$);AECOPD合并肺部感染患者病原菌中革兰氏阴性菌占63.30%,革兰氏阳性菌占31.19%,真菌占5.51%;年龄 ≥ 60 岁、住院时间 ≥ 14 天、机械通气时间 ≥ 48 h、血清IL-6 ≥ 35.28 ng/L、血清IL-17 ≥ 288.17 ng/L均是AECOPD合并肺部感染的危险因素($P<0.05$)。结论 血清IL-6、IL-17是AECOPD合并肺部感染的早期诊断指标及危险因素,AECOPD合并肺部感染病原菌主要为革兰氏阴性菌株。

[关键词] 白细胞介素-6; 白细胞介素-17; 慢性阻塞性肺疾病急性加重

The value of serum IL-6 and IL-17 levels in the early diagnosis of AECOPD complicated with pulmonary infection and analysis of pathogenic bacteria

LIU Wei¹, MA Qingsong^{2*}

(1. Department of Laboratory Medicine, Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 101149; 2. Department of Laboratory Medicine, Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qian'an, Hebei, China, 064400)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the value of serum interleukin-6 (IL-6) and interleukin-17 (IL-17) in the early diagnosis of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) with lung infection and the pathogenic bacteria. **Methods** A total of 203 AECOPD patients admitted to the Department of Respiratory Medicine, Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University from December 2018 to December 2020 were selected as the research objects. According to whether the patient has pulmonary infection or not, 121 patients were regarded as the infected group and 82 patients were regarded as the non-infected group. The levels of IL-6 and IL-17 in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the diagnostic efficacy of IL-6 and IL-17 was evaluated by receiver operating characteristic curve (ROC), and the distribution of pathogenic bacteria in sputum of patients was detected. The risk factors for AECOPD complicated with pulmonary infection were analyzed. **Results** The levels of serum IL-6 and IL-17 in the infected group were higher than those in the non-infected group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The AUC

作者单位:1.首都医科大学附属北京潞河医院检验科,北京101149

2.河北省迁安市中医医院检验科,河北,迁安064400

*通信作者:马青松, E-mail:maqingsong44655@163.com

of IL-6 for the diagnosis of AECOPD with pulmonary infection was 0.753, the area under the curve (AUC) of IL-17 for the diagnosis of AECOPD with pulmonary infection was 0.781, and the AUC of the combined diagnosis for the diagnosis of A with pulmonary infection was 0.894 (95% CI: 0.814~0.997), which was significantly higher than the single detection ($P<0.05$); Gram-negative bacteria accounted for 63.30%, Gram-positive bacteria accounted for 31.19%, and fungi accounted for 5.51%. Age ≥ 60 years old, hospital stay ≥ 14 days, mechanical ventilation time ≥ 48 h, serum IL-6 ≥ 35.28 ng/L, serum IL-17 ≥ 288.17 ng/L were all risk factors for AECOPD complicated with pulmonary infection ($P<0.05$). **Conclusion** Serum IL-6 and IL-17 are early diagnostic indicators and risk factors for AECOPD complicated with lung infection. The pathogens in AECOPD complicated with lung infection are mainly Gram-negative strains.

[KEY WORDS] Interleukin-6; Interleukin-17; AECOPD

慢性阻塞性肺疾病急性加重 (Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD) 由慢性阻塞性肺疾病进展而成, 患者由于肺部黏膜水肿、气道纤毛运动障碍等原因容易引发致病菌株定植, 导致肺部感染的发生^[1], 由于患者多为老年人, 机体免疫力较弱, 易引起疾病的快速进展, 严重者可致使患者死亡^[2-3]。目前针对 AECOPD 合并肺部感染的治疗手段主要以内科治疗为主, 故明确其致病菌株十分重要, 且若能够在疾病早期对其进行诊断快速进行临床干预, 对改善患者预后和生活质量具有重大意义。白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-17 (Interleukin-17, IL-17) 水平与机体炎症水平密切相关, 是临床常用的炎症指标^[4]。研究表明 IL-6 是一种多效应细胞因子, 能够与多种细胞因子协同调控炎症反应的发生^[5], 而 IL-17 能够募集大量粒细胞, 释放炎症因子参与机体炎症反应^[6]。虽然 IL-6 和 IL-17 均能对肺部感染具有一定诊断价值, 但存在单项指标灵敏度不足的缺陷。本研究将探讨 IL-6、IL-17 水平对 AECOPD 合并肺部感染的早期诊断价值及病原菌分布情况, 旨在为临床 AECOPD 合并肺部感染的诊断及治疗提供依据。

1 材料与方 法

1.1 一般资料

选取 2018 年 12 月至 2020 年 12 月首都医科大学附属北京潞河医院呼吸内科收治的 203 例 AECOPD 患者作为研究对象, 诊断依据《2015 年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病指南》^[7], 按照患者是否合并肺部感染将患者分别为感染组 ($n=121$) 和非感染组 ($n=82$), AECOPD 合并肺部感染符合以下标准^[8]: ①发热、白细胞或中性粒细胞水平升高; ②影像学检查肺部炎症浸润改变, 影像学检查发

现新病变或较入院时病情进展, 患者痰培养连续两次分离到相同病原菌, 或气道分泌物、肺泡灌洗液中病原菌数量 $>10^4$ cfu/mL 的患者诊断为肺部感染。感染组中男性 75 例、女性 46 例, 平均年龄 (56.44 ± 8.26) 岁; 非感染组中男性 56 例、女性 26 例, 平均年龄 (57.13 ± 7.15) 岁。纳入标准: ①患者确诊为 AECOPD 合并肺部感染患者; ②患者未合并其他慢性疾病, 一般情况较好。排除标准: ①恶性肿瘤患者; ②自身免疫性疾病患者; ③重要脏器功能损伤患者; ④精神神经疾病患者; ⑤临床资料不完整的患者不纳入本次研究。本研究所有患者及家属均签署研究知情同意书, 研究经院伦理委员会审核并通过。

1.2 方 法

1.2.1 酶联免疫吸附法检测血清 IL-6、IL-17 水平

患者入组后次日清晨无菌采集患者肘正中静脉血 3 mL 于无菌管中, 3 000 r/min \times 10 min 离心收集上层血清, 采用酶联免疫吸附法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (上海酶联生物有限公司) 检测血清中 IL-6、IL-17 水平, 操作步骤严格按照说明书所示进行, 于 Varinskan LUX 酶标仪 (美国 Thermo Fisher 公司) 中检测结果。

1.2.2 患者肺部感染病原菌分析

意识清醒的患者于清晨漱口后采用自然咳痰法采集痰液, 合并意识障碍患者采用无菌吸痰器采集痰液, 标本采集后应于 2 h 内送检。显微镜下观察标准上皮细胞: 白细胞 $<1:2.5$ 为合格样品, 使用血琼脂平板进行痰液细菌培养, 使用法国梅里埃公司 VITEK2 Compact 全自行微生物鉴定系统检测病原菌分布情况。

1.2.3 患者肺部感染危险因素分析

通过查阅临床资料统计患者性别、年龄、住院时间、机械通气时间等因素进行分析, 筛选患者肺

部感染的危险因素,其中患者血清IL-6、IL-17水平按照所有患者中位数进行分组。

1.3 统计分析

使用SPSS 21.0软件分析实验数据;符合正态分布的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验;数据中计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估诊断效能;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清IL-6、IL-17水平比较

感染组血清IL-6、IL-17水平高于非感染组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组患者血清IL-6、IL-17水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum IL-6 and IL-17 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	血清IL-6(ng/L)	血清IL-17(ng/L)
非感染组	83	27.89±7.59	185.32±31.79
感染组	121	56.64±15.88	397.69±58.44
t 值		15.248	30.019
P 值		<0.001	<0.001

2.2 血清IL-6、IL-17对AECOPD合并肺部感染的早期诊断价值

血清IL-6、IL-17二者联合诊断对AECOPD合并肺部感染的诊断AUC为0.894(95%CI:0.814~0.997),诊断效能明于单项($P < 0.05$)。见表2、图1。

表2 血清IL-6、IL-17对AECOPD合并肺部感染的诊断效能

Table 2 Evaluation of the diagnostic efficacy of serum IL-6 and IL-17 on AECOPD complicated with lung infection

指标	AUC	截断值 (ng/L)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	95%CI	P 值
血清IL-6	0.753	45.28	73.32	70.66	0.545~0.812	0.022
血清IL-17	0.781	366.19	74.79	71.52	0.581~0.834	0.013
联合诊断	0.894		86.25	84.77	0.814~0.997	<0.001

2.3 AECOPD合并肺部感染的病原菌分析

121例AECOPD合并肺部感染患者痰液培养中共分离出致病菌株109株,检出率90.08%,其中革兰氏阴性菌69株,占63.30%,以铜绿假单胞菌和鲍氏不动杆菌居多;革兰氏阳性菌34株,占31.19%,以金黄色葡萄球菌居多;真菌6株,占5.51%,以白色假丝酵母菌和白色念珠菌为主。见表3。

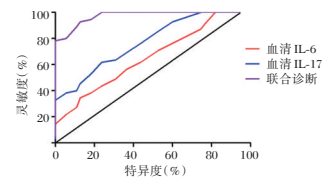


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

表3 AECOPD合并肺部感染病原菌及构成比

Table 3 Pathogens and composition ratio of AECOPD complicated with lung infection

病原菌	例数($n=109$)	构成比(%)
革兰氏阴性菌		
铜绿假单胞菌	25	22.94
鲍氏不动杆菌	22	20.12
肺炎克雷伯菌	9	8.28
大肠埃希菌	7	6.44
嗜麦芽寡养单胞菌	5	4.60
其他	1	0.92
革兰氏阳性菌		
金黄色葡萄球菌	22	20.12
肺炎链球菌	6	5.55
表皮链球菌	4	3.68
其他	2	1.84
真菌		
白色假丝酵母菌	3	2.75
白色念珠菌	3	2.75
其他	1	0.92
总计	109	100.00

2.4 AECOPD合并肺部感染的危险因素分析

结果表明,患者年龄 ≥ 60 岁、住院时间 ≥ 14 天、机械通气时间 ≥ 48 h、血清IL-6 ≥ 35.28 ng/L、血清IL-17 ≥ 288.17 ng/L均是AECOPD合并肺部感染的危险因素($P < 0.05$)。见表4。

表4 AECOPD合并肺部感染的危险因素分析

Table 4 Analysis of risk factors of AECOPD complicated with lung infection

因素	非感染组 ($n=82$)	感染组 ($n=121$)	χ^2 值	P 值
性别				
男	56(68.29)	75(61.98)	0.850	0.357
女	26(31.71)	46(38.02)		
年龄(岁)			28.891	<0.001
<60	52(63.41)	31(25.62)		
≥ 60	30(36.59)	90(74.38)		
住院时间(d)			34.761	<0.001
<14	61(74.39)	39(32.23)		
≥ 14	21(25.61)	82(67.77)		
机械通气时间(h)			18.451	<0.001
<48	55(67.07)	44(36.36)		
≥ 48	27(32.93)	77(63.64)		
血清IL-6(ng/L)			36.391	<0.001
<35.28	59(71.59)	35(28.93)		
≥ 35.28	23(28.41)	86(71.07)		
血清IL-17(ng/L)			39.031	<0.001
<288.17	61(74.39)	36(29.75)		
≥ 288.17	21(25.61)	85(70.25)		

3 讨论

COPD是老年人常见的呼吸系统疾病之一,以持续性气流受限为特征,对患者生活质量造成影响。

AECOPD为COPD急性加重,常由于感染等应激因素导致,患者常由于身体衰弱、免疫力低下等原因导致患者预后不良的发生,危害老年人健康安全^[9]。研究表明细菌、病毒、空气污染等因素均是导致AECOPD的原因,导致患者气道炎症反应加剧,造成反复肺部感染,为临床治疗带来极大困难^[10]。

本研究结果显示AECOPD合并肺部感染患者血清IL-6、IL-17水平较不合并肺部感染患者相比明显升高,且血清IL-6、IL-17能够作为AECOPD合并肺部感染的早期诊断指标,二者联合诊断效能高于单项。IL-6、IL-17均是反映炎症水平的相关指标,广泛应用于感染性疾病中且其水平常与感染炎症程度相关联,学者张洁等人^[11]的研究表明支原体肺炎患儿血清中IL-6、IL-17水平明显升高,且能够作为支原体感染的早期诊断依据;而在乙型肝炎患者血清中同时发现IL-6、IL-17水平升高,且与病毒增殖相关^[12]。近年来有研究表明IL-17可作为上游信号分子激活IL-6/STAT3信号通路,改变STAT3蛋白构象从而诱导STAT3磷酸化,进一步诱导NF- κ B磷酸化导致NF- κ B通路的激活,参与炎症细胞因子的表达调控^[13-14]。AECOPD合并肺部感染患者血清IL-6、IL-17水平升高提示IL-17激活IL-6/STAT3信号通路,可能通过此途径介导机体炎症反应的发生和进展。本研究结果显示AECOPD合并肺感染患者致病菌株主要以革兰氏阴性菌为主,且内源性条件致病菌较多,可能由于COPD患者长期糖皮质激素及抗生素的使用导致微生态平衡被破坏,加之多数患者反复发生肺部感染导致肺组织和气管纤毛破坏,肺脏抵抗能力减弱,适宜病原菌定植,致病菌分析与文献报道一致^[15-16]。

本研究发现患者年龄、住院时间、机械通气时间、血清IL-6和血清IL-17均是AECOPD合并肺部感染的危险因素。高龄患者常伴随机体免疫力下降、组织器官衰老等表现,为病原菌定植和生长提供有利条件,且老年患者耐受性较差,用药量有所保留,可能导致药物浓度不足影响治疗效果;院内感染是肺部感染的重要因素,住院时间较长的患者发生院内感染的概率升高;机械通气等侵入性操作破坏气道黏膜完整性,导致气道防御能力下降,易导致肺部感染的发生。而血清IL-6、IL-17水平能够反映机体炎症水平,其高表达常意

味着炎症反应较为严重,肺部损伤较大,易导致感染的发生。

综上所述AECOPD合并肺部感染患者血清IL-6、IL-17水平明显上升,是AECOPD合并肺部感染的危险因素,且能够作为AECOPD合并肺部感染的早期诊断指标发挥作用,本研究的不足之处在未能对研究的相关机制做出明确解释,还需在后续研究中加以补足。

参考文献

- [1] 张维,胡晟. N-乙酰半胱氨酸联合糖皮质激素对AECOPD患者的疗效及机制[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(5): 481-483+512
- [2] Wei B, Tian T, Liu YG. IL-10 Combined with NGAL Has Diagnostic Value for AECOPD Combined with AKI [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2020, 26, 15:637-644.
- [3] Tung LF, Shen SY, Shih HH, et al. Effect of high-flow nasal therapy during early pulmonary rehabilitation in patients with severe AECOPD: a randomized controlled study [J]. Respir Res, 2020, 15, 21(1):84.
- [4] Luo Z, Su R, Wang W, et al. EV71 infection induces neurodegeneration via activating TLR7 signaling and IL-6 production [J]. PLoS Pathog, 2019, 15, 15(11):e1008142.
- [5] 王军锋. 血清IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 检测结果对预防儿童肺炎支原体肺炎的临床意义[J]. 华南预防医学, 2017, 43(1):83-85.
- [6] 郁晶晶,卜妙然,孟令建,等. 巨细胞病毒肝损伤患儿外周血IL-17、IL-35与Th17/Treg的检测及其临床意义[J]. 江苏大学学报(医学版), 2019, 29(4):356-359.
- [7] 2015年GOLD慢性阻塞性肺疾病指南[A]. 中国中西医结合学会、中国中西医结合学会变态反应专业委员会. 第八次全国中西医结合变态反应学术会议暨首届深圳市中西医结合变态反应学术会议暨第十届深圳呼吸论坛论文汇编[C]. 中国中西医结合学会、中国中西医结合学会变态反应专业委员会:中国中西医结合学会, 2016:12.
- [8] 杨冬华,马晓丽,宛丽,等. AECOPD患者医院感染病原学及微生物组学[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(24):3716-3720.
- [9] Shi L, Zhu B, Xu M, et al. Selection of AECOPD-specific immunomodulatory biomarkers by integrating genomics and proteomics with clinical informatics [J]. Cell Biol Toxicol, 2018, 34(2):109-123.
- [10] Yao C, Liu X, Tang Z. Prognostic role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio for hospital mortality in patients with AECOPD [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2017, 3, 12:2285-2290.
- [11] 张洁,金华,顾岚,等. 血清IL-17和IL-6及TNF- α 与儿童特异性体质肺炎支原体感染的相关性[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(14):2201-2205. (下转第90页)

18F-FDG PET/CT SUVmax、TLG及MTV与GIST恶性程度的关系

杨朝辉¹ 邓绍强^{1*} 顾发见² 卿仁强¹

[摘要] **目的** 分析氟代脱氧葡萄糖正电子发射断层摄影术-计算机断层摄影术(18F-FDG PET/CT)最大标准摄取值(SUVmax)、病肿瘤代谢体积(MTV)以及灶糖酵解总量(TLG)与胃肠道间质瘤(GIST)恶性程度的关系。**方法** 选取2016年1月至2020年3月广安市人民医院58例经术后病理检查确诊GIST患者,收集患者临床及影像学资料,统计18F-FDG PET/CT阳性率,分析18F-FDG PET/CT阳性与阴性患者病理特征,分析SUVmax、TLG及MTV与不同病理特征的相关性以及SUVmax、TLG及MTV与对GIST恶性危险度预测价值。**结果** 58例患者中18F-FDG PET/CT阳性40例(68.96%),阴性18例(31.04%)。18F-FDG PET/CT阳性与阴性患者在不同肿瘤直径、转移情况、核分裂象、Ki-67指数、危险度分级、预后情况中比较差异有统计学意义($P<0.05$)。SUVmax值在不同核分裂象、Ki-67指数、危险度分级、预后中比较差异有统计学意义($P<0.05$),TLG及MTV在不同肿瘤直径、核分裂象、Ki-67指数、危险度分级、预后中比较差异有统计学意义($P<0.05$)。经Pearson相关分析,SUVmax与核分裂象、Ki-67指数、危险度分级、预后均为正相关($P<0.05$),与肿瘤直径无相关性($P>0.05$),TLG及MTV与核分裂象、Ki-67指数、危险度分级、预后、肿瘤直径均为正相关($P<0.05$)。绘制ROC曲线可知,TLG、MTV指标对GIST恶性危险度预测AUC、灵敏度、特异度均高于SUVmax($P<0.05$)。**结论** 通过18F-FDG PET/CT检查获取SUVmax、TLG及MTV代谢指标可能可为GIST恶性危险度预测提供参考。

[关键词] 18F-FDG PET/CT; SUVmax; TLG; MTV; GIST

Relationship between 18F-FDG PET/CT, SUVmax, TLG, MTV and the malignant degree of GIST

YANG Zhaohui¹, DENG Shaoqiang^{1*}, GU Fajian², QING Renqiang¹

(1. Department of Radiology, Guang'an People's Hospital, Guang'an, Sichuan, China, 638000; 2. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, China, 637000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between 18 fl uoro - deoxyglucose positron emission tomography - computed tomography (18F - FDG PET/CT), maximum standardized uptake value (SUVmax), metabolic tumor volume (MTV), total lesion glycolysis (TLG) and the malignant degree of gastrointestinal stromal tumor (GIST). **Methods** 58 patients with GIST diagnosed in Guang'an City People's Hospital through postoperative pathological examinations from January 2016 to March 2020 were selected. The clinical and imaging data of the patients were collected, and the positive rate of 18F-FDG PET/CT was counted, pathological characteristics of 18F-FDG PET/CT positive and negative patients were analyzed, the correlation between SUVmax, TLG, MTV and different pathological characteristics were analyzed, the predictive value of SUVmax, TLG and MTV on the malignancy of GIST risk were analyzed. **Results** Among the 58 patients, 40 cases (68.96%) were positive for 18F - FDG PET/CT and 18 cases were negative (31.04%). There were

基金项目:四川省医学会专项科研课题(2017TG21)

作者单位:1. 广安市人民医院放射科,四川,广安 638000

2. 川北医学院附属医院核医学科,四川,南充 637000

*通信作者:邓绍强, E-mail: gadsq@163.com

statistically significant differences between 18F-FDG PET/CT positive and negative patients in different tumor diameter, metastasis, mitosis, Ki-67 index, risk classification, and prognosis ($P<0.05$). There were statistically differences in SUVmax values in mitosis, Ki-67 index, risk grade, and prognosis ($P<0.05$). There were statistically significant differences between TLG and MTV in different tumor diameters, mitotic figures, Ki-67 index, risk grade, and prognosis ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that SUVmax was positively related to mitotic figures, Ki-67 index, and risk degree grade and prognosis ($P<0.05$), but not with tumor diameter ($P>0.05$). TLG and MTV were positively correlated with mitosis, Ki-67 index, risk grade, prognosis, and tumor diameter ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the AUC, sensitivity, and specificity of TLG and MTV in predicting the risk of GIST malignancy were higher than SUVmax ($P<0.05$).

Conclusion Obtaining the metabolic indicators of SUVmax, TLG and MTV by 18F-FDG PET/CT examination may provide a reference for the prediction of the malignant risk of GIST.

[KEY WORDS] 18F-FDG PET/CT; SUVmax; TLG; MTV; GIST

胃肠道间质瘤(Gastrointestinal stromal tumor, GIST)是临床中常见的间叶源性肿瘤,明确其恶性程度,是患者后期进行酪氨酸激酶抑制剂治疗的参考指标^[1]。对于GIST恶性危险程度评价,需要结合肿瘤形态学和病理学。氟代脱氧葡萄糖正电子发射断层摄影术-计算机断层摄影术(18F-FDG PET/CT)集合了解剖结构、功能代谢显像的优势,在临床中应用于多种肿瘤疾病诊断^[2]。18F-FDG PET/CT代谢指标中最大标准摄取值(Maximum standardized uptake value, SUVmax)可反映病灶最高的局部FDG代谢活性;病肿瘤代谢体积(Metabolic tumor volume, MTV)是可测量的容积参数,在设定好的阈值基础上对高FDG摄取的病灶进行计算,从而确定患者病灶的代谢体积;病灶糖酵解总量(Total lesion glycolysis, TLG)则以肿瘤代谢体积作为基础,是代表肿瘤代谢活性、代谢体积的一种综合参数,有助于临床了解病变部位的葡萄糖负荷情况^[3]。上述三种参数在以往临床研究中显示与淋巴瘤、食管癌、肺癌等预后存在密切的联系,可为恶性肿瘤的转移与预后提供重要的参考依据^[4]。本文通过研究18F-FDG PET/CT的代谢指标SUVmax、MTV、TLG与GIST患者病理参数的关系,分析其对GIST恶性程度评估的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年1月至2020年3月广安市人民医院58例经术后病理检查确诊为GIST的患者,其中男28例,女30例,平均年龄为(60.50±3.18)岁。纳

入标准:①均经临床表现、实验室检查、穿刺或病理检查确诊;②均为首次治疗;③临床资料、影像学资料、实验室资料完整;④符合中国胃肠道间质瘤专家组制定《中国胃肠道间质瘤诊断治疗共识》中相关诊断标准^[5]。排除标准:①存在感染、创伤或合并其他部位肿瘤者;②存在手术治疗禁忌症者;③存在传染性疾病。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 18F-FDG PET/CT检查方法

全部患者进行PET/CT(美国GE公司)进行检查,18F-FDG(氟代脱氧葡萄糖)放化程度>95%。18F-FDG注射之前患者禁食4~6h左右,注射后患者平静休息60min后进行18F-FDG PET/CT扫描。采集范围颅顶到大腿中上段,PET为3D采集模式,层厚3.55mm,矩阵为125×125,CT采集管电压120KV,管电流110mA,螺旋时间0.9s/周,床速23.5mm/s,矩阵为510×510。PET图像经CT校正后,在Xeleris工作站以横断面、冠状面、矢状面显示并与CT图像融合,并对PET图片进行衰减校正。由2名经验丰富核医学医师对所得图片进行评价。PET/CT阳性:患者所得PET图像中可见有明显高于邻近正常组织的局灶性摄取,可伴有或不伴有同机定位CT形态结构/密度出现改变;阴性:患者PET图像中放射性分布均匀,并未见局灶性高摄取^[6]。使用定量法选取病灶内感兴趣区域(Region of interest, ROI),根据设备软件计算出SUVmax、MTV、TLG,TLG=MTV×平均标准摄取值^[7]。

1.2.2 资料收集

收集患者一般资料:包括病变部位、肿瘤直径、转移情况(淋巴结转移、脏器转移)、危险度分

级、实验室指标[增殖细胞核蛋白 Ki-67(Proliferating cell nuclear protein, Ki-67)、干细胞生长因子受体靶点(Stem cell growth factor receptor, CD117)、跨膜糖蛋白 CD34(Transmembrane glycoprotein CD34, CD34)]、预后等。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 *t* 检验; 计数资料采用 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 SUVmax、TLG 及 MTV 与对 GIST 恶性危险度诊断价值, 计算其检测曲线下面积(AUC), 相关性采用 Pearson 相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 58 例患者 18F-FDG PET/CT 阳性率

58 例患者中 18F-FDG PET/CT 阳性 40 例(68.96%), 阴性 18 例(31.04%)。

2.2 18F-FDG PET/CT 阳性与阴性患者病理特征比较

阳性与阴性患者在不同肿瘤直径、转移情况、核分裂象、Ki-67 指数、危险度分级、预后情况中比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 SUVmax、TLG 及 MTV 与 GIST 病理参数的关系

SUVmax 值在不同核分裂象、Ki-67 指数、危险度分级、预后中比较差异有统计学意义($P < 0.05$); TLG 及 MTV 在不同肿瘤直径、核分裂象、Ki-67 指数、危险度分级、预后中比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 SUVmax、TLG 及 MTV 与不同病理特征的相关性分析

纳入标 2 中有意义因素进行相关性分析, 可知 SUVmax 与核分裂象、Ki-67 指数、危险度分级、预后均为正相关($P < 0.05$), 与肿瘤直径无相关性($P > 0.05$), TLG 及 MTV 与核分裂象、Ki-67 指数、危险度分级、预后、肿瘤直径均为正相关($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 18F-FDG PET/CT 代谢指标 SUVmax、TLG 及 MTV 与对 GIST 恶性危险度预测价值

绘制 ROC 曲线可知, TLG、MTV 指标对 GIST 恶性危险度预测 AUC、灵敏度、特异度均高于 SUVmax($P < 0.05$)。见表 4 及图 1。

表 1 18F-FDG PET/CT 阳、阴性患者病理特征比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of pathological characteristics between 18F-FDG PET/CT positive and negative patients [$n(\%)$]

病理特征		阳性 ($n=40$)	阴性 ($n=18$)	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别	男	18(45.00)	10(55.56)	0.294	0.587
	女	22(55.00)	8(44.44)		
年龄	>60岁	28(70.00)	11(61.11)	0.445	0.504
	≤60岁	12(30.00)	7(38.89)		
肿瘤直径	>5cm	29(72.50)	6(33.33)	7.957	0.004
	≤5cm	11(27.50)	12(66.67)		
病变部位	食管	16(40.00)	5(27.76)	1.709	0.635
	胃部	18(45.00)	8(44.44)		
	小肠	3(7.50)	2(11.11)		
转移情况	淋巴结转移	24(60.00)	1(5.56)	15.004	0.001
	脏器转移	26(65.00)	0(0.00)	21.206	<0.001
核分裂象 (每 50 HPF)	>6	34(85.00)	0(0.00)	36.975	<0.001
	≤6	6(15.00)	18(100.00)		
Ki-67 指数	>5%	33(82.50)	3(16.67)	22.852	<0.001
	≤5%	7(17.50)	15(83.33)		
CD117	阳性	36(90.00)	17(94.44)	0.311	0.576
	阴性	4(10.00)	1(5.56)		
CD34	阳性	31(77.50)	15(83.33)	0.257	0.611
	阴性	9(22.50)	3(16.67)		
危险度分级	低危	4(10.00)	17(94.44)	38.325	<0.001
	中-高危	36(90.00)	1(5.56)		
预后	1-3b	5(12.50)	16(88.89)	31.361	<0.001
	5-6b	35(87.50)	2(11.11)		

3 讨论

GIST 可在食管到肛门内的整个胃肠道间发生, 以胃部和小肠部多见, 在腹膜部偶见, 其生物学行为具有多样性, 且有潜在的恶性潜能。临床中根据患者病灶情况有丝分裂率对其进行分级, 危险程度越高的患者出现复发转移的机率越大, 预后也越差^[8]。

临床中检查 GIST 的常用方法为 CT 增强扫描和 MRI 检查, 通过所得图像可为临床提供患者肿瘤的内部情况与生长方式, 并可反映出肿瘤与周围组织结构, 探查患者是否出现远处转移等, 但在肿瘤恶性危险度分级方面评估效果仍无法满足临床^[9]。有学者通过对 GIST 患者进行回顾性分析发现, 肿瘤的恶性程度与肿瘤直径、形态及生长方式有关, 而与 CT 双期强化程度并无明显的关联^[10]。Belteczki 等人^[11]通过分析不同危险程度 GIST 患者 MRI 增强及平扫图片发现, 随着肿瘤恶性程度增加, 肿瘤形态不规则、信号不均匀、有周围组织侵犯等情况越多; 危险程度高的肿瘤患者表现扩散数值比中低程度患者低, 但在动态增强曲线上比较差异无统计学意义。

表2 SUVmax、TLG及MTV与GIST病理参数的关系($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The relationship between SUVmax, TLG, MTV and GIST pathological parameters ($\bar{x} \pm s$)

病理特征	n	SUVmax	t值	P值	MTV(cm ³)	t值	P值	TLG	t值	P值	
性别	男	28	6.13±1.26	0.094	0.925	10.26±2.15	0.648	0.519	52.13±10.30	0.096	0.923
	女	30	6.16±1.17			10.65±2.41			51.87±10.21		
年龄	>60岁	39	7.12±1.64	0.151	0.880	12.36±2.14	0.164	0.869	59.26±10.25	0.317	0.751
	≤60岁	19	7.05±1.67			12.25±2.84			58.33±10.87		
肿瘤直径	>5 cm	35	8.31±1.14	1.243	0.218	15.59±2.47	25.847	<0.001	98.59±15.87	31.364	<0.001
	≤5 cm	23	7.85±1.68			2.16±0.33			10.21±3.25		
淋巴结转移	是	25	6.15±1.30	0.125	0.900	9.11±1.48	0.276	0.783	66.59±10.54	0.262	0.793
	否	33	6.11±1.12			9.21±1.30			65.85±10.69		
脏器转移	是	26	6.31±1.20	0.066	0.925	10.36±1.20	0.057	0.954	80.85±10.63	0.133	0.894
	否	32	6.29±1.14			10.34±1.39			81.22±10.34		
核分裂象(每50 HPF)	>6	34	8.54±1.74	14.256	<0.001	22.26±3.59	17.231	<0.001	22.25±4.85	35.020	<0.001
	≤6	24	3.45±0.15			8.59±1.84			122.25±15.67		
Ki-67指数	>5%	36	8.66±1.64	11.702	<0.001	33.29±3.50	37.886	<0.001	25.26±4.15	38.240	<0.001
	≤5%	22	4.51±0.67			9.87±1.48			132.05±15.57		
CD117	阳性	53	7.25±1.64	0.197	0.843	15.26±2.29	0.393	0.695	66.87±10.95	0.049	0.961
	阴性	5	7.10±1.33			15.68±2.13			67.12±10.21		
CD34	阳性	46	7.20±1.21	0.234	0.815	16.29±2.30	0.265	0.791	70.15±10.61	0.309	0.758
	阴性	12	7.11±1.08			16.48±2.11			71.21±10.14		
危险度分级	低危	21	2.50±0.84	17.960	<0.001	2.11±0.50	32.040	<0.001	11.26±1.85	28.258	<0.001
	中-高危	37	9.26±1.60			28.49±3.74			114.25±16.58		
预后	1-3b	21	3.11±0.14	15.844	<0.001	2.92±0.55	30.610	<0.001	10.26±1.68	32.528	<0.001
	5-6b	37	8.71±1.61			26.35±3.47			121.35±15.54		

表3 SUVmax、TLG及MTV与不同病理特征的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of SUVmax, TLG and MTV with different pathological characteristics

病理参数	SUVmax		TLG		MTV	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
核分裂象	0.561	0.005	0.499	0.019	0.709	<0.001
Ki-67指数	0.388	0.047	0.698	<0.001	0.503	0.016
危险度分级	0.416	0.031	0.502	0.015	0.518	0.009
预后	0.458	0.021	0.733	<0.001	0.677	<0.001
肿瘤直径	0.214	0.151	0.381	0.044	0.497	0.012

表4 18F-FDG PET/CT代谢指标SUVmax、TLG及MTV与对GIST恶性危险度预测价值

Table 4 18F-FDG PET/CT metabolic index SUVmax, TLG and MTV and the diagnostic value of GIST malignant risk

预测因子	cut off	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P值
SUVmax	3.96	0.674	0.520-0.828	0.762	0.686	<0.001
TLG	18.46	0.833	0.727-0.938	0.707	0.883	<0.001
MTV	66.29	0.733	0.727-0.938	0.703	0.791	<0.001

PET/CT显像是一种用正电子核素进行的放射性示踪显像技术,18F-FDG是目前临床应用最多的肿瘤代谢显像剂,其被有高代谢特性的肿瘤细胞摄取并大量积累,肿瘤细胞中可见18F-FDG增生活跃且在局部异常浓聚。PET/CT检查可利用PET从分子水平上反映肿瘤的生物特性,再通过多排螺旋CT显示机体精细解剖结构的特点,两者结合弥补

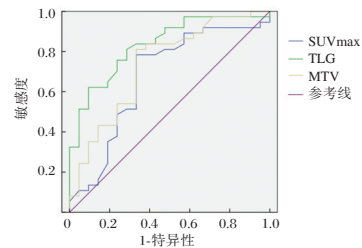


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

了PET图像分辨率低和CT定性困难的缺陷,大大提高诊断效能,为胃肠道肿瘤的临床诊断、准确分期、治疗方案的选择、疗效的判定及预后的评估提供了依据和前提。国外有研究通过18F-FDG PET/CT代谢指标对GIST恶性危险度进行评估,发现危险度分级高的患者其摄取18F-FDG的SUVmax值比中低危险度GIST患者高^[12]。Shearston等人^[13]研究发现,Ki-67指数、有丝分裂象与18F-FDG摄取程度之间存在一定的联系。也有研究发现,18F-FDG PET/CT SUVmax与肿瘤大小、危险程度分级、Ki-67指数等之间为正相关,其对GIST危险程度预测特异度高达94.7%^[14]。本研究结果提示18F-FDG PET/CT检查阳性者其肿瘤直径更提示三者数值变化可为患者恶性程度分级、预后评估提供参考依据。有研究通过meta分析,发现18F-FDG PET/CT

检查对 GIST 准确度为 93%, 敏感度、特异度均为 88%^[15]。MTV 与 TLG 是近年新发现的代谢参数, 由 18F-FDG PET/CT 检查中系统自带软件计算所得, 可反映肿瘤负荷、侵袭范围, 目前在头颈部肿瘤、肺癌、黑色素瘤等多种肿瘤中应用广泛, 可为患者临床分期及预后评估提供参考资料^[16]。本研究 ROC 曲线结果显示, SUVmax 曲线下面积低于 MTV、TLG, 但三者敏感度和特异度均在 60% 以上, 而 TLG、MTV 指标对 GIST 恶性程度预测 AUC、灵敏度、特异度均高于 SUVmax, 提示 SUVmax、TLG 及 MTV 指标在 GIST 恶性程度评估中可能存在一定的使用价值。

综上所述, 通过 18F-FDG PET/CT 检查获取 SUVmax、TLG 及 MTV 代谢指标可能可为 GIST 恶性程度预测提供参考。

参考文献

- [1] Essam MA, Mark F M, Willowson KP, et al. An Australian local diagnostic reference level for paediatric whole-body 18F-FDG PET/CT[J]. *British J Radiol*, 2020, 92(15):36-37.
- [2] 于珊珊, 张极峰, 管莹, 等. 能谱 CT 定量参数与胃肠道间质瘤肿瘤危险度的关系[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2019, 24(4):442-444.
- [3] Ohshima K, Fujiya K, Nagashima T, et al. Driver gene alterations and activated signaling pathways toward malignant progression of gastrointestinal stromal tumors [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(12):16-17.
- [4] 韩超, 王朝栋, 赵宝琼, 等. ¹⁸F-FDG PETCT 联合血清 SCC-Ag 对宫颈鳞癌腹膜后淋巴结转移的诊断价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(3):457-460, 465.
- [5] 中国胃肠道间质瘤专家组. 中国胃肠道间质瘤诊断治疗共识[J]. *中华病理学杂志*, 2009, 38(10):697-702.
- [6] Chao X, Liu Y, Ji M, et al. Malignant risk of pelvic mass after hysterectomy for adenomyosis or endometriosis [J]. *Medicine*, 2020, 99(15):712.
- [7] 马卫霞, 于春梅, 孙明霞. 胃肠道间质瘤的 CT 和 MRI 特征及其与病理危险度的关系[J]. *癌症进展*, 2019, 17(8):942-944, 978.
- [8] 刘秀霞, 庞小溪, 黄山, 等. 胃肠道间质瘤危险度分级与 CT 征象的关系研究[J]. *实用放射学杂志*, 2020, 36(2):235-238.
- [9] Donatelli G, Cereatti F, Dumont JL, et al. Submucosal Tunnel Endoscopic Resection of Gastric Lesion Before Obesity Surgery: a Case Series [J]. *Obes Surg*, 2020, 32(12):159-160.
- [10] Takahashi T, Sugita S, Kagaya H, et al. Surgically treated gastric melanoma of unknown primary: A case report from a 10-year survivor[J]. *Pathol Int*, 2020, 70(3):117-119.
- [11] Belteczki Z, Ujvari J, Dome P. Clozapine Withdrawal-Induced Malignant Catatonia or Neuroleptic Malignant Syndrome: A Case Report and a Brief Review of the Literature [J]. *Clin Neuropharmacol*, 2021, 12(4):66-67.
- [12] Trimboli P, Fulciniti F, Paone G, et al. Risk of Malignancy (ROM) of Thyroid FNA Diagnosed as Suspicious for Malignancy or Malignant: an Institutional Experience with Systematic Review and Meta-Analysis of Literature [J]. *End Pathol*, 2020, 31(1):31-32.
- [13] Shearston K, Fateh B, Tai S, et al. Malignant transformation rate of oral leukoplakia in an Australian population [J]. *J Oral Pathol Med*, 2019, 48(7):15-16.
- [14] González-Moles MN, Ruiz-Vila I, González-Ruiz L, et al. Malignant transformation risk of oral lichen planus: A systematic review and comprehensive meta-analysis [J]. *Oral Oncol*, 2019, 96:121-130.
- [15] Pan C, Zhang L, Meng X, et al. Chronic exposure to microcystin-LR increases the risk of prostate cancer and induces malignant transformation of human prostate epithelial cells [J]. *Chemosphere*, 2021, 2(3):128-129.
- [16] Wong KK, Sedig LK, Bloom DA, et al. 18F-2-fluoro-2-deoxyglucose uptake in white adipose tissue on pediatric oncologic positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT)[J]. *Pediatr Radiol*, 2019, 50(4):20-23.

(上接第 85 页)

- [12] Hu Z, Luo D, Wang D, et al. IL-17 Activates the IL-6/STAT3 Signal Pathway in the Proliferation of Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6):2379-2390.
- [13] Tang Y, Tao H, Gong Y, et al. Changes of Serum IL-6, IL-17, and Complements in Systemic Lupus Erythematosus Patients [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2019, 39(7):410-415.
- [14] Zhang J, Wang C, Guo Z, et al. miR-223 improves intestinal inflammation through inhibiting the IL-6/STAT3 signaling pathway in dextran sodium sulfate-induced experimental colitis [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9(1):319-327.
- [15] 王娟, 马菁菁. 复方异丙托溴铵雾化吸入联合百合胶囊治疗 AECOPD 患者的效果及机制[J]. *中南医学科学杂志*, 2019, 47(05):465-468.
- [16] Su YC, Jalalvand F, Thegerström J, et al. The Interplay Between Immune Response and Bacterial Infection in COPD: Focus Upon Non-typeable *Haemophilus influenzae* [J]. *Front Immunol*, 2018, 5,9:2530.

重症胰腺炎患者 Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 与并发胰腺感染的关系分析

毕正强* 冯雅建 尹成龙

[摘要] 目的 分析重症胰腺炎(SP)患者 Ranson 评分、急性生理和慢性健康状况(APACHE II)评分、降钙素原(PCT)与并发胰腺感染的关系。方法 选取2015年10月至2019年10月江苏省南京市东南大学附属中大医院江北院区收治的65例SP患者作为SP组,选取同期32例SP并发胰腺感染者作为并发感染组,比较两组 Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 水平,采用 Pearson 分析各指标与 PCT、并发胰腺感染相关性,采用 Logistic 回归性分析 SP 并发胰腺感染的相关因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)分析 Ranson、APACHE II 评分预测并发胰腺感染的价值。结果 并发感染组并发器官障碍患者占比、白细胞计数、Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 高于 SP 组,差异有统计学意义($P<0.05$); Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 与并发胰腺感染呈正相关($P<0.05$); 并发器官障碍、Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 是影响 SP 并发感染发生的相关危险因素($P<0.05$); APACHE II 评分预测并发胰腺感染的 AUC 为 0.808, 截断值为 19 分, 敏感度、特异度分别为 84.37%、67.69%, Ranson 评分预测并发胰腺感染的 AUC 为 0.715, 截断值为 6 分, 敏感度、特异度分别为 59.38%、87.69%; Ranson、APACHE II 评分与 PCT 呈正相关($P<0.05$)。结论 Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 与重症胰腺炎并发胰腺感染呈正相关,可为早期预测疾病的发生提供参考。

[关键词] 重症胰腺炎; Ranson 评分; APACHE II 评分; PCT; 胰腺感染

Relationship between Ranson score, APACHE II score, PCT and concurrent pancreatic infection in patients with severe acute pancreatitis

BI Zhengqiang*, FENG Yajian, YIN Chenglong

(Department of Emergency, Jiangbei Hospital, Zhongda Hospital affiliated to Southeast University, Nanjing, Jiangsu, China, 210044)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between Ranson score, acute physiology and chronic health status (APACHEII) score, procalcitonin (PCT) and concurrent pancreatic infection in patients with severe acute pancreatitis (SP). **Methods** 65 patients with SP who were admitted to Jiangbei District, Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing City, Jiangsu Province from October 2017 to October 2019 were enrolled as SP group. 32 patients with SP infection complicated with pancreatic infection were selected as the concurrent infection group. The Ranson score, APACHE II score and PCT level were compared between the two groups. Pearson analyzed the correlation between each index and PCT, and complicated pancreatic infection. Logistic regression analysis was used to analyze the factors associated with SP infection in the pancreas. The receiver operating characteristic curve (ROC) and the area under the curve (AUC) were used to analyze the Ranson and APACHE II scores. The value of pancreatic infection. **Results** In the concurrent infection group, the proportion of patients with organ disorders, white blood cell count, Ranson score, APACHE II score, and PCT were higher than SP group ($P<0.05$). Ranson score, APACHE II score, PCT and positive

基金项目:江苏省卫生厅医学创新团队科技项目(K201105)

作者单位:江苏省南京市东南大学附属中大医院江北院区急诊科,江苏,南京 210044

*通信作者:毕正强, E-mail: bzhengqiang2021@163.com

pancreatic infection were positively correlated ($P<0.05$). Complicated organ disorders, Ranson score, APACHE II score, and PCT were the risk factors for the occurrence of SP complicated infection ($P<0.05$). The APACHE II score predicted the AUC of concurrent pancreatic infection was 0.808, the cutoff value was 19 points, sensitivity and specificity were respectively The Ranson score was estimated to be 0.715 and the cutoff value was 6 points. The sensitivity and specificity were 59.38% and 87.69%, respectively. The Ranson and APACHE II scores were positively correlated with PCT ($P<0.05$). **Conclusion** Ranson score, APACHE II score, and PCT are positively correlated with severe pancreatitis complicated with pancreatic infection, which may provide a reference for early prediction of disease occurrence.

[KEY WORDS] Severe pancreatitis; Ranson score; APACHE II score; PCT; Pancreatic infection

重症胰腺炎(Severe pancreatitis, SP)约占急性胰腺炎(Acute pancreatitis, AP)的20%~30%,病情危重,可出现多种并发症,威胁患者生命安全^[1]。以往研究指出,约80%的AP死亡病例与感染并发症有关^[2]。且根据相关调查,8%~10% AP患者可并发胰腺感染,而在SP患者中这一比例提高至40%~70%,因此准确预测SP患者并发胰腺感染的风险,对指导临床干预、改善患者预后意义重大^[3]。Ranson评分包含入院时白细胞计数、血糖等5项临床指标及入院后第一个24 h酸碱平衡、尿素氮等6项指标,是评估AP病情的可靠量表^[4]。急性生理和慢性健康状况(Acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分常在入住重症监护24 h内应用,可评估重症监护患者病情与预后。降钙素原(procalcitonin, PCT)是判断感染、脓毒症常用指标,表达水平与炎症介质和内毒素的释放密切相关^[5]。本研究分析Ranson评分、APACHE II评分、PCT与SP并发胰腺感染的关系,报告如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2015年10月至2019年10月江苏省南京市东南大学附属中大医院江北院区收治的65例SP患者作为SP组,选取同期32例SP并发胰腺感染者作为并发感染组。其中SP组女33例,男32例,年龄平均(41.88 ± 8.35)岁;并发感染组女15例,男17例,年龄平均(41.72 ± 9.33)岁。纳入病例均符合《急性胰腺炎诊治指南(2014版)》^[6]中相关标准,资料完整,发病前无肝、肾、肺等功能障碍,排除白血病患者、合并癫痫持续状态、发病前有慢性感染类疾病患者。所有入试者均签署知情同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

收集患者性别、发病至入院时间、年龄、病因、基础疾病、Ranson评分^[7](共11个项目,各项目采用0、1评分法,最高分11分,分值越高,病情越严重)、APACHE II评分^[8](共71分,评分越高,病情越严重)、入院时血清PCT(通过南京卡米洛生物工程有限公司酶联免疫吸附法试剂盒检测)等临床资料。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件处理数据,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示、 t 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示、 χ^2 检验,采用Pearson分析Ranson评分、APACHE II评分与PCT、并发胰腺感染相关性,采用Logistic回归性分析SP并发胰腺感染的相关因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析Ranson、APACHE II评分、PCT预测并发胰腺感染的价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组性别、发病至入院时间、年龄、病因、基础疾病、血淀粉酶、病原体比较,差异无统计学意义($P>0.05$);并发感染组并发器官障碍患者占比、白细胞计数高于SP组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 两组Ranson评分、APACHE II评分、PCT水平比较

并发感染组Ranson评分、APACHE II评分、PCT较SP组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 Ranson评分、APACHE II评分、PCT与并发胰腺感染的相关性

Ranson评分与并发胰腺感染呈正相关($\chi^2=0.614, P<0.001$); APACHE II评分与并发胰腺感染呈正相关($\chi^2=0.417, P<0.001$); PCT与并发胰腺感染呈正相关($\chi^2=0.425, P<0.001$)。

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

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

资料	SP组 (n=65)	并发感染组 (n=32)	t/ χ^2 值	P值
男/女	32/33	17/15	0.13	0.718
发病至入院时间(h)	3.79±0.86	3.84±1.35	0.222	0.825
年龄(岁)	41.88±8.35	41.72±9.33	0.085	0.932
病因	酒精性	12(18.46)	5(15.63)	
	胆源性	43(66.15)	23(71.88)	0.325 0.85
	暴饮暴食	10(15.38)	4(12.50)	
基础疾病	糖尿病	5(7.69)	2(6.25)	0.025 0.874
	高血压	2(3.08)	0	0.553
并发器官障碍	5(7.69)	9(28.13)	5.689	0.017
血淀粉酶(U/L)	511.96±15.86	517.64±11.82	1.794	0.076
病原体	革兰阳性菌	28(43.08)	14(43.75)	
	革兰阴性菌	31(47.69)	16(50.00)	0.257 0.88
	真菌	6(9.23)	2(6.25)	
白细胞计数($\times 10^9/L$)	14.26±1.55	15.43±2.16	3.057	0.003

表2 比较两组 Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT $(\bar{x} \pm s)$
Table 2 Comparison of Ranson score, APACHE II score and PCT between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	例数	Ranson 评分 (分)	APACHE II 评分 (分)	PCT ($\mu g/L$)
SP 组	65	4.46±0.98	17.86±3.55	2.16±0.74
并发感染组	32	6.17±1.63	20.91±4.16	4.87±1.05
t 值		6.436	3.756	14.701
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 影响 SP 并发胰腺感染发生的因素分析

并发器官障碍、Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 是影响 SP 并发感染发生的相关危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表3 影响 SP 并发胰腺感染发生的 Logistic 多元回归方程分析
Table 3 Analysis of Logistic multiple regression equation affecting the occurrence of SP complicated with pancreatic infection

影响因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
并发器官障碍	1.419	0.511	7.709	4.132	3.015~5.663	<0.001
白细胞计数	0.599	0.544	1.211	1.820	1.359~2.437	0.069
Ranson 评分	0.356	0.139	6.574	1.428	1.027~1.986	<0.001
APACHE II 评分	1.156	0.407	8.066	3.177	2.863~3.525	<0.001
PCT	2.102	0.359	4.283	2.102	1.471~3.004	0.041

2.5 Ranson 评分、APACHE II 评分预测并发胰腺感染的价值

APACHE II 评分预测并发胰腺感染的 AUC 大于 Ranson, 为 0.808, 截断值为 19 分。见表 4、图 1。

2.6 Ranson、APACHE II 评分与 PCT 相关性

Ranson 评分与 PCT 呈正相关 ($\chi^2 = 0.631, P <$

表4 ROC 分析结果

Table 4 ROC analysis results

指标	AUC	95%CI	Z 值	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
Ranson 评分	0.715	0.594~0.837	3.468	>6	59.38	87.69	0.0005
APACHE II 评分	0.808	0.720~0.896	6.852	>19	84.37	67.69	<0.0001

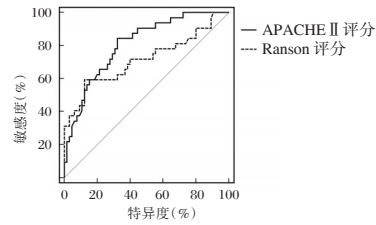


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

0.001); APACHE II 评分与 PCT 呈正相关 ($\chi^2 = 0.410, P < 0.001$)。

3 讨论

研究发现, SP 病程中有两个死亡高峰期: ①为发病一周内, 由全身炎症反应引起的多器官功能障碍综合征、全身炎症反应综合征造成的死亡; ②为发病中后期, 继发全身感染导致的死亡, 其中以胰腺感染坏死为主^[9]。目前关于 SP 急性期诊断、预测相关报道较多, 已较为成熟, 但关于发病中后期判断 SP 并发感染的研究较少, 尚缺乏预测 SP 并发感染的方法。常规炎症标志物如白细胞、中性粒细胞等多在感染发生后升高, 虽有助于感染的辅助诊断, 但难以在感染发生前进行预测, 所以对此进行研究是必要的。

Ranson 评分在 AP 领域应用广泛。张杨等^[10]报道指出, Ranson 评分预测 SP 的敏感性、特异性分别为 61.16%、66.52%, 预测 AP 病人住院期间死亡的敏感性、特异性分别为 75.00%、63.55%, 可见 Ranson 评分具有一定应用价值。以往评估 SP 并发胰腺感染, 多在疾病发生后, 根据患者症状体征、实验室检测等判断, 明确诊断后予以针对性干预, 但 SP 病情变化较大, 并发胰腺感染后, 易引起全身性级联反应, 增加治疗难度。本研究表明评估 Ranson 评分可预测 SP 患者并发胰腺感染的风险。Ranson 量表采集患者入院时、入院后第一个 24 h 相关资料, 能在早期预测 SP 并发感染的风险, 指导临床干预或及时转诊, 减少继发并发症与病死病例。

APACHE II 评分包括急性生理指标、年龄、慢性健康三个维度,可全面反映患者病情严重程度^[11]。根据 Escobar-Arellano R 等^[12]报道,APACHE II 得分评估 AP 严重程度的敏感性为 66.7%,特异性为 87.6%,亦呈现出较高评估价值。本研究发现,APACHE II 评分与并发胰腺感染呈正相关,有助于预测 SP 患者并发胰腺感染的风险。APACHE II 评分记录患者 24 h 内相关指标最为异常的数值,可早期预测 SP 并发感染的概率,指导临床干预或及时转诊,有利于患者预后的改善。

吴县斌等^[13]报道显示,Ranson、APACHE II 评分预测 AP 严重程度价值相似,但两者是否能用于预测感染尚不明确。本研究 Logistic 多因素分析显示,Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 是影响 SP 并发感染发生的相关危险因素,进一步采用 ROC 分析发现,Ranson 评分预测并发胰腺感染的 AUC 为 0.715,低于 APACHE II 评分的 0.808,提示 APACHE II 量表预测价值较高。吕国龄等^[14]研究采用多因素 Logistic 回归分析发现,APACHE II 评分升高、Ranson 评分升高是 SP 患者腹腔感染的危险因素,本研究结论与之相符。Harshit Kumar A 等^[15]研究指出,与 Ranson 评分相比,APACHE II 评分预测胰腺感染坏死的 AUC 较大,敏感度较高,支持本研究结论。且 Ranson 评分截断值为 6 分,APACHE II 评分截断值为 19 分,可为临床预测 SP 并发胰腺感染提供量化参考。张翔等^[16]研究显示,APACHE II 评分预测 SP 胰腺感染性坏死截断值为 15.5 分,本研究略高,考虑与纳入病例数量及病情不同有关,有待后续进一步验证。

PCT 含有 116 个氨基酸,正常情况下主要来源于甲状腺 C 细胞,释放入血含量较少,但在发生感染后,生成速度与数量可明显升高^[17]。以往大量研究证实,检测 PCT 水平可鉴别病原体种类,但其半衰期较短,一般多用于诊断感染类疾病^[18-19]。党晓燕等^[20]报道对比了单纯 SP 与 SP 继发感染者血清 PCT 水平,发现后者明显高于前者,本研究结论与其一致。且本研究还发现,PCT 与并发胰腺感染呈正相关,且与 Ranson、APACHE II 评分呈正相关,说明通过检测 PCT,评估 Ranson、APACHE II 评分,有助于早期发现疾病。值得注意的是,获得准确评分是预测 SP 并发胰腺感染的前提,而 Ranson、APACHE II 量表包含内容较多,临床评估前应

熟悉量表情况,若能准确掌握各项目评估方法,即能为临床实际应用提供参考依据。

综上所述,Ranson 评分、APACHE II 评分、PCT 与重症胰腺炎并发胰腺感染呈正相关,可为早期预测疾病的发生提供参考。

参考文献

- [1] Ignatavicius P, Gulla A, Cernauskis K, et al. How severe is moderately severe acute pancreatitis? Clinical validation of revised 2012 Atlanta Classification [J]. *World J Gastroenterol*, 2017,23(43):7785-7790.
- [2] 刘幸,李蓉,杨廷江. 1 例重症急性胰腺炎的药学监护[J]. *中国新药与临床杂志*, 2018,37(8):495-498.
- [3] 董家琪,邓明明. 免疫抑制在重症急性胰腺炎中的作用及治疗进展[J]. *广东医学*, 2016,37(6):932-935.
- [4] Al-Qahtani HH, Alam MKh, Waheed M. Comparison of Harmless Acute Pancreatitis Score with Ranson's Score in Predicting the Severity of Acute Pancreatitis [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2017,27(2):75-79.
- [5] 徐康立,周杰,陈开森. 降钙素原和 D-二聚体对老年脓毒症的诊断价值[J]. *热带医学杂志*, 2018,18(4):511-514.
- [6] 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 急性胰腺炎诊治指南(2014 版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015,14(1):1-5.
- [7] Yadav J, Yadav SK, Kumar S, et al. Predicting morbidity and mortality in acute pancreatitis in an Indian population: a comparative study of the BISAP score, Ranson's score and CT severity index[J]. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2016,4(3):216-220.
- [8] Nag DS, Dembla A, Mahanty PR, et al. Comparative analysis of APACHE-II and P-POSSUM scoring systems in predicting postoperative mortality in patients undergoing emergency laparotomy[J]. *World J Clin Cases*, 2019,7(16):2227-2237.
- [9] 谭伟超,李林鹏,赵建波,等. 重症急性胰腺炎继发胰腺感染的危险因素分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017,27(5):1093-1096.
- [10] 张杨,杨琰,曹钧. Ranson 评分与 Glasgow 评分对急性胰腺炎严重程度及预后评估的对比分析[J]. *腹部外科*, 2016,29(6):431-434.
- [11] 白驹. 高龄重症肺炎患者血清过氧化物及过氧化水平及其临床意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017,9(3):191-195.
- [12] Escobar-Arellano R, Guraieb-Barragón E, Mansanares-Hernández A, et al. Sensitivity, specificity and reliability of the POP score vs. APACHE II score as predictors of severe acute biliary pancreatitis[J]. *Cir Cir*, 2019,87(4):402-409.
- [13] 吴县斌,苏东星,潘志刚,等. BISAP、APACHE II、Ranson 评分在预测急性胰腺炎预后中价值对比分析[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2016,21(2):294-296.
- [14] 吕国龄,霍正禄. 重症急性胰腺炎患者腹腔感染的危险因素分析[J]. *中国临床研究*, 2017,30(6):793-795.

(下转第 98 页)

血清 TNF- α 、cTn I、MIF 在病毒性心肌炎的诊断效果评估

王伟红* 张燕

[摘要] **目的** 探究血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、心肌肌钙蛋白 I (cTn I)、巨噬细胞游走抑制因子 (MIF) 在病毒性心肌炎 (VMC) 中的诊断效果评估价值。**方法** 分析乌鲁木齐第一人民医院 2018 年 5 月至 2020 年 5 月收治的 136 例 VMC 患者临床资料, 纳入研究组; 选取同期来本院进行健康体检的 120 例患者作为健康对照组, 对比两组患者血清 TNF- α 、cTnI、MIF 水平, 采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 TNF- α 、cTnI、MIF 水平诊断 VMC 的价值。**结果** 观察组患者 TNF- α (113.41 \pm 15.69)、cTnI (0.60 \pm 0.15)、MIF (68.38 \pm 14.49) 水平均显著高于健康对照组 (67.28 \pm 10.36、0.15 \pm 0.04、33.15 \pm 5.74) 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); TNF- α 、cTnI、MIF 诊断 VMC 的 AUC 依次为 0.918、0.920、0.931, 敏感度依次为 86.8%、91.9%、86.8%, 特异度依次为 93.3%、90.8%、92.5%, cTnI 水平诊断价值最高 ($P < 0.05$)。**结论** TNF- α 、cTnI、MIF 水平对 VMC 均具有较高的诊断价值且 cTnI 诊断价值最高, 三者联合诊断病毒性心肌炎具有较高准确度, 可为病毒性心肌炎的临床诊断提供科学依据。

[关键词] 病毒性心肌炎; 肿瘤坏死因子- α ; 心肌肌钙蛋白 I; 巨噬细胞游走抑制因子

Evaluation of serum TNF- α , cTn I and MIF in the diagnosis of viral myocarditis

WANG Weihong*, ZHANG Yan

(Department of Medical Laboratory, Urumqi First People's Hospital, Urumqi, Xinjiang, China, 830000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), cardiac troponin I (cTn I), and macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the diagnosis of viral myocarditis (VMC). **Methods** A retrospective analysis of the clinical data of 136 patients with VMC admitted to our hospital from May 2018 to May 2020 was recorded as the experimental group, and 120 patients who came to Urumqi First People's Hospital physical examination during the same period were selected as the healthy control group. The levels of Serum TNF- α , cTnI, and MIF were measured and analyzed in the two groups. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the value of TNF- α , cTnI, and MIF levels in the diagnosis of VMC. **Results** The levels of TNF- α (113.41 \pm 15.69), cTnI (0.60 \pm 0.15), and MIF (68.38 \pm 14.49) in the observation group were significantly higher than those in the healthy control group (67.28 \pm 10.36, 0.15 \pm 0.04, 33.15 \pm 5.74), ($P < 0.05$). The AUC of TNF- α , cTnI, MIF in the diagnosis of VMC were 0.918, 0.920, 0.931, the sensitivity was 86.8%, 91.9%, 86.8%, the specificity was 93.3%, 90.8%, 92.5%. The cTnI level has the highest diagnostic value ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of TNF- α , cTnI, and MIF all have high diagnostic value for VMC and cTnI has the highest diagnostic value. The combined diagnosis of viral myocarditis by the three indicators has a high accuracy and can provide a scientific basis for the clinical diagnosis of viral myocarditis.

[KEY WORDS] Viral myocarditis; Tumor necrosis factor - α ; Cardiac troponin I; Macrophage migration inhibitory factor

作者单位: 乌鲁木齐市第一人民医院分院检验科, 新疆, 乌鲁木齐 830000

*通信作者: 王伟红, E-mail: 913658970@qq.com

病毒性心肌炎(viral myocarditis, VMC)是柯萨奇B组、埃克、腺病毒等病毒感染引发心肌炎病变的感染性疾病,具有显著的弥漫性和局限性,其具有较强的侵袭力^[1-2],对患者心肌功能带来严重损伤且影响心肌细胞代谢功能正常运行,严重可导致心力衰竭或猝死^[3]。近年来,VMC患者人数呈上升趋势,且发病率居高不下。VMC患者发病前常出现发热、呕吐、腹泻等不良反应,发病后出现心悸、呼吸困难、头晕等症状^[4],其临床症状相对隐匿,常出现漏诊、错诊现象,多数患者预后良好,但在部分患者病情进展严重,因此,寻求一种合适的确诊方式尤为重要^[5]。目前,对于VMC患者病情诊断大多采用心肌活检,但该方式临床应用受到限制,给患者带来一定程度的创伤,生物学标志物是近年研究热点,能够在VMC患者诊断和预后发挥有效作用^[6]。心肌肌钙蛋白(cardiac troponin, cTn)I是心肌细胞特异标志物,当患者心肌细胞受损严重时,其水平显著上升^[7]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)其水平显著上升具有广泛的生物学活性,被证实与患者机体炎症及免疫水平有关^[8]。巨噬细胞游走抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是一种多效能蛋白分子,广泛参与机体多种生理病理过程^[9]。目前研究大多采用cTnI作为临床诊断心肌损伤的标志

物,关于TNF- α 、MIF水平对VMC患者诊断效果的研究较少,故本研究旨在为该类药物患者寻求一种理想的诊断方式,为其预后保驾护航,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将乌鲁木齐第一人民医院2018年5月至2020年5月收治的136例VMC患者(观察组)作为研究对象,另选120例同期来本院进行健康体检的患者(健康对照组)。纳入标准:①均符合1999年我国制定的关于成人VMC的诊断标准^[10];②均意识清晰,表达能力正常;③均无重要器官疾病或良恶性肿瘤患者;④近期均无急慢性细菌或病毒感染患者;⑤均无血液系统疾病、自身免疫性疾病患者;⑥均无精神疾病患者;⑦均未接受手术或其他治疗;⑧临床资料均完整;⑨患者及家属均知情且签署同意书;⑩研究经本院医学伦理委员会批准通过。排除标准:①有先天性心脏疾病及心脏器官病变;②患有自身免疫性疾病及内分泌疾病;③患有恶性肿瘤;④其他急慢性感染性疾病。观察组中男性81例,女性55例,年龄平均年龄(35.69 \pm 6.37)岁;健康对照组中男性72例,女性48例,年龄,平均年龄(34.57 \pm 5.94)岁。两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

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

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

组别	<i>n</i>	性别男	年龄	BMI(kg/m ²)	吸烟史	饮酒史
观察组	136	81(59.56)	35.69 \pm 6.37	26.48 \pm 2.39	54(39.71)	112(82.35)
健康对照组	120	72(60.00)	34.57 \pm 5.94	26.17 \pm 2.45	47(39.17)	94(78.33)
χ^2 值		0.005	1.449	1.024	0.008	0.655
<i>P</i> 值		0.943	0.149	0.307	0.930	0.418

1.2 检测方法

使用添加肝素的促凝剂采血管取患者外周静脉血10 mL,以3 000 r/min转速离心15 min后将其放置在-80℃环境下分离血清储存待测。采用酶联免疫吸附法检测TNF- α 及MIF水平,试剂盒购自美国R&D Systems公司,检测仪器为Nanodrop ND2000分析仪。cTnI水平采用固相层析免疫法测定,试剂盒由美国uFEKEY公司提供,仪器为美国贝克曼公司出品的Access型仪器,所有检测过程均严格按照说明书进行。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,计数资

料用 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验;计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行 t 检验;采用ROC曲线检验TNF- α 、cTnI、MIF诊断VMC的价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者TNF- α 、cTnI、MIF水平比较

观察组患者TNF- α 、cTnI、MIF水平均显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.2 TNF- α 、cTnI、MIF水平诊断VMC价值ROC曲线分析

ROC曲线结果显示, TNF- α 、cTnI、MIF诊断

表2 两组患者 TNF- α 、cTnI、MIF 水平比较结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of the levels of TNF- α , cTnI and MIF between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (ng/L)	cTnI(μ g/L)	MIF(ng/L)
观察组	136	113.41 \pm 15.69	0.60 \pm 0.15	68.38 \pm 14.49
健康对照组	120	67.28 \pm 10.36	0.15 \pm 0.04	33.15 \pm 5.74
t 值		27.367	31.872	24.958
P 值		0.000	0.000	0.000

表3 TNF- α 、cTnI、MIF 水平诊断 VMC 分析结果

Table 3 TNF- α , cTnI, MIF level diagnosis VMC analysis results

指标	AUC	S.E. 值	95%CI	cut-off 值	约登指数	敏感度	特异度	P 值
TNF- α	0.918	0.019	0.881-0.955	95.610	0.801	0.868	0.833	0.000
cTnI	0.920	0.019	0.883-0.957	0.285	0.827	0.919	0.908	0.000
MIF	0.931	0.017	0.898-0.964	46.285	0.793	0.868	0.925	0.000

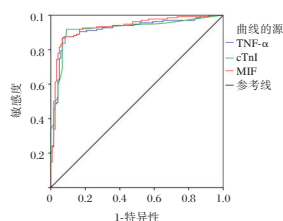


图1 TNF- α 、cTnI、MIF 水平诊断 VMC 价值 ROC 曲线分析
Figure 1 ROC curve analysis of the value of TNF- α , cTnI and MIF in the diagnosis of VMC

3 讨论

VMC 早期表现为病毒感染对心肌细胞直接造成损伤,后期进展为免疫介导的心肌细胞损伤,是目前引起青少年猝死的主要原因之一^[11]。VMC 组织学特征表现为心肌细胞融解、间质水肿、单核细胞浸润,患者病变的不问供氧异常,引发细胞膜损伤,导致其通透性异常,进而引起心肌细胞凋亡^[12]。VMC 患者预后状况差异大,存在部分患者遗留不同程度的心脏器质性病变,因此,寻求一种及时的、无创性的检测方式是近年来医护人员共同关注的问题^[13]。

cTnI 是心肌细胞特异标志物,通常以结构蛋白形式固定于肌原纤维上,不溶性与可溶性兼顾,VMC 患者因为心肌细胞受损,游离的 cTnI 能够倾入血流中,常表现为血清 cTnI 升高^[14]。TNF- α 是由免疫细胞和某些非免疫细胞经刺激合成、分泌的小分子蛋白质,参与了机体抵抗病原体且能够调节免疫反应,其对成熟的心肌细胞及乳头肌细胞具有浓度依赖性的负性肌力作用^[15]。MIF 是一种前炎症细胞因子,当患者受到感染或发生应激反应时,T 细胞、B 细胞、单核巨噬细胞等免疫细胞会释放大

量 MIF^[16],导致患者体内 MIF 水平上升。
薛敏等^[17]研究结果显示,cTnI 水平随着慢性心力衰竭患者病情严重而上升,治疗后 cTnI 水平下降,提示该指标对于监测慢性心力衰竭患者病情的预测价值较高,该研究表示慢性心力衰竭也是由多种因素引起的心肌损伤,能够通过该水平有效反映病情,且高水平的 cTnI 与该类患者危险性相关性显著,能够作为其病情进展的重点关注指标;李爱萍等^[18]研究结果提示 cTnI 水平指标能够作为诊断儿童 VMC 的较有价值的实验室指标,该研究指出 CK-MB 对心肌炎诊断存在问题,而 cTnI 能够调节患者肌肉收缩和舒张,其心肌细胞早期损伤过程中,体内大量释放 cTnI,该水平在 6 h 内上升迅速,敏感度特异度均较高,且其具有便捷特点,能够有效运用于诊断儿童 VMC 疾病;夏文刚^[19]研究分析指出,VMC 患者 cTnI、MIF、TNF- α 水平均较正常人水平高,且随着几项水平升高,患者临床治愈率随之下降,心律失常与扩张型心脏病的发生概率呈现上升趋势,提示以上三项水平均可作为诊断 VMC 的重要指标,且能够有效监测患者预后状况。以上学者研究均与本研究有相似指出,本研究结果显示,A 组患者 cTnI、MIF、TNF- α 水平均显著高于 B 组,且诊断价值均较高,尤其是 cTnI 诊断价值最高,这可能是由于 cTnI 时反映心肌细胞损伤的特异性指标,能够早期预测患者病情进展,cTnI 只有少量会游离,大多都能够与心肌结构蛋白结合,稳定固定于肌原纤维上,但患者心肌损伤出现时,游离的 cTnI 进入血液中,随着病情进展,固定状态的 cTnI 也随着心肌细胞的凋亡进入血液中,血清 cTnI 的浓度会上升明显,因此该水

VMC 的 AUC 依次为 0.918、0.920、0.931;根据最佳临界值点,当 TNF- α 值大于 95.610 时,敏感度为 86.8%,特异度为 83.3%;当 cTnI 值大于 0.285 时,敏感度为 91.9%,特异度为 90.8%;当 MIF 值大于 46.285 时,敏感度为 86.8%,特异度为 92.5%。cTnI 值的诊断价值最高($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

平对诊断 VMC 的敏感度、特异度较高。MIF 的升高预示着患者体内的炎症反应增强,其刺激了巨噬细胞分泌多种细胞因子,激活了 T 淋巴细胞,导致大量的一氧化氮释放,促进炎症加剧;TNF- α 在 VMC 患者体内水平升高可能是由于其对心肌细胞 CD1d 及脾淋巴细胞具有诱导作用,促进其释放,使患者机体对柯萨奇病毒 B3 更容易受到感染。

综上所述, TNF- α 、cTnI、MIF 指标对 VMC 诊断价值均较高,其中 cTnI 价值最高,三者联合诊断病毒性心肌炎具有较高准确度,可为病毒性心肌炎的临床诊断提供科学依据。同时,本研究也存在一些不足,例如本研究仅是单中心的回顾性分析,不同于随机对照研究严格的匹配设计,因此,在说服力上不如大样本、多中心的前瞻性随机对照研究,期待今后有更多的深入研究,使研究结果更具有客观性、科学性。

参考文献

- [1] 张莹,柴华,杜健鹏. 史大卓教授辨治病毒性心肌炎经验[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(17):2705-2706.
- [2] Ya-Min, Hou, Peng-Xi, et al. Myocarditis presenting as typical acute myocardial infarction: A case report and review of the literature[J]. World J Clin Cases, 2020, 8(2): 176-185.
- [3] Ceobanu G, Gheorghe G, Bratu OG, et al. Viral Myocarditis: Clinical and Paraclinical Diagnosis [J]. Med Moderna-Mod Med, 2020, 27(2):83-86.
- [4] 杜莉,杨帆,王妮. 急性暴发性病毒性心肌炎致心肌严重受损 1 例[J]. 医学影像学杂志, 2020, 30(5):115+132.
- [5] 万娇娇. 病毒性心肌炎免疫机制研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2020, 47(1):26-29.
- [6] 王成钢,刘飞,赵雪东,等. 血清淀粉样蛋白 A 及肌钙蛋白 I 对病毒性心肌炎的诊断价值[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(4):449-451.
- [7] 蒲毅,冉思成. miR-146b, cTnI, CK-MB, IL-10 和 IL-21 在病毒性心肌炎患者血清中的表达及意义[J]. 河北医药, 2019, 41(9):1373-1376.
- [8] 王真,张家艳,王玉霞,等. 重症肺炎合并脓毒症患者外周静脉血 TLR-4、CRP、TNF- α 、PCT 表达水平及近期生存情况[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(11):2517-2523.
- [9] 林琳,闫蕊,刘昕,等. 巨噬细胞移动抑制因子在实验性自身免疫性心肌炎大鼠心肌中的表达及白藜芦醇的治疗作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2018, 39(2):232-236.
- [10] 杨晶晶,廖海含,唐其柱. 病毒性心肌炎心脏自噬与免疫反应相互作用研究[J]. 医学综述, 2019, 25(24):4817-4821.
- [11] 姚亮,马腾,于金萍. 心脏核磁共振成像对病毒性心肌炎的诊断价值[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(4):81.
- [12] 王明亮,刘敏,徐亚伟,等. 心肌缺血再灌注时内皮功能紊乱与心肌细胞凋亡的相关性研究[J]. 中华老年医学杂志, 2021, 40(4):501-505.
- [13] 罗玉兰,叶久明,胡世蓉,等. 动态心电图与心肌损伤标志物诊断急性病毒性心肌炎的价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2018, 21(3):293-297.
- [14] 丁小芹,汪秋春,曾火明,等. 病毒性心肌炎患儿外周血中心功能、心肌酶谱指标、核因子- κ B 表达量的变化及核因子- κ B 与病情的相关性研究[J]. 贵州医药, 2019, 43(1):9-12.
- [15] 王茜,姜红,朱聚,等. 病毒性心肌炎患儿血清炎性细胞因子和高迁移率族蛋白 1 水平变化[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(5):70-72.
- [16] 豆玉凤,史艳平,李丹,等. 氧化苦参碱对病毒性心肌炎小鼠巨噬细胞移动抑制因子的影响研究[J]. 陕西医学杂志, 2018, 47(8):961-963.
- [17] 薛敏,冯帆,张超,等. 降钙素原, BNP, 心肌肌钙蛋白 I 及 D-二聚体评估慢性心力衰竭患者预后的价值[J]. 医学临床研究, 2020, 37(2):203-205, 209.
- [18] 李爱萍,徐玉霞,韩青,等. 儿童病毒性心肌炎血清肌钙蛋白 I 的变化[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(10):13-14, 17.
- [19] 夏文刚. 血清 cTn I, MIF 与 TNF- α 对病毒性心肌炎的诊断及预后评估价值研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(8):1154-1158.

(上接第 94 页)

- [15] Harshit Kumar A, Singh Griwan M. A comparison of APACHE II, BISAP, Ranson's score and modified CTSI in predicting the severity of acute pancreatitis based on the 2012 revised Atlanta Classification [J]. Gastroenterol Rep (Oxf), 2018, 6(2):127-131.
- [16] 张翔,陈洪娇,王雅纯,等. 重症急性胰腺炎后期感染性胰腺坏死危险因素的临床研究[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(4):115-118.
- [17] 熊梦然,陈雷,王丽纯,等. 肾上腺髓质素前体(proADM)对脓毒症的早期诊断作用[J]. 中华生物医学工程杂志, 2019, 25(2):229-232.
- [18] Comparison of serum PCT and CRP levels in patients infected by different pathogenic microorganisms: a systematic review and meta-analysis [J]. Braz J Med Biol Res, 2018, 51(7): e6783.
- [19] Thomas-Rüddel DO, Poidinger B, Kott M, et al. Influence of pathogen and focus of infection on procalcitonin values in sepsis patients with bacteremia or candidemia [J]. Crit Care, 2018, 22(1): 128.
- [20] 党晓燕,丁新爱,孙媛,等. 重症急性胰腺炎继发感染性胰腺坏死患者细胞间黏附分子-1、降钙素原、血清 C 反应蛋白的表达及临床意义[J]. 解放军医药杂志, 2018, 30(8):54-57.

张家口市4 868例女性人乳头瘤病毒感染分析

李林臣* 雷彦 韩会贤 谢桂芳 李开元 李荷云 王媛媛 常鹏飞

[摘要] **目的** 分析张家口地区女性感染高危型人乳头瘤病毒(HPV)的现况特点,为制定预防及筛查宫颈癌提供科学依据。**方法** 选择2016年1月至2020年10月期间在张家口市第一医院自愿进行HPV分型检测的4 868例女性为研究对象,采用PCR技术和杂交技术对其进行HPV分型检测。按照年龄、学历和感染类型等因素对研究对象进行分组,统计分析不同组间的感染情况及复发率。**结果** 地区感染率最高的高危亚型为52型、16型、51型、58型、53型、56型和18型,以单一亚型感染为主;各年龄段患者总阳性检出率差异有统计学意义,在31~40岁年龄段检出率最高。单一感染类型的阳性检出率在31~40岁与51~60岁两个年龄组占比较高,31~40岁组与51~60岁组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。双重感染类型的阳性检出率在41~50岁年龄组比例最高,组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。三重感染类型的阳性检出率在51~60岁年龄组比例最高,组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同学历患者总阳性检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),初中学历受检者阳性率最高为20.2%。复发感染中,小学学历的人群感染复发率最高为68.1%,并且与其他组比较,差异有统计学意义($\chi^2=128.59, P<0.05$)。三重感染的复发率最高为88%,并且与其他组比较,差异有统计学意义($\chi^2=129.40, P<0.05$)。**结论** 本地区HPV感染亚型分布与其他地区存在显著性差异,其感染水平与年龄、学历等因素呈现显著的相关性。

[关键词] 人乳头瘤病毒;亚型;区域分布

Analysis of 4 868 cases of female human papillomavirus infection in Zhangjiakou city

LI Linchen*, LEI Yan, Han Huixian, XIE Guifang, LI Kaiyuan, LI Heyun, WANG Yuanyuan, CHANG Pengfei

(Department of Clinical Laboratory, Zhangjiakou First Hospital, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the current situation and characteristics of women infected with high-risk human papillomavirus (HPV) in this region, to provide scientific basis for the prevention and screening of cervical cancer. **Methods** A total of 4 868 women who volunteered for HPV genotyping in Zhangjiakou First Hospital from January 2016 to October 2020 were selected as the research subjects. PCR technology and hybridization technology were used for HPV genotyping. The subjects were grouped according to age, educational background and infection type, and the infection status and recurrence rate among different groups were statistically analyzed. **Results** The high-risk subtypes with the highest infection rate in the region were Type 52, Type 16, Type 51, Type 58, Type 53, Type 56, and Type 18, the single subtype infection was dominant. There were statistical differences in the total positive detection rate of patients in all age groups, and the highest detection rate was in the age group of 31 to 40 years old. The positive detection rates of a single infection type were higher in the 31~40 years old group and the 51~60 years old group, The difference between 31~40 years old group and 51~60 years old group was statistically significant ($P<0.05$). The positive detection rate of dual infection was the highest in the 41~50 years old age group, and there was statistical difference among groups ($P<0.05$). The positive detection rate of triple infection was the highest in the 51~60 age group,

基金项目:张家口市科技计划自筹经费项目(2021132H)

作者单位:张家口市第一医院检验科,河北,张家口 075000

*通信作者:李林臣, E-mail:llczyh18230389992@163.com

but there was no statistical difference among groups. There was statistical difference in the total positive detection rate with different academic qualifications ($P<0.05$), and the highest positive rate with junior high school education was 20.2%. Among the recurrent infections, the highest recurrent rate of infection was 68.1% in the population with primary school education, and the difference was statistically significant compared with other groups ($\chi^2=128.59$, $P<0.05$). The highest recurrence rate of triple infection was 88%, and the difference was statistically significant compared with other groups ($\chi^2=129.40$, $P<0.05$). **Conclusion** The distribution of HPV infection subtypes in Zhangjiakou is significantly different from those in other regions, and the infection level shows a significant correlation with age and educational background.

[KEY WORDS] Human papillomavirus; Subtypes; Area distribution

宫颈癌是发生在子宫颈部位的恶性肿瘤,我国宫颈癌发病率以3%~5%的速度逐年上升。研究表明,人乳头瘤病毒(Human papillomavirus, HPV)感染是导致宫颈癌的最主要因素^[1-3]。目前已发现200多种HPV亚型,其中约20余种中高危型HPV亚型,易导致高度宫颈上皮内瘤变(Cervical intraepithelial neoplasia, CIN)、宫颈癌、头颈部肿瘤、肛门肿瘤等^[4]。因此,调研区域人群HPV感染状况及分型现状,对于宫颈癌的防治工作有重要意义。

1 资料和方法

1.1 临床资料

选取2016年1月至2020年10月期间在张家口市第一医院常规体检和妇科门诊就诊自愿进行分型检测的4 868例有性生活史的女性为研究对象。其年龄分布在17~69岁,平均年龄为(43.3±7.2)岁。纳入标准:①标本采集前24小时内无性行为;②标本采集前3天内无阴道用药及阴道冲洗;③标本采集在非月经期;④无子宫切除史。排除标准:①妊娠期者;②合并其他妇科疾病患者;③接受相关治疗者。本研究取得医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 研究方法

受检者采用人乳头瘤病毒核酸检测及基因分型试剂盒(广州和实生物技术有限公司,24人份/盒,批号:ORE00403)进行检测。仪器采用实时荧光扩增仪(美国ABI7500)。本研究所有实验均严格按照试剂盒、扩增仪说明书及本实验室SOP进行标本采集、运输、保存和检测等。

1.3 统计学方法

应用SPSS 19.0版本软件进行数据处理;计数资料以用 $n(\%)$ 形式表示,采用秩和检验处理等级

分类的计数资料,采用 χ^2 检验处理其他类型的计数资料;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HR-HPV不同亚型的阳性率和感染类型的分布情况

本次研究共检出HR-HPV阳性990项次,阳性率为20.3%,阳性率最高的7种亚型为52型、16型、51型、58型、53型、56型和18型,占总阳性项次的80.3%。见表1。

表1 不同亚型阳性率与构成比

Table 1 Positive rate and constituent ratio of different subtype

HR-HPV	阳性数(例)	阳性率(%)	构成比(%)
52型	225	4.62	22.73
16型	150	3.08	15.15
51型	105	2.16	10.61
58型	105	2.16	10.61
53型	75	1.54	7.58
56型	75	1.54	7.58
18型	60	1.23	6.06
35型	45	0.92	4.55
66型	45	0.92	4.55
31型	30	0.62	3.03
39型	30	0.62	3.03
26型	15	0.31	1.52
33型	15	0.31	1.52
59型	15	0.31	1.52

被检者总阳性795例,单一亚型感染例数最多,占比为84.80%;双重感染占比为11.58%;三重感染占比为0.60%(同一标本不同亚型感染重复计算例数)。见表2。

表2 不同感染类型的构成比

Table 2 Constituent ratio of different infection types

感染类型	阳性数(例)	构成比(%)
单一感染	703	84.80
双重感染	96	11.58
三重感染	25	3.02
四重感染	5	0.60

2.2 各年龄段受检者 HR-HPV 阳性检出率

各年龄段患者总阳性检出率比较差异有统计学意义,在 31~40 岁年龄段检出率最高。单一感染类型的阳性检出率在 31~40 岁与 51~60 岁两个年龄组占比较高,呈现双峰状分布(见图 1)。6 个年龄组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。双重感染类型的阳性检出率在 41~50 岁年龄组比例最高,三重感染类型的阳性检出率在 51~60 岁年龄组比例最高。四重感染 6 个年龄组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

2.3 不同教育程度受检者 HR-HPV 的阳性检出率

按照学历分组并进行统计分析,初中与高中学历的受检者最多,占总例数的 67.6%。学历不同的 5 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。在单一感染类型中,初中与高中学历受检者的阳性率明显高于其他

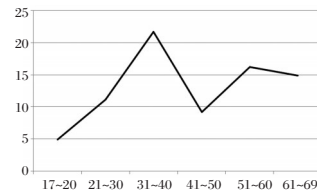


图 1 不同年龄组单一感染率比较

Figure 1 Comparison of single infection rate among different age groups

文化水平的受检者差异有统计学意义($P<0.05$)。在双重感染者中,小学和初中学历的受检者阳性率明显高于其余文化水平的受检者差异有统计学意义($P<0.05$)。三重感染者中,小学学历的受检者阳性检出率最高为 1.3%,本科以上学历受检者没有检出。四重感染者只出现在小学和初中学历受检者中。见表 4。

表 3 不同年龄组感染率比较 [n(%)]

Table 3 Comparison of infection rate among different age group [n(%)]

年龄	总样本数	总阳性检出率	单一感染	双重感染	三重感染	四重感染
17~20	61	4(6.65)	3(4.9)	1(1.6)	0(0.0)	0(0.0)
21~30	893	103(11.5)	99(11.1)	4(0.4)	0(0.0)	0(0.0)
31~40	1 039	249(24.0)	225(21.7)	19(1.8)	5(0.5)	0(0.0)
41~50	1 142	156(13.7)	105(9.2)	43(3.8)	7(0.6)	1(0.09)
51~60	983	188(19.1)	159(16.2)	18(1.8)	9(0.9)	2(0.2)
61~69	750	129(17.2)	112(14.9)	11(1.5)	4(0.5)	2(0.2)
H 值		71.44	84.36	30.97	8.28	5.01
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	1.41	0.41

表 4 不同学历人群感染率比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of infection rate among people with different educational background [n(%)]

学历水平	总样本数	总阳性检出率	单一感染	双重感染	三重感染	四重感染
小学	477	69(14.5)	48(10.1)	13(2.7)	6(1.3)	2(0.4)
初中	1 909	385(20.2)	321(16.8)	51(2.7)	11(0.6)	2(0.4)
高中	1 383	243(17.6)	222(16.1)	17(1.2)	4(0.3)	0(0.0)
大专	626	89(14.2)	77(12.3)	8(1.3)	4(0.6)	0(0.0)
本科及以上学历	351	37(10.5)	32(9.1)	2(1.6)	0(0.0)	0(0.0)
H 值		29.03	28.52	15.66	8.45	8.44
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	0.076	0.077

2.4 不同感染类型患者复发率

在 HR-HPV 阳性患者中,复发人数为 156 人,占总阳性人数 18.8%,三重感染的复发率最高为 88%,单一感染的复发率最低为 13.2%。呈现感染亚型数与复发率成正比的趋势(见图 2)。感染类型不同的四组,复发率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

2.5 不同学历人群感染复发率

不同学历人群,HR-HPV 感染复发率不同。其中,小学学历人群感染复发率最高为 68.1%,本科

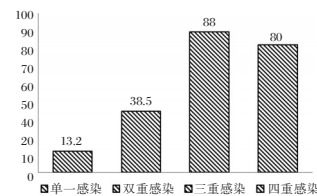


图 2 不同感染类型复发率比较

Figure 2 Comparison of recurrence rates of different infection types

以上学历的感染复发率最低为 8.1%。呈现文化水平与复发率成反比的趋势。见表 6。

表5 不同感染类型复发率比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of recurrence rate among different infection types [n(%)]

感染类型	总阳性数	复发例数
单一感染	703	93(13.2)
双重感染	96	37(38.5)
三重感染	25	22(88.0)
四重感染	5	4(80.0)
χ^2 值		129.40
P值		<0.05

表6 不同学历患者复发率比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of recurrence rate among patients with different educational background [n(%)]

学历	阳性数	复发例数
小学	69	47(68.1)
初中	385	63(16.4)
高中	243	32(13.2)
大专	89	8(9.0)
本科以上	37	3(8.1)
信息不详	6	3(50.0)
χ^2 值		128.59
P值		<0.05

3 讨论

目前,宫颈癌居女性恶性肿瘤的第二位^[5]。随着社会的发展及防控知识的普及,宫颈癌的防控研究也不断增多^[6-7]。大量的研究证实,宫颈癌及其癌前病变最重要的因素是HR-HPV的持续感染^[8]。HR-HPV感染后,与宿主细胞复合,诱导并降解低磷酸化,最终使肿瘤抑制蛋白的形成受阻使宿主细胞的免疫调节功能紊乱,而导致宫颈癌的发生^[9]。

不同国家和地区之间宫颈癌HPV基因型的研究结果存在着较大差异^[10]。在本研究中,HR-HPV感染亚型主要是52、16、51、58、53、56和18型(占总感染亚型例数的74.26%)这与国际上报道的常见感染亚型16、18、58型不同。与罗仲秋^[11]、李霞^[12]等报道的成都地区常见的HPV感染亚型及王海滨^[13]等报道的北京地区常见的HPV感染亚型略有不同。与蓝家富报道的防城港市常见的HPV感染亚型大体相同^[14]。所以,HPV感染亚型分布在不同地区存在差异。目前,已经上市的HPV疫苗有三种,①二价疫苗,其主要针对的是16、18亚型HPV;②四价疫苗,主要针对的是16、18、6和11亚型HPV;③九价疫苗,主要针对16、18、6、11、31、33、45、52和58亚型。而在本研究中的51、53和56主要感染亚型没有覆盖到,所有本研究对我国

今后宫颈癌疫苗的进一步完善研发提供有力依据。

本研究显示,在不同的年龄段其感染率不同,其中31~40岁和51~60岁年龄组的感染率最高,呈现双峰状分布。这与范鹏超等^[15]报道的感染率呈U型分布不同。本研究的第一高峰出现与现在社会的婚育年龄比较晚且此年龄段人群性生活比较活跃有关。第二高峰的出现,可能与此年龄段人群处于更年期前后,此时女性生理及免疫功能降低导致易感有关。而且也有报道称HPV的清除时间随着年龄的增加而延长,导致中老年女性更易持续感染HPV并增加发展为宫颈癌风险。而大多数年轻女性为一过性感染^[16]。

在本研究中,不同受教育程度人群感染率和复发率也有明显的统计学差异。其中初中文化水平人群的感染率最高,复发率也较高,结果显示患者学历越高,感染率越低,复发率也越低。小学组患者感染率并不是最高,但复发率较高,是因为小学组人群年龄普遍偏大,老年人因为绝经后阴道微生态变化^[17]HPV感染容易复发,但由于新发感染条件不足,所以新发比例不多,与本研究的感染率与年龄有关的结果相吻合。受教育水平很大程度上决定了其社会经济地位、卫生习惯等因素,所以受教育水平越高其个人卫生习惯越好健康理念也越好,所以感染率也就越低。另外,由于受教育水平越高,其首次性生活和初次妊娠年龄也就越大,而Manga等^[18]报道,初次妊娠年龄和HPV感染呈显著性相关。也有报道社会经济地位低者HPV感染率1.72倍于较高者,感染HR-HPV的风险翻倍^[19]。这与本研究一致。另外,研究显示,感染亚型越多,其复发率就越高,这与其生活习惯及科学治疗的依次性有关,这也与本研究中的年龄、学历等因素有关。其学历水平和社会经济地位越低其科学治疗的依次性越低,复发率就越高。

综上所述,本地区HPV感染亚型分布与其他地区存在显著性差异,其感染水平与年龄、学历等因素呈现显著的相关性。

参考文献

- [1] Murall C, Rahmoun M, Selinger C, et al. Natural history, dynamics, and ecology of human papillomaviruses in genital infections of young women: protocol of the PAPCLEAR cohort study[J]. *BMJ Open*, 2019, 9(6):e025129.

(下转第107页)

糖皮质激素、特布他林联合治疗对 AECOPD 患者 TK1、TR6 及 TNF- α 的影响

邓彩云^{1*} 黄珍玉¹ 谢世良¹ 郑亚妹²

[摘要] 目的 探讨糖皮质激素、特布他林联合治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者血清胸苷激酶1(TK1)、肿瘤坏死因子受体-6(TR6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。方法 选取2018年5月至2020年5月临高县人民医院收治的108例AECOPD患者,按照治疗方法的不同分为对照组(常规治疗)51例和观察组(糖皮质激素联合特布他林治疗)57例,比较分析两组患者治疗前后临床疗效、细胞因子水平(TK1、TR6、TNF- α)、肺功能指标第1秒用力呼气容积(FEV₁)、用力肺活量(FVC)、FEV₁/FVC比值以及最大呼气流速(PEF)、血气分析指标动脉血氧分压(PaO₂)和二氧化碳分压(PaCO₂)、改善呼吸困难情况以及治疗期间不良反应。结果 治疗后,观察组总有效率96.49%,显著高于对照组的80.39%,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组TK1、TR6、TNF- α 水平均显著下降,且观察组下降更为明显,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组FEV₁、FVC、FEV₁/FVC、PEF均升高,且观察组升高更为明显,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组血气指标PaO₂明显升高,且观察组高于对照组,PaCO₂明显下降,且观察组低于对照组,呼吸困难消失时间缩短,且观察组短于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗期间,观察组与对照组不良反应发生率分别为14.04%、9.80%,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 糖皮质激素联合特布他林治疗AECOPD能抑制TK1、TR6、TNF- α 水平,改善患者肺功能指标。

[关键词] AECOPD; 糖皮质激素; 特布他林; TK1; TR6; TNF- α

Effects of glucocorticoid and terbutaline combined therapy on TK1, TR6 and TNF- α in patients with AECOPD

DENG Caiyun^{1*}, HUANG Zhenyu¹, XIE Shiliang¹, ZHENG Yamei²

[(1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Lingao People's Hospital, Lingao, Hainan, China, 571800; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Hainan General Hospital (Hainan Affiliated Hospital of Hainan Medical University), Haikou, Hainan, China, 570311)]

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of glucocorticoid and terbutaline combined therapy on serum thymidine kinase 1 (TK1), tumor necrosis factor receptor-6 (TR6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** The 108 patients with AECOPD admitted to Lingao County People's Hospital from May 2018 to May 2020 were selected, according to the different treatment methods, they were divided into the control group with 51 cases (conventional treatment) and the observation group (glucocorticoid combined with terbutaline treatment) with 57 cases, and the clinical efficacy, cytokine levels (TK1, TR6, TNF- α), lung function indicators [forced expiratory volume in the first second (FEV₁), forced vital capacity (FVC), and FEV₁/FVC ratio and maximum expiratory flow rate (PEF)], blood gas analysis indicators [arterial oxygen partial pressure (PaO₂) and carbon dioxide partial pressure (PaCO₂)], improved dyspnea, and adverse reactions

基金项目:海南省医药卫生科研项目(19A200093)

作者单位:1. 临高县人民医院呼吸与危重症医学科,海南,临高 571800

2. 海南省人民医院(海南医学院附属海南医院)呼吸与危重症医学科,海南,海口 570311

*通信作者:邓彩云, E-mail: dengcayun7761@163.com

during treatment were compared between the two groups. **Results** After treatment, the total effective rate of the observation group was 96.49%, which was significantly higher than that of the control group, 80.39%, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, TK1, TR6, and TNF- α levels of the two groups were significantly decreased, and the degree of decrease in the observation group was more obvious, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, the FEV₁, FVC, FEV₁/FVC, and PEF in the two groups were increased, and the increase was more obvious in the observation group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The blood gas index PaO₂ was significantly increased after the treatment of two groups, and the observation group was higher than the control group, and the PaCO₂ was significantly decreased, and the observation group was lower than the control group, and the disappearance time of dyspnea was shorter, and the observation group was shorter than the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). During the treatment, the incidence of adverse reactions in the observation group and the control group were 14.04% and 9.80%, respectively, and there was no statistically significant difference between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Glucocorticoid combined with terbutaline can inhibit the levels of TK1, TR6, TNF- α in AECOPD, and improve lung function indexes.

[KEY WORDS] AECOPD; Glucocorticoid; Terbutaline; TK1; TR6; TNF- α

慢性阻塞性肺疾病急性加重期(Acute exacerbations of Chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)是一种不可逆转的肺部疾病^[1],严重者可能会伴随呼吸衰竭的发生,影响通气功能,甚至造成死亡。相关文献显示,糖皮质激素联合 β 受体激动剂治疗AECOPD的效果良好^[2]。糖皮质激素有着强效抗炎、扩张气道的作用;特布他林属于 β 受体激动剂,能减轻气道炎症反应,扩张支气管,改善患者气喘等症状。既往研究发现,炎症是AECOPD的主要发病机制之一,多种炎症介质和细胞因子参与了整个AECOPD发展的病理生理过程^[3]。血清胸苷激酶1(thymidinekinase, TK1)与细胞增殖紧密相关,对细胞增殖活性评估有积极作用^[4]。肿瘤坏死因子受体-6(tumor necrosis factor receptor-6, TR6)及肿瘤坏死因子- α ((tumour necrosis factor- α , TNF- α)均可与可溶性肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)结合,释放炎症因子,加重AECOPD患者病情^[5-6]。本研究将观察AECOPD应用糖皮质激素联合特布他林治疗的疗效,并对TK1、TR6、TNF- α 水平的影响进行探讨。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年5月至2020年5月临高县人民医院收治的108例AECOPD患者作为研究对象。纳入标准:①所有患者均经肺部影像学等检查确诊AECOPD^[7];②均处于急性加重期;③患

者或家属已签署知情同意书。排除标准:①存在药物过敏者;②合并其他恶性肿瘤患者;③精神障碍者。

根据治疗方案的不同分为对照组51例(常规治疗)和观察组57例(糖皮质激素联合特布他林治疗),其中对照组男30例,女21例,平均年龄为(62.18 \pm 6.74)岁;平均病程为(8.54 \pm 2.41)年。观察组中男34例,女23例,平均年龄为(63.49 \pm 7.26)岁;平均病程为(8.93 \pm 2.72)年。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 治疗方法

所有患者入院后,医护人员统一进行健康宣教,正确指导患者肺康复治疗,同时配合戒烟、锻炼、饮食护理、药物治疗等方式来控制疾病。对照组予以给氧治疗、心理治疗、抗感染、抗炎等常规治疗;观察组在常规治疗的基础上给予糖皮质激素联合特布他林治疗。先吸入糖皮质激素,选用布地奈德混悬液(规格:每支1 mg/2 mL,注册证号:H20140475, Astra Zene-caPty Ltd)雾化吸入治疗,2次/天,2 mg/次。后予以特布他林(规格:每支5 mg/2 mL,注册证号:H20140108, Astra Zene-caPty Ltd)雾化吸入治疗,2次/天,2.5 mg/次。观察两组患者连续治疗1周后的效果,治疗期间注意事项均谨遵医嘱。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

两组均连续治疗7天后,根据临床症状、肺功能等作为评估临床疗效标准^[8]。显效:呼吸困难、咳嗽

咳嗽等症状全部消失,肺功能改善明显;有效:呼吸困难、咳嗽咳痰等症状部分消失,肺功能有所改善;无效:呼吸困难、咳嗽咳痰等症状以及肺功能均未改善。总有效率:〔(显效+有效)/总病例数〕 \times 100%。

1.3.2 细胞因子检测

两组患者治疗前及治疗结束后分别留取空腹静脉血样 5 mL,离心(3 500 r/min, 10 min, 离心半径 10 cm)分离上层血清样本,置于低温环境(-80℃)中待检。采用酶联免疫检测仪(型号:ST-360,上海科华生物工程股份有限公司)检测 TR6、TNF- α 水平,试剂盒由基蛋生物科技股份有限公司提供;采用全自动生化分析仪(型号 Lx20,贝克曼库尔特公司)检测 TK1 水平,试剂盒由上海恒远生物科技股份有限公司提供。

1.3.3 肺功能检测

所有患者在检查前避免剧烈运动,待呼吸平稳后进行肺功能检查。检测肺功能指标包括:第 1 秒用力呼气容积(Forced expiratory volume, FEV₁)、用力肺活量(Forced vital capacity, FVC)、FEV₁/FVC 比值以及最大呼气流速(Peak expiratory flow rate, PEF)。

1.3.4 血气分析以及改善呼吸困难症状情况

两组患者治疗前后分别在桡动脉或股动脉处抽取动脉血 2 mL,采用全自动血气分析仪检测动脉血氧分压(Pressure of oxygen, PaO₂)和二氧化碳分压(Partial pressure of carbon dioxide, PaCO₂)。记录两组患者改善呼吸困难的时间。

1.3.5 不良反应

观察两组患者治疗期间出现的恶心呕吐、肠胃不适、呼吸困难、心悸等不良反应情况。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

治疗后,观察组总有效率显著高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 两组临床疗效比较 [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率
对照组	51	26(50.98)	15(29.41)	10(19.61)	41(80.39)
观察组	57	38(66.67)	17(29.82)	2(3.51)	55(96.49)
χ^2 值					7.063
<i>P</i> 值					0.008

2.2 两组细胞因子水平变化比较

治疗后,两组 TK1、TR6、TNF- α 水平均显著下降,且观察组下降更为明显,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

2.3 两组肺功能比较

治疗后,两组 FEV₁、FVC、FEV₁/FVC、PEF 均升高,且观察组升高更为明显,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 2 两组治疗前后 TK1、TR6、TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of TK1, TR6 and TNF- α levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TK1(pmol/L)		TR6(ng/mL)		TNF- α (pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	51	4.12 \pm 0.89	3.11 \pm 0.64 ^a	11.56 \pm 3.45	8.11 \pm 2.89 ^a	486.27 \pm 114.56	264.39 \pm 35.67 ^a
观察组	57	4.25 \pm 0.92	2.04 \pm 0.34 ^a	11.67 \pm 3.53	3.14 \pm 1.02 ^a	527.34 \pm 125.78	135.94 \pm 24.02 ^a
<i>t</i> 值		0.744	11.009	0.163	12.170	1.767	22.153
<i>P</i> 值		0.458	<0.001	0.7871	<0.001	0.080	<0.001

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05。

表 3 两组治疗前后肺功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	FEV ₁ (L)		FVC(L)		FEV ₁ /FVC(%)		PEF(L/s)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	51	1.49 \pm 0.27	1.86 \pm 0.34 ^a	2.26 \pm 0.38	2.63 \pm 0.41 ^a	48.67 \pm 7.43	55.34 \pm 8.16 ^a	3.18 \pm 0.26	4.97 \pm 0.38 ^a
观察组	57	1.42 \pm 0.23	2.37 \pm 0.45 ^a	2.21 \pm 0.31	3.17 \pm 0.59 ^a	47.29 \pm 7.31	67.51 \pm 9.24 ^a	3.24 \pm 0.29	6.24 \pm 0.47 ^a
<i>t</i> 值		1.455	6.584	0.752	5.461	0.972	7.218	1.127	15.327
<i>P</i> 值		0.149	<0.001	0.454	<0.001	0.333	<0.001	0.262	<0.001

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05。

2.4 两组血气分析以及改善呼吸困难时间比较

治疗后,两组血气指标 PaO₂ 明显升高,且观察组高于对照组,PaCO₂ 明显下降,且观察组低于对照组,呼吸困难消失时间缩短,且观察组短于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组治疗前后血气分析及改善呼吸困难时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	恶心呕吐	肠胃不适	呼吸困难	心悸	总发生率
对照组	51	2(3.92)	1(1.96)	1(1.96)	1(1.96)	5(9.80)
观察组	57	2(3.51)	3(5.26)	2(3.51)	1(1.75)	8(14.04)
χ^2 值						0.455
P值						0.500

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

2.5 两组不良反应比较

治疗期间,观察组与对照组不良反应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

3 讨论

AECOPD 的发生主要与吸烟、生活环境污染加重、长期暴露于工业粉尘或化学刺激物以及遗传因素等有关,有害粉尘或气体进入气道会使肺部发生炎症,导致肺通气功能障碍^[9]。目前临床上首选布地奈德治疗 AECOPD,以有效控制炎症,抑制支气管收缩,但单一用药治疗疗效仍不理想。

相关研究发现,特布他林可以减轻炎症反应,扩张支气管,改善通气功能^[10]。本研究结果显示:观察组总有效率显著高于对照组,可见联合特布他林治疗能显著提高治疗疗效。TK1 是 DNA 合成和损伤的关键酶之一,对细胞周期有重要调控作用,近年研究发现,TK1 在 AECOPD 等非肿瘤增生性疾病中浓度偏高^[11]。TR6、TNF- α 均具有促炎功能,由于 AECOPD 患者上皮细胞出现坏死,会促使 TR6、TNF- α 分泌增加,进而刺激炎性

细胞释放大量的炎性介质和中性粒细胞,导致气道发生炎症和感染。TK1、TR6、TNF- α 水平升高会激活 AECOPD 患者机体各种免疫细胞,引起全身炎症反应,而炎症因子可造成小气道、肺泡组织等结构受损,加重 AECOPD 病情。因此,可以推测 TK1、TR6、TNF- α 指标异常升高与 AECOPD 的炎症反应有关。本文结果显示,布地奈德联合特布他林治疗后,TK1、TR6、TNF- α 水平均明显下降,表明相较于常规治疗,两者联合治疗更能有效抑制炎症反应,与但小萃等结果一致^[12]。主要原因可能为:AECOPD 患者多处于炎症高反应阶段,炎症级联反应可释放众多炎性因子,导致其血清 TK1、TR6、TNF- α 水平升高^[13],布地奈德通过抑制炎性因子分化和释放,达到控制炎症和抑制免疫反应;特布他林促进支气管黏膜纤毛蠕动、清除气道异物,减少炎性细胞的活性,两种药物联合使用从而达到抑制炎症反应。

本次研究发现,观察组 FEV₁、FVC、FEV₁/FVC、PEF 均高于对照组,说明布地奈德联合特布他林治疗能有效改善肺功能,提高治疗效率,与既往研究结果相符^[14]。布地奈德具有显著的抗炎效果,能收缩扩张的黏膜血管,抑制血管紧张,减轻黏膜组织水肿,缓解患者气促等症状。特布他林属于 β_2 受体激动剂,短时间内可以舒张支气管平滑肌,改善肺部通气功能,缓解症状。二者联合应用能进一步发挥其优势,有助于疾病的恢复。对于 COPD 的诊断通常是以肺功能检查、血气分析以及结合临床症状来作为评估标准^[15]。本研究结果提示布地奈德联合特布他林治疗能短时间内纠正呼吸困难,抑制疾病进展。此外,研究发现两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义,表明布地奈德联合特布他林治疗具有一定的安全性。

综上所述,糖皮质激素联合特布他林治疗 AECOPD 能抑制 TK1、TR6、TNF- α 水平,改善患者肺功能指标。

表5 两组不良反应发生情况比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	PaO ₂ (mmHg)		PaCO ₂ (mmHg)		呼吸困难消失时间(d)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	51	57.18±6.29	68.14±8.63 ^a	58.34±6.87	43.17±5.63 ^a	8.22±0.89	6.07±0.54 ^a
观察组	57	56.43±6.37	84.52±9.75 ^a	59.28±7.14	31.09±4.62 ^a	8.34±0.97	3.51±0.42 ^a
t值		0.614	9.198	0.695	12.238	0.667	27.650
P值		0.540	<0.001	0.488	<0.001	0.506	<0.001

参考文献

- [1] 逢慧, 潘子涵, 迟春花. 我国基层医疗卫生机构慢性阻塞性肺疾病呼吸康复的实施现状及展望[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(9):828-833.
- [2] 安铁峰, 谢苗荣, 王文科, 等. 血清肾上腺髓质素原, 降钙素原, D-二聚体水平对急诊慢性阻塞性肺疾病急性加重并Ⅱ型呼吸衰竭患者预后的预测价值[J]. 实用心脑血管病杂志, 2019, 27(6):62-67.
- [3] 张冬芹, 田祥, 刘素芬, 等. 不同剂量布地奈德对AECOPD患者肺功能和PCT, MMP-9及TIMP-1水平的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4):623-626.
- [4] 焦江琴. NSCLC患者血清CCL-20, TK1水平与根治性手术后复发, 转移的关系[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(10):1635-1638.
- [5] 刘敏, 王立芹, 杨茂勇, 等. 血清肿瘤坏死因子受体-6水平对AECOPD合并呼吸衰竭患者转归的影响[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(8):1181-1184, 1189.
- [6] 李锋, 周新. 慢性阻塞性肺疾病的发病机制研究进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2019, 18(1):88-92.
- [7] 李锋, 周新. 慢性阻塞性肺疾病的发病机制研究进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2019, 18(1):94-98.
- [8] 沈宁, 贺蓓. 肺功能检查在慢性阻塞性肺疾病诊断及治疗中的临床意义[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(1):73-78.
- [9] 陈杰, 孙耕耘. 慢性阻塞性肺疾病频繁加重的多因素分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 27(3):341-344.
- [10] 赵肇, 刘建媛, 赵勇, 等. 化痰行瘀通腑汤保留灌肠联合特布他林治疗AECOPD痰热壅肺型患者疗效观察[J]. 世界中医药, 2019, 13(6):1455-1460.
- [11] 张冬华, 张辉, 钟春林, 等. CTOP方案化疗联合利妥昔单抗治疗弥漫大B细胞淋巴瘤的效果及对患者血清TK1, β_2 -MG水平的影响[J]. 现代医学, 2019, 47(11):614-618.
- [12] 但小苹, 田德兴, 肖贞良. 胸苷激酶1在肺癌及慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中的表达情况分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2019, 18(4):318-321.
- [13] 陈行辉, 李昌芳, 徐继刚. 胸腺五肽对AECOPD患者血清IL-6, CRP及TNF- α 表达水平的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2020, 43(9):1241-1244.
- [14] 邓翔, 胡芬, 蒋在慧, 等. 慢阻肺患者肺部感染的病原学, 危险因素及炎症因子水平分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(3):324-326, 331.
- [15] 周少珠, 叶旭军, 杨静, 等. 沙丁胺醇, 布地奈德不同雾化吸入联合头孢哌酮钠舒巴坦钠对AECOPD患者血气指标和肺功能的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(8):1468-1472.
- [2] Zhu B, Liu YY, Zuo TT, et al. The prevalence, trends, and geographical distribution of human papillomavirus infection in China: The pooled analysis of 1.7 million women[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(11):5373-5385.
- [3] 中华预防医学会疫苗与免疫分会. 子宫颈癌等人乳头瘤病毒相关疾病免疫预防专家共识(简化版)[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(12):1499-1516.
- [4] 郭晨辉, 徐小晶, 孔薇, 项敏. hrHPV E6/E7 mRNA载量水平与宫颈癌前病变的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10):73-76+80.
- [5] Mcgraw SL. Update on prevention and screening of cervical cancer[J]. *World J Clin Oncol*, 2014, 5(4):744-752.
- [6] 刘常燕, 肖琳, 王宇, 等. 高危型人乳头瘤病毒阴性子宫颈癌患者的临床病理特征分析[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2018, 25(11):1329-1332.
- [7] 庞亚丹, 金丽, 叶利群. 探讨女性生殖道高危型人乳头瘤病毒感染及其与宫颈癌病变的关系[J]. 中国性科学, 2018, 27(12):42-45.
- [8] Ni L, Dong H, Lin Y, et al. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among Daqing City women in China with normal cytology: a pilot prospective study[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(46):81455-81461.
- [9] 程文俊, 申庆文. 高危型HPV感染者宫颈免疫状况及与宫颈癌的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(5):4.
- [10] 张丽娜, 周蓓蓓, 陈昕华, 等. 区域性人乳头瘤病毒基因型别检测临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(16):1147-1149.
- [11] 罗仲秋, 冷平, 刘祥琴, 等. 成都地区妇女HPV感染的流行病学特征及与宫颈病变的关系[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(1):49-53.
- [12] 李霞, 何跃东. 成都地区HPV感染情况分析[J]. 四川医学, 2018, 39(4):435-437.
- [13] 王海滨, 张冬青, 赵娇. 北京市海淀区女性人乳头瘤病毒感染结果分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10):139-142+146.
- [14] 蓝家富. 防城港市2292例女性宫颈HPV感染与基因分型分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(3):204-208.
- [15] 范鹏超, 李晓彤, 刘明月, 等. 健康体检女性人乳头瘤病毒感染特征分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(3):304-307.
- [16] 袁建晖, 范燕燕, 谢彤. 高危型人乳头瘤病毒在2年内自然清除及持续感染与宫颈病变关系的研究[J]. 江西医药, 2020, 55(11):27-30+40.
- [17] 许晟杰, 兰义兵, 马麟娟, 等. 绝经后女性阴道微生态变化及研究进展[J]. 中华老年医学杂志, 2021, 40(3):401-405.
- [18] Manga MM, Fowotade A, Abdullahi Y M, et al. Epidemiological patterns of cervical human papillomavirus infection among women presenting for cervical cancer screening in North-Eastern Nigeria[J]. *Infect Agent Cancer*, 2015, 10(1):39.
- [19] 彭雪, 胡丽娜. HPV感染及危险因素的研究[J]. 实用妇科杂志, 2010, 26(3):168-170.

(上接第102页)

血清 CEACAM-1、CA199、MIC-1 联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值

张金令¹ 王青青² 魏艳蕾³ 陈秀霞^{2*}

[摘要] 目的 分析血清癌胚抗原相关细胞黏附分子1(CEACAM-1)、糖蛋白抗原199(CA199)、巨噬细胞抑制因子-1(MIC-1)联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值。方法 选取东营市东营区人民医院2018年5月至2021年5月收治的58例胰腺癌患者(胰腺癌组)和61例良性胰腺疾病患者(良性胰腺疾病组)的临床资料,另选取同期60例健康体检者(对照组),比较三组血清CEACAM-1、CA199、MIC-1水平变化,绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析血清CEACAM-1、CA199、MIC-1联合检测在胰腺癌诊断中的应用价值。结果 三组心率差异无统计学意义($P>0.05$)。收缩压、舒张压、白细胞计数与血清CRP、CEACAM-1、CA199、MIC-1水平:胰腺癌组>良性胰腺疾病组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic回归分析结果显示,CEACAM-1、CA199、MIC-1与胰腺癌高度相关($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,CEACAM-1、CA199、MIC-1三者联合检测的AUC为0.971,明显高于CA199($Z=2.577, P=0.010$),但与其他血清指标检测结果差异无统计学意义($P>0.05$),以0.315为临界值时,其敏感性、特异性分别为94.83%、93.44%。结论 血清CEACAM-1、CA199、MIC-1均可作为诊断胰腺癌的可靠肿瘤标志物,联合检测可显著提高诊断效能。

[关键词] 胰腺癌;血清癌胚抗原相关细胞黏附分子1;糖蛋白抗原199;巨噬细胞抑制因子-1

Clinical value of combined detection of serum CEACAM-1, CA199 and MIC-1 in the diagnosis of pancreatic cancer

ZHANG Jinling¹, WANG Qingqing², WEI Yanlei³, CHEN Xiuxia^{2*}

(1. Department of Internal Medicine, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000; 2. Department of Laboratory Medicine, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000; 3. Department of Laboratory Medicine, Dongying People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257091)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the clinical value of combined detection of serum carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 (CEACAM-1), carbohydrate antigen-199 (CA199) and macrophage inhibitory cytokine 1 (MIC-1) in the diagnosis of pancreatic cancer. **Methods** The clinical data of 58 patients with pancreatic cancer (pancreatic cancer group) and 61 patients with benign pancreatic disease (benign pancreatic disease group) admitted from May 2018 to May 2021 in Dongying District People's Hospital of Dongying City were selected. In addition, 60 cases of healthy physical examination during the same period were selected as the control group. The changes in serum CEACAM-1, CA199 and MIC-1 levels were compared among the three groups. The receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to analyze the application value of combined detection of serum CEACAM-1, CA199 and MIC-1 in the diagnosis of pancreatic cancer. **Results** There was no significant difference in heart rate among the three groups ($P>0.05$).

基金项目:山东省科技发展计划项目(2018-1023)

作者单位:1. 东营市东营区人民医院内科, 山东, 东营 257000

2. 东营市东营区人民医院检验科, 山东, 东营 257000

3. 东营市人民医院检验科, 山东, 东营 257091

*通信作者:陈秀霞, E-mail:chenjianghua1976@sohu.com

The results of systolic blood pressure, diastolic blood pressure, white blood cell count and the levels of serum CRP, CEACAM-1, CA199, MIC-1 decreased in order from the pancreatic cancer group, the benign pancreatic disease group to the control group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that CEACAM-1, CA199, MIC-1 were highly correlated with pancreatic cancer ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the AUC of the combined detection of CEACAM-1, CA199, and MIC-1 was 0.971, which was significantly higher than that of CA199 ($Z=2.577, P=0.010$), but there was no statistically significant difference between the detection results of other serum indicators ($P>0.05$), with 0.315 as the critical value, the sensitivity and specificity were 94.83% and 93.44%, respectively. **Conclusion** Serum CEACAM-1, CA199, and MIC-1 can be used as reliable tumor markers for the diagnosis of pancreatic cancer, and the combined detection can significantly improve the diagnostic efficiency.

[KEY WORDS] Pancreatic cancer; CEACAM-1; CA199; MIC-1

目前,临床主要通过影像学检查、病理学检查、肿瘤标志物等方法诊断胰腺癌,其中诊断和评估胰腺癌的肿瘤标志物较为缺乏^[1]。Takeuchi等^[2]表示,血清癌胚抗原相关细胞黏附分子1(Carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule1, CEACAM-1)是一种癌胚抗原,可在恶性肿瘤中表达异常。糖蛋白抗原199(Carbohydrate antigen199, CA199)属低聚糖肿瘤相关抗原,是迄今为止相关报道中对胰腺癌敏感性最高的标志物之一^[3]。巨噬细胞抑制因子-1(macrophage inhibitory cytokine-1, MIC-1)是一种可分泌的蛋白质,此前有学者发现MIC-1诊断胰腺癌的敏感性、特异性均 $\geq 70.00\%$,是一种较好的诊断胰腺癌的肿瘤标志物^[4]。CEACAM-1、CA199、MIC-1三种血清指标对胰腺癌的诊断效能仍处于探讨阶段,本研究拟观察CEACAM-1、CA199、MIC-1联合检测在胰腺癌诊断的临床价值,以期为临床选择肿瘤标志物提供一定参考依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取东营市东营区人民医院2018年5月至2021年5月收治的58例胰腺癌患者(胰腺癌组)和61例良性胰腺疾病患者(良性胰腺疾病组)的临床资料。纳入标准:①胰腺癌及良性胰腺疾病患者均为初次确诊;②符合《胰腺外科学》^[5]中胰腺癌、良性胰腺疾病的相关标准;③自愿接受本研究相关检查,依从性高。排除标准:①免疫或血液系统疾病;②年龄 ≥ 75 岁。胰腺癌组病理检查结果:导管细胞癌39例、胰泡细胞癌19例。良性胰腺疾病组病理检查结果:急性胰腺炎54例、胰腺囊腺瘤7例。另选取同期60例健康体检者为对照组。本研

究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

在相同地点采取全部入选者空腹静脉血4 mL,离心机(3 000 rpm, 10 min, $r=10$ cm)处理后取上清液,冷藏至医用冰箱待测。在相同实验室使用同一台化学发光仪(品牌:西门子,型号:2000,厂家:上海智岩科学仪器有限公司)和对应试剂盒(美国R/D公司)检测血清CEACAM-1、CA199。在相同实验室使用同一台酶联免疫检测仪(产地/品牌:BMG LABTECH,型号:CLARIOstar)、双抗体夹心法及对应试剂盒检测MIC-1。

三组年龄比较差异有统计学意义($P<0.05$);三组性别、吸烟、饮酒比较差异无统计学意义($P>0.05$),良性胰腺疾病组、胰腺癌组高血压、糖尿病率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 三组基线资料比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of baseline data among 3 groups [$n(\%)$]

因素	对照组 ($n=60$)	良性胰腺疾病组 ($n=61$)	胰腺癌组 ($n=58$)	χ^2 值	P 值
性别	男	39(65.00)	40(65.57)	38(65.52)	0.005 0.997
	女	21(35.00)	21(34.43)	20(34.48)	
年龄	<55	35(58.33)	24(39.34)	16(27.59)	24.009 <0.001
	55-65	24(40.00)	27(44.26)	23(39.66)	
	>65	1(16.67)	10(16.39)	19(32.76)	
吸烟	32(53.33)	35(57.38)	39(67.24)	2.492	0.288
饮酒	37(61.67)	42(68.85)	45(77.59)	3.519	0.172
高血压		16(26.23)	20(34.48)	0.960	0.327
糖尿病		10(16.39)	14(24.14)	1.108	0.293

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验。计数资料用 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用ROC曲线分析胰腺癌诊断

价值,曲线下面积值(AUC)的比较采用非参数检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组生理指标比较

三组心率的差异无统计学意义($P>0.05$);收缩

压、舒张压、白细胞计数与血清CRP、CEACAM-1、CA199、MIC-1水平:胰腺癌组>良性胰腺疾病组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.2 胰腺癌的多因素分析

Logistic回归分析显示,CEACAM-1、CA199、MIC-1与胰腺癌高度相关($P<0.05$)。见表3。

表2 三组生理指标比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of physiological indicators among the three groups ($\bar{x}\pm s$)

因素	对照组(n=60)	良性胰腺疾病组(n=61)	胰腺癌组(n=58)	F值	P值
收缩压(mmHg)	109.59±10.36	119.86±10.75 ^{ab}	125.57±13.95 ^{ab}	28.055	<0.001
舒张压(mmHg)	72.11±10.33	78.55±11.74 ^{ab}	83.42±12.31 ^{ab}	14.426	<0.001
心率(次/min)	75.48±11.21	76.17±9.18	79.50±10.19	2.599	0.077
白细胞计数($\times 10^9/L$)	5.68±0.31	15.59±4.32 ^{ab}	51.68±10.74 ^{ab}	787.292	<0.001
CRP(mg/L)	6.89±1.45	129.45±36.37 ^{ab}	201.79±51.29 ^{ab}	440.718	<0.001
CEACAM-1(ng/mL)	330.14±103.47	423.02±50.25 ^{ab}	532.15±67.42 ^{ab}	101.754	<0.001
CA199(U/mL)	10.16±3.01	20.06±6.56 ^a	32.60±10.05 ^{ab}	147.781	<0.001
MIC-1(pg/mL)	386.02±119.02	706.02±121.38 ^{ab}	1189.52±331.26 ^{ab}	212.601	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与良性胰腺疾病组比较,^b $P<0.05$ 。

表3 胰腺癌的Logistic多因素回归分析

Table 3 Logistic multivariate regression analysis of pancreatic cancer

指标	β 值	S.E值	WALD值	OR值	95%CI	P值
年龄	0.456	0.309	2.178	1.578	0.861~2.891	0.141
收缩压	0.957	0.664	2.077	2.604	0.709~9.568	0.150
舒张压	0.842	0.435	3.747	2.321	0.989~5.444	0.054
白细胞计数	1.254	0.949	1.746	3.504	0.546~22.512	0.187
CRP	0.711	0.398	3.191	2.036	0.933~4.442	0.075
CEACAM-1	1.021	0.451	5.125	2.776	1.147~6.719	0.024
CA199	0.986	0.320	9.494	2.680	1.432~5.019	0.002
MIC-1	0.781	0.105	55.325	2.184	1.777~2.683	<0.001

2.3 血清CEACAM-1、CA199、MIC-1联合诊断胰腺癌价值

ROC曲线分析显示,CEACAM-1、CA199、MIC-1三者联合检测的AUC明显高于CA199($P=0.010$),但与其他血清指标检测结果差异无统计学意义($P>0.05$),以0.315为临界值时,其敏感性、特异性分别为94.83%、93.44%。见表4和图1。

表4 血清CEACAM-1、CA199、MIC-1联合诊断胰腺癌价值

Table 4 Value of serum CEACAM-1, CA199 and MIC-1 in combined diagnosis of pancreatic cancer

指标	AUC	95%CI	Z值	约登指数	临界值	敏感性(%)	特异性(%)	P值
CEACAM-1	0.918	0.853~0.960	17.566	0.677	>484.91(ng/mL)	75.86	91.80	<0.001
CA199	0.876	0.804~0.930	11.876	0.625	>29.06(U/mL)	70.69	91.80	<0.001
MIC-1	0.910	0.844~0.955	14.881	0.732	>649.93(pg/mL)	89.66	83.61	<0.001
CEACAM-1、CA199	0.930	0.869~0.969	14.896	0.880	>0.444	89.66	98.36	<0.001
CEACAM-1、MIC-1	0.925	0.862~0.965	16.282	0.814	>0.448	87.93	93.44	<0.001
CA199、MIC-1	0.944	0.886~0.9978	20.722	0.799	>0.465	91.38	88.52	<0.001
三者联合	0.971	0.922~0.993	27.442	0.883	>0.315	94.83	93.44	<0.001

注:联合诊断标准:血清CEACAM-1、CA199、MIC-1仅1项为阳性即可诊断胰腺癌(阳性标准从ROC图片获得)。

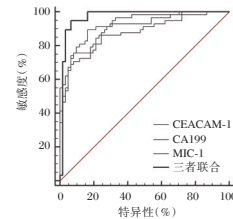


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

血清肿瘤标志物是肿瘤细胞合成释放或机体对肿瘤细胞反应出现下降/升高的一种物质,其广泛存在于血液、细胞、体液或组织液中,可有效反映肿瘤组织的生长和发育情况^[6]。目前,临床可通过化学、基因组织学、免疫学等方法检测肿瘤标志物,并根据检测结果诊断肿瘤疾病,肿瘤标志物还能有效评估肿瘤治疗疗效和预后^[7]。因此,肿瘤标志物是临床诊断肿瘤疾病及早期监测的有效指标。

本研究结果提示上述指标均有助于鉴别健康人群、良性胰腺疾病患者与胰腺癌患者,但具体鉴别价值仍需结合多因素分析验证。郭学青等^[8]在关于良性胰腺疾病、胰腺癌鉴别诊断的研究中也提到,CA199在上述不同疾病患者中的检查结果存在明显差异,部分支持了本研究结论。O'Neill等^[9]研究则表明,血清CEACAM-1也有助于鉴别胰腺癌或了解胰腺癌患者的预后状态,这与本研究结果存在部分相似之处。

本研究为挖掘与胰腺癌高度相关的各项生理指标,进一步采取了Logistic多因素回归分析,结果显示,血清CEACAM-1、CA199、MIC-1与胰腺癌高度相关,证明在胰腺癌的诊断过程中,血清CEACAM-1、CA199、MIC-1具有较高的检测价值。Zheng等^[10]研究指出,血清CEACAM-1是一种跨膜蛋白,主要表达于骨髓、上皮、内皮等细胞表面,具有诸多生物学功能,如调节细胞管腔结构以及抑制细胞增殖等。同时,血清CEACAM-1能显著抑制肿瘤细胞生长发育,诱导上皮细胞、单核细胞凋亡,刺激B细胞增殖,抑制T细胞活化、增殖,抑制自然杀伤细胞和T细胞毒性,促进内皮细胞运动和肿瘤细胞侵袭^[11]。CA199是一种新肿瘤标志物,因CA199经肝脏、胆汁进行代谢或排泄,部分肝功能不全或胆汁淤积等良性胰腺疾病患者,其体内CA199可能因代谢或排泄不畅而快速升高^[12]。值得一提的是,部分患者缺乏表达CA199的相关基因,因而少数胰腺癌患者可能出现假阴性现象,延误治疗^[13]。为避免以上情况,临床建议多指标鉴别或诊断胰腺癌,以显著提高诊断准确性。MIC-1是分泌型蛋白质,可作为临床血清学指标,研究显示,MIC-1升高与胰腺癌之间存在紧密联系^[14],但关于其诊断胰腺癌敏感性和特异性的研究较为少见,还要进一步观察。

本研究绘制联合诊断胰腺癌的ROC曲线图,结果发现血清CEACAM-1、CA199、MIC-1联合诊断胰腺癌的AUC高于上述指标单独检测结果或两两联合检测结果,在临界值为0.315时,其敏感性、特异性分别为94.83%、93.44%。这说明血清CEACAM-1、CA199、MIC-1均可为胰腺癌的确诊提供丰富的临床参考信息,三者联合检测或可进一步完善胰腺癌的诊断方案,提高疾病的确诊率。这与谢海林等^[15]研究显示的结论部分一致。由于纳入病例不足,且受到患者个体差异性等因素的影响,故本研究结论可能存在一定偏颇,望后期能扩充样本量与观察指标,完善胰腺癌的临床检验工作。

综上所述,血清CEACAM-1、CA199、MIC-1均对诊断胰腺癌有一定临床价值,联合检测有助于提高诊断胰腺癌的敏感性与特异性。

参考文献

- [1] 汪洋,汪群,张峰. 血清 Kisspeptin-1 在胰腺癌诊断和预后判断中的临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020,27(5):85-89.
- [2] Takeuchi A, Yokoyama S, Nakamori M, et al. Loss of CEACAM1 is associated with poor prognosis and peritoneal dissemination of patients with gastric cancer [J]. Sci Rep, 2019,9(1):1270.
- [3] 向焰,龙天蓉,陈亮. 肿瘤标志物 CA199、CA242 及 CA50 联合检测对胰腺癌早期诊断的价值[J]. 检验医学与临床, 2017,14(2):137-138.
- [4] 陈小勇,邓丽亚,宣世海,等. 血清巨噬细胞抑制因子-1 癌胚抗原及糖类抗原联合检测在老年结肠直肠癌诊断和预后中的应用[J]. 中华老年医学杂志, 2019,38(11):1289-1293.
- [5] 林擎天. 胰腺外科学[M]. 南京:江苏科学技术出版社, 2009:16-19.
- [6] 闫学平,兰小琴,黄迎春,等. CA199、CA242、CEA 在不同分期胰腺癌中的诊断价值[J]. 现代消化及介入诊疗, 2018,23(2):203-205.
- [7] Faria SC, Sagebiel T, Patnana M, et al. Tumor markers: myths and facts unfolded[J]. Abdom Radiol (NY), 2019,44(4):1575-1600.
- [8] 郭学青,高宏伟,李晓阳. 血清 miR-21 与 CA199 联合检测对胰腺癌诊断的临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2017,40(5):400-403.
- [9] O'Neill RS, Emmanuel S, Williams D, et al. Macrophage inhibitory cytokine-1/growth differentiation factor-15 in premalignant and neoplastic tumours in a high-risk pancreatic cancer cohort[J]. World J Gastroenterol, 2020,26(14):1660-1673.
- [10] Zheng J, Hernandez JM, Doussot A, et al. Extracellular matrix proteins and carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules characterize pancreatic duct fluid exosomes in patients with pancreatic cancer[J]. HPB (Oxford), 2018,20(7):597-604.
- [11] Zińczuk J, Zareba K, Romaniuk W, et al. Expression of Chosen Carcinoembryonic-Related Cell Adhesion Molecules in Pancreatic Intraepithelial Neoplasia (PanIN) Associated with Chronic Pancreatitis and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC)[J]. Int J Med Sci, 2019,16(4):583-592.
- [12] 刘兰,陈跃,黄占文,等. CT 增强影像学联合血清 IgG4 和 CA199 检测在自身免疫性胰腺炎鉴别诊断中的临床价值[J]. 中国免疫学杂志, 2019,19(22):829-830.
- [13] 杨剑,万成乐,金雷. CA72-4, CA19-9, CA125, CA50 医学参考值范围及其对胃癌早期诊断价值的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(7):1150-1153.
- [14] 吉文伟,魏璐璐,郭胜利,等. 胰头十二指肠切除术联合替吉奥治疗胰腺癌对患者血清 MIC-1、REG4 水平的影响[J]. 实用癌症杂志, 2021,36(2):308-311.
- [15] 谢海林,陈芳,李丽,等. 血清标志物检测在胰腺癌患者中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2017,14(14):2061-2063.

ESR、LDH及IL-2检测在高血压性脑出血术后发生颅内感染的诊断价值

李润峰* 王万卿 李万军 李跃鹤

[摘要] **目的** 分析红细胞沉降率(ESR)、乳酸脱氢酶(LDH)、白介素细胞2(IL-2)检测在高血压性脑出血术后发生颅内感染的诊断价值。**方法** 收集2017年3月至2021年1月于平顶山市第二人民医院行手术治疗的126例高血压性脑出血患者,探究ESR、LDH、IL-2与高血压性脑出血术后发生颅内感染的关系,并分析ESR、LDH、IL-2对术后发生颅内感染的诊断价值。**结果** 126例患者术后感染37例(感染组),术后未感染89例(未感染组),两组在年龄、引流管置留时间、ESR、LDH、IL-2、基础疾病中差异均有统计学意义($P<0.05$),在性别中比较差异无统计学意义($P>0.05$)。将单因素中有统计学意义的因素代入条件Logistic回归模型分析中发现,年龄、引流管置留时间、ESR、LDH、IL-2、基础疾病与血压脑出血术后发生颅内感染存在相关性($P<0.05$)。依据ROC曲线可知,ESR+LDH+IL-2联合检测对高血压性脑出血术后发生颅内感染诊断敏感度和特异度分别为87.70%、60.90%、 $AUC=0.811(95\% CI:0.718-0.903)$,明显高于三者单独诊断($P<0.05$)。**结论** 高血压性脑出血术后颅内感染时ESR、LDH、IL-2均升高,与术后颅内感染密切相关,三者联合检测可减少误诊、漏诊率,为术后颅内感染诊断提供重要参考依据。

[关键词] ESR; LDH; IL-2; 高血压性脑出血; 颅内感染

Diagnostic value of ESR, LDH and IL-2 detection in intracranial infection after hypertensive intracerebral hemorrhage

LI Runfeng*, WANG Wanqing, LI Wanjun, LI Yuehe

(Department of Neurosurgery, the Second People's Hospital of Pingdingshan City, Pingdingshan, Henan, China, 467000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the diagnostic value of erythrocyte sedimentation rate (ESR), lactate dehydrogenase (LDH), interleukin-2 (IL-2) detection in patients with intracranial infection after hypertensive intracerebral hemorrhage. **Methods** A total of 126 patients with hypertensive cerebral hemorrhage who underwent surgical treatment in the Second People's Hospital of Pingdingshan city from March 2017 to January 2021 were selected. The relationship between the ESR, LDH, IL-2 and intracranial infection after hypertensive intracerebral hemorrhage was explored. The diagnostic value of ESR, LDH, IL-2 for intracranial infection after hypertensive intracerebral hemorrhage was analyzed. **Results** Among the 126 patients, 37 were infected after surgery (infected group), and 89 were uninfected after surgery (non-infected group). There were significant differences in age, drainage tube retention time, ESR, LDH, IL-2, and underlying diseases between the two groups ($P<0.05$), and there was no statistically significant difference in gender ($P>0.05$). After Substituting the factors with statistical significance into the conditional Logistic regression model analysis, and it was found that age, drainage tube retention time, ESR, LDH, IL-2, and underlying diseases were related to intracranial infection after hypertensive intracerebral hemorrhage ($P<0.05$). According to the ROC curve, the sensitivity and specificity of the combined detection of ESR+LDH+IL-2 for the diagnosis of intracranial infection after hy-

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20170418)

作者单位:平顶山市第二人民医院神经外科,河南,平顶山 467000

*通信作者:李润峰, E-mail: lrf15137571928@163.com

pertensive intracerebral hemorrhage were 87.70%, 60.90%, and AUC = 0.811 (95%CI: 0.718~0.903), which was significantly higher than the diagnosis of ESR, LDH, and IL-2 alone ($P<0.05$). **Conclusion** ESR, LDH, and IL-2 all increase during postoperative intracranial infection in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage, which are closely related to postoperative intracranial infection. The combined detection of the three can reduce the rate of misdiagnosis and missed diagnosis and provide information for the diagnosis of postoperative intracranial infection.

[KEY WORDS] ESR; LDH; IL-2; Hypertensive intracerebral hemorrhage; Intracranial infection

高血压性脑出血为高龄人群常见疾病,在我国发病率为50.6~80.7人/10万人,对患者日常生活、生命健康均有严重不良影响^[1]。开颅手术为高血压性脑出血治疗的主要手段,但在手术过程中会对患者脑组织造成一定的牵扯和压迫,可增加术后并发症发生率,且由于手术时间长,患者术后发生颅内感染机率大,预后不理想。早期诊断术后颅内感染情况,及时采取治疗措施对改善患者预后具有积极意义。以往研究发现,创伤出血、组织破坏、修复等因素均可引起红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)加快,可作为术后感染的重要评估指标^[2]。乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)属于糖酵解酶,在颅内感染性疾病中具有较高的诊断价值^[3]。白介素细胞2(Interleukin-2, IL-2)为重要的炎症因子,在机体发生炎症反应时表达可明显升高^[4]。本研究将通过观察ESR、LDH、IL-2在高血压性脑出血术后颅内感染者血清中的表达情况,分析三者对高血压性脑出血术后发生颅内感染的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2017年3月至2021年1月于平顶山市第二人民医院行手术治疗的126例高血压性脑出血患者,其中男75例,女51例,平均年龄为(61.35±5.74)岁。纳入标准:①经颅脑CT或MRI确诊出血及出血部位;②符合第五届脑血管病学术会议制定有关高血压性脑出血诊断标准^[5];③临床资料完整;④具有明确高血压病史;⑤患者家属均签署知情同意书。排除标准:①缺血性脑卒中者;②由颅内肿瘤、动脉瘤引起的脑出血;③既往存在脑部手术史者;④有颅脑外伤史者;⑤为保守治疗者。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

患者均为开颅手术,避开患者皮层功能区

域,以小骨窗开颅穿点点位,行5 cm头皮直切口确认血肿部位,沿着脑沟将皮层分开,进入血肿腔后在直视下使用吸引器将血肿清除,随后置引流管。

1.2.2 ESR、LDH、IL-2检测

在患者手术后抽取患者空腹静脉血液5 mL以及腰椎穿刺获取患者脑脊液2 mL。其中2 mL血液使用3 000 r/min离心机($r=10$ cm)离心10 min,获取上清液,使用酶联免疫吸附法检测IL-2,试剂盒为南京建成生物制品有限公司提供;余下3 mL血液用于检测ESR,检测方式为魏氏法,正常参考值为:男性ESR<15 mm/h,女性<20 mm/h^[6];脑脊液用于检测LDH,使用动态监测酶法检测,试剂由北京九强生物科技有限公司提供。所有操作均严格按照试剂所配套说明书进行。

1.2.3 术后感染评估^[6]

经临床表现、脑脊液细菌培养及药敏明确诊断发生感染。术后感染临床表现:高热、呕吐、脑膜刺激征(+)等;脑脊液生化检查:白细胞 $>10\times 10^6/L$,蛋白定量 $>2\ 200$ mg/L,糖定量 <1.9 mmol/L;脑脊液/颅内引流管头端细菌培养(+).

1.2.4 资料收集

收集患者一般资料包括:年龄、性别、基础疾病(高血压、糖尿病、高血脂等)、引流管置留时间、发病情况等。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行统计处理,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)描述,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,Logistic回归模型分析ESR、LDH、IL-2与高血压性脑出血术后发生颅内感染的关系, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基本情况比较

两组在年龄、引流管置留时间、ESR、LDH、IL-2、基础疾病(高血压、糖尿病、高血脂等)中差异均有

统计学意义($P<0.05$),在性别中比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 感染组与未感染组基本情况比较 [$(\bar{x}\pm s), n(\%)$]

因素	感染组 (n=37)	未感染组 (n=89)	t/χ^2 值	P值
年龄(岁)	65.29±3.54	60.11±3.19	8.035	<0.001
性别				
男	23(62.16)	52(58.42)	0.151	0.697
女	14(37.84)	37(41.57)		
引流管置留时间(d)	4.15±0.87	3.55±0.17	6.257	<0.001
发病急骤				
是	25(67.57)	48(53.93)	1.993	0.157
否	12(32.43)	41(46.07)		
合并基础疾病				
是	33(89.19)	40(44.94)	20.994	<0.001
否	4(10.81)	49(55.06)		
ESR(mm/h)	38.22±7.54	10.32±5.11	24.096	<0.001
LDH(U/L)	31.24±3.24	10.36±3.55	30.825	<0.001
IL-2(pg/mL)	223.26±15.59	141.25±15.64	26.831	<0.001

2.2 高血压性脑出血术后发生颅内感染相关因素分析

将表1中统计有意义的因素代入条件 Logistic 回归模型分析中发现,年龄、引流管置留时间、ESR、LDH、IL-2、基础疾病为与高血压性脑出血术后发生颅内感染存在相关性($P<0.05$)。见表2~3。

表2 待分析因素的意义及赋值

因素	代表意义	赋值
X_1	年龄	0=<65岁; 1= \geq 65岁
X_2	引流管置留时间	0=<4d; 1= \geq 4d
X_3	ESR	0=<20mm/h; 1= \geq 20mm/h
X_4	LDH	0=<23U/L; 1= \geq 23U/L
X_5	IL-2	0=<200pg/ml; 1= \geq 200pg/mL
X_6	基础疾病	0=否; 1=是

表3 高血压性脑出血术后发生颅内感染相关因素分析

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR	95%CI	P值
X_1	0.511	0.214	4.987	1.666	1.095~2.535	0.021
X_2	0.316	0.133	11.957	1.371	1.056~1.780	<0.001
X_3	0.496	0.213	5.189	1.642	1.081~2.492	0.012
X_4	0.391	0.196	10.248	1.478	1.006~2.170	<0.001
X_5	0.295	0.141	12.264	1.343	1.018~1.770	<0.001
X_6	0.677	0.259	3.669	1.967	1.184~3.269	0.041

2.3 ESR、LDH、IL-2 高血压性脑出血术后发生颅内感染诊断价值

依据ROC曲线可知,ESR+LDH+IL-2联合检测对高血压性脑出血术后发生颅内感染诊断敏感度和特

异度明显高于三者单独诊断($P<0.05$)。见表4、图1。

表4 ESR、LDH、IL-2 高血压性脑出血术后发生颅内感染诊断价值

诊断因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P值
ESR	0.770	0.684~0.855	0.737	0.561	<0.001
LDH	0.783	0.707~0.880	0.754	0.584	<0.001
IL-2	0.766	0.678~0.854	0.719	0.520	<0.001
ESR+LDH+IL-2	0.811	0.718~0.903	0.877	0.609	<0.001

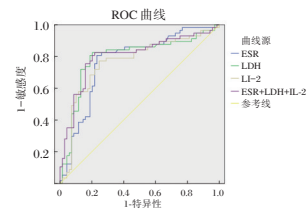


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

术后颅内感染为颅脑手术后严重的并发症之一,可导致患者出现细菌性脑膜炎、化脓性脑膜炎、脑室炎等,增加患者病死率^[7]。在本研究中126例患者有29.36%发生颅内感染,提示临床需重视高血压性脑出血患者术后感染情况,在手术过程中严格注意无菌操作,降低术后感染发生率。

以往临床中诊断颅内感染金标准为病原学检查,但检测过程长,且可出现假阳性、假阴性结果,在等待结果的过程中未进行治疗可导致患者出现感染升级^[8]。因此寻找新的诊断方法提高术后颅内感染早期诊断准确性对改善患者预后具有积极意义。ESR可反映红细胞沉降速度,在结核、风湿、感染等疾病中均可出现异常升高的现象。以往研究发现,在颅脑手术后可出现ESR升高的现象,可能与颅脑手术过程中出现组织变形坏死被机体异常吸收有关,也可能因脑组织对微环境变化敏感,微环境改变后引起ESR升高^[9]。Altuzarra等人^[10]研究发现,颅脑手术后患者未出现感染,ESR可在3个月内恢复到正常的范围;但如果ESR持续升高超3个月或出现第二个高峰时需要考虑感染的可能。也有研究表明,在颅脑手术后发生感染者其ESR升高幅度大,持续的时间也会更长^[11]。本研究结果与上述研究结果相符,提示ESR升高可能是颅脑术后颅内感染的一项重要的异常指标。

LDH是糖酵解过程中相当重要的酶,正常脑脊液酶活性比血清低,在大多数情况下酶无法通过脑血屏障。以往研究认为,脑脊液中LDH表达情况可为中枢神经系统受损提供重要参考信息,具有较高的敏感度^[12]。有研究发现,在机体发生某种神经系统疾患时,尤其是颅内感染急性期脑脊液中存在心肌酶改变时,脑脊液酶活性可增高,其中以LDH改变最明显,并有助于颅内感染的鉴别诊断^[13-14]。本研究中术后感染者LDH表达明显上调,且与预后感染情况存在相关性,推测脑脊液中LDH升高可能与脑组织损伤后神经细胞内酶的溢出或渗出所导致。

IL-2由CD4⁺T淋巴细胞亚群所产生,可促进自然杀伤细胞、T细胞、B细胞的增殖与分化,增加细胞免疫和体液免疫活性^[15]。以往研究表明,颅脑感染者机体免疫系统被激活,病原菌可刺激IL-2表达^[16-17]。Hu等^[18]人研究表明,IL-2水平变化对早期颅内感染诊断具有重要的参考价值,其水平升高可能与感染导致大量神经细胞死亡、炎症因子异常表达有关。在本研究中,IL-2在高血压性脑出血术后发生颅内感染者中表达明显升高,分析可能与颅内感染后使患者免疫系统被激活,病原菌大量地释放出包括IL-2在内的多种细胞因子,促使机体产生强烈而持久的细胞免疫及体液免疫应答有关。绘制ROC曲线分析可知,LDH、IL-2、ESR在高血压性脑出血术后颅内感染诊断中均有一定的诊断价值,三者联合检测诊断敏感度、特异度高于三者单独诊断,说明三者联合诊断效能更佳。

综上所述,高血压性脑出血术后颅内感染时ESR、LDH、IL-2均升高,与术后颅内感染密切相关,三者联合检测可减少误诊、漏诊率,对改善患者预后具有积极意义。

参考文献

- [1] 李传峰,鲁晓杰,王国华,等.术中超声辅助神经内镜经侧裂入路治疗高血压脑出血的疗效及安全性观察[J].中华医学杂志,2021,101(9):620-623.
- [2] Yakobi A, Porterfield JZ, Toman J, et al. HIV, Tuberculosis, and Otogenic Intracranial Sepsis: A Devastating Disease With a Subtle Presentation[J]. Otol Neurotol, 2019, 40(5): 56-57.
- [3] 陈永翱,付为刚,李志勇,等.高血压脑出血术后颅内压监测的临床意义[J].广西大学学报(自然科学版),2020,45(2):223-228.
- [4] 秦梦阳,张文泰,凌宇辉,等.重型颅脑创伤和重症高血压脑出血患者有创颅内压监测术后早期颅内感染及其危险因素[J].中国医科大学学报,2019,48(9):15-17.
- [5] Huang M, Peng M, Gan C, et al. A case of intracranial molluscum contagiosum virus infection diagnosed by metagenomic sequencing of cerebrospinal fluid[J]. Acta Virol, 2019, 63(3):333-337.
- [6] 杨娇,徐建立,武峰,等.外周血中性粒细胞Wip1在颅脑术后颅内感染早期诊断中的价值[J].中国临床神经外科杂志,2020,25(3):32-34.
- [7] Sami B, Sophie S, Mejdj AB, et al. Surgical Complications of Intracranial Multimodality Monitoring for Neurocritical Care: A Single-center Experience[J]. Neurosurgery, 2020, 33(1):55-57.
- [8] 李林艳,陈嫩梅,张玉巧,等.血清心肌酶和CSF中LDH与TNF- α 对成年患者颅内感染的诊断效果[J].中华医院感染学杂志,2019,29(11):1643-1646.
- [9] 崔胜宏,胡泊,郑传忠,等.磁共振结合脑脊液对患者颅内感染的诊断效果研究[J].贵州医药,2019,43(12):1973-1975.
- [10] Altuzarra R, Movilla R, Roura X, et al. Computed tomographic features of destructive granulomatous rhinitis with intracranial extension secondary to leishmaniasis in a cat[J]. Vet Radiol Ultrasound, 2020, 61(6):E64-E68.
- [11] 范国锋,秦虎,王增亮,等.血清PCT、IL-6、CRP在颅脑损伤术后颅内感染的早期诊治中的价值[J].中国临床神经外科杂志,2019,24(4):20-23.
- [12] Eal A, Rg B, Jkra C, et al. Neuroimaging of CNS infection in haematological malignancy: important signs and common diagnostic pitfalls-ScienceDirect[J]. Clin Radiol, 2021, 12(3):107-108.
- [13] 刘晓刚,王二玲,冯娟,等.重型颅脑损伤术后颅内感染脑脊液中不同指标和炎症因子水平分析[J].创伤外科杂志,2020,22(6):419-423.
- [14] Bevan R, Patel C, Bhatti I, et al. Surgical management of raised intracranial pressure secondary to otogenic infection and venous sinus thrombosis[J]. Childs Nerv Syst, 2020, 36(2):349-351.
- [15] 王宝,孙媛,宋康,等.应激性高血糖对颅脑损伤患者炎症状态和外周血乳酸、MMP-9水平以及28天死亡率的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(1):45-49.
- [16] Yao J, Liu D. Logistic Regression Analysis of Risk Factors for Intracranial Infection After Multiple Traumatic Craniotomy and Preventive Measures[J]. J Craniofac Surg, 2019, 30(7):1.
- [17] Mishra A, Prabhuraj AR, Bhat D, et al. Intracranial Actinomyces Manifesting as a Parenchymal Mass Lesion: A Case Report and Review of Literature - ScienceDirect [J]. World Neurosurgery, 2019, 122(3):190-194.
- [18] Hu Y, He W, Yao D, et al. Intrathecal or intraventricular antimicrobial therapy for postneurosurgical intracranial infection due to MDR/XDR Gram-negative bacteria: a systematic review and meta-analysis[J]. Internat J Antimicrob Agents, 2019, 54(5):119-123.

Logistic 回归预测模型联合炎症标志物对尿毒症血液透析患者并发感染的预测价值

李孜焱* 梁绍钦 赵振伶 于瑞波

[摘要] **目的** 探究 Logistic 回归预测模型联合炎症标志物对尿毒症血液透析患者并发感染的预测价值。**方法** 选取亳州市人民医院 2020 年 1 月至 2021 年 4 月尿毒症血液透析患者 82 例,将并发感染患者 25 例作为研究组,无感染患者 57 例作为对照组。收集两组临床资料、检测炎症标志物[C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、白细胞介素-6(IL-6)],构建 Logistic 回归预测模型,经该模型拟合生成联合预测因子,采用受试者工作特征(ROC)评价各原始指标、炎症标志物及联合预测因子的预测价值,并进行个体值预测。**结果** Logistic 回归模型显示,透析时间、住院天数、糖尿病、血清 CRP、PCT、IL-6 是尿毒症血液透析患者并发感染的独立危险因素($P<0.05$);ROC 曲线分析,年龄、透析时间、住院天数、血清 CRP、PCT、IL-6 对尿毒症血液透析并发感染的预测 AUC 值;将原始自变量年龄、透析时间、住院天数、血清 CRP、PCT、IL-6 拟合生成联合预测因子,其预测尿毒症血液透析患者并发感染的最佳临界值为 11.07, AUC 为 0.921, 95% CI 为 0.850~0.992, 敏感度为 92.00%, 特异度为 80.70%, 明显高于各原始指标、炎症标志物单独预测($P<0.05$);在临床实际病例中另外随机抽取 1 例患者,将各自变量代入概率预测方程得到概率值 $P=0.464$, 小于最佳临界值,故在预测准确率为 84.15% 的条件下,该患者尿毒症血液透析期间可能不会并发感染,且符合临床实际。**结论** Logistic 回归预测模型联合炎症标志物拟合生成的联合预测因子对尿毒症血液透析患者并发感染具有可靠预测价值,可作为临床优选预测方式。

[关键词] 尿毒症; 血液透析; Logistic 回归预测模型; 炎症标志物

Predictive value of logistic regression prediction model combined with inflammatory markers on complicated infection in uremic hemodialysis patients

LI Ziyao*, LIANG Shaoqin, ZHAO Zhenling, YU Rui bo

(Hemodialysis Center of Bozhou People's Hospital, Bozhou, Anhui, China, 236800)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the predictive value of Logistic regression prediction model combined with inflammatory markers in uremic hemodialysis patients complicated by infections. **Methods** A total of 82 uremic hemodialysis patients in Bozhou People's Hospital from January 2020 to April 2021 were selected. 25 patients with concurrent infection were selected as the study group, and 57 patients without infection were selected as the control group. The clinical data of the two groups were collected, and inflammatory markers [C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), interleukin-6 (IL-6)] were detected, and a logistic regression prediction model was constructed. Combined predictors, the receiver operating characteristic (ROC) was used to evaluate the predictive value of each original indicator, inflammatory markers and combined predictors, and individual values were predicted. **Results** Logistic regression model showed that dialysis time, hospitalization days, diabetes, serum CRP, PCT, IL-6 were independent risk factors for infection in uremic hemodialysis patients ($P<0.05$). ROC curve analysis, age, dialysis time, days of hospitalization, serum CRP, PCT, IL-6 predicted AUC of uremic hemodialysis complicated infection,

基金项目:2020 年度安徽省自然科学基金项目(2008085QH422)

作者单位:亳州市人民医院血液透析中心 安徽,亳州 236800

*通信作者:李孜焱, E-mail: lzy919528@163.com

respectively. The original independent variables of age, dialysis time, hospitalization days, serum CRP, PCT, and IL-6 were fitted to generate a combined predictive factor, the best cut-off value for predicting complicated infection in uremic hemodialysis patients is 11.07, the AUC is 0.921, the 95%CI is 0.850-0.992, the sensitivity is 92.00%, and the specificity is 80.70%, which were significantly higher than those predicted by the original indicators and inflammatory markers alone ($P < 0.05$). In the actual clinical case, another patient was randomly selected, and the respective variables were substituted into the probability prediction equation to obtain a probability value $P = 0.464$, which was less than the optimal critical value. Therefore, under the condition of the prediction accuracy rate of 84.15%, the patient was diagnosed with uremic hemodialysis. During the period, there may be no concurrent infection, and it is in line with clinical reality. **Conclusion** The combined predictors generated by the logistic regression prediction model combined with inflammatory markers fitting have reliable predictive value for the concurrent infection of uremic hemodialysis patients and can be used as the preferred clinical prediction method.

[KEY WORDS] Uremia; Hemodialysis; Logistic regression prediction model; Inflammation markers

尿毒症是慢性肾衰竭终末期综合征,相关资料统计显示,国内进行血液透析的尿毒症患者约80/万人,且年增长速度高达11%^[1]。血液透析是尿毒症最有效的治疗手段之一,可清除患者体内有害物质、维持酸碱及电解质平衡,有利于延长患者生存时间^[2]。但临床实践证实,由于尿毒症患者自身抵抗力不同程度降低,在其进行血液透析期间极易并发感染,成为此类患者死亡的主要原因^[3]。因此,探索合理方式有效预测尿毒症血液透析患者并发感染显得尤为重要。炎症标志物C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)是临床预测、诊断感染发生的重要指标,但单一指标较难同时兼顾准确度、敏感度及特异度^[4-5]。本研究尝试探究Logistic回归预测模型联合炎症标志物对尿毒症血液透析患者并发感染的预测价值,旨在为临床提供依据。报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取亳州市人民医院2020年1月至2021年4月尿毒症血液透析患者82例作为研究对象,其中男48例,女34例,平均年龄(61.71±4.03)岁。纳入标准:均属于尿毒症血液透析患者;血液透析≥6个月;临床资料完整;所有入组人员均知情同意。排除标准:伴有严重系统性合并症者;参与本研究前采用抗菌药物治疗者;合并恶性肿瘤者;存在其他免疫性疾病者;同时行腹膜透析者。感染诊断标准参考《医院感染诊断标准(试行)》^[6]。将并发感染患者25例作为研究组,其中男16例,女9例,

平均年龄(62.03±3.76)岁。无感染患者57例作为对照组,其中男32例,女25例,平均年龄(61.57±4.05)岁。本研究经本院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集方法

收集两组年龄、性别、体质量指数、透析时间、住院天数、是否合并糖尿病等临床资料,准确记录并进行统计。

1.2.2 炎症标志物检测方法

采集两组外周静脉血3 mL,置入离心管,离心处理,离心半径为10 cm,离心速率为3 000 r/min,离心时间为10 min,取上清液,保存于-80℃恒温冰箱内待检。采用酶联免疫吸附法检测血清CRP、PCT、IL-6水平,试剂盒购自美国贝克曼库尔特公司,所有操作均符合试剂盒说明书。

1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料采取($\bar{x} \pm s$)描述,两组间比较用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验;影响因素采用Logistic多因素回归分析;采取Logistic回归预测模型拟合试验检验变量,生成联合预测因子;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 尿毒症血液透析患者并发感染的单因素分析

年龄、性别、体质量指数不是尿毒症血液透析患者并发感染的影响因素($P > 0.05$);透析时间、住院天数、糖尿病、血清CRP、PCT、IL-6是尿毒症血液透析患者并发感染的影响因素($P < 0.05$)。见表1。

表1 尿毒症血液透析患者并发感染的单因素分析
[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 single factor analysis of infection in uremic hemodialysis patients [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

资料	研究组 (n=25)	对照组 (n=57)	χ^2 值	P值
年龄(岁)			0.326	0.568
<60	8(32.00)	22(38.60)		
≥60	17(68.00)	35(61.40)		
性别			0.442	0.506
男	16(64.00)	32(56.14)		
女	9(36.00)	25(43.86)		
体质量指数(kg/m ²)			0.095	0.758
<24	14(56.00)	34(59.65)		
≥24	11(44.00)	23(40.35)		
透析时间(年)			5.784	0.016
≤1	6(24.00)	30(52.63)		
>1	19(76.00)	27(47.37)		
住院天数(d)			4.258	0.039
≤30	7(28.00)	30(52.63)		
>30	18(72.00)	27(47.37)		
糖尿病			9.423	0.002
有	17(68.00)	18(31.58)		
无	8(32.00)	39(68.42)		
炎症标志物				
CRP(mg/L)	11.28±3.76	7.64±2.53	5.138	<0.001
PCT(μg/L)	0.81±0.27	0.55±0.18	5.135	<0.001
IL-6(ng/L)	17.08±5.64	12.25±4.06	4.385	<0.001

2.2 尿毒症血液透析患者并发感染的 Logistic 回归预测模型

以尿毒症血液透析患者是否并发感染作为因变量(否=0,是=1),透析时间、住院天数、糖尿病、血清CRP、PCT、IL-6作为自变量,构建Logistic回归模型,结果显示,透析时间、住院天数、糖尿病、血清CRP、PCT、IL-6是尿毒症血液透析患者并发感染的独立危险因素($P < 0.05$)。见表2。

2.3 各原始指标、炎症标志物对尿毒症血液透析并发感染的预测价值

ROC曲线分析,联合预测因子所对应的数值作为最佳临界值,即11.07, AUC为0.921, 95%CI为0.850~0.992, 敏感度为92.00%, 特异度为80.70%,

表3 各原始指标、炎症标志物对尿毒症血液透析并发感染的预测价值

Table 3 Predictive value of original indexes and inflammatory markers in uremic hemodialysis complicated with infection

指标	AUC	95%CI	Z值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
透析时间	0.643	0.536~0.751	2.608	>1年	76.00	52.63	0.009
住院天数	0.614	0.503~0.726	2.017	>30 d	72.00	50.88	0.044
糖尿病	0.682	0.571~0.794	3.204	-	68.00	31.58	0.001
CRP	0.778	0.668~0.887	4.950	>8.75 mg/L	80.00	66.67	<0.001
PCT	0.748	0.614~0.882	3.633	>0.72 μg/L	72.00	80.70	<0.001
IL-6	0.709	0.585~0.833	3.299	>16.01 ng/L	52.00	82.46	0.001
联合预测	0.921	0.850~0.992		11.07	92.00	80.70	0.001

表2 尿毒症血液透析患者并发感染的 Logistic 回归预测模型

Table 2 logistic regression prediction model of infection in uremic hemodialysis patients

变量	β值	S.E.值	Wald χ^2	OR值	95%CI	P值
透析时间	3.364	0.903	13.879	28.909	3.873~215.779	<0.001
住院天数	3.119	0.877	12.645	22.614	2.606~196.238	<0.001
糖尿病	2.357	0.806	8.551	10.558	1.478~75.420	<0.001
CRP	4.035	0.928	18.904	56.535	11.113~287.605	<0.001
PCT	3.545	0.914	15.042	34.634	6.369~188.336	<0.001
IL-6	3.122	0.883	12.497	22.682	4.917~104.629	<0.001
常量	-7.804	1.726	17.923			<0.001

注:自变量赋值方法:透析时间:≤1年=1,>1年=2;住院天数:≤30 d=1,>30 d=2;糖尿病:无=0,有=1;CRP、PCT、IL-6以所有患者平均值为界:≤平均值=1,>平均值=2。

较各原始指标、炎症标志物单独预测价值高($P < 0.05$)。见表3、图1。

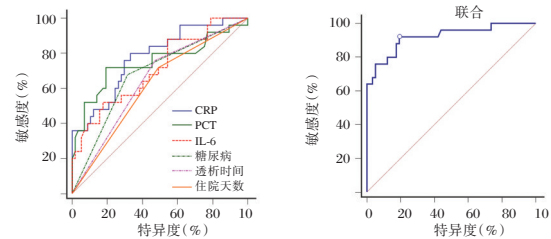


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

2.4 个体值预测

将原Logistic方程变形后得到个体的预测概率方程为 $P = 1 / [1 + e^{-(-7.804 + \text{透析时间} \times 3.364 + \text{住院天数} \times 3.119 + \text{糖尿病} \times 2.357 + \text{CRP} \times 4.035 + \text{PCT} \times 3.545 + \text{IL-6} \times 3.122)}]$, 其中e为自然对数的底数,保留3位小数点 $e = 2.718$ 。在临床实际病例中另外随机抽取1例患者,其各自变量取值为透析时间=0,住院天数=1,糖尿病=0,CRP=1,PCT=0,IL-6=0,代入概率预测方程得到概率值 $P = 0.464$, 小于最佳临界值,故在预测准确率为84.15%的条件下,该患者尿毒症血液透析期间不会并发感染,且符合临床实际。

3 讨论

尿毒症患者通常伴有机体免疫细胞功能、防御能力下降等现象,从而增加感染风险^[7-8]。长期血液透析会刺激尿毒症患者机体处于慢性应激状态,加之透析过程中需进行穿刺、插管、将体内血液引流至体外等有创性操作,导致感染风险进一步增加^[9-10]。相关研究表明,尿毒症血液透析患者医院感染发生率最低为11.2%,最高可达52.1%,显著高于其他科室^[11]。因此,及早预测尿毒症血液透析患者并发感染风险、及时制定预防措施至关重要。

炎症标志物是临床常见预测感染指标,其中CRP属于急性时相反应蛋白,主要作用为防御与修复炎症,可通过激活补体,加快吞噬细胞、粒细胞运动,结合淋巴细胞、单核细胞受体,促使淋巴细胞活化,参与各种炎症反应,是慢性炎症状态下产生的标志物^[12];PCT是一种由甲状腺C细胞分泌的降钙素前肽物质,在正常情况下,其外周血含量极低,一旦机体发生感染或受到创伤刺激,便可经由肝脏、垂体、外周血单核细胞等同时分泌,致使其血清水平升高^[13];IL-6作为中性粒细胞分泌的激活因子、炎症细胞分化的主要调节因子,在机体炎症反应中具有重要作用^[14]。本研究结果发现,血清CRP、PCT、IL-6是尿毒症血液透析患者并发感染的独立危险因素,且均具有一定预测价值,但三者各有优缺点,单一预测无法达到理想效果。除上述炎症标志物外,本研究还显示,透析时间、住院天数、糖尿病是尿毒症血液透析患者并发感染的独立危险因素,但单一预测价值亦欠佳。

既往统计学者Pepe最先报道使用Logistic回归模型拟合多项指标建立联合预测因子的方法,随后在国外肿瘤、心血管疾病等领域诊断中得到广泛运用。段立伟等^[15]研究中针对脓毒症患者采用Logistic回归模型构建联合预测因子,发现其脓毒症诊断及预后判断中的工作性能与判断准确性均优于单一指标。为此,本研究尝试利用Logistic回归预测模型联合炎症标志物拟合生成联合预测因子,结果发现,联合预测因子对尿毒症血液透析患者并发感染具有可靠预测价值,明显优于各原始指标、炎症标志物单独预测价值。分析原因,在于以下方面:①不同指标之间可能存在混杂因素,Logistic回归模型可同时对多个指标进行校正,从而消除指标间混杂因素的干扰;②利用Logistic回

归模型对变量指标进行拟合生成联合预测因子,能优化ROC曲线的光滑度,提高其工作性能;③对于某个体观察对象而言,在获取到各变量指标的检测值后,便可经由拟合的Logistic回归方程求得联合预测因子的概率值,在与最佳临界值比较后,准确得出个体诊断或预测倾向性^[16-17]。因此,联合预测因子在预测价值方面优于各原始变量,且这种以历史临床数据作为建模基础的方式符合循证医学理论,可作为临床优选预测尿毒症血液透析患者并发感染的方式,能为临床提供较为可靠的参考依据。

综上所述,Logistic回归预测模型联合炎症标志物拟合生成的联合预测因子对尿毒症血液透析患者并发感染具有可靠预测价值,可作为临床优选预测方式。但本研究存在一定局限性:受时间、样本量及实际临床条件限制,未对该联合预测因子的实际预测感染符合性进行大样本量的验证,后续需继续收集病例,验证其实际预测感染的价值。

参考文献

- [1] 陈倩,钟清,李曼丽,等.尿毒症血液透析患者医院感染的病原菌分布及危险因素分析[J].解放军预防医学杂志,2020,38(8):77-79,83.
- [2] Ke G, Li S, Cui Y, et al. Treatment of Uremic Tumoral Calcinoses in Maintenance Hemodialysis Patients [J]. Blood Purif, 2020,49(6):658-664.
- [3] 伍梦寒,徐艺文,艾霜兰,等.尿毒症患者血液透析所致导管相关性血流感染的细菌培养和药敏分析[J].中国医学装备,2020,17(4):110-113.
- [4] Li C, Ojeda Thies C, Xu C, et al. Is combining serum interleukin-6 and C-reactive protein a reliable diagnostic tool in periprosthetic joint infections [J]. J Orthop Surg Res, 2020, 15(1):450.
- [5] 梁永红,陈素珍,冉丽娜,等.恶性肿瘤PICC患者导管感染与CRP、PCT等指标的相关性分析[J].中国实验诊断学,2019,23(9):1553-1555.
- [6] 中华人民共和国卫生部.医院感染诊断标准(试行)[J].中华医学杂志,2001,81(5):314-320.
- [7] Bruyand M, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M, et al. Hemolytic uremic syndrome due to Shiga toxin-producing Escherichia coli infection [J]. Med Mal Infect, 2018,48(3):167-174.
- [8] 刘佩,吴改红,张沛,等.尿毒症血液透析患者的营养状况及其罹患肺部感染的危险因素[J].海南医学,2020,31(9):1121-1124.
- [9] de Grooth HJ, Timsit JF, Mermel L, et al. Validity of surrogate endpoints assessing central venous catheter-related infection: evidence from individual- and study-level analyses [J]. Clin Microbiol Infect, 2020,26(5):563-571.

HDP患者H₂S、PLGF联合Lp-PLA₂测定对子痫前期的预测价值

赵珂* 朱小红 刘丹丹

[摘要] **目的** 分析妊娠期高血压(HDP)患者胎盘生长因子(PLGF)、脂蛋白相关磷脂酶A₂(Lp-PLA₂)联合内源性硫化氢(H₂S)的测定对子痫前期的预测价值。**方法** 选取2017年9月至2020年10月郑州大学第一附属医院收治的102例患有妊娠期高血压疾病孕妇作为研究组,另选取87例同时间段健康妊娠期孕妇作为对照组。比较两组H₂S、PLGF、Lp-PLA₂水平,比较发生以及未发生子痫前期患者的H₂S、PLGF、Lp-PLA₂水平;分析影响子痫前期发生的危险因素;采用工作特征曲线(ROC)分析H₂S、PLGF、Lp-PLA₂及三者联合检测对子痫前期的预测价值。**结果** 研究组Lp-PLA₂水平明显高于对照组,H₂S、PLGF水平均低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。未发生组H₂S、PLGF水平高于发生组,Lp-PLA₂水平低于发生组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。经多因素Logistic回归模型分析结果得出,妊娠期并发症、H₂S、PLGF、Lp-PLA₂为影响子痫前期发生的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线显示,H₂S、PLGF、Lp-PLA₂三者联合检测子痫前期的AUC值最大(0.947),灵敏度、特异度最高,分别为92.65%、94.43%($P<0.05$)。**结论** H₂S、PLGF联合Lp-PLA₂的测定有助于临床预测子痫前期。

[关键词] 妊娠期高血压;子痫前期;H₂S;PLGF;Lp-PLA₂

Predictive value of H₂S, PLGF combined with Lp-PLA₂ assay for preeclampsia in patients with HDP

ZHAO Ke*, ZHU Xiaohong, LIU Dandan

(Department of Delivery Room, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of placenta growth factor (PLGF), lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) combined with endogenous hydrogen sulfide (H₂S) in patients with hypertension during pregnancy (HDP) for preeclampsia. **Methods** A total of 102 pregnant women with hypertension in pregnancy treated in the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from September 2017 to October 2020 were selected as the research group, and 87 healthy pregnant women during the same period were selected as the control group. The levels of H₂S, PLGF and Lp-PLA₂ in the two groups were compared, and the levels of H₂S, PLGF and Lp-PLA₂ in patients with and without preeclampsia were compared. The risk factors affecting the occurrence of preeclampsia were analyzed. The operating characteristic curve (ROC) was used to analyze H₂S, PLGF, Lp-PLA₂ and their combined detection in the predictive value of preeclampsia. **Results** The level of Lp-PLA₂ in the study group was significantly higher than that in the control group, and the levels of H₂S and PLGF were lower than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of H₂S and PLGF in the non-occurring group were higher than those in the occurring group, while the Lp-PLA₂ level was lower than that in the occurrence group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of multivariate logistic regression analysis showed

基金项目:河南省自然科学基金资助项目(172300410353)

作者单位:郑州大学第一附属医院产房,河南,郑州 450000

*通信作者:赵珂, E-mail: 13703866705@163.com

that pregnancy complications, H₂S, PLGF, and Lp-PLA2 were independent risk factors affecting the occurrence of preeclampsia ($P<0.05$). The ROC curve showed that the combined detection of H₂S, PLGF and Lp-PLA2 had the highest AUC value (0.947), and the highest sensitivity and specificity, which were 92.65% and 94.43%, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** The determination of H₂S, PLGF combined with Lp-PLA2 is helpful for clinical prediction of preeclampsia.

[KEY WORDS] Hypertension during pregnancy; Preeclampsia; H₂S; PLGF; Lp-PLA2

妊娠期高血压疾病(hypertensive disorders in pregnancy, HDP)属于妊娠期特发疾病,以全身小血管痉挛、血管阻力增加、血管内皮细胞损伤为主要病理特征。临床上根据妊娠期高血压疾病病程以及发病特点的不同,将其分为妊娠期高血压、子痫前期、子痫、慢性高血压并发子痫前期以及妊娠合并慢性高血压五大类^[1]。其中妊娠期高血压、子痫前期在妊娠期高血压疾病中最为严重,子痫前期对于母婴健康影响极大。据统计,由子痫前期所引起的孕产妇死亡在所有孕产妇死亡的直接原因中居第三位^[2]。因此尽早的预防、治疗对患有妊娠期高血压疾病的孕妇来说尤为重要。但临床上对子痫前期的早期诊断缺乏有效的监测指标。近年来不少研究显示,胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)、脂蛋白相关磷脂酶A2(lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2)、内源性硫化氢(endogenous hydrogen sulfide, H₂S)与妊娠期高血压疾病的关系密切,但单一的检查准确性和特异性较差^[3]。本文就妊娠期高血压疾病患者H₂S、PLGF联合Lp-PLA2的测定对子痫前期的预测价值进行研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年9月至2020年10月郑州大学第一附属医院收治的102例患有妊娠期高血压疾病孕妇作为研究组。平均年龄为(35.23±1.08)岁;平均孕周(30.83±2.53)周。其中妊娠期高血压77例(未发生子痫前期,未发生组),子痫前期25例(发生子痫前期,发生组)。纳入标准:①均符合2015年中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组制定的《妊娠期高血压疾病诊治指南》中妊娠期高血压以及子痫前期相关诊断标准^[4];②所有患者的临床资料均完整。排除标准:①存在恶性肿瘤者;②伴随严重心、肝、肾功能不全患者;③存在精神疾病无法配合本研究或依从性差者;④中途退出研究者。另选取87例同时间段健康妊娠期孕妇

作为对照组,平均年龄为(35.51±1.01)岁;平均孕周(30.29±2.48)周。两组患者基本资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准,受试者及家属均同意参加本次研究,并签署相关协议书。

1.2 检测方法

收集所有受试者早晨空腹静脉血5 mL, 3 000 r/min($r=8$ cm, 10 min)分离血清,低温保存。使用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测H₂S、PLGF、Lp-PLA2,试剂盒均购自上海研域化学试剂有限公司,严格按照使用说明书进行操作检测。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;子痫前期发生的危险因素采用多元Logistic回归分析;H₂S、PLGF、Lp-PLA2及三者联合检测对子痫前期的预测价值使用ROC曲线分析,计算ROC曲线下面积(Area Under Curve, AUC);以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组H₂S、PLGF、Lp-PLA2水平比较

研究组Lp-PLA2水平明显高于对照组,H₂S、PLGF水平均低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组H₂S、PLGF、Lp-PLA2水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of H₂S, PLGF, and Lp-PLA2 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	H ₂ S(μ mol/L)	PLGF(U/mL)	Lp-PLA2(μ mol/L)
研究组	102	34.56±4.59	63.32±10.02	28.44±8.62
对照组	87	45.62±6.25	95.75±18.06	16.93±6.75
<i>t</i> 值		13.990	15.550	10.091
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 未发生组以及发生组H₂S、PLGF、Lp-PLA2水平比较

未发生组H₂S、PLGF水平高于发生组,Lp-PLA2水平低于发生组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 未发生组以及发生组 H₂S、PLGF、Lp-PLA2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of H₂S, PLGF and Lp-PLA2 levels between non-occurring group and occurrence group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	H ₂ S(μmol/L)	PLGF(U/mL)	Lp-PLA2(μmol/L)
未发生组	77	36.22±3.14	65.13±12.86	26.49±9.62
发生组	25	29.45±4.49	57.73±9.46	34.46±10.35
t 值		7.138	2.650	3.533
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 影响子痫前期发生的危险因素

经多因素 Logistic 回归模型分析结果得出,妊娠期并发症、H₂S、PLGF、Lp-PLA2 为影响子痫前期发生的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

表3 影响子痫前期发生的危险因素

Table 3 Risk factors affecting the occurrence of preeclampsia

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(岁)	2.593	1.998~3.366	0.163			
孕周(周)	2.354	1.603~3.456	0.385			
产次(初产 vs 经产)	2.307	1.778~2.994	0.377			
妊娠期并发症	2.192	1.309~3.671	0.009	2.633	2.029~3.417	<0.001
H ₂ S(μmol/L)	2.217	1.324~3.712	0.003	2.212	1.510~3.242	<0.001
PLGF(U/mL)	2.217	1.708~2.877	0.001	2.385	1.438~3.954	<0.001
Lp-PLA2(μmol/L)	2.073	1.597~2.690	0.001	2.136	1.486~3.070	<0.001

2.4 H₂S、PLGF、Lp-PLA2 及三者联合检测对子痫前期的预测价值

ROC 曲线显示,三者联合检测 AUC 值最大(0.947),灵敏度、特异度最高分别为 92.65%、94.43%($P<0.05$)。见表4、图1。

表4 H₂S、PLGF、Lp-PLA2 及三者联合检测对子痫前期的预测价值 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The predictive value of H₂S, PLGF, Lp-PLA2 and the combined detection of the three in preeclampsia ($\bar{x} \pm s$)

预测指标	Cut-off 值	灵敏度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P 值
H ₂ S	25.12	0.900	0.883	0.824	0.754~0.929	0.783	<0.001
PLGF	26.65	0.790	0.876	0.742	0.637~0.847	0.666	<0.001
Lp-PLA2	29.89	0.900	0.888	0.847	0.769~0.925	0.787	<0.001
联合检测	23.69	0.927	0.944	0.947	0.905~0.989	0.876	<0.001

3 讨论

子痫前期属于妊娠特发疾病,发生于患者妊娠20周后,以高血压、蛋白尿为临床特征。临床对于子痫前期的发病原因尚未完全明确,但认为子痫前期发病机制与胎盘和母体的炎性反应有着一

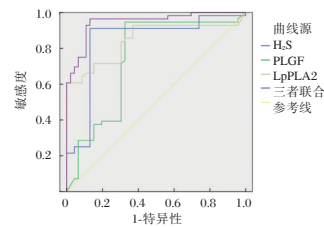


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

定的联系。有研究显示,子痫前期病与母体、胎儿及胎盘等多因素相关,包括血管内皮损伤、免疫功能异常、维生素 C 缺乏及遗传等因素^[5]。有报道称,子痫前期是由胎盘滋养层细胞不完全侵袭导致螺旋动脉重塑障碍、血管痉挛和胎盘灌注不良而引起的^[6]。还有研究称子痫前期起源于胎盘,伴随病情不断迁延波及全身其他脏器,发生胎盘早剥、心衰等情况,影响患者以及胎儿的身心安全^[7]。准确而有效的诊断以及治疗有助于改善子痫前期患者妊娠结局,保障母婴的健康。但由于子痫前期具有明显的异质性,在现阶段的检测技术条件下,任意单一指标都无法有效并准确预测子痫前期发生。本研究比较了妊娠期高血压疾病与健康孕妇 H₂S、PLGF、Lp-PLA2 表达水平,发现研究组 Lp-PLA2 水平高于对照组, H₂S、PLGF 水平低于对照组,这与既文献研究结果相似^[8]。Lp-PLA2 属于血管特异性炎症酶,与低密度脂蛋白结合后生成溶血卵磷脂以及氧化型游离脂肪酸,其水平升高时可刺激炎症因子及黏附分子产生,导致血管内皮细胞损伤及功能出现障碍^[9]。H₂S 能够下调促炎因子水平,抑制白细胞黏附及浸润,当 H₂S 下降时会促进胎盘血管炎症的发生和内皮细胞损伤,从而加重疾病的发展^[10]。PLGF 属血管内皮生长因子家族成员之一,主要在胎盘中局部表达,可促进细胞增殖以及重铸胎盘血管、活化内皮细胞促使其迁移;PLGF 水平下降可影响内皮滋养细胞增殖,减弱其浸润能力,导致胎盘缺血、缺氧,增加子痫前期的发病率^[11]。有研究认为当妊娠期高血压疾病孕妇出现子痫前期时, H₂S、PLGF、Lp-PLA2 表达水平会有所不同^[12]。本文发现未发生子痫前期患者 H₂S、PLGF 水平高于发生者,而 Lp-PLA2 水平低于发生者,结果与上述报道结果一致。

近年来,越来越多的研究表明,炎症反应参与了子痫前期的发病^[13]。有文献报道称 Lp-PLA2 作为新发现的炎性标志物,其可能与子痫前期的发

生有关^[14]。本研究发现, H₂S、PLGF、Lp-PLA₂为影响子痫前期发生的独立危险因素。可能是由于: H₂S能舒张血管平滑肌, 增加血液灌注, 改善组织缺血缺氧; 而PIGF在胎盘中有着丰富表达, 其与子痫前期具有一定的联系^[15]。临床有学者分别对H₂S、PLGF、Lp-PLA₂对子痫前期的预测价值进行研究, 发现三者预测价值各不相同^[16]。本研究也发现, H₂S、PLGF联合Lp-PLA₂检测AUC值最大, 灵敏度、特异度最高, 说明联合检测患者的H₂S、PLGF、Lp-PLA₂水平能够有效提高诊断的准确度, 在对子痫前期的预测工作中发挥了重要作用。

综上所述, H₂S、PLGF联合Lp-PLA₂的测定有助于临床预测子痫前期。

参考文献

- [1] 刘晓宁, 潘晓华, 申彩霞. 孕早中期血清 PLGF、PAPP-A 检测联合 B 超对子痫前期的预测分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(5): 566-568, 555.
- [2] 王茜, 赵金珩, 李娟, 等. 外周血 Hb 及 PLGF 和 PI 联合检测对早发型子痫前期孕妇再妊娠的诊断价值[J]. 贵州医科大学学报, 2020, 45(1): 67-71.
- [3] Aelie R, Nam JC, Yun SK, et al. Predictive value of serum uric acid levels for adverse perinatal outcomes in preeclampsia [J]. *Medicine*, 2019, 98(18): 82-87.
- [4] 徐晓峰, 郭历琛, 徐玲, 等. 孕妇血清 PLGF、sFlt-1、Ca²⁺、25-(OH)-D 水平检测及其他危险因素分析对预测子痫前期的临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5): 35-39.
- [5] Rosana SE, Jose R, Duncan MD, et al. Placental Location and the Development of Hypertensive Disorders of Pregnancy [J]. *J Ultras Med*, 2019, 38(1): 26-35.
- [6] Suvakov S, Cubro H, White WM, et al. Targeting senescence improves angiogenic potential of adipose-derived mesenchymal stem cells in patients with preeclampsia [J]. *Biol Sex Differ*, 2019, 10(9): 13-19.
- [7] 刘婷婷, 王娟妮, 吴晓玲, 等. 序贯性子宫动脉超声、光电容积脉搏波联合血清学指标检测对妊娠高血压、子痫前期的诊断价值研究[J]. 新疆医科大学学报, 2019, 42(11): 1423-1429.
- [8] 杨泽华, 胡敏, 许建萍, 等. 孕妇血清中妊娠相关蛋白-A 同型半胱氨酸超敏 C 反应蛋白和补体 C1q 水平联合检测在预测子痫前期中的价值[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(12): 1952-1956.
- [9] 赵金珩, 王茜, 李娟, 等. 外周血胎儿血红蛋白、胎盘生长因子及子宫动脉搏动指数对早发型子痫前期病史患者再次妊娠发病的预测价值[J]. 中国医药导报, 2019, 16(14): 67-70.
- [10] Wang L, Gan Q, Du S, et al. Acute fatty liver of pregnancy cases in a maternal and child health hospital of China: Three case reports [J]. *Medicine*, 2020, 99(29): 11-12.
- [11] 郭晓蒙, 张焯, 王娟, 等. BMI 联合血脂对妊娠期高血压及子痫前期的预测价值[J]. 中国妇产科临床杂志, 2019, 20(3): 199-201.
- [12] 向兰花, 钟敏, 温牡丹, 等. 孕早中期血清激活素 A、内皮因子联合子宫动脉多普勒搏动指数对子痫前期的预测价值[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(12): 2733-2735.
- [13] 祝淡沫, 刘雪琼, 卢丹. 妊娠相关血浆蛋白 A 及胎盘生长因子预测子痫前期的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2020, 47(4): 384-387.
- [14] 王瑶, 高晓林, 洪凡真, 等. 妊娠期高血压疾病患者血浆 H₂S 水平及其与早发型重度子痫前期的相关性[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(2): 141-142, 145.
- [15] Tesfa E, Nibret E, Gizaw ST, et al. Prevalence and determinants of hypertensive disorders of pregnancy in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis [J]. *Plos One*, 2020, 15(9): 39-48.
- [16] 周隽, 唐佳, 郑钊平, 等. PI、RI 联合 sFlt-1/PLGF 检测对妊娠中晚期孕妇产子痫前期的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1): 107-110.
- [10] 朱其荣, 陈星, 喻雪琴, 等. 血液透析患者血管内导管相关血流感染病原菌的流行病学特征及耐药性评估分析[J]. 川北医学院学报, 2019, 34(2): 201-204.
- [11] 梁虹, 高海娥, 李飞, 等. 糖尿病肾病尿毒症患者尿路感染危险因素分析与预防[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(5): 1056-1058.
- [12] Broca-Garcia BE, Saavedra MA, Martínez-Bencomo MA, et al. Utility of neutrophil-to-lymphocyte ratio plus C-reactive protein for infection in systemic lupus erythematosus [J]. *Lupus*, 2019, 28(2): 217-222.
- [13] 邓星海, 曹灿贤, 徐晓鹏, 等. HIV 相关隐球菌性脑膜炎合并颅内高压患者血清及脑脊液 NSE、PCT 及 VEGF 水平对脑室-腹腔分流术后感染的预测价值[J]. 中华生物医学工程杂志, 2019, 25(5): 650-655.
- [14] Ackmann T, Möllenbeck B, Gosheger G, et al. Comparing the Diagnostic Value of Serum D-Dimer to CRP and IL-6 in the Diagnosis of Chronic Prosthetic Joint Infection [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(9): 2917.
- [15] 段立伟, 张晟, 林兆奋. 以 logistic 回归模型构建联合预测因子对脓毒症诊断及预后判断的临床运用[J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29(2): 139-144.
- [16] 张明光, 徐海军, 施联善, 等. 基于 Logistic 回归模型构建联合检测因子对非小细胞肺癌 EGFR 突变状态的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(2): 259-262.
- [17] 刘金华, 李喆, 廖敏, 等. Logistic 回归模型的建立及联合因子对老年脓毒症合并 ARDS 的预测诊断研究[J]. 临床急诊杂志, 2021, 22(1): 46-50.

(上接第 119 页)

外周血 ET-1、MMP-9、RDW-CV 与急性脑梗死病情的关系及对预后的预测价值

袁治玲 苏洲* 袁燕 周艳霞

[摘要] **目的** 探讨外周血内皮素-1(ET-1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、红细胞分布宽度变异系数(RDW-CV)与急性脑梗死病情的关系及对预后的预测价值。**方法** 选择2020年3月至2020年11月新乡医学院第一附属医院166例中重型急性脑梗死患者作为病例组研究对象,根据神经功能缺损评分(NIHSS评分)分为轻型组(NIHSS评分 ≤ 16 分)118例、重型组(NIHSS评分 > 16 分)48例;同期选择100例健康体检人群作为对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测ET-1、MMP-9、RDW-CV水平。Spearman相关分析不同梗死面积及NIHSS评分患者与上述指标的相关性。随访3月,病例组患者根据改良Rankin量表(mRS评分)分为预后良好组(mRS < 2 分)与预后不良组(mRS ≥ 2 分)。**结果** 三组间ET-1、MMP-9、RDW-CV比较:重型组 $>$ 轻型组 $>$ 对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。NIHSS评分及脑梗死面积与ET-1、MMP-9、RDW-CV之间存在正相关关系($P < 0.05$)。预后不良组静脉溶栓、机械取栓、腔隙性梗死的比例低于预后良好组差异有统计学意义($P < 0.05$);年龄 ≥ 60 岁、糖尿病、高血压、NIHSS评分 > 16 分、脑干梗死、大面积脑梗死比例高于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。预后良好组ET-1、MMP-9、RDW-CV水平均低于预后不良组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。多因素Logistic回归分析,结果显示年龄 ≥ 60 岁、静脉溶栓、NIHSS评分 > 16 分、脑干梗死、大面积脑梗死、ET-1 ≥ 2.78 pg/mL、MMP-9 ≥ 43.11 ng/L、RDW-CV $\geq 14.99\%$ 的急性脑梗死患者预后不良的可能性大。**结论** 外周血ET-1、MMP-9、RDW-CV与急性脑梗死严重程度及脑梗死面积大小呈正相关关系,ET-1、MMP-9、RDW-CV联合预测脑梗死预后具有较高的价值。

[关键词] 内皮素-1; 基质金属蛋白酶-9; 红细胞分布宽度变异系数; 急性脑梗死

Relationship between ET-1, MMP-9, RDW-CV and acute cerebral infarction and their prognostic value

YUAN Zhiling, SU Zhou*, YUAN Yan, ZHOU Yanxia

(Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between endothelin -1 (ET-1), matrix metalloproteinase -9 (MMP-9) and red blood cell distribution width coefficient of variation (RDW-CV) in peripheral blood and acute cerebral infarction and their prognostic value. **Methods** A total of 166 patients with moderate and severe acute cerebral infarction were selected as the case group. According to the neurological deficit score (NIHSS score), they were divided into a mild group (NIHSS score ≤ 16) in 118 cases and a severe group (NIHSS score > 16) in 48 cases. In the same period, 100 healthy people were selected as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to test endothelin -1 (ET-1), matrix metalloproteinase -9 (MMP-9) and red blood cell distribution width coefficient of variation (RDW-CV) levels in peripheral blood of all subjects. The differences between the different subjects were compared, and the Spearman correlation was used to analyze the correlation between patients with different

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018091135)

作者单位:新乡医学院第一附属医院神经内科一病区老年病科,河南,新乡 453100

*通信作者:苏洲, E-mail:SUZHOU369@163.com

infarct size and NIHSS score and the above indicators. After a follow-up of three months, the patients in the case group were divided into a good prognosis group (mRS < 2 points) and a bad prognosis group (2 points ≤ mRS) according to the modified Rankin scale (MRS score). **Results** The comparison of ET-1, MMP-9 and RDW-CV among the three groups showed that the severe group > the mild group > the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). There was a positive correlation between the NIHSS score and cerebral infarct size and ET-1, MMP-9, RDW-CV ($P < 0.05$). The proportions of intravenous thrombolysis, mechanical thrombectomy and lacunar infarction in the poor prognosis group were lower than that in the good prognosis group ($P < 0.05$). The proportion of patients with age ≥ 60 years old, diabetes, hypertension, NIHSS score > 16 , brainstem infarction and massive cerebral infarction was higher than that in the good prognosis group ($P < 0.05$). The levels of ET-1, MMP-9 and RDW-CV in the good prognosis group were lower than those in the bad prognosis group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). ET-1, Multivariate Logistic regression analysis, The results showed that patients who were ≥ 60 years, had intravenous thrombolysis, NIHSS score > 16 points, brainstem infarction, massive cerebral infarction, ET-1 ≥ 2.78 pg/mL, MMP-9 ≥ 43.11 ng/L, and RDW-CV $\geq 14.99\%$ had high possibility of poor prognosis in acute cerebral infarction. **Conclusion** ET-1, MMP-9 and RDW-CV in peripheral blood had a positive correlation with the severity of acute cerebral infarction and the size of cerebral infarction area. The combination of ET-1, MMP-9 and RDW-CV had high value in predicting the prognosis of cerebral infarction.

[KEY WORDS] Endothelin-1; MMP-9; RDW-CV; Acute cerebral infarction

目前虽然随着医学技术的发展,静脉溶栓、机械取栓越来越规范、合理,但仅仅获得临床医师的认可并不能解决民众相关知识匮乏,不接受静脉溶栓、机械取栓的脑梗死患者仍有进行性进展的风险^[1];此外仍有部分患者治疗后遗留不同程度的神经功能缺损症状,因此早期通过客观指标预测患者的病情严重程度及预后风险,不仅为临床医师的诊治策略提供参考,且可以为医患沟通提供更客观的依据。内皮素-1(endothelin-1, ET-1)是一种可以强烈缩血管的活性多肽,已被证实在动脉粥样硬化中有促进作用^[2]。基质金属蛋白酶-9(Matrix Metalloproteinases-9, MMP-9)是一种炎性细胞因子,机体组织损伤可促进MMP-9水平的显著升高^[3]。红细胞分布宽度变异系数(Red blood cell distribution width coefficient of variation, RDW-CV)与红细胞的离散程度相关,主要用于贫血的鉴别,但近来研究发现, RDW-CV 随机体炎症反应、氧化应激的发生而升高^[4]。本研究通过分析上述指标早期水平与急性脑梗死病情的相关性,并分析其对预后的预测价值,以期对脑梗死早期预测评估提供客观参考依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择2020年3月至2020年11月新乡医学院第一附属医院166例急性脑梗死患者作为病例组研究对象,男103例,女63例,平均年龄(60.12±

5.37)岁,根据神经功能缺损评分^[5](Neurological defect score, NIHSS 评分)分为轻型组(NIHSS 评分 ≤ 16 分)118例、重型组(NIHSS 评分 > 16 分)48例;同期选择100例健康体检人群作为对照组,男66例,女34例,平均年龄(59.64±6.65)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P < 0.05$)。

纳入标准:急性起病;年龄 ≥ 18 岁;发病时间 < 24 h;急性脑梗死诊断符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》^[6];患者或直系亲属签署知情同意。排除标准:年龄 < 18 岁;发病前改良Rankin量表^[7](Modified Rankin Scale, mRS 评分) ≥ 2 分;合并心力衰竭等危重者;合并肝肾功能不全、恶性肿瘤、结缔组织病者;精神异常或认知功能异常者。本研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 研究方法

①入院后在溶栓时间窗的患者给予阿替普酶或尿激酶治疗,有机械取栓指征者积极行机械取栓,不符合静脉溶栓及机械取栓患者给予抗血小板聚集、营养神经等治疗措施,并根据指南给予相应的并发症预防措施。②详细记录基本信息:年龄、性别、体质指数(BMI)、基础疾病(高血压、糖尿病、冠心病等)、脑梗死部位(半球、丘脑、脑干、小脑)、梗死面积、吸烟史、饮酒史等。脑梗死面积评估采用Adama法^[8]:大面积梗死(> 3 cm², 累计2个以上脑解剖部位)、小面积梗死(1.5 cm²~3 cm², 累计1个以上脑解剖部位)和腔隙型脑梗死(< 1.5

cm²)。③所有受试者纳入本研究后第2 d均空腹抽取静脉血,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测外周血内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、基质金属蛋白酶-9(MatrixMetallopro teinases-9, MMP-9)、红细胞分布宽度变异系数(Red blood cell distribution width coefficient of variation, RDW-CV)水平。④随访3月,病例组患者根据mRS评分分为预后良好组(mRS评分<2分)与预后不良组(mRS评分≥2分)^[7]。

1.3 统计学分析

采用SPSS 23.0软件进行数据分析。正态分布且方差齐的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验;计数资料采用n(%)表示,采用 χ^2 检验,n小于40、t小于1或小于5大于1的应校正,采用Fisher确切概率法,多组比较有差异后采用Bonferroni方法进行多重比较。多组间比较采用方差分析,两两组间比较采用LSD-t检验。相关性分析Spearman相关分析。采用ROC曲线分析预测价值。影响因素分析采用多因素logistic回归分析进行。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ET-1、MMP-9、RDW-CV比较

三组间ET-1、MMP-9、RDW-CV比较:重型组>轻型组>对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 ET-1、MMP-9、RDW-CV比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of ET-1, MMP-9 and RDW-CV ($\bar{x} \pm s$)

指标	轻型组 (n=118)	重型组 (n=48)	对照组 (n=100)	F值	P值
ET-1(pg/mL)	2.24±0.32 ^a	2.78±0.55 ^{ab}	1.36±0.25	42.992	0.000
MMP-9(ng/L)	36.33±5.51 ^a	46.81±5.18 ^{ab}	24.12±3.57	37.681	0.000
RDW-CV(%)	14.14±1.26 ^a	15.47±1.56 ^{ab}	12.63±1.51	7.726	0.010

注:与对照组比较,^aP<0.05;与轻型组比较,^bP<0.05。

2.2 NIHSS评分、脑梗死面积与ET-1、MMP-9、RDW-CV相关性

NIHSS评分及脑梗死面积与ET-1($r=0.456$)、MMP-9($r=0.368$)、RDW-CV(%)($r=0.521$)之间存在正相关关系(P<0.05)。

2.3 影响脑梗死患者预后不良的单因素分析

随访3月,预后良好(mRS评分<2分)126例,占75.90%,预后不良(mRS评分≥2分)40例,占24.10%。

预后不良组静脉溶栓、机械取栓、腔隙性梗死的比例低于预后良好组差异有统计学意义(P<

0.05);年龄≥60岁、糖尿病、高血压、NIHSS评分>16分、脑干梗死、大面积脑梗死比例高于预后良好组(P<0.05)。见表2。

表2 影响脑梗死患者预后不良的单因素分析[n(%)]

Table 2 univariate analysis of poor prognosis of patients with cerebral infarction [n(%)]

临床特征	预后良好组 (n=126)	预后不良组 (n=40)	χ^2 (Z)值	P值	
年龄	≥60岁	53(42.06)	24(60.00)	3.928	0.047
	<60岁	73(57.94)	16(40.00)		
性别	男	80(63.49)	23(57.50)	0.463	0.496
	女	46(36.51)	17(42.50)		
合并糖尿病	有	20(15.87)	14(35.00)	6.820	0.009
	无	106(84.13)	26(65.00)		
合并高血压	有	30(23.81)	16(40.00)	3.973	0.046
	无	96(76.19)	24(60.00)		
吸烟史	有	46(36.51)	18(45.00)	0.924	0.336
	无	80(63.49)	22(55.00)		
饮酒史	有	18(14.29)	6(15.00)	0.013	0.911
	无	108(85.71)	34(85.00)		
静脉溶栓	是	46(36.51)	7(17.50)	3.988	0.046
	否	83(65.87)	33(82.50)		
机械取栓	是	18(14.29)	1(2.50)	4.161	0.041
	否	108(85.71)	39(97.50)		
NIHSS评分	≤16分	98(77.78)	20(50.00)	11.398	0.001
	>16分	28(22.22)	20(50.00)		
脑梗死部位	半球	45(35.71)	11(27.50)	10.423	0.015
	丘脑	30(23.81)	8(20.00)		
	脑干	16(12.70) ^a	14(35.00)		
	小脑	35(27.78)	7(17.50)		
脑梗死面积	大面积	38(30.16) ^a	20(50.00)	-3.229	0.001
	小面积	30(23.81)	16(40.00)		
	腔隙性	50(39.68) ^a	4(10.00)		

注:与预后不良组比较,^aP<0.05。

2.4 不同预后患者ET-1、MMP-9、RDW-CV比较

预后良好组ET-1、MMP-9、RDW-CV水平均低于预后不良组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 不同预后ET-1、MMP-9、RDW-CV比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of ET-1, MMP-9 and RDW-CV among different prognoses ($\bar{x} \pm s$)

因素	预后良好组 (n=126)	预后不良组 (n=40)	t值	P值
ET-1(pg/mL)	2.26±0.53	2.91±0.48	6.907	0.000
MMP-9(ng/L)	36.23±5.41	47.98±5.55	11.894	0.000
RDW-CV(%)	14.02±1.16	15.18±1.32	5.327	0.000

2.5 ET-1、MMP-9、RDW-CV对脑梗死患者预后不良的预测价值

ET-1、MMP-9、RDW-CV联合应用ROC-AUC为0.854(0.728~0.980),优于单一检测(P<0.05)。见表4、图1。

表4 ET-1、MMP-9、RDW-CV对脑梗死患者预后不良的预测价值

Table 4 Prognostic value of ET-1, MMP-9 and RDW-CV in patients with cerebral infarction

因素	AUC	0.95CI	灵敏度	特异度	约登指数	截断值	P值
ET-1	0.752	0.652-0.836	0.794	0.712	0.496	2.78 pg/mL	<0.05
MMP-9	0.705	0.606-0.806	0.671	0.735	0.417	43.11 ng/L	<0.05
RDW-CV	0.768	0.666-0.856	0.712	0.805	0.512	14.99%	<0.05
联合应用	0.854	0.728-0.980	0.903	0.815	0.720		<0.05

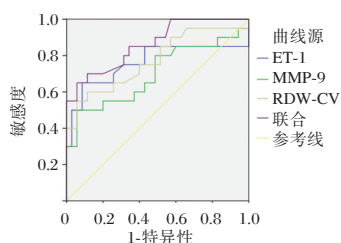


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

2.6 影响脑梗死预后的多因素 Logistic 回归分析

以脑梗死预后情况(良好=0、不良=1)为因变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示年龄≥60岁、静脉溶栓、NIHSS评分>16分、脑干梗死、大面积脑梗死、ET-1≥2.78 pg/mL、MMP-9≥43.11 ng/L、RDW-CV≥14.99%是急性脑梗死患者预后不良的危险因素(P<0.05)。见表5。

3 讨论

我国是脑梗死发生的高危国家之一,虽然目前已经加强了脑梗死三级预防措施,但由于环境、社会、饮食等因素的影响,脑梗死的发生率仍呈逐年上升趋势^[9]。本研究发现脑梗死患者ET-1、MMP-9、RDW-CV水平均高于健康对照组,提示上述指标与

急性脑梗死发生存在相关性;进一步分析发现随着患者病情严重程度及梗死面积的增加,ET-1、MMP-9、RDW-CV水平亦呈上升趋势。石磊等^[10]认为血清ET-1可以作为急性脑损伤的标记物,对判定患者病情有重要临床参考价值。于子忠^[11]对进展性脑梗死研究发现,血清MMP-9水平不仅参与了脑梗死的进展过程,且MMP-9水平升高可作为脑梗死病情进展的预警信号。宋文桃等^[12]研究发现,RDW-CV参与了缺血缺氧性脑损伤的发生、发展过程,随脑损伤病情加重,RDW-CV水平明显增高。分析认为ET-1是一种强烈的缩血管物质,但其不能在内皮细胞分泌颗粒中贮存,仅在缺血、缺氧等刺激内皮细胞时合成、分泌^[13],因此急性脑梗死早期即可显著升高,脑梗死面积越大水平越高,同时ET-1的缩血管作用可使血管痉挛,进而加重脑缺血症状^[14]。此外有研究认为,脑梗死后脑组织局部水肿通过刺激下丘脑亦可刺激ET-1合成^[15],而脑梗死引起的机体应激反应同样可促进ET-1分泌^[16]。MMP-9的主要作用为降解内皮和血管平滑肌的细胞外基质蛋白,脑梗死早期通过降解纤维连接蛋白、层粘连蛋白等弱化脑微血管,降低缺血组织微循环代偿作用^[17],浓度越高对脑梗死缺血组织的损伤越大,因

表5 影响脑梗死预后的多因素 Logistic 回归分析

Table 5 Multivariate Logistic regression analysis of prognosis of cerebral infarction

因素	回归系数	标准误差	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P值
年龄(以<60岁为参照)	1.538	0.417	13.578	4.654	2.054~10.545	0.000
静脉溶栓(以无为参照)	0.798	0.217	13.498	2.221	1.451~3.400	0.000
NIHSS评分(以≤16分为参照)	1.099	0.441	6.204	3.002	1.264~7.130	0.013
脑梗死部位(以小脑为参照)						
半球	0.976	0.690	2.004	2.654	0.687~10.253	0.157
丘脑	0.212	0.118	3.230	1.236	0.981~1.557	0.072
脑干	1.509	0.419	12.938	4.521	1.987~10.287	0.000
脑梗死面积(以腔隙性为参照)						
小面积	0.687	0.630	1.188	1.987	0.578~6831	0.276
大面积	1.046	0.375	7.786	2.845	1.365~5.930	0.005
ET-1(以<2.78 pg/mL为参照)	1.132	0.445	6.486	3.102	1.298~7.413	0.011
MMP-9(以<43.11 ng/L为参照)	0.993	0.352	7.961	2.698	1.354~5.376	0.005
RDW-CV(以<14.99%为参照)	0.846	0.286	8.786	2.331	1.332~4.079	0.003
常数项	1.956	0.457	8.456			0.000

此与脑组织损伤程度正相关,且随脑梗死面积增加而增加。临床上RDW-CV多用于贫血的鉴别诊断,在缺氧情况下机体通过刺激红细胞生成可引起RDW-CV升高^[18],因此脑梗死面积越大,表明缺血缺氧程度越重,RDW-CV升高更明显。

本研究随访3月发现,约有1/4的脑梗死患者预后不良,这些预后不良的患者入院时ET-1、MMP-9、RDW-CV水平均比较高,而早期积极的静脉溶栓可明显降低预后不良的风险。提示在静脉溶栓时间窗内的患者,在符合溶栓条件的情况下应积极给予静脉溶栓,可明显提高患者预后。解剖结构上脑干是由上下行传导束及脑神经核汇聚而成,因此脑干梗死更容易波及更多的传导束,神经功能缺损症状更高,预后更差;而脑梗死面积越大脑组织损失越大,因此神经功能缺损越严重,预后越差。一般而言,随脑梗死面积增加,神经功能缺损程度随之增加,这种相关关系在前循环更明显。

本研究进一步分析上述指标预测脑梗死患者预后不良的价值发现,ET-1 ≥ 2.78 pg/mL、MMP-9 ≥ 43.11 ng/L、RDW-CV $\geq 14.99\%$ 预测脑梗死预后不良的ROC-AUC均 >0.7 ,提示其均有一定的预测价值。本研究将上述指标联合后发现预测脑梗死预后不良的ROC-AUC >0.85 ,提示对脑梗死不良预后的预测多项指标联合意义更大。进一步多因素logistic回归分析亦提示在排除年龄、静脉溶栓等因素后ET-1 ≥ 2.78 pg/mL、MMP-9 ≥ 43.11 ng/L、RDW-CV $\geq 14.99\%$ 三指标仍是脑梗死预后不良的危险因素。

本研究存在一定不足:本研究未对相关指标进行动态观察;其次本研究将NIHSS评分 <16 分的患者合并为一组,可能对NIHSS评分 <4 分患者进行评估有一定局限。

综上所述,本研究显示,外周血ET-1、MMP-9、RDW-CV与急性脑梗死严重程度及脑梗死面积大小呈正相关关系,ET-1、MMP-9、RDW-CV联合预测脑梗死预后有较高的价值。

参考文献

- [1] 肖爽,朱以诚.脑卒中的性别差异:流行病学、危险因素、治疗及预后[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2020,27(1):57-60.
- [2] Zheng T, Mou X, Zhang J, et al. Clinical effect and changes of ET-1, FMD and NO levels in the treatment of acute cerebral infarction with acanthopanax injection [J]. Am J Transl Res, 2021,13(4):3600-3608.
- [3] 段志辉,程晓伟,曹友林,等.血清NT-proBNP、Copeptin、MMP-9及HMGB1表达水平在重症肺炎患者中的意义[J].热带医学杂志,2020,20(6):787-790.
- [4] 刘华.急性脑卒中患者红细胞分布宽度-变异系数对预后的影响[J].中国处方药,2018,16(3):136-137.
- [5] Eskioglu E, Huchmandzadeh Millotte M, Amiguet M, Michel P. National Institutes of Health Stroke Scale Zero Strokes [J]. Stroke, 2018,49(12):3057-3059.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [7] Bruno A, Akinwuntan AE, Lin C, et al. Simplified modified rankin scale questionnaire: reproducibility over the telephone and validation with quality of life [J]. Stroke, 2011,42(8):2276-2279.
- [8] Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment [J]. Stroke, 1993,24(1):35-41.
- [9] 黎建乐,王莹,冯慧宇,等.广东省脑卒中流行病学调查☆ [J].中国神经精神疾病杂志,2020,46(1):1-7.
- [10] 石磊,黄书岚.急性颅脑损伤患者血清ET-1、SE-CAD及镁离子的动态变化与意义[J].中国临床神经外科杂志,2013,18(9):535-536,546.
- [11] 于子忠.进展性脑梗死血清IMMP-9水平动态变化的研究 [J].吉林医学,2020,41(5):1070-1071.
- [12] 宋文桃,乌日莎娜,冯新平,等.动态检测红细胞RDW-CV和血清NSE、EPO在新生儿缺氧缺血性脑病的临床意义 [J].内蒙古医科大学学报,2016,(1):50-53.
- [13] Wu S, Hao G, Zhang S, et al. Cerebral vasoconstriction reactions and plasma levels of ETBR, ET-1, and eNOS in patients with chronic high altitude disease [J]. Mol Med Rep, 2016,14(3):2497-502.
- [14] 张明勤,吴涛.丁苯酞联合尤瑞克林对急性脑梗死患者神经功能及血浆内皮素-1和血清超敏C反应蛋白的影响 [J].江苏预防医学,2020,31(1):44-47.
- [15] 高华,杨嘉君,张新华.miR-19b-3p、MnSOD、NO/ET-1与脑梗死后血管性痴呆预测效能 [J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(6):865-868+872.
- [16] 汪亚男,秦雷,张学珍.血清内皮素-1与颈动脉斑块内微循环的相关性分析 [J].齐齐哈尔医学院学报,2020,41(16):1987-1990.
- [17] Chen L, Yang Q, Ding R, et al. Carotid thickness and atherosclerotic plaque stability, serum inflammation, serum MMP-2 and MMP-9 were associated with acute cerebral infarction [J]. Exp Ther Med, 2018,16(6):5253-5257.
- [18] 李祯,张之芬,韩静颖,等.脑梗死患者红细胞体积分布宽度的变化及临床意义 [J].临床输血与检验,2018,20(6):625-628.

血清白细胞介素-10水平在急性胰腺炎诊断及治疗中的应用

陶珊^{1*} 沈磊² 刘玮玮² 郑亦农¹ 王家玉¹ 魏伟¹ 杜勇¹

[摘要] **目的** 探究血清白细胞介素-10(IL-10)水平在急性胰腺炎(AP)诊断及治疗中的应用。**方法** 选取2019年1月至2021年6月黄山市人民医院消化科收治的AP患者101例,分为轻症AP组(45例)、中症AP(33例)及重症AP组(23例),另选取同期健康体检者42例为对照组。比较各组血清IL-10水平及入院后的血清IL-10水平的变化,以ROC曲线分析血清IL-10对急性胰腺炎的诊断价值。**结果** 四组血清IL-10水平比较:对照组<重症AP组<中症AP组<轻症AP组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Person相关性显示,血清IL-10与IL-6、TNF- α 、APACHE II评分、Ranson评分均呈负相关($r=-0.434, -0.624, -0.462, -0.533, P<0.05$)。ROC曲线结果显示,血清IL-10预测轻症AP、中症AP、重症AP的AUC分别为0.766、0.795、0.946。另入院时及治疗3 d,轻症AP患者的血清IL-10均显著高于中症及重症AP患者,差异有统计学意义($P<0.05$),而治疗5 d及7 d,三组患者的血清IL-10比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 血清IL-10在评估AP早期炎症反应、病情严重程度及治疗等方面均具有一定的价值。

[关键词] 急性胰腺炎;白细胞介素-10;诊断;治疗

Application of serum interleukin-10 level in diagnosis and treatment of acute pancreatitis

TAO Shan^{1*}, SHEN Lei², LIU Weiwei², ZHENG Yinong¹, WANG JiaYu¹, WEI Wei¹, DU Yong¹

(1. Department of Gastroenterology, Huangshan People's Hospital, Huangshan, Anhui, China, 245000;

2. Department of Oncology, The Third People's Hospital, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application of serum interleukin-10 (IL-10) levels in the diagnosis and treatment of acute pancreatitis (AP). **Methods** A total of 101 AP patients admitted to the Gastroenterology Department of Huangshan People's Hospital from January 2019 to June 2021 were selected and divided into the mild AP group (45 cases), the moderate AP (33 cases) and the severe AP group (23 cases). During the same period, 42 healthy subjects were selected as the control group. The serum IL-10 levels in each group and the changes of serum IL-10 levels after admission were compared, and the diagnostic value of serum IL-10 in acute pancreatitis was analyzed by ROC curve. **Results** Comparison of serum IL-10 levels among the four groups: control group < severe AP group < moderate AP group < mild AP group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Person correlation showed that serum IL-10 was negatively correlated with IL-6, TNF- α , APACHE II score, and Ranson score ($r=-0.434, -0.624, -0.462, -0.533, P<0.05$). The ROC curve results showed that the AUCs of serum IL-10 for predicting mild AP, moderate AP, and severe AP were 0.766, 0.795, and 0.946, respectively. In addition, at the time of admission and 3 days of treatment, the serum IL-10 of patients with mild AP was significantly higher than that of patients with moderate and severe AP, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). On the 5th and 7th day of treatment, there was no significant difference in serum IL-10 among the three groups ($P>0.05$). **Conclusion** Serum IL-10 has certain value in assessing the early inflammatory response, disease severity and treatment of AP.

[KEY WORDS] Acute pancreatitis; Interleukin-10; Diagnosis; Treatment

基金项目:合肥市卫计委应用医学研究项目(hwk2018zc018)

作者单位:1.黄山市人民医院消化内科,安徽,黄山 245000

2.合肥市第三人民医院肿瘤内科,安徽,合肥 230000

*通信作者:陶珊, E-mail:ahwhs@126.com

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是由多种原因引起的胰腺组织自身炎症反应,炎性细胞浸润、水肿、出血及坏死为其主要特征^[1]。临床资料显示,AP以病情严重性划分为轻症、中症及重症AP,其中轻症AP临床症状较轻,预后良好,经治疗后机体可恢复;而重症AP多表现为机体继发性的炎症、感染及器官衰竭,可严重威胁患者生命安全^[2-3]。故提高AP的早期诊断至关重要。近年来,有研究指出体内炎性与抗炎反应的紊乱可造成AP患者全身炎症反应,且淋巴细胞为重要的免疫应答细胞,其水平高低可能影响AP患者的病情发展^[4]。而白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)为抗炎细胞因子,可抑制淋巴细胞释放促炎因子,因此可能在AP病情发生发展中具有重要作用^[5]。现临床关于血清IL-10与AP的研究多集中于其病情严重的关系,而对于血清IL-10对AP诊断及治疗中的应用研究较少。基于此,本研究探讨血清IL-10水平在AP诊断及治疗中的应用,结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年6月黄山市人民医院消化科收治的AP患者101例为研究对象。病例纳入标准:符合《急性胰腺炎诊治指南(2014)》^[6]诊断标准;②伴有不同程度的腹痛、腹胀、消化不良等症状;③临床资料完整者。④所有患者均知情并签署同意书。排除标准:①重要脏器功能不全者;②合并恶性肿瘤疾病者;③发病至入院时间 ≥ 48 h者。入选患者均根据APACHE II评分分为轻症AP组(45例)、中症AP(33例)及重症AP组(23例)。其中轻症AP组中,男、女各为26、19例;年龄平均(52.56 \pm 7.82)岁;体质量指数(body mass index, BMI)平均(23.62 \pm 3.28)kg/m²。中症AP组中,男、女各为18、15例;年龄平均(53.42 \pm 7.28)岁;BMI平均(23.42 \pm 3.09)kg/m²。重症AP组中,男、女各为13、10例;年龄平均(52.68 \pm 7.02)岁;BMI平均(23.08 \pm 3.12)kg/m²。另选取健康体检者42例为对照组,男、女各为25、17例;年龄平均(51.32 \pm 7.56)岁, BMI平均(22.89 \pm 2.95)kg/m²。各组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究符合《赫尔辛基宣言》。

1.2 研究方法

AP患者入院后经行常规治疗,并抽取AP患者肘静脉血3 mL, 3 000 r/min,离心10 min,离心

半径为10 cm,分离血清,取上层-80℃保存备测。AP患者血清IL-10水平采用ELISA分析法测定(上海博湖生物科技有限公司)。上述操作均遵循试剂说明严格进行。

AP患者入院24 h均进行急性生理与慢性健康评分(Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, APACHE II)^[7],入院48 h内进行Ranson评分。其中APACHE II评分包括生理、年龄及慢性健康评分,总分为0~60分;Ranson评分 ≥ 3 分提示AP患者重症发生率及死亡率较高^[8]。

1.3 统计学处理

采用统计软件SPSS 22.0处理数据,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,多组间用F检验,两组间比较采用独立样本 t 检验;血清IL-10与APACHE II评分、Ranson评分及炎性指标的相关性采用Person相关性分析;预测价值评估采用ROC曲线分析,曲线下面积(area under curve, AUC)0.7~0.9则预测准确性较好, >0.9 时预测准确性高。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清IL-10水平比较

四组血清IL-10水平比较:对照组<重症AP组<中症AP组<轻症AP组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 各组血清IL-10水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum IL-10 levels in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-10水平(pg/mL)
对照组	42	3.12 \pm 0.89
轻症AP组	45	21.84 \pm 5.21
中症AP组	33	15.84 \pm 4.28
重症AP组	23	10.24 \pm 3.02
F 值		141.550
P 值		<0.001

2.2 AP患者APACHE II评分、Ranson评分及炎性指标比较

三组患者APACHE II评分、Ranson评分、血清IL-6及TNF- α 水平比较差异具有统计学意义($P<0.05$);且轻症AP组APACHE II评分、Ranson评分、血清IL-6及TNF- α 水均小于中症AP组差异有统计学意义($P<0.05$),而中症AP组APACHE II评分、Ranson评分、血清IL-6及TNF- α 水又小于重症AP组差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 AP患者APACHE II评分、Ranson评分及炎性指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of APACHE II score, Ranson score and inflammatory indexes in AP patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-6 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	APACHE II 评分	Ranson 评分
轻症 AP 组	45	61.62 \pm 7.41	18.41 \pm 5.51	4.25 \pm 0.81	2.40 \pm 0.30
中症 AP 组	33	75.81 \pm 8.25 ^a	62.89 \pm 10.82 ^a	6.18 \pm 1.11 ^a	3.12 \pm 0.27 ^a
重症 AP 组	23	94.58 \pm 11.53 ^{ab}	152.68 \pm 20.58 ^{ab}	9.30 \pm 1.51 ^{ab}	4.17 \pm 0.26 ^{ab}
F 值		109.101	933.802	161.016	302.387
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻症 AP 组比较, ^aP<0.05; 与中症 AP 组比较, ^bP<0.05。

2.3 血清 IL-10 水平与 APACHE II 评分、Ranson 评分及炎性指标的相关性

Person 相关性结果显示,血清 IL-10 与 IL-6、

TNF- α 、APACHE II 评分、Ranson 评分均呈负相关 ($r=-0.434$ 、 -0.624 、 -0.462 、 -0.533 , $P<0.05$)。

2.4 血清 IL-10 水平对急性胰腺炎的诊断价值

ROC 曲线结果显示,血清 IL-10 预测轻症 AP、中症 AP、重症 AP 的 AUC 分别为 0.766、0.795、0.946,均具有一定准确性;以 ROC 曲线靠左上方约登指数的最大切点作为最佳临界值,该点预测敏感度、特异度:轻症 AP 为 100%、46.7%,中症 AP 为 100%、51.5%,重症 AP 为 87%、92.9%,预测价值较好。见表 3、图 1。

2.5 治疗后 AP 患者血清 IL-10 水平变化

结果显示,入院时及治疗 3 d,轻症 AP 患者的血清 IL-10 均显著高于中症及重症 AP 患者差异有

表3 血清 IL-10 水平对急性胰腺炎的诊断价值

Table 2 The diagnostic value of serum IL-10 levels for acute pancreatitis

检验项目	AUC	标准误	95%CI	最佳临界值	约登指数	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
轻症 AP	0.766	0.054	0.66~0.872	22.235	0.467	100	46.7	<0.001
中症 AP	0.795	0.06	0.678~0.912	16.215	0.515	100	51.5	<0.001
重症 AP	0.946	0.025	0.897~0.996	7.08	0.799	87	92.9	<0.001

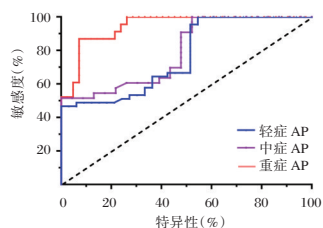


图1 血清 IL-10 水平对急性胰腺炎的诊断价值

Figure 2 The diagnostic value of serum IL-10 levels in acute pancreatitis

统计学意义 ($P<0.05$),而治疗 5 d 及 7 d,三组患者的血清 IL-10 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表4 治疗后 AP 患者血清 IL-10 水平变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Changes of serum IL-10 levels in AP patients after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	入院时	治疗 3 d	治疗 5 d	治疗 7 d
轻症 AP 组	45	21.84 \pm 5.21	14.52 \pm 3.12	11.18 \pm 2.89	8.21 \pm 2.24
中症 AP 组	33	15.84 \pm 4.28 ^a	12.56 \pm 3.25 ^a	10.43 \pm 2.56	8.15 \pm 2.18
重症 AP 组	23	10.24 \pm 3.02 ^{ab}	10.12 \pm 3.09 ^{ab}	9.85 \pm 2.64	8.06 \pm 2.36
F 值		53.024	15.036	1.940	0.034
P 值		<0.001	<0.001	0.149	0.967

注:与轻症 AP 组比较, ^aP<0.05; 与中症 AP 组比较, ^bP<0.05。

3 讨论

胰腺炎临床可表现为急性和慢性,但多以急性

为主,发生后可并发器官功能紊乱及衰竭,严重威胁患者生命安全。临床资料显示,AP 以严重程度可分为轻症、中症及重症,其中轻症 AP 临床症状轻微,多表现为间断或持续性的上腹痛,并可放射至腰背,经禁水、抑酸抑酶等治疗后临床症状可逐步改善;而重症 AP 胰腺多大面积坏死,可继发感染,进一步造成多器官功能衰竭、休克甚至死亡。另文献报道,AP 病死率约为 10% 左右,而重症 AP 病死率可高达 50% 以上,早期治疗后可降至 20% 左右^[9]。故提高 AP 的早期诊断及治疗至关重要。

已有研究指出,AP 主要为机体中促炎与抗炎因子的失衡造成的炎性反应引起,随病情的进展可发展为多组织器官衰竭,严重威胁患者的生命安全^[10]。IL-10 为常见的抗炎与免疫抑制性细胞因子,主要由 TH₂ 细胞产生,可对单核细胞及 T 淋巴细胞产生抑制作用,抑制巨噬细胞及炎症细胞因子 IL-6、IL-8 及 TNF- α 的表达,故其主要生物活性为免疫抑制作用。其作用机制为:IL-10 可降低抗原递呈细胞 MHCII 类抗原表达,或诱导抗原递呈细胞产生另一细胞因子,促使细胞内信号传递途径发生改变,进一步对某些细胞因子的 mRNA 转录进行抑制,与 T 细胞产生的 IL-4、IL-5 等产生协同作用^[11]。因此血清 IL-10 可维持细胞因子网络平衡,且血清 IL-10 也能抑制 NK 细胞产生 INF- γ ,进一

步抑制巨噬细胞产生 IL-12,并可作为成熟及不成熟 T 细胞及胸腺中 T 细胞发育的辅助生长因子。本研究中,AP 患者血清 IL-10 水平平均高于对照组,且重症 AP 的 IL-10 水平低于中症,而中症 AP 患者血清 IL-10 水平又低于轻症患者;相关性结果中,IL-6 及 TNF- α 水平随 AP 严重程度的增加而升高,与血清 IL-10 呈负相关。此结果提示,AP 早期机体即存在炎症反应,随病情的进展后,大量炎症介质被激活,促炎因子被大量释放,机体炎症反应加重,胰腺损伤程度加深,在此阶段机体抗炎与促炎因子仍处于平衡状态,因此抗炎因子 IL-10 作为保护性机制随之升高。当进展为重症 AP 时,炎症反应进一步加剧,抗炎因子 IL-10 水平释放不足且消耗过度,机体抗炎与促炎反应失衡,因此 IL-10 水平降低,病情加重。

IL-10 可抑制 IL-6、TNF- α 等炎症细胞因子的产生及释放,阻抑炎症细胞在胰腺中的聚集;且其对 IL-1ra 及可溶性 TNF- α 受体功能进行上调,在阻止浸润性炎症细胞释放促炎介质的同时,进一步达到治疗的目的^[12-13]。有研究者对 AP 患者进行研究发现,健康人群中血清 IL-10 水平较低,而 AP 患者血清 IL-10 在发病当日显著升高,之后呈下降趋势;且发病第 1d,轻症 AP 患者的 IL-10 明显高于重症 AP,而经治疗后,两组血清 IL-10 趋于一致^[14]。另有文献对 19 例重症 AP 患者进行研究发现,重症 AP 患者在入院时其血清 IL-10 显著升高,治疗 1、2 天后呈直线下降^[15]。以上结果均提示炎症因子与抗炎因子的平衡关系在 AP 发生及发展过程中的重要性。本研究结果与上述研究结果具有一致性。提示血清 IL-10 在 AP 病情发展中的重要作用。APACHE II 评分、Ranson 评分分别为 AP 病情严重程度及预后的评估指标。而本研究中,随 AP 病情的进展,患者 APACHE II 评分、Ranson 评分均不断升高,且与血清 IL-10 呈负相关。另 ROC 曲线结果显示,血清 IL-10 预测轻症 AP、中症 AP、重症 AP 的 AUC 分别为 0.766、0.795、0.946,血清 IL-10 作为 AP 的预测指标有较好的准确性。以上结果提示 AP 患者血清 IL-10 水平与疾病严重程度及预后密切相关,对 AP 的早期诊断具有一定的意义。

综上所述,随 AP 病情的加重,患者血清 IL-10 水平降低,且对于 AP 早期炎症反应、病情严重程度及治疗等方面的评估均具有一定的价值。本研究不足之处为单中心的回顾性研究,且样本量较小。因此,仍有待进一步行多中心、大样本量、前瞻性研究验证。

参考文献

- [1] Huang Z, Ma X, Jia X, et al. Prevention of Severe Acute Pancreatitis With Cyclooxygenase-2 Inhibitors: A Randomized Controlled Clinical Trial [J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115(3):473-480.
- [2] Kim MJ, Bae GS, Jo IJ, et al. Fraxinellone inhibits inflammatory cell infiltration during acute pancreatitis by suppressing inflammasome activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69:169-177.
- [3] 王雪梅,王培培,典凤丽,等. 饮食及运动习惯与急性胰腺炎发病相关性研究 [J]. *华南预防医学*, 2020, 46(4): 415-417.
- [4] 付阳,张琦,李梦雨,等. 急性胰腺炎患者血小板相关参数与炎性指标的相关性研究 [J]. *华西医学*, 2020, 35(8):943-947.
- [5] 潘静,覃月秋,徐晨阳,等. 急性胰腺炎患者血清 IL-6、IL-10 水平变化及其与淋巴细胞自噬凋亡的相关性 [J]. *山东医药*, 2019, 59(27):21-24.
- [6] 中华医学会外科学分会胰腺外科学组. 急性胰腺炎诊治指南(2014) [J]. *中华外科杂志*, 2015, 53(1):50-53.
- [7] Su Y, Wang M, Liu Y, et al. Module modified acute physiology and chronic health evaluation II: predicting the mortality of neuro-critical disease [J]. *Neurol Res*, 2014, 36(12): 1099-105.
- [8] 杨立新,杜丽川,刘欣,等. 四种评分标准对高脂血症急性胰腺炎病情和预后的评估作用 [J]. *中华内科杂志*, 2016, 55(9):695-699.
- [8] 周小娜,杨永林. 重症急性胰腺炎患者血清 PCT、CRP、IL-6 变化及与并发细菌感染的关系 [J]. *河北医药*, 2019, 41(6):839-842.
- [9] 董玉,闫凯,程海玲. TREM-1、H_2S 联合 ACE2 检测对重症急性胰腺炎预后的评估价值 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(2):284-287.
- [10] 朱哲. 连续性血液净化对重症急性胰腺炎并发多器官功能衰竭患者的疗效及对外周血炎症因子的影响 [J]. *实用临床医药杂志*, 2019, 23(5):50-52.
- [11] 董海生,林坚,王鸣,等. 急性胰腺炎患者血浆 IL-22、IFN- γ 、IL-10 和 IL-1ra 水平及与疾病严重程度的相关性 [J]. *河北医药*, 2019, 41(7):1039-1042.
- [12] 解松龄,蒋正,赵涛,等. 辅助性 T 细胞 17 及其细胞因子在急性胰腺炎患者诊治中的作用 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2020, 26(2):134-138.
- [13] 伏玲,余学春,董静武. 血清 DcR3、IL-10 和 IFN- γ 联合检测在急性胰腺炎患者严重程度评估中的价值 [J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(12):1539-1542.
- [14] 蓝远强,黄丽珍,梁敏,等. 血清学指标和相关评分系统预测及诊断急性胰腺炎严重程度的进展 [J]. *现代消化及介入诊疗*, 2020, 25(11):1539-1542.
- [15] 张婧,刁攀娅,苟园园. 炎症因子联合 Ranson 评分预测急性胰腺炎严重程度和指导临床治疗的价值分析 [J]. *临床内科杂志*, 2019, 36(9):597-600.

Hcy、LPA及TGF- β 1在创伤性骨折下肢静脉栓塞中的预测价值

丁丁* 赵志坚 陈坤峰

[摘要] **目的** 分析同型半胱氨酸(Hcy)、溶血磷脂酸(LPA)及转化生长因子- β 1(TGF- β 1)在创伤性骨折下肢静脉栓塞中的预测价值。**方法** 选取2019年3月至2020年2月商丘市第一人民医院收治的104例创伤性骨折者(观察组),根据有无DVT:有DVT组33例,无DVT组71例;根据创伤严重程度:轻度组61例,重度组43例。另选取本院同期92例健康体检者设为对照组。比较不同人群、不同病情程度以及有无DVT者血浆Hcy、LPA及血清TGF- β 1水平,分析Hcy、LPA及TGF- β 1对DVT的预测价值。**结果** 观察组Hcy、LPA及TGF- β 1表达水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。重度组Hcy、LPA及TGF- β 1表达水平明显高于轻度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。有DVT组者Hcy、LPA及TGF- β 1表达水平明显高于无DVT组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。依据ROC曲线分析可知,Hcy+LPA+TGF- β 1三者联合预测创伤性骨折后发生DVT敏感度和特异度分别为88.90%、81.30%,明显高于三者单独检测($P<0.05$)。**结论** Hcy、LPA及TGF- β 1在创伤性骨折发生下肢静脉栓塞时水平均明显升高,三者联合检测对下肢静脉栓塞早期诊断有重要的临床价值。

[关键词] Hcy; LPA; TGF- β 1; 创伤性骨; 下肢静脉栓塞

Predictive value of Hcy, LPA and TGF- β 1 in lower extremity venous embolism in traumatic fractures

DING Ding*, ZHAO Zhijian, CHEN Kunfeng

(Department of Emergency Traumatology, the First People's Hospital of Shangqiu City, Shangqiu, Henan, China, 476100)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of homocysteine (Hcy), lysophosphatidic acid (LPA) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in venous embolism of the lower extremities in patients with traumatic bone. **Methods** A total of 104 patients with traumatic fracture admitted to our hospital from March 2019 to February 2020 were selected as the observation group. According to the presence or absence of deep venous thrombosis (DVT), 33 cases were in the DVT group, and 71 cases were in the non-DVT group. According to the severity of trauma, they were divided into the mild group with 61 cases, and the severe group with 43 cases. In addition, 92 patients underwent physical examination in this hospital during the same period were selected as the control group. The expression levels of plasma Hcy, LPA and serum TGF- β 1 in different populations, patients with different disease levels and patients with or without DVT were compared, and the predictive value of Hcy, LPA and TGF- β 1 in the occurrence of DVT after traumatic fracture was analyzed. **Results** The expression levels of Hcy, LPA and TGF- β 1 in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of Hcy, LPA and TGF- β 1 in the severe group were significantly higher than those in the mild group, and the

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20190912)

作者单位:商丘市第一人民医院急诊创伤外科,河南,商丘 476100

*通信作者:丁丁, E-mail:11068196@qq.com

differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of Hcy, LPA and TGF- β 1 in the DVT group were significantly higher than those in the non-DVT group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). According to the ROC curve analysis, the sensitivity and specificity of the combination of Hcy+LPA+TGF- β 1 to predict the occurrence of DVT after traumatic fracture were 88.90% and 81.30%, respectively, AUC=0.831 (95% CI: 0.741~0.921), which were significantly higher than those of independent detection of the above-mentioned indicators ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of Hcy, LPA, and TGF- β 1 were significantly increased in patients with traumatic bone when lower extremity venous embolism occurred. The combined detection of the three indicators has important clinical value in the early diagnosis of lower extremity venous embolism.

[KEY WORDS] Hcy; LPA; TGF- β 1; Traumatic bone; Lower extremity venous embolism

下肢静脉栓塞也称为下肢深静脉血栓(Deep venous thrombosis, DVT),是指由于各种原因引起的静脉管腔内血块凝集的症状,患者常伴有下肢肿胀、局部深处触痛、足背屈性疼痛等典型症状^[1]。随着DVT进展可引发肺栓塞,严重威胁患者生命安全。创伤性骨折患者因受创后制动、血液处于高凝、高粘状态易并发下肢DVT,目前针对DVT的重点在于预防,尤其是早期诊断十分重要,但大多数患者在DVT早期时并未有明显临床症状,只有10%左右的患者可伴有明显临床特征,所以,DVT早期检出率不容乐观^[2]。同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)属于蛋氨酸代谢中的重要产物,以往研究认为,Hcy水平升高是影响动脉粥样硬化性疾病的独立的渐进性致病因素^[3]。血浆溶血磷脂酸(Lysophosphatidic acid, LPA)属于小分子甘油磷脂,是一种细胞膜的酯类衍生物,对血小板聚集、血管痉挛有极大的促进作用^[4]。国内外研究表明,转化生长因子- β 1(transforming growth factor, TGF- β 1)参与机体多种病理生理过程,肢动脉硬化闭塞症中其表达明显升高^[5]。基于此,本文将通过分析创伤性骨折下肢DVT者Hcy、LPA及TGF- β 1水平变化,了解其在创伤性骨折发生下肢DVT中的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年3月至2020年2月商丘市第一人民医院收治的104例创伤性骨折患者(观察组),其中男61例,女43例,平均年龄(43.11 \pm 6.17)岁,其中单一骨折、合并较轻的软组织损伤等为轻度损伤61例(轻度组),多发性骨折及复合伤等为重度损伤43例(重度组);根据有无DVT分组,有DVT组33例,无DVT组71例。纳入标准:①入选者均

符合骨科中有关创伤性骨折诊断标准,经X先检查确诊为创伤性骨折者^[6];②有DVT组符合《深静脉血栓形成的诊断和治疗指南》中相关诊断标准^[7],且经彩色超声多普勒检查提示DVT。排除标准:①具有血栓家族史者;②既往发生DVT或肺栓塞者;③近期有服用抗凝药物或多种维生素者。另选取本院同期92例健康体检者(对照组),其中男57例,女35例,平均年龄(42.41 \pm 6.22)岁,入选者在一般资料上比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 Hcy、LPA及TGF- β 1检测

患者均在入院后次日清晨空腹抽取静脉血液8 mL,健康体检者则在体检当日清晨空腹抽取静脉血液8 mL,其中2 mL使用EDTA-K₂抗凝管,混匀,离心(3 000 rpm, 12 min, $r=8$ cm)后获取血浆检测Hcy;4 mL使用肝素锂抗凝管混匀,离心(3 000 rpm, 12 min, $r=8$ cm)后获取血浆用于检测LPA;剩余2 mL非抗凝血离心(3 000 rpm, 12 min, $r=8$ cm)后获取血清用于TGF- β 1检测。Hcy使用循环酶法进行检测,试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供;LPA使用酶联免疫吸附法进行检测,检测试剂由北京泰福仕科技开发公司提供;TGF- β 1使用酶联免疫吸附法进行检测,试剂由北京中杉金桥生物技术有限公司提供。实验操作均由本院检验科人员进行,实验步骤严格按照试剂所配套说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析Hcy、LPA及TGF- β 1在创伤性骨折后发生DVT的预测价值,计算曲线下面积(AUC),以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平比较

观察组 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of Hcy, LPA and TGF- β 1 expression levels between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	LPA($\mu\text{mol/L}$)	TGF- β 1($\mu\text{g/L}$)
对照组	92	10.25 \pm 3.54	2.51 \pm 1.21	7.14 \pm 2.61
观察组	104	21.96 \pm 5.51	10.80 \pm 2.51	25.79 \pm 5.19
t 值		17.310	28.846	31.151
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同创伤程度患者 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平比较

重度组 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平明显高于轻度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同创伤程度患者 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of Hcy, LPA and TGF- β 1 expression levels in patients with different trauma levels ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	LPA($\mu\text{mol/L}$)	TGF- β 1($\mu\text{g/L}$)
轻度组	61	15.26 \pm 3.55	5.14 \pm 1.64	16.55 \pm 5.84
重度组	43	31.46 \pm 5.15	18.84 \pm 2.44	38.89 \pm 5.17
t 值		19.001	34.257	20.128
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 有无 DVT 患者中 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平比较

有 DVT 组者 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平明显高于无 DVT 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 有无 DVT 患者中 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of Hcy, LPA and TGF- β 1 expression levels in patients with or without DVT ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	LPA($\mu\text{mol/L}$)	TGF- β 1($\mu\text{g/L}$)
无 DVT 组	33	11.16 \pm 4.16	3.84 \pm 1.33	16.49 \pm 5.11
有 DVT 组	71	26.97 \pm 5.49	14.03 \pm 2.14	30.11 \pm 5.45
t 值		14.684	25.151	12.093
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 在创伤性骨折后发生 DVT 的预测价值

依据 ROC 曲线可知, Hcy+LPA+TGF- β 1 三者

联合预测创伤性骨折后发生 DVT 敏感度和特异度分别为 88.90%、81.30%; AUC=0.831 (95% CI: 0.741~0.921), 明显高于三者单独检测($P<0.05$)。见表 4 及图 1。

表 4 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 在创伤性骨折后发生 DVT 的预测价值

Table 4 The predictive value of Hcy, LPA and TGF- β 1 in the occurrence of DVT after traumatic fracture

预测因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P 值
Hcy	0.759	0.650~0.867	0.722	0.708	<0.001
LPA	0.780	0.688~0.891	0.778	0.750	<0.001
TGF- β 1	0.694	0.578~0.810	0.667	0.583	<0.001
Hcy+LPA+TGF- β 1	0.831	0.741~0.921	0.889	0.813	<0.001

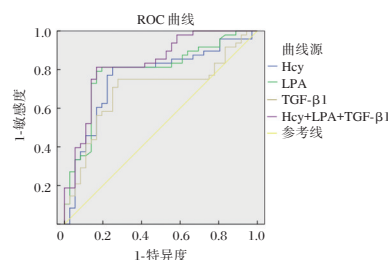


图 1 Hcy、LPA 及 TGF- β 1 预测创伤性骨折后发生 DVT 的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of Hcy, LPA and TGF- β 1 in predicting DVT after traumatic fracture

3 讨论

创伤性骨折患者由于骨皮质出现完整性或连续性的破坏,在创伤后患者凝血功能可出现相应的改变,进而引发下肢 DVT,对患者预后造成严重不良影响。因此,预防以及早期诊断 DVT 十分关键^[8]。

LPA 经过 G 蛋白的耦联受体相互作用可对靶细胞生物功能产生影响,从而引发多种生物学效应。以往研究报道显示,LPA 可促进血小板凝聚,在血管粥样硬化的发生、发展中发挥着重要的作用^[9]。凝血酶所激活的血小板是 LPA 的主要来源,LPA 通过激活血小板上的 E 始受体而使血小板形态发生改变,使血小板活化和聚集,在血小板活化和聚集后又可产生新的 LPA。国内研究发现,DVT 患者血液中 LPA 浓度明显高于健康人群,提示在血栓形成的早期,LPA 就可被释放到血液中,也标志着血小板的凝血及活化作用开始^[10]。在本研究中,下肢创伤患者血浆中 LPA 明显高于正常人,病情严重以及发生 DVT 者其 LPA 也明显增高,与上述文献研究结果相

符,提示LPA与DVT发生之间关系密切。

研究认为,Hcy不仅与动脉血栓相关,与深静脉血栓之间也有密切的联系^[11]。机体内Hcy水平上升,可对血管内皮细胞功能造成直接或间接的影响,引发胆固醇、脂蛋白在血管壁内沉淀,且Hcy对血管舒张因子一氧化氮(nitric oxide, NO)有灭活作用,进而导致血栓或动脉粥样硬化。因此,Hcy的异常代谢被认为是动脉粥样硬化、血栓形成的重要危险因素^[12]。近年来研究发现,静脉血栓栓塞患者中约25%存在不同程度同型半胱氨酸升高的现象,而其中30%存在高同型半胱氨酸血症^[13]。Kline等^[14]研究发现,随着Hcy水平上升,出现深静脉血栓危险性也明显增大,而深静脉血栓发生率上升导致肺栓塞发病率也明显增高。本研究也发现,创伤性骨折患者Hcy高于健康人群,而合并有DVT者其Hcy水平也明显高于未发生DVT者,与上述研究结果相符。

TGF- β 1是上皮细胞繁殖中的主要凋亡及免疫调节因子,可促进纤维生成。国外研究发现,TGF- β 1通过细胞表面受体刺激GoL11A2胶原基因转录,促进非胶原蛋白合成,对于骨折患者可通过调节整合素表达,促进外基质蛋白合成,从而加速骨折愈合^[15]。本研究中,观察组TGF- β 1水平明显高于对照组。TGF- β 1升高可刺激血管平滑肌分泌纤溶酶原激活物抑制剂-1(Plasminogen Activator Inhibitor-1, PAI-1),PAI-1可阻断纤溶酶原活化为纤溶酶,对血栓降解有抑制作用,促进血栓的稳定形成。在本研究中,TGF- β 1在发生DVT患者血液中水平明显升高,提示TGF- β 1与DVT发生之间存在密切的联系。进一步行ROC曲线分析,可知Hcy、LPA及TGF- β 1对创伤性骨折患者发生DVT均有一定的预测价值,可为评估患者DVT发生情况提供参考,而三者联合对预测创伤性骨折后发生DVT敏感度和特异度高于三者单独预测,提示在临床工作中可对创伤性骨折患者Hcy、LPA及TGF- β 1水平进行监测,当三者水平均上升可能提示患者DVT发生风险增加,需尽快处理,对患者预后积极影响。

综上所述,Hcy、LPA及TGF- β 1在创伤性骨折发生下肢静脉血栓时水平均明显升高,三者联合检测对下肢静脉血栓早期诊断有重要的临床价值。

参考文献

- [1] 林毅秋,丁娣. APCR, ACA, P-selectin的表达与下肢创伤性骨折患者深静脉血栓形成的关系[J]. 创伤外科杂志, 2019, 21(12):916-919,924.
- [2] Laurent B, David M, Marc H. Right ventricle dysfunction in patients with acute pulmonary embolism supposedly at low risk for death: when evidence-based medicine rescues clinical practice[J]. Eur Heart J, 2021, 11(3):45-47.
- [3] Shi H, Yang S, Lin N, et al. Study on Maternal SNPs of MTHFR Gene and HCY Level Related to Congenital Heart Diseases[J]. Pediatric Cardiol, 2021, 42(6):1-5.
- [4] 王蕾,王昌壁,朱玲,等. 超敏肌钙蛋白T,血浆脂蛋白a和同型半胱氨酸联合检测在冠状动脉粥样硬化心脏病诊断中的应用价值[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(7):1152-1155.
- [5] 蔡明建,王虎,尚昆,等. 下肢骨折患者住院期间下肢深静脉血栓形成位置及与肺栓塞关系的研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2021, 23(7):592-596.
- [6] 严悦. 前期护理预防老年创伤性骨折围术期深静脉血栓形成的探讨[J]. 血栓与止血学, 2019, 25(4):690-691.
- [7] 中华医学会外科学分会血管外科学组,李晓强,王深明. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南[J]. 中华普通外科杂志, 2013, 23(1):235-238.
- [8] 孙小艳,何涛贞,杨丽超. 急性脑梗死患者血清溶血磷脂酸,胱抑素-C水平与颈动脉斑块稳定性的相关性分析[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17(2):159-162.
- [9] 唐朝君,王蕾,朱力. 血小板参与动脉粥样硬化斑块形成的分子途径[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2020, 20(4):9-16.
- [10] 梁蕴瑜,谢平畅,钟言,等. 外周血HCY、PLR及hs-CRP预测原发性高血压患者颈动脉粥样硬化的诊断效能[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(16):3110-3114.
- [11] 肖懿慧,舒娟,余航,等. 同型半胱氨酸联合D-二聚体水平检测对肿瘤患者血栓形成的预测价值[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 32(12):28-32.
- [12] 郎哲,何志红,毕文森,等. 溶栓治疗肺血栓栓塞症疗效及对凝血功能及NF- κ B, ET-1的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5):634-638.
- [13] Nakamura N, Yamagishi R, Honjo M, et al. Effects of topical TGF- β 1, TGF- β 2, ATX, and LPA on IOP elevation and regulation of the conventional aqueous humor outflow pathway[J]. Mol Vis, 2021, 27(3):61-77.
- [14] Kline A, Kamalopathy P, Bruce K, et al. Nutritional Predictors of Wound Infection in Patients with Lower Extremity Soft Tissue Sarcoma[J]. Ann Surg Oncol, 2021, 9(11):34-35.
- [15] Wang L, Xu C, Liu X, et al. TGF- β 1 stimulates epithelial-mesenchymal transition and cancer-associated myoepithelial cell during the progression from in situ to invasive breast cancer[J]. Cancer Cell Int, 2019, 19(3):147-148.

· 论 著 ·

ACS患者血清GGT、BNP及CRP水平与冠状动脉病变程度的关系

鞠丹丹* 张玥 国莉莉 张艳艳

[摘要] 目的 分析急性冠状动脉综合征(ACS)患者血清谷氨酰转肽酶(GGT)、脑利钠肽(BNP)、C-反应蛋白(CRP)水平与冠状动脉病变程度的关系。方法 选取首都医科大学附属北京世纪坛医院2018年1月至2021年2月收治的100例ACS患者作为观察组,根据冠脉造影检查和SYNTAX评分分为轻度组(40例)和中重度组(60例),并选择同期于本院进行体检的50例健康人作为对照组。分别检测各组血清GGT、BNP和CRP水平,分析上述指标在ACS患者中的表达及其与冠脉病变严重程度的关系。结果 观察组血清GGT、BNP和CRP水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。轻度组的患者血清GGT、BNP和CRP水平均显著低于中重度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清GGT、BNP和CRP水平与ACS患者冠状动脉病变严重程度呈正相关($r=0.576, 0.540, 0.634, P$ 值均 <0.05)。血清CRP含量预测ACS轻度与中重度的ROC曲线下面积为0.865(95%CI:0.783~0.925)。约登指数最大值时确定最佳截点为14.00 mg/L。结论 ACS患者血清GGT、BNP和CRP水平升高且均与冠状动脉病变严重程度呈正相关,血清CRP水平对ACS患者冠状动脉病变程度的鉴别效能更高。

[关键词] 急性冠脉综合征;冠状动脉病变;谷氨酰转肽酶;脑利钠肽;C-反应蛋白

Relationship between the levels of serum GGT, BNP and CRP and the severity of coronary artery lesions in patients with ACS

JU Dandan*, ZHANG Yue, GUO Lili, ZHANG Yanyan

(Department of Emergency, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the levels of serum glutamyl transpeptidase (GGT), brain natriuretic peptide (BNP) and C-reactive protein (CRP) and the severity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndrome (ACS). **Methods** 100 patients with ACS admitted to Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University from January 2018 to February 2021 were enrolled as the observation group. According to coronary angiography and SYNTAX score, they were classified as the mild group (40 cases) and the moderate-to-severe group (60 cases). 50 healthy people who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as the control group. The levels of serum GGT, BNP and CRP were detected in each group, and the expressions of the above indicators in patients with ACS and their relationship with the severity of coronary artery disease were analyzed. **Results** The levels of serum GGT, BNP and CRP in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The levels of serum GGT, BNP and CRP in the mild group were significantly lower than those in the moderate-to-severe group ($P<0.05$). The levels of serum GGT, BNP and CRP were positively correlated with the severity of coronary artery disease in patients with ACS ($r=0.576, 0.540, 0.634, P<0.05$). The area under the ROC curve of serum CRP for predicting the mild or moderate-to-severe ACS was 0.865 (95%CI: 0.783-0.925). The optimal cut-off point was determined to be 14.00 mg/L at

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7202036)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院急诊科,北京 100038

*通信作者:鞠丹丹, E-mail:judandan@bjshjth.cn

the maximum value of the Youden index. **Conclusion** The levels of serum GGT, BNP and CRP in patients with ACS were elevated and positively correlated with the severity of coronary artery disease. Serum CRP level was more effective in identifying the severity of coronary artery disease in patients with ACS.

[KEY WORDS] Acute coronary syndrome; Coronary artery disease; Glutamyl transpeptidase; Brain natriuretic peptide; C-reactive protein

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)是因冠状动脉发生病变而使心肌缺血急性发作的综合性心血管事件,是冠状动脉发生粥样硬化斑块破裂或受到侵蚀进而形成闭塞性血栓^[1]。ACS包括不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)和ST段抬高型心肌梗死(ST-segment elevation myocardial infarction, STEM)、非ST段抬高型心肌梗死(non ST-segment elevation myocardial infarction, STEM)^[2]。ACS在中老年群体中发病率和死亡率呈逐年上升趋势,严重威胁患者生命^[3]。及早诊治可以延缓患者疾病进程,改善预后^[4]。谷氨酰转肽酶(glutamyl transferase, GGT)是组织细胞内抗氧化防御系统的重要部分,其能促使活性氧的产生,进而参与动脉粥样硬化斑块的形成^[5]。脑利尿钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)即B型钠尿肽,是具有能够扩张血管并阻断血管紧张素-醛固酮系统的一种多肽类型激素,其对发生心肌梗死后心室负荷肌张力变化敏感,能够反映心肌缺血的范围和严重程度^[6]。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)作为机体炎症反应的重要标志物,可以反映心肌细胞的损伤程度^[7]。本研究将分析ACS患者的血清GGT、BNP、CRP的表达及其与冠状动脉病变严重程度的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取首都医科大学附属北京世纪坛医院2018年1月至2021年2月收治的100例急性冠状动脉综合征患者作为观察组。纳入标准:①符合美国心脏病协会(American Heart Association, AHA)对于ACS诊断的标准^[8];②首次确诊为ACS;③病情资料辅助检查资料完整。排除标准:①心脏病史;②心血管其他疾病诊断或器官功能障碍;③既往接受过冠状动脉病变治疗。其中男69例,女31例;平均年龄(73.44±4.61)岁。根据冠状动脉造影检查结果和SYNTAX评分^[9]将ACS患者

分为轻度病变组40例和中重度病变组60例。选取同期体检的50例正常健康人为对照组,男28例,女22例;平均年龄(73.12±4.35)岁。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集和处理

采集患者就诊时和健康人体检时晨起空腹静脉血3 mL,使用血液离心机[翊诺科技(上海)有限公司,TD4X]以3 000 r/min离心15 min,取血清。

1.2.2 检测方法

GGT使用 γ -谷氨酰基转移酶测定试剂盒(GCANA底物法,吉械注准20162400048),使用全自动生化分析仪(日本日立公司生产,7170A)进行检测和分析;BNP采用人脑钠素/脑钠尿肽(BNP)ELISA酶联免疫试剂盒(上海研尊生物科技有限公司,YZH963423)测定;CRP采用透射免疫比浊法试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,粤食药监械(准)字2013第2400795号)测定。上述操作由专业检验人员按照试剂盒要求和仪器使用说明要求进行测定。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件对数据进行分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用独立样本 t 检验,相关性检验使用Speraman等级相关性分析法,采用ROC曲线预测ACS冠状动脉病变严重程度的发生情况、诊断阈值及其灵敏度和特异性,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清GGT、BNP和CRP水平在急性冠脉综合征患者与对照组中表达比较

观察组血清GGT、BNP和CRP水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 血清GGT、BNP和CRP水平在急性冠脉综合征患者与对照组中表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of levels of serum GGT, BNP and CRP between patients with acute coronary syndrome and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GGT(U/L)	BNP(ng/L)	CRP(mg/L)
观察组	100	68.45±17.86	180.26±40.57	16.97±5.23
对照组	50	25.36±5.44	24.47±10.32	3.41±1.72
t值		16.653	26.683	17.831
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清GGT、BNP和CRP水平在不同冠状动脉病变严重程度患者中的表达

轻度组的患者血清GGT、BNP和CRP水平均显著低于中重度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 血清GGT、BNP和CRP水平在不同冠状动脉病变严重程度患者中的表达 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Expressions of serum GGT, BNP and CRP in patients with different severity status of coronary artery disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GGT(U/L)	BNP(ng/L)	CRP(mg/L)
轻度组	40	59.61±10.92	148.56±40.47	11.53±3.64
中重度组	60	74.34±15.64	201.39±40.93	20.61±5.38
t值		5.171	6.352	9.337
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 血清GGT、BNP和CRP水平与冠状动脉病变严重程度的关系

Speraman 等级相关性分析结果显示,血清GGT、BNP和CRP水平与ACS患者冠状动脉病变严重程度呈正相关($r=0.576、0.540、0.634, P$ 值均<0.05)。见图1。

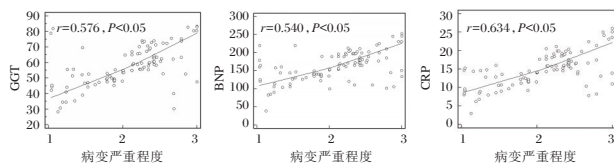


图1 血清GGT、BNP和CRP水平与冠状动脉病变严重程度的相关图

Figure 1 Correlation between levels of serum GGT, BNP and CRP and severity of coronary artery disease

2.4 血清GGT、BNP和CRP水平指导ACS患者冠状动脉病变轻度与中重度的ROC曲线

ROC曲线分析结果显示,血清CRP含量预测ACS轻度与中重度的ROC曲线下面积为0.865(95%CI:0.783~0.925)。约登指数最大值时确定最佳截点为14.00 mg/L。见表3、图2。

表3 血清GGT、BNP和CRP指导ACS患者冠状动脉病变严重程度的ROC曲线ROC分析

Table 3 ROC curves analysis of serum GGT, BNP and CRP in guiding the severity of coronary artery disease in patients with ACS

指标	cut-off	AUC	95%CI	敏感性 (%)	特异性 (%)	约登指数	P值
GGT(U/L)	>53.68	0.821	0.732~0.891	91.67	87.50	0.791	<0.001
BNP(ng/L)	>152.35	0.780	0.687~0.857	86.67	85.00	0.717	<0.001
CRP(mg/L)	>14.00	0.865	0.783~0.925	93.33	90.00	0.833	<0.001

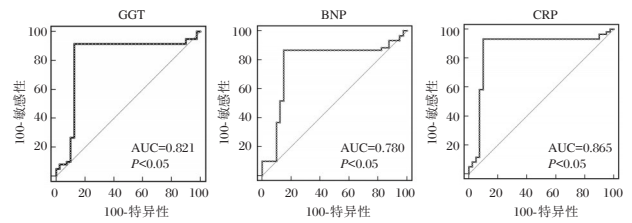


图2 ROC曲线图
Figure 2 ROC curve

3 讨论

ACS是一种临床常见且病情严重的心血管系统疾病,其病理基础是冠状动脉粥样斑块破裂或侵蚀。当心肌出现缺血性坏死时会释放炎症因子进入机体外周血中,侵袭冠状动脉中的不稳定斑块,导致其破裂形成血栓阻塞冠脉,使冠脉血流发生中断,进而造成心肌缺血综合征^[10]。目前对于ACS患者的诊断及冠状动脉病变程度多依靠影像学检查和冠状动脉造影检查,但上述检查操作复杂且存在禁忌症^[11],因此采取快速、敏感、安全的诊断指标对患者病情及时准确判断能够指导临床治疗并及早恢复冠脉血供改善预后。

本研究结果显示,ACS患者血清GGT、BNP和CRP水平均显著高于对照组,分析原因为GGT能够导致氧化应激反应,造成活性氧在细胞内大量蓄积,导致内皮功能受到影响,出现紊乱引起冠状动脉产生收缩促使血栓形成,促进冠脉损伤^[12];ACS患者的心室室壁张力出现改变进而促进BNP的分泌;CRP作为一种急性时相蛋白,其能使冠状动脉血管内皮细胞特性受到影响,进而参与到动脉粥样硬化的过程中。国外学者的模型试验发现心肌梗死时患者的BNP可升高^[13],这与本研究观点一致。

本研究结果显示血清GGT、BNP和CRP水平随着冠状动脉病变的加剧进一步升高,与病情严重程度呈明显正相关。分析原因为GGT可以刺激

并增强氧化应激反应,以促进活性氧形成增加的形式参与到冠状动脉粥样病变中。GGT在粥样斑块环境中加剧氧化还原反应,导致氧化应激反应和炎症因子刺激,进而加快了冠脉损伤,使疾病进一步发展。BNP是来源于心室的多肽激素,其具有较强的血管舒张作用,可以抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统收缩血管的作用,随着ACS患者心肌缺血的加重和损伤范围的扩大,能够刺激心室壁细胞分泌BNP。穆利英等^[14]的研究也认为BNP与ACS的严重程度呈正相关。CRP是一种非特异性的时相反应蛋白,是炎症标志物中敏感且抗干扰能力较强的一种,其升高速度与组织损伤程度密切相关,当发生ACS时,冠状动脉炎性因子刺激可以诱导机体应激反应,进而使CRP含量增高。因此在ACS患者血清GGT、BNP和CRP随病情炎症程度而增高并与疾病进展呈正相关。

ROC曲线结果说明CRP可以作为预测ACS患者冠状动脉病变严重程度的重要指标。CRP是由白细胞介素-6诱导机体肝脏进行合成的急性时相蛋白,其会影响内皮细胞附着蛋白质的基因表达过程,使冠状动脉血管内皮细胞特性受到影响,进而参与到动脉粥样硬化的过程中。炎症因子作用下能够使冠状动脉粥样斑块受到侵袭、发生破裂,进而形成冠状动脉血栓,造成冠状动脉血流异常,出现心肌缺血。CRP作为炎症标记物中较为敏感的一种会随着冠状动脉内皮细胞病变的加剧而升高。国外学者Fracassi等^[15]的研究也提出CRP的升高与ACS患者的预后相关,Sarkar等^[16]则认为CRP是判断冠心病重要炎症标志物,本研究在既往研究上明确了CRP指导病情进展的价值。

综上所述,急性冠脉综合征患者血清GGT、BNP和CRP水平升高且均与冠状动脉病变严重程度呈正相关。血清CRP水平对ACS患者冠状动脉病变轻度与中重度的鉴别诊断效果更明显,临床可以作为预测血管病变的重要指标。

参考文献

- [1] 邢磊,焦颖华. 急性冠脉综合征病人血清miR-204、miR-9表达水平及临床意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(4): 626-629.
- [2] 苏畅,边云飞,程琳. 调节性T细胞与急性冠状动脉综合征关系的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(5): 456-460.
- [3] 阳泽文,于波. 基于斑块侵蚀的急性冠状动脉综合征治疗新策略[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2020, 28(1): 35-38.
- [4] 彭信怡,苏文,陈晖,等. 高血压病史与高血压状态对急性冠状动脉综合征患者预后的影响[J]. 中国心血管杂志, 2019, 24(3): 275-278.
- [5] 侯建同,鄢高亮,朱伯谦,等. 血清 γ 谷氨酰转肽酶对急性冠脉综合征患者介入治疗后发生造影剂肾病的影响[J]. 现代医学, 2017, 45(1): 28-32.
- [6] 何汉康,叶巍,陈剑,等. 血清脑钠肽、氨基末端脑钠肽前体、血管紧张素(1-7)水平与急性冠状动脉综合征患者心功能和预后的关系[J]. 中华高血压杂志, 2020, 28(5): 470-474.
- [7] 游志刚,黄琳,姜醒华. 联合检测CRP、BNP和cTnI在急性心肌梗死患者中的临床意义[J]. 热带医学杂志, 2015, 15(1): 3.
- [8] 姚焰,胡志成. 2019AHA/ACC/HRS心房颤动患者管理指南更新解读[J]. 中国心血管病研究, 2019, 17(4): 289-293.
- [9] 刘艳杰,高宇平. SYNTAX评分与冠状动脉无复流的相关性研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(1): 80-84.
- [10] 付熠,彭湘杭,何兰芬,等. NLR、IAI与急性冠脉综合征病人冠状动脉病变程度的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(5): 815-817.
- [11] 肖美娟,杨丽,付宇,等. 稳定型与变异型心绞痛患者心电图及冠状动脉造影特点分析[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(10): 74-78.
- [12] 王乐,周玉杰,丛洪良,等. 血清 γ -谷氨酰转氨酶水平与老年冠心病患者经皮冠状动脉介入治疗后远期死亡率的关系[J]. 中国循环杂志, 2018, 33(9): 864-868.
- [13] Faxén J, Xu H, Evans M, et al. Potassium levels and risk of in-hospital arrhythmias and mortality in patients admitted with suspected acute coronary syndrome[J]. Int J Cardiol, 2019, 1(274): 52-58.
- [14] 穆利英,熊筱伟,郭彩霞,等. 急性冠脉综合征患者B型钠尿肽与冠状动脉病变程度的相关性分析[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(4): 135-138, 144.
- [15] Fracassi F, Niccoli G, Vetrugno V, et al. Optical coherence tomography and C-reactive protein in risk stratification of acute coronary syndromes[J]. Int J Cardiol, 2019, 1(286): 7-12.
- [16] Sarkar NC, Sarkar P, Sarkar P, et al. Association of Coronary Heart Disease and CRP - as a Noble Marker of Inflammation - A Case Control Study[J]. J Assoc Physicians India, 2019, 67(10): 54-56.

脓毒症患者外周血 miR-98-5p 与全身炎症反应激活及预后的相关性研究

巫兴阳¹ 汪飞^{1*} 杨呈浩² 黄小勇¹ 舒燕³

[摘要] 目的 研究脓毒症患者外周血 miR-98-5p 与全身炎症反应激活及预后的相关性。方法 选择2019年1月至2021年1月期间自贡市第四人民医院收治的102例脓毒症患者作为脓毒症组,同期体检的100例健康志愿者作为对照组,采用荧光定量PCR法检测外周血 miR-98-5p 的表达水平,采用Elisa法检测血清炎症细胞因子 TNF- α 、HMGB-1、IL-1 β 的含量,采用急性生理和慢性健康评分 II(APACHEII)、序贯性器官衰竭评分(SOFA)评分评估脓毒症病情,采用28 d生存情况评估预后。**结果** 脓毒症组患者外周血 miR-98-5p 的表达水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);脓毒症组中 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者的 APACHEII、SOFA 评分低于 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者,差异有统计学意义($P<0.05$);脓毒症组中 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者的血清 TNF- α 、HMGB-1、IL-1 β 含量低于 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者,差异有统计学意义($P<0.05$);经 K-M 曲线分析,脓毒症组中 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者的 28 d 累积生存率高于 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者差异有统计学意义($P<0.05$);外周血 miR-98-5p 表达水平对脓毒症患者 28 d 生存具有预测价值($P<0.05$)。**结论** 脓毒症患者外周血 miR-98-5p 表达降低与病情加重、全身炎症反应激活及预后不良有关。

[关键词] 脓毒症; miR-98-5p; 炎症反应; 预后; 预测

Correlation of peripheral blood miR-98-5p with systemic inflammatory response activation and prognosis in patients with sepsis

WU Xingyang¹, WANG Fei^{1*}, YANG Chenghao², HUANG Xiaoyong¹, SHU Yan³

(1. Department of Intensive Care Medicine, The Fourth People's Hospital of Zigong, Zigong, Sichuan, China, 643000; 2. Department of Neurosurgery, The Fourth People's Hospital of Zigong, Zigong, Sichuan, China, 643000; 3. Department of Nursing, Da'an District People's Hospital of Zigong, Zigong, Sichuan, China, 643000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the correlation between miR-98-5p in peripheral blood with systemic inflammatory response activation and prognosis in patients with sepsis. **Methods** A total of 102 patients with sepsis admitted to the intensive care unit of this Hospital from January 2019 to January 2021 were selected as the sepsis group, and 100 healthy volunteers were selected as the control group. The expression level of miR-98-5p in peripheral blood was detected by fluorescence quantitative PCR. The contents of serum inflammatory cytokines TNF- α , HMGB-1 and IL-1 β were detected by ELISA. APACHEII and sequential organ failure score (SOFA) were used to evaluate the condition of sepsis, and 28-day survival was used to evaluate the prognosis. **Result** The expression level of miR-98-5p in the sepsis group was lower than that in the control group ($P<0.05$). The APACHE II, SOFA score of patients with miR-98-5p expression \geq median in the sepsis group were lower than those with miR-98-5p expression $<$ median ($P<0.05$). The serum TNF- α , HMGB-1, IL-1 β

基金项目:四川省医学(青年创新)科研课题(S19070)

作者单位:1. 自贡市第四人民医院重症医学科,四川,自贡 643000

2. 自贡市第四人民医院神经外科,四川,自贡 643000

3. 自贡市大安区人民医院护理部,四川,自贡 643000

*通信作者:汪飞, E-mail: honlife2021@163.com

contents of patients with miR-98-5p expression \geq median in the sepsis group were lower than those with miR-98-5p expression $<$ median ($P < 0.05$). K-M curve analysis showed that the 28-day cumulative survival rate of patients with miR-98-5p expression \geq median in the sepsis group were higher than those with miR-98-5p expression $<$ median ($P < 0.05$). The expression level of miR-98-5p in peripheral blood has predictive value for the 28-day survival of sepsis patients. **Conclusion** The decreased expression of miR-98-5p in peripheral blood of patients with sepsis is associated with aggravation of disease, activation of systemic inflammatory response and poor prognosis.

[KEY WORDS] Sepsis; miR-98-5p; Inflammatory response; Prognosis; Prediction

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征,容易引起多器官功能障碍,病情凶险、死亡率高、救治难度大^[1-2]。全身炎症反应的级联放大激活是脓毒症重要的病理生理特征^[3],但调控炎症反应的机制复杂且未完全阐明。微小RNA (microRNA, miR)是现代生物医学研究的热点分子,具有广泛的生物学作用,不仅能够作为评估病情的标志物,还能作为研究发病机制和防治手段的靶点。根据国内唐晋的动物实验研究,脓毒症大鼠肺组织中 miR-98-5p 的表达降低,过表达 miR-98-5p 通过靶向抑制 Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR4) 信号通路中 TRAF6 的表达介导抗炎效应,能够使多种炎症细胞因子的释放减少^[4],提示 miR-98-5p 可能在脓毒症的发病通过抗炎效应起到保护作用。本研究将 miR-98-5p 作为外周血标志物用于脓毒症病情的评估,具体分析脓症患者外周血 miR-98-5p 与全身炎症反应激活及预后的相关性,旨在为发现评估脓毒症病情的新手段、研究脓毒症发病机制的新靶点提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月期间自贡市第四人民医院收治的 102 例脓症患者作为脓毒症组,另取同期本院体检的 100 例健康志愿者作为对照组。脓毒症组中男性 62 例、女性 40 例,年龄平均(47.61 \pm 10.23)岁;对照组中男性 60 例、女性 40 例,年龄平均(45.68 \pm 9.39)岁。两组间一般资料的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

纳入标准:①符合《中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)》^[5]中脓毒症的诊断标准;②临床资料完整;③外周血及血清临床样本完整。排除标准:①入院后 48 h 内死亡;②合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、原发性肝肾疾病。本实验经所有入组者知情同意,本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 外周血 miR-98-5p 表达的检测

入院后立即采集脓毒症患者的肘静脉血 2~3 mL,体检时采集志愿者的肘静脉血 2~3 mL,采用试剂盒进行 miR 提取、cDNA 反转录合成、荧光定量 PCR 检测,均按照试剂盒说明书进行操作,分别对 miR-98-5p 和 U6 进行荧光定量 PCR 检测,根据检测得到的反应的循环曲线及循环阈值(Ct),代入公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-98-5p 的表达水平。根据结果计算脓症患者 miR-98-5p 表达的中位数并分为 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者与 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者。

1.2.2 脓毒症病情的评估

参照《中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)》^[5],根据入院后 48 h 内一般资料、实验室检查的最差值计算急性生理和慢性健康评分 II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, APACHEII)^[5]、序贯性器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)^[5]。

1.2.3 血清炎症细胞因子含量的检测

入院后立即采集脓毒症患者的肘静脉血 2~3 mL,静置凝血后离心分离血清,采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海酶联公司)检测炎症细胞因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的含量。

1.2.4 预后的评价

根据 28 d 的生存情况评估预后,结局分为生存和死亡。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行数据统计,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;28 d 累积生存率采用 K-M 曲线表示,两组间比较采用 log-rank 检验;预后的预测采用 ROC 曲线分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症组与对照组外周血 miR-98-5p 表达的比较

脓毒症组患者外周血 miR-98-5p 的表达水平与对照组比较明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 脓毒症组与对照组外周血 miR-98-5p 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-98-5p 表达水平
脓毒症组	102	0.67±0.18
对照组	100	1.00±0.26
<i>t</i> 值		10.506
<i>P</i> 值		0.000

2.2 脓毒症组中不同 miR-98-5p 表达患者 APACHEII、SOFA 评分的比较

脓毒症组中 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者的 APACHEII、SOFA 评分与 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者比较明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 脓毒症组中不同 miR-98-5p 表达患者 APACHEII、SOFA 评分的比较 ($\bar{x} \pm s$)

miR-98-5p 表达	<i>n</i>	APACHEII 评分	SOFA 评分
\geq 中位数	51	21.31±5.42	8.47±2.36
$<$ 中位数	51	25.14±7.61	10.57±2.85
<i>t</i> 值		2.925	4.053
<i>P</i> 值		0.004	0.001

2.3 脓毒症组中不同 miR-98-5p 表达患者血清炎症细胞因子的比较

脓毒症组中 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者的血清 TNF- α 、HMGB-1、IL-1 β 含量与 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者比较明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 脓毒症组中不同 miR-98-5p 表达患者血清炎症细胞因子的比较 ($\bar{x} \pm s$)

miR-98-5p 表达	<i>n</i>	TNF- α (ng/mL)	HMGB-1 (pg/mL)	IL-1 β (ng/mL)
\geq 中位数	51	7.68±1.52	94.57±16.85	10.15±2.91
$<$ 中位数	51	10.44±2.76	132.45±24.67	13.47±3.46
<i>t</i> 值		6.256	9.055	5.244
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.4 脓毒症组中不同 miR-98-5p 表达患者 28 d 累积生存率的比较

miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者共 7 例发生死亡、miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者共 31 例发生死亡, 脓毒症组中 miR-98-5p 表达 \geq 中位数患者的 28 d 累积生存率与 miR-98-5p 表达 $<$ 中位数患者比较明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

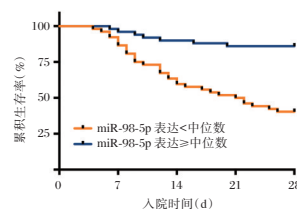


图 1 脓毒症组中不同 miR-98-5p 表达患者 28 d 累积生存率的比较

Figure 1 Comparison of 28 d cumulative survival rate between patients with different miR-98-5p expression in sepsis group

2.5 miR-98-5p 表达预测脓毒症患者预后的 ROC 曲线分析

外周血 miR-98-5p 表达预测脓毒症患者预后的, 曲线下面积为 0.777, 诊断的临界值为 0.664, 相应的灵敏度为 89.19% (95% CI: 74.58~96.97%)、特异性为 64.06% (95% CI: 51.10~75.68%)。见图 2。

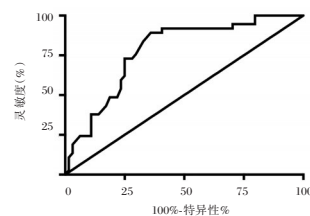


图 2 ROC 曲线图

Figure 2 ROC curve

3 讨论

脓毒症的病情凶险、死亡率高, 起病早期准确评估病情、判断预后对于指导治疗具有积极意义。近些年, 随着对脓毒症发病机制研究的不断深入, 多种生物标志物被证实对脓毒症的病情及预后具有判断价值。miR 是一类长度 18-25 核苷酸的非编码小分子 RNA, 广泛分布于体内各个脏器和组织, 在细胞增殖和分化、炎症反应、氧化应激等生物学环节中均起到调控作用。miR-98-5p 是一种具有抑炎作用的 miR, 在脓毒症^[4, 6]、炎症性肠病^[7]、系统性红斑狼疮^[8]等炎症相关疾病的动物模型中表达减少, 本研究结果提示 miR-98-5p 有望作

为评估脓毒症病情的标志物。

在多种炎症相关疾病中,miR-98-5p对肺脏、肠道等组织具有保护作用。在脓毒症的病情发展变化过程中容易发生多脏器功能障碍,临床上常用APACHEII、SOFA评估脓毒症的病情严重程度,能够综合评估生命体征、脏器功能^[9-10]。本研究分析了脓毒症患者miR-98-5p表达水平与APACHEII、SOFA的关系,以此反映miR-98-5p表达与脓毒症病情的相关性。根据miR-98-5p表达水平的中位数将脓毒症患者分为miR-98-5p表达<中位数及miR-98-5p表达≥中位数的患者,分析结果显示:随着miR-98-5p表达增加,脓毒症患者的APACHEII、SOFA评分随着降低,表明在脓毒症的发病过程中较高的miR-98-5p表达水平具有保护作用、能够使脓毒症的病情减轻。

TLR4通路是脓毒症发病过程中调控炎症反应级联放大激活的重要通路,根据国内唐晋^[4]的动物实验研究,miR-98-5p对脓毒症大鼠肺组织中TLR4通路分子TRAF4的表达具有靶向抑制作用,进而能够抑制TNF- α 、IL-1 β 等炎症细胞因子的释放并起到抑炎作用。脓毒症相关的临床研究已经证实,TNF- α 、HMGB-1、IL-1 β 是与脓毒症病情发展密切相关的炎症细胞因子,脓毒症患者血清中上述细胞因子的含量明显增加^[11-13]。本研究通过分析分析了脓毒症患者miR-98-5p表达水平与炎症细胞因子的关系,以此反映miR-98-5p表达与脓毒症发病过程中全身炎症反应激活的关系,结果表明在脓毒症的发病过程中较高的miR-98-5p表达水平具有抑炎作用,能够减轻全身炎症反应的激活及多种炎症细胞因子的释放。

28 d生存情况是评估脓毒症预后的常用方式,多项临床研究证实APACHEII、SOFA是脓毒症患者预后的独立影响因素^[14-16]。本研究在证实miR-98-5p与脓毒症病情及炎症反应相关后,进一步分析了miR-98-5p与预后的关系。经K-M曲线分析28 d累积生存率的差异可知:与miR-98-5p表达<中位数的脓毒症患者比较,miR-98-5p表达≥中位数的脓毒症患者28 d累积生存率明显增加,表明在脓毒症的发病过程中较高的miR-98-5p表达水平能够改善预后、提高28d生存率。进一步通过ROC曲线分析miR-98-5p对预后的预测价值可知:miR-98-5p能够预测脓毒症患者的28 d生存情况。

综上所述,脓毒症患者外周血miR-98-5p表达降低与病情加重、全身炎症反应激活及预后不良有关,未来miR-98-5p有望成为评估脓毒症病情及

预后的标志物,也可作为研究脓毒症发病机制及防治手段的靶点。

参考文献

- [1] Canora J, Moreno G, Marco J, et al. Admittances characteristics by sepsis in the Spanish internal medicine services between 2005 and 2015: mortality pattern [J]. *Postgrad Med*, 2020, 132(3):296-300.
- [2] Caraballo C, Jaimes F. Organ Dysfunction in Sepsis: An Ominous Trajectory From Infection To Death [J]. *Yale J Biol Med*, 2019, 92(4):629-640.
- [3] 吴健锋. 脓毒症免疫抑制的监测和治疗进展[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2020, 41(1):30-36.
- [4] 唐晋, 周靖, 陈雪梅, 等. miR-98-5p通过靶向调控TRAF6表达促进肺泡巨噬细胞M2表型分化以保护脓毒症引起的急性肺损伤[J]. *免疫学杂志*, 2020, 36(8):645-654.
- [5] 中国医师协会急诊医师分会, 中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J]. *感染、炎症、修复*, 2019, 20(1):3-22.
- [6] Zhu J, Lin X, Yan C, et al. microRNA-98 protects sepsis mice from cardiac dysfunction, liver and lung injury by negatively regulating HMGA2 through inhibiting NF-kappaB signaling pathway[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(16):1948-1964.
- [7] Peng Y, Wang Q, Yang W, et al. MiR-98-5p expression inhibits polarization of macrophages to an M2 phenotype by targeting Trib1 in inflammatory bowel disease [J]. *Acta Biochim Pol*, 2020, 67(2):157-163.
- [8] Yuan S, Tang C, Chen D, et al. miR-98 Modulates Cytokine Production from Human PBMCs in Systemic Lupus Erythematosus by Targeting IL-6 mRNA [J]. *J Immunol Res*, 2019, 1(2019):9827574.
- [9] Kilinc Toker A, Kose S, et al. Comparison of SOFA Score, SIRS, qSOFA, and qSOFA + L Criteria in the Diagnosis and Prognosis of Sepsis [J]. *Eurasian J Med*, 2021, 53(1):40-47.
- [10] 高兰, 李昊, 刘红娟, 等. 离子间隙联合APACHE II评分在脓毒症患者短期预后中的应用[J]. *中国急救医学*, 2019, 39(12):1176-1180.
- [11] 王小军. 炎症反应及细胞内钙浓度异常升高在脓毒症发展中的作用分析[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(2):209-213.
- [12] 马兴龙, 姜阳, 李佳芯, 等. 脓毒症患者外周血TNF- α 、HMGB-1、TF和vWF动态变化及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(4):630-633.
- [13] 韩梅, 高梦颖, 郭鹏, 等. TNF- α 及IL-1 β 在脓毒症急性肾损伤中的价值及与NGAL的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(1):34-37, 42.
- [14] Song MJ, Lee SH, Leem AY, et al. Predictors and outcomes of sepsis-induced cardiomyopathy in critically ill patients [J]. *Acute Crit Care*, 2020, 35(2):67-76.
- [15] Roh J, Jo EJ, Eom JS, et al. Factors predicting long-term survival of patients with sepsis on arrival at the emergency department: A single-center, observational study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(33):e16871.
- [16] 黄嵘, 徐芳媛, 方向群, 等. 急诊脓毒症严重程度评分对ICU脓毒症患者预后的预测价值[J]. *浙江医学*, 2021, 43(2):176-179.

联合cTnI、Mb和miR-133检测在AVM患儿诊断及预后中的作用

张小建* 张军毅 冯嵩 李丹

[摘要] **目的** 探讨联合心肌肌钙蛋白T(cTnT)、肌红蛋白(Mb)、微小核糖核酸-133(miR-133)检测在急性病毒性心肌炎(AVM)患儿诊断及预后中的作用。**方法** 选取2017年5月至2020年4月期间郑州大学第一附属医院收治的136例AVM患儿为研究组,另选取同期健康体检的108例健康儿童为对照组。比较两组cTnI、Mb、miR-133水平。根据AVM患儿诊断后1年内预后情况将研究组分为预后不良组和预后良好组。绘制ROC曲线图,分析cTnI、Mb、miR-133联合检测对AVM的诊断价值,探究影响AVM患儿预后的独立危险因素。**结果** 研究组cTnI、Mb表达水平高于对照组,miR-133表达水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。cTnI、Mb、miR-133三者联合检测对AVM诊断价值的AUC最大,为0.915(0.844~0.986)($P<0.05$)。136例患儿中预后不良21例,预后良好115例。*Logistic*回归模型分析得:使用肾上腺素、QT间期延长、cTnI $>0.09\ \mu\text{g/L}$ 、Mb $>80\ \text{ng/mL}$ 、miR-133 <3.1 是影响AVM患儿预后的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** cTnI、Mb、miR-133在AVM患儿中呈异常表达,联合检测三者可作为AVM临床诊断及预后观察的有效手段。

[关键词] miR-133; Mb; AVM; cTnI

Application of combined detection of cTnI, Mb and miR-133 in the diagnosis and prognosis of children with AVM

ZHANG Xiaojian*, ZHANG Junyi, FENG Song, LI Dan

(Department of Division 2 of Pediatric Internal Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450052)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of combined detection of cardiac troponin T (cTnT), myoglobin (Mb), and microRNA-133 (miR-133) on the diagnosis and prognosis of children with acute viral myocarditis (AVM). **Methods** A total of 136 children with AVM admitted to the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from May 2017 to April 2020 were selected as the study group, and 108 healthy children who underwent health examinations during the same period were selected as the control group. According to the prognosis of children with AVM within 1 year after diagnosis, they were divided into: the poor prognosis group ($n=21$) and the good prognosis group ($n=115$). The levels of cTnI, Mb and miR-133 in the two groups were compared. The ROC curve was drawn to analyze the diagnostic value of the combined detection of cTnI, Mb and miR-133 for AVM, and to explore the independent risk factors affecting the prognosis of children with AVM. **Results** The expression levels of cTnI and Mb in the study group were higher than those in the control group, and the expression level of miR-133 was lower than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The AUC of the combined detection of cTnI, Mb and miR-133 in the diagnosis of AVM was the largest, which was 0.915 (0.844-0.986) ($P<0.05$). Among the 136 children, 21 had poor prognosis and 115 had good prognosis. Logistic regression model analysis showed

基金项目:河南省医学教育研究项目(Wjlx2017438)

作者单位:郑州大学第一附属医院小儿内科2病区,河南,郑州 450052

*通信作者:张小建, E-mail: zdyfyek2bqzj@163.com

that epinephrine, QT interval prolongation, cTnI >0.09 $\mu\text{g/L}$, Mb >80 ng/mL, and miR-133 <3.1 were independent risk factors affecting the prognosis of children with AVM ($P<0.05$). **Conclusion** cTnI, Mb, and miR-133 are abnormally expressed in children with AVM. The combined detection of the three can be used as an effective means for clinical diagnosis and prognosis observation of AVM.

[KEY WORDS] miR-133; Mb; AVM; cTnI

急性病毒性心肌炎(Acute viral myocarditis, AVM)是由于心肌细胞遭受病毒感染所诱发的心肌炎症反应,柯萨奇B组病毒为诱发该病最为常见的一类病毒^[1]。AVM患儿的临床表现不典型且缺乏特异性,临床诊断较为困难^[2]。研究显示,AVM病情加重时可诱发心源性休克、心力衰竭等并发症,危及患儿的生命安全^[3]。探寻理想的生物学标志物在AVM的诊断及预后观察中十分重要。心肌肌钙蛋白T(cardiac troponin T, cTnT)是心肌细胞肌钙蛋白的复合物亚单位,心肌细胞受损后会引引起cTnT释放到血液中,其水平与心肌损伤程度紧密联系^[4]。肌红蛋白(Myoglobin, Mb)是心肌细胞损伤后最早出现异常增加的心肌蛋白标志物^[5]。微小核糖核酸-133(microRNA-133, miR-133)属于微小核糖核酸(microRNA, miRNA)家族中的一员,近年来研究发现miR-133与心肌损伤相关疾病密切相关^[6]。本研究旨在探讨联合cTnI、Mb、miR-133检测在AVM患儿诊断及预后观察中的作用,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 基本资料

选取2017年5月至2020年4月期间郑州大学第一附属医院收治的136例AVM患儿作为研究组,其中男79例,女57例;平均年龄(6.33 ± 1.65)岁。纳入标准:①皆满足《儿童病毒性心肌炎诊断标准》^[7];②病原学检查呈阳性;③临床资料完整无遗漏;④患儿年龄 ≤ 12 岁。排除标准:①合并其他器官组织恶性肿瘤或自身免疫缺陷性疾病、严重感染者;②存在肝肾功能损害者;③存在心脏病史者;④既往存在AVM病史者;⑤精神认知障碍者。另选取同期健康体检的108例健康儿童为对照组,男62例,女46例,平均年龄(8.14 ± 2.14)岁。两组性别、年龄等基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者监护人已签署知情同意书。

1.2 方法

所有对象均在医生协助下完善相关检查,研

究组于入院后第2d、对照组为体检当日抽取5 mL空腹静脉血,离心($3\ 000$ r/min, 12 min, R=8 cm)后取分离血清,置于 -80°C 冰箱中保存,待检。使用北京乐普LEPU QuantGold免疫定量分析仪,采用免疫荧光层析法测定Mb、cTnI水平;采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应(Reverse Transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测miR-133的表达,以U6为内参,上游引物:5'-TTG-GTCCCCTTCAACCAGCTGT-3',下游引物:5'-CAGTGCGTGTTCGTGGAGT-3';操作过程均严格按照说明书进行。正常参考值:cTnI ≤ 0.09 $\mu\text{g/L}$; Mb ≤ 80 ng/mL; miR-133 ≥ 3.1 ^[8-9]。

1.3 随访

对研究组患儿进行为期1年的门诊或住院随访,根据患儿预后情况分为:预后不良组(包括持续性室速、室颤、心力衰竭、心脏移植、再入院、复发以及死亡等)和预后良好组(随访期间未出现不良事件)^[10]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计处理,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,采用 t 检验;采用多元Logistic回归分析影响AVM患儿预后的独立危险因素;采用ROC曲线分析cTnI、Mb、miR-133联合检测对AVM的诊断价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组cTnI、Mb、miR-133表达水平比较

研究组cTnI、Mb表达水平高于对照组,miR-133表达水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组cTnI、Mb、miR-133表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of cTnI, Mb, miR-133 expression levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	cTnI($\mu\text{g/L}$)	Mb(ng/mL)	miR-133
研究组	136	0.59 ± 0.15	98.26 ± 25.74	2.32 ± 0.81
对照组	108	0.07 ± 0.02	34.33 ± 8.65	3.62 ± 0.58
t 值		35.760	24.718	14.058
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 cTnI、Mb、miR-133联合检测对AVM的诊断价值
cTnI、Mb、miR-133三者联合检测对AVM诊

断价值的 AUC 最大,为 0.915 (0.844~0.986) ($P < 0.05$)。见表 2、图 1。

表 2 cTnI、Mb、miR-133 联合检测对 AVM 的诊断价值

Table 2 The diagnostic value of combined detection of cTnI, Mb, and miR-133 for AVM

评估指标	Cut-off 值	敏感度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P 值
cTnI	24.69	0.672	0.835	0.806	0.692~0.919	0.507	0.005
Mb	24.73	0.796	0.729	0.809	0.696~0.923	0.525	<0.001
miR-133	24.87	0.758	0.814	0.836	0.735~0.936	0.572	<0.001
cTnI、Mb、miR-133 三者联合	25.06	0.879	0.853	0.915	0.844~0.986	0.732	<0.001

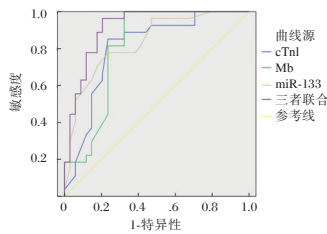


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

2.3 影响 AVM 患儿预后的单因素分析

所有患儿均成功完成随访,136 例患儿中预后不良 21 例,预后良好 115 例。肾上腺素、QT 间期、cTnI、Mb、miR-133 为影响 AVM 患儿预后的单因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 影响 AVM 患儿预后的单因素分析 [n(%)]

Table 3 Analysis of single factors affecting the prognosis of children with AVM [n(%)]

项目	预后不良组 (n=21)	预后良好组 (n=115)	χ^2 值	P 值
性别	男	10 (47.62)	1.118	0.290
	女	11 (52.38)		
年龄 (岁)	>6	12 (57.14)	0.120	0.729
	≤6	9 (42.86)		
使用肾上腺素	有	14 (66.67)	4.778	0.029
	无	7 (33.33)		
QT 间期延长	是	12 (57.14)	4.088	0.043
	否	9 (42.86)		
cTnI ≤ 0.09 μg/L	3 (14.29)	49 (42.61)	6.032	0.014
Mb ≤ 80 ng/mL	3 (14.29)	53 (46.09)	7.414	0.006
miR-133 ≥ 3.1	1 (4.76)	47 (40.87)	10.292	0.001

表 4 影响 AVM 患儿预后的独立危险因素分析

Table 4 Analysis of independent risk factors affecting the prognosis of children with AVM

影响因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
使用肾上腺素 (有 vs 无)	0.639	0.325	8.295	1.895	1.002~3.582	0.023
QT 间期延长 (是 vs 否)	0.674	0.342	8.374	1.962	1.004~3.836	0.016
cTnI (>0.09 μg/L vs ≤0.09 μg/L)	0.833	0.415	8.942	2.300	1.020~5.188	<0.001
Mb (>80 ng/mL vs ≤80 ng/mL)	0.842	0.408	9.098	2.321	1.043~5.164	<0.001
miR-133 (<3.1 vs ≥3.1)	0.925	0.459	9.157	2.522	1.026~6.201	<0.001

2.4 影响 AVM 患儿预后的独立危险因素分析

经 Logistic 回归模型分析得:使用肾上腺素、QT 间期延长、cTnI > 0.09 μg/L、Mb > 80 ng/mL、miR-133 < 3.1 是影响 AVM 患儿预后的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

AVM 为我国儿童常见且多发的一种疾病,近年来发病率呈显著上升趋势^[11]。目前对于 AVM 的发病原因尚未完全明确,考虑与病毒感染直接造成心肌细胞的损伤有关^[12]。研究显示,病毒性心肌炎若未予以及时治疗,可能导致患者心律失常、心力衰竭以及肥厚性心肌病等严重后遗症的出现,加之 AVM 临床表现无明显特异性,致使早期诊断早期治疗存在一定难度^[13-14]。

cTnI 仅存在于心肌细胞中,外周血中含量极少。研究显示,在心肌细胞膜完整的情况下,cTnT 无法透出细胞膜进入血循环;而当心肌出现损伤时,心肌细胞破裂,致使 cTn I 释放进入血液循环^[15]。本研究结果中,研究组 cTnI 表达水平明显高于对照组,这与既往研究结果相似^[16],表明可将 cTn I 作为判断心肌损伤的重要血清标志物。究其原因,由于心肌的炎症致使心肌细胞膜的稳定性遭到破坏,胞浆中游离的 cTnT 被释放,致使血清中 cTnT 的表达水平升高。

Mb 为早期监测心肌损伤的较为理想的一个生化指标,属于亚铁血红素的低分子色素蛋白的

一种,广泛存在于心肌和骨骼肌的细胞中,当肌细胞膜完整性破坏后,由于Mb的分子量较小,Mb可快速被释放出来并进入血液中^[17]。Escherich等^[18]研究指出,Mb水平在AVM患儿中存在明显升高,这与本研究结果一致。这可能是由于病毒导致心肌病变部位的供氧减少,炎症细胞浸润,引发间质水肿,致使细胞凋亡、坏死,加之胞膜的受损造成了细胞膜的通透性出现改变,引发了心肌细胞中Mb的释放,使得Mb在血液中含量的上升,可见Mb可能与AVM患儿疾病的发生、发展存在一定的关联。

miR-133起源于心肌以及骨骼肌中,具有横纹肌组织特异性,其参与调控心肌细胞的增生、分化、肥大以及凋亡的过程,与心肌细胞损伤存在一定的关联。研究指出,miR-133在心肌肥厚及心肌梗塞的动物模型中呈异常表达状态^[19]。本研究结果提示miR-133可作为诊断AVM的有效指标。ROC曲线分析显示,cTnI、Mb、miR-133三者联合检测对AVM诊断价值的AUC最大,说明通过联合检测三者表达水平对诊断AVM具有一定价值。Logistic回归模型分析显示,使用肾上腺素、QT间期延长及cTnI>0.09 μg/L、Mb>80 ng/mL、miR-133<3.1是影响AVM患儿预后的独立危险因素。可见cTnI、Mb、miR-133可作为AVM患儿预后评估的重要指标,提示临床需加强对于患儿上述因子的观察,以改善预后。

综上所述,cTnI、Mb、miR-133在AVM患儿中呈异常表达,联合检测三者可作为诊断AVM及预后观察的有效手段。

参考文献

- [1] 周飞,滕林,邹文博,等. RIP3/CaMK II 信号通路对重症病毒性心肌炎小鼠心脏功能及生存曲线的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(1): 146-150.
- [2] Arnoldo P, Giovanni M, Matteo P, et al. Diagnosis, Treatment Response, and Prognosis: The Role of 18F-DOPA PET/CT in Children Affected by Neuroblastoma in Comparison with 123I-mIBG Scan: The First Prospective Study[J]. J Nucl Med, 2020, 61(3): 119-123.
- [3] 李舟文. NT-proBNP 在小儿病毒性心肌炎诊断和心功能评估中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016, 8(3): 178-181.
- [4] Yan M, Wang J, Wang S, et al. Expression Levels of MicroRNA-146b and Anti-Cardiac Troponin I in Serum of Children with Viral Myocarditis and Their Clinical Significance [J]. Iran J public Health, 2021, 50(3): 446-449.
- [5] Zhang L, Sun J, Zhang M, et al. The Significance of Combined Detection of CysC, Urinary mAlb and β2-MG in Diagnosis of the Early Renal Injury in Pregnancy-induced Hypertension Syndrome[J]. Saudi J Biol Sci, 2019, 26(8): 259-263.
- [6] 吕爱婷,冯迎军,孙琪青,等. 病毒性心肌炎患儿外周血中微小RNA-98的表达及其对凋亡相关蛋白/凋亡相关蛋白配体表达的影响[J]. 新乡医学院学报, 2018, 35(10): 889-894.
- [7] 吴蓉洲. 儿童病毒性心肌炎发病机制研究进展[J]. 中国实用儿科杂志, 2021, 36(5): 355-359.
- [8] 罗玉兰,叶久明,胡世蓉,等. 动态心电图与心肌损伤标志物诊断急性病毒性心肌炎的价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2018, 21(3): 293-297.
- [9] 刘蒙蒙,赵翠芬,孔清玉,等. miR-1/133对病毒性心肌炎小鼠心肌细胞离子通道表达的影响[J]. 山东大学学报(医学版), 2016, 54(8): 6-11.
- [10] 赵妍,王文尧,田间,等. 合并低三碘甲状腺原氨酸综合征对急性病毒性心肌炎患者不良心血管事件的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(6): 447-451.
- [11] Ayse SS. Developments of children with hearing loss according to the age of diagnosis, amplification, and training in the early childhood period[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2019, 276(9): 2457-2463.
- [12] Chrysa A, Kyriaki H, Margarita T, et al. The role of adiponectin, LEPTIN, and ghrelin in the progress and prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Leuk Lymph, 2019, 60(9): 268-271.
- [13] Bernardo CD, Héctor SM, Nancy R, et al. Role of Overweight, Obesity, and Comorbidities in the Prognosis of Patients With Breast Cancer With Brain Metastases [J]. Clin Breast Cancer, 2019, 19(2): 432-436.
- [14] 史晓娟,王晶晶,谭鑫. 小儿病毒性心肌炎诊断中血清高敏C反应蛋白、肌酸激酶同工酶以及心肌肌钙蛋白I联合检测的价值[J]. 心肺血管病杂志, 2018, 37(3): 218-220, 224.
- [15] Zheng YY, Luo YY, Chen XX, et al. The role of mRNA in the development, diagnosis, treatment and prognosis of neural tumors[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 389-395.
- [16] 王成钢,刘飞,赵雪东,等. 血清淀粉样蛋白A及肌钙蛋白I对病毒性心肌炎的诊断价值[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(4): 449-451.
- [17] 乔娅,陈海英. 干扰素联合生脉治疗小儿重症病毒性心肌炎的效果及对血清CK、CK-MB、cTnI的影响[J]. 现代医学, 2019, 47(11): 1360-1364.
- [18] Escherich G, Wos K, Schramm F, et al. Amsacrine, Etoposide and Methylprednisolone As Part of the Therapy Intensification in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia: A Retrospective Analysis in the Trial Coall 08-09[J]. Blood, 2018, 132(S1): 195-201.
- [19] Noguchi K, Tomita H, Kanayama T, et al. Time-course analysis of cardiac and serum galectin-3 in viral myocarditis after an encephalomyocarditis virus inoculation [J]. PloS one, 2019, 14(1): 446-449.

· 论 著 ·

心力衰竭合并肺动脉高压患者 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平变化及临床意义

孙彦彦^{1*} 卢甲¹ 王卫平²

[摘要] 目的 分析心力衰竭合并肺动脉高压患者血液前半乳糖凝集素 3(Gal-3)、高迁移率组蛋白 B1(HMGB1)及和肽素(copeptin)的水平变化及临床意义。方法 选取 2019 年 6 月至 2020 年 6 月河南省胸科医院收治的 108 例心力衰竭合并肺动脉高压(观察组),根据肺动脉压分为轻度组 43 例和中重度组 65 例;选取同期收治的 102 例单纯心力衰竭患者作为对照组。比较不同人群、不同肺动脉压分级患者 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平变化,分析 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 与肺动脉压分级的相关性以及对心力衰竭合并肺动脉高压诊断价值。结果 观察组 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。轻度组 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平均明显低于中重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 检验结果显示,Gal-3、HMGB1 及 copeptin 与肺动脉压分级为正相关($P<0.05$)。ROC 曲线结果显示,Gal-3+HMGB1+copeptin 三者联合者诊断心力衰竭合并肺动脉高压灵敏度和特异度分别为 86.10%、76.20%,AUC=0.826,明显高于三者单独检测($P<0.05$)。结论 心力衰竭合并肺动脉高压者 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 表达均上调,三者可为患者临床诊断提供参考依据。

[关键词] 肺动脉高压;左心衰竭;Gal-3;HMGB1;copeptin

Changes and clinical significance of Gal-3, HMGB1 and copeptin levels in patients with pulmonary hypertension and heart failure

SUN Yanyan^{1*}, LU Jia¹, WANG Weiping²

(1. Department of Cardiology, Henan Chest Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 441400; 2. Department of Cardiovascular Medicine, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 441400)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes and clinical significance of galectin 3 (Galectin 3, Gal-3), high mobility histone B1 (HMGB1) and copeptin (copeptin) levels in the blood of patients with pulmonary hypertension and heart failure. **Methods** 108 patients with heart failure and pulmonary hypertension admitted to this hospital from June 2019 to June 2020 (observation group) were selected. According to the pulmonary artery pressure, they were divided into a mild group of 43 cases and a moderate to severe group of 65 cases, 102 patients with simple heart failure admitted in the same period were selected as the control group. The changes in the levels of Gal-3, HMGB1 and copeptin in different groups and in patients at different grades of pulmonary artery pressure were compared, and the correlation between the levels of Gal-3, HMGB1 and copeptin and the grade of pulmonary artery pressure and the diagnostic value of heart failure with pulmonary hypertension were analyzed. **Results** The levels of Gal-3, HMGB1, and copeptin in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of Gal-3, HMGB1, and copeptin in the mild group were significantly higher

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019020815)

作者单位:1. 河南省胸科医院心血管内科,河南,郑州 441400

2. 郑州大学第五附属医院心血管内科,河南,郑州 441400

*通信作者:孙彦彦, E-mail: syy13526600983@163.com

than those in the moderate-to-severe group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Pearson test showed that Gal-3, HMGB1 and copeptin were positively correlated with the pulmonary artery pressure classification ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the sensitivity and specificity of Gal-3 + HMGB1 + copeptin in the diagnosis of heart failure with pulmonary hypertension were 86.10% and 76.20%, respectively, and the AUC=0.826, which was significantly higher than that of the three alone ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of Gal-3, HMGB1 and copeptin were all up-regulated in patients with heart failure complicated with pulmonary hypertension, which can provide reference for the clinical diagnosis of patients.

[KEY WORDS] Pulmonary hypertension; Left heart failure; Gal-3; HMGB1; copeptin

近年来心力衰竭发病率、死亡率有明显增高趋势,心力衰竭易引起肺动脉高压,心力衰竭合并肺动脉高压患者较肺动脉压力正常者预后更差^[1]。早期对患者做出明确诊断,是改善患者预后、降低死亡率的关键。半乳糖凝集素 3(Galectin 3, Gal-3)是凝集素家族中重要的成员之一,在肿瘤转移、细胞黏附、细胞凋亡等多种病理生理过程中发挥着重要的作用,以往有研究显示,在心力衰竭患者中 Gal-3 水平明显升高,且升高者预后情况不佳^[2]。高迁移率组蛋白 BI(High mobility histone B1, HMGB1)是具有特征性损伤相关分子模式分子,参与组织修复、重构、血管再生等,有研究显示,其与肺动脉高压患者病情进展有密切的联系^[3]。研究发现,和肽素(Copeptin)可代替血液循环中的精氨酸加压素,其水平变化与心血管疾病存在密切的联系,可作为心血管疾病诊断标志物^[4]。基于此,本文通过分析心力衰竭合并肺动脉高压患者血液中 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平变化,探究其临床意义,为临床诊断及治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 6 月至 2020 年 6 月河南省胸科医院收治的 108 例心力衰竭合并肺动脉高压患者(观察组),其中男 76 例,女 32 例,平均年龄(69.26±2.55)岁。纳入标准:①临床资料完整;②符合 2018《中国心力衰竭诊断和治疗指南》中相关诊断

标准^[5];③符合《中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021 版)》中相关诊断标准^[6];排除标准:①合并慢性阻塞性肺疾病、肺栓塞、结缔组织疾病、门静脉疾病等;②为感染或其他原因导致的肺动脉高压;③心房纤颤者;④合并恶性肿瘤者。另选取本院同期收治的 102 例单纯心力衰竭患者作为对照组,均为单纯心衰患者,无肺动脉高压或其他影响本研究疾病史,其中男 69 例,女 33 例,平均年龄(69.37±2.46)岁,两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平检测

于患者入院后次日清晨抽取空腹静脉血液 5 mL,使用 3 000 r/min 离心机离心 5 min,吸取上清液,放置-80℃冰箱内待检。使用酶联免疫吸附法检测 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平, Gal-3、HMGB1 试剂盒由美轩生物科技有限公司提供, copeptin 试剂盒江苏南京基蛋生物科技有限公司提供,所有操作均严格按照试剂所配套说明书进行。

1.2.2 肺动脉高压分级检测^[6]

观察组均进行超声心动图检测,按照伯努利方程计算肺动脉压根据肺动脉压进行分级:轻度:肺动脉压 35~45 mmHg,中重度>45 mmHg。

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($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料采用 $n(\%)$

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

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

组别	n	性别(男/女)	ALT(U/L)	Cr($\mu\text{mol/L}$)	LDL-C	NYHA 分级	
						I~II 级	III~IV 级
观察组	108	76/32	13.26±3.61	55.18±10.34	2.12±0.31	71(65.74)	37(34.26)
对照组	102	69/33	13.11±3.52	55.01±10.15	2.14±0.54	68(66.67)	34(33.33)
t/χ^2 值		0.182	0.304	0.120	0.331		0.020
P 值		0.669	0.761	0.904	0.740		0.887

表示,采用 χ^2 检验;Gal-3、HMGB1及coceptin与肺动脉压分级相关性使用Pearson检验分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析Gal-3、HMGB1及coceptin检测对左心衰竭合并重肺动脉高压的诊断价值,计算曲线下面积(AUC),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群中Gal-3、HMGB1及coceptin水平比较

观察组Gal-3、HMGB1及coceptin水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同人群中Gal-3、HMGB1及coceptin水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of Gal-3, HMGB1 and coceptin levels in different populations ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Gal-3(pg/mL)	HMGB1(μ g/L)	Copeptin(ng/mL)
对照组	102	24.16 \pm 3.18	7.21 \pm 2.32	12.11 \pm 2.45
观察组	108	43.07 \pm 6.79	10.57 \pm 5.11	19.67 \pm 4.65
t值		25.584	6.075	14.614
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同肺动脉压分级患者中Gal-3、HMGB1及coceptin水平比较

轻度组43例,中重度组65例,轻度组Gal-3、HMGB1及coceptin水平均明显低于中重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 不同肺动脉压分级患者中Gal-3、HMGB1及coceptin水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of Gal-3, HMGB1 and coceptin levels in patients with different pulmonary artery pressure grades ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Gal-3(pg/mL)	HMGB1(μ g/L)	coceptin(ng/mL)
轻度组	43	31.26 \pm 3.14	8.33 \pm 2.34	13.87 \pm 2.21
中重度组	65	50.88 \pm 3.65	12.06 \pm 2.77	23.51 \pm 2.44
t值		27.548	7.275	6.163
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 Gal-3、HMGB1及coceptin与肺动脉分级相关性

经Pearson检验可知, Gal-3、HMGB1及coceptin与肺动脉压分级为正相关($r=0.378$ 、 0.715 、 0.462 , P 均 <0.05)。

2.4 Gal-3、HMGB1及coceptin对心力衰竭合并肺动脉高压者诊断价值

ROC曲线可知, Gal-3+HMGB1+coceptin三者联合者诊断心力衰竭合并肺动脉高压灵敏度和特异性明显高于三者单独检测($P<0.05$)。见表4,图1。

表4 Gal-3、HMGB1及coceptin对心力衰竭合并肺动脉高压者诊断价值

Table 4 The diagnostic value of Gal-3, HMGB1 and coceptin in patients with left heart failure and pulmonary hypertension

预测因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P值
Gal-3	0.736	0.604~0.868	0.639	0.624	<0.001
HMGB1	0.753	0.622~0.884	0.705	0.699	<0.001
coceptin	0.769	0.668~0.896	0.774	0.713	<0.001
Gal-3+HMGB1+coceptin	0.826	0.704~0.927	0.861	0.762	<0.001

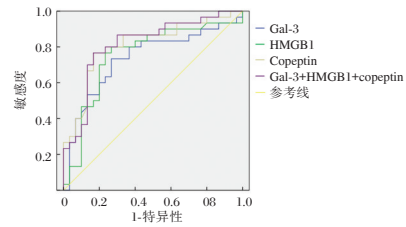


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

心力衰竭合并肺动脉高压后期生活质量和活动耐量均会明显下降,患者致残率、死亡率则会明显增加。Gal-3可刺激单核细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等引起一系列炎症反应,导致大量胶原纤维在心肌细胞外基质中聚集,改变胶原浓度及成分,从而导致心肌纤维变化,进一步造成慢性心力衰竭^[6]。以往研究发现,存在心力衰竭的大鼠血液中Gal-3水平明显高于健康大鼠,对健康大鼠持续注入Gal-3可导致心室重构,随着时间推移,大鼠可出现不同程度的心力衰竭,提示Gal-3参与了心力衰竭的发生和发展^[7]。目前有多个研究证实,在左心室充盈后可导致肺动脉压力增加,心力衰竭后并发肺动脉压患者血清中Gal-3水平明显升高,提示Gal-3可能与心力衰竭后并发肺动脉压之间存在密切的联系^[8-9]。

近年来研究显示,血管周围的炎症反应程度与血管壁厚度、平均肺动脉压力之间存在高度相关性^[10]。肺动脉高压患者在病理检查中可见其肺血管病变处有单核、淋巴、巨噬细胞的浸润。HMGB1属于高度保守蛋白质,在细胞内外均可发挥生物作用。目前有研究显示,在特发性的肺动脉高压患者中其HMGB1表达水平高于普通人群6倍,且与患者超声心动图估测的平均肺动脉压力为正相关^[11]。动物实验发现,由慢性缺氧引起的肺动脉高压小鼠其肺泡灌洗液、肺泡组织中的

HMGB1 均明显升高,而在使用抗 HMGB1 治疗后减轻小鼠心室收缩压和肥厚程度,抑制炎症因子、细胞黏附因子升高,说明 HMGB1 与机体炎症、内皮功能紊乱存在一定的联系^[12]。

copeptin 作为血管加压素的前体,是精氨酸加压素原 C 末端的一部分。Copeptin、精氨酸加压素两者均是机体中重要的激素,参与机体的应激反应,在发生缺氧、酸中毒、低血压等情况时,二者会被同时释放入血液中。Copeptin 作为多肽片段稳定性高于精氨酸加压素,除了可在肾脏排泄外在体内几乎不降解,易被临床检测,是精氨酸加压素的理想代替指标^[13]。近年有研究显示,Copeptin 表达水平与心力衰竭密切相关,且是预测心力衰竭患者病死率的独立因子^[14]。朱凤喜等^[15]研究证实,精氨酸加压素异常激活是心衰重构的重要体液因素,在心肌重构中有重要作用,并参与心力衰竭发生发展。

本研究结果显示,观察组 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平明显高于对照组,且随着患者动脉压分级升高,Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平也呈逐渐上升趋势,分析和患者肺动脉压力和肺动脉阻力的进一步增加以及心肌收缩力增加无法代偿压力,导致神经内分泌系统被激活,机体氧化应激及炎症情况随之加重有关。结合上述文献分析,提示 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 与心力衰竭患者形成肺动脉高压之间密切相关。进一步行相关性分析可知,Gal-3、HMGB1 及 copeptin 与肺动脉分级为正相关,说明三者表达水平与患者病情程度密切相关。进一步绘制 ROC 曲线显示,Gal-3、HMGB1 及 copeptin 三者联合诊断心力衰竭合并肺动脉高压临床价值高于单独诊断,提示监测三因子水平变化可为患者病情程度评估提供参考。

综上所述,心力衰竭合并肺动脉高压患者 Gal-3、HMGB1 及 copeptin 水平显著升高,且三因子与患者病情严重程度密切相关,可作为此病诊断以及评估病情严重程度的有效指标。

参考文献

- [1] 张志亮,张鑫,高卫芳,等.大株红景天注射液治疗冠心病合并心力衰竭疗效及对患者血清 HCY、Gal-3、NT-proBNP 水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(5):611-615.
- [2] 刘双,李承红.慢性肺心病失代偿期患者血清半乳糖凝集素-3 的检测及临床意义[J].检验医学与临床,2019,16(9):103-105.
- [3] 陈丰,苏强,朱继金.高迁移率族蛋白 B1 在心脏炎症反应性疾病中的研究进展[J].心血管病学进展,2019,40(8):1111-1114.
- [4] 袁桂莉,郭继忠,要彤,等.和肽素及 Tei 指数诊断急性心肌梗死后心力衰竭的临床价值[J].疑难病杂志,2019,18(6):545-548.
- [5] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组,中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会,全国肺栓塞与肺血管病防治协作组,等.中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021版)[J].中华医学杂志,2021,101(1):11-51.
- [7] Simpson CE, Damico RL, Hassoun PM, et al. Noninvasive prognostic biomarkers for left heart failure as predictors of survival in pulmonary arterial hypertension [J]. Chest, 2020, 157(6):124-126.
- [8] Bae S, Kim KH, Yoon HJ, et al. Clinical impact of echocardiography-defined pulmonary hypertension on the clinical outcome in patients with multiple myeloma[J]. Medicine, 2020, 99(43):56-57.
- [9] Tossavainen E, Wikström G, Henein MY, et al. Passive leg-lifting in heart failure patients predicts exercise-induced rise in left ventricular filling pressures [J]. Clin Res Cardiol, 2019, 109(1):12-13.
- [10] Adler J, Gerhardt F, Wissmüller M, et al. Pulmonary hypertension associated with left-sided heart failure [J]. Curr Opin Cardiol, 2020, 4(1):79-78.
- [11] 黄晓莉,郝君锋.慢性心力衰竭患者心功能及血浆 copeptin 和 NT-proBNP 检测及临床意义[J].海南医学,2020,31(10):1241-1244.
- [12] Sharma S, Fox H, Aguilar F, et al. Positive Airway Pressure Therapy Reduces Pulmonary Hypertension in Patients Admitted for Acute Heart Failure with Pulmonary Hypertension and Obstructive Sleep Apnea[J]. Sleep, 2019, 42(7):ZS2100.
- [13] Zelt J, Chaudhary KR, Cadete VJ, et al. Medical Therapy for Heart Failure Associated With Pulmonary Hypertension [J]. Circ Res, 2019, 124(11):1551-1567.
- [14] Satoh T, Wang L, Levine A, et al. Metabolic syndrome contributes to the pulmonary arterial dysfunction in pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction[J]. Eur Heart J, 2020, 41(2):2.
- [15] 朱凤喜,张虹.血清 Copeptin、FFA 与高血压合并心力衰竭患者心功能的相关性分析[J].标记免疫分析与临床,2020,27(2):293-298.

PKRP、TURP 治疗前列腺增生疗效及对 ET-1、PGE2 和 IL-6 的影响

秦悦 白冰 张海芳*

[摘要] **目的** 探讨经尿道等离子双极电切术(PKRP)、经尿道前列腺电切术(TURP)治疗前列腺增生疗效及对内皮素-1(ET-1)、前列腺素 E2(PGE2)、白介素-6(IL-6)的影响。**方法** 分析2018年4月至2020年4月安阳市人民医院收治的122例前列腺增生患者,根据不同治疗方式分为研究组(PKRP治疗, $n=63$)和对照组(TURP治疗, $n=59$)。比较两组临床疗效、手术相关情况、ET-1、PGE2、IL-6水平及并发症发生率。**结果** 研究组总有效率(92.06%)与对照组(94.92%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。研究组手术时长、术中出血量、住院时间少于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与术前相比,术后两组 ET-1、PGE2、IL-6 水平均上升,但对照组 ET-1、PGE2、IL-6 水平较研究组上升更为明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。研究组术后并发症总发生率(6.35%)明显低于对照组(20.34%),差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** PKRP 与 TURP 治疗前列腺增生的临床疗效相当,但 PKRP 治疗创伤更小,术后恢复快,对 ET-1、PGE2、IL-6 的影响更小,且安全性较高,值得临床应用推广。

[关键词] 前列腺增生; ET-1; TURP; PKRP; PGE2

Efficacy of PKRP and TURP in the treatment of benign prostatic hyperplasia and their effects on ET-1, PGE2 and IL-6

QIN Yue, BAI Bing, ZHANG Haifang*

(Department of Urology, Anyang People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the efficacy of transurethral plasma kinetic resection of prostate (PKRP) and transurethral resection of the prostate (TURP) in the treatment of benign prostatic hyperplasia (BPH) and their effects on endothelin-1 (ET-1), prostaglandin E2 (PGE2), interleukin-6 (IL-6). **Methods** A total of 122 patients with BPH admitted to Anyang People's Hospital from April 2018 to April 2020 were analyzed. According to the different treatment methods, they were divided into the study group (PKRP treatment, $n=63$) and the control group (TURP treatment, $n=59$). The clinical efficacy, surgical-related conditions, levels of ET-1, PGE2, IL-6, and the incidence of complications were compared between the two groups. **Results** There was no significant difference in the total effective rate between the study group (92.06%) and the control group (94.92%) ($P>0.05$). The length of operation, intraoperative blood loss, and length of hospital stay in the study group were less than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with before operation, the levels of ET-1, PGE2, and IL-6 increased in the two groups after operation, but the levels of ET-1, PGE2 and IL-6 in the control group increased more significantly than those in the study group ($P<0.05$). The total incidence of postoperative complications in the study group (6.35%) was significantly lower than that in the control group (20.34%), and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The clinical efficacy of PKRP and TURP in the treatment of benign prostatic hyperplasia is similar, but PKRP treatment has less trauma, faster

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018062103)

作者单位:安阳市人民医院泌尿外科,河南,安阳 455000

*通信作者:张海芳, E-mail: zhanghaifang1965@163.com

postoperative recovery, less impact on ET-1, PGE2, IL-6, and higher safety, which is worthy of clinical application and promotion.

[KEY WORDS] Prostate hyperplasia; ET-1; TURP; PKRP; PGE2

前列腺增生好发于55岁以上老年男性,为泌尿外科的常见病,其发生与年龄、性激素水平、糖尿病人群、泌尿系感染及低身体质量指数等有关^[1]。前列腺增生可表现为组织学上的前列腺间质和腺体成分增生、解剖学上前列腺增大、引起尿路障碍为主的临床症状和尿动力学上膀胱出口梗阻^[2]。经尿道前列腺电切术(Transurethral resection of the prostate, TURP)为当前前列腺增生常用的治疗方式,虽取得一定的临床效果,但该治疗方式术后易出现出血、膀胱颈挛缩、尿失禁、尿道狭窄等并发症^[3]。随着医疗器械的不断创新发展,经尿道等离子双极电切术(Transurethral plasma kinetic resection of prostate, PKRP)被逐渐应用于前列腺增生的治疗中。本研究就PKRP、TURP治疗前列腺增生疗效及对内皮素-1(Endothelin-1, ET-1)、前列腺素E2(Prostaglandin E2, PGE2)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)的影响进行分析,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 基本资料

选取2018年4月至2020年4月安阳市人民医院诊治的122例前列腺增生患者,根据不同治疗方式分为对照组(TURP治疗, $n=59$)和研究组(PKRP治疗, $n=63$)。其中研究组平均年龄(62.43 ± 6.18)岁,平均病程(3.78 ± 1.06)年。对照组平均年龄(64.28 ± 7.05)岁,平均病程(4.01 ± 1.22)年。两组基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①诊断皆满足《中国泌尿外科疾病诊断治疗指南》^[4]的标准,并结合实验室检查、影像学检查明确诊断;②无手术禁忌症或不符合本次手术指征者;③所有患者的临床资料均完整;④本研究经医院伦理委员会批准且患者及家属均同意参加本次研究,并签署相关协议。排除标准:①合并血液系统疾病、免疫系统疾病者;②存在恶性肿瘤者;③凝血功能障碍者;④存在严重感染者;⑤存在肝肾功能不全者,存在心、脑、血管等重要脏器严重疾病者;⑥存在膀胱颈纤维化、尿路狭窄、逼尿肌无力者;⑦精神疾病或存在相关家族史者。

1.2 方法

两组患者皆采取腰麻联合硬膜外麻醉,手术

过程中取截石位。

研究组予以PKRP治疗:采用珠海司迈等离子双极电切镜,设置电凝功率为100 W~120 W,设置电切功率为140 W~180 W,冲洗液:生理盐水。将等离子双极电切镜从患者尿道置入膀胱,仔细观察前列腺情况,待观察完毕后,自膀胱颈口6点位置切至精阜,自12点处切至前列腺增生腺体直至包膜,再自内至外将两侧叶切除,切除完毕后进行尖部、创面的修整,电刀止血,并对残留的组织予以吸除再对膀胱进行冲洗,最后将导尿管留置。对照组予以TURP治疗:采用美国顺康电切镜,电凝率设置为60 W~80 W,电切率设置为150 W~160 W,灌洗液:5%甘露醇,手术方法同研究组。

抽取两组手术前后5 mL空腹静脉血,离心($3\ 000\ r/min, 15\ min, r=10\ cm$)后取上清液,置 -20°C 中保存。采用酶联免疫吸附法测定ET-1、PGE2、IL-6水平,试剂盒为上海士锋生物科技有限公司生产,具体方法均严格按照操作说明书执行。

1.3 观察指标

治愈:患者无尿急、尿频、排尿困难等症状,国际前列腺症状评分^[5](International prostate symptom score, IPSS)较前降低90%及以上;显效:患者尿急、尿频、排尿困难等症状基本消失,IPSS评分降低60%~89%;有效:患者尿急、尿频、排尿困难等症状较前明显缓解,IPSS评分较前降低30%~59%;无效:患者仍存在尿频、尿急、排尿困难等症状,IPSS评分降低 $<30\%$ 。[(治愈数+有效数+显效数)/总例数] $\times 100\%$ =临床总有效率。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

两组总有效率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 两组手术相关情况比较

研究组及对照组切除腺体重量及导尿管留置时间比较差异统计学意义($P>0.05$),研究组术中

手术操作会导致组织损伤,组织损伤会造成炎症因子水平的上升,而炎症因子水平的上升可引起血管内皮功能的受损,致使血小板功能的活跃,从而导致高凝状态引起微循环障碍^[13]。ET-1作为反映血管内皮细胞功能的重要指标,能够刺激血小板活性提高,引起微循环障碍加重,血管痉挛,脑神经细胞受损伤等症状^[14]。PGE2为前列腺素类转化而成的血管活性物质,是体内重要的炎性介质,亦属于能引起机体疼痛的一种内源性化学物质^[15]。IL-6是炎症因子的一种,当出现手术造成的组织损伤后,会引起IL-6的大量产生^[16]。

本研究中,术后两组ET-1、PGE2、IL-6水平均上升,说明了炎症反应和血管内皮损伤为患者术后的常见情况,而对照组较研究组上升更为明显,说明PKRP治疗对机体造成的创伤更小。此外,研究组术后并发症总发生率明显低于对照组,这与既往Wang等^[17]研究结果相似,说明PKRP治疗前列腺增生的安全性较TURP治疗更高。这是由于使用PKRP治疗过程中并不会会有电流通过人体,有效减少了对神经的损伤,且切割温度较低,对周围组织的创伤更小,减少了对于尿道的刺激,加之PKRP在切割后可快速形成0.5 mm厚的凝固层,使深层小静脉、小动脉以及毛细血管迅速闭合,切割的同时止血效果较好,使PKRP治疗术后继发性出血的概率小。但目前PKRP治疗仍存在一些不足,由于等离子电切环使用时间较长时易出现“断离”现象,致使电切环有可能遗留在膀胱或尿道内,这可能也是PKRP未能替代TURP成为前列腺增生外科治疗金标准的原因。

综上所述,PKRP与TURP治疗前列腺增生的临床疗效相当,但PKRP治疗创伤更小,术后恢复快,对ET-1、PGE2、IL-6的影响更小,且安全性较高,值得临床应用推广。

参考文献

- [1] 陈金虎,张贤生,张翼飞,等.绿激光前列腺汽化术在口服抗凝药物前列腺增生患者中的应用[J].临床泌尿外科杂志,2019,7(4):4-7.
- [2] 王乃潮.经尿道等离子切除术治疗前列腺增生症的临床疗效分析[J].中外医疗,2018,37(11):85-86,89.
- [3] Lian C, Rongfen C, Smriti S, et al. Efficacy and safety of biologics targeting IL-17 and IL-23 in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Int Immunoph, 2018, 62(2): 46-58.
- [4] 《泌尿外科杂志(电子版)》编辑部.《中国泌尿外科疾病诊断治疗指南》2011版[J].泌尿外科杂志(电子版),2011,3(3):54-55.
- [5] 毕晓方,平秦裕,王春晖,等.阴茎游离皮片背侧镶嵌成形术治疗TURP术后前尿道狭窄的疗效分析[J].中华泌尿外科杂志,2019,40(12):915-919.
- [6] 王胜利,孙毅伦,孙超,等.经尿道双极等离子前列腺切除术治疗良性前列腺增生症的疗效及对尿道和性功能的影响[J].中国内镜杂志,2019,25(4):49-53.
- [7] Frego N, Saita A, Casale P, et al. Feasibility, safety, and efficacy of ultrasound-guided transperineal laser ablation for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a single institutional experience [J]. World J Urol, 2021, 39(12): 1438-1441.
- [8] 冯国亮,张建伟,徐泉泉,等.IGFIR与前列腺癌发生发展及预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(3):327-331.
- [9] Jia P H, Jia M L, Yan M W, et al. Efficacy of xenogeneic collagen matrix in the treatment of gingival recessions: A systematic review and meta-analysis [J]. Oral Dis, 2019, 25(4): 387-389.
- [10] 许文景,陈明.经尿道前列腺电切术疗效与良性前列腺增生患者术前非手术因素关系的研究进展[J].东南大学学报(医学版),2019,38(4):737-741.
- [11] Hsu FS, Chou CW, Chang HC, et al. Comparison of Multi-pulse Laser Vaporessection versus Plasmakinetic Resection for Treatment of Benign Prostate Obstruction [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 389-347.
- [12] Xu XJ, Li J, Huang XZ, et al. An updated meta-analysis of prostatic arterial embolization versus transurethral resection of the prostate in the treatment of benign prostatic hyperplasia [J]. World J Urol, 2020, 38(10): 2455-2468.
- [13] Nunzio CD, Salonia A, Gacci M, et al. Inflammation is a target of medical treatment for lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia [J]. World J Urol, 2020, 38(11): 445-449.
- [14] Dearakhshandeh N, Mogheiseh A, Nazifi S, et al. Treatment of experimentally induced benign prostatic hyperplasia with Tadalafil and castration in dogs [J]. Theriogenology, 2019, 73(10): 1433-1438.
- [15] 张刚,李航,韩湘,等.沙巴棕辅助治疗对良性前列腺增生患者EGF和PGE2的影响[J].中国性科学,2019,28(7):23-27.
- [16] Wang S, Guo X, Long CL, et al. SUR2B/Kir6.1 channel openers correct endothelial dysfunction in chronic heart failure via the miR-1-3p/ET-1 pathway [J]. Biomed Pharmacoth, 2019, 38(14): 431-439.
- [17] Wang S, Li Y, Li W, et al. Curcuma oil ameliorates benign prostatic hyperplasia through suppression of the nuclear factor-kappa B signaling pathway in rats [J]. J Ethnoph, 2020, 42(4): 703-709.

蚌埠地区 3 408 例女性宫颈 HPV 感染状况及基因亚型分布

王中安 郭清江* 乔林爽 郭鹏飞

[摘要] **目的** 研究蚌埠地区女性宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染状况及基因亚型分布特征,为该地区疫苗接种、宫颈癌早期防治提供数据参考。**方法** 选取2016年7月至2019年12月在蚌埠市第一人民医院及周边社区医院进行 HPV 检测的门诊、住院患者及健康体检女性 3 408 例,采用聚合酶链反应(PCR)-膜杂交法进行 HPV 21 种基因分型检测,并对结果进行统计分析。**结果** 3 408 例受检者中共检测出 HPV 感染阳性患者 810 例,总检出率为 23.77%,各年龄段比较差异有统计学意义($\chi^2 = 1.712, P < 0.05$),单一感染模式人数最多,占全部阳性患者的 73.09%,主要亚型为 HPV16 型;多重感染模式中,以二重感染人数居首,占全部阳性患者的 19.39%,占全部参检人数的 4.61%,主要亚型组合为 HPV16 型+HPV52 型;亚型分布中高危型占 85.31%,低危型占 14.69%,高危型位列前五名的分别是 HPV16(4.67%)、HPV52(3.55%)、HPV58(2.88%)、HPV51(2.73%)、HPV53(2.61%);低危型位列前三名的分别是 HPV6(1.41%)、HPV11(1.32%)、HPVCP8304(1.17%)。**结论** 蚌埠地区 HPV 感染率较高,亚型分布丰富且以高危型为主,卫生部门应加强防治措施,建议适龄女性定期筛查并接种多价疫苗。

[关键词] 人乳头瘤病毒; HPV 感染; HPV 基因亚型; 蚌埠

HPV infection and gene subtype distribution in 3 408 women in Bengbu area

WANG Zhongan, GUO Qingjiang*, QIAO Linshuang, GUO Pengfei

(Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Bengbu, Bengbu, Anhui, China, 233000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the infection status and gene subtype distribution of human papillomavirus (HPV) in Bengbu area, and to provide data reference for vaccination and early prevention and treatment of cervical cancer. **Methods** From July 2016 to December 2019, 3408 outpatients, inpatients and healthy women who were tested for HPV in the first people's hospital of Bengbu and surrounding community hospitals were selected. PCR membrane hybridization was used to detect 21 types of HPV genes, and the results were statistically analyzed. **Results** A total of 810 positive patients with HPV infection were detected in 3 408 subjects, with a total detection rate of 23.77%, which was statistically significant among all age groups ($\chi^2 = 1.712, P < 0.05$). The single infection mode has the largest number, accounting for 73.09% of all positive patients, and the main subtype is HPV16. In the multiple infection mode, the number of double infections was the first, accounting for 19.39% of all positive patients, accounting for 4.61% of all participants, and the main subtype combination was HPV16 + HPV52; In the subtype distribution, high-risk types accounted for 85.31%, and low-risk types accounted for 14.69%. The top five high-risk types were HPV16 (4.67%), HPV52 (3.55%), HPV58 (2.88%), and HPV51 (2.73%), HPV53 (2.61%); The top three low-risk types were HPV6 (1.41%), HPV11 (1.32%), and HPVCP8304 (1.17%). **Conclusion** The HPV infection rate in Bengbu is relatively high, and the subtypes are abundant and mainly high-risk types. The health department should strengthen prevention and control measures, and it is recommended that women of appropriate age be screened regularly and vaccinated with multivalent vaccines.

[KEY WORDS] Human papillomavirus; HPV infection; HPV gene subtype; Bengbu

基金项目:蚌埠市科技局指导性项目(20170318)

作者单位:蚌埠市第一人民医院检验科,安徽,蚌埠 233000

*通信作者:王中安, E-mail: 310834399@qq.com

宫颈癌是女性好发恶性肿瘤之一,发病率及病死率分列女性肿瘤第二位,是当今女性健康的重大威胁^[1-2]。研究表明,宫颈癌的发生与发展和人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)的持续感染密切相关,且因所感染 HPV 基因亚型的不同而存在一定差异^[3]。近年来随着 HPV-DNA 分型检测的逐渐普及,越来越多的研究表明,女性 HPV 感染率及亚型分布情况因经济水平和生活方式的不同而呈现出区域性差异的特征^[4],因此进行区域性女性 HPV 感染情况研究,对于该地区宫颈癌的早期筛查及疫苗接种具有十分重要的指导意义^[5-6]。本研究对蚌埠地区女性宫颈 HPV 感染状况及亚型分布情况进行分析,以期了解该地区 HPV 感染状况及亚型分布特征,为该地区疫苗接种、宫颈癌早期防治提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2016年7月1日至2019年12月31日在蚌埠市第一人民医院及周边社区医院进行 HPV 检测的门诊、住院患者及健康体检女性,去除重复患者仅统计初次检测结果,共计3 408例,年龄17~80岁,将受检者年龄分为17~岁、20~岁、30~岁、40~岁、50~岁、≥60岁共6个年龄段,平均年龄(38.8±9.1)岁。纳入标准:提前告知检测项目并自愿参检;有既往性生活史;非月经期间;非妊娠期间。排除标准:无既往性生活史;采样检测时处于月经或妊娠期间;有既往子宫切除史。本研究经医院医学伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂

ABI 7500 Real Time PCR 仪购自美国 Thermo Fisher 公司,HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪、HPV21 种分型检测试剂盒(PCR-膜杂交法)(包含 HPV-DNA 提取试剂、PCR 反应试剂、核酸杂交试剂)以及配套的样本采集器均购自潮州凯普生物化学有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样本采集

使用棉拭子将宫颈口分泌物擦拭干净,将宫颈脱落细胞采取器的刷头置于宫颈口,顺时针旋转5周,取出宫颈刷,将其头部放入标有病人编号的取样管中,拧紧瓶盖迅速送检。

1.3.2 HPV-DNA 的提取

充分洗脱宫颈刷,取 500 μL 洗脱液 14 000 r/

min 离心 1 min 收集沉淀,加入 400 μL 裂解液混匀后 100℃加热 15 min,然后再加入 400 μL 异丙醇混匀,14 000 r/min 离心 5 min 收集沉淀,加入 60 μL 灭菌注射用水备用。

1.3.3 PCR 扩增

反应条件如下:95℃ 9 min;95℃ 20 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,共 40 个循环;72℃ 5 min。

1.3.4 膜杂交反应

利用 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪和凯普核酸杂交试剂盒,按照预杂交、杂交、封闭、酶标、显色的步骤,对 PCR 扩增产物进行分型检测,每批实验均设有阴、阳性对照,每个样本检测单元均设有生物素(Biotin)和内参(IC)对照。该试剂盒共可检测 21 种 HPV 基因亚型,包括 15 种高危亚型:HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV53、HPV56、HPV58、HPV59、HPV66、HPV68;6 种低危亚型:HPV6、HPV11、HPV42、HPV43、HPV44、HPVCP8304。

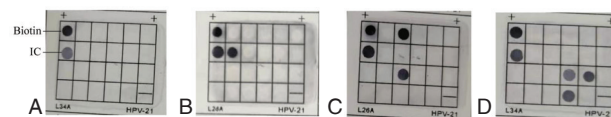
1.4 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计数资料以率 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,以 $\chi^2 < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCR-膜杂交法实验结果

HPV-DNA 扩增产物经过膜杂交实验后,结果符合试剂盒判定标准,实验对照及阴、阳性标本均有检出。如图 1 所示,A、B、C、D 四个实验结果分别提示样本为阴性、单一感染、双重感染和三重感染。



注:A为阴性样本;B为 HPV16 型;C为 HPV11 型+HPV51 型;D为 HPV52 型+HPV53 型+HPV68 型。

图1 HPV-DNA 膜杂交实验结果

Figure 1 Results of HPV-DNA membrane hybridization

2.2 HPV 感染检出情况

3 408 例样本中,共检测出 HPV 感染阳性患者 810 例,总检出率为 23.77%(810/3 408),2016–2019 四年中检出率呈现小幅上升趋势。见表 1。

表1 2016–2019年蚌埠地区 HPV 检出率 [n(%)]

Table 1 Detection rate of HPV in Bengbu area from 2016 to 2019 [n(%)]

年份	总例数	阳性例数	阴性例数
2016年	737	170(23.07)	567(76.93)
2017年	964	228(23.65)	736(76.35)
2018年	1196	286(23.91)	910(76.09)
2019年	511	126(24.66)	385(75.34)
合计	3 408	810(23.77)	2 598(76.23)

2.3 HPV 感染模式检出情况

对 810 例 HPV 感染阳性患者的感染模式分析后发现,单一感染模式人数最多,主要亚型为 HPV16 型。多重感染模式中,以二重感染人数居首,主要亚型组合为 HPV16 型+HPV52 型。多重感染模式中最多检出 8 种亚型同时感染。见表 2。

表2 蚌埠地区 HPV 感染模式检出情况

Table 2 Detection of HPV infection mode in Bengbu area

感染模式	感染例数 (n)	占阳性患者比例 (n=810, %)	感染率 (n=3 408, %)
单一	592	73.09	17.37
二重	157	19.39	4.61
三重	37	4.57	1.09
四重	16	1.98	0.47
五重	4	0.49	0.12
六重	1	0.12	0.03
七重	1	0.12	0.03
八重	2	0.25	0.06

2.4 不同年龄段 HPV 感染分布情况

各年龄段分组中,30~岁年龄段参检人数最多,但感染率却为所有年龄段最低,为 22.38% (254/1 135);17~岁年龄段参检人数最少,但感染率居首,为 44.44% (12/27)。各年龄段间 HPV 感染率比较差异具有统计学意义 ($\chi^2=1.712, P<0.05$)。见表 3。

表3 蚌埠地区不同年龄段 HPV 检出情况 [n(%)]

Table 3 Detection of HPV in different age groups in Bengbu area [n(%)]

年龄段 (岁)	参检人数	总感染例数	单一感染例数	多重感染例数
17~	27	12(44.44)	5(18.52)	7(25.92)
20~	687	172(25.04)	99(14.41)	73(10.63)
30~	1 135	254(22.38)	194(17.09)	60(5.29)
40~	1 033	239(23.14)	191(18.49)	48(4.65)
50~	444	111(25.00)	87(19.59)	24(5.41)
≥60	82	22(26.83)	16(19.51)	6(7.32)

2.5 HPV 感染患者中基因亚型分布情况

该款分型试剂盒所能检测的 21 种 HPV 基因

亚型在本次研究中均有检出,共检出各种亚型 1 130 次,其中高危型占 85.31% (964/1 130),低危型占 14.69% (166/1 130)。高危型中 HPV16(4.67%)、HPV52(3.55%)、HPV58(2.88%)位列前三,低危型中 HPV6(1.41%)、HPV11(1.32%)、HPVCP8304(1.17%)位列前三。在所有 21 种亚型中,检出率最高的为 HPV16,最低的为 HPV43。见表 4。

表4 蚌埠地区 HPV 感染患者亚型分布检出情况

Table 4 Detection of HPV gene subtypes distribution in Bengbu area

感染类型	HPV 基因亚型	检出例数 (n)	占阳性患者比例 (n=810, %)	感染率 (n=3 408, %)
高危型	HPV16	159	19.63	4.67
	HPV18	60	7.41	1.76
	HPV31	36	4.44	1.06
	HPV33	57	7.04	1.67
	HPV35	17	2.10	0.50
	HPV39	83	10.25	2.44
	HPV45	21	2.59	0.62
	HPV51	93	11.48	2.73
	HPV52	121	14.94	3.55
	HPV53	89	10.99	2.61
	HPV56	28	3.46	0.82
	HPV58	98	12.10	2.88
	HPV59	27	3.33	0.79
	HPV66	46	5.68	1.35
HPV68	29	3.58	0.85	
低危型	HPV6	48	5.93	1.41
	HPV11	45	5.56	1.32
	HPV42	11	1.36	0.32
	HPV43	4	0.49	0.12
	HPV44	18	2.22	0.53
	HPVCP8304	40	4.94	1.17

3 讨论

人乳头瘤病毒属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒 A 属,是一种球形 DNA 病毒,能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖,目前已分离出 130 多种,不同的型别可引起不同的临床表现^[1]。HPV 感染所诱发的女性宫颈癌变,发病率和致死率均位列目前女性肿瘤疾病的前列,成为危害女性健康和生命的重大威胁,近年来越来越引起临床医疗的高度关注^[3]。不同的区域、种族以及不同年龄段的女性感染的 HPV 亚型分布及各种亚型的感染率是有差异性的^[7-12]。本研究对蚌埠地区 2016–2019 年的 HPV 感染情况分析后发现,四年间 HPV 感染率均维持在 24% 上下,整体呈现一种缓慢上升趋势,需要引起该地区卫生防疫系统的重视。

本研究在蚌埠地区选取检测的 3408 例标本中,共检测出 HPV 感染阳性患者 810 例,总检出率为 23.77%,与罗仲秋等^[4]报道的成都地区 HPV 感染率(23.28%)基本相同,高于吴丹丹等^[8]报道的合肥地区 HPV 感染率(15.52%),但低于张亚丽等^[9]报道的郑州地区 HPV 感染率(33.38%)。不同地区报道的样本中感染率的差异可能与地理位置、经济水平、筛查技术以及取样手段有关。本地区检测方法不同于发达地区的自动化平台,目前手工化程度较高,民众对于 HPV 的知晓度和关注度也较低,生活习惯亦与其他地区存在一定差异,这些原因均可引起疾病检出率的不同。

本研究中所用分型试剂盒所能检测的 21 种 HPV 基因亚型在蚌埠地区均有检出,亚型分布丰富且以高危险为主。其中位列前三位的高危亚型与吴丹丹等^[8]报道的合肥地区检出情况相同,均为 HPV16、HPV52、HPV58 型。单个亚型感染率最高的为 HPV16 型,感染率为 4.67%,应当引起足够的重视,同为高致癌率基因亚型的 HPV18 型感染率相对较低,为 1.76%。虽然不同地区感染的顺序有些许差别,但各地区的高危亚型的总体分布趋于一致,均为 HPV52、HPV16、HPV58 型,符合我国的分布特点^[13-15]。不过蚌埠地区目前主要提供针对 16 和 18 亚型的二价疫苗接种服务,尚不能满足民众需求。

蚌埠地区不同年龄段直接 HPV 检出率存在一定差异。其中 20 岁以下年龄段检出率较高,可能与健康意识薄弱、年轻女性宫颈发育不成熟、免疫系统未被致敏,易受 HPV 感染有关等因素相关^[11]。30~49 岁年龄段检出率较低,可能因性伴侣较为固定,对于健康问题较为重视,并有一定的经济能力及及时应对,HPV 感染率较其他年龄组低^[10]。50~60 岁年龄段和 >60 岁年龄段的患者感染率较高,可能与绝经后雌激素下降、阴道皱襞消失、自身清除病毒能力降低等原因关系密切。胥莎莎等^[14]研究发现 HPV 感染患者的病毒清除速率与年龄呈负相关,50 岁以上年龄段女性的病毒清除时间显著长于年轻女性,与本研究结果相符,而且清除较慢的多为高危亚型,需要引起高龄女性的重视^[15]。

综上所述,本研究为蚌埠地区女性后续 HPV 感染的诊断与治疗、HPV 接种以及为临床宫颈癌的防治工作提供了重要的参考依据。建议将 HPV 分型检测纳入到该地区妇女宫颈疾病普查项目,

做到早筛查、早诊断、早干预、早治疗,从而降低本地区女性宫颈癌的发病率。

参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] 胡利丹, 卢雪映, 胡月南, 等. 宫颈病变患者 HPV 感染的流行病学调查及危险因素分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(22):5212-5215.
- [3] Szymonowicz K, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(4):864-878.
- [4] Zhao P, Liu S, Zhong Z, et al. Prevalence and gene-type distribution of human papillomavirus infection among women in northeastern Guangdong Province of China [J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1):204-207.
- [5] 张韶凯, 罗喜平, 李志芳, 等. 人乳头瘤病毒分型检测在宫颈癌前病变和宫颈癌筛查中的应用价值 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2020, 11(3):252-256.
- [6] 罗仲秋, 冷平, 刘祥琴, 等. 成都地区妇女 HPV 感染的流行病学特征及与宫颈病变的关系 [J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2018, 37(1):49-53.
- [7] 范鹏超, 李晓彤, 刘明月, 等. 健康体检女性人乳头瘤病毒感染特征分析 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(3):304-307.
- [8] 吴丹丹, 彭丽朵, 乔金平, 等. 合肥地区 2558 例体检女性 HPV 感染及亚型分布情况 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(12):87-90.
- [9] 张亚丽, 彭仁佳, 范毅凯, 等. 郑州地区 22708 例女性 HPV 感染及基因亚型分布研究 [J]. *检验医学与临床杂志*, 2019, 16(11):1537-43.
- [10] Li H, Li P, Huang L, et al. Prevalence characteristics of cervical human papillomavirus (HPV) infection in the Zhoupu District, Shanghai City, China [J]. *Virology*, 2020, 17(1):84.
- [11] Li YW, Zhu PF, Wu MF, et al. Immunogenicity and safety of human papillomavirus vaccine coadministered with other vaccines in individuals aged 9-25 years: A systematic review and meta-analysis [J]. *Vaccine*, 2020, 38(2):119-124.
- [12] Park JS, Kim YT, Lee A, et al. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma in Korean women [J]. *Gynecol Oncol*, 2018, 130(1):115-120.
- [13] Liu M, Wang W, Chen H, et al. Mir-9, mir-21, mir-27b, and mir-34a expression in HPV16/58/52-infected cervical cancer [J]. *BioMed Res Int*, 2020, 24(7):1-8.
- [14] 胥莎莎, 何鑫, 刘英俏, 等. 高危型人乳头瘤病毒感染患者病毒清除及持续感染的随访性研究 [J]. *首都医科大学学报*, 2015, 36(2):212-218.
- [15] 单玮, 张涛, 张铁军, 等. 我国女性人乳头瘤病毒 (HPV) 感染的流行病学现状 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2017, 21(1):89-93.

特步他林并布地奈德治疗对急性支气管哮喘患者 IL-5、IL-10 及 TNF- α 的影响

黄莹* 郑秀琴 陈岚

[摘要] 目的 研究急性支气管哮喘(BA)经特步他林并布地奈德治疗后白介素-5(IL-5)、白介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的变化。方法 选取2016年1月至2020年12月商丘市中医院收治的122例急性BA患者的临床资料进行分析,根据不同治疗方法分为研究组($n=62$,特步他林+布地奈德)和对照组($n=60$,特步他林),比较两组临床疗效、肺功能[用力肺活量(FVC)、1秒用力呼气容积(FEV1)、1秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV1/FVC%)],治疗前后IL-5、IL-10、TNF- α 变化及不良反应情况。结果 研究组总疗效(93.55%)高于对照组(81.67%),差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后两组FVC、FEV1、FEV1/FVC%均较治疗前升高,且研究组高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。治疗后两组IL-5、TNF- α 水平均降低,且研究组低于对照组,两组IL-10水平均上升,且研究组高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 特步他林与布地奈德联合治疗急性BA的效果显著,能够有效缓解患者的气道炎症反应,促进其肺功能的恢复,且联合用药无不良反应增加。

[关键词] 支气管哮喘急性发作;特步他林;布地奈德;IL-5;IL-10;TNF- α

Effects of terbutaline and budesonide on IL-5, IL-10 and TNF- α in patients with acute bronchial asthma

HUANG Ying*, ZHENG Xiuqin, CHEN Lan

(Department of Respiratory Medicine, Shangqiu City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shangqiu, Henan, China, 476000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the changes of interleukin-5 (IL-5), interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in acute bronchial asthma (BA) treated with terbutaline and budesonide. **Methods** The clinical data of 122 patients with acute BA who were admitted to Shangqiu City Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2016 to December 2020 were selected for analysis, and according to different treatment methods, they were divided into the study group ($n=62$, Terbutaline + budesonide) and the control group ($n=60$, terbutaline). The clinical efficacy, pulmonary function [Forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 1 second (FEV1), the percentage of fast vital capacity occupied by forced expiratory volume in 1 second (FEV1/FVC%)], changes in IL-5, IL-10, TNF- α and adverse reactions of the two groups before and after treatment were compared. **Results** The total clinical efficacy of the study group (93.55%) was higher than that of the control group (81.67%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, FVC, FEV1, FEV1/FVC% in the two groups were higher than those before treatment, and the study group was higher than the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of IL-5 and TNF- α in the two groups were decreased, and the level of IL-10 in both groups were increased, and the level of IL-10 in the study group was higher than that in the control group, and the difference was

基金项目:河南省科技攻关计划项目(201603315)

作者单位:商丘市中医院呼吸科,河南,商丘 476000

*通信作者:黄莹, E-mail:yyy13523172192@163.com

statistically significant ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the rate of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The combination of terbutaline and budesonide has a significant effect in the treatment of acute BA, can effectively relieve the airway inflammatory response of patients.

[KEY WORDS] Acute bronchial asthma attack; Tebutaline; Budesonide; IL-5; IL-10; TNF- α

支气管哮喘简称哮喘,是由多种炎性细胞及细胞组分参与的气道慢性炎症反应,为世界上最常见的慢性疾病之一,目前全球约有3亿哮喘患者,我国占据了5%,且近年来患病率呈逐步上升趋势^[1]。常年控制不当和最后一次发作没有得到及时救治是哮喘患者的主要死亡原因^[2]。哮喘的发病机制迄今尚未完全明确,但已有相关文献证实,气道炎症是哮喘的共同病理特征,白介素-5(Interleukin-5, IL-5)、白介素-10(Interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)等促进了哮喘的发病^[3]。在对哮喘的急性发作治疗上主要以缓解症状及控制炎性因子为主,临床上常使用控制性药物糖皮质激素类(包括布地奈德、氟替卡松、倍氯米松等)以及缓解性药物 β 受体激动剂(包括沙丁胺醇、特步他林、沙美特罗等)进行治疗^[4]。本文将研究支气管哮喘急性发作患者经特步他林联合布地奈德治疗后IL-5、IL-10、TNF- α 的变化。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年1月至2020年12月商丘市中医医院收入治疗的122例急性哮喘患者的临床资料进行分析。根据不同治疗方式分为研究组($n=62$,特步他林联合布地奈德治疗)和对照组($n=60$,特步他林治疗),两组性别、年龄、BMI、病程、病情程度^[5](轻度:无明显呼吸困难;中度:患者自觉呼吸困难;重度:呼吸困难明显,端坐呼吸。)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

纳入标准:①均满足支气管哮喘急性发作的诊断标准^[6],且经专科检查确诊;②病历资料完整

无缺损;③近3个月内未使用过糖皮质激素类、 β 受体激动剂等药物治疗;④入院时意识清晰;⑤患者及家属均知晓本次研究内容并签字同意。排除标准:①有血液系统或传染性疾病者;②存在肺炎或慢性阻塞性肺疾病的患者;③有严重脏器功能异常者;④存在免疫功能缺陷或感染疾病者;⑤合并精神疾病者;⑥有过敏史的患者;⑦处于特殊时期的女性,如妊娠期、经期等。本研究经院医学伦理委员会批准。

1.2 治疗方案

两组患者均采用卧床休息、止咳化痰、吸氧、抗感染等常规治疗措施。

对照组患者予以特步他林(生产厂家:AstraZeneca AB;批准文号:H20140108;规格:5 mg/支)治疗,使用方法如下:特步他林5 mg+0.9%氯化钠注射液10 mL,雾化吸入,每天早晚各1次。研究组患者在对照组基础上联合布地奈德(生产厂家:AstraZeneca Pty Ltd;批准文号:H20140474;规格:0.5 mg/支)治疗,使用方法如下:布地奈德1 mg+0.9%氯化钠注射液10 mL,雾化吸入,每天早晚各1次。两组均持续治疗14天。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效^[7]

显效:患者治疗3天后临床症状(哮鸣音、憋喘、咳嗽)得到明显改善,呼吸、心率正常,肺功能达到正常水平,肺部听诊无杂音;有效:患者治疗5天后,临床症状以及肺功能有所改善,但未达正常水平,呼吸稍促,心率正常,肺部听诊无杂音;无效:未达上述任意标准,甚至有加重趋势。总有效率=[(显效+有效)/总例数] $\times 100\%$ 。

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

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

组别	n	平均年龄 (岁)	性别 (男/女)	BMI (kg/m ²)	病程 (年)	病情程度		
						轻度	中度	重度
研究组	62	48.91 \pm 6.29	37/25	20.33 \pm 2.95	2.15 \pm 0.62	19(30.65)	26(41.94)	17(27.42)
对照组	60	47.59 \pm 6.34	33/27	19.59 \pm 3.88	2.44 \pm 0.78	21(35.00)	25(41.67)	14(23.33)
t/χ^2 值		1.154	0.273	1.188	2.278		0.377	
P值		0.251	0.601	0.237	0.025		0.828	

1.3.2 肺功能

采用日本美能 AS-507 肺功能仪检测两组患者治疗前后的肺功能指标:包括用力肺活量(Fast vital capacity, FVC)、1秒用力呼气容器(Forced expiratory volume in 1 second, FEV1)、1秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV1/FVC%)。

1.3.3 IL-5、IL-10、TNF-α 水平

抽取患者治疗前后次日空腹清晨静脉血 5 mL,将标本使用乙二胺四乙酸抗凝处理后使用离心机离心(半径:13 cm,转数:3 000 r/min,时间:15 min),获取上清液进行检测。采用酶联免疫吸附法检测 IL-5、IL-10、TNF-α 水平,试剂盒均购自美国 R&D 公司,操作严格按照说明书进行。

1.3.4 不良反应

不良反应包括声嘶、皮疹、头痛、喉部不适等。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

研究组临床总有效率高于对照组(81.67%),差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

2.2 两组肺功能指标比较

治疗前两组 FVC、FEV1、FEV1/FVC% 比较,差

表2 两组临床疗效比较 [*n*(%)]

Table 2 Comparison of clinical efficacy between the two groups [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率
研究组	62	41(66.13)	17(27.42)	4(6.45)	58(93.55)
对照组	60	31(51.67)	18(30.00)	11(18.33)	49(81.67)
χ^2 值					3.992
<i>P</i> 值					0.046

异无统计学意义(*P*>0.05)。治疗后两组 FVC、FEV1、FEV1/FVC%均较治疗前升高,且研究组高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表3。

2.3 两组 IL-5、IL-10、TNF-α 水平比较

治疗前两组 IL-5、IL-10、TNF-α 水平比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。治疗后两组 IL-5、TNF-α 水平均降低,且研究组低于对照组,两组 IL-10 水平均上升,且研究组高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表4。

2.4 两组不良反应情况比较

研究组不良反应率高于对照组差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表5。

表5 两组不良反应情况比较 [*n*(%)]

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

组别	<i>n</i>	声嘶	皮疹	头痛	喉部不适	不良反应率
研究组	62	3(4.84)	2(3.23)	1(1.61)	3(4.84)	9(14.52)
对照组	60	2(3.33)	1(1.67)	1(1.67)	2(3.33)	6(10.00)
χ^2 值						0.577
<i>P</i> 值						0.448

表3 两组肺功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	FVC(L)		FEV1(%)		FEV1/FVC(%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	62	0.92±0.42	1.53±0.52 ^a	56.24±5.31	79.74±7.15 ^a	53.43±6.48	77.28±5.28 ^a
对照组	60	0.89±0.45	1.03±0.46 ^a	56.49±5.43	67.25±6.21 ^a	53.69±6.55	61.76±4.46 ^a
<i>t</i> 值		0.381	5.618	0.257	10.287	0.220	17.511
<i>P</i> 值		0.704	<0.001	0.798	<0.001	0.826	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a*P*<0.05。

表4 两组 IL-5、IL-10、TNF-α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of IL-5, IL-10 and TNF-α levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-5(ng/L)		IL-10(ng/L)		TNF-α(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	62	35.26±6.84	19.45±3.65 ^a	42.13±4.22	58.26±6.58 ^a	2.92±0.40	1.37±0.22 ^a
对照组	60	34.87±6.66	24.84±3.42 ^a	41.77±3.86	51.78±6.26 ^a	2.93±0.41	2.11±0.38 ^a
<i>t</i> 值		0.319	8.411	0.491	5.570	0.136	13.216
<i>P</i> 值		0.750	<0.001	0.624	<0.001	0.892	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a*P*<0.05。

3 讨论

急性哮喘发作时,患者会伴有不同程度的气道阻塞及高反应性增强,引发患者阵发性的呼气性呼吸困难、憋气、咳嗽等症状,如果没有及时救治,病情还会恶化成为不可逆的气流受限,对患者的生命健康造成威胁^[8]。根据哮喘防治指南提供的资料,通过长期规范有效的管理和治疗,超过80%的患者哮喘可以得到控制^[9]。寻找能够有效控制哮喘患者气道高反应等症状的治疗方案为目前临床研究热点^[10]。

相关研究报道,特布他林作为 β_2 受体激动剂,常用于解除痉挛、平息气喘,对缓解或消除气管平滑肌痉挛、减少憋喘和咳嗽方面具有明显疗效^[11]。布地奈德作为糖皮质激素类药物,其在局部抗炎方面具有显著效果,能抑制炎症介质的释放,且经过雾化吸入人体还能降低活性,从而减轻气道黏膜敏感性,帮助患者缓解气道痉挛,不良反应少,两者联合用药可以有效缓解哮喘的急性发作^[12-13]。本文研究结果说明联合用药能够提升治疗效果,促进患者肺功能康复,这一结果与既往文献报道相符合^[14]。考虑其中缘由,两种药物联合协同作用,能够共同扩张支气管,加快气管内分泌物的清除,从而促进了患者肺功能的恢复,提升了治疗的效果。既往文献显示,急性哮喘患者通常伴随不同程度的气道炎症反应,体内的IL-5、TNF- α 等促炎性因子会表现出较高水平以不同方式参与哮喘的发生发展;而IL-10作为抗炎因子,其升高的主要机制为抑制患者机体内的过度炎症反应^[15]。本文进一步研究结果提示特步他林与布地奈德联合治疗可有效降低血清IL-5、TNF- α 水平,并能加快IL-10的合成,考虑为糖皮质激素能阻止分泌炎性细胞因子,具有抵抗炎症的功效。国外相关文献报道,布地奈德能够促进IL-10的合成,IL-10的升高能够抑制IL-5、TNF- α 等炎性细胞因子的合成及释放,从而发挥抗炎作用,减轻患者病症,在临床应用中得到了良好效果,进一步证实了布地奈德是治疗哮喘急性发作的有效药物,能够有效减轻患者气道炎症反应^[16]。本文结果显示,特步他林与布地奈德联合使用后并未有不良反应增加,说明联合用药具有一定安全性。

综上所述,特步他林与布地奈德两种药物联合治疗支气管哮喘急性发作的效果显著,可明显改善患者IL-5、TNF- α 及IL-10水平,不但能减少炎性介质释放,还能有效缓解患者的气道炎症反应,从而

促进其肺功能的恢复,且联合用药无不良反应增加,具有一定安全性,值得在临床上推广使用。

参考文献

- [1] 买智涛,姜明明,万善志. FeNO联合血清ECP、IgE检测对支气管哮喘的临床诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5): 625-628.
- [2] 庄鹏晖,刘亮亮,郑国玺,等. 支气管哮喘患者血清肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-8和嗜酸性粒细胞阳离子蛋白水平变化及意义[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(12): 1597-1599.
- [3] 武国宇. 布地奈德吸入给药对慢性支气管哮喘小鼠HpAR-1h/STAT信号通路的影响[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(12): 2307-2311.
- [4] 张国英,娄玉华,张彤,等. 乌兰察布地区儿童急性支气管哮喘呼吸道感染及临床特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(15): 2382-2386.
- [5] Uzer F, Cilli A. Acute asthma exacerbation after SARS-CoV-2 vaccine (Sinovac®): a case report[J]. Med Gas Research, 2022, 12(2): 67-68.
- [6] 包海鹏,阎玥,史琦,等. 基于因子分析支气管哮喘慢性持续期的中医临床特征[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(12): 6024-6029.
- [7] 谢甜,钟礼立,黄寒,等. 225例支气管哮喘急性发作患儿呼吸道病原体检出及临床特征分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(11): 1198-1203.
- [8] 赵杨,刘培杰,刘克锋,等. 哮喘宁颗粒联合复方硫酸沙丁胺醇治疗支气管哮喘慢性持续期的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(12): 2356-2359.
- [9] 杜春艳,杨洁,江逊. 布地奈德联合特布他林雾化吸入对小儿支气管哮喘的疗效[J]. 实用临床医药杂志, 2020, 24(19): 55-58.
- [10] 曲文学. 特布他林联合布地奈德雾化吸入治疗支气管哮喘急性发作的临床价值研究[J]. 中国医药指南, 2020, 18(15): 182-183.
- [11] 虞莹,石卉,虞勇,等. Calpastatin减轻病毒性心肌炎心脏炎症损伤的作用[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2019, 19(2): 2848-2852.
- [12] 刘俊,赵庆贺,许豪杰,等. 布地奈德、硫酸特布他林及复方异丙托溴铵三联雾化吸入对喘息性支气管炎患儿炎症反应及肺功能的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(25): 43-45.
- [13] 赵雅婷,张焕萍. 糖皮质激素不同给药方式对哮喘急性发作患者气道炎症的影响[J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(6): 789-793.
- [14] Gummalla P, Weaver D, Ahmed Y, et al. Intravenous methylprednisolone versus intravenous methylprednisolone combined with inhaled budesonide in acute severe pediatric asthma[J]. J Asthma, 2021, 58(11): 1512-1517.
- [15] 马宣,王学锴,李超然,等. 利伐沙班与华法林在急性肺栓塞患者介入中的应用及对动脉血气指标、炎症反应、VTE和并发症的影响[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2020, 20(5): 3522-3526.
- [16] 马玉,戴银芳,张新星等. 支气管哮喘患儿呼出气一氧化氮水平与外周血中IL-9、IL-17的相关性研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2020, 35(3): 222-227.

惠州地区亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性特征分析

钟泽艳 陈迪娜 杨坤祥 陈剑虹*

[摘要] **目的** 调查惠州地区人群中亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)基因 C677T 位点多态性的分布特征,为个体化指导育龄妇女增补叶酸及有效地降低新生儿出生缺陷风险提供科学依据。**方法** 收集2017年6月至2019年12月在产前诊断中心门诊就诊的育龄妇女、妊娠期夫妇的外周血样本765例。采用PCR-荧光探针法检测*MTHFR*基因C677T位点的多态性,并与其他地区或种族人群的数据相比较。**结果** 检出*MTHFR*基因C677T位点分布特征为CC野生型占54.12%(414例)、CT杂合突变型占38.43%(294例)和TT纯合突变型占7.45%(57例),三种基因型分布比值约为7:5:1。根据年龄以30岁为分界点,将基因型和等位基因分为两组,两年龄组均以野生型为主,依次为杂合突变型和纯合突变型。**结论** 惠州地区*MTHFR*基因C677T位点的分布特征与其他地区存在差异,具有该地区与种族的特异性。叶酸代谢能力与个体基因型相关,该基因多态性的检测能够科学有效地指导叶酸的补充和监测。

[关键词] 亚甲基四氢叶酸还原酶;基因多态性;基因型;等位基因

Analysis of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in Huizhou area

ZHONG Zeyan, CHEN Dina, Yang Kunxiang, CHEN Jianhong*

(Prenatal Diagnosis Center, Huizhou No. 1 Maternal and Child Health Care Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516007)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the distribution characteristics of C677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) gene in Huizhou population, to provide a scientific basis for individualized guidance of folic acid supplementation for women in childbearing age and effectively reduce the risk of neonatal birth defects. **Methods** A total of 765 cases of peripheral blood samples of childbearing age women and pregnant couples were collected from the outpatient department of prenatal diagnosis center from June 2017 to December 2019. The C677T polymorphism of *MTHFR* gene was detected by PCR fluorescence probe method and compared with data from other regions or ethnic groups. **Results** The distribution characteristics of C677T in *MTHFR* gene were wild type CC 54.12% (414 cases), heterozygous mutation CT 38.43% (294 cases) and homozygous mutation TT 7.45% (57 cases). The distribution ratio of the three genotypes was about 7:5:1. According to the age cut-off point of 30 years, the genotype and allele gene were divided into two groups. The wild type was dominant in both age groups, followed by heterozygous mutation and homozygous mutation groups. **Conclusion** The distribution characteristics of the C677T locus of *MTHFR* gene in Huizhou area were different from other areas, which were specific to the area and race. The ability of folic acid metabolism is related to individual genotypes. The detection of this gene polymorphism can scientifically and effectively guide the supplementation and monitoring of folic acid.

[KEY WORDS] Methylenetetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism; Genotype; Allele gene

作者单位:惠州市第一妇幼保健院产前诊断中心,广东,惠州 516007

*通信作者:陈剑虹, E-mail:1296275774@qq.com

亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)基因位于1p36.3,是叶酸代谢的关键酶,可将5,10-亚甲基四氢叶酸转化为具有生物学功能的5-甲基四氢叶酸,维持DNA的稳定。大量研究表明,叶酸对孕妇尤其重要,叶酸摄入不足或不能被人体有效利用是导致新生儿出生缺陷和不良妊娠结局的主要原因^[1-2]。叶酸在人体不能合成,受遗传、环境、生活习惯影响,我国人群叶酸缺乏率很高,现叶酸已被列为我国重大公共卫生服务项目之一。国内外多项研究发现,*MTHFR*基因存在多个基因多态性位点,其中*MTHFR*基因C677T(rs1801133, Ala222Val)是最常见的突变位点,其突变使*MTHFR*活性降低,影响叶酸正常代谢,而且不同基因型的人群代谢能力不同,补充的量也不一样^[3-4]。本研究通过分析惠州地区育龄夫妇*MTHFR*基因C677T位点多态性分布情况,为本地区育龄妇女根据自己的遗传体质,有效地补充叶酸量提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2017年6月至2019年12月到本院产前诊断中心就诊的孕前或孕期行优生健康检查育龄夫妇的样本共765例。年龄为17~47岁,平均年龄(29.56±4.96)岁。纳入标准:①年龄≥16岁(刑法上16岁开始承担完全的刑事责任);②就诊的孕前或孕期行优生健康检查育龄夫妇,其中包括有过神经管畸形妊娠史或不明原因的流产、早产、畸形儿童或产死的女性。排除标准:患有遗传疾病或其他机体异常者。本研究获得本院伦理委员会批准,研究对象均知情同意。

1.2 主要仪器与试剂

采用Lab-Aid 824全自动核酸提取仪(致善生物 zeesan)、5430R台式离心机(德国Eppendorf公司)、7500实时荧光定量PCR仪(美国ABI公司)、Lab-Aid 824核酸提取试剂盒(厦门致善生物科技股份有限公司)、亚甲基四氢叶酸还原酶基因677C/T检测试剂盒(PCR-荧光探针法,深圳奥萨制药有限公司)。

1.3 研究方法

1.3.1 样本采集

对受检者进行详细的病史调查,内容包括疾病史、生育史、家族史、饮食情况、药物服用情况、行为习惯等。同时,抽取外周静脉血2 mL,使用乙

二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,样本于4~8℃保存,一周内完成检测。

1.3.2 DNA提取和基因多态性检测

采用Lab-Aid 824全自动核酸提取仪和核酸提取试剂盒提取外周血基因组DNA,提取量为200 μL EDTA-K₂抗凝外周血。采用厂家原装配套试剂和耗材,均严格按照仪器及试剂说明书操作。获得的DNA应用深圳奥萨制药有限公司的亚甲基四氢叶酸还原酶基因677C/T检测试剂盒(PCR-荧光探针法)进行基因检测,按照操作说明书进行实验操作和结果判断。根据李杰等^[5]的研究报道,*MTHFR*基因C677T位点多态性分布与年龄及地域有相关性,参考之将年龄以30岁为分界点,把基因型和等位基因频率的分布分为两组。

1.3.3 统计学分析

采用SPSS 20.0软件进行数据统计学分析;用Hardy-Weinberg遗传平衡规律检验人群的分布特征。计数资料以n(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *MTHFR*基因C677T位点的基因型多态性结果

对惠州地区育龄夫妇*MTHFR*基因C677T位点的基因型数据进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验,*MTHFR*基因C677T位点符合Hardy-Weinberg遗传平衡,纳入对象有群体代表性($P=0.644$)。检出野生型(CC)、杂合突变型(CT)和纯合突变型(TT)分别占54.12%(414例)、38.43%(294例)、7.45%(57例)。见表1。

表1 惠州地区育龄夫妇*MTHFR*基因C677T位点的基因型分布[n(%)]

Table 1 Genotype distribution of *MTHFR* C677T in couples of childbearing age in Huizhou [n(%)]

年龄段(岁)	n	基因型(%)			χ^2 值	P值
		CC	CT	TT		
≤30	477	262(54.93)	189(39.62)	26(5.45)	7.42	0.024
>30	288	152(52.78)	105(36.46)	31(10.76)		
合计	765	414(54.12)	294(38.43)	57(7.45)		

2.2 *MTHFR*基因C677T位点的等位基因频率分布结果

*MTHFR*基因C677T位点的基因型频率中,突变T基因频率为26.67%。见表2。

表2 不同种族人群 *MTHFR* 基因 C677T 的等位基因频数与频率分布 [n(%)]Table 2 Allele frequency and frequency distribution of *MTHFR* C677T in different races [n(%)]

年龄段(岁)	n	等位基因型(%)		χ^2 值	P值
		C	T		
≤30	954	713(74.74)	241(25.26)	2.56	0.110
>30	576	409(71.01)	167(28.99)		
合计	1530	1122(73.33)	408(26.67)		

3 讨论

叶酸属于B族维生素,参与维持细胞内正常甲基化和基因组稳定性,孕期缺乏会严重危害孕妇及胎儿健康。孕期叶酸缺乏不仅会造成新生儿神经管缺陷、唇腭裂、肛门闭锁、唐氏综合征和先天性心脏病等新生儿出生缺陷病,也是引起孕妇妊娠期贫血、高血压、自发性流产和早产的原因之一^[6-7]。目前,叶酸增补已纳入我国出生缺陷项目中一级预防的主要措施之一,且在2017年《围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南》中明确指出,怀孕前三个月和孕期的前三个月每天服用一定量的叶酸来降低新生儿出生缺陷率^[1]。因此,*MTHFR*基因C677T的基因多态性检测,适用于育龄夫妇生育前预防性检测,及早发现围孕期妇女对叶酸的吸收利用水平,实现个性化增补叶酸,达到优生优育。

本研究收集惠州地区育龄夫妇样本中,不同年龄段的基因型和基因频率分布与总体的分布特征一致,均以野生型为主,依次为杂合突变型和纯合突变型,三者的占比约为7:5:1。研究结果符合千人基因组数据库(<http://asia.ensembl.org/index.html>)中东亚人群和中国南方汉人群的分布规律,基因型和等位基因频率结果分布显示一样的特征:基因型分布特征显示,惠州地区人群和中国南方汉人群差异性最小,与西双版纳傣族和北京汉族人群不同基因型和等位基因之间比较,差异有统计学意义,而与东亚人群基因型的分布比较,差异无统计学意义;等位基因频率分布结果显示,惠州地区人群等位基因频率分布和中国南方汉人群与东亚人差异无统计学意义,和西双版纳傣族与北京汉族人群差异有统计学意义。本研究人群TT纯合突变型占比最低,比前期报道^[8-14]的广东地区、赣南、遵义、云南、郑州中原区、陕西延安和苏州地区人群的该基因型所占比例均低。

分析原因,惠州地区的人群主要以汉族客家人群为主,与其他地区民族人群存在一定的遗传异质性;其次,不同地区人群由于长期生活的环境和习惯不同,导致一定的遗传差异。此外,本研究纳入的样本量与其他研究的样本量存在较大的差异,会对结果的分析产生一定的影响。通过询问病史,相对于CC野生型和CT杂合突变型,TT纯合突变型人群的不良妊娠史,例如葡萄胎史、复发性流产史和先兆流产史等的概率更高,这与张运霖^[15]报道的相一致。由于本研究纳入样本量有限,不同地区叶酸代谢障碍*MTHFR*基因C677T位点多态性分布特征对不良妊娠史和不良出生缺陷的影响尚有待进一步行大样本、多中心的研究。

本研究表明惠州地区*MTHFR*基因C677T的基因型与等位基因频率分布除了与广东地区比较,差异无统计学意义,与赣南、遵义、云南、郑州中原区、陕西延安和苏州地区的分布结果均存在一定的差异,且差异有统计学意义,并且呈现从南方到北方差异不断增大的趋势。分析原因可能与选择的地区人群以及所选的样本量有关,再次验证*MTHFR*基因C677T位点的基因型和基因频率分布具有明显的地域和种族人群差异特征性。

综上,因不同基因型的人群叶酸代谢能力不同,补充的量不一样,根据妊娠史和基因检测结果,结合育龄期妇女的具体情况,给出科学的增补叶酸建议。特别是对*MTHFR*基因C677T位点的CT和TT基因型妇女,应科学地个体化增加叶酸的补充量,有效降低不良妊娠史和不良出生结局的发生率。

参考文献

- [1] 围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南工作组. 围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南(2017)[J]. 中国生育健康杂志, 2017, 28(5): 401-410.
- [2] 暴国,白兢鑫,阿木侏雷,等. 孕期营养补充剂对妊娠期妇女贫血状况的影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2019, 27(2): 158-161.
- [3] Osunkalu VO, Taiwo IA, Makwe CC, et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase Enzyme Level and Antioxidant Activity in Women with Gestational Hypertension and Pre-eclampsia in Lagos, Nigeria[J]. J Obstet Gynaecol India, 2019, 69(4): 317-324.

PD-L1、Beclin-1、P62在NSCLC中的表达与复发转移的关系

景正全^{1*} 吴大富² 陈明³

【摘要】目的 研究程序性死亡配体1(PD-L1)、Beclin-1、P62在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达与复发转移的关系。方法 选取2019年7月至2020年6月三峡大学附属仁和医院检验科收治的88例NSCLC患者作为病例组,另选距离病例组癌组织5 cm以上的癌旁组织作为对照组,采用免疫组化法检测两组PD-L1、Beclin-1、P62的表达情况,采用Cox分析NSCLC患者无复发生存情况的影响因素。结果 病例组PD-L1、P62的阳性率均高于对照组,Beclin-1的阳性率低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同肿瘤直径、临床分期、分化程度和吸烟史的NSCLC患者的PD-L1、Beclin-1阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);不同淋巴结转移情况、肺膜浸润的NSCLC患者的Beclin-1、P62阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);不同肿瘤直径的NSCLC患者的P62阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。末次随访,88例NSCLC患者复发16例,复发率为18.18%。临床分期、淋巴结转移和P62阳性是影响NSCLC患者无复发生存情况的独立因素($P<0.05$)。结论 NSCLC患者PD-L1、Beclin-1、P62表达异常,且P62阳性是影响NSCLC患者复发转移的独立因素。

【关键词】 程序性死亡配体1; Beclin-1; P62; 非小细胞肺癌; 复发转移

Expression of PD-L1, Beclin-1 and P62 in NSCLC and their relationship with recurrence and metastasis

JING Zhengquan^{1*}, WU Dafu², CHEN Ming³

(1. Department of Clinical Laboratory, Hubei Yidu Maternal and Child Health Hospital, Yichang, Hubei, China, 443300; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Renhe Hospital of China, Three Gorges University, Yichang, Hubei, China, 443301; 3. Department of Clinical Laboratory, Hubei Yidu First People's Hospital, Yichang, Hubei, China, 443300)

【ABSTRACT】 **Objective** To study the expression of programmed death ligand 1 (PD-L1), Beclin-1 and P62 in non-small cell lung cancer (NSCLC) and their relationship with recurrence and metastasis. **Methods** A total of 88 patients with NSCLC admitted to the Department of Clinical Laboratory in Renhe Hospital Affiliated to China Three Gorges University were enrolled as the case group from July 2019 to June 2020, and the paracancerous tissue more than 5 cm away from the cancer tissue in the case group was selected as the control group, and immunohistochemistry was used. The expression of PD-L1, Beclin-1 and P62 in the two groups were detected by immunohistochemistry. The influencing factors of recurrence-free survival (RFS) in NSCLC patients were analyzed by Cox. **Results** The positive rates of PD-L1 and P62 in the case group were higher than those in the control group, while the positive rate of Beclin-1 was lower than that in the control group ($P<0.05$). The differences in positive rates of PD-L1 and Beclin-1 among NSCLC patients with different

基金项目:湖北省卫生健康委员会项目资助(20191209-3)

作者单位:1.湖北省宜都市妇幼保健院检验科,湖北,宜昌 443300

2.三峡大学附属仁和医院检验科,湖北,宜昌 443001

3.湖北省宜都市第一人民医院检验科,湖北,宜昌 443300

*通信作者:景正全, E-mail:562916406@qq.com

tumor diameters, clinical staging, differentiation degree and smoking history were statistically significant ($P < 0.05$). There were significant differences in the positive rates of Beclin-1 and P62 in NSCLC patients with different lymph node metastasis and pulmonary membrane infiltration ($P < 0.05$). The differences in positive rate of P62 among NSCLC patients with different tumor diameters were statistically significant ($P < 0.05$). At the last follow-up, 16 cases of 88 NSCLC patients relapsed, with a recurrence rate of 18.18%. Clinical staging, lymph node metastasis and P62 positive were independent factors affecting RFS in NSCLC patients ($P < 0.05$).

Conclusion The expression of PD-L1, Beclin-1 and P62 are abnormal in NSCLC patients, and P62 positive is an independent factor affecting the recurrence and metastasis of NSCLC patients.

[KEY WORDS] Programmed death ligand 1; Beclin-1; P62; Non-small cell lung cancer; Recurrence and metastasis

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌总数的81%^[1],临床主要表现为咳嗽、咯痰、发热、胸痛等。传统治疗策略对NSCLC的疗效大多不甚理想,导致NSCLC患者中位生存时间仅为8~10个月,预后较差,肿瘤侵袭转移是患者死亡的主要原因^[2]。近些年分子靶向治疗、免疫治疗等新兴治疗手段逐渐受到医学工作者的青睐^[3-4],尤其是免疫治疗,包括免疫检查点抑制、肿瘤疫苗等方法,程序性死亡配体1(Programmed death ligand 1, PD-L1)正是其中主要的检查点^[5]。Beclin-1、P62是较重要的自噬蛋白,前者作为肿瘤抑制蛋白,能调节自噬过程,后者则更多作为自噬机制与底物间的调配器。关于PD-L1、Beclin-1、P62与NSCLC的研究各自均有报道^[6],但联合进行深入分析的尚不多见。本研究旨在探讨三者在NSCLC中的表达及与复发转移的关系,以期对NSCLC的病情诊断和预后评估贡献有效的建议。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2019年7月至2020年6月于三峡大学附属仁和医院检验科接受检查的88例NSCLC患者作为病例组,收集所有患者的病理资料。纳入标准:①符合临床上肺癌的诊断标准^[7];经影像学检查确诊为NSCLC;②接受在本院治疗,依从性好。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②既往有放、化疗手术史;③合并其他肺部疾病;④自身免疫疾病;⑤精神类疾病;⑥临床病历资料不齐。其中男65例、女23例,平均年龄(60.57 ± 10.38)岁,平均病程(1.48 ± 0.35)年,鳞癌37例、腺癌51例,TNM分期^[8]I期17例、II期20例、III期29例、IV期22例。另选距离病例组癌组织5 cm以上的癌旁组织作为对照组。本研究已获得院医学伦理委员会批

准,受试者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗及检测方法

所有患者均根据《非小细胞肺癌术后辅助治疗中国胸外科专家共识》^[9]的方案在本院进行治疗。

检测方法:采集所有NSCLC患者的肿瘤标本,对照组取病例组旁边的癌旁组织,均使用10%福尔马林固定,脱水,石蜡包裹,连续切片4 μm ,切片后常规染色,再行Envision两步法免疫组织化学染色:切片脱蜡,水化,高压修复后,使用3% H_2O_2 灭活过氧化物酶,低温4 $^{\circ}\text{C}$ 24 h,再使用二氨基联苯胺(diaminobezidin, DAB)染色。同时使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)作空白对照。所有免疫标志物PD-L1、Beclin-1、P62抗体及免疫组化试剂盒均购自上海基因科技有限公司。

1.2.2 结果判定^[10]

采用阳性细胞比和显色强度分级综合判断,由两位主治医师双盲法进行确认。染色强度:未着色0分,浅黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分;阳性细胞:阳性细胞 $< 50\%$ 为1分, $> 50\%$ 为2分。乘积 > 1 分为阳性表达,有争议的结果经两位医师协商后进行判定。

1.3 随访

随访时间为1年,通过门诊方式随访,治疗后1个月随访一次,随访至2021年6月或至患者死亡时截止,同时统计分析术后复发转移等情况。

1.4 统计学方法

应用IBM SPSS Statistics 24.0软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用独立 t 检验;计数资料使用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,采用COX分析NSCLC患者无复发生存情况的影响因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 PD-L1、Beclin-1、P62 表达情况比较

病例组 PD-L1、P62 的阳性率均高于对照组, Beclin-1 的阳性率低于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

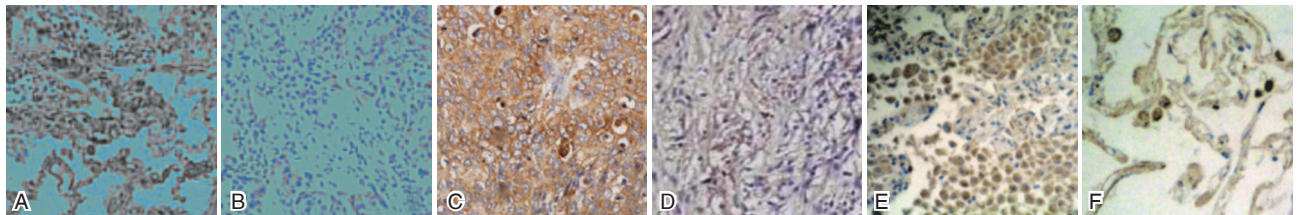
2.2 PD-L1、Beclin-1、P62 表达与 NSCLC 患者临床病理特征关系

不同肿瘤直径、临床分期、分化程度和吸烟史的 NSCLC 患者的 PD-L1 阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同肿瘤直径、临床分期、分化程度、淋巴结转移情况、肺膜浸润和吸烟史的 NSCLC 患者的 Beclin-1 阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同肿瘤直径、淋巴结转移情况和肺膜浸润的 NSCLC 患者的 P62 阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组 PD-L1、Beclin-1、P62 表达情况比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of PD-L1, beclin-1 and p62 expressions between the two groups [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	PD-L1		Beclin-1		P62	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
病例组	88	54(61.36)	34(38.64)	37(42.05)	51(57.95)	43(48.86)	45(51.14)
对照组	88	14(15.91)	74(84.09)	53(60.23)	35(39.77)	25(28.41)	63(71.59)
χ^2 值		38.844		5.821		7.765	
<i>P</i> 值		<0.001		0.016		0.005	



注: A 为 Beclin-1 在癌组织的阳性表达; B 为 Beclin-1 在癌旁组织的阴性表达; C 为 PD-L1 在癌组织的阳性表达; D 为 PD-L1 在癌旁组织的阴性表达; E 为 P62 在癌组织的阳性表达; F 为 P62 在癌旁组织的阳性表达。

图 1 PD-L1、Beclin-1、P62 在癌组织与癌旁组织的表达情况 (Envision 两步法, 400 \times , 200 \times)

Figure 1 Expressions of PD-L1, Beclin-1 and P62 in cancer tissues and para-cancerous tissues (Envision two-step method, 400 \times , 200 \times)

2.3 复发情况

截至末次随访, 88 例 NSCLC 患者复发 16 例 (复发导致的死亡按复发计算), 复发率为 18.18%。

2.4 NSCLC 患者无复发生存情况单因素及多因素分析

单因素结果显示, 肿瘤直径、临床分期、淋巴结转移、Beclin-1 表达 (阳性) 和 P62 表达 (阳性) 为影响 NSCLC 患者无复发生存情况的不良因素 ($P < 0.05$); 多因素 COX 分析结果表明, 临床分期、淋巴结转移和 P62 表达 (阳性) 是影响 NSCLC 患者无复发生存情况的独立因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

既往国外研究认为, Beclin-1 在肝癌、乳腺癌中低表达, 在结肠癌中呈高表达^[11]。有报道提出, P62 的大量积累导致肿瘤产生, 且 P62 的持续

表达会抑制 Beclin-1 的表达, 进而抑制肿瘤细胞的自噬过程^[12]。本研究发现, NSCLC 组织 PD-L1、P62 的阳性表达率明显高于癌旁组织, Beclin-1 的阳性表达率低于癌旁组织, 提示 NSCLC 患者存在 PD-L1、Beclin-1、P62 表达异常。缪小辉等^[12]研究认为, P62 在癌旁正常肺组织弱表达, 而在肺癌组织高表达。

本研究显示不同肿瘤直径、临床分期、分化程度、吸烟史的 NSCLC 患者, 其 PD-L1 阳性率存在明显差异; 除此之外, 有无淋巴结转移、肺膜浸润的 NSCLC 患者 Beclin-1 阳性率的差异比较亦有统计学意义; 而 P62 阳性率在不同肿瘤直径、淋巴结转移和肺膜浸润的 NSCLC 患者中存在差异。结果与早前吕国义等人^[13]的相关研究存在一定出入, 原因可能是本研究样本量少、检测手段较单一所致。此外, 本研究还发现 88 例 NSCLC 患者有 16 例复发, 复发率为 18.18%。许子宜等人^[14]在对

表2 PD-L1、Beclin-1、P62表达与NSCLC患者临床病理特征关系 [n(%)]

Table 2 Relationship between PD-L1, Beclin-1, P62 expressions and clinicopathological features of NSCLC patients [n(%)]

项目	PD-L1				Beclin-1				P62				
	阳性	阴性	χ^2 值	P值	阳性	阴性	χ^2 值	P值	阳性	阴性	χ^2 值	P值	
性别	男	40(74.07)	25(73.53)	0.003	0.955	24(64.86)	41(80.39)	2.678	0.102	30(69.77)	35(77.78)	2.866	0.090
	女	14(25.93)	9(26.47)			13(35.14)	10(19.61)			13(30.23)	10(22.22)		
年龄(岁)	≤60	32(59.26)	18(52.94)	0.339	0.560	22(59.46)	28(54.90)	0.182	0.670	24(55.81)	26(57.78)	0.035	0.853
	>60	22(40.74)	16(47.06)			15(40.54)	23(45.10)			19(44.19)	19(42.22)		
肿瘤直径(cm)	≤3 cm	18(33.33)	20(58.82)	5.525	0.019	11(29.73)	27(52.94)	4.709	0.030	13(30.23)	25(55.56)	5.747	0.017
	>3 cm	36(66.67)	14(41.18)			26(70.27)	24(47.06)			30(69.77)	20(44.44)		
临床分期	I、II	15(27.78)	22(64.71)	11.676	0.001	10(27.03)	27(52.94)	5.910	0.015	18(41.86)	19(42.22)	0.001	0.973
	III、IV	39(72.22)	12(35.29)			27(72.97)	24(47.06)			25(58.14)	26(57.78)		
分化程度	高分化	28(51.85)	26(76.47)	5.334	0.021	13(35.14)	41(80.39)	18.525	<0.001	22(51.16)	32(71.11)	3.691	0.055
	中、低分化	26(48.15)	8(23.53)			24(64.86)	10(19.61)			21(48.84)	13(28.89)		
组织学分类	鳞癌	22(40.74)	15(44.12)	0.098	0.755	19(51.35)	18(35.29)	2.269	0.132	19(44.19)	18(40.00)	0.158	0.691
	腺癌	32(59.26)	19(55.88)			18(48.65)	33(64.71)			24(55.81)	27(60.00)		
淋巴结转移	是	31(57.41)	20(58.82)	0.017	0.896	30(81.08)	21(41.18)	14.013	<0.001	32(74.42)	19(42.22)	9.354	0.002
	否	23(42.59)	14(41.18)			7(18.92)	30(58.82)			11(25.58)	26(57.78)		
肺膜浸润	有	20(37.04)	15(44.12)	0.437	0.509	21(56.76)	14(27.45)	7.688	0.006	28(65.12)	7(15.56)	22.547	<0.001
	无	34(62.96)	19(55.88)			16(43.24)	37(72.55)			15(34.88)	38(84.44)		
脉管内癌栓	有	28(51.85)	14(41.18)	0.953	0.329	19(51.35)	23(45.10)	0.336	0.562	20(46.51)	22(48.89)	0.050	0.823
	无	26(48.15)	20(58.82)			18(48.65)	28(54.90)			23(53.49)	23(51.11)		
吸烟史	有	31(57.41)	27(79.41)	4.496	0.034	18(48.65)	40(78.43)	8.465	0.004	32(74.42)	26(57.78)	2.710	0.100
	无	23(42.59)	7(20.59)			19(51.35)	11(21.57)			11(25.58)	19(42.22)		

表3 NSCLC患者无复发生存情况单因素及多因素分析

Table 3 Univariate and multivariate analysis of recurrence-free survival in patients with NSCLC

因素	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
肿瘤直径(cm)	1.237	1.045~2.475	0.023	2.145	0.710~4.478	0.177
临床分期	2.361	1.087~3.366	0.041	1.682	0.664~3.243	0.021
淋巴结转移	2.342	1.028~3.181	0.028	1.565	0.490~3.872	0.033
PD-L1表达(阳性)	1.522	0.956~2.422	0.077	1.765	0.937~3.324	0.079
Beclin-1表达(阳性)	2.145	1.348~3.413	0.001	1.825	0.810~4.576	0.139
P62表达(阳性)	2.493	1.037~3.420	0.025	1.451	0.489~3.799	0.027

221例NSCLC患者的预后研究中,发现其复发率为64.71%,与本研究结果出入较大,一方面可能是该研究样本量存在选取偏倚,另一方面也与NSCLC患者临床分期相关,表明NSCLC患者复发率较高,临床应做好随访,密切注意患者预后。

影响NSCLC患者预后的多因素分析结果显示,临床分期、淋巴结转移、Beclin-1表达(阳性)和P62表达(阳性)是影响NSCLC患者无复发生存情况的独立因素,提示临床分期III、IV期、淋巴结存在转移和P62阳性表达的NSCLC患者术后有较大可能出现疾病进展。关于P62阳性表达与患者预后的关系,分析是P62的高表达能调控NF κ B细胞因子,促进肿瘤细胞转移,增加患者复发病变的风险^[15]。临床应针对性加强对该类患者的术后监

测,同时制定完善随访方案,以降低患者术后复发率。与本结果不同的是,吴菡等^[16]发现PD-L1阳性的肺癌患者化疗效果显著弱于阴性患者,提示其阳性表达与患者预后不良有关。造成这一结果原因,可能是与不同NSCLC患者肿瘤微环境的差异以及同一时间动态表达水平有关,导致PD-L1阳性表达存在明显差异,这也说明了PD-L1在NSCLC患者肿瘤细胞表达可能存在时间、空间的异质性。到目前为止,关于PD-L1在NSCLC中表达的系统研究仍较少,本研究后续将扩大样本量,延长观察时间,深入分析PD-L1与NSCLC患者预后的关系。

综上,NSCLC患者PD-L1、Beclin-1、P62表达异常,且P62阳性表达是影响复发转移的独立因素。

参考文献

- [1] 徐彪, 沙纪名, 赵旭东, 等. dNLR, PLR 对非小细胞肺癌根治术患者预后评估[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4): 598-601.
- [2] Evison M, Barrett E, Cheng A, et al. Predicting the risk of disease recurrence and death following curative-intent radiotherapy for Non-small Cell Lung Cancer [J]. Clin Oncol, 2020, 33(3):145-154.
- [3] 张振中, 吕俊杰. 脂质体紫杉醇联合奈达铂治疗对 NSCLC 血清 miR-4731-3p 与 miR-21 的影响及意义[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(6): 589-592.
- [4] 王晚萍, 边海波, 王夏珍, 等. 人表皮生长因子受体 4 在非小细胞肺癌中的表达意义及其对肺癌细胞生物学功能的影响[J]. 中国临床实用医学, 2020, 11(4):1-7.
- [5] Teixidó C, Vilario N, Reyes R, et al. PD-L1 expression testing in non-small cell lung cancer [J]. Ther Adv Med Oncol, 2018, 10:175883591876349.
- [6] Zheng T, Li D, He Z, et al. Prognostic and clinicopathological significance of Beclin-1 in non-small-cell lung cancer: a meta-analysis [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11:4167-4175.
- [7] 王丽. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2016, 37(7):433-436.
- [8] Tanoue LT, Detterbeck FC. New TNM classification for non-small - cell lung cancer [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2009, 9(4):413-423.
- [9] 岳东升, 张华天. 非小细胞肺癌术后辅助治疗中国胸外科专家共识(2018版)[J]. 中国肺癌杂志, 2018, 21(10): 731-737.
- [10] Ye SL, Li XY, Zhao K, et al. High expression of CD8 predicts favorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma: A cohort study [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(15):e6472.
- [11] Chen LX, Liu Y, Zhang Q, et al. p53/PCDH17/Beclin-1 proteins as prognostic predictors for urinary bladder cancer [J]. J Cancer, 2019, 10(25):6207-6216.
- [12] 缪小辉, 许姣, 周尧, 等. p62 在 NSCLC 组织中的表达及其与化疗效果的关系[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(10): 1588-1590.
- [13] 吕国义, 门翔, 翟素平. NSCLCCT 影像学表现与癌组织 Beclin1、LC3 表达的关系[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(12): 131-135.
- [14] 许子宜, 马迪, 王守正, 等. 221 例 III A/N2 期非小细胞肺癌患者的预后因素分析[J]. 癌症进展, 2019, 17(17):2016-2021, 2037.
- [15] Puissant A, Fenouille N, Auberger P. When autophagy meets cancer through p62/SQSTM1 [J]. Am J Cancer Res, 2012, 2(4):397-413.
- [16] 吴茵, 吴健, 石永利, 等. 非小细胞肺癌组织中 PD-1/PD-L1 的表达及临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2019, 24(3):218-221.
- [4] Xu Y, Ban Y, Ran L, et al. Relationship between unexplained recurrent pregnancy loss and 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms [J]. Fertil Steril, 2019, 111(3):597-603.
- [5] 李杰, 李转转, 张吉才. 十堰地区女性人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(4):572-576.
- [6] Bulloch RE, Wall CR, McCowan LME, et al. The Effect of Interactions between Folic Acid Supplementation and One Carbon Metabolism Gene Variants on Small-for-Gestational-Age Births in the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) Cohort Study [J]. Nutrients, 2020, 12(6):1677.
- [7] 吴利, 陈少金, 李周扬, 等. 三亚市汉族和黎族女性 MTHFR 与 MTRR 基因多态性分布特征[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(1):34-38+68.
- [8] 何天文, 黄演林, 丁红珂, 等. 广东地区汉族育龄妇女 MTHFR 基因遗传多态性[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(3): 226-229.
- [9] 刘聪, 张丽琴, 徐静, 等. 赣南地区亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) C677T 基因多态性分析[J]. 实验与检验医学, 2020, 38(1):36-38.
- [10] 韩亚, 鲁衍强, 刘红, 等. 遵义地区育龄女性叶酸代谢关键酶基因位点多态性研究[J]. 中外女性健康研究, 2020, (7):4-5+16.
- [11] 唐慧荣, 马举娟, 陈瑞祥. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性与同型半胱氨酸水平的相关性[J]. 安徽医药, 2020, 24(6):1221-1224.
- [12] 郭婷婷, 刘芳, 归婧, 等. 郑州市中原区汉族育龄女性 MTHFR 和 MTRR 基因多态性[J]. 基础医学与临床, 2020, 40(2):215-218.
- [13] 曹云, 周晓, 张晓艳, 等. 陕西省延安地区育龄女性 MTHFR 基因多态性和国内多地区相关报道比较分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1):62-66.
- [14] 刘陈. 苏州地区妊娠妇女亚甲基四氢叶酸还原酶 MTHFR C677T 基因与血型的相关分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7(37):177.
- [15] 张运霖. 围孕期叶酸水平、亚甲基四氢叶酸还原酶基因突变与不良出生结局的关系[J]. 实用临床医学, 2019, 20(10):39-41.

(上接第 167 页)

带状疱疹患者血清中ESR、CRP、IL-1、免疫球蛋白与后遗神经痛的关系

田苗¹ 许济¹ 陈斌^{1*} 游芳¹ 李花² 李仕林³

[摘要] 目的 探讨带状疱疹患者血清中红细胞沉降率(ESR)、C反应蛋白(CRP)、白介素-1(IL-1)及免疫球蛋白与后遗神经痛(PHN)的关系。方法 选取2017年11月至2021年5月在西安交通大学医学院附属三二〇一医院康复医学科接受治疗的82例带状疱疹患者,对其随访3个月,根据其是否发生PHN,分为后PHN组(52例),未发生PHN组(30例)。对比两组患者首次入院时炎性指标白介素-1(IL-1)、白介素-6(IL-6)、白介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF)、CRP及ESR水平;比较两组血清免疫球蛋白IgA、IgM、IgG、C4、C3水平;利用受试者工作特征(ROC)曲线分析ESR、CRP、IL-1等炎性指标及免疫球蛋白对PHN的预测价值。结果 PHN组患者血清IL-1、IL-10、IL-6、TNF- α 、CRP及ESR显著高于未发生PHN组,差异有统计学意义($P<0.05$);PHN组患者血清免疫球蛋白IgA、IgM、IgG、C4、C3水平均显著低于未发生PHN组,差异有统计学意义($P<0.05$);ROC曲线分析结果显示IL-6、IL-1、CRP、TNF- α 、ESR、IgA、C3、C4、IgG、IgM对PHN有较高的诊断价值($P<0.05$)。结论 带状疱疹患者血清ESR、CRP、IL-1及免疫球蛋白可间接或直接反应机体炎性程度,对PHN具有较好预测价值。

[关键词] 带状疱疹;免疫球蛋白;血清炎性因子;后遗神经痛

Relationship between ESR, CRP, IL-1, immunoglobulin and afterneuralgia in patients with herpes zoster

TIAN Miao¹, XU Ji¹, CHEN Bin^{1*}, YOU Fang¹, LI Hua², LI Shilin³

(1. Department of Rehabilitation Medicine, 321 Hospital affiliated to Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Hanzhong, Shanxi, China, 723000; 2. Department of Neurology, 321 Hospital affiliated to Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Hanzhong, Shanxi, China, 723000; 3. Department of Neurology, The Third Xi'an Hospital, Xi'an, Shanxi, China, 710018)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), interleukin-1 (IL-1), immunoglobulin and postherpetic neuralgia (PHN) in patients with herpes zoster. **Methods** 82 patients with herpes zoster treated in the Department of rehabilitation medicine, 3201 Hospital Affiliated to the Medical College of Xi'an Jiaotong University from November 2017 to May 2021 were followed up for 3 months. According to whether they developed PHN, PHN group (52 cases) and non PHN group (30 cases). The inflammatory indexes such as IL-1, interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF), CRP and ESR were compared between the two groups; The levels of serum immunoglobulin IgA, IgM, IgG, C4 and C3 were compared between the two groups; The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the inflammatory indexes such as ESR, CRP and IL-1 and the predictive value of immunoglobulin on PHN. **Results** Serum IL-1, IL-10, IL-6, TNF- α , CRP and

基金课题:西安市科技计划项目[2019114613YX001SF039(4)]

作者单位:1. 西安交通大学医学院附属三二〇一医院康复医学科,陕西,汉中 723000

2. 西安交通大学医学院附属三二〇一医院神经内科,陕西,汉中 723000

3. 西安市第三医院神经内科,陕西,西安 710018

*通信作者:陈斌, E-mail: chenbindoc@163.com

ESR in PHN group were significantly higher than those in non PHN group ($P<0.05$); The levels of serum immunoglobulin IgA, IgM, IgG, C4 and C3 in PHN group were significantly lower than those in non PHN group ($P<0.05$); ROC curve was used to analyze the predictive value of serum inflammatory indexes and immunoglobulin for PHN in herpes zoster. The results showed that 10 items of IL-6, IL-1, CRP, TNF- α , ESR, IgA, C3, C4, IgG and IgM would have high diagnostic value for PHN. **Conclusion** Serum ESR, CRP, IL-1 and immunoglobulin in patients with herpes zoster can indirectly or directly reflect the degree of inflammation, and have good predictive value for PHN.

[KEY WORDS] Herpes zoster; Immunoglobulin; Serum inflammatory factors; Sequelae neuralgia

带状疱疹是由水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus VZV)引发的一种病毒感染性皮肤病^[1]。该病毒具有亲神经性,可在脊髓神经后根神经节中神经元内长期潜伏^[2]。当患者出现感冒、劳累及感染等诱发因素时,病毒将被激活、再次增殖、并沿感觉神经下行^[3]。此时机体被其累及的神经节便可产生神经痛,或在神经节段分布区形成皮损。部分患者皮损消退之后,可能出现持续1月以上且经治疗无效的神经痛,该症状即为带状疱疹后遗神经痛(Postherpetic neuralgia PHN)^[4-5]。目前,PHN被称为“不死的癌症”^[6],因此对于医学工作者而言,寻求更客观、易于获得的生化指标对PHN进行早期预测十分必要。研究表明,VZV所导致的神经炎症及免疫功能低下是PHN发生的重要因素,且临床实践证实,给予带状疱疹PHN患者适量抗炎药物及免疫调节剂可有效缓解疼痛症状。但临床鲜少研究炎症因子、免疫球蛋白等生化指标与带状疱疹PHN的相关性。本研究探讨红细胞沉降率(Erythrocyte sedimentation rate ESR)、C反应蛋白(C-reactive protein CRP)、白介素-1(Interleukin-1 IL-1)、免疫球蛋白与后遗神经痛的关系。结果如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年11月至2021年5月在西安交通大学医学院附属三二〇一医院康复医学科接受治疗的82例带状疱疹患者。对其随访3个月,根据其是否发生PHN,分为PHN组(52例),未发生PHN组(30例)。其中PHN组男27例,女25例;年龄平均(60.34±9.87)岁;病程平均(26.59±6.41)个月;发病部位:下肢2例、腰背胸腹部28例、上肢及颈部12例、头面部10例。未发生PHN组男16例,女14例;年龄平均(60.98±10.07)岁;病程平均(26.97±6.85)个月;发病部位:下肢1例、腰背胸腹部14例、上肢及颈部9例、头面部6例。两组

年龄、性别、病程及发病部位等临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会批准。

纳入标准:①依据第二版《临床皮肤病学》^[7]中关于带状疱疹的相关诊断内容,被明确诊断为带状疱疹的患者。②患者在确诊后即刻进行血清检查,且血清检查结果在数小时内即被研究者所获得。③年龄大于50岁患者。④同意参与本次研究,且配合后期随访的患者。⑤不存在精神病史,或认知障碍,可进行日常正常交流的患者。排除标准:①存在恶性肿瘤、肺结核、风湿性关节炎、先天免疫障碍、慢性肝病及肾病等系统性疾病患者。②排除高血压、糖尿病及存在严重凝血功能障碍患者。③合并急性荨麻疹、湿疹、过敏性皮炎、过敏性哮喘等变态反应疾病的患者。④患者近期出现急性感染。⑤近期使用类固醇类药物进行治疗,包括口服或吸入非甾体类抗炎药。

1.2 方法

标本采集:被确诊为带状疱疹的82例患者入院后,及时采集其肘静脉血6 mL作为实验室检测标本。将标本在室温环境下静置0.5 h后,以3 000 r/s的速度离心5 min,离心半径为10 cm,再将其上清液分离。分离所得上清液置于EP管中,再保存于-80℃冰柜中待检。

血清炎症指标检测:将待检标本取出,在室温环境下将其融化后,采用酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay ELISA)检测血清IL-1、白介素-6(Interleukin-6 IL-6)、白介素-10(Interleukin-10 IL-10)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α TNF)水平。ELISA试剂盒由上海恒远生物科技有限公司提供。操作严格按说明书进行。运用美国贝克曼库尔特IMMAGE 800特定蛋白分析仪检测CRP。运用魏氏法(试剂盒由上海西格生物科技有限公司生产),同时采用南京贝登医疗股份有限公司生产的普利生LBY-XC40B全

自动红细胞沉降率测定仪对ESR进行检测。

血清免疫球蛋白检测:运用免疫散射比浊法(试剂盒由北京福瑞润泽生物技术有限公司生产),同时采用美国贝克曼库尔特IMMAGE 800特定蛋白分析仪检测两组血清免疫球蛋白IgA、IgM、IgG、C4、C3水平。

1.3 统计分析

采用SPSS 22.0作为统计分析软件。符合正态的计量资料运用($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用独立样本t检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析ESR、CRP、IL-1等炎性指标及免疫球蛋白对PHN的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清炎性因子水平比较

PHN组患者血清IL-1、IL-10、IL-6、TNF- α 、CRP及ESR水平显著高于未发生PHN组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组患者血清免疫球蛋白比较

PHN组患者血清免疫球蛋白IgA、IgM、IgG、C4、C3水平均显著低于未发生PHN组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 血清炎性因子与免疫球蛋白对带状疱疹PHN的预测价值

以IL-1、CRP、ESR等血清炎性指标,与以IgA、IgM、IgG、C4及C3等血清免疫球蛋白指标为因变量,以组别为自变量,利用ROC曲线识别判断血清各炎性指标及免疫球蛋白指标对带状疱疹PHN的预测价值,结果显示IL-6, IL-1, CRP, TNF- α , ESR, IgA, C3, C4, IgG, IgM共10项会对PHN有较高的诊断价值。见表3、图1。

3 讨论

VZV病毒感染人体后可引发急性皮肤病。儿童因对该病毒缺乏免疫力,故被其感染通常出现水痘^[9]。而部分成人感染该病毒后,可不发病,成为携带病毒的隐性感染者。当机体因外伤、肿瘤

表1 两组患者血清清炎性因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum inflammatory factor levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-10 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	IL-1 (ng/L)	CRP (mg/L)	TNF- α (ng/L)	ESR (mm/h)
PHN组	52	105.68 \pm 19.58	84.35 \pm 10.21	118.51 \pm 12.45	18.74 \pm 1.43	208.34 \pm 27.58	49.84 \pm 6.84
未发生PHN组	30	94.58 \pm 20.37	56.34 \pm 11.07	98.56 \pm 11.23	12.16 \pm 1.06	169.23 \pm 28.12	35.24 \pm 5.43
t值		2.437	11.602	7.238	21.929	21.929	10.005
P值		0.017	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

表2 两组患者血清免疫球蛋白比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum immunoglobulin between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IgA (mg/L)	IgM (mg/L)	IgG (mg/L)	C4 (mg/L)	C3 (mg/L)
PHN组	52	240.54 \pm 15.03	148.13 \pm 12.19	489.84 \pm 84.06	181.23 \pm 13.04	106.25 \pm 12.13
未发生PHN组	30	421.36 \pm 24.06	187.12 \pm 11.31	843.12 \pm 98.34	342.57 \pm 12.08	144.67 \pm 14.19
t值		-41.936	-14.317	-17.217	-55.410	-12.976
P值		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

表3 血清炎性因子与免疫球蛋白对带状疱疹PHN的预测价值

Table 3 predictive value of serum inflammatory factors and immunoglobulin in PHN of herpes zoster

指标	AUC	标准误	95%CI	最佳界值	敏感度	特异度	Cut-off	P值
IL-1	0.868	0.046	0.779~0.957	0.727	0.827	0.900	108.170	0.001
CRP	1.000	0.000	1.000~1.000	1.000	1.000	1.000	14.870	0.000
ESR	0.965	0.002	0.923~1.008	0.928	0.962	0.967	41.220	0.001
IgA	1.000	0.000	1.000~1.000	1.000	1.000	1.000	14.870	0.000
IgM	0.990	0.008	0.975~1.005	0.914	0.981	0.933	175.630	0.001
IgG	0.996	0.004	0.987~1.004	0.933	1.000	0.933	752.880	0.001
C4	1.000	0.000	1.000~1.000	1.000	1.000	1.000	316.630	0.001
C3	0.974	0.015	0.944~1.005	0.862	0.962	0.900	130.940	0.001
IL-10	0.640	0.064	0.515~0.766	0.304	0.904	0.400	86.230	0.028
IL-6	0.976	0.016	0.945~1.008	0.900	1.000	0.900	66.660	0.000
TNF- α	0.844	0.050	0.746~0.942	0.683	0.750	0.933	196.220	0.000

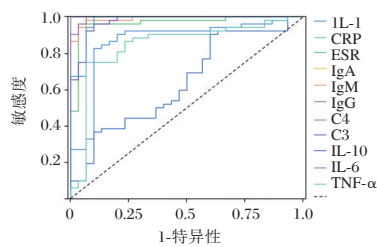


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

等因素导致免疫力下降时, VZV 可被激活, 侵袭周围神经及皮肤, 引发神经疼痛, 同时在相应神经支配区域, 出现以水泡、丘疹等皮损症状为特征的病毒感染性皮肤病。其中患者疼痛程度、疼痛性质及疼痛持续时间因个体体质差异而不同^[9]。

研究发现, 白介素、CRP 及 ESR 等血清炎症指标不仅会提高神经兴奋性, 还可诱发神经疼痛, 与 PHN 存在密切关系^[10]。本研究结果表明, IL-1、IL-6 及 IL-10 对带状疱疹 PHN 具有较高预测价值, 其中 IL-1 由内皮细胞及单核-巨噬细胞分泌。IL-1 β 是其具有生物活性且最常见的亚型。该亚型可通过促进氧自由基、缓激肽、P 物质及兴奋性氨基酸等炎症介质的释放, 使脊髓角神经敏感性增加, 在神经持续性疼痛中发挥重要作用^[11-12]。IL-10 对巨噬细胞黏附聚集及活化均可产生抑制作用^[13]。同时该因子对抗原提呈细胞表达抗原及自身免疫应答可产生抑制。

相对于 IL-10、IL-6 及 IL-1 血清 ESR、CRP 更易获得, 且均可客观准确评估带状疱疹患者 PHN 的发生。当带状疱疹患者血清 ESR 大于 16.5 mm/h、CRP 大于 9.045 mg/L 时, 需进行抗炎治疗以预防 PHN 发生。其中 CRP 是指当组织损伤或受到感染时, 血清中一些急剧上升的急性蛋白。该蛋白由 5 个相同亚单位组成, 各亚单位均具有 CRP 配体结合点, 各结合配点在 Ca²⁺ 的参与下发挥生理作用, 可通过激活补体而增强巨噬细胞的吞噬作用, 达到清除凋亡组织细胞、坏死及病原微生物的作用。而 IL-6 在 CRP 的合成中起主导作用, 而 CRP 的 mRNA 也受皮质素及 IL-1 调节。因此 CRP 可间接反映机体炎症水平, 并对带状疱疹 PHN 起间接预测作用。ESR 是指红细胞在单位时间内的沉降速度。研究表明, 静置玻璃管中经抗凝处理血浆中的红细胞在重力作用下, 沉降速度十分缓慢。但当机体处于急性炎症、组织破坏等病理状态时, ESR 可显著增快^[14]。因此 ESR 也可作为炎症反应程度间接反应

指标。带状疱疹 PHN 患者 ESR 高于未发生 PHN 患者, 可能由机体高炎症反应所致。

本研究亦表明, 带状疱疹 PHN 患者血清免疫球蛋白各指标显著低于未发生 PHN 患者, 同时 ROC 曲线显示, 各免疫球蛋白指标对 PHN 均具有较高预测价值。说明血清免疫球蛋白与 PHN 的发生存在密切关系, 本研究与粒玉秋、王琛等学者研究结果一致^[15]。分析原因可能因为, 患者感染 VZV 后, 机体细胞免疫出现紊乱, 各项细胞因子与免疫球蛋白异常。当免疫球蛋白水平下降时, 机体抗病毒能力将随之下降。因此潜藏于脊髓后根神经节及三叉神经节的 VZV 可增值、复发, 最终导致 PHN 发生。

综上所述: 带状疱疹患者血清炎症指标 IL-1、ESR、CRP 及免疫球蛋白可直接或间接反应机体炎症反应程度, 对 PHN 具有较好预测价值。

参考文献

- [1] Wang Y, Qi J, Cao H, et al. Immune Responses to Varicella-Zoster Virus Glycoprotein E Formulated with Poly(Lactic-co-Glycolic Acid) Nanoparticles and Nucleic Acid Adjuvants in Mice[J]. Virol Sin, 2021, 36(1):122-132.
- [2] Zeng WB, Zhang F, Cheng S, et al. Concerns on Vaccine against Varicella Caused by Varicella-Zoster Virus Infection[J]. Virol Sin, 2021, 36(1):159-162.
- [3] Ren F, Hu Z, Kong Q, et al. Multiple Segmental Eccrine Spiradenoma with a Zosteriform Pattern: A Case Report and Literature Review[J]. Ann Dermatol, 2015, 27(4):435-8.
- [4] 李玉秋, 徐文英, 潘南楠, 等. 带状疱疹后遗神经痛的危险因素分析[J]. 中国医药, 2019, 14(9):1406-1410.
- [5] 孟丹, 林维茹, 刘国艳. 带状疱疹后遗神经痛相关危险因素分析[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2020, 36(3):147-150.
- [6] 宋铁军, 王亚斐, 徐海丰, 等. Th17/Treg 细胞及相关细胞因子水平与带状疱疹患者疼痛程度及并发后遗神经痛的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4):535-538.
- [7] 张薇薇, 詹玮玮, 石波, 等. 早期多模式镇痛治疗带状疱疹及预防带状疱疹后遗神经痛 57 例[J]. 医药导报, 2019, 38(4):461-464.
- [8] 许阳婷. 三种预测模型对南京市水痘发病预测的应用与比较[J]. 华南预防医学, 2021, 47(1):10-14.
- [9] 华敏, 殷琴, 刘贝, 等. EAAT2 基因多态性对带状疱疹后神经痛病人疼痛敏感性的影响[J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(1):41-47.
- [10] 尼特伟布子, 鄢建勤, 谭慧玲, 等. 肿瘤坏死因子抑制剂对类风湿关节炎病人带状疱疹发病率影响的 Meta 分析[J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(6):467-471.
- [11] 张志彬, 李思思, 段训新, 等. 血清炎症标志物与带状疱疹后遗神经痛相关性研究[J]. 临床皮肤科杂志, 2019, 48(8):470-472.

乙肝表面抗原定量与HBV-DNA相关性的研究进展

王光彦^{1*} 慕晓琼² 曾昭杰¹ 庞建丽¹ 李春燕¹

[摘要] 乙型肝炎病毒感染为一种全球范围内疾病,HBV感染导致的肝硬化、肝衰竭与原发肝癌,严重威胁着人们生命健康。乙肝病毒DNA定量检测为乙型肝炎表面抗原最直接的病毒复制指标,临床可将其作为监测评估乙肝病毒的一个重要指标依据,但受实验室要求严格限制,不能快速检测,影响临床疾病诊断。随着临床研究深入,临床研究发现HBsAg水平可用于监控、预测抗病毒治疗效果。本文通过探究分析HBsAg定量水平与HBV DNA相关性,指导临床诊断乙肝病毒,并为后期临床治疗工作开展提供指导意见。

[关键词] 乙肝表面抗原定量检测; 乙肝病毒

Research progress on the correlation between hepatitis B surface antigen quantitative detection technology and HBV-DNA

WANG Guangyan¹, MU Xiaojiong², ZENG Zhaojie¹, PANG Jianli¹, LI Chunyan¹

(1. Chuxiong Yi Autonomous Prefecture People's Hospital, Chuxiong, Yunnan, China, 675000; 2. Chuxiong Yi Autonomous Prefecture People's Hospital, Chuxiong, Yunnan, China, 675000)

[ABSTRACT] Hepatitis B virus infection is a global disease. Liver cirrhosis, liver failure and primary hepatocellular carcinoma caused by HBV infection seriously threaten people's life and health. Hepatitis B virus DNA is the most direct viral replication index of hepatitis B surface antigen. It can be used as an important indicator for monitoring and evaluating hepatitis B virus. However, it is not strictly detected by laboratory, and can not be quickly detected, affecting clinical disease diagnosis. With the deepening of clinical research, clinical research found that HBsAg level can be used to monitor and predict the effect of antiviral treatment. Through exploring and analyzing the correlation between HBsAg quantitative level and HBV DNA, guiding clinical diagnosis of hepatitis B virus, and providing guidance for later clinical treatment work.

[KEY WORDS] Quantitative detection of hepatitis B surface antigen; Hepatitis B virus

当前,乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染已经成为威胁人们生命健康的一个重要疾病,成年人乙肝病毒感染中,约90%~95%患者为急性病毒性肝炎患者,仅5%~10%是因宿主免疫功能缺陷而出现慢性感染^[1-2]。慢性HBV感染传染性强弱与HBV DNA水平高低相关,而且随着HBV DNA复制水平变化,乙肝疾病也会发生发展,且临床可根据HBV DNA水平评估疾病预后情况。^[3]HBsAg定量检测在疾病诊治、治疗方案、预后评估中具有重要指导意义^[4-5]。本文通过分析HBsAg定量检

测与HBV DNA相关性,对其研究进展综述分析。

1 乙肝表面抗原的定量检测技术及临床意义

1.1 乙肝表面抗原定量检测技术

HBsAg为HBV S基因表达的包膜蛋白质,包括不同相对分子质量组分,包括大蛋白(L蛋白)、中蛋白(M蛋白)、小蛋白(S蛋白)。HBsAg合成与HBV DNA复制分属不同通路,其形成、分泌过程比较复杂,当前临床尚未明确^[6]。HBV感染者的血液中有三种不同形式的HBsAg,三种最终形

作者单位:1. 楚雄彝族自治州人民医院,云南,楚雄 675000

2. 楚雄彝族自治州人民医院,云南,楚雄 675000

*通信作者:王光彦, E-mail: wgy501@163.com

成 HBsAg 复合体, HBsAg 是具有完整病毒颗粒包膜化表面蛋白的主要组成部分, 也为大量球状或丝状亚病毒颗粒基本成分^[7-8]。高病毒载量的乙肝 e 抗原阳性感染患者中, 其中完整病毒颗粒亚病毒颗粒比例更高。而在低病毒载量的 HBeAg 阴性慢性感染患者中, 其中完整病毒颗粒亚病毒颗粒比例相对较少。血清 HBsAg 水平下降, 这表明完整病毒复制下降, 亚病毒颗粒减少表明 mRNA 翻译水平与 HBVcccDNA 转录水平下降。

世界卫生组织定义中, 慢性乙肝病毒感染是患者血清中 HBsAg 持续存在至少超过 6 个月的状态, 急性 HBV 感染为血中一过性出现 HBsAg^[9]。HBV 感染者血液中可检查中三种不同形态 HBsAg, 分别存在于长度各异宽度 20 nm 的杆状亚病毒颗粒表面的 HBsAg、直径 20~22 nm 球形亚病毒颗粒表面 HBsAg、直径 42 nm 的完整病毒颗粒表面的 HBsAg^[10]。

上世纪 90 年代, 我国医学检验技术得到快速发展, 多项新检验技术被临床用于 HBsAg 检测中, 而且 HBsAg 检测的特异度、灵敏度水平也得到明显提高^[11]。其中应用最广泛的是酶联免疫吸附试验, 虽然该实验仅能做半定量或定性, 但具有特异性强、灵敏度高的特点, 对 HBsAg 检测灵敏度可达到 0.5 ng/mL, 而且操作中不需要应用昂贵设备, 操作简单方便, 该方法仍为临床实验室普遍应用的检测方法。当前临床应用的 HBsAg 检测方法中微粒子酶免疫分析法、化学发光微粒子分析法应用可提高检测准确性, 这些方法也是当前临床用于 HBsAg 定量检测的先进技术, 被临床广泛应用^[12]。蛋白质芯片检测表面抗原定量结果基本与酶联免疫吸附法检测结果一致, 但该检测方法操作简单方便、快捷。而且研究结果显示, 直接通过软件计算抗原含量, 可以做到定性定量, 适用于患者疾病治疗效果的观察^[13]。液相芯片技术检测 HBsAg 方法灵敏度高、准确度高, 而且具有可重复性、灵活性好的特点, 仅采用微量样品检测, 最高检测浓度可达到 16 000~32 000 pg/mL。

1.2 定量检测 HBsAg 的临床意义

欧洲肝脏病学学会研究指出, 慢性乙型肝炎最佳治疗效果: 乙型肝炎 e 抗原阳性及 e 抗原阴性的慢性乙型肝炎患者, 实施有效抗病毒治疗后, 持续 HBsAg 转阴或血清学转变, 不论接受哪种抗病毒治疗后代偿性肝病病情治愈, 并停止治疗。这表明定量检测 HBsAg 可用于慢性乙肝抗病毒治疗

疗效、决定疗程及预测评估血清学转换^[14]。张晓艳等^[15]研究中, 研究组患者经恩替卡韦结合长效干扰素 α 治疗乙型肝炎 e 抗原阳性慢性乙肝后, HBsAg 转阴率为 6.00%, 血清学转阴率 4.00%, HBV DNA 转阴率 86.00%, 证实 HBV DNA 水平监测评估恩替卡韦结合长效干扰素 α 治疗乙型肝炎 e 抗原阳性慢性乙肝效果具有显著意义。此外, 临床还可根据 HBsAg 水平及转阴率对用药治疗效果进行评估, 有利于尽早发现耐药菌株。

2 HBV DNA 定量检测技术和临床意义

2.1 HBV DNA 定量检测技术

HBV-DNA 定量为乙肝的检查项目之一, 其检测是主要检测乙肝病毒在血液中的含量。从分子水平研究是当前临床现金技术, DNA 重组技术发展, 获取大量高纯度 DNA 片段供应制备探针, 杂交检测待检样品, 尤其应用于病毒性肝炎检验中临床意义显著。HBV-DNA 分子杂交斑点试验为 adr 亚型 HBV-DNA 做探针与病人血清中的 HBV-DNA 或片段实施分子杂交, 最后实施放射自显影计算, 检测血清中 HBV-DNA 先进技术。其具有检测结果可靠、准确、敏感度高的特点。

2.2 HBV DNA 定量检测技术的临床意义

一方面, 可以弥补定性检测不足。临床中 HBeAg 阳性患者往往被认定为传染性强, 但部分的 HBeAg 阴性的乙肝患者是因乙肝病毒前 C 区变异而导致, 会导致 HBeAg 表达缺失, 感染不表达 HBeAg 的 HBV 突变, 或野生型 HBV 在体内突变为优势株而产生严重后果, 容易出现暴发性肝炎。此时采用 ELISA 等定性检测抗原或抗体, 不能准确反映病毒水平, 也不能评估传染性大小, 对于临床治疗, 可决定是否需要抗病毒治疗就无指导意义。而核酸定量技术可敏感检测肝炎患者病毒血症水平, 评估机体病毒感染情况, 具有重要临床意义。

二方面, 提供抗病毒治疗的依据及判断疗效。乙肝抗病毒治疗为乙肝防治的根本措施, 临床常用的干扰素、拉米夫定。传统疗效判断多依据肝功能、临床表现、HBV DNA 转阴、肝脏病理学变化, 而病毒定量可客观反映病毒血症水平, 指导抗病毒治疗效果, 乙肝经抗病毒治疗后, 血清中病毒数目 $<50/\mu\text{L}$ 时, 相应症状消失, 可以认为病情显著改善。这表明定量检测用于评估抗病毒治疗效果显著。

3 HBsAg与HBV DNA定量关系

3.1 HBsAg与HBV DNA相关性

王涛等^[16]研究表明,慢性乙型病毒性肝炎患者血清HBsAg水平越高,HBV DNA水平高,肝功能水平差。辛菊梅^[17]研究中,分析慢性乙型活动性肝炎患者、代偿期肝硬化患者、失代偿期肝硬化患者的HBsAg水平与HBV DNA水平。随着肝硬化程度恶化加重,HBsAg水平与HBV DNA下降,三组HBsAg水平与HBV DNA正相关,HBsAg水平和HBV DNA与肝硬化严重程度负相关。

HBV-DNA为病毒复制的基础,是乙肝病毒复制最直接的指标。只要查到HBV-DNA,即可证实被检样本中存在HBV,有临床症状者为乙肝,无临床症状者为乙肝病毒携带者^[18]。慢性乙肝患者血清HBV-DNA载量水平直接体现体内病毒血症水平。HBV DNA水平是评估HBV复制活动的一个重要标志物,临床研究发现慢性HBV感染者肝细胞中小球形颗粒输出与血清HBV-DNA基本一致。HBsAg水平会随着HBV-DNA变化而变化,一般HBeAg阴性的慢性肝炎低复制患者,HBsAg水平会明显高于基线值,这表明存在慢性乙型肝炎再激活情况^[19]。但也有研究指出,血清中HBsAg与HBV复制水平不一定存在一致性。一般临床研究中提出,HBV感染时,外周血中HBV DNA为病毒复制最直接的体现,可用于评估病毒水平与病毒传染的强弱性^[20]。而HBsAg作为HBV感染标志,关于HBsAg与病毒复制的相关性研究较少,而且临床尚无明确定论。当前临床研究中提出,血清中HBsAg与HBV DNA之间为正相关,HBsAg水平可作为病毒复制情况评估的一个直接指标。刘杨等^[21]研究中提出,分析慢性乙肝病毒不同分阶段血清HBsAg水平与HBV DNA载量的相关性,结果表明,慢性乙肝病毒感染患者血清HBsAg水平与HBV DNA载量水平呈正相关性,因此临床可在治疗前后监测HBsAg水平,评估临床疗效。

也有研究^[22]提出,血清HBsAg水平与HBV DNA无相关性,临床分析可能是因HBV复制周期中,HBsAg合成复杂、持续感染的积累、变异等。慢性HBV感染患者体内,HBsAg合成量明显高于需要组装完整病毒量,血清中HBsAg中主要为不含病毒核酸的管形颗粒、小球形颗粒,浓度水平为50~300 μg/mL。因此,临床根据HBsAg定量评估慢性

HBV感染者的HBV复制状态仍存在一定的局限性。

3.2 影响HBsAg水平与HBV DNA相关性的主要因素

3.2.1 HBeAg状态

HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者中,HBsAg水平与血清HBV DNA与肝组织中共价闭合环状DNA水平与总HBV DNA正相关。何龙芳等^[23]研究中,HBeAg阳性患者的HBV DNA阳性率与平均拷贝数均高于HBeAg阴性患者,HBsAg阳性患者的平均拷贝数高于HBsAg阴性患者,HBeAg阳性、HBsAg阳性与HBV DNA水平之间成正相关性,临床可根据HBeAg、HBsAg水平评估HBV DNA复制水平,尤其是高水平HBeAg与HBV DNA密切相关。

3.2.2 HBV感染阶段不同

朱霞^[24]研究中,1 339例未经抗病毒治疗慢性HBV感染患者,根据HBV感染自然史,分为四组:免疫耐受期、免疫清除期、低复制期、在活动期,分析不同阶段HBsAg定量之与HBV DNA载量相关性,结果表明HBV感染自然史的不同阶段,HBsAg定量与HBV DNA载量仅免疫清除期间为正相关($r=0.552, P<0.05$)。

3.2.3 HBV基因型不同

HBV中存在不同基因型,而不同基因型对乙肝患者病程、临床结局、抗病毒治疗效果均具有一定的影响。张欣等^[25]研究中,HBeAg阳性慢性HBV感染孕妇血清HBsAg滴度与HBV DNA水平呈正相关($r=0.754, P<0.05$)。这表明HBeAg阳性慢性HBV感染患者的血清HBV DNA水平与HBsAg水平呈正相关。

4 总结与展望

随着HBsAg定量检测技术进步发展,HBsAg定量检测结果精确性明显提高,高载量HBV DNA与HBsAg定量水平有直接相关性,可用于评估患者体内病毒复制、传染情况。将其作为一项重要的乙肝病毒感染疾病诊断指标,对于后期疾病治疗与患者预后改善具有积极意义。

参考文献

- [1] 耿辉,魏雁虹,杨广民.慢性乙型肝炎患者血清α1微球蛋白水平与HBV-DNA载量的相关性研究[J].检验医学与临床,2020,17(7):873-875.

- [2] 卢建华,杨莉,叶立红,等. HBsAg定量检测在慢性乙型肝炎病毒性肝炎患者诊疗中的临床意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(33):33-37.
- [3] 赵海燕,杨东,洪伟,等. 慢性乙型肝炎,乙型肝炎肝硬化患者中HBV-DNA水平,HBV-M,淋巴细胞亚型特点分析[J]. 广东医学, 2019, 40(3):128-131.
- [4] 程欣,郝红. 慢性乙型肝炎患者中血清HBsAg水平与HBV DNA及肝功能的相关性分析[J]. 医学美学美容, 2020,29(14):10.
- [5] Le Bert N, Gill US, Hong M, et al. Effects of Hepatitis B Surface Antigen on Virus-Specific and Global T Cells in Patients With Chronic Hepatitis B Virus infection[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(2):652-664.
- [6] 谭雷,吴涛,吕艳,等. 经相同肝实质细胞体积分摊的血清HBsAg水平与肝组织病理进展相关而与HBeAg状态无关[J]. 中山大学学报(医学版), 2019, 40(5):747-753.
- [7] 李宁侠,王海东,李洁. 慢性乙型肝炎化学发光HBsAg定量与HBV-DNA相关性研究[J]. 中国现代医药杂志, 2019,21(8):49-50.
- [8] 王永力,吴文煜,尤洁,等. 核苷(酸)类似物经治慢性乙型肝炎患者干扰素 α 治疗过程中细胞因子信号抑制因子3的表达与抗病毒疗效的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(1):27-32.
- [9] 曾艳丽,魏君锋,丁岗强,等. HBcAb水平预测HBeAg阳性慢性乙肝初治患者肝纤维化程度的研究[J]. 中华全科医学, 2019, 17(3):16-19+43.
- [10] 申红玉,张宏宇,陈敏,等. 乙型肝炎患者不同突变谱的乙肝表面抗原水平变化[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(3):77-81.
- [11] 华琳,杨雅芸,孙维罗,等. 乙型肝炎患者ALT水平与HBV血清标志物联合检测的应用价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(18):36-39+43.
- [12] 朱锦宏,吴红,王春苗,等. 乙肝患者血清HBsAg与HBsAb双阳性的临床分析[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(4):140-142+146.
- [13] 肖静,李文华,司晓盼,等. 乙型肝炎HBV-M模式,前S2抗原与HBV-DNA定量检测关系探讨[J]. 陕西医学杂志, 2020, 545(11):74-77.
- [14] 苏元波,李璐,贾莹,等. 免疫化疗对乙型肝炎病毒性肝炎表面抗原阳性非霍奇金淋巴瘤患者乙型肝炎病毒性肝炎病毒再激活的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(23):2981-2984.
- [15] 张晓艳,张海涛,杨立新,等. 恩替卡韦联合长效干扰素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎临床研究[J]. 中国药业, 2019, 28(18):41-43.
- [16] 王涛,梁慧丽. 慢性乙型肝炎患者中血清HBsAg水平与HBV DNA及肝功能的关系[J]. 河南医学研究, 2019, 28(7):157-158.
- [17] 辛菊梅. 慢性乙型肝炎及肝硬化患者HBsAg和HBV DNA定量检测的临床意义[J]. 临床输血与检验, 2020, 22(2):203-205.
- [18] 周家玲,王冰琼,施漪雯,等. 慢性乙型肝炎HBV DNA阴转和HBsAg清除对肝细胞癌发生的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(11):831-833.
- [19] Suslov A, Meier MA, Ketterer S, et al. Transition to HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection is associated with reduced cccDNA transcriptional activity[J]. *J Hepatol*, 2021, 74(4):794-800.
- [20] 张金苹. 阿德福韦酯联合恩替卡韦对慢性乙型肝炎患者HBV-DNA,ALT的影响[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2020, 4(16):75-77.
- [21] 刘杨,彭道荣,霍豆,等. 慢性HBV感染自然史不同阶段血清HBsAg水平及与血清HBV-DNA载量相关性的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(3):11-14.
- [23] 何龙芳,龙云升,张海业. 乙型肝炎病毒DNA复制水平与HBeAg, HBsAg的相关性研究[J]. 临床医学工程, 2020, 27(1):65-66.
- [24] 朱霞,唐红. HBsAg定量与HBV DNA载量在HBV感染自然史不同阶段的临床意义[J]. 四川大学学报(医学版), 2019, 50(5):771-774.
- [25] 张欣,闫玲,卢颖,等. HBeAg阳性慢性HBV感染孕妇血清HBV DNA水平与HBsAg滴度的相关性及其HBV PreS/S区基因变异对二者相关性的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2018, 26(8):579-584.

(上接第176页)

- [12] 陈亮,聂紫雯,张凤. 风湿性多肌痛患者红细胞沉降率和炎性因子表达情况及其病情严重程度的相关性分析[J]. 解放军医药杂志, 2020, 32(2):71-74.
- [13] 陈晓彤,王蕊,常敏,等. 老年带状疱疹后神经痛病人外周血Th17/Treg细胞及相关细胞因子的表达[J]. 中国疼痛医学杂志, 2019, 25(7):513-517.
- [14] 李丽梅,刘悦,张志利,等. 臭氧穴位注射联合背根神经节脉冲射频对带状疱疹后遗神经痛临床效果及红细胞沉降率、C反应蛋白、白细胞介素-6的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(11):2116-2120.
- [15] 李玉秋,王琛,韦兰,等. 带状疱疹急性期患者血清前炎性细胞因子、免疫球蛋白和T淋巴细胞亚群水平与后遗神经痛的相关性分析[J]. 河北医药, 2020, 42(6):805-809.

威海市立医院中心实验室

威海市立医院中心实验室位于威海市环翠区和平路70号,现为国家个体化医学检验试验点单位临床合作基地、山东省临床检验重点专科建设单位、山东省医学检验临床医学研究中心分中心、山东省博士后创新基地、威海市重点专科、威海市医学微生物和免疫学重点实验室、威海市医学海洋微生物与健康工程技术研究中心、威海市耐药监测网(质控中心)依托机构。

现有工作人员40余人,二级岗位2人,山东省有突出贡献中青年专家2人,齐鲁卫生与健康杰出青年人才1人,威海市医疗卫生“优秀中青年卫生骨干人才”1人。团队博士8人,在站博士后2人,在读博士和硕士研究生10人,已形成了以高层次科研技术人才为核心,博士和硕士研究生为骨干,辅以千人计划等外聘专家的完善多层次临床型科研团队。

建立了完善的教学管理体系,是山东大学博士研究生,大连医科大学、滨州医学院和潍坊医学院统招硕士研究生培养单位。搭建了包括临床分子诊断学、临床微生物学、临床免疫诊断学和临床细胞分子遗传学等四个亚学科。实验室拥有高通量基因测序系统、具有分选功能的流式细胞仪、全自动免疫流水线、质谱仪、ABI实时荧光定量PCR扩增仪、QuantStudio5实时荧光定量PCR扩增仪、荧光显微镜等多种大型仪器设备。搭建的基础科研平台,可提供开放的科研实验场所供全院使用。

研究领域为感染免疫与肿瘤免疫基础研究与临床转化,研究方向为胃十二指肠疾病发病机制研究及其临床转化。与企业合作,重点关注研究成果基础上体外诊断试剂的研发。①幽门螺杆菌与宿主中性粒细胞互作关系研究;②幽门螺杆菌介导miRNAs参与胃癌发病机制研究;③胃十二指肠疾病与微生物群落结构关系研究;④胃十二指肠疾病精准诊断与治疗临床转化。承担国家自然科学基金,中国博士后基金,山东省重点研发项目,山东省自然科学基金,山东省医药卫生基金等20余项研究。研究成果获山东省科技进步二等奖3项,三等奖2项,山东省自然科学学术创新奖1项,山东医学科技二等奖2项等,获国家发明专利4项。在国内外重要期刊发表研究论文100余篇,参编“十三五”江苏省高等学校重点教材1部,已培养研究生10余名。

医学检验科学科带头人王明义长期从事感染免疫和肿瘤免疫,二级岗位,是临床检验省级重点专科及市级重点专科的学科带头人,山东省有突出贡献的中青年专家,威海市有突出贡献的中青年专家,威海市医疗卫生首席专家,中国中西医结合学会专业分会常委、中国生物化学与分子生物学会临床医学专业分会委员,中国微生物学会专业分会青年委员兼感染免疫学组常委、中国医学装备协会专业分会委员,山东省医学会微生物与免疫学分会副主任委员、山东省研究型医院协会专业分会副主任委员。



杂志简介：

《分子诊断与治疗杂志》于2009年5月创刊，是由中山大学主管，《中国家庭医生》杂志社有限公司主办，广州达安基因股份有限公司承办的面向国内外公开发行的分子医学权威性刊物，也是我国第一份以分子诊断与治疗学科为主要内容的分子医学专业学术期刊。本刊以传播分子医学理念、报道分子医学前沿、倡导分子医学创新、促进分子医学进步为办刊宗旨。主要刊登我国医学分子诊断和分子治疗相关领域中的基础理论研究、临床实践和技术方法的最新研究成果以及国内分子医学新技术、新理论和新进展等方面的文章。目前有编委及审稿专家80余人。在编委会和审稿专家及编辑部的共同努力下，于2016年被收录为“中国科技核心期刊”（中国科技论文统计源期刊）。

目前有“述评”、“论著”、“综述”、“前沿进展”、“专家笔谈”、“讲座”、“动态”和“专栏”等栏目。涵盖基因诊断、免疫诊断、核酸分子诊断、蛋白分子诊断、信号分子诊断、分子影像诊断、诊断仪器应用、基因治疗、核酸分子治疗、蛋白分子治疗等内容。

