



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

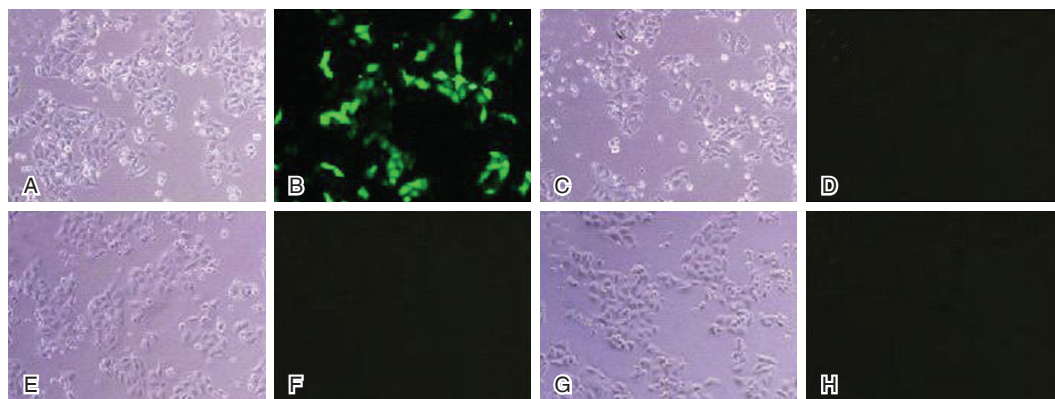
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2024年5月 第16卷 第5期 总第117期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 16 Number 5 May 2024



注: A:NC, 明场; B:NC, 荧光; C:EGFR shRNA-1, 明场; D:EGFR shRNA-1, 荧光; E:EGFR shRNA-2, 明场; F:EGFR shRNA-2, 荧光; G:EGFR shRNA-3, 明场; H:EGFR shRNA-3, 荧光。

图(938) pRNAi-CMV4.1/Neo-EGFR siRNA 转化 HepG2 细胞的结果 (免疫荧光染色, 200×)

Figure(938) The transfection HepG2 cells results of pRNAi-CMV4.1/Neo-EGFR siRNA

(Immunofluorescence staining, 200×)

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



0.5>

9 771674 692242



分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2024 年 5 月 第 16 卷 第 5 期 总第 117 期 Monthly Volume 16 Number 5 May 2024

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 2024 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 2024.5.18
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。

中国科学技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038

www.istic.ac.cn

2023年9月

证书编号：2022-G556-1223
有效期至：2024年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2024年5月 第16卷 第5期

目次

述评

microRNAs在儿童呼吸道合胞病毒感染中调控作用的研究进展 陈悦彤 王波 丁海涛(787)

论著

全麻联合硬膜外麻醉对胃癌根治术患者炎症、应激反应的影响 文静 胡德俊 王雪涵(791)

乙型脑炎病毒核酸检测试剂国家参考品的研制 夏德菊 周海卫 刘东来等(796)

Y染色体微缺失检测试剂盒行业标准的建立 于婷 黄杰(800)

冠心病患者双抗血小板治疗反应性与CYP2C19基因型的关系
..... 孙春根 施秀芳 吴义权等(804)

内镜射频治疗反流性食管炎的疗效及对血清G-17、PGI、PG II水平的影响
..... 孟敏 王秀敏 黄宏春等(808)

P53、P16及Ki-67与早期食管癌患者ESD术后复发的关系分析 党叶川 李聪丽 王瑞雪(812)

rTMS对缺血性脑卒中患者血清MMP-9、Ang- I与NSE水平变化的影响
..... 陶晓琳 李红 马将(817)

纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗对肺癌术后合并肺部感染患者呼吸功能和血清IL-6、TNF- α 和
hs-CRP水平的影响 倪碧宇 田茂良 温友利(821)

血清D-D、MHR、UA及RDW与冠心病患者左心室重构和心功能的相关性
..... 胡保奎 阮爱兵 王玮(826)

肺泡灌洗液mNGS检测神经外科重症下呼吸道感染病原的应用 杨帆 李冰 张辉等(830)

血清Hey、NLR及CAR与2型糖尿病伴甲减患者肾脏损害的关系分析
..... 肖伟伟 付鹏 张莉等(834)

超声引导下RISS平面阻滞对胸腹部手术患者血清Cor、SP、PGE2、IL-6的影响
..... 张莉莉 杨雅婷 贾倩倩(839)

NGAL、CysC及NLR联合检测对脑血管造影介入术后发生CI-AKI的预测价值
..... 张彬彬 孙莹 刘薇(843)

CYFRA21-1、SCCA及NSE在卵巢癌辅助诊断及预后评估中的作用
..... 于一平 尹雯 冯婧等(848)

无创产前筛查在高龄妊娠染色体非整倍体筛查中的应用 刘建珍 陈鸿楨 欧阳碧微等(852)

高血压脑出血后早期脑水肿血清MMP-9、BDNF及IL-18水平变化
..... 王强 王萃 赵燕等(856)

慢性咳嗽儿童患者外周血Th1/Th2平衡与呼出气一氧化氮的相关性研究
..... 郭艳霞 左艳芳 李洪娜等(860)

参芎葡萄糖注射液联合达格列净对早期2型糖尿病肾病患者肾功能、尿蛋白的影响
..... 常丽 郭东亮 刘继红(864)

维持性血液透析患者血清SAA、YKL-40、HBP与透析导管相关性感染及预后的相关性分析
..... 陈庆云 马亚琼 苏裕(868)

血清 E2、25(OH)D3 及尿碘水平对分化型甲状腺癌的预测价值	杨福洲 宋锦丽 颜中等(872)
体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭的疗效及其对线粒体标志物的影响	孙晓静 王立中 张振英等(877)
妊娠合并甲减患者血清 TSH、Hcy、25(OH)D3 水平变化及临床意义	闫林林 杨志英 滕艳等(881)
PD1/PD-L1 在卵巢癌及癌旁组织的表达及与临床病理、预后的关系	肖喜云 李倩 冯静等(885)
慢性阻塞性肺疾病急性加重患者外周血红细胞分布宽度、嗜酸性粒细胞、B 型钠尿肽的诊断价值 及相关性分析	宋玉良 王永(890)
PCT、D-D 联合 CRP 水平动态检测在脓毒症分级及转归评估中的意义	赵静媛 张玉红 董龙等(894)
上海某三甲医院血流感染患儿肺炎克雷伯菌的耐药性及分子流行病学特征	韩碧芸 张泓 王春(899)
BCAT1 作为胰腺导管腺癌潜在诊断标志物的临床应用价值研究	肖英琪 李波 王雨晴等(904)
吸入氩气对高氧诱导新生 SD 大鼠支气管肺发育不良(BPD)的影响	张兰 李敏许 周福心等(909)
血清 P53、G-17 及 MG7-Ag 检测联合胃镜下病理检查在胃癌及癌前病变诊断中的应用	荆玉洁 段振刚 李妮等(913)
TB-DNA、IGRAs、TB-Ab 在肺结核中的诊断价值	林华 刘相玉 陈展飞等(917)
结直肠癌组织中 CCNA1、CDC20 表达水平及临床预后意义	刘然 熊中原 王晓红(921)
D-二聚体、C 肽水平结合经皮氧分压在糖尿病周围神经病变中诊断价值	张冰茵 李辉 范瑾等(926)
AST/ALT、白蛋白与肝癌患者病理特征及 TACE 治疗预后的关系	张超 柏祥云 薛风华(930)
EGFR siRNA 序列的筛选及其对 HepG2 细胞活性的影响	许楠 杨旭东 薛丽等(935)
miR-221、CAR 与急性心肌梗死并发心力衰竭患者心功能和预后的关系	钱明月 赵飞 徐涛等(940)
溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)对急性缺血性脑卒中患者溶栓预后的预测价值	丁燕萍 郭庆敏 张玉来(945)
iCubate-iC 血培养快速检测系统与血培养传统鉴定药敏一致性评估	刘振嘉 范欣 毛熠等(949)
正畸患者口腔细菌感染情况及对血清、龈沟液 PAK5、IL-6、IL-8 水平的影响	郭红燕 吴福焱 孙晓辉等(953)
阻塞性睡眠呼吸暂停患者血清 P2X7R、NF- κ B 水平与认知功能障碍的相关性	李生艳 李英兰 冯恩志(958)
NA-AION 患者昼夜血压、外周血 ACA 变化与 BCVA、GC-IPL 厚度的相关性	刘梅 宿梦苍 杨卫国等(962)
非小细胞肺癌患者 SCC、ProGRP 及 CEA 水平变化及临床意义	路颖慧 安美霞 朱雯怡(967)
CTA 联合血清 MMP-9、TIMP-1 在缺血性脑卒中诊断中的应用	戴云蛟 贾婕 殷少龙等(971)
CCL28 在哮喘急性发作患者血清中的表达研究	晏远飞 王兆媛 刘景(975)
白介素 37 下调多药耐药基因-1 逆转肺腺癌紫杉醇耐药的研究	王梦馨 陈文 李晨瑜等(979)

综 述

纳米抗体在体内外诊断和治疗中的优势和临床应用	于艳妮 周雁 邵丽莹等(985)
------------------------	------------------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 16 Number 5 May 2024

CONTENTS

COMMENTS

- Advances in the regulation of microRNAs in respiratory syncytial virus infection in children
CHEN Yuetong, WANG Bo, DING Haitao (787)

ORIGINAL ARTICLES

- Effect of general anesthesia combined with epidural anesthesia on inflammation and stress response in patients undergoing radical gastrectomy
WEN Jing, HU Dejun, WANG Xuehan (791)
- Development of national reference materials for Japanese encephalitis virus nucleic acid detection reagents
XIA Deju, ZHOU Haiwei, LIU Donglai, XU Sihong (796)
- Establishment of industry standards for Y chromosome microdeletion detection kits
YU Ting, HUANG Jie (800)
- Relationship between responsiveness to dual antiplatelet therapy and CYP2C19 genotypes in patients with coronary heart disease
SUN Chungun, SHI Xiufang, WU Yiquan, XIA Qiuwang (804)
- Effect of endoscopic radiofrequency therapy on reflux esophagitis and its influence on serum G-17, PGI, PG II levels
MENG Min, WANG Xiumin, HUANG Hongchun, JIANG Shanshan (808)
- Analysis of the relationship between P53, P16 and Ki-67 and recurrence after ESD operation in early esophageal cancer patients
DANG Yechuan, LI Congli, WANG Ruixue (812)
- Effect of rTMS on changes in serum MMP-9, Ang-I and NSE levels in patients with ischemic stroke
TAO Xiaolin, LI Hong, MA Jiang (817)
- Effects of fiberoptic bronchoscopy sputum aspiration combined with alveolar lavage on respiratory function and levels of serum IL-6, TNF- α and hs-CRP in lung cancer patients with postoperative pulmonary infection
NI biyu, TIAN Maoliang, WEN Youli (821)
- Correlation between serum D-D, MHR, UA, RDW and left ventricular remodeling, cardiac function in patients with coronary heart disease
HU Baokui, RUAN Aibing, WANG Wei (826)
- Application of pulmonary alveolar lavage fluid mNGS to detect pathogens of severe lower respiratory tract infection in neurosurgery
YANG Fan, Li Bing, ZHANG Hui, CHEN Jinsong (830)
- Relationship between serum Hcy, NLR and CAR and renal damage in patients with type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism
XIAO Weiwei, FU Peng, ZHANG Li, WANG Xiangxiang, LI Wencong, WANG Haijiao, LI Hao, LIU Yan, ZHU Lei (834)
- Influence of ultrasound-guided RISS plane block on serum Cor, SP, PGE2 and IL-6 in patients with thoracoabdominal surgery
ZHANG Lili, YANG Yating, JIA Qianqian (839)
- The predictive value of combined detection of NGAL, CysC, and NLR in the incidence of CI-AKI after cerebrovascular angiography intervention
ZHANG Binbin, SUN Ying, LIU Wei (843)
- The role of CYFRA21-1, SCCA and NSE in the auxiliary diagnosis and prognosis of ovarian cancer
YU Yiping, YIN Wen, FENG Jing, QIAN Sumin (848)
- Application of non-invasive prenatal testing for chromosome aneuploidy in advanced pregnancy
LIU Jianzhen, CHEN Hongzhen, OUYANG Biwei, XU Biqiu, QIN Yanling, LI Xichong, MENG Xiangrong, LIN Keng (852)
- Changes in serum MMP-9, BDNF and IL-18 levels in early cerebral oedema after hypertensive cerebral hemorrhage
WANG Qiang, WANG Cui, ZHAO Yan, ZHANG Min, WANG Wen (856)
- Correlation between Th1/Th2 balance in peripheral blood and fractional exhaled nitric oxide in children with chronic cough
GUO Yanxia, ZUO Yanfang, LI Hongna, SHEN Danhua (860)
- Effects of Shenxiong glucose injection combined with Daglipzin on renal function and urinary protein in patients with early type 2 diabetic nephropathy
CHANG Li, GUO Dongliang, LIU Jihong (864)

Correlation analysis of serum SAA, YKL-40, HBP and dialysis catheter-associated infection and prognosis in maintenance hemodialysis patients <i>CHEN Qingyun, MA Yaqiong, SU Yu</i>	(868)
Predictive value of serum E2, 25 (OH) D3 and urine iodine levels in differentiated thyroid carcinoma <i>YANG Fuzhou, SONG Jinli, YAN Zhong, LI Mingyan</i>	(872)
Effect of external counterpulsation combined with cardiac rehabilitation in treating chronic heart failure and its influence on mitochondrial markers <i>SUN Xiaojing, WANG Lizhong, ZHANG Zhenying, ZHANG Liu, XU Zhiping, YANG Cheng</i>	(877)
Changes and clinical significance of serum TSH, Hcy and 25(OH)D3 levels in pregnant patients with hypothyroidism <i>YAN Linlin, YANG Zhiying, TENG Yan, WANG Hong</i>	(881)
The expression of PD1/PD-L1 in ovarian cancer and adjacent tissues and its relationship with clinical pathology and prognosis <i>XIAO Xiyun, LI Qian, FENG Jing, YAN Ruixue, XI Jie</i>	(885)
Diagnostic value and correlation analysis of red blood cell distribution width, eosinophils, and B-type natriuretic peptide in peripheral blood of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease <i>SONG Yuliang, WANG Yong</i>	(890)
The significance of dynamic detection of PCT and D-D combined with CRP levels in the assessment of sepsis grading and regression <i>ZHAO Jingyuan, ZHANG Yuhong, DONG Long, WU Xue, DUAN Lijuan, YAN Xiaowei, LI Suqing</i>	(894)
Drug resistance and molecular epidemiological characteristics of <i>Klebsiella pneumoniae</i> in children with bloodstream infection in a Class III hospital in Shanghai <i>HAN Biyun, ZHANG Hong, WANG Chun</i>	(899)
The clinical application value of BCAT1 as a potential diagnostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma <i>XIAO Yingqi, LI Bo, WANG Yuqing, FENG Fan, ZHENG Naxin, LI Boan</i>	(904)
Effects of hydrogen gas inhalation on hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia in neonatal SD rats <i>ZHANG Lan, LI Minxu, ZHOU Fuxin, HUANG Weimin</i>	(909)
Serum P53, G-17 and MG7-Ag testing combined with gastroscopic pathology in the diagnosis of gastric cancer and precancerous lesions <i>JING Yujie, DUAN Zhengang, LI Ni, YAO Ru</i>	(913)
The diagnostic value of TB-DNA, IGRAs and TB-Ab in pulmonary tuberculosis <i>LIN Hua, LIU Xiangyu, CHEN Zhanfei, YU Liumin</i>	(917)
The expression levels of CCNA1 and CDC20 in colorectal cancer tissues and their clinical prognostic significance <i>LIU Ran, XIONG Zhongyuan, WANG Xiaohong</i>	(921)
The diagnostic value of D-dimer and C-peptide levels combined with percutaneous partial pressure of oxygen in diabetic peripheral neuropathy <i>ZHANG Bingyin, LI Hui, FAN Jin, YANG Yun, JIA Xiaodi, YANG Xingxing</i>	(926)
Relationship of AST/ALT and albumin with pathological features and prognosis of TACE in patients with liver cancer <i>ZHANG Chao, BAI Xiangyun, XUE Fenghua</i>	(930)
Analysis of the interference efficiency of <i>EGFR</i> siRNA and its effect on the proliferation of hepatoma cells <i>XU Nan, YANG Xudong, XUE Li, NING Qilan, WANG Huilian, GENG Yan</i>	(935)
Relationship between <i>miR-221</i> , CAR and cardiac function and prognosis in patients with acute myocardial infarction complicated with heart failure <i>QIAN Mingyue, ZHAO Fei, XU Tao, YANG Zhiqiang</i>	(940)
Predictive value of serum uric acid, Hcy and Lp(a) before thrombolysis for the prognosis of acute ischemic stroke patients after thrombolytic therapy <i>DING Yanping, GUO Qingmin, ZHANG Yulai</i>	(945)
Consistency assessment between iCubate-iC blood culture rapid detection system and traditional blood culture identification of drug susceptibility <i>LIU Zhenjia, FAN Xin, MAO Yi, ZHANG Dan, YANG Chunxia</i>	(949)
Oral bacterial infection in orthodontic patients and its impact on serum and gingival crevicular fluid PAK5, IL-6, and IL-8 levels <i>GUO Hongyan, WU Fuyan, SUN Xiaohui, TIAN Lili</i>	(953)
Correlation between serum P2X7R, NF- κ B levels and cognitive dysfunction in patients with obstructive sleep apnea <i>LI Shengyan, LI Yinglan, FENG Enzhi</i>	(958)
Correlation of circadian blood pressure and peripheral blood ACA changes with BCVA and GC-IPL thickness in patients with NA-AION <i>LIU Mei, SU Mengcang, YANG Weiguo, HUANG Xianghe</i>	(962)
Changes and clinical significance of SCC, ProGRP and CEA levels in patients with non-small cell lung cancer <i>LU Yinghui, AN Meixia, ZHU Wenyi</i>	(967)
Application of CTA combined with serum MMP-9 and TIMP-1 in the diagnosis of ischemic stroke <i>DAI Yunjiao, JIA Jie, YIN Shaolong, LIU Xiaocui, XU Wenli</i>	(971)
Study on the expression of CCL 28 in serum of patients with acute asthma attacks <i>YAN Yuanfei, WANG Zhaoyuan, LIU Jing</i>	(975)
Study on interleukin-37 downregulating multidrug resistance gene-1 to reverse paclitaxel resistance in lung adenocarcinoma <i>WANG Mengxin, CHEN Wen, LI Chenyu, LI Zhiwen, MU Xiaofeng</i>	(979)

REVIEWS

Advantages and clinical applications of nanoantibodies in vitro and in vivo diagnosis and therapy <i>YU Yanni, ZHOU Yan, SHAO Liying, SONG Yu, WANG Mingyi</i>	(985)
---	-------

microRNAs 在儿童呼吸道合胞病毒感染中调控作用的研究进展

陈悦彤¹ 王波² 丁海涛^{2*}

[摘要] 呼吸道合胞病毒(RSV)是儿童急性下呼吸道感染最常见的病原体,对儿童的健康构成严重威胁,但其病理机制仍不明确,目前仍然没有有效预防和治疗呼吸道合胞病毒的方法。RSV是具有包膜单负链RNA病毒,编码11种蛋白质,这些蛋白质是诱导气道高反应性(AHR)的关键因素。微小RNA(miRNAs)近来被认为是基因表达调控因子,通过调节炎症反应和免疫细胞功能以及气道上皮细胞的宿主免疫反应,在病毒感染中发挥调控作用。本文综述了miRNAs在RSV感染中调控作用的研究进展,旨在为RSV的致病机制、诊断及治疗提供新思路。

[关键词] 呼吸道合胞病毒; microRNAs; 气道高反应性; 儿童

Advances in the regulation of microRNAs in respiratory syncytial virus infection in children

CHEN Yuetong¹, WANG Bo², DING Haitao^{2*}

(1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010059; 2. Clinical Laboratory, Inner Mongolia Peoples Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017)

[ABSTRACT] Respiratory syncytial virus (RSV) is the most common pathogen of acute lower respiratory infections in children and poses a serious health risk. However, its pathogenesis remains unclear, and effective prevention or treatment for RSV is still lacking. RSV is an enveloped single-negative-stranded RNA virus that encodes 11 proteins, which are key factors in inducing airway hyper reactivity (AHR). MicroRNAs (miRNAs) have recently been recognized as regulators of gene expression and play a crucial role in viral infections by modulating inflammatory responses, immune cell function, and host immune responses in airway epithelial cells. This paper reviews the research progress on the regulatory role of miRNAs in RSV infection, aiming to provide new insights for understanding the pathogenesis, diagnosis, and treatment of RSV.

[KEY WORD] Respiratory syncytial virus; MicroRNAs; Airway hyper reactivity; Children

呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)是儿童急性下呼吸道感染最常见的病原体,可引起毛细支气管炎和肺炎^[1]。世界范围内,每年约有3 300万婴幼儿发生RSV相关急性下呼吸道感染,这给全球医疗保健服务带来了沉重的负担^[2]。但其病理机制仍不明确,目前仍然无有效预防和治疗呼吸道合胞病毒的方法。微小RNA

(microRNA, miRNA)近年来被认为是基因表达调控因子,通过改变宿主炎症和免疫细胞以及气道上皮细胞的反应,在病毒感染中发挥调节作用^[3]。因此了解miRNAs在抗RSV感染免疫反应中的作用和鉴定miRNAs的表达改变可能有助于阐明RSV与宿主相互作用的机制。本文综述miRNAs在RSV感染中调控作用的研究进展,旨在为儿童

基金项目:内蒙古自治区卫生健康委医疗卫生科技计划项目(202201054);内蒙古自治区人民医院院内基金(2022YN09)

作者单位:1. 内蒙古医科大学,内蒙古,呼和浩特 010059

2. 内蒙古自治区人民医院检验科,内蒙古,呼和浩特 010017

*通信作者:丁海涛, E-mail:htdnmy12@126.com

RSV感染的致病机制、诊断及治疗提供新思路。

1 呼吸道合胞病毒

RSV是具有包膜单负链RNA病毒,属于副粘病毒家族,病毒颗粒形状多样,具有感染性,主要有A、B两种亚型,以A型感染为主^[4]。RSV编码11种蛋白质,包括两种非结构蛋白1(Non-Structural Protein 1, NS1)和非结构蛋白2(Non-Structural Protein 2, NS2)、结构蛋白,如膜糖蛋白和基质蛋白。这些蛋白质是诱导气道高反应性(Airway Hyper Reactivity, AHR)的关键致病因素,包括免疫障碍、Th2型细胞因子的过度表达和炎症性失衡^[5]。通常AHR在急性感染期后持续数月甚至数年,是原发性RSV感染婴儿的重要临床特征之一,患儿表现出对外源性过敏原和再次感染的敏感性增加,易引发哮喘^[6]。

2 微小RNA

miRNA是广泛存在于动植物体内的一类内源性非编码单链RNA,长约10~25个核苷酸^[7]。miRNAs通过作用于靶基因3'非编码区(untranslated region, UTR),降解靶基因mRNAs或者抑制其翻译过程,实现对基因转录后水平的调控,在细胞增殖、分化、凋亡、代谢等方面发挥重要生理学功能^[8]。同一种miRNA可以作用多种mRNAs。miRNAs不仅存在于机体多种组织细胞内,而且可广泛而稳定地存在于血清、血浆、组织间液等各类体液中,故常被作为新型的生物标志物用于肿瘤、心血管病、糖尿病等多种疾病的诊断和判断预后^[9]。近年来,越来越多的证据表明miRNAs在RSV感染的调控中发挥着重要作用。已有研究^[10]表明在RSV感染婴儿的外周血和气道中可以检测到miRNAs的异常表达。miRNAs微调了由RSV诱导并与AHR相关的细胞信号的强度,如miR-24、miR-27和let-7家族等^[11]。此外,有研究^[12]表明miRNAs在调节脂质炎症介质的合成和平衡方面发挥着重要作用。

3 RSV感染后microRNAs的表达

3.1 RSV病毒蛋白和宿主细胞释放的介质参与诱导miRNA表达

在RSV感染过程中,病毒蛋白和宿主细胞释放的介质都参与了RSV诱导的miRNA表达。在一项使用正常人类支气管上皮细胞系培养的研究^[13]中,RSV接种导致miR-221的表达显著下降,并强烈诱导let-7i和miR-30b表达的升高。此外当细胞被缺乏NS1或NS2基因的RSV株感染时,let-7i和miR-30b的上调进一步增强^[14]。在人正常支气管上皮细胞(Normal Human Bronchial Epithelial, NHBE)中,NS1和NS2蛋白分别通过干扰素- β (IFN- β)和核因子- κ B(NF- κ B)信号通路介导促进let-7i和miR-30b的表达^[13]。Let-7和miR-30b在RSV感染中的作用尚未被直接研究,但在胆道和肝癌细胞系中,这两种miRNA都有助于加强对病毒感染的上皮免疫反应和抑制病毒复制^[15]。RSV G蛋白可以上调宿主miRNA(let-7f, miR-24)的表达,通过抑制IFN- λ 的形成来减弱宿主抗病毒反应^[16]。

3.2 RSV感染后microRNAs表达谱的改变

许多研究表明,RSV感染显著改变miRNAs的表达谱。有研究^[17]在RSV感染的人类支气管上皮细胞中发现有24个miRNA显著下调,2个miRNA上调。在临床样本和体外细胞实验中,miRNA表达表现出明显的特征。临床样本中在RSV感染患儿鼻黏膜细胞中发现miR-34b、miR-34c、miR-125b、miR-29c、mir125a、miR-429和miR-27b显著下调,miR-155、miR-31、miR-203a、miR-16和let-7d显著上调^[18]。RSV感染患儿外周血中也发现miRNAs表达谱发生了显著变化,其中miR-106b-5p、miR-20b-5p、miR-342-3p表达显著上调,miR-877-5p、miR-122-5p、miR-320d、miR-92b-5p表达显著下调^[10]。体外试验中,在RSV持续感染Hep-2细胞中,miRNA-146-5p、Let-7c-5p、miR-221和miR-345-5p存在差异表达^[19]。在RSV感染的原代培养的人支气管上皮细胞中发现,miR-27a、miR-221、miR-339-5p、miR-453和miR-574显著下调,miR-744显著上调^[17]。此外RSV感染还会导致外泌体miRNAs的表达发生显著变化^[20]。外泌体中的miRNAs是细胞间沟通的重要工具,RSV感染引起的miRNA表达的改变,不仅作用于被感染细胞本身,还可调控细胞间通讯,从而影响局部微环境。

4 microRNAs在RSV感染中的调控作用

4.1 microRNAs调控宿主免疫应答

4.1.1 miRNAs调控宿主先天性免疫应答

miRNA可以参与RSV感染早期先天免疫的调节和炎症反应的启动。在病毒感染期间,一些

miRNA 在各种免疫细胞中上调或下调,如树突状细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞等。研究表明^[21], RSV 感染后诱导的 3 种 miRNA 可通过调节 DCs 的发育及其成熟过程、抗原提呈能力和细胞因子释放,参与宿主免疫调节。巨噬细胞是先天免疫系统的主要细胞组成部分。Let-7、miR-34a、miR-155、miR-124、miR-34a 等多种 miRNAs 通过调节巨噬细胞极化,以参与炎症反应调节^[22]。此外,miR-146 可对 IL-12/IL-18 激活的人类 NK 细胞中的 IFN- γ 产生进行负调节^[23]。附着 G 蛋白还通过多种机制调控宿主细胞的防御功能,有研究表明 G 蛋白可下调 Let-7 进而促进 IFN- λ 的分泌以诱导上皮细胞的抗病毒反应^[24]。

4.1.2 miRNAs 调控宿主适应性免疫应答

许多证据表明,miRNAs 可参与 RSV 感染的适应性免疫的调节。miR-150、miR-155 和 let-7 家族,都参与了 CD8⁺ T 细胞效应器或中央记忆细胞的激活^[25]。miRNA 被证明参与功能性外周 T 细胞亚群的发展,miR-142 与糖蛋白 A 重复优势蛋白(Glycoprotein A repetitions predominant)的 3'-UTR 结合来调节 CD4⁺CD25⁺T 细胞增殖^[26]。miR-155 和 miR-146a 分别对维持正常的 Treg 细胞稳态和调节 Th1 炎症的抑制至关重要^[27]。miRNA 还可调节 B 细胞的发育,miR-34a 通过下调 Foxp1 的表达来抑制 pro-B 细胞到 pre-B 细胞的过渡,从而扰乱 B 细胞的成熟^[28]。

miRNAs 可调控免疫细胞功能及其细胞因子的产生。RSV 复制可以通过 miRNA 调节影响与免疫相关的多个基因的表达,导致淋巴细胞功能的改变^[29]。miRNA 是 2 型固有淋巴细胞(Group 2 Innate Lymphoid Cells, ILC2s)生物功能的关键调节剂,有研究^[30]在小鼠中发现需要 miR-17-92 簇来维持 ILC2 的体内稳态和功能。在过敏性气道炎症实验模型中,miR-155 是 ILC2 和 IL-33 信号的关键调节剂,在慢性气道炎症的启动和维持中发挥作用^[31]。miR-19a 通过针对 RUNX3 直接和间接地调节过敏性哮喘中的气道炎症反应^[32]。另一项研究^[33]表明,miR155 与 Let-7 通过调节 IL-13 在 Th2 细胞中的表达,也可调节过敏性气道炎症反应。

4.2 microRNAs 调控宿主炎症反应

4.2.1 miRNAs 参与调控白三烯生物活性

白三烯(Leukotrienes, LTs)是由花生四烯酸(Arachidonic Acide, AA)通过 5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)途径生成的炎症介质,半胱氨酸白

三烯(Cysteinyl leukotriene, Cys-LTs)可以增加血管通透性、粘液分泌和气道反应性。RSV 感染支气管上皮细胞后,Cys-LTs 合成明显增加^[34]。研究^[6]发现 RSV 感染后的很长时间仍然会存在气道高反应,新生儿 RSV 感染后,再次感染会出现更严重的呼吸道疾病。白三烯水平的升高对 RSV 感染后 AHR 的发生至关重要,并与反复发作的喘息有关^[35]。miRNAs 被证实可以调节 AA 的代谢进而调控白三烯的合成^[36]。一些 miRNAs 已被证实可以抑制 5-LOX 的表达,如 let-7、miR-19a 和 miR-125。有研究^[37]发现 RSV 可通过 NS1 上调 miR-19a-3p 的表达,miR-19a-3p 可调控 5-LO 进而调控 LTs 的合成。此外,miR-26、miR-30a、miR-143 和 miR-146a 等 miRNAs 可能通过抑制 COX 通路导致更多 AA 转化为白三烯^[15],这些 miRNAs 在 RSV 感染中均存在异常表达。

4.2.2 miRNAs 参与诱导气道上皮细胞粘液分泌

粘液过度分泌是 RSV 感染的主要特征之一。RSV 感染加重的关键原因是带有细胞碎片的粘液过多分泌会阻塞细支气管,此外,具有促炎细胞浸润的过量粘液是 AHR 的诱因,也与儿童后期哮喘的发生有关^[38]。有研究^[39]证明 miRNA-34b/c 通过靶向成纤维细胞生长因子受体 1 调节 RSV 感染的气道上皮细胞中的粘液分泌。此研究还表明 miR-34b/c-5p 参与了粘蛋白表达基因 MUC5AC 的调控,在受 RSV 感染的人支气管上皮细胞中,减少的 miR-34b/c-5p 诱导 MUC5AC 产生的部分原因是 c-Jun 的激活,为 RSV 感染后粘液阻塞的机制提供了新的见解。

4.2.3 miRNAs 参与诱导复发性喘息

RSV 感染后喘息复发有两个重要的病理基础:首先,RSV 急性感染促进由巨噬细胞和 DCs 介导的炎症程序的启动,LT 合成酶的活性增加以及 LTR 的上调。其次,导致免疫偏差的淋巴细胞异常分化 and 功能障碍可能导致反复喘息^[40]。最近的许多研究^[41]表明 LTs 合成的活性受到特定 miRNA(miR-19a-3p 和 miR-125b-5p)的调节,并且 miRNAs 参与淋巴细胞分化、成熟、增殖以及凋亡^[42]。可见原发性 RSV 感染诱导的 miRNA 可增加对过敏原的敏感性。

5 总结与展望

本文综述了 miRNAs 在 RSV 感染中调控作用的研究进展,许多研究证明 miRNAs 在 RSV 感染的调控中发挥着关键作用,因此 miRNAs 可能成

为检测 RSV 感染的潜在生物标志物,以及与 RSV 感染的早期干预和治疗策略的新靶点。

参考文献

- [1] Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study [J]. *Lancet*, 2017, 390(10098): 946-958.
- [2] Li Y, Wang X, Blau DM, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis [J]. *Lancet*, 2022, 399(10340): 2047-2064.
- [3] Werz O, Gerstmeier J, Garscha U. Novel leukotriene biosynthesis inhibitors (2012-2016) as anti-inflammatory agents [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2017, 27(5): 607-620.
- [4] Vandini S, Biagi C, Lanari M. Respiratory Syncytial Virus: The Influence of Serotype and Genotype Variability on Clinical Course of Infection [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): 1717.
- [5] Caidi H, Miao C, Thornburg NJ, et al. Anti-respiratory syncytial virus (RSV) G monoclonal antibodies reduce lung inflammation and viral lung titers when delivered therapeutically in a BALB/c mouse model [J]. *Antiviral Res*, 2018, 154: 149-157.
- [6] Nenna R, Ferrara M, Nicolai A, et al. Viral Load in Infants Hospitalized for Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis Correlates with Recurrent Wheezing at Thirty-Six-Month Follow-Up [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2015, 34(10): 1131-1132.
- [7] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- [8] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(7): 522-31.
- [9] Wu Y, Li Q, Zhang R, et al. Circulating microRNAs: Biomarkers of disease [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2021, 516: 46-54.
- [10] Wang S, Liu P, Yang P, et al. Peripheral blood microRNAs expression is associated with infant respiratory syncytial virus infection [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(57): 96627-96635.
- [11] Głobińska A, Pawełczyk M, Kowalski ML. MicroRNAs and the immune response to respiratory virus infections [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2014, 10(7): 963-971.
- [12] Saul MJ, Emmerich AC, Steinhilber D, et al. Regulation of Eicosanoid Pathways by MicroRNAs [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 824.
- [13] Thornburg NJ, Hayward SL, Crowe JE. Respiratory syncytial virus regulates human microRNAs by using mechanisms involving beta interferon and NF- κ B [J]. *mBio*, 2012, 3(6): e00220-12.
- [14] Rossi GA, Silvestri M, Colin AA. Respiratory syncytial virus infection of airway cells: Role of microRNAs [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2015, 50(7): 727-732.
- [15] Liu Z, Fan P, Chen M, et al. miRNAs and Leukotrienes in Respiratory Syncytial Virus Infection [J]. *Front Pediatr*, 2021, 9: 602195.
- [16] Bakre AA, Harcourt JL, Haynes LM, et al. The Central Conserved Region (CCR) of Respiratory Syncytial Virus (RSV) G Protein Modulates Host miRNA Expression and Alters the Cellular Response to Infection [J]. *Vaccines (Basel)*, 2017, 5(3): 16.
- [17] Othumpangat S, Walton C, Piedimonte G. MicroRNA -221 modulates RSV replication in human bronchial epithelium by targeting NGF expression [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30030.
- [18] Inchley CS, Sonnerud T, Fjærli HO, et al. Nasal mucosal microRNA expression in children with respiratory syncytial virus infection [J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15: 150.
- [19] Eilam-Frenkel B, Naaman H, Brkic G, et al. MicroRNA 146-5p, miR-let-7c-5p, miR-221 and miR-345-5p are differentially expressed in Respiratory Syncytial Virus (RSV) persistently infected HEp-2 cells [J]. *Virus Res*, 2018, 251: 34-39.
- [20] Chahar HS, Corsello T, Kudlicki AS, et al. Respiratory Syncytial Virus Infection Changes Cargo Composition of Exosome Released from Airway Epithelial Cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 387.
- [21] Baños-Lara MDR, Zabaleta J, Garai J, et al. Comparative analysis of miRNA profile in human dendritic cells infected with respiratory syncytial virus and human metapneumovirus [J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 432.
- [22] Ghafouri-Fard S, Abak A, Tavakkoli Avval S, et al. The impact of non-coding RNAs on macrophage polarization [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142: 112112.
- [23] Nanbakhsh A, Malarkannan S. The Role of microRNAs in NK Cell Development and Function [J]. *Cells*, 2021, 10(8).
- [24] Liang B, Kabatova B, Kabat J, et al. Effects of Alterations to the CX3C Motif and Secreted Form of Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) G Protein on Immune Responses to a Parainfluenza Virus Vector Expressing the RSV G Protein [J]. *J Virol*, 2019, 93(7).
- [25] Almanza G, Fernandez A, Volinia S, et al. Selected microRNAs define cell fate determination of murine central memory CD8 T cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11243.
- [26] Zhou Q, Haupt S, Prots I, et al. miR-142-3p is involved in CD25+ CD4 T cell proliferation by targeting the expression of glycoprotein A repetitions predominant [J]. *J Immunol*, 2013, 190(12): 6579-88.
- [27] Cho S, Dong J, Lu LF. Cell-intrinsic and -extrinsic roles of miRNAs in regulating T cell immunity [J]. *Immunol Rev*, 2021, 304(1): 126-40.
- [28] Das K, Rao LVM. The Role of microRNAs in Inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15479.
- [29] Anderson L, Jorquera PA, Tripp RA. MicroRNA Profiling from RSV-Infected Biofluids, Whole Blood, and Tissue Samples [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1442: 195-208.

全麻联合硬膜外麻醉对胃癌根治术患者炎症、应激反应的影响

文静* 胡德俊 王雪涵

[摘要] 目的 分析全麻联合硬膜外麻醉对胃癌根治术患者炎症、应激反应的影响。方法 选取2020年7月至2023年5月金堂县第一人民医院收治的胃癌根治术患者108例,根据麻醉方式分为对照组53例(全麻)、观察组(全麻联合硬膜外麻醉)55例。比较两组麻醉相关指标、疼痛情况、生命体征变化、炎症、应激反应及不良反应。结果 观察组拔管时长、术后醒来时长均短于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组失血量、麻醉时长及手术时长比较差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组术后1 h、4 h、8 h、12 h及24 h VAS评分均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组 T_0 MAP、HR比较,差异无统计学意义($P>0.05$); T_1 、 T_2 观察组MAP、HR均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组 T_0 TNF- α 、IL-6、GLU及COR水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$); T_1 、 T_2 比较,观察组TNF- α 、IL-6、GLU及COR水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组不良反应发生率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 胃癌根治术患者行全麻联合硬膜外麻醉可降低术后疼痛程度,有效调节TNF- α 、GLU及COR水平,可改善炎症、应激反应,且安全性良好。

[关键词] 全麻;硬膜外麻醉;胃癌根治术;TNF- α ;GLU;COR

Effect of general anesthesia combined with epidural anesthesia on inflammation and stress response in patients undergoing radical gastrectomy

WEN Jing*, HU Dejun, WANG Xuehan

(Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Jintang County, Chengdu, China, 610400)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of general anesthesia combined with epidural anesthesia on inflammation and stress response in patients undergoing radical gastrectomy. **Methods** 108 cases of gastric cancer patients who underwent radical surgery were admitted to the First People's Hospital of Jintang County from July 2020 to May 2023. They were divided into two groups based on their anesthesia methods: 53 cases in the control group (general anesthesia) and 55 cases in the observation group (general anesthesia combined with epidural anesthesia). The study compared anesthesia-related indexes, pain levels, changes in vital signs, inflammation, stress reactions, and adverse reactions between the two groups. **Results** The length of extubation and postoperative awakening in the observation group was shorter than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the comparison of blood loss, anesthesia duration and operation duration between the two groups ($P>0.05$). The postoperative VAS scores at 1 h, 4 h, 8 h, 12 h and 24 h in the observation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). When comparing the T_0 MAP and HR of the two groups, the difference was not statistically significant ($P>0.05$). The MAP and HR of the observation group were lower than those of the control group at T_1 and T_2 , and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Comparing T_0 TNF- α , IL-6, GLU and COR levels between the two groups, the difference

基金项目:四川省科技厅项目(2022NSFSC0570)

作者单位:金堂县第一人民医院麻醉科,四川,成都 610400

*通信作者:文静, E-mail:wenjing19860104@163.com

was not statistically significant ($P>0.05$); at T1 and T2, TNF- α , IL-6, GLU and COR levels in the observation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The incidence of adverse reactions in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Combining general anesthesia with epidural anesthesia in patients undergoing radical gastric cancer surgery can reduce postoperative pain, effectively regulate levels of TNF- α , GLU and COR, and improve inflammatory and stress responses with good safety.

[KEY WORDS] General anesthesia; Epidural anesthesia; Radical gastrectomy; TNF- α ; GLU; COR

胃癌是消化系统发病率较高的肿瘤之一。近年由于人们生活质量的提高,饮食结构发生一定改变,胃癌发病呈现年轻化发展^[1]。据癌症中心统计数据,我国是胃癌发病高发区,估计每年约70万患者死于胃癌,胃癌发生率及死亡率均为世界平均水平的两倍^[1]。胃癌主要依靠胃癌根治术行治疗,即对胃部癌变组织及四周可能受累浸润组织行完全性切除的手术方式。而任何手术均可产生应激反应,对身体产生一定损伤。胃癌根治术操作复杂,手术时间较长,更容易引发机体内环境、代谢失调,进而产生多种应激反应^[2]。因此,在胃癌根治术中选择合理、科学的麻醉方式,对减少炎症反应、应激反应具有重要作用。既往临床常选择全麻,可确保患者呼吸循环稳定,满足手术需求,但临床长期实践发现其术后苏醒期躁动及认知功能发生障碍可能性较高^[3]。近年,全麻联合硬膜外麻醉下成为外科手术常见的麻醉方式,其中硬膜外麻醉可避免手术引发的伤害性刺激,降低全麻药用量,保证术中麻醉效果平稳及苏醒期平顺^[4]。本文旨在分析全麻联合硬膜外麻醉对胃癌根治术患者炎症、应激反应的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2020年7月至2023年5月金堂县第一人民医院收治胃癌根治术患者108例,根据麻醉方式分为对照组53例(全麻)、观察组(全麻联合硬膜外麻醉)55例。对照组男36例,女17例,平均年龄(42.55 \pm 8.65)岁,平均体重(55.83 \pm 10.21)kg,ASA分级^[5]: I级31例, II级22例;观察组男38例,女17例,平均年龄(43.04 \pm 8.76)岁,平均体重(56.34 \pm 10.34)kg,ASA分级: I级32例, II级23例。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:胃癌符合《胃癌诊断标准》^[5]相关标准,均行胃癌根治术;既往无腹部手术史;临床资料齐全;无麻醉相关禁忌症。排除标准:凝血功

能障碍;无法正常言语交流;伴有其他恶性肿瘤;肝肾肾功能不全;伴有其他器官并发症。本研究经本院医学伦理委员会批准,且患者及家属知晓并同意。

1.2 方法

两组术前均禁食6 h,肌肉注射咪达唑仑、阿托品,剂量分别为2.0及5.0 mg。

对照组:术中全身麻醉,麻醉诱导:静脉注射咪达唑仑、芬太尼、丙泊酚、顺阿曲库铵,剂量依次为0.04 mg/kg、4.00 μ g/kg、1.00 mg/kg及0.20 mg/kg。2 min后行气管插管,术中维持麻醉:芬太尼[0.05~0.25 μ g/(kg·h)]、丙泊酚[5.00~8.00 mg/(kg·h)]、顺阿曲库铵[0.12 mg/(kg·h)]。时刻检测患者反应,知晓麻醉效果,术后及时给予镇痛,待患者生命体征安稳,送至病房。

观察组:术中全麻联合硬膜外麻醉,穿刺点选择T₈₋₉椎间隙,头端置管(3 cm),穿刺完成后患者改平卧位,静脉推注2%利多卡因5 mL行麻醉诱导,维持麻醉药物同对照组,在此基础上增加0.375%布比卡因,间隔45 min后,硬膜外给药4 mL。术后处理方法同对照组。

1.3 观察指标

1.3.1 两组麻醉相关指标比较

包含失血量、拔管时长、麻醉时长、手术时长、术后醒来时长。

1.3.2 两组疼痛情况比较

术后1 h、4 h、8 h、12 h及24 h评估患者疼痛情况,采用视觉模拟评分法(Visual analog scoring, VAS)^[6]进行评估,总分0~10分,分数越高,疼痛情况越严重。

1.3.3 两组生命体征变化比较

麻醉前(T₀)、麻醉开始后30 min(T₁)、术后2 h(T₂)使用心电监护仪检测平均动脉压(Mean arterial pressure, MAP)、心率(Heart rate, HR)。

1.3.4 两组炎症、应激反应比较

麻醉前(T₀)、麻醉开始后30 min(T₁)、术后2 h(T₂)抽取空腹状态患者静脉血,离心3 500 r/min,

15 min, 离心半径 12 cm, 后取血清, 采用酶联免疫吸附法检测肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (Interleukin-6, IL-6), 使用全自动生化分析仪检测血糖 (Blood sugar, GLU), 采用放射免疫法检测皮质醇 (cortisol, COR)。上述试剂盒均来自杭州联科生物技术股份有限公司。

1.3.5 两组不良反应比较

观察、统计麻醉清醒后患者躁动、恶心、头晕现象。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组间比较采用 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组麻醉相关指标比较

观察组拔管时长、术后醒来时长均短于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 两组失血量、麻醉时长及手术时长比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组麻醉相关指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Comparison of anesthesia-related indexes between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	失血量 (mL)	拔管时长 (min)	麻醉时长 (min)	手术时长 (min)	术后醒来时长 (min)
对照组	53	208.36 \pm 42.66	30.52 \pm 4.63	211.88 \pm 42.84	176.37 \pm 37.52	25.83 \pm 4.37
观察组	55	209.12 \pm 42.58	12.08 \pm 2.57	210.07 \pm 42.76	175.86 \pm 37.44	10.10 \pm 1.63
t 值		0.092	25.457	0.219	0.070	24.957
P 值		0.926	<0.001	0.826	0.943	<0.001

表 3 两组不同时间点 MAP、HR 比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 3 Comparison of MAP、HR between the two groups at different time points $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	MAP (mmHg)			HR (Times/min)		
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₀	T ₁	T ₂
对照组	53	96.12 \pm 26.53	117.25 \pm 30.58 ^a	90.67 \pm 25.75 ^{ab}	120.53 \pm 27.54	138.54 \pm 31.48 ^a	116.83 \pm 29.76 ^b
观察组	55	95.53 \pm 26.41	90.34 \pm 25.62 ^a	80.33 \pm 20.05 ^{ab}	119.68 \pm 27.46	126.67 \pm 30.11 ^a	105.89 \pm 24.53 ^{ab}
t 值		0.115	4.964	2.333	0.160	2.018	2.087
P 值		0.908	<0.001	0.021	0.872	0.046	0.039

注: 与 T₀ 比较, ^a $P < 0.05$; 与 T₁ 比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 4 两组不同时间点 TNF- α 、IL-6 的比较 $[(\bar{x} \pm s), \mu\text{g/mL}]$

Table 4 Comparison of TNF- α 、IL-6 between the two groups at different time points $[(\bar{x} \pm s), \mu\text{g/mL}]$

组别	n	TNF- α			IL-6		
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₀	T ₁	T ₂
对照组	53	1.20 \pm 0.09	3.31 \pm 1.13 ^a	5.61 \pm 2.08 ^{ab}	0.90 \pm 0.03	1.96 \pm 0.39 ^a	3.30 \pm 1.11 ^{ab}
观察组	55	1.18 \pm 0.06	1.87 \pm 0.32 ^a	3.37 \pm 1.15 ^{ab}	0.89 \pm 0.03	1.28 \pm 0.29 ^a	1.93 \pm 0.37 ^{ab}
t 值		1.363	9.081	6.959	1.298	10.307	8.668
P 值		0.175	<0.001	<0.001	0.196	<0.001	<0.001

注: 与 T₀ 比较, ^a $P < 0.05$; 与 T₁ 比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.2 两组疼痛情况比较

观察组术后 1 h、4 h、8 h、12 h 及 24 h VAS 评分均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组术后不同时间点 VAS 评分比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of VAS scores at different time points between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	术后 1 h	术后 4 h	术后 8 h	术后 12 h	术后 24 h
对照组	53	2.68 \pm 0.51	3.75 \pm 0.79 ^a	4.21 \pm 1.15 ^{ab}	3.37 \pm 0.58 ^{abc}	1.41 \pm 0.14 ^{abcd}
观察组	55	2.13 \pm 0.37	2.46 \pm 0.51 ^a	3.28 \pm 0.60 ^{ab}	1.66 \pm 0.16 ^{abc}	0.73 \pm 0.08 ^{abcd}
t 值		6.432	10.118	5.296	21.052	31.133
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与术后 1 h 比较, ^a $P < 0.05$; 与术后 4 h 比较, ^b $P < 0.05$; 与术后 8 h 比较, ^c $P < 0.05$; 与术后 12 h 比较, ^d $P < 0.05$ 。

2.3 两组生命体征比较

两组 T₀ MAP、HR 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); T₁、T₂ 比较, 观察组 MAP、HR 低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组炎症、应激反应比较

2.4.1 两组不同时间点 TNF- α 、IL-6 比较

两组 T₀ TNF- α 、IL-6 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); T₁、T₂ 比较, 观察组 TNF- α 、IL-6 低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.4.2 两组不同时间点 GLU、COR 比较

两组 T₀ GLU、COR 比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$); T₁、T₂ 比较,观察组 GLU、COR 低于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 5。

2.5 两组不良反应比较

观察组不良反应发生率低于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 6。

表 5 两组不同时间点 GLU、COR 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of GLU、COR between the two groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GLU (mmol/L)			COR ($\mu\text{g/L}$)		
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₀	T ₁	T ₂
对照组	53	5.28±1.26	6.93±2.05 ^a	6.76±1.94 ^a	385.26±37.53	415.83±43.07 ^a	403.57±42.12 ^a
观察组	55	5.07±1.20	5.83±1.47 ^a	5.98±1.52 ^{ab}	383.81±37.26	394.27±41.05	388.11±40.37
t 值		0.887	3.213	2.330	0.201	2.663	2.073
P 值		0.377	0.001	0.021	0.840	0.008	0.040

注:与 T₀ 比较, ^a $P<0.05$; 与 T₁ 比较, ^b $P<0.05$ 。

表 6 两组不良反应比较 [$n(\%)$]

Table 7 Comparison of adverse reactions between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	躁动	恶心	头晕	总发生率
对照组	53	5(9.43)	3(5.66)	3(5.66)	11(20.75)
观察组	55	1(1.82)	2(3.64)	1(1.82)	4(7.28)
χ^2 值					4.102
P 值					0.042

3 讨论

全麻是胃癌根治术的主要麻醉方案,将麻醉药物通过呼吸道吸入、静脉及肌肉注射等方式进入机体内,可暂时性地抑制患者意识、感觉和反射,使患者全身获得镇痛、镇静及放松^[7-8]。研究发现,全麻具有一定缺陷,术中躁动可能性高、术后极易出现呕吐、恶心等不良反应、术后醒来时间长,且极易发生反流和误吸等^[9]。硬膜外麻醉则是将局麻药物注射至硬膜外腔,有利于将脊神经根行阻滞,可暂时麻痹其支配区域,且镇痛效果好^[10]。硬膜外麻醉操作建立于硬脊膜外腔与脑脊液不相通的原则之上,具有良好的安全性,且不会因麻醉平面过高而引发窒息^[11]。国内外文献报道,针对手术时间长、切除范围广的手术,全麻联合硬膜外麻醉效果可能优于仅使用全麻。全麻联合硬膜外麻醉可间断应激反应向中枢神经系统进行传入,有利于促进血液循环,且降低交感神经兴奋度^[12]。本研究显示,观察组拔管时长、术后醒来时长均短于对照组,术后各时间段 VAS 评分均低于对照组,且不良反应发生率低于对照组,与既往研究结果类似^[8]。说明全麻联合硬膜外麻醉对于胃癌根治术患者而言,镇痛效果更好,安全性更高。分析可能是因为

该麻醉方式及时阻滞手术创伤区,能快速中断感受器信号传入,降低中枢敏感度。

有研究发现^[13],儿茶酚胺是调节机体应激反应的主要物质,而术中患者心率、血压和血浆儿茶酚胺水平具有显著关系,故本文通过观察血流动力学变化评价两组应激反应。近年有研究发现,应激反应的产生可导致肾上腺皮质激素合成增加,进而促进糖异生作用,使 GLU 水平上升^[13]。值得注意的是, TNF- α 和 IL-6 作为重要的炎症因子,在应激反应影响下,其表达水平变化可反映机体炎症反应程度^[14]。本次研究显示, T₁、T₂ 比较,观察组 MAP、HR、TNF- α 、IL-6、GLU 及 COR 水平均低于对照组,表明胃癌根治术患者用全麻联合硬膜外麻醉可稳定血流动力学,调节 TNF- α 、IL-6、GLU 及 COR 水平,对应激、炎症反应具有一定改善作用,与李楠等^[14]研究结果趋同。分析原因主要是因为硬膜外麻醉可降低脊神经背根中交感神经、副交感神经活性,减轻植物神经系统有害刺激,进而降低氧化应激、炎症性全身损伤。

综上所述,胃癌根治术患者行全麻联合硬膜外麻醉可降低术后疼痛程度,有效调节 TNF- α 、GLU 及 COR 水平,且安全性良好。

参考文献

- 包宇. 全身麻醉联合硬膜外麻醉对腹腔镜直肠癌切除术患者血流动力学及临床效果分析[J]. 中国医药导报, 2021, 18(1): 123-126.
- 褚艳萍, 吴鹤芬. 全麻复合硬膜外麻醉对老年胃癌根治术患者术后苏醒、认知功能及应激反应的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(16): 3460-3462.

- [3] 马松梅,孔莉,方传奇. 全身麻醉联合硬膜外麻醉对老年结肠癌根治术患者组织灌注及肠道屏障的影响[J]. 中华老年医学杂志, 2021, 40(1):102-106.
- [4] 陈诚,任青竹,周丹. 全身麻醉联合连续胸椎旁神经阻滞对乳腺癌手术患者IL-6、Cor及PD-L1水平的影响[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2022, 25(5):501-505.
- [5] 姜可伟. 规范全球第二大致死率疾病的诊断——《胃癌诊断标准》解读[J]. 中国卫生标准管理, 2010, 1(4):26-28.
- [6] 高万露,汪小海. 患者疼痛评分法的术前选择及术后疼痛评估的效果分析[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(23):3892-3894.
- [7] 汤颜鞠,高巨,翁丽波,等. 全麻联合硬膜外阻滞对老年衰弱患者胃肠肿瘤术后睡眠的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2022, 42(5):517-521.
- [8] 王波,张剑. 蛛网膜下腔联合硬膜外阻滞麻醉对子宫肌瘤切除术患者的临床应用观察[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2021, 28(12):1497-1500.
- [9] 王芳,杨竹君. 硬膜外阻滞复合全身麻醉对腹腔镜结肠癌根治术患者氧合功能及应激反应的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2021, 43(7):682-687.
- [10] Roofthoof E, Barbé A, Schildermans J, et al. Programmed intermittent epidural bolus vs. patient-controlled epidural analgesia for maintenance of labour analgesia: a two-centre, double-blind, randomised study[J]. Anaesthesia, 2020, 75(12):1635-1642.
- [11] 李恒然,李祯,王帅. 不同麻醉和镇痛方式对胃癌根治术患者术后镇痛效果及细胞免疫功能、应激水平的影响[J]. 中国现代普通外科进展, 2021, 24(2):146-148.
- [12] Tan HS, Reed SE, Mehdiratta JE, et al. Quality of Labor Analgesia with Dural Puncture Epidural versus Standard Epidural Technique in Obese Parturients: A Double-blind Randomized Controlled Study [J]. Anesthesiology, 2022, 136(5):678-687.
- [13] 姜晓,陈普蒙. 全麻复合硬膜外麻醉对腹腔镜下结肠癌根治术患者机体氧合状态的影响[J]. 河北医药, 2023, 45(2):245-248.
- [14] 李楠,高学超,闫宏,等. 硬膜外阻滞联合全身麻醉对老年胃癌根治术患者血气分析指标、肠屏障功能及认知功能的影响[J]. 癌症进展, 2021, 19(21):2214-2217.

(上接第790页)

- [30] Singh PB, Pua HH, Happ HC, et al. MicroRNA regulation of type 2 innate lymphoid cell homeostasis and function in allergic inflammation[J]. J Exp Med, 2017, 214(12):3627-3643.
- [31] Johansson K, Malmhäll C, Ramos-Ramírez P, et al. MicroRNA-155 is a critical regulator of type 2 innate lymphoid cells and IL-33 signaling in experimental models of allergic airway inflammation[J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 139(3):1007-16.e9.
- [32] He S, Zhou J, Ma Y, et al. MicroRNA-19a Inhibition Directly and Indirectly Ameliorates Th2 Airway Inflammation in Asthma by Targeting RUNX3 [J]. Inflammation, 2023, 46(1):370-387.
- [33] Karam RA, Abd Elrahman DM. Differential expression of miR-155 and Let-7a in the plasma of childhood asthma: Potential biomarkers for diagnosis and severity [J]. Clin Biochem, 2019, 68:30-6.
- [34] Da Dalt L, Callegaro S, Carraro S, et al. Nasal lavage leukotrienes in infants with RSV bronchiolitis [J]. Pediatr Allergy Immunol, 2007, 18(2):100-104.
- [35] Han J, Jia Y, Takeda K, et al. Montelukast during primary infection prevents airway hyperresponsiveness and inflammation after reinfection with respiratory syncytial virus [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(4):455-463.
- [36] Saul MJ, Emmerich AC, Steinhilber D, et al. Regulation of Eicosanoid Pathways by MicroRNAs [J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10.
- [37] Zheng M, Fan P, Yang P, et al. Respiratory Syncytial Virus Nonstructural Protein 1 Promotes 5-Lipoxygenase via miR-19a-3p [J]. J Immunol Res, 2022, 2022:4086710.
- [38] McAllister CS, Ansaldi D, Growcott EJ, et al. Dexamethasone inhibits respiratory syncytial virus-driven mucus production while increasing viral replication without altering antiviral interferon signaling [J]. Virology, 2020, 540:195-206.
- [39] Li W, Du X, Yang Y, et al. miRNA-34b/c regulates mucus secretion in RSV-infected airway epithelial cells by targeting FGFR1 [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(22):10565-10574.
- [40] Feng S, Zeng D, Zheng J, et al. MicroRNAs: Mediators and Therapeutic Targets to Airway Hyper Reactivity After Respiratory Syncytial Virus Infection [J]. Front Microbiol, 2018, 9:2177.
- [41] Busch S, Auth E, Scholl F, et al. 5-lipoxygenase is a direct target of miR-19a-3p and miR-125b-5p [J]. J Immunol, 2015, 194(4):1646-1653.
- [42] Kroesen BJ, Teteloshvili N, Smigielska-Czepiel K, et al. Immuno-miRs: critical regulators of T-cell development, function and ageing [J]. Immunology, 2015, 144(1):1-10.

乙型脑炎病毒核酸检测试剂国家参考品的研制

夏德菊 周海卫 刘东来 许四宏*

[摘要] **目的** 建立乙型脑炎病毒核酸检测试剂国家参考品,确定其质量标准。**方法** 通过对24份病原体培养物的复核、确证,全基因组测序及基因分型,组成乙型脑炎病毒核酸检测试剂国家参考品,经多家实验室的协助标定,确定参考品的质量标准,并对参考品进行均匀性及稳定性评估。**结果** 乙型脑炎病毒核酸检测试剂国家参考品由10份阴性、14份阳性、1份最低检出限和1份精密度样品组成。质量标准为10份阴性参考品应均检出阴性;14份阳性参考品应至少检出13份阳性;精密度样品重复检测10次,要求均为乙型脑炎病毒阳性,且其检测值的CV应不大于5.0%;最低检出限参考品要求1:10²倍稀释及以上浓度时应为乙型脑炎病毒阳性。参考品的均匀性及稳定性均符合要求。**结论** 该参考品可用作乙型脑炎病毒核酸检测试剂的质量控制及评价。

[关键词] 乙型脑炎病毒; 核酸检测试剂; 基因分型; 国家参考品

Development of national reference materials for Japanese encephalitis virus nucleic acid detection reagents

XIA Deju, ZHOU Haiwei, LIU Donglai, XU Sihong*

(Division II of Diagnostic for Infectious Diseases, National Institutes of Food and Drug Control, Beijing, China, 100050)

[ABSTRACT] **Objective** To establish a national reference material for the nucleic acid detection reagent of the Japanese encephalitis virus and set its quality standards for it. **Method** By reviewing and confirming of 24 pathogen cultures, conducting whole genome sequencing and genotyping, a national reference material for Japanese encephalitis virus nucleic acid detection reagent was developed. Multiple laboratories assisted in determining the quality standards of the reference material, as well as evaluating its uniformity and stability. **Results** The national reference sample for the nucleic acid testing reagent for Japanese encephalitis virus included 10 negative, 14 positive, 1 minimum detection limit, and 1 precision sample. The quality standard states that all 10 negative reference samples should test negative. At least 13 out of the 14 positive reference samples should be detected. The precision reference should be tested 10 times, all of which should be positive for Japanese encephalitis virus, with the CV of their detection values not exceeding 5.0%. The minimum detection limit reference substance must be diluted 1:100 times or more to test positive for Japanese encephalitis virus. The uniformity and stability of the reference material meet the required standards. **Conclusion** This reference material can be used for quality control and evaluation of Japanese encephalitis virus nucleic acid detection reagents.

[KEY WORDS] Japanese encephalitis virus; Nucleic acid testing reagents; Genotyping; National reference

日本乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)是一种节肢动物传播的黄病毒,能引起流行性乙型脑炎^[1]。对JEV部分或完整基因组

的核苷酸测序研究表明,它有五种基因型,G-I至G-V,各基因型的分布有一定的区域性^[2]。我国是乙脑流行的高发地区,近年来虽经对儿童实施

基金项目:国家重点研发计划项目(2018ZX10102001)

作者单位:中国食品药品检定研究院传染病诊断试剂二室,北京100050

*通信作者:许四宏, E-mail: xushong@nifdc.org.cn

计划免疫接种,使发病率明显下降,但目前发病人数仍占世界乙脑病例的80%以上^[3]。因此构建快速、灵敏、准确的JEV检测方法对控制JEV引起的急性脑炎具有重要意义。目前比较常见的乙脑诊断方法有脑脊液或血清特异性IgM抗体检测、菌斑还原中和试验、病毒分离和核酸扩增。由于JEV病毒载量低,临床分离培养局限性较大;血清学诊断则存在灵敏度较低和黄病毒科成员间交叉反应的缺点^[4]。而核酸扩增方法具有特异性高、本底低、结果易分析等优点,是检测JEV较理想的方法。

目前,国内超过十家企业已研制出乙型脑炎病毒核酸检测试剂,均处于临床前注册阶段,未获批上市销售。这些试剂大多是基于PCR-荧光探针法,用于构建引物的序列主要有3'非编码区(UTR区)、NS5区域和E区。由于黄病毒属成员的核酸序列有一定的同源性,与之同属的还有森林脑炎病毒、黄热病毒、登革热病毒、寨卡病毒等^[5]。故引物和探针的选择是关系到实验结果特异性和灵敏度的重要环节,所以系统科学地建立国家参考品有助于规范JEV核酸检测试剂的注册检验,加强对此类试剂的质量控制和监管,为JEV的长期动态监测提供合格试剂做储备。现将JEV核酸检测试剂国家参考品的主要研制内容报告如下。

1 材料与方法

1.1 原料

JEV核酸检测试剂国家参考品原料来自中国疾病预防控制中心病毒所和军事医学研究院微生物流行病学研究所的馈赠,为临床样本分离培养物,共计24份,编号J1~J24。样本信息见表1。

1.2 仪器与试剂

荧光PCR仪为美国ABI公司产品,宏基因组测序平台为Illumina Nextseq CN500;核酸提取试剂盒为QIAamp Viral RNA Mini Kit;核糖体RNA去除试剂为Illumina Ribo-Zero rRNA Removal Kit), cDNA文库构建试剂为Illumina Nextera XT DNA Library Prep Kit,文库质量评估试剂为Qubit dsDNA HS Assay kit。检测原料验证试剂为北京华大吉比爱生物技术有限公司的乙型脑炎病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法),原料确证及鉴别使用宏基因组二代测序的方法,协作标定试剂除上述原料验证试剂外还有圣湘生物科技股份有限公司JEV核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)、广州达安

表1 原料样本信息

Table 1 Raw material sample information

原料编号	原料名称	原料代码
J1		JEV SA14
J2		JEV SX06
J3		P3
J4		XZ34
J5		GZ0656
J6		JN1633
J7	乙型脑炎病毒	WS1614
J8		WS1615
J9		WS1617
J10		JJS
J11		LC
J12		SJ
J13		XM
J14		WX
J15	寨卡病毒	ZIKV SZ01/2016
J16	基孔肯雅病毒	CHIKV GD05/2010
J17	登革病毒 I 型	012/1999
J18	登革病毒 II 型	013/1999
J19	登革病毒 III 型	014/1999
J20	登革病毒 IV 型	015/1999
J21	TAHYNA 病毒	TAH
J22	森脑病毒	TBEV/Senzhang/2012 森张株
J23	黄热病毒	YFV 17D/Tiantan/2009 疫苗株
J24	西尼罗病毒	WNVChin-01/2004

基因股份有限公司的JEV核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)、上海之江生物科技股份有限公司的JEV核酸测定试剂盒(荧光PCR法)、北京金豪制药股份有限公司的JEV RNA检测试剂盒(荧光PCR法)。

1.3 方法

1.3.1 原料复核

原料样本于80℃水浴灭活1h。所有原料样本用阴性血浆进行1000倍稀释后用验证试剂进行检测,要求J3和J4样本用阴性血浆继续进行1:10⁴、1:10⁵、1:10⁶梯度稀释后检测,按照提取试剂说明书进行样本提取,并按照验证试剂说明书进行扩增和结果判读。

1.3.2 原料确证及基因型别鉴定

将24株原料分发给广州微远基因科技有限公司,委托进行全基因组测序和分型鉴定。具体将原料样本先进行核酸提取,文库制备与测序,然后使用生物信息学分析样本的种属,再将14株乙型脑炎病毒检测序列提取后,用megaHIT v1.2.9软件使用默认参数进行组装,使用mafft version 7进行多序列比对,使用fasttree 1.0默认参数针对全基因组进行进化树构建,使用iTOL进行作图。

1.3.3 JEV 核酸检测试剂国家参考品的组成、分装和组装

对筛选和确证的阳性原料用阴性基质血浆适当倍数稀释后作为阳性参考品;对筛选和确证的阴性原料用阴性基质血浆适当倍数稀释后作为阴性参考品,将J3原液用阴性血浆经1 000倍稀释后作为最低检出限参考品;继续稀释10倍后作为精密度参考品。将制备好的样本0.5 mL/支分装于1.0 mL的进口冻存管中,其中精密度参考品分装量为1 mL/支,组装为成套JEV核酸检测试剂国家参考品;其外包装采用50支/盒的包装盒;参考品标签全部为不干胶标签。组装后参考品样品保存在-80℃冷库中备用。

1.3.4 JEV 核酸检测试剂国家参考品协作标定

将组装好的参考品分发给上述协作标定试剂生产厂家,各家单位按照产品说明书进行检测,其中阴阳性以及精密度参考品直接使用,最低检出限参考品用无RNA酶的去离子水进行1:10⁰、1:10¹、1:10²、1:10³及1:10⁴倍稀释,然后作为待测样品使用。所有厂家在规定时间内上报检测结果,依据检测结果拟定本参考品的质量标准。

1.3.5 JEV 核酸检测试剂国家参考品均匀性检验

在分装前后,随机抽取JEV核酸检测试剂国家参考品中2支阳性参考品,1支阴性参考品和精密度参考品各5支(抽样分布:前段2支、中段1支、后段2支),对这4份样本的各5支样本用达安基因生产的JEV核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)进行检测,每支样本检测3次,计算检测结果的变异系数,要求各样本的15次检测结果变异系数小于5%。

1.3.6 JEV 核酸检测试剂国家参考品稳定性检验

参考品组装完成后存于-80℃冰箱中,取出最低检出限参考品和精密度参考品各1支分别于-20℃放置5天,反复冻融3次处理,与-80℃保存的参考品同时用达安基因生产的JEV核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)进行检测比较,要求检测结果Ct值相对偏差在±5%以内。

2 结果

2.1 原料复核

编号为J1~J14样本均检测为阳性,J15~J24样本均检测为阴性,对稀释阴性血浆进行检测为阴性。J3样本10³稀释及以上浓度为阳性,J4样本10⁵稀释及以上浓度为阳性。

2.2 原料确证及JEV基因型别鉴定

经序列测定,获得24株原料样本的全基因组序列。将过滤之后的高质量测序数据,在微远基因全面病原数据库(IDseq病原宏基因组数据库V2.0版本,包含了9 694种细菌,155种真菌,6 760种病毒,305种寄生虫,144种分枝杆菌和107种支原体/衣原体,共计18 561种病原体)中进行比对分析,获得物种鉴定信息,经鉴定J1~J14种属均为乙型脑炎病毒,J15~J24均为原料对应种属。经全基因组序列进化树分析得出,本次14株乙型脑炎病毒共涉及3种基因型,其中编号为J2、J5~J14的菌株为I型,编号为J1和J3菌株为III型,编号为J4菌株为V型。见图1。

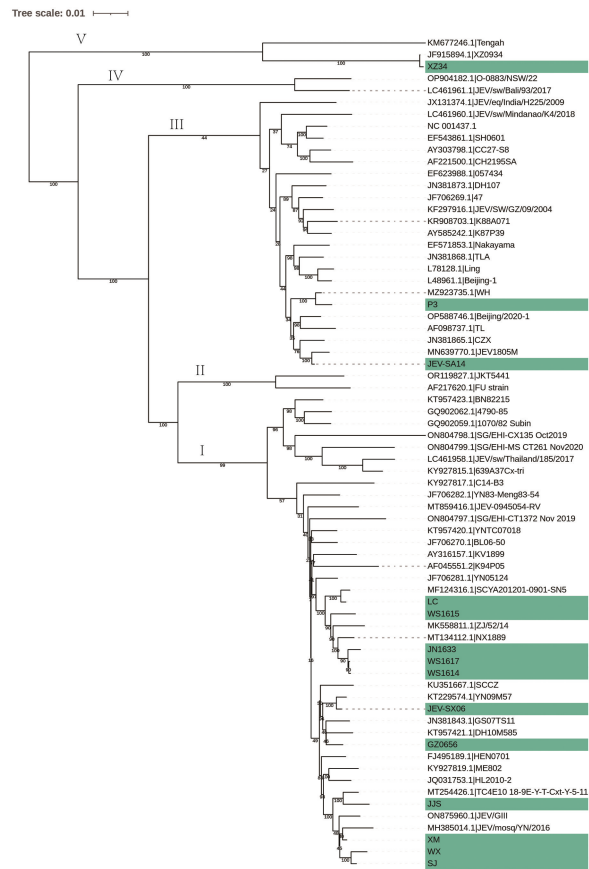


图1 基于乙型脑炎病毒全基因组序列进化树

Figure 1 Based on the whole genome sequence evolution tree of Japanese encephalitis virus

2.3 JEV 核酸检测试剂国家参考品的组成、分装和组装

经复核和确证的阳性原料J1、J3、J6、J11、J12和J14用阴性基质血浆经1:1 000稀释,J4经1:100稀释、其余样本经1:10 000稀释,作为本套

参考品的阳性参考品,编号P1~P14;经确证的阴性原料J15~J24用阴性基质血浆1:1 000稀释作为本套参考品的阴性参考品,编号N1~N10;将J3原液用阴性基质血浆经1 000倍稀释后作为最低检出限参考品,编号S;将J3原液用阴性基质血浆经10 000倍稀释后作为精密度参考品,编号R。制备好的样本0.5 mL/支分装于1.0 mL的进口冻存管中,其中精密度参考品分装量为1 mL/支,组装为成套JEV核酸检测试剂国家参考品;其外包装采用50支/盒的包装盒;参考品标签全部为不干胶标签。组装后参考品样品保存在-80℃冷库中备用。

2.4 JEV核酸检测试剂国家参考品协作标定

14份阳性参考品,P4有三家试剂检出阴性,P2、P8、P13和P14均有一家试剂检出阴性,其余样本所有试剂均检出阳性。10份阴性参考品,所有试剂均检出阴性。精密度参考品所有试剂均检出阳性,且检测结果Ct值变异系数均小于5%。最低检出限参考品有3家试剂在 10^3 稀释及以上浓度检出阳性,1家试剂在 10^2 稀释及以上浓度检出阳性,1家试剂只能在10倍稀释及以上浓度检测为阳性。根据协作标定结果,拟定本参考品的标准:10份阴性参考品应均检出阴性;14份阳性参考品应至少检出13份阳性;精密度参考品R重复检测10次,要求均为JEV阳性,且其检测值的CV应不大于5.0%;最低检出限参考品要求要求1:10³稀释及以上时,检测结果应为JEV阳性。

2.5 JEV核酸检测试剂国家参考品均匀性检验

选取JEV核酸检测试剂国家参考品中P1、P11、N5和R各5支,经检测,P1、P11和R 15次检测结果的各Ct值变异系数分别为0.8%、0.9%和0.8%;N5均检出阴性,符合要求,本套参考品的均匀性良好。

2.6 JEV核酸检测试剂国家参考品稳定性检验

-20℃放置5天以及反复冻融3次处理的最低检出限各梯度稀释样本以及精密度样本检测结果的Ct值和-80℃保存的参考品Ct值相对偏差均小于5%。符合要求,本套参考品在-20℃放置5天以及反复冻融3次不影响本参考品的稳定性。

3 讨论

本研究成功建立了JEV核酸检测试剂国家参考品,每套参考品含26支样本,其中阳性参考品

14支,经适当倍数稀释后模拟临床不同感染阶段病毒浓度不同的情况。据报道,我国共分离到三种基因型(G I型、G III型和G V型)^[6-7]。本研究也对参考品中的阳性原料进行了全基因组测序分型鉴定,发现14株JEV培养物有11株为G I型,2株为G III型,1株为G V型,覆盖了我国JEV主要的流行菌株,协作标定选取的5家试剂对一株V型JEV的检测性能较差,仅有一家试剂检出阳性;有一家试剂对4株I型JEV出现漏检,说明国内目前的JEV核酸检测试剂靶标选取需要考虑检测G V型别的能力。对于检出限和精密度参考品,本研究选取了分离较早且浓度较高的乙脑P3株,其体积为40 mL,放于-80℃保存,保证了参考品换批时的连续性。从协作标定结果来看,只有一家试剂的性能不符合质量标准要求,只能对10倍稀释及以上浓度的最低检出限样本检测为阳性,结合该试剂对阳性参考品检测结果来看,说明此试剂的灵敏度较差,可能和选取扩增靶标、原材料和试剂工艺体系有关,需要对试剂进行进一步优化以提高试剂性能。

本套参考品含阴性参考品10支,这些样本大部分为黄病毒属成员,和乙型脑炎病毒感染途径相同、症状一致或可能存在相似的抗原基因位点,用以评价试剂的特异性,经协作标定结果显示评价试剂对所有样本均检出阴性,说明国内目前的JEV核酸检测试剂的特异性良好。

本研究通过原料筛选、复核、基因型别鉴定后、分组装成套参考品后,经多家试剂协作标定以及均匀性和稳定性研究后制定了本套参考品的质量标准,能够满足国内乙型脑炎病毒核酸检测试剂临床前的质量评估和注册检验工作开展。

参考文献

- [1] Jeffries CL, Walker T. The potential use of wolbachia-based mosquito biocontrol strategies for japanese encephalitis [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2015, 9(6): e0003576.
- [2] 刘升辉,姜孟楠,张维嘉,等. G1/G3/G5型乙型脑炎病毒国家标准株实验室鉴定与评价[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2023, 37(3): 273-279.
- [3] Liu W, Fu S, Ma X, et al. An outbreak of Japanese encephalitis caused by genotype Ib Japanese encephalitis virus in China, 2018: A laboratory and field investigation [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2020, 14(5): e0008312.

(下转第803页)

Y染色体微缺失检测试剂盒行业标准的建立

于婷 黄杰*

[摘要] 目的 建立Y染色体微缺失检测试剂盒行业标准。方法 选择9个厂家的Y染色体微缺失检测试剂盒,统一发放Y染色体微缺失检测参考品,按照拟定的行业标准,对外观、检测限、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率和重复性项目进行验证。结果 8个试剂盒的全部项目的检测结果均满足要求。检测限和阳性参考品符合率项目中,仅试剂盒8未检出AZFa微缺失,不满足要求。结论 大部分验证结果均能满足拟定行标中的要求,表明行业标准各指标具有一定的合理性,可操作性强。Y染色体微缺失检测试剂盒行业标准的建立将有助于规范这类试剂盒发展,提升质量,并为监管提供技术支持。

[关键词] Y染色体微缺失;试剂盒;行业标准

Establishment of industry standards for Y chromosome microdeletion detection kits

YU Ting, HUANG Jie*

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

[ABSTRACT] **Objective** To validate the industry standard for Y chromosome microdeletion detection kit. **Methods** A detection kit for nine types of Y chromosome microdeletions was chosen. Reference materials for Y chromosome microdeletion detection were distributed uniformly. The appearance, detection limit, compliance rate of positive/negative references, and repeatability were verified according to industry standards. **Results** The test results for all items in the 8 test kits meet the requirements. However, only kit 8 did not detect any AZFa microdeletions in the items for detection limit and positive reference rate, which means it did not meet the requirements. **Conclusion** Most of the validation results meet the requirements of the proposed industry standard, indicating that the indicators of the industry standard are reasonable and feasible. The establishment of an industry standard for Y chromosome microdeletion detection kits will help regulate the development of such kits, improve quality, and provide technical support for regulation.

[KEY WORDS] Y chromosome microdeletions; Kit; Industry standard

研究显示,Y染色体长臂q11.2区域上存在着与精子发生相关的基因,称为无精子因子(azoospermia factor, AZF)^[1-2]。AZF分为AZFa、AZFb、AZFc 3个相互独立的区域,上述区域可发生独立或联合微缺失。AZFa缺失与唯支持细胞综合征(Sertoli cell only syndrome, SCOS)或早期的生精阻滞有明显的相关性。AZFb全部缺失的患者表现为生精阻滞,主要停留在精母细胞或精子细胞阶段;AZFb部分缺失时,临床表现多样化,包括唯支持细胞综合征、无精子症或少精子症;如果同时

伴有AZFa或AZFc的缺失,则表现为SCOS或生精阻滞。AZFc缺失是精子生成障碍的最常见原因,约占Y染色体微缺失的60%。AZFc区部分缺失可表现为不同程度生精障碍,既可表现为中度的精子生成减少,也可表现为无精子症。研究表明,AZF区域缺失可以发生世代传递的,并在传递过程中缺失区域有进一步扩大的风险^[3-6]。因此,对男性不育患者进行Y染色体微缺失的检测,可查明部分不育患者的病因,具有很强的临床指导及遗传咨询的意义。

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1002400)

作者单位:中国食品药品检定研究院,北京 100050

*通信作者:黄杰, E-mail: jhuang5522@126.com

截止到2022年底,国内具有医疗器械注册证的Y染色体微缺失检测试剂盒有6个,检测方法为PCR法和PCR-毛细管电泳,还有多家企业正在开展其他方法试剂盒的研发工作。由于各检测方法,目标缺失型别和检测能力等存在一定差异,亟需对该试剂盒的性能指标进行客观统一评价,保障临床检测的准确性,引导产品质量提升方向,并为产品上市后的监管提供技术支持。因此中国食品药品检定研究院(以下简称本院)在2022年开展了该项目行业标准的制定工作,现将该研究作一简要汇报。

1 材料与方法

1.1 Y染色体微缺失检测试剂盒

基于PCR荧光探针法:上海透景生命科技股份有限公司(批号:22A001,规格:20人份/盒);湖州凯普生物化学有限公司(批号:20220601A,规格:24人份/盒);广州达安基因股份有限公司(批号:ZC2021001,规格:48人份/盒);基于荧光PCR法:厦门艾德生物医药科技股份有限公司(批号:220607C04X,规格:24测试/盒);阅尔基因技术(苏州)有限公司(批号:AZF-190801、AZF-220302,规格:24人份/盒);基于荧光PCR-毛细管电泳法:上海五色石医学研究股份有限公司(批号:YMD2110001,规格:25次测试/盒);厦门百欧迅生物科技有限公司(批号:C22051801,规格:48反应/盒);亚能生物技术(深圳)有限公司(批号:YE202203003,规格:24人份/盒);基于生物芯片法:北京博晖创新生物技术集团股份有限公司(批号:(试)86210122,规格:24测试/盒)。

1.2 参考盘

阳性参考品:5种Y染色体微缺失型别(AZFa、AZFb、AZFc、AZFb+c、AZFa+b+c)各2份;阴性参考品:正常男性、正常女性、XXY及无精子症样本各1份;检测限参考品采用阳性或阴性参考品配制而成;重复性参考品:Y染色体AZFc缺失型及正常男性样本各1份。以上样本均为细胞系或临床样本,DNA样本和全血样本各一套。由阅尔基因技术(苏州)有限公司、亚能生物技术(深圳)有限公司及上海透景生命科技股份有限公司提供。

1.3 主要仪器

实时荧光定量PCR仪(7500,美国ABI);荧光PCR仪(SLAN-96S,上海宏石);PCR仪(ETC811,

东胜龙;Stratagene Mx3000P™,美国安捷伦);全自动单通道毛细管电泳仪(YN sep100,亚能);基因分析仪(ABI 3500 DX,美国ABI);核酸芯片检测仪(BHF-VI,博晖创新)。

1.4 行业标准中各技术指标及验证方法

在充分调研我国现有医疗器械注册证及在研的Y染色体试剂盒性能指标的基础上,结合临床应用情况,按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分:标准化文件的结构和起草规则》^[7]的要求制定,内容包括前言、范围、规范性引用文件、术语和定义、要求、试验方法、标签和使用说明书以及包装、运输、贮存8方面。其中“要求”和“试验方法”是核心,要求中包含外观、检测限、阳性参考品符合率、阴性参考品符合率和重复性。

1.4.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查。制造商应根据产品的包装特点规定适当的外观要求。一般应有试剂盒各组分组成、性状、内外包装、标签清晰等要求。

1.4.2 检测限

检测限参考品应包括试剂盒检测范围内的Y染色体微缺失全部基因型别、正常男性及正常女性的样本,检测限浓度应不高于10 ng/反应。如不能检出,可提高至声称的检测限浓度后再进行检测。按照说明书操作,对国家参考品或企业检测限参考品各检测1次,要求检测结果均应与预期结果一致。

1.4.3 阳性参考品符合率

阳性参考品应包括试剂盒检测范围内的Y染色体微缺失全部基因型别样本。按照说明书操作,对国家阳性参考品或企业阳性参考品各检测1次,均要求检出相应的Y染色体微缺失型别。

1.4.4 阴性参考品符合率

应包括正常男性、正常女性、至少1例其他原因导致的无精子症或弱精子症的男性以及至少1例核型异常的含Y染色体(如XXY、XYY等)的样本。按照说明书操作,对国家阴性参考品或企业阴性参考品各检测1次,要求未检出Y染色体或试剂盒检测范围内的Y染色体微缺失型别。

1.4.5 重复性

根据试剂盒检测范围内的Y染色体微缺失基因型别来确定重复性参考品,至少包括1份正常男性及1份Y染色体微缺失类型的样本,并且至少

设置高、低2个浓度水平,低浓度推荐使用1.5倍~4倍检测限浓度。按照说明书操作,检测企业重复性参考品,各重复10次,结果应一致且要求:①对于PCR-荧光探针法等检测原理的试剂盒,结果应为相应的Y染色体微缺失型别或未检出Y染色体缺失,且各检测通道阈值循环数(Ct值)[或解链温度(T_m 值)或关键性判读指标]的变异系数(CV,%)应不大于5.0%;②对于PCR-毛细管电泳法、生物芯片法等检测原理的试剂盒,正常男性样本检测结果应未检出Y染色体缺失,Y染色体微缺失类型样本结果应为相应的Y染色体微缺失型别。

2 结果

2.1 我国Y染色体微缺失检测试剂盒的调研情况

目前已获医疗器械注册证的Y染色体微缺失检测试剂盒,采用的检测原理有两种类型:PCR-荧光探针法、PCR-毛细管电泳法。在研或科研用的试剂盒检测方法还包括生物芯片法、二代测序法等。各检测试剂盒均是依据NCBI公布的AZF区域STS序列,分析6个STS位点(AZFa区的sY84、sY86、AZFb区的sY127、sY134及AZFc区的sY254、sY255)以检测AZF基因微缺失。PCR-荧光探针法通常是设计高度特异的引物,进行多重PCR检测。而PCR-毛细管电泳法通常还会增加STS位点,来检测是否为完全缺失:AZFa(sY82、sY1064、sY1065、sY88、sY182、sY81)、AZFb(sY105、sY121、sY1192、sY153)、AZFc(sY254、sY255、sY242、sY154、sY1291)以及1个异染色体标签sY160。且多同时检测人类男性Y染色体短臂上的性别决定基因(SRY)作为性别异常对照。少数试剂盒还设置了AZFd区域的序列位点(sY145、sY152),AZFd区可能与精子形态异常相关,缺失可能导致少精子症或者精子形态异常,但目前尚缺乏国人大样本的研究数据,因此AZFd区的临床意义尚需进一步研究。绝大多数试剂盒的适用样本为抗凝全血提取的DNA,仅2家采用全血。各试剂盒最低检测限在1 ng/反应~45 ng/反应范围内,差异较大。

2.2 外观

全部试剂盒外观均满足要求。

2.3 检测限

将试剂盒检测范围内阳性参考品、正常男性样本及正常女性样本,稀释至10 ng/反应或3 000个白细胞/反应,或者企业声明的检测限浓度(如2

ng/反应等)。除试剂盒8未检出1份AZFa微缺失的检测限参考品外,其余试剂盒检测结果均与预期结果一致。

2.4 阳性参考品符合率

除试剂盒8未检出2份AZFa缺失样本,其余试剂盒检测结果均与预期结果一致。

2.5 阴性参考品符合率

全部试剂盒检测结果满足要求。

2.6 重复性

全部试剂盒检测结果满足要求。检测同一份重复性参考品,结果均一致,且对于PCR-荧光探针法等检测原理的试剂盒,各检测通道阈值循环数(Ct值)的变异系数(CV,%)均不大于5.0%。采用全血直接扩增后检测的试剂盒,各检测通道Ct值变异系数虽较大(0.5%~4.8%),但也都满足5%以下的要求。对于PCR-毛细管电泳法、生物芯片法等检测原理的试剂盒,正常男性样本检测结果均未检出Y染色体缺失,Y染色体微缺失样本检测结果均为相应的Y染色体微缺失型别。

3 讨论

2015年中华医学会男科学分会发布的《男性生殖遗传学检查专家共识》中提出,男性生殖疾病诊治中应进行染色体核型分析、AZF基因微缺失等常规检查以及基因突变检测等特殊检查^[8]。运用分子诊断技术检测Y染色体微缺失的检测方法较多^[9-12],除本标准包含的方法,还有高通量测序(Next Generation Sequencing, NGS)法。因NGS法检测试剂盒对起始样本量要求较大,如200 ng以上,检测限显著高于其他方法,但这并不代表其灵敏度不够,其优势是通过大数据量和生物信息学分析手段来给出检测结果,通量更高、速度更快。NGS法还具有一些特殊的性能指标,如建库失败率、测序深度、测序质量评价等,与常规性能指标不同,所以不纳入本标准的适用范围。但参考品的设置可以参考本标准。

本标准起草单位包括2家医疗器械检测机构(国家及省级)、1家国家级三甲医院以及4家企业,参与验证的单位9家,实现了现有检测方法试剂盒的全面覆盖。对标准的每一条款进行了充分的验证,使最终确定的各指标更加严谨。检测限项目中,最初定的指标为10 ng/反应,大部分试剂盒也满足要求,但根据网上征求意见和多次讨论,

对指标进行了调整,原因为:基于荧光探针法的试剂盒,当样本无Y染色体微缺失时,检测位点出现扩增曲线,结果为阴性,反之当存在微缺失时,检测位点无扩增曲线,结果为阳性,这与常规判断逻辑不同。因此,当样本浓度过低时,空气中基因组气溶胶产生的Ct值难与低浓度样本Ct值区分,同时,任何人源样本的核酸检测都可能导致人基因组污染,若追求过高的灵敏度,在低浓度条件下难以获得可靠的结果。另一方面,检测样本多通过全血样本提取基因组获得,得到的核酸浓度每微升均在几十纳克以上,适当提高检测限至15 ng/反应并不影响临床性能。但某产品给出的检测限为45 ng/反应,这种又过于宽松,实际验证结果是3 ng/反应。表明实际检测能力与标示能力之间差异过大。企业这样设置,在出厂检验或者国家监督抽检时容易通过。但是要指出的是,该性能指标完全不具备产品的竞争性,对其在市场的占有率和认同度存在一定影响。在检测限和阳性参考品符合率项目中,试剂盒8均出现了假阴性。AZFa区4个位点中仅出现1个位点(sY84)扩增产物峰消失,不能判断为AZFa区微缺失。该样本经测序验证为AZFa区微缺失(sY84和sY86均无扩增产物和检测信号),其余试剂盒均检出。因此试剂盒8的生产企业应从试剂开发(如引物探针设计或扩增试剂等)、人员操作等多方面积极查找原因。

通过本行标的制定,对在研企业具有一定的指导意义,对于性能指标未达到行标要求的企业,将促进其查找原因,改进生产工艺,提升产品质量,将有助于整体提高我国Y染色体微缺失检测试剂盒生产研制企业的市场竞争力,促进Y染色体微缺失的检出率,实现我国的优生优育。同时,本研究将为该类产品的检测检验及上市后监管工作提供技术支撑。

参考文献

- [1] Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm[J]. Hum Genet, 1976, 34(2): 119-124.
- [2] Cioppi F, Rosta V, Krausz C. Genetics of azoospermia[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 3264.
- [3] Vogt PH, Bender U, Deibel B, et al. Human AZFb deletions cause distinct testicular pathologies depending on their extensions in Yq11 and the Y haplogroup: new cases and review of literature[J]. Cell Biosci, 2021, 11(1): 60.
- [4] Zhang L, Mao JM, Li M, et al. Poor intracytoplasmic sperm injection outcome in infertile males with azoospermia factor c microdeletions[J]. Fertil Steril, 2021, 116(1): 96-104.
- [5] 王一鹏, 秦朗, 李颖. Y染色体微缺失与男性少弱精子症相关性研究进展[J]. 医学研究杂志, 2021, 50(9): 151-154.
- [6] 张燕, 索峰, 缙灵山, 等. 徐州地区部分人群Y染色体微缺失现状分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2022, 30(2): 234-236.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局标准化工作导则 第1部分: 标准化文件的结构和起草规则: GB/T 1.1-2020[S]. 北京, 中国标准出版社, 2009.
- [8] 《男性生殖遗传学检查专家共识》编写组, 中华医学会男科学分会. 男性生殖遗传学检查专家共识[J]. 中华男科学杂志, 2015, 12(21): 1138-1142.
- [9] Iijima M, Shigehara K, Igarashi H, et al. Y chromosome microdeletion screening using a new molecular diagnostic method in 1030 Japanese males with infertility[J]. Asian J Androl, 2020, 22(4): 368-371.
- [10] Pan Y, Zhang HG, Xi QI, et al. Molecular microdeletion analysis of infertile men with karyotypic Y chromosome abnormalities[J]. J Int Med Res, 2018, 46(1): 307-315.
- [11] Sha J, Huang G, Zhang B, et al. Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men with azoospermia and oligozoospermia in Eastern China[J]. J Int Med Res, 2020, 48(4): 300060519896712.
- [12] 谢康, 刘艳秋, 罗海艳, 等. 江西地区无精及严重少精症患者Y染色体微缺失分析[J]. 江西医药, 2021, 56(12): 2395-2398.

(上接第799页)

- [4] Sahu A, Dhanze H, Singh V, et al. Development of IgM ELISA for diagnosis of recent infection of Japanese encephalitis virus in equines[J]. Biologicals, 2022, 75: 16-20.
- [5] Bharucha T, Zitzmann N, Newton P, et al. Flavivirus cross-reactivity would explain the apparent findings of Japanese encephalitis virus infection in Nigeria[J]. J Immunoassay Immunochem, 2022, 43(4): 463-465.

- [6] 杜立中, 魏建超, 马志永. 流行性乙型脑炎流行病学新进展及面临的挑战[J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(10): 116-119.
- [7] 苑中芬, 狄荻, 李宗杰, 等. 我国乙型脑炎病毒优势基因型转换及其风险和对策[J]. 热带病与寄生虫学, 2021, 19(5): 292-296.

冠心病患者双抗血小板治疗反应性与CYP2C19基因型的关系

孙春根* 施秀芳 吴义权 夏秋旺

[摘要] **目的** 分析冠心病患者双抗血小板治疗反应性与细胞色素P450 2C19(CYP2C19)基因型的关系。**方法** 选择2021年3月至2023年2月在池州市第二人民医院接受经皮冠脉介入术(PCI)治疗的96例冠心病患者,术后均接受双联抗血小板治疗。根据血小板抑制率将患者分为抗血小板治疗高反应组($n=53$)和低反应组($n=43$),比较两组CYP2C19基因型、一般资料及血液生化指标,采用Logistic回归分析冠心病患者双抗血小板反应性与CYP2C19基因型的关系。**结果** 低反应组CYP2C19快代谢型比例低于高反应组,中间代谢型比例高于低反应组,差异有统计学意义($P<0.05$)。低反应组总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)高于高反应组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic回归分析结果显示,CYP2C19基因型、高水平LDL是冠心病患者发生抗血小板治疗抵抗的危险因素($P<0.05$)。**结论** 冠心病双抗血小板治疗反应性与CYP2C19基因型关系密切,CYP2C19慢代谢型与高水平LDL是冠心病患者发生双抗血小板治疗抵抗的危险因素,检测CYP2C19基因型或有利于指导冠心病抗血小板治疗。

[关键词] 冠心病;抗血小板治疗;血小板抑制率;CYP2C19基因型

Relationship between responsiveness to dual antiplatelet therapy and CYP2C19 genotypes in patients with coronary heart disease

SUN Chungen*, SHI Xiufang, WU Yiquan, XIA Qiuwang

(Department of Cardiology, Chizhou Second People's Hospital, Chizhou, Anhui, China, 247000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between responsiveness to dual antiplatelet therapy and cytochrome P450 2C19 (CYP2C19) genotypes in patients with coronary heart disease. **Methods** 96 patients with coronary heart disease who underwent percutaneous coronary intervention (PCI) at Chizhou Second People's Hospital from March 2021 to February 2023 were enrolled in this study. All patients received dual antiplatelet therapy after the operation. The patients were divided into a high responsiveness group ($n=53$) and a low responsiveness group ($n=43$) based on platelet inhibition rate. CYP2C19 genotypes, general information, and blood biochemical indicators of the two groups were compared. The relationship between responsiveness to dual antiplatelet therapy and CYP2C19 genotypes in patients with coronary heart disease was analyzed. **Results** The proportion of CYP2C19 fast metabolic types in the low responsiveness group was lower than that in the high responsiveness group, while the proportion of intermediate, and slow metabolic types was higher than in the high responsiveness group ($P<0.05$). The levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), and low-density lipoprotein (LDL) in the low responsiveness group were higher than those in the high responsiveness group ($P<0.05$). Logistic regression analysis revealed that CYP2C19 genotypes and high LDL levels were risk factors for resistance to dual antiplatelet therapy in patients with coronary heart disease ($P<0.05$). **Conclusion** The responsiveness to dual antiplatelet therapy is closely related to CYP2C19 genotypes in patients with coronary heart disease. CYP2C19 slow metabolic type and high LDL levels are risk factors for resistance to dual antiplatelet therapy in patients. Detecting CYP2C19 genotypes may help guide antiplatelet

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2208085MH131)

作者单位:池州市第二人民医院内科,安徽,池州 247000

*通信作者:孙春根, E-mail:sUN123328@126.com

therapy for coronary heart disease.

[KEY WORDS] Coronary heart disease; Antiplatelet therapy; Platelet inhibition rate; CYP2C19 genotypes

冠心病是一种常见的心血管疾病,因冠状动脉受损或阻塞导致心脏供血不足而引起^[1]。经皮冠脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)是冠心病患者的常见治疗手段,术后抗血小板治疗是必不可少的,常用药物有阿司匹林和氯吡格雷等,能有效预防血栓形成,降低心血管事件风险^[2]。然而,患者对抗血小板治疗反应的个体差异导致抗血小板治疗抵抗。据报道,这一现象的出现很大程度上受到细胞色素 P450C19 (CYP2C19)基因多态性的影响,CYP2C19能催化抗血小板药物的生物活化,而CYP2C19基因型会影响其生物活化及其活性代谢物形成,从而影响药物反应性,增加不良心脑血管事件风险^[3]。现阶段关于CYP2C19基因型与抗血小板反应性的研究并不少见,但不同研究的对象、CYP2C19基因型分类方式、抗血小板反应性评估方式及研究方案设计也不尽相同^[4],因此CYP2C19基因型与抗血小板反应性的关系仍值得探究。对此,本研究将分析冠心病PCI术后患者CYP2C19基因型与抗血小板治疗反应性的关系,以期指导临床治疗。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选择2021年3月至2023年2月在池州市第二人民医院接受经皮冠脉介入术(PCI)治疗的96例冠心病患者。纳入标准:①符合冠心病诊断标准^[5];②为接受PCI手术的冠心病患者;③术后均接受双联抗血小板治疗,且治疗时长 ≥ 30 d;④接受CYP2C19基因型检测,资料完整。排除标准:①阿司匹林、氯吡格雷禁忌症;②合并出血性疾病、血液性疾病、外科手术史、严重肝肾功能障碍、恶性肿瘤等;③入院查血小板 $< 100 \times 10^9/L$ 或 $> 300 \times 10^9/L$ 者;④近期使用过抗凝药、其他抗血小板药物者;⑤数据缺失。研究通过池州市第二人民医院伦理委员会审核,患者及家属均知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 双抗血小板治疗反应性评估

双抗血小板方案:术前3 d予患者300 mg/d阿司匹林、300 mg/d氯吡格雷治疗,术后降低剂量至

阿司匹林100 mg/d、氯吡格雷75 mg/d。阿司匹林肠溶片生产厂家:拜耳医药保健有限公司,规格:100 mg/片*30片,批号:BJ75509;硫酸氢氯吡格雷片生产厂家:石药集团欧意药业有限公司,规格:75 mg/片*14片,批号:R10230531。治疗30d后评价治疗反应性,清晨抽取患者5 mL外周血至抗凝采血管,1220 r/m离心(离心半径13.5 cm)5 min获得富血小板血浆,取500 μ L加入比色杯,3 000 r/m离心(离心半径13.5 cm)15 min,获得乏血小板血浆,使用泰利康信全自动血小板聚集仪AG80、采用光比浊法检测血小板抑制率。血小板抑制率 $\geq 50\%$ 为高反应,血小板抑制率 $< 50\%$ 为低反应^[6]。

1.2.2 CYP2C19基因型检测

查阅电子病历收集患者CYP2C19基因型检测结果,检测时间为入院后48 h内,清晨抽取患者3 mL外周血,送本院基因检测中心检查,使用DNA提取试剂盒(货号:0101H)提取样本DNA,检测试剂购自武汉海吉力生物科技有限公司。使用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)法特异性扩增DNA,总体系50 μ L,扩增程序:预热95 $^{\circ}$ C 5 min,变性94 $^{\circ}$ C 30 s,退火60 $^{\circ}$ C 30 s,延伸72 $^{\circ}$ C 30 s,终延伸72 $^{\circ}$ C 7 min,变性-退火-延伸共35个循环,终温度12 $^{\circ}$ C。使用PCR法DNA探针生物素标记试剂盒(货号:BTN90604B)进行杂交显色,通过扫描芯片获得每个基因位点的杂交图像,分析图像确定样品的基因型。根据基因型不同,将样本基因检测结果分为3种,快代谢型:CYP2C19*1/*1,中间代谢型:CYP2C19*1/*2、*1/*3,慢代谢型:CYP2C19*2/*2、*2/*3、*3/*3。

1.2.3 资料收集

查阅电子病历采集患者一般资料,包括年龄、性别、身体质量指数(body mass index, BMI)、病变血管数、支架植入数、吸烟史、饮酒史、合并症、冠心病家族史;采集患者入院后48 h内的血生化指标,包括总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(Low-Density Lipoprotein, LDL)、血小板(platelet, PLT)检测,其中

TC、TG、HDL、LDL使用全自动生化分析仪(型号:ADVIA Chemistry XPT,生产厂家:西门子)检测,PLT使用全自动血液分析仪(型号:XN-1000,生产厂家:希森美康)检测。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0统计学软件处理研究数据。连续变量资料符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,组间采用 t 检验,分类资料用 $n(\%)$ 描述,组间采用 χ^2 检验;抗血小板治疗低反应性影响因素采用Logistic回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同抗血小板治疗反应性患者的CYP2C19基因型比较

96例患者血小板抑制率 $\geq 50\%$ 者53例,纳入高反应组,检出血小板抑制率 $< 50\%$ 者43例,纳入低反应组。低反应组CYP2C19快代谢型比例低于高反应组,中间代谢型、慢代谢型比例高于高反应组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 不同抗血小板治疗反应性患者的CYP2C19基因型比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of CYP2C19 genotypes between patients with different responsiveness to antiplatelet therapy [$n(\%)$]

组别	n	CYP2C19基因型		
		快代谢型	中间代谢型	慢代谢型
高反应组	53	38(71.70)	10(18.87)	5(9.43)
低反应组	43	2(4.65)	33(76.74)	8(18.60)
χ^2 值		43.906	32.157	1.705
P值		<0.001	<0.001	0.192

2.2 不同抗血小板治疗反应性患者的一般资料比较

高反应组和低反应组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 不同抗血小板治疗反应性患者的血液生化指标比较

低反应组TC、TG、LDL高于高反应组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表2 不同抗血小板治疗反应性患者的一般资料比较 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 2 Comparison of general information between patients with different responsiveness to antiplatelet therapy [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

指标	高反应组 (n=53)	低反应组 (n=43)	t/χ^2 值	P值
年龄(岁)	65.22±6.64	64.06±7.13	0.824	0.412
性别			0.138	0.711
男	34(64.15)	26(60.47)		
女	19(35.85)	17(39.53)		
BMI(kg/m ²)	25.06±2.59	25.52±2.42	0.891	0.375
病变血管数(支)	1.70±0.50	1.73±0.53	0.285	0.777
支架植入数(个)	1.49±0.45	1.52±0.49	0.312	0.756
吸烟史	18(33.96)	16(37.21)	0.109	0.741
饮酒史	9(16.98)	7(16.28)	0.008	0.927
合并高血压	30(56.60)	26(60.47)	0.146	0.703
合并高脂血症	23(43.40)	20(46.51)	0.093	0.760
合并糖尿病	12(22.64)	8(18.60)	0.235	0.628
冠心病家族史	5(9.43)	4(9.30)	0.188	0.665

2.4 抗血小板治疗抵抗的logistic分析

将单因素差异有统计学意义变量CYP2C19基因型、TC、TG、LDL作为自变量,抗血小板治疗反应性(高反应=0、低反应=1)作为因变量进行Logistic回归分析,结果显示,CYP2C19基因型、高水平LDL是冠心病患者发生抗血小板治疗抵抗的危险因素($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

冠心病的主要病理生理基础是动脉粥样硬化,抗血小板治疗可以预防血栓形成、稳定斑块、降低复发风险^[7]。阿司匹林通过抑制血小板环氧化酶活性、减少前列腺素合成来发挥抗血小板作用;氯吡格雷则通过抑制血小板二磷酸腺苷受体、改变血小板形态学及减少血小板的激活和聚集来防止血栓形成,其中CYP2C19型是影响药物代谢速率和药效的重要原因之一。CYP2C19参与多种药物代谢,CYP2C19基因型(如*1、*2、*3、*17等)会影响药物代谢,进而影响药效^[8]。本研究结果显示,高反应组快代谢型、中间代谢型比例高于低反

表3 不同抗血小板治疗反应性患者的血液生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of blood biochemical indicators between patients with different responsiveness to antiplatelet therapy ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL(mmol/L)	LDL(mmol/L)	PLT($\times 10^9/L$)
高反应组	53	3.86±1.04	1.69±0.85	1.25±0.34	2.50±0.68	228.12±29.07
低反应组	43	4.72±1.15	2.56±0.97	1.19±0.27	3.11±0.87	224.65±28.72
t值		3.842	4.681	0.941	3.856	0.585
P值		<0.001	<0.001	0.349	<0.001	0.560

表4 抗血小板治疗低反应性的 logistic 分析

Table 4 Logistic analysis of the occurrence of resistance to antiplatelet therapy

变量	赋值	χ^2 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI 上限	95% CI 下限	P 值
CYP2C19 基因型	快代谢型=1, 中间代谢型=2, 慢代谢型=3	1.259	0.417	9.115	3.522	1.555	7.975	0.002
TC	原值	1.810	0.975	3.446	6.110	0.904	41.306	0.064
TG	原值	0.985	0.623	2.678	2.678	0.790	9.080	0.114
LDL	原值	1.113	0.502	4.916	3.043	1.138	8.141	0.027

亚组,提示血小板治疗反应性越高者,CYP2C19快代谢型占比越高。Coons等^[9]报道,在CYP2C19无功能等位基因(*2或*3)携带者中,患者出血风险更高。郭元元等^[10]也报道,氯吡格雷敏感患者快代谢型比例高于氯吡格雷抵抗患者,与本研究结果部分相似。本研究 Logistic 回归分析显示,CYP2C19基因型是冠心病患者发生抗血小板治疗抵抗的危险因素。分析可能是因为:CYP2C19慢代谢型患者CYP2C19*2(rs4244285,c.681G>A)、CYP2C19*3(rs4986893,c.636G>A)相应位点上的G为A替代后产生终止码,CYP2C19蛋白功能丧失,无功能、无催化活性,体内氯吡格雷活性代谢产物减少,其对血小板的抑制作用下降,故抗血小板反应性相对更差,这也意味着CYP2C19慢代谢型患者或具更高的血栓形成风险。马琦等^[11]则报道,CYP2C19*2、CYP2C19*3是非糖尿病氯吡格雷高反应性的保护因素,这与本研究结论相似。

TC、TG、LDL是动脉粥样硬化的危险因素,对形成脂质斑块、增加血液粘稠度、促进动脉斑块形成有重要作用^[12-13]。本研究结果发现,高反应组TC、TG、LDL低于低反应组。这一结果说明冠心病患者TC、TG、LDL水平可能与血小板抑制率存在关系,TC、TG、LDL水平较高者,或具更低的抗血小板反应性,即抗血小板效果越差。Logistic回归分析则证实,LDL是冠心病患者发生抗血小板治疗抵抗的危险因素,分析可能与LDL影响脂质代谢有关,高水平LDL提示脂质代谢紊乱,可促进血栓形成来影响抗血小板反应性^[14]。以本研究结果来看,CYP2C19基因型是影响冠心病患者抗血小板治疗反应性的重要因素,但CYP2C19-快代谢型具更高的抗血小板反应性,其对血小板形成的抑制作用虽更强,也意味着更高的出血风险;另LDL对抗血小板反应性的影响也值得临床重视。

综上,冠心病双抗血小板治疗反应性与CYP2C19基因型关系密切,CYP2C19慢代谢型与高水平LDL均是冠心病患者发生抗血小板治疗抵

抗的危险因素之一;建议依据个体差异制定个体化治疗方案,以取得最佳的抗血小板效应。

参考文献

- [1] Virani SS, Newby LK, Arnold SV, et al. 2023 AHA/ACC/ACCP/ASPC/NLA/PCNA Guideline for the Management of Patients With Chronic Coronary Disease: A Report of the American Heart Association/American College of Cardiology Joint Committee on Clinical Practice Guidelines [J]. *Circulation*, 2023, 148(9):e9-e119.
- [2] Capodanno D, Mehran R, Krucoff MW, et al. Defining Strategies of Modulation of Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease: A Consensus Document from the Academic Research Consortium [J]. *Circulation*, 2023, 147(25):1933-1944.
- [3] Djordjevic N. Genotyping genetic variants of CYP2C19 for precision antiplatelet dosing: state of the art and future perspectives [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2022, 18(12):817-830.
- [4] 朱晓茹,陈国芳,姚美雪,等. 即时检测 CYP2C19 基因型精准指导下高危非致残性缺血性脑血管事件的抗血小板治疗 [J]. *中华神经科杂志*, 2023, 56(4):365-373.
- [5] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组,中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组,中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会,等. 稳定性冠心病诊断与治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(9):680-694.
- [6] 尚伟,张瑾,刘瑞花. CYP2C19 基因多态性与老年 PCI 术后患者氯吡格雷血小板抑制率的相关性分析 [J]. *兰州大学学报(医学版)*, 2021, 47(3):31-36.
- [7] Chandiramani R, Spirito A, Johnson JW, et al. Antiplatelet therapy for coronary artery disease in 2023: current status and future prospects [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2023, 21(5):311-328.
- [8] 杨华荣,郑江环. CYP2C19 基因型检测指导抗血小板治疗缺血性脑卒中的疗效及对预后的影响 [J]. *实用临床医药杂志*, 2023, 27(22):31-36.
- [9] Coons JC, Stevenson JM, Patel A, et al. Antiplatelet Therapy and Bleeding Outcomes With CYP2C19 Genotyping [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2022, 27:10742484221143246.
- [10] 郭元元,王丽英,张宇,等. 冠心病患者 CYP2C19 基因多态性及临床不良事件发生与氯吡格雷抵抗的关系 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(8):1054-1058.

(下转第 816 页)

内镜射频治疗反流性食管炎的疗效及对血清G-17、PGI、PG II水平的影响

孟敏* 王秀敏 黄宏春 蒋珊珊

[摘要] **目的** 探究内镜射频治疗反流性食管炎的疗效及对血清胃泌素-17(G-17)、胃蛋白酶原I(PGI)、胃蛋白酶原II(PG II)水平的影响。**方法** 选取安阳市人民医院2021年11月至2022年12月收治的126例反流性食管炎患者为研究对象,根据患者的治疗方法将其分为药物组($n=48$)和射频组($n=78$)。药物组采用艾司奥美拉唑进行治疗,射频组采用内镜射频进行治疗。比较两组的疗效;比较两组的临床症状[泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感]消失时间;比较两组治疗前后的血清学指标[G-17, PGI, PG II]水平;比较治疗后两组的生活质量和睡眠质量评分。**结果** 射频组的总有效率为89.74%,高于药物组的75.00%,差异有统计学意义($\chi^2=4.837, P<0.05$)。射频组的泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感消失时间均低于药物组,差异有统计学意义($t=3.083, 2.750, 2.348, P<0.05$)。治疗后,两组的G-17、PG II均低于治疗前,且射频组低于药物组,差异有统计学意义($t=4.372, 2.157, P<0.05$);PGI水平均高于治疗前,且射频组高于药物组,差异均有统计学意义($t=4.372, 2.157, 2.449, P<0.05$)。射频组的生活质量评分高于药物组,睡眠质量评分低于药物组,差异有统计学意义($t=3.165, 2.473, P<0.05$)。**结论** 内镜射频治疗反流性食管炎具有较高的疗效,可以有效减少患者的临床症状消失时间,改善其血清G-17, PGI, PG II水平,提高睡眠质量和生活质量,具有较高的临床应用价值。

[关键词] 内镜射频;反流性食管炎;血清胃泌素-17;胃蛋白酶原

Effect of endoscopic radiofrequency therapy on reflux esophagitis and its influence on serum G-17, PGI, PG II levels

MENG Min*, WANG Xiumin, HUANG Hongchun, JIANG Shanshan

(Department of Gastroenterology, Anyang People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the efficacy of endoscopic radiofrequency therapy for reflux esophagitis and its effects on serum gastrin-17 (G-17), pepsinogen I (PGI) and pepsinogen II (PG II) levels. **Methods** 126 patients with reflux esophagitis were admitted to Anyang People's Hospital from November 2021 to December 2022. They were retrospectively selected as the study subjects, and divided into two groups: the drug group ($n=48$) and the radiofrequency group ($n=78$) based on their treatment methods. The drug group received esomeprazole, and the radiofrequency group underwent endoscopic radiofrequency treatment. The efficacy of the two groups was compared. The disappearance time of clinical symptoms such as pantothenic acid, retrosternal burning pain, and eating obstruction was compared between the two groups. Serological indicators [G-17, PGI, PGII] before and after treatment were compared between the two groups. The quality of life and sleep quality scores were also compared between the two groups post-treatment. **Results** The total effective rate of the RF group was 89.74%, which was higher than that of the drug group (75.00%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.837, P<0.05$). The disappearance time of pantothenic acid, post sternal burning pain, and eating obstruction in the RF group was lower than that in the drug group,

基金项目:安阳市科技计划项目(2021C01SF045)

作者单位:河南省安阳市人民医院消化内科,河南,安阳455000

*通信作者:孟敏, E-mail: mmlunwen2023@163.com

and the difference was statistically significant ($t=3.083, 2.750, 2.348, P<0.05$). After treatment, G-17 and PG II levels in both groups were lower than before treatment, and the radiofrequency group was lower than the drug group. PG I levels were higher than before treatment, and those in the radiofrequency group were higher than those in the drug group, with statistical significance ($t=4.372, 2.157, 2.449, P<0.05$). The score of life quality in the RF group was higher than that in the drug group, and the score of sleep quality was lower than that in the drug group, the difference was statistically significant ($t=3.165, 2.473, P<0.05$). **Conclusion** Endoscopic radiofrequency therapy for reflux esophagitis has a high therapeutic effect. It can effectively reduce the time for clinical symptoms to disappear, improve serum levels of G-17, PG I, and PG II, enhance the quality of sleep and life. This treatment option holds high clinical application value.

[KEY WORDS] Endoscopic radiofrequency; Reflux esophagitis; Serum gastrin-17; Pepsinogen

反流性食管炎是临床常见的胃肠道疾病之一,其发生原因较多,主要是由于反流屏障受损、食管功能障碍、食管裂孔疝等食管功能受损而引起的炎症性疾病,患者常伴随有胃肠道功能紊乱、黏膜炎症等合并症^[1-2]。目前临床常以质子泵抑制剂、促动力药物等药物保守治疗为主要治疗方案,艾司奥美拉唑是一种临床常用于治疗胃肠道疾病的质子泵抑制剂。有研究^[3]显示,艾司奥美拉唑可以有效抑制患的胃酸分泌,减轻了胃酸对受损的胃肠道刺激,从而缓解反流性食管炎的发展。该药物虽在一定程度上可以改善患者的临床症状,但仅能起到一个短暂的缓解作用,而无法完全恢复机体的炎症因子平衡,改善胃肠道功能和食管功能,通常单一应用该药物的疗效较为不佳^[4]。内镜射频治疗是一种已在临床上普及的治疗胃食管反流病的手段,已有大量研究证明其疗效的优越性,已成为胃食管反流病的有效方案之一^[5]。本研究通过观察内镜射频治疗反流性食管炎的疗效及对血清胃泌素-17(Gastrin 17, G-17)、胃蛋白酶原 I (Pepsinogen I, PGI)、胃蛋白酶原 II (Pepsinogen II, PG II) 水平的影响,旨在为今后临床内镜射频治疗反流性食管炎提供一定的经验及依据。报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取安阳市人民医院 2021 年 11 月至 2022 年 12 月收治的 126 例反流性食管炎患者为研究对象,根据患者的治疗方法将其分为药物组($n=48$)和射频组($n=78$)。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②符合《胃食管反流病基层诊疗指南(实践版·2019)》^[6]中所述的诊断标准,并经临床检查确诊者;③患者临床资料完整;④初诊患者;⑤伴有泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感等临床特征;⑥未曾接受过任何

相关治疗;⑦患者本人或其家属对本院知情且同意。排除标准:①患者依从性较差者;②合并其他胃肠道、食管等部位疾病者;③合并恶性肿瘤者;④对本研究所用药物过敏者;⑤既往接受过胃食管、十二指肠手术或有创伤史者;⑥中途退出研究者;⑦上消化道解剖结构异常。其中药物组男性 23 例,女性 25 例;年龄分布 24~57 岁,平均年龄(41.38 ± 1.06)岁;平均体质指数(Body Mass Index, BMI)(21.47 ± 2.52) kg/m^2 。射频组男性 41 例,女性 37 例;年龄分布 27~55 岁,平均年龄(41.79 ± 1.33)岁;平均 BMI(21.62 ± 2.41) kg/m^2 。两组的性别、年龄、BMI 进行比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.257, t=1.810, 0.333, P<0.05$)。本研究已通过安阳市人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

两组均进行饮食指导、心理指导等常规临床干预,药物组采用口服艾司奥美拉唑镁肠溶胶囊(由正大天晴药业集团股份有限公司生产,国药准字 H20213071)进行给药,20 mg/次,2 次/d。射频组采用内镜射频治疗(美顿 Medi 射频治疗系统),由 1 名经验丰富的内镜医师进行操作,以排除医师操作的干扰因素。医师通过内镜对鳞状上皮和柱状上皮交界处进行确定后,插入带有球囊探头的射频导管,经 4 个 5 mm 长的针样电极将射频能量(温度为 85℃)释放到食管壁上,治疗结束后患者均接受口服艾司奥美拉唑镁肠溶胶囊进行治疗,用药方案同药物组,以减少经射频治疗后胃酸对食道黏膜的刺激作用。两组均进行 4 周的治疗。

1.3 观察指标

1.3.1 比较两组的疗效

疗效评估标准^[7]如下:①显效:治疗后患者的泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感等临床症状完全消失且不复犯,内镜检查见食管黏膜无明显损伤且

光泽红润;②有效:治疗后患者的泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感等临床症状基本消失或改善,内镜检查见黏膜愈合情况较治疗前有所改善,破损长径 ≤ 5 mm;③无效:治疗后患者的泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感等临床症状反复甚至恶化,内镜检查可见食管黏膜有明显损伤,破损长径 > 5 mm。总有效=(有效例数+显效例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.3.2 比较两组患者治疗前后的血清学指标

所有患者于入院当天及治疗后当天进行空腹血液采集5 mL,经离心速率3 000 r/min,离心半径10 cm离心15 min后,取其上层清液进行血清学指标检测。采用荧光免疫层析法(试剂盒由必欧瀚生物技术(合肥)有限公司提供)、乳胶免疫比浊法(北京安图试剂盒)检测患者的G-17、PGI、PG II水平。

1.3.3 比较治疗后两组的生活质量和睡眠质量评分^[8]

生活质量采用生活质量评分量表(SF-36)^[8]进行评测,该量表采用5级评分法,分值0~100分,分数越高表示患者生活质量越好;睡眠质量采用匹兹堡睡眠质量指数量表(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)^[9]进行评测,0~5分表示患者具有极佳的睡眠质量,6~10分表示患者具有较好的睡眠质量,评分 > 11 分表示患者的睡眠质量较差,分数越低,表示患者睡眠质量越好。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0对本研究所得数据进行处理分析。计数单位以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;计量单位以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的疗效比较

射频组的总有效率高于药物组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组的疗效比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of efficacy between the two groups

组别	n	[$n(\%)$]			总有效
		显效	有效	无效	
射频组	78	20(25.64)	50(64.10)	8(10.26)	70(89.74)
药物组	48	14(29.17)	22(45.83)	12(25.00)	36(75.00)
χ^2 值					4.837
P值					0.028

2.2 两组的临床症状消失时间比较

射频组的泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感消失时间均低于药物组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组的临床症状消失时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of clinical symptom resolution time between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	泛酸(d)	胸骨后灼痛(d)	进食梗阻感(d)
射频组	78	5.74 \pm 1.08	5.09 \pm 1.19	7.73 \pm 1.82
药物组	48	6.43 \pm 1.42	5.67 \pm 1.08	8.56 \pm 2.09
t 值		3.083	2.750	2.348
P值		0.003	0.007	0.020

2.3 治疗前后两组的血清学指标比较

治疗前,两组的血清学指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,两组的G-17、PG II均低于治疗前,且射频组低于药物组;两组的PGI水平平均高于治疗前,且射频组高于药物组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 治疗后两组的生活质量和睡眠质量评分

射频组的生活质量评分高于药物组,睡眠质量评分低于药物组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

反流性食管炎的典型临床特征为食管黏膜出现破损,而该过程与胃部的酸(碱)反流有关,通常与多种慢性胃肠道疾病有关^[10]。据相关流行病学调查发现,成年人中患有反流性食管炎的占比为

表3 治疗前后两组的血清学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serological indexes between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	G-17(pg/mL)		PGI(μ g/L)		PG II(μ g/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
射频组	78	127.42 \pm 10.94	109.27 \pm 9.85*	50.87 \pm 6.75	74.91 \pm 9.98*	11.64 \pm 3.26	8.97 \pm 2.12*
药物组	48	126.35 \pm 11.23	117.39 \pm 10.56*	51.04 \pm 6.63	70.66 \pm 8.54*	11.69 \pm 3.03	9.95 \pm 2.97*
t 值		0.529	4.372	0.138	2.449	0.086	2.157
P值		0.599	< 0.001	0.890	0.016	0.932	0.033

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

表4 治疗后两组的生活质量和睡眠质量评分 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Quality of life and sleep quality scores of the two groups after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	生活质量评分(分)	睡眠质量评分(分)
射频组	78	83.26±4.55	6.84±1.01
药物组	48	80.79±3.72	7.36±1.34
t值		3.165	2.473
P值		0.002	0.015

7%~15%,且由于饮食习惯的改变,患有胃部慢性疾病的人群越来越多,该占比呈日渐上升趋势^[11]。反流性食管炎对患者的日常生活造成严重影响,目前临床的应对方法主要以质子泵抑制剂进行长期控制。艾司奥美拉唑是临床常用于治疗胃酸过多、慢性胃炎等因胃酸分泌异常引起的胃部疾病,是第二代质子泵抑制剂的代表药物,其作用机理与奥美拉唑相似,可有效抑制酸性物质的分泌,减少胃酸对受损组织的进一步刺激^[12]。虽然艾司奥美拉唑较奥美拉唑肝首过消除低、血药浓度和生物利用度更高,但该药存在一定的药物禁忌症和耐药性,且其单一进行治疗时并不完全有效,目前仍需要寻找一种有效的治疗方法。

内镜射频的抗反流的机理主要是通过较高的热能,从而对已受损组织进行破坏并促进其再生,从而增加食管下括约肌的厚度以及压力,通过加强胃食管连接处的生理屏障来改善食管括约肌的松弛情况,同时还可降低食管对胃酸的敏感性。随着内镜技术的发展,微创、无创的内镜下治疗方法已在临床上普遍展开应用,目前已有多种内镜设备出现,其中包括内镜射频治疗设备 Stretta、无切口胃底折叠术设备 Esophyx-Z、内镜缝合设备 Over Stitch 等,其中以内镜射频手术是目前最为安全、侵入性小、病人较为耐受的内镜治疗反流性食管炎技术。本研究结果显示,通过内镜射频治疗反流性食管炎的疗效为 89.74%,高于仅使用艾司奥美拉唑治疗的患者,对于该疾病的治疗具有较好的疗效;射频组的泛酸、胸骨后灼痛、进食梗阻感消失时间均低于药物组,与 Fedorova 等^[13]的研究结果相似。

本研究结果还显示,经内镜射频治疗后的患者血清 G-17、PGI、PG II 水平改善幅度均高于单独使用奥美拉唑治疗,同时还可以有效提高患者的生活质量和睡眠质量。血清 G-17、PGI、PG II 水平是近些年胃肠道疾病诊断的热门标志物,其中 G-17 是反映胃黏膜状态的良好指标,而 PGI、PG II 则可

反映胃底腺、幽门腺和胃窦的分泌状态,三者可较为全面地反映胃功能情况,从而判断患者的治疗效果^[14]。反流性食管炎患者通常存在饱餐后夜间睡眠时反流加剧,严重影响患者的睡眠质量及生活质量,通过增加内镜射频治疗后,可有效提高患者的睡眠质量及生活质量,从而促进患者的痊愈^[15]。

综上所述,通过内镜射频治疗可进一步提高反流性食管炎患者的治疗疗效,可以有效降低患者的临床症状消失时间,改善患者血清 G-17、PGI、PG II 水平,促进胃功能的恢复,同时还可提高患者的生活质量和睡眠质量,具有较高的临床应用价值。

参考文献

- [1] 苏卫仙,刘倩,杜丙杰,等. 革铃胃痛颗粒联合艾司奥美拉唑四联疗法治疗 Hp 相关性慢性胃炎的疗效及对外周血 T 淋巴细胞亚群和血清炎症相关细胞因子水平的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2022, 30(6): 419-423+430.
- [2] Umer MR, Mejia Crespo WE, Dugan S, et al. Lansoprazole plus levosulpiride versus esomeprazole in participants with gastroesophageal reflux disease and erosive esophagitis: a double blinded randomized control trial [J]. Ann Med Surg (Lond), 2023, 85(10): 4866-4876.
- [3] 孔玲玲,张中唐,任婷婷. 奥美拉唑、伊托必利结合阿卡波糖治疗老年慢性胃炎合并血糖异常的疗效及其对 HDL-C、HbAlc 水平的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(5): 867-870.
- [4] Goda K, Abe K, Kanamori A, et al. Advanced endoscopy for benign esophageal disease: A review focused on nonerosive reflux disease and eosinophilic esophagitis [J]. Healthcare (Basel), 2022, 10(11): 2183.
- [5] 魏雪,卢迪,钱洁,等. 不同食管下括约肌静息压力的胃食管反流病患者内镜射频治疗的疗效分析[J]. 中国医刊, 2023, 58(3): 262-265.
- [6] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会消化病学分会,等. 胃食管反流病基层诊疗指南(实践版·2019)[J]. 中华全科医师杂志, 2019(7): 642-646.
- [7] 雷奥,齐文海,刘明. 莫沙必利联合奥美拉唑镁治疗反流性食管炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(9): 2290-2294.
- [8] 廖振城. 莫沙必利分别联合雷贝拉唑奥美拉唑治疗老年反流性食管炎的价值比较[J]. 北方药学, 2020, 17(5): 14-15.
- [9] 骆丽蓉. 莫沙必利分别联合雷贝拉唑与奥美拉唑治疗老年反流性食管炎疗效比较[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(10): 55-56.
- [10] 包晓青,赵娃娣,赵梦. 奥美拉唑为主的三联疗法对幽门螺杆菌相关性胃炎患儿的影响[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(11): 2012-2014.
- [11] 陈婷婷. 比较奥美拉唑和雷贝拉唑治疗反流性食管炎的临床疗效[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(11): 5-8.

P53、P16及Ki-67与早期食管癌患者ESD术后复发的关系分析

党叶川* 李聪丽 王瑞雪

【摘要】 目的 分析研究抑制蛋白基因P53(P53)、抑制蛋白基因P16(P16)及细胞增殖核抗原Ki-67(Ki-67)与早期食管癌患者内镜黏膜下剥离术(ESD)术后复发的关系。方法 选取2019年1月至2023年1月三门峡市中心医院收治80例的早期食管癌患者作为研究对象,均进行ESD治疗。比较所有患者癌组织与癌旁组织(距肿瘤边缘>3 cm,镜下未见肿瘤组织或不典型增生组织)P53、P16、Ki-67蛋白表达。ESD术后对患者随访1年,根据有无术后复发食管癌,将患者分为复发组($n=20$)与无复发组($n=60$)。比较两组癌组织P53、P16、Ki-67蛋白表达。采用多因素Logistic回归分析早期食管癌患者ESD术后复发的影响因素,并绘制ROC曲线分析P53、P16、Ki-67蛋白表达与早期食管癌患者ESD术后复发。结果 与癌旁组织相比,癌组织P53、Ki-67蛋白表达升高,P16蛋白表达降低($t=9.276、13.987、10.595$,均 $P<0.05$);复发组的癌组织P53、Ki-67蛋白表达均高于无复发组,P16蛋白表达低于无复发组($t=5.086、4.648、5.139$,均 $P<0.05$);多因素Logistic回归分析显示,肿瘤低分化($OR=1.870$)、肿瘤浸润侵犯黏膜下层($OR=1.808$)、有淋巴结转移($OR=2.089$)、P53蛋白高表达($OR=2.046$)、P16蛋白低表达($OR=1.988$)及Ki-67蛋白高表达($OR=1.761$)均是早期食管癌患者ESD术后复发的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,P53、P16、Ki-67蛋白表达及联合检测的曲线下面积(AUC)分别为0.803、0.828、0.834、0.942,联合检测优于单一检测($P<0.05$)。结论 P53、P16及Ki-67蛋白与早期食管癌患者ESD术后复发情况相关,可以作为辅助预测的相关诊断指标。

【关键词】 早期食管癌;内镜黏膜下剥离术;抑制蛋白基因P53;抑制蛋白基因P16;细胞增殖核抗原Ki-67

Analysis of the relationship between P53, P16 and Ki-67 and recurrence after ESD operation in early esophageal cancer patients

DANG Yechuan*, LI Congli, WANG Ruixue

(Department of Gastroenterology, Sanmenxia Central Hospital, Sanmenxia, Henan, China, 472000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the relationship between suppressor protein gene P53 (P53), suppressor protein gene P16 (P16) and cell proliferating nuclear antigen Ki-67 (Ki-67) and recurrence after endoscopic submucosal dissection (ESD) in patients with early esophageal cancer. **Methods** 80 patients with early esophageal cancer were admitted to Sanmenxia Central Hospital from January 2019 to January 2023 and were retrospectively selected as the study subjects. All patients underwent ESD treatment. The expression of P53, P16 and Ki-67 proteins was compared between cancer tissue and paracancer tissue (defined as tissue more than 3 cm from the tumor margin, with no tumor tissue or atypical hyperplasia observed under the microscope) in all patients. Patients were followed up for 1 year after the ESD operation and were divided into two groups: the recurrence group ($n=20$) and the non-recurrence group ($n=60$) based on whether esophageal cancer recurred after the operation. The expression of P53, P16 and Ki-67 in the two groups was compared. Multi-

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20191439)

作者单位:三门峡市中心医院消化内科,河南,三门峡472000

*通信作者:党叶川, E-mail: dangyechuan@163.com

ivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of ESD postoperative recurrence in early esophageal cancer patients. ROC curves were drawn to analyze the expression of P53, P16 and Ki-67 proteins and ESD postoperative recurrence in early esophageal cancer patients. **Results** Compared to adjacent tissues, the expression of P53 and Ki-67 proteins in cancer tissues was increased, while the expression of P16 protein was decreased ($t=9.276, 13.987, 10.595, P<0.05$). The expression of P53 and Ki-67 protein in the recurrence group was higher than that in the non-recurrence group, and the expression of P16 protein was lower than that in the non-recurrence group ($t=5.086, 4.648, 5.139, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that low tumor differentiation ($OR=1.870$), tumor invasion of submucosa ($OR=1.808$), lymph node metastasis ($OR=2.089$), high expression of P53 protein ($OR=2.046$), low expression of P16 protein ($OR=1.988$), and high expression of Ki-67 protein ($OR=1.761$) were aa independent risk factors for recurrence in early esophageal cancer patients after surgery ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the expression of P53, P16 and Ki-67 proteins, along with the AUC of combined detection were 0.803, 0.828, 0.834, and 0.942, respectively. Combined detection was found to be superior to single detection ($P<0.05$). **Conclusion** P53, P16 and Ki-67 proteins are related to the recurrence of early esophageal cancer in patients following ESD surgery. They can serve as auxiliary diagnostic indicators for predicting recurrence.

[KEY WORDS] Early esophageal cancer; Endoscopic submucosal dissection; Suppressor protein gene P53; Suppressor protein gene P16; Cell proliferation nuclear antigen Ki-67

食管癌是常见的癌症之一,其治疗方案根据分期决定,早期食管癌以进行外科手术切除为主^[1]。内镜黏膜下剥离术(Endoscopic submucosal dissection, ESD)具有较高的整块切除率,能够将肿瘤病灶从其下方正常的黏膜下层剥离,是目前治疗早期食管癌的常用术式^[2]。但仍有部分早期食管癌患者在进行手术切除后,发生复发或转移,不利于患者的生存预后,严重情况下甚至会导致患者死亡^[3]。抑制蛋白基因 P53(Suppressor protein gene P53, P53)是一种抑癌基因,对肿瘤的发生发展过程具有重要影响,P53在癌组织中发生突变的情况下,会使其抑癌作用失活,进而促进肿瘤的恶性转化^[4]。抑制蛋白基因 P16(Suppressor protein gene P53, P16)同属于抑癌基因家族成员,能够抑制细胞周期蛋白与相关酶因子结合,进而抑制肿瘤细胞的有丝分裂,发挥抑癌作用^[5]。细胞增殖核抗原 Ki-67(Cell proliferation nuclear antigen Ki-67, Ki-67)是一种反映肿瘤细胞增殖的标志物,其表达水平与肿瘤恶性病变相关,对于评估肿瘤侵袭、转移及预后具有重要作用^[6]。本研究通过分析 P53、P16 及 Ki-67 与早期食管癌患者 ESD 术后复发的关系,为临床诊治提供参考意见。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 1 月至 2023 年 1 月三门峡市中心医院收治 80 例的早期食管癌患者作为研究对象。

纳入标准:①根据《美国癌症联合委员会癌症分期手册第 8 版》^[7]的相关标准,结合内镜检查诊断为早期食管癌;②均符合 ESD 手术指征^[7];③年龄 ≥ 18 岁;④患者及家属均知情同意。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并感染性疾病;③存在重要脏器功能不全;④肿瘤病灶已发生远处转移;⑤术前已接受放疗、化疗和(或)靶向药物治疗。本研究经医院伦理委员会审批通过,批准号为:05 号。

1.2 手术方法

所有患者均进行 ESD 手术治疗。全麻后使用 GIF-260 电子胃镜(日本 Olympus 公司)进行手术。内镜端套透明帽进镜对早期食管癌病灶进行观察,使用碘染色法对病灶的位置与范围进行染色,并于黏膜下注射靛胭脂、肾上腺素与生理盐水混合而成的溶液,使病灶黏膜层隆起。用一次性黏膜切开刀沿标记处外侧进行环形切割,沿黏膜下基底将病灶完整剥离。完成剥离后,通过止血钳完成止血,部分对于剥离范围较深、怀疑穿孔等部位,均采用钛夹夹闭,防止迟发性出血与穿孔等情况发生。术后对切除病灶大小直径进行测量,并切除部分癌组织与配对的癌旁正常组织(距肿瘤边缘 >3 cm,镜下未见肿瘤组织或不典型增生组织)放入冻存管内,加入 RNA 保护液后置入 -80°C 冰箱中冷冻保存。将剩余病灶组织送至病例活检。

1.3 癌组织与癌旁组织的 P53、P16、Ki-67 蛋白表达检测

将癌组织与癌旁组织取出解冻后,剪碎后利

用 Trizo 试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取组织总 RNA, RNA 的纯度与浓度采用紫外分光光度计进行测定,将符合要求的 RNA 以反转录试剂盒(德国 Qiagen 公司)进行反转录合成 cDNA。以荧光定量聚合酶链式反应法检测 P53、P16、Ki-67 蛋白表达水平。相关反应条件如下:95℃变性 30 s;70℃退火 40 s;70℃延伸 60 s,共 40 个循环。P53 引物序列:F:5'-ACGCTGCGGACCAGAAGCCG-3';R:5'-TCGACCAGAGCCGATGCGGT-3'。P16 引物序列:F:5'-TGGTTAGAGGCTGCCTGTGA-3';R:5'-TGGACAAGACCCTGAAGACA-3'。Ki-67 引物序列:F:5'-CTTTGGGTGCGACTTGACGA-3';R:5'-TTCTGCCATTACGTCCAGCG-3'。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 P53、P16、Ki-67 蛋白表达的相对表达量。

1.4 随访与分组

在治疗结束后对所有患者进行随访,每3个月1次,共随访1年。根据随访结果,复发食管癌的患者共20例,命名为复发组;无复发的患者共60例,命名为无复发组。收集可能影响早期食管癌患者ESD术后复发的相关资料,包括性别、年龄、身体质量指数(Body mass index, BMI)、肿瘤部位、肿瘤直径、肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移及癌组织 P53、P16、Ki-67 蛋白表达等。肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移根据《美国癌症联合委员会癌症分期手册第8版》^[8]进行判定。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析采集的数据。正态分布的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,进行独立样本 *t* 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验;相关性采用 Pearson 相关系数分析;影响因素采用多因素 Logistic 回归分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析相关指标对预测模型的预测价值,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 早期食管癌患者癌组织与癌旁组织的 P53、P16、Ki-67 蛋白比较

与癌旁组织相比,癌组织 P53、Ki-67 蛋白表达升高,P16 蛋白表达降低,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 早期食管癌患者ESD术后复发的单因素分析

单因素分析结果显示,两组肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移比较差异有统计学意义

表1 早期食管癌患者癌组织与癌旁组织的 P53、P16、Ki-67 蛋白比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Comparison of P53, P16 and Ki-67 proteins in early esophageal cancer patients and adjacent tissues $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	P53	P16	Ki-67
癌组织	80	0.63±0.17	0.38±0.13	0.59±0.16
癌旁组织	80	0.42±0.11	0.74±0.19	0.36±0.11
<i>t</i> 值		9.276	13.987	10.595
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

($P < 0.05$);复发组的癌组织 P53、Ki-67 蛋白表达均高于无复发组,P16 蛋白表达低于无复发组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 早期食管癌患者ESD术后复发的单因素分析 $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

Table 2 Univariate analysis of postoperative recurrence in early esophageal cancer patients with ESD $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

因素	复发组 (<i>n</i> =20)	无复发组 (<i>n</i> =60)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别			0.018	0.893
男	13(65.00)	38(63.33)		
女	7(35.00)	22(36.67)		
年龄			0.821	0.365
≤60	9(45.00)	34(56.67)		
>60	11(55.00)	26(43.33)		
BMI 指数(kg/m ²)			2.018	0.156
≤24	7(35.00)	32(53.33)		
>24	13(65.00)	28(46.67)		
肿瘤部位			0.084	0.959
胸上段	4(20.00)	12(20.00)		
胸中段	7(35.00)	23(38.33)		
胸下段	9(45.00)	25(41.67)		
肿瘤直径(cm)			2.092	0.351
0~3	9(45.00)	32(53.33)		
4~5	6(30.00)	21(35.00)		
>5	5(25.00)	7(11.67)		
肿瘤分化程度			16.596	<0.001
高分化	3(15.00)	34(56.67)		
中分化	6(30.00)	18(30.00)		
低分化	11(55.00)	8(13.33)		
肿瘤浸润深度			24.033	0.001
黏膜层	3(15.00)	46(76.67)		
黏膜下层	17(85.00)	14(23.33)		
淋巴结转移			15.345	<0.001
无	4(20.00)	42(70.00)		
有	16(80.00)	18(30.00)		
P53	0.81±0.24	0.57±0.16	5.086	<0.001
P16	0.26±0.11	0.42±0.14	4.648	<0.001
Ki-67	0.74±0.18	0.54±0.14	5.139	<0.001

2.3 早期食管癌患者ESD术后复发影响因素的多因素 Logistic 回归分析

以早期食管癌患者ESD术后是否复发为因变量,将收集的资料为自变量进行 Logistic 回归分

析。结果显示,肿瘤低分化、肿瘤浸润侵犯黏膜下层、有淋巴结转移、P53蛋白高表达、P16蛋白低表

达及Ki-67蛋白高表达均是早期食管癌患者ESD术后复发的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

表3 早期食管癌患者ESD术后复发影响因素的多因素Logistic回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of the factors influencing the recurrence of early esophageal cancer after ESD operation

因素	赋值	β 值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
肿瘤分化程度	低分化=0,中分化=1,高分化=2	0.626	0.214	8.557	1.870	1.229~2.845	0.003
肿瘤浸润深度	黏膜下层=0,黏膜层=1	0.592	0.186	10.130	1.808	1.255~2.603	0.001
淋巴结转移	有=0,无=1	0.737	0.259	8.097	2.089	1.258~3.472	0.004
P53	连续变量	0.716	0.231	9.607	2.046	1.301~3.218	0.002
P16	连续变量	0.687	0.206	11.122	1.988	1.327~2.977	0.001
Ki-67	连续变量	0.566	0.173	10.704	1.761	1.255~2.472	0.001

2.4 P53、P16、Ki-67蛋白表达对早期食管癌患者ESD术后复发的预测价值

ROC曲线分析显示,P53、P16、Ki-67蛋白表达及联合检测的曲线下面积(AUC)分别为0.803、0.828、0.834、0.942,联合检测优于单一检测($P<0.05$)。见表4、图1。

表4 P53、P16、Ki-67蛋白表达对早期食管癌患者ESD术后复发的预测价值

Table 4 Prognostic value of P53, P16 and Ki-67 protein expression for postoperative recurrence in early esophageal cancer patients after ESD

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
P53	0.68	0.803	0.666~0.941	0.800	0.733	<0.001
P16	0.35	0.828	0.734~0.922	0.750	0.717	<0.001
Ki-67	0.65	0.834	0.706~0.961	0.800	0.767	<0.001
联合检测		0.942	0.851~0.999	0.850	0.783	<0.001

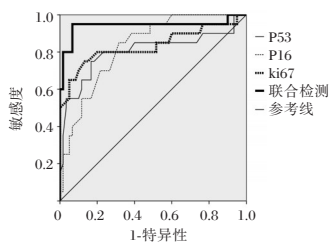


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

3 讨论

在一项针对4626名食管癌患者的研究中,在接受手术治疗后,约有45.1%的食管癌患者出现术后复发,由于后续治疗手段有限,复发患者的生存预后较差,即使针对性治疗,患者的中位生存期也仅有20个月^[9]。因此,分析早期食管癌术后复发的影响因素,对改善患者的生存预后具有积极意义。

宋丹丹等^[10]研究表明,P53基因过表达具有较强的侵袭与转移作用,发生肿瘤转移的可能性较高,而且P53基因表达水平越高,其抑癌作用越低,导致患者的预后效果较差。本研究结果显示,早期食管癌患者癌组织的P53蛋白表达高于癌旁组织,且复发组P53蛋白表达远高于无复发组。分析原因可能是P53基因表达在异常升高的情况下发生突变,从抑癌基因失活变成癌基因,导致肿瘤病灶的侵袭转移能力增加,促使早期食管癌患者ESD术后治疗出现复发。刘艳娇等^[11]研究指出,P16基因与食管癌病理分期相关,一旦P16出现突变或缺失,其蛋白活性降低,会导致食管癌病情进展,增加恶性病变与远处转移的风险。本研究结果显示,早期食管癌患者癌组织的P16蛋白表达低于癌旁组织,且复发组P16蛋白表达远低于无复发组。这可能是因为随着P16蛋白表达降低,其抑癌作用减弱,患者机体内发生细胞周期紊乱,导致肿瘤生长失控,进而导致患者ESD术后治疗出现复发。

细胞增殖失控是促使恶性肿瘤发展的重要因素,Ki-67是一种与细胞增殖活性相关的特异性核抗原,在肿瘤的增殖分化、侵袭转移等过程中发挥重要作用^[12]。杨俊荣等^[13]研究发现,发生脉管侵犯的食管癌患者体内的Ki-67表达水平升高,Ki-67通过促使食管癌细胞增殖与扩散,增加淋巴结转移的风险。本研究提示Ki-67表达水平升高与早期食管癌患者ESD术后复发密切相关。本研究分析了早期食管癌患者ESD术后复发的影响因素。多因素Logistic回归分析显示,肿瘤低分化、肿瘤浸润侵犯黏膜下层、有淋巴结转移、P53蛋白高表达、P16蛋白低表达及Ki-67蛋白高表达均是早期食管癌患者ESD术后复发的独立危险因素。张玉双等^[14]研究表明,肿瘤分化程度低的食管癌患者

术后更容易出现转移复发,而且淋巴结转移同样是食管癌术后复发的重要影响因素。李俊毅等^[15]研究表明,肿瘤浸润侵犯黏膜下层的食管癌患者出现术后复发的可能性更高。本研究结果与上述研究一致。提示临床应该重点关注相关患者群体,及时给予对症处理,减少术后复发情况发生。本研究验证了P53、P16、Ki-67蛋白表达对早期食管癌患者ESD术后复发的预测价值,ROC曲线分析表明,各单一指标均可进行预测,且联合检测可提高预测的敏感度和特异度。

综上所述,早期食管癌患者ESD术后复发与多种因素相关,P53、P16及Ki-67蛋白可以作为辅助预测术后复发的相关指标。

参考文献

- [1] Iriarte F, Su S, Petrov RV, et al. Surgical Management of Early Esophageal Cancer[J]. Surg Clin North Am, 2021, 101(3):427-441.
- [2] Kobayashi Y, Nishikawa K, Akasaka T, et al. Retrograde endoscopic submucosal dissection for early thoracic esophageal carcinoma[J]. Clin J Gastroenterol, 2021, 14(2):434-438.
- [3] Matsui K, Kawakubo H, Matsuda S, et al. Clinical predictors of early postoperative recurrence after radical esophagectomy for thoracic esophageal cancer[J]. Esophagus, 2023, 20(4):679-690.
- [4] 符白玉,林怡,徐琪,等.胃癌患者血清p53、PDCD-5、survivin表达水平及其联合应用的价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(4):615-618+622.
- [5] Tu Z, Wang X, Cai H, et al. The cell senescence regulator p16 is a promising cancer prognostic and immune check-point inhibitor (ICI) therapy biomarker[J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(6):2136-2157.
- [6] Andrés - Sánchez N, Fisher D, Krasinska L. Physiological functions and roles in cancer of the proliferation marker Ki-67[J]. J Cell Sci, 2022, 135(11):jcs258932.
- [7] 国家消化系统疾病临床医学研究中心,中华医学会消化内镜学分会,中国医师协会消化医师分会.胃内镜黏膜下剥离术围术期指南[J].中国实用内科杂志,2017,37(12):1055-1068.
- [8] Oweira H, Schmidt J, Mehrabi A, et al. Validation of the eighth clinical American Joint Committee on Cancer stage grouping for esophageal cancer[J]. Future Oncol, 2018, 14(1):65-75.
- [9] Kalf J, Henckens SPG, Voeten DM, et al. Recurrent Disease After Esophageal Cancer Surgery: A Substudy of The Dutch Nationwide Ivory Study[J]. Ann Surg, 2022, 276(5):806-813.
- [10] 宋丹丹,王超,李军,等. CK20、P53、Ki67蛋白联合影像学特征与结肠癌分化程度及预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(7):1234-1237+1242.
- [11] 刘艳娇,张倩,何龙英,等. p16、PADI4在食管癌组织中表达及其与放射治疗后预后的相关性[J].中国老年学杂志,2023,43(19):4652-4655.
- [12] Wang B, Li M, Su A, et al. Prognostic Value of GPNMB, EGFR, p-PI3K, and Ki-67 in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma[J]. Anal Cell Pathol (Amst), 2022, 2022:9303081.
- [13] 杨俊荣,徐文鑫,穆红,等. Ki-67、TOP II α 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其与脉管侵犯的相关性[J].现代肿瘤医学,2023,31(7):1247-1251.
- [14] 张玉双,贾蕾,史会娟,等.食管癌术后复发转移影响因素分析[J].中华中医药学刊,2020,38(9):60-63.
- [15] 李俊毅,温越,李渊,等.早期食管癌术后肿瘤复发的多因素分析[J].中国微创外科杂志,2021,21(8):695-699.

(上接第 807 页)

- [11] 马琦,林萍.非糖尿病患者氯吡格雷抗血小板治疗高反应性影响因素[J].实用医学杂志,2022,38(21):2686-2690.
- [12] Shaya GE, Leucker TM, Jones SR, Martin SS, Toth PP. Coronary heart disease risk: Low-density lipoprotein and beyond[J]. Trends Cardiovasc Med, 2022, 32(4):181-194.
- [13] 李伟.阿托伐他汀钙片对冠心病患者PCI术后临床疗效的影响[J].川北医学院学报,2022,37(11):1428-1431.
- [14] 丛子涵,张明,吴奇勇.以CYP2C19基因多态性为导向的双抗治疗方案在冠状动脉旁路移植术后的应用价值[J].中国微创外科杂志,2023,23(6):442-448.

(上接第 811 页)

- [12] 李梅英,董卫青.铝碳酸镁联合奥美拉唑治疗老年胃食管反流症的临床疗效观察[J].中国药物与临床,2021,21(1):79-80.
- [13] Fedorova E, Watson TJ. Antireflux and Endoscopic Therapies for Barrett Esophagus and Superficial Esophageal Neoplasia[J]. Surg Clin North Am, 2021, 101(3):391-403.
- [14] 陈强,楼一峰.幽门螺杆菌根除治疗对消化性溃疡患者血清胃泌素水平的影响[J].中国微生态学杂志,2021,33(3):317-320.
- [15] 王丽.反流性食管炎治疗中雷贝拉唑和奥美拉唑的效果对比研究[J].中国现代药物应用,2021,15(11):179-181.

rTMS对缺血性脑卒中患者血清MMP-9、Ang-I与NSE水平变化的影响

陶晓琳 李红 马将*

[摘要] 目的 探讨rTMS对缺血性脑卒中患者血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、人血管生成素-1(Ang-I)与神经元特异性烯醇化(NSE)水平变化的影响。方法 选取石家庄市人民医院2021年4月至2022年9月收治的122例缺血性脑卒中患者为研究对象,根据康复治疗方式的不同分为对照组($n=37$,常规康复治疗)、高频刺激组($n=45$,常规康复治疗+高频rTMS)和低频刺激组($n=40$,常规康复治疗+低频rTMS);比较三组运动功能和神经功能恢复情况、血清MMP-9、Ang-I与NSE水平变化情况、神经电生理指标[运动诱发电位(MEP)潜伏期和中枢运动传导时间(CMCT)]。结果 治疗后,高频刺激组和低频刺激组Fugl-Meyer运动评分均比对照组高,NIHSS评分均比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);高频刺激组和低频刺激组Fugl-Meyer运动评分、NIHSS评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$);高频刺激组和低频刺激组MEP潜伏期和CMCT均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),高频刺激组和低频刺激组MEP潜伏期和CMCT比较差异无统计学意义($P>0.05$);高频刺激组和低频刺激组MMP-9、NSE水平均比对照组低,Ang-I水平比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。高频刺激组和低频刺激组MMP-9、NSE、Ang-I水平相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 rTMS可以降低缺血性脑卒中患者体内血清MMP-9、NSE水平,提高Ang-I水平,利于患者运动功能和神经功能的恢复。

[关键词] 重复经颅磁刺激;缺血性脑卒中;基质金属蛋白酶-9;人血管生成素-1;神经元特异性烯醇化酶

Effect of rTMS on changes in serum MMP-9, Ang-I and NSE levels in patients with ischemic stroke

TAO Xiaolin, LI Hong, MA Jiang*

(Department of the Third Rehabilitation Medicine, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effects of rTMS on the changes in serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), human angiotensinogen-converting enzyme-1 (Ang-I) and neuron-specific enolization (NSE) levels in patients with ischemic stroke. **Methods** One hundred and twenty-two ischemic stroke patients admitted to Shijiazhuang People's Hospital from April 2021 to September 2022 were selected for the study. They were divided into three groups: a control group ($n=37$) receiving conventional rehabilitation therapy, a high-frequency stimulation group ($n=45$, receiving conventional rehabilitation therapy+along with high-frequency rTMS), and a low-frequency stimulation group ($n=40$), receiving conventional rehabilitation therapy+along with low-frequency rTMS. The purpose of this division was to compare motor function and neurological function recovery, changes in serum MMP-9, Ang-I and NSE levels, and neurophysiological indexes such as motor evoked potential (MEP) latency and central motor conduction time (CMCT) among the three groups. **Results** After treatment, the Fugl-Meyer exercise score of the observation group was higher than that of the control group, and

基金项目:河北省医学科学研究计划项目(20231590)

作者单位:石家庄市人民医院康复医学三科,河北,石家庄 050000

*通信作者:马将, E-mail:17603119315@163.com

the NIHSS score of the observation group was lower than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the Fugl-Meyer motor score and NIHSS score between the high-frequency stimulation group and the low-frequency stimulation group ($P>0.05$). MEP latency and CMCT in the high-frequency stimulation group and the low-frequency stimulation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in MEP latency and CMCT between the high-frequency stimulation group and the low-frequency stimulation group ($P>0.05$). The levels of MMP-9 and NSE in the high-frequency stimulation group and the low-frequency stimulation group were lower than those in the control group. The levels of Ang I in the high-frequency stimulation group and the low-frequency stimulation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** rTMS can decrease serum levels of MMP-9 and NSE in patients with ischemic stroke and increase the level of ANG-I. This is beneficial for the recovery of motor and neurological functions in patients.

[KEY WORDS] Repeat transcranial magnetic stimulation; Ischemic stroke; MMP-9; Ang- I; NSE

缺血性脑卒中是脑部血液循环障碍导致脑组织缺血缺氧发生坏死,可引起全身多系统功能异常,患者有运动功能障碍、感觉障碍、语言障碍等表现,严重影响患者生活质量。重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)是一种治疗脑卒中的新型、非侵入性物理治疗方式,其原理是在脉冲磁场下,使用高低频率连续释放多个脉冲刺激大脑皮质,改变大脑皮层神经细胞膜电位,进而影响脑组织代谢,具有无痛、无创、疗效确切等优点^[1]。基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)属胶原酶类,其水平上升时可导致动脉血管粥样硬化,与缺血性脑卒中有密切联系。人血管生成素-1(angiotensin-1, Ang- I)能促进血管增生和细胞迁移,可以抑制神经元凋亡。神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolization, NSE)是反映缺血性脑卒中临床疗效的一项客观指标,NSE水平越高表明脑组织受损越严重^[2]。相关研究表明,发生缺血性脑卒中时患者体内MMP-9、NSE水平上升,而Ang- I呈下降水平^[3]。本研究拟探究rTMS对缺血性脑卒中患者血清MMP-9、Ang- I与NSE水平变化的影响。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取石家庄市人民医院2021年4月至2022年9月收治的122例缺血性脑卒中患者为研究对象。纳入标准:①经CT检查符合缺血性脑卒中诊断标准^[4];②初次发病且病程>1个月;③无出血倾向;④临床资料齐全;⑤存在语言障碍、运动功能障碍、认知障碍等功能障碍;⑥病情稳定能配合康复训练

者;⑦患者及家属对本研究均知情同意。排除标准:①合并老年血管性痴呆、脑外伤、癫痫等;②携带有金属材料者如人工心脏起搏器、助听器者;③临床资料缺失;④患侧大脑皮质运动区运动诱发电位无法测定者。根据康复治疗方式的不同分为对照组($n=37$,常规康复治疗)、低频刺激组($n=40$,常规康复治疗+低频rTMS)、高频刺激组($n=45$,常规康复治疗+高频rTMS)。对照组男性20例,女性17例;平均(63.25±12.34)岁;平均病程(6.35±1.23)个月;高频刺激组男性23例,女性22例;平均年龄(64.27±13.05)岁;平均病程(6.38±1.54)个月;低频刺激组男23例,女17例,平均年龄(63.65±12.68)岁,平均病程(6.49±1.68)个月。三组梗死部位和面积比较,梗死面积根据影像学结果判断^[5]。三组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准通过。

1.2 方法

对照组:采用常规康复治疗,包括早期康复治疗、语言训练、物理治疗、运动治疗等。

高频刺激组:在常规康复治疗基础上采用高频rTMS,使用脉冲磁场刺激仪(深圳英智科技有限公司,型号M100-Ultimate),嘱患者取坐位,选择患侧大脑皮质运动区为刺激部位,设置频率为5 Hz,刺激强度为最大强度的60%,共600个脉冲刺激,间隔10 s,1周5次。

低频刺激组:在常规康复治疗基础上采用低频rTMS,选择健侧大脑皮质运动区为刺激部位,将脉冲磁场刺激仪频率设置为1 Hz,刺激强度为最大强度的90%,共1 200个脉冲刺激,间歇10 s,1周5次。三组均连续治疗4周。

1.3 观察指标

1.3.1 三组运动功能和神经功能恢复情况

采用Fugl-Meyer运动量表^[6]评估患者运动功能,量表Cronbach's α 系数为0.815,重测效度为0.826。量表内容包括平衡、感觉、关节活动度、等,总分100分,分数越高运动功能越好;采用NIHSS评分^[7]评估患者神经功能恢复情况,量表Cronbach's α 系数为0.807,重测效度为0.765。量表内容包括意识、语言、运动、感觉等方面,总分42分,评分越低神经功能越好。

1.3.2 三组神经电生理指标

使用肌电图仪(Medtronic Keypoint 4型肌电诱发电位仪)记录患者运动诱发电位潜伏期(motor evoked potential, MEP)并选择5条较宽波形取其平均值,同时通过记录皮质潜伏期和脊髓潜伏期值计算中枢运动传导时间(central motor conduction, CMCT)。参考值:MEP:19.36±0.85 ms, CMCT:7.23±1.23 ms^[8]。

1.3.3 三组MMP-9、NSE、Ang-I水平

于清晨取患者空腹静脉血5 mL,以2 500 r/min转速离心15 min,离心半径10 cm,采用酶联免疫分析测定MMP-9、Ang-I、NSE水平,试剂盒均来自厦门佳慧生物。参考范围:MMP-9:0~40 $\mu\text{g/L}$, NSE正常值<12.5 $\mu\text{g/L}$, Ang-I:0.30~1.90 ng/mL^[9]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,行 t 检验,多组间比较采用 F 检验,组间多重比较采用LSD检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组梗死部位和面积比较

高频刺激组、低频刺激组和对照组梗死部位、梗死面积比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 三组Fugl-Meyer评分、NIHSS评分比较

治疗后,三组Fugl-Meyer评分、NIHSS评分比较,差异有统计学意义($P<0.05$);高频刺激组和低频刺激组Fugl-Meyer运动评分均比对照组高,NIHSS评分均比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后,高频刺激组和低频刺激组Fugl-Meyer运动评分、NIHSS评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表1 三组梗死部位和面积比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of infarct sites and areas in the three groups [$n(\%)$]

组别	n	梗死部位		梗死面积		
		皮质	皮质下	小	中	大
对照组	37	17(45.94)	20(54.05)	9(24.32)	18(48.65)	10(27.02)
高频刺激组	45	20(44.44)	25(55.56)	11(24.44)	20(44.44)	14(31.11)
低频刺激组	40	22(55.00)	18(45.00)	8(20.00)	19(47.50)	13(32.50)
χ^2 值		1.068		0.514		
P 值		0.586		9.720		

表2 三组Fugl-Meyer评分、NIHSS评分比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of Fugl Meyer scores and NIHSS scores among the three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Fugl-Meyer评分		NIHSS评分	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	37	32.47±11.26	58.96±12.04 ^a	16.21±4.09	14.30±5.28 ^a
高频刺激组	45	33.58±12.67	73.65±13.64 ^{ab}	16.64±4.47	11.39±4.23 ^{ab}
低频刺激组	40	33.68±11.09	74.05±12.64 ^{ab}	16.34±4.23	10.75±4.86 ^{ab}
F 值		0.13	241.44	0.11	6.02
P 值		0.881	<0.001	0.895	0.003

注:同组间治疗前后比较,^a $P<0.05$;与对照组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 三组MEP潜伏期、CMCT比较

治疗后,三组MEP潜伏期、CMCT比较,差异有统计学意义($P<0.05$);高频刺激组和低频刺激组MEP潜伏期和CMCT均低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);高频刺激组、低频刺激组MEP潜伏期和CMCT比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 三组MEP潜伏期、CMCT比较 [$(\bar{x}\pm s)$, ms]

Table 3 Comparison of MEP latency and CMCT among the three groups [$(\bar{x}\pm s)$, ms]

组别	n	MEP潜伏期		CMCT	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	37	24.16±3.25	22.75±2.34 ^a	11.38±1.67	10.64±1.06 ^a
高频刺激组	45	23.51±3.30	20.17±2.49 ^{ab}	11.77±1.95	9.25±1.27 ^{ab}
低频刺激组	40	24.37±2.42	19.86±2.47 ^{ab}	12.03±1.54	9.11±1.30 ^{ab}
F 值		0.94	16.27	1.35	18.47
P 值		0.392	<0.001	0.262	<0.001

注:同组间治疗前后比较,^a $P<0.05$;与对照组比较,^b $P<0.05$ 。

2.4 三组MMP-9、NSE、Ang-I水平比较

治疗后,三组MMP-9、NSE、Ang-I水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$);高频刺激组和低频刺激组MMP-9、NSE水平均比对照组低,Ang-I水平均比对照组高,差异具有统计学意义($P<0.05$);高频刺激组和低频刺激组MMP-9、NSE、Ang-I水平相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

表4 三组MMP-9、NSE、Ang-I水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of MMP-9, NSE, and Ang-I levels among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-9($\mu\text{g/L}$)		NSE($\mu\text{g/L}$)		Ang-I (ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	37	106.27 \pm 4.86	58.39 \pm 5.16 ^a	39.45 \pm 6.46	31.20 \pm 7.53 ^a	0.89 \pm 0.36	1.23 \pm 0.24 ^a
高频刺激组	45	107.52 \pm 4.63	36.34 \pm 4.07 ^a	40.14 \pm 6.57	20.34 \pm 6.48 ^{ab}	0.95 \pm 0.68	1.65 \pm 0.21 ^{ab}
低频刺激组	40	105.74 \pm 4.32	37.48 \pm 5.24 ^a	39.65 \pm 5.48	21.37 \pm 6.42 ^{ab}	0.93 \pm 0.43	1.68 \pm 0.43 ^{ab}
F值		1.69	257.97	0.14	30.28	0.14	25.85
P值		0.189	<0.001	0.872	<0.001	0.871	0.026

注:同组间治疗前后比较,^a $P < 0.05$;与对照组比较,^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

rTMS是基于经颅磁刺激原理,在脉冲磁场作用下产生感应电流,作用于患者大脑皮层神经元,进而影响脑部代谢和电生理活动,在治疗抑郁症、失眠和神经功能康复领域应用广泛。本研究结果显示,治疗后高频刺激和低频刺激组Fugl-Meyer运动评分比对照组高,说明rTMS康复治疗可以促进患者运动功能和中枢运动传导功能恢复。分析其原因在于:rTMS可以调节患侧大脑运动皮质层兴奋性,通过兴奋局部神经提高皮质代谢水平,增加脑组织血流量,进而提高运动功能。Vabalaite等^[10]研究发现,高频rTMS对首次缺血性脑卒中后上肢运动功能恢复有促进作用,与本研究结论相符。

本研究结果显示,高频刺激和低频刺激组MEP潜伏期和CMCT均低于对照组。rTMS脉冲电流在皮质至脊髓前角运动神经元通路中产生快速传导纤维间接波。通路神经元受损时,运动诱发电位异常,MEP潜伏期和CMCT延长。随着中枢运动传导功能恢复,MEP潜伏期和CMCT随之缩短。Wang等^[11]在研究低频和高频rTMS对脑卒中患者神经功能、运动功能和皮质兴奋性的影响中发现,两者均能降低卒中患者MEP潜伏期和CMCT。

MMP-9在缺血性脑卒中患者体内呈升高状态,且神经受损越严重其水平越高。Saleem等^[12]研究显示,MMP-9水平升高与脑出血、再灌注不足以及卒中严重程度有关,使用MMP-9抑制剂可以减少患者脑出血、梗死或死亡的风险。NSE存在各组织细胞中,在神经细胞中含量最高,较少存在体液中,患者发生缺血性脑卒中时血脑屏障和神经元细胞受损,使NSE从脑脊液或神经元细胞中渗出而进入血液。Lan等^[13]研究发现,脑卒中患者

认知功能障碍与NSE水平升高有密切联系,患者蒙特利尔认知评分与NSE水平之间存在较强的相关性。Ang-I参与调节血管内皮生成,有抑制神经元凋亡的作用,可促进脑血管形成,并改善脑代谢,故其水平高低亦可反映神经功能恢复情况。王亚辉等^[14]认为,rTMS联合康复训练能显著改善脑卒中患者神经功能。本研究结果显示,高频刺激和低频刺激组MMP-9、NSE水平均比对照组低,Ang-I水平比对照组高;且高频刺激和低频刺激组NIHSS评分比对照组低。说明rTMS康复治疗可以促进神经功能恢复,进一步论证上述王亚辉等人的观点。分析其原因在于:rTMS可以有效刺激受损神经突起,增强神经突出可塑性,反复的磁刺激能使突出传导阈值减低,并重新激活患侧脑半球处于抑制状态的神经元,使神经传导通路突触联系重建,促进神经功能恢复。

综上所述,rTMS可以降低缺血性脑卒中患者体内血清MMP-9、NSE水平,提高Ang-I水平,利于患者运动功能和神经功能的恢复。

参考文献

- [1] 刘子财,温馨,彭阳,等. rTMS与iTBS模式经颅磁刺激治疗脑卒中后吞咽障碍的疗效对比研究[J]. 兰州大学学报(医学版), 2021, 47(5): 76-80.
- [2] 段鹏,杨明金. 脑出血患者神经元特异性烯醇化酶检测及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(2): 234-236.
- [3] 潘能毅,武志全,林树楷,等. 血液生化指标主成分回归模型用于脑梗死患者CISS分型[J]. 贵州医科大学学报, 2020, 45(2): 237-243.
- [4] 国家神经系统疾病临床医学研究中心,国家神经系统疾病医疗质量控制中心,中国卒中学会医疗质量管理与促进分会,等. 卒中临床诊疗和疾病管理核心数据元及定义专家共识[J]. 中国卒中杂志, 2020, 15(4): 416-434.
- [5] 王妍,熊小平,李渝. 急性脑梗死后出血转化患者血清CTRP-3、Cys-C水平变化及相关危险因素分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2021, 18(6): 63-67.

(下转第825页)

纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗对肺癌术后合并肺部感染患者呼吸功能和血清 IL-6、TNF- α 和 hs-CRP 水平的影响

倪碧宇* 田茂良 温友利

[摘要] **目的** 探讨纤维支气管镜(FOB)吸痰联合肺泡灌洗对肺癌术后合并肺部感染患者呼吸功能和血清白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和超敏C反应蛋白(hs-CRP)水平的影响。**方法** 选取2018年9月至2021年9月自贡市第一人民医院接受治疗的肺癌术后合并肺部感染患者96例,以随机数字表法分为两组,每组48例。对照组接受机械通气联合吸痰管吸痰治疗,实验组在对照组基础上予以FOB吸痰联合肺泡灌洗治疗。比较两组治疗1周后总有效率;对比两组治疗前、治疗1周后血气指标[二氧化碳分压(PaCO₂)、氧分压(PaO₂)、血氧饱和度(SpO₂%)、酸碱度(pH值)]、呼吸功能指标[呼吸做功(WOB)、气道阻力(RAW)、动态顺应性(Cdyn)、气道峰压(PIP)]、临床肺部感染评分(CPIS)、炎性因子IL-6、TNF- α 、hs-CRP水平;对比两组治疗过程中不良反应发生情况。**结果** 治疗后,实验组的总有效率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=5.031, P<0.05$);实验组血气指标、临床肺部感染CPIS评分、呼吸功能指标结果较对照组更优,差异有统计学意义($t=3.032, 5.530, 2.008, 5.136, 9.344, 8.549, 3.681, 3.557, 7.778, P<0.05$);实验组治疗后的血清炎性因子IL-6、TNF- α 、hs-CRP水平低于对照组,差异有统计学意义($t=21.327, 17.291, 16.748, P<0.05$)。治疗期间两组不良反应发生率比较无统计学意义($\chi^2=0.274, P>0.05$)。**结论** FOB吸痰联合肺泡灌洗用于肺癌术后肺部感染患者能够显著提高治疗效果,促进患者呼吸功能恢复,有效抑制炎症,具有较高的安全性。

[关键词] 纤维支气管镜吸痰;肺泡灌洗;肺癌;肺部感染;呼吸功能;炎性因子

Effects of fiberoptic bronchoscopy sputum aspiration combined with alveolar lavage on respiratory function and levels of serum IL-6, TNF- α and hs-CRP in lung cancer patients with postoperative pulmonary infection

NI biyu*, TIAN Maoliang, WEN Youli

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Zigong First People's Hospital, Zigong, Sichuan, China, 643000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effects of fiberoptic bronchoscopy (FOB) sputum aspiration combined with alveolar lavage on respiratory function and levels of serum interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP) in lung cancer patients with postoperative pulmonary infection. **Methods** A total of 96 patients with lung infections after lung cancer surgery at Zigong First People's Hospital were enrolled between September 2018 and September 2021. Using the random number table method, they were divided into a control group (mechanical ventilation combined with a sputum aspiration tube) and an experimental group (FOB sputum aspiration combined with alveolar lavage on the basis of the control group), with 48 cases in each group. The total response rate after a week of treatment, partial pressure of carbon dioxide (PaCO₂), partial pressure of oxygen (PaO₂), oxygen saturation (SpO₂%), po-

基金项目:四川省医学科研课题计划(S19049)

作者单位:自贡市第一人民医院呼吸与危重症医学科,四川,自贡643000

*通信作者:倪碧宇, E-mail: nibiyu0727@163.com

tential of hydrogen (pH) before and after a week of treatment, work of breathing (WOB), air way resistance (RAW), dynamic compliance (C_{dyn}), peak airway pressure (PIP), clinical pulmonary infection score (CPIS), levels of inflammatory factors (IL-6, TNF- α , hs-CRP), and the occurrence of adverse reactions during treatment were compared between the two groups. **Results** After treatment, the total response rate of the experimental group was higher than that of the control group ($\chi^2=5.031, P<0.05$). After treatment, blood gas indexes, respiratory function indexes, and CPIS in the experimental group were better than those in the control group ($t=3.032, 5.530, 2.008, 5.136, 9.344, 8.549, 3.681, 3.557, 7.778, P<0.05$). Furthermore, after treatment, the levels of serum IL-6, TNF- α and hs-CRP in the experimental group were lower than those in the control group ($t=21.327, 17.291, 16.748, P<0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups during treatment ($\chi^2=0.274, P>0.05$). **Conclusion** FOB with sputum aspiration and alveolar lavage can greatly enhance treatment outcomes, facilitate respiratory function recovery, and effectively suppress inflammation in patients with lung infections following lung cancer surgery, all while maintaining a high level of safety.

[KEY WORDS] Fiberoptic bronchoscopy sputum aspiration; Alveolar lavage; Lung cancer; Lung infection; Respiratory function; Inflammatory factor

肺癌临床常见,具有很高的发病率和致死率,严重影响患者的身体健康甚至生命安全。肺癌的主要治疗手段为外科手术,但因疾病本身会导致肺部功能异常,手术后患者咳痰、排痰能力下降,加之手术所致免疫受损,多种原因导致肺癌术后患者出现肺分泌物滞留、致病菌感染机会增加,由此出现肺部感染^[1]。既往,肺癌术后肺部感染常规使用抗生素、吸痰(支气管镜下)等,但因为静脉用药很难达到肺内药物的有效浓度,抑菌作用效果不显著,此外,因痰液浓稠,无法在支气管镜下彻底进行痰液吸引^[2]。但另一种治疗方法,肺泡灌洗能稀释肺内分泌物,还可以通过局部使用高能度的抗菌药物来提高抑菌效果^[3]。纤维支气管镜(Fiberoptic bronchoscopy, FOB)吸痰联合肺泡灌洗解决了痰液粘稠吸出不彻底及静脉抗菌药物作用有限的难题。研究表明,两者的联合在重症肺炎的治疗中疗效显著^[4]。本研究围绕 FOB 吸痰联合肺泡灌洗用于肺癌术后肺部感染患者进行探究,以期肺癌术后肺部感染的患者提供更优的治疗方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年9月至2021年9月本院收治的96例肺癌术后合并肺部感染患者来进行研究。入组标准:①肺癌经病理活检确诊,行肺癌根治术治疗,且术后存在肺部感染;②自愿参与本研究,签署知情同意书。排除标准:①术前其它原因导致

的感染;②心肝肾等重要脏器功能异常;③对研究药物不耐受;④精神与意识异常;⑤沟通有障碍;⑥患者怀孕或处于哺乳期。按随机数字表法将患者平均分为两组。实验组48例,男性27例,女性21例,年龄平均(59.32 \pm 4.45)岁。对照组48例,男性25例,女性23例,年龄平均(60.12 \pm 4.37)岁。研究经过本院伦理委员会审核并通过。

1.2 方法

实验组和对照组均给与抗生素抑制病菌,并给予祛痰、引流分泌物等对症治疗。给予对照组机械通气,根据患者的体重、血气结果调节吸入氧浓度、潮气量、呼吸频率等,通气过程中需间断吸痰管吸痰。吸痰管吸痰方法:患者取高枕半卧位,按先鼻腔后口腔顺序插入吸痰管,动作轻柔边旋转边提拉吸痰管,使痰液被吸出。吸痰器期间,若储存痰液的瓶子中的液体超过2/3给予及时更换。吸痰完成后给予纯氧吸入2 min。实验组在对照组基础上进行 FOB 下吸痰联合肺泡灌洗治疗方案,具体步骤:据患者影像学 CT 检查确定感染部位,具体到肺叶和肺段。床旁行 FOB 操作,FOB 直视下,将镜体通过气管导管植入肺部,到达感染具体所在的肺叶或段支气管后进行分泌物吸引,吸引过程中尽量痰液取样,后续进行痰培养进行药敏实验。当痰液因粘稠吸出困难时,适用温度适宜的生理盐水进行灌洗,直至支气管内未残留有分泌物,盐水量 10~20 mL,确保负压 200 mmHg 以下。吸引完成后,检查叶段分泌物残留情况,确保对分泌物进行彻底清除。两组患者均持续治疗 1 周。

1.3 观察指标

1.3.1 两组治疗有效率比较

治疗1周后,按照疗效判断标准^[5]对患者治疗效果进行评估。标准为:显效:患者临床症状/体征,包括咳嗽、咳痰、呼吸不畅等明显好转,肺部湿啰音显著减少,肺部阴影面积吸收范围超过50%;有效:患者临床症状/体征好转,肺部湿啰音减少,肺部阴影面积吸收范围25%~49%之间;无效:患者临床症状/体征未见好转,甚至有恶化趋势,肺部阴影面积吸收范围25%以下。

1.3.2 两组血气指标比较

治疗前,治疗1周后,使用全自动血气分析仪对患者4项血气指标进行检测,包括二氧化碳分压(Partial pressure carbondioxide, PaCO₂)、氧分压(Alveolar air oxygen partial pressure, PaO₂)、血氧饱和度(Saturation of peripheral oxygen, SpO₂)及酸碱度(Potential of hydrogen, pH)。

1.3.3 两组临床肺部感染评分比较

治疗前、治疗1周后,对两组患者肺部感染评分,依据《中国急诊重症肺炎临床实践专家共识》^[6],包含7个项目,分数在0~12之间,分数与病情程度成正比。

1.3.4 实验组与对照组呼吸功能指标

治疗前、治疗1周后对两组患者4项肺功能指标进行检测,包括呼吸做功量(Work of Breathing, WOB)、气道阻力(Air way resistance, RAW)、气道峰值(Peak airway pressure, PIP)、动态顺应性(Dynamic compliance, C_{dyn})。肺功能仪源自康泰医学系统(秦皇岛)股份有限公司(型号:SP80B)。

1.3.5 两组炎性因子变化水平比较

治疗前、治疗1周后,抽取患者清晨空腹静脉血5 mL,离心后将血清分离,实施酶联免疫吸附法(上海科华酶标仪,型号为ST-360)检查血清白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α),采用双抗体夹

心法检测超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)水平。

1.3.6 安全性分析

治疗中,观察并记录安全性事件的发生情况。

1.4 统计学处理

使用SPSS 20.0分析数据。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料行 χ^2 检验,以 $n(\%)$ 表述,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗有效率比较

治疗后,实验组的总有效率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组总有效率比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of total effective rate between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
实验组	48	39	7	2	46(95.83)
对照组	48	28	11	9	39(81.25)
χ^2 值					5.031
P 值					0.025

2.2 两组血气指标比较

治疗1周后,实验组 PaO₂、SpO₂%、pH值高于对照组,PaCO₂低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组临床肺部感染评分比较

治疗1周后,实验组临床肺部感染 CPIS 评分低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组呼吸功能比较

治疗1周后,实验组 C_{dyn}水平高于对照组, WOB、RAW、PIP水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 两组血清炎性因子水平比较

治疗1周后,实验组血清 IL-6、TNF- α 、hs-CRP 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表2 两组血气参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of blood gas parameters between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PaO ₂ (mmHg)		PaCO ₂ (mmHg)		SpO ₂ (%)		pH值	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	48	70.40±16.77	90.13±11.68 ^a	35.88±4.68	31.11±3.37 ^a	81.16±9.33	97.76±10.42 ^a	6.97±1.14	7.38±1.02 ^a
对照组	48	72.01±12.22	81.56±15.72 ^a	36.74±6.13	36.42±6.32	80.49±5.64	87.49±7.55 ^a	6.88±1.25	6.97±0.98
t 值		0.538	3.032	0.773	5.136	0.426	5.530	0.369	2.008
P 值		0.592	0.003	0.442	<0.001	0.671	<0.001	0.713	0.048

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组 CPIS 评分比较 $[(\bar{x} \pm s), \text{point}]$ Table 3 Comparison of CPIS scores between the two groups $[(\bar{x} \pm s), \text{point}]$

组别	n	CPIS 评分	
		治疗前	治疗后
实验组	48	7.99±2.35	2.56±0.98 ^a
对照组	48	8.24±1.14	4.02±0.46 ^a
t 值		0.663	9.344
P 值		0.509	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^aP<0.05。表4 两组呼吸功能比较 $(\bar{x} \pm s)$ Table 4 Comparison of respiratory function between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	WOB(J/L)		RAW[cmH ₂ O/(L·s)]		Cdyn(mL/cmH ₂ O)		PIP(cmH ₂ O)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	48	0.91±0.44	0.42±0.65 ^a	16.78±5.99	10.58±3.54 ^a	22.49±4.03	36.41±6.14 ^a	32.49±3.29	16.22±2.33 ^a
对照组	48	0.88±0.64	0.79±0.25	15.72±2.34	13.99±5.62	21.55±3.69	26.98±4.55 ^a	31.21±6.94	21.79±4.38 ^a
t 值		0.268	3.681	1.142	3.557	1.192	8.549	1.155	7.778
P 值		0.790	<0.001	0.256	<0.001	0.236	<0.001	0.251	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^aP<0.05。表5 血清炎症因子水平比较 $(\bar{x} \pm s)$ Table 5 Comparison of serum inflammatory factor levels between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	IL-6(pg/mL)		TNF-α(pg/mL)		hs-CRP(mg/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	48	76.66±6.24	20.87±4.11 ^a	103.56±13.59	35.21±4.95 ^a	46.17±5.31	8.01±2.33 ^a
对照组	48	78.24±4.28	35.49±2.38 ^a	101.43±15.26	59.63±8.44 ^a	45.22±7.78	20.41±4.57 ^a
t 值		1.447	21.327	0.722	17.291	0.699	16.748
P 值		0.151	<0.001	0.472	<0.001	0.486	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^aP<0.05。

合肺泡灌洗开始在肺部感染中应用,已成为重症肺炎重要治疗手段。

本研究中,治疗后实验组的总有效率高于对照组,且 CPIS 评分优于对照组,这说明 FOB 吸痰联合肺泡灌洗能提高肺癌术后肺部感染患者治疗效果。分析原因:肺癌术后肺部感染患者细菌感染和抗菌作用不明显的主要原因是痰液积聚,排出困难,但经过 FOB 吸痰联合肺泡灌洗治疗后,可稀释痰液,彻底清除分泌物,降低病菌毒素肺炎,畅通呼吸道,改善症状^[7]。此外,肺泡灌洗中,可根据药敏试验选出敏感的抗菌治疗药物来,加上多次冲洗感染较重部位,能起到直接抗感染作用^[8]。血气指标在临床中被广泛应用于呼吸功能的检测,PaO₂、SaO₂、SpO₂%、pH 值是常用的几种;而 WOB、Cdyn、RAW、PIP 是重要的呼吸功能指标。肺癌术后肺部感染患者多存在血气和呼吸功能指标异常,指标的改善与疾病的恢复密切相关。本

2.6 两组安全性比较

治疗期间,对照组发生 2 例皮疹,5 例胃肠不适,3 例心脏不良事件。观察组发生 2 例胃肠不适,6 例心脏不良事件。两组不良反应总发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

清除气道分泌物,促进通气功能恢复是肺部感染治疗的重点。随着技术的进步,FOB 吸痰联

研究中,治疗 1 周后两组患者血气指标(SaO₂、SpO₂%、pH)均上升,同时 PaCO₂ 下降,且实验组结果优于对照组;治疗后实验组呼吸功能指标(WOB、Cdyn、RAW、PIP)优于对照组。这表明 FOB 吸痰联合肺泡灌洗可畅通气道,改善肺换气和通气功能,进一步促进血气指标恢复正常。FOB 吸痰联合肺泡灌洗方式下,肺泡内磷脂蛋白样的物质还能被大量清除,氧合功能因此改善,肺动态顺应性顺势增加,患者的呼吸功能会恢复正常^[9]。冯娟等^[10]的研究中,肺癌术后肺部感染的患者经 FOB 吸痰联合肺泡灌洗治疗后,实验组 PaCO₂、PaO₂、SpO₂% 较对照组更优。乔安邦等^[11]的研究,实验组 WOB、Cdyn、RAW 低于对照组。上述研究结果均与本研究一致。

当机体出现炎症时,IL-6、TNF-α、hs-CRP 都处于较高的水平,这些指标一定程度上反应了机体炎症程度,当疾病趋于恢复,IL-6、TNF-α、hs-CRP

会逐渐恢复正常水平。治疗1周后实验组血清IL-6、TNF- α 、hs-CRP水平与对照组相比更低,说明FOB吸痰联合肺泡灌洗能调节炎症过程,降低机体炎症反应。FOB吸痰联合肺泡灌洗通过准确定位肺部病灶,对肺部粘痰及病灶处脓性液体进行有效清除,可以减轻局部的趋炎因子的作用,直接减轻炎症反应;与此同时,局部高浓度抗菌药物的使用能提升抗菌能力,肺部炎症进程也会因致病菌数目大量减少而被抑制。既往研究中^[12],肺泡灌洗降低了老年重症肺炎患者的血清IL-6、TNF- α 炎症因子水平,本研究结果与此相符。两组治疗过程中肺癌术后肺部感染患者的不良反应的结果无统计学差异,且不良反应发生率均处于较低的水平,说明FOB吸痰联合肺泡灌洗安全性较好。

综上所述,FOB吸痰联合肺泡灌洗用于肺癌术后合并肺部感染患者可明显改善临床治疗效果,有效抑制炎症反应,减轻肺部炎症,促进患者呼吸功能恢复,具有较好的安全性。

参考文献

- [1] Kinoshita F, Tagawa T, Yamashita T, et al. Prognostic value of postoperative decrease in serum albumin on surgically resected early-stage non-small cell lung carcinoma: A multicenter retrospective study [J]. *PLoS One*, 2021, 16(9): e0256894.
- [2] 唐吉仙,孙健,沈巨信,等.纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗对肺癌术后合并肺部感染患者的疗效分析[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2020, 47(3): 227-230.
- [3] 叶忠桂.肺泡灌洗辅助纤维支气管镜治疗肺癌术后合并肺部感染患者的效果[J]. *中外医学研究*, 2022, 20(9): 13-15.
- [4] 王素倩,翟建芬,贾金广,等.纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗在重症肺部感染患者治疗中的效果分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 25(6): 1304-1317.
- [5] 吴琳,张苏宁.支气管镜下肺泡灌洗并抗生素灌注辅助治疗肺癌术后肺部感染效果观察[J]. *山东医药*, 2017, 57(16): 91-93.
- [6] 于学忠.中国急诊重症肺炎临床实践专家共识[J]. *中国急救医学*, 2016, 36(2): 91-107.
- [7] 李君兰,雷蕾,金琳玲,等.纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗在肺癌术后合并肺部感染患者中的临床应用价值[J]. *现代生物医学进展*, 2022, 22(2): 264-267.
- [8] 张欣欣,罗源,杨庆斌,等.纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗对重症肺炎并发呼吸衰竭患者疗效,CPIS评分及血清炎症指标水平的影响[J]. *山东医药*, 2022, 62(4): 86-88.
- [9] 吴宗辉,杨辉,唐玉珍.纤维支气管镜吸痰联合肺泡灌洗治疗COPD伴呼吸衰竭的疗效观察[J]. *贵州医药*, 2018, 42(8): 985-986.
- [10] 冯娟,田秀文,曹念,等.纤维支气管镜吸痰与肺泡灌洗联用对肺癌术后肺部感染患者炎症因子及呼吸功能的影响[J]. *西部医学*, 2021, 33(7): 1056-1059.
- [11] 乔安邦,马颖欣,陈雯辉,等.围术期纤维支气管镜肺泡灌洗对肺癌术后肺部炎症指标的影响[J]. *中华保健医学杂志*, 2022, 24(3): 172-175.
- [12] 黄山,邢柏,谭世峰,等.肺泡灌洗对老年重症肺炎患者呼吸功能指标和血清炎症因子的影响[J]. *中华肺部疾病杂志:电子版*, 2018, 11(4): 426-429.
- [6] 侯玮佳,朱志中,于洋,等.运动想象疗法联合平衡功能评定与训练对初发卒中患者平衡功能及日常生活活动能力的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2018, 40(7): 495-499.
- [7] 王玮玮,陈诚,潘慧,等.血小板计数D-二聚体RANTES与颅脑外伤患者NIHSS评分关系及预测预后价值[J]. *中国急救医学*, 2022, 42(5): 401-405.
- [8] 陈本梅,蒋理想,仇慕磊,等.重复经颅磁刺激联合镜像疗法对卒中偏瘫患者上肢运动功能及神经电生理的效果[J]. *中国康复理论与实践*, 2023, 29(10): 1201-1207.
- [9] 韦辉燕,徐玉婷,杨丽燕,等.熄风化痰通络汤治疗老年缺血性脑卒中患者临床观察[J]. *西部中医药*, 2021, 34(4): 88-92.
- [10] Vabalaite B, Petrusciene L, Savickas R, et al. Effects of High-Frequency (HF) Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) on Upper Extremity Motor Function in Stroke Patients: A Systematic Review [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021 57(11): 1215.
- [11] Wang C, Zeng Q, Yuan Z, et al. Effects of Low-Frequency (0.5 Hz) and High-Frequency (10 Hz) Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Neurological Function, Motor Function, and Excitability of Cortex in Ischemic Stroke Patients [J]. *Neurologist*, 2023 28(1): 11-18.
- [12] Saleem S, Wang D, Zhao T, et al. Matrix Metalloproteinase-9 Expression is Enhanced by Ischemia and Tissue Plasminogen Activator and Induces Hemorrhage, Disability and Mortality in Experimental Stroke [J]. *Neuroscience*, 2021, 460: 120-129.
- [13] Lan TY, Cui DY, Liu TT, et al. Correlation of serum ferritin levels with neurological function-related indices and cognitive dysfunction in patients with cerebral hemorrhage [J]. *Clin Neuropathol*, 2021 40(6): 333-340.
- [14] 王亚辉,赵保礼,常丽静,等.重复经颅磁刺激联合康复训练对卒中患者神经功能缺损程度及心理障碍的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2021, 30(9): 940-943+1026.

(上接第820页)

血清D-D、MHR、UA及RDW与冠心病患者左心室重构和心功能的相关性

胡保奎 阮爱兵* 王伟

[摘要] 目的 探究血清D-二聚体(D-D)、尿酸(UA)、单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值(MHR)及红细胞分布宽度(RDW)与冠心病患者左心室重构和心功能的相关性。方法 选取2022年1月至2022年11月芜湖市第二人民医院收治的行冠脉造影术适应症患者,根据冠脉狭窄程度分为冠心病组68例,对照组44例。比较两组一般资料、生化指标水平和左心室重构指标水平;采用Pearson和Spearman相关性分析四个指标与左心室重构指标和心功能分级的关系。结果 冠心病组D-D、MHR、UA、RDW、左心房内径(LAD)、左室舒张末期前内径(LVEDD)、舒张末期室间隔厚度(IVSd)、舒张末左室后壁厚度(LVPWd)、左心室质量指数(LVMI)均显著高于对照组,左心室射血分数(LVEF)显著低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);Pearson分析结果显示,D-D和RDW与LVEF呈负相关;D-D与LAD、LVEDD、IVSd、LVPWd、LVMI,MHR与LAD、LVEDD、LVMI,UA与LAD、LVPWd、LVMI,RDW与LAD、IVSd均呈正相关($P<0.05$);Spearman分析结果显示,四个指标与心功能分级均呈正相关($P<0.05$)。结论 冠心病患者血清D-D、MHR、UA、RDW与左心室重构和心功能分级有一定相关性,上述指标可以用于辅助诊断与评估患者病情。

[关键词] 左心室重构;冠心病;心功能;单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值

Correlation between serum D - D, MHR, UA, RDW and left ventricular remodeling, cardiac function in patients with coronary heart disease

HU Baokui, RUAN Aibing*, WANG Wei

(Department of Cardiology, the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between serum D-dimer (D-D), uric acid (UA), monocyte/high-density lipoprotein cholesterol ratio (MHR), red blood cell distribution width (RDW) and left ventricular remodeling, cardiac function in patients with coronary heart disease (CHD). **Methods** Patients undergoing coronary angiography at the Second People's Hospital of Wuhu were enrolled in the study between January and November 2022. After obtaining informed consent, their general data was collected. Based on the degree of coronary stenosis, participants were divided into the CHD group (68 cases) and the control group (44 cases). Differences in general data, the levels of biochemical indicators, and left ventricular remodeling indicators between the two groups were analyzed using *t*-tests and χ^2 -tests. The correlation between D-D, UA, MHR, RDW, left ventricular remodeling indexes, and cardiac function grading was assessed using Pearson and Spearman correlation analysis. **Results** D-D, MHR, UA, RDW, left atrial diameter (LAD), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), interventricular septal thickness at diastole (IVSd), left ventricular posterior wall depth (LVPWd), and left ventricular mass index (LVMI) in the CHD group were significantly higher than those in the control group, while left ventricular ejection fraction (LVEF) was significantly lower in the CHD group compared to the control group, and the differences are statistically significant ($P<0.05$). The results of Pearson correlation analysis indicated that D-D and RDW were negatively

基金项目:芜湖市科技计划项目(2021yf66)

作者单位:芜湖市第二人民医院心内科,安徽,芜湖 241000

*通信作者:阮爱兵, E-mail:rab888@163.com

correlated with LVEF. Additionally, D-D positively correlation with LAD, LVEDD, IVSd, LVPWd, and LVMI. MHR showed a positive correlated with LAD, LVEDD, and LVMI, while UA was positively correlated with LAD, LVPWd, and LVMI. RDW was found to be positively correlated with LAD and IVSd ($P < 0.05$). The results of Spearman correlation analysis showed that D-D, MHR, UA and RDW were all positively correlated with cardiac function grading ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum D-D, MHR, UA, and RDW are correlated with left ventricular remodeling and cardiac function grading. These markers can be used to assist in the diagnosis and evaluation of patients' conditions.

[KEY WORDS] Left ventricular remodeling; Coronary heart disease; Cardiac function; Monocyte/high-density lipoprotein cholesterol ratio

心血管疾病,如冠状动脉粥样硬化性心脏病,多见于中老年人群,死亡率占我国全因死亡率40%以上。2018年我国城乡居民总死亡原因的首位为心血管疾病,而冠心病的发病率居于所有心血管疾病中的第2位,达1 139万左右^[1]。冠心病的发生与血管慢性炎症反应有关,主要病因为动脉粥样硬化长期进展导致血管管腔狭窄或闭塞、心肌缺氧缺血等^[2]。炎症反应中炎性细胞的活化和炎性因子的释放可促进动脉粥样硬化斑块的形成、发展及破裂,是导致心血管事件发生的主要原因^[3]。近年来研究发现,单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比(Ratio of Monocytes to HDL-C, MHR)、尿酸(Uric acid, UA)、红细胞分布宽度(Red blood cell distribution width, RDW)、D-二聚体(D-Dimer, D-D)均可作为不良心血管事件发生的潜在标志物^[4-6]。为探究这些指标与冠心病的相关性,本研究将分析有行冠脉造影术适应症患者血清D-D、UA、MHR及RAW与冠心病患者左心室重构和心功能的相关性,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年1月至2022年11月芜湖市第二人民医院收治的有行冠脉造影术适应症患者112例,根据冠脉狭窄程度将患者分为冠心病组68例,对照组44例。纳入标准:①冠心病组:经冠脉造影结果诊断冠脉狭窄程度 $\geq 50\%$ 以上^[7];对照组:经冠脉造影结果诊断冠脉狭窄程度 $< 50\%$ ^[7];②年龄 ≥ 18 岁;③临床资料完整。排除标准:①合并恶性肿瘤;②合并严重肝肾功能异常;③合并免疫、凝血异常及严重心脏瓣膜病。本研究经医院医学伦理委员会批准,两组家属均签署知情同意书。

1.2 检测指标

收集所有研究对象入组时的年龄、性别和体

质指数(Body Mass Index, BMI)等基本资料。入组前抽取患者外周静脉血5 mL,离心(3 500 rpm, 10 min, 离心半径15 cm),取血清。使用酶联免疫吸附法检测D-D,试剂盒购自上海梵态生物科技有限公司;使用美国贝克曼库尔特UniCel DxH 600血细胞分析仪测定高密度脂蛋白胆固醇(High Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C)、UA;使用SYSMEX XT-1800i全自动五分类血常规分析仪检测RDW和单核细胞数(Number of Monocyte, MON)。

左心室重构指标:使用Vivid E9彩色多普勒超声诊断系统(GE Healthcare, Horton, Norway)进行超声心动图检查,对左心房内径(left atrial diameter, LAD)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、舒张期室间隔厚度(interventricular septal thickness at diastole, IVSd)、舒张末左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness at the end of diastolic phase, LVPWd)进行检测,并根据文献^[8]计算左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)。

NYHA心功能分级^[9]: I级患者存在心脏病,但日常生活未受到限制; II级患者生活轻度受限,静息状态无异常,体力活动后发生疲劳、心悸、气喘或心绞痛; III级患者日常生活明显受限,轻微活动(活动强度低于一般体力活动)可引发呼吸急促、疲劳或心悸。

1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0软件对所得数据进行分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料均以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用Pearson相关性分析D-D、MHR、UA、RDW与左心室重构指标的相关性;采用Spearman相关性分析D-D、MHR、UA、RDW与心功能分级的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组年龄、性别、BMI比较差异无统计学意义($P>0.05$);冠心病组有吸烟史、高血压病史和高血脂病史的患者数量显著多于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。冠心病组心功能分级结果为I级19例(27.94%)、II级26例(38.24%)、III级23例(33.82%)。

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

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

临床特征	冠心病组($n=68$)	对照组($n=44$)	t/χ^2 值	P 值
年龄	65.16±10.61	62.32±9.48	1.443	0.152
性别			0.842	0.359
男	40(58.82)	22(50.00)		
女	28(41.18)	22(50.00)		
BMI(kg/m^2)	22.37±3.58	22.47±4.23	0.133	0.894
吸烟史	29(42.65)	10(22.73)	4.67	0.031
基础疾病				
高血压	40(58.82)	17(38.64)	4.356	0.037
糖尿病	18(26.47)	6(13.64)	2.614	0.106
高血脂	27(39.71)	10(22.73)	3.91	0.048

2.2 两组生化指标比较

冠心病组D-D、MON、MHR、UA、RDW水平均显著高于对照组,HDL-C水平显著低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 两组左心室重构指标比较

冠心病组LAD、LVEDD、IVSd、LVPWd、LVMI均显著高于对照组,LVEF显著低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表2 两组生化指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

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

指标	n	D-D ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MON ($\times 10^9/\text{L}$)	HDL-C (mmol/L)	MHR	UA ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	RDW (%)
冠心病组	68	1.15±0.27	0.41±0.13	1.07±0.26	0.40±0.07	390.34±45.09	13.20±1.10
对照组	44	0.60±0.11	0.36±0.10	1.19±0.34	0.32±0.05	267.29±36.48	12.8±0.91
t 值		9.421	2.168	2.111	6.569	15.124	2.007
P 值		<0.001	0.032	0.037	<0.001	<0.001	0.047

表3 两组左心室重构指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of left ventricular remodeling indicators between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

指标	n	LAD (mm)	LVEF (%)	LVEDD (mm)	IVSd (mm)	LVPWd (mm)	LVMI (g/m^2)
冠心病组	68	34.21±2.54	49.52±6.83	48.92±2.76	10.79±1.55	10.06±1.05	114.65±11.73
对照组	44	27.94±3.06	54.33±7.18	46.45±2.03	9.42±1.14	9.29±1.01	98.51±10.33
t 值		11.763	3.567	5.106	5.043	3.847	7.446
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 Pearson相关性分析患者血清D-D、MHR、UA、RDW与左心室重构指标的相关性

D-D与LVEF呈负相关关系($P<0.05$),与LAD、LVEDD、IVSd、LVPWd、LVMI呈正相关关系($P<0.05$);MHR与LAD、LVEDD、LVMI呈正相关关系($P<0.05$);UA与LAD、LVPWd、LVMI呈正相关关系($P<0.05$);RDW与LAD、IVSd呈正相关关系($P<0.05$),与LVEF呈负相关关系($P<0.05$)。见表4。

表4 患者血清D-D、MHR、UA、RDW与左心室重构指标的相关性

Table 4 Correlation among the level of D-D, MHR, UA, RDW and left ventricular remodeling indicators

指标	D-D ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MHR	UA ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	RDW (%)
LAD(mm)	0.854 ^b	0.758 ^b	0.326 ^a	0.320 ^a
LVEF (%)	-0.426 ^a	0.024	-0.098	-0.340 ^a
LVEDD(mm)	0.414 ^a	0.484 ^a	-0.134	-0.072
IVSd(mm)	0.480 ^a	0.242	0.002	0.328 ^a
LVPWd(mm)	0.386 ^a	0.294	0.310 ^a	0.056
LVMI(g/m^2)	0.842 ^a	0.432 ^a	0.362 ^a	0.264

注:^a表示 $P<0.05$,^b表示 $P<0.01$ 。

2.5 Spearman相关性分析患者血清D-D、MHR、UA、RDW与心功能分级的相关性

患者D-D、MHR、UA、RDW与心功能分级均呈正相关关系($r=0.530$, $P<0.05$; $r=0.706$, $P<0.05$; $r=0.336$, $P<0.05$; $r=0.622$, $P<0.05$)。

3 讨论

冠心病是由冠状动脉粥样硬化引起的血管狭窄及阻塞导致心肌缺血、缺氧和坏死的疾病。炎症、氧化应激和内皮功能障碍在冠状动脉粥样硬

化的启动和发展过程中发挥重要作用,部分患者可能随病情加重发展为急性心肌梗死^[10]。尽管近年来静脉溶栓和经皮冠状动脉介入治疗的发展极大地改善了急性心肌梗死患者病死率,但仍有部分患者因左心室重构导致心力衰竭、猝死^[11]。心室重构是心脏原本形式、形状和结构的变化,是病变修复和心室整体代偿及继发的病理生理反应过程,涉及心肌细胞丢失(心肌细胞坏死和凋亡)、自噬、免疫炎症反应、氧化应激和神经内分泌系统激活等病理机制^[12]。左心室重构是冠心病向心力衰竭发展的重要病理基础,早期诊断、延迟或防止心室重构是治疗冠心病预后的关键。

本研究结果显示,冠心病组 D-D、MHR、UA、RDW 水平显著高于对照组。D-D 是交联纤维蛋白特异性的降解产物,其水平的升高提示凝血酶和纤溶系统活性的升高,提示血栓形成的风险增高^[4]。单核细胞来源于骨髓祖细胞,在炎症或氧化应激刺激下进入动脉内膜下分化为巨噬细胞,吞噬胆固醇形成泡沫细胞,是促进炎症反应的主要细胞,参与粥样斑块的进展、破裂和血栓形成^[13]。HDL-C 是一种天然的抗氧化剂,其基本功能是介导逆向转运胆固醇调节脂质代谢,通过抑制巨噬细胞的迁移和 LDL 氧化以及胆固醇的流出,中和单核细胞产生的促炎作用,表现出抗动脉粥样硬化作用^[14]。因此,冠心病患者体内单核细胞的积累和 HDL-C 的减少导致了 MHR 的升高,MHR 将二者的促炎和抗炎作用结合起来,反映冠心病的发生^[1]。UA 是机体嘌呤核苷酸代谢的最终产物,其水平的升高提示机体存在炎症反应、氧化应激,可引起血管内皮损伤^[15]。Gill 等^[16] 研究结果发现,血清 UA 每增加一个标准差,冠心病发生风险随之增加。近年来研究^[17] 发现 RDW 与急性心肌梗死、心力衰竭、周围性血管疾病关系密切,可作为人体炎症水平的标志物。Pilling 等^[18] 在一项长期随访调查中发现,RDW 与冠心病患者的死亡率密切相关。结合本研究结果可以发现,D-D、MHR、UA 和 RDW 均可作为冠心病发生的生物标志物。

进一步相关性分析结果显示,D-D、MHR、UA 和 RDW 与左心室重构指标和心功能分级呈一定相关性。胡慧霞等的研究发现,D-D 水平升高与冠心病的发生及发展具有一定相关性^[4]。李亚等^[3] 的研究表明,MHR 水平升高为冠心病发生的

独立危险因素,并与冠状动脉狭窄程度呈正相关。汤群英等^[5] 的研究发现,UA 水平与 LVMI 和左心室重构的严重程度呈正相关关系。李志飞^[8] 研究发现,D-二聚体与患者 LAD 的改变和心室重构存在明显的相关性。上述研究与本文结果相似。

综上所述,血清 D-D、MHR、UA、RDW 水平在冠心病患者中异常升高,并与左心室重构和心功能分级有一定相关性,上述指标可以用于冠心病患者左心室重构发生的辅助诊断和病情严重程度的评估。

参考文献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2] Wu X, von Birgelen C, Zhang S, et al. Simultaneous evaluation of plaque stability and ischemic potential of coronary lesions in a fluid-structure interaction analysis[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2019, 35(9):1563-1572.
- [3] 李亚,李曙,马于林,等.单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值与冠心病关系的探讨[J].中国心血管病研究,2019,17(12):1110-1114.
- [4] 胡慧霞,郭晓倩,李艳.冠心病患者 D-二聚体/纤维蛋白原比值变化及与 Gensini 评分的关系[J].微循环学杂志,2020,30(2):27-29.
- [5] 汤群英,于建刚,徐红.血清尿酸水平与老年脑梗死患者颅内外动脉粥样硬化性狭窄的关系研究[J].实用心脑血管病杂志,2020,28(4):34-37.
- [6] 台鸣娟,黄淑田,台润东,等.单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值及红细胞分布宽度与冠心病关系的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(8):1412-1415.
- [7] 王欣.心肌病诊治进展缺血性心肌病[J].山东医药,2000,1(9):40-41.
- [8] 李志飞. D-二聚体在慢性心衰患者中表达水平分析及与心室重构的相关性[J].医学理论与实践,2023,36(5):834-836.
- [9] 许鹏,陈敏.不同 NYHA 心功能分级慢性心力衰竭患者心脏标志物四项、PCT、BNP 水平变化及临床意义[J].海南医学,2021,32(19):2488-2491.
- [10] 郭悦,刘纯兴,于艳丽.基于 DID 模型加味三仁汤对冠心病患者左心室重构的影响分析[J].四川中医,2022,40(8):74-78.
- [11] 中国医师协会心血管内科医师分会冲国心血管健康联盟,心肌梗死后心力衰竭防治专家共识工作组.2020 心肌梗死后心力衰竭防治专家共识[J].中国循环杂志,2020,35(12):1166-1180.
- [12] 张代民,李小波.慢性心力衰竭患者血清 20-HETEs 水平与心室重构的关系探讨[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(20):3531-3533.

肺泡灌洗液 mNGS 检测神经外科重症下呼吸道感染病原的应用

杨帆^{1*} 李冰² 张辉³ 陈劲松⁴

[摘要] 目的 分析宏基因组二代测序(mNGS)技术对神经外科重症下呼吸道感染患者肺泡灌洗液中病原体肺炎克雷伯菌耐药基因检测。方法 选取2020年6月至2022年6月河南省人民医院收治的196例神经外科重症下呼吸道感染患者作为研究对象。采集患者的肺泡灌洗液标本进行常规病原学与mNGS技术检测,对病原体进行分离鉴定,并计算2种检测方法的差异性;并检测肺炎克雷伯菌的耐药基因与药敏试验结果。结果 常规病原学检测的阳性率为62.42%(122/196),mNGS技术检测阳性率为88.27%(173/196),mNGS技术检测高于常规病原学检测($\chi^2=35.631, P<0.05$);肺炎克雷伯菌经mNGS技术检出耐药基因包括超广谱 β -内酰胺酶基因(*SHV*、*TEM*)与碳青霉烯酶基因(*KPC*);药敏试验结果显示,肺炎克雷伯菌对头孢唑林、头孢呋辛及头孢曲松的耐药率较高,分别为75.00%、66.67%及54.17%,对比阿培南及美罗培南的耐药率较低,分别为16.67%及12.50%。结论 mNGS技术能够有效提高神经外科重症下呼吸道感染阳性检出率,可辅助评估肺炎克雷伯菌抗菌药物耐药性基因。

[关键词] 下呼吸道感染;宏基因组二代测序;肺泡灌洗液;肺炎克雷伯菌;耐药基因

Application of pulmonary alveolar lavage fluid mNGS to detect pathogens of severe lower respiratory tract infection in neurosurgery

YANG Fan^{1*}, Li Bing², ZHANG Hui³, CHEN Jinsong⁴

(1. Neurosurgery ICU, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450003; 2. Department of Neurosurgery, the First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu, Henan, China, 476000; 3. ICU of the First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu, Henan, China, 476000; 4. ICU, Huangchuan People's Hospital, Xinyang, Henan, China, 465150)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the detection of pathogens and *Klebsiella pneumoniae* resistance genes in alveolar lavage fluid of patients with severe lower respiratory tract infection in neurosurgery using metagenomic next generation sequencing (mNGS). **Methods** A total of 196 patients with severe lower respiratory tract infections in the Department of neurosurgery were admitted to Henan Provincial People's Hospital from June 2020 to June 2022 and were retrospectively selected as the study subjects. Alveolar lavage fluid samples were collected from these patients for routine etiological and mNGS detection. Pathogens were isolated and identified, and the differences between the two detection methods were calculated. The drug resistance gene and drug susceptibility tests of *Klebsiella pneumoniae* were also detected. **Results** The positive rate of conventional etiology detection was 62.42% (122/196), while that of mNGS detection was 88.27% (173/196) ($\chi^2=35.631, P<0.05$). Resistance genes of *Klebsiella pneumoniae* were detected using the mNGS technique,

基金项目:河南省卫生健康委省部共建青年项目(SBGJ202003008)

作者单位:1. 河南省人民医院神经外科ICU, 河南, 郑州 450003

2. 商丘市第一人民医院神经外科, 河南, 商丘 476000

3. 商丘市第一人民医院ICU, 河南, 商丘 476000

4. 潢川县人民医院ICU, 河南, 信阳 465150

*通信作者:杨帆, E-mail: feocliff@126.com

including ultra-broad spectrum β -lactamase genes (*SHV*, *TEM*) and carbapenemase genes (*KPC*). Results from drug susceptibility tests showed that the resistance rates of *Klebsiella pneumoniae* to ceftazidime, cefuroxime and ceftriaxone were 75.00%, 66.67% and 54.17%, respectively. The resistance rates to biapenem and meropenem were 16.67% and 12.50%, respectively. **Conclusion** The mNGS technique can effectively improve the positive detection rate of severe lower respiratory tract infections in neurosurgery. It can also assist in evaluating antimicrobial resistance genes of *Klebsiella pneumoniae*.

[KEY WORDS] Lower respiratory tract infection; Metagenome next generation sequencing; Alveolar lavage fluid; *Klebsiella pneumoniae*; Resistance genes

下呼吸道感染是神经外科常见的并发症,也是影响患者预后的重要因素之一,病原学检查结果的准确程度与下呼吸道感染的治疗效果密切相关^[1]。传统病原微生物检测技术已在临床得到广泛应用,但仍存在易受广谱抗菌药物影响、检测用时长及微生物检测受限等缺陷,给下呼吸道感染的精准诊断及治疗带来挑战^[2]。宏基因组二代测序(Metagenome next generation sequencing, mNGS)技术对于感染性疾病病原学检测具有良好效果,具有通量高、测序迅速与覆盖面广等优势,能够直接获取病原体的核酸序列信息,进而准确检测所有潜在病原体^[3]。有研究表明,细菌是引起神经外科重症下呼吸道感染的主要病原体,而其中肺炎克雷伯菌在致病病原体又占主要部分,对病原体进行培养、鉴定及药敏分析,有利于指导下呼吸道感染治疗^[4]。本研究通过分析 mNGS 技术对神经外科重症下呼吸道感染患者肺泡灌洗液中病原体和肺炎克雷伯菌耐药基因检测,为临床治疗合理使用抗菌药物提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2020年6月至2022年6月河南省人民医院收治的196例神经外科重症下呼吸道感染患者作为研究对象。纳入标准:①均符合下呼吸道感染的诊断标准^[5];②年龄 ≥ 18 岁;③患者与其家属均知情同意。排除标准:①合并其他部位感染;②合并恶性肿瘤;③合并重要脏器功能不全;④合并免疫性疾病。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 肺泡灌洗液样本采集

选取病变最严重的肺段和亚肺段,将纤维支气管镜插至合适的支气管树分支位置,注入生理盐水进行多次灌洗,每次25 mL。通过负压吸引回收灌洗液样本,分别装入两个灭菌容器内,每份检测样本量为5 mL,用于常规病原学与mNGS技术检测,采集过程严格遵循无菌操作原则。

1.2.1 常规病原学检测

根据《全国临床检验操作规程》^[6]对肺泡灌洗液样本进行培养,并采用VITEK 2 COMPACT检测仪(法国生物梅里埃公司)对病原体进行鉴定,并以多重聚合酶链式反应核酸检测试剂盒(宁波海尔施基因科技有限公司)检测病毒和特殊病原体。

1.2.2 mNGS 技术检测

使用GensLab Tethys 样品前处理仪(天津金匙医学科技有限公司)对临床样品进行细胞壁破碎处理;以磁珠法提取试剂盒(天津金匙医学科技有限公司,津械备20210111)提取肺泡灌洗液样本DNA;以病原微生物检测试剂盒(天津金匙医学科技有限公司,cat.2102),利用酶切法将DNA破碎为200~300 bp的片段,以Qubit 荧光定量仪(美国赛默飞世尔科技公司)与Agilent2100生物分析仪(美国安捷伦科技有限公司)进行DNA定量及文库构建与质控。使用MGISEq200高通量测序系统(华大智造)进行mNGS检测,获取基因原始数据,并剔除低质量和序列数小于50 bp的片段。将获取的基因数据与数据库进行比对鉴定微生物。mNGS阳性结果确定标准^[7]具体如下:①细菌、病毒、真菌、支原体与衣原体,mNGS检测严格序列数 >3 ,且序列在基因组上分散区间 ≥ 3 ;②寄生虫,mNGS检测严格序列数 ≥ 100 ;③结核分枝杆菌,mNGS鉴定严格序列数 ≥ 3 ,且序列在基因组上分散区间 ≥ 3 。

1.3 mNGS 技术检测耐药基因与药敏试验

完成病原检测文库测序后,通过与人类基因组数据库(GRCh38)比对识别人类宿主序列;获取未比对上的序列,将未比对上的序列与肺炎克雷伯菌基因组序列、耐药基因序列数据库进行比对,筛选肺炎克雷伯菌耐药基因片段。采用Kirby-Bauer 纸片扩散法(试纸、培养基等均购自英国Oxoid公司)对肺炎克雷伯菌阳性菌株进行药敏试验,根据CLSI 2016版的标准对结果进行判断。

肺炎克雷伯菌(ATCC700603)质控菌株来自于国家卫计委临床检验中心。

1.4 统计学方法

以 SPSS 22.0 统计学软件分析相关数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 常规病原学与 mNGS 技术检测神经外科重症下呼吸道感染阳性情况比较

常规病原学检测的阳性率为 62.42% (122/196), mNGS 技术检测阳性率为 88.27% (173/196), mNGS 技术检测高于常规病原学检测,差异有统计学意义 ($\chi^2=35.631, P<0.05$)。见表 1。

表 1 常规病原学与 mNGS 技术检测神经外科重症下呼吸道感染阳性情况比较 (n)

Table 1 Comparison of positive detection of severe lower respiratory tract infection in neurosurgery by conventional etiology and mNGS technique (n)

mNGS 技术检测	常规病原学检测		合计
	+	-	
+	106	67	173
-	16	7	23
合计	122	74	196

2.2 常规病原学与 mNGS 技术检测神经外科重症下呼吸道感染阳性菌种分布情况

常规病原学检测共检出病原体 131 株,其中细菌 82 株、病毒 27 株、真菌 15 株及特殊病原体 7 株,其中细菌感染主要以肺炎克雷伯菌为主; mNGS 技术检测共检出病原体 194 株,其中细菌 124 株、病毒 36 株、真菌 16 株及特殊病原体 18 株,其中细菌感染主要以肺炎克雷伯菌为主。见表 2。

2.3 神经外科重症下呼吸道感染肺炎克雷伯菌耐药基因检出情况

肺炎克雷伯菌经 mNGS 技术检出耐药基因包括超广谱 β -内酰胺酶基因 (SHV、TEM) 与碳青霉烯酶基因 (KPC)。见表 3。

2.4 神经外科重症下呼吸道感染肺炎克雷伯菌耐药性分析

药敏试验结果显示,肺炎克雷伯菌对头孢唑林、头孢呋辛及头孢曲松的耐药率较高,分别为 75.00%、66.67% 及 54.17%,对比阿培南及美罗培南的耐药率较低,分别为 16.67% 及 12.50%。见表 4。

表 2 常规病原学与 mNGS 技术检测神经外科重症下呼吸道感染阳性菌种分布情况 [$n(\%)$]

Table 2 The distribution of positive strains of severe lower respiratory tract infection in neurosurgery was detected by conventional etiology and mNGS technique [$n(\%)$]

项目	常规病原学检测 ($n=131$)	mNGS 技术检测 ($n=194$)
革兰阴性菌	56(42.74)	83(42.78)
肺炎克雷伯菌	16(12.21)	24(12.37)
铜绿假单胞菌	15(11.45)	21(10.83)
大肠埃希菌	13(9.92)	19(9.79)
其他	12(9.16)	19(9.79)
革兰阳性菌	26(19.85)	41(21.14)
金黄色葡萄球菌	11(8.40)	17(8.77)
肺炎链球菌	6(4.58)	10(5.16)
表皮葡萄球菌	4(3.05)	8(4.12)
其他	5(3.82)	6(3.09)
病毒	27(20.61)	36(18.55)
人巨细胞病毒	10(7.64)	16(8.25)
人疱疹病毒	6(4.58)	11(5.67)
细小病毒	4(3.05)	5(2.57)
其他	7(5.34)	4(2.06)
真菌	15(11.45)	16(8.25)
耶氏肺孢子虫	5(3.81)	7(3.61)
白假丝酵母	3(2.29)	4(2.06)
烟曲霉菌	2(1.53)	3(1.55)
其他	5(3.81)	2(1.03)
特殊病原体	7(5.34)	18(9.28)
鹦鹉热衣原体	—	8(4.13)
结核分枝杆菌	4(3.05)	6(3.09)
肺炎支原体	3(2.29)	4(2.06)

注:“—”表示该项无数据。

表 3 神经外科重症下呼吸道感染肺炎克雷伯菌耐药基因检出情况 ($n=24$)

Table 3 Detection of drug resistance genes of Klebsiella pneumoniae in severe lower respiratory tract infection in neurosurgery ($n=24$)

基因	株数	检出率(%)
SHV	21	87.50
TEM	22	91.67
KPC	20	83.33

3 讨论

下呼吸道感染是由病原体入侵气管、支气管等呼吸道引发的感染性疾病,主要包括支气管炎、肺炎等类型,分析呼吸道感染病原学有利于帮助临床治疗正确用药,并减少病原体耐药性^[8]。由于病情严重、侵入性操作多、意识功能障碍及术后长时间住院等因素影响,神经外科重症患者在术后容易发生下呼吸道感染,感染容易增加患者病情的严重程度,严重威胁患者的生命健康安全^[9]。

表4 神经外科重症下呼吸道感染肺炎克雷伯菌耐药性分析 (n=24)

Table 4 Analysis of drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* in severe lower respiratory tract infection in neurosurgery (n=24)

药物	耐药株数	耐药率(%)
头孢唑林	18	75.00
头孢呋辛	16	66.67
头孢曲松	13	54.17
氨苄西林	12	50.00
青霉素	12	50.00
四环素	12	50.00
庆大霉素	11	45.83
头孢噻肟	10	41.67
哌拉西林	9	37.50
环丙沙星	9	37.50
左氧氟沙星	9	37.50
头孢替坦	6	25.00
比阿培南	4	16.67
美罗培南	3	12.50

李兴明等^[10]研究指出, mNGS 技术不依赖于培养实验, 通过对样本病原微生物 DNA 活性检测, 能够明确样本所有病原体核酸信息, 并能够快速识别罕见病原菌, 在感染早期提供致病病原体信息, 其检测准确度远高于传统细菌培养。本研究结果显示, mNGS 技术检测阳性率远高于常规病原学检测, 与何邦立等^[11]研究一致。分析原因可能是 mNGS 技术通过二代测序技术对临床样品的宏基因组文库进行高通量平行测序, 以数百万计的测序通量直接检测临床样品中的核酸, 实现对整个基因组进行测序, 从而对病原体的快速检测, 在常规病原学检测技术无法检测的病原体中, mNGS 技术仍然表现出较高检测度。钮月英等^[12]研究表明, mNGS 技术通过基因测序, 对检测鹦鹉热衣原体等特殊病原体具有较高的准确度。本研究结果显示, mNGS 技术检测特殊病原体的检测率远高于常规病原学检测, 与上述研究一致。提示 mNGS 技术有利于提高罕见病原体及特殊病原体检测, 对神经外科重症下呼吸道感染具有较高的临床诊断价值。

全国细菌耐药监测网数据显示, 肺炎克雷伯菌位居重症患者感染病原菌首位, 而且肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药率较高, 且保持较快上升态势^[13]。本研究结果显示, 肺炎克雷伯菌是引起神经外科重症下呼吸道感染的主要致病菌, 与上述研究一致。mNGS 技术通过检测不同致病菌抗生素耐药基因, 能够预测抗生素耐药表型, 而且 mNGS 技术检测速度优于传统药敏分析,

能够节约了大量时间^[14]。但 mNGS 技术在耐药性检测方面仍存在问题, mNGS 技术难以获取耐药基因全长序列信息, 并且检测的耐药基因难以准确定位至相应病原体, 无法准确判定病原体对抗生素的耐药性, 容易出现耐药表型与基因型不完全匹配现象^[15]。因此, 需协同检测耐药表型和基因型, 以提高检测的灵敏度和特异度。本研究结果显示, 肺炎克雷伯菌经 mNGS 技术检出耐药基因包括 SHV、TEM 与 KPC。药敏试验结果显示, 肺炎克雷伯菌对头孢唑林、头孢呋辛及头孢曲松的耐药率较高, 对比阿培南及美罗培南的耐药率较低。提示肺炎克雷伯菌的耐药抗菌药物种类较多, 临床医师应该根据耐药基因检测与药敏分析结果, 对神经外科重症下呼吸道感染患者合理选用抗菌药物, 以减少多药耐药菌的产生, 缓解抗菌药物耐药率的上升趋势。

综上所述, mNGS 技术能够有效提高神经外科重症下呼吸道感染阳性检出率, 可辅助评估肺炎克雷伯菌抗菌药物耐药性基因。

参考文献

- [1] David MM, Carola H, Pia S, et al. Lower Respiratory Tract Infections in Pediatric Patients with Severe Neurological Impairments: Clinical Observations and Perspectives in a Palliative Care Unit[J]. *Children*, 2022, 9(6): 852.
- [2] Yi Y, Xingxing Z, Yahong S, et al. Comparison of next-generation sequencing with traditional methods for pathogen detection in cases of lower respiratory tract infection at a community hospital in Eastern China [J]. *Medicine*, 2022, 101(51): e32423.
- [3] Almas S, Carpenter RE, Singh A, et al. Deciphering Microbiota of Acute Upper Respiratory Infections: A Comparative Analysis of PCR and mNGS Methods for Lower Respiratory Trafficking Potential[J]. *Adv Respir Med*, 2023, 91(1): 49-65.
- [4] 霍军丽, 王毓, 邓琪, 等. 神经外科患者术后下呼吸道感染病原学及肺炎克雷伯菌耐药基因检测[J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33(7): 1066-1070.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. *中华医学杂志*, 2001, 81(5): 314-320.
- [6] 中华人民共和国卫生部医政司. 《全国临床检验操作规程》(第3版)[M]. 南京: 东南大学出版社, 2006: 109-115.
- [7] 《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[本文附更正][J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(11): 681-689.
- [8] 詹小妹, 陈小建, 符荣益. 1594例下呼吸道感染儿童病例病原学特征分析[J]. *华南预防医学*, 2022, 48(3): 355-357+362.

血清 Hcy、NLR 及 CAR 与 2 型糖尿病伴甲减患者肾脏损害的关系分析

肖伟伟 付鹏 张莉 王祥香 李文丛 王海娇 李浩 刘岩 朱蕾*

【摘要】 目的 探讨血清同型半胱氨酸(Hcy)、中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)及C反应蛋白/白蛋白比值(CAR)与2型糖尿病伴甲减患者肾脏损害的关系。方法 选取2021年1月至2022年6月于山东省立第三医院接受治疗的2型糖尿病伴甲减肾脏损害患者314例,其中轻度组112例、中度组98例、重度组104例,同时选取同期2型糖尿病伴甲减无肾脏损害患者104例作为非肾损害组。比较各组患者血清Hcy、NLR与CAR水平;收集相关资料,对影响2型糖尿病伴甲减患者肾脏损害进行单、多因素分析,绘制ROC曲线验证血清Hcy、NLR及CAR与2型糖尿病伴甲减患者肾脏损害的预测价值。结果 不同程度肾脏损害患者血清Hcy、NLR与CAR水平比较结果:重度组>中度组>轻度组>非肾损害组,差异有统计学意义($F=147.431、97.233、324.788, P<0.05$)。肾损害组与非肾损害组比较,年龄、糖尿病病程、空腹血糖、SCr、BUN、TSH、FT₃、FT₄、Hcy、NLR、CAR水平差异具有统计学意义($\chi^2=9.953、7.092, t=5.197、4.992、3.425、10.966、2.171、2.112、15.822、9.928、17.407, P<0.05$)。Logistic回归分析结果显示,年龄较大、SCr、TSH、Hcy、NLR、CAR水平升高是糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线结果显示,患者血清Hcy、NLR、CAR及三项联合预测AUC分别为0.898、0.805、0.915和0.962,预测效能均良好($P<0.05$)。结论 2型糖尿病伴甲减患者血清Hcy、NLR与CAR水平与肾脏损害的发生与发展关系密切,可为2型糖尿病伴甲减患者肾脏损害早期防治提供参考。

【关键词】 同型半胱氨酸;中性粒细胞/淋巴细胞比值;C反应蛋白/白蛋白比值;糖尿病;肾脏损害

Relationship between serum Hcy, NLR and CAR and renal damage in patients with type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism

XIAO Weiwei, FU Peng, ZHANG Li, WANG Xiangxiang, LI Wencong, WANG Haijiao, LI Hao, LIU Yan, ZHU Lei*

(Department of Endocrinology, the Third Hospital of Shandong Province, Jinan, Shandong, China, 250000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the relationship between serum homocysteine (Hcy), neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and C-reactive protein/albumin ratio (CAR) and renal damage in patients with type 2 diabetes mellitus with hypothyroidism. **Methods** A total of 314 patients diagnosed with type 2 diabetes mellitus, hypothyroidism, and kidney damage were selected from Shandong Provincial Third Hospital from January 2021 to June 2022. This group included 112 patients in the mild group, 98 patients in the moderate group and 104 patients in the severe group. Additionally, 104 patients with type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism but without kidney damage during the same period were selected as the non-kidney damage group. Serum levels of Hcy, NLR and CAR were compared among all groups. Relevant data was collected, and single and multi-factor analyses was conducted to assess the impact of kidney damage in patients with type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism. ROC curve was drawn to verify the predictive value of serum Hcy, NLR, CAR for kidney damage in patients with type 2 diabetes mellitus and hypothyroidism. **Results** The results of

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2018WS286)

作者单位:山东省立第三医院内分泌科,山东,济南250000

*通信作者:朱蕾, E-mail:july200412@sohu.com

serum Hcy, NLR and CAR levels in patients with different degrees of renal damage were as follows: severe group > moderate group > mild group > non-renal damage group ($F=147.431, 97.233, 324.788, P<0.05$). There were significant differences in age, diabetes course, fasting blood glucose, SCr, BUN, TSH, FT3, FT4, Hcy, NLR and CAR levels between the renal lesion group and the non-renal lesion group ($\chi^2=9.953, 7.092, t=5.197, 4.992, 3.425, 10.966, 2.171, 2.112, 15.822, 9.928, 17.407, P<0.05$). Logistic regression analysis showed that older age, increased levels of SCr, TSH, Hcy, NLR and CAR were independent risk factors for renal damage in patients with diabetes mellitus and hypothyroidism ($P<0.05$). ROC curve results showed that serum Hcy, NLR, CAR and the combined AUC were 0.898, 0.805, 0.915 and 0.962, respectively. The prediction efficiency was good ($P<0.05$). **Conclusion** Serum Hcy, NLR and CAR levels in patients with type 2 diabetes and hypothyroidism are closely related to the occurrence and development of kidney damage. This information can provide guidance for early prevention and treatment of kidney damage in these patients.

[KEY WORDS] Homocysteine; Neutrophil/lymphocyte ratio; C-reactive protein/albumin ratio; Diabetes mellitus; Kidney damage

2型糖尿病是一种常见的内分泌疾病,随着病情的发展,诱发多种并发症^[1]。甲减是2型糖尿病常见的合并症,相关研究表明,甲减对2型糖尿病患者肾脏损害具有促进作用^[2]。而早期肾损害是糖尿病肾病与终末期肾病的主要病因之一,随着病情严重发展,威胁着患者的生命安全。因此,对2型糖尿病伴甲减患者早期肾损害筛查十分重要。同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是高血压、脑出血等疾病的重要指标,同时在一定程度上预测糖尿病肾病^[3];中性粒细胞/淋巴细胞(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)和C反应蛋白/白蛋白(reactive protein/albumin ratio, CAR)均是炎症指标,与多种炎症疾病密切相关,有研究^[4]表明其与肾功能损害及其发展预后等有关联。本研究对2型糖尿病伴甲减患者血清Hcy、NLR与CAR进行回顾性分析,探讨三项指标与肾脏损害的关系,报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2021年1月至2022年6月于山东省立第三医院接受治疗的2型糖尿病伴甲减肾脏损害患者314例,其中轻度组112例、中度组98例、重度组104例,同时选取同期2型糖尿病伴甲减无肾脏损害患者104例作为非肾损害组。纳入标准:①均符合《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》^[5]中2型糖尿病诊断标准,符合甲状腺功能减退诊断标准^[6];②年龄 ≥ 18 岁;③患者病历资料完整;④均知情且同意,并签署知情同意书。排除标准:①存在甲状腺病史或使用过甲状腺疾病药物;②入组前3个月使用过糖皮质激素、碘造影剂、镇静剂等影响

甲状腺激素水平药物患者;③心、肺等重要器官存在严重功能障碍患者;④存在下丘脑、垂体等疾病;⑤合并2型糖尿病急性并发症;⑥妊娠或哺乳期。本研究经医院伦理委员会批准同意,批准号为:KYLL-2022023。

糖尿病肾病及分期标准参照《中国糖尿病肾脏病防治临床指南》^[7]中由糖尿病引起的慢性肾病诊断标准;肾脏疾病分期依据肾小球滤过率分为1期~5期,本研究根据慢性肾脏病分期将患者分为轻度组(1~2期)、中度组(3期)与重度组(4~5期)。

1.2 资料调查

通过查阅患者病历,收集患者临床资料,主要包括性别、年龄、糖尿病病程、身高、体重、收缩压、舒张压、吸烟史、饮酒史、糖尿病家族史、空腹血糖等。计算体质量指数(body mass index, BMI)。

1.3 实验室指标

入组后采集患者空腹静脉血5 mL,低速医用离心机(长沙英泰仪器有限公司,型号:TD4A)3000 r/min离心5 min,离心半径为15 cm,取上层血清置于 -80°C 冰箱中保存,48 h内检测。总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)低密度蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、血肌酐(serum creatinine, SCr)、尿氮素(blood urea nitrogen, BUN)、Hcy采用全自动生化分析仪(美国贝克曼, AU5800)检测;促甲状腺素(thyroid stimulating hormone, TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT₄)采用化学发光分析仪(罗氏Cobase, 601型)

检测;采用血细胞分析仪(日本希森美康, XS-800i)检测中性粒细胞、淋巴细胞、C反应蛋白、白蛋白, 计算NLR、CAR。

1.4 统计学方法

使用SPSS 21.0软件进行数据分析。计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 多组比较用F检验, 进一步两两比较用snk-q检验, 两组间比较用独立样本t检验; 计数资料用 $n(\%)$ 表示, 比较用 χ^2 检验; 多因素分析用Logistic回归分析; ROC曲线检验指标预测效能; $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清Hcy、NLR与CAR水平比较

不同程度肾脏损害患者血清Hcy、NLR与CAR水平比较结果: 重度组>中度组>轻度组>非肾损害组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组患者血清Hcy、NLR与CAR水平比较 $(\bar{x} \pm s)$
Table 1 Comparison of serum Hcy, NLR and CAR levels in each group $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	Hcy(mol/L)	NLR	CAR
轻度组	112	21.07±5.03 ^a	8.19±2.47 ^a	1.21±0.62 ^a
中度组	98	24.50±6.48 ^{ab}	9.25±2.33 ^{ab}	2.31±0.77 ^{ab}
重度组	104	32.53±6.85 ^{abc}	11.67±3.93 ^{abc}	3.30±1.05 ^{abc}
非肾损害组	104	15.87±4.87	5.24±1.75	0.36±0.14
F值		147.431	97.223	324.788
P值		0.000	0.000	0.000

注: 与无肾损害组比较, ^a $P < 0.05$; 与轻度组比较, ^b $P < 0.05$; 与中度组比较, ^c $P < 0.05$ 。

2.2 2型糖尿病伴甲减患者是否肾脏损害单因素分析

肾损害组与非肾损害组比较, 年龄、糖尿病病程、空腹血糖、SCr、BUN、TSH、FT₃、FT₄、Hcy、NLR、CAR水平差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 影响糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害多因素分析

纳入单因素分析中具有统计学意义因素为自变量, 有无发生肾脏损害为因变量, 采用多因素Logistic回归分析。Logistic回归分析结果显示, 年龄较大、SCr、TSH、Hcy、NLR、CAR水平升高是糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害预测ROC曲线

ROC曲线结果显示, 患者血清Hcy、NLR、CAR及三项联合预测AUC分别为0.898(0.863~

表2 2型糖尿病患者是否肾脏损害单因素分析
[$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 2 Univariate analysis of kidney damage in type 2 diabetic patients [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

项目	肾损害组 (n=314)	非肾损害组 (n=104)	χ^2/t 值	P值
性别				
男	148(47.13)	56(53.85)	1.409	0.235
女	166(52.87)	48(46.15)		
年龄(岁)				
≤65	97(30.89)	46(44.23)	9.653	0.008
66~84	103(32.80)	36(34.62)		
≥85	114(36.31)	22(21.15)		
糖尿病病程(年)				
<5	98(31.21)	43(41.35)	7.092	0.029
5~10	104(33.12)	38(36.54)		
>10	112(35.67)	23(22.12)		
BMI(kg/m ²)				
≤18.5	98(31.21)	35(33.65)	0.365	0.833
18.5~24.0	106(33.76)	32(30.77)		
24.0~28.0	110(35.03)	37(35.58)		
收缩压(mmHg)	134.21±16.23	137.64±16.48	1.861	0.064
舒张压(mmHg)	83.33±11.46	81.52±12.71	1.358	0.175
吸烟史				
无	167(53.18)	46(44.23)	2.506	0.113
有	147(46.82)	58(55.77)		
饮酒史				
无	168(53.50)	45(43.77)	3.274	0.070
有	146(46.50)	59(56.73)		
糖尿病家族史				
无	171(54.46)	55(52.88)	0.078	0.780
有	143(45.54)	49(47.12)		
空腹血糖 (mmol/L)	11.09±3.69	9.07±2.51	5.197	0.000
TC(mmol/L)	5.18±1.42	4.88±1.14	1.955	0.051
TG(mmol/L)	2.28±0.84	2.17±0.52	1.258	0.209
HDL-C(mmol/L)	1.14±0.38	1.19±0.35	1.186	0.237
LDL-C(mmol/L)	3.35±1.28	3.25±1.59	0.648	0.517
SCr(μ mol/L)	81.64±16.17	72.58±15.64	4.992	0.000
BUN(mmol/L)	6.04±2.37	5.18±1.68	3.425	0.001
TSH(mU/L)	5.25±2.64	2.34±1.02	10.966	0.000
FT ₃ (mU/L)	3.85±1.13	3.58±1.00	2.171	0.031
FT ₄ (pmol/L)	19.26±3.25	18.49±3.14	2.112	0.035
Hcy(mol/L)	25.94±6.85	15.87±4.87	13.871	0.000
NLR	9.67±3.93	5.24±1.75	11.129	0.000
CAR	2.25±1.05	0.36±0.14	18.288	0.000

0.932)、0.805(0.752~0.858)、0.915(0.888~0.942)和0.962(0.945~0.980), 预测效能均良好($P < 0.05$), 且联合预测效能优于单项。见表4、图1。

3 讨论

与正常人群相比, 甲减在2型糖尿病患者中更为常见^[8]。2型糖尿病患者身体处于高代谢状态, 甲状腺滤泡细胞能量利用能力受到影响, 导致甲状腺激素合成与释放功能降低, 相关报道数据中,

表3 影响糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of kidney damage in diabetic patients with hypothyroidism

因素	β 值	S.E 值	Wals 值	OR 值	95% CI	P 值
年龄(≤ 65 岁=1, 66~84岁=2, ≥ 85 岁=3)	1.528	0.514	8.837	4.609	1.683~12.622	0.003
糖尿病病程(<5年=1, 5~10年=2, >10年=3)	0.546	0.372	2.154	1.726	0.833~3.579	0.142
空腹血糖(连续变量)	0.669	0.451	2.200	1.952	0.807~4.725	0.138
SCr(连续变量)	1.124	0.561	4.014	3.077	0.663~14.277	0.045
BUN(连续变量)	0.787	0.526	2.239	2.197	0.784~6.159	0.135
TSH(连续变量)	1.771	0.542	10.677	5.877	2.031~17.002	0.001
FT ₃ (连续变量)	1.112	0.783	2.017	3.040	0.655~14.107	0.156
FT ₄ (连续变量)	0.832	0.657	1.604	2.298	0.634~8.329	0.205
Hcy(连续变量)	1.852	0.441	17.636	6.373	2.685~15.125	0.000
NLR(连续变量)	0.685	0.324	4.470	1.984	1.051~3.744	0.034
CAR(连续变量)	0.872	0.345	6.388	2.392	1.216~4.703	0.011
常量	4.338	1.511	8.242	76.554		0.004

表4 糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害预测 ROC 曲线结果

Table 5 Results of ROC curve for predicting renal damage in patients with diabetes and hypothyroidism

变量	AUC	标准误	敏感度	特异性	95% CI	P 值
Hcy	0.898	0.018	0.827	0.828	0.863~0.932	0.000
NLR	0.805	0.027	0.798	0.615	0.752~0.858	0.000
CAR	0.915	0.014	0.875	0.799	0.888~0.942	0.000
联合预测	0.962	0.009	0.933	0.885	0.945~0.980	0.000

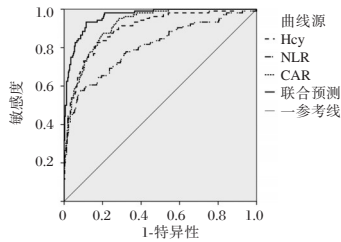


图1 ROC 曲线图

Figure 1 The ROC curve

2型糖尿病甲状腺功能异常在 26.96%~43.64%^[9]。糖尿病患者肾损害是导致糖尿病患者肾功能衰竭或死亡的主要原因。糖尿病、甲减与早期肾损害等均为代谢功能的病变,三者关系中,甲减增加糖尿病微血管病变如肾损害的发生。糖尿病肾损害需早发现、早干预,防止其发展为不可逆的终末期肾衰竭。

Hcy 是一种氨基酸,由氨基酸蛋氨酸代谢产生,主要是由胱硫氨酸- β -合成酶和亚甲基四氢叶酸还原酶突变引起的,在慢性肾脏疾病中浓度升高^[10]。Hcy 水平的升高,经肾脏摄取和代谢,进入血液循环,损伤血管内皮细胞,增强局部氧化应激反应,使血管内皮细胞的一氧化氮活性降低,刺激血管平滑肌细胞的增生,血小板黏附聚集性增加,最终导致微血管病变,患者肾脏功能受损^[11]。有研究^[12]表明,糖尿病并发症的发生与发展过程中,

细胞因子介导的炎症反应起到媒介作用。炎症反应过程中,大量白细胞介素、氧自由基等分泌,引起肾组织损伤,因此炎症指标也是肾损害的重要指标之一,同时与许多炎症指标相比,NLR 波动受到病理、剧烈运动、情绪和脱水等因素影响较少。2型糖尿病肾脏损害严重程度,NLR 水平升高,与肾损伤呈正相关关系^[13]。CAR 即为 CRP 与 ALB 的比值,是一种新的炎症评分系统,是比 CRP 与 ALB 单项更优价值的确定炎症程度与活动度的指标^[14]。本研究结果显示,肾脏损害患者血清 Hcy、NLR 与 CAR 水平均高于非肾损害患者,且随着肾脏损害的严重程度,Hcy、NLR 与 CAR 水平随之升高,提示患者 Hcy、NLR、CAR 水平与患者肾脏损害的发生与发展相关。

同时,本研究对 2 型糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害影响因素进行分析,结果显示年龄较大、SCr、TSH、Hcy、NLR、CAR 水平升高是糖尿病伴甲减患者发生肾脏损害的独立危险因素。2 型糖尿病伴甲减患者血清 Hcy、NLR、CAR 水平对其是否发生肾脏损害的预测效能 ROC 曲线结果显示 Hcy、NLR、CAR 水平具有良好的预测价值,且三项联合检测预测价值更高,由此可见,2 型糖尿病伴甲减患者血清 Hcy、NLR 与 CAR 水平与肾脏损害的发生与发展关系密切。

综上所述,血清 Hcy、NLR、CAR 水平或可作为 2 型糖尿病伴甲减患者早期肾脏损害的评价指标。

参考文献

[1] 虞萌,黄家恺,冯飞,等.老年 2 型糖尿病患者甲状腺功能减退发生影响因素[J].中国老年学杂志,2022,42(20): 4946-4949.

- [2] 沈艳, 闫海洋, 徐殿琴, 等. 2型糖尿病患者发生肾功能异常与其甲状腺功能的关系研究[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(7):644-648.
- [3] 韩士彬, 郭东亮, 韦梦慈. Hcy、ApoB/ApoA1与UACR与糖尿病肾病患者动脉粥样硬化及心血管事件的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(6):1007-1011.
- [4] 罗亚维, 冯胜, 沈华英, 等. C反应蛋白/白蛋白比值是腹膜透析患者死亡的独立影响因素. 中华肾脏病杂志, 2022, 38(6):528-535.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(8):668-784.
- [6] McDermott MT. Hypothyroidism[J]. Ann Intern Med, 2020, 173(1):ITC1-ITC16.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 中国糖尿病肾脏疾病防治临床指南. 中华糖尿病杂志, 2019, 11(1):15-28.
- [8] Grigoriadis G, Koufakis T, Kotsa K. Epidemiological, Pathophysiological, and Clinical Considerations on the Interplay between Thyroid Disorders and Type 2 Diabetes Mellitus [J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(11):2013.
- [9] 付伟, 唐二云, 李丽. 2型糖尿病患者甲状腺功能异常现状调查[J]. 华南预防医学, 2022, 48(11):1332-1335+1340.
- [10] Zheng X, Liu Q, Liu Z. Serum homocysteine concentration as a marker for advanced diabetic nephropathy in a cohort of elderly patients[J]. BMC Endocr Disord, 2023, 23(1):114.
- [11] 黄赞鸿, 张惜铃, 陈义杰, 等. 联合检测 Cys-c、Hcy 和 RBP 在糖尿病肾病早期诊断中的意义[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(2):292-295.
- [12] Pérez-Morales RE, Del Pino MD, Valdivielso JM, et al. Inflammation in Diabetic Kidney Disease [J]. Nephron, 2019, 143(1):12-16.
- [13] Zhang J, Zhang R, Wang Y, et al. Effects of neutrophil-lymphocyte ratio on renal function and histologic lesions in patients with diabetic nephropathy [J]. Nephrology (Carlton), 2019, 24(11):1115-1121.
- [14] Seringec Akkececi N, Yildirim Cetin G, Gogebakan H, et al. The C - Reactive Protein/Albumin Ratio and Complete Blood Count Parameters as Indicators of Disease Activity in Patients with Takayasu Arteritis [J]. Med Sci Monit, 2019, 25:1401-1409.

(上接第 829 页)

- [13] Charach G, Rogowski O, Karniel E, et al. Monocytes may be favorable biomarker and predictor of long-term outcome in patients with chronic heart failure: a cohort study [J]. Medicine, 2019, 98(38):17108.
- [14] Feig JE, Feig JL, Dangas GD. The role of HDL in plaque stabilization and regression: basic mechanisms and clinical implications [J]. Coron Artery Dis, 2016, 27(7):592-603.
- [15] Li L, Zhang Y, Zeng C. Update on the epidemiology, genetics, and therapeutic options of hyperuricemia [J]. Am J Transl Res, 2020, 12(7):3167-3181.
- [16] Gill D, Cameron AC, Burgess S, et al. Urate, blood pressure, and cardiovascular disease: Evidence from mendelian randomization and meta-analysis of clinical trials [J]. Hypertension, 2021, 77(2):383-393.
- [17] 葛培兵, 耿金, 张东营, 等. 高血压患者的红细胞分布宽度与早期肾脏损害和心室重构的相关性[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(2):233-236.
- [18] Pilling LC, Atkins JL, Kuchel GA, et al. Red cell distribution width and common disease onsets in 240, 477 healthy volunteers followed for up to 9 years [J]. PLoS One, 2018, 13(9):20350.

(上接第 833 页)

- [9] Ershova K, Savin I, Khomenko O, et al. The incidence and outcomes of healthcare-associated respiratory tract infections in non-ventilated neurocritical care patients: Results of a 10-year cohort study [J]. J Clin Neurosci, 2022, 97:32-41.
- [10] 李兴明, 谢秀芳, 王宪刚, 等. 基于 Illumina 平台 mNGS 技术在老年社区获得性肺炎肺泡灌洗液病原学诊断中的应用 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(11):1965-1968.
- [11] 何邦立, 林亚发, 符名勇, 等. 宏基因组二代测序技术检测不明原因肺部感染病原体的临床应用价值 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(7):1001-1005.
- [12] 钮月英, 吴晓虹, 应可净. 肺泡灌洗液宏基因组二代测序技术对下呼吸道感染病原体检测的优势 [J]. 中国实用内科杂志, 2020, 40(9):754-758.
- [13] 全国细菌耐药监测网. 2021年全国细菌耐药监测网重症监护病房临床分离细菌耐药监测报告 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(22):3370-3379.
- [14] 李俏, 苏振中, 许璐璐, 等. 宏基因组二代测序技术在肺部感染病原学检测中应用的研究进展 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2023, 49(5):1382-1387.
- [15] 张群, 王明月, 钱倩, 等. mNGS 检测革兰阳性菌耐药基因的临床应用 [J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(18):2721-2724.

超声引导下 RISS 平面阻滞对胸腹部手术患者血清 Cor、SP、PGE2、IL-6 的影响

张莉莉 杨雅婷 贾倩倩*

[摘要] **目的** 探究超声引导下菱形肌-肋间肌-低位前锯肌(RISS)平面阻滞对胸腹部手术患者血清 Cor、SP、PGE2、IL-6 的影响。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2022 年 7 月入住秦皇岛市第一医院接受胸腹部手术的患者 126 例,按照随机掷硬币法分为观察组和对照组,各 63 例,两组进行常规麻醉诱导,气管插管后观察组行超声引导下 RISS 平面阻滞,对照组不行神经阻滞。比较两组术后疼痛视觉模拟(VAS)评分及镇静 Ramsay 评分、手术麻醉药物用量、围术期血流动力学指标(收缩压、舒张压、心率)及炎症应激指标[皮质醇(Cor)、P 物质(SP)、前列腺素 E2(PGE2)、白细胞介素-6(IL-6)]水平、不良反应发生情况。**结果** 手术结束后 2 h、12 h、24 h,观察组 VAS 评分和 Ramsay 评分均显著低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);术中及术后 24 h,观察组舒芬太尼使用量显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);插管后两组收缩压、舒张压和心率均低于插管前,差异有统计学意义($P<0.05$),插管后 10 min 和停药后 10 min,观察组收缩压、舒张压、心率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);术后两组外周血中 Cor、SP、PGE2、IL-6 水平均低于术前,差异有统计学意义($P<0.05$);术后 12 h、24 h,观察组 Cor、SP、PGE2、IL-6 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组麻醉不良反应总发生率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 超声引导下 RISS 平面阻滞具有良好镇痛镇静效果,能减轻胸腹部手术患者应激及炎症反应,安全性较高,值得临床应用推广。

[关键词] 超声引导;平面阻滞;疼痛指数;心率;舒芬太尼;胸腹腔手术

Influence of ultrasound-guided RISS plane block on serum Cor, SP, PGE2 and IL-6 in patients with thoracoabdominal surgery

ZHANG Lili, YANG Yating, JIA Qianqian*

(Department of Anesthesiology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the influence of ultrasound-guided rhomboid intercostal and sub-serratus (RISS) plane block on serum Cor, SP, PGE2 and IL-6 in patients undergoing thoracoabdominal surgery. **Methods** 126 patients who underwent thoracoabdominal surgery at the First Hospital of Qinhuangdao from January 2021 to July 2022 were selected and divided into an observation group and a control group using the random coin-tossing method, with 63 cases in each group. Both groups received routine anesthesia induction. Following tracheal intubation, the observation group was received ultrasound-guided RISS plane block, while the control group did not receive nerve block. Postoperative Visual Analogue Scale (VAS) scores, sedation Ramsay scores, dosage of anesthesia drugs, perioperative hemodynamic indicators (systolic blood pressure, diastolic blood pressure, heart rate), and inflammatory stress indicators [cortisol (Cor), substance P (SP), prostaglandin E2 (PGE2), interleukin-6 (IL-6)] and occurrence of adverse reactions were compared between the two groups of patients. **Results** At 2, 12, and 24 hours after the end of treatment, the VAS score and Ramsay score in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P<$

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20201315);秦皇岛市重点研发计划科技支撑项目(202301A269)

作者单位:秦皇岛市第一医院麻醉科,河北,秦皇岛 066000

*通信作者:贾倩倩, E-mail: waltz9516@163.com

0.05)。During surgery and 24 hours after surgery, the dosage of sufentanil in the observation group was significantly less than that in the control group ($P<0.05$)。The systolic blood pressure, diastolic blood pressure, and heart rate were lower after intubation than before intubation ($P<0.05$)。At 10 minutes after intubation and 10 minutes after drug withdrawal, the systolic blood pressure, diastolic pressure, and heart rate in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$)。The levels of Cor, SP, PGE2, and IL-6 in peripheral blood of both groups after surgery were lower than before surgery ($P<0.05$)。The levels of Cor, SP, PGE2, and IL-6 in the observation group were lower than those in the control group at 12 and 24 hours after surgery ($P<0.05$)。The total incidence of postoperative adverse reactions in the observation group was significantly lower compared to the control group ($P<0.05$)。Conclusion The ultrasound-guided RISS plane block has demonstrated effective analgesic and sedative effects. It can help alleviate the stress and inflammatory responses in patients undergoing thoracoabdominal surgery, while also boasting a high level of safety.

[KEY WORDS] Ultrasound-guided; Plane block; Pain index; Heart rate; Sufentanil; Thoracoabdominal surgery

胸腹部手术常涉及肺部、心脏、大血管、肝脏、胃肠等重要器官,手术过程中可能产生强烈的刺激和牵拉,而全身麻醉能减少患者手术刺激,保证手术的顺利进行^[1]。胸腹部全身麻醉主要通过静脉输注麻醉药物或气管插管的方式,使患者进入睡眠状态并失去痛觉,是一项复杂的手术程序,需要充分评估患者身体状况和手术风险,以确保手术安全^[2]。菱形肌-肋间肌-低位前锯肌(rhomboid intercostal and sub-serratus, RISS)平面阻滞是一种神经阻滞技术,常用于胸腹部手术的疼痛管理,其通过超声引导下向腹直肌鞘、腹股沟区域和肋间隙注射局部麻醉药物,以达到镇痛和减轻手术后疼痛的目的^[3]。RISS平面阻滞可提供良好的疼痛控制效果,具有较少副作用,可减少手术后镇痛药物使用,促进术后康复。本研究拟分析超声引导下 RISS 平面阻滞在胸腹部手术患者中的应用价值,研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2022 年 7 月入住秦皇岛市第一医院进行胸腹部手术的患者 126 例,纳入标准:①麻醉分级 I~II 级;②年龄 29~40 岁;③体重指数 18~24 kg/m²;排除标准:①肝肾功能严重异常;②患有低蛋白血症患者;③局麻药过敏史;④凝血功能异常;⑤穿刺部位感染。将 126 例患者按随机掷硬币法分为两组,观察组行超声引导下 RISS 平面阻滞,共 63 例,男 31 例、女 32 例,年龄平均(34.57±3.34)岁,麻醉 I 级 32 例、II 级 31 例,体重指数平均(21.74±1.21)kg/m²,手术时间(68.36±

5.51)min。对照组不行神经阻滞,共 63 例,男 32 例、女 31 例,年龄平均(34.69±3.71)岁,麻醉 I 级 30 例、II 级 33 例,体重指数平均(21.81±1.26)kg/m²,手术时间(69.36±5.36)min。两组一般资料对比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过伦理委员会审批,患者签署知情同意书。

1.2 方法

入室后,两组进行常规麻醉诱导,气管插管后观察组行超声引导下 RISS 平面阻滞,对照组不行神经阻滞。两组术中均行静-吸复合麻醉维持,术毕接自控镇痛泵,效果不佳时,静脉注射舒芬太尼 0.1 μg/kg 加强镇痛^[4]。

1.3 观测指标

1.3.1 镇静镇痛效果

采用镇静(Ramsay)^[5]评分评估患者镇静状态,满分 6 分,分数越低镇静越差;采用疼痛视觉模拟评分(visual analog scale, VAS)^[6]评估患者疼痛程度,共 0~10 分,0 表示无疼痛,10 表示严重疼痛,分值越高疼痛越严重。

1.3.2 舒芬太尼用量

记录术中、术后 PCIA 镇痛所用舒芬太尼用量。

1.3.3 围术期血流动力学指标

观察并记录两组气管插管前、气管插管后 10 min、停药 10 min 后患者收缩压、舒张压、心率。

1.3.4 应激反应指标

术前及术后 12 h, 24 h, 取患者静脉血 2 mL, 离心半径 200 px, 转速 3 000 r/min, 离心 10 min, 分离取其血清, 使用酶联免疫吸附法检测血清皮质醇(cortisol, Cor)、P 物质(substance P, SP)、前列腺

素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 试剂盒采购自安捷伦科技有限公司, 严格按照试剂盒要求操作。

1.3.5 不良反应

观察记录两组术后过敏反应、呼吸抑制、心律失常和低血压等不良反应发生率。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行处理, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较行 t 检验; 计数资料以 (%) 表示, 组间比较行 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组疼痛 VAS 评分及 Ramsay 评分比较

治疗结束后 2 h、12 h、24 h, 观察组 VAS 评分和 Ramsay 评分均显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组术中、术后 24 h 舒芬太尼使用量比较

术中及术后 24 h, 观察组舒芬太尼使用量显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组围术期血流动力学指标比较

插管前, 两组收缩压、舒张压和心率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 插管后两组收缩压、舒张

表 2 两组术中、术后 24 h 舒芬太尼使用量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of sufentanil dosage during surgery and at 24 hours after surgery between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	舒芬太尼用量 (μg)		
		术中	术后 24 h	总使用量
对照组	63	48.67±4.88	128.81±9.18 ^a	162.71±8.87
观察组	63	28.21±3.11	94.17±7.78 ^a	126.27±6.71
t 值		28.063	22.848	26.005
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与同组术中比较, ^a $P < 0.05$ 。

压和心率均低于插管前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 插管后 10 min 和停药后 10 min, 观察组收缩压、舒张压、心率显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组外周血中 Cor、SP、PGE2、IL-6 含量比较

术前两组 Cor、SP、PGE2、IL-6 含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 术后两组外周血中 Cor、SP、PGE2、IL-6 含量均低于术前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 术后 12 h、24 h 中, 观察组 Cor、SP、PGE2、IL-6 含量均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 两组麻醉不良反应发生率比较

观察者术后不良反应发生率显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 1 两组疼痛 VAS 评分及 Ramsay 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of VAS score and Ramsay score between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VAS 评分			Ramsay 评分		
		术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 2 h	术后 12 h	术后 24 h
对照组	63	5.97±1.51	4.32±0.97 ^a	3.68±0.88 ^{ab}	4.21±0.81	3.88±0.76 ^a	2.96±0.45 ^{ab}
观察组	63	5.11±1.49	3.41±0.88 ^a	2.55±0.64 ^{ab}	3.87±0.73	3.21±0.64 ^a	2.11±0.37 ^{ab}
t 值		3.217	5.514	8.247	2.474	5.352	11.581
P 值		0.001	<0.001	<0.001	0.014	<0.001	<0.001

注: 与同组术后 2 h 比较, ^a $P < 0.05$; 与同组术后 12 h 比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 3 两组在插管前、插管后 10 min、停药后 10 min 心血管功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cardiovascular function before intubation, at 10 min after intubation and 10 min after drug withdrawal between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

项目	时间	对照组 (n=63)	观察组 (n=63)	t 值	P 值
收缩压 (mmHg)	插管前	117.31±9.44	116.59±8.27	0.455	0.649
	插管后 10 min	113.51±10.38 ^a	109.46±10.91 ^a	2.134	0.034
	停药后 10 min	129.31±10.43 ^{ab}	121.34±12.97 ^{ab}	3.801	<0.001
舒张压 (mmHg)	插管前	78.34±4.99	78.72±5.11	0.422	0.673
	插管后 10 min	75.96±4.31 ^a	71.34±3.96 ^a	6.265	<0.001
	停药后 10 min	88.63±2.47 ^{ab}	84.71±2.82 ^{ab}	8.299	<0.001
心率 (次/min)	插管前	87.61±5.68	88.51±6.04	0.861	0.391
	插管后 10 min	82.39±5.44 ^a	78.33±4.26 ^a	4.663	<0.001
	停药后 10 min	78.76±7.89 ^{ab}	75.57±5.76 ^{ab}	2.591	0.011

注: 与同组插管前比较, ^a $P < 0.05$; 与同组插管后 10 min 比较, ^b $P < 0.05$ 。

表4 两组外周血中 Cor、SP、PGE2、IL-6 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of levels of peripheral blood Cor, SP, PGE2 and IL-6 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

项目	时间	对照组 (n=63)	观察组 (n=63)	t 值	P 值
Cor(mg/L)	术前	17.41±4.41	18.10±4.67	0.852	0.395
	术后 12 h	34.33±3.26 ^a	30.91±3.17 ^a	5.969	<0.001
	术后 24 h	31.57±3.14 ^{ab}	26.51±2.97 ^{ab}	9.292	<0.001
SP(pg/mL)	术前	406.31±34.59	403.96±35.77	0.374	0.708
	术后 12 h	321.91±39.88 ^a	297.59±40.61 ^a	3.391	<0.001
	术后 24 h	261.77±26.71 ^{ab}	201.59±24.69 ^{ab}	13.132	<0.001
PGE2 (pg/mL)	术前	127.71±19.54	128.43±18.59	0.211	0.832
	术后 12 h	110.77±11.57 ^a	104.55±12.08 ^a	2.951	0.003
	术后 24 h	97.31±10.77 ^{ab}	82.67±9.74 ^{ab}	8.002	<0.001
IL-6 (pg/mL)	术前	21.68±3.59	21.77±3.17	0.149	0.881
	术后 12 h	18.58±2.69 ^a	15.44±2.47 ^a	6.824	<0.001
	术后 24 h	13.51±2.51 ^{ab}	9.69±2.33 ^{ab}	8.853	<0.001

注:与同组术前比较,^aP<0.05;与同组术后 12 h 比较,^bP<0.05。

表5 两组麻醉不良反应发生率比较 [n(%)]

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

组别	n	过敏反应	心律失常	呼吸抑制	低血压	总发生率
对照组	63	6(9.52)	5(7.93)	3(4.76)	4(6.34)	18(28.57)
观察组	63	2(3.17)	3(4.76)	1(1.58)	2(3.17)	8(12.69)
χ^2 值		2.674	0.912	1.392	1.069	4.846
P 值		0.101	0.339	0.237	0.301	0.027

3 讨论

胸腹部手术中药物麻醉操作可为患者提供理想的手术条件,但传统药物麻醉操作存在一些弊端和挑战,如出现过敏反应、呼吸抑制、心律失常和低血压等并发症^[7]。近年来,超声可视化技术已趋于成熟,超声引导下 RISS 平面阻滞与传统盲法穿刺相比,可实时观察解剖结构和注射位置,避免因盲探增加围术期并发症发生风险^[8]。目前该技术主要用于乳腺手术、开胸手术等围术期镇痛。张吉刚等^[9]证实乳腺癌根治术中使用该技术有利于维持患者血流动力学稳定,减少疼痛因子分泌。朱联周等^[10]研究发现,在胸腔镜肺楔形切除术使用该技术镇痛效果显著。

本研究中,观察组术后 2 h、12 h、24 h 的 VAS 评分和 Ramsay 评分均显著低于对照组,且观察组舒芬太尼用量显著低于对照组,提示超声引导下的 RISS 平面阻滞镇痛镇静效果良好,可减少麻醉药物用量。超声引导下进行 RISS 平面阻滞可通过实时超声成像清晰观察到腹直肌鞘和周围组织结构,麻醉药物可被更准确注射到腹直肌鞘和

其周围间隙中,通过扩散和局部作用,阻断感觉神经的传导通路,提高镇痛镇静效果^[11]。通过两组围术期血流动力学指标比较发现,插管后 10 min 和停药后 10 min,观察组收缩压、舒张压和心率显著低于对照组,表明超声引导下 RISS 平面阻滞在维持患者血流动力学稳定方面的作用更佳。其原因可能在于:交感神经兴奋会导致舒张压升高及外周血管收缩,进而增加心脏负荷和血管阻力,而神经阻滞可通过抑制交感神经兴奋,降低交感神经对心血管系统的调节作用,减轻血流动力学负担^[12]。

由于手术机械侵入、创伤、应激反应等,患者外周免疫系统被激活,常导致外周血 Cor、SP、PGE2、IL-6 水平变化^[13]。本研究中,观察组术后 12 h、24 h 的 Cor、SP、PGE2、IL-6 水平均低于对照组,表明 RISS 平面阻滞可抑制胸腹部手术患者术后应激反应及炎症反应。分析原因可能是神经阻滞麻醉可通过抑制交感神经活性来降低术中应激反应,减少应激激素及炎症介质的释放^[14]。此外,神经阻滞麻醉还可通过抑制神经传导减少术后神经损伤,间接减轻炎症反应^[15]。

本研究中,观察组麻醉不良反应发生率显著低于对照组,表明超声波引导下进行 RISS 平面阻滞具有较好的安全性。可能因为超声引导可通过精确注射避免手术操作中误伤周围神经、血管或组织,同时医师可以实时监测局部麻醉药物的扩散情况,及时调整注射位置和剂量,以达到理想的麻醉效果,减少术后镇痛药物的使用,降低不良反应发生风险。

综上所述,超声引导下的 RISS 平面阻滞应用于胸腹部手术中,镇静镇痛效果良好,且能减少患者应激反应和炎症反应,安全性高,值得推广。

参考文献

- [1] Fujii S, Bairagi R, Roche M, et al. Transversus Thoracis Muscle Plane Block[J]. Biomed Res Int, 2019,19(13):1716-1722.
- [2] Qiu Y, Zhang TJ, Hua Z. Erector Spinae Plane Block for Lumbar Spinal Surgery: A Systematic Review [J]. J Pain Res, 2020,13(4):1611-1619.
- [3] 姜媛美,谢永刚,马加海,等.超声引导下腹横肌平面阻滞复合小剂量瑞芬太尼麻醉诱导在全麻剖宫产术中的应用效果观察[J]. 山东医药, 2023,63(17):68-72.
- [4] 刘妃妃,李慧,冀培宁,等.超声引导下菱形肌联合前锯肌平面阻滞对胸腔镜肺叶楔形切除患者术后镇痛效果的临床研究[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2022,14(11):48-52.

(下转第 847 页)

NGAL、CysC 及 NLR 联合检测对脑血管造影介入术后发生 CI-AKI 的预测价值

张彬彬* 孙莹 刘薇

[摘要] **目的** 研究中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、胱抑素 C(CysC)及中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)联合检测对脑血管造影介入术后发生对比剂急性肾损伤(CI-AKI)的预测价值。**方法** 选取2021年5月至2023年5月于首都医科大学附属北京世纪坛医院行脑血管造影介入术的患者131例为研究对象,参考改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)制定的指南标准,分为CI-AKI组30例,非CI-AKI组101例。比较CI-AKI组与非CI-AKI组一般资料与实验室指标,将具有统计学意义的指标,进一步纳入多因素二元回归 Logistic 回归方程,分析影响 CI-AKI 的危险因素。采用 Pearson 相关性分析 NGAL、CysC 及 NLR 与术后 Scr 的相关性。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,分析 NGAL、CysC 及 NLR 单一与联合对术后 CI-AKI 的预测价值。**结果** 两组性别、年龄、脑血管疾病类型、体质指数、术前 Scr、UA、BUN、血红蛋白、血小板、术前应用药物比较差异无统计学意义($P>0.05$);两组术后 Scr、Scr 增值、eGFR、NGAL、CysC、NLR 水平及造影剂剂量比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。Logistic 回归分析结果显示,术后 Scr、Scr 增值、NGAL、CysC、NLR 水平及造影剂剂量均上升是影响 CI-AKI 的危险因素($P<0.05$)。Scr 增值、NGAL、CysC、NLR 水平及造影剂剂量均与术后 Scr 水平呈正相关($P<0.05$)。NGAL、CysC 及 NLR 联合预测灵敏度、特异度分别为 0.902、0.843, AUC 为 0.755, 95%CI 为 0.631~0.809 ($P<0.05$)。**结论** NGAL、CysC 及 NLR 水平上升是影响脑血管造影介入术后 CI-AKI 发生的危险因素,三指标对于早期诊断 CI-AKI 发生具有重要的预测价值,可为后续治疗及预后提供重要信息,且三者联合检测对 CI-AKI 诊断具有更高效能。

[关键词] NGAL; CysC; NLR; 脑血管造影介入术后; 对比剂急性肾损伤

The predictive value of combined detection of NGAL, CysC, and NLR in the incidence of CI-AKI after cerebrovascular angiography intervention

ZHANG Binbin*, SUN Ying, LIU Wei

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

[ABSTRACT] **Objective** To study the predictive value of combined detection of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), cystatin C (CysC) and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in the incidence of contrast agent acute kidney injury (CI-AKI) after cerebrovascular angiography intervention. **Methods** 131 patients who underwent cerebral angiography interventional surgery at Beijing Millennium Temple Hospital, Capital Medical University from May 2021 to May 2023 were selected as the study subjects. Following the guideline standards established by the Improving Kidney Outcomes Worldwide Organization (KDIGO), there were 30 cases in the CI-AKI group and 101 cases in the non-CI-AKI group. General information and laboratory indicators of both groups were compared, and statistically significant indicators were then incorporated into a multi-factor binary regression logistic regression equation to analyze the risk factors affecting CI-AKI. Pearson

基金项目:中国国家铁路集团有限公司科技研究开发计划(J2021Z612)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院放射科,北京 100038

*通信作者:张彬彬, E-mail: zhangbinbin8025@bjsjth.cn

correlation was used to analyze the correlation between NGAL, CysC, NLR, and postoperative Scr. A receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the single and combined predictive value of NGAL, CysC, and NLR for postoperative CI-AKI. **Results** There were no statistically significant differences in gender, age, type of cerebrovascular disease, body mass index, preoperative Scr, UA, BUN, hemoglobin, platelets, and preoperative medications between the two groups ($P>0.05$). However, there were statistically significant differences in postoperative Scr, Scr increment, eGFR, NGAL, CysC, NLR levels, and contrast agent doses between the two groups ($P<0.05$). Logistic regression results showed that Scr, Scr increment, NGAL, CysC, NLR levels and contrast dose increased after surgery were risk factors for CI-AKI ($P<0.05$). Scr proliferation, NGAL, CysC, NLR levels, and contrast dose were positively correlated with postoperative Scr levels ($P<0.05$). The joint prediction sensitivity and specificity of NGAL, CysC, and NLR were 0.902 and 0.843 respectively, with an AUC of 0.755, and a 95% CI of 0.631~0.809 ($P<0.05$). **Conclusion** Elevated levels of NGAL, CysC, and NLR are risk factors for the development of CI-AKI following cerebral angiography intervention. These three indicators hold significant predictive value for the early diagnosis of CI-AKI and can offer crucial information for subsequent treatment and prognosis. Combined detection of all three markers yields higher efficiency in diagnosing CI-AKI.

[KEY WORDS] NGAL; CysC; NLR; Cerebral angiography after interventional surgery; Contrast-induced acute kidney injury

脑血管造影介入术是一种通过内窥镜技术于人体内部进行的治疗方法,一般用于治疗脑血管疾病。近年随着医学影像学的迅速发展,含碘对比剂被广泛应用于脑血管造影介入术中。而对比剂具有强大的肾毒性,含碘对比剂所引起的急性肾损伤中无法避免,即对比剂急性肾损伤(contrast-induced acute kidney injury, CI-AKI)。据统计,CI-AKI发生率仅次于肾毒性药物、肾脏有效血流量灌注不足所引发的肾损伤,对患者生命健康造成严重威胁^[1]。故如何预测脑血管造影介入术后发生CI-AKI,进行早期防治,是临床的重点研究话题^[2]。既往临床常应用血肌酐(Serum creatinine, Scr)诊断CI-AKI发生,但是该指标灵敏度、特异度欠佳,易造成CI-AKI漏诊、误诊的现象^[3]。中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(Neutrophil gelatinase-associated lipid carrier protein, NGAL)能有效反映急性肾损伤,也是早期糖尿病肾病的有效标志物之一;已有研究表明,NGAL灵敏度高于Scr^[4]。胱抑素C(Cystatin C, CysC)属于非糖基化碱性蛋白,其水平升高可反映患者肾小球滤过功能的受损^[5]。中性粒细胞与淋巴细胞比值(Neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)作为一种新型复合型炎症指标,与多种疾病病理生理发展过程具有密切联系^[6]。对此,本文旨在研究NGAL、CysC及NLR联合检测在脑血管造影介入术后对比剂急性肾损伤中的预测价值。

1 一般资料

1.1 资料与方法

选取2021年5月至2023年5月于首都医科大学附属北京世纪坛医院行脑血管造影介入术的患者131例为研究对象。其中男97例,女34例,年龄20~78岁,平均年龄(60.22±13.46)岁。

纳入标准:①脑血管造影介入术前肾功能检查未存在肾损伤指征^[7];②近期未接触含碘对比剂者;③临床资料齐全,④年龄18岁及以上;排除标准:①对含碘对比剂过敏者;②心理、精神异常者,无法正常交流;③肝肾功能不全者。本研究经医院医学伦理委员会所批准,两组受检者对研究知情并签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 CI-AKI分组标准

参考改善全球肾脏病预后组织(Improving Kidney Disease Outcomes Worldwide, KDIGO)制定的指南标准^[8],CI-AKI组即注射对比剂后2 d内Scr绝对值至少上升26.5 μmol/L(0.3 mg/dL),或证实1星期内Scr较基线上升至少50%。非CI-AKI组则未达到上述标准。

1.2.2 NGAL、CysC及NLR检测

研究对象术后1 d抽取静脉血3 mL,进行离心(3 500 r/min,离心半径9 cm,15 min),采取上清液,应用酶联免疫法检测血清NGAL(试剂盒来自

基蛋生物科技股份有限公司)、CysC(试剂盒来自上海富雨生物科技有限公司),通过 Sysmex Europe XN-350 系列全自动五分类血细胞仪定检测中性粒细胞与淋巴细胞,计算 NLR^[6]。

1.2.3 一般资料收集

包括性别、年龄、脑血管疾病类型、体质量指数、术后 Scr、肾小球滤过率[(Glomerular filtration rate, eGFR),使用 CKD-EPI 公式计算得出^[8],以术前首次测得值为准]、尿酸(Uric acid, UA)、尿素氮(Urea nitrogen, BUN)、血红蛋白、血小板、术前应用药物、造影剂剂量。

1.3 观察指标

比较 CI-AKI 组与非 CI-AKI 组一般资料与实验室指标,将具有统计学意义的指标,进一步纳入多因素二元 Logistic 回归方程,回归方法为逐步法,分析影响 CI-AKI 的危险因素。分析 NGAL、CysC 及 NLR 与术后 Scr 的相关性;分析 NGAL、CysC 及 NLR 单一与联合对术后 CI-AKI 的预测价值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件统计,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,两组间使用 *t* 检验;计数数据采用 *n*(%)表示,并采用 χ^2 检验;运用二元回归 Logistic 分析影响 CI-AKI 的危险因素;采用 Pearson 分析

NGAL、CysC 及 NLR 与术后 Scr 的相关性;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 NGAL、CysC 及 NLR 单一与联合对术后 CI-AKI 的预测价值。均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CI-AKI 组与非 CI-AKI 组一般资料与实验室指标比较

CI-AKI 组 30 例,非 CI-AKI 组 101 例;两组性别、年龄、脑血管疾病类型、体质量指数、术前 Scr、UA、BUN、血红蛋白、血小板、术前应用药物比较差异无统计学意义($P > 0.05$);两组术后 Scr、Scr 增值、eGFR、NGAL、CysC、NLR 水平及造影剂剂量比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 影响 CI-AKI 的危险因素分析

将表 1 有差异指标纳入二元回归 Logistic 中,结果显示术后 Scr、Scr 增值、NGAL、CysC、NLR 水平及造影剂剂量均上升是影响 CI-AKI 的危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 NGAL、CysC、NLR 水平与术后 Scr 的相关性

Scr 增值、NGAL、CysC、NLR 水平及造影剂剂量均与术后 Scr 水平呈正相关($r=0.518、0.574、0.596、0.620、0.507, P < 0.05$)。

表 1 CI-AKI 组与非 CI-AKI 组一般资料与实验室指标比较 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of general data and laboratory indicators between CI-AKI group and non-CI-AKI group [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

指标	CI-AKI 组($n=30$)	非 CI-AKI 组($n=101$)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值	
性别	男	21(70.00)	76(75.25)	0.331	0.564
	女	9(30.00)	25(24.75)		
年龄(岁)	59.83±12.04	60.17±12.33	0.133	0.894	
脑血管疾病类型	脑实质出血	6(20.00)	27(26.73)	5.919	0.051
	脑梗死	10(33.34)	50(49.51)		
	蛛网膜下腔出血	14(46.66)	24(23.76)		
体质量指数(kg/m ²)	23.54±5.22	23.31±5.17	0.213	0.831	
术前 Scr(mg/dL)	0.53±0.10	0.50±0.10	1.442	0.151	
术后 Scr(mg/dL)	1.62±0.58	0.73±0.33	10.699	<0.001	
Scr 增值(mg/dL)	1.09±0.37	0.23±0.06	22.575	<0.001	
eGFR(mL·min ⁻¹ ·1.73 m ⁻²)	45.21±7.32	98.63±15.07	18.732	<0.001	
UA(mol/L)	341.58±38.53	337.83±38.27	0.470	0.638	
BUN(mol/L)	6.01±2.37	5.84±2.24	0.360	0.719	
血红蛋白($\times 10^{12}$ /mL)	136.55±18.42	138.66±18.67	0.545	0.586	
血小板($\times 10^9$ /mL)	145.66±37.52	150.11±38.07	0.563	0.573	
NGAL(ng/mL)	89.53±10.56	53.44±5.84	24.184	<0.001	
CysC(mg/L)	1.53±0.47	0.86±0.20	11.345	<0.001	
NLR		6.23±2.11	3.42±1.35	8.698	<0.001
术前应用药物	甘露醇	22(73.33)	65(64.36)	1.610	0.657
	他汀类	4(13.33)	12(11.88)		
	血管收缩药物	3(10.00)	20(19.80)		
	ACEI	1(3.34)	4(3.96)		
造影剂剂量(mL)	120.42±12.55	90.58±8.44	15.074	<0.001	

表2 Logistic分析影响CI-AKI的危险因素

Table 2 Logistic analysis of risk factors affecting CI-AKI

因素	赋值	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	P值
术后 Scr	0=0.6~1.3 mg/dL, 1=<0.6 mg/dL, >1.3 mg/dL	0.986	0.583	8.567	2.680	0.854~8.403	0.015
Scr 增值	实测值	1.021	0.618	8.446	2.775	0.826~9.321	0.020
NGAL	0=1~60 ng/mL, 1=<1 ng/mL, >60 ng/mL	0.776	0.458	9.537	2.172	0.885~5.331	<0.001
CysC	0=0.6~2.5 mg/L, 1=<0.6 mg/L, >2.5 mg/L	0.786	0.517	9.442	2.194	0.885~5.331	<0.001
NLR	实测值	0.845	0.538	8.879	2.327	0.811~6.682	<0.001
造影剂剂量	实测值	1.374	0.637	8.258	3.951	1.133~13.770	0.031

2.4 ROC曲线分析NGAL、CysC及NLR单一与联合对术后CI-AKI的预测价值

NGAL、CysC及NLR联合预测灵敏度、特异度分别为0.902、0.843，AUC为0.755，95%CI为0.631~0.809($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 ROC曲线分析NGAL、CysC及NLR单一与联合对术后CI-AKI的预测价值

Table 3 ROC curve analysis of the predictive value of NGAL, CysC, and NLR alone and in combination for postoperative CI-AKI

变量	灵敏度	特异度	标准误	AUC	95% CI	P值
NGAL	0.626	0.598	0.043	0.376	0.291~0.478	0.029
CysC	0.650	0.609	0.048	0.392	0.301~0.511	0.026
NLR	0.678	0.625	0.052	0.407	0.342~0.547	0.015
NGAL+ CysC+NLR	0.902	0.843	0.077	0.755	0.631~0.809	<0.001

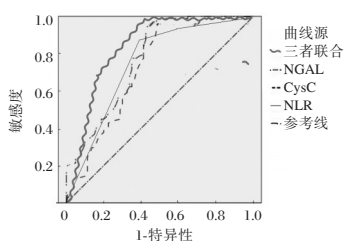


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis CI-AKI

3 讨论

临床公认1星期内Scr上升至少50%或48h内Scr上升26.5 $\mu\text{mol/L}$ 是诊断CI-AKI发生的标准。而近年国内外均有研究显示,Scr易受外界因素干扰,当患者发生肾功能损伤后,Scr上升时间缓慢,灵敏度较低^[9]。

本次研究比较CI-AKI组与非CI-AKI组一般资料与实验室指标,将具有统计学意义的指标进一步纳入多因素二元回归Logistic回归方程,结果显示NGAL、CysC、NLR水平上升是影响CI-AKI的危险因素,且NGAL、CysC、NLR水平均与术后

Scr水平呈正相关。NGAL是评价慢性肾脏疾病患者肾脏损伤程度的标志物,其对临床急性肾损伤的早期诊断、治疗和预后评估有着重要作用^[10]。国内外有研究^[11]发现,当发生急性肾损伤时,NGAL会在极短的时间内迅速升高,2h NGAL水平可达至顶峰。NGAL与Scr的最大区别在于,前者在体内不易被降解,可随尿液排出,肾功能情况可通过检测血液或尿液中NGAL水平了解。CysC是一种低分子量的非糖基化碱性蛋白,人体中的全部有核细胞均可分泌CysC,其水平升高可反映肾小球滤过功能的受损情况。当肾脏功能减退时,滤出液减少,相应的血中CysC水平会升高,CysC可正确判断患者肾脏功能^[12]。有研究^[13]表明,CysC水平的升高往往先于Scr升高,故CysC与Scr比较,前者能更快反映肾小球滤过时间。临床证实,在CI-AKI发生发展过程中炎症反应发挥一定作用,炎症反应不仅可介导CI-AKI发生,亦可导致CI-AKI患者死亡几率的增加^[14]。近年,有研究表明NLR可作为CI-AKI的预测因子,NLR能反映与中性粒细胞水平上升有关的炎症急性状态、因急性生理应激所致的淋巴细胞减少情况^[14]。在肾脏病领域,诸多研究^[15]表明NLR与肾脏疾病的不良预后具有密切联系。国外有研究^[16]显示,行冠状动脉造影及PCI治疗的患者中,NLR水平上升者,具有较高CI-AKI发生率。然而,仅应用NGAL、CysC单一检测,易受炎症、年龄等外界因素影响,且随着时间的推移,NLR的动态变化可能会影响结果的可靠性。本次研究通过联合NGAL、CysC及NLR检测,发现三指标联合预测灵敏度、特异度分别为0.902、0.843,AUC为0.755,95%CI为0.631~0.809,说明三指标联合可有效整合检查优势,提高检查效能,避免各检查间的重复检测或漏检。

综上所述,NGAL、CysC及NLR水平上升是影响脑血管造影介入术后CI-AKI发生的危险因素,三指标对于早期诊断CI-AKI发生具有重要的预测

价值,可为后续治疗及预后提供重要信息,且三者联合检测对CI-AKI诊断具有更高效能。

参考文献

- [1] 张洁,王晓红,杨华,等.急性心肌梗死部位及NT-pro BNP水平与STEMI患者行PCI后CI-AKI发生率的关系及意义研究[J].临床和实验医学杂志,2022,21(12):1254-1258.
- [2] 邓琳,龚鸿昌,黄华,等.肾血管阻力指数、血清胱抑素C、肌酐水平对危重症患者早期急性肾损伤的预测价值[J].山东医药,2021,61(34):87-90.
- [3] 崔红权.血清视黄醇结合蛋白与胱抑素C联合检测在肾脏疾病临床诊断中的价值分析[J].中国卫生检验杂志,2017,27(23):3425-3427.
- [4] 冯堃,夏似龙,邢兆辉.miR-133b靶向PTBP1对肾细胞癌增殖和侵袭的影响[J].医学分子生物学杂志,2022,19(5):353-359.
- [5] 鄢高亮,王栋,陈中璞,等.血清胱抑素C水平对老年冠状动脉介入术后患者造影剂诱导急性肾损伤发生及其远期预后的影响[J].中华老年医学杂志,2021,40(1):62-66.
- [6] 陈一辰.无症状高尿酸血症对血液透析慢性肾病患者心血管事件死亡的影响[J].保健医学研究与实践,2022,19(8):89-92.
- [7] 窦科,邹建华,黄翔,等.肾损伤的影像学检查及肾探查指征分析[J].中华创伤杂志,2005,21(12):915-918.
- [8] 王晓菁,陈海平.慢性肾脏病定义及分期系统修订的进展—2012-KDIGO慢性肾脏病临床管理实践指南解读[J].中华老年多器官疾病杂志,2014(5):396-400.
- [9] Du X, Ma Z, Li L, et al. Nicorandil Decreases Renal Injury in Patients With Coronary Heart Disease Complicated With Type I Cardiorenal Syndrome [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 78(5):675-680.
- [10] 李晓亮,张黎.中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白在诊断肾性贫血及评估病情中的应用价值[J].实用临床医药杂志,2022,26(18):83-86.
- [11] Anderson AH, Xie D, Wang X, et al. Novel Risk Factors for Progression of Diabetic and Nondiabetic CKD: Findings From the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study [J]. *Am J Kidney Dis*, 2021, 77(1):56-73.e1.
- [12] 郑晨晨,马冬冬,梁彩歌.脓毒症急性肾损伤患者应用间断血液透析联合乌司他丁治疗的临床观察[J].保健医学研究与实践,2022,19(8):59-61.
- [13] Potok OA, Ix JH, Shlipak MG, et al. The Difference Between Cystatin C- and Creatinine-Based Estimated GFR and Associations With Frailty and Adverse Outcomes: A Cohort Analysis of the Systolic Blood Pressure Intervention Trial (SPRINT) [J]. *Am J Kidney Dis*, 2020, 76(6):765-774.
- [14] 孙超,王学民,曹赫然,等.miR-338-3p靶向TCF4对人肾癌细胞增殖、凋亡和转移的调节[J].医学分子生物学杂志,2019,16(1):62-68.
- [15] 潘树滨,张芳晓,马晓春,等.中性粒细胞/淋巴细胞比值早期预测脓毒症器官功能损伤及28 d病死率的临床价值[J].中华危重病急救医学,2021,33(6):665-670.
- [16] Zhu KJ, Deng GS, Zhang LY, et al. Association of neutrophil-to-lymphocyte ratio with renal impairment among patients with acute gouty arthritis [J]. *Int Urol Nephrol*, 2022, 54(11):2995-3000.
- (上接第842页)
- [5] Ananthapadmanabhan S, Soodin D, Sritharan N, et al. Ramsay Hunt syndrome with multiple cranial neuropathy: a literature review [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2022, 279(5):2239-2244.
- [6] Pak BK, Kang DM, Kim SH. Vas Deferens Abscess Rupture: A Case Report [J]. *J Belg Soc Radiol*, 2022, 106(1):70-73.
- [7] 杨洋,杨明玉,马凤丹,等.超声引导下髂腰肌平面阻滞用于人工髋关节置换术后镇痛效果及对运动功能的影响[J].临床麻醉学杂志,2023,39(5):476-480.
- [8] 张倩,徐凯成,杨阳,等.超声引导下菱形-肋间-低位前锯肌平面阻滞的应用与研究进展[J].中国实验诊断学,2022,26(3):459-462.
- [9] 张吉刚,杨德军,王兆旭.超声引导下前锯肌阻滞辅助全身麻醉在乳腺癌根治术患者中的应用价值[J].癌症进展,2022,20(2):158-161.
- [10] 朱联周,阿尔达克·夏买提,余志佳.超声引导下肋间与胸椎旁神经阻滞对胸腔镜肺楔形切除术后急性疼痛及麻醉药用量的影响[J].中国实验诊断学,2023,27(7):784-789.
- [11] Wou F, Narayanan M. Transversus thoracic plane block consensus [J]. *Reg Anesth Pain Med*, 2022, 47(5):341-344.
- [12] Sethuraman RM. Erector spinae plane block versus paravertebral block in breast surgeries [J]. *BMC Anesthesiol*, 2022, 22(1):408-411.
- [13] Aksu C, Gurkan Y. Erector spinae plane block: New block with great expectations [J]. *Saudi J Anaesth*, 2019, 13(1):1-2.
- [14] De Cassai A, Bonvicini D, Correale C, et al. Erector spinae plane block: a systematic qualitative review [J]. *Minerva Anesthesiol*, 2019, 85(3):308-319.
- [15] Tran DQ, Bravo D, Leurcharusmee P, et al. Transversus Abdominis Plane Block: A Narrative Review [J]. *Anesthesiology*, 2019, 131(5):1166-1190.

CYFRA21-1、SCCA 及 NSE 在卵巢癌辅助诊断及预后评估中的作用

于一平* 尹雯 冯婧 钱素敏

[摘要] **目的** 分析细胞角蛋白19片段(CYFRA21-1)、鳞状细胞癌抗原(SCCA)及神经元特异性烯醇化酶(NSE)在卵巢癌辅助诊断及预后评估中的作用。**方法** 选取2020年12月至2022年7月于沧州市中心医院进行治疗的卵巢癌患者131例为研究对象(观察组),另选取80名同期院内健康体检者作为对照组。对比两组血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平;对比观察组I~II期、III~IV期的血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平;绘制ROC曲线,分析血清CYFRA21-1、SCCA、NSE单独检测及联合检测卵巢癌的价值;采用logistic回归分析影响卵巢癌预后的单因素、多因素。**结果** 血清CYFRA21-1、SCCA、NSE:观察组治疗前>观察组治疗后>对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);III~IV期患者的血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平均高于I~II期,差异具有统计学意义($P<0.05$);CYFRA21-1+SCCA+NSE联合诊断卵巢癌的AUC为0.851,高于三指标单独检测($P<0.05$);经随访,52例患者预后不良,79例患者预后良好;经过logistic多因素分析显示,临床分期为III~IV期、CYFRA21-1>2.08 ng/mL、SCCA>1.50 μ g/mL、NSE>12.50 ng/mL是影响卵巢癌预后的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 卵巢癌患者接受血清CYFRA21-1、SCCA、NSE辅助诊断,可有效提高疾病诊断价值,预测疾病进展。

[关键词] CYFRA21-1; SCCA; NSE; 卵巢癌

The role of CYFRA21-1, SCCA and NSE in the auxiliary diagnosis and prognosis of ovarian cancer

YU Yiping*, YIN Wen, FENG Jing, QIAN Sumin

(Department of Gynecology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061001)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze CYFRA21-1, SCCA and NSE in adjuvant diagnosis and prognosis assessment of ovarian cancer. **Methods** 131 patients with ovarian cancer who were treated at our hospital from December 2020 to July 2022 were selected as the study subjects (observation group). Another 80 healthy patients who underwent physical examinations at our hospital during the same period were selected as the normal control group. Serum levels of CYFRA21-1, SCCA and NSE were also compared between the two groups. The serum levels of CYFRA21-1, SCCA and NSE in the observation group were compared in stages I to II and III to IV. ROC curves were drawn to analyze the value of serum CYFRA21-1, SCCA, NSE alone, and combined detection for ovarian cancer. Logistic regression was used to analyze the single and multiple factors affecting the prognosis of ovarian cancer. **Results** Serum levels of CYFRA21-1, SCCA, and NSE: the observation group before treatment > the observation group after treatment > the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of CYFRA21-1, SCCA and NSE in the serum of patients in stages III~IV were higher than those in stages I~II ($P<0.05$). The AUC of CYFRA21-1 + SCCA + NSE in the diagnosis of ovarian cancer was 0.851, which was higher than that of CYFRA21-1, SCCA and NSE alone ($P<0.05$). After follow-up, 52 patients had a poor prognosis, and 79 patients had a good prognosis. Logistic multivariate analysis showed that clinical stages III~IV, CYFRA21-1 >2.08 ng/mL, SCCA >1.50 μ g/mL, NSE >12.50 ng/mL were independent risk factors for ovarian cancer prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** Ovari-

基金项目:沧州市科技计划自筹经费项目(213106059)

作者单位:沧州市中心医院妇科,河北,沧州 061001

*通信作者:于一平, E-mail: yuyiping01080816@163.com

an cancer patients who underwent serum tests for CYFRA21-1, SCCA, and NSE can effectively enhance the accuracy of diagnosis and offer valuable insights for predicting patient prognosis in clinical settings.

[KEY WORDS] CYFRA21-1; SCCA; NSE; Ovarian cancer

卵巢癌是常见的女性恶性肿瘤之一,当患有卵巢癌时,癌细胞可向大网膜以及子宫等器官扩散,致死率较高^[1]。由于卵巢位置较深,因此卵巢癌的早期症状不明显,这导致60%以上的患者初诊便被诊断为晚期。该疾病在治疗后易出现复发、转移,且预后较差,因此,早期明确诊断卵巢癌对其预后十分重要^[2]。目前,临床一般选择病理活检用以诊断卵巢癌,但该操作具有有创性,不适合用于大面积筛查卵巢癌。肿瘤标志物是由机体应对肿瘤细胞反应所产生,通常可在血液、体液、排泄物中被检测出,可反映肿瘤生长及存在,大多用于早期诊断肿瘤^[3]。单一肿瘤标志物特异度、敏感性较低,易造成漏诊或误诊,因此可联合多种肿瘤标志物检测用以提高卵巢癌的诊断价值^[4]。细胞角蛋白19片段(Cytokeratin-19-fragment, CYFRA21-1)、鳞状细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCCA)及神经元特异性烯醇化酶(Neuron-specific enolase, NSE)是常使用的肿瘤标志物,本文旨在CYFRA21-1、SCCA及NSE在卵巢癌辅助诊断及预后评估中的作用,报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年12月至2022年7月于沧州市中心医院进行治疗的卵巢癌患者131例为研究对象(观察组),平均年龄(46.65±7.57)岁;平均体质量(22.15±1.36)kg/m²;黏液性癌47例,浆液性癌71例,低分化腺癌13例;病理分级^[5]:G₁期41例,G₂期51例,G₃期39例;临床分期^[6]:I期18例,II期49例,III期48例,IV期16例。另选取80名同期院内健康体检者作为对照组。对照组均为女性;平均年龄(47.18±6.94)岁;平均BMI(22.51±1.48)kg/m²。两组研究对象一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理会批准。所有受试者均签署知情同意书。

观察组纳入标准:①经临床检查确诊,均符合卵巢癌的诊断标准^[7];②临床资料无缺乏者;③在确诊前,均未进行过手术、化疗或放疗;④均进行手术治疗,且无手术禁忌症。排除标准:①具有精

神、意识、语言障碍;②合并患有其他部位恶性肿瘤者;③患有严重免疫性疾病者。

1.2 方法

1.2.1 CYFRA21-1、SCCA、NSE检测

两组研究对象在检测前空腹12h以上,并于清晨空腹抽取5mL静脉血,将血液置于干燥试管内,以4000r/min转速、10cm离心半径离心15min处理,提取血清,于4℃保存。采用磁微粒化学发光法检测CYFRA21-1(试剂由北京利德曼生化股份有限公司提供)、NSE(试剂由北京贝尔生物工程股份有限公司提供),采用化学发光法检测SCCA(试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供)。严格按照试剂盒说明书执行。

1.2.2 随访

患者术后随访1年(随访截止时间为2023年7月),每3个月至医院复查1次,包括影像学检查及实验室检查,在随访期间有疾病进展、癌细胞转移或死亡的患者作为预后不良组,反之则为预后良好组。

1.3 观察指标

对比两组血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平;对比观察组I~II期、III~IV期的血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平;绘制ROC曲线,分析血清CYFRA21-1、SCCA、NSE单独检测及联合检测卵巢癌的价值;采用logistic回归分析影响卵巢癌预后的单因素、多因素。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验;绘制ROC曲线并计算血清CYFRA21-1、SCCA、NSE单独检测及联合检测卵巢癌的曲线下面积;采用Logistic多因素分析影响卵巢癌术后预后的相关因素;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平

血清CYFRA21-1、SCCA、NSE:观察组治疗前>观察组治疗后>对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CYFRA21-1 (ng/mL)	NSE (ng/mL)	SCCA ($\mu\text{g/mL}$)
对照组	80	0.74±0.38	5.73±3.62	0.54±0.32
观察组 治疗前		2.91±1.14 ^a	18.46±5.37 ^a	2.83±1.21 ^a
观察组 治疗后	131	2.28±0.85 ^{ab}	11.73±5.10 ^{ab}	1.96±0.84 ^{ab}
F值		146.39	173.16	152.16
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比较,^a $P<0.05$;与观察组治疗前相比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 卵巢癌不同临床分期者血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平

Ⅲ~Ⅳ期患者的血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平均高于Ⅰ~Ⅱ期,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 卵巢癌不同临床分期者血清CYFRA21-1、SCCA、NSE水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CYFRA21-1 (ng/mL)	NSE (ng/mL)	SCCA ($\mu\text{g/mL}$)
Ⅰ~Ⅱ期	67	2.51±0.34	16.73±3.65	2.45±0.96
Ⅲ~Ⅳ期	64	3.33±0.46	20.27±4.53	3.23±1.22
t值		11.638	4.935	4.076
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 各指标对卵巢癌的诊断价值

CYFRA21-1+SCCA+NSE联合诊断卵巢癌的AUC为0.851,高于三指标单独检测($P<0.05$)。见表3、图1。

2.4 影响卵巢癌预后的相关因素分析

经随访,发现有52例患者预后不良,79例患者预后良好;经过logistic回归分析显示,临床分期为Ⅲ~Ⅳ期、CYFRA21-1>2.08 ng/mL、SCCA>1.50 $\mu\text{g/mL}$ 、NSE>12.50 ng/mL是影响卵巢癌预后的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表3 ROC分析结果

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95% CI	P值
CYFRA21-1	75.85	69.29	0.518	0.438~0.597	<0.001
NSE	80.71	71.17	0.596	0.518~0.676	<0.001
SCC	81.93	69.90	0.613	0.535~0.690	<0.001
三者联合	90.38	92.85	0.851	0.794~0.907	<0.001

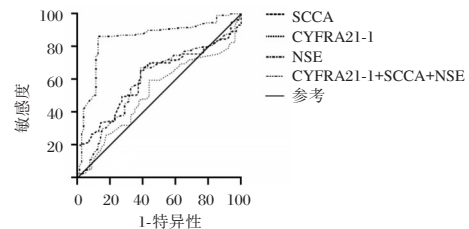


图1 各指标诊断卵巢癌价值

Figure 1 Diagnostic value of various indicators for ovarian cancer

3 讨论

卵巢癌是常见的恶性肿瘤,其具有较长的潜伏期,多数患者在初次诊断时已处于中晚期。有报道^[8]指出,卵巢癌早期患者经治疗后5年生存率可达90%,而晚期患者的5年生存率仅为27%,因此早期诊断以及监测病情对卵巢癌患者至关重要。

CYFRA21-1最早被用于检测非细胞肺癌,后逐渐被用于检测乳腺癌、卵巢癌等女性恶性肿瘤。当患者患有卵巢癌后,激活的蛋白酶会加速分解,从而释放大量CYFRA21-1进入到组织与体液中^[9]。何旻等^[10]发现,可通过检测CYFRA21-1筛查卵巢癌高危人群,对于已被诊断为卵巢肿瘤的患者,可通过检测阴道后穹隆或腹腔积液穿刺液中CYFRA21-1水平,鉴别肿瘤的良、恶性程度,从而降低卵巢癌的漏诊率。有研究^[11]指出,CYFRA21-1水平与非小细胞肺癌患者预后密切相关,当CYFRA21-1呈高水平时,患者预后不佳。本研究对131例卵巢癌患者随访1年,发现有52例患者预后不良,且预后不良患者的CYFRA21-1

表4 影响卵巢癌预后的相关因素

Table 4 Relevant factors affecting the prognosis of ovarian cancer

因素	单因素分析			多因素分析			
	OR值	95% CI	P值	赋值	OR值	95% CI	P值
病理分级	1.156	0.572~2.022	0.137				
分化程度	1.568	0.738~2.481	0.083				
临床分期	1.596	1.223~2.084	0.015	0=Ⅰ~Ⅱ期; 1=Ⅲ~Ⅳ期	1.736	1.026~2.437	0.001
CYFRA21-1	4.414	1.192~14.376	0.009	0= \leq 2.08 ng/mL; 1= $>$ 2.08 ng/mL	1.699	1.258~2.516	0.001
NSE	1.443	1.185~1.832	<0.01	0= \leq 12.50 ng/mL; 1= $>$ 12.50 ng/mL	1.585	1.221~2.057	0.001
SCC	1.474	1.185~1.832	<0.01	0= \leq >1.50 $\mu\text{g/mL}$; 1= $>$ 1.50 $\mu\text{g/mL}$	1.540	1.236~1.918	0.001

水平显著高于预后良好患者,提示 CYFRA21-1 水平与卵巢癌患者预后情况存在一定关系。进一步 logistic 回归分析显示, CYFRA21-1 高水平可影响卵巢癌患者预后,再次证明 CYFRA21-1 是评估卵巢癌患者预后的重要指标之一。

临床中 SCCA 常用于宫颈、食管、颈部、泌尿生殖道等鳞癌的病情检测以及预后评估。有报道^[12]指出, SCCA 水平与肿瘤大小、分级、淋巴转移情况以及对肌层的侵袭程度等现象关系密切,同时,相较于低水平 SCCA,高水平 SCCA 的患者在经过治疗后的生存率更低、复发率更高。当患者体内存在恶性肿瘤肿瘤时,肿瘤细胞会发生破裂,从而在外周血中释放大量 SCCA,导致 SCCA 水平显著升高。卵巢癌患者的病变组织会诱导 SCCA 过度表达, SCCA 全程参与卵巢癌肿瘤的发生、发展、转移以及浸润等过程^[13]。本次研究显示, SCCA>1.50 $\mu\text{g/mL}$ 是影响卵巢癌预后的独立危险因素之一。SCCA 水平往往被用于判断肿瘤的恶性程度,当 SCCA 水平呈异常升高时,往往提示病情可能出现恶化,且伴有复发、转移,因此 SCCA 可用于判断病程进展以及预后^[14]。

NSE 是一种糖酵解酶,也是神经细胞的蛋白标志物,其大量存在于神经组织以及内分泌组织中。研究^[15]证实,当含有 NSE 的神经组织或内分泌组织破裂时, NSE 会被释放到血液中,从而使血液中 NSE 的水平异常升高。祁慧兰等^[16]发现, NSE 在卵巢癌的发生、病情进展以及预后中具有重要作用。本研究显示,治疗后的 NSE 水平显著低于治疗前,这表明检测 NSE 水平变化可用于评估卵巢癌预后。logistic 回归分析显示, NSE>12.50 ng/mL 时可影响卵巢癌患者预后,这再次证实 NSE 可用于评估卵巢癌患者预后。

本研究发现, CYFRA21-1+SCCA+NSE 联合诊断卵巢癌的诊断价值高于三指标单独检测,说明联合检测可有效提高卵巢癌的诊断效能,与伍丽等^[17]的研究结果相似。笔者认为原因在于:单独检测时会受到其他疾病影响诱发指标异常,而三种指标联合检测时则可减少外部因素影响,因此联合检测时与患者疾病的诊断符合率更高。

综上所述,卵巢癌患者接受血清 CYFRA21-1、SCCA、NSE 辅助诊断时,可有效提高疾病诊断价值,预测疾病进展。

参考文献

- [1] 刘翠,李美艳,王菊荣. 细胞色素 C 氧化酶 COX7B2 在转移性卵巢癌的表达及临床意义[J]. 医学分子生物学杂志, 2023, 20(3): 243-248.
- [2] 李晓蒙,王想,姜惠. 医护一体化护理模式对卵巢癌患者负性情绪及预后的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(2): 124-126.
- [1] 祁真玉,曹辉,张志苏,等. Fascin1 mRNA 联合肿瘤标志物对结直肠癌患者术后淋巴结转移和生存预后的评估价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(7): 1270-1274.
- [4] 郑璐,刘晓岩,邵平. 上皮性卵巢癌患者血清肿瘤标志物水平对临床疗效及预后价值的探讨[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2020, 27(1): 9-12.
- [5] 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.
- [6] 韦奇秀,杨静梅,田永华,等. Ki-67 对晚期卵巢癌患者肿瘤细胞减灭术后复发转移的预测价值[J]. 临床误诊误治, 2022, 35(10): 33-37.
- [7] 周琦,吴小华,刘继红,等. 卵巢癌恶性肿瘤诊断与治疗指南(第四版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(7): 739-749.
- [8] 李晓蒙,王想,姜惠. 医护一体化护理模式对卵巢癌患者负性情绪及预后的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(2): 124-126.
- [9] Hamesch K, Guldiiken N, Aly M, et al. Serum keratin 19 (CYFRA21-1) links ductular reaction with portal hypertension and outcome of various advanced liver diseases [J]. BMC Med, 2020, 18(1): 336.
- [10] 何旻,陈观美,程其会,等. 血清 CEA 和 Cyfra21-1 水平及其与卵巢癌患者临床病理参数和预后的关系研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2021, 22(1): 20-22.
- [11] 李昊峻,丁汀,张韶岩,等. 人血清附睾蛋白 4 及联合癌胚抗原和细胞角蛋白 19 片段抗原在非小细胞肺癌诊断中的临床价值研究[J]. 心肺血管病杂志, 2020, 39(12): 1444-1448.
- [12] 游伟强,吴小延,王莉平,等. 外周血循环肿瘤细胞联合鳞状细胞癌抗原检测在子宫颈微小浸润性鳞状细胞癌诊断中的价值[J]. 热带医学杂志, 2022, 22(7): 915-919+924.
- [13] Visser E, Genet S, Kock R, et al. Liquid biopsy-based decision support algorithms for diagnosis and subtyping of lung cancer.[J]. Lung cancer, 2023, 178: 28-36.
- [14] 张莉,邓姜云,韩林育. 卵巢癌患者组织中 SCCA 及 MTA1 表达水平及其与临床特征的关系[J]. 海南医学, 2021, 32(23): 3007-3010.
- [15] Wihersaari L, Reinikainen M, Furlan R, et al. Neurofilament light compared to neuron-specific enolase as a predictor of unfavourable outcome after out-of-hospital cardiac arrest [J]. Resuscitation, 2022, 174: 1-8.
- [16] 祁慧兰,李鑫,王春兰. 血清 NSE、TSGF、FERR 及 CA125 联合检测对卵巢癌的诊断价值[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(10): 2254-2259.
- [17] 伍丽,黄健容,兰易,等. CEA、CA199 和 CA125 单独和联合应用在卵巢癌诊断中的效能分析[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(1): 56-57.

无创产前筛查在高龄妊娠染色体非整倍体筛查中的应用

刘建珍 陈鸿桢 欧阳碧微 许碧秋 覃燕龄 李熹翀 孟祥荣 林铿*

[摘要] **目的** 评价无创产前筛查(NIPT)在高龄妊娠染色体非整倍体筛查中的应用价值。**方法** 选取2018年2月至2022年5月在广州市花都区妇幼保健院接受NIPT检测的3 263例高龄妊娠孕妇纳入为高龄妊娠组,并以同期在本院接受NIPT检测的7 732例低龄妊娠孕妇纳入为低龄妊娠组,分析NIPT结果和染色体核型结果,比较两组的检测效能。**结果** 高龄妊娠组检出NIPT高风险17例(0.52%),T21、T18、T13及SCA的高风险检出率分别为0.12%、0.06%、0.12%和0.21%;低龄妊娠组检出NIPT高风险44例(0.52%),T21、T18、T13及SCA的高风险检出率分别为0.13%、0.06%、0.04%和0.28%,两组NIPT高风险检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.0006$, $P>0.05$)。高龄妊娠组T21、T18、T13及SCA的阳性预测值(PPV)分别100%、50%、25%和83.33%,复合PPV为68.75%(11/16);低龄妊娠组T21、T18、T13及SCA的PPV分别90%、40%、0%和31.82%,复合PPV为50%(18/36),两组的复合PPV比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.0298$, $P>0.05$)。**结论** NIPT在高龄妊娠染色体非整倍体的筛查效能与低龄妊娠组相近,能准确检测T21,对T18和T13的检测效率有待提高,对SCA也起着有效的筛查作用。

[关键词] 无创产前筛查; 高龄妊娠; 染色体非整倍体

Application of non-invasive prenatal testing for chromosome aneuploidy in advanced pregnancy

LIU Jianzhen, CHEN Hongzhen, OUYANG Biwei, XU Biqu, QIN Yanling, LI Xichong, MENG Xiangrong, LIN Keng*

(Department of Clinical Laboratory, Huadu Maternity and Child Healthcare Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510800)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the value of non-invasive prenatal testing (NIPT) in the screening of chromosomal aneuploidy in advanced pregnancy. **Methods** 3 263 elderly pregnancy patients who received the NIPT test at Huadu District Children's Health Care Hospital in Guangzhou City from February 2018 to May 2022 were selected as the elderly pregnancy group, and 7.732 young pregnancy patients who also received the NIPT test at our hospital during the same period to be included in the younger pregnancy group. The NIPT results and chromosome karyotype results, were analyzed and the detection efficiency of the two groups was compared. **Results** The high-risk rate of NIPT was found in 17 cases (0.52%), with high risk detection rates of T21, T18, T13 and SCA at 0.12%, 0.06%, 0.12% and 0.21%, respectively. There were 44 cases with a high risk of NIPT detected in the young pregnancy group (0.52%), and the high-risk detection rates for T21, T18, T13 and SCA were 0.13%, 0.06%, 0.04% and 0.28%, respectively. There was no significant difference in the high-risk detection rates of NIPT between the two groups ($\chi^2=0.0006$, $P>0.05$). The positive predictive values (PPV) for T21, T18, T13 and SCA were 100%, 50%, 25% and 83.33%, respectively, with a composite PPV of 68.75% (11/16). The PPV for T21, T18, T13 and SCA in the young pregnancy group was 90%, 40%, 0% and 31.82%, respectively, and the composite PPV was 50% (18/36). There was no significant difference in the composite PPV between the two groups ($\chi^2=0.0298$, $P>0.05$). **Conclusion**

基金项目:广州市花都区卫生健康局一般科研专项项目(22-HDWS-099);广州市花都区妇幼保健院(胡忠医院)院内科科研项目(2023B01)

作者单位:广州市花都区妇幼保健院检验科,广东,广州 510800

*通信作者:林铿, E-mail:443665333@qq.com

The screening efficiency of NIPT for chromosomal aneuploidies in advanced pregnancy is similar. It can accurately detect T 21, and the detection efficiency of T 18 and T 13 needs to be improved, NIPT also plays an effective screening role in SCA.

[KEY WORDS] Non-invasive prenatal testing; Advanced pregnancy; Chromosome aneuploid

染色体非整倍体病是新生儿出生缺陷的主要原因,出生缺陷不但影响儿童的生命健康,而且影响国家出生人口素质^[1]。21-三体综合征(21-trisomy syndrome, T21)、18-三体综合征(18-trisomy syndrome, T18)、13-三体综合征(13-trisomy syndrome, T13)及性染色体非整倍体(sex chromosomal aneuploidy, SCA)是人类最常见的染色体非整倍体病。无创产前筛查(non-invasive prenatal testing, NIPT)通过采集孕妇外周血,利用新一代高通量测序技术对孕妇外周血中胎儿游离DNA进行检测,评估胎儿患21、18、13-三体综合征的风险率。作为一种高效的产前筛查技术,NIPT在染色体非整倍体的检测效能已经得到了肯定^[2]。在国家卫生计生委办公《关于规范有序开展孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断工作的通知》中,预产期 ≥ 35 岁的高龄孕妇是NIPT的“慎用人群”^[3],NIPT在高龄妊娠的应用报道较少,其应用价值有待进一步研究。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集2018年2月至2022年5月于在广州市花都区妇幼保健院接受NIPT筛查的3263例高龄妊娠孕妇资料纳入高龄妊娠组,并以同期在本院接受NIPT检测的7732例低龄妊娠作为对照,纳入低龄妊娠组。纳入标准:孕12周以上,因临床或个人要求行NIPT检测。排除标准:①孕周 < 12 周;②夫妇一方有明显的染色体异常;③1年内接受过异体输血、移植手术、异体细胞治疗等;④胎儿超声检查提示有结构异常须进行产前诊断;⑤有基因遗传病家族史或提示胎儿罹患遗传基因高风险;⑥孕期合并恶性肿瘤;⑦医师认为有明显影响结果准确性的其它情形。本研究通过本院伦理委员会审核并批准通过。

1.2 试剂及仪器

胎儿染色体非整倍体(T13/T18/T21)检测试剂盒购自广州市达瑞生物科技股份有限公司(国械注准:20160061)。主要仪器包括达瑞生物DA8600高通量测序仪。采用和能生物(粤穗食药

监械生产备20140029号)及达晖生物(粤穗食药监械生产备20150044号)培养基培养羊水细胞,北昂BEION V4.20染色体分析系统进行核型分析。

1.3 研究方法

1.3.1 NIPT检测

用EDTA抗凝管采集孕妇外周血10 mL,2 h于分离血浆。分离后的血浆行DNA提取、文库构建、模板制备及富集后,采用DA 8600测序仪进行测序,测序数据经去低质量、去重复、GC校正等处理后,分别计算13、18和21号染色体的Z值,Z值在 $-3 \sim 3$ 评估为低风险,Z值 ≥ 3 或Z值 ≤ -3 时评估为高风险。

1.3.2 羊水染色体核型分析

对羊水细胞行双线培养,待有大量分裂期细胞贴壁生长时,加秋水仙素继续培养2 h,按标准操作规程行收获-制片-G显带。使用北昂BEION V4.20染色体分析系统进行核型分析,计数来自两线培养基的20个细胞,如遇到嵌合体,加至计数50个细胞以上^[4-5],并分析5个核型,核型按《人类细胞遗传学的国际命名体制(ISCN 2016)》^[5-6]进行描述。

1.4 妊娠结局随访

对高风险孕妇追踪其妊娠结局,对低风险孕妇行产前和产后随访,以分娩后无出生缺陷为阴性。

1.5 统计学分析

采用PRISM V5.0软件处理数据。计数资料 $n(\%)$ 表达,行 χ^2 卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NIPT高风险的检出情况

高龄妊娠组中NIPT高风险检出率为0.52%(17/3262),以SCA占比最高,达41.18%(7/17);低龄妊娠组中,NIPT高风险检出率为0.52%(44/7732),以SCA和T21占比最高,分别为50.00%(22/44)和22.72%(10/44)。高龄妊娠组和低龄妊娠组NIPT高风险检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.0006, P > 0.05$)。NIPT高风险的检出情况见表1。

表1 高龄妊娠组和低龄妊娠组NIPT高风险的检出情况
[n(%)]

Table 1 Detection of high risk of NIPT in the advanced and young pregnancy groups [n(%)]

组别	n	T21	T18	T13	SCA	总计
高龄妊娠组	3 262	4(0.12)	2(0.06)	4(0.12)	7(0.21)	17(0.52)
低龄妊娠组	7 732	10(0.13)	5(0.06)	3(0.04)	22(0.28)	44(0.52)

2.2 NIPT 高风险孕妇的羊水核型分析情况

61例NIPT高风险孕妇中52例选择行介入性产前诊断。经羊水染色体核型确诊染色体异常29例,有29例染色体核型结果与NIPT结果一致,其中高龄妊娠组符合率为64.71%(11/17),低龄妊娠组符合率为40.91%(18/44)。见表2。

2.3 NIPT 在 高 龄 妊 娠 和 低 龄 妊 娠 的 检 测 效 能 比 较

高龄妊娠组T21、T18、T13及SCA的PPV分别为100%、50%、25%和83.33%,复合PPV为68.75%(11/16);低龄妊娠组T21、T18、T13及SCA的PPV分别为90%、40%、0%和31.82%,复合PPV为50%(18/36),两组的复合PPV比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.0298, P>0.05$)。见表3。

2.4 高龄妊娠组的随访情况

高龄妊娠中,对3 246例NIPT提示低风险孕

表2 高龄妊娠组和低龄妊娠组羊水核型确诊情况

Table 2 Diagnosis of amniotic fluid nuclear type in the advanced pregnancy group and the younger pregnancy group

组别	NIPT 高风险 (例)	羊水染色体核型确诊例数 (核型分析例数)				总计
		T21	T18	T13	SCA	
高龄妊娠组	17	4(4)	1(2)	1(4)	5(6)	11(16)
低龄妊娠组	44	9(10)	2(5)	0(3)	7(18)	18(36)

妇进行电话回访,52例失访,3 194例孕妇后续产检未发现假阴性,均表示新生儿出生后发育情况良好。17例NIPT高风险中,1例拒绝产前诊断,16例NIPT高风险的核型结果及妊娠结局情况。见表4。

3 讨论

随着晚婚女性日益增加、国家计划生育开放及辅助生殖技术的发展,高龄孕妇逐年增多。高龄孕妇卵巢功能衰退,卵母细胞调控基因功能下降,卵细胞在减数分裂期时染色体容易出现不分裂,导致其生育胎儿染色体异常的几率增加^[6]。21、18、13-三体综合征是人类最常见的染色体非整倍体疾病,患儿有先天性智力低下及其他严重缺陷,给家庭和社会带来沉重负担,故对高龄妊娠胎

表3 NIPT对高龄妊娠和低龄妊娠的检测效能比较

Table 3 Comparison of the detection performance of NIPT for advanced and young pregnancies

项目	高龄妊娠组(n=3 263)				低龄妊娠组(n=7 732)			
	T21	T18	T13	SCA	T21	T18	T13	SCA
PPV(%)	100.00	50.00	25.00	71.43	90.00	40.00	0.00	31.82
NPV(%)	100.00	100.00	100.00	99.97	100.00	100.00	100.00	100.00
灵敏度(%)	100.00	100.00	100.00	83.33	100.00	100.00	100.00	100.00
特异度(%)	100.00	99.97	99.91	99.94	99.99	99.96	99.96	99.80

表4 17例高龄妊娠非整倍体高风险病例信息及妊娠结局

Table 4 Information on 17 high-risk cases of aneuploidy in advanced pregnancy and pregnancy outcomes

编号	年龄(岁)	孕周(周)	妊娠方式	NIPT结果	核型结果	妊娠结局
1	35	13	自然受孕	T21	T21	终止妊娠
2	37	14	自然受孕	T21	T21	终止妊娠
3	36	20	自然受孕	T21	T21	终止妊娠
4	35	16	自然受孕	T21	T21	宫内死胎
5	42	18	自然受孕	T18	T18	终止妊娠
6	38	19	自然受孕	T18	46,XN	继续妊娠
7	42	16	自然受孕	T13	46,XN	继续妊娠
8	37	16	自然受孕	T13	46,XN	继续妊娠
9	46	15	辅助生殖受孕	T13	47,XXX	继续妊娠
10	44	18	自然受孕	T13	T13	终止妊娠
11	35	19	自然受孕	47,XXY	47,XXY	终止妊娠
12	35	18	自然受孕	47,XXY	47,XXY	终止妊娠
13	35	13	自然受孕	47,XXX	拒绝产前诊断	继续妊娠
14	35	12	自然受孕	47,XYY	47,XYY	继续妊娠

儿行有效的产前筛查具有重要意义。传统的产前筛查方法主要依赖血清学筛查,该技术敏感性和特异性较低。产前诊断是诊断胎儿染色体非整倍体的金标准,但有流产、宫内感染等风险。NIPT作为非侵入性胎儿非整倍体筛查的重要手段,具有无创性、灵敏度、特异度高等优点,极大缓解了孕妇的心理负担。高龄孕妇在NIPT技术中属于慎用人群^[3],但研究表明,NIPT技术在高龄孕妇中也有良好的检测性能^[7]。

本研究中,高龄妊娠组NIPT高风险检出率为0.52%,较禚淑霞等^[8]研究的0.84%稍低,可能是本研究只针对T21、T18、T13和SCA,而未包括其他染色体异常。本研究高龄妊娠组与低龄妊娠组在NIPT高风险检出率一致,差异无统计学意义,这与多篇报道结论不符^[9]。可能是本研究的高龄孕妇多数未做血清学的唐氏筛查而直接选择行NIPT检测,而低龄孕妇基本都是先行了早期或者中期唐氏筛查,结果为血清学高风险或者临界风险才行NIPT检测,所以导致低龄妊娠组更多染色体异常被检出。本研究NIPT高风险以21-三体综合征和SCA为主,这与21-三体和SCA比18、13-三体在人群中的发病率更高是一致的,据报道,在新生儿的发病率中,21-三体和SCA分别高达1/800和1/500,而18、13-三体则分别为1/5 000和1/7 000^[10]。

在NIPT三个目标疾病中,T21的PPV最高,而T13最低,与国内报道一致^[11]。据研究,13号染色体GC含量较低,测序对GC含量具有偏向性,使测序时容易出现误差,而T13胎盘面积较小,外周血中提取的胎儿游离DNA含量较少^[12],从而减低了T13在NIPT的准确性。本研究中,高龄妊娠组对T21、T18和T13的PPV均较低龄妊娠组高,两组总体筛查符合率无差异,提示NIPT检测在高龄妊娠和低龄妊娠孕妇中同样适用。

SCA虽然不属于NIPT的目标疾病,但2016年国家卫计委发布的通知中明确规定,对于目标疾病以外的其他异常高风险结果,检测机构应告知孕妇建议作进一步咨询和诊断^[13]。SCA在胎儿期一般不会引起严重畸形,常规超声难以发现^[14]。NIPT能在早期提示胎儿SCA,帮助孕妇及早知情并做进一步决定。本研究高龄妊娠组SCA的PPV达83.33%,与国内研究^[15]的83.9%结果相近。NIPT对SCA的筛查能力虽不如T21,但仍较T18和T13高,有望在未来通过提高检测技术等手段,

加入NIPT的检测目标中。

综上所述,NIPT在胎儿染色体非整倍体筛查具有较高的检测效能,对高龄妊娠孕妇同样适用。NIPT对T21检测准确高,对SCA也起到良好的筛查作用,但作为一项筛查技术,NIPT仍存在假阳性,其检测效能仍有待完善及优化。

参考文献

- [1] 刘珍,周阳文,李小洪,朱军.出生缺陷防控健康教育专家共识[J].中国妇幼保健,2022,37(5):775-779.
- [2] 刘建珍,陈鸿楨,林铿.广州地区7656例孕妇无创基因产前筛查结果分析[J].世界最新医学信息文摘,2021,21(32):311-313.
- [3] 国家卫生计生委办公厅.孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断技术规范[S].国卫办妇幼发,2016(45号):9.
- [4] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会,张雪梅,戚庆炜,胡婷.胎儿染色体核型分析判读指南[J].中华医学遗传学杂志,2021,38(5):409-413.
- [5] McGowa-Jordan J, Simons A, Schmid M. ISCN 2016: an international system for human cytogenomic nomenclature (2016)[M]. New York: Karger, 2016: 10.
- [6] Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences[J]. Endocr Rev, 2009, 30(5):465-493.
- [7] 宁昊丰,柴玉琼,王亚男.2125例高龄孕妇无创DNA产前检测结果分析[J].实验与检验医学,2022,40(2):237-240.
- [8] 禚淑霞,谢小雷,陈晨.无创产前基因检测技术在胎儿染色体非整倍体检测中的临床应用[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(3):529-532+538.
- [9] 宁昊丰,柴玉琼,王亚男.2125例高龄孕妇无创DNA产前检测结果分析[J].实验与检验医学,2022,40(2):237-240.
- [10] 侯亚萍,杨洁霞,郭芳芳,等.广东地区6668例孕妇无创DNA产前检测结果分析[J].中国妇幼保健,2017,32(6):1241-1244.
- [11] Liang D, Cram DS, Tan H, et al. Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes[J]. Genet Med, 2019, 21(9):1998-2006.
- [12] Dotters-Katz SK, Hardisty E, Campbell E, et al. Trisomy 13-comfined placent al.Trisomy 13 - confined placental mosaicism: is there an increased risk of gestational hypertensive disorders[J]. Prenatal Diagnosis, 2017, 37(9):938-939.
- [13] 国家卫生计生委办公厅.国家卫生计生委办公厅关于规范有序开展孕妇外周血胎儿游离DNA产前筛查与诊断工作的通知:国卫办妇幼发[2016]45号[A/OL].(2016-10-27)[2020-01-30].http://www.nhc.gov.cn.
- [14] 丁旭锋,马年娣,史卿菁,等.性染色体数目异常疾病在新生儿期进行筛查的意义[J].中国优生与遗传杂志,2019, 27(9):1149-1152.
- [15] 左娟,刘洁,朱瑾,等.无创基因检测(NIPT)对胎儿染色体异常筛查的临床应用[J].现代检验医学杂志,2018, 33(5):15-18.

高血压脑出血后早期脑水肿血清MMP-9、BDNF及IL-18水平变化

王强* 王萃 赵燕 张敏 王稳

[摘要] **目的** 分析高血压脑出血后早期脑水肿血清基质金属蛋白酶9(MMP-9)、脑源性神经生长因子(BDNF)及白介素18(IL-18)水平变化。**方法** 本研究采用回顾性、大样本、对照的方法,经纳入、排除标准,筛选2020年12月至2021年12月衡水市第二人民医院神经外科收治住院的高血压脑出血患者224例作为脑水肿组,据术后脑水肿指数大小将患者分为中高度脑水肿组102例和轻度脑水肿组122例,另选取同期于本院行体检的健康人群118名作为正常对照组。比较脑水肿组、正常对照组血清MMP-9、BDNF及IL-18水平;分析脑水肿组入院24h、36h、48h、72h血清MMP-9、BDNF及IL-18水平变化趋势;采用单变量分析影响脑水肿轻重程度的因素,采用多变量分析评估与脑水肿轻重程度独立相关的因素。**结果** 脑水肿组血清MMP-9、IL-18水平均高于对照组,BDNF水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);脑水肿组随着时间增长,MMP-9、IL-18水平随之上升,差异具有统计学意义($P<0.05$)。脑水肿组随着时间增长至48h,BDNF水平逐渐降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。高度脑水肿组、轻度脑水肿组高血压病程、入院时收缩压、入院时舒张压、GCS评分、术前瞳孔有改变、手术时间、血肿量、手术方式、MMP-9、BDNF及IL-18水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。将单变量分析中 $P<0.05$ 的因素纳入二元Logistic回归模型中,经调整,发现高血压病程长、GCS评分低、手术时间长、血肿量高、手术方式为传统非显微手术、MMP-9及IL-18水平高、BDNF水平低是影响高血压脑出血早期脑水肿轻重程度的危险因素($P<0.05$)。**结论** 血清MMP-9、BDNF及IL-18水平与高血压脑出血后早期脑水肿的发生有密切联系,及时监测上述指标变化,对于降低脑水肿程度有十分重要的意义。

[关键词] MMP-9; BDNF; IL-18; 高血压; 脑出血后; 脑水肿

Changes in serum MMP - 9, BDNF and IL - 18 levels in early cerebral oedema after hypertensive cerebral hemorrhage

WANG Qiang*, WANG Cui, ZHAO Yan, ZHANG Min, WANG Wen

(Department of Neurosurgery, Hengshui Second People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and interleukin-18 (IL-18) in early brain edema after hypertensive cerebral hemorrhage. **Methods** In this study, a retrospective, large-sample, controlled method was used to screen 224 hypertensive cerebral hemorrhage patients admitted to the Department of Neurosurgery of the Second People's Hospital of Hengshui City as the cerebral oedema group from December 2020 to December 2021. Patients were classified into 102 cases of medium-high cerebral oedema and 122 cases of mild cerebral oedema according to the size of the cerebral oedema index after the operation. Additionally, 118 healthy individuals who had medical check-ups in the same period at the hospital were selected as the normal control group. To compare the serum levels of MMP-9, BDNF, and IL-18 in the cerebral oedema group and the normal control group, trends in these levels at 24 h, 36 h, 48 h and 72 h after admission to the hospital were analyzed. Univariate analysis was used to identify factors affecting the severity of cerebral oedema, and multivariate analysis

基金项目:河北省医学科学研究项目(20220281);衡水市科技计划项目(2020014067Z)

作者单位:衡水市第二人民医院神经外科,河北,衡水 053000

*通信作者:王强, E-mail: wangqiangaiwyc@163.com

was conducted to assess factors independently associated with the severity of cerebral oedema. **Results** The levels of serum MMP-9 and IL-18 in the cerebral oedema group were higher than those in the control group, while the BDNF level was lower than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). As time progressed in the cerebral oedema group, the levels of MMP-9 and IL-18 continued to increase significantly ($P<0.05$). In the cerebral oedema group, over 48 hours, the level of BDNF gradually decreased, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). When comparing the duration of hypertension, systolic blood pressure at admission, diastolic blood pressure at admission, GCS score, preoperative pupil changes, operation time, hematoma volume, operation method, and levels of MMP-9, BDNF, and IL-18 between the high cerebral oedema group and the mild cerebral oedema group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Factors with a P value of less than 0.05 in the univariate analysis were included in the binary logistic regression model. After adjustment, it was determined that a long duration of hypertension, low GCS score, extended operation time, high hematoma volume, traditional non-microscopic surgery, high levels of MMP-9 and IL-18, and low levels of BDNF were risk factors that influenced the severity of cerebral oedema in the early stages of hypertensive cerebral hemorrhage ($P<0.05$). **Conclusion** Serum levels of MMP-9, BDNF, and IL-18 are closely related to the occurrence of early cerebral oedema after hypertensive cerebral hemorrhage. Timely and close monitoring of changes in the above indicators is of great significance in reducing the degree of cerebral oedema.

[KEY WORDS] MMP-9; BDNF; IL-18; Hypertension; Post-cerebral hemorrhage; Cerebral oedema

高血压脑出血是临床常见的急性脑血管病。近年有数据显示,高血压脑出血年发病率为135/10万,占亚洲脑卒中患者全部20%~30%,其死亡率高达52%,且80%的存活者亦会遗留不同程度的并发症^[1]。其中,脑水肿是高血压脑出血后常见的并发症,对脑组织造成继发性二次损害,严重影响患者的健康和生命,同时也给家庭和社会带来沉重负担。高血压脑出血后早期脑水肿的发生发展与多种因素相关^[2]。近年来,越来越多研究探讨血清生物标志物与脑水肿的关联,如基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、脑源性神经营养因子(Brain-derived neurotrophic factor, BDNF)^[2-3]。MMP-9是一种与血管生成和脑水肿紧密相关的蛋白水解酶,高血压脑出血过程中,MMP-9的活性升高可能引发血脑屏障的破坏,进一步加重脑水肿。BDNF在神经再生和保护中发挥关键作用。多数学者认为,在神经损伤过程中炎症介质起到一定作用^[3-4]。白介素18(Interleukin 18, IL-18)是一种促炎细胞因子,参与脑出血后的炎症反应。本文旨在探讨高血压脑出血术后早期脑水肿形成的相关影响因素,以期为临床上预防和治疗高血压脑出血早期水肿及预后提供针对性的指导意见和参考。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

本研究采用回顾性、大样本、对照的方法。

纳入标准:①明确高血压病史,且临床资料完全、未失访;②经影像学检查确诊脑出血,且脑出血量30~90 mL;③符合高血压脑出血的相关诊断标准^[5];④发病至入院时间小于1 d;⑤均行手术治疗。排除标准:①其他原因所引发脑出血,如瘤卒中、动脉瘤等;②伴有脑内转移性疾病;③伴有其他脑内疾病或恶性肿瘤;④伴有其他心血管疾病;⑤肝肾功能不齐。

经纳入、排除标准,筛选2020年12月至2021年12月衡水市第二人民医院神经外科收治住院的高血压脑出血患者224例为脑水肿组。另选取同期于本院行体检的健康人群118名作为正常对照组。

其中脑水肿组男136例、女88例,平均年龄(64.57 ± 12.33)岁,出血位置:基底节区98例、丘脑63例、脑叶22例、其他41例;根据术后脑水肿指数大小^[5]将患者分为中高度脑水肿组102例和轻度脑水肿组122例。正常对照组男71名、女47名,平均年龄(63.88 ± 12.20)岁。两组资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血清检测

对照组于体检当日、脑水肿组于入院24 h、36 h、48 h、72 h,均空腹状态抽取静脉血3 mL,经抗凝操作后,离心($3\ 500\ \text{r/min}$, 10 min,离心半径10 cm),将血清分离,取1.5 mL血清放置EP管内,且按顺序标号,存放 -20°C 冰箱中待测。采用酶联

免疫吸附法检测血清 MMP-9、IL-18 水平,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定血清 BDNF 水平。试剂盒均来自杭州联科生物技术股份有限公司。

1.2.2 一般资料收集

收集患者基本情况及相关病史:包括性别、年龄、嗜烟史、酗酒史、糖尿病病史、高血压病程等。

术前查体及相关实验室检查资料:包括入院时收缩压、入院时舒张压、术前格拉斯哥(GCS)评分、术前瞳孔是否改变、纤维蛋白原、入院时随机血糖等。

与手术相关的资料:包括发病至手术开始时间、出血部位、血肿量、手术方式。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件包处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间用独立样本 *t* 检验,多组间用方差分析,两两比较采用 LSD 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,用 χ^2 检验;采用单变量分析影响脑水肿轻重程度的因素;采用多变量分析评估与脑水肿轻重程度独立相关的因素;*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 MMP-9、BDNF、IL-18 水平比较

脑水肿组血清 MMP-9、IL-18 水平均高于对照组, BDNF 水平低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 两组血清 MMP-9、BDNF、IL-18 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of 24-hour serum MMP-9, BDNF, and IL-18 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MMP-9(μg/L)	BDNF(μg/L)	IL-18(μg/L)
脑水肿组	224	146.55±19.34	2.59±0.27	186.73±21.72
正常对照组	118	118.37±18.66	3.22±0.34	105.63±15.83
<i>t</i> 值		12.964	18.713	35.844
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 脑水肿组入院各时间点血清 MMP-9、BDNF、IL-18 水平变化比较

脑水肿组随着时间增长, MMP-9、IL-18 水平随之上升,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。脑水肿组随着时间增长至 48 h, BDNF 水平逐渐降低,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

2.3 影响脑水肿轻重程度的单变量分析

两组性别、年龄、嗜烟史、酗酒史、糖尿病病史、纤维蛋白原、入院时随机血糖、出血部位比较,

表 2 脑水肿组入院各时间点血清 MMP-9、BDNF、IL-18 水平变化比较 [($\bar{x} \pm s$), μg/L]

Table 2 Comparison of serum levels of MMP-9, BDNF and IL-18 in cerebral edema group at different time points of admission [($\bar{x} \pm s$), μg/L]

时间点	MMP-9	BDNF	IL-18
24 h	146.55±19.34	2.59±0.27	186.73±21.72
36 h	160.58±20.19 ^a	1.80±0.20 ^a	213.45±22.60 ^a
48 h	191.02±20.91 ^{ab}	1.09±0.08 ^{ab}	253.73±23.48 ^{ab}
72 h	242.05±22.86 ^{abc}	1.44±0.13 ^{abc}	311.58±24.17 ^{abc}
<i>F</i> 值	920.22	2715.19	6821.19
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 24 h 比较,^a*P*<0.05;与 36 h 比较,^b*P*<0.05;与 48 h 比较,^c*P*<0.05。

差异无统计学意义(*P*>0.05)。两组高血压病程、入院时收缩压、入院时舒张压、GCS 评分、术前瞳孔有改变、手术时间、血肿量、手术方式、MMP-9、BDNF 及 IL-18 水平比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 3 影响脑水肿轻重程度的单变量分析 [*n*(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 3 Univariate analysis on the severity of brain edema [*n*(%), ($\bar{x} \pm s$)]

因素	高度脑水肿组 (<i>n</i> =102)	轻度脑水肿组 (<i>n</i> =122)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别				
男	60(58.83)	76(62.30)	0.280	0.596
女	42(41.17)	46(37.70)		
年龄(岁)	65.83±12.66	63.51±12.50	1.375	0.170
嗜烟史	40(39.21)	46(37.70)	0.053	0.816
酗酒史	37(36.27)	41(33.61)	0.174	0.676
糖尿病病史	26(25.49)	37(30.33)	0.643	0.422
高血压病程(年)	10.88±4.23	8.20±3.24	5.365	<0.001
入院时收缩压(mmHg)	174.60±37.64	163.71±36.40	2.195	0.029
入院时舒张压(mmHg)	114.77±28.69	103.91±27.75	2.872	0.004
GCS 评分(分)	5.47±1.02	9.45±2.30	16.191	<0.001
术前瞳孔改变	23(22.55)	101(82.79)	81.569	<0.001
纤维蛋白原(g/L)	3.49±0.68	3.40±0.67	0.994	0.321
入院时随机血糖(mol/L)	6.71±1.50	6.57±1.46	0.705	0.481
手术时间(h)	6.33±1.44	5.52±1.19	4.609	<0.001
出血部位			1.868	0.600
基底节区	46(45.10)	52(42.62)		
丘脑	30(29.41)	33(27.05)		
脑叶	7(6.86)	15(12.30)		
其他	19(18.63)	22(18.03)		
血肿量(mL)	49.24±8.96	37.27±7.60	10.818	<0.001
手术方式			58.196	<0.001
传统非显微手术	83(81.37)	37(30.33)		
显微手术	19(18.63)	85(69.67)		
MMP-9(μg/L)	151.77±19.85	142.18±19.15	3.670	<0.001
BDNF(μg/L)	3.03±0.48	2.22±0.24	16.357	<0.001
IL-18(μg/L)	202.57±22.08	173.48±21.46	9.971	<0.001

2.4 影响脑水肿轻重程度的多变量分析

将单变量分析中 $P < 0.05$ 的因素纳入二元 Logistic 回归模型中,经调整,发现高血压病程长、GCS 评分低、手术时间长、血肿量高、手术方式为传统非显微手术、MMP-9 及 IL-18 水平高、BDNF 水平低是影响高血压脑出血早期脑水肿轻重程度的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 影响高血压脑出血早期脑水肿轻重程度的危险因素多变量分析

Table 4 Multivariate analysis of risk factors affecting the severity of early cerebral edema in hypertensive intracerebral hemorrhage

因素	赋值	OR(95%CI)值	P 值
高血压病程	0=<9年, 1= \geq 9年	0.886(0.459~2.375)	0.022
入院时收缩压	0=<165 mmHg, 1= \geq 165 mmHg	0.569(0.374~1.552)	0.815
入院时舒张压	0=<105 mmHg, 1= \geq 105 mmHg	0.622(0.512~1.730)	0.746
GCS 评分	0= \geq 9分, 1=<9分	1.125(1.105~3.758)	0.018
术前瞳孔	0=无改变, 1=改变	0.639(0.584~1.255)	0.720
手术时间	0=<5.70 h, 1= \geq 5.70 h	1.526(0.968~3.772)	0.014
血肿量	0=<38 mL, 1= \geq 38 mL	1.796(1.086~4.215)	0.020
手术方式	0=显微手术, 1=传统非显微手术	2.885(1.374~3.775)	0.015
MMP-9	0=<145 μ g/L, 1= \geq 145 μ g/L	1.593(1.313~3.285)	0.006
BDNF	0=<2.45 μ g/L, 1= \geq 2.45 μ g/L	1.100(1.025~2.961)	0.002
IL-18	0=<180 μ g/L, 1= \geq 180 μ g/L	1.378(1.185~3.886)	<0.001

3 讨论

MMP-9 在人体中分布广泛,可介导蛋白水解机制,其在肿瘤转移、血管损伤及炎症反应中发挥重要作用。张建辉等^[6]研究显示,组织灌注不良的情况下,MMP-9 表达出现上升。Krishnamoorthy 等^[7]研究表明,MMP-9 在溶栓前预测急性缺血性卒中出血转化风险具有较高诊断价值。脑出血可能导致神经元的氧化应激损害,影响神经细胞的生存及功能。BDNF 属于神经营养因子家族,对神经系统的发育、神经元的存活以及神经细胞的再生和修复起着重要作用。有研究^[8]认为,为应对上述情况,BDNF 可与其受体结合发挥生物学功能,保护神经元免受氧化应激损害,促进神经干细胞的增殖和分化。高血压脑出血发生后,可释放大量炎症因子,加剧对脑组织的损伤。IL-18 属于关键的炎症因子,主要由巨噬细胞产生,神经组织亦可产生少数 IL-18^[9]。目前,有多项研究表明,IL-18

水平与脑组织损伤等相关疾病有关系。其中 Hao 等^[10]行横断面研究,发现脑损伤患者 IL-18 水平高于正常人群;另 2022 年国内学者李宝福等^[11]发现,脑损伤小鼠的 IL-18 水平在 12~24 小时内明显升高,并在一周内持续缓慢升高。基于上述研究,本研究推测 IL-18 在脑血肿中可能发挥重要作用。

本次研究结果显示,脑水肿组血清 MMP-9、IL-18 水平均高于对照组,BDNF 水平低于对照组。这一现象可能由以下几个原因造成:脑水肿发生时,脑组织受到损伤,血脑屏障完整性受到破坏,导致血管内物质容易渗透到脑组织中,MMP-9 水平升高。在脑水肿发生时,脑组织中炎症细胞被激活,产生大量 IL-18,进一步促进炎症反应的发生和发展。在脑水肿发生时,由于脑组织的损伤和炎症反应的影响,神经元生存环境受到破坏,导致 BDNF 的合成和分泌减少。进一步研究发现,随着时间推移,患者血清中 MMP-9 和 IL-18 水平呈上升趋势。表明在脑水肿发生和发展过程中,炎症反应起到重要作用。此外,随着时间推移,BDNF 水平逐渐降低,进一步证明神经元营养支持逐渐下降,与宋晓洁等^[12]研究结果类似。本研究为探究血清 MMP-9、BDNF 及 IL-18 水平与高血压脑出血后早期脑水肿的关系,将单变量分析中有差异的因素纳入二元 Logistic 回归模型中,发现高血压病程长、GCS 评分低、手术时间长、血肿量高、手术方式为传统非显微手术、MMP-9 及 IL-18 水平高、BDNF 水平低是影响高血压脑出血早期脑水肿轻重程度的危险因素。可见针对上述危险因素,需采用有效的干预降低脑水肿发生风险,及时监测血清 MMP-9、IL-18、BDNF 水平,对于减轻脑水肿程度及保护神经功能具有重要意义。

综上所述,血清 MMP-9、BDNF 及 IL-18 水平与高血压脑出血后早期脑水肿的发生有密切联系,及时严密监测上述指标变化,对于降低脑水肿程度有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 余紫娟,秦云龙,袁进国,等.尿酸水平对慢性肾脏病 3-4 期 IgA 肾病预后影响的回顾性分析[J].四川大学学报(医学版),2023,54(6):1121-1127.
- [2] 郑岩. HICH 患者血清凝血酶、MMP-9 水平与脑水肿及神经功能缺损的关系[J].检验医学与临床,2022,19(1):80-83.
- [3] 王艳,彭凤,周慧,等.血管内低温对高血压脑出血手术患者神经功能与心理的影响分析[J].实用医院临床杂志,2023,20(3):141-145.

(下转第 863 页)

慢性咳嗽儿童患者外周血 Th1/Th2 平衡与呼出气一氧化氮的相关性研究

郭艳霞* 左艳芳 李洪娜 沈丹华

[摘要] 目的 分析慢性咳嗽儿童患者外周血辅助性 T 细胞 1(Th1)/辅助性 T 细胞 2(Th2)平衡与呼出气一氧化氮(FeNO)的相关性。方法 选取 2021 年 2 月至 2022 年 7 月沧州市人民医院收治的慢性咳嗽儿童为研究对象为研究组($n=194$),另选同期在本院体检肺功能正常的健康儿童为对照组($n=100$)。比较两组外周血的 Th1、Th2、Th1/Th2 以及 Th1 类细胞因子[干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素 2(IL-2)]、Th2 类细胞因子[白细胞介素 4(IL-4)、白细胞介素 5(IL-5)]水平;比较两组 FeNO 水平差异;采用 Pearson 相关系数分析外周血 Th1/Th2 平衡及其细胞因子与 FeNO 的关系。结果 研究组外周血的 Th1、Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2 水平均低于对照组,差异均具有统计学意义($t=15.170$ 、 16.347 、 15.785 、 15.815 , 均 $P<0.05$);研究组外周血的 Th2、IL-4、IL-5 水平均高于对照组,差异均具有统计学意义($t=8.313$ 、 16.911 、 17.518 , 均 $P<0.05$);研究组的 FeNO 水平高于对照组,差异具有统计学意义($t=10.897$, $P<0.05$); Pearson 相关系数分析结果显示,外周血 Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2 与 FeNO 呈负相关($P<0.05$), IL-4、IL-5 与 FeNO 呈正相关($P<0.05$)。结论 慢性咳嗽患儿体内 FeNO 水平升高可能与外周血 Th1/Th2 失衡有关。

[关键词] 慢性咳嗽;儿童;呼出气一氧化氮;Th1/Th2 平衡

Correlation between Th1/Th2 balance in peripheral blood and fractional exhaled nitric oxide in children with chronic cough

GUO Yanxia*, ZUO Yanfang, LI Hongna, SHEN Danhua

(Department of Pediatrics, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between helper T cell 1 (Th1)/helper T cell 2 (Th2) balance in peripheral blood and fractional exhaled nitric oxide (FeNO) in children with chronic cough. **Methods** Children with chronic cough who were admitted to Cangzhou People's Hospital from February 2021 to July 2022 were selected as the study subjects and referred to as the research group ($n=194$). Healthy children with normal lung function in our hospital during the same period were chosen as the control group ($n=100$). The levels of Th1, Th2, Th1/Th2 and Th1 cytokines [interferon- γ (IFN- γ), interleukin 2 (IL-2)] and Th2 cytokines [interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5)] in peripheral blood of the two groups were compared. FeNO levels were compared between the two groups. The Pearson correlation coefficient was used to analyze the relationship between Th1/Th2 balance and FeNO in peripheral blood. **Results** The levels of Th1, Th1/Th2, IFN- γ and IL-2 in the peripheral blood of the study group were lower than those of the control group, with statistical significance ($t=15.170$, 16.347 , 15.785 , 15.815 , $P<0.05$). Th2, IL-4 and IL-5 levels in the peripheral blood of the study group were higher than those of the control group, and the differences were statistically significant ($t=8.313$, 16.911 , 17.518 , $P<0.05$). The FeNO level in the research group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($t=10.897$, $P<0.05$). Pearson correlation coefficient analysis showed that Th1/Th2, IFN- γ and IL-2 in peripheral blood were negatively correlated with FeNO ($P<0.05$), while IL-4 and IL-5 were positively correlated with FeNO ($P<0.05$). **Conclusion** The elevated FeNO

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20220302)

作者单位:沧州市人民医院儿科,河北,沧州 061000

*通信作者:郭艳霞, E-mail:Gyx20230823@163.com

levels in children with chronic cough may be related to an imbalance of Th1/Th2 cells in the peripheral blood.

[KEY WORDS] Chronic cough; Children; Fractional exhaled nitric oxide; Th1/Th2 balance

慢性咳嗽是儿科门诊常见的呼吸系统疾病,引起儿童出现慢性咳嗽的病因包括咳嗽变异性哮喘、感染后咳嗽、过敏性咳嗽、嗜酸粒细胞性支气管炎以及上气道咳嗽综合征等,持续咳嗽会严重影响患儿的身心健康与日常生活^[1]。气道炎症反应在慢性咳嗽的发病机制中占有重要地位,炎症介质会刺激活化咳嗽感受器,增加传入神经末梢C纤维的敏感性,从而导致咳嗽高敏状态以及降低咳嗽阈值,而且反复咳嗽又会激活化学介质加重炎症反应,使咳嗽症状更为严重^[2]。辅助性T细胞1(Helper T cell 1, Th1)、辅助性T细胞2(Helper T cell 2, Th2)均由CD4+T细胞分化形成,在机体免疫正常时处于动态平衡状态,能够发挥免疫调节与维持机体免疫微环境平衡,对呼吸道免疫反应与炎症反应具有重要影响^[3]。有研究表明,气道炎症反应与Th1/Th2免疫失衡密切相关,Th1和Th2细胞中某一亚群功能异常均会诱导炎症反应或参与免疫抑制,而且由Th1、Th2细胞分泌的细胞因子对应激状态下的炎症反应具有一定调控作用,影响机体致炎与抗炎反应之间的平衡状态^[4]。呼出气一氧化氮(Fractional exhaled nitric oxide, FeNO)检测是测定机体气道一氧化氮水平的无创方法,与机体嗜酸性粒细胞气道炎症反应密切相关,其在预测疾病急性加重、监测气道炎症水平以及评估抗炎症治疗效果等方面发挥重要作用^[5]。本研究通过分析慢性咳嗽儿童患者外周血Th1/Th2平衡与FeNO的相关性,为临床诊治提供参考意见。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2021年2月至2022年7月沧州市人民医院收治的194例慢性咳嗽儿童为研究对象为研究组,其中男性128例,女性66例;年龄3~12岁,平均年龄(6.47±1.64)岁。病例纳入标准:①均符合《中国儿童咳嗽诊断与治疗临床实践指南(2021版)》^[6]中关于慢性咳嗽的相关诊断标准,咳嗽>4周,病因包括咳嗽变异性哮喘、感染引起咳嗽及上气道咳嗽综合征等;②年龄≤12岁;③均为首次确诊。病例排除标准:①合并其他呼吸系统疾病者;②合并免疫性疾病或过敏性疾病者;③合并重要

器官功能障碍者;④合并恶性肿瘤者;⑤近1个月内存在使用免疫抑制剂或抗生素治疗者。另选100名同期在本院体检肺功能正常的健康儿童为对照组,其中男性70名,女性30名;年龄3~11岁,平均年龄(6.42±1.56)岁。所有儿童监护人均签署研究知情同意书。本研究已通过沧州市人民医院伦理委员会通过。

1.2 血清指标检测

采集所有儿童的静脉血6 mL分为2份置入乙二胺四乙酸抗凝管,每份3 mL。取1份静脉血,以荧光标记Th1、Th2的单克隆抗体对其进行标记,以FACSCalibur型流式细胞仪(美国Becton Dickinson公司)检测血清中的Th1、Th2细胞比例,并计算Th1/Th2比值;取另1份静脉血4℃下以5 000 r/min离心12 min(离心半径10 cm),将获取的上层清液置于-40℃低温环境下保存待检。采用酶联免疫吸附法检测血清中的干扰素- γ (Interferon, IFN- γ)、白细胞介素-2(Interleukin-2, IL-2)、白细胞介素-4(Interleukin-4, IL-4)及白细胞介素-5(Interleukin-5, IL-5)水平,按照试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)说明书完成相关检测操作。

1.3 FeNO检测

检测仪器选用Niox Mion测定仪(瑞典Aerocrine公司),检测前1 h禁止进食、剧烈运动等。检测时使用鼻夹夹紧受检儿童鼻部,让其排空肺部气体后,用力吸气到最大肺活量,然后通过滤嘴缓慢向测试仪器呼气。呼吸速度保持在50 mL/s左右,呼出时间为10 s,由仪器自动分析得出FeNO值。

1.4 统计学方法

以SPSS 22.0统计学软件分析采集的数据。服从正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,进行 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验;采用Pearson相关系数分析预测因子的相关性,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血Th1/Th2及其细胞因子水平比较

研究组外周血的Th1、Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2水平均低于对照组,Th2、IL-4、IL-5水平均高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 研究组与对照组外周血 Th1/Th2 及其细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of Th1/Th2 and its cytokine levels in peripheral blood between research group and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th1 (%)	Th2 (%)	Th1/Th2	IFN- γ (ng/L)	IL-2 (ng/L)	IL-4 (ng/L)	IL-5 (ng/L)
研究组	194	5.36 \pm 0.83	2.34 \pm 0.42	2.29 \pm 0.68	387.36 \pm 34.32	212.64 \pm 19.53	231.74 \pm 22.47	208.97 \pm 24.21
对照组	100	7.27 \pm 1.32	1.93 \pm 0.36	3.76 \pm 0.82	462.73 \pm 46.27	253.38 \pm 23.41	188.59 \pm 16.82	162.31 \pm 15.43
t值		15.170	8.313	16.347	15.785	15.815	16.911	17.518
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组的 FeNO 水平比较

研究组的 FeNO 水平高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表2 研究组与对照组的 FeNO 水平比较 [$(\bar{x} \pm s)$, ppb]Table 2 FeNO levels comparison between research group and control group [$(\bar{x} \pm s)$, ppb]

组别	n	FeNO
研究组	194	16.39 \pm 4.74
对照组	100	10.83 \pm 2.62
t值		10.897
P值		<0.001

2.3 慢性咳嗽儿童外周血 Th1/Th2 平衡及其细胞因子与 FeNO 的相关性

Pearson 相关系数分析结果显示,慢性咳嗽儿童外周血 Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2 与 FeNO 呈负相关($r=-0.381$ 、 -0.272 、 -0.388 , $P<0.05$), IL-4、IL-5 与 FeNO 呈正相关($r=0.341$ 、 0.419 , $P<0.05$)。

3 讨论

相关流行病学研究调查结果显示,我国儿童慢性咳嗽的患病率在 1.60%~26.42% 之间,呈现出较大的地区差异性。由于发病机制复杂,慢性咳嗽儿童需要进行反复多项的实验室检查才能明确发病原因,在疾病控制不佳时往往还需要进行多次转诊治疗,对患病儿童的生命健康造成了严重威胁^[7]。因此,分析与慢性咳嗽患儿发病机制相关的因子,对疾病的治疗与防控具有积极意义。

在正常情况下, Th1、Th2 细胞数目在机体各组织内保持相对稳定,当机体出现免疫功能异常时,会导致 Th1、Th2 及其细胞因子的表达水平发生改变^[8]。Chen 等^[9]研究表明,咳嗽变异性哮喘由多种炎症因素介导,其主要表现为 Th2 的免疫应答,与 Th2 相关的 IL-4、IL-5 等炎症因子通过诱导释放炎症介质,导致气道处于炎症细胞浸润,增加了气道敏感性,从而导致咳嗽变异性哮喘发生。徐万超等^[10]研究表明, Th2 通过分泌 IL-4 等炎症因子,介

导 B 细胞产生 IgE 抗体,刺激机体出现 I 型变态反应,引起气道水肿、黏液分泌增多,导致嗜酸粒细胞迁移聚集与释放炎症介质,从而引发气道炎症反应,促进哮喘的发病及进展。王志刚等^[11]研究指出,咳嗽变异性哮喘的发生发展与 Th1/Th2 细胞失衡及其分泌的细胞因子密切相关, Th1 主要通过分泌 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子参与调节细胞免疫与细胞感染的防御机制, IFN- γ 和 IL-2 能够拮抗 Th2 诱导的免疫反应以及抑制哮喘病情的进展。Deng 等^[12]研究认为, IFN- γ 具有广泛的免疫调节能力,能够抑制 Th2 细胞增殖分化,遏制嗜酸性粒细胞向气道聚集并阻断 IgE,在对抗气道炎症反应中起保护作用。本研究结果显示,研究组外周血的 Th1、Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2 水平均低于对照组, Th2、IL-4、IL-5 水平均高于对照组。分析原因可能是 Th1 及其分泌 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子分泌数量减少,导致 Th1/Th2 平衡向 Th2 偏移,与 Th2 相关 IL-4、IL-5 等细胞因子分泌水平增加,促使机体气道炎症反应加剧,从而使慢性咳嗽疾病的进展^[13]。当机体出现气道嗜酸粒细胞性炎症反应时,会增加一氧化氮合酶的表达,导致气道上皮产生的一氧化氮增加^[14]。FeNO 检测能够反映机体气道一氧化氮的水平。吴巾红^[15]研究指出, FeNO 在嗜酸粒细胞性气道炎症中的表达水平明显增高,可以作为嗜酸性粒细胞炎症标志物之一, FeNO 检测对于辅助评估气道炎症状态、指导治疗以及预测再发风险等方面具有重要作用,在哮喘、变应性鼻炎与慢性咳嗽等呼吸系统疾病中均得到较好应用。母东勤等^[16]研究指出,慢性咳嗽患儿多由于咳嗽变异性哮喘及呼吸道感染引起,其主要与嗜酸粒细胞性气道炎症相关,而气道炎症会使患儿 FeNO 水平异常升高。本研究结果显示,研究组的 FeNO 水平远高于对照组。分析原因可能是慢性咳嗽患儿体内的严重气道炎症反应,导致机体分泌大量的一氧化氮,从而引起 FeNO 水平增加。进一步 Pearson 相关系数分析结果显示,慢性咳嗽儿童外

周血 Th1/Th2、IFN- γ 、IL-2 与 FeNO 呈负相关, IL-4、IL-5 与 FeNO 呈正相关, 提示 FeNO 水平在一定程度上反映慢性咳嗽患儿体内 Th1/Th2 细胞失衡。分析原因可能是慢性咳嗽患儿体内 Th1/Th2 细胞失衡, 导致嗜酸性粒细胞释放趋化因子, 引起气道炎症反应加剧, 从而导致患儿体内 FeNO 水平升高。

综上所述, 慢性咳嗽患儿体内的 Th1 及 IFN- γ 、IL-2 水平降低, Th2 及 IL-4、IL-5 水平升高, Th1/Th2 平衡向 Th2 偏移, 其 FeNO 水平升高可能与外周血 Th1/Th2 失衡有关。

参考文献

- [1] Mukerji SS, Yenduri NJS, Chiou E, et al. A multi-disciplinary approach to chronic cough in children [J]. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, 2022, 7(2):409-416.
- [2] 刘智霖, 马建岭, 史利卿, 等. 难治性慢性咳嗽发病机制及治疗的研究进展[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2022, 51(4):578-584.
- [3] Luo W, Hu J, Xu W, et al. Distinct spatial and temporal roles for Th1, Th2, and Th17 cells in asthma [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:974066.
- [4] 唐徐韵, 陈盼碧, 杜狄佳, 等. 基于 p38 MAPK 信号通路探讨穴位埋线对哮喘大鼠肺组织 Th1/Th2 失衡及 EOS 的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2023, 29(1):86-90.
- [5] Akiyama K, Arakawa Y, Samukawa Y, et al. [LOWER RESPIRATORY TRACT SCREENING USING FRACTIONAL EXHALED NITRIC OXIDE IN PATIENTS WITH EOSINOPHILIC CHRONIC RHINOSINUSITIS] [J]. *Arerugi*, 2023, 72(3):288-294.
- [6] 中华医学会儿科学分会临床药理学组, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 中国儿童咳嗽诊断与治疗临床实践指南(2021版)[J]. *中华儿科杂志*, 2021, 59(9):720-729.
- [7] 梁瀚文, 易芳, 陈玥晗, 等. 中国慢性咳嗽流行病学调查的现状与展望[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2022, 45(1):100-106.
- [8] Zheng J, Zhang R, Liu C, et al. The TLR4/NF- κ B signaling pathway-mediated type 2 skewing of T helper cell in cough variant asthma was counteracted by ethanol extract of *Anacyclus pyrethrum* root [J]. *Immunobiology*, 2023, 228(3):152379.
- [9] Chen J, Lin W, Gu H, et al. Study on the Relationship Between Bronchoalveolar Lavage Fluid Cell Count, Th1/Th2 Cytokines and Pulmonary Function in Patients with Cough Variant Asthma [J]. *J Asthma Allergy*, 2022, 15:1713-1720.
- [10] 徐万超, 虞坚尔, 薛征, 等. 从祛痰化痰法探讨平喘方及拆方对哮喘小鼠 Th1/Th2 免疫失衡的干预机制[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(1):192-196+298-299.
- [11] 王志刚, 申改青, 黄玉焕. 咳嗽变异性哮喘患儿外周血 miR-138 及 RUNX3 对 Th1/Th2 平衡的调节作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2021, 23(10):1044-1049.
- [12] Deng Z, Ding W, Li F, et al. Pulmonary IFN- γ Causes Lymphocytic Inflammation and Cough Hypersensitivity by Increasing the Number of IFN- γ -Secreting T Lymphocytes [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2022, 14(6):653-673.
- [13] Liu L, Gao Y, Si Y, et al. MALT1 in asthma children: A potential biomarker for monitoring exacerbation risk and Th1/Th2 imbalance-mediated inflammation [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(5):e24379.
- [14] 党向阳, 唐雨一, 李卫国, 等. 呼出气一氧化氮检测对儿童咳嗽变异性哮喘诊断价值的系统评价和 meta 分析[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2023, 43(6):680-688.
- [15] 吴巾红. 呼出气一氧化氮在儿童呼吸系统过敏性疾病诊断和治疗中的应用[J]. *临床儿科杂志*, 2023, 41(5):328-332.
- [16] 母东勤, 刘利英. 呼出气一氧化氮分数联合气道反应性测定对儿童咳嗽变异性哮喘早期鉴别价值分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(9):1528-1531.

(上接第 859 页)

- [4] 王荣, 丁莉莉. 细致化护理对重症高血压脑出血患者日常生活活动能力及神经功能的影响[J]. *保健医学研究与实践*, 2022, 19(2):97-100.
- [5] 孙奉辉, 徐依成, 陈新平, 等. 高血压脑出血血肿周围水肿与动态血压的相关性研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2016, 18(6):571-573.
- [6] 张建辉, 蔡新汝, 李鹏, 等. 血清 IL-18、MMP-9 水平与高血压脑出血脑损伤关系的研究[J]. *河北医科大学学报*, 2018, 39(9):1021-1025.
- [7] Krishnamoorthy S, Singh G, Jose KJ, et al. Biomarkers in the Prediction of Hemorrhagic Transformation in Acute Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2022, 51(2):235-247.
- [8] 李华丽, 王旭, 紫晓, 等. 高血压患者 GGT、BNP 及 eGFR 的测定在早期肾损害中的诊断价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(11):1875-1878.
- [9] 李佳维, 俞万钧, 吕佳佩, 等. circRNAs 在肿瘤糖酵解发生发展中作用机制研究进展[J]. *医学分子生物学杂志*, 2023, 20(3):272-278.
- [10] Hao Y, Ding J, Hong R, et al. Increased interleukin-18 level contributes to the development and severity of ischemic stroke [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(18):7457-7472.
- [11] 李宝福, 刘柏麟, 袁兴, 等. 参芍口服液抑制 NLRP3 炎症小体改善创伤性脑损伤小鼠炎症反应实验研究[J]. *陕西医学杂志*, 2022, 51(5):552-555+560.
- [12] 宋晓洁, 冯伟平, 韩雪娇, 等. IL-1 β 及 BDNF 水平变化与高血压脑出血患者脑水肿的关系[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(31):6144-6147.

参芎葡萄糖注射液联合达格列净对早期2型糖尿病肾病患者肾功能、尿蛋白的影响

常丽* 郭东亮 刘继红

[摘要] **目的** 探讨参芎葡萄糖注射液联合达格列净对早期2型糖尿病(T2DM)肾病患者肾功能、尿蛋白的影响。**方法** 选取2021年1月至2023年1月临泉县人民医院收治的早期T2DM肾病患者100例为研究对象,根据治疗方法分为研究组(参芎葡萄糖注射液联合达格列净治疗, $n=57$)和对照组(达格列净治疗, $n=43$)。比较两组肾功能、尿蛋白、临床疗效及不良反应。**结果** 治疗后研究组尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)低于对照组,差异有统计学意义($t=3.376, 3.010, P<0.05$);治疗后研究组内生肌酐清除率(Ccr)、肾小球滤过率(eGFR)高于对照组,差异有统计学意义($t=2.377, 2.802, P<0.05$)。治疗后研究组尿微量白蛋白(UALB)、尿微量白蛋白与肌酐比值(UACR)水平低于对照组,差异有统计学意义($t=6.728, 4.994, P<0.05$)。研究组治疗总有效率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=5.697, P<0.05$)。两组不良反应发生率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.018, P>0.05$)。**结论** 参芎葡萄糖注射液联合达格列净可以更好地改善早期T2DM肾病患者肾功能,减少尿蛋白,具有良好的治疗效果。

[关键词] 参芎葡萄糖注射液; 达格列净; 2型糖尿病肾病; 肾功能; 尿蛋白

Effects of Shenxiong glucose injection combined with Daglipzin on renal function and urinary protein in patients with early type 2 diabetic nephropathy

CHANG Li*, GUO Dongliang, LIU Jihong

(Department of Endocrinology, Linquan People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236400)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of Shenxiong glucose injection combined with Daglipzin on renal function and urinary protein in patients with early type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** A total of 100 patients with early T2DM nephropathy treated at Linquan County People's Hospital from January 2021 to January 2023 were selected as study subjects. They were divided into two groups based on treatment methods: the study group (Shenxin glucose injection combined with daglizin treatment, $n=57$) and the control group (daglizin treatment, $n=43$). Renal function, urinary protein levels, clinical efficacy, and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** After treatment, the levels of blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (Scr) in the study group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=3.376, 3.010, P<0.05$). After treatment, the creatinine clearance (Ccr) and glomerular filtration rate (eGFR) in the study group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=2.377, 2.802, P<0.05$). After treatment, the levels of urinary microalbumin (UALB), urinary microalbumin to creatinine ratio (UACR) of the study group were lower than those of the control group, and the differences were statistically significant ($t=6.728, 4.994, P<0.05$). The effective rate of the study group was higher than that of the control group, and the differences were statistically significant ($\chi^2=5.697, P<0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($\chi^2=0.018, P>0.05$). **Conclusion** Shenxiong glucose injection, when combined with daglizin can improve renal function and reduce urinary protein in patients with early T2DM nephropathy.

基金项目:阜阳市科技局科研基金资助项目(FK202081-56)

作者单位:安徽省阜阳市临泉县人民医院内分泌科,安徽,阜阳236400

*通信作者:常丽, E-mail:18298169991@163.com

athy. This treatment has been shown to have a positive therapeutic effect.

[KEY WORDS] Shenxiong glucose injection; Daglizin; Type 2 diabetic nephropathy; Kidney function; Urinary protein

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是非胰岛素依赖的以糖代谢紊乱、血糖升高为主要特征的临床常见慢性代谢性疾病,我国糖尿病患者群体数量高达1.164亿,其中超过90%患者为T2DM, T2DM及其并发症给患者个体及社会带来沉重的医疗和经济负担,成为重大的公共卫生问题^[1]。肾脏是T2DM受损的主要靶器官,40% T2DM患者合并糖尿病肾病,早期T2DM肾病患者出现肾小球滤过受损,尿蛋白排泄率升高,如不及时采取有效干预会导致患者肾功能持续减退,出现大量蛋白尿、高血压等,甚至发展为终末期肾脏病,增加患者死亡风险^[2]。达格列净是新型的钠-葡萄糖共转运蛋白2抑制剂,研究指出,达格列净具有独立于降底血糖、血压之外的抗炎及保护肾脏作用,可抑制肾脏炎症改善肾小球、肾小管功能^[3]。参芎葡萄糖注射液是以盐酸川芎嗪、丹参素为主要成分的中药合剂,具有舒张血管、降低血压血脂及血液黏度、改善血液循环的作用,与其他药物联合使用对多种血管疾病具有良好的治疗效果,且可以改善糖尿病肾病患者糖代谢及肾小球滤过作用,提高肾功能^[4]。本研究探究参芎葡萄糖注射液联合达格列净对早期T2DM肾病患者肾功能、尿蛋白的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2023年1月临泉县人民医院收治的早期T2DM肾病患者100例为研究对象,根据治疗方法分为研究组(参芎葡萄糖注射液联合达格列净治疗, $n=57$)和对照组(达格列净治疗, $n=43$)。其中研究组男31例,女26例,平均年龄(54.26 ± 9.35)岁,平均病程(11.24 ± 4.43)年。对照组男23例,女20例,平均年龄(54.59 ± 9.13)岁,平均病程(11.46 ± 5.07)年。两组基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①符合《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》^[5]中T2DM诊断标准;②符合《糖尿病肾脏疾病诊断标准》^[6]中早期T2DM肾病诊断标准;③患者无相关药物禁忌症;④患者及家属知情并签署

知情同意书。排除标准:①合并高血压肾病、遗传性肾病、慢性肾小球肾炎、免疫性肾病、泌尿系统感染;②合并甲状腺功能亢进、心肺功能不全、原发性肝损伤;③合并精神疾病、认知沟通能力障碍;④合并糖尿病急性并发症、血液系统疾病、恶性肿瘤、严重外伤。本研究经临泉县人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

对照组给予常规调脂、降糖治疗及口服达格列净片(阿斯利康制药有限公司,批准文号:国药准字S20170040,规格:10 mg/片)10 mg/次,1次/d。研究组在对照组的基础上给予静脉滴注参芎葡萄糖注射液(贵州景峰注射剂有限公司,批准文号:国药准字H52020703,规格:100 mL)100 mL/次,1次/d。两组均连续治疗3个月。

1.3 观察指标

1.3.1 肾功能指标

治疗前及治疗3个月后采集患者空腹静脉血5 mL,3 500 r/min离心10 min(离心半径8 cm),采用全自动生化分析仪(迈瑞,型号:BS-600M)检测血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(serum creatinine, Scr)水平,计算内生肌酐清除率(endogenous creatinine clearance rate, Ccr), $Ccr=(140-\text{年龄})\times\text{体质量}/Scr\times 0.818$ (女性 $\times 0.85$)。根据肾脏病饮食改良研究公式(the Modification of Diet in Renal Disease equation, MDRD)计算肾小球滤过率(estimated Glomerular Filtration Rate, eGFR), $eGFR=186\times(Scr)^{-1.154}\times(\text{年龄})^{-0.203}\times(0.742\text{女性})$ ^[7]。

1.3.2 尿蛋白指标

治疗前及治疗3个月后采集患者尿液,采用特定蛋白分析仪(贝克曼,型号:IMMAGE 800)检测尿微量白蛋白(urinary microalbumin, UALB),采用酶法检测尿肌酐,计算尿微量白蛋白与肌酐比值(urine albumin to creatinine ratio, UACR)。

1.3.3 治疗效果

根据《糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准》^[8]评估治疗效果,显效:临床症状消失, UACR下降 $>50\%$, Scr下降 $>20\%$;有效:临床症状缓解, UACR下降 $>25\%$, Scr下降 $>10\%$;无效:临床

症状无改善或加重, UACR 下降<25%, Scr 下降<10%。总有效率=(显效+有效)/总例数。

1.3.4 统计两组不良反应

包括泌尿系统感染、生殖系统感染、低血压、酮酸中毒、肝损伤等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。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,用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计

学意义。

2 结果

2.1 两组肾功能指标比较

治疗前两组 BUN、Scr、Ccr、eGFR 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后两组 BUN、Scr 水平降低,Ccr、eGFR 水平升高,且研究组 BUN、Scr 低于对照组,Ccr、eGFR 高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组肾功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of renal function indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN(mmol/L)		Scr(μ mol/L)		Ccr(ml/min)		eGFR[mL/(min·1.73 m ²)]	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	57	6.12±1.14	4.67±0.53 ^a	95.75±11.25	79.25±9.36 ^a	44.39±6.15	57.64±7.07 ^a	81.28±8.06	89.36±7.14 ^a
对照组	43	5.89±1.27	5.02±0.49 ^a	96.12±11.57	85.37±10.94 ^a	43.85±6.57	54.29±6.85 ^a	80.74±8.14	85.25±7.42 ^a
t 值		0.951	3.376	0.161	3.010	0.422	2.377	0.330	2.802
P 值		0.344	0.001	0.872	0.003	0.674	0.019	0.742	0.006

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组尿蛋白指标比较

治疗前两组 UALB、UACR 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后两组 UALB、UACR 水平均降低,且研究组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组尿蛋白指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	UALB(mg/L)		UACR(mg/g)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	57	221.65±32.18	86.34±12.34 ^a	79.36±11.57	43.75±8.67 ^a
对照组	43	229.34±28.61	103.65±13.25 ^a	81.28±10.04	52.68±9.09 ^a
t 值		1.240	6.728	0.869	4.994
P 值		0.218	<0.001	0.387	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组治疗效果比较

研究组治疗总有效率为 94.74%,高于对照组的 79.07%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组治疗效果比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
研究组	57	28(49.12)	26(45.61)	3(5.26)	54(94.74)
对照组	43	16(37.21)	18(31.58)	9(15.79)	34(79.07)
χ^2 值					5.697
P 值					0.017

2.4 两组不良反应发生率比较

两组不良反应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 两组不良反应发生率比较 [$n(\%)$]

Table 4 Comparison of incidence of adverse reactions between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	泌尿系统感染	生殖系统感染	低血压	酮酸中毒	肝损伤	总发生率
研究组	57	1(1.75)	1(1.75)	1(1.75)	2(3.51)	0(0.00)	5(8.77)
对照组	43	2(3.51)	0(0.00)	1(2.32)	1(2.32)	1(2.32)	5(11.63)
χ^2 值							0.018
P 值							0.893

3 讨论

糖尿病肾病是 T2DM 患者最严重的并发症之一,导致患者肾功能损伤和终末期肾脏病,增加患者治疗难度及死亡风险,T2DM 肾病的发生和发展与氧化应激、血管紧张素 II(Ang-II)、炎症等多种因素有关^[9]。氧化应激通过直接和间接等多途径参与 T2DM 肾病的发病机制,氧化应激可以直接对足细胞、系膜细胞、内皮细胞等造成损伤,引起肾小管间质化导致蛋白尿,同时氧化应激还可以增加肾脏活性氧、转化生长因子 β 生成,引起肾脏炎症反应和系膜细胞外基质的过度重塑,促进肾小管间质纤维化。炎症反应在 T2DM 肾病的发生和进展中起重要作用,炎症细胞的浸润和炎症因子的合

成和分泌可以促发上皮间质化损伤肾脏结构。肾脏炎症会激活核因子- κ B 增加炎症细胞因子、趋化因子、细胞黏附蛋白的表达,增加肾损伤^[10]。

达格列净是首个批准用于治疗 T2DM 的钠-葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂,可以调控将近 90% 的肾脏葡萄糖循环,有效减少肾小球近端葡萄糖重吸收,促进葡萄糖排泄,降低血糖水平,此外达格列净具有超出血糖控制的多效性作用保护肾脏^[11]。肾小管-肾小球反馈在早期 T2DM 肾病在中起主要调节作用,患者持续高血糖状态引起近端肾小管肥大,诱导近端肾小管重吸收增加钠和葡萄糖共转运,导致肾小管-肾小球反馈失活,肾小球滤过增加。达格列净可以阻断钠-葡萄糖共转运蛋白减少肾小管钠和葡萄糖重吸收,增加钠对致密黄斑的输送,从而增加到致密黄斑的溶质量,降低肾小球内压减少肾小球高滤过^[12]。达格列净可以减少白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 、单核细胞趋化因子-1 等炎症因子表达降低患者肾脏炎症反应,改善内皮功能障碍,并通过减少上皮间质化减少细胞外基质的沉积,改善肾脏纤维化^[13]。同时达格列净可以减少自由基生成,调节促氧化酶的表达及活性,从而减少糖基化终产物生成改善氧化还原状态,抑制氧化应激^[14]。本研究结果显示,达格列净降低了患者 BUN、Scr、UALB、UACR 水平并提高 Ccr、eGFR 水平。BUN、Scr、Ccr 是反映肾小球滤过的重要生物标志物,达格列净抑制钠-葡萄糖共转运蛋白功能,调节肾小管-肾小球反馈有效改善了肾小球滤过率,肾小球内压降低有利于减少白蛋白尿,降低 UALB、UACR 水平。eGFR 是临床评估肾功能的金标准,达格列净治疗早期 T2DM 肾病患者 eGFR 水平会出现短暂下降,随着治疗时间延长,eGFR 逐渐提高并高于基线水平。这种现象的主要原因可能与达格列净早期降低患者血压与血管内容量、肾脏低灌注有关,研究组联合使用参芎葡萄糖注射液抵消了达格列净治疗早期降压及肾脏低灌注的影响。参芎葡萄糖注射液含丹参素和川芎嗪两种主要成分,可以降低血小板计数,抗血小板聚集黏附,减少纤维蛋白原降低血液粘度,舒张血管增加肾脏血流量,改善早期 T2DM 肾病患者血液流变学,同时可以清除氧自由基抵抗脂质氧化,降低转化生长因子 β 1、IV 型胶原蛋白等生成,修复肾小球滤过屏障改善肾脏功能,降低血肌酐及尿蛋白排泄,改善肾功能^[15]。参芎葡萄糖注射联合达格列净治疗大

大提高了早期 T2DM 肾病患者的治疗效果,可以改善肾脏血流量降低氧化应激,其对肾功能及尿蛋白的改善优于达格列净单一治疗,且不会增加患者不良反应,具有良好的临床应用效果。

综上所述,参芎葡萄糖注射联合达格列净可以有效改善早期 T2DM 肾病患者肾功能,减少尿蛋白,治疗效果较单一使用达格列净好,具有良好临床应用价值。

参考文献

- [1] 陈珍,任廷远,谭书明. 黔产不同海拔野生型刺梨原汁对 2 型糖尿病小鼠糖脂代谢及氧化应激的干预作用[J]. 现代食品科技, 2022, 38(9):60-70.
- [2] Pugliese G, Penno G, Natali A, et al. Diabetic kidney disease: new clinical and therapeutic issues. Joint position statement of the Italian Diabetes Society and the Italian Society of Nephrology on "The natural history of diabetic kidney disease and treatment of hyperglycemia in patients with type 2 diabetes and impaired renal function" [J]. J Nephrol, 2020, 33(1):9-35.
- [3] 连明珠,赵莹,康静,等. 达格列净对早期 2 型糖尿病肾病患者肾小球和肾小管功能的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(2):13-18.
- [4] 王小丽,陈铅琴,李小荣,等. 参芎葡萄糖注射液联合厄贝沙坦治疗糖尿病肾病的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(1):139-142.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2021, 41(5):482-548.
- [6] Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, et al. Diabetic kidney disease: a report from an ADA Consensus Conference [J]. Am J Kidney Dis, 2014, 64(4):510-533.
- [7] 周士飞,林川,李多. 芪贞银翘汤对 2 型糖尿病肾脏疾病患者肾脏功能的影响[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(5):194-198.
- [8] 裴文丽,史晓伟,连瑄,等. 糖肾康治疗 2 型糖尿病肾病的临床疗效及对脂质代谢紊乱状态的调节作用[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(10):142-145.
- [9] Samsu N. Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021:1497449.
- [10] Rayego-Mateos S, Morgado-Pascual JL, Opazo-Ríos L, et al. Pathogenic Pathways and Therapeutic Approaches Targeting Inflammation in Diabetic Nephropathy [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11):3798.
- [11] 阳皓,谭巧灵,王岑,等. 达格列净对早期 2 型糖尿病肾病患者尿微量白蛋白和促炎症因子的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2019, 48(4):400-404.
- [12] Gonzalez DE, Foresto RD, Ribeiro AB. SGLT-2 inhibitors in diabetes: a focus on renoprotection [J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2020, 66Suppl 1(Suppl 1):s17-s24.

(下转第 876 页)

维持性血液透析患者血清 SAA、YKL-40、HBP 与透析导管相关性感染及预后的相关性分析

陈庆云* 马亚琼 苏裕

[摘要] **目的** 探讨维持性血液透析(MHD)患者血清淀粉样蛋白 A(SAA)、几丁质酶 3 样蛋白 1 (YKL-40)、肝素结合蛋白(HBP)与透析导管相关性感染及预后的相关性。**方法** 选取 2020 年 1 月至 2022 年 10 月河南南阳市第二人民医院收治的 124 例维持性血液透析患者为研究对象。根据患者是否发生透析导管相关感染分为感染组(28 例)及非感染组(96 例),比较两组血清 SAA、YKL-40、HBP 水平;根据治疗 30 d 后随访情况分为预后良好组(104 例)及预后不良组(20 例),分析影响 MHD 患者预后的独立影响因素,分析血清 SAA、YKL-40、HBP 单一及联合检测对 MHD 患者预后情况的预测价值。**结果** 感染组患者血清 SAA、YKL-40、HBP 水平均高于非感染组,差异有统计学意义($t=56.461, 7.902, 42.037, P<0.05$);预后良好组患者 C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、降钙素原(PCT)、血肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)、SAA、YKL-40、HBP 水平低于预后不良组,差异有统计学意义($t=3.668, 23.009, 17.639, 6.656, 13.821, 45.366, 7.849, 43.443, P<0.05$); Logistic 分析显示, CRP、TNF- α 、PCT、Scr、BUN、SAA、YKL-40、HBP 是 MHD 患者预后不良的危险因素($P<0.05$);血清 SAA、YKL-40、HBP 单一及联合预测 MHD 患者预后 AUC 分别 0.894、0.749、0.818、0.964,联合预测优于单一预测($P<0.05$)。**结论** MHD 合并透析导管相关性感染患者血清 SAA、YKL-40、HBP 水平较无合并感染患者升高,血清 SAA、YKL-40、HBP 联合检测对 MHD 患者预后情况具有良好的预测价值。

[关键词] 维持性血液透析;透析导管相关性感染;血清淀粉样蛋白 A;几丁质酶 3 样蛋白 1;肝素结合蛋白

Correlation analysis of serum SAA, YKL - 40, HBP and dialysis catheter - associated infection and prognosis in maintenance hemodialysis patients

CHEN Qingyun*, MA Yaqiong, SU Yu

(Department of Nephrology, the Second People's Hospital of Nanyang City, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between serum amyloid A (SAA), chitinase 3-like protein 1 (YKL-40), heparin-binding protein (HBP) and dialysis catheter-associated infection and prognosis in maintenance hemodialysis (MHD) patients. **Methods** A total of 124 maintenance hemodialysis patients admitted to the Second People's Hospital of Nanyang City, Henan Province from January 2020 to October 2022 were selected as the study subjects. Patients were divided into two groups: an infected group (28 cases) and a non-infected group (96 cases) based on whether they had dialysis catheter-related infections. Serum levels of SAA, YKL-40 and HBP were compared between the two groups. The patients were further divided into a good prognosis group (98 cases) and a poor prognosis group (20 cases) based on their follow-up after 30 days of treatment. Independent factors affecting the prognosis of MHD patients were analyzed using univariate and multivariate analysis. The predictive value of single and combined detection of serum SAA, YKL-40 and

基金项目:河南省科技厅项目(20220042X)

作者单位:南阳市第二人民医院肾病科,河南,南阳 473000

*通信作者:陈庆云, E-mail:cqy0377@126.com

HBP on the prognosis of MHD patients was also analyzed. **Results** Serum levels of SAA, YKL-40 and HBP in the infected group were higher than those in the non-infected group, with statistical significance ($t=56.461, 7.902, 42.037, P<0.05$). The levels of C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), procalcitonin (PCT), serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), SAA, YKL-40 and HBP in the good prognosis group were lower than those in the poor prognosis group, with statistical significance ($t=3.668, 23.009, 17.639, 6.656, 13.821, 45.366, 7.849, 43.443, P<0.05$). Logistic analysis showed that CRP, TNF- α , PCT, Scr, BUN, SAA, YKL-40 and HBP were risk factors for poor prognosis in MHD patients ($P<0.05$). The AUC of serum SAA, YKL-40 and HBP was 0.894, 0.749, 0.818 and 0.964, respectively, and the combined prediction was better than the single prediction ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of SAA, YKL-40 and HBP in MHD patients with dialysis catheter-associated infection are higher than those in patients without co-infection. The combined detection of SAA, YKL-40 and HBP has good prognostic value in MHD patients.

[KEY WORDS] Maintenance hemodialysis; Dialysis catheter-associated infection; Serum amyloid A; Chitinase 3-like protein 1; Heparin-binding protein

维持性血液透析(Maintenance hemodialysis, MHD)可以去除机体多余水分、溶质、毒素,维持患者内环境稳定,超过90%肾功能衰竭患者接受血液透析治疗,我国MHD人数已达73.5万^[1-2]。透析导管相关性感染是MHD治疗患者常见且严重的并发症,其病死率高达12%~38%,是导致患者死亡主要原因之一^[3]。因此对MHD患者透析导管相关性感染进行早期的风险评估和针对性治疗至关重要。血清淀粉样蛋白A(serum amyloid A, SAA)是一种敏感的急性反应期蛋白,当患者发生感染时其水平可在4~6小时内迅速增加,并在病原体清除后迅速下降,具有起早、范围广、灵敏度高的特点,是感染性疾病诊断和预后评估的重要的预测因子^[4]。几丁质酶3样蛋白1(chitinase-3-like protein 1, YKL-40)是一种新型的炎症细胞因子,由中性粒细胞、巨噬细胞等合成和分泌,参与细胞的增值、迁移,在神经、气道、心血管炎症和组织重塑中发挥重要作用^[5]。肝素结合蛋白(Heparin binding protein, HBP)是来源于中性粒细胞的抗菌蛋白,是一种多功能的感染和炎症调节介质,可以促进炎症细胞的募集和炎症因子的释放,扩大炎症反应,诱导血管渗漏,对感染性疾病具有强大的诊断和预后评估作用^[6]。本研究探究MHD患者血清SAA、YKL-40、HBP与透析导管相关性感染及预后的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年10月河南南阳市第二人民医院收治的124例MHD患者为研究对

象。纳入标准:①MHD治疗频率为2~3次/周,治疗时间持续 ≥ 3 个月;②患者年龄 ≥ 18 岁;③具有正常的认知行为能力及沟通交流能力;④对研究知情并同意。排除标准:①合并其他原因引起的感染性疾病、近期使用抗炎、抗感染药物;②合并多器官功能障碍;③合并电解质紊乱、酸中毒、继发性甲旁亢等MHD严重并发症;④合并免疫缺陷疾病、血液系统疾病、恶性肿瘤。本研究获得河南南阳市第二人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

通过查阅医院电子病历系统收集患者年龄、性别、透析龄及频率、置管部位、原发疾病等基本资料。

1.2.2 实验室指标检测

所有行MHD治疗患者于入院次日清晨采集空腹静脉血5 mL,离心方法(转速:3 500 r/min,离心时间:10 min,离心半径:12.5 cm)采用酶联免疫吸附法检测血清SAA、YKL-40、HBP水平,采用全自动生化分析仪检测C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、血肌酐(Serum creatinine, Scr)、血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)水平,采用全自动血细胞分析仪检测白细胞计数(White blood cell, WBC),采用全自动血沉仪检测红细胞沉降率(Erythrocyte sedimentation rate, ESR)。

1.2.3 透析导管相关性感染诊断标准^[7]

患者出现畏寒、寒战、发热等全身症状,或导管皮下隧道出现脓性分泌物、溢液等,导管动、

静脉腔内及外周血采血标本进行细菌培养鉴定显示为阳性,除血管导管外无其他原因引起感染。根据患者是否发生透析导管相关感染分为感染组(28例)及非感染组(96例)。

1.2.4 预后随访^[8]

根据治疗30d后随访情况,98例患者病情好转,为预后良好组;26例患者出现非计划拔管或死亡,为预后不良组。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行*t*检验,计数资料以*n*(%)表示,行 χ^2 检验,以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染组及非感染组血清SAA、YKL-40、HBP水平比较

感染组患者血清SAA、YKL-40、HBP水平均高于非感染组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

表1 感染组及非感染组血清SAA、YKL-40、HBP水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum levels of SAA, YKL-40 and HBP between infected group and non-infected group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SAA(mg/L)	YKL-40(ng/mL)	HBP(ng/mL)
感染组	28	79.25±12.61	53.48±12.34	18.79±3.38
非感染组	96	6.23±1.17	37.24±8.62	3.27±0.74
<i>t</i> 值		56.461	7.902	42.037
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同预后情况患者单因素分析

预后良好组患者CRP、TNF- α 、PCT、Cr、BUN、SAA、YKL-40、HBP水平低于预后不良组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

2.3 不同预后情况患者多因素分析

以MHD患者预后不良为因变量,以单因素分析有统计学差异项目为自变量,进行Logistic多因素回归分析结果显示,CRP、TNF- α 、PCT、Scr、BUN、SAA、YKL-40、HBP是MHD患者预后不良的危险因素(*P*<0.05)。见表3。

2.4 血清SAA、YKL-40、HBP对MHD患者预后情况预测价值分析

ROC曲线分析显示,血清SAA、YKL-40、HBP单一及联合预测MHD患者预后情况AUC分别0.894、0.749、0.818、0.964,联合预测优于单一预测(*P*<0.05)。见表4、图1。

表2 不同预后情况患者单因素分析 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 2 Univariate analysis of patients with different prognosis [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

项目	预后良好组(104)	预后不良组(20)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	52.14±8.20	53.76±7.89	0.814	0.417
性别				
男	54(51.92)	13(65.00)	1.155	0.289
女	50(48.08)	7(35.00)		
透析龄(年)	3.24±0.65	3.47±0.82	1.387	0.168
透析频率(次/周)	2.67±0.67	2.73±0.71	0.363	0.717
置管部位				
股静脉	55(52.88)	12(60.00)	0.292	0.864
颈内静脉	28(26.92)	5(25.00)		
锁骨下静脉	21(20.19)	3(15.00)		
原发疾病				
慢性间质性肾炎	25(24.04)	3(15.00)	1.697	0.428
糖尿病肾病	51(49.04)	13(65.00)		
高血压肾病	28(26.92)	4(20.00)		
CRP(mg/L)	26.54±8.85	34.32±7.75	3.668	<0.001
TNF- α (ng/mL)	5.46±1.12	14.75±3.28	23.009	<0.001
PCT(μ g/L)	0.64±0.25	1.87±0.43	17.639	<0.001
Scr(μ mol/L)	149.36±27.58	194.60±29.20	6.656	<0.001
BUN(mmol/L)	7.12±1.34	12.58±2.66	13.821	<0.001
WBC($\times 10^9$ /L)	7.42±1.69	8.12±2.67	1.528	0.133
ESR(mm/h)	26.58±5.12	28.24±5.67	1.305	0.197
SAA(mg/L)	12.17±4.43	77.58±11.97	39.803	<0.001
YKL-40(ng/mL)	38.17±8.14	55.14±9.26	8.348	<0.001
HBP(ng/mL)	4.45±1.03	18.86±3.50	35.248	<0.001

表3 不同预后情况MHD患者多因素分析

Table 3 Multi-factor analysis of MHD patients with different prognosis

项目	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	<i>P</i> 值
CRP	0.624	0.299	4.355	1.867	1.039~3.354	0.037
TNF- α	0.815	0.327	6.212	2.259	1.190~4.288	0.036
PCT	0.768	0.330	5.416	2.156	1.129~4.117	0.020
Scr	0.678	0.245	7.658	1.970	1.219~3.184	0.006
BUN	0.715	0.264	7.335	2.044	1.218~3.430	0.007
SAA	1.120	0.315	12.642	3.065	1.653~5.682	<0.001
YKL-40	0.894	0.314	8.106	2.445	1.321~4.524	0.004
HBP	0.947	0.302	9.833	2.578	1.426~4.660	0.002

表4 血清SAA、YKL-40、HBP对MHD患者预后情况预测价值分析

Table 4 Analysis of the value of serum SAA, YKL-40 and HBP in predicting the prognosis of MHD patients

指标	截断值	AUC	95% CI	约登指数	特异度	灵敏度	<i>P</i> 值
SAA	63.56	0.894	0.827~0.974	0.680	0.890	0.870	<0.001
YKL-40	51.55	0.749	0.620~0.878	0.449	0.849	0.600	<0.001
HBP	18.33	0.818	0.714~0.921	0.530	0.880	0.650	<0.001
联合预测		0.964	0.923~0.987	0.880	0.980	0.900	<0.001

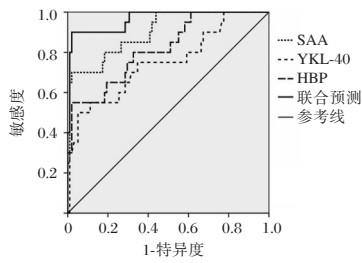


图1 ROC曲线

Figure 1 The ROC curve

3 讨论

良好的血液透析导管通路是MHD患者的“生命线”，但临床中与透析导管相关的并发症仍具有较高的发病率及死亡风险^[9]。透析导管相关性感染是MHD患者常见的并发症，导致患者疾病恶化，增加中心静脉狭窄、静脉血栓风险，甚至导致中心静脉通路失败^[10]。相关研究指出，预防性使用抗生素及抗凝剂封管可以使透析导管相关性感染减少50%~100%，因此，对MHD患者透析导管相关性感染风险进行早期评估和预后预测，对指导预防性抗生素使用、降低感染及细菌耐药风险具有重要意义^[11]。

SAA主要由肝脏合成和分泌，是急性炎症性疾病的反应物和趋化因子，正常情况下，机体血液中SAA含量较低，在细菌内毒素、炎症细胞因子等刺激下大量生成，并诱导巨噬细胞聚集和浸润，引发及扩大炎症反应^[12]。本研究结果显示，感染组患者血清SAA水平显著高于非感染患者，同时预后不良组患者血清SAA水平显著高于预后良好组。分析其原因，SAA可以识别细菌感染引起的引起微弱炎症刺激，并在短时间内大量合成和释放，引起血清SAA水平急剧升高，并诱发患者炎症反应，其对炎症反应具有更高的灵敏度，并作为机会性感染患者标志物，参与机体感染及炎症反应的发生和进展，其水平与患者感染严重程度及治疗效果密切相关，检测血清SAA水平有助于评估MHD患者发生透析导管相关性感染风险，以避免不合理的抗生素使用。YKL-40可由急性细菌感染时免疫细胞直接分泌，先天性免疫系统激活刺激中性粒细胞、巨噬细胞等合成和分泌YKL-40，YKL-40可能代表了一种独立的促炎通路，可以识别常规炎症细胞因子（如IL-6、CRP、TNF等）等无法检测到的炎症通路，可以提高对MHD患者透析导管相关性感染的预测效能^[13]。本研究结果显

示，感染组患者血清YKL-40水平高于非感染组，预后不良组高于预后良好组。分析其原因，YKL-40水平的异常升高引起患者免疫平衡紊乱，促进炎症反应扩大和器官组织损伤，导致患者感染性疾病的发生及恶化。本研究结果显示，感染组患者血清HBP水平高于非感染组，预后不良组患者高于预后良好组。HBP是细菌感染后最早检测到的感染标志物之一，在细菌内毒素刺激下，中性粒细胞快速释放大量HBP，并与 $\beta 2$ 单核细胞整合素结合激活巨噬细胞、单核细胞等，增加细胞内信号传导及TNF- α 等炎症细胞因子释放，促进炎症反应发生和进展^[14]。HBP可以诱导血管渗漏，加剧MHD患者的血管屏障损伤及微循环障碍，导致患者疾病恶化，与MHD患者预后密切相关，其水平降低有利于减轻患者静脉管壁损伤，改善患者预后^[15]。

综上所述，MHD合并透析导管相关性感染患者血清SAA、YKL-40、HBP水平较无合并感染患者升高，血清SAA、YKL-40、HBP联合检测对MHD患者预后情况具有良好的预测价值。

参考文献

- [1] 程顺好,施叶萍,夏婷婷,等. 2015-2019年宣城市维持性血透患者现状调查[J]. 华南预防医学, 2020,46(6):719-721.
- [2] 刘亮,周琳,张庆,等. 自我忽视在维持性血液透析老年患者家庭复原力与用药依从性间的中介效应[J]. 中南大学学报(医学版), 2023,48(7):1066-1075.
- [3] 丁通,鲍楠,张蓬杰,等. 维持性血液透析患者血清转铁蛋白饱和度与透析导管相关性感染及预后的相关性分析[J]. 临床肾脏病杂志, 2021,21(3):177-181.
- [4] Chen J, Huang J, Wang T, et al. Analysis of the relationship between serum amyloid protein A, procalcitonin, C-reactive protein, and peripherally inserted central catheter infection in patients with malignant tumor[J]. Ann Palliat Med, 2021, 10(5):5359-5365.
- [5] Kim MJ, Shim DH, Cha HR, et al. Chitinase 3-like 1 protein plays a critical role in respiratory syncytial virus-induced airway inflammation[J]. Allergy, 2019, 74(4):685-697.
- [6] Deng JC, Zhao FL, Qiao LN. Value of heparin-binding protein in the diagnosis of severe infection in children: a prospective study. Value of heparin-binding protein in the diagnosis of severe infection in children: a prospective study [J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2022, 24(1):85-89.
- [7] 殷桂春,胡玉媛,胡帆. 血清肝素结合蛋白与老年维持性血液透析患者导管感染的关系及应用价值[J]. 中国老年学杂志, 2023,43(9):2130-2133.

血清 E2、25(OH)D3 及尿碘水平对分化型甲状腺癌的预测价值

杨福洲* 宋锦丽 颜中 李明燕

[摘要] **目的** 分析血清雌二醇(E2)、25-羟基维生素 D3[25(OH)D3]及尿碘水平对分化型甲状腺癌(DTC)的预测价值。**方法** 选取2021年9月至2022年9月雅安市人民医院收治的并经病理组织学确诊的190例DTC患者作为恶性组,并选取本院同期收治的125例甲状腺良性病变患者作为良性组,另选取甲状腺形态正常的健康体检者100名作为健康对照组,比较三组血清E2、25(OH)D3及尿碘水平,并比较不同临床特征的DTC患者血清E2、25(OH)D3及尿碘水平,采用ROC曲线分析血清E2、25(OH)D3及尿碘水平对DTC的预测价值。**结果** 血清E2、尿碘水平:恶性组>良性组>健康对照组,25(OH)D3水平:恶性组<良性组<健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。血清E2、尿碘水平:肿瘤低分化程度患者>肿瘤中分化程度患者>肿瘤高分化程度患者;尿碘水平:T3-T4浸润深度患者>T1-T2浸润深度患者,淋巴结转移患者>无淋巴结转移患者;血清25(OH)D3水平:肿瘤低分化程度患者<肿瘤中分化程度患者<肿瘤高分化程度患者,T3-T4浸润深度患者<T1-T2浸润深度患者,淋巴结转移患者<无淋巴结转移患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,血清E2、25(OH)D3及尿碘水平联合预测DTC的敏感度、特异度、AUC为94.74%、92.80%、0.978,高于三指标单独检测($P<0.05$)。**结论** 血清E2、25(OH)D3及尿碘水平与DTC发生及病情进展有关,且三者联合对DTC的预测价值更高。

[关键词] 分化型甲状腺癌;雌激素;25-羟基维生素D3;尿碘

Predictive value of serum E2, 25(OH)D3 and urine iodine levels in differentiated thyroid carcinoma

YANG Fuzhou*, SONG Jinli, YAN Zhong, LI Mingyan

(Department of Nuclear Medicine, Ya'an People's Hospital, Ya'an, Sichuan, China, 625000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of serum estradiol (E2), 25-hydroxyvitamin D3 [25(OH)D3] and urine iodine levels in differentiated thyroid carcinoma (DTC). **Methods** 190 patients with DTC who were admitted to Ya'an People's Hospital from September 2021 to September 2022 and confirmed by histopathology were selected as the malignant group. Additionally, 125 patients with benign thyroid lesions were chosen as the benign group and 100 healthy individuals with normal thyroid morphology were selected as the healthy control group. Serum levels of E2, 25(OH)D3 and urine iodine in the three groups were compared. Serum E2, 25(OH)D3 and urine iodine levels in DTC patients with different clinical characteristics were compared. The predictive value of serum E2, 25(OH)D3 and urine iodine levels in DTC was analyzed using ROC curves. **Results** Serum E2 and urine iodine levels decreased sequentially from the malignant group, to the benign group and finally to the healthy control group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). Conversely, the 25(OH)D3 level increased sequentially across these groups. In patients with poorly differentiated carcinomas, moderately differentiated carcinomas, and highly differentiated carcinomas, serum E2 and urine iodine levels decreased sequentially. Additionally, patients with T3-T4 infiltration depth had higher urine iodine levels compared to those with T1-T2 infiltration depth. Patients with lymph node metastasis also had higher urine iodine levels than those without. On the other hand, serum 25(OH)D3 levels

基金项目:雅安市科技计划项目(2018yyjskf17)

作者单位:雅安市人民医院核医学科,四川,雅安 625000

*通信作者:杨福洲, E-mail:13281994588@163.com

increased sequentially in patients with poorly differentiated carcinomas, moderately differentiated carcinomas, and highly differentiated carcinomas. Serum 25(OH)D3 levels in patients with T3-T4 infiltration depth were lower than those in patients with T1-T2 infiltration depth. Serum 25(OH)D3 levels in patients with lymph node metastasis were lower than those in patients without. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the combination of serum E2, 25(OH)D3 and urinary iodine had a sensitivity, specificity, and AUC of 94.74%, 92.80% and 0.978, respectively, for predicting DTC. These values were higher than those obtained using a single indicator ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum E2, 25(OH)D3 and urine iodine levels are related to the occurrence and progression of DTC. The combination of all three factors is more conducive to predicting DTC.

[KEY WORDS] Differentiated thyroid carcinoma; Estrogen; 25-hydroxyvitamin D3; Urine iodine

甲状腺癌(thyroid carcinoma, TC)是常见的内分泌恶性肿瘤,约占全身恶性肿瘤的0.2%~1%,占头颈恶性肿瘤的3.06%^[1]。TC按分化程度可分为甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)、滤泡状癌、髓样癌和未分化癌,其中前两者合称分化型甲状腺癌(differential thyroid carcinoma, DTC)^[2]。近年来,DTC发病率增高,且女性发病率明显高于男性,已成为发病率增长最快的恶性肿瘤之一,对人类健康威胁较大。目前超声是诊断DTC的常用方法,但DTC易与甲状腺良性结节混淆。随着分子生物学技术的发展,分子标志物在鉴别良性肿瘤中的应用价值越来越受到关注。雌激素属于甾体类固醇性激素,在人体多种代谢调控中起重要作用,与多种疾病发生密切相关。其中,雌二醇(estradiol, E2)是活性最强的雌激素^[3]。有报道^[4]显示,雌激素参与TC的发生发展,可作为TC诊断的辅助指标。研究^[5]证实,维生素D(vitamin D, VD)参与肿瘤细胞侵袭、血管生成和转移。25-羟维生素D[25-hydroxy vitamin D3, 25(OH)D3]是VD在体内的主要存在形式。吴迪等^[6]发现,25(OH)D3水平参与TC发生,且可鉴别诊断甲状腺结节良恶性。碘是人体必需微量元素,参与甲状腺激素合成,碘摄入量过少或过多均会导致甲状腺疾病发生发展。自开展全民食盐碘化以来,碘缺乏性疾病已得到显著控制。有研究^[7]指出,全民食盐碘化使甲状腺住院疾病构成比改变甚至DTC患病率增高。本研究将分析血清E2、25(OH)D3及尿碘水平对DTC的预测价值,旨在为临床提供参考,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年9月至2022年9月雅安市人民医院收治的并经病理组织学确诊的190例DTC患者

作为恶性组,并选取本院同期收治的125例甲状腺良性病变患者作为良性组,另选取甲状腺形态正常的健康体检者100名作为健康对照组,DTC和甲状腺良性病变患者纳入标准:①DTC符合《成人甲状腺结节与分化型甲状腺癌诊治指南》^[8]中相关诊断,并经组织病理学确诊;甲状腺良性病变符合《甲状腺疾病检验诊断报告模式专家共识》^[9]中相关诊断,并经病理活检证实;②年龄25~78岁;③受试者知情并签署同意书。排除标准:①器质性疾病及其他恶性肿瘤者;②自身免疫性疾病、近期感染者;③甲状腺功能亢进或减退等;④甲状腺炎;⑤血液系统疾病;⑥半年内内服用含碘药物史;⑦妊娠及哺乳女性。恶性组:男83例,女107例,年龄30~78岁,平均年龄(48.37±6.44)岁;良性组:男50例,女75例,年龄25~75岁,平均年龄(47.20±6.15)岁;健康对照组:男39名,女61名,年龄26~77岁,平均年龄(46.88±6.09)岁。三组临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。具有可比性。本研究经院伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 雌激素水平检测

抽取受试者清晨空腹静脉血5 mL, 3 000 r/min离心10 min,离心半径为10 cm,分离血清,置-80℃恒温冰箱保存,采用化学发光法检测E2水平。

1.2.2 25(OH)D3水平检测

备200 μL血清,采用化学发光法定量检测25(OH)D3水平;根据国际骨质疏松基金会定义^[10],25(OH)D3水平<20 ng/mL、20~30 ng/mL、>30 ng/mL为维生素D缺乏、不足和充足。

1.2.3 尿碘水平检测

禁食8~12 h,清晨采集10 mL清洁中段尿,置于清洁聚乙烯塑料中密封,过碘催化分光光度法检测尿碘。参照《碘缺乏病及其消除的评估指

南》^[11],以<100 μg/L为碘缺乏,100~199 μg/L、200~299 μg/L为适宜、超适宜量,≥300 μg/L为过量。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析,两两比较行LSD-*t*检验,采用ROC曲线分析血清E2、25(OH)D3及尿碘水平对DTC的预测价值,以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清E2、25(OH)D3及尿碘水平比较

血清E2、尿碘水平:恶性组>良性组>健康对照组,25(OH)D3水平:恶性组<良性组<健康对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

2.2 不同临床病理特征的DTC患者血清E2、25(OH)D3及尿碘水平比较

血清E2、尿碘水平:肿瘤低分化程度患者>肿瘤

表1 三组血清E2、25(OH)D3及尿碘水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum E2, 25(OH)D3 and urinary iodine levels among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	E2 (pg/mL)	25(OH)D3 (ng/mL)	尿碘 (μg/L)
恶性组	190	30.26±8.44 ^{ab}	16.32±3.19 ^{ab}	364.52±40.69 ^{ab}
良性组	125	19.44±5.61 ^a	22.57±5.26 ^a	302.11±28.74 ^a
健康对照组	100	10.22±3.43	32.83±8.49	167.43±17.92
<i>F</i> 值		367.375	294.994	1 176.568
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,^a*P*<0.05;与良性组比较,^b*P*<0.05。

中分化程度患者>肿瘤高分化程度患者;尿碘水平: T3-T4浸润深度患者>T1-T2浸润深度患者,淋巴结转移患者>无淋巴结转移患者;血清25(OH)D3水平:肿瘤低分化程度患者<肿瘤中分化程度患者<肿瘤高分化程度患者,T3-T4浸润深度患者<T1-T2浸润深度患者,淋巴结转移患者<无淋巴结转移患者,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表2 不同临床病理特征的DTC患者血清E2、25(OH)D3及尿碘水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum E2, 25(OH)D3 and urinary iodine levels in DTC patients with different clinical and pathological characteristics ($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	E2 (pg/mL)	<i>F/t</i> 值	<i>P</i> 值	25(OH)D3 (ng/mL)	<i>F/t</i> 值	<i>P</i> 值	尿碘 (μg/L)	<i>F/t</i> 值	<i>P</i> 值
性别										
男	83	28.90±4.66	1.816	0.071	15.81±2.78	1.937	0.054	362.80±38.47	0.459	0.647
女	107	31.31±11.37			16.72±3.51			365.85±50.17		
年龄(岁)										
<65	100	30.15±5.82	0.178	0.859	16.72±3.44	1.807	0.072	365.04±39.52	0.186	0.853
≥65	90	30.38±11.35			15.88±2.91			363.94±41.99		
病灶个数										
单个	137	30.19±6.24	0.169	0.866	16.22±4.11	0.753	0.453	363.90±38.92	0.337	0.737
多个	53	30.44±14.13			16.58±3.04			366.12±45.27		
组织学分类										
乳头状癌	143	30.60±8.77			16.60±3.31			364.59±40.73		
滤泡癌	27	28.66±7.02	0.607	0.546	15.82±3.13	0.120	0.903	361.41±39.86	0.054	0.948
髓样癌	20	29.99±8.00			14.99±2.40			368.22±41.52		
TNM分期										
I~II	108	29.77±8.13	0.921	0.358	16.59±3.33	1.346	0.180	363.42±38.66	0.427	0.670
III~IV	82	30.91±8.85			15.96±3.01			365.97±43.37		
肿瘤直径(cm)										
≥3	75	29.77±8.20	0.646	0.519	15.83±2.99	0.709	0.089	366.21±40.22	0.625	0.533
<3	115	30.58±8.60			16.64±3.32			363.42±41.00		
肿瘤分化程度										
高分化	65	25.58±4.90			17.69±4.11			348.14±35.26		
中分化	74	29.71±6.54	20.775	<0.001	16.22±3.74	11.0221	<0.001	365.11±37.60	9.933	<0.001
低分化	51	37.20±15.71			14.71±1.22			384.54±52.07		
浸润深度										
T1~T2	80	29.95±7.73	0.434	0.665	17.90±4.33	5.534	<0.001	357.27±37.65	2.090	0.038
T3~T4	110	30.49±8.96			15.17±2.36			369.79±42.90		
淋巴结转移										
有	112	30.75±8.41	0.958	0.339	14.20±2.05	10.085	<0.001	375.59±46.38	4.432	<0.001
无	78	29.56±8.44			19.36±4.83			348.62±32.51		

2.3 血清E2、25(OH)D3及尿碘水平预测DTC的ROC曲线分析

ROC曲线分析显示,血清E2、25(OH)D3及尿碘水平联合预测DTC的敏感度、特异度、AUC为94.74%、92.80%、0.978,高于三指标单独检测($P < 0.05$),见表3、图1。

表3 血清E2、25(OH)D3及尿碘水平预测DTC的ROC曲线分析

Table 3 ROC curve analysis of serum E2, 25(OH)D3 and urinary iodine levels for predicting DTC

指标	敏感度	特异度	AUC	95% CI	最佳预测值
E2	80.53	81.60	0.877	0.836~0.911	27.33 pg/mL
25(OH)D3	90.00	54.40	0.740	0.688~0.788	18.04 ng/mL
尿碘	79.47	90.40	0.916	0.880~0.944	359.22 μ g/L
E2+25(OH)D3+尿碘	94.74	92.80	0.978	0.955~0.991	

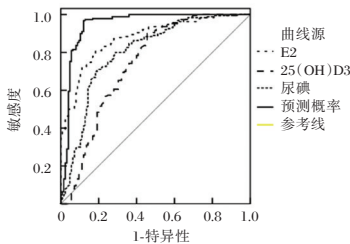


图1 ROC曲线

Figure 1 The ROC curves

3 讨论

雌激素可维持女性正常生理周期、促进体内骨钙沉积。育龄妇女雌激素由卵巢、胎盘产生,通过雌激素受体作用于相应靶器官发挥生理功能;对于男性、绝经后女性,脂肪组织、肌肉、肝脏和皮肤产生的内源性雄激素可经芳香化酶途径转化为雌激素产生相应生理作用,但雌激素也会致激素依赖性肿瘤发生,如前列腺癌、卵巢癌、甲状腺癌等。某些肿瘤在癌变中保留了激素受体,其生长、分裂受激素影响,这种情况下,调节激素水平或抑制激素受体作用的治疗方法通常是一个有效的策略^[12]。雌激素在癌症发生、发展主要通过雌激素受体(ER)发挥作用,ER是核转录因子,可通过其配体E2醇激活,与靶基因增强子区雌激素应答元件结合,发挥转录作用。Yang等^[13]发现,雌激素可促进TC细胞增殖,并通过抑制 β 连环蛋白表达增强TC细胞黏附、转移和侵袭能力。雌激素属于甾体类固醇性激素,其中E2是活性较强的雌激素。本研究发现,E2水平:恶性组>良性组>健康对

照组。提示E2水平与DTC发生有关,当机体雌激素水平长期处于较高水平时,可使甲状腺上皮细胞过度增生,进而增加DTC发生风险。进一步研究显示,E2水平与肿瘤分化程度有关,提示血清E2水平可反映肿瘤分化程度,为临床治疗提供参考。

VD是脂溶性维生素,具有维持钙稳态、保护骨骼生长发育及调节细胞周期、血管生成等作用。来自皮肤、饮食的VD在肝脏中羟化为25(OH)D3,其是体内主要存在形式,浓度常被用于衡量人体VD含量是否充足。约99%的VD与血清中蛋白结合,仅小部分以游离形式存在,而游离的25(OH)D3可通过与VDR结合控制下游靶基因表达,从而抑制肿瘤细胞增殖。随着VD水平降低,抑制肿瘤细胞增殖、转移作用减弱^[14]。本研中,血清25(OH)D3水平:恶性组<良性组<健康对照组。提示血清25(OH)D3水平与DTC发生有关,低水平25(OH)D3可增加DTC发生。分析原因是由于:VD缺乏可增加甲状旁腺激素分泌,刺激甲状腺腺体增生,而甲状旁腺激素过高可引发DTC。进一步研究发现,25(OH)D3水平与肿瘤分化程度、浸润深度及淋巴结转移有关,能够反映病情进展。

调查^[15]发现,碘含量较高是DTC最主要的高危因素。本研究中,尿碘:恶性组>良性组>健康对照组。说明尿碘水平参与DTC发生,当机体处于高碘状态时,机体内钠碘同向转运体转录、表达下降,甲状腺摄碘能力下降,无法维持甲状腺内环境稳态,可减退甲状腺功能,激活丘脑-垂体-甲状腺轴,引起TSH升高,刺激甲状腺滤泡增生,形成功能性结节,并造成特异性基因突变,导致DTC。进一步研究显示,尿碘水平与肿瘤分化程度、浸润深度及淋巴结转移有关,能够反映病情进展。本研究将上述三者联合,ROC曲线分析显示,血清E2、25(OH)D3及尿碘水平联合预测DTC的敏感度、特异度、AUC为94.74%、92.80%、0.978,高于三指标单独检测,说明血清E2、25(OH)D3及尿碘水平联合预测DTC价值更高。

综上,血清E2、25(OH)D3及尿碘水平可反映DTC患者病情进展,且三者联合预测DTC的价值较高。

参考文献

- [1] George PS, Mathew A, Sruthi S, et al. Spatiotemporal pattern of thyroid cancer incidence in South Kerala: A population-based study[J]. Indian J Public Health, 2023,67(2):240-246.

- [2] Brose MS, Robinson BG, Sherman SI, et al. Cabozantinib for previously treated radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer: Updated results from the phase 3 COSMIC-311 trial[J]. *Cancer*, 2022, 128(24):4203-4212.
- [3] 王琪,尹中波,余丽丽,等. 雌激素受体孕激素受体和人表皮生长因子受体2在分化型甲状腺癌中的表达及意义[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2022, 29(10):630-633.
- [4] 彭学姣,许天敏,张琨,等. 雌激素与甲状腺癌相关性的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(11):1791-1794.
- [5] 木尼热·阿不都外力,夏宝莹,邢志超,等. 术前25-羟基维生素D缺乏对甲状腺乳头状癌术后甲状腺功能的影响[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2022, 16(1):32-36.
- [6] 吴迪,赵恒达,韩莹,等. 探讨剪切波弹性成像,25-羟维生素D及甲状腺球蛋白抗体对甲状腺良恶性结节的诊断价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2022, 21(3):331-335.
- [7] 姜玉艳,孟召伟,谭建,等. 分化型甲状腺癌患者尿碘浓度与¹³¹I治疗效果的关系[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2021, 41(4):207-211.
- [8] 林岩松,李娇. 2015年美国甲状腺学会《成人甲状腺结节与分化型甲状腺癌诊治指南》解读:分化型甲状腺癌¹³¹I治疗新进展[J]. *中国癌症杂志*, 2016, 26(1):1-12.
- [9] 中国医师协会检验医师分会甲状腺疾病检验医学专业委员会. 甲状腺疾病检验诊断报告模式专家共识了[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(18):1380-1386.
- [10] 邓捷. 山西地区人群血清维生素D水平状况初步调查及其与骨密度的关系[D]. 太原:山西医科大学, 2014.
- [11] 魏爱平,李涛鹏,杜燕飞,等. 2020年河南省驻马店市保持消除碘缺乏病状态市级评估结果分析[J]. *中国地方病防治杂志*, 2021, 36(3):294-296.
- [12] Vigano L, Locatelli A, Ulisse A, et al. Modulation of the Estrogen/erbB2 Receptors Cross-talk by CDK4/6 Inhibition Triggers Sustained Senescence in Estrogen Receptor- and ErbB2-positive Breast Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(10):2167-2179.
- [13] Yang F, Xie HY, Yang LF, et al. Stabilization of MORC2 by estrogen and antiestrogens through GPER1 - PRKACA - CMA pathway contributes to estrogen - induced proliferation and endocrine resistance of breast cancer cells[J]. *Autophagy*, 2020, 16(6):1061-1076.
- [14] Bai Y, Wen YQ, Jiao Y, et al. An Analysis of Environment-, Individual-, and Tumor-Related Factors Impacting Hypovitaminosis D in Patients with Malignant Tumors[J]. *Nutr Cancer*, 2023, 75(5):1340-1348.
- [15] 曹景佳,刘勇,肖娟,等. 中低危分化型甲状腺癌¹³¹I治疗前尿碘水平与最佳治疗反应的关系[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2021, 41(1):35-40.

(上接第867页)

- [13] 刘姗姗,商素亮,苏华,等. 达格列净对T2DM伴HFPEF患者胰岛素抵抗、心室重构及MHR、NT-proBNP水平的影响[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023, 15(2):285-289.
- [14] 孙凌云,蔡佳盈,沈世忠,等. 达格列净对高糖诱导的人近端肾小管细胞损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(8):777-781.
- [15] 冉孟萍,唐海容,栾军军,等. 参芎葡萄糖注射液对慢性肾功能不全患者估算肾小球滤过率的长期影响[J]. *中国医药*, 2020, 15(8):1271-1275.

(上接第871页)

- [8] 丁通,鲍楠,张蓬杰,等. 维持性血液透析患者血清转铁蛋白饱和度与透析导管相关性感染及预后的相关性分析[J]. *临床肾脏病杂志*, 2021, 21(3):177-181.
- [9] Vachharajani TJ, Taliencio JJ, Anvari E. New Devices and Technologies for Hemodialysis Vascular Access: A Review[J]. *Am J Kidney Dis*, 2021, 78(1):116-124.
- [10] Almeida BM, Moreno DH, Vasconcelos V, et al. Interventions for treating catheter-related bloodstream infections in people receiving maintenance haemodialysis[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2022, 4(4):CD013554.
- [11] Opoku-Asare B, Boima V, Ganu VJ, et al. Catheter-Related Bloodstream Infections among patients on maintenance haemodialysis: a cross-sectional study at a tertiary hospital in Ghana[J]. *BMC Infect Dis*, 2023, 23(1):664.
- [12] 侯文利,吴远慧,黄晓,等. 血清内毒素和淀粉样蛋白及CD4+T细胞水平与艾滋病患者机会性感染的相关性[J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33(1):1-4.
- [13] 牛俊芳,吴凌,王彩萍. YKL-40、TyG与经PCI治疗冠心病患者预后不良心血管事件的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023, 15(8):1362-1365.
- [14] 雷颖,宋水江,汪涛,等. HBP、IGF、PCT水平在脑梗死并发医院获得性肺炎诊断和病情评价中的价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(18):2777-2780.
- [15] 吴美景,梁梅兰,吴玉丹,等. 肝素结合蛋白与正五聚蛋白3联合检测对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者细菌感染的预测价值[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(6):652-658.

体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭的疗效及其对线粒体标志物的影响

孙晓静 王立中* 张振英 张柳 许志萍 杨澄

[摘要] **目的** 研究体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭的疗效及其对线粒体标志物的影响。**方法** 2022年1月至2023年1月期间在首都医科大学附属北京康复医院就诊的86例慢性心力衰竭患者按照随机数字表分为观察组和对照组,观察组接受常规抗心衰药物治疗及体外反搏联合心脏康复治疗,对照组接受常规抗心衰药物治疗。治疗前和治疗后36 d,检测心肌做功Tei指数、左心室射血分数(LVEF)、6分钟步行距离(6MWD)、明尼苏达心力衰竭生活质量调查表(MLHFQ)评分、日常生活活动能力(ADL)评分及血清线粒体转录因子A(TFAM)、线粒体偶联因子6(CF6)水平;随访治疗后6个月的预后不良发生率和再入院率。**结果** 治疗后,观察组的Tei指数、LVEF、6MWD、ADL评分、血清TFAM水平高于对照组,差异有统计学意义($t=35.257, 4.604, 13.003, 4.804, 8.336, P<0.05$),观察组的MLHFQ评分及血清CF6水平低于对照组,差异有统计学意义($t=12.233, 7.967, P<0.05$);随访6个月,观察组的预后不良发生率和再入院率均低于对照组,差异有统计意义($\chi^2=6.515, 5.460, P<0.05$)。**结论** 体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭提高心功能和生活质量,改善线粒体功能、调节线粒体标志物是与之相关的可能分子机制。

[关键词] 慢性心力衰竭;体外反搏;心脏康复;心功能;线粒体功能

Effect of external counterpulsation combined with cardiac rehabilitation in treating chronic heart failure and its influence on mitochondrial markers

SUN Xiaojing, WANG Lizhong*, ZHANG Zhenying, ZHANG Liu, XU Zhiping, YANG Cheng

(Beijing Rehabilitation Hospital Affiliated with Capital Medical University, Beijing, China, 100144)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effect of external counterpulsation combined with cardiac rehabilitation in treating chronic heart failure and its influence on mitochondrial markers. **Methods** From January 2022 to January 2023, 86 patients with chronic heart failure were randomly divided into an observation group and a control group. The observation group received conventional anti-heart failure drug treatment along with external counterpulsation combined with cardiac rehabilitation treatment, while the control group only received conventional anti-heart failure treatment. Before and 36 days after treatment, measurements were taken for myocardial Tei index, left ventricular ejection fraction (LVEF), 6-minute walking distance (6MWD), Minnesota Heart Failure Quality of Life Questionnaire (MLHFQ) score, activity of daily living (ADL) score, and serum mitochondrial transcription factor A (TFAM) and mitochondrial coupling factor 6 (CF6) levels. Follow-up was conducted to track the incidence of poor prognosis and readmission at 6 months after treatment. **Results** After treatment, the Tei index, LVEF, 6MWD, ADL score and serum TFAM level in the observation group were higher than those in the control group, the differences were statistically significant ($t=35.257, 4.604, 13.003, 4.804, 8.336, P<0.05$), The MLHFQ score and serum CF6 level in the observation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($t=12.233, 7.967, P<0.05$). After 6 months of follow-up, the incidence of poor prognosis and readmission rate in the observation

基金项目:首都医科大学附属北京康复医院科研发展专项(2021-036)

作者单位:首都医科大学附属北京康复医院,北京100144

*通信作者:王立中, E-mail:13911817830@163.com

group were lower than those in the control group, with statistically significant difference ($\chi^2=6.515, 5.460, P<0.05$). **Conclusion** Extracorporeal counterpulsation, when combined with cardiac rehabilitation improves cardiac function and quality of life in the treatment of chronic heart failure. The improvement of mitochondrial function and regulation of mitochondrial markers are possible molecular mechanisms involved.

[KEY WORDS] Chronic heart failure; External counterpulsation; Cardiac rehabilitation; Cardiac function; Mitochondrial function

慢性心力衰竭是以心室射血功能和充盈功能受损为特征,是多种心血管疾病的最终转归^[1]。心脏康复是一种以运动锻炼为核心的心衰治疗手段,其目的是提高运动耐量、增强心脏舒缩功能,进而改善心衰症状和预后。体外反搏技术是近些年发展起来的无创性辅助循环治疗手段,通过气囊加压的方式促进肢体血液在心脏舒张期回流,进而增加回心血量、提高心排出量。临床研究资料显示:体外反搏联合心脏康复治疗显著改善慢性心力衰竭患者的心功能和生活质量^[2]。慢性心力衰竭的病情进展与线粒体功能损害、心肌细胞供能障碍有关,基础研究资料显示:运动锻炼显著改善心肌细胞能量代谢、增强线粒体功能^[3-4]。为深入认识体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭的可能分子生物学机制,本研究以线粒体功能为切入点、对血清线粒体标志物进行检测并分析体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭的疗效及其对线粒体标志物的影响。

1 对象与方法

1.1 一般资料

选择2022年1月至2023年1月期间在首都医科大学附属北京康复医院就诊的86例慢性心力衰竭患者作为研究对象,采用随机数字表将其分为观察组和对照组,每组各43例。观察组中男性28例、女性15例,年龄(62.57 ± 6.59)岁,病程(3.57 ± 0.42)年,纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)分级^[5]Ⅱ级27例、Ⅲ级16例;对照组中男性26例、17例,年龄(61.94 ± 6.14)岁,病程(3.45 ± 0.45)年,NYHA分级Ⅱ级25例、Ⅲ级18例。两组一般资料的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究的方案经医院临床伦理委员会批准。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准:①符合指南中疾病的诊断标准^[5];②NYHA分级Ⅱ~Ⅲ级^[5];③取得知情同意,签署知情同意书。排除标准:①存在体外反搏治疗禁忌

症;②存在运动训练禁忌症;③存在6分钟步行试验(6MWT)禁忌症;④合并肝肾功能不全;⑤合并动脉夹层、动脉瘤、恶性心律失常等。

1.3 方法

对照组进行常规抗心衰药物治疗,硝酸异山梨酯片10 mg口服3次/日,沙库巴曲缬沙坦钠片100 mg口服2/日,琥珀酸美托洛尔47.5 mg口服1次/日。观察组在常规抗心衰药物治疗的基础上进行体外反搏联合心脏康复治疗,体外反搏的压力为0.025~0.450 MPa,每次40 min、每日1次;根据患者的病情制定个体化的心脏康复运动处方,有氧运动分为热身、运动、放松三个阶段,热身阶段5 min、方式为热身操或慢走,运动阶段20 min、方式为快走,放松阶段5 min、方式为慢走,每日1次。连续治疗36天。

1.4 观察指标

治疗前和治疗后36天时进行指标观察。采用心脏彩色多普勒超声仪(VIVID7型,美国GE公司)进行超声心动图检查,检测心肌做功Tei指数、左心室射血分数(LVEF);进行6MWT试验,记录6分钟步行距离(6MWD);根据明尼苏达心力衰竭生活质量调查表(MLHFQ)和日常生活活动能力(ADL)量^[6]表进行问卷调查,记录MLHFQ评分和ADL评分;采集空腹外周静脉血5 mL,分离血清后采用酶联免疫吸附法试剂盒(西唐生物科技有限公司,中国上海)检测线粒体转录因子A(Mitochondrial transcription factor A, TFAM)、线粒体偶联因子6(mitochondrial coupling factor 6, CF6)水平。治疗过程中观察患者发生头晕、腹泻、皮疹、恶心、呕吐等不良反应发生情况,比较2组患者的不良反应发生率。对所有患者进行1年随访,计算再入院率=1年内复发再入院例数/总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 统计学处理

采用SPSS 24.0软件进行统计学处理,计量资料使用($\bar{x}\pm s$)描述,两组间比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后 Tei 指数及 LVEF 的比较

治疗前,两组 Tei 指数及 LVEF 的比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组 Tei 指数低于治疗前、LVEF 高于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组 Tei 指数低于对照组、LVEF 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组治疗前后 Tei 指数及 LVEF 的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of Tei index and LVEF before and after treatment between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Tei 指数		LVEF	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	43	4.04±0.29	0.85±0.07 ^a	44.51±3.58	55.23±4.08 ^a
对照组	43	4.01±0.33	1.74±0.15 ^a	45.02±3.71	51.47±3.47 ^a
t 值		0.448	35.257	0.649	4.604
P 值		0.655	<0.001	0.518	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.2 两组治疗前后 6MWD 的比较

治疗前,两组 6MWD 的比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组 6MWD 高于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组 6MWD 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组治疗前后 6MWD 的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of 6MWD before and after treatment between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	治疗前	治疗后
观察组	43	284.13±21.32	389.21±31.22 ^a
对照组	43	287.41±27.25	307.24±27.31 ^a
t 值		0.625	13.003
P 值		0.533	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.3 两组治疗前后 MLHFQ 评分和 ADL 评分的比较

治疗前,两组 MLHFQ 评分和 ADL 评分的比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组 MLHFQ 评分低于治疗前、ADL 评分高于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组 MLHFQ 评分低于对照组、ADL 评分高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 两组治疗前后血清 TFAM、CF6 水平的比较

治疗前,两组血清 TFAM、CF6 水平的比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组血清

表 3 两组治疗前后 MLHFQ 评分及 ADL 评分的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of MLHFQ and ADL before and after treatment between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	MLHFQ 评分		ADL 评分	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	43	71.38±5.68	40.12±3.57 ^a	60.37±5.47	81.58±7.30 ^a
对照组	43	70.84±6.61	51.37±4.86 ^a	61.42±6.03	74.36±6.62 ^a
t 值		0.406	12.233	0.848	4.804
P 值		0.686	<0.001	0.848	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

TFAM 水平高于治疗前、血清 CF6 水平低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组血清 TFAM 水平高于对照组、血清 CF6 水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 两组治疗前后血清 TFAM、CF6 水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of serum TFAM and CF6 levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血清 TFAM (pg/mL)		血清 CF6 (pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	43	93.58±11.38	172.56±21.35 ^a	385.61±46.58	261.57±35.32 ^a
对照组	43	95.27±10.91	136.42±18.77 ^a	390.14±50.75	327.62±41.32 ^a
t 值		0.703	8.336	0.431	7.967
P 值		0.484	<0.001	0.667	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.5 两组预后不良发生率和再入院率比较

治疗结束后随访 6 个月,观察组的预后不良发生率和再入院率均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

表 5 两组预后不良发生率和再入院率比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of incidence of poor prognosis and readmission rate between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	预后不良发生率	再入院率
观察组	43	5(11.63)	3(6.98)
对照组	43	15(34.88)	11(25.58)
χ^2 值		6.515	5.460
P 值		0.011	0.019

3 讨论

慢性心力衰竭的临床治疗包括药物治疗、生活方式干预、运动锻炼等。体外反搏和心脏康复是近些年兴起的治療手段,研究显示:在常规抗心衰药物治疗的基础上进行体外反搏或心脏康复对慢性心力衰竭患者的心功能具有改善作用^[7]。

体外反搏用于治疗慢性心力衰竭时,在心脏舒张过程中气囊加压充气,促进下肢静脉血回流心脏、增加回心血量;在心脏收缩过程中气囊放气,下肢压力降低、心脏后负荷减轻并增加心排量^[8]。心脏康复治疗以运动为核心,旨在增强心脏收缩和舒张功能、提高运动耐量,进而减轻心衰症状、提高生活质量^[9]。

本研究治疗后通过超声心电图和6MWT对心功能进行评价可知:常规抗心衰药物治疗基础上进行体外反搏联合心脏康复治疗提高Tei指数、LVEF及6MWD的作用较仅进行常规抗心衰药物治疗更为显著;通过MLHFQ评分和ADL评分对生活治疗进行评价可知:常规抗心衰药物治疗基础上进行体外反搏联合心脏康复治疗改善生活质量的作用较仅进行常规抗心衰药物治疗更为显著。与本研究的结果类似,国内苏虹等^[2]的临床研究将体外反搏和心脏康复用于慢性心力衰竭的治疗并证实联合治疗方式显著改善心功能、提高生活质量。

心脏是一个高耗能器官,心肌收缩和舒张过程中需要细胞内氧化呼吸进行供能。线粒体是完成氧化呼吸供能的重要场所,正常的线粒体功能有助于保证心肌细胞做功所需能量;若线粒体功能发生障碍,心肌细胞的功能会发生损伤,进而影响心室舒张、导致心力衰竭^[10-11]。TFAM和CF6是反映线粒体功能的标志物,前者在线粒体内结合线粒体DNA的热休克蛋白位点并促进线粒体转录、维持线粒体功能,其表达降低会导致线粒体损伤;后者在线粒体内参与能量转导过程,线粒体损伤会导致CF6释放增加^[12-13]。临床研究资料显示,慢性心力衰竭患者血清TFAM水平降低与病情加重、预后不良相关^[14];而改善慢性心力衰竭的治疗手段可显著降低血清CF6含量^[14]。以上结果提示,TFAM水平降低、CF6水平增加与慢性心力衰竭的病情加重有关。本研究结果显示:常规抗心衰药物治疗基础上进行体外反搏联合心脏康复治疗增加血清TFAM水平、降低血清CF6水平的作用较仅进行常规抗心衰药物治疗更为显著。这一结果提示改善线粒体功能、调节线粒体标志物水平可能是体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭治疗价值的相关分子机制。

最后,本研究通过两组间比较可知,常规抗心衰药物治疗基础上进行体外反搏联合心脏康复治疗显著降低预后不良发生率和再入院率,提示体外反搏联合心脏康复治疗在改善线粒体功能的基

础上对慢性心力衰竭患者的预后优化作用。

综上所述,体外反搏联合心脏康复治疗慢性心力衰竭提高心功能和生活质量,改善线粒体功能、调节线粒体标志物是与之相关的可能分子机制。

参考文献

- [1] 王宙,周琳,刘洋,等.慢性心力衰竭的流行病学研究现状及其防治研究进展[J].中国循证心血管医学杂志,2019,11(8):1022-1024.
- [2] 苏虹,黄森,钱小苗.体外反搏与心脏康复联合治疗射血分数保留心力衰竭患者的效果观察[J].中国社区医师,2023,39(2):60-62.
- [3] Stølen T, Shi M, Wohlwend M, et al. Effect of exercise training on cardiac metabolism in rats with heart failure [J]. *Scand Cardiovasc J*, 2020, 54(2):84-91.
- [4] de Souza SLB, Mota GAF, da Silva VL, et al. Effects of early exercise on cardiac function and lipid metabolism pathway in heart failure[J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(19):2956-2969.
- [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] Catchpool M, Ramchand J, Hare DL, et al. Mapping the Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (MLHFQ) onto the Assessment of Quality of Life 8D (AQoL-8D) utility scores[J]. *Qual Life Res*, 2020, 29(10):2815-2822.
- [7] 康翠霞,程方兵,张伟珍.早期心脏康复对慢性心力衰竭患者心功能、BNP和神经激素水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(5):850-853.
- [8] Xu L, Cui M, Zhao W. The Effect of EECF on Ischemic Heart Failure: a Systematic Review [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2023, 25(10):1291-1298.
- [9] Schmidt AM, Bloch-Nielsen JR, Nørgaard H, et al. A novel referral strategy to enhance the enrollment of patients with heart failure in cardiac rehabilitation: A feasibility study [J]. *Health Sci Rep*, 2024, 7(3):e1961.
- [10] Gallo G, Rubattu S, Volpe M. Mitochondrial Dysfunction in Heart Failure: From Pathophysiological Mechanisms to Therapeutic Opportunities [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(5):2667.
- [11] Camacho-Encina M, Booth LK, Redgrave RE, et al. Cellular Senescence, Mitochondrial Dysfunction, and Their Link to Cardiovascular Disease [J]. *Cells*, 2024, 13(4):353.
- [12] Zhang M, Feng N, Peng Z, et al. Reduced acetylation of TFAM promotes bioenergetic dysfunction in the failing heart [J]. *iScience*, 2023, 26(6):106942.
- [13] Li N, Shi Y, Yin J, et al. Impact of ATP synthase/coupling factor 6 in hypoxic pulmonary arterial hypertension: An experimental rat model [J]. *Turk J Med Sci*, 2022, 52(5):1468-1477.
- [14] 侯维娜,侯鹏飞,史苏娜,等.慢性心力衰竭患者可溶性微纤维相关蛋白4和线粒体转录因子A水平与病情程度及预后的关系探究[J].中国心血管病研究,2023,21(9):829-834.

妊娠合并甲减患者血清 TSH、Hcy、25(OH)D3 水平变化及临床意义

闫林林^{1*} 杨志英¹ 滕艳¹ 汪洪²

[摘要] 目的 探讨妊娠合并甲状腺功能减退症(甲减)患者血清促甲状腺激素(TSH)、同型半胱氨酸(Hcy)、25-羟维生素 D3[25(OH)D3]水平变化及临床意义。方法 选择2020年3月至2023年3月安徽省皖南康复医院·芜湖市第五人民医院102例妊娠合并甲减患者为研究对象(病例组),另选取同期80名健康产检孕妇为对照组,比较两组血清TSH、游离甲状腺素(FT_4)、Hcy及25(OH)D3水平,并分析甲状腺激素与Hcy、25(OH)D3的相关性;根据妊娠合并甲减治疗目标,将患者分为控制组和未控制组,根据妊娠结局将患者分为正常结局组和不良结局组,探究血清甲状腺激素、Hcy、25(OH)D3与患者病情控制效果及妊娠结局的关系。结果 病例组血清TSH、Hcy水平均显著高于对照组,25(OH)D3水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但两组血清 FT_4 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Pearson相关分析结果显示,妊娠合并甲减患者血清TSH与Hcy呈正相关、与25(OH)D3呈负相关($P<0.05$)。控制组治疗前血清TSH、Hcy水平均显著低于未控制组,而血清25(OH)D3水平显著高于未控制组,差异有统计学意义($P<0.05$);病例组不良妊娠结局总发生率显著高于对照组,其中未控制组发生率显著高于控制组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。正常结局组治疗前血清TSH、Hcy水平均显著低于不良结局组,血清25(OH)D3水平显著高于不良结局组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 妊娠合并甲减患者血清TSH、Hcy明显升高,25(OH)D3明显下降,三指标与患者病情控制效果及妊娠结局有关,监测三者变化可为妊娠合并甲减诊疗及预后评估提供参考。

[关键词] 妊娠;甲状腺功能减退;促甲状腺激素;同型半胱氨酸;25-羟维生素D3

Changes and clinical significance of serum TSH, Hcy and 25(OH)D3 levels in pregnant patients with hypothyroidism

YAN Linlin^{1*}, YANG Zhiying¹, TENG Yan¹, WANG Hong²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Anhui Wannan Rehabilitation Hospital, the Fifth People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000; 2. Department of Anesthesiology, Anhui Wannan Rehabilitation Hospital, the Fifth People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the changes and clinical significance of serum levels of thyroid stimulating hormone (TSH), homocysteine (Hcy) and 25-hydroxyvitamin D3 [25(OH)D3] in pregnant patients with hypothyroidism. **Methods** 102 pregnant patients with hypothyroidism at Anhui Wannan Rehabilitation Hospital, the Fifth People's Hospital of Wuhu from March 2020 to March 2023 were selected as the study subjects (case group), and 80 healthy pregnant women during the same period were included in the control group. Serum levels of TSH, free thyroxine (FT_4), Hcy and 25(OH)D3 were compared between the two groups. The correlation between thyroid hormones and Hcy and 25(OH)D3 was analyzed. The patients were divided into the controlled group and the uncontrolled group based on the treatment objectives for pregnancy with hypothyroidism. Additionally, the patients were classified into a normal outcome group and adverse outcome

基金项目:芜湖市科技计划项目(2021cg50)

作者单位:1.安徽省皖南康复医院·芜湖市第五人民医院妇产科,安徽,芜湖 241000

2.安徽省皖南康复医院·芜湖市第五人民医院麻醉科,安徽,芜湖 241000

通信作者:闫林林, E-mail: yanlinlin2022@126.com

group based on the pregnancy outcomes. The relationship of serum thyroid hormones, Hcy and 25(OH)D3 with disease control effect and pregnancy outcomes was explored. **Results** The levels of serum TSH and Hcy in the case group were significantly higher than those in the control group while the 25(OH)D3 level was significantly lower than that in the control group ($P<0.05$). However, there was no statistically significant difference in serum FT₄ levels between the two groups ($P>0.05$). Pearson correlation analysis results showed that serum TSH in pregnant patients with hypothyroidism was positively correlated with Hcy and negatively correlated with 25(OH)D3 ($P<0.05$). Before treatment, serum TSH and Hcy levels in the controlled group were significantly lower than those in the uncontrolled group ($P<0.05$), while serum 25(OH)D3 levels were significantly higher than those in the uncontrolled group ($P<0.05$). The total incidence rate of adverse pregnancy outcomes in the case group was significantly higher than that in the control group, and the incidence rate in the uncontrolled group was significantly higher than that in the controlled group ($P<0.05$). Before treatment, serum TSH and Hcy levels in the normal outcome group were significantly lower than those in the adverse outcome group ($P<0.05$), while serum 25(OH)D3 levels were significantly higher than those in the adverse outcome group ($P<0.05$). **Conclusion** Serum TSH and Hcy levels are significantly increased, while 25(OH)D3 is significantly decreased in pregnant patients with hypothyroidism. These three indicators are related to the disease control effect and pregnancy outcomes. Monitoring changes in these indicators can provide references for diagnosing, treating, and evaluating the prognosis of pregnancy with hypothyroidism.

[KEY WORDS] Pregnancy; Hypothyroidism; Thyroid stimulating hormone; Homocysteine; 25-hydroxyvitamin D3

妊娠合并甲状腺功能减退症(甲减)是妊娠期女性常见的内分泌疾病之一,其发生可导致自然流产、胎儿生长受限等不良妊娠结局,需进行早期防治^[1]。但妊娠合并甲减早期缺乏特异性症状,患者容易忽视而导致诊疗延误,早期筛查甲状腺功能、预测结局对妊娠管理十分必要^[2]。目前妊娠合并甲减仍缺乏统一判断标准,一般以甲状腺功能指标为参考,但不同碘营养状态、胎儿数量等均会影响甲状腺激素水平,寻找其他与妊娠合并甲减相关的指标以指导临床诊断及预后评估受研究者关注^[3]。同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)为胱氨酸和蛋氨酸代谢过程中的中间产物,正常情况下其维持在较低的血清水平,但在多种原发因素或继发因素影响下,血清Hcy明显升高,Hcy可参与包括甲状腺疾病在内的多种疾病发生和进展^[4]。维生素D是人体不可或缺的维生素,25-羟维生素D3[25-hydroxyvitamin D3, 25(OH)D3]为其活性形式,已有报道显示,维生素D不足或缺乏与甲状腺疾病相关^[5]。本研究将探讨妊娠合并甲减退患者血清促甲状腺素(thyroid stimulating hormone, TSH)、Hcy、25(OH)D3水平变化及与不良妊娠结局关系,旨在为临床妊娠合并甲减早期诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究选择2020年3月至2023年3月安徽省皖

南康复医院·芜湖市第五人民医院收治的102例妊娠期甲减患者,设为病例组。入选标准:①满足妊娠期甲减诊断^[6],即血清TSH>妊娠期特异性参考范围上限或4.0 mU/L,伴或不伴游离甲状腺素(FT₄)<妊娠期特异性参考范围下限;②妊娠11~14周首次建卡产检;③单活胎妊娠;④精神、认知正常;⑤配合随访。排除标准:①合并妊娠期糖尿病、妊娠期高血压等其他妊娠期合并疾病;②近3个月有影响甲状腺功能药物使用;③合并恶性肿瘤、重要脏器功能不全等其他严重疾病者;④辅助生育技术妊娠者;⑤异位妊娠者;⑥自然流产史。另选取同期80名健康产检孕妇为对照组,对照组甲状腺功能均正常,其余纳入、排除标准同病例组。本研究经医院伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

于首次建卡孕检时,收集孕妇空腹肘静脉血标本3 mL,离心处理(离心半径5 cm、转速3 000 r/min、时间10 min)后留取上清液标本,保存于-80℃冰箱备用。采用化学发光免疫分析法检测血清TSH、FT₄及25(OH)D3水平,检测仪器为美国雅培公司I2000微粒子化学发光免疫分析仪。采用酶联免疫法检测血清Hcy水平,检测仪器为HM-Y96A型酶标仪(山东恒美电子科技有限公司)。

1.2.2 治疗方法

病例组患者入组后,均予以左甲状腺素钠片治疗,口服,起始剂量 50~100 $\mu\text{g}/\text{d}$,结合患者耐受程度调整剂量。控制目标^[6]:将TSH控制在妊娠期特异性参考范围下限的1/2,或控制在 $<2.5 \text{ mU}/\text{L}$ 。

1.3 观察指标

①比较两组血清TSH、 FT_4 、Hcy及25(OH)D3水平,分析病例组血清甲状腺激素与Hcy及25(OH)D3相关性;②根据妊娠合并甲减治疗目标,将患者分为控制组和未控制组,比较两组治疗前血清TSH、 FT_4 、Hcy及25(OH)D3水平。③追踪孕妇妊娠结局,比较病例组与对照组不良妊娠结局(包括胎膜早破、自然流产、胎儿生长受限、早产、低体重儿等)^[7]发生情况;根据妊娠结局,将患者分为不良结局组和正常结局组,比较两组治疗前血清TSH、 FT_4 、Hcy及25(OH)D3水平。

1.4 统计学分析

应用SPSS 24.0统计软件分析数据,计量资料如满足正态分布均以 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 列出,行 χ^2 检验;采用Pearson相关分析法行相关性分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组年龄、体重指数、孕周、分娩史、孕产次比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料比较 $(\bar{x}\pm s)$

Table 1 Comparison of general data between the two groups

$(\bar{x}\pm s)$						
组别	n	年龄(岁)	体重指数(kg/m^2)	孕周(周)	初产/经产	孕产次(次)
病例组	102	30.12 \pm 4.28	25.13 \pm 2.86	12.02 \pm 0.83	68/34	2.16 \pm 0.65
对照组	80	29.62 \pm 3.85	25.07 \pm 2.69	12.17 \pm 0.66	51/29	2.08 \pm 0.52
t/χ^2 值		0.817	0.144	1.321	0.169	0.898
P 值		0.415	0.886	0.188	0.681	0.370

2.2 两组血清甲状腺激素及Hcy、25(OH)D3水平比较

病例组血清TSH、Hcy水平均显著高于对照组,25(OH)D3水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但两组血清 FT_4 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 血清甲状腺激素与Hcy、25(OH)D3相关性分析

Pearson相关分析法显示,妊娠合并甲减患者血清TSH与Hcy呈正相关($r=0.346, P<0.05$),与

表2 两组血清甲状腺激素及Hcy、25(OH)D3水平比较 $(\bar{x}\pm s)$

Table 2 Comparison of serum thyroid hormones, Hcy and 25(OH)D3 levels between the two groups $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	TSH(mU/L)	FT_4 (pmol/L)	Hcy($\mu\text{mol}/\text{L}$)	25(OH)D3(ng/mL)
病例组	102	5.39 \pm 1.74	13.54 \pm 4.86	16.92 \pm 3.56	27.05 \pm 8.42
对照组	80	2.08 \pm 0.65	14.67 \pm 2.75	8.04 \pm 1.92	36.51 \pm 7.38
t 值		16.146	1.859	20.125	7.937
P 值		<0.001	0.065	<0.001	<0.001

25(OH)D3呈负相关($r=-0.414, P<0.05$);血清 FT_4 与Hcy呈负相关($r=-0.295, P<0.05$),与25(OH)D3呈正相关($r=-0.308, P<0.05$)。

2.4 控制组与未控制组治疗前血清甲状腺激素及Hcy、25(OH)D3水平比较

102例妊娠合并甲减患者根据治疗后是否达控制目标,分为控制组74例、未控制组28例。控制组治疗前血清TSH、Hcy水平均显著低于未控制组,而血清 FT_4 、25(OH)D3水平显著高于未控制组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 控制组与未控制组治疗前血清甲状腺激素及Hcy、25(OH)D3水平比较 $(\bar{x}\pm s)$

Table 3 Comparison of serum thyroid hormones, Hcy and 25(OH)D3 levels between controlled group and uncontrolled group before treatment $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	TSH(mU/L)	FT_4 (pmol/L)	Hcy($\mu\text{mol}/\text{L}$)	25(OH)D3(ng/mL)
控制组	74	4.79 \pm 1.62	14.35 \pm 3.92	15.61 \pm 3.15	28.42 \pm 7.85
未控制组	28	6.98 \pm 1.35	11.40 \pm 3.27	20.38 \pm 3.06	23.43 \pm 7.22
t 值		6.361	3.540	6.877	2.926
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.004

2.5 病例组与对照组不良妊娠结局比较

病例组不良妊娠结局总发生率显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 病例组与对照组不良妊娠结局比较 $[n(\%)]$

Table 4 Comparison of adverse pregnancy outcomes between case group and control group $[n(\%)]$

组别	n	胎膜早破	自然流产	胎儿生长受限	早产	低体重儿	总发生率
病例组	102	3(2.94)	7(6.86)	3(2.94)	8(7.84)	6(5.88)	27(26.47)
对照组	80	1(1.25)	0(0.00)	0(0.00)	1(1.25)	1(1.25)	3(3.75)
χ^2 值							16.813
P 值							<0.001

2.6 控制组与未控制组不良妊娠结局比较

未控制组不良妊娠结局发生率显著高于控制组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表5 控制组与未控制组不良妊娠结局比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of adverse pregnancy outcomes between controlled group and uncontrolled group [n(%)]

组别	n	胎膜早破	自然流产	胎儿生长受限	早产	低体重儿	总发生率
未控制组	281	5(1.78)	2(0.71)	6(2.14)	4(1.42)	18(6.42)	
控制组	742	2(0.27)	1(0.13)	2(0.27)	2(0.27)	9(1.21)	
χ^2 值							28.355
P值							<0.001

2.7 不同妊娠结局患者血清甲状腺激素及 Hcy、25(OH)D3 水平比较

正常结局组治疗前血清 TSH、Hcy 水平均显著低于不良结局组,而血清 FT₄、25(OH)D3 水平显著高于不良结局组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 6。

表6 不同妊娠结局患者血清甲状腺激素及 Hcy、25(OH)D3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 6 Comparison of serum thyroid hormones, Hcy and 25(OH)D3 levels in patients with different pregnancy outcomes ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TSH (mU/L)	FT ₄ (pmol/L)	Hcy (μ mol/L)	25(OH)D3 (ng/mL)
正常结局组	75	4.52±1.64	14.51±3.95	15.37±3.07	28.85±7.94
不良结局组	27	7.81±1.43	10.85±3.06	21.22±3.11	22.05±7.04
t值		9.231	4.361	8.462	3.927
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

妊娠合并临床甲减患病率在 0.3%~1.9%,合并亚临床甲减患病率在 1.5%~5%,其发生与自身免疫性甲状腺炎、缺碘、甲状腺手术等因素有关,加之妊娠期血容量增加、碘廓清率升高以及孕妇甲状腺激素需求量增加,可导致甲减有加剧倾向^[8]。甲减的发生可增加孕妇妊娠高症发生率,还可导致流产、胎儿生长受限、早产、胎死宫内等不良妊娠结局^[9],其早期诊治及管理十分必要。

TSH是由垂体分泌的促甲状腺生长激素,当血液中甲状腺素水平下降时,TSH可代偿性增加,故TSH升高可反映甲减发生。FT₄是实现甲状腺素生物效应的主要部分,其血清水平降低能直观反映临床甲减,但对亚临床甲减而言,在代偿作用下,血清FT₄水平处于正常水平。本文结果显示,病例组血清TSH水平明显下降,这主要因为TSH在孕妇出现亚临床甲减时即可明显升高,但两组FT₄水平比较差异无统计学意义,可能与本研究病例以亚临床

甲减更多有关。Hcy水平升高可破坏动脉结构、参与动脉粥样硬化过程,因此被视为心血管疾病危险因素^[10]。本文结果显示,病例组血清Hcy明显升高,且与TSH呈正相关、与FT₄呈负相关,提示Hcy可能与妊娠期甲减有关。分析原因,对妊娠期甲减患者而言,其代谢率下降,可导致叶酸、维生素B₁₂吸收障碍,使得机体甲基化反应受限,蛋氨酸合成受限,故其中间代谢产物Hcy出现蓄积,血清Hcy明显升高。姜素娥等^[11]研究也发现,妊娠期甲减孕妇血清Hcy明显升高,支持本研究结果。妊娠期甲减与自身免疫性甲状腺炎关联密切^[12]。维生素D在机体免疫调节中起重要作用,其可刺激Th2细胞及相关细胞因子生成,有利于衰减自身免疫反应;通过作用于CD4+T细胞,能抑制Th1、Th17细胞增殖及相关炎症因子分泌,并诱导Treg产生,减轻炎症因子对甲状腺组织的破坏;还能抑制B细胞增殖、下调免疫球蛋白合成,减少甲状腺自身抗体生成;因此,维生素D缺乏可参与自身免疫性甲状腺炎发生^[13]。本文结果显示,病例组血清25(OH)D3水平明显下降,且与血清TSH呈负相关、与FT₄呈正相关,提示维生素D缺乏可能与妊娠期甲减有关,这与陈晶晶等^[14]报道相似。

进一步研究发现,控制组较未控制组、正常结局组较不良结局组治疗前血清TSH、Hcy水平更低,而FT₄、25(OH)D3水平更高,提示早期检测甲状腺激素及Hcy、25(OH)D3水平可能有助于患者治疗效果及妊娠结局评估。另外,本研究病例组不良妊娠结局总发生率更高,且未控制组发生率较控制组更高,进一步说明妊娠期甲减可增加不良妊娠结局风险,而将TSH控制在目标范围内有助于改善妊娠结局,这可为临床积极诊断并治疗妊娠期甲减提供依据。

综上所述,妊娠合并甲减患者血清TSH、Hcy明显升高,25(OH)D3明显下降,且对患者病情控制效果及不良妊娠结局有影响,血清甲状腺激素及Hcy、25(OH)D3检测可为妊娠合并甲减患者诊断、预后及妊娠结局评估提供一定参考。

参考文献

- [1] 邓文娟,王静,宁改君,等. 妊娠期甲减患者孕晚期鸢尾素水平与机体代谢指标及母婴妊娠结局的相关性分析[J]. 现代预防医学, 2021, 48(6): 1145-1148.
- [2] Pearce EN. Management of Hypothyroidism and Hypothyroxinemia During Pregnancy [J]. Endocr Pract, 2022, 28(7): 711-718.

PD1/PD-L1 在卵巢癌及癌旁组织的表达及与临床病理、预后的关系

肖喜云* 李倩 冯静 颜瑞雪 奚杰

[摘要] **目的** 探究程序性死亡受体1(PD1)/细胞程序性死亡配体1(PD-L1)在卵巢癌及癌旁组织的表达及与临床病理、预后的关系。**方法** 选取沧州市中心医院2021年12月至2022年12月收治的120例卵巢癌患者,对患者癌组织及癌旁组织PD1、PD-L1表达情况进行检测,采用多因素logistic回归分析与Kaplan-Meier法探究PD1、PD-L1与患者临床病理、预后的关系。**结果** 120例患者中,卵巢癌组织中PD1阳性32例(26.67%)(PD1阳性组),PD-L1阳性39例(32.50%)(PD-L1阳性组),其中有30例(25.00%)患者同时表达PD1、PD-L1(表达组),79例(65.83%)患者均未出现PD1、PD-L1表达(未表达组)。癌旁组织中均未见两者表达。PD1、PD-L1阳性组与PD1、PD-L1阴性组病理类型、国际妇产科联盟(FIGO)分期比较差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素logistics回归分析显示,病理类型、FIGO分期为PD1、PD-L1表达的影响因素($P<0.05$)。120例患者中共39例复发,PD1阳性组、PD-L1阳性组、表达组、未表达组复发率为50.00%、56.41%、60.00%、12.68%,四组无进展生存时间(PFS)为(18.04±1.68)个月、(17.96±1.42)个月、(16.73±1.05)个月、(20.06±1.75)个月。**结论** PD1、PD-L1在卵巢癌中的表达提示患者预后不良,临床应采取针对性措施对PD1阳性、PD-L1阳性的患者进行干预,以改善预后。

[关键词] 卵巢癌;程序性死亡受体1;细胞程序性死亡配体1;临床病理

The expression of PD1/PD-L1 in ovarian cancer and adjacent tissues and its relationship with clinical pathology and prognosis

XIAO Xiyun*, LI Qian, FENG Jing, YAN Ruixue, XI Jie

(Gynecological Oncology Surgery Department 1, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of programmed death 1 (PD1)/programmed death ligand-1 (PD-L1) in ovarian cancer and adjacent tissues, and its relationship with clinical pathology and prognosis. **Methods** 120 ovarian cancer patients admitted to Cangzhou Central Hospital from December 2021 to December 2022 were selected for this study. The expression of PD1 and PD-L1 in cancer tissues and adjacent tissues was examined. Multivariate logistic regression analysis and Kaplan-Meier analysis were performed to explore the relationship among PD1, PD-L1, clinical pathology and prognosis. **Results** Among the 120 patients, there were 32 (26.67%) cases that were PD1 positive (PD1 positive group) and 39 (32.50%) cases that were PD-L1 positive cases (PD-L1 positive group). Simultaneous expression of PD1 and PD-L1 was observed in 30 (25.00%) patients (expression group). No expression of PD1 or PD-L1 was observed in 79 (65.83%) patients (non-expression group). There was no PD1 or PD-L1 expression in adjacent tissues. Statistically significant differences were found in pathological types and FIGO staging between the PD1/PD-L1 positive group and the PD1/PD-L1 negative group ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis found that pathological type and FIGO stage were influencing factors of PD1 and PD-L1 expression ($P<0.05$). Out of 120 patients, 39 experienced recurrences. The recurrence rates in the PD1 positive group, PD-L1 positive

基金项目:沧州市科技计划自筹经费项目(222106020)

作者单位:沧州市中心医院妇科肿瘤外一科,河北,沧州 061000

*通信作者:肖喜云, E-mail: XiaoXY12366@163.com

group, expression group and non-expression group were 50.00%, 56.41%, 60.00% and 12.68%, respectively. PFS of the four groups were (18.04±1.68) months, (17.96±1.42) months, (16.73±1.05) months and (20.06±1.75) months. **Conclusion** The expression of PD1 and PD-L1 in ovarian cancer tissues suggests a poor prognosis. Clinically, targeted measures should be taken for PD1 positive and PD-L1 positive patients to improve their prognosis.

[KEY WORDS] Ovarian cancer; Programmed death 1; Programmed death ligand 1; Clinical pathology

卵巢具有内分泌与生殖两项功能,对女性具有重要意义。相关数据^[1]调查显示,卵巢癌在女性癌症相关死亡原因中居第五位,全球每年约有15万女性因罹患卵巢癌死亡,每年新增病例高达20万,因此预防、筛查及治疗卵巢癌对于保证女性健康至关重要。近年来以程序性死亡受体1(programmed death 1, PD1)/细胞程序性死亡配体1(Programmed Deathligand-1, PD-L1)为途径的免疫治疗在各种实体肿瘤中的治疗逐渐引起临床关注^[2],有研究^[3]表明,以阻断PD1/PD-L1通路为途径的免疫治疗可显著增加血浆淋巴瘤、恶性胸膜间皮瘤患者的总生存期与无进展生存期,具有良好的临床应用价值。针对PD1/PD-L1的免疫检查抑制剂在部分卵巢癌临床试验中有积极作用,但PD1、PD-L1及两者同时表达与卵巢癌患者临床病理、预后的关系相关研究较少,目前仍有探究空间,基于此本研究对PD1/PD-L1在卵巢癌及癌旁组织的表达及其与临床病理、预后的关系进行分析,以期对卵巢癌的临床病理及预后评估提供思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取沧州市中心医院2021年12月至2022年12月收治的120例卵巢癌患者。纳入标准:①符合《卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(2021年版)》^[4]中的诊断标准,并经病理组织学检查确诊为卵巢癌;②临床治疗资料完整者。排除标准:①合并有结核病、梅毒等传染性疾病者;②合并有其他生殖系统肿瘤者;③卵巢癌及其癌旁组织采集前接受过卵巢癌相关治疗者。120例患者中,年龄43~66岁,平均(55.06±5.51)岁;病理类型:浆液性腺癌64例,透明细胞癌22例,粘液性腺癌16例,子宫内膜样腺癌6例,恶性颗粒细胞癌6例,鳞状细胞癌4例,移行细胞癌1例,恶性畸胎瘤1例;临床分期:I期50例,II期9例,III期56例,IV期5例。患者或家属对本研究知情并签署同意书。研究经本院伦理委员会审核通过。

1.2 方法

1.2.1 PD1、PD-L1表达检测

①主要试剂与仪器:DAKO公司DAB显色试剂盒、PHYGENE科研试剂(BSA)、日本Olympus公司光学显微镜、迈新生物技术开发有限公司PBS磷酸盐缓冲液与柠檬酸盐修复液。②检测方法:免疫组织化学染色、水浴、显色等一系列操作后对组织进行定量分析^[5]。③结果判定:由两名工作年限≥10年的高级别病理科医师对免疫组化切片进行评判,若评判结果不一致则由上一级医师共同诊断决定。根据阳性细胞所占比例评分与染色强度评分之和对两者表达进行判定,其中阳性细胞所占比例≤5%、6%~25%、26%~75%、>75%分别对应0、1、2、3分,染色强度无着色、淡黄色、棕黄色、棕褐色依次对应0、1、2、3分,两者之和即为总分,总分0分、1~2分、3~4分、5~6分依次对应阴性、弱阳性、中度阳性、强阳性,将阴性与弱阳性判定为阴性,中度阳性与强阳性判定为阳性^[5]。

1.2.2 随访

通过电话、查阅门诊或住院病历等形式对患者进行随访,随访内容包括是否复发、是否死亡,随访时间截止至2023年10月,共随访10个月。卵巢癌复发诊断^[6]:糖类抗原125(carbohydrate antigen-125, CA-125)水平≥30 U/mL或(和)影像学检查发现新病灶。

1.3 统计学方法

采用SPSS 28.0统计软件进行数据统计与分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,采用 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。采用Logistic回归分析探究PD1、PD-L1表达与临床病理的关系。采用Kaplan-Meier法分析PD1、PD-L1表达的卵巢癌患者疾病进展及复发情况。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 120例患者PD1、PD-L1表达情况

120例患者中,卵巢癌组织中PD1阳性32例(26.67%)(PD1阳性组),PD-L1阳性39例(32.50%)

(PD-L1 阳性组),其中有 30 例(25.00%)患者同时表达 PD1、PD-L1(表达组),79 例(65.83%)患者均未出现 PD1、PD-L1 表达(未表达组)。见表 1。癌旁组织中均未见 PD1、PD-L1 阳性表达。

表 1 120 例患者 PD1、PD-L1 在卵巢癌组织的表达情况 [n(%)]

病理类型	PD1	PD-L1
浆液性腺癌	25(78.12)	29(74.36)
透明细胞癌	3(9.37)	7(17.95)
粘液性癌	2(6.25)	2(5.13)
子宫内膜样腺癌	1(3.13)	0(0.00)
恶性颗粒细胞癌	1(3.13)	0(0.00)
恶性畸胎瘤	0(0.00)	1(2.56)
合计	32(100.00)	39(100.00)

2.2 PD1、PD-L1 表达与患者临床病理的单因素分析

PD1 阳性组与 PD1 阴性组病理类型、国际妇产科联盟(FIGO)分期比较差异有统计学意义($P < 0.05$);两组年龄及绝经情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。PD-L1 阳性组与 PD-L1 阴性组病理类型、FIGO 分期比较差异有统计学意义($P < 0.05$);两组年龄及绝经情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 2 PD1 表达与患者临床病理的单因素分析 [(\bar{x}±s),n(%)]

临床病理参数	PD1 阳性组 (n=32)	PD1 阴性组 (n=88)	t/χ ² 值	P 值
年龄(岁)	55.11±5.16	54.76±5.38	0.319	0.751
绝经			0.120	0.729
是	9(28.12)	22(25.00)		
否	23(71.88)	66(75.00)		
病理类型			10.776	
浆液性癌	25(78.12)	39(44.32)		
非浆液性癌	7(21.88)	49(55.68)		0.001
FIGO 分期			10.909	0.001
I~II	8(25.00)	52(59.09)		
III~IV	24(75.00)	36(40.91)		

2.3 PD1、PD-L1 表达与患者临床病理的多因素 Logistic 回归分析

以 PD1、PD-L1 表达为因变量(阳性=1,阴性=

表 3 PD-L1 表达与患者临床病理的单因素分析 [(\bar{x}±s),n(%)]

Table 3 Univariate analysis of PD-L1 expression and clinical pathology [(\bar{x}±s),n(%)]

临床病理参数	PD-L1 阳性组 (n=39)	PD-L1 阴性 (n=81)	t/χ ² 值	P 值
年龄(岁)	55.26±5.23	54.88±5.41	0.364	0.716
绝经			0.229	0.632
是	9(23.08)	22(27.16)		
否	30(76.92)	59(72.84)		
病理类型			10.263	0.001
浆液性癌	29(74.36)	35(43.21)		
非浆液性癌	10(25.64)	46(56.79)		
FIGO 分期			10.978	0.001
I~II	11(28.21)	49(60.49)		
III~IV	28(71.79)	32(39.51)		

0),将单因素分析差异有统计学意义的变量病理类型、FIGO 分期代入多因素 logistics 回归分析,结果显示:病理类型、FIGO 分期均与 PD1、PD-L1 表达的影响因素($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 120 例患者生存分析结果

随访结果显示,120 例患者中共 39 例复发。PD1 阳性组共 16 例复发,复发率为 50.00%,高于 PD1 阴性组的 26.14%(23 例);PD1 阳性组的无进展生存时间(PFS)为(18.04±1.68)个月,Kaplan-Meier 生存分析结果显示两组 PFS 比较差异有统计学意义($\chi^2=4.632, P=0.031$)。见图 1。PD-L1 阳性组共 22 例复发,复发率为 56.41%,高于 PD-L1 阴性组的 20.99%(17 例);PD-L1 阳性组的 PFS 为(17.96±1.42)个月,Kaplan-Meier 生存分析结果显示两组 PFS 比较差异有统计学意义($\chi^2=9.834, P=0.002$)。

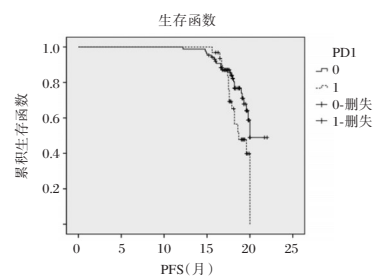


图 1 PD1 表达与疾病进展情况生存分析

Figure 1 Survival analysis of PD1 expression and disease progression

表 4 PD1、PD-L1 表达与患者临床病理的多因素 Logistic 回归分析

Table 4 Multivariate logistic regression analysis of PD1 and PD-L1 expression and clinical pathology

因变量	因素	β 值	SE 值	wald χ ² 值	OR 值	95% CI 上限	95% CI 下限	P 值
PD1 表达	病理类型	1.113	0.469	5.632	3.043	1.214	7.631	0.018
	FIGO 分期	1.008	0.411	6.015	2.740	1.224	6.132	0.015
PD-L1 表达	病理类型	0.966	0.431	5.021	2.627	1.129	6.114	0.026
	FIGO 分期	1.074	0.327	10.787	2.927	1.542	5.556	0.001

见图2。表达组共18例复发,复发率为60.00%;表达组的PFS为(16.73±1.05)个月,Kaplan-Meier生存分析结果显示两组PFS比较差异有统计学意义($\chi^2=5.927, P=0.015$)。见图3。未表达组共9例复发,复发率为12.68%;未表达组的PFS为(20.06±1.75)个月,Kaplan-Meier生存分析结果显示两组PFS比较差异有统计学意义($\chi^2=35.559, P=0.000$)。见图4。

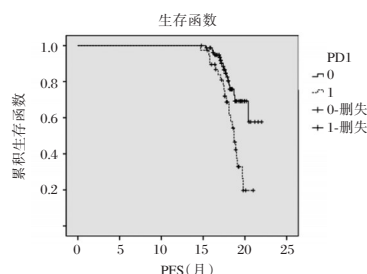


图2 PD-L1表达与疾病进展情况生存分析

Figure 2 Survival analysis of PD-L1 expression and disease progression

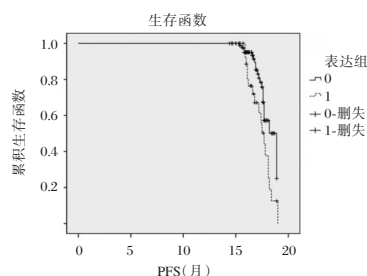


图3 PD1、PD-L1表达与疾病进展情况生存分析

Figure 3 Survival analysis of PD1 and PD-L1 expression and disease progression

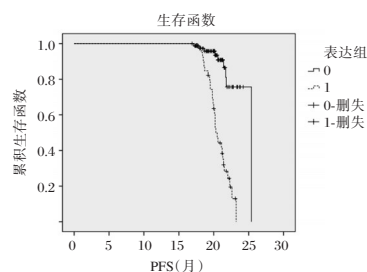


图4 PD1、PD-L1均未表达与疾病进展情况生存分析

Figure 4 Survival analysis of no PD1 or PD-L1 expression and disease progression

3 讨论

已有研究^[7]表明,卵巢癌为一种免疫原性肿瘤,其可在不同的微环境中增强免疫抑制、诱导强烈的炎症反应。PD-L1为一种新的B7家族共刺激分子配体,免疫调节蛋白PD-1以及配体PD-L1由

免疫细胞与肿瘤细胞共同表达,目前已引起临床关注。研究^[8]表明,PD-L1在多种肿瘤细胞中的表达上调且可减少机体抗肿瘤免疫应答,PD1/PD-L1途径为免疫检查点,具有调控特异性抗原依赖性作用,可作为抗肿瘤免疫治疗以及药物干预的靶分子。本研究就PD1、PD-L1在卵巢癌及癌旁组织中的表达情况进行分析,探究两者与临床病理、预后的关系,以为临床指导提供依据。

PD1与巨噬细胞、活化T细胞与B细胞表面表达,可参与T细胞受体信号的负反馈调节。本研究中,PD1、PD-L1在卵巢癌中的阳性表达率不高,分别为26.67%、32.50%,虽低于既往研究^[9]结果,但仍在合理范围内,分析可能与病例数收集较少、排除新辅助化疗、人工因素等相关。本研究在前人研究基础上进一步对两者同时阳性表达与两者均未表达的情况进行分析,结果显示有30例患者同时表达PD1、PD-L1,79例患者均未出现PD1、PD-L1,表明两者在卵巢癌中同时表达概率为25.00%左右。PD1、PD-L1与临床病理的关系分析结果显示:病理类型、FIGO分期为PD1、PD-L1表达的影响因素。由于本研究中浆液性癌的患者数量较多,且有研究^[10]表明PD-L1在浆液性癌中呈高表达,因此本研究将患者分为浆液性癌与非浆液性癌,对两者PD1与PD-L1的表达进行分析,结果表明卵巢癌患者病理类型为PD1、PD-L1表达的影响因素。FIGO分期为Ⅲ~Ⅳ的患者PD1、PD-L1阳性表达率显著高于FIGO分期为Ⅰ~Ⅱ的患者,提示卵巢癌患者PD1、PD-L1的阳性表达率随着FIGO分期的升高而升高,推测其原因可能为卵巢癌在发展过程中通过逃避免疫清除增加PD1与PD-L1的表达,进而导致肿瘤转移及扩散机率增加。120例患者中共39例复发,PD1阳性组复发率为50.00%,PFS为(18.04±1.68)个月。张智等^[11]对PD1在上皮性卵巢癌组织中的表达情况进行探究,结果显示PD1阳性患者生存率显著低于阴性患者,与本研究结果一致。PD-L1阳性组复发率为56.41%,PFS为(17.96±1.42)个月。黄文波等^[12]对PD-L1在卵巢癌患者中的表达及与预后的关系进行探究,结果显示PD-L1与患者预后关联,与本研究结果相似,表明PD-L1阳性可对卵巢癌患者生存期造成影响。表达组复发率为60.00%,PFS为(16.73±1.05)个月,而未表达组复发率为12.68%,PFS为(20.06±1.75)个月,显著优于PD1阳性组、

PD-L1 阳性组以及表达组,表明 PD1、PD-L1 的高表达以及两者同时表达可导致预后 PFS 缩短。究其原因:肿瘤细胞通过上调 PD1 与 PD-L1 的表达对效应 T 细胞进行抑制进而导致肿瘤进展,故临床可通过制备 PD1/PD-L1 的特异性抗体以阻断 PD1、PD-L1 的作用^[13],或通过编码 PD1/PD-L1 基因的重组病毒载体,设计特异性病毒载体疫苗对患者进行治疗以提升疗效与降低复发率。

综上所述,PD1、PD-L1 在卵巢癌组织中均有表达,但在癌旁组织中未见表达,PD-1、PD-L1 的表达与卵巢癌病理类型、临床病理分期存在关联,PD1、PD-L1 在卵巢癌中的表达提示患者预后不良,临床可将 PD1、PD-L1 作为重要的免疫检查点,以改善预后。

参考文献

- [1] 赵爱月,邱燕如,郑雪琴,等. PD-L1 和 Siglec-15 调控卵巢癌细胞恶性生物学行为的机制及其临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023,30(2):142-149.
- [2] Wang Z, Wu X. Study and analysis of antitumor resistance mechanism of PD1/PD-L1 immune checkpoint blocker [J]. *Cancer Med*, 2020,9(21):8086-8121.
- [3] Rosado FG, Coberly J, Gupta A, et al. PD1/PD-L1 Expressions in Plasmablastic Lymphoma with Clinicopathological Correlation[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2021, 51(2):174-181.
- [4] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(2021年版)[J]. 中国癌症杂志, 2021,31(6):490-500.
- [5] 鞠策,高景春,张朋新,等. PD-1 和 PD-L1 在卵巢上皮性癌组织中的表达及其意义[J]. 中华妇产科杂志, 2020,55(8):529-534.
- [6] 李桥,林澍莘,钟穗兴,等. 基于 CT 影像学组列线图预测原发性上皮性卵巢癌治疗后复发的价值[J]. 临床放射学杂志, 2023,42(5):800-806.
- [7] 单冬勇,成树林,马邳晨,等. 上皮性卵巢癌血清中肿瘤标志物水平及其临床意义[J]. 中南大学学报(医学版), 2023,48(7):1039-1049.
- [8] 赵爱月,邱燕如,郑雪琴,等. PD-L1 和 Siglec-15 调控卵巢癌细胞恶性生物学行为的机制及其临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023,30(2):142-149.
- [9] 刘鑫. PD-1/PD-L1 在卵巢恶性肿瘤中的表达与临床病理分型、分期的相关性[D]. 大连:大连医科大学, 2021.
- [10] 杨尊敬,杜先玲. WNT1、 β -catenin、PD-L1 蛋白在上皮性卵巢浆液性癌中的表达及临床意义[J]. 癌症进展, 2019,17(17):2079-2082.
- [11] 张智,张一琼. Foxp3+Tregs 及 PD1 在上皮性卵巢癌组织中的表达及其临床病理意义[J]. 南昌大学学报(医学版), 2018,58(5):54-58+69.
- [12] 黄文波,陈北平. PD-L1 和 PD-L2 在卵巢癌组织中的表达及对预后判断的意义[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2022,29(3):333-336.
- [13] 侯建英. 免疫抑制剂 PD-1/PD-L1 治疗卵巢癌的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2020,34(3):266-270.
- [3] 归倩,陈真,周伟,等. 妊娠合并甲状腺功能减退诊治研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(1): 170-171.
- [4] 葛迪,史清海,魏静,等. 甲状腺功能减退患者血清甲状腺激素、同型半胱氨酸及血脂水平测定的临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(6): 1115-1118.
- [5] 杨芸瑞,甄东户. 维生素 D 缺乏和基因多态性与自身免疫性甲状腺疾病相关性研究进展[J]. 医学综述, 2021, 27(22):4406-4412.
- [6] 中华医学会内分泌学分会,中华医学会围产医学分会. 妊娠和产后甲状腺疾病诊治指南(第2版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2019, 35(8): 636-665.
- [7] 王秀丽,颜珊,方建红. 妊娠合并甲状腺功能减退患者血清 TSH、叶酸、Hcy 表达水平及其临床意义[J]. 中国妇产科临床杂志, 2021, 22(3):240-242.
- [8] 彭茸,赖雪梅,任钧,等. 妊娠合并甲状腺功能减退对自然流产的影响因素研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2023, 24(2): 167-170.
- [9] 吴雪辉,李薇,吴欣瑜,等. 妊娠期甲状腺功能减退症患者血糖血脂水平与病情严重程度及妊娠结局的关系[J]. 中国计划生育学杂志, 2023, 31(1): 182-186.
- [10] Pan Q, Gao S, Gao X, et al. Relation of kidney function and homocysteine in patients with hypothyroidism [J]. *Endocr Connect*, 2021, 10(5):502-510.
- [11] 姜素娥,华馥,魏云波. 妊娠期亚临床甲减孕妇血清铁蛋白、同型半胱氨酸水平及左旋甲状腺激素替代治疗效果[J]. 中国计划生育学杂志, 2023, 31(2): 358-361+365.
- [12] Negro R. Outcomes in Pregnant Patients with Subclinical Hypothyroidism and Thyroid Autoimmunity: A Critical Appraisal of Recent Randomized Controlled Trials [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2021, 21(8):1387-1391.
- [13] 苏姗,张迪,王强梅,等. 维生素 D 与甲状腺疾病的相关性[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2020, 25(1): 94-100.
- [14] 陈晶晶,杨洁,郑建琼,等. 孕妇维生素 D 水平与妊娠期甲状腺功能减退的相关性研究[J]. 浙江医学, 2021, 43(3):294-297.

(上接第 884 页)

慢性阻塞性肺疾病急性加重患者外周血红细胞分布宽度、嗜酸性粒细胞、B型钠尿肽的诊断价值及相关性分析

宋玉良 王永*

[摘要] **目的** 分析慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)患者红细胞分布宽度(RDW)、嗜酸性粒细胞(EOS)、B型钠尿肽(BNP)的相关性及诊断价值。**方法** 选择2020年1月至2022年8月阜阳市第五人民医院收治的102例AECOPD患者作为AECOPD组进行分析,同时选取同期在医院进行治疗的慢性阻塞性肺疾病(COPD)稳定期患者49例为参照组,对比RDW、EOS、BNP水平及第1秒呼气容积(FEV_1)、用力呼气1秒最大呼气容积预计百分比($FEV_1\%pred$)、第1秒用力呼气容积/用力肺活量比值(FEV_1/FVC)、最大呼气中期流速占预计值百分比(PEF)等肺功能指标在两组间的差异,分析RDW、EOS、BNP在AECOPD患者中的相关性及其在诊断中的价值。**结果** 相较于参照组,AECOPD组RDW、EOS、BNP水平均上升,差异均有统计学意义($t=5.890, 6.880, 6.267, P<0.05$);相较于参照组,AECOPD组 FEV_1 、 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 及PEF水平均下降,差异均有统计学意义($t=5.857, 7.175, 6.022, 6.767, P<0.05$);Pearson分析显示,RDW、EOS、BNP均与AECOPD患者的 FEV_1 、 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 、PEF呈负相关($P<0.05$);ROC曲线分析显示,RDW、EOS、BNP诊断AECOPD的下曲线面积(AUC)分别为0.776、0.803、0.777,而三者联合检测的AUC为0.911($P<0.05$)。**结论** RDW、EOS、BNP在AECOPD患者中异常上升,且与患者肺功能呈负相关,通过对上述指标水平的联合检测对诊断AECOPD有较好的应用价值。

[关键词] 红细胞分布宽度;嗜酸性粒细胞;B型钠尿肽;慢性阻塞性肺疾病急性加重

Diagnostic value and correlation analysis of red blood cell distribution width, eosinophils, and B-type natriuretic peptide in peripheral blood of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

SONG Yuliang, WANG Yong*

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Fifth People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236600)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation and diagnostic value of red blood cell distribution width (RDW), eosinophilic granulocyte (EOS) and b-type natriuretic peptide (BNP) in peripheral blood of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** A retrospective analysis was performed on 102 patients with AECOPD admitted to Fuyang Fifth People's Hospital from January 2020 to August 2022 as the AECOPD group. At the same time, 49 patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) who received treatment at the hospital during the same period were chosen as the reference group. The levels of RDW, EOS, BNP, and pulmonary function indexes such as FEV_1 , $FEV_1\%pred$, FEV_1/FVC , PEF were compared between the two groups. The correlation and diagnostic value of RDW, EOS, and BNP in AECOPD patients were analyzed. **Results** Compared to the reference

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021a035)

作者单位:安徽省阜阳市第五人民医院呼吸与危重症医学科,安徽,阜阳236600

*通信作者:王永, E-mail:wy2237@163.com

group, the levels of RDW, EOS, and BNP in the AECOPD group increased significantly ($t=5.890, 6.880, 6.267, P<0.05$). Additionally, the levels of FEV₁, FEV₁% pred, FEV₁/FVC and PEF in the AECOPD group decreased significantly compared to the reference group ($t=5.857, 7.175, 6.022, 6.767, P<0.05$); Pearson analysis showed that RDW, EOS, and BNP were negatively correlated with FEV₁, FEV₁% pred, FEV₁/FVC and PEF in AECOPD patients ($P<0.05$). ROC curve analysis demonstrated that the area under the curve (AUC) of RDW, EOS, and BNP in the diagnosis of AECOPD was 0.776, 0.803 and 0.777, respectively. The AUC for the combined detection of the three was 0.911 ($P<0.05$). **Conclusion** RDW, EOS, and BNP are abnormally elevated in patients with AECOPD and are negatively correlated with lung function. The combined detection of these indicators has a good application value in the diagnosis of AECOPD.

[KEY WORDS] Red blood cell distribution width; Eosinophilic granulocyte; B-type natriuretic peptide; Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种以气流受限、难以完全逆转及进行性加重为主要特征的慢性进行性肺疾病,且患者在环境污染、气道炎症加剧、免疫功能降低及呼吸道感染等因素影响时均会诱发患者急性加重^[1]。急性加重期慢性阻塞性肺疾病(Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)会引起患者肺部炎症、呼吸困难加重、胸闷不适、体力下降等,是导致 COPD 患者死亡的重要原因之一^[2]。有效的诊断是治疗 AECOPD 的重要环节,对临床工作展开意义重大。但目前临床对 AECOPD 的诊治主要依靠患者的主诉症状变化程度是否超过基本变异范围,缺乏明确且客观的量化指标^[3]。红细胞分布宽度(red blood cell distribution width, RDW)是一项用于评估血液样本中红细胞大小差异的指标,已有研究报道 RDW 可以作为预测 COPD 严重程度的有效指标,且 RDW 水平上升会使 AECOPD 住院时间延长^[4]。嗜酸性粒细胞(eosinophilic granulocyte, EOS)是一类白细胞,是哮喘的标志性指标,亦有学者指出在气道感染及 AECOPD 时 EOS 水平会明显增高^[5]。B 型钠尿肽(b-type natriuretic peptide, BNP)是识别心力衰竭的快速、敏感的生物标志物,而 COPD 的病程进程往往与心力衰竭相关,提示了 BNP 作为诊断 AECOPD 辅助指标的可能性^[6]。本研究通过对 AECOPD 患者的外周血 RDW、EOS、BNP 水平进行分析,探讨上述指标与 AECOPD 的相关性及对 AECOPD 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2020 年 1 月至 2022 年 8 月阜阳市第五人

民医院收治的 102 例 AECOPD 患者作为 AECOPD 组进行分析,参照组选取同期在医院进行治疗的 49 例 COPD 稳定期患者。纳入标准:①符合《慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018 年)》^[7]中相关标准,第 1 秒用力呼气容积/用力肺活量比值(forced expiratory volume in one second/forced vital capacity, FEV₁/FVC) $<70\%$;②AECOPD 患者符合《慢性阻塞性肺病急性加重(AECOPD)诊治中国专家共识(草案)》^[8]中有关标准:气促加重,伴发热,喘息及胸闷加剧,咳嗽咳痰增多,痰液颜色或稠度变化,运动耐力降低,并经胸部 X 线检测异常;③患者临床资料完善;④患者及家属对本研究知情同意;排除标准:①使用免疫调节或糖皮质激素药物治疗的患者;②有肺结核、肺囊肿等其他呼吸系统疾病患者;③合并严重肝肾功能障碍或恶性肿瘤;④合并心功能不全;⑤正在参与其他与研究干预或治疗相关的临床试验的患者。AECOPD 组患者男女性别分别 57 例及 45 例;年龄平均(66.19±7.35)岁。参照组患者男女性别分别 28 例及 21 例;年龄平均(65.09±7.81)岁。两组基线资料相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已通过本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 外周血 RDW、EOS、BNP 水平检测

使用抗凝管采集患者清晨空腹 4 mL 血液,通过美思康 MC-600 型全自动血液细胞分析仪检测 EOS 及 RDW 水平。另采集 4 mL 血样,以 3 000 r/min 进行 10 min 的离心操作后(离心半径为 8 cm),收集上层血清,采用化学发光免疫分析法检测 BNP 水平,BNP 试剂盒由南京麦克斯生物科技有限公司提供。

1.2.2 肺功能检测

通过肺功能测定仪[席勒(天津)医疗设备有限公司,型号:SP-250]测定所有受试者第 1 秒

呼气容积(forced expiratory volume in first second, FEV₁)、用力呼气1秒最大呼气容积预计百分比(forced expiratory volume in one second/predicted value ratio, FEV₁%pred)、FEV₁/FVC、最大呼气流量(peak expiratory flow, PEF)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 24.0软件处理数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验;Pearson相关性分析法分析患者外周血指标水平与肺功能指标的相关性;ROC曲线评价RDW、EOS、BNP在AECOPD患者诊断中的价值。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组RDW、EOS、BNP水平比较

AECOPD组RDW、EOS、BNP水平高于参照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组RDW、EOS、BNP水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of RDW, EOS and BNP levels between the two groups of patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RDW(%)	EOS(%)	BNP(ng/L)
AECOPD组	102	15.59±3.46	3.39±0.82	491.34±81.66
参照组	49	12.36±2.39	2.47±0.65	403.58±78.23
t 值		5.890	6.880	6.267
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组肺功能指标水平比较

AECOPD组FEV₁、FEV₁%pred、FEV₁/FVC及PEF水平低于参照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组肺功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	FEV ₁ (L)	FEV ₁ %pred(%)	FEV ₁ /FVC(%)	PEF(L/s)
AECOPD组	102	1.69±0.41	48.21±7.35	54.27±7.13	2.47±0.59
参照组	49	2.17±0.58	57.49±7.63	61.64±6.85	3.39±1.08
t 值		5.857	7.175	6.022	6.767
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 RDW、EOS、BNP与AECOPD患者肺功能指标的相关性

Pearson分析显示,RDW、EOS、BNP均与AECOPD患者的FEV₁、FEV₁%pred、FEV₁/FVC、PEF呈负相关($P < 0.05$)。见表3。

表3 RDW、EOS、BNP与AECOPD患者肺功能指标的相关性

Table 3 The correlation between RDW, EOS, BNP and pulmonary function indexes in patients with AECOPD

指标	RDW		EOS		BNP	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
FEV ₁	-0.715	<0.001	-0.364	<0.05	-0.394	<0.001
FEV ₁ %pred	-0.628	<0.001	-0.277	<0.05	-0.412	<0.001
FEV ₁ /FVC	-0.654	<0.001	-0.291	<0.05	-0.378	<0.001
PEF	-0.569	<0.001	-0.316	<0.05	-0.502	<0.001

2.4 外周血RDW、EOS、BNP三者单独及联合检测对AECOPD患者的诊断价值

ROC曲线结果显示,RDW、EOS及BNP诊断AECOPD的曲线下面积(AUC)分别为0.776、0.803、0.777,而三者联合检测的AUC为0.911,高于三者单独检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表4 外周血RDW、EOS、BNP三者单独及联合检测对AECOPD患者的诊断价值

Table 4 The diagnostic value of peripheral blood RDW, EOS and BNP alone and in combination in patients with AECOPD

指标	临界值	AUC	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	95% CI	P 值
RDW	14.70	0.776	0.415	60.8	80.7	0.702~0.849	<0.001
EOS	3.47	0.803	0.468	59.9	86.9	0.735~0.871	<0.001
BNP	438.35	0.777	0.428	75.5	67.3	0.700~0.854	<0.001
联合检测		0.911	0.673	77.5	89.8	0.866~0.955	<0.001

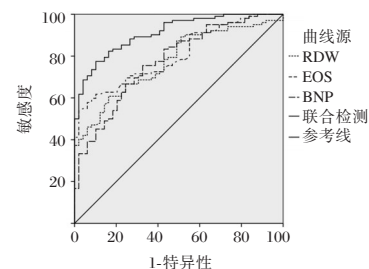


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

3 讨论

既往临床评估COPD的严重程度通常依托于肺功能的监测,但一些AECOPD患者病情危重,无法配合检测,且肺功能指标的监测只能提供患者肺功能的整体性评估,不能体现患者恶化状态,而相较于言,分子生物标志物更易获取,且会随病程进展而波动,更有利于临床对病情的预测及风险评估^[9]。

相关研究指出,气道慢性炎症反应是促进 AECOPD 进程的重要作用机制,多种炎症细胞在其中起到主要作用^[10]。在炎症反应过程中,肿瘤坏死因子- α 等炎性因子会被大量释放,而这些细胞因子对红细胞的成熟过程具有抑制作用,致使未成熟的红细胞入血,因这些未成熟的红细胞体积大小不均匀,导致 RDW 值增加;氧化应激会导致红细胞受到氧化损伤,使红细胞的寿命减短,部分红细胞被迫进入血液循环中,导致 RDW 增高^[11]。边娟等^[12]在研究中指出,RDW 水平会在 COPD 患者急性加重期上升,且其水平越高表明患者情况越危重。本研究结果显示,AECOPD 组患者的 RDW 水平高于参照组,与上述研究结果相似,这可能与 COPD 患者在急性加重期因炎症和机体应激引起的血管收缩及重构有关。EOS 在 AECOPD 的发病中起重要作用,EOS 在被激活后,会释放白细胞介素-5、白细胞介素-13 和白细胞介素-4 等炎症介质和细胞因子,而这些炎症介质可以对气道上皮细胞造成损伤,此外,EOS 还会分泌促纤维化的细胞因子转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β),TGF- β 会刺激成纤维细胞的增殖和胶原蛋白的合成,导致气道发生纤维化及重塑^[13]。本研究中,AECOPD 组患者的 EOS 水平高于参照组,与余玲玲等^[14]研究结果一致,在 AECOPD 患者中,EOS 水平升高可能是由于气道炎症反应的加重所致。BNP 是一种由心脏细胞分泌的肽激素,是心房和心室细胞在负荷增加或心肌损伤时产生的一种代偿性反应,是反映左心室收缩功能的重要指标。谢小兵等^[15]研究发现,在 COPD 处于急性加重期时,BNP 亦会随之上升,而在病情得到有效治疗后,会随疾病的控制而降低。本研究结果发现,相较于 COPD 患者,AECOPD 患者 BNP 水平明显升高。分析其原因可能为,AECOPD 患者病情加重会使肺动脉压进一步上升,从而使患者心脏负荷及心室容量负荷增加,致使 BNP 水平上升;另一方面,随 AECOPD 的病情进展,会使肺毛细血管网受损加重,致使肺循环无法正常运转导致肺部不能有效清除 BNP^[16]。而通过相关性分析结果显示,RDW、EOS、BNP 水平与肺功能指标均呈负相关,提示外周血 RDW、EOS、BNP 可作为衡量 COPD 病情严重程度和治疗效果的生物指标。

进一步研究结果显示,RDW、EOS、BNP 诊断 AECOPD 的 AUC 分别为 0.776、0.803、0.777,提示

上述指标对于诊断均有较好的应用价值,同时发现将以上指标联合检测的 AUC 最高,为 0.911,分析其原因可能为,AECOPD 会对患者多个系统功能产生影响,而本研究中 RDW、EOS、BNP 三个指标分别反映了炎症反应的程度和心脏负荷情况,相比于单独检测某个指标,多指标能够综合考虑和评估患者在不同方面的生理变化,弥补单个指标特异性的不足,进而提高诊断的准确性。

综上所述,外周血 RDW、EOS、BNP 在 AECOPD 患者中表达异常上升,且与患者肺功能呈负相关,通过对 RDW、EOS、BNP 水平的联合检测对诊断 AECOPD 有较好的应用价值。

参考文献

- [1] 赖育庭,申严,叶春幸,等. 不同程度 AECOPD 患者血清 25-(OH) Vit D 和 IGF-1 及 SF 水平及其与肺功能相关性[J]. 热带医学杂志, 2023, 23(7): 1007-1010.
- [2] 张巧珍,康乐,杨文燕. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者病原菌变化特点和耐药性分析[J]. 华南预防医学, 2023, 49(7): 896-899+903.
- [3] 陈康懿,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.
- [4] 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 (Baltimore)*, 2021, 100(10): e25010.
- [5] Fachri M, Hatta M, Lestari FI, et al. Eosinophil values in exacerbation and stable chronic obstructive pulmonary disease and its relationship to maintenance therapy in stable chronic obstructive pulmonary disease patients [J]. *Ann Med Surg (Lond)*, 2023, 85(10): 4799-4805.
- [6] Khalid K, Padda J, Komissarov A, et al. The Coexistence of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Heart Failure [J]. *Cureus*, 2021, 13(8): e17387.
- [7] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018年)[J]. 中华全科医师杂志, 2018, 17(11): 856-870.
- [8] 慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治专家组. 慢性阻塞性肺疾病急性加重诊治中国专家共识(草案)[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2013, 12(6): 541-551.
- [9] 李建英,刘远程,潘杨. 8-异前列腺素 F2 α 和白细胞介素-17 预测慢性阻塞性肺疾病稳定期患者急性发作的作用[J]. 医学研究生学报, 2022, 35(8): 863-867.
- [10] 吴启北,房震,陈刚,等. 孟鲁司特钠治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的疗效及对 NLR、EOS 及 RDW 的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(8): 1339-1343.

PCT、D-D 联合 CRP 水平动态检测在脓毒症分级及转归评估中的意义

赵静媛¹ 张玉红¹ 董龙² 吴雪³ 段立娟¹ 严晓薇¹ 李素清^{1*}

[摘要] **目的** 探讨 PCT、D-D 联合 CRP 水平动态检测在脓毒症分级及转归评估中的意义。**方法** 选取 2020 年 5 月至 2023 年 1 月承德医学院附属医院收治的 112 例脓毒症患者设为观察组,另随机选取同期本院进行体检的 105 名健康人群作为对照组。根据病情严重程度将 112 例脓毒症患者分为脓毒症组($n=49$)、严重脓毒症组($n=35$)和脓毒症休克组($n=28$),统计患者 28d 天后生存结局。比较观察组和对照组、不同脓毒症分级患者 PCT、D-D、CRP 水平及序贯器官衰竭评分(SOFA)、急性生理与慢性健康评分(APACHE II),分析 PCT、D-D、CRP 水平与 SOFA 评分、APACHE II 评分的相关性以及 PCT、D-D、CRP 水平及三者联合对脓毒症的预后预测价值。**结果** 观察组 PCT、D-D、CRP 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同时间点(入院时、入院 3 d、入院 5 d、入院 7 d)脓毒症休克组 PCT、D-D、CRP 水平和 SOFA 评分、APACHE II 评分均高于脓毒症组和严重脓毒症组,差异有统计学意义($P<0.05$);严重脓毒症组 PCT、D-D、CRP 水平和 SOFA 评分、APACHE II 评分均高于脓毒症组,差异有统计学意义($P<0.05$);根据随访患者 28 d 天后生存结局分为存活组和死亡组,存活组不同时间点(入院时、入院 3 d、入院 5 d、入院 7 d)PCT、D-D、CRP 水平和 SOFA 评分、APACHE II 评分均低于死亡组,差异有统计学意义($P<0.05$);脓毒症患者 PCT、D-D、CRP 水平与 SOFA 评分、APACHE II 评分均呈正相关性(P 值均 <0.05);ROC 曲线显示,入院 28 d 后,PCT、D-D、CRP 及三者联合预测脓毒症患者预后情况的 AUC 分别为 0.830、0.7230、0.765、0.934,三者联合的预测价值更大($P<0.05$)。**结论** PCT、D-D 联合 CRP 水平动态检测可以反映患者病情严重程度和转归情况,可作为脓毒症分级参考指标。

[关键词] 脓毒症; PCT; D-D; CRP

The significance of dynamic detection of PCT and D-D combined with CRP levels in the assessment of sepsis grading and regression

ZHAO Jingyuan¹, ZHANG Yuhong¹, DONG Long², WU Xue³, DUAN Lijuan¹, YAN Xiaowei¹, LI Suqing^{1*}

(1. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000; 2. Blood Laboratory, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000; 3. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, China, 067000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the significance of dynamic testing of PCT and D-D combined with CRP levels in sepsis grading and regression assessment. **Methods** 112 sepsis patients admitted to the Affiliated Hospital of Chengde Medical College from May 2020 to January 2023 were selected as the observation group. Additionally, 105 healthy individuals who underwent physical examinations in the hospital during the same period were randomly selected as the control group. The 112 sepsis patients were divided into the sepsis group ($n=49$), the severe sepsis group ($n=35$) and the septic shock group ($n=28$) based on the severi-

基金项目:承德市科学技术研究与发展计划项目(202109A047)

作者单位:1.承德医学院附属医院重症医学科,河北,承德 067000

2.承德医学院附属医院麻醉科,河北,承德 067000

3.承德医学院附属医院血液检验室,河北,承德 067000

*通信作者:李素清, E-mail:hbcd841316@163.com

ty of their condition. The survival outcomes of the patients after 28 days were analyzed. The study aimed to compare the levels of PCT, D-D, CRP, Sequential Organ Failure Score (SOFA) and Acute Physiology and Chronic Health Score (APACHE II) between the observation and the control groups, and among patients with different sepsis grades. Additionally, the correlation between PCT, D-D, CRP levels, SOFA score, APACHE II score, and the impact of PCT, D-D, CRP levels, and their combination on the prognostic predictive value of sepsis were analyzed. **Results** The levels of PCT, D-D, and CRP in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of PCT, D-D, and CRP and the SOFA scores and APACHE II scores of the septic shock group were higher than those of the sepsis group and the severe sepsis group at different time points (at the time of admission, 3 days of admission, 5 days of admission, 7 days of admission), with statistically significant differences ($P<0.05$). PCT, D-D, and CRP levels and SOFA score and APACHE II score were higher in the severe sepsis group than in the sepsis group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). According to the survival outcome of the patients after 28 days of follow-up, they were divided into the survival group and the death group. In the survival group, at different time points (at the time of admission, 3 days of admission, 5 days of admission, and 7 days of admission), PCT, D-D, CRP levels, SOFA score and APACHE II score were lower than those of the death group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of PCT, D-D, and CRP in sepsis patients were positively correlated with SOFA score and APACHE II score (P values <0.05). The ROC curves showed that the AUCs of PCT, D-D, CRP, and the combination of the three for predicting the prognosis of patients with sepsis after 28 days of admission were 0.830, 0.7230, 0.765, 0.934, respectively, and the combined three had greater predictive value ($P<0.05$). **Conclusion** Dynamic testing of PCT, D-D combined with CRP levels can reflect the severity of the patient's condition and progression, and can be used as a reference indicator for grading sepsis.

[KEY WORDS] Sepsis; PCT; D-D; CRP

脓毒症是机体感染后引发的全身炎症反应,临床上易与菌血症、败血症等混淆,三者虽在临床表现和相关血清指标方面具有相似变化,但在病理过程、疾病本质和转归发展中各有差异^[1]。脓毒症根据病情严重程度可分为脓毒症、严重脓毒症和脓毒症休克,发病后病程发展较快,极易导致患者休克甚至全身多器官衰竭,临床病死率极高^[2]。故在治疗过程中掌握疾病发展情况并及时进行干预成为脓毒症治疗的重要方向。临床上常采取白细胞、血培养等检查指标反映患者全身感染情况,但对脓毒症的病情评估缺乏特异性。有研究表明,降钙素原(procalcitonin, PCT)联合C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平检测在脓毒症病情评估方面具有明显优势,与白细胞、血培养等一般实验室检查比较其准确性较高^[3]。血浆D-二聚体(D-dimer, D-D)为纤维蛋白原降解产物,脓毒症患者由于体内凝血功能紊乱,因此D-D水平呈异常表达状态,有研究显示脓毒症患者体内D-D水平与病情严重程度有显著相关性^[4]。本研究拟分析PCT、D-D联合CRP水平动态检测在脓毒症分级及转归评估中的意义,报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月至2023年1月承德医学院附属医院收治的112例脓毒症患者为研究对象进行分析。纳入标准:①通过实验室检查和体征检查符合脓毒症诊断标准^[5];②生存天数 ≥ 7 d;③患者家属均知情同意,本研究经伦理审查委员会批准通过。排除标准:①服用抗凝药物或发病前存在凝血功能异常者;②合并严重肝肾功能损害;③严重创伤、烧伤;④年龄 ≤ 18 岁。

将112例脓毒症患者设为观察组,其中男69例,女43例,年龄22~73岁,平均年龄(45.69 \pm 10.47)岁。根据脓毒症分级标准^[6]将112例脓毒症患者分为脓毒症组($n=49$)、严重脓毒症组($n=35$)和脓毒症休克组($n=28$)。其中脓毒症组男性29例,女性20例;年龄22~72岁,平均(44.15 \pm 6.83)岁;严重脓毒症组男性21例,女性14例;年龄23~70岁,平均年龄(44.27 \pm 8.42)岁;脓毒症休克组男性19例,女性9例;年龄25~73岁,平均年龄(45.39 \pm 8.56)岁。另随机选取同期本院进行体检的105名健康人群作

为对照组,其中男60名,女45名,年龄23~71岁,平均年龄(46.38±11.45)岁。各组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 SOFA评分、APACHE II评分比较

SOFA评分评估内容包括呼吸功能、神经功能、心血管功能等,评分Cronbach's α 系数为0.785,重测信度为0.814,总分24分,分数越高则病情越严重^[7]。APACHE II评分内容包括年龄、慢性健康状况、急性生理学三个方面,评分Cronbach's α 系数为0.832,重测信度为0.875,总分71分,分数越高病情越严重^[8]。

1.2.2 PCT、D-D、CRP水平检测

患者均于入院时、入院3 d、入院5 d、入院7 d后测定PCT、D-D、CRP水平,于清晨抽取空腹静脉血5 mL,以3 500 r/min转速、半径8 cm离心15 min后,取血清置于-50℃保存。PCT、D-D、CRP均采用免疫荧光层析法进行检测,其中PCT、CRP检测试剂盒来自深圳市金准生物医学工程有限公司,D-D检测试剂盒来自武汉优恩生物科技有限公司。

1.3 观察指标

①比较观察组和对照组不同时间点PCT、D-D、CRP水平。②比较不同脓毒症分级患者不同时间点的PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分。③根据随访患者28 d天后生存结局分为存活组和死亡组,比较两组PCT、D-D、CRP水平。④分析脓症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分、APACHE II评分的相关性。⑤分析PCT、D-D、CRP水平及三者联合对脓毒症的预后预测价值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)描述,组间比较行 t 检验,多组间比较采用 F 检验;采用Pearson相关性分析脓症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分和APACHE II评分之

间的相关性;采用ROC曲线及曲线下面积(AUC)分析PCT、D-D、CRP水平及三者联合对脓毒症的预后预测价值;均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组和对照组PCT、D-D、CRP水平比较

观察组PCT、D-D、CRP水平均高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同脓毒症分级患者PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分比较

不同时间点(入院时、入院5 d、入院10 d、入院15 d)脓毒症休克组PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分均高于脓毒症组和严重脓毒症组,差异具有统计学意义($P<0.05$);严重脓毒症组PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分均高于脓毒症组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 不同预后脓症患者PCT、D-D、CRP水平比较

根据患者28 d天后生存结局分为存活组($n=87$)和死亡组($n=25$),存活组不同时间点(入院时、入院3 d、入院5 d、入院7 d)PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分均低于死亡组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 脓症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分、APACHE II评分的相关性分析

入院时、入院3 d、入院5 d、入院7 d脓症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分、APACHE II评分均呈正相关(P 均 <0.05)。见表4。

2.5 PCT、D-D、CRP水平及三者联合对脓毒症的预后预测价值

入院28 d后,PCT、D-D、CRP及三者联合预测脓症患者预后情况的AUC分别为0.830、0.7230、0.765、0.934,三者联合的预测价值更大($P<0.05$)。见表5、图1。

表1 观察组和对照组PCT、D-D、CRP水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of PCT, D-D, and CRP levels between the observation group and the control group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	PCT(ng/mL)				D-D(mg/L)				CRP(mg/L)			
		入院时	入院3 d	入院5 d	入院7 d	入院时	入院3 d	入院5 d	入院7 d	入院时	入院3 d	入院5 d	入院7 d
观察组	112	4.50±3.28	6.08±2.76 ^a	6.52±3.42 ^a	3.58±3.07 ^a	2.60±3.65	1.73±3.43 ^a	1.22±3.48 ^a	1.11±2.17 ^a	133.15±35.64	123.56±31.4 ^a	110.32±20.68 ^a	95.40±20.17 ^a
对照组	105	0.38±0.23	0.35±0.14	0.33±0.32	0.31±0.35	0.33±0.24	0.37±0.31	0.25±0.36	0.30±0.23	9.65±3.27	10.36±2.65	9.54±3.18	9.49±3.44
t 值		12.839	21.244	18.468	10.847	6.358	4.046	2.841	3.804	35.363	36.813	49.385	43.055
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与同组入院时比较,^a $P<0.05$ 。

表2 不同脓毒症分级患者PCT、D-D、CRP水平和SOFA、APACHE II评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of PCT, D-D, CRP levels and SOFA, APACHE II scores among patients with different sepsis grades ($\bar{x} \pm s$)

组别	PCT (ng/mL)				D-D (mg/L)				CRP (mg/L)			
	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d
脓毒症组 (n=49)	1.27±0.74	1.95±0.86 ^c	1.53±1.23	1.05±0.14 ^c	1.05±1.92	0.96±0.84	0.72±0.56	0.88±0.64	125.63±11.47	113.45±11.78	97.92±10.47 ^c	75.35±10.08 ^c
严重脓毒症组 (n=35)	4.36±2.10 ^a	6.59±2.31 ^{ac}	6.75±2.34 ^{ac}	4.69±1.72 ^{ac}	2.58±1.30 ^a	1.12±1.34 ^{ac}	1.18±0.18 ^{ac}	0.97±1.16 ^{ac}	132.86±10.52 ^a	128.27±13.09 ^a	113.23±11.85 ^{ac}	93.92±11.39 ^{ac}
脓毒症休克组 (n=28)	10.34±4.61 ^{ab}	12.65±5.67 ^{ab}	14.97±4.62 ^{ab}	6.63±2.65 ^{ab}	5.36±3.01 ^{ab}	3.83±2.65 ^{ab}	2.15±0.34 ^{ab}	1.68±0.93 ^{ab}	146.66±10.39 ^{ab}	135.37±12.68 ^{ab}	128.37±12.96 ^{ab}	132.31±10.38 ^{ab}
F 值	16.43	103.15	210.23	104.59	37.66	31.71	106.31	7.60	33.07	31.38	63.41	258.80
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	SOFA 评分(分)				APACHE II 评分(分)			
	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d
脓毒症组 (n=49)	7.68±2.16	7.64±2.35	7.29±2.45	6.54±3.27 ^c	45.32±10.48	41.32±10.68	37.42±9.64 ^c	29.58±8.25 ^c
严重脓毒症组 (n=35)	13.85±2.47 ^{ac}	10.26±3.41 ^{ac}	10.12±4.25 ^{ac}	9.36±3.60 ^{ac}	57.30±11.45 ^a	53.26±10.37 ^a	48.16±9.31 ^{ac}	37.73±9.43 ^{ac}
脓毒症休克组 (n=28)	17.38±4.86 ^{ab}	15.24±5.93 ^{ab}	13.42±6.29 ^{abc}	11.59±6.79 ^{abc}	67.49±11.36 ^{ab}	60.14±12.57 ^{abc}	53.64±13.27 ^{abc}	42.56±11.39 ^{abc}
F 值	94.03	34.86	18.76	11.84	37.65	28.22	23.53	18.28
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与脓毒症组比较,^aP<0.05;与严重脓毒症组比较,^bP<0.05;与同组入院时比较,^cP<0.05。

表3 不同预后脓症患者PCT、D-D、CRP水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of PCT, D-D, and CRP levels in sepsis patients with different prognoses ($\bar{x} \pm s$)

组别	PCT (ng/mL)				D-D (mg/L)				CRP (mg/L)			
	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d
死亡组 (n=25)	7.23±0.65	8.62±0.76 ^a	8.27±1.43 ^a	9.13±1.42 ^a	4.25±1.24	3.28±1.09 ^a	3.42±1.38	3.62±1.64 ^a	145.26±20.34	129.47±21.07 ^a	137.36±18.67	139.45±20.34 ^a
存活组 (n=87)	3.71±0.85	5.35±0.73 ^a	6.01±1.20 ^a	1.99±0.74 ^a	2.13±0.85	1.28±0.76	0.59±0.72 ^a	0.39±0.64 ^a	129.67±21.75	121.86±30.22 ^a	102.54±26.47	82.74±25.38 ^a
t 值	19.136	19.561	7.943	33.770	9.845	10.453	13.765	14.945	3.202	2.066	8.288	3.580
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.041	<0.001	<0.001

组别	SOFA 评分(分)				APACHE II 评分(分)			
	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d	入院时	入院 3 d	入院 5 d	入院 7 d
死亡组 (n=25)	19.56±3.46	16.31±3.05	17.11±3.52	18.07±3.49 ^a	67.82±8.33	53.64±9.45 ^a	57.34±8.75 ^a	67.27±7.67 ^a
存活组 (n=87)	9.87±2.35	8.65±3.18	7.58±2.49 ^a	5.98±3.12 ^a	50.81±8.42	48.64±8.54	41.23±8.17 ^a	26.20±9.47 ^a
t 值	16.221	10.709	15.283	16.626	8.923	2.519	8.553	19.871
P 值	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	0.013	<0.001	<0.001

注:与同组入院时比较,^aP<0.05。

3 讨论

脓毒症的发生发展与滥用抗生素、机体抵抗力下降、高龄等因素有关,发病后病情进展迅速,致死率高,是临床最严重的并发症之一。对脓毒症进行分级和转归评估有助于医务人员掌握患者病情发展动态,为下一步治疗提供参考依据和治疗方向,从而改变患者生存结局^[9]。

SOFA 评分和 APACHE II 评分被广泛用于评估脓症患者病情严重程度,患者病情越重两者总分越高。PCT 由甲状腺 C 细胞分泌,正常人体内 PCT 水平低于 0.05 ng/mL,有研究^[10]证实脓症患者体内 PCT 水平显著高于正常人群,且随脓毒症严重程度递增,因此临床常用作脓毒症诊断指标之一。D-D 是纤维蛋白降解产物之一,其水平变化可以反映机体纤维蛋白溶解功能或凝血功

表4 脓毒症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分、APACHE II评分的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of PCT, D-D, CRP levels with SOFA score and APACHE II score in sepsis patients

指标	PCT		D-D		CRP		
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	
SOFA评分	入院时	0.526	<0.05	0.529	<0.05	0.541	<0.05
	入院3 d	0.681	<0.05	0.634	<0.05	0.568	<0.05
	入院5 d	0.536	<0.05	0.527	<0.05	0.531	<0.05
	入院7 d	0.641	<0.05	0.649	<0.05	0.584	<0.05
APACHE II评分	入院时	0.649	<0.05	0.547	<0.05	0.597	<0.05
	入院3 d	0.647	<0.05	0.524	<0.05	0.520	<0.05
	入院5 d	0.534	<0.05	0.637	<0.05	0.564	<0.05
	入院7 d	0.649	<0.05	0.549	<0.05	0.517	<0.05

表5 PCT、D-D、CRP水平及三者联合对脓毒症的预后预测价值

Table 5 Prognostic value of PCT, D-D and CRP levels and their combination in sepsis

指标	AUC	95% CI	截断值	特异度 (%)	敏感度 (%)	P值
PCT	0.830	0.810~0.901	11.05 (ng/mL)	86.65	88.67	<0.001
D-D	0.723	0.684~0.786	3.37 (mg/L)	63.84	78.42	0.014
CRP	0.765	0.670~0.842	78.46 (mg/L)	64.39	75.28	<0.001
联合	0.934	0.885~0.986		91.14	89.75	<0.001

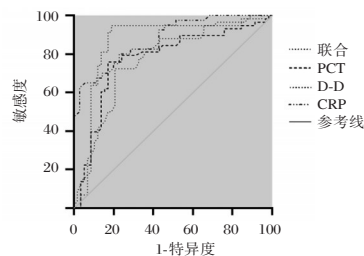


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

能,脓毒症患者由于体内炎症反应导致继发性纤溶亢进,使D-D水平升高^[11]。CRP在机体感染和组织损伤时水平迅速上升,脓毒症患者由于全身炎症反应体内CRP水平呈上升状态,有研究^[12]认为CRP通过抑制淋巴细胞功能和加强巨噬细胞活性起到促炎症反应作用,故可作为炎症反应标志物之一。本研究结果显示,脓毒症患者PCT、D-D、CRP水平均高于同期非脓毒症患者,PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分随脓毒症分级递增而升高,且脓毒症组、严重脓毒症组和脓毒症休克组PCT、D-D、CRP水平、SOFA评分、APACHE II评分组间比较差异显著。说明脓毒症病情越重PCT、D-D、CRP水平越高,

三者水平变化对脓毒症分级有参考意义,与廖宴等^[13]研究结论相符。

蔡振华等^[14]的研究表明SOFA评分和APACHE II评分均是脓毒症患者死亡的危险因素,对脓毒症转归有预测作用。本研究根据患者28 d后生存结局将112例脓毒症患者分为存活组和死亡组,结果显示存活组PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分均低于死亡组,且动态检测上述指标发现,存活组入院后PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分呈下降趋势,而死亡组入院后PCT、D-D、CRP水平和SOFA评分、APACHE II评分呈上升趋势。说明PCT、D-D、CRP水平高低与脓毒症患者生存结局有关,对其转归评估有重要作用,符合上述蔡振华等的研究报道。进一步研究显示,入院28 d后,PCT、D-D、CRP及三者联合均可对脓毒症患者预后情况进行预测,且三者联合的预测价值更大。经脓毒症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分、APACHE II评分的相关性分析显示,脓毒症患者PCT、D-D、CRP水平与SOFA评分、APACHE II评分均呈正相关性,进一步证实PCT、D-D、CRP水平变化与脓毒症患者病情严重程度和转归情况有关。

综上所述,PCT、D-D联合CRP水平动态检测可以反映患者病情严重程度和转归情况,可作为脓毒症分级参考指标。

参考文献

- [1] Bleakley G, Cole M. Recognition and management of sepsis: the nurse's role [J]. Br J Nurs, 2020, 29(21): 1248-1251.
- [2] 郑晨晨,马冬冬,梁彩歌. 脓毒症急性肾损伤患者应用间断血液透析联合乌司他丁治疗的临床观察 [J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(8): 59-61.
- [3] 窦悦,孙晓旭. 血清PCT联合CRP检测对脓毒症的诊断价值 [J]. 医学综述, 2021, 27(7): 1448-1451+1456.
- [4] 邓超,管军,苏醒,等. 血清PCT、CRP、D-D水平及血小板计数对脓毒症患者的诊断价值 [J]. 热带医学杂志, 2021, 21(7): 878-882.
- [5] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014) [J]. 中华危重病急救医学, 2015(6): 401-426.
- [6] 武新慧,胡振杰. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)、重症血流动力学治疗(北京共识)——重症医生的左膀右臂 [J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(12): 1478-1481.

上海某三甲医院血流感染患儿肺炎克雷伯菌的耐药性及分子流行病学特征

韩碧芸 张泓 王春*

[摘要] 目的 分析上海地区某医院血流感染患儿肺炎克雷伯菌(KP)的耐药性及分子流行病学特征。方法 收集上海市儿童医院2021年1月至2022年11月接受治疗的血流感染患儿血液样本,分离培养鉴定PK菌株,采用纸片扩散法(K-B)测定耐药性,检测耐药基因;采通过全基因组测序分期荚膜型、毒力基因以及多位点序列分型(MLST)分析。结果 收集120份血液样本中,共检出KP菌株74株,总检出率为61.67%(74/120)。74株KP菌株对氨苄西林/舒巴坦耐药率最高,耐药率为35.14%;其次为哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、左氧氟沙星,耐药率分别为20.27%、21.62%、22.97%。耐药基因检测显示,肺炎克雷伯菌 bla_{KPC} 基因携带率最高21.62%(16/74);黏膜血液型与毒力基因检测显示,K64型KP检出最多28株(37.84%)。ST型分型结果显示,74株KP菌株公共检出32种ST型;其中ST23型9.46%(7/74),其次为ST29、ST111、ST412、ST36、ST20、ST37型各2株。结论 引起血流感染患儿KP的耐药性还处于相对较低的水平,但仍存在一定的KP抗菌药物耐药菌株和多重耐药菌株,且耐药基因与毒性基因携带率较高,应予以关注。

[关键词] 血流感染;肺炎克雷伯菌;耐药性;分子流行病学

Drug resistance and molecular epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* in children with bloodstream infection in a Class III hospital in Shanghai

HAN Biyun, ZHANG Hong, WANG Chun*

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Children's Hospital, Shanghai, China, 200040)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the antimicrobial resistance and molecular epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* (KP) in children with bloodstream infection in a hospital in Shanghai. **Methods** Blood samples were collected from children with bloodstream infections who received treatment at Shanghai Children's Hospital from January 2021 to November 2022. PK strains were isolated, cultured and identified. Drug resistance was determined using the paper diffusion (K-B) method, and drug resistance genes were detected. Capsular serotype, virulence genes and multi-locus sequence typing (MLST) were analyzed through whole genome sequencing. **Results** A total of 74 KP strains were detected in 120 blood samples, resulting in a total detection rate of 61.67% (74/120). The highest resistance rate among the 74 KP strains was to ampicillin/sulbactam at 35.14%. The drug resistance rates to piperacillin/tazobactam, imipenem and levofloxacin were 20.27%, 21.62% and 22.97%, respectively. Drug resistance gene detection showed that the bla_{KPC} gene carrying rate in *Klebsiella pneumoniae* was the highest at 21.62% (16/74). Mucosal blood type and virulence gene detection showed that K64 KP was the most prevalent with 28 strains (37.84%). ST typing results showed that 32 ST types were identified among the 74 KP strains, with ST23 being the most common at 9.46% (7/74), followed by ST29, ST111, ST412, ST36, ST20 and ST37. **Conclusion** The drug resistance of KP in children with bloodstream infections is still relatively low. However, there are still some antimicrobial resistant strains and multiple drug-resistant strains of KP. Additionally, the carrying rate of drug-resistant genes and

作者单位:上海市儿童医院检验科,上海 200040

*通信作者:王春, E-mail:wc756@shchildren.com

toxic genes is high, which should be a cause for concern.

[KEY WORDS] Bloodstream infection; *Klebsiella pneumoniae*; Drug resistance; Molecular epidemiology

血流感染是一种严重的疾病,其发病率与死亡率都很高,其中医院获得性血流感染的死亡率高达26.8%,一般住院血流感染病死率为20.7%,且社区获得性血流感染的年发病率也相对较高^[1]。血流感染容易诱发患者发生感染性休克,严重者还可引发多种器官的功能衰竭与弥散性血管内凝血,更严重者甚至死亡,而发病早期及时使用抗生素治疗可有效降低患者死亡率^[2]。肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是儿童血流感染的常见的病原菌,有研究表明,KP的高毒性与其高耐药性为临床治疗带来了非常大的挑战,同时也是血流感染患儿预后不佳的重要原因^[3]。但由于各个地区的抗菌药使用情况、医院卫生条件以及经济条件不同等,KP的耐药性情况及其分子流行病学特征也存在一定的地理差异。因此为更好地了解上海某医院血流感染患儿KP的耐药性及分子流行病学特征,现本研究对上海地区某医院血流感染患儿KP的耐药性、耐药基因、毒力基因、血液荚膜分型等进行研究,报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本收集

收集上海市儿童医院2021年1月至2022年11月接受治疗的血流感染患儿血液样本。纳入标准:①均符合血流感染的诊断标准^[4],并确诊;②年龄1个月~14岁;③患儿入组前未使用过预防性抗菌药物。排除标准:①存在其他的血液系统疾病;②临床资料不完整者。患儿年龄2~14岁,平均(8.74±3.66)岁;性别男53例,女67例;院内感染70例,占比58.33%。本研究已通过院医学伦理委员会批准,受试患儿监护人已签署知情同意书。

血流感染诊断标准:参照《医院感染诊断标准(试行)》^[4]中血流感染诊断标准,患儿临床体温>38℃或者<36℃,存在或不存在寒战,同时伴有以下任何1种情况:①全身症状且无明显的感染病灶;②存在迁徙病灶;③存在皮疹、出血点、血液中粒细胞增多与核左移、肝脾肿大等;④收缩压下降<90 mmHg、>40 mmHg。符合上述其中一项外,血液分离培养出病原菌或病原体抗原物质,可确诊血流感染。

1.2 仪器与试剂

二氧化碳培养箱(D180型,深圳瑞沃德);恒温恒湿培养箱(上海跃进公司,HHWS-III-400型);琼脂平板(购自安图生物公司);基质(Bruker公司);药敏纸片(默克生命科学)。

1.3 方法

1.3.1 培养与鉴定

将血液标本接种与琼脂平板上,在35℃、在二氧化碳培养箱中以7.5%的CO₂培养24 h,使用质谱仪(德国BRUKER公司)鉴定。

1.3.2 药敏试验

采用纸片扩散法(kirby-bauer, K-B)进行药敏试验,抗菌药物包括氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、妥布霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、头孢唑林、氨曲南、复方磺胺甲恶唑14种。质控菌为大肠杆菌ATCC25922与铜绿假单胞菌ATCC27853。依据美国临床和实验室标准化协会(clinical and laboratory standards institute, CLSI)^[5]中推荐标准判读细菌药敏结果,获取结果分别为对14中抗菌药物敏感与耐药。

1.3.3 耐药基因与移动多元基因元件检测

采用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增技术与通过二代测序平台测序进行检测,暴露碳青霉烯酶基因、β-内酰胺酶类相关基因、喹诺酮类耐药基因与移动基因元件,引物序列参照文献^[6]。PCR反应体系:1 μL DNA模板,1 μL上下游引物,1.25 μL Tag DNA聚合酶,加入双蒸水至25 μL;反应条件:预变性94℃、5 min,变性94℃、45 s,退火55℃、45 s,延伸72℃、1 min,循环30个72℃、10 min。

1.3.4 血清荚膜型、毒力基因检测与多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)分析

采用PCR检测,分析74株菌株荚膜多糖血清型(K型)和毒力基因。引物序列参照文献^[7]。反应体系:3 μL DNA模板,1 μL上下游引物,10 μL Tag DNA聚合酶,加入双蒸水至25 μL;反应条件:预变性95℃、5 min,变性95℃、30 s,退火55℃、40 s,延伸72℃、30 s,循环30个72℃、

5 min。采用 Institut Pasteur (<https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/>) 对 K 型与毒力基因进行分析;采用 MLST2.0 (<https://cge.food.dtu.dk/services/MLST/>) 分析 74 住 KP 菌株 MLST 分析。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,检出率的比较用 Fisher 精确检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KP 检出率

120 份血液样本中,共检出 KP 菌株 74 株,总检出率为 61.67% (74/120);其中女 67 例,男 53 例,男女性患者 KP 检出率差异无统计学意义 ($\chi^2=0.045$, $P=0.832$);脓毒症患儿 115 例,菌血症 5 例, KP 检出率差异无统计学意义 ($\chi^2=0.057$, $P=0.811$)。

2.2 血流感染患儿 KP 耐药性分析

74 株 KP 菌株对氨苄西林/舒巴坦耐药率最高,耐药率为 35.14%;其次为哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、左氧氟沙星,耐药率分别为 20.27%、21.62%、22.97%。对其与 10 种抗生素抗药率均为 20% 以下。见表 1。

表 1 74 株 KP 对 14 中抗生素的耐药性情况 [$n(\%)$, $n=74$]

Table 1 Resistance of 74 KP strains to 14 kinds of antibiotics [$n(\%)$, $n=74$]

抗生素	敏感	耐药
氨苄西林/舒巴坦	48(64.86)	26(35.14)
拍啦西林/他唑巴坦	59(79.73)	15(20.27)
头孢他啶	62(83.73)	12(16.22)
头孢哌酮/舒巴坦	61(82.43)	13(17.57)
头孢吡肟	66(89.19)	8(10.81)
亚胺培南	58(78.38)	16(21.62)
美罗培南	60(81.08)	14(18.92)
阿米卡星	67(90.54)	7(9.46)
妥布霉素	66(89.19)	8(10.81)
环丙沙星	61(82.43)	13(17.57)
左氧氟沙星	57(77.03)	17(22.97)
头孢唑林	63(85.14)	11(14.86)
氨曲南	72(97.30)	2(2.70)
复方磺胺甲恶唑	70(94.59)	4(5.41)

2.3 74 株 KP 菌株耐药性基因检出率

碳青霉烯酶基因显示,74 株 KP 菌株中 16 株 (21.62%) 携带 bla_{KPC} 基因,3 株携带 bla_{NDM} 基因,2 株同时携带 bla_{KPC} 和 bla_{NDM} 基因; β -内酰胺酶基因显示, SHV 、 TEM 、 $CTX-M-14$ 基因携带为 20.27%、22.97%、24.32%;喹诺酮类耐药基因显示,54 株

(72.97%) 携带 $qnrS$ 基因,1 株携带 $qnrA$ 、1 株携带 TEM 基因;移动基因源检测显示, $IS2-qnrS$ 、 $ISCR1-qnrB$ 、 $ISEcp1-qnrS$ 、 $IS26-qnrB$ 检出率分别为 71.62%、5.41%、1.35%、1.35%。见表 2。

表 2 74 株 KP 菌株耐药性基因检出结果

Table 2 Results of detection of resistance genes in 74 KP strains

耐药基因	KP($n=74$)	占比(%)
碳青霉烯酶基因	bla_{KPC}	16 21.62
	bla_{NDM}	3 4.05
	bla_{VIM}	0 0.00
	bla_{IMP}	0 0.00
	Bla_{OXA-48}	0 0.00
	$bla_{KPC-bla_{NDM}}$	2 2.70
β -内酰胺酶基因	未检出	53 71.62
	SHV	15 20.27
	TEM	17 22.97
	$CTX-M-14$	18 24.32
喹诺酮类耐药基因	$qnrA$	1 1.35
	$qnrB$	1 1.35
	$qnrS$	54 72.97
移动基因元件	$IS2-qnrS$	53 71.62
	$ISCR1-qnrB$	4 5.41
	$ISEcp1-qnrS$	1 1.35
	$IS26-qnrB$	1 1.35

2.4 74 株 KP 菌株荚膜血液型与毒力基因检测

74 株 KP 菌株中 17 株为 K1 型、8 株为 K57 型、28 株为 K64 型, K9、K2、K54、K63 型均 3 株;毒力基因检测, $rmpA2$ 、 $iutA$ 基因携带率 100.00%, $rmpA$ 基因携带率 82.43%, $mrkD$ 基因携带率为 79.73%, iro 、 ybt 、 clb 、 fyu 、 iuc 、 $terW-iutA-rmpA-silS$ 基因携带率分别为 66.22%、67.57%、50.00%、55.41%、60.81%、50.00%。见表 3。

2.5 MLST 分析

74 株 KP 菌株公共检出 32 种 ST 型;其中 ST23 型 7 株,占 9.46%,其次为 ST29、ST111、ST412、ST36、ST20、ST37 型各 2 株,其余为 1 株。见图 1。

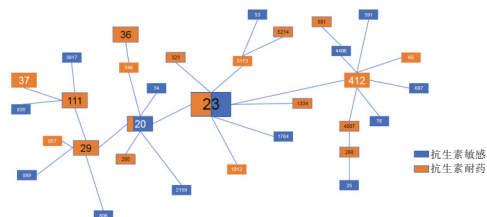
3 讨论

近年来,由于广谱抗菌药物的广泛使用,血流患者所感染的病原菌结构与种类也在不断地变化,其耐药性随之增加,给血流感染的治疗带来了极大的挑战^[8]。相较于成人,儿童的各个器官及免疫系统尚未成熟,更加容易发生血流感染。KP 是血流感染的主要致病菌之一,在各种致病菌中 KP 是引起医院感染血流感染排名前 3 的病原菌^[9]。本研究对 120 例上海地区某医院的致病菌进行检

表3 74株KP菌株荚膜血液型与毒力基因检测

Table 3 Detection of capsule serotype and virulence gene of 74 KP strains

项目	KP(n=74)	占比(%)	
荚膜血液型	K1	17	22.97
	K57	8	10.81
	K9	3	7.05
	K2	3	7.05
	K54	3	7.05
	K63	3	7.05
	K64	28	37.84
	未分型	9	12.16
	毒力基因	<i>mrkD</i>	59
<i>iro</i>		49	66.22
<i>rmpA</i>		61	82.43
<i>rmpA2</i>		74	100.00
<i>ybt</i>		50	67.57
<i>clb</i>		37	50.00
<i>fyu</i>		41	55.41
<i>iuc</i>		45	60.81
<i>iutA</i>		74	100.00
<i>terW-iutA-rmpA-silS</i>		37	50.00



注:每个方框代表一个ST型,方框的大小代表菌株数目的多少。

图1 74株KP菌株的最小生成树

Figure 1 Minimum spanning tree of 74 KP strains

测,结果显示共检出KP菌株74株,总检出率为61.67%。《2018年至2019年度全国血流感染细菌耐药检测报告》显示,2014年血流感染患者PK检出率为11.9%,2019年检出率上升至17.0%。本研究中检出率显著较高,通过分析,相对发达地区,三甲医院承担了更多的重症患者的救治,同时患者的免疫状态、住院时间、抗菌药物的应用情况均为克雷伯菌感染及其耐药性等的影响因素,因此本研究结果与全国数据存在差异。相关研究表明,KP感染的血流感染患者中本病脏器功能损伤、预后差、合并肝脓肿的概率较高^[10-11]。基于此,本研究同时对血流感染患儿KP的耐药情况及其分子流行病学特征进行分析。

本研究对74株KP耐药性检测,结果显示对KP菌株对氨苄西林/舒巴坦耐药率最高,其次为哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、左氧氟沙星,耐药率均在20%以上,耐药率略低于发达国家^[12]。提示

上海地区一定程度上合理使用抗菌药物,较少存在抗菌药物的过度使用或者滥用情况。对74株KP耐药基因结果显示,*bla_{KPC}*基因携带率为21.62%,携带率最高,该结果与研究^[13]结果一致。表明*bla_{KPC}*基因是上海地区较为常见的KP耐药基因。本研究中,2株同时携带*bla_{KPC}*和*bla_{NDM}*基因,携带多种耐药基因,通过基因重组、重新排序以及融合等,生成肝转移,从而使KP产生更加复杂的耐药机制,因此需引起重视。此外,本研究还发现,SHV、TEM、CTX-M-14 β -内酰胺酶基因与*qnrS*等;产生 β -内酰胺酶的细菌通常表现为较高的抗生素耐药性^[14],携带 β -内酰胺酶基因及其他的多种耐药基因,给临床抗感染带来了严峻的考验。耐药基因与移动元件具有物理连接,因此本研究同时对移动基因元件进行检测,结果显示IS2-*qnrS*检出率最高,提示耐药基因可能与移动元件存在一定的相关性。

KP的致病因素本包括荚膜多糖、毒力质粒液表型调控基因等。因此本研究KP菌株荚膜血液型与毒力基因检测,结果显示,主要为K1、K57、K64、K9、K2、K54、K63型,其中K64型检出率最高;携带的毒力基因主要为,*rmpA2*、*iutA*、*mrkD*、*iro*、*ybt*、*clb*、*fyu*、*iuc*、*terW-iutA-rmpA-silS*基因,显毒力基因的携带率均较高,提示血流感染患儿KP的致病能力较高。研究^[13]报道,*rmpA*、*iutA*、*terW*、*silS*等基因在KP的致病过程中发挥着重要的作用,因此*terW-iutA-rmpA-silS*基因的存在更应得到重视,避免KP的远处转移带来更加严重的感染,引起多器官衰竭、死亡等严重后果。为更好地了解上海地区KP的进化过程与菌群生物学变化,本研究对74株KP进行MLST分析,结果显示,ST23型的占比最高,与薛兆平等^[15]研究中结果一致。

综上所述,引起血流感染患儿KP的耐药性还处于相对较低的水平,但仍存在一定的KP抗菌药物耐药菌株和多重耐药菌株,且耐药基因与毒性基因携带率较高,应予以关注。

参考文献

- [1] 严丽,管湘玉.苏州某中医院血流感染病原菌分布及耐药性分析[J].检验医学与临床,2024,21(2):170-173.
- [2] 齐志丽,林瑾,董磊,等.重症监护病房血流感染危险因素Meta分析[J].首都医科大学学报,2021,42(6):923-930.
- [3] 鞠启文,王运中,陶云珍,等.儿童血流感染肺炎克雷伯菌毒力与耐药基因分析[J].中华医院感染学杂志,2021,31(21):3337-3341.

- [4] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 现代实用医学, 2003, (7):460-465.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-third information supplement[s]. M100-S23, CLSI, 2013.
- [6] Antony S, Ravichandran K, Kanungo R. Multidrug-resistant Enterobacteriaceae colonising the gut of adult rural population in South India [J]. Indian J Med Microbiol, 2018, 36(4): 488-493.
- [7] Yu F, Lv J, Niu S, et al. Multiplex PCR Analysis for Rapid Detection of Klebsiella pneumoniae Carbapenem - Resistant (Sequence Type 258 [ST258] and ST11) and Hypervirulent (ST23, ST65, ST86, and ST375) Strains [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(9):e00731-18.
- [8] 马军,张险峰,徐杰,等. 血液科肿瘤患者血流感染细菌分布特征及耐药性分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(12): 1594-1596.
- [9] 陆爽爽,辛玲,沈慧,等. 医院获得性肺炎克雷伯菌血流感染 119 例临床分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2023, 23(3):299-305.
- [10] 黄丽萍,林嘉萍,余雪莹,等. 114 例成人肺炎克雷伯菌血流感染的临床特征及预后[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(6):680-687.
- [11] Tsay RW, Siu LK, Fung CP, et al. Characteristics of bacteremia between community-acquired and nosocomial Klebsiella pneumoniae infection: risk factor for mortality and the impact of capsular serotypes as a herald for community-acquired infection [J]. Arch Intern Med, 2002, 162(9):1021-1027.
- [12] Arabaghian H, Salloum T, Alousi S, et al. Molecular Characterization of Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae and Klebsiella quasipneumoniae Isolated from Lebanon [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):531.
- [13] 刘岩,曾凌,卢才菊,等. 2018-2020 年江西省高毒力耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(11):1601-1606.
- [14] 涂海健,黄亚雨,陈淑娟,等. 携带 NDM-1 基因合膜孔蛋白 OmpK36 缺失肺炎克雷伯菌耐药性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1):49-54+63.
- [15] 薛兆平,伊茂礼,徐卫皓,等. 糖尿病患者肠道定植肺炎克雷伯菌的分子流行病学特征[J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(11):1300-1305.

(上接第 893 页)

- [11] 刘元明,文璐,肖三玲,等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重患者外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值、红细胞分布宽度的诊断价值及相关性分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2021, 20(12):842-845.
- [12] 边娟,李水霞,白雪瑞,等. 红细胞分布宽度水平在预测慢性阻塞性肺疾病急性加重的应用价值研究[J]. 中国医药科学, 2022, 12(12):147-150.
- [13] 崔雨佳,刘忠. 外周血嗜酸性粒细胞水平与慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者临床预后的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(3):129-132+164.
- [14] 余玲玲,刘宁,刘冬,等. 血清内皮抑素、VEGF、EOS、NLR 水平与慢性阻塞性肺疾病急性加重的相关性研究[J]. 吉林医学, 2022, 43(9):2355-2359.
- [15] 谢小兵,高云,牛灵,等. 急性加重期和稳定期 COPD 患者血清 CRP、IL-6、PCT 及 BNP 水平变化[J]. 山东医药, 2020, 60(30):73-75.
- [16] 陈正进,马秀珍,陈瑜敏. 血清 FT3、BNP 水平在 AECOPD 患者中的变化及评估价值[J]. 健康研究, 2023, 43(3):324-327+331.

(上接第 898 页)

- [7] 王雪艳,赵文敏. AECOPD 患者营养风险及 SPB 水平的调查分析[J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(1):94-97.
- [8] 林秋劲. 重症感染患者 ICU 治疗时间的影响因素分析[J]. 实用临床医学, 2017, 18(4):24-25+37.
- [9] 王宇迪,魏雪梅,何小莉,等. 形成性评价配合阶梯式带教在肾病与内分泌科规培带教中的应用[J]. 中华医学教育探索杂志, 2022, 21(9):1225-1228.
- [10] 刘冰,王国兴,孙雪莲. 血清降钙素原和 D-二聚体检测在急诊脓毒症患者病情及预后评估中的应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(3):310-313.
- [11] Chen H, Wu Q, Wang Y, et al. d-sp orbital hybridization: a strategy for activity improvement of transition metal catalysts [J]. Chem Commun (Camb), 2022, 58(56):7730-7740.
- [12] 王婷,韦小碗,杨亮,等. 脓毒症患者血清 PCT、CRP、IL-6 和 IL-10 水平检测及临床意义[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(11):1510-1514.
- [13] 廖宴,戴娟,黄文龙,等. 不同分级及转归脓毒症患者血清 PCT、D-D、CRP 及血小板相关参数检测的临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(18):3453-3456.
- [14] 蔡振华,王磊,曹继飞. APACHE II 联合 SOFA 评分对肺炎克雷伯菌致脓毒症预后的评估价值[J]. 宁夏医科大学学报, 2022, 44(11):1111-1115.

BCAT1 作为胰腺导管腺癌潜在诊断标志物的临床应用价值研究

肖英琪¹ 李波² 王雨晴¹ 冯帆² 郑纳新² 李伯安^{1*}

[摘要] 目的 本研究拟验证前期研究发现的 *bcat1* 基因表达产物支链氨基酸转氨酶 1 (BCAT1) 作为胰腺导管腺癌潜在血清学诊断标志物的临床应用价值。方法 收集临床 PDAC 患者血清样本作为实验组, 收集胃癌、肝癌、结肠直肠癌、慢性胰腺炎患者及健康人群血清样本作为对照, 采用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测血清样本 BCAT1 浓度, 验证其作为标志物的临床诊断价值。结果 ELISA 结果显示 PDAC 组患者血清 BCAT1 浓度显著高于健康对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $U = 1\ 206$)。PDAC 组患者血清 BCAT1 浓度高于慢性胰腺炎组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $H = 33.80$); 与其他消化道肿瘤相比, 高于肝癌组和结肠直肠癌组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $H = 33.80$), 与胃癌组差异无统计学意义 ($P > 0.05$, $H = 33.80$)。BCAT1 与 CA19-9 的相关性较好, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $R^2 = 0.080\ 52$), 与 CEA ($R^2 = 2.265e-005$)、CA125 ($R^2 = 0.025\ 88$) 和 CA72-4 ($R^2 = 0.007\ 7$) 相关性较低, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); BCAT1 诊断 PDAC 的 AUC 优于 CA72-4, 与 CA125 和 CEA 相当, 劣于 CA19-9; BCAT1 cut off 值为 1.556 ng/mL, 敏感度为 64.1%, 特异度为 80%。BCAT1 在 PDAC 早中期患者血清浓度中位数为 0.283 ng/mL, 晚期患者升高为 0.482 ng/mL, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $U = 1029$); 在肿瘤 ≥ 40 mm ($U = 641$)、中低分化 ($U = 435$)、胰头部位 ($H = 2.767$) 均表现为表达水平升高, 差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。动态观测的 BCAT1 浓度在第 0 天和 1~30 天 ($U = 44$)、31~60 天和 61~90 天 ($U = 36$) 浓度差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。结论 BCAT1 作为潜在的血清学标志物, 对于 PDAC 的鉴别诊断、肿瘤分期、疾病进展判断具有参考价值, 是目前现有的 PDAC 血清标志物的有益补充。

[关键词] 胰腺导管腺癌; 支链氨基酸转氨酶 1; 血清标志物

The clinical application value of BCAT1 as a potential diagnostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma

XIAO Yingqi¹, LI Bo², WANG Yuqing¹, FENG Fan², ZHENG Naxin², LI Boan^{1*}

[1. Chinese People's Liberation Army (PLA) Medical School, Beijing, China, 100853; 2. Department of Clinical Laboratory, the Fifth Medical Centre of Chinese PLA General Hospital, Beijing, China, 100039]

[ABSTRACT] **Objective** To verify the clinical application value of BCAT1, the expression product of the *bcat1* gene, as a potential serum diagnostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). **Method** Serum samples were collected from PDAC patients as the experimental group, and from patients with gastric cancer, liver cancer, colorectal cancer, chronic pancreatitis, and healthy individuals as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the concentration of BCAT1 in the serum samples to verify its clinical diagnostic value as a biomarker. **Results** ELISA results indicated that the serum BCAT1 concentration in patients with PDAC was significantly higher than that in the healthy control group, with a statistically significant difference ($P < 0.05$, $U = 1\ 206$). The serum BCAT1 concentration in the PDAC group was higher than in the chronic pancreatitis group, with a statistically significant difference ($P <$

作者单位: 1. 解放军医学院, 北京 100853

2. 中国人民解放军总医院第五医学中心检验科, 北京 100039

*通信作者: 李伯安, E-mail: lba@263.net

0.05, $H=33.80$). Compared to other gastrointestinal tumors, it was higher than in the liver cancer group and colorectal cancer group, with a statistically significant difference ($P<0.05$, $H=33.80$), but there was no statistically significant difference compared to the gastric cancer group ($P>0.05$, $H=33.80$). BCAT1 had a relatively good correlation with CA19-9, with a statistically significant difference ($P<0.05$, $R^2=0.08052$), and lower correlations with CEA ($R^2=2.265e-005$), CA125 ($R^2=0.02588$), and CA72-4 ($R^2=0.0077$), without statistically significant differences ($P>0.05$). The diagnostic AUC of BCAT1 for PDAC was better than that of CA72-4, comparable to CA125 and CEA, but inferior to CA19-9. The BCAT1 cut-off value was 1.556 ng/mL, with a sensitivity of 64.1% and a specificity of 80%. The median serum concentration of BCAT1 in early to mid-stage PDAC patients was 0.283 ng/mL, which increased to 0.482 ng/mL in late-stage patients, with a statistically significant difference ($P<0.05$, $U=1029$). In tumors ≥ 40 mm ($U=641$), moderate to poor differentiation ($U=435$), and pancreatic head location ($H=2.767$), the expression level was increased, but the difference was not statistically significant (both $P>0.05$). Dynamic observations of BCAT1 concentration showed statistically significant differences between day 0 and days 1 to 30 ($U=44$), as well as between days 31 to 60 and days 61 to 90 ($U=36$), with the differences being statistically significant (both $P<0.05$). **Conclusion** BCAT1, as a potential serum biomarker, holds reference value for the differential diagnosis of PDAC, tumor staging, and disease progression assessment. It is a valuable addition to the current PDAC serum biomarkers.

[KEY WORDS] Pancreatic ductal adenocarcinoma; Branched-chain Amino Acid Transaminase 1; Serum biomarkers

胰腺导管腺癌(Pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是消化道常见的恶性肿瘤,难以早期发现,临床预后差,治疗效果不理想,缺乏特异性检测指标^[1]。近年来,PDAC的发病率在国内外均呈现明显的上升趋势,在2023年美国报道的新发癌症病例和死亡人数中,PDAC居第4位,成为美国癌症死亡的主要原因之一^[2]。中国国家癌症中心2021年统计数据显示,PDAC位居我国恶性肿瘤相关死亡率的第6位。目前早期手术切除仍是PDAC患者获得治愈机会和长期生存最有效的方法,但超过80%的PDAC患者在晚期才被发现而失去手术机会^[3]。目前,PDAC的诊断主要依赖影像学方法,临床尚无灵敏度高、特异性好的PDAC血清学诊断标志物^[4]。

本研究中,通过前期研究发现 *bcat1* 基因的转录组在PDAC组织中显著高表达,该基因编码支链氨基酸转移酶1(Branched-chain Amino Acid Transaminase 1, BCAT1)是支链氨基酸(Branched-chain Amino Acid, BCAA)代谢的关键酶,其是否能作为PDAC的特异性诊断标志物尚不明确。BCAT催化细胞中游离BCAA通过氨基转移和转硝基过程与 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α -KG)生成谷氨酸及相应支链酮酸(Branched-chain Keto Acid, BCKA)^[5]。BCAT1(胞质型)是BCAT的亚型之一。约70%的癌症病例都表现出BCAA分解代谢途径受显著抑制,多数酶的表达量下降,但BCAT1

表达量却显著增高^[6],有报道显示BCAT可能因受到抑癌基因和致癌基因的调控,从而影响肿瘤的发生和发展^[7]。本研究拟通过验证BCAT1在PDAC患者血清中的表达水平及其与患者病情发展的相关性,评估其作为PDAC特异性诊断标志物的临床价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 样本来源

通过电子病历系统收集2021年9月至2022年10月期间解放军总医院第五医学中心收治的PDAC患者共计200例,剔除样本缺失或不足以及不合格的样本,最终纳入研究病例117例,年龄38~84岁,其中男82例,女35例,为PDAC组。对照组包括胃癌组患者39例、肝癌组患者40例、结直肠癌组患者39例、慢性胰腺炎组患者8例、健康人群组50名。使用真空采血法,采用促凝采血管收集血液,离心分离血清样本, -80°C 冻存。所有病例均经病理或临床确诊,且各组间患者年龄和性别差异无统计学意义($P<0.05$)。本研究经院伦理委员会批准,所有受试者均签署了知情同意书。

1.1.2 纳入与排除标准

纳入标准:经胰腺组织活检确诊为PDAC患者;数据资料齐全。排除标准:转移性PDAC患者;合并其他类型传染病或者消化系统疾病者,如急性慢性胰腺炎、胆囊炎、肝炎等;造血系统疾病者;

糖尿病患者;血清样本过少、污染和脂血溶血者。

1.2 材料与试剂

本研究所用ELISA试剂盒使用来自EIAab公司的成品试剂盒。

1.3 研究方法

ELISA检测严格按照说明书操作,采用酶标仪在450 nm波长下测量样本孔的光密度(OD值),根据标准孔的浓度和OD值拟合曲线,计算每个样本的浓度。使用Roche cobas e801及其配套试剂检测样本肿瘤标志物CA19-9、CA125、CEA、CA72-4。参考解放军总医院第五医学中心检验科肿瘤标志物参考范围(CA19-9 \leq 27 U/mL、CA125 \leq 35 U/mL、CEA \leq 5 ng/mL、CA72-4 \leq 6.9 U/mL),计算BCAT1血清浓度的cut-off值,以此计算BCAT1与各肿瘤标志物的敏感度和特异度。

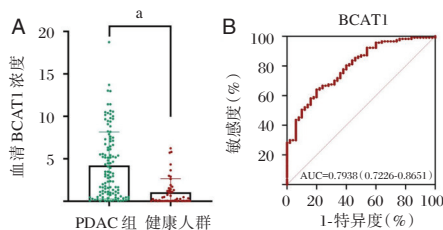
1.4 统计学方法

采用GraphPad Prism 9软件进行统计学分析并绘制图形。两组数据符合正态分布且具方差齐性采用t检验,不符合采用Mann-Whitney U检验。多组数据符合正态分布且具方差齐性采用方差分析,不符合采用Kruskal-Wallis检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清BCAT1对PDAC诊断价值的评估

BCAT1(图1A)浓度在PDAC组患者和健康人群组患者血清中差异有统计学意义(P<0.05)。ROC曲线分析显示,BCAT1的AUC为0.794。见图1B。



注:*P<0.0001。A. BCAT1在PDAC患者和健康对照组血清中浓度(ng/mL)差异; B. 诊断PDAC与正常对照组的ROC曲线。

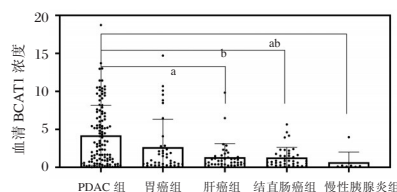
图1 BCAT1对PDAC患者的诊断价值评估

Figure 1 The diagnostic value of BCAT1 in PDAC patients was evaluated

2.2 血清BCAT1对PDAC的鉴别诊断价值

PDAC组患者血清BCAT1浓度高于慢性胰腺炎患者,差异具有统计学意义(P<0.05)。与其他消化道肿瘤相比,PDAC组患者血清BCAT1浓

度高于肝癌组和结直肠癌组,差异有统计学意义(P均<0.05)。见图2。PDAC组患者血清BCAT1浓度与胃癌组差异无统计学意义(P>0.05),但中位数(3.058)高于胃癌组(0.92)。



注:a、b表示P<0.05。

图2 BCAT1在不同消化道肿瘤和胰腺炎患者血清中的检测浓度(ng/mL)

Figure 2 Detection concentration of BCAT1 in serum of patients with different gastrointestinal tumors and pancreatitis (ng/mL)

2.3 BCAT1的检验效能评价

将BCAT1与CA19-9、CA125、CEA、CA72-4四项临床常用消化道肿瘤标志物作相关性分析,结果显示:BCAT1与CA19-9的相关性较好,且差异有统计学意义(P<0.05)。见图3A。与CEA、CA125和CA72-4相关性较低,且差异无统计学意义(P>0.05)。见图3B~D。BCAT1诊断PDAC的AUC优于CA72-4,与CA125和CEA相当,劣于CA19-9。见图1B、图4、表1。

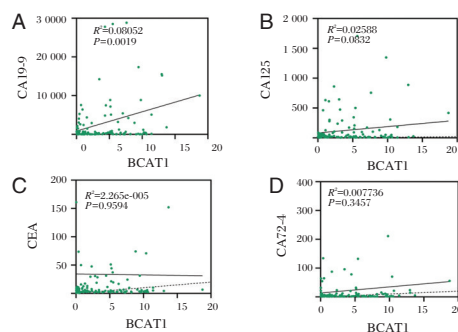


图3 BCAT1与CA125、CA19-9、CEA、CA72-4的相关性分析
Figure 3 Correlation analysis of BCAT1 with CA125, CA19-9, CEA and CA72-4

血清中BCAT1浓度的cut off值为1.556 ng/mL, PDAC组患者BCAT1阴性患者占35.90%。BCAT1敏感度为64.1%,比CA19-9(82.91%)较低,但较CEA(47.86%)、CA72-4(30.77%)和CA125(42.74%)高。特异度为80%,较CEA(90%)、CA19-9(100%)、CA72-4(84%)和CA125(100%)稍低。

表1 BCAT1、CA125、CA19-9、CA72-4、CEA 的诊断 ROC 曲线分析

Table 1 Diagnostic ROC curve analysis of BCAT1, CA125, CA19-9, CA72-4 and CEA

检测指标	AUC	SD	95% CI	P 值
BCAT1	0.794	0.036	0.722~0.865	<0.000 1
CA19-9	0.950	0.016	0.918~0.982	<0.000 1
CA125	0.797	0.033	0.732~0.863	<0.000 1
CEA	0.802	0.035	0.734~0.870	<0.000 1
CA72-4	0.647	0.456	0.557~0.736	0.003

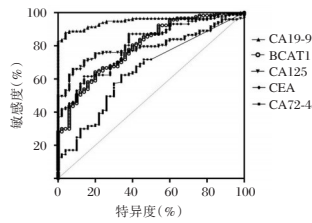


图4 ROC 曲线

Figure 4 ROC curves

2.4 BCAT1 血清水平对 PDAC 分级分期的诊断价值

BCAT1 在 PDAC 早中期患者 (I~III 期) 血清浓度中位数为 0.283 ng/mL, 晚期 (IV 期) 患者显著升高, 为 0.482 ng/mL, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 5A、表 2。BCAT1 在肿瘤 ≥ 40 mm、中低分化、胰头部位均表现为表达水平升高, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 见表 2、图 5B~D。

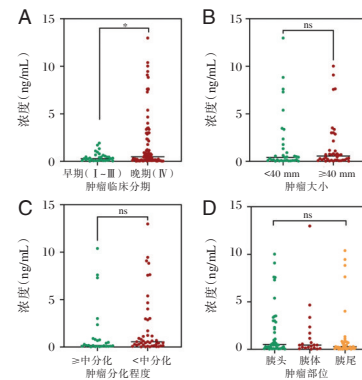
2.5 BCAT1 血清水平对 PDAC 进展严重程度的评估

动态收集的 13 例患者血清样本的 BCAT1 浓度随病情进展逐渐升高。见图 6。在 31~60 天多数患者出现了明显升高, 在 61~90 天达到浓度高峰。配对检验结果显示: 第 0 天和 1~30 天浓度差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 1~30 天与 31~60 天差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 31~60 天与 61~90 天差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 Mann-Whitney、Kruskal-Wallis 检验分析 BCAT1 在 PDAC 分期、肿瘤大小、分化程度、肿瘤部位中的临床价值

Table 2 Analysis of clinical value of BCAT1 in PDAC staging, tumor size, differentiation degree, and tumor location using Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests

项目	分组	样本数	中位数	最小值与最大值	U/H 值	P 值
肿瘤分期	I~III	33	0.283	0.019~1.930	1 029	0.045
	IV	82	0.482	0.017~12.97		
肿瘤大小	< 40 mm	35	0.416	0.024~12.97	641	0.537
	≥ 40 mm	40	0.558	0.017~10.01		
分化程度	\geq 中分化	26	0.165	0.024~10.39	435	0.097
	< 中分化	44	0.553	0.017~12.97		
肿瘤部位	胰头	44	0.519	0.057~10.01	2.767	0.251
	胰体	20	0.448	0.024~12.97		
	胰尾	39	0.289	0.019~10.39		



注: * $P < 0.05$ 。

图 5 BCAT1 在 PDAC 分期、肿瘤大小、分化程度、肿瘤部位中的临床价值

Figure 5 Clinical value of BCAT1 in PDAC staging, tumor size, differentiation degree, and tumor location

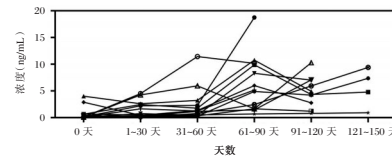


图 6 BCAT1 在疾病进展中的临床价值

Figure 6 Clinical value of BCAT1 in disease progression

3 讨论

自 20 世纪 60 年代以来, 尽管其他常见癌症的发病率和死亡率都有明显下降, 但 PDAC 的发病率和死亡人数却在逐渐上升, 总体预后较差^[8-9]。早期确诊是提高 PDAC 检出率和生存率的重要途径^[10], 而血清标志物、遗传标志物和特异性影像学的联合检测可能是实现 PDAC 筛查的重要手段^[11]。目前尚未发现高特异性的 PDAC 血清肿瘤标志物, 临床上应用最为广泛的血清标志物为 CA19-9, 对评估预后和监测切除术后复发有价值, 但阳性预测值仅为 0.5% 至 0.9%^[4, 12]。单一的血清

生物标志物检测敏感性和特异性有限,有研究称,CA19-9和CA24-2联合检测的诊断价值优于单项检测^[13]。因此,填补PDAC的诊断标志物空缺,丰富PDAC相关肿瘤标志物至关重要。

本研究收集PDAC患者血清样本,通过ELISA检测临床血清样本发现,*bcat1*表达产物BCAT1在PDAC患者血清中浓度显著升高。BCAT是负责BCAA可逆转氨化的酶^[5],BCAA的代谢既为三羧酸循环提供碳源,又为核苷酸合成提供氮源,其全身性代谢的失调会影响肿瘤的发生和进展。有研究称BCAA水平升高可导致PDAC患病风险增加2倍以上,且血浆BCAA的增加是PDAC发生的早期事件^[14]。Deepak Nagrath团队的研究称胰腺癌细胞分泌的TGF- β 通过基质细胞中的SMAD5活化上调基质BCAT1活性,BCAT1是肿瘤相关成纤维细胞(Cancer-associated Fibroblast CAF)中TGF- β -SMAD5通路的直接靶点,且在CAF中敲除BCAT1,引起BCKA的分泌减少,会显著降低胰腺癌细胞的生长速度^[15]。

临床验证结果表明,BCAT1具备作为PDAC诊断标志物的潜力。PDAC患者血清中BCAT1浓度与除胃癌外的其他消化道肿瘤和慢性胰腺炎患者相比显著升高,这证明BCAT1用于鉴别诊断PDAC与常见消化道恶性肿瘤以及慢性胰腺炎具有一定的价值,是PDAC较为特异性的指标。而与健康人群相比,BCAT1浓度在胃癌、肝癌和结直肠癌患者的血清中也有不同程度的升高,提示BCAT1不仅可以用于鉴别诊断PDAC,对其他消化道肿瘤也有潜在的应用价值。本研究还发现,BCAT1与CA19-9具有较好的相关性,从临床角度印证了BCAT1在诊断PDAC时具有较好的特异性,且在CA19-9为阴性的PDAC患者中,BCAT1可以检出的比率高达60%,与CA19-9形成互补,避免临床漏检。在CA125、CEA和CA72-4为阴性的PDAC患者中,BCAT1可以检出的比率分别为59.7%、63.93%和60.49%。另外,BCAT1的灵敏度和特异性明显优于CA72-4,且其血清浓度较高,易于检测,可成为目前临床常用血清标志物的有益补充。临床研究数据显示,晚期PDAC患者的血清BCAT1浓度要高于早中期,且随访研究发现,患者血清中BCAT1浓度随病情进展逐渐升高。这提示BCAT1可能与肿瘤的发展和预后相关,可以作为PDAC病情监控及治疗效果评价的指标。

本研究也存在一定局限性,临床研究方面,本研究缺乏BCAT1对PDAC预后评估的研究,后续将对纳入本研究的PDAC患者进行随访,明确该指标的预后评估价值。

参考文献

- [1] Grant TJ, Hua K, Singh A. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2016,144:241-275.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al. Cancer statistics, 2023[J]. CA Cancer J Clin, 2023,73(1):17-48.
- [3] 国家卫生健康委办公厅. PDAC诊疗指南(2022年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2022,38(5):1006-1030.
- [4] Zhang L, Sanagapalli S, Stoita A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer[J]. World J Gastroenterol, 2018,24(19):2047-2060.
- [5] Papathanassiou AE, Ko JH, Imprialou M, et al. BCAT1 controls metabolic reprogramming in activated human macrophages and is associated with inflammatory diseases[J]. Nat Commun, 2017,8:16040.
- [6] Ericksen RE, Lim SL, McDonnell E, et al. Loss of BCAA Catabolism during Carcinogenesis Enhances mTORC1 Activity and Promotes Tumor Development and Progression[J]. Cell Metab, 2019,29(5):1151-1165.e6.
- [7] 柴鸥,侯志敏,崔冬青. BCAA代谢异常与癌症的相关性研究进展[J]. 现代临床医学, 2022,48(3):237-240.
- [8] Ansari D, Tingstedt B, Andersson B, et al. Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow[J]. Future Oncol, 2016,12(16):1929-1946.
- [9] Vincent A, Herman J, Schulick R, et al. Pancreatic cancer[J]. Lancet, 2011,378(9791):607-620.
- [10] Zhao Z, Liu W. Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment[J]. Technol Cancer Res Treat, 2020,19:1533033820962117.
- [11] Gemmel C, Eickhoff A, Helmstädter L, et al. Pancreatic cancer screening: state of the art[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2009,3(1):89-96.
- [12] Mikata R, Ishihara T, Tada M, et al. Clinical usefulness of repeated pancreatic juice cytology via endoscopic naso-pancreatic drainage tube in patients with pancreatic cancer[J]. J Gastroenterol, 2013,48(7):866-873.
- [13] Zhang Y, Yang J, Li H, et al. Tumor markers CA19-9, CA242 and CEA in the diagnosis of pancreatic cancer: a meta-analysis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015,8(7):11683-11691.
- [14] Mayers JR, Wu C, Clish CB, et al. Elevation of circulating branched-chain amino acids is an early event in human pancreatic adenocarcinoma development[J]. Nat Med, 2014,20(10):1193-1198.
- [15] Zhu Z, Achreja A, Meurs N, et al. Tumour-reprogrammed stromal BCAT1 fuels branched-chain ketoacid dependency in stromal-rich PDAC tumours[J]. Nature Metabolism, 2020,2(8):775-792.

吸入氢气对高氧诱导新生SD大鼠支气管肺发育不良(BPD)的影响

张兰^{1,2} 李敏许² 周福心² 黄为民^{1*}

[摘要] 目的 探讨吸入氢气对高氧诱导新生SD大鼠支气管肺发育不良(BPD)的影响。方法 选取新生SD大鼠吸入85%高氧建立支气管肺发育不良模型。分为control组(正常空气)9只、BPD组(85% O₂)13只、H₂组(2% H₂)12只及Treat组(85% O₂+2% H₂)16只,共4组。记录各组大鼠体重;14 d后取肺组织,采用苏木精-伊红(HE)染色法进行病理切片观察与评价;肺组织匀浆上清液检测肺损伤的标志物神经酰胺(Cer);取血,检测脑损伤标志物肌钙结合蛋白(S100B)、心肌损伤标志物心肌肌钙蛋白(cTnI)并进行比较。结果 BPD组体重增长显著慢于control组,差异有统计学意义($F=7.122$, $P<0.05$)。HE染色结果显示高氧使肺泡简化,肺泡数量明显减少,吸入氢气可有效改善;4组肺泡平均截距比较,BPD组>Treat组肺泡>control组与H₂组,差异有统计学意义($F=24.951$, $P<0.05$)。Cer水平BPD组>control组、H₂组与Treat组,cTnI水平BPD组>H₂组>Treat组>control组,S100B水平BPD组>Treat组>H₂组、control组,差异具有统计学意义($F=19.361$ 、 26.321 、 13.235 , $P<0.05$)。结论 吸入H₂可改善肺损伤,改善脑损伤与心肌损伤,其机制可能与抗氧化有关。

[关键词] 氢气;支气管肺发育不良;大鼠;高氧

Effects of hydrogen gas inhalation on hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia in neonatal SD rats

ZHANG Lan^{1,2}, LI Minxu², ZHOU Fuxin², HUANG Weimin^{1*}

[1. Department of Neonatology, the First Clinical Medical College of Southern Medical University (Nanfang Hospital), Guangzhou, Guangdong, China, 510515; 2. Department of Neonatology, Dongguan Maternal And Child Health Care Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523000]

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of hydrogen inhalation on bronchopulmonary dysplasia (BPD) in hyperoxy-induced neonatal SD rats. **Methods** The bronchopulmonary dysplasia model was established by exposing neonatal SD rats to of 85% hyperoxygen through inhalation. The rats were divided into foue groups: the control group (normal air) 9, the BPD group (85% O₂) 13, the H₂ group (2% H₂) 12 and the treat group (85% O₂ + 2% H₂) 16. The body weight of each group was recorded. After 14 days, the rats were sacrificed, and blood and lung tissues were collected. Pathological sections were observed and evaluated using hematoxylin-eosin (HE) staining. The supernatant of lung tissue homogenate was used to detect the lung injury marker ceramide (Cer). Blood samples were taken to detect the brain injury marker tropont-binding protein (S100B), and the myocardial injury marker myocardial troponin (cTnI). The results were then compared among the groups. **Results** The body weight increase in the BPD group was significantly slower than that in the control group ($F=7.122$, $P<0.05$). HE staining results showed that hyperoxia simplified the alveoli and significantly reduced the number of alveoli, which could be effectively improved by inhaling hydrogen gas. The

基金项目:东莞市社会科技发展(重点)项目(201750725007076)

作者单位:1.南方医科大学第一临床医学院(南方医院)新生儿科,广东,广州510515

2.东莞市妇幼保健院新生儿科,广东,东莞523000

*通信作者:黄为民, E-mail: hwmnet@21cn.com

average intercept of alveoli in the BPD group was greater than that in the treat group and the control group, and this difference was significantly different from the H₂ group ($F=24.951, P<0.05$). The Cer level in the BPD group was higher than that in the control group, the H₂ group and the treat group. The cTnI level in the BPD group was higher than that in the H₂ group, the treat group and the control group. The S100B level in the BPD group was higher than that in the treat group, the H₂ group, and the control group. These differences were statistically significant ($F=19.361, 26.321, 13.235, P<0.05$). **Conclusion** Inhaling H₂ can improve lung injury, brain injury and myocardial injury. The mechanism may be related to antioxidants.

[KEY WORDS] Hydrogen; Bronchopulmonary dysplasia; Rat; Hyperoxia

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是早产儿常见的慢性肺部疾病,其发病机制尚不清楚。在遗传易感性的基础上,氧中毒、气压创伤以及炎症等多项因素是未成熟肺出现损伤的重要因素,损伤后的肺部组织修复异常,导致BPD的发生^[1];在多种因素的影响下,不仅会引起气道的改变,还会导致肺血管的改变,导致心肺功能不同程度的恶化^[2]。Ohsawa等^[3]发现,吸入2%的氢气(Hydrogen, H₂)具有选择性的抗氧化作用,H₂是一种无色无味的惰性气体,已有研究报道其可通过抑制氧化与炎症反应减轻神经损伤,减轻肺损伤等^[4-5]。因此,本研究探讨吸入氢气对高氧诱导新生SD大鼠BPD的影响报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试验动物

SPF级Sprague Dawley(SD)孕鼠(180~220 g, 13~14周)5只,均购自南方医科大学动物实验中心,许可证号:SCXK(粤)2021-0041。室温(23~25℃)、相对湿度50~60%下自由饮水摄食饲养,饲料购自广东医科大学实验动物中心。

1.1.2 实验试剂

神经酰胺(ceramide, Cer)、心肌肌钙蛋白(cardiac troponin i, cTnI)、S100B肌钙结合蛋白测定试剂盒均购自久邦科技有限公司。

1.1.3 试验仪器

酶标仪(美国Thermo公司);高速冷冻离心机(德国Eppendorf)。

1.2 分组与造模

5只SD孕鼠(雌性,13~14周,250±10 g)适应性饲养5 d,采用随机数字表法分为control组、H₂组、BPD组与Treat组;孕鼠产儿后control组9只、H₂组13只、BPD组12只与Treat组16只。control

组为空气组吸氧浓度为21%;H₂组吸入2% H₂; BPD组为高氧组,吸氧浓度为85%;Treat组为高氧+H₂组。本研究遵循动物实验伦理要求(伦理编号:GDMU-2023-000041)。

将母鼠与新生鼠置于同一个饲养箱内,箱内温度23~25℃,相对湿度50%~60%。control组:新生大鼠仅暴露在同室空气环境中,适时补充饲料与喂养常规水,更换垫料。H₂组、BPD组与Treat组通过饲养箱内氧气阀门控制氧气与氢气的浓度与比例。H₂组维持2% H₂的吸入浓度,H₂由科力恩氢气发生器电解水所产生,纯度为99.999%。BPD组维持氧浓度85%;Treat组为持续85% O₂与2% H₂混合气体输入。每次持续2 h,持续14 d。H₂组与Treat组饲喂富氢水,其余两组大鼠则为正常应用水。每日定时开箱1 h以更换饲料与水剂,更换垫料。剩余时间由母鼠喂养,期间如有新生大鼠死亡即从组别中减去。4组大鼠饲养14 d后处死。

1.3 观察指标

1.3.1 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法检测大鼠肺组织情况

处死后取各组大鼠肺部组织,组织固定包埋后石蜡切片,将蜡块固定在切片机上,切片厚度4 μm,烘干;脱蜡及水化:二甲苯 I 20 min → 二甲苯 II 20 min → 无水乙醇 I 5 min → 无水乙醇 II 5 min → 90%乙醇 3 min → 80%乙醇 3 min → 70%乙醇 3 min → 超纯水 3 min;HE染色:切片置于苏木精染液10 min,流水冲洗10 min至组织蓝化,再浸入伊红染液30 s,流水冲洗切片3 min后于显微镜下观察染色效果。将染色后的切片于无水乙醇 I、II各脱水10 min,二甲苯 I、II中各透明10 min;封片:将封片液滴在组织上并盖上盖玻片,于60℃烘干;镜检拍照。各组切片在各个层面随机抽取5张,每张切片随机取5个视野进行观察检测。采用Image-Pro-Plus6.0软件进行肺泡平均

截距测量,并计算平均值。

1.3.2 大鼠 Cer、cTnI、S100B 水平检测

处死前取大鼠腹主动脉血 2 mL,同时取 1.3.1 中大鼠肺部组织制成组织匀浆液,3 500 r/min(离心半径为 10 cm)离心 15 min,取上清液,低温保存待检。采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组大鼠肺组织 Cer 与血清 cTnI、S100B 水平,操作严格按照试剂盒说明书步骤进行。

1.4 统计学方法

本研究所有数据均使用 GraphPadPrism 8 软件进行统计分析;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用 *F* 检验,进一步两两比较 *snk-q* 检验;以 *P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4组大鼠生长状况

control 组、H₂组大鼠活动良好、反应灵敏、毛发光泽、肤色红润,无异常表现。BPD 组反应迟钝、精神萎靡、活动减少,毛发发涩、无光泽,皮肤苍白、干燥;Treat 组与 BPD 组比有明显的改善。BPD 组体重增长显著慢于 control 组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 4组大鼠生长各时间点体重比较 [($\bar{x} \pm s$), g]

Table 1 Comparison of body weight at different growth time points of rats in the 4 groups [($\bar{x} \pm s$), g]

组别	<i>n</i>	出生	第一周	第二周
control 组	9	5.01±0.23	23.78±2.10	48.44±1.71
H ₂ 组	13	4.59±0.32 ^a	22.15±3.92	39.08±7.17 ^a
BPD 组	12	4.83±0.27	20.33±4.13 ^a	35.33±7.92 ^a
Treat 组	16	4.83±0.26 ^b	21.56±2.96	39.43±5.76 ^a
<i>F</i> 值		3.938	1.668	7.122
<i>P</i> 值		0.014	0.187	<0.001

注:和对照组比较,^a*P*<0.05;和 H₂组比较,^b*P*<0.05。

2.2 肺组织病理学改变

HE 染色结果显示,control 组与 H₂组与肺泡结构完整,大小均匀,肺泡数目多;BPD 组可见明显的肺组织紊乱,肺泡增大,肺泡简化,肺泡数目明显减少;Treat 组较 BPD 组病理结构改善,肺泡数目有所增加,肺泡简化程度好转。见图 1。对肺泡平均截距进行测量,control 组与 H₂组肺泡平均截距差异无统计学意义(*P*>0.05);BPD 组与 Treat 组肺泡截距大于 control 组与 H₂组,且 BPD 组大于 Treat 组(*P*<0.05)。见图 2。

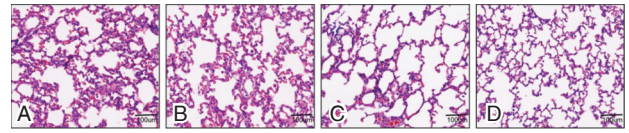
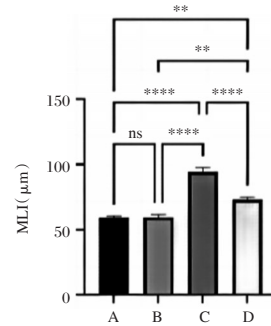


图 1 大鼠肺组织病理学改变 (HE, ×100)

Figure 1 Caseological changes of lung tissue in rats (HE, ×100)



注: **P*<0.05。A. control 组; B. H₂组; C. BPD 组; D. Treat 组。

图 2 平均肺泡线性截距

Figure 2 Mean alveolar linear intercept

2.3 4组大鼠 Cer、cTnI、S100B 水平比较

Cer 水平 BPD 组>control 组、H₂组与 Treat 组, cTnI 水平 BPD 组>H₂组>Treat 组>control 组, S100B 水平 BPD 组>Treat 组>H₂组、control 组, 差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 各组大鼠肺组织匀浆上清液 Cer、血清 cTnI、S100B 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum cTnI and S100B levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Cer (μmol/L)	cTnI (ng/mL)	S100B (pg/mL)
control 组	9	9.65±0.59	0.89±0.05	175.18±12.02
H ₂ 组	13	10.08±0.40	1.21±0.07 ^a	183.62±31.89
BPD 组	12	12.20±1.05 ^{ab}	1.42±0.14 ^{ab}	232.83±19.99 ^{ab}
Treat 组	16	10.27±1.06 ^c	1.11±0.08 ^{abc}	203.73±10.15 ^{ac}
<i>F</i> 值		19.361	26.321	13.235
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:和对照组比较,^a*P*<0.05;和 H₂组比较,^b*P*<0.05;和 BPD 组比较,^c*P*<0.05。

3 讨论

目前 BPD 的治疗手段十分有限,即使挽救了患儿的生命,同时也影响患儿远期的生存质量,使患儿呼吸道反复感染、脑神经受损、心肌功能受损等^[6]。BPD 是一种以肺泡和肺血管简化为特征的病理性肺部疾病^[7],其特点是炎症、肺部发育损伤以及肺泡和血管生长受损。BPD 是一种复杂的疾病,其发病机制有多种,如母体因素、呼吸机相关

因素、氧中毒、生物创伤等,其中氧化应激反应、炎症是 BPD 发病的重要原因^[8]。据报道,氢在多种疾病模型和人类疾病,尤其是由氧化应激引起的疾病中具有影响,氢气没有任何已知的副作用,这使得氢气成为 BPD 的一种有前途的治疗方式^[9]。本研究进行动物试验,并通过正常吸入空气、2% H₂、85% O₂与 85% O₂+2% H₂的新生 SD 大鼠肺组织情况进行对比,结果显示,吸入空气与 2% H₂肺组织肺泡情况无明显差异,而吸入 85% O₂大鼠肺组织紊乱、肺泡增大、肺泡简化、肺泡数目明显减少,吸入 85% O₂+2% H₂大鼠腹部组织情况明显得到改善。

本研究对各组新生 SD 大鼠 Cer、cTnI、S100B 水平进行检测与比较,结果显示 BPD 的 Cer、cTnI、S100B 水平均升高。同时对吸入 2% H₂的高氧诱导 BPD 大鼠与 BPD 大鼠的 Cer、cTnI、S100B 水平进行比较,结果显示 BPD 大鼠的上述指标显著高于吸入 2% H₂处理的 BPD 大鼠,提示吸入 2% H₂可改善 BPD 大鼠的肺损伤、脑损伤与心肌损伤。Cer 是一类可调节细胞分化、增殖、凋亡与衰老等细胞生命活动的脂质分子,已有研究表明,Cer 在哮喘、急性肺损伤、慢性阻塞性肺疾病等疾病的发病与发展中具有重要作用,其可促进气道的炎症与氧化应激反应^[10]。同时 Cer 调节多种相关通路,参与炎症反应,上调白细胞介素-6、白细胞介素-8 等多种炎症因子的分泌,从而引起相应疾病的发生与发展。Tn 可分为 TnI、TnT 与 TnC,其以游离与复合物的形式存在与心肌细胞包质中,调节心肌肌肉收缩。BPD 患者肺部损伤,增加心肌缺氧情况,从而引起心肌损伤、cTnI 释放于血液中,致使其水平升高^[11]。S100B 是一种特异性神经胶质细胞蛋白,急、慢性脑损伤情况下,血清 S100B 水平升高,检测患者血清 S100B 水平可预测脑损伤的程度,可作为脑损伤的筛查与评估指标^[12]。H₂具有良好的生物膜通透性与生物安全性,同时可与生物组织良好相容,其在多器官与系统的损伤中均具有强大的保护作用^[13],其可能通过还原氧自由基减少炎症因子的释放,起到抗氧化应激反应与炎性反应的作用,减轻间质水肿和肺泡隔的增厚、减少炎性细胞的渗出,从而达到改善 BPD 肺损伤等效果。

综上所述,吸入 H₂可改善肺损伤,改善脑损伤与心肌损伤,其机制可能与抗氧化有关。但 H₂的半衰期较短,因此需要持续性吸入才可发挥其生物作用。同时,相关研究表明^[13-15],炎症是 BPD 的

重要致病因素。但本研究中尚未对大鼠的炎症因子进行检测与分析,因此还需进行更深入的研究探讨,确定吸入 H₂对 BPD 的影响及其机制,为临床的治疗提供有效的实验指导。

参考文献

- [1] 杨婕,曹霞,李翠霞,等. IL-33、MIF 及 PLTP 水平与新生儿支气管肺发育不良的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(8): 1325-1328.
- [2] Clavero-Adell M, Palanca-Arias D, López-Ramón M, et al. Right ventricle speckle tracking in bronchopulmonary dysplasia: one-year follow-up[J]. Egypt Heart J, 2023, 75(1): 10.
- [3] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. Nat Med, 2007, 13(6): 688-694.
- [4] 滕娜,孙明洁,李会. 吸入氢气对重症急性胰腺炎大鼠肺损伤的影响[J]. 中国医药导报, 2020, 17(15): 26-28+33.
- [5] 万强,李庭庭,肖媛,等. 吸入高浓度氢气对大鼠脑缺血-再灌注损伤的影响[J]. 中国脑血管病杂志, 2021, 18(5): 303-310.
- [6] 单良,李娟,杨荣平. 攀西地区呼吸窘迫综合征早产儿并发支气管肺发育不良危险因素研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(10): 1241-1244+1249.
- [7] Menon RT, Thapa S, Shrestha AK, et al. Extracellular Signal-Regulated Kinase 1 Alone Is Dispensable for Hyperoxia-Mediated Alveolar and Pulmonary Vascular Simplification in Neonatal Mice[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(6): 1130.
- [8] Dankhara N, Holla I, Ramarao S, et al. Bronchopulmonary Dysplasia: Pathogenesis and Pathophysiology[J]. J Clin Med, 2023, 12(13): 4207.
- [9] Muramatsu Y, Ito M, Oshima T, et al. Hydrogen-rich water ameliorates bronchopulmonary dysplasia (BPD) in newborn rats[J]. Pediatr Pulmonol, 2016, 51(9): 928-935.
- [10] 玄玲玲,杜萍,宫丽丽,等. 木通皂苷 D 对神经酰胺诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(11): 1363-1366.
- [11] 郑玉强,齐娜,王晶,等. 心型脂肪酸结合蛋白和肌钙蛋白 I 联合检测在慢阻肺急性加重期早期心肌损伤中的应用价值[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(23): 3933-3936.
- [12] 王才木,陈启江,崔巍,等. 清醒时脉搏血氧饱和度正常的慢性阻塞性肺病患者夜间低氧血症的发生情况和 S100B 水平的变化[J]. 上海医学, 2018, 41(11): 656-662.
- [13] 杜维纳,高淑强,巨容,等. 阿奇霉素对新生大鼠支气管肺发育不良的改善作用及机制[J]. 中国药房, 2024, 35(2): 155-159.
- [14] 胡渝,廖志伟,肖小星. 糖皮质激素治疗早产儿支气管肺发育不良的临床效果[J]. 中国医学创新, 2023, 20(23): 36-39.
- [15] Arabaghian H, Salloum T, Alousi S, et al. Molecular Characterization of Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae and Klebsiella quasipneumoniae Isolated from Lebanon [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 531.

血清 P53、G-17 及 MG7-Ag 检测联合胃镜下病理检查在胃癌及癌前病变诊断中的应用

荆玉洁 段振刚 李妮 姚茹*

[摘要] 目的 研究血清 P53 抑癌基因、胃泌素-17 (G-17) 及人胃癌抗原 MG7 (MG7-Ag) 检测联合胃镜下病理检查在胃癌及癌前病变诊断中的应用效果。方法 本研究采用回顾性的方法, 选取 2022 年 3 月至 2023 年 1 月空军第九八六医院收治的经胃镜检查诊断为胃早癌或癌前病变患者 152 例为研究对象。统计病理诊断结果; 比较胃癌组与癌前病变组血清 P53、G-17 及 MG7-Ag 水平; 以病理诊断为金标准, 分析胃镜检查表现与金标准的一致性; 采用 ROC 曲线评估血清 P53、G-17 及 MG7-Ag 水平联合胃镜下病理检查对胃癌癌前病变的诊断价值。结果 152 例疑似胃早癌及癌前病变患者经病理学诊断, 发现胃癌患者 75 例 (49.35%); 胃癌癌前病变患者 77 例 (50.65%), 其中肠上皮化 36 例 (23.68%), 萎缩性胃炎 30 例 (19.74%) 及胃溃疡 11 例 (7.24%)。胃癌组 G-17 及 MG7-Ag 水平高于癌前病变组, P53 阳性表达例数多于癌前病变组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。152 例疑似胃早癌及癌前病变患者经胃镜检查, 发现胃癌患者 70 例 (46.05%); 胃癌癌前病变患者 82 例 (53.95%), 其中肠上皮化 36 例 (23.68%), 萎缩性胃炎 32 例 (21.05%) 及胃溃疡 14 例 (9.21%)。ROC 曲线显示, 胃镜+P53+G-17+MG7-Ag 联合检测诊断胃癌癌前病变的灵敏度、特异度分别为 92.55%、91.18%, 明显高于三者单独检测 ($P < 0.05$)。结论 血清 P53、G-17 及 MG7-Ag 与胃癌及癌前病变的发生、发展有密切联系, 且上述血清检测联合胃镜下病理检查诊断胃癌及癌前病变的准确率更高。

[关键词] P53; G-17; MG7-Ag; 胃镜下病理检查; 胃癌; 癌前病变

Serum P53, G-17 and MG7-Ag testing combined with gastroscopic pathology in the diagnosis of gastric cancer and precancerous lesions

JING Yujie, DUAN Zhengang, LI Ni, YAO Ru*

(Department of Gastroenterology, Air Force 986th Hospital, Xi'an, Shaanxi, China, 710054)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effect of serum P53 oncogene (P53), gastrin-17 (G-17) and human gastric cancer antigen MG7 (MG7-associated glycoprotein, MG7-Ag) detection combined with gastroscopic pathological examination in the diagnosis of gastric cancer and precancerous lesions. **Methods** In this study, 152 patients with early gastric cancer or precancerous lesions diagnosed by gastroscopy were selected using a retrospective method at the Ninety-eight Sixth Hospital of the Air Force from March 2022 to January 2023. The study included statistical results of pathological diagnoses, a comparison of serum P53, G-17 and MG7-Ag levels between the gastric cancer group and the precancerous lesion group, an analysis of the consistency between gastroscopic examination performance and the gold standard of pathological diagnosis, and an assessment of the diagnostic value of serum P53, G-17 and MG7-Ag levels combined with gastroscopic pathological examination for precancerous lesions of gastric cancer using ROC curve analysis. **Results** After a pathological diagnosis of 152 patients with suspected early gastric cancer and precancerous lesions, it was found that 75 patients (49.35%) had gastric cancer, while 77 patients (50.65%) had precancerous lesions of gastric

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (S2023-YF-YBSF-0438)

作者单位: 空军第九八六医院消化内科, 陕西, 西安 710054

*通信作者: 姚茹, E-mail: 1178924026@qq.com

cancer. Among those with precancerous lesions, 36 patients (23.68%) had intestinal epithelialization, 30 patients (19.74%) had atrophic gastritis and 11 patients (7.24%) had gastric ulcers. The levels of G-17 and MG7-Ag in the gastric cancer group were higher than those in the precancerous lesion group. Additionally, the number of cases with P53 positive expression was greater in the gastric cancer group compared to the precancerous lesion group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). After a gastroscopic examination of the same 152 patients, it was discovered that 70 patients (46.05%) had gastric cancer, while 82 patients (53.95%) had precancerous gastric cancer. Among those with precancerous lesions, 36 patients (23.68%) had intestinal epithelialization, 32 patients (21.05%) had atrophic gastritis and 14 patients (9.21%) had gastric ulcers. The ROC curve analysis revealed that the sensitivity and specificity of the combined detection of gastroscopy +P53+G-17+MG7-Ag for diagnosing precancerous lesions of gastric cancer were 92.55% and 91.18%, respectively. These values were significantly higher than those of the individual test ($P<0.05$). **Conclusion** Serum P53, G-17 and MG7-Ag are closely related to the occurrence and development of gastric cancer and precancerous lesions. the accuracy of the above serological tests, when combined with gastroscopic pathological examination, is higher for diagnosing gastric cancer and precancerous lesions.

[KEY WORDS] P53; G-17; MG7-Ag; Gastroscopic pathology; Gastric cancer; Precancerous lesions

早期胃癌是胃癌的一个分期,患者在及时治疗生存率较高,但因症状隐匿,易被误诊或漏诊。故胃癌诊断对于患者治疗、预后具有重要意义^[1]。胃镜下病理检查是早期胃癌诊断的金标准,但临床发现仅靠胃镜下病理检查诊断胃癌无法达到极高准确率^[2]。实验室血清学检查有操作简便、经济实惠等优点,作为一种非侵入性的筛查方法,可在一定程度上弥补胃镜下病理检查不足^[3]。血清P53抑癌基因是一种肿瘤标志物,研究报道该指标对胃癌有一定诊断价值;胃泌素-17(Gastrin-17, G-17)是一种胃激素,通过监测该指标水平可早期筛查、诊断胃部疾病;胃癌抗原MG7(MG7-associated glycoprotein, MG7-Ag)在胃癌组织中呈高表达;血清P53、G-17、MG7-Ag在胃癌早期及癌前病变诊断的诊断价值引起临床广泛关注,但诸多学者对上述血清的敏感度、特异性存在争议^[4-5]。对此,本文旨在研究血清P53、G-17及MG7-Ag检测联合胃镜下病理检查在胃癌及癌前病变诊断中的应用效果,现将研究结果报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年3月至2023年1月空军第九八六医院收治的经胃镜检查诊断为胃早癌或癌前病变患者,经纳入排除标准筛选后选取其中152例作为研究对象进行回顾性分析。其中男89例,女63例,平均年龄(47.57±6.33)岁,纳入标准:①病历资料完整;②近1个月未服用护胃、抗生素等药物;

③所有研究对象均存在上腹腹痛、反酸、恶心等症状;排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②有器质性疾病病变者;②免疫功能缺陷;③精神障碍者。

1.2 方法

1.2.1 血清检测

抽取所有患者晨起空腹静脉血5 mL,静置30 min,离心(3 000 r/min, 10 min, 离心半径10 cm),取上清置于-20℃环境待检,采用免疫组化检测组织中P53,采用酶联免疫吸附测定法检测血清G-17、MG7-Ag。试剂盒均来自杭州联科生物技术股份有限公司。

1.2.2 胃镜检查

检查前,患者禁食6~8 h,按照医生的指示口服二甲硅油、10 mL利多卡因胶浆及0.9%氯化钠溶液,以润滑胃部并去除胃内的泡沫;通过胃镜观察胃体下段、胃窦、胃体中上部的四壁,倒镜观察胃角、胃体中上部、胃底贲门部。

1.2.3 病理检查

胃镜术中钳取了明显病变部位、胃体和胃窦组织2~3块,组织迅速送检进行处理,病理技师将组织切成薄片放置在载玻片上,切片经过染色后在显微镜下进行详细观察。

1.3 观察指标

①观察病理诊断结果;②比较胃癌组与癌前病变组血清P53、G-17及MG7-Ag水平;③以病理诊断为金标准,分析胃镜检查表现与金标准的一致性;④分析血清P53、G-17及MG7-Ag水平联合胃镜下病理检查对胃癌癌前病变的诊断价值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件包处理数据, 计量资料($\bar{x} \pm s$), 两组间用独立样本 *t* 检验, 计数资料通过 *n*(%) 表示, 采用 χ^2 检验; 与金标准的一致性用 *Kappa* 检验; 绘制 ROC 曲线, 评估 P53、G-17、MG7-Ag 单独及联合胃镜下病理检查对胃癌癌前病变的诊断价值; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理诊断结果

152 例疑似胃早癌及癌前病变患者经病理学诊断, 发现胃癌患者 75 例(49.35%); 胃癌癌前病变患者 77 例(50.65%), 其中肠上皮化 36 例(23.68%), 萎缩性胃炎 30 例(19.74%)及胃溃疡 11 例(7.24%)。

2.2 胃癌组与癌前病变组血清 P53、G-17 及 MG7-Ag 水平

胃癌组 G-17 及 MG7-Ag 水平高于癌前病变组, P53 阳性表达例数多于癌前病变组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 胃癌组与癌前病变组 P53、G-17 及 MG7-Ag 水平比较
[($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

Table 1 Comparison of P53, G-17 and MG7-Ag levels between gastric cancer group and precancerous lesion group
[($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

组织	<i>n</i>	G-17 (pmol/L)	MG7-Ag (U/mL)	P53	
				阴性	阳性
胃癌病变组	77	21.93±3.21	5.45±1.12	64(83.12)	13(16.88)
胃癌组	75	30.58±5.36	7.27±2.18	18(24.00)	57(76.00)
χ^2/t 值		12.107	6.498	38.023	
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	

2.3 胃镜检查与病理诊断的一致性

152 例疑似胃早癌及癌前病变患者经胃镜检查, 发现胃癌患者 70 例(46.05%); 胃癌癌前病变患者 82 例(53.95%), 其中肠上皮化 36 例(23.68%), 萎缩性胃炎 32 例(21.05%)及胃溃疡 14 例(9.21%)。

2.4 血清单独及联合胃镜下病理检查对癌前病变的诊断价值

ROC 曲线显示, 胃镜+P53+G-17+MG7-Ag 联合检测诊断胃癌癌前病变的灵敏度、特异度分别为 92.55%、91.18%, 明显高于三者单独检测。见表 2、图 1。

表 2 P53、G-17 及 MG7-Ag 单独及联合胃镜下病理检查对癌前病变的诊断价值

Table 2 Diagnostic value of P53, G-17 and MG7-Ag alone and combined with gastroscopy in precancerous lesions

指标	AUC	95% CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)	<i>P</i> 值
P53	0.422	0.310~0.489	60.28	58.11	0.018
G-17	0.437	0.337~0.502	63.32	59.42	0.011
MG7-Ag	0.445	0.348~0.510	63.78	59.80	0.010
P53+G-17+MG7-Ag	0.624	0.450~0.682	69.57	64.79	<0.001
胃镜+血清指标	0.762	0.637~0.814	92.55	91.18	<0.001

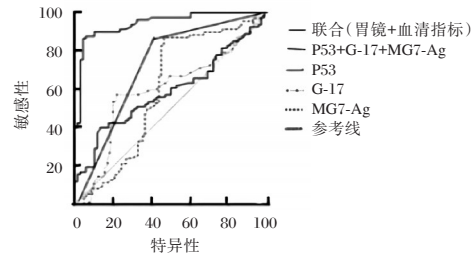


图 1 血清单独及联合胃镜下病理检查对癌前病变的诊断价值

Figure 1 Diagnostic value of serum alone and combined with gastroscopy in precancerous lesions

3 讨论

胃癌前病变包括多种疾病状态, 其中最常见的是上皮内瘤变、慢性萎缩性胃炎, 上述病变均可发展成为胃癌^[6-7]。本研究回顾了 152 例疑似胃癌患者的临床资料, 发现萎缩性胃炎的占比最高, 为 44%。慢性胃炎若没有及时治疗, 炎症可能进一步发展, 导致胃黏膜萎缩、上皮内瘤变等情况, 发展为胃癌。

在胃镜下可以直接观察到胃黏膜的外观、颜色、质地以及病变的范围和程度, 并获取病变组织进行病理检查, 进行多部位活检对于诊断癌前病变和肿瘤等疾病非常重要; 但胃镜下活检有着一定局限性, 部分患者易出现漏诊或误诊。故为了提高检出癌前病变的正确率, 避免延误病情的管理和治疗, 需要采用更准确、更有效的检测手段^[8-9]。

既往研究报道, 胃镜检查结合其他检测指标和诊断方法, 如血液学检查, 均可为临床提供更全面的诊断信息^[10]。国内庄伟等^[11]行相关研究发现, 血清学检查和胃镜下病理检查均是诊断胃癌前病变的重要手段, 结合两者可以提高诊断的准确率。P53 是一种抑癌基因, 其正常功能是帮助细胞修复损伤或诱导细胞凋亡, 预防癌症发生; 当 P53 基因发生突变时, 其正常功能受到干扰, 使得细胞无法正

常修复损伤或凋亡,导致癌症发生、发展^[12]。G-17水平异常可能与胃肠道疾病有关,如胃炎、胃溃疡等。当胃黏膜损伤时,G-17水平发生变化,可作为反映胃黏膜损伤情况的重要指标。既往研究报道,胃癌患者血清中G-17水平显著高于癌前病变患者。此外,文献报道,联合检测G-17和其它胃癌标志物可提高胃癌诊断准确性^[13]。MG7-Ag是一种潜在的肿瘤标志物,研究表明其在胃癌患者血清中的水平显著升高,并可与其它标志物联合用于胃癌诊断和监测^[14]。本次研究结果显示,胃癌组G-17及MG7-Ag水平高于癌前病变组、P53阳性表达例数多于癌前病变组,提示上述血清指标可能对胃癌及癌前病变具有一定诊断价值。进一步ROC曲线显示:血清P53、G-17、MG7-Ag联合胃镜下病理检查检测的灵敏度、特异度均高于血清指标单一检测,提示联合检测可进一步提高诊断胃癌和癌前病变筛查的准确性和可靠性,为早期治疗和管理提供依据。血清P53、G-17、MG7-Ag在癌症患者体内存在异常表达或升高,可作为胃癌和癌前病变的诊断指标,但单一指标检测易受到个体差异、疾病早期阶段、疾病复杂性等多种因素干扰,导致检测结果不够准确,而联合检测综合多个指标信息,相互验证、补充,从而减少单一指标检测中的误差及干扰^[15]。故笔者认为,现临床胃癌及癌前病变的诊断主要以胃镜结合胃粘膜活检为主要手段,而P53、G-17及MG7-Ag等血清学指标可作为辅助诊断和病情监测的指标。

综上所述,血清P53、G-17及MG7-Ag与胃癌及癌前病变的发生、发展有密切联系,且上述血清检测联合胃镜下病理检查诊断胃癌及癌前病变的准确率更高。

参考文献

- [1] 张雯雯,吴永梅,罗韶,等. PG I、PGR检测联合ME-NBI在胃癌及癌前病变诊断中的应用[J]. 贵州医药, 2020, 44(3):353-356.
- [2] 田可港,谢春霞,徐淑华,等. 血清uMtCK、PG、G-17及CA72-4联合检测在胃癌辅助诊断中的价值[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(18):27-30.
- [3] Liu XQ, Wang CL, Bai JY, et al. Fine-tuning Pre-trained Convolutional Neural Networks for Gastric Precancerous Disease Classification on Magnification Narrow-band Imaging Images-ScienceDirect[J]. Neurocomputing, 2020, 39(2):253-267.
- [4] 黄任祥,刘宇辉,余中贵. 血清胃泌素-17、胃蛋白酶原联合幽门螺杆菌检测在老年人胃癌癌前病变及早期胃癌筛查中的价值[J]. 实用老年医学, 2021, 35(2):180-183+188.
- [5] 叶挺,丁夷峰,金婷婷,等. 血清胃蛋白酶原I、II和胃泌素-17对健康体检人群胃癌癌前病变筛查的价值研究[J]. 中国医师进修杂志, 2022, 45(9):782-786.
- [6] 张艇,杨艳. 血清胃泌素17与胃蛋白酶原联合检测在慢性萎缩性胃炎诊断中的价值[J]. 安徽医学, 2020, 41(9):1045-1047.
- [7] 陈梅,欧锦溪,郑华银,等. 血清胃蛋白酶原,胃泌素17,幽门螺旋杆菌感染联合检测诊断早期胃癌的价值[J]. 临床消化病杂志, 2023, 35(4):284-288.
- [8] 武才琪,王庆林,李盼,等. P53、PCNA、CA724、胃泌素17及幽门螺杆菌抗体联合检测在萎缩性胃炎与早期胃癌鉴别中的应用价值[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(2):191-195.
- [9] 王宁,杨圣俊,张利宣,等. 血清胃泌素联合MG7-Ag在胃癌前疾病诊断中的临床价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2022, 25(1):50-53.
- [10] Buerlein V, Sabban C, Venner M, et al. Effects of feeding alfalfa hay in comparison to meadow hay on the gastric mucosa in adult Warmblood horses[J]. Pferdeheilkunde, 2020, 36(1):29-36.
- [11] 庄伟,计钰亮,朱婷婷. 早期胃癌胃镜筛查中联合应用血清PG、G-17、CA72-4及Hp检测的价值研究[J]. 浙江医学, 2020, 42(14):1529-1522.
- [12] 郑蓓怡,李之印,叶月芳. 胃蛋白酶原及胃泌素-17对筛查胃癌及胃上皮内瘤变的价值[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(6):545-549.
- [13] Yan T, Wong PK, Qin YY. Deep learning for diagnosis of precancerous lesions in upper gastrointestinal endoscopy: A review[J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(20):2531-2544.
- [14] 姜萌,党玲. 血清胃蛋白酶原和胃泌素联合检测在胃癌筛查中的价值[J]. 贵州医药, 2020, 44(6):856-858.
- [15] Liu W, Pan HF, Yang LJ, et al. Panax ginseng C. A. Meyer (Rg3) Ameliorates Gastric Precancerous Lesions in Atp4a / Mice via Inhibition of Glycolysis through PI3K/AKT/miRNA Pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 20(20):1-8.

声明

本刊2020年7月第12卷第7期发表的文章《下调lncRNA HCG18靶向调控miR-34a影响口腔鳞癌SCC4细胞增殖、侵袭以及迁移的分子机制》作者变更为:丁延晶、王立新、邱静怡。特此声明。

TB-DNA、IGRAs、TB-Ab在肺结核中的诊断价值

林华 刘相玉 陈展飞 俞柳敏*

[摘要] **目的** 探究结核分枝杆菌核酸(TB-DNA)、 γ -干扰素释放试验(IGRAs)和结核分枝杆菌抗体(TB-Ab)检测在肺结核中的诊断价值。**方法** 收集2022年6月至2023年1月莆田学院附属医院收治的154例疑似肺结核患者,所有患者均接受TB-DNA、IGRAs和TB-Ab检测,评价不同检测方法的检测阳性率、诊断肺结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及诊断准确率;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估不同检测方法对肺结核的诊断效能。**结果** 154例疑似肺结核患者中,107例确诊为肺结核(肺结核组),47例确诊为非肺结核的其他肺部疾病(对照组)。肺结核组TB-DNA、IGRAs和TB-Ab阳性率均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。TB-DNA、IGRAs检测诊断肺结核的灵敏度和诊断准确率均高于TB-Ab检测,差异有统计学意义($P<0.05$),TB-DNA检测诊断肺结核的阴性预测值高于TB-Ab检测,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,TB-DNA诊断肺结核的AUC为0.851(明显大于IGRAs诊断的0.770、TB-Ab诊断的0.770,IGRAs诊断的AUC明显大于TB-Ab,差异均有统计学意义($P<0.05$))。IGRAs+TB-DNA联合诊断的灵敏度、诊断准确率明显高于IGRAs单独检测($P<0.05$);IGRAs+TB-Ab联合诊断的灵敏度明显高于IGRAs、TB-Ab单独检测,诊断准确率明显高于TB-Ab单独检测($P<0.05$);TB-DNA+TB-Ab联合诊断的灵敏度、阴性预测值、诊断准确率明显高于TB-Ab单独检测($P<0.05$)。TB-DNA、IGRAs、TB-Ab两两联合检测和三者联合检测诊断肺结核的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及诊断准确率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 相比TB-Ab和IGRAs检测,TB-DNA检测对肺结核的诊断价值更高;TB-DNA、IGRAs、TB-Ab两两联合检测对肺结核的诊断效能高于单一指标检测。

[关键词] 肺结核;结核分枝杆菌核酸; γ -干扰素释放试验;结核分枝杆菌抗体

The diagnostic value of TB-DNA, IGRAs and TB-Ab in pulmonary tuberculosis

LIN Hua, LIU Xiangyu, CHEN Zhanfei, YU Liumin*

(Department of Laboratory, Putian University Affiliated Hospital, Putian, Fujian, China, 351100)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of tuberculosis deoxyribonucleic acid (TB-DNA), interferon-gamma release assays (IGRAs), tuberculosis antibody (TB-Ab), and their combination in pulmonary tuberculosis. **Methods** The clinical data of 154 patients suspected of having pulmonary tuberculosis and admitted to the Affiliated Hospital of Putian University from June 2022 to January 2023 were collected retrospectively. All patients underwent TB-DNA, IGRAs, and TB-Ab tests. The positivity rates of the different detection methods, as well as their sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and diagnostic accuracy in diagnosing pulmonary tuberculosis, were evaluated. Receiver Operating Characteristic (ROC) curves were used to assess the diagnostic efficacy of the different detection methods for pulmonary tuberculosis. **Results** Among 154 patients suspected of pulmonary tuberculosis, 107 were diagnosed with pulmonary tuberculosis (the tuberculosis group), and 47 were diagnosed with other pulmonary diseases excluding pulmonary tuberculosis (the control group). The positive rates of TB-DNA, IGRAs, and TB-Ab in the tuberculosis group were higher than those in the control group ($P<0.05$). In diagnosing pulmonary tuberculosis, the sensitivity and accuracy of TB-DNA and IGRAs were higher than those of TB-Ab ($P<$

基金项目:福建莆田市科技计划项目(2023S3F0010)

作者单位:莆田学院附属医院检验科,福建,莆田 351100

*通信作者:俞柳敏, E-mail: jimandmeme@126.com

0.05). and the negative predictive value of TB-DNA was higher than that of TB-Ab ($P<0.05$). Results from ROC curve analysis showed that the AUC of TB-DNA for diagnosing pulmonary tuberculosis was 0.851, significantly greater than that of IGRAs (0.770) or TB-Ab (0.770). The AUC of IGRAs was significantly greater than that of TB-Ab ($P<0.05$). The diagnostic sensitivity and accuracy of IGRAs combined with TB-DNA were significantly higher than those of IGRAs alone ($P<0.05$). The diagnostic sensitivity of IGRAs combined with TB-Ab was significantly higher than that of IGRAs or TB-Ab alone, and the diagnostic accuracy was significantly higher than that of TB-Ab ($P<0.05$). The sensitivity, negative predictive value, and accuracy of TB-DNA combined with TB-Ab were significantly higher than those of TB-Ab alone ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, or diagnostic accuracy among pairwise combination of TB-DNA, IGRAs and TB-Ab, and the combination of all three for diagnosing pulmonary tuberculosis ($P>0.05$). **Conclusion** Compared to TB-Ab tests and IGRAs, TB-DNA tests have a higher diagnostic value for tuberculosis. The diagnostic efficiency of the pairwise combination of TB-DNA, IGRAs and TB-Ab in cases of pulmonary tuberculosis was higher than that of single indicator detection.

[KEY WORDS] Pulmonary tuberculosis; Tuberculosis deoxyribonucleic acid; Interferon-gamma release assays; Tuberculosis antibody

结核病是由结核菌感染引起的慢性传染性疾病,临床以肺结核为主要类型,患者死亡率较高,是我国重点防控的疾病之一^[1-2]。细菌学检查是临床诊断肺结核的主要方法,但存在耗时长、操作复杂、敏感性低等不足,探索更高效、更便捷、易于推广的诊断技术或方法是近年来的研究热点问题。结核分枝杆菌核酸(tubercle bacillus-DNA, TB-DNA)检测诊断肺结核具有高灵敏度和特异性、低复杂性等特点,但其敏感度可能因标本类型的不同出现不同的结果^[3]。 γ -干扰素释放试验(Interferon-Gamma Release Assay, IGRAs)主要通过检测结核分枝杆菌特异性抗原刺激T细胞产生的 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)以判断是否存在结核分枝杆菌感染^[4]。结核分枝杆菌抗体(tubercle bacillus antibody, TB-Ab)属体液免疫,主要检测受试者血清中是否存在结核IgG抗体^[5]。检测方法的联合应用对提高肺结核的检出率可能有明显作用,本研究旨在分析TB-DNA、IGRAs、TB-Ab及联合检测在肺结核诊断中的价值,以期对肺结核临床诊断方法的选择提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2022年6月至2023年1月莆田学院附属医院收治的154例疑似肺结核患者。纳入标准:①患者性别不限,年龄 ≥ 18 岁;②胸部影像学检查结果显示有与活动性肺结核相符的病变,临床诊断标准符合《肺结核基层诊疗指南(2018年)》^[6]中

相关标准;③一般临床资料及影像学资料完整;④相关标本合格,均完成TB-DNA、IGRAs、TB-Ab检查。排除标准:①除人结核分枝杆菌外,其他结核分枝杆菌感染者;②合并免疫系统疾病,既往接受免疫抑制剂治疗者;③合并HIV感染者;④合并重要脏器功能障碍者;⑤既往接受抗结核治疗者。经临床诊断确诊为肺结核的患者纳入肺结核组,诊断为非肺结核的其他肺部疾病患者纳入对照组。本研究经医院伦理委员会批准,符合赫尔辛基宣言,所有患者知情同意。

1.2 检测方法

1.2.1 TB-DNA 检测

于治疗前采集患者痰液,采用荧光定量PCR法使用全自动荧光定量扩增仪(Gentier 96R型,西安天隆科技有限公司)和结核杆菌核酸检测试剂盒(广州达安基因股份有限公司)检测TB-DNA表达量,参考试剂盒说明书对检测结果进行判定,以结果 >50 拷贝判定为TB-DNA阳性,反之为阴性。

1.2.2 IGRAs 检测

于治疗前采集患者空腹静脉血3 mL,3 000 r/min离心10 min后分离血清,离心半径10 cm,采用酶联免疫吸附法(T-SPOT.TB试剂盒,英国Oxford Immunotec Ltd.公司)检测样本中IFN- γ 表达水平,参考试剂盒说明书对检测结果进行判定,以IFN- $\gamma>14.0$ ng/L判定为IGRAs阳性,反之为阴性。

1.2.3 TB-Ab 检测

取患者血清样本,采用结核分枝杆菌IgG抗体检测试剂盒(奥普生物医药有限公司)使用胶体金

法进行检测,以检测区和质控区均呈现紫红色沉淀线判定为TB-Ab阳性,质控区出现紫红色沉淀线、检测区不出现紫红色沉淀线判断为阴性。所有操作均严格按照试剂盒说明书进行操作,在检测过程中对各项指标进行质量控制。所有患者均于1周内完成TB-Ab、IGRAs和TB-DNA检测。

1.3 统计学处理

使用SPSS 27.0统计软件对数据进行分析处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较行独立样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic, ROC)分析不同检测方法对肺结核的诊断价值,曲线下面积(area under curve, AUC)比较行 z 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般临床资料比较

经临床诊断为肺结核107例,非肺结核的其他肺部疾病47例。两组一般临床资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)	病程(月)	吸烟史	既往结核病史	肺结核接触史
		男	女					
肺结核组	107	86(80.37)	21(19.63)	56.25±12.50	5.13±1.47	61(57.01)	32(29.91)	29(27.10)
对照组	47	37(78.72)	10(21.28)	55.49±13.48	4.82±1.29	25(53.19)	11(23.40)	8(17.02)
t/χ^2 值		0.487		0.339	1.249	0.193	0.686	1.818
P 值		0.485		0.735	0.214	0.660	0.408	0.178

表2 两组不同检测方法阳性率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of the positive rates of different test methods between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	TB-DNA		IGRAs		TB-Ab	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
肺结核组	107	82(76.64)	25(23.36)	76(71.03)	31(28.97)	53(49.53)	54(50.47)
对照组	47	3(6.38)	44(93.62)	8(17.02)	39(82.98)	8(17.02)	39(82.98)
t/χ^2 值		65.172		38.417		14.430	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	

表3 三种检测方法诊断肺结核的诊断效能比较 (%)

Table 3 Comparison of the diagnostic efficacy among the three test methods for pulmonary tuberculosis (%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	诊断准确率
TB-DNA	76.64(82/107) ^a	93.62(44/47)	96.47(82/85)	63.77(44/69) ^a	81.82(126/154) ^a
IGRAs	71.03(76/107) ^a	82.98(39/47)	90.48(76/84)	55.71(39/70)	74.68(115/154) ^a
TB-Ab	49.53(53/107)	82.98(39/47)	86.89(53/61)	41.94(39/93)	59.74(92/154)
t/χ^2 值	19.445	3.041	4.584	7.966	19.423
P 值	<0.001	0.219	0.101	0.019	<0.001

注:与TB-Ab检测比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组不同检测方法阳性率比较

肺结核组中,TB-DNA、IGRAs和TB-Ab检测的阳性例数分别为82例、76例和53例。肺结核组TB-DNA、IGRAs和TB-Ab阳性率均高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 三种检测方法诊断肺结核的诊断效能比较

不同检测方法诊断肺结核的灵敏度、阴性预测值和诊断准确率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);TB-DNA、IGRAs检测诊断肺结核的灵敏度和诊断准确率均高于TB-Ab检测($P < 0.05$),TB-DNA检测诊断肺结核的阴性预测值高于TB-Ab检测($P < 0.05$)。TB-DNA、IGRAs检测诊断肺结核的诊断效能比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

ROC曲线分析结果显示,TB-DNA、IGRAs、TB-Ab诊断肺结核的AUC分别为0.851、0.770、0.663,TB-DNA诊断肺结核的AUC明显大于IGRAs($z=3.207$ 、 $P=0.001$)、TB-Ab($z=6.024$ 、 $P < 0.001$),IGRAs诊断肺结核的AUC明显大于TB-Ab($z=5.384$ 、 $P < 0.001$)。见图1。

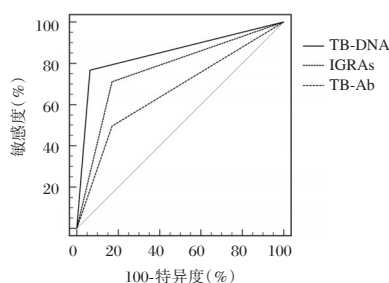


图1 ROC曲线图

Figure 1 The ROC curves

表4 三种方法联合检测诊断肺结核的诊断效能比较 (%)

Table 4 Comparison of the diagnostic efficacy of combination of the three methods for pulmonary tuberculosis (%)

检测方法	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	诊断准确率
IGRAs+TB-DNA	85.98 (92/107)	80.85 (38/47)	91.09 (92/101)	71.70 (38/53)	84.42 (130/154)
IGRAs+TB-Ab	83.18 (89/107)	74.47 (35/47)	88.12 (89/101)	66.04 (35/53)	80.52 (124/154)
TB-DNA+TB-Ab	80.37 (86/107)	82.98 (39/47)	91.49 (56/94)	65.00 (39/60)	81.17 (125/154)
IGRAs+TB-DNA+TB-Ab	88.79 (95/107)	72.34 (34/47)	87.96 (95/108)	73.91 (34/46)	83.77 (129/154)
χ^2 值	3.225	2.085	1.149	1.361	1.168
P值	0.358	0.555	0.765	0.715	0.761

3 讨论

结核病主要累及肺部,是全世界十大死因之一的慢性传染病。我国是结核病高负担国家,2022年新发结核病患者数为74.8万人,位居全球第三^[4,7]。肺结核的治疗以药物治疗为主,治疗成功率较高。早期提供快速有效的诊断方法,减少误诊与漏诊,同时积极接受治疗,对遏制结核病发展具有重要意义。行业标准诊断结核病以细菌学检测为主,其中结核分枝杆菌培养周期长、灵敏度低,且标本活性对检测结果影响较大;痰涂片抗酸染色价格低廉、操作简单,但检测结果会受到痰液标本质量、染色效果好坏、技术人员专业水平等多种因素的影响^[8]。因此需要找到更准确有效的检测指标用于结核分枝杆菌的诊断。

本研究结果显示,与对照组比较,肺结核组TB-DNA、IGRAs和TB-Ab阳性率明显升高;且TB-DNA、IGRAs检测诊断肺结核的灵敏度和诊断准确率均高于TB-Ab检测,TB-DNA诊断肺结核的AUC明显大于IGRAs、TB-Ab,提示TB-DNA检测诊断肺结核的诊断效能优于IGRAs、TB-Ab检测。分析原因可能是,TB-DNA通过对结核分枝杆菌特有的核酸序列进行扩增检测,可实现诊断的高灵敏度和高特异度^[9];IGRAs通过检测全血中T细胞在结核分枝杆菌特异性抗原刺激下产生的IFN- γ 判断

2.4 三种方法联合检测诊断肺结核的诊断效能比较

IGRAs+TB-DNA联合诊断的灵敏度、诊断准确率明显高于IGRAs单独检测($\chi^2=7.089$ 、4.490, $P=0.012$ 、0.034);IGRAs+TB-Ab联合诊断的灵敏度明显高于IGRAs、TB-Ab单独检测($\chi^2=4.473$ 、27.127, $P=0.034$ 、 <0.001),诊断准确率明显高于TB-Ab单独检测($\chi^2=15.871$, $P<0.001$);TB-DNA+TB-Ab联合诊断的灵敏度、阴性预测值、诊断准确率明显高于TB-Ab单独检测($\chi^2=22.355$ 、7.764、35.437, $P=<0.001$ 、0.005、 <0.001)。见表4。

机体是否感染结核菌,但是IGRAs操作相对复杂,且不能排除堪萨斯分枝杆菌、胃分枝杆菌等几种非结核分枝杆菌感染,存在一定误诊、漏诊率^[10];TB-Ab检测主要检测结核分枝杆菌感染机体时B淋巴细胞生成的免疫球蛋白IgG,但阳性结果仅表示受检者感染过结核分枝杆菌,并不一定发病,且检测结果易受感染时间、接种过卡介苗、个人免疫功能等因素的影响,导致诊断效能偏低^[11]。邵吉宝等^[12]的研究也发现,TB-Ab检测诊断肺结核的灵敏度及诊断准确率最低。本研究中,TB-DNA检测均存在一定假阳性,考虑与陈旧病变残留的结核分枝杆菌DNA片段可导致TB-DNA假阳性有关^[13]。

本研究发现,IGRAs、TB-DNA、TB-Ab两两联合检测的诊断效能优于单一指标检测,提示联合检测可提高单一检测方法诊断肺结核的诊断效能。何家花等^[14]对比了不同检测方法在肺结核诊断中的应用价值,发现TB-DNA+TB-Ab联合检测诊断肺结核与临床诊断一致性较高,可提高TB-Ab单一检测诊断的灵敏度。本研究中,TB-DNA、IGRAs、TB-Ab两两联合检测和三者联合检测诊断肺结核的诊断效能比较差异无统计学意义,提示三者联合检测在提高肺结核诊断效能方面效果有限,临床实际应用中可优先考虑两种检测方法联合诊断,并结合影像、临床特征等综合判断,以提高临床检测效率。

(下转第925页)

结直肠癌组织中 CCNA1、CDC20 表达水平及临床预后意义

刘然 熊中原 王晓红*

[摘要] **目的** 探讨结直肠癌(CRC)组织中细胞周期蛋白A1(CCNA1)、细胞分裂周期蛋白20(CDC20)表达水平及与患者临床表现、预后的关系。**方法** 选取2018年11月至2020年12月期间北京市平谷区医院收治的146例CRC患者作为研究对象,将手术取得癌组织标本纳入CRC组($n=146$),将相对应的癌旁组织(离癌组织 >3 cm)标本纳入癌旁组($n=146$)。采用免疫组化法检测组织中CCNA1、CDC20表达情况。通过 χ^2 检验分析CCNA1、CDC20表达与CRC患者临床病理特征的关系,采用多因素Cox回归分析探讨CRC患者预后的相关因素。**结果** CRC组CCNA1、CDC20的阳性表达率均高于癌旁组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。分化程度为低分化、TNM分期为Ⅲ期、有神经侵犯的患者CCNA1阳性表达率、CDC20阳性表达率分别高于中/高分化、TNM分期I~Ⅱ期、无神经侵犯患者,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。分化程度中/高分化、TNM分期为I~Ⅱ期、无神经侵犯、CCNA1阴性、CDC20阴性患者3年生存率分别高于分化程度低分化、TNM分期Ⅲ期、有神经侵犯、CCNA1阳性、CDC20阳性患者,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。多因素Cox回归分析显示,低分化($HR=2.125$, 95% CI : 1.406~3.214)、TNM分期Ⅲ期($HR=2.614$, 95% CI : 1.504~4.544)、有神经侵犯($HR=2.337$, 95% CI : 1.498~3.647)、CCNA1阳性($HR=2.765$, 95% CI : 1.758~4.348)、CDC20阳性($HR=3.550$, 95% CI : 2.075~6.074)是CRC患者预后的影响因素($P<0.05$)。**结论** CCNA1、CDC20在CRC患者癌组织中均呈高表达,与肿瘤分期、分化程度密切相关,有望作为辅助评估CRC患者预后的潜在标记物。

[关键词] 结直肠癌; 细胞周期蛋白A1; 细胞分裂周期蛋白20

The expression levels of CCNA1 and CDC20 in colorectal cancer tissues and their clinical prognostic significance

LIU Ran, XIONG Zhongyuan, WANG Xiaohong*

(Department of Pathology, Beijing Pinggu Hospital, Beijing, China, 101200)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression levels of cyclin A1 (CCNA1) and cyclin D20 (CDC20) in colorectal cancer (CRC) tissues and their relationship with clinical manifestations and prognosis of patients. **Methods** A total of 146 CRC patients were selected. The cancer tissue specimens obtained from surgical treatment were included in the CRC group ($n=146$) and the corresponding adjacent tissues (>3 cm from the cancer tissue) were included in the adjacent group ($n=146$). The expression of CCNA1 and CDC20 was detected by immunohistochemistry. The relationship between the CCNA1, CDC20 and clinicopathological features of CRC patients was analyzed by χ^2 test, and the related factors for the prognosis of CRC patients were explored by multivariate Cox regression analysis. **Results** The positive expression rates of CCNA1 and CDC20 in the CRC group were higher than those in the adjacent group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expression rates of CCNA1 and CDC20 in patients with poorly differentiated degree, TNM stage III, and nerve invasion were higher than those in patients with moderately/well differentiat-

基金项目:北京市平谷区医院临床研究项目(MR-11-24-010563)

作者单位:北京市平谷区医院病理科,北京 101200

*通信作者:王晓红, E-mail: pggywxh@126.com

ed degrees, TNM stage I ~ II, and no nerve invasion, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The 3-year survival rate of patients with medium/high differentiation, TNM stage I to II, no nerve invasion, CCNA1 negative and CDC20 negative was higher than that of patients with low differentiation, TNM stage III, nerve invasion, CCNA1 positive and CDC20 positive, respectively, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Poorly differentiated CRC ($HR=2.125$, 95% CI: 1.406~3.214), TNM stage III ($HR=2.614$, 95% CI: 1.504~4.544), nerve invasion ($HR=2.337$, 95% CI: 1.498~3.647), CCNA1 positive ($HR=2.765$, 95% CI: 1.758~4.348), CDC20 positive ($HR=3.550$, 95% CI: 2.075~6.074) were the prognostic factors of CRC patients ($P < 0.05$). **Conclusion** CCNA1 and CDC20 are both highly expressed in CRC tissues and are closely associated with differentiation, TNM stage, and nerve invasion. They are expected to serve as potential markers to aid in the prognosis of CRC patients.

[KEY WORDS] Colorectal cancer; Cyclin A1; Cyclin D20

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)属于临床上常见的恶性肿瘤,是全球范围内发病率和死亡率极高的癌症之一。CRC的发生与遗传因素、饮食习惯、肠道微生物环境及生活方式等多种因素有关,随着经济的发展、人们膳食结构改变,CRC的患病人数也在不断增加^[1]。尽管近年来对CRC的筛查、治疗手段以及分子靶向药物方面的研究取得了巨大进展,但是患者的肿瘤复发及转移率仍较高,预后较差^[2]。因此,寻找新的标记物用于早期诊治CRC具有重要意义。细胞周期蛋白A1(Cyclin A1, CCNA1)由CCNA1基因编码,在细胞周期调控中具有关键作用,已有相关研究证实CCNA1参与胃癌、口腔癌等病情进展过程^[3]。细胞分裂周期蛋白20(cell division cycle protein 20, CDC20)是一种癌基因,可调控肿瘤蛋白复合体的激活,从而促进染色单体的分离,是有丝分裂过程中必不可少的步骤^[4]。研究发现,CDC20与胰腺癌、乳腺癌患者的预后不良密切相关^[5]。本研究主要探讨CRC癌组织中CCNA1、CDC20表达水平及与患者临床表现、预后的关系,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年11月至2020年12月期间北京市平谷区医院收治的146例CRC患者作为研究对象,将手术取得癌组织标本纳入CRC组($n=146$),将相对应的癌旁组织(离癌组织 >3 cm)标本纳入癌旁组($n=146$)。年龄范围28~75岁,平均年龄(60.48 ± 8.43)岁;男79例;女67例;直肠71例,结肠75例;肿瘤直径 >5 cm 69例, ≤ 5 cm 77例;高中分化84例,低分化62例;TNM I~II期87例,III期59例;腺癌91例,黏液腺癌55例。本院医学

伦理委员会已审核批准本研究。纳入标准:①经术后病理活检确诊为CRC,并符合相关诊断标准^[6];②在入院前未接受过抗癌治疗且无手术禁忌症;③患者临床完整;④患者本人或家属知情同意。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②合并心脏、肝、肾功能障碍者;③合并其他感染性疾病;④有精神疾病,无法配合本研究。

1.2 方法

1.2.1 CCNA1、CDC20检测

采用免疫组化法检测CCNA1、CDC20表达,首先固定手术标本、石蜡包埋切片,二甲苯脱蜡;其次5%过氧化氢孵育,不同浓度乙醇脱水(100%、95%、85%、75%),磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗,加山羊血清抗体封闭;加1:100兔抗人CCNA1单克隆抗体、1:150兔抗人CDC20单克隆抗体(上海抚生实业有限公司)4℃孵育过夜;次日取出静置后,加PBS冲洗,加羊抗兔二抗IgG(艾美捷科技有限公司)于室温下孵育30 min,再加PBS冲洗,用DAB染色试剂盒(上海歌凡生物科技有限公司)显色,复染再脱水,二甲苯透明化后封片,最后用光学显微镜(上海徕卡显微系统有限公司)观察结果。

1.2.2 结果判定

采取双盲形式对结果评估,在光学显微镜下观察细胞质或核内的颗粒判断阳性细胞。染色强度评分:无色(0分)、浅黄色(1分)、黄色(2分)、棕黄色(3分);阳性细胞百分比:无或 $\leq 5\%$ (0分)、 $< 5\%$ 与 $\leq 25\%$ 之间(1分)、 $< 25\%$ 与 $\leq 50\%$ 之间(2分)、 $50\% <$ 与 $\leq 75\%$ 之间(3分)、 $> 75\%$ (4分)。染色指数由染色强度评分和阳性细胞百分比评分相乘得,低于4分,则认为是阴性;若染色指数介于5分到12分之间,则认定为阳性^[7]。

1.2.3 预后

从CRC患者出院开始连续随访3年,第1年每间隔3个月进行一次随访,第2年和第3年每间隔6个月进行一次随访,记录患者的生存情况,随访截止2023年12月31日。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0统计软件分析数据,计数资料采用n(%)描述,使用 χ^2 检验,使用多因素Cox回归分析探讨CRC患者预后的相关影响因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CCNA1、CDC20在CRC患者不同组织中的表达情况比较

CCNA1、CDC20阳性表达均定位于肿瘤细胞的细胞质。CRC组CCNA1、CDC20的阳性表达率均高于癌旁组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 CCNA1、CDC20表达与CRC患者临床病理特征的关系

分化程度为低分化、TNM分期为Ⅲ期、有神经侵犯患者的CCNA1阳性表达率、CDC20阳性表达率高于分化程度为中/高分化、TNM分期为I~Ⅱ期、无神经侵犯患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 CRC患者预后生存情况以及单因素分析

146例CRC患者出院后随访3年,98例患者

表1 CCNA1、CDC20在CRC患者不同组织中的表达情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of the expression of CCNA1 and CDC20 in different tissues of CRC patients [n(%)]

组别	n	CCNA1		CDC20	
		阴性	阳性	阴性	阳性
CRC组	146	41(28.08)	105(71.92)	34(23.29)	112(76.71)
癌旁组	146	95(65.07)	51(34.93)	89(60.96)	57(39.04)
χ^2 值		40.133		42.493	
P值		<0.001		<0.001	

存活,总生存率为67.12%(98/146)。CRC患者的3年总生存率与患者分化程度、TNM分期、神经侵犯有关(均 $P < 0.05$);CCNA1阴性、CDC20阴性患者的3年总生存率高于CCNA1阳性、CDC20阳性患者,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表3。

2.4 CRC患者预后的多因素Cox回归分析

将CRC患者预后作为因变量,将单因素分析中有意义的指标作为自变量来进行多因素Cox回归分析,结果显示,分化程度低分化、TNM分期Ⅲ期、有神经侵犯、CCNA1阳性、CDC20阳性是CRC患者预后的影响因素($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

CRC是一种由环境和遗传因素协同作用引发的恶性肿瘤,其具有较高的发病率、死亡率,严重影响人类的生命健康^[8]。对CRC进行早期确诊可使患者获得良好预后,但患病前期患者无明显代

表2 CCNA1、CDC20表达与CRC患者临床病理特征的关系 [n(%)]

Table 2 Relationship between CCNA1 and CDC20 expression and clinicopathological features of CRC patients [n(%)]

组别	n	CCNA1		χ^2 值	P值	CDC20		χ^2 值	P值	
		阴性	阳性			阴性	阳性			
年龄(岁)	<60	63	16(25.40)	47(74.60)	0.396	0.529	13(20.63)	50(79.37)	0.437	0.509
	≥60	83	25(30.12)	58(69.88)			21(25.30)	62(74.70)		
性别	男	79	23(29.11)	56(70.89)	0.091	0.763	26(18.99)	64(63.38)	1.782	0.182
	女	67	18(26.87)	49(73.13)			31(28.36)	48(74.80)		
肿瘤部位	结肠	71	20(29.58)	50(70.42)	0.153	0.696	19(26.76)	52(73.24)	0.933	0.334
	直肠	75	21(26.67)	55(73.33)			15(20.00)	60(80.00)		
肿瘤直径(cm)	≤5 cm	77	26(33.77)	51(66.23)	2.606	0.106	22(28.57)	55(71.43)	2.546	0.111
	>5 cm	69	15(21.74)	54(78.26)			12(17.39)	57(82.61)		
	分化程度	低分化	62	10(16.13)			52(83.87)	7.624		
病理类型	中/高分化	84	31(36.90)	53(63.10)			26(30.95)	58(69.05)		
	腺癌	91	22(24.18)	69(75.82)	1.825	0.177	23(25.27)	68(74.73)	0.534	0.465
TNM分期	黏液腺癌	55	19(34.55)	36(65.45)			11(20.00)	44(80.00)		
	I~Ⅱ期	87	32(36.78)	55(63.22)	8.067	0.005	27(31.03)	60(68.97)	7.232	0.007
神经侵犯	Ⅲ期	59	9(15.25)	50(84.75)			7(11.86)	52(88.14)		
	有	49	7(14.29)	42(85.71)	6.951	0.008	5(10.20)	44(89.80)	7.067	0.008
	无	97	34(35.05)	63(64.95)			29(29.90)	68(70.10)		

表3 CRC患者预后生存情况以及单因素分析 [n(%)]

Table 3 Prognosis and survival of CRC patients and univariate analysis [n(%)]

因素	n	3年总生存率	χ^2 值	P值	
年龄(岁)	<60	63	41(65.08)	0.210	0.647
	≥60	83	57(68.67)		
性别	男	79	52(65.82)	0.132	0.716
	女	67	46(68.66)		
肿瘤部位	直肠	71	44(61.97)	1.662	0.197
	结肠	75	54(72.00)		
肿瘤直径(cm)	≤5 cm	77	51(66.23)	0.058	0.809
	>5 cm	69	47(68.12)		
分化程度	低分化	62	33(53.23)	9.431	0.002
	中/高分化	84	65(77.38)		
病理类型	腺癌	91	62(68.13)	0.111	0.739
	黏液腺癌	55	36(65.45)		
TNM分期	I~II期	87	67(77.01)	9.539	0.002
	III期	59	31(52.54)		
神经侵犯	有	49	26(53.06)	6.609	0.010
	无	97	72(74.23)		
CCNA1	阴性	41	37(90.24)	13.810	<0.001
	阳性	105	61(58.10)		
CDC20	阴性	34	32(94.12)	14.635	<0.001
	阳性	112	66(58.93)		

表性症状,较多患者确诊时已经是CRC中晚期,易伴有神经侵犯,无法根治,易复发预后差^[9]。因此,寻找与CRC病情有关的标记物具有重要意义。

CCNA1作为癌症直接相关MAPK/ERK信号通路的关键蛋白,调控着G1/S和G2/M转变的关键点,对细胞周期进行调节。da Silva等^[10]研究发现,CCNA1蛋白在甲状腺乳头状癌中存在高表达的现象,CCNA1可以作为甲状腺乳头状癌的诊断标志物。本研究发现,CRC组CCNA1阳性表达率高于癌旁组,提示CCNA1与CRC关系密切。分析CCNA1与CRC患者临床特征,发现低分化、TNM分期III期、有神经侵犯CRC患者的CCNA1阳性表达率更高,进一步证实了CCNA1可能参与CRC的发生、发展。CCNA1通过参与恶性肿瘤患者细胞周期重要转换过程,直接影响肿瘤细胞增殖速度和基因稳定性,异常表达升高的CCNA1破坏了正常的细胞周期控制,导致细胞过度增殖和基因异常,引起肿瘤生长^[11]。此外,CCNA1与CRC肿瘤抑制

表4 CRC患者预后的多因素Cox回归分析

Table 4 Multivariate Cox regression analysis of prognosis in CRC patients

因素	赋值	β 值	SE值	Wald χ^2 值	HR(95% CI)值	P值
分化程度	中/高分化=0;低分化=1	0.754	0.211	12.770	2.125(1.406~3.214)	<0.001
TNM分期	I-II期=0;III期=1	0.964	0.282	11.613	2.614(1.504~4.544)	0.001
神经侵犯	无=0;有=1	0.849	0.227	13.988	2.337(1.498~3.647)	<0.001
CCNA1	阴性=0;阳性=1	1.017	0.23	19.383	2.765(1.758~4.348)	<0.001
CDC20	阴性=0;阳性=1	1.267	0.274	21.382	3.550(2.075~6.074)	<0.001

蛋白p53等之间的交互作用,可进一步促进CRC患者肿瘤的侵袭性和转移能力^[12]。相关研究还发现,食管鳞状细胞癌患者中CCNA1呈高表达,CCNA1在食管鳞状细胞癌的发生和疾病进展中具有重要作用,并可能作为食管鳞状细胞癌患者预后的生物学标志和治疗靶点^[13]。本文进一步结果显示,CCNA1阴性患者3年总生存率高于CCNA1阳性患者,CCNA1阳性是CRC患者预后的影响因素之一。综合以上信息,提示CCNA1与CRC患者的预后相关,可作为CRC患者预后评估的潜在生物学标记物。

既往研究发现,CDC20表达下调可以使骨肉瘤细胞在增殖过程中受到抑制,导致细胞死亡而阻断细胞的周期活动^[14]。本研究发现,CRC组CDC20阳性表达率高于癌旁组,提示CDC20在CRC发病中有重要作用。进一步研究发现,CDC20阳性表达与CRC患者分化程度、TNM分

期、神经侵犯显著相关,说明CDC20与CRC的发生、发展可能有关。CDC20可通过在细胞周期特别是有丝分裂末期阶段的主要调控作用,促进肿瘤细胞的快速增殖、侵袭和转移。在CRC患者,CDC20的高表达与较差的预后密切相关。相关研究发现,CDC20在食管鳞癌中呈高表达,且CDC20水平与患者肿瘤转移、复发、预后均密切相关^[15]。本研究结果显示,CDC20阴性患者3年总生存率高于CDC20阳性患者;CDC20阳性是CRC患者预后的相关影响因素之一。提示CDC20阳性与CRC患者总生存率低之间密切相关,监测CDC20在癌症患者中的表达水平或可用于指导治疗方案制定。

综上所述,CCNA1、CDC20在CRC患者癌组织中呈高表达,与神经侵犯、分化程度、TNM分期密切相关,可作为辅助评估CRC患者预后的潜在标记物。

参考文献

- [1] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019,394(10207): 1467-1480.
- [2] 杨敏,李雯,朱虹. Cys-C、ALB及A/G在结直肠癌预后中的评估价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023,15(12): 2071-2074.
- [3] Jiang Q, Miao J, Wu F, et al. RNF6 promotes gastric cancer progression by regulating CCNA1/CREBBP transcription [J]. *Cell Cycle*, 2023,22(18):2018-2037.
- [4] Hsieh CC, Yang CY, Peng B, et al. Allyl Isothiocyanate Suppresses the Proliferation in Oral Squamous Cell Carcinoma via Mediating the KDM8/CCNA1 Axis [J]. *Biomedicines*, 2023,11(10): 2669.
- [5] Cheng S, Castillo V, Sliva D. CDC20 associated with cancer metastasis and novel mushroom-derived CDC20 inhibitors with antimetastatic activity [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(6): 2250-2256.
- [6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中国结直肠癌诊疗规范(2023版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2023,22(6):667-698.
- [7] 邹淳缘,许晓峰,卢仁泉,等. 肺癌组织和外周血中p53、PGP9.5、SOX2、GAGE7、GBU4-5和MAGE A1蛋白水平检测及其临床价值探讨[J]. *中国癌症杂志*, 2023,33(1): 36-44.
- [8] Cai P, Xiong J, Sha H, et al. Tumor bacterial markers diagnose the initiation and four stages of colorectal cancer [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023,13:1123544.
- [9] Clark SK. Management of genetically determined colorectal cancer [J]. *Surgeon*, 2019, 17(3):165-171.
- [10] da Silva RM, Santos JN, Uno M, et al. CCNA1 gene as a potential diagnostic marker in papillary thyroid cancer [J]. *Acta Histochem*, 2020,122(8):151635.
- [11] Jiang Y, Lei G, Lin T, et al. 1,6-Hexanediol regulates angiogenesis via suppression of cyclin A1-mediated endothelial function [J]. *BMC Biol*, 2023,21(1): 75.
- [12] Akagawa R, Nabeshima YI, Kawauchi T. Alternative Functions of Cell Cycle-Related and DNA Repair Proteins in Post-mitotic Neurons [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021,9:753175.
- [13] He X, Li S, Shi W, et al. Cyclin A1 is associated with poor prognosis in oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2019,18(1):706-712.
- [14] Gao Y, Guo C, Fu S, et al. Downregulation of CDC20 suppressed cell proliferation, induced apoptosis, triggered cell cycle arrest in osteosarcoma cells, and enhanced chemosensitivity to cisplatin [J]. *Neoplasma*, 2021,68(2):382-390.
- [15] Du Y, Zhang M, Liu X, et al. CDC20 promotes bone formation via APC/C dependent ubiquitination and degradation of p65 [J]. *EMBO Rep*, 2021,22(9):e52576.

(上接第920页)

综上所述,相比TB-Ab和IGRAs检测,TB-DNA检测对肺结核的诊断价值更高;TB-DNA、IGRAs、TB-Ab两两联合检测对肺结核的诊断效能高于单一指标检测。

参考文献

- [1] 梁晨,于佳佳,唐神结. 世界卫生组织《全球结核病报告2022》解读[J]. *诊断学理论与实践*, 2023,22(1):21-30.
- [2] 范彦博,王安帮,夏青,等. 结核T细胞斑点试验在肺癌合并肺结核中的应用及影响因素[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022,14(06):957-960+965.
- [3] 周林甫,万群,赵钢,等. MDA-PCR检测痕量结核分枝杆菌核酸方法的建立[J]. *广东医学*, 2022,43(6):702-706.
- [4] 中华医学会结核病学分会. 结核分枝杆菌 γ -干扰素释放试验及临床应用专家意见(2021年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2022,45(2):143-150.
- [5] Zhang Q, Liu JX, Bai JS, et al. Positive PPD Test and TB-Ab Misdiagnosed as Tuberculosis Finally Proved as Sarcoidosis by Thoracoscopy: a Case Report [J]. *Clin Lab*, 2023,69(6):112-113.
- [6] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 肺结核基层诊疗指南(2018年)[J]. *中华全科医师杂志*, 2019,18(8):709-717.
- [7] 高静韬,刘宇红. 2019年世界卫生组织全球结核病报告要点解读[J]. *国际呼吸杂志*, 2020,40(3):161-166.
- [8] Tendolkar MS, Tyagi R, Handa A. Review of advances in diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis [J]. *Indian J Tuberc*, 2021,68(4):510-515.
- [9] 李明琴,罗伟桃,杨建蓉. 肺泡灌洗液XpertMTB/RIF、TB-RNA和TB-DNA联合检测对菌阴肺结核诊断效能[J]. *中国热带医学*, 2023,23(6):647-651.
- [10] 蒋文明,钱朝霞. 结核分枝杆菌特异性干扰素- γ 和白介素-2联合检测对肺结核的辅助诊断价值[J]. *实用医学杂志*, 2022,38(16):2114-2116.
- [11] 吴志伟,张秀华,闫志伟,等. 皮肤结核菌素试验、结核分枝杆菌抗体、 γ -干扰素释放试验、结核分枝杆菌核酸和集菌离心涂片法对尘肺合并结核诊断价值探究[J]. *中国医师进修杂志*, 2022,45(10):883-888.
- [12] 邵吉宝,王相栋,夏睿,等. T-SPOT.TB、TB-Ab和TB-DNA在肺结核与非结核分枝杆菌肺炎鉴别诊断中的价值研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2018,33(4):104-106+111.
- [13] 贾红彦,董静,张宗德,等. 结核分枝杆菌感染的免疫学检测技术研究进展及临床应用现状[J]. *中国防痨杂志*, 2022,44(7):720-726.
- [14] 何家花,余成强,李步荣,等. TB-DNA、T-SPOT.TB和TB-Ab平行检测在肺结核诊断中的应用价值[J]. *检验医学与临床*, 2021,18(1):67-69+72.

D-二聚体、C肽水平结合经皮氧分压在糖尿病周围神经病变中诊断价值

张冰茵* 李辉 范瑾 杨云 贾笑迪 杨幸幸

[摘要] **目的** 探究D-二聚体、C肽水平结合经皮氧分压对糖尿病周围神经病变(DPN)的诊断价值。**方法** 选取2022年1月至2023年1月于安徽省皖南医学院附属太和医院接受治疗的60例2型糖尿病合并DPN患者作为研究组,另纳入60例同期未合并DPN的2型糖尿病患者作为对照组。收集两组患者临床资料、生化指标等进行比较,多因素Logistic回归分析糖尿病患者周围神经病变的危险因素,并通过受试者临床特征(ROC)曲线分析D-二聚体、C肽水平结合经皮氧分压(TcPO₂)对糖尿病周围神经病变的诊断价值。**结果** 研究组患者BMI、进食后2h C肽及TcPO₂水平明显低于对照组,差异有统计学意义($t=2.435, 6.215, 5.849, P<0.05$)。糖尿病病程、血清尿酸(SUA)、糖化血红蛋白(HbA1c)、D-二聚体数值高于对照组,差异有统计学意义($t=6.677, 5.789, 5.621, 5.285, P<0.05$);多因素Logistics回归分析结果显示糖尿病病程、HbA1c、D-二聚体、进食后2hC肽、TcPO₂均是糖尿病患者周围神经病变的独立影响因素($P<0.05$);ROC曲线分析结果显示D-二聚体、C肽水平、经皮氧分压三者单独检测及联合检测的曲线下面积(AUC)分别为:0.752、0.784、0.769、0.861,三者联合检测的诊断价值优于单一指标($P<0.05$)。**结论** 糖尿病患者血清C肽、经皮氧分压及血清D-二聚体三者联合检测对其是否发生周围神经病变具有较高诊断价值。

[关键词] 糖尿病周围神经病变; D-二聚体; C肽; 经皮氧分压

The diagnostic value of D-dimer and C-peptide levels combined with percutaneous partial pressure of oxygen in diabetic peripheral neuropathy

ZHANG Bingyin*, LI Hui, FAN Jin, YANG Yun, JIA Xiaodi, YANG Xingxing

(1. Taihe Hospital Affiliated to Wannan Medical College, Fuyang, Anhui, China, 236600; 2. Department of Endocrinology, Taihe County People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236600)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of D-dimer and C-peptide levels combined with percutaneous partial pressure of oxygen in diabetic peripheral neuropathy (DPN). **Methods** A total of 60 patients with type 2 diabetes combined with DPN treated at Taihe Hospital Affiliated to Wannan Medical College, Anhui Province from January 2022 to January 2023 were selected as the study group, and 60 patients with simple type 2 diabetes without DPN during the same period were included as the control group. Clinical data and biochemical indexes from both groups were collected and compared. The risk factors for peripheral neuropathy in diabetic patients were analyzed using multivariate logistic regression. The diagnostic value of D-dimer and C-peptide levels combined with transcutaneous partial pressure of oxygen (TcPO₂) in diabetic peripheral neuropathy was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. **Result** The levels of BMI, 2hC peptide after eating and TcPO₂ in the study group were significantly lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=2.435, 6.215, 5.849, P<0.05$). The duration of diabetes mellitus, serum uric acid (SUA), glycosylated hemoglobin (HbA1c) and D-dimer values were higher than those of control group, with statistical significance ($t=6.677, 5.789, 5.621, 5.285, P<$

基金课题:阜阳市自筹经费科技项目(FK202081081)

作者单位:1.安徽省皖南医学院附属太和医院,安徽,阜阳236600

2.太和县人民医院内分泌科,安徽,阜阳236600

*通信作者:张冰茵, E-mail: zbyy1008@163.com

0.05)。The results of multi-factor logistics regression analysis showed that diabetes course, HbA1c, D-dimer, 2hC peptide after eating and TcPO₂ were independent influencing factors of peripheral neuropathy in diabetic patients ($P<0.05$)。ROC curve analysis results showed that the area under the curve (AUC) of D-dimer, C-peptide level and percutaneous oxygen partial pressure were 0.752, 0.784, 0.769 and 0.861 respectively, and the diagnostic value of the combined detection of D-dimer, C-peptide level and percutaneous oxygen partial pressure was better than that of a single index ($P<0.05$)。Conclusion The combined detection of serum C-peptide, percutaneous oxygen partial pressure and D-dimer in diabetic patients has a good diagnostic value for peripheral neuropathy.

[KEY WORDS] Diabetic peripheral neuropathy; D-dimer; C-peptide; Percutaneous partial pressure of oxygen

糖尿病周围神经病变(Diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病患者最常见的慢性微血管并发症之一,其发病率可达60%~90%,临床表现四肢麻木、疼痛,病情进展到晚期可引起足部溃疡甚至需截肢治疗,患者生活质量严重下降,对其家庭造成沉重经济负担^[1]。DPN是渐行性神经病变,发病隐匿,在尚未有临床症状表现时已有病理改变发生,当前临床诊断的“金标准”是测定神经传导速度(Nerve conduction velocity, NCV),但多是神经病变多已发展到一定程度,而DPN无临床症状发病率高达50%,因此,对DPN早期诊断方法的探究和建立具有重要临床意义^[2]。研究报告血浆D-二聚体数值增加与机体一系列不良健康结果的发生相关,认为D-二聚体通过影响凝血功能进而参与糖尿病患者DPN的发生发展^[3];C肽被证明是具有生物活性的物质,而不仅仅只是胰岛素原裂解的代谢物,其抗炎性及对神经营养因子的调节作用或可降低糖尿病患者体内高糖环境对神经细胞的损伤^[4];经皮氧分压(Transcutaneous oxygen tension, TcPO₂)可以精确反应测量部位的微循环功能状态,而TcPO₂与2型糖尿病患者微血管并发症的发生呈显著负相关,或可通过TcPO₂检测以判断DPN的发生^[5]。本研究拟探讨D-二聚体、C肽及TcPO₂联合检测对DPN的诊断价值,以期临床诊断提供更多依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取安徽省皖南医学院附属太和医院2022年1月至2023年1月收治的糖尿病合并DPN患者60例作为研究组,另选取同期收治的60例未合并DPN的糖尿病患者作为对照组。纳入标准:①符合2020版《中国2型糖尿病防治指南》^[6]中相应诊

断标准;②符合《糖尿病神经病变诊治专家共识(2021版)》^[7]对DPN的诊断标准;③患者临床资料完整;④知情研究并自愿签署同意书。排除标准:①其他代谢疾病、药物、手术、遗传因素等其他原因导致的周围神经病变;②存在严重脏器功能障碍患者;③既往有腰椎疾病及脑血管疾病史,存在后遗症者;④处于妊娠或哺乳期患者,以及近期服用过抗癫痫药、氨甲喋呤等相关药物者。本研究经安徽省皖南医学院附属太和医院医学伦理委员会审批。

1.2 研究方法

通过医院内网病历系统搜集整理患者性别、年龄、身高、体重、糖尿病病程、既往病史、吸烟、饮酒等基线资料,计算身体质量指数[Body Mass Index, BMI=体重(kg)/身高(m)²]。患者前一晚禁食8~10h,于次日清晨抽取空腹静脉血进行相关生化指标检测:尿酸酶法检测血清尿酸(Serum uric acid, SUA),试剂盒购自北京利德曼生化股份有限公司,全自动生化分析仪(美国德灵,型号RxL2Max)测定糖化血红蛋白(Glycated hemoglobin, HbA1c)、肌酐(Creatinine, Cr)、甘油三酯(Triacylglycerol, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-Density Lipoprotein Cholesterol, LDL-C)等,免疫比浊法检测D-二聚体含量,试剂盒购自北京利德曼生化股份有限公司,放射免疫测定法(美国Abbott Architect 2000SR免疫分析系统)检测空腹C肽及进食后2hC肽水平,经皮氧分压仪(上海朗逸医疗器械有限公司,型号PeriFlux 5000)测定TcPO₂。

1.3 统计学方法

通过SPSS 21.0统计学软件完成数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验;多因素Logistic回归分析筛查糖尿病患者周围神经病变的影响因素;通过受试者临床特征(ROC)曲线分析D-二聚体、

C肽联合经皮氧分压检测对糖尿病周围神经病变的诊断价值。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料及生化指标比较

两组患者性别、年龄、吸烟饮酒史、Cr、TG、LDL-C、空腹C肽水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);研究组患者BMI、进食后2hC肽及TcPO₂水平明显低于对照组,而糖尿病病程、SUA、HbA1c、D-二聚体含量高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组基线资料及生化指标比较 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

项目	研究组 ($n=60$)	对照组 ($n=60$)	χ^2/t 值	P 值
性别			0.141	0.707
男	36(60.00)	38(63.33)		
女	24(40.00)	22(36.67)		
年龄(岁)	61.42±11.61	60.33±9.747	0.554	0.581
吸烟史			0.853	0.356
有	37(61.67)	32(53.33)		
无	23(38.33)	28(46.67)		
饮酒史			0.534	0.465
有	31(51.67)	27(45.00)		
无	29(48.33)	33(55.00)		
BMI(kg/m ²)	23.72±2.19	24.83±2.77	2.435	0.016
病程(年)	6.31±2.06	3.98±1.75	6.677	<0.001
SUA(μ mol/L)	318.57±58.79	259.36±53.11	5.789	<0.001
HbA1c(%)	9.82±2.27	7.96±1.19	5.621	<0.001
Cr(μ mol/L)	66.70±16.03	67.72±17.22	0.336	0.738
TG(mmol/L)	1.89±0.52	1.92±0.59	0.296	0.768
LDL-C(mmol/L)	3.14±0.87	2.99±0.73	1.023	0.308
D-二聚体(μ g/L)	331.89±102.23	245.83±73.90	5.285	<0.001
空腹C肽(μ g/L)	1.88±0.52	1.97±0.61	0.870	0.386
进食后2hC肽(μ g/L)	3.51±1.16	4.89±1.27	6.215	<0.001
TcPO ₂ (mmHg)	32.17±10.34	43.87±11.54	5.849	<0.001

2.2 多因素 Logistic 回归分析

以并发DPN为因变量,将上述差异具有统计学意义的指标纳入自变量,进行Logistic回归模型分析。结果显示糖尿病病程、HbA1c、D-二聚体、进食后2hC肽、TcPO₂均是糖尿病患者周围神经病变的独立影响因素。见表2。

2.3 D-二聚体、C肽联合 TcPO₂对糖尿病周围神经病变的诊断价值

ROC曲线结果显示,D-二聚体、C肽及TcPO₂三者联合检测以诊断糖尿病患者周围神经病变的曲线下面积为0.861,高于三者单独检测的曲线下面积0.752、0.784、0.769($P<0.05$),见表3、图1。

表2 糖尿病患者DPN的影响因素分析

Table 2 Analysis of influencing factors of DPN in diabetic patients

因素	β 值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P 值
BMI(kg/m ²)	0.967	1.031	0.880	2.63	0.349~19.841	0.348
病程(年)	-0.289	0.103	7.873	0.749	0.612~0.917	0.005
SUA(μ mol/L)	1.125	0.786	2.049	3.08	0.660~14.376	0.152
HbA1c(%)	-1.936	0.926	4.371	0.144	0.024~0.886	0.037
D-二聚体(μ g/L)	-1.349	0.459	8.638	0.259	0.106~0.638	0.003
进食后2hC肽(μ g/L)	1.292	0.416	9.646	3.64	1.611~8.226	0.002
TcPO ₂ (mmHg)	1.487	0.487	9.323	4.424	1.703~11.491	0.002

表3 D-二聚体、C肽联合 TcPO₂对糖尿病周围神经病变的诊断价值

Table 3 Diagnostic value of D-dimer and C-peptide combined with percutaneous partial pressure of oxygen in diabetic peripheral neuropathy

指标	临界值	AUC	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	95% CI	P 值
D-二聚体	308.21	0.752	0.450	66.7	78.3	0.665~0.840	<0.001
进食后2hC肽	3.525	0.784	0.467	56.7	90.0	0.704~0.865	<0.001
TcPO ₂	37.71	0.769	0.466	73.3	73.3	0.685~0.853	<0.001
联合检测		0.861	0.600	86.7	73.3	0.797~0.926	<0.001

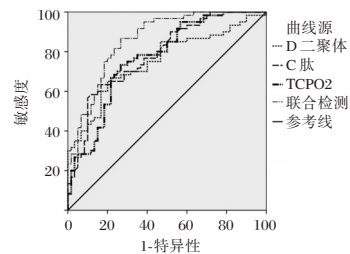


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

2型糖尿病是一种代谢系统紊乱导致患者血糖升高的常见内分泌代谢疾病,当前已是继肿瘤、心血管疾病之后的第三大慢性非传染性疾病,严重危害全球公共健康^[8]。糖尿病患者常并发周围神经病变,自远端进行性变化至近端,引起肢体麻木、刺痛、灼热、痉挛等神经病变症状,且有近一半的DPN患者无症状,而DPN是糖尿病足溃疡的前兆,若不能及时发现并治疗,病情进一步发展可能导致截肢风险,是糖尿病致残、致死的重要原因^[9]。早期DPN的诊断和防治对于延缓病情恶

化、改善临床症状至关重要。目前临床“金标准”NVC检测确诊的DPN患者病情多已发展到一定程度,且存在操作复杂、价格高昂、检查舒适度低等局限,因此临床不断在探寻简单易测且准确性高的实验室指标。

D-二聚体作为高凝状态和纤溶活性的生物标志物,临床常用于凝血功能监测,与血液高凝状态正相关^[10]。黄珂等^[11]研究发现相比未并发DPN患者,DPN患者有更高的D-二聚体水平,认为D-二聚体可能是DPN发生发展的危险因素。近来研究^[12]发现,C肽具有促进神经纤维再生、改善神经传导异常、调节神经营养因子、保护中枢及外周神经及抗凋亡的作用,或可延缓并减少神经病变。C肽对于血管微循环改善,增强神经元活性,降低高糖环境对血管及神经组织结构的损伤具有积极意义^[13],提示C肽水平的变化可能影响糖尿病患者DPN的发生发展。TcPO₂可以判断大血管病变是否需要血管再通,也可评估微血管灌注障碍的严重程度;其作为大血管病变指标的效果良好,关于其在微血管疾病应用的临床研究也发现TcPO₂与NCV具有相关性,提示TcPO₂检测或可有助于DPN发病预测^[14]。既往研究表明血清D-二聚体、C肽及TcPO₂水平或多或少与周围神经病变相关,提示三者具有成为糖尿病周围神经病变诊断的实验室指标。本研究结果显示,相比对照组单纯糖尿病患者,研究组DPN患者进食后2hC肽及TcPO₂水平更低,D-二聚体水平则明显升高,均是DPN发生的独立危险因素,与既往研究相符,更加印证了D-二聚体、C肽、经皮氧分压水平变化与糖尿病患者周围神经病变密切相关。进一步ROC曲线分析结果显示,D-二聚体、C肽、经皮氧分压单独检测的曲线下面积分别为0.752、0.784、0.769,三者联合检测的曲线下面积为0.861。另本研究结果还显示与对照组相比,研究组糖尿病病程、SUA以及HbA1c水平更长、更高,BMI更低,且糖尿病病程及HbA1c水平同样是DPN的独立影响因素,这与麦伟华等^[15]研究结果一致。DPN是多方面因素共同作用导致,其中高血糖损伤是主要原因,患病年限越长,患者机体受高糖环境损害越严重;而HbA1c是糖尿病诊断的标准指标,在一定程度上反映患者糖尿病严重程度,这提示在临床诊疗中,对于早期糖尿病患者也需要做好DPN监测,HbA1c相对更高的患者需更严格控制血糖水平以避免或延缓

DPN进程。

综上所述,糖尿病病程、HbA1c、D-二聚体、C肽及经皮氧分压与DPN的发生发展密切相关,糖尿病周围神经病变患者D-二聚体水平升高,C肽及经皮氧分压则呈下降趋势,三者联合检测对DPN具有更高的诊断价值。

参考文献

- [1] Mørch D C, Røikjer J, Ejskjaer N. Diabetic Peripheral Neuropathy: Diagnosis and Treatment [J]. *Curr Drug Safety*, 2021, 16(1):2-16.
- [2] 王菲,马麒,郑苗.剪切波弹性成像联合多伦多临床评分系统对糖尿病周围神经病变的诊断价值[J].*中国医学影像学杂志*, 2022, 30(2):159-163+166.
- [3] Lei Z, Chao Y, Feng X, et al. Increased plasma D-dimer levels may be a promising indicator for diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 930271-930271.
- [4] 李鑫婷,谢红浪. C肽与糖尿病微血管并发症[J].*肾脏病与透析肾移植杂志*, 2023, 32(2):174-178.
- [5] 林常松,莫朝晖. 2型糖尿病绝经后女性患者经皮氧分压与骨密度的关系[J].*中国骨质疏松杂志*, 2022, 28(1):31-36.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J].*中华内分泌代谢杂志*, 2021, 37(4):311-398.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会神经并发症学组. 糖尿病神经病变诊治专家共识(2021年版)[J].*中华糖尿病杂志*, 2021, 13(6):540-557.
- [8] 郭梦洋,李美玉,吕殊星,等. 2型糖尿病患者并发亚临床周围神经病变的影响因素分析[J].*中国慢性病预防与控制*, 2023, 31(4):289-293.
- [9] 宋玲,孟俊华,王玉玲. 糖尿病患者周围神经病变的关联因素分析[J].*解放军医学院学报*, 2022, 43(4):426-430.
- [10] 徐静,纪冬,王春艳,等. 乙型肝炎肝硬化患者血浆D-二聚体水平变化的临床意义[J].*临床肝胆病杂志*, 2020, 36(3):551-555.
- [11] 黄珂,石守森,张艳芳. D-二聚体与2型糖尿病周围神经病变相关性分析[J].*国际医药卫生导报*, 2022, 28(11):1512-1516.
- [12] Javed S, Hayat T, Menon L, et al. Diabetic peripheral neuropathy in people with type 2 diabetes: too little too late [J]. *Diab Med*, 2020, 37(4):573-579.
- [13] 刘艳,郑红军,章国平,等. 糖尿病周围神经病变与病程、2hCP、Cys-C、UACR的相关性[J].*分子诊断与治疗杂志*, 2023, 15(6):964-967.
- [14] 王春梅,贾建国,庞书勤,等. 糖尿病患者足背经皮氧分压结果的分析[J].*中国糖尿病杂志*, 2020, 28(11):814-817.
- [15] 麦伟华,刘天,林晓璇,等. 血清前蛋白转化酶枯草溶菌素9与2型糖尿病周围神经病变的相关性研究[J].*中国糖尿病杂志*, 2022, 30(10):733-736.

AST/ALT、白蛋白与肝癌患者病理特征及TACE治疗预后的关系

张超¹ 柏祥云¹ 薛风华^{2*}

[摘要] 目的 探究谷草转氨酶(AST)/谷丙转氨酶(ALT)、白蛋白与肝癌患者病理特征及经动脉化疗栓塞(TACE)治疗预后的关系。方法 选取2018年8月至2022年8月于临沂市肿瘤医院行TACE治疗的肝癌患者168例,据术后1年生存情况,将患者分为预后不良组27例和预后良好组141例,比较不同病理特征患者术前AST/ALT、白蛋白水平,比较不同预后TACE术后肝癌患者病理特征,比较不同预后TACE术后肝癌患者AST/ALT、白蛋白水平,采用ROC曲线分析其对肝癌患者TACE治疗预后的预测价值,采用Logistics二元回归方程分析AST/ALT、白蛋白对肝癌TACE治疗患者预后的影响作用。结果 年龄 ≥ 60 岁、Child-Pugh B级、HbsAg阳性、肿瘤直径 > 5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期更高、肿瘤低分化肝癌患者术前AST/ALT更高,术前白蛋白水平更低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);两组年龄、HbsAg情况、肿瘤直径、肿瘤数量、肿瘤分期、分化程度比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);预后良好组术前、术后AST/ALT低于预后不良组,术前、术后白蛋白水平高于预后不良组,差异有统计学意义($P < 0.05$);ROC结果显示,术前、术后的AST/ALT、白蛋白预测肝癌患者TACE治疗预后的AUC分别为0.887、0.787、0.854、0.580,联合预测的AUC为0.914($P < 0.05$);Logistic回归分析结果显示,年龄 ≥ 60 岁、肿瘤直径 > 5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期为Ⅲa期、肿瘤低分化、术前AST/ALT > 1.82 、术前白蛋白 < 33.21 g/L、术后AST/ALT > 1.83 、术后白蛋白 < 43.96 g/L均为肝癌患者TACE治疗预后不良的影响因素($P < 0.05$)。结论 AST/ALT、白蛋白水平在不同病理特征肝癌患者中具有差异性,具有预测TACE治疗预后的作用。

[关键词] 肝癌;经动脉化疗栓塞;谷丙转氨酶/谷草转氨酶;白蛋白

Relationship of AST/ALT and albumin with pathological features and prognosis of TACE in patients with liver cancer

ZHANG Chao¹, BAI Xiangyun¹, XUE Fenghua^{2*}

(1. Department of Intervention, Linyi Cancer Hospital, Linyi, Shandong, China, 276000; 2. Department of Thoracic Surgery, Linyi Cancer Hospital, Linyi, Shandong, China, 276000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship of aspartate aminotransferase (AST)/alanine aminotransferase (ALT) and albumin with pathological features and prognosis of transarterial chemoembolization (TACE) in patients with liver cancer. **Methods** 168 patients with liver cancer who received TACE treatment at Linyi Cancer Hospital from August 2018 to August 2022 were selected. Based on their survival status one year after surgery, the patients were divided into two groups: those with a good prognosis (27 cases) and those with a poor prognosis (141 cases). The study aimed to compare the differences in AST/ALT levels and albumin levels among patients who underwent TACE with different pathological features. To compare the pathological characteristics, AST/ALT levels, and albumin levels of patients with hepatocellular carcinoma after TACE with different prognoses. ROC curve analysis was used to determine the predictive value of the above in-

基金项目:山东省临沂市科技发展计划项目(202120025)

作者单位:1.临沂市肿瘤医院介入科,山东,临沂 276000

2.临沂市肿瘤医院胸外科,山东,临沂 276000

通信作者:薛风华, E-mail: zheng_262423@163.com

dicators on the prognosis of TACE in patients with liver cancer. Logistic binary regression equations were applied to analyze the influence of AST/ALT and albumin on the prognosis of patients with liver cancer undergoing TACE. **Results** The preoperative AST/ALT levels were higher, while the preoperative albumin levels were lower among patients aged ≥ 60 years old, with Child-Pugh grade B, positive HbsAg, tumor diameter > 5 cm, multiple tumors, high tumor stage, and low tumor differentiation ($P < 0.05$). There were statistically significant differences in age, HbsAg status, tumor diameter, quantity, staging, and differentiation degree between the two groups ($P < 0.05$). The preoperative and postoperative AST/ALT in good prognosis group were lower while the preoperative and postoperative albumin levels were higher than those levels in the poor prognosis group ($P < 0.05$). ROC results showed that the AUCs of preoperative and postoperative AST/ALT and albumin independently in predicting the prognosis of TACE in patients with liver cancer were 0.887, 0.787, 0.854 and 0.580 respectively, and the AUC of combined prediction was 0.914 ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that age ≥ 60 years old, tumor diameter > 5 cm, multiple tumors, tumor staging, low tumor differentiation, preoperative AST/ALT > 1.82 , preoperative albumin < 33.21 g/L, postoperative AST/ALT > 1.83 , postoperative albumin < 43.96 g/L were all influencing factors affecting the poor prognosis of TACE in patients with liver cancer ($P < 0.05$). **Conclusion** AST/ALT and albumin levels vary among liver cancer patients with different pathological features, and they can predict the prognosis of TACE treatment.

[KEY WORDS] Liver cancer; Transarterial chemoembolization; Aspartate aminotransferase /alanine aminotransferase; Albumin

肝癌是我国常见癌症类型,近5年来发病和死亡数量明显增多^[1],提示当前我国肝癌患者生存率仍有待提高。经动脉化疗栓塞(Transarterial chemoembolization, TACE)是一种通过向肿瘤供血血管灌注化疗药物,并栓塞血管来延长化疗药物作用时间,以缩小病灶的非手术治疗方法,对于不能接受手术治疗的肝癌患者具有重大意义。但部分学者认为,TACE的临床疗效在已有的报道中呈现出较大差异^[2]。因此,早期评估TACE疗效有利于肝癌患者生存预后。谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)和白蛋白均临床常见肝功能指标,既往研究^[3]认为,AST/ALT升高与慢性病患者全因死亡率以及癌症发病率相关,肝癌患者术前白蛋白水平也是腹腔镜肝切除术后并发症的预测因素之一。基于此,本文将分析不同病理特征肝癌患者AST/ALT、白蛋白差异以及其对TACE治疗预后的预测作用,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年8月至2022年8月于临沂市肿瘤医院行TACE治疗的肝癌患者168例。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②符合肝癌诊断标准^[4],经病理结果证实;③符合TACE适应症^[5],Child-Pugh A/B

级;④患者或家属对本研究知情同意。排除标准:①合并肝性脑病、肝肾综合征等严重肝功能障碍或其他器官严重原发病;②凝血功能异常;③患者预期生存期不足3个月;④有肝癌相关治疗史。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 治疗方法

所有患者均完善术前实验室、影像学检查后进行TACE治疗。采用局部麻醉,股动脉入路,采用Seldinger法穿刺股动脉,置入导管,进行肝总动脉造影,明确肿瘤供血血管。将化疗药物稀释灌注(时间 ≥ 20 min),配置栓塞剂进行栓塞,最后采用颗粒栓塞剂达到栓塞终点,5 min后观察血管情况,出现“干树枝”状后拔出导管,局部止血,结束手术。术后予以常规保肝治疗,术后1个月根据复查情况确定后续治疗方案。

1.3 观察指标

①患者临床资料:包括年龄、性别、Child-Pugh分级、HBsAg情况、肿瘤直径、肿瘤数量、肿瘤分期、分化程度。②术前、术后AST/ALT、白蛋白:所有患者在术前和术后7 d时采集空腹静脉血5 mL,3 000 rpm离心收集15 min血清(离心半径10 cm),采用全自动生化分析仪检测ALT、AST、白蛋白水平,并计算AST/ALT。③预后情况:采用门诊复查、电话等形式进行随访,将27例术后1年死亡患者纳入预后不良组,其他141例患者纳入预后良好组,随访截至2023年8月。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,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,不符合正态分布的计量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney 检验或 Kruskal-Wallis 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用 ROC 曲线分析 AST/ALT、白蛋白水平对肝癌患者 TACE 治疗预后的预测作用,采用 Logistic 二元回归方程分析肝癌 TACE 治疗预后的影响因素, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病理特征肝癌患者 AST/ALT、白蛋白水平比较

年龄 ≥ 60 岁、Child-Pugh B 级、HbsAg 阳性、肿瘤直径 > 5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期更高、肿瘤低分化肝癌患者术前 AST/ALT 更高,术前白蛋白水平更低,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同预后 TACE 术后肝癌患者病理特征比较

两组年龄、HbsAg 情况、肿瘤直径、肿瘤数量、肿瘤分期、分化程度比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同预后 TACE 术后肝癌患者 AST/ALT、白蛋白水平比较

两组术后 AST/ALT 较术前降低,术后白蛋

表 2 不同预后 TACE 术后肝癌患者病理特征比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of pathological features of liver cancer patients with different prognosis after TACE surgery [$n(\%)$]

项目	预后良好组 ($n=141$)	预后不良组 ($n=27$)	χ^2 值	<i>P</i> 值	
性别	男	111(78.72)	17(62.96)	3.103	0.078
	女	30(21.28)	10(37.04)		
年龄(岁)	< 60	81(93.10)	6(6.90)	11.261	0.001
	≥ 60	60(74.07)	21(25.93)		
Child-Pugh 分级	A 级	97(68.79)	17(62.96)	0.353	0.552
	B 级	44(31.21)	10(37.04)		
HbsAg	阳性	47(33.33)	15(55.56)	4.806	0.028
	阴性	94(66.67)	12(44.44)		
肿瘤直径	≤ 5 cm	83(58.87)	8(29.63)	7.802	0.005
	> 5 cm	58(41.13)	19(70.37)		
肿瘤数量	单发	108(76.60)	14(51.85)	6.978	0.008
	多发	33(23.40)	13(48.15)		
肿瘤分期	I 期	48(34.04)	1(2.70)	27.946	< 0.001
	II 期	72(51.06)	17(45.95)		
	III a 期	21(14.89)	9(51.36)		
分化程度	中、高分化	95(67.38)	11(40.74)	6.904	0.009
	低分化	46(32.62)	16(59.26)		

白水平较术前升高,预后良好组术前、术后 AST/ALT 低于预后不良组,术前、术后白蛋白水平高于预后不良组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 AST/ALT、白蛋白对肝癌患者 TACE 治疗预后的预测价值分析

ROC 结果显示,术前、术后的 AST/ALT、白蛋白预测肝癌患者 TACE 治疗预后的 AUC 分别为 0.887、0.787、0.854、0.580,联合预测的 AUC 为 0.914 ($P < 0.05$)。见表 4、图 1。

表 1 不同病理特征肝癌患者 AST/ALT、白蛋白水平比较 [$M(P_{25}, P_{75}), (\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of AST/ALT and albumin in liver cancer patients with different pathological features [$M(P_{25}, P_{75}), (\bar{x} \pm s)$]

项目	<i>n</i>	术前 AST/ALT	Z 值	<i>P</i> 值	术前白蛋白(g/L)	<i>t/F</i> 值	<i>P</i> 值	
性别	男	126	1.32(0.90, 2.51)	0.739	0.046	36.73 \pm 7.09	1.662	0.098
	女	42	1.50(1.05, 2.30)			34.65 \pm 6.82		
年龄(岁)	< 60	87	1.15(0.94, 1.88)	2.664	0.008	38.00 \pm 6.52	3.645	< 0.001
	≥ 60	81	1.76(1.24, 2.50)			34.16 \pm 7.14		
Child-Pugh 分级	A 级	114	1.21(0.92, 1.85)	4.025	< 0.001	37.60 \pm 6.84	3.853	< 0.001
	B 级	54	2.14(1.44, 2.94)			33.28 \pm 6.66		
HbsAg	阳性	62	1.55(1.04, 2.88)	1.777	0.076	34.82 \pm 6.61	1.972	0.050
	阴性	106	1.38(0.88, 2.08)			37.03 \pm 7.21		
肿瘤直径	≤ 5 cm	91	1.05(0.57, 1.85)	4.856	< 0.001	38.39 \pm 7.26	4.598	< 0.001
	> 5 cm	77	1.81(1.26, 2.65)			33.64 \pm 5.90		
肿瘤数量	单发	122	1.22(0.61, 1.87)	5.129	< 0.001	37.78 \pm 7.06	4.985	< 0.001
	多发	46	2.14(1.44, 3.06)			32.08 \pm 5.18		
肿瘤分期	I 期	49	0.91(0.63, 1.07)	78.689	< 0.001	42.26 \pm 4.74	39.730	< 0.001
	II 期	89	1.76(1.26, 2.52)			34.45 \pm 6.72		
	III a 期	30	2.38(1.62, 3.56)			31.60 \pm 4.44		
分化程度	中、高分化	106	1.07(0.78, 1.65)	6.485	< 0.001	38.45 \pm 6.35	5.870	< 0.001
	低分化	62	1.98(1.52, 2.92)			32.40 \pm 6.61		

表3 不同预后TACE术后肝癌患者AST/ALT、白蛋白水平比较 [M(P₂₅, P₇₅), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 3 Comparison of AST/ALT and albumin in liver cancer patients with different prognosis after TACE surgery [M(P₂₅, P₇₅), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	AST/ALT		白蛋白(g/L)	
		术前	术后	术前	术后
预后良好组	141	1.24(0.91, 1.85)	1.22(1.04, 1.40) ^a	37.60±6.74	44.19±6.27 ^a
预后不良组	27	2.86(2.28, 3.86)	2.02(1.39, 2.49) ^a	28.96±3.23	34.31±5.02 ^a
Z/t值		6.364	5.193	6.510	7.721
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与同组术前比较,^aP<0.05。

表4 AST/ALT、白蛋白对肝癌患者TACE治疗预后的预测价值分析

Table 4 Analysis of predictive value of AST/ALT and albumin on the prognosis of TACE treatment in patients with liver cancer

项目	AUC	Cut-off 值	敏感度	特异度	95% CI	P 值
术前 AST/ALT	0.887	1.82	0.852	0.808	0.829~0.931	<0.001
术后 AST/ALT	0.787	1.83	0.556	0.943	0.717~0.846	<0.001
术前白蛋白	0.854	33.21 g/L	0.814	0.780	0.792~0.904	<0.001
术后白蛋白	0.580	43.96 g/L	0.740	0.510	0.502~0.656	0.164
联合预测	0.914		0.963	0.489	0.861~0.952	<0.001

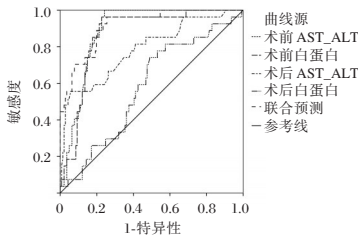


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curves

2.5 肝癌患者TACE治疗预后的多因素 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析结果显示,年龄≥60岁、肿瘤直径>5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期为Ⅲa期、肿瘤低分化、术前AST/ALT>1.82、术前白蛋白<33.21 g/L、术后AST/ALT>1.83、术后白蛋白<43.96 g/L均为肝癌患者TACE治疗预后不良的影响因素(P<0.05)。见表5。

3 讨论

ALT在肝细胞胞浆中,而AST在肝细胞线粒体中,二者均在肝细胞损伤后被释放进入外周血,因此外周血ALT、AST水平升高一定程度上反映了肝细胞损伤情况。既往研究认为,AST/ALT与原发性胆汁性胆管炎患者肝硬化程度及分期相关,也与高血压患者合并外周动脉疾病风险升高相关^[6]。Scheipner等^[7]报道,AST/ALT升高的Ⅱ、Ⅲ期非转移性结直肠癌患者无病生存期显著缩短,与预后不良具有相关性,可用于评估非转移性结直肠癌患者预后,提示AST/ALT在癌症预后评估方面具有潜在价值。本研究中,年龄≥60岁、Child-Pugh B级、HBsAg阳性、肿瘤直径>5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期更高、肿瘤低分化肝癌患者术前AST/ALT更高,表明AST/ALT与肝癌患者病理特

表5 肝癌患者TACE治疗预后的多因素 Logistic 回归分析

Table 5 Multivariate logistic regression analysis of prognosis of TACE treatment in patients with liver cancer

项目	赋值	β值	SE 值	OR 值	Wald χ ² 值	95% CI	P 值
年龄	"≥60岁"=1, "<60岁"=0	0.950	0.316	2.586	9.038	1.392~4.804	0.002
肿瘤直径	">5 cm"=1, "<5 cm"=0	1.043	0.372	2.838	7.861	1.369~5.883	0.005
肿瘤数量	"多发"=1, "单发"=0	1.149	0.481	3.155	5.706	1.229~8.099	0.017
肿瘤分期	"Ⅲa期"=1, "Ⅰ、Ⅱ期"=0	0.776	0.360	2.173	4.646	1.073~4.400	0.032
肿瘤分化程度	"低分化"=1, "中高分化"=0	0.853	0.287	2.347	8.834	1.337~4.119	0.003
术前AST/ALT	">1.82"=1, "≤1.82"=0	1.247	0.491	3.480	6.450	1.329~9.110	0.011
术前白蛋白	"<33.21 g/L"=1, "≥33.21 g/L"=0	0.840	0.309	2.316	7.390	1.264~4.245	0.006
术后AST/ALT	">1.83"=1, "≤1.83"=0	1.265	0.516	3.543	6.010	1.289~9.741	0.014
术后白蛋白	"<43.96 g/L"=1, "≥43.96 g/L"=0	1.163	0.682	3.200	2.908	0.841~12.179	0.088

征存在一定关联。杨利拥等^[8]报道,乙肝病毒感染的肝癌患者 AST/ALT 高于乙肝病毒感染的其他疾病患者,从侧面反映出 AST/ALT 与肝癌进展存在密切关系。白蛋白与多种癌症进展和预后密切相关,部分学者认为是由于癌细胞导致白蛋白消耗增加,癌症相关的全身炎症反应也使得白细胞合成受到抑制^[9]。本研究中,年龄 ≥ 60 岁、Child-Pugh B 级、HBsAg 阳性、肿瘤直径 >5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期更高、肿瘤低分化肝癌患者术前、术后白蛋白水平更低。陈曦等^[10]发现,肝癌患者血清白蛋白水平随肝癌分期升高而降低,与本文结果相似,表明白蛋白水可能与肝癌患者病理特征相关。

由于我国肝癌筛查仍未普及,肝癌患者就诊时往往已错过最佳手术时机,仅有少部分患者能够进行根治性手术治疗。TACE 治疗能够减少肿瘤供血并缩小肿瘤,是不能接受手术治疗的肝癌患者的常见治疗方法。当前虽然能够通过影像学检查评估 TACE 治疗后肿瘤缩小情况,但仍然难以准确评估疾病预后^[11],因此需寻找其他可靠指标。本研究中,TACE 治疗预后不良患者术前、术后 AST/ALT 更高,白蛋白水平更低,术前、术后的 AST/ALT、白蛋白单独预测肝癌患者 TACE 治疗预后的 AUC 分别为 0.887、0.787、0.854、0.580,而联合预测的 AUC 为 0.914,虽然 AUC 未明显升高,但联合预测的敏感度显著升高,表明 AST/ALT、白蛋白对肝癌患者 TACE 治疗预后具有一定预测价值,且联合预测能够提升预后预测的敏感度。笔者认为,AST/ALT 较高、白蛋白水平较低患者,肝细胞损伤程度更重,白蛋白合成功能受到抑制,因而在 TACE 治疗后预后较差。

本研究结果显示,年龄 ≥ 60 岁、肿瘤直径 >5 cm、肿瘤多发、肿瘤分期为 III a 期、肿瘤低分化、术前 AST/ALT >1.82 、术前白蛋白 <33.21 g/L、术后 AST/ALT >1.83 术后白蛋白 <43.96 g/L 均为肝癌患者 TACE 治疗预后不良的影响因素。张司马康等^[12]认为,肿瘤数目是 TACE 治疗后患者生存的影响因素。Wu 等^[13]认为,肿瘤分化程度、肿瘤分期患者是肝癌患者接受 TACE 治疗和抗肿瘤治疗后预后不良的影响因素。上述研究均与本研究结果相似,提示以上因素具有评估 TACE 预后的参考价值。

综上所述,AST/ALT、白蛋白水平在不同病理特征肝癌患者中具有差异性,对 TACE 治疗预后具有一定预测作用。

参考文献

- [1] Cao W, Chen HD, Yu YW, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(7):783-791.
- [2] Chow R, Simone CB 2nd, Jairam MP, et al. R adiofrequency ablation vs radiation therapy vs transarterial chemoembolization vs yttrium 90 for local treatment of liver cancer - a systematic review and network meta-analysis of survival data [J]. *Acta Oncol*, 2022, 61(4):484-494.
- [3] Chen W, Wang W, Zhou L, et al. Elevated AST/ALT ratio is associated with all-cause mortality and cancer incident [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(5):e24356.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2017, 33(8):1419-1431.
- [5] 中国医师协会介入医师分会. 注射用洛铂在原发性肝癌 TACE 治疗中的专家共识(2016版)[J]. *中华介入放射学电子杂志*, 2016, 4(1):1-3.
- [6] Zou Y, Zhong L, Hu C, et al. Association between the alanine aminotransferase/aspartate aminotransferase ratio and new-onset non-alcoholic fatty liver disease in a nonobese Chinese population: a population-based longitudinal study [J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1):245.
- [7] Scheipner L, Smolle MA, Barth D, et al. The AST/ALT Ratio Is an Independent Prognostic Marker for Disease-free Survival in Stage II and III Colorectal Carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2021, 41(1):429-436.
- [8] 杨利拥,王强,卢小岚,等. PIVKA-II、AFP 和 AST/ALT 比值联合检测在 HBV 感染原发性肝癌中的诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(3):351-354.
- [9] Yang Z, Zheng Y, Wu Z, et al. Association between pre-diagnostic serum albumin and cancer risk: Results from a prospective population-based study [J]. *Cancer Med*, 2021, 10(12):4054-4065.
- [10] 陈曦,冯杰,程正江,等. 血清白蛋白、血浆纤维蛋白原和血小板的检测在评估肝癌进展及预后中的价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2022, 29(12):1981-1985.
- [11] 吴水天. CT 增强扫描在评估原发性肝细胞肝癌 TACE 术后疗效中的应用[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2022, 20(3):91-93.
- [12] 张司马康,周春高,施海彬,等. 骨骼肌质量指数对 TACE 治疗肝癌的预测价值[J]. *介入放射学杂志*, 2022, 31(12):1170-1173.
- [13] Wu Z, Cui L, Qian J, et al. Efficacy of adjuvant TACE on the prognosis of patients with HCC after hepatectomy: a multicenter propensity score matching from China [J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1):325.

EGFR siRNA 序列的筛选及其对 HepG2 细胞活性的影响

许楠¹ 杨旭东² 薛丽¹ 宁启兰² 王慧莲² 耿燕^{1*}

[摘要] 目的 构建 EGFR shRNA 重组真核表达载体,并筛选抑制效果最好的 EGFR shRNA 序列。方法 应用在线工具设计人 EGFR siRNA 序列,采用限制性内切酶 *Bam*HI 和 *Hind*III 切割真核表达质粒 pcDNA3.1(+),构建三种人 EGFR 的 siRNA 干扰序列载体(psilencer 4.1-CMV neo-EGFR siRNA)。将重组质粒载体转化大肠杆菌 DH5 α 感受态并筛选阳性克隆,通过 DNA 测序鉴定重组质粒。应用脂质体 lipo2000 将三种人 EGFR siRNA 干扰序列载体转染到 HepG2 细胞,通过荧光显微镜观察转染效率,实时定量 PCR 检测 EGFR mRNA 表达水平,MTT 法检测细胞活性。结果 Psilencer 4.1-CMV neo-EGFR siRNA 重组质粒被成功克隆。EGFR shRNA-1、EGFR shRNA-2 和 EGFR shRNA-3 敲低 EGFR mRNA 的效率分别是 80%、60% 和 70% 以上。shRNA-2 和 shRNA-3 使细胞活性分别下降 50% ($P < 0.05$),但 shRNA-1 对细胞活性无明显影响($P > 0.05$)。结论 重组 psilencer 4.1-CMV neo-EGFR siRNA 质粒可下调肝癌细胞株 EGFR 表达水平和细胞活性。EGFR shRNA-3 较 EGFR shRNA-1 和 shRNA-2 对 HepG2 细胞的抑制作用更显著。

[关键词] 基因治疗; 肝癌; HepG2; EGFR; 小干扰 RNA

Analysis of the interference efficiency of EGFR siRNA and its effect on the proliferation of hepatoma cells

XU Nan¹, YANG Xudong², XUE Li¹, NING Qilan², WANG Huilian², GENG Yan^{1*}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shanxi, China, 710004; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine Sciences, Xi'an Jiaotong University Health Sciences Center, Xi'an, Shaanxi, China, 710061)

[ABSTRACT] **Objective** To construct the recombinant eukaryotic expression vector of EGFR shRNA and screen the EGFR shRNA sequence with the best inhibitory effect. **Methods** An online tool was used to design the human EGFR siRNA sequence and synthesize the corresponding EGFR shRNA. The eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1 (+) was cleaved by the restriction endonucleases *Bam*HI and *Hind*III to construct the siRNA interference vector of three kinds of human EGFR (psilencer 4.1-CMV neo-EGFR siRNA) and transform the recombinant plasmid vector into the *Escherichia coli* DH5 α receptor state. The positive clones were screened, and the recombinant plasmids were identified by DNA sequencing. HepG2 cells were transfected with the three siRNA interference sequence vectors of human EGFR using lipo2000. Fluorescence microscopy was used to observe the transfection efficiency, real-time quantitative PCR was used to detect the mRNA level of EGFR, and MTT assay was used to detect the cell activity. **Results** The psilencer 4.1-CMV neo-EGFR siRNA recombinant plasmid has been successfully cloned. The knockdown of EGFR shRNA-1 on EGFR mRNA was 80%, while EGFR shRNA-2 had a knockdown efficiency of 60%, and EGFR shRNA-3 had a knockdown efficiency of over 70%. Both shRNA-2 and shRNA-3 reduced cell activity by 50% ($P < 0.05$), but shRNA-1 did not have a significant effect on cell activity ($P > 0.05$). **Conclusion** The recombinant psilencer 4.1-CMV neo-EGFR siRNA plasmid was able to downregulate the expression of EGFR and reduce the activity

作者单位:1. 西安交通大学第二附属医院医学检验科,陕西,西安 710004

2. 西安交通大学医学部遗传与分子生物学系,陕西,西安 710061

通信作者:耿燕, E-mail:wsw87679@163.com

of hepatocellular carcinoma cell lines. Out of the three *EGFR* shRNA sequences tested, *EGFR* SHRNA-3 exhibited the most potent inhibitory effect on HepG2 cells.

[KEY WORDS] Gene therapy; Hepatocellular carcinoma; HepG2; *EGFR*; Small interference RNA

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma; HCC) 是世界范围内恶性程度、发病率及死亡率都较高的肿瘤之一^[1-2]。临床上肝癌的治疗方式主要有外科手术、局部和综合治疗等,但目前肝癌的治疗仍然存在巨大挑战。近年来,分子靶向治疗的发展为恶性肿瘤的发病机制认识及治疗提供了一个新的视角和方法。

表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, *EGFR*) 是一种广泛分布于哺乳动物多种细胞膜表面的受体,又名 HER1 或 ErbB-1。最新研究表明,HCC 细胞中 *EGFR* 高表达导致 *EGFR*-MAPK/ERK 信号通路被激活,且与癌旁组织和正常肝组织相比较,肝肿瘤组织 *EGFR*-MAPK/ERK 信号通路激活程度明显增高。因此,*EGFR*-MAPK/ERK 是调节肝癌细胞增殖的关键信号转导通路^[3],在 HCC 的发生、发展过程中发挥重要作用,已成为目前肝癌治疗的潜在分子靶点。

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 可以特异性地抑制基因表达,是基因治疗的一种有力的手段。目前使用 RNAi 治疗肿瘤主要是通过抑制癌基因的表达,从而达到抗癌的目的^[4-5]。研究发现, RNAi 可以靶向作用于肝细胞,从而在肝癌的发生、发展过程中抑制肝癌细胞的增殖^[6]。虽然 RNAi 可以有效抑制癌基因表达,但无法保证 RNAi 可以靶向运输到肿瘤细胞。为了减少 RNAi 对肝肿瘤细胞的影响,可构建携带组织特异性调

控元件的重组 shRNA 表达载体,将该重组 shRNA 导入宿主细胞后,通过基因表达调控元件来保证 RNAi 在特定的细胞中发挥作用。

本研究拟构建 *EGFR* shRNA 的真核表达载体,并将其导入肝癌细胞株 HepG2,筛选对肝癌抑制效果最好的 *EGFR* shRNA 序列,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞系 HepG2 细胞系由西安交通大学第二附属医院肿瘤实验室惠赠。DMEM 高糖培养基、胎牛血清购自赛默飞世尔生物化学制品公司, DMSO、胰蛋白酶、酵母粉购自美国 Sigma 公司,脂质体 Lipofect- amine™2000、Proteinase K 购自美国 Invitrogen 公司, D2000 DNA Marker 购自 TIANGEN 有限公司, PcDNA3.1(+) 质粒购自博大泰克公司,大肠杆菌 DH5 α 感受态购自 TIANGEN 有限公司,质粒提取试剂盒购自 TIANGEN 有限公司,限制性内切酶 *Bam*HI 和 *Hind*III 购自 Thermo 公司。研究者按照 siRNA 设计原则应用 siRNA 设计软件设计 *EGFR* shRNA 序列,由百奥迈科生物技术有限公司合成相关系列。

1.2 shRNA 序列设计

应用在线 siRNA 设计软件 (<https://www.genscript.com/ssl-bin/app/rnai>) 设计人 *EGFR* (NM_005228.5) 的 siRNA 序列,软件确定 3 个 siRNA 的

表 1 *EGFR* 的 siRNA 靶序列及 siRNA 序列

Table 1 siRNA target sequence and siRNA sequence of *EGFR*

基因名称	靶位点序列	siRNA 序列
<i>EGFR</i> -1	CACAGTGGAGCGAATTCCT	CACAGTGGAGCGAATTCCTTTCAAGAGAAGGAATTCGCTCCACTGTG
<i>EGFR</i> -2	GTGTGTAACGGAATAGGTA	GTGTGTAACGGAATAGGTATTCAAGAGATACCTATTCCGTTACACAC
<i>EGFR</i> -3	GTGCTGGATGATAGAC	GTGCTGGATGATAGACGCATTCAAGAGATGCGTCTATCATCCAGCAC

表 2 *EGFR* 的 shRNA 序列

Table 2 *EGFR* shRNA sequence

靶位点	shRNA 序列
<i>EGFR</i> -1	5'-GATCCACAGTGGAGCGAATTCCTTTCAAGAGAAGGAATTCGCTCCACTGTGA-3' 3'-GGTGTACCTCGCTTAAGGA AAGTTCTCTCTTAAAGCGAGGTGACACTTCGA-5'
<i>EGFR</i> -2	5'-GATCCGTGTGTAACGGAATAGGTATTCAAGAGATACCTATTCCGTTACACACA-3' 3'-GCACACATTGCCTTATCCATAAGTTCTCTATGGATAAGGCAATGTGTGTTCCGA-5'
<i>EGFR</i> -3	5'-GATCCGTGCTGGATGATAGACGCATTCAAGAGATGCGTCTATCATCCAGCACA-3' 3'-GCACGACCTACTATCTGCGTAAGTTCTCTACGCAGATAGTAGGTCGTGTTCCGA-5'

靶点,并根据3个靶点设计3个 siRNA 序列。见表1。*EGFR* shRNA 序列见表2。在双链 shRNA 的两端分别加上 *Bam*HI 和 *Hind*III 的酶切位点。

1.3 shRNA 重组质粒构建

用限制性内切酶 *Bam*HI 和 *Hind*III 切割质粒 pCDNA3.1(+),用琼脂糖凝胶电泳检测酶切的质粒,并通过胶回收获得双酶切的质粒。把酶切质粒与 shRNA 的片段按照 1:5 的比例混合,用 DNA 连接酶把酶切质粒与 shRNA 连到一起,构建重组质粒。把重组质粒转化大肠杆菌 DH5 α 感受态,把转化后的大肠杆菌 DH5 α 涂布在含氨苄青霉素的 LB 琼脂平板,在 37 $^{\circ}$ C 培养 16 h 后,挑取单克隆菌落,在含氨苄青霉素的 LB 培养基中摇菌过夜。提取质粒后,通过测序鉴定重组质粒的结构。

1.4 细胞培养

取 HepG2 细胞系冻存株一支,迅速置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中,不时摇晃,融解后加入 15 mL 离心管中,向离心管中缓慢加入培养基 5 mL,轻轻吹打混匀,1 000 r/m 离心 5 min,离心半径为 10 cm,后弃去上清,吸取 10 mL 培养基将细胞重悬,置于 5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养,每天观察细胞生长情况。细胞传代时需吸去旧培养液,加入 1 mL PBS,清洗 1~2 遍后吸出。然后加入 0.25% 胰酶消化液 1 mL, 37 $^{\circ}$ C 消化 3 min。镜下可观察消化效果。待细胞完全脱落后,向培养瓶中加入含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基,混匀后将细胞混悬液分别加入 2~3 个新培养瓶中,每瓶加入约 2~3 mL 培养基。

1.5 重组质粒载体转染后对细胞活性的影响分析

将 HepG2 细胞按 5 000 个/孔的浓度接种于 96 孔板,每孔 100 μ L,共分对照组(转染 si*EGFR*-NC)和 si*EGFR*-1、si*EGFR*-2 及 si*EGFR*-3 三组,每组设五个复孔。置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养过夜,换液并进行细胞转染。转染 24 h 后,加入 20 μ L MTT 溶液,终浓度为 5 mg/mL,即 0.5% MTT。细胞加入 MTT 后继续培养 4 h。最后去除含 MTT 的培养基,每孔加入 150 μ L 二甲亚砜(DMSO),置摇床上振荡 10 min,使得结晶物充分溶解。用全波长酶标仪在 490 nm 波长处读取吸收 A 值。按下列公式计算细胞生存率及细胞生长抑制率:细胞生存率(%)=(实验组 A 值/对照组 A 值) \times 100%。细胞生长抑制率(%)=100%-细胞生存率(%)。以吸光度值为横轴,以作用时间为纵轴绘制细胞生长曲线,取 24 h 的 OD 值比较各组的细

胞增殖抑制率。

1.6 实时定量 PCR (Real-time PCR) 检测 *EGFR* mRNA 的水平

使用 RNA agent Total RNA isolation system 提取细胞中总 RNA,采用 TakaRa 公司的反转录试剂盒(PrimeScriptTM RT reagent Kit, Perfect Real Time, DRR037S)进行 RNA 反转录,采用 SYBR Green 荧光定量试剂盒检测 *EGFR* mRNA,总体系为 20 μ L。各基因的引物信息见表 3。

表 3 *EGFR* 目的基因的引物序列

引物名称	引物序列
<i>EGFR</i> 正向引物	CAAGTGTAAGAAGTGCGAAGG
<i>EGFR</i> 反向引物	GAGGAGGAGTATGTGTGAAGG
内参 <i>actin</i> 正向引物	ATCGTGCGTGACATTAAGGAGAAG
内参 <i>actin</i> 反向引物	AGGAAGGAAGGCTGGAAGAGTG

1.7 统计学分析

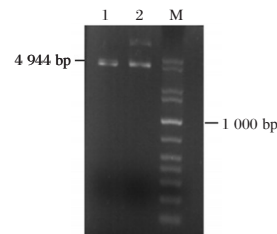
采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,符合正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析方法对多组均数间进行比较,两组间比较采用 Student's t test 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 *EGFR* siRNA 阳性克隆质粒鉴定:

2.1.1 酶切结果

经限制性内切酶消化的 PCR 产物和 pRNAi-CMV4.1/Neo 载体在琼脂糖凝胶电泳的相应位置(4 944 bp)处出现条带。见图 1。

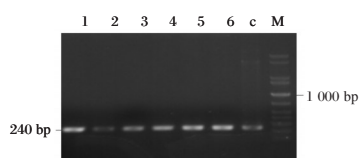


注:1:被限制性内切酶消化的 PCR 产物;2: pRNAi-CMV4.1/Neo 载体;M: 1kb + DNA ladder (TIANGEN)。

图 1 pRNAi-CMV4.1/Neo 载体酶切产物的电泳结果
Figure 1 The electrophoresis results of enzyme digested products of pRNAi-CMV4.1/Neo vector

2.1.2 *EGFR* siRNA 阳性克隆

EGFR1 siRNA、*EGFR2* siRNA 和 *EGFR3* siRNA 的阳性克隆产物出现在琼脂糖凝胶电泳的特定位置(240 bp)。见图 2。



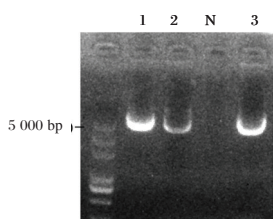
注:1~2:阳性克隆的 *EGFR1* siRNA;3~4:阳性克隆的 *EGFR2* siRNA;5~6:阳性克隆的 *EGFR3* siRNA;C为阳性对照,片段大小240 bp;M表示Marker。

图2 阳性克隆的 *EGFR* siRNA 的凝胶图

Figure 2 Gel diagram of a positive cloned *EGFR* siRNA

2.1.3 质粒电泳图

EGFR 的三种质粒(pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR1* siRNA, pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR2* siRNA 和 pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR3* siRNA) 的电泳结果见图3。



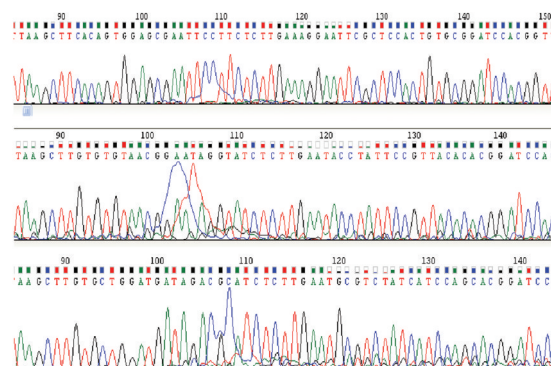
注:1为pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR1* siRNA;2为pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR2* siRNA;N为阴性对照;3为pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR3* siRNA。

图3 pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR* siRNA 重组质粒凝胶图

Figure 3 pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR* siRNA recombinant plasmid gel diagram

2.1.4 质粒测序

对重组质粒进行测序,并将此序列与pCDNA3.1(+)序列以及shDNA序列进行比对,结果显示测序结果与shDNA的序列一致。见图4。



注:A: *EGFR* shRNA-1 测序图谱;B: *EGFR* shRNA-2 测序图谱;C: *EGFR* shRNA-3 测序图谱。

图4 shRNA 重组质粒的测序结果

Figure 4 The sequencing results of recombinant shRNA plasmide

2.2 重组 *EGFR* shRNA 转染 Hep G2 细胞

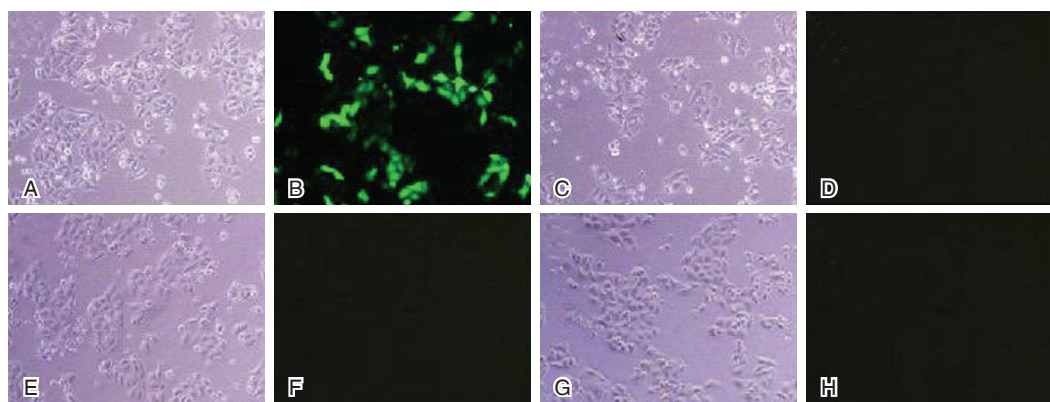
应用倒置荧光显微镜观察转染结果。对照孔可见绿色荧光,shRNA-1、shRNA-2、shRNA-3孔中无荧光,说明转染成功。见图5。

2.3 *EGFR* shRNA 的干扰效率检测

实时荧光定量PCR结果显示,*EGFR* shRNA-1 敲低效率80%,*EGFR* shRNA-2 敲低效率60%,*EGFR* shRNA-3 敲低效率为70%以上,与NC组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图6。

2.4 *EGFR* shRNA 对 HepG2 细胞株活性的影响

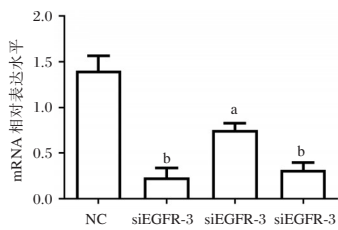
干扰质粒转染 HepG2 细胞的结果显示,转染24 h后活细胞数量发生变化,细胞生长受到不同程度的抑制。与NC组相比,shRNA-2和shRNA-3的在490 nm的OD值较NC组下降了50%以上($P < 0.001$)。见图7。



注:A:NC,明场;B:NC,荧光;C:*EGFR* shRNA-1,明场;D:*EGFR* shRNA-1,荧光;E:*EGFR* shRNA-2,明场;F:*EGFR* shRNA-2,荧光;G:*EGFR* shRNA-3,明场;H:*EGFR* shRNA-3,荧光。

图5 pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR* siRNA 转化 HepG2 细胞的结果(免疫荧光染色,200×)

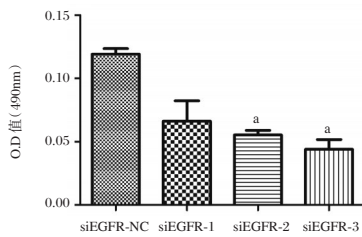
Figure 5 The transfection HepG2 cells results of pRNAi-CMV4.1/Neo-*EGFR* siRNA (Immunofluorescence staining, 200×)



注: *EGFR* shRNA 与 NC 的比较, ^a $P < 0.05$; *EGFR* shRNA 与 NC 的比较, ^b $P < 0.01$ 。

图6 三种 *EGFR* 特异性 shRNA 对 HepG2 *EGFR* mRNA 表达的影响

Figure 6 Effects of three *EGFR* specific shRNA on *EGFR* mRNA expression in HepG2



注: *EGFR* shRNA 和 NC 比较, ^a $P < 0.001$ 。

图7 *EGFR* 特异性 siRNA 对 HepG2 细胞增殖的影响

Figure 7 The *EGFR* specific siRNA on the proliferation of HepG2 cells

3 讨论

本研究筛选出一种可抑制肝癌细胞活性的 shRNA 序列,该序列通过抑制 HepG2 细胞的 *EGFR* 表达水平从而显著降低细胞活性。

EGFR 在卵巢癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌和肝癌等多种肿瘤中表达均较高^[7-8]。通过抑制 *EGFR* 表达从而有效抑制肿瘤的发展,已成为肿瘤靶向治疗的一种重要策略^[9-10]。目前针对 *EGFR* 靶点开发的药物包括 *EGFR* 酪氨酸激酶的抑制剂吉非替尼、*EGFR* 治疗性抗体药物西妥昔单抗和帕尼单抗等。尽管吉非替尼、西妥昔单抗和帕尼单抗已被用于许多肿瘤的治疗,但这些药物都有一定的副作用,因此开发新的针对 *EGFR* 的治疗方法对于改善肿瘤治疗效果非常必要。

小干扰 RNA (siRNA) 在转录后调节基因表达,已被应用于肿瘤的治疗。siRNAs 是长度为 20 到 25 个碱基对的双链非编码 RNA,它可与 RNA 诱导的沉默复合物 (RISC) 相互作用,捕获序列互补的 mRNA,并将其降解^[11]。已有研究证实,siRNAs 可抑制多种癌基因的表达,但目前尚无 siRNAs 通过

抑制 *EGFR* 表达进而抑制肿瘤生长的研究报道。siRNAs 虽然可抑制特定基因表达,但这种疗法也面临一些问题。由于 siRNAs 易被核酸酶降解、且通过肾脏排泄,如何保证其在特定靶组织中发挥作用是其转化应用中首先应该解决的问题^[12]。重组 shRNA 表达载体则可以较好地解决这个问题。DNA 在体内不易被降解,组织特异性启动子盒基因表达调节元件可确保 siRNA 只在特定的组织细胞中生成,从而减少副作用。而且重组表达载体进入细胞内可持续表达一段时间,因此 shRNA 重组表达载体比 siRNA 在治疗的应用方面更有优势。本研究表明,将 shRNA 重组表达载体转入宿主细胞 24 h 后,三种 *EGFR* shRNA 均可下调 *EGFR*-mRNA 的表达水平。*EGFR* shRNA-1 可下调 80%,*EGFR* shRNA-2 可下调 60%,*EGFR* shRNA-3 可下调 70% 以上。最后应用 MTT 法检测 HepG2 细胞的增殖,与对照组相比,*EGFR* shRNA-2 和 *EGFR* shRNA-3 干预组细胞活性下降了 50% 以上。这些结果进一步证实 shRNA 可有效来抑制肿瘤细胞增殖。另外从既往的研究结果来看,siRNA 技术存在的一个重要问题是其具有脱靶效应^[13],即 siRNA 除了可以特异性结合预先设定的靶 mRNA 并将其降解外,它还可能结合其他一些 mRNA。这种情况下可能会带来一些副作用。因此应用 siRNA 治疗肿瘤需要克服以上所提及的这些挑战,才能得到预期的结果^[14]。

本研究表明,*EGFR* shRNA-3 可有效下调 *EGFR* 的表达水平,并降低 HepG2 细胞的活性。本研究的后续工作将主要围绕以下三个方面进行研究:①用 AFP 增强子/SUR 启动子替换 CMV 启动子,使得重组的载体可以在肝细胞中特异性产生 siRNA。②深入研究 *EGFR* shRNA-3 对 HepG2 细胞凋亡、细胞周期及细胞迁移、侵袭等生理功能的影响,从多方面评估其对肿瘤细胞生长抑制的作用方式。③构建携带 AFP 增强子/SUR 启动子的 *EGFR* shRNA-3 腺病毒载体,并用肝癌细胞系和肝癌动物模型来研究其在 HCC 基因治疗中的作用。

参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [2] Dasgupta P, Henshaw C, Youlten DR, et al. Global Trends in Incidence Rates of Primary Adult Liver Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Front Oncol, 2020, 10:171.

(下转第 944 页)

miR-221、CAR与急性心肌梗死并发心力衰竭患者心功能和预后的关系

钱明月* 赵飞 徐涛 杨志娟

[摘要] **目的** 探讨微核糖核酸-221(miR-221)、C反应蛋白/白蛋白比值(CAR)与急性心肌梗死(AMI)并发心力衰竭(HF)患者心功能和预后的关系。**方法** 选取2020年3月至2023年5月期间河北北方学院附属第一医院收治的AMI并发HF患者共计146例,根据Killip分级分为Ⅱ级组($n=66$)、Ⅲ级组($n=48$)、Ⅳ级组($n=32$)。比较三组患者的miR-221及CAR水平;并以Spearman法分析miR-221、CAR表达水平与AMI并发HF患者Killip分级的相关性。以患者随访半年后患者的预后结局,分为预后良好组($n=108$)与预后不良组($n=38$)。以单、多因素Logistic回归分析影响AMI并发HF患者预后的危险因素;绘制受试者工作(ROC)曲线分析miR-221、CAR对于AMI并发HF患者预后的预测价值。**结果** Ⅱ级组的miR-221及CAR表达水平<Ⅲ级组<Ⅳ级组,差异均具有统计学意义($F=30.341$ 、 24.273 , $P<0.05$);Spearman分析结果表明,miR-221、CAR表达水平与Killip分级呈现正相关($r=0.413$ 、 0.426 , $P<0.05$);单因素分析结果显示,两组患者在年龄、Killip分级、高血压病史、左心射血分数(LVEF)、miR-221以及CAR表达水平上的比较差异有统计学意义($\chi^2=4.897$ 、 40.842 、 7.432 、 14.128 、 3.460 , $P<0.05$);多因素Logistic回归分析进一步证实,Killip分级为Ⅲ~Ⅳ级、miR-221、CAR表达水平的升高均为影响AMI并发HF患者预后情况的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,miR-221、CAR以及二者联合检测曲线下面积为0.811、0.794、0.869($P<0.05$)。**结论** miR-221、CAR表达水平可能与AMI并发HF患者心功能有关,且二者联合检测对患者预后具备较高的预测价值。

[关键词] 微核糖核酸-221;急性心肌梗死;心力衰竭;心功能;C反应蛋白/白蛋白比值

Relationship between miR-221, CAR and cardiac function and prognosis in patients with acute myocardial infarction complicated with heart failure

QIAN Mingyue*, ZHAO Fei, XU Tao, YANG Zhiqiang

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

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between microRNAs 221 (miR-221), C-reactive protein/albumin ratio (CAR) and cardiac function and prognosis in patients with acute myocardial infarction (AMI) complicated with heart failure (HF). **Methods** From March 2020 to May 2023, a total of 146 cases of AMI complicated with HF were treated at the first hospital affiliated with Hebei Institute of North. These cases were classified according to the Killip classification into groups II ($n=66$), III ($n=48$), and IV ($n=32$). The levels of miR-221 and CAR were compared among the three groups. The correlation between the expression levels of miR-221 and CAR and Killip classification in AMI patients with HF was analyzed using the Spearman method. Patients were then divided into a good prognosis group ($n=108$) and a poor prognosis group ($n=38$) based on their prognosis outcomes after a six-month follow-up. Single and multiple logistic regression analyses were conducted to identify the risk factors affecting the prognosis of AMI patients with HF. Receiver operating (ROC) curves were drawn to analyze the predictive value of miR-221 and CAR in patients with AMI

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20220592)

作者单位:河北北方学院附属第一医院心血管内科,河北,张家口075000

*通信作者:钱明月, E-mail: Q3418854593@163.com

complicated with HF. **Results** The expression levels of *miR-221* and CAR in group II were lower than those in group III and IV, and the differences were statistically significant ($F=30.341, 24.273, P<0.05$). Spearman analysis showed that the expression levels of *miR-221* and CAR were positively correlated with Killip classification ($r=0.413, 0.426, P<0.05$). Univariate analysis showed that there were significant differences in age, Killip grade, hypertension history, left ventricular ejection fraction (LVEF), *miR-221* and CAR expression levels between the two groups ($\chi^2=4.897, 40.842, 7.432, 14.128, 3.460, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis further confirmed that Killip grade III to IV, *miR-221* and CAR expression levels were independent risk factors affecting the prognosis of AMI patients complicated with HF ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the areas under the detection curves of *miR-221*, CAR and their combined detection were 0.811, 0.794 and 0.869 ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of *miR-221* and CAR may be related to cardiac function in patients with AMI complicated with HF. The combined detection of *Mir-221* and CAR may have a high predictive value for the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Microribonucleic acid-221; Acute myocardial infarction; Heart failure; Heart function; C-reactive protein/albumin ratio

急性心肌梗死 (Acute Myocardial Infarction, AMI) 是临床心血管内科常见疾病之一。冠状动脉病变所致的冠状动脉狭窄、堵塞, 继而引发的心肌缺血等是导致 AMI 发病的主要原因, AMI 病发突然, 临床常表现出持续的心前区压榨性疼痛, 若不及时就诊治疗极易引发如心律失常、心力衰竭 (Heart Failure, HF) 等并发症, 严重者还会出现休克^[1]。临床数据显示, AMI 为 HF 高发人群, 且 AMI 患者早期大多伴有 HF 病发^[2]。而 HF 会进一步使得冠状动脉灌流量降低, 加重心功能损伤, 影响患者预后。Killip 分级是评估 AMI 引起的 HF 患者心功能损伤情况的临床分级标准, 对患者的治疗及预后评估均具有指导意义^[3]。有研究显示, 微核糖核酸-221 (microRNA-221, *miR-221*) 在冠心病等多种心脏相关疾病患者机体内均出现表达异常现象, 其可能与心室重构、HF 等的发生及发展联系紧密^[4]。此外, 冠状动脉炎症是 AMI 病情发展的关键因素, 而 C 反应蛋白/白蛋白比值 (C-Reactive Protein/Albumin Ratio, CAR) 因具备极高的稳定性及代表性, 可作为评估多种疾病病情发展和预后的检测指标^[5]。本文特对此进行观察分析, 并进一步探究二者对患者预后的预测价值, 以期临床该疾病患者的治疗和预后提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2020 年 3 月至 2023 年 5 月期间河北北方学院附属第一医院收治的 AMI 并发 HF 患者共计 146 例为试验对象。根据心功能分级 (Killip)^[6] 分为 II 级组 ($n=66$)、III 级组 ($n=48$)、IV 级组 ($n=32$)。

纳入标准: ①年龄 45~74 岁; ②所有患者均符合《急性心肌梗死诊断和治疗指南》^[7] 和《中国心力衰竭诊断和治疗指南 (2018)》^[8] 中与 AMI、HF 相关诊断标准, 且由冠状动脉 CT 血管造影等影像学检测进一步确诊。③均于本院建立病患档案且资料完整; ④患者 Killip 分级为 II 级~IV 级; ⑤患者均知情且自愿配合本试验进行。排除标准: ①其他疾病如心肌病等引起的心力衰竭患者; ②不愿配合随访或失联者; ③合并恶性肿瘤或其他恶性疾病患者; ④合并自身免疫系统疾病或炎症感染性疾病患者。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集

由 3 名心血管内科医师通借助本院病例档案管理系统, 收集和整理所有试验对象的相关资料。其中, 一般资料包括患者年龄、性别、心肌梗死部位 (前壁、下壁、其他)、个人史 (吸烟、饮酒)、既往病史 (高血压、糖尿病)、Killip 分级; 实验室指标包括心功能指标 [左室收缩末期内径 (Left Ventricular End-Systolic Diameter, LVESD)、左室舒张末期内径 (Left Ventricular End-Diastolic Diameter, LVEDD)、左室射血分数 (Left Ventricular Ejection Fraction, LVEF)]、*miR-221* 及 CAR 表达水平。

1.2.2 指标检测方法

抽取所有参试对象空腹外周静脉血 5 mL, 离心 10 min (离心半径: 10 cm, 温度: 4℃, 转速: 3 000 r/min) 后收集上清液, 置于 -80℃ 冰箱中储存待检。① *miR-221* 水平: 以 Trizol 法提取血清总 RNA, cDNA 合成按照逆转录试剂盒 (Qiagen 公司) 的说明书进行, 使用 RT-PCR 试剂盒 (天根生化科

技有限公司)测定 *miR-221* 表达量。检测步骤严格按照试剂盒说明书进行,表达结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算,每份样本取3次检测平均值。*miR-221* 引物序列(5'-3'): F端 ATGTAAAAGCAATAACGAGAAC; R端 CG-CATCCGAA TACGAACTGTCAG。②CAR水平:患者的白蛋白水平(Albumin, ALB)采用全自动血细胞分析仪(XN 2000)进行检测,C反应蛋白(C-Reactive Protein, CRP)采用免疫比浊法进行测定,并计算CAR。③采用飞利浦IE33彩色超声诊断仪测定患者心功能指标(LVESD、LVEDD、LVEF)。

1.2.3 随访

以电话访问的形式对患者进行时长半年随访,将死亡、Killip分级再次升高至Ⅲ级及以上或再次住院治疗的患者列入预后不良,并据此分为预后良好组($n=108$)与预后不良组($n=38$)。

1.3 统计学方法

以SPSS 23.0软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较行 t 检验,多组比较行 F 检验,两两比较行 SNK- q 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;以Spearman法分析 *miR-221*、CAR表达水平与AMI并发HF患者Killip分级的相关性;以单、多因素Logistic回归分析影响AMI并发HF患者预后的危险因素;绘制受试者工作(ROC)曲线分析 *miR-221*、CAR对于AMI并发HF患者预后的预测价值。当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同Killip分级患者的 *miR-221* 及 CAR 表达水平比较

不同Killip分级患者的 *miR-221* 及 CAR 表达水平比较,Ⅱ级组<Ⅲ级组<Ⅳ级组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 不同Killip分级患者的 *miR-221* 及 CAR 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of *miR-221* and CAR expression levels in patients with different Killip grades ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	<i>miR-221</i> 表达量	CAR
Ⅱ级组	66	3.24±0.44	0.38±0.12
Ⅲ级组	48	3.68±0.58 ^a	0.47±0.16 ^a
Ⅳ级组	32	4.16±0.72 ^{ab}	0.61±0.20 ^{ab}
F 值		30.341	24.273
P 值		<0.05	<0.05

注:与Ⅱ级组比较,^a $P < 0.05$;与Ⅲ级组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 *miR-221* 及 CAR 表达水平与AMI并发HF患者Killip分级的相关性

Spearman分析结果表明,*miR-221* ($r=0.413$)、CAR ($r=0.426$)表达水平与Killip分级呈现正相关($P < 0.05$)。

2.3 AMI并发HF患者预后的单因素分析

单因素分析结果显示,两组患者在年龄、Killip分级、合并高血压、左心射血分数(LVEF)、*miR-221* 以及CAR表达水平上的比较差异显著($P < 0.05$)。见表2。

表2 AMI并发HF患者预后的单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Univariate analysis of prognosis in AMI patients complicated with HF [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

因素	n	预后良好组 ($n=108$)	预后不良组 ($n=38$)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)				4.897	0.027
<60	91	73(67.59)	18(47.37)		
≥60	55	35(32.41)	20(52.63)		
性别				0.028	0.868
男	79	58(53.70)	21(55.26)		
女	67	50(46.30)	17(44.74)		
吸烟				1.665	0.197
是	91	64(59.26)	27(71.05)		
否	55	44(40.74)	11(28.95)		
饮酒				1.497	0.221
是	89	69(63.89)	20(52.63)		
否	57	39(36.11)	18(47.37)		
高血压病史				18.046	0.000
有	72	42(38.89)	30(78.95)		
无	74	66(61.11)	8(21.05)		
糖尿病史				0.642	0.423
有	46	36(33.33)	10(26.32)		
无	100	72(66.67)	28(73.68)		
心肌梗死部位				0.643	0.725
前壁	43	33(30.56)	10(26.32)		
下壁	53	40(37.04)	13(34.21)		
其他	50	35(32.40)	15(39.47)		
Killip分级				40.842	0.000
Ⅱ级	66	60(55.56)	6(15.79)		
Ⅲ~Ⅳ级	80	48(44.44)	32(84.21)		
LVESD(mm)		62.26±2.42	62.28±2.27	0.045	0.965
LVEDD(mm)		46.58±3.16	46.64±3.41	0.099	0.922
LVEF(%)		53.36±3.35	58.31±4.01	7.432	0.000
<i>miR-221</i>		2.35±0.33	2.98±0.68	14.128	0.000
CAR		0.26±0.04	0.32±0.07	3.460	0.000

2.4 AMI并发HF患者预后的多因素Logistic回归分析

以AMI并发HF患者预后为因变量,行多因素Logistic回归分析。结果显示,Killip分级Ⅲ~Ⅳ级、*miR-221*、CAR表达水平的升高均为影响AMI并发HF患者预后情况的独立危险因素的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

表3 AMI并发HF患者预后的多因素Logistic回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of prognosis in patients with AMI complicated with HF

自变量	赋值说明	β 值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
年龄(岁)	$\geq 60=0; <60=1$	0.765	0.420	3.318	2.149	0.943~4.895	0.069
高血压病史	无=0,有=1	0.731	0.462	2.504	2.077	0.840~5.137	0.114
Killip分级	II级=0; III级=1; IV级=2	0.745	0.281	7.029	2.106	1.214~3.654	0.008
LVEF(%)	连续变量	0.689	0.364	3.583	1.992	0.976~4.065	0.058
miR-221	连续变量	1.136	0.254	20.003	3.114	1.893~5.124	0.000
CAR	连续变量	1.442	0.294	24.057	4.229	2.377~7.525	0.000

2.5 miR-221、CAR表达水平对于支气管哮喘并发肺部感染患者预后的预测价值

根据ROC曲线分析结果显示,miR-221、CAR曲线下面积分别为0.811、0.794,二者联合检测的曲线下面积为0.869,且联合检测的特异性、敏感度均明显优于单一指标检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表4 miR-221、CAR表达水平对于支气管哮喘并发肺部感染患者预后的预测价值

Table 4 Prognostic value of miR-221 and CAR expression levels in patients with bronchial asthma complicated with pulmonary infection

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异性	P值
miR-221	2.63	0.811	0.713~0.908	0.796	0.737	0.000
CAR	0.29	0.794	0.702~0.886	0.759	0.711	0.000
联合检测		0.869	0.788~0.949	0.843	0.763	0.000

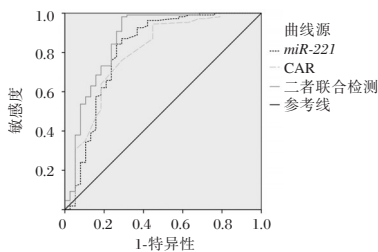


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

3 讨论

AMI属于临床常见急危重症疾病之一,具有发病急、预后差等特点,AMI患者同时还是病发HF的高风险群体^[9]。部分治疗效果不佳患者出院后,短期内极易再次复发心脏不良事件^[10]。故临床上针对该病患者应以早发现、早治疗为原则。有研究显示,机体内miR-221、CAR表达水平均在AMI等多种心脑血管疾病的发生及发展中发挥关键作用^[11]。

本研究结果显示,II级组的miR-221及CAR表达水平均低于III级组与IV级组,且III级组均低于IV级组;Spearman分析结果进一步表明,miR-221、CAR表达水平与Killip分级呈现正相关。同时,AMI并发HF患者预后的多因素分析结果显示,Killip分级为III~IV级、miR-221、CAR表达水平的升高均为影响患者预后情况的独立危险因素。这与师树田等^[12]研究结论类似。李洁滢等^[13]研究显示,冠状动脉炎症是AMI病情发展的关键因素,故对炎症相关指标的监测可纳入AMI并发HF患者的临床诊断手段当中。CRP是能有效反应机体炎症水平的一类急性期蛋白,具备较高敏感度;ALB则作为血浆中最主要的蛋白质,在致炎物质的转运以及维持机体营养和渗透压等方面均发挥重要作用^[14]。AMI并发HF患者冠状动脉内常出现因粥样斑块、血栓等病变导致的冠状动脉内壁受损,继而使得一系列炎症细胞参与的级联反应被激活,机体内CRP出现急剧升高,而ALB则被大量消耗,故CAR水平出现明显上升^[15]。同时,相较于单一的炎症指标而言,CAR具备稳定性高、代表性强,且检测方便迅速等特点,在临床急危重症疾病患者病情诊断和预后评估中具备较高应用价值。微核糖核酸(MicroRNA, miRNA)参与调控人体内约1/3的基因表达,其参与包括细胞增殖、凋亡在内的多项生命活动,并在恶性肿瘤、高血压等多种疾病的发生及发展中发挥关键作用。其中miR-221是在血管内皮细胞中特异性表达的一种miRNA,其与多种心脑血管疾病的危险因素有关^[16]。AMI并发HF患者机体内miR-221水平的上调能维持斑块稳定性,加速动脉粥样硬化的形成,从而使得冠状动脉狭窄、破裂,形成血栓,加剧患者病情。本研究ROC曲线结果进一步表明,miR-221、CAR曲线下面积分别为0.811、0.794,二者联合检测的曲线下面积为0.869。提示二者均可作为预测AMI并发HF患者

预后情况的有效指标,且较于单一指标而言联合检测的特异性及敏感度明显更高。

综上所述, *miR-221*、*CAR* 表达水平可能与 AMI 并发 HF 患者心功能有关,且二者联合检测对患者预后具备较高的预测价值。

参考文献

- [1] Damluji AA, van Diepen S, Tamis-Holland JE, et al. Mechanical Complications of Acute Myocardial Infarction: A Scientific Statement From the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2021, 144(2):e16-e35.
 - [2] Chen Q, Chen H, Yin Q, et al. PRKARIA and SDCBP Serve as Potential Predictors of Heart Failure Following Acute Myocardial Infarction [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:878876.
 - [3] Parras JI, Onocko M, Traviesa LM, et al. Lung ultrasound in acute myocardial infarction. Updating Killip & Kimball [J]. *Indian Heart J*, 2021, 73(1):104-108.
 - [4] Fan J, Hou Z, Han Y, et al. MiR-221-3p targets Hif-1 α to inhibit angiogenesis in heart failure [J]. *Lab Invest*, 2021, 101(1):104-115.
 - [5] Kuppa A, Tripathi H, Al-Darraj A, et al. C-Reactive Protein Levels and Risk of Cardiovascular Diseases: A Two-Sample Bidirectional Mendelian Randomization Study [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11):9129.
 - [6] Milwidsky A, Greidinger D, Frydman S, et al. Echocardiographic Killip Classification [J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 2022, 35(3):287-294.
 - [7] 高润霖. 急性心肌梗死诊断和治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2001(12):9-24.
 - [8] 王华, 梁延春. 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.
 - [9] 刘金林, 赵世林, 肖竹青. 急性心肌梗死患者血清 NT-proBNP、VEGF、ox-LDL 水平与 LVEF 的关系 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(4):685-687+692.
 - [10] 毛柳青, 叶欣, 任岚, 等. 急性心肌梗死患者流行特征及诱发因素分析 [J]. *华南预防医学*, 2023, 49(1):108-111.
 - [11] Holzknrecht M, Reindl M, Reinstadler SJ, et al. C-reactive protein velocity predicts microvascular pathology after acute ST-elevation myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2021, 338:30-36.
 - [12] 师树田, 李艳芳, 蒋志丽, 等. 高敏 C 反应蛋白对老年急性心肌梗死合并射血分数减低的心力衰竭患者预后的影响 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2022, 24(7):693-696.
 - [13] 李洁滢, 胡琳, 杨艳娟, 等. 雷帕霉素通过 AKT/mTOR 途径抑制川崎病冠状动脉内皮细胞炎症因子的表达 [J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(8):1376-1383.
 - [14] 苏文韬, 吴祖飞, 陈诗, 等. C 反应蛋白/白蛋白比值与其他炎症参数对急诊 PCI 术后院内不良事件的预测价值比较 [J]. *解放军医学杂志*, 2023, 48(10):1186-1193.
 - [15] 王顺利, 汤建民, 王丰云, 等. C 反应蛋白/白蛋白比值与急性 ST 段抬高型心肌梗死患者梗死相关动脉自发再通的相关性研究 [J]. *中国全科医学*, 2020, 23(33):4167-4171.
 - [16] Zhou J, Wang B, Yang W, et al. Construction and Bioinformatics Analysis of circRNA-miRNA-mRNA Network in Acute Myocardial Infarction [J]. *Front Genet*, 2022, 13:854993.
-
- (上接第 939 页)
- [3] 刘宗才, 宁粉, 蔡燕娜, 等. 肝细胞癌中 EGFR-P38 MAPK 途径通过 miR-675-5p 上调 PD-L1 并通过己糖激酶 2 下调 HLA-ABC [J]. *癌症*, 2021, 40(4):150-166.
 - [4] 陈小龙, 万亚锋, 黄平. 基于质粒的蛋白激酶 B1 特异性小干扰 RNA 和 P53 共表达协同抑制肝细胞癌细胞的增殖、迁移和侵袭 [J]. *解剖学报*, 2021, 52(2):251-257.
 - [5] 陈婷婷. 靶向人表皮生长因子受体 RNAi 表达载体的构建与鉴定 [D]. 郑州: 郑州大学, 2010.
 - [6] Ziogas IA, Evangelidou AP, Giannis D, et al. The Role of Immunotherapy in Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review and Pooled Analysis of 2,402 Patients [J]. *Oncologist*, 2021, 26(6):e1036-e1049.
 - [7] Ruiz-Camps I, Aguilar-Company J. Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors and Other Tyrosine Kinase Inhibitors for Solid Tumors [J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2020, 34(2):257-270.
 - [8] Rutkowska A, Stoczynska-Fidelus E, Janik K, et al. EGFR (vIII): An Oncogene with Ambiguous Role [J]. *J Oncol*, 2019, 2019:1092587.
 - [9] Gandullo-Sanchez L, Ocana A, Pandiella A. HER3 in cancer: from the bench to the bedside [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1):310.
 - [10] Kirsammer G, Strizzi L, Margaryan NV, et al. Nodal signaling promotes a tumorigenic phenotype in human breast cancer [J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 29:40-50.
 - [11] White PJ. Barriers to successful delivery of short interfering RNA after systemic administration [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(11):1371-1376.
 - [12] Mishra DK, Balekar N, Mishra PK. Nanoengineered strategies for siRNA delivery: from target assessment to cancer therapeutic efficacy [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2017, 7(2):346-358.
 - [13] Moretti M, Di Francesco B, Nolfi M, et al. Methods for Modulating the Pathway of NF-kappaB Using Short Hairpin RNA (ShRNA) [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2366:95-107.
 - [14] Jin Y, Zhao JH, Guo HS. Recent advances in understanding plant antiviral RNAi and viral suppressors of RNAi [J]. *Curr Opin Virol*, 2021, 46:65-72.

溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)对急性缺血性脑卒中患者溶栓预后的预测价值

丁燕萍* 郭庆敏 张玉来

[摘要] **目的** 探究溶栓前血清尿酸、同型半胱氨酸(Hcy)、脂蛋白(a)[Lp(a)]对急性缺血性脑卒中(AIS)患者溶栓预后的预测价值。**方法** 选取2019年1月至2023年1月合肥市第八人民医院救治的AIS患者125例进行研究,根据溶栓后3个月随访结果分组,82例预后良好,43例预后不良。比较两组患者溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)水平、年龄、病史等临床资料;Logistic回归模型分析AIS患者溶栓预后的影响因素;通过受试者工作特征(ROC)曲线分析AIS患者溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)水平对其溶栓预后的预测价值。**结果** 与预后良好组患者相比,不良组年龄、BMI、发病至溶栓时间、入院时NIHSS评分、血清Hcy、Lp(a)水平均更高,血清尿酸水平更低,差异均有统计学意义($t=10.563、4.086、20.083、14.177、6.103、5.494、6.980, P<0.05$),预后不良组梗死大面积、高血压、糖尿病及房颤患者占比均高于预后良好组,差异有统计学意义($\chi^2=11.786、11.159、7.212、12.116, P<0.05$);年龄、发病至溶栓时间、入院时NIHSS评分、溶栓前高水平血清Hcy、Lp(a)是影响AIS患者预后的独立危险因素,溶栓前高水平血清尿酸则是其预后的保护因素;ROC曲线结果显示溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)水平对AIS患者溶栓预后进行预测的曲线下面积(AUC)分别为:0.814、0.760、0.755,三者联合预测的AUC为0.920,联合检测的预测价值高于单一指标($P<0.05$)。**结论** 溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)对急性缺血性脑卒中患者溶栓预后有一定预测价值,三者联合检测预测效能更高。

[关键词] 急性缺血性脑卒中;尿酸、同型半胱氨酸;脂蛋白(a);溶栓

Predictive value of serum uric acid, Hcy and Lp(a) before thrombolysis for the prognosis of acute ischemic stroke patients after thrombolytic therapy

DING Yanping*, GUO Qingmin, ZHANG Yulai

(Department of Neurology, the Eighth People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 238000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of serum uric acid, homocysteine (Hcy) and lipoprotein (a) [Lp(a)] before thrombolysis in patients with acute cerebral ischemic stroke (AIS). **Methods** 125 AIS patients treated at the Eighth People's Hospital of Hefei City from January 2019 to January 2023 were selected for the study. According to the results of a 3-month follow-up after thrombolysis, 82 patients had a good prognosis, and 43 patients had a poor prognosis. Serum uric acid, Hcy and Lp(a) levels before thrombolysis and other clinical data between the two groups were compared. A logistic regression model was used to analyze the factors affecting the prognosis of patients with AIS. The predictive value of serum uric acid, Hcy and Lp(a) levels before thrombolysis in AIS patients was analyzed using a receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Compared to the good prognosis group, the poor prognosis group had higher age, BMI, time from onset to thrombolysis, NIHSS score at admission, serum Hcy and Lp(a) levels, and lower serum uric acid levels. These differences were significant ($t=10.563, 4.086, 20.083, 14.177, 6.103, 5.494, 6.980, P<0.05$). In the poor prognosis group, the proportion of patients with large infarct, hyperten-

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHwj2021a010)

作者单位:合肥市第八人民医院神经内科,安徽,合肥 238000

*通信作者:丁燕萍, E-mail:18005652449@163.com

sion, diabetes and atrial fibrillation was higher than in the other group. The difference was statistically significant ($\chi^2=11.786, 11.159, 7.212, 12.116, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that age, onset time to thrombolysis, NIHSS score at admission, pre-thrombolysis serum Hcy and Lp(a) were independent risk factors for poor prognosis in AIS patients, and a high level of serum uric acid before thrombolysis was a protective factor for prognosis. ROC curve results showed that the area under the curve (AUC) of serum uric acid, Hcy and Lp(a) levels before thrombolysis to predict the prognosis of AIS patients was 0.814, 0.760 and 0.755, respectively. The AUC of the combined prediction of the three levels was 0.920, indicating that the predictive value of the combined detection was higher than that of the single index ($P<0.05$). **Conclusion** For the prognosis of acute ischemic stroke patients, serum uric acid, Hcy and Lp(a) levels before thrombolysis have a certain predictive value. The combined detection of these biomarkers has higher predictive efficacy.

[KEY WORDS] Acute ischemic stroke; Uric acid; Homocysteine; Lipoprotein(a); Thrombolysis

急性缺血性脑卒中 (Acute ischemic stroke, AIS) 也称急性脑梗死, 是一种中枢神经系统血管疾病, 也是临床脑卒中最常见的类型, 具有较高发病率、致残率及死亡率^[1]。AIS 患者由于各种原因引起脑血管堵塞, 脑组织血供障碍或中断, 进而发生脑组织的缺氧缺血性坏死, 最终导致神经功能障碍^[2]。所以对于 AIS 患者临床治疗的关键在于疏通闭塞血管、恢复脑灌注。当前最有效的方式仍是在发病后及时给予重组组织型纤溶酶激活剂 (Recombinant tissue plasminase activator, rt-PA) 及尿激酶进行静脉溶栓^[3]。但溶栓预后受众多因素影响, 部分患者在接受溶栓治疗后仍会有不同程度的残疾, 预后并不理想^[4]。探索溶栓预后有效且易快速检测的预测指标, 对于评估患者病情转归, 选择更完善的治疗措施以减轻后遗症具有重要临床意义。尿酸与卒中的关系近年来倍受关注, 有研究表明血尿酸对再灌注引发的氧化应激有显著改善效果, 对溶栓患者的预后改善有积极作用^[5]; 同型半胱氨酸 (Homocysteine, Hcy) 经研究发现其异常升高与动脉粥样硬化、AIS 等疾病发生发展及预后密切相关^[6]; 脂蛋白 a [Lipoprotein(a), Lp(a)] 是人体内一种特殊的血浆脂蛋白, 其血清水平异常与动脉粥样硬化、心脑血管及深静脉血栓形成均相关^[7]。血清尿酸、Hcy 及 Lp(a) 水平变化或对 AIS 患者病情监测有极大潜在优势, 故本研究拟探究溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a) 对急性缺血性脑卒中患者溶栓预后的预测价值, 以期为临床 AIS 患者预后的全面评估, 进一步完善治疗方案提供参考, 具体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2023 年 1 月合肥市第八人

民医院救治的急性缺血性脑卒中患者资料 125 例进行分析, 纳入研究对象男女比例为 67:58, 年龄 32~92 岁。根据溶栓后 3 月随访预后情况分为预后良好组 (82 例) 和预后不良组 (43 例)。纳入标准: ①临床诊断为急性缺血性脑卒中^[8]; ②颅脑 CT 或 MRI 检查未发现脑出血及占位; ③首次发病, 且出现症状 6 h 内入院完成静脉溶栓治疗; ④患者及其家属均知情同意。排除标准: ①发病前意识不清、精神障碍患者; ②有严重肝肾、心功能不全等患者; ③既往有脑出血、蛛网膜下腔出血等脑血管病史患者。本研究经合肥市第八人民医院医学伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 临床资料

通过患者入院信息、联网病历系统等收集患者性别、年龄、BMI、发病至溶栓时间、合并高血压、既往房颤等病史、梗死面积、入院时美国国立卫生研究院卒中量表 (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)^[9] 评分等一般临床资料。

1.2.2 生化指标检测

于患者入院进行溶栓治疗前抽取 2 mL 肘静脉血装于非抗凝真空管, 以 3 500 r/min 转速离心 15 min (离心半径 10 cm), 留取上层血清进行检测尿酸、Hcy 及 Lp(a) 水平, 通过全自动生化分析仪 (瑞士 Roche cobas c701) 检测。

1.2.3 随访

于溶栓后对患者进行为期 3 个月的随访, 采用改良 Rankin 量表 (Modified Rankin scale, mRS)^[10] 进行短期预后的评估: mRS 评分 >2 分, 出现中度至重度残疾或死亡则为预后不良; 若 mRS 评分 ≤2 分, 可在无辅助情况下自行活动则为预后良好。

1.3 统计学方法

所有数据分析通过 SPSS 21.0 统计学软件完成。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 分别采用 *t* 检验和 χ^2 检验进行比较。计数资料以 $n(\%)$ 形式表示, 以 χ^2 检验; 多因素 Logistic 回归模型分析影响患者溶栓预后的因素; ROC 曲线分析血清尿酸、Hcy、Lp(a) 及三者联合检测以预测溶栓预后的价值。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同预后的两组患者资料比较

预后不良组患者年龄、BMI、发病至溶栓时间、有高血压、糖尿病、房颤史占比、大面积梗死占比、入院时 NIHSS 评分、溶栓前 Hcy、Lp(a) 水平均高于预后良好组, 血清尿酸水平则是预后不良组低于预后良好组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

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

项目	预后良好组 (<i>n</i> =82)	预后不良组 (<i>n</i> =43)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄	62.47±3.71	70.52±4.63	10.563	<0.001
性别			0.147	0.702
男	43(52.44)	21(48.84)		
女	39(47.56)	22(51.16)		
BMI(kg/m ²)	22.73±2.69	24.81±2.73	4.086	<0.001
吸烟史			0.520	0.471
有	36(43.90)	16(37.21)		
无	46(56.10)	27(62.79)		
饮酒史			0.512	0.474
有	34(41.46)	15(34.88)		
无	48(58.54)	28(65.12)		
高血压			11.159	0.001
有	26(31.71)	27(62.79)		
无	56(68.29)	16(37.21)		
糖尿病			7.212	0.007
有	29(35.37)	26(60.47)		
无	53(64.63)	17(39.53)		
房颤			12.116	0.001
有	25(30.49)	27(62.79)		
无	57(69.51)	16(37.21)		
梗死面积			11.786	0.001
大面积(梗死灶直径≥5 cm)	22(26.83)	24(55.81)		
非大面积(梗死灶直径<5 cm)	60(73.17)	19(44.19)		
发病至溶栓时间(h)	3.15±0.54	5.30±0.62	20.083	<0.001
入院时 NIHSS 评分	6.13±1.22	9.67±1.51	14.177	<0.001
溶栓前尿酸(μmol/L)	353.58±55.96	282.02±51.42	6.980	<0.001
溶栓前 Hcy(μmol/L)	17.47±2.87	22.14±5.70	6.103	<0.001
溶栓前 Lp(a)(mg/L)	256.64±39.69	298.32±41.43	5.494	<0.001

2.2 多因素 Logistic 回归分析

以溶栓治疗后 3 月预后情况为因变量(1=预后良好, 2=预后不良), 纳入结果 2.1 中 $P < 0.05$ 的项目作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析, 结果显示年龄、入院时 NIHSS 评分、发病至溶栓时间、溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a) 水平均是影响 AIS 患者静脉溶栓预后的独立因素。见表 2。

表 2 急性缺血性脑卒中溶栓预后影响因素的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Logistic regression analysis of factors influencing the prognosis of thrombolysis in acute ischemic stroke

因素	β 值	S.E 值	Wald 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
年龄	1.043	0.459	5.163	2.838	1.154 6.977	0.023
BMI(kg/m ²)	0.392	0.276	2.017	1.48	0.862 2.542	0.156
合并高血压	0.384	0.251	2.341	1.468	0.898 2.401	0.126
合并糖尿病	0.967	1.031	0.880	2.63	0.349 19.841	0.348
房颤史	0.236	0.135	3.056	1.266	0.972 1.650	0.080
大面积梗死	0.723	1.314	0.303	2.061	0.157 27.070	0.582
发病至溶栓时间	0.632	0.271	5.439	1.881	1.106 3.200	0.020
入院时 NIHSS 评分	0.568	0.211	7.247	1.765	1.167 2.669	0.007
溶栓前尿酸	-1.139	0.487	5.470	0.32	0.123 0.832	0.019
溶栓前 Hcy	0.516	0.234	4.863	1.675	1.059 2.650	0.027
溶栓前 Lp(a)	0.489	0.197	6.161	1.631	1.108 2.399	0.013

2.3 溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a) 对溶栓预后的预测价值

ROC 曲线分析结果显示, 溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a) 水平预测急性缺血性脑卒中患者溶栓预后的曲线下面积分别为 0.814、0.760、0.755, 血清尿酸的预测价值稍高; 三者联合检测的曲线下面积为 0.920, 预测效能高于单一检测。见表 3、图 1。

表 3 溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a) 对溶栓预后的预测效能
Table 3 Predictive efficacy of serum uric acid, Hcy and Lp(a) before thrombolytic therapy on prognosis

指标	临界值	AUC	约登指数	敏感度 (%)	特异度 (%)	95% CI	<i>P</i> 值
尿酸	319.08	0.814	0.479	69.0	78.9	0.734-0.894	<0.001
Hcy	23.11	0.760	0.503	97.7	52.6	0.649-0.870	<0.001
Lp(a)	304.91	0.755	0.397	89.7	50.0	0.665-0.846	<0.001
联合检测		0.920	0.753	88.5	86.8	0.868-0.973	<0.001

注: AUC = $[n_1 * n_2 + n_3 * (n_1 + 1)] / 2 - \sum \text{Rank}(1) / n_1 * n_2$, n_1 预后不良病例数; n_2 预后良好病例数; $\sum \text{Rank}(1)$ 1 的秩次总和。

3 讨论

AIS 相关诊治指南推荐的首选治疗方案是在超早期(发病 6 h 内)进行静脉溶栓^[11], 但溶栓治疗仍有不可避免的预后不良风险, 因此, 积极明确

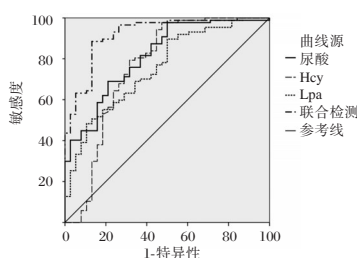


图1 ROC曲线

Figure 1 The ROC curve

AIS 预后的相关影响因素,探索有效的预后预测指标,给予恰当的临床干预,完善治疗方式,对改善患者预后、提高其生存质量意义重大。

本研究结果显示,两组患者年龄、BMI、发病至溶栓时间、合并高血压、糖尿病、房颤等疾病、梗死面积、NIHSS 评分及溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)水平比较,差异均有统计学意义;且患者年龄、发病至溶栓时间、入院时 NIHSS 评分、溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)水平与 AIS 患者静脉溶栓预后均独立相关;相比预后良好组,预后不良组患者年龄更大、发病至溶栓时间更长,有着更高的入院时 NIHSS 评分、血清 Hcy、Lp(a)水平,以及更低水平的血清尿酸,与余青龙等^[12]研究结果相似。

尿酸在血管性疾病的发生发展中具有双面作用:一方面尿酸从加速脂质氧化、上调炎症因子、促进血管平滑肌增殖、激活凝血系统等多个途径推进动脉粥样硬化及血栓形成,使得罹患心脑血管疾病的风险增加;另一方面尿酸又有极强的抗氧化能力,可以清除自由基,对脑缺血后再灌注可能引起的氧化应激具有抑制作用,下调 D-二聚体浓度,增强溶栓作用^[13]。刘婷婷等^[14]研究表明接受静脉溶栓的 AIS 患者具有较高水平血清尿酸与其短期预后良好独立相关。Hcy 是一种含硫氨基酸,参与并加快血管内皮细胞凋亡进程,使得脑血管内皮细胞受损,泡沫细胞增多,血管内膜变厚;同时促进血管局部炎症病灶炎症因子的释放,加强炎症反应,加重血管局部损伤。研究表明在 AIS 预后不良患者中的确 Hcy 呈现高水平,认为可能是上述过程使得 rt-PA 静脉溶栓效果受到影响^[15]。Lp(a)是由二硫键连接载脂蛋白 A、B 组成的一种特殊脂蛋白,在肝脏中合成。Lp(a)与纤维蛋白溶解酶原高度同源,可与其受体结合,进而影响纤维蛋白溶解酶原生物学活性,使血液处于高凝状态,从而促进动脉粥样硬化斑块及血栓的形

成与发展。张玉敏等^[16]研究发现在 AIS 预后不良患者中 Lp(a)水平同样升高,对于 AIS 预后有一定预测价值。本研究结果显示预后不良组患者具有较高水平 Hcy 和 Lp(a),以及较低水平的血清尿酸,与既往研究一致。进一步绘制 ROC 曲线分析血清尿酸、Hcy、Lp(a)水平对 AIS 患者溶栓预后的预测价值,结果显示三者单独检测的曲线下面积为 0.814、0.760、0.755,均有一定预测价值,三者联合检测的曲线下面积为 0.920,高于各指标单独检测。

综上所述,溶栓前血清尿酸、Hcy、Lp(a)是影响 AIS 患者静脉溶栓近期预后的独立危险因素,三者联合检测对于 AIS 患者溶栓治疗预后具有较高预测价值,或可作为检测指标,为临床治疗方案的完善提供参考。

参考文献

- [1] 李虎,花军. 外周血 CTRP9、HMGB1 及 CRP 水平对 AIS 患者静脉溶栓后出血转化的预测作用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(11):1842-1845.
- [2] 廖永凤,温玉媚,邓艳丽,等. 急性脑梗死后认知功能障碍特征及影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(8): 1024-1026.
- [3] 常红,张素,范凯婷,等. 急性缺血性脑卒中静脉溶栓护理指南[J]. 中华护理杂志, 2023, 58(1):10-15.
- [4] Rabinstein AA. Update on Treatment of Acute Ischemic Stroke[J]. Continuum (Minneapolis), 2020, 26(2): 268-286.
- [5] 陈燕,张秋,尤年兴,等. 急性缺血性脑卒中静脉溶栓后神经功能恢复及脑出血转化发生的影响因素分析[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(11):1340-1345.
- [6] Liu M, Fan F, Liu B, et al. Joint Effects of Plasma Homocysteine Concentration and Traditional Cardiovascular Risk Factors on the Risk of New-Onset Peripheral Arterial Disease[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2020, 13(9):3383-3393.
- [7] 李积薇,余广平,朱江. 急性缺血性脑卒中患者血清脂蛋白(α)水平及临床意义评估[J]. 吉林医学, 2020, 41(7): 1682-1683.
- [8] 郭伟,李斗,彭鹏. 急性缺血性脑卒中急诊急救中国专家共识(2018)[J]. 临床急诊杂志, 2018, 19(6):351-359.
- [9] 褚晓娜. 早期强化认知对卒中患者生活质量和认知功能的影响[J]. 中国慢性病预防与控制, 2018, 26(10):779-782.
- [10] 杨丹丹,蒋琳芝,李丽燕,等. 预后营养指数对老年急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓后短期功能预后的预测价值[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2023, 25(1):39-43.
- [11] Eivind B, William W, Heinrich A, et al. European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke[J]. Eur Stroke J, 2021, 6(1): I-LXII.

(下转第 957 页)

iCubate-iC 血培养快速检测系统与血培养传统鉴定药敏一致性评估

刘振嘉 范欣 毛熠 张丹 杨春霞*

[摘要] 目的 评估基于PCR扩增荧光探针捕获技术的iCubate-iC血培养快速检测系统与血培养传统鉴定药敏结果的一致性。方法 本次评估入组了首都医科大学附属北京朝阳医院2017年11月26日至2018年4月18日的121例临床血液细菌培养阳性标本。以临床常规培养鉴定结果及体外药敏结果为参考方法,验证iCubate-iC系统鉴定结果及耐药位点检出的一致性。结果 对比MALDI-TOF质谱鉴定结果,iCubate-iC系统鉴定符合率达到95.9%(116/121)。有4例假阴性结果,所有靶标显示“未检出”。iCubate-iC系统成功检出1例金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的混合样本,而1例大肠埃希菌和铜绿假单胞菌复合样本漏检了铜绿假单胞菌。iC-GPC检出的31例葡萄球菌中,有18例检出了*mecA*基因,其中有1例表皮葡萄球菌检出*mecA*,但其体外药敏结果显示对头孢西丁敏感。肠球菌中有1例检出*vanA*基因,但万古霉素体外药敏检测敏感。*CTX-M* group1基因检测与β内酰胺类药物的吻合性不理想,但革兰氏阴性菌碳青霉烯酶基因(*KPC*、*NDM*)检测结果与碳青霉烯类药物的药敏结果能够完全吻合。结论 iCubate-iC检测系统对于临床常见引起血流感染细菌的检测结果可靠,且具有快速简便的优点,为引起血流感染细菌的快速诊断提供了有力工具。

[关键词] 血流感染;血培养;快速鉴定;耐药基因

Consistency assessment between iCubate - iC blood culture rapid detection system and traditional blood culture identification of drug susceptibility

LIU Zhenjia, FAN Xin, MAO Yi, ZHANG Dan, YANG Chunxia*

(Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Beijing Institute of Respiratory Medicine and Beijing Chao-Yang Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100020)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate consistency of blood culture traditional identification and antimicrobial susceptibility with a PCR amplification/fluorescence-labeled probe capture-based system, the iCubate-iC assay, for rapid detection of blood culture positive specimens. **Methods** A total of 121 clinical blood culture positive specimens from November 26, 2017 to April 18, 2018 were enrolled in this study. The consistency of the identification and resistance marker detection of the iCubate-iC system was evaluated against clinical routine culture identification and *in vitro* antimicrobial susceptibility results. **Results** The identification of 95.9% (116/121) samples using iCubate-iC assay agreed with the results of MALDI-TOF MS. There were four false negative results, all of which showed “not detected” for the corresponding iCubate-iC target probes. It is worth noting that a specimen containing both *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* was correctly detected by the iCubate-iC assay. In composite samples of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, was not detected. Among 31 staphylococci isolates, 18 were positive for *mecA* by iC-GPC. However, one *S. epidermidis* isolate was susceptible to cefoxitin *in vitro*. Only one enterococci isolate was positive for *vanA*, but it was susceptible to vancomycin *in vitro*. Results for detecting carbapenemase-encoding genes (such as *KPC* and *NDM*) were consistent with *in vitro* antimicrobial susceptibility testing. The consistency between ESBL gene (*CTX-M*

作者单位:首都医科大学附属北京朝阳医院-北京市呼吸疾病研究所感染和临床微生物科,北京 100020

*通信作者:杨春霞, E-mail: yangchunx207@163.com

group1) and β lactam drugs *in vitro* was unsatisfactory, but the results for detecting carbapenemase-encoding genes (*KPC* and *NDM*) were consistent with *in vitro* antimicrobial susceptibility testing. **Conclusion** The iCubate-iC system is reliable for detecting common bloodstream infection bacteria in clinical settings. It offers the advantages of being rapid and simple, making it a powerful tool for quickly diagnosing bloodstream infections.

[KEY WORDS] Blood stream infection (BSI); Blood culture; Rapid detection; Antimicrobial resistant gene

血流感染是医院重症患者最重要的感染性并发症之一^[1],因此血培养病原的快速诊断对于挽救患者生命、缩短住院时间、节省医疗成本都有非常重要的意义^[2]。同时,检测临床重要耐药基因位点,更能指导临床用药,减少抗生素的应用,遏制细菌耐药的发生发展。临床常规操作是阳性的血培养传种至固体培养基,培养18~24小时后进行鉴定药敏,结果回报大致需要3~4天。而iCubate-iC系统在血培养报警后直接上机通过PCR扩增,探针捕获的方法能够实现血液细菌培养阳性标本的快速鉴定以及耐药基因的检测,整个分析大约在4.5小时内完成,大幅度缩短了结果回报的时长。虽然已经有研究评估了iCubate-iC系统对于模拟样本的检测效能,但是由于不同基础疾病患者的血液成分与健康人差异较大,这可能影响检测的准确性和可靠性。因此,本研究将评估iCubate-iC系统对于临床真实样本检测结果与临床金标准方法的一致性,这将为该产品的临床应用和推广提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 样本收集

根据iCubate-iC系统产品介绍,该系统可检测的革兰氏阳性菌包括:金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、肺炎链球菌;可检测的革兰氏阴性菌包括:肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、粘质沙雷菌、嗜麦芽窄食单胞菌、奇异变形杆菌、大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、枸橼酸杆菌。

为更好地验证其在临床真实样本中的检测效能,本研究收集了首都医科大学附属北京朝阳医院2017年11月26日至2018年4月18日常规标准血液培养流程鉴定的,在产品检测范围内的所有血液细菌培养阳性标本121例,其中革兰氏阳性样本51例,革兰氏阴性样本70例。其中有1例为金黄色葡萄球菌与表皮葡萄球菌混合感染样本;另有1例为大肠埃希菌与铜绿假单胞菌混合感染

样本。据常规标准流程鉴定结果,本次评估覆盖iCubate iC-GPC所有的五种革兰氏阳性菌,以及iCubate iC-GNC的五种革兰氏阴性菌,评估期间并未检出其余五种革兰氏阴性菌:产酸克雷伯菌、粘质沙雷菌、嗜麦芽窄食单胞菌、奇异变形杆菌、枸橼酸杆菌,故未纳入研究。本研究已通过院医学伦理委员会批准。

1.2 方法及质控

传统方法为通过CNAS认可实验室常使用的方法^[3]:菌种MALDI-TOF质谱鉴定采用法国梅里埃Vitek MS系统。药物敏感性试验采用梅里埃Vitek 2 Compact结合纸片扩散法进行。质谱鉴定用大肠埃希菌ATCC 8739进行质控和图谱峰值校正,室内质控菌为产气肠杆菌ATCC 13048。梅里埃Vitek 2 Compact按照CNAS-CL028临床微生物检验程序验证指南进行验证,药敏室内质控菌为金黄色葡萄球菌ATCC29213和大肠埃希菌ATCC25922^[3],结果均在质控范围内。

iCubate-iC系统是由万孚和美国iCubate公司共同研发的基于多重PCR专利技术的全自动一体化分子核酸检测系统。iCubate-iC系统由自动处理器、读卡器和一次性使用的封闭系统试剂盒组成,该测试盒包括细胞裂解、核酸提取、捕获探针和扩增所需的所有试剂。该系统目前主要应用于病原微生物鉴定和耐药基因检测。

1.3 研究设计

血培养阳性报警后,进行常规标准流程鉴定及药敏检测^[4]。转种固体培养基后,挑取单菌落进行菌种鉴定及药物敏感性试验。菌种鉴定采用法国梅里埃Vitek MS系统。药物敏感性试验采用梅里埃Vitek 2 Compact结合纸片扩散法进行。在此过程中,根据检出菌种的鉴定结果,筛选iCubate-iC系统可检出的血培养阳性样本,选用iCubate iC-GNC或GPC试剂卡盒进行上机检测。根据标准流程检验结果,验证iCubate-iC系统鉴定结果及耐药位点检出的准确性。

2 结果

2.1 菌种鉴定结果评估

对比以培养为基础的标准检测 MALDI-TOF 质谱鉴定结果, iCubate-iC 系统鉴定符合率达到 95.9% (116/121)。本次评估, 未检出假阳性结果, 但有 1 例表皮葡萄球菌、1 例金黄色葡萄球菌以及 2 例大肠埃希菌样本出现假阴性结果, 显示所有靶标“未检出”。iCubate-iC 系统成功检出 1 例金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的混合样本。但大肠埃希菌和铜绿假单胞菌复合样本, iCubate-iC 检测系统仅检出大肠埃希菌, 漏检了铜绿假单胞菌。见表 1。

表 1 血培养快速检测系统 iCubate iC-GNC/GPC 与血液培养阳性标本细菌鉴定结果比较

Table 1 Comparison results of iCubate iC-GNC/GPC rapid blood culture detection system and bacteria identification of blood culture

菌种名称	iCubate-iC 系统 检出例数	血液培养阳性 标本细菌鉴定 例数	
革兰氏阳性菌 (n=51)	表皮葡萄球菌	21	22
	金黄色葡萄球菌	11	12
	屎肠球菌	10	10
	粪肠球菌	5	5
	肺炎链球菌	3	3
革兰氏阴性菌 (n=70)	大肠埃希菌	36	38
	肺炎克雷伯菌	21	21
	阴沟肠杆菌	6	6
	铜绿假单胞菌	3	4
	鲍曼不动杆菌	2	2

注: 样本中 1 例为金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的混合感染, 1 例为大肠埃希菌和铜绿假单胞菌感染。

2.2 iCubate-iC 系统革兰氏阳性鉴定卡盒 iC-GPC 耐药基因检测评估

iC-GPC 仅检测 *mecA* 与 *vanA/vanB*。在 iCubate-iC 系统成功检出的 31 例葡萄球菌中, *mecA* 基因检出率 58.1% (18/31), 与体外药物敏感性检测结果(头孢西丁耐药)一致性较好, 仅有 1 例表皮葡萄球菌检出 *mecA*, 但体外药敏结果显示对头孢西丁敏感。另外, 15 例肠球菌中有 1 例检出 *vanA* 基因, 但万古霉素体外药敏检测敏感。

2.3 iCubate-iC 系统革兰氏阴性鉴定卡盒 iC-GNC 耐药基因检测评估

iC-GNC 碳青霉烯酶基因 (*KPC*、*NDM*) 检测结果与碳青霉烯类药物(亚胺培南、美罗培南)的药敏结果能够完全吻合; 但 ESBL 基因 (*CTX-M*

group1) 检测与 β 内酰胺类药物的吻合性较差, 14 株 ESBL 表型阳性的肠杆菌科细菌中只有 2 株检出了 *CTX-M* group1 基因。本研究纳入的 70 例革兰氏阴性菌血培养样本中, 共有 9 例检出耐药基因, 其中 7 株为肺炎克雷伯菌, 2 株为大肠埃希菌。6 例肺炎克雷伯菌都检出 *KPC* 基因; 其中有 3 例在此基础上同时检出了 *CTX-M* group1 基因。另一株肺炎克雷伯菌仅检出 *CTX-M* group1 基因。1 株大肠埃希菌中同时检出 *NDM* 基因及 *CTX-M* group1 基因; 另一株大肠埃希菌检出 *CTX-M* group1 基因。此次评估未检出除上述之外的其他耐药基因。

3 讨论

血液细菌培养阳性标本的快速检测对于临床血流感染治疗有着非常重要的指导意义, 同时也是近年来微生物实验诊断技术发展的重要方向之一^[5]。目前探索较多的方法包括 MALDI-TOF 质谱技术、荧光定量 PCR、微阵列芯片、荧光原位杂交、数字 PCR 等^[6-8]。但是受限于设备、成本、操作复杂程度等因素, 许多方法目前仍然没有能够在国内临床普及应用。

iCubate-iC 血培养快速检测系统可以鉴定的 15 种细菌与 2018-2019 年度全国血流感染细菌耐药监测报告中引起血流感染的细菌种类基本相符^[9], 表明其系统设计符合临床需求。经本次评估, iCubate-iC 系统在菌种鉴定方面与传统培养方法一致率高达 95.9%, 与之前的评估结果一致^[10-11], 但仍然有漏检的情况。从 iCubate-iC 系统检测原理分析, PCR 扩增靶标部位发生了基因突变, 或者患者血液中含有抑制物等都有可能造成漏检。同时, 两种细菌混合样本, 也不排除扩增竞争的可能。iCubate-iC 系统亟待解决 PCR 扩增体系抑制和底物竞争的问题。

虽然细菌有多种耐药机制, 但产酶仍是细菌耐药的主要原因。通过检测细菌的耐药位点预测体外药敏情况, 有望为临床抗生素选择提供实验室依据。在本次评估中, iCubate-iC 系统仅能够检测葡萄球菌中的 *mecA* 基因, 但除了 *mecA* 基因, *mecB*、*mecC* 以及 *PBP4* 基因也能够导致甲氧西林和其他的 β 内酰胺类药物耐药^[12-14]。同时, 我国血流感染肠杆菌科细菌 ESBLs 的发生率较高, 且各地区酶型分布不同^[15], 但该体系仅检测 *CTX-M* group1 基因, 并不能检测 *SHV* 和 *TEM* 和 *AmpC* 基

因,因此 iCubate-iC 系统对于 β 内酰胺类药物敏感性的预测能力有限。iCubate-iC 系统能够检测的碳青霉烯酶基因型相对比较全面,覆盖了临床常见的 A 类丝氨酸酶 KPC、B 类金属酶 IMP、NDM、VIM 和 D 类苯唑西林酶 OXA^[16-17],本次评估中革兰阴性菌碳青霉烯酶基因检测结果与碳青霉烯类药物的药敏结果完全一致。铜绿假单胞菌对碳青霉烯类耐药的主要机制的孔蛋白(OprD)的缺失,而非产酶^[18-19],所以 iCubate-iC 系统对于铜绿假单胞菌药物敏感性的预测能力不佳。因此,iCubate-iC 系统对革兰氏阴性菌碳青霉烯类药物敏感性的预测还要根据菌种鉴定结果综合分析。

本研究的评估样本全部为临床真实血培养样本,并未纳入标准菌株的模拟样本,一方面是因该产品在国外已经有相应的模拟样本(标准菌株模拟样本)的评估,同时也有与其他快速诊断系统的性能比较。iCubate-iC 系统对五种革兰氏阳性细菌(金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎链球菌、粪肠球菌和屎肠球菌)的鉴定灵敏度为 93.8%~100%,特异度为 98.0%~100%,100 CFU/mL 的模拟阳性肉汤在 iCubate-iC 系统中仍可进行分析。iCubate-iC 与 Luminex 产品具有很好的一致性^[10-11]。另一方面,相比于标准菌株制备的模拟样本,临床真实血培养样本更加复杂。例如,不同基础疾病(血液病、高脂血症、糖尿病等)会导致血液有形成分、血浆成分变化,从而影响检测的准确性和可靠性,因此,本研究评估结果对于该产品的临床应用有重要价值。

iCubate-iC 检测系统对于临床常见引起血流感染细菌的检测结果可信度高,但对部分抗菌药物敏感性预测能力欠缺,亟待进一步完善。iCubate-iC 鉴定系统相比于其他方法的优势在于操作流程简单,并且采用封闭的一次性检测试剂盒,有效避免了病原体气溶胶的产生以及扩增污染^[10-11]。而且本次评估纳入的全部样本均为临床真实血培养样本,相比于实验室标准菌株的模拟样本,本次评估样本的复杂程度更高,对于该系统今后的实际临床应用更具有指导意见。

参考文献

- [1] Bharadwaj R, Bal A, Kapila K, et al. Blood stream infections [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014:515273.
- [2] Timsit JF, Ruppe E, Barbier F, et al. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement [J]. Intensive Care Med, 2020, 46(2):266-284.
- [3] 中国合格评定国家认可委员会. 临床微生物检验程序验证指南: CNAS GL028-2018[S]. 2018.
- [4] Towns ML, Jarvis WR, Hsueh PR. Guidelines on blood cultures[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2010, 43(4):347-349.
- [5] Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA, et al. Bloodstream infections - Standard and progress in pathogen diagnostics [J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(2):142-150.
- [6] Poole S, Kidd SP, Saeed K. A review of novel technologies and techniques associated with identification of bloodstream infection etiologies and rapid antimicrobial genotypic and quantitative phenotypic determination[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(6):543-555.
- [7] Wouters Y, Dalloyaux D, Christenhusz A, et al. Droplet digital polymerase chain reaction for rapid broad-spectrum detection of bloodstream infections[J]. Microb Biotechnol, 2020, 13(3):657-668.
- [8] Luethy PM, Johnson JK. The Use of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) for the Identification of Pathogens Causing Sepsis[J]. J Appl Lab Med, 2019, 3(4):675-685.
- [9] 陈云波,嵇金如,应超群,等. 2018至2019年度全国血流感染细菌耐药监测报告[J]. 中华临床感染病杂志, 2021, 14(1):32-45.
- [10] Buchan BW, Reymann GC, Granato PA, et al. Preliminary Evaluation of the Research-Use-Only (RUO) iCubate iC-GPC Assay for Identification of Select Gram-Positive Bacteria and Their Resistance Determinants in Blood Culture Broths [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(12):3931-3934.
- [11] Granato PA, Unz MM, Widen RH, et al. Clinical Evaluation of the iCubate iC-GPC Assay for Detection of Gram-Positive Bacteria and Resistance Markers from Positive Blood Cultures [J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(9):e000485.
- [12] Becker K, van Alen S, Idelevich EA, et al. Plasmid-Encoded Transferable mecB - Mediated Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* [J]. Emerg Infect Dis, 2018, 24(2):242-248.
- [13] da Costa TM, de Oliveira CR, Chambers HF, et al. PBP4: A New Perspective on *Staphylococcus aureus* beta-Lactam Resistance [J]. Microorganisms, 2018, 6(3):57.
- [14] Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Trends Microbiol, 2014, 22(1):42-47.
- [15] Quan J, Zhao D, Liu L, et al. High prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in community-onset bloodstream infections in China [J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(1):273-280.
- [16] Cui X, Zhang H, Du H. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Detection and Antimicrobial Therapy [J]. Front Microbiol, 2019, 10:1823.

正畸患者口腔细菌感染情况及对血清、龈沟液 PAK5、IL-6、IL-8 水平的影响

郭红燕 吴福焱 孙晓辉 田丽丽*

[摘要] **目的** 分析正畸患者口腔细菌感染情况及对血清、龈沟液 p21 活化激酶 (PAK5)、白介素-6 (IL-6)、白介素-8 (IL-8) 水平的影响。**方法** 回顾性分析 2020 年 12 月至 2022 年 12 月间聊城市第四人民医院口腔科门诊收治的 446 例正畸治疗患者临床资料, 分析治疗 1 周后患者口腔感染情况, 并按是否感染分为感染组和非感染组, 分离并培养感染组患者口腔感染病原菌, 分析病原菌分布情况, 并记录药敏试验结果。比较两组治疗前、治疗 1 周后龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 水平, 绘制 ROC 曲线评估龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 预测口腔感染的效能。**结果** 纳入患者中, 感染 45 例, 感染率为 10.09%; 45 例正畸治疗口腔感染患者共培养分离出 83 株病原菌, 有 3 例患者合并 2 种病原菌感染; 革兰阳性菌 38 株, 占比 45.78%; 革兰阴性菌 45 株, 占比 54.22%; 病原菌分布中占比前三位是肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌; 革兰阳性菌中青霉素耐药率最高, 革兰阴性菌中阿莫西林/克拉维酸耐药率最高。治疗前, 两组龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 治疗 1 周后, 两组龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 均高于治疗前, 且感染组高于非感染组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。ROC 曲线显示: 治疗后龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 是预测正畸治疗口腔感染的有效指标 ($P<0.05$)。**结论** 正畸患者口腔感染病原菌中革兰阴性菌占比较高, 监测正畸患者治疗 1 周后的龈沟液及血清 IL-6、IL-8、PAK5 水平有利于评估其口腔感染发生风险。

[关键词] 正畸治疗; 口腔感染; 病原菌; 白介素-6; 白介素-8; p21 活化激酶

Oral bacterial infection in orthodontic patients and its impact on serum and gingival crevicular fluid PAK5, IL-6, and IL-8 levels

GUO Hongyan, WU Fuyan, SUN Xiaohui, TIAN Lili *

(Dental Clinic, Liaocheng Fourth People's Hospital, Liaocheng, Shandong, China, 252000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the oral bacterial infection status in orthodontic patients and its effects on p21 activated kinase (PAK5), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-8 (IL-8) in serum and gingival crevicular fluid. **Methods** The clinical data of 446 patients undergoing orthodontic treatment at the Department of Stomatology at Liaocheng Fourth People's Hospital were retrospectively analyzed from December 2020 to December 2022. The oral infection status of patients after one week of treatment was assessed, and they were divided into an infection group and a non-infection group based on their infection status. Pathogenic bacteria causing oral infections in the infected group were isolated, cultured, and analyzed for distribution, as well as tested for drug sensitivity. Levels of IL-6, IL-8, and PAK5 in gingival crevicular fluid and serum were compared between the two groups before treatment and after one week of treatment. ROC curves were generated to assess the effectiveness of IL-6, IL-8, and PAK5 in predicting oral infections based on their levels in gingival crevicular fluid and serum. **Results** Among the 446 enrolled patients, 45 cases were infected, resulting in an infection rate of 10.09%. A total of 83 strains of pathogenic bacteria were cultured and isolated, with 3

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目 (202007100610)

作者单位: 聊城市第四人民医院口腔门诊, 山东, 聊城 252000

*通信作者: 田丽丽, E-mail: xnlwys@sina.com

patients identified as having dual infections with two strains of pathogenic bacteria. Of these strains, 38 strains were Gram-positive bacteria, accounting for 45.78%, while 45 strains were Gram-negative bacteria, accounting for 54.22%. The most common pathogenic bacteria identified were *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* and *Porphyromonas gingivalis*. The highest resistance rate among Gram-positive bacteria was to penicillin, while among Gram-negative bacteria, it was to amoxicillin/clavulanic acid. Prior to orthodontic treatment, there were no statistically significant differences in the levels of IL-6, IL-8, and PAK5 in gingival crevicular fluid and serum between the two groups ($P>0.05$). After one week of treatment, levels of IL-6, IL-8, and PAK5 in both the gingival crevicular fluid and serum of both groups increased significantly compared to before treatment ($P<0.05$). Furthermore, levels in the infection group were higher than those in the non-infection group ($P<0.05$). ROC curves showed that IL-6, IL-8, and PAK5 in gingival crevicular fluid and serum after treatment were effective indicators for predicting oral infection following orthodontic treatment ($P<0.05$).

Conclusion Gram-negative bacteria account for a higher proportion of pathogenic bacteria in oral infections among orthodontic patients. Monitoring levels of IL-6, IL-8, and PAK5 in gingival crevicular fluid and serum during the early stages of treatment can help assess the risk of oral infections in orthodontic patients.

[KEY WORDS] Orthodontic treatment; Oral infections; Pathogenic bacteria; Interleukin-6; Interleukin-8; p21 activated kinase

正畸治疗主要通过对牙齿施加正畸力,引导牙周组织改建,从而改变牙齿在牙槽骨内的位置^[1-2]。正畸治疗过程中,口外弓和微种植体的直接接触和机械牵引均能形成不良刺激,引发疼痛、炎症和感染^[3-4]。同时,口腔内存在大量微生物,在创伤等外力影响下,易发生口腔感染^[5]。评估正畸治疗感染患者口腔病原菌分布,有利于控制临床感染,减少多重耐药菌群增加。动物实验显示,施加正畸力后,健康兔和口腔感染兔下龈沟液中炎症因子水平具有显著差异^[6]。现阶段正畸患者口腔感染风险较高,但相关血清学指标预测的研究较少。对此,本研究将回顾性分析446例正畸治疗后口腔感染患者的临床资料,以了解患者病原菌分布及耐药性,并探讨口腔感染对机体炎症水平的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析2020年12月至2022年12月间聊城市第四人民医院口腔科门诊收治的正畸治疗患者临床资料。纳入标准:于本院行正畸治疗者;初次行正畸治疗者;年龄 >12 岁者。排除标准:正畸治疗前合并消化系统或呼吸系统感染者;合并器官功能障碍、免疫系统疾病者;治疗前合并龋齿、牙周炎者;近期有抗炎药用药史者。根据纳入排除标准,最终446例被纳入本研究,纳入患者中,男性156例,女性290例,平均 (19.16 ± 6.81) 岁。

1.2 标本采集

龈沟液采集:于治疗前、治疗1周后,实验牙以棉卷隔湿,轻吹1 min后,将无菌滤纸条垂直插入实验牙的唇侧近中和远中两个位点龈沟内,停留30 s后取出保存。血清采集:于治疗前、治疗1周后,消毒患者皮肤后按照采血标准流程收集患者外周静脉血3 mL,离心(离心半径10 cm, 3 000 r/min, 10 min)后收集上清液保存。

1.3 病原菌检测及分组

将采集的龈沟液标本接种于巧克力平板中,严格按照《全国临床检验操作规程》^[7]进行病原菌分离与鉴定(全自动微生物鉴定仪)。药敏试验采用琼脂扩散法(K-B)法,判断标准按照2018年美国临床实验室标准化协会标准判断药敏结果^[8]。根据患者病原菌培养检测结果分为感染组和非感染组。

1.4 实验室指标检测

于治疗前、治疗1周后,采用所有患者酶联免疫法分别测定龈沟液和血清中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)、p21活化激酶(p21 activated kinase, PAK5)水平,试剂盒由上海酶联生物研究所提供,检测流程严格按照试剂盒说明书及仪器使用手册。

1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件分析数据。计量数据以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组间比较行独立样本 t 检验,同组治疗前后比较采取配对样本 t 检验;计数数据以 $[n(\%)]$ 表示,组间比较行 χ^2 检验;绘制ROC曲线

评估龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 预测口腔感染的效能。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正畸患者口腔感染情况及病原菌分布情况

纳入患者中,感染 45 例,感染率为 10.09%;45 例正畸治疗口腔感染患者共培养分离出 83 株病原菌,有 3 例患者合并 2 种病原菌感染。83 株病原菌中革兰阳性菌 38 株,占比 45.78%;革兰阴性菌 45 株,占比 54.22%。病原菌分布中占比前三位是肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌,见表 1。

表 1 正畸患者口腔感染情况及病原菌分布情况
Table 1 Oral infection status and distribution of pathogenic bacteria in orthodontic patients

病原菌	株数	占比(%)
革兰阳性菌	38	45.78
表皮葡萄球菌	15	18.07
金黄色葡萄球菌	11	13.25
溶血性链球菌	6	7.23
肺炎链球菌	3	3.61
粪肠球菌	3	3.61
革兰阴性菌	45	54.22
肺炎克雷伯菌	17	20.48
牙龈卟啉单胞菌	14	16.87
铜绿假单胞菌	9	10.84
鲍氏不动杆菌	5	6.02

2.2 正畸患者口腔感染病原菌耐药性分析

革兰阳性菌中青霉素耐药率最高,革兰阴性菌中阿莫西林/克拉维酸耐药率最高,见表 2。

表 2 正畸患者口腔感染病原菌耐药性分析
Table 2 Analysis of drug resistance of pathogenic bacteria in oral infections of orthodontic patients

抗菌药物	革兰阳性菌 (n=38 株)		革兰阴性菌 (n=45 株)	
	株数	耐药率(%)	株数	敏感率(%)
青霉素	35	92.11		
苯唑西林	19	50.00		
环丙沙星	9	23.68		
左氧氟沙星	8	21.05	1	2.22
红霉素	29	76.32		
复方新诺明	6	15.79	5	11.11
万古霉素				
哌拉西林			20	44.44
阿莫西林/克拉维酸			3	66.67
头孢他啶			18	40.00
头孢噻肟			11	24.44
亚胺培南			1	2.22
阿米卡星			1	2.22
庆大霉素			2	4.44

2.3 两组正畸患者龈沟液实验室指标水平比较

治疗前,两组龈沟液 IL-6、IL-8、PAK5 水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗 1 周后,两组龈沟液 IL-6、IL-8、PAK5 均高于治疗前,且感染组高于非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

2.4 两组正畸患者血清实验室指标水平比较

治疗前,两组血清 IL-6、IL-8、PAK5 水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗 1 周后,两组血清 IL-6、IL-8、PAK5 均高于治疗前,且感染组高于非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 3 两组正畸患者龈沟液实验室指标水平比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $\mu\text{g/L}$]

Table 3 Comparison of gingival crevicular fluid laboratory indexes between the two groups [$(\bar{x}\pm s)$, $\mu\text{g/L}$]

组别	n	IL-6		IL-8		PAK5	
		治疗前	治疗 1 周后	治疗前	治疗 1 周后	治疗前	治疗 1 周后
感染组	45	63.32±7.46	82.78±15.64 ^a	71.17±55.43	496.37±45.48 ^a	25.45±4.81	33.74±5.48 ^a
非感染组	401	61.71±6.91	67.35±11.17 ^a	360.60±50.61	434.78±58.72 ^a	24.72±4.96	27.02±4.76 ^a
t 值		1.470	8.396	1.316	6.808	0.939	8.839
P 值		0.142	<0.001	0.189	<0.001	0.348	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

表 4 两组正畸患者血清实验室指标水平比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $\mu\text{g/L}$]

Table 4 Comparison of serum laboratory indexes between the two groups of orthodontic patients [$(\bar{x}\pm s)$, $\mu\text{g/L}$]

组别	n	IL-6		IL-8		PAK5	
		治疗前	治疗 1 周后	治疗前	治疗 1 周后	治疗前	治疗 1 周后
感染组	45	55.20±9.51	76.56±13.26 ^a	359.15±73.66	501.79±89.83 ^a	3.02±0.67	4.40±0.72 ^a
非感染组	401	54.12±10.60	62.92±9.61 ^a	347.91±70.06	417.47±71.97 ^a	3.14±0.71	3.73±0.59 ^a
t 值		0.654	8.649	1.015	7.254	1.081	7.054
P 值		0.513	<0.001	0.311	<0.001	0.280	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.5 治疗1周后实验室指标预测口腔感染效能
ROC曲线显示:治疗后龈沟液、血清IL-6、IL-8、

PAK5是预测正畸治疗口腔感染的有效指标($P < 0.05$),见表5及图1~2。

表5 治疗1周后实验室指标预测口腔感染效能

Table 5 Efficacy of laboratory indexes on prediction of oral infections after 1 week of treatment

实验室指标	截断值	AUC	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数	95% CI	
龈沟液	IL-6	74.18	0.813	76.25	80.00	0.5625	0.731~0.878
	IL-8	480.58	0.796	70.00	77.50	0.4750	0.713~0.864
	PAK5	30.15	0.817	73.75	77.50	0.5125	0.736~0.881
血清	IL-6	78.48	0.793	46.25	97.50	0.4375	0.709~0.862
	IL-8	457.98	0.778	71.25	85.00	0.5625	0.693~0.848
	PAK5	3.86	0.762	77.50	65.00	0.4250	0.676~0.835

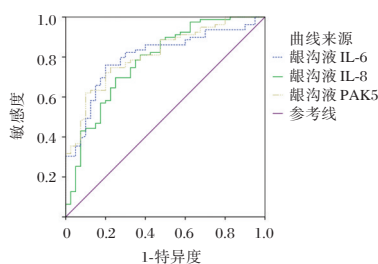


图1 治疗1周后龈沟液IL-6、IL-8、PAK5预测口腔感染ROC曲线

Figure 1 ROC curves of prediction of oral infections by IL-6, IL-8 and PAK5 in gingival crevicular fluid after 1 week of treatment

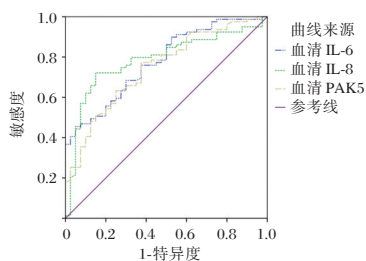


图2 治疗1周后血清IL-6、IL-8、PAK5预测口腔感染ROC曲线

Figure 2 ROC curves of prediction of oral infections by IL-6, IL-8 and PAK5 in serum after 1 week of treatment

3 讨论

正畸治疗会改变患者口腔内环境,影响菌群平衡。有研究指出,健康的口腔内环境以革兰阳性菌为主,而发现感染或炎症时,革兰阴性菌增多,并占有主导地位^[9]。本研究纳入患者中,口腔感染率为10.09%,且病原菌以革兰阴性菌为主,占比54.22%,基本与其他类似研究一致^[10]。在病原菌分布占比前三位分别是,肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌和牙龈卟啉单胞菌,说明口腔感染患者感染来源可能是呼吸道、泌尿道等。其中青霉素是

革兰阳性菌中耐药率最高的抗菌药,阿莫西林/克拉维酸是革兰阴性菌耐药率最高的药物。推测其原因是青霉素和阿莫西林在临床广泛应用,更易出现耐药菌群。口腔感染严重影响患者正畸效果,因此应在治疗前进行药敏试验,为患者选择敏感的抗菌药物,提高疗效。

IL-6是多功效细胞因子,不仅参与牙周炎活动期的炎症和免疫反应,还可激活中性粒细胞并促进单核细胞及T细胞释放肿瘤坏死因子等其他细胞因子;IL-8也是参与口腔感染进程中的重要细胞因子,可导致瀑布式炎症反应^[11-12]。PAK5是存在于牙胚细胞中的蛋白,在细胞生长、增殖、分化中有重要作用,其表达水平在正畸治疗过程中呈升高趋势^[13]。本研究显示,治疗1周后,两组龈沟液、血清IL-6、IL-8、PAK5水平均较前上升,反映了正畸治疗对患者口腔状况的影响。一方面,正畸治疗通过机械作用来促进牙周组织改建,会给口腔带来局部刺激;另一方面,正畸治疗需要将托槽与牙釉质进行粘连,对口腔清洁产生负面影响^[14]。应激反应和创伤,均会导致炎症因子水平上升,患者也易发生菌群失调,继而导致外源菌种植,发生口腔感染。在组间比较中发现,感染组治疗1周后龈沟液、血清实验室指标水平均高于非感染组,正畸治疗口腔感染者呈现出早期高炎症反应的现象,可能提示其口腔感染高风险。

本研究采取ROC曲线评估治疗1周后实验室指标预测口腔感染的效能,结果显示,龈沟液和血清IL-6、IL-8、PAK5均能有效预测正畸治疗口腔感染,且龈沟液各指标的预测ACU值均明显高于其对应血清指标。分析原因认为,龈沟液来源于机体牙周组织,当正畸牙受力之后,深部的牙周组织改变会造成龈沟液流量及成分上的变化^[15-16],故龈沟液较血清能更直接、更显著地反映患者口腔健康状况。在临床实际应用中,考虑评估效能,优先

推荐龈沟液标本作为评估样本,但采集血清标本较采集龈沟液更方便快捷,可根据需求进行选择,并建议临床综合评估两种或以上指标以降低预测的假阳性率。

综上所述,正畸患者口腔感染病原菌以革兰阴性菌为主,肺炎克雷伯菌占比最高。正畸治疗后患者龈沟液、血清 IL-6、IL-8、PAK5 水平均明显上升,均是预测口腔感染的有效指标,且龈沟液预测价值更高。

参考文献

- [1] 樊秀汝,刘佳. 正畸治疗在牙周病联合治疗中的应用[J]. 口腔医学研究, 2023,39(9):780-784.
- [2] 张远,赵庆,吕浩东,等. 炎症环境下敲低 SHP2 对人牙周膜干细胞增殖和成骨分化的影响[J]. 口腔疾病防治, 2022,30(11):769-778.
- [3] 王宏伟,齐素青,张超,等. 新型冠状病毒感染疫情期间口腔正畸科优化诊疗项目及感染防控管理[J]. 实用口腔医学杂志, 2020,36(2):256-258.
- [4] 孙琪殷,张栋杰,李丹,等. 替牙期儿童口腔正畸矫正治疗中微型种植体支抗控制技术的应用价值分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2022,21(24):2647-2650.
- [5] 胡嘉参,阴慧娟,董晓曦,等. 光学参数对 LED 光疗抑制口腔疾病常见细菌增殖的影响[J]. 激光生物学报, 2022,31(2):104-113.
- [6] Nassar EA, Fouda AM, Hassan KS. Influence of low-level laser (LLL) on interleukin 6 (IL-6) levels in gingival crevicular fluid (GCF) during orthodontic tooth movement of periodontally affected rabbits[J]. Int Orthod, 2019,17(2):227-234.
- [7] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [8] Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. CLSI document M100; 2018. Wayne, PA:CLSI, 2018.
- [9] 张丽萍,楼志平. 口腔正畸患者交叉感染发生的危险因素分析及预见性护理干预[J]. 中华全科医学, 2021,19(2):320-323.
- [10] 吴剑豪,伊燕军,陈燕,等. 120 例正畸治疗青少年口腔病原菌感染的细胞因子水平分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2018,28(17):2659-2662.
- [11] 张曼,张苗苗,李易,等. 牙齿移动过程中 Piezo1 对压力侧牙周组织内 IL-1 β 、IL-6 及 IL-17 的影响[J]. 口腔医学研究, 2023,39(2):135-140.
- [12] 马思环,董伊雯,马晓东. 慢性牙周炎合并慢性阻塞性肺疾病患者血清 IL-6、IL-8 水平变化[J]. 中国医师杂志, 2022,24(2):285-287.
- [13] 陶丽,林江,聂萍,等. 牙周夹板联合正畸治疗对牙周炎所致前牙扇形移位患者咀嚼功能和龈沟液 PGE2、sICAM-1、PAK5 的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022,22(1):83-87.
- [14] 李琼,杜娟,张文娟,等. 牙周组织再生术联合口腔正畸治疗牙周炎的疗效及对牙周指数、炎症反应的影响[J]. 临床与病理杂志, 2022,42(10):2490-2496.
- [15] 曹海萌,盛明珠,汤巧巧. 牙周组织再生术联合口腔正畸治疗对慢性牙周炎患者口腔功能及 TNF- α 、CRP 水平的影响[J]. 中国美容医学, 2023,32(1):131-134.
- [16] 晏燕,陈先卓. 牙周组织再生术后行口腔正畸治疗对牙周炎患者龈沟液中炎症因子水平的影响[J]. 贵州医科大学学报, 2022,47(8):973-977.
- [12] 余青龙,刘玉鹏,任娟. ASPECTS 评分联合 D-二聚体、Hcy 对急性缺血性卒中患者溶栓近期预后的预测价值分析[J]. 中国现代医学杂志, 2022,32(13):1-7.
- [13] 郝美美,陈晨,袁兴运,等. 尿酸与急性缺血性脑卒中早期预后关系的研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019,21(5):515-518.
- [14] 刘婷婷,何明利,孙振杰,等. 血清尿酸水平与缺血性脑梗死静脉溶栓患者短期预后的研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2022,38(6):489-494.
- [15] 周静,罗勇,姚珊,等. 急性缺血性卒中患者血清 HCY、GDF-15、GFAP 水平与神经功能及预后的关系[J]. 山东医药, 2017,57(18):46-48.
- [16] 张玉敏,周琪,顾全,等. 血清脂蛋白 a、中性粒细胞与淋巴细胞比值对急性缺血性卒中患者短期预后的预测价值[J]. 中国老年学杂志, 2021,41(5):933-936.
- [17] 喻华,徐雪松,李敏,等. 肠杆菌目细菌碳青霉烯酶的实验室检测和临床报告规范专家共识[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020,20(6):671-680.
- [18] Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology [J]. Int J Antimicrob Agents, 2015,45(6):568-585.
- [19] 何宇婷,黄彬. 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌耐药性的基因学研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2017,9(3):206-210+214.

(上接第 948 页)

(上接第 952 页)

阻塞性睡眠呼吸暂停患者血清 P2X7R、NF- κ B 水平与认知功能障碍的相关性

李生艳^{1,2} 李英兰² 冯恩志^{3*}

[摘要] 目的 研究阻塞性睡眠呼吸暂停(OSA)患者血清 P2X7 受体(P2X7R)和核因子- κ B(NF- κ B)水平与认知功能障碍的相关性。方法 选择2021年10月至2022年12月期间青海省人民医院收治的126例OSA患者作为OSA组,进一步根据蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分分为MoCA评分 <26 分的认知功能障碍组($n=68$)和MoCA评分 ≥ 26 分的认知功能正常组($n=58$);另取同期体检的健康志愿者作为对照组($n=105$)。检测血清P2X7R、NF- κ B水平,采用logistic回归模型分析OSA患者认知功能障碍的影响因素,采用ROC曲线分析各指标对OSA患者认知功能障碍的诊断价值。结果 OSA组患者的血清P2X7R、NF- κ B水平高于对照组,差异有统计学意义($t=17.295, 7.088, P<0.05$);认知功能障碍组患者的血清P2X7R、NF- κ B水平高于认知功能正常组,差异有统计学意义($t=8.469, 8.497, P<0.05$);血清P2X7R、NF- κ B水平升高是OSA患者认知功能障碍的危险因素($P<0.05$);OSA患者血清P2X7R、NF- κ B水平与MoCA评分呈负相关($P<0.05$);血清P2X7R、NF- κ B水平诊断OSA患者认知功能障碍的曲线下面积分别为0.862(95% CI:0.800-0.923, $P<0.05$)和0.859(95% CI:0.794-0.923)。结论 OSA患者血清P2X7R、NF- κ B水平升高且与认知功能障碍相关,血清P2X7R、NF- κ B对OSA患者认知功能障碍具有诊断效能。

[关键词] 阻塞性睡眠呼吸暂停; 认知功能障碍; P2X7受体; 核因子- κ B

Correlation between serum P2X7R, NF- κ B levels and cognitive dysfunction in patients with obstructive sleep apnea

LI Shengyan^{1,2}, LI Yinglan², FENG Enzhi^{3*}

(1. Graduate School of Qinghai University, Xining, Qinghai, China, 810016; 2. Department of General Medicine, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining, Qinghai, China, 810000; 3. Department of Respiratory Medicine, No. 941 Hospital of Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Xining, Qinghai, China, 810000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between serum P2X7 receptor (P2X7R) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) levels and cognitive dysfunction in patients with obstructive sleep apnea (OSA). **Methods** 126 OSA patients admitted to Qinghai Provincial People's Hospital from October 2021 to December 2022 were selected for the OSA group. They were divided into a cognitive dysfunction group with a MoCA score <26 ($n=68$) and a normal cognitive function group with a MoCA score ≥ 26 ($n=58$) based on the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) score. Healthy volunteers who underwent physical examinations during the same period were chosen as the control group ($n=105$). The levels of serum P2X7R and NF- κ B were tested, and the influencing factors of cognitive dysfunction in OSA patients were analyzed using a logistic regression model. Additionally, the diagnostic value of each indicator for cognitive dysfunction in OSA patients was assessed using a ROC curve. **Results** The levels of serum P2X7R and NF- κ B in the OSA group were higher

项目基金:青海省自然科学基金面上项目(2020-ZJ-931)

作者单位:1. 青海大学研究生院,青海,西宁 810016

2. 青海省人民医院全科医学科,青海,西宁 810000

3. 中国人民解放军联勤保障部队第941医院呼吸科,青海,西宁 810000

*通信作者:冯恩志, E-mail: feztall@163.com

than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=17.295, 7.088, P<0.05$). The levels of serum P2X7R and NF- κ B in the cognitive dysfunction group were higher than those in the normal cognitive function group, and the difference was statistically significant ($t=8.469, 8.497, P<0.05$). The increased levels of serum P2X7R and NF- κ B were identified as risk factors for cognitive dysfunction in OSA patients ($P<0.05$). Serum P2X7R and NF- κ B levels were found to be negatively correlated with MoCA scores in OSA patients ($P<0.05$). The areas under the curve for serum P2X7R and NF- κ B levels in the diagnosis of cognitive dysfunction in OSA patients were 0.862 (95%CI: 0.800~0.923, $P<0.05$) and 0.859 (95%CI: 0.794~0.923, $P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum P2X7R and NF- κ B in OSA patients are increased and correlated with cognitive dysfunction. Serum P2X7R and NF- κ B have diagnostic value for identifying OSA patients with cognitive dysfunction.

[KEY WORDS] Obstructive sleep apnea; Cognitive dysfunction; P2X7 receptor; Nuclear factor- κ B

阻塞性睡眠呼吸暂停(obstructive sleep apnea, OSA)是以睡眠过程中频繁发生上呼吸道阻塞的呼吸系统慢性疾病。研究资料显示,OSA患者常常伴有氧饱和度降低,进而引起认知功能障碍并增加阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病的发生风险^[1]。因此,准确评估OSA患者的认知功能、诊断OSA患者的认知功能障碍对指导临床防治、延缓或预防认知功能障碍具有积极意义。缺氧状态下炎症反应激活是导致OSA患者神经功能损害、认知功能减退的重要生物学因素。P2X7受体(P2X7 receptor, P2X7R)和核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是OSA发病过程中调控炎症反应的关键分子,OSA动物模型中P2X7R及NF- κ B表达增加与认知功能、学习功能等神经功能减退有关^[2-3]。本研究对OSA患者血清P2X7R、NF- κ B水平与认知功能障碍的相关性展开分析,旨在发现OSA患者认知功能障碍的血清标志物。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2021年10月至2022年12月期间青海省人民医院收治的126例OSA患者作为OSA组,纳入标准:①均明确诊断为OSA^[4];②年龄18~60岁;③有独立认知行为能力、可配合完成认知功能评估。排除标准:①合并阿尔茨海默病,或头颅MRI提示海马萎缩;②既往有脑卒中、脑外伤病史;③酗酒或使用精神类药物;④合并慢性阻塞性肺疾病、哮喘、肺纤维化等呼吸系统疾病。另取同期体检的健康志愿者105名作为对照组。本研究获得医院临床伦理委员会批准,取得入组受试者或家属知情同意。两组一般资料的比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料的比较($\bar{x}\pm s$)

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

组别	<i>n</i>	性别(男/女)	年龄(岁)	受教育年限(年)
OSA组	126	71/55	51.17±4.85	10.42±1.85
对照组	105	61/44	50.34±5.09	10.91±2.47
χ^2/t 值		0.412	1.266	1.722
<i>P</i> 值		0.475	0.207	0.086

1.2 研究方法

1.2.1 蒙特利尔认知评估量表(Montreal Cognitive Assessment, MoCA)评价

OSA患者入组当天采用MoCA进行认知功能评价,包括视觉空间执行能力、命名、记忆、注意力、语言、抽象力、定向力。根据MoCA的评分将OSA患者分为MoCA评分<26分的认知功能障碍组($n=68$)和MoCA评分 ≥ 26 分的认知功能正常组($n=58$)。

1.2.2 血清P2X7R、NF- κ B检测

OSA组和对照组于入组当天采集空腹外周静脉血5 mL,静置30 min后按半径10 cm、速度3 000 r/m离心10 min,分离血清后放入-80℃保存。检测时,统一取出血清样本进行解冻,由同一名操作者采用酶联免疫吸附法试剂盒进行血清P2X7R、NF- κ B检测,均按照试剂盒说明书完成操作。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0软件进行统计学处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,两样本间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验;影响因素采用logistic多因素分析;相关性分析采用Pearson检验;诊断效能采用ROC曲线分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OSA组与对照组患者血清P2X7R、NF-κB水平的比较

OSA组患者的血清P2X7R、NF-κB水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 OSA组与对照组患者血清P2X7R、NF-κB水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum P2X7R and NF-κB levels between OSA group and control group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	P2X7R (pg/mL)	NF-κB (ng/mL)
OSA组	126	330.82±63.62	45.58±13.60
对照组	105	205.62±41.77	34.75±8.49
t值		17.295	7.088
P值		<0.05	<0.05

2.2 认知功能障碍组与认知功能正常组血清P2X7R、NF-κB水平的比较

认知功能障碍组患者的血清P2X7R、NF-κB水平高于认知功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 认知功能障碍组与认知功能正常组血清P2X7R、NF-κB水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum P2X7R and NF-κB levels between cognitive impairment group and normal cognitive function group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	P2X7R (pg/mL)	NF-κB (ng/mL)
认知功能障碍组	68	366.24±58.51	53.17±11.35
认知功能正常组	58	289.29±39.99	36.68±10.25
t值		8.469	8.497
P值		<0.05	<0.05

2.3 认知功能障碍组与认知功能正常组临床资料的比较

认知功能障碍组与认知功能正常组的性别、体质量指数、受教育年限比较,差异无统计学意义($P>0.05$);认知功能障碍组的年龄高于认知功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.4 OSA患者认知功能障碍的影响因素

以OSA患者是否合并认知功能障碍为因变量(合并认知功能障碍=1、认知功能正常=0),以年龄以及血清P2X7R、NF-κB水平为自变量,进行logistic多因素回归分析可知:血清P2X7R、NF-κB水平升高是OSA患者认知功能障碍的危险因素($P<0.05$)。见表5。

表4 认知功能障碍组与认知功能正常组临床资料的比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of clinical data between the cognitive dysfunction group and the normal cognitive function group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	体质量指数 (kg/m ²)	受教育年限(年)
认知功能障碍组	68	40/28	53.29±5.23	27.11±2.95	10.59±1.46
认知功能正常组	58	31/27	48.68±4.57	26.86±3.23	10.22±1.51
χ ² /t值		0.582	5.224	1.543	1.396
P值		0.447	<0.05	0.125	0.165

表5 OSA患者认知功能障碍的影响因素

Table 5 Influencing factors of cognitive dysfunction in OSA patients

自变量	β值	Wald值	OR值	95% CI	P值
年龄	0.285	1.039	1.330	0.831~2.369	0.285
P2X7R	0.104	7.381	1.110	1.035~1.864	0.001
NF-κB	0.815	6.534	2.259	1.441~4.689	0.007

2.5 OSA患者血清P2X7R、NF-κB水平与认知功能的相关性

OSA患者血清P2X7R、NF-κB水平与MoCA评分、视觉空间执行能力、命名、记忆、定向力呈负相关($P<0.05$),与注意力、语言、抽象力无显著相关性($P>0.05$)。见表6。

表6 OSA患者血清P2X7R、NF-κB水平与认知功能的相关性

Table 6 Correlation between serum P2X7R, NF-κB levels and cognitive function in OSA patients

指标	P2X7R		NF-κB	
	r值	P值	r值	P值
MoCA评分	-0.385	<0.05	-0.411	<0.05
视觉空间执行能力	-0.316	<0.05	-0.339	<0.05
命名	-0.332	<0.05	-0.291	<0.05
记忆	-0.374	<0.05	-0.352	<0.05
注意力	-0.092	>0.05	-0.101	>0.05
语言	-0.074	>0.05	0.018	>0.05
抽象力	0.085	>0.05	-0.033	>0.05
定向力	-0.347	<0.05	-0.318	<0.05

2.6 血清P2X7R、NF-κB水平对OSA患者认知功能障碍的诊断效能

血清P2X7R、NF-κB水平诊断OSA患者认知功能障碍的ROC曲线下面积分别为0.862(95% CI: 0.800~0.923, $P<0.05$)和0.859(95% CI: 0.794~0.923)。见图1。诊断的截断值分别为320.0 pg/mL和44.35 ng/mL,对应的灵敏度分别为81.03%和75.86%,特异度分别为75.00%和80.88%。

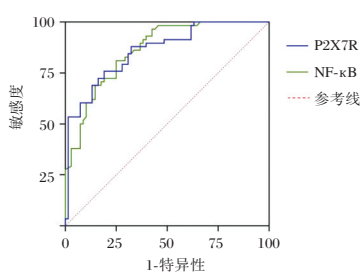


图1 ROC曲线

Figure 1 The ROC curve

3 讨论

OSA 是常见的呼吸系统疾病,表现为睡眠期间上呼吸道发生完全或不完全塌陷,患者反复发生呼吸暂停或低通气,可引起低氧血症和高碳酸血症。OSA 发生发展过程中持续存在的低氧血症和高碳酸血症会引起机体发生一系列病理生理改变并导致多个靶器官功能损伤,进而增加糖尿病、心脑血管疾病、认知功能障碍等疾病的发生风险。研究资料显示,认知功能障碍是 OSA 常见的神经系统并发症,OSA 合并认知功能障碍患者会出现记忆力减退、注意力缺陷、处理信息速度减慢,严重者会进展为阿尔茨海默病^[5-6]。因此,发现能够早期诊断 OSA 患者认知功能障碍的血清标志物具有重要临床意义。

炎症反应激活是 OSA 发生发展过程中低氧血症及高碳酸血症影响脏器功能的重要生物学因素,研究资料显示 OSA 患者血清中多种血清促炎细胞因子水平增加且与动脉粥样硬化、心肌梗死、心力衰竭等并发症相关^[7-10]。P2X7R 是一种 ATP 敏感的离子通道受体,主要分布在神经系统,在脑缺血、脊髓损伤、阿尔茨海默等模型中 P2X7R 通过激活炎症反应加重神经功能损害^[11-12]。NF- κ B 炎症小体是 P2X7R 发挥促炎作用的下游分子机制,P2X7R 通过上调 NF- κ B 表达的方式激活炎症反应^[13]。本研究分析结果显示:OSA 患者的血清 P2X7R 和 NF- κ B 水平均高于健康志愿者,提示 OSA 患者存在 P2X7R 及 NF- κ B 介导炎症反应的激活,与既往关于 OSA 发病过程中炎症反应激活的报道一致。

相关基础研究显示,脑卒中、脑外伤、阿尔茨海默病等模型中炎症反应激活与认知功能损害直接相关^[14],提示中枢神经系统炎症反应激活是导致认知功能损害的重要生物学因素。OSA 相关的基础研究显示,OSA 大鼠脑组织中 P2X7R 和

NF- κ B 表达增加,抑制 OSA 大鼠 P2X7R 和 NF- κ B 表达显著抑制炎症反应、改善认知功能^[2-3],提示 P2X7R 和 NF- κ B 介导的炎症反应在 OSA 发生发展中与认知功能损害相关。本研究分析结果显示:合并认知功能障碍的 OSA 患者血清 P2X7R 和 NF- κ B 水平均高于认知功能正常的 OSA 患者;OSA 患者的血清 P2X7R 和 NF- κ B 水平与 MoCA 评分呈负相关。这一结果表明 OSA 患者血清 P2X7R 和 NF- κ B 水平增加与认知功能障碍的发生、认知功能的下降直接相关。

本研究通过 logistic 多因素回归模型对 OSA 患者认知功能障碍的影响因素进行分析,结果显示:血清 P2X7R 和 NF- κ B 水平增加是 OSA 患者发生认知功能障碍的危险因素,表明血清 P2X7R 和 NF- κ B 水平越高、OSA 患者发生认知功能障碍的风险也越高,其可能机制是随着 P2X7R 和 NF- κ B 水平升高、炎症反应也发生相应激活,进而影响认知功能、导致认知功能障碍。进一步对 MoCA 各亚项与血清指标的相关性进行分析可知:OSA 患者血清 P2X7R、NF- κ B 水平与视觉空间执行能力、命名、记忆、定向力呈负相关,提示血清 P2X7R、NF- κ B 水平增加可能通过影响视觉空间执行能力、命名、记忆、定向力导致 OSA 患者出现认知功能障碍。

最后,根据 logistic 多因素回归分析结果,本研究对 OSA 患者认知功能障碍影响因素 P2X7R、NF- κ B 的诊断效能进行分析,经 ROC 曲线分析可知:血清 P2X7R、NF- κ B 两项指标均对 OSA 患者认知功能障碍具有诊断价值,两项指标的诊断效能的灵敏度和特异度超过 75%。

综上所述,OSA 患者血清 P2X7R、NF- κ B 水平升高且与认知功能障碍相关,血清 P2X7R、NF- κ B 对 OSA 患者认知功能障碍具有诊断效能。

参考文献

- [1] Zhao L, Zhao Y, Su D, et al. Cognitive Functions in Patients with Moderate-to-Severe Obstructive Sleep Apnea Syndrome with Emphasis on Executive Functions and Decision-Making[J]. Brain Sci, 2023, 13(10): 1436.
- [2] 王新,任娟,李军,等. P2X7 受体对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征大鼠认知功能障碍的机制研究[J]. 华南国防医学杂志, 2022, 36(3): 163-167.
- [3] Liu F, Liu TW, Kang J. The role of NF-kappaB-mediated JNK pathway in cognitive impairment in a rat model of sleep apnea[J]. J Thorac Dis, 2018, 10(12): 6921-6931.

(下转第 966 页)

NA-AION 患者昼夜血压、外周血 ACA 变化与 BCVA、GC-IPL 厚度的相关性

刘梅* 宿梦苍 杨卫国 黄祥詠

[摘要] **目的** 分析非动脉炎性前部缺血性视神经病变(NA-AION)患者昼夜血压及外周血抗心凝脂抗体(ACA)变化与最佳矫正视力(BCVA)和视网膜神经节细胞-内丛状层(GC-IPL)厚度的相关性。**方法** 选取沧州市人民医院2021年6月至2022年6月收治的96例NA-AION患者(共96眼)为NA-AION组,另择本院同期50岁以上无眼科疾病的40名体检者纳入对照组。对比两组性别、年龄、昼夜血压变化、外周血ACA、BCVA及GC-IPL厚度差异,并采用多因素Logistic回归分析NA-AION的危险因素;采用pearson相关性分析NA-AION患者昼夜血压、外周血ACA水平及BMI值与BCVA、GC-IPL厚度的相关性;采用spearman相关性分析NA-AION患者血压昼夜节律与BCVA、GC-IPL厚度的相关性。**结果** NA-AION组高血压、BMI ≥ 25 kg/m²、嗜酒、匹兹堡睡眠指数量表(PSQI)评分 >7 分、血压昼夜节律异常的比例均大于对照组,且白昼平均收缩压、夜间平均收缩压、舒张压及外周血ACA水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);多因素Logistic回归分析显示,高血压、BMI ≥ 25 kg/m²、嗜酒、PSQI评分 >7 分、血压昼夜节律异常、夜间平均收缩压及外周血ACA水平均是NA-AION的独立危险因素($P<0.05$)。NA-AION组的BCVA(LogMAR视力)明显高于对照组,GC-IPL厚度明显低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。相关性分析显示,NA-AION患者夜间平均收缩压、舒张压及外周血ACA水平及BMI均与BCVA(LogMAR视力)呈正比($P<0.05$),与GC-IPL厚度呈反比($P<0.05$);血压昼夜节律与BCVA(LogMAR视力)呈反比($P<0.05$),与GC-IPL厚度呈正比($P<0.05$)。**结论** 血压昼夜节律异常、外周血ACA表达异常及BMI值与NA-AION的发病相关。

[关键词] 非动脉炎性前部缺血性视神经病变;最佳矫正视力;视网膜神经节细胞-内丛状层厚度;血压;外周血抗心凝脂抗体

Correlation of circadian blood pressure and peripheral blood ACA changes with BCVA and GC-IPL thickness in patients with NA-AION

LIU Mei*, SU Mengcang, YANG Weigu, HUANG Xianghe

(Department of Ophthalmology, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between circadian blood pressure and peripheral blood anti-cardiolipin antibody (ACA) changes and best corrected visual acuity (BCVA) and retinal ganglion cell-internal plexus layer (GC-IPL) thickness in patients with non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy (NA-AION). **Methods** 96 patients with NA-AION (96 eyes) admitted to Cangzhou People's Hospital from June 2021 to June 2022 were selected as the NA-AION group. Another 40 subjects over 50 years old with no eye disease who had undergone a physical examination at our hospital during the same period were included in the control group. The differences in gender, age, circadian blood pressure changes, peripheral blood ACA levels, BCVA and GC-IPL thickness were compared between the two groups, and the risk factors of NA-AION were analyzed using multivariate logistic regression analysis. *Pearson* correlation analysis was used to

基金项目:沧州市科技计划自筹经费项目(222106122)

作者单位:沧州市人民医院眼科,河北,沧州 061000

*通信作者:刘梅, E-mail: jacyalm@163.com

examine the correlation of circadian blood pressure, peripheral blood ACA levels and BMI value with BCVA and GC-IPL thickness. Spearman correlation analysis was applied to analyze the correlation between circadian rhythm of blood pressure and BCVA and GC-IPL thickness in patients with NA-AION. **Results** The proportions of hypertension, $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$, alcoholism, Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) score > 7 points and abnormal circadian rhythm of blood pressure in the NA-AION group were higher than those in the control group. Additionally, the daytime mean systolic blood pressure, nighttime mean systolic blood pressure, diastolic blood pressure and peripheral blood ACA level were higher in the NA-AION group compared to the in control group ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that hypertension, $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$, alcoholism, PSQI score > 7 points, abnormal circadian rhythm of blood pressure, nighttime mean systolic blood pressure and peripheral blood ACA level were independent risk factors for NA-AION ($P < 0.05$). BCVA (LogMAR visual acuity) in the NA-AION group was significantly higher than that in the control group, and GC-IPL thickness was significantly thinner than that in the control group ($P < 0.05$). Correlation analysis indicated that the nighttime mean systolic blood pressure, diastolic blood pressure, peripheral blood ACA level and BMI in patients with NA-AION were positively correlated with BCVA (LogMAR visual acuity) ($P < 0.05$), and were negatively correlated with GC-IPL thickness ($P < 0.05$). Circadian rhythm of blood pressure was inversely proportional to BCVA (LogMAR visual acuity) ($P < 0.05$), and a positively proportional to GC-IPL thickness ($P < 0.05$). **Conclusion** Abnormal circadian rhythm of blood pressure, abnormal expression of peripheral blood ACA and BMI value are related to the pathogenesis of NA-AION.

[KEY WORDS] Non-arteriolar anterior ischemic optic neuropathy; Best corrected visual acuity; Retinal ganglion cell-inner plexus layer thickness; Blood Pressure; Peripheral blood anti-cardiolipin antibody

非动脉炎性前部缺血性视神经病变(Non-arteriolar anterior ischemic optic neuropathy, NA-AION)是好发于50岁以上中老年人群的缺血性视神经病变,临床表现为突然无痛性视力下降、视野缺损、相对性瞳孔传导阻滞、视盘水肿等,随着病情进展甚至可能导致失明,严重影响患者生活质量^[1]。该病的发病机制尚不明确,导致目前没有明确、统一的治疗方案,影响疾病预后^[2]。因此,探究NA-AION的发病机制及病因对临床治疗有重要意义。有研究认为,血压异常、静脉阻塞、血管粥样硬化等均与NA-AION的发生发展有关^[3]。血压异常包括血压昼夜节律的改变、血压异常升高等,正常血压昼夜节律即夜间血压较白昼血压降低10%~20%,血压曲线呈杓型,有研究认为当降低不足10%时,患者面临着更高的不良心血管事件风险^[4]。抗心凝脂抗体(Anti-cardiolipin antibody, ACA)是一种可与磷脂特异性结合的免疫球蛋白,其为血栓形成的危险因素,也与视网膜静脉阻塞相关^[5]。本研究旨在探讨血压昼夜节律、ACA与NA-AION发生发展的相关性,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取沧州市人民医院2021年6月至2022年6

月收治的96例NA-AION患者(共96患眼)为NA-AION组。纳入标准:①临床表现为突发性无痛性视力下降或视野缺损;②经眼底荧光血管造影、视野、视神经诱发电位、视网膜断层成像等检查确诊为NA-AION^[6];③无巨细胞动脉炎性视神经病变证据;④患者认知正常,可配合各项检查;⑤签署知情同意书。排除标准:①其他眼部、神经等系统性疾病导致的视力下降或视野缺损;②合并青光眼、白内障等其他眼部或神经系统性疾病;③合并恶性肿瘤;④合并严重心、肝、肾等脏器功能障碍;⑤合并中重度屈光不正;⑥既往有眼部手术史;⑦既往有糖尿病视网膜病变史;⑧近期有使用过抗凝或抗血小板聚集药物。

另择本院同期40名(均检查左眼,共40眼)无眼科疾病的体检者纳入对照组。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 昼夜血压监测

采用无创便携式血压监测仪进行24h血压监测,将6:00-22:59记为白昼时间,23:00-5:59记为夜间时间,记录两组患者白昼平均收缩压/舒张压、夜间平均收缩压/舒张压,夜间血压下降率= $[(\text{白昼平均收缩压}-\text{夜间平均收缩压})/\text{白昼平均收缩压}] \times 100\%$,并将夜间血压下降率为10%~20%定义

为构型, <10%为非构型, <0%为反构型^[7]。

1.2.2 外周血 ACA

取受试者空腹静脉血 5 mL, 以 3 500 r/min 的速度离心 5 min(离心半径为 15 cm)后取血清, 采用化学发光法定量测定血清 ACA, 试剂盒购自深圳市亚辉龙生物科技有限公司。

1.2.3 GC-IPL 厚度

患者取坐位, 免散瞳, 采用蔡司 Cirrus 5000 OCT 测量扫描患者目标眼黄斑区, 以 512×128 的扫描模式对黄斑中心凹进行水平线性扫描, 范围为 6 mm×6 mm, 轴向分辨率为 5 μm, 速度为 2.6 万次/s, 识别视网膜神经纤维层及黄斑内丛状层, 利用自带软件测量平均 GC-IPL 厚度。

1.2.4 BCVA 检测

采用国际标准视力表对患者视力进行检查, 经 LogMAR 转换后进行统计分析。

1.2.5 资料收集

收集患者一般年龄、性别、疾病史等一般资料, 并采用匹兹堡睡眠指数量表(Pittsburgh sleep quality index, PSQI)^[8]评估患者睡眠质量, 量表共睡眠效率、睡眠持续时间等 7 个部分内容, 每个部分计 0~3 分, 分值>7 分提示睡眠不良。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件统计数据, 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 行卡方检验; 计量资料经检验符合正态分布, 以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 行 t 检验; 使用多因素 Logistic 回归分析 NA-AION 的危险因素; 采用 *pearson* 相关性分析 NA-AION 患者昼夜血压、外周血 ACA 水平与 BCVA、GC-IPL 厚度的相关性; 采用 *spearman* 相关性分析 NA-AION 患者血压昼夜节律与 BCVA、GC-IPL 厚度的相关性, 以 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 单因素分析 NA-AION 的危险因素

NA-AION 组高血压、BMI ≥ 25 kg/m²、嗜酒、PSQI 评分>7 分、血压昼夜节律异常的比例均大于对照组, 且白昼平均收缩压、夜间平均收缩压、舒张压及外周血 ACA 水平均高于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 多因素 Logistic 回归分析 NA-AION 的危险因素

多因素 Logistic 回归分析显示, 高血压、BMI \geq

表 1 单因素分析 NA-AION 的危险因素 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Univariate analysis of risk factors of NA-AION

[$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

危险因素	NA-AION 组 ($n=96$)	对照组 ($n=40$)	χ^2/t 值	P 值	
性别	男	50(52.08)	23(57.50)	0.333	0.564
	女	46(47.92)	17(42.50)		
年龄(岁)	<65	47(48.96)	21(52.50)	0.142	0.707
	≥ 65	49(51.04)	19(47.50)		
高血压	有	75(78.12)	23(57.50)	5.966	0.015
	无	21(21.88)	17(42.50)		
糖尿病	有	59(61.46)	19(47.50)	2.249	0.134
	无	37(38.54)	21(52.50)		
高血脂	有	48(50.00)	15(37.50)	1.774	0.183
	无	48(50.00)	25(62.50)		
BMI(kg/m ²)	≥ 25	47(48.96)	11(27.50)	5.315	0.021
	<25	49(51.04)	29(72.50)		
嗜酒	是	39(40.62)	8(20.00)	5.311	0.021
	否	57(59.38)	32(80.00)		
PSQI 评分	>7 分	39(40.62)	8(20.00)	5.311	0.021
	≤ 7 分	57(59.38)	32(80.00)		
血压昼夜节律	异常	77(80.21)	23(57.50)	7.481	0.006
	正常	19(19.79)	17(42.50)		
白昼平均收缩压 (mmHg)	144.18 \pm 12.45	139.14 \pm 11.52	2.198	0.030	
白昼平均舒张压 (mmHg)	90.05 \pm 9.75	86.54 \pm 8.62	1.977	0.050	
夜间平均收缩压 (mmHg)	133.58 \pm 8.69	121.16 \pm 7.31	7.939	<0.001	
夜间平均舒张压 (mmHg)	88.13 \pm 7.78	80.19 \pm 6.43	5.692	<0.001	
外周血 ACA (RU/mL)	11.19 \pm 2.15	4.12 \pm 1.01	19.872	<0.001	

注: 血压昼夜波动曲线为构型视为血压昼夜节律正常, 反之则为异常。

25 kg/m²、嗜酒、PSQI 评分>7 分、血压昼夜节律异常、夜间平均收缩压及外周血 ACA 水平均是 NA-AION 的独立危险因素($P<0.05$)。见表 2。

2.3 两组 BCVA、GC-IPL 厚度比较

NA-AION 组的 BCVA(LogMAR 视力)明显高于对照组, GC-IPL 厚度明显低于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 NA-AION 患者血压昼夜节律、外周血 ACA 水平及 BMI 与 BCVA、GC-IPL 厚度的相关性

相关性分析显示, NA-AION 患者夜间平均收缩压、舒张压及外周血 ACA 水平及 BMI 均与 BCVA(LogMAR 视力)呈正比($P<0.05$), 与 GC-IPL 厚度呈反比($P<0.05$); 血压昼夜节律与 BCVA(LogMAR 视力)呈反比($P<0.05$), 与 GC-IPL 厚度呈正比($P<0.05$)。见表 4。

表2 多因素 Logistic 回归分析的 NA-AION 危险因素
Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of risk factors of NA-AION

危险因素	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
高血压	有=1, 无=0	0.369	0.156	5.595	1.446	1.065~1.964	0.018
BMI \geq 25 kg/m ²	是=1, 否=0	0.573	0.254	5.089	1.774	1.078~2.198	0.025
嗜酒	是=1, 否=0	0.379	0.167	5.150	1.461	1.053~2.027	0.024
PSQI 评分 > 7 分	是=1, 否=0	0.456	0.175	6.790	1.578	1.120~2.223	0.009
血压昼夜节律异常	是=1, 否=0	0.541	0.189	8.194	1.718	1.186~2.488	0.004
白昼平均收缩压		0.492	0.376	1.712	1.636	0.783~3.418	0.191
夜间平均收缩压		0.537	0.216	6.181	1.711	1.120~2.613	0.013
夜间平均舒张压		0.541	0.279	3.760	1.718	0.994~2.968	0.053
外周血 ACA		0.486	0.221	4.836	1.626	1.054~2.507	0.028

表3 两组 BCVA、GC-IPL 厚度比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of BCVA and GC-IPL thickness between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	眼数	BCVA (LogMAR 视力)	GC-IPL 厚度 (μm)
NA<AION 组	96	0.58 \pm 0.15	65.38 \pm 5.75
对照组	40	0.04 \pm 0.01	84.59 \pm 4.22
t 值		22.698	19.079
P 值		<0.001	<0.001

表4 NA-AION 患者血压昼夜节律、外周血 ACA 水平及 BMI 与 BCVA、GC-IPL 厚度的相关性分析
Table 4 Analysis of correlation of circadian rhythm of blood pressure, peripheral blood ACA level and BMI with BCVA and GC-IPL thickness in patients with NA-AION

指标	BCVA (LogMAR 视力)		GC-IPL 厚度 (μm)	
	r 值	P 值	r 值	P 值
白昼平均收缩压 (mmHg)	0.048	0.646	-0.036	0.727
夜间平均收缩压 (mmHg)	0.310	0.002	-0.388	<0.001
夜间平均舒张压 (mmHg)	0.297	0.003	-0.369	<0.001
血压昼夜节律 (1=正常, 0=异常)	-0.209	0.041	0.315	0.002
外周血 ACA 水平 (RU/mL)	0.361	<0.001	-0.426	<0.001
BMI (kg/m ²)	0.348	0.014	-0.354	0.007

3 讨论

睫状后短动脉、软膜动脉网分支和脉络膜血管分支组成动脉血供,正常生理下,视盘血供的灌注压与眼内压、血压处于动态平衡状态,但各种眼局部或全身血管危险因素引发的血压变化均可能导致血管调节机制紊乱,引起毛细血管灌注压降低,引起视盘缺血^[9]。本研究结果显示,高血压、超重、嗜酒、睡眠障碍、血压昼夜节律异常、夜间高压及外周血 ACA 高表达均是 NA-AION 的危险因素,这与江汉秋等^[10]的研究结论大致相符。本研究结果显示,夜间高压是 NA-AION 危险因素,夜间高压提示血压节律异常,也反映动脉粥样硬化

与血管内皮功能异常。而动脉粥样硬化及血管内皮功能异常使视盘血管管壁紧张性增加,自我调节能力下降,使得后睫状动脉难以通过自我调节获得正常灌注压,引起视盘缺血;同时会导致血管狭窄,降低视盘灌注,引起缺血性病变。正常生理条件下,夜间血压会低于日间血压,当夜间血压较日间血压降低不足 10% 时,即为血压昼夜节律异常。有研究认为,长期酒精刺激会加速动脉粥样硬化过程,引起血管狭窄,还可能引起机体昼夜节律紊乱,引起夜间高血压^[11]。体脂量超标也可导致血压昼夜节律异常,肥胖人群中皮下腹部脂肪组织中具有昼夜节律调节作用的基因表达水平相较正常健康人群低,且体脂量超标会降低胰岛素敏感并引起胰岛素抵抗,促使炎症发生,增强交感神经活性,导致夜间血压升高^[12]。但本研究两组糖尿病及高血脂比例差异无统计学意义,可能与样本量少有关。内源性昼夜节律和睡眠协同影响夜间血压节律,睡眠障碍会扰乱副交感神经系统等生理系统,导致夜间血压不能正常下降,引起血压昼夜节律异常。ACA 作为一种与多种含有磷脂结构的抗原物质有关的抗体,可分泌激活血管内皮细胞的细胞因子,影响凝血系统,促使血栓形成,引起视网膜静脉阻塞,增加 NA-AION 发生风险^[13]。

视力下降、GC-IPL 厚度变薄是 NA-AION 的重要病理表现,可反映 NA-AION 病情严重程度。本研究中,NA-AION 组存在明显的视力下降及 GC-IPL 厚度变薄,且夜间血压、血压昼夜节律、外周血 ACA 水平与 NA-AION 患者视力及 GC-IPL 厚度明显相关,这与 Chapelle 等^[14]的研究结论存在共性。血压节律异常导致视盘灌注降低而引起视盘缺血、缺氧而水肿,引起视力急剧下降,同时导致黄斑区病变,视神经节细胞丢失,GC-IPL 厚度变薄。夜间血压越高或血压昼夜节律紊乱越严重,

表示视乳头血供血管自身调节能力越低,视盘缺血越严重则视力损害及视神经节细胞丢失越多,GC-IPL厚度越薄。ACA与细胞膜磷脂相互作用造成免疫损伤,使得血小板聚集、凝血因子活化,还可使纤溶酶原激活物减少,降低纤维溶解活性,推动炎症发生,损害血管内皮细胞,最终导致视网膜静脉阻塞,影响视盘循环,还可直接引起远端静脉扩张迂曲,周围视网膜水肿,损害视力。

综上所述,血压昼夜节律异常及外周血ACA表达异常与NA-AION的发病相关。

参考文献

- [1] 易佐慧子,邢怡桥.非动脉炎性前部缺血性视神经病变的基础研究新进展[J].中华实验眼科杂志,2023,41(1):92-96.
 - [2] Morrow MJ. Ischemic Optic Neuropathy [J]. Continuum (Minneapolis), 2019,25(5):1215-1235.
 - [3] 江汉秋,彭静婷,张晓君,等.非动脉炎性前部缺血性视神经病变全身危险因素分析[J].中国卒中杂志,2018,13(1):7-11.
 - [4] 秦梦云,杨威,吕媛媛,等.非构型高血压与心肌、血管重构的相关性研究[J].疑难病杂志,2022,21(6):599-603.
 - [5] 骆静武,张静波,史坚.抗核抗体与静脉血栓栓塞症发生的相关性[J].心肺血管病杂志,2021,40(9):927-931.
 - [6] 中华医学会眼科学分会神经眼科学组.我国非动脉炎性前部缺血性视神经病变诊断和治疗专家共识(2015年)[J].中华眼科杂志,2015,51(5):323-326.
 - [7] 李杰,赵英强.非构型高血压的发生机制及其治疗进展[J].医学综述,2021,27(24):4857-4864.
 - [8] 黄瑛,朱娜,秦虹云,等.社区老人睡眠质量与慢性病的相关性分析[J].国际精神病学杂志,2021,48(4):656-659.
 - [9] 何艳茹,杜芳,王海燕,等.非动脉炎性前部缺血性视神经病变的心血管危险因素和视功能分析[J].国际眼科杂志,2019,19(10):1783-1786.
 - [10] 江汉秋,彭静婷,张晓君,等.非动脉炎性前部缺血性视神经病变全身危险因素分析[J].中国卒中杂志,2018,13(1):7-11.
 - [11] 张艳玲.饮酒与主动脉粥样硬化型卒中及颅内血管狭窄的相关性分析[D].泸州:西南医科大学,2020.
 - [12] 刘彬彬.不同肥胖指标与无高血压病的成年肥胖男性血压昼夜节律改变的关系[J].医学临床研究,2014,31(9):1808-1809.
 - [13] 王飞,李素彦.老年血栓性疾病患者抗 β 2-GP1抗体和抗心磷脂抗体的水平变化及临床意义[J].检验医学与临床,2021,18(6):821-823.
 - [14] Chapelle AC, Rakic JM, Plant GT. Nonarteritic Anterior Ischemic Optic Neuropathy: Cystic Change in the Inner Nuclear Layer Caused by Edema and Retrograde Maculopathy [J]. Ophthalmol Sci, 2022,3(1):100230.
- (上接第961页)
- [4] 中华医学会,中华医学会杂志社.成人阻塞性睡眠呼吸暂停基层诊疗指南(2018年)[J].中华全科医师杂志,2019,18(1):21-29.
 - [5] Lui K, Dave A, Sprecher K, et al. Older adults at greater risk for Alzheimer's disease show stronger associations between sleep apnea severity and verbal memory [J]. Res Sq, 2023 Dec 2;rs.3.rs-3683218.
 - [6] Tsai CY, Wu SM, Kuan YC, et al. Associations between risk of Alzheimer's disease and obstructive sleep apnea, intermittent hypoxia, and arousal responses: A pilot study [J]. Front Neurol, 2022, 30(13):1038735.
 - [7] Vega-Jasso AL, Amezcua-Guerra LM, González-Pacheco H, et al. Adipokines and Inflammatory Markers in Acute Myocardial Infarction Patients with and without Obstructive Sleep Apnea: A Comparative Analysis [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19):14674.
 - [8] 胡佩瑞,张亚倩,阎妍,等.阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征患者HIF-1 α 、IGF-1及HGF的表达与意义[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(6):939-942.
 - [9] Li X, Liu W, Wang Y, et al. Incremental values of AOPP, IL-6, and GDF15 for identifying arteriosclerosis in patients with obstructive sleep apnea[J]. Eur J Med Res, 2024, 29(1):137.
 - [10] Yakovlev A, Teplyakov A, Grakova E, et al. Serum Cytokines as Biomarkers in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Sleep Apnea: A Prospective Cohort Study [J]. Life (Basel), 2023, 13(3):628.
 - [11] Ahn YH, Tang Y, Illes P. The neuroinflammatory astrocytic P2X7 receptor: Alzheimer's disease, ischemic brain injury, and epileptic state [J]. Expert Opin Ther Targets, 2023, 27(9):763-778.
 - [12] Fan X, Ma W, Zhang Y, et al. P2X7 Receptor (P2X7R) of Microglia Mediates Neuroinflammation by Regulating (NOD)-Like Receptor Protein 3 (NF- κ B) Inflammasome-Dependent Inflammation After Spinal Cord Injury [J]. Med Sci Monit, 2020, 21(26):e925491.
 - [13] Chen L, Wang H, Xing J, et al. Silencing P2X7R Alleviates Diabetic Neuropathic Pain Involving TRPV1 via PKCepsilon/P38MAPK/NF-kappaB Signaling Pathway in Rats [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(22):14141.
 - [14] Li F, Li L, Peng R, et al. Brain-derived extracellular vesicles mediate systemic coagulopathy and inflammation after traumatic brain injury [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 21(130):111674.

非小细胞肺癌患者 SCC、ProGRP 及 CEA 水平变化及临床意义

路颖慧 安美霞 朱雯怡*

[摘要] **目的** 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)患者鳞状细胞癌相关抗原(SCC)、胃泌素释放肽前体(ProGRP)及癌胚抗原(CEA)水平变化及临床意义。**方法** 回顾性分析2020年5月至2023年2月于首都医科大学附属北京友谊医院展开治疗的132例NSCLC患者的临床资料,设为A组;另抽取同期于本院治疗的71例肺良性病变患者,设为B组。比较两组患者SCC、ProGRP及CEA水平,分析不同临床特征NSCLC患者SCC、ProGRP及CEA水平,运用受试者工作特征(ROC)曲线分析SCC、ProGRP及CEA对NSCLC的诊断价值。**结果** A组患者血清SCC、ProGRP及CEA水平均高于B组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清SCC、ProGRP、CEA及三者联合诊断NSC的AUC分别为0.691、0.815、0.822、0.832。不同病理类型、分化程度、临床分期及淋巴结转移的NSCLC患者血清SCC、ProGRP及CEA水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 不同病理类型、分化程度、临床分期及淋巴结转移的NSCLC患者血清SCC、ProGRP及CEA存在差异,血清SCC、ProGRP及CEA均可有效辅助诊断NSCLC,且三者联合诊断能提高诊断效能。

[关键词] 非小细胞肺癌; 鳞状细胞癌抗原; 胃泌素释放前体; 癌胚抗原

Changes and clinical significance of SCC, ProGRP and CEA levels in patients with non-small cell lung cancer

LU Yinghui, AN Meixia, ZHU Wenyi*

(Department of Thoracic Surgery, Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, China, 100050)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes and clinical significance of squamous cell carcinoma-associated antigen (SCC), pro-gastrin releasing peptide (ProGRP) and carcinoembryonic antigen (CEA) levels in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** A retrospective analysis was conducted on the clinical data of 132 patients with NSCLC who were treated at Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital Medical University from May 2020 to February 2023. The patients were divided into group A, while 71 patients with benign pulmonary lesions were selected and placed in group B simultaneously. The levels of SCC, ProGRP and CEA were compared between the two groups, and further analysis was done on the levels of SCC, ProGRP and CEA in NSCLC patients with different clinical characteristics. The receiver operating characteristic (ROC) curves were used to evaluate the diagnostic value of SCC, ProGRP, and CEA in NSCLC. **Results** Serum SCC, ProGRP, and CEA levels in group A were higher than those in group B ($P<0.05$). The AUC values for serum SCC, ProGRP, CEA and their combination in diagnosing NSCLC were 0.691, 0.815, 0.822 and 0.832, respectively. There were statistically significant differences in serum SCC, ProGRP and CEA levels among NSCLC patients with different pathological types, different degrees of differentiation, various clinical stages, and with or without lymph node metastasis ($P<0.05$). **Conclusion** Patients with different pathological types, varying degrees of differentiation, diverse clinical stages, and presence or

基金项目:北京市通州区科技计划项目(KJ2023CX014)

作者单位:首都医科大学附属北京友谊医院胸外科,北京 100050

*通信作者:朱雯怡, E-mail:ZHUY1861@163.com

absence of lymph node metastasis exhibit varying levels of serum SCC, ProGRP and CEA. These biomarkers can significantly aid in the diagnosis of NSCLC, with a combination of all three leading to enhanced diagnostic accuracy.

[KEY WORDS] Non-small cell lung cancer; Squamous cell carcinoma antigen; Pro-gastrin releasing peptide; Carcinoembryonic antigen

据统计,全球每年新发癌症患者中,肺癌发病率约为12%,发病率、致死率均居首位^[1]。非小细胞肺癌(Non small cell lung cancer, NSCLC)是临床常见的肺癌类型,临床以咳嗽、低热、胸部胀痛为主要表现,可导致循环、呼吸系统的功能损害,危及生命,且患者预后较差^[2]。鳞状细胞癌相关抗原(squamous cell carcinoma-associated antigen, SCC)主要存在于鳞状上皮癌细胞质中,研究证实其表达水平在多种肿瘤患者机体中呈上升状态^[3-4]。胃泌素释放肽前体(pro-gastrin releasing peptide, ProGRP)在外周血中具有较高稳定性,其在正常组织中表达较低,有研究表明ProGRP是肺癌诊断的可靠标志物,敏感度、特异度均较高^[5]。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是一种存在于胚胎结肠黏膜上皮细胞上的糖蛋白,有研究显示其水平在多种肿瘤中均上调^[6-7]。本研究将探讨SCC、ProGRP及CEA在NSCLC中的表达及临床意义,以期为该疾病的诊治提供理论指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾分析2020年5月至2023年2月于首都医科大学附属北京友谊医院接受治疗的135例NSCLC患者的临床资料。纳入标准:①NSCLC患者均满足肺癌诊断标准^[8];②均经病理组织学诊断确诊;③临床资料完善。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并免疫系统疾病;③合并严重感染性疾病;④合并其他器官功能障碍。剔除标准:①在院治疗期间发生严重不良事件者;②临床数据等资料丢失。剔除3例后共纳入132例患者。另选取同期在本院进行治疗的71例肺良性病变患者,包括肺结核24例,肺炎22例,肺脓肿14例,其他11例。分别将NSCLC、肺良性病变患者纳入A、B组,两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

1.2 方法

1.2.1 仪器及试剂

Cobas e601全自动化学发光分析仪与SCC、

表1 两组一般资料比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

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

组别	n	年龄(岁)	体质量指数(kg/m ²)	性别	
				男性	女性
A组	132	59.28±4.37	21.86±2.09	69(52.27)	63(47.73)
B组	71	60.39±4.06	21.36±2.28	39(54.93)	32(45.07)
t/ χ^2 值		1.769	1.574		0.131
P值		0.079	0.117		0.718

ProGRP及CEA检测试剂盒均购自瑞士Roche公司;L720R-3离心机购自湘仪离心机仪器有限公司。

1.2.2 检测方法

采集所有研究对象肘部空腹静脉血2.0 mL,以4 000 r/min(离心半径:5 cm)离心5 min,运用电化学发光免疫分析法检测血清SCC、ProGRP及CEA水平。结果判读^[9]:SCC 0~2.7 pg/mL, ProGRP 28.3~65.7 pg/mL, CEA 0~5 pg/mL。

1.3 统计学方法

采用SPSS 27.0软件对数据进行统计学分析,计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,采用t检验;受试者工作特征曲线分析血清SCC、ProGRP及CEA对NSCLC的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清SCC、ProGRP及CEA水平比较

B组患者血清SCC、ProGRP及CEA水平均低于A组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组患者血清SCC、ProGRP及CEA水平比较 $(\bar{x}\pm s)$

Table 2 Comparison of serum SCC, ProGRP and CEA levels between the two groups $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	SCC(pg/mL)	ProGRP(pg/mL)	CEA(ng/mL)
A组	132	0.38±0.11	46.26±5.49	3.23±1.08
B组	71	0.33±0.08	40.17±5.04	2.12±0.68
t值		3.378	7.752	7.858
P值		0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清 SCC、ProGRP 及 CEA 对 NSCLC 诊断价值分析

ROC 曲线结果显示,单一指标诊断时,CEA 的诊断价值最优,其 AUC、敏感度及特异度分

别为 0.822、71.21%、88.73%。三者联合诊断价值均优于单一指标诊断,其 AUC、敏感度及特异度分别为 0.832、83.33%、83.10%。见表 3、图 1。

表 3 血清 SCC、ProGRP 及 CEA 对 NSCLC 诊断价值分析

Table 3 The diagnostic value of serum SCC, ProGRP, and CEA in NSCLC

检测指标	AUC	约登指数	cut-off	敏感度(%)	特异度(%)	95% CI	P 值
SCC	0.691	0.330	0.371 pg/mL	58.33	74.65	0.623-0.754	<0.001
ProGRP	0.815	0.489	42.770	74.24	74.65	0.754-0.866	<0.001
CEA	0.822	0.599	2.741	71.21	88.73	0.763-0.872	<0.001
联合诊断	0.832	0.664		83.33	83.10	0.774-0.881	<0.001

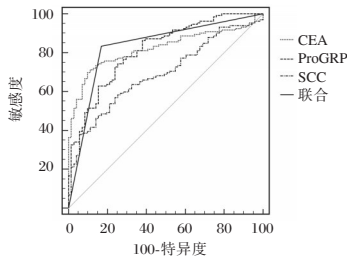


图 1 血清 SCC、ProGRP 及 CEA 对 NSCLC 诊断价值分析

Figure 1 Analysis of the diagnostic value of serum SCC, ProGRP, and CEA in NSCLC

2.3 NSCLC 患者不同临床特征血清 SCC、ProGRP 及 CEA 水平分析

不同性别、年龄 NSCLC 患者血清 SCC、ProGRP 及 CEA 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);不同病理类型、分化程度、临床分期及淋巴结转移的 NSCLC 患者血清 SCC、ProGRP 及 CEA 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

肺癌早期症状没有特异性,因此多数患者就诊时已处于中晚期。NSCLC 发病机制较为复杂,患者预后较差,因此如何尽早诊断并展开治疗对改善患者预后有着重要价值。目前临床主要依赖影像学筛查肺癌,随后将疑似阳性患者再次进行病理学与细胞学检查,筛查过程较为复杂^[10]。肿瘤标志物是一类由肿瘤细胞异常产生或由宿主对肿瘤刺激反应而产生的物质,具有检测简便、高效的优势,其在 NSCLC 的疾病诊断中逐渐得到广泛应用。

SCC 是一种肿瘤抗原,其水平与肿瘤细胞的侵袭、转移、复发及预后密切相关,是反映肿瘤细胞生物学特性的重要肿瘤标志物^[11]。ProGRP 是 GRP 的前体,与 GRP 由同一基因编码产生,能刺激肿瘤细胞生长。由于 GRP 在体液中易被肽链端解酶快速降解,稳定性差,半衰期短,在外周血中不易被检测,因此,临床常将 ProGRP 作为肿瘤标志

表 4 NSCLC 患者不同临床特征血清 SCC、ProGRP 及 CEA 水平分析 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Serum SCC, ProGRP and CEA levels in NSCLC patients with different clinical characteristics ($\bar{x} \pm s$)

临床特征	n	SCC(pg/mL)	t 值	P 值	ProGRP(pg/mL)	t 值	P 值	CEA(ng/mL)	t 值	P 值	
性别	男性	69	0.39±0.12	1.035	0.303	46.78±4.73	1.277	0.204	3.34±1.08	1.183	0.239
	女性	63	0.37±0.10			45.69±5.08			3.11±1.04		
年龄(岁)	≥60	64	0.40±0.13	1.838	0.068	46.62±5.11	0.804	0.423	3.42±1.24	1.757	0.081
	<60	68	0.36±0.12			45.92±4.89			3.05±1.18		
病理类型	腺癌	91	0.36±0.11	2.738	0.007	47.23±5.49	3.407	0.001	3.46±1.19	3.540	0.001
	鳞癌	41	0.42±0.13			44.11±5.03			2.72±0.91		
分化程度	中低分化	85	0.41±0.13	3.570	0.001	46.99±5.71	2.852	0.005	3.44±1.16	2.968	0.004
	高分化	47	0.33±0.11			44.94±5.26			2.85±0.96		
临床分期	I~II	49	0.34±0.10	2.947	0.004	44.28±5.03	3.547	0.001	2.92±0.98	2.525	0.013
	III~IV	83	0.40±0.12			47.43±4.87			3.41±1.13		
	淋巴结转移			3.305	0.001		3.054	0.003		2.540	0.012
	有	92	0.40±0.12			47.06±4.72			3.39±1.15		
无	40	0.33±0.09			44.42±4.18			2.86±0.98			

物^[12]。有学者指出^[13],ProGRP在肺神经内分泌肿瘤细胞的增殖生长中扮演重要角色,能够促进细胞衰亡,抑制癌细胞增长,且其表达水平与疾病的分期密切相关。CEA是一种存在于细胞表面的糖蛋白,分子量为180~200 kDa,最早于胎儿结肠、结肠腺癌中发现^[14]。CEA多于细胞浆中形成,经细胞膜向细胞外扩散至周围体液中,因此可在外周血中被检测到,研究证实CEA与多种肿瘤密切相关^[15-16]。本研究结果显示,B组患者血清SCC、ProGRP及CEA水平均低于A组患者,提示NSCLC患者血清SCC、ProGRP及CEA表达水平上调。进一步通过ROC曲线分析结果显示,单一指标进行诊断时,CEA的AUC面积最大,其AUC、敏感度及特异度分别为0.822、71.21%、88.73%;三者联合诊断的诊断效能最优,其AUC、敏感度及特异度分别为0.832、83.33%、83.10%。进一步分析血清SCC、ProGRP及CEA水平与NSCLC病理特征的关系,结果显示不同年龄、性别患者血清SCC、ProGRP及CEA水平比较差异不具有统计学意义,这与丁纪涛等^[17]等研究具有相似性。但不同病理类型、分化程度、临床分期及淋巴结转移的NSCLC患者血清SCC、ProGRP及CEA水平存在差异性,分析原因:肿瘤的分化程度、临床分期及淋巴结转移与肿瘤的恶性程度密切相关,当肿瘤增殖速度加快,出现转移及侵袭等生物学行为,疾病迅速恶化,从而大量分泌肿瘤标志物,进而上调其表达水平。此外,腺癌患者血清SCC水平低于鳞癌患者,但ProGRP及CEA水平高于鳞癌患者。这可能与三种肿瘤标记物的生物源性相关,与潘桂常等^[18]研究报道相似。

综上所述,NSCLC患者的血清SCC、ProGRP及CEA水平均上调,且不同病理类型、分化程度、临床分期及淋巴结转移的NSCLC患者血清SCC、ProGRP及CEA存在差异;三项指标均可有效辅助诊断NSCLC,且三者联合诊断能提高诊断效能。

参考文献

- [1] 刘枫林,马伟. 肺癌患者临床流行病学及病理学特点分析[J]. 中国病案, 2021, 22(5): 53-55.
- [2] 杨芳,王雅,梁丽红,等. 巨噬细胞抑制因子-1、鳞状细胞癌抗原、细胞角蛋白19片段抗原21-1水平对早期非小细胞肺癌诊断、预后的价值研究[J]. 实用医院临床杂志, 2022, 19(3): 115-118.
- [3] Schepens EJA, Al-Mamgani A, Karssemakers LHE, et al. Squamous Cell Carcinoma Antigen in the Follow-up of Patients With Head and Neck Cancer [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2024, 170(2): 422-430.
- [4] 邢应如,阿布都色麦尔·热依木,张雪,等. I型胶原 $\alpha 2$ 、鳞状细胞癌相关抗原表达与食管鳞癌的相关性研究[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2021, 13(2): 146-151.
- [5] 刘志华,卢旭妹,容开. 血清标志物CYFRA21-1、SCC、NSE、CEA及ProGRP联合检测在非小细胞性肺癌中的诊断价值[J]. 河北医药, 2019, 41(10): 1464-1468.
- [6] Hester R, Advani S, Rashid A, et al. CEA as a blood-based biomarker in anal cancer [J]. *Oncotarget*, 2021, 12(11): 1037-1045.
- [7] Moriyama J, Oshima Y, Nanami T, et al. Prognostic impact of CEA/CA19-9 at the time of recurrence in patients with gastric cancer [J]. *Surg Today*, 2021, 51(10): 1638-1648.
- [8] 中华医学会,中华医学会儿科分会,中华医学会儿科分会. 中华医学会儿科临床诊疗指南(2019版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2020, 42(4): 257-287.
- [9] 张敏,蔡灼远,于莉. 肺癌患者血清ProGRP、CEA、SCC及CYFRA21-1的表达及临床价值探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11): 1385-1388.
- [10] 张杰,孟凡亮. 组蛋白脱乙酰基酶4、纤维蛋白原/白蛋白比值在非小细胞肺癌中的诊断及预后价值[J]. 实用医学杂志, 2023, 39(19): 2495-2500.
- [11] van Schaik JE, Muller Kobold AC, van der Laan BFAM, et al. SCC Antigen Concentrations in Fine-Needle Aspiration Samples to Detect Cervical Lymph Node Metastases: A Prospective Analysis [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2023, 168(3): 407-412.
- [12] 贾祯,刘志广,姚菁菁,等. 低剂量CT扫描联合血清胃泌素释放肽前体、神经元特异性烯醇化酶检测对小细胞肺癌的诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(13): 1808-1812.
- [13] 王莹,连丽丽,许建成. 血清胃泌素释放肽前体检测对小细胞肺癌诊断及预后的临床价值[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(6): 428-432.
- [14] 张辉,王朝晖. COX-2和CEA在大肠癌中的表达及其与临床病理学特征的关联[J]. 中国实验诊断学, 2022, 26(11): 1615-1619.
- [15] 缪祥帅,朱德兵,杨旭,等. CEA、CA199、CA125对老年肺癌淋巴结转移的诊断价值[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(1): 22-24.
- [16] 刘晓英,罗文丰,刘洋,等. 初诊弥漫大B细胞淋巴瘤患者血清CEA、IL-17、PIC水平变化及意义[J]. 山东医药, 2023, 63(7): 12-15.
- [17] 丁纪涛,王祥,赵乐华,等. 非小细胞肺癌患者血清NSE、ProGRP的变化及其临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2023, 38(5): 718-721.
- [18] 潘桂常,田东波,刘坤平,等. 血清癌胚抗原鳞状细胞癌抗原神经特异型烯醇化酶糖类抗原125与肺癌病理分型及临床特征的关系[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2016, 23(2): 138-142.

CTA联合血清MMP-9、TIMP-1在缺血性脑卒中诊断中的应用

戴云蛟^{1*} 贾婕¹ 殷少龙² 刘晓翠³ 徐文利⁴

[摘要] **目的** 探究CT血管成像(CTA)联合血清基质金属蛋白酶9(MMP-9)、金属蛋白酶组织抑制因子1(TIMP-1)在缺血性脑卒中诊断中的应用。**方法** 选取2021年5月至2022年5月期间张家口市第一医院神经内科收治的140例脑卒中患者作为研究组研究对象,均行CTA检查,以数字血管造影(DSA)为金标准,分析CTA对缺血性脑卒中诊断价值,另选择同期至此院进行体检的健康者80名作为对照组,比较两组患者血清MMP-9、TIMP-1水平。**结果** 140例患者,共检查463条头颈血管,经CTA诊断无狭窄236条、轻度狭窄66条、中度狭窄36条、重度狭窄46条、闭塞22条,与DSA对照CTA诊断缺血性脑卒中患者血管狭窄程度的灵敏度为81.25%,特异度为90.15%;CTA诊断轻度狭窄患者74例、中度16例、重度46、闭塞4例,与DSA对照CTA诊断灵敏度82.50%、特异度83.33%;研究组患者血清MMP-9、TIMP-1表达水平均显著高于对照组患者,差异有统计学意义($t=73.668, 33.925, P<0.05$),且研究组患者随着狭窄程度增加,血清MMP-9、TIMP-1水平逐渐上升,差异有统计学意义($F=13298.37, 901.001, P<0.05$);MMP-9以247.14 ng/mL为临界值,阳性53例,阴性87例;TIMP-1均值(239.21 ng/mL)为临界值,阳性53例,阴性87例;以CTA阳性为基础,MMP-9、TIMP-1任一指标阳性则定义为联合诊断阳性,结果显示联合诊断灵敏度为88.75%,特异度为80.00%。**结论** CTA联合血清MMP-9、TIMP-1对缺血性脑卒中诊断效能较高,临床应在密切观察缺血性脑卒中患者CTA检查基础上联合MMP-9、TIMP-1水平检测。

[关键词] 缺血性脑卒中; CT血管成像; 血清基质金属蛋白酶9; 金属蛋白酶组织抑制因子1; 诊断

Application of CTA combined with serum MMP - 9 and TIMP - 1 in the diagnosis of ischemic stroke

DAI Yunjiao^{1*}, JIA Jie¹, YIN Shaolong², LIU Xiaocui³, XU Wenli⁴

(1. Department of Neurology I, Zhangjiakou First Hospital, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 2. Radiology Department, Zhangjiakou First Hospital, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 3. Internal Medicine-Neurology, Affiliated Hospital of Hebei University of Technology, Tangshan, Hebei, China, 063000; 4. Imaging Department III, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Cangzhou, Hebei, China, 061000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application of CT angiography (CTA) combined with serum matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) in the diagnosis of ischemic stroke. **Methods** From May 2021 to May 2022, 140 patients with cerebral infarction were admitted to the Department of Neurology at our hospital. They were selected as the study group and had undergone CTA. Digital subtraction angiography (DSA) was used as the gold standard to analyze the diagnostic value of CTA in ischemic stroke. Additionally, 80 healthy individuals who visited the hospital for physical exami-

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20221903)

作者单位:1. 张家口市第一医院神经内一科,河北,张家口 075000

2. 张家口市第一医院放射科,河北,张家口 075000

3. 华北理工大学附属医院神经内科,河北,唐山 063000

4. 沧州中西医结合医院影像三科,河北,沧州 061000

*通信作者:戴云蛟, E-mail: duolaabolb526@126.com

nation during the same period were selected as the control group. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels were compared between the two groups. **Results** A total of 463 head and neck vessels were examined in the 140 patients. CTA diagnosed 236 vessels without stenosis, 66 with mild stenosis, 36 with moderate stenosis, 46 with severe stenosis, and 22 with occlusion. Compared with DSA, the sensitivity and specificity of CTA in diagnosing vascular stenosis in patients with ischemic stroke were 81.25% and 90.15%. CTA diagnosed 74 cases of mild stenosis, 16 cases of moderate stenosis, 46 cases of severe stenosis, and 4 cases of occlusion. Compared with DSA, the diagnostic sensitivity and specificity of CTA were 82.50% and 83.33%. In the study group, serum MMP-9 and TIMP-1 levels were significantly higher than those in the control group ($t=73.668, 33.925, P<0.05$). As stenosis worsened, serum MMP-9 and TIMP-1 levels increased ($F=13298.37, 901.001, P<0.05$). MMP-9 at 247.14 ng/mL as the critical value, there were 53 positive cases and 87 negative cases. TIMP-1 at 239.21 ng/mL as the critical value resulted in 53 positive cases and 87 negative cases. The sensitivity and specificity of the combined diagnosis were 88.75% and 80.00%. **Conclusion** CTA combined with serum levels of MMP-9 and TIMP-1 can enhance the diagnostic accuracy for ischemic stroke.

[KEY WORDS] Ischemic Stroke; CT Angiography; Serum Matrix Metalloproteinase 9; Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1; Diagnosis

缺血性脑卒中是诸多因素导致脑动脉狭窄、闭塞,使脑组织血供障碍,进而发生梗死的一类疾病^[1]。临床表现主要为患者出现饮水呛咳、表达不清、吞咽困难等临床症状,严重危害患者生命健康安全^[2]。对于缺血性脑卒中患者应尽早治疗,多以尽可能阻止脑卒中进一步发展为主,最大程度减轻脑部损害,因此对疾病的诊断至关重要^[3]。CT血管成像(CT angiography, CTA)扫描能观察到动脉系统血管形态、密度以及走形等情况,且操作简便、分辨率较高同时不会为患者带来创伤,广泛应用于缺血性脑卒中临床诊断中^[4]。血清基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)激活后可降解血管基底膜主要成分,破坏血脑脊液屏障从而致使通透性升高,同时MMP-9还参与了动脉硬化斑块形成与破裂,可通过降解斑块纤维帽成分从而加速斑块破裂,最终引发缺血性脑卒中发生。金属蛋白酶组织抑制因子1(tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP-1)是MMP-9特异性抑制剂,两者相互依赖^[5]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年5月至2022年5月期间张家口市第一医院神经内科收治的140例脑卒中患者作为研究组。纳入标准:①均符合脑卒中诊断标准^[6];②依据临床症状判断为缺血性脑卒中;③患者及家属知情同意本研究。排除标准:①存在既往脑血管病史;②已接收溶栓治疗;③伴有严重肝肾等功能障碍;④伴有恶性肿瘤;⑤对CTA对比剂无法耐受。140例患者数字血管造影术(Digital

subtraction angiography, DSA)检查结果显示共463条头颈部血管,其中无狭窄248条、轻度86条、中度45条、重度56条、闭塞28条。另选择同期至本院进行体检的健康者80名作为对照组,本研究经院伦理委员会批准同意。两组一般资料均衡可比($P>0.05$)。见表1。

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)
		男	女		
研究组	140	85(60.71)	55(39.29)	58.32±6.06	24.71±2.38
对照组	80	46(57.50)	34(42.50)	57.91±6.83	25.12±2.81
t/χ ² 值		0.218		0.460	1.171
P值		0.640		0.645	0.242

1.2 CTA方法

CTA检查:检查前嘱患者将金属物件摘取,仪器选择西门子Definition AS 64层螺旋CT机,扫描主动脉到颅顶部,电压120 kVp,自动管电流150~400 mAs内进行自动调节,准直器官渡约为64×0.625 mm,旋转时间为0.5 s,螺距为0.985,对比剂选用碘浓度为350 mg/mL的碘海醇(剂量为0.6 mL/kg),肘部静脉注射(流速3~4 mL/s),将阈值设置为120 HU,阈值后7 s开始扫描。由两位高年资的核影像学医师采用双盲法对图像资料进行分析,意见不统一则由上级医师共同给出最终诊断结果。

1.3 诊断标准

DSA诊断为金标准^[6],无狭窄为狭窄率<0%,轻度狭窄为狭窄率≤50%,中度狭窄为51%~69%狭

窄率,重度狭窄为70%~99%狭窄率,闭塞为狭窄率100%。CTA阳性标准^[7]:CTA检出任一头颈部血管动脉狭窄程度>50%;若合并多条头颈部动脉狭窄,则任意一条狭窄程度>50%定义为CTA阳性。

1.4 血清MMP-9、TIMP-1测定

取患者清晨空腹静脉血5 mL,于3 500 r/min、离心半径为10 cm下低温离心5 min,取上层血清于-80℃条件下保存,采用酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测,试剂盒购于中山金桥生物有限公司,操作严格按照说明书进行。血清MMP-9阳性标准^[8]:血清MMP-9>临界值、血清TIMP-1阳性标准:血清TIMP-1>临界值。联合诊断标准^[9]:CTA阳性基础上,血清MMP-9、TIMP-1任一指标阳性。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用t检验,多组间比较采用LSD-t检验方法分析,计数资料采用率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 头颈部血管狭窄情况CTA诊断结果

140例患者,463条头颈血管,经CTA诊断无狭窄236条、轻度狭窄66条、中度狭窄36条、重度狭窄46条、闭塞22条,CTA诊断缺血性脑卒中患者血管狭窄程度的灵敏度为81.25%,特异度为90.15%。见表2。

表2 头颈部血管狭窄情况CTA诊断结果

CTA	DSA 诊断结果					合计
	无狭窄	轻度狭窄	中度狭窄	重度狭窄	闭塞	
无狭窄	236	19	3	0	0	258
轻度狭窄	11	66	5	2	0	84
中度狭窄	1	1	36	7	0	45
重度狭窄	0	0	1	46	6	53
闭塞	0	0	0	1	22	23
合计	248	86	45	56	28	463

2.2 CTA诊断效能

CTA诊断灵敏度82.50%、特异度83.33%。见表3。

2.3 血清MMP-9、TIMP-1表达水平比较

研究组患者血清MMP-9、TIMP-1表达水平均显著高于对照组患者,差异有统计学意义(P<

表3 CTA诊断效能

Table 3 Diagnostic efficacy of CTA

CTA	DSA		合计
	阳性	阴性	
阳性	66	10	76
阴性	14	50	64
合计	80	60	140

0.05),且研究组患者随着狭窄程度增加,血清MMP-9、TIMP-1水平逐渐上升,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4、5。

表4 两组患者血清MMP-9、TIMP-1表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum MMP-9 and TIMP-1 expression levels between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-9 (ng/mL)	TIMP-1 (ng/mL)
研究组	140	218.89±5.26	239.21±10.51
对照组	80	60.22±9.74	70.12±25.62
t值		159.86	70.199
P值		0.000	0.000

表5 不同狭窄程度患者血清MMP-9、TIMP-1表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Serum levels of MMP-9 and TIMP-1 in patients with different stenosis degrees ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-9 (ng/mL)	TIMP-1 (ng/mL)
轻度	51	152.36±5.16	201.36±12.13
中度	36	200.35±5.33 ^a	232.35±10.35 ^a
重度	38	260.36±5.08 ^a	264.57±9.42 ^a
闭塞	15	384.56±5.88 ^a	320.16±8.23 ^a
F值		13 298.37	901.001
P值		0.000	0.000

注:与轻度比较,^aP<0.05。

2.4 CTA联合血清MMP-9、TIMP-1诊断

以MMP-9(247.14 ng/mL)为临界值,阳性53例,阴性87例;TIMP-1均值(239.21 ng/mL)为临界值,阳性53例,阴性87例;以CTA阳性为基础,MMP-9、TIMP-1任一指标阳性则定义为联合诊断阳性,结果显示联合诊断灵敏度为88.75%,特异度为80.00%。见表6。

表6 CTA联合血清MMP-9、TIMP-1诊断

Table 6 CTA combined with serum MMP-9 and TIMP-1 were diagnosed

联合诊断	DSA		合计
	阳性	阴性	
阳性	71	12	83
阴性	9	48	57
合计	80	60	140

注:敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%、特异度=真阴性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%。

3 讨论

缺血性脑卒中是因头颈部动脉狭窄或闭塞,导致脑部供血缺乏,从而引发脑组织缺血缺氧发生不可逆的损伤,发病后多伴有恶心呕吐、肢体麻木、言语不清等症状^[10]。相关研究^[11]表明头颈动脉有那种狭窄发生缺血性脑卒中患者约为30%,因此对患者头颈部血管狭窄诊断很重要,利于患者早期治疗与预后。随着头颈部影像学检查技术不断发展,DSA是诊断的金标准,但其为有创检查,风险较高且费用昂贵。CTA是近年来临床常见的检查技术,其具有操作简单,分辨率高,无创的特点,降低患者检查危险因素,降低了检查时间^[12]。

既往研究^[13]表明CTA检查头颈部血管疾病灵敏度与特异度均较高,本研究结果显示与CTA诊断缺血性脑卒中患者血管狭窄程度的灵敏度82.50%、特异度83.33%,说明CTA在缺血性脑卒中患者血管狭窄闭塞中具有较高诊断效能。分析原因可能是CTA为一种非接入箱影响成像技术,通过造影剂对比,早脑组织对比剂浓度达到一定高程度时,通过扫描检查能对解剖结构复杂区域进行多轴向观察,从而可在整体上观察颅内血管情况,清楚、准确评估脑血管狭窄程度与部位等^[14]。近年来MMP-9在脑卒中的作用是研究热点,研究表明MMP-9激活能激活明胶、纤维连接蛋白等血管基底膜成分,破坏脑脊液屏障增加通透性,血管中平滑肌细胞迁移、分化、凋亡及细胞外基质重塑在动脉粥样硬化斑块中发挥重要作用,还可通过降解斑块纤维帽成分,加速斑块破裂致使脑卒中。正常状态下MMP-9是低表达水平,脑卒中发生后其表达水平显著升高,且与病灶大小及病情严重程度密切相关^[15]。TIMP-1是MMP-9特异性抑制剂,随着MMP-9升高代偿性升高,正常脑组织中TIMP-1与MMP-9为动态平衡,病理条件下,TIMP-1与MMP-9平衡失调为导致继发性脑损伤的主要因素^[16]。本研究结果显示研究组患者血清MMP-9、TIMP-1表达水平均显著高于对照组患者,且研究组患者随着狭窄程度增加水平逐渐上升。本研究结果还显示以CTA阳性为基础,MMP-9、TIMP-1任一指标阳性则定义为联合诊断阳性灵敏度为88.75%,特异度为80.00%,提示CTA联合血清MMP-9、TIMP-1具有较高诊断性能。与CTA单独相比,灵敏度升高,但特异性降

低,这是因为受斑块钙化影响,从而导致对狭窄诊断评价存在差异,特异度有所降低。

综上所述,CTA对脑卒中患者血管狭窄程度具有良好诊断性能,脑卒中患者血清MMP-9、TIMP-1表达水平均较高,CTA联合血清MMP-9、TIMP-1对缺血性脑卒中患者诊断性能良好。

参考文献

- [1] 夏倩倩,王希明,张征宇,等.急性缺血性脑卒中CTA侧支等级与CTP之间的相关性研究[J].临床放射学杂志,2019,38(2):224-228.
- [2] 陈聚惠,付晓,张琼,等.4D-CTA评估急性缺血性脑卒中患者侧支循环与CTP灌注参数的相关性[J].临床放射学杂志,2020,39(2):270-275.
- [3] 王玮,饶显群,袁超,等.基于多时相CTA评估急性缺血性脑卒中的侧支循环与静脉溶栓治疗后的临床预后分析[J].中华急诊医学杂志,2019,28(12):1485-1489.
- [4] Uransilp N, Dharmasaroja PA, Watcharakorn A, et al. Implementation of multiphase computed tomography angiography in management of patients with acute ischemic stroke in clinical practice.[J]. J Clin Neurosci, 2018,9(62):100-104.
- [5] Cheong E, Toner P, Dowie G, et al. Evaluation of a CTA-Triage Based Transient Ischemic Attack Service: A Retrospective Single Center Cohort Study. [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2018,27(12):3436-3442.
- [6] 邢晓明,孟会红,张超,等.DSA诊断及介入治疗缺血性脑卒中患者颈部血管狭窄[J].中国老年学杂志,2021,41(4):699-701.
- [7] 钟迪,张舒婷,吴波.《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》解读[J].中国现代神经疾病杂志,2019,19(11):897-901.
- [8] 叶祖森,程建华,叶强,等.MMP-9血清水平及启动子C-1562T基因与缺血性脑卒中侧支循环的关系[J].心脑血管病防治,2018,18(3):196-199+204.
- [9] 孙秀媛,徐克芳,戴婧.高血压脑出血患者膜联蛋白A7、基质金属蛋白酶-9/基质金属蛋白酶抑制剂-1比值与早期脑损伤的相关性[J].中国老年学杂志,2020,40(6):1155-1158.
- [10] Santos T, Carvalho A, Cunha AA, et al. NCCT and CTA-based imaging protocol for endovascular treatment selection in late presenting or wake-up strokes[J]. J Neurointerv Surg, 2018,11(2):200-203.
- [11] Hur W, Kim BJ, Shin BS, et al. Discrepancy between perfusion- and diffusion-weighted images in ischemic stroke: A case report.[J]. Medicine, 2018,97(52):138-142.
- [12] 吕沙沙,曹萌萌.CT血管成像与CT灌注成像对急性缺血性脑卒中的诊断价值分析[J].实用放射学杂志,2020,36(5):816-818+830.
- [13] 余燕武,江敏,陆国云.头颈CTA对急性缺血性脑卒中侧支循环及动脉狭窄的诊断价值[J].中国临床医学影像杂志,2020,31(12):862-866.

CCL28在哮喘急性发作患者血清中的表达研究

晏远飞¹ 王兆媛² 刘景^{3*}

[摘要] **目的** 探究CC趋化因子配体28(CCL28)在哮喘急性发作患者血清中的表达意义。**方法** 选取2022年5月至2023年5月南京市雨花医院收治的哮喘急性发作患者50例为研究对象,选取同期本院门诊随访复查的哮喘缓解期患者50例为缓解组,健康体检者50名为对照组,比较三组CCL28水平的差异,通过ROC曲线评估CCL28水平诊断哮喘急性发作价值;比较急性发作哮喘患者不同严重程度CCL28水平与肺功能指标的差异,分析CCL28水平、肺功能指标与急性发作哮喘严重程度的相关性,CCL28水平与肺功能指标的相关性。**结果** 急性发作期CCL28水平>缓解期>对照组,差异有统计学意义($F=2\ 515.910, P<0.05$)。采用ROC分析血清CCL28水平诊断急性发作期哮喘的AUC、敏感度、特异度,AUC分别为0.884,敏感度、特异度分别为82.0%、88.0%。CCL28水平重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($F=27.104, P<0.05$),PEF、FEV1、FEV1/FVC水平比较:重度组<中度组<轻度组,差异有统计学意义($F=49.112, 58.305, 50.403, P<0.05$)。Person相关性分析显示,血清CCL28与急性发作期哮喘严重程度呈正相关($r=0.731, P<0.05$),PEF、FEV1、FEV1/FVC与急性发作期哮喘严重程度呈负相关($r=-0.822, -0.843, -0.826, P<0.05$)。Person相关性分析显示,血清CCL28与PEF、FEV1、FEV1/FVC呈负相关($r=-0.847, -0.890, -0.821, P<0.05$)。**结论** CCL28在哮喘急性发作患者血清中高表达,有望作为临床诊断哮喘急性发作的标志物,且与哮喘急性发作严重程度、肺功能指标密切相关。

[关键词] 哮喘;急性发作;CC趋化因子配体28

Study on the expression of CCL 28 in serum of patients with acute asthma attacks

YAN Yuanfei¹, WANG Zhaoyuan², LIU Jing^{3*}

(1. Respiratory Department, Nanjing Yuhua Hospital, Nanjing, Jiangsu, China, 210039; 2. Clinical Laboratory, Nanjing Adicon Medical Laboratory Co., Ltd, Nanjing, Jiangsu, China, 211100; 3. Laboratory Department, Nanjing Yuhua Hospital, Nanjing, Jiangsu, China, 210039)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the significance of CC chemokine ligand 28 (CCL 28) in the serum of patients with acute asthma attacks. **Methods** Fifty patients with an asthma attack admitted to our hospital from May 2022 to May 2023 were selected as the study subjects. 50 patients with asthma in remission who were followed up and reviewed in our outpatient clinic during the same period were chosen as the remission group. A control group of 50 healthy individuals who underwent medical checkups was also selected. The study aimed to compare the differences in CCL28 levels among the three groups to evaluate the diagnostic value of CCL28 levels in identifying acute asthma attacks using ROC curves. Furthermore, the study compared the differences in CCL28 levels and lung function indexes among patients with different degrees of acute asthma attack severity. The analysis also included examining the correlation between CCL28 levels, lung function indexes, and the severity of acute asthma exacerbation, as well as the correlation between CCL28 levels and lung function indexes. **Results** The CCL28 level in acute exacerbation was greater than in remission and the control group, with a statistically significant difference ($F=2\ 515.910, P<0.05$). The AUC, sensitivity and

基金项目:南京市卫生科技发展专项资金项目(YKK23215)

作者单位:1.南京市雨花医院呼吸内科,江苏,南京21003

2.南京艾迪康医学检验所临床实验室,江苏,南京211100

3.南京市雨花医院检验科,江苏,南京210039

*通信作者:刘景, E-mail:liu520806@163.com

specificity of serum CCL28 level for diagnosing asthma in acute exacerbation were analyzed by ROC, resulting in an AUC of 0.884, sensitivity of 82.0%, and specificity of 88.0%. The CCL28 level was highest in the severe group, followed by the moderate group, and then the mild group, with a statistically significant difference ($F=27.104, P<0.05$). The PEF, FEV₁, and FEV₁/FVC ratio were lower in the severe group compared to the moderate and mild groups, with statistically significant difference ($F=49.112, 58.305, 50.403, P<0.05$). Person correlation analysis showed that serum CCL28 levels were positively correlated with the severity of acute exacerbation asthma ($r=0.731, P<0.05$), while PEF, FEV₁, and FEV₁/FVC ratio were negatively correlated with asthma severity ($r=-0.822, -0.843, -0.826, P<0.05$). Furthermore, serum CCL28 levels were negatively correlated with PEF, FEV₁, and FEV₁/FVC ratio ($r=-0.847, -0.890, -0.821, P<0.05$).

Conclusion CCL28 is found in high levels in the serum of patients with acute asthma attacks. It is closely linked to the severity of acute asthma attacks and lung function indicators.

[KEY WORDS] Asthma; Acute onset; CC chemokine ligand 28

哮喘是一种慢性呼吸道疾病,其特征为气道高反应性和变异性气道狭窄^[1-2]。CC趋化因子配体28(CC chemokine ligands 28, CCL28)是一种细胞因子,在哮喘的病理过程中,CCL28被认为是一种重要的炎症因子,对哮喘的发病和发展起到了重要作用^[3]。因此,了解哮喘急性发作患者血清中CCL28的表达情况对于深入探讨哮喘的发病机制和寻找治疗靶点非常有意义。本研究以2022年5月至2023年5月南京市雨花医院收治的50例哮喘急性发作患者作为研究对象,且以同期收治的哮喘缓解期患者50例为缓解组、健康体检者50名为对照组,旨在探究CCL28在哮喘急性发作期患者中的表达意义。结果如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2022年5月至2023年5月本院收治的哮喘急性发作患者50例为研究对象,其中轻度24例、中度16例、重度10例。选取同期本院门诊随访复查的哮喘缓解期患者50例为缓解组,健康体检者50名为对照组,各组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。本项研究方案已取得院伦理委员会审批(YYLL20230420-02)。

哮喘患者入选标准:①符合《中国支气管哮喘防治指南(基层版)》^[4]中诊断标准;②年龄 ≥ 18 岁;③患者及家属均知情同意;④认知功能良好。哮喘排除标准:①重要脏器功能严重不全者;②合并呼吸道支气管发育畸形、慢性上气道咳嗽综合征或肺结核者;③合并慢性感染性疾病者;④肺癌;⑤临床资料不完整者。健康对照组纳入标准:①体检各项指标正常、无精神疾病,且临床资料完整者。

1.2 方法

1.2.1 肺功能检测方法

检测全部患者的肺功能,检测所应用的仪器为肺功能检查仪器,本仪器从MINATO公司购入,仪器型号为AS-507。肺功能检查指标包括第1秒容积占预计值百分比(The percent of the expected second value, FEV₁%)、第一秒用量呼气容积占用力肺活量百分比(Percentage of FEV₁ to forced vital capacity, FEV₁/FVC)、最大呼气峰流速(peak expiratory flow, PEF)。

1.2.2 CCL28水平检测方法

同时在患者空腹状态下,采集患者的静脉血3 mL, 4 000 r/min离心10 min,取上层血清,置于-80℃的冰箱中保存,应用酶联免疫吸附法(试剂盒从Sigma Aldrich公司购入)检测患者的CCL28水平。

表1 一般资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

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

组别	n	性别		年龄(岁)	体质量指数(kg/m ²)	病程(年)
		男	女			
急性发作期	50	29(58.00)	21(42.00)	50.59 \pm 4.14	23.15 \pm 2.04	3.64 \pm 0.49
缓解期	50	30(60.00)	20(40.00)	50.84 \pm 4.14	23.34 \pm 2.25	3.51 \pm 0.47
对照组	50	28(56.00)	22(44.00)	50.32 \pm 4.33	23.26 \pm 2.18	
F/ χ^2 值		0.062		0.191	0.098	1.094
P值		0.804		0.826	0.907	0.278

1.3 统计学处理

应用 SPSS 22.0 进行数据进行分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。呈正态分布的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较行独立样本 t 检验,多组间比较采用多因素方差分析,采用 Person 系数进行相关性分析,采用 ROC 曲线评估诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 CCL28 水平比较

急性发作期 CCL28 水平 $(37.90 \pm 3.08) \text{ ng/mL}$ > 缓解期 $(33.13 \pm 2.65) \text{ ng/mL}$ > 对照组 $(5.25 \pm 1.43) \text{ ng/mL}$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

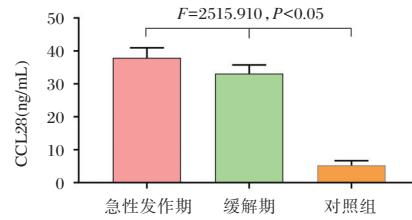


图 1 各组 CCL28 水平比较

Figure 1 Comparison of CCL28 levels among groups

2.2 CCL28 水平诊断急性发作期哮喘效能

采用 ROC 分析血清 CCL28 水平诊断急性发作期哮喘的 AUC、敏感度、特异度, AUC 为 0.884, 敏感度、特异度分别为 82.0%、88.0%。见表 2、图 2。

表 2 CCL28 水平诊断急性发作期哮喘效能

Table 2 Diagnostic efficacy of CCL28 level for acute exacerbation of asthma

指标	AUC	SE	95% CI		cut-off 值	约登指数	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
			下限	上限					
CCL28 (ng/mL)	0.884	0.036	0.814	0.954	35.545	0.700	82.0	88.0	<0.001

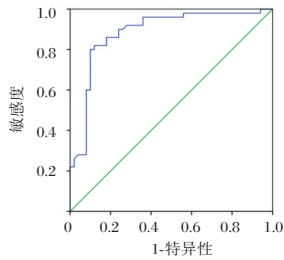


图 2 ROC 曲线

Figure 2 The ROC curves

2.3 急性发作期哮喘不同严重程度患者 CCL28 与肺功能指标比较

不同严重程度急性发作期哮喘患者在 CCL28、PEF、FEV1、FEV1/FVC 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CCL28 水平重度组 > 中度组 > 轻度组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), PEF、FEV1、FEV1/FVC 重度组 < 中度组 < 轻度组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 血清 CCL28、肺功能指标与急性发作期哮喘严重程度相关性分析

Person 相关性分析显示, 血清 CCL28 与急性发作期哮喘严重程度呈正相关 ($r = 0.731, P < 0.05$), PEF、FEV1、FEV1/FVC 与急性发作期哮喘严重程度呈负相关 ($r = -0.822, -0.843, -0.826, P < 0.05$)。

表 3 急性发作期哮喘不同严重程度患者 CCL28 与肺功能指标 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 CCL 28 and lung function indicators in patients with different severity of asthma during acute onset ($\bar{x} \pm s$)

组别	CCL28 (ng/mL)	PEF (L/min)	FEV1 (%)	FEV1/FVC (%)
轻度组 (24)	35.87 ± 1.98	110.71 ± 10.65	81.53 ± 6.92	84.36 ± 9.35
中度组 (16)	38.60 ± 2.13 ^a	95.47 ± 7.87 ^a	66.88 ± 6.43 ^a	69.95 ± 3.76 ^a
重度组 (10)	41.66 ± 2.52 ^{ab}	77.81 ± 5.56 ^{ab}	54.28 ± 8.05 ^{ab}	56.74 ± 7.36 ^{ab}
F 值	27.104	49.112	58.305	50.403
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与轻度组相比, ^a $P < 0.05$; 与中度组相比, ^b $P < 0.05$ 。

2.5 血清 CCL28 与肺功能指标相关性分析

Person 相关性分析显示, 血清 CCL28 与 PEF、FEV1、FEV1/FVC 呈负相关 ($r = -0.847, -0.890, -0.821, P < 0.05$)。

3 讨论

哮喘是一种慢性气道炎症性疾病^[5-6], 哮喘患者的气道壁结构异常, 气道平滑肌的收缩和松弛反应异常, 也是导致急性发作的重要原因。当前哮喘急性发作期早期诊断仍存在不足^[7]。因此寻找血清指标对于哮喘急性发作期的诊断具有重要意义。CCL28 是一种趋化因子, 其分泌细胞主要包括上皮细胞和 B 淋巴细胞^[8]。CCL28 通过与其受体 CCR3 和 CCR10 结合, 能够引导 T 细胞、B 细

细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞定向迁移至炎症部位。在哮喘患者中,CCL28的表达量明显升高。肖雷等^[9]研究表明,支气管哮喘急性期患儿血清miR-218水平呈现低表达,且与患者严重程度和炎症反应密切相关。本研究显示,与缓解期患者相比,急性发作期患者的CCL28表达量更高。表明在哮喘急性发作期间内,其CCL28水平处于显著升高趋势。分析原因为,在哮喘急性发作期,气道炎症明显加重,导致上皮细胞和B淋巴细胞分泌更多的CCL28。CCL28的增加可以促进免疫细胞在炎症部位聚集,并进一步增强气道炎症的程度,从而加剧哮喘症状。因此,在哮喘急性发作期,CCL28的表达水平会明显升高。相反,哮喘缓解期气道炎症程度较轻^[10],导致CCL28的表达水平较低。CCL28表达的降低也有助于减少免疫细胞在气道聚集,从而起到抑制气道炎症的作用。

本研究采用ROC分析血清CCL28水平来诊断急性发作期哮喘的准确性,结果表明,AUC为0.884,表明此方法具有较高的诊断准确性,即在哮喘急性发作期和非发作期两种情况下,通过血清中CCL28水平可以较好地地区分。敏感度为82%,意味着在所有急性发作期患者中,该方法能够正确诊断出82%的病例。提示以CCL28水平对哮喘急性发作期患者的诊断效能是比较高的。主要原因是CCL28水平的升高说明在哮喘急性发作期患者中有炎症反应和支气管收缩的存在,这使得该方法能够更准确地诊断出哮喘急性发作的患者,从而提高了其敏感度和特异度。

在哮喘患者中,PEF通常会随着气道狭窄程度的加重而下降^[11]。FEV1是指在一次最大呼气动作中,患者可以在1秒钟内呼出的气体体积^[12],FEV1/FVC是指在一次最大呼气动作中,患者用力呼出的气体体积占用力肺活量的比率^[13],这两个指标也可以用于评估哮喘患者气流受限的程度。本研究结果表明,CCL28水平随着病情的加重而升高,重度组最高,轻度组最低。这是因为CCL28在哮喘急性发作期时其水平升高,可以引起炎症反应和支气管收缩,由此产生了该指标与严重程度的相关性。另外,PEF、FEV1和FEV1/FVC指标也随着病情的加重而降低,重度组最低,轻度组最高。这是因为哮喘急性发作期会导致支气管收缩和炎症反应,进而导致呼吸道阻塞和肺功能下降^[14-15]。

本研究显示,血清CCL28浓度与哮喘急性发作的严重程度之间的正相关关系,可能原因为当哮喘急性发作时,血清中CCL28的浓度会随之升高,而且升高的程度与病情的严重程度密切相关,故两者正相关。另外,本研究还表明,血清CCL28与PEF、FEV1和FEV1/FVC呈负相关,分析为在哮喘患者中,由于气道炎症和免疫细胞的活化,气道会出现不同程度的阻塞和痉挛,导致肺功能下降。这时,CCL28的浓度会上升,而PEF、FEV1和FEV1/FVC则会下降,故呈现负相关。

综上所述,CCL28在哮喘急性发作患者血清中高表达,可作为临床诊断哮喘急性发作有效指标,且与哮喘急性发作严重程度、肺功能指标密切相关。本研究选取的样本量过小,期望今后在实际临床中继续累积样本量进行更为深入的研究。

参考文献

- [1] Ozturk BO, Sozener ZC, Aydin O, et al. A step-down experience in asthma treatment: a retrospective cohort study[J]. J Asthma, 2022, 59(5):998-1004.
- [2] 闫彩霞,王冬梅,王士磊.天津市河北区儿童支气管哮喘合并反复呼吸道感染流行病学特征及危险因素[J].公共卫生与预防医学, 2021, 32(6):123-125.
- [3] 孙澜,马吉芳,崔乃凡.慢性阻塞性肺疾病并发肺动脉高压患者血清CCL28和SDF-1表达水平及临床意义[J].现代检验医学杂志, 2023, 38(1):140-146.
- [4] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会.儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J].中华儿科杂志, 2016, 54(3):167-181.
- [5] Flenady V, Clifton VL, Rae K, et al. Response to Letter to the Editor 'Adverse perinatal outcomes in the Australian Indigenous population, the role of asthma' [J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2022, 62(2):E4-E5.
- [6] 虞欣欣,郑劲平,高怡,等.哮喘患者气道高反应性特点及其日间差异性研究[J].中国全科医学, 2022, 25(11):1351-1356.
- [7] 陈燕鸽,张峰,黄莹.潮气肺功能联合血清25(OH)D水平检测早期诊断儿童哮喘的价值[J].海南医学, 2021, 32(15):1975-1978.
- [8] Wang X, Li W, Yue Q, et al. C-C chemokine receptor 5 signaling contributes to cardiac remodeling and dysfunction under pressure overload[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(1):49.
- [9] 肖雷,李兰兰,唐华,等.支气管哮喘患儿急性期血清miR-218、CCL26表达及临床意义[J].临床肺科杂志, 2021, 26(3):352-356.
- [10] 朱萍,别国梁,司海超.支气管哮喘患儿血清miR-34、Notch1水平与气道炎症的相关性分析[J].临床肺科杂志, 2022, 27(1):45-49.

(下转第984页)

白介素37下调多药耐药基因-1逆转肺腺癌紫杉醇耐药的研究

王梦馨¹ 陈文² 李晨瑜¹ 李志文³ 牟晓峰^{3*}

[摘要] 目的 本研究旨在探究白介素37(IL-37)在抑制肺腺癌细胞多药耐药性方面的潜在作用,及其对于耐紫杉醇的A549/TAX细胞的影响。方法 通过细胞培养、处理程序、实时荧光定量PCR、Western blot分析和统计学分析等实验方法,系统研究了IL-37对耐紫杉醇A549/TAX细胞的影响。结果 紫杉醇明显抑制了A549和A549/TAX细胞的增殖,其中A549/TAX的耐药指数RI为16.88。100 ng/mL的rhIL-37显著抑制了A549/TAX细胞的增殖。在紫杉醇和rhIL-37联合处理组,细胞增殖的抑制率显著高于仅用紫杉醇处理组($P<0.05$)。此外,rhIL-37在24小时后显著抑制了A549/TAX细胞的迁移和侵袭。非细胞毒性浓度的rhIL-37也能显著抑制A549/TAX细胞的集落形成。经rhIL-37作用48小时后,A549/TAX细胞中MDRI的表达水平比对照组下降了约66%($P<0.05$)。结论 IL-37与紫杉醇联合处理可有效抑制A549/TAX细胞的增殖、迁移和侵袭,同时通过降低MDRI基因的表达水平可能逆转细胞的耐药性,为IL-37在肺腺癌治疗中的潜在应用提供了实验依据。

[关键词] 白介素37;紫杉醇耐药;非小细胞肺癌;多药耐药基因-1

Study on interleukin-37 downregulating multidrug resistance gene-1 to reverse paclitaxel resistance in lung adenocarcinoma

WANG Mengxin¹, CHEN Wen², LI Chenyu¹, LI Zhiwen³, MU Xiaofeng^{3*}

(1. Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266001; 2. Department of Hyperbaric Oxygen, Affiliated Qingdao Central Hospital of Qingdao University, Qingdao Cancer Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266000; 3. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Qingdao Central Hospital of Qingdao University, Qingdao Cancer Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the potential role of interleukin-37 (IL-37) in inhibiting multi-drug resistance (MDR) in lung adenocarcinoma cells and its impact on paclitaxel-resistant A549/TAX cells. **Methods** Using cell culture, treatment protocols, real-time fluorescence quantitative PCR, Western blot analysis, and statistical analysis, the effects of IL-37 on paclitaxel-resistant A549/TAX cells were systematically studied. **Results** Paclitaxel significantly inhibited the proliferation of both A549 and A549/TAX cells, with the resistance index (RI) for A549/TAX being 16.88. At a concentration of 100 ng/mL, rhIL-37 significantly suppressed A549/TAX cell proliferation. The combination of paclitaxel and rhIL-37 showed a significantly higher inhibition rate of cell proliferation compared to paclitaxel alone ($P<0.05$). Additionally, rhIL-37 markedly inhibited the migration and invasion of A549/TAX cells after 24 hours. Non-cytotoxic concentrations of rhIL-37 also significantly suppressed colony formation of A549/TAX cells. After 48 hours of rhIL-37 treatment, the expression level of MDRI in A549/TAX cells decreased by approximately 66% compared to the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Combining IL-37 and paclitaxel treatment can effectively inhibit the prolifer-

作者单位:1. 青岛大学医学部,山东,青岛266001

2. 青岛大学附属青岛市中心医院,青岛市肿瘤医院高压氧科,山东,青岛266000

3. 青岛大学附属青岛市中心医院,青岛市肿瘤医院检验科,山东,青岛266000

*通信作者:牟晓峰, E-mail: muxiaofeng2005@126.com

eration, migration, and invasion of A549/TAX cells. By reducing the expression level of the *MDR1* gene, it may reverse the cell's drug resistance, providing experimental evidence for the potential application of IL-37 in the treatment of lung adenocarcinoma.

[KEY WORDS] Interleukin-37; Paclitaxel resistance; Non-small cell lung cancer; Multidrug resistance gene-1

根据2020年全球癌症统计数据(GLOBOCAN 2020),肺癌是当下全球最常见的恶性肿瘤之一,占有所有癌症发病率的11.4%^[1]。非小细胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)是肺癌中最常见的病理类型,占发病率的80%~85%^[2]。尽管紫杉醇是IV期无驱动基因、非鳞癌NSCLC化疗的一线治疗药物^[3]。然而长期治疗可能导致肿瘤细胞产生耐药,原发性耐药率高达55%^[4]。

紫杉醇耐药的机制主要包括微管蛋白表达水平的变化,多药耐药基因*MDR-1*的过度表达,以及细胞凋亡的调节^[5]。多药耐药(Multidrug Resistance, MDR)是癌症化疗的主要临床障碍^[6]。其中*MDR1*基因编码的P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)是目前研究较多的转运蛋白之一^[7]。

白介素37(interleukin37, IL-37)是IL-1家族中一类新发现的抗炎性细胞因子^[8]。近年来研究表明IL-37与肿瘤的发生发展密切相关^[9]。IL-37通过调节m6A甲基化能够抑制肺腺癌细胞的增殖^[10],并能够抑制EMT发生^[11]。

本研究旨在探讨IL-37对紫杉醇耐药肺癌细胞体外功能及耐药的影响及其分子机制,为肺癌紫杉醇耐药的治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验使用的肺腺癌细胞系A549和紫杉醇耐药的肺腺癌细胞系A549/TAX、A549/TAX专用培养基均购自武汉普诺赛生命科技有限公司;Ham's F-12K培养基购自美国Thermo Fisher科技公司;胎牛血清购自上海富衡生物科技有限公司;胰蛋白酶和青链霉素混合液均购自大连美仑生物技术有限公司;紫杉醇标准品和人重组白介素37购自北京索莱宝科技有限公司;RNA反转录试剂盒和荧光定量PCR试剂盒均购自TAKARA公司,CCK-8、结晶紫、4%多聚甲醛均购自上海碧云天生物技术有限公司;P-pg抗体购自武汉爱博泰克(ABClonal)生物技术有限公司;Transwell小室(8 μ M)、Matri-

gel胶购自美国Corning-costar公司。

1.2 试剂配制

紫杉醇标准品以20 mg溶解于2 mL DMSO,制备10 mg/mL的母液,后续按需稀释,保证药物浓度时DMSO浓度不超过1%。*rhIL-37*以2 g溶解于1 mL无菌纯水,得到2 g/mL的母液,后续按所需浓度稀释。

1.3 细胞培养

A549细胞使用含10%胎牛血清的Ham's F-12K培养基和1%青链霉素混合液培养。A549/TAX细胞使用含0.5~1 μ g/mL紫杉醇的专用培养基。*rhIL-37*培养组在37°C含5% CO₂的培养箱中提前48小时加入*rhIL-37*,细胞融合度达到70%~80%时进行传代或冻存。

1.4 CCK-8实验

细胞融合度达到70%~80%后,用胰蛋白酶消化细胞,计数3 000~5 000个细胞后接种到96孔板中。加入100 μ L完全培养基,分为不同组别,如A549空白组、A549紫杉醇培养组等,每组3个孔。培养48小时后,每孔加入10 μ L CCK-8试剂,2.5小时后用酶标仪以450 nm波长检测OD值。细胞增殖抑制率=(1-实验组OD值/对照组OD值) \times 100%。使用GraphpadPrism9.0计算IC₅₀,耐药指数(RI)=耐药细胞IC₅₀/亲本细胞IC₅₀。实验重复3次,数据处理和分析使用GraphpadPrism9.0。

1.5 划痕实验

在细胞融合度达到70%~80%时,用胰酶消化并计数50 000个细胞,接种于6孔板。在板的背面用马克笔画5条平行的直线作为标记。用含有10%胎牛血清和1%双抗的培养基补充至2 mL,培养24小时。细胞融合成单层后,用黄色无菌枪头划3条与标记直线垂直的划痕。去除培养基,用PBS清洗两次去除漂浮细胞。加入无血清培养基,拍照作为0小时结果。按实验设计分组,如A549组、A549/TAX组和*rhIL-37*处理的A549/TAX组。在24小时和48小时时用显微镜拍照,每

孔随机选3个区域。图像使用Photoshop处理,划痕面积用ImageJ分析。实验重复3次,数据分析和作图使用GraphpadPrism9.0。

1.6 Transwell 侵袭实验

先取出冰箱中的预冷无血清培养基和枪头,融化Matrigel胶并按1:20比例稀释在无血清培养基中。将稀释后的Matrigel胶加入Transwell小室上室底部,确保均匀铺满,水化基底膜30分钟。细胞融合度达到70%~80%时,用胰酶消化细胞并计数500个,加入Transwell小室(8 μm孔径)。上室加入不同药物的无血清培养基,下室加入含10% FBS的完全培养基。培养48小时后,吸掉培养基,用PBS清洗一次,擦去未穿透细胞,甲醇固定细胞15分钟后浸入0.1%结晶紫溶液中染色3分钟,用PBS清洗两次以洗净未结合的结晶紫。在显微镜下随机选择5个视野拍照,用ImageJ计数穿过小室的细胞数。实验重复3次,数据分析和作图使用GraphpadPrism9.0。

1.7 集落形成实验

细胞融合度达到70%~80%时,用胰酶消化细胞并计数500个,接种于6孔板。分组,用完全培养基培养1周。吸掉培养基,用PBS清洗漂浮细胞。甲醇固定30分钟,用1%结晶紫染色3分钟。用相机拍摄集落照片,用ImageJ计数。实验重复3次,数据分析和作图使用GraphpadPrism9.0。

1.8 实时荧光定量PCR

待细胞融合度达到70%~80%时,用胰酶消化细胞,计数50 000个细胞,接种于6孔板中培养24小时。细胞正常贴壁生长后,按实验设计处理细胞。每孔加入300 μL Trizol在冰上裂解细胞,并用异丙醇沉淀RNA,并用DEPC水重悬RNA。用TAKARA两步法逆转录试剂盒逆转录获得cDNA。以cDNA为模板,进行实时荧光定量PCR扩增(SYBR Green法)。使用Thermo Fisher科技公司合成的PCR引物,如*E-Cadherin*、*N-Cadherin*等。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。实验重复3次,用GraphPad Prism 9.0软件进行数据分析和作图。

1.9 蛋白印迹法检测蛋白表达

细胞融合度达到70%~80%时,胰酶消化并计数50 000个细胞,接种于6孔板,培养24小时。细胞贴壁后,按实验设计处理细胞。每孔加入80 μL loading buffer裂解细胞,用超声机粉碎并在

95℃煮沸10分钟。相同蛋白量的样本进行SDS-PAGE分离,湿法转膜至PVDF膜,依次用脱脂牛奶、一抗和二抗孵育。曝光仪内曝光,用ECL试剂盒检测条带,用Image J软件分析蛋白条带。实验重复3次,数据分析和作图使用GraphpadPrism9.0。

1.10 统计学方法

采用GraphPad Prism 9.0软件进行所有数据的统计学分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示。两组比较采用 t 检验,多组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 A549/TAX细胞为紫杉醇高耐药细胞

紫杉醇明显抑制A549和A549/TAX细胞的增殖,并呈现浓度依赖关系。A549的 IC_{50} 为0.1863 μg/mL, A549/TAX的 IC_{50} 为3.145 μg/mL,耐药指数 $RI = IC_{50}(A549) / IC_{50}(A549/TAX) = 16.88$, A549/TAX细胞对紫杉醇表现出高度耐药性。见图1。

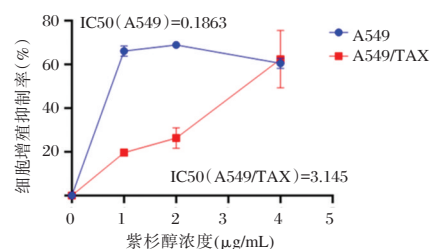


图1 不同浓度紫杉醇对A549细胞及A549/TAX细胞体外增殖的影响

Figure 1 Effect of different concentrations of paclitaxel on the proliferation of A549 cells and A549/TAX cells in vitro

2.2 rhIL-37降低A549/TAX细胞活力

经48小时处理后,50 ng/mL、100 ng/mL、150 ng/mL的*rhIL-37*均显著抑制A549/TAX细胞的增殖,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图2。随着*rhIL-37*浓度增加到1倍,从50 ng/mL增加到100 ng/mL时,细胞增殖抑制率的差异不大,且平均细胞增殖抑制率低于10%,故后续实验选用100 ng/mL的*rhIL-37*。

2.3 rhIL-37能够在体外增强紫杉醇对A549/TAX的杀伤力

与紫杉醇处理组相比,紫杉醇+*rhIL-37*处理组的细胞增殖抑制率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图3。

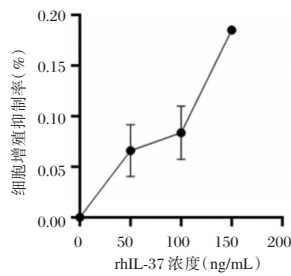
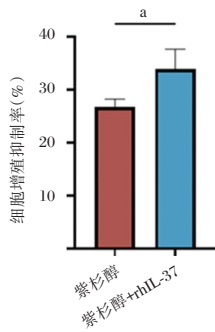


图2 不同浓度 *rhIL-37* 对 A549/TAX 细胞体外增殖的影响
Figure 2 Effect of different concentrations of *rhIL-37* on the proliferation of A549/TAX cells in vitro



注:与紫杉醇组相比,^a $P < 0.05$ 。

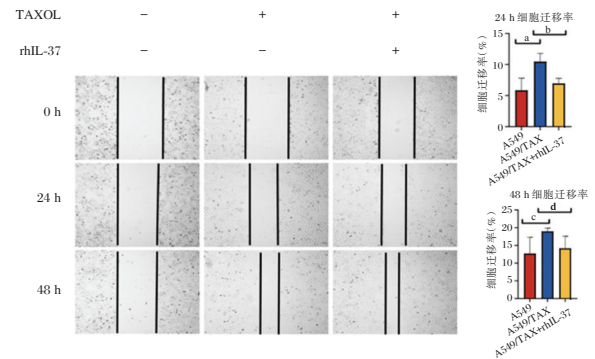
图3 *rhIL-37* 联合紫杉醇对 A549/TAX 细胞体外增殖的影响

Figure 3 Effect of *rhIL-37* combined with paclitaxel on in vitro proliferation of A549/TAX cells

2.4 *rhIL-37* 在体外抑制 A549/TAX 细胞迁移侵袭能力

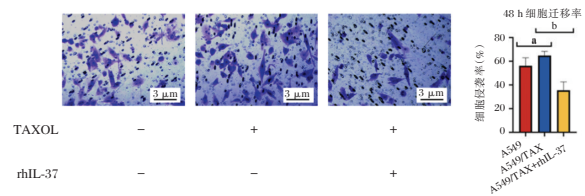
划痕实验的结果显示,A549 细胞划痕后培养 24 小时、48 小时的划痕愈合率为 $5.86\% \pm 1.94\%$ 、 $12.71\% \pm 4.59\%$;A549/TAX 细胞在培养 24 小时、48 小时愈合率为 $10.47\% \pm 1.31\%$ 、 $18.99\% \pm 0.90\%$;*rhIL-37* 处理的 A549/TAX 细胞在培养 24 小时、48 小时的愈合率为 $6.95\% \pm 0.84\%$ 、 $14.19\% \pm 3.43\%$ 。加入 *rhIL-37* 24 小时后,A549/TAX 细胞的愈合速度受到了一定程度的抑制,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);48 小时后,A549 组、A549/TAX 组和 A549/TAX+*rhIL-37* 组的细胞愈合速度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 4。Transwell 实验的结果表明,A549/TAX 细胞穿过基质胶的数量显著多于 A549 细胞,加入 *rhIL-37* 48 小时后,A549/TAX 细胞穿过基质胶的数量明显减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 5。

2.5 *rhIL-37* 在体外抑制 A549/TAX 细胞增殖能力克隆形成实验说明,A549 细胞形成集落数为



注:与 A549 组单独比较,^a $P < 0.05$,^c $P > 0.05$;与 A549/TAX 组单独比较,^b $P < 0.05$,^d $P > 0.05$ 。

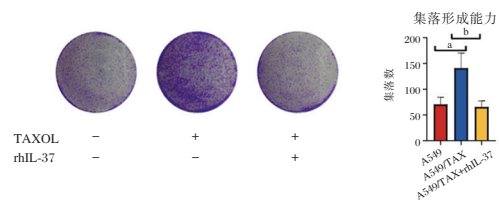
图4 *rhIL-37* 对 A549/TAX 细胞体外迁移能力的影响
Figure 4 Effect of *rhIL-37* on the in vitro migration ability of A549/TAX cells



注:与 A549 组单独比较,^a $P < 0.05$;与 A549/TAX 组单独比较,^b $P < 0.005$ 。

图5 *rhIL-37* 对 A549/TAX 细胞体外侵袭能力的影响
Figure 5 Effect of *rhIL-37* on the in vitro invasion ability of A549/TAX cells

(70.52 ± 13.86), A549/TAX 细胞形成集落数为 (141.03 ± 29.20),A549/TAX+*rhIL-37* 形成集落数为 (65.60 ± 11.81),非细胞毒性浓度的 *rhIL-37* 可以抑制 A549/TAX 细胞的集落形成,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 6。



注:与 A549 组单独比较,^a $P < 0.005$;与 A549/TAX 组单独比较,^b $P < 0.005$ 。

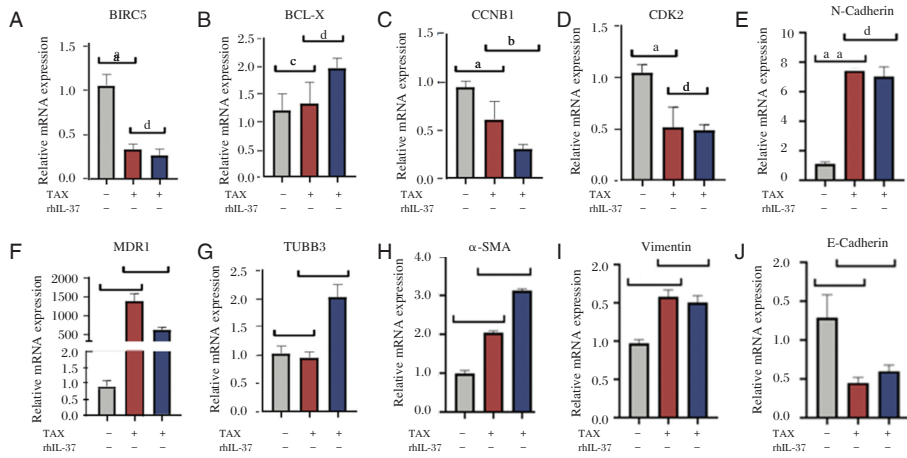
图6 *rhIL-37* 对 A549/TAX 细胞体外集落形成能力的影响
Figure 6 Effect of *rhIL-37* on the colony forming ability of A549/TAX cells in vitro

2.6 *rhIL-37* 抑制 A549/TAX 细胞多药耐药基因的表达

与 A549 细胞相比,A549/TAX 细胞的 *BIRC5*、

CCNB1、*CDK2* 和 *E-Cadherin* 的表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 7A~D。*MDR1*、*N-Cadherin*、*vimentin*、 α -*SMA* 的表达增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 7F~I。而 *Bcl-xL* 和 *TUBB3* 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 7E、J。在 *rhIL-37* 作用 48 小时后, TAX+*rhIL-37* 组细胞 *MDR1* 的表

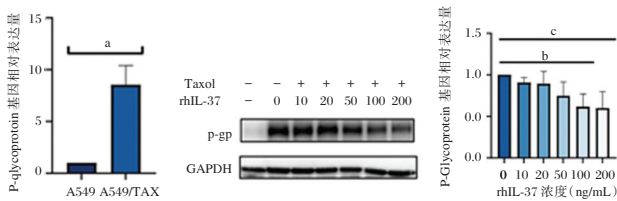
达水平相较于 A549/TAX 组下降了约 66% ($P < 0.05$)。见图 7F。通过 Western Blot 检测 P-gp 的表达, 结果显示 A549/TAX 细胞 P-gp 蛋白显著高于 A549 细胞。见图 8A~B。100 ng/mL、200 ng/mL 的 *rhIL-37* 均显著抑制 P-gp 蛋白的表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 8B~C。



注: 与 A549 组单独比较, ^a $P < 0.05$, ^c $P > 0.05$; 与 A549/TAX 组单独比较, ^b $P < 0.05$, ^d $P > 0.05$ 。

图 7 实时荧光定量 PCR 筛选紫杉醇耐药相关差异基因

Figure 7 Real time fluorescence quantitative PCR screening for differentially expressed genes related to paclitaxel resistance



注: 与 A549 组单独比较, ^a $P < 0.05$; 与 A549/TAX 组单独比较, ^b $P < 0.05$; 与 A549/TAX 组单独比较, ^c $P < 0.05$ 。

图 8 Western Blot 检测 *MDR1* 基因编码的 P-gp 蛋白的表达

Figure 8 Western Blot detects the expression of the P-gp protein encoded by the *MDR1* gene

3 讨论

MDR1 基因的过度表达导致多药转运体 P-gp 的产生, 这在多种化疗药物耐药性中扮演关键角色, 也是癌症治疗挑战的主要原因之一^[12]。为克服此耐药机制, 长期以来, 研究人员一直致力于联合应用 P-gp 转运功能抑制剂, 提高抗癌药物在细胞内的浓度以克服耐药性^[13]。

IL-37 作为新型炎症抑制因子, 在肿瘤微环境中对肿瘤生长起抑制作用^[14]。以往研究表明, 在肾细胞癌和人肝细胞癌中, IL-37 表达水平与肿瘤

相关因素呈负相关^[15]。本课题组前期研究表明, IL-37 能够通过 IL-6/STAT3 信号通路抑制非小细胞肺癌细胞迁移和侵袭^[11]。然而, IL-37 是否能在体外逆转 A549/TAX 细胞紫杉醇耐药及其机制尚不清楚。

本实验研究结果表明, *rhIL-37* 联合紫杉醇能够有效抑制 A549/TAX 细胞的迁移、侵袭和增殖, 逆转肺腺癌对紫杉醇的耐药性。可能的机制是通过降低 *MDR1* 基因的表达, 减少 P-gp 蛋白在细胞膜上的表达, 从而增加紫杉醇在细胞内的浓度, 提高化疗效果。研究还指出, 虽然 A549/TAX 细胞表达 *E-Cadherin* 较低, *N-Cadherin* 和 *Vimentin* 表达较高^[16], 这可能导致细胞粘附不稳定, 促进肿瘤的发生和转移, 这与之前的研究结果相符, 这与 Milad Ashrafizadeh 等^[17]的结论相一致, 但 *rhIL-37* 并未显著影响 EMT 相关基因的表达, 这表明 EMT 可能不是 *rhIL-37* 逆转紫杉醇耐药性的机制。

综上所述, *rhIL-37* 能够在体外抑制耐药的肺腺癌细胞增殖、迁移、侵袭, 并通过下调 *MDR1* 来逆转紫杉醇耐药。

参考文献

- [1] Bade BC, Dela Cruz CS. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention [J]. Clin Chest Med, 2020, 41(1): 1-24.
- [2] Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment [J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(8): 1623-1640.
- [3] Zhao S, Tang Y, Wang R, et al. Mechanisms of cancer cell death induction by paclitaxel: an updated review [J]. Apoptosis, 2022, 27(9-10): 647-667.
- [4] Min HY, Lee HY. Mechanisms of resistance to chemotherapy in non-small cell lung cancer [J]. Arch Pharm Res, 2021, 44(2): 146-164.
- [5] Xu JH, Hu SL, Shen GD, et al. Tumor suppressor genes and their underlying interactions in paclitaxel resistance in cancer therapy [J]. Cancer Cell Int, 2016, 16: 13.
- [6] Briz O, Perez-Silva L, Al-Abdulla R, et al. What "The Cancer Genome Atlas" database tells us about the role of ATP-binding cassette (ABC) proteins in chemoresistance to anti-cancer drugs [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2019, 15(7): 577-593.
- [7] Seelig A. P-Glycoprotein: One Mechanism, Many Tasks and the Consequences for Pharmacotherapy of Cancers [J]. Front Oncol, 2020, 10: 576559.
- [8] Cavalli G, Dinarello C A. Suppression of inflammation and acquired immunity by IL-37 [J]. Immunol Rev, 2018, 281(1): 179-190.
- [9] Su Z, Tao X. Current Understanding of IL-37 in Human Health and Disease [J]. Front Immunol, 2021, 12: 696605.
- [10] Mu X, Zhao Q, Chen W, et al. IL-37 Confers Anti-Tumor Activity by Regulation of m6A Methylation [J]. Front Oncol, 2020, 10: 526866.
- [11] Jiang M, Wang Y, Zhang H, et al. IL-37 inhibits invasion and metastasis in non-small cell lung cancer by suppressing the IL-6/STAT3 signaling pathway [J]. Thorac Cancer, 2018, 9(5): 621-629.
- [12] Song P, Xu H, He Y, et al. GAB1 is upregulated to promote anaplastic thyroid cancer cell migration through AKT-MDR1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 607: 36-43.
- [13] Khakbaz P, Panahizadeh R, Vatankeh MA, et al. Allicin Reduces 5-fluorouracil-resistance in Gastric Cancer Cells through Modulating MDR1, DKK1, and WNT5A Expression [J]. Drug Res (Stuttg), 2021, 71(8): 448-454.
- [14] Abulkhir A, Samarani S, Amre D, et al. A protective role of IL-37 in cancer: a new hope for cancer patients [J]. J Leukoc Biol, 2017, 101(2): 395-406.
- [15] Liu R, Tang C, Shen A, et al. IL-37 suppresses hepatocellular carcinoma growth by converting pSmad3 signaling from JNK/pSmad3L/c-Myc oncogenic signaling to pSmad3C/P21 tumor-suppressive signaling [J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 85079-85096.
- [16] Bure IV, Nemtsova MV, Zaletaev DV. Roles of E-cadherin and Noncoding RNAs in the Epithelial-mesenchymal Transition and Progression in Gastric Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 2870.
- [17] Ashrafizadeh M, Mirzaei S, Hashemi F, et al. New insight towards development of paclitaxel and docetaxel resistance in cancer cells: EMT as a novel molecular mechanism and therapeutic possibilities [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 141: 111824.

(上接第 974 页)

- [14] 李婷, 林雁潮, 王瑶, 等. 颈部血管超声、CT 血管成像及磁共振成像在急性缺血性脑卒中患者颈动脉狭窄诊断中的应用比较 [J]. 实用医学杂志, 2019, 35(12): 2005-2009.
- [15] Yu J, Sun G, Chen Y, et al. CEACAM1 inhibited I κ B- α /NF- κ B signal pathway via targeting MMP-9/TIMP-1 axis in diabetic atherosclerosis [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2020, 76(3): 329-336.
- [16] 侯红军, 张洪胜, 刘杰, 等. 双层探测器光谱 CT 血管成像评估急性缺血性脑卒中灌注的价值 [J]. 中华放射学杂志, 2021, 55(12): 1277-1281.

(上接第 978 页)

- [11] 张扬扬, 乔建瓴. FEV1、PEF、MEF75、MEF50、MEF25 实际值/预计值评估哮喘患者气道阻塞价值研究 [J]. 人民军医, 2021, 64(7): 633-638.
- [12] 刘阳, 高伟霞, 宋哲, 等. 呼出气一氧化氮联合白介素-17、白介素-27 检测对儿童支气管哮喘的临床诊断价值 [J]. 中国儿童保健杂志, 2021, 29(9): 1008-1011.
- [13] 张晶鑫, 刘传合, 牟京辉, 等. 支气管哮喘患儿肺功能长期变化轨迹及危险因素 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(19): 1458-1463.
- [14] 艾秀珍, 聂智敏, 艾学才. 支气管哮喘患者外周血 sIL-2R、sICAM-1、CCL11 水平与气道重塑的相关性分析 [J]. 解放军医药杂志, 2022, 34(6): 38-43.
- [15] 钟晓, 李森. 气道上皮细胞间质转化参与哮喘气道重塑的分子调控机制 [J]. 国际儿科学杂志, 2022, 49(2): 92-95.

纳米抗体在体内外诊断和治疗中的优势和临床应用

于艳妮 周雁 邵丽莹 宋宇 王明义*

[摘要] 作为目前已知的能与抗原发生特异性结合的最小抗体,纳米抗体(nanobody, Nb)近年来在医学领域的发展非常迅速。相对于常规单克隆抗体制备繁琐、成本高、运输保存条件苛刻而言,纳米抗体结构简单、稳定性极高,在极端的条件下仍然保留与抗原结合的特性,同时其具备水溶性高、穿透力强、免疫原性弱、排斥反应小、可以进行批量生产等优势,使得其被大规模应用于临床。本综述将归纳纳米抗体的生物学性能和结构特征,阐明其在小分子、病原体和癌症等方面的诊断功能以及感染和肿瘤等治疗上的应用,并对未来纳米抗体的发展进行展望。

[关键词] 纳米抗体;重链可变区;体外诊断

Advantages and clinical applications of nanoantibodies in vitro and in vivo diagnosis and therapy

YU Yanni, ZHOU Yan, SHAO Liying, SONG Yu, WANG Mingyi*

(Central Laboratory, Weihai Municipal Hospital, Weihai, Shandong, China, 264200)

[ABSTRACT] Nanoantibodies (nanobodies, Nbs), the smallest known antibodies that can specifically bind to antigens, have rapidly developed in the medical field in recent years. Compared to conventional monoclonal antibody preparations nano antibodies have a simple structure, high stability, and can retain their ability to bind to antigens under extreme conditions. Additionally, they have high water solubility, strong penetration, weak immunogenicity, low rejection rates, and can be mass-produced, making them suitable for large-scale clinical applications. This review will summarize the biological properties and structural characteristics of nanoantibodies, clarify their diagnostic functions in detecting small molecules, pathogens, and cancers, discuss their therapeutic applications in treating infections and tumors, and explore the future development of nanoantibodies.

[KEY WORDS] Nanobody; VHH; IVD

90年代初,有学者在骆驼体内发现一种缺失轻链的重链抗体(Heavy chain antibody, HCAs), HCAs中含有一个单一的重链可变区(Variable domain of the H chain of Heavy Chain Antibody, VHH)。后来,科学家在VHH的基础上发明了一种仅由VHH构成的单域抗体(single domain Antibody, sdAb),由于其分子量极其微小,约为15 kD,因此被命名为纳米抗体(Nanobody, Nb)^[1]。常规抗体通过二硫键将两条重链和两条轻链连接在一起,重链和轻链中分别含有可变区和恒定区,可变

区中的氨基酸容易发生突变,因此被称为互补决定区(Complementary determining regions, CDRs)。然而,纳米抗体仅由4个骨架区和3个CDRs组成^[2],异于常规抗体重链的6个互补决定区,但其仍保留了HCAs完整的抗原结合力,并且具有较好的组织渗透性和稳定性、容易制备、可以大规模生产等特性,在多个领域都将有广阔的应用前景。本文将对纳米抗体的优势及其对病原体 and 肿瘤的诊断以及对感染性疾病和恶性肿瘤治疗等方面的作用进行综述。

作者单位:威海市立医院中心实验室,山东,威海 264200

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

1 纳米抗体的结构优势

1.1 稳定性强

常规生物分子的提纯过程中难以避免各种有机溶剂,或者是温度、酸碱度、压力的变化所引起的负面效应。而在实验设计中,很多试剂的选择需要综合考虑是否会影响抗体的活性以及与抗原结合的亲和性。常规抗体易受反应环境的影响,在使用过程中有其局限性,相比之下,纳米抗体具备较高的稳定性,可以在强酸强碱、高温高压以及有机溶剂存在的条件下仍保持结构的稳定性和抗原亲和性。Nb的突出特点是具有热稳定性,发生变性后仍具有重新折叠的能力,在低温或者是常温条件下可以保存几个月到一年不等^[3]。在PH2-6条件下用纳米抗体检测单核细胞李斯特菌,至少能保留Nb 30%的生物活性^[4]。

1.2 组织渗透性好且亲和性高

临床上常规抗体常用作示踪剂进行影像学检查,但不足的是常规抗体分子量大,难以透过某些生理屏障,易在血液中蓄积,产生负面影响,限制了大规模应用。因此,纳米抗体的出现很大程度上解决了这一不足。

常规抗体由于是“Y”形,具有凹面或平面的抗原结合位点,位于内部的抗原难以与之结合,而纳米抗体CDRs结构可形成指环,凸型结构更容易深入到靶蛋白内部与隐蔽的抗原发生特异性结合,增加了Nb的亲和力^[5]。Piramoorn等^[6]用^{99m}Tc(CO)₃⁺合成并标记了抗表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)纳米体OA-cb6,研究其在鳞状细胞癌中的作用,发现在注射4小时后能明显观察到肿瘤所在位置。同时,这种偶联纳米体在发挥作用后能迅速从血液中清除,经肾脏代谢。

1.3 尺寸小,免疫原性低

常规抗体用于治疗时,抗体的免疫原性易诱发强烈的免疫反应,而纳米抗体的VHH与人的VH区高度同源^[7],免疫原性低,可最大限度地降低药物在体内产生的不良后果,在免疫性疾病、炎症性疾病和肿瘤等的治疗中表现出不容小觑的优势。研究发现,常规抗体重链和轻链可变结构域的配对N末端能够与抗原结合,而纳米抗体由于没有轻链,其单N端结构域在不需要结构域配对的情况下就能结合抗原^[1]。

2 纳米抗体的临床应用

2.1 体外诊断

2.1.1 分子检测

目前大部分纳米抗体检查的是蛋白质等大分子抗原,而针对半抗原或小分子的检测很少有报道,最新的研究发现,纳米抗体可以用来检测多种小分子抗原,例如真菌毒素和农药残留等。

LIU等^[8]在功能纳米复合材料表面密集涂覆较小分子的抗AFB1纳米抗体,AFB1-SA标记的HCR(AFB1-HCR)系统与HRP串联体结合可以放大电化学信号,提高免疫传感器灵敏度,因此发展了一种快速检测AFB1小分子的伏安免疫传感器,为后续小分子检测分析提供了新的思路。

食品中杀螟硫磷(Fenitrothion, FN)的残留严重威胁人类的生命健康,LUO等^[9]利用氢氧化钴纳米材料研发了一种基于纳米抗体碱性磷酸酶(Nb-ALP)融合蛋白的荧光ELISA,利用红色发射碳点(r-CDs)锚定羟基氧化钴纳米片(CoOOH NS)复合体检测FN, r-CDs作为荧光信号源与CoOOH NS结合成r-CDs@CoOOH NS复合体,通过荧光共振能量转移使r-CDs发生猝灭。与固相抗原竞争性结合的Nb-ALPk可以介导抗坏血酸的产生,将CoOOH NS还原为Co²⁺,能量转移消失, r-CDs恢复荧光。该荧光ELISA对FN高度敏感,检测限为0.14 ng/mL,比常规比色法ELISA低25倍。荧光ELISA成为检测FN残留的一种重要手段。

2.1.2 病原体检测

肠道沙门氏菌是引起食源性感染的重要病原体^[10],食物中存在少量该病原体可引起严重感染,因此,在食品和环境快速可靠地检测沙门氏菌对于保障食品供应以及确保公众食品安全至关重要。采用纳米抗体13(Nb-13)夹心ELISA法检测沙门菌,检测限可低至 1.4×10^5 CFU/mL。该Nb-13夹心法还可应用于牛奶样品中的肠炎沙门氏菌检测,经10小时的富集后可检测牛奶中浓度仅为6 CFU/mL的沙门氏菌^[11]。核蛋白(Nucleoprotein, NP)是流感病毒主要的抗原决定簇,利用抗体检测流感病毒NP成为一种快速诊断流感的方法。GAO等^[12]构建了纳米抗体NP荧光报告系统,一个纳米抗体融合到DNA结合结构域(DBD-NP54),另一个融合到反式激活结构域(AD-NP170),采用荧光蛋白和荧光素酶检测出了H1、H3和H7等不同

的甲型流感亚型,成为临床上分析甲型流感感染的新方法,为流感疫苗的研究提供了新思路。CHEN等^[13]发现了一种溶液内管道检测方法,该管道系统具有纳米体功能化纳米颗粒,可用于埃博拉和 COVID-19 抗原的快速电子检测(Nano2RED)。纳米抗体大大提高了体外诊断检测试剂盒的灵敏度和检测时间,实现了大规模标本的快速检测。

2.2 临床治疗

2.2.1 感染治疗

由 SARA-CoV-2 引起的 2019 新型冠状病毒肺炎来势汹汹,当时在全国上下引起了巨大恐慌,开发具有广泛保护性的抗体和疫苗是全球医疗机构的重中之重。常规抗体制作成本高,不适于大规模生产,而纳米抗体的出现为药物的研发带来了新的希望。Li等^[14]从免疫羊驼中鉴定出一组特殊的纳米体,这些纳米体对多种突变体(包括奥密克戎亚变异株 BA.1、BA.2 和 BA.4/5、SARS-CoV-1)具有效力。一种代表性的纳米抗体 3-2A2-4 拥有一个高度保守的表位,位于受体结合域(Receptor binding domain, RBD)的隐藏面和外表面之间,干扰了 ACE2 结合所需的 RBD 结构变更,保护小鼠免受 SARS-CoV-2 Delta 和 Omicron 的感染,为疫苗的研发和抗体的设计提供了参考价值。

细菌的致病力主要表现为毒力因子入胞,从源头上遏制细菌进入细胞是治疗细菌感染的主要手段。识别大肠杆菌鞭毛蛋白、紧密黏附素及其受体的纳米抗体在体外阻断发挥功能,能够有效抑制肠道菌感染^[15]。例如,制备纳米体抑制炭疽芽孢杆菌表面单晶层 Sap 蛋白的自组装,确定 Saps 层组装域(SapAD)的结构,s 层的解体可减弱炭疽杆菌的生长和体内炭疽菌的病理变化,成功在小鼠模型中清除了炭疽芽孢杆菌的感染并降低了致死性^[16]。

2.2.2 肿瘤治疗

2.2.2.1 递送药物杀伤肿瘤细胞 顺铂类药物是治疗实体瘤的一线药物,尽管取得良好成效,但其产生的副作用不可忽视,主要原因是它缺乏特异性,在运输过程中会被不同的组织器官吸收,产生毒性作用。Huang等^[17]构建了一种多功能纳米-药物偶联物,用于靶向递送铂前药,纳米体与之结合后,可以特异性内化到 EGFR 阳性的肿瘤细胞中,产生更高的治疗效果和更低的副作用。

TLR7 激动剂可通过刺激 pDC 分泌干扰素- α ,并增强其它免疫细胞(如 NK 细胞和巨噬细胞)的作用。同时,它还可提高 pDC 的抗原提呈能力,促进 CD4⁺T 细胞的增殖,进一步激活 CD8⁺T 细胞杀伤肿瘤细胞,发挥抗肿瘤作用。程序性死亡配体 1(Programmed death ligand 1, PD-L1)与免疫系统的抑制有关,与程序性死亡受体-1 结合可以传导抑制性的信号,减低 CD8⁺T 细胞的增殖。PD-L1 纳米抗体与 TLR7 激动剂联合的双靶向纳米抗体-药物偶联物 PD-L1/TLR7,可诱导先天免疫反应和肿瘤内 PD-L1 表达,进一步减弱 T 细胞免疫抑制,上调 PD-L1 相关通路,发挥协同抗肿瘤作用^[18]。

2.2.2.2 拮抗肿瘤细胞生长 受体酪氨酸激酶可调控肿瘤细胞的生长和死亡,其配体一般是生长因子、细胞因子和激素。一旦酪氨酸激酶的氨基酸发生突变,影响下游的级联信号,多种因子表达失控,将导致肿瘤细胞生长。c-MET 蛋白是受体酪氨酸激酶家族的一个成员,由上皮细胞表达,与癌症的预后不良相关,其激活可以促进肿瘤的增殖、肿瘤组织部位血管发生和肿瘤细胞转移。苏志鹏^[19]从原核细胞中纯化出抑制癌细胞增殖的纳米抗体(TOP10MIX),发现 TOP10MIX 显著抑制 HepG2 细胞的 c-MET 蛋白及其磷酸化,癌细胞的增殖和克隆最终受到影响。表皮生长因子受体 2(Epidermal growth factor receptor 2, EGFR2)也是常见的酪氨酸激酶家族成员,其参与各种发育过程,与肿瘤密切相关。针对 HER2-TK 的纳米抗体 VHH17 半数最大抑制浓度表现出对 HER2 激酶活性抑制,显著降低 HER2 阳性癌细胞的活力,成为治疗 HER2 阳性乳腺癌患者的有效剂^[20]。

2.2.2.3 激活免疫细胞杀伤肿瘤细胞 嵌合抗原受体(Chimeric antigen receptor, CAR)T 细胞是一种新型的肿瘤靶向疗法,T 淋巴细胞在胸腺成熟后释放到外周组织和血液中发挥免疫功能,抵御和杀死病原体等外来物质。实验人员通过基因工程技术激活 T 细胞,将 CAR 装配到 T 细胞上,使其能专门识别体内肿瘤细胞,释放效应因子杀死肿瘤细胞。Zhang等^[21]通过串联的 CD7 纳米抗体 VHH6 与内质网/高尔基保留基序肽偶联,建立 CD7 阻断方法,固定细胞内的 CD7 分子。CD7 可阻断 CAR T 细胞,防止自身细胞自相残杀,同时发挥有效的溶细胞活性,显著缓解白血病进展,在患者体内表现出良好而持久的抗肿瘤效果。联合使

用抗 CD19 和 CD30 CAR-T 细胞治疗的患者没有出现与 CAR-T 细胞治疗相关的严重不良事件,并且获得了长期无进展生存期^[22]。

3 小结

纳米抗体的发现对于体外诊断试剂的开发及临床疾病的诊断与治疗具有重要意义。无论是小分子、病原体感染或者肿瘤检测,都因纳米抗体的介入大大降低了检测下限,在提高了灵敏度和特异性的同时,减少了对机体的副作用。同时,纳米抗体的靶向性和组织渗透力使得其在临床感染性疾病和肿瘤疾病中发挥巨大潜力。随着研究的不断深入,纳米抗体的更多特性将会被科学家们挖掘并广泛应用于临床。但是,纳米抗体的小尺寸特性导致其半衰期短,易被肾脏代谢而无法持续发挥作用,而纳米抗体在高温高压或者强酸强碱的条件下稳定存在,也易引起多重耐药的可能。即便如此,纳米抗体对于疾病的诊断和临床治疗都存在巨大优势,期望未来可以找到延长纳米抗体半衰期的方法,以充分发挥纳米抗体的优势。

参考文献

- [1] 陈哲浩, 李林鸿, 曹王丽, 等. 单域抗体的特性及其临床开发进展[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(21): 2581-2587.
- [2] Bannas P, Hambach J, Koch-Nolte F. Nanobodies and Nanobody-Based Human Heavy Chain Antibodies As Antitumor Therapeutics[J]. Front Immunol, 2017, 8: 1603.
- [3] Ingram JR, Schmidt FI, Ploegh HL. Exploiting Nanobodies' Singular Traits[J]. Annu Rev Immunol, 2018, 36: 695-715.
- [4] Tu Z, Chen Q, Li Y, et al. Identification and characterization of species-specific nanobodies for the detection of *Listeria monocytogenes* in milk[J]. Anal Biochem, 2016, 493: 1-7.
- [5] Mitchell L S, Colwell L J. Comparative analysis of nanobody sequence and structure data[J]. Proteins, 2018, 86(7): 697-706.
- [6] Piramoon M, Hosseinimehr SJ, Omidfar K, et al. (99m) Tc-anti-epidermal growth factor receptor nanobody for tumor imaging[J]. Chem Biol Drug Des, 2017, 89(4): 498-504.
- [7] Rossotti MA, Belanger K, Henry KA, et al. Immunogenicity and humanization of single-domain antibodies[J]. FEBS J, 2022, 289(14): 4304-4327.
- [8] Liu X, Wen Y, Wang W, et al. Nanobody-based electrochemical competitive immunosensor for the detection of AFB₁ through AFB₁-HCR as signal amplifier[J]. Mikrochim Acta, 2020, 187(6): 352.
- [9] Luo L, Lin SQ, Wu ZY, et al. Nanobody-based fluorescent immunoassay using carbon dots anchored cobalt oxyhydroxide composite for the sensitive detection of fenitrothion[J]. J Hazard Mater, 2022, 439: 129701.
- [10] Martinovic T, Andjelkovic U, Gajdosik MS, et al. Food-borne pathogens and their toxins[J]. J Proteomics, 2016, 147: 226-235.
- [11] He Y, Ren Y, Guo B, et al. Development of a specific nanobody and its application in rapid and selective determination of *Salmonella enteritidis* in milk[J]. Food Chem, 2020, 310: 125942.
- [12] Cao J, Zhong N, Wang G, et al. Nanobody-based sandwich reporter system for living cell sensing influenza A virus infection[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 15899.
- [13] Chen X, Kang S, Iqbal MA, et al. Synthetic nanobody-functionalized nanoparticles for accelerated development of rapid, accessible detection of viral antigens[J]. Biosens Bioelectron, 2022, 202: 113971.
- [14] Li M, Ren Y, Aw ZQ, et al. Broadly neutralizing and protective nanobodies against SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.1, BA.2, and BA.4/5 and diverse sarbecoviruses[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 7957.
- [15] Gelfat I, Aqeel Y, Tremblay JM, et al. Single domain antibodies against enteric pathogen virulence factors are active as curli fiber fusions on probiotic *E. coli* Nissle 1917[J]. PLoS Pathog, 2022, 18(9): e1010713.
- [16] Fioravanti A, Van Hauwermeiren F, Van der Verren SE, et al. Structure of S-layer protein Sap reveals a mechanism for therapeutic intervention in anthrax[J]. Nat Microbiol, 2019, 4(11): 1805-1814.
- [17] Huang H, Wu T, Shi H, et al. Modular design of nanobody-drug conjugates for targeted-delivery of platinum anticancer drugs with an MRI contrast agent[J]. Chem Commun (Camb), 2019, 55(35): 5175-5178.
- [18] Yu X, Long Y, Chen B, et al. PD-L1/TLR7 dual-targeting nanobody-drug conjugate mediates potent tumor regression via elevating tumor immunogenicity in a host-expressed PD-L1 bias-dependent way[J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(10).
- [19] 苏志鹏. 抗 c-MET 纳米抗体的抗肿瘤作用研究[D]. 南京: 东南大学, 2019.
- [20] Lamtha T, Tabtimmai L, Bangphoomi K, et al. Generation of a nanobody against HER2 tyrosine kinase using phage display library screening for HER2-positive breast cancer therapy development[J]. Protein Eng Des Sel, 2021, 34.
- [21] Zhang M, Chen D, Fu X, et al. Autologous Nanobody-Derived Fratricide-Resistant CD7-CAR T-cell Therapy for Patients with Relapsed and Refractory T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma[J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(13): 2830-2843.
- [22] Xue Y, Lai X, Li R, et al. CD19 and CD30 CAR T-Cell Immunotherapy for High-Risk Classical Hodgkin's Lymphoma[J]. Front Oncol, 2020, 10: 607362.

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。

