



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5月 第14卷 第5期 总第93期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 5 May 2022



图(734) 精密度参考品微流全流程检测结果

Figure(734) Results of microflow of precision reference

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



05>



分子诊断与治疗杂志

二〇二二年五月

第十四卷 第五期

中山大学

## 王雅杰



王雅杰,《分子诊断与治疗杂志》第五届编辑委员会编辑委员。

1976年9月出生,2007年毕业于首都医科大学,医学博士学位。曾赴美国波士顿大学生物信息学系进行访问学者学习。

主任医师,教授,博士生导师。现任首都医科大学附属北京地坛医院检验科主任兼首都医科大学临床检验诊断学系副主任。国家卫生健康委人才交流服务中心人才评价专家,北京市卫生健康委员会高层次公共卫生技术人才培养计划学科带头人。获得2020年抗击新冠疫情先进个人、白求恩式检验人、白求恩式好医生、国之名医等荣誉称号。担任中国研究型医院学会生物标志物专业委员会副主任委员、青年委员会主任委员,中国生物化学与分子生物学会临床医学专业分会副主任委员,白求恩

精神研究会检验医学分会感染性疾病检验与临床专业委员会主任委员,中国分析测试协会标记免疫分析专业委员会第二届委员会秘书长及常委,中国老年医学学会检验医学分会常委,中国麻风防治协会皮肤性病检验与诊断分会常委,中国医学装备协会应用评价分会常委,《诊断学》副主编,《肿瘤临床检验诊断学》主编,《中华检验医学杂志》、《中华预防医学杂志》、《标记免疫分析与临床》、《分子诊断与治疗杂志》、《中华实验和临床病毒学杂志》、International journal of oncology、Cancer Medicine、OncoTarget and therapy、Oncology Reports、Annals of Translational Medicine 等期刊编委和审稿专家等学术任职。

王雅杰教授长期从事实验室诊断工作,主要研究方向为实用性临床实验室技术及生物标志物研究和应用,在传染性、感染性疾病实验室检测及肿瘤标志物研究方面形成了一定的特色和优势。承担及完成国家、省部级研究课题20余项,其中主要包括国家临床重点专科建设项目、国家自然科学基金项目、北京市自然科学基金项目、首都卫生发展科研专项项目、北京市科技新星项目、北京市科委项目等。荣获中国生物化学与分子生物学会临床医学专业分会突出贡献奖、白求恩式好医生、白求恩式检验人、国家名医盛典国之名医·青年新锐、北京市科技新星、北京市215工程人才、第十三届北京市发明创新大赛铜奖、首届北京医学会优秀中青年医师、首都医科大学教育教学成果二等奖、黑龙江省高校科学技术二等奖、黑龙江省医疗新技术应用一等奖等奖项。发表相关论文百余篇,其中SCI收录26篇;获批专利22项;获批软件著作权11项。主编、副主编及参编专著20余部。培养和招收博士研究生6名,硕士研究生13名。

# 分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 5 月 第 14 卷 第 5 期 总第 93 期 Monthly Volume 14 Number 5 May 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 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 5 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** 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** 2022.5.18  
**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](http://www.istic.ac.cn)

2021年12月



# 分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年5月 第14卷 第5期

## 目次

### 述评

miR-143与骨肉瘤发生、进展及预后关系的研究进展 ..... 刘加明 徐红 杨坤 等(719)

### 论著

游离DNA保存管中甘氨酸含量的测定方法与应用 ..... 魏慧慧 刘艳 殷剑峰 等(723)

病原宏基因组高通量测序技术质量评价参考品的建立 ..... 刘东来 沈舒 田颖新 等(727)

微流控芯片技术在布鲁氏菌检测中的应用 ..... 李翔 董占柱 陈昊 等(731)

老年脑卒中继发性肺部感染患者血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平变化与继发性肺部感染的关系  
..... 韩艳芳 闫巷巷 刘晓卿(736)

血清CRP与骨髓形态检测在弥漫大B淋巴瘤患者中的临床意义 ..... 张红祥 张喜梅 李伟(740)

妊娠期糖尿病患者血清miR-27、miR-34c与胰岛素抵抗的相关性 ..... 桑艳红 郭珏函 焦培林(744)

精囊镜治疗对难治性血精症患者精液WBC、RBC及INH B的影响 ..... 张晓蕾 刘逸飞 高彬(748)

SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达与舌鳞状细胞癌病理特征和预后的关系  
..... 王钟华 杨永超 安峰(752)

血清NT-proBNP、cTnI及CK-MB与急性心梗患者近期预后的关系 ..... 唐惠星 刘倩 李群 等(756)

血清CRP、NLR及WBC对AECOPD患者细菌感染的早期诊断价值  
..... 郭桂林 韩军侠 杨发武(760)

乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2表达的临床价值与预后 ..... 黄风琴 余洁 郭智俊 等(764)

双相障碍抑郁发作与抑郁症患者血清SP、Glu与BDNF水平变化及意义  
..... 蒋燕升 雷秀雯 仲照希(769)

TST、TB-Ab、IGRA三种检测方法在尘肺合并LTBI诊断中的应用价值  
..... 吴志伟 张秀华 闫志伟 等(773)

NT-pro-BNP、cTnI及PCT在心力衰竭合并重症肺炎患者中的表达及临床意义  
..... 马为 高梦琦 荆翠翠 等(777)

血液灌流联合透析对慢性肾病患者残余肾功能及血清VEGF、ET-1的影响  
..... 李素娜 王晓林 付景斐 等(781)

血清netrin-4、Vitronectin与急性缺血性脑卒中患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系  
..... 阳优 曹敏慧 何清 等(785)

STEMI患者外周血p-p38MAPK、p-JNK表达与细胞凋亡及近期预后的关系  
..... 王发波 叶绵赋 李莉 等(789)

DeFine.TB与Xpert-MTB/RIF诊断肺外结核的比较 ..... 刘泽世 耿妍 雷静 等(793)

单基因METTL14在泛癌中的综合分析 ..... 赵丽 闫清 赵晓雯 等(798)

多学科协作模式在遗传性耳聋诊疗中的应用 ..... 雷亚利 黄肖楠 隋洪(802)

重症颅脑损伤合并肺部感染血清IL-17、TNF- $\alpha$ 与Bcl-2、Bax关系及联合检测价值  
..... 张人菁 黄焰霞 邓云新 等(807)

通州区妇女高危型 HPV 感染率及相关因素分析 ..... 马俊凤 张然 焦明远(811)

三种肿瘤标志物与尿液对羟基苯丙氨酸联合检测对乳腺癌的诊断价值  
..... 曹莉莉 沈昕 胡阳 等(816)

CRP、PCT 检测在上尿路结石术后继发感染中的临床意义 ..... 唐中山 杨坤 王金垒 (820)

NLR、PCT、PGE2 预测全麻腹部术后肺部感染的价值 ..... 王瑞娟 杨艳 景建闯 等(824)

心外膜脂肪厚度与急性冠状动脉综合征再发心血管事件的相关性  
..... 肖建东 路玉李 王雅 等(828)

腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染的病原菌特点及 hs-CRP、PCT、NLR 水平  
..... 张丹 李华 杜晓丽 等(832)

外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 调节性 T 细胞表达与新生儿血液感染的关系  
..... 王丽娟 王丽锋 刘雪杰 等(836)

维持性血液透析患者 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 与冠状动脉钙化的相关性  
..... 胡小容 尤小英 屈小燕 等(840)

IL-18、IL-27 及 ST2 在 AECOPD 合并呼吸衰竭患者中的临床应用价值  
..... 王春侠 周小果 郭娜 等(844)

MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 水平预测高脂血症急性胰腺炎严重程度及预后  
..... 刘丽娜 郭瑞芳 梁永纲 等(848)

miR-449a 与 miR-19b-3p 在急性脑梗死介入取栓前后的水平变化及检测价值  
..... 盛文乾君 贾若飞 钟金浩 等(852)

Prdx1、Prdx3 蛋白在卵巢浆液性肿瘤中的表达及临床意义 ..... 李淑红 薛惠英 刘现红(857)

真性红细胞增多症患者外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子表达意义  
..... 康虹阳 刘洁 陈哲 等(861)

血清 PON1、Vaspin、GLP-1 在急性脑梗死诊断及病情评估中的应用价值探究  
..... 杨芳 张佳星 端木勤浩(866)

血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  在儿童细菌性脑膜炎疗效中的评估价值  
..... 秦倩倩 张云霞 薛智民(870)

安罗替尼联合 PD-1/PD-L1 抑制剂后线治疗晚期转移性结直肠癌的临床观察  
..... 李娜 杨芳 王大庆 等(874)

血清 PCT、CRP 及 CRP/Alb 比值对老年缺血性脑卒中后卒中相关性肺炎的早期预测价值  
..... 胡超胜 王超 吴文波 等(879)

PD-1、PD-L1 与炎症标志物在胃癌患者中的相关性 ..... 刘文静 李侠 王崇 等(883)

TSLP、Bach2 及 IL-9 在嗜酸性粒细胞浸润鼻息肉中的表达及临床意义  
..... 魏鑫鑫 李晓玲 黄维平等(887)

入院即刻 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT 对 CHF 急性加重患者预后的预测价值  
..... 孙学敏 董博 张艳艳 等(891)

七氟醚通过 HIF 信号通路对糖尿病心肌保护作用的研究 ..... 李瑾 古力帕日·克力木 马宁(895)

## 综 述

医学检验专业分子诊断实习带教方法探讨 ..... 蔡贞 李书芬 籍会彩 等(899)

## 专家风采

王雅杰 ..... (封二)

## 实验室巡礼

首都医科大学附属北京地坛医院检验科 ..... (封三)

# JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 5 May 2022

## CONTENTS

### COMMENTS

Research progress of the relationship between miR-143 and the occurrence, progression and prognosis of osteosarcoma

*LIU Jiaming, XU Hong, YANG Kun, XIANG Yang* ..... (719)

### ORIGINAL ARTICLES

Quantitative detection method of glycine in cell-free DNA collection Tube

*WEI Huihui, LIU Yan, YIN Jianfeng, SU Lihong, WANG Yumei* ..... (723)

Establishment of reference panel for quality evaluation of pathogen metagenomic next-generation sequencing

*LIU Donglai, SHEN Shu, TIAN Yingxin, ZHOU Haiwei, ZHANG Ying, XU Sihong* ..... (727)

Application of microfluidic chip technology in Brucella detection

*LI Xiang, DONG Zhanzhu, CHEN Hao, SUN Xin, BAO Chunxi, LI Yingzhi, NIU Yiqing, HAO Mingyuan, ZHAO Zhijun, DU Yandan* ..... (731)

The relationship between serum SIL-2R, IGF and hs-CRP levels and secondary pulmonary infection in elderly patients with secondary pulmonary infection after stroke

*HAN Yanfang, YAN Xiangxiang, LIU Xiaoqing* ..... (736)

Clinical significance of serum CRP and bone marrow morphology in patients with diffuse large B lymphoma

*ZHANG Hongxiang, ZHANG Ximei, LI Wei* ..... (740)

Correlations between serum miR-27, miR-34c and insulin resistance in gestational diabetes mellitus

*SANG Yanhong, GUO Juehan, JIAO Peilin* ..... (744)

Effects of seminal vesicles endoscopy in treatment on semen WBC, RBC, and serum INH B in patients with refractory hemospermia

*ZHANG Xiaolei, LIU Yifei, GAO Bin* ..... (748)

Relationship between the expression of SOD, DDR1, HIF-1 $\alpha$  and pathological characteristics, prognosis of tongue squamous cell carcinoma

*WANG Zhonghua, YANG Yongchao, AN Feng* ..... (752)

Relationship between serum NT-proBNP, cTnI and CK-MB and short-term prognosis of patients with acute myocardial infarction

*TANG Huixing, LIU Qian, LI Qun, SUN Jiale, CHEN Xu* ..... (756)

Early diagnostic value of serum CRP, NLR and WBC for bacterial infection in patients with AECOPD

*GUO Guilin, HAN Junxia, YANG Fawu* ..... (760)

Clinical value and prognosis of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* in breast cancer

*HUANG Fengqin, YU Jie, GUO Zhijun, LIANG Jingxing* ..... (764)

Changes and significance of serum SP, Glu and BDNF levels in patients with depressive episodes of bipolar disorder and depression

*JIANG Yansheng, LEI Xiuwen, ZHONG Zhaoxi* ..... (769)

Application value of TST, TB-AB and IGRA in the diagnosis of pneumoconiosis complicated with LTBI

*WU Zhiwei, ZHANG Xiuhua, YAN Zhiwei, CHEN Na, WEN Chenyong, XIANG Baoli* ..... (773)

Preliminary study on the expression and clinical significance of NT-pro-BNP, cTnI and PCT in patients with heart failure and severe pneumonia

*MA Wei, GAO Mengqi, JING Cuicui, QU Shimin* ..... (777)

Effect of hemoperfusion combined with dialysis on residual renal function and serum VEGF and ET-1 in patients with chronic renal disease

*LI Suna, WANG Xiaolin, FU Jingfei, CHAI Xiaopei* ..... (781)

Relationship between serum netrin-4, vitronectin and neurological function and carotid artery intima thickness in patients with acute ischemic stroke

*YANG You, CAO Minhui, HE Qing, ZENG Rong* ..... (785)

Relationship between the expression of p-p38MAPK and p-JNK in peripheral blood of STEMI patients and apoptosis, short-term prognosis WANG Fabo, YE Mianfu, YANG Fudi, YU Caihui, XU Zhiwei .....	( 789 )
Comparison of DeFine.TB and Xpert-MTB/RIF in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis LIU Zeshi, GENG Yan, LEI Jing, LI Jing, YIN Jian, ZHANG Yanping, GENG Yan .....	( 793 )
Comprehensive analysis of single-gene <i>METTL14</i> in Pan-Cancer ZHAO Li, YAN Qing, ZHAO Xiaowen, PENG Rui, ZHU Mingxue, WANG Ye, MU Xiaofeng .....	( 798 )
Application of multidisciplinary cooperation model in diagnosis and treatment of hereditary deafness LEI Yali, HUANG Xiaonan, SUI Hong .....	( 802 )
The relationship between serum IL-17, TNF- $\alpha$ and Bcl-2, Bax in severe craniocerebral injury complicated with pulmonary infection and its combined detection value ZHANG Renjing, HUANG Yanxia, DENG Yunxin, CHEN Dechang .....	( 807 )
Analysis of infection rate and related factors of high-risk HPV among women in Tongzhou district MA Junfeng, ZHANG Ran, JIAO Mingyuan .....	( 811 )
Diagnostic value of combined detection of three tumor markers and urine p-hydroxyphenylalanine in breast cancer CAO Lili, SHEN Xin, HU Yang, LI Wanbing, YU Fan .....	( 816 )
Clinical significance of CRP and PCT detection in secondary infection after the surgery for upper urinary tract calculi TANG Zhongshan, YANG Kun, WANG Jinlei .....	( 820 )
Value of NLR, PCT and PGE2 in predicting pulmonary infection after abdominal surgery under general anesthesia WANG Ruijuan, YANG Yan, JING Jianchuang, WANG Xianli .....	( 824 )
Relationship between epicardial adipose thickness and recurrent cardiovascular events in acute coronary syndrome XIAO Jiandong, LU Yuli, WANG Ya, MA Xing .....	( 828 )
Pathogen characteristics and hs-CRP, PCT and NLR levels of pelvic infection after laparoscopic ovarian cyst removal ZHANG Dan, LI Hua, DU Xiaoli, LI Wen .....	( 832 )
Relationship between expression of peripheral blood CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 regulatory T cell and neonatal blood infection WANG Lijuan, WANG Lifeng, LIU Xuejie, YAO Ruimin .....	( 836 )
Correlation of FGF-23, sclerostin and sTWEAK with coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients HU Xiaorong, YOU Xiaoying, QU Xiaoyan, HE Yiqin .....	( 840 )
Clinical application of IL-18, IL-27 and ST2 in AECOPD patients with respiratory failure WANG Chunxia, ZHOU Xiaoguo, GUO Na, LIU Yang, FAN Na, FENG Dongdong, LI Zhan .....	( 844 )
MLCK, E-cadherin and $\beta$ -catenin levels predict the severity and prognosis of hyperlipidemia acute pancreatitis LIU Lina, GUO Ruifang, LIANG Yonggang, DONG Li .....	( 848 )
Changes and detection values of miR-449a and miR-19b-3p in acute cerebral infarction before and after interventional thrombectomy SHENG Wenganjun, JIA Ruofei, ZHONG Jinhao, DENG Dexian .....	( 852 )
Expression and clinical significance of Prdx1 and Prdx3 proteins in ovarian serous tumors LI Shuhong, XUE Huiying, LIU Xianhong .....	( 857 )
Expression of key factors in peripheral blood JAK/STAT signaling pathway in patients with polycythemia vera KANG Hongyang, LIU Jie, CHEN Zhe, GU Huishu, LI Qi, ZHANG Bin, TONG Changqing .....	( 861 )
Application value of serum PON1, vaspin and GLP-1 in the diagnosis and condition assessment of acute cerebral infarction YANG Fang, ZHANG Jiaying, DUANMU Qinshao .....	( 866 )
Evaluation value of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$ in the efficacy of children with bacterial meningitis QIN Qianqian, ZHANG Yunxia, XUE Zhimin .....	( 870 )
Clinical observation of anlotinib combined with PD-1/PD-L1 inhibitor retroline treatment of advanced metastatic colorectal cancer LI Na, YANG Fang, WANG Daqing, CAO Shuangqing .....	( 874 )
The value of serum PCT, CRP and CRP/Alb ratio in early prediction of stroke-associated pneumonia after ischemic stroke in the elderly HU Chaosheng, WANG Chao, WU Wenbo, NIU Dewang .....	( 879 )
Correlation of PD-1/PD-L1 and inflammatory markers in gastric cancer patients LIU Wenjing, LI Xia, WANG Chong, SUN Xuezhong, CHEN Kaixun, SUN Pengyao .....	( 883 )
Expression and clinical significance of TSLP, Bach2, and IL-9 in eosinophilic infiltrating nasal polyps WEI Xinxin, LI Xiaoling, HUANG Weiping, YIN Zhongpu .....	( 887 )
Predictive value of HDL-C, NT-proBNP and hs-cTnT on the prognosis of patients with acute exacerbation of CHF immediately after admission SUN Xuemin, DONG Bo, ZHANG Yanyan, MA Bingxin .....	( 891 )
Study on the protective effect of sevoflurane on diabetic myocardium through HIF signaling pathway LI Jin, Gulipari·kelimu, MA Ning .....	( 895 )

## REVIEWS

Discussion on the teaching method of molecular diagnosis practice in medical laboratory specialty CAI Zhen, LI Shufen, JI Huicai, XIE Longkuan .....	( 899 )
---	---------



## miR-143 与骨肉瘤发生、进展及预后关系的研究进展

刘加明 徐红 杨坤 向阳\*

**[摘要]** 骨肉瘤是威胁人类生命安全的恶性疾病,近年来发病率呈逐渐上升趋势。随着医疗技术的不断进步与发展,骨肉瘤患者远期生存率得以大大提升,但化疗抵抗、肿瘤转移仍是导致患者预后不良的危险因素。目前,关于微RNA(miRNA)与骨肉瘤关系的报道逐渐增多,多数研究表明,骨肉瘤miRNA表达与其发病具有密切联系。其中miRNA-143(miR-143)可能作为抑癌基因参与了骨肉瘤发生、发展。骨肉瘤发病与体内miR-143水平下降有关,且骨肉瘤细胞增殖、侵袭及转移能力会随着miR-143水平上升而发生改变。本文主要对miR-143所调控的基因(*PAI-1*、*MMPs*、*K-ras*等)与骨肉瘤发生、发展及预后之间的关系进行阐述。

**[关键词]** 骨肉瘤; miR-143; 增殖; 侵袭与转移; 预后

### Research progress of the relationship between miR-143 and the occurrence, progression and prognosis of osteosarcoma

LIU Jiaming, XU Hong, YANG Kun, XIANG Yang\*

(Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, China, 550001)

**[ABSTRACT]** **Objective** Osteosarcoma is a malignant disease that threatens human life, and its incidence has been on the rise in recent years. With the continuous progress and development of medical technology, the long-term survival rate of patients with osteosarcoma has greatly improved, but chemotherapy resistance and tumor metastasis are still the risk factors leading to poor prognosis of patients. At present, reports on the relationship between microRNA (miRNA) and osteosarcoma are increasing, and most studies have shown that the expression of miRNA in osteosarcoma is closely related to its pathogenesis. Among them, miRNA-143 (miR-143) may be involved in the occurrence and development of osteosarcoma as a tumor suppressor gene. The pathogenesis of osteosarcoma is related to the decreasing of miR-143 level in vivo, and the proliferation, invasion and metastasis ability of osteosarcoma cells will change with the increase of miR-143 level. This article describes the relationship between the genes regulated by miR-143 (*PAI-1*, *MMPs*, *K-ras*, etc.), and the occurrence, development, and prognosis of osteosarcoma.

**[KEY WORDS]** Osteosarcoma; miR-143; Proliferation; Invasion and metastasis; Prognosis

骨肉瘤是临床上常见的一种恶性肿瘤,可分为原发性和继发性两种类型<sup>[1]</sup>。骨肉瘤多好发于10~20岁青少年,以长管状骨干骺端、股骨远端、胫骨和肱骨近端等部分最为常见。该肿瘤恶性程度高,侵袭性强,早期易发生肺转移,且经手术治疗

后复发率高,预后极差<sup>[2]</sup>。若可早期诊治,且有评估疗效、预后等方面良好指标,将对骨肉瘤患者诊疗具有很大帮助。微RNA(miRNA)因有准确性、特异性高等优势而进入了人们的视野。miRNA属于非编码单链RNA,于转录或转录后水平负向

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合LH字[2017]7176号)

作者单位:贵州医科大学,贵州,贵阳 550001

\*通信作者:向阳, E-mail:ljm987xiahuaixian@163.com

调节蛋白的表达<sup>[3]</sup>。相关报道发现,miRNA具有调节生理功能的作用,且在疾病的诊断与治疗中可能起重要作用<sup>[4-5]</sup>。miRNA-143(miR-143)位于人类第五号染色体长臂3区2带,通过作用于多个靶基因调节肿瘤的发生发展。最近研究显示,miR-143表达与骨肉瘤患者预后可能存在一定关系<sup>[6]</sup>。本研究就近年来miR-143与骨肉瘤疾病发生、进展及预后关系进行综述。

## 1 概述

miRNA在多种恶性肿瘤中可能表现为致癌或抑癌基因的作用,在骨肉瘤组织中miRNA表达会下降,具有抑癌基因作用,可作为区分正常人与骨肉瘤患者的标志物<sup>[7-8]</sup>。Murahari等<sup>[9]</sup>通过分析miR-143在骨肉瘤患者中的表达,发现miR-143在骨肉瘤组织样本中呈低表达,且与患者总生存时间、无病生存期呈正相关,与肿瘤体积呈负相关。多因素回归分析发现,miR-143表达越低,患者预后越差。Harrison等<sup>[10]</sup>指出,miR-143水平越低,肿瘤恶性程度越高,而上调miR-143表达可能会对肿瘤进程造成影响。

miR-143表达高度保守,能与靶基因特异性结合进而发挥抑制细胞增殖、侵袭和转移、促进细胞凋亡等生物学效应,还能增加抗肿瘤药物的敏感性<sup>[11]</sup>。因此,明确miR-143在骨肉瘤发生、进展中的作用机制,对疾病诊治具有重要意义,且可有效评估患者预后。

## 2 miR-143与骨肉瘤的发生及进展

通过体内上调miR-143表达可限制骨肉瘤生长,减少肿瘤体积;而体外上调miR-143表达可降低细胞生存能力,促进细胞凋亡。目前,最常见的被激活的信号转导途径是丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinase, MAPK)通路,此通路的激活具有抑制细胞凋亡、血管生成及促进细胞增殖、侵袭及转移的能力,在骨肉瘤发生、进展中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。

MAPK通路与表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)信号的激活约发生在49%的骨肉瘤患者中,且信号激活与肿瘤转移存在密切联系<sup>[13]</sup>。肿瘤发生、发展及预后与EGFR介导的Ras/Raf/MEK/ERK信号通路被异常激活存在

一定联系<sup>[14]</sup>。詹得文等<sup>[15]</sup>通过评估miR-143在骨肉瘤中的作用发现,表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)可刺激EGFR磷酸化并激活基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9),导致骨肉瘤侵袭性增加,而miR-143表达水平无显著变化。当过表达miR-143时, MMP-9表达明显下降,骨肉瘤侵袭性降低,但EGFR的磷酸化水平无显著变化<sup>[16]</sup>。齐巍等<sup>[17]</sup>则认为,MAPK7是miR-143的靶基因,在骨肉瘤中两者呈负相关关系。可见miR-143调控骨肉瘤发生、发展与转移依赖于MAPK信号通路。

## 3 miR-143与骨肉瘤的侵袭及转移

肿瘤转移过程较为复杂,上皮-间质转化(Epithelial mesenchymal transition, EMT)是主要因素之一。基质金属蛋白酶类(Matrix metalloproteinases, MMPs)、转化生长因子- $\beta$ (Transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等均可参与肿瘤EMT<sup>[18]</sup>。

正常情况下, MMPs可降解细胞外基质中的蛋白质成分,并参与癌细胞侵袭、转移及增殖等过程。小鼠骨肉瘤肺转移模型与骨肉瘤组织中均可见MMPs水平上升,miR-143水平下降<sup>[19]</sup>。此外,在骨肉瘤细胞中过表达miR-143, MMP-13基因mRNA和蛋白表达水平均降低,细胞迁移率也明显下降。Roberto等<sup>[20]</sup>研究指出,miR-143可下调MMP-9表达,使得肿瘤细胞转移受到抑制。因此,miR-143可抑制骨肉瘤转移是较为明确的,但miR-143下调MMPs表达的直接靶基因尚不清楚。纤溶酶原激活物抑制因子-1(Plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)是尿激酶型纤维蛋白溶酶原激活因子(urokinase-type plasminogen activator, uPA)成员之一,可介导纤维蛋白的降解作用。Tiedt等<sup>[21]</sup>发现,骨肉瘤患者中,与阴性表达或单阳性者相比, MMP-12、PAI-1双阳性表达者发生肺转移几率更高,可达53.3%。miR-143可与PAI-1 mRNA的3'非翻译区(3'-untranslated Regions, 3'UTR)直接结合,进而达到抑制PAI-1蛋白表达的作用,而PAI-1可促进骨肉瘤转移和侵袭。同时Jeffrey等<sup>[22]</sup>研究认为, PAI-1表达受影响后, MMP-13水平会随之下降,肿瘤侵袭能力亦下降。这提示, uPA不仅可直接降解细胞外基质中的大多数糖蛋白,还能激活基质金属蛋白酶系统降解胶原蛋白,

两者一起促使肿瘤 EMT, 共同促进骨肉瘤转移与侵袭, 而 miR-143 可抑制这一过程。

Dolatabadi 等<sup>[23]</sup>研究发现, 骨肉瘤患者蛋白聚糖 (Versican, VCAN) 水平明显高于正常人群, 且与肿瘤转移相关。TGF- $\beta$  可通过上调 VCAN 水平促进骨肉瘤增殖、侵袭与转移, 这主要是通过 Smad2/3 信号抑制 miR-143 表达而实现的。最近研究显示, MMPs、TGF- $\beta$  共同参与了肿瘤的 EMT, 而 MMPs、TGF- $\beta$  作用的环节受 miR-143 调控<sup>[24-25]</sup>。因此, 在抑制骨肉瘤 EMT 中, miR-143 具有一定作用。

裸鼠体内实验中, 骨肉瘤肺转移 miR-143 异常表达的裸鼠模型中 GTP 酶激活蛋白-锚蛋白重复序列和 PH 结构域 3 (Ankyrin repeat and PH domain 3, ASAP3) 与 Musashi 同源物 2 (Musashi homolog 2, MIS2) 蛋白均呈低表达, 尾静脉注射 miR-143 壳聚糖纳米球悬液可抑制肿瘤转移, 且 miR-143 表达异常可导致 ASAP3、MIS2 减少<sup>[26-27]</sup>。说明 miR-143 对骨肉瘤侵袭性的抑制可能与 ASAP3、MIS2 基因表达下调有关, 但骨肉瘤侵袭、转移能力与 ASAP3、MIS2 过表达的关系仍需进一步研究。

#### 4 miR-143 与骨肉瘤的预后

最新研究发现, 过表达的 miR-143 可抑制骨肉瘤细胞增殖与转移, 与患者预后密切相关<sup>[28-29]</sup>。最近, Nawshad 等<sup>[30]</sup>研究亦表明 miR-143 水平下降与进行根治术手术的宫颈癌患者预后不佳有关。国外多项研究发现, Bcl-2 蛋白的 3'UTR 是 miR-143 的主要作用靶点, 在骨肉瘤细胞中, miR-143 通过作用于 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 蛋白的 3'UTR 而调控肿瘤的凋亡, 影响肿瘤细胞的增殖、迁移及侵袭, 进而影响患者预后<sup>[31-32]</sup>。近年来, miR-143 与骨肉瘤预后的报道越来越多。各项研究设置的 miR-143 临界值虽不一致, 但 miR-143 水平下降提示总体预后不佳已逐渐在医学界达成共识<sup>[33-35]</sup>。

#### 5 小结与展望

综上所述, 骨肉瘤的发生、发展及预后与 miR-143 密切相关。在骨肉瘤中, miR-143 表达水平与周围正常组织相比均有不同程度的下调, 且越来越多的体外实验显示, 上调 miR-143 可有效抑制肿瘤细胞的增殖与转移。此外, miR-143 抑制骨

肉瘤细胞增殖与其负向调控的 VCAN 等基因表达有关。另外 miR-143 对骨肉瘤的侵袭和转移的影响与下游的 MMPs、MAPK、PAI-1 等基因的表达水平也是分不开的。但目前关于 miR-143 与骨肉瘤关系的体内实验报道较为少见, 故体内 miR-143 过表达对骨肉瘤作用效果及对化疗抵抗的效果尚有待进一步深入研究。

miR-143 作为一种新的生物学标志在如今医疗环境下具有独特优势, 若可进一步探究 miR-143 与骨肉瘤发病之间的调控关系, 那么针对 miR-143 的调节以及针对相应靶点的调节将会为骨肉瘤的靶向治疗开辟新的方向。

#### 参考文献

- [1] 黄秋萍, 袁欢, 王宜林, 等. miRNA 对自然杀伤细胞生长发育及功能的调控作用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(1):63-67.
- [2] Spugnini EP, Vincenzi B, Caruso G, et al. Zoledronic acid for the treatment of appendicular osteosarcoma in a dog[J]. J Small Anim Pract, 2018, 50(1):44-46.
- [3] 熊齐胜, 韩迎祥, 汪学松, 等. 骨肉瘤的分化疗法与研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(11):54-57.
- [4] Anton L, Devine A, Sierra LJ, et al. miR-143 and miR-145 disrupt the cervical epithelial barrier through dysregulation of cell adhesion, apoptosis and proliferation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):3020.
- [5] 丁帅, 高延征, 张广泉, 等. miR-361-5p 负调控靶基因 FoxM1 增加骨肉瘤细胞放射敏感性研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2019, 28(5):378-381.
- [6] 梁卫东, 吴鹏, 廖世均, 等. 恶性肿瘤中 miR-143 与其靶基因 Bcl-2 研究进展[J]. 生命的化学, 2017, 37(6):986-991.
- [7] Angulo P, Kaushik G, Subramaniam D, et al. Natural compounds targeting major cell signaling pathways: a novel paradigm for osteosarcoma therapy[J]. J Hematol Oncol, 2017, 10(1):1-13.
- [8] 陈汉文, 高书明, 辛大森, 等. 骨肉瘤患者微小 RNA124 的表达水平及其对预后的预测价值[J]. 现代医学, 2019, 47(4):394-397.
- [9] Murahari S, Jalkanen A L, Kulp S K, et al. Sensitivity of osteosarcoma cells to HDAC inhibitor AR-42 mediated apoptosis[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1):67.
- [10] Harrison DJ, Geller DS, Gill JD, et al. Current and future therapeutic approaches for osteosarcoma[J]. Expert Rev Anti-cancer Therapy, 2017, 18(1):39.
- [11] Avnet S, Di Pompo G, Chano T, et al. Cancer-associated mesenchymal stroma fosters the stemness of osteosarcoma cells in

- response to intratumoral acidosis via NF- $\kappa$ B activation[J]. *Int J Cancer*, 2017, 114(10):103-109.
- [12] 谢箬, 吴可沁, 陈其荣, 等. 长链非编码 RNA TTTY15 在骨肉瘤组织中的表达及其对骨肉瘤细胞活力和侵袭的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(5):819-824.
- [13] Kotake Y, Goto T, Naemura M, et al. Long Noncoding RNA PANDA Positively Regulates Proliferation of Osteosarcoma Cells[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(1):81-85.
- [14] Faisham WI, Saad AZM, Alsaigh LN, et al. Prognostic factors and survival rate of osteosarcoma: A single-institution study[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2017, 13(2):e104-e110.
- [15] 詹得文, 胡文龙, 殷嫦娥. miR-143 与骨肉瘤的研究进展[J]. *广东医学*, 2019, 40(8):160-163.
- [16] Sakuda T, Kubo T, Johan M P, et al. Development of an Oncolytic Recombinant Vesicular Stomatitis Virus Encoding a Tumor-suppressor MicroRNA[J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(11):6319-6325.
- [17] 齐巍, 李勇, 琚绍静, 等. 转染 miR-143 的骨肉瘤细胞 MG-63 增殖能力、周期分布观察[J]. *山东医药*, 2018, 58(23):44-46.
- [18] Jian C, Tu MJ, Ho PY, et al. Co-targeting of DNA, RNA, and protein molecules provides optimal outcomes for treating osteosarcoma and pulmonary metastasis in spontaneous and experimental metastasis mouse models [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19):30742-30755.
- [19] Patil SL, Palat A, Pan Y, et al. MicroRNA-509-3p inhibits cellular migration, invasion, and proliferation, and sensitizes osteosarcoma to cisplatin[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):19089.
- [20] Roberto GM, Engel EE, Tone LG, et al. MIR-10b IS inversely correlated with higher tumor grade in osteosarcoma [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2017, 63(1):32-38.
- [21] Tiedt S, Prestel M, Malik R, et al. Seq Identifies Circulating miR-125a-5p, miR-125b-5p and miR-143-3p as Potential Biomarkers for Acute Ischemic Stroke [J]. *Circ Res*, 2017, 121(8):311572.
- [22] Jeffrey L, Marion V D B, Joanna W, et al. miR-143/145 differentially regulate hematopoietic stem and progenitor activity through suppression of canonical TGF $\beta$  signaling [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):2418-2419.
- [23] Dolatabadi NF, Dehghani A, Shahand E, et al. The interaction between MALAT1 target, miR-143-3p, and RALGAP2 is affected by functional SNP rs3827693 in breast cancer [J]. *Hum Cell*, 2020, 33(4):1-11.
- [24] Sand M, Hessam S, Amur S, et al. Expression of oncogenic miR-17-92 and tumor suppressive miR-143-145 clusters in basal cell carcinoma and cutaneous squamous cell carcinoma [J]. *J Dermatol Sci*, 2017, 86(2):142-148.
- [25] Sanada H, Seki N, Mizuno K, et al. Involvement of Dual Strands of miR-143 (miR-143-5p and miR-143-3p) and Their Target Oncogenes in the Molecular Pathogenesis of Lung Adenocarcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18):4482.
- [26] 王勃霏, 姜晓玲, 卢斌, 等. 骨肉瘤中 miR-17-92 基因簇作用的研究进展[J]. *肿瘤防治研究*, 2019, 46(7):635-638.
- [27] Dolatabadi NF, Dehghani A, Shahand E, et al. The interaction between MALAT1 target, miR-143-3p, and RALGAP2 is affected by functional SNP rs3827693 in breast cancer [J]. *Hum Cell*, 2020, 33(4):1-11.
- [28] 杨万波, 施俊, 何晶, 等. 术前中性粒细胞淋巴细胞、血小板淋巴细胞和淋巴细胞单核细胞比值对骨肉瘤患者预后的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(11):1963-1965.
- [29] Obermannova R, Redova LM, Vychytilova FP, et al. Tumor Expression of miR-10b, miR-21, miR-143 and miR-145 Is Related to Clinicopathological Features of Gastric Cancer in a Central European Population [J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(6):3719-3724.
- [30] Nawshad HAKM, Sanaullah SM, Tullar PE, et al. Multi-pronged activity of combinatorial miR-143 and miR-506 inhibits Lung Cancer cell cycle progression and angiogenesis in vitro [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):10495.
- [31] 吴志明, 刘江涛, 徐俊昌, 等. miR-133a 和 miR-539 在骨肉瘤组织中的表达及其与临床病理特征和预后的相关性分析[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(4):38-42.
- [32] 宋光泽, 赵慧霞. hsa-miR-34b-3p 与 CDK4 在骨肉瘤组织中的表达水平及临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2018, 33(7):53-56.
- [33] 代国, 刘盖为, 孙祥然, 等. MiR-335 通过作用于 POU5F1 负性调节骨肉瘤干细胞特性的实验研究[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(34):6607-6612.
- [34] 张翼, 李甲振, 张岩, 等. miR-369 靶向调节 SOX4 表达对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的调控作用[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(6):939-942.
- [35] 郭良煜, 陶春杰, 陈敬腾, 等. 吡喹酮对骨肉瘤 143B 细胞增殖、迁移和凋亡的影响[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(1):72-75.

## 游离DNA保存管中甘氨酸含量的测定方法与应用

魏慧慧<sup>1</sup> 刘艳<sup>1</sup> 殷剑峰<sup>2</sup> 苏丽红<sup>1\*</sup> 王玉梅<sup>1\*</sup>

**[摘要]** **目的** 建立游离DNA保存管中甘氨酸的定量检测方法。**方法** 利用氨基酸在酸性溶液中能与茚三酮作用生成蓝紫色化合物,以其570 nm处吸光度与甘氨酸浓度成正相关的特性来测定甘氨酸的含量。优化使用本方法在检测该类产品的线性范围,考察其定量限、精密度及准确度、特异性指标,并以所建立的方法初步用于游离DNA保存管检测。**结果** 本方法检测的线性范围确定为0.63~10.00 mmol/L,定量限为2.00 mmol/L。以高、中、低浓度样品评估分析内精密度,其标准偏差均不大于10%。检测以甘氨酸国家标准品配制的模拟样品,其回收率在85%~115%范围内,且其结果不受常见添加剂的干扰作用。用所建立的方法应用于医疗机构所使用的游离DNA保存管的检测,结果均符合产品的技术要求规定。**结论** 所建立的方法可以用于游离DNA保存管中甘氨酸的定量检测。

**[关键词]** 游离DNA保存管;甘氨酸;线性;定量限;精密度;准确度;特异性

### Quantitative detection method of glycine in cell-free DNA collection Tube

WEI Huihui<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>, YIN Jianfeng<sup>2</sup>, SU Lihong<sup>1\*</sup>, WANG Yumei<sup>1\*</sup>

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 102629; 2. Jiangsu Cowin Biotech Co., Ltd, Taizhou, Jiangsu, China, 225300)

**[ABSTRACT]** **Objective** To develop a quantitative method for the assay of glycine in cell-free DNA collection tubes. **Methods** The amino acids can interact with ninhydrin in acidic solutions to form blue-violet compounds. The absorbance was directly correlated with the concentration of glycine, which could be adopted for assay of glycine. The linear range of the method was optimized in this type of product and its sensitivity, intra-assay precision, accuracy and specificity performance were studied. The developed method was preliminarily applied to the detection of cell-free DNA collection tube. **Results** The linear range of this method was determined to be 0.625~10.00 mmol/L, and the limit of quantification was 2.00 mmol/L. The internal precision was evaluated with high, medium, and low concentration samples, and the standard deviation was not more than 10%. The recoveries of simulated samples prepared with glycine national reference material were in the range of 85%~115% and not disturbed by common additives. The developed method was applied to the detection of cell-free DNA collection tubes used in medical institutions and the results were all in line with the technical requirements of the products. **Conclusion** The developed method can be used for quantitative detection of glycine in cell-free DNA collection tubes.

**[KEY WORDS]** Cell-free DNA collection tube; Glycine; Linearity; Limit of quantitation; Precision; Accuracy; Specificity

游离DNA (cell-free DNA, cfDNA) 作为新型的医疗诊断标志物,自发现即迅速整合进入肿瘤液态活检、产前遗传诊断等领域,极大地促进了

检测技术的发展,成为重要的辅助诊断手段<sup>[1-2]</sup>。但血液样品在常温储存及运输过程中,有核细胞极易破裂,导致基因组DNA释放、降

基金项目:国家药品监督管理局医疗器械行业标准制修订计划(N2019055-JN)

作者单位:1. 中国食品药品检定研究院,北京102629

2. 江苏康为世纪生物科技股份有限公司,江苏,泰州225300

\*通信作者:王玉梅, E-mail:wangyumei@nifdc.org.cn; 苏丽红, E-mail:sulihong@nifdc.org.cn

注:魏慧慧和刘艳同为第一作者

解,造成血浆中游离DNA成分污染及丰度降低。为确保游离DNA的质量以及后期检测的准确,保存管中必须添加防腐剂、核酸酶抑制剂以及有核细胞保护剂等添加剂<sup>[3]</sup>。其中,甘氨酸作为一种游离DNA保护剂,对细胞腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)耗竭性损伤具有保护作用<sup>[4]</sup>。但在国家药品监督管理局颁布的现行行业标准中,除了涉及系列抗凝剂的检测<sup>[5]</sup>,目前尚未形成对甘氨酸等添加剂的标准检测方法。同时,药典中仅有针对药品中甘氨酸含量的检测方法,但不适合作为游离DNA保存管中添加剂的质量评价方法。本研究建立了游离DNA保存管中甘氨酸的定量测定方法,并选用市场上不同厂家的两种保存管进行应用验证,用于游离DNA保存管的质量控制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

TD5离心机,购自湖南赫西仪器装备有限公司;XSE205DU/81G电子天平,购自梅特勒托利多公司;日立U-3310紫外可见分光光度计,购自HI-TECH公司;SpectraMax M5酶标仪,购自Molecular Devices公司。甘氨酸国家标准品(批号140689-201605,100 mg/支),中国食品药品检定研究院提供;茚三酮,纯度99%,购自Alfa Aesar公司;丙二醇甲醚,优级纯,购自沃凯化学试剂公司;硼氢化钠,分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;冰醋酸,分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;三水醋酸钠,分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 溶液配制

1.2.1.1 基质液 参照采血管中添加剂含量<sup>[5]</sup>及市场调研结果,称取5.00 g咪唑烷基脒、2.50 g EDTA·K<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O,置于同一烧杯,加水溶解后,转入25 mL容量瓶,定容,配制含200.00 mg/mL咪唑烷基脒、100.00 mg/mL EDTA·K<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O的基质溶液。基质液进行50倍稀释,成稀释液。

1.2.1.2 甘氨酸标准储备液和模拟液 称取甘氨酸标准品75.00 mg,加入25 mL容量瓶,加水溶解后定容,成甘氨酸标准储备液(40.00 mmol/L);称取甘氨酸标准品187.50 mg,加入5 mL容量瓶,加基质液溶解,并以基质液定容,成甘氨酸模拟液(500.00 mmol/L)。

1.2.1.3 茚三酮反应液 称取4.00 g茚三酮溶于95 mL丙二醇甲醚,溶解后,加入8.10 mg硼氢化钠(视存放时间加入),搅拌溶解后过滤,加入丙二醇甲醚定容至100 mL,搅匀备用。

1.2.1.4 缓冲溶液 实验用水200 mL,丙二醇甲醚401 mL,冰醋酸123 mL,三水醋酸钠338.40 g,加水定容至1 000 mL。

#### 1.2.2 方法学建立

1.2.2.1 线性 以超纯水对甘氨酸标准储备液(40.00 mmol/L)进行稀释,配制成0.63、1.25、2.50、5.00、10.00、20.00 mmol/L系列标准溶液。取上述各标准溶液样品1 mL分别置于25 mL刻度管,各加水补充至容积为8 mL,然后加入茚三酮和缓冲溶液各1 mL,混合均匀,于100℃水浴上加热15 min,取出迅速冷却至室温,加水至标线,摇匀。静置15 min后,在570 nm波长下,以水为空白对照样品,测定系列标准溶液的吸光度。以标准溶液的甘氨酸浓度对其吸光度作直线回归,求得标准曲线的直线回归方程,相关系数(r)应不小于0.99,各点回收率应在85%~115%范围内。

1.2.2.2 检出限与定量限 参考NLSI-EP17-A2文件<sup>[6]</sup>,以稀释液作为空白进行40孔平行测定,根据拟合直线的斜率,求得吸光度对应的浓度,计算结果的平均值 $\bar{X}_b$ 和标准偏差 $SD_b$ ,按照公式 $LOB = \bar{X}_b + 1.645 SD_b$ 计算,获得空白限LOB浓度。根据计算结果,配制接近或高于空白限浓度的低值样本,即LOB~4LOB范围内4个样本,分别测定7次,根据拟合直线的方程分别计算低值样本相应浓度的均值 $\bar{X}_{sn}$ 和标准偏差 $SD_{sn}$ ,根据公式: $SD_s^2 = (n_1 SD_{s1}^2 + n_2 SD_{s2}^2 + n_3 SD_{s3}^2 + n_4 SD_{s4}^2) / (n_1 + n_2 + n_3 + n_4)$ ,计算方差的加权平均,从而得到样本测量标准偏差的集合估计 $SD_s$ 。根据公式 $LOD = LOB + 1.645 SD_s$ 计算检测限LOD。同时参考 $LOQ = \bar{X}_b + 10SD_b$ 以及常规使用浓度范围,获得设定的定量限LOQ浓度和可接受总体误差目标0.75 mmol/L。分别平行不少于25次测定设定浓度的检测限和定量限样品,并按照Bias+2 SDs计算总体误差,以验证LOD和LOQ。

1.2.2.3 精密度 取甘氨酸标准储备液(40.00 mmol/L),用水稀释,制备高、中、低浓度精密度样品供试液(浓度分别为8.00、4.00、2.00 mmol/L),分别平行6个样品进行测定。根据公式 $RSD = SD / \bar{X}$ 计算相对标准偏差RSD。

1.2.2.4 准确度和特异性 取模拟液 0.18 mL,加入 10 mL 刻度管,成理论靶值 6.75 mg/支;取 0.1 mL,加入 5 mL 刻度管,成理论靶值 3.75 mg/支。每种模拟样品按照供试品检测方法制备供试液,分别测定 3 次,进行回收率的计算,目标设定为 85%~115%。

1.2.2.5 供试品中甘氨酸添加量测定 随机抽取两种游离 DNA 保存管各 1 支(规格均为 10 mL)。产品技术要求:供试品 1 添加剂浓度为 4.00~6.00 mg/支,供试品 2 添加剂浓度为 8.10~9.90 mg/支,偏差均在 15%),4 000 rpm( $r=16.7$  cm)纵向离心 5 min。离心后取出,打开胶塞,加水至标称容量(抽吸体积或公称液体容量)后,摇匀成供试液(或稀释至合适的浓度)进行检测,将供试品的吸光度代入直线回归方程,即得供试液的甘氨酸浓度 Ct(mmoL/L)。另取 2 支采血管,重复以上操作。按下式计算供试品中甘氨酸添加剂的含量。

$$m=Ct \times V \times 75 / 1000$$

式中:m—采血管中甘氨酸添加剂的含量,单位为毫克(mg);Ct—供试液的甘氨酸测定浓度,单位为毫摩尔/升(mmoL/L);V—采血管的标称容量(抽吸体积或公称液体容量),或稀释后定容体积,单位为毫升(mL)。

## 2 结果

### 2.1 线性

本方法检测的线性范围确定为 0.63~10.00 mmoL/L,在此范围内,线性相关性较好,相关系数  $r=0.9966$ 。见图 1。

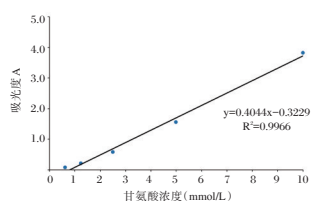


图 1 甘氨酸浓度与其吸光度的线性关系

Figure 1 The linear relationship between the concentration of Glycine and its absorbance

### 2.2 检测限和定量限

在 0.63~10.00 mmoL/L 线性范围内,经计算空白限 LOB 为 0.80 mmoL/L,检测限 LOD 为 1.00 mmoL/L,定量限 LOQ 为 2.00 mmoL/L,总体误差为 0.32 mmoL/L。

### 2.3 精密度

低、中、高(浓度分别为 2.00、4.00、8.00 mmoL/L)各 6 个样测定结果见表 1。

表 1 不同浓度样本的精密度检测结果 ( $n=6$ )

靶值浓度 (mmoL/L)	测定浓度均值 ( $\bar{X}$ )	标准差 (SD)	标准偏差 RSD (%)	偏差 (BE) (%)
2.00	1.91	0.024	1.3	4.8
4.00	3.51	0.049	1.4	12.4
8.00	7.20	0.177	2.5	10.0

### 2.4 准确度和特异性

以甘氨酸国家标准品配制的含有常规基质成份的模拟样品,经检测并换算到单支含量,与理论靶值比较,回收率结果均在 85%~115%内,与设定的预期目标一致;未发现基质中常规存在的高咪唑烷基脲与 EDTA·K<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 成份对检测结果有明显干扰,方法具有较好的准确性和特异性。见表 2。

表 2 准确度和特异性检测结果

理论含量(mg/支)	测定浓度(mmoL/L)	含量(mg/支)	回收率(%)
3.75	5.25	3.94	105.0
	5.26	3.94	105.2
	5.50	4.12	110.0
6.75	9.13	6.85	101.4
	9.24	6.93	102.6
	9.50	7.13	105.6

### 2.5 供试品测定

检测两种不同含量(如表 3 技术要求所示)的供试品,结果均在其产品靶值范围内,符合技术要求规定。见表 3。

表 3 供试品测定结果

编号	规格	技术要求 (mg/支)	甘氨酸浓度 (mmoL/L)	甘氨酸含量 (mg/支)	符合性
供试品 1	10 mL/支	4.00~6.00	1.16	4.33	符合
			1.19	4.45	符合
			1.14	4.27	符合
供试品 2	10 mL/支	8.10~9.90	4.40	8.25	符合
			4.53	8.27	符合
			4.40	8.25	符合

## 3 讨论

循环血液游离 DNA 作为非侵入性疾病的生物标志物,可直接应用于下游检测,如数字 PCR 和高通量测序等<sup>[7-9]</sup>,是微创诊断、改善疾病监测、临床决策和患者预后的关键<sup>[10-11]</sup>,相关体外诊断试剂盒也一直是申报的热点,因此,游离 DNA 的保存质量对后续的临床检测结果起重要作用<sup>[12-14]</sup>。目

前上市的一次性真空采血管较多,但未查到获批的针对游离DNA保存的采血管或保存管,意味着目前各医疗检测机构在进行高通量测序或其他使用游离DNA样本时使用的保存管均处于不被监管的状态,属于监管漏洞。由于没有可参考的针对游离DNA保存管的评价方法,笔者在接收的检验中,也是发现了企业在制定技术要求时,有的故意回避该项检验,只作为常规采血管进行。

本研究建立了一种基于茚三酮反应的游离DNA保存管中甘氨酸的定量检测方法,优化后线性范围为0.63~10.00 mmol/L,满足设定相关系数0.99的要求,且在此范围内,各浓度点回收率在85%~115%范围内;经验证确立该方法的检测限为1.00 mmol/L,与使用 $3SD_B$ 计算检测限的方法一致。根据大量专利文献及生产厂家的调研,保存液中甘氨酸添加剂浓度为200.00~600.00 mmol/L (15.00~50.00 mg/mL),参考其最佳作用浓度5.00 mmol/L (相当于保存液中250.00 mmol/L),因而,可接受总体误差目标0.75 mmol/L经评估是合理的,而误差间距-0.32~0.32 mmol/L恰好落在误差目标-0.75~0.75 mmol/L范围内,因而LOQ获得验证,确定为2.00 mmol/L,且能够满足该产品的检测要求。

运用低、中、高3个浓度验证了方法分析内的精密度,在常规应用浓度范围内,其标准偏差均不大于10%,检测结果重复性较好。以甘氨酸国家标准品配制模拟样品,以加标回收的方法验证了方法的准确度与特异性,回收率结果在85%~115%内,说明方法具有较好的准确性;且基质溶液的存在下,不受常见添加剂干扰测定,特异性较好。同时,以所建立的方法初步用于游离DNA保存管检测,结果均符合产品技术要求规定。

本方法经过了山东省医疗器械检测中心、江苏康为世纪生物科技股份有限公司、广州阳普医疗科技股份有限公司等多家验证,其线性、准确性、精密度、特异性均符合作为该特殊采血管评价的要求。在验证工作中,由于接触到的是真实的产品,各家添加量的不同,也碰到由于稀释倍数过低,在加热过程出现沉淀析出现象,影响结果的准确性,因此,实际应用时需要了解产品的添加剂浓度范围,以设计更好的样本处理方案。通过验证,考虑到实际的添加量范围以及使用者设备的响应范围,最终将标准中的线性范围修改为2.00~

10.00 mmol/L,大大提高了检测的准确性。同时,基于该研究成果,笔者起草并申报了医疗器械行业标准中“一次性使用人体静脉血样采集容器中添加剂量第5部分-甘氨酸”。本标准的制定将统一检测方法,规范行业要求,便于产品质量控制,为采血管的市场监管提供有效的技术支持。

## 参考文献

- [1] 戚庆炜,周希亚,蒋宇林,等.分子时代产前筛查和产前诊断技术和理念的变迁及发展[J].中国科学(生命科学),2021,51(8):997-1006.
- [2] Szilágyi M, Pös O, Márton É, et al. Circulating cell-free nucleic acids: main characteristics and clinical application [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18):6827.
- [3] 段利朋,郑海灵,李维,等.一种保存剂在血液储存及运输过程中对游离DNA丰度的稳定效果[J].*检验医学与临床*, 2017, 14(A02):25-29.
- [4] Pérez-Torres I, Zuniga-Munoz AM, Guarner-Lans V. Beneficial effects of the amino acid glycine [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2017, 17(1):15-32.
- [5] YY/T 0314-2021 一次性使用人体静脉血样采集容器[S].国家食品药品监督管理总局,2021.
- [6] Pierson-Perry JF, Vaks JE, Durham AP, et al. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; approved guideline - second edition [S]. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2012.
- [7] Nandi K, Verma R, Dawar R, et al. Cell free DNA: revolution in molecular diagnostics - the journey so far [J]. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 2020, 41(1):241-243.
- [8] Okada T, Mizukami Y, Ono Y, et al. Digital PCR-based plasma cell-free DNA mutation analysis for early-stage pancreatic tumor diagnosis and surveillance [J]. *J Gastroenterol*, 2020, 55(12):1183-1193.
- [9] Bianchi DW, Chiu RWK. Sequencing of circulating cell-free DNA during pregnancy [J]. *New Engl J Med*, 2018, 379(5):464-473.
- [10] Yu W, Hurley J, Roberts D, et al. Exosome-based liquid biopsies in cancer: opportunities and challenges [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(4):466-477.
- [11] Ray SK, Mukherjee S. Cell free DNA as an evolving liquid biopsy biomarker for initial diagnosis and therapeutic nursing in cancer - an evolving aspect in medical biotechnology [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2022, 23(1):112-122.
- [12] 徐鹏,段小瑜,张海梅,等.专用采血管对血浆中循环游离DNA保存效果的影响[J].*检验医学与临床*, 2021, 18(8):1035-1037.
- [13] 方艳,刘争,高颖,等.游离DNA研究进展及标准化的必要性[J].*生物化学与生物物理进展*, 2021, 48(9):1042-1051.
- [14] Martignano F. Cell-free DNA: an overview of sample types and isolation procedures [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1909:13-27.



· 论 著 ·

# 病原宏基因组高通量测序技术质量评价参考品的建立

刘东来<sup>1</sup> 沈舒<sup>1</sup> 田颖新<sup>2</sup> 周海卫<sup>1</sup> 张樱<sup>2\*</sup> 许四宏<sup>1\*</sup>

**[摘要]** **目的** 建立医疗机构病原宏基因组高通量测序(mNGS)本地化检测质量评价所需参考品。**方法** 10种微生物按1:10梯度稀释3个浓度水平后,分别与临床样本相近的人源细胞浓度混合。人源细胞按1:10梯度稀释3个浓度水平后,分别与低浓度微生物混合。对参考品冻融稳定性进行研究。**结果** D1系列参考品包含:人源细胞为 $10^5$  cells/mL,微生物约为 $10^5$ ~ $10^3$  CFU/mL的D1-1~D1-3以及不含微生物的D0;微生物约为 $10^3$  CFU/mL,人源细胞为 $10^5$ ~ $10^3$  cells/mL的D1-3、D1-2(10)和D1-1(100)。D2系列参考品与D1系列设置相同。对参考品进行检测(以D1系列为例):D1-1~D1-3各检测1次,参考品中微生物均检出,其他微生物未检出;D1-2重复检测3次,各微生物检出序列数的变异系数为18%~49%;D1-1~D1-3以及D1-3、D1-2(10)和D1-1(100)两组参考品中各微生物检出的序列数的线性相关系数 $r$ 为0.86~0.96。参考品冻融2次后检测,各微生物的检出序列数均下降。**结论** 建立了包含10种微生物的参考品及其使用方法,可用于医疗机构mNGS本地化检测质量评价。

**[关键词]** 病原宏基因组高通量测序;质量评价;参考品

## Establishment of reference panel for quality evaluation of pathogen metagenomic next-generation sequencing

LIU Donglai<sup>1</sup>, SHEN Shu<sup>1</sup>, TIAN Yingxin<sup>2</sup>, ZHOU Haiwei<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>2\*</sup>, XU Sihong<sup>1\*</sup>

(1. Division II of Diagnostic for Infectious Diseases, Institute for In Vitro Diagnostics Control, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050; 2. Clinical Laboratory Department, Chinese PLA General Hospital, Beijing, China, 100853)

**[ABSTRACT]** **Objective** To establish reference panel for quality evaluation of localized metagenomic next-generation sequencing (mNGS) test in medical organizations. **Methods** The 10 microorganisms were diluted at 3 gradients of 1:10 and mixed with human cells of similar concentration of clinical samples. Human cells were also diluted at 3 gradients of 1:10 and mixed with microorganisms at low concentrations. The freeze-thaw stability of the reference panel was studied. **Results** The D1 series reference materials: D0 contained  $10^5$  cells/mL human cells without microorganisms; D1-1~D1-3 were composed of  $10^5$  cells/mL human cells and microorganisms with a concentration range from  $10^5$  CFU/mL to  $10^3$  CFU/mL; D1-3, D1-2(10), and D1-1(100) were composed of  $10^3$  CFU/mL microorganisms and human cells with a concentration range from  $10^5$  cells/mL to  $10^3$  cells/mL. The D2 series had the same settings as the D1 series. Test the reference panel (take D1 series as an example): D1-1~D1-3 were tested once each and except for those contained, no other microorganisms were detected; D1-2 was repeated 3 times and the coefficient of variation calculated using reads number of detected microorganisms was 18%~49%; the linear correlation coefficient  $r$  calculated using reads number of detected microorganisms in group of D1-1~D1-3 and group of D1-3, D1-2(10), and D1-1(100) was 0.86~0.96. The reference panel were tested after freezing and thawing twice, the reads number of all microorganisms decreased. **Conclusion** A reference panel containing 10 pathogenic microorganisms was established, which can be used for quality evaluation of localized mNGS test by medical organizations.

**[KEY WORDS]** Pathogen metagenomic next-generation sequencing; Quality evaluation; Reference panel

基金项目:国家科技重大专项(2018ZX10102001)

作者单位:1. 中国食品药品检定研究院体外诊断试剂检定所传染病诊断试剂二室,北京100050

2. 中国人民解放军总医院第一医学中心检验科,北京100853

\*通信作者:许四宏, E-mail: xushong@nifdc.org.cn; 张樱, E-mail: cherryzju@aliyun.com

注:刘东来和沈舒为并列第一作者

新冠肺炎疫情发生后之所以能快速锁定病原、揭示新型冠状病毒基因组,得益于病原宏基因组高通量测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)技术近年来的快速发展和应用<sup>[1-2]</sup>。相比传统分子诊断技术,mNGS技术具有更广泛的检测谱,尤其适合临床不明病因感染的辅助诊断。目前,我国mNGS行业在产品转化速度和临床普及程度两方面均领先国外<sup>[1-3]</sup>。然而,mNGS技术现阶段仍存在较多技术问题,且缺乏相关质量控制方法和评价标准,给医疗机构本地化应用带来困扰和挑战<sup>[1]</sup>。医疗机构为保证mNGS本地化的有序发展、规范管理及合理使用,有必要进行质量评价或性能确认<sup>[2]</sup>。国家卫生健康委临床检验中心、中国医学科学院北京协和医院以及本课题组均开展过相关研究<sup>[3-5]</sup>。参考品是mNGS技术质量评价体系及标准的重要基础。为便于医疗机构更高效地开展mNGS本地化检测系统的质量评价活动,本研究建立了包含10种微生物的mNGS参考品及其使用方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 参考品候选样本

参考品候选样本包括微生物及人源细胞。微生物包括格氏李斯特菌、副流感嗜血杆菌、琼氏不动杆菌、马红球菌、藤黄微球菌、干燥奈瑟菌、荧光假单胞菌、嗜水气单胞菌、嗜肺军团菌及葡萄牙念珠菌等10种细菌和真菌,由中国食品药品检定研究院保存并提供。人源细胞为Hela细胞系由深圳华大因源医药科技有限公司提供。

#### 1.1.2 试剂及仪器

微生物培养及鉴定使用全自动细菌鉴定分析系统(型号VITEK2)及配套的微生物鉴定卡均由梅里埃诊断产品(上海)有限公司生产。

参考品前处理使用湖北新纵科病毒疾病工程技术有限公司生产的高效组织细胞样品处理仪(型号NOVAprep DS1000)。核酸定量使用赛默飞世尔公司生产的核酸定量荧光仪(型号Qubit 4)及配套的双链DNA荧光定量检测试剂盒(Qubit dsDNA HS)。核酸提取纯化的核酸纯化试剂(柱提法),核酸打断使用的核酸酶切反应通用试剂盒,测序文库构建使用的PMseq感染病原高通量基因检测试剂盒,测序使用的基因测序仪(型号BGISEQ-

50)及配套的高通量测序试剂套装(FCL SE50),生物信息学分析使用的病原微生物基因检测软件,均由深圳华大因源医药科技有限公司生产。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 候选样本培养及鉴定

不同微生物选择合适的培养方法,参考本课题组前期报道<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.2 菌株浓度测定

微生物的菌落形成单位(colony forming unit, CFU)浓度使用梯度稀释法进行测定,参考本课题组前期报道<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.3 参考品制备及验证

制备方法参考本课题组前期报道<sup>[3,6]</sup>,将5种微生物与人源细胞按不同浓度进行混合:不含微生物、微生物浓度分别为 $10^5$ 、 $10^4$ 及 $10^3$  CFU/mL,人源细胞均为 $10^5$  cells/mL的参考品;人源细胞浓度分别为 $10^5$ 、 $10^4$ 及 $10^3$  cells/mL,微生物浓度均为 $10^3$  CFU/mL的参考品。

参考品使用方法:阳性符合率和阴性符合率参考品检测1次;重复性参考品检测3次,并分别计算各微生物检出序列数的变异系数(coefficient of variation, CV);检出限和线性参考品检测1次,并分别计算不同人源细胞和微生物浓度梯度系列参考品中各微生物检出序列数的线性相关系数的绝对值 $|r|$ 。

#### 1.2.4 参考品稳定性研究

参考品置于室温条件(约 $25^{\circ}\text{C}$ )2次冻融后进行检测,与正常储存(低于 $-70^{\circ}\text{C}$ )的参考品的检测结果进行比较,研究冻融稳定性。

### 1.3 统计学方法

重复性中,用3次重复检测结果中各微生物检出序列数的标准差(SD)除以平均值( $\bar{X}$ ),计算变异系数CV。线性中,3个浓度水平样本检测结果中各微生物检出序列数和浓度梯度比例用最小二乘法进行直线拟合,计算线性相关系数 $r$ 。

## 2 结果

### 2.1 参考品组成

空白参考品D0以及分别含有5种微生物的D1和D2系列参考品组成见表1。

### 2.2 参考品验证结果

使用病原宏基因组高通量测序技术检测制备好的参考品,参考品范围内的微生物均检出。见表2。

表1 病原宏基因组高通量测序技术质量评价参考品组成

Table 1 Composition of reference panel for quality evaluation of pathogen metagenomic next-generation sequencing

参考品组成	D0	D1-1	D1-2	D1-3	D1-2 (10)	D1-1 (100)
人源细胞	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>4</sup>	1×10 <sup>3</sup>
格氏李斯特菌	0	4×10 <sup>5</sup>	4×10 <sup>4</sup>	4×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>
副流感嗜血杆菌	0	3×10 <sup>5</sup>	3×10 <sup>4</sup>	3×10 <sup>3</sup>	3×10 <sup>3</sup>	3×10 <sup>3</sup>
琼氏不动杆菌	0	2×10 <sup>5</sup>	2×10 <sup>4</sup>	2×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>
马红球菌	0	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>
滕黄微球菌	0	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>2</sup>	1.5×10 <sup>2</sup>	1.5×10 <sup>2</sup>

参考品组成	D0	D2-1	D2-2	D2-3	D2-2 (10)	D2-1 (100)
人源细胞	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>4</sup>	1×10 <sup>3</sup>
干燥奈瑟氏菌	0	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>
荧光假单胞菌	0	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>
嗜水气单胞菌	0	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>
嗜肺军团菌	0	1×10 <sup>5</sup>	1×10 <sup>4</sup>	1×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>
葡萄牙念珠菌	0	4×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>2</sup>	4×10 <sup>1</sup>	4×10 <sup>1</sup>	4×10 <sup>1</sup>

注:人源细胞的浓度单位为 cells/mL;微生物的浓度单位为 CFU/mL。

表2 参考品病原宏基因组高通量测序检测结果

Table 2 Results of detection of reference panel by pathogen metagenomic next-generation sequencing

参考品微生物种类	D0	D1-1	D1-2	D1-2	D1-2	D1-3	D1-2 (10)	D1-1 (100)
格氏李斯特菌	0	9 320	1 230	1 071	1 667	163	454	3 381
副流感嗜血杆菌	0	19 734	2 065	1 786	2 928	358	594	4 848
琼氏不动杆菌	0	8 220	988	865	1 339	129	275	1 853
马红球菌	0	1 106	120	110	233	27	38	343
滕黄微球菌	0	1 676	261	207	505	46	60	738

参考品微生物种类	D0	D2-1	D2-2	D2-2	D2-2	D2-3	D2-2 (10)	D2-1 (100)
干燥奈瑟氏菌	0	8 013	691	743	992	118	383	2 671
荧光假单胞菌	0	15 034	1 103	1 213	1 752	199	825	7 460
嗜水气单胞菌	0	3 076	233	222	388	37	149	1 463
嗜肺军团菌	0	20 425	1 903	2 027	2 656	248	1 341	9 299
葡萄牙念珠菌	0	1 479	140	115	190	3	25	87

注:表中的数字表示该微生物检出的序列数(reads)。

参考品 D1-2 和 D2-2 各个微生物 3 次检测的检出序列数的变异系数均小于 50%,其中 7 个微生物的变异系数小于 30%,见表 3。参考品 D1-1、D1-2 和 D1-3, D1-3、D1-2(10)和 D1-1(100), D2-1、D2-2 和 D2-3,以及 D2-3、D2-2(10)和 D2-1(100)各个微生物检出序列数的线性相关系数的绝对值|r|均大于 0.86。见表 3。

### 2.3 参考品稳定性

分别对未冻融和冻融过的参考品 D1-3 和 D2-3 进行检测,未冻融和冻融 1 次时各微生物检出序列数未见明显差异,冻融 2 次后检出序列数均下降。见表 4。因此,冻融 2 次的参考品不宜继续使用。

表3 变异系数及线性相关系数计算结果

Table 3 Calculation results of coefficient of variation and linear correlation coefficient

D1 系列微生物种类	CV(%)	r <sub>11</sub>	r <sub>21</sub>
格氏李斯特菌	23	0.87	0.90
副流感嗜血杆菌	26	0.87	0.89
琼氏不动杆菌	23	0.87	0.90
马红球菌	44	0.87	0.88
滕黄微球菌	49	0.88	0.87

D2 系列微生物种类	CV(%)	r <sub>11</sub>	r <sub>21</sub>
干燥奈瑟氏菌	20	0.86	0.91
荧光假单胞菌	26	0.86	0.90
嗜水气单胞菌	33	0.87	0.90
嗜肺军团菌	18	0.86	0.92
葡萄牙念珠菌	26	0.87	0.96

注:CV 表示 3 次重复检测各微生物的检出序列数的变异系数(coefficient of variation, CV);|r<sub>11</sub>|表示 D1-1、D1-2 和 D1-3 或 D2-1、D2-2 和 D2-3 各微生物的检出序列数的线性相关系数 r 的绝对值;|r<sub>21</sub>|表示 D1-3、D1-2(10)和 D1-1(100)或 D2-3、D2-2(10)和 D2-1(100)各微生物的检出序列数的线性相关系数 r 的绝对值。

表4 参考品冻融稳定性研究结果

Table 4 Results of study on freeze-thaw stability of reference panel

参考品微生物种类	D1-3		
	未冻融	冻融 1 次	冻融 2 次
格氏李斯特菌	163	154	127
副流感嗜血杆菌	358	366	299
琼氏不动杆菌	129	159	113
马红球菌	27	38	13
滕黄微球菌	46	44	31

参考品微生物种类	D2-3		
	未冻融	冻融 1 次	冻融 2 次
干燥奈瑟氏菌	118	113	89
荧光假单胞菌	199	229	160
嗜水气单胞菌	37	49	23
嗜肺军团菌	248	282	199
葡萄牙念珠菌	3	5	0

注:表中的数字表示该微生物检出的序列数(reads)。

## 3 讨论

mNGS 技术对于新发病原体感染、复杂及混合感染以及不明原因感染的诊断独具优势<sup>[1, 7-14]</sup>。2021 年 2 月,国家药品监督管理局修订《医疗器械监督管理条例》,规定“对国内尚无同品种产品上市的体外诊断试剂,符合条件的医疗机构根据本单位的临床需要,可以自行研制,在执业医师指导下在本单位内使用”;2021 年 7 月,《中共中央国务院关于支持浦东新区高水平改革开放打造社会主义现代化建设引领区的意见》,提出“允许有条件的医疗机构按照相关要求开展自行研制体外诊断

试剂试点”。技术优势和政策支持正推动 mNGS 技术开启医疗机构本地化建设的新篇章<sup>[2]</sup>。然而, mNGS 检测流程对环境、仪器及人员专业技术能力要求极高, 医疗机构在正式开展 mNGS 本地化检测前需要进行质量评价<sup>[2, 5]</sup>。尽管已有多个研究团队报道过相关研究, 但仍未建立公认的适合于医疗机构的本地化质量评价模式或方案<sup>[3-5, 15]</sup>。

本参考品的微生物选择原则和使用方法是对以往研究的继承和创新<sup>[3-6, 10]</sup>。微生物选择原则包括: ①参考品组成包括人源细胞和微生物, 可以模拟临床感染样本。②mNGS 检测范围理论覆盖其生物信息学分析流程中使用数据库里面的全部病原体, 全部验证不具有可操作性, 因此常选择少数几种进行验证。③参考品中含有较高浓度微生物, 且进行质量评价时在短期内需完成大量检测, 存在气溶胶污染风险。④选择临床不常见、但与临床常见微生物种属相近的物种进行“代表性”验证, 可以最大程度不干扰医疗机构日常检验工作。⑤通过考察检测结果中, 是否将参考品中临床不常见微生物误报为其近缘的临床微生物, 来评价检测的准确性和特异性(即假阳性)。⑥通过设置仅含人源细胞、不含微生物的空白参考品, 可以对整体的检测结果情况进行校正。

本参考品使用方法: ①以往研究提示人源细胞背景对 mNGS 检出限有潜在影响<sup>[1-5]</sup>, 本参考品通过设置 3 种人源细胞水平, 可以清晰地看到, 微生物检出序列数随着人源细胞浓度增加而降低, 提示高浓度的人源细胞有可能影响 mNGS 的检出限。②通过检测“固定人源细胞-微生物梯度降低”和“固定微生物-人源细胞梯度降低”两组参考品, 并计算各微生物检出序列数的线性相关系数, 可以分析检测的稳定性(即鲁棒性)。③仅用 15 个测试, 即可快速高效地对阳性符合率、阴性符合率、重复性、检出限及线性等性能指标进行评价。

综上所述, 本课题组建立了病原宏基因组高通量测序技术质量评价参考品及使用方法, 包括 1 个空白和 10 个微生物参考品。使用该参考品, 本课题组联合几十家医院, 于 2021 年开展了全国医疗机构 mNGS 本地化质量评价联合研究(数据整理分析中), 以为医疗机构开展 mNGS 本地化建设提供支持。

## 参考文献

- [1] 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, 2020, 36(12): 2598-2609.
- [2] 韩东升, 马筱玲, 吴文娟. 病原体宏基因组高通量测序医院实验室本地化之路: 现状和挑战[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45(2): 100-104.
- [3] Liu DL, Zhou HW, Xu T, et al. Multicenter assessment of shotgun metagenomics for pathogen detection [J]. EBioMedicine, 2021, 74: 103649.
- [4] Han DS, Diao ZL, Lai HY, et al. Multilaboratory assessment of metagenomic next-generation sequencing for unbiased microbe detection [J]. J Adv Res, 2021.
- [5] 张栋, 张京家, 杜鹃, 等. 病原宏基因组高通量测序性能确认方案[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 已接收.
- [6] 刘东来, 周海卫, 石大伟, 等. 细菌感染多重核酸检测试剂参考品的建立[J]. 传染病信息, 2018, 31(3): 209-214.
- [7] 周永召, 李亚伦, 范红, 等. 临床宏基因组学在呼吸感染性疾病精准诊疗中的疑问解析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17(6): 539-543.
- [8] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组. 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(2): 151-155.
- [9] 宏基因组学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. 宏基因组学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.
- [10] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11): 681-689.
- [11] 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.
- [12] 中华医学会检验医学分会. 宏基因组测序病原微生物检测生物信息学分析规范化管理专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(9): 799-807.
- [13] 中华医学会神经病学分会感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 中枢神经系统感染性疾病的脑脊液宏基因组学第二代测序应用专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54(12): 1234-1240.
- [14] 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.
- [15] Schlaberg R, Chiu CY, Miller S, et al. Validation of metagenomic next-generation sequencing tests for universal pathogen detection [J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(6): 776-786.

## 微流控芯片技术在布鲁氏菌检测中的应用

李翔<sup>1</sup> 董占柱<sup>2</sup> 陈昊<sup>3</sup> 孙欣<sup>4</sup> 包春喜<sup>2</sup> 李英智<sup>2</sup> 牛艺卿<sup>5</sup> 郝明媛<sup>6</sup> 赵志军<sup>7</sup> 杜彦丹<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 建立并评估基于微流控芯片(MC)技术检测布鲁氏菌(简称布氏菌)核酸的方法,以提高布鲁氏病(简称布病)的诊断能力。**方法** 设计MC核酸提取、PCR和DNA反向斑点杂交相结合的检测布氏菌DNA的全自动技术流程。设计微流控全自动核酸检测(MC-PCR)与基因测序符合性测试、与实时荧光定量核酸扩增检测(qPCR)、TaqMan探针法检测比较实验;评估MC-PCR法检测布氏菌的重复性、准确性、特异性、最低检出限。**结果** 研究组与对照组核酸溶解曲线图纵坐标峰值所对应的横坐标一致,呈现单一的溶解峰,温度相同,表示为相同的扩增产物。核酸不同提取方法之间Ct值差异有统计学意义( $P<0.05$ )。经两两比较,NaI(机提)的Ct值低于AXYGEN、天净沙、济凡、NaI(手提),差异有统计学意义( $P<0.05$ );NaI(机提)的Ct值与全式金、天根、德诺杰亿差异无统计学意义( $P>0.05$ )。基因测序的Kappa值为0.659,与MC-PCR具有高度的一致性,MC-PCR与基因测序阳性结果符合率100%,总符合率82.5%。**准确性**:结果符合率为100%;**特异性**:结果阴性率100%;**重复性**:结果均可以检出布氏菌;**检出限**:浓度为825 copies/mL时,MC-PCR与qPCR、TaqMan探针法检出率差异有统计学意义( $\chi^2=24.699, P<0.05$ ),经两两比较,MC-PCR检出率高于qPCR和TaqMan探针法。**精密性**:结果均可以检出布氏菌。**结论** MC-PCR检测布氏菌核酸的检测方法安全、快捷、及时、精准,可以应用于临床。这将提高布病诊断率,对布鲁氏菌病的防治起到重要作用。

**[关键词]** 布鲁氏菌;微流控芯片;聚合酶链式反应;血清

### Application of microfluidic chip technology in Brucella detection

LI Xiang<sup>1</sup>, DONG Zhanzhu<sup>2</sup>, CHEN Hao<sup>3</sup>, SUN Xin<sup>4</sup>, BAO Chunxi<sup>2</sup>, LI Yingzhi<sup>2</sup>, NIU Yiqing<sup>5</sup>, HAO Mingyuan<sup>6</sup>, ZHAO Zhijun<sup>7</sup>, DU Yandan<sup>2\*</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Clinical College of Inner Mongolia University for Nationalities, the First People's Hospital of Horqin District, Tongliao City, Tongliao, Inner Mongolia, 028000; 2. Department of Clinical Laboratory, Inner Mongolia Forestry General Hospital, the Second Clinical College of Inner Mongolia University for Nationalities, Yakeshi, Inner Mongolia, 022150; 3. Department of Ophthalmology, Inner Mongolia Forestry General Hospital, the Second Clinical College of Inner Mongolia University for Nationalities, Yakeshi, Inner Mongolia, 022150; 4. Department of Cardiology, Inner Mongolia Forestry General Hospital, the Second Clinical College of Inner Mongolia University for Nationalities, Yakeshi, Inner Mongolia, 022150; 5. Department of Nuclear Medicine, Inner Mongolia Forestry General Hospital, the Second Clinical College of Inner Mongolia University for Nationalities, Yakeshi, Inner Mongolia, 022150; 6. Department of Clinical Laboratory, Hulunbuir Infectious Disease Hospital, Zhalantun, Inner Mongolia, 162650; 7. Department of General Surgery, Inner Mongolia Forestry General Hospital, the Second Clinical College of Inner Mongolia University for Nationalities, Yakeshi, Inner Mongolia, 022150)

**[ABSTRACT]** **Objective** To establish and evaluate the method of detecting Brucella nucleic acid based on microfluidic chip (MC) technology, to improve the diagnostic ability of Brucella. **Methods** We

基金项目:内蒙古自治区卫生健康科技计划项目(202201609)

作者单位:1. 内蒙古民族大学第二临床学院,内蒙古通辽市科尔沁区第一人民医院检验科,内蒙古,通辽 028000

2. 内蒙古民族大学第二临床学院,内蒙古林业总医院检验科,内蒙古,牙克石 022150

3. 内蒙古民族大学第二临床学院,内蒙古林业总医院眼科,内蒙古,牙克石 022150

4. 内蒙古民族大学第二临床学院,内蒙古林业总医院心内科,内蒙古,牙克石 022150

5. 内蒙古民族大学第二临床学院,内蒙古林业总医院核医学科,内蒙古,牙克石 022150

6. 呼伦贝尔市传染病医院检验科,内蒙古,扎兰屯 162650

7. 内蒙古民族大学第二临床学院,内蒙古林业总医院普外科,内蒙古,牙克石 022150

\*通信作者:杜彦丹, E-mail: duyandan1111@163.com

designed a fully automatic technical process for the detection of Brucella DNA by the combination of MC nucleic acid extraction, PCR and DNA reverse dot blot hybridization. The microfluidic automatic nucleic acid detection (MC-PCR) and gene sequencing compliance test, and real-time fluorescence quantitative nucleic acid amplification detection (qPCR), TaqMan probe detection comparison experiments were designed to evaluate the MC-PCR method to detect Brucella, and to comparison of repeatability, accuracy, specificity, and minimum detection limit. **Results** The abscissas corresponding to the peak value of the ordinates of the nucleic acid dissolution curves of the study group and the control group are consistent, showing a single dissolution peak with the same temperature, which is expressed as the same amplification product. There was a significant difference in Ct value between different nucleic acid extraction methods ( $P<0.05$ ). The Ct value of NaI (machine extraction) was lower than that of AXYGEN, Tianjingsha, Jifan and NaI (manual extraction), and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in Ct value between NaI (machine extracted) and all gold, Tiangen and Denogen ( $P>0.05$ ). The Kappa value of gene sequencing was 0.659, which was consistent with MC-PCR. The positive coincidence rate between MC-PCR and gene sequencing was 100%, and the total coincidence rate was 82.5%. In terms of accuracy, the coincidence rate of the results was 100%; In terms of specificity, the negative rate was 100%. The results of repeatability showed that Brucella could be detected; Detection limit: when the concentration was 825 copies/ml, the detection rate difference between MC-PCR, TaqMan and qPCR was statistically significant ( $\chi^2=24.699, P<0.05$ ), and the detection rate of MC-PCR was higher than TaqMan and qPCR. The results of precision can detect Brucella. **Conclusion** The MC-PCR detection method for Brucella nucleic acid is safe, fast, timely and accurate, and can be used in clinic. This will improve the diagnosis rate of brucellosis and play an important role in the prevention and treatment of brucellosis.

[KEY WORDS] Brucella; Microfluidic Chip; Polymerase chain reaction; Serum

布鲁氏菌病(Brucellosis)是由布鲁氏菌属的细菌(Brucella)侵入机体,引起传染-变态反应性的人兽共患的传染病。临床上以长期发热、多汗、乏力、关节疼痛、肝脾及淋巴结肿大特点<sup>[1]</sup>。人群易感,多因病致贫。布病的诊断以实验室检查为主,结合流行病史、临床表现、影像学手段等综合判断<sup>[2]</sup>。目前,检测布氏菌的常用技术均存在一定局限性,如血培养技术耗时长、检出率低;虎红平板凝集试验、试管凝集特异性不高;补体结合试验敏感性低;传统聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)操作繁琐涉及生物安全等。微流控芯片-PCR(Microfluidic Chip PCR, MC-PCR)技术可将样品制备、反应、分离、检测等集成到一块芯片上并自动完成,具有快速、高通量、低消耗,灵敏、特异等特点<sup>[3-4]</sup>。其技术已经成功应用于HPV<sup>[5]</sup>、结核<sup>[6]</sup>、肿瘤<sup>[7]</sup>等疾病的检测。近年来布病的国内外的发病率出现逐年上升的势头<sup>[8-9]</sup>,探究MC-PCR技术与布氏菌检测相结合,提高布氏菌检测、诊断能力十分必要。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本来源

收集2021年呼伦贝尔市传染病医院80例布

氏菌试管凝集实验阳性患者血液样本,3 000 r/min 转速处理5 min,离心半径15 cm,分离血清,布氏菌悬液及阴性血清样本由内蒙古林业总医院提供。阳性样本及布氏菌悬液均采用56℃ 30 min进行灭活,-80℃冷藏。布氏菌质粒为北京睿博兴科生物技术有限公司。

### 1.2 实验方法

研发适合MC技术的布氏菌核酸提取试剂、PCR扩增条件、反向斑点杂交试剂;设计MC-PCR与基因测序符合性测试、比较MC-PCR法与硕世生物科技qPCR法、上海之江生物科技TaqMan探针法、临床诊断结果;评估MC-PCR重复性、准确性、特异性、最低检出限。

#### 1.2.1 DNA提取

采用 $5\times 10^5$  CFU/mL浓度胎牛血清加布氏菌悬液作为样本。MC布氏菌提取试剂50  $\mu$ L血清+50  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O+100  $\mu$ L裂解液+5  $\mu$ L LPK+10  $\mu$ L磁珠+100  $\mu$ L异丙醇,6M裂解液,裂解2 min在全自动核酸芯片检测仪(北京博晖创新生物技术股份有限公司,型号:BHF-VI)上进行核酸提取、产物PCR检测结果设为研究组;AXYGEN柱式核酸提取试剂盒、天净沙柱式血液核酸提取试剂盒、全式金(离心柱)核酸提取试剂盒、天根血液基因组

DNA 提取试剂盒、德诺杰亿核酸提取试剂、济凡生物科技济凡快速磁珠法血液基因组提取试剂盒及研发的手工提取试剂共 7 种试剂提取产物分别 PCR 检测结果设为对照组。

### 1.2.2 PCR 扩增

采用美国 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪对提取的产物检测。根据布氏菌 BCSP31 蛋白编码的基因,使用 Oligo7 和 Allele ID6 软件设计出适合微流控芯片检测的引物(5'-ACCTTGCCCTTGCCATCAT-3')(5'-AGTCCGGCTTTACGCAGTCA-3')以及探针(TGCCGTTATAGGCCCAATA GGCAAC G)。采用 15 μL PCR 反应体系,主要包括:诺唯赞通用型高灵敏度染料法定量 PCR 检测酶 7.5 μL,正、反向引物各 1.5 μL(0.5 μmol/μL)ddH<sub>2</sub>O: 1.5 μL 核酸模板 3 μL。MC-PCR 用诺唯赞高纯度耐热 DNA 聚合酶,检测使用 BHF-VI,其它与实时荧光定量实验扩增体系参数一致。

### 1.2.3 反向斑点杂交

MC 技术反向斑点杂交试剂使用微量点样技术,在 BHF-VI 上进行自动提取反向斑点杂交、显示和结果分析。见图 1。

图 1 微流控探针排布

Figure 1 Microfluidic probe arrangement

BC	GB						SP
			BS				
SP							SP

注:BC 为空白对照探针、SP 为显色质控探针、GB 为内参质控探针、BS 为布氏菌检测探针。

### 1.2.4 微流控芯片结果判定

实验过程中设立的阴阳性对照必须 BS、GB 和 SP 位置处均出现阳性斑点,否则提示核酸提取、PCR 扩增或杂交失败。试剂盒内的阴性对照必须在 GB 和 SP 位置出现阳性斑点,其他位置均不能出现阳性斑点,否则有可能发生污染。

### 1.2.5 符合性测试

采用 80 例试管凝集试验阳性血清为样本,使用 MC-PCR 试剂在 BHF-VI 上检测,与 MC-PCR 提取的产物在华大基因北京公司的基因测序结果进行符合性比较;与硕世生物科技(qPCR)、上海之江生物科技的布菌核酸检测试剂盒(TaqMan 探针)在 ABI 7500 PCR 仪上检测结果进行比较;与临床诊断结果比较。

### 1.3 MC-PCR 性能评估

使用 MC-PCR 重复性:检测浓度 1 000 copies/mL 布氏菌质粒参考品 22 次;精密度:检测 100 CFU/mL 布氏菌悬液 10 次;准确性:检测浓度 1 000 copies/mL 布氏菌质粒参考品及浓度  $1.0 \times 10^5$  copies/mL 人胚胎肾 HEK293 细胞阴性参考品;特异性:检测浓度  $2.5 \times 10^5$  copies/mL EB 病毒、 $2.1 \times 10^5$  copies/mL 人巨细胞病毒、 $3.0 \times 10^6$  copies/mL 金黄色葡萄球菌、 $1.8 \times 10^6$  copies/mL 肺炎链球菌 14 型、 $1.0 \times 10^5$  copies/mL 人胚胎肾 HEK293 细胞。检出限:检测梯度浓度布氏菌质粒。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 26 统计软件进行数据分析;计量资料采用  $(\bar{x} \pm s)$  描述,多组间比较采用方差分析;计数资料采用 (%) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;不同检验方法之间的一致性采用 kappa 检验分析;以  $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 研究组与对照组提取布氏菌核酸实验结果比较

研究组与对照组核酸溶解曲线图纵坐标峰值所对应的横坐标一致,呈现单一的溶解峰,温度相同,表示为相同的扩增产物。见图 2;研究组布氏菌核酸最早在 27 个循环就达到设定的阈值,核酸不同提取方法之间 Ct 值差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。NaI(机提)的 Ct 值低于 AXYGEN、天净沙、济凡、NaI(手提),差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); NaI(机提)的 Ct 值与全式金、天根、德诺杰亿差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1、图 3。

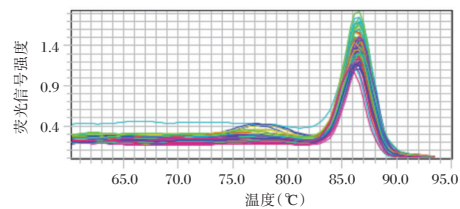


图 2 布氏菌核酸 QPCR 溶解曲线

Figure 2 QPCR dissolution curve of Brucellosis nucleic acid

### 2.2 符合性测试结果

基因测序的 Kappa 值为 0.659,与 MC-PCR 具有高度的一致性,MC-PCR 与基因测序阳性结果符合率 100%,总符合率 82.5%。见表 2。

### 2.3 MC-PCR 性能评估结果

准确性:结果符合率为 100%;特异性:结果阴

表1 不同提取方法之间CT值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of the CT values between the different extraction methods ( $\bar{x} \pm s$ )

提取方法	CT值	F值	P值
AXYGEN	29.95±0.29	14.935	<0.001
天净沙	32.94±0.19		
全式金	28.07±0.08		
天根	27.81±0.29		
德诺杰亿	27.26±0.86		
济凡	31.85±0.55		
NaI (手提)	29.24±0.30		
NaI (机提)	27.68±0.26		

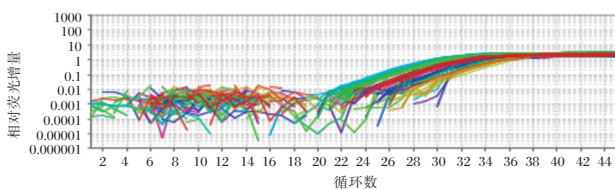


图3 布氏菌核酸QPCR扩增曲线

Figure 3 QPCR amplification curve of Brucella nucleic acid

性率100%;重复性:结果均可以检出布氏菌;检出限:浓度为825 copies/mL时,MC-PCR与qPCR、TaqMan探针法检出率差异有统计学意义( $\chi^2=24.699, P<0.05$ ),经两两比较,MC-PCR检出率高于qPCR和TaqMan探针法,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。精密密度:结果均可以检出布氏菌。见表3、图4。

### 3 讨论

布病是一种易被忽视的人畜共患病,不仅严重危害人民身体健康,而且影响畜牧业、旅游业、国际贸易的发展,还会带来食品安全隐患<sup>[10]</sup>,其已经成为我国法定的乙类传染病之一。内蒙古畜牧业发达,畜牧业交易、运输的活跃,致使布病疫情从牧区向半牧区、农区以及城市蔓延。虽然检测出布氏菌是诊断布病的金标准<sup>[11-12]</sup>。但由于布氏菌培养营养要求高,生长缓慢,往往会延误诊断及早期治疗,故不能成为诊断布病的主要方法。血清学诊断缺乏国际化的参考标准,具有诊断学意义的

表2 不同方法的符合性测试结果

Table 2 Compliance test results of different methods

MC-PCR	实验结果	阳性	阴性	合计	符合率 (%)	Kappa值
基因测序	阳性	30	0	30	100.0 <sup>a</sup>	0.659
	阴性	14	36	50	72.0 <sup>b</sup>	
	合计	44	36	80	82.5 <sup>c</sup>	
QPCR法	阳性	36	1*	37	97.3 <sup>a</sup>	0.777
	阴性	8**	35	43	81.4 <sup>b</sup>	
	合计	44	36	80	88.8 <sup>c</sup>	
TaqMan 探针法	阳性	5	0	5	100 <sup>a</sup>	0.103
	阴性	39	36	75	48 <sup>b</sup>	
	合计	44	36	80	51.3 <sup>c</sup>	
临床诊断	阳性	33	23	56	58.9 <sup>a</sup>	0.115
	阴性	11	13	24	54.2 <sup>b</sup>	
	合计	44	36	80	57.5 <sup>c</sup>	
试管凝集	阳性	44	36	80	55.0 <sup>a</sup>	0.115
	阴性	0	0	0	0.0 <sup>b</sup>	
	合计	44	36	80	55.0 <sup>c</sup>	

注:a为阳性符合率,b为阴性符合率,c为总符合率;\*测序为阴性,\*\*测序后为阳性;测序方法为一代测序,包含利用巢式PCR扩增后的测序。

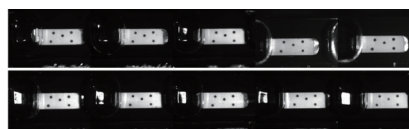


图4 精密度参考品微流全流程检测结果

Figure 4 Results of microflow of precision reference

血清布氏菌抗体滴度尚未确定。传统的布氏菌核酸检测试剂盒多数是以手工提取核酸为主要方法,提取过程繁琐,提取效率不高,稳定性不好,此外,多数检测机构环境难以达到《病原微生物实验室生物安全环境管理办法》中布鲁氏菌活菌检测要求<sup>[13]</sup>。虽然布氏菌的检测技术已经有了很大的发展,但是,仍然没有一种单一的方法能在任何情况下进行安全、快速、准确的检测。因此,找到快速、准确、安全的诊断布病的检测方法至关重要。

MC的适时出现为分子诊断研究开启了新的大门,MC是指在微米级别流道上对微流体或微反应体系进行精准操控与分析检测的科学技术,具有自动、高效、快速、集成、低消耗且灵敏、特异等

表3 MC-PCR与qPCR、TaMan探针法检出限比较实验

Table 3 Comparison of detection limits of MC-PCR, qPCR and Taman methods

浓度(copies/mL)	MC-PCR/人份(copies/mL)	qPCR/人份(copies/mL)	TaMan 探针/人份(copies/mL)	$\chi^2$ 值	P值
10 000	22/22	20/20	20/20	6.822	0.013
5 000	22/22	20/20	20/20		
1 000	22/22	19/20	15/20		
825	20/22 <sup>ab</sup>	5/20	5/20	24.699	0.000
最低检出限	825	1 000	5 000		

注:与qPCR比较, $\chi^2=18.889, P<0.001$ ;与TaMan探针比较, $\chi^2=18.889, P<0.001$ 。



优点<sup>[14]</sup>。用MC技术将PCR核酸提取、PCR扩增、RDB集合到一个芯片上建立起微型化的MC-PCR检测布氏菌DNA反应体系,其能克服PCR需要较多的试剂、加热时间长、冷却时间长等缺点,消除了因离心、混合和冻融步骤所导致的场地问题,从而解决PCR扩增的标准化问题。此外,该技术还可以避免样品在多步处理过程中出现内源性核糖核酸酶激活、不适pH值和温度导致的样品降解<sup>[15]</sup>等。研究表明这种能快速分离出细菌及病毒的DNA,并在最小化人为干预的情况下将其传送到检测装置传感器的封闭集成单元内的微流控系统是目前传染病检测的最佳选择。且仪器操作稳定性高,可以实现布氏菌检测的误差最小化,自动化操作极大减少了实验人员感染风险,这将是现阶段最好的布氏菌核酸提取和检测方法。

MC-PCR与基因测序、TaqMan探针法、qPCR检测阳性结果符合率为100%、100%和97.3%,1例QPCR阳性、MC-PCR阴性样本基因测序为阴性结果,8例QPCR阴性、MC-PCR阳性样本测序后为阳性结果,MC-PCR与基因测序结果更符合,说明MC-PCR检出研究组的结果更准确。因为MC-PCR在PCR扩增后又进行了RDB。RDB是将针对BCSP31基因组设计的引物的探针包被在芯片检测区的杂交膜上,若扩增产物中含有目的基因,则可被芯片上的探针捕获,与膜上探针相结合,结合形成复合物,特异性强,经酶和显色反复润洗,形成可见的斑点,就可判断感染了布氏菌,这可显著降低假阳性率和假阴性率<sup>[16]</sup>。通过RDB技术不仅可以提高布氏菌核酸的检测效率,还增加了实验的特异性和准确性。MC-PCR阳性率高是MC-PCR的检出限最低,对布氏菌检测最敏感,这对布病的早期诊断以及鉴别布病慢性期与急性期都有帮助。与临床诊断较低的一致性,分析是临床医生常根据布病血清免疫学试管凝集实验和临床症状对布病进行诊断,但对一些试管凝集实验阳性且与布氏菌感染症状相似的患者无法准确诊断是否是布病感染,导致会出现一部分假阳性的病例。试管凝集实验是对血清中总抗体(包括IgM和IgG)进行检测,可能会与其它细菌存在着一定量交叉反应,导致假阳性率偏高,特异性不强,同时血清抗体在体内可以长时间存在,即使一些患者痊愈且没有症状,但对其血清进行检测仍然会出现一些较高滴度抗体的情况<sup>[17]</sup>。由于布病国家

诊断标准的局限性,误诊漏诊不可避免<sup>[11-12]</sup>。

综上所述MC-PCR技术检测布氏菌重复性、准确性、特异性、检出限的性能均优于一般布氏菌核酸测试剂盒,且检测方法安全、快捷、及时、精准。该技术的应用将提高布病诊断率和诊断准确率,有效地减少误诊、漏诊,对布鲁氏菌病的防治起到重要作用。

## 参考文献

- [1] Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, et al. The new global map of human Brucellosis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2006, 6(2):91-99.
- [2] 何晶晶,张雁,赵琳琳,等. 慢性布鲁菌病流行病学特征及实验室检查项目特点分析[J]. *中华临床感染病杂志*, 2017(10):353-358.
- [3] 沈韧,万凉,贾艳伟. 微流控技术在临床检测中的应用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018,10(5):289-294+284.
- [4] 张晓杰,费洪新. 微流控芯片与基因诊断关系的研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2019,39(6):1513-1516.
- [5] 黄学文,赵琪,赵兰静,等. 基于PCR反向斑点杂交技术的32型生殖道乳头瘤病毒基因分型方法的建立[J]. *临床检验杂志*, 2015,33(9):648-652.
- [6] 李爱华,张国龙,沈青玉,等. 反向斑点杂交技术鉴定分枝杆菌菌种的应用评价[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(23):3398-3400.
- [7] 刘大渔,严伟,张琼,等. 过滤式微流控芯片上的循环肿瘤细胞分选[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2012,4(6):366-370.
- [8] 姜海,阚颀. 我国布鲁氏菌病防控现状、进展及建议[J]. *中华流行病学杂志*, 2020,41(9):1424-1427.
- [9] 董帅兵,李言飞,姜海,等. 2005-2017年全国布鲁氏菌病重复报告情况分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2020(3):389-391.
- [10] Franc KA, Krecek RC, et al. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: a call for interdisciplinary action[J]. *BMC Public Health*, 2018, 18(1):125.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 布鲁氏菌病诊疗指南(试行)[J]. *传染病信息*, 2012, 25(6):323-324.
- [12] 卫生部. WS269-2007布鲁氏菌病诊断标准[S]. 北京:人民卫生出版社, 2008.
- [13] 病原微生物实验室生物安全环境管理办法[J]. *中华人民共和国国务院公报*, 2007(12):45-47.
- [14] Chunduri L, Haleyrigirisetty MK, Patnaik S, et al. Development of carbon dot based microplate and microfluidic chip immunoassay for rapid and sensitive detection of HIV-1 p24 antigen[J]. *Microfluid Nanofluidics*, 2016, 20(12):167.
- [15] Ghanim MH, Abdullah MZ. Integrating amperometric detection with electrophoresis microchip devices for biochemical assays: Recent developments[J]. *Talanta*, 2011, 85(1):28-34.
- [16] 刘丽华,高峰,闫小明. 反向斑点杂交技术的临床应用[J]. *实用医技杂志*, 2006(4):531-532.
- [17] Nielsen K. Diagnosis of brucellosis by serology[J]. *Vet Microbiol*, 2002, 90(1-4):447-459.

# 老年脑卒中继发性肺部感染患者血清 SIL-2R、IGF、hs-CRP 水平变化与继发性肺部感染的关系

韩艳芳\* 闫巷巷 刘晓卿

**[摘要]** **目的** 探讨老年脑卒中继发肺部感染患者血清可溶性白细胞介素-2受体(SIL-2R)、胰岛素样生长因子(IGF)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)水平变化及临床意义。**方法** 选取2020年1月至2021年12月河南省长垣市人民医院神经内科收治的老年脑卒中患者148例,根据患者是否发生肺部感染分为继发肺部感染组( $n=104$ )及单纯脑卒中组( $n=44$ ),同时选取80例正常体检者为对照组,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平,比较各组血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平。应用受试者特异性曲线(ROC)分析血清SIL-2R、IGF、hs-CRP在老年脑卒中患者肺部感染评估中的价值。**结果** 血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平比较:继发肺部感染组>单纯脑卒中组>对照组,差异有统计学意义( $F=515.829, 116.475, 269.541, P<0.05$ )。血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平比较:重度感染组>中度感染组>轻度感染组,差异有统计学意义( $F=662.249, 293.033, 102.455, P<0.05$ )。经Pearson相关性分析可知,脑卒中继发性肺部感染患者感染严重程度与血清SIL-2R、IGF、hs-CRP呈正相关( $P<0.05$ )。ROC曲线结果显示,SIL-2R、IGF、hs-CRP及其三者联合应用,对老年脑卒中继发性肺部感染诊断评估效率均较高( $AUC>0.7$ ), $AUC(95\% CI)$ 为0.825(0.700~0.973),优于单一指标检测( $P<0.05$ )。**结论** 老年脑卒中患者血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平变化与继发性肺部感染有密切关系,可作为脑卒中继发性肺部感染的辅助诊断指标。

**[关键词]** 老年脑卒中; SIL-2R; IGF; hs-CRP; 肺部感染

## The relationship between serum SIL - 2R, IGF and hs - CRP levels and secondary pulmonary infection in elderly patients with secondary pulmonary infection after stroke

HAN Yanfang\*, YAN Xiangxiang, LIU Xiaoqing

(Department of Laboratory, Changyuan People's Hospital, Changyuan, Henan, China, 453400)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the levels of serum soluble interleukin-2 receptor (SIL-2R), insulin-like growth factor (IGF) and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) of elderly patients with stroke and pulmonary infection. **Methods** 148 cases of elderly patients with neurological stroke were enrolled in the hospital from January 2020 to December 2021. The patients were divided into the pulmonary infection group ( $n=104$ ) and the non-infected group ( $n=44$ ) according to whether the patient had pulmonary infection. 80 cases of normal subjects were selected as the control group. The levels of SIL-2R, IGF and hs-CRP in three groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels of SIL-2R, IGF, and hs-CRP of assessment of pulmonary infection in elderly patients with stroke were analyzed by Subject-specific curve (ROC). **Results** Comparison of serum SIL-2R, IGF, and hs-CRP levels: secondary pulmonary infection group > simple stroke group > control group, the difference was statistically significant ( $F=515.829, 116.475, 269.541, P<0.05$ ). Comparison of serum SIL-2R, IGF and hs-CRP levels: severe infection group > moderate infection group > mild infection group, the difference was statistically significant ( $F=662.249, 293.033, 102.455, P<0.05$ ). The Pearson correlation analysis showed that the severity of infection in patients with

基金项目河南省医学科技攻关计划项目(2018082139)

作者单位:河南省长垣市人民医院检验科,河南,长垣453400

\*通信作者:韩艳芳, E-mail: lizhizheng987@163.com

secondary pulmonary infection after stroke was positively correlated with serum SIL-2R, IGF and hs-CRP ( $P < 0.01$ ). The ROC curve results showed that SIL-2R, IGF, hs-CRP and their combination had higher diagnostic evaluation efficiency (AUC  $> 0.7$ ) for secondary pulmonary infection in elderly stroke patients, and the combined application was higher than the single indicator AUC (95% CI) of 0.825 (0.700~0.973). **Conclusion** The changes of serum SIL-2R, IGF and hs-CRP levels in elderly patients with stroke are closely related to secondary pulmonary infection and can be used as auxiliary diagnostic indicators for secondary pulmonary infection after stroke.

**[KEY WORDS]** Elderly stroke; SIL-2R; IGF; hs-CRP; Pulmonary infection

脑卒中是临床常见的脑血管疾病,好发于老年人群,具有较高发病率、致残率及死亡率,患者预后差,存活患者常继发多种并发症,其中肺部感染是脑卒中患者常见的并发症,它不仅影响患者康复效果,而且会增加患者死亡风险<sup>[1-2]</sup>。目前诊断肺部感染常用的指标为超敏C反应蛋白(hs-CRP)和降钙素原(PCT),但这两个指标仅仅反映肺部感染情况,并不能反映脑卒中病情进展情况。研究指出<sup>[3]</sup>,脑卒中患者病情与肺部感染密切相关,脑梗死面积越大患者并发肺部感染的风险越高。因此,在诊断脑卒中患者肺部感染时应考虑脑卒中病情对肺部感染的影响。血清可溶性白细胞介素-2受体(Soluble interleukin-2 receptor, SIL-2R)作为免疫信号参与机体免疫调节反应,其水平在一定程度上能反映脑卒中患者病情调控情况,可为患者继发性感染提供判断依据<sup>[4]</sup>。胰岛素样生长因子(Insulin-like growth factor, IGF)是与神经系统损伤密切相关的指标,也与疾病发展过程中蛋白代谢有密切关系<sup>[5]</sup>。因此,本研究将探讨老年脑卒中患者血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平变化与继发性肺部感染的关系及应用价值,旨在为脑卒中继发性肺部感染临床诊断提供指导,现报告如下。

## 1 资料及方法

### 1.1 临床资料

选取2020年1月至2021年12月河南省长垣市人民医院神经内科收治的老年脑卒中患者148例,根据患者是否发生肺部感染分为继发肺部感染组( $n=104$ )及单纯脑卒中组( $n=44$ )。继发肺部感染组:男58例,女46例;年龄平均( $52.3 \pm 3.8$ )岁;梗死部位:基底节44例,脑叶44例,其他16例;合并症:糖尿病28例,高血压32例,代谢综合征10例;吸烟24例。单纯脑卒中组:男24例,女20例;年龄平均( $52.8 \pm 3.4$ )岁;梗死部位:基底节18例,脑叶20例,其他6例;合并症:糖尿病20例,高血压14例,代谢综合征5例;吸烟24例。另选取80例正常体检者为对照组,其中

男42例,女38例;年龄平均( $48.9 \pm 5.2$ )岁。三组临床资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

纳入标准:①患者符合全国第四届脑血管会议对脑卒中的诊断标准<sup>[6]</sup>;②经脑部CT或MRI确诊为脑梗死或脑出血;③所有患者及家属均知情同意。排除标准:①入院前合并其他感染患者;②合并心、肝、肾等脏器功能不全;③合并精神障碍、意识障碍;④近期应用过肾上腺皮质激素、免疫抑制剂的患者。研究内容经本院医学伦理委员会审核批准进行。

### 1.2 方法和指标

肺部感染诊断<sup>[7]</sup>:①新近出现呼吸困难、咳嗽、咳痰增多;②体温变化或出现高热;③肺部出现湿性啰音;④白细胞计数 $< 4 \times 10^9/L$ 或 $> 10 \times 10^9/L$ ,伴核左移;⑤经胸部X线检查,肺部有间质性影、斑片状、片状;⑥排除肺炎、肺栓塞、肺水肿、肿瘤等疾病。符合①~④之一及⑤和⑥即可诊断为肺部感染。

肺部感染评分(clinical pulmonary infection score, CPIS):包括痰培养、气道分泌物、白细胞计数、气体交换指数、X线胸片、体温等6个指标,每个指标采用0~2级评分,总评分0~12分,0~3分为轻度,4~6分为中度, $> 6$ 分为重度。

血清SIL-2R、IGF、hs-CRP测定:分别于入院时抽取所有入组对象静脉血5 mL,以3 000 r/min离心速度离心5 min,离心半径15 cm,留取上清液,应用酶联免疫吸附法测定血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平。SIL-2R试剂盒由上海易利生物科技有限公司提供,IGF试剂盒由上海基免实业有限公司提供,hs-CRP试剂盒由上海远慕生物科技有限公司提供,酶标仪由美国Biotek公司提供,所有操作严格按照试剂盒说明书进行。

### 1.3 统计学方法

使用SPSS 23.0进行资料分析。计量数据均通过正态性检验,以( $\bar{x} \pm s$ )描述,两组间比较用 $t$ 检验,多组间的比较为单因素方差分析。计数资料

以n(%)描述,用 $\chi^2$ 检验。相关性采用Pearson相关性分析。预测诊断价值分析为接收者工作特征曲线(ROC)分析,多指标联合应用为Log(P)模式。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组血清SIL-2R、IGF、hs-CRP比较

血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平比较:继发肺部感染组>单纯脑卒中组>对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 三组血清SIL-2R、IGF、hs-CRP比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of serum SIL-2R, IGF and hs-CRP between 3 groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	SIL-2R ( $\mu\text{g/L}$ )	IGF (ng/mL)	hs-CRP (ng/mL)
对照组	80	202.12 $\pm$ 28.25	128.25 $\pm$ 28.25	3.58 $\pm$ 0.58
单纯脑卒中组	44	289.36 $\pm$ 32.11 <sup>a</sup>	152.26 $\pm$ 30.25 <sup>a</sup>	5.98 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>
继发肺部感染组	104	357.78 $\pm$ 35.36 <sup>ab</sup>	184.95 $\pm$ 23.85 <sup>ab</sup>	10.08 $\pm$ 2.79 <sup>ab</sup>
F值		515.829	116.475	269.541
P值		0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与单纯脑卒中组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 脑卒中继发肺部感染患者不同CPIS评分血清SIL-2R、IGF、hs-CRP比较

血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平比较:重度感染组>中度感染组>轻度感染组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 脑卒中继发肺部感染患者不同CPIS评分血清SIL-2R、IGF、hs-CRP比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of serum SIL-2R, IGF and hs-CRP in stroke patients with different CPIS scores ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	SIL-2R ( $\mu\text{g/L}$ )	IGF (ng/mL)	hs-CRP (ng/mL)
轻度感染组	38	311.69 $\pm$ 20.87	157.08 $\pm$ 18.09	7.31 $\pm$ 1.01
中度感染组	32	354.39 $\pm$ 15.09 <sup>a</sup>	182.89 $\pm$ 15.38 <sup>a</sup>	9.67 $\pm$ 2.14 <sup>a</sup>
重度感染组	34	412.48 $\pm$ 20.02 <sup>ab</sup>	217.88 $\pm$ 16.37 <sup>ab</sup>	13.56 $\pm$ 3.56 <sup>ab</sup>
F值		662.249	293.033	102.455
P值		0.000	0.000	0.000

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

### 2.3 血清SIL-2R、IGF、hs-CRP与脑卒中继发性肺部感染的关系

经Pearson相关性分析可知,脑卒中继发性肺部感染患者感染严重程度与血清SIL-2R、IGF、hs-CRP呈正相关( $r=0.511, 0.498, 0.502, P<0.05$ )。

### 2.4 血清SIL-2R、IGF、hs-CRP诊断脑卒中继发肺部感染的ROC曲线分析

以肺部感染组(104例)为阳性样本,以非感染组(44例)为阴性样本,建立ROC诊断分析模型。结果显示,SIL-2R+IGF+hs-CRP指标联合诊断评估价值:AUC为0.825(0.700~0.973),优于单一指标( $P<0.05$ )。见表3、图1。

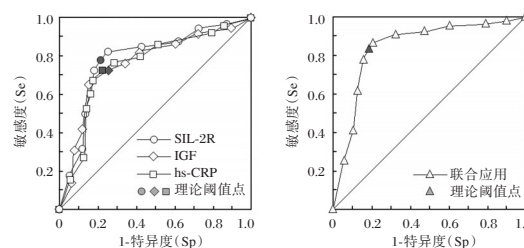


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

脑卒中是神经内科常见的多发性疾病,患者由于机体免疫力低下、意识模糊、长期卧床治疗、吞咽功能缺失等因素,导致患者容易并发肺部感染,增加患者死亡风险。尽管近年临床抗感染及器官支持治疗技术获得长远发展,但脑卒中肺部感染致死率仍较高,因此早期准确诊断脑卒中肺部感染将有助于临床医生制定有效的诊治方案。

近年研究发现<sup>[8]</sup>,血液细胞炎症因子在参与机体免疫调节及反应方面起到重要的作用。血液SIL-2R属于淋巴细胞膜白介素2受体,其作用在于诱导T细胞增生,调节细胞对IL-2反应,因此血液中SIL-2R浓度浓度能有效反映机体免疫组织活性状态。SIL-2R属于双向调节T淋巴细胞,可介导IL-2R

表3 ROC曲线分析

Table 3 ROC curve analysis

指标	AUC	95% CI	理论阈值	灵敏度	特异度	约登指数	P值
SIL-2R	0.775	0.610-0.985	320 $\mu\text{g/L}$	0.785	0.761	0.546	0.003
IGF	0.722	0.604-0.863	170 ng/mL	0.718	0.752	0.470	0.016
hs-CRP	0.711	0.606-0.834	8 ng/mL	0.722	0.778	0.500	0.012
SIL-2R+IGF+hs-CRP	0.825	0.700-0.973		0.829	0.819	0.648	0.000

注:理论阈值为适当取整后。

免疫反应,并抑制T细胞复制扩增,同时能抑制血清免疫球蛋白及B细胞机能,降低机体自分泌,达到负向调节作用<sup>[9]</sup>。IGF属于神经保护因子,当脑损伤时神经元中IGF将被激活从而起到保护神经功能的作用<sup>[10]</sup>。Miyachi等<sup>[11]</sup>研究指出,脑卒中患者血清IGF水平显著提高,且与颅脑损伤程度呈正相关。Rustogi等<sup>[12]</sup>通过动物实验结果显示,脑缺血再灌注后血清IGF水平显著下降,且与脑缺血缺氧程度有密切关系,同时该指标也与机体免疫代谢有密切的关系,因此可作为肺部感染患者代谢异常的反应指标。hs-CRP属于细胞炎症反应因子,主要由肝脏分泌,在体内与肺炎链球菌C多醣体结合形成复合蛋白。研究指出,血清hs-CRP水平与肺炎患者病情严重程度呈正相关,可作为判断脑卒中继发性肺部感染患者病情严重程度的指标<sup>[13]</sup>。

本研究结果表明血清SIL-2R、IGF、hs-CRP与脑卒中继发性肺部感染的发生有密切的关系。考虑可能由于机体感染病原菌后会激活淋巴T细胞,导致淋巴T细胞大量释放白细胞因子,使SIL-2R水平升高<sup>[14]</sup>。此外,肺部感染会进一步刺激炎症因子释放,导致机体免疫代谢功能紊乱,进一步加重脑损伤,从而刺激IGF释放<sup>[15]</sup>。hs-CRP属于细胞炎症因子,其水平可在6~12h内迅速升高,当机体炎症控制后其水平显著下降,因此可根据血液hs-CRP水平评价机体细菌感染情况<sup>[16]</sup>。本研究结果表明血清hs-CRP水平可作为脑卒中继发性肺部感染的诊断标准。本研究经ROC进一步分析可知,IL-2R、IGF、hs-CRP三者联合应用在老年脑卒中继发性肺部感染时,AUC、灵敏度、特异度均高于单一指标,这提示临床工作者可通过联合检测IL-2R、IGF、hs-CRP以提高脑卒中继发性肺部感染的诊断灵敏性,以便临床医生及时发现脑卒中继发性肺部感染,从而为临床诊断提供指导。

综上所述,老年脑卒中患者血清SIL-2R、IGF、hs-CRP水平变化与继发性肺部感染有一定的关系,可作为脑卒中继发性肺部感染的辅助诊断指标。

## 参考文献

[1] 曾亚华,孙光华,封蔚彬,等.脑卒中患者并发肺部感染的危险因素分析及康复护理对策[J].中国实用护理杂志,2017,33(36):2811-2814.

- [2] 王毅,欧阳玥,康绍军,等.血清炎症因子在急性缺血性脑卒中后感染患者中的变化[J].检验医学与临床,2020,17(1):54-57.
- [3] 李皓阳,胡志希.急性脑卒中患者并发院内感染的临床特点及危险因素[J].中华灾害救援医学,2020,8(2):105-107.
- [4] Zhao H, Zhou H, Cao Q, et al. Effect of allogeneic blood transfusion on levels of IL-6 and sIL-R2 in peripheral blood of children with acute lymphocytic leukemia [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 849-852.
- [5] 夏井丽.动脉粥样硬化性脑梗死患者血清IGF-1水平与颈动脉斑块稳定性的相关性研究[D].蚌埠:蚌埠医学院,2018.
- [6] 韩晓涛,赵颖,张波.老年脑卒中偏瘫合并肺部感染的临床特点及危险因素分析[J].中国临床保健杂志,2019,22(6):818-820.
- [7] 葛均波,徐永健,王辰.内科学[M].9版,北京:人民卫生出版社,2018:41-54.
- [8] 付佳.急性缺血性脑卒中中医院感染的影响因素及其对远期预后的影响[J].临床神经病学杂志,2019,32(4):285-288.
- [9] 冯玉婧,王大鹏,袁建新,等.脑卒中患者早期血清BDNF、Hs-CRP及IGF-1含量与脑卒中后抑郁的关系探讨[J].脑与神经疾病杂志,2019,27(3):158-160.
- [10] Miyachi S, Miyake T, Miyazaki M, et al. Insulin-like growth factor-I is inversely associated with liver fibrotic markers in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Diabetes Investig*, 2018, 5(2): 78-82.
- [11] Rustogi D, Yadav S, Ramji S, et al. Growth Patterns in Small for Gestational Age Babies and Correlation with Insulin-like Growth Factor-1 Levels [J]. *Indian Pediatr*, 2018, 55(11):975-978.
- [12] Kitagawa K, Hosomi N, Nagai Y, et al. Reduction in High-Sensitivity C-Reactive Protein Levels in Patients with Ischemic Stroke by Statin Treatment: Hs-CRP Sub-Study in J-STARS [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(10): 1039-1047.
- [13] 谢君,臧婧蕾.血脂和hs-CRP水平与缺血性脑卒中严重程度的相关性[J].检验医学与临床,2019,16(11):1594-1596.
- [14] Mattlage AE, Rippee MA, Abraham MG, et al. Estimated Prestroke Peak VO2 Is Related to Circulating IGF-1 Levels During Acute Stroke [J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2017, 31(1):65-71.
- [15] Petriczko E, Jackowski T, Horodnicka-Józwa A, et al. Treatment of severe primary IGF-1 deficiency using rhIGF-1 preparation - first three years of Polish experience [J]. *Endokrynol Pol*, 2019, 70(1): 20-27.
- [16] Karasahin O, Tasar PT, Timur O, et al. The value of C-reactive protein in infection diagnosis and prognosis in elderly patients [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2018, 30(6): 555-562.

# 血清CRP与骨髓形态检测在弥漫大B淋巴瘤患者中的临床意义

张红祥<sup>1</sup> 张喜梅<sup>2</sup> 李伟<sup>3\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探究血清C-反应蛋白(CRP)与骨髓形态检测在弥漫大B淋巴瘤患者中的临床意义。**方法** 选取2018年1月至2021年6月期间许昌市中心医院肿瘤科收治的54例弥漫大B淋巴瘤患者为研究组(其中包括浸润者22例和未浸润者32例),选取同期健康体检者为54例为对照组,采用酶联免疫法检测所有受试人群的CRP水平,比较不同分期患者和对照组的CRP水平。并比较浸润者与未浸润者的临床参数;ROC曲线分析CRP对弥漫大B淋巴瘤预测价值以及临床参数判断弥漫大B淋巴瘤是否存在骨髓浸润。**结果** 研究组患者的CRP水平显著高于对照组,差异有统计学意义( $30.74 \pm 12.75$  vs  $6.53 \pm 3.35$ ;  $P < 0.05$ ),且随着临床分期CRP水平不断提高( $P < 0.05$ );浸润组与未浸润组患者性别、年龄、白细胞计数(WBC)、淋巴细胞比例、血红蛋白(HGB)比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );浸润组患者血小板(PLT)水平和伴发淋巴瘤b症状风险均显著低于非浸润组患者,CRP水平显著高于非浸润组患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );ROC曲线分析显示,PLT水平、伴发淋巴瘤b症状风险和CRP水平是弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润的影响因素( $P < 0.05$ )。**结论** 血清CRP联合骨髓形态的检测对于弥漫大B淋巴瘤患者的不同类型、疾病严重度的变化和判断是否存在骨髓浸润均具有重要价值。

**[关键词]** 弥漫大B淋巴瘤;骨髓形态;预后;C-反应蛋白

## Clinical significance of serum CRP and bone marrow morphology in patients with diffuse large B lymphoma

ZHANG Hongxiang<sup>1</sup>, ZHANG Ximei<sup>2</sup>, LI Wei<sup>3\*</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Xuchang Central Hospital, Xuchang, Henan, China, 463200;

2. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Keshan County, Keshan, Henan, China, 463200;

3. Department of Oncology, Xuchang Central Hospital, Xuchang, Henan, China, 463200)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the clinical significance of serum C-reactive protein (CRP) and bone marrow morphology in patients with diffuse large B lymphoma. **Methods** A total of 54 patients with diffuse large B lymphoma who were admitted to the Department of Oncology, Xuchang Central Hospital from January 2018 to June 2021 were selected as the research group (including 22 infiltrating patients and 32 non-infiltrating patients), and 54 healthy subjects during the same period were selected as the control group. The CRP levels of all subjects were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the CRP levels of patients with different stages and the control group were compared. The clinical parameters of infiltrating and non-infiltrating patients were compared; the predictive value of CRP in diffuse large B lymphoma was analyzed by ROC curve, and the clinical parameters were used to determine whether there was bone marrow infiltration in diffuse large B lymphoma. **Results** The CRP level in the study group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ( $30.74 \pm 12.75$  vs  $6.53 \pm 3.35$ ;  $P < 0.05$ ), and the CRP level

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(20-21ZY2230)

作者单位:1. 许昌市中心医院检验科,河南,许昌461000

2. 河南省确山县人民医院检验科,河南,确山463200

3. 许昌市中心医院肿瘤科,河南,许昌461000

\*通信作者:李伟, E-mail:lw3353055@163.com

increased with the clinical stage ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in gender, age, white blood cell count (WBC), lymphocyte ratio, and hemoglobin (HGB) in the non-infiltrating group ( $P>0.05$ ). The platelet (PLT) level and the risk of lymphoma b symptoms in the infiltrating group were significantly lower than those in the non-infiltrating group, and the CRP level was significantly higher than that in the non-infiltrating group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). ROC curve analysis showed that the level of PLT, the risk of lymphoma b symptoms and the level of CRP were the influencing factors of whether there was bone marrow infiltration in patients with diffuse large B lymphoma ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The detection of serum CRP combined with bone marrow morphology is of great value in different types of patients with diffuse large B lymphoma, changes in disease severity, and judgment of whether there is bone marrow infiltration.

**[KEY WORDS]** Diffuse large B lymphoma; Bone marrow morphology; Prognosis; C-reactive protein

淋巴瘤是一种常见的血液系统恶性肿瘤,主要发起于淋巴组织,由于发病比较隐蔽,故常常被漏诊或误诊引<sup>[1]</sup>。淋巴瘤霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。霍奇金淋巴瘤预后好,治愈率高,非霍奇金淋巴瘤类型复杂,占淋巴瘤的90%左右<sup>[2]</sup>。弥漫大B淋巴瘤是最常见的非霍奇金淋巴瘤亚型,占非霍奇金淋巴瘤的30%~40%<sup>[3]</sup>。目前,国内外主要将组织病理学作为恶性淋巴瘤诊断的金标准,并与遗传学、临床症状及影像学等结合对患者进行分期、分型处理及判断预后,但上述检测方法尚无法便捷、全面且准确地进行诊断,故寻找新的方便、简单和易操作的检测指标对诊治淋巴瘤具有十分重要的意义。随着对弥漫大B细胞淋巴瘤发病机制认识的深入,越来越多的证据表明分子生物学指标可能对淋巴瘤的预后有较高价值<sup>[4]</sup>。血清C-反应蛋白(Serum C-reactive protein; CRP)是一种急性时相反应蛋白,在炎症过程中浓度迅速增高,有报道指出CRP在淋巴瘤患者中明显升高<sup>[5]</sup>,本研究旨在通过分析弥漫大B淋巴瘤患者的血清CRP及骨髓形态检验情况,探讨血清CRP在淋巴瘤患者的诊断与转归预测中的临床价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

便利抽样法选取2018年1月至2021年6月期间许昌市中心医院肿瘤科收治的54例弥漫大B淋巴瘤患者为研究组(其中包括骨髓浸润者22例和骨髓未浸润者32例),其中浸润组22例,男性15例,女性7例,年龄( $53.81\pm 18.28$ )岁;未浸润组32例,男性22例,女性10例,年龄( $54.21\pm 19.07$ )岁;选取同期健康体检者为54例为对照组,其中男性35例,女性19例,年龄( $55.37\pm 17.94$ )岁;研究组与对照组患者一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

纳入标准:①所有患者的均符合中国弥漫大B细胞淋巴瘤诊断与治疗指南(2013年版)中弥漫大B淋巴瘤诊断标准<sup>[6]</sup>;②半年内均未有服用激素以及免疫调节剂等药物;③临床资料完整;④均无认知功能异常;⑤均意识清醒;排除标准:①合并严重感染者;②合并有其他主要器官功能不全患者;③全身免疫系统严重障碍患者;④合并有精神障碍患者;⑤哺乳妊娠期妇女。所有研究对象及家属均知情同意,并经医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

①根据Ann Arbor制定的非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma; NHL)标准<sup>[7]</sup>对患者进行分期,分为I期( $n=11$ )、II期( $n=15$ )、III期( $n=16$ )和IV期( $n=12$ );②所有研究对象分别于治疗前采取外周静脉血5 mL,分离血清,采用免疫比浊法检测C-反应蛋白(CRP)水平;③骨髓细胞学检测<sup>[8]</sup>:对研究组骨髓涂片进行登记、编号;经瑞氏染色液处理,晾干镜检;利用光镜低倍镜检查是否有髓增生、巨核细胞系统增生等情况,并对涂片边缘进行观察,骨髓小粒周围是否存在异常细胞。所有检测均由许昌市中心医院检验科严格按照操作说明完成。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 22.0软件,计量资料用( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组间行 $t$ 检验,多组间用 $F$ 检验。计数资料用 $n(\%)$ 表示,用 $\chi^2$ 检验。ROC曲线分析CRP对弥漫大B淋巴瘤预测价值以及临床参数判断弥漫大B淋巴瘤是否存在骨髓浸润。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同分期患者的CRP水平变化

研究组患者CRP水平为( $30.74\pm 12.75$ )mg/L,对照组CRP水平为( $6.53\pm 3.35$ )mg/L。研究组患者的

CRP水平显著高于对照组,且随着临床分期CRP水平不断提高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 不同分期患者的CRP水平变化( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Changes in CRP levels in patients with different stages ( $\bar{x}\pm s$ )

分期	n	CRP(mg/L)
I期	11	15.25±7.27
II期	15	27.65±7.36 <sup>a</sup>
III期	16	33.21±8.28 <sup>ab</sup>
IV期	12	45.52±8.53 <sup>abc</sup>
对照组	54	6.53±3.35 <sup>abcd</sup>
F值		1329.133
P值		<0.001

注:a表示与I期比较,b表示与II期比较,c表示与III期比较,d表示与IV期比较,P均<0.05。

## 2.2 浸润组与非浸润组临床参数比较

浸润组与未浸润组患者性别、年龄、白细胞计数(WBC)、淋巴细胞比例、血红蛋白(HGB)差异均无统计学意义( $P>0.05$ );浸润组患者血小板(PLT)水平和伴发淋巴瘤b症状风险均显著低于非浸润组患者,CRP水平显著高于非浸润组患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 浸润组与非浸润组临床参数比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

Table 2 Comparison of clinical parameters in the non-invasive group [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

项目	浸润组 (n=22)	未浸润组 (n=32)	t/ $\chi^2$ 值	P值
性别				
男	15(68.18)	22(68.75)		
女	7(31.82)	10(31.25)	0.002	0.965
年龄(岁)	53.81±18.28	54.21±19.07	0.077	0.939
WBC( $\times 10^9/L$ )	13.25±12.47	9.53±3.35	1.611	0.113
淋巴细胞比例(%)	0.35±0.16	0.28±0.12	1.837	0.072
HGB(g/L)	111.81±23.58	110.42±23.38	0.214	0.831
PLT( $\times 10^9/L$ )	125.45±103.46	276.15±123.71	4.692	<0.001
淋巴瘤b症状	62.78±3.22	68.15±4.66	4.684	<0.001
CRP(mg/L)	42.37±8.46	22.86±6.53	6.667	<0.001

## 2.3 PLT、伴发淋巴瘤b症状风险和CRP对弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润效能分析

ROC曲线分析显示,PLT对应的AUC值为0.822,并且对应最佳界值为277.79,PLT判断弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润敏感度和特异度分别为100%和53.1%;伴发淋巴瘤b症状风险对应的AUC值为0.832,并且对应最佳界值为66.07,伴发淋巴瘤b症状风险判断弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润敏感度和特异度分别为95.5%和68.7%;CRP对应的AUC值为0.893,并且

对应最佳界值为36.08,CRP判断弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润敏感度和特异度分别为77.3%和93.7%。见表3、图1。

表3 PLT、伴发淋巴瘤b症状风险和CRP对弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润效能分析

Table 3 Analysis of PLT, risk of accompanying lymphoma b symptoms and CRP in patients with diffuse large B lymphoma

指标	AUC	约登指数	敏感度	特异度	Cut-off	95% CI	P值
PLT	0.822	0.531	1.000	0.531	277.79	0.713~0.932	<0.001
淋巴瘤b症状	0.832	0.642	0.955	0.687	66.07	0.724~0.941	<0.001
CRP	0.893	0.71	0.773	0.937	36.08	0.807~0.980	<0.001

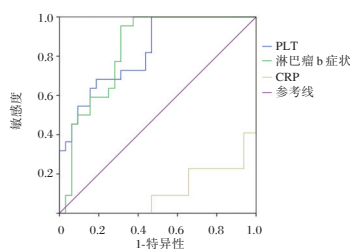


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

弥漫大B淋巴瘤作为成非霍奇金相关淋巴瘤的一种,临床上以化疗为主要治疗方式,部分患者治疗后可痊愈,但大部分患者治疗后仍无法完全缓解,导致弥漫大B淋巴瘤患者最终发生死亡。既往研究发现,淋巴瘤患者随着IPI指数增加,其5年内生存率会发生显著的下降。因此我们需要寻求某些新型观察指标来帮助筛选预后欠佳患者,让其接受进一步治疗<sup>[9]</sup>。

CRP是由肝脏合成的一种结构为环状五聚体的机体急性炎症反应蛋白,被认为是机体炎症反应的非特异性标记物<sup>[8]</sup>。其一级结构包含5个相同的亚单位,亚单位间以非共价键相结合,每个亚单位在其表面都含有CRP配体结合位点。近年来大量研究表明,CRP在淋巴瘤及多种实体肿瘤中明显升高<sup>[10]</sup>。研究表明,炎症反应在肿瘤的发生过程中起到重要的作用。在机体免疫系统肿瘤细胞的相互作用中产生大量炎症因子,这些炎症因子参与了肿瘤细胞的生长、转移等过程。白介素1(IL-1),白介素6(IL-6),肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )等炎症因子在多种肿瘤患者中高表达,这些炎症因子一方面可促进肿瘤生长、增殖、转移,另一



方面这些炎症因子可刺激肝细胞合成CRP。这可能是肿瘤患者CRP增高的机制<sup>[11-13]</sup>。有研究认为淋巴瘤患者中CRP水平明显升高,但淋巴瘤是一组异质性较强的疾病,不同亚型的淋巴瘤的生物学特点常常不同<sup>[14-15]</sup>。本研究中54例弥漫大B淋巴瘤患者CRP水平明显高于健康人群,且CRP水平随着疾病分期不断提高。因此我们推测其他类型的淋巴瘤可能也存在这一特点。这证实其对于淋巴瘤疾病、病情的分级有意义,提示血清CRP可作为淋巴瘤疾病病情严重程度的参考指标。Haase等<sup>[16]</sup>的研究表明在霍奇金淋巴瘤患者中,有B组症状的患者CRP水平明显高于无B组症状的患者,有节外侵犯的患者CRP水平明显高于无节外侵犯的患者。而我们的研究进一步表明淋巴瘤患者CRP与分期及危险度分级之间存在正相关性。

本研究发现,浸润组患者血清CRP水平明显高于未浸润组患者,这表明弥漫大B淋巴瘤患者行血清CRP水平与骨髓形态联合检测,可用于评估骨髓浸润是否进行,有利于合理选择临床治疗方案。另外,浸润组患者的PLT和伴发淋巴瘤b症状风险低于未浸润组患者,提示PLT及淋巴瘤b症状等均可在一定程度上反应淋巴瘤患者的骨髓浸润情况。而ROC曲线结果表明,PLT、淋巴瘤b症状、CRP判断弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润的约登指数分别为0.531、0.642、0.71;PLT、淋巴瘤b症状、CRP敏感度分别为100%、95.5%、77.3%;特异度分别为:53.1%、68.7%、93.7%;cut-off值分别为277.79、66.07、36.08。提示PLT、淋巴瘤b症状、CRP判断弥漫大B淋巴瘤患者是否存在骨髓浸润可提供一定的理论依据。但本研究受样本量、时间等因素影响,关于淋巴瘤患者行血清CRP与骨髓形态联合检测的深入价值,有待后续临床研究证实。

综上所述,CRP可能成为反映弥漫大B淋巴瘤患病及疾病变化的指标,并且有可能用于判断不同弥漫大B淋巴瘤患者的预后。

## 参考文献

- [1] 张隽瑜,李琳洁,俞康. 外周血淋巴细胞和单核细胞数量比值对弥漫性大B细胞淋巴瘤患者预后的预测价值分析[J]. 浙江医学, 2019, 41(5): 441-444.
- [2] 严娟娟,肖欢,孙雯,等. 无骨髓浸润淋巴瘤患者PET/CT显像中骨髓18F-FDG均匀性摄取增高的影响因素[J]. 山东医药, 2020, 60(25): 76-78.
- [3] 于菁,张俊,苏晓甜,等. 治疗前弥漫大B细胞淋巴瘤患者血清LRG1的表达及临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(6): 1850-1855.
- [4] 张胜楠,李梦娟,袁芳芳,等. 动态监测外周血淋巴细胞与单核细胞比值对弥漫大B细胞淋巴瘤患者的疗效判断和预后指导意义[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(40): 3139-3144.
- [5] 朱娜,葛晓雯,姚家美,等. C反应蛋白在弥漫性大B细胞淋巴瘤中的表达及其预后价值[J]. 中华病理学杂志, 2020, 49(10): 1052-1054.
- [6] 中华医学会血液学分会,中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会, Chinese Society of Hematology, 等. 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.
- [7] 袁媛,李金娇,肖萃,等. Ann Arbor分期划分淋巴瘤淋巴结区域的意义探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(10): 107-111.
- [8] 李斌,赵冬,黄蓉,等. 骨髓血管内皮生长因子水平在弥漫性大B细胞淋巴瘤疗效监测中的价值[J]. 检验医学, 2021, 36(5): 480-485.
- [9] 李旭,陈聪霞,姚雅明,等. 骨髓18F-FDG摄取模式在初诊弥漫大B细胞淋巴瘤诊断骨髓浸润的价值[J]. 医学研究杂志, 2021, 50(10): 101-105+110.
- [10] 王静,李馨筱,吴琳娜,等. 弥漫性大B细胞淋巴瘤组织NF- $\kappa$ B/p65、Bcl-2和Bax表达及意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(1): 33-38.
- [11] Fastova EA, Magomedova AU, Petinati NA, et al. Bone Marrow Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma [J]. Bull Exp Biol Med, 2019, 167(1): 150-153.
- [12] 王玉虹,江秀娟,崔杰,等. 血栓分子标志物在弥漫大B细胞淋巴瘤中的检测及临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(10): 947-951.
- [13] Suresh PK, Basavaiah SH, Goel M, et al. Diffuse large B-cell lymphoma in blood and bone marrow: a rare presentation of leukemic phase at diagnosis-ScienceDirect [J]. Hematol Transfus Cell Ther, 2020, 42(2): 180-183.
- [14] 张静,颜丽华,许伟,等. Ki-67, B细胞淋巴瘤/白血病-6在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达及与患者临床特征和预后的关系[J]. 癌症进展, 2020, 18(17): 1746-1749+1753.
- [15] 薛妞艳,孙凤玲,刘文博. 弥漫大B细胞淋巴瘤骨髓侵犯的异质性与病理特征[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2019, 26(12): 1448-1451.
- [16] Haase R, Vilser C, Hansenclever D, et al. Evaluation of the prognostic meaning of C-reactive protein (CRP) in children and adolescents with classical Hodgkin's lymphoma [J]. Klin Padiatr, 2012, 224(6): 377-381.

# 妊娠期糖尿病患者血清 miR-27、miR-34c 与胰岛素抵抗的相关性

桑艳红\* 郭珏函 焦培林

**[摘要]** 目的 探究妊娠期糖尿病(GDM)患者血清微小RNA-27(miR-27)、微小RNA-34c(miR-34c)表达水平与胰岛素抵抗(IR)的相关性。方法 选取2016年7月至2019年12月郑州大学第五附属医院收治的158例GDM孕妇为GDM组,并选取同期162例健康孕妇为对照组。比较两组孕妇一般资料及血清miR-27、miR-34c、空腹血糖(FBS)、空腹胰岛素(FINS)水平、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR);分析GDM孕妇血清miR-27、miR-34c与HOMA-IR的关系及GDM发生的影响因素。结果 GDM组孕妇体重指数、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(HDL)、高密度脂蛋白(HDL)、血清miR-27、FBS、FINS和HOMA-IR水平均高于对照组,miR-34c水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。GDM患者血清miR-27表达水平与HOMA-IR水平呈正相关( $P<0.05$ ),血清miR-34c表达水平与HOMA-IR水平呈负相关( $P<0.05$ )。体重指数、TG、miR-27、HOMA-IR是影响GDM发生的危险因素( $P<0.05$ ),miR-34c是影响GDM发生的保护因素( $P<0.05$ )。结论 GDM孕妇血清miR-27表达上调,miR-34c表达下调,miR-27、miR-34c与IR有关,两者可能与IR相互影响,进而影响GDM发生发展。

**[关键词]** 妊娠期糖尿病;微小RNA-27;微小RNA-34c;胰岛素抵抗

## Correlations between serum miR-27, miR-34c and insulin resistance in gestational diabetes mellitus

SANG Yanhong\*, GUO Juehan, JIAO Peilin

(Department of Endocrinology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450052)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the correlation between the expressions of microRNA-27 (miR-27), microRNA-34c (miR-34c) and insulin resistance (IR) in gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** 158 GDM pregnant women admitted to the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University from July 2016 to December 2019 were selected as the GDM group, and 162 healthy pregnant women were selected as the normal group. The general data, serum miR-27, miR-34c, fasting blood glucose (FBS), fasting insulin (FINS) and insulin resistance index (HOMA-IR) of the two groups were compared. The relationships between serum miR-27, miR-34c and HOMA-IR, and the influencing factors of GDM were analyzed. **Results** The levels of body mass index, triglyceride (TG), low density lipoprotein (HDL), high density lipoprotein (HDL), serum miR-27 level, FBS, FINS and HOMA-IR in the GDM group were significantly higher than those in the normal group ( $P<0.05$ ), and miR-34c was significantly lower than that in the normal group ( $P<0.05$ ). The expression level of serum miR-27 in GDM patients was positively correlated with the level of HOMA-IR ( $P<0.05$ ), and the expression level of serum miR-34c was negatively correlated with the level of HOMA-IR ( $P<0.05$ ). Body mass index, TG, miR-27 and HOMA-IR were risk factors affecting the occurrence of GDM ( $P<0.05$ ), and miR-34c was a protective factor affecting the occurrence of GDM ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression of miR-27 is up-regulated in GDM pregnant women, and the expression of miR-34c is down-regulated. miR-27 and miR-34c are related to IR, they may interact with IR, and then affecting the occurrence and development of GDM.

**[KEY WORDS]** Gestational diabetes mellitus; MicroRNA-27; MicroRNA-34c; Insulin resistance

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2016020823)

作者单位:郑州大学第五附属医院内分泌科,河南,郑州 450052

\*通信作者:桑艳红, E-mail: sangyh1993@163.com

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是孕产妇在妊娠期初次发生糖代谢异常的一种糖尿病, 以多饮、多食、多尿为主要临床表现, 其发病率较高, 可直接威胁母婴健康<sup>[1]</sup>。目前, GDM 的发病机制尚未完全阐明, 有关学者认为其与炎症反应、基因调控及胰岛素抵抗 (Insulin resistance, IR) 密切相关<sup>[2]</sup>。研究显示, 微小 RNA (microRNA, miRNA) 与基因转录及表达有关, 具有诊治糖尿病类疾病的潜在价值<sup>[3]</sup>。有关研究显示, miR-27a 是微小 RNA-27 (miRNA-27, miR-27) 家族成员之一, 在 IR 细胞中表达上调, 有望成为治疗糖尿病 IR 的生物学靶标<sup>[4]</sup>。微小 RNA-34c (miRNA-34c, miR-34c) 在 2 型糖尿病患者中表达下调, 其可能通过影响慢性应激反应, 进而影响 2 型糖尿病及 IR 的发生发展<sup>[5]</sup>。IR 是 GDM 发病的重要因素, 临床多以稳态胰岛素评价指数 (homeostatic model assessment insulin resistance, HOMA-IR) 评估 IR 水平。孕妇胰岛素抵抗性及敏感性有所变化, 检测 HOMA-IR 有助于评估 IR 及 GDM<sup>[6]</sup>。本研究通过观察 GDM 患者血清外泌体 miR-27、miR-34c 水平, 分析其与 IR 的相关性, 以期为早期监测 GDM 提供参考依据。

## 1 一般资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 7 月至 2019 年 12 月郑州大学第五附属医院接收的 158 例 GDM 孕妇为 GDM 组, 纳入标准: ①患者均符合《妊娠合并糖尿病诊治指南》有关 GDM 相关诊断标准<sup>[7]</sup>; ②患者均为单胎妊娠。排除标准: ①合并全身感染性疾病、结缔组织疾病、甲状腺疾病、者; ②合并心、肝、肾功能严重异常者; ③合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、胎盘早剥及前置胎盘等危险妊娠情况者; ④孕期使用影响糖代谢药物者。选取同时间段内本院 162 例健康孕妇作为对照组。两组孕妇知情同意研究, 并签署知情同意书, 本研究经医院伦理委员会审核批准后实施。

### 1.2 主要试剂与仪器

TRIzol Reagent (货号: J44580) 购买于上海金

穗生物科技有限公司; microRNA 提取试剂盒 (货号: 845-KS-2030050) 购买于北京金达阳光科技有限公司; miRNA QPCR Master Mix (货号: 600583) 购买于上海崑崙达实业有限公司。微量紫外可见分光光度计 (型号: HY-Drop100) 购买于辉因科技 (北京) 有限公司, 实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR) 仪 (型号: QuantStudio™ 12K Flex) 购买于美国应用生物系统公司 (上海), 全自动生化分析仪 (型号: BS-220) 购买于上海恒舜天实业有限公司。

### 1.3 方法

收集两组孕妇年龄、身高、体重、孕周、产次等信息, 计算体重指数等资料。

#### 1.3.1 样本采集

收集两组孕妇空腹静脉血 6~7 mL, 置于无菌真空管中, 均分成两份。一份置于 5 mL EP 管中, 室温静置 30~35 min, 4 450 r/min 离心 6 min, 离心半径 10 cm, 分离得上层血清, 密封保存于 -80℃ 冰箱中, 用于 miR-27、miR-34c 水平检测; 另一份用于检测低密度脂蛋白 (Low density lipoprotein, LDL)、空腹血糖 (fasting blood glucose, FBS)、三酰甘油 (Triacylglycerol, TG)、及空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS)、高密度脂蛋白 (High density lipoprotein, HDL) 水平。

#### 1.3.2 qRT-PCR 法检测血清中 miR-27、miR-34c 表达水平

从 -80℃ 冰箱中取出适量血清样本, 冰上冻融, 无菌条件下, 采用 TRIzol 法抽提血清样本总 RNA, 利用紫外分光光度计检测样本总 RNA 浓度、纯度。按照 microRNA 提取试剂盒操作说明书反转录合成 cDNA。根据 miRNA QPCR Master Mix 说明书将 cDNA 进行扩增、PCR 检测。miR-27、miR-34c 均以 U6 为内参, 其对应引物序列如表 1 所示。以  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 miR-27、miR-34c 相对量。

#### 1.3.3 血糖、血脂检测

利用全自动生化分析仪检测所有孕妇 FBS、LDL、TG、HDL 水平, 并采用化学发光法检测两

表 1 miR-27、miR-34c 及内参基因 U6 的引物序列

Table 1 Primer sequences of miR-27, miR-34c and internal reference gene U6

基因	正向引物 5'-3'	反向引物 5'-3'
miR-27	TTCACAGTGGCTAAG	GTGCAGGGTCCGAGGT
miR-34c	GGTGAATCACTAACCACACG	GTGCAGGGTCCGAGGT
U6	CTCGCTTCGGCAGCAC	AACGCTTACGAATTTGCGT

组孕妇 FINS 水平。利用稳态胰岛素评价指数 (homeostatic model assessment insulin resistance, HOMA-IR) 评估 IR 程度, 评估方法:  $HOMA-IR = FBS \times FINS / 22.5^{[8]}$ 。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 行独立样本 *t* 检验; 采用 Pearson 法分析 GDM 孕妇血清 miR-27、miR-34c 表达水平与 HOMA-IR 的相关性; 采用 Logistic

回归分析 GDM 发生的影响因素。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组一般资料及血脂水平比较

GDM 组孕妇体重指数、血清 TG、LDL 及 HDL 水平较对照组高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 两组年龄、产次、孕周比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组一般资料及血脂水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of general data and blood lipid levels between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	孕周(周)	TG (mmol/L)	体重指数 (kg/m <sup>2</sup> )	LDL (mmol/L)	产次(次)	HDL (mmol/L)
对照组	162	29.96±5.72	26.57±1.60	1.78±0.77	21.42±2.23	2.51±1.06	1.81±0.73	1.54±0.62
GDM 组	158	29.85±5.57	26.43±1.52	3.76±1.46	24.55±2.37	3.23±1.82	1.76±0.68	1.99±0.78
<i>t</i> 值		0.174	0.802	15.472	12.170	4.337	0.634	5.720
<i>P</i> 值		0.862	0.423	<0.001	<0.001	<0.001	0.527	<0.001

### 2.2 两组孕妇血清 miR-27、miR-34c 表达水平比较

GDM 组孕妇血清 miR-27 表达水平明显比对照组高, miR-34c 表达水平明显比对照组低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 两组孕妇血清 miR-27、miR-34c 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of serum miR-27 and miR-34c expression levels between the two groups of pregnant women ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	miR-27	miR-34c
对照组	162	1.02±0.33	1.04±0.34
GDM 组	158	1.67±0.58	0.62±0.27
<i>t</i> 值		12.360	12.218
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

### 2.3 两组孕妇胰岛素抵抗相关指标比较

GDM 组孕妇 FBS、FINS 和 HOMA-IR 水平均明显比对照组高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 两组孕妇 FBS、FINS 及 HOMA-IR 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of FBS, FINS and HOMA-IR levels between the two groups of pregnant women ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	FBS (mmol/L)	FINS (mIU/L)	HOMA-IR
对照组	162	4.96±1.35	6.83±2.32	1.52±0.62
GDM 组	158	5.64±1.78	11.26±4.07	2.80±1.02
<i>t</i> 值		3.856	11.999	13.603
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.4 GDM 孕妇血清 miR-27、miR-34c 表达水平与 HOMA-IR 的相关性分析

Pearson 法相关性分析显示, GDM 患者血清 miR-27 表达水平与 HOMA-IR 水平呈正相关 ( $r =$

0.455,  $P < 0.05$ ), 血清 miR-34c 表达水平与 HOMA-IR 水平呈负相关 ( $r = -0.425$ ,  $P < 0.05$ )。

### 2.5 影响 GDM 的 Logistic 回归分析

以 GDM 是否发生为因变量 (是=1, 否=2), 以体重指数、TG、LDL、HDL、miR-27、miR-34c、FBS、FINS 及 HOMA-IR 水平为自变量, 行 Logistic 回归分析, 结果显示, 体重指数、TG、miR-27、HOMA-IR 是影响 GDM 发生的危险因素 ( $P < 0.05$ ), miR-34c 是影响 GDM 发生的保护因素 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 Logistic 回归分析 GDM 发生的影响因素

Table 5 Logistic regression analysis of factors affecting the occurrence of GDM

指标	$\beta$ 值	SE 值	wald 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
体重指数	0.600	0.227	6.998	1.823	1.168~2.845	0.008
TG	0.502	0.211	5.660	1.652	1.092~2.498	0.017
LDL	0.006	0.103	0.003	1.006	0.822~1.231	0.954
HDL	0.111	0.110	1.012	1.117	0.900~1.386	0.314
miR-27	0.579	0.218	7.051	1.784	1.164~2.735	0.008
miR-34c	-0.270	0.101	7.173	0.763	0.626~0.930	0.007
FBS	0.047	0.115	0.166	1.048	0.837~1.313	0.684
FINS	0.097	0.107	0.824	1.102	0.894~1.359	0.364
HOMA-IR	0.681	0.233	8.544	1.976	1.252~3.120	0.003

## 3 讨论

GDM 发病率较高, 可导致产妇发生流产、羊水过多、感染, 增加巨大儿、极低体重儿、胎儿畸形、新生儿呼吸窘迫综合症、新生儿低血糖等发生率, 对产妇及围产儿生命健康构成极大威胁<sup>[9]</sup>。本研究显示, GDM 孕妇体重指数、血清 TG、LDL 及 HDL 水平较高, 与陈年芳等<sup>[10]</sup>研究一致, 提示 GDM

可能与体重指数、血脂异常有关,临床应及时监控女性体重指数、血脂水平,预防GDM发生。

miRNA可调控炎症反应、慢性应激、信号传导等生物学过程,其可能是糖尿病、糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变、GDM等的诊治靶标<sup>[11]</sup>。既往研究显示,miR-27是miRNA成员之一,其在高脂饮食诱导的肥胖小鼠中表达异常,经类黄酮衍生物治疗后,miR-27表达发生改变,其可能参与肥胖、糖尿病发生发展<sup>[12]</sup>。本研究中GDM组孕妇血清miR-27表达水平明显高于对照组,提示miR-27可能在GDM病理发展中发挥重要作用。推测可能原因,miR-27作为miRNA成员之一,其可能通过影响慢性应激及胰岛素信号传导过程,从而影响GDM发生发展。体外研究显示,高葡萄糖处理足细胞后,miR-34c表达下调;miR-34c可通过靶向调节有关蛋白表达,进而影响糖尿病性肾病的发展过程,有望成为治疗糖尿病性肾病的靶标<sup>[13]</sup>。另有研究显示,miR-34c在1型糖尿病中表达失调,其可能通过调控自噬过程,从而参与糖尿病角膜病变<sup>[14]</sup>。以上研究表明,异常表达的miR-34c可能与糖尿病类疾病相关。此外,Bai等<sup>[15]</sup>研究发现miR-34c通过调节靶标表达,从而影响胰岛素合成及分泌,miR-34c具有治疗糖尿病的潜在价值。本研究通过比较GDM组及对照组孕妇血清miR-34c水平,结果显示,GDM组孕妇血清miR-34c水平明显低于对照组,提示miR-34c可能参与并影响GDM疾病进程。

IR是由多种因素引起胰岛素对葡萄糖摄取及利用率降低的一种状态,其可引发2型糖尿病、代谢综合征、GDM<sup>[16]</sup>。研究显示,GDM患者FBS、FINS及HOMA-IR水平均呈高水平,GDM孕妇对胰岛素敏感性及抵抗性降低,HOMA-IR是GDM发病的危险因素<sup>[17]</sup>。Tanaka等<sup>[18]</sup>发现GDM孕妇HOMA-IR水平明显上调,孕妇IR可能是影响肥胖和胎盘大小、功能的重要因素。以上研究表明,HOMA-IR水平异常可能与GDM发病有关。本研究显示,GDM患者FBS、FINS和HOMA-IR水平均明显高于对照组,与谭晶等<sup>[17]</sup>研究结果相符,提示GDM发展过程可能与IR异常关系紧密。

本研究中GDM患者血清miR-27表达水平与HOMA-IR呈正相关,miR-34c表达水平与HOMA-IR呈负相关,提示miR-27、miR-34c与IR相互影响,从而共同影响GDM疾病发生发展。进一步研究显示,体重指数、TG、miR-27、HOMA-IR是影响GDM发生

的危险因素,miR-34c是影响GDM发生的保护因素。

综上所述,GDM患者血清miR-27表达升高,miR-34c表达降低,miR-27、miR-34c水平与IR显著相关,两者可能与IR相互作用,从而在GDM发展中起作用。

## 参考文献

- [1] Świrska J, Zwolak A, Dudzińska M, et al. Gestational diabetes mellitus - literature review on selected cytokines and hormones of confirmed or possible role in its pathogenesis [J]. *Ginekol Pol*, 2018, 89(9):522-527.
- [2] Johns EC, Denison FC, Norman JE, et al. Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(11):743-754.
- [3] Regazzi R. MicroRNAs as therapeutic targets for the treatment of diabetes mellitus and its complications [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(2):153-160.
- [4] Chen T, Zhang Y, Liu Y, et al. MiR-27a promotes insulin resistance and mediates glucose metabolism by targeting PPAR- $\gamma$ -mediated PI3K/AKT signaling [J]. *Aging*, 2019, 11(18):7510-7524.
- [5] Wang SS, Li YQ, Liang YZ, et al. Expression of miR-18a and miR-34c in circulating monocytes associated with vulnerability to type 2 diabetes mellitus and insulin resistance [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(12):3372-3380.
- [6] Wang X, Yang T, Miao J, et al. Correlation Between Maternal and Fetal Insulin Resistance in Pregnant Women with Gestational Diabetes Mellitus [J]. *Clin Lab*, 2018, 64(6):945-953.
- [7] 杨慧霞. 妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)(一) [J]. *健康管理*, 2014, 8(12):489-498.
- [8] 张洪梅, 解京泉, 张立敏, 等. 妊娠期糖尿病患者血清 apelin、visfatin 水平的变化及意义 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2014, 22(4):67-67.
- [9] Chiefari E, Arcidiacono B, Foti D, et al. Gestational diabetes mellitus: an updated overview [J]. *J Endocrinol Invest*, 2017, 40(9):1-11.
- [10] 陈年芳, 叶秀珍, 刘丽群. 妊娠期糖尿病高危因素的多元 Logistic 回归分析 [J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(13):2598-2600.
- [11] Tiwari J, Gupta G, de Jesus APT, et al. Role of microRNAs (miRNAs) in the pathophysiology of diabetes mellitus [J]. *Panminerva Med*, 2018, 60(1):25-28.
- [12] Xiang JF, Yu JC, Zhu JY, et al. Up-regulation of miR-27 attenuates lipopolysaccharide-induced injury in H9c2 cells via modulating ICAM1 expression [J]. *Genes Genomics*, 2019, 41(12):1467-1474.
- [13] Liu XD, Zhang LY, Zhu TC, et al. Overexpression of miR-34c inhibits high glucose-induced apoptosis in podocytes by targeting Notch signaling pathways [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5):4525-4534.

## 精囊镜治疗对难治性血精症患者精液 WBC、RBC 及 INH B 的影响

张晓蕾 刘逸飞\* 高彬

**[摘要]** 目的 分析经尿道精囊镜治疗对难治性血精症患者精液白细胞(White blood cell, WBC)、红细胞(Red blood cell, RBC)及血清 INH B(Inhibin B, INH B)的影响。方法 分析2020年1月至2020年10月唐山市中心医院收治的128例难治性血精症患者的临床资料,根据治疗方式的不同将患者分为研究组( $n=68$ ,经尿道精囊镜治疗)、对照组( $n=60$ ,保守治疗)。比较两组临床疗效,精液 WBC、RBC、PRO 计数,勃起、射精功能以及并发症。结果 研究总有效率为(89.71%)高于对照组总有效率(75.00%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后两组 WBC、RBC 计数水平下降,INH B 水平上升,其中研究组变化最为显著,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后两组 IIEF-5、CIPE 评分上升,其中研究组变化最为显著,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组并发症发生率(4.41%)低于对照组(6.67%),但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 经尿道精囊镜治疗难治性血精症临床疗效显著,可调节患者 WBC、RBC、INH B 水平,改善勃起、射精功能,安全性较高,值得临床应用推广。

**[关键词]** 经尿道精囊镜治疗;难治性血精症;WBC;RBC;PRO

### Effects of seminal vesicles endoscopy in treatment on semen WBC, RBC, and serum INH B in patients with refractory hemospermia

ZHANG Xiaolei, LIU Yifei\*, GAO Bin

(Department of Urology, Tangshan Central Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the effects of transurethral seminal vesicles endoscopy in the treatment on semen white blood cell (WBC), red blood cell (RBC) and inhibin B (INH B) in patients with refractory hemospermia. **Methods** The clinical data of 128 patients with refractory hemospermia treated in Tangshan Central Hospital from January 2020 to October 2020 were analyzed, and according to different treatment methods the patients were divided into the study groups ( $n=68$ , transurethral seminal vesicles endoscopy treatment), the control group ( $n=60$ , conservative treatment). The clinical effects, the semen WBC, RBC, PRO counts, erectile function, ejaculation function and complications of the two groups were compared. **Results** The total effective rate in the study group (89.71%) was higher than that in the control group (75.00%), and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, the count levels of WBC and RBC in the two groups decreased, and the INH B level increased, among which the change in the study group was the most significant, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, the IIEF-5 and CIPE scores in the two groups increased, and the changes in the study group were more significant, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The incidence of complications in the study group (4.41%) was lower than that in the control group, but the difference was not statistically significant (6.67%), but the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The treatment of refractory hemospermia by urethral seminal vesicles has a significant clinical effect, and can adjust the levels of WBC, RBC, and INH B, and improve erectile and ejaculation functions. It has high safety and is worthy of clinical application and promotion.

**[KEY WORDS]** Transurethral seminal vesiculoscopy treatment; Refractory hemospermia; WBC; RBC; PRO

作者单位:唐山市中心医院泌尿外科,河北,唐山 0630001

\*通信作者:刘逸飞, E-mail:liuyifei1973@sohu.com

血精症是临床较为常见的生殖系统疾病,其是由于患者排精时发现精液呈暗红色或类似酱油色而命名的,好发于30~40岁青壮年群体<sup>[1]</sup>。血精症临床多表现为排精后疼痛、早泄、会阴部疼痛、血尿等症状,部分患者会出现排尿困难、尿频、尿急、排精困难等症状。在疾病早期多以药物保守治疗为主,大部分患者临床症状可得到有效改善,但仍有部分患者在治疗后病情反复,甚至出现性功能障碍,对患者身心健康造成严重的影响<sup>[2]</sup>。当患者在药物治疗后血精仍反复发作且病程已超过3个月时,临床将其定义为难治性血精症<sup>[3]</sup>。近年来,手术已成为治疗难治性血精症的重要方法。但由于尿道生理结构复杂,手术难度较大,且开放手术创伤大,术后患者易出现勃起功能障碍等并发症。对此有研究提出采用微创手术经尿道精囊镜治疗血精症的想法,其进镜轻柔,能减少对患者的损伤,具有操作方便、观察直接等优点,可作为临床治疗难治性血精症的新方法<sup>[4]</sup>。本研究对经尿道精囊镜治疗对难治性血精症患者精液白细胞(White blood cell, WBC)、红细胞(Red blood cell, RBC)及血清INH B (Inhibin B, INH B)的影响进行研究,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

分析2020年1月至2020年10月唐山市中心医院收治的128例难治性血精症患者的临床资料。纳入标准:①经CT、MRI等检查,所有患者均确诊为由精囊腺疾病引起的难治性血精症<sup>[5]</sup>;②药物治疗后病情反复发作,病程超过3个月;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同意参加本次研究,并签署相关协议。排除标准:①合并其他前列腺疾病者;②因精神障碍或沟通不畅无法配合者;③中途退出研究者;④合并其他器官衰竭等严重或血液系统疾病者。根据治疗方式的不同将患者分为研究组( $n=68$ ,经尿道精囊镜治疗)、对照组( $n=60$ ,保守治疗),两组患者基本资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

### 1.2 检测方法

对照组保守治疗,取患者前列腺液检测病原体作药敏试验,采用敏感抗生素治疗,并根据患者自身情况选取服用 $\alpha$ 受体阻滞剂、非甾体抗炎药、M受体阻滞剂等药物,辅以物理治疗。同时避免久坐,适量运动、合理饮食。

表1 两组一般资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	平均年龄 (岁)	平均病程 (月)	BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	已婚/ 未婚
研究组	68	35.58 $\pm$ 4.73	6.56 $\pm$ 1.26	21.45 $\pm$ 3.21	52/16
对照组	60	36.13 $\pm$ 4.35	6.63 $\pm$ 1.25	21.15 $\pm$ 3.32	42/18
$t/\chi^2$ 值		0.682	0.315	0.519	0.684
$P$ 值		0.497	0.753	0.605	0.408

研究组进行经尿道精囊镜手术治疗。患者进行麻醉后取截石位,经尿道放置输尿管硬镜,将其推至尿道和膀胱,当进入精阜腔时观察精囊内有无活动性出血、结石等情况,明确病因后进行治疗。对单纯精囊腺炎症者进行扩开精道处理后使用抗生素清洗精囊;对精囊梗阻者进行扩开精道处理后使用抗生素清洗精囊并疏通阻塞部位;对精囊结石患者进行扩开精道处理后使用结石钳夹碎结石,再使用抗生素清洗精囊,术后留置导尿管一周。术后叮嘱患者适量饮水,适当运动,避免久坐,合理饮食。

### 1.3 观察指标

#### 1.3.1 两组临床疗效比较

疗效标准<sup>[6]</sup>:痊愈:患者临床症状完全消失,精液检查正常,随访三个月无复发;好转:患者临床症状减轻,精囊有压痛感,精液复查可见少量红细胞;无效:患者临床症状无改善甚至加重,肉眼可见精液带血。[(痊愈+好转)/总例数] $\times 100\%$ =总有效率。

#### 1.3.2 两组精液WBC、RBC、INH B水平比较

在患者治疗前后使用显微镜观察患者精液中WBC、RBC数目。收集所有参与研究者治疗前后早晨空腹静脉血4 mL静置30 min后,使用离心机3 000 r/min,离心半径10 cm,分离血清,10 min后取出低温保存。通过酶联免疫吸附法检测INH B水平。

#### 1.3.3 两组勃起、射精功能比较

使用勃起功能问卷表-5(International index of erectile function, IIEF-5)<sup>[7]</sup>对患者勃起功能进行评分,分数越高,说明患者勃起功能越好;使用射精功能评分(Chinese index of sexual function for premature ejaculation, CIPE)<sup>[8]</sup>对患者射精功能进行评分,分数越高,说明患者射精功能越好。

#### 1.3.4 两组并发症比较

并发症包括泌尿系统感染、血尿、直肠损伤、附睾炎等。

## 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,行  $t$  检验;计数资料采用  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  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

研究组总有效率为(89.71%)高于对照组总有效率(75.00%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 两组临床疗效比较 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Comparison of the clinical efficacy of the two groups [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	痊愈	好转	无效	总有效率
研究组	68	35(51.47)	26(38.24)	7(10.29)	61(89.71)
对照组	60	19(31.67)	26(43.33)	15(25.00)	45(75.00)
$\chi^2$ 值					4.843
$P$ 值					0.028

### 2.2 两组精液 WBC、RBC、INH B 水平比较

治疗前两组 WBC、RBC、INH B 比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),治疗后两组 WBC、RBC 计数水平下降,INH B 水平上升,其中研究组变化最为显著,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.3 两组勃起、射精功能比较

治疗前两组 IIEF-5、CIPE 评分比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),治疗后两组 IIEF-5、CIPE 评分上升,其中研究组变化最为显著,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表4。

表4 两组勃起、射精功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of erectile and ejaculation function between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	IIEF-5(分)		CIPE(分)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	68	11.25±1.24	18.15±1.56 <sup>a</sup>	17.78±1.69	32.30±4.35 <sup>a</sup>
对照组	60	11.34±1.17	14.20±1.23 <sup>a</sup>	17.72±1.65	25.53±3.41 <sup>a</sup>
$t$ 值		0.421	15.759	0.203	9.692
$P$ 值		0.675	0.000	0.840	0.000

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

表3 两组精液 WBC、RBC、INH B 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of semen WBC, RBC, INH B levels between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	WBC(个/HP)		RBC(个/HP)		INH B(ng/L)		
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	
研究组	68	2.87±0.06	1.68±0.07 <sup>a</sup>	3.75±0.48	1.65±0.83 <sup>a</sup>	83.05±20.36	137.95±22.24 <sup>a</sup>	
对照组	60	2.89±0.07	2.03±0.11 <sup>a</sup>	3.82±0.41	2.51±0.54 <sup>a</sup>	82.96±20.84	125.63±21.13 <sup>a</sup>	
$t$ 值			1.741	21.727	0.881	6.847	0.025	3.201
$P$ 值			0.084	0.000	0.380	0.000	0.980	0.002

注:<sup>a</sup>与同组治疗前比较, $P < 0.05$ 。

### 2.4 两组并发症比较

研究组出现3例并发症,泌尿系统感染2例、直肠损伤1例,发生率为4.41%。对照组出现4例并发症,泌尿系统感染2例、血尿1例、附睾炎1例,发生率为6.67%,2组并发症发生率比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.314, P > 0.05$ )。

## 3 讨论

一般健康男性的精液呈乳白色粘稠状,或出现少许白灰色的凝块,可自行液化。而血精是指患者在排精时发现精液呈暗红色或类似酱油的颜色,部分患者出现血块,在显微镜下检查发现其中有红细胞存在<sup>[9]</sup>。血精症的发病机制较为复杂,有研究认为导致患者出现血精症主要是由于先天性疾病、感染性疾病、梗阻性疾病、精囊腺疾病等<sup>[10]</sup>。其中精囊腺疾病最为常见,是由于精囊腺壁结构较薄,精囊壁充血、肿胀后,造成微血管破裂、出血,从而形成血精。当患者出现血精时大多选择自行用药治疗,但常规药物治疗难以达到理想效果,从而致使患者病情出现反复,成为难治性血精症。近年来不断有研究提出对血精症患者进行手术治疗能改善患者症状,但尿道生理结构复杂,手术难度大,且术后患者易出现并发症,因此,临床认为应采取微创手术对患者进行治疗<sup>[11]</sup>。

贺炜等人<sup>[12]</sup>认为经前列腺小囊精囊镜治疗血精症是一种安全、有效的方法,而且操作简便,术后恢复快;但该方法费用较高,会出现无法进镜现象,且术后有患者出现复发,需二次进行手术。随着临床对于血精症的深入了解,再加上精囊镜技术、设备的不断完善,有研究认为经尿道精囊镜治疗难治性血精症可提高临床疗效,且安全性较高<sup>[13]</sup>。同时孙伟等人<sup>[14]</sup>认为经尿道精囊镜技术治疗血精症患者临床效果明显优于综合保守治疗,其可有效消除患者血精临床症状。本研究结果结果显示,研究组临床总有效率高高于对照组,与上述



研究结果相一致。经尿道通过射精管开口逆行置入硬性内镜,可以观察精囊内部情况,做出血精症的病因诊断,便于临床对症治疗,其次可对精囊进行扩张,利于术中对射精管梗阻、精囊内病变如结石、血块、炎性精囊液等进行处理,从而治愈血精。INH B 为生殖内分泌激素,于男性生育功能调节中具有重要作用,与精子生成具有密切相关性,其血清含量可反映睾丸组织功能<sup>[15]</sup>。治疗后研究组 WBC、RBC、INH B 水平变化较对照组更为显著,研究结果与既往文献相似<sup>[16]</sup>。这主要与术中对患者采用抗生素溶液灌洗精囊有关,抗生素能够有效减轻患者感染和炎症,从而减少患者 WBC、RBC 水平,改善 INH B 水平,加快患者恢复<sup>[17]</sup>。本研究还发现,研究组术后勃起、射精功能上升程度高于对照组,说明经尿道精囊镜治疗可提高疗效,改善患者症状,这与既往研究结果相似<sup>[18]</sup>。这可能是观察组患者临床症状消失较为彻底,患者身心状况得到有效改善,从而提升了患者的性功能相关指标。本研究还对患者并发症进行分析,证实经尿道精囊镜手术不会增加患者并发症,安全性较高,也进一步说明了经尿道精囊镜技术治疗反复发作血精症患者比传统综合保守治疗法更具优势。

综上所述,经尿道精囊镜治疗难治性血精症临床疗效显著,可调节患者 WBC、RBC、INH B 水平,改善勃起、射精功能,安全性较高,值得临床应用推广。

## 参考文献

- [1] 杨时来,张鑫,杜伟,等.精囊镜治疗血精症 36 例的临床效果[J].重庆医学,2019,48(13):2309-2310,2312.
- [2] Chen R, Wang L, Sheng X, et al. Transurethral seminal vesiculoscopy for recurrent hemospermia: Experience from 419 cases[J]. Asian J Androl, 2018, 20(5):3-10.
- [3] 廖建,任正举,杨博,等.精囊镜技术治疗慢性精囊炎及血精症的疗效和安全性的 Meta 分析[J].中国临床研究,2018,31(5):609-614.
- [4] Hu JC, Chen CS. Transurethral seminal vesiculoscopy acts as a therapeutic investigation for intractable hemospermia: Step-by-step illustrations and single-surgeon experience [J]. Int J Urol, 2018, 25(6):13-19.
- [5] 王劭亮,徐友明,王书龙,等.经尿道精囊镜治疗复发性血精症疗效分析[J].武警医学,2017,28(9):938-940.
- [6] Hu JC, Chen CS. V11-10 SURGICAL TECHNIQUES OF TRANSURETHRAL SEMINAL VESICULOSCOPY FOR INTRACTABLE HEMOSPERMIA [J]. Journal of Urology, 2018, 199(4):25-28.
- [7] 向旭宇,黄珂,唐正严,等.精囊镜治疗难治性血精症的疗效分析[J].中华泌尿外科杂志,2018,39(3):205-208.
- [8] Ren ZJ, Yang B, Lu DL, et al. Transurethral resection of ejaculatory duct combined with seminal vesiculoscopy for management of persistent or recurrent hemospermia in men with ejaculatory duct obstruction [J]. BMC Urol, 2020, 20(1):59-61.
- [9] 何天文,赵馨,赵辉,等.Y 染色体基因芯片在无精、少精症分子遗传学诊断中的应用研究[J].分子诊断与治疗杂志,2014,6(2):121-126.
- [10] Xue S, Wang M, Guang F, et al. Real-time transrectal ultrasound-guided seminal vesiculoscopy for the treatment of patients with persistent hematospermia: A single-center, prospective, observational study [J]. Asian J Androl, 2020, 22(5):14-19.
- [11] 杨应国,邹高德,徐和平,等.精囊镜微创技术在顽固性血精诊疗中的临床应用[J].临床泌尿外科杂志,2017,32(1):32-34,38.
- [12] 贺炜,刘泓键,奉友刚,等.经前列腺小囊精囊镜治疗血精症的体会[J].中国医师进修杂志,2017,40(6):549-551.
- [13] Wang Z, Liu B, Li J, et al. 331 Transurethral Seminal Vesiculoscopy in the Diagnosis and Treatment of Intractable Seminal Vesiculitis [J]. J Sex Med, 2017, 14(1):92-96.
- [14] 孙伟,张鑫,潘森.经尿道精囊镜技术在血精症患者诊治中的临床价值探析[J].中国性科学,2019,28(5):30-33.
- [15] Li Z Y, Xu Y, Liu C, et al. Anatomical Study of the Seminal Vesicle System for Transurethral Seminal Vesiculoscopy [J]. Clin Anat, 2019, 32(2):23-29.
- [16] Xue RZ, Tang ZY, Chen Z, et al. Clinical outcomes of transperitoneal laparoscopic unroofing and fenestration under seminal vesiculoscopy for seminal vesicle cysts [J]. Asian J Androl, 2018, 20(6):41-46.
- [17] 丁见,汤育新,唐正严,等.经自然腔道精囊镜诊治顽固性血精的经验探讨[J].中国男科学杂志,2018,32(1):37-41.
- [18] Junior LA, Segabinazzi L, Oliveira SN, et al. An approach to rescue the fertility of stallions with a high level of hemospermia [J]. Reprod Domes Anim, 2020, 55(9):11-13.

(上接第 747 页)

- [14] Hu J, Hu X, Kan T. MiR-34c Participates in Diabetic Corneal Neuropathy Via Regulation of Autophagy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(1):16-25.
- [15] Bai C, Gao Y, Zhang X, et al. MicroRNA-34c acts as a bidirectional switch in the maturation of insulin-producing cells derived from mesenchymal stem cells [J]. Oncotarget, 2017, 8(63):106844-106857.
- [16] Harreiter J, Simmons D, Desoye G, et al. IADPSG and WHO 2013 Gestational Diabetes Mellitus Criteria Identify Obese Women With Marked Insulin Resistance in Early Pregnancy [J]. Diabetes Care, 2016, 39(7):90-92.
- [17] 谭晶,蒋双玲.妊娠期糖尿病患者血清性激素水平变化及对糖代谢和胰岛功能的影响[J].贵州医药,2019,43(7):1127-1129.
- [18] Tanaka K, Yamada K, Matsushima M, et al. Increased maternal insulin resistance promotes placental growth and decreases placental efficiency in pregnancies with obesity and gestational diabetes mellitus [J]. J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(1):74-80.

## SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达与舌鳞状细胞癌病理特征和预后的关系

王钟华\* 杨永超 安峰

**[摘要]** **目的** 研究超氧化物歧化酶(SOD)、盘状结构域受体1(DDR1)、沉默缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )表达与舌鳞状细胞癌病理特征、预后的关系。**方法** 选取2017年1月至2018年5月河北北方学院附属第一医院收治的118例舌鳞状细胞癌患者为研究组,另选取门诊口腔良性疾病者88例为对照组。比较两组SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达情况;分析舌鳞状细胞癌SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达与病理特征的关系及影响患者预后的危险因素。**结果** 研究组SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阳性率高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阳性患者的组织分化程度、瘤体直径、淋巴结转移、TNM分期、浸润深度均高于阴性患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。随访结束,患者存活71例。死亡组SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阳性率较生存组高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。组织分化程度、淋巴结转移、TNM分期、浸润深度、SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 高表达为影响舌鳞状细胞癌患者预后的危险因素( $P<0.05$ )。**结论** SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 在舌鳞状细胞癌中呈现高表达,检测三者可有效预测患者预后。

**[关键词]** 舌鳞状细胞癌; SOD; DDR1; HIF-1 $\alpha$

### Relationship between the expression of SOD, DDR1, HIF - 1 $\alpha$ and pathological characteristics, prognosis of tongue squamous cell carcinoma

WANG Zhonghua\*, YANG Yongchao, AN Feng

(Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To study the relationship between the expression of Superoxide Dismutase (SOD), Disc domain receptor 1 (DDR1), Silence hypoxia inducible factor -1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and the pathological characteristics, prognosis of tongue squamous cell carcinoma. **Methods** 118 patients with tongue squamous cell carcinoma admitted to the First Affiliated Hospital of Hebei North University from January 2017 to May 2018 were selected as the study group, and another 88 patients with benign oral diseases in outpatient clinics were selected as the control group. The expressions of SOD, DDR1 and HIF-1 $\alpha$  were compared between the two groups. The relationship between the expressions of SOD, DDR1, and HIF-1 $\alpha$  in tongue squamous cell carcinoma and the pathological characteristics and the risk factors affecting the prognosis of the patients were analyzed. **Results** The positive rates of SOD, DDR1, HIF-1 $\alpha$  in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The degree of tissue differentiation, tumor diameter, lymph node metastasis, TNM stage, and depth of invasion of SOD, DDR1, HIF-1 $\alpha$  in positive patients were higher than those in negative patients, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After the end of follow-up, 71 patients survived. The positive rates of SOD, DDR1, HIF-1 $\alpha$  in the death group were higher than those in the survival group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The degree of tissue differentiation, lymph node metastasis, TNM staging, depth of invasion, and high expression

基金项目:张家口市市级科技计划自筹经费项目(2021054D)

作者单位:河北北方学院附属第一医院口腔科,河北,张家口 075000

\*通信作者:王钟华, E-mail: limggh@163.com

of SOD, DDR1, and HIF-1 $\alpha$  were related risk factors affecting the prognosis of patients with tongue squamous cell carcinoma ( $P<0.05$ ). **Conclusion** SOD, DDR1 and HIF-1 $\alpha$  are highly expressed in tongue squamous cell carcinoma, and the detection of three can effectively predict the prognosis of patients.

**[KEY WORDS]** Tongue squamous cell carcinoma; SOD; DDR1; HIF-1 $\alpha$

舌鳞状细胞癌是口腔常见的恶性肿瘤疾病,多见于40岁以上的男性<sup>[1]</sup>。该疾病的恶性程度较高,患者预后差,严重威胁患者的身体健康及生命安全。据国内外有关文献报道,超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、盘状结构域受体1(Disc domain receptor 1, DDR1)和沉默缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (Silence hypoxia inducible factor -1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )在鳞状细胞癌组织中呈现高表达,三者与患者疾病的发生发展具有紧密关系<sup>[2-3]</sup>。本文主要研究SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达与舌鳞状细胞癌病理特征、预后的关系,旨在为临床诊疗提供参考。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年1月至2018年5月河北北方学院附属第一医院收治的118例舌鳞状细胞癌患者为研究组。纳入标准:①满足舌鳞状细胞癌的诊断标准<sup>[4]</sup>;②病历资料完整;③术前未行抗肿瘤放化疗等治疗;④肿瘤原发灶蜡块保留完好。排除标准:①有血液或传染性疾病者;②合并其他恶性肿瘤疾病或心、肾等功能异常者;③免疫功能缺陷或精神障碍者;④妊娠期、哺乳期妇女。其中男70例,女48例;平均年龄(52.84 $\pm$ 6.48)岁;肿瘤TNM分期:I期6例,II期36例,III期42例,IV期34例。另选取本院门诊口腔88例良性疾病患者为对照组,其中男61例,女27例;平均年龄(51.47 $\pm$ 7.12)岁。两组资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经院伦理委员会批准同意,受试者或家属已签署知情同意书。

### 1.2 SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 检测方法

兔抗人SOD抗血清、兔抗人DDR1多克隆抗体、兔抗人HIF-1 $\alpha$ 多克隆抗体、S-P试剂盒、Trizol

试剂(试剂批号:15596-026)、DAB显色试剂均选自北京中杉金桥生物技术公司。根据S-P免疫组化染色法对SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 进行检测,整个实验操作过程严格按照说明进行。

### 1.3 判定标准

由病理科医师在光学显微镜下随机观察5个视野,要求每个视野至少计数100个完整的肿瘤细胞。SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阳性判定标准<sup>[5-6]</sup>:实验结果显示肿瘤细胞细胞质或细胞核中出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性,反之为阴性。阳性细胞比例评分:<25%为1分,25%~50%为2分,>50%为3分;染色强度评分:未染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。染色指数=阳性细胞比例评分+染色强度评分。染色指数>3分为阳性;染色指数 $\leq$ 3分为阴性。阳性率=[阳性例数/总例数] $\times$ 100%。

### 1.4 随访

患者出院后均进行为期1年的随访(随访截止时间:2019年5月),随访直至随访期结束,并分析影响患者预后的相关危险因素。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用 $t$ 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;采用Logistic回归模型分析影响舌鳞状细胞癌患者预后的相关危险因素;以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

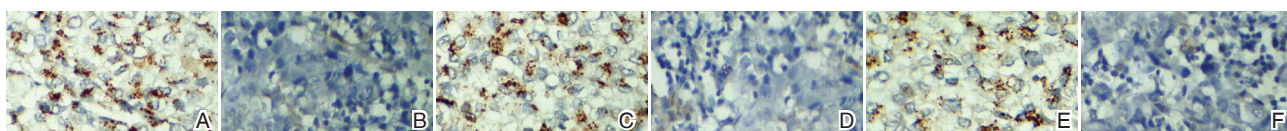
### 2.1 两组SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达情况比较

研究组SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阳性率高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1、图1。

表1 两组SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 表达情况比较 [ $n(\%)$ ]

Table 1 Comparison of SOD, DDR1, and HIF-1 $\alpha$  expression between the two groups [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	SOD		DDR1		HIF-1 $\alpha$	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
对照组	88	19(21.59)	69(78.41)	21(23.86)	67(76.14)	15(17.05)	73(82.95)
研究组	118	97(82.20)	21(17.80)	88(74.58)	30(25.42)	101(85.59)	17(14.41)
$\chi^2$ 值		75.276		52.032		96.276	
$P$ 值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A为DDR1在石鳞状细胞癌组织中阳性表达;B为DDR1在正常组织中阴性表达;C为HIF-1α在舌鳞状细胞癌组织中阳性表达;D为HIF-1α在正常组织中阴性表达;E为SOD在舌鳞状细胞癌组织中阳性表达;F为SOD在正常组织中阴性表达。

图1 不同组织中SOD、DDR1、HIF-1α表达情况(SP,×400)

Figure 1 Expression of SOD, DDR1, and HIF-1α in different tissues(SP,×400)

### 2.2 舌鳞状细胞癌组织中SOD、DDR1、HIF-1α表达与病理特征的关系分析

SOD、DDR1、HIF-1α阳性患者的组织分化程度、瘤体直径、淋巴结转移、TNM分期、浸润深度均高于阴性患者,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

### 2.3 生存组、死亡组SOD、DDR1、HIF-1α表达情况比较

随访结束,患者存活71例(60.17%)。死亡组SOD、DDR1、HIF-1α阳性率较生存组高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表2 分析舌鳞状细胞癌组织中SOD、DDR1、HIF-1α表达与病理特征的关系[n(%)]

Table 2 Analysis of the relationship between the expression of SOD, DDR1, and HIF-1α and pathological characteristics in tongue squamous cell carcinoma [n(%)]

病理参数	SOD		$\chi^2$ 值	P值	DDR1		$\chi^2$ 值	P值	HIF-1α		$\chi^2$ 值	P值	
	阳性 (n=97)	阴性 (n=21)			阳性 (n=88)	阴性 (n=30)			阳性 (n=101)	阴性 (n=17)			
年龄	<40岁	31(31.96)	11(52.38)	3.141	0.076	26(29.55)	11(36.67)	0.527	0.468	51(50.50)	10(58.82)	0.404	0.525
	≥40岁	66(68.04)	10(47.62)			62(70.45)	19(63.33)			50(49.50)	7(41.18)		
性别	男	60(61.86)	10(47.62)	1.450	0.229	54(61.36)	16(53.33)	0.598	0.439	59(58.42)	11(64.71)	0.239	0.625
	女	37(38.14)	11(52.38)			34(38.64)	14(46.67)			42(41.58)	6(35.29)		
组织分化	高分化	35(36.08)	16(76.19)	11.316	0.001	30(34.09)	21(70.00)	11.576	0.001	36(35.64)	15(88.24)	16.400	<0.001
	中低分化	62(63.92)	5(23.81)			58(65.91)	9(30.00)			65(64.36)	2(11.76)		
瘤体直径	≤3cm	33(34.02)	15(71.43)	10.011	0.002	29(32.95)	22(73.33)	14.864	<0.001	39(38.61)	16(94.12)	18.013	<0.001
	>3cm	64(65.98)	6(28.57)			59(67.05)	8(26.67)			62(61.39)	1(5.88)		
淋巴结转移	无	22(22.68)	13(61.90)	12.730	<0.001	25(28.41)	17(56.67)	7.793	0.005	35(34.65)	14(8.24)	13.634	<0.001
	有	75(77.32)	8(38.10)			63(71.59)	13(43.33)			66(65.35)	3(17.65)		
TNM分期	I~II	25(25.77)	17(80.95)	22.928	<0.001	24(27.27)	18(60.00)	10.453	0.001	26(25.74)	16(94.12)	29.675	<0.001
	III~IV	72(74.23)	4(19.05)			64(72.73)	12(40.00)			75(74.26)	1(5.88)		
浸润深度	浅层	27(27.84)	14(66.67)	11.481	0.001	16(18.18)	15(50.00)	11.694	0.001	39(38.61)	12(70.59)	6.062	0.014
	深层	72(74.23)	7(33.33)			72(81.82)	15(50.00)			62(61.39)	5(29.41)		

表3 生存组、死亡组SOD、DDR1、HIF-1α表达情况比较[n(%)]

Table 3 Comparison of SOD, DDR1 and HIF-1α expression in survival group and death group [n(%)]

组别	n	SOD		DDR1		HIF-1α	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
生存组	71	53(74.65)	18(25.35)	45(63.38)	26(36.62)	55(77.46)	16(22.54)
死亡组	47	44(93.62)	3(6.38)	43(91.50)	4(8.51)	46(97.81)	1(2.13)
$\chi^2$ 值		6.956		11.785		9.551	
P值		0.008		0.001		0.002	

### 2.4 影响舌鳞状细胞癌患者预后的相关因素分析

组织分化程度、淋巴结转移、TNM分期、浸润深度及SOD、DDR1、HIF-1α高表达为影响舌鳞状细胞癌患者预后的相关危险因素( $P<0.05$ )。见表4。

## 3 讨论

口腔癌是人类常见癌症之一,其死亡率约占

癌症总死亡率的2%,而口腔癌中又以舌鳞状细胞癌发病最高<sup>[7]</sup>。相关研究发现,舌鳞状细胞癌作为常见的口腔恶性肿瘤,具有发病率高、侵袭能力强的特点,也是导致临床治疗困难,患者预后差的主要原因<sup>[8-9]</sup>。研究发现,舌鳞状细胞癌的发生、发展是许多蛋白基因及细胞因子共同作用的结果,故开发舌鳞状细胞癌早期诊断的标记物成为目前治疗舌鳞状细胞癌研究的方向<sup>[10]</sup>。

表4 影响舌鳞状细胞癌患者预后的相关因素分析

Table 4 Analysis of related factors affecting the prognosis of patients with tongue squamous cell carcinoma

变量	单因素分析				多因素分析			
	Wald $\chi^2$ 值	OR	95% CI	P值	Wald $\chi^2$ 值	OR	95% CI	P值
年龄(<40岁 vs $\geq$ 40岁)	3.091	1.367	0.859~5.948	0.615	-	-	-	-
性别(男 vs 女)	4.153	2.846	0.965~8.495	0.322	-	-	-	-
吸烟史(有 vs 无)	3.159	2.613	0.796~9.158	0.594	-	-	-	-
瘤体直径( $\leq$ 3 cm vs >3 cm)	8.651	5.249	1.793~15.365	<0.001	2.361	1.235	0.948~3.154	0.564
分化程度(高分化 vs 中低分化)	9.165	1.946	1.554~2.439	<0.001	11.263	4.943	1.464~16.696	<0.001
淋巴结转移(有 vs 无)	10.236	1.992	1.405~2.823	<0.001	9.713	4.943	1.475~16.565	<0.001
TNM分期(I~II vs III~IV)	9.156	1.642	1.588~1.698	<0.001	10.543	3.117	1.055~9.215	<0.001
浸润深度(浅层 vs 深层)	10.216	1.755	1.369~2.252	<0.001	12.361	2.518	1.233~12.409	<0.001
SOD(阴性 vs 阳性)	11.294	1.301	1.258~1.345	<0.001	8.527	5.317	2.321~12.183	<0.001
DDR1(阴性 vs 阳性)	12.306	1.850	1.442~2.372	<0.001	10.533	4.319	1.340~13.917	<0.001
HIF-1 $\alpha$ (阴性 vs 阳性)	8.951	1.613	1.560~1.667	<0.001	10.531	5.019	2.654~9.488	<0.001

国内外研究证实,缺氧与舌鳞状细胞癌的生长、侵袭、转移等生物学关系具有紧密联系,其中HIF-1 $\alpha$ 作为缺氧应激的关键因子,与肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[11]</sup>。本文研究结果中,舌鳞状细胞癌组织中的HIF-1 $\alpha$ 阳性表达率显著高于正常口腔粘膜标本,说明HIF-1 $\alpha$ 在舌鳞状细胞癌患者机体中呈现高表达状态,这与既往文献报道结果相一致<sup>[12]</sup>。同时,本研究结果显示HIF-1 $\alpha$ 在死亡组患者的阳性表达率高于生存组患者,说明HIF-1 $\alpha$ 的高表达与患者的不良预后有关。

DDR1作为一种受体型蛋白酪氨酸激酶,广泛存在于人体各大组织器官中。DDR1通过与胶原基质相互作用进行激活,使自身磷酸化,影响肿瘤细胞的信号传导,参与肿瘤的生长、增殖及转化等<sup>[13]</sup>。本文结果示,舌鳞状细胞癌中DDR1的阳性表达率高于正常黏膜组织,死亡组中DDR1的阳性表达率高于生存组,提示DDR1的表达与舌鳞状细胞癌的发生、发展存在联系。

相关文献报道,SOD作为机体内的主要氧自由基清除物,其表达的变化影响着肿瘤内氧自由基的消长,与肿瘤的疾病发生发展及治疗密切相关<sup>[14-15]</sup>。本文研究结果显示,研究组患者的SOD阳性表达率高于对照组,说明在舌鳞状细胞癌患者中SOD水平较高,且通过文中死亡组患者的SOD阳性表达高于生存组可得知,SOD的表达与患者的预后有关。

本文研究中,SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阳性患者的组织分化程度、瘤体直径、淋巴结转移情况、TNM分期、浸润深度均高于SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 阴性患者。经Logistic回归模型分析得出组织分化程度、淋巴结转移、TNM分期、浸润深度及SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 高表达为影响舌鳞状细胞癌患者

预后的相关危险因素,提示临床治疗中需加强对伴随高危因素患者的干预,在治疗后进行针对性预防有利于改善患者预后,提高患者生存时限。

综上所述,SOD、DDR1、HIF-1 $\alpha$ 三者与舌鳞状细胞癌中的阳性表达率高于正常口腔粘膜,可作为舌鳞状细胞癌患者病情预后有效评估指标。

## 参考文献

- [1] 黄佳欣,邵婷如,陈跃川,等.长链非编码RNA在口腔鳞状细胞癌中的研究进展[J].分子诊断与治疗杂志,2018,10(2):120-124.
- [2] Fowler AJ, Hebron M, Balaraman K, et al. Erratum to: Discoidin Domain Receptor 1 is a therapeutic target for neurodegenerative diseases[J]. Hum Mol Genet, 2021, 30(13): 1271-1272.
- [3] 张天翼,廖浩乾,乔成治,等.盘状结构域受体DDR家族在肝纤维化中的作用[J].安徽医科大学学报,2021,56(6):1003-1006.
- [4] 赵为陈,沈炳香,何春远,等.盘状结构域受体1对高糖诱导血管内皮凋亡的影响[J].中国药理学通报,2020,36(6):821-827.
- [5] 颜孟雄,高桂林.基于生物信息学分析长链非编码RNA SNHG7在口腔鳞状细胞癌中的表达水平及预后的关系[J].临床口腔医学杂志,2021,37(5):296-299.
- [6] 杨爱琴,卞坤鹏,翟伟,等.血清TSGF、HIF-1 $\alpha$ 在皮肤鳞状细胞癌中的表达及意义[J].实用癌症杂志,2018,33(5):742-744, 752.
- [7] 乔宇,周旋,井超,等.敲低EZH2表达抑制人舌鳞状细胞癌侵袭转移能力的研究[J].中国肿瘤临床,2018,45(9):438-444.
- [8] Oikawa Y, Kugimoto T, Kashima Y, et al. Surgical treatment for oral tongue squamous cell carcinoma: A retrospective study of 432 patients. [J]. Global Health Med, 2021, 3(3): 157-162.
- [9] 李斌,王芳,李咏,等.舌鳞状细胞癌中Bmi-1和P16的表达及对癌细胞侵袭的调控作用[J].实用口腔医学杂志,2019,35(4):514-518.

## 血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 与急性心梗患者近期预后的关系

唐惠星 刘倩 李群 孙佳乐 陈旭\*

**[摘要]** **目的** 探讨血清 N 末端钠尿肽原(NT-proBNP)、心肌肌钙蛋白 I (cTn I) 及肌酸激酶同工酶(CK-MB)与急性心梗患者近期预后的关系。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的 98 例急性心梗患者为研究组,根据患者随访期间是否发生不良心血管事件分为预后不良组和预后良好组,另选取同时间段进行健康体检的 83 例健康志愿者为对照组。比较不同人群血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平,分析 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 及三者联合检测对急性心梗患者近期预后的预测价值。**结果** 研究组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平均明显高于对照组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。随访期间共 33 例患者预后不良,65 例患者预后良好。预后不良组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平均明显高于预后良好组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。ROC 曲线分析显示,NT-proBNP、cTnI、CK-MB 三者联合检查的 AUC 更高,为 0.931 ( $P<0.05$ )。**结论** 血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 在急性心梗患者中存在异常表达,可能与急性心梗患者预后密切相关,通过检测上述因子水平有助于评估患者近期预后。

**[关键词]** NT-proBNP; 近期预后; cTnI; CK-MB; 急性心梗患者

### Relationship between serum NT-proBNP, cTnI and CK-MB and short-term prognosis of patients with acute myocardial infarction

TANG Huixing, LIU Qian, LI Qun, SUN Jiale, CHEN Xu\*

(Department of Emergency Ward, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the relationship between serum N terminal brain natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiac troponin I (cTn I) and creatine kinase-MB (CK-MB) and the short-term prognosis of patients with acute myocardial infarction. **Methods** The 98 patients with acute myocardial infarction admitted to Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from January 2019 to January 2021 were selected as the study group. According to whether adverse cardiovascular events of the patients occurred or not during the follow-up, they were divided into a poor prognosis group and a good prognosis group. In addition, 83 healthy volunteers who had physical examination during the same period were selected as the control group. The serum NT-proBNP, cTnI and CK-MB levels of different groups were compared, and the values of NT-proBNP, cTnI, CK-MB and the combined detection of them in predicting the short-term prognosis of patients with acute myocardial infarction were analyzed. **Results** The levels of NT-proBNP, cTnI, and CK-MB in the study group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). During the follow-up period, 33 patients had poor prognosis and 65 patients had good prognosis. The levels of NT-proBNP, cTnI and CK-MB in the poor prognosis group were significantly higher than those in the good prognosis group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The results of ROC curve analysis showed that the AUC of the combined examination of NT-

基金项目:北京市科技计划课题(Z191100000516035)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院急诊病房,北京 100038

\*通信作者:陈旭, E-mail: tanghuixing8695@bjsjth.cn

proBNP, cTnI, and CK-MB was higher, which was 0.931. The sensitivity was 87.70%, and the specificity was 81.80%. **Conclusion** Serum NT-proBNP, cTnI and CK-MB are abnormally expressed in patients with acute myocardial infarction, which may be closely related to the prognosis of patients with acute myocardial infarction. Detection of the levels of these factors can help to evaluate the short-term prognosis of patients.

**[KEY WORDS]** NT-proBNP; Short-term prognosis; cTnI; CK-MB; Patients with acute myocardial infarction

急性心肌梗死是急诊科较为常见的危重疾病之一,是由于冠状动脉持续性、急性缺血、缺氧而引起的心肌坏死情况,具有较高的病死率<sup>[1-2]</sup>。早诊断、早治疗对改善急性心肌梗死患者预后具有重要意义<sup>[3]</sup>。随着临床对心肌标志物研究的不断深入,关于心肌标志物在预测预后方面的意义成为了当前关注的热点<sup>[4]</sup>。N末端钠尿肽原(N terminal brain natriuretic peptide, NT-proBNP)是临床用于检查心肌梗死的一项指标,对心血管疾病的诊断和预后评估有重要参考价值<sup>[5]</sup>。心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin, cTn I)是心肌损伤、坏死的主要标志物,与急性心肌梗死后早期心功能的恢复关系密切<sup>[6]</sup>。肌酸激酶同工酶(creatine kinase-MB, CK-MB)为临床上检测急性心肌梗死的常用指标,有着较高的灵敏性与特异性,且与患者的病情进展存在关联<sup>[7]</sup>。本研究就血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 与急性心梗患者近期预后的关系进行分析,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 基本资料

选取2019年1月至2021年1月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的98例急性心梗患者设为研究组。纳入标准:①均满足中华医学会心血管病学分会制定的关于急性心梗的诊断<sup>[8]</sup>,并结合实验室检查以及影像学检查明确诊断;②发病时间至入院时间<6 h;③临床资料完整。排除标准:①合并血液系统疾病、感染、恶性肿瘤者;②伴随严重肝、肾、肺功能不全者;③长期应用免疫抑制剂者;④合并慢性充血性心力衰竭、风湿性心脏病、心肌炎、心包积液者;⑤合并痴呆、精神疾病患者;⑥不能接受随访者。选取同时间段进行健康体检的83例健康志愿者作为对照组。两组基本资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

### 1.2 检测方法

所有对象均在医生协助下完善相关检查,研

表1 2组基本资料比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

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

组别	n	性别		年龄(岁)	体质指数(kg/m <sup>2</sup> )
		男	女		
研究组	98	69(70.41)	29(29.59)	72.18±5.96	22.76±2.14
对照组	83	48(57.83)	35(42.17)	70.44±6.35	23.24±1.67
$\chi^2/t$ 值		3.110	1.899	1.660	
P值		0.078	0.059	0.099	

究组于入院后第2 d、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℃冰箱中保存,待检。使用FIA8600免疫定量分析仪,采用免疫抑制法检测 NT-proBNP 水平,试剂盒由基蛋生物科技股份有限公司提供;使用西门子 ADVIA CENTAUR 发光免疫分析仪,采用化学发光免疫技术双抗体夹心法检测 cTnI 及 CK-MB 水平,试剂盒由西门子股份有限公司提供。具体方法均严格按照操作说明书执行。

### 1.3 观察指标

①比较研究组与对照组血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平;②对急性心梗患者进行为期3个月的随访,随访方式为门诊及住院随访,记录不良心血管事件(包括心源性休克、再发心梗、心力衰竭、猝死、恶性心律失常等),根据患者随访期间是否发生不良心血管事件分为预后不良组和预后良好组,并比较两组血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平。③绘制 ROC 曲线,计算 AUC,以分析 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 及三者联合检测对急性心梗患者近期预后的预测价值。

### 1.4 统计学方法

运用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,行  $t$  检验;计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验;采用 ROC 分析 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 及三者联合检测对急性心梗患者近期预后的预测价值;以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 研究组与对照组血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平比较

研究组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平较对照组高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 研究组与对照组 PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 及 Bcl6 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	NT-proBNP (ng/L)	cTnI (ng/mL)	CK-MB (U/L)
研究组	98	1537.25 $\pm$ 89.40	22.56 $\pm$ 7.21	78.24 $\pm$ 8.52
对照组	83	72.14 $\pm$ 10.56	0.97 $\pm$ 0.25	17.54 $\pm$ 4.85
t 值		148.37	27.255	57.491
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 预后不良组和预后良好组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平比较

所有患者均成功完成随访,随访期间共 33 例患者预后不良,65 例患者预后良好。预后不良组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平均明显高于预后良好组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 预后不良组和预后良好组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	NT-proBNP (ng/L)	cTnI (ng/mL)	CK-MB (U/L)
预后不良组	33	1964.37 $\pm$ 97.25	26.33 $\pm$ 8.46	95.23 $\pm$ 13.52
预后良好组	65	1320.41 $\pm$ 61.58	20.64 $\pm$ 6.75	69.62 $\pm$ 7.64
t 值		39.973	3.615	11.991
P 值		<0.001	0.001	<0.001

### 2.3 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 及三者联合检测对急性心梗患者近期预后的预测价值

ROC 曲线分析结果显示,以 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 三者联合检查的 AUC 更高,为 0.931 ( $P<0.05$ )。见表 4 及图 1。

## 3 讨论

急性心梗属于心血管疾病中病死率较高的一类疾病,常可危及心血管、消化以及呼吸系统,且急性心梗并发症多且复杂,常可危及患者的生命安全<sup>[9]</sup>。为降低急性心梗患者近期不良预后,除了尽早予以针对性治疗外,早期对患者的预后予以预测同样具有重要意义<sup>[10]</sup>。

表 4 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 及三者联合检测对急性心梗患者近期预后的预测价值

Table 4 predictive value of NT proBNP, cTnI, CK-MB and their combination in the short-term prognosis of patients with acute myocardial infarction

预测指标	最佳临界值	敏感度	特异度	AUC	95%CI
NT-proBNP	26.14	0.732	0.697	0.821	0.720~0.922
cTnI	25.46	0.754	0.667	0.768	0.668~0.868
CK-MB	25.68	0.677	0.692	0.791	0.682~0.901
NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 联合检测	27.53	0.877	0.818	0.931	0.873~0.990

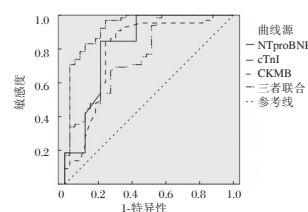


图 1 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 的预测价值

Figure 1 predictive value of NT proBNP, cTnI, CK-MB

NT-proBNP 是一种天然生物多肽,由心肌细胞合成,主要储存于心房细胞,是检测心功能、诊断心力衰竭的特异性标志物<sup>[11]</sup>。相关研究表明,急性心梗诱发的急性心肌缺血会促进心肌利钠肽系统的激活,继而引起 NT-proBNP 在血液中分泌增多<sup>[12]</sup>。研究显示,NT-proBNP 与血浆脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)来源于同一前体,但 NT-proBNP 半衰期较 BNP 更长,且在血中的浓度更为稳定,在心力衰竭时浓度会增加,在心功能不全的急性心梗中浓度亦会增加,对急性心梗的诊断、治疗及预后评估具有重要意义<sup>[13]</sup>。cTnI 为心肌纤维细肌丝上肌钙蛋白复合物亚单位,主要存在于心肌纤维蛋白中。研究指出,在心肌细胞膜完整的情况下,cTnI 无法透出细胞膜进入血循环;而当心肌出现损伤时,引起心肌细胞破裂,就会致使 cTn I 释放进入血液循环<sup>[14]</sup>。近年来,较多研究发现 cTnI 水平升高的患者心血管预后不良的风险明显增加<sup>[15]</sup>。人体心肌细胞各种生理活动由众多酶参与,而肌酸激酶(Creatine Kinase, CK)为存在于骨骼肌、心肌以及脑组织中的一种调节酶。Elcik 等<sup>[16]</sup>研究表明,当心梗发生时,会造成心肌细胞膜的受损,CK 会上升并释放进入血液。CK-MB 为 CK 的一种,广泛存在于骨骼肌、心肌中。Hong 等<sup>[17]</sup>研究指出,可根据血清 CK-MB 水平变化情况来评估患者心肌受损情况。本研究结果显示,急性心梗患者 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平明显高于健康人群,且与预后良



好组相比,预后不良组 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 水平明显升高,这与既往 Nayeli 等<sup>[18]</sup>研究结果相似。因此,推测测定急性心梗患者 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 对预测急性心梗患者预后具有重要意义。本研究进一步采用 ROC 曲线分析发现,NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 在预后评估方面具有较高的价值,且联合检测上述因子对急性心梗患者近期预后评估的价值最佳,进一步证实了联合检测能提升对急性心梗患者近期预后不良的预测价值。

综上所述,血清 NT-proBNP、cTnI 及 CK-MB 在急性心梗患者中存在异常表达,可能与急性心梗患者预后密切相关,通过检测上述因子水平有助于评估患者近期预后。

### 参考文献

- [1] 甄根深,张奇峰,刘威,等. hs-cTnI 及 NT-proBNP 最佳截断值与慢性心衰患者生存期的相关性研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(4): 484-486+490.
- [2] 胡义忠. CK-MB、cTnI、Myo 和 NT-proBNP 联合检测在诊断急性心肌梗死中的应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 4213-4217.
- [3] Sarak T, Karadeniz M. The relationship between serum NT-proBNP levels and severity of coronary artery disease assessed by SYNTAX score in patients with acute myocardial infarction[J]. Turk J Med Sci, 2019, 49(5): 1366-1373.
- [4] 杨焕杰,完海平,杨永昌,等. 急诊超声心动图联合血清 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 诊断急性心肌梗死的临床价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(21): 4084-4087.
- [5] Jian QS, Jia HF, Yang YD, et al. Correlation of Triiodothyronine Level with In-Hospital Cardiac Function and Long-Term Prognosis in Patients with Acute Myocardial Infarction[J]. Dis Markers, 2018, 35(15): 267-271.
- [6] 黄赞鸿,林英奎,郑康鑫. 血清 H-FABP 联合 cTn I 诊断入院后胸痛 AMI 疑似病例的诊断价值[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(1): 30-34.
- [7] 秦小霞,武艳,张丽,等. GPBB、cTnI、CK、CKMB 在急性心肌梗死伴糖尿病早期诊断中的临床应用价值[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(4): 425-428.
- [8] 胡超勇,邹华伟,高鹏芝. 急性心梗后心功能预后与血尿酸及肌酸肌酶同工酶水平的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10): 1415-1418.
- [9] Goto J, Watanabe T, Kobayashi Y, et al. Impact of percutaneous coronary intervention on short and long-term prognosis of elderly patients with acute myocardial infarction from 2010 to 2017 in Japanese population[J]. Eur Heart J, 2020, 41(2): 536-542.
- [10] Kvisvik B, Aagaard EN, MoRkrid L, et al. Mechanical dispersion as a? marker of left ventricular dysfunction and prognosis in stable coronary artery disease[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2019, 35(7): 342-346.
- [11] 丁国钰,葛兰,陈李红. 心肌梗死溶栓危险指数与 AMI 患者 PCI 术后 Gensini 积分及在院转归的相关性分析[J]. 医学临床研究, 2019, 36(12): 2450-2452.
- [12] 胡法国,张莹,马翔宇. 经皮冠状动脉介入治疗对老年急性心肌梗死患者心血管事件的影响及相关因素研究[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(2): 167-170.
- [13] 董芳,任嘉玮,胡晓娟,等. 血清 NT-pro-BNP 及 PCT 水平对老年心力衰竭合并肺炎患者近期预后的意义[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(3): 469-473.
- [14] Zhang S, Cao J, Zhang X, et al. Relationship between serum cystatin C and prognosis of nondiabetic peritoneal dialysis patients[J]. Ther Apher Dial, 2020, 24(6): 178-182.
- [15] 许小泽,林正豪,刘雪燕. 危重型 COVID-19 患者血清 cTnI、CK-MB、NT-proBNP 与心功能的相关分析[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2020, 41(6): 520-526.
- [16] Elcik D, Kelesoglu S, Yilmaz Y, et al. Relationship between thiol, disulphide volume and contrast-induced nephropathy in acute coronary syndrome patients treated with percutaneous coronary intervention[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2021, 81(3): 1462-1468.
- [17] Hong MZ, Zhou JM, Jin XJ, et al. Observational Study of Chinese Medicine Syndrome Distribution in Patients with Acute Myocardial Infarction and Its Impact on Prognosis[J]. Chin J Integr Med, 2019, 25(11): 27-32.
- [18] Nayeli I, Ingo N, Leona W, et al. Effect of Pimobendan on NT-proBNP and c troponin I before and after a submaximal exercise test in dogs with preclinical mitral valve disease without cardiomegaly - a randomised, double-blinded trial[J]. BMC Vet Res, 2019, 15(1): 443-449.

(上接第 755 页)

- [10] 古力米热·布然江,阿衣西布卫·库尔班,李小文. 宫颈鳞状细胞癌 SiHa 细胞中 HIF-1 $\alpha$ 、survivin 的表达及其与放射敏感性的关系[J]. 癌症进展, 2019, 17(18): 2218-2222.
- [11] 赵波,李轶,熊艳林. 香菇多糖联合胸腺五肽辅助化疗对舌鳞状细胞癌患者免疫、氧化应激、基质金属蛋白酶及相关因子水平的影响[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(23): 2073-2077.
- [12] 钟文德,邓小燕,陈广盛. 髓系来源抑制细胞在舌鳞状细胞癌中的作用[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(21): 2900-2905.
- [13] Onidani K, Miura N, Sugiura Y, et al. Possible Therapeutic Strategy Involving the Purine Synthesis Regulated by ITK in Tongue Squamous Cell Carcinoma[J]. Cancers(Basel), 2021, 13(13): 231-242.
- [14] 郭晓峰,陈北方,张鼎,等. T-box 转录因子 3 和上皮钙黏素在食管鳞状细胞癌组织中的表达[J]. 河南预防医学杂志, 2021, 32(8): 624-628.
- [15] Chavez MB, Kolli TN, Tan MH, et al. Loss of Discoidin Domain Receptor 1 Predisposes Mice to Periodontal Breakdown[J]. J Dent Res, 2019, 98(13): 1521-1531.

# 血清CRP、NLR及WBC对AECOPD患者细菌感染的早期诊断价值

郭桂林<sup>1</sup> 韩军侠<sup>2</sup> 杨发武<sup>3\*</sup>

**[摘要]** 目的 探究血清C-反应蛋白(CRP)、中性粒细胞计数/淋巴细胞计数比值(NLR)及白细胞计数(WBC)对慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)细菌感染的早期诊断价值。方法 分析2019年1月至2022年1月安徽省濉溪县人民医院呼吸与危重症医学科收治的AECOPD患者98例为研究对象,根据痰培养结果分为细菌感染组( $n=36$ )及非细菌感染组( $n=62$ )。采用免疫投射比浊检测患者CRP水平,以全自动血细胞分析仪检测中性粒细胞数、淋巴细胞及WBC。比较两组患者血清CRP、NLR及WBC水平差异,并评估其对AECOPD细菌感染的诊断价值。结果 细菌感染组和非细菌感染组患者的性别、年龄、BMI、呼吸频率、心率、血压及合并症等一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),细菌感染组患者的第1秒用力呼气容积(FEV1)、FEV1%、用力肺活量(FVC)、第1秒用力呼气容积占用力肺活量比值(FEV1/FVC值)均低于非细菌感染组,差异有统计学意义( $t=7.173、4.930、5.891、4.031$ ,  $P$ 均 $<0.05$ );血清CRP、NLR及WBC均高于非细菌感染组,差异有统计学意义( $t=10.648、8.401、7.657$ ,  $P$ 均 $<0.05$ )。二元Logistic回归分析显示,FEV1、FVC、CRP、NLR、WBC为细菌感染的影响因素( $P<0.05$ )。ROC曲线结果显示,血清CRP、NLR、WBC诊断AECOPD细菌早期感染的AUC分别为0.944、0.834、0.855,联合数据诊断AECOPD细菌早期感染的AUC分别为0.948。结论 血清CRP、NLR及WBC升高对AECOPD细菌感染均具有较高的诊断价值,联合数据诊断价值更高。

**[关键词]** 慢性阻塞性肺疾病;急性加重;C-反应蛋白;中性粒细胞计数/淋巴细胞计数;白细胞计数

## Early diagnostic value of serum CRP, NLR and WBC for bacterial infection in patients with AECOPD

GUO Guilin<sup>1</sup>, HAN Junxia<sup>2</sup>, YANG Fawu<sup>3\*</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Suixi County Hospital, Anhui Province, Suixi, Anhui, China, 235100; 2. Department of Respiratory Medicine, Suixi County Hospital, Anhui Province, Suixi, Anhui, China, 235100; 3. Department of Urology, Suixi County Hospital, Anhui Province, Suixi, Anhui, China, 235100)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the early diagnostic value of serum C-reactive protein (CRP), neutrophil count/lymphocyte count ratio (NLR) and white blood cell count (WBC) for bacterial infection in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** A total of 98 AECOPD patients admitted to the Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Suixi County People's Hospital of Anhui Province from January 2019 to January 2022 were analyzed as the research objects. According to the results of sputum culture, they were divided into the bacterial infection group ( $n=36$ ) and the non-bacterial infection group ( $n=62$ ). The level of CRP was detected by immunoprecipitation turbidimetry, and the number of neutrophils, lymphocytes and WBC were detected by automatic blood cell analyzer. The differences in serum

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(1704f0804023)

作者单位:1.安徽省濉溪县医院检验科,安徽,濉溪 235100

2.安徽省濉溪县医院呼吸内科,安徽,濉溪 235100

3.安徽省濉溪县医院泌尿科,安徽,濉溪 235100

\*通信作者:杨发武, E-mail: yfwsxxy@21cn.com

CRP, NLR and WBC levels between the two groups were compared, and their diagnostic value for AECOPD bacterial infection was evaluated. **Results** There was no significant difference in general data such as gender, age, BMI, respiratory rate, heart rate, blood pressure and comorbidities between the bacterial infection group and the non-bacterial infection group ( $P>0.05$ ). The expiratory volume (FEV1), FEV1%, forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 1 second occupied forced vital capacity ratio (FEV1/FVC value) were all lower than those in the non-bacterial infection group, and the difference was statistically significant ( $t=7.173, 4.930, 5.891, 4.031$ , all  $P<0.05$ ). Serum CRP, NLR and WBC were higher than those in the non-bacterial infection group, and the difference was statistically significant ( $t=10.648, 8.401, 7.657$ , all  $P<0.05$ ). Binary Logistic regression analysis showed that FEV1, FVC, CRP, NLR, and WBC were the influencing factors of bacterial infection ( $P<0.05$ ). The ROC curve results showed that the AUCs of serum CRP, NLR, and WBC for the diagnosis of early AECOPD bacterial infection were 0.944, 0.834, and 0.855, respectively, and the AUC of the combined data to diagnose early AECOPD bacterial infection was 0.948. **Conclusion** Elevated serum CRP, NLR and WBC have high diagnostic value for AECOPD bacterial infection, and the combined data has higher diagnostic value.

[KEY WORDS] COPD; Exacerbations; CRP; NLR; WBC

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的主要特征表现为不完全可逆性气流受限,发生时常伴有呼吸困难、喘息、胸闷等症状<sup>[1]</sup>。慢性阻塞性肺疾病急性加重(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)为COPD患者因细菌、病毒感染而造成的症状加重情况,可造成患者肺功能急性下降,影响患者的生命安全<sup>[2]</sup>。临床数据已显示,约40%~50%的AECOPD为细菌感染引起,早期明确感染类型并予以抗生素对症治疗对其预后的提高具有重要意义<sup>[3]</sup>。且据文献报道,AECOPD持续存在全身性炎症反应,主要表现为中性粒细胞、T淋巴细胞及巨噬细胞数量的改变<sup>[4]</sup>。而C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及白细胞计数(White blood cell count, WBC)为全身细菌性感染的重要标志物;中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)可体现机体炎症因子激活及炎症调节因子状态。本研究探讨血清CRP、NLR及WBC对AECOPD细菌感染的早期诊断价值。结果如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取2019年1月至2022年1月安徽省濉溪县人民医院呼吸与危重症医学科收治的AECOPD患者98例为研究对象,病例纳入标准:①符合《COPD基层诊疗指南(2018年)》<sup>[5]</sup>中诊断标准,且经病史、胸片X线及肺功能等检查确诊者;②AECOPD表现为咳嗽、咳痰及喘息等症状加重

者,且痰量增多,可伴发热;③急性加重期病程<3d;④临床资料完整者。排除标准:①重要脏器功能严重受损者;②合并有肺脓肿、肺结核者;③免疫系统疾病者;④呼吸系统外的感染者;⑤合并恶性肿瘤者。纳入患者根据痰培养结果分为细菌感染组( $n=36$ )及非细菌感染组( $n=62$ )。其中细菌感染组,男21例,女15例;年龄平均( $68.27\pm 8.22$ )岁。非细菌感染组中,男35例,女27例;年龄平均( $66.97\pm 8.24$ )岁。两组一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表1。研究经院伦理委员会批准同意,患者知情同意。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 基线资料

统计分析两组的基线资料,包括性别、年龄、合并症、心率、血压、肺功能等。肺功能检测:采用肺功能测试仪(德国耶格)检测,包括:第1秒用力呼气容积(Forced expiratory volume in 1 second, FEV1)、FEV1占预计值的百分比(FEV1%)、第1秒用力呼气容积占用力肺活量(forced vital capacity, FVC)的百分比(FEV1/FVC)。

#### 1.2.2 痰培养实验

入院第二天,收集患者痰液于无菌容器中,送至检验科。所有患者均连续检测3d,进行涂片镜检,并对镜检合格标本进行细菌培养。镜检合格:低倍镜视野下显示鳞状上皮细胞的数量<10个,白细胞计数>25个。

细菌培养采用法国生物梅里埃公司的分离及培养严格进行,若检查结果显示细菌浓度> $10^7$  CFU/mL即为阳性。

### 1.2.3 血清学指标

抽取受试者空腹外周肘静脉血 5 mL, 高速离心分层(3 000 r/min, 离心 10 min, 离心半径 10 cm), 分离血清, 送至检验科。采用免疫比浊法以全自动生化分析仪检测其血清 CRP 水平; 采用全自动血细胞分析仪器检测患者中性粒细胞数量及淋巴细胞数量, 计算两者比值 NLR, 并检测 WBC。

### 1.3 统计学分析

采用统计软件 SPSS 22.0 处理数据; 计数资料用  $n(\%)$  表示, 行  $\chi^2$  检验; 符合正态分布的计量资料用  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 行独立样本  $t$  检验; 影响因素采用二元 Logistic 回归分析; 预测价值采用 ROC 评估;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 AECOPD 患者一般资料比较

两组患者的性别、年龄、BMI、呼吸频率、心率、血压及合并症等一般资料比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 细菌感染组患者的 FEV1、FEV1%、FVC、FEV1/FVC 值均低于非细菌感染组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

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

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

项目	细菌感染组 (n=36)	非细菌感染组 (n=62)	$t/\chi^2$ 值	P 值
性别(男/女)	21/15	35/27	0.033	0.856
年龄(岁)	68.27±8.22	66.97±8.24	0.759	0.450
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.05±2.12	21.28±2.24	0.500	0.618
呼吸频率(次/min)	35.64±6.78	34.76±6.42	0.641	0.523
心率(次/min)	98.53±10.06	95.46±9.56	1.499	0.137
收缩压(mmHg)	124.72±9.87	123.81±9.19	0.463	0.645
舒张压(mmHg)	77.06±6.53	76.11±6.43	0.696	0.488
高血压史	13(36.11)	26(41.94)	0.322	0.570
糖尿病史	11(30.56)	23(37.10)	0.430	0.512
高脂血症史	6(16.67)	11(17.74)	0.018	0.892
吸烟史	12(33.33)	24(38.71)	0.283	0.595
FEV1(L)	1.46±0.36	2.06±0.42	7.173	<0.001
FEV1%(%)	45.82±6.21	52.82±7.08	4.930	<0.001
FVC(%)	74.42±7.66	84.24±8.12	5.891	<0.001
FEV1/FVC(%)	48.67±5.21	53.20±5.45	4.031	<0.001

### 2.2 两组血清学指标比较

细菌感染组患者的血清 CRP、NLR 及 WBC 均高于非细菌感染组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 AECOPD 患者细菌感染的二元 Logistic 分析

以“是否存在细菌感染”为因变量(赋值: 0=细菌感染组, 1=非细菌感染组), 以“FEV1、FEV1%、

表 2 两组血清学指标比较  $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of serological indexes between the two groups  $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	CRP(mg/L)	NLR	WBC( $\times 10^9/L$ )
细菌感染组	36	78.52±16.42	5.46±1.42	9.32±1.56
非细菌感染组	62	45.36±13.89	3.38±1.02	7.22±1.14
t 值		10.648	8.401	7.657
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

FVC、FEV1/FVC、CRP、NLR 及 WBC 为定量参数”为自变量, 纳入 Logistic 回归分析。二元 Logistic 回归分析显示, FEV1、FVC、CRP、NLR、WBC 为细菌感染的影响因素 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 AECOPD 患者细菌感染的二元 Logistic 分析

Table 3 Binary logistic analysis of bacterial infection in AECOPD patients

指标	$\beta$ 值	S.E. 值	Wald 值	Exp(B)	95% CI	P 值
FEV1	3.393	1.071	10.037	29.757	3.647~242.776	0.002
FEV1%	0.001	0.061	0.000	1.001	0.888~1.129	0.985
FVC	0.110	0.052	4.505	1.116	1.008~1.235	0.034
FEV1/FVC	-0.096	0.077	1.555	0.908	0.781~1.057	0.212
CRP	-0.253	0.077	10.678	0.776	0.667~0.904	0.001
NLR	-1.386	0.303	20.879	0.250	0.138~0.453	<0.001
WBC	-1.113	0.222	25.155	0.328	0.213~0.507	<0.001

### 2.4 血清 CRP、NLR 及 WBC 对 AECOPD 细菌感染的诊断价值

联合数据诊断 AECOPD 细菌早期感染的 AUC 为 0.948, 优于单一检测。见表 4、图 1。

表 4 血清 CRP、NLR、WBC 的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of serum CRP, NLR, WBC

检验项目	AUC	标准误	95% CI	最佳临界值	敏感度	特异度
CRP	0.944	0.026	0.893~0.995	61.46	0.889	0.935
NLR	0.834	0.043	0.751~0.917	4.77	0.556	1.000
WBC	0.855	0.045	0.766~0.943	8.48	0.750	0.919
联合预测	0.948	0.025	0.900~0.997	128.42	0.889	0.952

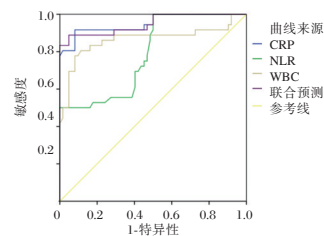


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

COPD 急性加重的起病急, 主要以呼吸系统正症状的恶化为主要表现。已有研究指出, 上呼吸

道-支气管细菌、病毒感染为 AECOPD 发生的主要诱因,持续的炎症反应为 AECOPD 发生的关键,且 COPD 患者急性加重后,其肺功能快速下降,严重时可能造成呼吸衰竭,造成不良预后<sup>[6]</sup>。

COPD 与慢性炎症之间的关系已得到临床证实,其可影响患者的肺实质及周围气道,造成不可逆及渐进性的气流受限<sup>[7]</sup>。慢性炎症表现为中性粒细胞、肺泡巨噬细胞及 T 淋巴细胞等炎性细胞数量的改变。CRP 为常见的敏感性炎症指标,其水平不受激素、抗炎药物及免疫抑制剂等药物的影响。有研究显示,健康机体中,血清 CRP 浓度较低,若其浓度显著升高多提示机体感染<sup>[8]</sup>。且已有研究证实,AECOPD 患者其血清 CRP 浓度可随感染严重程度的增加而升高,此即证实血清 CRP 浓度与炎症反应程度相关<sup>[9]</sup>。本研究中,细菌感染组患者的 CRP 浓度显著高于非感染者,该结果说明细菌感染 AECOPD 患者其机体存在炎症状态。原因为:AECOPD 患者经细菌感染后,其机体氧化应激状态明显提高,可进一步刺激肝脏合成并释放 CRP,造成机体炎症反应加重。另本研究中,二元 Logistic 回归分析显示,CRP 升高为 AECOPD 细菌感染影响因素,且 ROC 分析显示,血清 CRP 预测 AECOPD 细菌感染的 AUC 为 0.944,诊断价值较高。故 WBC 可作为 AECOPD 细菌感染的预测指标,且预测的敏感性及特异性较高。

COPD 存在持续性的全身系统炎症反应。而 NLR 为中性粒细胞/淋巴细胞的比率,其中中性粒细胞为炎症细胞的一种,具有吞噬作用,其大量分泌可造成存在于中性粒细胞中的氧自由基对淋巴细胞毒性产生抑制作用<sup>[10]</sup>。而淋巴细胞为免疫细胞,可反映机体免疫状态,二者比值可间接体现炎症因子激活及炎症调节因子状态,故当机体 NLR 值升高时,体现为中性粒细胞的数量多于免疫细胞,提示机体炎症状态及免疫系统紊乱<sup>[11-12]</sup>。且王勇生<sup>[13]</sup>等研究指出,NLR 对 AECOPD 治疗具有一定的指导意义。而本研究中,细菌感染组患者的 NLR 显著高于非感染者,该结果说明细菌感染可加重机体炎症反应。另二元 Logistic 回归分析显示,NLR 升高为 AECOPD 细菌感染影响因素,且 ROC 分析显示,NLR 预测 AECOPD 细菌感染的 AUC 为 0.834,诊断价值较高。故 NLR 对 AECOPD 细菌感染的预测价值较高。

WBC 具有吞噬功能,其可对机体的毒性物质进行吞噬并产生抗体,因此可作为机体防御系统

的重要防线<sup>[14]</sup>。另当白细胞、中性粒细胞等受到细菌、寄生虫等侵害时,机体白细胞显著升高,提示机体因细菌感染引起的器官或组织炎症、感染等情况的发展;但该指标在病毒性感染时其水平维持相对稳定,故以 WBC 预测 AECOPD 细菌感染可行<sup>[15]</sup>。本研究中,细菌感染组患者的 WBC 显著高于非感染者,且二元 Logistic 回归分析显示,WBC 升高为 AECOPD 细菌感染影响因素,且 ROC 分析显示,WBC 预测 AECOPD 细菌感染的 AUC 为 0.855,诊断价值较高。以上结果进一步证实 WBC 可作为 AECOPD 细菌感染的预测指标,且预测的敏感性及特异性较高。

同时本研究做血清 CRP、NLR、WBC 联合数据诊断 AECOPD 细菌早期感染的 AUC 分别为 0.948,最佳临界值为 128.42,该点预测敏感度、特异度为 0.889、0.952。提示三者联合预测价值更好。

综上所述,血清 CRP、NLR 及 WBC 升高提示机体炎症扩大,且三者对 AECOPD 细菌感染均具有较高的诊断价值,联合预测价值更高。

## 参考文献

- [1] Yu S, Zhang J, Fang Q, et al. Blood Eosinophil Levels and Prognosis of Hospitalized Patients with Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [J]. *Am J Med Sci*, 2021, 362(1): 56-62.
- [2] 陈康颢,黄耀光,李辉,等. 常用血常规指标对慢性阻塞性肺疾病急性加重的诊断价值[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(13): 1663-1665+1671.
- [3] 周峰,杨佳其,陈全敏,等. 外周血 CD64 指数、C 反应蛋白及降钙素原对慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并细菌感染的诊断及临床治疗价值分析[J]. *实用医院临床杂志*, 2020, 17(5): 44-47.
- [4] 刘洋,江威,韩伦英,等. PCT、CRP、WBC 和 N% 在细菌感染性疾病中的诊断价值评估[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(4): 641-644+652.
- [5] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,中华医学会呼吸病学分会慢阻肺学组,中华医学会《中华全科医师杂志》编辑委员会,呼吸系疾病基层诊疗指南编写专家组. 慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(实践版·2018)[J]. *中华全科医师杂志*, 2018, 17(11): 871-877.
- [6] Dull R, Dull S. Redundant medication use during acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in hospitalized patients[J]. *Int J Clin Pharm*, 2020, 42(5): 1278-1285.
- [7] 丁巍,王文艺,邬超,等. 慢性阻塞性肺疾病肺感染患者血清细胞因子及肺功能指标变化情况[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(5): 586-588+592.

## 乳腺癌 EGFR、Ki-67、CerbB-2 表达的临床价值与预后

黄凤琴<sup>1\*</sup> 余洁<sup>1</sup> 郭智俊<sup>1</sup> 梁景星<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨乳腺癌表皮生长因子受体(EGFR)、Ki-67、CerbB-2表达与临床分期、血脂代谢、预后的关系。**方法** 选取2016年1月至2021年7月广东省人民医院南海医院收治的357例乳腺癌患者为研究对象。另选取同期就诊的111例乳腺良性肿瘤患者为对照组。比较两组的血浆总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。采用免疫组化法检测术后病理组织EGFR、Ki-67、CerbB-2表达情况。比较EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者的临床分期及病理特征。采用COX回归分析并绘制生存曲线,分析EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者以及不同分期患者的预后。**结果** 乳腺癌组EGFR阳性86例(24.09%),Ki-67阳性296例(82.91%),CerbB-2阳性217例(60.78%)。对照组EGFR、Ki-67、CerbB-2均为阴性。乳腺癌组的血浆TG、TC、LDL-C水平高于对照组,血浆HDL-C水平低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性患者与阴性患者的年龄、绝经状态、病理类型、组织学分级比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性患者中II~III期的比例高于阴性患者,0~I期的比例低于阴性患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性患者与阴性患者的血浆TG、TC、LDL-C、HDL-C水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。COX回归分析显示,临床分期、EGFR、Ki-67、CerbB-2是乳腺癌预后的影响因素( $P<0.05$ ),EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者以及不同分期患者的5年累积生存率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** EGFR、Ki-67、CerbB-2表达与乳腺癌发生发展有关,临床分期越高EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性表达越高,患者预后越差;乳腺癌可能影响血脂代谢。

**[关键词]** 乳腺癌;表皮生长因子受体;Ki-67;CerbB-2;血脂代谢

### Clinical value and prognosis of EGFR, Ki-67 and CerbB-2 in breast cancer

HUANG Fengqin<sup>1\*</sup>, YU Jie<sup>1</sup>, GUO Zhijun<sup>1</sup>, LIANG Jingxing<sup>2</sup>

(1. Department of Pathology, Guangdong Provincial People's Hospital's Nanhai Hospital, Foshan, Guangdong, China, 528251; 2. Department of Medical Records Room, Guangdong Provincial People's Hospital's Nanhai Hospital, Foshan, Guangdong, China, 528251)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression of epidermal growth factor receptor (EGFR), Ki-67 and *CerbB-2* in breast cancer patients, and its relationship with clinical staging, blood lipid metabolism and prognosis. **Methods** A total of 357 breast cancer patients admitted to Guangdong Provincial People's Hospital's Nanhai Hospital were selected as the research subjects between January 2016 and July 2021. Meanwhile, 111 patients with benign breast tumors were selected as the control group. The plasma levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were compared between the two groups. The expression of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* in pathological tissues after surgery was detected by immunohistochemical method. Clinical stages and pathological characteristics of patients with different expression of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* were compared.

基金项目:佛山市卫生和计生局医学科研处课题立项(20180226)

作者单位:1. 广东省人民医院南海医院病理科,广东,佛山 528251

2. 广东省人民医院南海医院病案室,广东,佛山 528251

\*通信作者:黄凤琴, E-mail:690415146@qq.com

COX regression analysis was performed, and survival curve was plotted to analyze the prognosis of patients with different expression of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2*, and patients at different stages. **Results** In the breast cancer group, 86 cases (24.09%) were positive for EGFR, 296 cases (82.91%) were positive for Ki-67, and 217 cases (60.78%) were positive for *CerbB-2*. In the control group, EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* were all negative. The plasma levels of TG, TC, and LDL-C in the breast cancer group were higher than those in the control group, and the plasma HDL-C level was lower than that in the control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in age, menopausal status, pathological type and histological grade between breast cancer EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* positive patients and negative patients ( $P>0.05$ ). The proportion of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* positive breast cancer patients was higher than that of negative patients, and the proportion of 0-I stage was lower than that of negative patients, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in plasma TG, TC, LDL-C and HDL-C levels between breast cancer EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* positive patients and negative patients ( $P>0.05$ ). COX regression analysis showed that clinical staging, EGFR, Ki-67, and *CerbB-2* were prognostic factors for breast cancer ( $P<0.05$ ). There were statistically significant differences in 5-year accumulate survival rate among patients with different expression of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2*, and patients at different stages ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2* is related to the occurrence and development of breast cancer. The higher the clinical stage, the higher the positive expression of EGFR, Ki-67 and *CerbB-2*, and the worse the prognosis of the patient. Breast cancer may affect blood lipid metabolism.

**[KEY WORDS]** Breast cancer; EGFR; Ki-67; *CerbB-2*; Blood lipid metabolism

乳腺癌的发生发展受遗传学因素影响,伴随多种基因与蛋白表达异常,乳腺癌相关分子标志物 Ki-67<sup>[1]</sup>、*CerbB-2*<sup>[2]</sup>、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)<sup>[3]</sup>在乳腺癌的诊断、预后评估中具有重要的临床价值。近年来发现,血脂代谢异常与恶性肿瘤有一定关联,乳腺癌患者由于雌激素水平变化、内分泌治疗等因素影响,也可能伴随脂蛋白类型与血脂水平改变<sup>[4]</sup>。本研究分析乳腺癌患者 EGFR、Ki-67、*CerbB-2* 表达与临床分期、血脂代谢、预后的关系,报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取 2016 年 1 月至 2021 年 7 月广东省人民医院南海医院收治的 357 例乳腺癌患者为研究对象。纳入标准:①符合乳腺癌的诊断标准<sup>[5]</sup>;②年龄 $\geq 18$ 岁;③接受乳腺癌根治术;④术前未接受化疗及内分泌治疗;⑤术前 3 个月内未应用调血脂药物。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并心、脑、肝、肾疾病;③原发性高脂血症;④其他影响血脂代谢的疾病。另选取同期本院就诊的 111 例乳腺良性肿瘤患者为对照组。乳腺癌组年龄 27~73 岁,平均年龄(51.22 $\pm$ 8.76)岁。对照组年龄 24~75 岁,平均年龄(49.72 $\pm$ 9.13)岁。两组年龄比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究符合

《赫尔辛基宣言》原则<sup>[6]</sup>,研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 EGFR、Ki-67、*CerbB-2* 表达检测

取患者手术切除的乳腺病理组织,脱水、石蜡包埋、制作石蜡切片。EGFR、Ki-67、*CerbB-2* 试剂盒均购自上海研谨生物科技有限公司。按照免疫组化技术流程,脱水、透明、孵育、抗原修复、磷酸盐缓冲液冲洗后,加入一抗工作液,室温下孵育 60 min。再加入二抗工作液,室温下孵育 15 min。加入二氨基联苯胺显色剂,室温孵育 3 min,在显微镜下观察染色结果。判定标准<sup>[7]</sup>:细胞染色为棕黄色为阳性细胞,阳性细胞数 $<10\%$ 为阴性, $\geq 10\%$ 为阳性。

#### 1.2.2 血脂检测

在患者入院第二天清晨,采集空腹静脉血 5 mL,采用酶法检测血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C),试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司。检测仪器为 MR-96A 全自动生化分析仪,购自深圳迈瑞医疗公司。

### 1.3 资料收集与随访

查阅医院电子病历系统,记录患者病情资料,包括年龄、是否绝经、病理类型、组织学分级、临床

分期。乳腺癌根治术后,对所有患者开展随访,随访截止至2021年10月,记录患者的总生存期。

### 1.4 统计学方法

使用SPSS 22.0进行统计分析;满足正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用独立样本 $t$ 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,生存分析进行Log rank检验;影响乳腺癌预后的多因素分析采用COX回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 乳腺癌组与对照组EGFR、Ki-67、CerbB-2表达比较

乳腺癌组EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性表达率均高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 乳腺癌组与对照组EGFR、Ki-67、CerbB-2表达比较 [n(%)]

组别	n	EGFR	Ki-67	CerbB-2
乳腺癌组	357	86(24.09)	296(82.91)	217(60.78)
对照组	111	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
t值		200.172	21.809	62.109
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表3 乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者的临床分期及病理特征比较 [n(%)]

Table 3 Clinical stages and pathological characteristics of breast cancer patients with different expression of EGFR, Ki-67 and CerbB-2 [n(%)]

指标	n	EGFR		$\chi^2$ 值	P值	Ki-67		$\chi^2$ 值	P值	CerbB-2		$\chi^2$ 值	P值	
		阳性 (n=86)	阴性 (n=271)			阳性 (n=296)	阴性 (n=61)			阳性 (n=217)	阴性 (n=140)			
年龄(岁)	<35	50	10(11.63)	40	(14.76)	44	(14.86)	6	(9.84)	28	(12.90)	22	(15.71)	
	35~60	177	44(51.16)	133	(49.08)	0.534	0.766	147	(49.66)	30	(49.18)	1.337	0.512	
	>60	130	32(37.21)	98	(36.16)			105	(35.47)	25	(40.98)			
绝经状态	是	142	31(36.05)	111	(40.96)	0.658	0.417	113	(38.18)	29	(47.54)	1.852	0.174	
	否	215	55(63.95)	160	(59.05)			183	(61.82)	32	(52.46)			135
病理类型	原位癌	40	8(9.30)	32	(11.81)			32	(10.81)	8	(13.11)			
	浸润性导管癌	225	59(68.60)	166	(61.25)			190	(64.19)	35	(57.38)			
	浸润性小叶癌	48	11(12.79)	37	(13.65)	2.235	0.693	38	(12.84)	10	(16.39)	1.684	0.794	
	髓样癌	27	4(4.65)	23	(8.49)			23	(7.77)	4	(6.56)			
	乳头状癌	17	4(4.65)	13	(4.80)			13	(4.39)	4	(6.56)			
组织学分级	1级	94	24(27.91)	70	(25.83)			75	(25.34)	19	(31.15)			
	2级	182	44(51.16)	138	(50.92)	0.262	0.877	153	(51.69)	29	(47.54)	0.881	0.644	
	3级	81	18(20.93)	63	(23.25)			68	(22.97)	13	(21.31)			
临床分期	0期	40	3(3.49)	37	(13.65)			24	(8.11)	16	(26.23)			
	I期	64	10(11.63)	54	(19.93)	17.727	0.001	47	(15.88)	17	(27.87)	26.67	<0.001	
	II期	212	55(63.95)	157	(57.93)			186	(62.84)	26	(42.62)			3
III期	41	18(20.93)	23	(8.49)	39			(13.18)	2	(3.28)				

### 2.2 乳腺癌组与对照组血脂水平比较

乳腺癌组的血浆TG、TC、LDL-C水平高于对照组,血浆HDL-C水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表2。

表2 乳腺癌组与对照组血脂水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of blood lipid level between breast cancer group and control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
乳腺癌组	357	1.25±0.37	4.71±1.34	2.69±0.77	1.30±0.37
对照组	111	1.14±0.33	4.26±1.23	2.34±0.65	1.45±0.42
$\chi^2$ 值		2.804	3.149	4.332	3.610
P值		0.005	0.002	<0.001	<0.001

### 2.3 乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者的临床分期及病理特征比较

乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性患者与阴性患者的年龄、绝经状态、病理类型、组织学分级比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性患者中II~III期的比例高于阴性患者,0~I期的比例低于阴性患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.4 乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者的血脂水平比较

乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2阳性患者与阴性患者的血浆TG、TC、LDL-C、HDL-C水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表4。



表4 乳腺癌EGFR、Ki-67、CerbB-2不同表达患者的血脂水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of blood lipid levels in patients with different EGFR, Ki-67 and CerbB-2 expression of breast cancer ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TG	TC	LDL-C	HDL-C
EGFR 阳性	86	1.30±0.39	4.82±1.42	2.58±0.74	1.34±0.40
EGFR 阴性	271	1.23±0.35	4.68±1.30	2.72±0.78	1.29±0.35
t 值		1.571	0.851	1.468	1.114
P 值		0.117	0.396	0.143	0.266
Ki-67 阳性	296	1.24±0.36	4.74±1.40	2.72±0.79	1.29±0.36
Ki-67 阴性	61	1.30±0.38	4.55±1.28	2.55±0.71	1.36±0.40
t 值		1.174	0.979	1.556	1.356
P 值		0.241	0.328	0.121	0.176
CerbB-2 阳性	217	1.23±0.34	4.78±1.37	2.74±0.80	1.33±0.39
CerbB-2 阴性	140	1.28±0.40	4.60±1.30	2.61±0.73	1.26±0.34
t 值		1.265	1.236	1.551	1.706
P 值		0.207	0.217	0.122	0.089

2.5 生存分析

COX 回归分析显示,临床分期、EGFR、Ki-67、CerbB-2 是乳腺癌预后的影响因素( $P < 0.05$ ),见表5。在临床分期上,0期、I期、II期、III期患者的5年累积生存率分别为100%、98.00%、91.52%、75.83%(Log rank=12.307,  $P = 0.006$ ),见图1。EGFR 阳性、EGFR 阴性患者的5年累积生存率分别为74.97%、96.02%(Log rank=17.681,  $P < 0.001$ )。Ki-67 阳性、Ki-67 阴性患者的5年累积生存率分别为89.31%、100%,差异有统计学意义(Log rank=5.006,  $P = 0.025$ )。CerbB-2 阳性、CerbB-2 阴性患者的5年累积生存率分别为83.72%、97.17%,(Log rank=7.369,  $P = 0.007$ ),见图2。

表5 影响乳腺癌预后的COX 回归分析

Table 5 COX regression analysis of prognosis of breast cancer

因素	$\beta$ 值	SE 值	Wald $\chi^2$ 值	HR 值	95%CI	P 值
年龄	0.833	0.526	2.508	2.300	0.820~6.449	0.114
绝经	0.745	0.689	1.169	2.106	0.546~8.129	0.280
病理类型	0.510	0.409	1.555	1.665	0.747~3.712	0.213
组织学分级	0.735	0.563	1.704	2.085	0.692~6.287	0.192
临床分期	1.108	0.341	10.558	3.028	1.552~5.908	0.001
EGFR	0.742	0.267	7.723	2.100	1.244~3.544	0.006
Ki-67	0.563	0.184	9.362	1.756	1.224~2.518	0.002
CerbB-2	0.497	0.202	6.054	1.644	1.106~2.442	0.014

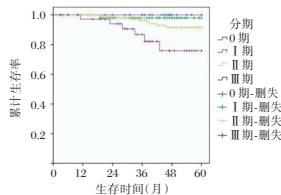


图1 生存曲线

Figure 1 Survival curves

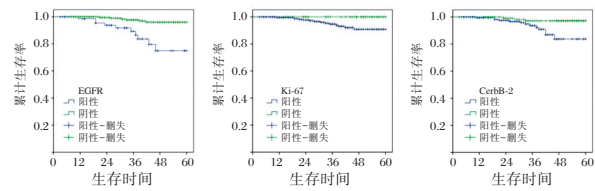


图2 生存曲线

Figure 2 Survival curves

3 讨论

EGFR 是原癌基因 *CerbB-1* 编码的蛋白表达产物,本研究发现,在乳腺癌组患者的病理组织中EGFR 阳性表达率为24.09%,而乳腺良性肿瘤EGFR 均为阴性。刘岩岩等<sup>[8]</sup> 研究表明乳腺癌组织中EGFR 表达相比癌旁组织更高,与临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移有关。推测其机制,原癌基因 *CerbB-1* 异常激活、EGFR 过表达,可促进正常乳腺导管上皮细胞分化为恶性增殖的癌细胞。本研究发现EGFR 阳性表达越高临床分期也越高。居红格等<sup>[9]</sup> 研究也表示,EGFR 在非三阴性乳腺癌中的阳性表达率为37%,EGFR 与年龄无关而与临床分期有关。EGFR 阳性患者的5年累积生存率为74.97% 低于EGFR 阴性患者的96.02%,说明EGFR 阳性患者的预后较差。

Ki-67 反映乳腺癌细胞的增殖活性,Ki-67 与细胞核分裂周期有关,在有丝分裂期Ki-67 达到最高水平。本研究发现,在乳腺癌组患者的病理组织中Ki-67 阳性表达率为82.91%,而乳腺良性肿瘤Ki-67 均为阴性。国外研究<sup>[10]</sup> 也表示,乳腺癌患者中Ki-67 阳性率约60%~90%,Ki-67 表达程度与临床分期呈正相关,Ki-67 表达程度越高乳腺癌越容易发生转移,预后也越差。本研究发现Ki-67 与乳腺癌临床分期有关,Ki-67 阳性患者的5年累积生存率89.31%也低于Ki-67 阴性患者,这与吕德明等<sup>[11]</sup> 研究观点一致。

*CerbB-2* 基因是一种原癌基因, *CerbB-2* 过度表达导致乳腺癌患者细胞分裂增加和细胞恶性增殖。本研究发现,在乳腺癌组患者的病理组织中 *CerbB-2* 阳性表达率为60.78%, *CerbB-2* 阳性表达越高临床分期也越高。曹利娟等<sup>[12]</sup> 研究表明, *CerbB-2* 直接参与了乳腺癌细胞的分化、增殖和侵袭, *CerbB-2* 高表达患者无进展生存期较短。本研究也发现, *CerbB-2* 阳性患者的5年累积生存率83.72% 低于 *CerbB-2* 阴性的97.17%,说明 *CerbB-2* 阳性患者的预后较差。

国外研究<sup>[13]</sup>发现血脂与乳腺癌的患病风险存在相关性,高胆固醇血症是绝经后女性患乳腺癌的独立危险因素。动物实验<sup>[14]</sup>也证实三阴性乳腺癌小鼠模型经高脂饮食喂养后肿瘤患病率增加。本研究也发现,乳腺癌组的血浆TG、TC、LDL-C水平高于对照组,血浆HDL-C水平低于对照组。赵怡欣等<sup>[15]</sup>研究发现,TG、TC高水平与乳腺癌的病理分期和淋巴结转移相关,高脂血症与乳腺癌具有相关性。

综上所述,EGFR、Ki-67、*CerbB-2*表达与乳腺癌发生发展有关,临床分期越高EGFR、Ki-67、*CerbB-2*阳性表达越高,患者预后越差;乳腺癌可能影响血脂代谢。

### 参考文献

- [1] 洪娟,王冬青,殷瑞根,等. 乳腺浸润性导管癌磁共振弥散加权成像与Ki-7表达的关系[J]. 江苏大学学报(医学版), 2019,29(5):441-443+455.
- [2] Sharifah NA, Lee BR, Clarence CH, et al. C-erbB-2 oncoprotein expression in breast cancer: relationship to tumour characteristics and short - term survival in Universiti Kebangsaan Malaysia Medical Centre [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2018,9(4):663-670.
- [3] Nagaraj G, Ma CX. Clinical challenges in the management of hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer: a literature review [J]. Adv Ther, 2021,38(1): 109-136.
- [4] Iyengar NM, Arthur R, Manson JE, et al. Association of body fat and risk of breast cancer in postmenopausal women with normal body mass index: a secondary analysis of a randomized clinical trial and observational study [J]. Jama Oncol, 2019,5(2):155-163.
- [5] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017年版)[J]. 中国癌症杂志, 2017,27(9):695-759.
- [6] 吴静,白桦,王思成,等. 2013版《赫尔辛基宣言》评述[J]. 中国中西医结合杂志, 2014,34(1):127.
- [7] Sukswai N, Khoury JD. Immunohistochemistry innovations for diagnosis and tissue-based biomarker detection [J]. Curr Hematol Malig Rep, 2019,14(5):368-375.
- [8] 刘岩岩,童创,梁惠,等. Ki67, HER-2, VEGF和EGFR蛋白在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 新疆医科大学学报, 2019,42(11):45-48,55.
- [9] 居红格,李峰,马俊兵,等. 三阴性乳腺癌中RHBDD1和EGFR的表达及相关性分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020,36(4):396-400.
- [10] Meermira D, Swain M, Gowrishankar S. Study of Ki-67 index in the molecular subtypes of breast cancer: Inter-observer variability and automated scoring [J]. Indian J Cancer, 2020,57(3):289-295.
- [11] 吕德明,俎彩霞,吕凌霄. 乳腺癌PTEN, Ki-67, Bcl-2和BRCA-1蛋白表达情况及其与临床预后的关系[J]. 中国妇幼保健, 2020,35(10):167-170.
- [12] 曹利娟,包芸,王文娟,等. 转移相关蛋白在乳腺癌原发灶与复发/转移灶中的表达及意义[J]. 复旦学报(医学版), 2020,47(4):591-598.
- [13] Chowdhury FA, Islam MF, Prova MT, et al. Association of hyperlipidemia with breast cancer in Bangladeshi women [J]. Lipids Health Dis, 2021,20(1):52-55.
- [14] Mustafi D, Valek R, Fitch M, et al. Magnetic resonance angiography reveals increased arterial blood supply and tumorigenesis following high fat feeding in a mouse model of triple-negative breast cancer [J]. NMR Biomed, 2020,33(10):4363-4366.
- [15] 赵怡欣,管忆楠,张寅,等. 血脂、CA153水平与乳腺癌发生及临床病理特征的关系[J]. 国际肿瘤学杂志, 2020,47(2):70-76.

(上接第763页)

- [8] 朱春明,张鹤,郑锐. 中性粒细胞/淋巴细胞比值、红细胞分布宽度与慢性阻塞性肺疾病急性加重的相关分析[J]. 中国医科大学学报, 2018,47(4):312-315.
- [9] 陈星如,王导新. 单核细胞趋化因子-1联合C反应蛋白对慢性阻塞性肺疾病合并社区获得性肺炎的诊断价值研究[J]. 中国实用内科杂志, 2021,41(12):5.
- [10] Mathioudakis AG, Janssens W, Sivapalan P, et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: in search of diagnostic biomarkers and treatable traits [J]. Thorax, 2020,75(6):520-527.
- [11] 王迪,张丽华,刘艳伟,等. 联合检测RDW、D-二聚体和BNP在慢性阻塞性肺疾病病情评估及预后中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(12):2038-2041+2046.
- [12] 刘伟平,毛小倩. Hs-CRP、PCT、IL-6和NLR对肺部细菌及肺炎支原体感染的诊断价值[J]. 医学研究杂志, 2021,50(12):64-67+135.
- [13] 王勇生,杨万春. 血清CRP、PA、NLR与FIB对COPD急性加重期细菌感染的预测价值[J]. 中国临床研究, 2019,32(9):1238-1241.
- [14] 金兵. CRP、纤维蛋白原及白细胞计数水平在COPD临床诊断中的作用[J]. 基因组学与应用生物学, 2019,38(7):3346-3351.
- [15] 朱丹,陈慧,杨锡光,等. 外周血WBC、C反应蛋白及纤维蛋白原与慢性阻塞性肺疾病急性加重风险的相关性分析[J]. 浙江医学, 2019,41(14):1522-1524.

# 双相障碍抑郁发作与抑郁症患者血清 SP、Glu 与 BDNF 水平变化及意义

蒋燕升\* 雷秀雯 仲照希

**[摘要]** 目的 探讨双相障碍抑郁发作与抑郁症患者血清 P 物质(SP)、谷氨酸(Glu)与脑源性神经营养因子(BDNF)水平差异。方法 选择2018年2月至2021年2月新乡医学院第二附属医院收治的双相障碍抑郁发作患者(双相抑郁组)42例和抑郁症患者(抑郁组)74例作为观察对象,另选取同期体检的健康志愿者(对照组)36例。采用酶联免疫吸附法检测研究对象血清 SP、Glu、BDNF 水平,采用汉密尔顿抑郁量表(HAMD-17)、汉密尔顿焦虑量表(HAMA)评定抑郁症状,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 SP、Glu、BDNF、临床症状评分对双相障碍抑郁的诊断价值。结果 三组间研究对象的性别比例、年龄、本次病程、发病年龄、受教育年限比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。三组血清 SP、HAMD、HAMA 评分比较:抑郁组>双相抑郁组>对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );BDNF 水平比较:对照组>抑郁组>双相抑郁组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清 Glu 水平比较:双相抑郁组>抑郁组>对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。经 ROC 分析,血清 SP、BDNF 及症状评分 HAMD、HAMA 联合检测 AUC 值为 0.906,优于单一检测( $P<0.05$ )。结论 双相障碍抑郁与抑郁症血清指标 SP、Glu、BDNF 紊乱,且双相障碍抑郁患者血清指标紊乱程度和焦虑抑郁症状更严重,联合检测可作为区别诊断的有利手段。

**[关键词]** 抑郁症;双相抑郁症;P 物质;脑源性神经营养因子

## Changes and significance of serum SP, Glu and BDNF levels in patients with depressive episodes of bipolar disorder and depression

JIANG Yansheng\*, LEI Xiuwen, ZHONG Zhaoxi

(The 9th Department of Psychiatry (Depression Ward), Luoyang Fifth People's Hospital, Luoyang, Henan, China, 471000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the serum levels of substance P (SP), glutamic acid (Glu) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in patients with depressive episodes and depression in bipolar disorder difference. **Methods** From February 2018 to February 2021, 42 patients with depressive episodes of bipolar disorder (bipolar depression group) and 74 patients with depression (depression group) in the Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College were selected as the observation objects. Thirty-six healthy volunteers (control group) were examined during the same period. The serum levels of SP, Glu, and BDNF were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The Hamilton Depression Scale (HAMD-17) and Hamilton Anxiety Scale (HAMA) were used to evaluate the depressive symptoms. The receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the diagnostic value of serum SP, Glu, BDNF, and clinical symptom scores for bipolar depression. **Results** There was no significant difference in gender ratio, age, and educational age between patients with bipolar depression, depression and the control group, and there was no significant difference in the course of disease and age at onset between patients with bipolar depression and depression ( $P>0.05$ ). The serum SP, Glu, BDNF levels and HAMD and HAMA scores of patients with bipolar

基金项目:河南省自然科学基金(182300410317);河南省基础与前沿技术研究计划项目资助(152300410121)

作者单位:洛阳市第五人民医院精神九科(抑郁病区),河南,洛阳 471000

\*通信作者:蒋燕升, E-mail:ivy870105@163.com

depression and depression were higher than those of healthy controls ( $P<0.05$ ). The levels of serum SP, BDNF, HAMD and HAMA in the bipolar depression group were significantly lower than those in the depression group ( $P<0.05$ ). After ROC analysis, the AUC value of the combined detection of serum SP, BDNF and symptom scores HAMD and HAMA was 0.906, which was better than the single detection ( $P<0.05$ ). The diagnostic AUC, sensitivity and specificity are 0.831, 92.9% and 73.0%, respectively ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The serum indicators of SP, Glu, and BDNF of depression in bipolar disorder are abnormal, and the degree of disorder of serum indicators and symptoms of anxiety and depression in patients with depression with bipolar disorder are more serious. Combined detection can be used as a favorable means for differential diagnosis.

[KEY WORDS] Depression; Bipolar depression; Substance P; Brain-derived neurotrophic factor

抑郁症又称抑郁障碍,是现代社会常见心境障碍,可引起持久性心境低落、意志活动减退、思维迟缓、认知功能下降和相关躯体症状等一系列症状<sup>[1-2]</sup>。与单项抑郁症的情绪低落为主不同,双相障碍抑郁症大部分症状与单相抑郁症相似,但有燥狂症状<sup>[3]</sup>。双相障碍抑郁易被误诊为抑郁症,导致治疗方案不合理而影响预后质量。因此,治疗早期精准辨别双相障碍抑郁和抑郁症尤为重要。近些年,有相关研究发现血清P物质(substance P, SP)和谷氨酸(glutamic acid, Glu)可维持中枢神经功能,参与抑郁症患者的情感调节。王梅等<sup>[4]</sup>在研究中发现,抑郁症患者的脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)水平与病情严重程度有关,其水平随病情加重而降低。循此思路,本研究分析双相障碍抑郁与抑郁症患者SP、Glu与BDNF水平差异,为临床鉴别单相和双相抑郁症提高新思路。报道如下:

## 1 一般资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2018年2月至2021年2月新乡医学院第二附属医院收治的双相障碍抑郁发作患者(双相抑郁组)42例,抑郁症患者(抑郁组)74例,选取同期体检的健康志愿者(对照组)36例。三组研究对象的性别、年龄及教育年限比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究所有入试者或其家属均自愿签署知情同意书。本研究符合赫尔辛基宣言。

抑郁症组入组标准:①患者均经本院确诊,检查结果符合《中国精神障碍分类与诊断标准第三版》<sup>[5]</sup>抑郁相关疾病诊断标准;②患者近期内(2周)未接受过相关抗抑郁治疗;③年龄 $>20$ 岁,汉密顿抑郁量表(Hamilton Depression Scale, HAMD)评分<sup>[6]</sup> $\geq 17$ 分;④所有研究对象具备小学及以上学历,可基本配合

研究进行。排除标准:①合并神经系统障碍或精神疾病史;②合并较严重脏器功能障碍或恶性肿瘤疾病,无法配合研究进行;③妊娠期或哺乳期女性。

### 1.2 方法

患者分别入组后,先记录基础资料信息,结合发病时间、发病状态和以往治疗史评估病情,初步判定病情严重程度,同时纳入同期体检健康对照组。在治疗前,采集两组患者清晨空腹静脉血5 mL,常温环境静置30 min,采用4 000 r/min速率,离心处理10 min,离心半径10 cm,取上清液置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱待测。两组患者的临床症状由同一位有丰富经验的精神科医师进行评估,量表选取采用汉密顿抑郁量表17项(Hamilton Depression Scale 17, HAMD-17)及汉密顿焦虑量表(Hamilton Anxiety Scale, HAMA)<sup>[7]</sup>,评估范围为入院前1周内的症状严重程度,包括抑郁情绪、焦虑情绪、有罪感、自杀倾向、睡眠状态、生理阻滞等多个项目。患者评估结束后,再进行其他项目检测,给予常规抗抑郁、焦虑相关治疗措施,后续根据评估结果和具体病情进行针对性治疗。

### 1.3 观察指标

①社会人口学资料:自制基础问卷,收集研究对象的基本资料,记录姓名、性别、年龄、病程、始发年龄、受教育年限等。②分别入组并采集三组研究对象血清样本后,取出待测样本,采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定血清SP、Glu、BDNF水平<sup>[7]</sup>。试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。③临床症状:由同一位有丰富经验的精神科医师进行评估,其中HAMD-17共17个项目,采用5级评分法,分数越高代表抑郁症状越严重;HAMA用以评估焦虑症状,采用5级评分法,分数越高代表焦虑症状越严重<sup>[7]</sup>。

### 1.4 统计学方法

本实验数据采用SPSS 22.0软件分析,计数

据采用  $n(\%)$  表示, 组间行  $\chi^2$  检验; 计量数据采用  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 两组间比较用  $t$  检验, 多组间比较用  $F$  检验, 组内两两比较采用  $LSD-t$  检验; 采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 SP、Glu、BDNF、临床症状评分对双相障碍抑郁的诊断价值, 判别指标的敏感性和特异性及曲线下面积(AUC)。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组基本资料比较

三组间研究对象的性别比例、年龄、本次病程、发病年龄、受教育年限比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 三组血清指标及症状评分比较

三组血清 SP、HAMD、HAMA 评分比较: 抑郁组 > 双相抑郁组 > 对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。BDNF 水平比较: 对照组 > 抑郁组 > 双相抑郁组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 血清 Glu 水平比较: 双相抑郁组 > 抑郁组 > 对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 血清指标及症状评分对抑郁障碍的鉴别诊断效能经 ROC 分析, 血清 SP、BDNF 及症状评分 HAMD、

HAMA 联合检测 AUC 值为 0.906, 优于单一检测 ( $P < 0.05$ )。见表 3 及图 1。

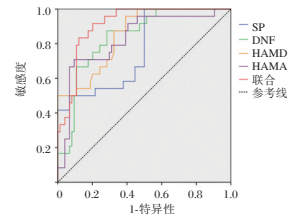


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

抑郁症是心境障碍典型病症, 其核心症状时显著持久的情绪低落、兴趣减退等。近些年, 抑郁症发病群体逐渐扩大, 其合并症以及引发的社会问题波及范围较广, 严重威胁人类健康和社会生活质量。双相障碍抑郁相是指诊断为双相情感障碍的抑郁患者, 除失眠早醒、食欲减退、持久性情绪低落、思维联想迟缓等典型抑郁发作症状外, 还可表现出情绪过度兴奋、躁狂状态<sup>[8-9]</sup>。但由于它们都是发作性的精神疾病, 具有多数类似症状, 且发病时的症状复杂, 呈周期性持续状态, 实际临床上可能存在误诊风险, 不利于制定准确的治疗方案。因此, 需尽早鉴别诊

表 1 三组基本资料比较 [ $n(\%)$ ,  $(\bar{x} \pm s)$ ]

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

分组	$n$	性别(男/女, 例)	年龄(岁)	本次病程(月)	发病年龄(岁)	受教育年限(年)
双相抑郁组	42	17/25	40.81±6.37	2.19±0.51	25.39±2.96	11.46±3.59
抑郁组	74	29/45	40.29±6.14	2.24±0.43	24.95±2.47	11.40±3.26
对照组	36	20/16	40.68±6.66			12.79±3.46
$F/t/\chi^2$ 值		2.845	0.104	0.562	0.857	2.228
$P$ 值		0.241	0.901	0.575	0.393	0.111

表 2 三组血清指标及症状评分对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum indexes and symptom scores of three groups ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	$n$	SP(ng/L)	Glu(mg/L)	BDNF(ng/mL)	HAMD(分)	HAMA(分)
双相抑郁组	42	5.13±2.55 <sup>ab</sup>	37.02±7.10 <sup>ab</sup>	26.07±5.04 <sup>ab</sup>	17.95±5.06 <sup>ab</sup>	20.04±3.14 <sup>ab</sup>
抑郁组	74	8.18±2.58 <sup>a</sup>	36.03±7.00 <sup>a</sup>	35.08±7.08 <sup>a</sup>	24.86±3.44 <sup>a</sup>	24.29±3.23 <sup>a</sup>
对照组	36	4.06±1.18	28.01±4.08	46.02±7.06	4.10±1.19	5.21±1.26
$F$ 值		42.014	23.390	89.196	396.107	545.139
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与抑郁组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 血清指标及症状评分对抑郁障碍的鉴别诊断效能

Table 3 Differential diagnostic efficacy of serum indexes and symptom scores for depressive disorders

变量	AUC	SD	临界值	敏感度	特异度	约登指数	95%CI	$P$ 值
SP	0.762	0.046	9.085	0.976	0.500	0.476	0.671~0.852	<0.001
BDNF	0.849	0.036	31.305	0.905	0.689	0.594	0.778~0.919	<0.001
HAMD	0.858	0.033	23.140	0.905	0.676	0.581	0.793~0.924	<0.001
HAMA	0.831	0.040	21.265	0.667	0.905	0.572	0.753~0.909	<0.001
联合	0.906	0.027	-	0.929	0.730	0.659	0.853~0.959	<0.001

断双相抑郁障碍和抑郁症,及时制定相应的治疗方案和措施,以提高患者预后质量。

BDNF是一种具有神经营养作用的蛋白质,与其受体广泛分布于中枢神经系统、周围神经系统、内分泌系统、骨和软骨组织等广泛区域内,主要表达于中枢神经系统尤其是海马和皮质中<sup>[10-11]</sup>。BDNF含有神经营养因子,与酪氨酸激酶B(TrkB)结合后可促进神经细胞生存,增加突触可塑性及神经发生。SP广泛分布于细神经纤维内,电刺激感觉神经或经细传入纤维传出的反射冲动可刺激中枢端和外周端末梢释放SP,SP与受体结合发挥生理作用<sup>[12]</sup>。临床研究发现,SP可通过促进Glu等物质释放参与痛觉传递,或促进脑啡肽释放进行镇痛作用。Glu则广泛分布于杏仁核、海马、下丘脑、前额叶皮质等情感调节相关脑区,在神经递质信号异常后发生水平变化。在本研究结果提示双相抑郁和抑郁症患者的神经营养因子合成与分泌平衡系统紊乱,机体痛觉等生理功能存在障碍,且双相抑郁患者发作时紊乱程度更严重<sup>[13-14]</sup>。在抑郁、焦虑症状评估中,两组患者的HAMD、HAMA评分明显高于对照组,双相抑郁患者两项评分高于抑郁组,表明双相抑郁患者的抑郁、焦虑症状更严重。在本研究中,两组患者之间的Glu水平差异不明显,而廖继武<sup>[15]</sup>在相关研究中发现双相抑郁患者的Glu/GABA值明显高于抑郁组。由此推测,抑郁患者在发作时的Glu水平处于实时不平衡状态,单项指标检测存在较大误差,仍需探究与之相关的指标进行综合考量。

本研究综合分析血清指标和症状评分,分析血清SP、BDNF及症状评分HAMD、HAMA均对双相抑郁障碍和抑郁症具有中等鉴别诊断价值,而血清指标及症状评分联合检测则具有较高诊断价值(AUC>0.9)。其中,联合检测的诊断敏感性最高(92.9%),HAMA评分特异性最高(90.5%)。由此分析,抑郁相关患者的神经传导功能异常引发的血清指标异常可以通过患者抑郁、焦虑症状表现出来。再加上,双相抑郁障碍与抑郁症患者的焦虑程度存在较大差异,可作为特异性指标进行前期筛查,而血清指标与症状评分结合考察可以提高鉴别灵敏程度,以此降低误诊率。

综上所述,双相障碍抑郁与抑郁症血清指标SP、Glu、BDNF紊乱,且双相障碍抑郁患者血清指标紊乱程度和焦虑抑郁症状更严重,联合检测可

作为区别诊断的有利手段。

## 参考文献

- [1] Kivimaki M, PHD, PHD, et al. Bidirectional association between depression and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies [J]. *Diabetes Care*, 2018, 36(2):E27-E27.
- [2] Femke, Lamers, Yuri, et al. Longitudinal Association Between Depression and Inflammatory Markers: Results From the Netherlands Study of Depression and Anxiety. [J]. *Biol Psychiatry*, 2019, 85(10):829-837.
- [3] 黄娟,付冰冰,杨帆.双相情感障碍抑郁发作急性期治疗后残留症状及其影响因素[J].*神经疾病与精神卫生*, 2019, 19(3):277-281.
- [4] 王梅,程韬,杨开仁,等.抑郁症患者血清脑源性神经生长因子、P物质、白细胞介素-6水平变化及临床意义[J].*中国医药导报*, 2019, 16(13):95-98.
- [5] 中华医学会精神病学分会.中国精神障碍分类与诊断标准第三版(精神障碍分类)[J].*中华精神科杂志*, 2001, 34(3):184-188.
- [6] Rodriguez-Seijas C, Thompson JS, Diehl JM, et al. A Comparison of the Dimensionality of the Hamilton Rating Scale for Anxiety and the DSM-5 Distress Anxious Specifier Interview [J]. *Psychiatry Res*, 2020, 284:112788.
- [7] 钟晓波,范洁,李慧,等.双相障碍抑郁发作及单相抑郁症患者血清T3、T4、TSH和BDNF水平的相关性分析[J].*现代生物医学进展*, 2020, 20(13):2576-2580.
- [8] 吕京,许桂峰,陈洪杰,等.乳腺癌化疗患者抑郁发生情况及其影响因素分析[J].*华南预防医学*, 2020, 46(6):706-708.
- [9] Liu X, Cheng C, Liu Z, et al. Longitudinal assessment of anxiety/depression rates and their related predictive factors in acute ischemic stroke patients: A 36-month follow-up study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(50):e28022.
- [10] 李艳静,翟南因,万芳,侯淑敏.维持性血液透析患者IL-1β、BDNF及5-HT水平与焦虑/抑郁的关系[J].*分子诊断与治疗杂志*, 2021, 88(12):1935-1938.
- [11] 屠世欢,陈燕梅,董翔.血清TBARS与BDNF的联合检测对双相情感障碍患者的诊断价值分析[J].*神经损伤与功能重建*, 2021, 16(11):672-674.
- [12] 赵指亮,谢飞,范大庆,等.高龄抑郁症患者血清BDNF、SP、IL-18表达水平分析[J].*国际精神病学杂志*, 2019, 46(1):63-65.
- [13] 彭菊意,呼亚丽,任燕,等.双相障碍抑郁发作病人病耻感与正念水平的相关性研究[J].*护理研究*, 2019, 33(10):1817-1820.
- [14] 孔兰兰,路月英,王育梅. BDNF水平及其Val66Met基因多态性与双相障碍患者认知功能损害、临床疗效关系的研究进展[J].*山东医药*, 2019, 59(9):87-90.
- [15] 廖继武,杨海华,王丝丝,等.双相障碍抑郁发作患者血清谷氨酸系统代谢紊乱特征及相关因素[J].*中国神经精神疾病杂志*, 2019, 45(9):540-544.

## TST、TB-Ab、IGRA 三种检测方法在尘肺合并 LTBI 诊断中的应用价值

吴志伟<sup>1\*</sup> 张秀华<sup>1</sup> 闫志伟<sup>1</sup> 陈娜<sup>1</sup> 温陈勇<sup>1</sup> 项保利<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 探讨皮肤结核菌素试验(TST)、人结核杆菌抗体(TB-Ab)、 $\gamma$ -干扰素释放试验(IGRA)三种检测方法对提高尘肺合并潜伏性结核感染(LTBI)诊断效率的应用价值。方法 选取张家口市肺科医院2018年1月至2019年1月就诊的150例符合条件的尘肺患者为研究对象,所有患者均接受TST、TB-Ab、IGRA检测,比较三种方法检测的阳性率情况,比较不同期别尘肺的阳性率结果及在不同期别尘肺中具体数值。结果 TST的阳性率为36.67%,TB-Ab的阳性率为30.67%,IGRA的阳性率为54.67%,IGRA阳性率较高。IGRA与TST和TB-Ab的阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。随着尘肺期别的升高,IGRA和TB-Ab检测阳性率均有提高,TST阳性率未见明显变化。尘肺壹期时IGRA与TST的阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );尘肺贰期和尘肺叁期时IGRA与TST阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。尘肺壹期和贰期时IGRA和TB-Ab阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),尘肺叁期时IGRA和TB-Ab阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。随着尘肺期别的升高,TST的阳性反应程度有所下降,TB-Ab和IGRA的阳性数值呈正性增长。结论 TST和TB-Ab临床仍值得作为尘肺合并LTBI的常规筛查方式,IGRA检测可明显提高尘肺合并LTBI诊断效率,值得在临床中的进一步推广和应用。

**[关键词]** TST; TB-Ab; IGRA; 尘肺; LTBI

### Application value of TST, TB-AB and IGRA in the diagnosis of pneumoconiosis complicated with LTBI

WU Zhiwei<sup>1\*</sup>, ZHANG Xiuhua<sup>1</sup>, YAN Zhiwei<sup>1</sup>, CHEN Na<sup>1</sup>, WEN Chenyong<sup>1</sup>, XIANG Baoli<sup>2</sup>

(1. Department of Respiratory Medicine, Zhangjiakou Pulmonary Hospital, Zhangjiakou, Hebei, China, 07544; 2. Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the application value of TST, TB-AB and IGRA in improving the diagnostic efficiency of pneumoconiosis complicated with LTBI. **Methods** A total of 150 eligible patients with pneumoconiosis treated in Zhangjiakou Pulmonary Hospital from January 2018 to January 2019 were selected as the research objects. All patients received TST, TB-AB and IGRA tests. The positive rate of the three methods, the positive rate of pneumoconiosis in different periods and the specific value in different periods were compared. **Results** The positive rate of TST was 36.67%, the positive rate of TB-AB was 30.67%, the positive rate of IGRA was 54.67%, and the positive rate of IGRA was relatively high. Compared with the positive rate of IGRA and TST and TB-AB, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). With the increase of pneumoconiosis stage, the positive rate of IGRA and TB-AB increased, but the positive rate of TST did not change significantly. There was no significant difference in the positive rate of IGRA and TST in stage I pneumoconiosis ( $P>0.05$ ), the positive rate of IGRA and TST in stage II and stage III of pneumoconiosis was statistically significant ( $P<0.05$ ). The positive rate of IGRA and TB-AB in stage I and

基金项目:河北省财政厅老年病防治项目(361009);张家口市市级科技计划自筹经费项目(1821070D)

作者单位:1.河北省张家口市肺科医院呼吸内科,河北,张家口 075441

2.河北北方学院附属第一医院呼吸内科,河北 张家口 075000

\*通信作者:吴志伟, E-mail:446406947@qq.com

stage II pneumoconiosis was statistically significant ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the positive rate of IGRA and TB-AB in the third stage of pneumoconiosis ( $P>0.05$ ). With the increase of pneumoconiosis stage, the positive degree of TST decreased, and the positive values of TB-AB and IGRA increased positively.

**Conclusion** TST and TB-AB are still worthy of routine screening for pneumoconiosis complicated with LTBI in clinical practice. IGRA detection can significantly improve the diagnostic efficiency of pneumoconiosis complicated with LTBI, which is worthy of further promotion and application in clinical practice.

[KEY WORDS] TST; TB-AB; IGRA; Pneumoconiosis; LTBI

尘肺是现阶段我国最主要也是最严重的职业病。《2020年我国卫生健康事业发展统计公报》<sup>[1]</sup>显示:2020年全国共报告各类职业病新病例17 064例,职业性尘肺病14 367例,因尘肺病死亡6 668例。尘肺患者容易合并结核,结核是引起尘肺患者死亡的主要原因之一。

潜伏性结核感染(Latent tuberculosis infection, LTBI)是指机体对结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)抗原存在持续免疫应答状态,但无活动性结核感染的临床证据<sup>[2]</sup>。诊断LTBI的技术原理,是通过检测机体的结核病特异性免疫反应<sup>[3]</sup>。尘肺合并LTBI是尘肺合并MTB感染最主要的存在方式。LTBI者一生中重新激活的风险约为5%~10%<sup>[4]</sup>,尘肺、糖尿病、HIV或其它导致免疫力低下等危险因素会大幅提高发病的风险。世界卫生组织(World health organization, WHO)在2018年发布的《Latent tuberculosis infection: updated, consolidated guidelines for programmatic management, 潜伏性结核感染管理指南》<sup>[5]</sup>中,强烈推荐对高风险人群(包括尘肺人群)进行LTBI筛查和预防性治疗。

$\gamma$ -干扰素释放试验(Interferon-gamma release assay, IGRA)为结核病早期诊断提供帮助<sup>[6]</sup>。国外相关Meta分析提示,IGRA诊断LTBI的敏感度约为75%~90%,特异度约为77%~97%<sup>[7]</sup>。新的诊断及检测方式的出现可能明显提高尘肺合并LTBI的发现率。本研究探讨了皮肤结核菌素试验(Tuberculin skin test, TST)、人结核杆菌抗体(Tubercle bacillus antibody, TB-Ab)、IGRA三种检测方式对提高对尘肺合并LTBI诊断效率的应用价值,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

筛选纳入2018年1月至2019年1月于张家口市肺科医院初次诊断为尘肺的患者150名(全部为男性患者),患者年龄为31~76岁,年龄平均值48.7

岁,粉尘接触工龄时间为2~32年,平均工龄为(15.8±1.7)年;其中35例煤矿工人,78例黑色金属矿工人(铁矿、锰矿),33例有色金属矿工人(金矿、银矿),2例建筑材料及非金属矿工人,2例电焊工尘肺;其中尘肺壹期48例,尘肺贰期50例,尘肺叁期52例。纳入标准:初次来院诊断为尘肺的患者;排除标准:入院诊断为尘肺合并肺结核、并发人免疫缺陷病毒(HIV)感染、结核病密切接触者、接受免疫抑制剂治疗等免疫力低下的患者。本研究经过本院伦理委员会批准,所有纳入的研究对象均自愿参与本研究,并对本研究内容及意义知情同意。

### 1.2 诊断标准

#### 1.2.1 尘肺患者的影像学诊断标准

参照GBZ 70-2015《职业性尘肺的诊断》<sup>[8]</sup>。

#### 1.2.2 LTBI诊断标准<sup>[9]</sup>

在没有接种卡介苗(BCG)或没有非结核分枝杆菌(Nontuberculosis mycobacteria NTM)干扰时,以结核杆菌素纯蛋白衍生物(Purified protein derivative of tuberculin, TB-PPD)反应硬结平均直径 $\geq 5$  mm(+)视为MTB感染标准;在接种BCG或有NTM感染干扰时,以PPD反应硬结平均直径 $\geq 10$  mm(++)视为MTB感染标准;IGRA阳性(数值 $>14$ )视为MTB感染标准。

### 1.3 仪器与试剂

PPD试剂来自北京祥瑞生物制品有限公司,安瓿管:规格1 mL,内含50 IU结核菌素纯蛋白衍生物的稀释制剂;IGRA试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司,50人份/盒,检测仪器为厦门优迈科医学仪器有限公司的全自动化学发光免疫分析仪,型号:Caris200;TB-Ab(IgG/IGM双抗体)检测试剂盒由北京健乃喜生物技术有限公司生产,30人份/盒。

### 1.4 方法

所有患者一周内完成以下三种检测:TB-Ab、TST和IGRA检测。所有的检测均参照标准程序采集患者的静脉血,标本处理、保存方式均严格参照相关流程进行。各项检测操作的具体内容如下:



### 1.4.1 TST检测(PPD试验)

皮内注射法:在左前臂掌侧前 1/3 中央皮内注射 5 IU PPD,以局部出现 7 mm~8 mm 大小的圆形橘皮样皮丘为宜。结果判断参照 WS 288-2017 肺结核诊断附录 D《结核菌素皮肤实验》<sup>[10]</sup>。

### 1.4.2 TB-Ab检测(IgG/IGM双抗体)

采用胶体金法:吸取血清样本 1 滴(约 50 μL)滴加于检测卡上的样本孔内,另外滴加一滴样本稀释液,10 min 之内对结果进行判读,主要观察质控线 C、T1 和 T2 反应线。操作方法及结果判定严格按照试剂盒说明书的要求进行。

### 1.4.3 IGRA检测

采取待检测者的全血,经过培养后,采用 Elisa(酶联免疫吸附)方法定量分析样本中 γ-干扰素的释放水平,进而判断受试者 MTB 感染情况,IGRA<14 为阴性。

## 1.5 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理;计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验; $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三种检测方法的阳性率情况

TST 的阳性率为 36.67%,TB-Ab 的阳性率为 30.67%,IGRA 的阳性率为 54.67%,IGRA 阳性率较高。IGRA 与 TST 和 TB-Ab 的阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 三种检测方法的阳性率情况

检测项目	阳性例数	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	$P$ 值
TST 检测	55	36.67 <sup>a</sup>	9.79	0.002
TB-Ab 检测	46	30.67 <sup>a</sup>	17.66	0.001
IGRA 检测	82	54.67		

注:IGRA 与 TST、TB-Ab 比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 不同期别尘肺三种检测方法的阳性率情况

随着尘肺期别的升高,IGRA 和 TB-Ab 检测阳性率均有提高,TST 阳性率未见明显变化。尘肺壹期时 IGRA 与 TST 的阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );尘肺贰期和尘肺叁期时 IGRA 与 TST 阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。尘肺壹期和贰期时 IGRA 和 TB-Ab 阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),尘肺叁期时 IGRA 和 TB-Ab 阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

### 2.3 不同期别尘肺三种检测方法的具体数值

随着尘肺期别的升高,TST 的阳性反应程度有

所下降,TB-Ab 和 IGRA 的阳性数值呈正性增长。见表 3。

表 2 不同期别尘肺三种检测方法的阳性率比较 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Comparison of positive rate of three different detection methods for pneumoconiosis at different periods [ $n(\%)$ ]

期别	$n$	TST	TB-Ab	IGRA
壹期	48	19(39.58)	9(18.75) <sup>a</sup>	23(47.92)
贰期	50	17(34.00) <sup>a</sup>	14(28.00) <sup>a</sup>	28(56.00)
叁期	52	19(36.54) <sup>a</sup>	23(44.23)	31(59.62)
$\chi^2$ 值		4.89(贰期)	9.19(壹期)	
		5.55(叁期)	8.05(贰期)	
$P$ 值		0.027(贰期)	0.002(壹期)	
		0.019(叁期)	0.004(贰期)	

注:IGRA 与 TST、TB-Ab 比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ 。

表 3 不同期别尘肺三种检测方法的具体数值

Table 3 Specific values of three different detection methods for pneumoconiosis at different times

期别	TST			TB-Ab (IgG/IGM)	IGRA		
	+	2+	3+		14~40	40~70	70以上
壹期	8	7	4	9	11	8	4
贰期	6	7	4	14	12	11	5
叁期	9	7	3	23	10	13	8

## 3 讨论

尘肺合并 LTBI 的筛查,临床中常采用 TST,该实验具有操作简便、成本低廉的特点。但是结核菌素其中部分与 BCG 和 NTM 的抗原成分相同,易受 BCG 接种和 NTM 感染的影响,特异度较低,且对 HIV 感染等免疫功能受损人群的敏感度不足。常用的 PPD 是通过 MTB 或卡介苗菌经纯化制成,其中可能仍有变性蛋白。

MTB 感染主要是细胞免疫,所以筛查尘肺合并 LTBI 以细胞免疫学为主导<sup>[11]</sup>,TB-Ab 是体液免疫检测方式。尘肺患者免疫力的降低,导致 T 淋巴细胞数量减少,B 淋巴细胞代偿性增多,相对应则是导致细胞免疫下降,体液免疫亢进<sup>[12]</sup>。MTB 对机体产生刺激时,B 淋巴细胞分泌增多,而 B 淋巴细胞能够生成免疫球蛋白 IgM 和 IgG,结核菌感染早期,机体内免疫球蛋白以 IgM 为主,中晚期以 IgG 为主<sup>[13]</sup>,IgM 对提高尘肺合并 LBTI 检出率有一定的意义。本次研究试验阳性结果以 IgG 为主,说明 MTB 感染时间均较早。本研究结果显示尘肺期别越高,患者免疫力下降越明显,结核抗体的阳性率越高。胶体金法 TB-Ab 检测耗时短,成本低,操作简便,适合大样本量的筛查,由于敏感性特异性均

较低<sup>[14]</sup>,所以在临床应用还是受到了一定的限制。

目前 IGRA 作为一种基于细胞免疫反应的实验方法在肺结核的临床诊断中取得了较大的突破,多个国家已将 IGRA 用于诊断潜伏期的结核。目前该项实验在我国也得到了广泛的开展和应用,但是其关于尘肺合并肺结核诊断方面的研究报道较少<sup>[15]</sup>。IGRA 的理论优点是:敏感度与特异度较 TST 高;不受卡介苗接种与大多数分枝杆菌的干扰<sup>[16]</sup>;报告速度快;属于体外实验,不会产生过敏的情况;不受主观因素的干扰。但是在实际使用中发现:在中、低收入及结核病高负担国家,IGRA 与 TST 相比并没有足够的优势;不同地区、不同人群中 IGRA 的特异度和敏感度均存在较大差异;不能区分潜伏感染与活动性结核;不能排除几种 NTM(堪萨斯分枝杆菌、海分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌等);IGRA 在技术、操作程序、样本检测等各方面较 TST 复杂;还有成本较高等缺点。目前 IGRA 的应用范围及结果解读存在较大争议,我国于 2014 年公布了《 $\gamma$ -干扰素释放试验在中国应用的建议》<sup>[17]</sup>,明确指出 IGRA 对结核病高发人群进行 LTBI 筛查、追踪及干预具有积极意义。

本研究结果显示早期尘肺患者 TST 和 IGRA 阳性率比较无明显的差异,可能这个时期患者的免疫功能基本正常,两种检测方式导致的细胞免疫反应和普通人没有区别;但是 IGRA 和 TB-Ab 检测阳性率在尘肺壹期和贰期时阳性率比较差异有显著区别,可能与 TB-AB 是体液免疫而且敏感性较低有关系。当中晚期(贰、叁期)尤其是出现各种合并症如结核、感染、COPD 等,使患者的免疫功能下降,IGRA 与 TST 阳性率比较差异明显,IGRA 和 TB-AB 阳性率比较差异却不明显;同时研究显示随着尘肺期别的提高 TST 阳性程度(皮丘大小)也是下降或减小的,这说明 TST 受免疫力影响较大,而 IGRA 受免疫力影响较小,可能是 IGRA 检测程序上已经消除了淋巴细胞数量减少导致免疫力低下对检测结果的影响有关系。IGRA 阳性数值<70 的有 65 例占 79.27%,而>70 的有 17 例占 20.73%,从一个侧面说明大部分的尘肺合并结核的 IGRA 阳性值范围在 14~70 之间。

本次研究结果显示,随着尘肺期别的提高尘肺合并 LTBI 呈正增长;三种检查结果中 IGRA 的阳性率最高,说明 IGRA 在筛查尘肺合并 LTBI 中有着很大的优势。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会规划发展与信息化司. 2020 年我国卫生健康事业发展统计公报 [EB/OL]. (2021 - 07 - 13) <http://www.nhc.gov.cn/guihuaxxs/s10743/202107/af8a9c98453c4d9593e07895ae0493c8.shtml>
- [2] 周林,初乃惠,陆伟. 高危人群结核分枝杆菌潜伏感染检测及预防性治疗专家共识[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(9): 874-878.
- [3] 李果,庞先琼,徐华,等. 潜伏性结核感染诊治进展[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(1): 91-95.
- [4] Salgame P, Geadas C, Collins L, et al. Latent tuberculosis infection - Revisiting and revising concepts [J]. Tuberculosis (Edinb), 2015, 95(4): 373-384.
- [5] World Health Organization. Latent tuberculosis infection: updated, consolidated guidelines for programmatic management [R]. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [6] 苟甜甜,向章朋,柳梦君,等. TB-DNA 和 IGRAs 对川西高原地区肺结核诊断的适用性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3): 292-295.
- [7] Ferreira TF, Matsuoka Pda F, Santos AM, et al. Diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: tuberculin test versus interferon - gamma release [J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2015, 48(6): 724-730.
- [8] GBZ(卫生) 70-2015. 职业性尘肺病的诊断[S]. 2015
- [9] 国家卫生健康委办公厅关于印发中国结核病预防控制工作技术规范 [2020 年版]. 的通知 [A/OL]. 国家卫生健康委员会办公厅. <http://tb.chinacdc.cn/ggl/202004/P020200414515703939844.pdf>. 2020
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS288-2017 肺结核诊断附录 D《结核菌素皮肤实验》[S], 2017-11-09.
- [11] 陈志强,周武旺,卢雪梅,等. 结核杆菌特异性细胞免疫反应检测在尘肺并发肺结核诊断中的意义[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2018, 36(11): 868-869.
- [12] 李娟,郑全辉,刘亚楠,等. 尘肺患者外周血中 T 淋巴细胞亚群及免疫球蛋白的改变[J]. 工业卫生与职业病, 2013, 39(1): 5-8.
- [13] 李静. 探讨血清中结核分枝杆菌 IgG/IgM 抗体检测在肺结核诊断中的应用[J]. 中国处方药, 2018, 17(1): 132-133.
- [14] 李霜君,张治国,余琴,等. 胶体金免疫层析法检测结核分枝杆菌特异性 IgG/IgM 抗体对结核病诊断的应用价值[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(2): 139-143.
- [15] 孙强中,胡清利.  $\gamma$ -干扰素释放试验在硅肺结核诊断中的应用及临床价值[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(2): 181-183.
- [16] 王甲甲,唐义斌,张玲英,等.  $\gamma$ -干扰素释放实验在结核病诊断中的应用价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(2): 115-137.
- [17] 中华医学会结核病学分会,《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会.  $\gamma$ -干扰素释放试验在中国应用的建议[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(10): 744-747.

· 论 著 ·

## NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 在心力衰竭合并重症肺炎患者中的表达及临床意义

马为\* 高梦琦 荆翠翠 曲石敏

**[摘要]** **目的** 分析氨基酸 B 型钠尿肽前体(NT-pro-BNP)、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)及降钙素原(PCT)在心力衰竭合并重症肺炎中的临床意义。**方法** 选取 2018 年 3 月至 2021 年 2 月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的 90 例心力衰竭合并重症肺炎患者(心衰合并肺炎组),同期 83 例单纯心力衰竭(心衰组)、88 例健康体检者(健康组);比较 NT-pro-BNP、cTnI、PCT 在不同人群、不同病情程度中的表达,分析三者与病情严重程度的相关性及对心力衰竭合并重症肺炎的诊断价值。**结果** 不同人群中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达情况均为:心衰合并肺炎组>心衰组>健康组( $P<0.05$ )。90 例患者根据 PSI 分级可得: I~II 级 38 例, III~IV 级 41 例, V 级 11 例。不同病情程度患者中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达情况均为:心衰合并肺炎组>心衰组>健康组( $P<0.05$ )。NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 与 PSI 评分均为正相关( $P<0.05$ )。NT-pro-BNP+cTnI+PCT 诊断心力衰竭合并重症肺炎灵敏度和特异度分别为 80.70%、72.50%;AUC=0.787 明显高于三者单独检测( $P<0.05$ )。**结论** NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 在心力衰竭合并重症肺炎患者中表达均明显上调,在疾病诊断、预后评估中具有重要意义。

**[关键词]** NT-pro-BNP; cTnI; PCT; 心力衰竭合并重症肺炎

### Preliminary study on the expression and clinical significance of NT-pro-BNP, cTnI and PCT in patients with heart failure and severe pneumonia

MA Wei\*, GAO Mengqi, JING Cuicui, QU Shimin

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

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the clinical significance of amino acid B-type natriuretic peptide precursor (NT-pro-BNP), cardiac troponin I (cTnI) and procalcitonin (PCT) in patients with heart failure complicated with severe pneumonia. **Methods** Ninety patients with heart failure complicated with severe pneumonia admitted to Beijing Shijitan Hospital of Capital Medical University from March 2018 to February 2021 (observation group) were selected, 88 patients who had healthy physical examination during the same period (healthy group) and 83 patients with simple heart failure during the same period were selected (heart failure group). The expressions of NT-pro-BNP, cTnI and PCT in different groups and different disease severity were compared. The correlation between the three levels and the disease severity of the patients and its value in diagnosis of heart failure with severe pneumonia were analyzed. **Results** The expressions of NT-pro-BNP, cTnI and PCT in different groups were as follows: observation group > heart failure group > healthy group ( $P<0.05$ ). According to the PSI classification of 90 patients, there were 38 cases at the grade I~II, 41 cases at the grade III~IV, and 11 cases at the grade V. The expressions of NT-pro-BNP, cTnI and PCT in patients with different disease severity were as follows: observation group > heart failure group > healthy group ( $P<0.05$ ). NT-pro-BNP, cTnI, PCT and PSI scores were all positively correlated ( $P<0.05$ ). The sensitivity and specificity

基金项目:北京市自然科学基金面上项目(7182135)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院重症医学科,北京 100038

\*通信作者:马为, E-mail:ningmengyezi2308@163.com

of NT-pro-BNP+cTnI+PCT in the diagnosis of heart failure combined with severe pneumonia were 80.70% and 72.50%, respectively, and AUC=0.787 were significantly higher than that of the three alone ( $P<0.05$ ).

**Conclusion** The expressions of NT-pro-BNP, cTnI and PCT are significantly up-regulated in patients with heart failure and severe pneumonia, which is of great significance in disease diagnosis and prognosis evaluation.

[KEY WORDS] NT-pro-BNP; cTnI; PCT; Heart failure with severe pneumonia

心力衰竭患者心脏泵血功能存在异常,引起肺静脉血液回心量减少,可导致肺内血液淤积从而提高肺部感染风险进而出现肺炎,尤其是重症肺炎<sup>[1]</sup>。目前对于心力衰竭合并重症肺炎患者需要进行抗生素干预治疗,而早期准确诊断则是影响此类患者预后及治疗效果的关键。氨基酸B型钠尿肽前体(Amino acid B-type natriuretic peptide precursor, NT-pro-BNP)是临床中监测心功能的重要指标,对患者预后、治疗均有重要参考价值<sup>[2]</sup>。心肌肌钙蛋白I(Cardiac troponin I, cTnI)为心肌细胞内的调节蛋白,是心肌损伤评估的重要参考指标<sup>[3]</sup>。降钙素原(Procalcitonin, PCT)在细菌性感染以及感染严重程度评估中使用价值高<sup>[4]</sup>。本文旨在分析NT-pro-BNP、cTnI及PCT在心力衰竭合并重症肺炎患者中的表达情况,探究其临床意义,为临床诊断治疗心力衰竭合并重症肺炎患者提供新的思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年3月至2021年2月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的90例心力衰竭合并重症肺炎患者(心衰合并肺炎组),其中男59例,女31例,平均年龄(78.25±3.29)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》<sup>[5]</sup>、重症肺炎诊断标准<sup>[6]</sup>。排除标准:①合并先天性心脏病、心肌梗死、脑卒中等疾病者;②临床资料不完整;③入院龄低于24 h者;④合并存在肺部外其他严重感染者。另选取本院同期83例治疗单纯心力衰竭患者(心衰组)以及88例健康体检者(健康组),健康组入选者身体健康,无肺部或心脏疾病,其中男58例,女30例,年龄69~95岁,平均年龄(77.98±3.87)岁;心衰组均为单纯心衰患者,无肺部炎症存在,其中男55例,女28例,年龄69~96岁,平均年龄(78.31±3.57)岁,三组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,

受试者或家属均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 NT-pro-BNP、cTnI及PCT检测方法

患者均在入院后次日清晨空腹行静脉抽血,健康组则在体检当日清晨空腹行静脉抽血检查。抽取血液3 mL,使用离心机离心,取上清液置于-70℃下待测。NT-pro-BNP、cTnI均使用微流控荧光免疫法检测,使用南京微测生物科技有限公司提供的免疫荧光分析仪(型号:MD001)以及其所配套试剂。PCT检测使用化学发光法,仪器为深圳市新产业生物医学工程股份有限公司提供的Maglumi 2000全自动化学发光免疫分析仪以及其所配套试剂。所有操作均按照仪器配套说明书进行。

#### 1.2.2 肺炎严重程度评分<sup>[7]</sup>

使用肺炎严重程度评分(Pneumonia severity score, PSI)对患者年龄、性别、脑血管疾病等20个参数进行评价,分值为10~30分,20个参数值综合为总分,女性患者需要减去10分。根据总分进行分级:I~II级为≤70分,III~IV级为≤130分,V级为>130分。

### 1.3 观察指标

①比较不同人群中NT-pro-BNP、cTnI及PCT表达水平。②比较不同病情程度患者中NT-pro-BNP、cTnI及PCT表达水平。③分析NT-pro-BNP、cTnI及PCT与患者病情严重程度相关性。④分析NT-pro-BNP、cTnI及PCT对心力衰竭合并重症肺炎患者的诊断价值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 $t$ 检验,多组间比较采用 $F$ 检验;使用Pearson检验分析NT-pro-BNP、cTnI及PCT与患者病情严重程度相关性;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析NT-pro-BNP、cTnI及PCT检测对心力衰竭合并重症肺炎的诊断价值,计算其检测曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同人群中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达水平比较

不同人群中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达情况均为：心衰合并肺炎组>心衰组>健康组，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 不同人群中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	NT-pro-BNP (pg/mL)	cTnI (ng/mL)	PCT (ng/mL)
健康组	88	82.26±10.33	0.09±0.01	0.81±0.11
心衰组	83	716.52±50.26 <sup>a</sup>	0.45±0.14 <sup>a</sup>	2.64±0.55 <sup>a</sup>
心衰合并肺炎组	90	4659.19±204.17 <sup>ab</sup>	0.95±0.25 <sup>ab</sup>	4.00±1.36 <sup>ab</sup>
F 值		871.32	597.07	310.30
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注：与健康组比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与心衰组比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 不同病情程度患者中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达水平

90 例患者中根据 PSI 分级可得：I~II 级 38 例，III~IV 级 41 例，V 级 11 例。不同病情程度患者中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达情况均为：V 级>III~IV 级>I~II 级，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 不同病情程度患者中 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 表达水平 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	NT-pro-BNP(pg/mL)	cTnI(ng/mL)	PCT(ng/mL)
I~II 级	38	2281.26±112.38	0.81±0.11	2.87±0.48
III~IV 级	41	5802.57±450.16 <sup>a</sup>	1.01±0.12 <sup>a</sup>	4.19±0.74 <sup>a</sup>
V 级	11	8612.21±554.17 <sup>ab</sup>	1.25±0.17 <sup>ab</sup>	7.25±1.95 <sup>ab</sup>
F 值		1645.11	62.31	105.61
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注：与 I~II 级比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与 III~IV 级比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 与患者病情严重程度相关性

NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 与 PSI 评分均为正相关( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.4 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 对心力衰竭合并重症肺炎患者的诊断价值

ROC 曲线分析结果显示，NT-pro-BNP+cTnI+PCT 三者联合者诊断心力衰竭合并重症肺炎灵敏

表 3 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 与患者病情严重程度相关性  
Table 3 Correlation between NT Pro BNP, cTnI and PCT and severity of disease

因子	r 值	P 值
NT-pro-BNP	0.615	<0.001
cTnI	0.499	0.017
PCT	0.717	<0.001

度和特异度分别为 80.70%、72.50%；AUC=0.787 (95% CI: 0.687~0.886)，明显高于三者单独检测( $P<0.05$ )。见表 4 及图 1。

表 4 NT-pro-BNP、cTnI 及 PCT 对心力衰竭合并重症肺炎患者的诊断价值

预测因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度	P 值
NT-pro-BNP	0.708	0.589~0.826	0.711	0.690	<0.001
cTnI	0.674	0.553~0.795	0.674	0.711	<0.001
PCT	0.762	0.654~0.870	0.759	0.685	<0.001
NT-pro-BNP+cTnI+PCT	0.787	0.687~0.886	0.807	0.725	<0.001

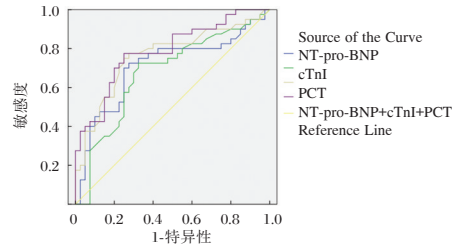


图 1 NT-pro-BNP、cTnI、PCT 单项及联合诊断心力衰竭合并重症肺炎 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve of NT Pro BNP, cTnI and PCT in diagnosis of heart failure complicated with severe pneumonia

## 3 讨论

在临床中常规 X 线胸片、血常规等无法及时分辨出心衰患者并发肺炎，在此情况下临床多以经验使用抗生素治疗，对患者预后造成不良影响。因此寻找合适快速的检验指标评估患者病情对预后积极影响<sup>[8]</sup>。

NT-pro-BNP 是脑利钠肽前体的裂解物之一，目前已经过循证医学证实是评估心衰的经典指标，在患者心脏搏出量不变时，心室负荷越多，其舒张末期的容积也就会越大。早在 2014 年我国心衰指南中就明确 NT-pro-BNP 在心衰诊断与鉴别中的临床价值，其表达明显高于正常水平或下调幅度低于 30% 则预示患者死亡风险增加<sup>[9]</sup>。以往研究发现，炎性介质、内毒素对心脏有直接的毒性

作用,并可介导BNP基因表达<sup>[10]</sup>。李蓉等人<sup>[11]</sup>研究也发现炎症因子可引起心肌损伤,导致NT-pro-BNP水平上调。cTnI是临床诊断心肌损伤的重要参考指标,心肌损伤后cTnI在循环血中最早出现,且检测窗口期长,与此同时cTnI与心肌肌钙蛋白T(cardiac troponin, cTnT)在不稳定性心绞痛、溶栓效果评估、心肌梗死面积预测等均具有重要的应用价值<sup>[12]</sup>。cTnI仅在心肌细胞中存在,对心肌损伤敏感性高,对感染性心力衰竭特异度高;cTnI无法进入血液循环,只有在心肌细胞膜受损时会被释放到外周血中,且其在血液中释放浓度与心肌损伤的面积大小为正比<sup>[13]</sup>。PCT为目前公认的新型炎性标志物,在感染鉴别诊断中特异度、灵敏度优异<sup>[14]</sup>。以往研究发现,当机体出现细菌感染时PCT可在3~4h内被检测到,6h后会急剧上升,24h内维持该浓度,对早期诊断价值高<sup>[15]</sup>。

在本研究中,通过分析NT-pro-BNP、cTnI及PCT在不同人群中的表达情况可知,不管是否合并肺炎患者血液中NT-pro-BNP、cTnI及PCT水平均有升高的现象,合并肺炎者其NT-pro-BNP、cTnI及PCT表达水平明显高于其他两组,分析可能由于感染因素导致患者心衰程度加重,进一步促进肺炎进展,恶性循环导致三者水平明显升高。且随着患者肺炎程度加重NT-pro-BNP、cTnI及PCT水平也呈逐渐升高趋势,与以往研究结果相符<sup>[16]</sup>。提示在患者心衰合并重症肺炎时,随着心脏负荷量增加,心肌损伤严重,从而引起了三者表达水平的进一步升高。通过相关性分析可知,NT-pro-BNP、cTnI及PCT与PSI评分为正相关,说明三者可反映心衰患者肺炎严重程度,对患者病情进展及评估有重要的参考价值。进一步ROC曲线分析显示,NT-pro-BNP、cTnI及PCT联合对心衰合并重症肺炎诊断效能高于三者单独诊断,提示三者可为心衰合并重症肺炎早期诊断提供参考依据,可作为患者诊疗及预后评估的参考指标。

综上所述,NT-pro-BNP、cTnI及PCT在心力衰竭合并重症肺炎患者中表达均明显上调,动态检测三者水平可了解患者病情进展变化,三者在疾病早期诊断、预后评估、临床疗效观察中具有重要意义。

## 参考文献

[1] 鲍晓梅,郑宏超.血清降钙素原水平在诊治老年心力衰竭合并肺炎患者中的临床意义[J].中华老年多器官疾病杂

志,2019,18(2):47-51.

- [2] 全强,黄冬花,陈秋月,等.不同类型心力衰竭患者超声心动图参数、NT-proBNP及其临床意义[J].中南医学科学杂志,2022,50(3):449-451+465.
- [3] 芦珊,韩英,丁粟.血清hs-CRP、cTn I、BNP及PCT联合检测对慢性心力衰竭的临床诊断价值[J].热带医学杂志,2021,21(2):193-196.
- [4] 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.
- [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] 张莉力,杨德昌.重症肺炎诊治研究进展[J].陕西医学杂志,2000,29(11):668-670.
- [7] Chen KX, Zhou XH, Sun CA, et al. Manifestations of and risk factors for acute myocardial injury after acute organophosphorus pesticide poisoning[J]. Medicine, 2019, 98(6):371.
- [8] 徐立彦,李晨,王华,等.慢性心力衰竭合并肺部感染患者心肌酶谱4项及炎症因子水平变化[J].贵阳医学院学报,2020,45(5):611-615.
- [9] 马爱闻,徐继扬,陈俊,等.N末端B型钠尿肽原及心肌肌钙蛋白I对慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压患者病情的评估价值[J].实用临床医药杂志,2020,24(7):21-24.
- [10] 李志宇,崔少华,耿立霞.生物标志物联合检测对脓毒性心肌损伤患者早期诊断及预后评估的价值[J].中华危重病急救医学,2021,33(4):6.
- [11] 李蓉,吴秀慧,李志波,等.重症肺炎合并心力衰竭患儿血清NT-proBNP、cTnI和H-FABP的表达水平及其与心功能的关系[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(10):1510-1512.
- [12] Wang L, Fan Y, Xu J, et al. The efficacy and safety of Tan-reqing injection combined with western medicine for severe pneumonia: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine, 2020, 99(35):e22010.
- [13] 董芳,任嘉玮,胡晓娟,等.血清NT-pro-BNP及PCT水平对老年心力衰竭合并肺炎患者近期预后的意义[J].临床肺科杂志,2019,24(3):91-95.
- [14] 张蓉,章世平,蒋元翠.血清cTnI、NT-proBNP水平与妊娠合并慢性心力衰竭患者心功能的相关性及其临床意义[J].心血管康复医学杂志,2019,28(2):152-156.
- [15] 蒋海清,黄霞,夏俊.小儿先天性心脏病合并心力衰竭外周血NT-proBNP、cTnI和CRP水平变化及其临床意义[J].华南国防医学杂志,2019,33(11):22-24+37.
- [16] 王皎平,陆光辉,褚志华,等.AHF血清Cys-C、NT-proBNP、cTnI水平及其对预后价值分析[J].临床和实验医学杂志,2020,19(23):2521-2524.

## 血液灌流联合透析对慢性肾病患者残余肾功能及血清 VEGF、ET-1 的影响

李素娜\* 王晓林 付景斐 柴晓培

**[摘要]** **目的** 探讨血液灌流联合血液透析治疗法对慢性肾脏病患者残余肾功能、血管内皮细胞生长因子(VEGF)及血管内皮素-1(ET-1)水平的影响。**方法** 选取河南省平顶山市第一人民医院2019年12月至2020年12月收治的108例慢性肾脏病患者,按照随机数字表分为实验组和对照组,每组各54例,对照组采用常规血液透析,实验组采用血液灌流联合血液透析治疗,比较两组患者治疗后的临床疗效、残余肾功能、VEGF、ET-1、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL-6)、C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素(IL-10)。**结果** 实验组有效率为92.59%,明显高于对照组的77.78%,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗3个月及半年后,两组残余肾功能均降低,但实验组高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后,两组VEGF、ET-1、TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、IL-10水平均降低,且实验组低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 血液灌流联合血液透析治疗对慢性肾脏病患者的残余肾功能有一定的保护作用,能清除中、大炎性分子物质,降低血清VEGF及ET-1水平,提高临床疗效。

**[关键词]** 血液灌流;血液透析;慢性肾脏疾病;残余肾功能

### Effect of hemoperfusion combined with dialysis on residual renal function and serum VEGF and ET-1 in patients with chronic renal disease

LI Suna\*, WANG Xiaolin, FU Jingfei, CHAI Xiaopei

(Hemodialysis Room, Pingdingshan First People's Hospital, Pingdingshan, Henan, China, 467000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the effect of hemoperfusion combined with hemodialysis on residual renal function and levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and vascular endothelin-1 (ET-1) in patients with chronic renal disease. **Methods** 108 patients with chronic renal disease admitted to Pingdingshan First People's Hospital, Henan Province were selected from December 2019 to December 2020, and they were divided into the experimental group and the control group according to the random number table method, with 54 cases in each group. The control group was given conventional hemodialysis and the experimental group was given hemoperfusion combined with hemodialysis. The clinical efficacy, residual renal function and levels of VEGF, ET-1, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-6, C-reactive protein (CRP) and interleukin (IL)-10 after treatment were compared between the two groups. **Results** The effective rate of the experimental group was 92.59%, which was significantly higher than that of the control group, 77.78%, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After 3 months and half a year of treatment, the residual renal function in both groups decreased, but the experimental group was higher than the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, the levels of VEGF, ET-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP, and IL-10 in the two groups were decreased, and the experimental group was lower than the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Hemoperfusion

基金项目:河南省科技厅资助项目(181200211915)

作者单位:河南省平顶山市第一人民医院血液透析室,河南,平顶山 467000

\*通信作者:李素娜, E-mail:byxln@163.com

combined with hemodialysis has a certain protective effect on the residual renal function of patients with chronic renal disease. It can remove medium and large inflammatory molecules, reduce the levels of serum VEGF and ET-1, and improve clinical efficacy.

[KEY WORDS] Hemoperfusion; Hemodialysis; Chronic renal disease; Residual renal function

慢性肾脏疾病是由多种因素引起的慢性肾脏结构功能障碍性疾病,该病随着肾功能障碍进行期恶化最终可发展为终末期肾衰竭<sup>[1]</sup>。炎症反应也是慢性肾脏疾病发生的诱因之一,慢性肾脏疾病发生时由于免疫反应、线粒体损伤、药物反应、氧化应激等因素,导致炎性因子进入血液循环,引起机体炎性病发生<sup>[2]</sup>。血液净化是治疗肾衰的主要手段,但常规的血液透析只能清除小分子水溶性物质(血肌酐、尿素氮),对于大分子水溶性物质(如肿瘤坏死因子、白细胞介素、甲状旁腺素等)不能有效清除,而大分子炎性物质是引起慢性肾脏疾病重要的因素<sup>[3]</sup>。血液灌流是将血液通过体外循环予以净化,从而有效地过滤掉大分子水溶性物质<sup>[4]</sup>。本研究采用血液灌流联合血液透析的方法治疗慢性肾脏疾病患者,旨在观察其对患者残余肾功能及血清 VEGF 及 ET-1 水平的影响,现报道如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取2019年12月至2020年12月河南省平顶山市第一人民医院肾内科收治的慢性肾脏疾病患者108例作为研究对象。纳入标准:①诊断符合第18版《实用内科学》<sup>[5]</sup>慢性肾脏疾病诊断标准;②年龄小于75岁;③同意本次治疗方案,签署同意书;④接受每周血液净化2次以上,每次3~4h;⑤治疗前未服用免疫抑制剂药物。排除标准:①治疗依从性差;②合并慢性感染、中毒的患者。③患有严重恶性肿瘤、传染病、严重心脑血管疾病患者。采用随机数字表法分为实验组和对照组,每组各54例,2组患者各方面临床资料比较差异

均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

### 1.2 治疗方法

两组患者均给予铁剂、叶酸、碳酸钙D3等补钙和纠正贫血等针对性治疗,对于合并其他疾病的患者,如高血压、糖尿病、痛风等,给予降压、降糖及降尿酸处理。对照组给予常规血液透析:使用仪器为德国费林尤斯F80聚砜膜透析器,透析液为碳酸氢盐,膜面积为1.8 m<sup>2</sup>超滤系数55 mL(h·mmHg),透析时间为4h/次,3次/周,连续透析半年。实验组采用血液灌流联合血液透析治疗:血液透析同对照组,血液灌流仪器采用HA130一次性使用血液灌流器(珠海健矾生物科技有限公司生产),将灌流器串联在透析器之前,先对灌流器和管路进行冲洗,再用含4%肝素的生理盐水冲洗,血流量维持在150~220 mL/min,先联合透析治疗2h随后去掉血液,灌流器再继续常规血液透析2h,每两周一次,连续半年。

### 1.3 观察指标

#### 1.3.1 两组治疗后临床疗效<sup>[6]</sup>

拟定临床疗效标准:显效为临床症状消失,生化异常指标消失;有效为临床症状和生化异常指标好转;无效为临床症状及生化指标异常未改善甚至加重。

#### 1.3.2 两组治疗前、治疗3个月、治疗半年残余肾功能

于治疗前、治疗3个月、治疗半年后分别采集空腹静脉血5 mL用于检测血清肌酐(SCr),同时采集晨尿记录24 h尿量,采用自动生化仪检测尿素氮(BUN)、尿肌酐(UCr),根据公式残余肾功能(RRF)=(UCr/SCr+尿BUN/血BUN)×24 h尿量×7×0.5<sup>[7]</sup>。

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

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

	<i>n</i>	性别		年龄(岁)	病程(年)	原发性肾病			
		男	女			慢性肾小球	高血压	多囊	糖尿病
实验组	54	31(57.41)	23(42.59)	49.38±6.49	3.47±1.12	18(33.33)	12(22.22)	5(9.25)	19(35.17)
对照组	54	28(51.85)	26(48.15)	50.21±5.56	3.53±1.19	21(38.89)	11(20.37)	6(11.11)	16(26.63)
$\chi^2$ 值		0.336		1.551	0.270	0.620			
<i>P</i> 值		0.562		0.124	0.788	0.891			



### 1.3.3 两组治疗前后各因子变化水平

两组患者于治疗前后取清晨空腹静脉血 5 mL, 用于检测血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管内皮素-1(ascular endothelin-1, ET-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(Interleukin-6, IL-6)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞介素 10(Interleukin-10, IL-10), 检测采用酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)。

### 1.4 统计方法

采用 SPSS 20.0 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, 计数资料以  $n(\%)$  表示, 行  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组治疗后临床疗效比较

实验组总有效率为 92.59%, 明显高于对照组的 77.78%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组治疗后临床疗效比较 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Comparison of clinical efficacy between the two groups after treatment [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	显效	有效	无效	总有效率
实验组	54	36(66.67)	14(25.92)	4(7.41)	50(92.59)
对照组	54	29(53.71)	13(24.07)	12(22.22)	42(77.78)
$\chi^2$ 值					4.696
$P$ 值					0.030

### 2.2 两组治疗前中后残余肾功能比较

治疗 3 个月及半年后, 两组残余肾功能均降低, 但实验组高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 4 两组患者治疗前后 VEGF、ET-1、TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of levels of VEGF, ET-1 and TNF- $\alpha$  before and after treatment in the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	VEGF(pg/mL)		ET-1(pg/mL)		TNF- $\alpha$ (ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	54	261.37 $\pm$ 39.47	181.27 $\pm$ 35.79	76.31 $\pm$ 12.48	52.37 $\pm$ 12.49	6.33 $\pm$ 0.75	1.37 $\pm$ 0.22
对照组	54	260.38 $\pm$ 41.27	213.47 $\pm$ 37.54	77.68 $\pm$ 13.86	62.79 $\pm$ 11.38	6.27 $\pm$ 0.81	3.48 $\pm$ 0.57
$t$ 值		0.127	4.562	0.028	4.531	0.400	25.378
$P$ 值		0.899	<0.001	0.978	<0.001	0.690	<0.001

表 5 两组患者治疗前后 IL-6、CRP、IL-10 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Comparison of levels of IL-6, CRP and IL-10 between the two groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	IL-6(ng/L)		CRP(mg/L)		IL-10(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	54	19.12 $\pm$ 5.37	8.94 $\pm$ 2.13	17.45 $\pm$ 2.57	6.58 $\pm$ 2.14	21.27 $\pm$ 3.54	12.16 $\pm$ 3.11
对照组	54	18.97 $\pm$ 5.42	12.37 $\pm$ 3.45	16.84 $\pm$ 2.34	10.23 $\pm$ 2.89	22.49 $\pm$ 4.12	16.45 $\pm$ 4.28
$t$ 值		0.231	6.217	1.289	7.459	1.650	5.959
$P$ 值		0.818	<0.001	0.200	<0.001	0.101	<0.001

表 3 两组患者治疗前中后残余肾功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mL/min)

Table 3 Comparison of residual renal function between the two groups before, during and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ , mL/min)

组别	$n$	治疗前	治疗 3 个月	治疗半年后
实验组	54	1.69 $\pm$ 0.14	1.37 $\pm$ 0.11	1.04 $\pm$ 0.21
对照组	54	1.72 $\pm$ 0.13	1.09 $\pm$ 0.12	0.43 $\pm$ 0.15
$t$ 值		1.154	12.639	17.370
$P$ 值		0.251	<0.001	<0.001

### 2.3 两组治疗前后 VEGF、ET-1、TNF- $\alpha$ 水平比较

治疗后, 两组 VEGF、ET-1、TNF- $\alpha$  水平均降低, 且实验组低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

### 2.4 两组患者治疗前后 IL-6、CRP、IL-10 水平比较

治疗后, 两组 IL-6、CRP、IL-10 水平均降低, 且实验组低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

## 3 讨论

慢性肾脏疾病患者长期进行血液透析会导致自身体内受到大量微生物和内毒素刺激, 从而产生炎症反应<sup>[8]</sup>。血液净化能有效过滤掉炎症细胞因子, 起到抑制炎症反应的作用, 改善患者预后。常规的血液透析对小分子炎症细胞因子清除十分显著, 但对大分子过滤不理想<sup>[9]</sup>。血液灌流是将患者血液在体外经过活性炭、树脂等吸附其中大分子炎症细胞的一种治疗手段, 但对小分子炎症细胞难以清除<sup>[10]</sup>。因此, 采用血液灌流联合方式, 在一定程度上消除患者体内炎症细胞分子, 避免大量有毒物质在患者体内蓄积, 从而有效改善患者肾功能。

陈鸿钰等<sup>[11]</sup>研究指出,血液灌流联合透析治疗比单纯使用血液透析治疗效果,这与本研究中实验组临床总有效率高于对照组的结论相同。考虑因为,常规的血液透析有很多的弊端,存在一定孔径,能有效清除肾脏毒素,但对肿瘤坏死因子等大炎症因子清除效率非常低;血液灌流具有吸附容量大和速度快的特点,能有效地清除大炎症因子,弥补常规血液透析不足的特点,进而有效地清除肾脏蓄积的毒素和患者体内炎症因子,维持患者机体稳定,改善临床疗效。此外,本研究结果发现,治疗半年后两组残余肾功能均下降,但实验组高于对照组,这与李阳等<sup>[12]</sup>研究结论一致。说明不同方式的血液透析都对残余肾功能造成损伤,但血液灌流联合血液透析治疗的方式损伤更小,这是因为长期血液透析可直接影响慢性肾疾病患者的残余肾功能,血液透析在进行血液净化时,会利用到残余肾功能维持过滤作用。常规的血液透析由于对血液净化不完全,给残余的肾功能造成过滤负荷。而血液灌流联合血液透析治疗对血液净化更彻底一些,减轻了残余的肾功能的负荷,有效缓解对残余肾功能的损害程度。

血管内皮功能具有调节血管舒和收缩及抑制血栓形成等功能,而长期血液透析对血管内皮功能存在损伤。VEGF分子是由血管内皮细胞、平滑肌细胞等多种细胞产生,可特异作用于血管内皮细胞。ET-1是由21个氨基酸组成的活性多肽,具有强烈的缩血管作用。当内皮细胞受到损伤时,会使VEGF、ET-1在体内不断蓄积<sup>[13]</sup>。本研究中,治疗后两组VEGF、ET-1水平均降低,且实验组低于对照组,这与梁颖兰等<sup>[14]</sup>研究结果相同,说明血液灌流联合血液透析治疗可降低血管内皮功能的损伤。考虑主要因为血液透析患者体内存在微炎症状态,加上氧化应激反应,会对血管内皮功能产生损伤,而血液灌流存在较强的吸附功能,能够将大分子物质清除,从而降低VEGF、ET-1水平。本研究还显示治疗后TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、IL-10水平均降低且实验组低于对照组,这一结果与穆立芹等<sup>[15]</sup>研究相似,说明血液灌流联合血液透析治疗能更好地清除慢性肾病患者体内大分子物质。对于慢性肾病患者来说,因体内微生物氧化应激反应及透析膜相容性等的刺激,使得巨噬细胞被激活,产生炎症反应,治疗后炎症因子水平下降,可促进血管内皮功能改善。

综上所述,血液灌流联合血液透析治疗能更好地保护残余肾功能及清除大分子物质,降低血清

VEGF及ET-1水平,提高临床疗效,值得临床推广应用。

## 参考文献

- [1] 梁辑. 血液灌流联合透析在治疗慢性肾功能衰竭中的研究[J]. 川北医学院学报, 2018, 33(2): 188-191.
- [2] Mohamed S S, Dominique D, Modou N, et al. Evaluation of Access to Care for Patients with Chronic Kidney Disease Not on Dialysis in Saint-Louis Region (SENEGAL) [J]. Open J Nephrol, 2020, 10(1): 1-10.
- [3] 张林芳, 严宏莉, 陈欣, 等. 血液灌流联合血液透析对慢性肾衰竭患者炎症因子及Hcy、PTH、 $\beta$ 2-MG的影响[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(10): 1919-1921+1837.
- [4] Tang LM, D Zhang, Li SY, et al. Effect of electroacupuncture on liver surface blood perfusion and related indexes of oxidative stress in mice with acute alcoholic liver injury [J]. Zhen C; Yan Jiu, 2020, 45(8): 628-632.
- [5] 陈灏珠, 实用内科学[M]. 第18版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 1472-1474.
- [6] 董晶莹, 李婧波, 韩春艳, 等. 血液透析和腹膜透析治疗老年终末期肾病的临床疗效[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(11): 2353-2356.
- [7] 陈秀娟, 朱昭明, 苏宝印. 参芪清毒胶囊对血液透析患者营养指标、氧化应激、炎症因子、残余肾功能的影响[J]. 陕西中医, 2021, 42(3): 334-337.
- [8] 李京, 王怡, 李霞. 血液透析联合血液灌流治疗对慢性肾病患者钙磷和脂质代谢的影响[J]. 重庆医学, 2020, 49(9): 1409-1412.
- [9] Quarti-Trevano F, Seravalle G, Dell'Oro R, et al. Autonomic Cardiovascular Alterations in Chronic Kidney Disease: Effects of Dialysis, Kidney Transplantation, and Renal Denervation [J]. Curr Hypertens Rep, 2021, 23(2): 1-7.
- [10] Dutragesualdo G, Gomesduarte J, Silvanazzetta M, et al. Frailty and associated risk factors in patients with chronic kidney disease on dialysis [J]. Ciên Saúde Colet, 2020, 25(11): 4631-463.
- [11] 陈鸿钰, 黎芳名, 曾丽梅. 血液灌流联合血液透析与血液透析滤过治疗老年慢性肾功能不全的疗效分析[J]. 临床肾脏病杂志, 2021, 21(7): 529-534.
- [12] 李阳, 王平, 王国祥, 等. 三种血液净化方式对维持性血液透析患者残余肾功能的影响[J]. 中国临床保健杂志, 2017, 20(1): 55-58.
- [13] 龚豪, 黄丽, 张庆红, 等. 维持性腹膜透析患者腹膜转运特性对患者内皮功能炎症因子及氧化应激状态的影响[J]. 河北医学, 2019, 25(5): 791-796.
- [14] 梁颖兰, 张琼. 血液透析联合血液灌流对糖尿病肾病维持性血液透析患者血清vWf、VEGF、sVCAM-1水平的影响[J]. 贵州医药, 2018, 42(7): 785-787, 795.
- [15] 穆立芹, 王静, 李明明, 等. 探讨尿毒症血液透析患者透析前后免疫指标及IL-6、CRP、IL-8、TNF- $\alpha$ 的变化[J]. 现代免疫学, 2017, 37(6): 489-493.

# 血清 netrin-4、Vitronectin 与急性缺血性脑卒中患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系

阳优 曹敏慧\* 何清 曾荣

**[摘要]** 目的 分析血清神经导向因子4(netrin-4)、玻连蛋白(Vitronectin)与急性缺血性脑卒中(AIS)患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系。方法 选择2019年5月至2020年5月郴州市第一人民医院收治的116例AIS患者作为研究组,同期进行体检的60例健康人群作为对照组。采用酶联免疫双抗体夹心法检测血清netrin-4、Vitronectin水平,并进行组间比较。采用Pearson相关分析探讨血清netrin-4、Vitronectin与AIS患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系,应用多因素Logistic回归分析探讨影响AIS患者神经功能的相关因素。结果 研究组血清Vitronectin水平明显高于对照组,血清netrin-4水平低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。分组AIS患者血清Vitronectin水平比较:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清netrin-4水平比较:重度组<中度组<轻度组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。动脉斑块组AIS患者血清Vitronectin水平明显高于无颈动脉斑块组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),血清netrin-4水平低于无颈动脉斑块组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。血清netrin-4水平与NIHSS评分、颈动脉IMT值均呈负相关( $r=-0.365$ 、 $-0.410$ ,  $P<0.001$ ),血清Vitronectin水平与NIHSS评分、颈动脉IMT值均呈正相关( $r=0.485$ 、 $0.445$ ,  $P<0.001$ )。多因素Logistic回归分析结果显示,血清netrin-4、Vitronectin均为AIS患者神经功能缺损程度的独立影响因素( $P<0.05$ )。结论 AIS患者血清中netrin-4水平降低,Vitronectin水平升高,且血清netrin-4、Vitronectin水平变化与神经功能缺损程度、颈动脉内膜厚度密切相关,二者能够作为评估AIS患者神经功能缺损程度与颈动脉内膜厚度的有效指标。

**[关键词]** 神经导向因子4;玻连蛋白;急性缺血性脑卒中;神经功能;颈动脉内膜厚度

## Relationship between serum netrin-4, vitronectin and neurological function and carotid artery intima thickness in patients with acute ischemic stroke

YANG You, CAO Minhui\*, HE Qing, ZENG Rong

(1. Department of Neurology, Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou, Hunan, China, 423000;  
2. Minimally Invasive Treatment Center of Tumor, East Hospital of Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou, Hunan, China, 423000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the relationship between serum neuroguidance factor 4 (netrin-4), vitronectin and neurological function and carotid intima thickness in patients with acute ischemic stroke (AIS). **Methods** A total of 116 AIS patients admitted to Chenzhou First People's Hospital from May 2019 to May 2020 were selected as the research group, and 60 healthy people who came to our hospital for check-up during the same period were selected as the control group. Serum levels of netrin-4 and Vitronectin were detected by enzyme-linked immunosorbent double-antibody sandwich method and were compared between groups. Pearson correlation analysis was used to explore the relationship between serum netrin-4, vitronectin and neurological function and carotid intima thickness in patients with AIS, and multivariate Logistic regression analysis was used to explore the related factors affecting neurological function in patients with AIS. **Results** The level of serum vitronectin in the study group was significantly higher than that in the control group, and the level of serum netrin-4 was lower than that in the control group ( $P<0.05$ ). Serum levels of vitronectin in AIS patients in the severe group were significantly higher than those in the moderate and mild

基金项目:湖南省残疾人联合会康复科研项目(2020XK033)

作者单位:1.郴州市第一人民医院神经内科一区,湖南,郴州 423000

2.郴州市第一人民医院东院肿瘤微创介入诊疗中心,湖南,郴州 423000

\*通信作者:曹敏慧, E-mail:410796995@qq.com

groups (severe group > moderate group > mild group,  $P < 0.05$ ), while serum netrin-4 levels were lower than those in the moderate and mild groups (Severe group < moderate group < mild group,  $P < 0.05$ ). The serum level of vitronectin in AIS patients in the arterial plaque group was significantly higher than that in the carotid plaque-free group ( $P < 0.05$ ), and the serum netrin-4 level was lower than that in the carotid plaque-free group ( $P < 0.05$ ). Serum netrin-4 level was negatively correlated with NIHSS score and carotid artery IMT value ( $r = -0.365, -0.410, P < 0.001$ ), and serum vitronectin level was positively correlated with NIHSS score and carotid artery IMT value ( $r = 0.485, 0.445, P < 0.001$ ). The results of multivariate Logistic regression analysis showed that serum netrin-4 and vitronectin were both independent influencing factors of the degree of neurological deficit in AIS patients ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The level of netrin-4 in serum of patients with AIS decreased, while the level of vitronectin increased, and the changes of serum netrin-4 and vitronectin levels were closely related to the degree of neurological deficit and carotid intima thickness. Both can be used as effective indicators to evaluate the degree of neurological deficit and carotid intima thickness in patients with AIS.

**[KEY WORDS]** Netrin-4; Vitronectin; AIS; Neurological function; Carotid intima thickness

急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 是一种由脑血管堵塞或狭窄引起脑供血不足而导致的脑组织坏死性疾病<sup>[1]</sup>。既往相关统计发现,我国脑卒中每年新发病例约 250 万,严重威胁人们的身体健康与生命安全<sup>[2]</sup>。有学者认为,早期识别疾病及其严重程度并予以干预对控制 AIS 患者致死率至关重要<sup>[3]</sup>。神经导向因子 4 (netrin-4) 是神经导向因子 Netrins 家族在脊椎动物中的新成员,在多种组织器官中发挥促血管新生等功能<sup>[4]</sup>。既往有研究显示,netrin-4 与肿瘤侵蚀、转移密切相关<sup>[5]</sup>。玻连蛋白 (Vitronectin) 是一种分泌性糖蛋白,在细胞生长、分化、增殖、迁移以及黏附中发挥重要的作用<sup>[6]</sup>。既往有研究发现, Vitronectin 在小鼠小脑细胞前体分化中具有重要作用<sup>[7]</sup>。本研究拟分析血清 netrin-4、Vitronectin 与 AIS 患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系,以期对 AIS 的防治提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2019 年 5 月至 2020 年 5 月郴州市第一人民医院收治的 116 例 AIS 患者作为研究组,其中男性 68 例,女性 48 例;年龄平均 ( $60.36 \pm 8.44$ ) 岁。纳入标准:①所有 AIS 患者均符合《急性缺血性卒中血管内治疗中国指南 2018》中 AIS 诊断标准<sup>[8]</sup>,并经过颅脑 CT 或核磁共振证实;②获得患者及家属的知情同意;③神志清楚,均能配合完成本研究中的各项检查与观察。排除标准:①严重心、肝、肾等脏器疾病者;②伴有自身免疫性疾病、血液性疾病、感染性疾病及恶性肿瘤疾病者;③存在除急性缺血性脑卒中其他脑部疾病或血管疾病者;④既往有脑部外伤以及

近期进行脑部外科手术者;⑤长期使用糖皮质激素治疗者;⑥精神病史或伴有语言、认知功能障碍者;⑦临床资料不全或无法完全配合研究者。同时选择同期来我院进行体检的 60 例健康人作为对照组,男性 40 例,女性 20 例;年龄平均 ( $59.96 \pm 8.25$ ) 岁。本研究已获医院医学伦理委员会审核与批准。

### 1.2 方法

①收集本研究对象基线资料与生化指标:包括年龄、性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史、体重指数、入院距发病时间基线资料以及生化指标血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (Triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)。

②血清 netrin-4、Vitronectin 检测方法:抽取本研究纳入对象入院次日清晨空腹外周静脉血 5 mL,加入含抗凝剂的硅化试管中,并在室温下以 3 000 r/min 离心 10 min (离心半径 12 cm),分离血浆后存放至  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱内备用,并在规定时间内采用酶联免疫双抗体夹心法测定血清 netrin-4 和 Vitronectin 水平。所有试剂盒由美国 CLOUD-CLONE 公司生产,具体步骤应严格按照试剂盒说明书进行。

③神经功能评分与分组:入院后采用美国国立卫生研究院卒中量表 (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)<sup>[9]</sup> 评分评估患者神经功能缺损程度,并根据评分结果分为轻度组 (NIHSS 评分  $< 5$  分)、中度组 ( $5 \text{分} \leq \text{NIHSS 评分} \leq 20$  分)、重度组 (NIHSS 评分  $> 20$  分)。④颈动脉内膜厚度测量与分组:入院后患者使用飞利浦公司产的 IE33 彩色多普勒超声诊断仪进行颈动脉超声检查,首选由

经过培训的同一名超声科医师在检测时嘱患者平卧位,暴露颈部皮肤,随后采用频率为7~12 MHz的探头从颈动脉锁骨上部开始,沿颈总动脉探查直至颈动脉分叉处,并测量分叉处前1 cm处内膜内层至中膜外层的厚度,即颈动脉内膜中层厚度(IMT),最后取左右两侧颈总动脉测量的平均值。随后根据测量结果将IMT<1.0 mm及IMT≥1.0 mm分为无颈动脉斑块组和颈动脉斑块组。

### 1.3 统计学分析

运用SPSS 23.0软件进行统计处理,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用两独立样本 *t* 检验或单因素方差分析比较;计数资料使用 *n*(%)描述,采用  $\chi^2$  检验比较;采用 Pearson 相关分析探讨血清 netrin-4、Vitronectin 与 AIS 患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系;采用多因素 logistic 回归分析探讨影响 AIS 患者神经功能的相关因素,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组基线资料及血清 netrin-4、Vitronectin 比较

两组年龄、性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史、体重指数、入院距发病时间比较无统计学意义(*P*>0.05)。研究组血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C、Vitronectin 水平均明显高于对照组,血清 netrin-4 低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

表1 两基线资料及血清 netrin-4、Vitronectin 比较  
[*n*(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 1 Comparison of baseline data and serum netrin-4 and vitronectin between 2 groups [*n*(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

指标	研究组 ( <i>n</i> =116)	对照组 ( <i>n</i> =60)	$\chi^2/t$ 值	<i>P</i> 值
性别(男/女)	68/48	40/20	1.080	0.299
年龄(岁)	60.36±8.44	59.96±8.25	0.300	0.764
吸烟史	30(25.86)	18(30.00)	0.341	0.559
高血压史	80(68.97)	35(58.33)	1.974	0.160
糖尿病史	70(60.34)	30(50.00)	1.725	0.189
体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	24.10±2.20	24.33±2.65	0.612	0.541
入院距发病时间(h/IQR)	26.20±5.62			
TG(mmol/L)	5.02±0.36	4.23±0.22	15.550	<0.05
TC(mmol/L)	1.83±0.21	1.36±0.14	15.523	<0.05
LDL-C(mmol/L)	2.89±0.18	2.14±0.13	28.627	<0.05
HDL-C(mmol/L)	1.12±0.09	0.68±0.02	37.347	<0.05
netrin-4(ng/mL)	45.18±6.65	108.62±22.25	29.734	<0.05
Vitronectin(μg/mL)	84.60±12.36	33.21±6.62	31.149	<0.05

### 2.2 不同 NIHSS 分组 AIS 患者血清 netrin-4、Vitronectin 水平比较

不同组血清 Vitronectin 水平比较:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义(*P*<0.05);血清

netrin-4 水平比较:重度组<中度组<轻度组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表2 不同 NIHSS 分组 AIS 患者血清 netrin-4、Vitronectin 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum netrin-4 and vitronectin levels in AIS patients in different NIHSS groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	netrin-4(ng/mL)	Vitronectin(μg/mL)
重度组	33	22.25±5.10 <sup>ab</sup>	106.62±13.25 <sup>ab</sup>
中度组	39	40.62±6.75 <sup>a</sup>	84.25±12.10 <sup>a</sup>
轻度组	44	66.40±8.96	68.36±7.63
<i>F</i> 值		57.750	68.791
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05

注:与轻度组比较,<sup>a</sup>*P*<0.05;与中度组比较,<sup>b</sup>*P*<0.05。

### 2.3 不同颈动脉 IMT 的 AIS 患者血清 netrin-4、Vitronectin 水平比较

颈动脉斑块组患者血清 Vitronectin 水平明显高于无颈动脉斑块组,差异有统计学意义(*P*<0.05),血清 netrin-4 水平低于无颈动脉斑块组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表3。

表3 不同颈动脉 IMT 的 AIS 患者血清 netrin-4、Vitronectin 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of serum netrin-4 and vitronectin levels in AIS patients with different carotid IMT ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	netrin-4(ng/mL)	Vitronectin(μg/mL)
颈动脉斑块组	55	30.87±4.36	96.03±12.41
无颈动脉斑块组	61	58.07±7.41	74.29±8.26
<i>t</i> 值		20.729	16.463
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05

### 2.4 血清 netrin-4、Vitronectin 与 AIS 患者神经功能、颈动脉内膜厚度的关系

经 Pearson 相关性分析显示,血清 netrin-4 水平与 NIHSS 评分、颈动脉 IMT 值均呈负相关(*r*=-0.365、-0.410, *P*<0.001),血清 Vitronectin 水平与 NIHSS 评分、颈动脉 IMT 值均呈正相关(*r*=0.485、0.445, *P*<0.001)。

### 2.5 影响 AIS 患者神经功能的多因素 logistic 回归分析

本研究将 AIS 患者神经功能缺损程度作为因变量(轻、中=0、重=1),以血清 netrin-4、Vitronectin 及年龄、吸烟史等基线资料相关指标为自变量,经多因素 logistic 回归分析结果显示,血清 netrin-4、Vitronectin 均为 AIS 患者神经功能缺损程度的独立影响因素(*P*<0.05)。见表4。

## 3 讨论

AIS 是目前临床常见的脑血管疾病,该疾病发

表4 影响AIS患者神经功能的多因素logistic回归分析

Table 4 Multivariate logistic regression analysis of neurological function in patients with AIS

因素	回归系数	标准误	Wald $\chi^2$ 值	OR值	95% CI	P值
年龄	0.965	0.121	15.241	2.62	2.07~3.33	0.002
吸烟史	0.886	0.114	14.632	2.43	1.94~3.03	0.004
netrin-4	1.254	0.362	18.965	3.50	1.72~7.12	<0.05
Vitronectin	1.362	0.452	20.965	3.90	1.61~9.67	<0.05

病机制较为复杂,可能与脑血管内皮细胞的损伤或者粥样硬化性斑块的形成有关,而NIHSS评分、颈动脉IMT是判断AIS脑功能及脑动脉粥样硬化早期病变的指标<sup>[10]</sup>。虽然目前临床通过疾病临床表现以及影像学检查能够诊断AIS病情严重程度以及临床结局,但动态评估价值不高且价格昂贵,无法广泛应用<sup>[11]</sup>。

Vitronectin是一种存在于血浆、细胞外基质和血小板颗粒中的糖蛋白,主要参与凝血、细胞黏附、补体介导的细胞溶解与细胞外基质的蛋白水解过程<sup>[12]</sup>。既往有研究显示,血浆中玻连蛋白水平升高与主动脉疾病程度相关<sup>[13]</sup>。本次研究结果说明血清Vitronectin参与AIS病情进展,血清Vitronectin水平能够反映AIS疾病严重程度。本研究相关性分析显示,血清Vitronectin水平与NIHSS评分、颈动脉IMT值均呈正相关,进一步提示血清Vitronectin与AIS病情密切相关,且血清Vitronectin水平越高,AIS脑功能损伤程度以及脑血管病变程度越严重。本研究进一步经多因素logistic回归分析显示,血清Vitronectin是AIS患者神经功能缺损程度的独立影响因素,由此证实血清Vitronectin水平变化能够作为评估AIS神经功能缺损程度有效指标,能够为临床干预提供依据。Vitronectin目前在血液循环中具有调节血栓形成与纤维蛋白溶解等多种作用,且能够参与AS斑块细胞的合成,主要通过内皮损伤激活的血小板释放至血浆中<sup>[14]</sup>。因此当AIS疾病进展过程中动脉壁形态以及压力的变化导致斑块破裂、斑块内出血,激活血小板时,可释放Vitronectin,进而导致血清Vitronectin升高。

本研究结果显示,研究组血清netrin-4低于对照组,说明血清netrin-4与AIS病情发生有关。本次研究结果提示血清netrin-4水平反映AIS病情程度。本研究进一步分析显示,血清netrin-4水平与NIHSS评分、颈动脉IMT值均呈负相关,且血清netrin-4作为AIS神经功能缺损程度的独立影响因

素,证实血清Vitronectin与AIS病情密切相关,且可作为评估AIS神经功能缺损程度有效指标。

综上所述,AIS患者血清中netrin-4水平降低,Vitronectin水平升高,且血清netrin-4、Vitronectin水平变化与神经功能缺损程度、颈动脉内膜厚度密切相关,同时能够作为评估AIS患者神经功能缺损程度的有效指标。

## 参考文献

- [1] Saini V, Guada L, Yavagal DR. Global Epidemiology of Stroke and Access to Acute Ischemic Stroke Interventions [J]. *Neurology*, 2021, 97(20S2):S6-S16.
- [2] Liu M, Yan M, Guo Y, et al. Acute Ischemic Stroke at High Altitudes in China: Early Onset and Severe Manifestations [J]. *Cells*, 2021, 10(4):809.
- [3] Cui P, McCullough LD, Hao J. Brain to periphery in acute ischemic stroke: Mechanisms and clinical significance [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2021, 63:100932.
- [4] Zhang H, Vreeken D, Leuning DG, et al. Netrin-4 expression by human endothelial cells inhibits endothelial inflammation and senescence [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 134:105960.
- [5] Mehlen P, Fattet L. Netrin-4 regulates stiffness and metastasis [J]. *Nat Mater*, 2021, 20(6):722-723.
- [6] Zuchtriegel G, Uhl B, Pick R, et al. Vitronectin stabilizes intravascular adhesion of neutrophils by coordinating  $\beta 2$  integrin clustering [J]. *Haematologica*, 2021, 106(10):2641-2653.
- [7] Oishi Y, Hashimoto K, Abe A, et al. Vitronectin regulates the axon specification of mouse cerebellar granule cell precursors via  $\alpha v \beta 5$  integrin in the differentiation stage [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 746:135648.
- [8] 中国卒中学会. 急性缺血性卒中血管内治疗中国指南2018 [J]. *中国卒中杂志*, 2018, 13(7):706-729.
- [9] Eskioglu E, Huchmandzadeh Millotte M, et al. National Institutes of Health Stroke Scale Zero Strokes [J]. *Stroke*, 2018, 49(12):3057-3059.
- [10] 刘永菊,李素梅,余本富. 血清淀粉样蛋白A与2型糖尿病患者颈动脉内膜中层厚度的相关性研究 [J]. *中国医师杂志*, 2019, 21(5):710-714.
- [11] 李兴明,刘娟娟,刘建祥,等. CTA结合CTP对急性缺血性脑卒中预后的评估价值 [J]. *卒中与神经疾病*, 2019, 26(4):415-418.
- [12] Gong C, Hong H, Xie J, et al. Over-expression of vitronectin correlates with impaired survival in gastric cancers [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(31):e26766.
- [13] Chakravarty D, Ray AG, Chander V, et al. Systemic deficiency of vitronectin is associated with aortic inflammation and plaque progression in ApoE-Knockout mice [J]. *FASEB Bioadv*, 2021, 4(2):121-137.
- [14] Ayloo S, Lazo CG, Sun S, et al. Pericyte-to-endothelial cell signaling via vitronectin-integrin regulates blood-CNS barrier [J]. *Neuron*, 2022, 10:S0896-6273(22)00184-2.

# STEMI患者外周血 p-p38MAPK、p-JNK 表达与细胞凋亡及近期预后的关系

王发波 叶绵赋 李莉 许志魏\*

**[摘要]** 目的 研究ST段抬高型心肌梗死(STEMI)患者外周血磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶(p-p38MAPK)、磷酸化c-Jun氨基末端激酶(p-JNK)表达与细胞凋亡及近期预后的关系。方法 选择2019年5月至2021年6月期间在屯昌县人民医院急诊科成功行静脉溶栓的STEMI患者作为STEMI组、体检的健康志愿者作为对照组。检测外周血单个核细胞(PBMCs)中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平,血清中Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK含量,随访STEMI患者静脉溶栓成功后6个月的预后情况。结果 STEMI组患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平及血清中Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK含量均显著高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。STEMI组患者p-p38MAPK、p-JNK与Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK呈正相关( $P<0.05$ )。STEMI组中多支病变、Gensini积分 $>40$ 分、近期预后不良患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平均显著高于单支病变、Gensini积分0-40分、近期预后良好患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。p-p38MAPK、p-JNK表达水平对STEMI患者的近期预后具有预测价值( $P<0.05$ )。结论 STEMI患者外周血p38MAPK、JNK的过度磷酸化与病情加重、细胞凋亡激活、近期预后不良有关。

**[关键词]** ST段抬高型心肌梗死; p38MAPK; JNK

## Relationship between the expression of p-p38MAPK and p-JNK in peripheral blood of STEMI patients and apoptosis, short-term prognosis

WANG Fabo, YE Mianfu, LI li, XU Zhiwei\*

(Emergency Department, Tunchang County People's Hospital, Tunchang, Hainan, China, 571600)

**[ABSTRACT]** **Objective** To study the relationship between the expression of phosphorylated p38 mitogen activated protein kinase (p-p38MAPK) and phosphorylated c-Jun N-terminal kinase (p-JNK) in peripheral blood and apoptosis, short-term prognosis of patients with ST segment elevation myocardial infarction (STEMI). **Methods** STEMI patients who successfully underwent thrombolytic therapy in our hospital from May 2019 to June 2021 were selected as the STEMI group and healthy volunteers who underwent physical examination as the control group. The expression levels of p-p38MAPK and p-JNK in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and the contents of Caspase-3, Caspase-12 and sTWEAK in serum were measured. The prognosis of STEMI patients within 6 months after thrombolytic therapy was followed up. **Results** The expression levels of p-p38MAPK and p-JNK in PBMCs and the contents of Caspase-3, Caspase-12 and sTWEAK in serum of the STEMI group were higher than those of the control group ( $P<0.05$ ). p-p38MAPK and p-JNK were positively correlated with Caspase-3, Caspase-12 and sTWEAK in the STEMI group. In the STEMI group, the expression levels of p-p38MAPK and p-JNK in PBMCs of patients with multivessel lesions, Gensini score  $>40$  and poor short-term prognosis were higher than those of patients with single vessel lesions, Gensini score 0-40 and good short-term prognosis ( $P<0.05$ ). The expression levels of p-p38MAPK and p-JNK have predictive value on the short-term prognosis of STEMI patients ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Hyperphosphorylation of p38MAPK and JNK in peripheral blood of patients with STEMI is related to disease aggravation, activation of apoptosis and poor short-term prognosis.

**[KEY WORDS]** STEMI; p38MAPK; JNK

基金项目:海南省卫生健康行业科研项目(21A200390)

作者单位:屯昌县人民医院急诊科,海南,屯昌571600

\*通信作者:许志魏, E-mail: tuchangxuzhiwei@163.com

ST段抬高型心肌梗死(ST segment elevation myocardial infarction, STEMI)是最严重的急性冠脉综合征类型,病情进展迅速、救治难度大。急诊静脉溶栓能够及时且有效再通冠脉,治疗STEMI的效果确切,但仍有部分患者会静脉溶栓后发生不良心血管事件,影响近期预后、增加再入院率及死亡率<sup>[1-2]</sup>。因此,研究影响STEMI患者静脉溶栓近期预后的相关因素及分子机制是心血管研究领域的热点。丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一族调控细胞增殖、凋亡、炎症及氧化应激的信号通路,多项基础研究证实MAPK家族中p38MAPK、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)过度的磷酸化活化与心肌缺血再灌注损伤过程中的细胞凋亡有关<sup>[3-4]</sup>。本研究将以接受静脉溶栓治疗成功的STEMI患者为对象,分析外周血p-p38MAPK、p-JNK表达与细胞凋亡及近期预后的关系。

## 1 对象与方法

### 1.1 一般资料

选择2019年5月至2021年6月期间本院收治的84例STEMI患者作为研究的STEMI组,纳入标准:①符合指南中STEMI的诊断标准<sup>[5]</sup>;②成功接受静脉溶栓治疗;③按要求在静脉溶栓前留取外周血单个核细胞(PBMCs)及血清标本;④临床资料及近期预后资料完整;⑤所有入试者及家属均签署知情同意。排除标准:①既往有心肌梗死、脑卒中病史或有其他介入手术史;②合并急慢性感染、肝肾等重要脏器功能障碍、免疫系统疾病、恶性肿瘤。另取同期体检的68例健康志愿者作为对照组。STEMI组中男性52例、女性32例,年龄平均(63.57±10.85)岁,体质指数(24.61±6.21)kg/m<sup>2</sup>;对照组中男性39例、女性29例,年龄平均(61.39±11.34)岁,体质指数(23.85±5.96)kg/m<sup>2</sup>。两组间一般资料的比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经伦理委员会批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 PBMCs的分离及p-p38MAPK、p-JNK表达的检测

静脉溶栓前留取STEMI组患者的抗凝静脉血约3 mL,体检时留取对照组志愿者的抗凝静脉血约3 mL,采用Ficoll密度梯度离心法分离PBMCs,加入细胞裂解液提取PBMCs的蛋白;得到蛋白样本后,加入聚丙烯酰胺凝胶中进行western blot检

测,依次进行电泳分离不同分子量的蛋白、电转硝酸纤维素膜、脱脂牛奶室温封闭、特异性一抗[p-p38MAPK(美国CST公司)、p-JNK(美国CST公司)、p38MAPK(美国CST公司)、JNK(美国CST公司)、 $\beta$ -actin(美国Abcam公司)]4℃孵育、二抗室温孵育,最后在凝胶成像系统中曝光得到p-p38MAPK、p-JNK、p38MAPK、JNK、 $\beta$ -actin的电泳图,计算蛋白条带的灰度值,计算p-p38MAPK/p38MAPK、p-JNK/JNK灰度值的比值。

#### 1.2.2 血清中Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK含量的检测

静脉溶栓前留取STEMI组患者的促凝静脉血约3 mL,体检时留取对照组志愿者的促凝静脉血约3 mL,转速3 000转/分、半径5.5 cm离心分离血清后采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海酶联生物公司生产)检测Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK的含量。

### 1.3 STEMI病情严重程度的评估

根据冠脉CT情况评估STEMI病情严重程度,参照Gensini标准<sup>[5]</sup>进行评分,分为单支病变患者和多支病变患者,Gensini积分0~40分与>40分患者。

### 1.4 STEMI近期预后的评估

随访静脉溶栓成功后6个月发生主要不良心血管事件(Major adverse cardiovascular events, MACE)<sup>[5]</sup>的情况,定义为再次血运重建、再发心绞痛、非致命性心肌梗死、心源性死亡、非致死性卒中,发生MACE判断为近期预后不良、其余为近期预后良好。

### 1.5 统计学处理方法

采用SPSS 23.0软件进行统计学处理。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用 $t$ 检验,通过Pearson检验分析p-p38MAPK、p-JNK的表达水平与Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK含量的相关性,通过ROC曲线分析p-p38MAPK、p-JNK对近期预后的预测价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 STEMI组与对照组PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平的比较

STEMI组患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平显著高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1、图1。

### 2.2 STEMI组中不同病情患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平的比较

STEMI组中多支病变患者PBMCs中



表1 STEMI组与对照组PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of expression levels of p-p38MAPK and p-JNK in PBMCs between STEMI group and control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	p-p38MAPK	p-JNK
STEMI组	84	0.85±0.29	0.73±0.21
对照组	68	0.46±0.08	0.36±0.07
t值		10.757	13.909
P值		<0.001	<0.001

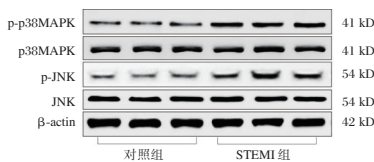


图1 STEMI组与对照组PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的电泳图

Figure 1 Electrophoresis of P-P38MAPK and p-JNK in PBMCs of STEMI group and control group

p-p38MAPK、p-JNK的表达水平明显高于单支病变患者，Gensini积分>40分患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平明显高于Gensini积分0~40分患者，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 STEMI组中不同病情患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of expression levels of p-p38MAPK and p-JNK in PBMCs of patients with different conditions in STEMI group ( $\bar{x} \pm s$ )

病情	分类	n	p-p38MAPK	p-JNK
病变数目	单支病变	48	0.76±0.28	0.69±0.21
	多支病变	36	0.97±0.32	0.79±0.24
	t值		3.200	2.032
	P值		0.002	0.045
Gensini积分	0~40分	43	0.75±0.25	0.65±0.24
	>40分	41	0.95±0.33	0.81±0.26
	t值		3.140	2.933
	P值		0.002	0.004

### 2.3 STEMI组与对照组血清凋亡指标的比较

STEMI组患者血清Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK含量均明显高于对照组，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

### 2.4 STEMI组p-p38MAPK、p-JNK表达水平与凋亡指标的相关性

STEMI组患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平与血清Caspase-3( $r=0.512、0.418$ )、Caspase-12( $r=0.337、0.575$ )、sTWEAK( $r=0.451、0.393$ )含量呈正相关( $P<0.05$ )。

表3 STEMI组与对照组血清凋亡指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of serum apoptosis indexes between STEMI group and control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Caspase-3 (pg/mL)	Caspase-12 (pg/mL)	sTWEAK (pg/mL)
STEMI组	84	36.51±9.42	28.75±7.24	46.28±9.15
对照组	68	14.68±3.58	19.02±3.41	30.17±6.62
t值		18.073	10.200	12.165
P值		0.000	<0.001	<0.001

### 2.5 STEMI组中不同近期预后患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平的比较

STEMI组中近期预后不良患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK的表达水平明显高于近期预后良好患者，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

表4 STEMI组中不同近期预后患者PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of expression levels of p-p38MAPK and p-JNK in PBMCs of patients with different short-term prognosis in STEMI group ( $\bar{x} \pm s$ )

近期预后情况	n	p-p38MAPK	p-JNK
预后良好	65	0.77±0.24	0.68±0.18
预后不良	19	1.12±0.29	0.88±0.21
t值		5.177	4.101
P值		<0.001	<0.001

### 2.6 PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平预测STEMI组患者近期预后的分析

PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平预测STEMI组患者近期预后的ROC曲线见图2，AUC分别为0.815(95%CI:0.691~0.939,  $P<0.05$ )和0.780(95%CI:0.655~0.906,  $P<0.05$ )。

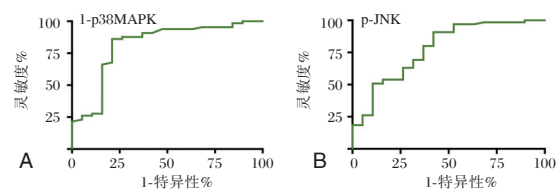


图2 PBMCs中p-p38MAPK、p-JNK表达水平预测STEMI组患者近期预后的ROC曲线

Figure 2 ROC curve of p-p38MAPK and p-JNK expression levels in PBMCs in predicting the short-term prognosis of patients in STEMI group

## 3 讨论

心肌缺血再灌注损伤是STEMI患者接受静脉溶栓治疗后必经的病理生理过程，缺血再灌注通过激活细胞凋亡、炎症反应、氧化应激等生物学环

节加重心肌损害,对静脉溶栓的预后造成不利影响,增加不良结局的发生风险<sup>[6-7]</sup>。

在心肌经历缺血再灌注的过程中,细胞内发生了复杂的信号转导。多项动物实验证实缺血再灌注的心肌中 p38MAPK、JNK 的磷酸化程度显著增加,抑制 p38MAPK、JNK 的磷酸化起到心肌保护作用,对心肌组织的细胞凋亡、炎症反应、氧化应激反应均具有抑制作用<sup>[8-9]</sup>。为了认识 MAPK 家族在 STEMI 发病中的作用,本研究首先检测了 STEMI 患者外周血中 p38MAPK、JNK 的磷酸化水平,与健康志愿者比较,STEMI 患者 PBMCs 中 p-p38MAPK、p-JNK 的表达水平明显增加,表明 p38MAPK、JNK 的过度磷酸化与 STEMI 的发病有关,与相关动物实验的结果吻合。

缺血缺氧、缺血再灌注是刺激 p38MAPK、JNK 发生磷酸化的重要病理因素,在 STEMI 发病过程中 p38MAPK、JNK 的过度磷酸化可能反映了心肌缺血缺氧、缺血再灌注的程度较重。本研究通过分析不同病情严重程度 STEMI 患者外周血中 p38MAPK、JNK 磷酸化水平的差异可知:多支病变、Gensini 积分>40 分的 STEMI 患者 PBMCs 中 p-p38MAPK、p-JNK 的表达水平更高,表明随着 STEMI 病情加重及心肌缺血程度加重,患者外周血中 p38MAPK、JNK 发生了过度磷酸化。相关的基础研究均认为 p38MAPK、JNK 发生磷酸化后能够进入细胞核,调控 Bax、Bcl-2 等凋亡调控基因的表达,进而启动下游级联放大的凋亡反应、引起 Caspase-3 及 Caspase-12 等发生活化,最终介导细胞凋亡<sup>[10-11]</sup>。Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK 是三种血清中反映 STEMI 患者心肌凋亡水平的标志物,既往多项研究<sup>[12-13]</sup>及本研究均证实 STEMI 患者血清中 Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK 的含量明显升高。进一步通过相关性分析证实 STEMI 患者的 p-p38MAPK、p-JNK 表达水平与血清 Caspase-3、Caspase-12、sTWEAK 含量均呈正相关,提示在 STEMI 发病过程中 p38MAPK、JNK 的过度磷酸化可能参与心肌细胞的异常凋亡。

尽管静脉溶栓治疗 STEMI 的疗效确切,但受到心肌再灌注损伤、心肌细胞凋亡等因素的影响,仍有部分患者在静脉溶栓成功后会发生不良心血管事件。有临床研究证实,血清凋亡分子对 STEMI 患者的预后及静脉溶栓成功后 MACE 的发生具有预测价值<sup>[14-15]</sup>。本研究已经在 STEMI 患者中证实 p38MAPK、JNK 的过度磷酸化与凋亡分子的增多相

关,在此基础上还进一步分析了 p38MAPK、JNK 磷酸化水平与预后的关系。经过静脉溶栓成功后 6 个月的短期随访,84 例患者中共 19 例发生 MACE,判断为短期预后不良,与短期预后良好的 STEMI 患者比较,预后不良患者的 PBMCs 中 p-p38MAPK、p-JNK 表达水平明显增加;经 ROC 曲线分析,p-p38MAPK、p-JNK 表达水平对短期预后不良、MACE 的发生具有预测价值。

综上所述,STEMI 患者外周血 p38MAPK、JNK 的过度磷酸化与病情加重、细胞凋亡激活、近期预后不良有关。

### 参考文献

- [1] Ge Z, Baber U, Claessen BE, et al. The prevalence, predictors and outcomes of guideline-directed medical therapy in patients with acute myocardial infarction undergoing PCI, an analysis from the PROMETHEUS registry [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2019, 93(3):E112-E119.
- [2] Sliman H, Jaffe R, Rubinshtein R, et al. Clinical features and outcomes of revascularization in very old patients with left main coronary artery disease [J]. *Coron Artery Dis*, 2019, 30(8):584-589.
- [3] 文俊杰, 苏展, 罗素新, 等. 七叶皂苷钠通过 p38MAPK 通路减少大鼠心肌梗死面积和无复流面积的研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(3): 8-15.
- [4] Chen Y, Liu C, Zhou P, et al. Coronary Endothelium No-Reflow Injury Is Associated with ROS-Modified Mitochondrial Fission through the JNK-Drp1 Signaling Pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 30(2021):6699516.
- [5] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(5): 380-393.
- [6] Hausenloy DJ, Chilian W, Crea F, et al. The coronary circulation in acute myocardial ischaemia/reperfusion injury: a target for cardioprotection [J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(7): 1143-1155.
- [7] González-Montero J, Brito R, Gajardo AI, et al. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities [J]. *World J Cardiol*, 2018, 10(9): 74-86.
- [8] Zhou Y, Peng DD, Chong H, et al. Effect of isoflurane on myocardial ischemia - reperfusion injury through the p38 MAPK signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(3):1342-1349.
- [9] Li HW, Xiao FY. Effect of hydrogen sulfide on cardiomyocyte apoptosis in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury via the JNK signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(4):2054-2061.
- [10] Zuo G, Ren X, Qian X, et al. Inhibition of JNK and p38 MAPK-mediated inflammation and apoptosis by ivabradine improves cardiac function in streptozotocin-induced diabetic (下转第 797 页)

## DeFine.TB 与 Xpert-MTB/RIF 诊断肺外结核的比较

刘泽世<sup>1</sup> 耿妍<sup>2</sup> 雷静<sup>1</sup> 李靖<sup>1</sup> 殷鉴<sup>1</sup> 张彦平<sup>1</sup> 耿燕<sup>1\*</sup>

**【摘要】目的** 探讨结核分枝杆菌特异性细胞因子(DeFine.TB)联合结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术(Gene Xpert-MTB/RIF)检测在肺外结核病诊断的意义。**方法** 收集2018年9月至2020年12月在西安交通大学第二附属医院住院确诊或临床诊断为肺外结核病患者52例纳入肺外结核组、非结核性肺外感染病人35例纳入非结核组。对所有患者分别进行血 DeFine.TB、无菌体液 DeFine.TB 和无菌体液 Gene Xpert-MTB/RIF 检测,并对检测结果进行分析。**结果** 52例临床确诊为肺外结核的患者中,血 DeFine.TB、无菌体液 DeFine.TB 和 Xpert MTB /RIF 检测诊断肺外结核总阳性率分别为 73.08% (38/52)、94.23% (49/52) 和 65.38% (34/52)。35例非肺外结核患者中,血、无菌体液 DeFine.TB 和无菌体液 Xpert MTB /RIF 检测诊断肺外结核阴性率分别为 57.15%、77.14% 和 100.00%。在诊断肺外结核和非肺外结核感染时,血 DeFine.TB  $\gamma$ -干扰素因子单阳和双因子检测差异无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ ),无菌体液 DeFine.TB 双因子阳性和无菌体液 Xpert MTB/RIF 差异有统计学意义( $\chi^2=19.601$ 、 $37.565$ ,  $P$ 均 $<0.05$ )。无菌体液 DeFine.TB 敏感度明显高于血 DeFine.TB 和无菌体液 Xpert-MTB/RIF。无菌体液 Xpert-MTB/RIF 特异度明显高于血和无菌体液 DeFine.TB。当无菌体液 Xpert-MTB/RIF 和 DeFine.TB 联合检测时,其敏感度和特异度分别为 65.38% 和 100.00%。**结论** DeFine.TB 和 Xpert MTB /RIF 联合检测肺外结核可明显提高诊断的特异度、阳性和阴性预测值,为临床早期识别肺外结核与非结核患者、及早抗结核治疗提供参考。

**【关键词】** 肺外结核; 结核分枝杆菌; 结核感染 T 细胞试验; Xpert-MTB/RIF

### Comparison of DeFine.TB and Xpert - MTB/RIF in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis

LIU Zeshi<sup>1</sup>, GENG Yan<sup>2</sup>, LEI Jing<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, YIN Jian<sup>1</sup>, ZHANG Yanping<sup>1</sup>, GENG Yan<sup>1\*</sup>

(1. Department of Laboratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shannxi, China, 710004; 2. Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shannxi, China, 710004)

**【ABSTRACT】 Objective** To explore the significance of DeFine.TB combined with real-time fluorescence quantitative nucleic acid amplification (Xpert MTB/RIF) in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. **Methods** A total of 52 patients with extrapulmonary tuberculosis who were hospitalized or clinically diagnosed with extrapulmonary tuberculosis in the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from September 2018 to December 2020 were recruited as the extrapulmonary tuberculosis group, and 35 patients with non-tuberculosis extrapulmonary infection were selected as the non-tuberculosis group. All specimens were detected by DeFine.TB of blood, DeFine.TB of sterile body fluid and Gene Xpert-MTB/RIF assay of sterile body fluid, respectively, and the results were analyzed. **Results** Among the 52 patients clinically diagnosed with extrapulmonary tuberculosis, the total positive rate of extrapulmonary tuberculosis diagnosed by blood DeFine.TB test, DeFine.TB and Xpert MTB/RIF detection of sterile body fluids were 73.08% (38/52), 94.23% (49/52) and 65.38% (34/52), respectively. Among the 35 patients with non-

基金项目:陕西省重点研发计划基金资助项目(2017SF-128)

作者单位:1. 西安交通大学第二附属医院检验科,陕西,西安 710004

2. 西安交通大学第二附属医院小儿内科,陕西,西安 710004

\*通信作者:耿燕, E-mail: wsw87679358@163.com

extrapulmonary tuberculosis, the negative rates of blood, sterile body fluid DeFine.TB and sterile body fluid Xpert MTB/RIF for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis were 57.15%, 77.14% and 100.00%, respectively. When diagnosing extrapulmonary tuberculosis and non-extrapulmonary tuberculosis infection, there was no significant difference in blood DeFine.TB  $\gamma$ -interferon factor single-positive and double-factor detection (both  $P > 0.05$ ). When diagnosing extrapulmonary tuberculosis and non-extrapulmonary tuberculosis infection, there was a statistically significant difference between the double-factor positive rate of sterile body fluid DeFine.TB and Xpert MTB/RIF of sterile body fluid ( $\chi^2=19.601, 37.565$ , both  $P < 0.05$ ), and the sensitivity of sterile body fluid DeFine.TB was significantly higher than that of blood DeFine.TB and sterile body fluid Xpert-MTB/RIF. The specificity of sterile body fluid Xpert-MTB/RIF was significantly higher than that of blood and sterile body fluid DeFine.TB. When the sterile body fluid Xpert-MTB/RIF and DeFine.TB were combined for detection, the sensitivity and specificity were 65.38% and 100.00%, respectively. **Conclusions** DeFine.TB combined with Xpert-MTB/RIF to detect extrapulmonary tuberculosis can significantly improve the specificity, positive and negative predictive values of diagnosis, which provides a reference for early clinical identification of extrapulmonary tuberculosis and non-extrapulmonary tuberculosis and anti-tuberculosis treatment.

**[KEY WORDS]** Extrapulmonary tuberculosis; Mycobacterium tuberculosis; DeFine.TB assay; Xpert MTB/RIF

结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 是引起结核病的病原体, 已成为全球性的重大健康问题。人体除毛发、指甲等部位不会感染结核外, 其他所有部位均会感染。流行病学调查显示: 全球范围内新发病例 1 000 万, 死亡 120 万, 其中 16% 为肺外结核, 我国新发结核病例数占全球的 8.4%, 仅次于印度和印度尼西亚而位居世界第三, 肺外结核的发病率也处于较高水平<sup>[1]</sup>。然而, 同肺结核相比, 肺外结核患者的临床表现不典型, 且受感染部位限制, 肺外结核患者不易获得适宜实验室检查的标本等因素, 常规诊断技术对肺外结核的诊断效能不明确。因此, 肺外结核的早期诊断是临床上的一大难题。涂片镜检是基于抗酸染色鉴定涂片中是否存在抗酸杆菌<sup>[2]</sup>。培养方法是诊断 MTB 的金标准, 且在培养出细菌后还可加做药物敏感性试验。但涂片镜检的敏感度和特异性有限。而培养不仅极其耗时(需要数天才可能有结果), 且还需特殊设备和实验室条件。因此, 临床急切需要快速且敏感度、特异度高的诊断方法, 达到及早诊断, 尽快治疗的目的。随着越来越多的基于免疫学或分子学诊断方法的出现, 诸如结核分枝杆菌特异性细胞因子检测 (*Mycobacterium tuberculosis*-specific cytokine combined detection, DeFine.TB) 已被指南推荐为用于肺外结核和菌阴肺结核的辅助诊断方法<sup>[3]</sup>。近年来, 基于分子学方法的结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术 (Gene Xpert-MTB/RIF) 能够在

两小时内直接检测临床标本中的 MTB 和 RIF 耐药。目前研究显示, Gene Xpert-MTB/RIF 对肺结核诊断的敏感度可达 68.5%, 特异度也高达 100%<sup>[4]</sup>。本文通过对肺外结核病患者和非结核性肺外感染病人进行 DeFine.TB 和 Gene Xpert-MTB/RIF 联合检测, 探讨两者联合诊断的意义, 为肺外结核的诊断提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2018 年 9 月至 2020 年 12 月西安交通大学第二附属医院收治的 87 例肺外感染患者为临床组研究对象, 其中依据临床诊疗指南: 结核病分册<sup>[5]</sup>, 临床确诊为肺外结核患者 52 例 (肺外结核组), 其中男 32 例, 女 20 例, 平均年龄 (53.73±9.22) 岁。非结核性肺外感染病人 35 例 (非结核组)。对肺外结核患者血结核分枝杆菌特异性细胞因子检测 (DeFine.TB)、无菌体液 DeFine.TB、无菌体液结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术 (Xpert MTB/RIF) 进行检测并分析。

### 1.2 仪器及试剂

Xpert MTB/RIF 实时荧光 PCR 检测仪 (美国 Cepheid 公司)、Xpert MTB/RIF 检测试剂盒 (10 人份/盒, 批号: 1000083611, 美国 Cepheid 公司)、结核分枝杆菌特异性细胞因子检测试剂盒 Define.TB (28 人份/盒, 批号: DM001S20200120, 广州迪澳)、酶标仪 (深圳雷杜 rt-6100)。

### 1.3 检测方法

#### 1.3.1 血 DeFine.TB

将人外周血单个核细胞从全血样本中分离出来,通过计数单个核细胞数量,将定量的单个核细胞与融合蛋白 ESAT-6-CFP-10-Rv1985c 在细胞培养板上共培养,检测  $\gamma$ -干扰素及白细胞介素-2 因子浓度,两个因子任意一个因子检测阳性,即判定 Define.TB 检测阳性。

#### 1.3.2 无菌体液 DeFine.TB

无菌体液包括胸水 54 例、腹水 29 例和关节液 4 例。留取无菌体液 10~15 mL 注入到肝素锂抗凝剂的采血管中,及时送检,分别对  $\gamma$ -干扰素及白细胞介素-2 因子进行检测,得到  $\gamma$ -干扰素及白细胞介素-2 因子浓度两个因子任意一个因子检测阳性,即判定 Define.TB 检测阳性。

#### 1.3.3 DeFine.TB 结果判读

结果以测定值(T 值)、阴性对照值(N 值)和阳性对照值(P 值)表示。按照产品说明书要求判读阳性结果: $\gamma$ -干扰素 T-N $\geq$ 7 和/或白细胞介素-2 T-N $\geq$ 20;阴性结果: $\gamma$ -干扰素 T-N < 7、P-N $\geq$ 35 且白细胞介素-2 T-N < 20、P-N $\geq$ 130<sup>[6]</sup>。

#### 1.3.4 无菌体液 Xpert MTB/RIF

常规留取无菌体液,3 000 r/min 离心 10 min 后,离心半径 15 cm,弃去上清,剩余标本中按标本

与消化液 1:2 的比例加入消化液。常温静置 15 min~1h,待标本完全液化后,取 2 mL 标本加入 Xpert MTB /RIF 反应试剂盒中,放入 Xpert MTB/RIF 实时荧光 PCR 检测仪中,2.5 h 后即可得到结核检测结果。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析;计数资料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组三种检测方法的比较

52 例临床确诊为肺外结核的患者中,52 例临床确诊为肺外结核的患者中,血 DeFine.TB、无菌体液 DeFine.TB 和 Xpert MTB /RIF 检测诊断肺外结核总阳性率分别为 73.08% (38/52)、94.23% (49/52) 和 65.38% (34/52)。35 例非肺外结核患者中,血、无菌体液 DeFine.TB 和无菌体液 Xpert MTB /RIF 检测诊断肺外结核阴性率分别为 57.15%、77.14% 和 100.00%。在诊断肺外结核和非肺外结核感染时,血 DeFine.TB  $\gamma$ -干扰素因子单阳和双因子检测差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ ),而无菌体液 DeFine.TB 双因子阳性和无菌体液 Xpert MTB/RIF 差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组三种检测方法的比较 [ $n(\%)$ ]

Table 1 Comparison of three detection methods in two groups [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	血 DeFine.TB $\gamma$ -干扰因子			无菌体液 DeFine.TB $\gamma$ -干扰因子			无菌体液 Xpert-MTB/RIF	
		单阳	双因子阳性	阴性	单阳	双因子阳性	阴性	阳性	阴性
肺外结核组	52	11(21.15)	27(51.92)	14(26.92)	15(28.85)	34(65.38)	3(5.77)	34(65.38)	18(34.63)
非结核组	35	4(11.43)	11(31.43)	20(57.15)	2(5.71)	6(17.14)	27(77.14)	0(0.00)	35(100.00)
$\chi^2$ 值		1.387	3.572	8.025	7.120	19.601	47.170	37.565	37.565
$P$ 值		0.239	0.059	0.005	0.008	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$

### 2.2 两种方法单用及 DeFine.TB 和 无菌体液 Xpert-MTB/RIF 联合检测的敏感度和特异度

无菌体液 DeFine.TB 敏感度明显高于血 DeFine.TB 和 无菌体液 Xpert-MTB/RIF,而无菌体

液 Xpert-MTB/RIF 特异度明显高于血和 无菌体液 DeFine.TB。当 无菌体液 Xpert-MTB/RIF 和 DeFine.TB 联合检测时,其敏感度和特异度分别为 65.38% 和 100.00%。见表 2。

表 2 两种方法单用及 无菌体液 DeFine.TB 和 Xpert-MTB/RIF 联合检测性能评估

Table 2 Performance evaluation of the two methods alone and the combined detection of Xpert-MTB/RIF and DeFine.TB in sterile body fluids

检测方法	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
血 DeFine.TB	73.08 (38/52)	57.14 (20/35)	71.70	58.82
无菌体液 DeFine.TB	94.23 (49/52)	77.14 (27/35)	85.96	90.00
无菌体液 Xpert-MTB/RIF	65.38 (34/52)	100.00 (35/35)	100.00	66.04
DeFine.TB 和 无菌体液 Xpert-MTB/RIF 联合	65.38 (34/52)	100.00 (35/35)	100.00	66.04

### 3 讨论

肺外结核通常由于结核分枝杆菌感染肺部后,经血液或淋巴结播散引起。随着肺外结核发病率逐渐升高,占有结核病的12.0%~28.5%,而死亡人数占全部结核病死亡人数的14.1%~17.6%<sup>[7]</sup>。由于肺外结核的感染途径多种多样,可发病于全身的各个部位,所引起的临床症状往往不典型,很多时候会被其他疾病的表现所掩盖,存在误诊或诊断困难等情况<sup>[8]</sup>。临床上亟需一种快速且有效的检测方法,以达到早期诊断,早期治疗的目的,减轻结核的治疗负担。

DeFine.TB选取了存在于结核分枝杆菌,但在卡介苗和大多数非结核分枝杆菌中普遍缺失的RD1区和RD2区编码的ESAT-6、CFP-10、Rv1985c蛋白。由于方法不受卡介苗的影响,可特异性检测结核分枝杆菌引起的结核病<sup>[9-11]</sup>。Xpert-MTB/RIF技术是基于半巢式实时荧光定量核酸扩增技术,针对*rpoB*基因81bp利福平耐药核心区间设计6种分子信标引物、6种分子探针,检测其是否发生突变,进而用于辅助诊断是否为结核以及是否对利福平耐药的方法,可在2.5h内快速得出诊断<sup>[12]</sup>。但DeFine.TB和Xpert-MTB/RIF对肺外结核特别是各类型的结核研究较少,对两种诊断方法的价值缺乏统一的认识。

本研究对52例临床确诊为肺外结核和35例非肺外结核患者研究发现,在肺外结核组中,无菌体液DeFine.TB的阳性率明显高于血DeFine.TB和Xpert-MTB/RIF的阳性率。这可能由于DeFine.TB检测的是无菌体液中特异性T细胞分泌的 $\gamma$ -干扰素及白细胞介素-2因子。当感染结核分枝杆菌而导致胸腔或腹腔或关节积液渗出时,感染部位会聚集T淋巴细胞和B淋巴细胞。结核特异性T细胞的数量会明显高于外周血,且无菌体液不同于外周血,没有血液本底的干扰因素。因此,无菌体液DeFine.TB的阳性率明显高于血DeFine.TB。邹兴武<sup>[13]</sup>等研究发现,患者高龄、外周血淋巴细胞数量减少、血红蛋白及抗结核治疗均可导致DeFine.TB假阴性。因此,DeFine.TB未能检出所有阳性标本。Xpert-MTB/RIF检测结核的阳性率低于无菌体液和血DeFine.TB的阳性率,这可能与无菌体液细菌负荷量偏低有关,但Xpert-MTB/RIF的阳性率也达到65.38%,说明Xpert-MTB/RIF对肺

外结核的检出有一定效果。这一数据与张新宝等<sup>[14]</sup>报道相近。非结核组中,血DeFine.TB的阳性率高于无菌体液DeFine.TB的阳性率,而Xpert-MTB/RIF未检出阳性。DeFine.TB出现假阳性可能是由于机体存在一过性感染<sup>[15]</sup>或与堪萨斯分枝杆菌、海氏分枝杆菌和苏尔加分枝杆菌等存在交叉反应或肿瘤抗原与结核抗原存在表位交叉。Xpert-MTB/RIF未出现假阳性,与以前的研究结论一致<sup>[16-17]</sup>。

无菌体液DeFine.TB在肺外结核组的敏感度最高,血DeFine.TB和Xpert-MTB/RIF的敏感度次之。无菌体液Xpert-MTB/RIF在肺外结核组的特异度最高,无菌体液DeFine.TB和血DeFine.TB的特异度依次为77.14%和57.14%。安徽省胸科医院仅对胸腔积液研究表明<sup>[18]</sup>,胸腔积液DeFine.TB敏感度97.37%高于血DeFine.TB76.32%、胸腔积液Xpert-MTB/RIF65.79%,胸腔积液DeFine.TB特异度77.78%高于血DeFine.TB55.56%,低于胸腔积液Xpert-MTB/RIF特异度100%。本研究中Gene Xpert-MTB/RIF检测在肺外结核诊断的敏感度为65.38%,特异度为100%,说明在肺外结核诊断过程中,Gene Xpert-MTB/RIF检测技术具有较高的价值。而且Xpert-MTB/RIF检测技术仅需要标本含菌量10~100个/mL<sup>[19]</sup>。涂盛锦等<sup>[20]</sup>通过将胸腔积液Xpert-MTB/RIF浓缩后检测发现阳性率明显高于常规应用Xpert-MTB/RIF检测胸腔积液,且胸腔积液Xpert-MTB/RIF特异性更高。说明通过浓缩提高标本含菌量会显著提升Xpert-MTB/RIF的阳性率。本次研究与相关报道接近,且本次研究中Xpert-MTB/RIF阳性预测值为100%,说明Xpert-MTB/RIF极具确诊意义。本研究无菌体液DeFine.TB联合无菌体液Xpert-MTB/RIF方案虽未能进一步提升检测的敏感度,但明显提高了特异度。有研究表明,DeFine.TB联合分子免疫等检测方法可以提高诊断的敏感度和特异度<sup>[21-22]</sup>。与本研究联合检测中特异度结论一致。

综上所述,本研究表明无菌体液DeFine.TB敏感度更高但特异度稍差,而无菌体液Xpert-MTB/RIF具有很高的特异度,当两种检测方法联合使用时可明显提高诊断肺外结核的特异度,虽然敏感度也相应减低,但对于初筛病人来说,联合检测可明显提高其阳性和阴性预测值,可为临床早期识别肺外结核与非结核患者、及早抗结核治疗提供参考。

## 参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2020. [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/).
- [2] Steingart K R, Ramsay A, Pai M. Optimizing sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2014, 5(3):327-331.
- [3] Mazurek G H, Jereb J, Vernon A, et al. Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010 [J]. *MMWR Recomm Rep*, 2010, 59(RR- 5):1-25.
- [4] Krishna V, Gopalakrishnan R, Tarigopula A, et al. Utility of Xpert® MTB/RIF in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2019, 37(3):448-449.
- [5] 中华医学会. 临床诊疗指南: 结核病分册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005, 19-46.
- [6] Yaoju Tan, Yunhong Tan, Junlian Li, et al. Combined IFN- $\gamma$  and IL-2 release assay for detect active pulmonary tuberculosis: a prospective multicentre diagnostic study in China [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1):289.
- [7] Christensen AS, Roed C, Andersen PH, et al. Long-term mortality inpatients with pulmonary and extrapulmonary tuberculosis: a Danish nationwide cohort study [J]. *Clin Epidemiol*, 2014, 6:405-421.
- [8] SAMA JN, CHIDAN, POLAN RM, et al. High proportion of extrapulmonary tuberculosis in a low prevalence setting: a retrospective cohort study [J]. *Public Health*, 2016, 138:101-107.
- [9] Wang L, Tian X D, Yu Y, et al. Evaluation of the performance of two tuberculosis interferon gamma release assays (DeFine.TB-ELISA and T-SPOT. TB) for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 479:74-78.
- [10] Malek TR. The biology of interleukin-2 [J]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 453-479.
- [11] Turgut T, Akbulut H, Deveci F, et al. Serum interleukin-2 and neopterin in levels as useful markers for treatment of active pulmonary tuberculosis [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2006, 209(4):321-328.
- [12] 沈雷雷, 范晓云, 包训迪. 涂阴肺结核的临床特征及结核杆菌利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术对其诊断价值 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(9):1475-1478.
- [13] 邹兴武, 周华, 符一骐, 等. 结核分枝杆菌特异性细胞因子联合检测在结核性胸膜炎患者中假阴性的危险因素分析 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2018, 18(5):467-471.
- [14] 张新宝, 周瑛, 姚超, 等. 结核分枝杆菌特异性细胞因子联合检测诊断胸腔积液的价值 [J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(09):1492-1495.
- [15] Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis [J]. *Chest*, 2010, 137(4):952-968.
- [16] Rice JP, Seifert M, Moser KS, et al. Performance of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis and rifampin resistance in a low-incidence, high-resource setting [J]. *PLoS One*, 2017, 12:e0186139.
- [17] Opota O, Senn L, Prod'homme G, et al. Added value of molecular assay Xpert MTB/RIF compared to sputum smear microscopy to assess the risk of tuberculosis transmission in a low-prevalence country [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22:613-619.
- [18] 张新宝, 张妍蓓, 姚超, 等. 结核分枝杆菌特异性细胞因子联合检测联合胸腔积液 Xpert MTB/RIF 检测诊断结核性胸腔积液的价值 [J]. *广东医学*, 2020, 41(24):2564-2568.
- [19] Shrestha P, Khanal H, Dahal P, et al. Programmatic impact of implementing genexpert MTB/ RIF assay for the detection of Mycobacterium Tuberculosis in respiratory specimens from pulmonary tuberculosis suspected patients in resource limited laboratory settings of Eastern nepal [J]. *Open Microbiol J*, 2018, 12:9-17.
- [20] 涂盛锦, 黄汉平, 曹珊. 浓缩胸腔积液 Gene Xpert MTB/RIF 试验在结核性胸膜炎快速诊断中的应用价值 [J]. *临床内科杂志*, 2019, 36(1):44-46.
- [21] Hoel IM, Jørstad MD, Marijani M, et al. IP-10 dried blood spots assay monitoring treatment efficacy in extrapulmonary tuberculosis in a low-resource setting [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):3871.
- [22] 岳永宁, 范大鹏, 张艳, 等. 三种结核分枝杆菌分子检测技术诊断肺结核比较 [J]. *预防医学*, 2019, 31(5):537-540.
- [10] cardiomyopathy [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2):1925-1936.
- [11] Zhou W, Cai D, Zhou W, et al. Midazolam suppresses ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis by inhibiting the JNK/p38 MAPK signaling pathway [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2021, 24:1-8.
- [12] 田倪妮, 田敏, 杨俊, 等. 急性心肌梗死患者血清 caspase-12 酶活性、CHOP 蛋白、HSP47 表达水平与冠状动脉病变的相关性研究 [J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(7):631-633.
- [13] 刘昕, 倪雅娟, 李青, 等. 急性心肌梗死患者血清半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 的变化及其临床意义 [J]. *临床急诊杂志*, 2018, 19(1):21-24.
- [14] Mahmoud AH, Taha NM, Zakhary M, et al. PTEN gene & TNF-alpha in acute myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2019, 29(23):100366.
- [15] 吕杰, 杨楠, 张敏, 等. 血清 Sema4D、sTWEAK 水平变化与急性 ST 段抬高型心肌梗死患者 PCI 术后 MACE 风险的关联性分析 [J]. *实验与检验医学*, 2021, 39(4):816-818+860.

(上接第 792 页)

## 单基因 *METTL14* 在泛癌中的综合分析

赵丽<sup>1</sup> 闫清<sup>2</sup> 赵晓雯<sup>2</sup> 彭瑞<sup>1</sup> 朱明雪<sup>1</sup> 王晔<sup>2</sup> 牟晓峰<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 联合多数据库分析 *METTL14* 在肿瘤中的表达及其与肿瘤微环境之间的关系。**方法** 从相关数据库中获取各个肿瘤及正常组织中的基因数据,分析 *METTL14* 在不同正常组织和不同肿瘤组织中的表达水平;比较 *METTL14* 的表达水平高低与肿瘤预后之间的关系;分别分析 *METTL14* 表达与免疫细胞评分和免疫检查点的相关性;分析 *METTL14* 表达与 MMRs 以及 DNMTs 的表达关系。**结果** *METTL14* 在大多数实体肿瘤中表达水平较正常组织低;KIRC、MESO、READ 中 *METTL14* 的低表达可能与患者的不良预后有关,K-M 生存曲线显示 KICH、LGG 中 *METTL14* 的高表达;*METTL14* 的表达水平与 BLCA、COAD、HNSC 中的免疫浸润水平最显著相关;各个肿瘤中 *METTL14* 的表达水平与多个检查点呈正相关;泛癌中 *METTL14* 的表达水平与 MMRs 基因及 DNMTs 的表达水平呈正相关 ( $P < 0.05$ )。**结论** 本研究全面揭示了 *METTL14* 在不同肿瘤发生和发展过程中的重要作用,为 *METTL14* 作为未来肿瘤预后评估以及免疫治疗的关键靶点提供新的见解。

**[关键词]** *METTL14*; 泛癌分析; 免疫浸润; 肿瘤微环境

### Comprehensive analysis of single-gene *METTL14* in Pan-Cancer

ZHAO Li<sup>1</sup>, YAN Qing<sup>2</sup>, ZHAO Xiaowen<sup>2</sup>, PENG Rui<sup>1</sup>, ZHU Mingxue<sup>1</sup>, WANG Ye<sup>2</sup>, MU Xiaofeng<sup>2\*</sup>

(1. Department of Medicine, Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266021; 2. Clinical Laboratory, Qingdao Central Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266042)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression of *METTL14* in tumors and its relationship with tumor microenvironment by combining multi-database analysis. **Methods** The gene data of various tumors and normal tissues were obtained from the relevant database, and the expression levels of *METTL14* in different normal tissues and different tumor tissues were analyzed. The relationship between the expression level of *METTL14* and tumor prognosis was compared. The correlation of *METTL14* expression with immune cell score and immune checkpoint was analyzed. The relationship between the expression of *METTL14* and MMRs and DNMTs was analyzed. **Results** The expression level of *METTL14* in most solid tumors is lower than that in normal tissues; the low expression of *METTL14* in KIRC, MESO, READ may be related to the poor prognosis of patients, and the K-M survival curve shows the high expression of *METTL14* in KICH and LGG. The expression level of *METTL14* was most significantly correlated with the level of immune infiltration in BLCA, COAD, and HNSC; the expression level of *METTL14* in each tumor was positively correlated with multiple checkpoints. The expression level of *METTL14* in pan-cancer was positively correlated with the expression level of MMRs gene and DNMTs ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** This study fully reveals the important role of *METTL14* in the development and progression of different tumors and provides new insights for *METTL14* as a key target for future tumor prognosis evaluation and immunotherapy.

**[KEY WORDS]** *METTL14*; Pan-cancer analysis; Immune infiltration; Tumor microenvironment

基金项目:国家自然科学基金项目(81670822,81370990);青岛市医疗卫生重点学科建设项目(青卫科教字[2019]9号)

作者单位:1. 青岛大学青岛医学院,山东,青岛 266021

2. 青岛市中心医院检验科,山东,青岛 266042

\*通信作者:牟晓峰, E-mail: muxiaofeng2005@126.com



肿瘤的形成是一个十分复杂的过程,伴随着癌细胞的增殖、抗凋亡、血管生成增强、免疫逃逸等<sup>[1]</sup>。其中,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)对肿瘤的发展起着至关重要的作用<sup>[2]</sup>。TME由细胞成分和细胞外基质组成,细胞成分中浸润的免疫细胞占很大比重<sup>[3]</sup>。肿瘤浸润的免疫细胞和基质细胞与血管生成,免疫抑制,化疗抵抗和肿瘤细胞迁移有关<sup>[4]</sup>。了解肿瘤的微环境,包括免疫细胞的浸润,可能有助于进一步探索肿瘤发展的机制。越来越多的证据表明,基质细胞和免疫细胞在肿瘤组织微环境中的重要性,与肿瘤微环境相关的一系列基因也具有作为癌症的新型生物标志物的潜力<sup>[5]</sup>。

N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)修饰是哺乳动物细胞中最丰富的RNA修饰,越来越多的研究都显示m6A在人类肿瘤发生过程中的起着关键的作用<sup>[6]</sup>。甲基转移酶样蛋白14(methyltransferase like protein14, *METTL14*)是一种主要的RNA N6-腺苷甲基转移酶,通过调节RNA功能参与肿瘤的进展,现已发现*METTL14*与不同类型癌症中的肿瘤发生有关<sup>[7]</sup>。本研究中,通过收集TCGA数据库中的33种人类癌症的表达数据,寻找*METTL14*在各个肿瘤中的表达,以及其与预后、免疫指标之间的关联,为确认*METTL14*参与肿瘤免疫调控提供新的思路。

## 1 方法

### 1.1 数据采集和*METTL14*在泛癌中的表达分析

从TCGA数据库(The Cancer Genome Atlas, TCGA)(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)和基因型-组织表达项目(Genotype-Tissue Expression, GTEx)数据库(<https://gtexportal.org/>)中获取各个肿瘤及正常组织中的基因数据,从肿瘤细胞系百科全书(Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE)数据库(<https://portals.broadinstitute.org/>)中下载各个肿瘤细胞系的数据,以了解基因在各个肿瘤样本中癌与癌旁的差异。其中从GTEx数据集分析中观察到基因在31个组织的表达水平,整合GTEx数据库中的正常组织的数据和TCGA肿瘤组织的数据,分析27种肿瘤的表达差异。使用Kruskal-Wallis检验分析*METTL14*在不同正常组织和不同肿瘤组织中的表达水平。

### 1.2 *METTL14*在泛癌中的预后分析

使用单因素Cox回归分析计算*METTL14*在33种肿瘤中的表达和患者生存的相关性,Kaplan-Meier生存分析用来比较*METTL14*的表达水平高

低与肿瘤预后之间的关系。

### 1.3 *METTL14*与免疫微环境的相关性分析

本次研究从肿瘤免疫数据库(Tumor Immune Estimation Resource, TIMER)下载33种癌症的六种免疫浸润细胞的评分数据,分别分析*METTL14*表达与免疫细胞评分的相关性。使用R软件包estimate分析各个肿瘤样本的免疫评分和基质评分,观察在33个肿瘤中*METTL14*表达与免疫评分的相关性。当 $P < 0.05$ 和 $R > 0.20$ 时,认为相关性是显著的而且是正相关的。

### 1.4 *METTL14*表达与MMRs及DNMTs的表达关系分析

MMRs是细胞内的错配修复机制,该机制关键基因的功能丧失会导致DNA复制错误无法被修复,进而导致较高水平的体细胞突变的产生<sup>[8]</sup>。DNA甲基化是DNA化学修饰的一种形式,能够在不改变DNA序列的前提下,改变遗传表型。DNA甲基化能引起染色质结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变,从而控制基因表达<sup>[9]</sup>。研究利用TCGA的表达谱数据评估5个MMRs基因:*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2*、*EPCAM*突变与基因表达的关系。还分析了*METTL14*表达与四个甲基转移酶(DNMT1、DNMT2、DNMT3A、DNMT3B)表达的相关性。当 $P < 0.05$ 和 $R > 0.20$ 时,认为相关性是显著的而且是正相关。

### 1.5 统计学方法

使用Kruskal-Wallis检验分析*METTL14*在不同正常组织和不同肿瘤组织中的表达水平;单因素Cox回归分析计算*METTL14*在肿瘤中的表达和患者生存的相关性;Kaplan-Meier生存分析用来比较*METTL14*的表达水平高低与肿瘤预后之间的关系;当 $P < 0.05$ 和 $R > 0.20$ 时,相关性被认为是显著的和正的。所有统计分析均使用R软件包(v4.0.3)进行,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

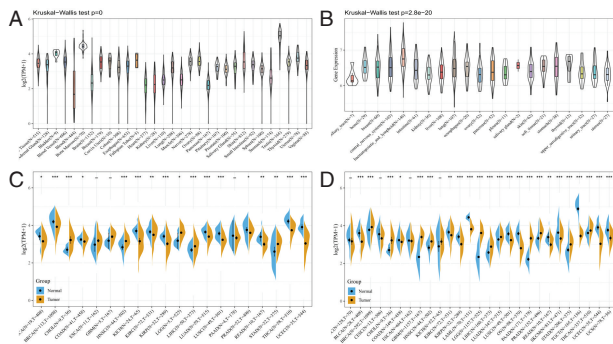
## 2 结果

### 2.1 *METTL14*在不同肿瘤中的表达

小提琴图显示*METTL14*在GTEx(图1A)、CCLE(图1B)以及TCGA(图1C)中的表达。整合GTEx与TCGA数据库结果显示,*METTL14*在大多数实体肿瘤中表达水平较正常组织低(图1D)。

### 2.2 *METTL14*在不同肿瘤中的预后分析

*METTL14*与肿瘤预后的关系分析结果显示,

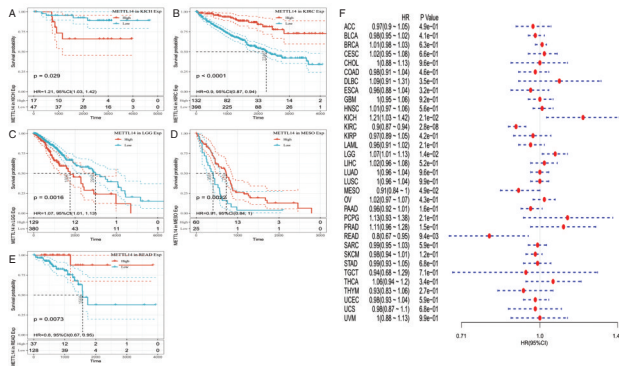


注:A为 *METTL14* 在 GTEx 数据库中的表达水平。B为 *METTL14* 在 CCLE 数据库中的表达水平。C为 *METTL14* 在 TCGA 数据库中的表达水平。D为整合 GTEx 数据库与 TCGA 数据库中的数据后, *METTL14* 的表达水平与正常组相比, \* $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.001$ 。

图1 *METTL14* 在组织中的表达水平

Figure 1 The expression level of *METTL14* in tissues

*METTL14* 仅在 KICH (HR=1.21,  $P=0.0210$ )、KIRC (HR=0.90,  $P < 0.0001$ )、LGG (HR=1.07,  $P=0.0140$ )、MESO (HR=0.91,  $P=0.0490$ )、READ (HR=0.80,  $P=0.0094$ ) 中存在预后意义(图 2F)。K-M 生存曲线结果显示 KICH、LGG 中 *METTL14* 的高表达,以及 KIRC、MESO、READ 中 *METTL14* 的低表达可能与患者的不良预后有关(图 2A-E)。



注:A为 *METTL14* 高低水平与 KICH OS 之间关系的 K-M 生存曲线,B为 *METTL14* 高低水平与 KIRC OS 之间关系的 K-M 生存曲线,C为 *METTL14* 高低水平与 LGG OS 之间关系的 K-M 生存曲线,D为 *METTL14* 高低水平与 MESO OS 之间关系的 K-M 生存曲线,E为 *METTL14* 高低水平与 READ OS 之间关系的 K-M 生存曲线,F为单因素 Cox 回归分析 *METTL14* 与 33 种肿瘤中 OS 之间的关系 (KICH: 肾嫌色细胞癌; KIRC: 肾透明细胞癌; LGG: 脑低级别胶质瘤; MESO: 间皮瘤; READ: 直肠癌)。

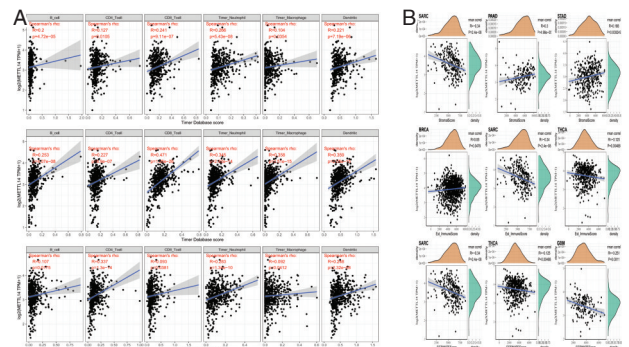
图2 *METTL14* 表达与癌症患者的总体生存率的关系

Figure 2 Relationship between *METTL14* expression and overall survival of cancer patients

### 2.3 不同肿瘤中 *METTL14* 与肿瘤免疫浸润和肿瘤微环境之间的相关性

*METTL14* 表达与 33 种癌症的六种免疫浸润细胞数据的相关性结果显示, *METTL14* 的表达水

平与 BLCA、COAD、HNSC 中的免疫浸润水平最显著相关。且 *METTL14* 的表达水平均与 BLCA、COAD、HNSC 中的六种肿瘤浸润性淋巴细胞即 B 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞的水平呈正相关( $P < 0.001$ , 图 3A)。33 个肿瘤中, *METTL14* 表达与免疫评分、基质评分以及 ESTIMATE 的免疫评分关系结果显示, *METTL14* 的表达与 SARC 的免疫评分呈负相关,与 PAAD、STAD 的免疫评分呈正相关。*METTL14* 的表达与 BRCA 的基质评分呈正相关,与 SARC、THCA 的基质评分呈负相关。*METTL14* 的表达与 SARC、THCA、GBM ESTIMATE 的免疫评分均呈负相关(图 3B、表 1)。



注:A为 *METTL14* 的表达水平与 BLCA、COAD、HNSC 中免疫细胞浸润之间的相关性分析,B为 *METTL14* 的表达水平与免疫评分,基质评分以及 ESTIMATE 的免疫评分的关系。

图3 *METTL14* 表达与不同类型癌症中的免疫浸润水平的关系

Figure 3 Relationship between *METTL14* expression and the level of immunoinvasion in different types of cancer

表1 *METTL14* 表达与免疫评分、基质评分以及 ESTIMATE 的免疫评分关系

Table 1 The relationship between *METTL14* expression and immune score, matrix score and immune score of ESTIMATE

项目	METTL14	
	r 值	P 值
免疫评分	SARC	-0.34 <0.001
	PAAD	0.30 <0.001
	STAD	0.188 <0.001
基质评分	BRCA	0.0.6 <0.001
	SARC	-0.34 <0.001
	THCA	-0.125 <0.001
ESTIMATE 免疫评分	SARC	-0.34 <0.001
	THCA	-0.125 <0.001
	GBM	-0.251 <0.001

注:BLCA,膀胱尿路上皮癌;COAD,结肠癌;HNSC:头颈鳞状细胞癌;SARC,肉瘤;PAAD,胰腺癌;STAD,胃癌;BRCA,乳腺浸润癌;THCA,甲状腺癌;GBM,多形性胶质细胞瘤。



## 多学科协作模式在遗传性耳聋诊疗中的应用

雷亚利 黄肖楠 潘俊均 杜华 梁爱芬 隋洪\*

**[摘要]** **目的** 探究多学科协作(MDT)模式在遗传性耳聋诊疗过程中的应用效果。**方法** 在MDT模式下,收集2019年1月至2020年12月东莞康华医院遗传性耳聋基因检测病例共2 715例作为研究组,遵从患者意愿将常规模式下2017年1月至2017年12月东莞康华医院4 558例遗传性耳聋基因检测的数据作为对照组。比较MDT模式实施前后遗传性耳聋诊疗差异,包括突变基因检出率、随访率、患者满意度以及重症耳聋患者的早期干预等,对MDT模式在遗传性耳聋诊疗中的应用进行分析与评价。**结果** 研究组在管理体系、服务体系、信息制度、人才培养方面均较对照组有所改善。两组间GJB3、SLC26A4、12SrRNA基因突变检出率比较,差异无统计学意义( $\chi^2=1.221, 1.912, 2.454, P>0.05$ );研究组GJB2基因突变检出率及上述四个基因突变总检出率均高于对照组,差异有统计学意义( $\chi^2=10.003, 14.576, P<0.05$ )。研究组和对照组的随访率比较,差异无统计学意义( $\chi^2=0.023, P>0.05$ ),研究组随访结局显示由于干预及就诊及时,无重症耳聋患者且结局满意。**结论** 将MDT模式应用于遗传性耳聋诊疗中,可以改善就诊流程,提高患者满意度。对于夫妻双方均为携带者可进入产前诊断,减少了重症聋儿的出现,使患者获益,为遗传性耳聋病的诊疗提供了一个新的思路。

**[关键词]** 遗传性耳聋;多学科协作;产前诊断;诊疗

### Application of multidisciplinary cooperation model in diagnosis and treatment of hereditary deafness

LEI Yali, HUANG Xiaonan, PAN Junjun, DU Hua, LIANG Aifen, SUI Hong\*

(Department of Clinical Laboratory, Dongguan KangHua Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the application effect of multidisciplinary collaboration (MDT) model in the diagnosis and treatment of hereditary deafness. **Methods** In the MDT mode, a total of 2 715 genetic testing cases of hereditary deafness in Dongguan Kanghua Hospital from January 2019 to December 2020 were collected as the research group. The genetic testing data of 4 558 cases of hereditary deafness in Dongguan Kanghua Hospital from January 2017 to December 2017 in the conventional mode were used as the control group. To compare the differences in diagnosis and treatment of hereditary deafness before and after the implementation of the MDT model, including mutation detection rate, follow-up rate, patient satisfaction, and early intervention for patients with severe deafness, etc. the application effect of the MDT model in the diagnosis and treatment of hereditary deafness was analyzed and evaluated. **Results** The research group has improved in terms of management system, service system, information system and talent training compared with the control group. There was no significant difference in the detection rate of GJB3, SLC26A4, 12SrRNA gene mutation between the two groups ( $\chi^2=1.221, 1.912, 2.454, P>0.05$ ). The detection rate of GJB2 gene mutation in the study group and the total detection rate of the above four gene mutations were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $\chi^2=10.003, 14.576, P<0.05$ ). There was no significant difference in the follow-up rate between the study group and the control group ( $\chi^2=0.023, P>0.05$ ). The follow-up results of the research group showed that due to timely intervention and medical treatment, there were no patients with severe deafness and the outcomes were satisfactory. **Conclusion** The application of the MDT model in the diagnosis

基金项目:东莞市社会科技发展(一般)项目(201950715059136)

作者单位:东莞康华医院检验科,广东,东莞 523000

\*通信作者:隋洪, E-mail:1511059224@qq.com

and treatment of hereditary deafness can improve the treatment process and satisfaction of patients. For both husband and wife who are carriers can enter prenatal diagnosis, reduce the occurrence of severely deaf children, benefit patients, and provide a new idea for the diagnosis and treatment of hereditary deafness.

**[KEY WORDS]** Hereditary deafness; Multidisciplinary collaboration; Prenatal diagnosis; Diagnosis and treatment

耳聋是我国第二大新生儿出生缺陷,在10 000名新生儿中,每一年就有10~30个是聋儿<sup>[1-2]</sup>。耳聋的致病因素主要包括遗传因素和环境因素两个方面,而与遗传因素有关的耳聋超过60%<sup>[3]</sup>。遗传性耳聋依照是否伴有耳外组织病变又分为综合征型耳聋(Syndromic hearing loss, SHL)和非综合征型耳聋(Nonsyndromic hearing loss, NSHL)。其中约70%的患者为NSHL,30%为SHL<sup>[4]</sup>。由遗传因素引发的耳聋大部分是可防可控的,现阶段我国多地区已逐渐采用听力筛查与聋病易感基因联合检测的方法,及时采取干预和治疗措施,有效地提高了遗传性耳聋的检出效率<sup>[5]</sup>。然而,在实践中存在一些问题,如资源分散,各科室所掌握的聋病知识不同。产前诊断、新生儿科、耳鼻喉科等各自从专科疾病诊治角度出发,解决专科疾病,没有统一的工作模式,临床工作中出现重检测轻随访,重诊断轻干预,重手术轻康复,对复杂病倒难以及时做出诊断等问题。通常患者方需要转诊不同门诊,由于不同门诊专业背景不同,可能会得出不同的诊断结果,导致患者方对整体病情或诊疗方案不能有效理解,容易引起焦虑,不利于治疗与康复。此外,基因检测诊断阳性的患儿治疗周期长,重度聋儿后续治疗及人工耳蜗植入等花费巨大,是许多家庭难以负担的<sup>[6]</sup>。

多学科协作(Multi disciplinary team, MDT)模式是由不同科室资深专家以共同讨论的方式,为患者制定个性化诊疗方案的过程。该模式最先用于肿瘤的诊疗中,随后广泛用于各种慢性疾病及疑难复杂病例中,并取得了一些成效。邱金伦<sup>[7]</sup>等研究显示,采用MDT模式治疗肝癌患者,复发率降低了18.37%,5年生存率从10.2%提高到26%以上。此外,我国也在探索和研究MDT模式在慢性疾病中的应用<sup>[8]</sup>,吴琨在艾滋病中采取的综合诊治,患者病死率降至<5%,所在院内艾滋病感染控制处于全国领先水平<sup>[9]</sup>。本研究成立了由检验科、耳鼻喉科、产前诊断和产科共同组建的多学科协作小组,比较研究了MDT模式实施前后遗传性耳聋诊疗的差异,包括突变基因检出率,随访率与患者满意度等<sup>[10]</sup>,

探讨其在遗传性耳聋诊疗中的应用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年1月至2020年12月东莞康华医院病例为研究对象,研究组为2019年1月至2020年12月共2 715例经MDT模式干预后遗传性耳聋基因检测的病例;对照组为2017年1月至2017年12月康华医院4 558例未经MDT模式干预的检测病例。纳入标准:①受试者为新生儿或孕前、孕期妇女及其配偶,并由就诊人/监护人自愿签署知情同意书。②受试者为遗传性耳聋患者,并由就诊人/监护人自愿签署知情同意书。排除标准:①无电话信息;②受试者为综合征型耳聋;③各种中耳炎症至传导性耳聋患者,中耳胆脂瘤,肿瘤等疾病致聋者。本研究经院伦理委员会审核批准(2018042)。

### 1.2 试验方案

对照组采取常规门诊模式下遗传性耳聋基因检测患者。研究组则为采取多学科协作模式后的检测患者。多学科协作具体实施如下:①MDT团队建立。由检验科组织,建立包括检验科、产前诊断科、产科、新生儿科、耳鼻喉科的多学科协作小组。②明确分工制度。由产前诊断科提供遗传咨询;由检验科进行基因检测及结果报告解读;由产科进行产前干预措施;由新生儿科进行新生儿听力筛查;由耳鼻喉科非新生儿患者听力筛查以及对纯合突变或双重(复合)杂合突变的重度聋儿进行及时诊断,必要时进行人工耳蜗植入,将工作重心放在防哑。③进行导诊分诊。孕前妇女、产妇在产前诊断科进行遗传咨询,由新生儿科及耳鼻喉科医生进行听力筛查,孕期妇女以及非综合征型耳聋均接受遗传性耳聋基因筛查(PCR-导流杂交法)。④各学科人员安排。每学科设定组长1名,由高年资/副高级医师/副高级技师担任,负责对疑难病例瓶颈问题进行解答;中年资/主管医/技师负责患者日常普通患者收治记录工作;小组选定一名会议记录员负责MDT会议活动记录。

⑤工作小组的工作形式。检验科牵头组织小组会议,内容包括:各科室汇报近期工作成果,疑难病例分析,讨论工作难点问题,参会成员积极发表意见,学习并查阅文献进行深度探究。

### 1.3 随访

#### 1.3.1 随访人群

依托筛查信息录入与查询系统,建立追踪随访网络。对所有耳聋基因筛查阳性的患者均需要进行随访。

#### 1.3.2 随访时机

筛查到可疑阳性的患者时,立即电话或书面等方式通知患者尽快到医院来取报告,作进一步咨询及临床建议,尽早给予遗传咨询及下一步干预措施。每次通知及访视均须做记录,相关的资料保存10年。

#### 1.3.3 随访内容

①确认接听者身份,与患者关系,是否及时知晓患者耳聋基因检测阳性结果情况;②询问患者听力状况,是否有异常反应,如对声音刺激不敏感(或在其背后发生的声音无反应等),建议其定期来院做听力检测,并及早开始培养语言能力;③根据患者携带突变情况给予遗传咨询,询问家族史,特别是直系亲属,若亲属中有较多听力缺陷者,提示高风险,建议进行家族史调查和家族基因检测。

### 1.4 观察指标及评价标准

#### 1.4.1 观察指标

①MDT模式实施前后的基本情况;②对照组和研究组两组四个耳聋基因的检出率;③两组阳性病例的随访率;④记录患者对MDT模式诊疗的满意度。

#### 1.4.2 评价标准

①比较MDT模式实施前后的管理制度、服务体系、信息系统以及人才培养是否更完善和优化。②比较对照组和对照组两组四个耳聋基因包括 *GJB2* 基因(235delC、299-300delAT、176-191del16bp、512ins AACG)、*GJB3* 基因(538C>T、547G>A)、*SLC26A4* 基因(IVS15+5G>A、1229C>T、2168A>G、IVS7\_2A>G)、线粒体 mtDNA 12S rRNA(1555A>G)的检出率是否更高。③比较两组阳性病例的随访率。对照组和研究组均对筛查阳性患者进行随访,比较不同模式下两组随访率的差异。④对研究组随访阳性病例均统一发放医院满意度调查问卷,共发出145份,收回143份,对照组发出159份,收回153份。比较两组患者诊疗的满意

度,采用医院满意度问卷调查,包括8个条目,采用 Likert5 级评分法,赋分1~5分,分别表示对当次诊疗过程的满意度,分为非常不满意、不太满意、一般、比较满意、非常满意<sup>[1]</sup>,总分40分, $\geq 24$ 分即为满意,得分越高表示患者满意度越高。MDT实施后所有调查表由学科小组资料收集员于患者来院复诊时及时发放、及时收回,由患者/监护人填写,填表前向患者/监护人说明填表的目的和要求等。

### 1.5 统计学方法

应用 SPSS 25.0 统计软件进行数据处理;计数资料以  $n(\%)$  表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用双侧检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MDT模式实施前后诊疗模式差异

MDT实施后,成立了多学科协作小组,优化了管理制度,更新了服务体系及信息系统,专人随访制度,及时跟踪患者,责任到人。见表1。

### 2.2 研究组和对照组耳聋基因突变检出率的比较

两组间 *GJB3*、*SLC26A4*、*12S rRNA* 基因突变检出率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );研究组 *GJB2* 基因突变检出率及上述四个基因突变总检出率均高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.3 研究组和对照组耳聋基因突变阳性患者的随访率比较及随访结局比较

研究组和对照组的随访率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表3。经随访了解到,对照组中1例为 *GJB2* 235delC 合并 *SLC26A4* IVS7-2 双杂合突变,1例为 *GJB2* 235delC 合并 *GJB2* 299-300delAT 双杂合突变。由于诊疗不及时,错过最佳治疗时间,患者已聋。研究组中,1对夫妻因知道双方家庭有携带耳聋基因者,且已育有聋儿的后代,在孕前进行了耳聋基因检测,给予双方明确的生育指导。另有2对选择进行产前诊断,其中1例结果为 *GJB2* 235delC 纯合突变,另一对产前诊断结果为 *GJB2* 235delC 合并 *SLC26A4* IVS7-2 双杂合突变,因这两对夫妻双方年龄稍大,且胎儿属珍贵儿,表示能够接受孩子为聋儿的事实,选择继续妊娠。目前患者已完成人工耳蜗移植,经耳鼻喉科医生评估听力良好。

### 2.4 研究组和对照组患者满意度比较

研究组患者满意度高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表4。

表1 MDT模式实施前后相关情况

Table 1 The related situations before and after the implementation of MDT mode

项目	内容	研究组(实施后)	对照组(实施前)
管理制度		成立多学科协作小组	无组织架构
		制定MDT管理制度	无规范的管理制度
		优化就诊流程	就诊流程不完善
诊疗模式		产前诊断科、产科、新生儿科、耳鼻喉科、检验科共同参与	单个科室单个医生分别进行
遗传性耳聋知识宣教		传统媒体(院报)和新媒体宣传结合	仅派发院报用于聋病知识宣传
服务体系	诊疗方案全面性	疑难病例可结合多学科专家意见给予具体诊疗方案	根据指南给予单次治疗或建议,不同科室存在不同诊断结果,造成患者困扰。
	产前咨询	接受度高,信息收集完整。	接受度差,信息不完整。
	随访制度	专人按照计划进行电话随访,填写随访记录单,责任到人。	电话随访,不及时,无记录
信息系统	辅助机构平台建设	建立助听器验配机构及听力康复训练机构联系平台,为患者提供可靠的治疗手段。	无
	学科间科研合作关系	临床课题合作研究,科研资源的有效利用,新课题立项,论文发表等	分散型合作
人才培养	遗传性耳聋前沿知识	建立微信工作群,定期病例讨论发言,互相交流学习,3人晋升副高职称	各学科人员独自学习

表2 基因突变检出率的比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of gene mutation detection rates [n(%)]

组别	n	GJB2		GJB3		SLC26A4		12SrRNA		总检出率	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
研究组	2 715	78(2.87)	2 637(97.13)	12(0.44)	2 703(99.56)	46(1.69)	2 669(98.31)	9(0.33)	2 706(99.67)	145(0.05)	2 570(0.95)
对照组	4 558	80(1.76)	4 478(98.24)	13(0.29)	4 545(99.71)	59(1.29)	4 499(98.71)	7(0.15)	4 551(99.85)	159(0.03)	4 399(0.97)
$\chi^2$ 值		10.003		1.221		1.912		2.454		14.576	
P值		0.002		0.269		0.167		0.117		<0.001	

注:“+”基因突变检出为阳性;“-”基因突变检出为阴性。

表3 研究组和对照组耳聋基因突变阳性患者的随访率比较 [n(%)]

Table 3 Comparison of follow-up rates of deafness gene mutation-positive patients in the study group and the control group [n(%)]

组别	n	随访率
研究组	145	143(98.6)
对照组	159	153(96.2)
$\chi^2$ 值		0.023
P值		0.879

表4 研究组和对照组满意度比较

Table 4 Comparison of satisfaction between the study group and the control group

组别	n	≥24分	<24分
研究组	143	140	3
对照组	153	138	15
$\chi^2$ 值		7.685	
P值		0.006	

注:≥24分为满意。

### 3 讨论

MDT模式下的遗传性耳聋诊疗,以患者为中心,可充分发挥MDT小组各学科的专业优势。产前诊断和产科针对耳聋发生的病因、再次妊娠发生疾病的风险或成年起病及症状出现前遗传病的发病风险、风险相关的预防措施等进行产前答疑。一旦明确孕妇为常染色体遗传性耳聋基因变异携带者,应尽早告知并建议其配偶行相关基因诊断。若双方均为同一隐性基因的突变的携带者,必要时对胎儿行产前诊断,并对诊断结果进行准确解释。对重度耳聋风险较高的的胎儿,应对咨询者就可能的生产结局进行详细解释,告知可能的风险及应对措施,供咨询者做出知情选择<sup>[12-13]</sup>。耳鼻喉科组员负责判断听力损失性质和程度,以及选择康复治疗措施和干预时机,如人工耳蜗最佳植入时机、后期语言训练时长等。同时关注筛查结果对受检者及

家庭带来的焦虑情绪,并对其进行心理安慰,协助患者方与医师进行有效沟通<sup>[13]</sup>。

本研究基于遗传性耳聋的诊断而建立的MDT模式,能有效减少患者的误诊误治,缩短患者诊断和治疗等待的时间、增加治疗方案的全面性、分析得出最佳的治疗手段,避免患者不停转诊,有利于提升患者服务满意度等。综上所述,MDT在预防、诊断和治疗遗传性耳聋过程中,有利于更好的为患者服务,各协作方可充分发挥专业技能,优势互补,多重保障,提高患者诊疗效率,提高患者满意度。同时,MDT模式下,医院的管理体系、服务体系、信息制度、人才培养方面均得到有效提升,而这些提升将有利于医院更好的为患者服务,进而提升患者满意度,提高诊疗的效率。因此,MDT的在遗传性耳聋诊疗过程中的应用,具有重要的临床意义。

#### 参考文献

- [1] 贺娟,肖伟利,李雪芹,等.遗传性耳聋基因的研究进展[J].内蒙古医学杂志,2017,49(10):1175-1177.
- [2] Yao GD, Li SX, Chen DL, et al. Combination of hearing screening and genetic screening for deafness - susceptibility

- genes in newborns[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(1):218-222.
- [3] 马小玲,潘丽华,刘倩,等.遗传性耳聋基因研究进展[J].中国现代医生,2021,59(5):189-192.
- [4] 戴平,袁玉英.在遗传病筛查和耳聋诊断下进行出生缺陷的三级预防[J].临床耳鼻喉头颈外科杂志,2015,48(12):973-977.
- [5] 雷洁,韩璐好,邓茜,等.33911例新生儿听力联合耳聋基因筛查及随访结果的分析[J].中华医学遗传学杂志,2021,38(1):32-36.
- [6] 袁永一,戴朴.聋病基因筛查和耳聋防控新手段[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2015,22(2):57-59.
- [7] 邱金伦,廖锦岐,廖方.MDT治疗模式在肝癌中的应用研究[J].中国医学创新,2020,17(18):32-35.
- [8] 邵小丽.多学科联动在社区慢病管理中的实践与思考[J].中医药管理杂志,2019,27(16):196-197.
- [9] 吴珺,徐烈,沈银忠.艾滋病多学科协作诊治模式的实施与成效[J].上海医药,2020,41(11):21-23.
- [10] 崔迎慧,陈国强,程纯,等.基于医院全局管理的临床研究型MDT模式实施与体会[J].中国医院管理,2020,40(2):53-55.
- [11] 代璐莲,饶莉,唐毅,等.H医院患者满意度调查问卷信效度分析[J].重庆医学,2021,50(24):4287-4291.
- [12] Wang Q, Xiang J, Sun J, et al. Nationwide population genetic screening improves outcomes of newborn screening for hearing loss in China[J]. Genet Med, 2019, 21(10):2231-2238.
- [13] 吴萧男,关静,马懋悦,等.胚胎植入前遗传学诊断应用于SLC26A4致聋突变家庭的临床研究[J].中华耳科学杂志,2020,18(2):237-241.

(上接第801页)

#### 参考文献

- [1] 杨硕,杨清玲,陈昌杰.肿瘤微环境中外泌体在肿瘤发生发展中作用及机制[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(3):396-400.
- [2] 陈梁玥,段怡平,柳家翠,等.基于生物信息学分析F2R基因在胃癌中表达与免疫浸润的临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):242-246
- [3] Bindea G, Mlecnik B, Tosolini MJ, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer[J]. Immunity, 2013, 39(4):782-95.
- [4] Affo S, Yu LX, Schwabe RF. The Role of Cancer-Associated Fibroblasts and Fibrosis in Liver Cancer [J]. Annu Rev Pathol, 2017, 12: 153-186.
- [5] Liu S, Yu G, Liu L, et al. Identification of Prognostic Stromal-Immune Score-Based Genes in Hepatocellular Carcinoma Microenvironment[J]. Front Genet, 2021, 12: 625236.
- [6] Jiang X, Liu B, Nie Z, et al. The role of m6A modification in the biological functions and diseases [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 74.
- [7] Deng X, Su R, Weng H, et al. RNA N6-methyladenosine modification in cancers: current status and perspectives [J]. Cell Res, 2018, 28(5): 507-517.
- [8] Meiser B, Kaur R, Kirk J, et al. Evaluation of implementation of risk management guidelines for carriers of pathogenic variants in mismatch repair genes: a nationwide audit of familial cancer clinics[J]. Fam Cancer, 2020, 19(4): 337-346.

- [9] Yu J, Xie T, Wang Z, et al. DNA methyltransferases: emerging targets for the discovery of inhibitors as potent anticancer drugs[J]. Drug Discov Today, 2019, 24(12): 2323-2331.
- [10] Frye M, Harada BT, Behm M, et al. RNA modifications modulate gene expression during development [J]. Science, 2018, 361(6409): 1346-1349.
- [11] Tuck MT. Partial purification of a 6-methyladenine mRNA methyltransferase which modifies internal adenine residues [J]. Biochem J, 1992, 288 (Pt 1)(Pt 1): 233-40.
- [12] Wang Q, Zhang H, Chen Q, et al. Identification of METTL14 in Kidney Renal Clear Cell Carcinoma Using Bioinformatics Analysis[J]. Dis Markers, 2019, 2019: 5648783.
- [13] Liu X, Liu L, Dong Z, et al. Expression patterns and prognostic value of m6A-related genes in colorectal cancer [J]. Am J Transl Res, 2019, 11(7): 3972-3991.
- [14] Lei X, Lei Y, Li JK, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy [J]. Cancer Lett, 2020, 470: 126-133.
- [15] Sokratous G, Polyzoidis S, Ashkan K. Immune infiltration of tumor microenvironment following immunotherapy for glioblastoma multiforme [J]. Hum Vaccin Immunother, 2017, 13(11):2575-2582.
- [16] Wang L, Hui H, Agrawal K, et al. m6A RNA methyltransferases METTL3/14 regulate immune responses to anti-PD-1 therapy [J]. EMBO J, 2020, 39(20): e104514.



· 论 著 ·

## 重症颅脑损伤合并肺部感染血清IL-17、TNF- $\alpha$ 与Bcl-2、Bax关系及联合检测价值

张人菁 黄焰霞 邓云新 陈德昌\*

**【摘要】**目的 探究重症颅脑损伤合并肺部感染患者血清白细胞介素17(IL-17)、肿瘤细胞坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )与B淋巴细胞瘤-2蛋白(Bcl-2)、B淋巴细胞瘤-2相关X蛋白(Bax)关系及联合检测价值。方法 选取上海交通大学医学院附属瑞金医院重症颅脑损伤患者115例,根据是否合并肺部感染分为感染组(41例)、未感染组(74例)。检测对比两组、不同预后患者血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、水平,分析血清IL-17、TNF- $\alpha$ 与Bcl-2、Bax相关性,评价各血清指标联合预测预后价值。结果 感染组入院第3d、7d血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bax高于未感染组,Bcl-2低于未感染组( $P<0.05$ );死亡者入院第3、7d血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bax高于生存者,Bcl-2低于生存者( $P<0.05$ );血清IL-17、TNF- $\alpha$ 与Bax呈正相关,与Bcl-2呈负相关( $P<0.05$ );入院第7d血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bcl-2、Bax联合预测重症颅脑损伤合并肺部感染预后曲线下面积(AUC)(0.870) $>$ IL-17(0.808) $>$ TNF- $\alpha$ (0.790) $>$ Bax(0.775) $>$ Bcl-2(0.750),敏感度为87.50%,特异度为80.00%。结论 血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bax、Bcl-2水平在重症颅脑损伤合并肺部感染患者中呈异常表达,联合检测有望成为重症颅脑损伤合并肺部感染预后的有效预测手段。

**【关键词】** 重症颅脑损伤;肺部感染;白细胞介素17;肿瘤细胞坏死因子- $\alpha$

### The relationship between serum IL-17, TNF- $\alpha$ and Bcl-2, Bax in severe craniocerebral injury complicated with pulmonary infection and its combined detection value

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

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

**【ABSTRACT】** Objective To investigate the serum interleukin-17 (IL-17), tumor cell necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and B-lymphoma-2 protein (Bcl-2), B-lymphoma-2-related X protein (Bax) relationship and combined detection value in patients with severe craniocerebral injury and pulmonary infection. **Methods** A total of 115 patients with severe craniocerebral injury in Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine were selected and divided into the infected group (41 cases) and the non-infected group (74 cases) according to whether they had pulmonary infection. The serum levels of IL-17, TNF- $\alpha$ , and serum levels of IL-17, TNF- $\alpha$ , Bcl-2 and Bax were analyzed and compared between the two groups and patients with different prognosis, and the prognostic value of each serum indicator combined was evaluated. **Results** Serum IL-17, TNF- $\alpha$  and Bax in the infected group were higher than those in the uninfected group on the 3rd and 7th day of admission, and Bcl-2 was lower than that of the non-infected group ( $P<0.05$ ). The serum IL-17, TNF- $\alpha$  and Bax of the deceased were higher than those of the survivors on the 3rd and 7th day of admission, and Bcl-2 was lower than that of the survivors ( $P<0.05$ ). Serum IL-17, TNF- $\alpha$  are positively correlated with Bax, and negatively correlated with Bcl-2 ( $P<0.05$ ). The area under the curve (AUC) of serum IL-17, TNF- $\alpha$ , Bcl-2 and Bax combined to predict the prognosis of severe craniocerebral injury complicated with pulmonary

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(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 201821

\*通信作者:陈德昌, E-mail:cdc20816@163.com

infection on the 7th day of admission (0.870) > IL-17 (0.808) > TNF- $\alpha$  (0.790) > Bax (0.775) > Bcl-2 (0.750), the sensitivity was 87.50%, and the specificity was 80.00%. **Conclusion** The levels of serum IL-17, TNF- $\alpha$ , Bax, and Bcl-2 are abnormally expressed in patients with severe brain injury and pulmonary infection. The combined detection is expected to be an effective prognostic method for the prognosis of severe traumatic brain injury combined with pulmonary infection.

[KEY WORDS] Severe craniocerebral injury; Lung infection; IL-17; TNF- $\alpha$

肺部感染是重症颅脑损伤严重并发症之一,发生率高达19.9%~33.5%<sup>[1]</sup>。相关研究还表明,细胞因子网络失衡可能参与重症颅脑损伤发生,从而释放白三烯等多种炎症介质,打破肺内氧化与抗氧化平衡,进而加剧肺部炎症<sup>[2]</sup>。白细胞介素17(Interleukin 17, IL-17)具有强大的募集粒细胞、促进多种炎症细胞因子释放的作用,参与机体炎症及免疫性疾病的发生、发展<sup>[3]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )在机体炎症反应及免疫调节中具有重要作用,可促进炎症细胞黏附、游走及浸润<sup>[4]</sup>。凋亡蛋白B淋巴瘤-2蛋白(B-lymphoma-2, Bcl-2)、B淋巴瘤-2相关X蛋白(B lymphocytoma-2 associated X protein, Bax)能改变线粒体外膜通透性,控制细胞凋亡因子释放。本研究首次综合分析重症颅脑损伤合并肺部感染患者血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bcl-2、Bax水平变化意义。报道如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取上海交通大学医学院附属瑞金医院2018年1月至2020年8月重症颅脑损伤患者115例,根据是否合并肺部感染分为感染组(41例)、未感染组(74例)。两组年龄、性别、格拉斯哥昏迷指数评分(GCS)、体质量、疾病类型比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表1。本研究经本院医学伦理委员会批准。

纳入标准 ①感染组均符合以下相关要求<sup>[5]</sup>: a. 出现咳嗽咳痰、胸闷气喘、发热等症状; b. 听诊可闻及肺部啰音; c. 经X线胸片显示新发肺部浸润性病变影; d. 白细胞计数(WBC) $\geq 10 \times 10^9/L$ ; e. 经痰培养证实肺部感染; ②未感染组经检查显示无任何部位、器官感染发生; ③两组均符合以下要求: a. GCS评分3~8分; b. 受伤后昏迷时间 $>30$  min; ④临床资料完整,患者及家属均签署知情同意书。排除标准 ①近期有抗生素或免疫抑制剂治疗史者; ②合并甲状腺功能异常或自身免疫系统缺陷

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

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

一般资料	感染组 ( $n=41$ )	未感染组 ( $n=74$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
性别(男/女)	28/13	50/24	0.006	0.937
年龄(岁)	45.29 $\pm$ 6.31	44.97 $\pm$ 5.86	0.273	0.785
体质量(kg)	53.72 $\pm$ 3.96	54.10 $\pm$ 4.04	1.063	0.290
GCS评分(分)	5.20 $\pm$ 0.58	5.25 $\pm$ 0.63	0.419	0.676
疾病类型			0.159	0.997
重度脑挫裂伤	14(34.15)	25(33.78)		
急性颅内血肿	11(26.83)	19(25.68)		
蛛网膜下腔出血	8(19.51)	14(18.92)		
弥漫性轴索损伤	3(7.32)	7(9.46)		
原发性脑干伤	5(12.20)	9(12.16)		

者; ③合并心房颤动、动脉炎、瘤卒中等疾病者; ④合并肺结核、肺不张、肺栓塞等肺部疾病者; ⑤入院48 h内死亡者; ⑥精神行为异常者; ⑦合并其他任何器官、部位感染或存在急慢性感染性疾病者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 检测方法

空腹取3 mL静脉血,离心12 min, 3 000 r/min,分离取血清,置于-20℃低温保存,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、凋亡蛋白[B淋巴瘤-2蛋白(Bcl-2)、B淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)]水平,试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司,具体操作:稀释标准品,设置空白孔、标准孔、待测样品孔,在酶标包被板上标准孔加样50  $\mu$ L,待测样品孔中先加样品稀释液40  $\mu$ L,再加待测样品10  $\mu$ L。将样品加于酶标板孔底部,尽量不触及孔壁,轻轻晃动混匀;用封板膜封板后置37℃温育30 min,并将30倍浓缩洗涤液用蒸馏水30倍稀释后备用,揭掉封板膜,弃去液体,甩干,每孔加满洗涤液,静置30 s后弃去,反复5次,拍干。除空白孔外,每孔加入酶标试剂50  $\mu$ L,温育、洗涤,每孔分别加入显色剂A、B各50  $\mu$ L,震荡混匀,37℃避光显色10 min,待蓝色转为黄色终止反应,测量吸光度值。

### 1.2.2 治疗方法

感染组根据细菌培养结果及药敏试验予以合理、针对性抗感染治疗<sup>[5]</sup>。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件分析处理数据,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,*t*检验,计数资料用*n*(%)表示,组间比较采用 $\bar{x} \pm s$ 检验,通过Logistic进行多因素回归分析,采用Pearson进行线性相关性分析,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析预测价值,*P*<0.05表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax

入院第1 d两组血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax相比,差异无统计学意义(*P*>0.05);感染组入院第3、7 d血清IL-17、TNF-α、Bax高于未感染组,Bcl-2低于未感染组差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表2 两组血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax水平比较( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 serum IL-17 and TNF in two groups-α、Comparison of Bcl-2 and Bax levels ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	IL-17 (μg/L)	TNF-α (ng/mL)	Bcl-2 (μg/L)	Bax (μg/L)
入院第1 d					
感染组	41	8.26±1.55	1.25±0.41	1.14±0.30	3.85±0.37
未感染组	74	8.39±1.42	1.22±0.43	1.12±0.28	3.79±0.45
<i>t</i> 值		0.455	0.364	0.358	0.728
<i>P</i> 值		0.650	0.716	0.721	0.468
入院第3 d					
感染组	41	11.14±2.08	5.05±1.09	0.82±0.21	4.61±0.53
未感染组	74	9.12±1.60	1.37±0.45	1.07±0.24	3.86±0.40
<i>t</i> 值		5.814	25.455	5.587	8.554
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
入院第7 d					
感染组	41	10.65±2.02	4.82±1.04	0.88±0.17	4.30±0.48
未感染组	74	8.46±1.64	1.26±0.40	1.10±0.22	3.55±0.36
<i>t</i> 值		6.306	26.223	5.547	9.476
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax与重症颅脑损伤合并肺部感染的关系

Logistic多因素回归分析,血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax与重症颅脑损伤合并肺部感染显著相关(*P*<0.05)。见表3。

### 2.3 不同预后患者血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax水平

随访30 d,根据预后情况分为生存者、死亡者。不同预后患者入院第1 d血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax相比,差异无统计学意义(*P*>0.05);死亡者入院

表3 血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax与重症颅脑损伤合并肺部感染的关系

Table 3 serum IL-17 and TNF-α、Relationship between Bcl-2, Bax and severe craniocerebral injury complicated with pulmonary infection

变量	β值	S.E.值	Wald χ <sup>2</sup> 值	R值	95% CI	<i>P</i> 值
IL-17	1.202	0.410	8.588	3.325	1.915~5.774	<0.001
TNF-α	1.634	0.501	10.640	5.125	3.081~8.526	<0.001
Bcl-2	-0.632	0.226	7.825	0.531	0.310~0.911	<0.001
Bax	1.578	0.472	11.182	4.847	2.347~10.009	<0.001

第3 d、7 d血清IL-17、TNF-α、Bax高于生存者,Bcl-2低于生存者,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表4。

表4 不同预后患者血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 serum IL-17 and TNF in patients with different prognosis-α、Comparison of Bcl-2 and Bax levels ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	IL-17 (μg/L)	TNF-α (ng/mL)	Bcl-2 (μg/L)	Bax (μg/L)
入院第1 d					
死亡者	16	8.31±1.41	1.28±0.42	1.16±0.32	3.82±0.44
生存者	25	8.23±1.27	1.23±0.40	1.13±0.34	3.87±0.47
<i>t</i> 值		0.189	0.383	0.282	0.341
<i>P</i> 值		0.852	0.704	0.780	0.735
入院第3 d					
死亡者	16	12.42±2.55	6.20±1.29	0.71±0.17	5.03±0.52
生存者	25	10.32±1.86	4.31±1.05	0.89±0.23	4.34±0.46
<i>t</i> 值		3.048	5.141	2.690	4.453
<i>P</i> 值		0.004	<0.001	0.011	<0.001
入院第7 d					
死亡者	16	11.73±2.04	6.17±1.18	0.73±0.19	5.06±0.68
生存者	25	8.97±1.57	3.96±1.26	0.98±0.21	3.81±0.43
<i>t</i> 值		4.883	5.613	3.855	7.230
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.4 血清IL-17、TNF-α与Bcl-2、Bax相关性

Pearson线性相关性分析,血清IL-17(*r*=0.593、-0.723)、TNF-α(*r*=0.643、-0.803)与Bax呈正相关,与Bcl-2呈负相关(*P*<0.05)。

### 2.5 血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax对预后预测价值

ROC曲线分析显示,入院第7 d IL-17预测重症颅脑损伤合并肺部感染预后曲线下面积AUC为0.808,大于入院第7 d TNF-α 0.790、Bax 0.775、Bcl-2 0.750,当截断值>9.99 μg/L时,敏感度为93.75%,特异度为64.00%(*P*<0.05)。见表5、图1。

### 2.6 联合预测

根据单独预测价值,选择入院第7 d血清IL-17、TNF-α、Bcl-2、Bax进行联合预测,ROC曲线分析,AUC为0.870,95%CI为0.728~0.954,*P*<0.001,敏感度为87.50%,特异度为80.00%。见图2。

表5 ROC分析结果  
Table 5 ROC analysis results

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)
入院第3 d IL-17	0.743	0.582~0.866	>12.15 $\mu\text{g/L}$	56.25	84.00
入院第3 d TNF- $\alpha$	0.769	0.611~0.886	>4.60 ng/mL	87.50	64.00
入院第3 d Bcl-2	0.673	0.508~0.811	$\leq 0.65 \mu\text{g/L}$	43.75	88.00
入院第3 d Bax	0.734	0.573~0.859	>4.69 $\mu\text{g/L}$	81.25	60.00
入院第7 d IL-17	0.808	0.654~0.914	>9.99 $\mu\text{g/L}$	93.75	64.00
入院第7 d TNF- $\alpha$	0.790	0.635~0.901	>4.54 ng/mL	75.00	68.00
入院第7 d Bcl-2	0.750	0.590~0.872	$\leq 0.80 \mu\text{g/L}$	68.75	68.00
入院第7 d Bax	0.775	0.618~0.890	>4.83 $\mu\text{g/L}$	75.00	76.00

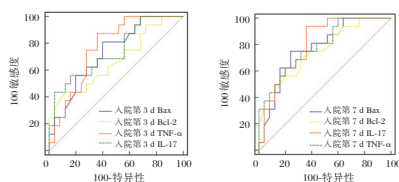


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

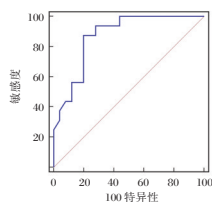


图2 ROC曲线

Figure 2 ROC curve

### 3 讨论

重症颅脑损伤会导致神经系统及呼吸中枢出现不同程度损伤,加之其多采取呼吸机辅助通气,增加肺部感染发生可能性<sup>[6-7]</sup>。C反应蛋白、降钙素原与颅脑损伤后感染发生存在一定关联性<sup>[8-9]</sup>,可作为主要参考标准,但其预后预测价值不甚理想。

IL-17可诱导中性粒细胞、淋巴细胞及嗜酸性粒细胞与支气管上皮细胞黏附,从而促使炎性细胞分化,强化致炎效应<sup>[10-11]</sup>。经Logistic多因素回归分析,血清IL-17水平是重症颅脑损伤合并肺部感染发生的独立危险因素,与黄婷等<sup>[12]</sup>结果基本相似。通过ROC曲线证明,以9.99  $\mu\text{g/L}$ 为临界点,入院第7 d IL-17预测重症颅脑损伤合并肺部感染预后的敏感度最高,为93.75%,可见血清IL-17不仅与重症颅脑损伤发生肺部感染有关,还有望成为评

估重症颅脑损伤合并肺部感染预后的独立预测因子,为临床对症治疗提供新思路、新途径。

TNF- $\alpha$ 作为典型性细胞炎症因子,参与多种细胞之间信息传递及机体调节作用,具有免疫调节及炎性介导功能<sup>[13]</sup>。通过ELISA法检测可知,入院后3 d、7 d TNF- $\alpha$ 在重症颅脑损伤合并肺部感染患者中呈异常高表达状态,与张晶等<sup>[14]</sup>报道相符。提示TNF- $\alpha$ 可能在重症颅脑损伤合并肺部感染发病机制中占据重要地位。TNF- $\alpha$ 过度表达会增强其生物活性,导致炎症细胞黏附,促进IL-6、IL-8等炎症因子释放,加重肺部感染程度。进一步研究不同预后患者血清TNF- $\alpha$ 水平表明,死亡患者入院第3 d、7 d血清TNF- $\alpha$ 高于生存患者。原因在于,重症颅脑损伤合并肺部感染血清TNF- $\alpha$ 水平升高会被动性消耗抑炎因子表达,加剧机体应激炎症反应及颅脑细胞损伤,诱发肺水肿、呼吸衰竭、心力衰竭等严重并发症,从而增加死亡风险。

Bax与Bcl-2具有高度同源性,其水平升高可拮抗Bcl-2作用,且二者比例决定中性粒细胞的凋亡或生存<sup>[15]</sup>。对比研究可知,重症颅脑损伤合并肺部感染患者入院第3 d、7 d血清Bax高于重症颅脑损伤未感染患者,Bcl-2低于重症颅脑损伤未感染患者,入院第3 d、7 d血清Bax水平在死亡患者中呈高表达,Bcl-2水平在死亡患者中呈低表达,可能与Bax水平升高、Bcl-2水平降低会引起细胞凋亡、加重病情发展有关。然而入院第7 d血清Bcl-2、Bax预测重症颅脑损伤合并肺部感染预后的特异度均<80.00%,可见两者单独预测价值欠佳。

本研究进一步分析发现,血清IL-17、TNF- $\alpha$ 与Bax存在正相关性,与Bcl-2存在负相关性,充分说明IL-17、TNF- $\alpha$ 可与Bax发挥协同作用,增强炎症效应,加剧重症颅脑损伤合并肺部感染程度。本研究采取联合预测模式发现,入院第7 d血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bax、Bcl-2联合对重症颅脑损伤合并肺部感染预后的预测特异度高达80.00%。

综上所述,血清IL-17、TNF- $\alpha$ 、Bax、Bcl-2水平在重症颅脑损伤合并肺部感染患者中呈异常表达,四者联合有望成为重症颅脑损伤合并肺部感染预后的有效预测手段。

### 参考文献

- [1] 闫明瑞. ICU重型颅脑损伤后颅内感染患者肺部感染特点及其影响因素研究[J]. 中国现代药物应用, 2019, 13(16): 29-30.

## 通州区妇女高危型HPV感染率及相关因素分析

马俊凤 张然 焦明远\*

**【摘要】**目的 分析北京市通州区高危型人乳头瘤病毒(HPV)的感染率及相关危险因素。方法 选取2017年1月至2018年12月期间在北京市通州区妇幼保健院行宫颈癌前病变检查的志愿者5 974例,通过问卷调查、HPV检测和液基细胞学检查(TCT),分析高危型HPV的感染率、感染亚型,以及相关危险因素。结果 通州区妇女人群高危型HPV的感染率为27.75%,主要基因型别为HPV16、18、31、33、39、58型。经TCT检查发现,感染高危型HPV者,宫颈病变的发生率高于未感染高危型HPV者。年龄 $\leq 35$ 岁、初中及以下教育程度、家庭收入 $< 3\ 000$ 元/月、长期食辛辣食物、有吸烟饮酒史、性伴侣数量 $\geq 2$ 个、未使用避孕措施、有宫颈手术史、阴道感染史,以及性伴侣生殖器感染史的人群,感染高危型HPV的概率高于未存在这些情况者,两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。经多因素Logistic回归分析,年龄 $\leq 35$ 岁、初中及以下受教育程度以及有阴道感染史是感染高危型HPV的独立危险因素( $P < 0.05$ )。结论 北京市通州区妇女人群中年龄 $\leq 35$ 岁、初中及以下受教育程度以及有阴道感染史者更易感染高危型HPV,在宫颈癌筛查中应引起重视。

**【关键词】** 高危型HPV; 感染率; 宫颈癌; 危险因素

### Analysis of infection rate and related factors of high-risk HPV among women in Tongzhou district

MA Junfeng, ZHANG Ran, JIAO Mingyuan\*

(Clinical Laboratory, Tongzhou Maternal and Child Health Hospital of Beijing, Beijing, China, 101100)

**【ABSTRACT】** **Objective** To analyze the infection rate and related risk factors of high-risk human papillomavirus (HPV) in Tongzhou District, Beijing. **Methods** 5974 volunteers with cervical lesions screening were selected from January 2017 to December 2018 in Tongzhou Maternal and Child Health Hospital of Beijing, and surveyed with questionnaire, HPV examination and thinprep cytology test (TCT). The infection rate, subtype distribution and risk factors of high-risk HPV infection were analyzed. **Results** The infection rate of high-risk HPV among women in Tongzhou District was 27.75%, and the main genotypes were HPV16, 18, 31, 33, 39, and 58. The possibility of cervical lesions in high-risk HPV positive patients is much higher than that in high-risk HPV negative patients by TCT. People with age  $\leq 35$  years old, education level of junior middle school and below, family income  $< 3\ 000$  yua /month, long-term consumption of spicy food, history of smoking and drinking, number of sexual partners  $\geq 2$ , non use of contraceptives, history of cervical surgery, vaginal infection, and genital infection of sexual partners were more likely to be infected with high-risk HPV than those without these conditions. There were significant differences between them ( $P < 0.05$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that age  $\leq 35$  years old, education level in junior middle school and below and a history of vaginal infection were independent risk factors for high-risk HPV infection ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Among women in Tongzhou District, Beijing, those aged  $\leq 35$  years old, educated in junior middle school or below and with a history of vaginal infection are more likely to be infected with high-risk HPV, and attention should be paid to cervical cancer screening.

**【KEY WORDS】** High risk human papillomavirus; Infection rate; Cervical cancer; Risk factors

基金项目:北京市通州区科委医疗卫生专项(KJ2017CX071)

作者单位:北京市通州区妇幼保健院检验科,北京,101100

\*通信作者:焦明远, E-mail:13522833318@163.com

宫颈癌是女性第二常见的恶性肿瘤,发病率仅次于乳腺癌,呈逐年上升并年轻化的趋势。我国宫颈癌每年新发病例13万多人,约占世界宫颈癌新发病例的1/4,病死率为我国妇女恶性肿瘤首位<sup>[1]</sup>。因此加强宫颈癌和癌前病变筛查对于降低发病率和改善预后具有重要的临床意义<sup>[2]</sup>。

多项研究均证实,人乳头状瘤病毒(Human papillomavirus, HPV)与宫颈癌的病因学联系<sup>[3]</sup>。目前已发现的HPV类型约有200种,其中可感染生殖道约40种,HPV分为低危型和高危型,每一型又包含多种HPV基因型,低危型主要与尖锐湿疣密切相关,高危型主要与宫颈癌前病变及宫颈癌密切相关<sup>[4]</sup>。近几年有多项针对中国女性HPV感染的研究<sup>[5-7]</sup>一致认为,HPV 16、58、52、18、33为国人常见的高危型别,其中HPV 16为最常见的感染型别,其他型别在不同人群中的分布有一定差异。

HPV的流行率及基因型别的分布有地域性差异。有研究显示,中国妇女HPV感染率为16.1%<sup>[8]</sup>。北京市2015年的一项报道显示,妇科门诊就诊女性高危型HPV感染率为37.4%,感染的优势基因型别依次为58型(10.5%)、16型(9.2%)、52型(8.2%)<sup>[9]</sup>。

本研究分析本地区人群高危HPV的感染率、感染亚型,以及感染的相关危险因素,为本地区女性宫颈病变、宫颈癌的早期筛查及防治提供理论依据。

## 1 临床资料与方法

### 1.1 研究对象

本研究选择2017年1月至2018年12月期间在北京市通州区妇幼保健院接受宫颈癌前病变检查的受试者6 103例,平均年龄为(38.72±12.35)岁。其中5 974例受试者的问卷为有效问卷,平均年龄为(39.87±10.32)岁。纳入标准:①自愿签署知情同意书;②HPV分型检测以及TCT均在本院进行;③无宫颈癌史、子宫切除史及HPV感染治疗史;④有一个或多个性伴侣,近一年内有性生活史;⑤无糖尿病、自身免疫性疾病、感染性疾病史。排除标准:①病例资料完整度低于85%;②月经期、精神疾病或无法配合完成调查的患者;③有子宫切除史、HPV感染治疗史;④标本不合格者。本研究经院伦理委员会批准同意。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 问卷调查

内容包括但不限于年龄、民族、籍贯、受教育

程度、家庭人均收入、饮食习惯、吸烟史、饮酒史、性生活史(是否有避孕措施、性伴侣数量、初次性生活年龄)、分娩次数、阴道感染史、宫颈手术史、性伴侣生殖道感染史、宫颈癌家族遗传史等<sup>[10]</sup>。

#### 1.2.2 HPV和液基细胞学检查(thinprep cytology test, TCT)

①标本采集:用无菌棉拭子将宫颈口轻轻擦拭干净,将宫颈刷置于宫颈口轻轻顺时针旋转3~5周,随后放入已加有细胞保存液的采样管内,拧紧管盖放入4℃冰箱保存。②HPV DNA提取:按照试剂盒提供的说明书进行。取细胞保存液1 000 μL于离心管中,转速13 000 r/min,离心半径10 cm,离心5 min。弃掉上清液,于沉淀中加入1 000 μL生理盐水,振荡混匀,转速13 000 r/min,离心半径10 cm,离心5 min,弃掉上清。于沉淀中加入100 μL裂解液,振荡混匀,100℃加热10 min,转速13 000 r/min,离心半径10 cm,离心10 min,上清液即为提取完成的核酸。③HPV荧光PCR扩增:按照试剂盒说明书配置PCR反应混合液,将配好的反应液放入荧光PCR仪中进行扩增。实验室筛查的HPV基因型有15种高危型HPV-DNA:16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、82型,和2种低危型HPV-DNA:6+11型(注:无法单独分型)。液基薄层涂片,烘干、固定,进行巴氏染色,最后封片、送检<sup>[10]</sup>。

## 1.3 结果判断

### 1.3.1 HPV检测

根据试剂盒操作说明书,Ct值<38为结果阳性,38≤Ct值<40需进行复检,其中至少1次Ct值<40为结果阳性,Ct值≥40为阴性。

### 1.3.2 宫颈液基细胞学检查

根据宫颈细胞学贝塞斯达报告系统(The Bethesda system, TBS)(2001修订版)<sup>[10-11]</sup>进行阴道细胞学分类,见图1。将①或炎症反应判定为阴性;将②③判定为阳性。

## 1.4 统计学处理

采用SPSS 26.0统计软件包进行统计学处理;计数资料以n(%)表示,采用卡方检验;多因素分析采用Logistic回归分析;以P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HPV分型检测结果

#### 2.1.1 不同HPV亚型感染率

5 974例受试者中,未感染HPV者4 024例

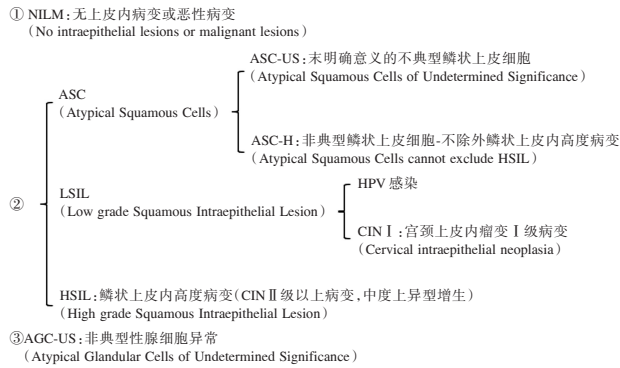


图1 依据TBS进行的阴道细胞学分类

Figure 1 Vaginal cytological classification according to TBS (67.36%), 感染 HPV 者 1 950 例 (32.64%), 其中 1 658 例 (27.75%) 受试者为高危型 HPV 感染, 292 例 (4.89%) 受试者为低危型 HPV 感染, 有 202 例受试者为混合型感染。其中感染率较高的亚型包括 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV39、HPV58。见表 1。

表 1 HPV 亚型检出情况  
Table 1 Detection of HPV subtypes

型别	亚型	阳性例数 n (%)	感染率 (%)
高危型别	HPV16	702 (42.34)	11.75
	HPV18	484 (29.19)	8.10
	HPV31	164 (9.89)	2.75
	HPV33	101 (6.09)	1.69
	HPV58	50 (3.02)	0.84
	HPV39	39 (2.35)	0.65
	HPV51	30 (1.81)	0.50
	HPV56	27 (1.63)	0.45
	HPV66	19 (1.15)	0.32
	HPV59	14 (0.84)	0.23
	HPV68	8 (0.48)	0.13
	HPV52	7 (0.42)	0.12
	HPV35	5 (0.30)	0.08
	HPV82	4 (0.24)	0.07
	HPV45	4 (0.24)	0.07
		合计	1 658 (100.00)
低危型别	HPV6+11	292 (100.00)	4.89

### 2.1.2 高危型 HPV 感染相关因素分析

2.1.2.1 高危型 HPV 感染与 TCT 诊断结果的相关性 经 TCT 检查, 1 658 例高危型 HPV 阳性者中, 78.11% 诊断为无上皮内病变或恶性病变 (NILM), 而 4 221 例高危型 HPV 阴性者中, 这一比例达 97.80%, 两组人群 NILM 结果比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。高危型 HPV 阳性者中, 非典型鳞状细胞异常 (ASC, 包括 ASC-US 和 ASC-H) 的发生率为 15.02%, 鳞状上皮内低度病变 (LSIL) 的发生率为 4.22%, 鳞状上皮内高度病变 (HSIL) 的发生率为 2.65%, 高于高危型 HPV 阴性者中的 1.90%、

0.19%、0.12%, 两组人群 ASC、LSIL、HSIL 的发生率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 高危型 HPV 感染与 TCT 诊断结果的相关性 [n (%)]  
Table 2 Relativity of high risk HPV and TCT diagnosis

高危型 HPV 结果	[n (%)]			
	NILM	ASC-US 和 ASC-H	LSIL	HSIL
高危型 HPV (+)	1 295 (78.11)	249 (15.02)	70 (4.22)	44 (2.65)
高危型 HPV (-)	4 221 (97.80)	82 (1.90)	8 (0.19)	5 (0.12)
$\chi^2$ 值	656.226	393.859	151.464	94.845
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.1.2.2 高危型 HPV 感染危险因素分析 年龄  $\leq 35$  岁的人群高危型 HPV 的感染率明显高于年龄  $> 35$  岁人群, 两组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。受教育程度低的人群感染率高于学历更高的人群, 两组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。随着家庭人均收入的增高, 高危型 HPV 的感染率有逐渐降低的趋势, 三组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。长期食辛辣食物、有吸烟饮酒史、性伴侣数量  $\geq 2$  个、无避孕措施、有宫颈手术史、阴道感染史以及性伴侣有生殖器感染史的人群, 感染高危型 HPV 的概率高于未存在这些情况者, 两组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

2.1.2.3 高危型 HPV 感染的多因素 Logistic 回归分析 将上述差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) 的因素, 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示, 年龄  $\leq 35$  岁、初中及以下受教育程度, 以及阴道感染史是高危型 HPV 感染的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

## 3 讨论

宫颈癌是目前威胁我国女性生命健康最主要的恶性病变之一, 虽然诊断率和治愈率相较于其他大多数恶性肿瘤较高, 但是其发病率和致死率仍然高居妇科恶性肿瘤的前两位<sup>[12]</sup>。由于宫颈癌的发生和发展是一个由量变到质变的渐变过程, 癌变的潜伏期较长, 因此提高宫颈癌前病变的筛查率对于降低宫颈癌变的风险具有重要的预防价值<sup>[13]</sup>。

已有多篇文献报道, HPV 的流行率及基因型别的分布有地域性的差异。北京市 2015 年的一项报道显示, 妇科门诊就诊女性高危型 HPV 感染率为 37.4%, 感染的优势基因型别依次为 58 型 (10.5%)、16 型 (9.2%)、52 型 (8.2%)<sup>[9]</sup>。山东省青岛市的 HPV 感染率则为 18.90%, 主要型别依次为

表3 高危型 HPV 感染的危险因素分析 [n(%)]

Table 3 Analysis of risk factors of high risk HPV infection

统计指标分组	患者数(n)	高危 HPV(+)	$\chi^2$ 值	P值
[n(%)]				
年龄				
≤35岁	3 259	1 219(37.40)	333.077	0.000
>35岁	2 715	439(16.17)		
民族			0.839	0.360
汉	4 492	1 233(27.45)		
其他	1 482	425(28.68)		
籍贯			2.328	0.127
北京市	3 427	925(26.99)		
外地(北京以外)	2 547	733(28.78)		
受教育程度			92.035	0.000
高中及以上	2 263	467(20.64)		
初中及以下	3 711	1 191(32.09)		
家庭人均收入			25.757	0.000
>8 000元/月	1 847	457(24.74)		
3 000~8 000元/月	2 589	702(27.11)		
<3 000元/月	1 538	499(32.44)		
长期食辛辣食物			488.405	0.000
有	2 738	1 141(41.67)		
无	3 236	517(15.98)		
吸烟史			5.275	0.024
有	982	302(30.75)		
无	4 992	1 356(27.16)		
饮酒史			97.988	0.000
有	1 604	597(37.22)		
无	4 370	1 061(24.28)		
初次性生活年龄			5.097	0.078
<22岁	1 582	469(29.65)		
22岁~25岁	312	93(29.81)		
>25岁	4 080	1 096(26.86)		
性伴侣数量			29.365	0.000
1个	3 830	973(25.40)		
≥2个	2 144	685(31.95)		
使用避孕措施			41.531	0.000
有	3 920	982(25.05)		
无	2 054	676(32.91)		
分娩次数			0.407	0.816
0	1 851	513(27.71)		
1次	2 492	701(28.13)		
≥2次	1 631	444(27.22)		
宫颈手术史			25.295	0.000
有	799	281(35.17)		
无	5 175	1 377(26.61)		
阴道感染史			91.079	0.000
有	2 105	742(35.25)		
无	3 869	916(23.68)		
宫颈癌家族遗传史			1.401	0.237
有	276	68(24.64)		
无	5 698	1 590(27.90)		
性伴侣生殖器感染史			52.675	0.000
有	1 387	491(35.40)		
无	4 587	1 167(25.44)		

注：“-”表示95%CI OR值没有上限。

表4 高危型 HPV 感染的多因素 Logistic 回归分析

Table 4 Multivariate logistic regression analysis of high risk

自变量	回归系数	标准误	Wald值	P值	OR值	95% CI	
						下限	上限
年龄	-0.599	0.150	15.880	0.000	0.549	0.4090	0.738
教育程度	-2.968	0.169	308.449	0.000	0.051	0.0370	0.072
家庭人均收入	0.281	0.276	1.040	0.308	1.325	0.7722	2.274
长期食辛辣食物	38.042	1 475.090	0.001	0.979	3.32×10 <sup>16</sup>	0.000	
吸烟史	-0.341	2 902.432	0.000	1.000	0.711	0.000	
饮酒史	-3.143	25 167.799	0.000	1.000	0.043	0.000	
性伴侣数量	17.669	1 153.560	0.000	0.988	4.71×10 <sup>7</sup>	0.000	
避孕措施	-15.103	1 153.560	0.000	0.990	0.000	0.000	
宫颈手术史	-18.876	2 696.195	0.000	0.994	0.000	0.000	
阴道感染史	0.819	0.093	77.952	0.000	2.269	1.8922	2.721
性伴侣生殖器感染史	4.282	25 054.661	0.000	1.000	72.355	0.000	

16、52、58、18、31型<sup>[14]</sup>。甘肃省妇科门诊就诊女性 HPV 感染率为 32.75%，其中 16、58、52、53 为优势基因型<sup>[15]</sup>。梁开如等<sup>[16]</sup>对四川省的一项研究显示，HPV 的感染率为 17.27%，感染型别最多的依次是 52、16、58 型。而王芬萍等<sup>[17]</sup>的研究报道认为，上海妇科门诊就诊女性的 HPV 感染率为 22.45%，以 16、52、58、56 基因型为主。

本研究中，高危型 HPV 感染率为 27.75%，排名前六位的基因型分别是 HPV16、18、31、33、39、58 型。HPV 感染率及感染的优势基因型出现地域性差异的原因，除样本数量以及调查人群年龄构成的差异外，还可能与不同地区人群的种族遗传特点、生活习惯，以及人口迁移等因素有关。因此，在研究和开发国产 HPV 疫苗时，应考虑到目标人群的 HPV 优势基因型，有针对性地进行疫苗的研制。

多项研究已证实，不同 HPV 的型别，其致病能力不同，高危型的 HPV 感染甚至影响女性人群的生命安全。梁海燕等<sup>[18]</sup>的研究显示，在宫颈癌的发生发展中，持续感染高危型 HPV 是一个非常重要的作用因素。本研究显示，感染高危型 HPV 者，宫颈病变的发生率高于未感染高危型 HPV 者。

本研究认为年龄≤35岁、初中及以下受教育程度以及有阴道感染史是感染高危型 HPV 的独立危险因素(P<0.05)。年龄≤35岁的女性高感染率或与性行为活跃度高、性伴侣不固定等不良性行为有关。初中及以下受教育程度人群，对 HPV 感染缺乏一定的认知，对宫颈癌筛查不够重视，因此感染率更高。存在阴道感染史的人群，阴道内微环境的平衡状态遭到破坏，导致宫颈上皮受损，为 HPV 的感染创造有利条件。



综上,本研究通过分析北京市通州区女性人群感染高危型 HPV 的情况,建立了本地区女性高危型 HPV 感染的分子流行病学资料库,为本地区女性宫颈病变、宫颈癌的早期筛查、诊断及防治提供理论依据,并为选择中国人群(尤其是北京地区)常见高危型 HPV 亚型的多价疫苗提供了有效证据。

## 参考文献

- [1] 张晓鹏. 宫颈癌危险因素临床分析[J]. 临床合理用药, 2010, 3(12): 112-113.
  - [2] Charis Bourgioti, Konstantinos Chatoupis, Lia Angela Mouloupos. Current imaging strategies for the evaluation of uterine cervical cancer [J]. World J Radiol, 2016, 8(4): 342-354.
  - [3] Faiz SA, Bashoura L, Lei X, et al. Pleural effusions in patients with acute leukemia and myelodysplastic syndrome [J]. Leuk Lymphoma, 2013, 54(2): 329-335.
  - [4] Szarewski A. Cervarix (R): a bivalent vaccine against HPV types 16 and 18, with cross-protection against other high-risk HPV types [J]. Expert Rev Vaccines, 2012(6): 645.
  - [5] 张靖, 高波, 康赟, 等. 中国女性宫颈人乳头瘤病毒感染型别分布区域性特征的 Meta 分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2014, 34(12): 913-920.
  - [6] 乌恩奇, 赵焕虎, 刘微, 等. 中国不同地区宫颈癌中 HPV 型别分布数据横向比较分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(23): 1845-1851.
  - [7] 岑尧, 张翠英, 张雅丽, 等. 中国女性人乳头瘤病毒感染状况及高危型别分布的 Meta 分析[J]. 癌症进展, 2013, 11(1): 75-81.
  - [8] 李霓, 代敏. 中国妇女人乳头状瘤病毒感染的多中心横断面研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2008, 12(5): 411-415.
  - [9] 曾昭瑛, 李亚娜, 苏建荣. 1294 例女性高危型人乳头瘤病毒基因分型结果回顾性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(6): 796-797 + 800.
  - [10] 王艳花, 郭改利, 王彩梅. 陕西汉中地区 2070 例女性高危型 HPV 感染及危险因素[J]. 公共卫生与预防医学, 2019, 30(3): 62-66.
  - [11] Matejka Rebolj, Johanne Rask, Marjolein van Ballegooijen, et al. Cervical histology after routine ThinPrep or SurePath liquid-based cytology and computer-assisted reading in Denmark [J]. Br J Cancer, 2015, 113(9): 1259-1274.
  - [12] 刘红艳. 宫颈病变筛查方法的研究进展[J]. 医疗装备, 2017, 30(18): 188-189.
  - [13] Jonah Musa, Chad J. Achenbach, Linda C. O'Dwyer, et al. Effect of cervical cancer education and provider recommendation for screening on screening rates: A systematic review and meta-analysis [J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0183924.
  - [14] 马会清, 魏晓强, 唐猛. 508 例女性人乳头瘤病毒感染及相关因素分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志, 2012, 8(4): 436-438.
  - [15] 张兰, 胡红莲. 1826 例妇科门诊患者感染人乳头瘤病毒的调查与分析[J]. 甘肃医药, 2017, 36(7): 575-576.
  - [16] 梁开如, 罗娜, 罗真, 等. 15902 例门诊患者人乳头瘤病毒亚型感染情况分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2017, 9(7): 40-43.
  - [17] 王芬萍, 王军. 妇科门诊妇女人乳头瘤病毒感染情况分析[J]. 中国性科学, 2016, 25(3): 77-79.
  - [18] 梁海燕, 陈晓红, 张苏伟. 高危 HPV 持续感染与宫颈病变发生的相关性[J]. 中国现代医生, 2017, 55, (10): 52-55+58.
- (上接第 810 页)
- [2] 赵江南, 施毅. 定量检测血清降钙素原对肺部感染患者的诊治意义[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(10): 761-762.
  - [3] Snelling SJ, Bas S, Puskas GJ, et al. Presence of IL-17 in synovial fluid identifies a potential inflammatory osteoarthritic phenotype [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0175109.
  - [4] 吴俊学, 李毓灵, 陈路. IL-6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  及 CRP 对下肢创伤患者合并感染的预测价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9): 1167-1170.
  - [5] 戴俊芬, 戴伟民, 戚东静, 等. 颅脑损伤开颅术后肺部感染危险因素分析及预测模型构建[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(7): 1034-1038.
  - [6] 张京芬. 集束化护理在重症颅脑损伤行机械通气患者中的应用效果[J]. 中华现代护理杂志, 2018, 24(20): 2452-2455.
  - [7] 严洁萍, 杨伟, 叶美华. 重症脑外伤并发肺部感染患者病原菌测定、耐药性与抗菌药物应用分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(12): 1445-1447.
  - [8] 李建军. 重型颅脑损伤开颅术后早期颅内压与脑脊液及外周血 CRP、D-D 的相关性[J]. 中国临床神经外科杂志, 2019, 24(6): 361-363.
  - [9] 余玺, 张珊珊, 周晓欢, 等. 血清 PCT、hs-CRP 及 PA 在老年肺部感染患者中的临床诊断价值[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(9): 4076-4081.
  - [10] Xiao E, Mattos M, Vieira GHA, et al. Diabetes Enhances IL-17 Expression and Alters the Oral Microbiome to Increase Its Pathogenicity [J]. Cell Host Microbe, 2017, 22(1): 120-128, e4.
  - [11] LaRocque-de-Freitas IF, Rocha JDB, Nunes MP, et al. Involvement of the capsular GalXM-induced IL-17 cytokine in the control of Cryptococcus neoformans infection [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 16378.
  - [12] 黄婷, 骆雪萍, 赵莹, 等. 大鼠肺部侵袭性光滑假丝酵母菌感染过程中 Dectin-1 蛋白和 IL-17、IL-23 的含量变化及意义[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(5): 380-387.
  - [13] Footitt J, Mallia P, Durham A L, et al. Oxidative and nitrosative stress and histone deacetylase-2 activity in exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [J]. Chest, 2015, 149(1): 62-73.
  - [14] 张晶, 栾晓嵘, 郝俊萍, 等. 慢性阻塞性肺疾病伴肺部感染者相关细胞因子的表达及其与肺功能的关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(13): 1954-1958.
  - [15] Al-Qathama A, Gibbons S, Prieto JM. Differential modulation of Bax/Bcl-2 ratio and onset of caspase-3/7 activation induced by derivatives of Justicidin B in human melanoma cells A375 [J]. Oncotarget, 2017, 8(56): 95999-96012.

## 三种肿瘤标志物与尿液对羟基苯丙氨酸联合检测对乳腺癌的诊断价值

曹莉莉<sup>1</sup> 沈昕<sup>1</sup> 胡阳<sup>2</sup> 李万兵<sup>1</sup> 余璠<sup>1\*</sup>

**[摘要]** 目的 探讨三种肿瘤标志物[癌胚抗原(CEA)、糖类抗原125(CA125)、糖类抗原199(CA199)]与尿液对羟基苯丙氨酸联合检测对乳腺癌的诊断价值。方法 选取国药葛洲坝中心医院健康管理中心乳腺癌患者50例作为恶性组,另选取同期乳腺良性病变患者50例作为良性组,健康体检者50例作为健康组,对比3组血清CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸,分析各指标单独及联合诊断乳腺癌的价值。结果 血清CEA、CA125、CA199水平、尿液对羟基苯丙氨酸阳性表达率比较:恶性组>良性组>健康组,差异有统计学意义( $F=379.735, 274.436, 345.114, P<0.05$ );血清CEA、CA125、CA199与尿液对羟基苯丙氨酸呈正相关( $P<0.05$ );血清CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸联合诊断乳腺癌的AUC为0.902(95%CI:0.843~0.945),较各指标单独诊断明显提高;血清CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸与肿瘤直径、分化程度、临床分期、腋窝淋巴结转移显著相关( $P<0.05$ )。结论 血清CEA、CA125、CA199与尿液对羟基苯丙氨酸联合检测可作为临床诊断乳腺癌的重要途径,且与多种病理特征密切相关,有助于临床评估病情进展情况。

**[关键词]** 乳腺癌;癌胚抗原;糖类抗原125;糖类抗原199;尿液对羟基苯丙氨酸

### Diagnostic value of combined detection of three tumor markers and urine p-hydroxyphenylalanine in breast cancer

CAO Lili<sup>1</sup>, SHEN Xin<sup>1</sup>, HU Yang<sup>2</sup>, LI Wanbing<sup>1</sup>, YU Fan<sup>1\*</sup>

(1. Health Management Center, National Medicine Gezhouba Central Hospital, Third Clinical Medical College of China Three Gorges University, Yichang, Hubei, China, 443002; 2. Department of Pain Rehabilitation, Sinopharm Gezhouba Central Hospital, the Third Clinical Medical College of Three Gorges University, Yichang, Hubei, China, 443002)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the diagnostic value of combined detection of three tumor markers [carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 125 (CA125), carbohydrate antigen 199 (CA199)] and urine p-hydroxyphenylalanine in breast cancer. **Methods** Fifty breast cancer patients from the Health Management Center of Sinopharm Gezhouba Central Hospital were selected as the malignant group, 50 patients with benign breast lesions during the same period were selected as the benign group, and 50 healthy subjects were selected as the healthy group. The serum CEA, CA125, CA199 and urine p-hydroxyphenylalanine of the three groups were compared, and the value of each index alone and in combination in the diagnosis of breast cancer was analyzed. **Results** Comparison of serum CEA, CA125, CA199 levels and urine positive expression rate of p-hydroxyphenylalanine: malignant group > benign group > healthy group, the difference was statistically significant ( $F=379.735, 274.436, 345.114, P<0.05$ ). Serum CEA, CA125, CA199 were positively correlated with urine p-hydroxyphenylalanine ( $P<0.05$ ). The AUC of serum CEA, CA125, CA199 and urine p-hydroxyphenylalanine for the combined diagnosis of breast cancer was 0.902 (95%CI: 0.843-0.945), which was significantly higher than that of each indicator alone. Serum CEA, CA125, CA199, and urine p-

课题基金:湖北省教育厅科研计划项目(B2017020)

作者单位:1. 三峡大学第三临床医学院国药葛洲坝中心医院健康管理中心,湖北,宜昌 443002

2. 三峡大学第三临床医学院国药葛洲坝中心医院疼痛康复科,湖北,宜昌 443002

\*通信作者:余璠, E-mail:suhu19751023@163.com

hydroxyphenylalanine were significantly correlated with tumor diameter, degree of differentiation, clinical stage, and axillary lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The combined detection of serum CEA, CA125, CA199 and urine p-hydroxyphenylalanine can be used as an important way for clinical diagnosis of breast cancer and is closely related to a variety of pathological features, which is helpful for clinical assessment of disease progression.

**[KEY WORDS]** Breast cancer; Carcinoembryonic antigen; Glycoantigen 125; Glycoantigen 199; Urine p-hydroxyphenylalanine

乳腺癌是临床常见女性恶性肿瘤之一,其发生率在全球范围内呈逐年升高趋势,每年升高幅度约为0.2%~0.8%,需给予重视<sup>[1-2]</sup>。肿瘤标志物癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原125(Carbohydrate antigen 125, CA125)、糖类抗原199(Carbohydrate antigen 199, CA199)在乳腺癌中高度表达,而大量临床实践证实,与健康者相比,上述血清肿瘤标志物在部分乳腺良性病变中也可出现异常升高表达,虽然升高幅度低于乳腺恶性病变,但仍会影响其诊断特异度,存在一定局限性<sup>[3-4]</sup>。近年来,尿液对羟基苯丙氨酸在恶性肿瘤筛查和诊断中的应用受到临床关注,主要是利用尿液中氨基酸代谢物与其检测试剂发生特征性显色反应进行诊断,具有快速、便捷、无创等优点<sup>[5]</sup>。本研究探讨三种肿瘤标志物与尿液对羟基苯丙氨酸联合检测对乳腺癌的诊断价值。报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取国药葛洲坝中心医院健康管理中心2020年1月至2021年12月乳腺癌患者50例作为恶性组,年龄平均(47.62±6.10)岁,体质量指数平均(22.75±1.91)kg/m<sup>2</sup>。另选取同期乳腺良性病变患者50例作为良性组,年龄平均(48.35±6.69)岁,体质量指数平均(22.49±1.45)kg/m<sup>2</sup>。健康体检者50例作为健康组,年龄平均(48.01±5.94)岁,体质量指数平均(22.60±1.52)kg/m<sup>2</sup>。三组年龄、体质量指数等一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经医院伦理委员会审批通过。

### 1.2 选取标准

纳入标准:乳腺癌、乳腺良性病变均经超声、病理学检查证实;均为初次发病,未接受乳腺放疗等抗肿瘤治疗;3组入试者均自愿签订知情同意书。排除标准:伴有其他部位恶性肿瘤者;病理诊断不明确者;妊娠期、哺乳期女性;属于其他部位肿瘤转移至乳腺或乳腺癌复发者;存在认知异常、精

神疾病者;伴有影响氨基酸和尿色的其他疾病者。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 血清肿瘤标志物检测方法

于所有受检者入院当日清晨采集空腹肘静脉血3 mL,以3 500 r/min的速率离心10 min,离心半径为10 cm,取上清液,保存于-70℃低温条件下备用,均于2 h内进行检测。采用化学发光分析法检测血清CEA、CA125、CA199水平,试剂盒购自罗氏诊断产品(上海)有限公司(生产批号:CA125:54164303; CA199:(10)56356005; CEA:(10)57044405),所有操作严格遵循试剂盒说明书。

#### 1.3.2 尿液尿液对羟基苯丙氨酸检测方法

入院前叮嘱所有受检者应停用影响氨基酸和尿色的药物(如:磺胺类、水杨酸类、利福霉素类药物等)、停止饮用浓茶3~5 d,于所有受检者入院当日清晨采用一次性留尿容器收集晨尿标本3 mL,在2 h完成检测。癌症尿液筛查检测试剂(Urine-test reagent for cancerscreening and monitoring, URC)购自江苏东博生物医药有限公司,生产许可证:苏食药监械生产许20160018号,产品批号:20200818,于室温20℃条件下,将尿液标本加入装有0.5 mL URC的安瓿瓶中,摇晃均匀后,静置3~5 min,观察有无沉淀物,将沉淀物颜色与标准色板对照,判定结果:浅黄色沉淀判定为阴性,浅红色沉淀判定为弱阳性,红色沉淀判定为阳性,砖红色沉淀判定为强阳性<sup>[6]</sup>。

### 1.4 统计学处理

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用LSD-t检验,两组间比较采用独立样本t检验;计数资料用n(%)表示, $\chi^2$ 检验,等级资料用u表示,Ridit检验;相关性分析采用Spearman线性相关法;诊断价值分析采用受试者工作特征(ROC)曲线,联合诊断实施Logistic二元回归拟合,返回预测概率logit(p),将其作为独立检验变量。 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组血清肿瘤标志物水平

三组血清 CEA、CA125、CA199 水平比较:恶性组>良性组>健康组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 三组血清肿瘤标志物水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of serum tumor marker levels in the three groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	CEA( $\mu\text{g/L}$ )	CA125(U/mL)	CA199(U/mL)
恶性组	50	12.06 $\pm$ 3.41 <sup>ab</sup>	50.89 $\pm$ 14.62 <sup>ab</sup>	55.69 $\pm$ 15.66 <sup>ab</sup>
良性组	50	2.68 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	16.03 $\pm$ 4.27 <sup>a</sup>	14.21 $\pm$ 4.18 <sup>a</sup>
健康组	50	2.13 $\pm$ 0.54	13.14 $\pm$ 3.05	10.43 $\pm$ 3.37
F值		379.735	274.436	345.114
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与良性组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 三组尿液对羟基苯丙氨酸表达情况

恶性组尿液对羟基苯丙氨酸阳性率高于良性组、健康组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 三组尿液对羟基苯丙氨酸表达情况比较[n(%)]

Table 2 Comparison of urinary p-hydroxyphenylalanine expression in the three groups [n(%)]

组别	n	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	总阳性率
恶性组	50	4(8.00)	6(12.00)	21(42.00)	19(38.00)	46(92.00)
良性组	50	38(76.00)	10(20.00)	2(4.00)	0(0.00)	12(24.00)
健康组	50	42(84.00)	8(16.00)	0(0.00)	0(0.00)	8(16.00)
$\chi^2$ 值						70.779
P值						<0.001

### 2.3 血清肿瘤标志物与尿液对羟基苯丙氨酸相关性

Spearman 相关性分析,血清 CEA、CA125、CA199 与尿液对羟基苯丙氨酸(赋值:阴性=1,弱阳性=2,阳性=3,强阳性=4)呈正相关( $P<0.05$ )。见图1。

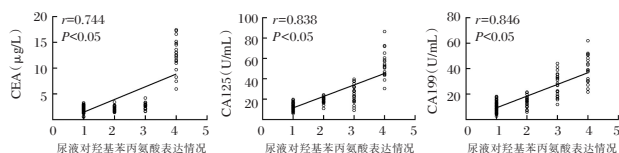


图1 血清肿瘤标志物与尿液对羟基苯丙氨酸相关性  
Figure 1 Correlation between serum tumor markers and urine p-hydroxyphenylalanine

### 2.4 血清肿瘤标志物、尿液对羟基苯丙氨酸对乳腺癌的诊断价值

以恶性组作为阳性样本,良性组与健康组作为阴性样本,绘制 ROC 曲线,结果显示,血清

CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸联合诊断乳腺癌的 AUC 为 0.902 (95% CI: 0.843~0.945),大于各指标单独诊断( $P<0.05$ )。见表3、图2。

表3 血清肿瘤标志物、尿液对羟基苯丙氨酸对乳腺癌的诊断价值

Table 3 Diagnostic value of serum tumor markers and urine p-hydroxyphenylalanine in breast cancer

指标	AUC	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
CEA	0.794	0.720~0.856	70.00	85.00	<0.001
CA125	0.741	0.664~0.809	88.00	49.00	<0.001
CA199	0.796	0.721~0.862	72.00	82.00	<0.001
尿液对羟基苯丙氨酸	0.860	0.794~0.911	92.00	80.00	<0.001
联合	0.902	0.843~0.945	96.00	71.00	<0.001

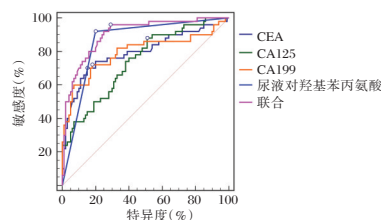


图2 ROC 曲线图

Figure 2 ROC curve

### 2.5 血清肿瘤标志物、尿液对羟基苯丙氨酸与乳腺癌病理特征的关系

血清 CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸与肿瘤直径、分化程度、临床分期、腋窝淋巴结转移显著相关( $P<0.05$ ),与分子分型无明显相关性( $P>0.05$ )。见表4。

## 3 讨论

CEA 是目前临床应用最多的肿瘤标志物之一,在正常健康人体内含量极低,在恶性肿瘤患者血液中急剧升高,能有效反映肿瘤发生<sup>[7]</sup>。CA199 属于糖类抗原,主要以唾液蛋白形式存在,可在胰腺、肠道、肝胆管等部位上皮细胞中表达,正常生理状态下处于低表达状态,在胃癌、肝癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤中上调表达<sup>[8]</sup>。CA125 属于跨膜黏蛋白,在卵巢、内膜、角膜、支气管等部位上皮细胞中表达,异常高表达在诊断和监测恶性肿瘤进展中具有重要意义<sup>[9]</sup>。临床研究证实,血清 CEA、CA125、CA199 可作为肿瘤标志物应用于乳腺癌诊断中,但单一依靠血清肿瘤标志物诊断无法达到理想的诊断要求,存在不同程度误漏诊现象<sup>[10-11]</sup>。因此,联合多种方式诊断成为提高诊断价值的重要方法。

表4 血清肿瘤标志物、尿液对羟基苯丙氨酸与乳腺癌病理特征的关系

Table 4 Relationship between serum tumor markers, urine p-hydroxyphenylalanine and pathological characteristics of breast cancer

病理特征	n	CEA(μg/L)	CA125(U/mL)	CA199(U/mL)	尿液对羟基苯丙氨酸表达率			
					阴性	弱阳性	阳性	强阳性
肿瘤直径								
≤2 cm	15	9.53±2.65	38.69±10.02	42.75±12.36	3(20.00)	5(33.33)	5(33.33)	2(13.33)
>2 cm	35	13.14±3.26	56.12±12.75	61.24±15.09	1(2.86)	1(2.86)	16(45.71)	17(48.57)
t/u 值		3.780	4.700	4.176			3.218	
P 值		<0.001	<0.001	<0.001			0.001	
分子分型								
Luminal A 型	22	11.94±3.05	50.55±13.06	55.24±14.17	2(9.09)	3(13.64)	8(36.36)	9(40.91)
Luminal B 型	15	12.11±2.86	51.22±12.74	55.89±13.55	1(6.67)	2(13.33)	7(46.67)	5(33.33)
其他型	13	12.21±3.14	51.08±13.39	56.22±14.06	1(7.69)	1(7.69)	6(46.15)	5(38.46)
F/u 值		0.036	0.014	0.022			0.090	
P 值		0.965	0.987	0.978			0.993	
临床分期								
I~II 期	20	8.75±2.15	36.24±10.23	40.81±12.46	4(20.00)	4(20.00)	10(50.00)	2(10.00)
III~IV 期	30	14.27±3.39	60.66±14.50	65.61±15.19	0(0.00)	2(6.67)	11(36.67)	17(56.67)
t/u 值		6.456	6.518	6.062			3.560	
P 值		<0.001	<0.001	<0.001			<0.001	
分化程度								
中高分化	32	10.12±2.34	40.77±11.26	44.67±11.85	4(12.50)	5(15.63)	16(50.00)	7(21.88)
低分化	18	15.51±3.09	68.88±14.18	75.28±14.63	0(0.00)	1(5.56)	5(27.78)	12(66.67)
t/u 值		6.956	7.711	8.052			2.970	
P 值		<0.001	<0.001	<0.001			0.003	
腋窝淋巴结转移								
无	34	9.62±2.15	41.68±9.83	45.87±12.03	4(11.76)	6(17.65)	19(55.88)	5(14.71)
有	16	17.25±3.37	70.46±13.67	76.56±15.17	0(0.00)	0(0.00)	2(12.50)	14(87.50)
t/u 值		9.704	8.497	7.732			4.369	
P 值		<0.001	<0.001	<0.001			<0.001	

报道显示,多数恶性肿瘤患者尿液中酪氨酸含量会明显升高<sup>[12]</sup>。叶秀娟等<sup>[13]</sup>研究中将尿液对羟基苯丙氨酸应用于胃癌筛查中,结果发现,其在胃癌患者中呈显著高表达,诊断敏感度高达91.18%,特异度为71.04%,表现出良好的诊断价值。本研究结果显示,与乳腺良性病变患者、健康女性相比,乳腺癌患者尿液对羟基苯丙氨酸阳性表达率明显较高,可见尿液对羟基苯丙氨酸可应用于乳腺癌诊断中。分析原因,一旦人体内有恶性肿瘤细胞活动时,其异常生长、增殖、分化便会引起应激反应,从而导致氨基酸代谢异常,显著增加尿液中对羟基苯丙氨酸含量,且其含量增加幅度与癌细胞代谢活跃程度联系紧密<sup>[14]</sup>。同时,相关研究表明,氨基酸代谢异常、尿液中对羟基苯丙氨酸含量升高可发生于恶性肿瘤早期,为临床早期诊断肿瘤性质奠定良好基础<sup>[15]</sup>。故本研究尝试探讨尿液对羟基苯丙氨酸诊断乳腺癌价值,结果显示,其诊断乳腺癌的AUC高达0.860,具有较为良好的诊断价值。

本研究结果显示,血清CEA、CA125、CA199水平与尿液对羟基苯丙氨酸表达呈正相关,说明血清肿瘤标志物与尿液对羟基苯丙氨酸在乳腺癌

中联系紧密,可能具有协同促进疾病发作的作用。进一步分析证实,血清CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸联合诊断乳腺癌的价值明显优于各指标单独诊断,可作为临床诊断乳腺癌的新途径、新方向。此外,本研究还发现,血清CEA、CA125、CA199、尿液对羟基苯丙氨酸与肿瘤直径、分化程度、临床分期、腋窝淋巴结转移显著相关,可能与乳腺癌病情进展过程中肿瘤细胞活动加剧有关。

综上所述,血清CEA、CA125、CA199与尿液对羟基苯丙氨酸联合检测可作为临床诊断乳腺癌的重要途径,且与肿瘤直径、分化程度、临床分期、腋窝淋巴结转移等多种病理特征密切相关,有助于临床评估病情进展情况。

#### 参考文献

- [1] Taurin S, Alkhalifa H. Breast cancers, mammary stem cells, and cancer stem cells, characteristics, and hypotheses [J]. *Neoplasia*, 2020, 22(12):663-678.
- [2] 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.
- [3] 王丽,马张艳,朗晓林. 彩色多普勒超声联合血清CA199和CA153对乳腺癌的诊断价值[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(4):964-966.

# CRP、PCT检测在上尿路结石术后继发感染中的临床意义

唐中山\* 杨坤 王金垒

**[摘要]** **目的** 研究C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)检测在上尿路结石术后继发感染中的临床意义。**方法** 选取2018年11月至2020年11月黄河水利委员会黄河中心医院83例上尿路结石术后患者,根据术后有无继发感染分为感染组( $n=10$ )和未感染组( $n=73$ )。比较两组术后CRP、PCT水平;分析影响上尿路结石术后继发感染的危险因素;绘制ROC曲线,分析CRP、PCT检测对上尿路结石术后继发感染的预测效能。**结果** 感染组CRP、PCT水平高于未感染组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。肾积水、糖尿病史、留置导尿管、结石大小、手术时间、CRP、PCT为影响上尿路结石术后继发感染的单因素( $P<0.05$ )。肾积水(有)、糖尿病史(有)、留置导尿管(有)、结石大小( $\geq 5$  cm)、手术时间( $\geq 60$  min)、CRP( $>8$  mg/L)、PCT( $>0.05$  ng/mL)为患者术后继发感染的危险因素( $P<0.05$ )。ROC曲线示:CRP、PCT联合检测上尿路结石术后继发感染的AUC为0.928,灵敏度为0.917,特异度为0.945( $P<0.05$ )。**结论** 上尿路结石术后CRP、PCT联合检测有助于早期诊断术后继发感染,对临床工作的进行意义重大。

**[关键词]** 上尿路结石;继发感染;CRP;PCT

## Clinical significance of CRP and PCT detection in secondary infection after the surgery for upper urinary tract calculi

TANG Zhongshan\*, YANG Kun, WANG Jinlei

(Department of Urology Surgery, Yellow River Central Hospital of Yellow River Water Conservancy Commission, Zhengzhou, Henan, China, 450003)

**[ABSTRACT]** **Objective** To study the clinical significance of C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) detection in secondary infections after the surgery for upper urinary tract calculi. **Methods** The clinical data of patients after the surgery with upper urinary calculi in the Yellow River Central Hospital of the Yellow River Conservancy Commission from November 2018 to November 2020 were collected. According to the presence or absence of secondary infection after operation in the clinical data, patients were divided into the infected group ( $n=10$ ) and the non-infected group ( $n=73$ ). The postoperative CRP and PCT levels of patients in the two groups were compared. The risk factors of secondary infection after upper urinary calculi were analyzed. The ROC curve was drawn to analyze the efficacy of CRP and PCT in predicting the secondary infections after upper urinary calculi. **Results** The levels of CRP and PCT in the infected group were significantly higher than those in the non-infected group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Hydronephrosis, history of diabetes, indwelling urinary catheter, stone size, operation time, CRP, PCT were the single factors that affecting the secondary infections after upper urinary calculi ( $P<0.05$ ). Hydronephrosis (yes), history of diabetes (yes), indwelling catheter (yes), stone size ( $\geq 5$  cm), operation time ( $\geq 60$  min), CRP ( $>8$  mg/L), PCT ( $>0.05$  ng/ml) were risk factors for postoperative infection of patients ( $P<0.05$ ). The ROC curve showed that the combined detection AUC was 0.928, the sensitivity was 0.917 and the specificity was 0.945 ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Combined detection of CRP and PCT after upper urinary calculi can help early diagnosis of postoperative secondary infections, which is of great significance to clinical work.

**[KEY WORDS]** Upper urinary tract calculi; Secondary infection; CRP; PCT

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018020803)

作者单位:黄河水利委员会黄河中心医院泌尿外科,河南,郑州 450003

\*通信作者:唐中山, E-mail: tangzsh7307@163.com

尿路结石是临床上常见的泌尿外科疾病之一,其中上尿路结石发病较多,占泌尿系统结石的33%~54%<sup>[1]</sup>。随着人们生活作息的改变,近年来该疾病发病率逐年上涨且逐渐趋于年轻化,右下腹痛、肾绞痛血尿等是上尿路结石最主要的临床症状<sup>[2-3]</sup>。对于该病要做到及时治疗,否则会严重影响患者的正常生活,对患者及家人造成很大的痛苦<sup>[4]</sup>。目前,临床上对上尿路结石的主要治疗手法为微创手术治疗,但因为上尿路特殊的生理结构,受外界刺激易出现应激反应,患者术后稍不注意就会引起继发感染,严重者还会出现感染性休克等并发症,危及患者生命,因此,早期对患者继发感染进行监测具有重要意义<sup>[5-6]</sup>。随着血清检测技术的不断发展,有研究表明,血清C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及降钙素原(Procalcitonin, PCT)能够有效反映机体是否出现感染情况<sup>[7]</sup>。本文主要研究CRP、PCT检测在上尿路结石术后继发感染中的临床意义,旨在为上尿路结石术后继发感染的诊疗工作提供参考思路,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集2018年11月至2020年11月黄河水利委员会黄河中心医院83例上尿路结石术后患者。纳入标准:①均符合第九版《外科学》中上尿路结石的诊断标准<sup>[8]</sup>;②通过尿常规、血常规和影像学检查综合确诊者;③临床资料及影像资料完整者;④可耐受手术且无手术禁忌症;⑤术前无局部或全身性感染。排除标准:①存在严重心脏疾病或肺功能疾病,无法耐受手术者;②合并输尿管狭窄、凝血功能障碍者;③胆囊炎、阑尾炎等其他引起腹部疼痛的疾病者;④既往脑出血,或合并肿瘤者;⑤哺乳期或妊娠期女性;⑥合并免疫力严重缺失者。根据临床资料中患者术后有无继发感染(如伤口红肿、出现脓性分泌物、发热 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ 等症状)<sup>[9]</sup>分为感染组( $n=10$ )和未感染组( $n=73$ )。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

所有研究对象在清晨抽取空腹静脉血5 mL,3 000 r/min离心10 min,吸取上层血清置于EP管中,并保存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待测。使用免疫比浊法检测CRP,试剂盒由北京科美东雅生物技术有限公司提供,使用免疫荧光法检测PCT,试剂盒由广州万孚

生物技术股份有限公司提供。所有操作均严格按照机器人和试剂的要求进行,由专业工作人员操作。阳性判定标准<sup>[10]</sup>:CRP $>8$  mg/L,PCT $>0.05$  ng/mL。

### 1.3 观察指标

比较感染组和未感染组患者术后CRP、PCT检测结果;分析影响上尿路结石术后继发感染的危险因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析CRP、PCT检测对上尿路结石术后继发感染的预测价值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验,计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行 $t$ 检验;采用logistic回归模型分析影响上尿路结石术后继发感染的独立危险因素;采用ROC曲线分析CRP、PCT联合检测对上尿路结石术后继发感染的预测价值,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 两组术后CRP、PCT水平比较

感染组CRP、PCT表达水平明显高于未感染组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 比较感染组和未感染组患者术后CRP、PCT水平  
( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	CRP(mg/L)	PCT(ng/mL)
感染组	10	19.45 $\pm$ 5.29	0.19 $\pm$ 0.03
未感染组	73	4.78 $\pm$ 2.46	0.04 $\pm$ 0.01
$t$ 值		14.933	32.368
$P$ 值		$<0.001$	$<0.001$

### 2.2 影响上尿路结石术后继发感染的单因素分析

肾积水、糖尿病史、留置导尿管、结石大小、手术时间、CRP、PCT为影响上尿路结石术后继发感染的单因素( $P<0.05$ ),年龄、性别非影响上尿路结石术后继发感染的单因素( $P>0.05$ )。见表2。

### 2.3 影响上尿路结石术后继发感染的独立危险因素分析

logistic分析结果显示:肾积水(有)、糖尿病史(有)、留置导尿管(有)、结石大小( $\geq 5$  cm)、手术时间( $\geq 60$  min)、CRP( $>8$  mg/L)、PCT( $>0.05$  ng/mL)为影响尿路结石术后继发感染的危险因素( $P<0.05$ )。见表3。

表2 影响上尿路结石术后继发感染的单因素分析 [n(%)]

Table 2 single factor analysis of secondary infection after upper urinary calculi operation [n(%)]

因素		感染组 (n=10)	未感染组 (n=73)	$\chi^2$ 值	P 值
年龄	<60 岁	6(60.00)	53(72.60)	0.680	0.410
	≥60 岁	4(40.00)	20(27.40)		
性别	男	8(80.00)	62(84.93)	1.398	0.237
	女	2(20.00)	11(15.07)		
肾积水	有	8(80.00)	22(30.14)	11.687	0.001
	无	2(20.00)	61(83.56)		
糖尿病史	有	6(60.00)	20(27.40)	4.356	0.037
	无	4(40.00)	53(72.60)		
留置导尿管	有	7(70.00)	19(26.03)	7.905	0.005
	无	3(30.00)	54(73.97)		
结石大小	≥5 cm	8(80.00)	21(28.77)	10.156	0.001
	<5 cm	2(20.00)	52(71.23)		
手术时间	≥60 min	5(50.00)	62(84.93)	6.897	0.009
	<60 min	5(50.00)	11(15.07)		
CRP	>8 mg/L	7(70.00)	70(95.89)	8.791	0.003
	<8 mg/L	3(30.00)	3(4.11)		
PCT	>0.05 ng/mL	9(90.00)	19(26.03)	16.102	<0.001
	<0.05 ng/mL	1(10.00)	55(75.34)		

表3 影响上尿路结石术后继发感染的独立危险因素分析

Table 3 Analysis of independent risk factors for postoperative infection of upper urinary tract calculi

变量	OR 值	95%CI	P 值
肾积水(有 vs 无)	2.181	1.817~2.960	<0.001
糖尿病史(有 vs 无)	2.125	1.605~2.813	<0.001
留置导尿管(有 vs 无)	2.572	1.865~3.548	<0.001
结石大小(≥5 cm vs <5 cm)	2.330	1.778~3.054	<0.001
手术时间(≥60 min vs <60 min)	2.444	1.772~3.371	<0.001
CRP(>8 mg/L vs <8 mg/L)	2.401	1.775~3.247	<0.001
PCT(>0.05 ng/mL vs <0.05 ng/mL)	2.565	1.896~3.468	<0.001

### 2.4 CRP、PCT 联合检测对上尿路结石术后继发感染的预测价值

ROC 曲线分析结果显示:联合检测 AUC 为 0.928, 灵敏度为 0.917, 特异度为 0.945 ( $P<0.05$ )。见表 4 及图 1。

### 3 讨论

上尿路结石在临床上是一种较容易发现及检测的疾病,当患者出现肾绞痛或血尿时可通过影像学检查进行确诊<sup>[11]</sup>。临床上的主要治疗方法是对上尿路结石患者实施手术治疗。微创碎石手术具有手术创伤小、术后痛苦小、易于恢复等优点,被临床广泛使用<sup>[12]</sup>。目前术后并发症的发生难以完全避免,其中以继发感染最为常见,病情严重者还会引起严重的尿源性脓毒血症,造成感染性休克,导致患者死亡<sup>[13]</sup>。

表4 CRP、PCT 联合检测对上尿路结石术后继发感染的预测价值

Table 4 predictive value of combined detection of CRP and PCT for secondary infection after upper urinary calculi operation

预测指标	Cut-off 值	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	约登指数	P 值
CRP	25.12	0.898	0.886	0.838	0.748~0.928	0.783	<0.001
PCT	26.65	0.791	0.865	0.811	0.718~0.904	0.655	<0.001
CRP+PCT	29.89	0.917	0.945	0.928	0.869~0.987	0.861	<0.001
预测指数模型	23.69	0.895	0.889	0.954	0.739~0.957	0.783	<0.001

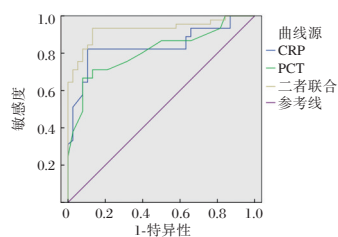


图1 CRP、PCT 及二者联合检测对上尿路结石术后继发感染的预测价值曲线图

Figure 1 curve of predictive value of CRP, PCT and their combined detection for secondary infection after upper urinary tract calculi operation

相关文献显示,临床上常用的泌尿系统感染指标如血常规、尿培养等在术后感染早期并无明显改变,因此,还需更为敏感的检测指标来减少对继发感染的漏诊<sup>[14]</sup>。有学者提出,CRP 是感染性疾病早期诊断的常用指标,PCT 是细菌感染的重要标志物,在上尿路结石术后对患者进行这两项指标的联合检测能够有效判断患者是否发生继发感染<sup>[15]</sup>。本研究将感染组与未感染组患者的 CRP、PCT 水平进行了比较,结果显示感染组患者的 CRP、PCT 水平显著高于未感染组。考虑因为在感染、组织损伤等情况下,一些炎症细胞因子刺激肝细胞加速合成 CRP,同时 PCT 作为降钙素的前体物质,机体一旦受到感染便会在短时间内急速升高。相关报道显示,CRP、PCT 对于术后尿脓毒症、感染性休克的预测、早期诊断、评估、治疗均有重要的价值,在上尿路结石继发感染的检查上可减少漏检率,对上尿路结石术后的治疗具有指导作用<sup>[16]</sup>。为进一步探讨 CRP、PCT 对上尿路结石继发感染的预测价值,本文绘制了 ROC 曲线进行分析,结果显示 CRP、PCT 二者联合检测 AUC 值最大,灵敏度、特异度最高,说明联合检测患者的 CRP、PCT 水平能够有效提高诊断的准确度,在对上尿路结石继发感染的诊疗工作中发挥了积极作



用。同时本研究中 logistic 分析结果显示:有肾积水、糖尿病史、留置导尿管以及结石 $\geq 5$  cm、手术时间 $\geq 60$  min、CRP $> 8$  mg/L、PCT $> 0.05$  ng/mL 的患者继发感染的发生率更高,均为影响尿路结石术后继发感染的危险因素。

综上所述,上尿路结石术后继发感染患者血清 CRP、PCT 水平普遍升高,CRP、PCT 联合检测有助于早期诊断上尿路结石术后继发感染,对临床诊疗工作的进行意义重大。

## 参考文献

- [1] 王文俊,郝宗耀,曾国华,等.上尿路结石术后感染的病原菌及相关因素分析[J].安徽医科大学学报,2019,54(10):1663-1666.
- [2] Lars L, Anna-Karin P, Gunnar J, et al. Diagnostic accuracy of procalcitonin, neutrophil-lymphocyte count ratio, C-reactive protein, and lactate in patients with suspected bacterial sepsis[J]. PLoS One, 2018,31(2):154-155.
- [3] 杨登科,王俊,焦湘,等.上尿路结石内镜术后继发性输尿管狭窄的腹腔镜治疗[J].实用医药杂志,2019,36(6):514-516.
- [4] Post A, Kaboré B, Bognini J, et al. Infection Manager System (IMS) as a new hemocytometry-based bacteremia detection tool: A diagnostic accuracy study in a malaria-endemic area of Burkina Faso[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2021, 15(3): 187-187.
- [5] 陈胜,管晓晨,刘云,等.评判上尿路结石术后继发性梗阻性肾病的风险性模型及其应用价值[J].西部医学,2018,30(2):271-275.
- [6] Gao Y, Yu KJ, Kang K, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker to distinguish upper and lower gastrointestinal perforation[J]. World J gastroenterol, 2017, 23(24): 4422-4427.
- [7] 何爱凤,秦晓梦,尹江宁,等.基于生物信息学分析 miR-30a 及相关炎症指标在脓毒症中的表达及临床意义[J].江苏大学学报(医学版),2022,32(2):118-123.
- [8] Jahn M, Rekowski J, János RA, et al. Score performance of SAPS 2 and SAPS 3 in combination with biomarkers IL-6, PCT or CRP[J]. PLoS One, 2020, 15(9):238-238.
- [9] 张巍,黄应福.降钙素原、C 反应蛋白和白细胞计数在上尿路结石 ESWL 后尿源性脓毒症诊断中的价值[J].现代医药卫生,2018,34(4):517-519.
- [10] 高勇才.血清 PCT、CRP、IL-6 及 TNF- $\alpha$  在上尿路结石术前术后感染中的诊断价值[J].河南医学研究,2019,28(12): 2261-2263.
- [11] 李炳海.微创经皮肾镜取石术治疗上尿路结石合并感染的临床价值研究[J].系统医学,2019,4(15):84-86.
- [12] 鲁来兴,王彦彬,兰建宏,等.降钙素原在感染性结石术后早期诊断脓毒症中的临床意义[J].浙江医学,2018,40(4):377-378.
- [13] Yuma W, Ryoji T, Masaki K, et al. Successful outcomes of endoscopic lithotripsy in completely bedridden patients with symptomatic urinary calculi[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):8839-8839.
- [13] 赵色玲,王凡,许春,等.血清降钙素原与 C 反应蛋白及内毒素在经皮肾镜取石术后尿脓毒症早期诊断中的价值[J].东南国防医药,2018,20(2):130-133.
- [15] 张婷.血清内毒素、降钙素原、C-反应蛋白水平检测在肾结石术后尿路感染诊断中的应用[J].中国民康医学,2019,31(12):119-121.
- [16] Akyüz E, Gökce G. Neopterin, procalcitonin, clinical biochemistry, and hematology in calves with neonatal sepsis[J]. Trop Anim Health Prod, 2021, 53(3):354-354.

(上接第 819 页)

- [4] Li J, Liu L, Feng Z, et al. Tumor markers CA15-3, CA125, CEA and breast cancer survival by molecular subtype: a cohort study[J]. Breast Cancer, 2020,27(4):621-630.
- [5] 王兴昌,李庆科,李应宏,等.检测尿液对羟基苯丙氨酸在恶性肿瘤筛查中的应用价值[J].实用检验医师杂志,2018,10(1):32-35.
- [6] 李兴翠,向代军,王成彬,等.快速尿液单羟酚代谢物检测在恶性肿瘤中的诊断价值[J].检验医学与临床,2016,13(6):755-756+759.
- [7] 何爱凤,秦晓梦,尹江宁,等.基于生物信息学分析 miR-30a 及相关炎症指标在脓毒症中的表达及临床意义[J].江苏大学学报(医学版),2022,32(2):118-123.
- [8] 张金令,王青青,魏艳蕾,等.血清 CEACAM-1、CA199、MIC-1 联合检测在胰腺癌诊断中的临床价值[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(1):108-111.
- [9] Tang J, Yan B, Li GF, et al. Carbohydrate antigen 125, carbohydrate antigen 15-3 and low-density lipoprotein as risk factors for intraocular metastases in postmenopausal breast cancer[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(43):e27693.
- [10] 杜燕飞,廖源.彩色多普勒高频超声联合血清肿瘤标志物 CA153 和 CA199 在乳腺癌诊断中的价值分析[J].中国实用医药,2020,15(2):83-85.
- [11] Chen R, Jiang C, Zhu Q, et al. Combining the tumor abnormal protein test with tests for carcinoembryonic antigens, cancer antigen 15-3, and/or cancer antigen 125 significantly increased their diagnostic sensitivity for breast cancer[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(29):e21231.
- [12] 徐卫益,许青,陈保德.尿液对羟基苯丙氨酸水平在癌症筛选中的应用研究[J].国际检验医学杂志,2016,37(21): 2967-2969.
- [13] 叶秀娟,姚立腾.尿液对羟基苯丙氨酸和血清胃蛋白酶原联检在胃癌筛查中的意义[J].甘肃医药,2019,38(6):511-512+562.
- [14] 王新宇.对羟基苯丙氨酸(酪氨酸)尿液检测在乳腺肿瘤诊疗中的应用[D].吉林:吉林大学,2017:1-27.
- [15] 余伟,祝曙光,叶程龙,等.尿液代谢物在肿瘤检测方面的研究进展[J].海南:海南医学院学报,2018,24(18):1699-1702.

## NLR、PCT、PGE2 预测全麻腹部术后肺部感染的价值

王瑞娟<sup>1\*</sup> 杨艳<sup>2</sup> 景建闯<sup>3</sup> 王献利<sup>4</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨动态监测外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、降钙素原(PCT)及前列腺素 E2(PGE2)对全麻腹部手术患者术后肺部感染的预测价值。**方法** 选取2019年1月至2021年3月在安阳市第六人民医院行全麻腹部手术的患者97例,分别于术后24、48和72 h,采用血细胞分析仪检测NLR,酶联免疫吸附试验检测PCT和PGE2水平。**结果** 97例患者术后发生肺部感染21例(肺部感染组),发生比例为21.65%;肺部感染组和无肺部感染组患者性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。肺部感染组NLR、PCT和PGE2水平在术后24、48和72 h时水平均比无肺部感染者高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。术后24、48和72 h NLR判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.989、0.957和0.741( $P<0.05$ );术后24、48和72 h PCT判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.962、0.981和0.953( $P<0.05$ );术后24、48和72 h PGE2判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.860、0.742和0.610( $P<0.05$ )。**结论** 全麻腹部手术术后肺部感染患者外周血NLR、PCT、PGE2明显高于无肺部感染患者,在判断术后肺部感染中有一定预测价值。

**[关键词]** 中性粒细胞与淋巴细胞比值;降钙素原;前列腺素E2;全麻腹部手术;术后肺部感染

### Value of NLR, PCT and PGE2 in predicting pulmonary infection after abdominal surgery under general anesthesia

WANG Ruijuan<sup>1\*</sup>, YANG Yan<sup>2</sup>, JING Jianchuang<sup>3</sup>, WANG Xianli<sup>4</sup>

(1. Department of Anesthesiology, Anyang Sixth People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000; 2. Department of Anesthesiology, Anyang District Hospital of Puyang City, Anyang, Henan, China, 455000; 3. Department of Anesthesiology, Anyang People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000; 4. Department of Stomatology, Anyang Sixth People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the predictive value of dynamic monitoring of peripheral blood neutrophils and lymphocyte ratio (NLR), calcitonin (PCT) and prostaglandin E2 (PGE2) in the postoperative pulmonary infection in patients undergoing general anesthesia abdominal surgery. **Methods** 97 patients who underwent general anesthesia abdominal operation in Anyang Sixth People's Hospital from January 2019 to March 2021 were selected, at 24h, 48h and 48h after operation, Blood cell analyzer was used to detect NLR and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect PCT and PGE2 levels. **Results** Among the 97 patients, 21 cases of pulmonary infection (pulmonary infection group) occurred after surgery, and the incidence rate was 21.65%. There was no significant difference in gender and age between the pulmonary infection group and the non pulmonary infection group ( $P>0.05$ ). The levels of NLR, PCT and PGE2 in the pulmonary infection group were lower than those without pulmonary infection at 24, 48 and 72 h after surgery, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The area under the ROC curve of NLR at

基金项目:安阳市科技攻关项目(2021C01NY046)

作者单位:1.安阳市第六人民医院麻醉科,河南,安阳455000

2.濮阳市安阳地区医院麻醉科,河南,安阳455000

3.安阳市人民医院麻醉科,河南,安阳455000

4.安阳市第六人民医院口腔科,河南,安阳455000

\*通信作者:王瑞娟, E-mail: wangruijuan339@163.com

24 h, 48 h and 72 h after operation in diagnosis of postoperative pulmonary infection were 0.989, 0.957 and 0.741 ( $P<0.05$ ). The area under the ROC curve of PCT at 24 h, 48 h and 72 h after operation in diagnosis of postoperative pulmonary infection were 0.962, 0.981 and 0.953 ( $P<0.05$ ). The area under the ROC curve of PGE2 at 24 h, 48 h and 72 h after operation in diagnosis of postoperative pulmonary infection were 0.860, 0.742 and 0.610 ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Peripheral blood NLR, PCT and PGE2 in patients with pulmonary infection after general anesthesia abdominal operation are significantly higher than those without pulmonary infection, which has a certain predictive value in the diagnosis of postoperative pulmonary infection.

**[KEY WORDS]** Neutrophil and lymphocyte ratio; Procalcitonin; Prostaglandin E2; General anesthesia abdominal surgery; Postoperative pulmonary infection

肺部感染是腹部术后常见的并发症类型,其发生原因比较复杂,术前病理生理状态、手术时间、术后侵入性操作、免疫功能低下、院内感染等均可能导致肺部感染,其中手术创伤后机体免疫功能障碍是肺部感染发生的重要机制<sup>[1]</sup>。肺部感染不仅增加医疗费用和患者的痛苦、不利于术后康复,还可能引起致命性后果。寻找可能引起腹部术后肺部感染的高危因素,并给予预防措施对改善患者的预后具有积极意义<sup>[2]</sup>。有研究发现,手术创伤后机体迅速启动强大的炎症反应、抗炎症反应,免疫功能紊乱,持续时间过长、程度较高的炎症反应与不良的预后相关<sup>[3]</sup>。淋巴细胞是人体重要的免疫细胞,中性粒细胞与淋巴细胞比值(Ratio of neutrophils to lymphocytes, NLR)可直观反映机体的免疫状态<sup>[4]</sup>。降钙素原(Procalcitonin, PCT)是反映机体细菌感染的敏感指标<sup>[5]</sup>。前列腺素 E2 (Prostaglandin E2, PGE2)可诱发炎症,引起毛细血管通透性增加,加重局部炎症反应<sup>[6]</sup>。本研究探讨了动态监测外周血 NLR、PCT、PGE2 在全麻腹部手术患者术后肺部感染的预测价值,现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年3月在安阳市第六人民医院行全麻腹部手术的患者97例,其中男性60例,女性37例;平均年龄(51.03±8.99)岁;结合临床及手术确诊疾病种类:结直肠占位23例、胆囊结石27例、急性阑尾炎31例、消化道穿孔合并腹膜炎16例。纳入标准:①在本院行全麻腹部手术;②临床资料保存完整;③年龄≥18岁;④患者家属均知情同意。排除标准:①长期服用免疫制剂、激素类药物;②术前有肺部感染者。97例患者根据术后是否发生肺部感染分为肺部感染组( $n=21$ )和无肺部感染组( $n=76$ )。本次研究获得医院伦理委员会批准[201812036]。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 麻醉方法

患者均接受静吸复合全身麻醉,静脉注射咪达唑仑(0.03~0.08)mg/kg、丙泊酚(1.5~2.0)mg/kg、舒芬太尼(3~4) $\mu$ g/kg、苯磺顺阿曲库铵0.15 mg/kg进行麻醉诱导,睫毛反射消失后气管插管,静脉泵注丙泊酚、瑞芬太尼、吸入七氟醚维持麻醉,术中酌情追加苯磺顺阿曲库铵。手术结束前15 min停止给药。

#### 1.2.2 检测方法

分别于术后24、48和72 h时抽取患者外周静脉血,采用迈瑞BC-5000型血细胞分析仪检测中性粒细胞计数、淋巴细胞计数,计算NLR=中性粒细胞计数/淋巴细胞计数。另取一份血标本,3 000 r/min低速离心10 min,离心半径8 cm,分离上层血清采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测PCT、PGE2,检测仪器为美国伯腾公司ELX-800型多功能酶标仪,试剂盒购自南京建成生物工程研究所,严格按照试剂盒说明书操作。

### 1.3 统计学处理

统计分析采用SPSS 19.0软件,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组间比较使用t检验。计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验,预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 术后肺部感染发生情况

97例患者术后发生肺部感染21例(肺部感染组),发生比例为21.65%;肺部感染组和无肺部感染组患者性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

### 2.2 肺部感染组和无肺部感染组术后NLR、PCT、PGE2水平比较

肺部感染组NLR、PCT和PGE2水平在术后24、48和72 h时水平均比无肺部感染者高,且术后

表1 肺部感染组和无肺部感染组一般资料比较 [n(%), ( $\bar{x}\pm s$ )]

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

组别	n	男/女	年龄(岁)	疾病			
				结肠占位	胆囊结石	急性阑尾炎	消化道穿孔合并腹膜炎
肺部感染组	21	12/9	52.16±8.76	6(28.57)	8(38.10)	3(14.29)	4(19.05)
无肺部感染组	76	48/28	49.50±9.22	17(22.37)	19(25.00)	28(36.84)	12(15.79)
t/χ <sup>2</sup> 值		0.252	1.182			4.006	
P值		>0.05	>0.05			>0.05	

72 h水平平均比24 h、48 h低,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

### 2.3 术后NLR、PCT、PGE2水平预测术后肺部感染发生价值

术后24、48和72 h NLR判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.989、0.957和0.741(P<0.05),可见术后24和48h NLR判断术后肺部感染

价值较好;术后24、48和72 h PCT判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.962、0.981和0.953(P<0.05),可见术后24 h、48 h和72 h PCT判断术后肺部感染价值较好;术后24 h、48 h和72 h PGE2判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.860、0.742和0.610(P<0.05),可见术后24 h PGE2判断术后肺部感染价值较好。见表3、图1。

表2 肺部感染组和无肺部感染组术后NLR、PCT、PGE2水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 postoperative NLR, PCT and PGE2 levels in pulmonary infection group and non pulmonary infection group ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	NLR			PCT(ng/mL)			PGE2(pg/mL)		
		术后24 h	术后48 h	术后72 h	术后24 h	术后48 h	术后72 h	术后24 h	术后48 h	术后72 h
肺部感染组	21	10.21±1.50	7.51±1.26 <sup>a</sup>	4.11±1.35 <sup>ab</sup>	2.87±0.40	2.16±0.34 <sup>a</sup>	2.00±0.41 <sup>ab</sup>	3105.25±400.54	2576.41±361.11 <sup>a</sup>	2104.65±370.68 <sup>ab</sup>
无肺部感染组	76	4.10±1.06	3.20±1.06 <sup>a</sup>	2.88±0.87 <sup>ab</sup>	1.34±0.35	1.22±0.30 <sup>a</sup>	1.14±0.29 <sup>ab</sup>	2787.56±384.46	2346.15±400.24 <sup>a</sup>	1922.15±380.55 <sup>ab</sup>
t值		21.246	15.820	5.037	17.187	12.345	10.934	3.322	2.381	1.956
P值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.019	0.053

注:与同组术后24 h比较,<sup>a</sup>P<0.05;与同组术后48 h比较,<sup>b</sup>P<0.05。

表3 术后NLR、PCT、PGE2水平预测术后肺部感染的ROC曲线下参数

Table 3 parameters under ROC curve of NLR, PCT, PGE2

指标	时间	AUC	95% CI	截断值	灵敏度	特异度	P值
NLR	术后24 h	0.989	0.899~0.999	6.22	0.904	0.821	0.000
	术后48 h	0.957	0.902~0.981	4.81	0.876	0.804	0.000
	术后72 h	0.741	0.683~0.801	3.52	0.696	0.702	0.000
PCT	术后24 h	0.962	0.905~0.988	1.97 ng/mL	0.880	0.845	0.000
	术后48 h	0.981	0.912~0.990	1.70 ng/mL	0.904	0.855	0.000
	术后72 h	0.953	0.902~0.991	1.52 ng/mL	0.820	0.850	0.000
PGE2	术后24 h	0.860	0.801~0.944	2910.50 pg/mL	0.805	0.782	0.000
	术后48 h	0.742	0.688~0.892	2500.40 pg/mL	0.740	0.690	0.000
	术后72 h	0.610	0.567~0.701	2010.55 pg/mL	0.685	0.650	0.000

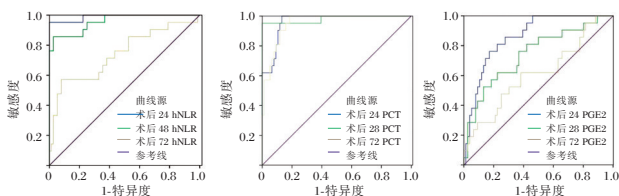


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

肺部感染是腹部手术术后的常见并发症之一,属于院内获得性感染<sup>[7]</sup>。腹部手术时进行的麻

醉处理可对患者的呼吸系统产生影响,引起膈肌麻痹、腹式呼吸减弱或消失<sup>[8]</sup>。迷走神经功能亢进易导致呼吸道分泌物增多,而术后切口疼痛使患者不能进行有效咳嗽、早期下床活动而引起感染<sup>[9]</sup>。此外医院环境中的致病微生物也会增加肺部感染的发生率。肺部感染不仅影响原发疾病的治疗,增加治疗费用,还可能导致呼吸衰竭及其他器官功能损伤,进而引起患者死亡,也是引起医疗纠纷的常见原因之一<sup>[10]</sup>。有研究认为,高龄、术前吸烟史、手术时间长、住院时间长、免疫功能差等是引起术后肺部感染的高危因素<sup>[11]</sup>。

有调查发现,在腹部手术后7 d内肺部感染的发生率为10%以上,治疗也比较棘手,而由此引起的死亡率占感染人数的20%以上<sup>[12]</sup>。本研究中97例腹部手术患者术后发生肺部感染21例,发生率为21.65%,远远高于已见报道的结果。因此寻找肺部感染的预测指标对于改善患者预后具有重要的意义。

NLR是系统性炎症反应的敏感指标,可准确反映机体的免疫功能<sup>[13]</sup>。手术创伤可激活体液免疫和细胞免疫,使T细胞表面黏附分子表达升高,外周血淋巴细胞相对减少,进而引起NLR升高<sup>[14]</sup>。PCT是近年来新发现的感染指标,PCT是无活性的降钙素前体物质,在细菌感染发生后,细菌内毒素、炎症因子刺激中性粒细胞、肝细胞合成大量PCT,导致血清PCT水平升高,其血清水平的变化往往先于感染症状出现<sup>[15-16]</sup>。PGE2是人体花生四烯酸环氧合酶的重要代谢产物,可诱发炎症,引起毛细血管通透性增加,加重局部炎症反应<sup>[17-18]</sup>。同时PGE2可抑制免疫细胞的吞噬功能,抑制细胞因子释放,使机体的免疫功能下降<sup>[19]</sup>。本研究中所有患者在术后NLR、PCT和PGE2均处于较高水平,随术后时间延长,NLR、PCT和PGE2持续下降。这一结果提示,腹部手术创伤的影响不可避免的引起机体炎症反应,术后随着时间的延长,手术创伤逐渐好转,机体炎症反应得以减轻。肺部感染患者术后24 h、48 h和72 h时NLR、PCT和PGE2均明显高于无肺部感染患者。这一结果提示,外周血NLR、PCT、PGE2可在一定程度上预测术后肺部感染的风险。

本研究采用ROC曲线下面积评价外周血NLR、PCT、PGE2在判断术后肺部感染中的预测价值,发现术后24 h、48 h和72 h NLR判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.989、0.957和0.741,可见术后24 h和48 h NLR判断术后肺部感染价值较高;术后24 h、48 h和72 h PCT判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.962、0.981和0.953,可见术后24 h、48 h和72 h PCT水平持续处于较高水平,能较好地反映肺部感染状态;术后24 h、48 h和72 h PGE2判断术后肺部感染的ROC曲线下面积分别为0.860、0.742和0.610,可见术后24 h PGE2判断术后肺部感染价值较好,但是其水平在24小时后下降较快。

综上所述,腹部手术术后肺部感染患者外周血NLR、PCT、PGE2明显高于无肺部感染患者,在判断术后肺部感染中有一定预测价值。

## 参考文献

- [1] 万成福,毛英,赵泽宇,等.全身麻醉复合硬膜外麻醉对老年腹部手术患者肺功能和术后肺部感染的影响[J].重庆医学,2016,45(21):2978-2980.
- [2] 周明强,刘金碧,黄桂华,等.仰卧位与俯卧位对全身麻醉术后肺部感染的影响[J].中国老年学杂志,2016,36(14):3513-3514.
- [3] 周珏,张贤平,姜亦虹,等.不同手术时机患者术后肺部感染情况[J].中国感染控制杂志,2017,16(3):237-239.
- [4] 李澍.全身麻醉复合硬膜外麻醉对老年腹部手术患者术后肺部感染及免疫功能的影响[J].微循环学杂志,2021,31(2):41-45.
- [5] 戴景宽,丁兰,李玮玲.血清PCT、IL-6、SAA、ESR水平对老年细菌性肺炎的鉴别诊断价值[J].热带医学杂志,2022,22(1):95-98+123+145.
- [6] 郭孟刚,周海宁,李丽,等.老年食管癌患者术后并发肺部感染危险因素的临床分析[J].检验医学与临床,2016,13(16):2317-2319.
- [7] 王君华,徐琳,杨丹丹,等.单肺通气术后患者肺部感染危险因素研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(5):1039-1041.
- [8] 任锐,王伟,陆昌友,等.肝癌患者肝切除术后合并肺部感染的现状及相关因素分析[J].癌症进展,2018,16(2):245-247.
- [9] 周日华,李家新.硬膜外阻滞联合静脉全麻对老年食管癌患者术后肺部感染、肺功能及麻醉恢复指标的影响[J].广西医学,2017,39(11):1677-1680.
- [10] 杨倩,刘捷.腹部外科术后患儿肺部感染病原菌分布及危险因素分析[J].河北医学,2018,24(2):192-196.
- [11] 潘晓燕.老年患者胸腹部手术后并发肺部感染的影响因素分析[J].现代仪器与医疗,2017,23(6):88-90.
- [12] 潘立岩.麻醉机全麻手术后患者肺部感染临床分析[J].中国医疗器械信息,2017,23(20):36-37.
- [13] Perilli V, Aceto P, Ancona P, et al. Role of surgical setting and patients-related factors in predicting the occurrence of post-operative pulmonary complications after abdominal surgery. [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(2):547-550.
- [14] 李静超,王凌雁,王玉芳,等.中枢神经系统损伤后肺部感染患者血清降钙素原的变化规律[J].中华医学杂志,2017,97(37):2940-2945.
- [15] 胡金亮,王振,吴瑞红.肺部细菌感染与病毒感染IL-33/ST2信号通路活性变化及其鉴别诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(3):426-429.
- [16] 刘春梅,朱钦剑,谢光素.CRP/PCT比值对社区获得性肺炎支原体感染的诊断价值[J].热带医学杂志,2021,21(3):311-315.
- [17] 龙燕.气管插管全麻术后患者肺部感染的相关因素分析[J].中国社区医师,2017,33(23):140-141.
- [18] 曾庆英.不同麻醉方式对老年食管癌患者术后肺部感染的影响[J].蚌埠医学院学报,2017,42(1):76-78.
- [19] Bakalis A, Petropoulos K, Zervas K, et al. Small Bowel Perforation due to Ingested Foreign body [J]. Hellenic J Surg, 2018, 90(1):41-45.

# 心外膜脂肪厚度与急性冠状动脉综合征再发心血管事件的相关性

肖建东<sup>1\*</sup> 路玉李<sup>2</sup> 王雅<sup>1</sup> 马星<sup>3</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨心外膜脂肪厚度(EAT)与急性冠状动脉综合征(ACS)再发不良心血管事件(MACE)的关系。**方法** 选取衡水市人民医院在2020年1月至2020年6月确诊并治疗的190例ACS患者作为研究对象。行经胸超声心动图测量患者的EAT水平。对患者实施临床随访,主要终点为再发MACE事件。观察比较MACE组及非MACE组的临床特征,并通过多因素分析确定ACS患者再发MACE事件的危险因素。绘制了受试者操作特征(ROC)曲线评估EAT水平预测MACE事件的能力。**结果** 分析纳入的190名ACS患者中,平均EAT为4.6 mm。并发现ACS患者的EAT厚度与BMI呈正相关;与LVEF呈负相关( $P<0.05$ )。随访12个月共发生了40例MACE:4例猝死,22例ACS、9例需要血运重建和5例心力衰竭。根据临床随访结果是否发生MACE事件进一步分组分析显示两组年龄,糖尿病发生率、BMI指标以及EAT值比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。两组在TC、TG、LDH-C、HDL-C、hs-CRP、高血压、吸烟、LVEF(%)、E/A、E/Ea、单支病变、多支病变比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。多因素logistic回归模型显示,EAT和糖尿病为ACS患者再发MACE事件的独立危险因素( $P<0.05$ )。ROC曲线分析结果表明,当EAT截止值为5 mm时,具有较高的区分MACE的诊断性能,灵敏度:0.91,特异度:0.72,AUC为0.84(95%CI:0.74~0.91, $P<0.05$ )。**结论** ACS患者MACE事件的再发和EAT水平有良好的相关性,可作为临床ACS事件发生的预测因子。在提前识别高危ACS患者及指导进一步治疗具有一定的临床意义。

**[关键词]** 心外膜脂肪厚度;急性冠脉综合征;心血管事件;经胸超声心动图

## Relationship between epicardial adipose thickness and recurrent cardiovascular events in acute coronary syndrome

XIAO Jiandong<sup>1\*</sup>, LU Yuli<sup>2</sup>, WANG Ya<sup>1</sup>, MA Xing<sup>3</sup>

(1. Department of Cardiology, Hengshui People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 2. Department of Endocrinology, Hengshui People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 3. Department of Ultrasound, Hengshui People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the relationship between epicardial adipose thickness (EAT) and recurrent adverse cardiovascular events (MACE) in acute coronary syndrome (ACS). **Methods** 190 ACS patients diagnosed and treated in our hospital from January 2020 to June 2020 were selected as the research objects. Transthoracic echocardiography was performed to measure the patient's EAT level. The clinical follow-up of the patients was carried out, and the primary endpoint was a recurring MACE event. The clinical characteristics of MACE group and non-MACE group were observed and compared, and independent risk factors for recurrent MACE events in ACS patients were determined through a multivariate logistic regression model. A receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to evaluate the ability of EAT to predict MACE events. **Results** Among the 190 ACS patients included in the analysis, the mean EAT was 4.6

基金项目:衡水市科学技术研究与发展计划项目(2019014053Z)

作者单位:1.衡水市人民医院心内科,河北,衡水 053000

2.衡水市人民医院内分泌科,河北,衡水 053000

3.衡水市人民医院超声科,河北,衡水 053000

\*通信作者:肖建东, E-mail: xiaojiandong5188@163.com

mm. A total of 40 patients with MACE were followed up for 12 months. It was found that the thickness of EAT in ACS patients was good correlated with BMI. It was negatively correlated with LVEF ( $P<0.05$ ). A total of 40 MACE patients occurred during the 12 - month follow - up: 4 sudden death, 22 ACS, 9 requiring revascularization, and 5 heart failure. According to clinical follow-up results whether MACE events occurred, further grouping analysis showed that there were statistically significant differences between the two groups in older age, presence of diabetes, BMI and EAT ( $P<0.05$ ). There was no significant difference between the two groups in TC, TG, LDH-C, HDL-C, hs-CRP, hypertension, smoking, LVEF (%), E/A, E/Ea, single-vessel disease, and multi - vessel disease ( $P>0.05$ ). Multivariate logistic regression model showed that EAT and diabetes were independent risk factors for recurrent MACE events in ACS patients ( $P<0.05$ ). The results of ROC curve analysis showed that when the EAT cutoff value was 5 mm, it had a high diagnostic performance for distinguishing MACE, with a sensitivity of 0.91, a specificity of 0.72, and an AUC of 0.84 (95% CI: 0.74~0.91,  $P<0.05$ ). **Conclusion** The recurrence of MACE events in patients with ACS has a good correlation with EAT level, which can be used as a predictor of clinical ACS events. It has certain clinical significance in identifying high-risk ACS patients in advance and guiding further treatment.

**[KEY WORDS]** Epicardial adipose thickness; Acute coronary syndrome; Adverse cardiovascular events; Transthoracic echocardiography

心外膜脂肪组织(Epicardial adipose tissue, EAT)是位于心肌和心包之间的内脏脂肪储存,与冠状动脉疾病的扩展和严重程度相关,并且可能与其局部诱导和/或进展有关<sup>[1-2]</sup>。研究表明,由升高的EAT反映的心脏代谢风险与其他因素的增加平行,如左心室质量和代谢综合征的其他组成部分<sup>[3-4]</sup>。最近研究发现,EAT与急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的发生密切相关<sup>[5]</sup>。本文以ACS患者为研究对象,探讨超声心动图在相同解剖位置确定的EAT与ACS患者再发MACE事件之间的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

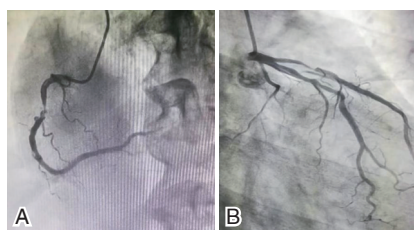
选择衡水市人民医院在2020年1月至2020年6月确诊并治疗的190例ACS患者。对患者进行随访,根据随访结果是否发生MACE事件分为:MACE事件组,非MACE事件组。纳入标准:①均符合临床中对ACS的诊断<sup>[6]</sup>;②所有患者均接受冠脉造影并行PCI术治疗;③均符合出院标准出院,且出院前均自愿接受经胸超声心动图检查。排除标准:①合并风湿性心脏病、急性及慢性心肌炎、肥厚型心肌病、限制型心肌病、扩张型心肌病患者;②合并恶性肿瘤患者;③合并严重的其他相关疾病者或肝肾功能严重异常者。MACE事件定义为:需要再次入院接受治疗干预的心力衰竭、ACS、冠脉血运重建及心源性猝死。所有患者均签署知情同意,该研究已在衡水市人民医院伦理备案并同意施行。

### 1.2 方法

通过医院内部网络收集两组出院前的相关基线资料。包括但不限于:性别、年龄、体重、吸烟、基础疾病、相关实验室生化指标:超敏C反应蛋白(Hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(Low density lipoprotein, LDL-C)、高密度脂蛋白(High-density lipoprotein, HDL-C)、血肌酐(Serum creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)等。收集全部患者的冠脉造影(coronary angiography, CAG)(首次出现需全称)检查及支架植入情况的数据资料。冠脉造影的结果,判读由本院2名经验丰富的冠脉介入医师阅读。典型的ACS冠脉造影结果见图1。同时,依据美国心脏病协会(American Heart Association, AHA)冠状动脉血管图像分段评价标准进行评价<sup>[6]</sup>。

### 1.3 超声心动图参数和EAT测量

所有患者出院前1d接受超声心动图检查。根据美国超声心动图学会的指南测量左心室射血分数(LVEF)、E/A和E/Ea等超声心动图参数<sup>[7]</sup>。为了确定EAT,将探头放在心脏标准切面胸骨旁的左室长轴切面位置上,与右室游离壁的取样线相垂直,置于主动脉瓣环处,在心室舒张末期对心包膜脏层与右室游离壁之间的脂肪厚度水平进行测量,并对3个连续心动周期数据进行记录;在心脏标准切面胸骨旁的乳头肌水平左室短轴切面上,与室间隔取样线相垂直,在患者的心室舒张末期对心包膜脏层与右室游离壁之间的脂肪厚度水平



注:A为右冠病变:提示右冠中段次全闭塞;B为左冠病变:提示回旋支近端90%狭窄。

图1 典型ACS患者冠脉病变造影结果

Figure 1 Coronary angiography in a typical ACS patient

进行测量,并对3个连续心动周期数据进行记录。共收集6个不同心动周期的EAT水平,取平均值作为研究数据。

#### 1.4 随访和研究终点

所有受试者于基线、入组后1、3、6、9、12个月时进行门诊或电话随访(每30个自然日计为1个月),获取受试者的一般状况、不适主诉、口服药物情况等,评估临床事件。以入组后12个月主要不良心血管事件(MACE)为主要终点。

#### 1.5 统计学方法

应用SPSS 23.0进行数据分析,计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较独立样本 $t$ 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,组间比较用 $\chi^2$ 检验;对于单因素分析有统计学意义的基线指标,将进一步纳入多因素logistic回归模型中,分析ACS患者再发MACE事件的独立危险因素;最后,绘制了受试者操作特征(ROC)曲线来分析EAT( $>5$  mm)预测MACE事件的能力。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

#### 2.1 ACS患者EAT厚度与BMI(A)、LVEF(B)的关系

分析纳入的190名ACS患者中,平均EAT为4.6 mm。并发现ACS患者的EAT厚度与BMI(A)呈正相关;与LVEF(B)呈负相关( $P < 0.05$ )。

#### 2.2 两组的临床特征比较

随访12个月共发生了40例MACE:4例猝死,22例ACS、9例需要血运重建和5例心力衰竭。根据临床随访结果是否发生MACE事件进一步分组分析显示两组年龄、糖尿病发生率、BMI指标以及EAT值比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组在TC、TG、LDH-C、HDL-C、hs-CRP、高血压、吸烟、LVEF(%)、E/A、E/Ea、单支病变、多支病变比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

表1 MACE组及非MACE组的临床特征比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of clinical features between MACE group and non-MACE group ( $\bar{x} \pm s$ )

临床特征	非MACE组 (n=150)	MACE组 (n=40)	$t/\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	57.3±10.6	69.2±9.5	6.524	<0.05
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	22.5±2.6	26.7±2.1	5.261	<0.05
TC(mmol/l)	5.6±1.0	5.2±1.5	1.869	>0.05
TG(mmol/l)	1.2±0.6	1.1±0.4	0.247	>0.05
LDH-C(mmol/L)	3.4±1.4	3.2±0.5	0.735	>0.05
HDL-C(mmol/L)	1.1±0.3	1.1±0.2	1.148	>0.05
hs-CRP(mg/L)	4.2±1.6	3.6±1.8	0.263	>0.05
男性	99	25	1.826	>0.05
高血压	71	19	0.263	>0.05
糖尿病	68	30	7.402	<0.05
吸烟	66	18	1.697	>0.05
EAT(mm)	4.4±1.6	5.7±1.4	3.247	<0.05
LVEF(%)	54.4±11.4	50.2±10.5	0.914	>0.05
E/A	1.1±0.3	1.0±0.2	0.627	>0.05
E/Ea	10.8±2.2	12.1±2.5	1.058	>0.05
单支病变	66	20	1.735	>0.05
多支病变	71	23	1.452	>0.05

#### 2.3 影响MACE的危险因素分析

多因素logistic回归模型显示,EAT和糖尿病为ACS患者再发MACE事件的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 MACE危险因素的多因素logistic回归模型分析

Table 2 Multivariate Logistic regression model analysis of MACE risk factors

因素	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$	OR(95%CI)值	P值
常量(截距)	-1.586	0.406	15.301	0.205(0.091~0.449)	<0.001
EAT	0.662	0.154	18.479	1.017(1.003~1.325)	<0.001
糖尿病	0.824	0.162	25.770	1.479(1.157~2.132)	<0.001

#### 2.4 EAT预测ACS患者再发MACE事件的能力

ROC曲线分析结果表明,当EAT截止值为5 mm时,具有较高的区分MACE的诊断性能,灵敏度:0.91,特异度:0.72,AUC为0.84(95%CI:0.74~0.91, $P < 0.05$ )。见图2。

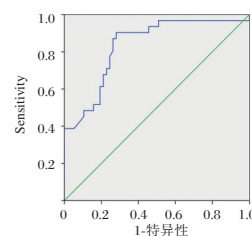


图3 ROC曲线分析

Figure 3 ROC curve analysis

## 3 讨论

近年来,ACS在临床中的发病率及死亡率均显



著升高,对人们的生活质量产生严重的不良影响<sup>[8]</sup>。尤其是ACS患者经冠脉支架植入术治疗后复发MACE事件,直接对患者的生命及心理健康产生威胁<sup>[9]</sup>。因此,寻找与ACS介入治疗后患者复发MACE之间相关的参考评估指标,对改善患者预后,预防复发MACE事件具有十分重要意义<sup>[9-11]</sup>。

EAT独特的解剖位置和导致动脉硬化,炎症作用等特点,使其与CAD关系及机制成为近期研究的热点。本研究中,复发MACE组患者的特征是显著更高EAT和糖尿病患病率。结果提示,EAT可能伴随机体的整体体脂分布情况对冠脉病变产生一定的影响作用。而在合并糖尿病方面,肥胖会导致机体的脂肪细胞发生肥大,使得胰岛素抵抗现象增加,机体增加释放相关炎性细胞因子,从而影响全身的炎症反应,在冠脉粥样硬化的整个发生及发展过程当中有所参与<sup>[11]</sup>。本研究中EAT改变与年龄、BMI有关,说明EAT作为局部脂肪库,其密度改变与局部微环境有关。

本研究多因素logistic回归模型显示,EAT和糖尿病可作为ACS患者复发MACE事件的独立危险因素。分析其可能的机制为:第一,心外膜脂肪主要在冠脉周围存在,其能够分泌并产生相关炎症因子,促使冠脉平滑肌细胞增殖;而炎症反应及增生的平滑肌细胞会使得冠状动脉粥样硬化加重,进一步加重冠状动脉的狭窄程度<sup>[12-13]</sup>。与此同时,心外膜脂肪的解剖位置,决定其能够从外往内实现信号的传导,能够进一步影响冠状动脉粥样硬化,加速其发展进程<sup>[13]</sup>。第二,从组织关系方面来说,心肌与心外膜脂肪紧密联系,可以局部控制心肌细胞的功能及结构,最终限制旁分泌,影响心肌的正常代谢功能,对冠状动脉粥样硬化的发生及发展产生促进作用<sup>[14-16]</sup>。

此外,我们在ROC分析中发现,当EAT截止值为5 mm时,具有较高的区分MACE的诊断性能,这与先前研究指出EAT水平 $\geq 5$  mm时可用于区分冠状动脉粥样硬化的结论一致<sup>[6]</sup>。因此,EAT可以作为ACS复发MACE事件的潜在预测指标。

综上所述,EAT水平与ACS支架治疗术后患者复发MACE事件之间存在一定关系,可将EAT作为一项观察指标,在ACS患者支架治疗术后预防复发MACE事件时提供一定的参考资料及数据。

## 参考文献

[1] 王妍军,杨青苗,吴明营,等.心外膜脂肪组织厚度对冠

状动脉搭桥术后患者预后的预测价值[J].中国临床医生杂志,2020,48(6):708-711.

- [2] 伍琼,罗喆,洪李锋.心外膜脂肪垫厚度与冠脉支架内再狭窄的相关性分析[J].中国医师杂志,2019,21(3):379-382.
- [3] Giordana F, Errigo D, D'Ascenzo F, et al. Female sex impact on culprit plaque at optical coherence tomography analysis in the setting of acute coronary syndrome in OCT-FORMIDABLE registry[J]. Future Cardiol, 2020, 16(2): 123-131.
- [4] 刘皆,吕芳,王国娟,等.2型糖尿病患者心外膜脂肪厚度,空腹C肽与周围血管病变的相关性分析[J].湖南师范大学学报:医学版,2020,17(3):132-136.
- [5] 伍琼,罗喆,洪李锋.中老年冠心病患者超声心外膜脂肪垫厚度与冠状动脉易损斑块的相关性研究[J].中华老年医学杂志,2019,38(1):34-36.
- [6] 杨亚攀,董淑娟,李静超,等.不同类型急性冠状动脉综合征患者罪犯病变的形态学特点[J].中国动脉硬化杂志,2021,29(4):322-326.
- [7] Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging[J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2015.
- [8] 王向红,邹秀兰,姚克铨,等.心外膜脂肪组织厚度与亚临床甲状腺功能减退关系的Meta分析[J].解放军医学杂志,2019,44(12):1035-1042.
- [9] Aksoy F, Guler S, Kahraman F, et al. The relation between echocardiographic epicardial fat thickness and CHA2DS2-VASc score in patients with sinus rhythm [J]. Braz J Card Surg, 2019, 34(1): 41-47.
- [10] 梁春晓,李爽,刘莹,等.不同区域的心包脂肪容积与心血管危险因素及冠状动脉粥样硬化的关系[J].心血管病学进展,2020,41(8):91-97.
- [11] 李雪博,李昌海,王孝锋,等.心外膜脂肪组织,肥胖与心房颤动的研究进展[J].临床心血管病杂志,2020,36(2):102-104.
- [12] 侯小玲,付振虹,单冬凯,等.心外膜脂肪组织与经皮冠状动脉介入治疗相关短期并发症的关系[J].中国介入心脏病学杂志,2020,5(5):241-246.
- [13] Vyas V, Blythe H, Wood E G, et al. Obesity and diabetes are major risk factors for epicardial adipose tissue inflammation[J]. JCI insight, 2021, 6(16): e145495.
- [14] Qian PC, Barry MA, Tran VT, et al. Irrigated microwave catheter ablation can create deep ventricular lesions through epicardial fat with relative sparing of adjacent coronary arteries[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2020, 13(5): e008251.
- [15] 侯小玲,付振虹,单冬凯,等.心外膜脂肪组织与经皮冠状动脉介入治疗相关短期并发症的关系[J].中国介入心脏病学杂志,2020,28(5):6-11.
- [16] Oudin V, Metz D, Marcus C, et al. Impact of epicardial fat on the duration of endocavitary radiofrequency during atrial fibrillation ablation[J]. Arch Cardiovas Dis Suppl, 2020, 12(1): 115-116.

## 腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染的病原菌特点及hs-CRP、PCT、NLR水平

张丹\* 李华 杜晓丽 李文

**【摘要】** **目的** 探讨腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染的病原菌特点及超敏C-反应蛋白(hs-CRP)、降钙素原(PCT)、中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)水平。**方法** 收集2017年7月至2020年12月于廊坊市人民医院行腹腔镜卵巢囊肿切除术的145例患者临床资料,统计术后盆腔感染率,分析其病原菌分布构成比及主要病菌耐药特点。分析术后盆腔感染者及未感染者hs-CRP、PCT、NLR水平,探讨以上指标对盆腔感染的诊断效能。**结果** 145例患者中,36例出现盆腔感染,52株致病菌中包含14株革兰阳性菌、34株革兰阴性菌、4株真菌。金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌对青霉素G完全耐药;大肠埃希菌对头孢唑林、阿莫西林完全耐药率;肺炎克雷伯菌对头孢噻肟、磺胺甲噁唑完全耐药。盆腔感染者hs-CRP、PCT、NLR水平均显著高于未感染者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。联合hs-CRP、PCT、NLR诊断术后盆腔感染敏感性(80.56%)、特异性(88.99%)、AUC(0.881)显著优于单项检测( $P<0.05$ )。**结论** 革兰阴性菌为腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染的主要病原菌,临床需根据耐药试验进行针对性给药治疗,联合hs-CRP、PCT、NLR水平可为盆腔感染诊断提供有效价值。

**【关键词】** 卵巢囊肿剔除术;盆腔感染;超敏C-反应蛋白;降钙素原;中性粒细胞/淋巴细胞比值

### Pathogen characteristics and hs - CRP, PCT and NLR levels of pelvic infection after laparoscopic ovarian cyst removal

ZHANG Dan\*, LI Hua, DU Xiaoli, LI Wen

(Department of Gynecology, Langfang People's Hospital, Langfang, Hebei, China, 065000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To investigate the characteristics of pathogenic bacteria of pelvic infection, and the levels of high - sensitivity C - reactive protein (hs - CRP), procalcitonin (PCT) and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) after laparoscopic ovarian cyst removal. **Methods** The clinical data of 145 patients who underwent laparoscopic ovarian cyst removal in Langfang People's Hospital were collected between July 2017 and December 2020. The postoperative pelvic infection rate was counted, and the distribution of pathogenic bacteria and drug resistance of main bacteria were analyzed. The levels of hs-CRP, PCT and NLR in patients with postoperative pelvic infection and those without infection were analyzed. The diagnostic efficiency of the above indicators for pelvic infection were discussed. **Results** Among the 145 patients, 36 had pelvic infection, and 52 pathogens included 14 gram - positive bacteria, 34 gram - negative bacteria, and 4 fungi. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* were completely resistant to penicillin G. *Escherichia coli* was completely resistant to cefazolin and amoxicillin. *Klebsiella pneumoniae* was completely resistant to cefotaxime and sulfamethoxazole. The levels of hs-CRP, PCT and NLR in patients with pelvic infection were significantly higher than those in patients without infection ( $P<0.05$ ). The sensitivity, specificity, and AUC of combination of hs-CRP, PCT and NLR to diagnose postoperative pelvic infection were 80.56%, 88.99% and 0.881, better than single detection. **Conclusion** Gram-negative bacteria are the main pathogenic bacteria of pelvic infection after laparoscopic ovarian cyst removal. Clinical treatment should be targeted according to drug

基金项目:廊坊市科技支撑计划项目(2019013020)

作者单位:廊坊市人民医院妇科,河北,廊坊 065000

\*通信作者:张丹, E-mail:MMaimi926@163.com

resistance test. The combination of hs-CRP, PCT and NLR levels can provide effective value for the diagnosis of pelvic infection.

**[KEY WORDS]** Ovarian cyst removal; Pelvic infection; High - sensitivity C - reactive protein; Procalcitonin; Neutrophil to lymphocyte ratio

卵巢囊肿为常见的妇科疾病,治疗不及时可能会出现蒂扭转、囊肿破裂、感染等继发病变,加大临床治疗难度<sup>[1]</sup>。有研究提出,卵巢囊肿患者腹腔镜手术中可能因接触到阴道、肠道等开放性器官,手术患者体质较差,极易继发感染。手术主要集中在盆腔,因此主要以盆腔感染为主,因此临床应注意控制卵巢囊肿腹腔镜手术后盆腔感染发生率<sup>[2]</sup>。研究发现性传播病原体、大肠埃希菌、葡萄球菌等为盆腔感染的主要病原体,在临床治疗中,需要先进行病原菌的培养及药敏试验,并选择病原菌敏感性较高的药物给予针对性治疗,进一步减少细菌耐药发生率<sup>[3]</sup>。本研究探讨血清炎症因子超敏C-反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、中性粒细胞数及淋巴细胞数比值(Neutrophil-Lymphocyte Ratio, NLR)在盆腔感染中的诊断价值,为盆腔感染的预防及诊治提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集2017年7月至2020年12月于廊坊市人民医院行腹腔镜卵巢囊肿切除术的145例患者临床资料,患者平均年龄(44.56±5.29)岁,卵巢囊肿直径(6.52±0.73)cm。卵巢囊肿诊断标准<sup>[4]</sup>:单侧下腹部有疼痛,腹部下坠感或胀满感,腰骶部酸痛、性交时疼痛、下腹部有压迫感,剧烈疼痛时伴随恶心、呕吐、头晕、呼吸急促症状。手术指征<sup>[4]</sup>:囊肿体积较大,直径在5 cm以上;观察三个月至半年囊肿一直存在;囊肿生长速度较快;囊肿蒂扭转或破裂引起的急腹症;绝经后出现的卵巢囊肿。纳入标准:①均符合手术指征,且行卵巢囊肿切除术治疗者;②一般临床资料完整者;③盆腔感染者符合相关诊断标准<sup>[5]</sup>:患者术后间隔6 h以上,检查发现体温在38℃以上,且脉搏加快;血液生化检查提示存在感染;感染部位或周围部位疼痛;中性粒细胞绝对值在0.9以上,白细胞计数在 $13 \times 10^9/L$ 以上,且感染部位血培养呈阳性;影像学检查存在盆腔脓肿。排除标准:①合并免疫系统疾病者;②合并血液疾病

者。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 取材

在无菌条件下,应用消毒棉签插入宫颈缓慢移动至宫内后,停留1 min,湿透即可取出,放置无菌管中送检。

#### 1.2.2 培养菌株

采用全自动微生物菌种鉴定仪(型号为MicroScan walkAway-96,北京西门子生物科技有限公司)分离培养采集的样本,并按照细菌培养结果对菌株数量及种类进行统计,质控菌株:白假丝酵母菌 ATCC672245、肺炎克雷伯菌 ATCC6531801、金黄色葡萄球菌 ATCC657789、大肠埃希菌 ATCC653431 及抗菌药物(中国药品生物制品检定所提供)。血平板培养基及 M-H 琼脂平板均由江苏联海生物科技有限公司提供。

#### 1.2.3 药敏试验

纸片扩散法,在菌株接种后,于平板中贴好抗菌药物药敏纸片(北京三药科技开发公司提供),将白假丝酵母菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌作为质控菌株,以全国临床检验操作规程为判断原则<sup>[6]</sup>,记录各菌株耐药性。配套试剂均购自法国生物梅里埃公司。

#### 1.2.4 血清相关因子检测

抽取受试者治疗前空腹静脉血 5 mL,离心后取上清液保存待检,使用德国罗氏诊断公司提供的电化学发光检测仪(型号为 Cobas E411)检测 PCT,采用免疫比浊法检测 hs-CRP,采用希森美康全自动血液分析仪(XN-2000)检测中性粒细胞数及淋巴细胞数,并计算两者比值 NLR。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件处理数据,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用独立样本 *t* 检验,绘制受试者工作曲线(ROC)得到曲线下面积(AUC),以评价 hs-CRP、PCT、NLR 在腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染中的诊断价值,敏感性 & 特异性均由 ROC 曲线得到,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 感染病原菌构成比

145例患者经实验室检查发现有36例出现盆腔感染,其中盆腔积液12例,阴道残端感染14例,盆腔囊肿10例。病灶共培养出52株致病菌,其中14株革兰阳性菌,占26.91%;34株革兰阴性菌,占65.39%;4株真菌,占7.70%。腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染患者病原菌分布构成比见表1。

表1 感染病原菌构成比(n,%)

病原菌	株数	构成比(%)
革兰阳性菌	14	26.91
金黄色葡萄球菌	4	7.69
表皮葡萄球菌	7	13.46
屎肠球菌	1	1.92
粪肠球菌	1	1.92
溶血葡萄球菌	1	1.92
革兰阴性菌	34	65.39
铜绿假单胞菌	6	11.54
大肠埃希菌	13	25.00
肺炎克雷伯菌	10	19.23
产酸克雷伯菌	2	3.85
产气肠杆菌	3	5.77
真菌	4	7.70
白假丝酵母菌	2	3.85
近平滑假丝酵母菌	2	3.85
合计	52	100

### 2.2 主要革兰阳性菌对抗菌药物耐药性分析

金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌对青霉素G、苯唑西林、氨苄西林、耐药率均在50%以上。见表2。

表2 主要革兰阳性菌对抗菌药物耐药性分析(n,%)

抗菌药物	金黄色葡萄球菌(n=4)		表皮葡萄球菌(n=7)	
	株数	耐药率(%)	株数	耐药率(%)
青霉素G	4	100	7	100
苯唑西林	3	75.00	4	57.14
氨苄西林	3	75.00	4	57.14
阿莫西林	2	50.00	1	14.29
头孢唑林	2	50.00	1	14.29
头孢曲松	1	25.00	4	57.14
头孢噻肟	2	50.00	2	28.57
氯霉素	2	50.00	2	28.57
庆大霉素	3	75.00	3	42.86
环丙沙星	3	75.00	3	42.86
左氧氟沙星	1	25.00	2	28.57

### 2.3 主要革兰阴性菌对抗菌药物耐药性分析

大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌对头孢唑林、头孢噻肟、头孢曲松、阿莫西林、磺胺甲噁唑耐药率在80%以上。见表3。

表3 主要革兰阴性菌对抗菌药物耐药性分析(n,%)

Table 3 Drug resistance of main Gram-negative bacteria (n,%)

抗菌药物	大肠埃希菌(n=13)		肺炎克雷伯菌(n=10)	
	株数	耐药率(%)	株数	耐药率(%)
头孢唑林	13	100.00	9	90.00
庆大霉素	8	61.54	6	60.00
氨苄西林	9	69.23	7	70.00
头孢噻肟	12	92.31	10	100.00
头孢曲松	12	92.31	8	80.00
阿莫西林	13	100.00	10	100.00
磺胺甲噁唑	12	92.31	8	80.00

### 2.4 腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染及未感染者hs-CRP、PCT、NLR水平分析

术后盆腔感染者hs-CRP、PCT、NLR水平均显著高于未感染者,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

表4 腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染及未感染者hs-CRP、PCT、NLR水平分析(x̄±s)

	n	hs-CRP(mg/L)	PCT(ng/mL)	NLR
感染组	36	95.64±9.71	8.33±1.25	18.33±2.29
未感染组	109	68.25±7.33	2.34±0.34	10.25±2.41
t值		17.859	45.465	17.652
P值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.5 hs-CRP、PCT、NLR在腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染中诊断价值

联合hs-CRP、PCT、NLR诊断腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染敏感性(80.56%)、特异性(88.99%)、AUC(0.881)显著高于单项检测(P<0.05)。见表5、图1。

表5 hs-CRP、PCT、NLR在腹腔镜卵巢囊肿剔除术后盆腔感染中诊断价值

Table 5 Diagnostic value of hs-CRP, PCT and NLR for pelvic infection after laparoscopic ovarian cyst removal

	敏感性(%)	特异性(%)	AUC	截断值	P值
hs-CRP	83.33	76.15	0.752	79.803 mg/L	<0.001
PCT	91.67	76.15	0.804	3.081 ng/mL	<0.001
NLR	75.00	83.49	0.716	14.242	<0.001
联合	80.56	88.99	0.881		<0.001

## 3 讨论

女性生殖系统分为上、下生殖道,上生殖道宫颈处所分泌的粘液会形成保护屏障呈无菌状态,当机体抵抗力降低时,自身防御系统功能降低,下生殖道病原菌会上移至上生殖道,引起盆腔腹膜、

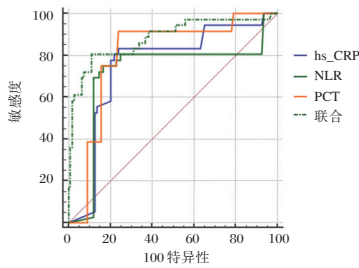


图1 hs-CRP、PCT、NLR 诊断价值

Figure 1 Diagnostic value of hs-CRP, PCT and NLR

输卵管、子宫内膜炎症<sup>[7-9]</sup>。

本研究中经检查发现 145 例卵巢囊肿患者中有 36 例在术后出现盆腔感染,发生率为 24.83%。因盆腔感染复发率较高,会引起不孕症、月经不调、败血症,药物治疗无法有效控制感染,因此对盆腔感染患者进行细菌培养及耐药性分析在临床诊断及治疗中具有重大意义。

本研究检查出致病菌主要以革兰阴性菌为主,检出菌群主要是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌,革兰阳性菌主要为金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌,与李翠萍等<sup>[10]</sup>研究结果一致。耐药性研究分析发现革兰阴性菌中大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌对头孢唑林、头孢噻肟、头孢曲松、阿莫西林、磺胺甲噁唑耐药率均较高,说明这些抗菌药物对盆腔感染革兰阴性菌已无法有效控制、抑制。可能是因为革兰阴性菌的细胞壁组织中以内毒素为主要成分,可激发机体中固有免疫反应,且通过免疫系统激活及细胞素的释放来表达这种反应,导致多数陈旧型抗菌药物无法有效抑制此类细菌,不断升高耐药性<sup>[11-12]</sup>。本研究中耐药试验分析发现革兰阴性菌对头孢哌酮、美罗培南、阿米卡星耐药率较低,治疗效果更明显;革兰阳性菌对万古霉素、替考拉宁、利奈唑胺耐药率较低,治疗效果明显。提示临床需要根据耐药率检测结果给予针对性抗菌药物治疗,降低耐药风险。

卵巢囊肿患者在术后免疫功能及代偿功能均明显降低,明显增加感染风险。张磊等<sup>[13]</sup>研究提出,PCT 是血流感染最可靠的预测因子,NLR 紧居其后。PCT 无生物学活性,在健康时含量较低,但在出现感染时则会急剧升高<sup>[14]</sup>。NLR 为新兴炎症指标,比值稳定、易测、经济是其优势<sup>[15]</sup>。hs-CRP 经肝脏合成,是急性时相反应蛋白,在机体出现细菌感染时迅速升高。本研究发现盆腔感染者 hs-CRP、PCT、NLR 水平均显著高于未感染者,且联合以上三种指标可有效提高盆腔感染的特异性,提示 hs-CRP、

PCT、NLR 联合检测可为盆腔感染的诊断及治疗提供客观依据,在控制盆腔感染发生中具有重要价值。

综上所述,腹腔镜卵巢囊肿剔除术后感染主要集中在盆腔,革兰阴性菌为主要致病菌,联合检测 hs-CRP、PCT、NLR 水平可为盆腔感染提供客观依据。

## 参考文献

- [1] 尤小燕,陈淑梅,王雅莉,等.老年妇科肿瘤手术患者术后盆腔感染的病原菌特点及高危因素分析[J].中华医院感染学杂志,2017,27(4):892-895.
- [2] 程瑶瑶,李建辉,王淳,等.PCOS 患者 GDF-9、BMP-15、BAX 表达特点及其与卵巢储备功能的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(2):225-228+233.
- [3] Hicks-Courant K, Melamed A, Worley MJ J, et al. Trends in-place of death among patients with gynecologic cancer in the United States[J]. Obstet Gynecol, 2018,131(6):1111-1120.
- [4] 雷雪芹.正确认识卵巢囊肿[J].幸福生活指南,2019,20(8):1.
- [5] 谢幸,苟文丽.妇产科学.第8版.北京:人民卫生出版社,2013:138-139.
- [6] 中华人民共和国卫生部医政司.全国临床检验操作规程[M].第3版.南京:东南大学出版社,2006:32-36.
- [7] Mealey K, Braverman PK, Koenigs LMP, et al. Why a pelvic exam is needed to diagnose cervicitis and pelvic inflammatory disease[J]. Ann Emerg Med, 2019,73(4):424-425.
- [8] Lin HW, Wang PH, Lec CY, et al. The risk of gynecologic and urinary tract cancer with pelvic inflammatory disease: a population-based cohort study[J]. J Cancer, 2019,10(1):28-34.
- [9] Lippitt MH, Fairbairn MG, Matsuno R, et al. Outcomes associated with a five-point surgical site infection prevention bundle in women undergoing surgery for ovarian cancer[J]. Obstet Gynecol, 2017,130(4):756-764.
- [10] 李翠萍,赵薇,王洋,等.妇科肿瘤术后盆腔感染的病原菌分布及影响因素分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(15):2357-2360.
- [11] Owen MT, Keener EM, Hyde ZB, et al. Intraoperative topical antibiotics for infection prophylaxis in pelvic and acetabular surgery[J]. J Orthop Trauma, 2017,31(11):589-594.
- [12] Pathak M, Coombes AGA, Ryu B, et al. Sustained simultaneous delivery of metronidazole and doxycycline from polycaprolactone matrices designed for intravaginal treatment of pelvic inflammatory disease[J]. J Pharm Sci, 2018,107(3):863-869.
- [13] 张磊,潘思英,杨庭显,等.妇科恶性肿瘤患者院内感染病原菌特点,危险因素分析及炎症因子水平变化[J].中国病原生物学杂志,2020,15(2):207-209.
- [14] Pan YP, Fang YP, Xu YH, et al. The diagnostic value of procalcitonin versus other biomarkers in prediction of bloodstream infection[J]. Clin Lab, 2017,63(2):277-285.
- [15] 何家花,余成强,李步荣,等.血流感染病原学分析及与相关炎症因子的应用价值研究[J].现代检验医学杂志,2020,35(4):145-148.

# 外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 调节性 T 细胞表达与新生儿血液感染的关系

王丽娟<sup>1\*</sup> 王丽锋<sup>2</sup> 刘雪杰<sup>3</sup> 姚瑞敏<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 探究外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 调节性 T 细胞(Treg)表达与新生儿血液感染的关系。方法 分析2018年1月至2021年1月期间于濮阳市清丰县中医院娩出的497例新生儿中89例疑似血液感染的新生儿临床资料,根据细菌血培养诊断结果分为感染组21例与未感染组68例。比较两组外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平,采用 Logistic 多元回归分析模型分析新生儿血液感染影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)评估上述指标对新生儿血液感染的诊断效能。结果 感染组外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>表达水平显著低于未感染组,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平显著高于未感染组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。Logistic 回归分析显示,外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 均为新生儿血液感染的独立危险因素( $P<0.05$ )。ROC 曲线分析显示,CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 诊断新生儿血液感染的曲线 AUC 分别为 0.891、0.909、0.854,截断值分别为 59.85%、38.57%、8.87%,诊断效能良好( $P<0.05$ )。结论 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达情况与新生儿血液感染具有一定相关性,且上述各指标在新生儿血液感染诊断中均具有良好效能,可为新生儿血液感染及后续治疗措施实施提供一定参考。

**[关键词]** 新生儿;血液感染;CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127;调节性 T 细胞;细胞因子

## Relationship between expression of peripheral blood CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 regulatory T cell and neonatal blood infection

WANG Lijuan<sup>1\*</sup>, WANG Lifeng<sup>2</sup>, LIU Xuejie<sup>3</sup>, YAO Ruimin<sup>2</sup>

(1. Department of Pediatrics, Puyang Oilfield Disease Control and Prevention Center, Puyang, Henan, China, 457001; 2. Department of General Surgery, Qingfeng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Puyang, Henan, China, 457001; 3. Department of Pediatrics, Puyang Oilfield General Hospital, Puyang, Henan, China, 457001)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the relationship between the expression of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 regulatory T cells (Treg) in peripheral blood and neonatal blood infection. **Methods** The clinical data of 89 neonates with suspected blood infection among 497 neonates who were delivered in Qingfeng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Puyang City were analyzed between January 2018 and January 2021, and the neonates were divided into 21 cases in the infected group and 68 cases in the non-infected group according to the diagnostic results of bacterial blood culture. The expression levels of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg in peripheral blood were compared between the two groups. Logistic multiple regression analysis model was used to analyze the influencing factors for neonatal blood infection. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic efficiency of the above indicators for neonatal blood

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201904013)

作者单位:1.濮阳市油田疾病预防控制中心儿科,河南,濮阳 457001

2.濮阳市清丰县中医院普外科,河南,濮阳 457001

3.濮阳市油田总医院儿科,河南,濮阳 457001

\*通信作者:王丽娟, E-mail: wlj20210727@163.com

infection. **Results** The expression levels of CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> in peripheral blood in the infected group were significantly lower than those in the non-infected group ( $P<0.05$ ), and the expression level of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg was significantly higher than that in the non-infected group ( $P<0.05$ ). Logistic regression analysis showed that peripheral blood CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127Treg were independent risk factors for neonatal blood infection ( $P<0.05$ ). ROC curve analysis showed that the AUC values of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg in the diagnosis of neonatal blood infection were 0.891, 0.909 and 0.854, and the cut-off values were 59.85%, 38.57% and 8.87% respectively, and the diagnostic efficiency was good ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression of peripheral blood CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg has a certain correlation with neonatal blood infection, and the above indicators have good efficiency in the diagnosis of neonatal blood infection and can provide some reference for neonatal blood infection and subsequent treatment measures.

**[KEY WORDS]** Neonates; Blood infection; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127; Regulatory T cell; Cytokines

新生儿血液感染亦被称为新生儿败血症,属于一类病原微生物定植于血液循环,并在其内持续生长、繁殖,造成全身感染状态的疾患。目前临床中常见的类型为细菌性血液感染,其在所有活产儿中所占比例接近1%,在极低体重新生儿中发生比例可逼近20%,在长时间住院的患儿中发生率甚至超过30%<sup>[1-3]</sup>,属于新生儿危重症。此类感染情况多属于新生儿重症监护病房(neonatal intensive care unit, NICU)内发生的院内感染,这与新生儿自身免疫功能低下、抵抗力不足有关。当发生病原菌感染情况表现较重且治疗不及时时,感染患儿可进展为重症败血症、脓毒血症<sup>[4-5]</sup>。新生儿发生血液感染后症状较为隐匿,临床可通过血培养明确患儿血液感染情况<sup>[6]</sup>。CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>作为常见T淋巴细胞,其在诸多感染病例中可表现出异常变化;CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)作为一类适应性免疫细胞,其可用于反映机体感染及炎症情况<sup>[7]</sup>。本次研究将进一步探究外周血CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg表达与新生儿血液感染的关系,现将研究结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

分析2018年1月至2021年1月期间于濮阳市清丰县中医院娩出的497例新生儿中89例存在疑似血液感染症状及体征的新生儿临床资料,根据血培养诊断结果分为感染组21例与未感染组68例。纳入标准:①均于本院娩出,且接受研究相关血培养、免疫细胞检查;②新生儿日龄在28d以内。排除标准:①产妇围产期存在感染状态或肝功能异常者;②产妇围产期服用免疫抑制剂者;

③临床资料存在纰漏者。男47例,女42例,平均日龄(12.36±3.69)d;平均胎龄(37.45±1.27)周。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者监护人均签署知情同意书。

### 1.2 方法

采集新生儿外周静脉血2 mL,采用BD FAC-SCanto II流式细胞仪(碧迪医疗器械有限公司)进行T淋巴细胞亚群检测,具体步骤为:首先进行2 000 μL溶血素配置备用,并准备A、B两个试管作为标记试管,分别将100 μL全血置入各试管内,试管内对应加入试剂A、B,将其充分混匀后在室温、避光条件下放置30 min,随后于各试管内加入1 000 μL溶血素,将其充分混匀后在室温、避光条件下放置15 min,随后于各试管内加入400 μL鞘液,在低速涡旋状态下充分混匀后实施流式细胞仪上机检测,并以机器自带软件分析结果,得出CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg表达水平。

### 1.3 观察指标

比较两组外周血CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg表达水平,采用Logistic多元回归分析模型分析外周血CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg表达水平与新生儿血液感染的相关性,采用受试者工作特征(ROC)曲线评估上述指标对新生儿血液感染的诊断效能。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件分析数据,计量资料用( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用独立样本 $t$ 检验进行组间比较,影响因素分析采用Logistic多元回归分析模型,预测效能采用ROC曲线分析评估。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平比较

感染组外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>表达水平显著低于未感染组, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 表达水平显著高于未感染组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of expression levels of peripheral blood CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD127 Treg between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127Treg
感染组	21	57.85±1.23	35.63±2.87	10.26±1.85
未感染组	68	60.12±1.41	40.26±3.14	7.39±1.57
t 值		6.633	6.021	7.015
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 新生儿血液感染的影响因素分析

Logistic 回归分析显示, 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 均为新生儿血液感染的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 新生儿血液感染的影响因素分析

Table 2 Analysis of influencing factors of neonatal blood infection

指标	β 值	SE 值	Waldχ <sup>2</sup> 值	OR 值	P 值
CD3 <sup>+</sup>	0.253	0.049	26.659	1.287	<0.001
CD4 <sup>+</sup>	0.229	0.056	16.722	1.257	<0.001
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127Treg	0.196	0.044	19.842	1.216	<0.001

### 2.3 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg

诊断新生儿血液感染的效能分析 ROC 曲线分析显示, 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 诊断新生儿血液感染的曲线 AUC 分别为 0.891、0.909、0.854, 截断值分别为 59.85%、38.57%、8.87%, 诊断效能良好( $P < 0.05$ )。见表 3、图 1。

表 3 ROC 曲线参数

Table 3 ROC curve parameters

指标	AUC	95%CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	截断值	P 值
CD3 <sup>+</sup>	0.891	0.808-0.948	69.12	100.00	59.85%	<0.001
CD4 <sup>+</sup>	0.909	0.830-0.960	72.06	95.24	38.57%	<0.001
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 Treg	0.854	0.763-0.920	79.41	80.95	8.87%	<0.001

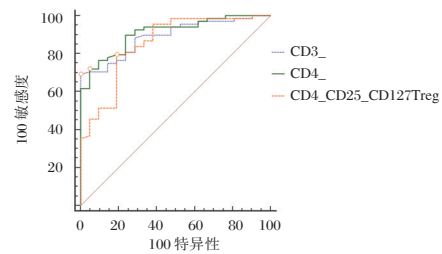


图 1 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 诊断新生儿血液感染的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curves of peripheral blood CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> CD127 Treg in the diagnosis of neonatal blood infection

## 3 讨论

当机体发生病原微生物入侵后, 机体可通过免疫细胞释放肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 等促炎细胞因子对入侵部位进行炎症反应诱导, 降低感染危害<sup>[8-9]</sup>。相关研究指出, 相关炎性介质可进入血液循环并引发全身免疫炎症反应以对抗感染, 此时可伴随 T 淋巴免疫细胞在血液中的异常表达, 且在炎症反应过度的情况下, 机体免疫系统功能可出现一定抑制, 造成感染易感性增加<sup>[10-11]</sup>。T 淋巴细胞亚群源自于骨髓多能干细胞, 其可在机体中发挥免疫调节作用, 其中 CD3<sup>+</sup>可对成熟 T 细胞在外周血中的表达水平进行反映, 水平下降意味着机体免疫功能较为低下, CD4<sup>+</sup>则作为辅助诱导性 T 细胞的代表, 可对机体 B 淋巴细胞产生刺激作用, 促进抗体产生。相关研究指出, 部分感染性疾病患者发病前即可出现 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>水平过低, 同时伴随淋巴细胞因子数量的减少, 表现为疾病易感性升高<sup>[12-13]</sup>。本研究中, 感染组外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>表达水平显著低于未感染组, 经 Logistic 回归分析发现, 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>均为新生儿血液感染的独立危险因素, 提示存在血液感染状况的新生儿 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>表达水平均较低。经 ROC 曲线进一步分析发现, 上述指标诊断新生儿血液感染的曲线 AUC 分别为 0.905、0.811, 截断值分别为 58.71%、36.75%, 提示在低于相应临界值后 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>在新生儿血液感染中的诊断效能良好。分析其原因在于 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>T 细胞均属新生儿机体免疫系统核心, 其与 CD8<sup>+</sup>共同参与机体免疫系统的动态平衡及正常发挥, CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>水平下降表示患儿机体存在免



疫功能抑制状态,更易发生感染,而在血液感染发生后炎症反应过度的情况下,这种免疫抑制状态更为明显。

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 属于机体 T 淋巴免疫细胞中重要的调节细胞,其在脓毒症患者机体免疫调节过程中可发挥抑制细胞免疫的作用。相关研究发现,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 细胞具备广泛 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR),在机体存在感染、炎症状态下,TLR 可因病原菌、炎性因子及部分毒性产物的刺激上调表面活性物质,从而促进 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 的存活、增殖<sup>[14]</sup>,同时进一步加强 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 细胞的免疫抑制作用。张浩等<sup>[15]</sup>研究指出,病原菌成分及其侵入机体后产生的细菌脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)、细菌 DNA 等病理产物均可诱导并促进 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 生成,在炎症反应、脓毒症患者病情进展中发挥重要作用。本研究中,感染组外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平较未感染组明显更高,Logistic 回归分析发现,外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 为新生儿血液感染的独立危险因素,提示存在血液感染状态的新生儿多存在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平的升高,即免疫抑制状态更为严重。经 ROC 曲线进一步分析得出,该指标诊断新生儿血液感染的曲线 AUC 为 0.857,截断值分别为 9.54%,提示当新生儿外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 表达水平高于 9.54%时,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 对其血液感染具有良好的诊断效能。分析其原因在于血液感染可使新生儿适应性免疫、固有免疫状态发生紊乱,感染之初所引发的炎症反应由固有免疫所驱使,此时机体 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平升高以增强适应性免疫抑制,使患儿所受免疫炎症反应损伤降低,但同时更易导致感染程度的加深;此外,在血液感染情况下,患儿因血液内病原微生物侵袭激活 TLR 信号通路,通过 TLR 刺激病原菌表面活性物质促进 Treg 细胞增殖,亦可使外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达水平升高。

综上所述,外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Treg 表达情况与新生儿血液感染具有一定相关性,且上述各指标在新生儿血液感染诊断中均具有良好效能,可为新生儿血液感染情况及后续治疗措施实施提供一定参考。

## 参考文献

- [1] Popescu CR, Cavanagh MMM, Tembo B, et al. Neonatal sepsis in low-income countries: epidemiology, diagnosis and prevention [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2020, 18(5): 443-452.
- [2] McGovern M, Giannoni E, Kuester H, et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis [J]. *Pediatr Res*, 2020, 88(1): 14-26.
- [3] 吴娟,谢妍,廉伟,等. 早发型新生儿败血症围生期危险因素及病原菌分布 [J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(4): 304-308.
- [4] Popescu CR, Cavanagh MMM, Tembo B, et al. Neonatal sepsis in low-income countries: epidemiology, diagnosis and prevention [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2020, 18(5): 443-452.
- [5] 陈秋芳,和俊杰,付荣. 新生儿败血症血液标本主要病原菌构成及耐药性 [J]. *河南医学研究*, 2021, 30(13): 2409-2411.
- [6] 高楚楚,王三南,付凯,等. 受体相互作用蛋白 3 在新生儿败血症诊断中的价值 [J]. *临床儿科杂志*, 2021, 39(3): 167-171.
- [7] 梁晶晶,吴林生,冯艳. 2 型糖尿病医院感染病原学和 25-(OH)D3 与 T 细胞亚群表达及意义 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(6): 857-861.
- [8] Emam AA, Shehab MMM, Allah MAN, et al. Interleukin-4-590C/T gene polymorphism in Egyptian children with acute lower respiratory infection: A multicenter study [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2019, 54(3): 297-302.
- [9] Liu G, Liu W, Guo J. Clinical significance of miR-181a in patients with neonatal sepsis and its regulatory role in the lipopolysaccharide-induced inflammatory response [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1977-1983.
- [10] 付晶,尚春迎,刘丽. Th17/Treg 联合 PCT 值对乳腺癌患者术后化疗医院感染的预测价值分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(12): 1704-1707.
- [11] 阎羽欣,陈广洁. 适应性免疫细胞在自身免疫性溶血性贫血发病机制中的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(11): 1392-1396.
- [12] 吕梦娇,陈小华,臧国庆. 免疫细胞来源外泌体在病毒清除中的作用 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2020, 17(2): 164-167, 172.
- [13] 刘宁,徐屹,段丁瑜. T 细胞耗竭机制的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(1): 103-108.
- [14] Zhou W, Deng J, Chen Q, et al. Expression of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127 Low regulatory T cells and cytokines in peripheral blood of patients with primary liver carcinoma [J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(6): 712-719.
- [15] 张浩,杨凯,丁萌,等. 喘息性支气管炎患儿外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127low 调节性 T 细胞及淋巴细胞亚群的变化与临床意义 [J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(4): 432-434.

## 维持性血液透析患者 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 与冠状动脉钙化的相关性

胡小容 尤小英 屈小燕 贺意琴\*

**【摘要】** 目的 研究维持性血液透析患者成纤维细胞生长因子 23 (FGF-23)、血清骨硬化蛋白 (sclerostin) 及可溶性肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂 (sTWEAK) 水平变化与冠状动脉钙化的相关性。方法 选取 2019 年 11 月至 2020 年 12 月重庆市大足区人民医院收治的 148 例维持性血液透析患者, 根据有无合并冠状动脉钙化将其分为合并组 ( $n=59$ )、未合并组 ( $n=89$ )。比较两组以及不同钙化程度患者 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平, 分析影响维持性血液透析患者冠状动脉钙化的单因素、多因素。结果 合并组 FGF-23、sclerostin 水平高于未合并组, sTWEAK 水平低于未合并组, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。FGF-23、sclerostin 水平: 轻度钙化 < 中度钙化 < 重度钙化, sTWEAK 水平: 轻度钙化 > 中度钙化 > 重度钙化, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。血钙、FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 为影响胶质瘤患者预后的单因素 ( $P<0.05$ )。多因素 Logistic 回归模型分析结果显示, 血钙、FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 为影响维持性血液透析患者冠状动脉钙化的多因素独立危险因素 ( $P<0.05$ )。结论 FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 水平随着冠状动脉钙化程度的不同而变化, 临床可根据其水平变化作为参考依据。

**【关键词】** 维持性血液透析; FGF-23; sclerostin; sTWEAK; 冠状动脉钙化

### Correlation of FGF-23, sclerostin and sTWEAK with coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients

HU Xiaorong, YOU Xiaoying, QU Xiaoyan, HE Yiqin\*

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

**【ABSTRACT】** **Objective** To study the correlation between fibroblast growth factor-23 (FGF-23), serum bone sclerostin (sclerostin) and soluble tumor necrosis factor like weak apoptosis inducer (sTWEAK) levels and coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients. **Methods** The clinical data of 148 maintenance hemodialysis patients treated in Chongqing Dazu District People's Hospital from November 2019 to December 2020 were selected. According to the presence or absence of coronary artery calcification, they were divided into the study group ( $n=59$ ) and the control group ( $n=89$ ). The levels of FGF-23, sclerostin and sTWEAK in patients with different degrees of calcification in the two groups were compared, and the single factors and multiple factors that affected coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients were analyzed. **Results** The level of FGF-23 and sclerostin in the study group was higher than that in the control group, while the level of sTWEAK was lower than that in the control group, the differences were all statistically significant ( $P<0.05$ ). FGF-23 and sclerostin levels: mild calcification < moderate calcification < severe calcification, sTWEAK level: mild calcification > moderate calcification > severe calcification, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The age, gender, hypertension and other single factors that did not affect coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients ( $P>0.05$ ). Serum calcium, FGF-

基金项目:重庆市科学技术局科技发展项目(2019FYYX012)

作者单位:重庆市大足区人民医院血透室,重庆 402360

\*通信作者:贺意琴, E-mail:hyg15823891629@163.com

23, Sclerostin, and sTWEAK were the single factors affecting the prognosis of patients with glioma ( $P<0.05$ ). The results of multivariate Logistic regression model analysis showed that serum calcium, FGF-23, Sclerostin and sTWEAK were independent multivariate risk factors for coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The levels of FGF-23, Sclerostin, and sTWEAK vary with the degree of coronary artery calcification, and the clinical level can be used as a reference basis.

**[KEY WORDS]** Maintenance hemodialysis; FGF - 23; Sclerostin; sTWEAK; Coronary artery calcification

慢性肾脏病属于临床较为常见的多发病症,具有高发病率和死亡率。维持性血液透析是处于终末期肾脏病患者替代治疗的主要方式<sup>[1]</sup>。但长时间的血液透析会引起钙磷代谢紊乱和心血管疾病,对患者生活质量产生严重影响,严重时可危及患者生命<sup>[2]</sup>。据统计维持性血液透析患者的主要死亡原因为心血管疾病,其中超过50%终末期慢性肾脏病患者死于心血管疾病,发病率是同年龄普通人群的20~30倍<sup>[3]</sup>。临床认为血管钙化是维持性血液透析患者心血管疾病发病和死亡的主要影响因素,因此,如何有效预测、评估冠状动脉钙化程度成为当前研究热点<sup>[4]</sup>。

有研究表明,冠状动脉钙化与纤维细胞生长因子-23(fibroblast growth factor-23, FGF-23)、血清骨硬化蛋白(sclerostin)及可溶性肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂(Soluble tumor necrosis factor like weak apoptosis inducer, sTWEAK)有关<sup>[5]</sup>。对此,本研究对 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平在维持性血液透析患者中的变化及其与冠状动脉钙化的相关性进行研究,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年11月至2020年12月重庆市大足区人民医院收治的148例维持性血液透析患者,根据有无合并冠状动脉钙化将其分为合并组( $n=59$ )、未合并组( $n=89$ )。其中合并组经螺旋CT检查,根据冠状动脉钙化积分<sup>[6]</sup>分为:轻度钙化(11~100分)20例;中度钙化(101~400分)18例;重度钙

化(>400分)21例。纳入标准:①符合冠状动脉钙化临床标准<sup>[7]</sup>,透析时间>6个月;②所有患者的临床资料均完整;③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,并签署相关协议书。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②存在合并严重内分泌紊乱或自身免疫性疾病者;③中途退出研究者;④已使用免疫抑制剂、糖皮质激素等药物治疗者。两组患者基本资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

### 1.2 检测方法

收集所有参与研究者早晨空腹静脉血5 mL,静置30 min后,使用离心机2 500 r/min( $r=8$  cm)分离血清,8 min后取出低温保存。使用酶联免疫吸附法(Enzyme Linked Immune Sorbent Assay, ELISA)测定 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 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 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;计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验;采用多元 Logistic 回归分析影响维持性血液透析患者冠状动脉钙化的独立危险因素;以  $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平比较

合并组 FGF-23、sclerostin 水平高于未合并组, sTWEAK 水平低于未合并组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表1 两组资料比较( $\bar{x}\pm s, n$ )

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

组别	$n$	性别(男/女)	平均年龄(岁)	透析龄(年)	糖尿病(有/无)	高血压(有/无)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	血脂(mmol/L)
合并组	59	31/28	55.58±10.73	4.86±1.16	38/21	35/24	24.85±3.59	3.36±0.92
未合并组	89	49/40	56.13±10.35	4.63±1.65	46/43	47/42	23.43±3.08	3.07±1.01
$t/\chi^2$ 值		0.090	0.312	0.929	2.339	0.609	0.760	1.771
$P$ 值		0.764	0.756	0.355	0.126	0.435	0.449	0.079

表2 两组 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Comparison of the levels of FGF-23, sclerostin and sTWEAK between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	FGF-23 (mg/L)	Sclerostin (ng/L)	sTWEAK (pg/mL)
合并组	59	340.82±109.56	41.56±5.91	186.52±14.591
未合并组	89	234.15±55.82	23.05±3.28	260.35±31.56
t 值		7.794	27.511	16.804
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

## 2.2 不同钙化程度患者 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平比较

FGF-23、sclerostin 水平:轻度钙化<中度钙化<重度钙化,sTWEAK 水平:轻度钙化>中度钙化>重度钙化,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 不同钙化程度患者 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	FGF-23 (mg/L)	Sclerostin (ng/L)	sTWEAK (pg/mL)
轻度钙化	20	285.35±82.39	35.85±4.96	220.85±15.96
中度钙化	18	335.54±110.26 <sup>a</sup>	41.73±6.13 <sup>a</sup>	184.76±13.85 <sup>a</sup>
重度钙化	21	398.17±120.52 <sup>ab</sup>	46.85±7.74 <sup>ab</sup>	155.33±10.69 <sup>ab</sup>
F 值		5.860	18.690	118.770
P 值		0.005	<0.001	<0.001

注:与轻度钙化比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与中度钙化比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

## 2.3 影响冠状动脉钙化的单因素

血磷、FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 为影响胶瘤患者预后的单因素( $P<0.05$ )。见表4。

表4 分析影响维持性血液透析患者冠状动脉钙化的单因素 [ $(\bar{x} \pm s), n(\%)$ ]

Table 4 Analysis of single factors affecting coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients [ $(\bar{x} \pm s), n(\%)$ ]

变量	合并组 (n=59)	未合并组 (n=89)	$\chi^2/t$ 值	P 值
年龄(岁)	55.58±10.73	56.13±10.35	0.312	0.756
性别				
男	31(52.54)	59(66.29)	0.090	0.764
女	28(47.46)	40(44.94)		
高血压				
有	35(59.32)	47(52.81)	0.609	0.435
无	24(40.68)	42(47.19)		
糖尿病				
有	38(64.41)	46(51.69)	2.339	0.126
无	21(35.59)	43(48.31)		
血脂 (mmol/L)	3.36±0.92	3.07±1.01	1.771	0.079
透析龄(年)	4.86±1.16	4.63±1.65	0.929	0.355
白蛋白(g/L)	42.63±2.86	43.29±2.49	1.487	0.139
血红蛋白(g/L)	98.36±10.39	99.06±11.53	0.376	0.708
血磷 (mmol/L)	1.45±0.32	1.07±0.39	6.222	<0.001
血钙 (umol/L)	369.86±55.63	377.85±51.74	0.894	0.373
FGF-23 (mg/L)	340.82±109.56	234.15±55.82	7.794	<0.001
Sclerostin (ng/L)	41.56±5.91	23.05±3.28	27.511	<0.001
sTWEAK (pg/mL)	186.52±14.59	260.35±31.56	16.804	<0.001

## 2.4 影响冠状动脉钙化的多因素

多因素 Logistic 回归模型分析结果显示,血磷、FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 为影响维持性血液透析患者冠状动脉钙化的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表5。

表5 分析影响维持性血液透析患者冠状动脉钙化的多因素  
Table 5 Analysis of multiple factors affecting coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients

类别	回归系数	标准误	wald $\chi^2$ 值	OR(95% CI)值	P 值
血磷 (mmol/L)	0.695	0.312	6.319	2.004(1.087~3.693)	<0.001
FGF-23(mg/L)	0.586	0.256	6.580	1.797(1.088~2.968)	<0.001
Sclerostin(ng/L)	0.618	0.296	6.593	1.855(1.039~3.314)	<0.001
sTWEAK(pg/mL)	0.791	0.733	6.269	2.206(1.699~2.862)	<0.001

## 3 讨论

随着生活水平的提高以及饮食习惯的变化,近年来慢性肾脏疾病的发生率正呈逐年升高趋势<sup>[8]</sup>。维持性血液透析是临床广泛用于治疗晚期慢性肾脏疾病的有效手段<sup>[9]</sup>。血管钙化发生于心血管系统软组织,具有主动性、可逆性以及高度可调控性的特点。有调查发现血管钙化尤其是冠状动脉钙化是导致慢性肾脏疾病患者死亡的重要原因,认为冠状动脉钙化可作为预测心血管死亡风险的重要因子<sup>[10]</sup>。目前检测冠状动脉钙化主要以螺旋CT和电子束CT为主,但其检测费昂贵,射线剂量大,对患者经济、身体造成影响<sup>[11]</sup>。有研究认为维持性血液透析患者普遍存在钙磷代谢紊乱,而FGF23可调节钙磷代谢,其含量会随着钙磷代谢紊乱严重程度增加,而血磷水平升高时,患者出现冠状动脉钙化的几率增加,因此FGF23可作为检测患者冠状动脉钙化程度的参考<sup>[12]</sup>。但单一的检测指标无法为临床提供准确有效的参考。对此本文还对sclerostin及sTWEAK水平进行研究。有研究发现Sclerostin可直接参与血管钙化过程,sTWEAK可介导多种生物学效应,认为sclerostin及sTWEAK水平与维持性血液透析出现冠状动脉钙化具有相关性<sup>[13]</sup>。本研究发现冠状动脉钙化患者FGF-23、sclerostinUI及sTWEAK水平高于未出现钙化患者。分析原因:FGF23由骨细胞和骨成纤维细胞分泌,属于新型调节钙磷代谢的因子之一,随着肾脏疾病严重程度的不断加剧以及血液透析频率的增加,其表达水平随之升高,进一步加剧了钙磷代谢紊乱状况,继而增加了心血管意外事件

发生的风险<sup>[14]</sup>; Sclerostin 在肾脏、胰腺、肺中表达, 属于特异性糖蛋白, 可有效抑制成骨细胞发育和骨形成, 直接参与了动脉粥样硬化形成和血管钙化<sup>[15]</sup>; sTWEAK 是由肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂经蛋白酶作用后水解而形成的, 可诱导促炎因子的产生, 促进细胞生长、纤维化, 刺激分子及基质金属蛋白酶表达、诱导细胞凋亡等<sup>[16]</sup>。同时还有研究认为 FGF23、sclerostin 及 sTWEAK 水平会随着患者动脉钙化程度出现不同的水平表达, 其与冠状动脉钙化有着一定的联系<sup>[17]</sup>。本研究进一步研究发现, FGF-23、sclerostin 水平随着患者钙化程度的加重而升高, 而 sTWEAK 与之相反, 其水平会随着之减少, 说明 FGF23、sclerostin 及 sTWEAK 与冠状动脉钙化关系密切。有研究认为 FGF-23、sclerostin 及 sTWEAK 水平变化是影响血管钙化的因素<sup>[18-19]</sup>。本研究进一步研究发现, 血磷、FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 均为影响冠状动脉钙化的危险因素, 可能是由于血磷、FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 在维持性血液透析患者动脉钙化发生、发展过程中发挥着至关重要的作用, 从而影响动脉钙化结果。

综上所述, FGF-23、Sclerostin、sTWEAK 作为维持性血液透析影响冠状动脉钙化的因素, 其水平随着冠状动脉钙化程度的不同而变化, 临床可根据其水平变化作为参考依据。

## 参考文献

- [1] 张曼, 张京慧, 温小军. 老年血液透析患者血清 hs-CRP、Fetuin-A 水平与心脏瓣膜钙化和血管钙化的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3): 296-299.
- [2] Lahati H, Jun BS, Hai YY, et al. Association between serum cartilage oligomeric matrix protein and coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients[J]. J Geriatr Cardiol, 2020, 17(2): 67-73.
- [3] 段朝阳, 林燕, 高洁, 等. 血清 FGF23、FA 水平与维持性血液透析患者冠状动脉钙化的关系[J]. 中国医药导报, 2019, 16(14): 117-120.
- [4] Okamoto T, Hatakeyama S, Kodama H, et al. The relationship between poor nutritional status and progression of aortic calcification in patients on maintenance hemodialysis[J]. BMC Nephrol, 2018, 19(1): 71-72.
- [5] 吴雪莹, 张琢, 徐天华, 等. 维持性血液透析患者血清 Sclerostin 与血管钙化相关性分析[J]. 中国血液净化, 2017, 16(12): 793-797.
- [6] Zheng S, Chen Y, Zheng Y, et al. Correlation of serum levels of fibroblast growth factor 23 and Klotho protein levels with bone mineral density in maintenance hemodialysis patients[J]. Eur J Med Res, 2018, 23(1): 15-18.
- [7] 霍杉杉, 徐芳. 血清骨调素及成纤维细胞生长因子-23 水平与血液透析患者血管钙化之间的相关性分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(10): 1068-1071.
- [8] Fakhrpour R, Khosroshahi H, Ebrahim K, et al. Effect of Sixteen Weeks Combined Training on FGF-23, Klotho, and Fetuin-A Levels in Patients on Maintenance Hemodialysis[J]. Iran J Kidney Dis, 2020, 14(3): 212-218.
- [9] 程劲, 王葳, 刘国香. 血清骨硬化蛋白与维持性血液透析患者冠状动脉钙化的相关性研究[J]. 临床肾脏病杂志, 2019, 19(2): 86-90.
- [10] Cristian R H, Rodríguez-Ortiz ME, Alejandro M M, et al. Phosphate control in reducing FGF23 levels in hemodialysis patients[J]. Plos One, 2018, 13(8): 15-37.
- [11] 赵俊丽, 张婷, 闵丹燕, 等. 维持性血液透析患者血清骨硬化蛋白与冠脉钙化及心血管事件的关系[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2020, 29(3): 208-214.
- [12] Honda H, Michihata T, Shishido K, et al. High fibroblast growth factor 23 levels are associated with decreased ferritin levels and increased intravenous iron doses in hemodialysis patients[J]. Plos One, 2017, 12(5): 23-39.
- [13] Yoshikawa M, Takase O, Tsujimura T, et al. Long-term effects of low calcium dialysates on the serum calcium levels during maintenance hemodialysis treatments: A systematic review and meta-analysis[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10-13.
- [14] 张艳, 孙明慧, 帕提古丽·阿斯讨拜, 等. 血清成纤维细胞生长因子 23 在维持性血液透析患者血管钙化中的作用[J]. 新疆医科大学学报, 2019, 42(3): 361-363.
- [15] Liu SY, Chen J, Li YF. Clinical significance of serum interleukin-8 and soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis levels in patients with diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Investig, 2018, 9(5): 12-18.
- [16] 豆利军, 李耀增, 张顺国. 血清 FGF-23 水平变化与慢性肾病维持性血液透析患者冠状动脉钙化的相关性及其临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(18): 1964-1967.
- [17] Madoka S, Norio H, Hiroshi K, et al. A Prospective Cohort Study Showing No Association Between Serum Sclerostin Level and Mortality in Maintenance Hemodialysis Patients[J]. Kidney Blood Press Res, 2018, 43(3): 1023-1033.
- [18] 易扬, 吴好, 路建饶, 等. 维持性血液透析患者血清 FGF23、胎球蛋白 A 水平与冠状动脉钙化关系的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2018, 19(7): 582-586.
- [19] Zheng S, Zheng Y, Jin L, et al. Relationship between Serum Soluble Klotho Protein and Coronary Artery Calcification and Prognosis in Patients on Maintenance Hemodialysis[J]. Iran J Public Health, 2018, 47(4): 510-518.

## IL-18、IL-27及ST2在AECOPD合并呼吸衰竭患者中的临床应用价值

王春侠\* 周小果 郭娜 刘洋 范娜 冯冬冬 李展

**【摘要】**目的 分析白介素18(IL-18)、白介素27(IL-27)和人基质裂解素(ST2)在急性加重期慢性阻塞性肺疾病(AECOPD)合并呼吸衰竭患者中的临床应用价值。**方法** 选取2019年6月至2020年5月南阳市中心医院收治的238例AECOPD患者,其中125例AECOPD合并呼吸衰竭患者作为观察组,113例单纯AECOPD患者作为对照组。分析两组中IL-18、IL-27、ST2表达水平及血气指标[动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)、动脉血二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>)];比较不同预后患者IL-18、IL-27、ST2表达水平及血气指标;分析IL-18、IL-27、ST2与血气指标相关性以及IL-18、IL-27、ST2对AECOPD合并呼吸衰竭者预后不良的预测价值。**结果** 观察组IL-18、IL-27、ST2水平及PaCO<sub>2</sub>均明显高于对照组,PaO<sub>2</sub>明显低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组预后良好89例,预后不良36例。预后不良组IL-18、IL-27、ST2水平及PaCO<sub>2</sub>均明显高于预后良好组,PaO<sub>2</sub>明显低于预后良好组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。IL-18、IL-27、ST2与PaO<sub>2</sub>均为负相关( $P<0.05$ ),与PaCO<sub>2</sub>无相关性( $P>0.05$ )。依据ROC曲线可知,IL-18+IL-27+ST2联合检测对AECOPD合并呼吸衰竭者预后不良预测敏感度和特异度分别为0.848、0.709,AUC=0.806(95% CI:0.714~0.899),明显高于三者单独预测( $P<0.05$ )。**结论** IL-18、IL-27、ST2在AECOPD合并呼吸衰竭患者中表达均明显上调,三者联合检测对患者预后不良预测价值较高。

**【关键词】** IL-18; IL-27; ST2; AECOPD合并呼吸衰竭

### Clinical application of IL-18, IL-27 and ST2 in AECOPD patients with respiratory failure

WANG Chunxia\*, ZHOU Xiaoguo, GUO Na, LIU Yang, FAN Na, FENG Dongdong, LI Zhan

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473009)

**【ABSTRACT】** **Objective** To analyze the clinical application value of interleukin 18 (IL-18), interleukin 27 (IL-27), human matrix lysin 2 (ST2) in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) complicated by respiratory failure. **Methods** 238 patients with AECOPD admitted in Nanyang Central Hospital from June 2019 to May 2020 were selected, among which 125 patients with AECOPD complicated by respiratory failure were selected as the observation group, and 113 patients with simple AECOPD served as the control group. The expression levels of IL-18, IL-27, ST2 and blood gas indicators [Arterial partial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>), Arterial Carbon Dioxide Partial Pressure (PaCO<sub>2</sub>)] between the two groups were analyzed. The expression levels of IL-18, IL-27, ST2 and blood gas indicators in patients with different prognosis were compared. The correlation between IL-18, IL-27, ST2 and blood gas index, and the predictive value of IL-18, IL-27, ST2 on the prognosis of AECOPD combined with respiratory failure were analyzed. **Results** The levels of IL-18, IL-27, ST2 and PaCO<sub>2</sub> in the observation group were significantly higher than those in the control group, and PaO<sub>2</sub> was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). In the observation group, 89 cases had good prognosis and 36

基金项目:南阳市科技局科技攻关项目(KJGG193)

作者单位:南阳市中心医院呼吸与危重症医学科一病区,河南,南阳473009

\*通信作者:王春侠, E-mail: wcx61665@126.com

cases had poor prognosis. The levels of IL-18, IL-27, ST2 and PaCO<sub>2</sub> in the poor prognostic group were significantly higher than those in the good prognosis group, while PaO<sub>2</sub> was lower than that in the good prognosis group. The difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). IL-18, IL-27 and ST2 were negatively correlated with PaO<sub>2</sub> ( $P<0.05$ ) but had no correlation with PaCO<sub>2</sub> ( $P>0.05$ ). According to the ROC curve, the prediction sensitivity and specificity of IL-18+IL-27+ST2 combined detection to the AECOPD combined with respiratory failure of the prognosis were 0.848, 0.709; AUC=0.806 (95% CI: 0.714~0.899), which was significantly higher than those predicted by the three alone ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expressions of IL-18, IL-27 and ST2 were significantly up-regulated in patients with AECOPD complicated with respiratory failure, and the combined detection of the three has higher predictive value for poor prognosis of patients.

[KEY WORDS] IL-18; IL-27; ST2; AECOPD combined with respiratory failure

慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)属于呼吸道慢性非特异性炎症,严重威胁人们生命健康。随着患者病情进展,处于急性加重期患者可出现进行性呼吸道气流受限以及肺功能障碍症状,导致呼吸衰竭。导致急性加重期慢性阻塞性肺疾病(Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)发生呼吸衰竭的主要因素包括慢性炎症、机体缺氧、营养不良等,而多种炎症细胞及介质在此过程中也发挥着重要的作用<sup>[1]</sup>。白介素 18(Interleukin, IL-18)为最初从动物肝脏组织中所提取的前炎症因子,属于白细胞介素 1 家族,可诱导炎症早期细胞因子产生,参与机体炎症反应<sup>[2]</sup>。白介素 27(Interleukin, IL-27)则是白介素 6/白介素 12 家族中的成员之一,具有促炎与抗炎的双重调节作用。研究显示,IL-27 在 COPD 患者中为高表达,对疾病进展有一定的影响<sup>[3]</sup>。人基质裂解素(human matrix lysin, ST2)属于白细胞介素 1 受体家族中的一员,在变态反应性疾病、炎症中具有重要作用。研究发现,在 COPD 患者血清中 ST2 表达水平明显升高,且与患者病情进展有一定的联系<sup>[4]</sup>。本文通过分析 IL-18、IL-27 和 ST2 在 AECOPD 合并呼吸衰竭患者中的表达情况,分析三者 AECOPD 合并呼吸衰竭诊疗及预后评估中的使用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2019 年 6 月至 2020 年 5 月南阳市中心医院收治的 238 例 AECOPD 患者,其中 125 例 AECOPD 合并呼吸衰竭患者作为观察组,男 94 例,女 31 例,平均年龄为(56.32±6.54)岁;113 例单纯 AECOPD 患者作为对照组,男 85 例,女 28 例,平均年龄为(56.55±6.18)岁。纳入标准:①符合《慢性肺阻塞

疾病诊疗指南》中有关 AECOPD 诊断标准,观察组同时符合有关呼吸衰竭的相关诊断标准<sup>[5]</sup>;②签署知情同意书;③临床资料完整。排除标准:①入院时伴有感染、肿瘤、免疫等疾病者;②以往有呼吸系统手术或外伤史者;③伴有肺脓肿、肺栓塞等其他肺部疾病者;④存在意识障碍者。入选者一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 IL-18、IL-27、ST2 检测方法

患者在入院后次日清晨抽取静脉血液 5 mL,使用离心机 3 000 r/min(离心半径为 10 cm)离心 10 min,获取上清液待检。使用酶联免疫法检测 IL-18、IL-27、ST2,检测仪器为美国 GenWay 生物技术公司提供,试剂为安迪生物公司提供。

#### 1.2.2 血气检查

使用瑞士罗氏公司提供的全自动血气分析仪进行检测,观察指标包括:动脉血氧分压(Arterial partial pressure of oxygen, PaO<sub>2</sub>)、动脉血二氧化碳分压(Arterial carbon dioxide partial pressure, PaCO<sub>2</sub>)。

#### 1.2.3 治疗方法

患者均根据《慢性肺阻塞疾病诊疗指南》<sup>[5]</sup>中推荐治疗方法进行对症治疗,包括化痰、吸氧、抗感染等,随访了解患者治疗后 28 d 预后情况,根据结果将观察组分为预后良好组与预后不良组(病情进展:急性生理与慢性健康状况评分 $\geq 28$ 分、全身性炎症反应综合征评分 $\geq 2$ 分<sup>[6]</sup>;死亡等)。

### 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,行  $t$  检验;计数资料采用  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验,采用 Pearson 检验分析 IL-18、IL-27、ST2 与动脉血气指标相关性,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 IL-18、IL-27、ST2 对 AECOPD 合

并呼吸衰竭者预后不良的预测价值,并计算曲线下面积(AUC),以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 IL-18、IL-27、ST2 水平及动脉血气指标比较

观察组 IL-18、IL-27、ST2 水平及 PaCO<sub>2</sub> 均明显高于对照组, PaO<sub>2</sub> 明显低于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 不同预后患者 IL-18、IL-27、ST2 三者水平及动脉血气指标比较

观察组预后良好 89 例, 预后不良 36 例。预后不良组 IL-18、IL-27、ST2 水平及 PaCO<sub>2</sub> 均明显高于

预后良好组, PaO<sub>2</sub> 明显低于预后良好组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 IL-18、IL-27、ST2 与动脉血气指标相关性

IL-18、IL-27、ST2 与 PaO<sub>2</sub> 均为负相关 ( $r = -0.674, -0.787, -0.695, P$  均  $< 0.05$ ), 与 PaCO<sub>2</sub> 无相关性 ( $r = 0.218, 0.351, 0.299, P = 0.128, 0.077, 0.196$ )。

### 2.4 IL-18、IL-27、ST2 对 AECOPD 合并呼吸衰竭者预后不良的预测价值

依据 ROC 曲线可知, IL-18+IL-27+ST2 联合检测对 AECOPD 合并呼吸衰竭者预后不良预测敏感度和特异度分别为 0.848、0.709, AUC=0.806 (95% CI: 0.714~0.899), 明显高于三者单独预测 ( $P < 0.05$ )。见表 3 及图 1。

表 1 两组 IL-18、IL-27、ST2 表达水平及动脉血气指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-18(ng/L)	IL-27(ng/L)	ST2(pg/mL)	PaO <sub>2</sub> (mmHg)	PaCO <sub>2</sub> (mmHg)
对照组	113	19.24±5.11	63.25±13.16	101.55±16.94	58.55±10.94	51.64±5.47
观察组	125	203.09±20.16	124.75±15.24	194.94±20.58	36.16±5.97	68.48±5.14
t 值		94.226	33.153	37.986	19.847	24.481
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 不同预后患者 IL-18、IL-27、ST2 三者表达水平及动脉血气指标 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-18(ng/L)	IL-27(ng/L)	ST2(pg/mL)	PaO <sub>2</sub> (mmHg)	PaCO <sub>2</sub> (mmHg)
预后良好组	89	189.54±15.24	115.25±13.58	186.57±15.24	39.22±5.94	63.95±5.17
预后不良组	36	236.62±16.57	148.24±15.33	215.64±23.54	28.62±5.68	79.68±5.97
t 值		15.249	11.845	8.178	9.146	14.721
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 IL-18、IL-27、ST2 对 AECOPD 合并呼吸衰竭者预后不良的预测价值

Table 3 The predictive value of IL-18, IL-27, ST2 on the poor prognosis of patients with AECOPD and respiratory failure

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度
IL-18	0.753	0.699~0.867	0.717	0.519
IL-27	0.771	0.710~0.881	0.762	0.586
ST2	0.742	0.638~0.845	0.630	0.506
IL-18+IL-27+ST2	0.806	0.714~0.899	0.848	0.709

## 3 讨论

IL-18 为单核巨噬细胞所分泌的前炎症细胞因子, 目前研究认为 IL-18 可通过诱导炎症早期细胞产生, 从而促进机体分泌下游炎症因子, 诱导炎症反应; IL-18 可作为上游前炎症因子, 通过炎症瀑布效应参与 COPD 的发生<sup>[6-7]</sup>。有研究表明, IL-18 是 COPD 的慢性炎症过程中的敏感细胞因子, 监测其水平变化有助于临床了解气道炎

症的变化过程<sup>[8]</sup>。在本研究中, AECOPD 合并呼吸衰竭者 IL-18 水平明显高于未合并呼吸衰竭者, 与以往文献研究结果相符<sup>[9]</sup>, 提示 IL-18 与 AECOPD 之间存在密切联系, 其表达情况与患者病情严重程度存在相关性。治疗后预后良好者 IL-18 水平明显低于预后不良者, 说明 IL-18 不仅参与患者病情进展, 在患者治疗过程中也起着重要的作用。而 IL-18 与患者 PaO<sub>2</sub> 为负相关, 进一步说明 IL-18 的负面影响<sup>[10]</sup>。

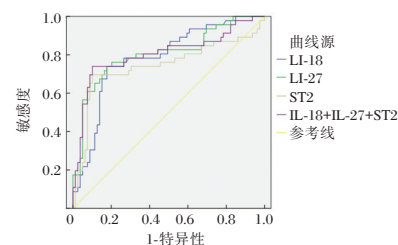


图 1 预测曲线图

Figure 1 The prediction curve



IL-27主要表达于单核细胞、树突状细胞以及巨噬细胞的异源二聚体,可通过调节Th淋巴细胞的增殖以及炎症介质的分泌来调控机体炎症反应,减少炎症引起的组织损伤<sup>[11]</sup>。在本研究中,IL-27在AECOPD合并呼吸衰竭者中表达明显高于单纯AECOPD者,与以往研究结果相符<sup>[12]</sup>。分析可能与患者病情加重,其机体中单核细胞活化、增殖,促进了IL-27表达,加重了炎症反应有关。而预后不良组IL-27水平明显高于预后良好组,且与PaO<sub>2</sub>为负相关,提示AECOPD合并呼吸衰竭者机体缺氧及二氧化碳潴留明显,IL-27的表达升高在其中可能发挥着重要的作用。

以往研究发现,炎症反应、免疫系统紊乱等是影响AECOPD合并呼吸衰竭者预后的重要因素,炎症反应增加、免疫系统失衡可导致患者气道水肿程度加重、呼吸困难及呼吸循环紊乱,引起患者预后不良<sup>[13-14]</sup>。ST2属于新型的炎症因子,可选择性表达于Th2细胞,并参与以Th2细胞主导的炎症反应。有研究表明,ST2表达水平与呼吸困难患者病情严重程度为正相关,可为患者病情严重程度评估提供一定参考<sup>[15]</sup>。在本研究中,合并呼吸衰竭者ST2水平明显升高,且预后不良组ST2水平也明显高于预后良好组,与PaO<sub>2</sub>为负相关,提示AECOPD合并呼吸衰竭者机体免疫功能紊乱、炎症反应更严重,ST2水平变化可能与患者病情进展有一定的联系,与以往文献研究结果相符<sup>[16]</sup>。绘制ROC曲线可知,IL-18、IL-27、ST2对AECOPD合并呼吸衰竭者预后不良的预测均有一定的临床价值,且三者联合诊断对患者预后评估敏感度和特异度均有明显提升,临床中在条件允许情况下可三者联合检测,为评估患者预后情况提供更全面的参考信息。

综上所述,IL-18、IL-27、ST2在AECOPD合并呼吸衰竭患者中表达均明显上调,三联合对患者预后不良预测价值较高,进一步研究三者对AECOPD合并呼吸衰竭中的作用与机制,有望为临床诊疗和干预AECOPD合并呼吸衰竭提供新思路。

## 参考文献

- [1] 尹晶, 陈文涛, 郁毅刚. 重症 COPD 患者 IL33/ST2 比值与血气指标, 氧化应激反应程度的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):305-308.
- [2] 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.
- [3] 韩曙光, 刘玲, 冯金萍, 等. 血清 HMGB1、IL-27 水平及 CAT 评分与 COPD 合并 II 型呼吸衰竭的关系分析[J]. 国际呼吸杂志, 2019, 39(17):1297-1301.
- [4] 黄燕华, 张倩, 刘茗, 等. 血清 PCT, IL-17 与 CRP 在 AECOPD 合并肺动脉高压患者中的表达及诊断价值[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(16):151-155.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组, 中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(3):170-205.
- [6] 周寅川, 荣蓉, 黄祎丹, 等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者出院后 30d 内再入院的影响因素分析及 Nomogram 模型构建[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(8):57-63.
- [7] Akama Y, Park EJ, Satoh-Takayama N, et al. Sepsis Induces Deregulation of IL-13 Production and PD-1 Expression in Lung Group 2 Innate Lymphoid Cells[J]. Shock, 2020, 12(2):106-107.
- [8] Hao W, Li M, Zhang Y, et al. Comparative Study of Cytokine Levels in Different Respiratory Samples in Mild-to-Moderate AECOPD Patients[J]. Lung, 2019, 197(5):565-572.
- [9] Kubysheva N, Boldina M, Eliseeva T, et al. Relationship of Serum Levels of IL-17, IL-18, TNF- $\alpha$ , and Lung Function Parameters in Patients with COPD, Asthma-COPD Overlap, and Bronchial Asthma[J]. Mediators Inflamm, 2020, 2020(9):1-11.
- [10] The Role of the IL-33/ST2 Immune Pathway in Autoimmunity: New Insights and Perspectives[J]. Immunol Invest, 2021, 12(5):1-27.
- [11] Lu D, Lu J, Ji X, et al. IL27 suppresses airway inflammation, hyperresponsiveness and remodeling via the STAT1 and STAT3 pathways in mice with allergic asthma[J]. Int J Mol Med, 2020, 46(2):33-34.
- [12] 顾玉海, 石雪峰, 牛迪, 等. COPD 合并呼吸衰竭患者预后因素分析及 SP-A 和 SP-D 检测对其预后的评估价值[J]. 中国医药导报, 2020, 17(14):141-145.
- [13] Hung LY, Pastore CF, Douglas B, et al. Myeloid-Derived IL-33 Limits the Severity of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis[J]. American Journal Of Pathology, 2020, 191(2):160-167.
- [14] Zhu M, Peng H, Wan L, et al. The role of elevated red blood cell distribution width in the prognosis of AECOPD patients: A retrospective study[J]. Medicine, 2021, 100(3):51-52.
- [15] Jaszczura M, Mizgaa-Izworska E, Witochowska E, et al. Serum levels of selected cytokines [interleukin (IL)-17A, IL-18, IL-23] and chemokines (RANTES, IP10) in the acute phase of immunoglobulin A vasculitis in children[J]. Rheumatol Int, 2019, 39(2):79-81.
- [16] Dagher R, Copenhaver AM, Besnard V, et al. IL-33-ST2 axis regulates myeloid cell differentiation and activation enabling effective club cell regeneration [J]. Nat Commun, 2020, 11(1):4786.

# MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 水平预测高脂血症急性胰腺炎严重程度及预后

刘丽娜<sup>1</sup> 郭瑞芳<sup>2\*</sup> 梁永纲<sup>1</sup> 东丽<sup>3</sup>

**[摘要]** 目的 探讨肌球蛋白轻链激酶 (MLCK)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、 $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 水平预测高脂血症急性胰腺炎 (HAP) 患者严重程度及预后。方法 选取内蒙古自治区人民医院 2018 年 6 月至 2020 年 6 月收治的 75 例 HAP 患者 (HAP 组) 与 60 例同期健康体检者 (正常组)。HAP 组根据病情严重程度分为轻症组 ( $n=53$ ) 与重症组 ( $n=22$ ); 以院内治疗期间预后作为标准, 存活患者为良好组 ( $n=60$ ), 死亡患者为不良组 ( $n=15$ )。各组均行 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 的相对 mRNA 表达及 C 反应蛋白 (CRP)、淀粉酶 (AMY)、甘油三酯 (TG) 水平检测。研究外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 与血液指标的相关性, 并对 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 表达预测 HAP 预后的价值进行受试者工作特征曲线 (ROC) 分析。结果 三组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量及 CRP、AMY、TG 水平: 重度组 > 轻症组 > 正常组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。良好组 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量及 CRP、AMY、TG 水平显著低于不良组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。HAP 患者 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 分别与 CRP、AMY 及 TG 呈正相关 ( $P < 0.05$ )。MLCK 敏感性 93.33%, 特异性 86.67%; E-cadherin 敏感性 86.67%, 特异性 86.67%;  $\beta$ -catenin 敏感性 80.00%, 特异性 93.33%。结论 术前检测 HAP 患者外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 表达可判断 HAP 患者病情严重程度, 可作为 HAP 患者预后的预测指标。

**[关键词]** 急性胰腺炎; 高脂血症; 肌球蛋白轻链激酶; E-钙黏蛋白;  $\beta$ -连环蛋白

## MLCK, E-cadherin and $\beta$ -catenin levels predict the severity and prognosis of hyperlipidemia acute pancreatitis

LIU Lina<sup>1</sup>, GUO Ruifang<sup>2\*</sup>, LIANG Yonggang<sup>1</sup>, DONG Li<sup>3</sup>

(1. Department of Emergency, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017; 2. Department of Clinical Nutrition Center, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017; 3. Department of Oncology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the clinical value of levels of early myosin light-chain kinase (MLCK), E-cadherin and  $\beta$ -catenin in predicting the severity and prognosis of patients with hyperlipidemic acute pancreatitis (HAP). **Methods** 75 patients with HAP admitted to the hospital between June 2018 and June 2020 were retrospectively analyzed, and they were divided into the mild group ( $n=53$ ) and the severe group ( $n=22$ ) according to the severity of disease. Another 60 healthy people who came to the hospital for physical examination during the same period were selected as the normal group. Taking the prognosis during in-hospital treatment as the standard, the surviving patients were classified as a good group ( $n=60$ ), and the dead

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2016MS08103)

作者单位: 1. 内蒙古自治区人民医院急诊科, 内蒙古, 呼和浩特 010017

2. 内蒙古自治区人民医院临床营养中心, 内蒙古, 呼和浩特 010017

3. 内蒙古自治区人民医院肿瘤内科, 内蒙古, 呼和浩特 010017

\*通信作者: 郭瑞芳, E-mail: grf\_6872@163.com

patients were classified as an unfavorable group ( $n=15$ ). The fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the relative mRNA expressions of MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in peripheral mononuclear cells. Immunoturbidimetry was applied to detect the level of serum C-reactive protein (CRP), and EPS substrate method was used for detection of serum amylase (AMY) level and glycerol kinase method for serum triglyceride (TG) level. The correlation between peripheral blood MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin and blood indicators was observed, and the value of expressions of MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in predicting the prognosis of HAP was analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC).

**Results** The relative mRNA expressions of MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in peripheral blood and the levels of CRP, AMY and TG in the three groups: severe group > mild group > normal group, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The relative mRNA expressions of MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin and the levels of CRP, AMY, and TG in the good group were significantly lower than those in the poor group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The relative mRNA expression levels of peripheral blood MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin were significantly lower in good group than those in poor group ( $P<0.05$ ), and the levels of CRP, AMY, and TG were significantly lower than those in poor group ( $P<0.05$ ). MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin were positively correlated with CRP, AMY and TG in HAP patients ( $P<0.05$ ). The ROC curve results showed that the cut-off value, area under the curve, sensitivity and specificity in predicting the poor prognosis of patients with HAP were 2.22, 0.882, 93.33% and 86.67% of MLCK, and were 1.99, 0.851, 86.67% and 86.67% of E-cadherin and were 1.65, 0.809, 80.00% and 93.33% of  $\beta$ -catenin. **Conclusion** Preoperative detection of the expressions of MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in peripheral blood of HAP patients can judge the severity of HAP patients and can be used as predictors of the prognosis of HAP patients.

**[KEY WORDS]** Acute pancreatitis; Hyperlipidemia; Myosin light-chain kinase; E-cadherin;  $\beta$ -catenin

急性胰腺炎是临床上常见的急腹症之一,其有着起病急、病情发展快、病情凶险且死亡率高等特点,患者常表现出急性腹痛、发热、恶心呕吐等症状<sup>[1]</sup>。高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemic acute pancreatitis, HAP)指因血脂水平过高而使过量三酰甘油(Triglyceride, TG)被水解成大量游离脂肪酸,使胰腺血供出现障碍,从而出现胰腺坏死的急性炎症,与其他病因引起的急性胰腺炎相比, HAP病情更凶险且并发症更多<sup>[2]</sup>。肌球蛋白轻链激酶(Myosin light-chain kinase, MLCK)是存在于各种肌细胞与非肌细胞中的蛋白激酶,在多种疾病的发生与发展中起到重要作用<sup>[3]</sup>。E-钙黏蛋白(E-cadherin)是钙依赖的细胞黏着糖蛋白,可促进相邻细胞形成稳定的连接并维持组织结构完整<sup>[4]</sup>。 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)是一种多功能蛋白,可协助细胞对细胞外的信号做出反应<sup>[5]</sup>。近来有研究发现这三种因子在HAP患者病情发展进程中起到重要作用<sup>[6]</sup>。基于此,本研究通过对HAP患者早期MLCK、E-cadherin及 $\beta$ -catenin相对mRNA表达进行检测,旨在探究其与患者病情严重程度及预后的关系。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取内蒙古自治区人民医院2018年6月至2020年6月收治的75例高脂血症性急性胰腺炎患者为HAP组,男48例,女27例;平均年龄( $54.43\pm 9.86$ )岁。参考亚特兰大分类<sup>[7]</sup>将患者分为轻症组( $n=53$ ):无器官衰竭与局部并发症;重症组( $n=22$ ):出现器官衰竭或局部并发症。纳入标准:①HAP组患者符合《中国急性胰腺炎诊治指南(2013年,上海)》<sup>[8]</sup>中HAP相关诊断;②发病时间 $<12$  h;③入院前未经过任何治疗的患者;④病情初次发作的患者;⑤未合并其他胰腺疾病的患者。排除标准:①合并恶性肿瘤的患者;②合并严重精神疾病的患者;③处于哺乳期或妊娠期的患者;④胆源性及酒精性急性胰腺炎。选择60例同期来院体检者为正常组,男36例,女24例;平均年龄( $55.82\pm 10.14$ )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 MLCK、E-cadherin 及 $\beta$ -catenin 检测

HAP 组于入院后第二天清晨、正常组于体检当天抽取空腹静脉血各 5 mL, 分离单个细胞核后提取总 RNA, 将 RNA 反转录为 cDNA。设计引物序列, MLCK 上游: 5'-CGCCACTTCCAGATAGAC TAC-3', 下游: 5'-ACCTTCTCCATCGTTTCC-3', E-cadherin 上游: 5'-AGGCTAGAGGGTCACCGC-GTC-3', 下游: 5'-GCTTTGCAGTTCCGACGCCAC-3',  $\beta$ -catenin 上游: 5'-AAGACATCACTGAGCCTCCAT-3', 下游: 5'-CGATTTGCGGGACAAAGGGCAA-3'。取 10  $\mu$ L SYBR Premix Ex Taq II (2 $\times$ )、5  $\mu$ L 去 RNA 酶的水、3  $\mu$ L cDNA、1.6  $\mu$ L 引物、0.4  $\mu$ L ROX Reference Dye II (50 $\times$ ) 共计 20  $\mu$ L 混合置于荧光定量聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 仪 (北京乐普医疗科技有限责任公司) 内, 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 30 s, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s。进行 40 个循环, 反应结束后以 GAPDH 作为内参照物, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法<sup>[9]</sup> 检测各组外周单个核细胞内 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 的相对 mRNA 表达。

### 1.2.2 血清指标检测

采用免疫比浊法检测血清 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 水平, 采用 EPS 底物法检测血清淀粉酶 (amylase, AMY) 水平, 采用甘油激酶法检测血清甘油三酯 (Triglyceride, TG) 水平。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计软件处理数据, 计量资料

以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 相关性分析采用 Pearson 相关系数法, 采用受试者工作曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析胰腺组织早期 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 表达预测 HAP 患者预后的效能, 以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量及血液指标比较

三组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量及 CRP、AMY、TG 水平: 重度组 > 轻症组 > 正常组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 良好组与不良组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达及血液指标比较

良好组外周血 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量均显著低于不良组, CRP、AMY 及 TG 水平均显著低于不良组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 与血液指标的关系

MLCK 与 CRP、AMY 及 TG 呈正相关 ( $r = 0.538、0.459、0.564, P < 0.05$ ); E-cadherin 与 CRP、AMY 及 TG 呈正相关 ( $r = 0.524、0.442、0.544, P < 0.05$ );  $\beta$ -catenin 与 CRP、AMY 及 TG 呈正相关 ( $r = 0.496、0.425、0.517, P < 0.05$ )。

表 1 三组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of relative mRNA expressions of MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in peripheral blood among the three groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	MLCK	E-cadherin	$\beta$ -catenin	CRP (mg/L)	AMY (U/L)	TG (mmol/L)
正常组	60	1.00 $\pm$ 0.11	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.08	6.73 $\pm$ 1.73	83.14 $\pm$ 10.18	1.02 $\pm$ 0.33
轻症组	53	2.14 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	1.87 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	1.68 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	101.26 $\pm$ 10.54 <sup>a</sup>	688.85 $\pm$ 62.34 <sup>a</sup>	15.54 $\pm$ 4.28 <sup>a</sup>
重症组	22	2.36 $\pm$ 0.30 <sup>ab</sup>	2.03 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	1.81 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	114.52 $\pm$ 11.02 <sup>ab</sup>	732.17 $\pm$ 66.57 <sup>ab</sup>	19.51 $\pm$ 5.13 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		408.849	319.720	210.557	2527.230	2799.188	368.727
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与正常组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与轻症组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 2 良好组与不良组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达及血液指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of relative mRNA expressions of peripheral blood MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin and blood indicators between good group and poor group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	MLCK	E-cadherin	$\beta$ -catenin	CRP (mg/L)	AMY (U/L)	TG (mmol/L)
良好组	60	2.15 $\pm$ 0.25	1.87 $\pm$ 0.24	1.66 $\pm$ 0.23	101.52 $\pm$ 8.86	688.14 $\pm$ 58.45	14.66 $\pm$ 3.39
不良组	15	2.42 $\pm$ 0.22	2.10 $\pm$ 0.19	1.94 $\pm$ 0.18	119.68 $\pm$ 9.03	755.21 $\pm$ 60.68	24.88 $\pm$ 3.15
<i>t</i> 值		3.825	3.445	4.383	7.074	3.946	10.583
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

## 2.4 外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 预测预后的价值

ROC 曲线结果显示:MLCK 敏感性 93.33%, 特异性 86.67%; E-cadherin 敏感性 86.67%, 特异性 86.67%;  $\beta$ -catenin 敏感性 80.00%, 特异性 93.33%。见表 3、图 1。

表 3 外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 与 HAP 患者预后预测效能

Table 3 Efficiency of peripheral blood MLCK, E-cadherin and  $\beta$ -catenin in predicting prognosis in patients with HAP

指标	Cut-off	AUC	敏感性 (%)	特异性 (%)	约登指数	95%CI
MLCK	>2.22	0.882	93.33	86.67	0.800	0.712~0.970
E-cadherin	>1.99	0.851	86.67	86.67	0.733	0.674~0.954
$\beta$ -catenin	>1.65	0.809	80.00	93.33	0.733	0.624~0.929

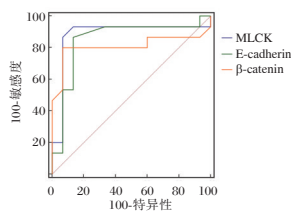


图 1 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

## 3 讨论

HAP 患者以中青年居多, 主要由酗酒、肥胖、糖尿病史引起<sup>[10]</sup>。研究显示, HAP 患者特征明显, 可与胆源性、酒精性急性胰腺炎区别开, 因其严重程度与 TG 水平相关, 因此控制 TG 水平对 HAP 患者的治疗与预后起到重要作用<sup>[11]</sup>。

本研究发现 HAP 患者的外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量及 CRP、AMY、TG 水平以重症组最高, 轻症组次之, 正常组最低, 说明 HAP 患者的炎症与血脂水平较正常人更高, 且随着病情严重程度的增加, 各项指标呈上升趋势。韦宇乐等<sup>[12]</sup>对小鼠模型的 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 表达进行探究, 得出三项指标在 HAP 早期表达上调的结论, 与本研究结果相一致, 进一步证明 HAP 患者与正常人的指标存在差异。本研究还将病情严重程度不同的患者进行对比, 得出病情越严重, MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 表达越高的结论。Shi 等<sup>[13]</sup>研究发现, 病理状态下细胞因子等多种神经体液介质参与屏障功能损伤的发展进程, 钙离子与钙调素结合, 使 MLCK 磷酸化, 从而使肌球蛋白微丝向外滑行, 肌动蛋白与肌球蛋白细胞骨

架收缩, 细胞间通透性增加, 组织屏障功能受到破坏。E-cadherin 在多种上皮细胞中广泛表达, 通过钙离子介导上皮细胞的黏附作用, 在上皮细胞紧密连接的建立和极性形态的维持中起重要作用, 当其异常表达时导致细胞分化, 细胞间连接疏松脱落, 进而诱导炎症细胞因子等形成, 促进炎症趋化因子的转移<sup>[14]</sup>。赵凯等<sup>[15]</sup>发现, 死亡患者的 CRP 等炎症指标显著高于生存患者, 且联合检测的敏感度与特异度较高, 与本研究结果相似。本研究更发现良好组外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 相对 mRNA 表达量均显著低于不良组, 这与许多炎症因子可激活  $\beta$ -catenin, 从而使 E-cadherin/catenin 复合体连接失效, 细胞失去黏附功能, 细胞之间的连接断开并脱落, 细胞的迁移力与侵袭性增强有关; 同时, 细胞间紧密连接功能中断, 导致肌动蛋白重新排列, 从而使 MLCK 表达降低。

本研究还发现 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 均与 CRP、AMY、TG 呈正相关, 说明 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 与炎症因子、血脂因子密切相关, 通过 ROC 曲线发现 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 预测 HAP 患者预后的敏感性与特异性较高。这与张征等<sup>[16]</sup>的研究相一致, 表明 MLCK、E-cadherin 及  $\beta$ -catenin 可调控 HAP 的严重程度, 对预测 HAP 患者预后具有较高的诊断价值。

综上所述, 外周血 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 表达可作为判断 HAP 患者病情严重程度的标准, 还可作为预测 HAP 患者预后的指标, 术前检测 HAP 患者的 MLCK、E-cadherin、 $\beta$ -catenin 表达可评估患者预后, 为制定后续治疗方案提供有用的参考价值。

## 参考文献

- [1] Hu J, Lin W, Zhao C, et al. The Relationship between Trypsin/Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP) in Serum and Acute Pancreatitis (AP)[J]. Clin Lab, 2018, 64(1):93-97.
- [2] Guo Y, Li H, Zhang Y, et al. Hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis; progress on disease mechanisms and treatment modalities[J]. Discov Med, 2019, 27(147):101-109.
- [3] Yu Q, Guo J, Chen Y, et al. Captopril pretreatment protects the lung against severe acute pancreatitis induced injury via inhibiting angiotensin II production and suppressing Rho/ROCK pathway[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2016, 32(9):439-445.
- [4] Yue B, Qiu S, Zhao S, et al. LncRNA-ATB mediated E-cadherin repression promotes the progression of colon cancer and predicts poor prognosis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2016, 31(3):595-603.

(下转第 856 页)

# miR-449a 与 miR-19b-3p 在急性脑梗死介入取栓前后的水平变化及检测价值

盛文乾君\* 贾若飞 钟金浩 邓德贤

**[摘要]** 目的 探究 miR-449a 与 miR-19b-3p 在急性脑梗死介入取栓前后的水平变化及检测价值。方法 选取佛山市中医院 2019 年 8 月至 2021 年 8 月 116 例急性脑梗死患者作为观察组,另选取同期 58 例健康体检者作为对照组,比较两组血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平,观察组均行介入取栓治疗,比较观察组介入取栓前、介入取栓后 12 h 血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平,对比不同预后患者临床资料、介入取栓前后血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平,分析血清 miR-449a、miR-19b-3p 对预后的影响及预测价值。结果 观察组血清 miR-449a 低于对照组,miR-19b-3p 高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组介入取栓后 12 h 血清 miR-449a 高于介入取栓前,miR-19b-3p 低于介入取栓前,差异有统计学意义( $P<0.05$ );预后不良患者介入取栓后 12 h 血清 miR-449a 低于预后良好患者,miR-19b-3p 高于预后良好患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ );根据介入取栓后 12 h 血清 miR-449a、miR-19b-3p 表达均数为界分为低表达与高表达,血清 miR-449a 单独低表达所致预后不良的 OR 为 7.619,miR-19b-3p 单独高表达所致预后不良的 OR 为 3.800,两者同时存在时呈正向交互作用 OR 为 20.583, $\gamma$  为 2.265,为次相乘模型;介入取栓后 12 h 血清 miR-449a、miR-19b-3p 两者联合预测预后不良的 AUC 为 0.892(95%CI:0.821~0.942),明显优于两者单独预测( $P<0.05$ )。结论 miR-449a 与 miR-19b-3p 在急性脑梗死患者中呈异常表达,介入取栓后早期检测两者水平可作为预测预后不良的重要辅助途径。

**[关键词]** 急性脑梗死;介入取栓;微小 mRNA-449a;微小 mRNA-19b-3p

## Changes and detection values of miR-449a and miR-19b-3p in acute cerebral infarction before and after interventional thrombectomy

SHENG Wenganjun\*, JIA Ruofei, ZHONG Jinhao, DENG Dexian

(Department of Neurosurgery, Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan, Guangdong, China, 528000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the level changes and detection values of miR-449a and miR-19b-3p in acute cerebral infarction before and after interventional thrombectomy. **Methods** A total of 116 patients with acute cerebral infarction in Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine from August 2019 to August 2021 were selected as the observation group, and 58 healthy subjects during the same period were selected as the control group. The serum levels of miR-449a and miR-19b-3p between the two groups were compared. The observation group underwent interventional thrombectomy, and the serum miR-449a and miR-19b-3p levels in the observation group before and 12 h after interventional thrombectomy were compared, and the clinical data of patients with different prognosis and serum miR-449a before and after interventional thrombectomy were compared. The effect and predictive value of serum miR-449a and miR-19b-3p on prognosis were analyzed. **Results** The serum miR-449a in the observation group was lower than that in the control group, and miR-19b-3p in the observation group was higher than that in the control group ( $P<0.05$ ). Serum miR-449a in the observation group was higher than before interventional thrombectomy, and miR-19b-3p was lower than before

基金项目:佛山市卫生健康局医学科研课题立项(20200301)

作者单位:佛山市中医院神经外科,广东,佛山 528000

\*通信作者:盛文乾君, E-mail: neurosurgeon1985@163.com

interventional thrombectomy ( $P<0.05$ ). The serum miR-449a of patients with poor prognosis was lower than that of patients with good prognosis at 12 hours after interventional thrombectomy, and the miR-19b-3p was higher than that of patients with good prognosis ( $P<0.05$ ). According to the mean expression of serum miR-449a and miR-19b-3p at 12 h after interventional thrombectomy, it was divided into low expression and high expression. The OR of poor prognosis caused by low expression of serum miR-449a alone was 7.619. The OR of poor prognosis caused by the high expression of miR-19b-3p alone was 3.800, the positive interaction of the two was 20.583, and the  $\gamma$  was 2.265, which was a submultiplicative model. The AUC of serum miR-449a and miR-19b-3p at 12 h after interventional thrombectomy for predicting poor prognosis was 0.892 (95%CI: 0.821-0.942), which was significantly better than that of the two alone ( $P<0.05$ ). **Conclusion** miR-449a and miR-19b-3p are abnormally expressed in patients with acute cerebral infarction, and early detection of their levels after interventional thrombectomy can be an important auxiliary way to predict poor prognosis.

[KEY WORDS] Acute cerebral infarction; Interventional thrombectomy; Micro-mRNA-449a; micro-mRNA-19b-3p; Prognosis

急性脑梗死是临床常见神经科疾病,多由脑栓塞、脑血栓形成所致,具有高发病率、高致残率、高死亡率等特点,日益成为威胁居民生命安全的主要疾病之一,防治形势极为严峻<sup>[1-2]</sup>。目前,静脉溶栓在急性脑梗死治疗中有明显优势,但该疗法存在明显限制性,如凝血功能正常、发病时间窗短等<sup>[3]</sup>。研究证实,介入取栓术在急性脑梗死患者神经功能和预后改善中能获得显著益处<sup>[4]</sup>。微小RNA-449a (microRNA-449a, miR-449a)是 miR-449家族重要成员,可通过参与血管平滑肌细胞表型转化参与炎症性疾病发生发展<sup>[5]</sup>。微小RNA-19b-3p (microRNA-19b-3p, miR-19b-3p)与神经功能、炎症损伤密切相关,被认为可作为诊断脑梗死的生物学指标<sup>[6]</sup>。本研究对此进行探讨,旨在为临床提供数据支持。报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取佛山市中医院2019年8月至2021年8月116例急性脑梗死患者作为观察组,其中男63例,女53例,平均年龄( $59.13\pm 6.28$ )岁。另选取同期58例健康体检者作为对照组,其中男33例,女25例,平均年龄( $58.39\pm 6.05$ )岁。两组年龄、性别等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经本院伦理委员会审批通过。

### 1.2 选取标准

纳入标准:①观察组均经头颅CT或MRI检查显示存在脑梗死病灶,符合《中国急性缺血性脑卒中早期血管内介入诊疗指南2018》中急性脑梗死相关诊断标准<sup>[7]</sup>,且均为首次发病,拟行介入取栓术治

疗,参与本研究前未接受脑梗死相关治疗;②对照组体检各项指标均显示正常;两组入试者或家属均知情本研究,自愿签订知情承诺书。排除标准:①伴有脑出血患者;②合并凝血障碍疾病者;③存在脑外伤、颅内肿瘤疾病或血管畸形者;④妊娠期、哺乳期女性;⑤既往存在精神疾病、认知障碍疾病者;⑥心肝肾等其他重要脏器严重功能异常者;⑦存在介入取栓术禁忌者;⑧属于急性脑梗死复发者。

### 1.3 方法

两组均行介入取栓术治疗,术后均给予抗血小板、血压管理、营养神经等常规处理。

#### 1.3.1 miR-449a、miR-19b-3p水平检测方法

于对照组入院当日、观察组介入取栓前、介入取栓后12h采集清晨空腹静脉血4mL,采用离心机以3000 r/min的速率离心处理10 min,离心半径为10 cm,取上清液,保存于 $-70^{\circ}\text{C}$ 冰箱内,待检。将细胞裂解液加入血清样本中进行裂解,采用美国Invitrogen公司的Trizol试剂盒提取总RNA,之后利用美国Invitrogen公司的紫外分光光度计测定RNA浓度,确认合格后采用日本Takara公司的反转录试剂盒合成cDNA,采用实时荧光定量聚合酶链反应法(qT-PCR)进行扩增,以U6为内参,由上海生工生物工程有限公司合成引物序列,miR-19b-3p反应条件为: $94^{\circ}\text{C}$  3 min,  $94^{\circ}\text{C}$  45 s,退火 $55\sim 59^{\circ}\text{C}$ 复性30 s,  $72^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min, 40个循环;miR-449a反应条件为: $95^{\circ}\text{C}$ 预变性2 min,  $95^{\circ}\text{C}$ 变性15s,  $60^{\circ}\text{C}$ 延伸30s, 40个循环,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算miR-449a、miR-19b-3p的相对表达量。

#### 1.3.2 预后判定方法

随访30 d,以改良Rankin量表(Modified

Rankin Scale, mRS)<sup>[8]</sup>作为依据判定预后情况, ≤2分判定为预后良好, >2分判定为预后不良。

### 1.4 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 22.0 处理数据, 计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 描述, 采用独立样本 *t* 检验; 计数资料用 *n*(%) 表示,  $\chi^2$  检验; 使用交互作用系数  $\gamma$  分析交互作用及作用类型, 其中  $\gamma = \beta_{eg} / \beta_e$ ,  $\beta_{eg}$  表示交互作用的回归系数,  $\beta_e$  表示单独因素的回归系数, 当  $\gamma < 1$  时呈负向交互作用, 当  $\gamma > 1$  时呈正向交互作用, 当  $\gamma = 1$  时无交互作用; 当交互作用 *OR* 大于两单独因素 *OR* 值的乘积时为超相乘模型, 小于两单独因素 *OR* 值的乘积-1 时为相加模型; 预测价值采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析, 联合预测实施 Logistic 二元回归拟合, 返回预测概率 *Logit*(*p*), 将其作为独立检验变量。 *P* < 0.05 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平比较

观察组血清 miR-449a 低于对照组, miR-19b-3p 高于对照组, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 两组血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 serum levels of mir-449a and mir-19b-3p in the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	miR-449a	miR-19b-3p
观察组	116	1.14±0.28	11.28±2.61
对照组	116	2.06±0.47	5.12±1.54
<i>t</i> 值		16.024	16.575
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

### 2.2 观察组介入取栓前后血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平

观察组介入取栓后 12 h 血清 miR-449a 高于介入取栓前, miR-19b-3p 低于介入取栓前, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 观察组介入取栓前后血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum mir-449a and mir-19b-3p levels before and after thrombectomy in the observation group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	miR-449a	miR-19b-3p
介入取栓前	116	1.14±0.28	11.28±2.61
介入取栓后 12 h	116	1.38±0.22	9.75±2.03
<i>t</i> 值		7.259	4.984
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

### 2.3 不同预后患者临床资料及介入取栓前后血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平

随访 30 d, 无病例脱落。不同预后患者年龄、性别、吸烟史、术中取栓次数、介入取栓前血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平差异无统计学意义 (*P* > 0.05); 预后不良患者发病至手术时间 (DPT) 长于预后良好患者, 介入取栓前 NIHSS 评分高于预后良好患者, 介入取栓后 12 h 血清 miR-449a 低于预后良好患者, miR-19b-3p 高于预后良好患者, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见表 3。

表 3 不同预后患者临床资料及介入取栓前后血清 miR-449a、miR-19b-3p 水平比较 [*n*(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 3 clinical data of patients with different prognosis and comparison of serum mir-449a and mir-19b-3p levels before and after interventional thrombectomy [*n*(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

资料	预后不良患者 ( <i>n</i> =28)	预后良好患者 ( <i>n</i> =88)	<i>t</i> / $\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	60.03±6.14	58.84±6.69	0.836	0.405
性别			0.119	0.730
男	16(57.14)	47(53.41)		
女	12(42.86)	41(46.59)		
吸烟史			0.251	0.616
有	8(28.57)	21(23.86)		
无	20(71.43)	67(76.14)		
发病至手术时间 DPT(h)	8.02±1.16	6.89±0.93	5.264	<0.001
介入取栓前 NIHSS 评分	15.20±2.35	12.37±2.08	6.075	<0.001
术中取栓次数(次)	2.31±0.58	2.18±0.49	1.169	0.245
血清 miR-449a				
介入取栓前	1.10±0.26	1.15±0.30	0.792	0.430
介入取栓后 12 h	1.21±0.18	1.43±0.24	4.462	<0.001
血清 miR-19b-3p				
介入取栓前	11.63±2.44	11.17±2.16	0.951	0.344
介入取栓后 12 h	11.39±2.35	9.23±2.07	4.653	<0.001

### 2.4 血清 miR-449a、miR-19b-3p 表达水平对预后的交互作用分析

根据介入取栓后 12 h 血清 miR-449a、miR-19b-3p 表达均数为界, 分为低表达与高表达。血清 miR-449a 单独低表达所致预后不良的 *OR* 为 7.619, miR-19b-3p 单独高表达所致预后不良的 *OR* 为 3.800, 两者同时存在时, 交互作用 *OR* 为 20.583,  $\gamma$  为 2.265, 提示血清 miR-449a 低表达与 miR-19b-3p 高表达在预后不良中呈正向交互作用 (*P* < 0.05);  $20.583 < 3.800 \times 7.619$ , 提示血清 miR-449a 低表达与 miR-19b-3p 高表达为次相乘模型。见表 4。

### 2.5 血清 miR-449a、miR-19b-3p 预测预后价值

ROC 曲线分析, 介入取栓后 12 h 血清 miR-449a 单独预测预后不良的 AUC 为 0.775 (95% *CI*:



表4 血清 miR-449a、miR-19b-3p 对预后的交互作用分析

Table 4 interaction analysis of serum mir-449a and mir-19b-3p on prognosis

miR-449a	miR-19b-3p	预后不良患者(n=28)	预后良好患者(n=88)	OR 值	95% CI	P 值
高表达	低表达	2	38	1.000		
高表达	高表达	5	25	3.800	0.683-21.131	0.127
低表达	低表达	8	13	7.619	1.775-32.699	0.002
低表达	高表达	13	12	20.583	4.057-104.428	<0.001

0.688~0.847), miR-19b-3p 单独预测预后不良的 AUC 为 0.751(95%CI:0.662~0.827), 两者联合预测预后不良的 AUC 为 0.892(95%CI:0.821~0.942), 明显优于两者单独预测( $P<0.05$ )。见表 5、图 1。

表5 血清 miR-449a、miR-19b-3p 预测预后价值

Table 5 Predictive prognostic value of serum miR-449a and miR-19b-3p

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
miR-449a	0.775	0.688-0.847	1.25	67.86	80.68	<0.001
miR-19b-3p	0.751	0.662-0.827	10.68	71.43	75.00	<0.001
联合	0.892	0.821-0.942	-	85.71	87.50	<0.001

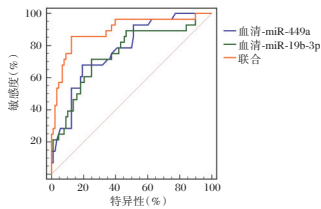


图1 预测预后价值

Figure 1 prognostic value

### 3 讨论

现阶段,介入取栓术是临床治疗急性脑梗死的重要手段,可通过机械取栓、支架取栓等方式解除血栓,再通闭塞血管,临床实践证实,该疗法具有较高取栓成功、血管再通率,但受多种因素干扰,约有40%患者伴有预后不佳风险,对患者生命质量造成严重威胁<sup>[9]</sup>。因此,积极探索可靠的生物学指标早期预测介入取栓预后,对及时采取针对性、科学性治疗措施、降低预后不良及死亡风险具有重要意义。

近年来,多项相关报道指出,miRNA 与神经系统发育、损伤、修复密切相关,急性脑梗死患者 miRNA 表达谱改变明显<sup>[10-11]</sup>。miR-449a 与 miR-449b、miR-449c 共用一个启动子,位于 *Cdc20b* 基因的第二个内含子上,具有高度保守性,是心脑血管疾病的研究热点。miR-19b-3p 是一种能稳定存在于血清中的具有调控基因表达的非编码小分子。本研究结果显示,观察组血清 miR-449a 低于对照组,miR-19b-3p 高于对照组,与苏立华等<sup>[12]</sup>、

高华等<sup>[13]</sup>研究结果一致。说明 miR-449a、miR-19b-3p 均参与急性脑梗死发生过程。一项动物实验证实,miR-449a 参与急性脑梗死的作用机制是其能通过低表达或缺失表达促进脑细胞增殖、凋亡,加快局部脑组织炎症反应发生,从而不断损害脑组织<sup>[14]</sup>。miR-19b-3p 则是由于局部脑组织缺氧或缺血促使缺氧诱导因子 1 $\alpha$  表达显著增加后导致其表达水平靶向上调,随着缺血缺氧损伤加重其表达水平上调越显著,在急性脑梗死发生中发挥促进作用<sup>[15]</sup>。本研究还显示,观察组介入取栓后 12 h 血清 miR-449a 高于介入取栓前,预后不良患者低于预后良好患者 miR-19b-3p 低于介入取栓前,预后不良患者高于预后良好患者,可见 miR-449a、miR-19b-3p 水平在介入取栓后出现明显改善,且对预后情况有重要影响。分析原因,考虑为介入取栓后血栓被成功取出,闭塞血管恢复通畅,脑组织血流血供增加,脑组织炎症反应、缺血缺氧损伤得到有效减轻,神经功能缺损逐渐恢复,miR-449a、miR-19b-3p 含量随着病情改善呈现相应改变,且与病情改善程度之间联系紧密,故会对预后产生影响。此外,本研究数据表明,血清 miR-449a 单独低表达所致预后不良的 OR 为 7.619,miR-19b-3p 单独高表达所致预后不良的 OR 为 3.800,两者同时存在时呈正向交互作用 OR 为 20.583,说明 miR-449a 低表达会增强 miR-19b-3p 高表达在急性脑梗死发生发展及预后改善过程中的作用效应,提示临床可通过检测两者在急性脑梗死介入取栓前后的水平变化评估病情与预后改善情况。

此外,本研究创新性尝试分析血清 miR-449a、miR-19b-3p 对急性脑梗死介入取栓预后的预测价值,结果发现,两者联合预测预后不良的 AUC 高达 0.892,明显优于两者单独预测。

综上所述,急性脑梗死患者 miR-449a 呈低表达,miR-19b-3p 呈高表达,两者同时存在时具有正向交互作用,介入取栓后早期检测两者水平可作为预测预后不良的重要辅助途径。

## 参考文献

- [1] Li G, Han C, Xia X, et al. Relationship of uric acid, C-reactive protein, and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide with acute cerebral infarction[J]. *Rev Assoc Med Bras* (1992), 2021, 67(11):1639-1643.
- [2] 王兴萍,岳学静,程度,等.单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值评估高血压患者并发急性脑梗死预后价值[J]. *华南预防医学*, 2020, 46(1):66-68.
- [3] 栗志弘,康凯,赵德强.Solitaire AB 支架机械介入取栓术联合溶栓治疗急性脑梗死的临床研究[J]. *局解手术学杂志*, 2020, 29(5):389-392.
- [4] 王一超,张严.血管内介入治疗联合重组组织型纤溶酶原激活剂对急性脑梗死患者的动脉溶栓效果[J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24(3):16-18.
- [5] Cai Y, Jiang C, Zhu J, et al. miR-449a inhibits cell proliferation, migration, and inflammation by regulating high-mobility group box protein 1 and forms a mutual inhibition loop with Yin Yang 1 in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1):134.
- [6] Sağır F, Ersoy Tunali N, Tombul T, et al. miR-132-3p, miR-106b-5p, and miR-19b-3p Are Associated with Brain-Derived Neurotrophic Factor Production and Clinical Activity in Multiple Sclerosis: A Pilot Study[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2021, 25(11):720-726.
- [7] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组,中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组.中国急性缺血性脑卒中早期血管内介入诊疗指南 2018 [J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51(9):683-691.
- [8] Liu F, Tsang RC, Zhou J, et al. Relationship of Barthel Index and its Short Form with the Modified Rankin Scale in acute stroke patients [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(9):105033.
- [9] 肖文,潘宁,郭铮. Solumbra 技术用于急性大动脉闭塞性脑梗死机械取栓的效果及对患者血清 PON-1、BDNF 水平的影响[J]. *海南医学*, 2021, 32(11):1392-1395.
- [10] 石小翠,胡美云,杜寨,等.脑梗死患者血 micro RNA 表达水平对预后的影响[J]. *心脑血管病防治*, 2021, 21(4):390-392.
- [11] Pan J, Qu M, Li Y, et al. MicroRNA-126-3p/-5p Overexpression Attenuates Blood - Brain Barrier Disruption in a Mouse Model of Middle Cerebral Artery Occlusion [J]. *Stroke*, 2020, 51(2):619-627.
- [12] 苏立华,隋汝波,兰维丽,等.血清 miR-449a、PPAR- $\gamma$  水平与 ACI 静脉溶栓患者预后的相关性分析[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2021, 29(12):742-746.
- [13] 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.
- [14] Zhao J, Li L, Fang G. Salvianolic acid A attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury induced rat brain damage, inflammation and apoptosis by regulating miR-499a/DDK1 [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(7):3288-3301.
- [15] 李丽,温霞.急性腔隙性脑梗死患者血清 miR-19b-3p 水平与认知功能相关性研究[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(4):70-73.
- [5] Nusse R, Clevers H. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities [J]. *Cell*, 2017, 169(6):985-999.
- [6] 王长起,李凯,索胜利.血尿酸淀粉酶、CRP、Card9 蛋白在 AP 患者中的变化及其意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(1):99-102.
- [7] Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis - 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus [J]. *Gut*, 2013, 62(1):102-111.
- [8] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组,《中华胰腺病杂志》编辑委员会,《中华消化杂志》编辑委员会.中国急性胰腺炎诊治指南(2013年,上海)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2013, 29(9):656-660.
- [9] Cao X, Wang H, Du H, et al. Early predictors of hyperlipidemic acute pancreatitis [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(5):4232-4238.
- [10] Lu J, Xie Y, Du J, et al. Penta-therapy for severe acute hyperlipidemic pancreatitis: A retrospective chart review over a 10-year period [J]. *Am J Emerg Med*, 2018, 36(10):1789-1795.
- [11] Jeong Y K, Kim H. A Mini-Review on the Effect of Docosahexaenoic Acid (DHA) on Cerulein-Induced and Hypertriglyceridemic Acute Pancreatitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11):2239.
- [12] 韦宇乐,唐国都,梁志海,等. E-cadherin、 $\beta$ -catenin、MLCK 在高甘油三酯血症相关性急性胰腺炎早期大鼠模型中的表达及意义[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2018, 27(10):1177-1185.
- [13] Shi W, Xu C, Hussain M, et al. Inhibition of Myosin Light-Chain Kinase Enhances the Clearance of Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation Possibly by Accelerating Neutrophil Apoptosis [J]. *Shock*, 2017, 48(3):377-386.
- [14] Sato T, Shibata W, Maeda S. Adhesion molecules and pancreatitis. [J]. *J Gastroenterol*, 2018, 54(2):99-107.
- [15] 赵凯,章阳.血清淀粉样蛋白 A、CRP 和 PCT 水平预测高脂血症性急性胰腺炎严重程度及预后的临床价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(2):268-272.
- [16] 张征,毛伯能,刘芊,等. E-cadherin 和 PCT 在判断急性胰腺炎严重程度的价值研究[J]. *热带医学杂志*, 2020, 20(12):1593-1595.

(上接第 851 页)

# Prdx1、Prdx3 蛋白在卵巢浆液性肿瘤中的表达及临床意义

李淑红\* 薛惠英 刘现红

**[摘要]** **目的** 探讨过氧化物氧化还原酶蛋白1(Prdx1)、过氧化物氧化还原酶蛋白3(Prdx3)蛋白在卵巢浆液性肿瘤中的表达情况及其与临床病理特征的关系。**方法** 选取安阳市人民医院2018年7月至2021年5月确诊的卵巢浆液性腺癌患者64例、交界性浆液性肿瘤56例、浆液性囊腺瘤80例为研究对象,通过免疫组织化学(IHC)和蛋白质印迹法(WB)检测三组标本中的Prdx1、Prdx3蛋白表达情况并分析其与卵巢浆液性腺癌患者临床病理学特征的关系。**结果** 卵巢浆液性腺癌的Prdx1、Prdx3蛋白表达阳性率及相对表达量高于交界性卵巢浆液性肿瘤和浆液性囊腺瘤,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),交界性卵巢浆液性肿瘤的Prdx1、Prdx3蛋白表达阳性率及相对表达量高于浆液性囊腺瘤,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。不同临床分期及有无淋巴结转移的浆液性腺癌患者Prdx1、Prdx3蛋白阳性表达率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** Prdx1、Prdx3蛋白在卵巢浆液性腺癌中呈现高表达,并且与其发生及进展密切相关,对于卵巢浆液性腺癌的诊疗具有一定的临床价值。

**[关键词]** 过氧化物氧化还原酶蛋白1; 过氧化物氧化还原酶蛋白3; 卵巢癌

## Expression and clinical significance of Prdx1 and Prdx3 proteins in ovarian serous tumors

LI Shuhong\*, XUE Huiying, LIU Xianhong

(Department of Gynecology, Anyang People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression of peroxidoreductase protein 1 (Prdx1) and peroxidoreductase protein 3 (Prdx3) in serous ovarian cancer tissues and their correlation with clinical features. **Methods** A total of 64 cases of ovarian serous adenocarcinoma, 56 cases of borderline serous tumor and 80 cases of serous cystadenoma diagnosed in Anyang People's Hospital from July 2018 to May 2021 were selected as the research objects. Prdx1 and Prdx3 protein expressions in the three groups were assessed by Immunohistochemistry (IHC) and Western blot (WB), their relationship with the clinicopathological characteristics of ovarian serous adenocarcinoma patients was analyzed. **Results** The positive and relative expression levels of Prdx1 and Prdx3 proteins in serous ovarian adenocarcinoma were higher than those in serous ovarian tumor and serous cystadenoma ( $P < 0.05$ ), and the positive rate and relative expression levels of Prdx1 and Prdx3 proteins in serous ovarian tumor were higher than those in serous cystadenoma ( $P < 0.05$ ). There were significant differences in the positive expression rates of Prdx1 and Prdx3 proteins between patients with serous adenocarcinoma with different clinical stages and with or without lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Prdx1 and Prdx3 proteins are highly expressed in ovarian serous adenocarcinoma, and are closely related to their occurrence and progression, which has certain clinical value for the diagnosis and treatment of ovarian serous adenocarcinoma.

**[KEY WORDS]** Prdx1; Prdx3; Ovarian cancer

基金项目:河南省科技攻关联合共建项目(2018021012)

作者单位:安阳市人民医院妇科,河南,安阳 455000

\*通信作者:李淑红, E-mail: aylish@126.com

卵巢癌的发生在合并有相关家族史的人群中往往呈现出了明显的高发态势,最新数据显示,现阶段我国卵巢癌的发病率约为223-455/10万人<sup>[1]</sup>。卵巢癌的发病病因较为复杂,近年来对于卵巢恶性肿瘤发病过程中相关生物学机制的研究认为,肿瘤相关细胞因子及信号路径蛋白异常表达将通过氧化应激反应引发癌细胞异常增殖,进而加剧癌细胞的分裂、转移风险<sup>[2]</sup>。过氧化物氧化还原酶蛋白1(peroxiredoxin protein 1, Prdx1)、过氧化物氧化还原酶蛋白3(peroxiredoxin protein 3, Prdx3)等,在肠道黏膜上皮细胞、平滑肌细胞等中具有一定程度的表达,近年来发现其能够通过影响到细胞周期,提高G1/S期比例,增加细胞的基因错配,进而促进肿瘤的发生<sup>[3-4]</sup>。浆液性肿瘤是卵巢肿瘤中最常见的亚型,分为浆液性腺癌、交界性浆液性肿瘤和浆液性囊腺瘤,为了进一步揭示Prdx1、Prdx3蛋白与卵巢癌发生的关系,从而为疾病的诊疗提供理论基础,本实验分析各组患者Prdx1、Prdx3蛋白表达情况及其与浆液性腺癌临床病理特征的关系,旨在为浆液性腺癌的临床诊疗提供新的参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取安阳市人民医院2018年7月至2021年5月确诊的卵巢浆液性腺癌患者64例、交界性浆液性肿瘤56例、浆液性囊腺瘤80例为研究对象,卵巢浆液性腺癌患者平均年龄(45.5±7.3)岁,交界性卵巢浆液性肿瘤患者的平均年龄(44.6±6.8)岁,浆液性囊腺瘤患者年龄平均(44.8±7.6)岁。三组患者年龄差异无统计学意义( $P>0.05$ )。均经患者知情同意,并经医院伦理委员会批准(伦研(批)[2018]11号)。

### 1.2 纳入排除标准

纳入标准:①无其他恶性肿瘤;②切除病灶经病理学检查显示为浆液性卵巢癌或良性浆液性囊腺瘤的患者,判断标准参考第七版《妇产科学》中的标准<sup>[3]</sup>;③均为根治性手术,且患者术后无严重并发症;④患者基础及手术资料完整;⑤术前未进行放化疗;⑥无糖尿病、子宫内膜异位症等疾病。排除标准:①伴其他系统性疾病。②随访未完成;③存在贫血或凝血功能障碍;④存在肝肾或其他免疫系统疾病;⑤存在甲状腺功能障碍;⑥存

在远端转移或已接受过放化疗。

### 1.3 免疫组化染色和蛋白质印迹实验方法

免疫组化染色:对两组样本进行石蜡包埋,随后进行4 mm连续切片,选用S-P法进行染色操作,并选用二氨基联苯胺进行显色。

蛋白质印迹法:将两组样本进行剪碎并研磨,与上样缓冲液进行混合,比例为5:1,随后于80~100℃环境下进行煮沸,时长为5 min。检测样本蛋白分子量水平,并制备12%的分离胶及5%的浓缩胶,上样后进行SDS-PAGE电泳,转膜后选用BSA蛋白封闭2 h,随后进行一抗及二抗(1:1 000),一抗二抗结束后各选用磷酸盐缓冲液清洗2次,将样本进行曝光,并读取胶片灰度。Prdx1、Prdx3蛋白抗体、PV6000通用型二抗试剂盒均由北京中杉金桥生物技术开发公司生产。

### 1.4 免疫组化判定标准

免疫组化结果判定<sup>[5]</sup>:阳性评估标准为可见清晰棕黄色颗粒,同时根据阳性细胞比例数进行划分:染色强度分为(阴性)、+(弱)、++(中度)、+++ (强);染色范围为-(0%~5%)、+(6%~30%)、++(31%~60%)、+++(>60%)。(-)即为阴性表达,(+),(++),(+++ )则表示阳性表达。Prdx1、Prdx3蛋白灰度值>15.0为阳性。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS17.0统计软件进行数据分析,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )描述,多组间比较采用方差分析及两两比较的LSD-t检验。计数资料采用 $n(\%)$ 描述,采用 $\chi^2$ 检验; $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组样本的Prdx1、Prdx3蛋白水平对比分析

卵巢浆液性腺癌的Prdx1、Prdx3蛋白表达阳性率高于交界性卵巢浆液性肿瘤和浆液性囊腺瘤( $P<0.05$ ),交界性卵巢浆液性肿瘤的Prdx1、Prdx3蛋白表达阳性率高于浆液性囊腺瘤,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1~2,图1~2。

### 2.2 Prdx1、Prdx3蛋白印迹检测结果

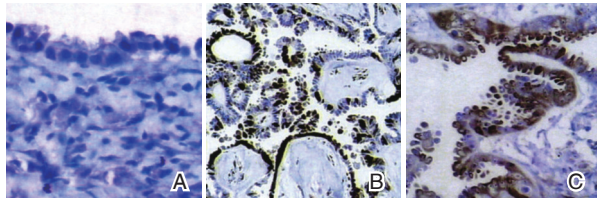
交界性卵巢浆液性肿瘤、卵巢浆液性腺癌Prdx1蛋白、Prdx3蛋白相对表达量高于浆液性囊腺瘤( $P<0.05$ );卵巢浆液性腺癌Prdx1蛋白、Prdx3蛋白相对表达量高于交界性卵巢浆液性肿瘤,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表1 组织标本中 Prdx1 蛋白表达情况比较

Table 1 Comparison of Prdx1 protein expression in tissue samples

组别	n	-	+	++	+++	阳性率
浆液性囊腺瘤	80	78	2	0	0	2(2.50)
交界性卵巢浆液性肿瘤	56	26	14	12	4	30(53.57) <sup>a</sup>
卵巢浆液性腺癌	64	10	12	21	21	54(84.38) <sup>ab</sup>
$\chi^2$ 值						100.791
P值						0.000

注:与浆液性囊腺瘤比较,<sup>a</sup>P<0.05,与交界性卵巢浆液性肿瘤比较,<sup>b</sup>P<0.05。



注:A为卵巢浆液性囊腺瘤 Prdx1 蛋白低表达(SP,×200);B为交界性卵巢浆液性肿瘤 Prdx1 蛋白高表达(SP,×100);C为卵巢浆液性腺癌 Prdx1 蛋白高表达(SP,×200)。

图1 卵巢浆液性肿瘤组织标本中 Prdx1 蛋白表达

Figure 1 Prdx1 protein expression in serous ovarian tumor tissue specimens

表2 组织标本中 Prdx3 蛋白表达情况比较

Table 2 Comparison of Prdx3 protein expression in tissue samples

组别	n	-	+	++	+++	阳性率
浆液性囊腺瘤	80	78	2	0	0	2(2.50)
交界性卵巢浆液性肿瘤	56	26	15	8	7	30(53.57) <sup>a</sup>
卵巢浆液性腺癌	64	12	12	22	18	52(81.25) <sup>ab</sup>
$\chi^2$ 值						94.792
P值						0.000

注:与浆液性囊腺瘤比较,<sup>a</sup>P<0.05,与交界性卵巢浆液性肿瘤比较,<sup>b</sup>P<0.05。

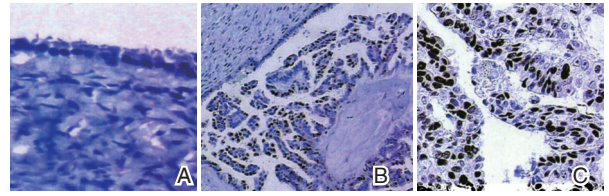
### 2.3 卵巢浆液性腺癌组织标本中的 Prdx1、Prdx3 蛋白表达与患者临床病理学特征的关系

不同的年龄、组织学分级、有无腹水的浆液性腺癌患者 Prdx1、Prdx3 蛋白阳性表达率差异无统

表4 浆液性腺癌患者 Prdx1、Prdx3 蛋白表达与临床病理因素的关系

Table 4 The relationship between Prdx1 and Prdx3 protein expression and clinicopathological factors in ovarian cancer

参数	n=64	Prdx1 蛋白阳性表达率	$\chi^2$ 值	P值	Prdx3 蛋白阳性表达率	$\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	≥50	44	84.09%(37/44)	0.269	0.604	79.55%(35/44)	1.457
	<50	20	75.00%(15/20)			95.00%(19/20)	
临床分期	I期+II期	38	71.05%(27/38)	4.843	0.028	73.68%(28/38)	8.401
	III期+IV期	26	96.15%(25/26)			100%(26/26)	
组织学分级	I级	41	78.05%(32/41)	0.294	0.588	78.05%(32/41)	2.257
	II级+III级	23	86.96%(20/23)			95.65%(22/23)	
有无腹水	有	38	84.21%(32/38)	0.166	0.684	89.47%(34/38)	1.015
	无	26	76.92%(20/26)			76.92%(20/26)	
淋巴结转移	有	37	91.89%(34/37)	6.520	0.011	94.59%(35/37)	5.232
	无	27	66.67%(18/27)			70.37%(19/27)	



注:A为卵巢浆液性囊腺瘤 Prdx3 蛋白低表达(SP,×200);B为交界性卵巢浆液性肿瘤 Prdx3 蛋白高表达(SP,×100);C为卵巢浆液性腺癌 Prdx3 蛋白高表达(SP,×200)。

图2 卵巢浆液性肿瘤组织标本中 Prdx3 蛋白表达

Figure 2 Prdx3 protein expression in serous ovarian tumor tissue specimens

表3 Prdx1、Prdx3 蛋白相对表达量比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of Prdx1 and Prdx3 protein relative expression levels ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Prdx1 蛋白相对表达量	Prdx3 蛋白表达量
浆液性囊腺瘤	80	15.24±0.40	15.11±0.30
交界性卵巢浆液性肿瘤	56	23.64±2.48 <sup>a</sup>	25.31±3.41 <sup>a</sup>
卵巢浆液性腺癌	64	35.28±4.08 <sup>ab</sup>	31.42±2.90 <sup>ab</sup>
F值		1005.632	821.290
P值		0.000	0.000

注:与浆液性囊腺瘤比较,<sup>a</sup>P<0.05,与交界性卵巢浆液性肿瘤比较,<sup>b</sup>P<0.05。

计学意义(P>0.05),而不同临床分期及有无淋巴结转移的浆液性腺癌患者 Prdx1、Prdx3 蛋白阳性表达率差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

### 3 讨论

卵巢癌病机复杂,多数学者认为基因或激素异常变化与本病的发生、发展密切相关。临床业已证明,雌激素敏感性变化,尤其是卵巢上皮细胞膜上的雄激素受体的异常表达是卵巢癌发生与进展的重要危险因素。而近些年的研究也表明,肿瘤基因调控因子或信号路径蛋白的异常变化同样是卵巢癌发生的影响因素<sup>[6-7]</sup>。细胞因子的异常变化

将影响癌细胞的生物学征象,影响癌细胞的周期,并促使其免疫T淋巴细胞的免疫反应,进而增强癌细胞的生物学活性,引发浸润、转移等严重后果<sup>[8-9]</sup>。

Prdx1蛋白是重要的过氧化酶抗过氧化酶相关因子,其对于体内过氧化物及氧化自由基的氧化及修饰作用,可活化人体内的氧化反应,并增强机体的炎症水平,促使多种炎性细胞因子在卵巢上皮细胞内浸润。Prdx1蛋白还可引发局部低氧环境,并增强卵巢癌细胞持续性DNA的辅助能力,促进卵巢癌细胞分裂。已有研究显示<sup>[10]</sup>,甲状腺癌、肝癌等肿瘤疾病中也可见Prdx1蛋白异常表达情况,并且Prdx1蛋白上可见多个巯基结构,这些巯基结构具有促癌细胞膜表面糖蛋白活化功能,并诱导AKT等肿瘤相关信号通路的活化,引发癌细胞分化凋亡障碍;Prdx3蛋白近年来发现其主要位于血管内皮、平滑肌及中胚层组织中,其表达阳性率的变化能够导致卵巢交界性上皮、生发上皮的恶性病变的发生<sup>[11]</sup>。

本次研究结果显示在卵巢浆液性腺癌组织中Prdx1、Prdx3蛋白表达阳性率及相对表达量均高于交界性卵巢浆液性肿瘤和浆液性囊腺瘤,而交界性卵巢浆液性肿瘤组织上述指标高于浆液性囊腺瘤,表明Prdx1、Prdx3蛋白在卵巢良性肿瘤组织中呈现低表达,而从交界性卵巢浆液性肿瘤到卵巢浆液性腺癌则呈现逐渐升高趋势,并提示Prdx1、Prdx3蛋白表达水平升高可能作为卵巢浆液性肿瘤向恶性转化的标志,分析原因可能与Prdx1、Prdx3蛋白高表达所导致的卵巢浆液性腺体细胞分泌功能异常、腺体的异型性、细胞核分裂障碍等过程<sup>[12]</sup>,以及通过影响细胞信号通路传导进而影响癌细胞的生物学特征等有关<sup>[13-14]</sup>。Prdx1蛋白可对卵巢癌细胞内的NOTCH信号通路进行活化,并激活癌细胞转录调控因子上游启动子,抑制癌细胞的增殖,并促进癌细胞增殖;而Prdx3蛋白对于肿瘤干细胞活性的维持作用,能够通过影响到上皮间质转化过程,促进卵巢癌上皮细胞的浸润能力,促进其对于基底膜的突破作用<sup>[13-14]</sup>。Aiken等<sup>[15]</sup>探讨了不同临床分期的卵巢癌患者病理组织中Prdx1、Prdx3蛋白的表达情况,发现在治疗效果较差、综合性治疗措施敏感性不足的患者中,Prdx1、Prdx3蛋白的表达水平均明显上升,特别是在预后较差及死亡人群中,Prdx1、Prdx3蛋白阳性表达率进一步升高。而本研究结果显示,临床分期为Ⅲ期、Ⅳ期及有淋巴结转移的卵巢浆液性腺癌患者,Prdx1、Prdx3蛋白阳性表

达率更高,则提示Prdx1、Prdx3蛋白阳性表达与卵巢浆液性腺癌的临床进展密切相关。

综上所述,Prdx1、Prdx3蛋白在卵巢浆液性腺癌中呈现高表达,并且与其发生及进展密切相关,对于卵巢浆液性腺癌的诊疗具有一定的临床价值。

## 参考文献

- [1] 黄海涛,陈姝玉,耿旭,等. 2005-2016年中国女性卵巢癌发病及死亡趋势研究[J]. 中国全科医学, 2022,25(8):990-994.
- [2] 崔洪全,张潇艺,陈彬,等. 生物信息学分析MGP基因在卵巢癌中的表达情况及其与肿瘤免疫浸润和患者预后的关系[J]. 复旦学报(医学版), 2022,49(1):50-59.
- [3] 郑丹琴,刘志磊,朱松杰,等. 过氧化物还原酶3参与肾透明细胞癌发生与发展的分子机制[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2019,40(2):211-218.
- [4] 虞炜,蔡善保. 人过氧化物氧化还原酶-1在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 安徽医学, 2020,41(2):138-142.
- [5] Chen Q, Li J, Yang X, et al. Prdx1 promotes the loss of primary cilia in esophageal squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):372.
- [6] 刘明博,史许锋,刘侃,等. 人滋养层细胞表面抗原2的表达在卵巢癌侵袭转移中的作用及其机制[J]. 中华肿瘤杂志, 2021,43(3):299-305.
- [7] Kawano M, Qin X, Yoshida M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  mediates di-(2-ethylhexyl) phthalate transgenerational repression of ovarian Esr1 expression in female mice[J]. Toxicol Lett, 2014, 228(3):235-240.
- [8] 路晓琳. FSH-PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B蛋白在上皮性卵巢癌组织中的表达及作用机制[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(9):1477-1481.
- [9] 吴志超,王海全,乔晟先. 下调表达 $\beta$ -catenin部分抑制TGF- $\beta$ 1诱导的肝癌细胞增殖、侵袭迁移[J]. 中国现代普通外科进展, 2021,24(10):768-772.
- [10] 刘海宁,张宁萍,王平,等. UCH37与PRDX1相互作用影响肝癌细胞迁移和侵袭的机制研究[J]. 国际消化病杂志, 2021,41(3):187-193,217.
- [11] Li S, Hu X, Ye M, et al. The prognostic values of the peroxiredoxins family in ovarian cancer[J]. Biosci Rep, 2018, 38(5):BSR20180667.
- [12] Sieńko J, Teliga-Czajkowska J, Przytula E, et al. Peroxiredoxin-1 as a prognostic factor in patients with ovarian cancer[J]. Ann Agric Environ Med, 2019,26(3):415-419.
- [13] Gorodnova TV, Sokolenko AP, Kondratiev SV, et al. Mitomycin C plus cisplatin for systemic treatment of recurrent BRCA1-associated ovarian cancer[J]. Invest New Drugs, 2020,38(6):1872-1878.
- [14] 张慧芬,张琨,吴书莹,等. 氧化应激与卵巢癌发病机制相关性的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2017,25(18):3004-3008.
- [15] Aiken CE, Tarry-Adkins JL, Penfold NC, et al. Decreased ovarian reserve, dysregulation of mitochondrial biogenesis, and increased lipid peroxidation in female mouse offspring exposed to an obesogenic maternal diet[J]. FASEB J, 2016,30(4):1548-1556.

# 真性红细胞增多症患者外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子表达意义

康虹阳 刘洁 陈哲 吉慧姝 李琦 张斌 佟长青\*

**[摘要]** 目的 探究真性红细胞增多症患者外周血 Janus 激酶/信号转导与转录激活子(JAK/STAT)信号通路中 JAK1、STAT3 表达意义。方法 选取 2016 年 1 月至 2019 年 1 月河北北方学院附属第一医院 80 例真性红细胞增多症患者作为观察组,另选取同期健康体检者 35 例作为对照组。检测其外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子 *JAK1*、*STAT3*、白细胞介素-6(*IL-6*)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (*TNF- $\alpha$* ) mRNA 表达。结果 观察组 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达水平均较对照组高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同性别、年龄患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),不同白细胞计数、中性粒细胞百分比及 C 反应蛋白水平患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。*JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 联合诊断真性红细胞增多症的 AUC 为 0.916,较各指标单独预测价值明显提高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );发生血栓事件患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达水平均较未发生患者高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );高 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 组无血栓事件进展生存期明显低于低 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 真性红细胞增多症患者外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达上调,且与血栓事件发生及无血栓事件进展生存期有关。

**[关键词]** 真性红细胞增多症;血栓栓塞事件;JAK/STAT 信号通路;JAK1;STAT3;IL-6;TNF- $\alpha$

## Expression of key factors in peripheral blood JAK/STAT signaling pathway in patients with polycythemia vera

KANG Hongyang, LIU Jie, CHEN Zhe, JI Huishu, LI Qi, ZHANG Bin, TONG Changqing\*

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression of JAK1 and STAT3 in peripheral blood Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT) signaling pathway in patients with polycythemia vera. **Methods** From January 2016 to January 2019, 80 patients with polycythemia vera in our hospital were selected as the observation group, and 35 healthy subjects were selected during the same period. The mRNA expressions of key factors *JAK1*, *STAT3*, interleukin-6 (*IL-6*) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ) in the peripheral blood JAK/STAT signaling pathway were detected. **Results** The mRNA expression levels of *JAK1*, *STAT3*, *IL-6* and *TNF- $\alpha$*  in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the mRNA expression of *JAK1*, *STAT3*, *IL-6* and *TNF- $\alpha$*  among patients of different genders and ages ( $P > 0.05$ ). The mRNA expressions of *JAK1*, *STAT3*, *IL-6* and *TNF- $\alpha$*  in patients with different white blood cell counts, percentages of neutrophils and C-reactive protein levels were compared, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The AUC of *JAK1*, *STAT3*, *IL-6*, and *TNF- $\alpha$*  mRNA combined to diagnose polycythemia vera was 0.916, which

基金项目:河北省卫生厅科研基金项目(20170811)

作者单位:河北北方学院附属第一医院血液病科,河北,张家口 075000

\*通信作者:佟长青, E-mail:tcq666@aliyun.com

was significantly higher than the predictive value of each indicator alone, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The mRNA expression levels of *JAK1*, *STAT3*, *IL-6* and *TNF- $\alpha$*  in patients with thrombotic events were higher than those in patients without thrombosis events, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The progression-free survival time of thrombosis events in the high *JAK1*, *STAT3*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  mRNA group was significantly lower than that in the low *JAK1*, *STAT3*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  mRNA group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The mRNA expressions of key factors *JAK1*, *STAT3*, *IL-6*, and *TNF- $\alpha$*  in peripheral blood JAK/STAT signaling pathway of patients with polycythemia vera are up-regulated, and they are related to the occurrence of thrombotic events and the progression-free survival of thrombotic events.

[KEY WORDS] Polycythemia vera; Thromboembolic events; JAK/STAT signaling pathway; *JAK1*; *STAT3*; *IL-6*; *TNF- $\alpha$*

真性红细胞增多症是一种造血干细胞的慢性克隆性骨髓增殖性疾病,起病隐匿、病情进展缓慢,以全血总容量、红细胞容量及血液黏滞度增高为主要特征,极易并发血栓栓塞事件,严重威胁患者生命安全<sup>[1-3]</sup>。因此,及时诊断真性红细胞增多症,并预测其并发症发生尤为关键。近年来,研究发现,绝大多数真性红细胞增多症患者存在 *JAK2* 基因 V617F 突变,该突变可激活 *JAK2* 蛋白,致使其异常活化,进而使 *JAK2* 下游信号转导及激活因子(STAT)磷酸化,造成 Janus 激酶/信号转导与转录激活子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)信号通路持续活化,致使血细胞增殖失控<sup>[4-5]</sup>。本研究通过观察真性红细胞增多症患者外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子 *JAK1*、*STAT3*、白细胞介素-6(*IL-6*)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (*TNF- $\alpha$* ) mRNA 表达,探究其临床意义,旨在为该病诊疗提供参考依据。报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2016 年 1 月至 2019 年 1 月河北北方学院附属第一医院 80 例真性红细胞增多症患者作为观察组,男 42 例,女 38 例,年龄平均(45.56 $\pm$ 9.12)岁;随机选取同期健康体检者 35 例作为对照组,男 18 例,女 17 例,年龄平均(46.16 $\pm$ 9.87)岁。两组性别、年龄等资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会审核批准,所有受试者知情同意,并签订同意书。

观察组纳入标准:①均符合真性红细胞增多症相关诊断标准<sup>[6]</sup>,均为初诊患者;②健康体检者各项体检指标均正常。排除标准:①继发性或相

对性红细胞增多症者;②合并免疫系统疾病者;③伴有感染性疾病者;④合并恶性肿瘤者;⑤伴有其他血液系统疾病者;⑥既往血栓者。

### 1.2 方法

入院后,受试者均于清晨空腹状态下抽取 5 mL 外周静脉血,高速离心处理后,保存于-80 $^{\circ}$ C 冰箱内待检;以 Trizol 法获取血清总 RNA,分光光度测其纯度及浓度,将 RNA 反转录为 cDNA;采用实时荧光定量 PCR,内参基因选择 *U6* 基因,采用华大基因合成 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  引物序列,进行 qRT-PCR 反应,试剂盒购自上海研谨生物科技有限公司,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算 *JAK1*、*STAT3*、白细胞介素-6(*Interleukin-6*, *IL-6*)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (*Tumor necrosis factor- $\alpha$* , *TNF- $\alpha$* ) mRNA 表达。

随访时间截止至 2022 年 1 月,统计血栓事件发生情况及无血栓事件进展的总生存率,并将随访(36 个月)维持的 65 例患者分别按照 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达的不同,分为高 *JAK1* mRNA 组(*JAK1* mRNA $\geq$ 4.06)与低 *JAK1* mRNA 组(*JAK1* mRNA $<$ 4.06)、高 *STAT3* mRNA 组(*STAT3* mRNA $\geq$ 6.27)与低 *STAT3* mRNA 组(*STAT3* mRNA $<$ 6.27)、高 *IL-6* mRNA 组(*IL-6* mRNA $\geq$ 4.79)与低 *IL-6* mRNA 组(*IL-6* mRNA $<$ 4.79)、高 *TNF- $\alpha$*  mRNA 组(*TNF- $\alpha$*  mRNA $\geq$ 3.82)与低 *TNF- $\alpha$*  mRNA 组(*TNF- $\alpha$*  mRNA $<$ 3.82)。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 22.0 处理数据,计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用 SNK-q 检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料用  $n(\%)$  表示, $\chi^2$  检验;预测价值用受试者工作特征(ROC)曲线



分析;生存情况用卡普兰-迈耶(K-M)评价。 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子 mRNA 表达水平比较

观察组 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达均较对照组高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子 mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of mRNA expression of key factors in JAK / STAT signal pathway in peripheral blood between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	JAK1	STAT3	IL-6	TNF-α
观察组	80	4.06±1.26	6.27±1.41	4.79±1.25	3.82±1.07
对照组	35	1.25±0.37	1.28±0.32	2.52±0.49	2.04±0.62
t 值		12.924	20.657	10.379	9.177
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

### 2.2 不同临床资料患者 JAK1、STAT3、IL-6、TNF-α mRNA 表达

不同性别、年龄患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),不同白细胞计数、中性粒细胞百分比及 C 反应蛋白水平患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子表达对真性红细胞增多症的诊断价值

以观察组作为阳性样本,对照组作为阴性样本,绘制 ROC 曲线,结果显示,*JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 诊断真性红细胞增多症的 AUC 分别为 0.755、0.783、0.773、0.730,联合预测 AUC 为 0.916,较各指标单独预测价值明显提高( $DeLong = 12.784, P < 0.001$ ),其诊断敏感度为 85.00%,特异度为 91.43%。见表 3、图 1。

### 2.4 发生与未发生血栓事件患者 JAK/STAT 信号通路中关键因子 mRNA 表达比较

发生血栓事件患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达水平均较未发生患者高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

### 2.5 JAK/STAT 信号通路中关键因子与真性红细胞增多症患者血栓事件的关系

单因素、多因素分析可知,*JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、

表 2 不同临床资料患者 *JAK1*、*STAT3*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 *Jak1*, *STAT3*, *IL-6* and *TNF-α* in patients with different clinical data- α MRNA expression comparison ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	n	JAK1	STAT3	IL-6	TNF-α
性别					
男	42	4.05±1.25	6.25±1.35	4.70±1.31	3.79±1.10
女	38	4.07±1.27	6.29±1.47	4.89±1.29	3.85±1.05
t 值		0.071	0.127	0.653	0.249
P 值		0.944	0.899	0.516	0.804
年龄					
<60 岁	49	4.02±1.31	6.20±1.31	4.65±1.36	3.76±1.11
≥60 岁	31	4.12±1.28	6.38±1.27	5.01±1.50	3.91±1.29
t 值		0.336	0.606	1.108	0.515
P 值		0.738	0.546	0.271	0.608
白细胞计数					
≤10×10 <sup>9</sup> /L	27	3.49±1.02	5.58±1.16	4.20±0.98	3.19±0.84
>10×10 <sup>9</sup> /L	53	4.35±1.40	6.62±1.35	5.09±1.26	4.14±1.12
t 值		3.174	3.410	3.206	3.882
P 值		0.002	0.001	0.002	0.000
中性粒细胞百分比					
55%~70%	16	3.42±1.12	5.55±1.41	4.27±0.87	3.02±0.82
>70%	64	4.22±1.25	6.45±1.62	4.92±1.05	4.02±1.06
t 值		2.334	2.036	2.285	3.514
P 值		0.022	0.045	0.025	0.001
C 反应蛋白					
≤8 mg/L	21	3.69±0.54	5.71±1.31	4.26±1.03	3.12±0.85
>8 mg/L	59	4.19±0.95	6.47±1.50	4.98±1.24	4.07±1.22
t 值		2.278	2.058	2.382	3.289
P 值		0.025	0.043	0.020	0.002

表 3 外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子表达对真性红细胞增多症的诊断价值

Table 3 Diagnostic value of the expression of key factors in JAK / STAT signal pathway in peripheral blood for polycythemia vera

指标	AUC	95% CI	Z 值	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
JAK1	0.755	0.666~0.831	5.851	1.64	58.75	97.14	<0.001
STAT3	0.783	0.697~0.855	6.788	1.54	67.50	94.29	<0.001
IL-6	0.773	0.686~0.846	6.269	4.08	56.25	88.57	<0.001
TNF-α	0.730	0.639~0.809	4.843	2.65	58.75	85.71	<0.001
联合诊断	0.916	0.850~0.960	12.702	/	85.00	91.43	<0.001

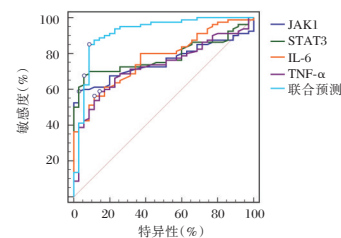


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

*TNF-α* mRNA 与真性红细胞增多症患者血栓事件有关( $P < 0.05$ )。见表 5。

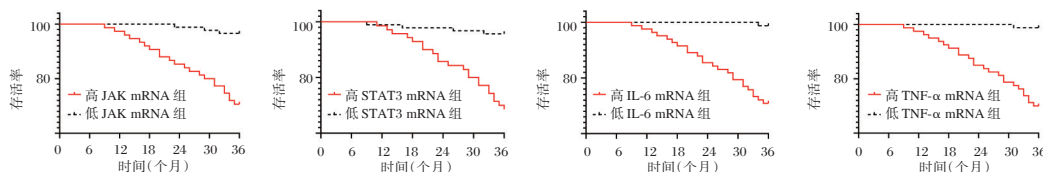
表4 发生与未发生血栓事件患者JAK/STAT信号通路中关键因子mRNA表达比较( $\bar{x} \pm s$ )Table 4 Comparison of mRNA expression of key factors in JAK / STAT signaling pathway between patients with and without thrombotic events ( $\bar{x} \pm s$ )

血栓事件	n	JAK1	STAT3	IL-6	TNF- $\alpha$
发生	30	6.14 $\pm$ 1.31	8.21 $\pm$ 1.67	6.58 $\pm$ 1.45	5.47 $\pm$ 1.26
未发生	50	2.81 $\pm$ 0.82	5.11 $\pm$ 1.02	3.72 $\pm$ 0.94	2.83 $\pm$ 0.74
t值		16.652	10.324	10.711	11.827
P值		0.000	0.000	0.000	0.000

表5 JAK/STAT信号通路中关键因子mRNA表达与真性红细胞增多症患者血栓事件的关系

Table 5 Relationship between mRNA expression of key factors in JAK / STAT signaling pathway and thrombotic events in patients with polycythemia vera

自变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95% CI	P值	OR值	95% CI	P值
JAK1	25.116	15.941~36.274	0.000	18.256	10.982~26.341	<0.001
STAT3	30.282	19.341~41.872	0.000	21.377	13.949~30.122	<0.001
IL-6	22.169	13.222~31.258	0.000	12.276	9.274~22.341	<0.001
TNF- $\alpha$	19.463	11.948~28.411	0.000	10.119	7.125~19.874	<0.001

图2 不同JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达患者累积生存曲线Figure 2 different *Jak1*, *STAT3*, *IL-6* and *TNF- $\alpha$*  Cumulative survival curve of patients with mRNA expression

### 3 讨论

综合以往文献,发现JAK/STAT信号通路激活在真性红细胞增多症发生的机制多集中于JAK2突变,JAK2基因V617F突变作为BCR/ABL阴性骨髓增殖性疾病中最为典型的突变,致使JAK/STAT信号通路及部分其他信号通路被激活,造成下游通路过度磷酸化,导致其不依赖于促血小板及促红细胞生成素等外源性细胞因子作用,而持续激活,致使红细胞异常增殖、分化,加剧病情进展<sup>[7-9]</sup>。本研究中观察组外周血JAK/STAT信号通路中关键因子JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达均较对照组高,充分证实上述观点,说明外周血JAK/STAT信号通路持续激活或过度表达为真性红细胞增多症发病机制的重要因素。炎症因子IL-6可结合JAK受体,致使JAK大量集聚,偶联STAT3磷酸化,从而造成下游炎症基因转录。激活后的STAT3可促使Th17细胞分化,刺激IL-6、TNF- $\alpha$ 等大量炎症细胞产生。因此,本研究认为调控JAK/STAT信号通

### 2.6 不同JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$ mRNA表达水平患者累积生存情况

将随访(36个月)维持的65例患者分别按照JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达的不同,高JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA组无血栓事件进展生存期明显低于低JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图2。

路的相关分子均有可能参与真性红细胞增多症,检测其水平,有助于疾病临床诊断。ROC曲线表明,JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA诊断真性红细胞增多症的AUC均在0.7以上,且各因子联合诊断AUC最大,具有良好诊断效能,可作为真性红细胞增多症诊断的潜在生物学标志物。此外,白细胞计数 $>10 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞百分比 $>70\%$ 及C反应蛋白水平 $>8 \text{ mg/L}$ 患者JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达高于白细胞计数 $\leq 10 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞百分比55%~70%及C反应蛋白水平 $\leq 8 \text{ mg/L}$ 患者,分析原因,可能与JAK/STAT信号通路参与调控炎症反应有关。

血栓事件为真性红细胞增多症最常见并发症,血栓形成过程较为复杂,在高流速状态小,高红细胞比容致使血液黏度增加,血小板离心移至血管壁,黏附于血管壁胶原蛋白及血管性血友病因子,从而引起血栓形成<sup>[10]</sup>。本研究中发生血栓事件患者JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达均较未发生患者高,提示外周血JAK/STAT信号通路相关分子过度表达与真性红细胞增多症患者血栓

事件发生有关,且单因素、多因素分析结果充分证实了这一观点。究其原因,可能是由于血栓形成与炎症相关。慢性炎症被认为是骨髓增殖性疾病进展的重要驱动力,炎症可引起内皮细胞损伤,进而激活机体促凝血机制、抑制抗凝剂纤溶系统,进而诱发血栓事件,且血栓形成中的物质同样可引起炎症反应<sup>[11]</sup>。IL-6、TNF- $\alpha$ 为重要的早期炎症因子,其中IL-6在血栓事件中的机制如下:①致使中性粒细胞大量集聚于炎症部位,延缓中性粒细胞凋亡,造成氧自由基及弹性蛋白酶大量释放,破坏血管内皮细胞及上皮细胞结构,增加血管通透性,引起严重细胞间质水肿;②促进单核细胞及T淋巴细胞释放大量炎症介质,致使炎症反应加剧<sup>[12-13]</sup>;TNF- $\alpha$ 参与血栓事件的机制表现为:①直接作用于血管内皮细胞,增强血管通透性,致使血管内皮细胞凝血系统激活,加速微血栓形成,同时激活单核细胞及血管内皮细胞,增加组织因子表达,使得组织处于高凝状态,为血栓形成创造条件;②激活血小板,调节机体凝血相关因子表达,抑制蛋白C激活,诱导纤溶酶原激活物抑制剂分泌,抑制机体纤溶系统;③促进趋化因子合成、释放,激活内皮细胞,促进炎症细胞与血管内皮细胞间黏度,同时加剧炎症反应<sup>[14-15]</sup>。JAK/STAT信号通路作为大量细胞因子信号转导的重要途径,广泛参与细胞增殖、分化及免疫炎症调节等过程。IL-6可通过活化真性红细胞增多症患者外周血JAK/STAT信号通路,诱导其STAT3表达,STAT3作为一种可于膜上被激活的核转录因子及转录调节蛋白,当其高表达时,结合DNA的作用元件,致使同生长增殖相关的基因转录激活,造成红细胞、白细胞等大量增殖,加剧机体免疫炎症反应,使得IL-6、TNF- $\alpha$ 等炎症因子大量释放<sup>[16]</sup>。此外,本研究中高JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA组无血栓事件进展生存期明显低于低JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA组,提示JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA对真性红细胞增多症患者无血栓事件进展生存具有预测价值。

综上所述,真性红细胞增多症患者外周血JAK/STAT信号通路中关键因子JAK1、STAT3、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达上调,且与血栓事件发生及无血栓事件进展生存期有关,具有重要临床意义。

## 参考文献

[1] Gisslinger H, Klade C, Georgiev P, et al. Ropeginterferon alfa-2b versus standard therapy for polycythaemia vera

(PROUD-PV and CONTINUATION-PV): a randomised, non-inferiority, phase 3 trial and its extension study[J]. *Lancet Haematol*, 2020, 7(3):196-208.

- [2] 明静,李芋锦,杨二鹏,等.基于数据挖掘及网络药理学探讨胡晓梅主任治疗真性红细胞增多症的用药规律及机制[J]. *天津中医药*, 2021, 38(11):1463-1471.
- [3] Dam MJB, Pedersen RK, Knudsen TA, et al. Data-driven analysis of the kinetics of the JAK2V617F allele burden and blood cell counts during hydroxyurea treatment of patients with polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis[J]. *Eur J Haematol*, 2021, 107(6):624-633.
- [4] 石镇港,夏伟,刘学武,等.尾静脉注射BA/F3-JAK2V617F细胞构建BALB/c小鼠真性红细胞增多症模型[J]. *中南药学*, 2021, 19(4):637-641.
- [5] Kiladjian JJ, Zachee P, Hino M, et al. Long-term efficacy and safety of ruxolitinib versus best available therapy in polycythaemia vera (RESPONSE): 5-year follow up of a phase 3 study[J]. *Lancet Haematol*, 2020, 7(3):226-237.
- [6] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia[J]. *Blood*, 2016, 127(20):2391-2405.
- [7] 邓来军,董杨,陈焕蕾,等.大黄蛰虫丸联合羟基脲治疗JAK2-V617F阳性真性红细胞增多症的疗效机制分析[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(3):630-632.
- [8] Barbui T, Vannucchi AM, De Stefano V, et al. Ropeginterferon alfa-2b versus phlebotomy in low-risk patients with polycythaemia vera (Low-PV study): a multicentre, randomised phase 2 trial[J]. *Lancet Haematol*, 2021, 8(3):175-184.
- [9] Ogasawara K, Zhou S, Krishna G, et al. Population pharmacokinetics of fedratinib in patients with myelofibrosis, polycythemia vera, and essential thrombocythemia[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2019, 84(4):891-898.
- [10] 宋颖,徐佳亮,蔺慕会,等.真性红细胞增多症和原发性血小板增多症与脑血栓形成[J]. *国际脑血管病杂志*, 2020, 28(4):303-308.
- [11] 卢瑞,张梦潇,张爱边,等.红细胞分布宽度对原发性血小板增多症和真性红细胞增多症患者血栓形成及其预后的预测价值[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(11):785-789.
- [12] 郭璇,宋瑶,阿布拉提·阿不都哈尔.肺炎支原体感染合并川崎病患儿血清IL-6、IL-8及IL-10水平与冠状动脉损伤的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(8):1069-1072+1094.
- [13] 郭闯廷,石锦,戴鹏,等.IL-6在深静脉血栓疾病中的作用研究[J]. *赣南医学院学报*, 2021, 41(9):874-880.
- [14] 付星光,魏金峰,李永义.血栓通胶囊对急性脑梗死病人神经功能缺损及血清Fibulin-5、IL-2、CRP、TNF- $\alpha$ 水平的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(18):3225-3227.
- [15] 张玉花,赵良存.血清炎症因子水平与糖尿病肾病疾病进展相关性研究[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(9):1228-1230.
- [16] 梁运特,孙平良.基于miRNA-146a/JAK/STAT/SOCS-3信号通路探讨安肠汤对溃疡性结肠炎大鼠炎症免疫的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(3):30-38.

## 血清PON1、Vaspin、GLP-1在急性脑梗死诊断及病情评估中的应用价值探究

杨芳\* 张佳星 端木勤浩

**【摘要】**目的 探究血清氧磷脂酶-1(PON1)、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(Vaspin)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)在急性脑梗死诊断及病情评估中的应用价值。**方法** 选取北京应急总医院2018年5月至2021年12月收治的102例急性脑梗死患者作为观察组,另选取同期体检健康者40例作为对照组,检测两组入院时血清PON1、Vaspin、GLP-1水平。**结果** 观察组血清PON1、Vaspin、GLP-1水平均低于对照组,差异有统计学意义( $t=10.515, 34.104, 27.429, P<0.05$ );急性脑梗死患者血清PON1、Vaspin、GLP-1水平间互呈正相关关系( $r=0.775, 0.702, 0.752, P<0.05$ );血清PON1、Vaspin、GLP-1联合诊断急性脑梗死曲线下面积为0.918(95%CI为0.860~0.957),较各指标单独诊断价值明显提高;血清PON1、Vaspin、GLP-1与急性脑梗死患者病情程度独立相关( $P<0.05$ )。**结论** 急性脑梗死患者血清PON1、Vaspin、GLP-1水平明显下降,且下降程度与病情程度有关,可检测其水平用于疾病诊断及病情评估。

**【关键词】** 急性脑梗死; PON1; Vaspin; GLP-1

### Application value of serum PON1, vaspin and GLP-1 in the diagnosis and condition assessment of acute cerebral infarction

YANG Fang\*, ZHANG Jiaying, DUANMU Qin hao

(Department of Neurology, General Emergency Hospital, Beijing, China, 100028)

**【ABSTRACT】 Objective** To investigate the value of serum oxytocin-1 (PON1), visceral adipose-specific serine protease inhibitor (vaspin), and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in the diagnosis and condition assessment of acute cerebral infarction. **Methods** 102 patients with acute cerebral infarction admitted to Beijing Emergency General Hospital from May 2018 to December 2021 were selected as the observation group, and another 40 cases of healthy people with physical examination at the same period were selected as the control group. Serum PON1, vaspin, and GLP-1 levels at admission were detected in both groups. **Results** Serum PON1, vaspin and GLP-1 levels in the observation group were lower than those in the control group ( $t=10.515, 34.104, 27.429, P<0.05$ ). The serum levels of PON1, Vaspin and GLP-1 in patients with acute cerebral infarction were positively correlated with each other ( $P<0.05$ ). The area under the curve for the combined diagnosis of acute cerebral infarction with serum PON1, vaspin and GLP-1 was 0.918 (95% CI 0.860-0.957), which was significantly higher than the diagnostic value of each indicator alone. Serum PON1, vaspin, and GLP-1 were independently associated with the degree of disease in patients with acute cerebral infarction ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The serum levels of PON1, vaspin and GLP-1 decreased significantly in patients with acute cerebral infarction, and the degree of decrease was related to the severity of the disease. The levels could be detected for disease diagnosis and disease assessment.

**【KEY WORDS】** Acute cerebral infarction; PON1; Vaspin; GLP-1

基金项目:首都卫生发展科研基金(首发2011-6011-01)

作者单位:应急总医院神经内科,北京100028

\*通信作者:杨芳, E-mail: yhh8282021@126.com

脑梗死为临床常见脑血管疾病之一,其主要特点表现为“三高”,高发病率、高致残率及病死率,受到社会范围内高度重视<sup>[1-2]</sup>。现阶段,临床虽对脑梗死发病机制的研究不断深入,但其预防及治疗效果仍未达到理想程度<sup>[3]</sup>,因此,寻找血清细胞因子早期及时诊断急性脑梗死仍为医学亟需解决问题。氧磷脂酶-1(Paraoxonase-1, PON1)与高密度脂蛋白具有较高亲和力,可降低高密度脂蛋白氧化率,更好地保护患者脑部<sup>[4]</sup>。内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(Vaspin)与其他细胞因子、炎性介质相互作用,参与动脉粥样硬化发生发展<sup>[5]</sup>。相关研究指出,胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like peptide-1, GLP-1)对伴脑缺血/再灌注损伤的糖尿病大鼠具有神经保护作用<sup>[6]</sup>。本研究检测急性脑梗死患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平,分析其在疾病诊断及病情评估中的应用价值。报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取北京应急总医院 2018 年 5 月至 2021 年 12 月收治的 102 例急性脑梗死患者作为观察组,均符合急性脑梗死诊断标准<sup>[7]</sup>,并经颅脑 MRI/CT 确诊,排除近 3 个月有手术史、抗凝药物使用史者;合并血液系统疾病、自身免疫性疾病者;伴有心肝肾功能障碍者;合并恶性肿瘤者;伴有感染性疾病者。其中男 57 例,女 45 例,年龄平均(62.50±8.74)岁,病情程度根据神经功能缺损评分评价<sup>[8]</sup>:轻度(<5 分)35 例,中度(5~15 分)43 例,重度(>15 分)24 例;另选取同期体检健康者 40 例作为对照组,排除血管性疾病者,其余排除标准同观察组,男 21 例,女 19 例,年龄平均(61.44±8.20)岁。两组年龄、性别、体质量指数等资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。患者家属及受试者均已签署知情同意书。本研究医院医学伦理委员会审核批准。

### 1.2 方法

受检者均于入院后抽取 5 mL 空腹肘静脉血,置入干燥试管内,室温下静置 60 min,高速离心处理(3 500 r/min, 5 min,  $r=9$  cm),分离血清,血清贮存于-80℃冰箱内待检;采用固相化学发光免疫分析法测定血清 PON1 水平,试剂盒购自美国 Beckman Coulter 公司;采用酶联免疫吸附法测定血清 Vaspin、GLP-1 水平,试剂盒分别购自北京爱迪博

生物科技有限公司、北京百奥莱博科技有限公司,检测方法均严格按照试剂盒说明书进行。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 22.0 处理数据,计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用 SNK-q 检验,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料用  $n(\%)$  表示, $\chi^2$  检验;相关性采用 Pearson 相关系数模型分析;诊断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 两组血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平比较

观察组血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平均低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 两组血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of serum PON1, vaspin and GLP-1 levels between the two groups( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	PON1(U/L)	Vaspin( $\mu$ g/L)	GLP-1(nmol/L)
观察组	102	136.27±25.83	0.67±0.12	325.72±50.41
对照组	40	189.44±30.16	1.84±0.29	869.63±184.33
<i>t</i> 值		10.515	34.104	27.429
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 间相关性分析

Pearson 相关系数模型分析可知,急性脑梗死患者血清 PON1 水平与 Vaspin、GLP-1 水平呈正相关关系( $r=0.775$ 、 $0.702$ ,  $P<0.05$ ),Vaspin 水平与 GLP-1 水平呈正相关关系( $r=0.752$ ,  $P<0.05$ )。见图 1。

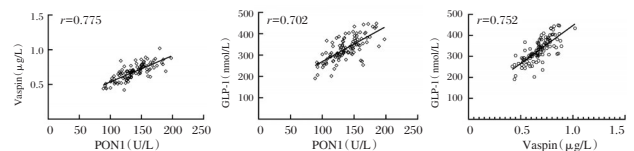


图 1 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 间相关性

Figure 1 Correlation among serum PON1, vaspin and GLP-1

### 2.3 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 对急性脑梗死的诊断价值

以观察组作为阳性样本,对照组作为阴性样本,绘制 ROC 曲线,结果显示,血清 PON1、Vaspin、GLP-1 诊断急性脑梗死的 AUC 分别为 0.719、0.741、0.703,将各指标经 Logistic 回归模型拟合生成联合预测因子,列出联合预测因子取不同值时对应的敏感度、特异度和预测准确率,取约登指数为最大值时联合预测因子所对应的数值作为最佳

临界值,即 AUC 为 0.918,较各原始因子单独诊断价值明显提高,其诊断敏感度为 84.32%,特异度为 82.50%。见表 2、图 2。

表 2 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 对急性脑梗死的诊断价值  
Table 2 diagnostic value of serum PON1, vaspin and GLP-1 in acute cerebral infarction

指标	AUC	95% CI	Z 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
PON1	0.835	0.763~0.892	7.187	92.16	70.00	0.000
Vaspin	0.827	0.755~0.885	7.068	97.06	65.00	0.000
GLP-1	0.703	0.621~0.777	3.953	65.69	64.00	0.000
联合诊断	0.918	0.860~0.957	17.983	84.32	82.50	0.000

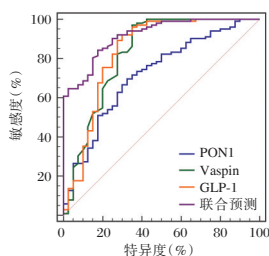


图 2 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 诊断急性脑梗死的 ROC 曲线

Figure 2 ROC curve of serum PON1, vaspin and GLP-1 in the diagnosis of acute cerebral infarction

### 2.4 不同病情程度患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平比较

与轻度患者比较,中度、重度患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平明显下降,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),与中度患者比较,重度患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平明显下降,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 不同病情程度患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of serum PON1, vaspin and GLP-1 levels in patients with different disease degrees ( $\bar{x}\pm s$ )

病情程度	n	PON1 (U/L)	Vaspin ( $\mu\text{g/L}$ )	GLP-1 (nmol/L)
轻度	35	167.41±29.63	0.82±0.15	420.37±50.26
中度	43	135.24±22.34 <sup>a</sup>	0.64±0.12 <sup>a</sup>	315.84±40.88 <sup>a</sup>
重度	24	92.70±15.87 <sup>ab</sup>	0.51±0.09 <sup>ab</sup>	205.39±35.21 <sup>ab</sup>
F 值		69.563	45.821	178.396
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与中度比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.5 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 与急性脑梗死病情程度的关系

以急性脑梗死患者病情程度为因变量(轻度

=0,中重度=1),血清 PON1、Vaspin、GLP-1 作为自变量,Logistic 回归分析,调整年龄、性别等其他混杂因素后,血清 PON1、Vaspin、GLP-1 仍与急性脑梗死患者病情程度独立相关,血清 PON1、Vaspin、GLP-1 越低,患者病情加重风险越大 ( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 血清 PON1、Vaspin、GLP-1 与急性脑梗死病情程度的关系

Table 4 Relationship between serum PON1, vaspin, GLP-1 and severity of acute cerebral infarction

自变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
PON1	18.241	12.314~25.887	<0.001	10.258	7.625~14.339	<0.001
Vaspin	20.113	15.697~30.126	<0.001	12.316	9.288~16.742	<0.001
GLP-1	17.219	14.874~30.011	<0.001	11.846	8.941~15.233	<0.001

## 3 讨论

PON1 作为钙离子依赖性高密度脂蛋白相关酯酶,可抑制脂质过氧化生成,促进过氧化物水解反应,抑制机体脂蛋白氧化修饰,同时还可清除机体内低密度脂蛋白,阻止脂质过氧化细胞膜,从而抑制动脉粥样硬化形成。现有研究指出,PON1 与动脉粥样硬化的心脑血管疾病关系密切<sup>[9]</sup>。基于此,本研究观察对比急性脑梗死患者与健康体检者血清 PON1 水平,发现急性脑梗死患者血清 PON1 水平明显下降,且其水平越低,患者病情越严重,与乔叶红等<sup>[10]</sup>研究结果基本一致,充分说明 PON1 为急性脑梗死保护因子,可作为该病诊断及病情评估的重要指标,分析 PON1 参与急性脑梗死发生及病情进展的机制可能为 PON1 水平下降,致使机体脂质被氧化修饰作用增强,大量脂质过氧化物堆积,诱导炎性介质过度分泌,内皮细胞间隙大量积聚炎症细胞,形成泡沫细胞,加速疾病发生发展。

Vaspin 作为一种属于丝氨酸蛋白酶抑制家族的脂肪因子,可增强胰岛素敏感性、改善糖耐量,同时还对血管炎症反应具有明显抑制作用,与糖尿病、心血管疾病等密切相关。近年来,随着临床研究的不断深入,发现血清 Vaspin 作为机体重要保护性因子,在内皮细胞修复过程中,可诱导一氧化氮生物合成,改善血管壁炎症状态,保护内皮细胞损伤,因此,临床工作中可通过血清 Vaspin 水平判断机体血管内皮损伤<sup>[11-12]</sup>。已有研究证实,血管

内皮损伤与急性脑梗死发病关系密切<sup>[13]</sup>。本研究中观察组血清 Vaspin 水平明显低于对照组,提示 Vaspin 水平下降与急性脑梗死患者血管内皮受损密切相关。此外,本研究中随病情加重,急性脑梗死患者血清 Vaspin 水平显著下降,提示急性脑梗死患者自我修复能力难以负荷局部血管炎症反应引起的血管内皮损伤,对于疾病病情严重程度评估具有积极意义。

GLP-1 是一种由胰高血糖素原基因前激素酶转化而来的肽激素,不仅可调节血糖、减轻体重,同时还可通过抑制氧化应激、炎症反应及细胞凋亡等机制发挥直接或间接抗脑缺血作用<sup>[14]</sup>。目前,已有动物研究证实,GLP-1 可通过抑制炎症反应及氧化应激反应,减轻脑缺血再灌注损伤<sup>[15]</sup>。脑缺血再灌注为急性脑梗死病情发展重要步骤,本研究中急性脑梗死患者血清 GLP-1 水平明显低于健康人群,提示 GLP-1 水平下降参与急性脑梗死患者脑缺血再灌注损伤,可作为该病诊断的潜在标志物之一。进一步研究显示,血清 GLP-1 水平下降与急性脑梗死患者病情独立相关,且其水平越低,患者病情越严重,分析原因,可能与急性脑梗死发病会,血清 GLP-1 水平下降,机体血糖水平明显升高,加剧动脉粥样硬化及微血管病变,致使脑损伤加重,加之或高的血糖浓度可导致神经细胞损伤有关。

本研究中急性脑梗死患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 间均呈正相关关系,其中 PON1、GLP-1 水平下降均参与动脉粥样硬化形成,同时还可诱导、加剧炎症反应,而动脉粥样硬化的基础即为血管内皮损伤,Vaspin 为血管内皮损伤的保护因子,可改善血管壁炎症状态,三者互相作用,共同参与急性脑梗死发生发展。基于此,本研究绘制 ROC 曲线,发现血清 PON1、Vaspin、GLP-1 联合诊断急性脑梗死的 AUC 值最大,具有较高诊断效能,可能与血清 PON1、Vaspin、GLP-1 在急性脑梗死发生中共通的作用机制有关,但本研究样本量较小,还需临床扩大样本量,做进一步证实。

综上所述,急性脑梗死患者血清 PON1、Vaspin、GLP-1 水平明显下降,且下降程度与病情程度有关,可检测其水平用于疾病诊断及病情评估,具有重要临床意义。

## 参考文献

- [1] Sun Z, Xu Q, Gao G, et al. Clinical observation in edaravone treatment for acute cerebral infarction [J]. Niger J Clin Pract, 2019, 22(10): 1324-1327.
- [2] 秦慧兵,张保朝,张小林,等. 血清 MCP-1、HMGB1、APN、oxLDL 水平与老年脑梗死病情及颈动脉粥样硬化关系 [J]. 华南预防医学, 2020, 46(1): 72-75.
- [3] Huang P, He XY, Xu M. Effect of Argatroban Injection on Clinical Efficacy in Patients with Acute Cerebral Infarction: Preliminary Findings [J]. Eur Neurol, 2021, 84(1): 38-42.
- [4] 张岭春,卢婷婷,饶俊平. 促红细胞生成素治疗老年脑梗死的疗效及其对血清 ox-LDL、PON1 水平的影响对比 [J]. 黑龙江中医药, 2020, 49(3): 91-92.
- [5] 李通,王子军,邓艳. 脑梗死病人血清 Vaspin, Apelin, Chemerin 与颈动脉斑块稳定性及预后的关系 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(10): 1626-1629.
- [6] 白波. 新型 GLP-1/GIP 双受体激动剂对糖尿病脑缺血再灌注模型大鼠内质网应激的影响及其与利拉鲁肽的比较 [D]. 山西医科大学, 2020.
- [7] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国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.
- [8] 徐艳祥,夏琳,谢艳,等. 血清 CXCL12 水平与急性脑梗死病人病情严重程度及预后的关系 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(19): 3293-3296.
- [9] 后世翔,方存明,栾家杰,等. CYP2C19, ABCB1 和 PON1 基因多态性对 ACS 病人 PCI 术后氯吡格雷治疗的影响 [J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(5): 606-610.
- [10] 乔叶红,陈燕,王京娥. 老年急性脑梗死患者检测血清 PON-1, salusin- $\alpha$  和 Omentin-1 的临床意义 [J]. 河北医药, 2017, 39(12): 1792-1795.
- [11] 蒋海昌,郭亚鹏,王枫,等. 血清 Vaspin、MMP-2 联合 Lp-PLA2 对 CAS 斑块稳定性的诊断价值 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(11): 1850-1853.
- [12] 张辉,赵东升,王云豹. 增强型体外反搏通过调节 endocan-1 和 vaspin 水平改善血管内皮功能障碍 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(2): 141-146.
- [13] Liu Y, Qu M, Wang N, et al. Effects of an evidence-based nursing intervention on neurological function and serum inflammatory cytokines in patients with acute cerebral infarction: A randomized controlled trial [J]. Restor Neurol Neurosci, 2021, 39(2): 129-137.
- [14] 张翔,陈薪旭,李夏婷,等. 急性脑梗死患者血清 GLP-1 ICAM-1 水平与神经损伤程度的相关性分析 [J]. 河北医学, 2021, 27(8): 1294-1299.
- [15] 张军艳,樊玉香,栗延伟,等. 基于 p38 丝裂原活化蛋白激酶通路的胰高血糖素样肽-1 对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响及机制 [J]. 临床神经病学杂志, 2020, 33(1): 47-51.

# 血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$ 在儿童细菌性脑膜炎疗效中的评估价值

秦倩倩\* 张云霞 薛智民

**[摘要]** **目的** 探讨血清高迁移率族蛋白-1(HMGB-1)、中性粒细胞活化肽-78(ENA-78)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在儿童细菌性脑膜炎万古霉素治疗中的动态变化及其临床意义。**方法** 选取2019年1月至2021年12月在山西省儿童医院就诊的儿童细菌性脑膜炎患儿98例作为研究对象,所有患者给予万古霉素治疗,对比患儿治疗前、治疗第3、5、7天后的血清HMGB-1、ENA-78和TNF- $\alpha$ 水平变化,依据出院后格拉斯哥预后评分(GOS)分为预后良好组和预后不良组,分析各指标与预后之间的影响因素和预后价值。**结果** 治疗后不同时期血清HMGB-1、ENA-78和TNF- $\alpha$ 水平比较:治疗前<治疗1周<治疗2周<治疗3周,差异有统计学意义( $F=374.582, 346.976, 228.307, P<0.05$ )。预后良好组血清HMGB-1、ENA-78和TNF- $\alpha$ 水平均低于预后不良组,差异有统计学意义( $t=11.211, 12.460, 7.266, P<0.05$ )。多因素分析结果显示,血清HMGB-1、ENA-78和TNF- $\alpha$ 水平升高是影响患儿预后的独立影响因素( $P<0.05$ )。ROC曲线分析显示,三者联合预测患儿治疗后预后不良的曲线下面积(AUC)为0.892,均高于单独检测时的AUC、敏感度、特异度( $P<0.05$ )。**结论** 随治疗时间变化,细菌性脑膜炎患儿血清HMGB-1、ENA-78和TNF- $\alpha$ 水平逐渐下降,且血清HMGB-1、ENA-78和TNF- $\alpha$ 水平联合检测对儿童细菌性脑膜炎万古霉素治疗效果及预后有一定预测价值。

**[关键词]** 高迁移率族蛋白-1;中性粒细胞活化肽-78;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;细菌性脑膜炎;万古霉素

## Evaluation value of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$ in the efficacy of children with bacterial meningitis

QIN Qianqian\*, ZHANG Yunxia, XUE Zhimin

(Department of Pharmacy, Shanxi Maternal and Child Health Hospital, Taiyuan, Shanxi, China, 030013)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the dynamic changes and clinical significance of serum high mobility group protein-1 (HMGB-1), neutrophil activating peptide-78 (ENA-78) and tumor necrosis factor - $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in vancomycin treatment of bacterial meningitis in children. **Methods** A total of 98 children with bacterial meningitis admitted to Shanxi Children's Hospital from January 2019 to December 2021 were selected as the research objects, all patients were treated with vancomycin, the changes of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  levels before treatment, 3, 5 and 7 days after treatment were tested. According to the Glasgow Outcome Scale (GOS) after discharge, the patients were divided into the good prognosis group and the poor prognosis group, and the influencing factors and prognostic value of each indicator and prognosis were analyzed. **Results** After treatment, the levels of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  gradually decreased with the prolongation of treatment time, that is, before treatment <1 week of treatment <2 weeks of treatment <3 weeks of treatment, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The serum levels of HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  in the good prognosis group were lower than those in the poor prognosis group, and the difference was statistically significant ( $t=11.211, 12.460, 7.266, P<0.05$ ). The results of multivariate analysis showed that the elevated levels of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  were independent factors affecting the progno-

基金项目:山西省儿童医院内科研基金(201814)

作者单位:山西省妇幼保健院药剂科,山西,太原 030013

\*通信作者:秦倩倩, E-mail: Lunwentougao2022@126.com



sis of children ( $P < 0.05$ ). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of the three combined to predict the poor prognosis of children after treatment was 0.892, which were higher than the AUC, sensitivity, and specificity of single detection ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  levels in children with bacterial meningitis decreased gradually with the change of treatment time, and the combined detection of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  levels has certain predictive value for the treatment effect and prognosis of children with bacterial meningitis with vancomycin.

**[KEY WORDS]** High mobility group box protein-1; Neutrophil-activating peptide-78; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Bacterial meningitis; Vancomycin

脑膜炎被定义为脑膜的炎症,在几乎所有病例中,脑脊液中白细胞数量异常和特定的临床体征/症状都可识别。细菌性脑膜炎是指软脑膜被细菌感染,炎症可能累及整个脑室系统及脑实质,被认为是最严重的感染性疾病之一<sup>[1]</sup>。该病多发于儿童,具有发病突然、病情进展快的特点,若不及时诊断和治疗可危及患儿生命安全。有研究证实,肺炎链球菌和大肠埃希菌是儿童细菌性脑膜炎的主要致病菌<sup>[2]</sup>。研究指出,相关炎症因子水平变化可反映细菌性脑膜炎的疾病情况,对其诊断和预后评估具有重要价值<sup>[3]</sup>。高迁移率族蛋白-1(high mobility group protein B1, HMGB-1)、中性粒细胞活化肽-78(Neutrophil activating peptide-78, ENA-78)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是血清相关炎症因子,当机体产生炎症时,上述因子水平变化异常。本研究探讨血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  在儿童细菌性脑膜炎万古霉素治疗中的动态变化及其对预后的预测价值。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取 2019 年 1 月至 2021 年 12 月在山西省儿童医院明确诊断为细菌性脑膜炎的患儿 98 例作为研究对象。纳入标准:①符合《诸福棠实用儿科学(第 8 版)》<sup>[4]</sup>中细菌性脑膜炎的相关诊断标准;②脑脊液细菌培养结果为阳性;③均为首次确诊;④近 1 个月内未进行相关治疗;⑤患儿年龄均 $\leq 14$ 岁;⑥所有患者监护人均知情并签署同意书。排除标准:①患儿为过敏体质,对万古霉素过敏者;②伴有凝血功能障碍;③有颅脑手术史;④合并全身性感染;⑤免疫系统疾病;⑥有严重脏器功能障碍。本研究经医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 治疗方法

所有患儿均给予注射用盐酸万古霉素(厂家:

Cheil Jedang Corp, 批准文号:H20171132,规格:按 C66H7SC12NgO24 计:0.5g)治疗,用法用量:每日静注总剂量为每次 10 mg/kg, q6h,每剂量给药时间至少为 60 min 以上,密切监测万古霉素的血清浓度(采用高效液相色谱进行检测)。

#### 1.2.2 检测方法

于治疗前、治疗第 3、5、7 天取患儿清晨空腹静脉 2 mL,离心机(厂家:湖南赫西仪器设备有限公司,型号:TD5A)3 000 rpm 离心 20 min,半径为 10cm,取血清-80℃保存备用。血清高迁移率族蛋白-1(high mobility group protein B1, HMGB-1)、中性粒细胞活化肽-78(Neutrophil activating peptide-78, ENA-78)的检测:采用酶联免疫吸附双抗体夹心法检测血清 HMGB-1 水平,仪器为:日本日立公司生产的 7080 型全自动生化分析仪,试剂盒为英国 Abcam 公司生产的 HMGB1 ELISA 试剂盒。肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的检测:采用酶联免疫吸附法检测血清 TNF- $\alpha$  水平。

#### 1.3 预后判断及分组

出院前,采用格拉斯哥预后评分<sup>[5]</sup>(Glasgow outcome scale, GOS)评估患儿预后情况,预后不良组:GOS 评分 $\leq 4$ 分,预后良好组:GOS 评分为 5 分。

#### 1.4 收集可能影响细菌性脑膜炎患儿预后不良的有关因素

收集患儿一般资料,包括性别、年龄、发病至入院时间、身体质量指数(Body Mass Index, BMI)、发热时间、疾病严重程度(参考相关文献<sup>[6]</sup>和临床表现分轻症、重症、急危重症)、脑电图异常情况、意识障碍情况,以及实验室指标,包括血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平。

#### 1.5 统计学方法

应用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组内比较采用配对样本  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析。计数资

料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  通过 Logistic 多因素分析影响细菌性脑膜炎患儿预后不良的独立影响因素,应用受试者工作特征(ROC)曲线探讨血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  在细菌性脑膜炎患儿预后中的诊断价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 治疗后不同时期血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$ 水平比较

治疗后不同时期血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平比较:治疗前 < 治疗 1 周 < 治疗 2 周 < 治疗 3 周,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 两组患者临床相关指标比较

两组患儿性别、年龄、发病至入院时间、BMI、发热时间、疾病严重程度、脑电图异常情况、意识障

表 1 治疗后不同时期血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of serum HMGB-1, ENA-78 and TNF- $\alpha$  levels in different periods after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

时间	<i>n</i>	HMGB-1( $\mu\text{g/L}$ )	ENA-7( $\mu\text{g/L}$ )	TNF-( $\text{ng/L}$ )
治疗前	98	25.89 $\pm$ 3.65	8.96 $\pm$ 1.80	35.57 $\pm$ 5.25
治疗 1 周	98	19.98 $\pm$ 3.25 <sup>a</sup>	6.75 $\pm$ 1.66 <sup>a</sup>	29.33 $\pm$ 4.42 <sup>a</sup>
治疗 2 周	98	16.37 $\pm$ 1.78 <sup>b</sup>	4.58 $\pm$ 0.97 <sup>b</sup>	25.36 $\pm$ 3.57 <sup>b</sup>
治疗 3 周	98	13.17 $\pm$ 2.02 <sup>c</sup>	3.18 $\pm$ 0.55 <sup>c</sup>	20.13 $\pm$ 3.61 <sup>c</sup>
<i>F</i> 值		374.582	346.976	228.307
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

碍发生率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。预后良好组血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平均低于预后不良组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组患者临床相关指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of clinical related indicators between the two groups of patients ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	预后良好( <i>n</i> =70)	预后不良( <i>n</i> =28)	$\chi^2/t$ 值	<i>P</i> 值	
性别(例)	男	32(45.71)	11(39.18)	0.335	0.562
	女	38(54.29)	17(60.82)		
年龄(岁)	7.58 $\pm$ 2.14	6.64 $\pm$ 2.61	1.842	0.068	
发病至入院时间(h)	6.03 $\pm$ 2.17	6.15 $\pm$ 1.95	0.243	0.808	
BMI( $\text{kg/m}^2$ )	22.34 $\pm$ 1.85	22.69 $\pm$ 1.77	0.821	0.413	
发热时间(d)	2.65 $\pm$ 1.21	3.10 $\pm$ 1.35	1.548	0.125	
疾病严重程度(例)	轻症	24(34.28)	9(32.14)	0.041	0.979
	重症	29(41.42)	12(42.85)		
	急危重症	17(24.30)	7(25.01)		
脑电图异常(例)	是	10(14.28)	4(14.28)	0.102	0.749
	否	60(85.72)	24(85.72)		
意识障碍(例)	是	4(5.71)	2(7.14)	0.039	0.841
	否	66(94.29)	26(92.86)		
血清 HMGB-1( $\mu\text{g/L}$ )	11.97 $\pm$ 1.26	14.37 $\pm$ 2.78	5.895	0.000	
血清 ENA-78( $\mu\text{g/L}$ )	2.98 $\pm$ 0.47	3.38 $\pm$ 0.63	3.440	0.000	
血清 TNF- $\alpha$ ( $\text{ng/L}$ )	19.11 $\pm$ 3.64	23.15 $\pm$ 3.58	4.986	0.000	

### 2.3 影响患儿预后的多因素分析万古霉素治疗后预后不良的 Logistic 回归分析

将万古霉素治疗后预后不良作为因变量,分别将血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平作为自变量,经 Logistic 回归分析检验结果显示,血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平升高是细菌性脑膜炎患儿万古霉素治疗后预后不良的危险因素( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.4 血清 HMGB-1、ENA-78、TNF- $\alpha$ 水平对细菌性脑膜炎患儿治疗后预后不良的预测效能

绘制 ROC 曲线图结果显示,血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平预测细菌性脑膜炎患儿万古霉素治疗后预后不良的曲线下面积(AUC)分别

表 3 影响患儿预后的多因素分析万古霉素治疗后预后不良的 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate analysis of children's prognosis Logistic regression analysis of poor prognosis after vancomycin treatment

因素	$\beta$ 值	S·E 值	Wald 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
HMGB-1( $\mu\text{g/L}$ )	0.589	0.256	5.293	1.802	1.091~2.976	0.021
ENA-78( $\mu\text{g/L}$ )	1.471	0.647	5.169	4.353	1.224~15.473	0.022
TNF- $\alpha$ ( $\text{ng/L}$ )	0.359	0.177	4.113	1.431	1.012~2.849	0.042

为 0.734、0.712、0.646,敏感度分别是 67.85%、64.28%、75.00%,特异度分别是 71.42%、78.57%、82.14%。三者联合预测细菌性脑膜炎患儿万古霉素治疗后预后不良的 AUC、敏感度、特异度分别是 0.892、89.28%、92.85%( $P < 0.05$ )。见图 1。

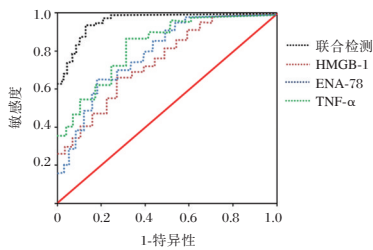


图1 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

本文结果显示,与治疗前比较,治疗后1周、2周、3周时血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平随治疗时间延长呈逐渐下降趋势。提示万古霉素能够调节机体炎症相关因子,提高机体抗感染的能力。细菌性脑膜炎是患儿血脑屏障受损,通透性增高,细菌通过血脑屏障导致脑组织发生炎症<sup>[7]</sup>。万古霉素是强效杀菌剂,分子量相对较大,亲水性强,进入脑脊液的渗透性依靠血脑屏障的完整性和脑膜炎炎症时的状态。血脑屏障正常时,万古霉素难以迅速进入脑内,当发生血脑屏障受损,脑膜炎发生感染时,万古霉素可以迅速通过血脑屏障进入脑内,起到杀菌效果<sup>[8]</sup>。

HMGB-1 是高迁移率族蛋白超家族的成员,是一种非组蛋白核蛋白,在几乎所有类型的细胞中普遍表达,被认为是一种具有代表性的损伤相关分子,参与各种炎症反应<sup>[9]</sup>。武艳霞等<sup>[10]</sup>研究显示,机体血液循环发生炎症反应时, HMGB-1 水平急剧升高,证实了 HMGB-1 水平与结核性脑膜炎严重程度呈正相关关系。本研究单因素分析结果显示,预后不良组血清 HMGB-1 水平高于预后良好组。进一步多因素分析结果显示,血清 HMGB-1 水平升高是细菌性脑膜炎患儿万古霉素治疗后预后不良的危险因素。ENA-78 是由 78 个氨基酸组成的具有趋化作用的炎症因子,可以趋化和激活中性粒细胞,延迟中性粒细胞的凋亡<sup>[11]</sup>。此外, ENA-78 还是重要的炎症介质,其表达水平升高与炎症有明显相关性<sup>[12]</sup>。本研究发现,预后不良组患儿血清 ENA-78 水平高于预后良好组,进一步研究发现, ENA-78 水平升高是儿童脑膜炎患儿万古霉素治疗后预后不良的独立影响因素。ENA-78 参与了体内炎症的级联反应,导致脑组织缺血、缺氧和受损,大量炎症细胞浸润,促使体内 ENA-78 水平上升<sup>[13]</sup>。分析细菌性脑膜炎中另一种炎性物质发现,

TNF- $\alpha$  是一种促炎性细胞因子,正常生理条件下通常不表达,当脑膜炎患儿受感染时,血清中炎性物质表达增强而导致其在脑组织中呈现高表达,与多种细胞因子协同作用,诱导炎症介质的产生,增强炎症反应及加大脑组织损伤<sup>[14]</sup>。本研究发现,预后不良组患儿血清 TNF- $\alpha$  水平高于预后良好组,与相关文献报道相似<sup>[15]</sup>。细菌性脑膜炎时,血脑屏障的通透性增加,促进 TNF- $\alpha$  等细胞炎症因子释放,导致血液中 TNF- $\alpha$  水平明显升高,故血清 TNF- $\alpha$  水平是细菌性脑膜炎预后评判的良好指标。

ROC 曲线分析显示,三者联合预测患儿治疗后预后不良的曲线下面积(AUC)为 0.892,均高于单独检测时的 AUC、敏感度、特异度。

综上所述,儿童细菌性脑膜炎应用万古霉素治疗,随治疗时间变化,细菌性脑膜炎患儿血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平逐渐下降,且血清 HMGB-1、ENA-78 和 TNF- $\alpha$  水平联合检测对疾病的发展和预后有一定的预测价值,对盐酸万古霉素治疗细菌性脑膜炎治疗效果评估也有一定的参考价值。

### 参考文献

- [1] 王婧瑶,肖江明,刘宇思,等.融合蛋白 DnaJ- $\Delta$ A146Ply 对小鼠肺炎链球菌脑膜炎感染的保护效果[J].免疫学杂志, 2020, 36(4): 319-324.
- [2] 刘英,史琴瑶,陈霞,等.细菌性脑膜炎儿童病例致病菌分布及耐药性分析[J].华南预防医学, 2021, 47(4): 482-486.
- [3] 武艳霞,郭锐,丁帅伟.脑脊液 IL-8、TNF- $\alpha$ 、HMGB-1 的动态变化对结核性脑膜炎患者的临床意义探讨[J].实验与检验医学, 2019, 37(5): 937-940.
- [4] 诸福棠实用儿科学(第8版)[J].中国临床医生杂志, 2015, 43(7): 47.
- [5] Bodilsen J, Storgaard M, Larsen L, et al. Infectious meningitis and encephalitis in adults in Denmark: a prospective nationwide observational cohort study (DASGIB) [J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24(10): 1102.e1-1102.e5.
- [6] 赵小燕,李京洲,杨喜永,等.化脓性脑膜炎患儿血清和脑脊液 hs-CRP、S-100 $\beta$ 、NSE 及 BMP 的临床意义[J].中国热带医学, 2018, 18(4): 391-394.
- [7] 周阳,黄丹萍,赵冰新,等.髓样相关蛋白 MRP8/14 在小鼠肺炎链球菌性脑膜炎脑损伤中的作用[J].南京大学学报(自然科学), 2020, 56(2): 253-263.
- [8] Ishikawa M, Yamazaki S, Suzuki T, et al. Correlation between vancomycin penetration into cerebrospinal fluid and protein concentration in cerebrospinal fluid/serum albumin ratio [J]. J Infect Chemother, 2019, 25(2): 124-128.

## 安罗替尼联合PD-1/PD-L1抑制剂后线治疗晚期转移性结直肠癌的临床观察

李娜<sup>1</sup> 杨芳<sup>1</sup> 王大庆<sup>1</sup> 曹双清<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨安罗替尼联合PD-1/PD-L1抑制剂后线治疗晚期结直肠癌的临床疗效与安全性。**方法** 选取2020年2月至2020年10月衡水市人民医院收治的既往曾接受三线及以上标准治疗的晚期转移性结直肠癌患者17例,给予患者盐酸安罗替尼胶囊联合PD-1/PD-L1抑制剂治疗,根据RECIST 1.1版标准和NCI CTC 4.0版标准评价疗效及不良反应。**结果** 17例患者至随访结束死亡1例,其余16例没有获得完全缓解,2例部分缓解、6例稳定和8例进展,有效率和疾病控制率分别为11.76%和47.06%。中位随访时间为2.1个月。最常见不良反应为高血压、疲劳、腹泻,发生率依次为35.30%(6/17)、35.30%(6/17)、29.41%(5/17)。绝大多数不良反应为1~2级,未出现4级不良反应。**结论** 安罗替尼联合PD-1/PD-L1抑制剂后线治疗晚期结直肠癌具有良好的效果与安全性,可在临床上应用。

**[关键词]** 结直肠癌;安罗替尼;PD-1/PD-L1抑制剂;疗效;安全性

### Clinical observation of anlotinib combined with PD-1/PD-L1 inhibitor retroline treatment of advanced metastatic colorectal cancer

LI Na<sup>1</sup>, YANG Fang<sup>1</sup>, WANG Daqing<sup>1</sup>, CAO Shuangqing<sup>2\*</sup>

(1. Department of Oncology, Hengshui City People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 2. Hospital Office, Hengshui City People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the clinical efficacy and safety of anlotinib combined with PD-1/PD-L1 inhibitor in the treatment of metastatic colorectal cancer. **Methods** 17 patients with metastatic colorectal cancer admitted to Hengshui People's Hospital from February 2020 to October 2020 who had previously received standard treatment of third-line or above were treated with Anlotinib hydrochloride capsule combined with PD-1/PD-L1 inhibitor. The efficacy and adverse reactions were evaluated according to RECIST 1.1 and NCI CTC 4.0, and the prognostic factors were analyzed according to the follow-up data. **Results** One of the 17 patients died at the end of follow-up, the remaining 16 patients did not achieve complete remission, 2 patients had partial response, 6 patients were stable, and 8 patients progressed, and the effective rate and disease control rate were 11.76% and 47.06%, respectively. The median follow-up time was 2.1 months. The most common adverse reactions were hypertension (35.30%, 6/17), fatigue (35.30%, 6/17) and diarrhea (29.41%, 5/17). The vast majority of adverse reactions were grade 1 to 2, and no grade 4 adverse reactions occurred. **Conclusion** Anlotinib combined with PD-1/PD-L1 inhibitor has good efficacy and safety in the treatment of advanced colorectal cancer and can be used clinically.

**[KEY WORDS]** Colorectal cancer; Anlotinib; PD-1/PD-L1 inhibitors; Efficacy; Safety

基金项目:衡水市科技计划项目(2019014032Z)

作者单位:1.衡水市人民医院肿瘤内科,河北,衡水 053000

2.衡水市人民医院院办,河北,衡水 053000

\*通信作者:曹双清,E-mail:1061320962@qq.com

目前,结直肠癌是世界上最常见的癌症之一。在我国,结直肠癌在肿瘤发病率中居第三位,结直肠癌在死亡率中位居第五位<sup>[1]</sup>。结直肠癌严重危害人们的身心健康。目前治疗结直肠癌的标准方案是以氟尿嘧啶联合伊立替康或奥沙利铂为基础的化疗。贝伐单抗和西妥昔单抗虽然可以提高化疗对转移性结直肠癌(Metastatic Colo-Rectal Carcinoma, mCRC)的临床疗效,并已广泛应用于一线和二线治疗。然而,目前仍有不少mCRC患者身体素质尚可,他们经历了三线治疗后进展,缺乏有效合理的治疗方法。安罗替尼是我国自主研发的技术创新型多靶点酪氨酸激酶抑制剂,可抑制毛细血管内皮细胞生长因子蛋白激酶、成纤维细胞生长因子蛋白激酶等靶点,抑制肿瘤向毛细血管的转化,从而达到抑制肿瘤细胞增殖的目的<sup>[2]</sup>。目前,程序性细胞死亡蛋白激酶-1(programmed cell death protein kinase-1, PD-1)和程序性细胞死亡配体-1(programmed cell death-Ligand, PD-L1)抑制剂是mCRC免疫治疗药物的关键。由于PD-1/PD-L1抑制剂在错配修复缺陷(mismatch repair deficiency, dMMR)/高度微卫星不稳定性(microsatellite instability-high, MSI-H)mCRC患者中显示出优异的临床医学疗效,因此它们作为免疫检查点抑制剂受到越来越多的关注<sup>[3-4]</sup>。治疗方案也逐渐从后线治疗转向一线治疗或新辅助治疗并取得成功。一方面,抗血管生成药物不仅可以使肿瘤的毛细血管正常化,还可以通过多种方式阻断自身免疫抑制信号的传递<sup>[5-6]</sup>。另一方面,PD-1/PD-L1抑制剂在增强免疫功能的同时,也可以促进毛细血管的正常化<sup>[7-8]</sup>,因此两者密切相关。本研究分析安罗替尼联合PD-1/PD-L1抑制剂治疗dMMR/MSI-H mCRC的临床疗效和安全性因素,探索三线后mCRC的治疗途径,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

收集2020年2月至2020年10月于衡水市人民医院接受安罗替尼联合PD-1/PD-L1抑制剂治疗的晚期dMMR/MSI-H mCRC患者病历资料。共纳入17例患者,其中男性11例,女性6例,年龄31~78岁,中位年龄62岁;原发灶部位:左半乙状结肠10例,右半乙状结肠7例;RAS基因突变4例,见表1。纳入标准:①病理诊断为dMMR/MSI-H

mCRC;②既往使用过三线及以上标准治疗方案;③体力状态ECOG评分<sup>[9]</sup>≤2分,无骨髓抑制及心肺功能,肝肾功能均正常;④能准确测量病变大小;⑤预计生存时间>3个月。排除标准:①同时患有其他类型的继发性恶性肿瘤;②有出血风险;③有颅内转移致精神、神经系统异常的患者;④身体患有间质性肺病、甲状腺素异常、弥漫性慢性乙型肝炎、HIV等。⑤过去使用过免疫药物治疗。所有研究对象均签署知情同意书,研究经院伦理委员会批准同意。

### 1.2 治疗

17例患者均口服安罗替尼(正大天晴)12 mg/d,3周为1个治疗周期(服药2周,停药1周),每2个周期评价疗效。所有患者如果出现3级及以上的副作用会减少安罗替尼的使用或停药。6名患者接受信迪利单抗注射液治疗,每3周200 mg;5名患者接受注射用卡瑞珠单抗治疗,每3周200 mg;4名患者接受治疗帕博利珠单抗注射液,每3周200 mg;2名患者接受特瑞普利单抗注射液,每3周240 mg治疗,17例晚期结直肠癌患者临床特征见表1。

### 1.3 结果评价

根据RECIST 1.1版规范<sup>[10]</sup>进行疗效评价,疗效评价包括完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、病情稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD)。客观缓解率(objective response rate, ORR)和疾病有效率(response rate, RR)由CR、PR衡量。CR、PR及SD衡量疾病控制率(disease control rate, DCR)。根据NCI CTC 4.0版本<sup>[11]</sup>对副作用进行评估,分为0到4个等级。

### 1.4 随访

随访按照查病史资料和电话的方式进行。17例患者均获得随访,末次随访时间为2021年5月20日。无进展生存期(progression-free survival, PFS)定义为口服安罗替尼联合静脉内PD-1/PD-L1抑制剂开始时间至末次随访日期,包括病情进展、死亡或病情未进展者。

### 1.5 统计学分析

采用SPSS 22.0版统计软件进行数据统计分析;计数资料以n(%)表示;生存分析采用Kaplan-Meier法并行处理Log-rank检验;P<0.05为差异有统计学意义。

表1 17例晚期结直肠癌患者的临床特征 (n, %)  
Table 1 Clinical features of 17 patients with advanced colorectal cancer (n, %)

临床特征	n	百分比
性别		
男	11	64.71
女	6	35.29
年龄(岁)		
<60	5	29.41
≥60	12	70.59
吸烟史		
有	6	35.29
无	11	64.71
病变部位		
右半结肠	7	41.18
左半结肠	10	58.82
临床分期		
IVA	5	29.41
IVB	8	47.06
IVC	4	23.53
MSI		
MSS	0	0.00
MSI-H	17	100.00
基因突变状态		
RAS 和 BRAF 均野生型	13	76.47
RAS 或 BRAF 突变型	4	23.53
治疗方案		
安罗替尼+信迪利单抗	6	35.29
安罗替尼+卡瑞利珠单抗	5	29.42
安罗替尼+帕博利珠单抗	4	23.53
安罗替尼+特瑞普利单抗	2	11.76

## 2 结果

### 2.1 临床疗效

17名患者中有1名死亡,其余16名患者未获得CR。PR 2例、SD 6例、PD 9例(1例死亡),RR和DCR分别为11.76%和47.06%。中位PFS为2.1个月。见表2、图1。

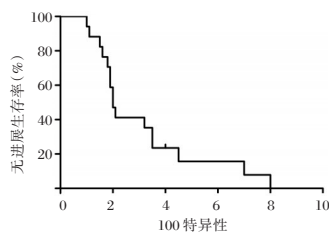


图1 PFS曲线

Figure 1 PFS curve

### 2.2 副作用

最常见的副作用是高血压、疲劳和腹泻。发生率35.30%(6/17)、35.30%(6/17)、29.41%(5/17)。大多数副作用为1至2级,未出现4级不良反应。

出现3级不良反应5例,其中乏力2例,高血压1例,腹泻1例,甲状腺生长激素升高1例。见表3。

表3 17例晚期结直肠癌患者不良反应发生情况  
Table 3 Incidence of adverse reactions in 17 patients with advanced colorectal cancer

不良反应	1级	2级	3级	4级	3~4级发生率 (%)	总发生率 (%)
高血压	3	2	1	0	5.88	35.30
疲劳	2	2	2	0	11.76	35.30
腹泻	3	1	1	0	5.88	29.41
促甲状腺激素升高	2	2	1	0	5.88	29.41
毛细血管征	3	2	0	0	0.00	29.41
发热	3	1	0	0	0.00	23.53
皮疹	3	0	0	0	0.00	17.65
转氨酶升高	1	2	0	0	0.00	17.65
蛋白尿	1	1	0	0	0.00	11.76
手足综合征	2	0	0	0	0.00	11.76
口腔黏膜炎	1	1	0	0	0.00	5.88
高胆固醇血症	0	0	0	0	0.00	0.00

## 3 讨论

结直肠癌的发病率逐渐升高,是我国最常见的恶性肿瘤之一。对于mCRC患者,氟尿嘧啶联合伊立替康或奥沙利铂,或进一步联合贝伐单抗或西妥昔单抗是一线和二线治疗的标准方案。目前的三线治疗虽然包括呋喹替尼<sup>[12]</sup>、瑞戈非尼<sup>[13-14]</sup>和免疫检查点阻滞剂,但方法非常有限,有效率低。仍有非常多的患者一般情况良好,但缺乏有效的治疗方案。因此,对mCRC患者的后线治疗进行科学研究在临床医学中具有关键的现实意义。

安罗替尼作为我国自主研发的多靶点色氨酸蛋白激酶阻滞剂,现阶段已获批用于三线非小细胞肺癌、小细胞肺癌和部分软组织肉瘤。目前,安罗替尼已用于晚期肝癌、软组织肉瘤、肾肿瘤、甲状腺髓样囊肿等。并且已经在多种癌症中进行了临床研究。例如,一项安罗替尼治疗终末期甲状腺髓样囊肿的单臂研究收集了58例患者,48周无进展生存率为85.5%。与基线相比,45例患者血清蛋白甲状腺生长激素浓度下降≥50%,表明安罗替尼具有治疗终末期甲状腺髓样囊肿的潜

表2 不同治疗方案晚期结直肠癌的近期疗效 [n(%)]

Table 2 Short-term efficacy of different treatment regimens for advanced colorectal cancer [n(%)]

诊疗方案	n	CR	PR	SD	PD	ORR	DCR
安罗替尼+信迪利单抗	6	0	1(16.67)	3(50.00)	2(33.33)	1(16.67)	4(57.14)
安罗替尼+卡瑞利珠单抗	5	0	0(0.00)	1(20.00)	4(80.00)	0(0.00)	1(0.20)
安罗替尼+帕博利珠单抗	4	0	1(25.00)	2(50.00)	1(25.00)	1(0.25)	3(0.75)
安罗替尼+特瑞普利单抗	2	0	0(0.00)	0(0.00)	2(100.00)	0(0.00)	0(0.00)

力<sup>[15]</sup>。安罗替尼在 mCRC 的治疗中显示出一定的疗效<sup>[16]</sup>。但是,目前关于安罗替尼治疗 mCRC 的临床研究仍然很少。

免疫治疗已在非小细胞肺癌、黑色素瘤、前列腺癌等各种肿瘤中全面展开。Le 等<sup>[17]</sup>2015 年首次发现存在 dMMR 或 MSI-H 分子结构基因型 mCRC 患者可从免疫检查点抑制剂单抗帕博利珠单抗中显著获益。错配修复(mismatch repair, MMR)基因编译的 MMR 蛋白可以修复 DNA 的碱基失衡,保持 DNA 复制的高保真度<sup>[18]</sup>。当 MMR 基因出现缺陷和蛋白质功能异常时,会造成微卫星高度变异,最终在 DNA 产生的全过程中引发无数新的基因突变。这种新基因突变引起的新抗原增强了 MSI-H 结直肠癌患者肿瘤微环境中肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)的水平。在 dMMR/MSI-H mCRC 中 TIL 水平相对密度远高于错配修复完整(proficient mismatch repair, pMMR)/微卫星稳定(Microsatellite Stable, MSS)型 mCRC。MSI-H 恶性肿瘤恢复良好,这也与恶性肿瘤较高的 TILs 有关<sup>[19-21]</sup>。与微卫星稳定型(MSS)相比,MSI-H 直肠癌具有更高的 PD-L1 表达水平,这也表明此类患者很可能受益于 PD-1/PD-L1 治疗<sup>[22]</sup>。在 MSI-H 肿瘤免疫治疗的重要科学研究 KEYNOTE-016 中,dMMR 的多种恶性肿瘤均可受益于 PD-1 抑制剂帕博利珠单抗的免疫治疗<sup>[17]</sup>。KEYNOTE-164 这项大中型临床试验分析了帕博利珠单抗在 dMMR/MSI-H mCRC 患者中的临床疗效,1 年总生存率和无进展生存率分别为 41% 和 76%。由于免疫治疗的显著疗效,人们开始探索免疫治疗作为 mCRC 一线治疗的疗效<sup>[23]</sup>。在近期的 KEYNOTE177 大型临床研究中,共纳入 307 例 MSI-H/dMMR mCRC 患者,其中 153 例纳入帕博利珠单抗组,154 例纳入标准治疗组(FOLFOX 或 FOLFIRI±贝伐单抗或西妥昔单抗)。关键终点是 PFS 和 OS。主要和次要终点包括 ORR 和安全性(RECIST 评估)。数据显示,免疫治疗组和化疗组的中位随访时间分别为 28.4 和 27.2 个月。化疗组的 PFS 劣于帕博利珠单抗组。在安全性层面,帕博利珠单抗组不良反应发生率显著降低,不良反应的发生率分别为 22% 和 66%。化疗组有 1 例治疗相关死亡。无论是疗效还是副作用,帕博利珠单抗都优于化疗<sup>[24]</sup>。

本研究分析 17 例晚期结直肠癌患者三线及以上使用安罗替尼联合 PD-1/PD-L1 阻滞剂的临床疗

效,组内所有患者均可对疗效进行评价。安罗替尼联合 PD-1/PD-L1 阻滞剂治疗 4 个周期。RR 和 DCR 分别为 11.76% 和 47.06%。中位 PFS 为 2.1 个月。不良反应主要有高血压、疲劳、腹泻及甲状腺功能减退、毛细血管征等,3 级以上不良反应均经药物治疗和延迟给药控制,无 4 级不良反应发生。本研究出现 1 名患者死亡,该患者于治疗的第 1 个周期末因突发心肌梗死而死亡,该患者的死因考虑与疾病进展及药物毒副反应无关。关于 PD-1/PD-L1 抑制剂联合抗血管生成药物治疗恶性肿瘤临床方面的研究尚有很多,涉及的瘤种非常广泛,研究结果大部分是安全有效的,而且逐步向一线治疗迈进,目前在肝癌、肾癌、肺癌等实体瘤方面的结果甚是令人期待。然而目前的联合治疗方案多数属于 I~II 期研究,III 期研究却凤毛麟角,因此需要有更加有效、更加深入的临床研究加以证实。此外,亦有研究显示,联合疗法在大多数与免疫相关的不良事件中均未显示出明显的安全性,因此需要在具体临床实践活动中权衡利弊,从而选择最佳的抗肿瘤治疗模式<sup>[25]</sup>。一系列临床前和临床研究表明,PD-1/PD-L1 阻滞剂与抗血管生成治疗相辅相成。一方面,抗血管生成能够增加免疫细胞的比例,并且下调多个免疫检查点的表达来阻断抑制性免疫信号的传导。另一方面,PD-1/PD-L1 阻滞剂治疗可以恢复免疫微环境,促进恶性肿瘤血管的正常化,从而有利于药物的传递,减少 PD-1/PD-L1 阻滞剂的用药剂量,降低不良事件的发生风险。

综上所述,安罗替尼联合 PD-1/PD-L1 抑制剂后线治疗晚期结直肠癌的临床效果尚可,安全性可、耐受性良好。

## 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer Statistics, 2021 [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] Shen G, Zheng F, Ren D, et al. Anlotinib: a novel multi-targeting tyrosine kinase inhibitor in clinical development [J]. J Hematol Oncol, 2018, 11(1): 120.
- [3] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death [J]. EMBO J, 1992, 11(11): 3887-3895.
- [4] McDermott DF, Atkins MB. PD-1 as a potential target in cancer therapy [J]. Cancer Med, 2013, 2(5): 662-673.
- [5] Fukumura D, Kloepper J, Amoozgar Z, et al. Enhancing cancer immunotherapy using antiangiogenics: opportunities and

- challenges[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(5):325-340.
- [6] 陈秀生,林创珍,雷川等.血管紧张素(1-7):潜在的肿瘤治疗新靶点[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2015, 7(2):122-126+131.
- [7] Tian L, Goldstein A, Wang H, et al. Mutual regulation of tumour vessel normalization and immunostimulatory reprogramming[J]. *Nature*, 2017, 544(7649):250-254.
- [8] Zheng X, Fang Z, Liu X, et al. Increased vessel perfusion predicts the efficacy of immune checkpoint blockade [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(5):2104-2115.
- [9] 体能状态评分 ECOG 评分法[J]. *中华普通外科学文献(电子版)*, 2012, 6(6):556.
- [10] TheRAsse P, Arbutck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(3):205-216.
- [11] 皋文君,刘砚燕,袁长蓉.国际肿瘤化疗药物不良反应评价系统——通用不良反应术语标准 4.0 版[J]. *肿瘤*, 2012, 32(2):142-144.
- [12] Li J, Qin S, Xu RH, et al. Effect of Fruquintinib vs Placebo on Overall Survival in Patients With Previously Treated Metastatic Colorectal Cancer: The FRESKO Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA*, 2018, 319(24):2486-2496.
- [13] Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2013, 381(9863):303-312.
- [14] Li J, Qin S, Xu R, et al. Regorafenib plus best supportive care versus placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(6):619-629.
- [15] Sun Y, Du F, Gao M, et al. Anlotinib for the Treatment of Patients with Locally Advanced or Metastatic Medullary Thyroid Cancer [J]. *Thyroid*, 2018, 28(11):1455-1461.
- [16] 邱天竹,周羽璇,陈晓锋,等.安罗替尼后线治疗晚期转移性结直肠癌的临床观察[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(10):921-924.
- [17] Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade [J]. *Science*, 2017, 357(6349):409-413.
- [18] Gelsomino F, Barbolini M, Spallanzani A, et al. The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review [J]. *Cancer Treat Rev*, 2016, 51:19-26.
- [19] Tougeron D, Fauquembergue E, Rouquette A, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancers with microsatellite instability are correlated with the number and spectrum of frameshift mutations [J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(9):1186-1195.
- [20] Smyrk TC, Watson P, Kaul K, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal carcinoma [J]. *Cancer*, 2001, 91(12):2417-2422.
- [21] 杨秀成,于琼,巩林强等.结肠癌血清 IGF-1 水平及肿瘤组织中 VEGF-C、VEGFR-3 表达与淋巴结转移的相关性研究 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(3):381-385.
- [22] Jung DH, Park HJ, Jang HH, et al. Clinical Impact of PD-L1 Expression for Survival in Curatively Resected Colon Cancer [J]. *Cancer Invest*, 2020, 38(7):406-414.
- [23] Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164 [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(1):11-19.
- [24] André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(23):2207-2218.
- [25] Sun L, Zhang L, Yu J, et al. To be or not to be: whether anti-angiogenic agent combined with immune checkpoint inhibitor necessary in the treatment of advanced or metastatic renal cell carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2020, 37(2):15.

(上接第 873 页)

- [9] Vijayakumar EC, Bhatt LK, Prabhavalkar KS. High Mobility Group Box-1 (HMGB1): A Potential Target in Therapeutics [J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(14):1474-1485.
- [10] 武艳霞,郭锐,丁帅伟.脑脊液 IL-8、TNF- $\alpha$ 、HMGB-1 的动态变化对结核性脑膜炎患者的临床意义探讨 [J]. *实验与检验医学*, 2019, 37(5):937-940.
- [11] 马雪莲,李海燕. GnRH- $\alpha$  联合 LNG-IUS 对子宫内膜异位症术后患者血清 ENA-78 及 MCP-1 水平的影响 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(7):910-913.
- [12] 张琳艳,邱振伟.血清 VE-Cad、ENA-78 和 HMGB1 水平检测在急性脑梗死中的临床价值 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(18):2679-2682+2687.
- [13] 李凤梅.血清 MALAT1、ENA-78、HE4 表达情况与子宫内膜异位症进展的关系研究 [J]. *实用中西医结合临床*, 2021, 21(6):108-111.
- [14] 杨学丽,丁小强,王新兰. SSR、TNF- $\alpha$  对急性脑卒中后抑郁早期诊断的临床意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(22):2761-2764+2769.
- [15] 欧阳欣,石广滨,高大鹏,等.细菌性脑膜炎病原学特征及脑脊液 TNF- $\alpha$  与 MMP-9 和可溶性 B7-H3 表达的临床意义 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(5):665-667.



# 血清PCT、CRP及CRP/Alb比值对老年缺血性脑卒中后卒中相关性肺炎的早期预测价值

胡超胜\* 王超 吴文波 牛德旺

**[摘要]** 目的 探究血清降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)及C-反应蛋白/白蛋白(CRP/Alb)比值对老年缺血性脑卒中(CIS)后卒中相关性肺炎(SAP)的早期诊断评估价值。方法 选取2018年4月至2020年4月濮阳市安阳地区医院老年科收治的155例老年CIS患者进行研究,按是否发生SAP分为A、B组,A组85例患者出现SAP,B组70例未出现SAP,对比两组患者一般资料及患者入院后第2天血清PCT、CRP及CRP/Alb水平,计算临床肺部感染评分(CPIS);根据单因素分析结果将有意义的指标纳入多元Logistic回归,采用person相关性分析CPIS与各指标关联,使用ROC曲线检测各指标对预测SAP的价值。结果 A组患者PCT、CRP、CRP/Alb及CPIS指标水平均显著高于B组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Logistic回归分析结果显示,PCT、CRP、CRP/Alb、CPIS均为SAP发生的显著关联因素或影响因素( $P<0.05$ )。Person相关性分析结果显示,CPIS评分与PCT、CRP、CRP/Alb指标均呈正相关性( $P<0.05$ )。PCT、CRP、CRP/Alb、CPIS诊断SAP的AUC依次为0.877、0.811、0.778、0.868。结论 PCT、CRP、CRP/Alb水平对老年CIS患者发生SAP具有预测诊断价值,在今后可作为临床依据判断其病情。

**[关键词]** 降钙素原; C-反应蛋白; 白蛋白; 缺血性脑卒中; 卒中相关性肺炎

## The value of serum PCT, CRP and CRP/Alb ratio in early prediction of stroke-associated pneumonia after ischemic stroke in the elderly

HU Chaosheng\*, WANG Chao, WU Wenbo, NIU Dewang

(Department of Rehabilitation Medicine, Anyang District Hospital of Puyang, Anyang, Henan, China, 455000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the value of serum procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and C-reactive protein/Alb (CRP/ALB) ratio in the early diagnosis of cerebral ischemic stroke (SAP) after cerebral ischemic stroke (IS) in elderly patients. **Methods** A total of 155 elderly CIS patients admitted to the Department of Geriatrics of Anyang District Hospital in Puyang City from April 2018 to April 2020 were selected for study. They were divided into groups A and B according to whether SAP occurred or not. 85 patients in group A developed SAP, and 70 patients in group B did not. The general data of the two groups of patients and the levels of serum PCT, CRP and CRP/Alb were detected on the 2nd day after admission, and the clinical pulmonary infection score (CPIS) was calculated. According to the results of univariate analysis, meaningful indicators were included in multivariate logistic regression, the correlation between CPIS and each indicator was analyzed by person correlation, and the value of each indicator in predicting SAP was detected by ROC curve. **Results** The levels of PCT, CRP, CRP/ALB and CPIS in group A were significantly higher than those in group B ( $P<0.05$ ). Logistic regression analysis showed that PCT, CRP, CRP/ALB and CPIS were significant related factors or influencing factors for the occurrence of SAP ( $P<0.05$ ). The results of Person correlation analysis showed that CPIS score was positively correlated with PCT, CRP and CRP/ALB indexes ( $P<0.05$ ). The

基金项目:濮阳市安阳地区医院新技术/新项目(160229)

作者单位:濮阳市安阳地区医院康复医学科,河南,安阳455000

\*通信作者:胡超胜, E-mail:hcs15136510679@163.com

AUC of PCT, CRP, CRP/ALB and CPIS in the diagnosis of SAP were 0.877, 0.811, 0.778 and 0.868, respectively. **Conclusion** The levels of PCT, CRP and CRP/ALB have predictive diagnostic value for SAP in elderly CIS patients and can be used as clinical basis to judge the disease condition in the future.

**[KEY WORDS]** PCT; CRP; Albumin; CIS; SAP

缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS)是脑血管疾病的一种,常受遗传或环境因素影响<sup>[1-2]</sup>,主要由于缺血缺氧引起脑组织性坏死产生病变,常与脂质沉积、过氧化造成的动脉粥样硬化有关,且一定程度上破坏神经细胞<sup>[3-4]</sup>。CIS近年来在我国发病率居高不下,以老年人为高发群体,病情严重将危及患者的生命安全<sup>[5]</sup>。卒中相关性肺炎(Stroke associated pneumonia, SAP)是该类患者常见的并发症类型<sup>[6-7]</sup>,对早期预测CIS患者是否会发生SAP已经成为医护人员共同关注的问题。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平升高预示机体损伤或感染,研究证实其与炎症反应相关<sup>[8]</sup>;白蛋白(Albumin, Alb)常用于反应机体抵抗病毒能力,目前CPR/Alb比值多用于评价脑血管疾病、癌症等病情中<sup>[9]</sup>。降钙素原(Procalcitonin, PCT)在正常人血清中含量极低,较难释放到人体血液中,当出现病毒或感染症状时,PCT水平会达到异常,该指标常在慢性肺炎、系统炎症反应综合征等患者中运用,对于细菌感染敏感度较高<sup>[10]</sup>。本研究通过对145例患者临床资料进行分析,旨在为该类患者预防SAP提供科学证据。报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取濮阳市安阳地区医院老年科2018年4月至2020年4月收治的155例老年CIS患者作为研究对象。按是否出现SAP分为A、B组,A组85例CIS患者出现SAP,其中男51例,女34例,平均年龄(68.21±5.24)岁;B组70例患者未出现SAP,其中男40例,女30例,平均年龄(69.31±4.71)岁。

纳入标准:①均符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》<sup>[11]</sup>中关于CIS患者诊断标准;②年龄≥60岁;③首次发病或既往脑卒中后不存在明显后遗症;④临床资料均完整;⑤入院前均未出现肺部感染,发病24h内均未出现肺炎;排除标准:①有恶性肿瘤及自身免疫性疾病;②入院前有肺炎临床症状和相近疾病。患者及家属均知情且签

署同意书,研究经过医学伦理委员会批准。

### 1.2 方法

检测指标及方法:患者入院后第2天进行血液样本采集,清晨采空腹静脉血5mL,将其分为两部分存储,一部分存于抗凝管内一部分离心并取上层血清,在-80℃环境内保存待测。PCT检测采用增强化学发光法,试剂盒购自广东虹业抗体科技有限公司;采用免疫比浊法检测CRP和Alb水平,试剂盒购自上海依科赛生物制品。试验过程均严格按照说明书进行操作。

临床肺部感染评分(clinical pulmonary infection score, CPIS)量表<sup>[12]</sup>:在患者入院后第2天进行CPIS评分,主要由:体温、白细胞计数、气管分泌物、氧合指数、胸片组成,总分为各项评分之和,总分为9分,分数越高代表患者感染越严重,若<6分则停止抗生素使用,≥6分预示死亡风险较高。

### 1.3 统计学处理

使用SPSS 23.0软件进行统计分析。计量数据均通过正态性检验,以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述。两组间的比较用 $t$ 检验。计数资料以 $n(\%)$ 描述。行 $\chi^2$ 检验。相关分析为Pearson相关检验。影响因素的综合分析为多因素非条件Logistic回归,采用逐步后退法进行变量的选择和剔除。诊断评估价值分析为ROC分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者一般临床资料比较

两组患者性别、年龄、高血压史(有/无)、糖尿病史(有/无)、冠心病(有/无)、BMI等一般资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

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

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

组别	$n$	性别 (男女)	年龄 (岁)	高血压史 (有/无)	糖尿病史 (有/无)	冠心病 (有/无)	BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )
A组	85	51/34	68.21±5.24	56/29	32/53	11/74	24.65±3.67
B组	70	40/30	69.31±4.71	42/28	27/43	8/62	23.84±3.59
$\chi^2/t$ 值		0.129	1.361	0.571	0.014	0.082	1.381
$P$ 值		0.719	0.176	0.450	0.906	0.775	0.169

## 2.2 两组患者PCT、CRP、CRP/Alb比值及CPIS量表评分

A组患者PCT、CRP、CRP/Alb及CPIS水平均高于B组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );A组Alb水平低于B组,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

表2 两组患者PCT、CRP、CRP/Alb比值及CPIS量表评分比较结果( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison results of PCT, CRP, CRP/Alb ratio and CPIS scale score between two groups of patients ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	PCT (ng/mL)	CRP (mg/L)	Alb (g/L)	CRP/Alb	CPIS
A组	85	0.84±0.25	34.15±9.24	39.18±3.65	0.89±0.24	6.56±0.58
B组	70	0.15±0.05	17.56±8.05	40.25±3.27	0.48±0.18	3.21±0.47
t值		22.708	11.783	1.903	11.814	38.926
P值		0.000	0.000	0.059	0.000	0.000

## 2.3 Logistic回归性分析

建立非条件Logistic回归模型,以老年CIS患者是否出现SAP状况为应变量,赋值1=出现(A组样本),0=否(B组样本)。以前述单因素分析(表1和表2)中 $P<0.10$ 的指标/因素为自变量。为提高统计效率并使回归结果易于解释,各指标均以两组总均值为界值转化成两分类变量。回归过程采用逐步后退法,以进行自变量的选择和剔除,设定 $\alpha_{剔除}=0.10, \alpha_{入选}=0.05$ 。回归结果显示:PCT、CRP、CRP/Alb、CPIS均为SAP发生的显著关联因素或影响因素( $P<0.05$ )。见表3。

## 2.4 PCT、CRP、CRP/Alb比值与CPIS的相关性分析

Person相关分析结果显示,CPIS评分与PCT、CRP、CRP/Alb指标均呈正相关关系( $P<0.05$ ),与Alb无关( $P>0.05$ )。见表4。

表4 PCT、CRP、CRP/Alb比值与CPIS相关性分析结果

Table 4 Correlation analysis results of PCT, CRP, CRP/Alb ratio and CPIS

项目	PCT (ng/mL)	CRP (mg/L)	Alb (g/L)	CRP/Alb
CPIS	r值 0.552	0.496	0.246	0.431
	P值 0.000	0.000	0.083	0.000

## 2.5 ROC曲线分析

进一步探讨PCT、CRP、CRP/Alb比值及CPIS等4项指标对老年CIS患者SAP的早期诊断评估价值,结果显示上述指标具有较高的早期诊断价值,AUC分别为0.877、0.811、0.778、0.868。见表5、图1。

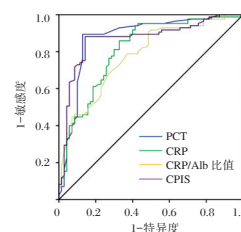


图1 各指标诊断SAP的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of each index to diagnose SAP

## 3 讨论

CIS的发生率随着年纪的增长而上升,且老年患者往往出现预后不良。SAP是老年患者CIS后常出现的并发症之一,且发生率最高达22%<sup>[13]</sup>,不仅给患者身心带来伤害,还增加了治疗费用及延长住院时间。SAP的出现与CIS后患者的吞咽功能与认知水平受到影响有关,导致了误吸的情况出现,口腔定植菌吸入后易导致SAP的发生。CIS后出现SAP的起病相对缓慢,不易察觉,多靠临床经验进行抗生素治疗,常出现误诊或延误治疗的

表3 Logistic回归结果

Table 3 Logistic regression results

因素	赋值说明	回归系数	标准误差	Wald $\chi^2$ 值	OR值	95% CI	P值
常数	-	-0.059	0.028	4.541			0.033
PCT	1= $\geq 0.50$ ng/mL, 0=否	1.281	0.395	10.546	3.602	1.662~7.806	0.001
CRP	1= $\geq 28$ mg/L, 0=否	0.354	0.154	5.281	1.425	1.053~1.928	0.021
CRP/Alb	1= $\geq 0.7$ , 0=否	0.532	0.194	7.501	1.703	1.163~2.493	0.006
CPIS	1= $\geq 4.5$ , 0=否	0.758	0.292	6.770	2.135	1.206~3.780	0.009

表5 ROC曲线分析结果

Table 5 ROC curve analysis results

指标	AUC	SE	95% CI	cut-off值	敏感度	特异度	约登指数	P值
PCT	0.877	0.031	0.816~0.938	0.50 ng/mL	0.894	0.871	0.765	0.000
CRP	0.811	0.035	0.742~0.881	28 mg/L	0.841	0.686	0.527	0.000
CRP/Alb	0.778	0.037	0.706~0.850	0.7	0.706	0.714	0.420	0.000
CPIS	0.868	0.031	0.807~0.929	4.5	0.882	0.857	0.739	0.000

情况<sup>[14]</sup>,给患者及其家人带来巨大的损失。因此,对老年CIS后是否发生SAP的早诊断、早治疗是医护人员共同关注的问题。PCT、CRP均为急性炎症反应标志物,常被运用在CIS的诊断及预后中,表现出较高的水平<sup>[15]</sup>。Alb常代表患者机体营养水平,当受到感染或存在肿瘤物时,其水平降低。本研究在研究PCT、CRP水平与发生SAP关系时加用CRP/Alb比值对患者是否发生SAP进行预测。

孙艳等<sup>[16]</sup>研究结果显示观察组CPIS评分显著高于对照组,与本研究结果一致;陈劲松等<sup>[17]</sup>研究表明,发生SAP患者的PCT及CRP指标水平均高于未发生SAP患者及正常对照组,提示该指标对于检验SAP具有较高的临床价值。本研究中A组患者PCT水平显著高于B组,这可能是由于PCT预示着患者机体受到感染和细菌入侵,其在一般人及未出现感染的患者中水平极低,SAP的发生预示着患者体内出现多种病原菌,当严重的细菌、真菌等感染及脏器功能衰竭时其在血清内表达量明显上升,能够将其作为监测细菌炎症感染的重要指标,在发生SAP后PCT水平异常升高,预示该指标可作为评估患者SAP病情的检测指标,若恢复正常水平则感染状况好转;周青等<sup>[18]</sup>研究指出,hs-CRP/Alb是急性STEMI急诊PCI术后发生不良心血管事件的危险因素,提示hs-CRP/Alb比值能够作为预测患者预后状况的重要指标,本研究结果显示CRP/Alb与老年CIS患者发生SAP密切相关,且诊断价值较高,CRP通过与血管内皮细胞上的免疫球蛋白G的Fc受体相结合,从而促进了白介素-8等多项水平因子的表达,与机体炎症、感染等事件的发生有关,一定程度上代表了患者机体受损的程度,因CRP是急性炎症反应蛋白,当患者受到损伤时,其水平升高;Alb通过肝实质细胞合成,在患者机体内发挥维持营养、渗透压等功能,Alb多用来评估营养状态,其能够被不同的组织细胞摄取,导致水平降低,Alb水平在多种危重疾病中呈现异常表达,当患者处于高代谢状况下Alb的消耗上升,患者抑制炎症的功能下降,从而促进了疾病进展,因此在患者出现SAP后该指标降低。CRP/Alb的比值既能够反映患者炎症状态水平,同时也能够代表患者的营养水平,故该指标能够直观、有效地应用在重症疾病患者预后的检查中,SAP患者的炎症与营养水平均为失衡状态。

综上所述,PCT、CRP、CRP/Alb以及CPIS等,均能作为老年CIS患者是否发生SAP的预测指

标,提示在今后临床工作中需密切关注以上指标水平,为患者的病情治疗保驾护航。

## 参考文献

- [1] 王新强,李斌,王小静,等. 老年轻型缺血性卒中患者认知障碍和卒中复发的危险因素分析[J]. 中华老年医学杂志, 2020, 39(1):23-26.
- [2] 黄敬,冯超,李俊雯,等. 急性非重症卒中相关性肺炎危险因素分析[J]. 同济大学学报(医学版), 2020, 41(3):303-308.
- [3] Li Y, Zhang Y, Ma L, et al. Risk of stroke-associated pneumonia during hospitalization: predictive ability of combined A2DS2 score and hyperglycemia[J]. BMC Neurol, 2019, 19(1):298.
- [4] Zapata-Arriaza E, Mancha F, Bustamante A, et al. Biomarkers predictive value for early diagnosis of Stroke-associated pneumonia[J]. Ann Clin Transl Neurol, 2019, 6(9):1882-1887.
- [5] 王婷,白琳,熊飞. 老年缺血性脑卒中后疲劳病人神经功能及远期预后的相关因素分析[J]. 实用老年医学, 2019, 33(9):871-875.
- [6] 方芳,舒怡,肖志杰. 卒中相关性肺炎的临床研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(11):1429-1434.
- [7] 俞书红,罗毅,郭志良,等. 嗜酸性粒细胞计数与急性缺血性卒中患者卒中相关性肺炎的相关性[J]. 国际脑血管病杂志, 2020, 28(5):355-359.
- [8] 葛仁美,林筱蓉,洪建军. 相关炎症反应因子在慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床价值研究[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(6):661-663.
- [9] 杨汉才,许志定,彭可科,等. CRP/Alb比值对老年急性缺血性脑卒中患者卒中相关性肺炎的预测价值[J]. 解放军医药杂志, 2020, 32(5):94-98.
- [10] 余玺,张珊珊,周晓欢,等. 血清PCT、hs-CRP及PA在老年肺部感染患者中的临床诊断价值[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(9):4076-4081.
- [11] 彭斌,吴波. 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.
- [12] 邓霁红,颜可,蒋汉刚. 血小板计数、降钙素原联合简化临床肺部感染评分预测卒中后肺部感染患者预后的价值[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17(2):147-150.
- [13] 王欢,宋毅军,李晨,等. 依达拉奉联合丁苯酞治疗老年急性缺血性脑卒中患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(10):1183-1186.
- [14] 张洋洋,莫延红,张兆辉. 脑卒中相关性肺炎的研究进展[J]. 卒中与神经疾病, 2020, 27(2):259-263.
- [15] 赵雅,陈会生,郑伟. 缺血性脑卒中患者外周血D-二聚体、hs-CRP及血小板参数在不同TOAST分型中的差异研究[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2):66-69.
- [16] 孙艳,吕喆,苏雪英,等. 纤维支气管镜肺泡灌洗辅助老年重症卒中相关性肺炎的效果观察[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(1):94-100.
- [17] 陈劲松,王丽娜. 老年SAP患者外周血T淋巴细胞亚群、血清PCT及hs-CRP水平变化的临床探析[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(2):187-190.
- [18] 周青,吴校林,润琦. hs-CRP/ALB对急性STEMI急诊PCI术后发生主要不良心血管事件的预测价值[J]. 山东医药, 2020, 60(7):21-25.

## PD-1、PD-L1与炎症标志物在胃癌患者中的相关性

刘文静 李侠\* 王崇 孙雪竹 陈开训 孙鹏摇

**【摘要】目的** 探讨程序性细胞死亡因子1(PD-1)、程序性细胞死亡因子配体1(PD-L1)与炎症标志物在胃癌患者中表达情况、相关性及临床意义。**方法** 选取中国人民解放军联勤保障部队第九〇一医院肿瘤一科2020年10月至2021年12月收治的92例胃癌患者作为观察组,另选取同期46例胃部良性病变患者作为对照组。比较两组血清PD-1、PD-L1、炎症标志物C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )表达水平,分析PD-1、PD-L1与炎症标志物在胃癌中的表达情况、相关性及联合检测的价值。**结果** 观察组血清PD-1、PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 水平高于对照组,差异有统计学意义( $t=6.030, 5.389, 12.142, 21.957, P<0.05$ )。观察组血清PD-1、PD-L1与CRP、TNF- $\alpha$ 呈正相关( $P<0.05$ )。血清PD-1与胃癌临床病理特征无明显相关性( $P<0.05$ )。血清PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 与胃癌临床分期、浸润程度呈正相关,与胃癌分化程度呈负相关( $P<0.05$ )。**结论** 胃癌患者血清PD-1、PD-L1与炎症标志物关系密切,PD-L1、炎症标志物对临床分期、浸润程度、分化程度有重要影响,能为临床诊治提供参考依据。

**【关键词】** 胃癌;程序性细胞死亡因子1;程序性细胞死亡因子配体1;C反应蛋白;肿瘤坏死因子- $\alpha$

### Correlation of PD-1/PD-L1 and inflammatory markers in gastric cancer patients

LIU Wenjing, LI Xia\*, WANG Chong, SUN Xuezhuzhu, CHEN Kaixun, SUN Pengyao

(Department of Oncology, the No. 901 Hospital of Joint Logistic Support Force of the PLA, Hefei, Anhui, China, 230001)

**【ABSTRACT】 Objective** To investigate the correlation and significance of programmed cell death 1 (PD-1)/programmed cell death ligand 1 (PD-L1) and inflammatory markers in gastric cancer patients. **Methods** A total of 92 gastric cancer patients admitted to the Department of Oncology, No. 901 Hospital of the Chinese People's Liberation Army Joint Logistics Support Force from October 2020 to December 2021 were selected as the observation group, and 46 patients with benign gastric lesions during the same period were selected as the control group. Serum PD-1, PD-L1 expression levels, inflammatory markers [C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )] levels were compared between the two groups, and PD-1, PD-L1 and inflammatory markers were analyzed. Correlation and joint detection value were evaluated. **Results** The serum levels of PD-1, PD-L1, CRP and TNF- $\alpha$  in the observation group were higher than those in the control group, the difference was statistically significant ( $t=6.030, 5.389, 12.142, 21.957, P<0.05$ ). Serum PD-1, PD-L1 in the observation group was positively correlated with CRP and TNF- $\alpha$  ( $P<0.05$ ). There was no significant correlation between serum PD-1 and clinicopathological characteristics of gastric cancer. Serum PD-L1, CRP, and TNF- $\alpha$  were positively correlated with the clinical stage and infiltration degree of gastric cancer, and negatively correlated with the degree of gastric cancer differentiation. **Conclusion** Serum PD-1 and PD-L1 in gastric cancer patients are closely related to inflammatory markers. PD-L1 and inflammatory markers have an important influence on clinical stage, degree of infiltration and degree of differentiation, which can provide a reference for clinical diagnosis and treatment.

**【KEY WORDS】** Gastric cancer; Programmed cell death factor 1; Programmed cell death factor ligand 1; C-reactive protein; Tumor necrosis factor-alpha

基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(1804h08020267)

作者单位:中国人民解放军联勤保障部队第九〇一医院肿瘤一科,安徽,合肥230001

\*通信作者:李侠, E-mail: bpdllwn@126.com

胃癌属于临床常见消化系统恶性肿瘤,发病率居高不下,且在全球范围内的所有恶性肿瘤致死率中居第二位,严重影响患者生存质量及生命安全<sup>[1-2]</sup>。临床实践证实,免疫逃逸是肿瘤发生的重要机制之一<sup>[3]</sup>。程序性死亡因子-1(Programmed death-1, PD-1)、程序性死亡因子配体-1(Programmed death-ligand-1, PD-L1)是肿瘤免疫逃逸机制中的关键分子,在下调抗肿瘤免疫功能中具有关键作用<sup>[4]</sup>。另有报道指出,炎症反应在肿瘤免疫逃逸过程中扮演重要角色,C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是临床常见炎症标志物,能够有效反映机体免疫反应的发生发展情况<sup>[5]</sup>。近年来,关于PD-1、PD-L1在胃肠道肿瘤的免疫治疗中得到广泛应用,但关于两者与胃癌患者炎症标志物的相关性及其意义仍有待明确。因此,本研究对该课题进行探讨,旨在为临床诊治提供相关数据支持。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取中国人民解放军联勤保障部队第九〇一医院肿瘤一科2020年10月至2021年12月收治的92例胃癌患者作为观察组,其中男61例,女31例,年龄平均(62.23 $\pm$ 3.42)岁,体质指数平均(22.46 $\pm$ 1.59) kg/m<sup>2</sup>。另选取同期46例胃部溃疡患者作为对照组,其中男29例,女17例,年龄平均(61.85 $\pm$ 4.03)岁,体质指数平均(22.71 $\pm$ 1.63) kg/m<sup>2</sup>。两组年龄、性别、体质指数等一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经本院伦理委员会审批通过。

### 1.2 选取标准

纳入标准:①均经影像学检查、胃镜活检明确诊断为胃癌、胃部良性溃疡<sup>[6]</sup>;②均为首次发病;③无免疫治疗、放疗、化疗史;④两组患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①合并严重心脑血管疾病者;②肝肾肺等其他重要脏器严重功能异常者;③伴有其他部位原发癌及肿瘤性疾病者;④存在自身免疫性疾病者;⑤妊娠期、哺乳期女性。

### 1.3 方法

于两组患者入院当日采集清晨空腹肘静脉血3 mL,以3 000 r/min的速率离心15 min,离心半径为13.5 cm,取上清液,于-70℃冰箱内保存备用。采用赛默飞Multiskan Sky全自动酶标仪以酶联免疫吸附法检测血清PD-1、PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 水

平,试剂盒购自美国R&D公司,所有操作步骤严格遵循试剂盒说明书。

### 1.4 观察指标

①两组血清PD-1、PD-L1及炎症标志物(CRP、TNF- $\alpha$ )表达水平。②观察组血清PD-1、PD-L1与CRP、TNF- $\alpha$ 相关性。③观察组不同病理特征患者血清PD-1、PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 表达水平。④血清PD-1、PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 与胃癌患者临床病理特征的关系。

### 1.5 统计学分析

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )描述,独立样本 $t$ 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, $\chi^2$ 检验;相关性分析采用Spearman/Pearson线性相关法。 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血清PD-1、PD-L1与炎症标志物表达水平

观察组血清PD-1、PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组血清PD-1、PD-L1与炎症标志物水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of serum PD-1, PD-L1 and inflammatory markers between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	PD-1 (pg/mL)	PD-L1 (pg/mL)	CRP (mg/L)	TNF- $\alpha$ (ng/L)
观察组	92	286.35 $\pm$ 50.38	352.77 $\pm$ 54.61	11.36 $\pm$ 3.63	16.84 $\pm$ 2.47
对照组	46	236.51 $\pm$ 34.62	304.34 $\pm$ 38.13	4.67 $\pm$ 1.22	7.95 $\pm$ 1.69
$t$ 值		6.030	5.389	12.142	21.957
$P$ 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 2.2 观察组血清PD-1、PD-L1与炎症标志物相关性

Pearson相关性分析,观察组血清PD-1、PD-L1与CRP、TNF- $\alpha$ 呈正相关( $r=0.699$ 、 $0.713$ 、 $0.712$ 、 $0.737$ , $P$ 均 $<0.05$ )。

### 2.3 观察组不同病理特征患者血清PD-1、PD-L1及炎症标志物检测水平

观察组不同病理特征患者年龄、性别、肿瘤直径患者血清PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 、PD-1水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );观察组不同临床分期、浸润程度、分化程度患者血清PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.4 PD-1、PD-L1、炎症标志物与胃癌病理特征的关系

Spearman相关性分析,血清PD-L1与胃癌临床病理特征无明显相关性( $P > 0.05$ );血清PD-1、CRP、TNF- $\alpha$ 与胃癌临床分期、浸润程度呈正相关,与胃癌分化程度呈负相关( $P < 0.05$ )。见表3。

表2 观察组不同病理特征患者血清PD-1、PD-L1、炎症标志物水平比较( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Comparison of serum PD-1, PD-L1 and inflammatory markers in patients with different pathological characteristics in the observation group ( $\bar{x} \pm s$ )

病理特征		<i>n</i>	PD-1 (pg/mL)	PD-L1 (pg/mL)	CRP (mg/L)	TNF- $\alpha$ (ng/L)
性别	男	61	284.43 $\pm$ 48.76	354.25 $\pm$ 40.21	11.14 $\pm$ 3.12	16.60 $\pm$ 2.34
	女	31	290.13 $\pm$ 52.91	349.86 $\pm$ 42.33	11.79 $\pm$ 2.75	17.31 $\pm$ 2.06
	<i>t</i> 值		0.515	0.486	0.982	1.430
	<i>P</i> 值		0.608	0.628	0.329	0.156
年龄(岁)	<60	42	289.38 $\pm$ 46.23	355.61 $\pm$ 37.14	11.08 $\pm$ 3.09	16.48 $\pm$ 2.09
	$\geq$ 60	50	283.80 $\pm$ 50.87	350.38 $\pm$ 50.08	11.60 $\pm$ 2.93	17.14 $\pm$ 2.20
	<i>t</i> 值		0.546	0.560	0.827	1.466
	<i>P</i> 值		0.586	0.577	0.410	0.146
肿瘤直径(cm)	<5	65	283.92 $\pm$ 49.10	350.93 $\pm$ 34.62	11.18 $\pm$ 3.11	16.65 $\pm$ 2.41
	$\geq$ 5	27	292.20 $\pm$ 54.57	357.20 $\pm$ 48.31	11.79 $\pm$ 3.24	17.30 $\pm$ 2.18
	<i>t</i> 值		0.713	0.701	0.846	1.210
	<i>P</i> 值		0.478	0.485	0.400	0.229
临床分期	I~II	30	282.47 $\pm$ 40.22	327.11 $\pm$ 38.23	7.27 $\pm$ 2.04	13.74 $\pm$ 1.90
	III~IV	62	288.23 $\pm$ 51.13	365.19 $\pm$ 49.77	13.34 $\pm$ 3.19	18.34 $\pm$ 2.33
	<i>t</i> 值		0.541	3.693	9.509	9.399
	<i>P</i> 值		0.590	<0.001	<0.001	<0.001
分化程度	低分化	37	290.13 $\pm$ 58.42	376.57 $\pm$ 55.18	14.11 $\pm$ 3.35	19.21 $\pm$ 2.40
	中高分化	55	283.81 $\pm$ 41.58	336.76 $\pm$ 36.24	9.51 $\pm$ 2.47	15.25 $\pm$ 1.76
	<i>t</i> 值		0.606	4.180	7.578	9.127
	<i>P</i> 值		0.546	<0.001	<0.001	<0.001
浸润程度(级)	T1~T2	28	284.08 $\pm$ 40.23	328.41 $\pm$ 32.51	7.56 $\pm$ 2.02	13.31 $\pm$ 1.87
	T3~T4	64	287.34 $\pm$ 56.60	363.43 $\pm$ 52.27	13.02 $\pm$ 3.13	18.38 $\pm$ 2.21
	<i>t</i> 值		0.276	3.273	8.476	10.586
	<i>P</i> 值		0.784	0.002	<0.001	<0.001

表3 PD-1、PD-L1、炎症标志物与胃癌病理特征的关系

Table 3 Relationship between PD-1, PD-L1, inflammatory markers and pathological features of gastric cancer

项目	性别		年龄		肿瘤直径		临床分期		分化程度		浸润深度	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
PD-1	0.146	0.985	0.203	0.874	0.211	0.806	0.218	0.742	-0.209	0.824	0.201	0.904
PD-L1	0.178	0.943	0.216	0.738	0.225	0.724	0.655	<0.001	-0.682	<0.001	0.703	<0.001
CRP	0.186	0.917	0.193	0.922	0.190	0.938	0.721	<0.001	-0.735	<0.001	0.706	<0.001
TNF- $\alpha$	0.201	0.900	0.217	0.715	0.208	0.809	0.764	<0.001	-0.719	<0.001	0.733	<0.001

### 3 讨论

目前,临床认为胃癌发病机制较为复杂,除了抑癌基因失活、癌基因激活之外,免疫逃逸在其发生和病情进展中也发挥重要作用<sup>[7]</sup>。因此,积极探索免疫逃逸相关分子在胃癌中的水平变化及检测价值具有重要意义。PD-1属于免疫抑制分子,PD-L1是PD-1配体,两者参与免疫耐受、免疫抑制性疾病过程。既往国内外相关研究均显示,PD-1/PD-L1是肿瘤免疫逃逸的重要靶点<sup>[8-9]</sup>。胡赞等<sup>[10]</sup>报道指出,PD-1、PD-L1在胃癌组织中呈明显升高表达。本研究结果显示,观察组血清PD-1、PD-L1水平高于对照组,可见PD-1、PD-L1不仅在胃癌组织中高表达,也在血液中显著升高,且相对

于组织检测而言,血清水平检测更为方便、快捷。分析PD-1、PD-L1表达升高的原因在于:PD-1可作为阶段性抑制T细胞免疫检查点,经由多种基因作用效应抑制T细胞功能,活化Treg细胞,从而加速肿瘤发生,还可通过影响PD-L1表达干扰肿瘤细胞的免疫耐受,进一步促进肿瘤细胞生长、分化<sup>[11]</sup>。同时,PD-1与PD-L1结合后会上调转录因子BATF表达,对抗CD28和TCR共同刺激产生的下游信号,导致效应性T细胞活性下降;还能造成T细胞胞质磷酸化,与蛋白酪氨酸磷酸化酶结合后形成SHP-2,抑制PI3K、ZAP-70等分子,下调PI3K/AKT信号通路,进一步抑制T细胞功能,因此在肿瘤发生过程中发挥促进作用<sup>[12-13]</sup>。

临床研究表明,肿瘤免疫逃逸过程中伴随不同程度的炎症反应,且炎症反应具有促进肿瘤免疫逃逸作用<sup>[14]</sup>。CRP属于急性时相反应蛋白,在机体受到组织损伤、微生物感染等炎症刺激时急剧升高,而急性时相反应是恶性肿瘤普遍存在的现象<sup>[15]</sup>。TNF- $\alpha$ 是炎症反应中最早出现的炎性介质,主要来源于巨噬细胞,能够激活淋巴细胞、中性粒细胞,增加血管内皮通透性,促使其他炎性细胞因子释放<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,胃癌患者血清CRP、TNF- $\alpha$ 明显升高,且与PD-1、PD-L1显著相关,分析原因,主要是由于肿瘤本身会促进巨噬细胞浸润,加快正常组织坏死,刺激炎性细胞生成,从而组成肿瘤微环境,导致CRP水平显著升高,TNF- $\alpha$ 是内源性肿瘤的促进因素,具有刺激肿瘤细胞生长、增殖、转移及肿瘤组织新生血管生成等作用<sup>[17-18]</sup>,推测炎症反应是通过上述机制为肿瘤免疫逃逸创造有利条件,从而加快肿瘤免疫逃逸。

相关性分析,血清PD-L1、CRP、TNF- $\alpha$ 与胃癌临床分期、浸润程度呈正相关,与胃癌分化程度呈负相关,是由于PD-L1作为I型穿膜蛋白,通常可直接作用于细胞膜,激活并增加致癌基因活性,促进肿瘤细胞增殖、浸润、转移,从而与临床病理进展密切相关<sup>[19]</sup>。而炎症反应随着肿瘤进展呈不断加重趋势,故CRP、TNF- $\alpha$ 与胃癌病理特征联系紧密。但本研究显示,血清PD-1与胃癌临床病理特征无明显相关性,与郭晓宇等<sup>[20]</sup>报道中胃癌组织PD-1表达水平与浸润深度显著相关的结果不一致,可能与检测部位、纳入对象不一及病情差异等原因有关。

综上所述,胃癌患者血清PD-1、PD-L1与炎症标志物联系紧密,PD-L1、炎症标志物对临床分期、浸润程度、分化程度有重要影响,能为临床诊治提供参考依据。本研究不足之处:未详细探讨PD-1、PD-L1及炎症标志物在胃癌免疫治疗及预后中的应用价值,今后需继续收集病例,做进一步研究,以获取更为全面的数据支持。

## 参考文献

- [1] 罗熙平,王志伦,文薇,等. 2015-2019年巴中市居民恶性肿瘤死因分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(2): 218-220.
- [2] Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 264-279.
- [3] 黄京华,金东春,韩亨敏,等. IL-12调控胃癌细胞凋亡及免疫逃逸因子分泌机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28(3): 178-183.
- [4] 李昊,穆林松,吕亮宏,等. 程序性死亡受体1及其配体在肿瘤微环境中的作用及其抑制剂在晚期胃癌治疗中的研究进展[J]. 癌症进展, 2020, 18(19): 1969-1973+2025.
- [5] 赵伟光,刘志宏. 肿瘤相关成纤维细胞调控肿瘤免疫炎症微环境的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(9): 1288-1293.
- [6] 中国抗癌协会胃癌专业委员会. 胃癌诊治难点中国专家共识(2020版)[J]. 中国实用外科杂志, 2020, 40(8): 869-904.
- [7] 郑乃盛,汪婷婷,袁向亮,等. 肿瘤相关巨噬细胞来源外泌体激活IFN通路促进胃癌细胞免疫逃逸[J]. 现代免疫学, 2021, 41(1): 24-31.
- [8] 杜晓丽,张东明,徐洪. 卵巢癌组织中PD-1、PD-L1和Cyclin D1蛋白表达与预后的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(10): 1680-1684.
- [9] Mimura K, Kua LF, Xiao JF, et al. Combined inhibition of PD-1/PD-L1, Lag-3, and Tim-3 axes augments antitumor immunity in gastric cancer-T cell coculture models[J]. Gastric Cancer, 2021, 24(3): 611-623.
- [10] 胡赞,张艳胜. PD-1与PD-L1在胃癌组织中的表达及对预后评估的价值[J]. 现代实用医学, 2020, 32(7): 759-761+封3-封4.
- [11] Hu X, Wang J, Chu M, et al. Emerging Role of Ubiquitination in the Regulation of PD-1/PD-L1 in Cancer Immunotherapy[J]. Mol Ther, 2021, 29(3): 908-919.
- [12] 王蕤,张锦. PD-1和PD-L1在老年胃癌患者外周血T淋巴细胞和组织中的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2021, 28(5): 565-568.
- [13] 姜玲,林芷伊,李娜,等. 非小细胞肺癌PD-1/PD-L1的表达与EGFR突变相关性研究[J]. 中国肺癌杂志, 2021, 24(9): 623-631.
- [14] 牛玉苗,严翔,齐宏妍,等. 肿瘤微环境中主要炎症细胞因子对PD-L1表达调控的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(9): 1704-1708.
- [15] Yu J, Liu H, Zeng X, et al. Prognostic and clinicopathological significance of C-reactive protein/albumin ratio (CAR) in patients with gastric cancer: A meta-analysis[J]. PLoS One, 2021, 16(4): e0250295.
- [16] 余书翰. 血清IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 联合IL-6水平检测对胃癌的诊断价值研究[J]. 医学检验与临床, 2021, 32(10): 62-64.
- [17] Yue L, Lu Y, Li Y, et al. Prognostic Value of C-Reactive Protein to Albumin Ratio in Gastric Cancer: A Meta-Analysis[J]. Nutr Cancer, 2021, (10): 1864-1871.
- [18] Roşu MC, Mihnea PD, Ardelean A, et al. Clinical significance of tumor necrosis factor-alpha and carcinoembryonic antigen in gastric cancer[J]. J Med Life, 2022, 15(1): 4-6.
- [19] Schoemig-Markiefka B, Eschbach J, Scheel AH, et al. Optimized PD-L1 scoring of gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2021, 24(5): 1115-1122.
- [20] 郭晓宇,米建强,米优嘉,等. 胃癌组织中PD-1、PD-L1表达变化及其意义[J]. 山东医药, 2020, 60(12): 50-52.



# TSLP、Bach2 及 IL-9 在嗜酸性粒细胞浸润鼻息肉中的表达及临床意义

魏鑫鑫\* 李晓玲 黄维平 尹中普

**[摘要]** **目的** 探讨胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、BTB与CNC同源基因2(Bach2)、白介素-9(IL-9)在嗜酸性粒细胞浸润鼻息肉(Eos NPs)中的表达情况及临床意义。**方法** 收集2017年2月至2019年2月于南阳市中心医院行鼻内镜手术的85例Eos NPs患者的85份下鼻甲组织(实验组),根据Eos NPs分期标准分为:Ⅱ型2期37例,Ⅱ型3期48例;同时选取52例行单纯鼻中隔矫正术患者的52份下鼻甲组织(对照组)。比较不同组织、分期的TSLP、Bach2、IL-9水平,绘制ROC曲线,分析TSLP、Bach2、IL-9三者单一检测及联合检测对Eos NPs诊断的灵敏度、特异度及AUC数值。**结果** 实验组TSLP、IL-9水平明显高于对照组,Bach2阳性表达率明显低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。在不同分期中,Ⅱ型3期的TSLP、IL-9水平明显高于Ⅱ型2期,Bach2阳性表达率明显低于Ⅱ型2期,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。*Pearson*相关性显示,TSLP、IL-9与Eos NPs分期呈正相关( $R=0.625, P=0.036$ ;  $R=0.893, P=0.027$ ),Bach2与Eos NPs分期呈负相关( $R=-0.832, P=0.049$ )。TSLP、Bach2、IL-9三者联合检测诊断Eos NPs的灵敏度、特异度及AUC分别为94.52%、90.66%、0.926,显著高于单一检测( $P<0.05$ )。**结论** TSLP、Bach2、IL-9的表达水平与Eos NPs有关,联合三者检测诊断Eos NPs的意义重大。

**[关键词]** TSLP; Bach2; IL-9; 嗜酸性粒细胞; 鼻息肉

## Expression and clinical significance of TSLP, Bach2, and IL-9 in eosinophilic infiltrating nasal polyps

WEI Xinxin\*, LI Xiaoling, HUANG Weiping, YIN Zhongpu

(Department of Otolaryngology Head and Neck surgery, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the expression and clinical significance of thymic stromal lymphopoietin (TSLP), BTB and CNC homolog 2 (Bach2), and interleukin - 9 (IL - 9) in eosinophilic infiltrating nasal polyps (Eos NPs). **Methods** 85 inferior turbinate tissues from 85 Eos NPs patients who underwent endoscopic sinus surgery in Nanyang Central Hospita from February 2017 to February 2019 were collected (experimental group). According to the Eos NPs staging standard, they were divided into: 37 cases of type II stage 2 and 48 cases of type II stage 3. At the same time, 52 inferior turbinate tissues of 52 cases who underwent simple septal correction surgery were also collected (control group). The levels of TSLP, Bach2, and IL - 9 in different tissues and stages were compared, and the ROC curve was drawn to analyze the sensitivity, specificity and AUC value of TSLP, Bach2, and IL-9 single detection and combined detection for the diagnosis of Eos NPs. **Results** The levels of TSLP and IL-9 in the experimental group were significantly higher than those in the control group, the positive expression rate of Bach2 was significantly lower than in the control group, and the difference was statistical significance ( $P<0.05$ ). In different stages, the levels of TSLP and IL-9 in type II stage 3 were significantly higher than those in type II stage 2, and the positive expression rate

基金项目:河南省科技攻关项目(16210213135)

作者单位:南阳市中心医院耳鼻咽喉头颈外科,河南,南阳 473000

\*通信作者:魏鑫鑫, E-mail: cuiliangchen@126.com

of Bach2 was significantly lower than that in type II stage 2 ( $P<0.05$ ). Pearson correlation showed that TSLP and IL-9 were positively correlated with Eos NPs staging ( $R=0.625$ ,  $P=0.036$ ;  $R=0.893$ ;  $P=0.027$ ), Bach2 was negatively correlated with Eos NPs staging ( $R=-0.832$ ,  $P=0.049$ ). The sensitivity, specificity and AUC of TSLP, Bach2 and IL-9 combined detection in the diagnosis of Eos NPs were 94.52%, 90.66% and 0.926, respectively, which were significantly higher than those of the three single detection ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression levels of TSLP, Bach2, and IL-9 are related to Eos NPs, and the combined detection of the three is of great significance in the diagnosis of Eos NPs.

**[KEY WORDS]** TSLP; Bach2; IL-9; Eosinophils; Nasal polyps

鼻息肉(Nasal polyps, NP)是一种常见的鼻腔或黏膜组织的良性增生,可形成于鼻窦或鼻腔黏膜的任何部位中,多见于慢性鼻窦炎鼻息肉(Chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNPs)<sup>[1]</sup>。既往研究显示,CRSwNPs的主要特征是以嗜酸性粒细胞浸润增多为主,且细胞因子在其发病机制中发挥着重大作用<sup>[2-3]</sup>。胸腺基质淋巴细胞生成素(Thymic stromal lymphopoietin, TSLP)是一种类似IL-7的细胞因子,能介导辅助性T细胞2(T helper 2 cell, Th2)炎性反应,促进Th2的产生。BTB与CNC同源基因2(BTB and CNC homology 2, Bach2)是一类大分子的转录抑制因子,定位于人的6号染色体长臂中,能调节和维持Th2免疫反应,促进Treg细胞的分化,有效避免致死性的炎症反应。白细胞介素-9(Interleukin-9, IL-9)是一种促炎症因子,在微生物感染、免疫应答、肿瘤发生等病理过程中发挥着重要作用。本研究就TSLP、Bach2、IL-9在嗜酸性粒细胞浸润鼻息肉(Eosinophilic infiltrating nasal polyps, Eos NPs)中的表达及临床意义进行探讨,现研究报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集2017年2月至2019年2月于南阳市中心医院行鼻内镜手术的85例Eos NPs患者(共85份下鼻甲组织)设为实验组,其中男49例,女36例,平均年龄(43.59±9.26)岁。根据Eos NPs分期标准<sup>[4]</sup>分为:II型2期37例,II型3期48例。纳入标准:①Eos NPs均符合《中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南》标准<sup>[5]</sup>;②所有入组患者均无鼻部手术史;③术前1个月未用抗生素、糖皮质激素等药物;④慢性鼻窦炎伴多发性鼻息肉。排除标准:①精神病史者;②过敏性鼻炎患者;③合并其他恶性肿瘤患者。

收集同一时期在本院行单纯鼻中隔矫正术的52例患者(共52份下鼻甲组织)设为对照组。其

中男28例,女24例,平均年龄(43.07±8.59)岁。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通过,受试者均签署知情同意书。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 TSLP、Bach2检测方法

采用SP免疫组化染色检测TSLP、Bach2表达情况。每例组织蜡块均切片4张,厚度约4 μm。所有标本均经甲醛溶液固定,石蜡包埋、载玻片泡酸、高温灭菌及多聚赖氨酸涂片等处理。DAB显色剂显色,苏木精复染,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封固。免疫组织化学染色试剂盒TSLP、Bach2兔多克隆抗体采购自上海优宁维生物科技公司,严格按照试剂盒说明进行操作。

#### 1.2.2 TSLP、Bach2判定标准<sup>[6]</sup>

TSLP主要表达于粘膜上皮细胞和间质炎症细胞的细胞浆或细胞核上,其阳性表达组织染色较深,呈棕黄色或者棕褐色。Bach2主要表达于粘膜上皮层细胞核内,其阳性表达组织染色较浅,且染色颗粒较少。每个标本随机选取5个高倍(×400)视野,结果由两位高年资医师采用双盲法阅片得到。以细胞浆或细胞核中出现黄色颗粒者设为阳性。根据阳性细胞的百分比及显色程度分级:①阳性细胞百分比:无细胞显色者为0分;阳性细胞的百分比1%~25%时为1分;阳性细胞的百分比26%~50%时为2分;阳性细胞的百分比>50%时为3分。②显色程度:无着色或显色不清楚为0分;淡黄色者为1分;棕黄色者为2分;黄褐色或棕褐色为3分。将两种评分综合作为切片的最终评分,>3分为阳性。

#### 1.2.3 IL-9检测方法

采集两组患者空腹静脉血样10 mL,常温静置10 min后,经3 500 r/min( $r=10$  cm)离心10 min处理,分离血清置于-20℃冰箱内待检。采用ELISA检测血清中IL-9水平,ELISA试剂盒采购自美国

Elabscience 公司,严格按照试剂盒说明进行操作。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析。计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,采用  $t$  检验;计数资料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;相关性采用 Pearson 相关性分析;采用受试者工作特征曲线(Receiver operating characteristic curve, ROC)评估诊断价值,计算曲线下面积(Area under curve, 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 两组 TSLP、Bach2、IL-9 表达情况比较

实验组 TSLP 的阳性率及 IL-9 水平均高于对照组, Bach2 的阳性率低于对照组,差异有统计学意义  $P < 0.05$ 。见表 1、图 1。

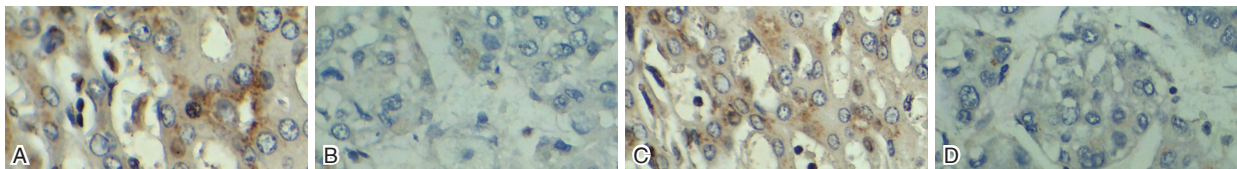
表 1 两组 TSLP、Bach2、IL-9 表达情况比较  $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

Table 1 Comparison of the expression of TSLP, Bach2, and IL-9 between the two groups  $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

组别	n	TSLP		Bach2		IL-9 (pg/mL)
		阳性	阴性	阳性	阴性	
对照组	52	11(21.15)	41(78.85)	42(80.77)	10(19.23)	3.58±0.26
实验组	85	72(84.71)	13(15.29)	27(31.76)	58(68.24)	6.97±1.19
$t/\chi^2$ 值		54.567		30.993		20.211
P 值		<0.001		<0.001		<0.001

### 2.2 不同分期 Eos NPs 的 TSLP、Bach2、IL-9 表达情况比较

II 型 2 期的 TSLP 阳性率、IL-9 水平低于 II 型 3 期, Bach2 阳性率高于 II 型 3 期,差异有统计学意义  $(P < 0.05)$ , 见表 2。



注:A 为 TSLP 阳性表达; B 为 TSLP 阴性表达; C 为 Bach2 阳性表达; D 为 Bach2 阴性表达。

图 1 TSLP、Bach2 免疫组化染色图 (SP, ×500)

Figure 1 TSLP, Bach2 immunohistochemical dyeing map (SP, ×500)

表 2 不同分期 Eos NPs 的 TSLP、Bach2、IL-9 表达情况比较  $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

Table 2 Comparison of TSLP, Bach2, and IL-9 expression of Eos NPs in different stages  $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

类别	n	TSLP		Bach2		IL-9 (pg/mL)	
		阳性	阴性	阳性	阴性		
Eos NPs 分型	II 型 2 期	37	26(70.27)	11(29.73)	21(56.76)	16(43.24)	6.34±0.82
	II 型 3 期	48	46(95.83)	2(4.167)	6(12.50)	42(87.50)	7.45±1.48
$t/\chi^2$ 值		10.539		18.881		4.099	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	

### 2.3 三项指标与不同分期 Eos NPs 的相关性分析

Pearson 相关性显示, TSLP、IL-9 与 Eos NPs 分期呈正相关  $(R=0.625, P=0.036; R=0.893, P=0.027)$ , Bach2 与 Eos NPs 分期呈负相关  $(R=-0.875, P=0.027)$ 。

### 2.4 三项指标对 Eos NPs 患者的诊断价值

联合 TSLP、Bach2、IL-9 检测诊断 Eos NPs 的灵敏度(0.945)、特异度(0.907)、AUC(0.926)均显著高于单一指标检测  $(P < 0.05)$ 。见表 3、图 2。

表 3 三项指标对 Eos NPs 患者的诊断价值

Table 3 The diagnostic value of three indicators for Eos NPs patients

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	P 值
TSLP	0.892	0.785	0.784	0.685~0.882	<0.001
Bach2	0.878	0.751	0.840	0.748~0.931	<0.001
IL-9	0.908	0.845	0.827	0.734~0.920	<0.001
三者联合检测	0.945	0.907	0.926	0.876~0.976	<0.001

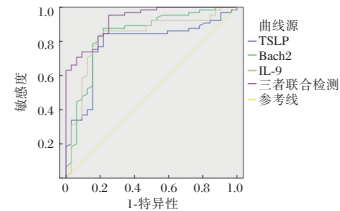


图 2 ROC 曲线图

Figure 2 ROC curve

## 3 讨论

Eos NPs 是慢性鼻窦炎伴鼻息肉的一种,在东亚发生率较低,但近年来相关研究数据显示,亚洲 Eos NPs 比例在未来仍有继续增加的趋势<sup>[7]</sup>。探讨相关细胞因子在 Eos NPs 中的表达,对于 Eos NPs 的发生机制和诊断价值有着至关重要的意义。

TSLP是一种主要来源于上皮细胞、肥大细胞的细胞因子,能够促进Th2型炎症反应的发生。TSLP与树突状细胞的受体结合,通过表达CD4<sup>+</sup>的T细胞,促进白介素-4(Interleukin-4,IL-4)等因子的产生,增强Th2的免疫应答作用<sup>[8]</sup>。IL-9作为一种炎性因子,可作用于多种炎症细胞,参与气道炎症反应<sup>[9]</sup>。Bach2主要表达于T细胞及B细胞中,近年研究显示,Bach2可维持细胞免疫稳态,促进Th2型免疫应答<sup>[10]</sup>。本次研究结果显示:实验组TSLP的阳性率及IL-9水平均高于对照组,Bach2的阳性率低于对照组,提示TSLP、Bach2、IL-9在CRSwNP发病过程中发挥重要作用,与张佩珊等<sup>[11]</sup>研究中Eos NPs患者IL-9、TSLP升高及吴君等<sup>[12]</sup>研究中Eos NPs患者Bach2低表达结果一致。

研究发现,IL-9表达于人外周血中的嗜酸性粒细胞表面,参与过敏性疾病的炎症反应,IL-9水平升高可促进机体全身和鼻腔局部的免疫炎症反应,使各种炎症细胞和炎症因子向炎症部位迁移,加重鼻腔局部组织损伤和粘膜重塑,促进Eos NPs的发展<sup>[13]</sup>。大量的细胞类型已经被证明能够在体内和体外对TSLP产生反应,如T细胞被TSLP刺激时可促进CD4<sup>+</sup>T细胞向Th2细胞分化,从而促进Th2的免疫应答作用<sup>[14]</sup>。吴君等<sup>[12]</sup>研究表明:Eos NPs疾病发展中,Bach2基因可负向调节嗜酸性炎症机制。气道上皮细胞在接触到病原体或过敏原后能够产生众多炎症介质,在黏膜炎症的发生中起着重要的作用。本次研究发现:Ⅱ型2期的TSLP阳性率、IL-9水平低于Ⅱ型3期,Bach2阳性率高于Ⅱ型3期,与既往研究结果<sup>[15]</sup>一致,说明TSLP、Bach2、IL-9Eos NPs患者疾病程度有关。疾病愈发严重,浸润程度增多,TSLP、IL-9及Bach2在促进Th2型炎症反应中均发挥重要作用,对NP的发展与病情进展有着重要影响。

Pearson相关性显示,TSLP、IL-9与Eos NPs分期呈正相关,Bach2与CRSwNP分期呈负相关,与Sidwell等<sup>[16]</sup>研究结果一致。可见随着Eos NPs患者疾病严重程度的增加,TSLP阳性率、IL-9水平会逐渐升高,Bach2阳性率逐渐下降。这一研究结果证实TSLP、Bach2、IL-9均与Eos NPs患者病情进展存在关联,临床可通过检测TSLP、Bach2、IL-9评估Eos NPs患者病变损害程度。进一步绘制ROC曲线结果显示:联合TSLP、Bach2、IL-9检测诊断Eos NPs的灵敏度、特异度、AUC均显著高于单一指标检测,表明三者联合检测对诊断CRSwNP有重要临床意义。

综上所述,TSLP、Bach2、IL-9的表达水平与

Eos NPs疾病程度和浸润程度有关,联合三者检测对诊断Eos NPs、评估患者病情进展有重大意义,可为临床判断提供新的理论依据。

## 参考文献

- [1] Zheng PJ, Zhang YY, Zhang SH, et al. Nasal nebulization inhalation of budesonide for chronic rhinosinusitis with nasal polyps: A protocol for systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine*, 2020, 99(11):26-32.
- [2] 李双, 廖敏, 刘江怡, 等. 嗜酸性粒细胞在鼻息肉发病中的作用及机制研究[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2019, 26(12):37-40.
- [3] 汪月. TGF- $\beta$ 1, HIF-1 $\alpha$  及 TSLP 在鼻息肉组织中的表达及对鼻息肉短期预后的预测价值研究[D]. 郑州大学, 2019.
- [4] Ogasawara N, Puposki JA, Klingler AI, et al. Role of RANK-L as a potential inducer of ILC2-mediated type 2 inflammation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Mucosal Immunol*, 2020, 12(25):56-59.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 54(2):81-100.
- [6] 洪俊, 束维龙, 黄学勤, 等. 伴发鼻息肉的慢性鼻-鼻窦炎患者外周血中性粒细胞和嗜酸性粒细胞计数特点及其与临床指标的相关性[J]. *安徽医学*, 2020, 41(5):62-64.
- [7] 董春花, 张英, 岳光浩. CRSwNP患者YKL-40,TLR4基因表达及嗜酸性粒细胞水平与复发的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(11):1561-1564, 1569.
- [8] Cao PP, Li HB, Wang BF, et al. Distinct immunopathologic characteristics of various types of chronicrhinosinusitis in adult Chinese[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124(3): 478-484.
- [9] 王心悦, 郑瑞, 杨钦泰. 嗜酸性粒细胞浸润型慢性鼻窦炎伴鼻息肉的发病机制研究进展[J]. *国际耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2020, 56(4):217-220.
- [10] 陈佳. 鼻息肉伴变应性鼻炎患者白细胞介素水平与鼻息肉复发的关系研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2019, 25(5):537-541.
- [11] 张佩珊. IL-9、TSLP在嗜酸性粒细胞浸润鼻息肉中的表达及临床意义[D]. 广州:广州医科大学, 2020.
- [12] 吴君. Bach2在嗜酸性粒细胞慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉组织中表达及临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(8):99-103.
- [13] 孟晓敏, 李华瑞, 刘峰. miR-125b在嗜酸性粒细胞性鼻窦炎中的表达模式及生物学作用[J]. *河北医科大学学报*, 2019, 40(1):111-114.
- [14] NV Bruaene, Derycke L, Perez-Novo CA, et al. TGF-beta signaling and collagen deposition in chronicrhinosinusitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124(2):253-259.
- [15] 麦颖达, 许卫华, 李峰, 等. 慢性鼻窦炎伴鼻息肉炎症因子的研究[J]. *医学信息*, 2020, 20(4):40-43.
- [16] Sidwell T, Yang L, Garnham AL, et al. Attenuation of TCR-induced transcription by Bach2 controls regulatory T cell differentiation and homeostasis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):252.

# 入院即刻 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT 对 CHF 急性加重患者预后的预测价值

孙学敏\* 董博 张艳艳 马冰新

**[摘要]** **目的** 探究入院即刻(入院2 h内)高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、N端前脑钠素(NT-proBNP)、高敏肌钙蛋白-T(hs-cTnT)对慢性心力衰竭(CHF)急性加重患者预后情况的预测价值。**方法** 分析2018年1月至2020年12月在首都医科大学附属北京世纪坛医院接受治疗的100例CHF急性加重患者,根据治疗3个月的预后情况分为不良组以及良好组,比较两组患者性别、美国纽约心脏病协会(NYHA)分级、CHF病因、LVEF、LVEDD以及血清HDL-C、LDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT水平,并统计记录患者是否存在吸烟史、贫血,有无合并症(高血压、糖尿病);采用受试者工作特征曲线(ROC)检测血清HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重患者预后的预测价值。对比不同NYHA分级患者HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT水平。**结果** 100例患者中,预后不良总比例为26.00%,其余74例患者预后良好(74.00%)。不良组的NYHA IV级患者占比高于良好组,HDL-C低于良好组,NT-proBNP、hs-cTnT高于良好组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。ROC分析显示,HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重者预后均有一定的预测价值,联合检测的AUC最高,为0.933( $P<0.05$ )。CHF急性加重患者的HDL-C水平:IV级<III级<II级,NT-proBNP、hs-cTnT水平:IV级>III级>II级,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 入院即刻HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT均可预测CHF急性加重患者预后,临床救治中可根据以上血清指标为患者制定合适的治疗方案。

**[关键词]** 慢性心力衰竭急性加重;入院即刻;高密度脂蛋白胆固醇;N端前脑钠素;高敏肌钙蛋白

## Predictive value of HDL-C, NT-proBNP and hs-cTnT on the prognosis of patients with acute exacerbation of CHF immediately after admission

SUN Xuemin\*, DONG Bo, ZHANG Yanyan, MA Bingxin

(Department of Emergency, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the prognostic value of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) on admission (within 2h after admission) in patients with acute exacerbation of chronic heart failure (CHF). **Methods** A total of 100 patients with acute exacerbation of CHF who were treated in Beijing Shijitan Hospital affiliated to Capital Medical University from January 2018 to December 2020 were analyzed and divided into a poor group and a good group according to the prognosis after 3 months of treatment. American New York Heart Association (NYHA) classification, CHF etiology, LVEF, LVEDD and serum HDL-C, LDL-C, NT-proBNP, hs-cTnT levels, and statistically record whether the patient has a smoking history, anemia, and whether there is a combination of disease (hypertension, diabetes). The receiver operating characteristic curve (ROC) was used to evaluate the prognostic value of serum HDL-C, NT-proBNP and hs-cTnT in patients with acute exacerbation of CHF. Meanwhile, the patients were divided into grade II group (39 cases), grade III group (40 cases) and grade IV group (21 cases) according to NYHA classification. The levels of HDL-C, NT-

基金项目:北京市卫生科技发展专项基金(2018-1-225)

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:孙学敏, E-mail: sunxuemin2531@bjsjth.cn

proBNP and hs-cTnT were compared among the three groups. **Results** The NYHA classification, serum NT-proBNP and hs-cTnT levels in the poor group were higher than those in the good group ( $P<0.05$ ), while the HDL-C level was lower than that in the good group ( $P<0.05$ ). ROC curve analysis showed that HDL-C, NT-proBNP and hs-cTnT all had certain prognostic value in patients with acute exacerbation of CHF, and the Youden index of joint detection was the highest, which was 0.867 ( $P<0.05$ ). With the increase of NYHA grade, serum HDL-C level increased, while serum NT-proBNP and hs-cTnT levels decreased in patients with acute exacerbation of CHF, with statistically significant differences ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Immediate admission to hospital HDL-C, NT-proBNP, and hs-cTnT can predict the prognosis of patients with acute exacerbation of CHF. In clinical treatment, the above serum indicators can be used to formulate appropriate treatment plans for patients.

**[KEY WORDS]** CHF; On admission; HDL-C; NT-proBNP; hs-cTnT

慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)急性加重患者的病情迁延迅速、病情危急,患者在出院短期内再次发作入院治疗的可能性较大<sup>[1-2]</sup>。及时评估、预测 CHF 急性加重患者病情进展、预后情况,对于诊疗方案的制定十分重要<sup>[3-4]</sup>。血脂异常与多种心脏疾病的发生、发展有关,高密度脂蛋白胆固醇(High density liprotein cholesterol, HDL-C)是一种可代谢胆固醇的脂类蛋白,与心血管疾病发展密切相关<sup>[5]</sup>。N 端前脑钠素(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)以及高敏肌钙蛋白-T(High-sensitivity cardiac troponin T, hs-cTnT)均可反映心肌程度<sup>[6]</sup>,或可预测 CHF 急性加重患者的病情发展。本研究将对 CHF 急性加重患者的临床资料进行分析,以期为临床提供参考,现报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取2018年1月至2020年12月在首都医科大学附属北京世纪坛医院接受治疗的100例CHF急性加重患者,根据预后分为不良组以及良好组。纳入标准:①患者符合CHF的诊断标准<sup>[7]</sup>,超声心动图显示左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)异常,利钠肽升高,或伴有左心室肥厚/扩大,心脏舒张功能异常;②患者CHF急性加重前1个月内未接受外科手术;③出院随访时间在3个月以上;④患者的临床资料完整。排除标准:①合并急性心肌梗死、肺动脉疾病患者;②患者合并有恶性肿瘤或自身免疫性疾病;③患者合并有肝、肾脏原发性疾病;④后期随访失联者。本研究经院医学伦理委员会批准,受试者或家属已签署知情同意书。

### 1.2 观察指标

#### 1.2.1 随访

患者出院后进行至少3个月的跟踪随访调查,

记录患者发生心脏不良事件(恶性心率失常、心力衰竭反复/加重)<sup>[8]</sup>、死亡、因心衰再次入院的发生情况。将发生以上不良事件的患者纳入“不良组”,其余患者则归为“良好组”。

#### 1.2.2 一般资料收集

收集所有患者的电子病历资料,统计患者的年龄、性别、CHF病因、吸烟史,是否存在贫血,是否存在合并症(糖尿病、高血压)。

#### 1.2.3 美国纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)分级<sup>[9]</sup>

患者入院即刻(入院2h内),采用NYHA评估其心脏功能,等级越高,表示患者的病情越严重。

#### 1.2.4 LVEF、LVEDD水平检测

患者入院即刻,采用多普勒超声检测仪检测两组患者LVEF、左心室舒张末期内径(Left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)。

#### 1.2.5 HDL-C、LDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT水平

患者入院即刻,采集其外周静脉血5.0 mL,经离心、取上层清液、冷置后,采用化学发光分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司)联合比色法检测高密度脂蛋白胆固醇(High density liprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density liprotein cholesterol, LDL-C),试剂盒由上海博湖生物科技有限公司生产。采用罗氏电化学发光免疫检测仪(Roche Cobas e411)检测N端前脑钠素(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)、高敏肌钙蛋白-T(High-sensitivity cardiac troponin T, hs-cTnT)水平,分别采用基蛋生物科技股份有限公司hs-cTnT试剂盒以及南京赛泓瑞生物公司NT-proBNP试剂盒。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件处理数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间行独立 $t$ 检验;不同NYHA分级患者

的指标比较进行单因素方差分析,两两比较SNK-q检验。HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重患者预后的预测价值采用受试者工作特征曲线(ROC)分析。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 100例CHF急性加重患者随访结果比较

100例患者中,发生心脏不良事件者16例(16.00%)、因心衰再住院患者8例(8.00%),2例患者死亡(2.00%),预后不良总比例为26.00%,其余74例患者预后良好(74.00%)。

### 2.2 两组患者各项指标比较

不良组的NYHA IV级患者占比高于良好组,HDL-C低于良好组,NT-proBNP、hs-cTnT高于良好组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。两组患者的年龄、性别、CHF病因、LVEF、LVEDD、LDL-C、合并症、贫血状况以及吸烟史比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

表1 两组患者各项指标比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

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

指标	不良组 ( $n=26$ )	良好组 ( $n=74$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值	
年龄	65.60±7.11	66.10±7.58	0.294	0.770	
性别			0.094	0.760	
	男性	16(61.54)	43(58.11)		
	女性	10(38.46)	31(41.89)		
NYHA分级			10.333	<0.001	
	II级	4(15.38)	35(47.30)		
	III级	12(46.15)	28(37.84)		
	IV级	10(38.46)	11(14.86)		
CHF病因					
	冠心病	10(38.46)	35(47.30)		
	扩张型心肌病	5(19.23)	9(12.16)		
	高血压	6(23.08)	19(25.68)	1.320	0.857
	瓣膜性心脏病	3(11.54)	7(9.46)		
	先天性心脏病	2(7.69)	4(5.41)		
LVEF	0.38±0.10	0.41±0.14	1.005	0.318	
LVEDD(mm)	65.01±10.77	59.04±14.28	1.944	0.055	
HDL-C(mmol/L)	1.01±0.24	1.12±0.19	2.581	0.011	
LDL-C(mmol/L)	3.01±0.88	2.87±0.71	0.811	0.419	
( $\mu\text{g/L}$ )	6.90±1.85	2.65±0.77	16.258	<0.001	
hs-cTnT(ng/L)	32.05±10.00	21.64±6.14	6.237	<0.001	
吸烟史	11(42.31)	35(47.30)	0.193	0.661	
贫血	8(30.76)	22(29.73)	0.010	0.921	
合并症					
	高血压	15(57.69)	30(40.54)	2.287	0.130
	糖尿病	9(34.62)	25(33.78)	0.006	0.939

### 2.3 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重患者预后的预测价值

ROC分析显示,HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重者预后均均有一定的预测价值,联合检测的AUC最高,为0.933( $P<0.05$ )。见表2、图1。

表2 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重患者预后的预测价值

Table 2 prognostic value of HDL-C, NT proBNP and HS cTnT in patients with acute attack of CHF

指标	敏感度 (%)	特异性 (%)	约登 指数	AUC	95%CI	$P$ 值
HDL-C(mmol/L)	65.38	87.84	0.532	0.766	0.671~0.845	<0.001
NT-proBNP( $\mu\text{g/L}$ )	73.08	91.89	0.650	0.825	0.736~0.894	<0.001
hs-cTnT(ng/L)	80.77	94.59	0.754	0.877	0.796~0.934	<0.001
联合检测	96.15	90.54	0.867	0.933	0.866~0.974	<0.001

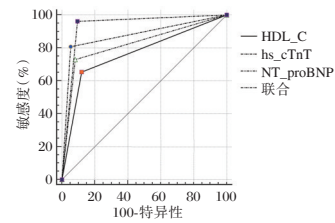


图1 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT对CHF急性加重患者预后的预测ROC曲线

Figure 1 ROC curve of HDL-C, NT proBNP and HS cTnT in predicting the prognosis of patients with acute attack of CHF

### 2.4 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT与NYHA分级的关系

HDL-C水平:IV级<III级<II级,NT-proBNP、hs-cTnT水平:IV级>III级>II级,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT与NYHA分级的关系 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Relationship between HDL-C, NT proBNP, HS cTnT and NYHA classification ( $\bar{x}\pm s$ )

NYHA分级	$n$	HDL-C (mmol/L)	NT-proBNP ( $\mu\text{g/L}$ )	hs-cTnT (ng/L)
II级	39	1.14±0.13	2.21±0.75	17.95±5.47
III级	40	1.10±0.05 <sup>a</sup>	3.64±1.61 <sup>a</sup>	26.01±6.00 <sup>a</sup>
IV级	21	0.98±0.11 <sup>ab</sup>	6.85±2.53 <sup>ab</sup>	33.06±8.55 <sup>ab</sup>
$F$ 值		17.567	57.077	61.595
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与II级比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,与III级比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

## 3 讨论

CHF病程长、治疗难度大、患者预后差,严重危险患者的生命安全。对CHF急性加重患者的预后情况进行评估,有利于临床采取及时补救措施,提高患者预后。

本研究中,良好组以及不良组CHF急性加重患者的基线资料分析显示,两组性别、CHF病因、LVEF、LVEDD、血清LDL-C水平以及吸烟史、贫血、合并症比较差异无统计学意义,而NYHA分级、

血清 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT 水平比较差异有统计学意义。ROC 分析也显示,血清指标 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT 均对急性加重患者预后具有一定的预测效用。分析原因,这是因为当脂肪在冠状动脉内壁堆积时,会形成斑块、堵塞动脉,患者心脏血供降低、心肌缺血;随着病情进一步发展,斑块破裂形成血栓,最终导致心脏严重缺血,所以脂代谢指标在心脏疾病的诊断和评估中十分重要<sup>[10]</sup>。HDL-C 是肝脏细胞合成的抗动脉粥样硬化的脂类蛋白,具有代谢胆固醇功能。本研究结果显示,不良组的 HDL-C 低于良好组,同时 Logistic 分析显示 HDL-C 对 CHF 急性加重患者预后的预测 AUC 为 0.766,具有良好的临床价值。分析原因,这可能是当 HDL-C 降低时,性激素、皮质激素以及细胞膜功能降低,患者的免疫功能也因此下降,加快了患者器官衰竭进展<sup>[11]</sup>。B 型利钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP)是临床中重要的心肌酶谱指标,也是 CHF 诊断和治疗效果评估的重要参考指标。但因血浆的半衰期仅为 60~120 min,BNP 水平不够稳定,因此本研究选择 NT-ProBNP 水平进行分析。当机体血容量超负荷、心室压力增大时,心脏心室分泌、释放 BNP、裂解为 NT-proBNP,以调节血压和血容量<sup>[12-13]</sup>。本研究结果说明 NT-proBNP 血浆水平可反映机体心肌损伤程度。Logistics 分析也显示 NT-ProBNP 与 CHF 急性加重患者预后存在一定联系。汪玉龙等<sup>[14]</sup>研究指出,NT-proBNP 是反映 CHF 严重程度的重要敏感指标,其水平较高的患者心脏事件以及死亡的发生率越高,高 NT-proBNP 是导致院内死亡的独立预测因子。hs-cTnT 为 37 kD 的蛋白,具有较高的器官特异性,以 5% 的游离态和 95% 的结合形态存在于心脏中,在正常机体中血清水平较低。当机体心肌细胞膜缺血、变性坏死时,hs-cTnT 释放进入血液循环,且随心肌损伤加重而增加释放<sup>[15]</sup>。

任美英等<sup>[16]</sup>研究指出,NYHA 心功能分级越高,hs-cTnT 水平越高;hs-cTnT 是目前临床中心肌损伤的诊断重要指标,其敏感度高于传统标志物。本研究结果证明以上指标与 CHF 急性患者病情的发展存在显著关联,可能能够预测患者预后情况。

综上所述,入院即刻 HDL-C、NT-proBNP、hs-cTnT 均对 CHF 急性加重患者预后具有一定的预测价值,HDL-C 偏低、NT-proBNP 与 hs-cTnT 较高的 CHF 急性加重者应引起重视,及时采取措施,改善其预后。

## 参考文献

- [1] 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.
- [2] 凌望,孙思明,王璐玲,等.温阳益气活血方改善慢性心力衰竭患者生活质量临床研究[J].陕西中医,2020,41(5):71-74.
- [3] Packer M, Butler J, Filippatos GS, et al. Evaluation of the effect of sodium-glucose co-transporter 2 inhibition with empagliflozin on morbidity and mortality of patients with chronic heart failure and a reduced ejection fraction: rationale for and design of the EMPEROR-Reduced trial [J]. Eur J Heart Fail, 2019, 21(10):1270-1278.
- [4] 司志燕,宋文奇,冯晓红,等.血清降钙素原对慢性心力衰竭急性发作患者的临床评估价值[J].中国感染控制杂志,2019,18(1):48-52.
- [5] 宋莹,姜琳,陈艳,等.高密度脂蛋白胆固醇水平对冠状动脉病变严重程度及介入治疗预后的影响[J].中华心血管病杂志,2020,48(2):123-129.
- [6] 王万里,励银环,郭迎春,等.妊娠患者心功能损伤程度与血浆 NT-proBNP 水平的相关性[J].基因组学与应用生物学,2018,37(3):956-962.
- [7] 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.
- [8] 王洁,孙婷婷,齐丽彤,等.左心室整体纵向应变对慢性心力衰竭患者预后的预测价值[J].临床心血管病杂志,2019,35(10):47-51.
- [9] Mebazaa A. Current ESC/ESICM and ACCF/AHA guidelines for the diagnosis and management of acute heart failure in adults--are there differences? Pol Arch Med Wewn, 2009, 119(9):569-573.
- [10] 符显昭,黄月凤,王清礼,等.降糖舒心方对糖尿病合并慢性心力衰竭的影响:一项前瞻性随机对照研究[J].中国中西医结合急救杂志,2017,24(2):123-128.
- [11] 王莹,吴少敏,马贵洲,等.单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值与绝经后女性冠心病患者急性心力衰竭的关系[J].中国动脉硬化杂志,2020,28(10):76-81.
- [12] 姚建荣,陈锦,文笃政.慢性充血性心力衰竭患者血浆 NGAL 与 NT-proBNP 的相关性[J].中南医学科学杂志,2018,46(6):29-31.
- [13] 姜微微,王昕,刘佳.参麦注射液联合左卡尼汀对老年缺血性心脏病心力衰竭期心功能及血清 NT-proBNP,hs-cTnT 的影响[J].中华中医药学刊,2018,36(8):2008-2011.
- [14] 汪玉龙,肖春晖,胡小李,等.6 min 步行试验联合血浆 N-末端前体脑钠肽评估慢性心力衰竭患者预后的价值[J].中华老年医学杂志,2020,39(12):1411-1414.
- [15] Horodinschi RN, Bratu OG, Dedi GN, et al. Heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: a review [J]. Acta Cardiol, 2020, 5(2):97-104.
- [16] 任美英,刘莹,郭晓杰.高敏肌钙蛋白 T 与慢性心力衰竭的相关性及对急性心肌梗死的鉴别价值[J].中国实验诊断学,2019,23(7):1142-1144.



# 七氟醚通过HIF信号通路对糖尿病心肌保护作用的研究

李瑾 古力帕日·克力木 马宁\*

**[摘要]** **目的** 探讨七氟醚对糖尿病心肌的保护作用及其可能作用机制。**方法** 建立糖尿病大鼠心肌缺血再灌注(I/R)损伤模型,随机分为sham组(假手术组)、I/R组、I/R+SPostC组(七氟醚后处理组)、I/R+DFO组(HIF信号通路激活剂去铁胺处理组)、I/R+SPostC+DFO组(SPostC+DFO联合处理组);观察大鼠血流动力学指标LVDP、LVEDP、+dp/dtmax;DHE荧光探针法检测ROS水平;硫代巴比妥酸法检测MDA水平;ELISA法检测IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平;Western blot检测HIF信号通路相关蛋白HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1表达量。**结果** 与sham组比较,I/R组LVDP、+dp/dtmax水平降低,HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1蛋白水平降低,LVEDP、ROS、MDA、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平升高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。与I/R组比较,I/R+DFO组、I/R+SPostC+DFO组LVDP、+dp/dtmax水平升高,HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1蛋白水平升高,LVEDP、ROS、MDA、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平降低,且I/R+SPostC+DFO组、I/R+DFO组比较差异显著,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 七氟醚通过激活HIF信号通路而减轻糖尿病大鼠心肌I/R损伤。

**[关键词]** 七氟醚后处理; HIF信号通路; 心肌缺血再灌注损伤; 糖尿病; 缺氧诱导因子-1 $\alpha$

## Study on the protective effect of sevoflurane on diabetic myocardium through HIF signaling pathway

LI Jin, Gulipari·kelimu, MA Ning\*

(Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China, 830054)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the protective effect of sevoflurane on diabetic myocardium and its possible mechanism. **Methods** The myocardial ischemia-reperfusion (I/R) injury model of diabetic rats was established and randomly divided into the sham group (sham operation group), I/R group, I/R+SPostC group (sevoflurane postconditioning group), I/R+DFO group (HIF signaling pathway activator deferoxamine treatment group), I/R+SPostC+DFO group (SPostC+DFO combined treatment group). The rat hemodynamic indexes LVDP, LVEDP, +dp/dtmax were observed. ROS levels were detected by DHE fluorescent probe method. MDA levels were detected by thiobarbituric acid method. The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  were detected by ELISA. Western blot was used to detect the expression levels of HIF signaling pathway related proteins HIF-1 $\alpha$  and EphrinA1. **Results** Compared with the sham group, the levels of LVDP and +dp/dtmax in the I/R group were decreased, the protein levels of HIF-1 $\alpha$ , EphrinA1 were decreased, while the levels of LVEDP, ROS, MDA, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  were increased ( $P<0.05$ ). Compared with the I/R group, the levels of LVDP and +dp/dtmax in the I/R+DFO group and the I/R+SPostC+DFO group were increased ( $P<0.05$ ), and the protein levels of HIF-1 $\alpha$ , EphrinA1 were increased, while the levels of LVEDP, ROS, MDA, IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  were decreased, and the I/R+SPostC+DFO group and I/R+DFO group had significant differences ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Sevoflurane could alleviate myocardial I/R injury in diabetic rats by activating HIF signaling pathway.

基金项目:新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项科研项目(WJWY-202207);新疆医科大学内科研类课题(KYYB-17);新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(2019D04019)

作者单位:新疆医科大学第一附属医院麻醉科,新疆,乌鲁木齐 830054

\*通信作者:马宁, E-mail: xjmn08@163.com

[KEY WORDS] Sevoflurane postconditioning; HIF signaling pathway; Myocardial ischemia - reperfusion injury; Diabetes; Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$

糖尿病可引起心肌功能障碍,据不完全统计,我国心脑血管疾病高发人群中约有11.6%患有糖尿病,糖尿病性心肌病及其与心脏相关并发症的发病率、死亡率逐年上升<sup>[1-2]</sup>。心血管疾病史、糖尿病史、麻醉等均与围手术期患者心肌缺血再灌注(ischemia reperfusion, I/R)损伤有关<sup>[3-4]</sup>。因而如何避免糖尿病患者I/R损伤成为亟待解决问题。七氟醚可减轻心肌I/R损伤,已有研究表明七氟醚后处理(sevoflurane postconditioning, SPostC)也具有保护心肌组织的作用<sup>[5]</sup>。HIF信号通路关键蛋白为缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ),该信号通路失活可能减弱SPostC对糖尿病大鼠心肌I/R损伤的保护作用<sup>[6]</sup>。因此,本研究通过建立糖尿病大鼠心肌I/R损伤模型,探讨SPostC是否可通过调控HIF信号通路而对糖尿病心肌组织发挥保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

110只健康雄性SD大鼠购自北京斯贝福生物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2019-0010,210~260 g,自由饮食、进水,常规培养7 d。

活性氧(Reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒购自上海碧云天;丙二醛(Malondialdehyde, MDA)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;七氟醚购自美国Abbott Laboratories;HIF信号通路激活剂去铁胺(Deferoxamine, DFO)购自美国默克公司;白细胞介素-1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )检测试剂盒、兔抗鼠缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )、促红细胞生成素产生肝细胞配体A1(Erythropoietin producing hepatocellular receptor A1, EphrinA1)抗体、内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体、辣根过氧化物(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔活性免疫球蛋白(Active immunoglobulin, IgG)二抗购自美国Abcam。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 建立模型<sup>[7]</sup>

大鼠禁食12 h,注射浓度为50 mg/kg的链脲佐

菌素,72 h取尾部静脉血,检测血糖浓度高于16.7 mmol/L,采用高脂高糖食物持续喂养8 w,若大鼠出现多饮、多食、重量减轻视为成功建立糖尿病模型。取糖尿病大鼠模型建立I/R损伤模型:麻醉大鼠(25%乌拉坦),固定大鼠四肢,监测大鼠心电图,暴露颈部前切口,插管,连接呼吸机通气,在左侧四五肋间(胸骨)开胸,剪开暴露心脏的心包膜,用丝线(6-0)从左心耳下方3 mm穿透左冠脉前降支,小管阻塞冠脉引起缺血30 min,松开结扎线,ST段(ST segment)降低,缺血区域发红,视为造模成功(80只)。穿线但不结扎作为假手术组(sham组)(30只)。

#### 1.2.2 实验分组

取I/R建模成功大鼠,随机分为I/R组、I/R+SPostC组(I/R损伤大鼠再灌注2.4%七氟醚的K-H溶液15 min、正常K-H溶液105 min)<sup>[8]</sup>、I/R+DFO组(心肌缺血处理前24 h腹腔注射DFO)<sup>[9]</sup>、I/R+SPostC+DFO组(心肌缺血处理前24 h腹腔注射DFO,其余步骤同I/R+SPostC组),每组各20只。

#### 1.2.3 检测大鼠血流动力学指标

Powerlab/8SP采集系统记录各组大鼠左室发展压(left ventricular developed pressure, LVDP)、左室舒张末期压(Left ventricular end diastolic pressure, LVEDP)、左室内压最大上升速率(Maximum rise rate of left ventricular pressure, +dp/dtmax)。

#### 1.2.4 检测ROS、MDA水平

取各组大鼠心肌组织分为两部分,一部分用于检测ROS、MDA水平,另一部分用于检测HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1蛋白表达量。采用DHE荧光探针法检测ROS水平,硫代巴比妥酸法检测MDA水平,严格按照试剂盒说明书操作。

#### 1.2.5 ELISA法检测IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平

从各组大鼠颈总动脉分别抽取3 mL血液样本,放入含有肝素抗凝试管中,4℃条件下放置1 h,3 000 r/min离心10 min(半径10 cm),吸取上清液,采用酶联免疫吸附测定(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平,应用ANTHOSHT11型酶标仪(上海赛默生物科技发展有限公司)进行检测。

1.2.6 Western blot检测HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1蛋白表达量  
各组大鼠心肌组织中分别加入400  $\mu$ L RIPA

裂解液提取总蛋白,取 40 μg 蛋白样品,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)后转膜,37℃封闭 2 h,分别加入 HIF-1α(1:1 000)、EphrinA1(1:1 000)、GAPDH(1:2 000)抗体稀释液,4℃孵育 24 h,洗膜,加入二抗(1:3 000)稀释液,37℃孵育 1 h,ECL 显影,ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠血流动力学指标检测

与 sham 组比较,I/R 组 LVDP、+dp/dtmax 水平降低,LVEDP 水平升高,差异均有统计学意义(*P*<0.05);与 I/R 组比较,I/R+DFO 组、I/R+SPostC+DFO 组 LVDP、+dp/dtmax 水平升高,LVEDP 水平降低差异均有统计学意义(*P*<0.05);与 I/R+DFO 组比较,I/R+SPostC+DFO 组 LVDP、+dp/dtmax 水平升高,LVEDP 水平降低,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 各组大鼠血流动力学指标检测( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Detection of hemodynamic indexes of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	<i>n</i>	LVDP/mmHg	LVEDP/mmHg	+dp/dtmax/mmHg·s <sup>-1</sup>
sham	30	78.52±6.57	6.11±0.69	2803.51±162.32
I/R	20	44.31±4.25 <sup>a</sup>	18.15±1.32 <sup>a</sup>	1492.65±172.33 <sup>a</sup>
I/R+SPostC	20	45.33±3.24 <sup>a</sup>	17.85±1.02 <sup>a</sup>	1536.82±157.22 <sup>a</sup>
I/R+DFO	20	57.82±3.59 <sup>ab</sup>	13.23±0.85 <sup>ab</sup>	2263.85±180.41 <sup>ab</sup>
I/R+SPostC+DFO	20	63.42±4.48 <sup>abc</sup>	8.78±0.54 <sup>abc</sup>	2459.71±135.41 <sup>abc</sup>
<i>F</i> 值		215.149	828.984	295.156
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与 sham 组相比,<sup>a</sup>*P*<0.05;与 I/R 组相比,<sup>b</sup>*P*<0.05;与 I/R+DFO 组相比,<sup>c</sup>*P*<0.05。

### 2.2 各组大鼠 ROS 水平、MDA 含量比较

与 sham 组比较,I/R 组 ROS、MDA 水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05);与 I/R 组比较,I/R+DFO 组、I/R+SPostC+DFO 组 ROS、MDA 水平降低,I/R+SPostC+DFO 组低于 I/R+DFO 组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 各组大鼠 ROS 水平、MDA 含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of ROS level and MDA content in each group of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	<i>n</i>	ROS 水平(%)	MDA (nmol/mL)
sham	30	75.23±6.57	1.85±0.26
I/R	20	154.33±12.36 <sup>a</sup>	8.52±0.62 <sup>a</sup>
I/R+SPostC	20	151.57±10.49 <sup>a</sup>	8.27±0.71 <sup>a</sup>
I/R+DFO	20	113.41±8.75 <sup>ab</sup>	6.12±0.44 <sup>ab</sup>
I/R+SPostC+DFO	20	88.54±6.78 <sup>abc</sup>	4.57±0.29 <sup>abc</sup>
<i>F</i> 值		363.381	827.750
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05

注:与 sham 组相比,<sup>a</sup>*P*<0.05;与 I/R 组相比,<sup>b</sup>*P*<0.05;与 I/R+DFO 组相比,<sup>c</sup>*P*<0.05。

### 2.3 各组大鼠血浆中炎症因子的比较

与 sham 组比较,I/R 组 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05);与 I/R 组比较,I/R+DFO 组、I/R+SPostC+DFO 组 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平降低,I/R+SPostC+DFO 组低于 I/R+DFO 组,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 3 各组大鼠血浆中炎症因子的比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of inflammatory factors in plasma of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	<i>n</i>	IL-1β(pg/mL)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
sham	30	151.48±19.30	119.17±13.32	193.58±25.52
I/R	20	474.74±39.39 <sup>a</sup>	554.86±52.70 <sup>a</sup>	579.75±56.18 <sup>a</sup>
I/R+SPostC	20	459.11±38.63 <sup>a</sup>	538.64±45.62 <sup>a</sup>	582.63±47.12 <sup>a</sup>
I/R+DFO	20	234.38±23.75 <sup>ab</sup>	239.12±27.10 <sup>ab</sup>	299.74±24.41 <sup>ab</sup>
I/R+SPostC+DFO	20	171.26±20.90 <sup>abc</sup>	162.64±19.71 <sup>abc</sup>	253.36±21.03 <sup>abc</sup>
<i>F</i> 值		650.207	854.828	575.407
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与 sham 组相比,<sup>a</sup>*P*<0.05;与 I/R 组相比,<sup>b</sup>*P*<0.05;与 I/R+DFO 组相比,<sup>c</sup>*P*<0.05。

### 2.4 各组大鼠 HIF-1α、EphrinA1 蛋白表达的比较

与 sham 组比较,I/R 组 HIF-1α、EphrinA1 蛋白水平降低,差异有统计学意义(*P*<0.05);与 I/R 组比较,I/R+DFO 组、I/R+SPostC+DFO 组 HIF-1α、EphrinA1 蛋白水平升高,I/R+SPostC+DFO 组高于 I/R+DFO 组,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见图 1、表 4。

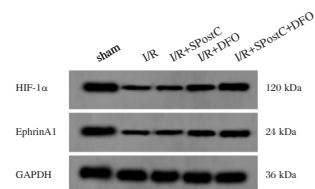


图 1 各组大鼠 HIF-1α、EphrinA1 蛋白表达的比较  
Figure 1 Comparison of HIF-1α and EphrinA1 protein expressions in each group of rats

表4 各组大鼠 HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1 蛋白表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 4 Comparison of HIF-1 $\alpha$  and EphrinA1 protein expressions in each group of rats ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	HIF-1 $\alpha$	EphrinA1
sham	30	0.83 $\pm$ 0.04	0.78 $\pm$ 0.07
I/R	20	0.32 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
I/R+SPostC	20	0.34 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.26 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
I/R+DFO	20	0.50 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.49 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
I/R+SPostC+DFO	20	0.71 $\pm$ 0.05 <sup>abc</sup>	0.65 $\pm$ 0.05 <sup>abc</sup>
F 值		492.205	405.447
P 值		<0.05	<0.05

注:与 sham 组相比,<sup>a</sup> $P$ <0.05;与 I/R 组相比,<sup>b</sup> $P$ <0.05;与 I/R+DFO 组相比,<sup>c</sup> $P$ <0.05。

### 3 讨论

针对心血管疾病主要是恢复心肌组织血流再灌注,缺血预处理可减轻心肌 I/R 损伤,但操作过程中无法准确预测缺血发生时间点等问题,已有研究表明 SPostC 具有保护心肌组织的作用,且具有安全性、可控性等优点,并可减轻大鼠心肌 I/R 损伤,但在糖尿病条件下 SPostC 的保护作用被弱化<sup>[10-11]</sup>。本研究结果显示,SPostC 处理后大鼠血流动力学相关指标较 I/R 组无显著差异,提示 SPostC 对糖尿病心肌 I/R 损伤的作用被减弱及其对心肌功能的作用明显降低。EphrinA1 属于 HIF-1 $\alpha$  下游调节因子,可减小大鼠心肌梗死面积、减轻心肌组织损伤,心肌组织(细胞)缺氧时 HIF-1 $\alpha$  被激活,HIF-1 $\alpha$  进入缺氧反应原件核心后激活 EphrinA1, EphrinA1 可调节  $\alpha$ -微管蛋白磷酸化而维持心肌细胞结构、功能从而抑制炎症、细胞凋亡<sup>[12-13]</sup>。

DFO 是 HIF 信号通路激活剂,原理上是通过抑制脯氨酰羟化酶而激活 HIF-1 $\alpha$  等转录因子,本研究结果显示,糖尿病心肌 I/R 损伤大鼠 LVDP、+dp/dtmax 水平降低,LVEDP 水平升高,而 DFO 处理后 LVDP、+dp/dtmax 水平升高,LVEDP 水平降低,且 SPostC+DFO 联合作用明显优于 DFO 单独作用,提示 SPostC+DFO 联合作用可改善糖尿病心肌 I/R 损伤大鼠的血流动力学增强 SPostC 对心肌组织的保护作用。线粒体内 ROS 生成量过多可激活 NLRP3 炎性小体,该小体活化可促使蛋白水解,caspase-1 被激活可促进炎症细胞因子表达,加重心肌组织炎症损伤<sup>[14]</sup>。机体内氧化、抗氧化酶类失衡导致氧自由基大量生成,过度氧化可损害组织功能,MDA 属于脂质过氧化物酶类,其水平升高表示氧化应激能力增强,降低其表达可减

轻心肌细胞损伤<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,糖尿病心肌 I/R 损伤大鼠心肌组织中 ROS、MDA 水平升高,DFO、SPostC+DFO 作用后可降低 ROS、MDA 水平,且 SPostC+DFO 作用改善程度大于 DFO 单独作用,提示 SPostC+DFO 作用可通过抑制氧化应激反应而减轻糖尿病心肌 I/R 损伤。持续高血糖水平导致机体代谢紊乱,炎症反应、氧化应激均被激活导致心肌细胞功能改变,炎症反应与心肌 I/R 损伤有关,麻醉药物对缺血心肌组织具有保护作用,其可抑制炎症反应、减小心肌梗死面积并可改善心功能,TNF- $\alpha$  可促进相关炎症因子合成、释放,还可促进氧自由基生成进而加重心肌 I/R 损伤,IL-1 $\beta$ 、IL-6 可加重心肌组织炎症反应进而引起损伤<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,糖尿病心肌 I/R 损伤大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平升高,DFO、SPostC+DFO 作用后可降低 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平,SPostC+DFO 降低炎症因子表达水平的程度明显优于 DFO 单独作用,提示 SPostC+DFO 可通过抑制炎症反应而减轻糖尿病心肌 I/R 损伤。表明 DFO 具有抗炎、抗氧化作用,并可恢复 SPostC 对糖尿病心肌 I/R 损伤的保护作用。本研究进一步分析发现,糖尿病心肌 I/R 损伤大鼠心肌组织中 HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1 蛋白水平降低,DFO、SPostC+DFO 均可促进 HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1 蛋白表达,SPostC+DFO 对 HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1 蛋白表达的调控作用明显强于 DFO 单独作用,提示 DFO 可通过激活 HIF 信号通路而减轻心肌组织损伤,SPostC+DFO 可能通过促进 HIF-1 $\alpha$ 、EphrinA1 表达而抑制炎症、氧化应激反应从而强化 SPostC 对糖尿病心肌 I/R 损伤的保护作用。

综上所述,SPostC、DFO 联合处理可激活 HIF 信号通路而改善血流动力学、抑制炎症反应及氧化应激反应从而增强七氟醚对糖尿病心肌的保护作用。

### 参考文献

- [1] 赵文杰,李华峰,田霖林,等. 2 型糖尿病 VEGF、Alb 及 HbA1c 与肾脏微小血管病变的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(10): 1689-1692.
- [2] 徐冰冰,李肖静,张亚伟. 2 型糖尿病患者糖尿病慢性并发症现状调查及影响因素[J]. 华南预防医学, 2021, 47(1): 74-76.
- [3] 陶洁,熊永红,田浩,等. 磷酸甘油酸变位酶 5 在糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用:与线粒体质量的关系[J]. 中华麻醉学杂志, 2021, 41(11): 1332-1336.

(下转第 902 页)

# 医学检验专业分子诊断实习带教方法探讨

蔡贞<sup>1</sup> 李书芬<sup>1</sup> 籍会彩<sup>1</sup> 谢浣宽<sup>2\*</sup>

**[摘要]** 分子诊断实验室是各大中型医院检验科不可或缺的专业组之一。新型冠状病毒疫情出现更凸显了分子诊断技术在感染性疾病中不可替代的诊断作用,也对各大医疗机构的核酸检测能力和分子诊断实验室建设及人才储备培养提出了挑战。本文在总结分子诊断实验室工作特点的基础上,结合新型冠状病毒核酸培训的经验,对医学检验专业分子诊断实习带教中的要点进行了详细的阐述和归纳总结。

**[关键词]** 分子诊断; 实习教学; 医学检验

## Discussion on the teaching method of molecular diagnosis practice in medical laboratory specialty

CAI Zhen<sup>1</sup>, LI Shufen<sup>1</sup>, JI Huicai<sup>1</sup>, XIE Longkuan<sup>2\*</sup>

(1. Laboratory Medicine Center, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510515; 2. Laboratory Medicine Center, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China, 530011)

**[ABSTRACT]** Molecular diagnostic laboratory is one of the indispensable professional groups in laboratory departments of large and medium-sized hospitals. The emergence of the new coronavirus pandemic (COVID-19) has further highlighted the irreplaceable role of molecular diagnostic technology in the diagnosis of infectious diseases, and it has also challenged the nucleic acid detection capabilities of major medical institutions, the construction of molecular diagnostic laboratories, and the talent pool and training. Based on the working characteristics of molecular diagnostic laboratory and the teaching experience in SARS-CoV-2 nucleic acid testing training, this paper expounds and summarizes the key points of the medical laboratory professional molecular diagnostic practice and teaching in detail.

**[KEY WORDS]** Molecular diagnosis; Practice teaching; Medical technology

分子诊断指应用分子生物学方法检测病原体或人体内生物大分子的结构、表达水平变化等而对疾病进行诊断的技术,是检验医学的重要亚专业之一,也是目前体外诊断领域发展最快速的子行业<sup>[1-2]</sup>。分子诊断从基因水平进行检测,在检测灵敏度和准确性具有明显优势,主要应用于感染性疾病、遗传性疾病、肿瘤、产前诊断以及个体化基因位点检测等领域<sup>[3]</sup>,已成为各大、中型医院检验科不可或缺的专业组之一。自2020年新冠疫情爆发以来,新冠病毒核酸检测不仅成为新型冠状病毒肺炎的重要确诊依据之一,也被用做新型

冠状病毒感染的筛查手段<sup>[4-5]</sup>,这对各医疗机构的核酸检测能力提出了很高的要求和挑战。国务院联防联控办公室在正式下发《进一步推进新冠病毒核酸检测能力建设工作方案》中明确提出:二级以上综合医院、传染病专科医院、各级疾控机构以及县域内具备核酸检测能力的县级医院要充分利用现有资源,加快提升核酸检测能力,满足日常检测需要<sup>[6]</sup>。国家层面对于核酸检测的重视,使分子诊断行业遇上重大发展机遇,同时也要求有更多的检验人员具备从事核酸检测的能力。

基金项目:南方医科大学校级高等教育教学改革项目(JG20191113)

作者单位:1. 南方医科大学南方医院检验科,广东,广州 510515

2. 广西中医药大学附属瑞康医院检验科,广西,南宁 530011

\*通信作者:谢浣宽, E-mail: venusinfree@qq.com

虽然分子诊断学已成为医学检验本科专业开设的主干课程之一,但分析医学检验专业分子诊断实习既往情况存在以下几个特点:分子诊断实习时间安排较短,一般是2~3周;实习大纲内容较少,不够细化,缺乏指导意义;实验室项目较多手工操作,专业性强,学生参与度差,故而短期的实习后学生很难胜任分子诊断的日常检测工作<sup>[7-8]</sup>。疫情引发的核酸检测需求对医学检验本科专业实习生的分子诊断实习带教提出了更高的要求。笔者所在单位为省临床基因扩增检验实验室示范基地,已为所在地区医疗机构培训了数批新冠病毒核酸检测技术人员。为进一步提高实习带教的教学质量,确保学生实习效果,本文在总结分子诊断实验室工作特点的基础上,结合新型冠状病毒核酸检测培训的经验,就医学检验专业分子诊断实习教学方法和带教会进行了归纳和探讨。

## 1 设立总原则

总结多年的教学经验,带教组制定培训计划时确定了分子诊断实习“三个结合”的总原则,即:理论与实践相结合,培训与考核相结合,带教与自学相结合,并要求所有带教老师和实习生将三结合原则贯穿到实习教学的每一个环节。科学实践必须有理论知识做指导。有了足够的理论的知识,实践时就能够充分理解分子诊断实验室的工作原则和要求,把握操作步骤要点和注意事项;培训与考核相结合则是培训实施管理的重要环节,既可以了解学生对各个知识点的掌握程度,也可以评估带教老师的培训效果以促进持续改进;教学与自学相结合则是考虑到分子诊断学是体外诊断行业中细分技术最多,国内外技术差异最小,技术更新最快的子行业<sup>[9]</sup>,短短的实习时间无法涵盖行业中的全部细分技术,强调实习培训人员在掌握基本实验原则的基础上,加强自我学习能力和独立思考,拓展眼界,不断实现自我提升<sup>[10]</sup>。

## 2 注重岗前培训和理论教学

虽然分子诊断学已成为医学检验本科专业开设的主干课程之一,但理论授课时侧重的是基础理论知识、方法学原理、临床应用等领域<sup>[11]</sup>。而进入专业组实习则更重视检验方法的正确实施,确保检验结果的准确发放。对于进入检验科第一次接触分子诊断实际工作的实习生来说,细致而针

对性强的实习前准备工作是保证达到实习目的,完成实习任务的关键。

和检验科其他亚专业相比,分子诊断实验室在实验室设计、管理制度上有很大的不同<sup>[12]</sup>。为此研究团队录制了系列音频PPT教程,内容包括荧光定量PCR的基本原理,分子诊断实验室的规范化管理,分子生物实验室的污染来源及防控,实验室设计及工作原则等等。系列培训教程均上传于科室共享文件夹,要求所有实习培训人员先行完成自学,自学完成通过理论考核方可获得实习入门卡,正式进入分子诊断实验室实习。这样实习培训人员就可以在实习前掌握一定的理论知识,能够较好的理解为什么会有这些设计和管理上的不同,并且通过实习期间的实践工作中得以融会贯通,而不是机械懵懂地记忆和执行。

## 3 细化实习纲要,制定培训记录表

为了更系统全面地在短暂的实习期间完成分子诊断实验室的学习,带教组根据本实验室目前的开展项目,带教老师的能力特点,人员岗位设置情况等细化了实习纲要并制定成培训记录表,在每位实习培训人员入组时即领取一份。实习纲要中枚举的知识点分为基础理论和技能要求以及进阶理论和技能要求两个部分,其中基础理论和技能要求部分涵盖的知识点为实习培训人员必须掌握的,而进阶理论和技能要求则视在本组实习的总时长和实习人员的自我要求而定。培训记录表要求实行轮转签名制,表中在每个知识点旁均列明本实验室哪几名工作人员为本知识点的培训老师以方便实习培训人员与带教老师的随时沟通;每完成一个知识点的学习需实习培训人员和本知识点实际讲解老师进行签名,并对完成情况简单描述,确保每个知识点实习情况的落实。培训结束后上交培训记录表由组长或教学负责人审核及归档。另外,在培训记录表还设有实习建议/意见栏,实习培训人员完成实习出组时可根据实习过程的体会对本实习纲要的安排、执行情况以及培训效果等提出意见或建议,以便对实习纲要和培训方式进行持续改进。

## 4 加强基础技能操作培训,强调操作细节

### 4.1 移液器的正确使用

相比较多已实现检测自动化的检验项目,分子诊断学实验还有较多的手工环节,移液器是最

常使用到的实验器具。移液器的使用虽然简单,但对于分子诊断实验而言,第一要防止不当使用移液器,如控制不当将试剂或样本吸入移液器空腔,或液体溅出试管等等,都可能造成操作环节中的标本间交叉污染;其次分子诊断实验敏感性高,必须保证微量加样的准确性。所以所有实习培训人员入组后第一个基础技能操作培训就是学会移液器的正确使用,并可通过复孔或多孔加样进行扩增后观察结果偏差来测试移液器微量加样的准确性。

#### 4.2 注重理论与操作相结合,加强对操作细节的理解

分子诊断学实验细分技术虽然较多,如荧光定量PCR、等温核酸扩增技术、基因芯片技术、测序技术等等,但几乎所有技术都包括核酸提取和核酸扩增环节。如何高质量地从待测样本中提取纯化核酸是影响到实验结果的关键步骤,也是培训中强调的重点培训基础技能操作之一。去年的新冠疫情促进了分子诊断行业的快速发展,很多实验室直接购置了半自动或全自动核酸提取仪进行核酸提取,但对于尚未接触过分子诊断实验的实习人员来说,使用仪器完成核酸提取无助于对核酸提取工作原理的理解,一旦实验结果不理想也无法进行失败原因的分析 and 查找。笔者实验室还有部分项目保留了手工核酸提取。在实习培训人员完成核酸提取原理的理论学习后,让他们参与手工核酸提取过程对于加深对操作细节的理解是非常有益的,更便于留意操作过程中的需注意的细节,如:裂解步骤必须确保试剂与样本的充分混匀并作用一定的时间;震荡时不可过度剧烈震荡以免造成DNA断裂;加试剂时注意不要造成标本间交叉污染;使用低温无水乙醇完成核酸纯化等等。

#### 4.3 强调实验前后细节,培养良好的实验习惯

由于分子诊断实验的特性,“防控污染”是每一个分子诊断实验室的工作人员必须强化的概念。从分子诊断实验室的分区、压差设计、单一工作流向、各物品专区专用的工作制度以及强调注重操作细节等等都是围绕这一理念进行的。除了上述措施,实验前后的准备和清洁工作也是不可忽视的。实验前要各工作区应对所需试剂耗材进行充分准备,避免实验中因缺乏物品频繁出入实验区。实验后则必须强调及时按照实验室清洁消毒操作规程清理废液缸,使用过的吸头等,尤其注意试验后使用物品(移液器、试管架等)及仪器的

清洁保养,实验台面和地面含氯消毒液擦拭,生物安全柜及实验室空气紫外照射等。养成良好的试验习惯,预防实验室出现扩增前后阳性样本形成的气溶胶对实验室污染。

### 5 注重过程考核,理论知识与技能考核并重

在日常实习过程中,带教老师可以时时进行过程考核,观察实习培训人员是否能够在工作状态下自然遵循“人员单一流向”“各区物品专用”等分子诊断实验室工作中的关键原则。必要时设置一定的“陷阱”以测试实习培训人员是否真正理解并将防污染意识贯彻到每一个操作步骤。

### 6 注意典型案例积累,日益丰富培训素材

除了入组前理论培训教材,带教老师还将常用知识点制作成了系列PPT培训教材。对于一些关键操作,尽量增加图片或录制短视频文件,不断完善打造立体化素材。作为检验医师规范化培训基地,本室带教老师均有较好的带教意识,平日注意典型或特殊案例的积累,并定期整理为培训素材。结合具体案例的分析讲解对实习培训人员掌握结果分析、实验环节差错分析等较理论讲授可以起到事半功倍的效果<sup>[13-14]</sup>。此外对于一些分子诊断前沿技术,实习培训人员也可通过参与或回顾实验室定期进行的小讲课,文献汇报等形式进行学习,加深对分子诊断技术的理解。

### 7 加强生物安全培训,增强自我防护意识

本次新型冠状病毒疫情的出现凸显了生物安全培训的重要性。医务人员均已知晓正确穿戴防护用品,强调手卫生,做好自我防护,加强实验室环境消杀等的重要性。实际上在非疫情时期生物安全也同样重要,检验人员必须在头脑中牢固树立生物安全意识。分子诊断实验室大多开展较多感染性疾病诊断项目,如结核、真菌、呼吸道病毒等病原体的核酸检测,在进行样本处理时都需要时刻注意对实验人员自身和实验室环境的保护,包括生物安全柜的合理应用,适宜防护用品的穿戴,安全操作,感染性垃圾的正确处理,实验室及时清洁和消杀等<sup>[15]</sup>。

### 8 展望

综上,结合分子诊断实验室工作特点和过往实习生带教及新型冠状病毒核酸检测批量学员培

训的经验,本文对分子诊断实习教学进行了归纳和探讨。重点是细化实习纲要,强化落实;在实际培训工作中注重理论联系实践,强调操作细节;引用案例分析,教考结合。根据实习培训人员反馈,虽然培训实习时间较短,但学员们对分子诊断实验室工作的重要原则有了较为全面和深刻的理解,可以很快胜任分子诊断的日常检测工作,更重要的是具备了自主分析和解决工作中遇到问题的能力。

## 参考文献

- [1] 胡雅婧. 浅谈分子诊断的发展趋势[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(19): 25-26.
- [2] 胡苗苗, 吴泽东, 张金东. 浅谈体外诊断行业的现状与发展[J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27(9): 62-63.
- [3] 吕晶南, 余方友. 分子生物学技术在感染性疾病诊断中的应用进展[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(2): 81-85.
- [4] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第八版)[EB/OL]. 2020-08-18.
- [5] 陈馨宁, 黄斐, 张春燕, 等. 分子诊断技术在新型冠状病毒肺炎核酸检测中的应用及发展[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(6): 401-406.
- [6] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制. 进一步推进新冠病毒核酸检测能力建设工作方案[EB/OL]. 2020-08-27.
- [7] 师志云, 丁淑琴, 牛宁奎, 等. PBL结合EBM教学模式在临床分子诊断学教学中的效果评价[J]. 科教文汇, 2021, 20(7): 99-102.
- [8] 余琳, 刘忠民, 陈定强, 等. 分子诊断学实验教学改革研究[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(11): 1579-1580.
- [9] 纪键. 体外诊断: 整体快速发展, 红海蓝海并存[J]. 现代商业银行, 2021, 3(5): 72-77.
- [10] 轩乾坤, 羽晓瑜, 李广波, 等. 分子诊断专业临床实习教学关键要素分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(9): 1371-1373.
- [11] 张战锋, 庞志宇, 谢在春, 等. 医学分子诊断技术临床带教方法探讨[J]. 卫生职业教育, 2018, 36(23): 90-91.
- [12] 李金明. 我国临床分子诊断质量管理和标准化的现状、问题及对策[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(10): 742-745.
- [13] 叶俊凯, 徐韞健, 林勇平, 等. 案例分析教学法结合形成性评价在分子诊断实习中的应用[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(18): 2735-2737.
- [14] 耿健, 杨清玲, 周继红, 等. 分子诊断学研究型实验教学模式的探索与实践[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(9): 1217-1220.
- [15] 刘跃华, 刘昭, 张帆. 新发重大传染病疫情下分子诊断技术应急评估与相关防控策略[J]. 中国卫生经济, 2020, 39(8): 5-8.
- [4] Li W, Li W, Leng Y, et al. Ferroptosis Is Involved in Diabetes Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury Through Endoplasmic Reticulum Stress[J]. DNA Cell Biol, 2020, 39(2): 210-225.
- [5] 戴晓雯, 马宁, 王江, 等. 七氟醚后处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤线粒体功能的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2020, 43(10): 1298-1301.
- [6] Yang L, Xie P, Wu J, et al. Deferoxamine Treatment Combined With Sevoflurane Postconditioning Attenuates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Restoring HIF-1/BNIP3-Mediated Mitochondrial Autophagy in GK Rats [J]. Front Pharmacol, 2020, 11(1): 6-16.
- [7] 张佩, 贺建东, 韩冲芳, 等. HIF-1 $\alpha$ /EphrinA1 信号通路在糖尿病因素削弱七氟醚心肌保护中的作用机制[J]. 山西医科大学学报, 2021, 52(8): 995-1000.
- [8] 张一强, 贺建东, 韩冲芳, 等. 糖原合成酶激酶3 $\beta$ 在糖尿病因素削弱七氟醚后处理心肌保护中的作用[J]. 临床麻醉学杂志, 2018, 34(10): 1005-1008.
- [9] 杨龙, 戴晓雯, 马宁, 等. 去铁胺预处理联合七氟醚后处理对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. 国际心血管病杂志, 2019, 46(6): 358-362.
- [10] 蒋伟, 王晓娟, 梁姣, 等. 七氟烷预处理减轻体外循环心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(10): 1723-1727.
- [11] 杨龙, 吴建江, 王江, 等. HIF-1 $\alpha$ 在七氟醚后处理减轻大鼠心肌缺血再灌注致线粒体功能损伤中的作用研究[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(3): 304-307.
- [12] Yuan C, Wang H, Yuan Z. Ginsenoside Rg1 inhibits myocardial ischaemia and reperfusion injury via HIF-1 alpha-ERK signalling pathways in a diabetic rat model [J]. Pharmazie, 2019, 74(3): 157-162.
- [13] Ma TT, Wang L, Wang JL, et al. Hypoxia-Induced Cleavage Of Soluble ephrinA1 From Cancer Cells Is Mediated By MMP-2 And Associates With Angiogenesis In Oral Squamous Cell Carcinoma[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12(1): 8491-8499.
- [14] 张晓青, 瞿惠燕, 赵丹丹, 等. 基于ROS/NLRP3/Caspase-1通路的鹿芪方对慢性心力衰竭小鼠心肌细胞焦亡的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(10): 93-98.
- [15] 孙加凤, 张丽, 裴翔, 等. 和厚朴酚对2型糖尿病模型大鼠心肌缺血再灌注后心功能紊乱的影响及机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2020, 34(11): 832-838.
- [16] 张世平, 王臻, 金梅梅, 等. 右美托咪定对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护机制[J]. 解放军医药杂志, 2018, 30(7): 7-11.

(上接第 898 页)



## 首都医科大学附属北京地坛医院检验科

首都医科大学附属北京地坛医院位于北京市朝阳区京顺东街8号,检验科以传染性、感染性疾病实验室检测为特色,科室医、教、研全面发展,2021年获批国家临床重点专科,入选首届白求恩式检验科。

科室现有工作人员52名,其中高级职称4人、副高级职称6人、中级职称20人,博士学位6人、硕士学位10人。科室具备完备的教学管理体系,承担多项国家级继续教育项目,是首都医科大学临床检验诊断学专业硕士、博士培养点和北京大学医学部硕士培养点。科室连续多年卫生部临检中心室间质评合格率在99.5%以上,目前开展临床检验项目五百余项,覆盖临床化学、临床血液学、临床体液学、临床免疫学、临床分子生物学、临床微生物学全部亚专业。科室现拥有大型仪器设备包括:全自动生化检测系统、全自动微粒子化学发光仪全自动酶标仪、全自动电化学发光仪、免疫印记仪、全自动荧光免疫/酶联免疫一体、微生物快速动态检测系统、流式细胞仪、核酸提取仪、全自动病毒载量仪、核酸扩增仪等。

检验科在临床检验工作中组建了特色鲜明、协同发展的以传染性、感染性疾病为特色的专业体系,可满足肝病、艾滋病、梅毒、丙肝等常见传染性、感染性疾病诊疗需求,同时在甲流、禽流感、手足口、寨卡、黄热病、MERS、埃博拉等方面建立了完整的核酸检测体系,以满足新发突发传染性、感染性疾病诊疗需求,相关检测能力处于国内领先地位,并与国际接轨。地坛医院检验科在新冠疫情中直面病毒,积极建立新冠病毒核酸检测能力,是北京市属医院第一家获批新冠核酸确证资格的实验室,此外建立方舱实验室,为新冠患者诊断与治疗提供了有力实验室支持。

科室围绕传染性、感染性疾病开展新技术、新方法、新指标应用基础研究和应用研究,承担和完成国家自然科学基金项目、北京市自然科学基金项目、北京市科技新星、北京市科委项目等三十余项,并开展产学研用相结合的临床验证项目二十余项,研究成果发表中英文文章百余篇。获批数十项发明专利和实用新型专利,编写《肿瘤临床检验诊断学》、《诊断学精要》等多部论著。

科室学科带头人王雅杰教授,首都医科大学博士研究生导师、入选国之名医、白求恩式好医生、北京市首届公共卫生高层次人才学科带头人、首届北京医学会优秀中青年医师、北京市科技新星和北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划等。



### 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。

