



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

分子诊断与治疗杂志

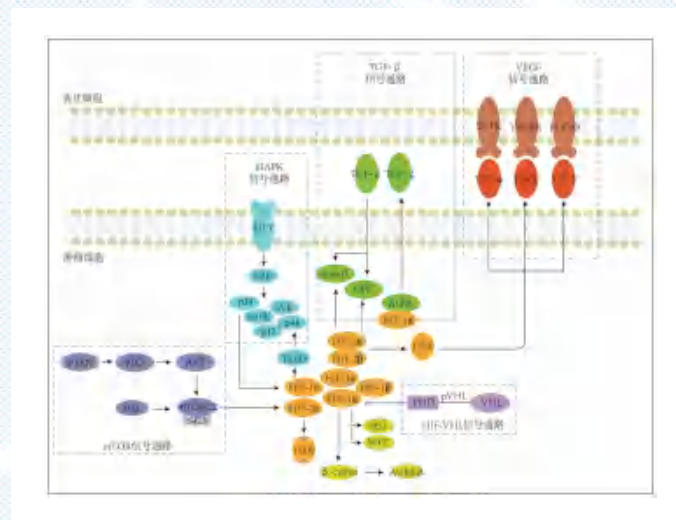
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022年10月 第14卷 第10期 总第98期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 10 October 2022



图(1643) HIF 基因转录水平调控信号通路

Figure(1643) HIF gene transcription level regulation signaling pathways

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



9 771674 692228

钱净



钱净,三级主任技师,教授,硕士生导师;1991年6月毕业于重庆医科大学医学检验系,获医学学士学位次,2002年6月结业于昆明医科大学研究生班生物化学与分子生物学专业。

现任昆明市第一人民医院检验科副主任(主持工作),昆明市医学会检验分会主任委员,昆明市临床检验质量控制中心主任。钱净教授2010年晋升主任技师,

2012年获昆明医科大学临床检验诊断学专业学位研究生导师资格,同年被评为云南省内知名专家,2018年再获得昆明医科大学医学技术学术学位研究生导师资格。主要从事临床检验及实验室管理质量与技术的临床、教学、科研工作,研究方向主要为临床实验室管理及心血管疾病实验室诊断技术研究。近年来,发表论文70余篇,其中,SCI 2篇,核心期刊30余篇;主持或参与市级及以上科技计划项目15项,分别获国家、省、市科技成果奖10余项。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 10 月 第 14 卷 第 10 期 总第 98 期 Monthly Volume 14 Number 10 October 2022

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

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

地址 广州市天河区天河北路 179 号祥龙大厦 11 楼 (510620)
电话 (020) 32290789-206, 32290789-201
电子邮箱 jmdt@vip.163.com

刊号 ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R

邮发代号 46-283
发行单位 广东省报刊发行局
发行范围 国内外公开发售
广告发布登记通知书 440100190057
印刷 天意有福科技股份有限公司
出版日期 2022 年 10 月 18 日
定价 RMB 15.00 元

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

Add 11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620
Tel (020) 32290789-206, 32290789-201
E-mail jmdt@vip.163.com

CSSN ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R

Printing TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date 2022.10.18
Price RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

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

分子诊断与治疗杂志

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

特颁发此证书。

中国科学院技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038 www.istic.ac.cn

2021年12月

证书编号：2020-G556-0452
有效期至：2022年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年10月 第14卷 第10期

目次

述评

低氧诱导因子调控肾透明细胞癌进程的分子机制研究进展 陈延萍 吴果 马孟丹 等(1641)

论著

检验指标及影像特征预测肝细胞癌微血管侵犯的初步研究 郭保亮 黄锡谊 陈家成 等(1646)

地贫核酸检测国家参考品对单分子测序试剂的适用性评价 于婷 胡泽斌 黄杰 等(1650)

凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合 Geneva 评分对肺癌合并PTE的诊断价值
..... 张森 王茂玉 李娟娟 等(1655)

sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 对 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的评估价值
..... 高永超 刘晓文 王晓琦 等(1659)

趋化因子 CXCL7 通过血管形成途径促进结直肠癌增殖、迁移及侵袭的机制研究
..... 程刚 李东鹏 张华鹏 等(1663)

miR-221/222 与乳腺癌 ER α 表达及他莫昔芬敏感性的关系
..... 侯蕾 马源婧 霍欣欣 等(1667)

肠道病毒 EV71 型和 CA16 型 IgM 抗体检测试剂盒的分析性能
..... 何水珍 严荔贞 施少鑫 等(1672)

骨髓炎患儿血清组织蛋白酶G、乳铁蛋白表达与疾病严重程度的相关性
..... 李佳鑫 王树人 单志涛 等(1676)

WBC、RBC、Ucr 指标变化与尿液标本不同保存条件的关系
..... 吕金龙 刘志华 廖琳(1680)

神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路手术对垂体瘤 PRL、GHG 及 ACTh 水平的影响
..... 鲁彦 刘景云 张人梹(1684)

新版血站技术操作规程离心法制备的冷沉淀凝血因子 FVIII 和血浆纤维蛋白原含量分析
..... 黄华霖 刘伟平 冯叶 等(1688)

卡瑞利珠单抗联合化疗治疗晚期 NSCLC 患者的治疗效果 韩璐 厉锋(1692)

参苓白术散合藿香正气散在糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱中的应用
..... 张玉花 王立君 朱晓琳 等(1696)

血清 Nrf2、HO-1 水平与胆汁淤积性肝病患者治疗应答的关系 罗振华 罗鲜樟 张杰峰 等(1701)

血清 β -内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系
..... 徐倩 朱爱 郭岩松 等(1705)

血脂异常对老年股骨颈骨折行单侧全髋关节置换术患者术后慢性非恶性疼痛的影响
..... 董林剑 武玲 李元海(1709)

EGFR21 突变阳性的晚期 NSCLC 两药与三药联合在患者中的价值分析
..... 李馥郁 田春艳 李淘淘(1713)

新生儿黄疸 G6PD 基因突变及实验室相关指标分析 王杨 吉永 匡野 等(1718)

骨髓 *CKS1B*、*p53* 基因表达对多发性骨髓瘤患者化疗效果及预后的评估价值
 廖彩翔 黎国伟 秦晓铎(1722)

TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 表达与口腔鳞癌病理参数和预后的关系
 孟媛媛 赵亭亭 吕红娟(1727)

牙龈组织中 MMP-13 和 TIMP-1 的表达与游离龈移植术后应用 CGF 生长因子创面愈合的关系
 于兰 于文凤 吕敏敏(1732)

阴道壁组织中 *TGF- β 1*、*MMP-9*、*Nrf 2* 表达在盆底功能障碍患者中的临床意义
 汪新宇 程永玲 刘晓宁 等(1736)

rTMS 对急性缺血性 PSD 患者 5-HIAA、氨基酸类神经递质及 5-HT 的影响
 秦雅鑫 张恒 闵白媛 等(1741)

血清 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平与白内障术后眼内炎的关系 贾梦 孙蒙蒙 崔博坤 等(1745)

口腔鳞癌患者 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 变化及临床意义 赵亭亭 刘振丽 李立恒 等(1749)

尿乳酸/肌酐比值、Mb 和 cTnI 在 HIE 中的表达及临床意义 龚晓燕 刘成博 陈燕 等(1753)

TG/HDL-C、cTnI 和 CK-MB 与慢性肾衰竭患者心血管疾病的关系 牛艳冬 温小军 张曼(1757)

急性脑梗死 rt-PA 溶栓时 NO/ET-1、L-Arg、PCT 与神经功能关系及预测血管再通效能
 张奕颖 毛峥嵘 罗莎 等(1761)

IL-18、NLR 和 *NLRP3* 水平与高血压性脑出血严重程度及预后的关系
 徐磊 古红香 李兴义 等(1765)

NT-proBNP、cTnI、CK-MB 在老年冠心病 PCI 术后预测心衰发生风险的探讨
 唐茜 张浩 程景林(1770)

新生儿黄疸胆红素、胆汁酸及白蛋白水平与 NBNA 评分的相关性 刘会青 孔高远 李方 等(1775)

重症多发性创伤患者 Mb、HSP72 及 PCT 水平与预后的关系 李景周 陈培莉(1779)

非布司他治疗 2 型糖尿病伴高尿酸血症患者对胰岛素抵抗及 γ -GGT、TyG 表达的影响
 李梓 李丹丹 王尹(1783)

女性外阴尖锐湿疣患者宫颈 HPV 与解脲支原体、沙眼衣原体、淋球菌合并感染情况分析
 张军 王夕文 刘汉文 等(1788)

EB-DNA 检测在重离子治疗鼻咽癌中的临床应用价值 王兴昌 陈东基 周俊年 等(1792)

Klotho 在缺血性脑卒中患者血清中的表达及临床意义 毕芳芳 史敏 苏明权 等(1796)

NLR3 在宫颈 CIN 病变中表达及临床价值 张建海 王巍 王前 等(1799)

毒性弥漫性甲状腺肿患者 IGF-1、UA 及 FGF-23 与骨密度的关系
 田勇 崔晓磊 侯卫东 等(1804)

冠心病合并心力衰竭 cTnI、Mb、IL-10 水平与心功能的相关性
 梁魏昉 李合燕 金培印 等(1807)

冠心病颈动脉超声参数 AC、 β 及 IMT 与冠状动脉病变的关系 屈娟娟(1811)

急性脑梗死患者 Mb、Glu 及 LDH 水平与神经功能缺损的关系 李盼 马冰新 郑云辉 等(1815)

HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与自身抗体水平的关系 吴海花 熊萍 王瑶 等(1819)

综 述

儿童孤独症谱系障碍病因学研究进展 孙娅男 周子晴 魏凤香(1822)

专家风采

钱净 (封二)

实验室巡礼

昆明市第一人民医院检验科 (封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 10 October 2022

CONTENTS

COMMENTS

- Research advance in the molecular mechanisms of hypoxic-inducible factor regulating the progression of renal clear cell carcinoma
CHEN Yanping, WU Guo, MA Mengdan, YANG Yubin, CHEN Wei (1641)

ORIGINAL ARTICLES

- Preliminary study of test indexes and imaging features to predict microvascular invasion of hepatocellular carcinoma
GUO Baoliang, HUANG Xiyi, CHEN Jiacheng, PAN Jialing, HU Qiugen, YANG Shaomin (1646)
- Evaluation of the applicability of national reference materials for thalassaemia nucleic acid detection to single-molecule sequencing reagents
YU Ting, HU Zebin, HUANG Jie, SUN Nan (1650)
- Diagnostic value of coagulation factor III, PTX-3 and FIB combined with Geneva score in lung cancer complicated with pulmonary thromboembolism
ZHANG Miao, WANG Maoyu, LI Juanjuan, HUO Mingchang, LI Chao (1655)
- The evaluation value of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy in the assessment of carotid plaque stability in patients with AIS
GAO Yongchao, LIU Xiaowen, WANG Xiaoyu, WANG Shaolan (1659)
- The mechanism of chemokine CXCL7 promoting colorectal cancer proliferation, migration and invasion through angiogenesis pathway
CHENG Gang, LI Dongpeng, ZHANG Huapeng, LIU Hua, SUN Feng, LIANG Hai, LI Longhai (1663)
- Relationship between Mir-221/222 and ER α expression and tamoxifen sensitivity in breast cancer
HOU Lei, MA Yuanjing, HUO Xinxin, SHI Xueli (1667)
- Analytical performance of enterovirus EV71 and CA16 IgM antibody detection kits
HE Shuizhen, YAN Lizhen, SHI Shaoxin, ZHONG Qiurong (1672)
- Correlation between serum cathepsin G, lactoferrin expression and disease severity in children with osteomyelitis
LI Jiabin, WANG Shuren, SHAN Zhitao, WANG TeHasi (1676)
- Relationship between changes of WBC, RBC and Ucr indexes and different storage conditions of urine specimens
LV Jinlong, LIU Zhihua, LIAO Lin (1680)
- Effects of neuroendoscopy-assisted transsphenoidal approach on the levels of PRL, HGH and ACTh in pituitary tumors
LU Yan, LIU Jingyun, ZHANG Renxiao (1684)
- New technical operating procedures for blood stations-preparation of cryoprecipitated coagulation factor FVIII and plasma fibers by centrifugation
HUANG Hualin, LIU Weiping, FENG Ye, CHEN Jufen, PENG Jiliang (1688)
- Effect of carrilzumab combined with chemotherapy in patients with advanced NSCLC
HAN Lu, LI Feng 1692
- Application of Shenling Baizhu powder and Huoxiang Zhengqi powder in the treatment of diabetes complicated with cold dampness diarrhea gastrointestinal dysfunction
ZHANG Yuhua, WANG Lijun, ZHU Xiaolin, BAI Yuting, NING Jing, DONG Dawen (1696)
- Relationship between serum Nrf2 and HO-1 levels and treatment response in patients with cholestatic liver disease
LUO Zhenhua, LUO Xianzhang, ZHANG Jiefeng, QING Zhou (1701)
- Relationship between serum β -endorphin and dynorphin levels and the analgesic effect of paraspinal nerve blockade for renal tumors
XU Qian, ZHU Ai, GUO Yansong, WANG Mingli, ZHANG Huiling, ZHANG Airong (1705)
- Effects of dyslipidemia on chronic non-malignant pain in elderly patients with femoral neck fractures undergoing unilateral total hip arthroplasty
DONG Linjian, WU Ling, LI Yuanhai (1709)
- The value of two-drug versus three-drug combinations in EGFR21 mutation-positive patients with advanced NSCLC
LI Fuyu, TIAN Chunyan, LI Taotao (1713)

Analysis of <i>G6PD</i> gene mutation and laboratory related indicators in neonatal jaundice <i>WANG Yang, JI Yong, KANG Ye, FU Xiaoye, YANG Xiaoqing, LI Yi</i>	(1718)
Evaluation of <i>CKS1B</i> and <i>p53</i> gene expression in bone marrow for chemotherapy effect and prognosis in patients with multiple myeloma <i>LIAO Caixiang, LI Guowei, QIN Xiaohua</i>	(1722)
Relationship between <i>TEAD4</i> , <i>SHP-2</i> and <i>ANG-2</i> expression, pathological parameters and prognosis of oral squamous cell carcinoma <i>MENG Yuanyuan, ZHAO Tingting, LV Hongjuan</i>	(1727)
Relationship between the expression of <i>MMP-13</i> and <i>TIMP-1</i> in gingival tissue and the wound healing of CGF growth factor after free gingival transplantation <i>YU Lan, YU Wenfeng, LV Minmin</i>	(1732)
Clinical significance of <i>TGF-β1</i> , <i>MMP-9</i> and <i>Nrf 2</i> in vaginal wall tissues in patients with pelvic floor dysfunction <i>WANG Xinyu, CHENG Yongling, LIU Xiaoning, GUAN Xiaoqing</i>	(1736)
Effects of rTMS on 5-HIAA, amino acid neurotransmitters and 5-HT in patients with acute ischemic PSD <i>QIN Yaxin, ZHANG Heng, MIN Baiyuan, XU Donghua, HUA Zhijuan</i>	(1741)
Relationship between serum <i>IL-1β</i> , <i>CD64</i> index and <i>SAA</i> level and endophthalmitis after cataract operation <i>JIA Meng, SUN Mengmeng, CUI Bokun, CHEN Yanshuang, LIU Shuo, HAO Jianzhang, ZHANG Hu</i>	(1745)
Changes and clinical significance of <i>PLK1</i> , <i>caspase-3</i> and <i>Ki-67</i> in patients with oral squamous cell carcinoma <i>ZHAO Tingting, LIU Zhenli, LI Liheng, ZHANG Xuan, LI Chao, Ma Sai</i>	(1749)
Expression and clinical significance of urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI in HIE <i>GONG Xiaoyan, LIU Chengbo, CHEN Yan, WANG Liwei</i>	(1753)
Relationship between <i>TG/HDL-C</i> , <i>cTnI</i> and <i>CK-MB</i> and cardiovascular disease in patients with chronic renal failure <i>NIU Yandong, WEN Xiaojun, ZHANG Man</i>	(1757)
Relationship between <i>NO/ET-1</i> , <i>L-Arg</i> , <i>PCT</i> and neurological function during rt-PA thrombolysis in acute cerebral infarction and the prediction of vascular recanalization efficacy <i>ZHANG Yiyang, MAO Zhengrong, LUO Sha, JIANG Hua</i>	(1761)
Relationship between the levels of <i>IL-18</i> , <i>NLR</i> , <i>NLRP3</i> and the severity and prognosis of hypertensive intracerebral hemorrhage <i>XU Lei, GU Hongxiang, LI Xingyi, XU Haomiao</i>	(1765)
Clinical value of <i>NT-proBNP</i> , <i>cTnI</i> , <i>CK-MB</i> level to predict the risk of chronic heart failure after coronary stent implantation in elderly patients with coronary heart disease <i>TANG Qian, ZHANG Hao, CHENG Jinglin</i>	(1770)
Correlation of bilirubin, bile acids, albumin levels with NBNA score in neonatal jaundice <i>LIU Huiqing, KONG Gaoyuan, LI Fang, MIAO Lihong</i>	(1775)
Relationship between Mb, <i>HSP72</i> and <i>PCT</i> levels and prognosis in patients with severe multiple trauma <i>LI Jingzhou, CHEN Peili</i>	(1779)
Effects of febuxostat in the treatment of type 2 diabetes with hyperuricemia on insulin resistance and the expression of γ -GGT and TyG <i>LI Zi, LI Dandan, WANG Yin</i>	(1783)
Analysis on the combined infection of cervical HPV with <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> and <i>Neisseria gonorrhoeae</i> in female patients with vulvar condyloma acuminatum <i>ZHANG Jun, WANG Xiwen, LIU Hanwen, HAN Nini, PAN Zhaobao, WANG Yanping</i>	(1788)
Clinical application of EB-DNA detection in heavy ion therapy for nasopharyngeal carcinoma <i>WANG Xingchang, CHEN Dongji, ZHOU Junnian, LI Xia, YANG Ting</i>	(1792)
Expression and clinical significance of <i>Klotho</i> in serum of patients with ischemic stroke <i>BI Fangfang, SHI Min, SU Minquan, CHENG Weiwei, ZHANG Lu</i>	(1796)
Expression and clinical value of <i>NLRC3</i> in cervical CIN lesions <i>ZHANG Jianhai, WANG Wei, WANG Qian, XU Jialun, GAO Na</i>	(1799)
Relationship between <i>IGF-1</i> , <i>UA</i> and <i>FGF-23</i> and bone mineral density in patients with Graves disease <i>TIAN Yong, CUI Xiaolei, HOU Weidong, LI Jin, DING Hongxia</i>	(1804)
Correlation between <i>cTnI</i> , Mb, <i>IL-10</i> levels and cardiac function in patients with coronary heart disease combined with heart failure <i>LIANG Weifang, LI Heyan, JIN Peiyin, NIE Ming, NIE Shaoping</i>	(1807)
Relationship between carotid ultrasound parameters <i>AC</i> , β and <i>IMT</i> and coronary artery lesions in coronary heart disease <i>QU Juanjuan</i>	(1811)
Relationship between Mb, <i>Glu</i> and <i>LDH</i> levels and neurological deficits in patients with acute cerebral infarction <i>LI Pan, MA Bingxin, ZHENG Yunhui, CHU Junxiao</i>	(1815)
Relationship between <i>Fas/FasL</i> level in peripheral blood lymphocytes and autoantibody level in patients with HT <i>WU Haihua, XIONG Ping, WANG Yao, ZHANG Qianying, ZHAO Wei, WEN Jinhui, GOU Xiaoqin</i>	(1819)

REVIEWS

Research progress on etiology of autism spectrum disorders in children <i>SUN Yanan, ZHOU Ziqing, WEI Fengxiang</i>	(1822)
--	--------

低氧诱导因子调控肾透明细胞癌进程的分子机制研究进展

陈延萍^{1,2} 吴果^{1,2} 马孟丹^{1,2} 杨育宾^{1,2} 陈巍^{1*}

[摘要] 肾透明细胞癌(ccRCC)是泌尿系统最常见的肾恶性肿瘤之一,低氧诱导因子(HIF)在大多数肾透明细胞癌中高表达,是肿瘤生长过程中关键的调节因子。HIF通过与低氧反应元件(HER)结合介导其下游多个靶基因的转录,从而调控ccRCC发生、发展及多种生物学行为。本文主要围绕HIF基因对ccRCC的调控作用及机制进行综述,以期进一步明确其对基础医学的科学价值及对临床研究的指导作用。

[关键词] 肾透明细胞癌;低氧诱导因子;低氧反应元件;调控机制

Research advance in the molecular mechanisms of hypoxic-inducible factor regulating the progression of renal clear cell carcinoma

CHEN Yanping^{1,2}, WU Guo^{1,2}, MA Mengdan^{1,2}, YANG Yubin^{1,2}, CHEN Wei^{1*}

(1. Institute of Translational Medicine, the First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518036; 2. Department of Pharmacy, Shantou University School of Medicine, Shantou, Guangdong, China, 515041)

[ABSTRACT] Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is one of the most common malignant tumors in the urinary system. Hypoxia-inducible factor (HIF) is highly expressed in most renal clear cell carcinomas and is a key regulator of tumor growth. HIF mediates the transcription of multiple downstream target genes by binding to the hypoxia response element (HER), thereby regulating the occurrence, development, and various biological behaviors of ccRCC. This review focuses on the regulation and mechanism of HIF gene on ccRCC, to clarify its scientific value to basic medicine and its guiding role in clinical research.

[KEY WORDS] Renal clear cell carcinoma; Hypoxia-inducible factor; Hypoxia response element; Regulation and mechanism

最新癌症统计数据显示,全球范围内肾癌新增病例约43万例,死亡人数达到17.9万人^[1],其中美国2021年男性及女性肾癌新增病例均位于全部癌种新增病例的前十,且分别占总新增病例数的5%、3%^[2]。近年来我国肾癌发病率及死亡率逐年攀升^[3],给我国医疗卫生事业带来了巨大挑战,肾癌逐渐成为我国泌尿肿瘤领域亟待解决的重要难题。肾透明细胞癌(Clear cell renal cell carcinoma,

ccRCC)是肾细胞癌最常见的病理类型,约占所有肾细胞癌的80%^[4]。ccRCC微环境中普遍存在低氧现象^[5],而低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)则是这一现象的主要诱因,HIF基因对ccRCC的增殖、分化、血管生成、能量代谢以及肿瘤耐药发生、患者预后等具有调控作用^[6-8]。因此综述HIF基因在ccRCC中的作用具有重要的科学价值,或可为临床治疗提供理论基础。

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2019YFA0906000);广东省自然科学基金项目(2020A1515010235)

作者单位:1. 深圳大学第一附属医院深圳市第二人民医院转化医学研究院,广东,深圳 518036

2. 汕头大学医学院药理学系,广东,汕头 515041

*通信作者:陈巍, E-mail: jessie_chenwei@163.com

1 ccRCC的发展现状

ccRCC常发生于双侧肾脏,伴有囊腔结构,影像学显示钙化阴影且胞浆透明,内含丰富的毛细血管网^[9]。作为一种预后相对较差的肾恶性肿瘤,ccRCC的预后受多因素影响,包括肿瘤大小、坏死程度以及TNM分级等^[10-11]。研究ccRCC发病机理以及预后影响因素不仅有助于寻求更有效的方法提高ccRCC患者的存活率,还可以建立并完善ccRCC的预后分析系统,对临床治疗具有重要的指导意义。

因ccRCC普遍具有转移性和异质性,临床上常用的根治性肾切除术、保留肾单位手术以及下腔静脉栓治疗等方案治疗效果不佳。*HIF*基因可作为治疗ccRCC的有效靶点,目前靶向*HIF*基因的药物在临床应用中取得较好的治疗效果。因此,不断深入挖掘*HIF*相关调控基因及靶向药物并解析其作用机制对ccRCC的临床诊疗意义重大。

2 HIF基因

*HIF*编码的蛋白包括*HIF-1*、*HIF-2*及*HIF-3*,三者均含 α 亚基和 β 亚基构成的二聚体结构, α 亚基是依赖于细胞内氧气浓度水平的主要调节亚基, β 亚基则是组成性结构,在 α 亚基未被泛素化的情况下与其结合形成二聚体并移入细胞核内发挥转录激活作用。

转录组学及蛋白质组学分析表明,*HIF-1 α* 与*HIF-2 α* 是ccRCC肿瘤细胞适应低氧环境的重要作用因子,对ccRCC的发生发展具有调控作用。转录后水平的研究数据表明,*HIF-1 α* 主要调控糖酵解过程,而*HIF-2 α* 调控脂蛋白代谢、核糖体发生以及相关基因的转录激活等^[12]。部分研究者认为14号染色体上(Von Hippel-Lindau, VHL)双等位基因失活时,*HIF-1 α* 在ccRCC中发挥抑癌功能,而*HIF-2 α* 发挥促癌作用^[6],但也有研究证明在原发性ccRCC小鼠异种移植瘤模型中*HIF-1 α* 对肿瘤形成是必要的,因此*HIF-1 α* 对ccRCC的调控作用及机理有待进一步验证。关于*HIF-3 α* 作用机制的研究较少,其在ccRCC中的转录激活活性尚未被证实,*HIF-3 α* 通过与*HIF-1 β* 的竞争性结合调控*HIF-1 α* 和*HIF-2 α* 的功能,常被认作低氧诱导基因表达的负调节剂。

3 HIF在ccRCC中的具体调控机制

3.1 转录水平的调控

目前关于*HIF*基因转录水平的调控机制主要包括:*HIF α* -VHL氧敏感信号通路、调控肿瘤新生血管生成的血管生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号通路、转化诱导因子(transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路以及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路。*HIF*基因通过以上信号通路参与调节ccRCC细胞增殖、血管形成、糖酵解等生物学行为。

3.1.1 HIF α -VHL氧敏感信号通路

*VHL*基因功能丧失和低氧诱导因子*HIF*不受抑制的激活是ccRCC发生和发展的主要诱因,*VHL*基因的突变或失活作为ccRCC发生的早期事件导致*HIF*的积聚而激活下游基因的异常表达,进而促进ccRCC的发生和发展。在细胞内不同氧水平下,*HIF*参与细胞内信号通路的调控主要依赖其 α 亚基与*VHL*基因编码产物(product of the *VHL* gene, pVHL)结合活性来实现,从而形成*HIF- α* -VHL-PHD轴来实现其对ccRCC的调控作用。见图1。

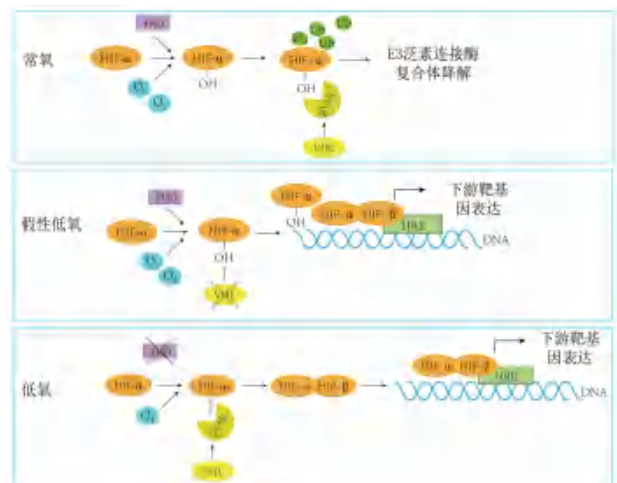


图1 不同氧水平下*HIF α* -VHL氧敏感信号通路的调控机制
Figure 1 The regulation mechanism of *HIF α* -VHL oxygen sensitive signaling pathways at different oxygen levels

常氧的条件下,pVHL识别并结合脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)作用后羟基化的*HIF- α* ,并使其被进一步泛素化降解^[13]。此外,与氧水平无关的*VHL*双等位基因失活所介导的*HIF-1 α*

与 HIF-2 α 突变诱导的稳定作用使其能够与 HIF-1 β 结合并定位于核,从而使低氧反应途径的下游基因转录激活,出现“假性低氧”,这种假性低氧会促进诱导肿瘤细胞的增殖以及血管生成因子的表达以及代谢重编程等^[14]。低氧时,PHD 失活导致 HIF- α 的稳定,使其不被 pVHL 识别降解而与 HIF- β 结合形成二聚体转移到细胞核结合低氧反应元件,进而激活下游基因转录。HIF 结合位点的遗传变异可调节 HIF-VHL 轴的致癌转录输出,在该轴中 HIF-1 α 和 HIF-2 α 调节下游基因的转录活性,从而介导肿瘤细胞对低氧水平的适应性^[15]。

3.1.2 VEGF 信号通路

肿瘤组织内部高度血管化是 ccRCC 的显著特征,血管新生被认为是 ccRCC 发生、发展和临床治疗中的重大挑战。VEGF 是刺激血管生成的重要细胞外信号转导蛋白,与非转移性肾癌相比,转移性 ccRCC 中 VEGF、VEGFR2 的 mRNA 及蛋白表达水平均升高^[16]。HIF 的 α 、 β 亚基结合形成的二聚体可通过 HRE 定向作用于血管生长因子受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)、TGF- α 结合到其相应的下游受体上,进而调控血管生成^[17]。

3.1.3 TGF- β 信号通路

TGF- β 信号通路相关蛋白表达水平与 ccRCC 的患者的临床病理参数以及预后紧密相关,而 HIF-1 α 、HIF-2 α 在经典以及非经典的 TGF- β 信号通路中均发挥调控作用。具体概括为:在 ccRCC 早期低氧状态中,HIF-1 α 的上调可激活 TGF- β /Smad 通路致使低氧诱导的 TGF- β 信号通路下游效应因子 Smad3 上调,从而抑制肿瘤的发生发展进程、减缓肿瘤细胞氧敏感通路的低氧反应^[18];常氧时,HIF-1 α 以及 HIF-2 α 的上游驱动因子促进 TGF- β 信号通路下游上皮间质转化基因 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 相关靶基因的表达进而调控 ccRCC 的发展进程。此外,在 VHL 基因失活的 ccRCC 中,HIF-1 α 异常激活并与间变型淋巴瘤激酶 5 (anaplastic lymphomakinase 5, ALK5) 协同作用调控 TGF- β 信号通路和低氧通路,进而介导 ccRCC 的不良预后以及远端转移^[19]。

3.1.4 MAPK 信号通路

HIF 基因功能与 MAPK 相关信号通路的磷酸化水平密切相关,MAPK 信号通路中的 ERK1/2 及 p38 能够在体外磷酸化 HIF-1 α 从而能够阻断其报

告基因的活性;HIF-1 α 通过与 TRIB3 启动子结合调控其表达水平,进而影响 MAPK 信号通路中 p38 蛋白、P44/42 以及 SAPK/JNK 等的磷酸化水平^[20]。ERK1/2 和 ERK5 状态与 ccRCC 预后高度相关,其中 ERK5 过表达的 ccRCC 患者预后较差^[21]。

3.1.5 mTOR 信号通路

mTOR 是一种 289 kDa 的丝氨酸、苏氨酸激酶,是肿瘤细胞生长和增殖的调节剂。有关报导表明 PI3K-AKT-mTOR 信号通路参与了 ccRCC 的启动和发展,如 Nayak 等^[22]发现 p22 沉默子通过 PI3K-AKT-mTOR 信号通路降低了 HIF-2 α 依赖的靶基因的表达并抑制肿瘤的生长,认为 P22 可成为靶向 mTOR 通路有效治疗靶点;磷酸酶和张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN) 是 PI3K-AKT-mTOR 信号通路的关键级联抑制因子,其缺失会导致该信号通路下游激活,影响 ccRCC 患者的整体生存率。

3.1.6 其他信号通路

HIF 基因除了参与多个信号通路的调控影响 ccRCC 表型外,还可以与多个癌基因互作间接发挥作用,见图 2。丧失初级纤毛是 ccRCC 的早期特征,HIF-1 α 通过抑制 β -catenin 转录活性降低极光激酶 A (Aurora kinase A, AURKA) 的表达水平,进而缩短肾脏成纤维细胞的纤毛长度^[23];在低氧条件下,HIF-1 α 可抑制原癌基因 MYC 活性,促进 ccRCC 肿瘤细胞在低氧条件下存活^[24];在 VHL 突变失活依赖的 ccRCC 中,HIF-1 α 与 p53 的表达水平存在负反馈调控机制,pVHL 的稳定性能够增强 p53 的抑癌活性^[25]。

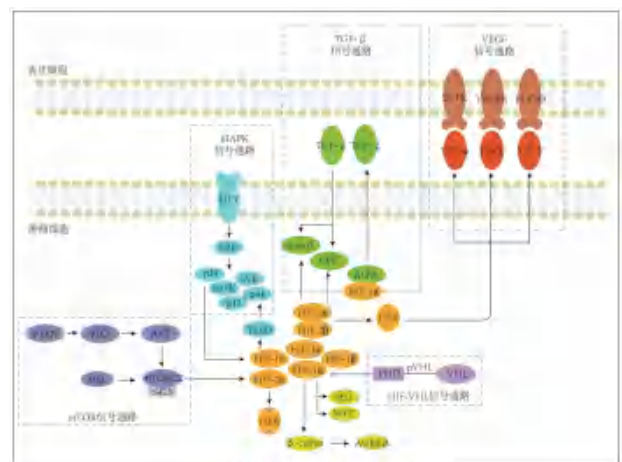


图2 HIF 基因转录水平调控信号通路

Figure 2 HIF gene transcription level regulation signaling pathways

3.2 表观遗传学调控

表观遗传重编程是 ccRCC 发生和发展过程中的重要事件,包含非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 和微小 RNA (micro RNAs, miRNAs) 参与的基因表达调控、DNA 甲基化以及组蛋白修饰等。随着人类基因组计划的完成以及单细胞测序技术迅猛发展,更多的学者热衷于 ccRCC 的表观遗传的研究,以期找到 ccRCC 的治疗新靶点。

3.2.1 长链非编码 RNA

LncRNA 是一类碱基序列长度大于 200 nt 且不编码蛋白质的 RNA,能够在转录水平以及转录后水平参与基因表达调控、基因组印记、染色质修饰等多种生物学进程。

低氧条件下,lncRNA 通过调控氧感知受体以及激素受体的表达水平影响 *VHL* 基因失活对 ccRCC 的调控作用。抑制雄激素受体的 lncRNA (suppressing androgen receptor in renal cell carcinoma, lncRNA-SARCC) 能够通过物理结合雄激素去稳定受体蛋白来抑制雄激素受体与 HIF 基因共同信号转导途径调控细胞的低氧周期。一种新型的 lncRNA,即人肾细胞相关转录本 1 (metastatic renal cell carcinoma-associated transcript 1, MRCCAT1) 通过招募多梳抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2) 到利钠肽受体 3 (natriuretic peptide receptor 3, NPR3) 启动子来抑制 NPR3 的转录,进而激活 p38-MAPK 信号转导途径促进 ccRCC 的转移^[26]。

3.2.2 微小 RNA

miRNAs 是具有调节功能的内源性非编码单链 RNA,能够靶向调节 mRNA 的活性,近年来,miRNAs 的发现为癌症的新型诊断和治疗增添了新维度。报道显示,与癌旁组织相比,ccRCC 组织中 miR-155 表达水平显著升高,且与 HIF α -VHL 基因表达水平呈正相关,认为 miR-155 可能通过 HIF α -VHL 通路调控 ccRCC 的发生和发展^[27]; Neal 等通过使用 HIF-1 α 和 HIF-2 α 特异性的 siRNA 处理 *VHL* 基因缺失的细胞发现 miR-155 表达水平明显降低,该现象表明 miRNA 的诱导主要是通过 HIF 所介导的^[28],这可能为 ccRCC 疾病的诊疗提供新的靶点。

3.2.3 DNA 甲基化

DNA 甲基化是肿瘤细胞中替代的互补机制,

通过沉默抑癌基因表达诱导肿瘤发生和转移。ccRCC 中包括 *HIF* 基因在内的多个癌基因的转录因子结合位点存在高甲基化区域,甲基化程度显著影响 *HIF* 基因的转录活性。这类基因沉默会干扰 ccRCC 中低氧相关的信号通路,例如依赖 *VHL* 的 DNA 超甲基化通过影响 HRE 中 CpG 位点二核苷酸的甲基化调节 HIF 与 HRE 的结合,从而影响 *HIF* 下游基因表达水平^[29]。氮端甲基腺嘌呤 (*N*⁶-methyladenosine, m⁶A) RNA 去甲基化酶的转录修饰子 FTO 作为 *VHL* 的合成性致死伙伴,可选择性降低 *VHL* 缺陷型、HIF 野生型以及 HIF 缺陷型 ccRCC 细胞存活率^[30]。

4 结论与展望

低氧不仅影响由遗传因素引发的恶性肿瘤的发生发展,长期的低氧环境也会导致肾脏功能下降并诱发慢性肾脏疾病。总之,ccRCC 对低氧环境的适应主要受 *HIF* 基因调控,*HIF* 基因的转录激活在血管新生、能量代谢以及缓解 ccRCC 细胞低氧损伤等方面有重要调控作用。随着机体氧感知机制研究的不断深入,*HIF* 基因的调控机制成为 ccRCC 病理作用研究的热点,给 ccRCC 的治疗开辟了新途径,还为进一步挖掘针对低氧所致的不同类型肿瘤的治疗提供借鉴。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [2] Siegel R, Miller K, Fuchs H, et al. Cancer Statistics, 2021 [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1):7-33.
- [3] 王昱政,胡樱. 1992-2016 年中国肾癌死亡趋势的年龄-时期-队列分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(3):508-512.
- [4] Ricketts CJ, DE Cubas AA, Fan H, et al. The Cancer Genome Atlas Comprehensive Molecular Characterization of Renal Cell Carcinoma [J]. Cell Rep, 2018, 23(1):313-326.e5.
- [5] TATLI DOGAN H, KIRAN M, BILGIN B, et al. Prognostic significance of the programmed death ligand 1 expression in clear cell renal cell carcinoma and correlation with the tumor microenvironment and hypoxia-inducible factor expression [J]. Diagn Pathol, 2018, 13(1):60.
- [6] Cowman S J, Fuja D G, Liu X D, et al. Macrophage HIF-1 α Is an Independent Prognostic Indicator in Kidney Cancer [J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(18):4970-4982.

- [7] Pajdzik K, Wilamowski M, Żurawek D, et al. Anterior gradient 2 promotes tumorigenesis through upregulation of CCAAT-enhancer binding protein beta and hypoxia-inducible factor-2 α and subsequent secretion of interleukin-6, interleukin-8, and vascular endothelial growth factor in the Caki-1 clear cell renal cell carcinoma cell line [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(8):1807-1818.
- [8] Bao L, Zhao Y, Liu C, et al. The Identification of Key Gene Expression Signature and Biological Pathways in Metastatic Renal Cell Carcinoma [J]. *J Cancer*, 2020, 11(7):1712-1726.
- [9] Co YH, Young JR, Pantuck AJ, et al. Association of tumor grade, enhancement on multiphasic CT and microvessel density in patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2020, 45(10):3184-3192.
- [10] Deng J, Li L, Xia H, et al. A comparison of the prognosis of papillary and clear cell renal cell carcinoma: Evidence from a meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(27):e16309.
- [11] 董幼溪, 王文博, 史坚, 等. HIF-1 α 、G6PD 及 PDCD5 的表达及与患者临床特征的相关性分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(01):63-66+71.
- [12] Miess H, Dankworth B, Gouw A M, et al. The glutathione redox system is essential to prevent ferroptosis caused by impaired lipid metabolism in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Oncogene*, 2018, 37(40):5435-5450.
- [13] Spirina LV, Kondakova IV, Yurmazov ZA, et al. VHL Expression in Kidney Cancer: Relation to Metastasis Development, Transcription and Growth Factors and Component of Akt/m-TOR Signaling Pathway [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2019, 167(5):671-675.
- [14] Zhang J, Wu T, Simon J, et al. VHL substrate transcription factor ZHX2 as an oncogenic driver in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Science*, 2018, 361(6399):290-295.
- [15] Hong K, Hu L, LIU X, et al. USP37 promotes deubiquitination of HIF2 α in kidney cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(23):13023-13032.
- [16] Lai Y, Zhao Z, Zeng T, et al. Crosstalk between VEGFR and other receptor tyrosine kinases for TKI therapy of metastatic renal cell carcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18:31.
- [17] Ndiaye PD, Dufies M, Giuliano S, et al. VEGFC acts as a double-edged sword in renal cell carcinoma aggressiveness [J]. *Theranostics*, 2019, 9(3):661-675.
- [18] Mallikarjuna P, Sitaram RT, Landström M, et al. VHL status regulates transforming growth factor- β signaling pathways in renal cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(23):16297-16310.
- [19] Mallikarjuna P, Raviprakash T S, Aripaka K, et al. Interactions between TGF-beta type I receptor and hypoxia-inducible factor-alpha mediates a synergistic crosstalk leading to poor prognosis for patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(17):2141-2156.
- [20] Hong B, Zhou J, Ma K, et al. TRIB3 Promotes the Proliferation and Invasion of Renal Cell Carcinoma Cells via Activating MAPK Signaling Pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(3):587-597.
- [21] Green YS, Sargis T, Reichert EC, et al. Hypoxia-Associated Factor (HAF) Mediates Neurofibromin Ubiquitination and Degradation Leading to Ras-ERK Pathway Activation in Hypoxia [J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(5):1220-1232.
- [22] Miikkulainen P, Högel H, Seyednasrollah F, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF)-prolyl hydroxylase 3 (PHD3) maintains high HIF2A mRNA levels in clear cell renal cell carcinoma [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(10):3760-3771.
- [23] Chowdhury P, Powell RT, Stephan C, et al. Bexarotene - a novel modulator of AURKA and the primary cilium in VHL-deficient cells [J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(24):jcs219923.
- [24] Hartl m, Bister K. MYC Analysis in Cancer and Evolution [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2318:87-117.
- [25] Griggio V, Vitale C, Todaro M, et al. HIF-1 α is over-expressed in leukemic cells from TP53-disrupted patients and is a promising therapeutic target in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Haematologica*, 2020, 105(4):1042-1054.
- [26] Zhang H, Qin C, Liu HW, et al. An Effective Hypoxia-Related Long Non-Coding RNAs Assessment Model for Prognosis of Clear Cell Renal Carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2021, 11:616722.
- [27] Bai S, Wu Y, Yan Y, et al. Construct a circRNA/miRNA/mRNA regulatory network to explore potential pathogenesis and therapy options of clear cell renal cell carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):13659.
- [28] Peng X, Gao H, Xu R, et al. The interplay between HIF-1 α and noncoding RNAs in cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):27.
- [29] Robinson CM, Lefebvre F, Poon BP, et al. Consequences of VHL Loss on Global DNA Methylome [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):3313.
- [30] Xiao Y, Thakkar KN, Zhao H, et al. The m(6)A RNA demethylase FTO is a HIF-independent synthetic lethal partner with the VHL tumor suppressor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(35):21441-21449.

检验指标及影像特征预测肝细胞癌微血管侵犯的初步研究

郭保亮¹ 黄锡谊² 陈家成² 潘佳玲¹ 胡秋根¹ 杨少民^{3*}

[摘要] 目的 探讨检验指标及影像学特征预测肝细胞癌微血管侵犯的应用价值。方法 选取2019年1月至2021年12月在南方医科大学顺德医院行肝脏切除术的119例患者作为研究对象,根据手术病理结果的微血管侵犯(MVI)情况将其分为MVI阳性组(49例)和MVI阴性组(70例)。所有患者术前均行核磁共振成像(MRI)检查,分析肝细胞癌微血管侵犯的影响因素。结果 两组患者NLR、PT、肿瘤累及的肝段、影像学形态、马赛克征、坏死、出血、DWI表现、动脉期瘤周强化、瘤内动脉、冠状强化、HBP瘤周低信号、肿瘤直径比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic回归分析显示,NLR水平升高、PT低、有肿瘤累及的肝段、肿瘤直径长是影响预测肝细胞癌MVI的独立危险因素(P 值均 <0.05)。ROC曲线图显示,HBP瘤周低信号对肝细胞癌MVI诊断效能最大,曲线下面积为0.809。结论 临床上可通过NLR、PT、肿瘤累及的肝段、肿瘤直径等联合检查判断肝细胞癌患者MVI情况。

[关键词] 检验指标;影像特征;肝细胞癌;微血管侵犯

Preliminary study of test indexes and imaging features to predict microvascular invasion of hepatocellular carcinoma

GUO Baoliang¹, HUANG Xiyi², CHEN Jiacheng², PAN Jialing¹, HU Qiugen¹, YANG Shaomin^{3*}

[1. Department of Radiology, Shunde Hospital, Southern Medical University (The First People's Hospital of Shunde, Foshan), Foshan, Guangdong, China, 528308; 2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Shunde Hospital of Guangzhou Medical University (Lecong Hospital of Shunde, Foshan), Foshan, Guangdong, China, 528315; 3. Department of Radiology, the Affiliated Shunde Hospital of Guangzhou Medical University (Lecong Hospital of Shunde, Foshan), Foshan, Guangdong, China, 528315]

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value of test indexes and imaging features in predicting microvascular invasion of hepatocellular carcinoma. **Methods** A total of 119 patients who underwent hepatectomy in Shunde Hospital of Southern Medical University from January 2019 to December 2021 were selected as the research subjects. They were divided into the MVI positive group (49 cases) and the MVI negative group (70 cases) according to the microvascular invasion (MVI) of the surgical and pathological results. All patients underwent preoperative magnetic resonance imaging (MRI) examination to analyze the influencing factors of microvascular invasion of hepatocellular carcinoma. **Results** There were statistically significant differences in NLR, PT, liver segment affected by tumor, imaging morphology, mosaic sign, necrosis, hemorrhage, DWI appearance, peritumoral enhancement, intratumoral artery, coronary enhancement, HBP peritumoral low signal, and tumor diameter between the two groups ($P<0.05$). Logistic

基金项目:佛山市自筹经费类科技计划项目(2020001005216);广东省医学科学技术研究基金项目(A2020395, A2020089, A2021483);南方医科大学顺德医院临床研究启动计划项目(CRSP2022005);佛山市顺德区医学骨干人才培养项目资助

作者单位:1. 南方医科大学顺德医院(佛山市顺德区第一人民医院)放射科,广东,佛山 528308

2. 广州医科大学附属顺德医院(佛山市顺德区乐从医院)检验科,广东,佛山 528315

3. 广州医科大学附属顺德医院(佛山市顺德区乐从医院)放射科,广东,佛山 528315

*通信作者:杨少民, E-mail: shaominyang@126.com

regression analysis showed that increased NLR level, low PT, liver segments with tumor accumulation, and long tumor diameter were independent influencing factors for predicting MVI in hepatocellular carcinoma ($P < 0.05$). The ROC curve showed that the HBP peritumoral hypointensity had the greatest diagnostic performance for MVI in hepatocellular carcinoma, and the area under the curve was 0.809. **Conclusion** Clinically, the MVI status of patients with hepatocellular carcinoma can be judged by combined examinations such as NLR, PT, accumulated liver segments of the tumor, and tumor diameter.

[KEY WORDS] Test index; Imaging symbol; Hepatocellular carcinoma; Microvascular invasion

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种形态异质性肿瘤,具有可变的结构生长模式和多种不同的组织学亚型,是常见的恶性肿瘤之一。据相关报道显示,全球范围内,男性 HCC 的发病率在癌症中排名第五,女性排第九,男性 HCC 的死亡率第二,女性第六,中国每年新增或致死的肝癌病例超过 50%^[1]。目前 HCC 的治疗手段多样,其中肝切除和肝移植是当前最常用的治疗方式,但不同患者的预后各不相同^[2]。微血管侵犯(microvascular invasion, MVI)与肝癌切除术后的预后有关,被认为是 HCC 手术后早期复发的重要风险因子,但如何在术前进行有效的预测仍具有一定的难度^[3]。以往的研究主要集中在评价不同的影像特征和图像组的表现上,在预测 MVI 方面,相关血清指标和影像学指标之间的差异尚未得到较好的解释。本文将探讨检验指标及影像特征预测肝脏微血管侵犯的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2019 年 1 月至 2021 年 12 月在南方医科大学顺德医院行肝脏切除术的 119 例肝癌患者作为研究对象。其中男 108 例,女 11 例,年龄 30~82 岁,平均年龄(55.62±7.34)岁。纳入标准:①符合《原发性肝癌诊疗规范(2017 年版)》解读中 HCC 的诊断标准^[4];②经影像学和手术病理结果所证实;③术前 1 个月内完成影像学检查;④所有患者及家属均知情且同意本次研究,并签署知情同意书。排除标准:①临床资料不齐全者;②影像图像质量影像观察病灶者;③以往接受过手术、化放疗、靶向治疗等相关治疗;④存在精神问题,无法配合检查者。本研究经医院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

收集患者一般资料,包括性别、年龄,相关检验指标,包括谷草转氨酶(alanineaminotransferase, AST)、计算中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophils

to lymphocytes ratio, NLR)、凝血酶原时间(Prothrombin time, PT),相关影像指标,包括肿瘤累及的肝段、病灶的数量、形态、马赛克征、坏死、出血、扩散加权成像(diffusion-weighted images, DWI)表现、动脉期瘤周强化、瘤内动脉、冠状强化、肝胆期(hepatobiliary phase, HBP)瘤周低信号、表观扩散系数(Apparent diffusion coefficient, ADC),以及肿瘤直径。

1.2.1 分组方法

根据手术病理检查结果的 MVI 况将其分为 MVI 阳性组(49 例)和 MVI 阴性组(70 例)。

1.2.2 检查方法

1.2.2.1 扫描方法 扫描采用德国西门子 MAGNETOM Skyra 3.0T 磁共振仪,使用腹部相控阵线圈,利用腹带减少呼吸伪影的影响,扫描范围从膈顶到双肾下极。先行 MRI 平扫,扫描序列为 T1WI 3D VIBE (TR=4.28, TE=1.78)与 T2WI TIRM (TR=4 000 ms, TE=104 ms),扫描参数:层厚 4 mm,层间距 1 mm,视野 350 mm×350 mm,矩阵 320×256。MRI 平扫完成后,采用单次激发平面回波成像技术行 DWI 序列 (TR=5 700 ms, TE=70 ms),扫描参数:层厚 4 mm,层间距 1 mm,视野 350 mm×350 mm,矩阵 320×256,扩散敏感系数为 0.800 s/mm²。最后行 MRI 增强扫描,对比剂经肘静脉团注 0.2 mmol/kg。

1.2.2.2 图像后处理 扫描后 DWI 数据传至 Syngo.via 10 工作站,由 2 名高年资影像科医师采用盲法阅片,意见不一时商讨达成一致。测量时尽量避开出血、坏死、囊变区,在 ADC 图像勾画病灶实质部分的感兴趣区,面积≥50 mm²,测量表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值,取 3 次均值。

1.2.3 相关血清指标检测

采取患者空腹静脉血 3 mL,离心机以 3 000 r/min 速度离心处理 5 min,取上层血清,采用全自动生化分析仪及配套试剂盒以免疫放射法检测

AST,采用酶联免疫法检测 AKP、白蛋白、PT、中性粒细胞、淋巴细胞。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 20.0 统计学软件分析数据,单因素分析中,符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验,非正态分布采用 Mann-Whitney 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验,采用 Logistic 回归分析预测肝细胞癌 MVI 的独立危险因素;受试者工作特征曲线(ROC)分析检验指标及影像特征预测 MVI 的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者各相关指标比较

两组患者 NLR、PT、肿瘤累及的肝段、影像学形态、马赛克征、坏死、出血、DWI 表现、动脉期瘤周强化、瘤内动脉、冠状强化、HBP 瘤周低信号、肿瘤直径比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 危险特征预测肝细胞癌 MVI 的 Logistic 回归分析

以 MVI 阳性为因变量,赋予肿瘤累及的肝段(0=无,1=有)、形态规则(0=是,1=否)、马赛克征(0=无,1=有)、坏死(0=无,1=有)、出血(0=无,1=有)、DWI 表现均为高信号(0=是,1=否)、瘤内动脉(0=无,1=有)、冠状强化(0=无,1=有)、HBP 瘤周低信号(0=无,1=有),NLR、PT、肿瘤直径原值录入。Logistic 回归分析结果显示,NLR 水平升高、PT 低、有肿瘤累及的肝段、HBP 瘤周低信号、肿瘤直径长是影像预测肝细胞癌 MVI 的独立危险因素(P 值均 <0.05)。见表 2。

2.3 检验指标及影像特征预测对预测肝细胞癌 MVI 的诊断效能

绘制 ROC 曲线图结果显示,检验指标及影像指标中的 HBP 瘤周低信号预测肝细胞癌 MVI 在截断值为 0.50 时,敏感度为 0.583,特异度为 0.729,曲线下面积为 0.809,对肝细胞癌 MVI 诊断效能最大。见表 3、图 1。

3 讨论

近年来,我国 HCC 的患病率和死亡率仍处于上升趋势。相关数据显示,2018 年,全球每 10 万人中肝癌发病率约为 9.3,相应的死亡率为 8.5^[5]。病变部位虽可手术切除,但 5 年内复发的几率高达 70%^[6]。HCC 术后早期复发是影响预后较差的主

表 1 两组患者各相关指标比较 [$n(\%),(\bar{x}\pm s)$]

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

项目	MVI 阳性组 ($n=48$)	MVI 阴性组 ($n=71$)	t/χ^2 值	P 值
性别			0.365	0.545
男	45(93.7)	63(88.7)		
女	3(6.3)	8(11.3)		
年龄	56.50±11.55	58.07±10.82	0.755	0.451
AST	52.68±49.01	39.76±23.89	1.913	0.058
NLR	3.45±4.41	2.15±1.00	-2.034	0.042
PT	11.92±0.80	12.67±2.87	1.762	0.008
肿瘤累及的肝段			4.201	0.040
0	22(45.8)	46(64.7)		
1	26(54.2)	25(35.3)		
病灶的数量			3.714	0.053
0	24(50.0)	48(67.6)		
1	24(50.0)	23(32.4)		
形态			6.455	0.011
规则	17(35.4)	42(59.1)		
不规则	31(64.6)	29(40.9)		
马赛克征			15.713	<0.001
有	36(75.0)	27(38.1)		
无	12(25.0)	44(61.9)		
坏死			17.248	<0.001
有	31(64.5)	18(25.4)		
无	17(35.5)	53(74.6)		
出血			11.746	<0.001
有	22(45.8)	12(17.0)		
无	26(54.2)	59(83.0)		
DWI 表现			4.399	0.035
均匀高信号	27(56.2)	53(74.7)		
靶环样高信号	21(43.8)	18(25.3)		
动脉期瘤周强化			8.404	0.003
有	37(77.0)	36(50.8)		
无	11(23.0)	35(49.29)		
瘤内动脉			6.853	0.008
有	29(60.4)	26(36.6)		
无	19(39.6)	45(63.4)		
冠状强化			8.083	0.004
有	31(64.5)	27(38.0)		
无	17(35.5)	44(62.0)		
HBP 瘤周低信号			11.946	<0.001
有	28(58.3)	19(26.7)		
无	20(41.7)	52(73.3)		
ADC	1022.31±266.72	1028.54±234.25	0.134	0.893
肿瘤直径(mm)	64.31±31.06	35.10±20.75	6.154	<0.001

要原因,减少 HCC 的复发率是改善 HCC 的总体临床效果的关键。MVI 是 HCC 根治性手术后复发的独立危险因素之一,相关研究显示,存在 MVI 的 HCC 患者比无 MVI 患者的复发率高 4.4 倍^[7]。手术病理检查是判断 MVI 的金标准,但该检查属于有创操作,对患者伤害较大。因此,术前有效的检验指标和影像学指标对预测 MVI 情况,延长患者生存期,降低复发率和提高生存质量具有重要意义。

表2 影响预测肝细胞癌MVI的Logistic回归分析
Table 2 Logistic regression analysis of influence prediction of liver MVI

因素	β 值	S·E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
NLP	-0.337	0.166	4.097	0.714	0.515~0.988	0.043
PT	0.570	0.274	4.331	1.768	1.033~3.025	0.037
肿瘤累计的肝段形态	3.058	0.970	9.945	21.278	3.179~142.48	0.002
马赛克征	-0.150	0.561	0.072	0.861	0.286~2.584	0.789
坏死	-0.810	0.679	1.421	0.445	0.117~1.879	0.233
出血	-0.304	0.782	0.151	0.738	0.159~3.416	0.698
DWI表现	-0.721	0.675	1.143	0.486	0.129~1.825	0.285
瘤内动脉	-0.176	0.605	0.085	0.838	0.256~2.745	0.771
冠状强化	0.623	0.736	0.717	1.865	0.440~7.889	0.397
HBP瘤周低信号	-0.591	0.719	0.676	0.554	0.135~7.889	0.411
肿瘤直径	-1.677	0.723	5.377	0.187	0.045~0.771	0.020
肿瘤直径	-0.060	0.017	11.794	0.942	0.910~12.457	0.001

表3 检验指标及影像预测对预测肝细胞癌MVI的诊断效能
Table 3 Diagnostic efficacy of test indicators and image prediction in predicting liver MVI

危险因素	AUC	截断值	敏感度	特异度	95% CI
NLP	0.607	2.93	0.417	0.829	0.501~0.713
PT	0.473	11.65	0.729	0.429	0.369~0.577
肿瘤累计的肝段	0.592	0.50	0.542	0.643	0.487~0.697
HBP瘤周低信号	0.809	0.50	0.583	0.729	0.732~0.885
肿瘤直径	0.656	39.65	0.792	0.743	0.554~0.758

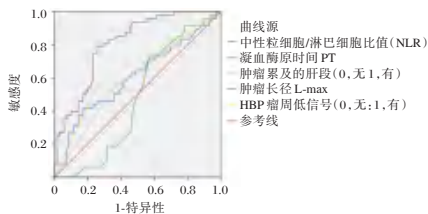


图1 ROC曲线分析
Figure 1 ROC curve

研究结果显示,NLR、PT、影像学形态、马赛克征、坏死、出血、DWI表现、动脉期瘤周强化、瘤内动脉、冠状强化、HBP瘤周低信号、肿瘤直径与肝细胞癌MVI阳性相关。Logistic回归分析显示,NLR水平升高、PT低、有肿瘤累计的肝段、肿瘤直径长是影响预测肝细胞癌MVI的独立危险因素。NLR是常见的炎性指标,NLR的增高通常是由于存在感染或严重的炎症反应,反映人体的炎症和免疫系统的总体状况,该指标可作为MVI的预测因子^[8]。卫泽源等^[9]发现,HCC手术前NLR升高与MVI发生有密切关系,而微血管侵犯则是肝癌肝内转移的重要标志,与本研究结果相符。PT水平是反映肝功能损害的重要指标,PT持续时间越长,说明肝功能越差,肝细胞损伤越重,提示肝内

出血的风险增加^[10]。PT时间缩短可用于评价患者的血栓栓塞和心血管事件的危险,本研究MVI阳性组PT时间缩短,与提示机体处于高凝状态^[11]。当HCC患者存在MVI时,机体多处于高凝状态,检测PT对HCC患者术前MVI的诊断具有良好的临床应用价值。病理检查是MVI的金标准,其标本取得是在肝段切除术后或肝移植术后,超过3个肝脏部分的肝实质切除是影响围术期复发率和死亡率的重要因素,但该方法相对落后^[12]。肿瘤直径对肿瘤预后具有重要影响,肿瘤的直径越大,说明其进展的时间越长,而且临床上的肿瘤分期在相同时间内发展较快,病情越难控制,预后越差^[13]。本研究MVI阳性组肿瘤直径大于MVI阴性组,提示肿瘤直径与MVI密切相关,与刘连凤等^[14]研究相符。原因考虑为,随着肿瘤的直径增大,周围的肝脏组织和微血管的数目增多,肿瘤细胞侵袭能力越强,MVI的发生几率也随之增大^[15]。ROC曲线图显示,HBP瘤周低信号预测肝细胞癌MVI在截断值为0.50时,敏感度为0.583,特异度为0.729,曲线下面积为0.809,对肝细胞癌MVI诊断效能最大。

综上,可通过检验NLR、PT水平、肿瘤累计的肝段、肿瘤直径大小来判断肝细胞癌患者是否存在MVI,其中HBP瘤周低信号预测肝细胞癌MVI的诊断效能最大。

参考文献

[1] 曹国良,蔡庆,李幼安,等. 肝细胞癌微血管侵犯的危险因素分析及预后[J]. 中华消化外科杂志, 2017,16(10):1048-1052.
 [2] 孟令武,李月圆,李志彬,等. TACE联合射频消融对中期肝癌患者血清GP73、AFP、AFP-L3的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(2):217-220+238.
 [3] 曾永毅,林自国,刘红枝,等. 微血管侵犯对肝内胆管癌根治性切除病人预后影响研究:基于多中心的倾向评分匹配分析[J]. 中国实用外科杂志, 2020,40(6):695-702.
 [4] 王伟林.《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》解读[J]. 华西医学, 2018,33(4):385-387.
 [5] McGlynn KA, Petrick JL, El-Serag HB. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma[J]. Hepatology, 2021,73(Suppl 1):4-13.
 [6] 朱昱,英卫东. 肝细胞癌切除术后早期复发危险因素的研究进展[J]. 中华普通外科杂志, 2020,35(8):667-669.
 [7] Gardini AC, Foschi FG, Conti F, et al. Immune inflammation indicators and ALBI score to predict occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals [J]. Digest Liver Dis, 2018,50(1):50-51.

地贫核酸检测国家参考品对单分子测序试剂的适用性评价

于婷 胡泽斌 黄杰* 孙楠*

[摘要] **目的** 评价地中海贫血核酸检测国家参考品(批号:360014-201701)在单分子测序法试剂的适用性。**方法** 按照 α/β -地中海贫血基因分型检测试剂盒行业标准(YY/T 1527-2017)及国家参考品说明书要求,确定适用性研究项目:准确性、特异性及检测限。取拟研究的试剂盒,对国家参考品中的目标区域进行长片段扩增,在目标DNA长片段两端连接接头,使用消化酶去除非环状片段,最终获得哑铃状文库,构建好的哑铃状文库结合测序引物和酶,在基因测序仪Sequel[®]II CNDx的SMRTCell纳米小孔中进行单分子测序。测序后的基因序列对比到参考基因序列上,通过生物信息软件分析,来判断检测结果与国家参考品的预期结果是否一致。**结果** 该试剂盒可准确检出范围内相应基因型别的国家阳性参考品,阴性参考品和范围外的国家阳性参考品均未检出突变,且检测限不高于3 ng/ μ L。**结论** 地中海贫血核酸检测国家参考品可用于基于单分子测序法的地中海贫血基因检测试剂盒性能评价,此研究扩展了国家参考品的适用范围,并且促进了地中海贫血基因检测试剂盒的标准化。

[关键词] 地中海贫血;单分子测序技术;国家参考品

Evaluation of the applicability of national reference materials for thalassaemia nucleic acid detection to single-molecule sequencing reagents

YU Ting, HU Zebin, HUANG Jie*, SUN Nan*

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

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the applicability of the national reference for nucleic acid detection of thalassaemia (Lot: 360014 - 201701) as a reagent for single - molecule sequencing. **Methods** According to the industry standard of α/β -thalassaemia gene typing detection kit of (YY/T 1527-2017), and the requirements of the national reference product manual, the applicability research items of accuracy, specificity and detection limit were determined. We collected thalassaemia gene detection kits and amplified the long fragment of the target region in the national reference, connected the connector at both ends of the long fragment of the target DNA, removed the non-cyclic fragment with digestive enzyme, and constructed the dumbbell-shaped library. The constructed dumbbell-shaped library was combined with sequencing primers and enzymes to perform single-molecule sequencing in the SMRTCell nanopore of the gene sequencer Sequel[®] II CNDx. The sequenced gene sequence was compared with the reference gene sequence, and the biological information software was used to determine whether the test results were consistent with the expected results of the national reference. **Results** The kit can accurately detect the national positive reference materials of the corresponding genotype within the range. No mutations were detected in both the negative reference materials and the positive reference materials which were outside the range. The detection limit was not higher than 3 ng/ μ L. **Conclusion** The national reference for thalassaemia nucleic acid detection can be used to evaluate the performance of

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; 孙楠, E-mail: sunnan0725@yeah.net

注:于婷和胡泽斌共为第一作者

thalassemia gene detection kit based on single - molecule sequencing. This study expands the scope of application of the national reference and promotes the standardization of thalassemia gene detection kits.

[KEY WORDS] Thalassemia; Single molecule sequencing technology; National Reference Material

地中海贫血(以下简称地贫)是指因珠蛋白基因缺陷(包括点突变、缺失等)导致的一种常染色体隐性遗传病^[1-3],重者以进行性溶血性贫血为主要特征。我国以两广地区、海南等南部沿海地区发病率最高^[4]。重型地贫目前尚无经济有效的治疗方法,因此通过遗传咨询与产前筛查技术是避免重型胎儿出生的最佳措施。截止到2022年7月,已有20多个地中海贫血基因检测试剂盒获得医疗器械注册证,检测原理包括跨越断裂点PCR(Gap-PCR)等。由于检测原理及平台不同,存在漏检、假阴性及交叉反应等风险点,中国食品药品检定研究院(以下简称中检院)在2017年发布了地中海贫血核酸检测国家参考品(以下简称国家参考品),作为统一尺度评价各类试剂盒的性能。随着测序技术的发展,第三代测序技术(即单分子测序)也开始应用在地中海贫血基因突变检测上,部分已开发成试剂盒。由于国家参考品研制时,只采用了当时已上市试剂盒进行验证,并不包含三代测序技术的试剂盒,因此本研究拟开展该套参考品适用范围的扩展研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象

地中海贫血核酸检测国家参考品,批号:360014-201701,32支/套,包含 α 缺失和突变、 β 缺失和点突变以及正常人样本,由中检院研制并提供。

1.2 试剂

地中海贫血基因检测试剂盒(单分子测序法)、核酸提取或纯化试剂、测序反应通用试剂盒(杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司);Qubit dsDNA HS Assay Kit(美国 ThermoFisher SCIENTIFIC 公司);No-Amp Accessory Kit、Sequel II Binding Kit 2.1、SMRT[®] Cell 8M(1-Cell Tray)、Sequel[®] II Sequencing Plate 2.0(1 rxn)(美国 Pacific Biosciences[®]公司)。

1.3 仪器和软件

Sequel[®] II CNDx 基因测序仪、地中海贫血基因检测数据分析系统(杭州贝瑞和康基因诊断技术有限公司);Qubit[®] 荧光定量仪 Qubit3.0(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);基因扩增仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 试验方法

1.4.1 地中海贫血基因检测试剂盒(单分子测序法)试剂盒检测原理

基于第三代测序技术平台的单分子实时DNA测序技术(Single Molecule Real-Time, SMRT)。针对人全血样本,通过在各突变位点附近设计引物,直接对目标区域进行长片段扩增,在目标DNA长片段两端连接接头,使用消化酶去除非环状片段,最终获得哑铃状文库。试剂盒配套使用基因测序仪 Sequel[®] II CNDx,构建好的哑铃状文库结合测序引物和酶,在 SMRTCell 的纳米小孔(ZMW)中进行单分子测序。测序后的基因序列对比到参考基因序列上,通过生物信息软件分析,识别携带基因突变的DNA序列,获得相关基因突变信息。具体过程见图1。

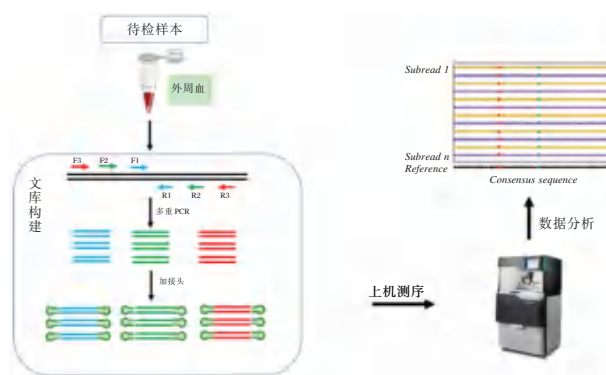


图1 地中海贫血基因检测试剂盒(单分子测序法)试剂盒检测原理

Figure 1 The detection principle of thalassemia gene detection kit (single molecule sequencing) kit

1.4.2 适用性研究方案

按照 α/β -地中海贫血基因分型检测试剂盒行业标准(YY/T 1527-2017)^[5]及国家参考品说明书要求,确定研究项目为准确性、特异性及检测限。要求检测试剂盒范围内的国家阳性参考品,结果应为相应基因型别;检测国家阴性参考品和试剂盒范围外的国家阳性参考品,结果应为未检出突变;检测限浓度要求不高于10 ng/ μ L,本研究中采用试剂盒声称的检测限浓度(3 ng/ μ L)进行考察。

1.4.3 文库构建、纯化及质控

取国家参考品恢复至室温混匀备用,并将试

剂盒检测范围内的国家参考品稀释至 3 ng/μL 混匀备用,即为检测限参考品。按照试剂盒说明书的操作方法,对国家参考品扩增、接头连接、消化反应构建 DNA 文库;完成后,立即使用配套的 DNA 纯化试剂盒进行两次纯化,并对纯化后到的文库进行质检。采用 Qubit 荧光定量仪检测,满足以下条件方可进行上机测序:①单个文库浓度≥3 ng/μL;NTC 文库浓度≤1 ng/μL;②等质量混合后文库浓度≥3 ng/μL。

1.4.4 上机测序

采用测序反应通用试剂盒,按照说明书要求对质检合格的文库处理后上机。文库上机浓度 180~220 pM,推荐 200 pM,文库片段默认 2 535 bp。按照配套仪器 Sequel® II CNDx 基因测序仪的标准操作规程上样,测序模式选择 CCS,测序时长 15 h。

1.4.5 数据分析和结果判定

采用地中海贫血基因检测数据分析系统对下机数据进行分析,结果判定原则为:对于 α 缺失型阳性判断值以 5% 为阈值,根据 --SEA、-α^{3.7}、-α^{4.2} 和

--THAI 及 WT(野生型或非缺失)的比值结果,判定为缺失型杂合突变、双杂合突变、纯和突变或者野生型;对于 α 和 β 点突变阳性判断值,以突变比值 ≥20% 且 ≤80%,判定为对应杂合点突变;突变比值 >80%,判定为对应纯合点突变;突变比值 <20% 时,判定为 N,表示未检出检测范围内的突变。

2 结果

2.1 准确性结果

检测范围内的国家阳性参考品的检测结果均为相应突变型别,准确性满足要求。见表 1。

2.2 特异性结果

野生型国家参考品及检测范围外的国家阳性参考品的缺失检测结果均显示为 αα/αα,点突变检测结果均显示为“N”,特异性满足要求。见表 2。

2.3 检测限结果

稀释至 3 ng/μL 的试剂盒检测范围内的国家阳性参考品检测结果均符合预期,检测限满足要求。见表 3。

表 1 地中海贫血基因检测试剂盒(单分子测序法)的准确性结果

Table 1 Accuracy results of thalassemia gene detection kit (single molecule sequencing method)

样本编号	SEA_ratio (%)	4.2_ratio (%)	3.7_ratio (%)	THAI_ratio (%)	WT_ratio (%)	缺失检测结果	Mutation ratio (alt_ratio) (%)	点突变检测结果
YSH2015-0002	0.00	0.04	0.08	0.36	99.52	αα/αα	46	CD26(GAG>AAG)杂合
YSH2015-0003	0.06	0.18	0.20	0.20	99.35	αα/αα	49	-28(A>G)杂合
YSH2015-0004	46.11	0.00	0.06	0.12	53.71	--SEA/αα	44	IVS-II-654(C>T)杂合
YSH2015-0005	46.65	0.03	0.11	0.06	53.15	--SEA/αα	<20	N
YSH2015-0006	49.88	0.00	50.03	0.06	0.04	--SEA/-α ^{3.7}	<20	N
YSH2015-0007	0.14	0.07	42.19	0.21	57.39	-α ^{3.7} /αα	<20	N
YSH2015-0008	0.12	0.12	0.10	0.17	99.49	αα/αα	49	IVS-I-1(G>T)杂合
YSH2015-0010	0.02	0.15	0.07	0.20	99.56	αα/αα	42	CD71/72(+A)杂合
YSH2015-0011	0.00	0.09	0.11	0.00	99.80	αα/αα	53	CD17(AAG>TAG)杂合
YSH2015-0012	0.00	0.02	0.09	0.06	99.83	αα/αα	35	Hb QS 杂合
YSH2015-0013	0.00	0.02	0.24	0.02	99.72	αα/αα	40	Cap+40-43(-AAAC)杂合
YSH2015-0014	0.00	0.04	0.04	0.49	99.42	αα/αα	50	CD43(GAG>TAG)杂合
YSH2015-0015	0.03	0.03	0.22	0.03	99.69	αα/αα	49	Initiation codon(ATG>AGG)杂合
YSH2015-0017	0.02	0.05	0.07	0.03	99.83	αα/αα	<20	N
YSH2015-0018	0.00	0.04	0.09	0.09	99.79	αα/αα	34	CD41/42(-TTCT)杂合
YSH2015-0019	0.00	48.52	0.05	0.02	51.41	-α ^{4.2} /αα	<20	N
YSH2015-0020	0.00	0.09	0.09	0.04	99.78	αα/αα	56	CD27/28(+C)杂合
YSH2015-0021	0.00	0.05	0.12	0.08	99.75	αα/αα	46	Hb CS 杂合
YSH2015-0022	0.00	0.05	0.08	0.21	99.66	αα/αα	38	Hb Westmead 杂合
YSH2015-0023	0.02	0.07	0.07	0.21	99.63	αα/αα	<20	N
YSH2015-0024	0.00	0.04	0.08	0.06	99.82	αα/αα	45	-29(A>G)杂合
YSH2015-0027	0.00	0.07	0.00	0.41	99.52	αα/αα	99	CD41/42(-TTCT)纯合
YSH2015-0028	0.00	0.20	0.06	0.35	99.40	αα/αα	52	CD14/15(+G)杂合
YSH2015-0029	0.05	0.27	0.12	0.59	98.96	αα/αα	<20	N
YSH2015-0030	0.03	99.07	0.03	0.88	0.00	-α ^{4.2} /-α ^{4.2}	37	IVS-II-654(C>T)杂合
YSH2015-0031	47.18	0.11	0.02	0.21	52.48	--SEA/αα	100	IVS-II-654(C>T)纯合
YSH2015-0033	0.00	0.04	0.00	55.12	44.84	--THAI/αα	<20	N

表2 地中海贫血基因检测试剂盒(单分子测序法)的特异性结果

Table 2 Specific results of thalassemia gene detection kit (single molecule sequencing method)

样品编号	SEA_ratio (%)	4.2_ratio (%)	3.7_ratio (%)	THAI_ratio (%)	WT_ratio (%)	缺失检测结果	Mutation ratio (alt_ratio) (%)	点突变检测结果
YSH2015-0000	0.00	0.05	0.40	0.08	99.47	αα/αα	<20	N
YSH2015-0001	0.00	0.20	0.15	0.23	99.42	αα/αα	<20	N
YSH2015-0009	0.00	0.00	0.17	0.23	99.60	αα/αα	<20	N
YSH2015-0026	0.00	0.09	0.16	0.21	99.53	αα/αα	<20	N
YSH2015-0032	0.00	0.02	0.11	0.36	99.52	αα/αα	<20	N

表3 地中海贫血基因检测试剂盒(单分子测序法)的检测限结果

Table 3 Detection limit results of thalassemia gene detection kit (single molecule sequencing method)

样品编号	SEA_ratio (%)	4.2_ratio (%)	3.7_ratio (%)	THAI_ratio (%)	WT_ratio (%)	缺失检测结果	Mutation ratio (alt_ratio) (%)	点突变检测结果
YSH2015-0002	0.00	0.36	0.00	0.49	99.16	αα/αα	54	CD26(GAG>AAG)杂合
YSH2015-0003	0.00	0.05	0.03	0.47	99.45	αα/αα	48	-28(A>G)杂合
YSH2015-0004	51.62	0.04	0.05	0.00	48.28	--SEA/αα	45	IVS-II-654(C>T)杂合
YSH2015-0005	52.32	0.01	0.09	0.00	47.58	--SEA/αα	<20	N
YSH2015-0006	39.82	0.00	60.10	0.00	0.08	--SEA/-α3.7	<20	N
YSH2015-0007	0.00	0.03	35.54	0.03	64.39	-α3.7/αα	<20	N
YSH2015-0008	0.03	0.06	0.09	0.46	99.36	αα/αα	47	IVS-I-1(G>T)杂合
YSH2015-0010	0.00	0.09	0.06	0.48	99.38	αα/αα	48	CD71/72(+A)杂合
YSH2015-0011	0.00	0.12	0.07	0.34	99.47	αα/αα	53	CD17(AAG>TAG)杂合
YSH2015-0012	0.00	0.22	0.19	0.56	99.04	αα/αα	36	Hb QS 杂合
YSH2015-0013	0.00	0.21	0.00	0.30	99.49	αα/αα	41	Cap+40-43(-AAAC)杂合
YSH2015-0014	0.00	0.09	0.24	0.15	99.51	αα/αα	51	CD43(GAG>TAG)杂合
YSH2015-0015	0.00	0.50	0.12	0.29	99.09	αα/αα	51	Initiation codon(ATG>AGG)杂合
YSH2015-0017	0.00	0.07	0.14	0.36	99.43	αα/αα	<20	N
YSH2015-0018	0.00	0.17	0.08	0.51	99.24	αα/αα	38	CD41/42(-TTCT)杂合
YSH2015-0019	0.00	58.45	0.05	0.20	41.29	-α4.2/αα	<20	N
YSH2015-0020	0.00	0.02	0.04	0.31	99.62	αα/αα	51	CD27/28(+C)杂合
YSH2015-0021	0.00	0.04	0.12	0.63	99.21	αα/αα	47	Hb CS 杂合
YSH2015-0022	0.00	0.02	0.14	1.25	98.58	αα/αα	47	Hb Westmead 杂合
YSH2015-0023	0.00	0.07	0.07	0.80	99.07	αα/αα	<20	N
YSH2015-0024	0.00	0.07	0.13	0.61	99.20	αα/αα	46	-29(A>G)杂合
YSH2015-0027	0.00	0.02	0.00	0.61	99.37	αα/αα	99	CD41/42(-TTCT)纯合
YSH2015-0028	0.00	0.05	0.16	0.37	99.43	αα/αα	51	CD14/15(+G)杂合
YSH2015-0029	0.00	0.07	0.12	0.30	99.51	αα/αα	<20	N
YSH2015-0030	0.00	98.79	0.07	1.10	0.04	-α4.2/-α4.2	43	IVS-II-654(C>T)杂合
YSH2015-0031	26.00	0.00	0.11	0.24	73.65	--SEA/αα	100	IVS-II-654(C>T)纯合
YSH2015-0033	0.00	0.03	0.07	54.48	45.41	--THAI/αα	<20	N

3 讨论

地贫以α和β型最为常见^[6-7]。缺失型α地贫95%以上是由于α珠蛋白基因大片段缺失所致。我国最常见的是--SEA、-α3.7和-α4.2缺失型突变。最常见的非缺失型α地贫包括α^{WS}(CD122)、α^{QS}(CD125)等^[8-9]。我国β地贫以突变型为主,主要有IVS-II-654、CD41/42等^[10-11]。基因检测在地贫的防控中不可或缺。目前检测方法主要有Gap-PCR法、PCR-反向斑点杂交法、二代测序法等^[12]。Gap-PCR法主要用于缺失型α地贫诊断^[13],该方法设备要求低、步骤简单,但不能诊断点突变或未知的缺失突变。PCR-反向斑点杂交法

主要用于点突变检测,可对未知样本中多个突变进行筛查,但检测时间长、操作复杂、影响因素较多。二代测序技术具有高通量等优点,对于单核苷酸多态性和小于50 bp的插入或缺失变异检测比较准确,但是大的结构变异检测却不是理想。近几年推出的单分子测序技术^[14-15],优势在于DNA无需PCR扩增,可避免在扩增过程中引入DNA突变以及对富含AT和富含GC序列的偏好性,实现对每一条DNA的单独测序。它可产生超长的读长结果,具有高度均一性,可获得许多当前测序平台无法得到的基因组信息。因此采用单分子测序技术有利于提高地中海贫血产前筛查的准确性。

为评价基于不同检测原理的地中海贫血核酸检测试剂盒的性能,中检院建立了国家参考品,包含7种 α -突变以及18种 β -突变。本研究中,采用国家参考品对基于PacBio单分子测序的地中海贫血基因检测试剂盒进行评价。结果显示:无 α 缺失的样本, $--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 和 $--^{THAI}$ 比值在0~0.88%范围内,远低于阈值(5%),而野生型样本的WT比值均在99%以上。 α 缺失的样本, $--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 、 $--^{THAI}$ 中一种或者两种的比值在42.19%~99.83%范围内,远高于阈值(5%); α 或 β 点杂合突变样本,突变比值均在20%~80%范围内, α 或 β 点纯合突变样本,突变比值均 $>80\%$,无 α 或 β 点杂合突变样本,突变比值均显示为 $<20\%$ 。准确性和特异性均符合预期结果,阈值设置合理。当把试剂盒检测范围内的阳性参考品稀释至检测限浓度(3 ng/ μ L)后进行检测,结果亦满足要求。要指出的是,5例检测范围外的国家阳性参考品,2例为未设计相应位点探针,故无检测数据输出,另外3例虽设计了位点亦可检出,但考虑到后期临床样本较难获得,申报医疗器械注册证难以获批,因此在结果设置上显示为野生型,这也是在现有法规体系下的一种折衷做法。以上结果表明,基于单分子测序平台的待评价试剂盒,国家参考品检测结果未出现假阳性或假阴性情况。综上所述,地中海贫血核酸检测国家参考品,适用于三代测序的地中海贫血检测试剂盒质量评价要求,有利于促进同类试剂盒的标准化工作。

参考文献

- [1] 于霞. 珠蛋白生成障碍性贫血的治疗进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(15):1868-1871.
- [2] Taher AT, Weatherall DJ, Cappellini MD. Thalassaemia [J]. *Lancet*, 2018, 391(10116):155-167.
- [3] Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(2):193-211.
- [4] 莫亚虹, 吴秀继. 海南地区13440对育龄夫妇地中海贫血基因检测结果分析[J]. 中国热带医学, 2017, 17(12):1206-1209.
- [5] 国家药品监督管理局. YY/T 1527-2017 α/β -地中海贫血基因分型检测试剂盒[S]. 2017-3-28.
- [6] 刘琛, 胡海燕, 文铖熹. 对深圳市光明区婚检孕检夫妻地中海贫血基因检测结果的分析[J]. 当代医药论丛, 2022(20):142-144.
- [7] 谢彩莲, 陈明发. 地中海贫血筛查及其联合试验的诊断价值评价[J]. 黑龙江医学, 2022, 46(7):809-813.
- [8] 石明芳, 杨兰, 余夏梁, 等. 6545例 α -地中海贫血基因检测结果分析[J]. 检验医学, 2019, 34(1):8-10.
- [9] Gilad O, Shemer OS, Dgany O, et al. Molecular diagnosis of alpha-thalassemia in a multiethnic population [J]. *Eur J Haematol*, 2017, 98(6):553-562.
- [10] 刘小琳, 杨浩, 任天凤. β -地中海贫血不同基因分型红细胞参数变化及其临床意义[J]. 海南医学, 2022, 33(10):1311-1313.
- [11] 黄育涛, 陈晓榆, 张展青. 红细胞参数计算公式对儿童 β -地中海贫血诊断的意义及影响因素分析[J]. 广东医学, 2022, 43(3):376-379.
- [12] 施建刚. 地中海贫血基因检测研究进展[J]. 中国医药科学, 2020, 10(23):50-53.
- [13] Hu H, Li CX, Xiong Q, et al. Prenatal diagnosis of beta-thalassemia by chip-based capillary electrophoresis [J]. *Prenatal Diagn*, 2018, 10(3):186-188.
- [14] 俞晓玲, 姜文倩, 郑玲, 等. 单分子测序技术及应用研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2020, 47(1):5-16.
- [15] Van Dijk EL, Jaszczyszyn Y, Naquin D, et al. The third revolution in sequencing technology [J]. *Trends Genet*, 2018, 34(9):666-681.
- [8] Schobert IT, Savic LJ, Chapiro J, ET AL. Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as predictors of tumor response in hepatocellular carcinoma after DEB-TACE [J]. *Eur Radiol*, 2020, 30(10):5663-5673.
- [9] 卫泽源, 戴朝六. 肝癌转化治疗相关评估指标及价值[J]. 中国实用外科杂志, 2021, 41(3):337-342.
- [10] 郝明. 肝硬化患者凝血酶原时间及血小板的检验价值分析[J]. 中国卫生标准管理, 2016, 7(6):144-145.
- [11] Li X, Huang H, Yu X, et al. A novel prognostic nomogram based on microvascular invasion and hematological biomarkers to predict survival outcome for hepatocellular carcinoma patients [J]. *Surg Oncol*, 2020, 7(33):51-57.
- [12] 胡纳, 杨国庆, 付泉水. CT和MRI在肝细胞癌微血管浸润中的诊断价值[J]. 中国临床医学影像杂志, 2018, 29(8):575-579.
- [13] 陈崇彬, 李树斌, 沈玲. 结直肠癌患者病理特征与预后的相关性分析[J]. 中国肛肠病杂志, 2019, 39(10):1-3.
- [14] 刘连凤, 刘军杰, 罗涛, 等. 术前超声联合血清甲胎蛋白水平预测肝癌微血管侵犯的价值[J]. 广西医科大学学报, 2018, 35(9):1260-1263.
- [15] 韩红, 丁红, 季正标, 等. 联合微血流成像的超声多模态检查对肝细胞肝癌微血管侵犯的预测研究[J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(4):428-431.

(上接第1649页)

凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分对肺癌合并PTE的诊断价值

张淼* 王茂玉 李娟娟 霍明昌 李超

[摘要] **目的** 探讨血清凝血因子Ⅲ、正五聚蛋白3(PTX-3)、纤维蛋白原(FIB)联合Geneva评分对肺癌合并肺血栓栓塞症(PTE)的诊断价值。**方法** 选取2020年1月至2022年1月青岛市胶州中心医院收治的52例肺癌合并PTE患者作为合并PTE组,另取同期收治的52例肺癌未合并PTE患者作为未合并PTE组。检测并比较两组血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB及Geneva评分,采用受试者工作特征曲线(ROC)曲线分析上述指标对肺癌合并PTE的诊断价值,采用单因素及多因素Logistic回归模型分析影响肺癌患者合并PTE的危险因素。**结果** 合并PTE组血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB及Geneva评分均高于未合并PTE组,差异有统计学意义($t=4.3780, 8.432, 11.075, 12.555, P<0.05$);单因素分析结果显示,病理类型、TNM分期、化疗、D-二聚体、血红蛋白与肺癌患者并发PTE有关($P<0.05$);Logistic回归分析显示,血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB、Geneva评分、病理类型、TNM分期、化疗、D-二聚体、血红蛋白均为影响肺癌患者并发PTE的独立危险因素($P<0.05$);由ROC曲线可知,血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分诊断肺癌并发PTE的AUC为0.914,高于四者单独诊断的0.748、0.753、0.745、0.763($P<0.05$)。**结论** 肺癌并发PTE患者血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB水平呈升高趋势,且具有较高的Geneva评分,四者联合对肺癌并发PTE具有一定的诊断价值。

[关键词] 肺癌;肺血栓栓塞症;凝血因子Ⅲ;正五聚蛋白3;纤维蛋白原;Geneva评分

Diagnostic value of coagulation factor Ⅲ , PTX-3 and FIB combined with Geneva score in lung cancer complicated with pulmonary thromboembolism

ZHANG Miao*, WANG Maoyu, LI Juanjuan, HUO Mingchang, LI Chao

(Department of Respiratory Medicine, Qingdao Jiaozhou Central Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266300)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of serum coagulation factor Ⅲ , pentraxin 3 (PTX - 3) and fibrinogen (FIB) combined with Geneva score for lung cancer combined with pulmonary thromboembolism (PTE). **Methods** A total of 52 patients with lung cancer and PTE admitted to Jiaozhou Central Hospital, Qingdao, were enrolled as the PTE group between January 2020 and January 2022, while other 52 lung cancer patients without PTE during the same period were enrolled as the non-PTE group. The serum coagulation factor Ⅲ , PTX-3, FIB and Geneva score between the two groups were compared. The diagnostic value of the above indicators for lung cancer combined with PTE was analyzed by ROC curves. The risk factors of PTE were analyzed by univariate and multivariate Logistic regression. **Results** The serum coagulation factor Ⅲ , PTX-3, FIB and Geneva score in the PTE group were higher than those in the non-PTE group ($t=4.3780, 8.432, 11.075, 12.555, P<0.05$). The results of univariate analysis showed that pathological type, TNM staging, chemotherapy, D-dimer and hemoglobin were related to PTE in patients with lung cancer ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that serum coagulation factor Ⅲ , PTX-3, FIB, Geneva score,

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(202104070268)

作者单位:青岛市胶州中心医院呼吸内科,山东,青岛266300

*通信作者:张淼, E-mail:zhangmiao197711@163.com

pathological type, TNM staging, chemotherapy, D-dimer and hemoglobin were independent risk factors for PTE ($P<0.05$). ROC curves analysis showed that the AUC of serum coagulation factor Ⅲ, PTX-3 and FIB combined with Geneva score in the diagnosis of lung cancer complicated with PTE was 0.914, which was higher than that of the four alone diagnosis (0.748, 0.753, 0.745, 0.763) ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of coagulation factor Ⅲ, PTX-3 and FIB in patients with lung cancer complicated with PTE tended to increase, and they had a higher Geneva score. The combination of the four has certain diagnostic value for lung cancer complicated with PTE.

[KEY WORDS] Lung cancer; PTE; Coagulation factor Ⅲ; PTX-3; FIB; Geneva score

肺血栓栓塞症(pulmonary thromboembolism, PTE)是肺栓塞常见的类型,具有发病隐匿、缺乏特异性体征及临床特征等特点而易被漏诊,导致患者死亡风险增加^[1]。及早诊断肺癌并发PTE并给予针对性治疗,有利于改善患者预后、延长生存时间。现阶段CT肺动脉造影是临床诊断PTE的主要手段,但在不必要的情况下对疑似肺癌并发PTE患者行肺动脉造影,不仅会增加治疗费用,还会提高造影剂相关的急性肾功能衰竭发生风险^[2]。因此,临床需探寻更多指标诊断肺癌并发PTE。凝血因子在凝血激活的级联放大过程起着重要作用,有报道显示凝血因子与血栓性疾病的发生发展有关^[3]。正五聚蛋白3(pentraxin 3, PTX-3)作为钙结合蛋白,可影响血管重塑及炎症反应调节过程^[4]。纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)是肝脏合成的糖蛋白,其含量与凝血系统活化程度有关^[5]。Geneva评分可通过简单查体、询问患者病史完成,对临床肺栓塞诊断工作具有预测作用^[6]。探讨血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分对肺癌患者并发PTE的诊断价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年1月青岛市胶州中心医院收治的52例肺癌合并PTE患者作为合并PTE组,另取同期收治的52例肺癌未合并PTE患者作为未合并PTE组。纳入标准:①肺癌诊断标准符合《中国原发性肺癌诊疗规范》^[7],并经病理学检查确诊;②PTE诊断符合《肺血栓栓塞症诊治与预防指南》^[8],并经多层螺旋CT肺动脉造影确诊;③近期末接受抗血小板聚集、抗凝治疗;④临床资料完整。排除标准:①合并肺动脉高压、慢性阻塞性肺疾病、肺结核者;②合并急性或慢性感染性疾病、自身免疫性疾病及其他血液系统疾病、其他部位恶性肿瘤者;③对造影剂过敏,无法行多层螺旋

CT肺动脉造影者;④其他部位栓塞者;⑤妊娠或哺乳期妇女;⑥合并急性心肌梗死、急性冠脉综合征、急性脑血管疾病者;⑦合并肾、肝等重要脏器严重损伤者。患者知情并签署同意书,本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

通过查询病历收集患者性别、年龄、体质量指数、吸烟史、饮酒史、收缩压、舒张压、糖尿病史、病理类型、TNM分期、手术、化疗、D-二聚体、血红蛋白等临床资料。

1.2.2 凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB水平检测

采集所有患者空腹静脉血4 mL,分离血浆后置入-80℃环境保存,0.13 mol/L枸橼酸钠以9:1抗凝,3 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm),采用凝固终点法检测血浆FIB水平;2 000 r/min离心20 min(离心半径10 cm)采用酶联免疫吸附法检测血清凝血因子Ⅲ、PTX-3水平。FIB试剂盒购自于美国菲舍尔诊断太平洋凝血制品公司,凝血因子Ⅲ、PTX-3试剂盒购自于上海通蔚科技生物有限公司。

1.2.3 Geneva评分标准

依据修订版Geneva评分量表评分系统^[9]:年龄>65岁(1分)、下肢深静脉触痛及单侧水肿(1分)、单侧下肢疼痛(1分)、咯血(1分)、心率75~94次/min(1分)、心率≥95次/min(2分)、活动性肿瘤(1分)、1个月内骨折或手术(1分)、及既往深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)或PTE病史(1分)。修订版Geneva评分标准通常采用二分类法:得分为0~2分被认为临床PTE可能性小,得分≥3分被认为临床PTE可能性大。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析;符合正态分布的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验;采用单因素及多因素Logistic回归模型分析影

响肺癌患者并发PTE的危险因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)及曲线下面积(AUC)分析血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分对肺癌患者并发PTE的诊断价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB及Geneva评分比较

合并PTE组血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB及Geneva评分均高于未合并PTE组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB及Geneva评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	凝血因子Ⅲ (ng/L)	PTX-3 (ng/mL)	FIB (g/L)	Geneva 评分(分)
合并PTE组	52	539.19±120.87	6.19±1.02	4.67±0.95	3.24±0.63
未合并PTE组	52	443.36±101.42	4.75±0.69	2.83±0.73	1.95±0.39
t值		4.3780	8.432	11.075	12.555
P值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 影响肺癌患者并发PTE的单因素分析

单因素分析结果显示,病理类型、TNM分期、化疗、D-二聚体、血红蛋白与肺癌患者并发PTE有关($P<0.05$)。见表2。

2.3 影响肺癌患者并发PTE的多因素分析

Logistic回归分析显示,血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB、Geneva评分、病理类型、TNM分期、化疗、D-二聚体、血红蛋白均为影响肺癌患者并发PTE的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分对肺癌患者并发PTE的诊断价值

血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分诊断肺癌并发PTE的AUC为0.914,高于四者单独诊断的0.748、0.753、0.745、0.763($P<0.05$)。见表4、图1。

3 讨论

肺癌是起源于支气管黏膜上皮或肺泡上皮的呼吸道恶性肿瘤,具有较高的发病率和死亡率^[10]。肺栓塞主要由体循环栓子脱落所致,是肺癌的常见并发症,易引起窒息、心衰竭及肺动脉高压,增加肿瘤患者死亡风险^[11]。PTE患者的生命体

表2 影响肺癌患者并发PTE的单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

影响因素	合并PTE组 (n=52)	未合并PTE组 (n=52)	χ^2/t 值	P值	
性别	男性	34(65.38)	31(59.62)	0.369	0.543
	女性	18(34.62)	21(40.38)		
年龄(岁)		59.36±5.24	58.21±5.73	1.068	0.288
体质量指数(kg/m ²)		22.64±1.37	22.23±1.24	1.600	0.113
吸烟史	有	23(44.23)	20(38.46)	0.357	0.550
	无	29(55.77)	32(61.54)		
饮酒史	有	19(36.54)	24(46.15)	0.991	0.319
	无	33(63.46)	28(53.85)		
收缩压(mmHg)		127.65±8.03	129.01±7.81	0.876	0.383
舒张压(mmHg)		80.13±5.26	78.61±4.95	1.518	0.132
糖尿病史	有	6(11.54)	8(15.38)	0.330	0.566
	无	46(88.46)	44(84.62)		
病理类型	腺癌	41(78.85)	27(51.92)	8.327	0.004
	非腺癌	11(21.15)	25(48.08)		
TNM分期	I~II期	20(38.46)	31(59.62)	4.656	0.031
	III~IV期	32(61.54)	21(40.38)		
手术	是	15(28.85)	19(36.54)	0.699	0.403
	否	37(71.15)	33(63.46)		
化疗	是	22(42.31)	12(23.08)	4.370	0.037
	否	30(57.69)	40(76.92)		
D-二聚体($\mu\text{g/L}$)	<500	17(32.69)	30(57.69)	6.561	0.010
	≥500	35(67.31)	22(42.31)		
血红蛋白(g/L)	<140	19(36.54)	37(71.15)	12.536	0.000
	≥140	33(63.46)	15(28.85)		

表3 影响肺癌患者并发PTE的多因素分析

自变量	β 值	SE值	Wald χ^2	OR	95% CI	P值
凝血因子Ⅲ	0.631	0.186	11.509	1.879	1.305~2.706	0.001
PTX-3	0.759	0.232	10.703	2.136	1.356~3.366	0.001
FIB	0.817	0.258	10.028	2.264	1.365~3.753	0.002
Geneva评分	0.895	0.309	8.389	2.447	1.336~4.485	0.004
病理类型	0.724	0.214	11.446	2.063	1.356~3.138	0.000
TNM分期	0.602	0.163	13.640	1.826	1.326~2.513	0.000
化疗	0.668	0.201	11.045	1.950	1.315~2.892	0.001
D-二聚体	0.743	0.234	10.082	2.102	1.329~3.326	0.002
血红蛋白	0.856	0.294	8.596	2.368	1.331~4.213	0.004

表4 血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分对肺癌患者并发PTE的诊断价值

指标	AUC	95% CI	截断值	特异度	敏感度	P值
凝血因子Ⅲ	0.748	0.654~0.828	486.88 ng/L	0.635	0.789	<0.05
PTX-3	0.753	0.658~0.832	5.41 ng/mL	0.904	0.654	<0.05
FIB	0.745	0.651~0.826	3.62 g/L	0.712	0.712	<0.05
Geneva评分	0.763	0.670~0.841	2.69分	0.577	0.827	<0.05
四者联合	0.914	0.843~0.960		0.846	0.865	<0.05

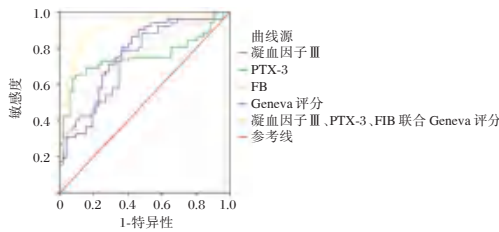


图1 血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分诊断肺癌并发PTE的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of serum coagulation factor Ⅲ, PTX-3, FIB combined with Geneva score in the

征及临床表现与肺癌患者相似,具有较高的误诊率及漏诊率,且抗肿瘤治疗与抗凝治疗会相互影响^[12]。因此探寻合并PTE的诊断指标对改善肺癌患者预后尤为重要。凝血因子Ⅲ是具有较强促血液凝固的物质,也是凝血系统唯一表达在细胞表面的受体型跨膜蛋白,有报道显示机体发生炎症反应、组织损伤时,血管内皮细胞及血液单核细胞会表达大量凝血因子Ⅲ^[13]。PTX-3由多个氨基酸组成,属于正五聚蛋白家族,与血管性疾病、炎症性疾病及感染性疾病的发生有关^[14]。临床研究发现,血清PTX-3水平与肺栓塞患者病情严重程度及预后存在紧密联系^[15]。FIB是由 α 、 β 及 γ 三种多肽链组成的糖蛋白,其含量受凝血系统活化程度影响,经机体代谢后被纤溶酶降解后形成D-二聚体^[16]。现阶段临床采用的Geneva评分多为修订版Geneva评分,主要依据患者体征、症状及病史等指标进行量化评分,不受临床经验的主观影响,具有较强的客观性,常用于预测肺栓塞发生的可能性。既往研究发现,Geneva评分对不同病情程度肺栓塞的诊断准确度较高,对改善患者预后具有重要的临床价值^[17]。

本研究结果表明血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB及Geneva评分与肺癌并发PTE的发生有关。分析原因为:血清凝血因子Ⅲ水平异常升高表明患者血液处于高凝状态,导致血液流速降低、血液黏度增加,从而影响微血管功能,造成肿瘤细胞机械性损伤,为癌栓形成创造了有利条件。PTX-3作为急性时相反应蛋白,具有免疫防御功能,机体发生PTE后处于应激状态,会刺激肺泡上皮细胞、内皮细胞及树突细胞等多种细胞释放PTX-3,导致血清PTX-3水平明显增加。FIB由不同多肽链连接组成,属于纤维蛋白前体物质,PTE形成时会诱导纤维蛋白单体形成纤维蛋白原纤维,从而产生无法溶解的纤维蛋白网,最终影响血栓形成。Geneva评分作为预测

肺栓塞形成可能性的常用指标,其评分越高,表明越容易形成PTE。本研究发现血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB、Geneva评分均为肺癌患者并发PTE的独立危险因素,进一步证明了血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB、Geneva评分与肺癌患者并发PTE存在密切联系。通过ROC曲线分析发现,血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB、Geneva评分均对肺癌并发PTE具有一定的诊断价值,但四者联合能有效提高诊断价值。

综上所述,肺癌并发PTE患者血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB水平呈升高趋势,且具有较高的Geneva评分,四者联合对肺癌并发PTE诊断更具有参考价值。本研究仍存在一定不足,病例均来自同一中心,且样本量较少,后续需开展多中心、大样本量的科学研究以证明血清凝血因子Ⅲ、PTX-3、FIB联合Geneva评分对肺癌患者并发PTE的诊断价值。

参考文献

- [1] 杨磊,冷文华,程晓伟.肺癌病人发生肺栓塞的危险因素和风险列线图模型[J].安徽医药,2021,25(9):1826-1829.
- [2] 王聪,郭秀,迟昊,等.简化版Wells评分、修订版Geneva评分和D-二聚体水平在恶性肿瘤并发肺血栓栓塞症诊断中的应用价值[J].吉林大学学报(医学版),2021,47(3):707-713.
- [3] 孟燕,马强,潘龙飞,等.凝血因子Ⅺ和凝血因子Ⅻ与急性肺栓塞患者疾病严重程度的关系及其作用机制研究[J].实用心脑血管病杂志,2020,28(10):9-13.
- [4] 李伟,杨超.BNP、PTX3、GDF-15诊断急性肺栓塞并发肺动脉高压的价值[J].中国医师杂志,2022,24(1):136-139.
- [5] 赵论,石默晗,张浩然,等.不同TNM分期肺癌患者血清D-D、FIB、APTT的水平变化[J].中南医学科学杂志,2022,50(3):395-397+401.
- [6] 张奕杰,张杰,王晓陶,等.年龄校正的D-二聚体联合简化Geneva评分对老年急性肺栓塞的诊断价值[J].西部医学,2021,33(12):1797-1801.
- [7] 支修益,石远凯,于金明.中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J].中华肿瘤杂志,2015,37(1):67-78.
- [8] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组,中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会,全国肺栓塞与肺血管病防治协作组.肺血栓栓塞症诊治与预防指南[J].中华医学杂志,2018,98(14):1060-1087.
- [9] 刘剑,孙林,向华,等.Wells评分、Geneva评分和YEARS法对疑似肺栓塞住院患者诊断价值的对比研究[J].介入放射学杂志,2021,30(6):552-556.
- [10] 莫振飞,崔节伟,于明子,等.D-二聚体在肺癌合并血流感染临床预后评估中的价值[J].中华医院感染学杂志,2021,31(3):381-384.
- [11] 王倩,杨璐瑜,陆辉志,等.肺血栓栓塞症诊断与治疗进展[J].医学新知杂志,2019,29(2):120-122+126.

sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 对 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的评估价值

高永超 刘晓文 王晓琦 王少兰*

[摘要] 目的 探究小而密低密度脂蛋白胆固醇(sdLDL-C)、膜联蛋白 A2(Annexin A2)、同型半胱氨酸(Hcy)对急性缺血性脑卒中(AIS)患者颈动脉斑块稳定性的评估价值。方法 选取2019年8月至2022年2月期间河北北方学院附属第二医院 AIS 患者92例为研究对象,根据颈动脉斑块的影像学检查结果分为稳定斑块组($n=33$)与不稳定斑块组($n=59$),另选取同期30名健康体检者为健康组。检测并对比3组患者血清sdLDL-C、Annexin A2、Hcy水平,并绘制ROC曲线分析上述指标对AIS患者颈动脉斑块稳定性的评估价值。结果 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy水平:不稳定性斑块组>稳定性斑块组>健康组,差异具有统计学意义($F=179.585、23.468、66.324, P<0.05$);多因素 Logistic 回归分析显示, sdLDL-C($OR=3.212$)、Annexin A2($OR=2.522$)、Hcy($OR=8.750$)是 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的独立影响因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示, Hcy、sdLDL-C、Annexin A2 对应的 AUC 分别为 0.862、0.837、0.795,判断 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的敏感度、特异度分别为 86.4%、84.8%; 83.1%、81.8%; 79.7%、81.8%。结论 检测 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 对 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的判断具有重要价值。

[关键词] 急性缺血性脑卒中; 颈动脉斑块; 小而密低密度脂蛋白胆固醇; 膜联蛋白; 同型半胱氨酸

The evaluation value of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy in the assessment of carotid plaque stability in patients with AIS

GAO Yongchao, LIU Xiaowen, WANG Xiaoyu, WANG Shaolan*

(Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of small dense Low-Density Lipoprotein (sdLDL-C), Annexin A2 and homocysteine (Hcy) on carotid plaques in patients with acute ischemic stroke (AIS) evaluation. **Methods** A total of 92 patients with AIS in the Second Affiliated Hospital of Hebei Northern University from August 2019 to February 2022 were selected as the research subjects. According to the imaging results of carotid plaques, they were divided into stable plaque group ($n=33$) and unstable plaque group ($n=59$). Another 30 healthy subjects were selected as the healthy group during the same period. The serum levels of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy in the three groups were detected and compared, and the ROC curve was drawn to analyze the evaluation value of the above indicators for carotid plaque stability in patients with AIS. **Results** The levels of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy: unstable plaque group > stable plaque group > healthy group, the difference was statistically significant ($F=179.585、23.468、66.324, P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that sdLDL-C($OR=3.212$), Annexin A2($OR=2.522$), and Hcy ($OR=8.750$) were independent influencing factors of carotid plaque stability in AIS patients ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUCs corresponding to Hcy, sdLDL-C and Annexin A2 were 0.862, 0.837 and 0.795,

基金项目:河北省科技厅项目(20200497)

作者单位:河北北方学院附属第二医院神经内一科,河北,张家口 075000

*通信作者:王少兰, E-mail: 303066984@qq.com

respectively, and the sensitivity and specificity for judging the stability of carotid plaque in patients with AIS were 86.4% and 84.8%; 81.8%; 79.7%, 81.8%. **Conclusion** The detection of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy is of great value in judging the stability of carotid plaques in patients with AIS.

[KEY WORDS] Acute ischemic stroke; Carotid plaque; sdLDL-C; Annexin A2; Homocysteine

急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)是危害中老年人健康的常见病,随着社会老龄化和生活方式改变,我国老年人群中 AIS 发病率呈逐年上升趋势,已成为影响人类健康最重要的疾病之一。研究显示^[1],动脉粥样硬化是 AIS 的主要病因,且与动脉粥样硬化易损斑块不可预测的破裂有关。因此,准确评估颈动脉粥样硬化斑块的稳定性对防治 AIS 具有十分重要的意义。目前临床主要通过超声、CT 血管造影或磁共振等影像学方法评估颈动脉粥样硬化斑块的稳定性,但尚缺乏定量的评估指标。国内外研究表明^[2-4],小而密低密度脂蛋白胆固醇(small dense Low-Density Lipoprotein, sdLDL-C)、膜联蛋白 A2(Annexin A2)、同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)均与动脉粥样硬化的发生发展关系密切,但与颈动脉斑块稳定性关系的报道较少。本研究通过探讨 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 与 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的关系,为临床评估颈动脉斑块稳定性提供新指标与新方法。

1 对象与方法

1.1 研究对象

便利抽样法选取 2019 年 8 月至 2022 年 2 月期间河北北方学院附属第二医院 AIS 患者 92 例为研究对象。纳入标准:①符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[5]中 AIS 的诊断标准并经 CT 或 MRI 检查确诊;②发病时间<7 d;③近 3 个月内未发生非颈动脉栓塞;④患者知情并签署同意书。排除标准:①脑肿瘤、脑外伤、血液病等引起的脑卒中;②患有神经系统疾病,如意识障碍、帕金森等,无法配合研究;③近一个月内服用过影响脂代谢药物和抗氧化剂。根据颈动脉斑块的影像学检查结果将 92 例 AIS 患者分为稳定斑块组($n=33$)与不稳定斑块组($n=59$),另选取同期 30 名健康体检者为健康组。稳定斑块组男 18 例,女 15 例,年龄(74.36 ± 14.24)岁;不稳定斑块组男 29 例,女 30 例,年龄(73.87 ± 12.63)岁;健康组男 12 例,女 18 例,年龄(72.09 ± 13.76)岁。3 组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经河北北方

学院附属第二医院医学伦理会审批并通过。

1.2 颈动脉超声检查方法

采用西门子 Acuson S2000 彩色多普勒超声诊断仪进行诊断,采用 914 探头沿患者胸锁乳突肌外缘进行横、纵扫查颈总动脉和分叉部以及颈内动脉起始位置。并测定颈动脉内膜中层厚度(intima-medial thickness, IMT), $IMT>1.5$ mm 提示斑块形成。依据病理学分为扁平斑和软斑以及硬斑与溃疡斑,其中软斑和溃疡斑归为不稳定斑块,硬斑和扁平斑归为稳定斑块^[6]。

1.3 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 检测方法

于研究对象入院次日清晨采集空腹肘正中静脉血 10 mL,注入含有抗凝剂的试管中混匀后于室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 10 cm)后取上层血清,保存于 -20°C 冰箱中待测。sdLDL-C、Hcy 检测:采用 AU5800 系列全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)采用去除法、免疫透射比浊法进行测定。Annexin A2 检测:采用双抗体夹心法使用试剂盒(广州祺正生物科技有限公司)进行测定。

1.4 统计学方法

采用 SPSS Statistics 21 统计学软件进行分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;多组间比较采用单因素方差分析,采用 ROC 曲线分析各指标诊断价值,曲线下面积值(AUC)的比较采用非参数检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 水平比较

3 组 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 水平比较:不稳定斑块组>稳定斑块组>健康组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的多因素分析

以颈动脉斑块是否稳定为因变量,否赋值 0,是赋值 1;以两组比较差异有统计学意义的指标作为自变量,sdLDL-C、Annexin A2、Hcy 低于两组均值赋值 0,高于两组均值赋值 1,应用多因素 Logistic 回

表1 3组sdLDL-C、Annexin A2、Hcy水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of the levels of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sdLDL-C (mmol/L)	Annexin A2 (ng/L)	Hcy ($\mu\text{mol/L}$)
不稳定斑块组	59	1.55±0.34 ^a	2.53±0.71 ^a	22.48±4.15 ^a
稳定斑块组	33	1.32±0.28 ^{ab}	2.27±0.65 ^{ab}	18.32±4.37 ^{ab}
健康组	30	0.36±0.11	1.58±0.32	11.27±4.68
F值		179.585	23.468	66.324
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康组比较,^a $P < 0.05$;与不稳定斑块组比较,^b $P < 0.05$ 。

归方程分析,结果显示,sdLDL-C、Annexin A2、Hcy是AIS患者颈动脉斑块稳定性的独立影响因素($P < 0.05$)。见表2。

表2 AIS患者颈动脉斑块稳定性的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate logistic regression analysis of carotid plaque stability in patients with AIS

影响因素	β 值	S.E值	Wald	OR值	95% CI	P值
sdLDL-C	1.167	0.432	7.298	3.212	2.263~4.581	0.007
Annexin A2	0.925	0.408	5.140	2.522	1.854~3.307	0.023
Hcy	2.169	0.874	6.159	8.750	7.119~9.652	0.013

2.3 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy对AIS患者颈动脉斑块稳定性的评估价值

ROC曲线分析显示,Hcy、sdLDL-C、Annexin A2对应的AUC分别为0.862、0.837、0.795,判断AIS患者颈动脉斑块稳定性的敏感度、特异度分别为86.4%、84.8%;83.1%、81.8%;79.7%、81.8%。见表3、图1。

表3 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy对AIS患者颈动脉斑块稳定性的评估价值

Table 3 Evaluation value of sdLDL-C, Annexin A2 and Hcy on carotid plaque stability in patients with AIS

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度	特异度	P值
Hcy	0.862	(0.813~0.945)	21.33 $\mu\text{mol/L}$	0.864	0.848	<0.001
sdLDL-C	0.837	(0.763~0.927)	1.41 mmol/L	0.831	0.818	<0.001
Annexin A2	0.795	(0.652~0.806)	2.45 ng/L	0.797	0.818	<0.001

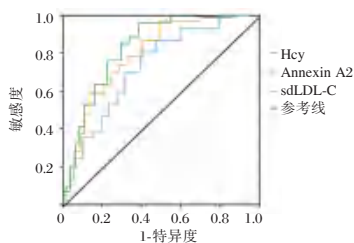


图1 sdLDL-C、Annexin A2、Hcy的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of sdLDL-C, Annexin A2, Hcy

3 讨论

AIS是由于正常血液循环受阻,脑组织血液供应不足导致脑细胞不同程度的缺血缺氧,最终软化或坏死。医学研究表明^[7],动脉粥样硬化与其基础上的颈动脉不稳定斑块突然破裂或溃疡/血栓形成均属AIS的发病机制。此外,AIS的发生与颈动脉斑块的稳定性密切相关,不稳定性颈动脉斑块是缺血性脑卒中的危险因素^[8]。因此,准确预测斑块性质为预防AIS发生的关键。虽然影像学方法可用于判断斑块的稳定性,但传统的影像诊断技术只能显示动脉管腔或斑块的形态,严重缺乏对斑块稳定性的评估。

近期研究发现^[9],降低sdLDL-C水平可增加斑块的稳定性,表明sdLDL-C水平与斑块稳定性之间存在内在联系。本研究采用颈动脉超声造影根据斑块稳定性对AIS患者进行分组,分析了sdLDL-C水平与颈动脉斑块稳定性的关系。结果显示,sdLDL-C水平:不稳定斑块组>稳定斑块组>健康组,且多因素Logistic回归分析显示sdLDL-C是AIS患者颈动脉斑块稳定性的独立影响因素。这可能是由于不稳定斑块通常伴随巨噬细胞聚集和平滑肌细胞增殖减少,LDL亚组分更密集,更容易到达内皮下层被氧化,从而加速斑块的形成^[10]。Qiao等^[11]在一项横断面研究中发现,不稳定斑块患者的sdLDL-C水平高于稳定斑块与无斑块患者,并通过Logistic回归分析证明sdLDL-C是不稳定斑块的危险因素,这表明sdLDL-C可作为评估颈动脉斑块稳定性的重要指标,与本研究结论部分相符。

Annexin A2是一种多效性蛋白质,可通过钙依赖性方式结合阴离子磷脂,参与细胞运动、内吞作用、离子通道形成等多种细胞过程。Annexin A2还通过TLR4内化和易位到内体中发挥作用,这有助于从巨噬细胞释放抗炎/促炎细胞因子。此外,相关研究表明^[12-13],Annexin A2在血管新内膜中的表达增加,并介导血管平滑肌细胞迁移和增殖,促进动脉粥样硬化斑块的形成。本研究发现,不稳定斑块组Annexin A2水平高于其他组,提示Annexin A2与动脉粥样硬化斑块的形成与稳定性均相关。本研究还发现,不稳定斑块组Hcy水平亦高于其他组。Hcy水平异常是导致脑卒中发生的危险因素,其通过内皮细胞损伤、氧化应激、炎症反应等多种机制参与缺血后引起的一系列损

伤。如产生超氧化物和过氧化物,导致血管内皮细胞损伤和功能障碍,增加血栓及斑块形成^[14]。此外,Hcy还能够促使血管平滑肌细胞过度增殖,从而加快动脉粥样硬化。武晓玲等^[15]通过将163例急性脑梗死患者按IMT及斑块稳定性分为两组,结果发现不稳定斑块患者Hcy水平明显高于稳定斑块患者,且Hcy水平与急性脑梗死病情严重程度相关。张帆等^[16]也发现,Hcy表达水平过高是导致AIS患者颈动脉硬化斑块不稳定的独立危险因素。

综上所述,伴有颈动脉斑块的AIS患者sdLDL-C、Annexin A2、Hcy水平均高于健康人群,并且不同斑块稳定性患者sdLDL-C、Annexin A2、Hcy水平也存在差异,sdLDL-C、Annexin A2、Hcy水平检测对AIS患者颈动脉斑块稳定性的判断具有重要价值。本研究还存在许多不足之处:①研究样本量较少,且研究对象均来自河北北方学院附属第二医院,可能由于地域、文化或习俗差异,导致代表性不高。②本研究为横断面调查,而AIS的疾病发展存在一定的动态性,可能对实验结果有一定影响。希望将来可进行多中心、大样本的前瞻性纵向研究,以便更深入地探究sdLDL-C、Annexin A2、Hcy对AIS患者颈动脉斑块稳定性的评估价值。

参考文献

- [1] 高素颖,颜应琳,于凯,等.急性缺血性脑卒中颈动脉粥样硬化的危险因素研究[J].中国全科医学,2021,24(3):327-332.
- [2] Ikezaki H, Lim E, Cupples LA, et al. Small Dense Low-Density Lipoprotein Cholesterol Is the Most Atherogenic Lipoprotein Parameter in the Prospective Framingham Offspring Study[J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(5):191-203.
- [3] 林子祥,刘丹,薛雅芝,等.血清膜联蛋白A2在冠心病患者血清中明显升高[J].南方医科大学学报,2020,40(3):382-387.
- [4] 吴祖飞,陈诗,刘叶红,等.血清CRP/白蛋白、HCY/HDL-C与冠状动脉病变程度的相关性分析[J].解放军医学杂志,2021,46(7):678-686.
- [5] 彭斌,吴波.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [6] 田小洁,惠晶晶,吕琦,等.血管超声评估颈动脉粥样硬化斑块易损性的可行性研究[J].中国脑血管病杂志,2020,17(6):291-298.
- [7] 杨海蕾,陈晨,屈秋民.社区脑卒中高危人群颈动脉粥样硬化与缺血性脑卒中的关系[J].西安交通大学学报(医学版),2019,40(6):916-921.
- [8] 李自超,王欣,马冬梅,等.脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块数量的影响因素[J].西安交通大学学报(医学版),2018,39(2):292-295.
- [9] 范雪松,王恩世,贺建勋,等.小而密低密度脂蛋白胆固醇及其与低密度脂蛋白胆固醇之比与颈动脉粥样硬化斑块的关系[J].中华检验医学杂志,2018,41(3):219-226.
- [10] 沈月爽,赵鲁杭,杨家虎,等.小而密低密度脂蛋白胆固醇与老年冠心病患者冠脉病变程度的相关性[J].中国老年学杂志,2020,40(18):3817-3819.
- [11] QiaoZhen X, AiGuo M, Tong W, et al. Correlation between of small dense low-density lipoprotein cholesterol with acute cerebral infarction and carotid atherosclerotic plaque stability [J]. J Clin Lab Anal, 2019, 33(6):228-241.
- [12] Wang Z, Wei Q, Han L, et al. Tenascin-c renders a proangiogenic phenotype in macrophage via annexin II [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(1):429-438.
- [13] 郭中州,张亚南,刘季晨,等. PSRC1与ANXA2相互作用减缓动脉粥样硬化进展的作用机制[J].解放军医学杂志,2021,46(5):440-447.
- [14] 刘国荣,徐永平,陈伟彬.血浆同型半胱氨酸与颈动脉粥样硬化的相关分析[J].中华老年心脑血管病杂志,2020,22(3):285-287.
- [15] 武晓玲,郝智军,杨金水,等.同型半胱氨酸水平与急性脑梗死TOAST分型及颈动脉斑块稳定性的相关性分析[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,21(12):1249-1252.
- [16] 张帆,汪明佳,王婉.急性脑梗死患者颈动脉硬化斑块稳定性的影响因素[J].西部医学,2019,31(6):917-921.
- [12] 赵守焱.血清miR-1233、BUN水平与肺癌合并肺栓塞抗凝治疗患者预后的相关性[J].河北医药,2021,43(13):1950-1953+1958.
- [13] 董蕙,王存德,龚泉,等.凝血因子Ⅲ在非小细胞肺癌高凝状态患者外周血中的表达及其临床意义[J].中国肿瘤临床,2018,45(8):385-389.
- [14] 王璐,龚向红. Apelin-13、PTX-3、GDF-15在急性肺栓塞患者中的水平及与预后的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2022,43(4):455-459.
- [15] 李振国,曲红梅,吴杰,等.不同病情急性肺栓塞患者血清PTX-3、Copeptin、HP的变化及与预后的关系分析[J].广西医科大学学报,2021,38(1):144-149.
- [16] 黄晗,胡朝阳,张小红.肺癌合并急性肺栓塞患者治疗前后血清FIB、D-D、PT和APTT水平变化及危险因素分析[J].实用癌症杂志,2021,36(10):1640-1643.
- [17] 蒋云飞,邵斌霞,蒋陈晓,等.修正Geneva评分联合D-二聚体在急性肺栓塞患者早期诊断中的价值评估[J].临床急诊杂志,2020,21(5):345-349.

(上接第1658页)

趋化因子CXCL7通过血管形成途径促进结直肠癌增殖、迁移及侵袭的机制研究

程刚¹ 李东鹏² 张华鹏¹ 刘华¹ 孙峰³ 梁海⁴ 李龙海^{5*}

[摘要] 目的 探究趋化因子CXCL7对结直肠癌(CRC)细胞增殖、转移及侵袭的影响与血管生成的关系,阐明CXCL7促进CRC发展的分子机制。方法 采用qPCR及ELISA法筛选出高、低表达CRC细胞株为研究对象,采用CCK-8、EdU染色以及平板克隆形成实验测定CXCL7对结直肠癌细胞增殖能力的影响;流式细胞仪检测周期和细胞凋亡情况;细胞划痕实验测定CXCL7对结直肠癌细胞迁移能力的作用;Transwell实验测定CXCL7对结直肠癌细胞侵袭能力的影响。ELISA试剂盒测量培养血清VEGF水平,Western blot检测血管内皮生长因子受体(VEGF-R)表达水平。结果 细胞增殖实验48 h、72 h时各组吸光度比较: CXCL7干扰组>NC组>空白对照组,差异有统计学意义($F=7.567, 17.475, P<0.05$); Transwell实验中迁移与侵袭细胞数比较: CXCL7干扰组>空白对照组>NC组,差异有统计学意义($P<0.05$); 处理CRC细胞6 h后,结果显示空白对照组和NC组仅有少量小管形成,而CXCL7干扰组却形成了大量网状结构的小管。管腔形成数目: CXCL7干扰组>NC组>空白对照组,差异有统计学意义($F=155.272, P<0.05$)。VEGF水平及VEGF-R阳性表达率: CXCL7干扰组>NC组,差异有统计学意义($t=15.504, \chi^2=6.050, P<0.05$)。结论 趋化因子CXCL7可调控肿瘤微环境,促进肿瘤血管形成,进而协助结直肠癌细胞的增殖、转移和侵袭。

[关键词] 趋化因子CXCL7; 血管形成; 结直肠癌; 细胞增殖; 细胞迁移

The mechanism of chemokine CXCL7 promoting colorectal cancer proliferation, migration and invasion through angiogenesis pathway

CHENG Gang¹, LI Dongpeng², ZHANG Huapeng¹, LIU Hua¹, SUN Feng³, LIANG Hai⁴, LI Longhai^{5*}

(1. Department oncology, Bozhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Bozhou, Anhui, China, 236800; 2. Pathology department, Bozhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Bozhou, Anhui, China, 236800; 3. Clinical Laboratory, Bozhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Bozhou, Anhui, China, 236800; 4. Clinical Pharmacy Center, Bozhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Bozhou, Anhui, China, 236800; 5. Science and Education Section, Bozhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Bozhou, Anhui, China, 236800)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between the effect of chemokine CXCL7 on the proliferation, metastasis and invasion of CRC cells and angiogenesis, and to clarify the molecular mechanism of CXCL7 promoting the development of CRC. **Methods** The high and low expression CRC cell lines were screened by qPCR and ELISA as the research objects. The effect of CXCL7 on the proliferation of colorectal cancer cells was determined by CCK-8, EdU staining and plate colony formation assay. Flow cytometry was

基金项目:亳州市科技重大专项项目(bzzd2020012)

作者单位:1. 安徽医科大学附属亳州医院肿瘤科,安徽,亳州 236800

2. 安徽医科大学附属亳州医院病理科,安徽,亳州 236800

3. 安徽医科大学附属亳州医院检验科,安徽,亳州 236800

4. 安徽医科大学附属亳州医院临床药学中心,安徽,亳州 236800

5. 安徽医科大学附属亳州医院科教科,安徽,亳州 236800

*通信作者:李龙海, E-mail: 3578664100@qq.com

used to detect the cycle and cell apoptosis. The effect of CXCL7 on the migration ability of colorectal cancer cells was determined by cell scratch assay; the effect of CXCL7 on the invasion ability of colorectal cancer cells was determined by transwell assay. ELISA kit was used to measure the level of VEGF in the culture supernatant, and Western blot analysis was used to detect the expression level of vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R). **Results** The absorbance comparison of each group at 48 h and 72 h in cell proliferation experiment: CXCL7 interference group > NC group > blank control group, the difference was statistically significant ($F=7.567, 17.475, P<0.05$). Comparison of the number of migrating and invasive cells in transwell experiment: CXCL7 interference group > blank control group > NC group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After 6h of treatment with CRC cells, the results showed that only a few tubules were formed in the blank control group and the NC group, while many tubules with a network structure were formed in the CXCL7 interference group. The number of lumens formed: CXCL7 interference group > NC group > blank control group, the difference was statistically significant ($F=155.272, P<0.05$). The VEGF level and VEGF-R positive expression rate: CXCL7 interference group > NC group, the difference was statistically significant ($t=15.504, \chi^2=6.050, P<0.05$). **Conclusion** The chemokine CXCL7 can regulate the tumor microenvironment and promote tumor angiogenesis, thereby assisting the proliferation, metastasis and invasion of colorectal cancer cells.

[KEY WORDS] Chemokine CXCL7; Angiogenesis; Colorectal cancer; Cell proliferation; Cell migration

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球消化系统最常见的癌症之一,发病率和死亡率居前列^[1]。2015年中国的一项调查报告显示,CRC患者和死亡人数分别为37.63万人和19.1万人,其次是胃癌、肝癌和食道癌^[2]。目前,CRC的发病机制尚未完全阐明,主流观点认为与基因或表观遗传不稳定、饮食习惯、接触化学致癌物质、肿瘤血管生成等因素有关^[3]。CXCL7是一种中性粒细胞激活趋化因子,主要来源于外周血小板,其通常被认为与调节糖酵解、有丝分裂和前列腺素合成等有关。近年来国外研究报道了CXCL7与CRC患者预后相关,可作为CRC的诊断生物标志物^[4-5],然而关于CXCL7在CRC的发生与发展中的作用机制却鲜有研究。本研究通过一系列实验来评估分泌性趋化因子对CRC肿瘤微环境的影响,探究趋化因子CXCL7对CRC细胞增殖、转移及侵袭的影响与血管生成的关系,旨在阐明CXCL7促进CRC发展的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验细胞与试剂

人CRC细胞系SW620(美国ATCC公司);NCM460正常细胞株(美国ATCC公司);慢病毒载体LV5(EF-1aF/GFP&Puro)(苏州吉玛基因科技有限公司);胎牛血清(批号1658396, Hyclone公司);人脐静脉内皮细胞(批号HUVCE001, 澳赛尔生物技术有限公司);Transwell小室(康宁公司);

Matrigel胶(美国BD公司);PBS(批号20140918, 北京索莱宝科技有限公司);细胞周期测定试剂盒(美国BD公司);胰蛋白酶(北京索莱宝科技有限公司);凋亡测定试剂盒(Beyotime公司);ECL试剂盒(美国Millipore公司);ELISA试剂盒(武汉赛培生物科技有限公司)

1.1.2 实验仪器与设备

酶标仪(VICTOR X5, 美国Perkinelmer公司);BX53MRF-S显微镜(日本Olympus公司);垂直电泳仪(北京六一生物科技有限公司);CO₂培养箱(型号MIR-162-PC/MIR-262-PC, 日本松下公司);流式细胞仪(美国贝克曼公司)

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

取对数期生长的CRC细胞在培养基中进行传代培养,并添加10%胎牛血清、100 μg/mL的链霉素100 μL。所有细胞均置于饱和湿度、37℃的5% CO₂培养箱中孵育。

1.2.2 CXCL7稳转株的构建

通过qPCR及ELISA法检测CRC细胞株的表达情况,挑选出高低表达细胞株,对高表达细胞株进行敲降(Knock down),低表达细胞株行过表达(Over expression)处理。克隆位点:NotI BamHI,借助慢病毒载体转染细胞株构建稳定过表达以及敲降细胞株。

1.2.3 CXCL7对CRC细胞增殖能力的影响

使用CCK-8、EdU染色和平板克隆形成实验测定CXCL7对CRC细胞增殖能力的影响。

1.2.4 CXCL7对CRC细胞周期和凋亡作用

收集CXCL7过表达及敲降的稳转株, PBS洗涤, 75%乙醇固定后, PBS继续漂洗1~2次, 使用细胞周期测定试剂盒, 流式细胞仪测定各管细胞周期分布情况。同样使用不含ETDA的胰蛋白酶消化处理细胞, 经固定与漂洗后, 使用凋亡测定试剂盒, 流式细胞仪测定细胞凋亡情况。

1.2.5 Transwell 肿瘤细胞侵袭实验

Transwell小室上层加入CXCL7+NC组细胞, 下层加入血清培养液, 中间加入胶。4%多聚甲醛固定10 min, 1%结晶紫染色30 min, 镜下观察并拍照, 100倍光镜下随机选取5个视野进行计数, 平均值作为计算结果并进行比较。

1.2.6 趋化因子CXCL7对脐静脉内皮细胞血管形成实验

96孔板放置于-20℃预冷, 每孔以50 μL Matrigel胶包被, 置于37℃中孵育30 min, 使胶凝固; 胰酶消化对数生长期的脐静脉内皮细胞, 用人LoVo细胞培养上清液重悬后计数, 细胞接种于Matrigel胶包被的96孔板, 每孔接种100 μL中细胞数4 000个。培养板置于细胞培养箱中培养, 6 h后加入Calcein-AM/PBS溶液, 37℃避光孵育30 min, PBS洗涤2次, 荧光显微镜下观察并拍照计数管腔形成数目。

1.2.7 血管内皮生长因子(VEGF)、血管内皮生长因子受体(VEGF-R)表达水平测定

ELISA试剂盒测量培养上清VEGF水平, Western blot检测血管内皮生长因子受体(VEGF-R)表达水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 17.0统计学软件进行统计学处理, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用SNK-q检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组不同时间点吸光度值比较

48、72 h各组吸光度比较: CXCL7干扰组>NC组>空白对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 Transwell 细胞迁移实验

迁移细胞数比较: CXCL7干扰组(1021.14±106.55)个>空白对照组(348.36±48.64)个>NC组(331.98±46.81)个, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。

表1 各组不同时间点吸光度值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of cell proliferation rates in each group at each time point ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	0 h	24 h	48 h	72 h
CXCL7 干扰组	6	0.25±0.02	0.34±0.02	0.82±0.10 ^{ab}	1.41±0.12 ^{ab}
NC 组	6	0.24±0.01	0.32±0.02	0.69±0.08 ^a	1.13±0.11 ^a
空白对照组	6	0.25±0.01	0.31±0.03	0.62±0.09	1.01±0.13
F 值		1.000	2.471	7.567	17.475
P 值		0.391	0.118	0.005	< 0.001

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与NC组比较, ^b $P < 0.05$ 。

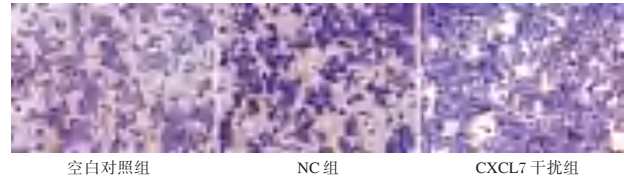


图1 各组Transwell细胞迁移实验结果(1%结晶紫染色, ×100)

Figure 1 Transwell cell migration test results in each group (1% crystal violet stain, ×100)

2.3 细胞侵袭实验

侵袭进入下室的细胞数比较: CXCL7干扰组(103.21±15.33)个>空白对照组(28.54±8.17)个>NC组(24.65±8.36)个, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 脐静脉内皮细胞血管形成实验

处理CRC细胞6 h后, 结果显示空白对照组和NC组仅有少量小管形成, 而CXCL7干扰组却形成了大量网状结构的小管。管腔形成数目: CXCL7干扰组>NC组>空白对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2、图2。

表2 各组管腔形成数目比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the number of formed lumen in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	管腔数(个)
CXCL7 干扰组	6	28.14±3.22 ^{ab}
NC 组	6	15.89±2.16 ^a
空白对照组	6	4.47±1.10
F 值		155.272
P 值		< 0.001

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与NC组比较, ^b $P < 0.05$ 。

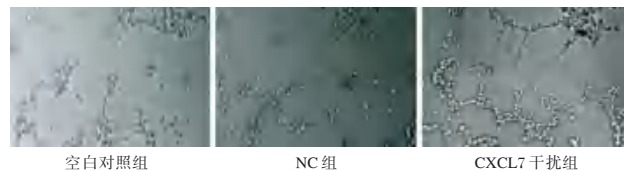


图2 各组脐静脉内皮细胞血管形成实验结果

Figure 2 Experimental results of umbilical vein endothelial cells angiogenesis in each group

2.5 各组 VEGF 水平及 VEGF-R 阳性表达率比较

VEGF 水平及 VEGF-R 阳性表达率: CXCL7 干扰组 > NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组 VEGF 水平及 VEGF-R 阳性表达率比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of VEGF levels and VEGF-R positive expression rates in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF (pg/mL)	VEGF-R 阳性表达率 (%)
CXCL7 干扰组	576.25±84.63	90.0 (36/40)
NC 组	357.47±28.34	67.5 (27/40)
t/χ^2 值	15.504	6.050
P 值	< 0.001	0.014

3 讨论

近年来国内外大量研究发现, 一些趋化因子在肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭以及血管形成过程中发挥重要作用^[6-7]。趋化因子是一种 8~12 kDa 的分泌蛋白, 可以调节白细胞的迁移, 并参与炎症或伤口组织的修复等生理和病理过程。根据 N 末端附近保守半胱氨酸的位置, 这些小蛋白可分为 CXCL-、CX3C-、CC- 和 XCL 亚组趋化因子^[8-9]。CXCL7 属于 ELR+CXCL 趋化因子, 其功能与其受体 CXCR2 结合, 并通过将中性粒细胞聚集到血管损伤部位, 影响机体免疫反应^[10]。目前, CXCL7 已被证明是乳腺癌、肺癌等多种癌症中重要的肿瘤微环境调节剂, 也是癌症诊断中的潜在生物标志物^[11]。但关于 CXCL7 在 CRC 发生与发展中的作用机制研究较为少见。本研究拟在前期工作基础上, 运用分子生物学手段及动物实验技术系统研究 CXCL7 对结直肠癌肿瘤微环境的影响, 以及对结直肠癌细胞增殖、转移及侵袭的影响, 阐明 CXCL7 促进结直肠癌发展的分子机制。本研究有望在趋化因子调节水平为 CRC 的诊断及防治提供新的视角和理论依据, 并为 CRC 的靶向治疗和预后提供重要指导。

本研究发现, 在细胞增殖实验中, 细胞培养 48 h 后, CXCL7 干扰组吸光度明显高于 NC 组与空白对照组, 细胞增殖作用明显增强, Transwell 实验中 CXCL7 干扰组迁移与侵袭细胞数均多于 NC 组与空白对照组, 说明 CXCL7 具有协助细胞增殖、迁移与侵袭的作用。血管生成是一个重要的生理过程, 在肿瘤的增殖、侵袭和转移中也起着关键作用。血管生成成为肿瘤的发展提供了营养支持, 并促进肿瘤的持续生长。近年来相关文献报道^[12], 血管生成在 CRC 复发和转移中起重要作用, 许多蛋白质和信号分子与 CRC 细胞中的血管生成有关, 包

括 VEGF 和趋化因子。VEGF 在 CRC 肿瘤中高表达并与不良预后相关。既往研究专注于 CRC 患者血清中的 CXCL7, 及其在 CRC 预后中的潜在应用, 然而, CXCL7 和血管生成之间的关系鲜为研究。近年来, 一些研究揭示了趋化因子在调节血管生成中的作用, 如 CCL19 通过下调 CRC 细胞中 VEGF-A 的表达来抑制血管生成的能力^[13]。因此, 可将此类研究作为研究 CXCL7 在 CRC 患者血管生成中作用的基础进行参考。本研究结果说明趋化因子 CXCL7 可增强小管形成能力, 促进肿瘤血管形成。此外, 通过选择 VEGF 作为血管生成的标志物, 发现 CXCL7 可增强 CRC 细胞中 VEGF 的表达。Du 等^[14]报道, CXCL7 通过激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路与肿瘤生长、侵袭、迁移和血管生成有关。AKT 信号通路存在于人的所有细胞中, 参与细胞生长、凋亡、迁移等多种代谢过程^[15]。CXCL7 还可以通过与肿瘤血管生成相关的 Ras/Raf/丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路发挥其作用。CXCL7 可加速肿瘤转移通过调节 VEGF-R 在 CRC 中的表达。因此, CXCL7 可能是通过激活 AKT 等信号通路参与 CRC 的发生与发展。

综上所述, 趋化因子 CXCL7 可调控肿瘤微环境, 促进肿瘤血管形成, 进而协助结直肠癌细胞的增殖、转移和侵袭。本研究下一阶段的研究任务主要是通过动物实验探究 CXCL7 对裸鼠 CRC 细胞成瘤能力的影响。

参考文献

- [1] 袁蕙芸, 蒋宇飞, 谭玉婷, 等. 全球癌症发病与死亡流行现状和变化趋势[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(6): 642-646.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] 王红梅, 张兰, 王一涵. 新发结直肠癌患者膳食模式分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(3): 319-322+326.
- [4] Li L, Zhang L, Zhang T, et al. Serum Chemokine CXCL7 as a Potential Novel Biomarker for Obstructive Colorectal Cancer[J]. Front Oncol, 2021, 10(4): 599-610.
- [5] Li L, Jiang K, Li D, et al. The Chemokine CXCL7 Is Related to Angiogenesis and Associated With Poor Prognosis in Colorectal Cancer Patients[J]. Front Oncol, 2021, 11(5): 754-763.
- [6] 宋晓燕, 杨娟, 赞梅. 结直肠癌中 CXCL17 表达水平与临床病理特征、预后及免疫浸润的相关性分析[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(11): 1362-1366.
- [7] Tokunaga R, Zhang W, Naseem M, et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation - A target for novel cancer therapy[J]. Cancer Treat Rev, 2018, 63(5): 40-47.

miR-221/222 与乳腺癌 ER α 表达及他莫昔芬敏感性的关系

侯蕾¹ 马源婧² 霍欣欣³ 史学丽^{4*}

[摘要] 目的 探讨 miR-221/222 与乳腺癌临床病理的关系,及是否参与 ER α 的调节并影响他莫昔芬(TAM)的敏感性。方法 分析2019年1月至2021年12月石家庄市妇幼保健院经手术切除的104例乳腺浸润性导管癌及其癌旁组织标本,采用茎环引物实时荧光定量 PCR(qPCR)法检测癌组织和相应癌旁组织中 miR-221/222 的表达水平,采用免疫组织化学法检测 ER α 表达,分析 miR-221/222 与 ER α 表达的关系。MCF-7 细胞转染空白试剂、miR-221 抑制剂、miR-222 抑制剂和 miR-221/222 抑制剂,转染后均给予 TAM 5 μ g/mL 进行培养并检测其细胞增殖抑制率和细胞凋亡率。结果 乳腺癌组织中的 miR-221/222 表达明显高于癌旁组织,差异具有统计学意义($t=17.541, P<0.05; t=12.911, P<0.05$); miR-221/222 的表达水平在 ER- α 表达阴性、PR 表达阴性组均显著高于阳性表达组($t=7.039, P<0.05; t=5.357, P<0.05$), miR-221/222 的表达水平在 Her-2 表达阳性显著高于阴性组($t=9.827, P<0.05$);在三阴性分子亚型中的表达显著高于 Her-2 过表达型、luminal A 及 luminal B1 型乳腺癌($F=23.127, P<0.05$)。miR-221/222 抑制组转染后 24、48 h 细胞增殖抑制率、细胞凋亡率均明显高于空白对照组、miR-221 抑制组、miR-222 抑制组($F=19.736, P<0.05; F=36.091, P<0.05$)。结论 miR-221/222 水平与腺癌患者的 ER α 表达相关,且 miR-221/222 可影响乳腺癌细胞对 TAM 的敏感性。

[关键词] 乳腺癌; 雌激素受体- α ; RNA; 他莫昔芬; 敏感性

Relationship between Mir - 221/222 and ER α expression and tamoxifen sensitivity in breast cancer

HOU Lei¹, MA Yuanjing², HUO Xinxin³, SHI Xueli^{4*}

(1. Department of Maternal and Child Health Care, Shijiazhuang Maternal and Child Health Care Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 2. Department of Laboratory Medicine, Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 3. Department of Radiology, Shijiazhuang Maternal and Child Health Care Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 4. Department of Clinical Pharmacy, Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital, Shijiazhuang, China Hebei, 050011)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between Mir-221/222 and clinicopathology of breast cancer, and whether it is involved in the regulation of ER α and affects the sensitivity of tamoxifen (TAM). **Methods** A retrospective analysis was performed on 104 cases of invasive ductal carcinoma of breast and its adjacent tissues surgically resected from January 2019 to December 2021 in Shijiazhuang Maternal and Child Health Care Hospital. The expression levels of Mir-221/222 in the carcinoma tissues and corresponding adjacent tissues were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) with stem ring primers. The

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20210699)

作者单位:1. 河北省石家庄市妇幼保健院孕产保健部,河北,石家庄 050011

2. 河北省石家庄市妇幼保健院检验科,河北,石家庄 050011

3. 河北省石家庄市妇幼保健院放射科,河北,石家庄 050011

4. 石家庄市妇幼保健院临床药学研究室,河北,石家庄 050011

*通信作者:史学丽, E-mail: shixueli1126@126.com

expression of ER α was detected by immunohistochemistry, and the relationship between Mir-221/222 and ER α expression was analyzed. MCF-7 cells were transfected with blank reagent, Mir-221 inhibitor, Mir-222 inhibitor and Mir-221/222 inhibitor. After transfection, all MCF-7 cells were treated with TAM 5 μ g/mL for culture and proliferation inhibition rate and apoptosis rate were detected. **Results** The expression of Mir-221/222 in breast cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ($t=17.541, P<0.05; t=12.911, P<0.05$). The expression level of Mir-221/222 in ER- α negative group and PR negative group was significantly higher than that in the positive group ($t=7.039, P<0.05; t=5.357, P<0.05$). The expression level of Mir-221/222 in HER-2 positive group was significantly higher than that in the negative group ($t=9.827, P<0.05$). The expression of triple negative subtype was significantly higher than that of HER-2 overexpression, Luminal A and Luminal B1 breast cancer ($F=23.127, P<0.05$). The cell proliferation inhibition rate and cell apoptosis rate of Mir-221/222 inhibition group at 24 and 48 h after transfection were significantly higher than those of blank control group, Mir-221 inhibition group and Mir-222 inhibition group ($F=19.736, P<0.05; F=36.091, P<0.05$). **Conclusion** The level of Mir-221/222 is correlated with the expression of ER α in patients with adenocarcinoma, and Mir-221/222 could affect the sensitivity of breast cancer cells to TAM.

[KEY WORDS] Breast cancer; Estrogen receptor - α ; RNA; Tamoxifen; Sensitivity

小分子RNA(microRNA, miRNA)是近年来发现的一类不编码蛋白质的内源性短链RNA^[1]。有研究表明,其可以通过种子序列与靶基因mRNA 3'端非编码区域(3'UTR)的核苷酸互补配对,直接降解沉默靶mRNA,从而在转录后水平调控基因表达^[2]。miR-221/222是内皮细胞高表达的微小RNA,均定位于人X染色体中,两者的转录本和种子序列相同,有高度的同源性^[3]。目前,miR-221/222已被证实与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡和侵袭转移等病理过程密切相关,并可作为肿瘤治疗的生物标记物^[4]。在乳腺癌中,miR-221/222在侵袭性较低的雌激素受体- α (estrogenreceptor- α , ER α)阳性乳腺癌细胞中呈低表达,miR-221可以直接作用于ER α 3'UTR区,与ER α 的表达相关。而ER α 是目前乳腺癌内分泌治疗的金标准,他莫昔芬(Tamoxifen, TAM)则是目前临床中内分泌治疗的一线用药,其也作为ER α 的阻断剂被广泛应用于临床。有研究表明^[5], microRNA可以通过药物特定的方法影响乳腺癌细胞的化疗过程中耐药性,一些内源性的microRNA与TAM的耐药及细胞的生长、凋亡相关;而miR-221/222的靶基因与抑癌基因p27Kip1,凋亡因子c-kit、Bmf相关,其可通过调控抑癌基因及凋亡因子参与肿瘤的发生和发展。本研究拟探究miR-221/222与乳腺癌ER α 表达与他莫昔芬敏感性关系。

1 资料与方法

1.1 病例和标本

分析2019年1月至2021年12月石家庄市妇

幼保健院104例经乳腺癌切除术的患者资料。纳入标准:①患者均为女性;②首次接受乳腺癌切除术治疗的患者;③临床相关资料完成的患者。排除标准:有远处转移的乳腺癌患者。其中患者均为单侧乳腺浸润性癌,平均年龄(49.33 \pm 8.65)岁,按美国癌症联合会《AJCC癌症分期手册》^[6]进行TNM分期,其中I期28例、II期64例、III期12例。癌组织标本取自癌灶中央组织,癌旁组织取自距癌组织边缘 \geq 1cm的组织。

1.2 免疫组织分析

所有组织标本均经甲醛固定、70%无水乙醇梯度脱水、石蜡包埋并切割成4 μ m的切片,对组织免疫组化染色,严格按照SP试剂盒的操作标准完成操作。

阅片时随机选择10个视野观察细胞的表达情况,由两名资深阅片师,采用双盲法独立阅片(已知阳性片)。采用强度和数量积分相乘的方法对组织表达情况进行评价,其中强度评定标准^[7]如下:阴性(-)计0分,浅棕色为弱阳性(+)计1分,棕色为中度阳性(++)计2分,深棕色为强阳性(+++)计3分;其中和+为低表达,++和+++为高表达。量化评定标准^[8]如下:阴性计为0分,<25%计为1分,5%(含)~50%计为2分,50%(含)~75%计为3分, \geq 75%计为4分。

1.3 RNA提取

根据RNA提取试剂盒的操作标准对组织的总RNA进行提取。将组织标本收集至EP管中,加入1 mL Trizol试剂,并使用组织研磨器进行研磨裂解处理;将组织与试剂充分混合后加入200 μ L氯仿,震荡30 s后静置5~10 min。在1 200 rpm(离心半径

为10 cm)离心后,取上清液,在加入500 μL异丙醇沉淀离心,弃上清液,加入75%乙醇充分漂洗震荡后,离心弃上清液;将RNA充分干燥后,加入20 μL DEPC水溶解。采用分光光度计测定RNA浓度。

1.4 细胞增殖抑制率和细胞凋亡率

将ERα阳性人乳腺癌细胞株MCF-7用含10%胎牛血清、青霉素(100 U/mL)及链霉素(100 μg/mL)的DMEM培养基,于37℃、25%体积分数的CO₂培养箱中孵育。取对数生长期的ERα阳性人乳腺癌细胞,将其分为空白对照组、miR-221抑制组、miR-222抑制组、miR-221/222抑制组,分别进行转染;在转染后,给予2MLTAM 5 μg/mL。

在转染后24、48 h时取,采用MTT法对各组吸光度(OD490)值进行测定,将孔板染色,每孔加20 μL MTT(5 mg/mL)工作液,常规培养4 h后,吸去MTT后在每孔中加入150 μL DMSO慢摇混匀,使用酶标仪检测各孔OD值,重复测定3次后取平均值,计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率=(1-处理组A/空白对照组A)×100%。

在转染后24、48 h时取生长状态良好的细胞。接种培养24 h后,弃培养液后加入PBS洗涤两次,0.25%胰酶消化细胞后加完全培养基,离心弃上清,PBS重悬计数,离心后弃去上清;在加入Binding Buffer悬浮细胞,依次加入V-FTTC5 μL、PI 10 μL染色液。在室温下避光孵育5 min以上后,使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.5 统计学方法

本研究采用统计学软件SPSS 24.0对数据进行处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,行t检验;多组间比

较采用单因素方差分析进行检验,进一步两两比较采用LSD-t检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-221/222在乳腺癌组织及癌旁组织中的表达水平比较

miR-221/222在乳腺癌中的表达水平为(4.32±0.88)、(3.46±0.85)明显高于相应癌旁乳腺组织(2.32±0.76)、(2.15±0.59),差异具有统计学意义(P<0.05)。见图1。

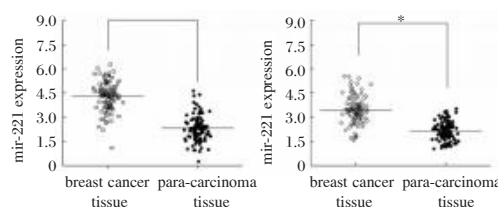


图1 miR-221/222在乳腺癌组织及癌旁组织中的表达水平比较

Figure 1 Comparison of the expression levels of Mir-221/222 in breast cancer tissues and adjacent tissues

2.2 miR-221/222与乳腺癌病理组织表达的相关性

miR-221/222的表达水平在ER-α表达阴性、PR表达阴性组均显著高于阳性表达组,差异有统计学意义(P<0.05)。miR-221/222的表达水平在Her-2表达阳性显著高于阴性组,差异有统计学意义(P<0.05)。在三阴性分子亚型中的表达显著高于Her-2过表达型、luminal A及luminal B1型乳腺癌,差异有统计学意义(P<0.05);miR-221/222的表达水平与患者的年龄、TNM分期无关(P>0.05)。见表1。

表1 乳腺癌组织中miR-221/222表达水平与临床病理指标的相关性($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Expression level of Mir-221/222 in breast cancer tissues and clinicopathological indicators Correlation ($\bar{x} \pm s$)

病理指标	n	miR-221 相对表达水平	F/t值	P值	miR-222 相对表达水平	F/t值	P值	
年龄	≥50	38	4.16±0.65	0.856	0.394	4.45±0.58	1.922	0.057
	<50	66	4.28±0.71			4.20±0.67		
TNM分期	I期	16	4.11±0.76	2.586	0.080	3.52±0.85	1.939	0.149
	II期	58	4.25±1.03			3.84±0.72		
	III期	30	4.69±0.98			4.05±1.12		
ERα表达	阴性	32	4.88±1.05	4.936	<0.001	4.51±1.23	7.039	<0.001
	阳性	72	3.92±0.85			3.13±0.75		
PR表达	阴性	44	4.70±1.06	3.723	<0.001	4.26±0.97	5.357	<0.001
	阳性	60	4.01±0.83			3.34±0.78		
Her-2表达	阴性	58	4.16±1.25	3.414	<0.001	3.31±0.75	9.827	<0.001
	阳性	44	4.96±1.06			4.88±0.86		
分子分型	luminal A	13	3.52±0.81	10.243	<0.001	3.20±0.63	23.127	<0.001
	luminal B	44	3.99±0.76			3.67±0.54		
	Her-2过表达型	30	4.51±0.97			4.35±0.65		
	三阴型	17	4.98±0.72			4.76±0.74		

2.3 各组细胞的增殖抑制率比较

在转染 24、48 h 的各组的细胞增殖抑制率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);进一步两两比较显示,miR-221 抑制组与对照组转染后 24、48 h 细胞增殖抑制率比较,差异均无统计学意义($P < 0.05$);miR-222 抑制组与 miR-221 抑制组转染后 24、48 h 细胞增殖抑制率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);miR-221/222 抑制组转染后 24、48 h 细胞增殖抑制率均明显高于其余三组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组细胞的增殖抑制率比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of proliferation inhibition rates among all groups ($\bar{x} \pm s$)

组别		转染 24 h 后	转染 48 h 后
空白对照组	6	3.62±0.79	22.86±2.33
miR-221 抑制组	6	3.81±0.84	23.06±2.95
miR-222 抑制组	6	3.75±0.80	24.82±3.50
miR-221/222 抑制组	6	6.88±1.03 ^{abc}	45.07±7.13 ^{abc}
F 值		19.736	36.091
P 值		<0.001	<0.001

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 miR-221 抑制组比较,^b $P < 0.05$;与 miR-222 抑制组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.4 各组细胞凋亡率比较

转染后 24、48 h 各组的细胞凋亡率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步两两比较,miR-221 抑制组与对照组转染后 24、48 h 细胞凋亡率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);miR-222 抑制组与 miR-221 抑制组转染后 24、48 h 细胞凋亡率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);miR-221/222 抑制组转染后 24、48 h 细胞凋亡率高于其余三组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of apoptosis rates in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	转染 24 h 后	转染 48 h 后
空白对照组	6	5.84±1.96	46.65±7.62
miR-221 抑制组	6	6.02±2.05	48.36±8.32
miR-222 抑制组	6	6.28±1.88	47.86±8.47
miR-221/222 抑制组	6	8.86±1.67 ^{abc}	74.33±6.90 ^{abc}
F 值		3.36	17.46
P 值		0.039	<0.001

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与 miR-221 抑制组比较,^b $P < 0.05$;与 miR-222 抑制组比较,^c $P < 0.05$ 。

3 讨论

乳腺癌是世界范围内女性发病率最高的一种恶性肿瘤,其发生于乳腺上皮组织,严重威胁着女

性的生命健康安全。乳腺癌作为雌激素依赖性的肿瘤,与雌激素水平密切相关,ER α 及 PR 均为特殊功能蛋白,对乳腺癌的生长发展有一定的调节作用^[9],测定 ER α 和 PR 的表达情况对于乳腺癌的进展、治疗等具有一定的意义。近年研究表明,miRNA 可以通过调控肿瘤细胞发生、转移和侵袭等相关基因的表达,从而影响肿瘤生长、转移的过程;且 miRNA 在正常乳腺组织和乳腺癌组织中的表达存在一定差异,因此提示 miRNA 与乳腺癌的发生发展有着密切的关联^[10]。

本研究结果表明,miR-221/222 在乳腺癌组织中的表达水平明显高于相应癌旁乳腺组织。miRNA 可以下调凋亡程序性细胞死亡因子 4 和 Fas 配体表达,抑制凋亡通路诱导的细胞死亡,从而导致乳腺癌细胞过度增殖,致使肿瘤发生;同时还可以通过调控细胞微环境来影响肿瘤细胞转移,同时,其能上调血管内皮生长因子 A(VEGF-A) 表达^[11],从而促进肿瘤组织内血管生成,加快肿瘤细胞生长和发展。外源性高表达的 miR-221/222 可使影响细胞增殖分化的 FOXO3 蛋白和使可以抑制 G1/S 转换的 P27 的表达下降,从而使 MCF-7 细胞 G1/S 期转变及细胞增殖。miRNA 表达作为乳腺癌发生的重要因素,miRNA 的表达异常与乳腺癌的病理学特征也有一定的关系。在本研究中 miR-221/222 的表达水平在 ER α 表达阴性、PR 表达阴性组均显著高于阳性表达组,miR-221/222 的表达水平在 Her-2 表达阳性显著高于阴性组;在三阴性分子的表达显著高于 Her-2 过表达型、luminal A 及 luminal B1 型乳腺癌。ER 包含 ER α 和 ER β 两个亚型,乳腺癌细胞 ER α 和 ER β 的表达水平均会对癌细胞的增殖能力产生一定的影响,ER β 可抑制乳腺癌细胞增殖,ER α 则可促进乳腺癌细胞的增殖^[12]。miR-221/222 的表达水平在 ER α 表达阴性组明显高于阳性组,也提示 miR-221/222 参与 ER α 表达,对 ER- α 表达有着负调节作用,影响着调节乳腺癌的发生和发展。且 miR-221/222 可通过下调细胞因子信号转导抑制因子 1 和周期蛋白依赖性激酶抑制因子 1B,从而加快癌细胞进入 S 期,并通过靶向磷酸酶和张力蛋白同源物/蛋白激酶 B 通路使乳腺癌干细胞进行自我更新,影响乳腺癌细胞的生长和侵袭能力,因此 miR-221/222 在三阴性乳腺癌中表达较高。

乳腺癌作为雌激素依赖性肿瘤,乳腺癌的发生与 ER α 密切相关^[13],且乳腺癌中 miR-221/222

过表达可降低 ER- α 的表达,且下调 miR-221/222 可以部分恢复 ER- α 的表达和他莫昔芬的敏感性。本研究中,miR-221/222 抑制组转染后 24、48 h 细胞增殖抑制率、细胞凋亡率均明显高于空白对照组、miR-221 抑制组、miR-222 抑制组;共抑制 miR-221/222 可明显降低细胞的增殖率和凋亡率,与方煜彤等研究结果一致^[14]。也提示,抑制 miR-221/222 可增加 ER- α 阳性细胞对 TAM 的敏感性,抑制 miR-221/222 的表达可能会是影响临床对于内分泌耐药治疗靶点。

综上所述,miR-221/222 水平与腺癌患者的 ER α 表达相关,其可通过调节 ER α 的表达水平影响乳腺癌的生长、迁移和侵袭,同时可影响乳腺癌细胞对 TAM 的敏感性,miR-221/222 有望成为乳腺癌预后判断的潜在标志物及治疗靶点,但还需要大量样本及数据进行进一步研究和证实。

参考文献

[1] 余袁媛,曾新桃. miRNA-10a、GATA6 在肝细胞癌组织中的表达及意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(9): 1503-1506.

[2] Wu X, Somlo G, Yu Y, et al. De novo sequencing of circulating miRNAs identifies novel markers predicting clinical outcome of locally advanced breast cancer[J]. J Transl Med, 2012, 10: 42.

[3] Liang YK, Lin HY, Dou XW, et al. MiR-221/222 promote epithelial-mesenchymal transition by targeting Notch3 in breast cancer cell lines [J]. NPJ Breast Cancer, 2018, 4(1):1-9.

[4] SONG J L, OUYANG Y M, CHE J Y, et al. Potential value of miR-221/222 as diagnostic, prognostic, and therapeutic biomarkers for diseases[J]. Front Immunol, 2017, 8: 56.

[5] 王鹏,李凯敏,冯瑞刚. 微小RNA-122 在人乳腺癌组织中的表达及对体外培养人乳腺癌细胞他莫昔芬耐药的影响[J]. 中国医药, 2020, 15(1):62-66.

[6] Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN. Eighth edition of the AJCC cancer staging manual: breast cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25(7): 1783-1785.

[7] Banet N, Gown AM, Shih IeM, et al. GATA-3 expression in trophoblastic tissues: an immunohistochemical study of 445 cases, including diagnostic utility[J]. Am J Surg Pathol, 2015, 39(1):101-108.

[8] Hisamatsu Y, Tokunaga E, Yamashita N, et al. Impact of GATA-3 and FOXA1 expression in patients with hormone receptor-positive/HER2-negative breast cancer[J]. Breast Cancer, 2015, 22(5):520-528.

[9] 程晓宇,王阳,韩雪. 乳腺癌临床诊断中雌激素和孕激素受体表达的意义[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2016, 23(12): 1434-1436.

[10] HU W, TAN C, HE Y, et al. Functional miRNAs in breast cancer drug resistance [J]. Onco Targets Ther, 2018(11): 1529-1541.

[11] Choi SK, Kim HS, Jin T, et al. Overexpression of the miR-141/200c cluster promotes the migratory and invasive ability of triple-negative breast cancer cells through the activation of the FAK and PI3K/AKT signaling pathways by secreting VEGF-A[J]. BMC Cancer, 2016, 16:570.

[12] 毛立群,黄素辉,牛秀珑,等. ER α / β 表达对人乳腺癌细胞增殖能力及他莫昔芬敏感性的影响[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2016, 25(12):949-953+958.

[13] 侯芃芬,丁芳,江时建,等. ER α 及 PR 在乳腺癌患者中的表达及与疾病预后关系探讨[J]. 中国现代医生, 2017, 55(7):5-7+169.

[14] 方煜彤,张群琛,洪超群,等. 乳腺癌中 miR-221、miR-222 表达水平对 GATA3 和 FOXA1 蛋白的影响及其作用机制[J]. 癌变·畸变·突变, 2021, 33(6):435-441+460.

(上接第 1666 页)

[8] Korbecki J, Grochans S, Gutowska I, et al. CC Chemokines in a Tumor: A Review of Pro-Cancer and Anti-Cancer Properties of Receptors CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, and CCR10 Ligands[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(20):7619-7638.

[9] 魏华,张彩凤,王佳丽. 人附睾蛋白 4 和趋化因子配体 9 在狼疮性肾炎诊断及预后的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4):473-477.

[10] 王欣宇,孙琳,刘湘源,等. 趋化因子受体 CXCR1/2 及其配体在骨代谢中的作用[J]. 中华风湿病学杂志, 2021, 25(1):61-64.

[11] Wang YH, Shen CY, Lin SC, et al. Monocytes secrete CXCL7 to promote breast cancer progression[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(12):1090-1105.

[12] Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities [J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(9):1745-1770.

[13] 陆军,赵敬坤,陆爱国,等. 沉默 CCL19 对结直肠癌增殖、迁移、侵袭和促血管形成的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2014, 246(5):578-583.

[14] Du Q, Li E, Liu Y, et al. CTAPIII/CXCL7: a novel biomarker for early diagnosis of lung cancer [J]. Cancer Med, 2018, 7(2):325-335.

[15] He L, Wang X, Kang N, et al. MiR-375 inhibits the hepatocyte growth factor-elicited migration of mesenchymal stem cells by downregulating Akt signaling [J]. Cell Tissue Res, 2018, 372(1):99-114.

肠道病毒EV71型和CA16型IgM抗体检测试剂盒的分析性能

何水珍* 严荔贞 施少鑫 钟秋蓉

[摘要] 目的 评价基于磁微粒化学发光法的肠道病毒71型(EV71)和柯萨奇病毒A16型(CA16)IgM抗体检测试剂盒的精密度、稳定性及方法学比对,并初步评价其临床应用价值。**方法** 参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)相关文件和标准,对柯萨奇病毒A16型IgM抗体检测试剂盒(磁微粒化学发光法)(CA16 IgM CMIA)和肠道病毒71型IgM抗体检测试剂盒(磁微粒化学发光法)(EV71 IgM CMIA)进行分析性能评价。采用受试者工作特征曲线评估CA16 IgM CMIA及EV71 IgM CMIA与已上市酶联免疫法检测试剂的符合率。**结果** CA16 IgM CMIA批内精密度CV为1.10%和1.63%,中间精密度CV为5.70%~7.20%,EV71 IgM CMIA批内精密度CV为2.80%和1.59%,中间精密度CV为2.91%~4.49%,试剂机载稳定性良好。临床病症与手足口病相似或病原结构与肠道病毒相近的其他病原体的高浓度抗体特异性血清对CA16 IgM CMIA和EV71 IgM CMIA的检测结果无影响,不存在交叉反应。CA16 IgM CMIA和EV71 IgM CMIA与已上市酶联免疫法检测试剂的总符合率分别为96.4%和98.9%。**结论** 基于磁微粒化学发光法的肠道病毒71型IgM抗体检测试剂盒和柯萨奇病毒A16型IgM抗体检测试剂盒具有良好的精密度和机载稳定性,与已上市酶免试剂对比性能良好,适用于临床大规模样本的检测。

[关键词] EV71 IgM; CA16 IgM; 化学发光法; 分析性能

Analytical performance of enterovirus EV71 and CA16 IgM antibody detection kits

HE Shuizhen*, YAN Lizhen, SHI Shaoxin, ZHONG Qiurong

(Department of Laboratory Medicine, Xiamen Haicang Hospital, Xiamen, Fujian, China, 361000)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the precision, stability and methodological comparison of enterovirus 71 (EV71) and coxsackievirus A16 (CA16) IgM antibody detection kits based on magnetic particle chemiluminescence, and to evaluate their clinical application value. **Methods** The analytical performance of IgM antibody detection kit for detecting both coxsackievirus A16 and enterovirus 71 through magnetic particle chemiluminescence immunoassay, for short CA16 IgM CMIA and EV71 IgM CMIA, was evaluated according to the relevant documents and standards of the American Society for Clinical Laboratory Standardization Institute (CLSI). The coincidence rates of CA16 IgM CMIA and EV71 IgM CMIA with ELISA kits were evaluated by receiver operating characteristic curve. **Results** The intra-assay precision CV of CA16 IgM CMIA were 1.10% and 1.63%, and its intermediate precision CV ranged from 5.70% to 7.20%. In addition, for EV71 IgM CMIA, the intra-assay precision CV were 2.80% and 1.59%, and its intermediate precision CV ranged from 2.91% to 4.49%. The kits show excellent stability on-board. High-concentration antibody-specific sera from other pathogens with clinical symptoms similar to hand-foot-and-mouth disease or pathogen structure similar to enterovirus had no effect on the detection results of CA16 IgM CMIA and EV71 IgM CMIA, and there was no cross reaction. The total coincidence rates of CA16 IgM CMIA and EV71 IgM CMIA with the marketed ELISA kits were 96.4% and 98.9%, respectively. **Conclusion** The enterovirus 71

基金项目:厦门市医疗卫生科技计划项目(3052Z20194091)

作者单位:厦门市海沧医院检验科,福建,厦门 361000

*通信作者:何水珍, E-mail:szhe@xmu.edu.cn

IgM antibody detection kit and the coxsackie virus A16 IgM antibody detection kit based on magnetic particle chemiluminescence have good precision and airborne stability, and have good performance compared with the marketed ELISA reagents. It is suitable for the detection of large-scale clinical samples.

[KEY WORDS] EV71 IgM; CA16 IgM; Chemiluminescence; Analytical performance

手足口病 (Hand, foot and mouth disease, HFMD) 是一种由病毒引起的传染性疾病, 5 岁以下儿童为常见患者^[1]。肠道病毒 71 型 (Enterovirus 71, EV71) 和柯萨奇病毒 A16 型 (Coxsackievirus A16, CA16) 是手足口病最常见的致病病原体, 其中 EV71 是重症和致命病例中最常见的致病病原体^[2]。从 20 世纪 90 年代开始, EV71 在亚洲地区及太平洋沿岸地区已经导致了数千人死亡^[3], 2008-2017 年, 全国手足口病总报告发病率为 134.59/10 万^[4]。手足口病不仅对婴幼儿的健康造成了极大的伤害, 而且造成的疾病负担尤为严重^[5], 已纳入我国法定传染病丙类管理^[6]。IgM 特异性抗体是感染初次体液免疫应答中最早出现的抗体, 可作为感染的早期诊断指标。根据中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会《手足口病诊疗指南 (2018 年版)》诊断建议: 在临床诊断病例基础上, 急性期血清相关病毒 IgM 抗体阳性可定为确诊病例^[1]。早期开展 CA16 IgM 和 EV71 IgM 抗体的联合检测, 可以为手足口病的诊断及监控治疗, 提供切实支撑^[7], 因此, EV71 IgM 和 CA16 IgM 的检测具有重要的临床应用价值。本研究对基于化学发光法检测肠道病毒 71 型 IgM 抗体的试剂盒和检测柯萨奇病毒 A16 型 IgM 抗体的试剂盒进行分析性能评价, 并探讨其临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂与仪器

全自动化学发光免疫分析仪 Caris200 (厦门优迈科医学仪器有限公司); DEM-3 型洗板机 (北京拓普分析仪器有限公司); 电热恒温标准水箱 ZD-600 (杭州蓝天仪器有限公司); 酶标仪 Sunrise (Tecan Austria GmbH); 厦门万泰凯瑞生物技术股份有限公司研制的肠道病毒 71 型 IgM 抗体检测试剂盒 (磁微粒化学发光法) (EV71 IgM CMIA) 和柯萨奇病毒 A16 型 IgM 抗体检测试剂盒 (磁微粒化学发光法) (CA16 IgM CMIA); 北京万泰生物药业股份

有限公司生产的肠道病毒 71 型 IgM 抗体检测试剂盒 (酶联免疫吸附法) 和柯萨奇病毒 A16 型 IgM 抗体检测试剂盒 (酶联免疫吸附法)。

1.2 方法

1.2.1 分析性能评价

1.2.1.1 精密度评价 参照美国临床实验室标准化协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 相关文件^[8], 连续测定重复性参考品 CV1 和 CV2 各 10 次, 计算变异系数 (coefficient of variation, CV), 以此作为批内精密度。将两批试剂每天在不同仪器上重复检测一份强阳样本 (P1)、中阳样本 (P2)、弱阳样本 (P3) 及一份阴性样本 (N1) 两次, 连续检测 20 d, 综合日间、台间、批间等影响变量, 计算 CV, 以此作为中间精密度。

1.2.1.2 机载稳定性评价 将试剂放置于仪器上, 分别在开瓶的第 1 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天检测 3 例阳性样本, 通过比对与第 0 天发光强度比值, 评估试剂的机载稳定性。

1.2.1.3 交叉反应试验 收集临床病症与手足口病相似或者病原结构与肠道病毒相近的其他病原体, 如: 弓形虫 IgM (Tox IgM)、甲流 IgM (FluA IgM)、乙流 IgM (FluB IgM)、人类副流感病毒 IgM (HPIVs IgM)、风疹病毒 IgM (RV IgM)、嗜肺军团菌 IgM (LP IgM)、巨细胞病毒 IgM (CMV IgM)、单纯疱疹病毒 I 型 IgM (HSV-I IgM)、单纯疱疹病毒 II 型 IgM (HSV-II IgM)、合胞病毒 IgM (RSV IgM)、肺炎支原体 IgM (MP IgM)、肺炎衣原体 IgM (CP IgM)、EB 病毒 IgM (EBv IgM) 的高浓度特异性抗体血清样本, 使用 CA16 IgM CMIA 和 EV71 IgM CMIA 进行检测。

1.2.1.4 方法学比对 选择经柯萨奇病毒 A16 型 IgM 抗体检测试剂盒 (酶联免疫吸附法) 检测为 CA16 IgM 阳性的样本 153 例, 以及 438 例 CA16 IgM 为阴性的健康体检人群样本, 用 CA16 IgM CMIA 进行检测, 获得相应样本检测的相对发光值 (Relative luminous value, RLU)。对阳性样本和阴性样本检测 RLU 值进行 ROC 曲线分析, 并计算与已上市酶免试剂的符合率。

选择经肠道病毒 71 型 IgM 抗体检测试剂盒 (酶联免疫法) 检测为 EV71 IgM 阳性的样本 154 例以及 500 例 EV71 IgM 为阴性的健康体检人群样本, 用 EV71 IgM CMIA 进行检测, 获得相应样本检测的 RLU。对阳性样本和阴性样本检测 RLU 值进行 ROC 曲线分析, 并计算与已上市酶免试剂的符合率。

1.2.2 统计学方法

采用 WPS Office Excel 及 Prism8 软件进行统计分析; 计数资料以 *n* 或 % 表示; 对样本检测 RLU 用 Prism8 进行 ROC 曲线绘制。

2 结果

2.1 试剂精密度

CA16 IgM CMIA 测定重复性参考品的批内精密度 CV 分别为 1.10% 和 1.63%, 检测强、中、弱阳性样本和阴性样本的中间精密度 CV 为 5.70%~7.20%; EV71 IgM CMIA 测定重复性参考品的批内精密度 CV 分别为 2.80% 和 1.59%, 检测强、中、弱阳性样本和阴性样本的中间精密度 CV 为 2.91%~4.49%。见表 1、表 2。

表 1 批内精密度实验结果 (*n*=10)

Table 1 Test results of intra-assay precision (*n*=10)

项目	样本	均值(COI)	标准差	CV (%)
CA16 IgM	CV1	0.17	0.00	1.10
	CV2	1.57	0.03	1.63
EV71 IgM	CV1	0.03	0.00	2.80
	CV2	1.98	0.03	1.59

表 2 中间精密度实验结果 (*n*=40)

Table 2 Test results of intermediate precision (*n*=40)

项目	样本	均值(COI)	标准差	CV (%)
CA16 IgM	N1	0.16	0.01	6.13
	P1	1.21	0.07	5.70
	P2	3.80	0.27	7.20
	P3	6.89	0.45	6.57
EV71 IgM	N1	0.04	0.00	4.03
	P1	1.17	0.05	4.49
	P2	3.04	0.09	2.91
	P3	4.48	0.15	3.35

2.2 试剂机载稳定性

试剂机载稳定性研究结果显示, CA16 IgM CMIA 和 EV71 IgM CMIA 的偏差均小于 ±10%。见表 3。

2.3 交叉反应试验

Tox IgM、FluA IgM、FluB IgM、HPIVs IgM、

表 3 CA16 IgM CMIA 和 EV71 IgM CMIA 机载稳定性评价 (偏差)

Table 3 On-board stability evaluation of CA16 IgM CMIA and EV71 IgM CMIA (deviation)

项目	样本	day1 (%)	day7 (%)	day14 (%)	day21 (%)	day28 (%)
CA16 IgM CMIA	P1	-7.6	-4.8	-1.3	-4.2	-5.1
	P2	0.5	-3.8	-4.8	-0.4	7.3
	P3	-3.2	-3.3	-3.3	0.0	-1.3
EV71 IgM CMIA	P1	3.3	-4.1	-3.4	-2.5	-9.4
	P2	5.4	-4.8	-5.3	-2.2	-6.7
	P3	4.1	-3.5	-4.8	-3.7	-7.3

RV IgM、LP IgM、CMV IgM、HSV-I IgM、HSV-II IgM、RSV IgM、MP IgM、CP IgM、EBv IgM 的高浓度特异性抗体血清样本不会影响 CA16 IgM CMIA 和 EV71 IgM CMIA 的检测结果, 不存在交叉反应。见表 4。

表 4 高浓度的其它病原体抗体血清交叉反应结果

Table 4 Results of cross reaction with high concentration antibody serum of other pathogens

样本类型	样本数量	CA16 IgM CMIA 特异性 (%)	EV71 IgM CMIA 特异性 (%)
Tox IgM	5	100	100
HSV-I IgM	5	100	100
HSV-II IgM	5	100	100
FluA IgM	5	100	100
FluB IgM	5	100	100
RV IgM	4	100	100
LP IgM	5	100	100
CMV IgM	4	100	100
RSV IgM	4	100	100
MP IgM	5	100	100
CP IgM	5	100	100
EBv IgM	5	100	100
HPIVs IgM	4	100	100

2.4 方法学比对

以柯萨奇病毒 A16 IgM 型检测试剂盒 (酶联免疫吸附法) 判定结果, 用 CA16 IgM CMIA 对阳性样本和阴性样本检测 RLU 值进行 ROC 曲线分析, 结果显示, 阳性符合率为 96.1%, 阴性符合率为 96.6%。见表 5。ROC 曲线下面积为 0.9908, 以 RLU 为 243907 作为 Cut-off 值, 特异性为 96.60%, 灵敏度为 96.08%。见图 1a。

以肠道病毒 71 型 IgM 抗体检测试剂盒 (酶联免疫吸附法) 判定结果, 用 EV71 IgM CMIA 对阳性样本和阴性样本检测 RLU 值进行 ROC 曲线分析, 结果显示, 阳性符合率为 100%, 阴性符合率为

98.5%。见表6。ROC曲线下面积为0.9993,以RLU为79533作为Cut-off值,特异性为100.00%,灵敏度为98.53%。见图1。

表5 CA16 IgM CMIA 阴阳符合率

Table 5 Positive and negative coincidence rate of CA16 IgM CMIA

化学发光	酶联免疫		合计	符合率(%)
	阳性	阴性		
阳性	147	15	162	96.1
阴性	6	423	429	96.6
合计	153	438	591	96.4

表6 EV71 IgM CMIA 阴阳符合率

Table 6 Positive and negative coincidence rate of EV71 IgM CMIA

化学发光	酶联免疫		合计	符合率(%)
	阳性	阴性		
阳性	154	7	161	100.0
阴性	0	470	470	98.5
合计	154	477	631	98.9

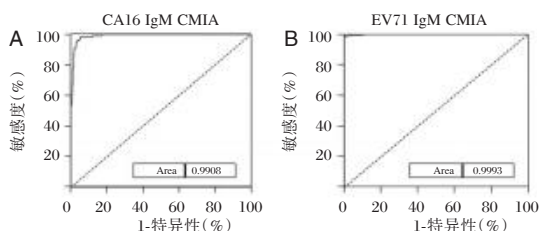


图1 CA16 IgM CMIA 和 EV71 IgM CMIA ROC 曲线
Figure 1 Receiver operating characteristic curve of CA16 IgM CMIA and EV71 IgM CMIA

3 讨论

肠道病毒的早期诊断对后期疾病的防治工作意义重大。尽早明确患者感染类型对于手足口病的诊断分型进而采取最佳预防措施至关重要,其可有效地控制手足口病的传播及暴发^[9]。目前,主要的诊断方式有RNA检测^[10]及IgM抗体检测^[9]。相较于价格昂贵,操作复杂的RNA检测,IgM抗体检测价格低廉,操作简单,具有广泛的应用价值。目前,肠道病毒EV71 IgM抗体和CA16 IgM抗体的检测方法主要有酶联免疫法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),胶体金免疫层析法(Gold immunochromatographic assay, GICA)和化学发光法(Chemiluminescence immunoassay, CLIA)^[7, 11-13]。其中,化学发光法检测操作简单,检测效率高,特异性强、灵敏度好,有助于提高临床

检测效率。除此之外,由于手足口病的与大多流感、肺炎以及其他病毒引起的脑膜炎(如单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、EB病毒等)病症接近,从而导致误诊的情况,因此,高特异性无交叉反应的检测试剂尤为重要,它可有效避免误诊导致的治疗延后,提高诊治效益。

通过EV71 IgM和CA16 IgM的联合检测有助于手足口病致病原的明确,对于手足口病患儿的及时、合理治疗、预后改善有重要的指导意义。本研究基于磁微粒化学发光法的柯萨奇病毒A16型IgM抗体检测试剂盒和肠道病毒71型IgM抗体检测试剂盒具有良好性能,适应于临床诊断应用,将为手足口病的诊断及监控治疗提供切实支撑。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 手足口病诊疗指南(2018年版)[J]. 传染病信息, 2018, 25(6):8-13.
- [2] 杨洪义,刘广付,陈涛. 肠道病毒71型手足口病病例血清中IL-10、IFN- γ 、NSE、S100表达水平与病程进展的研究[J]. 热带医学杂志, 2021, 21(2):209-213.
- [3] Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. [J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(11):778-790.
- [4] 张静. 2008-2017年中国手足口病流行趋势和病原变化动态数列分析[J]. Chin J Epidemiol, 2019, 40(2):147-154.
- [5] Chang LY, Huang LM, Gau SF, et al. Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection [J]. N Engl J Med, 2007, 356(12):1226-1234.
- [6] 张欣, 闰惠平, 黄春, 等. 70例手足口病病原检测和临床分析[J]. 中华预防医学杂志, 2009, 43(10):872-875.
- [7] 江秀兰. 肠道病毒71型与柯萨奇病毒A16型抗体筛查在 手足口病中的作用与关系研究[J]. 饮食保健, 2020, 7(1):55.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures [S]. EP5-A3, CLSI, 2014.
- [9] 马占忠, 黄文波, 何凤屏, 等. 韶关市1190例手足口病病原体检测结果分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2013, 5(1):30-31.
- [10] 欧晓燕, 许彬. 手足口病实验室检测方法的研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(6):428-432.
- [11] 许光芬, 田伟, 罗恩丹. EV71-IgM与CA16-IgM对手足口病患儿病毒感染的诊断价值[J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 31(10):1167-1167+1170.
- [12] 蔡锡欣. EV71-IgM和CA16-IgM联合检测在 手足口病中的应用[J]. 医学食疗与健康, 2020, 18(2):181-182.
- [13] 陈堃, 宋晓国, 张向颖, 等. 基于化学发光肠道病毒71型IgM抗体检测试剂的研制及初步应用[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(24):2945-2946+2948.

骨髓炎患儿血清组织蛋白酶G、乳铁蛋白表达与疾病严重程度的相关性

李佳鑫¹ 王树人^{2*} 单志涛³ 王特哈斯⁴

[摘要] 目的 研究骨髓炎患儿血清组织蛋白酶G(ctsg)、乳铁蛋白(lf)表达与疾病严重程度的相关性。方法 选取2020年11月至2021年11月在黑龙江中医药大学附属第一医院就诊的骨髓炎患儿60例,分为骨髓炎组,预后良好20例,预后不良40例。选取同时期在本院健康体检患儿50名为正常组。采用酶联免疫吸附试验检测ctsg、lf水平。采用急性生理学与慢性健康状况评分系统Ⅱ(APACHEⅡ)评估患儿病情严重程度,采用小儿危重症评分(PCIS)、儿童死亡危险评分(PRISM)评估患儿预后。结果 与正常组相比,骨髓炎组ctsg表达水平升高,lf表达水平下降,差异有统计学意义($t=55.140、8.367, P<0.05$)。与0~15分相比,>15分ctsg表达水平升高,lf表达水平下降,差异有统计学意义($t=24.360、16.370, P<0.05$)。与不良预后相比,预后优良患儿ctsg表达水平降低,lf表达水平升高,差异有统计学意义($t=26.260、P<0.05$)。ctsg与APACHEⅡ分呈正相关($r=0.814, P=0.001$),lf与APACHEⅡ分呈负相关($r=-0.786, P=0.001$)。结论 ctsg、lf在骨髓炎患儿血清中表达异常,其表达高低与病情严重程度以及患者预后具有一定相关性,由此表明,ctsg、lf参与骨髓炎的发展,对之后儿童骨髓炎临床诊断中具有重要意义。

[关键词] 骨髓炎;组织蛋白酶G;乳铁蛋白;疾病严重程度

Correlation between serum cathepsin G, lactoferrin expression and disease severity in children with osteomyelitis

LI Jiabin¹, WANG Shuren^{2*}, SHAN Zhitao³, WANG Tehasi⁴

(1. Graduate School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, the Second Department of Osteology, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Heilongjiang, Harbin, China, 150000; 2. Department of Osteology, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Heilongjiang, Harbin, China, 150000; 3. The First Department of Bone Injury, Harbin Bone Injury Hospital, Heilongjiang, Harbin, China, 150000; 4. Graduate School of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, Harbin, China, 150000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the correlation between the expression of serum cathepsin G (ctsg) and lactoferrin (LF) and the severity of osteomyelitis. **Methods** A total of 60 children with osteomyelitis treated in the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine from November 2020 to November 2021 were selected and divided into the osteomyelitis group, 20 patients with good prognosis and 40 patients with poor prognosis. A total of 50 children in the hospital for health examination during the same period were selected as the normal control group. The levels of ctsg and LF were determined by an enzyme-linked immunosorbent assay. The acute physiology and chronic health status scoring system (APACHE II) was used, and the pediatric critical care score (PCIS) and the child death risk score

基金项目:黑龙江省自然科学基金(JJ2020LH0766)

作者单位:1. 黑龙江中医药大学研究生院,黑龙江中医药大学附属第一医院骨二科,黑龙江,哈尔滨 150000

2. 黑龙江中医药大学附属第一医院骨二科,黑龙江,哈尔滨 150000

3. 哈尔滨市骨伤医院骨伤一科,黑龙江,哈尔滨 150000

4. 黑龙江中医药大学研究生院,黑龙江,哈尔滨 150000

*通信作者:王树人, E-mail: srtreeman@163.com

(PRISM) were used. **Results** In the osteomyelitis group, the ctsg expression level was increased, and the LF expression level was decreased, as compared with the control group ($t=55.140, 8.367, P<0.05$). Compared with 0~15 points, the expression level of ctsg increased and the expression level of LF decreased in points > 15, the difference was statistically significant ($t=24.360, 16.370, P<0.05$). Compared with poor prognosis, the children with good prognosis showed lower ctsg expression level and increased LF expression level, which was statistically significant ($t=26.260, P<0.05$). ctsg was positively correlated with APACHE II score ($r=0.814, P=0.001$), and LF was negatively correlated with APACHE II score ($r=-0.786, P=0.001$). **Conclusion** The expression of ctsg and LF is abnormal in the serum of children with osteomyelitis, and is correlated with the severity of the disease and the patient prognosis. This shows that ctsg and LF are involved in the development of osteomyelitis, which is of great significance to the clinical diagnosis of osteomyelitis in children.

[KEY WORDS] Osteomyelitis; Cathepsin G; Lactoferrin; Disease severity

骨髓炎是临床中常见的一种感染性骨科疾病,其发病原因与化脓性细菌侵袭机体血液循环,影响骨髓内结缔组织,是一种感染性骨科炎症,一部分患者是因为细菌对邻近软组织进行侵染发展形成,也有一部分是因为开放性骨折导致的感染^[1-2]。学龄儿童发生骨髓炎的概率较大,一旦治疗不及时,会对机体骨结构产生破坏,对儿童的生长发育产生严重的影响,其生理、病理性变化常常伴随不可逆性,最终导致残疾^[3]。乳铁蛋白(lactoferrin, lf)主要是通过上皮细胞分泌产生,属于一种铁结合糖蛋白,起作用主要体现在抗病毒和抗氧化,同时发挥抑菌作用,通过免疫调节参与多种生理、病理过程^[4]。已经有研究证实,lf对成骨细胞增殖具有一定的促进作用^[5],但是关于在骨髓炎中的相关研究较少。组织蛋白酶G(Cathepsin G, ctsg)是组织蛋白酶家族中的重要成员,主要存在于中性粒细胞、肥大细胞、单核细胞中,参与病原体清除过程,在细胞因子水解以及细胞表面受体激活、脱落中具有参与作用^[6]。目前临床中主要采用抗生素、手术对骨髓炎患儿进行治疗,但是患儿的预后状况较差。本文旨在研究骨髓炎患儿血清ctsg、lf表达与疾病严重程度的相关性,为儿童骨髓炎临床诊断提供实验依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2020年11月至2021年11月在黑龙江中医药大学附属第一医院就诊的骨髓炎患儿60例,分为骨髓炎组,男35例,女25例,平均年龄(6.18±4.90)岁,平均病程(5.23±4.00)d,根据患病部位分为骨干骨髓炎30例,干骺端骨髓炎30例,其中包括预后良好20例,预后不良40例。选取同时期在本院健康体检患儿50名,分为正常组,男25例,女25

例,平均年龄(7.13±4.85)岁。两组性别比例、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:所有患儿均符合《中华小儿外科杂志》^[7]中关于骨髓炎的诊断标准:局部压痛,肢体活动受限、屈曲状,患儿伴有发热、烦躁不安、哭闹等,感染败血症;所有患儿均经过CT、MRI检查、血清生化确诊;本研究患儿家属均知情,签署知情同意书,经过医院伦理委员会审批。排除标准:结核性骨髓炎患儿;白血病患儿;精神异常患儿;化脓性关节炎患儿;骨肉瘤、骨样瘤患儿;退变性关节病等合并其他骨科疾病患儿;蜂窝组织炎、凝血功能异常患儿。

1.2 方法

1.2.1 检测ctsg、lf水平

抽取两组研究对象入院当天空腹静脉血5 mL,转速3 000 rpm离心10 min后离心半径10 cm,提取上层血清。采用酶联免疫吸附试验检测:将提前稀释好的血液标本100 μL加入相应的微孔板反应空中,第1孔只加样品稀释液为零孔,混合均匀,37℃孵育90 min,甩去孔内液体,吸干水分;每孔加入准备好的抗体0.1 mL,在37℃孵育60 min,底物四甲基联苯胺(TMS)空白孔不加;甩去孔内液体,每孔中加入90 μL PBS,浸泡1~2 min,甩去孔内液体,吸干水分;每孔中加入90 μL TMS,避光放置15~20 min;每孔中加入90 μL TMS终止液,即蓝色变为黄色。分光光度计测量450 nm处OD值,分析ctsg、lf水平。酶联免疫吸附试验试剂盒由深圳市科润达生物工程有限公司提供。

1.2.2 急性生理学与慢性健康状况评分系统II(Acute physiology and chronic health status scoring system II, APACHE II)分评估^[8]

APACHE II评分系统主要包括年龄、急性生理学(APS)、慢性健康状况评分组成,其中APS包括12

项生理参数,总分为三者之和,最高分为71分,>15分表示患者为重症,15分以下表示患者为非重症。

1.2.3 预后评估

采用危重评分(Pediatric Critical Illness Score, PCIS, PCIS)^[9]、儿童死亡危险评分(Pediatric Risk of Mortality, PRISM)^[10]评估骨髓炎患儿预后,PCIS评分主要包括8项内容,总分为80分,患儿得分越低说明病情越严重。PRISM评分总分为100分,患儿得分越低说明病情越危重。PCIS评分为80~70分,PRISM评分为100-90分表示患儿优良预后;PCIS评分为<70分,PRISM评分为<90分表示患儿不良预后。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行数据处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验,相关性采用Pearson相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨髓炎患儿与正常儿童ctsg、lf表达水平比较

与正常组相比,骨髓炎组ctsg表达水平升高,lf表达水平下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 骨髓炎患儿与正常儿童ctsg、lf表达水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of CTSG and LF expression levels between osteomyelitis children and normal children ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ctsg (ng/mL)	lf (mg/mL)
正常组	50	32.25±12.36	7.90±2.18
骨髓炎组	60	260.26±26.96	5.25±1.03
t值		55.140	8.367
P值		0.001	0.001

2.2 不同APACHE II分值患儿ctsg、lf表达水平比较

与0-15分组相比,大于15分组ctsg表达水平升高,lf表达水平下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 不同APACHE II分值ctsg、lf表达水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of expression levels of CTSG and LF in different APACHE II scores ($\bar{x} \pm s$)

APACHE II	n	ctsg (ng/mL)	lf (mg/mL)
0~15分	22	188.90±10.11	7.60±1.10
>15分	38	301.57±20.23	3.89±0.66
t值		24.360	16.370
P值		0.001	0.001

2.3 不同预后患儿ctsg、lf表达水平比较

与不良预后相比,预后优良患儿ctsg表达水平降低,lf表达水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同预后患儿ctsg、lf表达水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of CTSG and LF expression levels in children with different prognoses ($\bar{x} \pm s$)

APACHE II	n	ctsg (ng/mL)	lf (mg/mL)
不良预后	40	321.71±30.37	4.02±0.89
优良预后	20	137.36±10.63	7.71±1.26
t值		26.260	13.130
P值		0.001	0.001

2.4 骨髓炎患儿ctsg、lf水平与APACHE II分相关性比较

ctsg与APACHE II分呈正相关($r=0.814, P=0.001$);lf与APACHE II分呈负相关($r=-0.786, P=0.001$)。见图1。

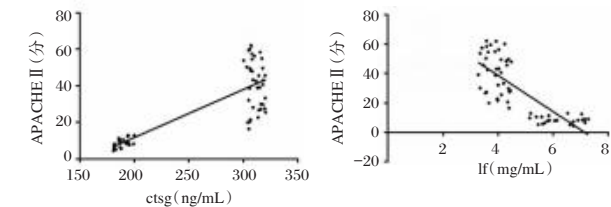


图1 ctsg、lf水平与APACHE II分相关性比较
Figure 1 Comparison of correlation between CTSG, LF levels and APACHE II

3 讨论

骨髓炎主要分为急性和慢性,急性骨髓炎是通过细菌内毒素对机体生理、病理进行诱导导致发病,其主要发病机制为大量炎症介质以及细胞因子释放,引起免疫系统紊乱,炎症反应失调^[11]。慢性骨髓炎病理变化主要体现在骨内有脓液,肉芽组织产生,出现死骨和硬化骨等,感染病灶出现,炎症不断扩散,引起炎症反应,慢性骨髓炎患者进行药物治疗后,局部炎症消失,但是病情常反复发作^[12]。相关研究显示,较轻的骨髓炎患者因为长时间炎症不治愈,引起肌肉萎缩,关节变得僵硬,对肢体功能、外观等产生严重的影响,病情严重的会导致癌变发生,影响患者的生活质量和生命安全^[13]。

lf作为一种非血红色铁结合蛋白,具有抗病毒、抗细菌活性的作用,抑制炎症细胞产生,对细胞的增殖、分化具有促进作用,同时能促进肠道益生菌生长^[14]。且lf能有效的显示机体中中性粒细

胞总数及转化率,有研究指出,If浓度的高低反应中性粒细胞动力学,提示If与中性粒细胞成熟度有关^[15]。If对铁诱导的脂质过氧化过程有一定的抑制作用,抑制丙二醛、超氧离子产生,避免中性粒细胞受损;同时If通过抑制氢氧根基团,从而保护周围组织不受损伤^[16-17]。在本文研究结果显示,骨髓炎患儿If水平较低,提示If水平可能参与骨髓炎发病过程。>15 APACHE II 分值患儿If表达水平下降明显,提示If水平高低与骨髓炎患儿严重程度有关。预后不良患儿If表达水平低,提示骨髓炎患儿病情越来越严重,患儿预后状况也越来越差。

ctsg作为一种常见的丝氨酸类蛋白酶,对IL-1 β 、TNF- α 、IL-8等细胞因子具有活化水解作用,参与炎症因子免疫应答过程,进而发挥促炎和抗炎功能^[18]。ctsg通过对蛋白酶激活受体(PAR)N末端细胞外结构域进行加工,促进PAR受体活化,通过降低凝血酶受体活性,参与凝血平衡以及炎症反应过程^[19]。本文研究结果显示,在骨髓炎患儿血清中ctsg表达水平较高,提示骨髓炎患儿发病可能与ctsg水平有关。相关研究显示,当气道被金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌感染,气道中的上皮细胞以及骨髓细胞会对病原体产生影响,导致大量的中性粒细胞被释放,在气道募集,大量粘液产生,炎症性反应加重^[20-21]。在本文研究中>15 APACHE II 分值患儿ctsg表达水平显著升高,说明ctsg水平与骨髓炎患儿病情严重程度有关,参与疾病发展。ctsg过渡活化会激活机体中的细胞间黏附分子1、TNF- α 等,内皮细胞通透性增加,血管屏障功能障碍较为严重^[22]。在本文研究中,预后优良患儿ctsg表达水平较低,说明ctsg水平的高低影响骨髓炎患儿预后。

综上所述,在骨髓炎患儿血清中,ctsg、If呈表达异常,而且ctsg、If表达高低与病情严重程度以及患儿预后具有紧密联系。由此可知,ctsg、If应用于骨髓炎患儿的检测当中,能够明显提高临床预测效果,可为临床治疗骨髓炎提供有效的使用价值。

参考文献

[1] Funk SS, Copley LA. Acute hematogenous osteomyelitis in children: pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. *Orthop Clin North Am*, 2017, 48(2):199-208.
 [2] Hinners J. Vertebral osteomyelitis and the role of imaging [J]. *Radiol Technol*, 2017, 88(5):519-535.

[3] 汪晓波,李旭.MRI在诊断儿童长骨髓炎的应用价值[J]. *中国医学计算机成像杂志*, 2019, 25(3):299-302.
 [4] 张基亮,张兰威,马莺,等.乳铁蛋白促进骨健康作用的研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2018, 46(7):23-27.
 [5] 王军,张碧玉,宗川日.乳铁蛋白促进大鼠成骨细胞增殖及作用机制[J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(19):2221-2223+2227.
 [6] 李锡清,赵尊兰,孔存权,等.组织蛋白酶G通过增加胶质瘤干细胞表面MHC-I表达提高胶质瘤对T细胞治疗的敏感性[J]. *中华神经医学杂志*, 2020, 19(3):217-223.
 [7] 阚金庆,夏传江,栗向明,等.骨内压监测在小儿急性骨髓炎诊治中的应用[J]. *中华小儿外科杂志*, 1997, 18(4):231-232.
 [8] 万秋清.炎症和凝血参数与脓毒症危重患儿存活率的相关性研究[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(1):75-77.
 [9] 赵丽,孙俏丽.超声对患儿肺部感染的诊断价值及与血清PCT、PCIS评分的相关性[J]. *影像科学与光化学*, 2022, 40(3):555-559.
 [10] 应佳云,张铮铮,陆国平.儿童危重病例评分和第三代儿童死亡危险评分在危重患儿的应用情况[J]. *中国循证儿科杂志*, 2018, 13(3):185-189.
 [11] Maffulli N, Papalia R, Zampogna B, et al. The management of osteomyelitis in the adult [J]. *Surgeon*, 2016, 14(6):345-360.
 [12] Wu ZQ, Zeng DL, Yao JL, et al. Research progress on diagnosis and treatment of chronic osteomyelitis [J]. *Chin Med Sci J*, 2019, 34(3):211-220.
 [13] 于建华,李勇贤,郭瑞,等.急性骨髓炎患儿血清中肿瘤坏死因子- α 、C-反应蛋白及白介素-6水平的动态变化及意义分析[J]. *新疆医科大学学报*, 2017, 40(8):1013-1015.
 [14] 谢银丹,赵添玉,许岩,等.乳铁蛋白对三唑酮诱导骨髓间充质干细胞损伤的修复作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(13):141-147.
 [15] Watanabe A, Murakami H, Kakinuma S, et al. Association between bovine leukemia virus proviral load and severity of clinical mastitis [J]. *J Vet Med Sci*, 2019, 81(10):1431-1437.
 [16] 吴晓颖,俞晴,陶怡.铁蛋白对多发性骨髓瘤诊断中的临床意义[J]. *武警医学*, 2018, 29(12):1144-1147.
 [17] 崔冠军,程超,单文山,等.乳铁蛋白对IL-1 β 诱导人骨关节炎滑膜成纤维细胞MMPs、COX-2、PGE2产生的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(8):1199-1204.
 [18] 陈驹,彭礼飞.组织蛋白酶G在炎症性疾病发生发展中作用的研究进展[J]. *山东医药*, 2017, 57(21):98-101.
 [19] 邓振,何庆丰,彭礼飞.中性粒细胞丝氨酸蛋白酶及其抑制剂与炎症[J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(3):314-317.
 [20] 尹艺晓,张发艳,周生余.PAR激活在哮喘发生中作用机制的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(32):101-104.
 [21] Burgener SS, Leborgne NGF, Snipas SJ, et al. Cathepsin G inhibition by serpinb1 and serpinb6 prevents programmed necrosis in neutrophils and monocytes and reduces GSDMD-Driven inflammation [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(12):3646-3656.e5.
 [22] 聂然,郭天奇,李雪,等.与牙周炎相关的组织蛋白酶研究进展[J]. *国际口腔医学杂志*, 2019, 46(2):197-202.

WBC、RBC、Ucr 指标变化与尿液标本不同保存条件的关系

吕金龙* 刘志华 廖琳

[摘要] **目的** 探究白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、尿肌酐(Ucr)指标变化与尿液标本不同保存条件的关系。**方法** 选取2021年1月至2021年8月期间郑州市第一人民医院180例健康体检者作为研究对象,均采集中段尿液标本,分析除温度、时间之外影响尿液标本检验结果的因素;将合格标本等分2份,于不同温度(4℃、25℃)条件下,检测取样即刻、静置1 h、2 h、3 h、4 h、5 h WBC、RBC、Ucr 指标变化情况,分析其与保存条件的关系。**结果** 本组共180份健康体检者尿液标本,排除温度、时间影响,不合格率为18.33%(33/180),影响因素为采集尿液样本前受检者准备不当、采集尿液过程中受到污染或感染、检验所用仪器保养或操作不当、标本标记不清;合格尿液标本中WBC不受温度、时间等保存条件的影响;4℃、25℃条件下合格尿液标本静置时间 ≥ 3 h时,Ucr较静置时间 < 3 h显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),且25℃升高幅度明显大于4℃,差异有统计学意义($t = 29.049, 29.681, 29.598, P < 0.05$);4℃、25℃条件下合格尿液标本静置时间 ≥ 3 h时,RBC较静置时间 < 3 h显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),且25℃降低幅度明显大于4℃,差异有统计学意义($t = 20.005, 11.627, 10.136, P < 0.05$)。**结论** 尿液标本检验结果受患者准备不当、仪器、操作等多种因素影响,且合格尿液标本随着存放时间的延长、温度变化,RBC、Ucr水平发生显著变化,因此为确保检测结果准确度,取样后应尽量在3 h内完成检测,并尽量在4℃环境下保存。

[关键词] 尿液标本;白细胞;红细胞;尿肌酐;温度;保存时间

Relationship between changes of WBC, RBC and Ucr indexes and different storage conditions of urine specimens

LV Jinlong*, LIU Zhihua, LIAO Lin

(Department of Laboratory Medicine, the First People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between changes of white blood cell (WBC), red blood cell (RBC) and urine creatinine (Ucr) indexes and different storage conditions of urine samples. **Methods** 180 healthy subjects from our hospital from January 2021 to August 2021 were selected as the research subjects. The middle urine samples were collected to analyze the factors affecting the urine sample test results except temperature and time. Two parts were aliquoted, and the changes of WBC, RBC and Ucr were measured immediately at different temperatures (4℃, 25℃) for 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, and analyzed. Save the relationship of the conditions. **Results** A total of 180 urine samples from healthy subjects were excluded from temperature and time. The unqualified rate was 18.33% (33/180). The influencing factors were improper preparation and urine collection before the urine samples were collected. In case of pollution or infection, improper maintenance or improper operation of the instrument used for inspection, the specimen is unclear; WBC in qualified urine specimens is not affected by storage conditions such as temperature and time; Under the conditions of 4℃ and 25℃, when the qualified urine samples were placed for more than 3 h, the Ucr was significantly increased compared with the rest time of < 3 h, and the difference was statistically significant

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018062115)

作者单位:郑州市第一人民医院检验科,河南,郑州450000

*通信作者:吕金龙, E-mail: 306093418@qq.com

($P<0.05$), and the increase range was obvious at 25°C. Above 4°C, the difference was statistically significant ($t=29.049, 29.681, 29.598, P<0.05$); when the resting time of qualified urine samples at 4°C and 25°C was ≥ 3 h, RBC was less than resting time <3 h decreased significantly, and the difference was statistically significant ($P<0.05$), and the decrease at 25°C was significantly greater than that at 4°C, and the difference was statistically significant ($t=20.005, 11.627, 10.136, P<0.05$) **Conclusion** The results of urine specimen test are affected by various factors such as improper preparation, instrument and operation. The qualified urine specimens change significantly with the storage time and temperature, and the RBC and Ucr levels change significantly. Therefore, the test results are accurate. Degree, after sampling, should be completed within 3 h, and try to save at 4°C.

[KEY WORDS] Urine specimen; WBC; RBC; Ucr; Temperature; Preservation time

尿常规在临床上是一项不可忽视的初步检查项目,可检测出多种肾脏病变早期出现的蛋白尿或尿沉渣中有形成分,尿常规结果异常一般为肾脏或尿路疾病的第一指征,同时可为临床判断病理变化过程提供重要线索^[1-2]。尿液标本的采集工作比较容易,相关设备的使用也较为简单,可操作性较好,但其涉及多个环节规范化操作,检测结果易受患者准备不当、仪器等多种因素影响,且尿液标本常因各种原因无法及时送检,静置过程中的任意因素都可能影响检测结果,进而影响尿常规检测准确度^[3-4]。近年来多项研究指出,尿液标本上机前的保存温度及保存时间,均为影响检测指标的重要因素^[5-6]。本研究旨在探究白细胞(White blood cell, WBC)、红细胞(Red blood cell, RBC)、尿肌酐(Urine creatinine, Ucr)指标变化与尿液标本不同保存条件的关系。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2021年8月期间郑州市第一人民医院180例健康体检者作为研究对象,其中女83例,男97例;年龄(46.37 ± 6.80)岁;体质量(64.29 ± 8.12)kg。纳入标准:①年龄18~60岁;②均为健康体检者;③心智正常,无沟通交流障碍;④所有研究对象均知晓本研究,已签署同意书。排除标准:①近3周内患有感染性疾病者;②体质较差、营养不良者;③有泌尿生殖系统手术史者;④月经期、妊娠或哺乳期女性;⑤长期服用保健品者。研究经院伦理委员会审批通过。

1.2 方法与观察指标

检测方法:①标本采集:指导研究对象如何准确采集尿液标本:采用无菌杯收集新鲜、清洁中断晨尿

10 mL。将尿液标本分成两份,分别置于不同温度(4°C、25°C)条件下保存。②检测仪器及方法:仪器选用UF-1000i型全自动尿流式细胞分析仪[购自希森美康医用电子(上海)有限公司]及其配套试剂盒,由专业人员严格按照操作说明检测取样即刻、静置1、2、3、4、5 h尿液标本中WBC、RBC、Ucr水平。

观察指标:①分析影响尿液标本检验结果的因素。②检测取样即刻、静置1、2、3、4、5 h WBC、RBC、Ucr指标变化情况。

1.3 统计学方法

数据处理采用SPSS 22.0软件;计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行配对样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响尿液标本检验结果的因素

180份健康体检者尿液标本,除温度、时间之外,不合格率为18.33%(33/180)。主要包括以下因素:采集尿液样本前受检者准备不当、采集尿液过程中受到污染或感染、检验所用仪器保养或操作不当、标本标记不清。见表1。

表1 影响尿液标本检验结果的因素 [$n(\%)$]

Table 1 Factors affecting the test results of urine samples [$n(\%)$]

因素	不合格率
采集尿液样本前受检者准备不当	13(7.22)
采集尿液过程中受到污染或感染	12(6.67)
检验所用仪器保养或操作不当	6(3.33)
标本标记不清	2(1.11)

2.2 WBC不同温度、不同时间检测变化情况

合格尿液标本中WBC不受温度、时间等保存条件的影响,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。见表2、图1。

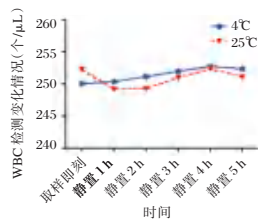


图1 WBC不同温度、不同时间检测变化趋势折线图
Figure 1 Trend detection line chart of different temperatures and times in W B C

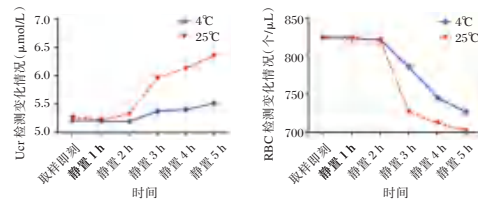


图2 Ucr、RBC不同温度、不同时间检测变化趋势折线图
Figure 2 Trend line chart of different temperatures and times of U c r and RBC

2.3 Ucr、RBC不同温度、不同时间检测变化情况
4℃、25℃条件下合格尿液标本静置时间≥3 h时,Ucr较静置时间<3 h显著升高,差异有统计学意义(P 均<0.05),且25℃升高幅度明显大于4℃,差异有统计学意义(P 均<0.05);4℃、25℃条件下合格尿液标本静置时间≥3 h时,RBC较静置时间<3 h显著下降,差异有统计学意义(P 均<0.05),且25℃降低幅度明显大于4℃,差异有统计学意义(P <0.05)。见表3、图2。

3 讨论

尿常规检测又被称为“体外肾活检”,在肾脏及泌尿系统疾病诊断中占据重要地位,其检测准确性直接影响疾病的诊断与治疗,因此,尿常规检测过程中必须加强质量管理^[7]。

目前,我国对尿常规检测整体化规则的确立及细化研究做出指导,并要求规范操作流程,实现标准化检测^[8]。在尿常规检测过程中,无论哪个环

节发生差错,均可能影响检测结果^[9]。本研究尿液标本不合格率为18.33%,低于梁树坚^[10]报道的不合格率24.20%,这可能与受检者个体因素、医疗工作者指导方法、使用仪器等因素有关,而尿常规检测结果的影响因素为采集尿液样本前受检者准备不当、采集尿液过程中受到污染或感染、检验所用仪器保养或操作不当、标本标记不清,与其研究结果相近。可见,尿液标本采集工作虽简单便捷,但影响因素多,采集过程中应严格把控各环节工作。尿常规检测指标包括WBC、RBC、Ucr、pH值、葡萄糖、蛋白质等,近年来,国内外大量研究指出,尿液标本成分随保存时间的延长逐渐发生变化^[11]。WBC为尿常规主要指标之一,其计数值的高低是提示累及白细胞系统疾病的重要指标,WBC计数增多,见于尿毒症、急性感染、急性出血、组织损伤等,WBC计数减少,见于伤寒、再生障碍性贫血、疟疾、急性粒细胞缺乏症、脾功能亢进等^[12]。RBC主要存在血液中,正常情况下尿液不存在或偶见

表2 WBC不同温度、不同时间检测变化情况($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The change of WBC was detected at different temperature and time ($\bar{x} \pm s$)

保存条件	取样即刻(个/μL)	静置1 h(个/μL)	静置2 h(个/μL)	静置3 h(个/μL)	静置4 h(个/μL)	静置5 h(个/μL)
4℃	250.10±26.23	250.32±23.41	251.19±22.06	252.01±21.74	252.72±20.86	252.40±20.27
25℃	252.22±25.40	249.17±28.05	249.26±27.18	251.01±26.38	252.35±24.72	251.10±25.11
t 值	0.704	0.382	0.669	0.355	0.139	0.488
P 值	0.482	0.703	0.504	0.723	0.890	0.626

表3 Ucr、RBC不同温度、不同时间检测变化情况($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The change of Ucr RBC was detected at different temperature and time ($\bar{x} \pm s$)

指标	保存条件	取样即刻(个/μL)	静置1 h(个/μL)	静置2 h(个/μL)	静置3 h(个/μL)	静置4 h(个/μL)	静置5 h(个/μL)
Ucr	4℃	5.22±0.10	5.21±0.12	5.23±0.14	5.38±0.15 ^{abc}	5.41±0.17 ^{abc}	5.52±0.20 ^{abc}
	25℃	5.24±0.13	5.22±0.15	5.25±0.17	5.96±0.19 ^{abc}	6.13±0.24 ^{abc}	6.36±0.28 ^{abc}
	t 值	1.479	0.631	1.101	29.049	29.681	29.598
	P 值	0.140	0.528	0.272	<0.001	<0.001	<0.001
RBC	4℃	825.02±33.08	824.47±30.29	822.09±26.19	786.25±21.35 ^{abc}	745.37±19.26 ^{abc}	727.04±18.53 ^{abc}
	25℃	825.31±32.16	822.05±31.82	821.24±33.46	726.42±29.31 ^{abc}	712.28±28.63 ^{abc}	702.08±23.14 ^{abc}
	t 值	0.076	0.668	0.243	20.005	11.627	10.136
	P 值	0.939	0.505	0.809	<0.001	<0.001	<0.001

注:与取样即刻比较,^a P <0.05;与静置1 h比较,^b P <0.05;与静置2 h比较,^c P <0.05。

RBC,当机体发生肾小球炎、膀胱炎、泌尿系统结石、肿瘤等疾病时,RBC可被释放至尿液中^[13-14]。肌酐是人体肌肉代谢的产物,属于小分子物质,可通过肾小球滤过,在肾小管内很少吸收,人体每日产生的肌酐几乎全部随尿液排除,且一般不受尿量影响,Ucr检测可反映肾脏滤过功能是否发生障碍^[15]。然而,尿液比密低,且呈碱性,久置可破坏RBC、Ucr,进而影响尿常规检测结果^[16]。目前,我国医院普遍于清晨6:00~7:00采集受检者尿液标本,一般于8:00左右送至检验科,加上检测前仪器准备工作,上机检测距尿液留取时间一般需要3~4 h,甚至更长。本研究结果中,合格尿液标本中WBC不受温度、时间等保存条件的影响,但RBC、Ucr受温度及保存时间影响较大,静置时间 ≥ 3 h时,4℃、25℃条件下合格尿液标本中RBC显著降低,Ucr显著升高,且25℃升高幅度显著大于4℃,与卢瞧^[17]研究结果相近。分析其原因为除尿液自身性质影响外,尿液标本的长时间放置可增加与空气接触时间,RBC暴露于空气中的时间增多,导致RBC发生低渗溶解,而RBC内的肌酐溶解于尿液标本中,引起Ucr水平增加,而高温可促进尿液中水分子、有机物等活性增强,可促进RBC的低渗溶解,因此25℃条件下尿液标本内RBC、Ucr的变化更加显著^[18]。此外,随着尿液标本留置时间的延长及温度升高,细菌增殖的数量、速度也随之提高,可引起尿液碱性加重,促进RBC溶解,进一步增加RBC、Ucr变化幅度。因此,为提高尿常规检查的准确度,应于标本采集后3 h内完成检测,并于4℃环境下保存尿液标本。

综上所述,影响尿常规检测结果的因素较多,且随着存放时间的延长、温度变化,尿液标本中RBC、Ucr水平发生显著变化,进而影响检测结果准确度,因此,取样后应尽量在3 h内完成检测,并尽量在4℃环境下保存尿液标本。

参考文献

- [1] Tzimenatos L, Mahajan P, Dayan PS, et al. Accuracy of the Urinalysis for Urinary Tract Infections in Febrile Infants 60 Days and Younger[J]. *Pediatrics*, 2018, 141(2):e20173068.
- [2] Schaeffer EM. Re: Abnormal Urinalysis Results are Common, Regardless of Specimen Collection Technique, in Women without Urinary Tract Infections [J]. *J Urol*, 2017, 197(1):167.
- [3] 曾蕾莉,江选东,严振才.新型一次性尿液标本采集杯的设计与应用[J]. *中国医学装备*, 2019, 16(8):158-159.
- [4] van den Berg JJ, Adeyemo S, Roberts MB, et al. Comparing the Validity of Self-Report and Urinalysis for Substance Use Among Former Inmates in the Northeastern United States [J]. *Subst Use Misuse*, 2018, 53(10):1756-1761.
- [5] 尚俊东.提高尿液分析仪尿常规检测准确性方法分析[J]. *中国实用医药*, 2018, 13(2):41-42.
- [6] 马晨,张祎,雷金娥,等.有关微生物检验标本不合格因素与质量控制策略[C].2018年国际检验医学杂志学术年会,2018.
- [7] Swamy S, Barcella W, De Iorio M, et al. Recalcitrant chronic bladder pain and recurrent cystitis but negative urinalysis: What should we do[J]. *Int Urogynecol J*, 2018, 29(7):1035-1043.
- [8] 于佳弘,荣兰香,于雪娇,等.尿液标本不同放置条件对尿常规检验中相关指标的影响[J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(9):1309-1311.
- [9] Coorevits L, Heytens S, Boelens J, et al. The resident microflora of voided midstream urine of healthy controls: standard versus expanded urine culture protocols[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017, 36(4):635-639.
- [10] 梁树坚.探讨临床尿常规检验的影响因素及应对措施[J]. *现代医用影像学*, 2019, 28(7):1690-1691.
- [11] 吕纯莉,肖代敏,朱绍玲,等.URIT-1500尿干化学分析仪与AVE-764B尿有形成分分析仪联合尿液检测复检规则的制定和应用[J]. *检验医学*, 2016, 31(1):57-60.
- [12] Stefanovic A, Roscoe D, Ranasinghe R, et al. Performance assessment of urine flow cytometry (UFC) to screen urines to reflex to culture in immunocompetent and immunosuppressed hosts[J]. *J Med Microbiol*, 2017, 66(9):1308-1315.
- [13] 胡耀华,卓书伟,符春苗. PLT-I、PLT-F、RDW、MCHC 指标变化与检验标本不同保存条件的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2019, 11(4):325-328.
- [14] Hennek JW, Kumar AA, Wiltshko AB, et al. Diagnosis of iron deficiency anemia using density-based fractionation of red blood cells[J]. *Lab Chip*, 2016, 16(20):3929-3939.
- [15] 周惠玉,孙伟才,张福军,等. β -2-MG、Cys-C、uNGAL、uMA、uCr、uMA/Cr检测对多发性骨髓瘤早期肾功能损害的诊断价值[J]. *国际医药卫生导报*, 2018, 24(2):181-184+210.
- [16] Oyibo WA, Ezeigwe N, Ntadom G, et al. Multicenter Pivotal Clinical Trial of Urine Malaria Test for Rapid Diagnosis of Plasmodium falciparum Malaria [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55(1):253-263.
- [17] 卢瞧.不同尿检时间对外科尿路感染患者尿常规检验结果的影响[J]. *河南外科学杂志*, 2016, 22(5):62-63.
- [18] Herendaal BV, Schaeren JV. Performance of urinalysis tests and their ability in predicting results of urine cultures: a comparison between automated test strip analyser and flow cytometry in various subpopulations and types of samples [J]. *J Clin Pathol*, 2017, 70(7):631-636.

神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路手术对垂体瘤 PRL、HGh 及 ACTh 水平的影响

鲁彦* 刘景云 张人梹

[摘要] **目的** 探讨神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路手术治疗垂体瘤对泌乳素(PRL)、生长激素(HGH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)水平的影响。**方法** 选取2019年12月至2021年12月郑州大学第一附属医院收治的128例垂体瘤患者,分为对照组(显微镜辅助下经鼻蝶窦入路)67例、观察组(神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路)61例。比较两组手术指标、肿瘤全切率、PRL、HGh及ACTh水平、症状缓解率及手术不良反应。**结果** 观察组手术时间长于对照组,术后平均住院时间短于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),两组术中出血量比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组完全切除率85.25%,高于对照组的65.67%,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后,两组PRL、HGh及ACTh水平均下降,且观察组低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组视力下降、头痛、性功能障碍缓解率均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应总发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路手术治疗垂体瘤疗效确切,更有效地促进PRL、HGh及ACTh水平恢复到正常范围,且安全性较好,临床应用前景广阔。

[关键词] 神经内镜; 经鼻蝶窦入路; 垂体瘤; PRL; HGh; ACTh

Effects of neuroendoscopy-assisted transsphenoidal approach on the levels of PRL, HGh and ACTh in pituitary tumors

LU Yan*, LIU Jingyun, ZHANG Renxiao

(Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of neuroendoscope-assisted transnasal sphenoid surgery for pituitary tumors on the levels of prolactin (PRL), growth hormone (HGh) and corticotropin (ACTH). **Methods** 128 patients with pituitary tumors admitted to the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from December 2019 to December 2021 were selected and divided into the control group (transsphenoid sinus approach assisted by microscope) 67 cases and the observation group (neuroendoscopy assisted transsphenoidal approach) 61 cases. The surgical indicators, tumor total resection rate, PRL, HGh and ACTh levels, symptom relief rate and adverse surgical reactions were compared between the two groups. **Results** The operation time in the observation group was longer than that in the control group, and the average postoperative hospital stay was shorter than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the amount of intraoperative bleeding between the two groups ($P>0.05$). The complete resection rate of the observation group was 85.25%, which was higher than that of the control group, 65.67%, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After operation, the levels of PRL, HGh and ACTh in the two groups decreased, and the observation group was lower than the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The remission rate of vision loss, headache, and sexual dysfunction

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019010026)

作者单位:郑州大学第一附属医院神经外科,河南,郑州 450000

*通信作者:鲁彦, E-mail:13783596053@163.com

in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the total incidence of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Neuroendoscopy-assisted transsphenoidal approach in the treatment of pituitary tumors has a definite curative effect, and can more effectively promote the return of PRL, HGH and ACTH levels to the normal range, which has good safety and broad clinical application prospects.

[KEY WORDS] Neuroendoscopy; Transsphenoidal approach; Pituitary tumor; PRL; HGH; ACTH

垂体瘤多发于蝶鞍部,若瘤体长大可包绕视神经及颈内动脉,从而出现压迫症状,常引起视觉通路传导障碍及视野缺损,出现头疼、视力视野障碍等多种临床症状^[1]。目前临床治疗垂体瘤的方案包括外科手术治疗、药物治疗及放射治疗。传统的开颅手术术中创面大,患者术后恢复时间较长。经鼻蝶神经内窥镜技术是近年来发展迅速的手术方式,临床疗效显著,得到广大手术医师及患者的认可^[2]。本研究旨在比较神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路手术及显微镜辅助下经鼻蝶窦入路手术治疗垂体瘤对泌乳素(prolactin, PRL)、生长激素(human growth hormone, HGH)、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)水平的影响,以期为临床治疗垂体瘤提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年12月至2021年12月郑州大学第一附属医院收治的垂体瘤患者作为研究对象。纳入标准:①经MRI检查确诊为垂体瘤^[3];②均存在不同程度的头痛、视野改变等临床症状;③治疗依从性好,入院后均进行手术治疗;④手术部位无炎症、感染,如活动性鼻炎、鼻窦炎等。排除标准:①鼻腔鼻窦感染者;②蝶窦气化不良者;③手术禁忌症,包括:凝血功能障碍、麻醉药物过敏者;④合并其他脑部恶性肿瘤者,包括颅咽管瘤等;⑤排除蝶窦发育畸形、气化不良及垂体大腺瘤向鞍前窝、鞍后窝生长等。最终选取128例患者,根据患者自行选择手术方案的差异分为对照组(显微镜辅助

下经鼻蝶窦入路)67例、观察组(神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路)61例。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准,患者均已签署知情同意书。

1.2 方法

两组患者术前完善相关检查和检验,以确保患者可以耐受手术,术前3天用左氧氟沙星滴眼液滴鼻,术前1天修剪两侧鼻毛。对照组采用显微镜辅助下经鼻蝶窦入路术:患者于全麻后,应用肾上腺素棉片先收敛右侧鼻腔,10 min后进行扩张。在显微镜下行黏膜剥离,暴露蝶窦前壁、双侧蝶窦开口、硬膜等部位。借助环形刮匙和吸引器逐块切除肿瘤。通过显微镜检查,若存在肿瘤残留,将残留部位进行切除,瘤腔内填充自体肌肉明胶海绵,生物胶封底、手术完毕撤器械,右侧鼻腔填塞油纱。

观察组采用神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术治疗。术前准备同对照组。神经内镜从右侧鼻孔置于鼻腔中,找到蝶窦隐窝、蝶窦开口,进行弧形切口,用剥离子将黏膜向后外翻,做一直径为2 cm的骨窗,进入蝶窦腔,使用细长穿刺针进行穿刺,无出血后进行“十”字切开硬脑膜,暴露瘤体,使用刮圈和吸引器切除肿瘤。肿瘤大部切除后处理过程同对照组。

1.3 观察指标

1.3.1 手术指标

观察两组手术时间、术中出血量、术后平均住院时间。

1.3.2 肿瘤全切率

垂体瘤切除比例按照术后MRI确定,术后48 h内增强MRI未发现残留定义为完全切除,反之定

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

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

组别	n	性别		平均年龄(岁)	垂体瘤分类		瘤体直径(cm)
		男	女		功能性腺瘤	无功能性腺瘤	
对照组	67	32(47.76)	35(52.24)	47.23±12.15	31(46.27)	36(53.73)	2.12±0.56
观察组	61	29(47.54)	32(52.46)	47.88±12.33	28(45.90)	33(54.10)	2.20±0.54
χ^2/t 值		0.001		0.300	0.002		0.821
P值		0.980		0.765	0.967		0.413

义为非完全切除^[6]。

1.3.3 两组 PRL、HGh 及 ACTh 水平

两组患者手术前 1 d 及术后 1 d 于早晨 8:00 采集空腹静脉血 4 mL, 静置 30 min 后 3 000 rpm 离心半径为 10 cm 分离血清, 10 min 后取出低温保存。采用电化学发光法检测 PRL、HGh 及 ACTh 水平, 试剂盒由厦门市波生生物技术有限公司提供。PRL 正常参考值为 2.1~22.7 ng/mL^[4]; HGh 正常参考值为小于 10 ng/mL^[5]; ACTh 正常参考值为小于 20 pmol/L^[6]。

1.3.4 症状缓解

观察两组患者术后症状(视力下降、头痛、性功能障碍)^[7]缓解情况。

1.3.5 手术不良反应

观察两组患者术后不良反应发生情况, 包括: 尿频症、低血钾、视力模糊、鼻腔出血^[8]等。

1.4 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组手术指标比较

观察组手术时间长于对照组, 术后平均住院时间短于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 两组术中出血量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.2 两组肿瘤全切率比较

对照组完全切除 44 例 (65.67%), 非完全切除

表 2 两组手术指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	手术时间 (min)	术中出血量 (mL)	术后平均住院时间 (d)
对照组	67	78.56±15.85	76.25±16.96	10.26±4.25
观察组	61	94.23±17.88	81.25±17.58	7.28±3.11
<i>t</i> 值		5.256	1.638	4.490
<i>P</i> 值		<0.001	0.104	<0.001

23 例 (34.33%); 观察组完全切除 52 例 (85.25%), 非完全切除 9 例 (14.75%)。观察组完全切除率高于对照组, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.525, P = 0.011$)。

2.3 两组 PRL、HGh 及 ACTh 水平比较

术后, 两组 PRL、HGh 及 ACTh 水平均下降, 且观察组低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组术后症状缓解情况

观察组视力下降、头痛、性功能障碍缓解率均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 两组手术不良反应比较

两组不良反应总发生率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 两组手术不良反应比较 [$n(\%)$]

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

组别	<i>n</i>	尿频症	低血钾	视力模糊	鼻腔出血	总发生率
对照组	67	1(1.49)	1(1.49)	1(1.49)	1(1.49)	4(5.97)
观察组	61	0(0.00)	0(0.00)	2(3.28)	1(1.64)	3(4.92)
χ^2 值						0.068
<i>P</i> 值						0.794

表 3 两组 PRL、HGh 及 ACTh 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of PRL, HGh and ACTh levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PRL (ng/mL)		HGh (ng/mL)		ACTh (pmol/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
对照组	67	61.21±18.75	27.65±8.56 ^a	18.46±5.25	10.79±4.18 ^a	42.96±8.15	21.09±5.12 ^a
观察组	61	60.89±18.41	18.61±6.11 ^a	18.97±5.56	7.56±3.26 ^a	42.18±7.89	16.48±3.56 ^a
<i>t</i> 值		0.097	6.816	0.534	4.841	0.549	5.860
<i>P</i> 值		0.923	<0.001	0.595	<0.001	0.584	<0.001

注: 与术前比较, ^a $P < 0.05$ 。

表 4 缓解率差异 [$n(\%)$]

Table 4 Differences in remission rates [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	视力下降			头痛			性功能障碍		
		术前	术后	缓解	术前	术后	缓解	术前	术后	缓解
对照组	67	47(70.15)	20(29.85)	27(40.30)	59(88.06)	21(31.34)	38(56.72)	20(29.85)	12(17.91)	8(11.84)
观察组	61	48(78.69)	12(19.67)	36(59.02)	57(93.44)	10(16.39)	47(77.05)	23(37.70)	7(11.48)	16(26.30)
χ^2 值				4.476			5.917			4.279
<i>P</i> 值				0.034			0.015			0.039

3 讨论

垂体瘤是一种良性的颅内内分泌肿瘤,该病会引起垂体卒中、视力视野障碍、下丘脑功能障碍等,对患者正常生活、工作及学习造成严重影响^[8]。采用有效的手术方案治疗垂体瘤,是保障患者生活质量的关键。显微镜经鼻蝶窦入路术、神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术均为微创入路手术,当前应用较为广泛,本研究旨在比较两种手术方式在垂体瘤患者中的应用效果。

显微镜经鼻蝶窦入路术手术需建立硬性通道,手术需切除骨性鼻中隔,从而容易引起鼻腔结构创伤、蝶窦炎性反应。神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术可在内镜下观察蝶窦内全貌,对肿瘤完整切除的同时保护患者鼻腔、鼻窦、鼻中隔等部位,减少过分切除风险,有利于维持术后鼻腔、垂体的正常生理功能^[9-10]。本研究结果显示,观察组手术时间长于对照组,术后平均住院时间短于对照组,但两组术中出血量比较差异无统计学意义,提示神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术治疗垂体瘤较显微镜手术更利于患者术后康复。

本研究中,观察组完全切除率高于对照组,与黄进兴等^[11]人所得结果一致。分析观察组完全切除率更高的原因:显微镜下的“管状”结构给手术医师造成视野盲区,特别是手术医师对鞍上及后外侧进行手术操作时,蝶骨平台因视野受限而无法完全显露解剖结构,最终导致术后完全切除率不理想^[12]。神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术镜下视野更为广阔,且较显微镜视野可提高至2.5倍,镜下可清晰显示鞍内硬膜分界、垂体柄、供血动脉等解剖结构,规避了显微镜手术的视野盲区,能显著提高手术完全切除率。故神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术对垂体瘤手术治疗效果更佳。

PRL、HGH及ACTh均是体内分泌的重要激素。既往文献指出,不同激素类型垂体瘤分泌激素均呈异常高表达状态,手术切除的目的在于彻底清除肿瘤组织的同时使患者激素水平恢复正常^[13]。有文献报道,在垂体瘤患者血清中PRL、HGH及ACTh水平呈明显升高状态^[14]。本次研究结果显示,两组术后PRL、HGH及ACTh水平均下降,且观察组低于对照组,观察组患者PRL、HGH及ACTh水平已恢复至正常范围内。可以看出神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术可以更好地改善垂体瘤

患者血清激素水平,原因可能为:显微镜下手术视野受限,垂体瘤完全切除率低,患者机体仍存在激素代谢紊乱。而神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术只需扩大蝶窦开口就可以完全暴露蝶鞍区,术中完整切出瘤体,使得垂体瘤患者激素水平得到有效控制^[15]。

本文研究发现,观察组视力下降、头痛、性功能障碍缓解率均高于对照组,表明神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术对垂体瘤患者临床症状缓解率更高,主要原因可能为神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术中肿瘤全切率更高。两组不良反应总发生率比较差异无统计学意义,两组中仍有不良反应(尿崩症、低血钾、视力模糊、鼻腔出血)发生,但尿崩症、低血钾、视力模糊均呈一过性改变,可见两组手术方案安全性较高。

综上所述,神经内镜辅助下经鼻蝶窦入路术治疗垂体瘤疗效确切,更有效地促进PRL、HGH及ACTh水平恢复到正常范围,且安全性较好,临床应用前景广阔。

参考文献

- [1] Ceraudo M, Anania P, Rossi DC. Letter to editor regarding “the endoscopic diving technique in endonasal transsphenoidal surgery: how I do it” [J]. *Acta Neurochirurgica*, 2020, 162(9):2115-2116.
- [2] 马占英, 金奕, 冯涛. 经鼻蝶入路垂体瘤切除术后患者不同禁水时间的护理效果比较[J]. *护士进修杂志*, 2019, 34(6):62-64.
- [3] 景刚, 张咪咪, 朱爱萍, 等. 检测外周血促黄体生成素对垂体瘤的临床诊断价值[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(3):160-161.
- [4] 倪怀文, 吴晓雯, 李红云, 等. 血清泌乳素水平对泌乳素瘤患者的临床价值研究[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(4):734-738.
- [5] 史霄汉, 何超, 王健超. 经鼻蝶神经内镜垂体瘤切除术对机体应激水平及垂体功能的影响[J]. *中国实用医刊*, 2020, 47(22):72-75.
- [6] 魏小兵, 董宇为, 黄喆, 等. 经鼻蝶显微镜与神经内镜垂体瘤切除术治疗垂体瘤疗效比较[J]. *陕西医学杂志*, 2019, 48(11):1507-1510.
- [7] 肖奎, 唐协林, 周良学, 等. 神经内镜经单鼻孔蝶窦入路治疗垂体瘤的临床疗效分析[J]. *中国临床医生杂志*, 2021, 49(7):831-833.
- [8] 赵志莲, 朴月善, 杨延辉, 等. 蝶鞍异位垂体瘤的临床特征和影像学表现[J]. *临床放射学杂志*, 2021, 40(10):1860-1864.
- [9] 徐学友, 杨振宇, 宋佳泉, 等. 神经内镜与显微镜下经鼻蝶入路手术治疗复发性无功能性垂体腺瘤的疗效分析[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2020, 20(3):68-73.

新版血站技术操作规程离心法制备的冷沉淀凝血因子FⅧ和血浆纤维蛋白原含量分析

黄华霖* 刘伟平 冯叶 陈菊芬 彭及良

[摘要] **目的** 探讨新版血站技术操作规程离心法制备冷沉淀凝血因子FⅧ和血浆纤维蛋白原含量的可行性。**方法** 随机抽取2020年11月至2020年12月深圳市龙岗区中心血站质控科收集的40(人)份全血(400 mL/份),每袋均分为对照组与实验组,200 mL/袋。对照组采用《血站技术操作规程》(2015版)改良离心法(压沉法)制备冷沉淀凝血因子;实验组采用《血站技术操作规程》(2019版)常规漂浮法制备冷沉淀凝血因子。比较两组凝血因子Ⅷ(FⅧ)、纤维蛋白原(Fib)含量和合格率。**结果** 对照组与实验组的FⅧ含量比较差异无统计学意义($P>0.05$);实验组Fib含量明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组的冷沉淀凝血因子FⅧ与Fib合格率比较均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 根据新版《血站技术操作规程》(2019版)制备的冷沉淀FⅧ与Fib合格率均符合要求,且Fib含量较高,值得将其推广应用。

[关键词] 冷沉淀凝血因子;容量;离心法;凝血因子Ⅷ;纤维蛋白原

New technical operating procedures for blood stations - preparation of cryoprecipitated coagulation factor FⅧ and plasma fibers by centrifugation

HUANG Hualin*, LIU Weiping, FENG Ye, CHEN Jufen, PENG Jiliang

(Quality Control Department, Longgang District Central Blood Station, Shenzhen, Guangdong, China, 518172)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the feasibility of preparation of cryoprecipitate coagulation factor FⅧ and plasma fibrinogen content by centrifugation in the new version of blood station technical operation procedure. **Methods** Forty whole blood samples (400 mL/sample) collected from the Quality Control Department of the Central Blood Station in Longgang District of Shenzhen from November 2020 to December 2020 were randomly selected, and each bag was divided into the control group and the experimental group, with 200 mL/ bag. In the control group, cryoprecipitate coagulation factor was prepared by the modified centrifugation method (pressure sedimentation method) according to the Technical Operation Procedure of Blood Station (2015 edition). In the experimental group, cryoprecipitate coagulation factor was prepared by conventional floating method according to "Blood Station Technical Operating Procedures" (2019 edition). The content and qualified rate of coagulation factor Ⅷ (FⅧ) and fibrinogen (Fib) were compared between the two groups. **Results** There was no significant difference in FⅧ content between the control group and the experimental group ($P>0.05$). The Fib content in the experimental group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). There was no statistical significance in the pass rates of cryoprecipitate coagulation factor FⅧ and Fib between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** The qualified rates of cryoprecipitate FⅧ and Fib prepared according to the new edition of Technical Operating Procedures for Blood Stations (2019 edition) meet the requirements, and the content of Fib is high, which is worthy of promotion and application.

[KEY WORDS] Cryoprecipitate coagulation factor; Capacity; Centrifugation; Coagulation factor Ⅷ; Fibrinogen

基金项目:深圳市龙岗区2020年度医疗卫生科技计划项目(LGKCYLWS2020121)

作者单位:深圳市龙岗区中心血站质控科,广东,深圳 518172

*通信作者:黄华霖, E-mail:tg202212342022@163.com

目前在临床上,为避免造成血液资源的浪费和减少输血反应,奉行患者“缺什么,输什么”的原则^[1]。因此,血站工作人员将采集到的全血经离心、分浆、速冻、融化、病毒灭活等一系列措施制备成各种血液制品(血小板、血浆、冷沉淀等)^[1]。冷沉淀属于血浆衍生物,是新鲜冰冻血浆在低温条件下融化生成的白色沉淀物^[2]。目前常通过采用特定的提取方法制成,即将新鲜冰冻血浆(fresh frozen plasma, FFP)在(4±2)℃封闭状态融化后,进一步分离出沉淀在血浆中的冷不溶解物质,并在1 h内冻结而制成的成分血^[3]。冷沉淀在自采血之日起于-18℃以下可保存1年,37℃水浴融化后即可输注。冷沉淀凝血因子主要含有凝血因子Ⅷ(Coagulation factor Ⅷ, FⅧ)、血管性血友病因子(von Willebrand factor, VwF)、纤维蛋白原(Fibrinogen, Fib)等^[4]。临床上冷沉淀凝血因子主要用于Ⅷ因子、Ⅻ因子、纤维蛋白原缺乏症和血友病等凝血功能障碍性的疾病,同时,其在治疗创伤、烧伤和严重感染还有术后出血方面,具有良好的疗效^[5-6]。

新版《血站技术操作规程》(2019版)规定,离心法制备冷沉淀凝血因子的容量为40~50 mL,与《血站技术操作规程》(2015版)的20~30 mL比较,提高了冷沉淀凝血因子的制备容量^[7]。在临床上,冷沉淀凝血因子特别适用于难以输注大量FFP来提供充足的凝血因子的患者,以防止患者发生循环超负荷^[8]。冷沉淀凝血因子的容量影响患者的输注疗效。新版血站技术操作规程大幅提高了离心法制备冷沉淀凝血因子的容量,因此,值得探讨容量改变是否会对FⅧ和Fib含量产生影响,但目前相关研究较少。因此,本研究采用改良离心法(压沉法)与常规离心法(常规漂浮法)制备冷沉淀凝血因子,比较通过不同方法制备的冷沉淀凝血因子的FⅧ含量、Fib含量和合格率。报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 样本来源

随机抽取40(人)份于2020年11月至2020年12月在深圳市龙岗区中心血站无偿献血者符合《献血者健康检查要求》的全血(400 mL/份),并将采集的血样采用CPDA-1抗凝,储存于4℃环境,将其均分装成为200 mL全血,并于采血后17~18 h分离制备成原料血浆(Raw Plasma, RP)100 mL/

袋。随后进行标记区分:压沉法(对照组)和常规漂浮法(实验组),于-50℃血浆速冻机速冻成FFP,低于-20℃环境储存。

1.1.2 献血者资料

40名无偿献血者年龄介于20~58岁,平均年龄(37.80±8.92)岁,其中男性37名、女性3名;18名受试者为初次献血,其余22名受试者献血次数均超过2次。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 试剂

全自动凝血分析仪(STAGO-STA Compact)配套检测试剂盒:FⅧ(希森美康有限公司,批号:256488);Fib(希森美康有限公司,批号:255701)、纤维蛋白原检测试剂盒(希森美康有限公司,批号547031)。

1.2.2 仪器

4℃血液储存箱(日本SANYO公司);大容量低温离心机(德国Thermo公司);全自动血液成分分离机(德国LMB公司);多美达血浆速冻机(卢森堡Dometic公司);水浴式低温融化箱(美国Polyscience公司);医用低温箱(日本SANYO公司);电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司);全自动凝血分析仪(法国STAGO公司)。

1.3 方法

1.3.1 冷沉淀凝血因子制备

对照组:根据《血站技术操作规程》(2015版)^[9],将对照组40袋制备的FFP放入改良水浴式低温融化箱融化,至基本融化时,取出于2~6℃以离心半径31.6 cm、转速3 800 r/min离心10 min,将每袋的冷上清转移至1个新的100 mL空袋中,袋底剩余的20~30 mL血浆与冷不溶解物质混合即为冷沉淀凝血因子,并在1 h内置于-50℃血浆速冻机速冻。

实验组:根据《血站技术操作规程》(2019版)^[10],将对照组40袋FFP置于4±2℃水浴式低温融化箱中,至基本融化时,取出于2~6℃以离心半径31.6 cm、转速3 800 r/min离心10 min,将每袋的冷上清转移至1个新的100 mL空袋中,袋底剩余的40~50 mL血浆与冷不溶解物质混合即为冷沉淀凝血因子,并在1 h内置于-50℃血浆速冻机速冻。

两组制备好的冷沉淀凝血因子均储存于-20℃冰箱待用。

1.3.2 FⅧ与Fib含量测定

取同一无偿献血者以两组方法制备的冷沉淀

凝血因子,同一时间置于电热恒温水槽中完全融化后充分混匀,各留取8 mL/份的标本并立即用全自动凝血分析仪进行FⅧ和Fib含量测定。

1.4 冷沉淀凝血因子质量(合格)标准

根据《全血及成分血质量要求》GB18469-2012^[11],100 mL/袋的FFP制备得到的冷沉淀凝血因子,FⅧ≥40 IU/袋、Fib≥75 mg/袋。

1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件对数据进行处理,计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数数据以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法制备的凝血因子中FⅧ和Fib含量比较

实验组制备的凝血因子容量高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组与实验组的FⅧ含量比较差异无统计学意义($P > 0.05$);实验组Fib含量明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组凝血因子中FⅧ与Fib含量比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FⅧ and Fib contents in coagulation factors of the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	容量(mL)	FⅧ含量(IU/100 mL)	Fib含量(mg/100 mL)
对照组	40	28.91±0.41	70.55±21.16	118.03±24.18
实验组	40	46.53±1.21	67.00±20.09	144.96±25.77
t 值		85.640	2.923	14.435
P 值		0.000	0.066	0.000

2.2 两种方法制备的冷沉淀凝血因子合格率比较

两组的冷沉淀凝血因子FⅧ与Fib合格率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 两组冷沉淀凝血因子合格率比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of qualified rate of cryoprecipitate coagulation factor between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	FⅧ合格率	Fib合格率
对照组	40	37(92.50)	37(92.50)
实验组	40	37(92.50)	37(92.50)
χ^2 值		0.000	0.000
P 值		1.000	1.000

3 讨论

离心法制备冷沉淀首先要做的就是将原料新鲜冰冻血浆放在水浴箱中融化,调控水温使之维持在2~6℃,待血浆基本融化后,及时取出,离

心^[12]。因为冷沉淀对温度的要求比较高,所以离心机在离心前需要进行预温处理,保证产品的质量。离心后取出在低温料理台上用血液分浆夹把上层的大部分血浆分离出来,下层少量血浆和不易溶解的白色沉淀物即为冷沉淀。分离完成后在1 h内将冷沉淀速冻呈固态并置于-20℃以下的低温冰箱中保存备用,有效期从采血之日起为一年^[13-14]。冷沉淀中含有凝血因子Ⅷ、血管性假血友病因子、纤维蛋白原、纤维结合蛋白,因子XⅢ等,适用于儿童及成人轻型甲型血友病、血管性血友病、先天性或获得性纤维蛋白原缺乏症及因子XⅢ缺乏症病人,也用于手术后出血、严重外伤及早期弥漫性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)等病人的替代治疗^[15]。目前采供血机构比较常用的冷沉淀凝血因子制备方法是虹吸法和离心法。离心法在4℃条件下重度离心,将解冻后的FFP中的不溶物质沉淀到血袋底部,提高了冷沉淀凝血因子的制备回收率。FⅧ是冷沉淀凝血因子有效成分中不稳定的凝血因子,其含量的高低反映了制备方法的优劣。离心法制备冷沉淀凝血因子的关键因素包括FFP融化时的温度和时间、冷沉淀凝血因子的容量等^[16]。本站冷沉淀凝血因子制备采用离心法压沉法水浴方式融化FFP制备冷沉淀凝血因子,该方法通过加1个不锈钢网盖到水浴式低温融化箱,解决了其融化血浆时可能出现的部分血袋漂浮在水面上的问题,使FFP融化温度精准控制在4±2℃,缩短融化时间,该方法制备的冷沉淀凝血因子容量明显高于常规离心法。但对照组与实验组的FⅧ含量差异无统计学意义,提示不同离心方法制得的冷沉淀凝血因子容量对FⅧ含量无影响。

此外,对照组的Fib含量低于实验组,有统计学意义。欧洲输血委员会最新标准^[17]指出,冷沉淀凝血因子的容量为30~40 mL,最大容量为40 mL;去冷沉淀冰冻血浆与FFP比较,Fib含量有所下降。而且相关文献研究显示,去冷沉淀冰冻血浆中Fib含量约为FFP的31.8%(0.88 g/L; 2.77 g/L)^[18]。在冷沉淀凝血因子制备过程中,Fib未能完全与FⅧ结合成冷不溶物质,Fib游离在冷上清中,当剩余容量减少时,Fib相应减少。但两组的Fib合格率一致,均为92.5%,符合国标要求^[19](75%的抽检结果落在质量控制指标范围内,可认为血液采集和制备过程受控)。Fib是冷沉淀凝血因子有效成分中稳定的凝血因子,在Fib不足的情况下,可以联合使用

Fib的纯化浓缩物,达到减少输血量的目的。

FFP是不超过18 h将血浆从全血中分离出并在1 h内冻结而制成的成分血。本研究制备冷沉淀凝血因子所用的40袋FFP,从全血采集到成分分离后速冻成FFP时间控制在17~18 h,达到FFP的最低质量要求。本研究通过比较改良离心法(压沉法)与常规离心法(常规漂浮法)制备冷沉淀凝血因子,探讨《血站技术操作规程》(2019版)离心法制备冷沉淀凝血因子的FⅧ含量、Fib含量和合格率。最终制备的冷沉淀FⅧ与Fib合格率均符合要求,且Fib含量高于《血站技术操作规程》(2015版),值得将新版血站技术操作规程推广应用。

综上,本研究采用两种不同的方式制备冷沉淀凝血因子从而探讨《血站技术操作规程》(2019版)离心法制备冷沉淀凝血因子容量改变的可行性。结果,根据新版《血站技术操作规程》(2019版)制备的冷沉淀FⅧ与Fib合格率均符合要求,且Fib含量较高,建议采用新版血站技术操作规程制备冷沉淀。

参考文献

- [1] 吴文静. 新鲜冰冻血浆联合冷沉淀输注对急性上消化道大出血患者凝血功能及细胞免疫功能的影响[J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(3):138-141.
- [2] Cushing MM, Fitzgerald MM, Harris RM, et al. Influence of cryoprecipitate, Factor XIII, and fibrinogen concentrate on hyperfibrinolysis[J]. *Transfusion*, 2017, 7(10):2502-2510.
- [3] De Moerloose P, Schved JF, Nugent D. Rare coagulation disorders: fibrinogen, factor VII and factor XIII[J]. *Haemophilia*, 2016, 22(5):61-65.
- [4] 肖成, 徐应芳, 李江, 等. 冷沉淀凝血因子的制备及其临床应用研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(5):883-887.
- [5] Rietveld IM, Schreuder M, Reitsma PH, et al. Elevated coagulation factor levels affect the tissue factor - threshold in thrombin generation[J]. *Thromb Res*, 2018, 172(1):104-109.
- [6] Cohen CT, Turner NA, Moake JL. Production and control of coagulation proteins for factor X activation in human endothelial cells and fibroblasts[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):2005.
- [7] 吴永萍, 王进喜, 杨宇珠. 虹吸法和重离心法制备冷沉淀凝血因子的比较研究[J]. 特别健康, 2019(32):123-124.
- [8] Eramanis LM, Woodward A, Courtman N, et al. Coagulation factor activity patterns of venom-induced consumption coagulopathy in naturally occurring tiger snake (*Notechis scutatus*) envenomed dogs treated with antivenom[J]. *Toxicon*, 2020, 181(1):36-44.
- [9] 彭及良, 黄华霖, 陈菊芬, 等. 离心法采用压沉法水浴方式融化新鲜冰冻血浆制备冷沉淀质量分析[J]. 中国输血杂志, 2020, 33(5):470-472.
- [10] 国家卫生健康委员会. 血站技术操作规程(2019版)[EB/OL]. (2019-04-28)[2019-05-08]. <http://www.nhc.gov.cn/zyzj/s7658/201905/bdd4f4ccd15c4201bfb6d9e7492d7fab/files/9c6c4c3a40a64bf786f5b5d8ee08b220.pdf>
- [11] 周静宇. 全血及成分血质量要求(GB18469-2012)实施探讨[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版), 2013, 26(8):572-573.
- [12] 袁媛, 张婷, 严婧文, 等. 凝血因子Ⅱ、X活性监测肺栓塞患者华法林抗凝强度的可行性分析[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(44):3456-3460.
- [13] 任明臣, 李建伟, 蒲维薇, 等. 采后不同时间分离的血浆所制备的冷沉淀中凝血因子Ⅷ和血浆蛋白原的含量分析[J]. 疾病监测与控制, 2017, 11(11):904-905.
- [14] 毕承恩, 杨婷, 马佩琴, 等. 冷沉淀凝血因子制备技术的应用研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(1):27-29+32.
- [15] 李燕红, 王敏, 夏晓. 冷沉淀制备时间对新鲜冰冻血浆凝血因子及纤维蛋白原含量的影响[J]. 中国校医, 2020, 34(5):372-374.
- [16] 杨颜菁, 王艳清, 谢冬梅, 等. 不同原料血浆制备的冷沉淀对凝血因子Ⅷ及纤维蛋白原的影响[J]. 中国当代医药, 2019, 26(24):41-43.
- [17] Farrugia A. Storage of cryoprecipitate: Role of blood storage[J]. *Transfusion*, 2021, 61(9):2800-2801.
- [18] 吕伟琦, 虞璩, 张善驰, 等. 纤维蛋白原联合输血治疗在急性创伤性凝血病的应用价值. 中国医院药学杂志, 2020, 41(2):224-225.
- [19] 贾波, 尚晶, 齐涛, 等. 冷沉淀融化时间、混匀过程对FⅧ、Fib质量检测的影响[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(S1):153.

(上接第1687页)

- [10] 张济源, 吴明伟, 张松, 等. 神经内镜下与显微镜下经鼻蝶入路手术切除垂体腺瘤的效果研究[J]. 中国全科医学, 2020, 23(S1):155-157.
- [11] 黄进兴, 郭文龙, 胡威, 等. 神经内镜及显微镜单鼻孔蝶窦入路垂体瘤切除术的疗效对比研究[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(13):34-38.
- [12] Castao-Leon AM, Igor P, Munarriz PM, et al. Endoscopic Transnasal Trans - Sphenoidal Approach for Pituitary Adenomas: A Comparison to the Microscopic Approach Cohort by Propensity Score Analysis[J]. *Neurosurgery*, 2020, 65(1):741-744.
- [13] 周相军, 朱娜娜, 李浩. 垂体瘤患者血清IGF-1, IGFBP-3水平表达及其临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(2):280-283.
- [14] Juthani RG, Reiner AS, Patel AR, et al. Radiographic and clinical outcomes using intraoperative magnetic resonance imaging for transsphenoidal resection of pituitary adenomas[J]. *J Neurosurg*, 2020, 134(6):1-12.
- [15] 刘汉阳. 经鼻蝶神经内镜垂体瘤切除术治疗垂体瘤对激素水平及垂体功能的影响分析[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(1):61-64.

卡瑞利珠单抗联合化疗治疗晚期NSCLC患者的治疗效果

韩璐 厉锋*

[摘要] **目的** 探讨卡瑞利珠单抗联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者的治疗效果。**方法** 纳入2019年5月至2021年5月徐州市肿瘤医院接受化疗的80例晚期NSCLC患者。依照随机数表法分为试验组与对照组,各40例,对照组采用培美曲塞联合顺铂化疗,试验组联合卡瑞利珠单抗治疗,连续治疗3个化疗周期。治疗后,对比两组的临床疗效、CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、自然杀伤细胞(NK)、网织红细胞百分数(Retic%)、血小板计数(PLT)、中性粒细胞数(Neu)、降钙素原(PCT)、C反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)的变化。**结果** 试验组临床疗效总缓解率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.178, P<0.05$)。治疗后,两组细胞免疫功能指标和治疗前比较,差异有统计学意义($P<0.05$);试验组治疗后CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺及NK细胞数量均高于对照组,差异有统计学意义($t=3.456, 4.158, 2.115, 2.594; P<0.05$)。治疗后,两组的Retic%、PLT、Neu均低于治疗前;治疗后,试验组各指标结果均高于对照组,差异有统计学意义($t=5.147, 3.764, 5.641, P<0.05$)。治疗后,两组的PCT、CRP、IL-6均高于治疗前;治疗后,试验组各指标结果低于对照组,差异有统计学意义($t=9.852, 9.175, 10.562, P<0.05$)。**结论** 卡瑞利珠单抗联合化疗治疗晚期NSCLC患者的作用明显,能有效提高细胞免疫功能,改善血液指标及炎症因子的表达,临床应用价值高。

[关键词] 非小细胞肺癌;培美曲塞;顺铂;卡瑞利珠单抗;细胞免疫功能;炎症因子

Effect of carrilizumab combined with chemotherapy in patients with advanced NSCLC

HAN Lu, LI Feng*

(Department of Oncology, Xuzhou Cancer Hospital, Xuzhou, Jiangsu, China, 221000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the therapeutic effect of carrilizumab combined with chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** A total of 80 advanced NSCLC patients receiving chemotherapy in Xuzhou Tumor Hospital from May 2019 to May 2021 were included, according to random number table method, the patients were divided into the experimental group and the control group, 40 cases in each group. The control group was treated with pemetrexed combined with cisplatin, and the experimental group was treated with carrilizumab, they received 3 consecutive cycles of chemotherapy. After treatment, the clinical efficacy, the changes of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, natural killer cell (NK), reticulocyte percentage (Retic%), platelet count (PLT), neutrophil count (Neu), procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) were compared between the two groups. **Results** The total remission rate of clinical efficacy in the experimental group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.178, P<0.05$). After treatment, the cellular immune function indexes of the two groups were compared with those before treatment, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the numbers of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells in the experimental group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant

基金项目:‘六个一工程’拔尖人才科研项目(LGY2017053)

作者单位:徐州市肿瘤医院肿瘤内科,江苏,徐州 221000

*通信作者:厉锋, E-mail:3021963@qq.com

($t=3.456, 4.158, 2.115, 2.594; P<0.05$). After treatment, the Retic%, PLT, and Neu of the two groups were lower than those before treatment; after treatment, the results of each index in the experimental group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=5.147, 3.764, 5.641, P<0.05$). After treatment, the levels of PCT, CRP and IL-6 in the two groups were higher than those before treatment; after treatment, the results of each indicator in the experimental group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=9.852, 9.175, 10.562, P<0.05$). **Conclusion** Camrelizumab combined with chemotherapy has obvious effect in the treatment of advanced NSCLC patients, can effectively improve cellular immune function, improve the expression of blood indicators and inflammatory factors, and has high clinical application value.

[KEY WORDS] Non-small cell lung cancer; Pemetrexed; Cisplatin. Carrellizumab; Cellular immune function; Inflammatory cytokines

我国是肺癌的高发国家,常见的类型主要为非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC),虽然目前新的诊断及治疗技术得到了不断提高,但NSCLC的早期诊断率仍较低,大部分病人诊断时已为晚期,无法通过手术治愈,只能选择有效的化疗方案进行治疗^[1-2]。癌症患者普遍存在着免疫功能低下现象,化疗药物能进一步对细胞免疫功能造成破坏,从而导致患者抵抗力更低,不利于患者预后^[3-4]。近年来,免疫疗法在肿瘤患者化疗过程中的作用也受到较多临床关注,具有稳定机体免疫内环境、提高疗效、延长生存期等优势^[5]。卡瑞利珠单抗已被我国药品监督管理局批准上市,属于一种人源化抗程序性死亡受体(Programmed death receptor, PD-1),具有加强机体抗肿瘤免疫功能的作用^[6]。因此,本研究旨在探讨卡瑞利珠单抗联合化疗治疗晚期NSCLC患者的治疗效果,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入2019年5月至2021年5月徐州市肿瘤医院接受化疗的80例晚期NSCLC患者进行研究。纳入标准:①经检查确诊为NSCLC,临床分期Ⅲ~Ⅳ期^[7];②美国东部肿瘤协作组(Eastern Oncology Collaborative Group, ECOG)^[7]评分0~1分,经评估预计生存期>3个月;③近3个月内未使用过免疫增强剂、免疫抑制剂等药物;④化疗前血常规检查正常。排除标准:①伴有表皮生长因子受体、间变淋巴瘤激酶基因突变情况;②合并感染;③合并其他恶性肿瘤;④合并先天或者后天的细胞免疫功能障碍、免疫系统疾病;⑤合并严重肝、肾、心脑血管系统等疾病,无法耐受化疗治疗;⑥合并凝血功

能障碍、严重贫血者;⑦经评估对研究药物有应用禁忌症;⑧精神障碍。依照随机数表法分为试验组与对照组,各40例,两组一般资料情况见表1,两组基本资料差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已经由院伦理委员会批准。所有患者及家属均签署研究知情同意书。

表1 两组一般资料比较 [$n(\%),(\bar{x}\pm s)$]

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

组别	试验组 ($n=40$)	对照组 ($n=40$)	χ^2/t 值	P 值	
性别	男	23(57.50)	25(62.50)	0.208	0.648
	女	17(42.50)	15(37.50)		
年龄(岁)		63.52±8.60	64.18±6.42	0.389	0.698
病理分期	Ⅲ	27(67.59)	26(65.00)	0.056	0.813
	Ⅳ	13(32.50)	14(35.00)		
临床分型	腺癌	30(75.00)	27(67.50)	0.549	0.459
	其他	10(25.00)	13(32.50)		
ECOG评分(分)	0	13(32.50)	14(35.00)	0.056	0.813
	1	27(67.59)	26(65.00)		
侵入性操作	是	15(37.50)	14(35.00)	0.054	0.816
	否	25(62.50)	26(65.00)		
预防性使用抗生素	是	18(45.00)	20(50.00)	0.201	0.654
	否	22(55.00)	20(50.00)		
吸烟	有	31(77.50)	33(82.50)	0.313	0.576
	无	9(22.50)	7(17.50)		

1.2 方法

对照组采用培美曲塞(齐鲁制药有限公司生产,国药准字H20060672)联合顺铂(云南植物药业有限公司生产,国药准字H53021740)进行化疗,第1天给予培美曲塞500 mg/m²静脉输注,第1~3天给予顺铂25 mg/m²静脉输注治疗;试验组联合卡瑞利珠单抗(苏州盛迪亚生物医药有限公司生产,国药准字S20190027)进行治疗,仅第1天给药,静脉注射200 mg。两组的化疗周期均为21 d,连续治疗3个化疗周期。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

治疗3个周期后评价疗效,完全缓解:病灶得到完全消失,持续时间>4周;部分缓解:病灶较治疗前缩小程度≥50%,持续时间>4周;疾病稳定:病灶较治疗前缩小程度<50%,或者增大程度<25%;疾病进展:病灶较治疗前出现≥25%的增加,或出现新病灶;统计疾病缓解率,为完全缓解、部分缓解之和^[8]。

1.3.2 免疫功能

治疗前及治疗后,于无菌条件采集3 mL外周血,添加人淋巴细胞分离液,置于1 500 r/min的条件下离心处理,离心半径10 cm,提取中间层的细胞,加入对应的抗体,使用流式细胞仪(美国BD公司,FACSCalibur型)测量CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺及自然杀伤细胞(Natural killer cell,NK)细胞的表达。

1.3.3 血液指标、炎症因子

治疗前及治疗后,采集清晨空腹静脉血6 mL,采用西门子全自动血细胞分析仪测量网织红细胞百分数(Reticulocyte percentage, Retic%)、血小板计数(Platelet count, PLT)、中性粒细胞数(Neutrophil count, Neu)的表达;并采用免疫荧光法对降钙素原(Calcitonin original, PCT)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)的表达进行测定,酶联免疫吸附法测定白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)的表达,试剂盒均购于武汉优尔生商贸有限公司。

1.4 统计学方法

应用SPSS 20.0软件包进行统计学分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组内比较采用配对样本*t*检验,组间比较采用独立样本*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 两组临床疗效比较

试验组临床疗效总缓解率高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表2 两组临床疗效比较 [*n*(%)]

Table 2 Comparison of clinical efficacy between the two groups [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病进展	总缓解率
试验组	40	0(0.00)	21(52.50)	11(27.50)	8(20.00)	21(52.50)
对照组	40	0(0.00)	12(30.00)	17(42.50)	11(27.50)	12(30.00)
χ^2 值						4.178
<i>P</i> 值						0.041

2.2 两组细胞免疫功能比较

治疗后,两组细胞免疫功能指标和治疗前比较,差异有统计学意义(*P*<0.05);试验组治疗后CD₃⁺、CD₄⁺、CD₄⁺/CD₈⁺及NK细胞数量均高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表3。

2.3 两组血液指标比较

治疗后,两组的Retic%、PLT、Neu均低于治疗前;治疗后,试验组各指标结果均高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表4。

表3 两组细胞免疫功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cellular immune function between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD ₃ ⁺ (%)		CD ₄ ⁺ (%)		CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺		NK(%)	
		治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后
试验组	40	58.25±6.29	52.03±4.67 ^a	36.47±4.85	30.26±4.14 ^a	1.32±0.21	1.18±0.20 ^a	31.27±3.44	27.12±2.78 ^a
对照组	40	57.88±6.51	48.62±4.14 ^a	36.60±4.63	26.53±3.88 ^a	1.35±0.20	1.09±0.18 ^a	31.50±2.86	25.64±2.30 ^a
<i>t</i> 值		0.259	3.456	0.123	4.158	0.654	2.115	0.325	2.594
<i>P</i> 值		0.797	0.001	0.903	<0.001	0.515	0.038	0.746	0.011

注:与本组治疗前对比,^a*P*<0.05。

表4 两组血液指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	Retic%(%)		PLT(×10 ⁹ /L)		Neu(×10 ⁹ /L)	
		治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后
试验组	40	0.63±0.07	0.42±0.07 ^a	174.23±26.17	151.42±16.16 ^a	3.42±0.56	2.87±0.30 ^a
对照组	40	0.62±0.10	0.35±0.05 ^a	171.05±27.83	138.29±15.02 ^a	3.50±0.51	2.51±0.27 ^a
<i>t</i> 值		0.518	5.147	0.526	3.764	0.668	5.641
<i>P</i> 值		0.606	<0.001	0.600	<0.001	0.506	<0.001

注:与本组治疗前对比,^a*P*<0.05。

2.4 两组炎症因子指标比较

治疗后,两组的PCT、CRP、IL-6均高于治疗

前;治疗后,试验组各指标结果低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表5。

表5 两组炎症因子指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	PCT($\mu\text{g/L}$)		CRP(mg/L)		IL-6(ng/L)	
		治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后	治疗前	治疗3个周期后
试验组	40	0.24 \pm 0.05	1.22 \pm 0.14 ^a	2.42 \pm 0.68	4.05 \pm 0.74 ^a	12.83 \pm 2.51	20.82 \pm 3.17 ^a
对照组	40	0.23 \pm 0.06	1.68 \pm 0.26 ^a	2.47 \pm 0.61	6.22 \pm 1.30 ^a	13.02 \pm 2.26	27.46 \pm 2.40 ^a
t值		0.810	9.852	0.346	9.175	0.356	10.562
P值		0.421	<0.001	0.730	<0.001	0.723	<0.001

注:与本组治疗前对比,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

NSCLC在肺癌中的比例占有80%左右,具有发病率高、病程短、患者预后差等特点,且通常难以早期及时的发现病灶,以至于较多患者在就诊时已错过了根治性手术的最佳时机,需接受化疗以延长总体生存期、提高患者的生活质量^[9-10]。临床针对NSCLC患者的治疗主要采取以铂类药物为基础的化疗方案,有助于抑制肿瘤进展,但有较多报道中也发现,化疗药物在杀伤肿瘤细胞期间,也容易对机体正常细胞产生毒性作用,致使机体抵抗力降低,而抵抗能力的降低也会导致机体更易于受到肿瘤细胞的侵袭,不利于患者病情的早期恢复,在一定程度上也增加了临床治疗难度^[11]。

近年来,各类免疫制剂在肿瘤患者的治疗中也不断兴起,也有较多PD-1药物获批应用于临床,并体现出疗效持久、不良反应少等特点^[12]。卡瑞利珠单抗是我国自主研发的一种PD-1药物,其作为PD-1阻断剂,给药后能够和人PD-1受体相互结合,并对PD-1/PD-L1通路进行阻断,从而产生一种肿瘤免疫治疗的基础,该药物目前也逐渐在一些恶性肿瘤患者中开展临床试验。有研究称,卡瑞利珠单抗联合化疗能明显提高胃癌患者的疗效,并积极提高生活质量^[13]。Qin S等^[14]一项多中心、开放性试验中发现,晚期肝细胞癌应用卡瑞利珠单抗后,疾病客观缓解率较高,6个月总生存率高达74.4%,体现出较好的抗肿瘤活性,同时在副反应反应也具有可控性。也有实验将卡瑞利珠单抗应用于晚期NSCLC患者的治疗,研究显示近期的客观有效率、疾病控制率分别为50.0%、72.5%,证实疗效可靠^[15]。

本研究结果发现,试验组的临床疗效总缓解率和对对照组相比更高,结果和吴克林等^[16]研究具有相

似性。同时本研究也显示,两组患者治疗后CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK细胞数量、Retic%、PLT、Neu均出现降低,而PCT、CRP、IL-6升高,表明化疗对机体的免疫功能、血液系统等均会产生一定毒性作用,然而试验组上述指标的变化幅度较对照组相比更小,主要原因是由于,卡瑞利珠单抗可通过和PD-1进行靶向结合,对PD-1通路所介导的T细胞免疫抑制效应起到阻断作用,重建免疫系统功能,同时在提高机体免疫功能后,能够加强机体抗病能力,从而提高机体的抗肿瘤功能,更好的对病情进展起到抑制作用。因此笔者建议,今后在NSCLC患者化疗期间,可根据患者自身情况合理应用卡瑞利珠单抗配合化疗,有助于避免化疗所导致的免疫功能降低等情况,积极改善患者治疗结局。但本研究也有一些缺点,例如未观察长期应用卡瑞利珠单抗对患者生存期方面的影响等,也有待开展更高质量的试验。

综上所述,卡瑞利珠单抗联合化疗治疗晚期NSCLC患者的作用明显,能有效提高细胞免疫功能,改善血液指标及炎症因子的表达,临床应用价值高。

参考文献

- [1] Ernani V, Stinchcombe TE. Management of Brain Metastases in Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. J Oncol Pract, 2019, 15(11):563-570.
- [2] Nagano T, Tachihara M, Nishimura Y. Molecular Mechanisms and Targeted Therapies Including Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2019, 19(8):595-630.
- [3] Atkins S, He F. Chemotherapy and Beyond: Infections in the Era of Old and New Treatments for Hematologic Malignancies[J]. Infect Dis Clin North Am, 2019, 33(2):289-309.
- [4] 苏静静, 乐凌云, 田炳如, 等. 老年非小细胞肺癌患者放疗医院感染病原菌与影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(4):550-553. (下转第1700页)

参苓白术散合藿香正气散在糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱中的应用

张玉花 王立君* 朱晓琳 白玉婷 宁静 董大文

【摘要】 **目的** 探讨参苓白术散合藿香正气散对糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱患者神经肽S受体-1(NPSR1)、胃泌素(GAS)、降钙素基因相关肽(CGRP)的影响。**方法** 选2019年4月至2020年5月在武威市中医院接受治疗的糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱患者86例,随机分为观察组(43例)、对照组(43例)。两组均予降糖药物等常规治疗,观察组添加参苓白术散合藿香正气散治疗。比较两组血清NPSR1、GAS及CGRP水平,中医症状积分,肠道菌群变化情况,胃动力参数及临床疗效。**结果** 治疗前,两组NPSR1、GAS及CGRP水平比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);治疗后,观察组与血清CGRP水平显著低于对照组,而血清NPSR1、GAS水平显著高于对照组,差异有统计学意义($t=4.423, 4.152, -5.564, P<0.05$)。治疗前两组中医症状积分比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);治疗后两组评分均降低,且观察组各评分显著低于对照组,差异有统计学意义($t=-14.688, -4.631, -16.399, -11.447, -11.037, -22.381, P<0.05$)。治疗前两组菌群比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);治疗后两组菌群均升高,且观察组各菌群显著高于对照组,差异有统计学意义($t=7.334, 7.601, 6.917, 8.330, 11.078, P<0.05$)。治疗前两组胃动力参数比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);治疗后观察组餐后LEP、餐前LEP、MTL、排空速率显著高于对照组,CRH、2h留存率显著低于对照组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。观察组总有效率(95.35%)显著高于对照组(72.09%),差异有统计学意义($\chi^2=8.532, P<0.05$)。**结论** 参苓白术散合藿香正气散治疗糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱可通过调节NPSR1、GAS及CGRP等胃肠激素水平、肠道菌群及胃肠动力,显著改善患者临床症状,具有较好疗效。

【关键词】 参苓白术散; 藿香正气散; 寒湿泄泻胃肠功能紊乱; 糖尿病

Application of Shenling Baizhu powder and Huoxiang Zhengqi powder in the treatment of diabetes complicated with cold dampness diarrhea gastrointestinal dysfunction

ZHANG Yuhua, WANG Lijun*, ZHU Xiaolin, BAI Yuting, NING Jing, DONG Dawen

(Department of Endocrinology, Wuwei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuwei, Gansu, China, 733000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the effects of Shen Ling Baizhu powder and Herba Xiang Xiang Zheng Qi San on neuropeptide S receptor -1 (NPSR1), gastrin (GAS) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in patients with diabetes mellitus complicated with cold and damp diarrhea. **Methods** 86 patients with diabetes combined with cold and damp diarrhea type gastrointestinal dysfunction who received treatment from April 2019 to May 2020 were selected and randomly divided into the observation group and the control group, 43 cases each. Both groups were given routine treatment, and the observation group was added with Shenling Baizhu Powder and Huoxiang Zhengqi Powder. Serum NPSR1, GAS and CGRP levels, TCM symptom scores, intestinal flora changes, gastric motility parameters and clinical efficacy were compared between the two groups. **Results** Before treatment, there was no significant difference in the levels of NPSR1, GAS and CGRP between the two groups ($P>0.05$). After treatment, the level of CGRP in the observation

基金项目:甘肃省中医药科研课题(GZKP-2020-42)

作者单位:武威市中医院内分泌科,甘肃,武威733000

*通信作者:王立君, E-mail: 34722445@qq.com

group was lower than that in the control group, while the levels of NPSR1 and GAS were higher than those in the control group ($t=4.423, 4.152, -5.564, P<0.05$). Before treatment, there was no significant difference in TCM symptom scores between the two groups ($P>0.05$). After treatment, the scores of both groups were decreased, and the scores of the observation group were significantly lower than those of the control group ($t=-14.688, -4.631, -16.399, -11.447, -11.037, -22.381, P<0.05$). There was no significant difference in the flora between the two groups before treatment ($P>0.05$). After treatment, the flora of both groups increased, and the flora of the observation group was significantly higher than that of the control group ($t=7.334, 7.601, 6.917, 8.330, 11.078, P<0.05$). There was no significant difference in gastric motility parameters between the two groups before treatment ($P>0.05$). After treatment, the postprandial LEP, pre prandial LEP, MTL and emptying rate in the observation group were higher than those in the control group, while the CRH and 2h retention rate in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$). The total effective rate in the observation group (95.35%) was significantly higher than that in the control group (72.09%) ($\chi^2=8.532, P<0.05$). **Conclusion** Shenling Baizhu Powder and Huoxiang Zhengqi Powder in the treatment of gastrointestinal dysfunction of diabetes mellitus complicated with cold-damp diarrhea can significantly improve the clinical symptoms of patients by regulating the levels of gastrointestinal hormones such as NPRSI, GAS and CGRP, intestinal flora and gastrointestinal motility.

[KEY WORDS] Shenling Baizhu powder; Huoxiang Zhengqi powder; Diarrhea of cold dampness and gastrointestinal dysfunction; Diabetes

根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计,糖尿病并发症可达100余种^[1-3]。胃肠功能紊乱是糖尿病常见合并症,中医辨证分型将其分为脾胃虚弱型、湿阻中焦型、寒湿内盛型等多种症型。湿困脾胃、蕴阻中焦等是寒湿泄泻型胃肠功能紊乱典型特征。西医常选缓解症状、营养支持等方式治疗寒湿泄泻型胃肠功能紊乱,但其复发率较高^[4-6]。中医多从调理角度治疗该病,参苓白术散可益气和中,健脾养胃,藿香正气散可理气和中、解表化湿。本研究选取86例糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱患者,运用上述两种方剂进行治疗,并探讨其作用机制。研究如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年4月至2020年5月在武威市中医医院接受治疗的糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱患者86例作为研究对象。采用随机数字表法将其分为观察组(43例)、对照组(43例)。其中观察组男21例,女22例;年龄(62.37 ± 13.42)岁;病程(4.25 ± 1.87)年;腹围平均(95.42 ± 8.41)cm;空腹胰岛素(Fasting insulin, Fins)(18.97 ± 3.97)mIU/L;空腹血糖(Fasting blood glucose, Fbg)(9.84 ± 1.18)mmol/L。对照组男20例,女23例;年龄(62.89 ± 13.97)岁;病程(4.01 ± 2.12)年;腹围(95.42 ± 8.91)cm; Fins(18.97 ± 4.04)mIU/L; Fbg(9.84 ± 1.21)mmol/L。两

组一般资料无显著差异($P>0.05$)。纳入标准:①糖尿参照2010年版《中国2型糖尿病防治指南》相关标准^[7],胃肠功能紊乱西医依据《功能性胃肠病罗马IV诊断标准》^[8],中医依据《中药新药临床研究指导原则》^[9]。②胰岛细胞自身抗体、谷氨酸脱羧酶抗体均为阴性。③患者治疗前4周内未服用双胍类等常规治疗药物。排除标准:①合并消化道恶性肿瘤、溃疡等器质性病变。②长期使用免疫调节药物、糖皮质激素。③患者具有胃肠手术史。④I型糖尿病。⑤心肾功能不全。⑥对本次研究药物过敏。本研究已通过院伦理委员会批准同意,研究对象均已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

两组患者给予运动干预、饮食控制、药物降糖,与地衣芽孢杆菌活菌胶囊(国药准字S20083112规格:0.25g)治疗,0.5g/次,3次/d,治疗8周。观察组同时用参苓白术散+藿香正气散治疗。参苓白术散:茯苓、人参、白术、山药15g,薏苡仁、莲子肉、桔梗、砂仁、甘草10g。4倍体积水浸泡2h,煎2次,30min/次。滤渣,60℃水浴浓缩(1g/mL),每袋50mL,3次/d。藿香正气散:藿香、白术15g,茯苓18g,紫苏、白芷、大腹皮、陈皮、厚朴、姜半夏、桔梗10g,甘草6g,生姜3片及大枣3枚。水煎服,1剂/d,分2次服用,上述治疗均连续8周。

1.2.2 血清指标、胃动力指标及肠道菌群培养

血清指标:采集患者 10 mL 空腹静脉血, 3 000 r/min 离心 10 min(半径 13 cm)。运用酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay ELISA)测血清降钙基因相关肽(Calcitonin gene related peptide CGRP)及神经肽 S 受体-1(Neuropeptide S receptor-1 NPSR1)水平。试剂盒购自上海欣奥盛生物科技,操作需严格按照说明书进行。化学发光法测血清胃泌素(gastrin GAS)水平,试剂盒购自基蛋生物科技股份有限公司。

胃动力指标:ELISA 法测血浆胃动素(Motilin, MTL)、餐后与餐前瘦素(leptin, LEP)。运用放射免疫法测定促肾上腺皮质激素释放激素(Corticotropin releasing hormone, CRH)。核素排空法测排空速率、留存率。

肠道菌群培养:治疗前后嘱咐患者采集清晨空腹粪便排泄物。Realtime PCR 技术测样本,荧光定量法测定 16S 基因,全部样品重复测量 3 次。

1.3 观察指标与指标判定

观察指标:记录治疗前、后两组 NPSR1、GAS 及 CGRP 水平、肠道菌群变化情况、中医症状积分、胃动力参数,比较两组临床疗效。中医症状评分评分,各症状依据重、中、轻、无分别计为 6、4、2、0 分,各症状得分之和为症状总评分。通过公式治疗前后总评分之差/治疗前总评分^a100%,计算出疗效指数^[10]。

疗效判定^[10]:依据症状改善程度进行疗效判定,症状完全或基本消失,疗效指数超过 95%代表痊愈;症状有所改善,疗效指数<70%<90%代表有效;症状无改善或加重,疗效指数低于 30%代表无效。

1.4 统计分析

采用 SPASS 22.0 作为统计分析软件;计量资料运用($\bar{x} \pm s$)表示,行 *t* 检验;计数资料运用 *n*(%)表示,行 χ^2 检验;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后两组血清 NPSR1、GAS 及 CGRP 水平比较

治疗前,两组 NPSR1、GAS 及 CGRP 水平比较,差异无统计学意义(*P*均>0.05)。治疗后,观察组 CGRP 水平显著低于对照组,NPSR1、GAS 水平显著高于对照组,差异有统计学意义(*P*均<0.05)。见表 1。

表 1 治疗前后两组血清 NPSR1、GAS 及 CGRP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum npsr1, gas and CGRP levels between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	<i>n</i>	NPSR1 (pg/mL)	GAS (mmol/L)	CGRP (pg/mL)
治疗前	观察组	43	76.24±12.35	41.34±9.42	120.37±11.37
	对照组	43	76.31±12.71	41.83±9.76	120.49±11.59
	<i>t</i> 值		-0.026	0.802	-0.048
	<i>P</i> 值		0.979	0.813	0.961
治疗后	观察组	43	128.24±12.35 ^a	74.25±12.37 ^a	84.03±13.45 ^a
	对照组	43	103.45±9.34 ^a	60.13±9.73 ^a	108.34±14.38 ^a
	<i>t</i> 值		4.423	4.152	-5.564
	<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001

注:与治疗前比较^a*P*<0.05。

2.2 治疗前后两组中医症状积分比较

治疗前两组中医症状积分比较,差异无统计学意义(*P*均>0.05),治疗后两组评分均降低,且观察组各评分显著低于对照组,差异有统计学意义(*P*均<0.05)。见表 2。

2.3 治疗前后两组肠道菌群比较

治疗前两组菌群比较,差异无统计学意义(*P*均>0.05)。治疗后两组菌群均升高,且观察组各菌群显著高于对照组,差异有统计学意义(*P*均<0.05)。见表 3。

2.4 治疗前后两组胃动力参数比较

治疗前两组胃动力参数比较,差异无统计学意义(*P*均>0.05)。治疗后观察组餐后 LEP、餐前

表 2 治疗前后两组中医症状积分比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

时间	组别	<i>n</i>	腹泻	腹胀	腹痛	泛酸嗝气	倦怠乏力	恶心呕吐	总评分
治疗前	观察组	43	4.24±1.21	3.58±1.24	4.21±0.05	3.46±0.45	4.25±0.42	5.12±0.24	22.61±2.66
	对照组	43	4.32±1.05	3.74±1.45	4.23±0.06	3.55±0.58	4.31±0.48	5.19±0.34	24.94±3.33
	<i>t</i> 值		-0.327	-0.550	-0.171	-0.803	-0.617	-1.104	0.064
	<i>P</i> 值		0.744	0.584	0.091	0.424	0.539	0.273	0.949
治疗后	观察组	43	1.04±0.34 ^a	0.94±0.06 ^a	1.09±0.34 ^a	0.84±0.04 ^a	1.25±0.43	0.94±0.05 ^a	6.41±0.86 ^a
	对照组	43	2.94±1.01 ^a	1.23±1.12 ^a	2.83±0.74 ^a	2.13±0.93 ^a	2.45±0.97	3.42±0.24 ^a	14.92±3.45 ^a
	<i>t</i> 值		-14.688	-4.631	-16.399	-11.447	-11.037	-22.381	-14.577
	<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

注:与治疗前比较^a*P*<0.05。

表3 治疗前后两组肠道菌群比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

时间	组别	n	双歧杆菌(IgCUF/g)	大肠杆菌(IgCUF/g)	后壁幽门菌(IgCUF/g)	乳酸杆菌(IgCUF/g)	柔嫩梭菌属(IgCUF/g)
治疗前	观察组	43	1.35±0.68	1.32±0.35	1.28±0.54	2.38±0.81	2.56±1.32
	对照组	43	1.46±0.74	1.46±0.56	1.35±0.61	2.54±0.91	2.67±1.52
	t值		-0.718	-1.389	-0.563	-0.861	-0.538
	P值		0.475	0.169	0.575	0.392	0.721
治疗后	观察组	43	5.38±0.84 ^a	4.96±1.03 ^a	5.32±0.94 ^a	5.38±0.35 ^a	9.67±1.34 ^a
	对照组	43	3.97±0.94 ^a	3.32±0.97 ^a	4.25±0.38 ^a	4.34±0.74 ^a	6.54±1.28 ^a
	t值		7.334	7.601	6.917	8.330	11.078
	P值		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

注:与治疗前比较^aP<0.05。

LEP、MTL、排空速率显著高于对照组,CRH、2h留存率显著低于对照组,差异有统计学意义(P均<0.05)。见表4。

2.5 治疗后两组临床疗效比较

观察组总有效率显著高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表5。

表4 治疗前后两组胃动力参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of gastric motility parameters between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	n	餐后LEP(μg/mL)	餐前LEP(μg/mL)	CRH(μg/mL)	MTL(ug/mL)	排空速率(%/min)	2h留存率(%)
治疗前	观察组	43	12.38±1.24	6.35±1.24	15.68±1.39	74.38±5.67	0.31±0.05	47.58±5.87
	对照组	43	12.84±1.37	6.58±1.34	15.83±1.58	74.49±5.98	0.34±0.04	47.67±6.01
	t值		-1.632	-0.826	0.156	0.088	-0.070	-0.070
	P值		0.106	0.411	0.877	0.930	0.944	0.944
治疗后	观察组	43	20.15±2.57 ^a	11.36±5.31 ^a	6.35±1.05 ^a	184.35±10.35 ^a	0.64±0.09 ^a	30.41±2.46 ^a
	对照组	43	16.39±3.46 ^a	8.68±6.31 ^a	10.35±1.38 ^a	124.69±11.38 ^a	0.49±0.04 ^a	38.69±3.57 ^a
	t值		5.721	2.131	-15.121	25.431	9.987	-12.522
	P值		0.001	0.036	0.001	0.001	0.001	0.001

注:与治疗前比较^aP<0.05。

表5 治疗后两组临床疗效比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of clinical efficacy between the two groups after treatment [n(%)]

组别	n	痊愈	有效	无效	总有效率
观察组	43	29(67.44)	12(27.91)	2(4.65)	41(95.35)
对照组	43	18(41.86)	13(30.23)	12(27.91)	31(72.09)
χ ² 值					8.532
P值					0.003

3 讨论

胃肠功能紊乱是2型糖尿病常见合并症,研究表明70%左右的糖尿病患者均有一定程度的胃肠功能紊乱症状^[11]。当机体外感寒湿、风寒之邪,或饮食所伤内犯肠胃,或脾肾阳虚而虚寒内生,造成脾胃运化失司,便发为泄泻。因该病为内外寒湿所致,因此中医辨证分型将其归为寒湿泄泻。对于糖尿病合并寒湿泄泻胃肠功能紊乱,中医主要以健脾和胃、降逆止呕、造湿化中等为治疗原则。

研究表明,糖尿病胃肠功能紊乱与胃肠激素水平异常存在密切关系^[12]。CGRP具有保护胃肠功能

及血管内皮细胞等作用。NPRSI分泌异常可导致胃肠功能紊乱。GAS可刺激胃粘膜生长、调节胃酸分泌。本研究结果显示,治疗后观察组NPRSI与GAS显著高于对照组,而CGRP显著低于对照组。

微生物学研究发现,糖尿病与肠道菌群数量有一定相关性^[13]。血糖偏高时,肠道中乳酸杆菌、双歧杆菌等有益菌会降低,血糖降低时,肠道有益菌的数量会增加。菌群数量及比例改变在糖尿病胃肠功能紊乱中扮演重要角色。本研究结果显示,观察组治疗后乳酸杆菌、柔嫩梭菌属等有益菌均显著升高。

LEP、CRH及MTL均属胃肠激素,LEP消化期可启动胃肠运动,因此LEP对增强餐后胃肠消化具有积极作用。CRH可促进胃排空,MTL可通过神经内分泌,兴奋平滑肌,消化期间增强肠胃移行性复合运动。本研究结果表明,治疗后观察组LEP与MTL显著升高,同时观察组排空速率高于对照组,而留存率低于对照组。

本研究中,观察组通过调节胃肠激素水平,肠道

菌群及胃肠运动,显著改善其中医临床症状,取得较好临床疗效。原因可能为参苓白术散有补气健脾、理气健脾,和中止泄、化解湿浊,渗水利湿等功效^[14-15]。藿香正气散可辛散风寒、除湿、燥湿和胃、降逆止呕。因此参苓白术散与藿香正气散二方配合,可解除肠道痉挛,调节肠道菌群及胃肠激素水平,提高机体免疫力,促进受损胃肠动力,达到止泻作用。

综上所述,参苓白术散合藿香正气散治疗糖尿病合并寒湿泄泻型胃肠功能紊乱可通过调节 NPRSI、GAS 及 CGRP 等胃肠激素水平、肠道菌群及胃肠动力,显著改善患者临床症状,具有较好疗效。

参考文献

[1] 汤步阳,黄莹芝,胡恒贵,等. CP、Hcy 及 25(OH)D3 在糖尿病周围神经病变中的变化及意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(5):816-819.

[2] Liu L, Yuan X, Yang L, et al. Effect of acupuncture on hormone level in patients with gastrointestinal dysfunction after general anesthesia: A study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(14):19610.

[3] Tsai SF, Chen CH. Management of Diabetes Mellitus in Normal Renal Function, Renal Dysfunction and Renal Transplant Recipients, Focusing on Glucagon-Like Peptide-1 Agonist: A Review Based upon Current Evidence [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13):3152.

[4] Johnson ML, Saffrey MJ, Taylor VJ. Gastrointestinal capacity, gut hormones and appetite change during rat pregnancy and lactation[J]. *Reproduction*, 2019, 157(5):431-443.

[5] 刘绪和,梁冰. 氟哌噻吨美利曲辛治疗老年糖尿病性胃肠

功能紊乱伴焦虑抑郁病人的效果观察[J]. 蚌埠医学院学报, 2019, 44(4):449-451.

[6] 赵玉洁,曹志群. 参苓白术散联合匹维溴铵片治疗腹泻型肠易激综合征的临床疗效及安全性评价[J]. 世界中医药, 2019, 14(5):1278-1281.

[7] 暴旭广,王忠伟,何彦,等. 2型糖尿病和糖尿病肾病状态下肠道菌群失衡模式研究[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(6):469-478.

[8] 方秀才. 中国功能性胃肠病规范化诊治的特殊性[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28(4):361-364.

[9] 黄超,李海龙,张川,等. 指南临床适用性评价实证研究:以糖尿病指南临床适用性评价为例[J]. 中国循证医学杂志, 2020, 20(5):536-542.

[10] 韩洁,孙茜,张伟,等. 莫沙必利联合阿格列汀对 2 型糖尿病合并胃肠功能紊乱的疗效[J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(9):1217-1220.

[11] 刘冬燕,杨静. 糖尿病大鼠胃肠功能紊乱时胃肠道的超微结构变化及其发病机制研究[J]. 医学临床研究, 2020, 37(6):860-862.

[12] 叶青,苏海周,黄亚莲. 枳术宽中胶囊联合莫沙必利治疗糖尿病胃轻瘫的疗效及其对胃肠激素的影响[J]. 药物评价研究, 2021, 44(4):785-788.

[13] 樊妞,贾萌,张锡友. 2型糖尿病合并尿路感染患者病原菌分布情况及耐药性分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(1):128-130.

[14] 王彦芳,韩晓春,王媛,等. 参苓白术散对脾虚水湿不化模型大鼠健脾功效的研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1):60-63.

[15] 谢燕东,张静瑜,樊晴伶,等. 参苓白术散联合复方谷氨酰胺肠溶胶囊对肠易激综合征患者的肠黏膜屏障功能及 5-HT、IFN- γ 、IL-8 水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(22):4269-4272.

(上接第 1695 页)

[5] 温少迪,沈波. 非小细胞肺癌免疫治疗作用机制及临床研究现状[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(11):1739-1746.

[6] Markham A, Keam SJ. Camrelizumab: First Global Approval [J]. *Drugs*, 2019, 79(12):1355-1361.

[7] 支修益,石远凯,于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1):67-78.

[8] 杨学宁,吴一龙. 实体瘤治疗疗效评价标准——RECIST [J]. 循证医学, 2004, 4(2):85-90+111.

[9] 汪育锦,黄静宇,胡卫东,等. 2403 例肺癌临床流行病学分析[J]. 国际肿瘤学杂志, 2019, 46(8):460-465.

[10] 王思斯,陈明,孙哲,等. 非小细胞肺癌生存预测列线图的构建与验证[J]. 实用肿瘤杂志, 2020, 35(4):327-335.

[11] 戴丽,王小华,杨万春,等. 贝伐珠单抗联合 TP 化疗方案对晚期非鳞癌非小细胞肺癌患者免疫功能、生活质量和血清肿瘤标志物的影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(11):2174-2178.

[12] 田季平,张剑,周金培,等. 免疫检查点 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(1):1-10.

[13] 张莲花,税明才,唐国英. 卡瑞利珠单抗联合化疗方案治疗晚期胃癌的临床研究[J]. 药物评价研究, 2021, 44(7):1502-1507.

[14] Qin S, Ren Z, Meng Z, et al. Camrelizumab in patients with previously treated advanced hepatocellular carcinoma: a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(4):571-580.

[15] 顾宁宁,宋振鑫,王红梅,等. 卡瑞利珠单抗联合白蛋白结合型紫杉醇三线及以上方案治疗晚期非小细胞肺癌患者的临床疗效及其预后的影响因素研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2021, 29(6):22-27+33.

[16] 吴克林,吴天英,许海. 卡瑞利珠单抗联合化疗对老年非小细胞肺癌患者血清细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1、基质金属蛋白酶 9 表达及肿瘤生长转移的影响[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(20):2830-2833.

血清 Nrf2、HO-1 水平与胆汁淤积性肝病患者治疗应答的关系

罗振华 罗鲜樟 张杰峰 卿舟*

[摘要] **目的** 探究血清核因子E2相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶-1(HO-1)水平变化与胆汁淤积性肝病患者治疗应答的关系。**方法** 选择2019年2月至2020年10月重庆大学附属肿瘤医院收治的98例胆汁淤积性肝病患者及50例健康者纳入肝病组、对照组。肝病组患者给予常规治疗,根据治疗效果分为应答良好组及应答不良组。比较肝病组及对照组、肝病组治疗前后、应答良好组及应答不良组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)及血清Nrf2、HO-1水平差异,采用Logistic回归分析治疗应答效果的影响因素。**结果** 肝病组患者ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL等肝功能指标及血清Nrf2、HO-1均显著高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。肝病组治疗后ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL等肝功能指标降低,血清Nrf2、HO-1水平升高($P<0.05$)。肝病组治疗应答不良率为33.67%,应答良好组治疗前及治疗后ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL水平低于应答不良组,血清Nrf2、HO-1水平高于应答不良组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Logistic多因素分析显示,病理分期、治疗前AST、TBIL、DBIL、ALP、Nrf2、HO-1水平是影响治疗应答的独立相关因素($P<0.05$)。**结论** 血清Nrf2、HO-1水平与胆汁淤积性肝病患者治疗应答效果相关,检测其水平可为临床治疗提供参考。

[关键词] 核因子E2相关因子2; 血红素加氧酶-1; 胆汁淤积性肝病

Relationship between serum Nrf2 and HO-1 levels and treatment response in patients with cholestatic liver disease

LUO Zhenhua, LUO Xianzhang, ZHANG Jiefeng, QING Zhou*

(Department of Hepatobiliary and Pancreatic Tumor Center, Cancer Hospital Affiliated to Chongqing University, Chongqing, China, 400030)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) levels and treatment response in patients with cholestatic liver disease. **Methods** A total of 98 patients with cholestatic liver disease (liver disease group) admitted to Cancer Hospital Affiliated to Chongqing University from February 2019 to October 2020, and 50 healthy individuals (control group) were selected. Patients in liver disease group were given conventional treatment. According to the therapeutic effect, the patients were divided into the good response group and the poor response group. The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL), serum Nrf2 and HO-1 were compared between the groups. Logistic regression analysis was performed to analyze the influencing factors of treatment response. **Results** The levels of ALT, ASL, ALP, TBIL, DBIL, serum Nrf2 and HO-1 in the liver disease group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). After treatment, the levels of ALT, ASL, ALP, TBIL and DBIL were reduced, serum Nrf2 and HO-1 levels were increased in liver disease group ($P<0.05$). The poor response rate in liver disease group was 33.67%. The levels of ALT, ASL, ALP, TBIL and DBIL in the good response

基金项目:重庆市自然科学基金面上项目(cstc2019jcyj-msxmX0412)

作者单位:重庆大学附属肿瘤医院肝胆胰肿瘤中心,重庆 400030

*通信作者:卿舟, E-mail: Luckme0516@vip.163.com

group were lower than those in the poor response group before and after treatment, while serum Nrf2 and HO-1 levels were higher than those in the poor response group ($P < 0.05$). Multivariate Logistic analysis showed that pathological stage, the levels of ALT, ASL, ALP, TBIL, DBIL, serum Nrf2 and HO-1 before treatment were independent factors affecting treatment response ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum Nrf2 and HO-1 levels are related to the response to treatment in patients with cholestatic liver disease. The detection of their levels can provide a reference for clinical treatment.

[KEY WORDS] Nuclear factor E2 related factor 2; Heme oxygenase-1; Cholestatic liver disease

胆汁淤积是肝内、肝外多种病因及机制导致胆汁排出障碍,胆汁不能正常流入十二指肠而流入血液产生的病理状态,临床主要表现为黄疸、乏力等症状^[1]。目前胆汁淤积性肝病治疗以熊去氧胆酸、还原性谷胱甘肽等为主,但仍有部分患者在缓解胆汁淤积状态方面不敏感,早期评估胆汁淤积性肝病患者的治疗反应性对于远期治疗方案的调整有一定临床意义^[2-3]。目前认为,胆汁淤积诱导的氧化应激在肝损伤过程中发挥重要作用。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 是调控细胞氧化损伤的转录因子,当细胞受到氧化损伤时, Nrf2 可进入细胞核与抗氧化反应原件结合,诱导下游血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 等抗氧化物酶的表达,从而达到抗氧化、抗炎的作用^[4-5]。当前已有部分研究探讨了胆汁淤积性肝损伤与 Nrf2、HO-1 等指标的关系,但指标是否与胆汁淤积性肝病患者临床治疗效果有一定关系有待研究探讨。本研究比较了正常人群及胆汁淤积性肝病患者的 Nrf2 和 HO-1 水平差异,并分析胆汁淤积性肝病患者治疗前后 Nrf2 和 HO-1 水平变化,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2019 年 2 月至 2020 年 10 月重庆大学附属肿瘤医院收治的 98 例肝内胆汁淤积性肝病患者纳入肝病组,纳入标准:年龄 ≥ 18 岁;符合《胆汁淤积性肝病诊断与治疗指南》^[6] 相关诊断标准,碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 超过正常上限 1.5 倍, γ -谷氨酰基转移酶 (γ -glutamyltranspeptidase, GGT) 超过正常值 3 倍,影像学检查排除肝外梗阻性疾病。排除标准:合并恶性肿瘤者;存在肝脏功能衰竭患者;妊娠期、哺乳期妇女。另择同期于本院查体的 50 例健康者作为对照组,对照组患者无肝病病史,经体格检查、生化检查、免疫学检查及影像学检查均无异常。

肝病组患者男性 32 例,女性 66 例,平均年龄 (50.14 \pm 8.56) 岁。对照组男性 19 例,女性 31 例,平

均年龄 (50.78 \pm 9.22) 岁。两组受试者性别组成、年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

治疗方法:肝病组患者入院后进行及时治疗,给予熊去氧胆酸、还原型谷胱甘肽、复方甘草酸苷注射液静脉滴注,每日 1 次。治疗疗效评价:参考巴塞罗那标准^[7],治疗 1 年后 ALP 水平较治疗前下降超过 40% 或降至正常为应答良好,据此将肝病组分为应答良好组和应答不良组。

血清学检查:对照组受试者查体当日进行检查,肝病组患者在入院时、治疗 3 个月后进行检查,检查当日采集外周静脉血 5 mL,以 3 500 r/min (离心半径 8.5 cm) 的速度离心 10 min,分离血清,保存备用。采用日立全自动生化分析仪检测丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL)、直接胆红素 (direct bilirubin, DBIL) 等生化指标,采用酶联免疫吸附法检测血清 Nrf2、HO-1 水平,试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司,实验操作严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析,符合正态分布的资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较行独立样本 t 检验,采用 Logistic 回归分析影响治疗应答的相关因素,先进行变量的多重共线性检验,再分别进行单因素及多因素回归,以 $P < 0.05$ 表示差异具统计学意义。

2 结果

2.1 肝病组、对照组患者临床生化指标比较

肝病组患者 ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL 等肝功能指标及血清 Nrf2、HO-1 均显著高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表1 肝病组、对照组患者临床生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of clinical biochemical indexes between liver disease group and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT(U/L)	ASL(U/L)	ALP(U/L)	TBIL(mg/dL)	DBIL(mg/dL)	Nrf2(U/L)	HO-1(U/L)
肝病组	98	85.63±25.85	94.15±20.26	256.35±74.15	45.27±10.74	15.15±4.28	458.59±105.42	16.07±3.52
对照组	50	17.45±5.26	22.85±5.63	74.15±15.28	14.14±3.56	3.01±0.74	166.52±30.71	10.71±2.41
t值		18.427	24.372	17.163	19.916	19.874	19.152	9.557
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 治疗前后血清 Nrf2、HO-1 水平变化情况

治疗后 ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL 等肝功能指标显著降低,血清 Nrf2、HO-1 水平均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 不同治疗效果患者治疗前后血清 Nrf2、HO-1 水平变化情况

根据巴塞罗那标准进行疗效评价,应答良好

者 65 例,应答不良者 33 例,应答不良率为 33.67%。应答良好组及应答不良组治疗前后血清 ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL、Nrf2、HO-1 水平比较差异具统计学意义($P<0.05$),应答良好组治疗前及治疗后 ALT、ASL、ALP、TBIL、DBIL 水平低于应答不良组,血清 Nrf2、HO-1 水平高于应答不良组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表2 治疗前后血清 Nrf2、HO-1 水平变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes in serum Nrf2 and HO-1 levels before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT(U/L)	ASL(U/L)	ALP(U/L)	TBIL(mg/dL)	DBIL(mg/dL)	Nrf2(U/L)	HO-1(U/L)
治疗前	98	85.63±25.85	94.15±20.26	256.35±74.15	45.27±10.74	15.15±4.28	458.45±105.42	16.07±3.52
治疗后	98	45.12±7.15	42.14±14.15	166.85±56.26	20.14±5.96	8.45±2.71	576.09±122.74	18.56±3.77
t值		24.305	29.926	13.588	29.793	18.978	10.029	7.007
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 不同治疗效果患者治疗前后血清 Nrf2、HO-1 水平变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Changes of serum Nrf2 and HO-1 levels in patients with different therapeutic effects ($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	n	ALT(U/L)	ASL(U/L)	ALP(U/L)	TBIL(mg/dL)	DBIL(mg/dL)	Nrf2(U/L)	HO-1(U/L)
治疗前	应答良好组	65	83.29±15.63	91.06±19.63	216.29±55.96	42.22±9.63	13.44±3.96	512.41±100.42	17.45±3.24
	应答不良组	33	90.25±16.26	100.24±23.15	335.26±78.52	51.29±15.12	18.52±4.19	352.16±89.52	13.35±2.71
	t值		2.055	2.058	8.647	3.612	5.886	7.735	6.241
	P值		0.043	0.042	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
治疗后	应答良好组	65	38.52±9.63 ^a	37.41±8.45 ^a	139.63±44.17 ^a	17.28±3.96 ^a	7.55±2.01 ^a	598.41±124.71 ^a	19.24±2.89 ^a
	应答不良组	33	58.11±15.26 ^a	51.45±10.22 ^a	220.47±59.63 ^a	25.78±5.19 ^a	10.22±3.12 ^a	532.14±101.12 ^a	17.22±3.12 ^a
	t值		7.761	7.235	7.586	9.021	5.126	2.641	3.183
	P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.010	0.002

注:与治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.4 治疗应答效果的影响因素分析

多重共线性检验显示各变量 VIF 值<3,变量之间不存在多重共显性。*Logistic* 单因素分析显示,病理分期、治疗前 AST、ALT、TBIL、DBIL、ALP 及血清 Nrf2、HO-1 水平与治疗应答效果相关($P<0.05$),多因素分析显示,病理分期、治疗前 AST、TBIL、DBIL、ALP、Nrf2、HO-1 水平是影响治疗应答的独立相关因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

胆汁淤积性肝损伤发生机制复杂,胆汁酸堆积导致的氧化应激在其中发挥重要作用,分析胆汁淤积性肝损伤患者氧化应激相关分子可为临床

提供参考。Nrf2 是调控细胞氧化损伤的关键因子,通常情况下 Nrf2 与 Kelch-1 样环氧氯丙烷相关蛋白结合,处于抑制状态,在应激状态下,两者可发生解离,转移至细胞核内,Nrf2 与抗氧化物原件结合并诱导下游抗氧化酶的表达,降低机体氧化应激反应及外界刺激对组织器官的损伤^[8-9]。HO 是一种广泛存在哺乳动物体内的酶,具有 3 种同工酶,HO-1 在机体正常状态下主要分布在血细胞代谢较为活跃的器官内,包括肝脏、脾脏、骨髓等^[10]。在内源性、外源性有害刺激状态下,HO-1 可作为一种重要的抗氧化酶发挥重要作用,一方面阻碍游离血红素参与氧化作用,另一方面促进其酶解产物共同发挥抗氧化、抗炎、改善组织微循

表4 治疗应答效果的影响因素分析

Table 4 Influencing factors of treatment response

临床特征	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
性别组成(男/女)	1.296	0.943~1.780	0.111			
年龄	1.370	0.974~1.927	0.071			
病理(早期/晚期)	1.510	1.205~1.892	<0.001	1.454	1.100~1.920	0.009
治疗前 AST	1.650	1.094~2.491	0.017	1.631	1.274~2.087	<0.001
治疗前 ALT	1.510	1.051~2.170	0.026	1.459	0.984~2.164	0.061
治疗前 TBIL	1.330	1.068~1.656	0.011	1.249	1.018~1.531	0.033
治疗前 DBIL	1.372	1.038~1.812	0.027	1.335	1.049~1.699	0.019
治疗前 ALP	1.815	1.486~2.216	<0.001	1.406	1.112~1.779	0.005
治疗前 Nrf2	0.698	0.526~0.928	0.014	0.518	0.518~0.955	0.025
治疗前 HO-1	0.591	0.358~0.976	0.041	0.506	0.433~0.953	0.028

环等作用。Nrf2/HO-1 作为与氧化应激密切相关的通路或许在胆汁淤积性肝损伤发生及疾病进展中发挥一定效应。本研究结果显示,与正常对照组比较,胆汁淤积性肝病患者血清 Nrf2、HO-1 水平均显著升高,提示在肝病病理状态下,机体血清 Nrf2、HO-1 水平可出现病理性升高以抵抗机体炎症、过氧化反应。张晓倩等人^[11]研究证实,肝内胆汁淤积性肝病肝损伤患者血清 Nrf2、HO-1 水平升高,且其升高幅度与肝损伤程度有一定关系,可作为评估肝损伤的指标,本研究在其研究结果基础上进一步证实这一点。

胆汁淤积症治疗应答情况与患者长期预后密切相关,但现有研究表明标准治疗方案下,患者治疗效果具较大个体差异,对于应答不佳的患者可尝试联合其他药物延缓疾病进展,因此,早期识别治疗应答不佳的胆汁淤积症患者有一定临床意义^[12-13]。如上文所述,Nrf2、HO-1 作为氧化应激相关物质,与胆汁淤积症的发生相关,其水平是否与治疗早期应答有关有待研究探讨。本研究结果提示治疗过程可伴有机体抗氧化应激能力的升高。比较不同应答反应患者各指标差异,应答良好组患者基线 Nrf2、HO-1 水平及治疗后 Nrf2、HO-1 相对较高,提示基线 Nrf2、HO-1 水平可一定程度反映治疗效果。结合 Nrf2、HO-1 的生物学特性,推测两者水平变化与治疗应答的关系,Nrf2、HO-1 作为抗炎、抗氧化及细胞保护相关分子,基线状态 Nrf2、HO-1 水平较高可能可预示着患者有更好的抗氧化能力及抗炎作用,而抗氧化、降低机体炎症反应是治疗胆汁淤积性肝损伤的重要机制,基线状态下 Nrf2、HO-1 水平较高的患者可能可获得更好的治疗应答反应^[14-15]。

综上,血清 Nrf2、HO-1 水平及其变化与胆汁淤积性肝损伤患者治疗应答反应相关,临床可通过检测 Nrf2、HO-1 水平预测治疗疗效,为临床治疗提供参考。

参考文献

- [1] 朱琳,邢卉春. 肠道菌群与胆汁淤积性肝病[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(5):325-329.
- [2] 于乐成,陈成伟. 胆汁淤积性肝病的诊治现状及研究方向[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(2):241-246.
- [3] Daniel S, Thierry C, Michael T. Therapeutic Mechanisms of Bile Acids and Nor-Ursodeoxycholic Acid in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease[J]. Dig Dis, 2017, 35(3):282-287.
- [4] Joseph FN. Synergistic Interaction Between Heme Oxygenase (HO) and Nuclear - Factor E2 - Related Factor - 2 (Nrf2) against Oxidative Stress in Cardiovascular Related Diseases [J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(10):1465-1470.
- [5] Bak SU, Kim S, Hwang HJ, et al. Heme oxygenase - 1 (HO-1)/carbon monoxide (CO) axis suppresses RANKL-induced osteoclastic differentiation by inhibiting redox-sensitive NF-κB activation[J]. BMB Rep, 2017, 50(2):103-108.
- [6] 中华医学会肝病学会, 中华医学会消化病学分会, 中华医学会感染病学分会. 胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识(2015)[J]. 肝脏, 2015, 5(12):39-51.
- [7] Cheung AC, Lapointe-Shaw L, Kowgie M, et al. Combined ursodeoxycholic acid (UDCA) and fenofibrate in primary biliary cholangitis patients with incomplete UDCA response may improve outcomes[J]. Alim Pharmacol Ther, 2016, 43(2):283-293.
- [8] 蔡文超, 罗以楠, 连洁, 等. 组蛋白去乙酰化酶 2 调节 Nrf2 乙酰化水平在脂多糖诱导 II 型肺泡上皮细胞损伤中的抗氧化作用机制[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(3):328-334.
- [9] 李海平, 黄菱, 符传海, 等. 血清中核因子 E2 相关因子 2、HO-1 水平与胆汁淤积性肝病患者肝损伤程度的关系分析[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(9):1462-1466.

(下转第 1708 页)

血清β-内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系

徐倩 朱爱 郭岩松 王明丽 张慧玲 张爱荣*

[摘要] 目的 探讨血清β-内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系。方法 分析2020年1月至2022年4月在沧州市人民医院接受肾肿瘤手术的90例患者临床资料,根据镇痛方法不同分组,对照组($n=45$)接受全身麻醉后手术,观察组($n=45$)在全身麻醉前行椎旁神经阻滞,比较两组基本情况、血清指标及术后视觉模拟疼痛评分(VAS),分析血清β-内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系。结果 两组性别、年龄、病程、体质指数、手术时间、术中出血量比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与术后1 h比较,两组术后6 h的VAS评分均明显降低,血清β-内啡肽(β-EP)和强啡肽(DYN)水平均明显升高;且观察组术后1 h、6 h的VAS评分均低于对照组,血清β-EP和DYN水平均高于对照组,差异有统计学意义($t=3.100, 3.235, 6.086, 5.117, 4.091, 5.142, P<0.05$)。Pearson相关性分析结果显示,血清β-EP、DYN水平与椎旁神经阻滞肾肿瘤术后VAS评分呈负相关($P<0.05$)。结论 椎旁神经阻滞用于肾肿瘤手术的镇痛效果显著,且与血清β-EP、DYN水平密切相关。

[关键词] β-内啡肽;强啡肽;肾肿瘤;椎旁神经阻滞;镇痛

Relationship between serum β-endorphin and dynorphin levels and the analgesic effect of paraspinal nerve blockade for renal tumors

XU Qian, ZHU Ai, GUO Yansong, WANG Mingli, ZHANG Huiling, ZHANG Airong*

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

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum β-endorphin and dynorphin levels and the analgesic effect of paraspinal nerve blockade for renal tumors. **Methods** The clinical data of 60 patients who underwent renal tumor surgery in Cangzhou People's Hospital from January 2020 to April 2022 were retrospectively analyzed. According to different methods of analgesia, the control group ($n=45$) received surgery after general anesthesia, and the observation group ($n=45$) received paravertebral nerve block before general anesthesia. The basic conditions, serum indicators and postoperative visual analog pain score (VAS) of the two groups were compared. The simulated pain score (VAS) was used to analyze the relationship between serum β-endorphin and dynorphin levels and the analgesic effect of renal tumor paraspinal nerve block. **Results** There were no significant differences in gender, age, disease duration, body mass index, operation time, and intraoperative blood loss between the two groups ($P>0.05$). Compared with 1 h after surgery, The VAS scores were significantly lower at 6 h after surgery in both groups, and serum β-Endophilin (β-EP) and dynorphin (dyn) levels were significantly increased. And the VAS scores in the observation group were lower than those in the control group at 1 and 6 h after surgery, and serum β-EP and dyn levels were higher than those in the control group, with statistically significant differences ($t=3.100, 3.235, 6.086, 5.117, 4.091, 5.142, P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum β-EP and dyn levels were negatively correlated with postoperative VAS scores in renal tumors treated with paravertebral nerve block ($P<0.05$). **Conclusions** Paravertebral nerve block has a significant analgesic effect in renal tumor surgery and is closely related to serum β-EP and DYN levels.

[KEY WORDS] β-Endorphins; Dynorphin; Renal tumors; Paravertebral nerve blocks; Analgesia

基金项目:沧州市科技计划自筹经费项目(204106006)

作者单位:沧州市人民医院麻醉科,河北,沧州061000

*通信作者:张爱荣, E-mail: zhangairong66@sohu.com

肾肿瘤是泌尿科常见的肿瘤,手术是局限性肾肿瘤的主要治疗手段。但由于长时间气腹、手术创伤及手术疼痛,仍可引起围术期强烈的应激反应,不利于患者术后恢复^[1]。全身麻醉需在术中应用大剂量的阿片类药物,可能会造成术后痛觉过敏和免疫功能障碍,影响患者预后。有研究表明,椎旁神经阻滞(Paravertebral blockade, PVB)联合全身麻醉用于胸腹部手术的镇痛效果更佳,有利于降低患者术后疼痛程度,促进患者康复^[2]。因此,本研究分析90例肾肿瘤手术患者的临床资料,探讨其血清 β -内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料

分析2020年1月至2022年4月在沧州市人民医院接受肾肿瘤手术的90例患者临床资料,根据镇痛方法分为对照组和观察组。纳入标准:①年龄在18~65岁之间;②美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)^[3]分级I~II级肾肿瘤患者;③无严重的心脑疾病,无血栓病史,无癫痫、精神病史;④临床资料完整。ASA分级^[3]:I级,病人的重要器官、系统功能正常,对麻醉和手术的耐受良好,风险近乎为零;II级,病人有轻微的系统性疾病,重要器官有轻度病变,但代偿功能健全,对一般麻醉和手术可以耐受,风险较小;III级,病人有严重的系统性疾病,重要器官功能受损,但仍在代偿范围内。行动受限,但未丧失工作能力,施行手术和麻醉有一定的顾虑和风险;IV级,病人有严重的系统性疾病,重要器官病变严重,功能代偿不全,已经丧失工作能力,经常面临对其生命安全的威胁,施行麻醉和手术的风险很大;V级,病人病情危重,濒临死亡,风险较高,麻醉和手术异常危险。排除标准:①有严重心、肝、肾功能不全疾患,术后进ICU继续治疗者;②凝血功能异常;③长期服用精神类药物病史。

1.2 方法

对照组接受全身麻醉后手术,观察组在全身麻醉前行椎旁神经阻滞,方法如下:①建立静脉通路,监测生命体征,全身麻醉前实施患侧椎旁间隙阻滞。定位T10椎旁间隙,采用彩色多普勒超声诊断仪辅助确定穿刺点,以1%利多卡因充分局部浸润麻醉。采用超声平面内穿刺法将针尖置入预

期位置后,回抽无血或脑脊液,即缓慢注射药液1%罗哌卡因100 mg+舒芬5 μ g+生理盐水共20 mL,15分钟后进行麻醉平面测定并记录。注射后15~20 min确认麻醉平面,确定阻滞效果。②行全麻诱导,静脉注射丙泊酚(1.5~2.5) mg/kg、芬太尼2~4 μ g/kg、苯磺顺阿曲库铵(0.15~0.2)mg/kg进行麻醉诱导,待患者睫毛反射消失后行面罩给氧辅助呼吸,3~5 min后行气管插管,接麻醉机行机械通气,术中调节潮气量(VT)8~10 mL/kg,吸呼比(I/E)=1:2,呼吸频率10~16次/分,维持ETC_{O2}于35~45 mm Hg左右。并以七氟烷(2~3%)吸入及瑞芬太尼(0.06~0.2)/kg/min静脉持续泵注维持麻醉深度,按需间断静注苯磺顺阿曲库铵维持肌松。手术结束待自主呼吸恢复后,给予阿托品0.02 mg/kg及新斯的明0.04 mg/kg拮抗肌松药的残余作用,VT>6 mL/kg后拔除气管导管。

血清 β -内啡肽(β -Endorphins, β -EP)及强啡肽(Dynorphin, DYN)水平的检测:所有受试者均在术后1、6 h采集3 mL静脉血,以4 000 r/min离心15 min(离心半径4 cm)后取上清液,在-80℃下保存。DYN采用酶联免疫试验进行检测,试剂盒产自美国CUSA BIO公司; β -EP采用放射免疫分析法进行检测,试剂盒由北京华英生物科技有限公司提供,以上均按试剂盒说明书进行操作。

术后疼痛评分:根据视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)^[4]进行疼痛评估,要求患者完全清醒,在术后1、6 h进行。总分10分,0分表现无疼痛,10分为疼痛剧烈。

1.3 统计分析

使用SPSS 24.0对本研究中的数据进行处理,计量资料($\bar{x} \pm s$)进行处理,采用 t 检验。计数资料用 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验。采用相关性分析血清 β -内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果VAS评分的关系, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基本情况及手术指标的比较

两组性别、年龄、病程、体质指数、手术时间、术中出血量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 两组术后1、6 h的VAS评分、血清 β -EP和DYN水平的比较

与术后1 h比较,两组术后6 h的VAS评分均

表1 两组基本情况及手术指标的比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of basic conditions and surgical indicators between the two groups [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	性别		年龄(岁)	病程(年)	体质指数(kg/m ²)	手术时间(min)	术中出血量(mL)
		男	女					
观察组	45	27(60.00)	18(40.00)	38.36±10.34	2.45±0.79	21.68±1.06	92.16±16.32	118.34±8.27
对照组	45	29(64.44)	16(35.56)	37.42±9.87	2.56±0.83	21.79±0.94	89.74±15.83	120.46±8.63
χ^2 值		0.189		0.441	0.644	0.521	0.714	1.190
P值		0.664		0.660	0.521	0.604	0.477	0.237

明显降低,血清β-EP和DYN水平均明显升高; 血清β-EP和DYN水平均高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 两组术后1h、6h的VAS评分、血清β-EP和DYN水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 VAS scores and serum levels at 1 h and 6 h after operation in the two groups β- Comparison of EP and dyn levels ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VAS(分)		β-EP(pg/mL)		DYN(pg/mL)	
		术后1h	术后6h	术后1h	术后6h	术后1h	术后6h
观察组	45	4.21±1.01	3.34±1.08 ^a	421.95±85.08	466.32±81.96 ^a	140.06±12.65	154.32±14.82 ^a
对照组	45	5.16±1.34	4.62±1.26 ^a	302.76±65.34	368.29±65.52 ^a	123.68±11.84	136.34±12.13 ^a
t值		3.798	5.174	6.086	7.454	6.342	6.298
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与术后1h相比,^aP<0.05。

2.2 相关性分析

Pearson相关性分析结果显示,血清β-EP、DYN水平与椎旁神经阻滞肾肿瘤术后VAS评分呈负相关($r=0.852$ 、 0.762 , $P<0.05$)。见图1。

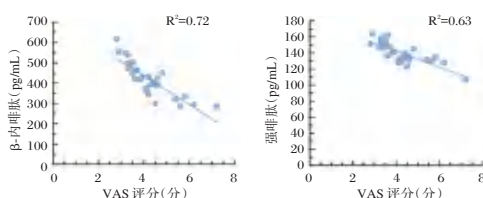


图1 血清β-EP、DYN水平与椎旁神经阻滞肾肿瘤术后VAS评分散点图

Figure 1 Scatter plots of serum β-EP and dyn levels and postoperative VAS scores of paravertebral nerve block renal tumors

3 讨论

术后疼痛多为急性疼痛,及时处理术后急性疼痛不仅能提高患者术后的舒适度和对医生的满意度,也有利于患者的预后。相反,控制不当的术后急性疼痛可能发展为慢性疼痛,影响术后多脏器功能的恢复,对患者术后康复造成不利影响。国外研究表明,围术期运用超声引导下的术前椎旁神经阻滞可有效减少术后急性疼痛发生,副作用少,减少术后镇痛需求。但关于其在肾肿瘤手术中的镇痛效果相关研究仍少见^[5]。本研究对血清β-内啡肽、强啡肽水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关

系进行分析,有利于更客观的评估肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果,具有重要的临床价值。

手术创伤与术后疼痛等刺激均可导致不同程度应激反应的发生^[6]。合适的应激强度有利于降低不良刺激给机体带来的损伤,而过度应激则可能引起不良反应发生,影响疾病转归。其中多为中枢神经系统受累,可导致多巴胺分泌增加及机体疼痛应激指标升高,促进神经肽类物质释放及参与机体疼痛^[7]。PVB是一种注射局麻药到椎旁间隙脊神经穿过椎间孔形成的脊髓外侧神经周围,从而阻滞躯体感觉和运动神经的传导,以降低胸腹部手术相关疼痛的方法^[8]。PVB在国内临床应用范围较广,尤其是关于其在胸部各类手术中的应用较多。肖艺敏研究指出,全麻联合超声引导下椎旁神经阻滞在胸-腹腔腔食管癌根治术中的镇痛效果显著,有利于减少围术期镇痛药物用量,降低术后早期疼痛程度,减少术后躁动的发生,促进患者康复^[9]。陈旭也指出胸椎旁神经阻滞用于单孔胸腔镜手术术后镇痛效果良好,术后不良反应发生少,安全性较高^[10]。本研究结果提示在全麻前实施PVB有利于提高肾肿瘤患者手术后的血清β-EP和DYN水平,减轻其疼痛程度。

阿片肽是一类参与痛觉信息调制及免疫调节的阿片样活性物质,可由肾上腺、垂体、丘脑等分泌,在机体生理功能和病理状态中均发挥了重要作用^[11]。内啡肽、脑啡肽和强啡肽均属于内源性

阿片肽,其中 β -EP内源性在镇痛方面起主要作用^[12]。 β -EP最早从骆驼下丘脑提取物被分离出来,且在垂体中也具有较高的含量。当机体受到刺激时,其可通过结合 μ 和 δ 阿片受体,抑制疼痛传递,减少疼痛介质的释放,从而发挥镇痛作用^[13]。而Dyn与 κ 阿片受体在大脑、脊髓和痛觉神经元中均有分布,在痛觉调节、意识、运动、情绪和药物成瘾等方面均占据着重要位置^[14]。目前主流认为DYN可通过结合 κ 阿片受体影响中脑边缘多巴胺系统,并实施对多巴胺释放的调节,从而发挥镇痛效果^[15]。Pearson相关性分析结果显示,血清 β -EP、DYN水平与椎旁神经阻滞肾肿瘤术后VAS评分呈负相关。由此可见,在全麻前实施PVB的肾肿瘤手术患者镇痛效果与其术后血清 β -EP、DYN水平存在密切相关,临床可通过观察患者术后血清 β -EP、DYN水平,从而更客观地评估镇痛效果,给予相应干预措施,改善患者预后。

综上,椎旁神经阻滞用于肾肿瘤手术具有良好的镇痛效果,术后疼痛程度与血清 β -EP、DYN水平呈显著负相关。同时也提示了通过监测该类患者术后血清 β -EP、DYN水平可更客观地评估镇痛效果,为临床诊疗提供参考依据。

参考文献

[1] 吕帅国,卢锡华,李长生,等. 胸椎旁神经阻滞联合全身麻醉用于腹腔镜根治性肾切除手术患者的改良效果[J]. 中华麻醉学杂志, 2020, 40(7):817-820.
[2] 马晨光. 超声引导下胸椎旁神经阻滞在胸腔镜肺癌根治术麻醉及镇痛中的应用[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(S1):67+69.
[3] 李秋萍,韩斌如. 衰弱评估联合麻醉分级对老年患者术后并

发症的预测研究[J]. 中华护理杂志, 2019, 54(5):645-648.
[4] 郭春平,杨晓雅,柯磊. 原发性三叉神经痛患者抑郁发生情况及其影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2020, 46(4):421-423.
[5] Aydin G, Aydin O. The Efficacy of Ultrasound-Guided Paravertebral Block in Laparoscopic Cholecystectomy [J]. Medicina (Kaunas), 2018, 54(5):75.
[6] 闫延,程崇杰,张启栋,等. 骨科手术相关创伤后应激障碍的发生及高危因素分析[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(24):3897-3903.
[7] 赵雨帆,欧阳文,胡中华,等. 老年患者围术期神经认知障碍与术后急性疼痛的研究进展[J]. 临床麻醉学杂志, 2021, 37(5):542-545.
[8] 李敏,刘鸽,张燕,等. 超声引导下连续胸椎旁神经阻滞用于乳腺癌根治术中的镇痛效果分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(S1):46+48.
[9] 肖艺敏,李元海,高之心. 全麻联合超声引导下椎旁神经阻滞在胸-腹腔镜食管癌根治术中的应用[J]. 临床麻醉学杂志, 2018, 34(6):529-533.
[10] 陈旭,章蔚,王迪,谢言虎,等. 超声引导下横突-胸膜中点阻滞与胸椎旁神经阻滞用于单孔胸腔镜手术后镇痛效果的比较[J]. 临床麻醉学杂志, 2020, 36(12):1173-1176.
[11] 严传婷,杜宜楠,韩静,等. 神经递质和调质参与导水管周围灰质痛觉调控的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2021, 48(2):158-170.
[12] 李绍康,廖伟东,赵洁,等. 针刺对卒中恢复期相关性头痛患者血浆内源性阿片肽的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(12):995-999.
[13] 宋铁军,王亚斐,徐海丰,等. Th17/Treg细胞及相关细胞因子水平与带状疱疹患者疼痛程度及并发后遗神经痛的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4):535-538.
[14] 徐标,李文华,吴威. 盐酸纳美芬联合迷走神经电刺激对肺缺血-再灌注损伤大鼠肺组织强啡肽及IL-17的影响[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(22):2851-2855.
[15] 陈叶青,吴梦薇,徐驰,等. 强啡肽/ κ -阿片受体系统在痛情绪中作用的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(11):845-851.

(上接第1704页)

[10] Qi X, Zhang H, Xue T, et al. Down-regulation of cellular protein heme oxygenase-1 inhibits proliferation of avian influenza virus H9N2 in chicken oviduct epithelial cells [J]. J Gen Virol, 2017, 99(1):36-43.
[11] 张晓倩,杨慧,张晓华. 肝内胆汁淤积性肝病患者血清核因子相关因子2和血红素加氧酶-1水平变化及意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(9):883-886.
[12] 张奉春. 熊去氧胆酸治疗原发性胆汁性肝硬化的早期生化应答及长期预后的研究[J]. 中华内科杂志, 2014, 53(2):141.
[13] 陈林,李婉玉. 熊去氧胆酸与安慰剂对妊娠肝内胆汁淤积

症治疗的比较:一项随机对照试验[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(3):607.
[14] Wu WQ, Peng G, Yang F, et al. Sulforaphane has a therapeutic effect in an atopic dermatitis murine model and activates the Nrf2/HO-1 axis [J]. Nat Rev Neurosci, 2019, 20(2):1761-1771.
[15] Guo F, Zhuang X, Han M, et al. Polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* protect against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice via activation of Nrf2/HO-1 signaling, and suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. Food Funct, 2020, 11(7):445-447.

血脂异常对老年股骨颈骨折行单侧全髋关节置换术患者术后慢性非恶性疼痛的影响

董林剑 武玲 李元海*

[摘要] **目的** 评估血脂异常对单侧股骨颈骨折行全髋关节置换术的老年患者术后慢性非恶性疼痛(CNP)的影响。**方法** 选择因单侧股骨颈骨折在静吸复合全麻联合神经阻滞下择期行全髋关节置换术的患者176例,年龄 ≥ 60 岁。根据血脂水平分为血脂异常组(D组)和血脂正常组(C组),记录两组患者一般资料,并用NRS量表评估术后24 h疼痛评分;随访6个月,应用NRS量表评价术后6个月的疼痛情况,比较两组术后慢性非恶性疼痛的发生率;并对疼痛组和非疼痛组血脂指标进行比较,采用多因素 Logistic 回归分析 CNP 相关的血脂指标因素。**结果** 最终有140例患者完成随访并纳入分析,血脂异常组(D组)46例,对照组(C组)94例。两组一般资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),术后慢性疼痛患者44例,发生率为31.43%,其中D组21例(45.65),C组23例(24.74),术后慢性疼痛发生率的比较差异有统计学意义($\chi^2 = 6.43, P < 0.05$);疼痛组与非疼痛组总胆固醇[(4.97 ± 1.15) vs (4.55 ± 1.01)]、甘油三酯[(1.90 ± 0.94) vs (1.48 ± 1.10)]、LDL-C[(3.12 ± 0.93) vs (2.80 ± 0.87)]指标相比差异有统计学意义($P < 0.05$);多因素 Logistic 回归分析结果提示总胆固醇、甘油三酯、LDL-C的OR值均 > 1 ,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 血脂异常可能会增加老年股骨颈骨折全髋关节置换术后慢性疼痛的发生率,血脂水平的调控可能预防术后慢性疼痛。

[关键词] 血脂异常;全髋关节置换术;术后慢性疼痛;股骨颈骨折

Effects of dyslipidemia on chronic non-malignant pain in elderly patients with femoral neck fractures undergoing unilateral total hip arthroplasty

DONG Linjian, WU Ling, LI Yuanhai*

(Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230031)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the effect of dyslipidemia on postoperative chronic non-malignant pain (CNP) in elderly patients with unilateral femoral neck fracture who underwent total hip arthroplasty. **Methods** A total of 176 patients were selected, aged ≥ 60 years. According to blood lipid levels, they were divided into the dyslipidemia group (group D) and the normal blood lipid group (group C). The general data of the two groups of patients were recorded, and the NRS scale was used to evaluate the pain score at 24 hours after the operation. After 6 months of follow-up, the NRS scale was used to evaluate the pain situation at 6 months after the operation. The postoperative chronic non-malignant pain between the two groups was compared. The incidence was compared; and the blood lipid indexes in the pain group and the non-pain group were compared, and the CNP-related blood lipid index factors were analyzed by multivariate Logistic regression. **Results** A total of 140 patients were included in the final analysis. There were 46 patients in the group D and 94 patients in the group C. There was no statistical difference in general data between the two groups. There were 44 patients with postoperative chronic pain, with an incidence of 31.43%, including 21

基金项目:安徽省科技攻关项目(1301042204)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院高新院区麻醉科,安徽,合肥 230031

*通信作者:李元海, E-mail:liyuanhai-1@163.com

patients in group D (45.65%) and 23 patients in group C (24.74%), with a statistically significant difference ($\chi^2=6.43, P<0.05$). The total cholesterol, triglyceride and LDL-C in the pain group were significantly higher than those in the non-pain group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of multivariate Logistic regression analysis showed that the OR values of total cholesterol, triglyceride and LDL-C were more than 1, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** Dyslipidemia may increase the incidence of chronic pain after total hip arthroplasty in elderly patients with femoral neck fractures, and the regulation of blood lipid levels may prevent postoperative chronic pain.

[KEY WORDS] Dyslipidemia; Total hip arthroplasty; Chronic post-surgical pain; Femoral neck fracture

慢性非恶性疼痛 (chronic non-malignant pain, CNP) 具有很高的患病率和难治性, 其典型的特征是痛觉过敏, 发病率随年龄增长而增加, 年龄>65岁老年患者发生率为38%~60%, 与日常生活、情绪和生活质量息息相关^[1]。而且, 严重的慢性非恶性疼痛可能会缩短患者的预期寿命。术后慢性疼痛 (chronic post-surgical pain, CPSP) 是继发于术后急性疼痛并在排除其他原因的前提下, 持续时间超过3个月的疼痛, 它的发病率为5%~65%, 尤以骨科手术最高^[2]。尽管文献广泛且对CPSP的流行病学和疾病的认识有所提高, 但缺乏关于病因和最可能发生CPSP患者的确切预测的结论性证据。流行病学研究表明, 血脂异常可能是CNP发生发展的危险因素^[3]。目前为止, 尚未对初次单侧全髋关节置换术 (total hip arthroplasty, THA) 治疗老年股骨颈骨折 (femoral neck fractures, FNFs) 患者术后的CPSP进行脂类相关评估。因此, 本研究的目的是评估血脂异常对单侧股骨颈骨折行全髋关节置换术患者术后慢性非恶性疼痛的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2018年6月至2021年6月在安徽省医科大学第一附属医院高新院区因单侧股骨颈骨折在静吸复合全麻联合神经阻滞下择期行全髋关节置换术的患者176例, 其中男68例, 女108例, 年龄平均(72.54±3.56)岁, 平均BMI(23.56±3.04)。

纳入标准: ①年龄≥60岁; ②经影像学检查确诊股骨颈骨折, 拟行全髋关节置换术的患者; ③自愿参加并能够完成术后随访的患者。排除标准: 严重心脑血管事件、有慢性呼吸道疾病如慢性阻塞性肺疾病等、有脑卒中、短暂性脑缺血发作病史、药物成瘾、镇痛药物过敏、抑郁症、痛觉过敏、

异位性痛症、癌症疼痛、神经损伤、关节损伤、胃溃疡、子宫内膜异位症、与胆固醇代谢相关的疾病、甲状腺功能障碍、多发性创伤、类风湿关节炎、老年痴呆、术前服用降脂药物的患者。本研究已经通过伦理委员会审批, 所有患者均取得知情同意并且签署知情同意书。

所有患者均行血脂检查, 入选患者根据血脂指标分为血脂正常组(C组, N=59)和血脂异常组(D组, N=117)。所有患者入手术室后开放上肢静脉通道, 桡动脉穿刺测压, 监测心率(heart rate, HR)、血压(blood pressure, BP)、脉搏血氧饱和度(oxygen saturation, SpO₂)、呼气末二氧化碳分压(End-tidal PCO₂, PET CO₂)。在麻醉诱导前实施超声引导下髂筋膜神经阻滞。两组患者均行喉罩全身麻醉, 诱导时依次静脉注射咪达唑仑0.02~0.04 mg/kg、依托咪酯0.2~0.4 mg/kg、舒芬太尼0.3~0.4 μg/kg和维库溴铵1 mg/kg。麻醉维持: 丙泊酚4~6 mg/kg, 吸入1%瑞芬太尼6~12 μg/kg·h, 根据BP、HR调节丙泊酚吸入和瑞芬太尼用量。术后患者转入麻醉恢复室, 待Steward苏醒评分6分时^[4], 转送病房。术后常规使用塞来昔布镇痛。记录两组患者身高、体重、术前合并症、手术时间、术后住院时间、血常规、肝肾功能、血脂指标等化验指标, 并对两组患者进行随访记录术后24h和术后6个月活动时的NRS评分, 术后6个月NRS评分≥3分时, 记录为慢性疼痛者。

1.2 观察指标

用数字等级评定量表 (numerical rating scale, NRS)^[5], 评价患者的疼痛程度(0~10分, 0分为无痛, 10分为剧痛)。血脂指标包括: 总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TGs)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、载脂蛋白A1、载脂蛋白B。

1.3 相关定义

根据《中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)》^[6]标准血脂异常定义如下:高胆固醇血症, TC≥6.2 mmol/L;高甘油三酯血症 TG≥2.3 mmol/L;低高密度脂蛋白血症, HDL-C<1.0 mmol/L;高低密度脂蛋白血症, LDL-C≥4.1 mmol/L。达到任意一条者即为实验组(D组),血脂正常者为对照组(C组)。

根据国际疼痛研究协会的指南^[7], CPSP 被定义为在手术后出现或强度增加并在术后持续3个月的慢性疼痛。排除慢性感染或恶性肿瘤作为疼痛来源;与术前疼痛不同的疼痛类型。CPSP不会局限于原手术区或原损伤区,而是会投射到支配该区的神经所在的整个区域(例如深部躯体或内脏组织)。CPSP的分值被设定为 NRS≥3, 指中度和重度疼痛。

1.4 统计分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 使用二元逻辑回归模型对 CNP 和血脂异常之间的关系进行了初步分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料和术后慢性疼痛发生率的比较

本研究纳入患者共 176 例, 剔除术后死亡、术后出现髋关节脱位、移位、感染的患者和失访以及因其他原因退出 36 例, 最终有 140 例(79.5%)的患者完成所有随访并纳入分析。其中血脂异常组(D组)46例, 对照组(C组)94例, 血脂异常组有4例患者术后服用降脂药物, 4例患者均未发生 CPSP。两组一般资料比较差异均无统计学差异(P>0.05)。术后慢性疼痛患者 44 例, 发生率为 31.43%, 其中 D 组 21 例, C 组 23 例, 术后慢性疼痛发生率的比较差异有统计学意义(P<0.05)。见表 1。

2.2 疼痛组与非疼痛组住院检查时不同血脂指标的比较

术后疼痛组 44 例, 非疼痛组 96 例, 两组住院检查时血脂指标比较, 总胆固醇、甘油三酯、LDL-C 指标差异有统计学意义(P<0.05)。见表 2。

2.3 术后 6 个月 CPSP 患者血脂指标 Logisti 回归分析

Logisti 回归分析发现总胆固醇、甘油三酯、LDL-C 对 CPSP 的影响均无统计学意义(P>0.05)。见表 3。

表 1 两组一般资料和术后慢性疼痛发生率的比较
[($\bar{x} \pm s$), n(%)]

Table 1 Comparison of general data and incidence of postoperative chronic pain between 2 groups [($\bar{x} \pm s$), n(%)]

指标	D组(n=46)	C组(n=94)	t/ χ^2 值	P值
年龄(y)	69.61±5.21	68.36±5.03	1.36	0.176
性别(F/M)	18/28	33/61	0.556	0.456
BMI(kg/m ²)	24.02±3.24	23.02±2.76	1.90	0.06
手术时间(min)	77.0±31.35	75.32±27.59	0.324	0.747
麻醉时间(min)	106.52±30.71	105.01±31.55	0.268	0.789
术后住院时间(d)	6.26±2.67	6.55±2.23	-0.682	0.496
血红蛋白(g/dL)	123.09±14.41	126.53±13.20	-1.407	0.162
血小板(×10 ⁹ /L)	203.54±71.23	195.21±61.58	0.714	0.476
谷丙转氨酶(μ/L)	17.85±8.87	18.90±11.70	-0.541	0.59
谷草转氨酶(μ/L)	22.02±6.74	22.41±8.08	-0.285	0.776
血清尿素氮(mmol/l)	6.06±1.81	5.86±1.66	0.655	0.513
血清肌酐(mmol/l)	65.35±22.54	59.10±17.25	1.816	0.071
术后 24hNRS(分)	2.43±0.75	2.57±0.89	-0.92	0.359
高血压	20(43.48)	45(47.87)	0.024	0.867
糖尿病	7(15.22)	12(12.77)	0.299	0.585
术后慢性疼痛	21(45.65)	23(24.47)	6.43	0.011

表 2 疼痛组与非疼痛组住院检查时血脂指标比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of lipid parameters between pain group and non-pain group ($\bar{x} \pm s$)

指标	疼痛组(n=44)	非疼痛组(n=96)	t值	P值
总胆固醇(mmol/L)	4.97±1.15	4.55±1.01	2.174	0.031
甘油三酯(mmol/L)	1.90±0.94	1.48±1.10	2.148	0.033
HDL-C(mmol/L)	1.21±0.34	1.25±0.32	-0.679	0.498
LDL-C(mmol/L)	3.12±0.93	2.80±0.87	2.167	0.032
非高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.66±1.03	3.43±0.91	1.343	0.181
极低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	0.56±0.26	0.52±0.46	0.622	0.535
载脂蛋白 A1(g/L)	1.29±0.31	1.29±0.22	0.033	0.974
载脂蛋白 B(g/L)	0.92±0.23	0.86±0.22	1.342	0.182
脂蛋白(a)(mg/L)	285.68±303.34	232.51±242.69	1.11	0.269
游离脂肪酸(mmol/L)	0.41±0.18	0.38±0.20	0.747	0.457

表 3 CPSP 多因素 Logistics 回归分析

Table 3 Multi-factor Logistics regression analysis of CPSP

因素	β值	Wald值	OR值	95% CI	P值
总胆固醇	0.102	0.083	1.107	0.555~2.208	0.773
甘油三酯	0.215	1.072	1.24	0.825~1.863	0.301
LDL-C	0.193	0.23	1.212	0.552~2.662	0.631

3 讨论

全髋关节置换术后的慢性疼痛是一个经常报道的不良结局预后^[8], 它的存在可能会产生很大不利影响, 包括延迟术后康复, 对生活质量产生负面影响^[9], 降低术后满意度, 增加翻修手术的风险和额外的医疗成本^[10]。术后急性疼痛对 CPSP 的影

响存在争议。有研究表明术后急性疼痛是老年髋关节置换术后6个月发生CPSP的独立危险因素^[11]。而Latijnhouwers等^[12]进行了一项多中心观察性发现近三分之一的全髋关节置换术患者报告术后中/重度疼痛,但他们的研究表明全髋关节置换术后第一年的急性术后疼痛与术后慢性疼痛无关。而最佳的围术期疼痛管理是改善预后和增强术后功能恢复的先决条件,结果表明基础镇痛方案的全麻下进行THA手术的大多数患者,急性剧烈的术后疼痛在术后4~6小时内得到缓解,急性疼痛程度消退至轻度^[13]。Jiang等^[14]的研究结果表明与对照组相比,接受选择性COX-2抑制剂治疗的患者的VAS评分显著降低。因此,我们选择全麻复合神经阻滞,术后使用选择性COX-2抑制剂作为镇痛的一个治疗计划来覆盖整个的疼痛期。

因为人口结构和生活方式的改变,CNP人数日渐增多,这也将导致CNP患者处方中阿片类镇痛药物使用增多^[15],这也引发了对这些药物潜在危害的日益关注。虽然CNP的高发导致了人们对CNP相关潜在风险因素的关注,但到目前为止似乎还没有明确的CNP风险因素被确定。流行病学研究表明^[16],血脂异常可能是CNP发生发展的危险因素。此外,CNP可能与血脂异常高度共病。脂质-疼痛关系可能是双向的:相对于传入的CNP信号,血脂异常可能导致功能的敏化或脱敏,而CNP可能反过来对血清脂质水平有反馈作用。最近的研究表明,血脂异常可能是CNP最重要的因素之一^[17],血浆中脂质谱与CNP相关^[18]。值得注意的是,血脂异常可能会刺激或加重CNP,潜在增加CNP相关事件的风险。Wang等^[19]回顾性分析了436例连续的FNFS患者,其中220例CNP,结果显示HDL和LDL浓度是与CNP发生显著相关的唯一变量。高LDL和低HDL浓度可能是大多数患者CNP发生的重要危险因素。本研究证明在接受行单侧全髋关节置换术老年股骨颈患者中,血脂异常会增加术后CNP发生率,疼痛组与非疼痛组血脂指标比较也是有统计学差异的,但是多因素回归分析并未分析到哪一项血脂指标与CNP显著相关,可能与我们的样本量相对较少有关。对于老年CNP患者而言,血脂的测定尤为重要。低LDL和高HDL浓度都可能对预防CNP有利。CNP与有害的病理生理和解剖变化有关,包括外周和中枢敏化、新神经连接的发育和病理性特异

性脑改变。慢性疼痛对生物过程产生千变万化的影响,包括细胞介导的免疫和体液免疫的抑制、基因表达的改变、一般传递非疼痛信号的神经转化为表达P物质并刺激痛觉脊髓神经元的神经^[20]。胆固醇水平升高或高脂血症(低密度脂蛋白水平高)可能是CNP发生的重要危险因素^[21]。

血脂异常参与了CNP的进化,脂质代谢在疼痛中发挥核心作用。血脂异常与动脉粥样硬化发生的风 险增加相关。多项研究表明,动脉粥样硬化会促进神经元退行性变或神经递质合成障碍,从而导致脂质代谢物(如氧化脂质)无序增加。

本研究的结果对术后慢性疼痛的预防有了很好的指导作用,血脂的调控不仅可以预防代谢性疾病的发生,更能预防术后慢性疼痛。但纳入的样本量相对较小,且都是老年患者,麻醉方式统一,采用了严格的排除标准,推广性需进一步多中心、大样本的前瞻性研究。

参考文献

- [1] Larsson C, Hansson EE, Sundquist K, et al. Chronic pain in older adults: Prevalence, incidence, and risk factors [J]. *Scand J Rheumatol*, 2017, 46(4):317-325.
- [2] Yoko Sugiyama, Hiroki Iida, Fumimasa Amaya, et al. Prevalence of chronic postsurgical pain after thoracotomy and total knee arthroplasty: a retrospective multicenter study in Japan [J]. *J Anesth*, 2018, 32(3):434-438.
- [3] Vieira G, Cavalli J, Goncalves ECD, et al. Effects of simvastatin beyond dyslipidemia: Exploring its antinociceptive action in an animal model of complex regional pain syndrome-type I [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 4;8:584.
- [4] 夏敏,柴小青,朱勃郎,等.超声引导下腹股沟上髂筋膜间隙阻滞在直接前方入路全髋关节置换术患者的应用[J]. *麻醉安全与质控*, 2020, 4(4):210-215.
- [5] Thong ISK, Jensen MP, Miró J, et al. The validity of pain intensity measures: what do the NRS, VAS, VRS, and FPS-R measure? [J]. *Scand J Pain*, 2018, 26, 18(1):99-107.
- [6] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会.中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)[J]. *中国循环杂志*, 2016, 16(10):7-28.
- [7] Schug SA, Lavand'homme P, Barke A, et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic postsurgical of posttraumatic pain [J]. *Pain*, 2019, 160(1):45-52.
- [8] Boye Larsen D, Laursen M, Simonsen O, et al. The association between sleep quality, preoperative risk factors for chronic postoperative pain and postoperative pain intensity 12 months after knee and hip arthroplasty [J]. *Br J Pain*, 15(4):486-496.
- [9] Dahlhamer J, Lucas J, Zelaya C, et al. Prevalence of chronic pain and high-impact chronic pain among adults - United States, 2016 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2018, 67: 1001-1006.

EGFR21 突变阳性的晚期 NSCLC 两药与三药联合在患者中的价值分析

李馥郁¹ 田春艳² 李淘淘¹

[摘要] 目的 探讨两药、三药联合在表皮生长因子受体 21(EGFR21)突变阳性的晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者中的应用。方法 选择2018年2月至2019年2月秦皇岛市第四医院120例EGFR21突变阳性的晚期NSCLC患者,随机分为3组,每组40例,对照A组采用表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)+培美曲塞二钠治疗,对照B组EGFR-TKI+贝伐株单抗治疗,观察组EGFR-TKI+贝伐株单抗+培美曲塞二钠治疗。比较三组临床疗效、治疗前后肿瘤标志物[癌胚抗原(CEA)、糖类抗原125(CA125)、细胞角蛋白19片段抗原21-1(CYFRA21-1)]、肿瘤无进展生存期(PFS)、总体生存期(OS)及安全性。结果 观察组疾病缓解率高于对照A组、对照B组,差异有统计学意义($\chi^2=6.068, P<0.05$);治疗1、3个疗程后观察组血清CEA、CYFRA21-1、CA125水平均低于对照A组、对照B组,差异有统计学意义($P<0.05$);3组血小板减少、中性粒细胞减少、肝功能异常发生率相比,差异无统计学意义($\chi^2=0.565, 0.082, 0.091$ 均 $P>0.05$);随访3年,观察组中位PFS、OS长于对照A组、对照B组。结论 三药联合在EGFR21突变阳性的晚期NSCLC患者治疗中效果更优。

[关键词] 表皮生长因子受体21;非小细胞肺癌;肿瘤标志物;贝伐株单抗;培美曲塞二钠

The value of two-drug versus three-drug combinations in EGFR21 mutation-positive patients with advanced NSCLC

LI Fuyu¹, TIAN Chunyan², LI Taotao¹

(1. Department of General Oncology, Qinhuangdao Fourth Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000;

2. Medical Department, Qinhuangdao Fourth Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the application of two-drug and three-drug combination in patients with epidermal growth factor receptor 21 (EGFR21) mutation-positive advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 120 patients with advanced NSCLC with positive EGFR21 mutation from February 2018 to February 2019 were selected and randomly divided into 3 groups, 40 cases in each group. The control group A was treated with epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) + pemetrexed disodium, the control group B was treated with EGFR-TKI+bevacizumab, and the observation group was treated with EGFR-TKI+bevacizumab Antibiotic + pemetrexed disodium treatment. The clinical efficacy, tumor markers before and after treatment [carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 125 (CA125), cytokeratin 19 fragment antigen 21-1 (CYFRA21-1)], Tumor progression-free survival (PFS), overall survival (OS) and safety were compared among the three groups. **Results** The disease remission rate in the observation group was higher than that in the control group A and B, and the difference was statistically significant ($\chi^2=6.068, P<0.05$). After 1 and 3 courses of treatment, the serum levels of CEA, CYFRA21-1 and CA125 in the observation group were lower than those in the control group A and B, and the difference was

基金项目:秦皇岛市重点研发计划科技支撑项目(202004A043)

作者单位:1.秦皇岛市第四医院综合肿瘤科,河北,秦皇岛066000

2.秦皇岛市第四医院医务科,河北,秦皇岛066000

*通信作者:李馥郁, E-mail: lifuyu3388@163.com

statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of thrombocytopenia, neutropenia and abnormal liver function among the three groups ($\chi^2 = 0.565, 0.082, 0.091, P > 0.05$). After 3 years of follow-up, the median PFS and OS in the observation group were longer than those in the control group A and B. **Conclusion** The three-drug combination is more effective in the treatment of EGFR21 mutation-positive advanced NSCLC patients.

[KEY WORDS] EGFR21; Non-small cell lung cancer; Tumor markers; Bevacizumab; Pemetrexed disodium

肺癌是临床常见的恶性肿瘤,居于我国恶性肿瘤的首位,已成为威胁人类健康的“头号杀手”。近年来,EGFR TKI 一线药物联合治疗表皮生长因子受体 21 (Epidermal Growth Factor Receptor 21, EGFR21) 外显子突变阳性的晚期非小细胞肺癌 (Non-small Cell Lung Cancer, NSCLC) 得到临床广泛应用,并证实其有效性^[1]。目前,国内外关于 EGFR21 外显子突变阳性的晚期非小细胞肺癌的研究,多为表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂 (EGFR-TKI) 联合化疗与 EGFR TKI 联合抗血管生成的两药模式,缺乏三药联合的相关报道。贝伐珠单抗是一种抗管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 的靶向药物,其可与 VEGF 受体结合,拮抗 VEGF,从而达到抑制肿瘤血管生成、抗肿瘤活性的作用。另有有研究证实,贝伐珠单抗与培美曲塞联合治疗晚期 NSCLC 可显著提高疗效,改善预后^[2]。本研究初次尝试分析三药联合对 EGFR21 外显子突变阳性的晚期非小细胞肺癌的影响,以期延长患者生存期,为肺癌的治疗提供更多机会。

1 资料与方法

1.1 病例来源

选择 2018 年 2 月至 2019 年 2 月秦皇岛市第四医院符合选例标准的 120 例 EGFR21 外显子突变阳性的晚期 NSCLC 患者,男 64 例,女 56 例;年龄平均 (62.58 ± 10.12) 岁。采取随机对照试验法,将受试对象按就诊先后序号所对应随机号,按 1:1:1 将其随机分为 3 组,每组 40 例。三组性别、年龄、病理分型、临床分期等一般资料相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

1.2 选例标准

纳入标准:①符合相关诊断标准^[3],经组织学确诊为 NSCLC, III b/IV 期;②伴发 EGFR21 突变阳性;③以往未接受过抗肿瘤治疗;④患者及其家属知情同意本研究。排除标准:①EGFR 野生型者;

表 1 三组一般资料比较 [$n(\%), (\bar{x} \pm s)$]

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

项目	观察组 (n=40)	对照 A 组 (n=40)	对照 B 组 (n=40)	F/ χ^2 值	P 值
性别(男/女)	20/20	23/17	21/19	0.469	0.791
年龄(岁)	61.25±6.52	59.89±7.10	62.00±6.87	0.680	0.379
病理分型				0.470	0.791
鳞癌	23(57.50)	20(50.00)	22(55.00)		
腺癌	17(42.50)	20(50.00)	18(45.00)		
临床分期				1.268	0.530
III b 期	22(55.00)	19(47.50)	17(42.50)		
IV 期	18(45.00)	21(52.50)	23(57.50)		
医疗支付方式				1.132	0.568
医保	35(84.50)	37(92.50)	34(85.00)		
自费	5(12.50)	3(7.50)	6(15.00)		

②合并其他恶性肿瘤者;③重要脏器(肝、肾、心、肺)及血液系统功能障碍者;④异体器官移植史者。本研究经医院伦理委员会审批通过。

1.3 治疗方法

所有患者均静脉滴注顺铂, 75 mg/m², d1-d2/d1-d3, 在此基础上给予以下治疗方案:①对照 A 组:EGFR TKI+培美曲塞二钠, 静脉滴注培美曲塞二钠(德州德药制药有限公司, 国药准字 H20080230, 规格 0.5 g), 500 mg/m², d1, 期间每日口服 250 mg 吉非替尼(江苏恒瑞医药股份有限公司, 国药准字 H20203215, 规格 0.25 g)。②对照 B 组:EGFR TKI+贝伐株单抗, 静脉滴注贝伐株单抗(齐鲁制药有限公司, 国药准字 S20190040, 规格 100 mg: 4 mL), 7.5 mg/kg, d1, 期间每日口服 250 mg 吉非替尼。③观察组:EGFR TKI+贝伐株单抗+培美曲塞二钠, 静脉滴注培美曲塞, 500 mg/m², d1; 静脉滴注贝伐株单抗, 7.5 mg/kg, d1, 每日口服 250 mg 吉非替尼。

上述 3 组均采取 3 周治疗方案, 即每 21 d 给药 1 次, 共 3 个疗程。

1.4 观察指标

1.4.1 疗效评估

采用实体瘤疗效评估标准 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)^[4]进行本次

研究的疗效评价,完全缓解(complete remission, CR):病灶完全消失,无新发病灶,肿瘤标志物均小于上限,保持这种状态最短4周;部分缓解(partial response, PR):肿瘤最大径和最少降低30%,维持时间最短4周;疾病进展(progression disease, PD):发现新病灶,或肿瘤病灶最大径和、观测期间最小值相比至少增加20%;疾病稳定(stable disease, SD):病灶变化介于PR、PD间。疾病缓解率即CR、PR之和占总例数的百分比。

1.4.2 血清肿瘤标志物

治疗前、治疗1、3个疗程后采集3组患者空腹肘静脉血,常规离心处理(离心时间10 min,离心半径10 cm,离心速率3 500 r/min),运用放射免疫检测法测定糖类抗原125(CA125)、癌胚抗原(CEA)含量;运用电化学测定法测定细胞角蛋白19片段抗原21-1(CYFRA21-1)水平变化,上述所有检测所用试剂盒均由上海酶联生物有限公司提供,试验操作均按试剂盒说明书严格规范执行。

1.4.3 远期疗效

随访3年,观察患者远期疗效,无进展生存期(progression-free survival, PFS)指从治疗到患者全身任何部位肿瘤新转移或进展的首次记录时间;总体生存期(overall survival, OS)指从治疗开始到任何原因死亡之间的时间。

1.4.4 安全性

根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)标准^[5]相关抗肿瘤药物毒副反应分级对本研究中3组患者用药不良反应进行分级,内容包括血小板减少、中性粒细胞减少、肝功能异常等,可分为0~IV级。

1.5 统计学方法

采用SPSS 23.0软件包分析相关数据,计量资料($\bar{x} \pm s$)表示,*t*检验,计数资料 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验,多组间比较行单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验等级资料采用Ridit分析,U检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床疗效比较

各组疾病缓解率比较:观察组>对照组A组>对照组B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 三组血清肿瘤标志物水平比较

三组治疗前血清CEA、CYFRA21-1、CA125水

表2 3组临床疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	<i>n</i>	CR	PR	SD	PD	疾病缓解率
观察组	40	4(10.00)	22(55.00)	14(35.00)	0(0.00)	26(65.00)
对照A组	40	2(5.00)	15(37.50)	19(47.50)	4(10.00)	17(42.50)
对照B组	40	1(2.50)	15(37.50)	19(47.50)	5(12.50)	16(40.00)
χ^2 值						6.068
<i>P</i> 值						0.048

平相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗1个疗程、3个疗程后3组血清CEA、CYFRA21-1、CA125水平<治疗前,且观察组<对照A组、对照B组,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗1个疗程、3个疗程后对照A组、对照B组血清CEA、CYFRA21-1、CA125水平相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 三组血清肿瘤标志物水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum tumor marker levels among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

时间	组别	<i>n</i>	CEA (mg/mL)	CYFRA21-1 (ng/L)	CA125 (U/mL)
治疗前	观察组	40	65.69±10.32	7.32±1.48	28.32±4.97
	对照A组	40	68.10±9.12 ^a	6.98±1.65 ^a	26.47±5.22 ^a
	对照B组	40	66.95±9.87 ^b	7.10±1.32 ^b	27.11±5.10 ^b
	<i>F</i> 值		0.607	0.812	1.359
	<i>P</i> 值		0.547	0.476	0.261
治疗1个疗程后	观察组	40	43.65±7.63	5.00±1.01	21.10±2.89
	对照A组	40	52.98±6.74 ^a	5.87±1.32 ^a	24.31±3.00 ^a
	对照B组	40	50.32±8.12 ^b	5.63±1.11 ^b	23.89±3.24 ^b
	<i>F</i> 值		16.348	6.065	13.117
	<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001
治疗3个疗程后	观察组	40	14.32±3.10	3.00±0.38	14.25±3.00
	对照A组	40	25.65±4.32 ^a	4.85±0.59 ^a	21.32±4.32 ^a
	对照B组	40	27.00±4.19 ^b	4.72±0.46 ^b	20.14±3.56 ^b
	<i>F</i> 值		126.984	181.730	42.676
	<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与观察组比较,^a $P < 0.05$;与对照A组治疗后相比,^b $P < 0.05$ 。

2.3 各组毒副反应发生率比较

观察组血小板减少、中性粒细胞减少、肝功能异常发生率与对照A组、对照B组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

2.4 3组PFS和OS生存分析

随访3年,观察组中位PFS为9.5个月,对照A组7个月,对照B组8个月;观察组中位OS为27个月,对照A组24个月,对照B组24个月。

3 讨论

EGFR-TKIs是一种酪氨酸酶抑制剂,可抑制EGFR磷酸化,阻滞其下游信号通路传导,发挥抗

表4 三组毒副反应发生率比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of the incidence of toxic and side effects among the three groups [n(%)]

毒副反应	组别	n	I	II	III	IV	总发生率
血小板减少	观察组	40	7(17.50)	5(12.50)	1(2.50)	0(0.00)	13(32.50)
	对照A组	40	5(12.50)	6(15.00)	1(2.50)	0(0.00)	12(30.00)
	对照B组	40	4(10.00)	6(15.00)	0(0.00)	0(0.00)	10(25.00)
	χ^2 值						0.565
	P值						0.754
中性粒细胞减少	观察组	40	6(15.00)	5(12.50)	0(0.00)	0(0.00)	11(27.50)
	对照A组	40	7(17.50)	4(10.00)	1(2.50)	0(0.00)	12(30.00)
	对照B组	40	8(20.00)	3(7.50)	0(0.00)	0(0.00)	11(27.50)
	χ^2 值						0.082
	P值						0.960
肝功能异常	观察组	40	5(12.50)	4(10.00)	1(2.50)	0(0.00)	10(25.00)
	对照A组	40	4(10.00)	5(12.50)	0(0.00)	0(0.00)	9(22.50)
	对照B组	40	6(15.00)	3(7.50)	1(2.50)	0(0.00)	10(25.00)
	χ^2 值						0.091
	P值						0.956

肿瘤作用^[6]。目前,临床应用的EGFR-TKIs类药物有厄洛替尼、吉非替尼、埃克替尼及二代阿法替尼,其中吉非替尼应用较为普遍,可有效抑制血管生成,阻碍肿瘤生长和转移,促进肿瘤细胞的凋亡^[7]。尽管,EGFR-TKI对于晚期NSCLC患者疗效显著,但EGFR-TKI用药后易出现耐药,增加治疗难度。

培美曲塞二钠是一种叶酸拮抗剂,可通过抑制二氢叶酸还原酶、胸腺酸合成酶活性而阻滞胸腺嘧啶核苷酸、嘌呤核苷酸的生成,抑制肿瘤细胞基因转录,促进肿瘤细胞凋亡,达到抗肿瘤的目的,目前已广泛应用于NSCLC^[8]。Zhou C等^[9]学者将培美曲塞二钠应用于晚期NSCLC患者,患者生存时间明显延长。尽管目前培美曲塞二钠使晚期肺癌患者预后得到改善,但5年生存率仍较低。有研究认为,肿瘤局部浸润、远处转移与生存率密切相关,而肿瘤新生血管的形成参与了疾病进展的整个过程^[10]。VEGF是一种促血管内皮细胞生长因子,可通过动员骨髓衍生内皮前体,进一步支持肿瘤血管生成,造成肿瘤浸润和转移^[11]。贝伐珠单抗是一种抗VEGF的靶向药物,能靶向性地识别VEGF,抑制VEGF与其受体结合及相互作用,降低VEGF促血管生成活性,并可作用于已生成血管,促进其退化,发挥肿瘤生长抑制效果。赵秋红等^[12]在EGFR-TKIs、铂类化疗药物基础上增加贝伐珠单抗发现,EGFR突变晚期肺癌患者微血管密度降低,相比常规治疗,患者预后得到明显改善。上述分析均已证实两药联合在临床中得到广泛应用,并取得显著效果。为进一步延长患者生存期,为肺癌的治疗提供更多机会,本研究采取

一线EGFR-TKI+培美曲塞二钠+贝伐珠单抗三药联合方案,结果显示,观察组疾病缓解率明显高于对照A、B组,且中位PFS、OS长于对照A、B组,由此可见三药联合远近期疗效明显优于两药联合方案。贝伐珠单抗作为首个用于临床的抗血管靶向治疗药品,可促使血管趋向正常,抑制肿瘤血管生成,提升瘤体血管功能,增强放化疗功效;同时结合培美曲塞二钠的促肿瘤细胞凋亡作用和EGFR-TKI的靶向抑制EGFR激酶活性作用,可有效提高抗肿瘤效果,阻滞肿瘤浸润和转移,延长生存期。

此外,本研究从肿瘤标志物方面进一步探究三药联合方案抗肿瘤效果,CEA、CYFRA21-1、CA125是临床常用肿瘤标志物,梅馨方等^[13]报道,在肺癌患者中CA125水平明显升高,诊断肺癌灵敏度高达91.3%。CYFRA21-1是临床应用较多的标志物,主要表达于肺部组织,其浓度在NSCLC患者中明显增加。CEA是最早用于临床的非器官特异性肿瘤抗原,研究报道,肺癌细胞可合成并释放CEA,且其水平与肿瘤复发和转移相关^[14]。本研究显示,治疗1个、3个疗程后观察组血清CEA、CYFRA21-1、CA125水平均低于对照A组、对照B组,可见一线EGFR-TKI+培美曲塞二钠+贝伐珠单抗三药联合可有效降低EGFR21突变阳性的晚期NSCLC患者肿瘤标志物水平,控制疾病进展。从安全性方面分析,本研究显示,三组毒副反应发生率相比无显著差异,由此表明相比两药联合,三药联合治疗不会明显增加毒副反应,可确保用药安全性。

综上所述,一线EGFR-TKI+培美曲塞二钠+贝伐珠单抗三药联合治疗EGFR21突变阳性的晚期

NSCLC患者,与两药联合相比,能获取更好的临床效果,延长患者的PFS、OS,控制肿瘤进展,且未出现严重毒副反应,患者可坚持治疗,有着广泛的临床应用前景。

参考文献

- [1] 张洪彬,张满娥,黄文滨,等. RASSF1A 基因甲基化和 SCC 联合检测在非小细胞肺癌转移监测中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(2): 85-90.
- [2] 张宇祥,郝登荣. 培美曲塞联合贝伐珠单抗对非鳞状非小细胞肺癌维持期治疗的有效性分析[J]. 国际呼吸杂志, 2019, 39(8): 567-571.
- [3] Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(suppl-4): iv1-iv21.
- [4] 杨学宁,吴一龙. 实体瘤治疗疗效评价标准-RECIST[J]. 循证医学, 2004, 4(2): 85-90.
- [5] 罗静,魏华,藕顺龙,等. 我国抗肿瘤药物超说明书用药价值评价模型的探索性实证研究[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(2): 184-188+201.
- [6] 谢奎,马万成,丘洁,等. 2008-2017年深圳市罗湖区肺癌发病趋势分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(5): 620-622+626.
- [7] 韩昕,白维君. EGFR-TKI 靶向治疗 EGFR19 或 21 突变的非小细胞肺癌临床分析[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(1): 71-74.
- [8] 宣向飞,雷莲莲. 培美曲塞二钠联合顺铂治疗晚期非小细胞肺癌的疗效观察[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2021, 28(4): 466-469.
- [9] Zhou C, Chen G, Huang Y, et al. Camrelizumab plus carboplatin and pemetrexed versus chemotherapy alone in chemotherapy-naive patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer (CameL): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial[J]. *Lancet Respir Med*, 2021, 9(3): 305-314.
- [10] Frezzetti D, Gallo M, Maiello MR, et al. VEGF as a potential target in lung cancer[J]. *Exp Opin Ther Targets*, 2017, 21(10): 959-966.
- [11] 张雨婷,汪亦君,夏沛,等. CRIM1 通过激活 ERK1/2-VEGF 信号通路促进子宫鳞状细胞癌微血管生成[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(4): 379-384.
- [12] 赵秋红,闫春良,任冠军. 贝伐珠单抗联合靶向药物治疗表皮生长因子受体突变型非小细胞肺癌的临床疗效[J]. 癌症进展, 2020, 18(14): 1474-1476+1500.
- [13] 梅馨方,吴熠. EGFR 基因突变状态与非小细胞肺癌患者临床特征及血清肿瘤标志物水平关系分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(7): 1198-1202+1227.
- [14] 梅骏驰,严格. 肺癌患者外周血循环肿瘤细胞与 NSE、CEA 以及 CYFRA21-1 水平的研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(1): 37-40.
- [10] Khan M, Osman K, Green G, et al. The epidemiology of failure in total knee arthroplasty: avoiding your next revision [J]. *Bone Jt J*, 2016, 98-B(1 Suppl A): 105-112.
- [11] Lu Y, Hu B, Dai H, Wang B, et al. Predictors of Chronic Postsurgical Pain in Elderly Patients Undergoing Hip Arthroplasty: A Multi-Center Retrospective Cohort Study [J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14: 7885-7894.
- [12] Latijnhouwers DAJM, Martini CH, et al. Acute pain after total hip and knee arthroplasty does not affect chronic pain during the first postoperative year: observational cohort study of 389 patients[J]. *Rheumatol Int*, 2022, 42(4): 689-698.
- [13] Panzenbeck P, von Keudell A, Joshi GP, et al. Procedure-specific acute pain trajectory after elective total hip arthroplasty: systematic review and data synthesis [J]. *Br J Anaesth*, 2021, 127(1): 110-132.
- [14] Jiang M, Deng H, Chen X, et al. The efficacy and safety of selective COX-2 inhibitors for postoperative pain management in patients after total knee/hip arthroplasty: a meta-analysis [J]. *J Orthop Surg Res*, 2020, 15(1): 39.
- [15] Pryymachenko Y, Wilson RA, Abbott JH, et al. Risk Factors for Chronic Opioid Use Following Hip and Knee Arthroplasty: Evidence from New Zealand Population Data [J]. *J Arthroplasty*, 2020, 35(11): 3099-3107.
- [16] Stensson N, Ghafouri B, Gerdle B, et al. Alterations of anti-inflammatory lipids in plasma from women with chronic widespread pain-a case control study[J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16: 112.
- [17] Piomelli D, Hohmann AG, Seybold V, et al. A lipid gate for the peripheral control of pain[J]. *J Neurosci*, 2014, 34: 15184-15191.
- [18] Pousinis P, Gowler PRW, Burston JJ, et al. Lipidomic identification of plasma lipids associated with pain behaviour and pathology in a mouse model of osteoarthritis [J]. *Metabolomics*, 2020, 16: 32.
- [19] Wang C, Xu B, Wang P, et al. Association of dyslipidemia with chronic non-malignant pain in elderly patients with femoral neck fractures treated by primary total hip arthroplasty: a retrospective study[J]. *J Int Med Res*, 2021, 49(9): 1-9.
- [20] Steven P, Cohen, Lene Vase, et al. Chronic pain: an update on burden, best practices, and new Advances [J]. *Lancet*, 2021, 397(10289): 2082-2097.
- [21] Donnelly TJ, Palermo TM, NewtonJohn TRO, et al. Parent cognitive, behavioural, and affective child pain and functioning in pediatric chronic pain: A systematic review and meta-analysis[J]. *Pain*, 2020, 161: 1401-1419.

(上接第 1712 页)

新生儿黄疸 *G6PD* 基因突变及实验室相关指标分析

王杨 吉永 匡野 付晓野 杨晓青 李祎*

[摘要] **目的** 探讨新生儿黄疸病例中 *G6PD* 基因突变类型的分布情况,以及生理性与病理性黄疸之间的实验室相关指标差异。**方法** 收集昆明市延安医院新生儿科2017年8月至2019年3月收治的134例新生儿黄疸患儿(病理性黄疸91例,生理性黄疸43例),对其进行实验室相关指标的数据采集。并对134例患儿中的49例(病理性黄疸37例,生理性黄疸12例)进行 *G6PD* 基因突变检测。**结果** 49例患儿中共检出基因突变3例,其中 c.1376G>T 纯合突变2例(66.67%), c.95A>G 纯合突变1例(33.33%)。*G6PD* 基因突变率为6.12%。生理性黄疸组与病理性黄疸组之间总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、血红蛋白、红细胞压积、网织红细胞绝对值比较,差异有统计学意义($t=-14.15, -3.55, -14.12, -3.93, -3.62, 2.79, P<0.05$);两组超敏CRP、红细胞数比较,差异无统计学意义($t=-0.47, -2.73, P>0.05$)。**结论** c.1376G>T 纯合基因突变型是最常见的 *G6PD* 基因突变型。生理性与病理性黄疸之间血红蛋白等实验室相关指标比较有显著相关性。

[关键词] 新生儿;黄疸;胆红素;*G6PD*;基因突变

Analysis of *G6PD* gene mutation and laboratory related indicators in neonatal jaundice

WANG Yang, JI Yong, KANG Ye, FU Xiaoye, YANG Xiaoqing, LI Yi*

(Department of Laboratory Medicine, Yan'an Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, China, 650051)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the distribution of *G6PD* gene mutation types in neonatal jaundice cases and the differences in laboratory indicators between physiologic and pathological jaundice. **Method** Data of laboratory indicators were collected from 134 children diagnosed with neonatal jaundice, and *G6PD* gene mutation was detected in 49 of them. **Results** Among the 49 cases, 3 cases were detected with gene mutation, including 2 cases of c.1376G > T homozygous mutation (66.67%) and 1 case of c.95A > G homozygous mutation (33.33%). The mutation rate of *G6PD* gene was 6.12%. The absolute values of total bilirubin, direct bilirubin, indirect bilirubin, hemoglobin, hematocrit and reticulocyte between the physiological jaundice group and the pathological jaundice group were significantly different ($t=-14.15, -3.55, -14.12, -3.93, -3.62, 2.79, P<0.05$). There was no significant difference in the number of hypersensitive CRP and red blood cells between the two groups ($t=-0.47, -2.73, P>0.05$). **Conclusions** C.1376G > T homozygous gene mutation is the most common *G6PD* gene mutation. There was a significant correlation between physiologic and pathological jaundice in laboratory parameters such as hemoglobin.

[KEY WORDS] Newborn; Jaundice; Bilirubin; *G6PD*; Gene mutation

新生儿黄疸(neonatal jaundice)在新生儿中十分常见。有文献研究表明,其发病率达0.35%~0.57%以上^[1],见于80%以上早产儿和60%以上足

月儿,占住院新生儿的20%~40%^[2]。由于新生儿早期胆红素的代谢特点、疾病因素,新生儿黄疸可以是预后良好的暂时生理现象,也可以是预后较

基金项目:昆明市卫健委科研课题项目(2019-11-01-017)

作者单位:昆明医科大学附属延安医院检验科,云南,昆明650051

*通信作者:李祎, E-mail: kathy7227@sina.com

差的疾病表现。

如果未及时发现和治疗血清中升高的胆红素,可能在下列几个方面影响到新生儿的远期临床预后:一、黄疸可能发导致智力发育低下、痴呆以及大脑发育障碍;持续的黄疸还可能使患儿发生胆红素脑病或核黄疸,给患儿大脑造成不可逆的神经系统损害。二、一些严重的黄疸,如溶血性黄疸还会损伤肝肾功能,使患儿多器官衰竭^[3]。因此研究能够有效辅助临床早期诊断和治疗新生儿黄疸的实验室相关指标显得尤为重要。而遗传因素对新生儿黄疸的发生起着十分重要的作用,*G6PD*基因突变即是其中一种。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2017年8月至2019年3月昆明市延安医院新生儿黄疸患儿134例,男性91例,女性43例,日龄2h至28天。其中91例患儿为病理性黄疸,占67.91%,43例患儿为生理性黄疸,占32.09%。纳入标准:符合《儿科学》^[4]中的诊断标准:①出生后24h内即出现黄疸,持续时间长,足月儿>2周,早产儿>4周仍不退;②血清总胆红素足月儿超过220 μmol/L,早产儿超过257 μmol/L;③每日血清胆红素升高超过5 mg/dL或每小时>0.5 mg/dL;④结合胆红素超过34 μmol/L。排除标准为入院时合并以下疾病或情况的患儿:早产、过期产、溶血病、感染、颅内出血及巨大头颅血肿、新生儿出血症、先天畸形(消化道畸形、先天性心脏病)、甲状腺功能低下、唐氏综合征、红细胞增多症、出生窒息、缺氧缺血性脑病、肝功能异常及直接胆红素升高。从134例患儿中留取2018年11月至2019年3月的新生儿黄疸患儿49例作为*G6PD*基因突变检测对象,男性33例,女性16例,其中37例患儿为病理性黄疸,占75.51%,12例患儿为生理性黄疸,占24.49%。日龄2h至20d。本研究通过院伦理委员会批准,并获得患儿法定监护人的知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 样品采集

对49名新生儿黄疸患儿进行静脉采血1.0~2.0 mL,EDTA抗凝,-20℃保存。

1.2.2 基因提取

采用吸附柱法,首先利用裂解液促使细胞破碎,使细胞内核酸释放出来;然后将释放的核酸特

异性地吸附在特定的硅胶膜上;然后将吸附在硅胶膜上的核酸用洗脱液洗脱下来,得到纯化的核酸。用超微量分光光度计NP80Touch测定提取的DNA样本的浓度和纯度,DNA样本的OD260nm/OD280nm应在1.6~2.0范围之内,且OD260nm/OD230nm≥2.0。

1.2.3 *G6PD*基因突变检测

使用上海宏石医疗科技有限公司生产的荧光定量PCR仪(型号:SLAN-96S),应用厦门致善生物科技股份有限公司生产的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变检测试剂盒(荧光PCR熔解曲线法,批号:17121501、18120601)进行*G6PD*基因突变,具体方法如下:PCR扩增反应体系设为25 μL,PCR反应程序为:50℃ 2 min-95℃ 10 min→(95℃ 15 s→65℃~56℃(每个循环下降1℃)15 s→76℃ 20 s)×10个循环→(95℃ 15 s→55℃ 15 s→76℃ 20 s)×50个循环。使用实时荧光PCR仪,共有FAM、HEX、ROX和Cy5四个通道,设置在55℃退火阶段时采集荧光信号。熔解曲线分析程序设置如下:95℃ 1 min→35℃ 3 min→40℃~85℃以0.4℃/5 s的升温速率进行熔解曲线分析,且在此阶段采集FAM、HEX、ROX和Cy5通道荧光信号。将待测样本八个检测通道(A、B体系中)的熔解峰与野生型对照对应通道的熔解峰之间熔点(T_m值)的差异进行比较,从而判断核酸样本是否发生*G6PD*基因突变。与野生型对照对应熔解峰比较差异(ΔT_m值)在±1℃以内的样本熔解峰为野生型峰,差异超过±2℃即为突变型峰。

1.2.4 胆红素测定

使用美国贝克曼库尔特有限公司生产的全自动生化分析仪(型号:AU5421),采用北京九强生物技术股份有限公司生产的总胆红素测定试剂盒(钒酸盐氧化法,批号:17-0603、18-0605)和直接胆红素测定试剂盒(钒酸盐氧化法,批号:17-0615、18-0612),血清胆红素在PH3.0的条件下,会与钒酸反应,生成胆绿素,通过检测胆红素氧化前后的吸光度变化,可以计算出样品血清中胆红素浓度水平。

1.2.5 葡萄糖6-磷酸脱氢酶活性检测

采用比值法,在吩嗪二甲酯硫酸盐递氢的促进下,NADPH的H传递给氧化型NBT(硝基四氮唑蓝)(黄色),使之转变为还原型NBT(蓝色),蓝色的深浅与NADPH生成量一致(S₁);同法测定6PG生成的NADPH的量(S₂),通过S₁/S₂判断

NADPH 生成的相对含量,从而判断 *G6PD* 是否缺乏。

1.2.6 统计学方法

采用 SPSS 软件进行分析;计数资料以(%)表示;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用两独立样本 *t* 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *G6PD* 基因突变检测结果

49 例新生儿黄疸患儿之中,共检出 3 例 *G6PD* 基因突变,发生率为 6.12%,其中 *c.1376G>T* 纯合突变 2 例(66.67%),*c.95A>G* 纯合突变 1 例(33.33%)。

基因突变患儿均为男婴。*G6PD* 基因突变率为 6.12%。其余未检出突变。3 例突变病例均为病理性黄疸,*G6PD* 酶活性均有大幅降低,数值为 0.62 ± 0.24 (U/gHb),病理性黄疸突变率为 8.10%。

2.2 生理性黄疸和病理性黄疸之间各实验指标差异

生理性黄疸组与病理性黄疸组之间总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、血红蛋白、红细胞压积、网织红细胞绝对值比较,差异有统计学意义 ($t = -14.15, -3.55, -14.12, -3.93, -3.62, 2.79, P < 0.05$);两组超敏 CRP、红细胞数比较,差异无统计学意义 ($t = -0.47, -2.73, P > 0.05$)。见表 1。

表 1 生理性与病理性黄疸之间实验室相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of related laboratory indicators between physiological and pathological jaundice ($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	直接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	间接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	超敏 CRP (mg/L)	血红蛋白 (g/L)	红细胞 ($\times 10^{12}$)	红细胞压积 (L/L)	网织红细胞绝对值 ($\times 10^{12}$)
生理性黄疸组	43	153.97 \pm 49.80	16.67 \pm 8.71	137.29 \pm 46.63	2.19 \pm 3.11	142.28 \pm 20.09	4.15 \pm 0.63	0.41 \pm 0.06	0.18 \pm 0.09
病理性黄疸组	91	283.69 \pm 49.00	23.85 \pm 14.60	259.84 \pm 47.44	2.68 \pm 4.48	156.61 \pm 18.91	4.44 \pm 0.58	0.45 \pm 0.05	0.12 \pm 0.07
<i>t</i> 值		-14.15	-3.55	-14.12	-0.47	-3.93	-2.73	-3.62	2.79
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

本研究结果与文献结果^[5]一致,表明了直接胆红素、间接胆红素、血红蛋白、红细胞压积等实验室相关指标作为辅助判断生理性黄疸和病理性黄疸的有效指标有一定价值。当数值较高时,就可提前预测病理性黄疸,及时进行预防。Newman^[6]等也曾提出网织红细胞可用于诊断新生儿黄疸。

遗传因素是引起新生儿黄疸的重要原因之一,有研究表明 *G6PD* 基因突变、*GST* 基因多态性、*UGT1A1* 基因多态性^[7]等遗传因素与新生儿黄疸有明确的相关性。我国 *G6PD* 基因缺陷及其引起的 *G6PD* 缺乏症^[8]导致新生儿黄疸临床多见。2004 年美国儿科学会在《新生儿高胆红素血症诊疗方案》中将 *G6PD* 缺乏作为 ≥ 35 周新生儿黄疸的高危因素^[9]。

至今,世界范围内已发现的 140 多种 *G6PD* 基因突变型^[10],呈高度异质性,除第 3 和第 13 外显子外,整个基因皆可发生突变,且在所发现的基因突变型中,85.4% 表现为单个碱基置换的错义突变,另有 8.0% 为复合突变^[11]。但半数突变并不影响酶的活性,不引发溶血。*G6PD* 基因突变在不同的地域以及不同的民族之间有着较高的异质性,我国

G6PD 基因突变的分布情况呈现“南高北低”态势^[12],其中尤以云南、四川、贵州、广东、广西等地为高发区。中国人群中以 G1388A、G1376T、C1024T、C1044T、G871A 和 A95G6 种点突变多见;非洲人中常见 G202A、A376G 和 G680T 等点突变;地中海人群中,最常见的突变是 C563T。本次研究定性检测人外周血基因组 DNA 中中国人群常见的 12 种 *G6PD* 基因突变:*c.95A>G*、*c.383T>C*、*c.392G>T*、*c.487G>A*、*c.517T>C*、*c.592C>T*、*c.871G>A*、*c.1004C>A*、*c.1024C>T*、*c.1360C>T*、*c.1376G>T*、*c.1388G>A*。本研究还对 49 例新生儿黄疸进行了 *G6PD* 基因突变检测,共检出 3 例 *G6PD* 基因突变,其中 *c.1376G>T* 突变是主要的 *G6PD* 突变型之一,它也是中国人群中最常见的点突变类型之一,此与湖南长沙地区^[13]、广西百色地区^[14]、柳州地区^[15]、潮州市^[16]、海口地区^[17]等地的主要 *G6PD* 基因突变型一致。

G6PD 基因位于 X 染色体长臂 2 区 8 带 (Xq28),长约 18 kb,其中含有 12 个内含子和 13 个外显子,可编码 515 个氨基酸,正常野生型为 G-6-PDB。G-6-PD 缺乏症系由其基因变异所致,是一种伴 X 染色体不完全显性遗传病^[18],女性纯合突变及男性突变均会引起严重临床表现,呈重度缺陷。而女性

杂合突变临床表现可正常,但也可能将缺陷基因遗传给下一代,表现正常的女性杂合突变要用基因检测进行诊断^[19]。目前认为 *G6PD* 基因突变主要为单个碱基置换导致的错义突变改变编码蛋白质,从而使蛋白质的生物功能出现差异。这种改变的完成通常包括两个机制:改变 *G6PD* 功能结构区的功能和影响 *G6PD* 二聚体的形成。*G6PD* 功能结构区包括 NADP+(氧化型辅酶 II)和 G6P(葡萄糖-6-磷酸)结合区。突变位于氨基酸则引起的临床症状较轻,而突变位于羧基端则引起的临床表现较重,尤其是位于 NADP+结合区或 G6P 结合区时临床表现最为严重。当 c.1376G>T 突变或 c.1388G>A 突变时,置换位置出现在 NADP+结合区的附近,可能影响 NADP+结合区和 G6P 结合区的功能,故常出现较为严重的新生儿黄疸及溶血。

G-6-PD 参与的磷酸己糖旁路代谢途径,是唯一能产生还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, NADPH)的来源。NADPH 是一种重要的还原物质,存在于红细胞中,可将氧化型谷胱甘肽经还原反应转变为还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH),而 GSH 可以使巯基的蛋白质、酶受到保护,免受氧化剂(尤其是过氧化物)的损害,保护红细胞膜的完整性。由于 G-6-PD 基因变异所致的酶活性下降,会导致 GSH 不足,当机体接触氧化物质(如某些药物)后,血红蛋白氧化变性,细胞膜被损伤,发生溶血,导致患者出现黄疸。

目前针对 *G6PD* 基因突变患者的治疗无根治疗法,以疾病发作时对症治疗为主,严重者治疗效果不佳,在基因水平上修复这些突变位点将改善这一现状。目前,已经有学者成功构建了 *HEK293T* 稳定细胞株,这是一种能够敲除 *G6PD* 基因 c.392G>T 突变位点的细胞株,该研究成果为后期研究其基因修复奠定了基础^[20]。有研究证明^[21],花生四烯酸能够抑制磷脂酰肌醇 3 激酶(Phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)通路,同时还能抑制 *G6PD* 突变基因的表达,其机制是通过 p38 丝裂原激活的蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK),磷酸化胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)的 307 位丝氨酸。还有学者构建动物实验研究发现可以通过多不饱和脂肪酸激活剪接沉默子而减少 *G6PD* 基因前体 mRNA 的表达。

综上所述,*G6PD* 基因突变与新生儿黄疸有着密切的相关性。随着对 *G6PD* 基因突变与新生儿黄疸的关系的深入研究,可以对新生儿黄疸患者进行基因检测,判断 *G6PD* 基因突变型与新生儿胆红素浓度关系,从而进行黄疸动物模型建立考察药物或基因编辑等手段对黄疸的消退作用,预测新生儿黄疸的可能性并及时对症处理。

参考文献

- [1] Yang L, Wu D, Wang B, et al. The influence of zinc sulfate on neonatal jaundice: a systematic review and meta-analysis [J]. *Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 31(10):1311-1317.
- [2] 韩国华,董甜甜,贾宇坤. 新生儿黄疸的临床研究进展[J]. *饮食保健*, 2019, 6(21):298.
- [3] Amegan-Aho KH, Segbefia CI, Glover NDO, et al. Neonatal Jaundice: awareness, perception and preventive practices in expectant mothers[J]. *Ghana Med J*, 2019, 53(4):267-272.
- [4] 张雷,董巧丽. 胆红素的变化与新生儿黄疸发生程度的相关性[J]. *中国妇幼健康研究*, 2018, 29(6):738-740.
- [5] 汤丽,许欣. 新生儿病理性黄疸患儿血清胆红素、TAB 及 HS-CRP 检测水平分析. *中国实验诊断学*, 2018, 9(22):1518-1521.
- [6] Cortesi V, Manzoni F, Raffaelli G, et al. Severe Presentation of Congenital Hemolytic Anemias in the Neonatal Age: Diagnostic and Therapeutic Issues[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2021, 11(9):1549.
- [7] Chávez-Peña T, Martínez-Camberos A, Cossio-Gurrola G, et al. Prevalence of UGT1A1 (TA)_n promoter polymorphism in Panamanians neonates with G6PD deficiency [J]. *J Genet*, 2020, 99:63.
- [8] 马炜锋,黄和明,林少香. 导致新生儿病理性黄疸危险因素的临床研究[J]. *中国医药指南*, 2020, 18(16):26-27.
- [9] Boskabadi H, Rakhshanizadeh F, Zakerihamid M. Evaluation of Maternal Risk Factors in Neonatal Hyperbilirubinemia [J]. *Arch Iran Med*, 2020, 23(2):128-140.
- [10] Pan J, Zhuang D, Yu Q, et al. Molecular genotyping of G6PD mutations for neonates in Ningbo area [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(12):e24104.
- [11] Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. *Blood*, 2020, 136(11):1225-1240.
- [12] 陈新瑶,梁雪雁,黄慧莹,等. 潮州市新生儿 G6PD 筛查和基因型鉴定分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(6):881-884.
- [13] 刘珊,李晨辉,王淑媛,等. 湖南湘潭地区新生儿 G6PD 基因型分布及临床研究[J]. *中国预防医学杂志*, 2020, 21(10):1087-1090.
- [14] 何丽桥,王俊利,李妹燕,等. 广西百色地区人群 G6PD 缺乏症的分布特征分析[J]. *右江民族医学院学报*, 2021, 43(2):178-181.

(下转第 1726 页)

骨髓 *CKS1B*、*p53* 基因表达对多发性骨髓瘤患者化疗效果及预后的评估价值

廖彩翔* 黎国伟 秦晓铎

[摘要] **目的** 探讨骨髓 *CKS1B*、*p53* 基因表达对多发性骨髓瘤(MM)患者化疗效果及预后的评估价值研究。**方法** 选取2020年6月至2022年3月收治于惠州市中心人民医院的86例MM患者作为研究对象。所有患者化疗4个疗程(硼替佐米+地塞米松+来那度胺,28d为1个疗程)后根据2014国际骨髓瘤工作组标准将86例MM患者分为有效组($n=53$)和无效组($n=33$),绘制ROC曲线评估其在MM患者疗效监测中的价值。根据骨髓 *CKS1B*、*p53* 基因水平阳性表达分组,比较患者临床特点并采用Cox回归模型分析MM患者生存状况。**结果** 有效组MM患者骨髓 *CKS1B*、*p53* 阳性表达率显著低于无效组,差异有统计学意义($\chi^2=3.853, 14.682, P$ 均 <0.001)。绘制 *CKS1B*、*p53* 对MM患者疗效监测的ROC曲线分析显示,*CKS1B*、*p53* 的最佳截断值分别为0.78、0.51,AUC分别为0.851、0.896,敏感度为75.75%、90.90%,特异度为77.35%、83.01%。MM患者的骨髓 *CKS1B*、*p53* 阳性表达与R-ISS分期、C反应蛋白、血红蛋白有关,差异有统计学意义($\chi^2=5.045, 7.232, 4.282, P$ 均 <0.05)。Cox多因素回归分析结果显示,白细胞、血红蛋白、*CKS1B* 及 *p53* 为MM患者预后不良的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** 骨髓 *CKS1B*、*p53* 对MM患者疗效监测有一定价值,MM中骨髓 *CKS1B*、*p53* 阳性表达与白细胞、血红蛋白及预后密切相关。

[关键词] 多发性骨髓瘤; *CKS1B*; *p53*; 疗效监测; 预后

Evaluation of *CKS1B* and *p53* gene expression in bone marrow for chemotherapy effect and prognosis in patients with multiple myeloma

LIAO Caixiang*, LI Guowei, QIN Xiaohua

(Department of Hematology, Huizhou Central People's Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of bone marrow *CKS1B* and *p53* gene expression in evaluating the effect of chemotherapy and prognosis in patients with multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 86 MM patients admitted to Huizhou Central People's Hospital from June 2020 to March 2022 were selected as the research subjects. All patients received 4 courses of chemotherapy (bortezomib + dexamethasone + lenalidomide, 28 days as a course). According to the 2014 International Myeloma Working Group criteria, 86 patients with MM were divided into an effective group ($n=53$) and an ineffective group ($n=33$). The ROC curve was drawn to evaluate its value in monitoring the curative effect of MM patients. According to the positive expression levels of *CKS1B* and *p53* genes in bone marrow, the patients were divided into groups, the clinical characteristics of the patients were compared, and the Cox regression model was used to analyze the survival status of MM patients. **Results** The positive expression rates of *CKS1B* and *p53* in the bone marrow of MM patients in the effective group were significantly lower than those in the ineffective group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=3.853, 14.682, P<0.001$). The ROC curve analysis of the efficacy monitoring of *CKS1B* and *p53* in MM patients showed that the best cut-off values of *CKS1B* and *p53* were 0.78 and 0.51, respectively, the AUC was 0.851 and 0.896, the sensitivity was 75.75%, 90.90%, and the specificity was 77.35%, 83.01%. The positive expression of *CKS1B* and *p53* in the bone

基金项目:惠州市科技计划项目(2021WC0106356)

作者单位:惠州市中心人民医院血液内科,广东,惠州516000

*通信作者:廖彩翔, E-mail:leiaixiang159761@163.com

marrow of MM patients was related to R-ISS stage, C-reactive protein, and hemoglobin, and the difference was statistically significant ($\chi^2=5.045, 7.232, 4.282, P<0.05$). Cox multivariate regression analysis showed that white blood cells, hemoglobin, *CKS1B* and *p53* were independent influencing factors of poor prognosis in MM patients ($P<0.05$). **Conclusion** Bone marrow *CKS1B* and *p53* have certain value in monitoring the curative effect of MM patients. The positive expression of bone marrow *CKS1B* and *p53* in MM is closely related to white blood cells, hemoglobin and prognosis.

[KEY WORDS] Multiple myeloma; *CKS1B*; *p53*; Efficacy monitoring; Prognosis

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种浆细胞恶性增殖性疾病,多发于中老年人。近年来,随着靶向药及造血干细胞移植的应用,MM患者预后明显改善,但因MM为异质性极强的肿瘤,患者生存期从数月数十年不等^[1]。决定MM患者预后异质性的主要因素为细胞遗传学异常,MM患者最常见的结构异常为1号染色体异常,其中45%MM患者1q扩增均涉及1q21^[2]。1q21包含一个*CKS1B*基因,为高度保守的细胞周期蛋白激酶亚基1蛋白家族成员之一,该家族与细胞周期蛋白依赖激酶(CDKs)互相作用,影响细胞周期进程,因此可能在MM发病机制中有一定应用价值^[3]。*p53*基因最易发生异常,野生型*p53*可诱导细胞凋亡,负性调节细胞周期^[4]。但目前鲜有报道关于*p53*基因在MM患者中的表达情况,而国内尚未见*CKS1B*在MM患者中的作用。本研究通过分析MM患者化疗后骨髓*CKS1B*、*p53*基因表达,旨在探讨其在MM患者中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年6月至2022年3月收治于惠州市中心人民医院的86例MM患者作为研究对象。所有患者化疗4个疗程(硼替佐米+地塞米松+来那度胺,28d为1个疗程)后根据2014国际骨髓瘤工作组标准将86例MM患者分为有效组($n=53$)和无效组($n=33$)。其中男59例,女27例;平均年龄(68.15 ± 4.57)岁;纳入标准:①符合国际骨髓瘤工作组诊断标准^[5];②有完整的临床资料及随访资料。排除标准:①患有其他血液系统疾病;②患有认知障碍患者。所有患者或家属均已签署知情同意书。本研究通过医院伦理委员会审核并批准。

1.2 疗效评估标准^[5]

完全缓解(CR):血清和尿液免疫固定电泳均为阴性,软组织浆细胞瘤消失,骨髓中浆细胞<5%;部分缓解(PR):M蛋白减少 $\geq 50\%$,24h尿M蛋白减少 $\geq 90\%$ 或降至<200mg/24h;骨髓内浆细胞

数量减少 $\geq 50\%$;疾病稳定(SD):血清M蛋白减少 $\geq 50\%$;疾病进展(PD):M蛋白最低值 ≥ 5 g/dL,尿M蛋白 ≥ 200 mg/24h,骨髓浆细胞比例增加25%。

1.3 FISH法检测骨髓*CKS1B*、*p53*基因表达

浆细胞纯化:采用CD138抗体MACS分选浆细胞,详细步骤参考文献^[6],将分选的浆细胞用常规方法低渗,将染色体置-20℃条件下备用。

CKS1B/CDKN2C所用试剂盒:安必平(LBP)1q21/1p32基因探针,厂家:安必平;*P53*所用试剂盒:慢性淋巴细胞白血病染色体及基因异常探针检测试剂盒TP53/CEP17双色探针,厂家:康录生物。取出标本,用甲醇/冰醋酸(3:1)固定液,然后气干法滴片,在37℃2×SSC中老化30min,分别在70%、85%、100%乙醇各脱水2min。把标本用70%甲酰胺/2×SSC变形3min。每个标本滴加探针1μL,用杂交稀释液4μL混合均匀,水浴(72℃)变性5min。加探针5μL于带杂交区,盖玻片后杂交过夜。将玻片放入72℃0.4×SSC/0.3%吐温中2min,2×SSC/0.1%吐温中1min后将玻片晾干。待15min后用荧光显微镜进行观察,具体探针阈值:1q21扩增为5.5%、*P53*缺失为6.0%。*CKS1B*(1q21)扩增、CDKN2C(1p32)缺失、TP53的阳性截断值为20。每例MM标本分析 ≥ 100 个骨髓瘤细胞,计算阳性信号出现的百分率,超过截断值则判定为阳性^[7]。

1.4 临床资料收集

收集所有患者的相关临床资料,包括年龄、性别、(Durie-Salmon, DS)分期、国际分期体系(International Staging System, ISS)分期、修正的国际分期体系(Revised-International Staging System, R-ISS)分期、血 β_2 -微球蛋白、C反应蛋白、血钙、乳酸脱氢酶、血红蛋白等。MM患者疾病分期依据《血液病诊断及疗效标准》^[8]中DS分期、ISS分期及R-ISS分期标准进行评估。其中R-ISS分期I期:乳酸脱氢酶(LDH)水平正常和细胞遗传学标危患者;II期:不符合R-ISS-I期和III期患者;III期:符合R-ISS-III期且为细胞遗传学高危或LDH偏高患者。

1.5 随访

所有患者均通过电话或门诊复诊形式随访,患者疾病进展情况及生存状态,本研究中末次随访截止日期为2022年5月31日,无失访。随访时间至少3年,69例疾病稳定,17例疾病进展。

1.6 统计学方法

应用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。计数资料以n(%)表示,用 χ^2 检验;并以Cox风险比例模型分析骨髓CKS1B、p53表达与MM患者预后的关系。以Kaplan-Meier法绘制生存曲线,并以Log-Rank法进行组间生存差异检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组骨髓CKS1B、p53阳性表达率比较

有效组MM患者骨髓CKS1B、p53阳性表达率显著低于无效组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组骨髓CKS1B、p53阳性表达率比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of positive expression rates of CKS1B and p53 in bone marrow between two groups [n(%)]

分组	n	CKS1B	p53
有效组	53	29(54.71)	21(39.62)
无效组	33	25(75.75)	27(81.81)
χ^2 值		3.853	14.682
P值		0.049	<0.001

2.2 骨髓CKS1B、p53在MM患者疗效监测中的价值

绘制CKS1B、p53对MM患者疗效监测的ROC

曲线分析显示,CKS1B、p53的最佳截断值分别为0.78、0.51, AUC分别为0.851、0.896, 敏感度为75.75%、90.90%, 特异度为77.35%、83.01%。见表2、图1。

表2 骨髓CKS1B、p53在MM患者疗效监测中的价值

Table 2 The value of bone marrow CKS1B and p53 in curative effect monitoring of MM patients

指标	AUC	截断值	95% CI	敏感度	特异度	准确度
CKS1B	0.851	0.78	0.762~0.925	0.758	0.774	0.733
p53	0.896	0.51	0.802~0.976	0.909	0.830	0.930

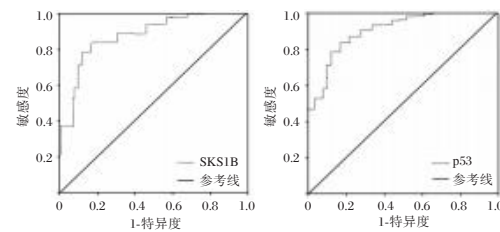


图1 骨髓CKS1B、p53在MM患者疗效监测中的ROC曲线

Figure 1 ROC curves of bone marrow CKS1B and p53 in the monitoring of curative effect in MM patients, respectively

2.3 骨髓CKS1B、p53阳性表达与MM患者临床特点的关系

MM患者的骨髓CKS1B、p53阳性表达与R-ISS分期、C反应蛋白、血红蛋白有关,差异有统计学意义($P < 0.05$),而与年龄、性别、DS分期、ISS分期、血 β_2 -微球蛋白、血钙、乳酸脱氢酶无明显相关性($P > 0.05$)。见表3。

表3 骨髓CKS1B、p53阳性表达与患者临床特点的关系

Table 3 The relationship between positive expression of CKS1B and p53 in bone marrow and clinical characteristics of patients

因素	CKS1B 阳性(n=42)	χ^2 值	P值	p53 阳性(n=36)	χ^2 值	P值	
年龄(岁)	<65	25(59.52)	1.202	0.272	19(52.77)	0.012	0.910
	≥ 65	17(40.47)			17(47.22)		
性别	男	20(47.61)	0.186	0.666	20(55.55)	0.051	0.821
	女	22(52.38)			16(44.44)		
DS分期	I+II期	9(21.42)	0.397	0.528	13(36.11)	2.773	0.095
	III期	33(78.57)			23(63.88)		
ISS分期	I+II期	17(40.47)	3.142	0.076	12(33.33)	1.954	0.162
	III期	25(59.52)			24(66.66)		
R-ISS分期	I+II期	18(42.85)	3.965	0.046	10(27.77)	5.045	0.024
	III期	24(57.14)			26(72.22)		
血 β_2 -微球蛋白(mg/L)	<3.5	5(11.90)	1.152	0.283	8(22.22)	1.408	0.235
	≥ 3.5	37(88.09)			28(77.77)		
C反应蛋白(mg/L)	<10	32(76.19)	12.362	<0.001	27(75.00)	7.232	0.007
	≥ 10	10(23.80)			9(25.00)		
血钙(mmol/L)	<2.75	36(85.71)	0.239	0.624	28(77.77)	0.994	0.318
	≥ 2.75	6(14.28)			8(22.22)		
乳酸脱氢酶(U/L)	<245	29(69.04)	1.911	0.166	19(52.77)	0.191	0.662
	≥ 245	13(30.95)			17(47.22)		
血红蛋白(g/L)	<110	31(73.80)	7.158	0.007	26(72.22)	4.282	0.038
	≥ 110	11(26.19)			10(27.77)		

2.4 影响MM患者预后的单因素分析

本研究MM患者的3年生存率为80.23% (69/86)。单因素分析结果显示,白细胞、血红蛋白、血小板、乳酸脱氢酶、血β₂-微球蛋白、CKS1B及p53是影响MM患者预后的危险因素($P < 0.05$)。见表4。

表4 影响MM患者预后的单因素分析 [n(%)]

因素	n	3年生存率	χ ² 值	P值
年龄(岁)	<65	50 36(72.00)	6.648	0.009
	≥65	36 16(44.44)		
性别	男	59 43(72.83)	0.347	0.555
	女	27 18(66.66)		
白细胞(×10 ⁹ /L)	<7.5	62 53(85.48)	16.956	<0.001
	≥7.5	24 10(41.66)		
血红蛋白(g/L)	<110	50 40(80.00)	11.648	<0.001
	≥110	36 16(44.44)		
血小板(×10 ⁹ /L)	<150	26 14(53.84)	7.166	0.007
	≥150	60 49(81.66)		
乳酸脱氢酶(U/L)	<245	57 40(70.17)	12.668	<0.001
	≥245	29 18(60.06)		
血β ₂ -微球蛋白(mg/L)	<3.5	44 36(81.81)	4.235	0.039
	≥3.5	42 26(61.90)		
血钙(mmol/L)	<2.75	39 21(53.84)	2.443	0.118
	≥2.75	47 33(70.21)		
DS分期	I+II期	47 33(70.21)	3.230	0.072
	III期	39 20(51.28)		
ISS分期	I+II期	60 51(85.00)	1.006	0.315
	III期	26 19(73.07)		
R-ISS分期	I+II期	53 47(88.67)	7.706	0.005
	III期	33 21(63.63)		
CKS1B	阳性	42 30(71.42)	5.385	0.020
	阴性	44 40(90.90)		
p53	阳性	36 18(50.00)	9.950	0.001
	阴性	50 41(82.00)		

2.5 影响MM患者预后的Cox回归分析

以MM患者预后为因变量进行Cox多因素回归分析,结果显示,白细胞、血红蛋白、CKS1B及p53为MM患者预后不良的独立影响因素($P < 0.05$),见表5。其中,CKS1B阳性表达组(71.42%)3年生存率低于阴性表达组(90.90%),p53阳性表达组(50.00%)3年生存率低于阴性表达组(82.00%),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表5、图2。

表5 影响MM患者预后的Cox回归分析

变量	赋值	β值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
白细胞	<7.5×10 ⁹ /L=1, ≥7.5×10 ⁹ /L=0	0.874	0.315	7.698	2.397	1.293~4.442	0.006
血红蛋白	<110g/L=1, ≥110g/L=0	0.496	0.168	8.717	1.642	1.182~2.282	0.003
CKS1B	阳性=1, 阴性=0	0.525	0.210	6.250	1.691	1.120~2.551	0.012
p53	阳性=1, 阴性=0	0.654	0.228	8.227	6.296	1.230~3.006	0.004

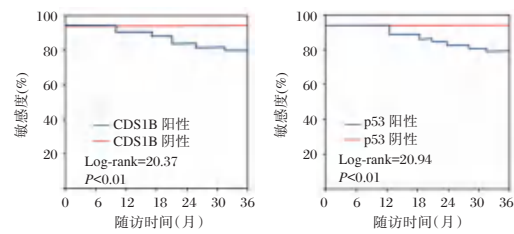


图2 骨髓CKS1B、p53表达与MM患者3年生存率的相关性

Figure 2 Correlation between the expression of CKS1B and p53 in bone marrow and the 3-year survival rate of MM patients

3 讨论

决定MM患者预后异质性的主要因素为细胞遗传学异常。近年来,有研究显示CKS1B基因位于染色体1q21,为SCFSkp2泛素化复合体的主要成分,可降解大部分细胞周期调控因子,在多种肿瘤的发生及发展占重要作用^[9]。CKS1B在Skp2与磷酸化的p27kip1的结合中起促进作用,使p27kip1泛素化和随后经蛋白酶体降解中有重要意义。p27kip1与Cdk2/cyclin A复合体结合并抑制细胞周期G1-s期转换,所以其降低异常可引发细胞恶性增殖、细胞周期紊乱。

已有相关报道CKS1B表达过高可导致肿瘤形成,此类患者预后较差^[10]。p53可诱导细胞周期紊乱或细胞凋亡,从而维持基因组的稳定。而肿瘤的特征之一即为基因组不稳定,因此p53功能异常在肿瘤发生、发展中起重要作用。目前临床研究较多报道CKS1B、p53在肿瘤发生发展中的应用,但关于CKS1B、p53功能异常在MM发生、发展的作用的研究较少。本研究结果表明CKS1B、p53与MM发病有关。两者阳性表达差异可反映化疗疗效,可作为MM患者化疗后疗效评估的辅助指标。绘制CKS1B、p53对MM患者疗效监测的ROC曲线分析显示,CKS1B、p53的最佳截断值分别为0.78、0.51,AUC分别为0.851、0.896,敏感度为75.75%、90.90%,特异度为77.35%、83.01%。提示骨髓CKS1B、p53可能对MM患者有一定的诊断

价值。有研究发现^[11], miR-1258 可能通过靶向 CKS1B 调控细胞增殖和迁移,提示 CKS1B 是肿瘤治疗的潜在靶点。CKS1 高表达提示肿瘤预后较差和生活质量低下,p53 的高表达与众多疾病的预后相关,提示两者是疾病预后的影响因素。本研究发现 MM 患者的骨髓 CKS1B、p53 阳性表达与 R-ISS 分期、C 反应蛋白、血红蛋白有关,差异有统计学意义,而与年龄、性别、DS 分期、ISS 分期、血 β₂-微球蛋白、血钙、乳酸脱氢酶无明显相关性。本研究 MM 患者的 3 年生存率为 80.23% (69/86)。与杨玉^[12]、Li 等^[13]的研究类似。白细胞、血红蛋白、CKS1B、p53 高表达可能是导致 MM 患者生存期缩短的原因。Hao 等^[14]的研究报道染色体 1q21/CKS1B 的增加或扩增是骨髓瘤的高危因素,p53 基因缺失也被认为是 MM 的高危特征。本研究进一步进行 Cox 多因素回归分析,结果显示,白细胞、血红蛋白、CKS1B 及 p53 为 MM 患者预后不良的独立影响因素,提示 CKS1B 及 p53 的异常表达对 MM 预后带来不良影响,有可能成为病情监测与预后评估的重要指标之一。

综上,骨髓 CKS1B、p53 对 MM 患者疗效监测有一定价值,MM 中骨髓 CKS1B、p53 阳性表达与白细胞、血红蛋白及预后密切相关。有望成为 MM 疗效及预后评估的特异性指标,但本研究不足之处在于样本量较少,日后需加大样本量延长随访时间验证相关指标在 MM 患者中所发挥的作用。

参考文献

- [1] Brigle, K., & Rogers, B. Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma[J]. *Semin Oncol Nurs*, 2017, 33(3):225-236.
- [2] 马柯娃,孙超,李建勇,等. 多发性骨髓瘤预后因素的研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2021, 29(4): 1346-1350.
- [3] Schmidt TM, Fonseca R, Usmani SZ. Chromosome 1q21 abnormalities in multiple myeloma[J]. *Blood cancer J*, 2021, 11(4):83.
- [4] 刘健,李春晓,雷箴,等. 结直肠癌中 p53 对组蛋白法乙酰化酶 2 表达的调控作用[J]. *肿瘤*, 2017, 37(10):15-21.
- [5] Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(12): e538-548.
- [6] 沈梯,赵永强,周道斌,等. 血液病诊断及疗效标准[M]. 4 版. 北京:科学出版社, 2018:290-294.
- [7] Ross FM, Avet-loiseau H, Amey G, et al. Report from the European myeloma network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders[J]. *Haematologica*, 2012, 97(8):1272-1277.
- [8] Liu X, Zhao D. CKS1B promotes the progression of hepatocellular carcinoma by activating JAK/STAT3 signal pathway[J]. *Anim Cells Systems (seoul)*, 2021, 25(4):227-234.
- [9] Hwang JS, Jeong EJ, Choi J, et al. MicroRNA-1258 Inhibits the Proliferation and Migration of Human Colorectal Cancer Cells through Suppressing CKS1B Expression [J]. *Genes*, 2019, 10(11):912.
- [10] Hanamura I. Gain/Amplification of Chromosome Arm 1q21 in Multiple Myeloma[J]. *Cancers*, 2021, 13(2):256.
- [11] Hwang JS, Jeong EJ, Choi J, et al. MicroRNA-1258 Inhibits the Proliferation and Migration of Human Colorectal Cancer Cells through Suppressing CKS1B Expression[J]. *Genes (Basel)*, 2019, 10(11):912-918.
- [12] 杨玉,林彩芹,李春雨,等. 1q21 扩增对于初治多发性骨髓瘤预后影响的异质性分析[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(9):628-635.
- [13] Li X, Chen W, Wu Y, et al. 1q21 Gain Combined with High-Risk Factors Is Heterogeneous Prognostic Factor in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Multicenter Study in China [J]. *Oncologist*, 2019, 24(11):e1132-e1140.
- [14] Hao S, Lu X, Gong Z, et al. The survival impact of CKS1B gains or amplification is dependent on the background karyotype and TP53 deletion status in patients with myeloma[J]. *Mod pathol*, 2021, 34(2):327-335.
- [15] 刘晓丽,王秋华,黄钧,等. 柳州地区新生儿 G6PD 缺乏症筛查结果及基因型分布[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(24): 5790-5793.
- [16] 陈新瑶,梁雪雁,黄慧莹,等. 潮州市新生儿 G6PD 筛查和基因型鉴定分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(6): 881-884.
- [17] 李富,陈海玲,聂俊玮,等. 广东省茂名地区新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因突变型研究[J]. *海南医学*, 2022, 33(1):62-64.
- [18] Garcia AA, Koperniku A, Ferreira JCB, et al. Treatment strategies for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: past and future perspectives[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2021, 42(10):829-844.
- [19] 王秋华,陈丽竹,刘晓丽等. 基因检测对 G6PD 酶活性正常女性的临床诊断价值分析[J]. *医药前沿*, 2020, 10(23):43-45.
- [20] Zhou Y, Hui W, Zhang H, et al. Establishment of a stable HEK293T cell line with c.392G>T (p.131G>V) mutation site knockout in G6PD gene using CRISPR/Cas9 technique [J]. *South Med Univ*, 2019, 39(3):320-327.
- [21] Meng Q, Zhang Y, Hao S, et al. Recent findings in the regulation of G6PD and its role in diseases[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:932154.

(上接第 1721 页)

TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 表达与口腔鳞癌病理参数和预后的关系

孟媛媛* 赵亭亭 吕红娟

[摘要] **目的** 分析组蛋白赖氨酸去甲基化酶 4A (TEAD4)、蛋白酪氨酸磷酸酶-2 (SHP-2) 及促血管生成素-2 (Ang-2) 表达与口腔鳞癌 (OSCC) 病理参数、预后的关系。**方法** 收集 2019 年 12 月至 2020 年 12 月于河北北方学院附属第一医院行外科手术或活检的 OSCC 患者 121 例, 以患者术中病理送检组织作为 OSCC 组, 癌旁组织 (距离癌组织 >5 cm) 作为对照组。收集患者临床资料, 分析不同组织中 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 表达情况; 对患者进行为期 12 个月随访, 根据预后情况分预后良好与预后不良组, 了解三因子与患者病理特征及预后的关系。**结果** OSCC 癌组织中 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 阳性表达均明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。TEAD4 在有淋巴结转移、临床分期为 III~IV 期患者中阳性表达占比高于无淋巴结转移、临床分期为 I~II 期患者, SHP-2 在有淋巴结转移、临床分期为 III~IV 期、组织分化为低分化患者中阳性表达占比高于无淋巴结转移、临床分期为 I~II 期、组织分化为中高分化患者, 淋巴结转移者 Ang-2 阳性表达明显高于淋巴结未转移者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。121 例患者预后良好 87 例, 预后不良 34 例, 预后不良组临床分期为 III~IV 期、组织分化为低分化、有淋巴结转移患者组织中 TEAD4、SHP-2、Ang-2 阳性表达明显高于预后良好组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。经多元 Logistic 回归分析可知, 临床分期、组织分化、淋巴结转移、TEAD4、SHP-2、Ang-2 是影响 OSCC 患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$)。**结论** TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 与患者病理特征及预后均存在相关性, 三者或许可成为 OSCC 诊断及预后的相关肿瘤标记物, 对临床诊疗方案制定也有一定参考价值。

[关键词] TEAD4; SHP-2; Ang-2; 口腔鳞癌

Relationship between TEAD4, SHP-2 and ANG-2 expression, pathological parameters and prognosis of oral squamous cell carcinoma

MENG Yuanyuan*, ZHAO Tingting, LV Hongjuan

(Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between Histone Lysine demethylase 4A (TEAD4), Protein Tyrosine Phosphatase-2 (SHP-2) and Angiopoietin-2 (Ang-2) expression, pathological parameters and prognosis of oral Squamous cell carcinoma (OSCC). **Methods** 121 patients with OSCC who underwent surgical treatment or biopsy in our hospital from December 2019 to December 2020 were enrolled, the pathological examination tissues of patients were selected as OSCC group, and the adjacent non-cancerous tissues were selected as control group. The adjacent tissue (more than 5 cm away from the cancer tissue) was used as the control group, the expressions of TEAD4, SHP-2 and ANG-2 in different tissues were analyzed. The patients were followed up for 12 months. According to the prognosis, they were divided into the good prognosis group and the poor prognosis group. **Results** The positive expressions of TEAD4, SHP-2 and ANG-2 in OSCC carcinoma tissues were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The proportion of positive expression of TEAD4 in patients with lymph node

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划 (20190537)

作者单位: 河北北方学院附属第一医院口腔颌面外科, 河北, 张家口 075000

*通信作者: 孟媛媛, E-mail: yueguang33@126.com

metastasis and clinical stage III - IV was higher than that in patients without lymph node metastasis and clinical stage I - II. The proportion of positive expression of SHP-2 in patients with lymph node metastasis, clinical stage III - IV, and poorly differentiated tissue is higher than that in patients without lymph node metastasis. In patients with clinical stage I - II and histologically differentiated into moderately and highly differentiated patients, the positive expression of Ang-2 in patients with lymph node metastasis was significantly higher than that in patients without lymph node metastasis, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Of the 121 patients, 87 had good prognosis and 34 had poor prognosis. The positive expressions of TEAD4, SHP-2 and Ang-2 in the tissues of the patients with clinical stage III - IV, poorly differentiated tissue and lymph node metastasis in the poor prognosis group were significantly higher than those in the good prognosis group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that clinical stage, tissue differentiation, lymph node metastasis, TEAD4, SHP-2 and ANG-2 were independent risk factors for poor prognosis of OSCC patients ($P < 0.05$). **Conclusion** TEAD4, SHP-2 and ANG-2 are correlated with the pathological features and prognosis of patients, and the three may become relevant tumor markers for the diagnosis and prognosis of OSCC, which also have certain reference value for the formulation of clinical diagnosis and treatment plans.

[KEY WORDS] TEAD4; SHP-2; Ang-2; Oral squamous cell carcinoma

口腔鳞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是头颈部鳞癌中发病率最高的一种恶性肿瘤,据相关数据显示,OSCC发病率近年有逐渐上升趋势^[1]。临床中对于OSCC患者的治疗方式包括外科手术、放/化疗以及其他辅助治疗,且获得了较好的临床疗效,但患者五年生存率仍在50%以下^[2]。如何提高改善患者预后,寻找预后评估相关指标成为临床研究热点。组蛋白赖氨酸去甲基化酶4A(Histone lysine demethylase 4, TEAD4)属于TEA结构域DNA结合转录因子家族(TEA domain transcription factor, TEAD)中的核心成员,在人体疾病以及各种生物学反应中具有重要的作用^[3]。蛋白酪氨酸磷酸酶-2(Protein tyrosine Phosphatase-2, SHP-2)在组织、细胞中均广泛表达,与胚胎发育、细胞迁徙、繁殖、分化等均有密切的联系,有研究显示,SHP-2的异常表达与多种癌症发生具有密切联系^[4]。促血管生成素-2(Angiopoietin-2, Ang-2)是促肿瘤血管生成的相关因子,对病理性血管生成及发育有调节作用,可影响肿瘤的恶性发展^[5]。本研究将通过分析TEAD4、SHP-2及Ang-2在OSCC患者中的表达情况,了解三者与患者病理参与及预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年12月至2020年12月于河北北方学院附属第一医院行外科手术或活检的OSCC患者121例,其中男72例,女49例,平均年龄

为(59.59±4.16)岁,根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)^[6]中分期标准分为:I~II期55例,III~IV期66例;68例淋巴结转移;组织分化:低分化74例,中-高分化47例;肿瘤直径≥3 cm 57例,<3 cm 64例。纳入标准:①均经临床病理诊断确诊为OSCC,符合《口腔鳞状细胞癌时辰化疗中国专家共识》中相关诊断标准^[7];②在检查前均未进行放疗或化疗;③患者知情且同意;④临床资料完整。排除标准:①存在血液系统或免疫系统疾病者;②合并存在心、肝、肾等严重原发性疾病者;③合并其他肿瘤者;④存在严重并发症者。以患者术中病理送检组织作为OSCC组,癌旁组织(距离癌组织>5 cm)为对照组。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集患者临床资料,包括年龄、性别、肿瘤直径、病理特征等,病理特征包括:临床分期(I~II期、III~IV期)、组织分化(低分化、中高分化)、淋巴结转移。并对患者进行为期12个月随访,以电话、短信、回院复查等方式了解患者预后情况,随访时间:2021年1月1日至2022年1月1日,根据患者预后情况进行分组:预后良好(无复发、转移、死亡),预后不良(死亡、转移、复发等)。

1.2.2 TEAD4、SHP-2及Ang-2检测

TEAD4、SHP-2及Ang-2均使用免疫组化法进行检测。获取病理标本,使用4%甲醛固定,常规石蜡包埋,行4 mm厚连续切片,用于后续检查。

TEAD4 以兔抗人 KDM4A 多克隆抗体 Abnova(上海焯翎生物科技有限公司)为一抗;SHP-2 使用兔抗人 SHP-2 多克隆抗体(英国 Abcam 公司);Ang-2 以兔抗人 Ang-2 单克隆抗体标记 Ang-2 蛋白(武汉博士德公司)。每组实验均设阳性对照和用 PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照,阳性对照为已知染色阳性切片。

结果判定^[6]:由 2 名经验丰富病理科医生在双盲情况下对结果进行判断,TEAD4 表达阳性为细胞膜或胞浆内有棕色颗粒为阳性,SHP-2 阳性为细胞质中出现棕黄色颗粒,Ang-2 以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性细胞。在高倍镜下($\times 400$)随机选择 5 个视野对切片进行观察,一个视野 200 个细胞,一共计数 1 000 个细胞。采用 4 级半定量法评分。着色程度:基本不着色为 0 分、淡黄色为 1 分、黄色为 2 分、棕黄色为 3 分;阳性细胞百分比:选取有代表性的 10 个高倍镜视野,随机计数 100 个细

胞,计算阳性细胞百分比, $<5\%$ 得 0 分、 $5\% \sim 25\%$ 得 1 分、 $25\% \sim 50\%$ 得 2 分、 $50\% \sim 75\%$ 得 3 分、 $>75\%$ 得 4 分;每张切片的最后得分为着色程度与阳性细胞百分比乘积, ≥ 3 分为阳性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;并采用多元 Logistic 回归分析 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 与 OSCC 患者预后关系,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织中 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 表达情况比较

OSCC 癌组织中 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 阳性表达均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 不同组织中 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 表达情况比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of TEAD4, SHP-2 and Ang-2 expression in different tissues [$n(\%)$]

组别	n	TEAD4		SHP-2		Ang-2	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
对照组	121	10(8.26)	111(91.74)	27(22.31)	94(77.69)	13(10.74)	108(89.26)
OSCC 组	121	65(53.72)	56(46.28)	83(68.60)	38(31.40)	71(58.68)	50(41.32)
χ^2 值		58.447		52.266		61.338	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A 为 TEAD4 阳性;B 为 TEAD4 阴性;C 为 SHP-2 阳性;D 为 SHP-2 阴性;E 为 Ang-2 阳性;F 为 Ang-2 阴性。

图 1 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 免疫组化图 (SP, $\times 400$)

Figure 1 Immunohistochemistry of tead4, SHP-2 and Ang-2 (SP, $\times 400$)

2.2 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 与 OSCC 患者病理特征的关系

TEAD4 在有淋巴结转移、临床分期为 III~IV 期患者中阳性表达占比高于无淋巴结转移、临床分期为 I~II 期患者,SHP-2 在有淋巴结转移、临床分期为 III~IV 期、组织分化为低分化患者中阳性表达占比高于无淋巴结转移、临床分期为 I~II 期、组织分化为中高分化患者,淋巴结转移者 Ang-2 阳性表达明显高于淋巴结未转移者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 与 OSCC 患者预后关系

121 例患者预后良好 87 例,预后不良 34 例,预

后不良组临床分期为 III~IV 期、组织分化为低分化、有淋巴结转移者组织中 TEAD4、SHP-2、Ang-2 阳性表达明显高于预后良好组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 影响 OSCC 患者预后相关因素分析

待分析因素的意义及赋值见表 4,经多元 Logistic 回归分析可知,临床分期、组织分化、淋巴结转移、TEAD4、SHP-2、Ang-2 是影响 OSCC 患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

以往研究显示,Hippo 信号通路可参与恶性肿瘤的发生,TEAD4 则是其中重要的转录因子,可与

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

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

病理特征		TEAD4 阳性 (n=65)	χ^2 值	P 值	SHP-2 阳性 (n=83)	χ^2 值	P 值	Ang-2 阳性 (n=71)	χ^2 值	P 值
年龄	≥60 岁	27(41.54)	0.021	0.883	33(39.76)	0.619	0.431	27(38.03)	1.196	0.274
	<60 岁	38(58.46)			50(60.24)			44(61.97)		
性别	男	39(60.00)	0.014	0.904	48(57.83)	0.306	0.579	45(63.38)	1.567	0.210
	女	26(40.00)			35(42.17)			26(36.62)		
临床分期	I~II 期	16(24.62)	24.600	<0.001	30(36.14)	9.239	0.002	28(39.44)	2.509	0.113
	III~IV 期	49(75.38)			53(63.86)			43(60.56)		
组织分化	低分化	43(66.15)	1.476	0.224	62(74.70)	20.402	<0.001	44(61.97)	0.048	0.826
	中高分化	22(33.85)			21(25.30)			27(38.03)		
淋巴结转移	是	45(69.23)	9.690	0.001	52(62.56)	4.469	0.034	59(83.10)	50.509	<0.001
	否	20(30.77)			31(37.34)			12(16.90)		
肿瘤直径	≥3 cm	28(43.08)	0.915	0.338	38(45.78)	0.186	0.666	32(45.07)	0.286	0.592
	<3 cm	37(56.92)			45(54.22)			39(54.93)		

表3 TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 与 OSCC 患者预后关系 [n(%)]

Table 3 Relationship between TEAD4, SHP-2 and Ang-2 and prognosis of OSCC patients [n(%)]

因素		预后良好 (n=87)	预后不良 (n=34)	χ^2 值	P 值
年龄	≥60 岁	40(45.98)	11(32.35)	1.860	0.172
	<60 岁	47(54.02)	23(67.65)		
性别	男	50(57.47)	22(64.71)	0.531	0.466
	女	37(42.523)	12(35.29)		
临床分期	I~II 期	29(33.33)	26(76.47)	18.347	<0.001
	III~IV 期	58(66.67)	8(23.53)		
组织分化	低分化	60(58.97)	14(41.18)	7.947	0.004
	中高分化	27(31.03)	20(58.82)		
淋巴结转移	是	59(67.82)	9(26.47)	16.976	<0.001
	否	28(32.18)	25(73.53)		
肿瘤直径	≥3 cm	44(50.57)	13(38.24)	1.493	0.221
	<3 cm	43(49.43)	21(61.76)		
TEAD4	阳性	53(60.92)	12(35.29)	6.456	0.011
	阴性	34(39.08)	22(64.71)		
SHP-2	阳性	68(78.16)	15(44.12)	13.151	<0.001
	阴性	19(21.84)	19(55.88)		
Ang-2	阳性	63(72.41)	8(23.53)	24.093	<0.001
	阴性	24(27.59)	26(76.47)		

表4 待分析因素的意义及赋值

Table 4 Significance and assignment of factors to be analyzed

因素	代表意义	赋值
X ₁	临床分期	0= I~II 期; 1= III~IV 期
X ₂	组织分化	0=中高分化; 1=低分化
X ₃	淋巴结转移	0=否; 1=是
X ₄	TEAD4	0=阴性; 1=阳性
X ₅	SHP-2	0=阴性; 1=阳性
X ₆	Ang-2	0=阴性; 1=阳性

Hippo 通路中的核心成员 Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP)/ 转录共激活因子 PDZ 结合基序 (transcriptional co-activator with PDZ-binding mo-

表5 影响 OSCC 患者预后多因素

Table 5 Multiple factors affecting the prognosis of OSCC patients

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95%CI)值	P 值
X ₁	0.311	0.127	10.269	1.364(1.064~1.750)	<0.001
X ₂	0.369	0.155	8.548	1.446(1.067~1.959)	<0.001
X ₃	0.495	0.117	4.874	1.640(1.304~2.063)	0.012
X ₄	0.506	0.214	4.286	1.658(1.090~2.522)	0.030
X ₅	0.469	0.108	5.169	1.598(1.293~1.975)	0.003
X ₆	0.397	0.143	7.889	1.487(1.123~1.968)	<0.001

tif, TAZ) 形成转录复合物, 进而调控下游基因的表达^[8]。而基因的异常表达也常被认为是恶性肿瘤发生、发展中的一个重要因素。有研究显示, 在前列腺癌中 TEAD4 表达异常, 在对患者使用特异性小分子阻断剂抑制 TEAD4 表达后, 患者的癌细胞增殖也受到明显抑制, 癌细胞凋亡明显增加^[9]。本研究结果显示, TEAD4 在 OSCC 患者癌变组织中表达阳性率明显升高, 这表明 TEAD4 或许可影响 OSCC 发生发展。而 TEAD4 表达与患者临床分期及淋巴结转移密切相关, 说明 TEAD4 可能促进癌细胞增殖、转移, 进而增加肿瘤的侵袭能力, 与以往研究结果相符^[10]。

SHP-2 属于蛋白酪氨酸激酶与蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTPs) 中的一员, 参与细胞的分化、增殖。以往研究显示, SHP-2 与多种肿瘤的发生、发展存在相关性^[11]。有研究显示, 在乳腺癌、胃癌、宫颈癌组织中 SHP-2 为高表达, 且 SHP-2 突变与白血病之间密切相关^[12]。何芳等^[13]研究则发现, SHP-2 具有促进细胞迁移、黏附及运动的作用, 侧面说明 SHP-2 在恶性肿瘤发展中扮演重要角色。本研究结果显示, SHP-2 在

OSCC 癌组织中为高表达,且与患者临床分期、淋巴结转移、组织分化程度均存在密切的联系,说明 SHP-2 可能参与 OSCC 的增殖与转移,SH-2 或许可作为淋巴结转移预测的相关指标。

有研究显示,OSCC 患者的恶性进展和其肿瘤血管生成之间存在密切联系,但有关 OSCC 患者血管生成的调控机制尚未明确^[14]。Ang-2 属于促血管生成素中的一员,是近年来发现与血管生成、成熟的相关因子之一。在正常人组织中,Ang-2 主要表达于女性胎盘、卵巢组织的血管重建中,在机体正常组织中并无表达或为极低表达。在多数恶性肿瘤中,如胃癌、脑胶质瘤、肝癌等患者中 Ang-2 阳性表达率升高,且其表达异常发生于癌变的早期,与肿瘤侵袭程度、预后均有密切的联系^[15-16]。本研究结果显示,Ang-2 在 OSCC 癌变组织中表达上调,在正常组织中表达较低,与以往研究结果一致^[17],分析原因可能与肿瘤发展过程中新生血管生成,进而引起 Ang-2 的表达增加有关。而 Ang-2 与患者淋巴结转移情况密切相关,说明随着肿瘤恶性程度增加,Ang-2 表达上调,Ang-2 可能通过参与 OSCC 患者的血管生成,进而在肿瘤浸润及转移中发挥着作用。

通过分析患者预后情况可知,TEAD4、SHP-2、Ang-2 在预后不良患者中均为高表达,且三者与淋巴结转移、临床分期、组织分级均属于影响 OSCC 患者预后的相关因素,与以往研究结果相符^[18],说明 TEAD4、SHP-2、Ang-2 表达情况对患者预后情况评估有一定参考价值,临床对存在相关危险因素者需引床重视,及时采取干预措施,对 TEAD4、SHP-2、Ang-2 高表达者在手术治疗后可合理辅助其他手段来提高患者预后。

综上所述,TEAD4、SHP-2 及 Ang-2 在 OSCC 癌组织中均异常高表达,与患者病理特征及预后均存在相关性,三者或许可成为 OSCC 诊断及预后的相关肿瘤标志物,对临床诊疗方案制定也有一定参考价值。

参考文献

[1] 丁延晶,王立新,邱静怡,等. 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[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7):864-868.

[2] 李凯,马锴. 口腔鳞癌中 EIF3e 和 MMP-12 的表达意义[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(12):1505-1508+1513.

[3] 李晋,张伟,李中武,等. TEAD4 与口腔鳞癌预后和细胞迁移侵袭的研究[J]. 口腔生物医学, 2020, 11(1):37-41.

[4] 苏尼特,周兴安,闫鹏,等. 蛋白酪氨酸磷酸酶基因、血管内皮生长因子在口腔鳞状细胞癌组织中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(22):3963-3967.

[5] 刘美莲,苏法铭,李晓玲,等. 血管内皮生长因子和促血管生成素 2 对甲状腺乳头状癌及颈部淋巴结转移的诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(11):1441-1444.

[6] 赫尔曼尼克. 国际抗癌联盟肿瘤 TNM 分期图谱[M]. 北京:科学出版社, 2002.

[7] 杨凯,郭伟,孙沐逸,等. 口腔鳞状细胞癌时辰化疗中国专家共识[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2019, 17(1):7-12.

[8] Li Y, Zhu X, Yang M, et al. YAP/TEAD4-induced KIF4A contributes to the progression and worse prognosis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Mol Carcinog, 2021, 14(1),334-336.

[9] 苏毓,童乔莹,陈青立,等. Hippo 信号通路中 Phospho-MOB1 和 TEAD4 蛋白在口腔鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. 新疆医科大学学报, 2021, 44(12):1327-1331.

[10] Zhang B, Wang Q, Ji Y, et al. TEAD4 overexpression suppresses thyroid cancer progression and metastasis in vitro by modulating Wnt signaling [J]. J Biosc, 2021, 47(1):1660-1663.

[11] 贺正希,苏君,刘庆,等. 蛋白酪氨酸磷酸酶 H 型受体的生物学功能及其在肿瘤中的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2020, 45(1):61-67.

[12] Mazharian A, Mori J, Wang YJ, et al. Megakaryocyte-specific deletion of the protein-tyrosine phosphatases Shp1 and Shp2 causes abnormal megakaryocyte development, platelet production, and function [J]. Blood, 2021, 121(20):4205-4207.

[13] 何芳,龚海英,何大川,等. 蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP2 在肺癌中的研究进展[J]. 西部医学, 2020, 32(8):1245-1249.

[14] Hf A, Lzc B, Sl C, et al. Ocular and systemic pharmacokinetics of BI-X, a nanobody targeting VEGF and Ang-2, after intravitreal dosing in cynomolgus monkeys-Evidence for half-life extension by albumin [J]. Exp Eye Res, 2021, 12(3):1607-1612.

[15] 饶钟鸣,马慧,关耀武. 微 RNA-21 调控的蛋白酪氨酸磷酸酶 MEG2 蛋白低表达促进肺癌发生发展的分子机制[J]. 安徽医药, 2020, 24(7):1434-1439.

[16] 胡艳石,潘晴. Ang-2、Vav1 蛋白联合肿瘤标志物检测在胃癌中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(3):333-335.

[17] Antoniotti C, Marmorino F, Boccaccino A, et al. SO-20 Prospective validation of Ang-2 and Tie-2 plasma levels as predictors of benefit from regorafenib in metastatic colorectal cancer patients: REGOLAND study [J]. Ann Oncol, 2021, 32(3):211.

[18] 张瑜,王娟. 脓毒症并发急性呼吸窘迫综合征患者血清血管内皮钙黏蛋白、血管生成素 2 表达及与预后相关性研究 [J]. 陕西医学杂志, 2022, 51(2):176-179+190.

牙龈组织中MMP-13和TIMP-1的表达与游离龈移植术后应用CGF生长因子创面愈合的关系

于兰* 于文凤 吕敏敏

[摘要] **目的** 探讨牙龈组织中MMP-13和TIMP-1的表达与游离龈移植术后应用CGF生长因子创面愈合的关系。**方法** 选取2019年6月至2021年12月沧州市人民医院口腔科行游离龈移植术的患者82例作为研究对象,依据随机数字法分为观察组和对照组各41例,对照组或得游离龈瓣后,在供体处缝合碘仿纱条,观察组应用CGF薄膜覆盖硬腭供区创面,再用碘仿纱条缝合。比较不同的处理方式对创面愈合和牙龈组织中MMP-13、TIMP-1的影响,用Pearson相关性分析MMP-13和TIMP-1与创面愈合的关系。**结果** 随治疗时间的延长,观察组的创面面积愈合率、TIMP-1表达水平逐渐升高,观察组高于对照组($t=3.316, 3.817, 2.115, 2.934, 2.561, 2.171, 2.141, 5.385, P<0.05$),MMP-13表达水平逐渐下降,观察组低于对照组($t=2.561, 2.196, 5.000, 5.327, P<0.05$)。MMP-13高表达组创面愈合率均低于低表达组($t=2.218, P=0.032$)。TIMP-1高表达组创面愈合率均高于低表达组($t=2.490, P=0.017$)。Pearson相关性分析显示,观察组术后30d创面面积愈合率与MMP-13表达水平呈负相关,与TIMP-1呈正相关。**结论** 行游离龈移植术后应用CGF生长因子治疗患者牙龈组织中MMP-13的表达水平逐渐下降,TIMP-1表达水平上升,两者与创面愈合率密切关联,CGF生长因子可能通过调控MMP-13和TIMP-1之间的关系以达到促进创面愈合的目的。

[关键词] 游离龈移植术; CGF生长因子; MMP-13; TIMP-1; 创面愈合

Relationship between the expression of MMP-13 and TIMP-1 in gingival tissue and the wound healing of CGF growth factor after free gingival transplantation

YU Lan*, YU Wenfeng, LV Minmin

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

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of MMP-13 and TIMP-1 in gingival tissue and the wound healing after free gingival transplantation with CGF growth factor. **Methods** a total of 82 patients who underwent free gingival transplantation in the Department of Stomatology, Cangzhou People's Hospital from June 2019 to December 2021 were selected as the research subjects. According to the random number method, 41 cases were divided into the observation group and the control group respectively. After the free gingival flap was obtained in the control group, iodoform gauze strips were sutured at the donor site, while CGF film was applied to cover the hard palate donor site and then iodoform gauze strips were sutured in the observation group. The effects of different treatment methods on the wound healing and the levels of MMP-13 and TIMP-1 in gingival tissue were compared, and the relationship between MMP-13 and TIMP-1 and wound healing was analyzed by Pearson correlation. **Results** With the extension of treatment time, the wound healing rate and TIMP-1 expression level in the observation group were gradually increased, and the observation group was higher than the control group ($t=3.316, 3.817, 2.115, 2.934, 2.561, 2.171, 2.141, 5.385, P<0.05$), while the expression level of MMP-13 was gradually decreased, and the observation group was lower than the control group ($t=2.561, 2.196, 5.000, 5.327, P<0.05$). The wound healing

基金项目:沧州市重点研发计划指导项目(172302016)

作者单位:沧州市人民医院口腔牙周科,河北,沧州061000

*通信作者:于兰, E-mail:yulanvivan@163.com

rate in the high expression group of MMP-13 was lower than that in the low expression group ($t=2.218$, $P=0.032$). The wound healing rate in the high expression group of TIMP-1 was higher than that in the low expression group ($t=2.490$, $P=0.017$). Pearson correlation analysis showed that the wound area healing rate in the observation group was negatively correlated with the expression level of MMP-13 at 30 days after operation, and positively correlated with TIMP-1. **Conclusion** After free gingival transplantation, the expression level of MMP-13 in the gingival tissue of patients treated with CGF growth factor gradually decreased, and the expression level of TIMP-1 increased, both of which were closely related to the wound healing rate. CGF growth factor may promote wound healing by regulating the relationship between MMP-13 and TIMP-1.

[KEY WORDS] Free gingival transplantation; CGF growth factor; MMP-13; TIMP-1; Wound healing

游离龈移植术是指将用自体健康的牙龈组织移植到角化龈缺失或不足区域,加宽附着龈,加深前庭沟,目前广泛用于牙周手术中^[1]。但游离龈移植后,供区会出现一个开放的伤口,该伤口一般需要2~4周才能完全恢复,继发性创伤会影响患者的术后舒适度,严重时供区发生感染,造成伤口愈合时间延长^[2]。血小板浓缩液能释放多种生长因子,释放的生长因子可用于促进伤口愈合和减轻术后疼痛和不适。浓缩血小板生长因子(concentrated growth factors, CGF)是第三代血小板衍生物,相关研究表明,CGF释放的多种生长因子可用于促进骨和软组织的形成,对伤口愈合具有促进作用^[3]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一种主要由结缔组织细胞分泌的蛋白酶,能破坏细胞外基质,并参与多种生物作用,如重塑组织、创伤愈合等,其中,基质金属蛋白酶13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)和组织金属蛋白酶抑制剂1(Tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)是MMPs家属成员之一。以往研究以证实MMPs在伤口愈合的过程中发挥着积极作用^[4],但MMP-13和TIMP-1游离龈移植术后应用CGF生长因子创面愈合过程中的表达尚不清楚。因此,本研究旨在探讨牙龈组织中MMP-13和TIMP-1的表达以及游离龈移植术后应用CGF生长因子创面愈合的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2019年6月至2021年12月沧州人民医院口腔科行游离龈移植术的患者82例作为研究对象。纳入标准:①行游离龈移植术者;②年龄>18岁;③配合度良好;④3个月内未服用抗生素;⑤所有患者均签署知情同意书。排除标准:①合并有恶性肿瘤、严重基础疾病、严重的心、肝、肾功能不全的者;②有血液或免疫系统基本者;③3个月内

有服用干扰软组织再生的相关药物;④存在牙周手术禁忌症。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

两组患者均行游离龈移植术后,对照组获得游离龈瓣后,在供体处缝合碘仿纱条,观察组应用CGF薄膜覆盖硬腭供区创面,再用碘仿纱条缝合。

1.2.2 标本提取

于治疗后3、7、14、30 d后局部麻醉后沿牙龈近中、远中垂直切入牙周袋或龈沟底部,再沿袋底或沟底横向切开以获取牙龈组织标本。放置在40 g/L多聚甲醛中进行2~12 h的固定。

1.2.3 免疫组化方法

固定标本脱水,透明,石蜡包埋,3 μm厚切片,60℃烤箱烘烤2 h,经梯度乙醇脱水, pH为9.0的Tris-EDTA (pH为9.0)微波复液修补15 min。在3%的H₂O₂室温孵育10 min。滴加按1:250稀释得一抗,在4℃下培养1晚。非生物素二抗IgG在37℃下培养15 min。每个步骤均用pH为7.4的冲洗3次,每次冲洗时间为5 min。DAB染色、苏木素复染、盐酸乙醇分化、脱水、透明、中性胶封片。PBS替代一抗作为阴性对照。在400倍光镜下,随机选取10个视场进行拍摄,利用Image Plus图像分析测试软件对图像进行分析,并对其进行光度平均值的计算。

1.2.4 免疫组化阳性判断及数据统计

牙龈组织中MMP-13、TIMP-1均以胞质内呈现棕黄色颗粒为阳性。采用半定量的积分法^[5],对10个含有阳性细胞高倍镜视野(×200)进行随机观察,两名病理科医生进行双盲法读片,并对所观察到的阳性细胞的数量取其平均值进行计数。阳性:MMP-13、TIMP-1的阳性细胞率为1%~10%,赋予1分;11%~50%,赋予2分;51%~75%,赋予3分,强阳性:阳性细胞率为>75%;阴性:MMP-13、TIMP-1的阳性细胞率为0或高倍镜视野下细胞质

内未见棕黄色颗粒。低表达:阳性细胞率 ≤ 3 分,高表达: >3 分。

1.3 观察指标

1.3.1 创面愈合率^[6]

治疗后3、7、14、30 d后用单反相机记录创面愈合情况。以一定的标准长度(参考牙周探针)和单反相机镜头垂直于组织创面的条件下进行创面拍摄,应用ImagePlus6.0软件进行面积测量。创面愈合率=(初始创面面积-未愈合创面面积)/初始创面面积 $\times 100\%$ 。

1.3.2 实验室指标

治疗后3、7、14、30 d后比较两组牙龈组织中MMP-13和TIMP-1的表达情况。比较观察组MMP-13和TIMP-1水平表达情况与创面愈合的关系。相关性分析观察组治疗30 d创面面积愈合率与牙龈组织中TIMP-1的关系。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表述,行 t 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表述,采用 χ^2 检验,用Pearson相关性分析MMP-13和TIMP-1与创面愈合的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组创面愈合率比较

随治疗时间的延长,观察组的创面面积愈合率逐渐升高,观察组高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组创面愈合率比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Comparison of wound healing rates between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	3 d	7 d	14 d	30 d
观察组	41	2.60 \pm 0.48	34.02 \pm 4.87	48.90 \pm 7.15	62.09 \pm 10.65
对照组	41	2.20 \pm 0.60	30.24 \pm 4.06	44.79 \pm 10.18	55.72 \pm 8.93
<i>t</i> 值		3.316	3.817	2.115	2.934
<i>P</i> 值		0.002	0.000	0.037	0.004

2.2 两组MMP-13表达情况比较

随治疗时间的延长,观察组牙龈组织中MMP-13的表达水平逐渐下降,观察组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2、图1。

表2 两组MMP-13表达情况比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of MMP-13 expression between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	3 d	7 d	14 d	30 d
观察组	41	0.72 \pm 0.03	0.67 \pm 0.03	0.54 \pm 0.05	0.50 \pm 0.03
对照组	41	0.74 \pm 0.04	0.69 \pm 0.05	0.59 \pm 0.04	0.53 \pm 0.02
<i>t</i> 值		2.561	2.196	5.000	5.327
<i>P</i> 值		0.012	0.031	0.000	0.000

2.3 两组TIMP-1表达情况比较

随治疗时间的延长,观察组牙龈组织中TIMP-1的表达水平逐渐上升,观察组高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3、图1。

表3 两组TIMP-1表达情况比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 3 Comparison of TIMP-1 expression between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	3 d	7 d	14 d	30 d
观察组	41	0.49 \pm 0.03	0.56 \pm 0.12	0.69 \pm 0.18	0.77 \pm 0.17
对照组	41	0.47 \pm 0.04	0.50 \pm 0.13	0.60 \pm 0.20	0.59 \pm 0.13
<i>t</i> 值		2.561	2.171	2.141	5.385
<i>P</i> 值		0.012	0.032	0.035	0.000

2.4 观察组MMP-13和TIMP-1水平表达情况与创面愈合的关系

MMP-13的高表达组创面愈合率显著低于低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。TIMP-1的高表达组创面愈合率显著高于低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 观察组治疗30 d创面面积愈合率与牙龈组织中MMP-13、TIMP-1的相关性分析

Pearson相关性分析结果显示,观察组治疗30 d创面面积愈合率与牙龈组织中MMP-13表达水平呈负相关($r = -0.031, P = 0.035$),与牙龈组织中TIMP-1表达水平呈正相关($r = 0.403, P = 0.009$)。见图2。



图1 2组牙龈组织中TIMP-1、MMP-13的表达(SP, $\times 400$)

Figure 1 Expression of TIMP-1 and MMP-13 in gingival tissue of two groups (SP, $\times 400$)

表4 观察组MMP-13和TIMP-1水平表达情况与创面愈合的关系 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 4 The relationship between the expression of MMP-13 and TIMP-1 in observation group and wound healing [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

项目		创面愈合率
MMP-13	高表达(n=26)	60.08±8.34
	低表达(n=15)	65.79±7.16
t值		2.218
P值		0.032
TIMP-1	高表达(n=14)	67.80±8.78
	低表达(n=27)	61.15±7.75
t值		2.490
P值		0.017

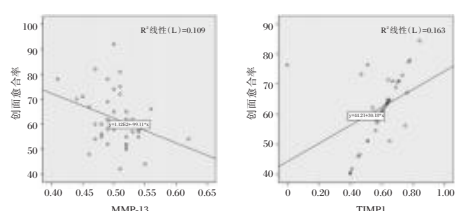


图2 观察组治疗30d创面面积愈合率与牙龈组织中MMP-13、TIMP-1的相关性分析

Figure 2 Correlation analysis between wound healing rate and MMP-13、TIMP-1 in gingival tissue in the observation group after 30 days of treatment

3 讨论

修复各种由外伤或医源性引起的软组织缺损,是临床上普遍存在的问题。伤口的愈合是一个复杂的过程,需要各种胶原、可溶性介质、细胞因子、炎症细胞等多种因素的综合作用。目前,FGG术后腭部供区粘膜创面修复的方法较多,如血小板浓缩物等血液制品中丰富的生长因子,可以促进创面愈合。相关研究表明,浓缩生长因子能促进人牙龈成纤维细胞的增殖和分化,并促进种植体软组织的再生,对口腔种植体骨组织的起修复作用^[7]。基质金属蛋白酶与基质金属蛋白酶抑制剂的动态平衡在修复组织细胞、炎症细胞迁移、促进创面上皮化等方面也发挥着关键作用,其中,MMP-13、TIMP-1均属于MMPs家族^[8]。但MMP-13、TIMP-1与游离龈移植术后应用CGF治疗创面愈合中具体机制仍不清楚,需要深入探究其在牙龈组织中表达情况,分析其与创面愈合的关系。

血小板浓缩物由自提全血离心所得,CGF是第三代血小板衍生物,与富血小板血浆、富血小板纤维蛋白相比,CGF中含有更丰富的生长因子,具有较强的细胞增殖和修复作用。本研究结果显

示,随治疗时间的延长,观察组的创面面积愈合率逐渐升高,观察组高于对照组。由于CGF中的生长因子较为丰富,治疗时间越长,观察组表现出较对照组更好的创面愈合效果。CGF中富含纤维蛋白支架、血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子以及表皮生长因子等,这些生长因子对上皮细胞的增殖有明显的促进作用,并能在创面中形成新的血管网络,从而保证硬腭供区的营养供给^[9]。此外,CGF膜中丰富的生长因子,能够满足机体早期修复所需,且与细胞间存在良好的协同效应,弥补了单一生长因子对组织修复的影响,加快缺损区的修复。本研究结果显示,随治疗时间的延长,MMP-13的表达水平逐渐下降,观察组低于对照组。慢性难愈合创面是由于过多的炎症因子作用所致,早期可见到少量MMP-13及TIMP-1的表达,到晚期时,由于大量的炎症因子存在,导致机体体内MMP-13和TIMP-1被释放,破坏创面的正常组织,导致机体形成久不愈合的状况^[10-11]。MMP-13是多种炎症因子最后作用的靶分子,TIMP-1参与炎症细胞浸润和转移的过程,本研究创面愈合的其作用机理考虑是通过降低MMP-13、TIMP-1的表达水平相关^[12-13]。MMP-13、TIMP-1在上皮细胞再生及伤口愈合中具有重要作用。本研究结果显示,MMP-13高表达组创面愈合率均低于低表达组,TIMP-1高表达组创面愈合率均高于低表达组。MMP-13参与多种正常的生理、病理过程,如组织愈合、形态形成和修复,当创面愈合程度越高,MMP-13表达水平越低^[14]。TIMP-1的高水平表达可能通过对MMPs的清除、细胞的迁移以及细胞外基质的降解等作用,从而起到促进伤口的愈合效果^[15]。本研究Pearson相关性分析显示,观察组术后30d创面面积愈合率与牙龈组织中MMP-13表达水平呈负相关,与TIMP-1表达水平呈正相关。因此,术后通过监测患者牙龈组织中MMP-13、TIMP-1表达情况,而给予针对性的治疗,及时纠正游离龈移植术后供区创面的微环境,可促进创面的愈合。

综上所述,行游离龈移植术后应用CGF生长因子治疗患者牙龈组织中MMP-13的表达水平逐渐下降,TIMP-1的表达水平逐渐逐渐升高,两者与创面愈合率密切关联,CGF生长因子可能通过调控MMP-13和TIMP-1之间的关系以达到促进创面愈合的目的。

(下转第1740页)

阴道壁组织中 *TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf 2* 表达在盆底功能障碍患者中的临床意义

汪新宇 程永玲 刘晓宁 管晓卿*

[摘要] **目的** 探究阴道壁组织中转化生长因子-β1(*TGF-β1*)、基质金属蛋白酶9(*MMP-9*)、核因子E-2相关因子2(*Nrf 2*)表达在女性盆底功能障碍(PFD)患者中的临床意义。**方法** 以2019年3月至2021年7月于涿州市医院就诊的92例PFD患者为研究对象,根据疾病类型将其分为盆腔器官脱垂(POP)组(35例)、压力性尿失禁(SUI)组(31例)及POP合并SUI组(26例),并以47例健康妇科检查者为对照组,比较四组*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf 2*表达量,分析其对POP、SUI的鉴别价值;比较不同严重程度POP、SUI患者的*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf 2*表达量,分析其与病情严重程度的相关性。**结果** POP合并SUI组的*TGF-β1*表达量低于POP组、SUI组,*MMP-9*、*Nrf 2*表达量高于POP组、SUI组,差异有统计学意义($t=7.027, 4.806; 11.347, 8.239; 7.164, 4.647, P$ 均 <0.05);POP组、SUI组、POP合并SUI组的*TGF-β1*表达量低于对照组,*MMP-9*、*Nrf 2*表达量高于对照组,差异有统计学意义($t=6.105, 6.819, 10.009; 22.425, 27.123, 35.601; 18.029, 18.521, 22.992, P$ 均 <0.05);*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf 2*表达单独检测及联合检测鉴别POP及SUI的AUC分别为0.629、0.637、0.653、0.665;*TGF-β1*表达随POP、SUI病情的加重而降低,*MMP-9*、*Nrf 2*表达随POP、SUI病情的加重而增高,差异有统计学意义($P<0.05$);*TGF-β1*表达与POP、SUI严重程度呈负相关($r=-0.253, -0.198, P<0.05$),*MMP-9*、*Nrf 2*表达与POP、SUI严重程度呈正相关($r=0.319, 0.317, 0.346, 0.261, P<0.05$)。**结论** PFD患者存在*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf 2*异常表达现象,且各指标与病情严重程度相关,不同类型患者*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf 2*表达水平不同,但其对PFD患者类型鉴别价值较低。

[关键词] 阴道壁组织;转化生长因子-β1;基质金属蛋白酶9;核因子E-2相关因子2;盆底功能障碍

Clinical significance of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf 2* in vaginal wall tissues in patients with pelvic floor dysfunction

WANG Xinyu, CHENG Yongling, LIU Xiaoning, GUAN Xiaoqing*

(Department of Gynecology, Zhuozhou Hospital, Zhuozhou, Hebei, China, 072750)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the clinical significance of transforming growth factor-β1 (*TGF-β1*), matrix metalloproteinase-9 (*MMP-9*) and nuclear factor E-2-related factor 2 (*Nrf2*) in vaginal wall tissues in patients with pelvic floor dysfunction (PFD). **Methods** A total of 92 patients with PFD were enrolled as the research objects between March 2019 and July 2021. According to types of diseases, they were divided into pelvic organ prolapse (POP) group (35 cases), the stress urinary incontinence (SUI) group (31 cases) and the POP-SUI group (26 cases) and 47 healthy gynecological examiners were used as the control group. The expression levels of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf2* in the three groups were compared. And their differential diagnosis value for POP and SUI was analyzed. The expression levels of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf2* in patients with different severity of POP and SUI were compared. And their correlation with disease severity was analyzed. **Results** The *TGF-β1* level in the POP-SUI group was lower than that in the POP group and the

基金项目:河北省医学科学研究计划项目(2041ZF345)

作者单位:涿州市医院妇科,河北,涿州 072750

*通信作者:管晓卿, E-mail: 363973621@qq.com

SUI group, while *MMP-9* and *Nrf 2* were higher than those in the POP group and the SUI group, and the differences were statistically significant ($t=7.027, 4.806; 11.347, 8.239; 7.164, 4.647, P<0.05$). The *TGF-β1* level in the POP group, the SUI group and the POP-SUI group was lower than that in the control group, while *MMP-9* and *Nrf 2* were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=6.105, 6.819, 10.009; 22.425, 27.123, 35.601; 18.029, 18.521, 22.992, P<0.05$). The AUCs of *TGF-β1*, *MMP-9*, *Nrf 2* expression alone and combined detection to identify POP and SUI were 0.629, 0.637, 0.653, 0.665, respectively. With the aggravation of POP and SUI, *TGF-β1* was decreased, while *MMP-9* and *Nrf 2* were increased, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression of *TGF-β1* was negatively correlated with the severity of POP and SUI ($r=-0.253, -0.198, P<0.05$), while *MMP-9* and *Nrf 2* were positively correlated with them ($r=0.319, 0.317, 0.346, 0.261, P<0.05$). **Conclusion** There are abnormal expressions of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf 2* in PFD patients, which are all related to disease severity. The expression levels of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf 2* are different in different types of patients. However, their differential diagnosis value for different types of PFD patients is low.

[KEY WORDS] Vaginal wall tissue; Transforming growth factor- $\beta 1$; Matrix metalloproteinase-9; Nuclear factor E-2-related factor 2; Pelvic floor dysfunction

盆底功能障碍(pelvic floor dysfunction, PFD)是由于各种病因导致盆底支持组织变得薄弱,使盆腔脏器发生移位,从而导致盆腔器官的位置和功能出现异常,主要包括子宫脱垂及阴道前后壁松弛等盆腔器官脱垂(Pelvic organ prolapse, POP)及压力性尿失禁(Stress urinary incontinence, SUI),该疾病的发生与支撑盆腔器官的阴道和盆底组织机械功能减退有关。目前认为,细胞外基质的胶原蛋白的变化可导致盆底支持组织损伤,破坏盆底完整结构,从而导致PFD的发生^[1]。相关研究指出,转化生长因子- $\beta 1$ (Transforming Growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)、基质金属蛋白酶9(Matrix metalloproteinase 9, MMP-9)表达与细胞外基质结构的完整性相关^[2]。亦有报道发现,TGF- $\beta 1$ 与胶原蛋白的生成和降解有关^[3]。TGF- $\beta 1$ 是一组具有多种功能的蛋白多肽,是细胞外基质的一类生物活性分子,在骨组织和血小板中含量最为丰富,可调节胶原代谢,促进胶原、纤维蛋白的表达,抑制细胞外基质膜的分解,进而影响PFD的发生发展过程;而MMP-9可直接影响局部组织中多种类型胶原蛋白的生成、结构和功能,可降解细胞外基质膜的有效成分、调节细胞黏度而抑制PFD患者的盆地组织正常功能。核因子E-2相关因子2(nuclear factor E-2 related factor, Nrf 2)是一类细胞核转录因子家族蛋白,目前对于其与PFD发生的关系尚无定论。故本研究通过分析PFD患者阴道壁组织中TGF- $\beta 1$ 、MMP-9、Nrf 2表达,旨在探究其与PFD的发生发展的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2019年3月至2021年7月于涿州市医院就诊的92例PFD患者为研究对象,根据疾病类型将其分为POP组(35例)、SUI组(31例)及POP合并SUI组(26例),并以47例健康妇科检查者为对照组。POP组:平均年龄(39.87 ± 4.05)岁,平均孕次(2.25 ± 0.34),平均产次(1.71 ± 0.30)次,绝经7例。SUI组:平均年龄(38.64 ± 4.21)岁,平均孕次(2.15 ± 0.37)次,平均产次(1.72 ± 0.25)次,绝经9例。POP合并SUI组:平均年龄(39.09 ± 4.17)岁,平均孕次(2.19 ± 0.31)次,平均产次(1.75 ± 0.28)次,绝经5例。对照组:平均年龄(40.05 ± 4.73)岁,平均孕次(2.21 ± 0.35)次,平均产次(1.79 ± 0.25)次,绝经10例。纳入标准:①符合有关PFD的诊断标准^[4];②存在尿失禁、慢性盆腔疼痛者;③临床资料完整者。排除标准:①合并严重心肝肾功能异常者;②既往有盆腔手术史者;③合并严重妇科疾病患者;④合并恶性肿瘤疾病患者;⑤妊娠期妇女;⑥盆腔神经损伤者。本研究经院伦理委员会批准同意,研究对象均知情同意。

1.2 方法

①标本采集:于患者盆底手术中在膀胱颈与尿道连接处旁开1.5 cm处,留取阴道前壁组织约1 cm³,用生理盐水充分洗净后,放入高压灭菌的Eppendorf管后立即置入液氮中保存。②总RNA提取及逆转录:应用大连宝生物工程有限公司RNAiso Reagent试剂盒进行总RNA提取,并逆转

录合成cDNA。③PCR反应: *TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2* 基因的PCR引物采用Primer5.0引物软件设计 [*TGF-β1*引物序列:上游:5'-ACCCACAAGGAAA TCTATGACA-3',下游:5'-GCTGAGGTATCGT-TAGGAAT-3';*MMP-9*引物序列:上游:5'-TCCCT-GGAGACCTGAGAACC-3',下游:5'-CGGGAAGT CTCCGAGTAGTTT-3';*Nrf2*引物序列:上游:5'-GTCGACATGAAGCACCTGAAGCGG-3',下游:5'-GGATCCCTTTCTCTTTCCCTTTTG-3'] ,并用GenBank Blast进行同源性比对,引物序列由奥科生物科技有限公司合成。④产物鉴定:取6 μL PCR产物,进行凝胶电泳,经GelDolXR凝胶成像及Quantity one分析系统进行图像分析,以β-actin为内参物,测定*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*和β-actin的平均积分光密度,以其与β-actin的比值表示其表达相对水平。

严重程度分组:参照Cullen PK Jr等^[5]方法及《女性压力性尿失禁诊断和治疗指南(2017)》^[6]将SUI分为I~IV度。根据《妇产科学》第6版^[4]中关于POP标准将POP患者分为I~III度。

1.3 统计学处理

采用SPSS 25.0软件进行数据处理;计数资料以%表示,采用χ²检验;计量资料经正态检验后用($\bar{x} \pm s$)表示,用t检验比较两组间差异,用单因素方差分析比较多组间差异;采用ROC曲线分析*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达量对POP、SUI的鉴别价值;采用spearman检验分析*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达量与POP、SUI严重程度的相关性。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 四组及对照组*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达比较

POP合并SUI组的*TGF-β1*表达量低于POP组、SUI组,*MMP-9*、*Nrf2*表达量高于POP组、SUI组,差异有统计学意义(P均<0.05);POP组、SUI组、POP合并SUI组的*TGF-β1*表达量低于对照组,*MMP-9*、*Nrf2*表达量高于对照组,差异有统计学意义(P均<0.05)。见表1。

2.2 *TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达对POP及SUI的鉴别价值

TGF-β1、*MMP-9*、*Nrf2*表达单独检测及联合检测鉴别POP及SUI的AUC分别为0.629、0.637、0.653、0.665。见表2、图1。

表1 四组患者的*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf2* among the four groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	<i>TGF-β1</i>	<i>MMP-9</i>	<i>Nrf2</i>
POP组	35	0.31±0.04 ^{ab}	0.27±0.05 ^{ab}	0.31±0.05 ^{ab}
SUI组	31	0.29±0.05 ^{ab}	0.31±0.05 ^{ab}	0.34±0.06 ^{ab}
POP合并SUI组	26	0.22±0.06 ^b	0.43±0.06 ^b	0.42±0.07 ^b
对照组	47	0.40±0.08	0.09±0.02	0.15±0.03
F值		51.857	363.929	182.27
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与POP合并SUI组比较,^aP<0.05;与对照组比较,^bP<0.05。

表2 *TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达对POP及SUI的鉴别价值

Table 2 The differential value of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf2* for POP and SUI

指标	AUC	截断值	S.E.值	95% CI	特异度	敏感度
<i>TGF-β1</i>	0.629	0.31	0.070	0.502~0.745	0.52	0.74
<i>MMP-9</i>	0.637	0.29	0.069	0.509~0.752	0.68	0.57
<i>Nrf2</i>	0.653	0.32	0.069	0.525~0.766	0.87	0.40
联合检测	0.665		0.069	0.530~0.799	0.86	0.52

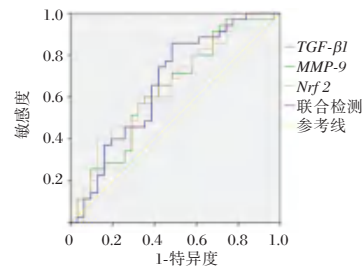


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curves

2.3 不同严重程度POP及SUI患者的*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达比较

*TGF-β1*表达随POP、SUI病情的加重而降低,*MMP-9*、*Nrf2*表达随POP、SUI病情的加重而增高,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 不同严重程度POP及SUI患者的*TGF-β1*、*MMP-9*、*Nrf2*表达比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of *TGF-β1*, *MMP-9* and *Nrf2* in patients with different severity of POP and SUI ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	<i>TGF-β1</i>	<i>MMP-9</i>	<i>Nrf2</i>	
POP	I度	23	0.31±0.06	0.27±0.05	0.32±0.05
	II度	21	0.28±0.06	0.34±0.06	0.36±0.05
	III度	17	0.21±0.05	0.43±0.08	0.40±0.07
	F值		15.936	33.278	10.486
		P值	<0.001	<0.001	<0.001
SUI	I度	17	0.28±0.04	0.31±0.05	0.33±0.06
	II度	26	0.26±0.05	0.35±0.06	0.37±0.07
	III~IV度	14	0.23±0.04	0.46±0.06	0.45±0.08
	F值		5.048	29.600	12.275
		P值	<0.05	<0.001	<0.001

2.4 TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 表达与 POP、SUI 严重程度的相关性分析

TGF-β1 表达与 POP、SUI 严重程度呈负相关, MMP-9、Nrf 2 表达与 POP、SUI 严重程度呈正相关。见表 4。

表 4 TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 表达与 POP、SUI 严重程度的相关性分析

Table 4 Correlation between TGF-β1, MMP-9, Nrf 2 and the severity of POP and SUI

指标	POP		SUI	
	r 值	P 值	r 值	P 值
TGF-β1	-0.253	<0.05	-0.198	<0.05
MMP-9	0.319	<0.05	0.317	<0.05
Nrf 2	0.346	<0.05	0.261	<0.05

3 讨论

PFD 又称为盆地缺陷或盆底支持组织松弛, 好发于中老年妇女, 会给患者带来一系列精神、生理方面的困扰, 严重影响其生存质量^[7]。据统计显示, 老年妇女的 PFD 患病率高达 50%, 是影响中老年女性身心健康的主要疾病^[8]。目前认为, 盆底结缔组织结构及功能与 PFD 的发生发展过程密切相关。胶原蛋白是盆底支持组织细胞外基质的主要成分, 细胞外基质降解可导致盆底支持组织胶原蛋白含量减少, 使得支持组织弹性兼容, 而造成盆底结构损伤、松弛, 最终导致 PFD^[9]。相关报道指出, MMP 相关因子与弹性蛋白、胶原蛋白相关, 参与了细胞外基质的重构过程^[10]。MMP-9 是 MMP 家族成员之一, 具有蛋白水解功能, 其可分解细胞外基质, 可降解胶原、改变胶原蛋白的形状, 可降解细胞外基质的所有成分, 破坏细胞外基质正常结构和功能。分娩、产伤等因素使得女性盆底结缔组织受损后, 可促进 MMP-9 分泌, 影响细胞外基质的合成及降解, 进而导致盆底结构改变。TGF-β1 是一种多功能生长因子, 可调节细胞生长分化, 抑制炎症。相关研究指出, TGF-β1 能刺激细胞及细胞外基质中大多数胶原基因的表达, 并能促进胶原蛋白产物分泌^[11]。Nrf 2 可通过参与细胞内的氧化应激反应来控制细胞周期, 目前临床上有关其与 PFD 发生过程的报道较少。本研究表明 PFD 患者存在 MMP-9、Nrf 2 异常表达现象, 且 POP 患者合并 SUI 可促进 MMP-9、Nrf 2 分泌, 抑制 TGF-β1 表达, 其原因目前尚不可知, 故后期需进行进一步探究。POP 及 SUI 是两种不同的 PFD 类型, 治疗方

法也存在差异。POP 是指盆腔器官疝出至阴道壁及超出阴道壁, 主要采用阴道子宫托及修补手术治疗; SUI 是一种常见疾病, 表现为尿液不自主流出, 目前尚无有效药物治疗方案, 主要通过盆底肌肉锻炼、膀胱训练等进行治疗。本研究发现, TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 表达鉴别 POP 及 SUI 的 AUC 均小于 0.7, 表明其对 POP、SUI 的鉴别价值较低, 故不建议通过检测 TGF-β1 等来鉴别不同类型 PFD。

盆底结缔组织细胞外基质的主要成分为胶原蛋白、弹性蛋白等, 有助于维持正常盆地结构^[12]。在正常生理条件下, 成纤维细胞释放的纤维蛋白原及其溶解处于平衡状态, 但在病理状态下, TGF-β1 可刺激细胞外基质合成, 诱导纤维酶活化因子抑制因子及胶原酶的合成释放, 进而抑制胶原降解^[13]。TGF-β1 对胶原的调控机制较为复杂, 可通过自分泌调控方式及细胞因子的网络调控, 间接调控胶原相关基因的转录、翻译水平, 并能维持相关蛋白质稳定性^[14-15]。临床资料显示, MMP-9 与细胞外基质的合成及降解代谢有关, 而盆底结缔组织一旦受到损伤或炎症刺激, 其所产生的细胞炎性因子即能激活 MMP-9, 而影响结缔组织细胞外基质的重建和修复^[16-17]。本研究结果提示 POP、SUI 患者 TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 表达或与病情严重程度相关, 经进一步分析发现, TGF-β1 表达与 POP、SUI 严重程度呈负相关, MMP-9、Nrf 2 表达与 POP、SUI 严重程度呈正相关, 表明 TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 或参与了 PFD 的发生发展过程, 其原因 TGF-β1 水平降低可促进 MMP 表达, 从而抑制阴道胶原合成, 进而可加重病情。

综上所述, PFD 患者阴道壁组织 TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 表达与病情严重程度相关, 且不同类型患者 TGF-β1、MMP-9、Nrf 2 表达水平不同, 但其对 PFD 患者类型鉴别价值较低。但本研究尚存在不足之处, 纳入样本量较少且为回顾性分析, 可能会影响研究结果的准确性, 故后期需增加样本量, 并进行前瞻性研究, 排除其他因素对本研究的影响, 以减少研究过程中的误差, 提高研究结果的可靠性。

参考文献

[1] Zhang L, Luo X. Clinical Significance of Neuropeptide Y Expression in Pelvic Tissue in Patients with Pelvic Floor Dysfunction[J]. Open Life Sci, 2019, 14(1): 126-132.
 [2] Zhu Q, Shu H, Dai Z. Effect of pelvic floor dysfunction on sexual function and quality of life in Chinese women of differ-

- ent ages: An observational study [J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2019, 19(4):299-304.
- [3] 易宇凌, 阳笑, 向华. 子宫肌瘤患者体内 MMP-9, TGF- β 1 和 EGF 水平变化特点及意义[J]. *中国性科学*, 2020, 29(3):109-112.
- [4] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004:371-373.
- [5] Cullen PK Jr, Welch JS. Ten years results of the Kelly and Kennedy types of procedure in urinary stress incontinence[J]. *Surg Gynecol Obstet*, 1961, 113(6):85-90.
- [6] 中华医学会妇产科学分会妇科盆底学组. 女性压力性尿失禁诊断和治疗指南(2017)[J]. *中华妇产科杂志*, 2017, 52(5):289-293.
- [7] 王轶群, 陈娟, 李卫, 刘百岁. 影像学检查在盆底功能障碍性疾病诊断中的应用[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2017, 27(6):544-548.
- [8] Hainsworth AJ, Solanki D, Morris SJ, et al. Is there any association between symptoms and findings on imaging in pelvic floor defaecatory dysfunction? A prospective study [J]. *Colorectal Dis*, 2021, 23(1):237-245.
- [9] Govind V, Krapf JM, Mitchell L, et al. Exploring Pain-Related Anxiety and Depression in Female Patients With Provoked Vulvodynia With Associated Overactive Pelvic Floor Muscle Dysfunction[J]. *Sex Med*, 2020, 8(3):517-524.
- [10] 王亚男, 王国建, 赵国玉. 补中益气汤联合运动训练对产后盆底功能障碍患者盆底肌情况及 MMP-2, TIMP-2, TGF- β 1 表达水平的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2021, 37(2):355-358.
- [11] 王辰之, 祁玉军. 早期盆底康复训练联合补中益气丸对产后女性盆底功能障碍的防治效果[J]. *世界中医药*, 2018, 13(11):2737-2740.
- [12] 苏世文, 曹晓丽, 吴瑾. 血清基质金属蛋白酶-1, 骨桥蛋白, 结缔组织生长因子水平与子宫切除术后患者盆底功能障碍发生的相关性研究[J]. *中国性科学*, 2021, 30(9):110-113.
- [13] 吴佳, 钱芳波, 王家俊. miR-93 介导转化生长因子- β 1 调节 III 型胶原蛋白在压力性尿失禁中的意义[J]. *安徽医药*, 2021, 25(7):1433-1437.
- [14] 李志红, 胡勇, 熊正花, 等. TGF- β 1, TIMP-1 及 Collagen III 在盆腔器官脱垂患者阴道壁中的表达及意义[J]. *昆明医科大学学报*, 2021, 42(9):95-100.
- [15] 沙阿代提·吾甫尔, 古丽娜·阿巴拜克力. TGF 增强剂及抑制剂在 POP 阴道壁成纤维细胞中细胞外基质蛋白的表达研究[J]. *实用妇产科杂志*, 2021, 37(8):631-635.
- [16] 黎秀梅, 田艳红. 压力性尿失禁患者盆底超声参数与细胞外基质重塑、细胞凋亡的相关性研究[J]. *海南医学院学报*, 2018, 24(4):541-544.
- [17] 汪荣金, 朱小刚, 林菊华. 子宫切除术后压力性尿失禁患者盆底超声相关参数与 MMP-1 和 MMP-9 的关系[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(16):3702-3705.

(上接第 1735 页)

参考文献

- [1] 刘湘, 宁晓桥, 晋茹, 等. 游离龈移植术后腭部供区创面治疗方法的研究进展[J]. *重庆医学*, 2021, 50(18):3230-3233.
- [2] 梁源, 罗槌, 沈静涛, 等. 浓缩生长因子对游离龈移植术后供区创面愈合的效果评价[J]. *口腔医学研究*, 2021, 37(12):1135-1138.
- [3] 王松松, 张云涛, 刘珂珂, 等. 高度浓缩生长因子对 MC3T3-E1 成骨细胞生物学性能的影响[J]. *上海口腔医学*, 2020, 29(5):482-486.
- [4] 汪洁, 王必蓉, 潘跃进, 等. 肠道造瘘口术后大鼠皮肤 MMP1、MMP2 表达水平与其创面愈合的关系[J]. *广东医学*, 2018, 39(17):2571-2574.
- [5] 徐凯, 李宏伟, 魏永鸽, 等. 三阴乳腺癌中 TIMP-1 表达与临床病理及预后的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(1):117-120.
- [6] 汪洁, 王必蓉, 潘跃进, 等. 肠道造瘘口术后大鼠皮肤 MMP1、MMP2 表达水平与其创面愈合的关系[J]. *广东医学*, 2018, 39(17):2571-2574.
- [7] 李小菊, 宋光保, 杨剑珍, 等. 浓缩生长因子对人牙齦成纤维细胞增殖与分化的作用[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(21):3342-3348.
- [8] 王越, 李贤, 王瑶, 高占红, 等. IV 期压疮愈合过程中创面渗出液基质金属蛋白酶-9、基质金属蛋白酶抑制剂-1 的表达水平变化的研究[J]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2019, 14(1):34-38.
- [9] 魏中武, 黄谢山, 陈灼庚. 浓缩生长因子在口腔临床中的应用及研究进展[J]. *国际口腔医学杂志*, 2020, 47(2):235-243.
- [10] Landén Ning Xu, Li Dongqing, Stähle Mona. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(20):3861-3885.
- [11] 常青, 王伟, 杨增华, 等. 黄芩苷对 IL-1 β 诱导大鼠软骨细胞凋亡和炎症反应的抑制作用及相关机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(21):2603-2607+2618.
- [12] 顾晓荔, 吴新华, 姬梦鸽, 等. 子宫内异位症患者血清 TIMP-1、MCP-1、MMP-9 水平及与不孕的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(2):234-238.
- [13] 王德华, 马丁, 雒艳. 盐酸小檗碱联合吡喹酮对血吸虫病大鼠肝纤维化的治疗作用及其机制[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(12):1256-1260.
- [14] 李阳, 张丽曼, 张立颖, 等. 骨痹汤对膝关节炎大鼠软骨中基质金属蛋白酶-13 及转化生长因子- β ₁ 的影响[J]. *世界中医药*, 2021, 16(10):1530-1533.
- [15] 彭宇辉, 陈雪, 石晓聪, 等. 高压氧联合胰岛素盐水湿敷治疗糖尿病足患者的临床疗效[J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2019(4):362-364.

rTMS对急性缺血性PSD患者5-HIAA、氨基酸类神经递质及5-HT的影响

秦雅鑫¹ 张恒¹ 闵白媛¹ 许冬华^{2*} 花志娟³

[摘要] 目的 研究低频重复经颅磁刺激(rTMS)治疗对急性缺血性脑卒中后抑郁(PSD)患者5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)、氨基酸类神经递质[谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)、 γ -氨基丁酸(GABA)]及5-羟色胺(5-HT)的影响。方法 选取2021年1月至2021年12月宜兴市人民医院收治的88例急性缺血性PSD患者的临床资料进行分析,分为研究组($n=45$,常规治疗结合低频重复经颅磁刺激治疗)和对照组($n=43$,常规治疗),比较两组临床疗效、5-HIAA、神经递质、5-HT及不良反应。结果 研究组总有效率(93.33%)高于对照组(76.74%),差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后研究组Glu、Asp低于对照组,Gly、GABA、5-HIAA、5-HT高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组不良反应率(13.33%)与对照组(11.63%)比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 rTMS治疗可有效提升急性缺血性脑卒中后抑郁患者的临床疗效,对患者神经递质等改善效果良好,且安全性高。

[关键词] 急性缺血性脑卒中;脑卒中后抑郁;rTMS;5-HIAA;神经递质;5-HT

Effects of rTMS on 5-HIAA, amino acid neurotransmitters and 5-HT in patients with acute ischemic PSD

QIN Yaxin¹, ZHANG Heng¹, MIN Baiyuan¹, XU Donghua^{2*}, HUA Zhijuan³

(1. Department of Rehabilitation Medicine, Yixing People's Hospital, Yixing, Jiangsu, China, 214200; 2. Department of Neurology, Yixing People's Hospital, Yixing, Jiangsu, China, 214200; 3. Department of Rehabilitation Medicine, Jiurucheng Rehabilitation Hospital, Yixing, Jiangsu, China, 214206)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on 5-Hydroxyindole-acetic acid (5-HIAA), neurotransmitter [glutamic acid (Glu), L-aspartic acid (Asp), glycine (Gly), γ -Aminobutyric Acid (GABA)] and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in patients with acute ischemic post-stroke depression (PSD). **Methods** The clinical data of 88 patients with acute ischemic PSD who were admitted to Yixing People's Hospital from January 2021 to December 2021 were selected for analysis. According to different treatment, they were divided into the study group ($n=45$, conventional treatment combined with low-frequency repetitive transcranial electrical stimulation) and the control group ($n=43$, conventional treatment), 5-HIAA, neurotransmitter, 5-HT and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The total effective rate in the study group (93.33%) was higher than that in the control group (76.74%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the Glu and Asp in the study group were lower than those in the control group, while the levels of Gly, GABA, 5-HIAA and 5-HT in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the adverse reaction rate

基金项目:江苏省卫健委指导性项目(Z2021001);无锡市“双百”中青年医疗卫生拔尖人才项目(BJ2020108)

作者单位:1. 宜兴市人民医院康复医学科,江苏,宜兴 214200

2. 宜兴市人民医院神经内科,江苏,宜兴 214200

3. 宜兴市九如城康复医院康复医学科,江苏,宜兴 214206

*通信作者:许冬华, E-mail: Xudonghua2022@163.com

between the study group (13.33%) and the control group (11.63%) ($P>0.05$). **Conclusion** rTMS treatment can effectively improve the clinical efficacy of patients with acute ischemic post-stroke depression, and has a good improvement effect on neurotransmitters, which has high safety.

[KEY WORDS] Acute ischemic stroke; Post-stroke depression; rTMS; 5-HIAA; Neurotransmitter; 5-HT

脑卒中发病率高、致死率高,属于常见的脑血管疾病之一^[1]。其中急性缺血性脑卒中是导致我国中老年人残疾和死亡的主要原因,其发病率占全部脑卒中的60%,给社会及家庭带来了巨大负担^[2-3]。脑卒中后抑郁则是脑卒中患者常见的并发症之一,临床表现为抑郁、焦虑等,如果没有进行及时有效的治疗,会对患者后期的神经康复及精神心理稳定造成严重影响,不利于其身心健康,从而导致死亡率的增高^[4-5]。因此,对急性缺血性脑卒中后抑郁患者采取及时有效的治疗措施,促进其早日康复是治疗的关键^[6]。低频重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)作为一种物理治疗手段,其治疗效应在帕金森氏病、原发性抑郁症等疾病中均得到证实,目前在临床上应用较为广泛^[7-8]。本文主要研究rTMS治疗对急性缺血性脑卒中后抑郁患者5-羟吲哚乙酸(5-Hydroxyindole-3-acetic acid, 5-HIAA)、氨基酸类神经递质及5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)水平的影响,为临床

工作提供参考新思路。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2021年12月宜兴市人民医院收入治疗的88例急性缺血性脑卒中后抑郁患者的临床资料进行分析。纳入标准:①均符合脑卒中后抑郁的诊断标准^[9];②无其他精神疾病或神经系统外伤史;③患者及家属均知晓同意。排除标准:①凝血异常者;②有过敏史者;③有严重脏器功能异常者;④存在免疫功能缺陷或感染疾病者;⑤存在失语、认知障碍等严重脑卒中后并发症者;⑥特殊时期女性:哺乳期、妊娠期等;⑦有癫痫病患者;⑧存在与放电线圈紧密接触的金属硬件;⑨有颅骨缺损者。根据治疗方式不同划分为研究组($n=45$,常规治疗结合低频重复经颅磁刺激治疗)和对照组($n=43$,常规治疗),两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

表1 两组一般资料对比 [$\bar{x}\pm s, n(\%)$]

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

组别	n	平均年龄(岁)	性别(男/女)	BMI(kg/m ²)	病灶部位		
					左侧	右侧	双侧
研究组	45	56.91±6.29	26/19	20.33±2.95	15(33.33)	19(42.22)	11(24.44)
对照组	43	57.59±6.34	23/20	19.59±3.88	17(39.53)	19(44.19)	7(16.28)
t/ χ^2 值		0.505	0.164	1.010		0.969	
P值		0.615	0.686	0.315		0.616	

1.2 方法

对照组予以常规改善微循环、营养神经、抗血小板聚集等治疗,待患者神经系统症状稳定再予以康复治疗与肢体功能锻炼。

研究组在对照组基础上结合rTMS治疗患者取仰卧位,设置刺激强度为80%运动阈值,50脉冲/序列,序列间隔5s,以1Hz频率对患者双侧前额叶进行刺激,1次/d,30min/次,每周治疗5d,连续治疗8周。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

根据四级疗效及汉密尔顿抑郁量表(Hamilton Depression scale, HAMD)^[10]进行判定,以减分

率作为判定指标:①基本痊愈:HAMD减分率 $\geq 80\%$;②显著进步:HAMD减分率60%~79%;③进步:HAMD减分率30%~59%;④无效:HAMD减分率 $<30\%$ 。[(进步+显著进步+基本痊愈)/总例数] $\times 100\%$ =总有效率。

1.3.2 5-HIAA、5-HT及氨基酸类神经递质检测

抽取患者清晨空腹外周静脉血5mL,使用乙二胺四乙酸抗凝,离心处理(15min,半径10cm,3000r/min),取上清备用。检测方法为高效液相色谱法,检测指标包括5-HIAA、5-HT及谷氨酸(glutamic acid, Glu)、天冬氨酸(L-aspartic acid, Asp)、甘氨酸(glycine, Gly)、 γ -氨基丁酸(γ -Aminobutyric Acid, GABA)。所有检测试剂盒均购自

上海纪宁实业有限公司,检验按照说明书进行。

1.3.3 不良反应

包括恶心呕吐、头痛、听力障碍、癫痫等。

1.4 统计学处理

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

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

研究组总有效率(93.33%)显著高于对照组(76.74%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	<i>n</i>	基本痊愈	显著进步	进步	无效	总有效率
研究组	45	15(33.33)	18(40.00)	9(20.00)	3(6.67)	42(93.33)
对照组	43	11(25.58)	8(18.60)	14(32.56)	10(23.26)	33(76.74)
χ^2 值						4.806
<i>P</i> 值						0.028

2.2 两组神经递质比较

治疗前两组 Glu、Asp、Gly、GABA 水平比较无统计学意义($P > 0.05$),治疗后研究组 GABA、Gly 水平高于对照组,Asp、Glu 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组神经递质水平对比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of neurotransmitter levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Glu (mmol/L)		Asp (mmol/L)		Gly (mmol/L)		GABA (mmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	45	21.26±2.33	12.65±1.84 ^a	2.98±0.65	1.33±0.42 ^a	1.68±0.21	2.97±0.41 ^a	3.26±0.54	5.61±0.46 ^a
对照组	43	20.99±2.45	16.26±1.92 ^a	2.86±0.54	1.87±0.57 ^a	1.71±0.22	2.22±0.37 ^a	3.18±0.51	4.87±0.32 ^a
<i>t</i> 值		0.530	9.007	0.940	5.075	0.654	8.995	0.714	8.722
<i>P</i> 值		0.598	<0.001	0.350	<0.001	0.515	<0.001	0.477	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组 5-HIAA、5-HT 水平比较

治疗前两组 5-HIAA、5-HT 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后研究组 5-HIAA、5-HT 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组 5-HIAA、5-HT 水平对比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of 5-HIAA and 5-HT levels between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	5-HIAA ($\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$)		5-HT ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	45	106.59±8.48	158.56±7.33 ^a	255.26±19.84	338.45±22.65 ^a
对照组	43	105.21±7.44	129.85±8.84 ^a	253.87±20.66	296.84±21.42 ^a
<i>t</i> 值		0.810	16.615	0.322	8.846
<i>P</i> 值		0.420	<0.001	0.748	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组不良反应比较

研究组不良反应率(13.33%)与对照组不良反应率(11.63%)比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

表5 两组不良反应情况比较 [$n(\%)$]

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

组别	<i>n</i>	恶心呕吐	头痛	听力障碍	癫痫	不良反应率
研究组	45	2(4.44)	2(4.44)	2(4.44)	0(0.00)	6(13.33)
对照组	43	3(6.98)	2(4.65)	0(0.00)	0(0.00)	5(11.63)
χ^2 值						0.059
<i>P</i> 值						0.809

趋势^[11]。脑卒中后抑郁作为该疾病常见的并发症,不仅会影响患者运动、神经功能的恢复,还会对其神经递质等造成严重影响,增加脑卒中后抑郁患者的致残率及致死率,给家庭和社会带来沉重负担^[12]。目前临床上对脑卒中后抑郁的发病机制尚未完全明确,并无治疗脑卒中后抑郁的特效药物,改善脑部循环、营养神经等为其治疗的常用手段,但临床疗效有限^[13]。

rTMS 是近年发展起来的新神经磁刺激生理技术,根据磁信号转变为电信号的原理,通过刺激改变大脑局部及远隔皮质多种基因及神经递质表达,从而实现区域性功能重建,有利于患者情绪及肢体运动等功能的恢复,目前在临床中应用较为广泛^[14]。本文研究结果显示,研究组临床疗效高于对照组,说明结合 rTMS 治疗可提升患者的治疗

3 讨论

急性缺血性脑卒中是由于局部脑组织缺血、缺氧而发生的脑组织软化、坏死,相关研究显示,脑卒中发病与患者的年龄和体重等因素密切相关,由于人口老龄化,该疾病的发病率呈逐年上涨

效果。卒中后抑郁患者兴趣减低,大脑双侧皮质兴奋性不平衡,对神经递质造成了影响,导致其长期处于抑郁状态,rTMS通过对患者双侧前额叶进行刺激,从而调节了双侧额叶皮质兴奋性平衡,促进患者抑郁状态的改善。脑卒中病灶会直接破坏患者的神经元细胞,导致部分神经递质出现异常变化,其中5-HIAA、5-HT等分泌含量降低到一定程度时患者可出现紧张、抑郁、焦虑等负面情绪^[15]。本文结果中,治疗后研究组5-HIAA、5-HT水平高于对照组,说明rTMS可提升患者机体中5-HIAA、5-HT水平含量,改善患者情绪及抑郁症状。既往相关文献显示,脑卒中患者病灶组织周围氨基酸类神经递质的表达失衡,抑制性氨基酸Gly、GABA异常下降,兴奋性氨基酸Glu、Asp异常上升,是患者治疗后出现抑郁的重要原因^[16]。本文研究中,研究组治疗后GABA、Gly水平高于对照组,Glu、Asp水平低于对照组,证实了rTMS可调节氨基酸类神经递质的表达平衡,促进病灶周围组织功能的恢复。分析其中缘由,rTMS借助一定强度的时变磁场来兴奋脑组织并使其产生感应电流,低频率的重复经颅磁刺激可促进感觉运动突触功能、促进目的性运动反射弧,从而改善抑郁患者的大脑内生理过程。有学者报道,重复经颅磁刺激治疗后患者容易出现头痛、听力障碍等不良反应,甚至诱发癫痫,但其刺激频率多处于20 Hz左右的高频率高强度,说明rTMS不良反应的发生与与刺激的强度、频率有关^[17]。本文少数患者出现恶心呕吐、头痛、听力障碍的症状,未见其他不良反应,提示低频rTMS治疗具有较高安全性^[18]。

综上所述,rTMS治疗可有效改善急性缺血性脑卒中后抑郁患者的临床疗效,对患者神经递质改善效果良好,且具有一定安全性,可在临床上推广应用。

参考文献

[1] 吴少璞,李学,祁亚伟,等.重复经颅磁刺激联合动作观察疗法对脑卒中患者运动及认知功能恢复的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2022,44(1):35-39.

[2] 刘秀兰,陈莉云,赵晓茹,等.进展性缺血性脑卒中发生的相关危险因素分析[J].解放军医药杂志,2019,31(7):84-87.

[3] 何建华,杨振,张敏燕,等.低频重复经颅磁刺激联合功能性电刺激对脑卒中后恢复期手功能障碍患者手功能的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2021,43(9):804-806.

[4] Yang JF, Shen L, Hao L, et al. CREB1 and BDNF gene polymorphisms are associated with early treatment response to escitalopram in panic disorder [J]. *J Affect Dis*, 2021, 278 (S1):536-541.

[5] 任彩丽,蔡德亮,房辉,等.低频重复经颅磁刺激右侧颞上回后部对脑卒中完全性失语患者言语功能的影响[J].中国康复医学杂志,2018,33(9):1055-1059.

[6] 杨云凤,刘菊华,辜建伟,等.超低频重复经颅磁刺激对老年缺血性脑卒中病人吞咽功能及血清神经元特异性烯醇酶的影响[J].安徽医药,2021,25(1):72-75.

[7] Wang Y, Liu J, Chen R, et al. The Antagonistic Effects of Selenium Yeast (SeY) on Cadmium-Induced Inflammatory Factors and the Heat Shock Protein Expression Levels in Chicken Livers[J]. *Biolog Trace Elem Res*, 2020, 198(3):260-268.

[8] 刘超猛,王梅子,张桂青.重复经颅磁刺激治疗脑卒中后抑郁效果的Meta分析[J].华西医学,2018,33(10):1287-1294.

[9] 杨琪,余茜.不同频率重复经颅磁刺激治疗脑卒中后抑郁的对照研究[J].实用医院临床杂志,2018,15(2):205-208.

[10] Liu X, Song J, Zheng Z, et al. Effects of Excess Manganese on the Oxidative Status, and the Expression of Inflammatory Factors and Heat Shock Proteins in Cock Kidneys[J]. *Biolog Trace Elem Res*, 2020, 197(5):473-491.

[11] 赵琴,费世早,方芬,等.高频重复经颅磁刺激联合任务导向性训练对脑卒中后偏瘫患者上肢运动功能康复效果的影响[J].实用心脑血管病杂志,2022,30(1):113-116+123.

[12] Wypasek E, Natorka J, Mazur P, et al. Effects of rivaroxaban and dabigatran on local expression of coagulation and inflammatory factors within human aortic stenotic valves [J]. *Vascular Pharmacology*, 2020, 130(Suppl. 2):2199-2206.

[13] Henn L, Zanta NC, Girardi C, et al. Chronic Escitalopram Treatment Does Not Alter the Effects of Neonatal Stress on Hippocampal BDNF Levels, 5-HT1A Expression and Emotional Behaviour of Male and Female Adolescent Rats [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(3):926-943.

[14] 高路燕,韩倩,梁栋,等.低频重复经颅磁刺激对缺血性脑卒中后抑郁患者的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2019(5):332-334.

[15] 顾海萍,王昊懿.低频重复经颅磁刺激联合言语训练对缺血性脑卒中患者语言功能重建的作用[J].神经损伤与功能重建,2019,14(10):525-526.

[16] Kim HJ, Yang H, Jung DH, et al. Ameliorating effects of *Cuscuta chinensis* Lamak extract on hindlimb ischemia, and angiogenic or inflammatory associated factors in ovariectomized mice[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4):3321-3329.

[17] 柏玲,杜长伟,王文春,等.rTMS联合VR训练治疗脑卒中后抑郁伴认知障碍的疗效及评估[J].西南国防医药,2021,31(5):424-427.

[18] Gosztonyi G, Ludwig H, Bode L, et al. Obesity induced by Borna disease virus in rats: key roles of hypothalamic fast-acting neurotransmitters and inflammatory infiltrates [J]. *Brain Struct Funct*, 2020, 225(5):1459-1482.

· 论 著 ·

血清 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平与白内障术后眼内炎的关系

贾梦^{1*} 孙蒙蒙² 崔博坤² 陈艳霜³ 刘烁⁴ 郝建章⁵ 张虎⁵

[摘要] **目的** 研究血清白介素-1 β (IL-1 β)、CD64 指数及血清淀粉样蛋白 A(SAA)水平与白内障术后眼内炎的关系。**方法** 选取2019年1月至2021年1月于保定市第一医院行手术治疗的103例白内障为研究组,另选取同期于本院健康体检的正常人群88例为对照组。比较两组IL-1 β 、CD64、SAA;统计白内障患者术后感染眼内炎率,再分感染组与未感染组2个亚组,并进行IL-1 β 、CD64、SAA比较,以logistic分析影响白内障患者感染眼内炎的危险因素。**结果** 研究组IL-1 β 、CD64、SAA高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。经统计,术后感染患者为22例。感染组IL-1 β 、CD64、SAA高于未感染组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。年龄、吸烟、高血压、糖尿病、手术时间、玻璃体溢出、IL-1 β 、CD64、SAA为影响患者感染眼内炎的单因素($P<0.05$)。年龄、手术时间、玻璃体溢出、IL-1 β 、CD64、SAA为影响白内障患者感染眼内炎的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** IL-1 β 、CD64、SAA在白内障术后眼内炎患者机体中异常升高,通过检测三者可对白内障术后患者是否感染眼内炎进行有效评估。

[关键词] 白内障术后眼内炎; IL-1 β ; CD64; SAA

Relationship between serum IL-1 β , CD64 index and SAA level and endophthalmitis after cataract operation

JIA Meng^{1*}, SUN Mengmeng², CUI Bokun², CHEN Yanshuang³, LIU Shuo⁴, HAO Jianzhang⁵, ZHANG Hu⁵
(1. Department of Operating Room, Baoding First Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000; 2. Department of Nursing, Baoding First Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000; 3. Department of Neurology, Baoding First Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000; 4. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Baoding First Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000; 5. Department of Ophthalmology, Baoding First Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between serum interleukin-1 β (IL-1 β), CD64 index and serum amyloid A protein (SAA) level and endophthalmitis after cataract surgery. **Methods** 103 cataract patients who underwent surgery in Baoding First Hospital from January 2019 to January 2021 were selected as the study group, and 88 normal people who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The IL-1 β , CD64 and SAA in the two groups were compared; the incidence of postoperative endophthalmitis infection in cataract patients was counted, and the patients were divided into two subgroups, the infection group and the uninfected group, and IL-1 β , CD64 and SAA were compared, and the risk factors of endophthalmitis infection in cataract patients were analyzed by

基金项目:保定市科技计划项目任务书(2041ZF240)

作者单位:1. 保定市第一医院手术室,河北,保定 071000

2. 保定市第一医院护理部,河北,保定 071000

3. 保定市第一医院神经内科,河北,保定 071000

4. 保定市第一医院呼吸与危重症医学科,河北,保定 071000

5. 保定市第一医院眼科,河北,保定 071000

*通信作者:贾梦, E-mail:Jiameng891128@163.com

logistic analysis. **Results** The levels of IL-1 β , CD64 and SAA in the study group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). According to the statistics, there were 22 cases of postoperative infection. The levels of IL-1 β , CD64 and SAA in the infected group were higher than those in the uninfected group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Age, smoking, hypertension, diabetes, operation time, vitreous overflow, IL-1 β , CD64 and SAA were independent risk factors for endophthalmitis infection in cataract patients ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of IL-1 β , CD64 and SAA are abnormally elevated in patients with endophthalmitis after cataract surgery, and the detection of these three can be used to effectively evaluate the infection of endophthalmitis after cataract surgery.

[KEY WORDS] Endophthalmitis after cataract surgery; IL-1 β ; CD64; SAA

目前白内障手术、植入人体晶体是治疗白内障从而使患者恢复视力的主要方式^[1-2]。但手术均存在一定风险,且术后并发症的发生往往是临床较为棘手的一个问题,其中白内障术后并发眼内炎是最为严重的并发症^[3]。因此,早期预防眼内炎的发生,是提高患者治疗效果、改善患者预后的重要举措^[1-5]。既往文献显示,眼内炎的发生与人机体内的炎症反应具有紧密联系,各类炎症因子在评估白内障患者术后并发眼内炎中具有一定价值^[6]。血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A protein, SAA)、CD64 指数及白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 均是新型炎症感染指标^[7]。本文主要研究血清 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平与白内障术后眼内炎的关系,旨在为白内障术后眼内炎的诊疗工作提供参考。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月于保定市第一医院行手术治疗的 103 例白内障患者作为研究组,其中男 45 例,女 58 例,年龄 61~86 岁,平均(70.96 \pm 5.45)岁。入选标准:①均满足白内障的诊断标准^[8];②资料完整;③有明确手术指征并行手术治疗。排除标准:①心、肝、肺等严重病变者;②有恶性肿瘤等终末期疾病者;③精神异常者;④有风湿免疫系统疾病或血液系统疾病者;⑤晶状体过敏性眼内炎患者;⑥合并葡萄膜炎等其他眼部疾病者。另选取同期于本院进行健康体检的正常人群 88 名作为对照组。其中男性 43 例,女性 45 例,年龄 60~85 岁,平均年龄(71.12 \pm 6.84)岁。研究组与对照组年龄构成等基础资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已通过院伦理委员批准同意,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

收集患者性别、年龄、手术时间、糖尿病病史及高血压病史等资料。

对照组于体检当天、研究组于术后 3 d 抽取清晨空腹静脉血 5 mL,在低温离心机中离心(3 000 r/min, 10 min, 离心半径 13 cm)后分离血清,取出备用。采集外周血 2 mL 用于检测 CD64 指数。采用酶联免疫吸附法检测 IL-1 β 、SAA 水平,试剂盒购自中国武汉博士德生物工程有限公司;采用化学发光免疫法测定 CD64 指数,小鼠抗人荧光色素标记的单克隆抗体 CD64 由美国 Beckman Coulter 提供,抗体免疫组织化学试剂盒由上海嵘威达实业有限公司提供。所有操作均按试剂或仪器所配套说明书进行。以上检验均由专业人员进行操作。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析,以($\bar{x}\pm s$)描述计量资料,采用 t 检验;以 $n(\%)$ 描述计数资料,经 χ^2 检验;危险因素采用多元 Logistic 回归分析;以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平比较

研究组 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 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 感染组与未感染组 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平比较

经资料统计,术后感染眼内炎患者为 22 例。感染组 IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平均高于未感染组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 影响白内障患者感染眼内炎的单因素分析

年龄、吸烟、高血压、糖尿病、手术时间、玻璃体溢出、IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平为影响患者感染眼内炎的单因素($P<0.05$)。见表 3。

表1 两组IL-1 β 、CD64指数及SAA水平比较($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of IL-1 β , CD64 index and SAA levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD64(MFI)	SAA(mg/L)	IL-1 β (ng/mL)
研究组	103	14.81 \pm 4.37	117.40 \pm 84.76	17.48 \pm 3.98
对照组	88	8.56 \pm 2.61	15.51 \pm 3.39	6.74 \pm 3.16
t值	-	11.743	11.265	20.406
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001

表2 感染组与未感染组IL-1 β 、CD64指数及SAA水平比较($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of IL-1 β , CD64 index and SAA level between infected and uninfected groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD64(MFI)	SAA(mg/L)	IL-1 β (ng/mL)
感染组	22	17.18 \pm 2.05	162.12 \pm 74.95	21.95 \pm 6.48
未感染组	81	14.16 \pm 2.15	105.26 \pm 59.29	16.26 \pm 5.48
t值	-	5.899	3.762	4.150
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 影响白内障患者感染眼内炎的独立危险因素分析

经Logistic回归分析:年龄、手术时间、玻璃体溢出、IL-1 β 、CD64指数及SAA水平为影响白内障患者感染眼内炎的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

白内障是一种由多种因素导致的晶状体透明度降低或者颜色发生改变的眼科退行性疾病^[9]。老年人为白内障发病的高危群体,该疾病早期症状主要为视力减退、视物模糊,随着病情进展,患者晶状体混浊加重,若没有得到及时治疗,病情严重者有可能完全失明^[10]。及时的手术治疗是帮助患者恢复视力的重要治疗方案。由于眼的构成极为复杂,且眼部周围组织纤细脆弱,眼角膜、晶状体等均是没有血管的透明组织,给致病菌提供了良好的生存环境,容易导致患者术后并发眼内

表3 影响白内障患者感染眼内炎的单因素的单因素分析
[n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

Table 3 Univariate analysis of univariate factors affecting infectious endophthalmitis in cataract patients [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

因素	感染组 (n=22)	未感染组 (n=81)	χ^2/t 值	P值	
年龄(岁)	<65	6(27.27)	49(60.49)	7.673	0.006
	\geq 65	16(72.72)	32(39.51)		
性别	男	11(50.00)	47(58.02)	0.453	0.501
	女	11(50.00)	34(41.98)		
吸烟	有	18(81.81)	39(48.15)	7.936	0.005
	无	4(18.18)	42(51.85)		
高血压病史	有	17(77.27)	41(50.62)	4.997	0.025
	无	5(22.73)	40(49.38)		
糖尿病史	有	15(68.18)	28(34.57)	8.038	0.005
	无	7(31.82)	53(65.43)		
手术时间 (min)	<30 min	4(18.18)	49(60.49)	12.400	<0.001
	\geq 30 min	18(81.81)	32(39.51)		
玻璃体溢出	有	16(72.72)	33(40.74)	7.092	0.008
	无	6(27.27)	48(59.30)		
CD64(MFI)	17.18 \pm 2.05	14.16 \pm 2.15	5.899	<0.001	
SAA(mg/L)	162.12 \pm 74.95	105.26 \pm 59.29	3.762	<0.001	
IL-1 β (ng/mL)	21.95 \pm 6.48	16.26 \pm 5.48	4.150	<0.001	

炎。因此,对患者术后眼内炎的发生给予早期评估判断,采取积极干预措施具有重要意义^[11-12]。

IL-1 β 是一种特异性急性期炎症性指标,具有促进黏附分子和趋化性细胞因子产生的作用,其还能促进造血细胞和淋巴细胞增殖活化,从而导致其他炎症因子表达和释放^[13-14]。相关研究表明,IL-1 β 作为炎症反应的重要介质,在细胞增殖、分化、凋亡等生理过程中发挥作用,进而刺激基质细胞及免疫细胞,加剧了炎症反应^[15]。本文研究结果说明白内障术后眼内炎患者IL-1 β 呈现异常升高状态,可作为眼内炎感染的评估指标之一,这一结果与既往研究报道相符^[16]。

多型核白细胞CD64作为一种跨膜糖蛋白,主要分布在巨噬细胞、树突状细胞的表面,正常生

表4 影响白内障患者感染眼内炎的独立危险因素分析

Table 4 Analysis of independent risk factors affecting endophthalmitis in patients with cataract

影响因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95% CI)值	P值
高血压(无 vs 有)	2.136	1.923	5.952	8.466(0.195~366.897)	0.213
糖尿病(无 vs 有)	1.442	0.956	3.594	4.223(0.649~27.543)	0.617
吸烟(无 vs 有)	1.748	1.011	4.957	5.954(0.821~43.188)	0.845
年龄(岁)(<65 vs \geq 65)	1.459	0.664	8.153	4.302(1.171~15.807)	<0.001
手术时间(min)(<30 min vs \geq 30 min)	1.648	0.315	9.458	5.197(2.802~9.634)	<0.001
玻璃体溢出(无 vs 有)	1.594	0.291	8.285	4.923(2.783~8.709)	<0.001
CD64(MFI)(正常 vs 异常)	2.097	1.062	7.089	8.142(1.016~65.269)	<0.001
SAA(mg/L)(正常 vs 异常)	1.594	0.291	9.285	4.923(2.783~8.709)	<0.001
IL-1 β (ng/mL)(正常 vs 异常)	1.838	0.491	10.963	6.284(2.400~16.451)	<0.001

理情况下呈低水平表达,既往研究中,CD64 指数联合常见炎症因子 C 反应蛋白(C-reactionprotein, CRP)及白介素-6(Interleukin-6)在诊断新生儿早期感染性疾病中具有良好价值^[17]。本研究通过对比得出,研究组 CD64 指数高于对照组,感染组患者的 CD64 指数明显高于未感染组。CD64 可通过抗体依赖性细胞毒作用、免疫复合物清除作用实现对病原微生物的清除,考虑机体被感染后 CD64 表达量在 4~6 h 大幅度上升,参与细胞毒性反应从而加速靶细胞死亡^[18]。

SAA 是由肝脏组织合成的一种敏感的急性期反应蛋白,半衰期短、基础浓度低、个体差异小,有学者发现,SAA 在反映机体炎症反应中具有良好效应,是目前反映机体炎症反应的敏感指标^[19]。本研究通过对比得出,研究组 SAA 水平高于对照组,且感染组患者 SAA 水平明显高于未感染组。考虑当机体受感染、炎症刺激时,肝细胞在促炎因子刺激下分泌 SAA 并释放入血液,使血清 SAA 在短时间内迅速升高至千倍^[20]。

通过多元 Logistic 回归分析可知年龄、手术时间、玻璃体溢出、IL-1 β 、CD64 指数及 SAA 水平为影响白内障患者感染眼内炎的独立危险因素,提示在临床诊治中,对合并危险因素者需采取相应手段,以降低感染发生率。

综上所述,IL-1 β 、CD64 指数、SAA 水平在白内障术后眼内炎患者机体中呈现异常升高,临床可根据其表达水平对白内障术后患者是否感染眼内炎进行有效评估。

参考文献

- [1] 马晓程,邢怡桥,姜淑红,等.幼年特发性关节炎患儿白内障术后眼内炎症与血清细胞因子的关系[J].中华眼视光学与视觉科学杂志,2019,39(11):813-819.
- [2] 冯海晓,王艳芬,郑玉萍,等.玻璃体腔注射改良低剂量曲安奈德治疗白内障术后黄斑囊样水肿[J].国际眼科杂志,2019,19(11):1970-1973.
- [3] 洪慧,唐思梦,赵露,等.CTGF、TGF- β 1、Vimentin 和 α -SMA 在 2 型糖尿病患者白内障术后囊袋收缩中的作用研究[J].临床和实验医学杂志,2019,18(23):2537-2540.
- [4] Rathi VM, Sharma S, Das T, et al. Endophthalmitis prophylaxis study. Report 1: Intracameral cefuroxime and moxifloxacin prophylaxis for the prevention of postcataract endophthalmitis in rural India[J]. Indian J ophthalmol, 2020, 68(5):819-824.
- [5] Nowak MS, Grzybowski A, Michalska-Malecka K, et al. Incidence and Characteristics of Endophthalmitis after Cataract Surgery in Poland, during 2010-2015 [J]. Int J Environ Res Public Health, 2019, 16(12):2188.
- [6] 温凯,孙靖.白内障术后急性感染性眼内炎的临床特征[J].眼科新进展,2019,39(1):79-81.
- [7] 陈爱华,王成金,周艳梅,等.不同方式的白内障手术对老年患者术后眼内炎以及预后的不良影响[J].河北医学,2021,27(1):79-84.
- [8] Zhang Q, Fang W, Ma L, et al. VEGF levels in plasma in relation to metabolic control, inflammation, and microvascular complications in type-2 diabetes: A cohort study [J]. Medicine, 2018, 97(15):415.
- [9] 路露,杨立东,王颜.miR-217 和 SIRT1 在老年白内障晶状体上皮细胞中的表达水平及意义[J].热带医学杂志,2019,19(10):1225-1228+1248.
- [10] Boye KS, Mody R, Lage MJ, et al. The Relationship Between Timing of Initiation on a Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist and Glycosylated Hemoglobin Values Among Patients With Type 2 Diabetes [J]. Clin Therap, 2020, 42(9):707-714.
- [11] Wang Z, Du Z, Zhu F. Glycosylated hemoglobin is associated with systemic inflammation, hypercoagulability, and prognosis of COVID-19 patients [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2020, 14(5):305-309.
- [12] 叶霞,赵蓉,刘震,等.海军某医院白内障术后感染性眼内炎发病情况分析[J].人民军医,2019,62(10):908-911.
- [13] Tomietto P, Marciano E, Bui QE. IOL choice predictability, 1-year visual outcome, and complications after cataract surgery in children [J]. J Fr Ophthalmol, 2022, 45(3):323-330.
- [14] Satoh K, Takemura YFr, Satoh M, et al. Loss of FYCO1 leads to cataract formation [J]. Sci Rep, 2021, 11(1):13771-13771.
- [15] 陈尚懿,雷文生,赵月娥,等.白内障患者术后感染性眼内炎病原菌与血清炎症因子变化及不同预防措施的效果 [J].中华医院感染学杂志,2019,29(3):429-431.
- [16] Nag A, Verma A, Anand A. Acute endophthalmitis caused by Ochrobactrum anthropi following cataract surgery in an immunocompetent patient - A case report [J]. Indian J Ophthalmol-Case Rep, 2021, 1(3):554-556.
- [17] Bhasin P, Dhage A. Trifocal toric intraocular lens implantation for cataract in a young patient with congenital nystagmus [J]. Indian J Ophthalmol Case Rep, 2021, 1(3):499-500.
- [18] 符郁,岑育健,符密,等.血清 PCT 和 hs-CRP 水平及 CD64 指数在白内障术后感染性眼内炎诊断中的应用 [J].中华医院感染学杂志,2019,29(23):3614-3636.
- [19] 戴景宽,丁兰,李玮玲.血清 PCT、IL-6、SAA、ESR 水平对老年细菌性肺炎的鉴别诊断价值 [J].热带医学杂志,2022,22(1):95-98+123+145.
- [20] 张红振,王二丽,朱乐如.白内障患者 NOS、DPP 及 TFAR19 蛋白的表达及临床意义 [J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(12):1727-1731.

口腔鳞癌患者 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 变化及临床意义

赵亭亭¹ 刘振丽² 李立恒¹ 张璇¹ 李超¹ 马赛^{1*}

[摘要] **目的** 探讨口腔鳞癌患者保罗样激酶 1 (PLK1)、凋亡同胱氨酸蛋白-3 (Caspase-3)、细胞增殖核抗原 (Ki-67) 变化及临床意义。**方法** 选取 2017 年 3 月至 2019 年 3 月河北北方学院附属第一医院收治的 104 例口腔鳞状细胞癌组织作为癌组织组, 选取远离癌组织 3 cm 的癌旁组织作为癌旁组织组, 对比两组 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性率, 随访 2 年, 记录预后生存、死亡率, 分析三项指标与患者预后的关系。绘制受试者工作特征曲线 (ROC), 评估联合三项指标 (PLK1+caspase-3+Ki-67) 检测对口腔鳞癌患者预后死亡的预测价值。**结果** 癌组织组 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性表达率均明显高于癌旁组织组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。本研究随访率 100%, 随访期间死亡 63 例 (60.58%), 生存 41 例 (39.42%)。PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性表达的患者死亡率显著高于 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阴性表达的患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。临床分期 (Ⅲ~Ⅵ期)、有淋巴结转移、分化程度中-低分化、单一手术治、治疗依从性佳、PLK1 (阳性)、caspase-3 (阳性) 及 Ki-67 (阳性) 为影响口腔鳞状细胞癌患者预后生存的独立危险因素 ($P<0.05$)。三项指标 (PLK1+caspase-3+Ki-67) 联合检测灵敏度 (0.924)、特异度 (0.947)、AUC (0.969) 均高于单一指标检测 ($P<0.05$)。**结论** PLK1、caspase-3 及 Ki-67 与口腔鳞状细胞癌发生、预后相关, 临床可加强联合三项指标检测, 提高口腔鳞状细胞癌早期诊断率, 以评估患者预后。

[关键词] 口腔鳞癌; PLK1; caspase-3; Ki-67

Changes and clinical significance of PLK1, caspase-3 and Ki-67 in patients with oral squamous cell carcinoma

ZHAO Tingting¹, LIU Zhenli², LI Liheng¹, ZHANG Xuan¹, LI Chao¹, MA Sai^{1*}

(1. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000; 2. Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes and clinical significance of Paul-like kinase 1 (PLK1), apoptotic homocysteine protein-3 (Caspase-3) and proliferating nuclear antigen (Ki-67) in patients with oral squamous cell carcinoma. **Methods** 104 cases of oral squamous cell carcinoma admitted to the First Affiliated Hospital of Hebei North University from March 2017 to March 2019 were selected as the cancer tissue group, and the paracancer tissue 3 cm away from the cancer tissue was selected as the paracancer tissue group, the positive rates of PLK1, caspase-3 and Ki-67 were compared between the two groups, followed up for 2 years, and recorded the prognosis survival, mortality, and analyzed the relationship between the three indicators and patient prognosis. Receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to evaluate the predictive value of combined three indicators (PLK1+caspase-3+Ki-67) in the prognosis and death of patients with oral squamous cell carcinoma. **Results** The positive expression rates of PLK1, caspase-3 and Ki-67 in the

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20180791)

作者单位:1. 河北北方学院附属第一医院口腔颌面外科, 河北, 张家口 075000

2. 河北北方学院附属第一医院口腔内科, 河北, 张家口 075000

*通信作者: 马赛, E-mail: yfymasai@126.com

cancer tissue group were significantly higher than those in the para-cancer tissue group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The follow-up rate of this study was 100%. During the follow-up period, 63 cases (60.58%) died and 41 cases (39.42%) survived. The mortality rate of patients with positive expression of PLK1, caspase-3 and Ki-67 was significantly higher than that of patients with negative expression of PLK1, caspase-3 and Ki-67, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Clinical stage (III~VI), lymph node metastasis, medium to low differentiation, single surgical treatment, good treatment compliance, PLK1 (positive), caspase-3 (positive) and Ki-67 (positive) were independent risk factors affecting the prognosis and survival of patients with oral squamous cell carcinoma ($P<0.05$). The combined detection sensitivity (0.924), specificity (0.947) and AUC (0.969) of three indicators (PLK1+caspase-3+Ki-67) were higher than those of single indicator detection ($P<0.05$). **Conclusion** PLK1, caspase-3 and Ki-67 are related to the occurrence and prognosis of oral squamous cell carcinoma. The clinical combination of the three indicators can be strengthened to improve the early diagnosis rate of oral squamous cell carcinoma to evaluate the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Oral squamous cell carcinoma; PLK1; Caspase-3; Ki-67

口腔鳞状细胞癌发病率较高,占头颈部恶性肿瘤的40%,90%以上的口腔鳞状细胞癌患者为口腔粘膜原发性恶性肿瘤^[1-2]。由于目前临床对口腔鳞状细胞癌发生及病程中相关分子机制的认识尚欠深入研究,临床漏诊、误诊率较高。提高口腔鳞状细胞癌的早期诊断率,是保障治疗效果、延长患者生存期的重要手段。保罗样激酶1(Polo-Like Kinase1, PLK1)主要存在于真核细胞中,其活性增加可促进细胞增殖,与胃癌、结肠癌、口腔癌等恶性肿瘤关系密切^[3]。凋亡同胱氨酸蛋白-3(CysteinyI Aspartate-specific Proteinases-3, Caspase-3)是细胞凋亡的中心环节,有研究显示,Caspase-3在口腔鳞状细胞癌患者中阳性表达率较高,其在癌细胞的发生、发展中占有重要地位^[4]。细胞增殖核抗原(nuclear-associated antigen, Ki-67)是增殖细胞中存在的标志性抗原, Ki-67水平可反映细胞增殖活性,在多种恶性肿瘤中均存在 Ki-67 过度表达^[5]。本研究旨在分析口腔鳞状细胞癌患者 PLK1、caspase-3、Ki-67 变化及临床意义,并探讨三者与口腔鳞状细胞癌患者预后的关系,以期评估口腔鳞状细胞癌病情进展及预后提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年3月至2019年3月河北北方学院附属第一医院收治的口腔鳞状细胞癌患者的临床资料。纳入标准:①所有患者均穿刺活检证实为口腔鳞状细胞癌^[6];②影像资料、临床资料及随访资料完整;③纳入研究前未进行过放、化疗治疗。排除标准:①合并肝、肾等重要器官严重疾

病或恶性肿瘤者;②阿尔兹海默症者、精神障碍者。最终纳入104例患者,选取上述患者口腔黏膜鳞状细胞癌标本做为癌组织组,选取远离癌组织3cm的癌旁组织作为癌旁组织组。其中男68例,女36例;平均年龄(52.14 ± 3.32)岁。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 指标检测方法

采用SP免疫组化染色检测 PLK1、caspase-3、Ki-67 在癌组织及癌旁正常组织中的表达情况。每例组织蜡块均切片4张,厚度约4 μ m,标本均经甲醛溶液固定,石蜡包埋,载玻片泡酸,DAB显色剂显色,苏木精复染,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封固。于镜下观察 PLK1、caspase-3 及 Ki-67。PLK1、caspase-3 及 Ki-67 兔多克隆抗体均由美国 Epitomics 公司提供。

1.3 阳性判断标准

PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性判定标准:细胞胞质或细胞核中出现棕黄色或棕褐色颗粒,反之则为阴性^[7]。阳性细胞比例评分: $\leq 5\%$ 为0分, $>5\% \sim 25\%$ 为1分, $>25\% \sim 50\%$ 为2分, $>50\% \sim 75\%$ 为3分, $>75\%$ 为4分;染色强度评分:未染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。染色指数=阳性细胞比例评分+染色强度评分。将以上两项评价结果相加,总得分 <2 分为阴性,总得分 ≥ 2 分为阳性。

1.4 随访

对104例患者随访两年(以电话随访为主,门诊为辅),记录两组患者2年死亡率,随访时间截止至2021年3年。

1.5 统计学方法

使用 SPSS 22.0 统计软件进行分析,计数资料通过 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;计量资料通过 $(\bar{x} \pm s)$ 表示;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估诊断价值,计算曲线下面积(AUC);以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

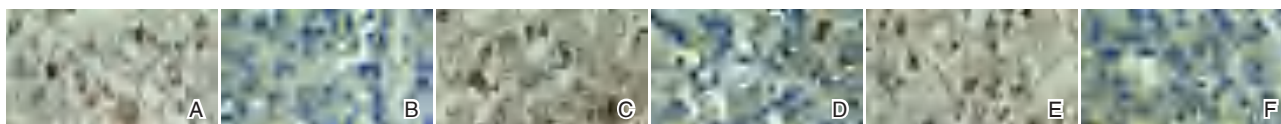
2 结果

2.1 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 在不同组织中的表达

癌组织组 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性表达率均明显高于癌旁组织组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 在不同组织中的表达 [$n(\%)$]
Table 1 Expression of PLK1, Caspase-3 and Ki-67 in different tissues [$n(\%)$]

组别	n	PLK1		caspase-3		Ki-67	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
癌组织组	104	71(68.27)	33(31.73)	65(62.50)	39(37.50)	78(75.00)	26(25.00)
癌旁组织组	104	22(21.15)	82(78.85)	40(38.46)	64(61.54)	37(35.58)	67(64.42)
χ^2 值		46.695		12.020		32.693	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A 为 PLK1 在癌组织中的表达; B 为 PLK1 在癌旁组织中的表达; C 为 caspase-3 在癌组织中的表达; D 为 caspase-3 在癌旁组织中的表达; E 为 Ki-67 在癌组织中的表达; F 为 Ki-67 在癌旁组织中的表达。

图 1 免疫组化染色图 (SP, ×400)

Figure 1 Immunohistochemical staining (SP, ×400)

2.2 不同预后的患者 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 表达

本研究随访率 100%, 随访期间死亡 63 例 (60.58%), 生存 41 例 (39.42%)。PLK1、caspase-3

及 Ki-67 阳性表达的患者死亡率显著高于 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阴性表达的患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同预后的患者 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 表达 [$n(\%)$]
Table 2 Expression of PLK1, Caspase-3 and Ki-67 in patients with different prognosis [$n(\%)$]

组别	n	PLK1		caspase-3		Ki-67	
		阳性(n=71)	阴性(n=33)	阳性(n=65)	阴性(n=39)	阳性(n=78)	阴性(n=26)
生存	41	13(31.71)	28(68.29)	20(48.78)	21(51.22)	23(56.10)	18(43.90)
死亡	63	58(92.06)	5(7.94)	45(71.43)	18(28.57)	55(87.30)	8(12.70)
χ^2 值		41.767		5.436		12.898	
P 值		<0.001		0.020		<0.001	

2.3 影响口腔鳞状细胞癌患者预后生存的单因素和多因素分析

临床分期(Ⅲ~Ⅵ期)、有淋巴结转移、分化程度中-低分化、单一手术治、治疗依从性佳、PLK1(阳性)、caspase-3(阳性)及 Ki-67(阳性)为影响口腔鳞状细胞癌患者预后生存的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 联合三者对口腔鳞状细胞癌患者预后死亡的预测价值

三项指标(PLK1+caspase-3+Ki-67)联合检测灵敏度(0.924)、特异度(0.947)、AUC(0.969)均高于单一指标检测 ($P < 0.05$)。见表 4、图 2。

3 讨论

口腔鳞状细胞癌的发生是一个多步骤的过程, 在癌细胞增殖的过程中, 由多种蛋白共同参与, 为肿瘤组织生长提供营养物质及氧气, 增强癌细胞的迁移及侵袭能力^[8]。寻找口腔鳞状细胞癌发生、发展中的关键蛋白, 是防治口腔鳞状细胞癌生长及增殖的重点。

PLK1 为 PLK 家族中的成员之一, PLK1 在哺乳动物细胞有丝分裂过程中占有重要地位, 研究显示 PLK1 在分裂活跃的组织器官及肿瘤细胞中活性较高^[9-10]。caspase-3 是一种半胱氨酸蛋白酶,

表3 影响口腔鳞状细胞癌患者预后生存的单因素和多因素分析

Table 3 Univariate and multivariate analysis of prognostic survival in patients with oral squamous cell carcinoma

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
年龄(≥65岁 vs <65)	1.024	0.578~1.856	0.589			
性别(男 vs 女)	1.365	0.897~1.785	0.880			
TNM(I~II期 vs III~VI期)	1.254	1.147~1.856	0.037	1.365	1.236~1.866	0.041
淋巴结转移(是 vs 否)	1.326	1.204~1.925	0.029	1.582	1.428~1.937	0.034
分化程度(高分化 vs 中-低分化)	1.285	1.125~1.556	0.014	1.456	1.254~1.746	0.020
肿瘤直径(≥3 cm vs <3 cm)	1.491	1.326~1.864	0.026	1.724	0.578~1.806	0.053
血管侵犯(有 vs 无)	1.237	1.209~1.856	0.033	1.336	0.698~1.763	0.714
治疗方案(单一手术治疗 vs 术后联合化疗治疗)	1.364	1.211~1.866	0.014	1.414	1.397~1.956	0.028
治疗依从性(依从性不佳 vs 依从性好)	1.254	1.204~1.774	0.032	1.354	1.271~1.854	0.043
PLK1(阳性 vs 阴性)	1.365	1.247~1.820	0.008	1.415	1.236~1.760	0.024
caspase-3(阳性 vs 阴性)	1.245	1.126~1.627	0.017	1.362	1.304~1.856	0.030
Ki-67(阳性 vs 阴性)	1.589	1.504~1.965	0.011	1.624	1.557~1.896	0.026

表4 联合三者对口腔鳞状细胞癌患者预后死亡的预测价值
Table 4 The predictive value of the combination of the three for the prognosis and death of patients with oral squamous cell carcinoma

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	约登指数	P 值
PLK1	0.802	0.847	0.829	0.742~0.916	0.649	<0.001
caspase-3	0.832	0.881	0.830	0.745~0.915	0.713	<0.001
Ki-67	0.796	0.834	0.814	0.719~0.910	0.630	<0.001
三者联合检测	0.924	0.947	0.969	0.939~1.000	0.871	<0.001

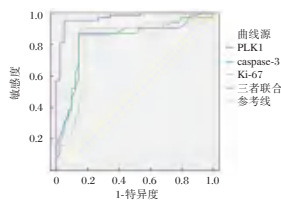


图2 ROC 曲线图
Figure 2 ROC curve

在正常组织中 caspase-3 以无活性的酶前体存在于细胞内,不具备生物功能,在癌细胞中 caspase-3 酶原可被激活,参与细胞凋亡,损伤正常细胞^[11]。Ki-67 可标记增殖性细胞核,敏感地反映恶性肿瘤的增殖率及侵袭力,对肿瘤的诊断、预后评估有重要指导意义^[12]。本研究中,癌组织组 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性表达率均明显高于癌旁组织组,提示,在口腔鳞状细胞癌的发生过程中,PLK1、caspase-3 及 Ki-67 可能起着至为关键的作用,可作为诊断、评估口腔鳞状细胞癌病情的潜在有效指标。有学者研究指出,PLK1 在细胞有丝分裂的不同时期均起到十分重要的作用,其通过细胞外基质参与肿瘤的侵袭及转移,与恶性肿瘤疾病患者预后关系密切^[13]。相关文献报道,caspase-3 是细胞凋亡的关键执行者,caspase-3 的出现或升高代表着

细胞发生不同程度的死亡,高活跃度的 caspase-3 对 ADP-核糖聚合酶、肌动蛋白以及固醇调节元件蛋白有聚集功能,在相互作用下导致细胞走向凋亡^[14]。相关研究发现,Ki-67 能较为全面地反映细胞增殖数量,Ki-67 阳性表达升高往往提示病情恶性程度增加,Ki-67 的增殖活性是判断乳腺癌、子宫内膜癌等恶性肿瘤患者预后的重要因素之一^[15]。本研究随访率 100%,随访期间死亡 63 例(60.58%),生存 41 例(39.42%)。随访结果显示临床分期(III~VI期)、有淋巴结转移、分化程度中-低分化、PLK1(阳性)、caspase-3(阳性)及 Ki-67(阳性)为影响口腔鳞状细胞癌患者预后生存的独立危险因素。结果提示,PLK1、caspase-3 及 Ki-67 阳性率高,患者病情会随之加重,淋巴结转移的危险性也会显著增加,三项指标均与患者病情进展相关。

ROC 曲线结果显示,三项指标(PLK1+caspase-3+Ki-67)联合检测灵敏度(0.924)、特异度(0.947)、AUC(0.969)均高于单一指标检测。由此可以推测,联合 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 检测能作为预测口腔鳞状细胞癌预后死亡的一种有效手段。

综上所述,PLK1、caspase-3 及 Ki-67 参与口腔鳞状细胞癌发生的过程,且与患者预后密切相关,临床可加强联合三项指标检测,提高口腔鳞状细胞癌早期诊断率,以评估患者预后,为针对 PLK1、caspase-3 及 Ki-67 开展分子靶向治疗提供新方向。

参考文献

[1] 班晨,王钟华,安峰. SOD、TGF-β1、Vasohibin-1 在口腔鳞状细胞癌诊断及预后评估中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(4):555-558, 563. (下转第 1756 页)

尿乳酸/肌酐比值、Mb 和 cTnI 在 HIE 中的表达及临床意义

龚晓燕 刘成博 陈燕 王利维*

[摘要] **目的** 探讨尿乳酸/肌酐比值、肌红蛋白(Mb)及肌钙蛋白 I(cTcI)在新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)中的表达及临床意义。**方法** 收集2020年2月至2021年10月上海交通大学医学院附属新华医院收治的134例HIE患者作为HIE组[采用Apgar评分分组:轻度 ≥ 7 分($n=63$,轻度组);中度4~6分($n=48$,中度组);重度 ≤ 3 分($n=23$)],另选取同期本院足月出生的正常新生儿83例作为健康组。比较两组及不同病情HIE患儿尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平,并分析上述指标检测诊断HIE患儿的价值。**结果** HIE组尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平均明显高于健康组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同病情HIE患儿尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平比较:轻度组 $<$ 中度组 $<$ 重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线显示,三者(尿乳酸/肌酐比值+Mb+cTnI)联合检测诊断HIE的敏感度和特异度分别为0.915、0.769, $AUC=0.859$,明显高于各项单独预测($P<0.05$)。**结论** 尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI在HIE患儿中呈异常表达,通过检测上述指标对疾病诊断、病情程度判断具有一定参考价值。

[关键词] 新生儿缺氧缺血性脑病;尿乳酸/肌酐比值;肌红蛋白;肌钙蛋白 I

Expression and clinical significance of urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI in HIE

GONG Xiaoyan, LIU Chengbo, CHEN Yan, WANG Liwei*

(Department of Neonatology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, China, 200092)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of urinary lactate/creatinine ratio, myoglobin (Mb) and cardiac troponin I (cTcI) in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE). **Methods** 134 HIE patients admitted to Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine from February 2020 to October 2021 were collected as the HIE group [mild ≥ 7 points ($n=63$, mild group); moderate 4~6 points ($n=48$, moderate group); severe ≤ 3 points ($n=23$)], another 83 normal neonates born at term in our hospital at the same time were selected as the healthy group. The urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI levels were compared between the two groups and in children with HIE with different conditions, and the value of the above indicators to detect and diagnose children with HIE was analyzed. **Results** The urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI levels in the HIE group were significantly higher than those in the healthy group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Comparison of urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI levels in children with HIE with different conditions: mild group $<$ moderate group $<$ severe group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve showed that the sensitivity and specificity of the three combined (urinary lactate/creatinine ratio+Mb+cTnI) for the diagnosis of HIE were 0.915, 0.769, and $AUC=0.859$, respectively, which were significantly higher than the individual predictions ($P<0.05$). **Conclusion** Urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI are abnormally expressed in children with HIE, and the detection of these indicators has certain reference value for disease diagnosis and disease severity judgment.

[KEY WORDS] HIE; Urine lactate/creatinine ratio; Mb; CTcI

基金项目:上海市科技计划项目(20YF1429200);新华医院护理学科建设项目(HLXKRC 2021001)

作者单位:上海交通大学医学院附属新华医院新生儿科,上海 200092

*通信作者:王利维, E-mail: wlv0222@163.com

新生儿缺氧缺血性脑病(Hypoxic-ischemic encephalopathy of newborn, HIE)是儿科常见的疾病,主要是由围产期窒息诱发的缺血缺氧性损害,若不及时治疗可导致新生儿神经系统发育受到影响,甚至引起死亡^[1-2]。如何有效评估HIE患儿病情,为临床治疗提供依据具有重要意义。乳酸盐属于无氧代谢产物,体内缓冲系统对其影响较小,尿乳酸盐水平可反映新生儿缺氧程度^[3]。尿肌酐表达较为稳定,仅与新生儿体重有关。故尿乳酸/肌酐比值可一定程度减少新生儿个体差异、尿量对乳酸表达的影响,有效评估HIE患儿缺氧缺血严重程度^[4]。肌红蛋白(Myoglobin, Mb)、肌钙蛋白I(Cardiac troponin I, cTnI)是常见的心肌损伤标志物。已有研究证实,HIE在导致新生儿脑损伤的同时,因血流动力学改变、呼吸循环功能障碍等,可诱发心肌及其他脏器缺血缺氧而受损^[5]。本研究将探讨尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI在HIE中的表达及临床意义,相关报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2020年2月至2021年10月上海交通大学医学院附属新华医院收治的134例HIE患儿作为HIE组。纳入标准:①足月儿,入院年龄<1 d,且均符合HIE诊断标准^[6];②临床资料无缺损或丢失;③存在明确的胎儿宫内窘迫及宫内窘迫表现;④入院前未接受任何治疗。排除标准:①产时感染、先天性疾病致脑损伤;②伴凝血功能、肝肾功能障碍;③伴全身急、慢性感染性疾病;④伴脑萎缩、先天性畸形等疾病。

其中男80例,女54例,平均胎龄(37.25±6.34)周。另选取同一时间本院足月出生的正常新生儿83例作为健康组,其中男58例,女25例,平均胎龄(38.41±7.21)周。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试新生儿监护人已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI

Mb、cTnI水平:采用一次性真空采血管抽取所有受检者3 mL空腹外周静脉血,3 000 r/min离心10 min,离心半径为10 cm,分离上层血清,置-80℃低温保存,避免反复冻融。采用乳胶增强免疫比浊法检测Mb、cTnI,试剂盒均由深圳达科为生物

技术有效公司提供。尿乳酸/肌酐:收集所有受检者出生后第1次尿液2 mL,3 000 r/min离心10 min,离心半径为10 cm,取上清液置-80℃保存。采用碱性苦味酸速率法检测尿肌酐,采用酶法全自动生化分析仪检测尿乳酸。上述操作均由同一名经验丰富的检验科医生完成。

1.2.2 病情严重程度

采用Apgar评分评估^[7]:轻度≥7分($n=63$,轻度组);中度4~6分($n=48$,中度组);重度≤3分($n=23$)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较行 t 检验,多组间比较行方差检验;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI检测诊断HIE的价值,并计算曲线下面积(AUC),均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平比较

HIE组尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平均明显高于健康组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平比较($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of urine lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	尿乳酸/肌酐比值	Mb (ng/mL)	cTnI (ng/mL)
HIE组	134	2.84±0.65	102.43±15.56	0.29±0.05
健康组	83	0.71±0.08	41.31±9.14	0.08±0.01
t 值		29.689	32.467	37.767
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同病情HIE患儿尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平比较

不同病情HIE患儿尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI水平比较:轻度组<中度组<重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI检测对HIE的诊断价值

ROC曲线显示,三者(尿乳酸/肌酐比值+Mb+cTnI)联合检测诊断HIE的敏感度和特异度分别为0.915、0.769, AUC=0.859,明显高于各项单独预测($P<0.05$)。见表3、图1。

3 讨论

HIE是新生儿时期的常见病、多发病。据相关

表2 不同病情 HIE 患儿尿乳酸/肌酐比值、Mb 及 cTnI 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI levels in children with HIE with different conditions ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	尿乳酸/肌酐比值	Mb(ng/mL)	cTnI(ng/mL)
轻度组	63	1.06±0.24	76.36±16.05	0.06±0.01
中度组	48	2.96±0.62 ^a	113.56±18.19 ^a	0.34±0.08 ^a
重度组	23	7.46±1.29 ^{ab}	150.61±20.69 ^{ab}	0.81±0.21 ^{ab}
F 值		777.28	163.44	496.01
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度比较,^aP<0.05;与中度比较,^bP<0.05。

表3 尿乳酸/肌酐比值、Mb 及 cTnI 检测对 HIE 的诊断价值

Table 3 The diagnostic value of urinary lactate/creatinine ratio, Mb and cTnI detection for HIE

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P 值
尿乳酸/肌酐比值	0.737	0.671-0.803	0.711	0.679	<0.001
Mb	0.759	0.694-0.824	0.783	0.685	<0.001
cTnI	0.849	0.793-0.905	0.807	0.701	<0.001
三者联合	0.859	0.806-0.913	0.915	0.769	<0.001

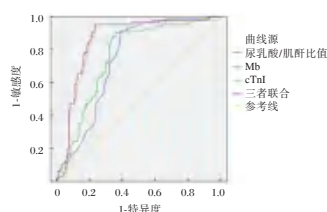


图1 ROC 曲线图
Figure 1 ROC curve

调查资料显示,约80%的HIE是由围产期窒息引起,其中中重度窒息及宫内窒息分别占50%、40%^[8]。HIE可诱发急性死亡、慢性神经系统损伤,伴有脑性瘫痪、癫痫等严重后遗症。由于新生儿各项机能尚未完全发育成熟,导致临床对该病的早期诊断存在一定局限性^[9]。因此,及早发现新生儿是否患有HIE并评估其病情严重程度,探讨其发病机制具有重要价值。

乳酸是葡萄糖无氧代谢的最终产物,是由丙酮酸降解而形成,其浓度反映组织和肝脏的基本代谢量。新生儿出生前短暂缺氧所致的高乳酸血症可因胎盘排泄功能而缓解,但尿中可积累各种代谢产物,尿中乳酸排泄物于缺氧后增加,再灌注后更显著,因此尿乳酸可有效反映分娩期新生儿缺氧情况^[10]。新生儿早期尿肌酐为内生肌酐,排出量十分稳定,故尿乳酸/肌酐比值不易受新生儿个体差异、尿量变化的影响。Elzhar等人^[11]通过分析HIE患儿治疗前后尿乳酸/肌酐比值发现,治

疗后,患儿尿乳酸/肌酐比值明显降低,推测尿乳酸/肌酐比值增高可能是影响患儿病情、疗效的重要原因之一。本研究结果显示,HIE组尿乳酸/肌酐比值明显高于健康组,且尿乳酸/肌酐比值随HIE患儿病情加重而不断上升,说明尿乳酸/肌酐比值可能参与了HIE的发生、发展。

据相关报道显示,HIE除可导致新生儿脑损伤外,还可引起心肌细胞损伤、功能障碍^[12]。Mb、cTnI是较为常见的心肌标志物,可有效反映心肌受损程度。Mb是存在于心肌、骨骼肌中的一种标志物,Mb分子质量小,在心肌受损2~3h即可出现在血液中,发病6~9h后可达到峰值^[13-14]。cTnI是肌动蛋白的主要成分,当心肌受损时,可出现心肌原纤维溶解,细胞膜完整性被破坏,游离的cTnI释放进入血液形成早期峰,敏感性较高^[15]。Kato等^[16]报道指出,HIE由于呼吸循环功能恶化,可引发心肌受损,并认为HIE患者Mb、cTnI表达异常与疾病病情严重程度有关。本研究结果亦显示,HIE组Mb、cTnI水平明显增高,且Mb、cTnI水平越高HIE患儿病情越严重,提示HIE患者加强监测Mb、cTnI水平有助于评估HIE病情。考虑其原因可能是随脑组织缺血、缺氧时间延长、程度加深,对脑组织、心肌损伤作用亦随之增加,从而使得心肌标志物水平增高^[17]。此外,本研究进一步通过ROC曲线分析发现,联合尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI检测诊断HIE的敏感度、特异度及AUC更高,可见三者联合检测可提高HIE诊断效能,推测其原因可能与多个因子检测具有一定协同互补作用有关。

综上所述,尿乳酸/肌酐比值、Mb及cTnI在HIE患儿中呈异常表达,通过检测上述指标对疾病诊断、病情程度判断具有一定参考价值。

参考文献

[1] 沈茹,任保艳,蒋鸿超,等.下一代测序技术在遗传相关性智力障碍诊断中的应用[J].分子诊断与治疗杂志,2019,11(2):86-90.
[2] 张蕾,贾秋平,黄长缨,等.新生儿缺氧缺血性脑病患儿血清IL-8、TNF-α、ICAM-1水平的表达及与新生儿神经行为评分的相关性[J].实用预防医学,2018,25(12):74-77.
[3] O'Boyle DS, Dunn WB, O'Neill D, et al. Improvement in the Prediction of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy with the Integration of Umbilical Cord Metabolites and Current Clinical Markers[J]. J Pediatr, 2020,229(11):147-149.

- [4] 王鑫,姜泓. 新生儿缺氧缺血性脑病的病因和发病机制研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2019,36(2):194-197.
- [5] Szakmar E, Meunier H, El-Dib M, et al. Interobserver Reliability of a MR Imaging Scoring System in Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy[J]. Am J Neuroradiol, 2021, 42(5):104-106.
- [6] 施凤泉,邱洪生,李文忠,等. 新生儿缺氧缺血性脑病严重程度与动脉血乳酸,脑脊液乳酸水平的相关性[J]. 实用临床医药杂志, 2020,24(17):86-88.
- [7] Chin EM, Jayakumar S, Ramos E, et al. Preschool Language Outcomes following Perinatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in the Age of Therapeutic Hypothermia [J]. Developm Neurosci, 2019,40(5-6):1-11.
- [8] Michniewicz B, Szpecht D, Sowińska A, et al. Biomarkers in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with therapeutic hypothermia [J]. Childs Nervous System, 2020,36(12):246-249.
- [9] Mathilde C, Clémence G, Guillaume S. Effect of hypothermia on interleukin-1 receptor antagonist pharmacodynamics in inflammatory-sensitized hypoxic-ischemic encephalopathy of term newborns[J]. J Neuroinflamm, 2018,15(1):214-216.
- [11] 张玉娇,周杏. 血清电解质,CKBB及血乳酸水平与新生儿缺氧缺血性脑病严重程度的相关性分析[J]. 中南医学科学杂志, 2020,48(2):179-182.
- [12] Elzahar W, Arafa A, Youssef A, et al. Urinary C-peptide creatinine ratio to differentiate type 2 diabetes mellitus from type 1 in pediatric patients [J]. Eur J Pediatr, 2020, 179(7):1115-1120.
- [13] 尹绪凤. 血清标志物在新生儿缺氧缺血性脑病中的表达与行为神经的相关性[J]. 重庆医学, 2020,49(23):4016-4020.
- [14] Falahati K, Tamura H, Burghardt I, et al. Ultrafast carbon monoxide photolysis and heme spin-crossing in myoglobin via nonadiabatic quantum dynamics[J]. Nat Commun, 2018, 9(1):201-206.
- [15] 霍燕飞,马美芳,田洪森. hs-cTnI与cTnI在远端冠脉阻塞后的微小心肌损伤诊断中的价值比较[J]. 临床和实验医学杂志, 2019,18(5):495-498.
- [16] Katoh N, Wise BC, Kuo JF. Phosphorylation of cardiac troponin inhibitory subunit (troponin I) and tropomyosin-binding subunit (troponin T) by cardiac phospholipid-sensitive Ca^{2+} -dependent protein kinase [J]. Biochem J, 2019, 209(1):189-195.
- [17] Gualandro DM, Puelacher C, Buse GL, et al. Incidence and outcomes of perioperative myocardial infarction/injury diagnosed by high-sensitivity cardiac troponin I[J]. Clin Res Cardiol, 2021, 110(9):1450-1463.

(上接第 1752 页)

- [2] 王燕琴,陈刚,杨松,等. 趋化因子 CXC 配体 1 影响口腔鳞状细胞癌细胞增殖和迁移的作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2022,42(5):1163-1166.
- [3] 魏丽,陈玉忠,张晓静,等. PLK1 对子宫内腺癌 AN3CA 细胞增殖的影响及其相关机制[J]. 山西医科大学学报, 2019,50(12):1661-1666.
- [4] 解传斌,颜雨春. Livin 与 Caspase-3 在口腔鳞状细胞癌中的表达及相关性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2014,49(4):498-501.
- [5] 王冲,李梦亚,申晓辉,等. CDK1 干扰调节 PLK1、Aurora B 和 TRF1 对白血病细胞增殖的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2021,29(4):1129-1135.
- [6] 蒯楠,任超,张桂,等. PET/CT 在口腔癌诊断及分期中的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2021,28(12):2005-2010.
- [7] Singh P, Srivastava AN, Sharma R, et al. Circulating MicroRNA-21 Expression as a Novel Serum Biomarker for Oral Sub-Mucous Fibrosis and Oral Squamous Cell Carcinoma[J]. APJCP, 2018, 19(4):28-33.
- [8] 秦永辉,陈婷,黄莉. 口腔鳞状细胞癌及癌前病变患者外周血 Th17/Treg 平衡及细胞因子水平变化[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2022,36(3):222-225.
- [9] 张少为,陈阁,张耀中,等. 沉默 PLK1 基因表达对食管鳞癌细胞肿瘤生物学行为的影响[J]. 重庆医学, 2019,48(6):929-932.
- [10] 张艳,李军红. 乳腺浸润性导管癌组织中 FOXM1、PLK1、HIF-1 α 和 EZH2 的表达及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2020,28(12):2067-2071.
- [11] 张娜娜. Caspase-3 和 Bcl-2 表达与乳腺癌细胞凋亡及其临床病理特征的相关性分析[J]. 实用癌症杂志, 2021,36(10):1609-1613.
- [12] 刘族志,王秋玲,赵永兴. 口腔癌患者口腔组织中 P16、Ki-67、CyclinD1 的表达及其临床意义[J]. 现代医学, 2019, 47(1):1-4.
- [13] 张晶晶,朱乐玫,黄蓉,等. 宫颈癌中 P16 蛋白表达与疾病进展及患者远期生存率的关系[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2018,9(4):50-53.
- [14] 李洪利,尹子毅,朱强,等. Caspase-3 在乳腺癌组织中的表达与临床病理参数及预后的关系研究[J]. 武警后勤学院学报:医学版, 2021, 30(7):33-35.
- [15] 魏丽,陈玉忠,张晓静,等. PLK1 对子宫内腺癌 AN3CA 细胞增殖的影响及其相关机制[J]. 山西医科大学学报, 2019,50(12):1661-1666.

TG/HDL-C、cTnI和CK-MB与慢性肾衰竭患者心血管疾病的关 系

牛艳冬* 温小军 张曼

[摘要] **目的** 探讨甘油三酯/高密度脂蛋白胆固醇(TG/HDL-C)、肌钙蛋白I(cTnI)与肌酸激酶-MB同工酶(CK-MB)与慢性肾衰竭(CRF)患者心血管疾病的关 系。**方法** 选取2019年2月至2021年10月于首都医科大学附属北京世纪坛医院治疗的114例CRF患者作为观察组,同时选取同期本院114例健康体检者作为对照组。对比两组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB水平,并对比合并及未合并心血管疾病患者TG/HDL-C、cTnI、CK-MB水平。Logistic回归分析影响CRF患者发生心血管疾病的危险因素;绘制ROC曲线,计算AUC,分析TG/HDL-C、cTnI、CK-MB及三者联合检测对CRF患者发生心血管疾病的预测价值。**结果** 观察组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。合并心血管疾病组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB均高于未合并心血管疾病组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。糖尿病、心血管疾病家族遗传史、高磷血症、TG/HDL-C异常升高、cTnI异常升高、CK-MB异常升高为影响CRF患者发生心血管疾病的危险因素($P<0.05$)。TG/HDL-C、cTnI、CK-MB联合检测灵敏度(0.941)、特异度(0.912)及AUC(0.936)均高于单一指标检测($P<0.05$)。**结论** 联合TG/HDL-C、cTnI、CK-MB检测对CRF患者发生心血管疾病的预测价值较高,临床需重视患者三指标变化,采取积极预防措施,以降低心血管疾病发生率。

[关键词] TG/HDL-C; cTnI; CK-MB; 慢性肾衰竭; 心血管疾病

Relationship between TG/HDL - C , cTnI and CK - MB and cardiovascular disease in patients with chronic renal failure

NIU Yandong*, WEN Xiaojun, ZHANG Man

(General Department of Cadres, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol (TG/HDL-C), troponin I (cTnI) and creatine kinase-MB isoenzyme (CK-MB) and cardiovascular disease in patients with chronic renal failure (CRF). **Methods** 114 CRF patients who were treated in Beijing Shijitan Hospital affiliated to Capital Medical University from February 2019 to October 2021 were selected as the observation group, and 114 healthy subjects in our hospital during the same period were selected as the control group. The levels of TG/HDL-C, cTnI and CK-MB in the two groups were compared, and the levels of TG/HDL-C, cTnI and CK-MB in patients with and without cardiovascular disease were compared. Logistic regression analysis was performed to analyze the risk factors affecting the occurrence of cardiovascular disease in CRF patients; the ROC curve was drawn and the AUC was calculated, and the predictive value of TG/HDL-C, cTnI, CK-MB and the combined detection of the three indicators on the occurrence of cardiovascular disease in CRF patients was analyzed. **Results** The levels of TG/HDL-C, cTnI and CK-MB in the control group were lower than those in the observation group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The TG/

基金项目:首都医科大学附属北京世纪坛医院科研项目(2018-q34)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院干部综合科,北京 100038

*通信作者:牛艳冬, E-mail: niuyandong2106@bjsjth.cn

HDL-C, cTnI and CK-MB in the group with cardiovascular disease were higher than those in the group without cardiovascular disease, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Diabetes, family history of cardiovascular disease, hyperphosphatemia, abnormally elevated TG/HDL-C, abnormally elevated cTnI, and abnormally elevated CK-MB were the risk factors for cardiovascular disease in CRF patients factor ($P<0.05$). The sensitivity (0.941), specificity (0.912) and AUC (0.936) of the TG/HDL-C, cTnI, CK-MB combined detection were higher than those of the single indicator detection ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of TG/HDL-C, cTnI and CK-MB has a high predictive value for cardiovascular disease in CRF patients. Clinical attention should be paid to the changes of the three indicators in patients, and active preventive measures should be taken to reduce the incidence of cardiovascular disease.

[KEY WORDS] TG/HDL-C; cTnI; CK-MB; Chronic renal failure; Cardiovascular disease

慢性肾衰竭(Chronic Renal Failure, CRF)为慢性肾脏疾病终末期的表现,近年来我国CRF发病率呈上升趋势。该病患者病情复杂,大多合并心血管疾病,因CRF而发生尿毒症死亡的患者逐年增加^[1]。甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High density liprotein cholesterol, HDL-C)是临床评价人体血脂代谢异常的关键指标,与高血压等疾病的发生关系密切。研究报道,单一指标对心血管的预测能力有限, TG/HDL-C能更好地反映CRF患者发生心血管疾病的风险^[2-3]。肌钙蛋白I(Cardiac troponin I, cTnI)是评估心肌损伤的常用指标,在心血管疾病领域广泛应用。肌酸激酶-MB同工酶(Creatinekinase-MB, CK-MB)对诊断心肌相关疾病具有较高的特异性及敏感性,是评估心肌梗死等疾病患者预后的重要生化指标之一^[4]。通过检测患者生化指标,了解CRF患者病情进展,对患者进行针对性治疗,能改善其预后。本研究旨在探讨TG/HDL-C、cTnI与CK-MB与慢性肾衰竭患者心血管疾病的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年2月至2021年10月于首都医科大学附属北京世纪坛医院治疗的CRF患者的临床资料。纳入指标:①符合CRF的诊断标准^[5];②在本院治疗且临床资料完整者;③未合并恶性肿瘤者。排除标准:①合并其他恶性肿瘤或脏器衰竭者;②精神障碍、语言沟通障碍者;③合并肺栓塞、脓毒血症等疾病者。最终纳入108例患者作为观察组,同时选取同期本院114例健康体检者作为对照组。两组性别、平均年龄等资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)
		男	女	
对照组	114	75(65.79)	39(34.21)	55.71±7.45
观察组	108	70(64.81)	38(35.19)	55.11±7.68
χ^2 值		0.023		0.591
P值		0.879		0.555

1.2 方法

观察组在入院当日、对照组于体检当日清晨采取空腹静脉血,经肘前静脉采血5 mL注入EDTA及抑肽酶的试管中,立即进行超高速离心(3 000 r/min, $r=10$ cm) 20 min后分离血浆,置于 -70°C 冰箱保存,待检。使用日立7600全自动生化分析仪及配套试剂盒检测TG、HDL-C、cTnI、CK-MB水平,计算TG/HDL-C。TG/HDL-C正常范围:1.03~1.65, >1.65 视为异常升高^[6];cTnI正常范围 $<60\ \mu\text{g/mL}$, $\geq 60\ \mu\text{g/mL}$ 视为异常升高^[7];CK-MB正常范围:4.5~14 U/L, >14 U/L视为异常升高^[8]。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;影响CRF患者发生心血管疾病的相关因素采用Logistic回归分析;绘制ROC曲线,计算AUC,分析TG/HDL-C、cTnI、CK-MB及三者联合检测对CRF患者发生心血管疾病的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB比较

观察组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of TG/HDL-C, cTnI, CK-MB between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TG/HDL-C	CTNI(μ G/mL)	CK-MB(U/L)
对照组	114	1.42±0.28	52.67±7.11	11.26±2.09
观察组	108	2.56±0.59	90.91±10.18	18.92±4.89
t值		18.545	32.587	15.315
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 合并及未发合并心血管疾病的CRF患者TG/HDL-C、cTnI、CK-MB比较

合并心血管疾病组TG/HDL-C、cTnI、CK-MB均高于未合并心血管疾病组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 合并及未合并心血管疾病的CRF患者TG/HDL-C、cTnI、CK-MB比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of TG/HDL-C, cTnI and CK-MB in CRF patients with and without cardiovascular disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TG/HDL-C	cTnI(μ g/mL)	CK-MB(U/L)
合并心血管疾病组	51	2.77±0.75	94.17±10.71	22.07±3.58
未合并心血管疾病组	57	2.37±0.45	87.99±9.71	16.10±2.86
t值		3.311	3.128	9.500
P值		0.001	0.002	<0.001

2.3 影响CRF患者发生心血管疾病的Logistic回归分析

糖尿病、心血管疾病家族遗传史、高磷血症、TG/HDL-C异常升高、cTnI异常升高、CK-MB异常升高为影响CRF患者发生心血管疾病的危险因素($P < 0.05$)。见表4。

2.4 联合TG/HDL-C、cTnI、CK-MB对CRF患者发生心血管疾病的预测价值

TG/HDL-C、cTnI、CK-MB联合检测灵敏度(0.941)、特异度(0.912)及AUC(0.936)均高于单一指标检测($P < 0.05$)。见表5、图1。

表5 联合TG/HDL-C、cTnI、CK-MB对CRF患者发生心血管疾病的预测价值

Table 5 Predictive value of combined TG/HDL-C, cTnI and CK-MB for cardiovascular disease in CRF patients

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95% CI	约登指数	P值
TG/HDL-C	0.844	0.801	0.788	0.701~0.875	0.645	<0.001
cTnI	0.799	0.773	0.732	0.637~0.826	0.572	<0.001
CK-MB	0.865	0.817	0.895	0.828~0.962	0.682	<0.001
三者联合检测	0.941	0.912	0.936	0.890~0.983	0.853	<0.001

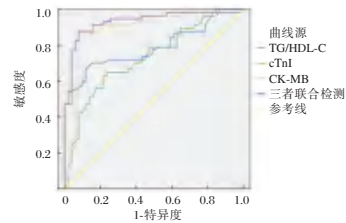


图1 联合TG/HDL-C、cTnI、CK-MB对CRF患者发生心血管疾病的预测价值

Figure 1 Predictive value of combined TG/HDL-C, cTnI and CK-MB for cardiovascular disease in CRF patients

3 讨论

既往文献报道,大部分CRF患者可并发冠心病、心律失常、心功能衰竭等心血管并发症,但症状不典型的CRF患者合并心血管疾病诊断较为困难^[9-10]。寻求高灵敏度及高特异度的检测指标是目前临床研究的重点。

血脂代谢异常表现为TG、HDL-C等指标水平升高,研究报道显示,相对于TG、HDL-C单一指标检测,TG/HDL-C可综合反映机体脂质代谢情况,更具有血管性相关疾病的预测价值^[11]。cTnI主要存在于人体的细胞丝中,当发生可逆与不可逆性心肌缺血时,心肌细胞受到损伤或坏死,细肌丝降解,cTnI大量进入血液,导致cTnI急剧升高^[12-13]。在动脉粥样硬化形成、进展的过程中,人体cTnI也

表4 影响CRF患者发生心血管疾病的Logistic回归分析

Table 4 Logistic regression analysis of cardiovascular disease in CRF patients

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95% CI	P值	OR值	95% CI	P值
年龄(岁)(≥65 vs <65)	1.254	0.601~1.754	0.865			
性别(男 vs 女)	1.332	0.775~1.875	0.764			
糖尿病史(有 vs 无)	1.254	1.124~1.845	0.027	1.335	1.124~1.856	0.035
心血管疾病家族遗传史(有 vs 无)	1.330	1.201~1.787	0.033	1.407	1.269~1.765	0.039
高磷血症(有 vs 无)	1.054	1.254~1.698	0.029	1.225	1.120~1.855	0.033
TG/HDL-C(异常升高 vs 正常)	1.325	1.247~1.865	0.011	1.389	1.223~1.754	0.025
cTnI(异常升高 vs 正常)	1.258	1.124~1.754	0.025	1.271	1.130~1.899	0.041
CK-MB(异常升高 vs 正常)	1.124	1.021~1.745	0.014	1.304	1.204~1.765	0.027

处于较高水平。CK-MB 是重要的心肌标志物, 研究显示, 在心血管代谢风险增加人群的血液中, CK-MB 水平要高于健康人群^[14]。本研究结果提示 TG、HDL-C、cTnI 及 CK-MB 与 CRF 的发生及病情变化可能有着密切联系。

张宏伟等^[15]认为, TG/HDL-C 比值与心血管疾病事件的发生存在相关性, 可作为心血管疾病患者术后死亡的独立预测因子。多项文献证实, 在心血管疾病的诊断、筛选中, cTnI 及 CK-MB 均具有较高的应用价值^[16]。cTnI 及 CK-MB 水平升高, 会加大人体中巨噬细胞对脂质的摄取程度, 并加速 TG 沉积于血管壁上, 在这一过程中, HDL-C 被大量消耗, 机体血清 HDL-C 表达急剧降低, 最终推动动脉粥样硬化进程, 导致心血管事件发生^[17]。本次研究结果显示, 合并心血管疾病组 TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 均高于未合并心血管疾病组, 与上述观点相符。可以看出, TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 升高, 会增加 CRF 患者发生心血管疾病的风险。

血糖波动过大, 会影响 CRF 合并心血管疾病患者的治疗效果, 持续的高血糖加重中枢神经系统的损伤, 从而显著增加高血压、高血脂等疾病发生^[18]。经 Logistic 回归分析得出, 糖尿病、心血管疾病家族遗传史、高磷血症、TG/HDL-C 异常升高、cTnI 异常升高、CK-MB 异常升高为影响 CRF 患者发生心血管疾病的危险因素。结果显示 TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 升高, 使得 CRF 患者面临较大的发生心血管疾病的风险。

TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 广泛用于心血管疾病患者病情进展、评估预后中, 检测生化指标具有操作简便和时效性强的优点, 对指导临床治疗有重要意义。本研究进一步分析 ROC 曲线, 计算 AUC 得出: 联合 TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 检测灵敏度、特异度及 AUC 均高于单一指标检测, 可见 TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 三者联合检测在 CRF 患者心血管疾病发生的预测中具有更好的临床应用价值。

综上所述, 联合 TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 检测对 CRF 患者发生心血管疾病的预测价值较高, 临床需重视患者的 TG/HDL-C、cTnI、CK-MB 水平变化, 采取积极预防措施, 以降低心血管疾病发生率, 改善 CRF 患者预后。

参考文献

[1] 刘晓丽, 李桂英, 王晓英, 等. 早期尿激酶应用对慢性肾衰

竭静脉置管长期血液透析患者导管纤维蛋白鞘形成防治效果研究[J]. 临床误诊误治, 2020, 33(4): 52-56.

- [2] 孙中. 前列地尔联合骨化三醇治疗慢性肾衰竭的疗效及对血清 ANG II、MCP-1、CTGF 的影响[J]. 空军医学杂志, 2019, 35(5): 429-431.
- [3] 杨林, 葛百平, 姜珊, 等. TG/HDL-C 比值与冠心病患者致病风险的关系及诊断价值[J]. 中国医药导报, 2021, 18(11): 66-69.
- [4] 雷芳. 慢性心力衰竭合并慢阻肺患者治疗前后 CRP、CK-MB 和 cTnT 的动态变化[J]. 保健医学研究与实践, 2015, 12(6): 40-42.
- [5] Kovarik JJ, Morisawa N, Wild J, et al. Adaptive physiological water conservation explains hypertension and muscle catabolism in experimental chronic renal failure[J]. Acta Physiologica (Oxf), 2021, 232(1): e13629.
- [6] Wu Z, Zhou D, Liu Y, et al. Association of TyG index and TG/HDL-C ratio with arterial stiffness progression in a non-normotensive population[J]. Cardiovasc Diabetol, 2021, 20(1): 134.
- [7] Mascia G, Pescetelli F, Baldari A, et al. Interpretation of elevated high-sensitivity cardiac troponin I in elite soccer players previously infected by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2[J]. Int J Cardiol, 2021, 326: 248-251.
- [8] Gibler WB, Young GP, Hedges JR, et al. Acute myocardial infarction in chest pain patients with nondiagnostic ECGs: serial CK-MB sampling in the emergency department. The Emergency Medicine Cardiac Research Group[J]. Ann Emerg Med, 1992, 21(5): 504-512.
- [9] 罗继红. 血液透析用于慢性肾衰竭合并急性心力衰竭临床治疗的价值研究[J]. 中国实用医药, 2022, 17(4): 31-33.
- [10] 蒙志平, 谢文坦. 血浆 NT-proBNP 水平在慢性肾衰竭合并心力衰竭患者中的检测意义[J]. 系统医学, 2021, 6(21): 17-20.
- [11] 关静. TG/HDL-C 比值在急性缺血性脑卒中中的应用及相关性研究[J]. 国际医药卫生导报, 2020, 26(16): 2435-2438.
- [12] 刘雄. 维持性血液透析对慢性肾衰竭患者血清 BNP、CK-MB、cTnI 水平及心血管事件发生的影响[J]. 吉林医学, 2022, 43(3): 810-812.
- [13] 宋跃, 曹剑, 刘冬. 术前血清 N 末端 B 型脑钠肽前体和心肌肌钙蛋白 I 水平对老年重症心脏瓣膜病患者术后发生低心排量综合征的预测价值[J]. 中国医药, 2022, 17(3): 394-398.
- [14] 任丽娜, 王东, 闫晓武. CK-MB、cTnT、H-FABP、MYO 在急性心肌梗死患者中的检测意义[J]. 贵州医药, 2021, 45(12): 1907-1908.
- [15] 张宏伟. 冠心病患者 TG 及 HDL-C 水平表达与预后的相关性研究[J]. 中国医药指南, 2021, 19(1): 84-85.
- [16] 康孟杰, 李想, 韩朝霞, 刘瑞莹. 急性冠脉综合征患者 CK-MB、cTnT 及 CRP 水平变化与临床意义[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2021, 21(2): 3827-3830.
- [17] 倪志强, 金红艳, 杨国康, 等. S100A12、ABI 及 non-HDL-C 在冠状动脉粥样硬化心脏病中的表达及对预后的预测价值[J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(8): 66-69+91.
- [18] 刘靖, 徐萍, 陶虹霏, 等. 冠心病合并高血糖高血脂与同型半胱氨酸(Hcy)的相关性分析[J]. 当代医学, 2022, 28(6): 74-76.

急性脑梗死 rt-PA 溶栓时 NO/ET-1、L-Arg、PCT 与神经功能关系及预测血管再通效能

张奕颖^{1*} 毛峥嵘¹ 罗莎² 江华³

[摘要] **目的** 探讨急性脑梗死重组人组织型纤溶酶原激活物(rt-PA)溶栓时一氧化氮与内皮素-1比值(NO/ET-1)、L-精氨酸(L-Arg)、血小板压积(PCT)与神经功能关系及预测血管再通效能。**方法** 选取2018年3月至2021年1月河南中医药大学第一附属医院收治的182例具有静脉溶栓指征急性脑梗死患者,根据rt-PA溶栓后血管再通情况分为非再通组($n=31$)、再通组($n=151$),比较两组基线资料、NO/ET-1、L-Arg、PCT水平,对所获得数据进行统计分析。**结果** 非再通组糖尿病心房颤动、NIHSS评分、NO/ET-1、L-Arg、PCT与再通组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);NO/ET-1($r=-0.875, P<0.001$)、L-Arg($r=-0.901, P<0.001$)与NIHSS评分呈负相关,PCT($r=0.804, P<0.001$)与NIHSS评分呈正相关;将糖尿病、心房颤动、NIHSS评分控制后,NO/ET-1、L-Arg、PCT仍是血管再通的相关影响因素($P<0.05$);NO/ET-1、L-Arg联合PCT预测血管再通的受试者工作特征曲线下面积(AUC)(0.896)大于单一的NO/ET-1(0.816)、L-Arg(0.778)、PCT(0.812);NO/ET-1、L-Arg高水平者血管再通率高于低水平者,PCT高水平者血管再通率低于低水平者($\chi^2=32.475, 28.344, 35.495, P<0.05$)。**结论** 急性脑梗死rt-PA溶栓前NO/ET-1、L-Arg降低及PCT升高与神经功能恶化和血管非再通风险增加有关,联合检测三者能为临床预测血管再通提供参考,从而为临床决策、治疗提供依据。

[关键词] 急性脑梗死; rt-PA; NO/ET-1; L-Arg; PCT

Relationship between NO/ET-1, L-Arg, PCT and neurological function during rt-PA thrombolysis in acute cerebral infarction and the prediction of vascular recanalization efficacy

ZHANG Yiying^{1*}, MAO Zhengrong¹, LUO Sha², JIANG Hua³

(1. Emergency Department of the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. The Second Department of Encephalopathy, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 3. Department of Immunology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the ratio of nitric oxide to endothelin-1 (NO/ET-1), L-arginine (L-Arg) during thrombolysis of recombinant human tissue plasminogen activator (rt-PA) in acute cerebral infarction, platelet packed product (PCT) and the relationship between nerve function and prediction of vascular recanalization efficacy. **Methods** A total of 182 patients with acute cerebral infarction with indications of intravenous thrombolysis were selected from March 2018 to January 2021. According to the recanalization of blood vessels after rt-PA thrombolysis, they were divided into the non-recanalization group ($n=$

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(2018ZY1002)

作者单位:1.河南中医药大学第一附属医院急诊科,河南,郑州 450000

2.河南中医药大学第一附属医院脑病二科,河南,郑州 450000

3.河南中医药大学免疫学系,河南,郑州 450000

*通信作者:张奕颖, E-mail: paris1979@163.com

31) and the recanalization group ($n=151$). The baseline data, NO/ET-1, L-Arg, and PCT levels of the two groups were compared, and the obtained data were statistically analyzed. Pearson was used to analyze the relationship between each indicator and the NIHSS score, and the multi-factor Logistic regression equation was used to analyze the vascular recanalization. For related influencing factors, the receiver operating characteristic curve (ROC) and the area under the ROC (AUC) were used to analyze the indicators to predict the vascular recanalization efficiency, and to compare the vascular recanalization rate of the indicators with different expression levels. **Results** There were statistically significant differences in diabetic AF, NIHSS score, NO/ET-1, L-Arg, and PCT in the non-recan group compared with the recan group ($P<0.05$); NO/ET-1 ($r=-0.875$, $P<0.001$), L-Arg ($r=-0.901$, $P<0.001$) were negatively correlated with NIHSS score and PCT ($r=0.804$, $P<0.001$) were positively correlated with NIHSS score. After controlling for diabetes, AF, and NIHSS score, NO/ET-1, L-Arg, and PCT were still relevant influences for revascularization ($P<0.05$). The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) (0.896) of NO/ET-1, L-Arg combined with PCT in predicting vascular recanalization is greater than that of single NO/ET-1 (0.816), L-Arg (0.778), PCT (0.812). Patients with high levels of NO/ET-1 and L-Arg had higher vascular recanalization rates than those with low levels, and those with high levels of PCT had lower vascular recanalization rates than those with low levels ($\chi^2=32.475$, 28.344, 35.495, $P<0.05$). **Conclusion** The decrease of NO/ET-1, L-Arg and the increase of PCT before rt-PA thrombolysis in acute cerebral infarction are related to the deterioration of neurological function and the increased risk of vascular non-recanalization. The combined detection of the three can provide a reference for clinical prediction of vascular recanalization, so as to provide a basis for clinical decision-making and treatment.

[KEY WORDS] Acute cerebral infarction; rt-PA; NO/ET-1; L-Arg; PCT

重组人组织型纤溶酶原激活物(rt-PA)溶栓后并非所有患者均能获得满意的血管再通,成为影响患者预后重要原因,而现阶段尚不明确其原因及机制,不利于临床干预和管理。一氧化氮(Nitric oxide, NO)与内皮素-1(Endothelin-1, ET-1)均为血管活性物质,其中NO具有扩张血管作用,在脑梗死中水平低于健康体检者,并随脑梗死病情加重逐渐降低;ET-1可收缩血管,在脑梗死中水平高于健康体检者^[1-2]。L-精氨酸(L-Arginine, L-Arg)是内源性NO的前体物质,可调节NO水平和氧自由基,抑制缺血缺氧引起的细胞凋亡^[3]。血小板压积(Plateletcrit, PCT)指血小板的数量与血小板平均体积的乘积,在急性脑梗死中水平降低^[4]。现阶段关于急性脑梗死rt-PA溶栓时NO/ET-1、L-Arg、PCT与神经功能关系及预测血管再通效能的研究较少,本研究对此进行探讨,旨在为临床诊疗提供参考,报告如下。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选取2018年3月至2021年1月河南中医药大学第一附属医院收治的182例具有静脉溶栓指征急性脑梗死患者进行前瞻性研究,根据rt-PA溶栓后血管再通情况^[5]分为非再通组($n=31$)、再通组

($n=151$)。纳入标准:①符合急性脑梗死诊断标准^[6];②近2个月无大型手术史;③无出血类疾病及出血倾向;④发病至入院时间 <4.5 h。排除标准:①哺乳期、妊娠期患者;②颅内血管畸形者;③颅内动脉瘤者;④伴有主动脉弓夹层者;⑤48 h内接受过肝素治疗者;⑥凝血功能障碍者。⑦患者知情并签署同意书。本研究经本院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

均给予rt-PA(德国勃林格殷格汉大药厂,商品名:爱通立,进口药品注册证号:S20110051)静脉溶栓,最大剂量 ≤ 90 mg, 0.9 mg/kg,其中10%在最初60 s内静脉推注,其余90%溶于100 mL生理盐水持续静脉滴注60 min,并将患者收入卒中单元,用药期间及用药24 h内严密监护血压、神经功能及症状表现,溶栓24 h后,复查颅脑磁共振检查,无出血者给予抗血小板药物长期维持治疗。并根据溶栓后24 h头颅磁共振检查和脑梗死溶栓(Thrombolysis in Cerebral Infarction, TICI)分级^[7]评估血管再通情况,2级及3级视为血管再通,0级和1级为非再通。

1.2.2 资料收集

收集患者年龄、性别、体质指数、发病至入院时间、高脂血症、糖尿病、心脏病、高血压、心房

颤动、饮酒史、吸烟史、梗死部位、美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale,NIHSS)^[6]评分资料。

1.2.3 检测方法

溶栓前采集患者外周静脉血5 mL,采用硝酸还原酶法检测NO水平,试剂盒购于苏州宇恒生物科技有限公司;采用酶联免疫吸附法检测ET-1、L-Arg水平,ET-1试剂盒购于上海信裕生物技术有限公司,L-Arg试剂盒购于上海康朗生物科技有限公司;并行血常规检测,记录PCT水平。各指标检测均严格按照试剂盒说明书操作。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件,计量资料符合正态分布的以($\bar{x} \pm s$)表示,行独立样本t检验,计数资料用n(%)表示,行 χ^2 检验,应用Pearson分析各指标与NIHSS评分关系,应用多因素Logistic回归方程分析血管再通的相关影响因素,应用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析各指标预测血管再通效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较

两组糖尿病、心房颤动、NIHSS评分、NO/ET-1、L-Arg、PCT水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

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

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

资料	非再通组 (n=31)	再通组 (n=151)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	54.97±8.73	52.86±10.14	1.079	0.282
性别(男/女)	18/13	80/71	0.268	0.605
体质量指数(kg/m ²)	23.65±1.47	23.44±1.60	0.674	0.501
发病至入院时间(h)	3.04±0.57	2.89±0.73	1.078	0.283
既往史				
高脂血症	11(35.48)	61(40.40)	0.260	0.610
糖尿病	16(51.61)	30(19.87)	13.724	<0.001
心脏病	5(16.13)	18(11.92)	0.120	0.730
高血压	9(29.03)	22(14.57)	3.807	0.051
心房颤动	4(12.90)	3(1.99)	5.599	0.018
饮酒史	22(70.97)	99(65.56)	0.337	0.562
吸烟史	15(48.39)	67(44.37)	0.168	0.682
梗死部位				
前循环	12(38.71)	65(43.05)	0.198	0.656
后循环	19(61.29)	86(56.95)		
NIHSS评分(分)	10.82±3.16	7.75±2.03	6.895	<0.001
NO/ET-1	3.15±1.02	4.68±1.24	6.433	<0.001
L-Arg($\mu\text{mol/L}$)	0.73±0.20	1.19±0.35	7.074	<0.001
PCT	0.25±0.05	0.22±0.04	3.637	<0.001

2.2 各指标与NIHSS评分关系

NO/ET-1($r = -0.875, P < 0.001$)、L-Arg($r = -0.901, P < 0.001$)与NIHSS评分呈负相关,PCT($r = 0.804, P < 0.001$)与NIHSS评分呈正相关。

2.3 多因素Logistic回归方程分析

将糖尿病、心房颤动、NIHSS评分控制后,NO/ET-1、L-Arg、PCT仍是血管再通的相关影响因素($P < 0.05$)。见表2。

表2 多因素Logistic回归方程分析

Table 2 Multivariate logistic regression equation analysis

影响因素	β 值	SE值	Wald χ^2	OR值	95% CI	P值
NO/ET-1	-0.827	0.201	16.921	0.437	0.268~0.714	<0.001
L-Arg	-0.765	0.214	12.789	0.465	0.315~0.687	<0.001
PCT	0.779	0.228	11.659	2.178	2.046~2.319	<0.001

注:两组NO/ET-1、L-Arg、PCT均值分别为4.42、1.11 $\mu\text{mol/L}$ 、0.23。

2.4 各指标预测血管再通效能

NO/ET-1、L-Arg联合PCT预测血管再通的AUC大于单一的NO/ET-1、L-Arg、PCT,联合预测方程:Logit(P)=9.332-0.827×NO/ET-1-0.765×L-Arg+0.779×PCT,Logit(P)的cut-off值为0.614。见表3、图1。

表3 ROC分析结果

Table 3 ROC analysis results

指标	AUC	95% CI	cut-off值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
NO/ET-1	0.816	0.752~0.869	>4.08	68.21	87.10	<0.001
L-Arg	0.778	0.710~0.836	>1.12 $\mu\text{mol/L}$	58.94	93.55	<0.001
PCT	0.812	0.748~0.866	≤ 0.24	79.47	74.19	<0.001
联合	0.896	0.842~0.936		77.48	87.10	<0.001

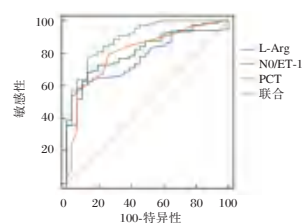


图1 各指标预测血管再通ROC

Figure 1 Prediction of recanalization ROC by each index

2.5 各指标不同水平者血管再通率比较

以ROC分析获得的cut-off值为分界,NO/ET-1、L-Arg高水平者血管再通率高于低水平者,PCT高水平者血管再通率低于低水平者($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

既往报道^[8]证实,急性脑梗死患者存在血管舒张和收缩功能异常,并与病情程度密切相关。

表4 各指标不同水平者血管再通率比较 [n(%)]
Table 4 Comparison of vascular recanalization rate among different levels of indicators [n(%)]

指标	组别	n	血管再通	未再通	χ^2 值	P值
NO/ET-1	高水平	107	103(96.26)	4(3.74)	32.475	<0.001
	低水平	75	48(64.00)	27(36.00)		
L-Arg	高水平	91	89(97.80)	2(2.20)	28.344	<0.001
	低水平	91	62(68.13)	29(31.87)		
PCT	高水平	54	31(57.41)	23(42.59)	35.495	<0.001
	低水平	128	120(93.75)	8(6.25)		

NO、ET-1是具有相反生理功能的物质,在维持机体正常血管内皮功能中起到重要作用^[9]。其中ET-1随着急性脑梗死面积增大逐渐升高,加重神经缺损严重程度^[10]。但目前关于NO在脑梗死领域表达情况尚存在争议,俞敏等^[11]研究发现,急性脑梗死患者NO水平降低,经有效治疗后升高,并伴有脑部血流和病情的改善,呈现出保护因子作用,本研究观点与之相似。且本研究还发现,与血管再通患者比较,非再通患者NO/ET-1水平降低,与NIHSS评分呈负相关,控制混杂因素后,仍是血管再通的相关影响因素,可作为预测血管再通的标志物。而吴强等^[12]报道,脑梗死患者NO水平高于健康对照人群,造成研究结果差异的原因可能是,急性脑梗死发病后早期,机体脑部血管闭塞,血流明显减少,机体为保护神经细胞,应激或适应性扩张血管,以增加血流量,所以表现为NO升高,但随着血管闭塞时间延长,机体合成分泌NO逐渐被消耗,因此呈现出明显的降低,可见检测时间的不同造成了结果研究的差异,而NO变化的转折时间点仍不明确,有待后续的进一步探讨。

L-Arg是人体必需的氨基酸,可促进性腺激素分泌、生长激素分泌、转化为NO等。缺血缺氧时,L-Arg能减少神经细胞凋亡,保护神经功能^[13]。本研究显示,血管非再通患者L-Arg低于血管再通患者,与神经缺损程度有关,并是血管再通的相关独立影响因素。袁华容等^[14]研究显示,急性脑梗死静脉溶栓后预后不良患者L-Arg水平低于预后良好者,与溶栓前后NIHSS评分变化呈负相关,L-Arg越低,溶栓治疗效果越差,提示L-Arg在急性脑梗死静脉溶栓血管再通中起到保护作用,本研究观点与之相似。L-Arg能通过作用于一氧化氮合酶,促进NO合成与分泌,增加血管扩张作用,有利于改善脑部血流,且L-Arg还能提高机体对NO利用率,改善微血管内皮功能,因此与血管再通情况有关^[15]。

PCT可反映血小板计数和血小板平均体积^[16]。本研究显示,非再通组PCT高于再通组,与NIHSS评分呈正相关,是血管再通的相关影响因素,提示PCT水平越高,静脉溶栓后血管非再通的风险越高,神经缺损越严重,可评估患者病情和溶栓后血管再通情况。韩光等^[17]报道,急性脑梗死抗栓治疗后生活能力改善良好患者PCT显著低于预后不良者,是影响患者预后独立危险因素,证实PCT在脑梗死中所起的作用。脑梗死发生后,血栓堵塞脑血管,血小板被激活,并黏附于血管内皮下,血管受损收缩,血小板表面糖蛋白与内皮下胶原物质黏附,使血小板相互聚集和堆积,从而引起PCT升高^[18]。PCT越高,血小板聚集介导的血栓越明显,因此与溶栓后血管再通情况有关。

另NO/ET-1、L-Arg联合PCT预测血管再通的AUC大于单一的NO/ET-1、L-Arg、PCT,故建议在硬件设备和经济条件允许时,建议联合检测三者对血管再通情况进行评估。三者联合预测方程提示患者血管再通概率较高,反之则血管非再通风险较高。若通过检测三者进行联合预测发现,患者血管再通可能性较高,则建议尽早进行rt-PA溶栓,以及时挽救缺血半暗带神经细胞;若通过联合预测发现患者血管非再通风险较高,应向患者与家属讲明,并结合患者实际情况,选取血管内介入治疗或采用rt-PA溶栓联合其他有助于增强疗效的疗法,尽可能保证患者获益最大化,从而为临床决策、治疗提供依据。

参考文献

- [1] 翟云,杨柳,任薇薇,等. 脑梗死患者血浆晚期糖基化终产物、一氧化氮水平与颈动脉粥样硬化的关系研究[J]. 临床误诊误治, 2020, 33(2): 90-95.
- [2] 庞睿娟. 急性脑梗死患者血清CD62P、sTLT-1和ET-1的表达水平及临床意义探讨[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(17): 2484-2486.
- [3] 邝斌,李明星,孙晓颖,等. 超声造影定量分析L-精氨酸改善大鼠肾缺血再灌注损伤的应用价值[J]. 中国超声医学杂志, 2019, 35(1): 76-79.
- [4] 王威,王海峰,薛飞肖. 心肌梗死与脑梗死患者血小板4项参数对比研究[J]. 血栓与止血学, 2019, 25(2): 242-243.
- [5] 余洋,苏醒,刘少哲,等. 丁苯酞对ACI rt-PA静脉溶栓后HT的影响[J]. 贵州医药, 2021, 45(4): 570-571.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.

(下转第1769页)

IL-18、NLR 和 *NLRP3* 水平与高血压性脑出血严重程度及预后的关系

徐磊* 古红香 李兴义 徐浩森

[摘要] **目的** 分析白介素-18(IL-18)、中性粒细胞淋巴细胞比(NLR)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(*NLRP3*)水平与高血压性脑出血(HICH)严重程度及预后的关系。**方法** 收集2017年3月至2021年1月于重庆市丰都县人民医院行手术治疗的117例高血压脑出血患者(HICH组),根据临床神经功能缺损程度分为:轻型67例,中型38例,重型12例,另选取本院健康体检中心101例健康受试者(对照组)。HICH组所有患者均进行手术治疗,术后对患者进行为期6个月随访,并比较两组以及HICH组不同神经功能缺损程度患者IL-18、NLR、*NLRP3*表达情况,分析影响HICH预后的危险因素以及IL-18、NLR、*NLRP3*对HICH预后不良的预测价值。**结果** HICH组IL-18、NLR、*NLRP3*表达均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。IL-18、NLR、*NLRP3*在不同病情程度患者中表达均为轻度组<中度组<重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。117例患者预后良好80例,预后不良37例。预后良好与预后不良者在不同年龄、神经功能缺损程度、出血量、入院GCS评分、IL-18、NLR、*NLRP3* mRNA相对表达量中比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。经Logistic回归模型分析中发现,年龄、神经功能缺损程度、出血量、入院GCS评分、IL-18、NLR、*NLRP3*为影响影响HICH预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。依据ROC曲线可知,IL-18+NLR+*NLRP3*联合检测对HICH预后不良预测敏感度和特异度均明显高于三者单独诊断($P<0.05$)。**结论** IL-18、NLR、*NLRP3*与HICH患者病情进展存在一定的联系,且在患者预后评估中具有一定的应用价值。

[关键词] IL-18; NLR; *NLRP3*; 高血压性脑出血

Relationship between the levels of IL-18, NLR, *NLRP3* and the severity and prognosis of hypertensive intracerebral hemorrhage

XU Lei*, GU Hongxiang, LI Xingyi, XU Haomiao

(Department of Neurology, People's Hospital of Fengdu County, Chongqing, Chongqing, China, 408200)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the levels of interleukin-18 (IL-18), neutrophil lymphocyte ratio (NLR), nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (*NLRP3*) and the severity and prognosis of hypertensive cerebral hemorrhage (HICH). **Methods** A total of 117 patients with hypertensive cerebral hemorrhage (HICH group) who underwent surgical treatment in this hospital from March 2017 to January 2021 were collected. 101 healthy subjects underwent the health examination in this hospital were selected as the control group. All patients in the HICH group underwent surgical treatment. The patients were followed up for 6 months after the surgery. The expressions of IL-18, NLR, and *NLRP3* in different populations were compared to analyze the risk factors that affected the prognosis of HICH, and predictive value of IL-18, NLR, and *NLRP3* on the prognosis of HICH. **Results** The expressions of IL-18, NLR and *NLRP3* in the HICH group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The expressions of IL-18, NLR, and *NLRP3* levels in patients with different disease were all in the mild group < moderate group <

基金项目:重庆市卫生和计划生育委员会医学科研计划项目(2017ZBXM034)

作者单位:重庆市丰都县人民医院神经内科,重庆 408200

*通信作者:徐磊, E-mail: XULEI1929@163.com

severe group ($P < 0.05$). Among 117 patients, 80 cases with good prognosis, 37 cases with poor prognosis. There were differences between the patients with good prognosis and poor prognosis in different age, neurological impairment, blood loss, admission GCS score, IL-18, NLR, and relative expression of NLRP3 mRNA ($P < 0.05$). The logistic regression model analysis showed that age, neurological deficit, blood loss, admission GCS score, IL-18, NLR, and NLRP3 were independent risk factors for poor prognosis of HICH ($P < 0.05$). According to the ROC curve, the sensitivity and specificity of the combined detection of IL-18+NLR+NLRP3 in predicting poor prognosis of HICH were significantly higher than those of IL-18, NLR, and NLRP3 alone ($P < 0.05$). **Conclusion** IL-18, NLR, NLRP3 have a certain relationship with the disease progression of HICH patients and have certain application value in the prognosis evaluation of patients.

[KEY WORDS] IL-18; NLR; NLRP3; Hypertensive cerebral hemorrhage

我国脑出血发病率占据全球首位,其中高血压性脑出血(Hypertensive cerebral hemorrhage, HICH)占全部脑出血类型的70%左右^[1]。HICH致残率、致死率均较高,及时对患者病情进行评估以及采取正确的治疗方式是降低患者死亡率的关键。临床常用评分量表评估HICH患者预后,但仍缺乏相关实验室预测指标,临床评估过于主观。以往研究显示,HICH的发病涉及细胞凋亡、氧化应激、炎症反应等多种机制,患者预后也与炎症反应之间存在密切的联系^[2]。白介素-18(Interleukin, IL-18)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(Nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)均是炎症反应中重要的因子,有研究显示,NLRP3可促进IL-18分泌,从而参与炎症反应,增加脑组织损伤程度^[3]。中性粒细胞淋巴细胞比(Neutrophil lymphocyte ratio, NLR)是脑缺血性续重患者预后不良预测中的重要因子^[4]。本文通过分析IL-18、NLR、NLRP3三者在HICH患者中的表达情况,分析三者在HICH病情严重程度、预后的评估中的使用价值,旨在为临床治疗及改善预后提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2017年3月至2021年1月于重庆市丰都县人民医院行手术治疗的117例高血压脑出血患者(HICH组),其中男76例,女41例,平均年龄为(57.48±5.11)岁,高血压平均病程为(7.98±1.85)年,根据美国国立卫生研究院卒中量表神经功能缺损评估(NIH Stroke Scale, NIHSS)^[5]分为:轻型67例,中型38例,重型12例。纳入标准:①经颅脑CT或MRI确诊出血及出血部位;②符合中华医学会神经病学分会脑血管病学组制定的《高血压性

脑出血中国多学科诊治指南》^[6]相关诊断标准;③具有明确高血压病史者。排除标准:①存在动静脉急性、颅内肿瘤者;②存在脑干出血、双侧脑疝者;③合并其他重要靶器官疾病者。另选取本院健康体检中心101例健康受试者(对照组),其中男62例,女39例,平均年龄为(57.08±5.21)岁,入选组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 IL-18、NLR、NLRP3检查方法

患者在入院后24 h内抽取空腹静脉血液,对照组在体检当日清晨抽取空腹静脉血,共抽取10 mL分三管,其中3 mL用于NLR、3 mL用于IL-18,另外4 mL为NLRP3检查。

使用血常规检查获得NLR值。将标本使用3 000 r/min离心机离心10 min,半径为10 cm,获取上清液待检,使用酶联免疫吸附法检测IL-18,试剂为上海康郎生物科技有限公司提供。使用含乙二胺四乙酸真空采血管收集静脉血液4 mL,使用3 000 r/min离心机离心10 min,半径10 cm,使用荧光实时定量RT-PCR检测NLRP3 mRNA表达。

1.2.2 随访

收集患者一般资料,包括性别、年龄、高血压病程、神经功能缺损程度、发病到手术时间、出血量、入院GCS评分等情况。所有患者均进行手术治疗,术后对患者进行为期6个月随访,了解患者预后情况,使用格拉斯预后(Glasgow Outcome Scale, GOS)评分进行评价分组^[7]:4~5级为预后良好,1~3级为预后不良。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行统计处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,多组间

比较使用方差检验;计数资料采用n(%)比表示,并采用 χ^2 检验,采用单因素Logistic回归对影响影响HICH者预后不良的危险因素,经单因素分析,初步筛选出差异有统计学意义的研究因素,纳入多因素条件Logistic回归模型进行多因素分析,均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组IL-18、NLR、NLRP3表达情况比较

HICH组IL-18、NLR、NLRP3 mRNA表达均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组IL-18、NLR、NLRP3表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of IL-18, NLR and NLRP3 expression between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-18(ng/L)	NLR	NLRP3 mRNA
对照组	101	80.15±8.69	1.67±0.31	1.06±0.33
HICH组	117	206.61±30.65	3.58±1.95	2.99±0.35
t值		40.086	9.735	41.684
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同病情程度患者IL-18、NLR、NLRP3表达情况比较

IL-18、NLR、NLRP3 mRNA在不同病情程度患者中表达均为轻度组<中度组<重度组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同病情程度患者IL-18、NLR、NLRP3表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of IL-18, NLR and NLRP3 expressions in patients with different disease degrees ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-18(ng/L)	NLR	NLRP3 mRNA
轻度组	67	150.32±9.26	2.39±0.51	2.36±0.51
中度组	38	259.25±30.24 ^a	4.87±0.64 ^a	3.57±0.54 ^a
重度组	12	354.29±33.84 ^{ab}	6.21±1.22 ^{ab}	4.66±0.84 ^{ab}
F值		633.90	282.24	116.25
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:a为与轻度组比较 $P<0.05$, b为与中度组比较 $P<0.05$ 。

2.3 影响HICH者预后不良的危险因素分析

2.3.1 影响HICH者预后不良的单因素分析

117例患者预后良好80例,预后不良37例。预后良好与预后不良者在不同年龄、神经功能缺损程度、出血量、入院GCS评分、IL-18、NLR、NLRP3 mRNA中比较差异有统计学意义($P<0.05$),在不同性别、高血压病程、发病到手术时间中比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 影响HICH者预后不良的单因素分析[n(%)]

Table 3 Univariate analysis of poor prognosis in patients with HICH [n(%)]

因素	预后良好 (n=80)	预后不良 (n=37)	χ^2 值	P值	
性别	男	45(56.25)	16(42.24)	1.715	0.190
	女	35(43.75)	21(56.76)		
年龄(岁)	≥60	32(40.00)	26(70.27)	9.273	0.002
	<60	48(60.00)	11(29.73)		
高血压病程(年)	≥10	47(58.75)	25(67.57)	0.831	0.361
	<10	33(41.25)	12(32.43)		
神经功能缺损程度	轻度	51(63.75)	16(43.24)	4.347	0.037
	中-重度	29(36.25)	21(56.76)		
发病到手术时间(h)	≥6	39(48.75)	22(59.46)	1.162	0.280
	<6	41(51.25)	15(40.54)		
出血量(mL)	≥30	31(38.75)	29(78.38)	15.902	<0.001
	<30	49(61.25)	8(21.62)		
入院GCS评分	≥8	26(32.50)	30(81.08)	23.927	<0.001
	<8	54(67.50)	7(18.92)		
IL-18(ng/L)	≥218	33(41.25)	28(75.68)	12.015	<0.001
	<218	47(58.75)	9(24.32)		
NLR	≥2.68	34(42.50)	25(67.58)	6.359	0.011
	<2.68	46(57.50)	12(34.43)		
NLRP3 mRNA	≥3.15	30(37.50)	27(72.97)	12.742	<0.001
	<3.15	50(62.50)	10(27.03)		

2.3.2 影响HICH者预后不良的多因素分析

将单因素中统计有意义的因素代入条件Logistic回归模型分析中发现,年龄、神经功能缺损程度、出血量、入院GCS评分、IL-18、NLR、NLRP3为影响影响HICH预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。见表4、5。

表4 待分析因素的意义及赋值

Table 4 Significance and assignment of factors to be analyzed

因素	代表意义	赋值
X ₁	年龄	0=<60岁;1=≥60岁
X ₂	神经功能缺损程度	0=轻度;1=中-重度
X ₃	出血量	0=<30mL;1=≥30mL
X ₄	入院GCS评分	0=<8分;1=≥8分
X ₅	IL-18	0=<218ng/L;1=≥218ng/L
X ₆	NLR	0=<2.68;1=≥2.68
X ₇	NLRP3 mRNA	0=<3.15;1=≥3.15

表5 影响高血压脑出血预后不良的多因素分析

Table 5 Multivariate analysis of influencing the poor prognosis of hypertensive intracerebral hemorrhage

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95%CI)	P值
X ₁	0.664	0.159	3.084	1.942(1.422-2.652)	0.038
X ₂	0.609	0.241	3.687	1.838(1.146-2.948)	0.019
X ₃	0.496	0.213	5.261	1.642(1.081-2.492)	0.001
X ₄	0.391	0.196	9.854	1.478(1.006-2.170)	<0.001
X ₅	0.268	0.117	11.241	1.307(1.075-1.329)	<0.001
X ₆	0.179	0.054	12.645	1.196(1.075-1.329)	<0.001
X ₇	0.336	0.122	10.654	1.399(1.101-1.777)	<0.001

2.4 IL-18、NLR、NLRP3对高血压性脑出血者预后不良的预测价值

依据ROC曲线可知,IL-18+NLR+NLRP3联合检测对HICH预后不良预测敏感度和特异度均明显高于三者单独诊断($P<0.05$)。见表6、图1。

表6 IL-18、NLR、NLRP3对高血压性脑出血者预后不良的预测价值

Table 6 Predictive value of IL-18, NLR, and NLRP3 for poor prognosis in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage

诊断因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度
IL-18	0.753	0.651~0.855	0.676	0.492
NLR	0.766	0.656~0.876	0.757	0.511
NLRP3	0.739	0.621~0.856	0.622	0.387
IL-18+NLR+NLRP3	0.782	0.674~0.890	0.865	0.633

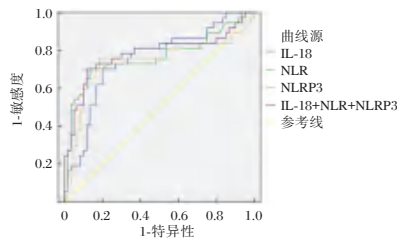


图1 ROC曲线图

Figure 1 Predictive ROC curve

3 讨论

HICH患者起病急,病情复杂进展迅速,给予患者积极治疗的前提是早期正确的诊断,因此,如何选择快速、简便、准确的诊断方法,并可客观评价患者预后是目前研究热点。

以往研究指出,HICH患者出现继发性脑损伤是导致预后不良的重要因素,而炎症反应则是继发性损伤的重要部分^[8]。IL-18是白细胞家族成员,其能够通过影响下游单核细胞的浸润从而促进脑组织的损害和功能的障碍。有研究显示IL-18水平在脑出血患者中表达上升,从而促进下游炎症性信号通路核因子 κ B的激活,最终促进脑组织的炎症性破坏^[9]。NLRP3在细胞质中广泛分布,属于感受器蛋白,在识别机体出现危险信号时,其结构可出现改变,与衔接蛋白、效应蛋白半胱氨酸天冬氨酸酶1前体结合后形成蛋白复合物,成为炎症小体,炎症小体被激活后可促进IL-18的分泌与合成,最终可诱导细胞出现程序性死亡^[10-11]。以往研究发现,脑出血患者中NLRP3激活后可与内皮细胞、脑胶质细胞合成分泌出大量的IL-18,导致

脑血屏障被破坏,IL-18进入到外周血中,进一步加快了细胞程序性死亡,进而导致患者病情进展^[12]。中性粒细胞与淋巴细胞均与机体炎症反应有密切的联系,淋巴细胞与中性粒细胞的平衡被打破可进一步加重机体炎症反应^[13]。NLR作为中性粒细胞与淋巴细胞之比,更易获得,且更具有特异性,相比于公认的炎症指标稳定性更佳。以往研究中显示,白细胞亚型的比值相较单一指标具有更高的预测价值^[14]。临床中也发现,NLR数值变化有助于临床了解患者炎症程度,与脑梗死预后存在一定的联系,且与多种自身免疫性疾病、炎症疾病的发生与发展之间密切相关^[15]。本研究结果提示IL-18、NLR、NLRP3可能参与HICH的发生过程中,在患者病情进展中发挥了一定的作用,与以往文献研究结果相符^[16]。

本研究结果显示,IL-18、NLR、NLRP3为影响患者预后不良的危险因素。ROC曲线发现,IL-18、NLR、NLRP3对HICH患者预后不良预测均有一定的价值,且三者联合对患者预后不良预测灵敏度、特异度高于三者单独预测,提示三者对HICH患者预后评估中有重要的应用价值,与以往研究结果类似^[17]。考虑与以下几点有关:在HICH患者早期,脑血肿周围组织中的NLRP3处于激活状态,促进其下游因子IL-18释放,诱导神经炎症反应,增加迟发性脑损伤风险,影响患者预后^[18]。NLR失衡则说明机体发生炎症,失衡越严重,炎症也越严重,炎症反应可加剧脑组织的功能破坏,导致神经纤维细胞电生理稳定性的下降,进一步促进神经功能缺损的发生^[19]。

综上所述,IL-18、NLR、NLRP3与HICH患者病情进展存在一定的联系,且在患者预后评估中具有一定的应用价值,或可成为评估HICH预后的新指标。

参考文献

- [1] 杨百元,刘艳,钟成清,等.烟雾病性脑出血与高血压性脑出血特征及预后对比[J].临床与病理杂志,2020,40(11):105-111.
- [2] 黄良通,徐灵燕,彭潇,等.降压治疗与高血压性脑出血患者脑白质病变严重程度的相关性[J].心脑血管病防治,2020,20(6):68-70+78.
- [3] Ullah M, Liu D D, Rai S, et al. HSP70-Mediated NLRP3 Inflammasome Suppression Underlies Reversal of Acute Kidney Injury Following Extracellular Vesicle and Focused Ultrasound Combination Therapy [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11):4085.

- [4] 刘亚峰, 王一芳, 王青, 等. 微创碎吸引流联合高压氧治疗对高血压脑出血患者炎性因子及脑血管动力学的影响[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2021, 28(4):437-441.
- [5] 马婷婷, 张星月, 彭宇明, 等. 修订版美国国立卫生研究院卒中量表评估幕上占位患者镇静相关局部神经功能缺陷的诊断价值[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2021, 42(10):1046-1049.
- [6] 中华医学会神经外科学分会, 中国医师协会急诊医师分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组, 等. 高血压性脑出血中国多学科诊治指南[J]. 中华神经外科杂志, 2020, 36(8):757-770.
- [7] 高阳阳, 李骥腾. 血清 TSP-1, PDGF 预测脑出血短期预后后的临床价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4):502-506.
- [8] Jiang Q, Geng X, Warren J, et al. Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) Mediates NLRP3 Inflammasome-Dependent-Pyroptotic and Apoptotic Cell Death Following Ischemic Stroke [J]. *Neuroscience*, 2020, 448(5):44-53.
- [9] 吴林, 黄晓丹, 陈炜, 等. 逐瘀安脑丸对高血压性脑出血患者临床疗效及炎症因子影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(1):10-12.
- [10] 徐辰, 李国忠, 钟毓. 脑出血后灶周组织形态和焦亡相关蛋白表达水平的研究[J]. 卒中与神经疾病, 2019, 12(5):513-517.
- [11] Harel M, Rodriguez EC, Girard-Guyonvarc'H, et al. P157 Radioresistant and radiosensitive cells contribute to IL-18BP production in a model of macrophage activation syndrome [J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(1):68.
- [12] Sun Q, Fan G, Zhuo Q, et al. Pin1 promotes pancreatic cancer progression and metastasis by activation of NF- κ B-IL-18 feedback loop[J]. *Cell Proliferat*, 2020, 53(1):128.
- [13] Hedbrant A, Andersson L, Bryngelsson IL, et al. Quartz Dust Exposure Affects NLRP3 Inflammasome Activation and Plasma Levels of IL-18 and IL-1Ra in Iron Foundry Workers [J]. *Med Inflamm*, 2020, 2020(12):1-10.
- [14] 岳宏, 武爱梅, 陈静, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比率联合 ICH 评分预测自发性脑出血患者 30 d 转归[J]. 国际脑血管病杂志, 2020, 28(3):175-179.
- [15] Ng SP, Bahig H, Jethanandani A, et al. Prognostic significance of pre-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in patients with oropharyngeal cancer treated with radiotherapy [J]. *British J Canc*, 2020, 124(3):1-6.
- [16] Jiang T, Jiang D, Zhang L, et al. Anagliptin ameliorates high glucose-induced endothelial dysfunction via suppression of NLRP3 inflammasome activation mediated by SIRT1 [J]. *Mol Immunol*, 2019, 107:54-60.
- [17] 李改, 胡兵, 张会敏. 瘦素, IL-18, NLRP3 与高血压性脑出血严重程度、预后的关系及其在预后评估中的价值[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(5):77-82.
- [18] 彭华, 唐晓平, 孙浩耕, 等. SS-31 对蛛网膜下腔出血大鼠模型早期脑损伤及 NLRP3 炎性小体的影响[J]. 新疆医科大学学报, 2019, 42(6):45-49.
- [19] 崔大勇, 王新, 张博. 血清及脑脊液 NLRP3, PCT, CRP 水平对脑出血微创穿刺术后颅内感染的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(3):421-423.

(上接第 1764 页)

- [7] 刘盈盈, 彭森, 马春, 等. 基于多模 CT 的区域软脑膜侧支循环评估在血管再通预测中的应用价值分析[J]. 中华神经医学杂志, 2020, 19(5):499-503.
- [8] Tuttolomondo A, Daidone M, Pinto A. Endothelial Dysfunction and Inflammation in Ischemic Stroke Pathogenesis [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(34):4209-4219.
- [9] 刘玉珊. 老年动脉粥样硬化性心肌梗死患者血清胱抑素 C 水平与血管内皮细胞损伤相关性研究[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(4):431-434.
- [10] 夏辉, 祁占宁, 王飒, 等. 急性脑梗死患者血浆 Hcy、血管内皮功能和血流动力学的改变及意义[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(3):311-314.
- [11] 俞敏, 黄庆梅, 覃鹏飞. 叶酸、VB6、VB12 对高血压合并急性脑梗死患者血管内皮功能、血清同型半胱氨酸水平及生活质量的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2019, 28(5):631-634.
- [12] 吴强, 吕晓影, 张乐国. 炎性因子在脑梗死患者血液中的检测意义[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14(3):140-142.
- [13] Hirfanoglu I, Turkyilmaz C, Turkyilmaz Z, et al. Neuroprotective effect of L-arginine in a neonatal rat model of hypoxic-ischemia [J]. *Int J Neurosci*, 2019, 129(11):1139-1144.
- [14] 袁华容, 吴建平, 黄家俊. 血清 L-Arg, ADMA 水平与急性脑梗死患者静脉溶栓疗效的相关性分析[J]. 卒中与神经疾病, 2021, 28(1):25-28.
- [15] Gazyakan E, Hirche C, Reichenberger MA, et al. Inducible Nitric Oxide Synthase and L-Arginine Optimizes Nitric Oxide Bioavailability in Ischemic Tissues Under Diabetes Mellitus Type 1 [J]. *Ann Plast Surg*, 2020, 84(1):106-112.
- [16] Vasudeva K, Munshi A. Genetics of platelet traits in ischaemic stroke: focus on mean platelet volume and platelet count [J]. *Int J Neurosci*, 2019, 129(5):511-522.
- [17] 韩光. 外周血血小板参数对评估急性脑梗死患者生活能力改善的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2):119-123.
- [18] Chen Z, He Y, Su Y, et al. Association of inflammatory and platelet volume markers with clinical outcome in patients with anterior circulation ischaemic stroke after endovascular thrombectomy [J]. *Neurol Res*, 2021, 43(6):503-510.

NT-proBNP、cTnI、CK-MB在老年冠心病PCI术后预测心衰发生风险的探讨

唐茜 张浩 程景林*

[摘要] **目的** 探讨血浆 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平对于老年冠心病患者冠脉支架植入术后慢性心衰发生的预测价值。**方法** 选取 100 例在安徽医科大学第二附属医院进行冠脉支架植入手术的老年冠心病患者,术后随访 1 年;根据术后是否发生慢性心衰分为慢性心力衰竭组(CHF 组)和非慢性心力衰竭组(ICHF 组)。采用电化学发光法检测术前和出院前患者血浆中 NT-proBNP 水平,采用 ELISA 法检测 cTnI、CK-MB 水平;采用心脏超声观察记录患者的 LVEDD、LVESD、LVEF、LVMI;采用 Pearson 相关分析或 Spearman 秩相关分析血浆 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平与 LVEDD、LVESD、LVEF、LVMI 的相关性;采用 ROX 曲线分析血浆 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平对老年冠心病患者冠脉支架植入术后并发慢性心衰的预测价值。**结果** 两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与 CHF 组患者比较,术前 ICHF 患者血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平及 LVEDD、LVESD、LVEF、LVMI 值比较差异无统计学意义($P>0.05$);出院前 ICHF 患者血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平均明显降低($t=6.629$ 、 5.662 、 4.168 , $P<0.05$), LVEDD、LVESD、LVMI 值明显降低($t=2.532$ 、 4.412 、 2.003 , $P<0.05$), LVEF 值明显升高,差异均有统计学意义($t=2.061$, $P<0.05$)。相关性分析显示,血浆 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平与 LVEDD、LVESD、LVMI 呈明显正相关($P<0.05$),与 LVEF 呈明显负相关性($P<0.05$)。COX 曲线分析显示,血浆 NT-proBNP、cTnI 预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后并发慢性心衰的 AUC 分别为 0.847、0.811,具有较高的预测价值。**结论** 老年冠心病患者冠脉支架植入术后血浆中 NT-proBNP、cTnI 水平对于术后是否会发生慢性心衰不良事件具有较高的预测价值。

[关键词] 老年冠心病;慢性心力衰竭;冠脉支架植入术

Clinical value of NT-proBNP, cTnI, CK-MB level to predict the risk of chronic heart failure after coronary stent implantation in elderly patients with coronary heart disease

TANG Qian, ZHANG Hao, CHENG Jinglin*

(Department of Emergency Medicine, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230601)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of plasma NT-proBNP, cTnI, CK-MB for coronary heart implantation in elderly patients. **Methods** 100 elderly patients with coronary heart disease in The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University were follow-up for 1 year; Chronic heart failure group (CHF group) and non-chronic heart failure group (ICHF group). NT-proBNP levels in patient plasma were detected for preoperative and prior to discharge by electrochemiluminescence; The cTnI, CK-MB level is detected using the ELISA method; LVEDD, LVESD, LVEF, LVMI was recorded by cardiac ultrasound; The correlation of plasma NT-proBNP, cTnI, CK-MB level and LVEDD, LVESD, LVEF, LVMI by Pearson or Spearman rank correlation; The predicted value of plasma NT-proBNP, cTnI, CK-MB level of coronary stent implantation in elderly patients with coronary heart disease. **Results** The general data compari-

基金项目:高等学校省级质量工程项目(2021jyxm0712)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院急诊内科,安徽,合肥 230601

*通信作者:程景林, E-mail: chj1201102@163.com

son between the two groups showed no significant difference ($P>0.05$). Compared with patients with CHF group, there were no significant changes in NT-proBNP, cTnI, CK-MB level, LVEDD value and LVEF value in patients with preoperative ICHF ($P>0.05$); NT-proBNP, cTnI, CK-MB levels in ICHF plasma were significantly reduced ($t=6.629, 5.662, 4.168, P<0.05$), LVEDD, LVESD, LVMI ($t=2.532, 4.412, 2.003, P<0.05$) and LVEF ($t=2.061, P<0.05$); Correlation analyses showed that plasma NT-proBNP, cTnI, CK-MB levels were significantly positively associated with the LVEDD, LVESD, LVMI ($P<0.05$) and a significant negative correlation with LVEF ($P<0.05$). COX curve analysis showed that plasma NT-proBNP, cTnI predicted AUC after coronary stent implantation in elderly patients with coronary heart disease, which has high predictive value. **Conclusion** NT-proBNP, cTnI level in elderly patients with coronary heart disease.

[KEY WORDS] Elderly coronary heart disease; Chronic heart failure; Coronary stent implantation

冠心病是指因脂质代谢功能损伤引起冠状动脉血管出现硬化病变,造成管腔狭窄、阻塞,引起心肌缺血缺氧、坏死的一种高发缺血性疾病^[1-2]。经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)是目前治疗冠心病的有效手段^[3]。但老年冠心病患者PCI术后易发生慢性心力衰竭^[4],故寻找有效的预测老年冠心病患者PCI术后发生慢性心衰不良事件的临床指标,对于给予老年冠心病患者及时的治疗,改善术后生活质量、延长存活时间具有重要意义。

氨基末端脑钠肽前体(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)、心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)、肌酸激酶同工酶(Creatinekinase-MB, CK-MB)在临床上常被用来作为诊断患者心肌损伤程度的特异性标记物,与冠心病和心力衰竭密切相关^[5-6]。但它们在老年冠心病患者PCI术后预测慢性心衰发生风险的具体价值,尚未见系统的报道。本文将探究NT-proBNP、cTnI、CK-MB水平在老年冠心病患者PCI术后预测慢性心衰发生风险的临床价值。报道如下。

1 研究资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2020年12月在安徽医科大学第二附属医院急诊内科行冠脉支架植入手术治疗的老年冠心病患者100例为研究对象,术后随访1年。按照是否发生心力衰竭不良术后事件分为慢性心力衰竭组(CHF组)56例、非慢性心力衰竭组(ICHF组)44例。纳入标准:①患者的临床表现符合WHO制定的冠心病诊断标准^[7];②住院期间首次接受冠脉支架植入手术;③患者年龄65岁~80岁。排除标准:①急性心肌梗死患者;②既往有

慢性心力衰竭者;③有严重先天性疾病者;④有严重肝肾功损害者;⑤抑郁症或精神异常者。本研究已获本院伦理委员会批准,且入选患者或其家属签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 一般资料

收集所有患者入院时的年龄、性别、BMI及高血压病史。

1.2.2 血浆生物标志物检测

于患者术前和出院前1天早晨采取空腹外周静脉血3 mL于抗凝管中,离心(转速3 000 r/min,离心时间10 min,离心半径为13.5 cm),分离血浆待测。采用电化学发光夹心法检测患者血浆中NT-proBNP水平;采用ELISA法检测患者血浆中cTnI、CK-MB水平。所有操作均严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.3 术后干预

两组患者术后均给予口服阿司匹林(100 mg/次,1 d/次)、阿托伐他汀(20 mg/次,1 d/次)、氯吡格雷(75 mg/次,1 d/次)和皮下注射低分子肝素钙(4 000 IU/次,1 d/2次)进行基础治疗。连续给药7 d。

1.2.4 心功能检测

采用超声心动图仪检测所有患者术前和出院前的左室舒张末期内径(left ventric end-diastolic dimension, LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)及左室质量指数(Left Ventricular Mass Index, LVMI)。

1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0软件进行统计学处理。所有计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用Pearson

相关分析或 Spearman 秩相关分析血浆中 NT - proBNP、cTnI、CK - MB 水平与 LVEDD、LVESD、LVEF、LVMI 的相关性。采用 ROC 曲线预测血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平对冠脉支架植入术后发生 CHF 的效能。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

CHF 组和 ICHF 组两组患者的性别、年龄、BMI、吸烟史及高血压病史情况比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

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

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

	n	性别		年龄	BMI(kg/m ²)	吸烟史	高血压病史
		男	女				
CHF 组	56	20(35.71)	36(64.29)	69.46±7.12	24.82±1.98	15(26.79)	27(48.21)
ICHF 组	44	16(36.36)	28(63.64)	70.38±5.97	24.67±2.16	10(22.21)	21(47.73)
χ^2/t 值		0.01	0.69	0.36	0.22	0.002	
P 值		0.95	0.49	0.72	0.64	0.96	

表 2 两组患者血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of plasma levels of NT-proBNP, cTnI and CK-MB between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	术前			出院前		
		NT-proBNP(pg/mL)	cTnI(ng/mL)	CK-MB(ng/mL)	NT-proBNP(pg/mL)	cTnI(ng/mL)	CK-MB(ng/mL)
CHF 组	56	1261.47±161.57	6.01±0.75	57.07±12.24	835.09±124.33	4.05±0.86	36.28±11.28
ICHF 组	44	1185.06±300.99	5.82±1.50	53.80±16.63	636.13±175.55 ^a	2.98±1.03 ^a	26.07±13.20 ^a
t 值		1.626	0.826	1.133	6.629	5.660	4.168
P 值		0.107	0.411	0.260	<0.0001	<0.0001	<0.0001

注:与 CHF 组出院前比较,^aP<0.05。

表 3 两组患者心脏彩超测量参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cardiac color Doppler ultrasound measurement parameters between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	术前				出院前			
		LVEDD (mm)	LVESD (mm)	LVEF (%)	LVMI (g/m ²)	LVEDD (mm)	LVESD (mm)	LVEF (%)	LVMI (g/m ²)
CHF 组	56	63.18±14.01	56.63±10.54	39.95±4.64	139.50±28.13	51.16±17.66	50.68±7.46	46.22±7.05	130.63±13.30
ICHF 组	44	62.01±20.84	57.14±11.27	42.86±8.41	138.78±18.68	42.83±14.45 ^a	43.52±8.76 ^a	48.23±14.42 ^a	121.92±28.91 ^a
t 值		0.335	0.233	1.444	0.146	2.532	4.412	2.278	2.003
P 值		0.738	0.816	0.152	0.884	0.013	<0.0001	0.025	0.048

注:与 CHF 组出院前比较,^aP<0.05。

2.2 血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平比较

2.2 血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平比较

与 CHF 组比较,术前 ICHF 组患者血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平比较,差异无统计学意义(P>0.05);出院前 ICHF 组患者血浆中 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平明显降低,差异有统计学意义(P<0.01)。见表 2。

2.3 两组患者心脏彩超测量参数比较

与 CHF 组比较,术前 ICHF 组患者的 LVEDD、LVESD、LVEF、LVMI 值比较差异无统计学意义(P>0.05)。出院前 ICHF 组患者的 LVEDD、LVESD、LVMI 值明显降低(P<0.01 或 P<0.05),LVEF 值明显升高,差异均有统计学意义(P<0.01)。见表 3。

2.4 出院前患者血浆 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平与慢性心衰的相关性

相关性结果分析显示,NT-proBNP 水平与 LVEDD、LVESD、LVMI 呈明显正相关(P<0.05),与 LVEF 呈明显负相关性(P<0.05);cTnI

水平与 LVEDD、LVESD、LVMI 呈明显正相关(P<0.05),与 LVEF 呈明显负相关性(P<0.05);CK-MB 水平与 LVEDD、LVESD、LVMI 呈明显正相关(P<0.05),与 LVEF 呈明显负相关性(P<0.05)。见表 4。

表4 NT-proBNP、cTnI、CK-MB水平与慢性心衰的相关性
Table 4 Correlation between NT-proBNP, cTnI, CK-MB levels and chronic heart failure

指标	NT-proBNP		cTnI		CK-MB	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
LVEDD	0.594	0.031	0.306	0.026	0.457	0.033
LVESD	0.753	0.007	0.423	0.041	0.524	0.018
LVEF	-0.559	0.042	-0.432	0.036	-0.429	0.037
LVMI	0.458	0.025	0.598	0.016	0.457	0.029

2.5 出院前患者血浆 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后并发慢性心衰的临床价值

ROC 曲线分析显示, NT-proBNP 水平诊断老年冠心病患者冠脉支架植入术后并发慢性心衰的临床价值最高, 曲线下面积为 0.847, 最佳截断值为 750.83 pg/mL; cTnI 水平的诊断价值与其相当, 曲线下面积为 0.811, 最佳截断值为 3.48 ng/mL; CK-MB 水平的诊断价值较低, 曲线下面积为 0.683。提示, 出院前患者血浆中 NT-proBNP、cTnI 水平预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后并发慢性心衰的临床价值较大。见表 5、图 1。

表5 NT-proBNP、cTnI、CK-MB 水平预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后并发慢性心衰的价值

Table 5 Value of NT-proBNP, cTnI and CK-MB levels in predicting chronic heart failure after coronary stenting in elderly patients with coronary heart disease

指标	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异性 (%)	AUC	95% CI	P 值
NT-proBNP	750.83 (pg/mL)	76.8	77.3	0.847	0.738~0.956	0.013
cTnI	3.48 (ng/mL)	71.4	72.7	0.811	0.728~0.895	0.021
CK-MB	31.81 (ng/mL)	57.1	56.8	0.683	0.576~0.789	0.010

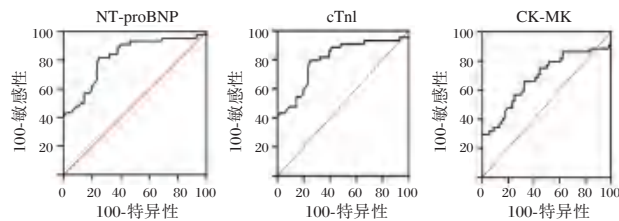


图1 ROC 曲线图
Figure 1 ROC curve

3 讨论

慢性心力衰竭是冠心病患者常见的并发症之一, 临床多表现为胸闷、胸痛、喘息、气短^[8], 而在老年冠心病患者中慢性心力衰竭发生率高达 50%, 确诊后 5 年内的死亡率高于 50%, 占我国每年死亡

总人数的一半左右^[9]。冠状动脉支架植入术是目前治疗冠心病患者较为先进的治疗手段, 得到临床医生的普遍认可。大量的临床研究发现, 冠心病患者术后易发生心力衰竭不良事件, 严重危及患者的生命健康。因此, 为避免支架植入术后患者因并发或复发慢性心衰再次出现危及生命的情况, 寻找有效的预测冠脉支架植入术后并发慢性心衰的临床生化指标, 对于给予冠心病合并慢性心衰患者及时的治疗和改善生活质量、延长其生存时间具有重要意义。

NT-proBNP 是一种由心肌细胞分泌的心源性神经内分泌激素。当心肌细胞因心脏负荷较大导致心室压力增加被激活时, 迅速通过基因转录合成 proBNP^[10]; 随着压力的进一步增加, proBNP 会随之裂解为生物无活性的 NT-proBNP 和有生物活性的 B 型钠尿肽 (B-type natriuretic peptide, BNP)^[11]。但 NT-proBNP 较 BNP 的稳定性、灵敏度更高, 且不易受外源性物质的干扰, 被认为是诊断心力衰竭的首选生物标记物; 同时也是预测心力衰竭病人住院和死亡率的独立因素^[12-13]。本研究发现, 术后并发 CHF 的患者出院前的血浆 NT-proBNP 水平较未出现 CHF 的患者的水平高, 且经相关性和 ROC 曲线分析发现, NT-proBNP 水平与术后并发 CHF 风险呈正相关, 具有较高的临床诊断价值。说明, 出院前患者血浆中的 NT-proBNP 水平对于预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后是否会发生慢性心力衰竭不良事件具有较高的临床诊断价值。

cTnI 是临床评价心肌损伤的标志物, 因其具有高度的心脏特异性和灵敏度, 是诊断心肌梗死的“金标准”^[14]。在生理状态下, 人体内的 cTnI 含量较低; 在病理状态下, 心肌细胞出现缺血、缺氧等损伤时, 肌钙蛋白复合物在蛋白水解酶的作用下, 将其释放在血液中, 引起人体内的 cTnI 水平升高; 当其与 CTnC 的变构体结合后, 会进一步损伤心肌细胞^[15-16]。研究表明^[17], 冠心病患者血液 cTnI 水平与左心室重构程度呈正相关, 而心室重构是冠心病患者并发慢性心力衰竭不良事件的主要病理基础。说明, 血液中 cTnI 水平可能具有预测冠心病患者术后并发慢性心衰的重要临床价值。本研究发现, 术后并发 CHF 的患者出院前的血浆 cTnI 水平较未出现 CHF 的患者的水平高, 且经相关性和 ROC 曲线分析发现, cTnI 水平与术后

并发 CHF 风险呈正相关,具有较高的临床诊断价值。说明,出院前患者血浆中的 cTnI 水平对于预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后是否会发生慢性心力衰竭不良事件具有较高的临床诊断价值。

CK-MB 是一种具有高度特异性的心肌同工酶,人体 80%左右的 CK-MB 存在于心肌中^[18];当心肌受到损伤时,心肌细胞会释放大量的 CK-MB 于血液中,血液中 CK-MB 的水平是反映心肌损伤程度的重要指标^[19]。王昱^[20]等研究发现,患者血浆中的 CK-MB 水平对于冠心病的诊断、冠状动脉病变程度及心功能分级具有一定的预测价值。本研究发现,术后并发 CHF 的患者出院前的血浆 CK-MB 水平较未出现 CHF 的患者的水平高,且经相关性和 ROC 曲线分析发现,cTnI 水平与术后并发 CHF 风险呈正相关,但临床诊断价值不高。说明,出院前患者血浆中的 cTnI 水平对于预测老年冠心病患者冠脉支架植入术后是否会发生慢性心力衰竭不良事件具有一定的临床诊断价值。

综上,老年冠心病患者经冠脉支架置入术后血浆中的 NT-proBNP、cTnI 水平对于预测是否会发生慢性心力衰竭不良事件具有较大的临床诊断价值,CK-MB 与其发生风险具有相关性,但临床诊断价值一般。老年冠心病患者冠脉支架植入术后血浆中 NT-proBNP、cTnI 的高水平可作为术后发生慢性心力衰竭不良事件的风险因素,供临床参考。

参考文献

[1] 李占虎,李勇,李原. 心脉隆注射液结合硝普钠对冠心病慢性心力衰竭患者 hs-CRP、CysC 以及 NT-proBNP 水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020,38(5):182-185.

[2] 杨光,何浩强,陈光,等. 中药调节肠道菌群干预冠心病及其危险因素的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020,45(1):29-36.

[3] 潘晓枫. PCI 治疗老年冠心病患者的预后因素分析[J]. 医学理论与实践, 2021,34(8):1419-1421.

[4] 代倩倩,石兆峰,胡嘉元,等. 芪参益气滴丸联合西药治疗对经皮冠状动脉介入术后不良心血管事件及生活质量影响的 Meta 分析[J]. 中国中药杂志, 2021,46(6):1498-1511.

[5] 卢谦,叶少武. AMI 患者血清 hs-cTnT、NT-proBNP、MYO、PCT 水平变化及临床意义[J]. 热带医学杂志, 2018,18(12):1598-1602.

[5] 赖仁奎,盛小刚,潘光明. 冠心病心力衰竭中医证型与 NT-proBNP、hs-CRP、cTnI 的相关性研究[J]. 中西医结合心

血管病杂志, 2016,14(3):320-322.

[6] 顾公山,何进舟,冯俊,等. 老年慢性心力衰竭患者血浆 NT-proBNP、cTnT 和 Mb 变化及其联合辅助诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(12):2065-2068.

[7] 刘继成. 冠心病患者经皮冠状动脉介入术后血清高迁移率蛋白 1、脑钠肽水平与发生心力衰竭的关系研究[J]. 临床医学, 2020,40(8):5-8.

[8] 杨焱. 不同剂量阿托伐他汀对老年血脂正常冠心病患者炎症、心功能及心血管事件的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016,36:4208-4210.

[9] 张文,肖勇,高妍,等. 不同剂量阿托伐他汀联合二丁酰环磷酰钙对冠心病合并慢性心衰患者心功能及 NT-proBNP 的影响[J]. 中国心血管病研究, 2018,16(1):64-68.

[10] Popelov JR, Kota KK, Tomko M, et al. Usefulness of N-terminal pro-brain natriuretic peptide to predict mortality in adults with congenital heart disease[J]. Am J Cardiol, 2015,116(9):1425-1430.

[11] 鲜龙,杨丽娟. 血浆 NT-proBNP 水平与冠心病严重程度和预后的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2018,25(4):533-536.

[12] Passantino A, Guida P, Lagioia R, et al. Predictors of long-term mortality in older patients hospitalized for acutely decompensated heart failure: clinical relevance of natriuretic peptides[J]. J Am Geriatr Soc, 2017,65(4):822-826.

[13] Wettersten N, Horiuchi Y, Van Veldhuisen DJ, et al. B-type natriuretic peptide trend predicts clinical significance of worsening renal function in acute heart failure [J]. Eur J Heart Fail, 2019,21(12):1553-1560.

[14] 郭海俊,刁晓艳. 冠心病患者行 PCI 术治疗前后 cTnT、NT-proBNP、CK-MB 变化的临床研究[J]. 中西医结合心血管病杂志, 2016,4(27):84-88.

[15] 杨艳,张福军,沈松坤,等. 采用 ROC 曲线评价 NT-proBNP、cTnI、Hcy、DD、hs-CRP 对冠心病的诊断价值[J]. 检验医学, 2018,33(1):15-19.

[16] 张金花,张葵,魏红霞,等. 冠心病患者血清心肌肌钙蛋白 I 自身抗体检测的意义[J]. 临床检验杂志, 2017,35(2):132-135.

[17] 张伟,崔惠康. 冠心病患者血清 cTnI、CK-MB、MMP-9 水平及意义[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020,17(3):150-153.

[18] Chon H, Lee S, Yoon SY, et al. SERS-based competitive immunoassay of troponin I and CK-MB markers for early diagnosis of acute myocardial infarction [J]. Chem Commun (Camb), 2014,50(9):1058-1060.

[19] 王一赫,杜金玲,Angie LeRoy,等. 人格特征与血脂水平对心绞痛患者心肌酶的影响[J]. 中国临床心理学杂志, 2017,25(6):1048-1053.

[20] 王昱,许一弛,Azat Simbat,等. 血浆 D-D、Fg、CK-MB 水平在冠心病诊断、分型及病情判断中的价值[J]. 山东医药, 2018,58(4):55-57.

新生儿黄疸胆红素、胆汁酸及白蛋白水平与NBNA评分的相关性

刘会青* 孔高远 李方 苗丽红

[摘要] **目的** 探究新生儿黄疸(NJ)胆红素、胆汁酸(TBA)、白蛋白(ALB)水平变化及与新生儿神经行为测定(NBNA)评分的相关性。**方法** 选取2020年2月至2021年12月河南省济源市人民医院120例NJ患儿作为研究组,120名健康新生儿作为对照组。检测两组血清间接胆红素(IBIL)、总胆红素(TBIL)、TBA、ALB水平,采用受试者工作(ROC)曲线评价血清IBIL、TBIL、TBA、ALB对NJ类型鉴别的价值,采用Pearson分析NJ患儿血清IBIL、TBIL、TBA、ALB与NBNA评分的相关性。**结果** 血清IBIL、TBIL、TBA、ALB水平:病理性黄疸患儿>生理性黄疸患儿>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);血清IBIL、TBIL、TBA、ALB联合鉴别NJ类型的曲线下面积(AUC)为0.912,联合鉴别的最佳敏感度、特异度分别为86.84%、88.64%;生理性黄疸患儿NBNA评分高于病理性黄疸患儿,急性胆红素脑病发生率(18.18%)低于病理性黄疸患儿(38.16%),差异均有统计学意义($P<0.05$);NJ患儿血清IBIL、TBIL、TBA、ALB与NBNA评分呈负相关($P<0.05$)。**结论** NJ患儿血清IBIL、TBIL、TBA、ALB水平均与NJ患儿NBNA评分间存在负相关关系,有助于临床评估急性胆红素脑病的发生风险。

[关键词] 新生儿黄疸;胆红素;胆汁酸;白蛋白;新生儿神经行为测定评分;急性胆红素脑病

Correlation of bilirubin, bile acids, albumin levels with NBNA score in neonatal jaundice

LIU Huiqing*, KONG Gaoyuan, LI Fang, MIAO Lihong

(Department of Neonatology, People's Hospital of Jiyuan City, Henan Province, Jiyuan, Henan, China, 459000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes of bilirubin, total bile acid (TBA) and albumin (ALB) levels in neonatal jaundice (NJ) and their correlation with neonatal behavioral neurological assessment (NBNA) score. **Methods** 120 cases of children with NJ in Jiyuan People's Hospital, Henan Province, from February 2020 to December 2021 were selected as the study group and 120 healthy newborns as the control group. Serum indirect bilirubin (IBIL), total bilirubin (TBIL), TBA, and ALB levels were measured in both groups, and the value of serum IBIL, TBIL, TBA, and ALB for the identification of NJ types was evaluated using subject work (ROC) curves, and the correlation between serum IBIL, TBIL, TBA, and ALB and NBNA scores in children with NJ was analyzed by Pearson. **Results** Serum IBIL, TBIL, TBA, ALB levels: children with pathological jaundice > children with physiological jaundice > control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) of serum IBIL, TBIL, TBA, ALB combined to identify the type of NJ was 0.912, and the best sensitivity and specificity of combined identification were 86.84%, 88.64%, respectively. The NBNA score of children with physiological jaundice was higher than that of children with pathological jaundice, and the incidence of acute bilirubin encephalopathy (18.18%) was lower than that of children with pathological jaundice (38.16%). 88.64%; the NBNA scores of children with physiological jaundice were higher than those of children with pathological jaundice, and the incidence of acute bilirubin encephalopathy (18.18%) was lower than that of children with pathological jaundice (38.16%), and the dif-

基金项目:河南省卫健委的河南省医学科技攻关计划联合共建项目(2018020673)

作者单位:河南省济源市人民医院新生儿科,河南,济源 459000

*通信作者:刘会青, E-mail:1823323049@qq.com

ferences were statistically significant ($P < 0.05$). The serum IBIL, TBIL, TBA and ALB of NJ children were negatively correlated with the NBNA score ($P < 0.05$). **Conclusion** The serum levels of IBIL, TBIL, TBA and ALB in children with NJ were negatively correlated with the NBNA score in children with NJ, which was helpful for clinical assessment of the risk of acute bilirubin encephalopathy.

[KEY WORDS] Neonatal jaundice; Bilirubin; Total bile acid; Albumin; Neonatal behavioral neurological assessment score; Acute bilirubin encephalopathy

新生儿黄疸(Neonatal jaundice, NJ)可分为病理性黄疸和生理性黄疸,其中病理性黄疸随着病情加重患儿胆红素水平不断升高,可并发急性胆红素脑病,损伤患儿神经系统,表现为神经行为能力下降,严重影响患儿预后^[1-2]。胆红素的清除在肝脏完成,胆红素是反映胆汁代谢的主要指标,胆汁酸(Total bile acid, TBA)是反映肝实质损伤的重要指标,当肝脏发生功能障碍时,可引起胆红素及TBA水平升高^[3-4]。白蛋白(Albumin, ALB)几乎均由肝脏实质细胞合成,是血清中的主要蛋白质成分,当肝脏出现病变时,即使损伤较轻,也可引起ALB在血液中的含量明显上升^[5]。本研究将探究NJ患儿胆红素、TBA、ALB水平变化情况及与新生儿神经行为测定(Neonatal behavioral neurological assessment, NBNA)评分的相关性,旨在为NJ早期鉴别及治疗提供依据。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

经河南省济源市人民医院伦理委员会审批通过,选取2020年2月至2021年12月河南省济源市人民医院120例住院的NJ患儿作为研究组,根据新生儿临床表现及胆红素检测、相关实验室检查等进行诊断,若出生后24 h内现黄疸,每日血清胆红素升高超过5 mg/dL或每小时 >0.5 mg/dL,持续时间长(足月儿 >2 周,早产儿 >4 周),甚至继续加深加重或消退后重复出现或出生后1周至数周内才开始出现黄疸,均为病理性黄疸;若在出生后2~3 d出现黄疸,4~6 d达到高峰,7~10 d消退,早产儿持续时间较长,除有轻微食欲不振外,无其他临床症状,则为生理性黄疸^[6]。研究组NJ患儿中病理性黄疸组76例,生理性黄疸组44例。另选取120名健康新生儿作为对照组。两组一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

1.2 选例标准

纳入:①均为本院出生的新生儿;②自然受孕;③单胎妊娠;④母亲年龄 <35 岁;⑤父母均无艾

表1 一般资料 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

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

项目	研究组 ($n=120$)	对照组 ($n=120$)	$t/\chi^2/u$ 值	P 值
性别(男/女)	67/53	71/49	0.273	0.602
胎龄(周)	38.52 \pm 1.23	38.84 \pm 1.57	1.758	0.080
日龄(d)	7.59 \pm 2.20	8.11 \pm 2.55	1.691	0.092
出生体重(kg)	3.41 \pm 0.50	3.52 \pm 0.40	1.882	0.061
母亲妊娠期合并症(例)	12(10.00)	7(5.83)	1.429	0.232
糖尿病	9(7.50)	4(3.33)	2.033	0.154
高血压	78(65.00)	86(71.67)	1.232	0.267
分娩方式(例)	42(35.00)	34(28.33)		
自然分娩				
剖宫产				

滋病、乙型肝炎等传染性疾病;⑥新生儿日龄 <14 d;⑦患儿监护人已签署知情同意书。

排除:①先天性心脏病患儿;②先天性畸形、精神系统疾病患儿;③溶血性疾病患儿;④喂养不耐受患儿;⑤重度窒息患儿;⑥缺氧缺血性脑病患儿。

1.3 方法

指标检测:入组当天,采集新生儿外周静脉血2 mL,室温下静置2 h后以3 500 r/min转速(半径8 cm)离心处理5 min,取血清置于 -80°C 冷藏室内待检,应用万泰 WonTech™ OTA-400型全自动生化分析仪,以钒酸盐氧化法检测血清总胆红素(Total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(Direct bilirubin, DBIL)水平,试剂盒购自浙江东方基因生物制品有限公司,并计算间接胆红素(Indirect bilirubin, IBIL)水平,即 $\text{IBIL}=\text{TBIL}-\text{DBIL}$;以酶循环法检测血清TBA水平,试剂盒购自南京诺尔曼生物技术有限公司采用溴甲酚绿法检测血清ALB水平,试剂盒购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。检测操作均由专业人员严格按照试剂盒说明书进行。

NBNA^[7]评分评定:共检测20个项目,包括行为能力6项、主动和被动肌张力8项、原始反射3项、一般状态3项,每项评分有0~2分,总分0~40分,得分越低表示神经行为能力越差,得分 ≥ 36 分为正常。

急性胆红素脑病判定方法^[8]:血清胆红素水平明显增高,头颅核磁共振成像检查发现基底神经节、丘脑和内囊的影像学异常,且自动听性脑干诱发电位检查结果为不通过。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计处理, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验, 采用 Pearson 进行相关性分析, 采用采用受试者工作(ROC)曲线分析鉴别诊断价值, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 水平

研究组生理性黄疸、病理性黄疸血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 水平均高于对照组, 且研究组病理性黄疸各指标水平高于生理性黄疸, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 三组血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum ibil, TBIL, TBA and ALB levels between the 3 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IBIL ($\mu\text{mol/L}$)	TBIL ($\mu\text{mol/L}$)	TBA ($\mu\text{mol/L}$)	ALB (g/L)	
研究组	生理性黄疸组	44	127.69 \pm 20.54 ^a	160.94 \pm 27.61 ^a	13.37 \pm 3.89 ^a	30.29 \pm 5.14 ^a
	病理性黄疸组	76	204.37 \pm 23.59 ^{ab}	252.69 \pm 30.02 ^{ab}	32.69 \pm 9.31 ^{ab}	39.26 \pm 5.29 ^{ab}
对照组	120	11.84 \pm 2.58	19.14 \pm 3.65	9.14 \pm 0.65	14.37 \pm 3.12	
<i>F</i> 值		3487.941	3059.566	438.831	815.627	
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与生理性黄疸比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.2 血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 对 NJ 类型的鉴别价值

绘制血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 鉴别 NJ 类型的 ROC 曲线, 结果显示 IBIL 单独鉴别的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.808 (95% CI: 0.727~0.875)、0.813 (95% CI: 0.732~0.879)、0.755 (95% CI: 0.668~0.829)、0.822 (95% CI: 0.742~0.886), 联合鉴别的 AUC 为 0.912 (95% CI: 0.846~0.956), 联合鉴别敏感度为 86.84%、特异度为 88.64%。见图 1。

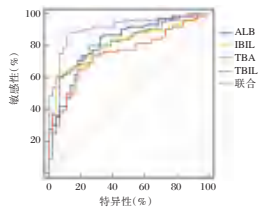


图 1 各指标单一、联合鉴别 NJ 类型的 ROC

Figure 1 roc of NJ type identified by single and joint indicators

2.3 不同类型 NJ 患儿 NBNA 评分及急性胆红素脑病发生情况

生理性黄疸 NBNA 评分高于病理性黄疸, 急性胆红素脑病发生率低于病理性黄疸, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 NJ 患儿血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 与 NBNA 评分的相关性

NJ 患儿血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 均与 NBNA 评分呈负相关 ($r = -0.598, -0.560, -0.431, -0.602, P < 0.05$)。见图 2。

表 3 不同黄疸类型新生儿 NBNA 评分及急性胆红素脑病发生情况对比 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 3 Comparison of NBNA score and acute bilirubin encephalopathy in newborns with different types of jaundice [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

组别	<i>n</i>	NBNA 评分(分)	急性胆红素脑病
生理性	44	37.62 \pm 1.07	8(18.18)
病理性	76	32.69 \pm 5.14	29(38.16)
<i>t</i> 值		6.274	5.214
<i>P</i> 值		<0.001	0.022

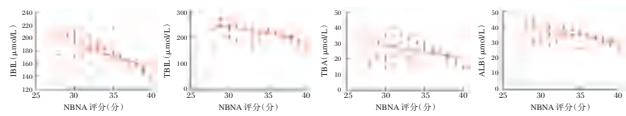


图 2 IBIL、TBIL、TBA、ALB 与 NBNA 评分相关性

Figure 2 Correlation between IBIL, TBIL, TBA, ALB and NBNA scores

3 讨论

胆红素是临床上判定黄疸的重要依据, 也是肝功能的重要指标^[9]。本研究发现, NJ 患儿血清 IBIL、TBIL 明显高于正常新生儿, 且病理性黄疸患儿的血清 IBIL、TBIL 水平升高更明显。相关研究指出, 生理性黄疸主要由胆红素生成相对较多、肝细胞对胆红素的摄取能力不足、胆红素排泄能力缺陷、肠肝循环增加等引起胆红素水平升高, 一般不需要治疗, 可在 7~10 d 消退^[10]。有报道显示, 病理性黄疸则不然, 其主要发病机制包括胆红素生成过多、肝脏胆红素代谢障碍及胆汁排泄障碍,

导致胆红素升高更明显,因此病理性黄疸患儿的血清 IBIL、TBIL 明显高于生理性黄疸患儿^[11],与本研究结果一致。病理性黄疸患儿病理因素持续存在,胆红素代谢一直处于异常状态,胆红素水平持续升高^[12]。因此针对病理性黄疸应先明确病因,通过开展针对性治疗去除病因。研究显示,TBA 作为胆汁中的一类胆烷酸,肝脏是其合成的唯一场所,而胆管则是 TBA 最为重要的排泄路径,病理性黄疸患儿存在肝细胞排泄结合胆红素障碍或胆管受阻,致使胆汁排泄障碍,体内胆汁淤积而引起血清 TBA 明显升高,而生理性黄疸则仅出现暂时性的肝内胆汁淤积,因此血清 TBA 升高不太明显^[13]。因此本研究结果中病理性黄疸患儿血清 TBA 水平明显高于生理性黄疸患儿,与上述研究结果一致。此外,肝脏在 TBA 代谢中占据着极为重要的位置,血清 TBA 水平能够直接反映出肝脏的代谢情况以及实质损伤状况,过高的血清 TBA 提示肝脏存在一定功能障碍或实质性损伤^[14]。ALB 是血浆中主要的蛋白成分,主要由肝实质细胞合成,在维持血液胶体渗透压、体内代谢物质运输中具有重要作用^[15]。本研究发现病理性黄疸患儿血清 ALB 水平明显高于生理性黄疸患儿,与曹丽琴^[16]的研究结果一致。

本研究进一步通过 ROC 曲线分析发现,血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 水平在鉴别 NJ 类型方面具有较高应用价值,尤其是各指标联合鉴别的 AUC 高达为 0.912,鉴别的最佳敏感度、特异度均达到 86%以上,有助于临床鉴别早期病理性黄疸患儿,指导早期治疗措施的开展。

NJ 患儿体内过高的胆红素可通过血液循环侵入脑部,对神经元造成毒性伤害,易引发急性胆红素脑病,降低患儿神经行为能力。NBNA 评分是临床评估 NJ 患儿神经行为能力的常用指标^[17-18]。本研究发现病理性黄疸患儿 NBNA 评分明显低于生理性黄疸患儿,且其急性胆红素脑病发生率更高,与上述报道结果一致。提示病理性黄疸患儿存在更明显的神经行为能力减退,这与其胆红素水平更高密切相关,对神经元的损伤加重,导致急性胆红素脑病发生率增加。本研究结果还发现,NJ 患儿血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 与 NBNA 评分间均存在负相关关系,因此本研究推测通过检测血清 IBIL、TBIL、TBA、ALB 水平,或将有助于临床预测急性胆红素脑病发生风险,指导针对性防治措施的制定和开展,从而改善患儿预后。

综上所述,IBIL、TBIL、TBA、ALB 在 NJ 患儿血清中呈异常高表达状态,检测上述指标水平能辅助临床鉴别病理性黄疸,且能在一定程度上反映 NJ 患儿 NBNA 评分,可能有助于临床评估急性胆红素脑病的发生风险,具有较高临床应用价值。

参考文献

- [1] Olusanya BO, Teeple S, Kassebaum NJ. The Contribution of Neonatal Jaundice to Global Child Mortality: Findings From the GBD 2016 Study[J]. *Pediatrics*, 2018, 141(2):e20171471.
- [2] 李林. 健脾祛湿退黄汤药浴结合蓝光照射对新生儿黄疸血清白蛋白与非结合胆红素的影响[J]. *四川中医*, 2019, 37(5):119-121.
- [3] 徐清泉. 前白蛋白、白蛋白、总胆红素、总胆汁酸及胆碱酯酶在肝脏疾病诊断中的应用价值[J]. *中国药物经济学*, 2017, 12(12):120-122.
- [4] 乐丹. 血清总胆汁酸在 NJ 时浓度的变化及临床意义[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(11):32-33.
- [5] 丁慧红, 王玉花, 杨一, 等. 丙种球蛋白联合光疗对 ABO 溶血患儿血清前白蛋白和总胆汁酸的影响[J]. *中国药房*, 2017, 28(35):4990-4992.
- [6] 尤登攀. 新生儿黄疸检测血清白蛋白及心肌酶谱的临床意义[J]. *中国临床医生杂志*, 2017, 45(12):106-109.
- [7] Zhu XJ, Li HY, Zhang CM. Clinical effects of Ganglioside and fructose-1, 6-diphosphate on neonatal heart and brain injuries after Asphyxia[J]. *Pak J Med Sci*, 2017, 33(5):1199-1204.
- [8] 余增渊, 孙慧清, 李明超, 等. 振幅整合脑图对新生儿急性胆红素脑病早期脑损伤及预后的价值[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2017, 20(23):54-59.
- [9] 姚雅极, 邹圣强, 胡佳民, 等. 老年肝衰竭患者预后影响因素分析及其预测模型的构建[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2021, 31(2):143-146+151.
- [10] 朱冰花, 徐鑫芬. 新生儿黄疸早期护理干预的研究进展[J]. *护理与康复*, 2019, 18(2):37-40.
- [11] 吴静. 新生儿病理性黄疸病因临床分析[J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(12):2065-2066.
- [12] 别慧玲, 郑晓云. 新生儿病理性黄疸病因分析和治疗体会[J]. *中国农村卫生*, 2018, 141(15):49-50.
- [13] 王昉, 邱秀娟, 顾敏红. 甘胆酸在新生儿高胆红素血症中的临床意义[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(13):48-49.
- [14] 张永红. 血清总胆汁酸检测在诊断肝病患者的临床价值分析[J]. *医学检验与临床*, 2017, 28(4):56-57+27.
- [15] 杨继英, 蔡琳. 新生儿黄疸患儿血清非结合胆红素及白蛋白检测的应用价值分析[J]. *实用临床医药杂志*, 2017, 21(7):89-91+98.
- [16] 曹丽琴. 血清白蛋白、非结合胆红素的检测在新生儿黄疸中的临床应用[J]. *中国现代医生*, 2015, 53(2):49-51.
- [17] 宋焕清, 宋红, 李晶晶, 等. 四磨汤联合茵栀黄口服液对新生儿黄疸患儿胆红素水平、免疫功能及 NBNA 评分的影响[J]. *世界中医药*, 2019, 14(2):209-212+217.
- [18] 邹新妍, 张丽. 血清降钙素原及超敏 C 反应蛋白检测在新生儿感染性黄疸诊断中的临床价值[J]. *实验与检验医学*, 2018, 36(2):204-206.

重症多发性创伤患者 Mb、HSP72 及 PCT 水平与预后的关系

李景周* 陈培莉

[摘要] **目的** 探讨重症多发性创伤患者肌红蛋白(Mb)、热休克蛋白 72(HSP72)及降钙素原(PCT)水平与预后的关系。**方法** 选取2019年9月至2020年9月商丘市第一人民医院收治的157例重症多发性创伤患者作为观察组,选取同期本院157例健康体检者作为对照组,比较两组Mb、HSP72及PCT。对观察组随访3个月,记录死亡率、生存率。分析不同预后状态的患者Mb、HSP72及PCT水平,绘制受试者工作特征曲线(ROC),评估联合Mb、HSP72及PCT检测对重症多发性创伤患者预后死亡的预测价值。**结果** 观察组Mb、PCT水平高于对照组,HSP72低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。146例患者中,生存108例(73.97%),死亡38例(26.03%)。生存组Mb、PCT低于死亡组,HSP72高于死亡组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Mb及PCT异常升高、HSP72异常降低是影响重症多发性创伤患者预后死亡的危险因素($P<0.05$)。联合Mb、HSP72及PCT检测预测重症多发性创伤患者预后死亡灵敏度(0.911)、特异度(0.927)、AUC(0.956)均高于单一指标检测($P<0.05$)。**结论** 临床对重症多发性创伤患者行Mb+HSP72+PCT三指标联合检测有助于评估患者预后。

[关键词] 重症多发性创伤; Mb; HSP72; PCT

Relationship between Mb, HSP72 and PCT levels and prognosis in patients with severe multiple trauma

LI Jingzhou*, CHEN Peili

(Department of Critical Care Medicine, the First People's Hospital of Shangqiu City, Shangqiu, Henan, China, 476100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the levels of myoglobin (Mb), heat shock protein 72 (HSP72) and procalcitonin (PCT) and prognosis in patients with severe multiple trauma. **Methods** 57 patients with severe multiple trauma admitted to Shangqiu First People's Hospital from September 2019 to September 2020 were selected as the observation group, and 157 healthy physical examination people during the same period were selected as the control group, Mb, HSP72 and PCT between the two groups were compared. The observation group was followed up for 3 months, and the mortality and survival rate were recorded. The levels of Mb, HSP72 and PCT in patients with different prognostic status were analyzed, the receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn, and the predictive value of combined Mb, HSP72 and PCT detection on the prognosis and death of severe multiple trauma patients was evaluated. **Results** The Mb and PCT levels in the observation group were higher than those in the control group, and the HSP72 was lower than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Among 146 patients, 108 survived (73.97%) and 38 died (26.03%). The levels of Mb and PCT in the survival group were lower than those in the death group, and the HSP72 was higher than that in the death group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Abnormal increase of Mb and PCT and abnormal decrease of

基金项目:河南省医学科技攻关项目(LHGJ201914613)

作者单位:商丘市第一人民医院重症医学科,河南,商丘 476100

*通信作者:李景周, E-mail:15939091969@163.com

HSP72 were risk factors affecting the prognosis and death of patients with severe multiple trauma ($P < 0.05$). The sensitivity (0.911), specificity (0.927), and AUC (0.956) of combined Mb, HSP72 and PCT detection to predict the prognosis of severe multiple trauma patients were higher than the single indicator detection ($P < 0.05$). **Conclusion** Clinically, the combined detection of Mb+HSP72+PCT in patients with severe multiple trauma is helpful to assess the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Severe multiple trauma; Mb; HSP72; PCT

随着经济的发展,交通意外伤、工伤、意外灾难性损伤发生率逐年增高,重症创伤已成为危害公众健康的一大公害^[1]。特别是重症多发性创伤患者,因病情重、伤情复杂,患者病死率较高,改善患者预后是创伤医学的一个重要课题。近年研究发现,重症多发性创伤患者因肌肉组织细胞发生损伤,会引起肌红蛋白(Myoglobin, Mb)释放,导致机体产生炎性反应,影响患者预后^[2]。热休克蛋白72(heat shock protein 72, HSP72)是临床研究中较早发现的与创伤耐受有关的高度保守的蛋白质,可作为机体发生早期损害的标志物^[3]。降钙素原(Procalcitonin, PCT)主要由甲状腺滤泡旁细胞产生,研究发现,当机体发生全身炎症性反应或出现多脏器功能衰竭时,PCT水平会显著升高^[4]。本研究旨在探讨重症创伤患者Mb、HSP72及PCT水平与预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年9月至2020年9月商丘市第一人民医院收治的146例重症多发性创伤患者作为观察组。纳入标准:①临床资料、影像资料无缺损;②均符合重症多发性创伤诊断标准^[5];③无既往手术、创伤史。排除标准:①精神障碍者、阿尔兹海默症者;②合并心、肝、肾等重要器官严重疾病者;③血液系统疾病者。

选取同期本院157例健康体检者作为对照组。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。本研究经院医学伦理委员会批准,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 检测方法

所有对象均在医生协助下完善相关检查,观察组于入院后第1d、对照组为体检当日抽取5 mL空腹静脉血,3 000 r/min($r=10$ cm)离心12 min后取上层血清,置于 -80°C 超低温冰箱中保存待检。使用北京乐普LEPU QuantGold免疫定量分析仪,

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

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

组别	n	性别		平均年龄(岁)
		男	女	
观察组	146	89(60.96)	57(39.04)	49.58±10.26
对照组	157	94(59.87)	63(40.13)	50.12±10.41
t/ χ^2 值			0.037	0.454
P值			0.847	0.650

采用免疫荧光层析法测定Mb、PCT水平,试剂盒由北京中科富邦医疗设备有限公司提供。采用酶联免疫吸附法检测HSP72水平,试剂盒由武汉菲恩生物科技有限公司提供。Mb正常水平:35.4~78.6 $\mu\text{g/L}$, >78.6 $\mu\text{g/L}$ 视为异常升高^[6];HSP72正常水平:5.47~12.3 ng/mL, >12.3 ng/mL视为异常升高^[7];PCT正常水平:0.31~0.69 ng/mL, >0.69 ng/mL视为异常升高^[8]。

1.3 随访

以电话随访或门诊复查的方式对观察组随访3个月(随访截止时间2020年12月),记录预后生存、死亡率。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计处理,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验;Logistics回归模型分析影响重症多发性创伤患者预后的相关危险因素;采用ROC评估重症多发性创伤患者预后死亡的预测价值,计算曲线下面积(area under curve, AUC),AUC值越高,诊断价值越高;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组Mb、HSP72及PCT比较

观察组Mb、PCT水平高于对照组,HSP72低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 不同预后的重症多发性创伤患者Mb、HSP72及PCT比较

146例患者中,生存108例(73.97%),死亡38

表2 两组Mb、HSP72及PCT比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Mb, HSP72 and telomere length between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Mb(μg/L)	HSP72(ng/mL)	PCT(ng/mL)
观察组	146	167.06±19.35	1.42±0.40	2.11±0.26
对照组	157	42.15±8.41	7.25±1.10	0.44±0.09
t值		73.747	21.575	18.634
P值		<0.001	<0.001	<0.001

例(26.03%)。生存组Mb、PCT低于死亡组，HSP72高于死亡组，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同预后的重症多发性创伤患者Mb、HSP72及PCT比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of Mb, HSP72 and telomere length in severe multiple trauma patients with different prognosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Mb(μg/L)	HSP72(ng/mL)	PCT(ng/mL)
生存	108	157.28±17.45	1.73±0.42	1.59±0.21
死亡	38	194.86±25.80	0.54±0.34	3.59±0.40
t值		9.996	15.735	39.012
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 影响重症多发性创伤患者预后死亡的危险因素分析

Mb及PCT异常升高、HSP72异常降低是影响重症多发性创伤患者预后死亡的危险因素($P < 0.05$)。见表4。

2.4 联合Mb、HSP72及PCT检测对重症多发性创伤患者预后死亡的预测价值分析

联合Mb、HSP72及PCT检测预测重症多发性创伤患者预后死亡灵敏度(0.911)、特异度(0.927)、AUC(0.956)均高于单一指标检测($P < 0.05$)。见表5、图1。

3 讨论

近年我国城市建设、交通均在快速发展，重症多发性创伤患者数量显著升高，重症多发性创伤

表5 联合Mb、HSP72及PCT检测对重症多发性创伤患者预后死亡的预测价值分析

Table 5 Combining Mb, HSP72 and telomere length detection to predict the prognostic value of death in patients with severe multiple trauma

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95%CI	约登指数	P值
Mb	0.809	0.830	0.876	0.793~0.958	0.639	<0.001
HSP72	0.825	0.849	0.879	0.814~0.944	0.674	<0.001
PCT	0.845	0.863	0.862	0.787~0.938	0.708	<0.001
三组者联合检测	0.911	0.927	0.956	0.923~0.990	0.838	<0.001

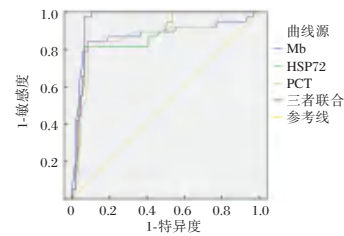


图1 Mb、HSP72及PCT联合检测对重症多发性创伤患者预后死亡的预测价值分析

Figure 1 Combined detection of Mb, HSP72 and telomere length was used to predict the prognostic value of death in patients with severe multiple trauma

日益成为危害公众健康的一大原因^[9]。如何提高重症多发性创伤患者的成功救治率已成为急救医学及创伤医学的一个重要课题。

Mb是一种低分子亚铁血红素蛋白，可与氧发生可逆性结合^[10]。健康人群血清中Mb的含量较低，在机体发生平滑肌受损、肌细胞膜结构破坏等病理过程时，Mb在血液中的浓度会急剧上升，Mb可作为监测重症多发性创伤患者病情的指标。PCT是一种由116个氨基酸构成的蛋白质，主要存在于外周血白细胞和肝组织中，若机体发生多脏器功能衰竭、严重休克及全身性炎症反应综合征等严重病理反应时，PCT在血液中浓度会在12~48 h内达到峰值^[11]。既往研究指出，多发性创伤患者

表4 影响重症多发性创伤患者预后死亡的危险因素分析

Table 4 Analysis of risk factors affecting the prognosis and death of patients with severe multiple trauma

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95% CI	P值	OR值	95% CI	P值
年龄(岁)(≥65 vs <65)	1.285	1.159~1.671	0.012	1.325	0.257~1.824	0.596
性别(男 vs 女)	1.265	1.146~1.793	0.904			
合并高血压(是 vs 否)	1.424	1.321~1.882	0.871			
合并糖尿病(是 vs 否)	1.254	1.121~1.824	0.007	1.324	0.125~1.856	0.716
Mb(异常升高 vs 正常水平)	1.369	1.285~1.853	0.004	1.474	1.269~1.859	0.028
HSP72(异常降低 vs 正常水平)	1.420	1.268~1.856	0.019	1.254	1.125~1.837	0.044
PCT(异常升高 vs 正常水平)	1.454	1.369~1.836	0.011	1.369	1.254~1.823	0.032

多伴随着感染、炎症反应,患者血清中PCT水平会显著增高,加重患者预后死亡的风险^[12]。发生重症多发性创伤时,机体将经受创伤本身、缺血缺氧、再灌注损伤、早期炎症反应及一些细胞因子等各种因素的作用,并以多种形式发挥作用,这些反应可使基因转录活性增强,抑制HSP72等新生蛋白产物水平^[13]。本研究结果提示Mb、HSP72及PCT在机体发生重症多发性创伤的过程中发生了变化。

据以往研究报道,在机体出现创伤的过程中,血清学指标将发生改变,早期创伤感染严重者发生预后不良的风险会更高^[14]。因此,血清学指标在预测创伤性疾病预后中占有重要地位。本研究随访结果显示:生存108例(73.97%),死亡38例(26.03%);生存组Mb、PCT低于死亡组,HSP72高于死亡组。这一研究结果与Pettinger等^[15]所得结果相符。PCT等细胞因子可抑制局部细胞活性,加重患者病情,PCT水平越高,重症多发性创伤患者机体炎症水平越高,创伤感染更严重,因而预后死亡风险更高。在重症多发性创伤病理过程中,机体细胞均有Mb表达,并通过分子伴侣、抗凋亡及抗炎机制发挥作用,从而加重重症多发性创伤患者患者预后死亡的几率。而HSP72能发挥促进超氧化物歧化酶修复,加快氧自由基的清除,提高机体抗氧化功能恢复的作用,HSP72水平越低,重症多发性创伤患者预后越差。本研究Logistics回归模型分析结果显示,Mb及PCT异常升高、HSP72异常降低是影响重症多发性创伤患者预后死亡的危险因素,证实Mb、HSP72及PCT表达在重症多发性创伤患者预后死亡的评估中作用重大。进一步ROC曲线结果显示:Mb、HSP72及PCT联合检测预测重症多发性创伤患者预后死亡灵敏度、特异度、AUC均高于单一指标检测,也说明加强Mb、PCT、HSP72联合检测对重症多发性创伤患者预后死亡具有较高的预测价值。

综上所述,临床通过对重症多发性创伤患者进行Mb+HSP72+PCT三者联合检测有助于评估患者预后状态。

参考文献

[1] 魏巍,陈荣,张伟,等.损伤控制理论对严重多发性骨关节创伤患者凝血功能及术后并发症发生率的影响[J].内蒙古医科大学学报,2020,42(3):252-256.

- [2] Tomoda A, Takizawa T, Tsuji A, et al. Kinetic analysis of myoglobin autoxidation by isoelectric-focusing electrophoresis [J]. *Biochemical J*, 2019, 38(1): 181-185.
- [3] 张雪,闫欢欢,艾华,等.热休克蛋白反应对青光眼模型大鼠RGCs中HSP72生成的影响及其作用机制研究[J].临床和实验医学杂志,2020,19(5):472-475.
- [4] Welendorf CR, Nicoletti CF, Noronha NY, et al. The Impact of Gastric Bypass on Telomere Length and Shelterin Complex Gene Expression: 6 Months Prospective Study [J]. *Obes Surg*, 2021, 31(6): 2599-2606.
- [5] 柯迪,范腾阳,喻安永,等.多发伤的诊断与救治模式研究进展[J].海南医学,2020,31(4):117-120.
- [6] Tse W, Whitmore N, Cheesman MR, et al. Influence of the heme distal pocket on nitrite binding orientation and reactivity in Sperm Whale myoglobin [J]. *Biochem J*, 2021, 478(4): 469-472.
- [7] Hayat B, Kapuganti RS, Padhy B, et al. Epigenetic silencing of heat shock protein 70 through DNA hypermethylation in pseudoexfoliation syndrome and glaucoma [J]. *J Hum Genet*, 2020, 65(6):634-637.
- [8] O'Riordan F, Shiely F, Byrne S, et al. A qualitative process evaluation of the introduction of procalcitonin testing as an antimicrobial stewardship intervention [J]. *Int J Clin Pharm*, 2021, 43(3):532-540.
- [9] 林颖,刘春光,刘良明,等.重症成人多发伤患者不同创伤评分的比较研究[J].创伤外科杂志,2020,22(11):804-808.
- [10] 胡晓兰,蒋廷旺,殷彝.心肌损伤标志物阳性患者中心肌标志物,白细胞计数与血小板分布宽度联合检测的诊断价值研究[J].海南医学院学报,2019,25(1):16-19.
- [11] 施巍,李星晶,何牡丹,等.创伤性肺损伤患者外周血PCT, HMGB-1, ICAM-1水平及对预后的预测价值[J].天津医药,2021,49(11):1179-1183.
- [12] 杨玉梅,金晓辉,张亚丽.血清降钙素原对严重多发伤患者发生MODS的预测价值[J].中国现代普通外科进展,2020,23(11):914-916.
- [13] Pan Z, Wu Q, Xie Z, et al. Upregulation of HSP72 attenuates tendon adhesion by regulating fibroblast proliferation and collagen production via blockade of the STAT3 signaling pathway [J]. *Cell Signall*, 2020, 71:109606.
- [14] 周伟,罗亮,向勇,等. CGRP, EGF及TGF- β 1与创伤性骨折患者应激状态及骨折愈合的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(7):1059-1062.
- [14] 喻斌,曾孟晖,徐寅,等.肝胃百合汤对慢性应激与幽门螺杆菌双重损伤因素模型小鼠胃黏膜组织HSP70、NF- κ B蛋白表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(9):326-330.
- [15] Pettinger J, Carter M, Jones K, et al. Kinetic Optimization of Lysine-Targeting Covalent Inhibitors of HSP72 [J]. *J Med Chem*, 2019, 31(12):562-566.

非布司他治疗2型糖尿病伴高尿酸血症患者对胰岛素抵抗及 γ -GGT、TyG表达的影响

李梓* 李丹丹 王尹

[摘要] **目的** 分析2型糖尿病伴高尿酸血症患者在服用非布司他进行治疗后,对其胰岛素抵抗及 γ -GGT、TyG表达的影响。**方法** 采用随机、双盲实验设计方法选取100例蚌埠市第一人民医院接受2型糖尿病伴高尿酸血症治疗的患者,并将100例患者随机分为对照组50例,观察组50例。对照组在常规治疗的基础上给予相关药物和胰岛素治疗,观察组在对照组的基础上加用非布司他进行治疗。采用全自动生化分析仪检测 γ -谷氨酰转氨酶(γ -GGT)水平。三酰甘油-葡萄糖(TyG)指数计算公式为:[TyG指数=(TG×FBG)/2],这一公式来体现潜在对胰岛素抵抗现象。对比两组治疗效果。**结果** 治疗后,与对照组(BUN、Scr、FBG、BUA、CRP、FINS、TC、TG、LDL-C、HOMA-IR、 γ -GGT、TyG)相比,观察组水平降低,差异有统计学意义($t=25.754, 22.722, 5.331, 9.459, 10.487, 12.662, 21.894, 31.682, 18.154, 16.953, 5.081, 9.079, P<0.001$)。治疗后,与对照组(eGFR、HDL-C)相比,观察组水平升高,差异有统计学意义($t=3.707, 20.591, P<0.001$)。观察组总有效率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=0.706, P<0.001$)。**结论** 对观察组患者采用非布司他进行治疗,能够有效恢复患者肾功能、降低空腹血糖、改善 γ -GGT、TyG水平和胰岛素抵抗情况,整体疗效显著。

[关键词] 非布司他; 2型糖尿病伴高尿酸血症; 胰岛素抵抗; γ -谷氨酰转氨酶; 甘油三酯-葡萄糖指数

Effects of febuxostat in the treatment of type 2 diabetes with hyperuricemia on insulin resistance and the expression of γ -GGT and TyG

LI Zi*, LI Dandan, WANG Yin

(Department of Endocrinology, Bengbu First People's Hospital, Bengbu, Anhui, China, 233000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of febuxostat on insulin resistance and the expression of γ -GGT and TyG in patients with type 2 diabetes mellitus with hyperuricemia. **Methods** A randomized, double-blind experimental design method was used to select 100 patients with type 2 diabetes mellitus with hyperuricemia in the First People's Hospital of Bengbu City, and divide the 100 patients into the control group with 50 cases and the observation group with 50 cases by random number table method. The control group was given related drugs and insulin on the basis of conventional treatment, and the observation group was given febuxostat on the basis of the control group. The level of γ -glutamate transferase (γ -GGT) was detected by an automatic biochemical analyzer. The formula for calculating the triacylglycerol-glucose (TyG) index is: [TyG index = (TG×FBG)/2], which reflects the potential for insulin resistance. The treatment effects of the two groups were compared. **Results** After treatment, compared with the control group (BUN, Scr, FBG, BUA, CRP, FINS, TC, TG, LDL-C, HOMA-IR, γ -GGT/L, TyG), the levels in the observation group decreased, the difference was statistically significant ($t=25.754, 22.722, 5.331, 9.459, 10.487, 12.662, 21.894, 31.682,$

基金项目:安徽省教育厅省属本科院校公共卫生协同创新项目(GXXT-2020-021)

作者单位:蚌埠市第一人民医院内分泌科,安徽,蚌埠 233000

*通信作者:李梓, E-mail:lizijs@163.com

18.154, 16.953, 5.081, 9.079, $P < 0.001$). After treatment, compared with the control group (eGFR, HDL-C), the levels in the observation group increased, and the difference was statistically significant ($t = 3.707, 20.591, P < 0.001$). The total effective rate in the observation group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 0.706, P < 0.001$). **Conclusion** The patients in the observation group were treated with febuxostat, which could effectively restore the renal function, reduce the fasting blood glucose, improve the levels of γ -GGT, TyG and insulin resistance, and the overall curative effect was significant.

[KEY WORDS] Febuxostat; Type 2 diabetes with hyperuricemia; Insulin resistance; Gamma-Glutamate Transferase; Triglyceride-glucose index

2型糖尿病属于一种慢性代谢疾病,发病原因是因为胰岛素分泌出现异常,导致其分泌不足,产生胰岛素抵抗,以此形成血糖水平升高^[1-2]。据相关研究指出,高尿酸血症在2型糖尿病中发病率较高,而患者长时间处于高尿酸环境下,会对患者肾脏产生较大影响。非布司他属于新型黄嘌呤氧化酶抑制剂,是临床治疗高尿酸血症的常用药,副作用小,能够有效保护患者肾脏,降低肾脏损伤^[3]。本研究通过对2型糖尿病伴高尿酸血症患者进行非布司他治疗,观察其患者临床治疗效果。

1 材料与方法

1.1 一般材料

采用随机、双盲实验设计方法选取2019年1月到2022年1月100例在蚌埠市第一人民医院接受2型糖尿病伴高尿酸血症治疗的患者(采用 $n = [(z_{\alpha} + z_{\beta})\sigma/\delta]^2$ 来对样本含量进行估算),随机分为对照组50例,观察组50例。两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。见表1。

纳入标准:①符合中华医学会糖尿病学分会对2型糖尿病的诊断指南^[4],且符合中华医学会对高尿酸血症的诊断指南^[5],患者病历资料齐全;②患者依从性良好。排除标准:①1型糖尿病患者;②自身存在免疫性疾病者;③合并肿瘤疾病者;④孕妇以及哺乳期者;⑤患者及家属均知晓本研究并签署知情同意书,经医院伦理委员会批准通过,伦理委员批准号:(2019)年伦审(002)号。

1.2 治疗方法

给予两组患者低嘌呤糖尿病饮食、运动治疗、相关糖尿病健康知识宣传教育等常规治疗。对照组:使用二甲双胍、达格列净、胰岛素等药物,并监测空腹血糖、三餐后2小时血糖、睡前血糖,依照病情对降糖药物进行调整。观察组:在对照组的基础上给予患者非布司他(生产企业:江苏万邦生化医药股份有限公司,批准文号:国药准字H20130058,规格:40 mg/片)进行临床治疗,早饭后进行口服,40 mg/次,1次/d。两组均进行治疗3月。

1.3 观察指标及评价标准

1.3.1 全自动生化分析仪检测肾功能、血脂水平、 γ -谷氨酸转移酶水平

清晨7时,对患者进行其空腹静脉血抽取,抽取量为5 mL。使用离心机(规格型号:中科中加SC3616)离心处理10 min,在进行离心处理时,其中离心半径为10 cm,离心转速为2 500 r/min。使用全自动生化分析仪(美国贝克曼公司,型号:AU5821)检测BUN、Scr、BUA、TC、TG、HDL-C、LDL-C、 γ -GGT水平,记录检测前后数据。

1.3.2 空腹血糖水平检测

通过葡萄糖氧化酶法检测FBG水平,将所采集患者的血清置于无菌试管中,待血清凝固后,进行血清分离,送至检验室进行检验,记录FBG水平。

1.3.3 检测CRP水平

采用酶联免疫吸附试验法检测CRP水平。使

表1 两组一般资料对比($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	性别(男女)	年龄(岁)	病程(年)	BMI(kg/m ²)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)
对照组	50	35/15	59.42±14.62	9.32±5.14	26.45±7.46	130.21±15.67	81.34±11.24
观察组	50	38/12	57.41±14.35	9.52±5.23	25.34±6.21	131.11±16.34	80.26±10.37
χ^2/t 值		0.457	0.499	0.840	0.809	0.281	0.499
P值		0.499	0.619	0.403	0.421	0.779	0.619

用酶标分析仪(深圳市国家生物技术有限公司,型号:Aristo)450 nm处测吸光值,计算CRP水平。具体步骤参考说明书进行。

1.3.4 检测FINS水平

采用全自动化学发光免疫分析系统(深圳新产业MAGLUMI X8)检测FINS水平,并记录数据。

1.3.5 肾小球滤过率

采用肾脏病饮食改良公式(MDRD)计算eGFR^[6]。公式:eGFR(mL/min/1.73 m²)=30849×Scr^{-1.154}×年龄^{-0.203}×性别系数(男性系数为1.0,女性为0.742)。

1.3.6 胰岛素抵抗指数、TyG指数判定

HOMA-IR的计算公式^[7]为:[HOMA-IR=(FBG×FINS)/22.5],HOMA-IR>2.5则代表存在胰岛素抵抗。TyG指数^[8]计算公式为:[TyG指数=(TG×FBG)/2],这一公式属于一个潜在对胰岛素抵抗现象进行判断的工具。通过HOMA-IR、TyG的结果能够对患者机体内胰岛素抵抗情况进行判定,进而判定HOMA-IR、TyG与2型糖尿病伴高尿酸血症的关系。

1.3.7 临床疗效评价^[9]

显效:患者临床症状消失,肾功能、血脂水平恢复正常,其余相关指标均得到显著改善;有效:患者症状得到有效改善,肾功能、血脂水平,以及其余相关指标水平均得到有效恢复;无效:患者症状未消失,肾功能、血脂水平,以及相关指标水平

均未得到改善。总有效率=(显效+有效)/总例数×100%^[10]。

1.3.8 不良反应

统计出在治疗过程中所出现的一些不良症状包括:腹泻、恶心、皮肤瘙痒、泌尿生殖道感染等。

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行分析处理。应用Kolmogorov-Smirnov检验数据是否符合正态分布,符合正态分布采用($\bar{x} \pm s$)描述,levene法进行方差齐性检验,两组间比较采用独立样本t检验,组内比较采用配对t检验,计数资料用n(%)描述,行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组肾功能、空腹血糖、肾小球滤过率水平比较

治疗前,两组患者BUN、Scr、FBG、eGFR水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,与对照组相比,观察组BUN、FBG、Scr水平降低,eGFR水平升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 两组血生化指标比较

治疗前,两组患者BUA、CRP、FINS水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,与对照组相比,观察组BUA、CRP、FINS水平降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表2 两组肾功能、空腹血糖、肾小球滤过率水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of renal function, fasting blood glucose and glomerular filtration rate between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN(mmol/L)		Scr(μ mol/L)		FBG(mmol/L)		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
对照组	50	6.95±0.62	5.48±0.54 ^a	142.18±13.45	122.85±8.73 ^a	7.05±1.37	6.01±1.23 ^a	49.81±11.18	46.57±11.86 ^a
观察组	50	7.02±0.64	3.03±0.40 ^a	141.69±12.74	85.74±7.56 ^a	7.34±1.59	4.92±0.76 ^a	50.96±13.68	56.43±14.61 ^a
t值		0.556	25.754	0.187	22.722	0.977	5.331	0.460	3.707
P值		0.580	0.001	0.852	0.001	0.331	0.001	0.646	0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组血生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of blood biochemical indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUA(μ mol/L)		CRP(mg/L)		FINS(mU/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	50	557.12±49.34	351.34±26.46 ^a	11.94±2.35	8.19±1.24 ^a	14.85±2.74	13.64±1.95 ^a
观察组	50	568.67±53.42	307.56±19.26 ^a	12.06±2.42	5.44±1.38 ^a	15.42±2.95	9.52±1.02 ^a
t值		1.123	9.459	0.252	10.487	1.001	12.662
P值		0.264	0.001	0.802	0.001	0.319	0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组血脂水平比较

治疗前,两组患者 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,与对照组相比,观察组 TC、TG、LDL-C 水平降低, HDL-C 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.4 两组胰岛素抵抗指数、 γ -谷氨酰转氨酶;三酰甘油-葡萄糖指数水平比较

治疗前,两组患者 HOMA-IR、 γ -GGT、TyG 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,与对照组相比,观察组 HOMA-IR、 γ -GGT、TyG 水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

表 4 两组血脂水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of blood lipid levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TC(mmol/L)		TG(mmol/L)		HDL-C(mmol/L)		LDL-C(mmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	50	6.14±1.38	5.07±0.59 ^a	3.04±0.41	2.94±0.40 ^a	2.03±0.28	3.15±0.18 ^a	4.05±0.59	3.68±0.50 ^a
观察组	50	6.07±1.29	3.11±0.23 ^a	2.97±0.39	1.01±0.16 ^a	1.99±0.20	4.67±0.49 ^a	3.98±0.52	2.34±0.15 ^a
t 值		0.262	21.894	0.875	31.682	0.822	20.591	0.629	18.154
P 值		0.794	0.001	0.384	0.001	0.413	0.001	0.531	0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

表 5 两组胰岛素抵抗、 γ -谷氨酰转氨酶;三酰甘油-葡萄糖指数水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Comparison of insulin resistance, γ -glutamate transferase; triacylglycerol-glucose index levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HOMA-IR		γ -GGT(U/L)		TyG	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	50	3.12±0.64	2.90±0.54 ^a	78.12±16.10	43.09±12.65 ^a	6.17±0.87	4.83±0.75 ^a
观察组	50	3.20±0.67	1.26±0.42 ^a	77.99±15.76	31.36±10.32 ^a	5.87±0.95	3.72±0.43 ^a
t 值		0.611	16.953	0.050	5.081	1.647	9.079
P 值		0.543	0.001	0.960	0.001	0.103	0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.5 两组临床治疗效果比较

观察组临床治疗有效率高于对照组临床治疗有效率,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 6。

表 6 两组临床治疗效果比较 [$n(\%)$]

Table 6 Comparison of clinical treatment effects between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
对照组	50	16(32.00)	19(38.00)	15(30.00)	35(70.00)
观察组	50	25(50.00)	21(42.00)	4(8.00)	46(92.00)
χ^2 值					7.862
P 值					0.005

2.6 两组不良反应情况对比

与对照组比较,观察组的不良反应发生率略高,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 7。

表 7 两组不良反应情况对比 [$n(\%)$]

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

组别	n	腹泻	恶心	皮肤瘙痒	泌尿生殖道感染	总不良反应率
对照组	50	2(4.00)	1(2.00)	1(2.00)	2(4.00)	6(12.00)
观察组	50	3(6.00)	2(4.00)	2(4.00)	2(4.00)	9(18.00)
χ^2 值						0.706
P 值						0.401

3 讨论

2 型糖尿病为内分泌科常见病,高尿酸血症为 2 型糖尿病中的常发病症,发病率较高。非布司他为新型黄嘌呤氧化酶抑制剂,在治疗中能有效改善患者病情,保护患者肾脏,降低肾脏损伤,其临床治疗效果显著^[11]。在服用后有轻微恶心呕吐、腹泻、皮疹、泌尿生殖道感染等不良反应,对肠胃道产生刺激,出现恶心呕吐、腹泻,剂量减少能够有效减轻。皮疹为患者进行服药后机体因药物原因导致皮肤黏膜炎症发生,可服用盐酸西替利嗪片等抗过敏药物,或补充维生素 C,保持皮肤清洁。泌尿生殖道感染可能因为达格列净会引起尿中排糖增加,增加泌尿生殖道感染机率,应立即停止服药,并服用抗感染消炎药物来缓解^[9]。

BUN、Scr 为反映肾功能是否正常的重要指标。eGFR 是对肾小球滤过率进行体现。本研究结果显示,使用非布司他能降低 2 型糖尿病伴高尿酸血症中的 BUN、FBG、Scr 水平。据相关研究指出^[12],糖尿病高尿酸血症不仅累及肾小球,还会累

及肾小管间质结构,使肾功能恶化,降低BUN、Scr水平,与本研究结果一致。表明采用非布司他治疗后,能改善2型糖尿病伴高尿酸血症患者的肾功能,降低空腹血糖水平,加速肾小球滤过率,减轻患者病症情况。

BUA属于嘌呤代谢物,在高尿酸血症中状态异常。CRP为非特异性炎症标志物。FINS为空腹胰岛素水平^[13]。本研究结果显示,使用非布司他进行治疗,能够降低BUA、CRP、FINS水平。据相关研究指出^[14],当2型糖尿病伴高尿酸血症病症严重时,则伴随着BUA、CRP、FINS水平的升高,尿酸升高后,尿酸盐结晶可能在血管壁沉淀,对血管的内膜带来损害,从而导致炎症反应。造成BUA、CRP、FINS水平升高,与本研究结果一致。表明采用非布司他进行治疗,能够降低患者BUA水平,减轻机体微炎症反映,降低FINS水平。

TC、TG、HDL-C、LDL-C为常用检测血脂水平异常的指标。本研究结果显示,使用非布司他进行治疗,能够降低TC、TG、LDL-C水平,升高HDL-C水平。相关研究证实^[15],非布司他能够分解血脂异常情况,提升代谢酶的活性,从而改善机体血脂水平,与本研究结果一致。表明采用非布司他以及所进行的胰岛素基础治疗,对患者进行联合治疗,能够改善血脂水平,而对糖脂代谢的水平的改善,其胰岛素抵抗在其中起到关键性作用。

BUA水平的升高会诱发糖耐量的异常,造成胰岛素抵抗的升高。而HOMA-IR水平是由FBG和FINS的水平进行计算得来。 γ -GGT为膜结合性糖蛋白,具有消化、循环代谢作用。本次研究结果显示,使用非布司他进行治疗,HOMA-IR、 γ -GGT、TyG水平降低。相关研究指出^[16],2型糖尿病伴高尿酸血症发病风险随着HOMA-IR、TyG指数的升高而使病情进一步发展。HOMA-IR、 γ -GGT、TyG水平的升高,与病症的发生、发展具有直接关系,与本研究结果一致。表明采用非布司他进行治疗,能够改善患者胰岛素抵抗,降低 γ -GGT、TyG水平。

综上所述,对患者采用非布司他进行治疗,能够有效恢复2型糖尿病伴高尿酸血症患者的肾功能,降低空腹血糖水平、高尿酸水平、血脂水平以及 γ -GGT和TyG水平,有效改善患者胰岛素抵抗

情况,整体疗效显著,为该疾病的临床治疗提供有效依据。

参考文献

- [1] 杨雪,陈国芳,刘超. 逆转2型糖尿病的现状与展望[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(7):666-672.
- [2] Di Vincenzo A, Bettini S, Russo L, et al. Renal structure in type 2 diabetes: facts and misconceptions [J]. J Nephrol, 2020, 33(5):901-907.
- [3] 梁彦,冯苗苗,刘欢. 非布司他治疗2型糖尿病肾病伴高尿酸血症疗效观察[J]. 海南医学, 2019, 30(15):1928-1930.
- [4] 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]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4):315-409.
- [5] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1):1-13.
- [6] 赵兴波,曹宁,李江,等. 利用肾脏病饮食改良(MDRD)简化公式估算住院患者的肾功能状况[J]. 中日友好医院学报, 2018, 22(1):20-23.
- [7] 何立芳,阎双缓,李宏山,等. 别嘌呤醇对伴高尿酸血症糖尿病肾病患者血尿酸及尿蛋白排泄率的影响[J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(6):649-652.
- [8] 杨清明,李萌,王春,等. 别嘌呤醇对伴高尿酸血症糖尿病肾病患者血尿酸及尿蛋白排泄率的影响[J]. 健康必读, 2019(12):228.
- [9] 邱杰山,周子英,张文华,等. 2型糖尿病患者高尿酸血症与血管内皮细胞功能损伤关系的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(18):2267-2271.
- [10] 商雪莹,邓霖,宋雨凌,等. 苯溴马隆与非布司他在治疗2型糖尿病伴高尿酸血症的获益及安全性[J]. 实用药物与临床, 2017, 20(4):402-405.
- [11] 王育苗,赵静,李玥. 达格列净致不良反应文献分析及思考[J]. 中国全科医学, 2020, 23(29):3649-3654+3666.
- [12] 刘颖丽,邵国喜. 高尿酸血症对老年2型糖尿病患者胰岛素抵抗和尿蛋白水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(14):2949-2952.
- [13] 魏巧燕,张玲娟. 苯溴马隆对2型糖尿病合并高尿酸血症患者降尿酸作用及对炎症因子水平影响分析[J]. 糖尿病新世界, 2021, 24(1):100-102.
- [14] 张秋菊,吴瑞,王竹风,等. 加减大柴胡汤干预肝胃郁热型2型糖尿病合并高尿酸血症的临床研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(5):478-482.
- [15] 张秋菊,王竹风,秦莉,等. 2型糖尿病病人合并高尿酸血症相关因素分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2020, 45(6):774-776.
- [16] 陈涛,涂梅,黄建青,等. 福建非沿海地区初诊2型糖尿病合并原发性高血压老年患者血清尿酸水平与胰岛素抵抗的相关性[J]. 中华高血压杂志, 2021, 29(1):62-67.

女性外阴尖锐湿疣患者宫颈 HPV 与解脲支原体、沙眼衣原体、淋球菌合并感染情况分析

张军¹ 王夕文² 刘汉文³ 韩妮妮¹ 潘兆宝⁴ 王艳萍^{3*}

[摘要] 目的 了解女性外阴尖锐湿疣(CA)患者宫颈人乳头瘤病毒(HPV)、解脲支原体(UU)、沙眼衣原体(CT)、淋球菌(NG)感染情况和相关性。**方法** 收集2018年12月至2022年5月于诸城市人民医院性病门诊就诊的196例女性外阴CA患者宫颈脱落细胞及宫颈拭子样本,采用聚合酶链式反应(PCR)-反向点杂交法检测HPV DNA分型,采用PCR-荧光探针法检测UU DNA、CT DNA及NG DNA,并对检测结果进行统计学分析。**结果** 196例女性外阴CA患者宫颈标本中HPV、UU、CT、NG的感染率分别为64.80%、39.80%、16.84%、3.06%。HPV阳性者中,高危型占66.14%,其中16型、52型、58型、53型检出率较高,低危型占33.86%,其中6型、11型、43、81型检出率较高。HPV阳性组UU、CT、NG的感染率均明显高于HPV阴性组,差异有统计学意义(P 均 <0.05),HPV感染与UU感染具有关联性($P<0.05$),HPV感染与CT、NG感染无关联性($P>0.05$)。**结论** 女性外阴CA患者常合并宫颈HPV、UU、CT、NG的感染,且HPV阳性者UU、CT、NG的感染率明显上升,对女性外阴CA患者进行以上项目检测很有必要。

[关键词] 尖锐湿疣;人乳头瘤病毒;解脲支原体;沙眼衣原体;淋球菌;混合感染;女性

Analysis on the combined infection of cervical HPV with *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female patients with vulvar condyloma acuminatum

ZHANG Jun¹, WANG Xiwen², LIU Hanwen³, HAN Nini¹, PAN Zhaobao⁴, WANG Yanping^{3*}

(1. Department of Dermatovenereology, Zhu Cheng People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 262200; 2. Department of Nuclear Medicine, Zhu Cheng People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 262200; 3. Clinical Lab, Zhu Cheng People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 262200; 4. Clinical Lab, Weifang Second People's Hospital, Weifang, Shandong, China, 261041)

[ABSTRACT] **Objective** To understand the infection status and correlation of cervical human papillomavirus (HPV), *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Chlamydia trachomatis* (CT) and *Neisseria gonorrhoeae* (NG) in female patients with vulvar condyloma acuminatum (CA). **Methods** The samples of cervical exfoliated cells and cervical swabs from 196 female patients with vulvar CA admitted to the STD clinic of zhu cheng people's hospital from December 2018 to May 2022 were collected. HPV DNA typing was detected by polymerase chain reaction (PCR)-reverse dot hybridization. UU DNA, CT DNA and NG DNA were detected by PCR fluorescent probe method. The results were statistically analyzed. **Results** The infection rates of HPV, UU, CT and NG in cervical samples of 196 female patients with vulvar CA were 64.80%, 39.80%, 16.84%, and 3.06% respectively. Among the HPV positive cases, the high-risk type accounted for 66.14%, and the detection rates of 16, 52, 58 and 53 were higher. The low-risk type accounted for 33.86%, and the detection

作者单位:1. 诸城市人民医院皮肤科,山东,潍坊 262200

2. 诸城市人民医院核医学科,山东,潍坊 262200

3. 诸城市人民医院检验科,山东,潍坊 262200

4. 潍坊市第二人民医院检验科,山东,潍坊 261041

通信作者:王艳萍, E-mail: baumannii@126.com

rates of 6, 11, 43 and 81 were higher. The infection rates of UU, CT and NG in the HPV-positive group were significantly higher than those in the HPV-negative group ($P<0.05$). HPV infection was associated with UU infection ($P<0.05$), HPV infection was not associated with CT and NG infection ($P>0.05$). **Conclusions** Female vulvar CA patients are often complicated with cervical HPV, UU, CT and NG infection, and the infection rate of UU, CT and NG in HPV positive patients is significantly increased. It is necessary to routinely detect them.

[KEY WORDS] Condyloma acuminatum; Human papillomavirus; Ureaplasma urealyticum; Chlamydia trachomatis; Neisseria gonorrhoeae; Mixed infection; Female patients

尖锐湿疣(condyloma acuminatum, CA)是由人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染所致的皮肤黏膜良性赘生物,主要通过性接触传播。CA发病率在我国逐年上升,在性传播疾病中已居第二位^[1]。近几十年的研究发现,HPV感染在宫颈癌(cervical cancer, CC)及癌前病变的发生发展中起着重要作用^[2-3]。目前,虽然尚不清楚生殖道其它病原体感染是否与宫颈病变及CC相关,但有研究证实当病原体感染种类增加时,发生宫颈病变和CC的危险性也随之增加^[4]。临床上,女性外阴CA患者不但可有宫颈HPV感染,还往往伴随解脲支原体(ureaplasma urealyticum, UU)、沙眼衣原体(chlamydia trachomatis, CT)或淋球菌(Neisseria gonorrhoeae, NG)感染,且多数患者没有症状,容易漏诊,而合并感染的生殖道其它病原体对CA复发存在重要影响^[5]。为了解女性外阴CA患者宫颈HPV感染情况和DNA分型,及与UU、CT、NG合并感染情况,本研究对2018年12月至2022年5月于诸城市人民医院性病门诊就诊的196例女性外阴CA患者进行了HPV、UU、CT及NG检测,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本次研究对象为2018年12月至2022年5月于本院性病门诊就诊的196例女性外阴CA患者,所有患者均符合中华医学会皮肤性病学分会性病组通过的尖锐湿疣诊疗指南(2014版)^[6]诊断标准,研究获得患者知情同意并通过本院伦理委员会同意。196例患者年龄16~66岁,平均年龄(34.23±12.17)岁;病程3~240天,平均病程(46.06±38.53)天;感染原因:非婚性接触86例,配偶间传染57例,间接传染31例,原因不详22例。其中29例患者伴有白带增多、有异味、发黄及触痛等症状。纳入标准:外阴有肉眼可见的疣体;醋酸白试

验阳性;宫颈和阴道壁无肉眼可见的疣体。排除标准:妊娠期或哺乳期妇女;自身免疫功能低下或有免疫抑制剂长期应用史者;有脏器功能衰竭或恶性肿瘤等危重原发疾病者。

1.2 方法

1.2.1 分组

将受试者按照年龄分为六组,分别为16~岁,20~岁,30~岁,40~岁,50~岁,≥60岁年龄组。

1.2.2 标本采集

用窥阴器充分暴露宫颈,使用宫颈刷及无菌拭子插入宫颈管内轻轻捻转数圈取出拭子样本,分别放入专用取样管内送检。采用聚合酶链式反应(PCR)-反向点杂交法检测HPV亚型(深圳亚能生物技术有限公司),采用PCR-荧光探针法检测UU DNA、CT DNA及NG DNA(广州达安基因股份有限公司)。HPV检测结果根据试剂盒说明书判读:根据膜条上蓝色斑点显现的位置,读取相应位置上标注的基因型信息。UU DNA、CT DNA及NG DNA检测结果根据试剂盒说明书判读:阴性结果判定:如果扩增曲线不呈S型或Ct值=30,则实验结果判为样品的DNA含量为阴性(小于检测下限);阳性结果判定:如果扩增曲线呈S型且Ct值<27,则为阳性。

1.2.3 统计学方法

所有数据采用SPSS 19.0统计软件进行统计分析,计数资料以n(%)表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4种病原体阳性检出率

196例临床资料中,宫颈HPV、UU、CT、NG的阳性检出率分别为64.80%(127/196)、39.80%(78/196)、16.84%(33/196)、3.06%(6/196)。其中20~岁、30~岁、40~岁年龄组4种病原体感染率较高,尤以20~岁年龄组感染率最高。见图1。

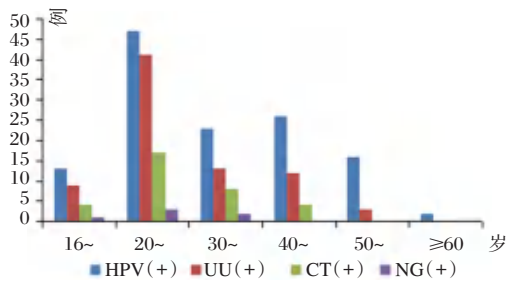


图1 不同年龄组 HPV(+)合并病原体感染情况

Figure 1 Infection with pathogens in different age group of HPV positive patients

2.2 HPV 及其基因分型检测结果

127 例 HPV 阳性患者中,单一 HPV 亚型感染 68 例,不同亚型混合感染 59 例,其中双重感染 31 例,三重感染 15 例,四重及以上感染 13 例;检出率前五位依次为 6 型、11 型、16 型、52 型、58 型;高危型 HPV 阳性者占 66.14% (84/127),其中 16 型、52 型、58 型、53 型检出率较高,低危型 HPV 阳性者占 33.86% (43/127),其中 6 型、11 型、43、81 型检出率较高。

2.3 HPV 与其它 3 种病原体混合感染情况及相关性分析

127 例 HPV 阳性患者中,UU、CT、NG 的感染率分别为 45.67% (58/127)、19.69% (25/127)、3.94% (5/127);69 例 HPV 阴性患者中,UU、CT、NG 的感染率分别为 28.99% (20/69)、11.59% (8/69)、1.45% (1/69),HPV 阳性组 UU、CT、NG 感染率均明显高于 HPV 阴性组,差异有统计学意义 (P 均 <0.05)。见表 1~3。

表 1 HPV 阳性组、HPV 阴性组 UU 感染率比较 [n(%)]

分组	UU(+)	UU(-)	合计	χ^2 值	P 值
HPV(+)	58(45.67)	69(54.33)	127	26.98	<0.05
HPV(-)	20(28.99)	49(71.01)	69		
合计	78	118	196		

表 2 HPV 阳性组、HPV 阴性组 CT 感染率比较 [n(%)]

分组	CT(+)	CT(-)	合计	χ^2 值	P 值
HPV(+)	25(19.69)	102(80.31)	127	80.33	<0.05
HPV(-)	8(11.59)	61(88.41)	69		
合计	33	163	196		

HPV 感染与 3 种病原体感染关联性分析显示,HPV 感染与 UU 感染具有关联性 ($\chi^2=5.19, P<0.05$), HPV 感染与 CT、NG 感染无关联 ($P>0.05$)。见表 4~6。

表 3 HPV 阳性组、HPV 阴性组 NG 感染率比较 [n(%)]

分组	NG(+)	NG(-)	合计	χ^2 值	P 值
HPV(+)	5(3.94)	122(96.06)	127	119.03	<0.05
HPV(-)	1(1.45)	68(98.55)	69		
合计	6	190	196		

表 4 HPV 感染与 UU 感染的关联性分析 [n(%)]

分组	UU(+)	UU(-)	合计	χ^2 值	P 值
HPV(+)	58(45.67)	69(54.33)	127	5.19	<0.05
HPV(-)	20(28.99)	49(71.01)	69		
合计	78	118	196		

表 5 HPV 感染与 CT 感染的关联性分析 [n(%)]

分组	CT(+)	CT(-)	合计	χ^2 值	P 值
HPV(+)	25(19.69)	102(80.31)	127	2.09	>0.05
HPV(-)	8(11.59)	61(88.41)	69		
合计	33	163	196		

表 6 HPV 感染与 NG 感染的关联性分析 [n(%)]

分组	NG(+)	NG(-)	合计	χ^2 值	P 值
HPV(+)	5(3.94)	122(96.06)	127	0.005	>0.05
HPV(-)	1(1.45)	68(98.55)	69		
合计	6	190	196		

3 讨论

HPV 是 CA 的病原体,其致病性与感染型别明显相关,一般低危型感染主要引起 CA,高危型感染则会导致感染的持续反复发作,癌变风险较高^[6]。有研究根据感染的 HPV 型别及是否存在 2 种以上感染来预测 CC 的严重程度或确定后续的治疗方案,如检测到 HPV16 型别,说明该个体患 CC 的风险较高,如果有 2 种以上基因型别感染,则风险更高^[7]。本研究发现,64.80% 的女性外阴 CA 患者合并宫颈 HPV 感染,而且以 16、52、58 等高危型 HPV 感染为主,多数为不同亚型混合感染,显著

高于普通女性7.0%~22.1%的宫颈HPV感染率^[8-9],这与王稳等^[10]报告的结果相似。目前认为肉眼可见的CA仅是HPV感染的一小部分,女性宫颈可见的疣体并不多见,多数是亚临床感染或潜伏感染,而这也是CA复发的原因之一,说明在治疗女性外阴CA的同时,一定要重视对宫颈的检查,尤其对于HPV高危型及包含其他亚型混合感染者,应该进一步行宫颈液基薄层细胞学检查(thinprep cytologic test, TCT)检测,为筛查CC提供可靠的实验室依据^[11]。

近年来我国性病混合感染情况时有发生,女性外阴CA患者因有明显的疣状增生物,临床医生在体检时往往将重心放于此,忽略了可能同时存在的其它感染,而UU、CT、NG感染所致的宫颈炎常因无症状或症状轻微更易被漏诊。多种病原体之间的感染是相关的,一种病原体可以成为另一种病原体感染的危险因素^[12],病原体之间的相互作用可以改变疾病的最终结局^[13]。感染的病原体种类越多,生殖道内环境越易遭到破坏,越易引起局部免疫功能降低,使HPV持续感染几率增加,从而增加CC发生的危险性。本研究发现,与HPV阴性组相比,HPV阳性组UU、CT、NG感染率均显著增加,HPV感染与UU感染具有相关性,UU是HPV感染的危险因素,这与努尔比亚·阿布拉、何英杰等^[5,14]的研究结果一致。

性活跃人群是性病的危险人群,HPV的检出率在CT阳性人群中明显升高,且与患者年龄相关,尤其对于25岁以下女性患者来说,感染率更高^[15-16]。本研究发现,20~岁、30~岁、40~岁年龄组4种病原体感染率较高,尤以20~岁年龄组感染率最高。因此,在临床上对这部分女性外阴CA患者更应进行全面检测,并进行健康教育。

CA合并其它病原体感染是临床复发的重要因素之一,因此治疗CA时要做好UU、CT、NG等常见病原体的检测,以达到良好的预后。本研究196例患者中仅有29例伴有白带增多、异味、发黄及触痛等症状,但91例患者查出了一种或多种病原体感染。因此,在女性外阴CA诊治过程中,常规检测宫颈HPV及UU、CT、NG,可及早发现并治疗合并的感染,减少漏诊和CA的复发率。定期随访检测宫颈HPV,并根据情况进行TCT检测,可在一定程度上减少CC的发病率,为防治宫颈癌变提供依据。

参考文献

- [1] 李晔,李斌,宁波,等. 尖锐湿疣患者人乳头状瘤病毒感染状况及免疫功能分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(14): 3299-3301.
- [2] 中华预防医学会疫苗与免疫分会. 子宫颈癌等人乳头瘤病毒相关疾病免疫预防专家共识(简版)[J]. 中华预防医学杂志, 2019, 53(12): 1218-1235.
- [3] 肖景. HPV感染和宫颈上皮内瘤变相关性的临床分析[J]. 当代医学, 2019, 25(33): 80-81.
- [4] Belinson SE, Belinson JL. Human Papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening: practical aspects in developing countries [J]. Mol Diagn Ther, 2010, 14(4): 215-222.
- [5] 努尔比亚·阿布拉,姚丽艳. 生殖道HPV与其它病原体感染关系的探讨[J]. 中华全科医学, 2014, 12(6): 942-944+946.
- [6] 高云,叶欢,柯锦. 116例尖锐湿疣患者HPV感染情况及流行病学分析[J]. 中国性科学, 2019, 28(5): 154-157.
- [7] 赵小红,牟虹. 10226例女性人乳头瘤病毒基因筛查结果分析[J]. 现代医药卫生, 2021, 37(3): 462-464.
- [8] Zhang D, Li T, Chen L, et al. Epidemiological investigation of the relationship between common lower genital tract infections and high-risk human papillomavirus infections among women in Beijing, China [J]. PloS One, 2017, 12(5): e0178033.
- [9] 宣彬彬,谭美玉,孙寒晓,等. 上海市长宁区人乳头瘤病毒与解脲脲原体、沙眼衣原体、淋病奈瑟菌混合感染情况分析[J]. 检验医学, 2020, 35(9): 859-863.
- [10] 王稳,于善萍,刘晓虹. 尖锐湿疣患者宫颈HPV分型检测[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2016, 32(5): 307-308.
- [11] 谢军艳. TCT联合HPV-DNA分型检测对接受宫颈癌筛查妇女中的应用价值[J]. 云南医药, 2021, 42(1): 45-46.
- [12] Ye H, Song TG, Zeng X, et al. Association between genital mycoplasmas infection and human papillomavirus infection, abnormal cervical cytology, and cervical cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 297(6): 1377-1387.
- [13] Jessica AS, Robert VS. Human Papilloma Virus and Chlamydia trachomatis: Casual Acquaintances or Partners in Crime? [J]. Curr Clin Microbiol Rep, 2019, 6(2): 76-87.
- [14] 何英杰,王海波,祁志宇. 承德地区人乳头瘤病毒感染现状及与女性生殖道其它病原体感染的相关性[J]. 中华保健医学杂志, 2020, 22(4): 388-390.
- [15] 曾成龙,朱继锋,朱冠男,等. 8876例不同性别患者尖锐湿疣组织HPV基因型对比研究[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2020, 36(5): 272-274.
- [16] Korhonen S, Hokynar K, Eriksson T, et al. The prevalence of HSV, HHV-6, HPV and Mycoplasma genitalium in Chlamydia trachomatis positive and Chlamydia trachomatis negative urogenital samples among young women in Finland [J]. Pathogens, 2019, 8(4): 276.

EB-DNA 检测在重离子治疗鼻咽癌中的临床应用价值

王兴昌 陈东基* 周俊年 李霞 杨婷

[摘要] **目的** 探讨血浆EB病毒(EB)-DNA检测在重离子治疗鼻咽癌(NPC)中的临床应用价值。**方法** 选取2021年8月至2022年5月期间甘肃省武威肿瘤医院收治的42例鼻咽癌患者资料进行分析并作为病例组,选取同期门诊体检30名健康志愿者作为对照组。病例组患者均接受重离子放射治疗。检测对照组、病例组(治疗前和治疗1个月后)的血浆EB-DNA的表达情况,比较对照组与病例组治疗前EB-DNA阳性检出率。以鼻咽部活检诊断为诊断金标准,绘制ROC曲线对治疗前EB-DNA检测结果对NPC诊断效能进行分析。治疗后1个月对患者进行EB-DNA检测,根据结果将患者分为阴性组与阳性组,比较两组的近期疗效。**结果** 治疗前,病例组EB-DNA拷贝量显著高于对照组,EB-DNA阳性检出率低于对照组,差异有统计学意义($u=6.659$ 、 $H=44.345$, P 均 <0.05);血浆EB-DNA表达对NPC诊断的ROC曲线下面积(AUC)为0.963 [$P<0.05$,95%CI(0.916~1.000)],敏感度、特异度分别为0.929、0.933;治疗后1个月EB-DNA检测,阴性组30例,阳性组12例,阴性组近优于阳性组,差异有统计学意义($H=5.040$, $P<0.05$)。**结论** EB-DNA检测可作为NPC早期诊断与重离子放射治疗疗效和预后的参考指标。

[关键词] EB-DNA; 诊断; 重离子治疗; 鼻咽癌; 疗效

Clinical application of EB - DNA detection in heavy ion therapy for nasopharyngeal carcinoma

WANG Xingchang, CHEN Dongji*, ZHOU Junnian, LI Xia, YANG Ting

(Department of Laboratory Medicine, Wuwei Tumor Hospital, Wuwei, Gansu, China, 733000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the clinical application of plasma Epstein Barr virus (EB) - DNA detection in heavy ion therapy for nasopharyngeal carcinoma. **Methods** The data of 42 NPC patients who were admitted to Wuwei Tumor Hospital of Gansu Province between August 2021 and May 2022 were retrospectively reviewed and used as the case group, and 30 healthy volunteers who were examined in outpatient clinics during the same period were selected as the control group. Patients in the case group were all treated with heavy ion radiotherapy. The expression of plasma EB-DNA in the control group and the case group (before treatment and 1 month after treatment) was examined, and the positive detection rate of EB - DNA in the control group was compared with that in the case group before treatment. The diagnostic efficacy of pretreatment EB - DNA test results for NPC was analyzed by plotting the ROC curve, using nasopharynx biopsy as the diagnostic gold standard. EB-DNA testing was performed on patients 1 month after treatment, and the patients were divided into the negative group versus the positive group according to the results, and the short-term curative effects of the two groups were compared. **Results** Before treatment, the copy number of EB - DNA in the case group was significantly higher than that in the control group, and the positive detection rate of EB-DNA in the case group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($u=6.659$, $H=44.345$, both $P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of plasma EB-DNA expression for NPC diagnosis was 0.963 [$P<0.05$, 95% CI (0.916-1.000)], and the sensitivity and specificity were 0.929, 0.933. One month after

作者单位:甘肃省武威肿瘤医院检验科,甘肃,武威733000

*通信作者:陈东基, E-mail: WXC90068@163.com

treatment, EB-DNA test showed that there were 30 cases in the negative group and 12 cases in the positive group. The negative group was nearly better than the positive group, and the difference was statistically significant ($H=5.040, P<0.05$). **Conclusion** EB-DNA detection can be used as a reference indicator for early diagnosis of nasopharyngeal carcinoma in combination with heavy ion radiotherapy efficacy and prognosis.

[KEY WORDS] EB-DNA; Diagnosis; Heavy ion therapy; Nasopharyngeal carcinoma; Curative effect

鼻咽癌(Nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种具有明显低于分布差异的恶性肿瘤,2018年估计月129 079例NPC新病例和72 987例相关死亡病例中,大多数在东南亚地区,并且可能每年呈上升趋势^[1]。其中我国NPC患者占世界NPC患者的47%,其中我国南方城市NPC发病率普遍高于北方城市^[2]。由于NPC的肿瘤位置较深、临近的结构复杂、与颅底紧邻,因此手术无法完全切除,而放射治疗则成为了治疗NPC患者的主要有效手段。重离子放射治疗也称为碳离子放射治疗,具有准确投射肿瘤靶区、倒转剂量分布深度、较少的氧效应等特点,是治疗NPC的一种重要手段^[3]。然而NPC早期症状不典型、初次治疗后存在复发风险等问题,因此寻找一项NPC早期诊断、疗效及预后情况的指标尤为重要。研究^[4]表明,EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)为NPC发病的危险因素。但EB病毒与NPC患者的临床疗效及预后的关系研究报道相对较少,同时目前缺乏大量的临床数据及长期随访研究。因此本研究对早期鼻咽癌患者EB-DNA进行检测,分析其表达情况在重离子治疗鼻咽癌中的临床应用价值。报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2021年8月至2022年5月期间甘肃省武威肿瘤医院收治的42例鼻咽癌患者资料进行分析并作为病例组,选取同期门诊体检30名健康志愿者作为对照组。病例组:男25例,女17例,平均年龄(47.83 ± 7.64)岁,临床分期为I~II期。纳入标准:①根据《ESMO2012版临床实践指南:鼻咽癌,转移性非小细胞肺癌,支气管和凶险神经内分泌肿瘤,胃肠道间质瘤》^[5]中关于NPC诊断标准,及经病理活检诊断为NPC;②临床分期为I~II期;③治疗期间均接受重离子放射治疗;④治疗期间均接受重离子放射治疗;⑤病人及其家属均对本课题知情同意。排除标准:①存在其他部位的恶性肿瘤;②合并严重的心、肺、肾等重

要器官功能障碍;③依从性差,无法配合治疗者;④临床资料不完整患者。对照组:为同期门诊体检志愿者。男16例,女14例,平均年龄(43.76 ± 8.21)岁。两组性别比例、年龄等具有可比性,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 治疗方法

患者采用CT平扫加增强扫描定位,取仰卧位于定位床上,双手置于身侧,采用头颈肩膜进行体位固定。CT扫描自头顶至胸锁关节下方扫描,层厚1.5 mm,并与治疗体位下的头颈部增强CT及MRI图像相融合,必要时与PET/CT进行图像融合。由具有丰富经验的临床医师在定位CT上勾画GTV、CTV,根据我院实测摆位误差进行外扩3 mm形成PTV。同时勾画视神经、大脑颞叶、视交叉、内耳、颞颌关节、脊髓、脑干、腮腺等临近危及器官。处方剂量和危及器官限量均采用国内外发表的相关重离子文章及我院SOP文件规定剂量。采用中国近代物理研究所自主开发的HIMM重离子加速器及Ci-Plan重离子治疗计划系统进行治疗计划制定计划,经医师、物理师双方审核通过后,采用HIMM重离子加速器进行重离子治疗。

1.3 血浆EB-DNA检测

采集对照组及病例组治疗前、治疗1个月后的静脉血3 mL,3 000 r/min(离心半径10 cm)离心10 min,取上层血浆,采用荧光定量聚合酶链反应对EB-DNA进行检测,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。EB-DNA $>5\times 10^2$ copy·mL⁻¹为检测阳性。试剂盒产自美国eBioscience公司。

1.4 观察指标

统计对照组治疗前的EB-DNA检测阳性率;以鼻咽部活检诊断结果作为金标准,绘制EB-DNA表达对NPC的诊断ROC曲线,统计诊断效能;以治疗1个月后临床疗效为近期疗效,对患者进行EB-DNA检测,检测阳性患者为阳性组,检测阴性患者为阴性组,比较两组的近期疗效准。

近期疗效评价标准:依据文献^[6]中评价标准进行评价,其中分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial mitigation, PR)、病情稳定(stable disease, SD)以及病情进展(progressive disease, PD)。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析;计量资料符合正态分布采用($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 t 检验,非正态分布数据用M(P25, P75)表示,比较采用Mann-Whitney U 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,比较用Kruskal Wallis 检验;ROC曲线检测EB-DNA表达对NPC的诊断效能;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组EB-DNA拷贝量及阳性检出率比较

病例组血浆EB-DNA拷贝量显著高于对照组,EB-DNA阳性检出率低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组EB-DNA拷贝量及阳性检出率比较
[M(P25, P75), $n(\%)$]

Table 1 Comparison of EB-DNA copy numbers and positive detection rates between the two groups
[M(P25, P75), $n(\%)$]

组别	n	EB-DNA 拷贝量(copy·mL ⁻¹)	阳性率
病例组	42	753.00(610.25,755.50)	2(6.67)
对照组	30	271.00(177.25,373.25)	39(92.86)
u/H 值		6.659	44.345
P 值		0.000	0.000

2.2 血浆EB-DNA检测对NPC的诊断效能分析

绘制血浆EB-DNA表达对NPC诊断的ROC曲线,结果显示,曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.963 [$P < 0.001$, 95% CI (0.916~1.000)]。见图1。其对应的敏感度、特异度分别为0.929、0.933。

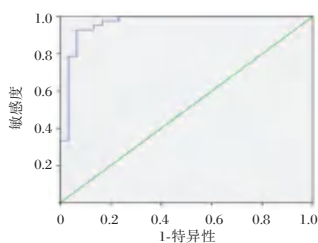


图1 血浆EB-DNA检测对NPC的诊断ROC曲线图
Figure 1 ROC plot of plasma EB-DNA testing for the diagnosis of NPC

2.3 治疗1个月后患者EB-DNA检测结果与近期疗效比较

Kruskal Wallis 检验结果显示,治疗一个月后EB-DNA检测阴性患者近期疗效显著优于EB-DNA检测阳性患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 治疗1个月后患者EB-DNA检测结果与近期疗效比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison of EB-DNA test results between patients after 1 month of treatment and recent outcomes [$n(\%)$]

EB-DNA 表达情况	CR	PR	SD	PD
阳性组($n=12$)	4(33.33)	3(25.00)	3(25.00)	2(16.67)
阴性组($n=30$)	26(86.67)	1(3.33)	1(3.33)	2(6.67)
H 值			5.040	
P 值			0.025	

3 讨论

NPC是一类高发的头颈部恶性肿瘤,其临床表现较为复杂,包括鼻出血、视力障碍甚至脑神经损伤等^[7],其多发于鼻咽顶壁、咽引窝等位置,目前全球范围内的发病人数已大于8万,而病死人数接近5万^[8],具有明显的地理分布特点,在东亚和东南亚尤为流行^[9]。NPC病人对放疗、化疗均具有较高的敏感性,若患者在疾病早期及早被发现且积极接受治疗,治疗后5年生存率可达到80%以上,但仍有部分患者进展至中后期或转移,其预后及生存情况不甚理想。重离子放射治疗即为碳素离子放射治疗,该治疗方案具有较高的癌细胞致死率,且可实现单次照射剂量高、照射次数少的可能性,进一步增强了疗效。然而,NPC肿瘤位置复杂、放疗照射范围不足或存在放疗不敏感细胞等原因可能造成治疗后局部复发或转移。因此,NPC发病早期一定的隐匿性、治疗后可能复发转移等情况下,寻找NPC的诊疗有效检测指标尤为重要。体格检查、计算机断层扫描、MRI、纤维鼻咽镜等检测手段是常用的NPC诊断技术,然而其费用昂贵,普适性较差。

1988年某学者在NPC患者血浆中发现EB病毒的DNA,并认为患者血浆EB-DNA水平动态变化可作为NPV的诊断辅助指标^[10]。同时,研究^[11]发现,EB-DNA的表达检测可用于NPC患者的预后评估中。EB病毒是1964年被Epstein与Barr两位学者发现的,属于疱疹病毒科R亚科,可感染灵长类动物的B淋巴细胞。已有大量的研究表明,部分

个体感染EB病毒后,可转化形成肿瘤,如NPC、淋巴瘤等,EB病毒是NPC的一个诱发因子。已有研究表明,EB-DNA在NPC的诊断、疗效评估、预后评估等方面存在重要的意义^[12]。但目前尚未有充足的临床数据以及长期随访数据的相关研究支持该结论,因此本课题对42例NPC患者EB-DNA进行检测,分析NPC患者EB-DNA对疾病的诊断、近远期疗效及其预后的评估效能,以EB-DNA检测在重离子治疗NPC中的临床应用价值。

为探讨血浆EB-DNA载量对早期NPC的诊断效能,本研究选取了42例早期(临床分期为I~II期)NPC患者作为研究对象,与同期体检的健康人群比较。结果显示,病例组EB-DNA阳性检出率显著高于对照组,与Hui等^[13]研究中NPC患者EB-DNA阳性检出率96%、健康人群EB-DNA阳性检出率7%结果基本一致。进一步进行诊断效能分析,结果显示,EB-DNA表达对NPC的诊断具有较高的效能。两项结果提示,NPC患者血浆EB-DNA载量与健康人群存在显著的差异,同时其对NPV早期诊断筛查均有显著的应用价值。研究^[14]表明,EB病毒可在B淋巴细胞内进行增殖,并以环状DNA的形式在细胞质中游离并整合,整合至染色体内,NPC细胞死亡后,染色体内的EB病毒片段则被释放入血中,血浆EB-DNA载量随之上升。

本课题在研究对象治疗1个月后再进行EB-DNA检测,并对近期疗效进行评估,结果显示,EB-DNA检测阴性患者CR的比例显著高于EB-DNA检测阳性患者。结果表明EB-DNA检测阳性患者预后较差,与报道研究^[15]结果一致,提示EB-DNA检测阳性对重离子治疗NPC的近、远期疗效具有一定的预测性。患者血浆中EB-DNA主要来源于NPC肿瘤灶,血浆中EB-DNA载量反应了人体肿瘤的符合,因此EB-DNA检测阳性表明可能存在肿瘤遗留或存在复发的风险。

综上,EB-DNA检测可作为NPC早期诊断与重离子放射治疗疗效和预后的参考指标。然而本研究中选取病例有限,经分析了EB-DNA的表达情况与治疗近远期疗效的关系,后续仍需收集更多的病例样本,进一步分析患者血浆中EB-DNA载量在重离子治疗NPC的应用。

参考文献

- [1] Lee HM, Okuda KS, González FE, et al. Current Perspectives on Nasopharyngeal Carcinoma[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1164: 11-34.
- [2] 何容,陈川,李梦侠,等.鼻咽癌放疗临床靶区人工智能勾画模型的训练及验证研究[J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(9): 906-912.
- [3] 王晓林,高天欣,韩潇,等.重离子放射治疗技术及临床应用[J]. *北京生物医学工程*, 2019, 38(3): 312-318.
- [4] 陈遂虹,杜进林,谢尚杭,等.应用EB病毒VCA/IgA、EBNA1/IgA抗体筛查鼻咽癌的3年随访结果分析[J]. *华南预防医学*, 2016, 42(3): 268-271.
- [5] 杨学宁,吴一龙.实体瘤治疗疗效评价标准——RECIST[J]. *循证医学*, 2004(2): 85-90+111.
- [6] 殷蔚伯,谷铎之. *NPC肿瘤放射治疗学*[M]. 3版.北京:北京协和医科大学出版社, 2002: NPC1107.
- [7] 尚洁,高娟,杨青. EB-DNA检测对鼻咽癌早期诊断及预后评估的临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2020, 35(11): 1838-1841.
- [8] 魏晓,陈鹏,张艳. miR-10b、LMP1和Twist1联合检测在鼻咽癌早期诊断及复发诊断中的应用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(9): 1537-1540.
- [9] Chen YP, Chan ATC, Le QT, et al. Nasopharyngeal carcinoma[J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 64-80.
- [10] 王磊黎.鼻咽癌患者血浆EB病毒DNA水平的动态变化与临床疗效的关系评价[J]. *当代医学*, 2019, 25(25): 129-130.
- [11] Lorusso F, Caleca MP, Bellavia C, et al. The EBV-DNA Can be Used as a Diagnostic and Follow-up Parameter of the Rhinopharyngeal Tumors in the Non-Endemic Population of the Western Sicily [J]. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2019, 71(3): 396-400.
- [12] 高天生,范小玲,吴惠惠.血浆EBV-DNA检测在鼻咽癌诊断和预后判断中的应用价值[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2021, 18(4): 169-172.
- [13] Hui EP, Li WF, Ma BB, et al. Integrating postradiotherapy plasma Epstein-Barr virus DNA and TNM stage for risk stratification of nasopharyngeal carcinoma to adjuvant therapy [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(6): 769-779.
- [14] 罗欣,吴永忠,陈晓品.鼻咽癌EB病毒相关血清标志物与预后相关性研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2019, 35(4): 556-559.
- [15] Zhang J, Shu C, Song Y, et al. Epstein-Barr virus DNA level as a novel prognostic factor in nasopharyngeal carcinoma: A meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(40): e5130.

Klotho在缺血性脑卒中患者血清中的表达及临床意义

毕芳芳 史敏 苏明权 程微微 张露*

[摘要] **目的** 探讨缺血性脑卒中(CIS)患者血清中 *Klotho* 蛋白的表达及其临床意义。**方法** 采用 RT-qPCR, Western Blotting 的方法检测 2020 年 4 月至 2022 年 4 月西安市西京医院收治的 52 例 CIS 患者及 52 例正常对照组的血清中 *Klotho* 的表达,并分析其与患者疾病活动度的相关性。**结果** *Klotho* 的 mRNA 在 CIS 患者血清标本中的相对表达量低于正常对照组,差异有统计学意义($t=17.986, P<0.05$);Western Blotting 检测显示,*Klotho* 蛋白在 CIS 血清标本中相对表达量低于正常对照组,差异有统计学意义($t=15.554, P<0.05$);*Klotho* 蛋白表达水平与 CIS 患者疾病活动度 NIHSS 评分呈负相关关系($r=-0.5974, P<0.05$),与 BI 评分呈正相关关系($r=0.6069, P<0.05$)。**结论** *Klotho* 可能参与缺血性脑卒中的发生发展。

[关键词] 缺血性脑卒中;血清;*Klotho*

Expression and clinical significance of *Klotho* in serum of patients with ischemic stroke

BI Fangfang, SHI Min, SU Minquan, CHENG Weiwei, ZHANG Lu*

(Department of Medical Laboratory, Xi'an Peihua University, Xi'an, Shaanxi, China, 716000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of *Klotho* protein in serum of patients with CIS. **Methods** RT-qPCR and Western blotting were used to detect the expression of *Klotho* in serum of 52 patients with CIS and 52 normal control groups in Xi'an Xijing Hospital from April 2020 to April 2022. The correlation between the expression of *Klotho* and disease activity of the patients was analyzed. **Results** The relative expression of *Klotho* mRNA in serum samples of CIS patients was lower than that of normal control groups, and the difference was statistically significant ($t=17.986, P<0.05$). The Western blotting results showed that the protein expression of *Klotho* in serum samples of patients with CIS were lower than that of the normal control group, with statistically ($t=15.554, P<0.05$). The protein expression of *Klotho* was negatively correlated with the NIHSS score of disease activity in patients with CIS ($r=-0.5974, P<0.05$) and positively correlated with the BI score of disease activity in patients with CIS ($r=0.6069, P<0.05$). **Conclusion** *Klotho* may be involved in the occurrence and development of ischemic stroke.

[KEY WORDS] Ischemic stroke; Serum; *Klotho*

世界范围内,每年有近 1 500 万人罹患卒中,近 600 万人死于该病,近 50 万人遗留终身残疾,其已成为继痴呆后致残的第二位因素^[1]。缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS),也称脑梗塞,指由于脑的供血动脉狭窄或闭塞、供血不足导致的脑组织坏死的总称。根据研究发现,缺血性脑卒中大约占临床上卒中疾病总数的 60%~80%,可

反复发作,有一定的致残率和致死率,而幸存者往往遗留不同程度的神经功能障碍,其突发性、严重性和不可预测性给患者和家属带来了严重的生理和心理负担^[2]。因此相关机制和治疗策略的研究一直是神经科学领域的焦点。本研究前期研究显示:氧化应激与炎症过度反应可能是 CIS 疾病进展中的重要因素之一^[3]。近年有研究发现 *Klotho* 水

基金项目:陕西省教育厅科研计划项目(21JK0820),陕西省自然科学基金基础研究计划(2022JQ-876,2022JM-558)

作者单位:西安培华学院医学检验技术系,陕西,西安 716000

*通信作者:张露, E-mail:459688381@qq.com

平的下降与炎症反应,细胞死亡有关^[4]。另有动物实验证明,血清中 *Klotho* 水平的下降^[5]。上述研究共同表明:*Klotho* 在血清中起着至关重要的作用。但 *Klotho* 在 CIS 患者中的具体表达及其与 CIS 患者疾病活动度的关系,目前尚未见报道。本研究分析其与 CIS 患者疾病活动度的相关性,为 CIS 的诊疗及 CIS 机制的研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 CIS 患者标本的收集

选取 2020 年 4 月至 2022 年 4 月西安市西京医院收治的 52 例 CIS 患者作为研究对象。纳入标准:①年龄 60~85 岁;②确诊为缺血性脑卒中;③自愿受试。排除标准:①出血性脑卒中;②精神病;③依从性差。所有患者及其家属均对本研究充分知情,并已经签署知情同意书,本研究经西安培华学院医学院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂及仪器

RNA 提取试剂盒(DP400, 天根,西安);GAPDH 抗体(Santa Cruz Biotechnology, 美国), *Klotho* 抗体(Sigma-Aldrich, 美国)。Viia 7 实时定量 PCR 仪(ABI Viia 7, 美国)。*Klotho* 及内参引物均由上海生工生物公司合成;*Klotho* 上游引物:5'-TAGCC AGC-GA CAGCT ACAAC-3', 下游引物:5'-GAAGC GG-TAG TGAGT GACCC-3', GAPDH 上游引物:5'-CTCTG CTCCT CCTGT TCGAC-3', GAPDH 下游引物:5'-TAGCC TCCCG GGTTC CTCTC-3'。

1.3 RT-qPCR

根据说明书提取总的 RNA,并检测其浓度和纯度,RNA 纯度 A260/280 在 1.8~2.1 之间认为合格。逆转录条件:5℃ 10 min, 50℃ 30 min, 85℃ 5 min。qPCR 反应:预变性 95℃, 5 min; 循环反应 95℃, 5 s, 58℃, 30 s, 72℃, 30 s, 循环次数, 35; 彻底延伸:72℃ 10 min。每个样本 3 个复孔。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *Klotho* 的相对表达量。

1.4 Western Blotting

提取组织总蛋白,按照 BCA 蛋白测定试剂盒说明书进行浓度检测,分装后保存于-80℃冰箱备用。按照所测蛋白浓度,计算含 40 μg 蛋白的体积即为上样量,99℃加热 5 min 后冷却上样;60 V 等压电泳 50 min 后转为 110 V 继续电泳 1.5 h 至溴酚蓝到达分离胶的底部;电泳结束后,取出凝胶,放置在 1×Transfer buffer 中平衡 15 min。按照白

板-滤纸-PVDF 膜(使用前在甲醇中活化 5 min)-凝胶-滤纸-黑板的顺序置于夹子中,加入预冷的 1×Transfer buffer, 100 V、90 min;转完膜后,将 PVDF 膜取出,放在 5%脱脂牛奶中封闭 2 h,用 1×TBST 洗涤一次;将目的条带,放在相应的一抗抗体(使用前按照说明书推荐比例用 1×TBST 稀释)中 4℃ 摇床孵育过夜。第二天,目的条带在 1×TBST 中洗 3 次,每次 10 min,再放入相应的二抗抗体中(使用前按照说明书推荐比例用 5%脱脂牛奶稀释),常温摇床孵育 1 h,再在 1×TBST 中洗 3 次,每次 10 min;最后化学发光、显影。结果分析:FluorchemTM8900 图像分析软件定量分析靶蛋白及内参 *GAPDH* 条带的含量,求其比值进行统计分析。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;用非参数相关的 Spearman 秩相关系数(*r*)分析评估两个变量之间的相关性。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *Klotho* 的 mRNA 表达结果

Klotho 的 mRNA 水平在 CIS 患者血清标本中的相对表达量为(1.83±0.23),低于正常对照组(3.34±0.56),差异有统计学意义(*t*=17.986, *P*<0.05)。见图 1。

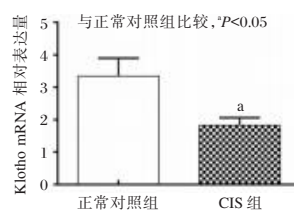


图 1 *Klotho* mRNA 在 CIS 患者及正常对照组表达
Figure 1 mRNA Expression of *Klotho* in CIS patients and the normal controls

2.2 *Klotho* 的蛋白表达结果

Klotho 的蛋白水平在 CIS 患者血清标本中的表达量为(141.78±69.04),低于正常对照组(375.82±83.71),差异有统计学意义(*t*=15.554, *P*<0.05)。见图 2。

2.3 *Klotho* 的表达与 CIS 患者疾病活动度的相关性分析

CIS 患者血清样本中 *Klotho* 的表达与其疾病活动度评估指标 NIHSS 评分及 Barthel 指数(BI)评分具有一定的相关性。见图 3。

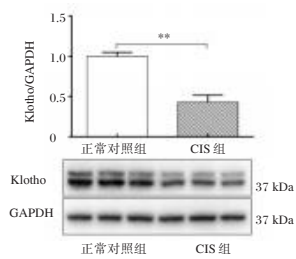


图2 *Klotho* 蛋白在 CIS 患者及正常对照组表达

Figure 2 Protein Expression of *Klotho* in CIS patients and the normal controls

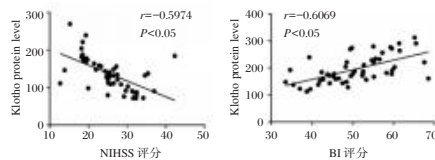


图3 *Klotho* 的表达与 CIS 患者疾病活动度的相关性分析

Figure 3 Correlation analysis between the expression of *Klotho* and disease activity in patients with CIS

3 讨论

CIS 也称脑栓塞,是脑动脉狭窄或阻塞、脑供血不足导致的脑组织坏死的脑缺血类型的总称,为临床常见的脑血管疾病之一^[1]。脑缺血性损伤的机制涉及许多病理生理过程,越来越多的研究认为,其发病原因与炎症、氧化应激、细胞凋亡、细胞焦亡等均有一定的相关性^[6]。其中,炎症级联反应所导致的细胞凋亡和焦亡是 CIS 发病的核心环节。因此,抑制机体内源性炎症级联反应是 CIS 治疗的关键所在。流行病学研究显示:CIS 在中国仍呈逐年增高的趋势^[7-8],已成为神经科学研究的热点和难点之一。因此,进一步阐明 CIS 发病相关机制和治疗策略,是一项十分重要且亟待解决的任务,具有重要的临床价值及意义。

在生命发育与健康维持过程中,*Klotho* 基因通过调控离子通道、*Wnt* 等多个信号通路和靶基因的表达发挥抗衰老、肾脏保护、心血管保护、抗肿瘤和调节代谢等作用^[9-10]。*Klotho* 基因是 Kuro-o 等科学家在 1997 年研究自发性高血压时偶然发现的^[13],后来研究发现 *Klotho* 基因缺失鼠(KI^{-/-})的表型类似人类的衰老表现,包括寿命缩短、动脉硬化、皮肤肌肉萎缩、认知障碍、运动神经元受损、软组织钙化、听力下降、骨质疏松等。然而,当 *Klotho* 蛋白过表达时,实验动物的寿命可得以延长,表明它是一个衰老抑制基因;当 *Klotho* 蛋白表达异常时,会出现一系列与衰老及与衰老密切相关的疾病,提示

Klotho 基因在衰老和衰老相关疾病的发生中起着重要作用。*Klotho* 基因首先从表现为衰老的模型小鼠中克隆成功^[11]。随后发现人和大鼠中也存在 *Klotho* 基因,且它们之间具有较高的同源性(83%)。*Klotho* 基因全长 50 kb,包含 5 个外显子和 4 个内含子,在人和小鼠中均定位于第 13 号染色体(13q12)。在其基因结构中,其 RNA 可通过选择性拼接产生两种蛋白产物,一种为包括 5 个外显子和 4 个内含子,编码形成的膜型 *Klotho* 蛋白;一种为仅含 3 个外显子和 2 个内含子而编码形成的分泌型 *Klotho* 蛋白,分泌型的还有一种是直接从膜型 *Klotho* 蛋白的胞外域脱离下来的。人的分泌型 *Klotho* 蛋白全长有 549 个氨基酸残基(小鼠为 550 个),该类型缺乏跨膜结构和胞内结构,在人的大脑、海马、胎盘、肾脏、前列腺和小肠等组织中均检测到其存在,在血清中也检测到 *Klotho* 蛋白的存在^[12]。分泌型 *Klotho* 可通过中断细胞内控制氧化应激、纤维增生、炎症、细胞衰老等局部或全身性病理过程的关键细胞信号分子起到保护作用。研究表明,*Klotho* 可靶向肾小管细胞中的线粒体功能障碍和细胞衰老来延缓肾纤维,且进一步研究发现 *Klotho* 是通过抑制胰岛素下游 IRS-1/PI3K/AKT 信号通路从而缓解肾脏的纤维化^[13];此外,也有研究报告 *Klotho* 是通过抑制细胞坏死和氧化应激从而减轻血管紧张素 II 引起的心脏毒性;对于中风的研究,有研究报告 *Klotho* 在血清中的浓度可预测急性缺血性中风患者三个月后的功能结局^[14],进一步有研究发现 *Klotho* 协助 FGF21 受体 FGFR1 通过激活 PI3K/Akt 信号通路来促进对于新生鼠缺氧缺血性脑损伤后的功能恢复^[15];四川大学华西药学院研究团队发现 *Klotho* 增加了脑内锰超氧化物歧化酶(Mn-containing superoxide dismutase, Mn-SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的表达,减少了脑内丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,同时 *Klotho* 过表达抑制了 Akt 和 FoxO1 的磷酸化^[15],研究提示 *Klotho* 可能通过 Akt/FoxO1 信号通路在 CIS 的发生发展中发挥着重要的作用,但具体的作用机制仍然需要进一步探究。以上结果均强烈提示,*Klotho* 很可能在 CIS 的发生发展中起到重要的作用。

本研究提示 *Klotho* 可能在 CIS 的发病中扮演着十分重要的角色,为 CIS 发病机制的相关研究提供了新的方向和靶点。但 *Klotho* 在 CIS 发病中的具体的作用机制仍然需要进一步的研究。(下转第 1803 页)

NLRC3在宫颈CIN病变中表达及临床价值

张建海* 王巍 王前 许佳伦 高娜

[摘要] **目的** 探讨NLRC3在宫颈上皮内病变(CIN)中表达变化及其临床价值。**方法** 选取北京市大兴区中西医结合医院2021年3月至2022年2月宫颈CIN患者96例为观察组,于同期选取行宫颈检查正常者37名为对照组。比较两组NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白水平差异,分析NLRC3表达与CIN病情程度的关系,采用ROC曲线分析NLRC3表达预测CIN发生、诊断高级别鳞状上皮内病变(HISL)的价值。**结果** 观察组NLRC3 mRNA相对表达量、NLRC3蛋白相对表达量均明显低于对照组,差异有统计学意义($t=10.236, 7.557, P<0.05$)。不同CIN分级NLRC3 mRNA相对表达量、NLRC3蛋白相对表达量比较: CIN1>CIN2>CIN3,差异有统计学意义($F=105.799, 226.163, P<0.05$)。NLRC3 mRNA相对表达量与CIN分级呈显著负相关($r=-0.863, P=0.000$)、NLRC3蛋白相对表达量与CIN分级呈显著负相关($r=-0.894, P=0.000$)。ROC分析显示,NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白预测CIN发生的AUC分别为0.916、0.832,诊断HISL的AUC分别为0.684、0.762。**结论** 宫颈CIN患者NLRC3表达明显下降,NLRC3 mRNA表达、NLRC3蛋白表达均与CIN病情程度呈负相关。NLRC3表达预测CIN发生价值较高,辅助诊断HISL的价值一般。

[关键词] 宫颈上皮内瘤变; NLRC3; 表达; 预测价值

Expression and clinical value of NLRC3 in cervical CIN lesions

ZHANG Jianhai, WANG Wei, WANG Qian, XU Jialun, GAO Na

(Department of Pathology, Beijing Daxing Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing, China, 100076)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and clinical value of NLRC3 in cervical intraepithelial lesions (CIN). **Methods** 96 patients with cervical CIN in Beijing Daxing District Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital from March 2021 to February 2022 were selected as the observation group, and 37 patients with normal cervical examination during the same period were selected as the control group. The differences of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein levels between the two groups were measured and compared, and the relationship between NLRC3 expression and the severity of CIN was analyzed. The ROC curve was used to analyze the value of NLRC3 expression in predicting the occurrence of CIN, high-grade squamous intraepithelial disease (HISL). **Results** The relative expression levels of NLRC3 mRNA and protein in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=10.236, 7.557, P<0.05$). Comparison of NLRC3 mRNA relative expression level and NLRC3 protein relative expression level between different CIN I grades: CIN1 > CIN2 > CIN3, the difference was statistically significant ($F=105.799, 226.163, P<0.05$). The relative expression of NLRC3 mRNA was negatively correlated with CIN GRADING ($r=-0.863, P=0.000$), and the protein level of NLRC3 was negatively correlated with CIN grading ($r=-0.894, P=0.000$). ROC analysis showed that the AUC of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein for predicting CIN occurrence were 0.916 and 0.832, respectively, and the AUC for diagnosing HISL were 0.684 and 0.762, respectively. **Conclusion** The expression of NLRC3 in patients with cervical CIN was significantly decreased, and the expression of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein were negatively correlated with the severity of CIN. The value of NLRC3 expression in predicting the occurrence of CIN is high, and the value in auxiliary diagnosis of HISL is general.

[KEY WORDS] Cervical intraepithelial neoplasia; NLRC3; Express; Predictive value

基金项目:大兴区中西医结合医院院级科研课题(DXZXYZ201703)

作者单位:北京市大兴区中西医结合医院病理科,北京100076

*通信作者:张建海, E-mail: zhangjhbj_doctor@163.com

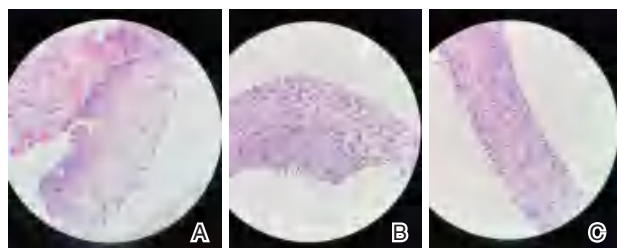
宫颈癌在女性恶性肿瘤中发病率较高,据2019年全国癌症报告,宫颈癌发病约占6.25%,病死率约占3.96%,相较于卵巢癌、子宫内膜癌等均更高,分别位于第6位与第8位;并且宫颈癌发病呈现出年轻化趋势,严重威胁着女性健康。宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)为宫颈癌前病变,高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)发生可加速宫颈癌前病变进程,使宫颈癌发病风险明显增加^[1-2]。故而,通过早期诊断宫颈CIN病变,有效阻断宫颈病变,并提高宫颈癌筛查效果具有重要临床意义。宫颈细胞学筛查常用于宫颈病变诊断,但是该方法假阴性率相对较高^[3-4]。肿瘤微环境改变与肿瘤发生发展及转移联系紧密,免疫炎症微环境在宫颈癌发生中承担着重要作用^[5]。模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)为宿主固有免疫系统关键组成,胞浆PRRs主要为NOD样受体(NOD-like Receptors, NLRs)。NLRC3属于NLR家族,可参与调控NF- κ B信号通路,进而对肿瘤发生发展产生影响。诸多研究^[6-7]表明,NLRC3与炎症反应存在关联,可对炎症信号通路进行负性调控,其功能失调与多种自身免疫性疾病及结肠癌、肺癌等肿瘤相关。近些年有研究^[8]表明,NLRC3可参与子宫内膜癌的发生发展。但目前,NLRC3调控宫颈病变发生发展的机制尚未明晰。本研究分析NLRC3表达与宫颈CIN病情的关系,探究其预测CIN发生及诊断HSIL的效能,旨在为宫颈癌前病变筛查及诊疗提供支撑。报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取北京市大兴区中西医结合医院2021年3月至2022年2月宫颈CIN患者96例为观察组,均经细胞学以及病理检查明确诊断。年龄平均(30.26 \pm 3.52)岁,体质指数(body mass index, BMI)平均(22.36 \pm 2.11)kg/m²,有生产史63例。根据世界卫生组织(world health organization, WHO)CIN分级标准^[9]进行划分,CIN1(35例):轻度非典型增生,细胞异型程度较轻,排列整齐性较差,但仍有极性,异常增殖细胞范围仅局限于上皮层1/3; CIN2(42例):中度非典型增生,异型程度明显,排列紊乱,异常增殖细胞范围延伸至上皮层下2/3;

CIN3(19例):重度非典型增生,异型程度显著,极性丧失,异常增殖细胞扩展范围近乎全层。CIN1归为低级别鳞状上皮内病变(LSIL),CIN2、CIN3归为高级别鳞状上皮内病变(HSIL)。见图1。



注:A为CIN1级;B为CIN2级;C为CIN3级。

图1 宫颈上皮内瘤变组织学染色(HE, $\times 20$)

Figure 1 Histological staining of cervical intraepithelial neoplasia (HE, $\times 20$)

纳入标准:①经细胞学、病理检查明确诊断为宫颈CIN^[10];②年龄18岁以上;③纳入本研究前未用药治疗。排除标准:①宫颈手术既往史;②合并恶性肿瘤;③伴内分泌、感染性疾病。于同期选取行宫颈检查正常者37名为对照组。年龄平均(29.51 \pm 3.71)岁,BMI平均(22.43 \pm 1.89)kg/m²,有生产史21例。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。入试者均签署知情同意书。本研究经医院伦理协会审核批准。

1.2 方法

在入组时,两组对象均采集外周静脉血2 mL两份。应用日本TAKARA人全血RNA试剂盒提取全血RNA,采用微量核酸仪测定RNA纯度与浓度。逆转录合成cDNA,置于-80 $^{\circ}$ C冰箱待测。cDNA作模板进行qPCR扩增,基于Genebank,检索并确定NLRC3基因及目标扩增序列,应用Prism5.0软件设计特异性引物,PCR引物序列:NLRC3 F为5'-CCCATACATGGATTCTCCACAA-3',R为5'-CCACTTCCAGATCCTACATCAAG-3';GADPH F为5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-3',R为5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3'。RT-PCR反应条件:在94 $^{\circ}$ C环境下预变性60 s,95 $^{\circ}$ C条件下变性5 s,接着,在60 $^{\circ}$ C条件下复性30 s,而后,72 $^{\circ}$ C条件下延伸1 min,循环共有35个。观察溶解曲线,结果计算采用2- $\Delta\Delta$ ct法,测定NLRC3 mRNA相对表达量。

采用Western blot实验测定NLRC3蛋白相对表达量。加入RIPA裂解液与苯基甲烷磺酰氟(1%

PMSF)均质裂解液,匀浆离心,离心转速3 000 r/min,半径13.5 cm,离心15 min,取上清液提取蛋白。应用BCA方法测定蛋白浓度,沸水浴15 min使蛋白变性,适量蛋白样品与10% SDS-PAGE凝胶混合,垂直电泳后完全分离,切下含NLRC3与内参GAPDH的胶段,移至PVDF膜,置于5%脱脂奶粉溶液中浸泡,室温下封闭60 min。加入20 mL一抗稀释液(1:1 000)与20 mL GAPDH一抗稀释液(1:45 000),置于4℃环境下孵育过夜,洗膜完全后,加入二抗稀释液(1:3 000),室温下孵育60 min;洗膜完全后,利用电化学发光液采用化学发光测定NLRC3蛋白相对表达水平。一抗稀释液购自Abcam公司,GAPDH购自武汉三鹰公司,二抗稀释液购自武汉塞维尔公司。

1.3 统计学方法

应用SPSS 22.0分析数据资料。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,多组间比较采用单因素ANOVA方差分析;计数资料以n(%)表示,行 χ^2 检验;采用Spearman相关性分析NLRC3表达与宫颈CIN患者病情程度的相关性;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白表达预测CIN发生及诊断HISL的价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白相对表达量比较

观察组NLRC3 mRNA相对表达量、NLRC3蛋白相对表达量均明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of the relative expression levels of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRC3 mRNA	NLRC3 蛋白
观察组	96	0.046±0.024	2.35±0.99
对照组	37	0.098±0.027	3.79±0.96
t值		10.236	7.557
P值		0.000	0.000

表3 NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白预测CIN发生的ROC分析结果

Table 3 ROC analysis results of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein predicting the occurrence of CIN

指标	AUC	SE值	Cut-off	最佳界值	敏感度	特异度	95% CI	P值
NLRC3 mRNA	0.916	0.023	0.058	0.740	1.000	0.740	0.871~0.961	0.000
NLRC3 蛋白	0.832	0.036	2.770	0.565	0.919	0.646	0.761~0.903	0.000

2.2 不同CIN分级NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白相对表达量比较

不同CIN分级NLRC3 mRNA相对表达量、NLRC3蛋白相对表达量比较CIN1>CIN2>CIN3,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 不同CIN分级NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of relative expression levels of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein in different CIN grades ($\bar{x} \pm s$)

CIN 分级	n	NLRC3 mRNA	NLRC3 蛋白
CIN1	35	0.071±0.017	3.37±0.51
CIN2	42	0.037±0.013 ^a	2.16±0.38 ^a
CIN3	19	0.019±0.005 ^{ab}	0.91±0.25 ^{ab}
F值		105.799	226.163
P值		0.000	0.000

注:与CIN1比较,^a $P < 0.05$,与CIN2比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 NLRC3表达与CIN病情程度的相关性

Spearman相关性分析显示,NLRC3 mRNA相对表达量与CIN分级呈显著负相关($r = -0.863, P = 0.000$)、NLRC3蛋白相对表达量与CIN分级呈显著负相关($r = -0.894, P = 0.000$)。

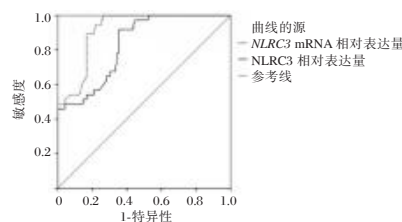


图2 NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白预测CIN发生的ROC曲线
Figure 2 ROC curve of NLRC3 mRNA and NLRC3 protein predicting the occurrence of CIN

2.4 NLRC3表达预测CIN发生及诊断HISL的价值

ROC曲线分析NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白的AUC分别为0.916、0.832,均有较高预测价值。见表3、图2。

建立ROC曲线分析NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白诊断HISL的价值;NLRC3 mRNA、NLRC3蛋白的AUC分别为0.684、0.762,均有一定预测价值。见表4、图3。

表4 *NLRC3* mRNA、*NLRC3* 蛋白预测 HISL 的 ROC 分析结果

Table 4 ROC analysis results of *NLRC3* mRNA and *NLRC3* protein predicting HISL

指标	AUC	SE	Cut-off	最佳 界值	敏感度	特异度	95% CI	P 值
<i>NLRC3</i> mRNA	0.684	0.044	0.050	0.524	0.943	0.582	0.598~0.771	0.000
<i>NLRC3</i> 蛋白	0.762	0.042	2.930	0.620	0.886	0.735	0.680~0.843	0.000

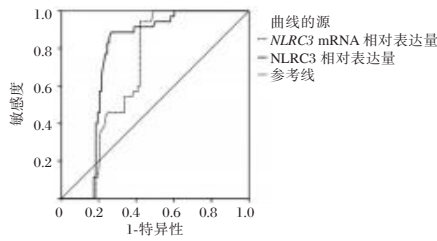


图3 *NLRC3* mRNA、*NLRC3* 蛋白预测 HISL 的 ROC 曲线
Figure 3 *NLRC3* mRNA and *NLRC3* protein predicted ROC curves of HISL

3 讨论

宫颈柱状上皮在各类不同高危因素诱导下发生早期病变,可使宫颈癌前病变发生风险明显上升。人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)16/18 高危亚型感染,可促使癌基因异常激活,宫颈柱状上皮细胞分化障碍风险显著增加,更容易诱发宫颈原位癌^[11]。对宫颈病变进行早期筛查,可为临床实施宫颈部分切除或锥形切除等方案提供指导与参考,从而有效阻断宫颈 CIN 逐渐发展至宫颈癌的演变过程。临床上常采用宫颈细胞学进行常规筛查,但是该筛查方式存在一定主观差异,并且对于部分宫颈病变位置较深者,部分研究报道筛查灵敏度较低,低于 70%,而漏诊率较高^[12]。单纯 HPV 病毒分型应用于宫颈病变筛查效果确切,然而在宫颈高级别上皮瘤变诊断上阳性符合率较低,部分可因药物使用而导致 HPV 假阴性^[13]。

PRRs 可激活相关炎症通路,促使机体启动防御机制。NLRs 为其主要成员之一,共有 C 末端、中央 NOD 与 N 末端三个特征结构域,在炎症反应以及信号传导级联反应中承担着重要作用,可通过抗炎性与促炎性调节炎症反应。*NLRC3* 位于第 16 号染色体,为胞内模式识别受体,具有高度保守显著特征。*NLRC3* 中央、C 末端结构域具有富含

亮氨酸的重复序列,且有由 6- α 螺旋束构成的 CARD 域。目前,愈多研究^[14-15]表明炎症反应与肿瘤发生发展联系密切,异常炎症反应或为肿瘤新生的重要标志或肿瘤主要特征。肿瘤形成早期,炎症微环境能够促使多种信号通路激活,从而驱动癌前病变进展与恶变损伤;渐而至晚期,癌细胞获得保卫机制,可从免疫监测下逃脱并避免清除。有研究^[16]表明,*NLRC3* 参与了炎症反应过程,可负性调控炎症信号通路。*NLRC3* 可与 ASC、caspase-5 等炎症因子在直接作用相互结合,对经典以及非经典 NF- κ B 信号通路进行调控,可影响肿瘤发生发展过程^[17]。有研究^[18]发现,*NLRC3* 在结肠癌中表达水平较正常组织明显降低,*NLRC3* 是 PI3K-AKT-mTOR 信号通路的抑制性感受体,可对该通路活化产生抑制作用,降低结肠癌发生风险。本研究结果与上述研究具有相似性。*NLRC3* 或参与宫颈 CIN 发生发展过程,*NLRC3* 低表达示 CIN 病理分级差,*NLRC3* 可能成为预测 CIN 发生以及诊断 HISL 的指标。本研究进一步采用 ROC 曲线分析 *NLRC3* 表达的价值发现, *NLRC3* mRNA、*NLRC3* 蛋白在预测 CIN 发生及诊断 HISL 上均有较高价值,灵敏度较高,但特异度一般。可与临床宫颈细胞学检查、HPV 病毒分型等方式联合应用,以提高宫颈 CIN 早期筛查效果。

综上,*NLRC3* 在宫颈 CIN 病变中表达水平明显降低,不同 CIN 分级 *NLRC3* 表达水平存在差异,*NLRC3* 表达随着 CIN 分级升高而逐渐下降,二者呈显著负相关关系。并且,*NLRC3* 表达在预测 CIN 发生及辅助诊断 HISL 上具有较高价值,临床或可联合常规筛查方式,以提高宫颈 CIN 早期筛查效果,从而为临床诊疗提供支持,降低宫颈癌发生率。本研究也存有样本量偏小局限,且未对 *NLRC3* 免疫组化检测结果展开研究,今后有待进一步丰富、深入研究内容。

参考文献

- [1] Salvadó A, Miralpeix E, Solé-Sedeno JM, et al. Predictor factors for conservative management of cervical intraepithelial neoplasia grade 2: Cytology and HPV genotyping[J]. Gynecol Oncol, 2021, 162(3): 569-574.
- [2] Atemnkeng N, Aji AD, de Sanjose S, et al. Antiretroviral Therapy and Detection of High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN2+) at Post-CIN Management Follow-up Among Women Living With Human Immunodeficiency Vi-

- rus: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(10):e540-e548.
- [3] 徐燕宁,陈凌,申彦,等. p16/Ki-67 双染在细胞学结果异常人群中的检测及其对宫颈 CIN2+ 病变的诊断价值[J]. 国际生物医学工程杂志, 2021, 44(4):272-276.
- [4] 张一方,薛鹏,唐朝,等. 评估细胞学、HR-HPV 在阴道镜检查中发生宫颈癌前病变风险的分层研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2021, 25(7):812-816+842.
- [5] 杨硕,杨清玲,陈昌杰. 肿瘤微环境中外泌体在肿瘤发生发展中作用及机制[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):396-400.
- [6] 王丹,裴谦,谭风波,等. III 期结直肠癌中 NLRC3 与预后和肿瘤免疫的关系[J]. 中南大学学报(医学版), 2019, 44(5):535-543.
- [7] 嵯映辰,常占强,张培国,等. 肺腺癌和肺鳞癌中 NLRC3 基因表达及其与肿瘤免疫细胞浸润的相关性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(5):450-454.
- [8] 孙一卿. NLRC3 及 GDF15 在子宫内膜癌中的表达及对细胞生物学行为的影响[D]. 济南:山东大学, 2021.
- [9] 胡尚英,赵雪莲,张勇,等. 《预防宫颈癌:WHO 宫颈癌前病变筛查和治疗指南(第二版)》解读[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(34):2653-2657.
- [10] 茅娅男,尤志学. ASCCP 2019 共识指南子宫颈癌前病变管理解读[J]. 现代妇产科进展, 2020, 29(12):936-941.
- [11] 郭玉,林丽红,高雁荣. 高危 HPV 感染与宫颈癌和癌前病变相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(3):156-158.
- [12] 苏玥辉,张梦真,张春燕,等. FH 联合 TCT、高危型 HPV 检测筛查宫颈癌及癌前期病变价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(4):562-565.
- [13] 努比叶木·沙依木,张慧,李凡卡. 新疆生产建设兵团妇女人乳头瘤病毒感染及宫颈病变筛查分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(6):804-806.
- [14] 李莹,杨波,张競. 4 种炎症指标对 I A2~II A2 期宫颈癌预后的预测价值[J]. 中华全科医学, 2021, 19(4):554-557+576.
- [15] 黄晓澜,王冬冬,杨清. 阴道炎症与宫颈癌发生的相关性研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(4):485-489.
- [16] Eren E, Berber M, Özören N. NLRC3 protein inhibits inflammation by disrupting NALP3 inflammasome assembly via competition with the adaptor protein ASC for pro-caspase-1 binding[J]. J Biol Chem, 2017, 292(30):12691-12701.
- [17] Schneider M, Zimmermann AG, Roberts RA, et al. The innate immune sensor NLRC3 attenuates Toll-like receptor signaling via modification of the signaling adaptor TRAF6 and transcription factor NF- κ B[J]. Nat Immunol, 2012, 13(9):823-31.
- [18] Ma YY, Zhang GH, Li J, et al. The correlation of NLRC3 expression with the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma. Hum PLeavy O. Tumour immunology: NLRC3 inhibits mTOR in colorectal cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(2):79.

(上接第 1798 页)

参考文献

- [1] Zhu YY, Zhang JL, Liu L, et al. Evaluation of serum retinol-binding protein-4 levels as a biomarker of poor short-term prognosis in ischemic stroke[J]. Biosci Rep, 2018, 38(5):BSR20180786.
- [2] 付睿. 肿瘤合并缺血性卒中的研究现状及展望[J]. 中国卒中杂志, 2021, 16(2):119-122.
- [3] Bi FF, Zhang YY, Liu WB, et al. Sinomenine activation of Nrf2 signaling prevents inflammation and cerebral injury in a mouse model of ischemic stroke[J]. Exp Ther Med, 2021, 21:647.
- [4] 章炜,王鸣,费晓,等. Klotho 对缺血再灌注急性肾损伤的影响研究[J]. 浙江医学, 2020, 42(20):2175-2179.
- [5] 蒋喆成. 成纤维细胞生长因子及 Klotho 在老年骨质疏松患者外周血清中的表达[D]. 江苏:苏州大学, 2017.
- [6] 赵丰,徐志云. 老年急性缺血性脑卒中患者炎症因子、血脂和氧化应激水平的变化[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(21):4515-4517.
- [7] 鲁豫. MiR-137 在缺血性卒中后抑郁患者外周血中的表达及其临床意义[D]. 新乡:新乡医学院, 2017.
- [8] 姜涛. 脑梗死后 TDCS 对 pannexin1 通道及神经可塑性的作用[D]. 广州:南方医科大学, 2013.
- [9] 杨园园. Klotho 蛋白抗肾间质纤维化作用的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2019, 46(12):919-922.
- [10] 阎红伶,邱轩,陈雅洁,等. Klotho 与慢性肾脏病研究进展[J]. 中国临床医生杂志, 2022, 50(3):274-276.
- [11] Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling ageing[J]. Nature, 1997, 390(6655):45-51.
- [12] Olejnik A, Franczak A, Krzywonos-Zawadzka A, et al. The Biological Role of Klotho Protein in the Development of Cardiovascular Diseases[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018:5171945.
- [13] Miao J, Huang J, Luo C, et al. Klotho retards renal fibrosis through targeting mitochondrial dysfunction and cellular senescence in renal tubular cells[J]. Physiol Rep, 2021, 9(2):e14696.
- [14] Lee JB, Woo HG, Chang Y, et al. Plasma Klotho concentrations predict functional outcome at three months after acute ischemic stroke patients[J]. Ann Med, 2019, 51(3-4):262-269.
- [15] 李欣,杨雪琴,史梦琪,等. Klotho 对缺血性脑损伤的抗氧化保护作用及机制研究[J]. 药学报, 2018, 53(8):1331-1336.

毒性弥漫性甲状腺肿患者 IGF-1、UA 及 FGF-23 与骨密度的关系

田勇* 崔晓磊 侯卫东 李进 丁红霞

[摘要] 目的 探讨毒性弥漫性甲状腺肿(GD)患者胰岛素样生长因子(IGF-1)、尿酸(UA)及成纤维生长因子23(FGF-23)与骨密度的关系。方法 选取2017年5月至2021年5月在河南省平顶山市第一人民医院进行治疗的98例GD患者作为观察组,选取同期本院102例健康体检者设为对照组,比较两组IGF-1、UA、FGF-23水平及骨密度(BMD)值。根据T值将观察组分为骨量正常组、骨量减少组,比较两组IGF-1、UA及FGF-23水平,分析三项指标与BMD值的相关性。结果 观察组IGF-1、UA及FGF-23水平均高于对照组,BMD值低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组根据T值结果分为:骨量正常组(63例)、骨量异常组(35例)。骨量异常组IGF-1、UA及FGF-23水平高于骨量正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson直线相关结果显示,IGF-1、UA及FGF-23水平与BMD值呈负相关($P<0.05$)。结论 GD患者伴有不同的IGF-1、UA、FGF-23水平紊乱,IGF-1、UA、FGF-23与GD患者BMD值呈负相关,临床需加强三项指标检测,以预防、治疗GD。

[关键词] 毒性弥漫性甲状腺肿; IGF-1; UA; FGF-23; BMD

Relationship between IGF-1, UA and FGF-23 and bone mineral density in patients with Graves disease

TIAN Yong*, CUI Xiaolei, HOU Weidong, LI Jin, DING Hongxia

(Department of Endocrinology and Metabolism, the First People's Hospital of Pingdingshan, Pingdingshan, Henan, China, 467000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between insulin-like growth factor (IGF-1), uric acid (UA) and fibroblast growth factor 23 (FGF-23) and bone mineral density in patients with Graves (GD). **Methods** 98 GD patients treated in the First People's Hospital of Pingdingshan City, Henan Province from May 2017 to May 2021 were selected as the observation group, and 102 healthy people in our hospital during the same period were selected as the control group. IGF-1, UA, FGF-23 levels, and bone mineral density (BMD) values of the two groups were compared. According to T value, the observation group was divided into the normal bone mass group and the osteoporosis group, the levels of IGF-1, UA and FGF-23 in the two groups were compared, and the correlation among the three indicators and BMD value was analyzed. **Results** The levels of IGF-1, UA and FGF-23 in the observation group were higher than those in the control group, the BMD value in the observation group was lower than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The observation group was divided into normal bone mass group (63 cases) and abnormal bone mass group (35 cases) according to the T value. The levels of IGF-1, UA and FGF-23 in the abnormal bone mass group were higher than those in the normal bone mass group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Pearson linear correlation results showed that IGF-1, UA and FGF-23 levels were negatively correlated with BMD value ($P<0.05$). **Conclusion** GD patients are accompanied with

基金项目:河南省科技厅资助项目(171200211936)

作者单位:河南省平顶山市第一人民医院内分泌代谢科,河南,平顶山 467000

*通信作者:田勇, E-mail:13323900502@163.com

different levels of IGF-1, UA, FGF-23 disorders. IGF-1, UA, FGF-23 are negatively correlated with the BMD value of GD. The clinical needs to strengthen the detection of these three indicators to prevent and treat GD.

[KEY WORDS] Graves disease; IGF - 1; UA; FGF - 23; BMD

毒性弥漫性甲状腺肿(Graves disease, GD)是导致甲状腺功能亢进最常见的原因,也是器官特异性自身免疫性疾病,其在我国的发病率为0.25%~1.09%^[1]。目前GD的发病机制尚未明确。GD患者骨密度降低,骨质疏松、骨折的发生率较高^[2]。研究发现, GD患者全身各个系统兴奋性增高和代谢亢进,血清尿酸(Uric acid, UA)水平过高会影响肾脏正常功能,不利于甲状腺激素代谢^[3]。胰岛素样生长因子(Insulin like growth factor-1, IGF-1)及成纤维生长因子23(Fibblast growth factor 23, FGF-23)具有促细胞分化的作用,是调节维生素D和磷代谢的重要调控因子^[4]。最新研究指出, IGF-1及FGF-23可以由骨骼合成,与成骨细胞活性密切相关,参与骨重建^[5]。本研究旨在探讨GD患者IGF-1、UA及FGF-23与骨密度(Bone mineral density, BMD)的关联。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年5月至2021年5月在河南省平顶山市第一人民医院进行治疗的98例GD患者作为观察组。纳入标准:①甲状腺弥漫性肿大,部分病例可无甲状腺肿大,经触诊和B超证实为GD^[6];②入院时生化检查结果显示血清甲状腺激素浓度升高;③临床甲亢症状和体征;④临床资料完整。排除标准:①高功能性甲状腺瘤、桥本甲状腺炎患者;②因合并急性/亚急性甲状腺炎等疾病所致的甲状腺功能亢进;③严重肝、肾功能疾病者、恶性肿瘤者或合并其它影响骨代谢疾病者;④纳入研究前一个月内使用过钙剂、糖皮质激素及维生素者。

选取同期本院102例健康体检者设为对照组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 IGF-1、UA及FGF-23水平检测方法

观察组于入院当天,对照组于体检当日清晨空腹抽取静脉血3 mL,无需抗凝,3 000 r/min离心15 min(离心半径为10 cm),分离血清, -80℃保存待测,均在42 h内完成检测。应用酶联免疫吸附

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

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

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI (kg/m ²)
		男	女		
观察组	98	31(31.63)	67(68.37)	48.36±7.54	22.11±2.14
对照组	102	32(31.37)	70(68.63)	49.12±7.33	22.57±2.29
χ^2/t 值		0.012		0.723	1.466
P值		0.968		0.471	0.144

法检测血清IGF-1、UA及FGF-23,全自动生化仪(型号:LX20)及配套试剂盒采购自武汉贝茵莱生物科技有限公司。

1.2.2 BMD检测方法

采用LumarProdigy 双能X线骨密度仪(生产厂家:美国GE公司;型号:DEXA)测量两组腰椎正位(L2~L4)的BMD(T)值。按照世界卫生组织推荐的诊断标准,与健康同性别T值比较, T值 ≥ -1.0 SD为骨量正常, T值: -2.5 SD~-1.0 SD为骨量减少, T值 ≤ -2.5 SD为骨质疏松^[7]。根据T值将观察组分为骨量正常组和骨量异常组(包括骨质疏松和骨量减少)两组。

1.3 统计学方法

应用SPSS 22.0统计软件分析数据。计数资料以率 $n(\%)$ 表示,以 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较以t检验;多组间比较采用F检验;采用Pearson直线相关分析IGF-1、UA及FGF-23水平浓度与BMD的相关性;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组IGF-1、UA及FGF-23水平比较

观察组IGF-1、UA及FGF-23水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组IGF-1、UA及FGF-23水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the levels of IGF-1, UA and FGF-23 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGF-1 (pg/mL)	μ UA (μ mol/L)	FGF-23 (ng/L)
观察组	98	21.31±3.47	421.25±49.75	539.56±50.14
对照组	102	13.25±2.17	331.12±33.19	428.69±37.45
t值		19.778	26.740	17.763
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组腰椎 BMD 值比较

观察组 BMD 值低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组腰椎 BMD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of BMD values of lumbar spine between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMD(g/cm ²)
观察组	98	0.720±0.117
对照组	102	1.172±0.081
t 值		31.870
P 值		<0.001

2.3 不同 BMD 值的 GD 患者 IGF-1、UA 及 FGF-23 水平比较

观察组根据 T 值结果分为骨量正常组 (63 例)、骨量异常组 (35 例)。骨量异常组 IGF-1、UA 及 FGF-23 水平高于骨量正常组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 不同 BMD 值的 GD 患者 IGF-1、UA 及 FGF-23 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of IGF-1, UA and FGF-23 levels in GD patients with different BMD values ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGF-1(pg/mL)	UA(μmol/L)	FGF-23(ng/L)
骨量正常组	63	18.56±2.89	389.59±46.11	511.47±46.13
骨量异常组	35	26.26±3.59	453.04±56.30	590.12±57.36
t 值		11.574	6.025	7.403
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 IGF-1、UA 及 FGF-23 水平与 BMD 值的相关性

IGF-1、UA 及 FGF-23 水平与 BMD 值呈负相关 ($r = -0.789, P = 0.035; r = -0.814, P = 0.017; r = -0.825, P = 0.014$)。

3 讨论

GD 是内分泌科常见疾病, 因患者血清甲状腺激素水平高, 会加速骨转换, 增加破骨细胞活性, 导致骨量异常^[8]。近年研究证实 GD 可引起患者 BMD 值改变, 患者骨密度降低, 骨折发生的风险较高^[9]。对 GD 的早期诊断、预防及治疗日益引起临床学者的关注。

IGF-1 是一种由 70 个氨基酸组成的单链多肽, 主要在肝脏合成, 其作为生长激素的介导因子, 对细胞的正常生长和发育、骨骼重建、神经生长等发挥重要的作用^[10]。有文献报道, IGF-1 参与甲状腺疾病的发病, 其受体表达于多种免疫细胞表面, 干扰免疫功能, 并能影响成骨细胞活性, 调节骨代谢^[11]。

相关文献指出, GD 可能通过 UA 代谢而影响骨、矿物质代谢, GD 患者发生高 UA 症的风险较大^[12]。FGF-23 通过增加巨噬细胞以及诱导巨噬细胞中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 参与 GD 发病。有学者通过大鼠实验发现, FGF-23 与骨密度存在关联^[13]。本研究结果提示 IGF-1、UA、FGF-23 在 GD 疾病发生的过程中发挥作用。BMD 值是目前临床用于诊断骨质疏松、预测骨质疏松性骨折风险的最佳定量指标^[14]。本研究结果发现: 观察组 BMD 水平低于对照组, 与 Wang 等学者^[15]所得结果相符, 可以看出 GD 对腰椎 BMD 存在明显影响。

IGF-1 具有免疫调节作用, 能促进甲状腺细胞的增生与分化, 并通过自分泌或旁分泌调节骨发育及成骨细胞代谢^[16]。姜含芳等人^[17]指出, 血清中高浓度的甲状腺激素能促进嘌呤核苷酸转化, 另外, 甲状腺激素会抑制肾小管排泄 UA, 从而使 UA 水平增高, 而高 UA 直接损伤骨骼血管的内皮功能, 导致骨形成减少, 骨量丢失。FGF-23 被指定为成纤维细胞生长因子家族中最后一员, 由 251 个氨基酸残基组成, FGF-23 水平与甲状腺疾病相关^[18]。进一步 Pearson 直线相关分析显示: IGF-1、UA 及 FGF-23 水平与 BMD 值呈负相关, 与既往文献结果相符^[19]。考虑其中原因可能: IGF-1 对促成骨细胞作用不足, 致使其无法抵抗由于 GD 缺乏而引起的骨丢失, 从而导致 BMD 值的下降; IGF-1 水平增高会引起急性炎症反复发作, 骨骼的机械刺激减弱, 直接抑制成骨细胞生成, 从而影响 BMD 水平; FGF-23 作为参与骨细胞代谢过程的关键因子之一, 会刺激骨细胞增殖, 促进骨吸收, 导致 GD 患者 BMD 逐渐下降。

综上所述, GD 患者伴有不同的 IGF-1、UA、FGF-23 水平紊乱, IGF-1、UA、FGF-23 与 GD 患者 BMD 值呈负相关, 临床可通过加强检测三项指标水平, 以预防、治疗 GD。

参考文献

- [1] 黄杰, 于鹏飞. 糖皮质激素治疗 Graves 病甲状腺功能亢进患者的临床分析[J]. 中国地方病防治杂志, 2020, 35(6): 682-683.
- [2] 马金刚, 魏红丽, 尚恒. 甲硫咪唑治疗 Graves 病早期诱发白细胞计数减少的影响因素研究[J]. 中国全科医学, 2020, 23(35): 4465-4469.
- [3] 刘晓相, 刘玉盒, 高晓燕, 等. TRAb 在 Graves 病诊治中的变化及与甲状腺功能、用药剂量及时间的相关性[J]. 医学综述, 2020, 26(7): 192-196.

(下转第 1810 页)

冠心病合并心力衰竭 cTnI、Mb、IL-10 水平与心功能的相关性

梁魏昉^{1*} 李合燕¹ 金培印¹ 聂明¹ 聂绍平²

[摘要] **目的** 分析冠心病合并心力衰竭心肌肌钙蛋白 I (cTnI)、肌红蛋白 (Mb)、白介素-10 (IL-10) 水平与心功能的相关性。**方法** 分析 2019 年 6 月至 2021 年 3 月于安阳市人民医院治疗的 125 例冠心病患者的临床资料,根据有无合并心力衰竭,将患者分为合并心力衰竭组 ($n=66$)、单纯冠心病组 ($n=59$)。另选取 40 例同时时间段进行健康体检者作为对照组。比较三组 cTnI、Mb、IL-10 水平、合并心力衰竭组与单纯冠心病组心功能指标,同时分析 cTnI、Mb、IL-10 水平与心功能指标的相关性。**结果** 三组 cTnI、Mb、IL-10 水平:合并心力衰竭组>单纯冠心病组>对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。LVEDD、LVESD:合并心力衰竭组>单纯冠心病组>对照组,LVEF:合并心力衰竭组<单纯冠心病组<对照组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,cTnI、Mb、IL-10 与 LVEDD、LVESD 呈负相关 ($P>0.5$),与 LVEF 呈正相关 ($P<0.05$)。**结论** 临床可考虑将 cTnI、Mb、IL-10 水平以及心功能指标作为判断冠心病患者有无合并心力衰竭的参考依据。

[关键词] cTnI; Mb; IL-10; 冠心病合并心力衰竭; 心功能

Correlation between cTnI, Mb, IL-10 levels and cardiac function in patients with coronary heart disease combined with heart failure

LIANG Weifang^{1*}, LI Heyan¹, JIN Peiyin¹, NIE Ming¹, NIE Shaoping²

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Anyang People's Hospital, Anyang, Henan, China, 455000;

2. Department of Cardiovascular Medicine, Beijing Anzhen Hospital, Beijing, China, 100029)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between the levels of cardiac troponin I (cTnI), myoglobin (Mb), interleukin-10 (IL-10) and cardiac function in patients with coronary heart disease complicated with heart failure. **Methods** The clinical data of 125 patients with coronary heart disease treated in Anyang People's Hospital from June 2019 to March 2021 were analyzed. According to presence or absence of congestive heart failure, the patients were divided into the combined heart failure group ($n=66$), and the simple coronary heart disease group ($n=59$). Another 40 patients who underwent physical examination at the same time period were selected as the control group. cTnI, Mb, IL-10 levels, cardiac function indexes of combined heart failure group and simple coronary heart disease group were compared of the parents, and the correlation between the levels of cTnI, Mb, IL-10 and the cardiac function indexes were analyzed. **Results** The levels of cTnI, Mb, IL-10 in the three groups: combined heart failure group > simple coronary heart disease group > control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). LVEDD, LVESD: combined heart failure group > simple coronary heart disease group > control group, LVEF: combined heart failure group < simple coronary heart disease group < control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that cTnI, Mb, IL-10 were negatively correlated with LVEDD and LVESD ($P>0.5$), while were positively correlated with LVEF ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of cTnI, Mb, IL-10 and cardiac function indicators can be considered as the reference basis for judging whether patients with coronary heart disease have congestive heart failure.

[KEY WORDS] cTnI; Mb; IL-10; Coronary heart disease with heart failure; Heart function

基金项目:北京市医院管理局“登峰”人才培养计划 (DFL20180601)

作者单位:1.安阳市人民医院心血管内科,河南,安阳 455000

2.北京安贞医院心内科,北京,100029

*通信作者:梁魏昉, E-mail: lianggiufang2008@163.com

冠心病全称冠状动脉粥样硬化性心脏病,属于心血管内科的常见疾病,其是由于冠状动脉管腔狭窄或出现阻塞导致血、氧供给不足而引起的心肌功能性或器质性病变^[1]。冠心病临床常表现为心力衰竭、心律失常等一系列症状,严重可致死亡。其中心力衰竭最为常见,同时其也是冠心病患者常见死亡原因之一^[2]。随着经济快速发展、生活习惯变化以及人口老龄化的加快,冠心病的发病率正在逐年上升。及时正确的诊断评估、早期治疗是改善患者病情,降低死亡率的关键点^[3]。心肌肌钙蛋白(cardiac troponin I, cTnI)和肌红蛋白(myoglobin, Mb)为反映心肌损伤的标志物。研究显示,白细胞介素10(Interleukin-10, IL-10)参与心肌损伤诱导心功能不全的病理过程^[4]。本文就冠心病合并心力衰竭患者cTnI、Mb、IL-10水平进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年6月至2021年3月于安阳市人民医院治疗的125例冠心病患者,纳入标准:①经临床、X片实验室等检查,均符合《中国心血管病风险评估和管理指南》中冠心病诊断标准^[5];②合并心力衰竭患者符合《中国心力衰竭诊断和治疗指南2018》中心力衰竭诊断标准^[6];③所有患者的临床资料均完整。排除标准:①存在恶性肿瘤者;②存在精神疾病无法配合本研究或依从性差者;③中途退出研究者。根据有无合并心力衰竭,将患者分为合并心力衰竭组($n=66$,冠心病合并心力衰竭)、单纯冠心病组($n=59$,单纯冠心病)。另选取40名同时间段进行健康体检者作为对照组。三组基本资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究经医院伦理委员会批准。受试者及家属均签署相关协议书。

1.2 检测方法

抽取所有参与研究者早晨空腹静脉血5 mL, 3 000 r/min(离心半径8 cm)离心10 min分离血清,

取出低温保存。使用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测IL-10水平,试剂盒均购自上海恒远生物科技有限公司,严格按照使用说明书进行操作检测。采用免疫层析法检测血清Mb和cTnI水平,仪器为LEPU QuantGold免疫定量分析仪(北京乐普科技有限责任公司)。

使用Philips IE33“心悦”超声诊断仪,S5-1探头,频率设置为1~5 MHz,为患者进行二维超声检查。使用S5-1探头进行二维超声检查,于心尖四腔切面采用双平面simpson法测量并比较心功能指标,包括左室舒张末期内径(leftventricle end-diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用Spearman分析cTnI、Mb、IL-10水平与心功能的相关性,并绘制散点图;以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组cTnI、Mb、IL-10水平比较

三组cTnI、Mb、IL-10水平:合并心力衰竭组>单纯冠心病组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.2 三组心功能指标比较

LVEDD、LVESD:合并心力衰竭组>单纯冠心病组>对照组,LVEF:合并心力衰竭组<单纯冠心病组<对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.3 cTnI、Mb、IL-10水平与心功能的相关性

Spearman相关分析显示,cTnI、Mb、IL-10与LVEDD呈负相关($P<0.5$),cTnI、Mb、IL-10与LVESD呈负相关($P<0.5$),cTnI、Mb、IL-10与LVEF呈正相关($P<0.05$)。见表4。

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

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

组别	n	性别(男/女)	平均年龄(岁)	体重(kg)	吸烟	喝酒
合并心力衰竭组	66	49/17	65.58±4.73	57.56±4.26	34(51.52)	32(48.48)
单纯冠心病组	59	40/17	66.13±4.35	57.63±4.25	30(50.84)	28(47.46)
对照组	40	22/18	65.86±4.56	56.89±4.96	19(47.50)	21(52.50)
F/χ^2 值		0.169	0.23	0.38	0.172	0.259
P 值		0.919	0.797	0.681	0.918	0.879

表2 三组cTnI、Mb、IL-10水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Compare the levels of cTnI, Mb, IL-10 in the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	cTnI(ng/mL)	Mb(mg/L)	IL-10(pg/mL)
合并心力衰竭组	66	1.56±0.18 ^{ab}	113.82±21.86 ^{ab}	596.28±63.59 ^{ab}
单纯冠心病组	59	0.95±0.11 ^a	75.66±16.38 ^a	359.56±52.38 ^a
对照组	40	0.36±0.05	31.26±4.73	201.56±46.26
F值		1026.00	292.69	668.66
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组对比,^aP<0.05;与单纯冠心病组对比,^bP<0.05。

表3 三组心功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Compare three sets of cardiac function indicators ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF(%)
合并心力衰竭组	66	57.95±10.93 ^{ab}	70.75±11.58 ^{ab}	40.28±6.59 ^{ab}
单纯冠心病组	59	52.86±9.26 ^a	63.76±10.35 ^a	53.12±8.63 ^a
对照组	40	44.56±8.79	58.69±10.63	65.26±9.43
F值		22.96	16.12	122.01
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组对比,^aP<0.05;与单纯冠心病组相比,^bP<0.05。

表4 cTnI、Mb、IL-10水平与LVEDD、LVESD、LVEF相关性

Table 4 Correlation between cTnI, Mb, IL-10 levels and LVEDD, LVESD, LVEF

项目	LVEDD		LVESD		LVEF	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
cTnI	-0.569	<0.05	-0.765	<0.05	0.712	<0.05
Mb	-0.613	<0.05	-0.689	<0.05	0.736	<0.05
IL-10	-0.639	<0.05	-0.673	<0.05	0.694	<0.05

3 讨论

冠心病合并心力衰竭是冠状动脉发生病变造成舒张功能衰退、心肌收缩而不能满足机体组织及生理活动需要的一组临床综合征^[7]。作为一种复杂而严重的临床综合征,冠心病合并心力衰竭多发于老年人群中,其早期症状体征表现不明显,易对临床诊断结果造成影响^[8]。因此临床亟需寻找快速有效的评估冠心病合并心力衰竭病情及预后的检测方法^[9]。

近年来不少研究证明,心肌肌钙蛋白灵敏度高、特异性强,在冠心病发病后出现较早,并可持续4~10天,是目前诊断心肌损伤较好的标志物,可反映心功能障碍程度,其认为cTnI与患者心功能分级具有一定的联系^[10-11]。Mb属于储氧蛋白,存在于心肌和骨骼肌的细胞中,当心肌损伤后机会大量释放Mb到血液中,当心肌损伤越严重Mb

含量越高,对此Mb被认为早期诊断心肌损伤的理想生化指标^[12]。IL-10属于免疫抑制因子,可抑制多种细胞、生长因子(单核、巨噬细胞、T淋巴细胞等)的合成,下调多种心肌破坏性细胞因子,从而保护心肌,减慢动脉粥样硬化的进程,同时IL-10作为反映免疫系统炎症的指标,其水平升高和心血管事件有着密切的联系^[13]。cTnI作为调节蛋白,可影响心肌收缩及舒张,属于心肌细胞特异性标志物,其敏感度和特异度较高,正常人体内cTnI含量极低,当心肌损伤后,机体细胞膜通透性有所增加,使得cTnI外流到血液中,导致血清中cTnI水平异常升高^[13]。国外有研究认为cTnI、Mb、IL-10水平在冠心病患者有无合并心力衰竭中有着不同的表达,可作为临床判断冠心病患者有无合并心力衰竭指标^[14]。

心功能指标是评价心功能损伤的敏感性指标,其水平变化幅度越高表明心功能损伤程度较高,患者心功能越差,反之说明患者心功能受损程度越低,患者心功能较好。王艳等人认为cTnI、hs-CRP及NTProBNP能够较好地反映老年慢性心力衰竭患者的心功能。对病情及预后评估具有重要参考价值^[15]。同时还有研究认为心功能指标对临床判断患者有无合并心力衰竭具有一定的参考价值^[16]。本研究发现,合并心力衰竭组LVEDD、LVESD大于单纯冠心病组、对照组,而LVEF小于单纯冠心病组、对照组。说明cTnI、Mb、IL-10水平与心功能指标具有一定的相关性。

综上所述,临床可考虑将cTnI、Mb、IL-10水平以及心功能指标作为判断冠心病患者有无合并心力衰竭的参考依据。

参考文献

- [1] 李蓉,吴秀慧,李志波,等.重症肺炎合并心力衰竭患儿血清NT-proBNP、cTnI和H-FABP的表达水平及其与心功能的关系[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(10):1510-1512.
- [2] Barthelmes J, Nägele MP, Cantatore S, et al. Retinal microvascular dysfunction in patients with coronary artery disease with and without heart failure: a continuum?[J]. Eur J Heart Fail, 2019,21(8):988-997.
- [3] 侯明建,常舫舫,许河南,等. BMI、尿酸水平与老年冠心病合并慢性心力衰竭的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2019,16(4):548-550.
- [4] Gao Y, Zhu R, Tan X, et al. Shenfu injection combined with furosemide in the treatment of chronic heart failure in patients with coronary heart disease: A protocol of randomized controlled trial[J]. Medicine, 2021,100(3):13-24.

- [5] Tsigkou V, Siasos G, Bletsas E, et al. The Predictive Role for ST2 in Patients with Acute Coronary Syndromes and Heart Failure[J]. *Curr Med Chem*, 2019,27(27):12-16.
- [6] 白兴合,代玉川,刘平等.慢性心力衰竭合并糖尿病患者血浆BNP、CRP和HbA1c的表达及与心功能分级的相关性[J].*分子诊断与治疗杂志*,2021,13(1):119-122+127.
- [7] 张蓉,章世平,蒋元翠.血清cTnI、NT-proBNP水平与妊娠合并慢性心力衰竭患者心功能的相关性及其临床意义[J].*心血管康复医学杂志*,2019,28(2):152-156.
- [8] Bowling CB, Davis BR, Luciano A, et al. Sustained blood pressure control and coronary heart disease, stroke, heart failure, and mortality: An observational analysis of ALLHAT [J]. *J Clin Hypert*, 2019,21(4):13-15.
- [9] 李达波.血清糖类抗原125及心肌肌钙蛋白I水平与扩张型心肌病并慢性充血性心力衰竭患者心功能的相关性研究[J].*实用心脑血管病杂志*,2017,25(1):18-21.
- [10] Wang B, Li T, Han X, et al. The Level of Circulating Microparticles in Patients with Coronary Heart Disease: a Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020,13(5):702-712.
- [11] Aya B, Reem I, Zyoud SH. Cardiac self-efficacy and quality of life in patients with coronary heart disease: a cross-sectional study from Palestine [J]. *BMC Cardiovasc disord*, 2020, 2019(3):287-290.
- [12] Malik AH, Shetty S, Kar K, et al. Effect of β -blocker therapy in diabetic patients with stable coronary heart disease: A meta-analysis [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2019,16(3):291-297.
- [13] 刘颖.冠心病合并心力衰竭患者血浆组织蛋白酶S和血小板反应蛋白-1的表达及意义[J].*中国医师杂志*,2019,21(6):903-906.
- [14] Yubero-Serrano EM, Fernandez-Gandara C, Garcia-Rios A, et al. Mediterranean diet and endothelial function in patients with coronary heart disease: An analysis of the CORDIO-PREV randomized controlled trial [J]. *PLOS Med*, 2020,17(9):32-37.
- [15] 王艳,刘艳丽,洪艳春,等.老年慢性心力衰竭患者肌钙蛋白I、超敏C-反应蛋白、氨基末端B型脑钠肽前体的变化及其预后评估价值[J].*中国卫生检验杂志*,2017,27(22):3279-3281.
- [16] Lehto HR, Pietilä A, Niiranen TJ, et al. Clinical Practice Patterns in Revascularization of Diabetic Patients with Coronary Heart Disease: Nationwide Register Study [J]. *Ann Med*, 2020,52(5):1-22.

(上接第1806页)

- [4] Ross M, Francis GL, Szabo L, et al. Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins inhibit the biological activities of IGF-1 and IGF-2 but not des-(1-3)-IGF-1. [J]. *Biochem J*, 2019,40(1):267-272.
- [5] 陈蓉,刘红,盛志峰.FGF23生物学特征及其与代谢性疾病关系的研究[J].*中国医师杂志*,2021,23(3):116-120.
- [6] 杨卓文,杨敬源,金瑞,等.Graves病患者血小板参数与血清TRAb的相关性研究[J].*哈尔滨医科大学学报*,2019,53(3):252-255.
- [7] 吕遐,扶琼.原发性骨质疏松症的研究进展与最新指南解读[J].*临床内科杂志*,2020,37(5):147-151.
- [8] 李娜,巴雅,张洁,等.计算剂量方案131I治疗Graves病甲状腺功能亢进疗效分析[J].*中华实用诊断与治疗杂志*,2020,34(11):1165-1168.
- [9] 薛磊,苏东月,葛振英.Graves病患者外周血Treg/Th17及相关细胞因子与骨密度的相关性[J].*中国实用医刊*,2021,48(7):164-168.
- [10] Verschure PJ, Joosten LA, Loo F, et al. IL-1 has no direct role in the IGF-1 non-responsive state during experimentally induced arthritis in mouse knee joints [J]. *Ann Rheum Dis*, 2019,54(12):976-982.
- [11] 张立颖,褚俏梅,李方都.Graves眼病患者经¹³¹I治疗后血清IL-17、IGF-1、ICAM-1检测分析及临床意义[J].*陕西医学杂志*,2019,47(3):393-396.
- [12] 黄杰,于鹏飞.Graves病甲状腺功能亢进患者血清尿酸影响因素的临床分析[J].*中国地方病防治杂志*,2021,36(1):32-36.
- [13] 戴静华,赵儒义,常晓岑,等.胰岛素抵抗大鼠FGF-23、骨代谢指标、骨超微结构变化及相关性研究[J].*浙江医学*,2020,42(4):176-180.
- [14] 王俊江,王红建,宋晓磊,等.胸腰椎骨质疏松性骨折患者IGFBP3、IL-17、网膜素-1与骨密度、骨代谢的关系[J].*分子诊断与治疗杂志*,2021,13(2):183-186+190.
- [15] Wang H, Shang Y, Chen X, et al. Delivery of MSCs with a Hybrid β -Sheet Peptide Hydrogel Consisting IGF-1C Domain and D-Form Peptide for Acute Kidney Injury Therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020,15(13):4311-4324.
- [16] 闫园园,魏剑芬,李世超,等.血清胰岛素样生长因子-1与糖尿病合并甲状腺疾病的相关性[J].*广东医学*,2019,40(5):647-651.
- [17] 姜含芳,黄晶,黄宝兴,等.甲状腺功能亢进患儿的血尿酸水平变化分析[J].*检验医学与临床*,2019,16(4):287-291.
- [18] 邵素荣,张建荣.FGF-23在继发性甲状旁腺功能亢进症发病机制中的作用进展[J].*中国普外基础与临床杂志*,2020,27(10):164-168.
- [19] 陈小燕,陈戈.甲状腺功能亢进症患者血清FGF21表达及其与FT3、FT4水平的关系[J].*海南医学*,2019,30(5):196-201.

冠心病颈动脉超声参数 AC、 β 及 IMT 与冠状动脉病变的关系

屈娟娟

[摘要] 目的 分析冠心病颈动脉超声参数颈动脉顺应性(AC)、颈总动脉硬化度(β)及颈总动脉内-中膜厚度(IMT)与冠状动脉病变的关系。方法 收集2019年10月至2021年10月联勤保障部队第九八八医院收治的115例冠心病患者临床资料(冠心病组),根据病支数不同分组:1支冠脉病变(冠脉狭窄 $>50\%$)35例,2~3支冠脉病变80例;根据Gensini评分为轻度(Gensini评分 <20 分)39例,中-重度(Gensini评分 ≥ 20 分)76例。另选取本院同期健康体检者98例作为对照组。对比不同人群、不同冠脉病变支数患者以及不同Gensini评分患者中颈动脉超声参数AC、 β 及IMT;分析颈动脉超声参数AC、 β 及IMT与冠状动脉病变的关系。结果 冠心病组颈动脉超声参数AC、 β 及IMT均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。2~3支冠脉病变颈动脉超声参数AC、 β 及IMT均明显高于1支冠脉病变,差异有统计学意义($P<0.05$)。轻度组患者颈动脉超声参数AC、 β 及IMT均明显低于中-重度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。动脉超声参数AC、 β 及IMT与患者冠脉病变支数为正相关($r_{AC}=0.613, r_{\beta}=0.488, r_{IMT}=0.519, P$ 均 <0.001),与患者Gensini评分为正相关($r_{AC}=0.633, r_{\beta}=0.519, r_{IMT}=0.506, P$ 均 <0.001)。结论 冠心病颈动脉超声参数AC、 β 及IMT与冠状动脉病变之间密切相关,颈动脉超声在冠心病早期筛查中有较好的应用前景。

[关键词] 冠心病;颈动脉超声;AC; β ;IMT;冠状动脉病变

Relationship between carotid ultrasound parameters AC, β and IMT and coronary artery lesions in coronary heart disease

QU Juanjuan

(Department of District 1 Ultrasound, No. 988th Hospital, Joint Logistics Support Force, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between carotid ultrasound parameters carotid artery compliance (AC), common carotid artery stiffness (β) and common carotid artery intima-media thickness (IMT) and coronary artery disease in patients with coronary heart disease. **Methods** The clinical data of 115 patients with coronary heart disease admitted to the 988th Hospital of the Joint Logistics Support Force from October 2019 to October 2021 were collected (Coronary heart disease group), and grouped according to the number of diseased branches: 1 coronary artery disease (coronary artery stenosis $>50\%$) 35 cases, 80 cases of 2-3 coronary artery disease; according to Gensini score, 39 cases were mild (Gensini score < 20 points), and 76 cases were moderate-severe (Gensini score ≥ 20 points). In addition, 98 healthy subjects in our hospital during the same period were selected as the control group. The carotid ultrasound parameters AC, β and IMT in different populations, patients with different coronary artery disease branch numbers, and different Gensini scores were compared; the relationship between carotid ultrasound parameters AC, β and IMT and coronary artery lesions was analyzed. **Results** The carotid ultrasound parameters AC, β and IMT in the

基金项目:河南省医学科技公关计划项目(201902037)

作者单位:联勤保障部队第九八八医院超声科一区,河南,郑州450000

coronary heart disease group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The carotid ultrasound parameters AC, β and IMT of 2-3 coronary artery disease were significantly higher than those of 1 coronary artery disease, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The carotid ultrasound parameters AC, β and IMT in the mild group were significantly higher than those in the moderate-severe group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Arterial ultrasound parameters AC, β and IMT were positively correlated with the number of coronary artery lesions ($r_{AC}=0.613$, $r_{\beta}=0.488$, $r_{IMT}=0.519$, $P<0.001$), and were positively correlated with the patient's Gensini score ($r_{AC}=0.633$, $r_{\beta}=0.519$, $r_{IMT}=0.506$, $P<0.001$). **Conclusion** The carotid ultrasound parameters AC, β and IMT of coronary heart disease are closely related to coronary lesions, and carotid ultrasound has a good application prospect in the early screening of coronary heart disease.

[KEY WORDS] Coronary heart disease; Carotid ultrasound; AC; Beta; IMT; Coronary artery disease

冠心病为临床中常见的心血管疾病,机体冠脉粥样硬化、心肌血供减少是此病发生的病理基础。心肌具有强大的代偿性,因此多数的冠心病患者常在发生严重的冠脉狭窄后才会出现明显的临床症状,延误患者治疗,对患者预后造成不良影响。在冠心病早期,冠脉超声造影是其诊断的“金标准”,但作为有创性检查,冠脉造影费用较高,并不适合作为早期的筛查手段^[1]。颈动脉的解剖位置固定,且位置较浅,在以往研究中显示,颈动脉硬化与冠脉粥样硬化病变表现一致,且可反映全身的动脉粥样硬化情况^[2]。也有研究显示,超声检查可了解颈动脉的基本情况,从而反映机体的全身动脉情况,但是此种变化是否可应用于冠心病的诊断中尚存争议^[3]。本文通过分析冠心病颈动脉超声参数颈动脉顺应性(Carotid artery compliance, AC)、颈总动脉硬化度(Total arteriosclerosis, β)及颈总动脉内-中膜厚度(Intima-media thickness, IMT)与冠状动脉病变之间的关系,以期为临床早期筛查冠心病提供新方向。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年10月至2021年10月联勤保障部队第九八八医院收治的115例冠心病患者临床资料(冠心病组),其中男76例,女39例,平均年龄为(65.23±5.14)岁,所有患者均进行冠脉造影检查,其中1支冠脉病变(冠脉狭窄>50%)35例,2~3支冠脉病变80例;根据Gensini评分^[4]为轻度(Gensini评分<20分)39例,中-重度组(Gensini评分≥20分)76例。纳入标准:①均符合《冠心病诊断标准》中相关诊断标准^[5];②临床资料完整;③均经动脉造影检查确诊。排除标准:①凝血功能障碍者;

②入院前有接受相关治疗者;③合并心肌梗死、心肌炎、等疾病;④近6个月有急性冠脉综合征或脑梗死者。另选取本院同期健康体检者98例作为对照组,男65例,女33例,平均年龄为(65.67±2.64)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 超声检查

使用惠普公司提供的HP5500彩色多普勒超声进行检测,探头为10 MHz,在检查时被检者需保持仰卧位,在检查前静息10 min。检查患者双侧颈动脉的总硬化程度,检查参数包括:AC、 β ,以2侧颈动脉的AC、 β 均值作为最终的结果,同时测量患者血管前后壁颈动脉的IMT,并取平均值作为最终的检测结果。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0统计软件进行统计处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;采用Pearson进行相关性分析颈动脉超声参数AC、 β 及IMT与冠状动脉病变的关系,均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群中颈动脉超声参数AC、 β 及IMT比较

冠心病组颈动脉超声参数AC、 β 及IMT均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同病变支数患者颈动脉超声参数AC、 β 及IMT比较

2~3支冠脉病变颈动脉超声参数AC、 β 及IMT均明显高于1支冠脉病变,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 不同人群中颈动脉超声参数AC、β及IMT比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of carotid ultrasound parameters AC, β and IMT in different populations ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AC(mm ² /kPa)	β	IMT(mm)
对照组	98	0.46±0.10	3.81±0.85	0.70±0.11
冠心病组	115	0.89±0.18	8.35±0.71	0.94±0.20
t值		21.038	42.474	11.914
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 不同病变支数患者颈动脉超声参数AC、β及IMT比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of carotid ultrasound parameters AC, β and IMT in patients with different number of lesions ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AC(mm ² /kPa)	β	IMT(mm)
1支冠脉病变	35	0.74±0.13	5.36±0.68	0.85±0.20
2~3支冠脉病变	80	0.96±0.33	9.66±0.81	0.98±0.19
t值		3.809	27.441	3.322
P值		0.002	<0.001	0.001

2.3 颈动脉不同病变程度患者颈动脉超声参数AC、β及IMT比较

轻度组患者颈动脉超声参数AC、β及IMT均明显低于中-重度组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 颈动脉不同病变程度患者颈动脉超声参数AC、β及IMT比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of carotid ultrasound parameters AC, β and IMT in patients with different carotid lesions ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AC(mm ² /kPa)	β	IMT(mm)
轻度	39	0.69±0.07	5.38±0.58	0.86±0.24
中-重度	76	0.99±0.10	9.87±0.69	0.98±0.21
t值		16.732	34.797	2.762
P值		<0.001	<0.001	0.006

2.4 动脉超声参数AC、β及IMT与冠状动脉病变的关系

动脉超声参数AC、β及IMT与患者冠脉病变支数为正相关($r_{AC}=0.613, r_{\beta}=0.488, r_{IMT}=0.519, P$ 均<0.001),与患者Gensini评分为正相关($r_{AC}=0.633, r_{\beta}=0.519, r_{IMT}=0.506, P$ 均<0.001)。见图1。

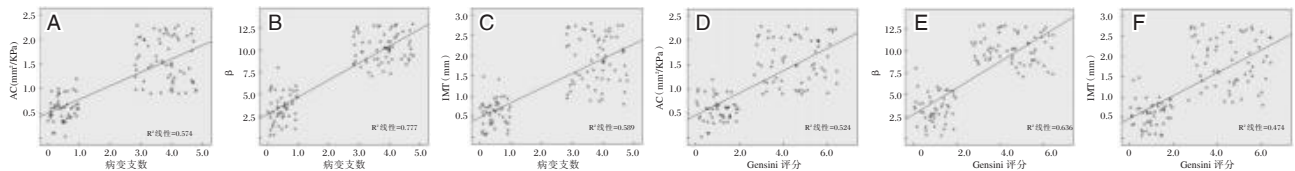


图1 动脉超声参数AC、β及IMT与冠状动脉病变支数\Gensini评分情况相关性散点图

Figure 1 Scatter plot of correlation between arterial ultrasound parameters AC, β and IMT and coronary artery disease branch\Gensini score

2.5 典型病例

本研究中一例患者经超声检查可见:其右侧颈动脉球部狭窄,小于50%(图2A),右侧颈动脉球部以等回声为主,扁平斑块为不均回声,前壁0.67×0.19 cm、后壁0.86×0.26 cm(图2B)。

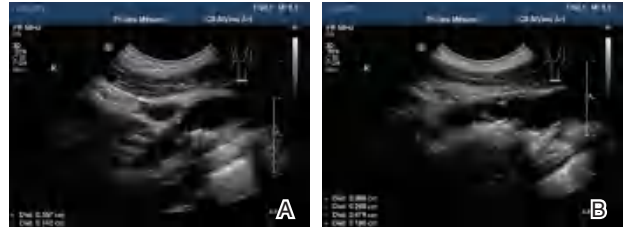


图2 冠心病颈动脉超声图像

Figure 2 carotid ultrasound image of coronary heart disease

3 讨论

临床中发现多数冠心病患者常伴有颈动脉粥样硬化情况出现,有研究证实,机体在高脂血症、内皮损伤、氧化应激等共同病理基础上,颈动脉可出现与冠脉类似的病变^[6]。动脉粥样硬化属于全身性疾病,而颈动脉与冠脉均为机体循环的中、大型动脉,常同时被累及,从而引发心脑血管出现缺血性改变^[7]。也有研究认为颈动脉是动脉粥样硬化中最易被累及的部位,由于颈动脉的位置较浅,使用超声检查即可了解其变化情况,超声下可获得高质量图像,可作为评估全身动脉硬化病变情况的窗口^[8]。但关于颈动脉的超声参数是否能作为冠心病筛查的参考标准,还需进一步的深入研究。

超声作为无创性检查,在临床中使用简单、便捷且重复性好。IMT是颈动脉超声中的重要参考指标,可反映机体动脉粥样硬化程度。有研究显示,IMT是通过冠状动脉分支血管的狭窄程度和病变血管的重要程度进行评分,是冠脉狭窄的强有力的独立危险因素,IMT与颈动脉粥样硬化、冠脉粥样硬化之间呈平行关系^[9]。β、AC指标则可

反映患者颈动脉血管壁的硬化程度以及出现的顺应性改变情况,AC 越小则表明相同血压下血管横截面面积或血管内径变化越小,即相应血管弹性越差。以往研究显示, β 、AC 数值越高,则提示患者颈动脉的硬化程度越高,顺应性越低^[10]。在本研究中,冠心病患者 AC、 β 及 IMT 均明显升高,说明冠心病患者颈动脉异常改变,也提示颈动脉超声检查参数可为冠心病诊断提供辅助参考。在临床中也发现有近半数冠心病患者颈部动脉的 IMT 值明显升高^[11]。薛娟娟^[12]研究发现,颈动脉 IMT 增厚及斑块形成检出率明显增加,颈动脉病变也明显增加,颈动脉 IMT 值增厚的严重程度与冠脉粥样硬化程度为正相关。本研究发现,随冠心病患者的冠状动脉病支数增加,患者的颈动脉超声参数 AC、 β 及 IMT 值均明显升高,这一结果说明冠心病患者冠状动脉病变越严重,其颈动脉粥样硬化程度也随之增加。Gensini 评分是临床中公认评价冠脉病变的重要参考指标,可评估患者冠状动脉病变程度以及分支血管的狭窄程度^[13]。经进一步相关性分析可知,动脉超声参数 AC、 β 及 IMT 与患者冠脉病变支数以及 Gensini 评分之间均为正相关关系,与以往研究结果类似^[14-15]。提示 AC、 β 及 IMT 与冠心病病变支数、及病变程度均存在一定的联系,超声测量颈动脉 AC、 β 及 IMT,可间接反映冠脉有无病变及其病变的范围和严重程度。

综上所述,冠心病颈动脉超声参数 AC、 β 及 IMT 与冠状动脉病变之间密切相关。超声检查具有无创性且重复性好,可及时反映患者血管情况,对冠心病患者病情进行动态评估,在冠心病早期筛查中有较好的应用前景。

参考文献

[1] Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, et al. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland[J]. *Circulation*, 2019, 99(9):1165-1172.

[2] 陈思源,李娇娇,张健煜,等. 总胆固醇/高密度脂蛋白胆固醇比值与无症状颈动脉粥样硬化斑块稳定性的相关性

[J]. *国际脑血管病杂志*, 2021, 29(11):820-824.

[3] 何进舟,陈德彬,李东风. 原发性高血压合并 2 型糖尿病患者颈动脉内膜中层厚度和踝肱指数分析及与冠状动脉病变程度的相关性[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(18):1949-1951.

[4] 郎勇,冉迅,屈模英. 单核细胞高密度脂蛋白比值,血清尿酸水平与冠心病患者冠脉狭窄程度的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(9):1184-1186, 1191.

[5] Vidrine DW, Berry JF, Garbuzov A, et al. DCTN1-ALK gene fusion in inflammatory myofibroblastic tumor (IMT) of the CNS[J]. *Childs Nerv Syst*, 2021, 12(3):1-5.

[6] 刘彦波,王欢,方志荣,等. 冠状动脉血管内超声对冠心病患者冠状动脉病变的诊断及冠脉支架置入术的指导价值分析[J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(15):2888-2892.

[7] Saeed M, Tapia G, Ariansen I, et al. Serum Galectin-3 and Subsequent Risk of Coronary Heart Disease in Subjects With Childhood-Onset Type 1 Diabetes: A Cohort Study[J]. *Diabetes Care*, 2021, 44(3):201-203.

[8] 马文娟. 豁痰通痹汤治疗冠心病不稳定心绞痛的疗效及对心电图,颈动脉粥样硬化和血清 Hcy 水平的影响[J]. *四川中医*, 2020, 38(1):78-81.

[9] 杨荣萍,苟廷芬,许先奎. 心脏彩色超声联合颈动脉超声检查在疑似冠心病诊断中的意义[J]. *心脑血管病防治*, 2020, 20(1):86-88.

[10] 南格利. 冠心病颈动脉超声参数与斑块稳定性及炎症反应水平相关性分析[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(4):453-457.

[11] 景江新,塔娜,钟小兰. 颈动脉斑块内新生血管超声造影时间-强度曲线参数与冠状动脉狭窄的相关性[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(8):1329-1332.

[12] 薛娟娟. 不同病变程度冠心病患者颈动脉粥样硬化超声相关参数变化分析[J]. *中国药物与临床*, 2021, 21(21):3544-3546.

[13] Alpay EE, Dinc G, Sakarya S, et al. Health-related QoL and fatality in CHD patients: findings from a national cohort study, Turkey[J]. *Eur J Public Health*, 2021, 15(33):1613-1615.

[14] 方焯,邹琳,李潇,等. 老年不稳定型心绞痛患者外周血 ROCK1 水平与血管内皮功能及颈动脉内膜中层厚度的相关性[J]. *首都医科大学学报*, 2021, 42(6):1081-1085.

[15] 朱银梅,李海嵘. 超声颈动脉内中膜厚度与斑块诊断冠状动脉粥样硬化性心脏病的价值对比[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(6):105-109.

急性脑梗死患者 Mb、Glu 及 LDH 水平与神经功能缺损的关系

李盼^{1*} 马冰新¹ 郑云辉² 初均晓¹

[摘要] **目的** 分析急性脑梗死(ACI)患者肌红蛋白(Mb)、谷氨酸(Glu)、乳酸脱氢酶(LDH)水平与神经功能缺损的关系。**方法** 收集2019年2月至2021年4月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的96例ACI患者作为ACI组,根据神经缺损程度分为轻度组($n=29$)、中度组($n=41$)、重度组($n=26$),另选取62例同期在本院体检正常者作为对照组。比较ACI组和对照组Mb、Glu及LDH水平,分析ACI不同神经功能缺损程度患者Mb、Glu、LDH水平、颈动脉内膜中层厚度(Intima-media thickness, IMT)及影响ACI患者神经功能缺损程度的危险因素,并分析各指标间的相关性。**结果** ACI组Mb、Glu及LDH水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。不同神经功能缺损程度患者Mb、Glu、LDH水平及颈动脉IMT比较:轻度组<中度组<重度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。颈动脉IMT、Mb、Glu及LDH均是ACI神经功能缺损程度的独立危险因素($P<0.05$)。Mb、Glu、LDH与NIHSS评分均呈正相关($P<0.05$)。**结论** Mb、Glu及LDH水平在ACT中呈高表达,且与神经功能缺损程度相关,通过检测上述因子可有效评估患者病情。

[关键词] 急性脑梗死;肌红蛋白;谷氨酸;乳酸脱氢酶;神经功能缺损

Relationship between Mb, Glu and LDH levels and neurological deficits in patients with acute cerebral infarction

LI Pan^{1*}, MA Bingxin¹, ZHENG Yunhui², CHU Junxiao¹

(1. Department of Emergency Clinic, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038; 2. Department of Intensive Care Unit, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the levels of myoglobin (Mb), glutamate (Glu), lactate dehydrogenase (LDH) and neurological deficits in patients with acute cerebral infarction (ACI). **Methods** 96 ACI patients admitted to Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from February 2019 to April 2021 were collected as the ACI group, according to the degree of neurological deficit, they were divided into the mild group ($n=29$), the moderate group ($n=41$), the severe group ($n=26$), in addition, 62 patients with normal physical examination in this hospital during the same period were selected as the control group. The levels of Mb, Glu and LDH in the ACI group and the control group were compared, and the levels of Mb, Glu, LDH, carotid intima-media thickness (IMT) and the degree of neurological deficit in ACI patients with different degrees of neurological deficit were analyzed. **Results** The levels of Mb, Glu and LDH in the ACI group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Comparison of Mb, Glu, LDH levels and carotid IMT in patients with different

基金项目:北京市自然科学基金(2019-C26)

作者单位:1.首都医科大学附属北京世纪坛医院急诊门诊,北京 100038

2.首都医科大学附属北京世纪坛医院重症监护室,北京 100038

*通信作者:李盼, E-mail: lipan@bjsjth.cn

neurological deficits; mild group < moderate group < severe group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Carotid IMT, Mb, Glu and LDH are all important factors influencing the degree of neurological deficit in ACI ($P < 0.05$). Mb, Glu, LDH and NIHSS scores were all positively correlated ($P < 0.05$).

Conclusion The levels of Mb, Glu and LDH are highly expressed in ACT and are related to the degree of neurological deficit. The detection of the above factors can effectively assess the patient's condition.

[KEY WORDS] Acute cerebral infarction; Myoglobin; Glutamate; Lactate dehydrogenase; Neurological deficit

急性脑梗死 (Acute cerebral infarction, ACI) 是临床上较为常见的一种脑血管疾病。目前 ACI 的病因尚未明确, 但有研究指出, ACI 主要是由多种因素共同作用导致脑部血液供应出现障碍, 从而发生神经功能缺损, 具有起病急、病死率高等特征^[1-2]。早期诊治对 ACI 患者尤其重要。相关报道指出, 部分炎症因子、蛋白及生长因子等在 ACI 患者中均呈异常表达, 这些因子可能与 ACI 发生、发展存在密切联系, 但具体相关性尚未明确^[3]。肌红蛋白 (Myoglobin, Mb)、谷氨酸 (Glutamate, Glu)、乳酸脱氢酶 (Lactate dehydrogenase, LDH) 是评估 ACI 病情的常见标志物, 在反映疾病发展、预后方面具有重要作用^[4-5]。本研究将观察 ACI 患者 Mb、Glu 及 LDH 水平变化情况, 并探讨上述因子与神经功能缺损程度的相关性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2019 年 2 月至 2021 年 4 月首都医科大学附属北京世纪坛医院收治的 96 例 ACI 患者作为 ACI 组。纳入标准: ①符合 ACI 诊断标准^[6], 且经 MRI 或 CT 确诊; ②均为首次发病; ③初次发病, 发病时间 < 4.5 h; ④既往无心脑血管意外、脑源性疾病等。排除标准: ①存在其他脏器恶性疾病者; ②临床资料丢失或缺损; ③合并活动性出血、严重创伤者。其中男 61 例, 女 35 例, 平均年龄 (53.52 ± 9.64) 岁。神经缺损程度^[7]分组: 采用 NIHSS 量表评估, NIHSS 评分 ≤ 4 分为轻度 ($n = 29$, 轻度组), NIHSS 评分 5~15 分为中度 ($n = 41$, 中度组), NIHSS 评分 ≥ 16 分为重度 ($n = 26$, 重度组)。另选取 62 例同期在本院体检正常者作为对照组, 男 33 例, 女 29 例, 平均年龄 (54.12 ± 10.36) 岁。两组一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过, 受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 Mb、Glu 及 LDH 检测

采集两组受检者晨起空腹静脉血 5 mL, 注入一次性真空管内, 以 4 000 r/min 离心 (离心半径 10 cm) 10 min, 随后分离上层血清, 采用 EP 管进行分装, 立即送检或低温保存。采用胶乳增强免疫透射比浊法检测 Mb 水平, 采用高效液相色谱分析法检测 Glu, 采用酶偶联法测定 LDH。具体操作方法严格按照说明书进行。上述指标均由检验科统一检测。参考范围^[8]: Mb ≤ 70 ng/mL, Glu ≤ 80 μmol/L, LDH < 300 IU/L。

1.2.2 颈动脉内膜中层厚度 (Intima-media thickness, IMT) 检测

患者入院后次日进行颈动脉超声检查。超声频率为 7.5 MHz。患者取平卧位, 充分暴露颈部, 依次检查颈总动脉、分叉部、颈内及颈外动脉, 测量后壁 IMT 及回声强度。判断标准^[9]: IMT < 1.1 mm 为正常。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较行 t 检验, 多组间比较行单因素方差分析; 通过 Logistic 进行多因素回归分析影响 ACI 患者神经功能缺损程度的影响因素; 各参数之间的相关性采用 Pearson 分析, 并绘制散点图。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 Mb、Glu 及 LDH 水平比较

ACI 组 Mb、Glu 及 LDH 水平均明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 ACI 不同神经缺损程度患者 Mb、Glu、LDH 水平及颈动脉 IMT 比较

不同神经功能缺损程度患者 Mb、Glu、LDH 水平及颈动脉 IMT 比较: 轻度组 < 中度组 < 重度组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表1 两组Mb、Glu及LDH水平比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	Mb (ng/mL)	Glu (μ mol/L)	LDH (IU/L)
ACI组	96	67.03 \pm 12.69	77.29 \pm 21.53	248.32 \pm 69.62
对照组	62	22.14 \pm 4.32	46.21 \pm 9.26	196.47 \pm 57.42
t值		26.841	10.734	4.887
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 ACI不同神经缺损程度患者Mb、Glu、LDH水平及颈动脉IMT比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Mb, Glu, LDH levels and carotid IMT in patients with different levels of ACI nerve defects ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Mb (ng/mL)	Glu (μ mol/L)	LDH (IU/L)	颈动脉IMT (mm)
轻度组	29	41.56 \pm 6.14	63.83 \pm 14.23	207.65 \pm 50.38	0.81 \pm 0.04
中度组	41	68.32 \pm 11.96 ^a	74.32 \pm 10.69 ^a	243.47 \pm 67.32 ^a	1.23 \pm 0.11 ^a
重度组	26	93.43 \pm 21.96 ^{ab}	97.01 \pm 17.56 ^{ab}	301.36 \pm 77.69 ^{ab}	1.69 \pm 0.14 ^{ab}
F值		91.36	40.74	14.08	484.57
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度组比较^aP<0.05,与中度组比较,^bP<0.05。

2.3 影响ACI患者神经功能缺损程度的多因素分析

Logistic回归模型分析结果显示,颈动脉IMT、Mb、Glu及LDH均是影响ACI神经功能缺损程度的独立危险因素(P<0.05)。见表3。

2.4 Mb、Glu、LDH与NIHSS评分的相关性分析

相关性分析结果显示,Mb、Glu、LDH与NIHSS评分均呈明显正相关(r=0.456、0.447、0.509,P=0.012、0.018、0.006)。见图1。

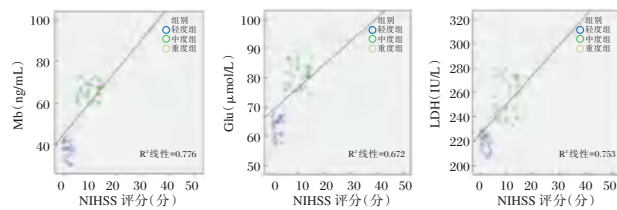


图1 各因子与NIHSS评分相关性散点图

Figure 1 scatter diagram of correlation between each factor and nihss score

表3 影响ACI患者神经功能缺损程度的多因素分析

Table 3 Analysis of multiple factors affecting the degree of neurological deficit in ACI patients

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95%CI)值	P值
颈动脉IMT(<1.1 mm vs \geq 1.1 mm)	0.457	0.207	7.233	1.564(1.020~2.397)	<0.001
Mb(\leq 70 ng/mL vs >70 ng/mL)	0.541	0.199	6.931	1.684(1.151~2.463)	<0.001
Glu(\leq 80 μ mol/L vs >80 μ mol/L)	0.534	0.212	8.752	1.672(1.061~2.635)	<0.001
LDH(<300 IU/L vs \geq 300 IU/L)	0.699	0.225	10.265	1.952(1.281~2.975)	<0.001

3 讨论

ACI是临床上较为常见的一类脑血管疾病,约占全部脑血管疾病的60%~80%,具有起病急、病死率高、发病率高特征。早期评估病情、制定合理有效的干预计划及康复方案对ACI患者具有重要意义。临床评估患者病情主要依赖于ACI特征、CT、血清学指标等,其中血清学指标检测具有操作简便、快捷、准确性高等优势,对于指导临床诊治具有重要参考价值^[10]。

Mb是存在于心肌、骨骼细胞中的血红素蛋白,对于交感神经具有较好的抑制作用,可调节肾素与血管紧张素水平,减少机体醛固酮分泌,进而激活患者梗死区域及非梗死区域内损伤细胞,对脑梗死预后具有良好的促进作用^[11-12]。正常生理情况下,Mb在血液中呈低水平;当ACI发生,心肌及横纹肌受损,Mb可释放进入血液,导致其水平增高^[13-14]。本研究中,与对照组相比,ACI患者Mb水平更高,且随神经功能缺损程度增高而升高。推测原因可能为:ACI患者由于全身动脉血管均发生严重动脉硬化,发生炎症反应,血管内皮受损,形成动脉粥样硬化斑块,导致冠脉狭窄,心肌损伤,使得Mb水平增高^[15-16]。

Glu是脑组织中含量最高的一种氨基酸,亦是重要的兴奋性氨基酸递质,主要存在于神经末梢的谷氨酸囊泡中。脑缺氧时,Glu释放异常,而谷氨酸摄取系统又被广泛抑制,致使胞外Glu浓度显著升高,持续作用于Glu受体,引起对受体的刺激,最终导致神经损伤^[17]。Abdu等^[18]研究发现,脑梗死时,氨基酸递质异常释放与梗死部位及体积有关。发生脑梗死时,血脑屏障破坏,Glu渗透性增加,因此脑梗死患者血液中Glu水平可间接反映脑Glu水平变化,反映患者病情严重程度^[19]。LDH是一种糖酵解酶,在评估脑组织损伤中具有较高的敏感性。LDH活性增加是机体在病理状态下自动调节的保护性代偿机制,当出现ACI时,脑部血

供应不足,导致细胞膜通透性改变或坏死,LDH被释放出来,导致血清LDH活性增高;神经功能缺损越严重LDH细胞破坏越多,LDH活性相应越高^[20]。本研究结果发现,ACI组Glu及LDH水平均明显高于对照组,且血清Glu、LDH水平随ACI患者神经功能缺损程度加重而增高,提示二者水平变化与ACI病情发展具有一定关系。进一步分析发现,血清Mb、Glu、LDH水平均是影响ACI患者神经功能缺损程度的危险因素,且与ACI患者NIHSS呈正相关。这表明Mb、Glu、LDH水平参与ACI病情进展,与神经功能缺损程度密切相关。此外,本研究结果还显示,颈动脉IMT亦是影响ACI神经功能缺损程度的危险因素,提示临床加强对动脉硬化程度的治疗对减轻神经功能缺损程度具有重要作用。

综上所述,Mb、Glu及LDH水平在ACT中呈高表达,且与神经功能缺损程度相关,通过检测上述因子可有效评估患者病情。

参考文献

- [1] 常琳,常佩云,刘娟. CK-MB, cTnI, 冠脉造影及心电图联合诊断急性心肌梗死价值研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(8):1018-1021.
- [2] Kitajima A, Otsuka Y, Lefor AK, et al. Acute cerebral infarction in a patient with an epidural catheter after left upper lobectomy: a case report[J]. BMC Anesthes, 2019, 19(1): 469-451.
- [3] 何斌,邵斌霞,刘强晖,等. 急性脑梗死再通治疗患者近期预后的多因素分析[J]. 中华急诊医学杂志, 2018, 27(9): 998-1003.
- [4] 宁为民,伍小玲,杨康强,等. 急性脑梗死中医证候学研究概况[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(11): 1232-1235.
- [5] Sasaki T, Yasuda T, Abe D, et al. A Case of Multiple Cerebral Infarction Preceding Acute Exacerbation of Idiopathic Thrombocytopenic Purpura - Science Direct[J]. J Stroke Cerebrov Dis, 2019, 28(3): 789-791.
- [6] 李春燕,韩听锋,岳磊. 巴曲酶对急性脑梗死患者神经功能及日常生活能力和血液流变学的影响[J]. 新乡医学院学报, 2019, 36(6):544-546+550.
- [7] Jaffe TA, Winslow J, Zhang Y, et al. Automated Early Identification of an Excessive Air-in-Oil X-ray Tube Artifact That Mimics Acute Cerebral Infarct[J]. J Comput Assist Tomogr, 2019, 43(1):254-256.
- [8] Mathew NT, Meyer JS, Rivera VM. Glycerol in acute cerebral infarction[J]. Lancet, 2018, 43(1):204-206.
- [9] Mahale A, Kumar R, Sarode LP, et al. Dapsone prolong delayed excitotoxic neuronal cell death by interacting with proapoptotic/survival signaling proteins[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2020, 29(8):104-106.
- [10] 李深,徐桂莲,张兴哲,等. 急性脑梗死的血浆代谢标志物研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(8): 681-685.
- [11] Eliassen BM, Jacobsen BK, Melhus M, et al. Changes in conventional cardiovascular risk factors and the estimated 10-year risk of acute myocardial infarction or cerebral stroke in Sami and non-Sami populations in two population-based cross-sectional surveys: the SAMINOR Study[J]. BMJ Open, 2019, 9(7):19-21.
- [12] 冀瑞俊,王拥军. 急性脑梗死患者发生早期神经功能恶化的危险因素研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(10):61-66.
- [13] Mihoc D, Lupu LM, Wiegand P, et al. Antibody Epitope and Affinity Determination of the Myocardial Infarct Marker Myoglobin by SPR- Biosensor Mass Spectrometry[J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2020, 272(11):41-43.
- [14] Legind CS, Broberg BV, Mandl R, et al. Heritability of cerebral glutamate levels and their association with schizophrenia spectrum disorders: a [H]-spectroscopy twin study[J]. Neuropsychopharmacology, 2018, 44(11):41-43.
- [15] Griffiths J, Shaw S. Glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase (total and isoenzyme activity) in the early diagnosis of myocardial infarction[J]. Clin Chem, 2019,29(2):2-4.
- [16] 王倩,王东玉,刘姣. 乳酸脱氢酶前白蛋白同型半胱氨酸与急性非心源性脑梗死发病严重程度的相关性分析[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(8):985-987.
- [17] Bruns DE, Savory J, Wills MR. More on "flipped" lactate dehydrogenase patterns in myocardial infarction[J]. Clin Chem, 2019,23(11):11-13.
- [18] Abdu FA, Liu L, Mohammed AQ, et al. Myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries (MINOCA) in Chinese patients: Clinical features, treatment and 1 year follow-up[J]. Internat J Cardiol, 2019, 35(6):422-426.
- [19] Eliassen BM, Jacobsen BK, Melhus M, et al. Changes in conventional cardiovascular risk factors and the estimated 10-year risk of acute myocardial infarction or cerebral stroke in Sami and non-Sami populations in two population-based cross-sectional surveys: the SAMINOR Study[J]. BMJ Open, 2019, 9(7):11-13.
- [20] Delezire A, Terrasse M, Bouet J, et al. Acute renal infarction: long-term renal outcome and prognostic factors[J]. J Nephrol, 2021, 13(4):1691-1700.

HT患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与自身抗体水平的关系

吴海花 熊萍* 王瑶 张倩莹 赵伟 文金辉 苟晓琴

[摘要] **目的** 分析桥本甲状腺炎(HT)患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与自身抗体水平的关系。**方法** 选取2018年2月至2020年9月于成都大学附属医院进行甲状腺检查的84例患者,根据病理情况分为HT组和单纯甲状腺肿(NTG)组,各有患者44例、40例;另外选取同期健康体检者45例作为对照组,检测三组的血清自身抗体水平、外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平并进行比较,采用 Pearson 相关性分析 HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 以及自身抗体甲状腺球蛋白抗体(ATG)、甲状腺过氧化物酶抗体(ATPO)间的相关性。**结果** 三组血清自身抗体 ATG、ATPO 水平比较:HT组>NTG组、对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),NTG组、对照组间 ATG、ATPO 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。三组 FT3、FT4、TSH 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。三组外周血淋巴细胞中 Fas、FasL 表达阳性率比较:HT组>NTG组>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 相关性分析结果显示,HT患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与 ATG、ATPO 表达成正相关($P<0.05$)。**结论** 外周血淋巴细胞 Fas/FasL 表达水平与 HT 的发生存在一定关系,这可能与 Fas/FasL 可影响机体免疫生理过程有关。

[关键词] 桥本甲状腺炎;外周血淋巴细胞;Fas;FasL;自身抗体水平

Relationship between Fas/FasL level in peripheral blood lymphocytes and autoantibody level in patients with HT

WU Haihua, XIONG Ping*, WANG Yao, ZHANG Qianying, ZHAO Wei, WEN Jinhui, GOU Xiaojin

(Department of Endocrinology and Metabolism, Affiliated Hospital of Chengdu University, Chengdu, Sichuan, China, 610081)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between Fas/FasL in peripheral blood lymphocytes and autoantibody level in patients with Hashimoto's thyroiditis (HT). **Methods** 84 patients who underwent thyroid examination in the Affiliated Hospital of Chengdu University from February 2018 to September 2020 were selected. According to pathological condition, the patients were divided into the HT group (44 cases) and the nontoxic goiter (NTG) group (40 cases). Meanwhile, 45 healthy individuals were selected as the control group. Serum autoantibody levels and Fas/FasL in peripheral blood lymphocytes of the three groups were detected and compared. Pearson correlation analysis was performed to explore the correlation of Fas/FasL in peripheral blood lymphocytes, thyroglobulin antibody (ATG) and thyroid peroxidase antibody (ATPO) in patients with HT. **Results** The levels of serum ATG and ATPO in the HT group were significantly higher than those in the NTG group and the control group, with statistically significant differences ($P<0.05$), but there was no statistically significant difference between the NTG group and the control group ($P>0.05$). There was no statistically significant difference in FT3, FT4 or TSH level among the three groups ($P>0.05$). The positive expression rates of Fas and FasL in peripheral blood lymphocytes decreased in order from the HT

基金项目:四川省教育厅科研计划项目(18ZA0235)

作者单位:成都大学附属医院内分泌代谢科,四川,成都 610081

*通信作者:熊萍, E-mail:52142243@qq.com

group, the NTG group to the control group, with statistically significant differences ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that Fas/FasL level in peripheral blood lymphocytes of the HT group was positively correlated with the expression of ATG and ATPO ($P<0.05$). **Conclusion** There is a certain relationship between Fas/FasL in peripheral blood lymphocytes and the occurrence of HT, which may be related to the effect of Fas/FasL on immune physiological process.

[KEY WORDS] Hashimoto's thyroiditis; Peripheral blood lymphocyte; Fas; FasL; Autoantibody level

桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)是一种慢性自身免疫性甲状腺炎症,多发于30~50岁的女性人群^[1]。该病与机体的免疫系统异常有关,主要是由于人体血液中存在攻击甲状腺的自身抗体,同时还存在诱导细胞凋亡的多种细胞因子和补体,这些成分攻击甲状腺细胞,导致机体的甲状腺滤泡受到不同程度的炎症破坏,影响甲状腺激素的分泌和释放,从而导致患者身体出现不适症状^[2-3]。早期HT患者通常没有临床不适症状,随着炎症的缓慢进展,患者可出现不同程度的甲状腺肿大、结节、甲状腺功能减退等表现^[4]。HT很难治愈,目前临床上无法针对该病进行彻底的根除治疗^[5]。早期诊断、及时防控HT十分重要。自身抗体如血清甲状腺球蛋白抗体(Anti-thyroglobulin antibodies, ATG)、甲状腺过氧化物酶抗体(Thyroid peroxidase antibody, ATPO)被证实是HT发生的危险因素,临床常采取这些指标评估HT。近年来有研究认为,HT患者的外周血淋巴细胞Fas/FasL水平与HT患者的病情进展密切相关^[6]。本研究将通过直接荧光免疫标记法检测HT患者外周血淋巴细胞Fas/FasL水平,并分析Fas/FasL水平与自身抗体水平的关系,揭示HT发病的免疫学机制,以为临床免疫干预治疗方案的制定提供一定的参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年2月至2020年9月于成都大学附属医院进行甲状腺检查的患者84例,根据临床检查结果分为HT组($n=44$)和单纯甲状腺肿(NTG)组($n=40$)。HT组女性29例,男性15例;平均年龄(39.48 ± 5.27)岁。NTG组女性27例,男性13例;平均年龄(40.17 ± 5.33)岁。另外选取同期健康体检者45例作为对照组,女性27例,男性18例;平均年龄(38.76 ± 5.13)岁。三组受试者基础资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。HT组患者

纳入标准:患者符合HT诊断标准^[7],经B超、化验等检查确诊,且均为初诊患者;无其他免疫系统疾病;资料完整。NTG组患者纳入标准:患者符合NTG诊断标准^[7];患者无其他内分泌疾病。HT组、NTG两组均排除以下患者:合并恶性肿瘤者;严重性全身感染者;严重性器质性疾病或严重糖尿病患者。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 检查方法

血清ATG、ATPO、游离三碘甲状腺原氨酸(Free Triiodothyronine, FT3)、游离四碘甲状腺原氨酸(Free Tetraiodothyronine, FT4)、促甲状腺激素(Thyroid stimulating hormone, TSH)的检测:清晨空腹静脉抽取受试者的外周血5 mL,离心8 min(转速3 000 r/min,离心半径10.00 cm)后吸取上层的血清于无菌EP管, -70°C 冰箱保存待测,采用SMART 6500全自动化学发光免疫分析仪及相关配套试剂(美国贝克曼,规格型号DXI800)进行检测,5个自身免疫指标均采用免疫化学发光法进行检测。

Fas/FasL水平检测方法:取100 μL 抗凝血,加入红细胞裂解液,所得淋巴细胞分别加入5 μL 抗-CD3、抗-CD95、抗-CD178单抗,室温孵育30 min,进行离心、洗涤,弃上清液,用PBS重悬细胞制成单细胞悬浮液, 4°C 保存待测。采用直接荧光免疫标记法,以鼠抗人CD3-FITC/CD95-PE-Cy7/CD17-PE三色荧光标记单克隆抗体,根据T淋巴细胞表面特异性标记CD3+T淋巴细胞的比例,以Fas%, FasL%表示,并用二维散点图和数据形式表示,对凋亡淋巴细胞进行快速定量分析。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0统计软件进行统计学分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验,外周血淋巴细胞Fas/FasL水平与患者自身抗体水平的关系采用Pearson相关性进行分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清自身抗体水平比较

三组血清自身抗体 ATG、ATPO 水平比较:HT

组>NTG 组、对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),NTG 组、对照组间 ATG、ATPO 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。三组 FT₃、FT₄、TSH 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 三组血清自身抗体水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum autoantibody levels among the three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ATG(mIU/L)	ATPO(mIU/L)	FT ₃ (pg/mL)	FT ₄ (ng/dL)	TSH(mIU/L)
HT 组	44	222.15±76.95	295.72±89.54	3.04±0.54	0.95±0.17	3.05±0.59
NTG 组	40	3.24±0.34	8.05±1.13	2.98±0.47	1.00±0.14	2.97±0.97
对照组	45	2.38±0.13	7.21±2.34	3.00±0.31	0.99±0.32	3.10±1.00
F 值		345.198	439.428	0.197	0.581	0.240
P 值		<0.001	<0.001	0.822	0.561	0.787

2.2 三组外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平比较

三组外周血淋巴细胞中 Fas、FasL 表达阳性率比较:HT 组>NTG 组>对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 三组外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of Fas/FasL in peripheral blood lymphocytes among the three groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Fas(%)	FasL(%)
HT 组	44	79.32±9.13 ^{ab}	3.66±0.85 ^{ab}
NTG 组	40	57.14±8.25 ^a	2.74±0.63 ^a
对照组	45	43.25±5.74	1.51±0.47
F 值		240.689	116.008
P 值		<0.001	<0.001

注:与对照比较,^a $P<0.05$;与 NTG 组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与 ATPO、ATG 水平的相关分析

Pearson 相关性分析结果显示,HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与 ATG、ATPO 表达成正相关($P<0.05$)。见表 3。

表 3 HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与 ATPO、ATG 的 Pearson 相关性

Table 3 Pearson correlation analysis of Fas/FasL in peripheral blood lymphocytes, ATPO and ATG in patients with HT

因素	ATG		ATPO	
	r 值	P 值	r 值	P 值
Fas 水平	0.612	<0.05	0.574	<0.05
FasL 水平	0.432	<0.05	0.413	<0.05

3 讨论

HT 是常见的甲状腺炎症,不恰当的碘摄入以及遗传因素是诱发 HT 的重要原因。存在碘脱逸

状态的 HT 患者还伴有甲亢或甲减,病理检查可显示甲状腺肿大、正常甲状腺萎缩以及间质淋巴细胞增生。近年来,因 HT 合并甲状腺癌的发病率逐渐升高,HT 也逐渐得到关注。HT 起病隐匿、发展缓慢^[8],目前临床中并无较好的预防和治疗方法。进一步了解 HT 患者自身免疫状态的变化情况,或可为临床诊治、预防提供参考。

HT 的病因尚不明确,研究显示其可能与机体的免疫被破坏有关,对 HT 患者甲状腺的免疫应答生理过程进行探讨或有利于其临床诊断和治疗^[9]。ATG、ATPO 为常见的自身抗体,被认为是自身免疫性甲状腺疾病临床诊断的重要指标^[10],可反映机体甲状腺免疫情况^[11],推测 ATPO、ATG 水平与 HT 病情程度相关。本研究结果显示,HT 组患者的血清 ATG、ATPO 浓度高于 NTG 组、对照组,与相关临床报道一致^[12]。这是因为 HT 属于免疫性疾病之一,患者通常伴有甲状腺抗体升高症状,HT 患者免疫系统错误将甲状腺球蛋白视作敌人而产生自卫行为,因此血清 ATG 浓度会升高;HT 患者免疫功能紊乱,可破坏甲状腺过氧化物酶,ATPO 作为甲状腺自身免疫性抗体,与甲状腺过氧化物酶结合可破坏甲状腺,最终导致甲状腺炎,因此 HT 组患者的 ATPO 血清浓度偏高。本研究各组 FT₃、FT₄、TSH 水平比较差异无统计学意义,由此可见单纯甲状腺肿、桥本甲状腺炎与健康机体的基线甲状腺功能并无显著差异。

Fas/FasL 是近年来研究得最为深入的有关细胞凋亡的膜表面分子。人 Fas、FasL 基因分别分布在 10 号染色体 q23、1 号染色体 q23 上,长度分别为 25 Kb、8 Kb 左右。当 Fas/FasL 系统功能发生障碍时,活化的 T 细胞就会堆积在体内,引起自身免疫性疾病,因此推测 Fas/FasL 所介导的生 (下转第 1826 页)

儿童孤独症谱系障碍病因学研究进展

孙娅男¹ 周子晴¹ 魏凤香^{1,2*}

[摘要] 孤独症谱系障碍主要是环境因素和遗传因素共同作用的结果,遗传因素与环境因素对孤独症谱系障碍发病的影响已成为人们广泛关注的问题。了解遗传因素与环境因素在孤独症谱系障碍病因中的因果作用及交互作用,可为一级预防和循证干预提供信息支持。环境因素在调解可避免的负面结果方面非常关键,在二级和三级干预以及孤独症患者社会支持方面具有极其重要的意义。本文以国内外发表的流行病学调查资料为基础,总结了孤独症谱系障碍的病因学研究及与微量元素的研究进展,为孤独症谱系障碍的预防提供了重要的理论依据和技术支持。

[关键词] 孤独症谱系障碍;病因学;微量元素

Research progress on etiology of autism spectrum disorders in children

SUN Yanan¹, ZHOU Ziqing¹, WEI Fengxiang^{1,2*}

(1. Department of Maternal, Child and Adolescent Health, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230032; 2. The Genetics Laboratory, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City, Shenzhen, Guangdong, China, 518172)

[ABSTRACT] Autism spectrum disorder is mainly the result of the combined effect of environmental factors and genetic factors. The influence of genetic factors and environmental factors on the pathogenesis of autism spectrum disorder has become a widespread concern. Understanding the causal role and interaction between genetic factors and environmental factors in the etiology of autism spectrum disorders can provide information support for primary prevention and evidence-based intervention. Environmental factors are crucial in mediating avoidable negative outcomes, and are of great significance in secondary and tertiary interventions and social support for patients with autism. Based on the epidemiological survey data in literature, this review summarizes the research progress of etiology and trace elements of autism spectrum disorder, and provides important theoretical basis and technical support for the prevention of autism spectrum disorder.

[KEY WORDS] Autism spectrum disorder; Trace elements; Etiology

孤独症谱系障碍(Autism spectrum disorder, ASD)为精神疾病诊断统计手册第五版(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V, DSM-V)中定义的一种早发性神经发育疾病,其具体表现为社会交流和互动的改变,以及重复、僵化的行为和限制性的兴趣^[1]。其广泛影响认知能力(例如执行功能、社会认知)和其他神经结构^[2-3],还影响其他主要生理系统,包括免疫、内分泌和肠道微生物群

系统^[4-6]。ASD对健康相关结果的累积影响表现为躯体和精神疾病风险增加以及过早死亡^[7-8],导致主要生活领域的严重损害^[9]和生活质量的降低^[10]。ASD的患病率和诊断率在过去二十年间大幅上升,达到1%~2.5%^[1],我国报告6~12岁儿童ASD患病率约0.70%^[11]。该病对儿童身心健康有严重的负面影响,社会致残率高,完全自发缓解的可能性几乎为零,严重影响了人口素质,是当前急需关注的社

基金项目:深圳市科技创新计划基础研究(JCYJ20190808102405474)

作者单位:1. 安徽医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学系,安徽,合肥 230032

2. 深圳市龙岗区妇幼保健院中心实验室,广东,深圳 518172

*通信作者:魏凤香, E-mail: haowei727499@163.com

会公共卫生问题。ASD的病因及机制如下。

1 遗传因素

基因组测序数据表明,有数百个基因与ASD相关,既有常见的,也有罕见的(遗传的和新发的)基因,其中许多基因与其他神经发育、精神病和神经疾病有关^[12]。虽然遗传证据的临床应用目前有限,但它正在不断发展,在某些情况下可以对ASD进行遗传解释,估计家族复发的可能性,并识别其他相关的遗传风险^[13]。尽管ASD具有复杂的多因素病因,但双胞胎研究证明了强大的遗传贡献。自闭症在单卵双胞胎中的一致率为70%~90%,而在双卵双胞胎中高达30%,一般兄弟姐妹中为3%~19%^[14]。有证据表明,ASD中许多发生突变的基因是调节突触发育和可塑性的活动依赖信号网络的关键组成部分。因此,神经元中活动依赖的信号通路的失调可能在自闭症谱系障碍^[15]的病因学中起着关键作用。突触基因如神经胶质素3(*neuroligin-3, NLGN3*)、*neurexin1 (NRXN1)*以及多个锚定蛋白重复结构域3(*SHANK3*)都参与了ASD。染色体15q13.3(*CHRNA7*)的致病性缺失或重复也被认为是自闭症^[16]的一个位点。甲基化CpG结合蛋白-2(*methyl-CpG-binding protein 2, MECP2*)是表观遗传信息的解读器,是染色质结构^[17]的调节因子。*MECP2*也被确定为中国自闭症患者^[18]队列中研究的29个自闭症风险基因之一。遗传因素在ASD的发展中起着重要作用。

2 环境因素

2.1 生物因素

父母年龄过大是染色体畸变的一个公认的危险因素,如唐氏综合征中母亲年龄过大。越来越多的证据表明,父母年龄较大与精神病和神经发育疾病的病因相关^[19],与ASD相关的从头突变往往是父系突变,而不是母系突变^[20],有证据表明,在精子中检测到年龄相关的DNA甲基化变化的年长父亲的后代中,与增高罹患孤独症风险相关^[21]。这些影响甚至可能是代际性的,父母双方的祖父母-父亲年龄越高,与ASD相关,这表明父母年龄相关的风险可能会随着世代累积^[22]。母亲肥胖也被认为会影响后代的大脑发育和认知功能^[23]。严重的母亲肥胖和高脂肪饮食可能通过以下过程影响胎儿和后代的神经发育^[24-25]。有研究显示

异常表现、脐带并发症、胎儿窘迫、出生损伤或外伤、多胎、产妇产后出血、夏季分娩、低出生体重、小于胎龄、先天畸形、低5分钟Apgar评分、胎粪吸入、新生儿贫血与ASD风险相关^[26]。有四个或四个以上症状的儿童均等被认为是降低孤独症风险的一个因素。值得注意的是,在所有meta分析模型中,缺氧引起的并发症是与ASD风险相关的最一致的因素。

2.2 社会因素

心理社会环境因素指主要作用于心理功能,其次作用于生理的心理、社会和文化环境。大量研究表明,怀孕期间和新生儿早期的心理压力^[23, 27]与自闭症有关。妊娠21~32周是婴儿小脑发育的关键阶段,如果母亲遭受压力,这可能会增加后代患自闭症的风险。现在已经在人类和动物模型中证实,孕期强烈的母亲压力可能会对孩子产生长期的生物学和行为影响^[28-29]。心理社会环境独立于病因学因素,在改变ASD的严重程度、生活质量和功能结果或损害程度方面发挥着作用。

2.3 营养素与ASD

母体营养显著影响胎儿的发育轨迹^[30],它在很大程度上决定了支持生长中的胎儿、胎盘和母体组织的营养物质。缺乏和营养不良的饮食会损害胎儿发育,并对发育结果产生不利影响。母亲必需营养素的消耗与后代的不良健康结果相关^[31],包括自闭症风险的增加。

ASD被认为是一种多因素疾病,其中微量元素构成一个重要的环境因素。基本元素,特别是宏观元素,仍然是致力于孤独症病理生理学问题的研究空白。营养素在许多重要的神经发育过程中发挥着特别重要的作用,通过大脑区域促进早期大脑的高度代谢,这些成分的积累或缺乏将促进替代代谢途径,从而导致许多疾病和神经发育状况。大脑发育中的微量营养素在许多通过大脑区域的基本神经发育过程中起着特别重要的作用,促进了早期大脑的高度代谢。

2.3.1 硒

对ASD的环境影响主要归因于发育中的大脑对外部暴露的敏感性,如铅和汞作为有害重金属,或由于缺乏适当的解毒能力而成为这种情况的一种表型。硒作为一种抗氧化因子,可能通过形成无毒复合物来中和汞和铅的神经毒性。在最近的一项研究中,对35名ASD儿童和30名年龄和性别匹配的健康对照儿童进行了红细胞中铅、汞和硒水

平的评估。获得的数据表明,与健康对照组相比,ASD患者红细胞中的汞和铅显著增加,硒浓度显著降低。硒与铅和汞的比值发生了显著变化,表明ASD患者体内的重金属具有神经毒性。该分析证明了硒对重金属神经毒性的预防和治疗作用^[32]

2.3.2 锌

一项 meta 分析研究锌代谢与孤独症之间的关系,解释了由于胎儿缺锌导致的小鼠的总体行为特征,并报告了与孤独症相似的表型。这些发现表明锌代谢的主要变化可能是孤独症发展过程中的一个重要营养元素。对在流行病学研究中,锌摄入不足患病率较低的高收入国家报告的孤独症患者患病率最高^[33]。另外一个研究旨在分析和评估自闭症儿童和健康儿童混合牙列年龄组唾液样本中的唾液锌含量。在混合牙列年龄组中,从10名孤独症患者和10名健康儿童中获取未受刺激的总唾液样本。与健康儿童相比,自闭症儿童的唾液锌水平呈线性方程。自闭症儿童唾液锌浓度低可以揭示自闭症的发病机制^[34]。最近对患有自闭症谱系障碍的儿童进行了一项队列研究,以解释补充锌对血浆水平和基因表达的作用,以及对认知运动能力的影响。在自闭症患者队列中,锌治疗期间 *MT-1* 的基因表达高于治疗前^[35]。因此,锌在ASD的发展中起着至关重要的作用。

毫无疑问,缺乏必需元素或有毒金属负载可能会导致表观遗传变化,从而破坏神经元的成熟,从而在早期发育过程中导致神经发育障碍。

3 遗传与环境的交互作用

ASD是一种复杂多样的神经发育疾病,综合遗传、表观遗传和环境机制形成复杂表型。由于单基因紊乱、染色体畸变和拷贝数变异导致的个体遗传易感性扰乱了突触形成过程并影响突触可塑性。有各种环境因素导致表观遗传修饰,如DNA甲基化和翻译后组蛋白修饰,导致基因沉默并影响转录。这种复杂的整合导致免疫过程和突触功能之间的相互作用。免疫细胞在神经炎症中起重要作用。整个整合导致免疫系统激活,并启动一系列事件,触发ASD行为表型的发展。小胶质细胞和星形胶质细胞在自闭症患者的大脑中被激活,并在突触修剪中发挥重要作用。ASD患者的大脑中存在增加的小胶质细胞^[36-37]。小胶质细胞和星形胶质细胞在突触形成和神经元细胞粘附分子发生突变时起着非常重要的作用。这清楚地表明孤独症患者的神经元素容

易出现免疫细胞功能障碍。小胶质细胞激活触发各种炎症细胞因子和趋化因子的释放,如 *IL-6*、*IL-12*、*IL-β*、*TNF-α*,导致过量产生 *iNOS*、*ROS*,改变突触可塑性,引起与ASD相关的行为改变。

4 ASD 的诊断

现阶段关于ASD的诊断是由儿科医生、心理学家或精神病学家使用国际疾病分类第10版(ICD-10)^[38]或精神疾病诊断和统计手册第5版(DSM-5)作出的。ASD诊断学在临床基因检测方面也不断发展,诊断ASD的实践标准首先是通过微阵列检测大的和亚显微镜下的CNV,然后是WES或WGS。其他基因组技术,如转录组学和表观基因组学,也可用于增强对ASD所涉及的分子机制的理解,并最终为临床护理提供信息。细胞游离DNA(cfDNA)检测正在成为一种不可或缺的诊断工具。这种类型的检测或筛查通常被称为无创产前检查(non-invasive prenatal testing, NIPT)。通过下一代测序技术或基于单核苷酸多态性的方法,可以分析母体血浆中的胎儿cfDNA,以筛查检测遗传疾病或相关条件。综上所述,使用基因检测或临床基因组学作为体外筛选工具,可能是一种很有前途的方法来识别有自闭症风险的个体。

目前的大多数研究都是临床前设计,限制了其在现实生活中告知预防和干预策略的能力。所有医学研究的最终目标都必须做出改善人们生活的发现。希望未来旨在了解环境因素在自闭症病因中的作用的研究将达到这一阶段。自闭症的发病机制尚未完全阐明,但早期干预被认为是绝对重要的。大多数学者强调“婴儿期窗口”作为一个在神经发育中起重要作用的关键因素的重要性。因此,在ASD的治疗和预防中,有必要进行早期筛查,以发现任何代谢和矿物质失衡,有助于未来更好地诊断、有效预防和治理自闭症谱系障碍。

参考文献

- [1] Lyall K, Croen L, Daniels J, et al. The Changing Epidemiology of Autism Spectrum Disorders [J]. *Annu Rev Public Health*, 2017, 38: 81-102.
- [2] Happe F, Frith U. Annual research review: Towards a developmental neuroscience of atypical social cognition [J]. *J Child Psychol Psychiatry*, 2014, 55(6): 553-557.
- [3] Muhle RA, Reed HE, Stratigos KA, et al. The Emerging Clinical Neuroscience of Autism Spectrum Disorder: A Re-

- view [J]. *Jama Psychiatry*, 2018, 75(5): 514-523.
- [4] Kelly JR, Minuto C, Cryan JF, et al. Cross Talk: The Microbiota and Neurodevelopmental Disorders [J]. *Front Neurosci*, 2017, 11: 490.
- [5] Edmiston E, Ashwood P, VAN DE WATER J. Autoimmunity, Autoantibodies, and Autism Spectrum Disorder [J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 81(5): 383-390.
- [6] YU Y, ZHAO F. Microbiota-gut-brain axis in autism spectrum disorder [J]. *J Genet Genomics = Yi chuan xue bao*, 2021, 48(9): 755-762.
- [7] Hirvikoski T, Mittendorfer-rutz E, BomaN M, et al. Premature mortality in autism spectrum disorder [J]. *Br J Psychiatry*, 2016, 208(3): 232-238.
- [8] Long M, Register-brown K. Autism Spectrum Disorder [J]. *Pediatr Rew*, 2021, 42(7): 360-374.
- [9] Mottron L. Autism spectrum disorder [J]. *Hand Clin Neurol*, 2020, 174: 127-136.
- [10] Jonsson U, Alaie I, Lofgren wilteus A, et al. Annual Research Review: Quality of life and childhood mental and behavioural disorders - a critical review of the research [J]. *J Child Psychol Psychiatry*, 2017, 58(4): 439-469.
- [11] Zhou H, Xu X, Yan W, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder in China: A Nationwide Multi-center Population-based Study Among Children Aged 6 to 12 Years [J]. *Neurosci Bull*, 2020, 36(9): 961-971.
- [12] Vorstman JAS, Parr JR, Moreno-de-luca D, et al. Autism genetics: opportunities and challenges for clinical translation [J]. *Nat Rev Genet*, 2017, 18(6): 362-376.
- [13] Tammimies K, Falck-ytter T, Bolte S. Quo Vadis clinical genomics of ASD? [J]. *Autism*, 2016, 20(3): 259-261.
- [14] Tick B, Bolton P, Happe F, et al. Heritability of autism spectrum disorders: a meta-analysis of twin studies [J]. *J Child Psychol Psychiatry*, 2016, 57(5): 585-595.
- [15] Ebert DH, Greenber GME. Activity-dependent neuronal signalling and autism spectrum disorder [J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 327-337.
- [16] Gillentine MA, Berry LN, Goin-kochel RP, et al. The Cognitive and Behavioral Phenotypes of Individuals with CHRNA7 Duplications [J]. *J Autism Dev Disord*, 2017, 47(3): 549-562.
- [17] Della ragione F, Vacca M, Fioriniello S, et al. MECP2, a multi-talented modulator of chromatin architecture [J]. *Brief Funct Genom*, 2016, 15(6): 420-431.
- [18] Wang T, Guo H, Xiong B, et al. De novo genic mutations among a Chinese autism spectrum disorder cohort [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13316.
- [19] Merikangas AK, Calkins ME, Bilker WB, et al. Parental Age and Offspring Psychopathology in the Philadelphia Neurodevelopmental Cohort [J]. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2017, 56(5): 391-400.
- [20] Atsem S, Reichenbach J, Potabattula R, et al. Paternal age effects on sperm FOXX1 and KCNA7 methylation and transmission into the next generation [J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(22): 4996-5005.
- [21] Atsem S, Reichenbach J, Potabattula R, et al. Paternal age effects on sperm FOXX1 and KCNA7 methylation and transmission into the next generation [J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(22): 4996-5005.
- [22] BÖlte S, Girdler S, Marschik PB. The contribution of environmental exposure to the etiology of autism spectrum disorder [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(7): 1275-1297.
- [23] Han VX, Patel S, Jones HF, et al. Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(9): 564-79.
- [24] Edlow AG. Maternal obesity and neurodevelopmental and psychiatric disorders in offspring [J]. *Prenat Diagn*, 2017, 37(1): 95-110.
- [25] Godfre YKM, Reynolds RM, Prescott SL, et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5(1): 53-64.
- [26] Wang C, Geng H, Liu W, et al. Prenatal, perinatal, and postnatal factors associated with autism: A meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(18): e6696.
- [27] Franklin TB, Russig H, Weiss IC, et al. Epigenetic transmission of the impact of early stress across generations [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 68(5): 408-415.
- [28] Abbott PW, Gumusoglu SB, Bittle J, et al. Prenatal stress and genetic risk: How prenatal stress interacts with genetics to alter risk for psychiatric illness [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2018, 90: 9-21.
- [29] King S, Dancause K, Turcotte-Tremblay AM, et al. Using natural disasters to study the effects of prenatal maternal stress on child health and development [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2012, 96(4): 273-288.
- [30] Gyawali S, Patra BN. Autism spectrum disorder: Trends in research exploring etiopathogenesis [J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2019, 73(8): 466-475.
- [31] Cheslack postava K, Winter AS. Short and long interpregnancy intervals: correlates and variations by pregnancy timing among U.S. women [J]. *Perspect Sex Reprod Health*, 2015, 47(1): 19-26.
- [32] El-ansary A, Bjorklund G, Tinkov AA, et al. Relationship between selenium, lead, and mercury in red blood cells of Saudi autistic children [J]. *Metab Brain Dis*, 2017, 32(4): 1073-1080.
- [33] Fluegge ba K. Zinc and Copper Metabolism and Risk of Autism: a reply to Sayehmiri et al [J]. *Iran J Child Neurol*, 2017, 11(3): 66-69.
- [34] Deshpande RR, Dungarwal PP, Bagde KK, et al. Comparative evaluation of salivary zinc concentration in autistic and healthy children in mixed dentition age group-pilot study [J]. *Indian J Dent Res*, 2019, 30(1): 43-46.
- [35] Meguid NA, Bjorklund G, Gebril OH, et al. The role of zinc supplementation on the metallothionein system in chil-

dren with autism spectrum disorder [J]. *Acta Neurol Belg*, 2019, 119(4): 577-583.

[36] Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, et al. Microglial activation in young adults with autism spectrum disorder [J]. *JAMA Psychiatry*, 2013, 70(1): 49-58.

[37] Davoli-ferreira M, Thomson CA, McCoy KD. Microbiota and

Microglia Interactions in ASD [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 676255.

[38] Andrade E, Portela S, Pinheiro PR, et al. A Protocol for the Diagnosis of Autism Spectrum Disorder Structured in Machine Learning and Verbal Decision Analysis [J]. *Computational meth med*, 2021, 2021: 1628959.

(上接第 1821 页)

理反应或与免疫相关疾病发生过程有关^[13-14]。Fas、FasL 分别为 I 型跨膜受体蛋白、II 型跨膜蛋白,前者为 TNFR/NGFR 超家族成员,广泛表达于上皮细胞、T/B 淋巴细胞表面,是 FasL 的受体;后者为 TNF 超家族成员,被称为死亡因子,可表达于 T 淋巴细胞、B 细胞表面^[15]。Fas 在血清中的可溶性形式即 sFas,其通过和 Fas 竞争性结合细胞表面 FasL 定点以达到间接阻断细胞凋亡的目的,血清 FasL 存在免疫活性。动物实验显示 HT 大鼠中血清 Fas、FasL 水平相比正常组显著升高,Fas、FasL 可通过调控自身免疫水平参与 HT 发病^[16]。本研究中,HT 组患者外周血淋巴细胞 Fas、FasL 表达水平均高于健康人群、NTG 患者,提示 Fas/FasL 可能通过调控机体免疫参与 HT 发病过程,与余欣然等^[18]的研究结果相似。进一步 Pearson 相关性分析显示,HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 水平与 ATG、ATPO 表达成正相关,提示 Fas/FasL 水平可能与自身抗体相关指标协同参与 HT 发病。

综上所述,HT 患者外周血淋巴细胞 Fas/FasL 表达水平异常升高,且与 ATG、ATPO 水平相关,检测外周血淋巴细胞 Fas/FasL 表达水平或许可为 HT 诊断、治疗提供重要依据。

参考文献

[1] Young YJ, Inwhee P, Kyung KS. Concurrent Linear Immunoglobulin A Dermatitis, Hashimoto Thyroiditis, and Immunoglobulin A Nephropathy in an Adult [J]. *Ann Dermatol*, 2017, 29(2): 226-228.

[2] Zhao F, Feng J, Li J, et al. Alterations of the gut microbiota in Hashimoto's thyroiditis patients [J]. *Thyroid*, 2018, 28(2): 175-186.

[3] Esfahanian F, Ghelich R, Rashidian H, et al. Increased Levels of Serum Interleukin-17 in Patients with Hashimoto's Thyroiditis [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2017, 21(4): 551-554.

[4] Mehmet Ö, Ruken Y. The usefulness of strain wave elastography in the diagnosis and grading of Hashimoto's thyroiditis in

children [J]. *Radiol Med*, 2017, 122(12): 960-966.

[5] Song E, Jeon MJ, Park S, et al. Influence of coexistent Hashimoto's thyroiditis on the extent of cervical lymph node dissection and prognosis in papillary thyroid carcinoma [J]. *Clin Endocrinol*, 2017, 88(1): 123-128.

[6] Li Q, Peng J, Liu T, et al. Effects of celecoxib on cell apoptosis and Fas, FasL and Bcl-2 expression in a BGC-823 human gastric cancer cell line [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(3): 1935-1940.

[7] 中华医学会内分泌学分会《中国甲状腺疾病诊治指南》编写组. 甲状腺疾病诊治指南——甲状腺功能减退症 [J]. *中华内科杂志*, 2007, 46(11): 967-971.

[8] Zhang K, Wang Y, Ma W, et al. Genistein improves thyroid function in Hashimoto's thyroiditis patients through regulating Th1 cytokines [J]. *Immunobiology*, 2017, 222(2): 183-187.

[9] Kuroda M, Kuroda K, Segawa T, et al. Levothyroxine supplementation improves serum anti-Müllerian hormone levels in infertile patients with Hashimoto's thyroiditis [J]. *J Obstetr Gynaecol Res*, 2018, 44(4): 739-746.

[10] Yang LT, Ma F, Zeng HT, et al. Restoration of Mal overcomes the defects of apoptosis in lung cancer cells [J]. *PLoS One*, 2020, 15(1): e0227634.

[11] Boiarsky J, Upadhyay R, Svensson-Arvelund J, et al. 90 Potentiation of T-cell mediated tumor killing via modulation of the fas/fasL pathway [J]. *J ImmunoTher Cancer*, 2020, 8(Suppl 3): A100-A101.

[12] 滕跃虹, 王鲁峰, 朱烨. 桥本甲状腺炎患者血清中甲状腺相关激素水平检测及预后探讨 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(7): 857-859.

[13] 王莉, 陈洁, 闻双全, 等. Fas/FasL 通路对镉激活 PC12 细胞 MAPK 通路的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2021, 52(7): 2034-2043.

[14] 黎俊森, 喻卉. 硒酵母联合维生素 D 对桥本甲状腺炎模型大鼠甲状腺激素水平及细胞凋亡的影响 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2022, 38(1): 42-49.

[15] 满国栋, 王军. 全腔镜甲状腺切除术对甲状腺球蛋白和可溶性 Fas 受体配体蛋白水平的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2020, 37(3): 446-449.

[16] 余欣然, 向楠, 曾明星, 等. 夏枯草胶囊对自身免疫性甲状腺炎大鼠甲状腺组织及 Fas、FasL 表达的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(7): 1239-1242+1271.

昆明市第一人民医院检验科

昆明市第一人民医院是具有百年历史的综合性三级甲等医院,有南、北两个院区检验科,专业人员89人(医师14人、技师75人),其中主任医师1人、主任技师4人,副主任医师1人、副主任技师8人,中级职称24人,博士1人、在读博士1人,硕士研究生10人;昆明医科大学临床实验诊断硕士研究生导师3人,大理大学临床实验诊断硕士研究生导师1人,昆明市卫生系统“省内知名专家”培养对象2人次;昆明市卫生系统“千、百、十”工程“临床专家”10人;2019年以来,招收和培养硕士研究生23名,毕业并获得硕士学位11人。培养检验医师26名。年检验量200余万人次以上。具有万元以上专业设备200余台套,实验室总面积1530余平方米,检验科规模在昆明市内领先。

检验科经过10年的昆明市第三、四周临床重点学科建设,奠定了良好的医、教、研全面发展的基础;通过第一、二轮昆明市临床检验质量控制中心的建设及云南省临床检验中心昆明地区分中心的工作积累的建设和发展,积累了临床检验质量运行的丰富的管理经验;2016年被遴选为云南省临床重点专科培育科室;2018年被遴选为昆明市临床检验研究中心、2019年被遴选为昆明医学会检验医学分会主任委员单位及2022年被遴选为第三轮昆明市临床检验质量控制中心;基于这些平台的建设,使科室在云南省临床检验行业内得较好的认同,检验科的学科建设和发展在昆明市内领先、省内先进。近年来,先后承担和参与了HLA多态性与高血压病、系统性红斑狼疮等疾病的相关性研究;高血压、高脂血症、糖尿病、冠心病等多基因疾病遗传易感基因研究;临床分离常见病原菌耐药机制研究;临床分离常见病原菌快速检测技术研究等多方面的国家、省部级、市级课题50余项,目前有在研课题16项,获云南省和昆明市科研成果奖25项;先后在国外专业期刊发表在省级以上刊物发表学术论文150余篇,其中SCI 10余篇;获得国家、省部级、市级课题45项,科研成果获奖25项,目前在研项目11项;获国家发明专利4项,计算书软著2项。



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。

