



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

分子诊断与治疗杂志

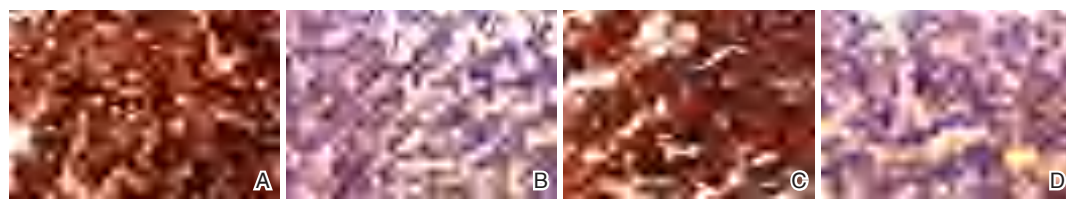
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2022年12月 第14卷 第12期 总第100期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 14 Number 12 December 2022



注: A. 甲状腺癌组织; B. 癌旁组织; C. 甲状腺癌组织; D. 癌旁组织。

图(2029) 甲状腺癌组织和癌旁组织 STAT3、Livin 免疫组化染色 (×200)

Figure(2029) Immunohistochemical staining of STAT3 and Livin in thyroid cancer tissue and adjacent tissue (×200)

中山大学 主管

中国科技核心期刊 (中国科技论文统计源期刊)
中国核心期刊 (遴选) 数据库收录期刊
中国期刊全文数据库全文必录期刊
中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊
中文生物医学期刊文献数据库 CMCC 收录期刊
中国生物医学期刊引文数据库 CMCI 收录期刊
中国学术期刊影响因子年报统计源期刊

ISSN 1674-6929



满秋红



满秋红,现任同济大学附属上海市第四人民医院医学检验科主任,2004年毕业于军事医学科学院,医学硕士,主任医师。

现担任国家科技部专家库人类遗传资源项目管理专家和评审专家,全国生物样本标准化技术委员会委员,白求恩精神研究会检验医学分会副会长,白求恩精神研究会细胞形态专家专业委员会副主任委员,中国研究型医院学会临床数据与样本资源库专业委员会常务委员,中国中西医结合学会检验医学专业委员会形态学分析诊断专家

委员会委员,上海市康复医学会第一届检验与健康专业委员会秘书长,上海市中西医结合学会检验医学专业委员会委员,上海市医学装备协会实验医学专业委员会委员。

满秋红教授擅长细胞形态学检验学诊断学和临床生物样本库标准体系化建与管理,主要进行专病队列临床检验标志物应用研究。在临床检验多平台和样本库资源整合平台建设方面形成了一定的特色和优势。主持完成国家、军队重大和重点面上项目、上海市卫健委、上海市虹口区卫健委重大专项等各项各类课题 10 余项、发表文章 50 余篇,参与国家行业标准制定工作 5 项,编写专著 8 部。曾经获得“白求恩精神研究会检验医学分会白求恩式检验人”等奖项。带教临床检验细胞形态学进修生和实习生 300 余名,培养硕士和博士研究生 20 余名。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2022 年 12 月 第 14 卷 第 12 期 总第 100 期 Monthly Volume 14 Number 12 December 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 12 月 18 日 |
| 定价 | RMB 15.00 元 |
| Responsible Institution | <i>Sun Yat-sen University</i> |
| Sponsor | <i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i> |
| Organizer | <i>Daan Gene Co., Ltd.</i> |
| Editor in Chief | <i>ZHANG Yipeng</i> |
| Consultant | <i>SHEN Ziyu</i> |
| Editor in Chief | <i>LI Ming</i> |
| Managing Director | <i>LIU Yue</i> |
| Editorial Office | <i><JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office</i> |
| Editors | <i>LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao</i> |
| Editing | <i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i> |
| Add | <i>11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620</i> |
| Tel | <i>(020) 32290789-206, 32290789-201</i> |
| E-mail | <i>jmdt@vip.163.com</i> |
| CSSN | <i>ISSN 1674-6929 CN 44-1656/R</i> |
| Printing | <i>TianYi Yofus Technology Co., Ltd.</i> |
| Publish Date | <i>2022.12.18</i> |
| Price | <i>RMB 15.00</i> |



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

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

分子诊断与治疗杂志

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

特颁发此证书。

中国科学技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路15号 100038 www.istic.ac.cn

2021年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2022年12月 第14卷 第12期

目次

述评

ISO 23500-4 透析浓缩物国际标准的更新与转化 叶晓燕 黄麒谕 吴静标 等(2023)

论著

Livin、*STAT3* 基因在海南地区甲状腺癌组织中的表达情况 潘在兴 潘健华 夏欢 等(2027)

上海地区血液 *EGFR* 基因突变检测室间质量评价回顾分析 范晓瑜 史春丽 肖艳群 等(2031)

丙泊酚抑制肝癌细胞增殖和迁移的作用及其铁死亡通路机制的研究
..... 陶磊 王迪 疏树华(2036)

白细胞计数及淋巴细胞亚群对肺炎支原体感染儿童病情判断价值
..... 殷海珍 王威远 刘小羽(2040)

长链非编码 RNA *HNF1A-AS1* 对口腔癌细胞增殖、侵袭和 EMT 的影响
..... 司亚静 张建丽 郑雪莉(2044)

血清 25(OH)D₃、NT-proBNP 与老年高血压伴慢性心力衰竭患者 MACE 风险的相关性
..... 程磊 宋虹 魏嘉(2050)

非布司他辅助治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对外周血中 NLRP3 炎症小体及血清 IL-1 β 、
IL-18 的调控作用 马延娟 赵建芹 李春睿(2055)

急性白血病患者血清 GFI1B 表达及其与临床病理特征、预后的关系
..... 张志敏 张永梅 刘鑫艳 等(2059)

血清 RDW、CRP 及 IL-33 对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值
..... 孙军 张丽阳 高军 等(2064)

血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系
..... 王明丽 朱爱 郭岩松 等(2068)

血清趋化因子 CXCL12、CXCL17 与 2 型糖尿病患者微血管病变的关系 左源渊 辛丽娟(2072)

成人暴发性心肌炎患者血清一氧化氮水平的变化及临床意义 陈杰 李觉(2077)

miR-17-5p 与高血压左室肥厚相关性及其预测价值 许欣 星玉洁 杜娟 等(2081)

胰激肽原酶联合胰岛素泵对 2 型糖尿病 SOD、T-AOC 及 TNF- α 的影响
..... 许珊珊 周红军 杨铭 等(2086)

免疫型复发性流产患者血清封闭抗体、TPOAb 及 ANA 的临床治疗变化
..... 郑琦 钟素琴 朱丽君(2090)

洛匹那韦治疗对梅毒并 HIV 感染者免疫功能、CK-MB 及 LDH 的影响
..... 李双会 霍枚玫 王娅茹 等(2094)

SCC、CYFRA21-1 及 NSE 在贝伐珠单抗联合 FP 治疗肺癌中的临床意义
..... 周计 周宗正 潘刚(2098)

炎症性肠病患儿 HP 感染与 GAS、chemerin 和 CHE 的关系 林仁德 彭琼 冯广斌(2102)

不同性别 2 型糖尿病患者血糖控制与颈动脉斑块、骨密度相关性
..... 谢翠华 谢慧琴 孙艳 等(2106)

MiR-129-5p 在肺腺癌中的表达及其临床意义 张建海 王巍 王前 等(2110)

血清 ADA、ANA、抗 CCP 抗体与类风湿关节炎合并骨关节炎预后的相关性
..... 魏竹节 王涛 李志军(2115)

苏州市第九人民医院慢性肾脏病贫血状况的单中心横断面调查 李晔 马春园 徐燕(2119)

PCT、NT-pro-BNP 在心力衰竭并肺炎疾病程度、预后评估中的作用 黄飞 梁磊(2125)

TTF-1、CYFRA21-1 在诊断非小细胞肺癌患者中的临床效果评价 牛慧 程君 刘芸芸 等(2129)

低分子肝素钙局部注射对断指再植患者 D-D、ET-1 及凝血功能的影响
..... 武延朋 张永 裴敬仲(2133)

miR-21、ILK 及 Bax 蛋白在 CIN 中的表达及临床意义 董芮 赵琳 董琴 等(2137)

CD64、LPR 联合改良 Baux 评分在大面积烧伤患者预后评估中的价值
..... 方越洋 陈宇 惠灿灿(2141)

急性/亚急性脑静脉血栓患者血清 CRP、PCT、NLR 水平与静脉梗死的相关性
..... 吴昌礼 赵人杰 何阳 等(2145)

微小 RNA-375 在急性胰腺炎患者外周血中的表达及与并发急性肝损伤的相关性
..... 陈映群 张卫星 尹子涵 等(2150)

中国汉族人群肺结核易感 HLA 基因型荟萃分析 吕钰冰 林国旺 何鹏 等(2154)

高血压合并颈动脉粥样硬化患者 IMT 与 CK-MB、hsTnI 及 CRP 水平的相关性
..... 李欣 王彦婷 仇秀莹 等(2159)

血小板输注无效患者外周血 T、B、NK 细胞和血小板抗体表达 张玲 孙庆正 王晓珍 等(2163)

CT 灌注参数与胃癌临床病理特征及 Wnt/ β -catenin 通路介导血管新生的关系
..... 陈思敏 林怀雄 刘昌华 等(2166)

血清 ANGPTL5、AFP 表达与胃癌临床病理特征及预后的关系 于佳瀚 高立明 孔梦悦 等(2171)

CD20、Ki-67 及 P53 蛋白在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及其临床意义
..... 蒋磊 周颖 王银花 等(2175)

2 例 3M 综合征产前诊断的病例报道及文献复习 王逾男 汪安石 熊盈 等(2180)

紫杉醇脂质体联合铂类化疗同步放疗在宫颈癌中的应用及对 CA125、TA-4、SCC 水平及预后的影响
..... 田祎 高静 林琳 等(2184)

维生素 D 辅助治疗对老年女性糖尿病肾病患者骨代谢及微炎症状态的影响
..... 侯言涛 温小军 白艳艳 等(2188)

UCHL1-AS1/miR-629 轴调控食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的调控机制
..... 王佳 许红英 高峰 等(2192)

凝血功能联合血脂指标检测在结直肠癌诊断中的应用 孙英 林洁 吉益玎 等(2198)

北京通州区某医院 45 岁以上健康体检人群代谢综合征的流行病学调查
..... 秦瑞娟 刘胜利 张艺 等(2202)

初产妇剖宫产后大出血 PTSD 发生现状及影响因素分析 魏文静 邓祯珍 黄沛嫔(2207)

钠-葡萄糖协同转运蛋白-2 抑制剂联合胰岛素泵对 T2DM 患者 HOMA-IR、ET 及 FMD 水平的影响
..... 郝士丹 许颖 郝士玉 等(2211)

CT、NG 与 HPV 感染的关系及与宫颈病变发生的相关性 许艳茹 林景涛 周正维 等(2215)

综 述

中性粒细胞胞外诱捕网在急性缺血性脑卒中的研究进展 徐跃轩 赵晓丽(2219)

专家风采

满秋红 (封二)

实验室巡礼

同济大学附属上海市第四人民医院检验医学科 (封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 14 Number 12 December 2022

CONTENTS

COMMENTS

- Update and transformation of ISO 23500-4 international standard for dialysis concentrates
YE Xiaoyan, HUANG Qiyu, WU Jingbiao, LU Runchao, ZOU Misha (2023)

ORIGINAL ARTICLES

- Expression of *Livin* and *STAT3* genes in thyroid cancer tissues in Hainan Southern China
PAN Zaixing, PAN Jianhua, XIA Huan, YE Fangli, YANG Yao (2027)
- Retrospective analysis of external quality assessment of blood *EGFR* gene mutation detection in Shanghai area
FAN Xiaoyu, SHI Chunli, XIAO Yanqun, WANG Xueliang (2031)
- Propofol inhibits the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells and its mechanism of ferroptosis pathway
TAO Lei, WANG Di, SHU Shuhua (2036)
- Value of WBC count and lymphocyte subsets in judging the condition of children infected with *Mycoplasma pneumoniae*
YIN Haizhen, WANG Weiyuan, LIU Xiaoyu (2040)
- Effects of long non-coding RNA HNF1A-AS1 on the proliferation, invasion and EMT of oral cancer cells
SI Yajing, ZHANG Jianli, ZHENG Xueli (2044)
- Correlation between serum 25(OH) D3, NT-proBNP and the risk of MACE in elderly hypertensive patients with chronic heart failure
CHENG Lei, SONG Hong, WEI Jia (2050)
- Efficacy of febraxostat in the adjuvant treatment of diabetic peripheral neuropathy and its regulation effect on NLRP3 inflammasome in peripheral blood and IL-1 β , IL-18 in serum
MA Yanjuan, ZHAO Jianqin, LI Chunrui (2055)
- Serum GF11B expression in patients with acute leukemia and its relationship with clinicopathological features and prognosis
ZHANG Zhimin, ZHANG Yongmei, LIU Xinyan, PAN Zhilan (2059)
- Predictive value of serum RDW, CRP and IL-33 on the short-term prognosis of patients with complex intracranial aneurysm treated with blood flow diverting device
SUN Jun, ZHANG Liyang, GAO Jun, SHI Caili, LAN Duanyun, WEN Changming (2064)
- Relationship between serum NGF, HIF-1 α , TNF- α levels and analgesic effect of paravertebral nerve block in renal tumor patients
WANG Mingli, ZHU Ai, GUO Yansong, ZHANG Huiling, XU Qian (2068)
- The relationship between serum chemokines CXCL12, CXCL17 and microangiopathy in patients with type 2 diabetes mellitus
ZUO Yuanyuan, XIN Lijuan (2072)
- The change of serum nitric oxide level in adult patients with fulminant myocarditis and its clinical significance
CHEN Jie, LI Jue (2077)
- Correlation and predictive value of Mir-17-5P with hypertensive left ventricular hypertrophy
XU Xin, XING Yujie, DU Juan, HE Yuan, REN Ming (2081)
- Effects of pancreatic kininogenase combined with insulin pump on SOD, T-AOC and TNF- α in type 2 diabetes mellitus
XU Shanshan, ZHOU Hongjun, YANG Ming, HU Wenxiu (2086)
- Changes in clinical treatment of serum blocking antibody, TPOAb and ANA in patients with immune recurrent spontaneous abortion
ZHENG Qi, ZHONG Suqin, ZHU Lijun (2090)
- Effects of lopinavir treatment on immune function, CK-MB and LDH in patients with syphilis and HIV infection
LI Shuanghui, HUO Meimei, WANG Yaru, WANG Lina (2094)
- The clinical significance of SCC, CYFRA21-1 and NSE in the treatment of lung cancer with bevacizumab combined with FP
ZHOU Ji, ZHOU Zongzheng, PAN Gang (2098)
- Relationship between HP infection and GAS, chemerin and CHE in children with inflammatory bowel disease
LIN Rende, PENG Qiong, FENG Guangbin (2102)
- Correlation between blood glucose control and carotid plaque, bone mineral density in type 2 diabetes patients of different sexes
XIE Cuihua, XIE Huiqin, SUN Yan, JIANG Yan, CHEN Wenjuan (2106)

| | |
|---|--------|
| Expression of MiR-129-5p in lung adenocarcinoma and its clinical significance <i>ZHANG Jianhai, WANG Wei, WANG Qian, XU Jialun, GAO Na</i> | (2110) |
| Correlation between serum ADA, ANA and anti-CCP antibodies and prognosis of rheumatoid arthritis complicated with osteoarthritis <i>WEI Zhujie, WANG Tao, LI Zhijun</i> | (2115) |
| Single-center cross-sectional survey of stage 3-5 anemia status of chronic kidney disease in the Ninth People's Hospital of Suzhou City <i>LI Ye, MA Chunyuan, XU Yan</i> | (2119) |
| The role of PCT and NT-pro-BNP in the evaluation of the disease degree and prognosis of heart failure complicated with pneumonia <i>HUANG Fei, LIANG Lei</i> | (2125) |
| Evaluation of clinical effect of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in the diagnosis of non-small cell lung cancer patients <i>NIU Hui, CHENG Jun, LIU Yunyun, GAO Wei, LIU Wu, TIAN Chunxiang</i> | (2129) |
| Effect of local injection of low molecular weight heparin calcium on D-D, ET-1 and blood coagulation function in patients with severed finger replantation <i>WU Yanpeng, ZHANG Yong, PEI Jingzhong</i> | (2133) |
| Expression and clinical significance of miR-21, ILK and Bax proteins in CIN <i>DONG Rui, ZHAO Lin, DONG Qin, GUAN Yeqiu, XU Aifang</i> | (2137) |
| Prognostic value of CD64 and LPR combined with modified Baux score in patients with extensive burns <i>FANG Yueyang, CHEN Yu, HUI Cancan</i> | (2141) |
| Correlation between serum CRP, PCT and NLR levels in patients with acute / subacute cerebral venous thrombosis and venous infarction <i>WU Changli, ZHAO Renjie, HE Yang, ZHAO Baozhu, CHEN Mengfei</i> | (2145) |
| Expression of microRNA-375 in peripheral blood of patients with acute pancreatitis and its correlation with concurrent acute liver injury <i>CHEN Yingqun, ZHANG Weixing, YIN Zihan, LIN Xuwei</i> | (2150) |
| A meta-analysis of HLA genotypes of tuberculosis susceptibility in Chinese Han population <i>LV Yubing, LIN Guowang, HE Peng, LIN Lijuan, FANG Yanping, JIANG Lingxiao</i> | (2154) |
| Correlation between IMT and CK-MB, hsTnl and CRP levels in patients with hypertension and carotid atherosclerosis <i>LI Xin, WANG Yanting, QIU Xiuying, ZI Xiao</i> | (2159) |
| Changes of platelet specific autoantibody, T, B, NK cells in patients with platelet transfusion refractoriness <i>ZHANG Ling, SUN Qingzheng, WANG Xiaozhen, LIU Jiajun</i> | (2163) |
| Relationship between CT perfusion parameters and clinicopathological features, Wnt/ β -catenin pathway mediated angiogenesis in gastric cancer <i>CHEN Simin, LIN Huaixiong, LIU Changhua, LI Liang, LIN Jiankun</i> | (2166) |
| Expression of serum ANGPTL5 and AFP in patients with gastric cancer and their correlation with prognosis <i>YU Jiahan, GAO Liming, KONG Mengyue, WANG Zhaohui, WANG Chaoqun</i> | (2171) |
| Expression of CD20, Ki-67 and P53 proteins in diffuse large B-cell lymphoma and clinical significance <i>JIANG Lei, ZHOU Ying, WANG Yinhua, XU Qian</i> | (2175) |
| Prenatal diagnosis of 3M syndrome: 2 case report and literature review <i>WANG Yunan, WANG Anshi, XIONG Ying, ZENG Yukun, YU Lihua, HE Tianwen</i> | (2180) |
| Application of paclitaxel liposome combined with platinum-based chemotherapy and concurrent radiotherapy in cervical cancer and its effects on CA125, TA-4, SCC levels and prognosis <i>TIAN Yi, GAO Jing, LIN Lin, HAO Shidan, TIAN Fei</i> | (2184) |
| Effect of Vitamin D adjuvant therapy on bone metabolism and micro-inflammatory state in elderly female patients with diabetic kidney disease <i>HOU Yantao, WEN Xiaojun, BAI Yanyan, WANG Xu</i> | (2188) |
| Study on the mechanism of UCHL1-AS1/miR-629 axis in regulating the proliferation, migration and invasion of esophageal cancer cells <i>WANG Jia, XU Hongying, GAO Feng, YAN Shihai</i> | (2192) |
| Application value of blood coagulation function combined with blood lipid index in the diagnosis of colorectal cancer <i>SUN Ying, LIN Jie, JI Yiding, CHU Zhifen, LU Ruiyun, WANG Yuanyuan</i> | (2198) |
| Epidemiological investigation of metabolic syndrome among healthy population aged over 45 years in a hospital in Tongzhou District, Beijing <i>QIN Ruijuan, LIU Shengli, ZHANG Yi, WU Chunying</i> | (2202) |
| Analysis of the occurrence status and influencing factors of PTSD in primiparas with massive hemorrhage after cesarean section <i>WEI Wenjing, DENG Zhenzhen, HUANG Peibin</i> | (2207) |
| Effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor combined with insulin pump on HOMA-IR, ET and FMD levels in patients with T2DM <i>HAO Shidan, XU Ying, HAO Shiyu, ZHANG Jingyi</i> | (2211) |
| The relationship between CT, NG and HPV infection and its correlation with cervical lesions <i>XU Yanru, LIN Jingtao, ZHOU Zhengwei, XUAN Chun, QIU Cailing</i> | (2215) |

REVIEWS

| | |
|---|--------|
| Research progress of neutrophil extracellular traps (NETs) in acute ischemic stroke <i>XU Yuexuan, ZHAO Xiaoli</i> | (2219) |
|---|--------|

ISO 23500-4 透析浓缩物国际标准的更新与转化

叶晓燕^{1*} 黄麒谕¹ 吴静标¹ 卢润潮² 邹米莎²

[摘要] ISO 23500 系列标准规定了血液透析及相关治疗用液体的制备及质量管理,该系列标准体现了国际血液透析医疗专家和生产企业的智慧结晶。本文梳理了血液透析浓缩物国际标准的发展沿革和变迁,阐述了ISO 23500-4:2019相对于前版标准ISO 13958:2014的更新,并分析其更新原因。为更好地理解和应用该标准,本文重点介绍了在2021年国内透析浓缩物标准的修订过程中,对ISO 23500-4:2019技术内容的运用及转化,变化的重点内容包括性状、微生物限度、细菌内毒素、装量、微粒及溶质浓度,国内标准还增加了枸橼酸根、碳酸氢根的具体检测方法。除此以外,本文还对ISO 23500-4需要更新的内容提出建议,对需要优化的检测方法进行初探,以期为血液透析医疗器械的检验检测及未来ISO 23500-4的修订工作提供参考。

[关键词] ISO 23500-4; 血液透析; 转化

Update and transformation of ISO 23500-4 international standard for dialysis concentrates

YE Xiaoyan^{1*}, HUANG Qiyu¹, WU Jingbiao¹, LU Runchao², ZOU Misha²

(1. Guangdong Medical Devices Quality Surveillance and Test Institute, Guangzhou, Guangdong, China, 510663;

2. Fresenius Medical Care R&D (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai, China, 200233)

[ABSTRACT] The ISO 23500 series of standards stipulate the preparation and quality management of hemodialysis and related therapeutic liquids. This series of standards embodies the wisdom of international hemodialysis medical experts and manufacturers. This article sorts out the development and changes of international standards for hemodialysis concentrates, expounds the update of ISO 23500-4:2019 relative to the previous version of standard ISO 13958:2014, and analyzes the reasons for the update. In order to better understand and apply this standard, this article focuses on the application and transformation of the technical content of ISO 23500-4:2019 during the revision process of the domestic dialysis concentrate standard in 2021. The key changes include traits, microbial limits, bacterial endotoxin, loading capacity, particulate and solute concentrations, and specific detection methods for citrate and bicarbonate have also been added to domestic standards. In addition, this paper also puts forward suggestions on the content that needs to be updated in ISO 23500-4, and conducts a preliminary study on the testing methods that need to be optimized, in order to provide reference for the inspection and testing of hemodialysis medical devices and the revision of ISO 23500-4 in the future.

[KEY WORDS] ISO 23500-4; Hemodialysis; Transformation

1981年,美国医疗器械促进协会(association for the advancement of medical instrumentation, AA-MI)首次制定了血液透析相关的标准《血液透析系

统》(RD5:1981),该标准于1982年发布。随着对透析治疗相关风险的理解及技术的进步,这些标准被多次修订。2002年,国际标准化组织(interna-

基金项目:广东省药品监督管理局科技创新项目(2018ZDZ04)

作者单位:1. 广东省医疗器械质量监督检验所医用电气安全室,广东,广州 510663

2. 费森尤斯医药研发(上海)有限公司,上海 200233

*通信作者:叶晓燕, E-mail:107781964@qq.com

注:叶晓燕与黄麒谕同为第一作者

tional organization for standardization, ISO)首次发布了血液透析及相关治疗用浓缩物(简称:透析浓缩物)的标准 ISO 13958:2002《血液透析及相关治疗浓缩物》,其第二、第三版分别为 ISO 13958:2009 和 ISO 13958:2014^[1-4]。2019年,ISO整合了与血液透析治疗用液体的制备和质量管理相关的5个标准,升版为 ISO 23500:2019 系列标准^[5],其中透析浓缩物的标准为本文所探讨的 ISO 23500-4:2019《血液透析及相关治疗用液体的制备和质量管理 第四部分:血液透析及相关治疗浓缩物》^[6]。

ISO 23500-4:2019 于2019年2月发布,取代了 ISO 13958 第三版标准 ISO 13958:2014^[3],该标准由外科植入物技术委员会的心血管植入物和体外系统分技术委员会编制。ISO 23500-4:2019 与美国标准 ANSI/AAMI/ISO 23500-4:2019、欧盟标准 BS EN ISO 23500-4:2019 内容完全等同^[7-8]。本文通过对 ISO 23500-4:2019 的更新及转化要点进行分析,以期有助于透析浓缩物生产企业、科研机构及产品检测监管机构更准确把握标准的技术要点。

1 ISO 23500-4:2019 的更新

相对于前版标准 ISO 13958:2014,ISO 23500-4:2019 没有发生根本性的变化,技术要求条款基本上没有增减,但还是有一些重要的更新和说明,主要更新的内容如下。

基于 ISO 23500:2019 系列标准的迭代更新,ISO 23500-4:2019 删除了 ISO 23500-1:2019 中已界定的术语和定义,ISO 23500-4:2019 仅保留了批量系统 batch system、碳酸氢盐透析液 bicarbonate dialysis fluid、浓缩物混合器 concentrate mixer 三个定义。由于透析液的最终浓度将受到透析液输送过程中其他多种因素的影响,ISO 23500-4:2019 增加透析浓缩物中所含溶质的实际浓度必须尽可能接近标示量的要求。两版本标准均要求如果加入了添加剂,所得的浓度应在标示值的 $\pm 5\%$ 范围内,ISO 23500:2019 作出部分国家未批准使用添加剂的提示^[3-6]。

微生物要求方面,由于尚无文献表明酸性浓缩物有助于细菌生长,ISO 23500-4:2019 和 ISO 13958:2014 只对碳酸氢盐浓缩物的微生物限度作出要求。微生物检测方法中,ISO 23500-4:2019 除保留 ISO 13958:2014 中规定的胰蛋白胍葡萄糖

浸膏琼脂培养基(Tryp-tone glucose extractagar, TGEA)和 Reasoner's 2A(R2A)琼脂培养基检测方法外,还增加了胰酪大豆胍琼脂培养基(Tryptic soya-gar, TSA)检测方法。TSA 是一种通用的培养基,用于分离和培养挑剔的微生物,培养条件为 35℃至 37℃,培养时间为 48 小时。美国的透析医疗器械制造商广泛使用 TSA,2015 年美国代表团要求在 ISO 23500 系列标准中恢复 TSA 培养方法的使用,Maltais 等人指出,使用 R2A 和 TSA 在相同条件下分析菌落计数 ≥ 50 CFU/mL 的标准水和标准透析液时,微生物负荷比例无显著性差异^[5,9]。因此,ISO 23500-4:2019 增加了 TSA 培养基检测方法,并且强调标准中所列的检测方法只能提供细菌生物负载的相对指标,而非绝对指标^[3-6],且 TSA 培养基用于碳酸氢盐浓缩物的培养时无需补充碳酸氢钠。ISO 23500 系列标准明确 TSA 仅确认适用于标准透析液和透析用水的检测^[10-12]。

针对霉菌和酵母菌总数的监测,两版标准均未作出要求。相对于 ISO 13958:2014,ISO 23500-4:2019 中提到需要监测霉菌和酵母菌总数的话,应采用沙氏琼脂或麦芽浸出液琼脂培养基^[3-6]。

2 ISO 23500-4:2019 的转化

为进一步完善相关技术条款,全国医用体外循环设备标准化技术委员会(编号:SAC/TC 158)积极负责 ISO 23500 系列标准的修改采用转化工作。通过修改采用 ISO 23500-4:2019,2021 年国内行业标准《血液透析和相关治疗用液体的制备和质量管理 第4部分:血液透析和相关治疗浓缩物》已形成报批稿,有待发布实施,为透析液体制备产品的检验和监管提供技术支撑。SAC/TC 158 根据我国国情、国内外企业的产品情况以及临床研究证据,对安全、性能等指标进行修改,修改的主要内容如下。

2.1 适用范围和定义

ISO 23500-4:2019 的适用范围除了透析浓缩物外,还包括用于溶解透析干粉制成浓缩液的混合设备要求。在中国,透析浓缩物混合设备不按医疗器械管理,因此混合设备不在国内透析浓缩物行业标准的适用范围。中国尚未有法律法规批准可使用添加剂,因此国内行业标准中未规定添加剂的要求。

2.2 技术内容的转化

在技术条款中,2021 年国内透析浓缩物行业

标准报批稿删除了 ISO 23500-4:2019 中对浓缩物容器(包装容器)、浓缩物制造设备、透析机构的批量混合浓缩物系统的要求,这些条款均不在中国透析浓缩物行业标准的规定范围。此外,2021 年行业标准对 ISO 23500-4:2019 的技术条款进行了修改,技术条款的主要差异见表 1^[13]。

溶质浓度方面,SAC/TC 158 根据国内透析浓缩物的临床使用情况,通过多年的方法学研究,2021 年行业标准报批稿中,增加了以下项目的检测方法:

①枸橼酸根检测方法。ISO 23500-4:2019 未列出枸橼酸根含量的检测方法。由于枸橼酸作为酸度调节剂的透析浓缩物在中国广泛使用,国内行业标准说明应首先选用《中国药典》的方法,《中国药典(四部)》(2020 年版)通则 3108 枸橼酸离子测定法中收载枸橼酸根的三种检测方法,经方法学验证发现,第三法高效液相色谱法适用于检测透析液中的枸橼酸根含量^[13-14]。

②碳酸氢根检测方法。对于碳酸氢根的含量检测,ISO 23500-4:2019 列举了盐酸滴定、离子色谱或测定 CO₂ 总量等方法的建议,未给出具体检测方法的条件和细节;国际上生产企业通常使用盐酸滴定法直接测定碳酸氢盐浓缩物中的碳酸氢根。由于碳酸氢盐浓缩物离子成分单一,仅含碳酸氢钠(部分还含有少量的氯化钠),使用该方法

可以快速准确地定量浓缩物中的碳酸氢根离子。现有标准 YY 0598-2015 中关于盐酸滴定法未做详细说明,国内企业技术要求通常采用《中国药典》碳酸氢钠注射液项下的盐酸滴定法直接测定透析液中的碳酸氢根离子浓度。在实际的检测中发现,采用盐酸滴定法测定透析液中碳酸氢根的含量时,由于醋酸钠的干扰,无法对透析液中的碳酸氢根含量进行准确定量,难以对血液透析浓缩物的质量进行监控。通过对返滴定法进行了专属性、稳定性、精密度和回收率实验研究,实验结果表明该方法能够准确、稳定地检测出透析液中碳酸氢根的含量,适用于含醋酸钠、冰醋酸或枸橼酸的血液透析液中碳酸氢根含量的检测。为此,SAC/TC 158 将返滴定法检测碳酸氢根的含量写入 2021 年行业标准报批稿中^[15-16]。

2.3 增加的技术内容

在中国,2021 年国内行业标准报批稿增加了透析浓缩物配制成透析液的 pH 要求。ISO 23500-4:2019 未对此项作出规定。人体血液本身是一种 pH 缓冲体系,该缓冲体系使血液的 pH 能保持相对稳定。临床使用的透析液 pH 与正常人体血液的生理 pH 值相接近。但是,碳酸氢钠浓缩物产品本身不稳定,在存储以及搅拌过程中都可能因碳酸氢钠的分解丢失 CO₂。过度丢失 CO₂ 不可避免地会导致混合后最终透析液的 pH 升高,透析液 pH 异常极易在

表 1 ISO 23500-4:2019 转化为中国透析浓缩物行业标准的主要技术差异^[13]

Table 1 Major technical differences in the translation of ISO 23500-4:2019 into the industry standard for dialysis concentrates in China^[13]

| 技术条款 | ISO 23500-4:2019 | 中国透析浓缩物行业标准 |
|-------|---|---|
| 性状 | 血液透析用浓缩物可以干粉或液体形式提供。 | 对透析浓缩液和浓缩粉配成浓缩液的可见异物和溶液颜色作出明确规定,依据《中国药典》进行检测。 |
| 微生物限度 | 碳酸氢盐浓缩物制备的透析液需符合 ISO 23500-5 的要求。为方便各国可以根据当地的具体监管要求灵活选择适宜的标准体系,国际标准中只是列出了分析方法、培养基和培养条件,没有规定培养基适用性、方法适用性、菌种及菌液制备、菌落计数规则、菌落报告规则等。 | 要求检测碳酸氢盐浓缩物的需氧菌、霉菌和酵母菌总数,依据《中国药典》进行检测。基于《中国药典》,微生物检测方法提供了更多的细节,培养方法和培养温度均与 ISO 23500-4:2019 不同。 |
| 细菌内毒素 | 浓缩物制备的透析液需符合 ISO 23500-5 或适用药典的细菌内毒素要求。ISO 23500-5 包括标准透析液(<0.5 EU/mL),超纯透析液(<0.03 EU/mL),在线置换液(无热原)的要求。 | 浓缩物配制成透析液的内毒素应<0.5 EU/mL,依据《中国药典》进行检测。 |
| 装量 | 分别规定了浓缩液、单人份干粉、多人份干粉、浓缩物发生器的装量要求。 | 分别规定了浓缩液以及浓缩干粉的装量要求,浓缩液应不少于标示量,干粉应为标示量的 98.0%~102.0%。 |
| 微粒 | 仅对浓缩液的过滤器作出要求。 | 除了对浓缩液的过滤器作出要求外,参考大输液的要求,依据《中国药典》,分别检测一种浓缩液稀释至最终浓度的透析液,合并计算 AB 液的微粒含量。 |
| 溶质浓度 | 参考美国公共卫生协会、美国环境保护署以及药典给出了多种溶质浓度参考方法。 | 明确检验液为透析液,且规定了准确度、精密度、专属性、线性和灵敏度较好的分析方法作为仲裁法。 |

管路系统中产生碳酸钙、碳酸镁等不溶性物质,导致透析机堵塞、电导率波动,影响患者生命安全。

2021年国内行业标准报批稿增加了在线使用联机干粉的联机性能,针对在线使用的联机干粉,根据临床选择适用机型,按照制造商给出的使用方法和最长使用时间,在治疗过程中至少四个时间点从透析机中按照血液透析设备制造商给出的取样方法取透析液,检测其pH和溶质浓度。从临床应用角度考虑,联机干粉和普通浓缩物的使用方式不同,联机干粉是逐步溶解后再与A浓缩液配制成最终的透析液,实验室量取器具配制透析液的检测方法不能模拟联机这种逐步溶解的状态。因此,采用联机在线取样的方式能更科学、客观地评价在线使用联机干粉的质量。

3 总结和思考

尽管ISO 23500-4:2019和国内行业标准为血液透析浓缩物的检测提供了更严谨、科学的要求及检测方法,对行业的规范和发展起到了很好的促进作用,但是仍然存在需要研究和探讨的问题。例如:ISO 23500-4:2019并未规定每种化学原辅料的具体要求,各国对原辅料的检测标准和生产体系要求不统一。目前ISO 23500-4:2019和国内行业标准检测细菌内毒素均采用鲎试剂法,鲎试剂的生物资源鲎为国家二级保护动物,鲎试剂的原材料越来越难以获得。重组C因子法不依赖动物源成分,是目前鲎试剂内毒素检测的改良方法。继欧洲药典之后,重组C因子法已写入《中国药典》细菌内毒素检测法应用指导原则,但尚未收载具体检测方法。由此可见国内外对重组C因子检测法研究的重视,有必要尽早研究重组C因子法并纳入ISO 23500-4的后继版本中。对于葡萄糖的检测,ISO 23500-4:2019列举了旋光法、酶法、液相色谱法和化学法的建议,未给出具体检测方法的条件和细节。在实际的检测中发现,由于透析液中的葡萄糖含量较低,对仪器的精密度及稳定性要求高,不适于用旋光法检测,后续可考虑开发示差检测器的液相色谱仪检测透析液中的葡萄糖含量。

建议持续深入研究上述问题,并在ISO 23500-4的后继版本更新中进行明确和完善,从而最大程度地做好血液透析浓缩物的质量控制,使血液透析治疗更安全、有效,提升血液净化治疗的整体质量。

参考文献

- [1] ISO 13958:2002, Concentrates for haemodialysis and related therapies [S]. International Organization for Standardization, 2002.
- [2] ISO 13958:2009, Concentrates for haemodialysis and related therapies [S]. International Organization for Standardization, 2009.
- [3] ISO 13958:2014, Concentrates for haemodialysis and related therapies [S]. International Organization for Standardization, 2014.
- [4] David A Fendley, Richard A Ward. Dialysate quality: new standards require a new approach to compliance [J]. Semin Dial, 2012, 25(5): 510-515.
- [5] Denny Treu, Jo-Ann B Maltais. ISO 23500 Series: Ensuring Quality of Fluids for Hemodialysis and Related Therapies [J]. Biomed Instrum Technol, 2019, 53(2): 147-149.
- [6] ISO 23500-4:2019, Preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies-Part 4: Concentrates for haemodialysis and related therapies [S]. International Organization for Standardization, 2019.
- [7] ANSI/AAMI/ISO 23500-4:2019, Preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies-Part 4: Concentrates for haemodialysis and related therapies [S]. Association for the Advancement of Medical Instrumentation, 2019.
- [8] BS EN ISO 23500-4:2019, Preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies-Part 4: Concentrates for haemodialysis and related therapies [S]. European Committee for Standardization, 2019.
- [9] Jo-Ann B Maltais, Klemens B Meyer, Meredith C Foster. Comparison of techniques for culture of dialysis water and fluid [J]. Hemodial Int, 2017, 21(2): 197-205.
- [10] ISO 23500-1:2019, Preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies-Part 1: General requirements [S]. International Organization for Standardization, 2019.
- [11] ISO 23500-2:2019, Preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies-Part 2: Water treatment equipment for haemodialysis applications and related therapies [S]. International Organization for Standardization, 2019.
- [12] ISO 23500-3:2019, Preparation and quality management of fluids for haemodialysis and related therapies-Part 3: Water for haemodialysis and related therapies [S]. International Organization for Standardization, 2019.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [14] 曲亚南, 徐苏华, 叶晓燕, 等. 高效液相色谱法测定透析液中枸橼酸根含量 [J]. 医疗装备, 2021, 34(20): 1-3.
- [15] 卢忠, 黄敏菊, 陈志霞. 血液透析液行业标准中碳酸氢根离子含量测定方法改进的探讨 [J]. 中国医疗器械杂志, 2010, 34(5): 368-369.
- [16] YY0598-2015, 血液透析及相关治疗用浓缩物 [S]. 国家食品药品监督管理局, 2015.

Livin、*STAT3* 基因在海南地区甲状腺癌组织中的表达情况

潘在兴* 潘健华 夏欢 叶芳丽 杨瑶

[摘要] **目的** 研究 *Livin*、*STAT3* 基因在海南地区甲状腺癌组织中的表达情况。**方法** 纳入 2020 年 10 月至 2021 年 12 月期间海口市人民医院收治的 48 例甲状腺癌患者作为研究对象,所有患者均进行手术治疗,术中取患者甲状腺癌组织和癌旁组织标本(病灶边缘 3 cm)进行研究。观察癌组织和癌旁组织中 *Livin*、*STAT3* 基因的表达情况,分析 *Livin* 和 *STAT3* 基因表达情况与甲状腺癌临床病理学的关系。**结果** 甲状腺癌组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的阳性表达率明显高于癌旁组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因,差异有统计学意义($\chi^2=51.064, 51.242, P<0.05$)。*Livin*、*STAT3* 基因在甲状腺癌中的表达与患者临床分期、淋巴转移以及包膜浸润有关($\chi^2=3.117, 4.493, 3.760, P<0.05$),与性别、年龄、肿瘤直径、病理类型等无关($\chi^2=0.048, 0.112, 0.519, 0.013, P>0.05$)。在甲状腺癌组织中 *Livin* 基因表达阳性的 42 例患者中有 5 例患者 *STAT3* 基因表达阴性,*Livin* 基因表达阴性的 6 例患者中有 3 例患者 *STAT3* 基因表达阳性。两者在甲状腺癌组织中的表达呈正相关($r=0.412, P<0.05$)。**结论** 甲状腺癌组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因表达明显升高,两者的表达呈正相关,*Livin* 和 *STAT3* 基因表达异常升高参与了甲状腺癌的发生和发展过程。

[关键词] *Livin*; *STAT3*; 甲状腺癌; 病理特征; 基因表达

Expression of *Livin* and *STAT3* genes in thyroid cancer tissues in Hainan Southern China

PAN Zaixing*, PAN Jianhua, XIA Huan, YE Fangli, YANG Yao

(Clinical Laboratory of Haikou Municipal Hospital, Haikou, Hainan, China, 570208)

[ABSTRACT] **Objective** To study the expression of *Livin* and *STAT3* genes in thyroid cancer tissues in Hainan region. **Methods** A total of 48 patients with thyroid cancer admitted to Haikou People's Hospital between October 2020 and December 2021 were included as research subjects. All patients underwent surgical treatment, and thyroid cancer tissue and paracancerous tissue samples were taken during the operation (the lesion margin was 3cm) research. The expression of *Livin* and *STAT3* genes in cancer tissues and adjacent tissues were observed, and the relationship between the expression of *Livin* and *STAT3* genes and the clinicopathology of thyroid cancer was analyzed. **Results** The positive expression rates of *Livin* and *STAT3* genes in thyroid cancer tissues were significantly higher than those in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($\chi^2=51.064, 51.242, P<0.05$). The expression of *Livin* and *STAT3* genes in thyroid cancer was associated with patient clinical stage, lymphatic metastasis, and capsule invasion ($\chi^2=3.117, 4.493, 3.760, P<0.05$), but not with sex, age, tumor diameter, and pathological type ($\chi^2=0.048, 0.112, 0.519, 0.013, P>0.05$). Five out of 42 patients with positive *Livin* gene expression in thyroid cancer tissue were negative for *STAT3* gene expression, and three out of six patients with negative *Livin* gene expression were positive for *STAT3* gene expression. The expressions of the two in thyroid cancer tissues were positively correlated ($r=0.412, P<0.05$). **Conclusion** The expression of *Livin* and *STAT3* genes in thyroid cancer tissue was significantly increased, and

基金项目:海南省卫生健康委员会基金(21A200342)

作者单位:海口市人民医院检验科,海南,海口 570208

*通信作者:潘在兴, E-mail:170833251@qq.com

the expression of the two was positively correlated. The abnormal increase of *Livin* and *STAT3* gene expression participated in the occurrence and development of thyroid cancer.

[KEY WORDS] *Livin*; *STAT3*; Thyroid cancer; Pathological features; Gene expression

甲状腺癌是临床最为常见的头颈部恶性肿瘤之一,严重影响患者的生活质量。近年来影像学技术不断进步,甲状腺癌的检出率也越来越高。随着对甲状腺癌的深入研究,人们发现细胞增殖和凋亡失衡是甲状腺癌发生和发展的重要基础^[1]。*Livin*是凋亡抑制蛋白(Inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族中的重要一员,在人类多种肿瘤中表现为高表达,并可作为肿瘤患者的独立预后因素^[2]。同时*Livin*过度表达与肿瘤术后复发也有明显关系,使得*Livin*成为目前肿瘤研究的热点之一^[3]。信号转导转录活化因子3(signal transducer and activator of transcription 3, *STAT3*)是一种DNA结合蛋白,广泛存在于机体组织和细胞中,对细胞功能具有一定调节作用^[4]。有研究显示^[5],*STAT3*在炎症反应中起到积极作用,且能被Hauns激酶磷酸化激活,进入细胞核后结合基因启动子上调控基因的转录。且还有研究证实^[6],*STAT3*可诱导MMP-1水平升高,使肿瘤更具有侵袭性。因此*STAT3*基因表达与肿瘤的关系也成为当下研究的热点。本文对本院甲状腺癌患者进行研究,分析癌组织和癌旁组织中*Livin*和*STAT3*的基因表达水平,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年10月至2021年12月期间海口市人民医院收治的48例甲状腺癌患者作为研究对象。本研究经院医学伦理委员会批准。纳入标准:①经病理检查确诊为甲状腺癌的患者;②进行手术治疗的患者;③就诊前未进行过放化疗等相关治疗的患者;④签署知情同意书的患者。排除标准:①复发性甲状腺癌患者;②有手术禁忌症的患者;③妊娠或哺乳期女性;④有精神障碍无法配合研究者;⑤同时参与其他研究者。其中男性患者26例,女性患者22例,平均年龄(43.1±4.4)岁。甲状腺癌病理分型:甲状腺乳头状癌患者31例,甲状腺滤泡样癌17例。TNM分期:其中I、II期患者33例,III、IV期患者15例。所有患者均进行手术治疗,术中取甲状腺癌组织和癌旁组织(病灶边缘3cm)做标本进行研究。

1.2 方法

1.2.1 主要仪器与试剂

仪器:德国Leica 2245石蜡切片机;福州迈新生物技术开发有限公司生产的免疫组织化学笔;日本Olympus BX40光学显微镜;上海福玛实验设备有限公司生产的电热恒温培养箱;上海跃进医疗器械一厂生产的电热恒温鼓风干燥箱等。

试剂:武汉博士德公司提供的兔抗人*Livin*多克隆抗体(批号:2019684)以及兔抗人*STAT3*多克隆抗体(批号:2019013),稀释浓度1:50;北京中杉金桥公司提供的DAB显色剂和免疫组化染色有关试剂。

1.2.2 *Livin*、*STAT3*基因表达的检测方法

采用免疫组化法检测*Livin*和*STAT3*表达水平。所有癌组织和癌旁组织通过10%甲醛固定,常规石蜡包埋,之后取4 μm厚连续切片。对组织切片进行脱蜡水化,高温高压法进行抗原修复。再滴入一抗置于4℃孵育箱内过夜。随后严格按照说明书滴加试剂,行DAB显色,再行苏木素复染、脱水、封片,最后在高倍显微镜下进行观察。将已知的阳性标本作为阳性对照,以PBS代替一抗用于阴性对照。

1.3 观察指标

观察癌组织和癌旁组织中*Livin*、*STAT3*基因的表达情况,分析*Livin*和*STAT3*基因表达情况与甲状腺癌临床病理学的关系。评价方法^[7]:所有组织切片均由病理科两名医师进行读片,*Livin*和*STAT3*染色阳性信号呈棕黄色或棕色颗粒,定位于细胞质和细胞膜。每张切片随机取10个高倍镜视野,根据染色程度及阳性细胞比例进行结果判定。0分:不着色;1分:染色强度较差;2分:染色强度中等;3分:染色强度较深。0分:阳性细胞占比<5%;1分:阳性细胞占比为5%~25%;2分:阳性细胞占比26%~50%;3分:阳性细胞占比>50%。两项积分乘积为最终所得结果。阴性:0~1分;弱阳性:2~3分;中度阳性:4~6分;强阳性:>6分。阳性率=(弱阳性+中度阳性+强阳性)/总数×100%。

1.4 统计学处理

采用SPSS 18.0统计软件;计量资料($\bar{x} \pm s$)表

示,采用 t 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关性分析计算 *Livin* 与 *STAT3* 基因的相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌组织和癌旁组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的表达情况比较

甲状腺癌组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的表达

率明显高于癌旁组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

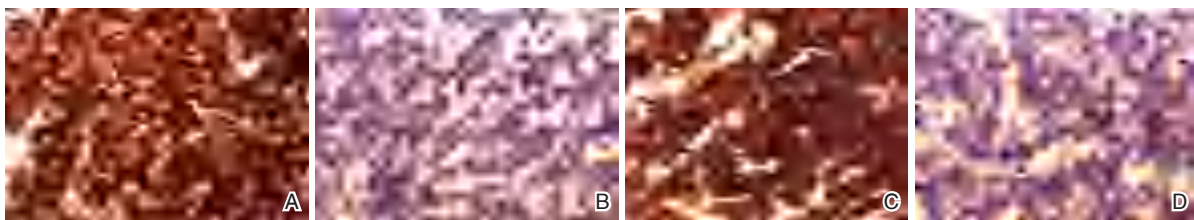
2.2 *Livin*、*STAT3* 基因表达与甲状腺癌组织临床病理因素的关系

Livin、*STAT3* 基因在甲状腺癌中的表达与患者临床分期、淋巴转移以及包膜浸润有关 ($P < 0.05$),与性别、年龄、肿瘤直径、病理类型等无关 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 癌组织和癌旁组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的表达情况比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of *Livin* and *STAT3* gene expression in cancer tissues and adjacent tissues [$n(\%)$]

| 组织 | <i>Livin</i> | | | | 阳性率 | <i>STAT3</i> | | | | 阳性率 |
|------------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 阴性 | 弱阳性 | 中度阳性 | 强阳性 | | 阴性 | 弱阳性 | 中度阳性 | 强阳性 | |
| 癌组织 | 6(12.50) | 19(39.58) | 13(27.08) | 10(20.83) | 42(87.50) | 8(16.67) | 13(27.08) | 15(31.25) | 12(25.00) | 40(83.33) |
| 癌旁组织 | 43(89.58) | 4(8.33) | 1(2.08) | 0(0.00) | 7(14.58) | 45(93.75) | 3(6.25) | 0(0.00) | 0(0.00) | 3(6.25) |
| χ^2 值 | | | | | 51.064 | | | | | 51.242 |
| P 值 | | | | | <0.05 | | | | | <0.05 |



注:A. 甲状腺癌组织; B. 癌旁组织; C. 甲状腺癌组织; D. 癌旁组织。

图 1 甲状腺癌组织和癌旁组织 *STAT3*、*Livin* 免疫组化染色 ($\times 200$)

Figure 1 Immunohistochemical staining of *STAT3* and *Livin* in thyroid cancer tissue and adjacent tissue ($\times 200$)

表 2 *Livin*、*STAT3* 基因表达与甲状腺癌组织临床病理因素的关系 [$n(\%)$]

Table 2 Relationship between *Livin* and *STAT3* gene expression and clinicopathological factors in thyroid cancer tissues [$n(\%)$]

| 临床病理因素 | n | <i>Livin</i> | | χ^2 值 | P 值 | <i>STAT3</i> | | χ^2 值 | P 值 | |
|----------|-----------|--------------|----------|------------|-------|--------------|----------|------------|--------|-------|
| | | 阴性 | 阳性 | | | 阴性 | 阳性 | | | |
| 性别 | 男 | 26 | 3(11.54) | 23(88.46) | 0.048 | >0.05 | 5(19.23) | 21(80.77) | 0.269 | >0.05 |
| | 女 | 22 | 3(13.64) | 19(86.36) | | | 3(13.64) | 19(86.36) | | |
| 年龄(岁) | <40 | 19 | 2(10.53) | 17(89.47) | 0.112 | >0.05 | 3(15.79) | 16(84.21) | 0.017 | >0.05 |
| | ≥ 40 | 29 | 4(13.79) | 25(86.21) | | | 5(17.24) | 24(82.76) | | |
| 肿瘤直径(cm) | <1 | 14 | 1(7.14) | 13(92.86) | 0.519 | >0.05 | 2(14.29) | 12(85.71) | 0.081 | >0.05 |
| | ≥ 1 | 34 | 5(14.71) | 29(85.29) | | | 6(17.65) | 28(82.35) | | |
| 临床分期 | I、II | 33 | 6(18.18) | 27(81.82) | 3.117 | <0.05 | 8(24.24) | 25(75.76) | 4.364 | <0.05 |
| | III、IV | 15 | 0(0.00) | 15(100.00) | | | 0(0.00) | 15(100.00) | | |
| 病理类型 | 乳头状癌 | 31 | 4(12.90) | 27(87.10) | 0.013 | >0.05 | 6(19.35) | 25(80.65) | 0.455 | >0.05 |
| | 滤泡样癌 | 17 | 2(11.76) | 15(88.24) | | | 2(11.76) | 15(88.24) | | |
| 淋巴转移 | 有 | 19 | 0(0.00) | 19(100.00) | 4.493 | <0.05 | 6(31.58) | 13(68.42) | 5.035 | <0.05 |
| | 无 | 29 | 6(20.69) | 23(79.31) | | | 2(6.90) | 27(93.10) | | |
| 包膜浸润 | 有 | 17 | 0(0.00) | 17(100.00) | 3.760 | <0.05 | 7(41.18) | 10(58.82) | 11.385 | <0.05 |
| | 无 | 31 | 6(19.35) | 25(80.65) | | | 1(3.23) | 30(96.77) | | |

2.3 甲状腺癌组织中 *Livin* 与 *STAT3* 基因表达的关系

Pearson 相关性分析显示两者在甲状腺癌组织中的表达呈正相关 ($r = 0.412$, $P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

细胞增殖和凋亡失衡是肿瘤发生发展过程中的重要因素,而细胞的凋亡又是调节机体细胞水平平衡的重要机制,因此细胞的凋亡与肿瘤的发

表3 甲状腺癌组织中 *Livin* 与 *STAT3* 基因表达的关系
Table 3 relationship between *Livin* and *STAT3* gene expression in thyroid cancer tissues

| Livin | STAT3 | | | | r 值 | P 值 |
|-------|-------|-----|------|-----|-------|-------|
| | 阴性 | 弱阳性 | 中度阳性 | 强阳性 | | |
| 阴性 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0.412 | <0.05 |
| 弱阳性 | 1 | 6 | 7 | 5 | | |
| 中度阳性 | 2 | 4 | 3 | 4 | | |
| 强阳性 | 2 | 2 | 4 | 2 | | |

生、发展有密切关系^[8]。影响细胞的凋亡基因分为促凋亡基因和抗凋亡基因^[9]。*Livin* 是近年来新发现的 IAP 家族中的抗凋亡基因之一,大多数学者认为 *Livin* 抑制凋亡的主要机制是通过 IAPs 成员特有的 BIR 区结合 Caspase 家族,抑制 Caspase 家族成员活性,从而达到阻断凋亡受体和线粒体的凋亡途径,抑制细胞的凋亡^[10-12]。还有研究显示^[13],胎儿发育过程中 *Livin* 在多种组织中高表达,可能与生长发育有关。正常成人组织中 *Livin* 低表达或不表达,而在恶性肿瘤组织中 *Livin* 的表达水平明显升高。因此目前临床认为 *Livin* 与恶性肿瘤的发生和发展有密切关系^[14]。*STAT3* 也是近年来研究的重点基因之一,目前认为 *STAT3* 参与了肿瘤的发生和发展过程^[15-16]。有学者提出^[17-18],*STAT3* 通过影响下游生长、凋亡相关基因的表达,促进了肿瘤的发生和发展。因此认为 *Livin* 和 *STAT3* 基因的表达均与恶性肿瘤的发生发展有关。

本文分析了甲状腺癌组织与癌旁组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的表达水平,结果显示,甲状腺癌组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的阳性表达率明显高于癌旁组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因的阳性表达率,结果表明 *Livin* 和 *STAT3* 基因高表达与甲状腺癌的发生具有一定关系。本文还对比了 *Livin*、*STAT3* 基因表达与甲状腺癌组织临床病理因素的关系,结果显示,*Livin*、*STAT3* 基因在甲状腺癌中的表达水平与患者临床分期、淋巴转移以及包膜浸润有关,存在淋巴结转移、包膜浸润以及临床分期 III、IV 期的患者,*Livin* 和 *STAT3* 基因表达阳性率更高,结果提示,*Livin* 和 *STAT3* 基因表达升高可能是导致甲状腺癌细胞侵袭性强,发生癌细胞转移的重要原因。在观察甲状腺癌组织中 *Livin* 与 *STAT3* 基因表达的关系时发现,*Livin* 与 *STAT3* 在甲状腺癌组织中的表达呈正相关,即 *Livin* 表达水平升高,*STAT3* 表达水平也升高。在 Wang H^[19]等人的研究中发现,乳腺癌和胃癌中的 *STAT3* 能调控 *Livin* 基因转录,促进

肿瘤细胞的转移。*STAT3* 能进一步调控 *Livin* 基因转录,使 *Livin* 基因高表达,抑制肿瘤细胞的凋亡;同时还能促进血管内皮生长因子的表达,促进肿瘤组织新生血管生成,便于肿瘤的增殖和转移。因此认为 *STAT3* 表达升高会进一步促进 *Livin* 基因表达的升高,促进甲状腺癌的发生和发展^[20]。

综上所述,甲状腺癌组织中 *Livin* 和 *STAT3* 基因表达明显升高,两者的表达呈正相关,*Livin* 和 *STAT3* 基因表达异常升高参与了甲状腺癌的发生和发展过程。

参考文献

- [1] Lv J, Yu W, Zhang Y, et al. LNK promotes the growth and metastasis of triple negative breast cancer via activating JAK/STAT3 and ERK1/2 pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 15(20):124.
- [2] 李佳博,童鹿青,易立,等. ACT001 通过 STAT3 信号通路抑制 U87-MG 胶质瘤干细胞的成球能力及干性维持的实验研究[J]. *中华神经外科杂志*, 2019, 35(11):1160-1166.
- [3] Zhang Z, Dou X, Yang H, et al. Association of expression of p53, livin, ERCC1, BRCA1 and PARP1 in epithelial ovarian cancer tissue with drug resistance and prognosis [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(2):152794.
- [4] Mohan CD, Rangappa S, Preetham HD, et al. Targeting STAT3 signaling pathway in cancer by agents derived from Mother Nature [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, pii: S1044-579X(20)30082-1.
- [5] 宋佳,王春霞,熊熙,等. 甲基强的松龙抑制 STAT3-ERK1/2 通路改善脂多糖诱导急性肺损伤[J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(10):1266-1271.
- [6] 杨非柯,金岚,陈伟,等. 二氢杨梅素通过 Janus 激酶 3/信号转导与转录激活子 5 信号通路抑制氧化低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞 M1 型极化[J]. *中华老年医学杂志*, 2019, 38(9):1053-1057.
- [7] Han Y, Zhang L, Wang W, et al. Livin promotes the progression and metastasis of breast cancer through the regulation of epithelial-mesenchymal transition via the p38/GSK3 β pathway [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(6):3574-3582.
- [8] Ge Y, Liu BL, Cui JP, et al. Livin promotes colon cancer progression by regulation of H2A.XY39ph via JMJD6 [J]. *Life Sci*, 2019, 1(234):116788.
- [9] 闫二帅,王忠民,陈志军,等. 信号转导与转录活化因子 3 和 Livin 蛋白及血管内皮细胞生长因子在食管癌组织中的表达及意义[J]. *新乡医学院学报*, 2019, 36(12):1183-1186.
- [10] Zhang L, Xu Z, Chen X, et al. Clinical benefits of Livin peptide-loaded DCs/CIKs combined with chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(2):406-414.

(下转第 2035 页)

上海地区血液 *EGFR* 基因突变检测室间质量评价回顾分析

范晓瑜 史春丽 肖艳群* 王雪亮*

[摘要] 目的 利用室间质量评价(EQA)分析上海地区临床实验室血液表皮生长因子受体(*EGFR*)基因突变项目的检测能力。方法 选用含有特定*EGFR*突变位点的肿瘤细胞系,通过超声断裂基因组DNA制备可人工模拟游离DNA(cell-free DNA, cfDNA)的基因片段,经片段长度鉴定及突变频率检测后作为EQA样本。选取5份样本随机编号后发送至参评实验室,要求其在规定时间内进行检测并上传结果,依据回报结果综合评价其检测能力。结果 2019年至2021年分别收到有效回报结果33、29和27份。参评实验室最常用的方法为ARMS法,分别为66.7%(22/33)、75.9%(22/29)和74.1%(20/27),其次为dPCR法和NGS法,分别为12.1%(4/33)、13.8%(4/29)、14.8%(4/27)和21.2%(7/33)、10.3%(3/29)、11.1%(3/27)。回报结果完全正确的实验室分别为78.8%(26/33)、89.7%(26/29)和96.3%(26/27),成绩不合格实验室分别为9.1%(3/33)、3.4%(1/29)和3.7%(1/27)。样本的整体符合率分别为92.7%(153/165)、97.2%(141/145)和98.5%(133/135)。不符合样本中,假阳性率分别为1.8%(3/165)、1.4%(2/145)和0%(0/135),假阴性率分别为5.5%(9/165)、1.4%(2/145)和1.5%(2/135)。结论 上海地区临床实验室血液*EGFR*基因突变检测整体符合率较高,但个别实验室检测能力尚待提高。此外,临床实验室应通过参加EQA活动以持续改进其检测质量。

[关键词] 表皮生长因子受体;基因突变检测;室间质量评价;质量改进

Retrospective analysis of external quality assessment of blood *EGFR* gene mutation detection in Shanghai area

FAN Xiaoyu, SHI Chunli, XIAO Yanqun*, WANG Xueliang*

(Department of Molecular Biology, Shanghai Center for Clinical Laboratory, Shanghai, China, 200126)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the performance of clinical laboratories in Shanghai for their ability to detect epidermal growth factor receptor (*EGFR*) gene mutation in peripheral blood by external quality assessment (EQA). **Methods** Tumor cell lines containing specific *EGFR* mutation sites were selected, and cell-free DNA (cfDNA) was fragmented by sonication from genomic DNA. After identification of fragment length and detection of mutation frequency, cfDNA was prepared as EQA samples. The EQA sample panel, which consisted of 5 samples, was blindly coded and distributed to participating laboratories. The results were required to be returned via an online system within the specified time and then summarized and evaluated. **Results** From 2019 to 2021, 33, 29 and 27 results were submitted. The most used methods in participating laboratories were ARMS (the percentages were 66.7% (22/33), 75.9% (22/29) and 74.1% (20/27)), followed by dPCR (the percentages were 12.1% (4/33), 13.8% (4/29) and 14.8% (4/27)) and NGS (the percentages were 21.2% (7/33), 10.3% (3/29) and 11.1% (3/27)). The percentages of laboratories with completely correct results were

基金项目:上海市卫生与健康委员会资助项目(201940264,202140388);上海市自然科学基金资助项目(21ZR1455900,22ZR1454400);上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划(青年医学人才类-临床检验项目);上海市临床检验中心自选课题(2021ZXKT-01,2021ZXKT-02)

作者单位:上海市临床检验中心分子生物学室,上海 200126

*通信作者:王雪亮, E-mail: xlwang12@126.com, 肖艳群, E-mail: xiaoyanqun@sccl.org.cn

78.8% (26/33), 89.7% (26/29) and 96.3% (26/27), respectively. The percentages of laboratories with unqualified results were 9.1% (3/33), 3.4% (1/29) and 3.7% (1/27). The overall coincidence rate of the results was 92.7% (153/165), 97.2% (141/145) and 98.5% (133/135). The false-positive rates were 1.8 (3/165), 1.4 (2/145) and 0 (0/135), and the false-negative rates were 5.5 (9/165), 1.4 (2/145) and 1.5 (2/135).

Conclusion The overall coincidence rate of blood *EGFR* gene mutation detection in clinical laboratories in Shanghai is relatively high, but the detection capabilities of individual laboratories need to be improved. In addition, clinical laboratories should continuously improve their testing quality by participating in EQA activities.

[KEY WORDS] Epidermal growth factor receptor; Gene mutation; External quality assessment; Quality improvement

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)属受体酪氨酸激酶家族,主要定位于细胞膜。EGFR被配体激活后启动胞内信号传导,调节转录因子激活基因的转录,参与细胞迁移、黏附、增殖、凋亡等过程。EGFR突变检测对于接受EGFR酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)治疗的非小细胞肺癌患者至关重要。肺癌组织中EGFR突变状态目前被认为是预测TKI治疗反应和疾病预后的金标准^[1]。然而,有时却无法采集到合格的组织样本进行EGFR突变检测,如无法活检、取样失败或样本量太少等^[2-3],此时需要其它来源的标本行基因突变检测。大量研究表明肿瘤细胞和组织死亡后,肿瘤细胞DNA可以从原发肿瘤灶和/或局部转移部位释放进入血液,此类DNA称为血液游离DNA(cell free DNA, cfDNA)^[4]。cfDNA进行基因突变检测具有以下特点:1.操作简便;2.可动态追踪疗效。因此利用血液中cfDNA进行EGFR突变检测已成为可行的组织样本的替代选择^[5]。

目前临床上血液EGFR突变检测常用方法有扩增阻滞突变系统(amplification refractory mutation system, ARMS)、高通量测序(next-generation sequencing, NGS)、数字PCR(Digital PCR, dPCR)

等,方法学众多导致检测结果间可能存在差异。同时,cfDNA片段小^[6]、半衰期短^[7]、含量低^[8],检测过程繁琐,对操作人员技术和经验要求较高,每个步骤出现问题均可导致检测结果出现问题,从而影响检测结果的准确性。本研究制备可模拟cfDNA的样本,并将其作为室间质量评价(external quality assessment, EQA)样本开展EGFR基因突变检测的EQA活动,以期发现实验室检测过程中所存在问题,达到改进和提高检测质量的目的。

1 材料与方法

1.1 细胞

1.1.1 培养试剂

RPMI 1640培养基(货号:A1049101)、Ham's F-12K培养基(货号:21127022)、Leibovitz's L-15培养基(货号:11415064)、胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS;货号:10099141C)和胰蛋白酶(0.25%)(货号:25200114)购自美国Gibco公司(规格:500 mL/瓶)。

1.1.2 细胞系种类和培养方法

实验所需细胞系、携带突变位点、购买来源和相应的培养方法,见表1。

表1 细胞和培养条件

Table 1 Cells and culture conditions

| 细胞系 | 突变位点 | 培养基 | 培养条件 | 所属细胞库 |
|----------|-------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------|
| A549 | 不含EGFR突变位点/野生型 | Ham's F-12K(含10%FBS) | 37℃、5%CO ₂ | 中国科学院细胞库 |
| H1975 | p.T790M和p.L858R突变 | RPMI 1640(含10%FBS) | 37℃、5%CO ₂ | 中国科学院细胞库 |
| NCI-H820 | p.T790M突变 | RPMI 1640(含5%FBS) | 37℃、5%CO ₂ | 美国标准生物品收藏中心 |
| HCC827 | del E746-A750突变 | RPMI 1640(含10%FBS) | 37℃、5%CO ₂ | 中国科学院细胞库 |
| KYSE 270 | p.L861Q突变 | Ham's F-12K和RPMI 1640(含2%FBS) | 37℃、5%CO ₂ | 德国国家培养物保藏中心 |
| SW48 | p.G719S突变 | Leibovitz's L-15(含10%FBS) | 37℃、100%空气 | 美国标准生物品收藏中心 |

1.2 试剂

DNA提取试剂盒(德国Qiagen公司,货号:69506);游离DNA提取试剂盒(美国ThermoFisher Scientific公司,货号:A29319);双链DNA高灵敏度荧光定量试剂盒(美国ThermoFisher Scientific公司,货号:Q33231);人类EGFR基因突变检测试

剂(美国Qiagen公司,货号:69506);游离DNA提取试剂盒(美国ThermoFisher Scientific公司,货号:A29319);双链DNA高灵敏度荧光定量试剂盒(美国ThermoFisher Scientific公司,货号:Q33231);人类EGFR基因突变检测试

剂盒(厦门艾德公司,货号:ADx-EG14-LC);Agilent2100生物芯片分析系统配套试剂(美国Agilent公司);dPCR荧光探针(美国ThermoFisher Scientific公司);dPCR配套试剂(美国Bio-Rad公司)。

1.3 仪器

二氧化碳培养箱(德国Mettler公司,型号:INC153);超声波破碎仪(美国Covaris公司,型号:LE220);Qubit 3.0荧光定量仪(美国ThermoFisher Scientific公司,型号:Q33216);生物分析仪(美国Agilent公司,型号:2100);液滴数字PCR仪(美国Bio-Rad公司,型号:QX200);荧光定量PCR仪(瑞士Roche公司,型号:Cobas Z480)。

1.4 质控品制备

培养细胞提取基因组DNA,经超声波破碎仪对各细胞基因组DNA进行打断,参数如下:功率峰值为450W,负载比为30%,爆发周期数为200,处理时间为240秒。打断后得到不同细胞来源的小片段DNA,加入血浆后抽提cfDNA,采用Qubit 3.0荧光定量仪测定cfDNA浓度;利用Agilent 2100生物分析仪分析cfDNA片段的大小分布;利用QX200液滴数字PCR仪分析突变频率,使用QuantsSoft软件对阴性和阳性液滴数目进行统计后对突变频率进行分析。制备好的样本置于-20℃冷冻保存。

1.5 室内质量评价

EQA样本盘包括一支野生型样本及四支突变型样本。随机编号后将样本盘经冷链运输至参评实验室,要求其在规定时间内使用其常规检测系统(包括仪器、试剂和方法等)进行检测并回报结果。按临床实验室EQA要求评价其检测能力,得分100为成绩优秀,得分80~99为合格,得分小于80为不合格,室内质评成绩为符合的样本数/总样本数×100。

2 结果

2.1 样本评估结果

将不同细胞来源的人工模拟cfDNA片段上机检测,经鉴定其片段长度约160~180bp,见图1。将其用血浆稀释后,经dPCR检测证实其突变频率约为0.9%,见图2。ARMS检测结果显示各制备人工模拟cfDNA携带突变与预期结果一致。见图3。

2.2 参评实验室回报情况和室内质量评价结果

2019年至2021年分别收到有效回报结果33、29和27份。参评实验室最常用的方法为ARMS

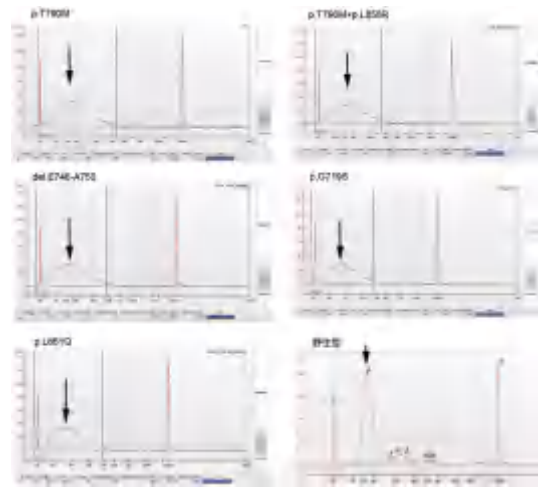


图1 cfDNA片段长度分布

Figure 1 The size distribution of cfDNA fragment

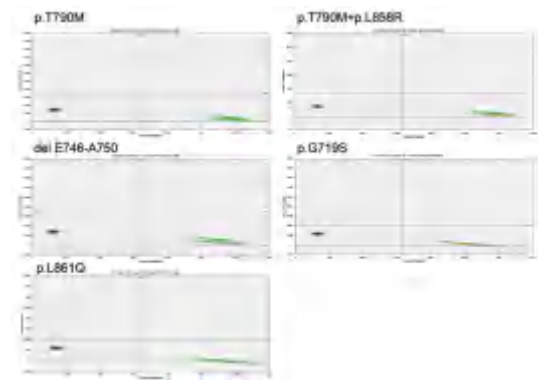


图2 突变频率验证

Figure 2 Validation of mutation heterogeneity rate

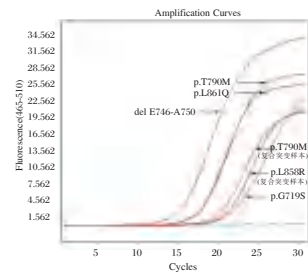


图3 室内质量评价样本荧光PCR扩增曲线

Figure 3 Fluorescence PCR amplification curve of external quality assessment samples

法(66.7%、75.9%和74.1%),其次为dPCR法(12.1%、13.8%和14.8%)和NGS法(21.2%、10.3%和11.1%)。按照结果评价原则,2019年26家实验室(78.8%)回报结果完全正确(100分),4家(12.1%)成绩合格(80分),3家(9.1%)成绩不合格(<80分);2020年26家实验室(89.7%)回报结果完全正确(100分),2家(6.9%)成绩合格(80分),1家(3.4%)成绩不合格(<80分);2021年26家实验室

(96.3%) 回报结果完全正确(100分), 1家(3.7%) 成绩不合格(<80分)。见表2。

表2 参评实验室所用方法和检测能力 [n(%)]
Table 2 Methods and performance scores of participating laboratories [n(%)]

| 年份 | 检测方法 | 实验室数 | 室间质量评价分数 | | |
|-------|------|------|----------|---------|---------|
| | | | 100 | 80~99 | <80 |
| 2019年 | ARMS | 22 | 16(72.7) | 3(13.6) | 3(13.6) |
| | dPCR | 4 | 3(75.0) | 1(25.0) | 0(0.0) |
| | NGS | 7 | 7(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 2020年 | ARMS | 22 | 19(86.4) | 2(9.1) | 1(4.5) |
| | dPCR | 4 | 4(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| | NGS | 3 | 3(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 2021年 | ARMS | 20 | 19(95.0) | 0(0.0) | 1(5.0) |
| | dPCR | 4 | 4(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| | NGS | 3 | 3(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |

3次EQA活动中, 样本整体符合率分别为92.7%、97.2%、98.5%。野生型样本未见上报假阴性结果; 突变型样本上报结果均出现假阴性情况。其中1912号样本复合突变(p.T790M+p.L858R)符合率最低, 为81.8%, 部分实验室仅检出其中一种突变类型, 存在漏检情况。见表3。野生型样本和突变型样本的符合率分别为100%(89/89)和94.9%(338/356)。见表4。

表3 EGFR基因突变检测样本盘组成和室间质量评价结果 [n(%)]
Table 3 Sample panels of EGFR gene mutation detection and results of external quality assessment [n(%)]

| 样本编号 | 预期基因型 | 符合率 | 假阳性率 | 假阴性率 |
|-------|---------------------------|-----------|--------|---------|
| 2019年 | | 153(92.7) | 3(1.8) | 9(5.5) |
| 1911 | p.T790M | 31(93.9) | 1(3.0) | 1(3.0) |
| 1912 | 复合突变 (p.T790M+p.L858R) | 27(81.8) | 1(3.0) | 5(15.2) |
| 1913 | p.L861Q | 29(87.9) | 1(3.0) | 3(9.1) |
| 1914 | del E746-A750 | 33(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 1915 | 野生型 | 33(100.0) | 0(0.0) | - |
| 2020年 | | 141(97.2) | 2(1.4) | 2(1.4) |
| 2011 | 复合突变 (p.T790M+p.L858R) | 27(93.1) | 1(3.4) | 1(3.4) |
| 2012 | p.T790M | 29(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 2013 | del E746-A750 | 29(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 2014 | p.G719S | 27(93.1) | 1(3.4) | 1(3.4) |
| 2015 | 野生型 | 29(100.0) | 0(0.0) | - |
| 2021年 | | 133(98.5) | 0(0.0) | 2(1.5) |
| 2111 | p.G719S | 26(96.3) | 0(0.0) | 1(3.7) |
| 2112 | 野生型 | 27(100.0) | 0(0.0) | - |
| 2113 | del E746-A750 | 27(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 2114 | 复合突变 (p.T790M+p.L858R) | 26(96.3) | 0(0.0) | 1(3.7) |
| 2115 | p.L861Q | 27(100.0) | 0(0.0) | 0(0.0) |

注: 野生型样本不涉及假阴性率, 此处用“-”表示。

表4 野生型样本和突变型样本的符合率

Table 4 Conformity rate of wild type sample and mutant type sample

| 年份 | 野生型样本数 | 符合数 | 突变型样本数 | 符合数 |
|-------|--------|-----|--------|-----|
| 2019年 | 33 | 33 | 132 | 120 |
| 2020年 | 29 | 29 | 116 | 112 |
| 2021年 | 27 | 27 | 108 | 106 |
| 合计 | 89 | 89 | 356 | 338 |

注: 野生型样本符合率=野生型样本符合数/野生型样本数; 突变型样本符合率=突变型样本符合数/突变型样本数。

3 讨论

EGFR基因突变的准确检测对于靶向药物的选择及预后判断至关重要。在无法获得合格肿瘤组织样本或需动态监测疗效时, 血液中cfDNA可作为组织样本的替代选择。然而血液cfDNA存在以下特殊性质: ①片段较短, 约166 bp^[6]; ②半衰期快, 约为16分钟~2小时^[7]; ③含量较低, 血液中cfDNA浓度约为1 000 ng/mL, 平均180 ng/mL^[8]。由于上述特性, 进行cfDNA检测时易出现抽提失败等原因导致的假阴性结果。此外, 由于检测方法学的高敏感性, 易造成污染而出现假阳性情况。为保证检测质量, 需要采取有效的质量保证措施, 如利用合适的cfDNA质控品监控检测全过程。

cfDNA质控品制备过程中一个关键环节是对基因组进行剪切以获得片段化DNA, 目前主流方法包括超声法和酶切法^[9-10]。已有研究利用超声打断基因组DNA获取cfDNA样本, 用于无创产前基因检测EQA活动中, 结果证实其作为EQA样本有较好的适用性^[10]。本研究通过超声法制备人工模拟cfDNA, 鉴定显示cfDNA片段长度约160~180 bp, 加入血浆后检测突变频率约为0.9%, 这表明通过超声法制备的cfDNA质控品可较大程度接近真实血液cfDNA片段分布, 从而较好模拟临床样本。

本中心于2019年至2021年利用制备的质控品组织实施血液EGFR基因突变检测EQA活动。三次结果显示, 成绩优秀实验室分别为78.8%(26/33), 89.7%(26/29), 96.3%(26/27), 表明参评实验室血液EGFR基因突变检测能力整体较好且逐年提高。三次EQA回报结果中, 符合率最低样本为1912号复合突变(p.T790M+p.L858R)(81.82%)和1913号p.L861Q突变(87.88%), 其中分别有83.33%(5/6)和100%(3/3)的结果为假阴性。分析导致样本不符合原因如下: ①cfDNA含量较低且高度片段化, 不

同提取试剂结合效率差别可能较大^[11];②假阴性结果可能由于EQA样本突变频率较低,检测人员操作误差造成,如cfDNA抽提得率低等;假阳性结果可能因为操作过程中交叉污染所致。③假阴性结果中有87.5%(7/8)是由实验室自建方法回报,未进行充分的方法学确认也可能是上述情况发生的重要因素之一。因此,为提高检测质量,实验室可从以下几个方面进行改进:①选择合适的提取试剂,并充分评估cfDNA抽提效率;②进一步加强人员培训,以减少人员操作失误,也可通过使用全自动核酸提取仪以避免操作误差;③对于实验室自建方法,应进行充分的性能确认后再投入后续使用。

综上所述,利用细胞系制备的血液EGFR基因突变样本可充分模拟临床样本,达到监控检测全过程的目的。EQA结果表明大部分实验室EGFR基因突变检测能力良好,但部分实验室检测能力尚需提高。血液EGFR基因突变EQA可改进和提高临床实验室检测的整体质量,为临床合理靶向用药提供有效指导。

参考文献

- [1] Somoto K, Haratani K, Hayashi H, et al. Impact of EGFR-TKI Treatment on the Tumor Immune Microenvironment in EGFR Mutation-Positive Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(8): 2037-2046.
- [2] Cabanero M, Tsao MS. Circulating tumour DNA in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *Curr Oncol*, 2018, 25 (Suppl 1): S38-S44.
- [3] Biaoxue R, Shuanying Y, Wei L, et al. Maintenance therapy of gefitinib for non-small-cell lung cancer after first-line chemotherapy regardless of epidermal growth factor receptor mutation: a review in Chinese patients [J]. *Curr Med Res Opin*, 2012, 28(10): 1699-1708.
- [4] Hong B, Zu Y. Detecting circulating tumor cells: current challenges and new trends [J]. *Theranostics*, 2013, 3(6): 377-394.
- [5] Wu Y, Liu H B, Shi X F, et al. Can EGFR mutations in plasma or serum be predictive markers of non-small-cell lung cancer? A meta-analysis [J]. *Lung Cancer*, 2015, 88(3): 246-253.
- [6] Mouliere F, Rosenfeld N. Circulating tumor-derived DNA is shorter than somatic DNA in plasma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: 3178-3179.
- [7] Diehl F, Schmidt K, Choti M, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics [J]. *Nat Med*, 2008, 14: 985-990.
- [8] Haber D, Velculescu V. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4: 650-661.
- [9] Zhang R, Zhang H, Li Y, et al. External quality assessment for detection of fetal trisomy 21, 18, and 13 by massively parallel sequencing in clinical laboratories [J]. *J Mol Diagn*, 2016, 18(2): 244-252.
- [10] Zhang R, Peng RX, Li ZY, et al. Synthetic Circulating Cell-free DNA as Quality Control Materials for Somatic Mutation Detection in Liquid Biopsy for Cancer [J]. *Clin Chem*, 2017, 63(9): 1465-1475.
- [11] 张智弘,李霄,许斌等. 2016-2018年江苏省血液EGFR基因突变检测室间质量评价 [J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(8): 583-587.
- [12] 黄娟,邹小芹,余莎,等. 脂肪酸合成酶与信号传导及转录激活因子3相互作用促进肝癌细胞的迁移和侵袭 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(9): 681-686.
- [13] Lee MM, Chan BD, Wong WY, et al. Anti-cancer Activity of Centipeda minima Extract in Triple Negative Breast Cancer via Inhibition of AKT, NF- κ B, and STAT3 Signaling Pathways [J]. *Front Oncol*, 2020, 9(10): 491.
- [14] Khan M, Maryam A, Saleem MZ, et al. Brevilin A induces ROS-dependent apoptosis and suppresses STAT3 activation by direct binding in human lung cancer cells [J]. *J Cancer*, 2020, 11(13): 3725-3735.
- [15] 杨建丽,杨俊梅. 过表达CHL1基因对神经母细胞瘤细胞活力侵袭能力和凋亡的影响及其作用机制 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(10): 748-752.
- [16] Liu Y, Gong W, Yang ZY, et al. Quereetin induces protective auto-phagy and apoptosis through ER stress via the P-STAT3/Bcl-2 axis in ovarian cancer [J]. *Apoptosis*, 2017, 22(4): 544-557.
- [17] Mu X, Zhao T, Xu C, et al. Oncometabolite succinate promotes angiogenesis by upregulating VEGF expression through GPR91-mediated STAT3 and ERK activation [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 13174-13185.
- [18] 全东令,陈凯,管怡晴,等. 乳腺癌发生和转移相关差异基因GEO芯片分析 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2020, 27(1): 27-34, 46.
- [19] Wang G, Jing Y, Cao L, et al. A novel synthetic Asiatic acid derivative induces apoptosis and inhibits proliferation and mobility of gastric cancer cells by suppressing STAT3 signaling pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 55-66.
- [20] Wang H, Huang C, Zhao L, et al. Histone deacetylase inhibitors regulate P-gp expression in colorectal cancer via transcriptional activation and mRNA stabilization [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31): 49848-49858.
- [21] 吕峰,李翠,于洋,等. KLF3通过STAT3调控乳腺癌细胞的运动、迁移及侵袭 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(38): 3014-3018.

(上接第2030页)

丙泊酚抑制肝癌细胞增殖和迁移的作用及其铁死亡通路机制的研究

陶磊¹ 王迪¹ 疏树华^{1*}

[摘要] 目的 探讨丙泊酚在肝癌细胞增殖和迁移中的功能与其与铁死亡通路的关系。方法 先用不同浓度的丙泊酚处理肝癌细胞株 HepG2 和 Huh7, 48 h 后, 利用 CCK8 和 Transwell 检测细胞的增殖和迁移情况; 添加铁死亡通路的抑制剂 Ferrostatin-1 或激活剂 RSL3, 观察其是否可以影响丙泊酚在肝癌细胞中的作用; 应用免疫荧光和 Western blot 的方法检测细胞中的 ROS 水平以及 SLC7A11、SLC3A2 和 GPX4 的表达水平, 以明确丙泊酚是否调控铁死亡通路。**结果** 和对照组相比, 添加终浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 以上的丙泊酚能够抑制肝癌细胞的生长和迁移能力, 差异均有统计学意义 ($F=34.06, 10.18, P<0.01$); 添加终浓度为 10 μM 的 Ferrostatin-1 能够抑制丙泊酚在肝癌细胞中的作用, 差异均有统计学意义 ($F=22.48, 23.13, P<0.01$), 而 3 μM 的 RSL3 和丙泊酚协同处理则会进一步抑制肝癌细胞的恶化进展, 差异均有统计学意义 ($F=68.79, 24.60, P<0.01$); 丙泊酚对 SLC7A11 和 SLC3A2 的表达无影响, 但会降低 GPX4 的蛋白水平, 差异均有统计学意义 ($F=29.48, 53.62, P<0.01$)。**结论** 丙泊酚可以下调铁死亡基因 GPX4 的表达, 因此调控铁死亡的活性可以影响丙泊酚对肝癌细胞增殖和迁移的抑制作用。

[关键词] 肝癌细胞; 丙泊酚; 铁死亡; 增殖; 迁移

Propofol inhibits the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells and its mechanism of ferroptosis pathway

TAO Lei, WANG Di, SHU Shuhua*

(Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of Hefei, Anhui, China, 230001)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the function of propofol in the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells and its relationship with the ferroptosis pathway. **Methods** Hepatocellular carcinoma cell lines, HepG2 and Huh7, were treated with different concentrations of propofol. After 48 hours, CCK8 and Transwell were used to detect cell proliferation and migration. Next, the effect of propofol on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells was evaluated by addition of a specific ferroptosis inhibitor (ferrostatin-1) or activator (RSL3). Finally, Immunofluorescence and Western blot were used to examine the level of ROS and the expression of SLC7A11, SLC3A2 and GPX4 to determine whether propofol regulates the ferroptosis pathway. **Results** Compared with the untreated control group, the addition of propofol can inhibit the growth and migration of hepatoma cells with a final concentration of more than 10 $\mu\text{g/mL}$ ($F=34.06, 10.18, P<0.01$). Meanwhile, a final concentration of 10 μM Ferrostatin-1 was able to inhibit the effect of propofol in hepatocellular carcinoma cells ($F=22.48, 23.13, P<0.01$), while 3 μM RSL3 and propofol synergistically treatment will further inhibit the progression of hepatocellular carcinoma cells, and the differences are statistically significant ($F=68.79, 24.60, P<0.01$). Propofol had no effect on the expression of SLC7A11 and SLC3A2, but reduced the protein level of GPX4 ($F=29.48, 53.62, P<0.01$). **Conclusion** Propofol can down-regulate the expression of the ferroptosis gene GPX4. Therefore, regulating the activity of

基金项目: 国家自然科学基金(81503080); 安徽省学术和科技带头人科研活动经费(2017D147)

作者单位: 中国科学技术大学附属第一医院麻醉科, 安徽, 合肥 230001

*通信作者: 疏树华, E-mail: sshhf@189.cn

ferroptosis can affect the inhibitory effect of propofol on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells.

[KEY WORDS] Hepatocellular carcinoma cells; Proliferation; Migration; Propofol; Ferroptosis

丙泊酚(Propofol, 2, 6-diisopropylphenol)是烷基酸类短效静脉麻醉药物,多用于全身性麻醉诱导及维持,具有诱导时间短和苏醒快的优点,广泛用于肿瘤根治术的全身麻醉^[1]。近年来研究发现,丙泊酚可以抑制部分肿瘤的生长^[2-4],但是机制还不是很清楚,现已成为临床上研究的热点和难点方向之一。铁死亡(Ferroptosis)是近年来发现的一种调节性细胞死亡方式,它由铁依赖性脂过氧化驱动,主要特征包括:铁失调、活性氧(reactive oxygen species, ROS)累积、谷胱甘肽水平降低和谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)失活等,参与多种病理生理过程和疾病的发生发展,包括肝癌^[5-6]。肝癌是常见的恶性肿瘤之一,具有起病隐匿、恶性度高、进展快、预后差和死亡率高等特点,目前尚无治疗特效药。本文揭示丙泊酚抑制肝癌细胞的增殖和迁移与铁死亡的活性密切相关,为未来有效地应用丙泊酚进行抗肝癌治疗提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

HepG2 和 Huh7 肝癌细胞株购自武汉普诺赛生物科技有限公司;细胞培养基高糖 DMEM、青霉素-链霉素-胰酶等购买自合肥 Biosharp 公司;胎牛血清购买自依科赛公司;丙泊酚购买自美国 Sigma-Aldrich 公司;SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒购买自上海生工; β -TUBULIN、SLC3A2、GPX4、SLC7A11 等抗体购自武汉 ProteinTech 或成都正能等公司;Ferrostatin-1 和 RSL3 购买自美国 Selleck 公司;CCK8 试剂购自美国 APEX BIO 公司;Transwell 小室购买自美国康宁公司;ROS 检测试剂盒购买自碧云天;生物安全柜和细胞培养箱等购自美国 Thermo Scientific 公司;倒置显微镜购买自德国徕卡公司;酶标仪购买自美国 Molecular Devices 公司。

1.2 方法

1.2.1 肝癌细胞的培养

HepG2 和 Huh7 肝癌细胞的培养基成份为 DMEM,里面添加 10%胎牛血清以及 1%青霉素-链霉素溶液,细胞在 37℃、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,当细胞生长密度达 70%~80%时,用 0.25%

胰酶消化,按照 1:3 的比例进行传代培养。

1.2.2 药物处理细胞

丙泊酚、Ferrostatin-1 和 RSL3 溶解在 dimethyl sulfoxide (DMSO)中,根据需要配成不同浓度的母液。对照细胞用 DMSO 处理,实验组细胞则用 10 μ g/mL 丙泊酚处理 48 h;对于铁死亡干预实验,则在丙泊酚处理细胞时分别添加终浓度为 10 μ M 的 Ferrostatin-1 和 3 μ M 的 RSL3。

1.2.3 CCK8 实验

各组细胞以相同的密度(约 3×10^4)接种于 96 孔板,当细胞密度细胞到达 60%~70% 时,进行药物干预处理。48 h 后,每孔中加入 10 μ L 的 CCK8 试剂继续避光培养 4 h,经酶标仪检测 450 nm 处光密度(optical density, OD)值,每组实验重复三个孔。

1.2.4 Transwell 实验

用无血清培养基重悬对照组和实验组细胞,调整细胞浓度至 8×10^5 个/mL,吸取 100 μ L 的细胞悬液置于 24 孔板上室,下室加入 500 μ L 含有 10%胎牛血清的完全培养基,将培养板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 36 h 或 48 h,取出 Transwell 嵌套的小室,用 4% 多聚甲醛固定,再经 0.1%结晶紫染色 10 min,用棉签轻轻拭去上室细胞,在显微镜下随机选取 3~5 个视野,观察并拍照。

1.2.5 Western blot 检测

收集对照组和丙泊酚处理组细胞,用 PBS 洗涤后加入 RIPA 溶液裂解细胞,BCA 法定量蛋白浓度。用 10%的 SDS-PAGE 胶分离蛋白质,每孔添加 80 μ g 蛋白,经 PVDF 转膜 90 分钟、5% BSA 室温封闭 2 h、一抗 4℃孵育、二抗室温孵育 1 h 等步骤,使用合肥 Biosharp 公司的 ECL 发光液显色,在发光仪下拍照蛋白条带,并用 Image J 分析条带的相对灰度密度。

1.2.6 ROS 检测

步骤按说明书执行,首先按照 1:1 000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA,使终浓度为 10 μ M;接着,去除对照组和丙泊酚处理组细胞的培养液,加入能够覆盖细胞的 DCFH-DA 溶液,37℃细胞培养箱内孵育 20 min,用无血清细胞培养液洗去未进入细胞内的 DCFH-DA;最后,用荧光显微镜观察拍照。每项实验均重复 3 次。

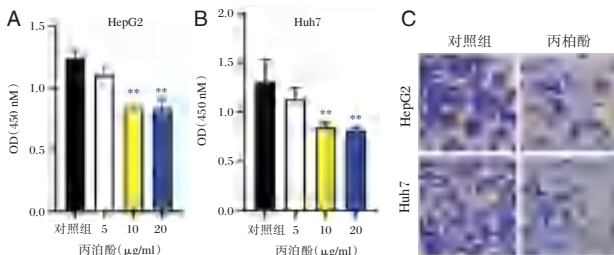
1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8 软件进行统计分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间采用方差分析。 $P < 0.05$ 时为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度丙泊酚对肝癌细胞增殖和迁移的影响

分别将两株不同的肝癌细胞 HepG2 和 Huh7 分成 4 组,添加不同浓度的丙泊酚处理 48 小时。CCK8 检测结果显示:终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的丙泊酚均可以显著地抑制 HepG2 和 Huh7 细胞的增殖,且抑制效果相仿,差异有统计学意义($F=34.06, P < 0.01$; $F=10.18, P < 0.01$)(图 1A 和 B)。同时,Transwell 结果实验显示:终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的丙泊酚可以抑制肝癌细胞的迁移(图 1C)。



注:A 和 B, CCK8 检测不同浓度丙泊酚处理的 HepG2 和 Huh7 细胞的增殖;与对照组相比: $^{**}P < 0.01$; C, Transwell 结晶紫染色 HepG2 和 Huh7 细胞。

图 1 丙泊酚对肝癌细胞生长和迁移的影响

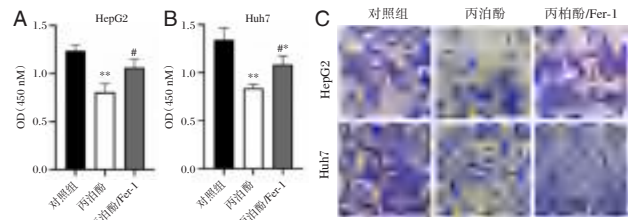
Figure 1 The effect of propofol on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells

2.2 抑制铁死亡对丙泊酚调控肝癌细胞增殖和迁移的影响

图 2A 显示,相比较于丙泊酚组,添加 Fer-1 可以恢复丙泊酚对 HepG2 和 Huh7 细胞生长的抑制,差异有统计学意义($F=22.48, P < 0.01$; $F=23.13, P < 0.01$)(图 2A 和 B);同时也能够削弱丙泊酚对 HepG2 和 Huh7 细胞迁移的调控(图 2C)。

2.3 铁死亡激活剂协同丙泊酚对肝癌细胞生长和迁移的影响

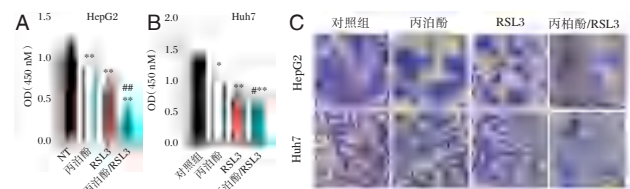
如图 3A 所示,和对照组细胞相比,丙泊酚和 RSL3 单独作用均可以抑制 HepG2 和 Huh7 细胞的增殖,但是两者联合作用可进一步抑制肝癌细胞的生长,差异具有统计学意义($F=68.79, P < 0.01$; $F=24.60, P < 0.01$)(图 3A 和 B)。同时,相比较于对照组和单独处理组,RSL3 和丙泊酚同时处理可以显著地抑制 HepG2 和 Huh7 细胞的迁移(图 3C)。



注:A 和 B, CCK8 检测不同处理组内肝癌细胞的增殖;与对照组相比: $^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01$;与丙泊酚组相比: $^{\#}P < 0.05$; C, Transwell 结晶紫染色不同组内的肝癌细胞 $\times 200$ 。

图 2 Fer-1 对丙泊酚抗肝癌作用的影响

Figure 2 The effect of Fer-1 on the anti-hepatocellular carcinoma effect of propofol



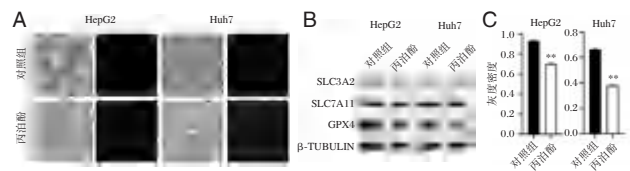
注:A 和 B, CCK8 实验检测不同处理组细胞的增殖;与对照组相比: $^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01$;与丙泊酚组相比: $^{\#}P < 0.05, ^{\#\#}P < 0.01$; C, Transwell 结晶紫染色不同组内的肝癌细胞 $\times 200$ 。

图 3 RSL3 对丙泊酚抗肝癌功能的影响

Figure 3 The effect of RSL3 on the anti-hepatocellular carcinoma effect of propofol

2.4 丙泊酚在肝癌细胞中对铁死亡的调控

相比较于对照组,丙泊酚提高了细胞内的 ROS 水平(图 4A);Western blot 检测表明丙泊酚没有改变 SLC7A11 和 SLC3A2 的表达,但是减少了 GPX4 的蛋白水平(图 4B 和 C),差异有统计学意义($F=29.48, 53.62, P < 0.01$)。



注:A, 检测丙泊酚处理的肝癌细胞中 ROS 的生成 $\times 200$; B, 丙泊酚对 SLC7A11、SLC3A2 和 GPX4 蛋白水平的影响; C, SLC7A11、SLC3A2 和 GPX4 蛋白的相对表达水平。与对照组相比: $^{**}P < 0.01$ 。

图 4 丙泊酚对铁死亡的影响

Figure 4 The effect of Propofol on ferroptosis

3 讨论

围手术期麻醉处理对肿瘤患者预后具有重要的意义,丙泊酚作为一种烷基酚类的短效静脉麻醉药,除了广泛用于麻醉诱导、麻醉维持及重症监护病房的静脉镇静外,丙泊酚还可影响不同类型肿瘤

细胞的发生发展,且作用机制也具有组织差异性^[1]。

丙泊酚在肝癌细胞中的作用虽然已有一些报道,但是分子机制较为复杂,涉及多种不同的信号通路和表观遗传的调控,如 TGF- β 1/Smad2 信号通路、ERK 信号通路、JAK2/STAT3 信通路和非编码 RNA 等。Li^[3]等发现丙泊酚可能通过抑制 PCNA 和 CD34 等蛋白水平、提高 TGF- β 1 的表达来抑制肝癌细胞的增殖和凋亡。在肝癌细胞株 SMMC-7721 荷瘤的 BALB/c 小鼠中也观察到丙泊酚通过剂量依赖性的方式减少肝癌细胞中 PCNA, CD34 和 pAKT 的表达,抑制肝癌生长^[7]。Fei et al 等^[8]团队证明了 NET1 会调控丙泊酚对肝癌细胞株 SMMC-7721 增殖和迁移的抑制,丙泊酚通过下调 NET1 的表达来抑制 pERK 和 VEGF 的水平。Li^[9]研究发现在肝癌细胞株 Huh7 和 Bel-7405 中,丙泊酚可以提高 miR-105 的水平,后者会靶向抑制 JAK2 表达,导致 JAK2/STAT3 信号活性降低,肝癌细胞的增殖受到抑制。除了 miR-105,miR-195-5P 的表达也受丙泊酚的调节^[10]。丙泊酚可以提高顺铂对肝癌细胞的杀伤强度,主要的下游机制是通过诱导 miR-195-5P 的表达,靶向降解 CCNE1 信使 RNA,所以添加 miR-195-5P 的抑制剂会削弱顺铂致死功能。此外,Chang et al^[11]发现丙泊酚处理会显著减少肝癌细胞株 SNU-449 和 HuH-6 中 lncRNA CASC9 的水平,过表达后者可以促进肝癌细胞的增殖和转移。进一步研究证明 CASC9 通过与 EZ2H2 相互作用负调控 PTEN 的转录,而 PTEN 是 AKT/mTOR 信号通路的抑制成份^[11]。本论文发现丙泊酚在肝癌细胞中可以通过调控 GPX4 的表达激活铁死亡来发挥功能(图 4B 和 C)。铁死亡抑制肝癌发生发展的研究较多^[6],如 Let^[12]发现 PCDHB14 会促进 RNF182 调控的 P65 泛素化,而 P65 可以结合 SLC7A11 启动子从而激活其表达,所以 PCDHB14 通过降低 SLC7A11 从而激活铁死亡来发挥抗肝癌的功能^[12]。事实上,丙泊酚在其他类型的肿瘤中通过激活铁死亡来抑制肿瘤细胞的生长和转移已有报道,如乳腺癌、胃癌和结直肠癌等^[4,13-14]。但是丙泊酚激活铁死亡信号的详细下游机制还需要深入地研究。

综上所述,本论文揭示了丙泊酚抑制肝癌的新机制,丰富了丙泊酚抗癌机制的调控网络。值得注意的是手术时需要的丙泊酚的血药浓度在 2.5~8.0 $\mu\text{g/mL}$,复合其他静脉麻醉药时所需血药

浓度会更低,而丙泊酚发挥抗癌作用的浓度则更高,作用时间也较长。此外,临床上供选择的非巴比妥类静脉麻醉药物也较多^[15],如依托咪酯、氯胺酮、羟丁酸钠,它们在肝癌细胞中是否具有和丙泊酚相类的作用?联合使用是否可以调控丙泊酚的功能?也值得未来进一步研究,结果将为在临床上优化肝癌的治疗方案提供新的参考和线索。

参考文献

- [1] Xu Y, Pan S, Jiang W, et al. Effects of propofol on the development of cancer in humans [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(8): e12867.
- [2] Cheng Y, Zheng L, Yang C, et al. Propofol inhibits proliferation and migration of glioma cells by up-regulating lncRNA GAS5[J]. *Toxicol In Vitro*, 2022, 80: 105321.
- [3] Li Z, Liu H, Zhang Y, et al. The effect of propofol on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through TGF- β 1/Smad2 signaling pathway [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 4581-4592.
- [4] Sun C, Liu P, Pei L, et al. Propofol Inhibits Proliferation and Augments the Anti-Tumor Effect of Doxorubicin and Paclitaxel Partly Through Promoting Ferroptosis in Triple-Negative Breast Cancer Cells[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 837974.
- [5] Wang D, Tang L, Zhang Y, et al. Regulatory pathways and drugs associated with ferroptosis in tumors [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(6): 544.
- [6] Ma S, Adzavon YM, Wen X, et al. Novel Insights in the Regulatory Mechanisms of Ferroptosis in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 873029.
- [7] Zhou Q, Wu H, Liu Y, et al. Effects of different doses of propofol on the growth and expression of PCNA, CD34 and pAKT proteins in xenografted tumor of BALB/C mice with liver cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2020, 22(10): 1741-1749.
- [8] Fei G, Cao M, Ge C, et al. Propofol suppresses hepatocellular carcinoma by inhibiting NET1 through downregulating ERK/VEGF signaling pathway[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 11208.
- [9] Li J, Liu M, Zeng B, et al. Propofol induces hepatocellular carcinoma cell apoptosis via regulating miR-105/JAK2/STAT3 axis[J]. *Cytokine*, 2021, 148: 155649.
- [10] Gao L, Zhang X. Propofol enhances the lethality of cisplatin on liver cancer cells by up-regulating miR-195-5p[J]. *Tissue Cell*, 2022, 74: 101680.
- [11] Chang Q, Wu J, An Y, et al. Propofol suppresses proliferation, migration, invasion, and tumor growth of liver cancer cells via suppressing cancer susceptibility candidate 9/phosphatase and tensin homolog/AKT serine/threonine kinase/mechanistic target of rapamycin kinase axis [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2022, 41: 9603271211065972.

(下转第 2043 页)

白细胞计数及淋巴细胞亚群对肺炎支原体感染儿童病情判断价值

殷海珍* 王威远 刘小羽

[摘要] **目的** 探讨白细胞计数(WBC)及淋巴细胞亚群对肺炎支原体感染儿童的病情判断价值。**方法** 选取2020年2月至2021年11月南京医科大学第四附属医院收治的296例肺炎支原体感染儿童作为观察组,根据其病情分为重症组($n=109$)和轻症组($n=187$),并选取同期来本院体检的健康儿童100名作为对照组,对其基本情况、血常规、淋巴细胞亚群资料进行收集,并分析与患儿病情相关的影响因素,采用ROC曲线分析其影响因素对患儿病情的诊断价值。**结果** 白细胞计数:重症组>轻症组>对照组,差异有统计学意义($F=198.878, P<0.05$)。CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、CD19+水平:对照组>轻症组>重症组,差异有统计学意义($F=71.295, 119.900, 66.210, 3.799, 93.355, P<0.05$)。各组的血红蛋白、血小板计数、NK细胞比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。多因素结果显示,白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+是肺炎支原体感染儿童病情的影响因素($P<0.05$)。Logistic回归模型预测方程为 $Y=1.213X_1-0.894X_2-1.062X_3-0.875X_4-0.943X_5+5.633$,对肺炎支原体感染重症儿童预测的灵敏度为96.33%(105/109),特异度为86.10%(161/187),准确度为90.88%(269/296),构建ROC曲线AUC为0.889。**结论** 联合检测白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+水平对肺炎支原体感染儿童的病情判断具有很好的指导意义。

[关键词] 血常规;淋巴细胞亚群;肺炎支原体;儿童;感染

Value of WBC count and lymphocyte subsets in judging the condition of children infected with *Mycoplasma pneumoniae*

YIN Haizhen*, WANG Weiyuan, LIU Xiaoyu

(Department of Pediatrics, The Fourth Affiliated Hospital of Nanjing University of Science, Nanjing, Jiangsu, China, 210031)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the value of white blood cell (WBC) and lymphocyte subsets in judging the condition of children infected with *Mycoplasma pneumoniae*. **Methods** 296 children with *Mycoplasma pneumoniae* infection treated in the Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from February 2020 to November 2021 were selected as the observation group, and they were divided into the severe group ($n=109$) and the mild group ($n=187$) according to their condition. 100 healthy children admitted to our hospital for physical examination in the same period were selected as the control group, and their basic condition, blood routine examination and lymphocyte subgroup data were collected, and the influencing factors related to their condition were analyzed, ROC curve was used to analyze the judgment value of its main influencing factors on the condition of children. **Results** White blood cell count: severe group > mild group > control group, the difference was statistically significant ($F=198.878, P<0.05$). The levels of CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD8+, CD19+: control group > mild group > severe group, the difference was statistically significant ($F=71.295, 119.900, 66.210, 3.799, 93.355, P<0.05$). There was no significant difference in hemoglobin, platelet count and NK cells among the groups ($P>0.05$). The multi-factor results showed that white

基金项目:江苏省青年医学重点人才基金(QNRC2016833)

作者单位:江苏省南京市科四附医院儿科,江苏,南京210031

*通信作者:殷海珍, E-mail: 18951904400@163.com

blood cell count, CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ were the influencing factors of children infected with *Mycoplasma pneumoniae* ($P<0.05$). The multifactor results showed that leukocyte count, CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ were the influencing factors of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children ($P<0.05$). The prediction equation of logistic regression model is $y=1.213x_1-0.894x_2-1.062x_3-0.875x_4-0.943x_5+5.633$. The sensitivity of prediction for children with severe *Mycoplasma pneumoniae* infection is 96.33% (105/109), the specificity is 86.10% (161/187), the accuracy is 90.88% (269/296), and the AUC of ROC curve is 0.889.

Conclusion The combined detection of white blood cell count, CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ levels has good guiding significance for the diagnosis of children with *Mycoplasma pneumoniae* infection.

[KEY WORDS] Blood routine; Lymphocyte subsets; *Mycoplasma pneumoniae*; Children; Infection

肺炎支原体感染在临床儿科中较常见,患儿多表现为咳嗽、发热等症状,且患儿发生支原体肺炎的发病风险较高。随着病情进展,还可能导致神经症状以及心脑血管等多系统损伤,对患儿的身体健康及生命安全造成严重威胁^[1]。血常规是临床检测的基础项目,可通过测定血液中的有形成分,进行疾病的辅助诊断,在细菌感染性疾病中具有一定的价值^[2]。但肺炎支原体感染病情发展隐匿、症状不一,且胸部X线检查特征性不明显,易影响其临床病情判断。患儿发生肺炎支原体感染后,其身体的免疫功能会受到不同程度影响,而感染的发生发展也与机体的免疫状态密切相关,T淋巴细胞亚群在判断患儿免疫抵抗力方面具有显著作用^[3]。因此,本研究拟分析血常规及淋巴细胞亚群对肺炎支原体感染儿童的病情判断价值,旨在为该类患儿的临床诊治提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年2月至2021年11月南京医科大学第四附属医院收治的296例肺炎支原体感染儿童作为观察组,纳入标准:①存在咳嗽、发热等肺部炎症特征,结合辅助检查确诊肺炎支原体感染^[4];②接受治疗前3个月未接受免疫抑制剂或糖皮质激素治疗;③临床资料完整。排除标准:①其他类型病原体感染患儿;②合并心脑血管、呼吸系统等严重疾病者;③存在其他免疫性疾病、血液性疾病者;④合并支气管哮喘疾病者。参考《诸福棠实用儿科学》^[4]根据患儿病情分为重症组($n=109$)和轻症组($n=187$)。并选取同期来本院体检的健康儿童100名作为对照组。重症组,男58例,女51例,年龄平均(5.49±2.23)岁;轻症组,男96例,女91例,年龄平均(5.22±2.36)岁;对照组,男52例,女

48例,年龄平均(5.64±2.57)岁。各组间一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经南京医科大学第四附属医院医学伦理会审批并通过。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集

收集各组儿童的基本情况、血常规、淋巴细胞亚群资料,并分析与肺炎支原体感染儿童病情相关的影响因素,采用ROC曲线分析其主要影响因素对患儿病情的判断价值。

1.2.2 实验室检测

血常规检测:早晨采集患儿空腹静脉血2 mL,采用血常规分析仪进行血常规分析,包括白细胞计数、血小板计数、血红蛋白。

淋巴细胞亚群检测:早晨采集患儿空静脉血2 mL,进行抗凝处理,然后将已知总数的荧光微球Beads加入血中作为标准内参,再添加荧光抗体,采用流式细胞仪检测外周血CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、CD19+B淋巴细胞、NK细胞绝对数。检测需在采血后24 h内完成。

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($\bar{x}\pm s$)表示,两组间采用 t 检验,多组间比较采用方差分析;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用Logistic回归分析进行多因素分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组间血常规和淋巴细胞亚群的比较

白细胞计数:重症组>轻症组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+、CD19+水平:对照组>轻症组>重症组,差异有统计学意义($P<0.05$)。各组的血红蛋白、血小板计数、NK细胞比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1~2。

表1 各组间血常规的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood routine among groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 白细胞计数 ($\times 10^9/L$) | 血小板计数 ($\times 10^9/L$) | 血红蛋白 (g/L) |
|-----|-----|------------------------------|------------------------------|---------------|
| 重症组 | 109 | 12.34±1.58 ^{ab} | 193.26±42.38 | 119.12±7.89 |
| 轻症组 | 187 | 10.09±2.26 ^a | 192.34±41.63 | 120.76±7.63 |
| 对照组 | 100 | 7.24±1.12 | 190.52±42.29 | 121.35±7.29 |
| F值 | | 198.878 | 0.115 | 2.513 |
| P值 | | <0.001 | 0.891 | 0.082 |

注:与对照组比较,^a $P>0.05$;与轻症组比较,^b $P>0.05$ 。

表2 各组间淋巴细胞亚群的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of lymphocyte subsets among groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CD3+ ($\times 10^9/L$) | CD4+ ($\times 10^9/L$) | CD8+ ($\times 10^9/L$) | CD4+/CD8+ | CD19+ ($\times 10^9/L$) | NK细胞 ($\times 10^9/L$) |
|-----|-----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 重症组 | 109 | 1.35±0.38 ^{ab} | 0.72±0.21 ^{ab} | 0.49±0.16 ^{ab} | 1.61±0.34 ^{ab} | 0.41±0.13 ^{ab} | 0.32±0.08 |
| 轻症组 | 187 | 1.71±0.42 ^a | 0.89±0.23 ^a | 0.57±0.18 ^a | 1.64±0.36 ^a | 0.48±0.16 ^a | 0.34±0.09 |
| 对照组 | 100 | 2.12±0.61 | 1.24±0.31 | 0.78±0.23 | 1.74±0.38 | 0.72±0.23 | 0.33±0.08 |
| F值 | | 71.295 | 119.900 | 66.210 | 3.799 | 93.355 | 1.948 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | 0.023 | <0.001 | 0.144 |

注:与对照组比较,^a $P>0.05$;与轻症组比较,^b $P>0.05$ 。

表3 肺炎支原体感染儿童病情严重程度的多因素分析

Table 3 Multifactor analysis of the severity of Mycoplasma pneumoniae infection in children

| 相关因素 | β 值 | S.E值 | Wald值 | P值 | OR值 | 95%CI | 灵敏度 | 特异度 |
|-----------|-----------|-------|--------|--------|-------|-------------|---------|---------|
| 白细胞计数(X1) | 1.213 | 0.355 | 11.684 | 0.001 | 3.364 | 1.678-6.743 | 0.633 0 | 0.668 4 |
| CD3+(X2) | -0.894 | 0.302 | 8.762 | 0.003 | 0.409 | 0.226-0.739 | 0.651 4 | 0.711 2 |
| CD4+(X3) | -1.062 | 0.322 | 10.845 | 0.001 | 0.346 | 0.184-0.651 | 0.688 1 | 0.748 7 |
| CD8+(X4) | -0.875 | 0.307 | 8.132 | 0.004 | 0.417 | 0.228-0.761 | 0.697 2 | 0.738 0 |
| CD19+(X5) | -0.943 | 0.301 | 9.784 | 0.002 | 0.389 | 0.216-0.703 | 0.733 9 | 0.641 7 |
| 联合检测 | 0.756 | 0.239 | 10.006 | <0.001 | 2.130 | 1.879-2.567 | 0.963 3 | 0.861 0 |

支原体感染重症儿童预测的灵敏度为96.33%(105/109),特异度为86.10%(161/187),准确度为90.88%(269/296),ROC曲线AUC为0.889。见图1。

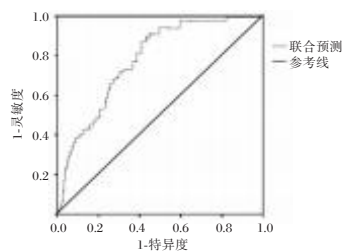


图1 Logistic回归模型对肺炎支原体感染重症儿童的预测价值

Figure 1 Predictive value of logistic regression model for children with severe Mycoplasma pneumoniae infection

3 讨论

近年来,肺炎支原体感染患者的发病率呈逐渐上升趋势,其中以儿童肺炎支原体感染较为常见^[5]。若在患儿发生感染后不能及时采取有效治疗方案,可能会造成病情延误,甚至影响其生长发

2.2 多因素分析

以白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+为自变量,以肺炎支原体感染儿童病情严重程度为因变量,进行非条件Logistic回归分析,结果显示:白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+是肺炎支原体感染儿童病情的主要影响因素($P<0.05$)。见表3。

Logistic回归模型预测方程为 $Y=1.213X1-0.894X2-1.062X3-0.875X4--0.943X5+5.633$,对肺炎

育,对其生命安全造成威胁。随着病情进展,患儿可发生咳嗽、发热等不适症状,机体受感染后可激活免疫系统,抵制抗病原体入侵,反之加重免疫细胞疲惫感,降低免疫功能,以及多系统、多器官损伤^[6]。因此,及时准确的判断肺炎支原体感染患儿的免疫功能变化,对其病情判断及治疗均具有重要的意义。

本研究结果提示肺炎支原体感染患儿的白细胞计数均与健康儿童存在显著差异。但由于白细胞的上升速度缓慢,无法及时对病情发展作出有效反应,因此血常规虽是必检项目,但仅可提供有限的参考依据^[7]。但也有部分研究认为,由于肺炎支原体感染缺乏特异性临床表现,若不能有效准确的判断患儿病情,易导致过度治疗的发生^[8]。

临床中淋巴细胞亚群是敏感度较高的免疫指标,当机体内淋巴细胞亚群异常时则说明免疫功能可能存在异常^[9]。T细胞在骨髓中经诱导发展为具有免疫活性的T细胞。其中CD4+是辅助型T细胞,可优化T细胞和B细胞间的防御免疫应答^[10]。CD8+是表面毒性T细胞,可释放多种丝氨酸酯酶等

对靶细胞产生杀伤,从而诱导细胞凋亡^[11]。以上两者的比值可有效反映对机体细胞免疫功能,对机体免疫功能评估具有重要意义,其比值越高提示机体免疫功能紊乱越严重。CD19+B细胞受病原刺激可产生对应的抗体,进而引发病理性免疫反应^[12]。

研究结果说明观察组患儿的免疫功能较对照组儿童较差,且随患儿的病情加重,淋巴亚群变化幅度更大。这可能是由于肺炎支原体感染后使得患儿T淋巴细胞亚群受到刺激,大量T淋巴细胞、B淋巴细胞以及单核-巨噬细胞被激活,但代谢产物及支原体免疫黏附性可造成淋巴细胞的免疫损伤,从而抑制其表达,继而造成机体内的免疫失衡,抗原作用不断降低,使B淋巴细胞成熟发生障碍^[13]。而对于重症患儿,其感染程度更严重,可能导致了其免疫功能受损加深,病情进展加快,造成恶性循环^[14]。多因素结果显示,白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+是肺炎支原体感染儿童病情的影响因素,且对肺炎支原体感染重症儿童预测的灵敏度为87.16%,特异度为93.05%,准确度为90.88%,ROC曲线AUC为0.889。说明联合检测白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+对肺炎支原体感染重症患儿具有较高的诊断价值。另外,值得注意的是,有报道^[15]指出,NK细胞、T淋巴细胞均与肺炎支原体肺炎发生发展有密切联系。但本研究结果中各组间NK细胞比较差异不明显,仍需进行后续探讨。

综上所述,白细胞计数、CD3+、CD4+、CD8+、CD19+是肺炎支原体感染儿童病情的影响因素,联合检测以上指标对其病情判断具有很好的指导意义。

参考文献

- [1] 王雪,高密密,尹力,等. 儿童肺炎支原体肺炎并发大叶性肺炎的危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(2): 277-280.
- [2] 谢维波,谢俊波,鄞晓峰,等. 儿童社区获得性肺炎支原体

肺炎实验室检查特征分析[J]. 现代医药卫生, 2021, 37(1): 26-29.

- [3] 苏丽娜,吴守业,李文琳,等. 肺炎支原体感染对哮喘患儿病情急性发作影响的可能机制分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(23): 3651-3654+3660.
- [4] 胡亚美. 诸福棠实用儿科学[M]. 8版. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [5] 陶珊. 小儿重症肺炎不同病原抗原及抗体IgM抗体检测特点及流行趋势分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(4): 492-496.
- [6] Poddighe D. Mycoplasma pneumoniae-related extra-pulmonary diseases and antimicrobial therapy [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2020, 53(1): 188-189.
- [7] 陆焱,王珏,虞竞峰,等. 肺炎支原体感染对儿童血常规参数及C反应蛋白水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(21): 4196-4200.
- [8] 张超,吕国峰,王沂霞,等. TNF- α 基因多态性与儿童支原体肺炎病情程度的关联性[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(21): 3342-3345.
- [9] 李娜,穆亚平,陈静,等. 淋巴细胞亚群绝对计数对儿童难治性肺炎支原体肺炎的早期预测作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(6): 511-516.
- [10] 李莲英,刘凤娟,丁密,等. 胸部创伤患者早期血清调节性T淋巴细胞及Th1/Th2细胞因子变化与创伤后感染的关系[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(15): 1967-1971.
- [11] 丁燕,司天斌,王雨村,等. 细胞毒性T细胞、巨噬细胞和调节性T细胞在复发性宫颈癌患者中的免疫特征分析[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(7): 617-622.
- [12] 于跑,彭倩倩,董晨,等. B淋巴细胞表型在激素依赖及频繁复发肾病综合征患儿的临床意义[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(7): 954-958.
- [13] 张丹丹,姜艳群,范玉洁,等. 肺炎支原体肺炎患儿外周血CD3+~CD56+~NKT细胞变化及临床意义[J]. 江苏医药, 2020, 46(2): 140-144.
- [14] 铁峰,尚楠,刘鹏飞. 肺炎支原体感染患儿血清IgG CRP水平与病情严重程度的相关性[J]. 临床心身疾病杂志, 2021, 27(4): 35-38.
- [15] Pánisová E, Unger WWJ, Berger C, et al. Mycoplasma pneumoniae-Specific IFN- γ -Producing CD4+ Effector-Memory T Cells Correlate with Pulmonary Disease [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2021, 64(1): 143-146.

(上接第2039页)

- [12] Liu Y, Ouyang L, Mao C, et al. PCDHB14 promotes ferroptosis and is a novel tumor suppressor in hepatocellular carcinoma [J]. Oncogene, 2022, 41(27): 3570-3583.
- [13] Liu YP, Qiu ZZ, Li XH, et al. Propofol induces ferroptosis and inhibits malignant phenotypes of gastric cancer cells by regulating miR-125b-5p/STAT3 axis [J]. World J Gastrointest Oncol, 2021, 13(12): 2114-2128.
- [14] Zhao X, Chen F. Propofol induces the ferroptosis of colorectal cancer cells by downregulating STAT3 expression [J]. Oncol Lett, 2021, 22(5): 767.
- [15] 王桃,赵翠英,田永凤. 不同麻醉方式对剖宫产产妇脐血IMA、IL-2及IL-6水平的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(2): 218-221+227.

长链非编码RNA HNF1A-AS1 对口腔癌细胞增殖、侵袭和EMT的影响

司亚静* 张建丽 郑雪莉

[摘要] **目的** 探讨 lncRNA HNF1A-AS1 在口腔癌中的作用及机制。**方法** 测定 HNF1A-AS1、miR-320d 及 PBX3 在 HSC-6 和 HOK 细胞中的表达。HNF1A-AS1、miR-320d、PBX3 表达被上调或沉默，HSC-6 细胞增殖、侵袭和上皮间质转化(EMT)能力分别通过 MTT、Transwell 和 Western blot 测定。双荧光素酶报告基因实验分析 HNF1A-AS1、miR-320d、PBX3 之间的关系。**结果** 与 HOK 细胞相比，HSC-6 细胞中 HNF1A-AS1 表达量升高，差异有统计学意义($P<0.01$)。下调 HNF1A-AS1 表达抑制了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT。HNF1A-AS1 靶向 miR-320d。与 HOK 细胞相比，HSC-6 细胞中 miR-320d 表达量降低，差异有统计学意义($P<0.01$)。下调 miR-320d 表达促进了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT。上调 HNF1A-AS1 表达通过 miR-320d 促进了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT。miR-320d 靶向 PBX3。与 HOK 细胞相比，HSC-6 细胞中 PBX3 表达量上升，差异有统计学意义($P<0.01$)。下调 PBX3 表达抑制了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT。下调 HNF1A-AS1 表达通过 miR-320d 抑制了 PBX3 表达。**结论** LncRNA HNF1A-AS1 通过 miR-320d 促进 PBX3 的表达，从而促进口腔癌的发展。

[关键词] HNF1A-AS1; miR-320d; PBX3; 口腔癌; 增殖; 侵袭

Effects of long non-coding RNA HNF1A-AS1 on the proliferation, invasion and EMT of oral cancer cells

SI Yajing*, ZHANG Jianli, ZHENG Xueli

(Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan Province, China, 471003)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the role and mechanism of lncRNA HNF1A-AS1 in oral cancer. **Methods** The expression levels of HNF1A-AS1, miR-320d and PBX3 in HSC-6 and HOK cells were determined. The expression of HNF1A-AS1, miR-320d and PBX3 were up-regulated or silenced, and the proliferation, invasion and EMT ability of HSC-6 cells were determined by MTT, Transwell and Western blot, respectively. The relationship between HNF1A-AS1, miR-320d and PBX3 was analyzed by double luciferase reporter gene assay. **Results** Compared with HOK cells, the expression of HNF1A-AS1 in HSC-6 cells was significantly increased ($P<0.01$). Down-regulation of HNF1A-AS1 expression inhibited proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells. HNF1A-AS1 targeted miR-320d. Compared with HOK cells, the expression of miR-320d in HSC-6 cells was decreased, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). Down-regulation of miR-320d expression promoted proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells. Up-regulation of HNF1A-AS1 expression promoted the proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells through miR-320d. miR-320d targeted PBX3. Compared with HOK cells, the expression of PBX3 in HSC-6 cells was increased, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). Down-regulation of PBX3 expression inhibited the proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells. Down-regulation of HNF1A-AS1 expression inhibited PBX3 expression through miR-320d. **Conclusion** LncRNA HNF1A-AS1 facilitates PBX3 expression by targeting miR-320d to promote oral cancer development.

[KEY WORDS] HNF1A-AS1; miR-320d; PBX3; Oral cancer; Proliferation; Invasion

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(18B416002)

作者单位:河南科技大学第一附属医院口腔科,河南,洛阳 471003

*通信作者:司亚静, E-mail: siyajing19860815@163.com

口腔癌作为常见的恶性肿瘤,其生存率较低^[1],近年来,口腔癌的发病机制和治疗取得了很大进展,患者通过手术、放疗和激光方法进行治疗,但是口腔癌细胞易向颈部淋巴结转移^[2]。由于预后较差,进一步开展口腔癌的研究具有重要意义。长链非编码RNA超过200个核苷酸,参与基因表达^[3-4]和癌细胞的生物学行为调控^[5],在癌细胞转移中发挥至关重要的作用^[6-7]。长链非编码RNA肝细胞核因子1 α 反义链1(LncRNA HNF1A-AS1, *HNF1A-AS1*)是一个新的单外显子基因,含有2455个核苷酸,参与多种癌症的进展。Fang等^[8]发现,*HNF1A-AS1*通过微小RNA-34a (*miRNA-34a*, *miR-34a*)/*SIRT1*/p53反馈环促进结肠癌的转移。另有研究显示,*HNF1A-AS1*能够促进膀胱癌细胞增殖^[9]。然而,*HNF1A-AS1*在口腔癌中的潜在机制仍不清楚。本研究主要评估*HNF1A-AS1*在口腔癌细胞系中的表达,并研究了其对口腔癌细胞体外增殖与转移的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

从上海生物细胞研究所选购口腔癌细胞(HSC-6细胞)和正常口腔上皮角质细胞(HOK细胞)(货号:12634010,500 mL),反转录试剂盒购于大连Takara公司(货号:RR036A,200 Rxns),Lipofectamine 2000购自中国赛默飞世尔科技公司(货号:11668027,0.75 mL),MTT试剂盒及其DMSO试剂购自上海碧云天(货号:C0009S,500 Rxns),DMSO试剂购自上海碧云天(货号:ST1276,100 mL)。实时荧光定量PCR购自西安天隆科技有限公司(型号:Gentier 48E),细胞培养箱购自深圳瑞沃德生命科技有限公司(型号:D180)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、质粒构建及转染

HSC-6细胞和HOK细胞在DMEM培养基中培养。*HNF1A-AS1*下调和过表达质粒、*miR-320d*模拟物及其抑制剂由北京擎科生物有限公司合成。细胞转染是使用Lipofectamine 2000按照制造商的说明进行的。细胞分为①siRNA NC、*HNF1A-AS1* siRNA、*PBX3* siRNA组;②*HNF1A-AS1* wt+mimics control、*HNF1A-AS1* wt+*miR-320d*、*HNF1A-AS1* mut+mimics control、*HNF1A-AS1* mut+*miR-320d*组;③inhibitor NC、*miR-320d* inhibitor组;④pcDNA-3.1(+),pcDNA-3.1(+)-*HNF1A-AS1*、

pcDNA-3.1(+)+mimics NC、*miR-320d* mimics+pcDNA-3.1(+),pcDNA-3.1(+)-*HNF1A-AS1*+*miR-320d* mimics组;⑤*PBX3* wt+mimics control、*PBX3* wt+*miR-320d*、*PBX3* mut+mimics control、*PBX3* mut+*miR-320d*组;⑥siRNA NC+inhibitor NC、*HNF1A-AS1* siRNA+inhibitor NC、siRNA NC+*miR-320d* inhibitor、*HNF1A-AS1* siRNA+*miR-320d* inhibitor组。转染成功后,分别处理细胞进行检测。

1.2.3 细胞增殖测定

转染的细胞以每孔 5×10^3 的密度置在96孔板中。48小时后,添加MTT工作液。孵育4小时后,取150 μ L二甲基亚砷加入其中,读取540 nm波长下的光密度值。

1.2.4 免疫印迹

提取总蛋白,经12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳后再转移到硝化纤维素膜上。用5%脱脂奶粉封膜,与特异性一抗和二抗孵育,使用电化学发光观察蛋白条带。

1.2.5 实时荧光定量PCR

细胞总RNA提取后,反转成互补DNA,通过定量聚合酶链反应测定基因表达量。引物如下:*GAPDH*-F: ACAGTCAGCCGCATCTTCTT; *GAPDH*-R: GACAAGCTTCCCCTTCTCAG; *HNF1A-AS1*-F: TCAAGAAATGGTGGCTAT; *HNF1A-AS1*-R: GATCTGAGACTGGCTGAA; *miR-320d*-F: ACACCTCCAGCTGGGAAAAGCTGGGTTGAGA; *miR-320d*-R: CTCAACTGGTGTCTGAGTTCGCAATTCAGTTGAGTCCTCTCA; *PBX3*-F: AGACGGGAGCTCATCAATCAGACGGGAGGCTAC; *PBX3*-R: AGAATAAAGCTTCATTAGAATCACC-GCCACAA。

1.2.6 双荧光素酶实验

*HNF1A-AS1*及*miR-320d*靶基因分析后,构建*HNF1A-AS1* wt和*PBX3* wt载体。使用点突变试剂盒构建*HNF1A-AS1*和*PBX3*突变质粒。使用Lipofectamine 2000共转质粒转染,最后分析测定荧光素酶活性。

1.2.7 细胞侵袭

matrigel过夜融化后加入空DMEM培养基进行稀释(1 mg/mL),取100 μ L加入上室并干成胶状。细胞汇合达95%时,2.5 g/L的胰酶消化,小室中加入细胞悬液,下室加入DMEM,培养一短时间后进行固定和染色,并观察与计数。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 18.0 软件进行数据分析;用单因素方差进行多组间比较,LSD-t 检验进行组间两两比较; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 下调 *HNFI A-AS1* 表达对 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT 的影响

与 HOK 细胞相比, HSC-6 细胞中 *HNFI A-AS1* 表达上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 1A。与 siRNA 组相比, *HNFI A-AS1* siRNA 组细胞内 *HNFI A-AS1* 表达降低, *HNFI A-AS1* siRNA 组细胞增殖活力下调, HSC-6 细胞侵袭数目减少, N-cadherin 表达降低, E-cadherin 表达升高, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。见图 1B~1G。

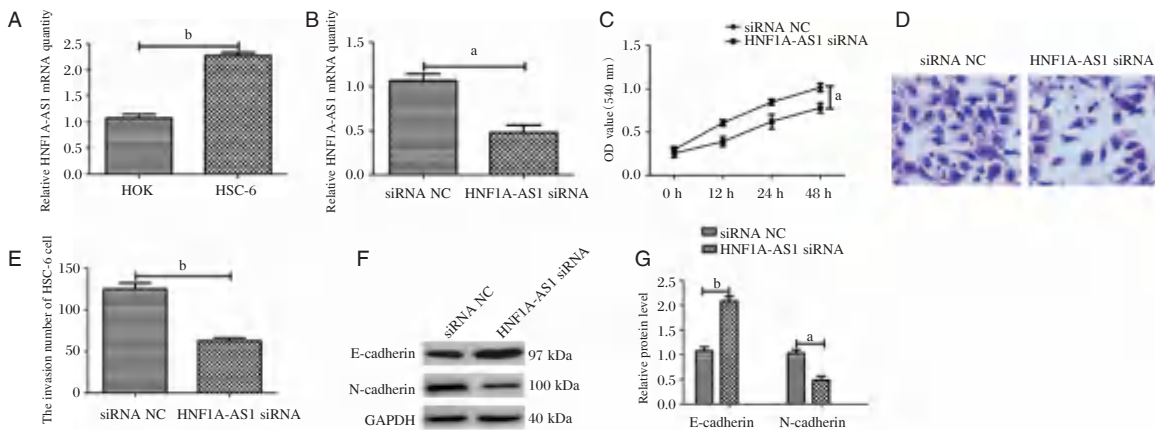
2.2 *HNFI A-AS1* 与 miR-320d 的靶向关系

HNFI A-AS1 与其靶基因 *miR-320d* 的结合

位点见图 2A。与 *HNFI A-AS1* wt+mimics control 组相比, *HNFI A-AS1* wt+*miR-320d* 组 HSC-6 细胞荧光素酶活性降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 *HNFI A-AS1* mut+mimics control 组相比, *HNFI A-AS1* mut+*miR-320d* 组 HSC-6 细胞荧光素酶活性无变化 ($P > 0.05$), 见图 2B。与 siRNA NC 组相比, *HNFI A-AS1* siRNA 组细胞内 *miR-320d* 表达量上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 2C。

2.3 下调 *miR-320d* 表达对 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT 的影响

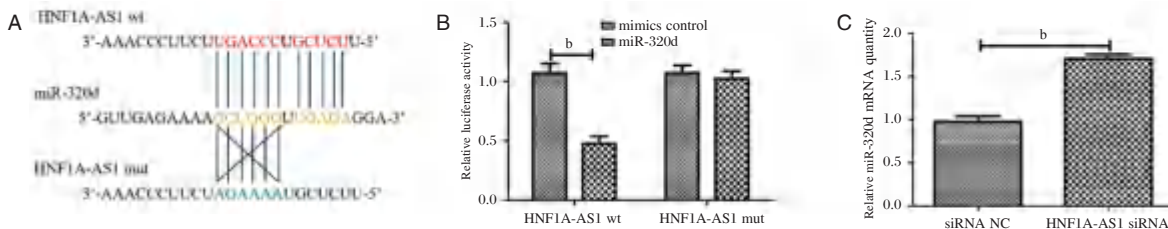
与 HOK 细胞相比, HSC-6 细胞中 *miR-320d* 表达下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 3A。与 inhibitor NC 组相比, *miR-320d* inhibitor 组 HSC-6 细胞内 *miR-320d* 表达降低, HSC-6 细胞增殖活力上升, 细胞侵袭数目增加, E-cadherin 表达降低, N-cadherin 表达升高, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。见图 3B~3G。



注:A, RT-qPCR 检测 *HNFI A-AS1* 的表达量; B, RT-qPCR 检测 *HNFI A-AS1* 的沉默效果; C, HSC-6 细胞活力检测; D, Transwell 检测 HSC-6 细胞侵袭数目(结晶紫染色, 200 \times); E, HSC-6 细胞侵袭数目统计; F, Western blot 检测 EMT 蛋白表达; G, HSC-6 细胞 EMT 蛋白表达量统计。a 表示 $P < 0.05$, b 表示 $P < 0.01$ 。

图 1 下调 *HNFI A-AS1* 表达抑制了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT

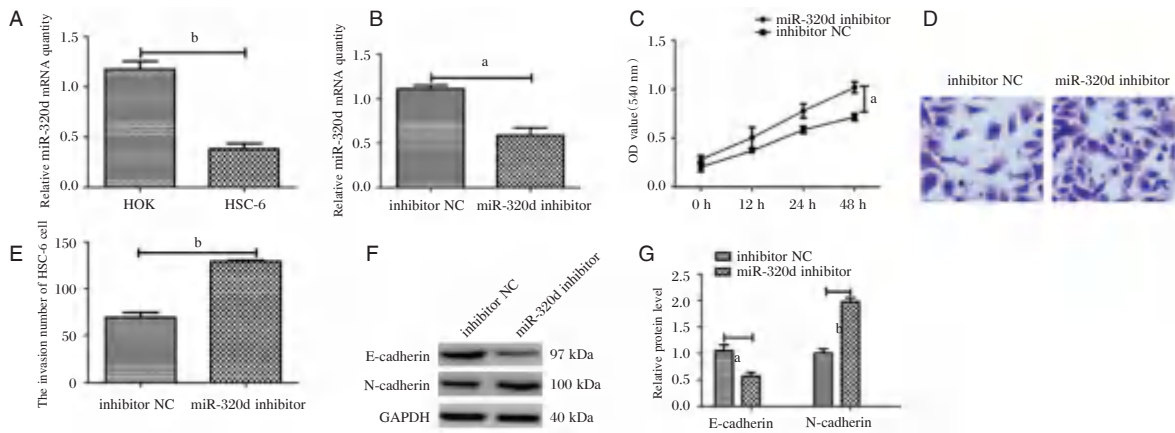
Figure 1 Down-regulation of *HNFI A-AS1* expression inhibited the proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells



注:A~B, miRanda 和荧光素酶分析 *HNFI A-AS1* 和 *miR-320d* 的关系; C, RT-qPCR 实验分析 *miR-320d* 基因含量。b 表示 $P < 0.01$ 。

图 2 *HNFI A-AS1* 靶向调控 *miR-320d* 表达

Figure 2 *HNFI A-AS1* targeted *miR-320d* and regulated its expression



注:A-B, RT-qPCR 实验分析 *miR-320d* 的表达及下调效果; C, HSC-6 细胞活力检测; D, Transwell 检测 HSC-6 细胞侵袭数目(结晶紫染色, 200×); E, HSC-6 细胞侵袭数目统计; F, Western blot 检测 EMT 蛋白表达; G, HSC-6 细胞 EMT 蛋白表达量统计。a 表示 $P < 0.05$, b 表示 $P < 0.01$ 。

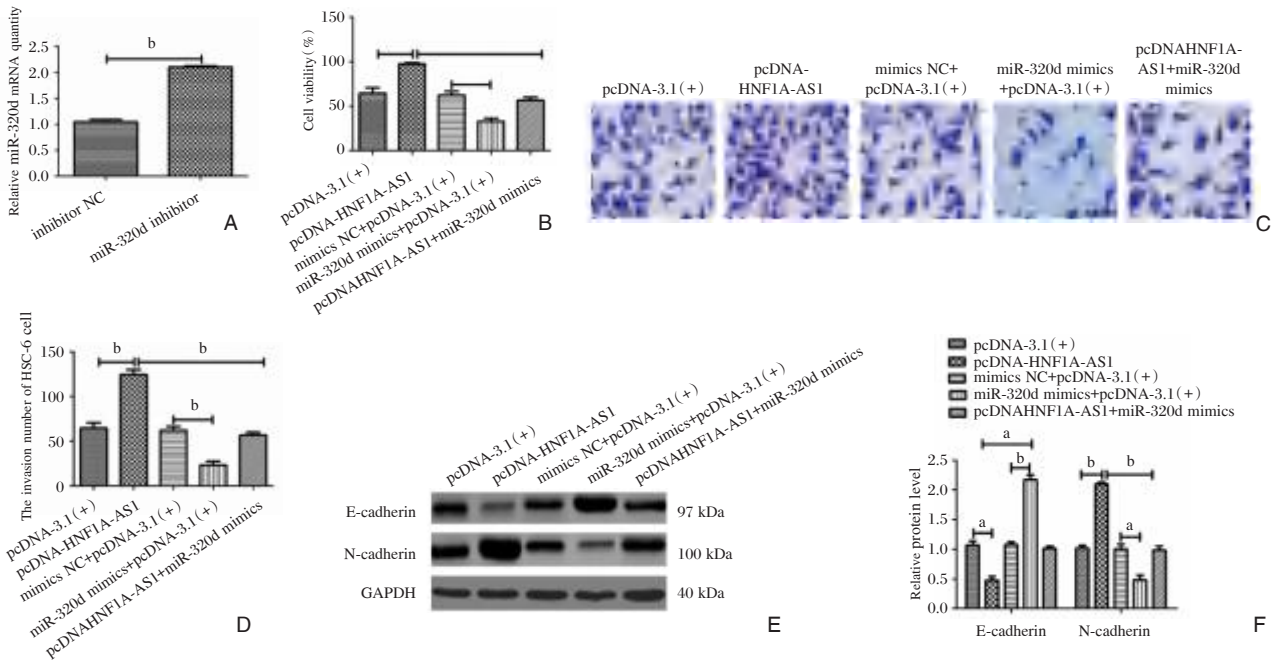
图 3 下调 *miR-320d* 表达促进了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT

Figure 3 Down-regulation of *miR-320d* expression promoted the proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells

2.4 上调 *HNF1A-AS1* 通过 *miR-320d* 对 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT 的影响

与 mimics NC 相比, *miR-320d* mimics 组细胞内 *miR-320d* 表达增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 4A。与 pcDNA-3.1(+) 组对比, pcDNA-3.1(+)-*HNF1A-AS1* 组细胞增殖活力上调, 细胞侵袭数目增加, E-cadherin 表达下降, N-cadherin 表达

上升, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05); 与 mimics NC+pcDNA-3.1(+) 组相比, *miR-320d* mimics+pcDNA-3.1(+) 组细胞增殖能力下降, 细胞侵袭数目减少, E-cadherin 表达上升, N-cadherin 表达下降, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05); 与 pcDNA-*HNF1A-AS1* 组相比, pcDNA-3.1(+)-*HNF1A-AS1* + *miR-320d* mimics 组 HSC-6 细胞增殖能力下降, 细胞



注:A, RT-qPCR 实验分析 *miR-320d* 基因含量; B, MTT 实验分析 *HNF1A-AS1* 通过 *miR-320d* 对 HSC-6 细胞增殖的影响; C, 细胞侵袭实验检测 *HNF1A-AS1* 通过 *miR-320d* 对 HSC-6 细胞侵袭的影响(结晶紫染色, 200×); D, HSC-6 细胞的侵袭数目; E, Western blot 检测 *HNF1A-AS1* 通过 *miR-320d* 对 HSC-6 细胞 EMT 的影响; F, E-cadherin、N-cadherin 蛋白的相对表达量。a 表示 $P < 0.05$, b 表示 $P < 0.01$ 。

图 4 *HNF1A-AS1* 通过 *miR-320d* 调控 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT

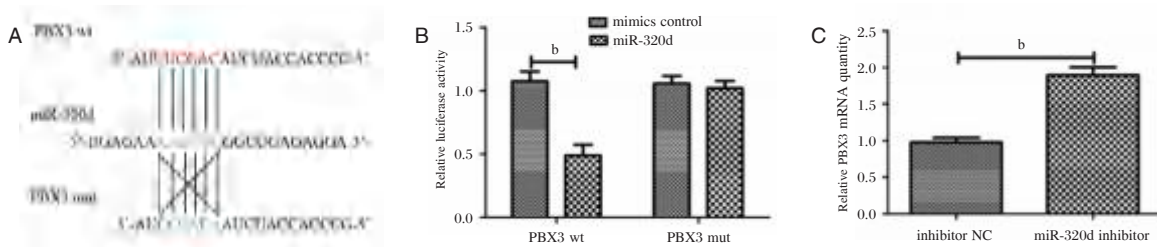
Figure 4 *HNF1A-AS1* regulated HSC-6 cell proliferation, invasion and EMT by *miR-320d*

侵袭数目减少, E-cadherin 表达上升, N-cadherin 表达下降, 差异有统计学意义 (P 均 <0.05)。见图 4B~4F。

2.5 miR-320d 与 PBX3 的靶向关系

miR-320d 与 PBX3 的结合位点见图 5A。与 PBX3 wt+mimics control 组相比, PBX3 wt+miR-320d

组 HSC-6 细胞荧光素酶活性降低, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 与 PBX3 mut+mimics control 组相比, PBX3 mut+miR-320d 组 HSC-6 细胞荧光素酶活性无变化 ($P>0.05$), 见图 5B。与 inhibitor NC 组相比, miR-320d inhibitor 组 PBX3 表达量升高, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见图 5C。



注: b 表示 $P<0.01$, A-B, TargetScan 和荧光素酶实验分析 miR-320d 和 PBX3 的关系; C, RT-qPCR 实验分析 PBX3 基因含量。

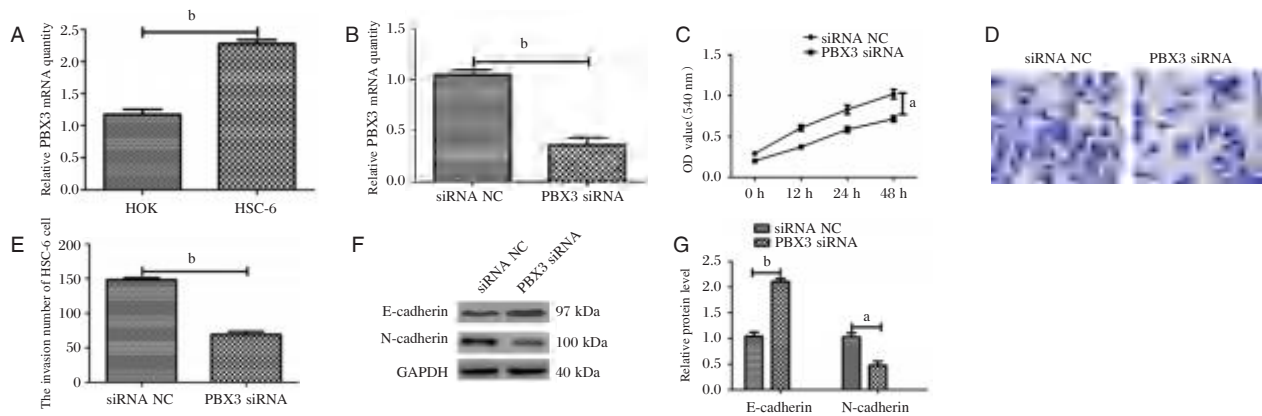
图 5 miR-320d 靶向调控 PBX3 表达

Figure 5 miR-320d targeted PBX3 and regulated its expression

2.6 下调 PBX3 表达对 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT 的影响

与 HOK 细胞相比, PBX3 在 HSC-6 细胞中的表达水平上调, 差异有统计学意义 ($P<0.01$) 见图 6A。与 siRNA NC 组相比, PBX3 siRNA 组 HSC-6

细胞中 PBX3 表达降低, HSC-6 细胞增殖活力下调, HSC-6 细胞侵袭数目减少, N-cadherin 表达降低, E-cadherin 表达升高, 差异有统计学意义 (P 均 <0.05)。见图 6B~6G。



注: A, B 为 RT-qPCR 检测 PBX3 表达量; C 为 MTT 检测 PBX3 对 HSC-6 细胞活力的影响; D 为 Transwell 检测 HSC-6 细胞侵袭数目 (结晶紫染色, 200 \times); E 为 HSC-6 细胞侵袭数目统计; F 为 Western blot 检测 EMT 蛋白表达; G 为 HSC-6 细胞 EMT 蛋白表达量统计。a 表示 $P<0.05$, b 表示 $P<0.01$ 。

图 6 下调 PBX3 表达抑制了 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT

Figure 6 Down-regulation of PBX3 expression promoted the proliferation, invasion and EMT of HSC-6 cells

3 讨论

研究表明, 长链非编码 RNA (Long non-coding RNA, lncRNA) 参与了肿瘤的增殖和侵袭和 EMT 等恶性生物学表型。例如 lncRNA CDKN2BAS 通过 miR-153-5p 促进肝癌转移^[10]; lncRNA SUMO1P3 通过 miR-320a 促进乳腺癌进展^[11]; lncRNA

PTENP1 通过 AKT 和 MAPK 抑制乳腺癌增殖^[12]。HNF1A-AS1 是从 HNF1A 基因转录的相反链转录得到, 在人原发性食管腺癌中首次筛选发现^[13]。研究表明 HNF1A-AS1 能够调节肺腺癌增殖和转移^[14]。在肝癌中, HNF1A-AS1 调控 hsa-miR-30b-5p 促进肝癌发展^[15]。另外, HNF1A-AS1 可能是治疗骨肉瘤的潜在靶点^[16]。这些研究表明, HNF1A-AS1

可能是一个促癌分子。本研究发现 *HNF1A-AS1* 在口腔癌细胞中基因表达高于正常细胞,在体外,沉默 *HNF1A-AS1* 抑制肿瘤细胞生长与转移,这些数据表明,*HNF1A-AS1* 在口腔癌发展过程中起致癌基因的作用。

目前的研究表明,口腔癌中微小 RNA (microRNA, miRNA) 的差异表达可参与口腔癌的发展。最近的研究表明,miRNAs 的异常表达在口腔癌的发生发展中起着重要作用。如 *miR-155-5p* 靶向 *ZNF703* 抑制口腔癌细胞转移^[17]; *miR-205* 靶向 *IL-24* 抑制口腔癌细胞发展^[18]。本研究发现 *HNF1A-AS1* 靶向 *miR-320d* 促进口腔癌的发展。*miR-320d* 是 *miR-320* 家族的重要成员,已有研究报道 *miR-320* 家族在大肠腺瘤中下调;下调 *miR-320d* 促进胶质瘤生长^[19]; *miR-320d* 通过 *SOX4* 抑制乳腺癌进展^[20]。因 *miR-320d* 在口腔癌细胞中的表达情况是未知的,因此首先检测 *miR-320d* 在口腔癌和正常口腔细胞中的差异表达,结果发现 *miR-320d* 在口腔癌细胞中低表达。后续本实验使用沉默技术探讨了 *miR-320d* 的临床意义,发现干扰 *miR-320d* 促进了 HSC-6 细胞增殖与转移,进一步揭示了 *miR-320d* 在口腔癌发展中的作用。大量的研究证实,在胃癌、结肠癌和前列腺癌等多种恶性肿瘤中 *miR-144*、*let7* 等多种 miRNAs 靶向 *PBX3* 发挥抗肿瘤作用。本研究发现 *miR-320d* 和 *PBX3* 具有靶向调控作用。且 *PBX3* 在 HSC-6 细胞中高表达,干扰 *PBX3* 会抑制 HSC-6 细胞的增殖、侵袭和 EMT,而且 *HNF1A-AS1* 能够通过 *miR-320d* 调控 *PBX3* 的表达。

本研究的结果显示,*lncRNA HNF1A-AS1* 在口腔癌细胞中表达上调,并通过 *miR-320d/PBX3* 轴促进 HSC-6 细胞增殖、侵袭和 EMT。本研究进一步深化了口腔癌进展的机制,为临床应用提供了新的策略。

参考文献

[1] 张艳,兰霞斌,陈超.外泌体在口腔癌中的研究进展[J].肿瘤学杂志,2020,26(6):487-490.

[2] 马彝,廖贵清,张思恩,等.口腔癌及口咽癌颈部淋巴结转移规律的回溯性研究[J].中国实用医药,2021,16(16):180-183.

[3] Li P, Zhang G, Li J, et al. Long Noncoding RNA RGMB-AS1 Indicates a Poor Prognosis and Modulates Cell Proliferation, Migration and Invasion in Lung Adenocarcinoma [J]. PLoS One, 2016, 11(3):e0150790.

[4] Chang L, Qi H, Xiao Y, et al. Integrated analysis of noncoding RNAs and mRNAs reveals their potential roles in the biological activities of the growth hormone receptor [J]. Growth Horm IGF Res, 2016, 29: 11-20.

[5] Wen J, Xu J, Sun Q, et al. Upregulation of long non coding RNA PCAT-1 contributes to cell proliferation, migration and apoptosis in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(5):4481-4486.

[6] Cheng N, Guo Y. Long noncoding RNA NEAT1 promotes nasopharyngeal carcinoma progression through regulation of miR-124/NF- κ B pathway [J]. Onco Targets Ther, 2017, 11(10):5843-5853.

[7] Shi Y, Ye P, Long X. Differential Expression Profiles of the Transcriptome in Breast Cancer Cell Lines Revealed by Next Generation Sequencing [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(2):804-816.

[8] Fang C, Qiu S, Sun F, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 mediated repression of miR-34a/SIRT1/p53 feedback loop promotes the metastatic progression of colon cancer by functioning as a competing endogenous RNA [J]. Cancer Lett, 2017, 1(410):50-62.

[9] Zhan Y, Li Y, Guan B, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes proliferation and suppresses apoptosis of bladder cancer cells through upregulating Bcl-2 [J]. Oncotarget, 2017, 8(44):76656-76665.

[10] Chen J, Huang X, Wang W, et al. LncRNA CDKN2BAS predicts poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma and promotes metastasis via the miR-153-5p/ARHGAP18 signaling axis [J]. Aging (Albany NY), 2018, 10(11):3371-3381.

[11] Liu J, Song Z, Feng C, et al. The long non-coding RNA SU-MOIP3 facilitates breast cancer progression by negatively regulating miR-320a [J]. Am J Transl Res, 2017, 9(12):5594-5602.

[12] Chen S, Wang Y, Zhang J H, et al. Long non-coding RNA PTENP1 inhibits proliferation and migration of breast cancer cells via AKT and MAPK signaling pathways [J]. Oncology Letters, 2017, 14(4):4659-4662.

[13] Yang X, Song JH, Cheng Y, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and migration in oesophageal adenocarcinoma cells [J]. Gut, 2014, 63(6):881-890.

[14] Wu Y, Liu H, Shi X, et al. The long non-coding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and metastasis in lung adenocarcinoma [J]. Oncotarget, 2015, 6(11):9160-9172.

[15] Liu Z, Wei X, Zhang A, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 functioned as an oncogene and autophagy promoter in hepatocellular carcinoma through sponging hsa-miR-30b-5p [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(4):1268-1275.

[16] Zhao H, Hou W, Tao J, et al. Upregulation of lncRNA HNF1A-AS1 promotes cell proliferation and metastasis in osteosarcoma through activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(8):3503-3512.

血清 25(OH)D₃、NT-proBNP 与老年高血压伴慢性心力衰竭患者 MACE 风险的相关性

程磊^{1*} 宋虹² 魏嘉¹

[摘要] 目的 分析血清 25(OH)D₃、NT-proBNP 与老年高血压伴慢性心力衰竭(CHF)患者主要不良心血管事件(MACE)风险的相关性。方法 选取淮南朝阳医院老年医学科于2019年1月至2021年12月收治的91例老年高血压伴CHF患者作为研究对象,并根据患者出院6个月是否发生MACE分为观察组(发生MACE, $n=22$)和对照组(未发生MACE, $n=69$),比较两组的临床资料以及血清25(OH)D₃、NT-proBNP水平,采用Spearman相关性分析血清25(OH)D₃、NT-proBNP与MACE风险的相关性,采用多因素Logistic回归分析老年高血压伴CHF患者发生MACE的独立影响因素,并绘制受试者工作(ROC)曲线判断血清25(OH)D₃、NT-proBNP对老年高血压伴CHF患者发生MACE的预测价值。结果 观察组的左心室射血分数(LVEF)、血清25(OH)D₃明显低于对照组,且观察组的白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-2(IL-2)、NT-proBNP水平明显高于对照组,NYHA分级Ⅲ~Ⅳ级的比率高于对照组,差异有统计学意义($t=5.885, 6.973, 33.439, 43.147, 23.957, \chi^2=6.113, P$ 均 <0.05);经Spearman相关分析,老年高血压伴CHF患者的血清NT-proBNP表达水平与发生MACE呈正相关,而25(OH)D₃表达水平与发生MACE呈负相关($P<0.05$);Logistic回归分析显示,LVEF低水平、NYHA分级Ⅲ-Ⅳ级、IL-6、IL-2、25-(OH)D₃高水平、NT-proBNP低水平均为老年高血压伴CHF患者发生MACE的独立影响因素($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,血清25(OH)D₃、NT-proBNP以及联合检测预测老年高血压伴CHF患者发生MACE的曲线下面积为0.849、0.837、0.915。结论 血清25(OH)D₃、NT-proBNP可作为临床上预测老年高血压伴CHF患者MACE风险的辅助参考指标,为老年高血压伴CHF患者MACE风险的评估提供依据。

[关键词] 血清25(OH)D₃; NT-proBNP; 老年高血压伴慢性心力衰竭; MACE风险

Correlation between serum 25(OH)D₃, NT-proBNP and the risk of MACE in elderly hypertensive patients with chronic heart failure

CHENG Lei^{1*}, SONG Hong², WEI Jia¹

(1. Department of Geriatrics, Chaoyang Hospital, Huainan, Anhui, China, 232000; 2. Department of Cardiology, Chaoyang Hospital, Huainan, Anhui, China, 232000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between serum 25(OH)D₃, NT-proBNP and the risk of major adverse cardiovascular events (MACE) in elderly hypertensive patients with chronic heart failure (CHF). **Methods** A total of 91 elderly patients with hypertension and CHF who were admitted to the Department of Geriatrics of Chaoyang Hospital in Huainan from January 2019 to December 2021 were selected as the research subjects, and they were divided into the observation group according to whether the patients had MACE 6 months after discharge (incidence of MACE, $n=22$) and the control group (without MACE, $n=69$), the clinical data and serum 25(OH)D₃ and NT-proBNP levels were compared between the two groups, and the Spearman correlation was used to analyze the serum 25(OH)D₃ and NT-proBNP levels. The correlation with

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(1704f0804045)

作者单位:1. 安徽省淮南市朝阳医院老年科,安徽,淮南 232000

2. 安徽省淮南市朝阳医院心内科,安徽,淮南 232000

*通信作者:程磊, E-mail:cl13635549236@163.com

the risk of MACE, the multivariate Logistic regression was used to analyze the independent influencing factors of the occurrence of MACE in elderly hypertensive patients with CHF, and the receiver operating (ROC) curve was drawn to determine the effect of serum 25 (OH) D3 and NT-proBNP on elderly hypertensive patients. Predictive value of two parameters for MACE in patients with CHF was determined. **Results** The left ventricular ejection fraction (LVEF) and serum 25 (OH) D3 in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-2 (IL-2) and NT-proBNP in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the ratio of NYHA grade III-IV was higher than that in the control group. The difference was statistically significant ($t=5.885, 6.973, 33.439, 43.147, 23.957, \chi^2=6.113, P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the expression level of serum NT-proBNP was positively correlated with the occurrence of MACE in elderly patients with hypertension and CHF, while the expression level of 25 (OH) D3 was negatively correlated with the occurrence of MACE ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that low levels of LVEF, NYHA grade III-IV, high levels of IL-6, IL-2, 25-(OH) D3 and low levels of NT-proBNP were independent influencing factors of MACE in elderly hypertension patients with hypertension and CHF ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the areas under the curve of serum 25 (OH) D3, NT-proBNP and combined detection in predicting MACE in elderly patients with hypertension and CHF were 0.849, 0.837 and 0.915, respectively. **Conclusion** Clinically, serum 25 (OH) D3 and NT-proBNP can be used as auxiliary reference indicators for predicting the risk of MACE in elderly hypertensive patients with CHF, and provide a basis for the assessment of MACE risk in elderly hypertensive patients with CHF.

[**KEY WORDS**] Serum 25 (OH) D3; NT-proBNP; Elderly hypertension with chronic heart failure; MACE risk; Correlation

高血压能够加速患者心血管疾病的发生以及发展,并且最终促进其发展成慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)。近年来,随着人口老龄化的社会发展进程,高血压所致 CHF 有逐步升高的趋势。有研究表明,老年高血压伴慢性心力衰竭患者即使是在接受了标准化的抗心力衰竭以及降压治疗后,每年再入院率仍会达到 24%左右,且每年因主要不良心血管事件(Major Adverse Cardiovascular Events, MACE)而急诊治疗的次数可达 2-3 次^[1]。因此如何早期评价此类患者的预后情况成为临床工作的重点。临床上常采用血清指标来评估高血压合并 CHF 患者病情以及 MACE 的发生风险^[2]。血清 25-羟维生素 D3 [25(OH)D3] 作为循环中维生素 D 的主要形式,能够反映人体维生素 D 的储存水平,与心血管事件的发生具有一定的相关性^[3]。N 末端 B 型利钠肽前体(NT-proBNP)作为心力衰竭患者的标志物,与慢性心力衰竭、高血压以及冠心病的发生率呈正相关。因此,本研究主要探讨血清 25 (OH)D3 和 NT-proBNP 与老年高血压伴慢性心力衰竭患者 MACE 风险的相关性,现报道如下。

1 方法与资料

1.1 一般资料

选取淮南朝阳医院老年医学科于 2019 年 1 月

至 2021 年 12 月收治的 91 例老年高血压伴 CHF 患者作为研究对象,并根据患者出院 6 个月内是否发生 MACE 分为观察组(发生 MACE, $n=22$)和对照组(未发生 MACE, $n=69$)。纳入标准:①符合《慢性心力衰竭基层诊疗指南(2019 年)》^[4]中关于 CHF 的相关诊断标准;②符合《中国高血压防治指南(2018 年修订版)》^[5]中关于高血压的诊断标准;③年龄 ≥ 60 岁,病程 >1 年;④家属及病人均知情,并签署知情同意书。排除标准:①合并自身免疫性疾病或恶性肿瘤且预计生存期不足 3 个月者;②合并精神类疾病者;③急性心力衰竭、心源性休克以及恶性心律失常者。本研究经淮南朝阳医院医学伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 指标检测^[6-9]

患者于清晨空腹时采集其静脉血 4 mL,并置于促凝剂中凝固 30 min 后,放置于普通离心机中以 2 500 r/min,离心半径 8 cm,离心时间 10 min 的条件进行离心并收集血清标本,置于 -80°C 条件下保存待检,采用高效液相色谱-串联质谱法检测血清 25-(OH)D3 水平,仪器为液相色谱-串联质谱仪(厂商:美国 AB 公司,型号:Sciex API4000),采用电化学发光法检测 NT-proBNP 水平,仪器为电化学发光分析仪(厂商:上海裕隆医学检验所股份有

限公司,型号 e601),采用全自动化学发光免疫分析(厂家:武汉明德生物科技股份有限公司,型号:CF10)与配套试剂检测游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)水平。采用超声心动仪(厂商:美国飞利浦公司,型号:HD11)测定患者的心功能指标,主要包括有左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。采用酶联免疫吸附试验检测白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-2(Interleukin-2, IL-2)。

1.2.2 美国纽约心脏病学会心功能分级标准(New York heart association, NYHA)分级标准^[10]

I级:合并心脏病且不影响日常生活,一般活动不会引起心悸、心绞痛、气喘、疲劳等症状;II级:体力活动轻度受限,且休息时无自觉症状,一般活动不会引起症状;III级:体力活动明显受限,休息时无症状,低于一般体力活动会引起症状;IV级:无法参与任何体力活动,休息时仍会出现心衰,且活动后会加重。

1.2.3 MACE发生评估

患者出院后随访6个月,1个月有一次电话随访或定期复查,统计出现心力衰竭加重再入院、恶性心律失常、心肌梗死等MACE症状的患者数。

1.3 统计学方法

用SPSS 21.0软件处理数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用Spearman分析血清25(OH)D3、NT-proBNP与老年高血压伴CHF患者发生MACE的相关性;采用多因素Logistic回归分析老年高血压伴CHF患者发生MACE的独立影响因素,并采用受试者工作(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲线分析血清25(OH)D3、NT-proBNP对老年高血压伴CHF患者发生MACE的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响老年高血压伴CHF患者发生MACE的因素分析

单因素分析结果显示,两组的年龄、性别、高脂血症、吸烟史、LVESD、LVEDD、FT4、TSH等因素,比较差异无统计学意义($P > 0.05$),两组LVEF、

NYHA分级、IL-2、IL-6、25-(OH)D3、NT-proBNP水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 影响老年高血压伴CHF患者发生MACE的因素分析 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 1 Analysis of factors affecting the occurrence of MACE in elderly hypertensive patients with CHF $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

| 指标 | 观察组 (n=22) | 对照组 (n=69) | χ^2/t 值 | P值 |
|------------------|-----------------|-----------------|--------------|--------|
| 年龄(岁) | 69.41±6.10 | 70.16±6.23 | 0.494 | 0.623 |
| 性别 | | | | |
| 男 | 14(63.64) | 39(56.52) | 0.347 | 0.556 |
| 女 | 8(36.36) | 30(43.48) | | |
| 高脂血症 | | | | |
| 有 | 13(59.09) | 35(50.72) | 0.469 | 0.494 |
| 无 | 9(40.91) | 34(49.28) | | |
| 吸烟史 | | | | |
| 有 | 9(40.91) | 26(29.21) | 0.073 | 0.786 |
| 无 | 13(59.09) | 43(70.79) | | |
| LVESD(mm) | 46.70±8.01 | 43.97±7.98 | 1.396 | 0.166 |
| LVEDD(mm) | 60.71±6.13 | 59.34±6.19 | 0.906 | 0.367 |
| LVEF(%) | 34.23±4.91 | 41.47±5.06 | 5.885 | <0.001 |
| NYHA分级 | | | | |
| I~II级 | 10(45.45) | 51(73.91) | 6.113 | 0.013 |
| III~IV级 | 12(54.55) | 18(26.09) | | |
| FT4(pmol/L) | 17.29±3.01 | 17.71±3.39 | 0.519 | 0.605 |
| TSH(mIU/L) | 2.72±0.96 | 2.49±0.78 | 1.137 | 0.259 |
| IL-6(ng/L) | 23.31±1.29 | 11.67±1.46 | 33.439 | <0.001 |
| IL-2(ng/L) | 84.10±3.31 | 56.47±2.36 | 43.147 | <0.001 |
| 25-(OH)D3(μg/L) | 13.46±1.99 | 17.69±2.61 | 6.973 | <0.001 |
| NT-proBNP(pg/mL) | 6 078.49±496.71 | 3 367.74±450.94 | 23.957 | <0.001 |

2.2 不同NYHA分级25-(OH)D3和NT-proBNP水平的比较

随着NYHA分级的升高,25-(OH)D3呈下降趋势,而NT-proBNP、IL-6、IL-2呈上升趋势(P 均<0.05)。见表2。

表2 不同NYHA分级25-(OH)D3和NT-proBNP水平的比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of 25-(OH)D3 and NT-proBNP levels in different NYHA grades $(\bar{x} \pm s)$

| NYHA 分级 | n | 25-(OH)D 3(μg/L) | NT-proBNP (pg/mL) | IL-6 (ng/L) | IL-2 (ng/L) |
|------------|----|---------------------|----------------------|----------------|----------------|
| I~II级 | 61 | 18.13±2.41 | 3 037.63±453.52 | 20.19±1.07 | 69.94±3.19 |
| III~IV级 | 30 | 13.69±2.03 | 6 026.84±490.84 | 24.08±1.03 | 85.63±3.52 |
| t值 | | 8.683 | 28.765 | 15.283 | 18.602 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.3 血清25(OH)D3、NT-proBNP与老年高血压伴CHF患者发生MACE的相关性分析

经Spearman相关性分析,结果显示,NT-proBNP

表达水平与老年高血压伴 CHF 患者的 MACE 风险呈正相关($r=0.674, P<0.05$), 血清 25(OH)D3 水平与老年高血压伴 CHF 患者的 MACE 风险呈负相关($r=-0.711, P<0.05$)。

2.4 影响老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的多因素 Logistic 回归分析

以老年高血压伴 CHF 患者是否发生 MACE 作为因变量(否=0, 是=1), 以 LVEF、NYHA 分级(I~II 级=0, III~IV 级=1)、IL-2、IL-6、血清 25-(OH)D3、NT-proBNP 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。Logistic 回归分析结果显示, LVEF 低水平、NYHA 分级 III-IV 级、IL-6、IL-2、25-(OH)D3 高水平、NT-proBNP 低水平为老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的独立影响因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 影响老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate logistic regression analysis on the influence of MACE in elderly hypertensive patients with CHF

| 指标 | β 值 | SE 值 | Wald | OR 值 | 95% CI | P 值 |
|-------------------------------|-----------|-------|--------|-------|-------------|--------|
| LVEF (%) | -0.713 | 0.354 | 4.057 | 0.490 | 0.245~0.981 | 0.044 |
| NYHA 分级 | 1.181 | 0.407 | 8.420 | 3.258 | 1.467~7.233 | 0.004 |
| IL-6 (ng/L) | 0.367 | 0.167 | 4.829 | 1.443 | 1.040~2.002 | 0.028 |
| IL-2 (ng/L) | 0.409 | 0.171 | 5.721 | 1.505 | 1.077~2.105 | 0.017 |
| 25-(OH)D3 ($\mu\text{g/L}$) | -0.07 | 0.031 | 5.099 | 0.932 | 0.877~0.991 | 0.024 |
| NT-proBNP (pg/mL) | 0.381 | 0.079 | 23.259 | 1.464 | 1.254~1.709 | <0.001 |

2.5 血清 25(OH)D3、NT-proBNP 对老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的预测价值

联合预测的价值高于血清 25(OH)D3、NT-proBNP 单独检测对老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的预测价值。见表 4、图 1。

表 4 血清 25(OH)D3、NT-proBNP 对老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的预测价值

Table 4 Predictive value of serum 25(OH)D3 and NT-proBNP for MACE in elderly hypertensive patients with CHF

| 指标 | 临界值 | 约登指数 | 敏感度 | 特异度 | AUC | 95% CI |
|-------------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| 25-(OH)D3 ($\mu\text{g/L}$) | 15.61 | 0.640 | 0.867 | 0.825 | 0.849 | 0.806~0.881 |
| NT-proBNP (pg/mL) | 4796.78 | 0.721 | 0.876 | 0.845 | 0.837 | 0.789~0.873 |
| 两者联合 | | 0.841 | 0.906 | 0.935 | 0.915 | 0.884~0.971 |

3 讨论

CHF 是属于心脏病发展的终末阶段, 该阶段患者的死亡率十分高, CHF 具有病情复杂、症状多变等主要特点, 常以 β 受体阻滞剂、利尿剂等药物

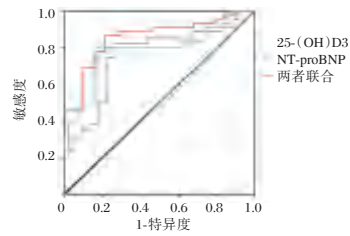


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

进行临床治疗。而高血压作为 CHF 的危险因素, 会加重 CHF 的病情, 提高 MACE 的发生风险, 影响患者预后。有研究表明, 若患者出现明显心衰症状后, 其预后的结果通常不理想, 因此找到准确评估老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 风险的指标为临床工作的重点。

血清 25(OH)D3 作为维生素在人体内的主要代谢产物, 能够用于提示体内维生素 D 的水平, 血液浓度稳定, 且具有较为准确、可靠以及便捷的临床检测方法^[11]。且早有研究报道, 机体内稳定的维生素 D 水平能够对心血管起到保护作用, 因此维生素 D 的缺乏和不足可能是心血管疾病发生和转归的影响因素^[12]。本研究结果显示与亢国良等^[3]研究结果一致, 考虑可能是由于血清 25(OH)D3 含量减低, 反映维生素 D 不足或缺乏, 从而减低与 CD3⁺/CD4⁺T 等免疫细胞的维生素 D 受体的结合, 导致抗炎因子水平下降, 使得抗炎效应减弱, 患者心功能减弱, 预后较差。且 NYHA 分级中 I~II 级血清 25(OH)D3 水平高于 III~IV 级, 进一步说明血清 25(OH)D3 降低与心功能减弱有关系。NT-proBNP 是一种由心肌细胞应激后产生的心脏激素, 能够调节心血管自身的稳定性, 是目前心衰诊疗中应用最广泛的生物标志物, 能够根据其浓度预测心衰病人发生心脏性猝死的可能性^[13]。本研究结果显示与陶红志等^[14]研究结果一致, 且有相关研究表明, 血清 NT-proBNP 的水平会在心肌细胞受到损伤时有显著提升, 提示血清 NT-proBNP 能够用于预测和评估老年高血压合并 CHF 患者 MACE 的发生风险。NYHA 分级中 I~II 级血清 NT-proBNP 水平低于 III~IV 级, 进一步说明 NT-proBNP 水平的升高与心功能减弱有关系。因此本研究采用 ROC 曲线评估了血清 25(OH)D3、NT-proBNP 对老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 的预测价值, 结果显示, 血清 25(OH)D3、NT-proBNP 以及两者联合预测老年高血压伴 CHF 患者发生 MACE 对应的 AUC 分别为 0.849、0.837、0.915, 具有较高的预测价值, 且两个血清指标

联合检测的预测价值高于单独检测的预测价值,提示血清 25(OH)D₃、NT-proBNP 以及两者联合检测可以预测老年高血压伴 CHF 患者出院 6 个月内是否发生 MACE。

此外本研究发现,NYHA 分级、LVEF 以及 IL-2、IL-6 高水平均为老年高血压合并 CHF 患者发生 MACE 的独立影响因素,考虑可能原因为:其一,有研究结果^[15]表示 NYHA 分级为 CHF 患者发生 MACE 的危险因素,随着病情的发展,NYHA 分级的提高,患者的心肌细胞会发生不可逆损伤,因此患者的 MACE 发生风险也随之变高;其二,LVEF 作为反映血流动力学变化的主要指标之一,与心肌梗死病人的预后有一定的关联,有相关研究^[16]表示,LVEF 能够作为急性 ST 段抬高型心肌梗死患者术后发生 MACE 的危险因素,与本研究结果相似;其三,IL-2、IL-6 作为促炎细胞因子,由于维生素 D 缺乏,导致机体的抗炎效应减弱,从而导致机体中的炎症因子含量增加^[17]。

综上所述,血清 25(OH)D₃、NT-proBNP 预测老年高血压伴 CHF 患者 MACE 风险具有较高的价值,可以为临床预测 MACE 发生提供参考价值。

参考文献

- [1] 柴菊爱,方莉,杨珊,等.血清褪黑素与老年高血压伴慢性心力衰竭患者近期预后的关系[J].心电与循环,2020,39(5):474-478+482.
- [2] 夏琰,黄治霞,刘东,等.慢性心力衰竭患者实验室指标与心功能水平相关性研究[J].华南预防医学,2020,46(4):447-449.
- [3] 亢国良,晋绍忠,杨珍俊.血清 25 羟维生素 D₃ 与老年慢性心力衰竭病情严重程度和预后的相关性[J].河南医学研究,2021,30(20):3752-3754.
- [4] 中华医学会,中华医学会全科医生杂志编辑部,心血管疾病初级护理指南专家组等.慢性心力衰竭基层诊疗指南(2019年)[J].中华全科医师杂志,2019(10):936-947.
- [5] 中国高血压学会,中国心脏病学会,中国医师协会高血压专业委员会等.中国高血压防治指南(2018年修订版)[J].中国心血管杂志,2019,24(1):24-56.
- [6] 向金峰,王刚,卜凡丹,等.血清 sIL-3、VEGF、25-(OH)D₃ 在急性白血病患者中水平及其与凝血功能相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(11):1822-1825+1829.
- [7] 金妍,石志华,张可.PCT、CRP 和 NT-ProBNP 在心功能不全并肺部感染中的变化及预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(6):1040-1043.
- [8] 孟静,何婷,李华,等.老年慢性心力衰竭患者甲状腺激素水平与认知功能、心功能及心血管事件的关系研究[J].现代生物医学进展,2021,21(23):4531-4535.
- [9] 陈燕,柳达,罗文利,等.老年慢性心力衰竭患者血清维生素 D 水平与病情严重程度及心血管事件的关系[J].中国老年学杂志,2018,38(10):2332-2334.
- [10] Caraballo C, Desai NR, Mulder H, et al. Clinical Implications of the New York Heart Association Classification [J]. J Am Heart Assoc, 2019,8(23):e014240.
- [11] 禹芸.血清 25 羟维生素 D、全段甲状旁腺素水平与 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化的相关性[J].中国老年学杂志,2020,40(5):942-945.
- [12] Latic N, Erben RG. Vitamin D and Cardiovascular Disease, with Emphasis on Hypertension, Atherosclerosis, and Heart Failure [J]. Int J Mol Sci, 2020,21(18):6483.
- [13] 李莉.NT-proBNP 联合血清 HCY 检测在心力衰竭患者治疗及预后评估中的应用[J].临床心血管病杂志,2018,34(4):334-337.
- [14] 陶红志,余国忠.心肌肌钙蛋白 I、高敏-C 反应蛋白、N 末端脑钠肽前体对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者经皮冠脉介入术后主要心血管不良事件的预测价值[J].中国医药导报,2022,19(23):57-61.
- [15] 鲁宁.血清 NT-proBNP、PIGF、PTX-3 对慢性心力衰竭病情评估及 MACE 的预测价值[J].中国处方药,2022,20(1):156-158.
- [16] 葛新颖,王丽,魏景兰.超声心动图参数联合 NT-proBNP 对 STEMI 病人 PCI 术后 MACE 的预测价值[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(14):2608-2611.
- [17] Charoenngam N, Holick MF. Immunologic Effects of Vitamin D on Human Health and Disease [J]. Nutrients, 2020,12(7):2097.
- [17] Uchida F, Hasegawa S, Baba O, et al. miRNA-155-5p Targets ZNF703 and Suppresses Metastasis in Oral Cancer Cells [J]. J Oral and Maxillofac Surg, 2014, 72(9): e113-e114.
- [18] Kim JS, Yu SK, Lee MH, et al. MicroRNA-205 directly regulates the tumor suppressor, interleukin-24, in human KB oral cancer cells [J]. Mol Cells, 2013, 35(1):17-24.
- [19] Qin CZ, Lv QL, Yang YT, et al. Down-regulation of MicroRNA-320d predicts poor overall survival and promotes the growth and invasive abilities in glioma [J]. Chem Biol Drug Des, 2017, 89(5):806-814.
- [20] Shi S, Hu X, Xu J, et al. MiR-320d suppresses the progression of breast cancer via lncRNA HNF1A-AS1 regulation and SOX4 inhibition [J]. RSC Adv, 2018, 8(34):19196-19207.

(上接第 2049 页)

非布司他辅助治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对外周血中NLRP3炎症小体及血清IL-1 β 、IL-18的调控作用

马延娟 赵建芹* 李春睿

[摘要] **目的** 研究非布司他辅助治疗糖尿病周围神经病变(DPN)的疗效及对外周血核甘酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体及血清白细胞介素(IL)-1 β 、IL-18的调控作用。**方法** 选择2019年1月至2020年1月期间本院收治的DPN合并高尿酸血症患者,按照数字表随机分为接受常规降糖及甲钴胺片营养神经治疗的对照组100例、非布司他降尿酸联合常规治疗的观察组100例。治疗前及治疗后24周时,检测糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、尿酸(UA)水平,外周血NLRP3、ASC、Caspase-1的mRNA相对表达水平,血IL-1 β 、IL-18的含量;评价多伦多临床神经病变评分量表(TCSS)评分。**结果** 治疗后24周时,观察组的HbA1c、FBG、TC、TG、LDL-C水平与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。UA水平,TCSS评分,NLRP3、ASC、Caspase-1的mRNA相对表达水平,IL-1 β 、IL-18的含量均低于对照组,差异有统计学意义($t=8.572、5.466、6.583、5.933、6.581、7.812、14.851、15.833、11.944、13.933、11.855,P<0.05$)。**结论** 非布司他辅助治疗DPN合并高尿酸血症显著降低UA、改善神经传导功能并抑制外周血NLRP3炎症小体的表达及IL-1 β 、IL-18的释放。

[关键词] 糖尿病周围神经病变;高尿酸血症;非布司他;NLRP3炎症小体

Efficacy of febxostat in the adjuvant treatment of diabetic peripheral neuropathy and its regulation effect on NLRP3 inflammasome in peripheral blood and IL-1 β , IL-18 in serum

MA Yanjuan, ZHAO Jianqin*, LI Chunrui

(Endocrine Department, Sunshine Ronghe Hospital, Weifang, Shandong, China, 261000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the efficacy of febxostat in the adjuvant treatment of diabetic peripheral neuropathy (DPN) and the regulation effect on nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in peripheral blood and interleukin (IL)-1 β , IL-18 in serum. **Methods** DPN patients with hyperuricemia admitted to our hospital from January 2019 to January 2020 were randomly divided into control group ($n=100$) receiving conventional hypoglycemic and mecobalamin tablet nutritional neurotherapy, observation group ($n=100$) receiving febxostat uric acid lowering combined with conventional treatment according to the number table. Before and 24 weeks after treatment, the levels of glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), uric acid (UA), and the mRNA relative expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in peripheral blood, the content of serum interleukin (IL)-1 β , IL-18 were detected, the Toronto Clinical Neuropathy Score Scale (TCSS) was evaluated. **Results** 24 weeks after treatment, there were no significant differences in HbA1c, FBG, TC, TG and LDL-C levels between the observation group and the control group ($P>0.05$), the UA level, TCSS score, mRNA relative expression levels of NLRP3, ASC and Caspase-1, the contents of IL-1 β and IL-18 in serum of observation group were

作者单位:阳光融和医院内分泌科,山东,潍坊261000

*通信作者:赵建芹, E-mail: Myanjuan2022@163.com

lower than those of control group ($t=8.572, 5.466, 6.583, 5.933, 6.581, 7.812, 14.851, 15.833, 11.944, 13.933, 11.855, P<0.05$). **Conclusion** Febuxostat adjunctive treatment of DPN with hyperuricemia can significantly reduce UA, improve nerve conduction function and inhibit NLRP3 inflammasome expression in peripheral blood and IL-1 β , IL-18 production in serum.

[KEY WORDS] Diabetic peripheral neuropathy; Hyperuricemia; Febuxostat; NLRP3 inflammasome

糖尿病周围神经病变(Diabetic peripheral neuropathy, DPN)是常见的糖尿病微血管并发症,表现为肢体麻木、肌力减退,也增加糖尿病足的发病风险,需要进行积极防治^[1-2]。DPN的发病涉及多因素,血糖控制不达标、血糖波动大、糖尿病病程长是已知的DPN相关因素,近些年的分子生物学研究还证实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)炎症小体介导的炎症反应与DPN的发病相关,抑制NLRP3炎症小体显著改善DPN的临床症状^[3-4]。高尿酸血症是2型糖尿病常见的合并症,有研究报道尿酸(uric acid, UA)水平升高是DPN发病的独立危险因素,提示控制尿酸水平是防治DPN的有效手段^[5]。非布司他是一类通过抑制黄嘌呤氧化酶活性减少尿酸生成的药物,相关的基础研究还证实非布司他在降尿酸的同时对NLRP3炎症小体介导的炎症反应具有抑制作用^[6]。为了深入认识非布司他在DPN治疗中的价值,本研究将分析非布司他辅助治疗DPN的疗效及对NLRP3炎症小体的调控作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2019年1月至2020年1月期间阳光融和医院收治的DPN合并高尿酸血症患者作为研究对象200例,其中男性114例、女性86例,年龄(61.11 \pm 9.62)岁,糖尿病病程(6.24 \pm 0.91)年。

纳入标准:①符合指南中DPN的诊断标准^[7];②血糖控制达标,监测糖化血红蛋白(HbA1c) \leq 7%^[7];③合并高尿酸血症;④取得入组患者知情同意。排除标准:①近3月使用过降尿酸药物;②感染性多发性神经炎、颈椎病、腰椎间盘突出症等其他疾病导致周围神经病变;③合并自身免疫性疾病、恶性肿瘤、急慢性感染;④既往有痛风病史。

1.2 分组及治疗方法

采用数字表将入组患者分为观察组和对照组,每组各100例。观察组中男性56例、女性44

例,年龄(61.38 \pm 9.32)岁,糖尿病病程(6.31 \pm 0.95)年;对照组中男性58例、女性42例,年龄(60.84 \pm 9.91)岁,糖尿病病程(6.18 \pm 1.03)年。两组间一般资料的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。两组患者的治疗如下:对照组接受常规降糖治疗,给予甲钴胺片0.5 mg口服3次/日,连续治疗24周;观察组接受常规降糖及甲钴胺片治疗,加用非布司他片40 mg口服1次/日,连续治疗24周。

1.3 观察指标

1.3.1 实验室生化指标

治疗前和治疗后24周,均留取2组患者的空腹外周静脉血3~5 mL,采用全自动生化分析仪检测HbA1c、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、UA的水平。

1.3.2 多伦多临床神经病变评分量表(Toronto clinical scoring system, TCSS)评分^[7]

治疗前和治疗后24周,参照指南^[7]采用TCSS从症状、感觉、神经反射三个方面进行评分,症状包括足部疼痛、麻木、针刺感、无力、共济失调、上肢症状,感觉包括触压觉、温度觉、痛觉、振动觉和位置觉,神经反射包括膝反射、踝反射。总分19分,得分越高、周围神经病变越严重。

1.3.3 运动神经传导速度(Motor nerve conduction velocity, MCV)和感觉神经传导速度(Sensory nerve conduction velocity, SCV)

治疗前和治疗后24周,根据指南^[7],采用肌电图仪检测正中神经和腓神经MCV、正中神经和腓神经SCV。

1.3.4 外周血NLRP3、ACS、Caspase-1表达

治疗前和治疗后24周,均留取2组患者的空腹外周静脉血3~5 mL,采用全血RNA提取试剂盒(北京天根公司)提取外周血中的总RNA,采用cDNA第一链合成试剂盒(北京天根公司)将外周血总RNA反转录为cDNA,采用荧光定量检测试剂盒(北京天根公司)对cDNA中NLRP3、ACS、

Caspase-1 的表达水平进行 PCR 检测,按照试剂盒配置荧光定量 PCR 反应体系,在 PCR 仪中完成反应后计算 NLRP3、ACS、Caspase-1 的 mRNA 相对表达水平。

1.3.5 血清 IL-1 β 、IL-18 含量

治疗前和治疗后 24 周,均留取 2 组患者的空腹外周静脉血 3~5 mL,静置 30 min 后离心分离血清,采用酶联免疫吸附测试的试剂盒(上海酶联公司)检测 IL-1 β 、IL-18 的含量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学处理,计量资

料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后生化指标的比较

治疗前,两组患者的 HbA1c、FBG、TC、TG、LDL-C、UA 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,两组患者的 HbA1c、FBG、TC、TG、LDL-C 水平与治疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),观察组患者的 UA 水平较治疗前降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者治疗前后生化指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of biochemical index of patients between 2 groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | TC (mmol/L) | | TG (mmol/L) | | HbA1c (%) | | FBG (mmol/L) | | LDL-C (mmol/L) | | UA (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 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 5.85 \pm 0.94 | 5.73 \pm 0.98 | 2.00 \pm 0.62 | 1.94 \pm 0.42 | 6.85 \pm 0.95 | 6.77 \pm 0.91 | 6.32 \pm 0.94 | 6.21 \pm 1.03 | 2.75 \pm 0.88 | 2.61 \pm 0.79 | 354.41 \pm 62.31 | 277.31 \pm 41.32 |
| 对照组 | 5.81 \pm 0.92 | 5.69 \pm 0.74 | 2.04 \pm 0.48 | 1.97 \pm 0.61 | 6.79 \pm 0.84 | 6.63 \pm 0.96 | 6.29 \pm 0.91 | 6.35 \pm 1.08 | 2.72 \pm 0.71 | 2.65 \pm 0.83 | 346.41 \pm 59.39 | 340.31 \pm 61.23 |
| <i>t</i> 值 | 0.304 | 0.326 | 0.510 | 0.405 | 0.473 | 1.508 | 0.229 | 0.938 | 0.265 | 0.349 | 0.929 | 8.533 |
| <i>P</i> 值 | 0.761 | 0.745 | 0.510 | 0.405 | 0.637 | 0.291 | 0.819 | 0.349 | 0.791 | 0.727 | 0.354 | 0.000 |

2.2 两组患者治疗前后 TCSS 评分的比较

治疗前,两组患者的 TCSS 评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后观察组患者的 TCSS 评分低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者治疗前后 TCSS 评分的比较

Table 2 Comparison of TCSS score of patients between 2 groups before and after treatment

| 组别 | <i>n</i> | 治疗前 | 治疗后 |
|------------|----------|-----------------|------------------|
| 观察组 | 100 | 9.05 \pm 1.84 | 7.03 \pm 1.65* |
| 对照组 | 100 | 9.02 \pm 1.77 | 8.22 \pm 1.42* |
| <i>t</i> 值 | | 0.118 | 5.466 |
| <i>P</i> 值 | | 0.907 | 0.000 |

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

2.3 两组患者治疗前后 MCV 和 SCV 的比较

治疗前,2 组患者的正中神经和腓神经 MCV、正中神经和腓神经 SCV 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后观察组患者的正中神经和腓神经 MCV、正中神经和腓神经 SCV 均高于对照组,

差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组患者治疗前后外周血 NLRP3、ACS、Caspase-1 表达水平的比较

治疗前,2 组患者的外周血 NLRP3、ACS、Caspase-1 mRNA 相对表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后对照组患者的外周血 NLRP3、ACS、Caspase-1 mRNA 相对表达水平与治疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)且观察组患者的外周血 NLRP3、ACS、Caspase-1 mRNA 相对表达水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 两组患者治疗前后血清 IL-1 β 、IL-18 含量的比较

治疗前,2 组患者的血清 IL-1 β 、IL-18 含量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后对照组患者的血清 IL-1 β 、IL-18 含量与治疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)且观察组患者的血清 IL-1 β 、IL-18 含量低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

表 3 两组患者治疗前后 MCV 和 SCV 的比较 (m/s)($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of MCV and SCV of patients between 2 groups before and after treatment (m/s)($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 正中神经 MCV | | 正中神经 SCV | | 腓神经 MCV | | 腓神经 SCV | |
|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 40.10 \pm 5.42 | 46.52 \pm 4.95 | 42.31 \pm 5.23 | 48.46 \pm 4.49 | 37.51 \pm 4.42 | 42.86 \pm 3.92 | 30.12 \pm 3.42 | 35.23 \pm 3.14 |
| 对照组 | 40.83 \pm 4.87 | 43.24 \pm 5.12 | 42.24 \pm 4.89 | 45.01 \pm 4.26 | 37.14 \pm 4.19 | 40.04 \pm 4.52 | 30.44 \pm 3.27 | 33.01 \pm 2.95 |
| <i>t</i> 值 | 1.002 | 4.606 | 0.097 | 5.574 | 0.608 | 4.713 | 0.676 | 5.123 |
| <i>P</i> 值 | 0.318 | 0.000 | 0.923 | 0.000 | 0.544 | 0.000 | 0.499 | 0.000 |

表4 两组患者治疗前后外周血 NLRP3、ACS、Caspase-1 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of expression levels of NLRP3, ACS, Caspase-1 in peripheral blood of patients between 2 groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | NLRP3 | | ACS | | Caspase-1 | |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 1.04±0.15 | 0.74±0.12 | 1.02±0.17 | 0.71±0.14 | 0.97±0.14 | 0.78±0.10 |
| 对照组 | 1.00±0.14 | 0.98±0.12 | 1.00±0.18 | 1.03±0.12 | 1.00±0.17 | 0.96±0.14 |
| t值 | 1.732 | 14.142 | 0.808 | 17.354 | 1.362 | 17.352 |
| P值 | 0.083 | 0.000 | 0.807 | 0.000 | 0.175 | 0.000 |

表5 两组患者治疗前后血清 IL-1 β 、IL-18 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of serum IL-1 β , IL-18 contents of patients between 2 groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | IL-1 β (ng/mL) | | IL-18(pg/mL) | |
|-----|----------------------|-----------|--------------|-------------|
| | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 8.39±1.25 | 6.14±0.93 | 69.51±12.14 | 50.31±8.84 |
| 对照组 | 8.51±1.33 | 8.38±1.21 | 68.47±9.39 | 66.96±10.32 |
| t值 | 0.657 | 14.678 | 0.677 | 12.253 |
| P值 | 0.512 | 0.000 | 0.499 | 0.000 |

3 讨论

DPN是常见的糖尿病微血管并发症之一,控制血糖、营养神经、改善微循环是临床治疗DPN的常用手段,但整体疗效并不理想。近些年关于DPN发病机制及危险因素的研究认为血尿酸水平升高与DPN的发病及严重程度密切相关^[8-9]。尿酸是体内嘌呤代谢的产物,具有促炎、促氧化的生物学作用,不仅参与痛风性关节炎的发病,还能损伤血管内皮细胞、造成多种大血管并发症和微血管并发症的发生^[10-11]。因此,针对DPN患者进行降尿酸治疗能够削弱尿酸介导的促炎、促氧化作用,进而抑制高尿酸对血管内皮的损伤并起到血管并发症的防治作用。

非布司他是用于高尿酸血症及痛风治疗的降尿酸药物,通过抑制黄嘌呤氧化酶的活性减少尿酸生成,本研究将非布司他用于DPN合并高尿酸血症患者的辅助治疗,旨在发挥该药物的降尿酸作用,进而减轻高尿酸对周围神经的损害。经过24周的非布司他联合常规治疗后,患者的UA水平较治疗前降低且低于接受常规治疗的对照组,而其他糖脂代谢指标在治疗后未发生明显变化、与对照组比较也无差异,提示非布司他用于DPN合并高尿酸血症患者的辅助治疗显著减少尿酸生成且不影响糖脂代谢。进一步通过TCSS评分和

肌电图检测对DPN的病情进行评价,对照组经常规降糖及营养神经治疗后的TCSS评分及MCV、SCV均较治疗前改善,提示治疗后DPN的病情得到改善;观察组经常规治疗联合非布司他降尿酸后TCSS评分及MCV、SCV的改善较对照组显著,提示非布司他用于DPN辅助治疗能够改进疗效、改善神经传导功能。

近些年关于DPN的分子生物学研究认为炎症反应在周围神经损害中起到重要作用,血糖升高、血糖波动大以及合并高尿酸血症均具有促炎作用^[12-13]。NLRP3炎症小体在炎症反应的调控中发挥重要作用,该小体由NLRP3、ASC、Caspase-1组成,其功能是促进下游炎症细胞因子IL-1 β 、IL-18生成。在DPN的发病过程中,NLRP3炎症小体的激活与周围神经损害有关^[14];另有痛风相关的研究证实UA对NLRP3炎症小体的激活具有促进作用,非布司他在降尿酸的提示显著抑制NLRP3炎症小体的激活^[6,15]。本研究将非布司他辅助治疗用于DPN后,对NLRP3炎症小体的激活进行了评价,常规治疗后NLRP3炎症小体无明显变化,而加用非布司他辅助治疗后外周血NLRP3、ASC、Caspase-1的表达及血清IL-1 β 、IL-18的含量均明显降低,表明非布司他辅助治疗用于DPN显著抑制NLRP3炎症小体的激活,这也可能是非布司他起到DPN治疗作用的相关分子机制。

综上所述,非布司他辅助治疗DPN合并高尿酸血症显著降低UA、改善神经传导功能并抑制NLRP3炎症小体激活,这为今后发现DPN新的治疗手段、使用非布司他治疗DPN提供了临床研究证据。

参考文献

- [1] Selvarajah D, Kar D, Khunti K, et al. Diabetic peripheral neuropathy: advances in diagnosis and strategies for screening and early intervention [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(12): 938-948.
- [2] Sloan G, Selvarajah D, Tesfaye S, et al. Pathogenesis, diagnosis and clinical management of diabetic sensorimotor peripheral neuropathy [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(7): 400-420.
- [3] Sun Q, Wang C, Yan B, et al. Jinmaitong Ameliorates Diabetic Peripheral Neuropathy Through Suppressing TXNIP/NLRP3 Inflammasome Activation In The Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Model [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 17(12): 2145-2155.

急性白血病患者血清 GFI1B 表达及其与临床病理特征、预后的关系

张志敏^{1*} 张永梅¹ 刘鑫艳² 潘志兰¹

[摘要] 目的 探讨血清独立生长因子 1B(GFI1B)在急性白血病(AL)患者中的表达情况,并分析其与临床病理特征、预后的关系。方法 选取2018年1月至2020年12月石家庄市人民医院收治的86例AL患者为观察组,另选取同期30名健康体检者为对照组,采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测两组患者的GFI1B表达水平,收集患者的临床病理特征,并分析GFI1B表达与其临床病理特征、预后的关系。结果 观察组患者的GFI1B表达水平高于对照组($t=34.707, P<0.05$);AL患者中GFI1B高表达与危险度分型、白细胞有关,差异有统计学意义($\chi^2=19.037, 6.557, P<0.05$)。AL患者的1年总生存率为59.30%。GFI1B高表达组(56.52%)1年生存率低于GFI1B低表达组(88.24%),差异有统计学意义(Log-rank=41.01 $P<0.05$)。单因素分析显示,髓外浸润、查尔森合并症指数(CCI)评分、GFI1B表达是影响AL患者预后的危险因素($P<0.05$)。Cox回归分析显示,髓外浸润、CCI评分、GFI1B表达均为AL患者预后不良的独立影响因素($P<0.05$)。结论 GFI1B在AL患者中呈高表达,GFI1B异常升高会增加患者预后死亡风险,同时提示了GFI1B参与调节AL的发生及发展,可作为AL患者潜在的预后标志物和治疗靶点。

[关键词] 急性白血病;独立生长因子1B;临床病理特征

Serum GFI1B expression in patients with acute leukemia and its relationship with clinicopathological features and prognosis

ZHANG Zhimin^{1*}, ZHANG Yongmei¹, LIU Xinyan², PAN Zhilan¹

(1. Department of Hematology, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000;
2. Department of Internal Medicine, Shijiazhuang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of serum independent growth factor 1B (GFI1B) in patients with acute leukemia (AL), and to analyze its relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** A total of 86 AL patients admitted to Shijiazhuang People's Hospital from January 2018 to December 2020 were selected as the observation group, and 30 healthy subjects during the same period were selected as the control group. Real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression level of GFI1B in the two groups, and the clinicopathological characteristics of the patients were collected. The relationship between GFI1B expression and clinicopathological features and prognosis was analyzed. **Results** The expression level of GFI1B in the observation group was higher than that in the control group ($t=34.707, P<0.05$). The high expression of GFI1B in AL patients was related to the risk type and leukocytes, and the difference was statistically significant ($\chi^2=19.037, 6.557, P<0.05$). In this study, the 1-year overall survival rate of AL patients was 59.30%. The 1-year survival rate of the GFI1B high expression group (56.52%) was lower than that of the GFI1B low expression group (88.24%), and the difference was statistically

基金项目:河北省医学科学研究计划项目(20160803,20210534)

作者单位:1.石家庄市人民医院血液内一科,河北,石家庄050000

2.石家庄市中医院内科,河北,石家庄050000

*通信作者:张志敏, E-mail: zzm18032909369@163.com

significant (Log-rank=41.01, $P<0.05$). Univariate analysis showed that extramedullary infiltration, Chalon's complication index (CCI) score and GFI1B expression were risk factors affecting the prognosis of AL patients ($P<0.05$). Cox regression analysis showed that extramedullary infiltration, CCI score and GFI1B expression were independent influencing factors for poor prognosis of AL patients ($P<0.05$). **Conclusion** GFI1B is highly expressed in AL patients, and an abnormal increase of GFI1B will increase the risk of prognostic death in patients, suggesting that GFI1B is involved in regulating the occurrence and development of AL, and can be used as a potential prognostic marker and therapeutic target in AL patients.

[KEY WORDS] Acute leukemia; Growth factor - independent 1B; Clinicopathological features; Prognosis

急性白血病(Acute leukemia, AL)是造血干细胞的恶性克隆疾病,在发病过程中骨髓中异常细胞大量繁殖,使正常造血受到影响,且髓外脏器也受到浸润^[1]。近年来,随着造血干细胞移植技术的发展及新药的研发,治疗AL患者的效果有了较大提升,但5年的存活率只达到约30%,且 ≥ 65 岁老年人群多因化疗方案耐药引起复发,导致死亡率较高,并且近年来死亡率仍未明显下降^[2]。为此,需寻找更多新的生物标志物,以识别高危患者并成为治疗新靶点。独立生长因子1B(growth factor-independent 1B, GFI1B)属一种核转录抑制因子,位于人类基因组9q34.13,主要表达于胎儿、成人的红细胞系及巨核细胞系,是两系生成和分化过程中一种必需的转录因子,GFI1B表达与急性白血病、T细胞淋巴瘤、重型再生障碍性贫血等疾病的发生及发展密切相关^[3]。然而,有关GFI1B表达在AL患者中的作用尚未明确。本研究旨在探讨GFI1B表达与AL患者临床病理特征、预后的关系,以为临床应用提供理论支持,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2018年1月至2020年12月石家庄市人民医院收治的86例AL患者为研究对象,男性48例,女性38例,平均年龄(41.27 \pm 4.21)岁;另选取同期在本院进行体检的健康者30名为对照组,男性19例,女性11例,平均年龄(39.58 \pm 4.08)岁。两组性别、年龄对比差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:①AL患者由临床、血常规检查、骨髓象确诊^[4];②临床资料完整者;③研究对象及家属知情同意并自愿参加。排除标准:①其他血液系统疾病;②合并恶性肿瘤者;③妊娠期或哺乳期女性。本研究已经医院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 血清GFI1B表达检测

1.2.1.1 仪器及试剂 实时荧光定量聚合酶链反应仪(Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, PQ-PCR, 公司:美国PE公司;型号:ABI-5700)检测并动态观察GFI1B表达;PQ-PCR引物合成、荧光探针合成、PQ-PCR用dNTP、5 \times PQ-PCR buffer于广东达安临床检验中心购买,PCR引物合成在北京赛百盛公司购买。

1.2.1.2 检测方法 ①细胞分离及提取总RNA:抽取两组新鲜外周血4 mL, 107 U/L肝素抗凝,加4 mL Ficoll淋巴细胞分离液,2 000 rpm转速离心20 min(离心半径10 cm)分离单个核细胞,用0.9%氯化钠注射液清洗3次。采用异硫氰酸胍-苯酚-氯仿一步法提取细胞总RNA, 1g/L琼脂糖凝胶电泳,紫外投射仪显示28S和18S两条清晰条带,显示提取完整的RNA。②cDNA合成:逆转录体系20 μ L,包括细胞总RNA 1 μ g,随机引物500 ng, RNA酶抑制剂25 U, 5 \times 逆转录反应缓冲液4 μ L, MMLV逆转录酶200 U。37 $^{\circ}$ C、60 min, 94 $^{\circ}$ C、5 min, 1 $^{\circ}$ C、2 min终止反应。③GFI1B正向引物:5'-TCTGGCCTCCTGCCCTTAC-3';GFI1B反向引物:5-CCGGCTCTCGTTTGAGGTT-3', GFI1B探针序列:5'-FAM-CCGGTGCCAGAGAC-CAGGC-TAMRA-3' GFI1B扩增片段长度为117 bp。④PQ-PCR反应:待测样本和阳性标准品按以下反应体系进行:反应体系50 μ L,包括5 \times 定量PCR buffer 10 μ L,上游引物F(10 pmol/ μ L) 1 μ L,下游引物R(10 pmol/ μ L) 1 μ L,探针(5 pmol/ μ L) 1 μ L, dNTPs(10 mmol/L) 1 μ L, Taq酶(3 U/ μ L) 1 μ L, cDNA或阳性标准品1 μ L, ddH₂O 4 μ L。扩增条件:93 $^{\circ}$ C、3 min, 93 $^{\circ}$ C、30 s, 55 $^{\circ}$ C、45 s,共40个循环。⑤定量分析产物:反应结束后,随机选择5个阳性模板标准梯度点分析,若相关系数 $r^2>0.97$,表

明线性关系较好,可确定为定量标准曲线,根据标准曲线得出样本荧光定量反应的绝对定量值,即为目的基因的表达水平。将 GFI1B 表达 $\geq 0.5 \times 10^6$ 拷贝/ μL cDNA 定义为高表达^[5]。

1.2.2 资料的收集

通过查阅病历获得患者的临床资料,包括性别、年龄、疾病类型、危险度分型、白细胞、髓外浸润、查尔森合并症指数(Charlson Comorbidity Index, CCI)评分^[6]。

对观察组进行为期1年的随访,随访形式包括电话随访、门诊复诊。以患者死亡为终点事件,本研究随访截止时间为2021年12月31日,以了解AL患者的预后情况。

1.3 统计学方法

本研究采用SPSS 21.0软件分析处理数据。计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间行t检验;计数资料用n(%)表示,AL患者中GFI1B表达与临床病理特征的关系采用 χ^2 检验,建立Cox风险比例模型分析GFI1B表达与AL患者预后的关系;采用Kaplan-Meier法设计生存曲线,并用Log-Rank法比较组间的生存差异。当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组GFI1B表达水平比较

观察组患者的GFI1B表达水平 (0.78 ± 0.11) 高于对照组 (0.06 ± 0.01) ,差异有统计学意义($t = 34.707, P < 0.05$)。

2.2 GFI1B高表达与临床病理特征的关系

AL患者中GFI1B高表达与危险度分型、白细胞有关,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.3 影响AL患者预后的单因素分析

本研究AL患者的1年总生存率为59.30%(51/86)。单因素分析显示,髓外浸润、CCI评分、GFI1B表达均是影响AL患者预后的危险因素,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.4 影响AL患者预后的Cox分析

以AL患者预后为因变量进行Cox多因素回归分析,结果显示,髓外浸润、CCI评分、GFI1B表达均是AL患者预后不良的独立影响因素,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。GFI1B高表达组(56.52%)1年生存率低于GFI1B低表达组(88.24%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。

表1 GFI1B高表达与临床病理特征的关系 [n(%)]

Table 1 Relationship between GFI1B overexpression and clinicopathological features [n(%)]

| 因素 | GFI1B高表达 (n=62) | χ^2 值 | P值 |
|------------------------|-----------------|------------|---------------|
| 年龄(岁) | <65 | 38(61.29) | 0.906 0.341 |
| | ≥ 65 | 24(38.71) | |
| 性别 | 男 | 33(53.23) | 0.072 0.788 |
| | 女 | 29(46.77) | |
| 疾病类型 | 急性淋巴细胞白血病 | 49(79.03) | 0.594 0.441 |
| | 急性髓系白血病 | 13(20.97) | |
| 髓外浸润 | 有 | 28(45.16) | 0.164 0.686 |
| | 无 | 34(54.84) | |
| 危险度分型 | 高危 | 45(72.58) | 19.037 <0.001 |
| | 低、中危 | 14(22.58) | |
| CCI评分(分) | 0~1 | 36(58.06) | 0.291 0.590 |
| | ≥ 2 | 27(43.55) | |
| 白细胞($\times 10^9/L$) | <100 | 20(32.26) | 6.557 0.010 |
| | ≥ 100 | 42(67.74) | |

表2 影响AL患者预后的单因素分析 [n(%)]

Table 2 Univariate analysis of influencing prognosis of AL patients [n(%)]

| 因素 | n | 1年生存率 | χ^2 值 | P值 |
|---|------------|-----------|---------------|----|
| 年龄(岁) | <65 | 21(50.00) | 0.220 0.639 | |
| | ≥ 65 | 28(63.64) | | |
| 性别 | 男 | 28(58.33) | 0.082 0.775 | |
| | 女 | 38(55.26) | | |
| 疾病类型 | 急性淋巴细胞白血病 | 9(45.00) | 1.525 0.217 | |
| | 急性髓系白血病 | 66(60.61) | | |
| 髓外浸润 | 有 | 10(25.00) | 31.194 <0.001 | |
| | 无 | 39(84.78) | | |
| 危险度分型 | 高危 | 30(53.57) | 0.759 0.384 | |
| | 低、中危 | 19(63.33) | | |
| CCI评分(分) | 0~1 | 47(72.31) | 22.630 <0.001 | |
| | ≥ 2 | 2(9.52) | | |
| 白细胞($\times 10^9/L$) | <100 | 10(45.45) | 1.601 0.206 | |
| | ≥ 100 | 64(60.94) | | |
| GFI1B表达 ($\times 10^6$ 拷贝/ μL cDNA) | ≥ 0.5 | 39(56.52) | 8.446 0.004 | |
| | <0.5 | 17(88.24) | | |

3 讨论

AL是造血干细胞的恶性克隆性疾病,主要表现为白血病细胞增殖、分化和凋亡异常,而正常的造血功能受到影响。目前,临床上治疗AL患者主要是最大限度消灭白血病细胞群体,抑制白血病

表3 影响AL患者预后的Cox分析

Table 3 Cox analysis of influencing prognosis of AL patients

| 变量 | 赋值 | β 值 | S.E值 | Wald值 | HR值 | 95% CI | P值 |
|--|-----------------------|-----------|-------|--------|-------|--------------|-------|
| 髓外浸润 | 有=1, 无=0 | 0.861 | 0.152 | 32.086 | 2.367 | 1.756~3.187 | 0.000 |
| CCI评分 | $\geq 2=1, 0\sim 1=0$ | 0.722 | 0.301 | 5.754 | 2.056 | 1.141~3.714 | 0.032 |
| GFI1B表达($\times 10^6$ 拷贝/ μ L cDNA) | $\geq 0.5=1, < 0.5=0$ | 1.499 | 0.522 | 7.286 | 4.477 | 1.610~12.454 | 0.005 |

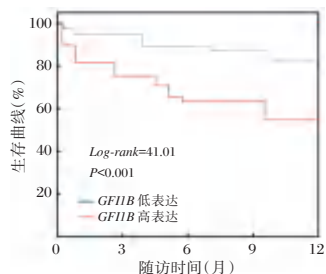


图1 GFI1B表达与AL患者1年生存率的关系

Figure 1 Relationship between GFI1B expression and 1 year survival rate of AL patients

细胞的异常增殖,同时对因白血病细胞浸润而引起的各种临床表现可有效缓解。尽管医学技术在不断地发展,但AL患者仍存在较高的病死率。因此,急需寻找更多新的生物标志物来作为患者预后标志物及治疗新靶点。GFI1B是在人类基因组中发现的与GFI1结构十分相似的一种核转录抑制因子,同时也是红系、巨系生成和分化过程中的一种必需转录因子^[7]。GFI1B表达与AL、T细胞淋巴瘤、重型再生障碍性贫血等疾病的发生及发展密切相关,但其表达对AL患者的临床病理特征及预后关系仍需进一步探讨。

本研究采用qRT-PCR技术检测AL患者和健康体检者的GFI1B表达情况,结果显示,观察组患者的GFI1B表达水平高于对照组,提示GFI1B异常高表达与AL的发生密切相关,与既往研究相符^[8]。AL是造血干细胞的异常增殖所致,且是一个多步骤多基因参与的过程,故治疗该疾病的首要步骤是控制细胞生长的基因表达异常或其编码蛋白功能异常^[9]。调控细胞转化常以转录因子形式进行转化,最后使细胞转录调控非正常,而GFI1B属该类因子的一种^[10]。GFI1B一旦发生过度表达,可通过激活一系列细胞相关调节因子的表达从而抑制细胞的凋亡及促进细胞的增殖的作用,进而使肿瘤恶性发展。本研究发现GFI1B高表达与危险度分型、白细胞有关。GFI1B是一种锌指蛋白,具有转录抑制因子的功能,对于产生确定的红细胞和巨核细胞谱系至关重要^[11]。可能由

于GFI1B对造血分化的表观遗传调控取决于辅因子CoREST和LSD1,在GFI1B的SNAG结构域之间的相互作用介导的过程中,这些辅因子被募集到GFI1B靶基因的启动子区域,抑制这一过程会干扰红细胞和巨核细胞的分化^[12]。Cox回归分析显示,髓外浸润、CCI评分、GFI1B表达均为AL患者预后不良的独立影响因素。结果提示AL患者的GFI1B表达异常,可能会促进疾病的恶性进展,严重影响患者预后,也表明动态监测GFI1B对AL患者预后有着重要的指导意义。有研究显示^[13],缺乏GFI1B的小鼠不能生成成熟的红细胞,而在这些小鼠的肝脏中红系和巨核系生成的前体物质增多,这表明GFI1B在红系和巨核系的生成和分化中起了重要的作用。当患者出现髓外浸润时,肿瘤负荷较高,导致肿瘤细胞清除较慢,虽在治疗后可得到缓解,但复发风险会增加,且影响预后^[14]。CCI评分 ≥ 2 分是AL患者预后不良独立影响因素,可能是由于患者常合并心、肝、肺等重要器官功能障碍,严重性的合并症会降低机体对药物清除力以及影响机体抵抗力^[15]。另有研究表明,GFI1B表达不仅能够诱导细胞周期依赖激酶抑制物p21 Waf1/Cip的产生及表达,导致细胞滞留在G0期,且还可与GFI1基因相互作用使细胞癌变,因此GFI1B高表达会增加AL患者病死率风险^[16]。

综上所述,GFI1B在AL患者中呈高表达态,其表达异常升高会增加预后的死亡风险,GFI1B参与调节AL的发生及发展,可作为AL患者潜在的预后标志物和治疗新靶点。此外,临床可加强对AL患者GFI1B的动态监测,以提高患者的生存率。本研究还存在不足之处,样本量较少,未来需开展大病例数进一步研究。

参考文献

- [1] 赵君,赵双双,赵晖.急性髓系白血病患者住院费用及其影响因素[J].华南预防医学,2021,47(6):807-810.
- [2] Fathi AT, Wander SA, Blonquist TM, et al. Phase I study of the aurora A kinase inhibitor alisertib with induction chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia[J]. Haematology

- logica, 2017, 102(4): 719-727.
- [3] Shooshtarizadeh P, Helness A, Vadnais C, et al. Gfi1b regulates the level of Wnt/ β -catenin signaling in hematopoietic stem cells and megakaryocytes[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1270.
- [4] 李萨萨, 杨友卫, 武琳琳, 等. 血浆 CD64、PCT 及 hs-CRP 水平在急性白血病化疗后合并细菌感染预后的评估[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(8): 1082-1085+1098.
- [5] 张志敏, 刘鑫艳, 张永梅, 等. GFI1B 在急性髓系白血病中表达及对临床疗效的评估[J]. *解放军医药杂志*, 2021, 33(8): 30-34.
- [6] Chien SH, Yao M, Li CC, et al. Charlson comorbidity index predicts outcomes of elderly after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome[J]. *J Formos Med Assoc*, 2021, 120(12): 2144-2152.
- [7] van Oorschot R, Hansen M, Koornneef JM, et al. Molecular mechanisms of bleeding disorder associated GFI1BQ287* mutation and its affected pathways in megakaryocytes and platelets[J]. *Haematologica*, 2019, 104(7): 1460-1472.
- [8] Van Bergen MGJM, Marneth AE, Hoogendijk AJ, et al. Specific proteome changes in platelets from individuals with GATA1-, GFI1B-, and RUNX1-linked bleeding disorders[J]. *Blood*, 2021, 138(1): 86-90.
- [9] 谭卡, 何深, 匡霞, 等. 急性白血病患者化疗后肺部感染特点与影响因素及风险预测模型[J/OL]. *中华医院感染学杂志*, 2022(8): 1144-1148.
- [10] Gomes AM, Kurochkin I, Chang B, et al. Cooperative Transcription Factor Induction Mediates Hemogenic Reprogramming[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(10): 2821-2835.e7.
- [11] 储双凤, 陈志, 罗卫星, 等. 贵州黑山羊 GFI1B 基因的原核表达、蛋白纯化及多克隆抗体制备[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2019, 40(6): 76-81+92.
- [12] Ishikawa Y, Gamo K, Yabuki M, et al. A Novel LSD1 Inhibitor T-3775440 Disrupts GFI1B-Containing Complex Leading to Transdifferentiation and Impaired Growth of AML Cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(2): 273-284.
- [13] Ishii H, Park WY, So J, et al. Loss of myeloid-specific lamin A/C drives lung metastasis through Gfi-1 and C/EBP ϵ -mediated granulocytic differentiation[J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(7): 679-690.
- [14] 王一涵, 王奕丹, 惠赫童, 等. 急性淋巴细胞白血病移植瘤模型小鼠髓外浸润过程中血清 Wnt5A 和 LINE-1 启动子甲基化水平检测及其意义[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(2): 284-290.
- [15] 胡海辉. 依托泊苷方案对儿童急性髓系白血病的疗效及预后影响因素分析[J]. *实用癌症杂志*, 2022, 37(5): 794-797.
- [16] Thivakaran A, Botezatu L, Hönes JM, et al. Gfi1b: a key player in the genesis and maintenance of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome[J]. *Haematologica*, 2018, 103(4): 614-625.

(上接第 2058 页)

- [4] Kang L, Yayi H, Fang Z, et al. Dexmedetomidine attenuates P2X4 and NLRP3 expression in the spine of rats with diabetic neuropathic pain[J]. *Acta Cir Bras*, 2019, 34(11): e201901105.
- [5] 邝桂梅, 卢燕红, 张炎芬, 等. 2 型糖尿病周围神经病变患者血脂异常、尿酸水平关系的相关性分析[J]. *中国社区医师*, 2021, 37(36): 107-108.
- [6] 尤杨, 夏岳, 戚国庆, 等. 非布司他对高尿酸血症模型大鼠血清尿酸水平和肾组织中 NLRP3 蛋白表达水平的影响[J]. *吉林: 吉林大学学报(医学版)*, 2019, 45(6): 1367-1372.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. *中华糖尿病杂志*, 2018, 10(1): 4-67.
- [8] Kaewput W, Thongprayoon C, Rangsin R, et al. The Association between Serum Uric Acid and Peripheral Neuropathy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Multicenter Nationwide CrossSectional Study[J]. *Korean J Fam Med*, 2020, 41(3): 189-194.
- [9] Lin X, Xu L, Zhao D, et al. Correlation between serum uric acid and diabetic peripheral neuropathy in T2DM patients[J]. *J Neurol Sci*, 2018, 15(385): 78-82.
- [10] Hong Q, Wang L, Huang Z, et al. High Concentrations of Uric Acid and Angiotensin II Act Additively to Produce Endothelial Injury[J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 22(2020): 8387654.
- [11] Xiong Q, Liu J, Xu Y, et al. Effects of Uric Acid on Diabetes Mellitus and Its Chronic Complications[J]. *Int J Endocrinol*, 2019, 13(2019): 9691345.
- [12] Baum P, Toyka KV, Blüher M, et al. Inflammatory Mechanisms in the Pathophysiology of Diabetic Peripheral Neuropathy (DN)-New Aspects[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10835.
- [13] 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.
- [14] 蒋凤, 朱静和, 刘青员, 等. 醛糖还原酶抑制剂对糖尿病周围神经病变患者 NLRP3 炎性体表达的影响[J]. *海南医学*, 2020, 31(21): 2750-2754.
- [15] Nomura J, Kobayashi T, So A, et al. Febuxostat, a Xanthine Oxidoreductase Inhibitor, Decreases NLRP3-dependent Inflammation in Macrophages by Activating the Purine Salvage Pathway and Restoring Cellular Bioenergetics[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 17314.

血清 RDW、CRP 及 IL-33 对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值

孙军¹ 张丽阳² 高军¹ 时彩丽¹ 兰端云³ 温昌明^{1*}

【摘要】目的 探讨血清 RDW、CRP 及 IL-33 对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值。方法 选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月南阳市中心医院神经内科就诊的 136 例颅内复杂动脉瘤患者作为研究对象。所有患者均予以血流导向装置治疗,术后 6 个月采用 Rankin 量表评估患者预后情况,依据预后情况分为预后良好组 104 例和预后不良组 32 例。检测患者血清 RDW、CRP 及 IL-33 水平,分析上述血清指标与患者预后的关系及预测价值。结果 预后良好组患者血清 RDW、CRP 及 IL-33 水平优于预后不良组,差异有统计学意义($t=8.198, 18.372, 3.038, P<0.05$);血清 RDW、CRP 及 IL-33 水平升高是颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗后短期预后不良的独立影响因素($P<0.05$);ROC 曲线图分析结果显示,血清 RDW、CRP 及 IL-33 水平联合检测时的 AUC 为 0.892,灵敏度为 87.1%,特异度为 90.2%。结论 颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗后短期预后不良患者存在血清 RDW、CRP 及 IL-33 异常表达,且其表达水平上调提示患者预后不良,三者联合检测时诊断效能最高。

【关键词】 红细胞分布宽度; C 反应蛋白; 白介素-33; 颅内复杂动脉瘤; 血流导向装置治疗; 短期预后

Predictive value of serum RDW, CRP and IL-33 on the short-term prognosis of patients with complex intracranial aneurysm treated with blood flow diverting device

SUN Jun¹, ZHANG Liyang², GAO Jun¹, SHI Caili¹, LAN Duanyun³, WEN Changming^{1*}

(1. Department of Neurology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000; 2. Outpatient Clinic, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000; 3. Endocrinology Dept/ Endocrinology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the predictive value of serum RDW, CRP and IL-33 on the short-term prognosis of patients with complex intracranial aneurysm treated with blood flow diverting device. **Methods** From January 2019 to January 2022, 136 patients with complex intracranial aneurysm who visited the Department of Neurology, Nanyang Central Hospital were selected as the research subjects. All patients were treated with blood flow diversion device, and the prognosis of patients was evaluated by Rankin scale 6 months after operation. According to the prognosis, they were divided into a good prognosis group of 104 cases and a poor prognosis group of 32 cases. The serum levels of RDW, CRP and IL-33 were detected, and the relationship and predictive value of the above serum indicators with the prognosis of the patients were analyzed. **Results** The serum levels of RDW, CRP and IL-33 in the good prognosis group were better than those in the poor prognosis group ($t=8.198, 18.372, 3.038, P<0.05$). Increased serum RDW, CRP and IL-33 levels were independent influencing factors of poor short-term prognosis in patients with complex intracranial aneurysm

基金项目:河南省科技发展计划(192102310349)

作者单位:1. 南阳市中心医院神经内科,河南,南阳 473000

2. 南阳市中心医院优诊室门诊,河南,南阳 473000

3. 南阳市中心医院内分泌科,河南,南阳 473000

*通信作者:温昌明, E-mail: luhjuan36@126.com

treated with blood flow diverting device ($P < 0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the AUC of the combined detection of serum RDW, CRP and IL-33 levels was 0.892, the sensitivity was 87.1%, and the specificity was 90.2%. **Conclusion** Patients with complex intracranial aneurysms with poor short-term prognosis have abnormal expressions of serum RDW, CRP and IL-33 after blood flow diversion device treatment, and the up-regulation of their expression levels indicates poor prognosis of patients. The combined detection of the three has the highest diagnostic efficiency.

[KEY WORDS] Red blood cell distribution width; C-reactive protein; Interleukin-33; Complex intracranial aneurysm; Blood flow diversion device therapy; Short-term prognosis

颅内复杂动脉瘤是神经内科常见疾病,该病发病隐蔽,病情进展迅速,病情恶化程度高,致残致死率高,对患者的危害极大。随着颅内复杂动脉瘤发生率和检出率的增加,其治疗策略问题一直是临床医生难以解决的问题。血流导向装置治疗是颅内复杂动脉瘤的有效治疗手段,其治疗原理是肿瘤血管内血流动力学发生变化,使肿瘤血管内的血管内血栓生成,促使瘤颈部内膜化,修复载瘤动脉,进而重建瘤颈部生理解剖,以达到治疗动脉瘤的目的^[1-2]。尽管颅内复杂动脉瘤患者可以采用血流导向装置治疗,但仍有部分患者因个体差异原因,存在较高后遗症和病死率,严重影响患者生存质量。因此,临床上迫切需要寻找可以预测颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的标志物,以期尽在干预改善预后。白介素-33 (interleukin 33, IL-33) 和 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 是一种参与炎症反应的细胞因子,能反映心脑血管疾病的炎症情况^[3]。红细胞分布宽度 (red blood cell distribution width, RDW) 水平的提高是一种反映人体炎症反应状况和心脑血管血栓性疾病预后的指标,尤其是对心脑血管疾病的预后具有较高的特异性^[4]。本研究将探讨血清 RDW、CRP 及 IL-33 对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值,以期为临床可能的更敏感生物标志物提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月南阳市中心医院神经内科就诊的 136 例颅内复杂动脉瘤患者作为研究对象。纳入标准:①符合颅内复杂动脉瘤的诊断标准^[5],并经动脉造影证实;②单发囊性动脉瘤或血泡动脉瘤、夹层动脉瘤或床突多发动脉瘤;③均采用血流导向装置治疗;④临床资料完整、病理情况以及随访情况完整者;⑤患者及家属

均知情同意本研究。排除标准:①存在抗血小板药物禁忌症的患者;②严重心肝肾等重要脏器功能损伤;③伴有其他颅内血管性疾病者;④存在血液性疾病、肿瘤疾病、自身免疫性疾病、严重感染性疾病者;⑤入院前 1 个月曾使用过抗凝剂或激素药物;⑥合并精神障碍。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集患者一般资料,包括年龄、性别、身体质量指数 (Body Mass Index, BMI)、住院时间、吸烟情况、饮酒情况、基础疾病情况 (高血压、糖尿病、高血脂、冠心病)、动脉瘤部位、脑出血情况、术后并发症。

1.2.2 实验室指标检测

术后 6 个月,抽取患者清晨空腹静脉血 5 mL,置于真空抗凝管中静置 30 min,低温高速离心机 (厂家:长沙湘仪离心机仪器公司,型号:H-1850R) 以 3 000 r/min 离心 10 min,离心半径为 15 cm,取上清液,冷藏备用。采用全自动血细胞分析仪 (生产厂家:深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,型号:BC-3300CT 型) 检测血清 RDW 含量;采用全自动生化分析仪 (厂家:日立公司,型号:7600 型) 以酶联免疫吸附试验 (Elisa) 法检测血清 CRP 及 IL-33 水平 (试剂盒:南京建成生物工程研究所有限公司)。

1.2.3 随访及预后分组

术后 6 个月,采用改良 Rankin 评分量表 (MRS)^[6] 评估患者预后情况,量表一共分为 7 级,0 级:无任何症状;1 级:有症状但无明显的伤残,能够完成日常工作和活动;2 级:轻微残疾,无法完成工作和活动,能够独立处理自己的事情;3 级:中等残疾,需要他人的帮助,但不能行走;4 级:重度残疾,在没有他人的帮助下,无法行走和自理;5 级:严重残疾,卧床不起、大小便失禁,需 24 小时照料;6 级:死亡。依据预后情况分为预后良好组和预后不良组,预后良好组 104 例,预后不良组为 32 例。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。服从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,采用 χ^2 检验;多因素分析采用Logistic回归分析,找出颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后不良的独立影响因素;绘制ROC曲线,评估血清RDW、CRP及IL-33水平对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床特征比较

两组患者年龄、性别、BMI、住院时间、吸烟情况、饮酒情况、基础疾病情况(高血压、糖尿病、高血脂、冠心病)、动脉瘤部位、脑出血情况、术后并发症比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组血清RDW、CRP及IL-33水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组患者临床特征比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

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

| 项目 | 预后良好组 n=104 | 预后不良组 n=32 | t/ χ^2 值 | P值 |
|------------------------|----------------|---------------|---------------|-------|
| 性别 | | | | |
| 男 | 48(46.15) | 17(53.12) | 0.476 | 0.490 |
| 女 | 56(53.85) | 15(46.87) | | |
| 年龄(岁) | 58.52±5.66 | 59.71±5.45 | 1.048 | 0.296 |
| BMI | 21.25±1.24 | 21.18±1.50 | 0.265 | 0.791 |
| 住院时间 | 12.26±3.48 | 13.71±4.76 | 1.880 | 0.062 |
| 有吸烟史 | 40(38.46) | 10(31.25) | 0.547 | 0.459 |
| 有饮酒史 | 38(36.53) | 13(40.62) | 0.174 | 0.676 |
| 有高血压 | 58(55.76) | 19(59.37) | 0.129 | 0.719 |
| 有糖尿病 | 47(45.19) | 16(50.00) | 0.227 | 0.633 |
| 有高血脂 | 39(37.50) | 14(43.75) | 0.401 | 0.526 |
| 有冠心病 | 20(19.23) | 8(25.00) | 0.498 | 0.480 |
| 动脉瘤部位 | | | | |
| 大脑前-前交通 | 26(25.00) | 9(28.12) | 0.128 | 0.937 |
| 大脑中 | 30(28.85) | 9(28.12) | | |
| 后颈-后交通 | 48(46.15) | 14(43.76) | | |
| 有脑出血 | 7(6.73) | 1(3.12) | 0.350 | 0.554 |
| Hunt-Hess分级 | | | | |
| I~III级 | 80(76.92) | 24(75.00) | 0.050 | 0.822 |
| IV~V级 | 24(23.07) | 8(25.00) | | |
| Fisher分级 | | | | |
| I~II级 | 69(66.34) | 21(65.62) | 0.005 | 0.933 |
| III~IV级 | 35(33.65) | 11(34.37) | | |
| 有术后并发症 | 5(4.80) | 2(6.66) | 0.104 | 0.747 |
| RDW(%) | 12.35±3.41 | 23.98±3.05 | 17.275 | 0.000 |
| CRP($\mu\text{g/l}$) | 13.10±2.17 | 31.25±5.34 | 28.089 | 0.000 |
| IL-33(ng/L) | 10.63±3.56 | 15.17±4.01 | 6.121 | 0.000 |

2.2 颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后不良的多因素 Logistic 回归分析

以血流导向装置治疗短期预后不良为因变

量,以血清RDW、CRP及IL-33水平为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示,血清RDW、CRP及IL-33水平升高是颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗后短期预后不良的独立影响因素($P < 0.05$)。见表2。

表2 颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后不良的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate logistic regression analysis of poor short-term prognosis in patients with complex intracranial aneurysm treated with blood flow diverting device

| 因素 | β 值 | S·E值 | Wald值 | OR值 | 95%CI |
|-------|-----------|-------|-------|--------|---------------|
| RDW | 2.480 | 1.700 | 2.128 | 11.941 | 0.426~334.287 |
| CRP | 0.826 | 0.415 | 3.961 | 2.284 | 1.012~5.152 |
| IL-33 | 2.356 | 1.002 | 5.528 | 10.548 | 1.480~75.182 |

2.3 血清RDW、CRP及IL-33水平对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值

ROC曲线分析结果显示三者联合检测预测颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗后短期发生预后不良的AUC高于单独血清RDW、CRP及IL-33检测($P < 0.05$)。见表3、图1。

表3 血清RDW、CRP及IL-33水平对颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后的预测价值

Table 3 Predictive value of serum RDW, CRP and IL-33 levels on short-term prognosis of patients with complex intracranial aneurysms treated with blood flow diverting device

| 因素 | AUC | 最佳截断值 | 95%CI | 灵敏度 | 特异度 |
|------------------------|-------|-------|-------------|-------|-------|
| RDW(%) | 0.668 | 24.42 | 0.584~0.795 | 0.765 | 0.695 |
| CRP($\mu\text{g/L}$) | 0.713 | 32.34 | 0.623~0.811 | 0.713 | 0.800 |
| IL-33(ng/L) | 0.675 | 16.17 | 0.603~0.792 | 0.712 | 0.720 |
| RDW+CRP+IL-33 | 0.895 | | 0.734~0.943 | 0.871 | 0.902 |

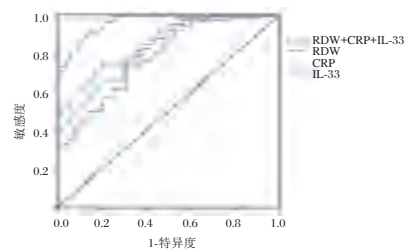


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

颅内复杂动脉瘤是蛛网膜下腔出血的重要病因,全球范围内,50岁左右的人群发病率约为3.2%;在亚洲,该病发病率为2.5%~3.0%;在颅内复杂动脉瘤患者中,动脉瘤发生破裂的占0.25%或1/(200~400);颅内复杂动脉瘤患者一旦发生蛛网膜

下腔出血,其死亡率将高达51%^[7]。近年来,血管内介入治疗法在颅内动脉瘤治疗中的应用日益增多,临床上已有大量的研究证明了其有效性和可靠性^[8]。但在临床上,大型或巨大型动脉瘤、宽颈动脉瘤、夹层动脉瘤等比较复杂的动脉瘤,尽管接受了血流导向装置治疗,但优于手术复杂,经治疗后仍难以完全恢复,且存在预后不良的情况。因此,了解患者血流导向装置治疗治疗后发生预后不良的独立危险因素,及时给予对症干预,对提高临床疗效、改善预后以及降低病死率具有积极意义。

本研究结果显示,血清RDW、CRP及IL-33水平与颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗短期预后不良相关,进一步分析显示,上述指标水平升高是颅内复杂动脉瘤患者预后不良的独立影响因素。提示临床治疗过程中应注意监测患者血清RDW、CRP及IL-33水平变化,对于血清RDW、CRP及IL-33水平升高的患者及时给予对应处理,可改善患者预后。血清RDW是衡量红细胞体积大小异质性的一个重要指标,血清RDW水平升高表示颅内复杂动脉瘤处于促炎状态,颅内复杂动脉瘤患者中的促炎状态能够破坏内皮细胞和血-脑屏障,进而诱导细胞凋亡和微血管病变,使免疫细胞活化,导致继发性脑损害^[9]。荣亮等^[10]研究显示,动脉瘤蛛网膜下腔出血患者行支架辅助动脉瘤栓塞术治疗后,发生预后不良的患者血清RDW水平显著高于预后良好组患者,且与GOS评分呈负相关,具有较高的特异性,与本研究结果相符。生理性应激反应会导致内源性儿茶酚胺和皮质醇的分泌,从而导致炎症进一步恶化,增加其它的炎症并发症^[11]。徐文豪^[12]研究证实了,血清CRP参与炎症反应,当动脉瘤发作时,体内血清CRP含量增加,且水平的增加与术后发生死亡相关。IL-33主要有上皮细胞和内皮细胞产生,是上皮细胞对危险信号的警报素,当机体发生细胞受损或坏死时,细胞释放IL-33,诱导并参与机体炎症反应^[13]。IL-33是一种具有多种免疫调节作用的多效性细胞因子,Li J等^[14]研究显示,每日往腹主动脉瘤小鼠腹腔内给药重组IL-33或转基因IL-33,可减少主动脉扩张、减少主动脉壁弹性碎裂以及减少炎症细胞因子产生。换言之,血清IL-33水平下降可控制机体炎症,改善预后。卢子明^[15]研究也发现了,动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者的早期血清IL-33水平较高,提示其炎症反应较重,且该指标水平与治疗6个月后病死率、预后情况呈正相关。

综上所述,颅内复杂动脉瘤患者血流导向装置治疗后短期预后不良患者存在血清RDW、CRP及IL-33异常表达,且其表达水平上调提示患者预后不良,三者联合检测时对治疗后短期预后不良的诊断效能最高。

参考文献

- [1] 高歌,朱浩,张 扬,等.血流导向装置Tubridge治疗颅内复杂动脉瘤的疗效和安全性观察[J].中华神经医学杂志,2021,20(8):771-775.
- [2] Chen JF, Zhang YS, Tian ZB, et al. Relationship between haemodynamic changes and outcomes of intracranial aneurysms after implantation of the Pipeline embolisation device: a single centre study[J]. Interv Neuroradiol, 2019,25(6):671-680.
- [3] 王建伟,郝艳霞.钠葡萄糖共转运蛋白1对缺血性脑卒中患者预后的预测价值研究[J].山西医药杂志,2019,48(21):2605-2608.
- [4] 沈逸华,黄鹤龄,蔡晓琪,等.原发性高血压患者颅内动脉血管舒张功能与红细胞分布宽度的关系[J].中华高血压杂志,2018,26(5):452-457.
- [5] 何福亮,张鸿祺.美国心脏协会卒中专家委员.动脉瘤性蛛网膜下腔出血的治疗指南(ASA2009年版)(上)[J].中国脑血管病杂志,2009,6(5):277-280.
- [6] 蒋业清,黄磊,鲁刚,等.未破裂床突旁动脉瘤血管内栓塞术后复发的相关危险因素分析[J].中华神经外科杂志,2018,34(10):982-987.
- [7] 王君,侯磊.正确看待未破裂颅内动脉瘤[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,21(6):561-563.
- [8] 吴桥伟,李立,邵秋季,等. Pipeline Flex血流导向装置治疗颅内复杂动脉瘤的安全性及短期疗效[J].中华介入放射学电子杂志,2020,8(1):28-32.
- [9] 陈刘炜,沈睿,张翔,等.高红细胞分布宽度水平对动脉瘤性蛛网膜下腔出血不良预后的预测价值[J].中国脑血管病杂志,2020,17(4):174-180.
- [10] 荣亮,林娅,张丽芳,等.血清RDW、MMP-9联合GOS评分对动脉瘤蛛网膜下腔出血介入治疗预后的预测价值[J].临床神经外科杂志,2021,18(6):687-690.
- [11] 贾传宇,王舒阳,刘莉莉,等.早期外周血系统性炎症指标在动脉瘤性蛛网膜下腔出血不良预后中的预测价值[J].中国临床神经科学,2020,28(6):682-686.
- [12] 徐文豪. D-二聚体与C反应蛋白对Stanford A型主动脉夹层动脉瘤患者术后远期预后的预测价值[J].中华实用诊断与治疗杂志,2021,35(8):822-825.
- [13] 杨永刚,欧阳阳钢,伍小军,等. IL-33/ST2信号通路相关因子对颅脑外伤合并SIRS的诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(8):1341-1344.
- [14] Li J, Xia N, Wen S, et al. IL (Interleukin)-33 Suppresses Abdominal Aortic Aneurysm by Enhancing Regulatory T-Cell Expansion and Activity [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019,39(3):446-458.
- [15] 卢子明,蔡涛.炎症反应在动脉瘤性蛛网膜下腔出血早期脑损伤的作用及治疗进展[J].中国微侵袭神经外科杂志,2020,25(2):91-93.

血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系

王明丽 朱爱 郭岩松 张慧玲 徐倩*

[摘要] **目的** 分析血清神经生长因子(NGF)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、肿瘤坏死因子-1 α (TNF- α)水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系。**方法** 选取2020年1月至2021年6月于沧州市人民医院行肾肿瘤手术并采用椎旁神经阻滞麻醉的64例患者作为研究对象,根据疼痛(VAS)评分将患者分为A组(VAS评分 ≥ 4 , $n=14$)和B组(VAS评分 < 4 , $n=50$)。比较两组患者术前、术后的血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平;采用Spearman分析法分析血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的相关性;经多元Logistic回归分析肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的独立影响因素,并基于受试者工作曲线分析血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平对肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的预测价值。**结果** 术后4 h、12 h B组的HIF-1 α 、TNF- α 水平均低于A组,术后4 h、12 h B组的NGF水平高于A组($t=5.014, 6.987, 2.860, 6.145, 2.432, 4.289, P$ 均 < 0.05);经Spearman相关分析,患者的血清NGF、HIF-1 α 与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果呈反比,而血清TNF- α 与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果呈正比($P < 0.05$);单因素分析结果显示,糖尿病、手术时间、NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平在两组间比较,差异具有统计学意义($\chi^2=5.579, t=10.071, 5.004, 3.126, 2.296, P$ 均 < 0.05)。经二元Logistic回归分析结果显示,血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 均为肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的独立影响因素($P < 0.05$),且ROC曲线显示,血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 以及三者联合检测预测肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的曲线下面积(AUC)分别是0.881、0.870、0.891、0.913。**结论** 血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平是肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的独立影响因素,且三者联合检测对肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的预测效果较佳。

[关键词] 神经生长因子;缺氧诱导因子-1 α ;肿瘤坏死因子- α ;肾肿瘤椎旁神经阻滞

Relationship between serum NGF, HIF - 1 α , TNF - α levels and analgesic effect of paravertebral nerve block in renal tumor patients

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

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

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between serum NGF, HIF-1 α , TNF- α levels and the analgesic effect of renal tumor paraspinal nerve block. **Methods** A retrospective analysis was performed on 64 patients who underwent renal tumor surgery in Cangzhou People's Hospital from January 2020 to June 2021 and underwent general anesthesia after paravertebral nerve block as the research subjects. According to the pain (VAS) score. The patients were divided into group A (VAS score ≥ 4 , $n=14$) and group B (VAS score < 4 , $n=50$). The serum levels of NGF, HIF-1 α and TNF- α were compared between the two groups of patients before and after operation; Spearman analysis was used to analyze the correlation between serum NGF, HIF-1 α and TNF- α and the analgesic effect of renal tumor paravertebral nerve block. The independent influencing factors of the analgesic effect of renal tumor paravertebral nerve block were analyzed by multivariate Logistic regression. Predictive value of pain effects was evaluated. **Results** The levels of HIF-1 α and TNF- α in group B at 4 h and 12 h after operation were lower than those in group A, and the levels of NGF in group B at 4 h

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:徐倩, E-mail:664569785@qq.com

and 12 h after operation were higher than those in group ($t=5.014, 6.987, 2.860, 6.145, 2.432, 4.289, P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that serum NGF and HIF-1 α were inversely proportional to the analgesic effect of paravertebral nerve block in renal tumor, while serum TNF- α was positively proportional to the analgesic effect of paravertebral nerve block in renal tumor ($P<0.05$). Univariate analysis showed that there were statistically significant differences in diabetes mellitus, operation time, NGF, HIF-1 α and TNF- α levels between the two groups ($\chi^2=5.579, t=10.071, 5.004, 3.126, 2.296, P<0.05$). The results of binary Logistic regression analysis showed that serum NGF, HIF-1 α and TNF- α were independent influencing factors of analgesic effect of paravertebral nerve block in renal tumor ($P<0.05$), and the ROC curve showed that the area under curve (AUC) of serum NGF, HIF-1 α , TNF- α and their combined detection to predict the analgesic effect of paravertebral nerve block in renal tumor were 0.881、0.870、0.891、0.913, respectively. **Conclusion** The levels of serum NGF, HIF-1 α and TNF- α are independent influencing factors affecting the analgesic effect of renal tumor paravertebral nerve block, and the combined detection of the three has a better predictive effect on the analgesic effect of renal tumor paravertebral nerve block.

[KEY WORDS] NGF; HIF-1 α ; TNF- α ; Renal tumor paraspinous nerve block

肾肿瘤是肾脏常见的原发性恶性肿瘤,约有95%为恶性,主要分为良性肿瘤、肾癌、肾盂癌以及肾母细胞癌。肿瘤椎旁神经阻滞是指通过阻滞脊髓背根神经节,从而迅速控制炎症反应以及水肿,阻断痛觉的神经传导通路的一种治疗方法。而肾肿瘤椎旁神经阻滞术后的疼痛主要以急性疼痛为主,对术后急性疼痛若不能妥善管理,不仅会使得患者预后不良,还会触发紧张的医患关系^[1]。神经生长因子(nerve growth factor, NGF)能够促进神经细胞的生长、分化、发育、成熟、损伤修复等作用,广泛的分布于机体中的各个组织器官中^[2]。缺氧作为肾肿瘤物理微环境的基本特征,而缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)作为肿瘤缺氧过程中的关键转录因子,广泛存在于人体的肿瘤细胞中,其活性能够影响肿瘤细胞的能量代谢、新生血管形成以及促进肿瘤增殖和转移^[3]。肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)作为一种促炎细胞因子,能够参与正常的炎症反应和免疫反应,作为反应神经损伤以及炎症反应程度的潜在标志物。本研究主要是对血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2020年1月至2021年6月行肾肿瘤手术并采用椎旁神经阻滞后全身麻醉的麻醉方法的患者64例作为研究对象,并采用视觉模拟评分法^[4](visual analogue scale, VAS)法评分对患者的

疼痛程度进行评估,分数为0~10分,0分为无疼痛感,10分为存在强烈的疼痛症状,将患者分为A组(VAS评分 $\geq 4, n=14$)和B组(VAS评分 $< 4, n=50$)。纳入标准:①年龄在18~65岁之间;②ASA分级I~II级肾肿瘤患者;③无严重的心脑血管疾病,无血栓病史,无癫痫、精神病史。排除标准:①有严重心、肝、肾功能不全疾患,术后需进ICU继续治疗者;②凝血功能异常;③有麻醉药物过敏史;④有长期饮酒、慢性疼痛或长期服用精神类药物病史;⑤穿刺部位有瘢痕、感染、肿瘤;⑥有恶性高热病史或家族史;⑦不能配合随访或依从性差者;⑧孕妇及哺乳期妇女。本研究经沧州市人民医院医学伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平的检测^[5-7]

患者入院后采集其静脉血5 mL,并加入抗凝剂,以3 000 r/min的速度以及离心半径7 cm的条件离心15 min,并分离取得血清,以酶联免疫吸附法测定患者血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平,NGF检测试剂盒以及HIF-1 α 检测试剂盒来自广州艾斯科技公司, TNF- α 检测试剂盒来自深圳晶美生物工程有限公司,检测仪器为多功能酶标仪(生产厂家:北京科悦华城科技有限公司)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析分析影响肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的危险因素,并采用ROC曲线判断血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平对肾

肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平在不同时间点的表达情况

术前两组患者的血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 两组患者术后 4、12 h 的 HIF-1 α 、NGF 水平均低于术前,且术后 4、12 h B 组的 HIF-1 α 、TNF- α 水平均低于 A 组,术后 4、12 h B 组的 NGF 水平高于 A 组 ($P < 0.05$); 两组患者的 4 h TNF- α 水平均呈先升高后降低的趋势,且 B 组术后 4、12 h 的变化幅度均高于 A 组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组不同时间点血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum NGF, HIF-1 α and TNF- α levels at different time points between 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

| 指标 | 组别 | 术前 | 术后 4 h | 术后 12 h |
|------------------------|------------|--------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| NGF (pg/mL) | A 组 (n=14) | 308.49 \pm 33.21 | 233.61 \pm 34.68 ^a | 233.45 \pm 17.49 ^{ab} |
| | B 组 (n=50) | 311.67 \pm 32.92 | 280.63 \pm 29.97 ^a | 276.04 \pm 20.81 ^{ab} |
| | t 值 | 0.319 | 5.014 | 6.987 |
| | P 值 | 0.751 | <0.001 | <0.001 |
| HIF-1 α (ng/mL) | A 组 (n=14) | 116.73 \pm 14.31 | 109.63 \pm 11.32 ^a | 102.01 \pm 10.63 ^{ab} |
| | B 组 (n=50) | 115.71 \pm 14.29 | 100.47 \pm 10.39 ^a | 85.49 \pm 8.37 ^{ab} |
| | t 值 | 0.236 | 2.860 | 6.145 |
| | P 值 | 0.814 | 0.006 | <0.001 |
| TNF- α (pg/mL) | A 组 (n=14) | 9.67 \pm 1.29 | 35.71 \pm 7.16 ^a | 27.79 \pm 4.60 ^{ab} |
| | B 组 (n=50) | 9.70 \pm 1.34 | 31.01 \pm 6.17 ^a | 22.36 \pm 4.07 ^{ab} |
| | t 值 | 0.075 | 2.432 | 4.289 |
| | P 值 | 0.941 | 0.018 | <0.001 |

注:与同组术前时比较,^a $P < 0.05$;与同组术后 4 h 时比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系

经 Spearman 相关性分析,结果显示,血清 NGF、HIF-1 α 表达水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果呈负相关 ($r = -0.741, -0.602, P < 0.05$),血清 TNF- α 表达水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果呈正相关 ($r = 0.846, P < 0.05$)。

2.3 影响肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的单因素分析

单因素分析结果显示,两组的年龄、性别、吸烟史、饮酒史等因素差异无统计学意义 ($P > 0.05$),糖尿病、手术时间、NGF、HIF-1 α 、TNF- α 水平在两组间比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 影响腹腔手术术后镇痛效果不良的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 2 Univariate analysis of influencing factors of poor postoperative analgesia after abdominal surgery [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

| 指标 | A 组 (n=14) | B 组 (n=50) | χ^2/t 值 | P 值 | |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------|--------|-------|
| 年龄 (岁) | 33.46 \pm 6.74 | 34.71 \pm 6.82 | 0.608 | 0.546 | |
| 性别 | 男 | 8 | 25 | 0.223 | 0.637 |
| | 女 | 6 | 25 | | |
| 吸烟史 | 有 | 8 | 24 | 0.366 | 0.545 |
| | 无 | 6 | 26 | | |
| 饮酒史 | 有 | 5 | 19 | 0.024 | 0.876 |
| | 无 | 9 | 31 | | |
| 糖尿病 | 有 | 10 | 18 | 5.579 | 0.018 |
| | 无 | 4 | 32 | | |
| 手术时间 (min) | 102.33 \pm 10.36 | 137.02 \pm 11.65 | 10.071 | <0.001 | |
| NGF (pg/mL) | 234.72 \pm 33.54 | 277.78 \pm 26.95 | 5.004 | <0.001 | |
| HIF-1 α (ng/mL) | 110.23 \pm 10.99 | 100.05 \pm 10.71 | 3.126 | 0.003 | |
| TNF- α (pg/mL) | 35.66 \pm 6.98 | 31.00 \pm 6.64 | 2.296 | 0.025 | |

2.4 影响肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的多因素 Logistic 回归分析

以肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果作为因变量 (VAS 评分 $< 4 = 0$, VAS 评分 $\geq 4 = 1$),以糖尿病 (无 = 0, 有 = 1)、手术时间 (min)、血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。Logistic 回归分析结果显示,血清 NGF、HIF-1 α 为肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的独立保护因素 ($P < 0.05$),TNF- α 为肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 影响肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis on the analgesic effect of paravertebral nerve block for renal tumors

| 指标 | χ^2 值 | SE 值 | Wald | OR 值 | 95% CI | P 值 |
|------------------------|------------|-------|-------|-------|-------------|-------|
| 糖尿病 | 0.267 | 0.167 | 2.556 | 1.306 | 0.941~1.812 | 0.110 |
| 手术时间 (min) | 0.311 | 0.171 | 3.308 | 1.365 | 0.976~1.908 | 0.069 |
| NGF (pg/mL) | -0.835 | 0.402 | 4.314 | 0.434 | 0.197~0.954 | 0.038 |
| HIF-1 α (ng/mL) | -0.734 | 0.331 | 4.917 | 0.480 | 0.251~0.918 | 0.027 |
| TNF- α (pg/mL) | 0.796 | 0.362 | 4.835 | 2.217 | 1.090~4.506 | 0.028 |

2.5 血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 对肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的预测价值

绘制血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 预测肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的 ROC 曲线分析显示,血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 三者联合预测的价值高于血清 NGF、HIF-1 α 、TNF- α 单独检测对肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的预测价值。见表 4、图 1。

表4 血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 对肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的预测价值

Table 4 Predictive value of serum NGF, HIF-1 α and TNF- α on the analgesic effect of renal tumor paravertebral nerve block

| 指标 | 临界值 | 约登指数 | 敏感度 (%) | 特异度 (%) | AUC | 95% CI |
|------------------------|--------|-------|---------|---------|-------|-------------|
| NGF(pg/mL) | 273.69 | 0.730 | 89.79 | 83.21 | 0.881 | 0.746-0.879 |
| HIF-1 α (ng/mL) | 102.31 | 0.682 | 82.36 | 85.79 | 0.870 | 0.788-0.917 |
| TNF- α (pg/mL) | 28.33 | 0.759 | 90.16 | 85.71 | 0.891 | 0.746-0.894 |
| 三者联合 | | 0.851 | 93.64 | 91.46 | 0.913 | 0.874-0.963 |

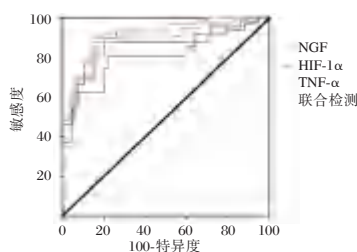


图1 ROC曲线
Figure 1 ROC curve

3 讨论

治疗肾肿瘤的术后常伴随着急性疼痛,若对其控制不当极易演变成为慢性疼痛,影响患者的生活质量,不利于术后多脏器的恢复。而国外已有研究表明,椎旁神经阻滞能够有效地降低术后出现的疼痛现象,具有较好的镇痛效果^[8]。然而,术后的急性疼痛如果能够得到有效地管理就可以预防术后并发症的发生,并且减少急性疼痛转向慢性疼痛的可能性^[9]。因此,寻找能够预测肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的指标十分重要,能够早期判断患者术后出现急性疼痛的可能,有利于患者术后的恢复。故本研究以血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 作为预测指标,研究其与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的关系,以期找到能够有效预测肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的血清指标。

NGF作为一种神经细胞生长调节因子,能够促进突起生长以及神经细胞的生长、发育以及存活、修复等。本研究试验结果发现,两组患者术后NGF水平均下降,但术后4h以及12hB组的NGF水平均高于A组,与马瑾等^[10]研究结果相似。NGF的水平与降低胆碱能神经元功能有关,若NGF水平下降,会使得患者的认知和记忆功能受损,提示可能是由于术后疼痛对患者造成了一定的认知和功能障碍^[11]。HIF-1 α 作为肿瘤缺氧过程中的一个关键的转录因子,在正常组织以及常氧条件下含

量较少,有研究表明HIF-1 α 与肿瘤缺氧过程有关,能够维持肿瘤细胞生长、增殖以及移植^[12-13]。本研究结果显示,术后两组患者的HIF-1 α 水平均降低,主要原因可能是患者术后肿瘤细胞被切除,使得HIF-1 α 的表达减少。此外,B组的下降幅度较A组大,表明患者的HIF-1 α 水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞的镇痛效果与研究结果一致。手术创伤以及术后疼痛均有可能使得机体分泌大量的炎症因子,TNF- α 即为重要急性炎症损伤因子^[14-15]。本实验研究结果说明TNF- α 水平与肾肿瘤椎旁神经阻滞的镇痛效果具有一定的相关性,与本实验研究成果一致。提示镇痛效果佳的患者其炎症因子的释放较少,炎症反应程度较低。此外,本研究通过Logistic回归分析得血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 是肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的独立影响因素。

本研究采用ROC曲线对血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 表达水平预测肾肿瘤椎旁神经阻滞的镇痛效果的价值进行评估,结果发现,血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 预测肾肿瘤椎旁神经阻滞的镇痛效果的ROC曲线下面积分别为0.881、0.870、0.891、0.913,可见血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 对于肾肿瘤椎旁神经阻滞的镇痛效果均具有一定的预测价值,且三者联合检测的预测价值最高,可能是由于三者联合诊断能够避免一些单独指标检测所具有的漏洞。

综上所述,血清NGF、HIF-1 α 、TNF- α 均与肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果的具有一定的关系,对肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果具有较高的预测价值,且三个指标联合检测的预测价值最好,能够为临床上预测肾肿瘤椎旁神经阻滞镇痛效果提供参考依据。

参考文献

- [1] 谢丽霞,黄礼兵,徐晓红,等. 胸椎旁神经阻滞对经皮肾镜取石术后患者疼痛和恢复质量的影响[J]. 山东医药, 2022, 62(22):61-64.
- [2] 严兴丽,冶生寿,祁秀丽. 脑卒中患者血清细胞因子水平与血管性认知障碍相关性分析[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14(9):469-471.
- [3] Zhang Y, Bian Y, Wang Y, et al. HIF-1 α is necessary for activation and tumour-promotion effect of cancer-associated fibroblasts in lung cancer[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(12): 5457-5469.
- [4] 曾黎,李凡,刘朝东,等. 改良保乳术结合即刻乳房再造术对乳腺癌患者术后疼痛程度及美学效果的影响[J]. 中国美容医学, 2022, 31(3):59-63. (下转第2076页)

血清趋化因子 CXCL12、CXCL17 与 2 型糖尿病患者微血管病变的关系

左源渊 辛丽娟*

[摘要] 目的 探讨血清 CXC 趋化因子配体 12(CXCL12)、CXC 趋化因子配体 17(CXCL17)水平与 2 型糖尿病(T2DM)患者并发微血管病变的关系。**方法** 选取 2019 年 12 月至 2022 年 3 月张家口市第一医院诊治的单纯 T2DM 患者 92 例、T2DM 并发微血管病变患者 90 例,分别为单纯 T2DM 组、微血管病变组,并选取同期健康体检者 90 名为对照组。比较三组一般资料及血清 CXCL12、CXCL17 水平;分析 T2DM 并发微血管病变的影响因素;分析血清 CXCL12、CXCL17 对 T2DM 并发微血管病变的预测价值。**结果** 对照组、单纯 T2DM 组、微血管病变组血清舒张压(DBP)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、血肌酐(Scr)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、空腹血糖(FBG)、血尿素氮(BUN)、CXCL12、CXCL17 水平比较,差异有统计学意义($F=223.052, 246.560, 219.975, 45.189, 88.758, 261.429, 22.760, 176.896, 67.526, P<0.05$),上述指标由低到高依次为对照组、单纯 T2DM 组、微血管病变组,两两比较差异有统计学意义($P<0.05$);TC、FBG、Scr、CXCL17、CXCL12 是 T2DM 并发微血管病变的危险因素($P<0.05$);血清 CXCL12、CXCL17 预测 T2DM 并发微血管病变的曲线下面积(AUC)分别为 0.890、0.886,截断值分别为 9.82 ng/mL、296.05 pg/mL,灵敏度均为 0.767,特异度分别为 0.874、0.863,且 CXCL17、CXCL12 联合预测 T2DM 并发微血管病变的 AUC 为 0.949,灵敏度为 0.933,特异度为 0.852。**结论** CXCL12、CXCL17 在 T2DM 并发微血管病变患者血清中水平较高,且血清 CXCL12、CXCL17 联合可作为临床预测 T2DM 并发微血管病变的辅助方法。

[关键词] CXC 趋化因子配体 12; 2 型糖尿病; CXC 趋化因子配体 17; 微血管病变

The relationship between serum chemokines CXCL12, CXCL17 and microangiopathy in patients with type 2 diabetes mellitus

ZUO Yuanyuan, XIN Lijuan*

(Department of Endocrinology, Zhangjiakou First Hospital, Zhangjiakou, Hebei, China, 075000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum levels of CXC chemokine ligand 12 (CXCL12) and CXC chemokine ligand 17 (CXCL17) and microangiopathy in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** From December 2019 to March 2022, 92 patients with simple T2DM and 90 patients with T2DM complicated with microvascular disease, who were diagnosed and treated in Zhangjiakou First Hospital from December 2019 to March 2022, were taken as the simple T2DM group and the microvascular disease group, respectively, and 90 healthy subjects were regarded as the control group. The general data and serum CXCL12 and CXCL17 levels were compared among the three groups; the influencing factors of T2DM complicated with microvascular disease were analyzed; the predictive value of serum CXCL12 and CXCL17 in T2DM complicated with microvascular lesions was analyzed. **Results** The levels of serum diastolic blood pressure (DBP), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), serum creatinine (Scr), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), fasting blood glucose (FBG), and blood urea nitrogen (BUN), CXCL12, CXCL17 levels in the control group, simple T2DM group and microvascular disease group were statistically significant

基金项目:张家口市重点研发计划项目(1921081D)

作者单位:张家口市第一医院内分泌科,河北,张家口 075000

*通信作者:辛丽娟, E-mail: 364058922@qq.com

($F=223.052, 246.560, 219.975, 45.189, 88.758, 261.429, 22.760, 176.896, 67.526, P<0.05$); the above indexes from low to high were control group, simple T2DM group and microvascular disease group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$); TC, FBG, Scr, CXCL17 and CXCL12 were risk factors for T2DM complicated with microvascular disease ($P<0.05$); the areas under the curve (AUC) of serum CXCL12 and CXCL17 for predicting T2DM complicated with microvascular lesions were 0.890 and 0.886, respectively, and the cut-off values were 9.82 ng/mL and 296.05 pg/mL, respectively, the sensitivity of both was 0.767, and the specificities were 0.874 and 0.863, respectively, the AUC of CXCL17 and CXCL12 combined to predict T2DM complicated with microvascular disease was 0.949, the sensitivity was 0.933, and the specificity was 0.852. **Conclusion** The serum levels of CXCL12 and CXCL17 in patients with T2DM complicated with microvascular disease are higher, and the combination of serum CXCL12 and CXCL17 can be used as an auxiliary method for clinical prediction of T2DM complicated with microvascular disease.

[KEY WORDS] CXC chemokine ligand 12; type 2 diabetes mellitus; CXC chemokine ligand 17; microangiopathy

随着人们饮食结构的变化,2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)发生率比以往有明显升高,威胁社会大众的健康^[1-2]。微血管病变是T2DM常见的一种并发症,以基底膜增厚为特征,其不易及时察觉,导致延误疾病诊治,可升高T2DM患者的病死率^[3-4]。因此,寻找可有效判断T2DM是否并发微血管病变的指标,并及时干预,对改善T2DM患者生存状况尤其重要。CXC趋化因子配体12(CXC chemokine ligand 12, CXCL12)又名基质细胞衍生因子1(stromal cell-derived factor 1, SDF-1)在糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)中呈高水平, CXCL12可能参与DN发生发展^[5]; CXC趋化因子配体17(CXC chemokine ligand 17, CXCL17)在不稳定型心绞痛中水平较高,且CXCL17具有辅助诊断不稳定型心绞痛的潜在价值^[6]。但CXCL12、CXCL17与T2DM患者并发微血管病变的关系尚不明确,因此,本文通过测定CXCL12、CXCL17在T2DM中的水平,旨在探究二者与微血管病变的关系,并分析CXCL12、CXCL17对T2DM并发微血管病变的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2019年12月至2022年3月本院收治的90例T2DM并发微血管病变患者为微血管病变组,男45例,女45例;糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)患者61例, DN患者29例。并选取同期92例单纯T2DM患者为单纯T2DM组,男49例,女43例。此外,并纳入同期90名健康体检

者为对照组,男47例,女43例;不伴有T2DM、肝、肾、肺、心脏疾病,不伴有风湿免疫系统疾病。另外,收集三组受试者体重指数、总胆固醇(total cholesterol, TC)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、甘油三酯(triacylglyceride, TG)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、血肌酐(serum creatinine, Scr)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)等资料。纳入标准:①单纯T2DM患者符合《2型糖尿病基层诊疗指南(实践版·2019)》^[7]中T2DM诊断标准,不符合《中国糖尿病诊疗指南解读——糖尿病肾病》^[8]中DN的诊断标准、《我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014年)》^[9]中DR的诊断标准;②微血管病变患者符合T2DM及DN或DR的诊断标准;③受试者对本研究知情同意,检查资料齐全。排除标准:①近3个月内有感染、手术者;②有大血管病变、原发性肾脏病者;③患有1型糖尿病者;④合并血液系统疾病、心力衰竭、免疫系统疾病、肝功能严重不全者;⑤妊娠/哺乳期女性;⑥合并肿瘤或有过敏性疾病史者。研究获得本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 样本收集

收集T2DM并发微血管病变患者、单纯T2DM患者确诊当天,健康体检者体检当日4~6 mL外周血,静置约30 min, 5 100 r/min离心5 min(离心半径:10 cm)分离血清,存于-70℃冰箱。

1.2.2 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清 CXCL12、CXCL17水平

按人 CXCL12 ELISA 试剂盒(70-EK1119-96,杭州联科生物技术股份有限公司)、人 CXCL17 ELISA 试剂盒(huayueyang3692,北京华越洋生物科技有限公司)说明书配制 CXCL12、CXCL17 的标准品溶液,解冻血清样本,按照试剂盒和仪器说明书进行操作,使用酶标仪(德国 BMG 公司, CLARIOstar Plus)测定 CXCL12、CXCL17 标准品溶液及血清样本在 450nm 处的吸光度,绘制 CXCL12、CXCL17 的标准品回归曲线。根据 CXCL12、CXCL17 的标准品回归曲线,计算血清 CXCL12、CXCL17 水平。

1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 25.0 软件分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行单因素方差分析、SNK-q 检验;计数资料以 n 表示,行 χ^2 检验。受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估血清 CXCL12、CXCL17 预测 T2DM 并发微血管病变的价值。Logistic 回归分析 T2DM 并发微血管病变的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组一般资料比较

与对照组相比,单纯 T2DM 组、微血管病变组患者 DBP、TC、TG、LDL-C、FBG、Scr、BUN 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与单纯 T2DM 组相比,微血管病变组患者 DBP、TC、TG、LDL-C、FBG、Scr、BUN 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);三组体重指数、SBP、男/女比、年龄、LDL-C 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 三组血清 CXCL12、CXCL17 水平比较

与对照组比较,单纯 T2DM 组、微血管病变组患者血清 CXCL12、CXCL17 水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与单纯 T2DM 组相比,微血管病变组患者血清 CXCL12、CXCL17 水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 三组血清 CXCL12、CXCL17 水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

| 组别 | n | CXCL12(ng/mL) | CXCL17(pg/mL) |
|-----------|-----|--------------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 90 | 3.68±1.23 | 121.06±40.35 |
| 单纯 T2DM 组 | 92 | 7.74±2.58 ^a | 229.27±76.42 ^a |
| 微血管病变组 | 90 | 13.16±4.39 ^{ab} | 440.98±147.07 ^{ab} |
| F 值 | | 223.052 | 246.560 |
| P 值 | | <0.001 | <0.001 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与单纯 T2DM 组比较,^b $P < 0.05$

2.3 多因素 Logistic 回归分析 T2DM 并发微血管病变的影响因素

以年龄、男/女比、体重指数、DBP、SBP、TC、HDL-C、TG、LDL-C、FBG、Scr、BUN、CXCL12、CXCL17 为自变量,以 T2DM 是否并发微血管病变为因变量(发生=1,不发生=0),行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,TC、FBG、Scr、CXCL17、CXCL12 是 T2DM 并发微血管病变的危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 血清 CXCL12、CXCL17 对 T2DM 并发微血管病变的预测价值

ROC 曲线显示 CXCL12、CXCL17 二者联合预测 T2DM 并发微血管病变的 AUC 为 0.949(95% CI: 0.921~0.977),灵敏度、特异度分别为 0.933、0.852,约登指数为 0.785。见图 1。

表 1 三组一般资料比较 $(\bar{x} \pm s)$

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

| 临床指标 | 对照组($n=90$) | 单纯 T2DM 组($n=92$) | 微血管病变组($n=90$) | F/χ^2 值 | P 值 |
|--------------------------|---------------|---------------------------|----------------------------|--------------|--------|
| 年龄(岁) | 54.82±9.62 | 56.64±9.96 | 55.75±9.83 | 0.784 | 0.458 |
| 男/女(例) | 47/43 | 49/43 | 45/45 | 0.202 | 0.904 |
| 体重指数(kg/m ²) | 22.24±2.29 | 21.90±2.22 | 21.87±2.19 | 0.764 | 0.467 |
| DBP(mmHg) | 74.63±5.35 | 83.69±6.02 ^a | 93.57±6.73 ^{ab} | 219.975 | <0.001 |
| SBP(mmHg) | 118.27±23.65 | 122.48±24.50 ^a | 125.94±25.19 ^{ab} | 2.220 | 0.111 |
| TC(mmol/L) | 4.08±1.02 | 4.92±1.23 ^a | 5.85±1.46 ^{ab} | 45.189 | <0.001 |
| HDL-C(mmol/L) | 1.18±0.39 | 1.12±0.37 | 1.06±0.35 | 2.362 | 0.096 |
| TG(mmol/L) | 1.63±0.41 | 2.25±0.56 ^a | 2.75±0.69 ^{ab} | 88.758 | <0.001 |
| LDL-C(mmol/L) | 2.27±0.57 | 2.62±0.66 ^a | 2.93±0.73 ^{ab} | 22.760 | <0.001 |
| FBG(mmol/L) | 5.40±1.35 | 9.98±2.50 ^a | 11.87±2.97 ^{ab} | 176.896 | <0.001 |
| Scr(μ mol/L) | 65.36±5.94 | 77.39±7.04 ^a | 89.55±8.14 ^{ab} | 261.429 | <0.001 |
| BUN(μ mol/L) | 4.87±1.62 | 6.53±2.18 ^a | 8.86±2.95 ^{ab} | 67.526 | <0.001 |

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与单纯 T2DM 组比较,^b $P < 0.05$ 。

表3 影响T2DM并发微血管病变的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multifactor Logistic Regression Analysis of T2DM Complicated with Microangiopathy

| 指标 | β 值 | S.E.值 | wald | OR | 95% CI | P值 |
|--------|-----------|-------|--------|-------|-------------|-------|
| TC | 0.845 | 0.207 | 16.664 | 2.328 | 1.552~3.493 | 0.000 |
| FBG | 0.985 | 0.224 | 19.325 | 2.677 | 1.726~4.153 | 0.000 |
| Scr | 0.897 | 0.211 | 18.085 | 2.453 | 1.622~3.709 | 0.000 |
| CXCL12 | 0.830 | 0.203 | 16.729 | 2.294 | 1.541~3.415 | 0.000 |
| CXCL17 | 1.005 | 0.236 | 18.136 | 2.732 | 1.720~4.339 | 0.000 |

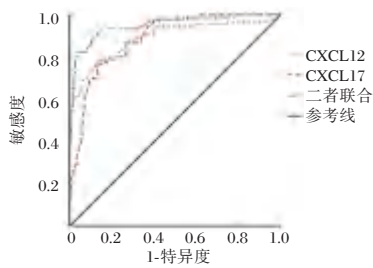


图1 ROC 曲线图
Figure 1 ROC curve

3 讨论

T2DM 起病隐匿，早期症状并不明显，多数 T2DM 患者就诊时多已出现微血管病变^[10]。DN、DR 是 T2DM 并发微血管病变的主要形式，与高血糖、炎症反应、血管生成、氧化应激等有关^[11]。另外，肾穿是诊断 DN 的金标准，但其可造成机械性损伤，影响受试者预后，而 DR 多利用眼底血管荧光造影诊断，但造影剂有副作用^[12]。因此，寻找经济、副作用少、创伤小且可有效诊断 T2DM 并发微血管病变的方法，对降低患者致残率、病死率甚是关键。

CXCL12 是 CXC 家族的一员，其可与 CXC 趋化因子受体 4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4) 相结合，进而影响血管生成，参与中枢神经系统、胚胎发育，介导免疫反应，调节炎症反应，与急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)、DN 等病理发展相关^[13-14]。研究发现，CXCL12 在 ACI 中呈高水平，与 ACI 严重程度呈正相关，CXCL12 有望成为评估 ACI 患者预后的标志物^[15]；另外，CXCL12 在心力衰竭中水平较高，且 CXCL12 有望成为评估心力衰竭患者预后的潜在指标^[16]。本研究中微血管病变组血清 CXCL12 水平较高，提示 CXCL12 可能与 T2DM 发生及其并发微血管病变过程有关，推测，高水平 CXCL12 通过与 CXCR4 结合，进而影响内皮功能，造成血管损伤，影响血管新生，从而影响 T2DM 并发微血管病变过程^[15-16]。此外，本文

经 ROC 曲线分析发现，CXCL12 可能对 T2DM 并发微血管病变有一定预测价值，且 CXCL12 有望成为预测 T2DM 并发微血管病变的有效指标。

CXCL17 同样是 CXC 家族的成员之一，其可被血管内皮细胞、树突状细胞分泌到细胞外，其不仅可维持黏膜无菌性，还可激活免疫反应，促进血管生成，调节炎症反应，与哮喘、肾脏疾病有关^[17-18]。研究发现，CXCL17 在慢性肾脏病中呈高水平，其可能通过促进上皮间质转化进而引发肾纤维化，促使细胞外基质积累，CXCL17 可作为诊断晚期慢性肾脏病的标志物^[19]；另外，CXCL17 在急性脑出血中水平升高，检测血清 CXCL17 水平有助于评估脑出血患者病情^[20]。本研究结果提示 CXCL17 可能影响 T2DM 并发微血管病变进程，分析可能原因，高水平 CXCL17 通过影响血管生成，影响炎症反应，进而在 T2DM 并发微血管病变过程中发挥促进作用。另外，本研究表明，测定血清 CXCL17 水平有助于临床判定 T2DM 患者是否并发微血管病变。进一步研究发现，CXCL12、CXCL17 联合可更好地预测 T2DM 并发微血管病变，这为临床判断 T2DM 并发微血管病变提供较为简单、有效的方法。此外，本研究表明，血清 CXCL17、CXCL12、TC、FBG、Scr 水平升高均可能会增加 T2DM 患者并发微血管病变的风险，及时监控 CXCL12、CXCL17 等指标水平可能有利于临床防治 T2DM 患者并发微血管病变。

综上，T2DM 并发微血管病变患者血清 CXCL12、CXCL17 水平较高，且血清 CXCL12、CXCL17 联合可较好地判断 T2DM 患者是否并发微血管病变，为临床诊治 T2DM 并发微血管病变提供新的参考方案。但由于样本较少，本研究未深入探讨 CXCL12、CXCL17 与不同微血管病变 DR、DN 的关系，后期将扩大样本就此展开研究。

参考文献

- [1] Su H, Liu T, Li Y, et al. Serum uric acid and its change with the risk of type 2 diabetes: A prospective study in China [J]. Prim Care Diabetes, 2021, 15(6):1002-1006.
- [2] Wang SY, Shen TT, Xi BL, et al. Vitamin D affects the neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Investig, 2021, 12(2):254-265.
- [3] 白莉, 邢雯, 李社莉. 2 型糖尿病微血管病变患者同型半胱氨酸与凝血指标的相关性分析[J]. 血栓与止血学, 2021, 27(3):438-439.

- [4] 王晓红, 左淑丽. 糖化白蛋白, 糖化血红蛋白与糖尿病微血管病变的关系及临床意义[J]. 中国综合临床, 2021, 37(2):171-174.
- [5] Lu CF, Ma JH, Su JB, et al. Serum stromal cell-derived factor-1 levels are associated with diabetic kidney disease in type 2 diabetic patients[J]. *Endocr J*, 2021, 68(9):1101-1107.
- [6] 龚福汉, 肖小强, 张学平, 等. 趋化因子配体 17 联合超敏 C-反应蛋白对不稳定型心绞痛的预测价值[J]. 重庆医学, 2019, 48(8):1420-1423.
- [7] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 2 型糖尿病基层诊疗指南(实践版·2019)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(9):810-818.
- [8] 裴剑浩. 中国糖尿病诊疗指南解读——糖尿病肾病[J]. 中国医师杂志, 2014, 16(2):161-163.
- [9] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014 年)[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(11):851-865.
- [10] Kocak MZ, Aktas G, Atak BM, et al. Is Neuregulin-4 a predictive marker of microvascular complications in type 2 diabetes mellitus[J]. *Eur J Clin Invest*, 2020, 50(3):13206-13213.
- [11] 廖勇, 郭一云, 周红宇, 等. 血清 subfatin 与 2 型糖尿病患者微血管病变的相关性分析[J]. 华南国防医学杂志, 2021, 35(10):712-715.
- [12] 刘文妹, 裴先锋. 血小板计数, 血浆 D 二聚体, 抗凝血酶水平与白蛋白/肌酐比值对 2 型糖尿病微血管病变的诊断价值[J]. 血栓与止血学, 2020, 26(4):653-654.
- [13] Ikawa T, Miyagawa T, Fukui Y, et al. Association of serum CXCL12 levels with arthropathy in patients with systemic sclerosis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2021, 24(2):260-267.
- [14] Yazdani B, Hassanshahi G, Mousavi Z, et al. CXCL1, CXCL10 and CXCL12 Chemokines are Variously Expressed in Acute Myeloid Leukemia Patients Prior and Post Bone Marrow Transplantation [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2021, 22(10):3377-3384.
- [15] 徐艳祥, 夏琳, 谢艳, 等. 血清 CXCL12 水平与急性脑梗死病人病情严重程度及预后的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(19):3293-3296.
- [16] 范彩逢, 王振华, 张守彦, 等. 重症心力衰竭患者血清 Adropin 和炎症趋化因子水平变化及其与左心室重构和预后的关系[J]. 热带医学杂志, 2020, 20(4):530-533.
- [17] Shimada S, Makino K, Jinnin M, et al. CXCL17-mediated downregulation of type I collagen via MMP1 and miR-29 in skin fibroblasts possibly contributes to the fibrosis in systemic sclerosis[J]. *J Dermatol Sci*, 2020, 100(3):183-191.
- [18] Choreño-Parra JA, Jiménez-Álvarez LA, Ramírez-Martínez G, et al. CXCL17 Is a Specific Diagnostic Biomarker for Severe Pandemic Influenza A (H1N1) That Predicts Poor Clinical Outcome[J]. *Front Immunol*, 2021, 12(2):3297-3306.
- [19] Hsieh YH, Wang WC, Hung TW, et al. C-C Motif Chemokine Ligand-17 as a Novel Biomarker and Regulator of Epithelial Mesenchymal Transition in Renal Fibrogenesis[J]. *Cells*, 2021, 10(12):3345-3352.
- [20] 赵艳, 唐明山, 张志坚. 急性脑出血患者血清中 CCL17, CXCL12 及 CGRP 的动态变化[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(8):3877-3882.

(上接第 2071 页)

- [5] 黎顺成, 徐雪怡, 陈程, 等. 血清 BDNF、NGF、MBP 水平对青少年精神分裂症预后的评估价值[J]. 中南医学科学杂志, 2022, 50(4):528-531.
- [6] 娄磊, 许和贵, 苏攀. 踝关节周围骨挫伤骨髓水肿患者血清 HIF-1 α 、MMP-3、TNF- α 变化与疼痛和水肿的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(2):262-265+269.
- [7] 王军锋. 血清 IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 检测结果对预防儿童肺炎支原体肺炎的临床意义[J]. 华南预防医学, 2017, 43(1):83-85.
- [8] Albi-Feldzer A, Dureau S, Ghimouz A, et al. Preoperative Paravertebral Block and Chronic Pain after Breast Cancer Surgery: A Double-blind Randomized Trial[J]. *Anesthesiology*, 2021, 135(6):1091-1103.
- [9] Yeung JH, Gates S, Naidu BV, et al. Paravertebral block versus thoracic epidural for patients undergoing thoracotomy [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 2(2):CD009121.
- [10] 马瑾, 尹翠, 徐莉, 等. 酮咯酸氨丁三醇用于腹腔镜术后镇痛效果及对血清神经生长因子、炎症因子影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2021, 29(8):1632-1636.
- [11] 范涛, 陈婷婷, 洪毅. 七氟醚静吸复合麻醉对腹腔镜下行宫颈癌根治术患者术后早期认知功能及血清 BDNF、NGF 的影响[J]. 中国医师杂志, 2018, 20(2):253-255.
- [12] Chen P, Duan X, Li X, Li J, Ba Q, Wang H. HIPK2 suppresses tumor growth and progression of hepatocellular carcinoma through promoting the degradation of HIF-1 α [J]. *Oncogene*, 2020, 39(14):2863-2876.
- [13] Nalini D, Selvaraj J, Kumar GS. Herbal nutraceuticals: safe and potent therapeutics to battle tumor hypoxia [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(1):1-18.
- [14] 郑鑫莹, 夏之, 肖琳琳, 等. COPD 肺组织中 MAL、IL-10、TNF- α 的表达[J]. 临床肺科杂志, 2022, 27(7):999-1002+1009.
- [15] 韩硕. 右美托咪定联合枸橼酸芬太尼注射液用于腹腔镜下阑尾切除术镇痛效果及对炎症因子水平的影响[J]. 中国基层医药, 2021, 28(11):1678-1682.

成人暴发性心肌炎患者血清一氧化氮水平的变化及临床意义

陈杰 李觉*

[摘要] **目的** 研究血清一氧化氮(NO)水平与成人暴发性心肌炎患者淋巴细胞紊乱及院内死亡的关系。**方法** 选择2019年3月至2021年12月期间上海市同济大学医学院收治的成人暴发性心肌炎患者作为研究对象,根据是否发生院内死亡分为存活组($n=57$)和死亡组($n=20$)。比较两组患者血清NO水平、NT-proBNP峰值、心肌肌钙蛋白I(cTnI)峰值、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及外周血CD4+%, CD8+%, CD4+/CD8+的差异,采用Pearson检验分析不同指标间的相关性,采用ROC曲线分析NO对院内死亡的预测价值。**结果** 死亡组患者的血清NO水平及NT-proBNP、cTnI峰值均高于存活组,差异有统计学意义($t=6.034, 8.405, 14.635, P$ 均 <0.05);血清NO水平与NT-proBNP峰值及cTnI峰值均呈正相关($r=0.361, -0.441, P$ 均 <0.05);死亡组患者外周血CD4+%, CD4+/CD8+均高于存活组,CD8+%低于存活组,差异有统计学意义($t=2.065, 9.769, 5.825, P<0.05$);死亡组患者的血清TNF- α 、IL-6、ICAM-1含量均高于存活组,差异有统计学意义($t=10.984, 10.848, 8.837, P<0.05$);成人暴发性心肌炎患者血清NO水平、NT-proBNP峰值、cTnI峰值与CD4+%, CD4+/CD8+及TNF- α 、IL-6、ICAM-1含量均呈正相关,与CD8+%呈负相关;血清NO水平对院内死亡具有预测价值,预测的最佳截断值为 $30.10 \mu\text{mol/L}$ (灵敏度78.95%、特异性80.00%)。**结论** 成人暴发性心肌炎患者血清NO水平升高与淋巴细胞紊乱、细胞因子释放增加及院内死亡有关。

[关键词] 成人暴发性心肌炎;一氧化氮;淋巴细胞;细胞因子

The change of serum nitric oxide level in adult patients with fulminant myocarditis and its clinical significance

CHEN Jie, LI Jue*

(Shanghai Tongji University School of Medicine, Shanghai, China, 200092)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between serum nitric oxide (NO) level and lymphocyte disorder, hospital death in adult patients with fulminant myocarditis. **Methods** Adult patients with fulminant myocarditis treated in Shanghai Tongji University School of Medicine from March 2019 to December 2021 were selected as the research object. They were divided into the survival group ($n=57$) and the death group ($n=20$) according to whether there was in-hospital death. The serum NO level, NT proBNP peak, cardiac troponin I (cTnI) peak and the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and CD4+ %, CD8+ % and CD4+ / CD8+ in peripheral blood were compared between the two groups. The correlation between different indexes was analyzed by Pearson test, and the predictive value of NO on hospital death was analyzed by ROC curve. **Results** The serum NO level and the peak value of NT-proBNP and cTnI in the death group were higher than those in the survival group, and the difference was statistically significant ($t=6.034, 8.405, 14.635, P<0.05$). The serum NO level was positively correlated with the peak value of NT-proBNP and cTnI ($r=0.361, -0.441, P<0.05$). The peripheral blood

项目基金:上海市中医药临床培训学习中心建设课题(ZYLCPX-Q7-2016-S06)

作者单位:上海市同济大学医学院,上海 200092

*通信作者:李觉, E-mail: cnshtongji@163.com

CD4+ % and CD4+/CD8+ of the death group were higher than those of the survival group, and CD8+ % was lower than that of the survival group, and the differences were statistically significant ($t=2.065, 9.769, 5.825, P<0.05$). The serum levels of TNF- α , IL-6 and ICAM-1 in the death group were higher than those in the survival group, and the difference was statistically significant ($t=10.984, 10.848, 8.837, P<0.05$). Serum NO level, NT-proBNP peak value and cTnI peak value in adult patients with fulminant myocarditis were positively correlated with CD4+ %, CD4+/CD8+ and TNF- α , IL-6, ICAM-1 content, and negatively correlated with CD8+ %. Serum NO level has predictive value for in-hospital death, and the best cut-off value for prediction is 30.10 $\mu\text{mol/L}$ (sensitivity 78.95%, specificity 80.00%). **Conclusion** The increase of serum NO level in adult patients with fulminant myocarditis is related to lymphocyte disorder, increased cytokine release and in-hospital death.

[KEY WORDS] Adult fulminant myocarditis; Nitric oxide; Lymphocytes; Cytokines

病毒性心肌炎是一类以心肌间质炎症细胞浸润、心肌局灶性坏死为特征的心血管系统疾病,近些年该病在中青年人群中的发病率呈升高趋势且已经成为中青年猝死的常见病因。暴发性心肌炎是心肌炎最严重的类型,多伴有循环衰竭、恶性心律失常、心源性休克,临床治疗难度大、院内死亡率高^[1-2]。一氧化氮(Nitric oxide, NO)是一种气体信号分子,不仅在心血管系统中参与炎症反应、细胞凋亡等生物学环节的调控,还能释放进入血液循环、作为评估疾病的标志物。一项动物实验证实NO合酶抑制剂显著改善心肌炎大鼠的心肌病理改变,减少心肌中淋巴细胞的浸润^[3];另有相关临床研究证实血清NO水平对急性心肌梗死患者的病情及预后具有评估价值^[4]。本研究将NO用于成人暴发性心肌炎的病情评估,具体分析了血清NO水平与成人暴发性心肌炎患者淋巴细胞紊乱及院内死亡的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2019年3月至2021年12月期间上海市同济大学医学院收治的成人暴发性心肌炎患者作为研究对象,纳入标准:①符合专家共识中成人暴发性心肌炎的诊断标准^[5];②取得患者知情同意并按要求留取血清样本;③临床资料完整。排除标准:①合并心力衰竭、慢性肾脏病、慢性肝脏病;②既往有冠心病病史;③合并自身免疫性疾病、恶性肿瘤。共纳入77例患者,包括男性43例、女性34例,年龄平均(47.51 \pm 7.41)岁。研究获得医院委员会批准,取得入组患者知情同意。

1.2 研究分组

根据患者住院期间是否发生死亡将入组的77

例患者分为死亡组和存活组。死亡组共20例,男性13例、女性7例,年龄(49.12 \pm 10.32)岁,体质指数(22.58 \pm 5.22) kg/m²,入院时心率(113.22 \pm 19.93)次/分、收缩压(108.51 \pm 19.32) mmHg、舒张压(69.31 \pm 10.32) mmHg;存活组共57例,男性30例、女性27例,年龄(47.95 \pm 8.95)岁,体质指数(22.19 \pm 4.59) kg/m²,入院时心率(109.93 \pm 15.38)次/分、收缩压(110.83 \pm 16.58) mmHg、舒张压(71.09 \pm 9.39) mmHg。两组间一般资料及入院时生命体征比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.3 检测指标及方法

入院时采集静脉血并离心分离血清,采用微量法试剂盒检测NO水平,采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海西唐生物公司)检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、细胞间黏附分子-1 (Intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)的含量,采集静脉血并用EDTA抗凝,采用流式细胞术检测T细胞亚群中CD4+%、CD8+%并计算CD4+/CD8+,所用试剂及特异性一抗均为B&D公司。

1.4 统计学方法

采用SPSS 23.0软件进行统计学处理;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;相关性分析采用Pearson检验;采用ROC曲线分析NO预测院内死亡的价值; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者血清NO水平、NT-proBNP及cTnI峰值的比较

死亡组患者的血清NO水平、NT-proBNP及cTnI峰值均高于存活组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组患者血清NO水平、NT-proBNP及cTnI峰值的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum NO level, peak values of NT proBNP and cTnI between 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | NO水平 ($\mu\text{mol/L}$) | NT-proBNP 峰值 (pg/mL) | cTnI 峰值 ($\mu\text{g/L}$) |
|-----|----|-------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| 存活组 | 57 | 24.99 \pm 7.14 | 4 239.39 \pm 744.61 | 47.51 \pm 8.36 |
| 死亡组 | 20 | 38.43 \pm 11.82 | 5 983.12 \pm 939.29 | 89.39 \pm 16.51 |
| t 值 | | 6.034 | 8.405 | 14.635 |
| P 值 | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

2.2 成人暴发性心肌炎患者血清 NO 水平与 NT-proBNP 及 cTnI 峰值的相关性

经 Pearson 检验,成人暴发性心肌炎患者血清 NO 水平与 NT-proBNP 峰值及 cTnI 峰值均呈正相关,相关系数分别为 0.361、0.441,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.3 两患者外周血淋巴细胞水平的比较

死亡组患者外周血 CD4+%/CD4+/CD8+均高于存活组,CD8+%低于存活组,差异有统计学意义($t=2.065, 9.769, 5.825, P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者外周血淋巴细胞水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of peripheral blood lymphocytes of patients between 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | CD4+(%) | CD8+(%) | CD4+/CD8+ |
|-----|----|------------------|------------------|-----------------|
| 存活组 | 57 | 33.56 \pm 5.78 | 18.69 \pm 3.32 | 1.79 \pm 0.36 |
| 死亡组 | 20 | 37.35 \pm 9.92 | 13.41 \pm 3.94 | 2.79 \pm 0.48 |
| t 值 | | 2.065 | 5.825 | 9.769 |
| P 值 | | 0.042 | 0.000 | 0.000 |

2.4 两组患者血清淋巴细胞相关细胞因子含量的比较

死亡组患者的血清 TNF- α 、IL-6、ICAM-1 含量均高于存活组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者血清 TNF- α 、IL-6、ICAM-1 含量的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum TNF- α , IL-6, ICAM-1 contents of patients between survival 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | TNF- α (ng/mL) | IL-6(ng/mL) | ICAM-1(ng/mL) |
|-----|----|-----------------------|--------------------|--------------------|
| 存活组 | 57 | 36.49 \pm 6.52 | 104.42 \pm 17.83 | 394.91 \pm 58.39 |
| 死亡组 | 20 | 57.38 \pm 9.29 | 157.39 \pm 21.36 | 546.72 \pm 84.82 |
| t 值 | | 10.984 | 10.848 | 8.837 |
| P 值 | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

2.5 成人暴发性心肌炎患者血清 NO 水平及 NT-proBNP、cTnI 峰值与淋巴细胞及其相关细胞因子的相关性

经 Pearson 检验,成人暴发性心肌炎患者血清 NO 水平、NT-proBNP 峰值、cTnI 峰值与 CD4+%/CD4+/CD8+及 TNF- α 、IL-6、ICAM-1 含量均呈正相关,与 CD8+%呈负相关。见表 4。

表 4 成人暴发性心肌炎患者血清 NO 水平及 NT-proBNP、cTnI 峰值与淋巴细胞及其相关细胞因子的相关性

Table 4 Correlation between serum NO level, NT-proBNP, cTnI peak and lymphocytes and their related cytokines in adult patients with fulminant myocarditis

| 指标 | NO 水平 | | NT-proBNP 峰值 | | cTnI 峰值 | |
|---------------|--------|-------|--------------|-------|---------|-------|
| | r 值 | P 值 | r 值 | P 值 | r 值 | P 值 |
| CD4+% | 0.385 | <0.05 | 0.403 | <0.05 | 0.315 | <0.05 |
| CD8+% | -0.412 | <0.05 | -0.432 | <0.05 | -0.351 | <0.05 |
| CD4+/CD8+ | 0.451 | <0.05 | 0.571 | <0.05 | 0.388 | <0.05 |
| TNF- α | 0.319 | <0.05 | 0.332 | <0.05 | 0.409 | <0.05 |
| IL-6 | 0.373 | <0.05 | 0.308 | <0.05 | 0.274 | <0.05 |
| ICAM-1 | 0.292 | <0.05 | 0.325 | <0.05 | 0.298 | <0.05 |

2.6 血清 NO 水平预测成人暴发性心肌炎患者院内死亡的 ROC 曲线分析

血清 NO 水平预测成人暴发性心肌炎患者院内死亡曲线下面积为 0.822(95% CI: 0.709~0.935), 预测的最佳截断值为 30.10 $\mu\text{mol/L}$, 灵敏度和特异性分别为 78.95%和 80.00%。见图 1。

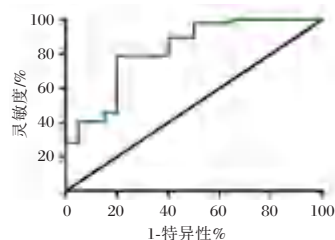


图 1 血清 NO 水平预测成人暴发性心肌炎患者院内死亡的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of serum NO level in predicting in-hospital death in adult patients with fulminant myocarditis

3 讨论

成人暴发性心肌炎是特殊类型的心肌炎,病情危重且进展迅速,虽然该病本身具有一定自限性,但因为起病后短时间内会出现心力衰竭、恶性心律失常及心源性休克,所以临床治疗难度大、院内死亡风险高^[6-7]。有研究报道,使用机械通气、IABP、ECMO 等机械辅助支持治疗成人暴发性心肌炎对降低死亡率、改善预后具有积极意义^[8-9]。因此,在临床实践中准确评估成人暴发性心肌炎的病情和预后、早期识别具有较高院内死亡风险的患者并进行分层干预显得尤为重要。目前研究认为成人暴发性心肌炎预后的可能影响因素包括性别、年龄、肌钙蛋白峰值、射血分数等反映心功能的指标^[10-12],但尚无能够准确预测预后的分子标志物。

NO是NO合酶催化左旋精氨酸代谢生成的气体信号分子,既在多个生理过程中发挥调控作用,也在多个病理生理过程中发挥细胞毒性作用。在生理状态下,内皮细胞表达丰富的NO合酶,催化生成的NO起到内皮舒张作用,生理浓度的NO能够保护心血管系统、维持血管舒张状态^[13]。在缺血缺氧、感染、应激等病理生理过程中,NO合酶表达增加、NO生成增多,超过生理浓度的NO能够引起炎症反应、氧化应激、细胞凋亡等发生激活,进而介导细胞毒性作用,与组织和脏器的损害密切相关^[14-15]。基于NO在不同病理生理过程中发挥的细胞毒性作用,多项研究报道了血清NO作为标志物用于评估疾病病情及预后的价值。

本研究采用院内死亡情况评估成人暴发性心肌炎的短期预后,将血清NO水平用于预后的评估和预测,通过存活与死亡患者的比较可知:死亡患者入院时的血清NO水平高于存活患者,表明成人暴发性心肌炎发病后NO的大量释放可能与预后不良、院内死亡有关。此外,本研究还对患者入院后反映心功能的血清指标进行了分析,死亡患者入院后的cTnI峰值、NT-proBNP峰值均高于存活患者,这与既往关于心功能损害加重导致成人暴发性心肌炎院内死亡风险增加的报道吻合^[10-12]。cTnI峰值、NT-proBNP峰值反映了心肌炎所致心肌损害的程度,本研究结果提示NO释放增加会在成人暴发性心肌炎的发病过程中加重心肌损害,这可能是NO增加导致院内死亡风险增加的相关机制。

亚硝基左旋精氨酸甲酯(L-Nitroso arginine methyl ester, L-NAME)是NO合酶的抑制剂、对NO的生成具有抑制作用,一项心肌炎相关的动物实验证实L-NAME显著改善心肌炎病理改变、减少心肌中淋巴细胞浸润^[16],提示NO参与心肌炎发病过程中淋巴细胞的调控。目前的研究认为T淋巴细胞在心肌炎的发生发展中起重要作用,病毒感染会引起T淋巴细胞亚群紊乱及相关细胞因子TNF- α 、IL-6、ICAM-1的异常释放,在此基础上会出现心肌损害;患者T淋巴细胞亚群紊乱及相关细胞因子异常释放是预后不良的危险因素^[17]。本研究对淋巴细胞紊乱的分析显示:死亡患者的外周血CD4+、CD4+/CD8+及血清TNF- α 、IL-6、ICAM-1含量均高于存活组,CD8+低于存活组,表明成人暴发性心肌炎患者的院内死亡与淋巴细胞紊乱相关。为了进一步认识NO在成人暴发性心肌炎发病

过程中对T淋巴细胞的影响,本研究进行了相关性分析并证实T淋巴细胞亚群的紊乱与NO水平、NT-proBNP峰值、cTnI峰值均具有相关性,由此一方面提示NO的增加会造成淋巴细胞紊乱、表现为NO与淋巴细胞及细胞因子具有相关性,另一方面提示淋巴细胞紊乱会加用心肌损害、表现为淋巴细胞及细胞因子与心肌损伤指标具有相关性。最后,本研究还通过ROC曲线分析证实入院时血清NO水平对患者的院内死亡具有预测价值。

综上所述,成人暴发性心肌炎患者血清NO水平升高与淋巴细胞紊乱、细胞因子释放增加及院内死亡有关。

参考文献

- [1] 赵妍,王文尧,田间,等.成人急性心肌炎的预后及相关因素分析[J].中国分子心脏病学杂志,2019,19(3):2905-2908.
- [2] 赵晗,刘文娟,任燕龙,等.成人暴发性心肌炎患者住院期间死亡的影响因素分析[J].中国医药,2020,15(1):13-17.
- [3] Qi L, Xin Q, Wenjun J, et al. Inhibition of iNOS protects cardiomyocytes against coxsackievirus B3-induced cell injury by suppressing autophagy [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 91:673-679.
- [4] 蒋志丽,王成钢,李艳芳,等.一氧化氮及内皮素1与急性ST段抬高型心肌梗死直接经皮冠状动脉介入患者复流相关性研究[J].中国医药,2020,15(2):165-168.
- [5] 中华医学会心血管病学分会精准医学学组,中华心血管病杂志编辑委员会.成人暴发性心肌炎诊断与治疗中国专家共识[J].内科急危重症杂志,2017,23(6):443-453.
- [6] Kang TD, Ren YL, Zhao H, et al. Risk factors for adverse cardiac events in adults with fulminant myocarditis during hospitalization [J]. World J Clin Cases, 2020, 8(2):255-263.
- [7] Rostoff P, Nessler B, Pikul P, et al. Fulminant adrenergic myocarditis complicated by pulmonary edema, cardiogenic shock and cardiac arrest [J]. Am J Emerg Med, 2018, 36(2):344.e1-344.
- [8] 郭晶,张民伟,宁耀贵,等.成人暴发性心肌炎体外生命支持治疗9例临床分析[J].中华全科医师杂志,2022,21(2):141-146.
- [9] 台适,孙佳星,唐建军,等.体外膜肺氧合在成人暴发性心肌炎合并原发性休克患者中的应用价值[J].中华心力衰竭和心肌病杂志,2020,4(3):175-180.
- [10] Liu C, Wang Z, Chen K, et al. The absolute and relative changes in high-sensitivity cardiac troponin I are associated with the in-hospital mortality of patients with fulminant myocarditis [J]. BMC Cardiovasc Disord, 2021, 21(1):571.
- [11] Ammirati E, Cipriani M, Lilliu M, et al. Survival and Left Ventricular Function Changes in Fulminant Versus Nonfulminant Acute Myocarditis [J]. Circulation, 2017, 136(6):529-545.

miR-17-5p与高血压左室肥厚相关性及其预测价值

许欣 星玉洁 杜娟 何媛 任明*

[摘要] **目的** 探讨微小核糖核酸 17-5p(miR-17-5p)与高血压左室肥厚的相关性及其预测价值。**方法** 选择2019年11月至2020年11月青海大学附属医院高血压患者55例,根据是否合并左室肥厚(LVH)分为高血压LVH组($n=25$)与高血压非左室肥厚(NLVH)组($n=30$),另选取同期体检健康者30名作为对照组。分析三组miR-17-5p的相对表达水平,通过Pearson相关分析了miR-17-5p与心脏室壁厚度的相关性。采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)评价miR-17-5p对高血压LVH的诊断预测价值。**结果** 三组舒张末期室间隔厚度(IVSd)、收缩末期室间隔厚度(IVSs)、舒张期左室后壁厚度(LVPWd)、收缩期左室后壁厚度(LVPWs)、左室心肌质量(LVM)、左室重量指数(LVM)比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。miR-17-5p相对表达丰度:对照组(1.29 ± 0.83)>高血压NLVH组(0.97 ± 0.62)>高血压LVH组(0.54 ± 0.33),差异具有统计学意义($P<0.05$)。Pearson相关性分析结果显示,高血压LVH组中miR-17-5p与IVSd、IVSs、LVPWd、LVPWs呈负相关($r=-0.709, -0.416, -0.544, -0.552, P<0.05$)。miR-17-5p对高血压LVH的ROC曲线下面积(AUC)为0.763,敏感度为92.0%,特异度为51.7%。**结论** miR-17-5p水平与高血压LVH显著相关,检测miR-17-5p对高血压LVH具有一定的预测价值。

[关键词] 高血压;左室肥厚;miR-17-5p

Correlation and predictive value of Mir-17-5P with hypertensive left ventricular hypertrophy

XU Xin, XING Yujie, DU Juan, HE Yuan, REN Ming*

(Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai, China, 810001)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation and predictive value of micro-RNA 17-5p (miR-17-5p) and hypertensive left ventricular hypertrophy. **Methods** A total of 55 hypertensive patients from November 2019 to November 2020 in the Affiliated Hospital of Qinghai University were selected. The patients were divided into the hypertensive LVH group ($n=25$) and the hypertensive non-left ventricular hypertrophy (NLVH) group ($n=30$) according to whether they were combined with left ventricular hypertrophy (LVH). Another 30 healthy subjects who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The relative expression levels of miR-17-5p in the three groups were analyzed, and the correlation between miR-17-5p and cardiac ventricular wall thickness was analyzed by Pearson correlation. The receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to evaluate the diagnostic and predictive value of miR-17-5p in hypertensive LVH. **Results** There were statistically significant differences in interventricular septal thickness at diastole (IVSd), systolic inter-ventricular thickness (IVSs), left ventricular diastolic posterior wall thickness (LVPWd), and systolic left ventricular posterior wall (LVPWs) among the three groups ($P<0.05$). The relative expression abundance of miR-17-5p: control group (1.29 ± 0.83) > hypertensive NLVH group (0.97 ± 0.62) > hypertensive LVH group (0.54 ± 0.33), the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of Pearson correlation analysis showed that miR-17-5p was negatively correlated with IVSd, IVSs, LVPWd, LVPW, LVM and LVMI in the hypertensive LVH group ($r=-0.709, -0.416, -0.544, -0.552, P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of miR-17-5p for hypertensive LVH was 0.763, the sensitivity was

基金项目:青海省心血管病临床医学研究中心(2019-SF-L2)

作者单位:青海大学附属医院心血管内科,青海,西宁 810001

*通信作者:任明, E-mail:571539549@qq.com

92.0%, and the specificity was 51.7%. **Conclusion** The level of miR-17-5p is significantly correlated with hypertension LVH, and the detection of miR-17-5p has a certain predictive value for hypertension LVH.

[KEY WORDS] Hypertension; Left ventricular hypertrophy; miR-17-5p

高血压是心脑血管疾病中较为常见的类型,其具有高患病率、高致残率、高死亡率的特点,已成为严重的公共卫生问题^[1]。高血压病程进展中心室的代谢会发生缓慢的改变,并使心脏适应性改变其功能和结构。左室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)是高血压靶器官损害最重要的特征之一,可显著增加心源性猝死、急性心肌梗死、心力衰竭、室性心律失常等不良心血管事件的发生率和病死率^[2]。研究表明^[3],MicroRNA可能在心脑血管疾病的发展进程中发挥重要作用。微小核糖核酸17-5p(microRNA-17-5p, miR-17-5p)是miR-17-92基因家族中的重要成员,有文献证实miR-17-92基因家族在冠状动脉粥样硬化性心脏病、血管缺血损伤及血管新生中都发挥十分重要的调节作用^[4]。本研究旨在探究miR-17-5p在高血压左室肥厚病人血清中的表达水平预测价值,以期对早期防治高血压合并左室肥厚提供一定的指导意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2019年11月至2020年11月青海大学附属医院2019年11月至2020年11月高血压患者55例,根据是否合并左室肥厚(LVH)分为高血压LVH组($n=25$)与高血压非左室肥厚(Non-left ventricular hypertrophy, NLVH)组($n=30$),另选取同期体检健康者30名作为对照组。纳入标准:①高血压诊断符合《中国高血压防治指南2018》^[5]标准:连续三次非同日血压,收缩压 ≥ 180 mmHg或舒张压 ≥ 110 mmHg。高血压左室肥厚诊断标准^[6]:超声心动图提示心脏室间隔厚度或/且心脏左室后壁厚度均 ≥ 12 mm, EF需 $>40\%$ 。②患者知情并签署知情同意书。排除标准:①继发性高血压;②导致心脏发生重构改变的其它疾病;③心力衰竭、冠心病、糖尿病、肿瘤、肝肾功异常者。三组一般资料比较见表1。本研究经青海大学附属医院医学伦理会审批通过。

1.2 观察指标

记录所有本研究参与者的一般信息和相关化验及检查数据,包括年龄、身高、体重、性别、吸烟史、病程、用药情况、舒张压(diastolic blood pres-

sure, DBP)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、甘油三酯(TriGlyceride, TG)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、血肌酐(creatinine, Cr)、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、舒张末期室间隔厚度(Interventricular Septal Thickness at Diastole, IVSd)、舒张末期左室内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、收缩末期室间隔厚度(systolic interventricular thickness, IVSS)、收缩末期左室内径(left ventricular end contractile diameter, LVESD)、收缩期左室后壁厚度(systolic left ventricular posterior wall, LVPWs)、舒张期左室后壁厚度(left ventricular diastolic posterior wall thickness, LVPWd)、右心室舒张期横径(rightventricular diastolic diameters, RVDD)、右心室舒张末期前后径(rightventricular end-diastolic, RVED)及左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF%)、左室心肌质量(left ventricular myocardium mass, LVM)、左室重量指数(left ventricular mass index, LVMI)。

1.3 研究方法

1.3.1 标本的采集

清晨空腹抽取受试者静脉血5 mL,使用含枸橼酸钠抗凝剂试管抗凝,3 000 r/min离心(离心半径10 cm)10 min后,取上层血清,冻存于 -80°C 冰箱。

1.3.2 miR-17-5p检测方法

每个标本吸取血浆2 000 μL ,并分别装于两个无RNase的EP管中。1 500 rpm离心(离心半径10 cm)5 min,取上清。3 500 rpm离心(离心半径16 cm)10 min,取上清。3 500 rpm离心(离心半径10 cm)30 min取沉淀,加入100 μL PBS重悬后得外泌体沉淀。将获得的外泌体沉淀离心,加入氯仿,乙醇并离心,获得沉淀,加入RNase-free H_2O 至沉淀完全溶解,然后再利用紫外可见超微量分光光度计(Nanodrop 2000/2000C)进一步分析并判定所抽提RNA的浓度及质量。使用Promega M-MLV试剂

盒,对提取的RNA进行逆转录。最后采用Roche公司的LightCycler 480 II PCR仪进行荧光定量PCR检测。用 $F=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示miR-17-5p的相对表达丰度(ΔCt =目的基因的Ct值-内参基因的Ct值, $-\Delta\Delta Ct$ =阴性对照组中 ΔCt 的平均值-各个样品中的 ΔCt 值)。

1.4 统计学分析

采用SPSS 23.0统计软件进行统计分析。计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,多组比较采用单F分析,两组间比较采用LSDt法。计数资料用n(%)表示,组间比较采用卡方检验。变量间的相关分析采用Pearson相关系数分析法。采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析外泌体中miR-17-5p对于高血压左室肥厚的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组基线资料与血清学指标比较

三组SBP、DBP比较,差异有统计学意义($P<0.05$);三组性别、年龄、身高、体重、吸烟史、病程、降压药物及相关血清学指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 三组超声心动图指标比较

三组IVSd、IVSs、LVPWd、LVPWs、LVM、LVMI比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 三组超声心动图各项指标比较 $(\bar{x}\pm s)$

Table 2 Comparison of echocardiographic indexes among the three groups $(\bar{x}\pm s)$

| 项目 | 对照组 (n=30) | 高血压 NLVH组 (n=30) | 高血压 LVH组 (n=25) | F值 | P值 |
|-----------------------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------|--------|
| IVSd (mm) | 8.53±1.31 | 9.73±1.2 ^a | 12.76±0.72 ^{ab} | 100.122 | <0.001 |
| IVSs (mm) | 13.97±1.94 | 15.97±1.61 ^a | 18.2±1.87 ^{ab} | 37.413 | <0.001 |
| LVEDD (mm) | 45.70±4.15 | 46.3±3.95 | 44.44±3.76 | 1.536 | 0.221 |
| LVESD (mm) | 26.40±3.27 | 26.77±4.97 | 24.24±3.95 | 2.899 | 0.061 |
| LVPWd (mm) | 8.23±1.33 | 9.33±1.15 ^a | 10.88±1.36 ^{ab} | 29.143 | <0.001 |
| LVPWs (mm) | 14.53±2.00 | 15.67±2.25 ^a | 16.48±1.83 ^a | 6.332 | 0.003 |
| RVED (mm) | 18.43±3.06 | 18.47±3.93 | 18.76±4.82 | 0.055 | 0.947 |
| RVDD (mm) | 30.83±3.65 | 32.67±3.29 | 31.48±4.22 | 1.877 | 0.159 |
| LVEF (%) | 72.93±6.53 | 72.53±9.04 | 72.08±7.99 | 0.079 | 0.924 |
| LVM(g) | 205.56±12.53 | 256.37±10.42 ^a | 267.95±11.28 ^a | 7.035 | <0.001 |
| LVMI (g/m ²) | 74.13±10.64 | 81.96±12.86 | 86.35±13.44 ^a | 5.641 | <0.001 |

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与高血压NLVH组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 三组外泌体中miR-17-5p相对表达丰度比较

miR-17-5p相对表达丰度:对照组(1.29±0.83)>高血压NLVH组(0.97±0.62)>高血压LVH组(0.54±

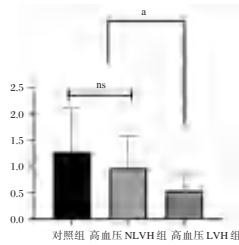
表1 三组基线资料、血清学指标比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

Table 1 Comparison of baseline data and various serological indicators among the three groups $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

| 项目 | 对照组(n=30) | 高血压NLVH组(n=30) | 高血压LVH组(n=25) | F/ χ^2 值 | P值 |
|------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------|--------|
| 性别 | | | | 0.068 | 0.967 |
| 男 | 14(46.67) | 15(50.00) | 12(48.00) | | |
| 女 | 16(53.33) | 15(50.00) | 13(52.00) | | |
| 年龄(岁) | 50.97±14.48 | 53.03±10.97 | 56.76±6.92 | 1.817 | 0.169 |
| 身高(cm) | 164.53±6.47 | 168.47±8.21 | 164.48±8.05 | 2.638 | 0.078 |
| 体重(kg) | 63.68±10.07 | 70.02±13.61 | 69.12±13.90 | 2.192 | 0.118 |
| SBP(mmHg) | 114.83±11.5 | 139.43±17.19 ^a | 139.24±23.94 ^a | 18.276 | <0.001 |
| DBP(mmHg) | 73.20±8.14 | 90.73±12.31 ^a | 80.84±20.91 ^b | 11.299 | <0.001 |
| 吸烟史 | | | | 2.870 | 0.238 |
| 有 | 9(30.00) | 11(36.67) | 13(52.00) | | |
| 无 | 21(70.00) | 19(63.33) | 12(48.00) | | |
| 病程(年) | | | | 1.078 | 0.286 |
| 降压药物 | | 5.75±2.01 | 5.23±1.46 | | |
| 利尿剂 | | 8(26.67) | 5(20.00) | 0.774 | 0.856 |
| β 受体阻滞剂 | | 10(33.33) | 9(36.00) | | |
| 钙离子拮抗剂 | | 6(20.00) | 7(28.00) | | |
| 其他 | | 6(20.00) | 4(16.00) | | |
| TC(mmol/L) | 4.04±0.70 | 4.31±0.73 | 3.95±0.88 | 1.674 | 0.194 |
| TG(mmol/L) | 1.47±1.43 | 2.14±1.10 | 1.93±0.87 | 2.536 | 0.085 |
| LDL(mmol/L) | 2.34±0.72 | 2.68±0.76 | 2.34±0.80 | 1.952 | 0.149 |
| HDL(mmol/L) | 1.13±0.21 | 1.03±0.23 | 1.09±0.20 | 1.740 | 0.182 |
| FPG(mmol/L) | 4.47±0.52 | 4.42±0.75 | 4.66±0.61 | 1.027 | 0.363 |
| ALT(U/L) | 25.37±15.44 | 33.53±25.81 | 25.84±13.27 | 1.656 | 0.197 |
| AST(U/L) | 21.73±6.41 | 23.83±9.92 | 21.00±5.06 | 1.075 | 0.346 |
| LDH(U/L) | 165.93±19.65 | 177.37±27.72 | 178.24±28.39 | 2.117 | 0.127 |
| Cr(μ mol/L) | 63.77±24.7 | 65.13±13.24 | 66.52±11.87 | 0.162 | 0.85 |

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与高血压NLVH组比较,^b $P<0.05$ 。

0.33), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。



注: * $P < 0.05$ 。

图1 三组外泌体中 miR-17-5p 相对表达丰度比较

Figure 1 Comparison of relative expression and abundance of miR-17-5p in three groups of exosomes

2.4 相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示, 高血压 LVH 组中 miR-17-5p 与 IVSd、IVSs、LVPWd、LVPWs 呈负相关($r = -0.709, -0.416, -0.544, -0.552, P < 0.05$)。

2.5 高血压 LVH 的多因素 Logistic 回归分析

多因素 Logistic 回归分析显示, miR-17-5p ($\beta = 0.513, OR = 1.670$) 是高血压 LVH 的独立影响因素($P < 0.05$)。见表3。

表3 高血压 LVH 的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate Logistic Regression Analysis of Hypertensive LVH

| 影响因素 | β 值 | S.E 值 | Wald 值 | OR 值 | 95% CI | P 值 |
|-----------|-----------|-------|--------|--------|--------------|-------|
| miR-17-5p | 0.513 | 0.217 | 5.589 | 1.670 | 1.254~1.871 | 0.036 |
| SBP | 0.420 | 0.232 | 3.277 | 1.522 | 1.137~1.665 | 0.070 |
| DBP | 2.359 | 1.472 | 2.568 | 10.580 | 8.102~11.487 | 0.218 |

2.6 外泌体中 miR-17-5p 对高血压 LVH 诊断的 ROC 曲线分析

高血压 LVH 组中, miR-17-5p 的表达相对丰度 AUC 为 0.763 (95% CI: 0.661~0.865, $P < 0.05$), 标准误差为 0.052。以约登指数最大切断为临界点, 确定 miR-17-5p 的相对含量 1.035 为诊断界值, 敏感度 92.0%, 特异度为 51.7%。见图2。

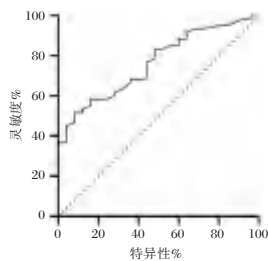


图2 外泌体中 miR-17-5p 对高血压左室肥厚诊断的 ROC 曲线分析

Figure 2 ROC curves of exosomal miR-17-5p in the diagnosis of HTN-LVH

3 讨论

高血压作为一种带来严重经济负担的常见慢性病, 主要表现为动脉血压持续升高, 其长期病程可改变心脏结构和功能。高血压的早期表现包括 LVH 和舒张功能障碍, 随着疾病的进展, 可出现心室收缩功能障碍和心腔扩大, 最终引发心力衰竭。因此, 对 LVH 进行早期诊断以进行有效防治显得尤其重要。目前, 高血压 LVH 病理生理机制尚未完全阐明, 但已证实 miRNA 可从多方面、多靶点参与心脏发育与重构、心律失常和 LVH 等心血管病理生理过程, 如正向或负向调节心肌细胞分化、肥大、增殖与凋亡过程^[7]。miR-17-p 基因家族是成员特征最为丰富的 micro RNA 家族之一, 已被证实能够在各种细胞和疾病的背景下控制细胞的发育、凋亡和增殖, 国外相关研究已证明 miR-17-92 基因家族在心脏、肺、免疫系统和肿瘤形成及发育中的重要作用^[8]。

人类的 13 号染色体之上有 miR-17-92 基因家族^[9], miR-17-92 基因家族的主要效应 micro RNA 是 miR-17-5p (也称为 miR-17), 有文献证实 miR-17-P 基因家族在冠状动脉粥样硬化心脏病和血管缺血损伤和血管新生中都发挥十分重要的调节和作用^[10]。有研究发现^[11], 在左室肥厚患者的血清中 miRNAs 显著下调, 表明 miRNAs 与心肌肥厚存在密切联系, 也为进一步研究提供了一定的方向。有研究发现, miR-NAs 可通过调控自噬相关基因 Beclin-1 来激活心肌自噬参与心肌肥厚过程, 并发现在左心室肥厚的大鼠中其血浆 miRNAs 升高^[12]。一项 29 例 NLVH 患者、28 例 LVH 患者与 27 例正常对照的研究发现^[13], 患者血浆 miRNAs 水平与 IVSd 和 LVPWd 呈正相关, 且血浆中的 miRNAs 可能是左心室肥厚诊断的重要指标, 这为左心室肥厚的早期诊断提供了新型检测方式的可能性; 这项研究还表明, 在伴有 LVH 的 HT 患者中, miRNAs 血清表达上调, 进一步阐明了 miRNAs 与血压和 LVH 相关指标的相关性, 表明 miRNAs 和 LVH 之间存在明显的相关性。Wu 等^[14]通过筛选 miRNA 表达谱变化, 发现 miRNAs 在肥厚心肌中高表达, 且与 LVH 程度呈正相关, 提示 miRNAs 可能具有促肥大作用。Pullamsetti 等^[15]发现在肺动脉高压小鼠模型中抑制 miR-17 可减少血管重塑和延缓右心室肥大。Du 等^[16]在小

鼠模型进行研究证实 miR-17-5p 对 mTOR 的抑制上调了自噬并减缓了衰老过程。以上研究均表明 miRNAs 在 LVH 发病机制中起着重要作用,但这些研究主要集中在动物实验中,临床上作为 miRNAs 主要成员之一的 miR-17-5p 在高血压 LVH 患者中的诊断作用尚未见报道。

本研究发现高血压 LVH 组中心脏的各室壁厚度与 miR-17-5p 的表达的相对丰度呈负相关。miR-17-5p 对高血压 LVH 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.763, 敏感度为 92.0%, 特异度为 51.7%。以上结果说明 miR-17-5p 在高血压 LVH 的诊断中具有重要价值,可作为潜在标志物。

综上, miR-17-5p 水平与高血压 LVH 显著相关,检测 miR-17-5p 对高血压 LVH 具有一定的预测价值,可作为诊断高血压 LVH 的潜在标志物,为临床获取心脏疾病相关信息提供新方法。

参考文献

[1] 张毓辉, 柴培培, 翟铁民, 等. 2017 年我国心脑血管疾病治疗费用核算与分析[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(9): 859-865.

[2] 黄东, 陈曼华, 于杨, 等. 原发性高血压患者心电图左室壁厚与心血管事件的相关性[J]. 重庆医学, 2015, 44(24): 3360-3361+3364.

[3] 林德洪, 钟江华, 郑颖, 等. miRNA-1 在高血压左心室肥厚诊断中的价值[J]. 临床心血管病杂志, 2017, 33(10): 962-965.

[4] 颜奕光, 周志友, 陈佩儿, 等. miRNA-17-92 基因簇在冠状动脉疾病中的研究进展[J]. 广东医学, 2018, 39(22): 3295-3298.

[5] 《中国高血压防治指南》修订委员会. 中国高血压防治指南 2018 年修订版[J]. 心脑血管病防治, 2019, 19(1): 1-44.

[6] Peguero JG, Lo P S, Perez J, et al. Electrocardiographic Criteria for the Diagnosis of Left Ventricular Hypertrophy [J]. J

Am Coll Cardiol, 2017, 69(13): 1694-1703.

[7] 朱贲贲, 白在先, 杨鹏杰. miRNA 对心肌细胞肥大的调控作用及在心肌肥厚发病中的分子生物学作用机制研究进展[J]. 山东医药, 2020, 60(24): 112-115.

[8] Koralov SB, Muljo SA, Galler GR, et al. Dicer ablation affects antibody diversity and cell survival in the B lymphocyte lineage[J]. Cell, 2008, 132(5): 860-874.

[9] 陈丽平. miRNA-17-92 基因簇在非糖尿病性巨大儿发生中的作用及其机制研究[D]. 南京医科大学, 2016.

[10] Chamorro-Jorganes A, Lee MY, Araldi E, et al. VEGF-Induced Expression of miR-17-92 Cluster in Endothelial Cells Is Mediated by ERK/ELK1 Activation and Regulates Angiogenesis[J]. Circ Res, 2016, 118(1): 38-47.

[11] 冯崑, 张俊, 武文君, 等. 循环 miR-26b 水平变化与老年高血压患者左心室肥厚及心功能的关系[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(5): 452-456+461.

[12] Qi J, Luo X, Ma Z, et al. Downregulation of miR-26b-5p, miR-204-5p, and miR-497-3p Expression Facilitates Exercise-Induced Physiological Cardiac Hypertrophy by Augmenting Autophagy in Rats[J]. Front Genet, 2020, 11(6): 78-83.

[13] Wu HB, Yang CS, Wang YC, et al. The Expression of miR-365 in Serum of Hypertension Patients with Left Ventricular Hypertrophy Was Up-Regulated, Which Was Positively Correlated with Left Ventricular Mass Index [J]. Pharmgenomics Pers Med, 2021, 14(4): 905-913.

[14] Wu H, Wang Y, Wang X, et al. MicroRNA-365 accelerates cardiac hypertrophy by inhibiting autophagy via the modulation of Skp2 expression [J]. Bioc Biophys Res Commun, 2017, 484(2): 304-310.

[15] Pullamsetti SS, Doebele C, Fischer A, et al. Inhibition of MicroRNA-17 Improves Lung and Heart Function in Experimental Pulmonary Hypertension [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 185(4): 409-419.

[16] Du WW, Yang W, Fang L, et al. miR-17 extends mouse lifespan by inhibiting senescence signaling mediated by MKP7 [J]. Cell Death Dis, 2014, 5(7): 135-140.

(上接第 2080 页)

[12] Lv J, Han B, Wang C, et al. The Clinical Features of Children With Acute Fulminant Myocarditis and the Diagnostic and Follow-Up Value of Cardiovascular Magnetic Resonance [J]. Front Pediatr, 2019, 1(7): 388.

[13] Costa ED, Silva JF, Garcia DC, et al. Decreased expression of neuronal nitric oxide synthase contributes to the endothelial dysfunction associated with cigarette smoking in human [J]. Nitric Oxide, 2020, 1(98): 20-28.

[14] Wierońska JM, Cieślak P, Kalinowski L, et al. Nitric Oxide-Dependent Pathways as Critical Factors in the Consequences and Recovery after Brain Ischemic Hypoxia [J]. Biomolecules, 2021, 11(8): 1097.

[15] Juriol LV, Gobetto MN, Mendes Garrido Abregú F, et al. Cardiac changes in apoptosis, inflammation, oxidative stress, and nitric oxide system induced by prenatal and postnatal zinc deficiency in male and female rats [J]. Eur J Nutr, 2018, 57(2): 569-583.

[16] 彭锦, 李铁岭, 韩丽娜, 等. L-NAME 对实验性自身免疫性心肌炎的保护作用[J]. 海南医学, 2015, 26(1): 11-14, 15.

[17] Berbert LR, González FB, Villar SR, et al. Enhanced Migratory Capacity of T Lymphocytes in Severe Chagasic Patients Is Correlated With VLA-4 and TNF-alpha Expression [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 2(11): 713150.

胰激肽原酶联合胰岛素泵对2型糖尿病SOD、T-AOC及TNF- α 的影响

许珊珊* 周红军 杨铭 胡文秀

[摘要] 目的 分析胰激肽原酶联合胰岛素泵对2型糖尿病患者超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的影响。方法 选取2019年1月至2022年2月于安徽省庐江县人民医院收治2型糖尿病患者117例,根据治疗方案不同分为观察组($n=61$,胰激肽原酶联合胰岛素泵治疗)、对照组($n=56$,胰岛素泵治疗)。比较两组临床疗效、SOD、T-AOC、TNF- α 、糖代谢指标(空腹血糖、餐后2小时血糖、糖化血红蛋白)以及不良反应发生率。结果 观察组临床总疗效高于对照组($P<0.05$)。治疗后,两组TNF- α 水平均出现下降,SOD、T-AOC水平均上升,其中观察组变化更为明显($P<0.05$)。治疗后,两组FPG、2hPG、HbA1c均出现下降,其中观察组变化更为明显($P<0.05$)。两组不良反应发生率差异不具有统计学意义($P>0.05$)。结论 胰激肽原酶联合胰岛素泵治疗效果明确,能有效调节血糖水平,改善SOD、T-AOC及TNF- α 水平,具有一定的安全性,值得临床应用推广。

[关键词] 胰激肽原酶联合胰岛素泵; 2型糖尿病; SOD; T-AOC; TNF- α

Effects of pancreatic kininogenase combined with insulin pump on SOD, T-AOC and TNF- α in type 2 diabetes mellitus

XU Shanshan*, ZHOU Hongjun, YANG Ming, HU Wenxiu

(Author Affiliation: Department of Endocrinology, People's Hospital of Lujiang, Hefei, Anhui, China, 231500)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of pancreatic kininogenase combined with insulin pump on superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (T-AOC) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with type 2 diabetes mellitus. **Methods** The clinical data of 117 patients with type 2 diabetes who were treated in Lujiang County People's Hospital of Anhui Province from January 2019 to February 2022 were selected, and according to the difference of patient's choice of treatment methods, they were divided into the observation group ($n=61$, pancreatic kallikrein combined with Insulin pump therapy) the control group ($n=56$, insulin pump therapy). The clinical efficacy, SOD, T-AOC, TNF- α , glucose metabolism indexes (fasting blood glucose, 2-hour postprandial blood glucose, glycosylated hemoglobin) and the incidence of adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The total clinical efficacy of the observation group was higher than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of TNF- α in the two groups decreased, while the levels of SOD and T-AOC increased, and the changes in the observation group were more obvious ($P<0.05$). After treatment, fasting blood glucose, 2-hour postprandial blood glucose, and glycosylated hemoglobin in the two groups all decreased, and the changes in the observation group were more obvious ($P<0.05$). There was no significant difference in the incidence of

基金项目:安徽省自然科学基金项目(1908085MH213)

作者单位:安徽省庐江县人民医院内分泌科,安徽,合肥 231500

*通信作者:许珊珊, E-mail: yanwuss@126.com

adverse reactions between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Kallikrein combined with insulin pump has a definite curative effect, can effectively regulate blood sugar level, improve SOD, T-AOC and TNF- α in patients, and has certain safety, and is worthy of clinical application and promotion.

[KEY WORDS] Kallikrein combined with insulin pump; Type 2 diabetes; SOD; T-AOC; TNF- α

据统计,受生活、饮食习惯等多因素的影响,我国2型糖尿病的发病率逐渐上升,同时其在年轻群体中的发病率也在逐渐升高^[1-2]。2型糖尿病可引发患者出现并发症,可累及人体多个脏器,严重时可导致患者失明、肾衰竭以及截肢等。目前,临床上治疗2型糖尿病主要以控制血糖水平、降低并发症发生率为根本目的,若不及时控制病情,随着病情的发展,容易并发多种慢性疾病,影响日常生活和生命健康^[3-4]。目前临床针对2型糖尿病主要采用胰岛素进行治疗,主要为胰岛素泵可通过微管将胰岛素持续输入皮下,并模拟正常胰岛素分泌曲线,能在短时间内控制患者血糖水平。胰激肽原酶肠溶片是一种血管扩张剂,是从猪胰中提取的蛋白酶,可改善局部微循环,减轻炎症反应,具有较好的肾保护作用^[5-6]。为提升临床治疗效果,本研究就胰激肽原酶联合胰岛素泵对2型糖尿病的影响进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2022年2月于安徽省庐江县人民医院收治2型糖尿病患者117例,根据患者选择治疗方案的不同将其分为观察组($n=61$,胰激肽原酶联合胰岛素泵治疗)、对照组($n=56$,胰岛素泵治疗)。入院前两组一般资料比较($P>0.05$),见表1。纳入标准:①均符合2型糖尿病临床诊断标准^[7];②临床资料完整;排除标准:①合并其他内分泌系统或心脏、肝、肾等器脏功能异常者;②具有精神疾病;③近期行降糖治疗;④胰岛素依赖型糖尿病、妊娠期糖尿病患者。

表1 两组资料比较($\bar{x}\pm s$)

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

| 组别 | n | 性别(男/女) | 平均年龄(岁) | 平均病程(年) |
|--------------|-----|---------|------------------|-----------------|
| 观察组 | 61 | 34/27 | 58.36 \pm 6.12 | 7.12 \pm 1.34 |
| 对照组 | 56 | 30/26 | 57.86 \pm 6.59 | 7.04 \pm 1.40 |
| t/χ^2 值 | | 0.055 | 0.426 | 0.316 |
| P 值 | | 0.814 | 0.671 | 0.753 |

1.2 检测方法

患者入院后均给予饮食控制、运动治疗和糖尿病教育等。

对照组行胰岛素泵治疗,采用瑞士海创公司生产的PLUS V100胰岛素泵及其配套设备治疗,胰岛素采用诺和锐30,起初剂量以40%~50%持续泵入,剩余剂量于三餐前泵入。胰岛素剂量依据全天血糖剂量、空腹血糖。

观察组在对照组的基础上加用胰激肽原酶治疗,采用口服方式,每次240 U,每日3次。2组均治疗12周。

1.3 观察指标

1.3.1 两组临床疗效比较

显效:空腹及餐前血糖降至3.9~6.1 mmol/L,睡前及餐后2小时血糖降至5.6~7.8 mmol/L,临床症状消失或明显减轻;有效:空腹及餐前血糖水平较治疗前明显下降,临床症状明显改善;无效:空腹及餐后2小时血糖无变化,临床症状无改善。总有效率=显效率+有效率^[8]。

1.3.2 两组SOD、T-AOC及TNF- α 水平比较

收集患者治疗前以及治疗12周后早晨空腹静脉血5 mL,3 000 r/min(离心半径10.0 cm)离心10 min取上清液。采用比色法检测血清总抗氧化能力(Total antioxidative capacity, T-AOC);采用酶联免疫分析法检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α);采用化学比色法检测超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)。

1.3.3 两组糖代谢指标水平比较

采用血糖检测仪检测患者治疗前以及治疗12周后(Fasting blood glucose, FPG)及餐后2h血糖(2h postprandial blood glucose, 2hPG)。采血离心条件同1.3.2,使用全自动测定仪检查糖化血红蛋白(Glycosylated hemoglobin, HbA1c)。

1.3.4 两组患者不良反应发生率比较

不良反应包括皮疹、低血糖、恶心乏力等。

1.4 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;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效

观察组临床总有效率高与对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 SOD、T-AOC 及 TNF- α 水平

治疗后,两组 TNF- α 水平均出现下降,SOD、T-AOC 水平上升,观察组变化更显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组 SOD、T-AOC 及 TNF- α 水平 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | SOD(IU/mL) | | T-AOC(IU/mL) | | TNF- α (ng/L) | |
|-----|----|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 61 | 77.15 \pm 6.73 | 94.65 \pm 9.52 ^a | 16.53 \pm 2.67 | 21.66 \pm 3.54 ^a | 22.63 \pm 4.35 | 11.34 \pm 2.41 ^a |
| 对照组 | 56 | 76.98 \pm 7.10 | 82.89 \pm 9.27 ^a | 16.18 \pm 2.81 | 18.43 \pm 3.37 ^a | 22.42 \pm 4.28 | 16.54 \pm 2.46 ^a |
| t 值 | | 0.133 | 6.759 | 0.691 | 5.045 | 0.263 | 11.544 |
| P 值 | | 0.895 | <0.001 | 0.491 | <0.001 | 0.793 | <0.001 |

注:与治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组糖代谢比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of two groups of glucose metabolism indicators ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | FPG(mmol/L) | | 2hPG(mmol/L) | | HbA1c(%) | |
|-----|----|------------------|------------------------------|------------------|-------------------------------|-----------------|------------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 61 | 14.85 \pm 3.11 | 5.08 \pm 1.42 ^a | 24.85 \pm 4.52 | 7.42 \pm 2.06 ^a | 8.54 \pm 1.76 | 5.67 \pm 1.11 ^a |
| 对照组 | 56 | 14.96 \pm 3.05 | 7.28 \pm 1.39 ^a | 23.96 \pm 4.38 | 10.41 \pm 1.96 ^a | 8.68 \pm 1.68 | 7.63 \pm 1.35 ^a |
| t 值 | | 0.193 | 8.456 | 1.080 | 8.027 | 0.439 | 8.606 |
| P 值 | | 0.847 | <0.001 | 0.283 | <0.001 | 0.661 | <0.001 |

注:与治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

2.4 不良反应

两组不良反应发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

表5 两组不良反应 [$n(\%)$]

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

| 组别 | n | 皮疹 | 低血糖 | 恶心乏力 | 总发生率 |
|------------|----|---------|---------|---------|----------|
| 观察组 | 61 | 1(1.31) | 4(6.56) | 3(4.92) | 8(13.11) |
| 对照组 | 56 | 1(1.79) | 2(3.57) | 2(3.57) | 5(8.93) |
| χ^2 值 | | | | | 0.518 |
| P 值 | | | | | 0.472 |

3 讨论

糖尿病属于内分泌系统疾病,是一种终身慢性疾病,临床多表现为“三多一少”(多尿、多饮、多食及体质量下降)。糖尿病主要分为1型以及2

表2 两组临床疗效 [$n(\%)$]

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

| 组别 | n | 显效 | 有效 | 无效 | 总有效率 |
|------------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 观察组 | 61 | 27(44.26) | 31(50.82) | 3(4.92) | 58(95.08) |
| 对照组 | 56 | 21(37.50) | 25(44.64) | 10(17.86) | 46(82.14) |
| χ^2 值 | | | | | 4.949 |
| P 值 | | | | | 0.026 |

2.3 糖代谢

治疗后,两组 FPG、2hPG、HbA1c 均下降,观察组变化更显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

型两种,其中 90% 以上糖尿病患者为 2 型糖尿病^[9-10]。现阶段,临床认为 2 型糖尿病的具体诱因因为胰岛素分泌缺陷与胰岛素作用障碍^[11]。胰岛素作用主要为参与调控夜间血糖、空腹血糖,通过阻止糖异生、糖原分解,导致肝糖输出;进一步摄入葡萄糖,从而达到稳定血糖的目的^[12]。

近年来,胰岛素泵成为临床治疗 2 型糖尿病的有效方法。研究发现,胰岛素泵治疗方式血糖指标控制效果更明显^[13]。然而诺和锐 30 分别含有 30%、70% 的可溶性门冬胰岛素和精蛋白门冬胰岛素,经皮下注射后 30% 的速效成分可快速进入血液,其起效快,持续作用时间长。诺和锐 30 作用于 2 型糖尿病机制为利用肽多糖正常使用量防止肝糖分解,从而改善空腹血糖水平和胰岛 B 细胞功能^[14]。本文数据结果也显示,采用诺和锐 30 进行

治疗的患者具有一定临床有效率。

SOD是一种氧自由基清除剂,可提示机体清除氧自由基能力、有毒物质对细胞损伤程度^[15]。T-AOC水平可提示机体抗氧化防御程度。TNF- α 是促炎因子,对视网膜细胞、毛细血管造成损伤,从而形成微血栓^[16]。有研究表明:2型糖尿病患者存在SOD、T-AOC及TNF- α 水平异常^[17]。本文将胰激肽原酶联合胰岛素泵应用于2型糖尿病治疗中,结果发现,观察组临床总有效率高于对照组,SOD、T-AOC及TNF- α 水平改善程度大于对照组,空腹血糖、餐后2小时血糖、糖化血红蛋白低于对照组,与既往研究趋势一致^[18]。分析原因主要是由于胰岛素泵通过对机体正常生理状态下胰岛素分泌的精确模拟,使患者的血糖能够在较短时间内得到良好的控制,使高血糖毒性得到迅速逆转,从而让患者的胰岛 β 细胞功能得到改善,起到控制病情的作用^[19]。相关研究表明:2型糖尿病患者普遍胰激肽原酶系统活性不足,适量补充胰激肽原酶可激活激肽系统,使激肽原降解为激肽,作用于血管平滑肌,使小动脉及毛细血管扩张,起到改善微循环的效果^[20]。另外,胰激肽原酶作用过程中的激肽释放酶-激肽系统可能通过NO和前列腺素影响活性氧的生成,从而发挥其抗氧化应激的作用^[19-20]。本文研究进一步对用药安全性进行分析得:两组不良反应比较差异无统计学意义,说明胰激肽原酶联合胰岛素泵临床疗效显著且安全性较高。

综上所述,胰激肽原酶联合胰岛素泵治疗效果明确,能有效调节血糖水平,有改善SOD、T-AOC及TNF- α 水平,有一定的安全性,值得临床应用推广。

参考文献

- [1] 龚为红,叶云辉,刘红景. 磷酸西格列汀与瑞格列奈对2型糖尿病的疗效及对GLP-1的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(7): 1051-1054.
- [2] 杨芳,檀增桓,韦志坤,等. 碘-131联合胰岛素泵治疗2型糖尿病伴发甲亢的近远期疗效及对骨代谢指标的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(7): 1368-1372.
- [3] 陈雪群,刘阳优,谢建群,等. 系统化健康教育联合胰岛素泵强化治疗在初诊2型糖尿病患者的应用研究[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(10): 1238-1239.
- [4] Iglay K, Hannachi H, Engel SS, Li X, O'Connell D, Moore LM, Rajpathak S. Comorbidities in type 2 diabetes patients with and without atherosclerotic cardiovascular disease: a retrospective database analysis [J]. *Curr Med Res Opin*, 2021, 37(5): 743-751.
- [5] 王宏涛,陈培红,丁花花. 沙格列汀联合胰岛素泵短期强化降血糖治疗对2型糖尿病患者 β 细胞分泌功能及胰岛素抵抗的影响[J]. 药物评价研究, 2019, 42(11): 2226-2229.
- [6] 张展,杨凯,姜德龙,张兰. 应用改良Homa公式评价益气养阴法联合短期胰岛素泵强化的初诊2型糖尿病气阴两虚型患者的胰岛功能[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(1): 77-80.
- [7] Silvia P, Simona Z, Ernesto M, et al. "H" for Heterogeneity in the Algorithm for Type 2 Diabetes Management [J]. *Curr Diab Rep*, 2020, 20(5): 14.
- [8] 梅周,殷应传,周晓惠,等. 胰岛素泵对2型糖尿病合并颈动脉粥样硬化患者糖脂代谢及氧化应激的影响[J]. 中国医刊, 2020, 55(2): 200-202.
- [9] 徐建宾,菅小红,申晶,等. 沙格列汀片联合胰岛素强化治疗2型糖尿病血糖不达标患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(19): 2239-2242.
- [10] 涂晶晶,唐建东,张维,等. 达格列净联合胰岛素泵短期强化治疗初诊2型糖尿病高血糖的疗效观察[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(18): 108-112.
- [11] Guo Z, Priefer R. Current progress in pharmacogenomics of Type 2 diabetes: A systemic overview [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2021, 15(5): 10-22+39.
- [12] 徐静,王峰,姚敏. 应用不同序贯治疗方案联合桃仁承气汤对2型糖尿病短期胰岛素泵强化治疗后影响分析[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(4): 188-190.
- [13] 李玲,李娜,彭茜,等. 胰岛素与胰岛素类似物用于胰岛素泵联合二甲双胍对新诊断2型糖尿病患者治疗的临床疗效及药物经济学对比观察[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(10): 747-751.
- [14] 许桂煌,张莹,郑思远,等. 不同口服降糖药对2型糖尿病胰岛素泵强化治疗患者胰岛功能及预后的影响[J]. 西部医学, 2020, 32(6): 832-835.
- [15] Koren D, Levitsky LL. Type 2 Diabetes Mellitus in Childhood and Adolescence [J]. *Pediatr Rev*, 2021, 42(4): 167-179.
- [16] 王炜炜. 胰岛素四针强化注射或预混胰岛素治疗与胰岛素泵强化治疗对2型糖尿病临床治疗效果比较[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(3): 335-337.
- [17] 王秋锋,金春华. 初诊2型糖尿病患者短期胰岛素泵强化治疗后不同治疗方案对胰岛功能的影响[J]. 中国慢性病预防与控制, 2019, 27(5): 377-380.
- [18] 刘晶,赵培,陈稳,等. 实时胰岛素泵治疗对2型糖尿病患者氧化应激及血管内皮功能的影响[J]. 河北医科大学学报, 2019, 40(12): 1380-1383.
- [19] 湛文世,王龙,凌小元,等. 胰岛素泵强化治疗对初诊2型糖尿病患者糖脂代谢及胰岛 β 细胞功能的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2021, 49(4): 427-430.
- [20] 赵静,段莉莉,李超. 胰激肽原酶肠溶片联合厄贝沙坦片治疗对2型糖尿病肾病伴高血压患者TM、TNF- α 、IL-18的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(16): 1703-1707.

免疫型复发性流产患者血清封闭抗体、TPOAb及ANA的临床治疗变化

郑琦^{1*} 钟素琴² 朱丽君¹

[摘要] 目的 探讨免疫型复发性流产患者血清封闭抗体、TPOAb及ANA的临床治疗变化。方法 选取2018年1月至2021年12月收治于赣州市妇幼保健院的106例免疫型RSA患者作为研究对象,按随机数字表法分为对照组和观察组,各53例。对照组予以主动免疫治疗,观察组在对照组的基础上联合金水宝胶囊治疗,两组均治疗3个月。统计分析两组妊娠结局、规范用药所需时间及不良反应发生率;对比两组治疗前、治3个月后自然杀伤(NK)细胞(CD56⁺)、B细胞(CD19⁺)百分比、血清封闭抗体水平[CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺]水平、甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)阳性率及抗核抗体(ANA)阳性率。结果 治疗3个月后,观察组足月分娩率高于对照组($P<0.05$);两组规范用药所需时间差异无统计学意义($P>0.05$)。两组CD56⁺、CD19⁺百分比、TPOAb及ANA阳性率均降低,且观察组低于对照组($P<0.05$)。两组CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平均降低,CD8⁺均升高,且观察组血清封闭抗体水平均优于对照组($P<0.05$)。两组不良反应发生率差异无统计学意义($P<0.05$)。结论 金水宝胶囊治疗免疫型复发性流产临床疗效显著,能调节血清封闭抗体、TPOAb及ANA的表达水平,适宜作为免疫型复发性流产的理想治疗方案。

[关键词] 免疫型复发性流产;金水宝胶囊;封闭抗体;TPOAb;ANA;疗效

Changes in clinical treatment of serum blocking antibody, TPOAb and ANA in patients with immune recurrent spontaneous abortion

ZHENG Qi^{1*}, ZHONG Suqin², ZHU Lijun¹

(1. Department of Gynecology, Ganzhou Maternal and Child Health Hospital of Jiangxi Province, Ganzhou, Jiangxi, China, 341000; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Ganzhou Maternal and Child Health Hospital, Ganzhou, Jiangxi, China, 341000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical treatment changes of serum blocking antibodies, TPOAb and ANA in patients with immune recurrent spontaneous abortion. **Methods** A total of 106 immune-type RSA patients admitted to Ganzhou Maternal and Child Health Hospital from January 2018 to December 2021 were selected as the research subjects, and divided into the control group and the observation group according to random number table method, with 53 cases in each group. The control group was given active immunotherapy, and the observation group was treated with Jinshuibao Capsule on the basis of the control group, both groups were treated for 3 months. Statistical analysis of pregnancy outcomes, time required for standardized medication and incidence of adverse reactions between the two groups was performed. Comparison of the percentages of natural killer (NK) cells (CD56⁺), B cells (CD19⁺) and serum blocking antibody levels before and after 3 months of treatment between the two groups [CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺] levels, positive rate of thyroid peroxidase antibody (TPOAb) and positive rate of antinuclear antibody (ANA) were carried out. **Results** After 3 months of treatment, the full-term delivery rate in the observation group was

基金项目:江西省中医药管理局科技计划课题(2020B0164)

作者单位:1. 江西省赣州市妇幼保健院妇科,江西,赣州 341000

2. 江西省赣州市妇幼保健院中医科,江西,赣州 341000

*通信作者:郑琦, E-mail:ffxleyjsb@163.com

higher than that in the control group ($P<0.05$). There was no significant difference in the time required for standardized medication between the two groups ($P>0.05$). The percentages of CD56⁺, CD19⁺, TPOAb and ANA in both groups were decreased, and the observation group was lower than the control group ($P<0.05$). The levels of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ in the two groups were decreased, and CD8⁺ was increased, and the serum blocking antibody level in the observation group was higher than that in the control group ($P<0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P<0.05$). **Conclusion** Jinshuibao Capsules has a significant clinical effect in the treatment of immune-type recurrent abortion, and can regulate the expression levels of serum blocking antibodies, TPOAb and ANA, and is suitable as an ideal treatment for immune-type recurrent abortion.

[KEY WORDS] Immune-type recurrent abortion; Jinshuibao Capsule; Blocking antibody; TPOAb; ANA; Efficacy

复发性流产 (recurrent spontaneous abortion, RSA) 是在妊娠 20 周内连续自然流产 ≥ 2 次, 在适育妇女中其发生率约占 1%^[1]。随着现代生活环境以及生活习惯的改变, 加上女性孕育年龄推迟等原因, 其发病率正逐年攀升^[2]。RSA 可导致不孕不育, 严重影响胎儿安危及女性身心健康^[3]。西医认为, RSA 涉及遗传、感染、内分泌、自身免疫等多种因素干扰, 治疗上应补充绒毛膜促性腺激素、黄体酮和叶酸以及淋巴细胞主动免疫等。而 RSA 在中医学范畴中属于“滑胎”, 滑胎的临床特点为“屡孕屡堕”、“应期而堕”。现代药理学研究显示^[4-5], 补肾中药能改善内膜功能, 促进子宫发育, 多靶向调节生殖系统。金水宝胶囊为中药制剂, 其主要成分为人工发酵虫草菌粉 (Cs-4), 具有补益肺肾、填精益气等功效, 能调节机体生殖系统及免疫功能等, 近年来被广泛应用于临床。但目前临床上多将金水宝胶囊用于肝、肺、肾等慢性疾病, 鲜有报道将其应用于免疫型 RSA 患者。为了探讨金水宝胶囊治疗免疫型复发性流产 (RSA) 的效果及对血清封闭抗体、甲状腺过氧化物酶抗体 (thyroid peroxidase antibody, TPOAb) 及抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 的影响, 本研究抽取 106 例免疫型 RSA 患者参与本次研究, 以期临床为免疫型 RSA 患者提供更优的治疗方法。

1 研究对象与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 1 月至 2021 年 12 月收治于赣州市妇幼保健院的 106 例免疫型复发性流产患者作为研究对象, 按随机数字表法分为对照组和观察组, 各 53 例。两组患者基线资料差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

| 组别 | <i>n</i> | 年龄 (岁) | 月经周期 (天) | 流产次数 (次) | 流产周数 (周) | 末次自然流产后间隔时间 (月) |
|------------|----------|------------|------------|-----------|-----------|-----------------|
| 观察组 | 53 | 32.15±3.04 | 27.16±2.08 | 3.01±0.53 | 7.82±2.10 | 4.01±0.58 |
| 对照组 | 53 | 31.52±3.77 | 27.55±2.37 | 2.89±0.84 | 8.06±2.69 | 4.16±0.79 |
| <i>t</i> 值 | | 0.947 | 0.900 | 0.879 | 0.512 | 1.114 |
| <i>P</i> 值 | | 0.345 | 0.370 | 0.381 | 0.609 | 0.267 |

1.2 纳入标准与排除标准

1.2.1 纳入标准

西医诊断: ①有 2 次或 2 次以上的自然流产史; ②经妇科、超声、实验室检测等检查, 确诊为免疫型 RSA 患者; ③封闭抗体、TPOAb、ANA、自然杀伤 (natural killer cells, NK) 细胞或 B 细胞异常; ④性伴侣精液化验正常; ⑤对本研究内容知情并同意参加者。中医诊断: 参考《中医妇科学》^[6] 中的“滑胎”肾虚血瘀证, 主证为 ①屡孕屡堕超过 2 次及以上、腰膝酸软; ②经期少腹疼痛, 经色紫黑有淤块。次证为 ①头晕耳鸣; ②夜尿频多清长; ③性欲减退。舌脉为舌质紫暗或暗红, 舌苔薄白, 舌边有淤点, 脉沉细。结合舌脉, 具备上述主证及 2 项次证即可入组。

1.2.2 排除标准

①因生殖系统畸形、内分泌异常、遗传性疾病、感染性疾病、抗精子抗体、抗心磷脂抗体、抗子宫内膜抗体等其他因素引起的 RSA 患者; ②研究前 3 个月内已进行免疫治疗及接种史或服用免疫调节类药物患者; ③合并恶性肿瘤。

1.3 治疗方法

对照组在进行常规保胎的基础上, 联合淋巴细胞主动免疫治疗。将淋巴细胞混悬液经皮内注射至患者手臂皮内 6~8 个点。每隔一周 2~3 周治

3 讨论

免疫型 RSA 是临床常见威胁女性身心健康的妇科疾病之一,因其病因存在异质性与复杂性,加上约 40% 的患者流产原因不明,临床尚未形成系统有效的治疗方案,患者足月妊娠率极低,给患者及其家庭带来沉重的精神和经济压力。鉴于此,选择有效的治疗方案,提高患者成功妊娠率是生殖医学方面的重点工作。研究表明,不明原因 RSA 的发生可能与机体内母胎免疫耐受异常有关^[7],而免疫耐受异常与 RSA 患者机体内调节性 T 淋巴细胞 (Treg) 和辅助性 T 淋巴细胞 17 (Th17) 的免疫失衡密切相关^[8], Treg 介导的免疫抑制可能在母胎免疫耐受中起重要作用。故部分学者在临床上采用主动免疫治疗 RSA 患者,虽颇有成效,但仍存在部分患者治疗无效^[9]。因此,寻找有效的治疗方法十分重要。

中医学认为免疫型 RSA 主要为肾虚,气血不足,致胎元不固,无法养胎。因此治疗的关键点在于补肾填精、益气养血。作为中药剂之一,金水宝胶囊由人工发酵冬虫夏草菌粉组成,其药理作用及化学成分与天然冬虫夏草接近,其中的氨基酸、尿嘧啶、腺苷等成分含量甚至比天然冬虫夏草还要高,针对因肾虚阳衰、肾精不足所致的各类临床症状疗效确切。本研究显示,观察组足月分娩率高于对照组,说明相比单纯淋巴细胞主动免疫治疗,联合金水宝胶囊能有效提高保胎率,提高足月分娩率。主动免疫治疗通过皮下注射父体免疫淋巴细胞给母体,刺激免疫型 RSA 患者分泌封闭抗体,使封闭抗体与父体的抗体进行结合,从而产生封闭效应,防止胚胎遭受攻击^[10]。而药理研究显示^[11],冬虫夏草在保护肾脏、肝脏、生殖系统等有良好的作用。金水宝胶囊能有效调节生殖系统,起到补肾填精、益气补血作用。

近年来研究证实,补肾活血类中药能调节母体免疫,刺激封闭抗体产生,促进绒毛和黄体发育,提高内分泌功能,补肾活血联合淋巴细胞主动免疫治疗能有效维持、改善妊娠条件下母体免疫平衡,保障胚胎生存,尽量避免母体对胚胎产生免疫排斥,进而提高妊娠成功率^[12-14]。T 细胞在免疫调节中起关键作用,能产生并刺激分泌多种免疫细胞起到维持妊娠时母体对胚胎的免疫耐受力。CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 是 T 细胞最重要的细胞亚群,CD3⁺、CD4⁺ 主要参与体液和细胞免疫,加强母体对胎儿的攻击,导致 RSA^[15]。而 CD8⁺ 能抑制 CD4⁺ 活

性,降低体液和细胞免疫功能。TPOAb 是自身免疫性甲状腺疾病的标志性抗体,TPOAb 阳性能增加妊娠并发症及妊娠不良结局(如早产、流产及反复流产)的发生风险。ANA 阳性说明自身免疫功能被激活,几乎所有自身免疫性疾病均可发现 ANA。本研究结果显示,治疗 3 个月后,两组 CD56⁺、CD19⁺ 百分比、TPOAb 及 ANA 阳性率均降低,且观察组低于对照组。两组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均降低,CD8⁺ 均升高,且观察组血清封闭抗体水平均优于对照组,提示金水宝胶囊能调节血清封闭抗体、TPOAb 及 ANA 的表达水平。

综上所述,金水宝胶囊治疗免疫型 RSA 临床疗效显著,能调节血清封闭抗体、TPOAb 及 ANA 的表达水平,适宜作为免疫型复发性流产的理想治疗方案。本研究不足在于样本量较少,结果可能存在一定局限性,且金水宝胶囊治疗免疫型 RSA 的作用机制尚未明确,日后需加大样本量,对金水宝胶囊的作用机制进行深入研究,弥补这一研究的空白。

参考文献

- [1] Dakhly DM, Bayoumi YA, Sharkawy M, et al. Intralipid supplementation in women with recurrent spontaneous abortion and elevated levels of natural killer cells[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2016, 135(3):324-327.
- [2] 韦志萍,林忠. EmAb、ACA 及 PDW 联合检测在复发性流产临床诊断中的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(6):977-980.
- [3] 唐固平,李昭会,陈丽融,等. 四川省达州市育龄女性复发性流产影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2020, 46(5):481-485.
- [4] 韩永梅,卫爱武. 补肾活血方对肾虚血瘀型复发性流产小鼠胚胎植入及子宫免疫微环境的影响[J]. 中成药, 2022, 44(3):937-942.
- [5] 阎佳,张学玉,刘锐. 金水宝胶囊临床应用和药理作用的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(4):406-408.
- [6] 罗颂平,刘雁峰. 中医妇科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2016:13-17.
- [7] 方紫璇,余楠. 不明原因复发性流产中 Th17/Treg 免疫平衡机制研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(21):2657-2663.
- [8] 宋晓婕,周艳艳,赵莉娜. 胎元饮合寿胎丸加减联合主动免疫治疗不明原因复发性流产患者的疗效及其对辅助性 T 淋巴细胞 17/调节性 T 淋巴细胞免疫失衡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18):164-169.
- [9] 吕春红,王连珠. 丙种球蛋白联合淋巴细胞主动免疫治疗复发性流产的疗效[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(7):96-98.
- [10] 宋艳丽,孙自学,门波,等. 滋肾健脾化痰方联合主动免疫治疗对复发性流产肾虚血瘀证患者的临床疗效[J]. 中成药, 2018, 40(11):2394-2399. (下转第 2097 页)

洛匹那韦治疗对梅毒并 HIV 感染者免疫功能、CK-MB 及 LDH 的影响

李双会¹ 霍枚玫¹ 王娅茹¹ 王丽娜^{2*}

[摘要] 目的 研究洛匹那韦治疗对梅毒并人类免疫缺陷病毒(HIV)感染患者免疫功能、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及乳酸脱氢酶(LDH)的影响。方法 选取2018年9月至2021年9月于汉中市人民医院就诊的103例梅毒合并HIV感染患者,根据治疗方案不同分为对照组($n=50$,苄星青霉素治疗)和研究组($n=53$,洛匹那韦联合苄星青霉素治疗)。对比两组临床疗效、免疫功能($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$)、CK-MB及LDH水平及不良反应。结果 研究组临床疗效(92.45%)高于对照组(78.00%),差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗3周后研究组 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后3周后两组CK-MB、LDH水平均下降,且研究组低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组不良反应率(22.64%)与对照组不良反应率(14.00%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 对梅毒合并HIV感染患者采用洛匹那韦联合苄星青霉素治疗可有效提高临床疗效,能使患者免疫功能及CK-MB、LDH水平得到显著改善,联合用药具有一定安全性。

[关键词] 梅毒合并HIV;洛匹那韦;苄星青霉素;免疫功能;CK-MB;LDH

Effects of lopinavir treatment on immune function, CK-MB and LDH in patients with syphilis and HIV infection

LI Shuanghui¹, HUO Meimei¹, WANG Yaru¹, WANG Lina^{2*}

(1. Hanzhong Vocational and Technical College, Hanzhong, Shaanxi, China, 723002; 2. Department of Dermatology, Hanzhong People's Hospital, Hanzhong, Shaanxi, China, 723000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effects of lopinavir treatment on immune function, creatine kinase-MB (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDH) in patients with syphilis and human immunodeficiency virus (HIV) infection. **Methods** 103 patients with syphilis complicated with HIV infection who were treated in Hanzhong People's Hospital from September 2018 to September 2021 were selected, according to different treatment regimens, and they were divided into the control group ($n=50$, benzacillin penicillin treatment) and the study group ($n=53$, lopinavir combined with benzacillin penicillin treatment). Clinical efficacy, immune function ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$), CK-MB and LDH levels and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The clinical efficacy of the study group (92.45%) was higher than that of the control group (78.00%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After 3 weeks of treatment, $CD3^+$, $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ in the study group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After 3 weeks of treatment, the levels of CK-MB and LDH in the two groups all decreased, and those in the study group were lower 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 between the study group (22.64%) and the control group (14.00%) ($P>0.05$). **Conclusion** The use of lopinavir combined

基金项目:陕西省科学技术项目(2018-01-0126)

作者单位:1. 汉中职业技术学院,陕西,汉中 723002

2. 汉中市人民医院皮肤科,陕西,汉中 723000

*通信作者:王丽娜, E-mail:lishuanghui2022@163.com

with benzathine penicillin in the treatment of syphilis patients with HIV infection can effectively improve the clinical efficacy, and can significantly improve the immune function and the levels of CK-MB and LDH in patients, and the combination therapy has certain safety.

[KEY WORDS] Syphilis complicated with HIV; Lopinavir; Benzathine penicillin; Immune function; CK-MB; LDH

据统计,我国梅毒人群中 HIV 患者的感染率在逐年升高,仅次于吸毒人群 HIV 感染率^[1-2]。梅毒合并 HIV 易发于具有较多性伴侣的青壮年,性传播是两者共同的传播途径,目前临床对该疾病并无有效方案进行治疗,只能以控制疾病进展,转变为可控慢性病为主要目的^[3]。苄星青霉素是应用于梅毒治疗的主要药物之一,其疗效已经相关研究证实,但在对合并 HIV 感染的治疗,并不能做最佳治疗方案^[4]。近年来有相关研究表明,洛匹那韦用于 HIV 感染的治疗,对未接受过抗反转录病毒药物治疗的患者效果较好,可以与同类型药物联用^[5-7]。本研究主要探讨洛匹那韦联合苄星青霉素治疗对梅毒合并 HIV 感染患者免疫功能、乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)及肌酸激酶同工酶(Creatine Kinase-MB, CK-MB)的影响,旨在为梅毒合并 HIV 的治疗提供参考数据,现报道如下。

1 资料与方案

1.1 一般资料

收集 2018 年 9 月至 2021 年 9 月于汉中市人民医院就诊的 103 例梅毒合并 HIV 感染患者的病历资料,根据治疗方案不同分为对照组($n=50$)和研究组($n=53$)。其中,对照组男女各为 29 例、21 例,年龄平均(38.73 ± 5.37)岁;病程平均(13.73 ± 2.37)个月。研究组男女各为 34 例、19 例,年龄平均(37.86 ± 5.16)岁;病程平均(14.41 ± 2.55)个月。两组一般资料相较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①均经临床检查确诊为梅毒合并 HIV^[8];②入院就诊前未曾采用其他抗病毒抗生素药物治疗;③资料完整,家属知情同意;④血清快速血浆反应素试验(Rapid plasma reagin, RPR)滴度范围为 1:2~1:256,梅毒螺旋体明胶凝集试验(*Treponema pallidum* particle assay, TPPA)试验结果(+);⑤通过医院伦理委员会批准。排除标准:①有肿瘤疾病(恶性)者;②合并精神障碍者;③合并严重脏器疾病者;④病程>2 年者;⑤特殊时期妇女,如:妊娠期;⑥对药物过敏者。

1.2 方法

两组患者均采取常规抗病毒等对症支持治疗。对照组以苄星青霉素(江西东风药业股份有限公司;60 万 U/瓶;国药准字 H36020223)治疗,方法:240 万 U 苄星青霉素分两侧臀部肌肉进行注射,1 次/周。研究组在对照组基础上联合洛匹那韦(AbbVie Deuschl and GmbH & Co.KG;注册证号 H20170213;50 mg/片)治疗,方法:洛匹那韦口服,100 mg/次,2 次/d。两组均治疗 3 周。所有患者均于治疗后 3 周进行门诊复查随访,治疗期间通过门诊或微信、电话等追踪患者不良反应发生事件。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效^[9]

①显效:治疗后患者机体 RPR 试验结果出现阴转,同时未发生反复情况;②有效:经过药物治疗后 RPR 试验结果转阴,或滴度降低 ≥ 4 倍;③无效:治疗后抗体滴度升高 ≥ 4 倍。[(有效+显效) \div 总例数] $\times 100\%$ =总有效率。

1.3.2 免疫功能

包括 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺。对比两组治疗前及治疗 3 周后细胞免疫水平,抽取患者外周静脉血 5 mL,采用美国 BECKMAN COULTER (贝克曼库尔特)公司的 EPICSALTRA 型流式细胞仪测定各项指标,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺单克隆抗体试剂由法国 Diaclone 公司提供。

1.3.3 CK-MB 及 LDH 水平对比

收集患者治疗前及治疗 3 周后的清晨空腹静脉血 5 mL,使用乙二胺四乙酸抗凝处理后 3 000 r/min 离心 15 min,离心半径为 13 cm,取上清液备用。应用酶联免疫吸附试剂盒(上海百蕊生物科技有限公司)检测 CK-MB 及 LDH 水平。

1.3.4 不良反应

观察患者用药过程中是否出现皮疹、恶心呕吐、白细胞减少、肝肾功能损害等不良反应情况。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计处理,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表

示,行 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

治疗3周后,研究组临床疗效(92.45%)高于对照组(78.00%),差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组临床疗效比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of clinical efficacy between the 2 groups [n(%)]

| 组别 | n | 显效 | 有效 | 血清学固定 | 无效 | 总有效率 |
|------------|----|-----------|-----------|----------|----------|-----------|
| 研究组 | 53 | 31(58.49) | 18(33.96) | 2(3.78) | 2(3.78) | 49(92.45) |
| 对照组 | 50 | 20(40.00) | 19(38.00) | 6(12.00) | 5(10.00) | 39(78.00) |
| χ^2 值 | | | | | | 4.319 |
| P值 | | | | | | 0.038 |

2.2 两组细胞免疫水平比较

治疗3周后,研究组CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺均高于对照组,CD8⁺低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组细胞免疫水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of cellular immunity levels between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | 时间 | CD3 ⁺ | CD4 ⁺ | CD8 ⁺ | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ |
|-----|--------|--------|-------------------------|-------------------------|------------------|------------------------------------|
| 研究组 | 53 | 治疗前 | 56.56±4.23 | 26.63±4.15 | 64.65±5.67 | 0.41±0.21 |
| | | 治疗3周后 | 66.88±5.06 ^a | 50.22±5.32 ^a | 29.89±3.14 | 1.68±0.49 ^a |
| | | t值 | 11.392 | 25.453 | 39.044 | 17.343 |
| P值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | | |
| 对照组 | 50 | 治疗前 | 54.99±5.26 | 26.25±4.77 | 61.05±5.61 | 0.43±0.23 |
| | | 治疗3周后 | 60.12±5.13 | 42.18±5.03 | 38.14±3.62 | 1.11±0.26 |
| | | t值 | 5.083 | 16.730 | 24.264 | 13.852 |
| P值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | | |

注:与对照组治疗3周后相比,^a $P<0.05$ 。

2.3 两组CK-MB及LDH水平比较

两组治疗前CK-MB及LDH水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗3周后两组CK-MB、LDH水平均下降,且研究组低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 两组不良反应比较

研究组不良反应率(22.64%)与对照组不良反应率(14.00%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

3 讨论

梅毒是一种慢性性传播疾病,由苍白螺旋体所引起,主要通过性交传播,其临床症状多种多样,可侵犯人体皮肤、黏膜甚至全身器官。HIV是

表3 两组CK-MB及LDH水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of CK-MB and LDH levels between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | CK-MB(mg/L) | | LDH(U/L) | |
|-----|----|-------------|------------------------|--------------|---------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗3周后 | 治疗前 | 治疗3周后 |
| 研究组 | 53 | 22.26±4.51 | 0.81±0.06 ^a | 559.52±48.94 | 319.33±21.11 ^a |
| 对照组 | 50 | 21.89±4.33 | 1.18±0.55 ^a | 562.48±50.33 | 420.84±24.87 ^a |
| t值 | | 0.424 | 4.868 | 0.303 | 22.376 |
| P值 | | 0.672 | <0.001 | 0.763 | <0.001 |

注:与同组治疗前相比,^a $P<0.05$ 。

表4 两组不良反应情况比较 [n(%)]

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

| 组别 | n | 皮疹 | 恶心呕吐 | 白细胞减少 | 肝肾功能损害 | 总发生率 |
|------------|----|---------|---------|---------|---------|-----------|
| 研究组 | 53 | 5(9.43) | 3(5.66) | 3(5.66) | 1(1.89) | 12(22.64) |
| 对照组 | 50 | 3(6.00) | 2(4.00) | 2(4.00) | 0(0.00) | 7(14.00) |
| χ^2 值 | | | | | | 1.277 |
| P值 | | | | | | 0.258 |

引发艾滋病的病毒,人体受到感染后,机体内的多种免疫细胞被损害,最终并发各种感染性疾病甚至恶性肿瘤,对患者的生命安全造成影响。相关资料报道,在梅毒合并HIV感染患者中,梅毒对HIV的传播具有促进作用,而HIV会导致患者机体免疫功能下降,两者之间相互影响,目前临床并无对该疾病进行治疗的有效方式^[10]。

针对梅毒,国外研究指出,采用青霉素治疗仅能短暂降低相关血清指标,在治疗后的一段时间内患者机体的转阴失败率明显增高,因此需要对患者展开强化治疗及长期随访^[11]。洛匹那韦是世界卫生组织推荐的标准二线治疗方案,目前已在我国广泛应用。有相关文献发现,洛匹那韦治疗HIV对病毒的控制令人满意,可帮助患者进行有效的免疫重建,因此针对梅毒合并HIV感染成年患者,洛匹那韦被推荐为一线药物^[12]。本文研究就103例梅毒合并HIV感染患者的病历资料进行分析,分为对照组和研究组,分别采取苄星青霉素治疗和洛匹那韦联合苄星青霉素治疗,结果显示研究组疗效高于对照组,进一步证实了洛匹那韦联合苄星青霉素可有效提高梅毒合并HIV感染患者的临床治疗效果,分析原因为:加用洛匹那韦治疗能够控制病毒复制,减少病毒载量,从而达到更好的临床疗效。

另有研究^[13]提出:在梅毒合并HIV感染患者的治疗中,采用洛匹那韦辅助治疗在更大程度减少病毒载量的同时,还更有利于患者机体免疫系统的重

建。根据相关研究^[14]报道,梅毒感染患者普遍存在心肌和神经损伤。本文研究结果显示,两组患者治疗后免疫功能、CK-MB及LDH水平均得到改善,且研究组改善情况均优于对照组,说明针对梅毒合并HIV感染患者采用洛匹那韦联合苜星青霉素治疗对患者免疫功能及心肌改善效果更佳,与既往张勇等^[15]研究结果类似。分析其中缘由,考虑为两者联合用药对中枢神经系统受累的梅毒患者可达到一定的抑制病毒载量浓度,洛匹那韦作为一种HIV蛋白酶抑制剂,可以阻断Gag-Pol聚蛋白分裂,产生未成熟的、无感染力的病毒颗粒;而有体外实验证实^[16]蛋白酶抑制剂可以快速抑制CD4⁺T细胞的凋亡,多种蛋白酶抑制剂具有阻断HIV gp120诱导的CD4⁺T细胞凋亡的作用,从而起到有效促进免疫重建的效果,进一步帮助心肌损伤的恢复。进一步研究得出,洛匹那韦联合苜星青霉素使用后并不会增加患者的不良反应,具有较高安全性。

综上所述,对梅毒合并HIV感染患者采用洛匹那韦联合苜星青霉素治疗可有效提高临床疗效,能够使患者的免疫功能及CK-MB、LDH水平得到显著改善,且无明显不良反应增加,说明联合用药具有一定安全性,值得临床推广使用。

参考文献

[1] 刘敏,石峰,刘倩,等. 依非韦伦和洛匹那韦/利托那韦对成人艾滋病患者血脂水平影响的对比研究[J]. 中华传染病杂志, 2021, 39(3): 175-177.

[2] 彭亚柏,朱秀云,刘赛云,等. 不同基因型HCV感染患者重叠HBV或HIV感染的病毒学特征[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7): 861-863.

[3] Sachsenberg N, Perelson AS, Yerly S, et al. Turnover of CD4⁺ and CD8⁺ T Lymphocytes in HIV-1 Infection as Measured by Ki-67 Antigen[J]. The Journal of experimental medicine, 2018, 187(8): 295-303.

[4] 刘静,赵兴云,袁柳风,等. 10例恶性梅毒合并HIV感染患者临床特征并文献复习[J]. 中国艾滋病性病, 2021, 27

(9): 1012-1016.

[5] 赵楠戈,张建平,张婷婷,等. $\gamma\delta$ T, CD4⁺CD25⁺T细胞在HIV感染者/AIDS患者外周血的表达及其相关性研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2021, 41(7): 524-530.

[6] Chiacchio T, Petruccioli E, Vanini V, et al. Impact of antiretroviral and tuberculosis therapies on CD4⁺ and CD8⁺ HIV/M. tuberculosis-specific T-cell in co-infected subjects[J]. Immunology Letters, 2018, 198(9): 33-43.

[7] 卢改会,李涛,刘学伟. 苜星青霉素联合头孢曲松对早期梅毒血清快速血浆反应素环状卡片试验/甲苯胺红不加热血清试验结果影响的Meta分析[J]. 中华皮肤科杂志, 2021, 54(6): 522-526.

[8] 葛亮,王晓丽,宋文,等. 新疆地区HIV/AIDS患者与合并感染HCV患者间病毒载量和T淋巴细胞亚群相关分析[J]. 重庆医科大学学报, 2020, 45(8): 96-99.

[9] Verboeket SO, Wit FW, Eveline V, et al. HIV-negative Men Who Have Sex with Men have higher CD8⁺ + T-cell Counts and Lower CD4⁺/CD8⁺ + T-cell Ratios compared to HIV-negative Heterosexual Men[J]. J Infect Dis, 2020, 59(2): 1423-1428.

[10] 柳文宏,荣静,笪苏蓉. 苜星青霉素联合头孢曲松治疗早期梅毒患者对其RPR阴转率、血清固定率的影响研究[J]. 中国性科学, 2019, 28(1): 125-127.

[11] 徐春华,池云,陈伟,等. 34例人类免疫缺陷病毒感染合并神经梅毒患者的临床特征、诊断及治疗分析[J]. 实用心脑血管病杂志, 2019, 27(12): 98-101.

[12] Nasi M, Pecorini S, Biasi SD, et al. Altered expression of PYCARD, IL-1 β , IL-18 and NAIP in successfully treated HIV+patients with low CD4/CD8 ratio[J]. J Infect Dis, 2018, 51(5): 1164-1171.

[13] 张保艳. 苜星青霉素头孢曲松钠单药及联合治疗梅毒效果比较[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(24): 4102-4104.

[14] Lifson AR, Grund B, Gardner EM, et al. INSIGHT START Study Group. Improved quality of life with immediate versus deferred initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. AIDS, 2017, 31(7): 953-963.

[15] 张勇,卢瑞朝,苏凌松,等. 含克力芝组合的HAART方案对HIV/HCV混合感染的疗效探讨[J]. 中国艾滋病性病, 2012, 17(6): 633-635.

[16] 王媛媛,郑永唐. HIV蛋白酶抑制剂与细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(2): 141-145.

(上接第2093页)

[11] 王敦. 冬虫夏草活性成分研究进展[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(4): 779-787.

[12] 王文娟,陶利利,刘杰,等. 补肾活血周期疗法联合淋巴主动免疫治疗同种免疫性复发性流产的疗效及对血清封闭抗体的影响[J]. 陕西中医, 2018, 39(11): 1573-1575.

[13] 李华,傅晓冬,柳怡,等. 补肾调冲方联合常规西药治疗复发性流产肾虚血瘀型疗效及对患者血清Th1/Th2细胞因子平衡偏移的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(5): 171-175.

[14] 史晓艳,陈铭,玉玲. 淋巴细胞主动免疫治疗对封闭抗体阴性复发性流产患者外周血Th1/Th2/Th17细胞因子表达水平变化[J]. 陕西医学杂志, 2017, 46(10): 1407-1409.

[15] Mohammad HB, Mojgan MK, Safura K, et al. Evaluation of HLA-G14-bp ins/del and+3142G>C polymorphisms with susceptibility to recurrent spontaneous abortion[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2017, 56(3): 276-280.

SCC、CYFRA21-1 及 NSE 在贝伐珠单抗联合 FP 治疗肺癌中的临床意义

周计* 周宗正 潘刚

[摘要] 目的 分析(SCC、Cyfra21-1及NSE在贝伐珠单抗联合FP治疗肺癌中的临床意义。方法 分析2018年1月至2021年4月濉溪县医院收治肺癌患者83例为研究对象,均给予贝伐珠单抗联合FP化疗方案(FP化疗方案:培美曲塞+卡铂)。评估肺癌患者疗效,对比非缓解组与缓解组临床资料、SCC、CYFRA21-1及NSE水平,采用多元Logistic回归分析SCC、CYFRA21-1及NSE与肺癌患者疗效;采用COX回归分析影响肺癌患者预后死亡的相关危险因素。结果 肺癌患者经贝伐珠单抗+培美曲塞+卡铂治疗,发现CR 18例(21.69%),PR 33例(39.75%),SD 21例(25.30%),PD 11例(13.25%);缓解组例数为51例,非缓解组例数32例。两组年龄、性别、吸烟史、临床分期、组织分化比较差异无统计学意义($P>0.05$);两组ECOG评分、SCC、CYFRA21-1及NSE比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。经Logistic回归模型分析得:ECOG评分、SCC、CYFRA21-1及NSE与肺癌疗效有关($P<0.05$)。预后不良组SCC、CYFRA21-1及NSE水平明显高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ECOG评分、临床分期、SCC、CYFRA21-1及NSE是影响肺癌患者预后不良的危险因素($P<0.05$)。结论 SCC、CYFRA21-1及NSE水平低,则说明贝伐珠单抗联合FP治疗肺癌疗效及预后良好,三因子对肺癌疗效和预后评估均具有重要意义。

[关键词] SCC; CYFRA21-1; NSE; 贝伐珠单抗; FP; 肺癌

The clinical significance of SCC, CYFRA21-1 and NSE in the treatment of lung cancer with bevacizumab combined with FP

ZHOU Ji*, ZHOU Zongzheng, PAN Gang

(The First Department of Oncology, Suixi County Hospital, Huaibei, Anhui, China, 235100)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the clinical significance of (SCC, CYFRA21-1 and (NSE) in bevacizumab combined with FP in the treatment of lung cancer. **Methods** Retrospective analysis from January 2018 to April 2021, Suixi County hospital treated 83 patients with lung cancer as the research object, who were given bevacizumab combined with FP chemotherapy regimen (FP chemotherapy regimen: pemetrexed + carboplatin). The curative effect of lung cancer patients was evaluated. The clinical data, SCC, CYFRA21-1 and NSE levels of the non-remission group and remission group were compared. Multivariate Logistic regression was used to analyze the relationship between SCC, CYFRA21-1 and NSE and the efficacy of lung cancer patients; COX regression was used to analyze the risk factors affecting the prognosis and death of lung cancer patients. **Results** In lung cancer patients treated with bevacizumab + pemetrexed + carboplatin, 18 cases (21.69%) of CR, 33 cases of PR (39.75%), 21 cases of SD (25.30%), and 11 cases of PD (13.25%) were found. There were 51 cases in the remission group and 32 cases in the non-remission group. There were no differences in age, gender, smoking history, clinical stage and tissue differentiation between the two groups ($P>0.05$). There were statistical differences in ECOG score, SCC, CYFRA21-1 and NSE ($P<0.05$). Logistic regression model analysis showed that ECOG score, SCC, CYFRA21-1 and NSE were related to the curative

基金项目:安徽省科技攻关项目(1604a0802034)

作者单位:濉溪县医院肿瘤一科,安徽,淮北 235100

*通信作者:周计, E-mail:0561hb@163.com

effect of lung cancer ($P < 0.05$). The levels of SCC, CYFRA21-1 and NSE in the poor prognosis group were significantly higher than those in the good prognosis group ($P < 0.05$). ECOG score, clinical stage, SCC, CYFRA21-1 and NSE were risk factors for poor prognosis of lung cancer patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The low levels of SCC, CYFRA21-1 and NSE indicate that bevacizumab combined with FP has a good curative effect and good prognosis in the treatment of lung cancer, and the three factors are of great significance to the evaluation of the curative effect and prognosis of lung cancer.

[KEY WORDS] SCC; CYFRA21-1; NSE; Bevacizumab; FP; Lung cancer

肺癌已成为全球发病率、死亡率最高的癌症^[1]。贝伐珠单抗作为一种单克隆抗体,目前是治疗诸多肿瘤的靶向药物,如卵巢癌、肺癌及肝癌等。贝伐珠单抗最突出的特点是能与内皮生长因子结合并阻断其生物活性,从而抑制肿瘤内皮细胞增生和新生血管生成,抑制肿瘤的生长,但其也会产生许多不良反应,对预后产生一定影响^[2]。目前已有充分证据证实肿瘤标志物是肺癌诊断中的重要依据。鳞状上皮细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCC)是肿瘤相关抗原TA-4的亚型,是一种糖蛋白,其存在于肺、头颈、子宫等鳞状上皮细胞癌的细胞浆中^[3]。角蛋白19可溶片段(Cytokeratin-19-fragment, Cyfra21-1)是非小细胞肺癌的首选标志物,在肺泡上皮细胞凋亡时,其细胞中含有的角蛋白的碎片降解后能变成可溶性物质而进入血液,使血中含量增高^[4]。神经元特异性烯醇化酶(Neuron specific enolase, NSE)是神经元和神经内分泌细胞所特有的一种酸性蛋白酶,若其水平上升可能与小细胞肺癌、神经母细胞瘤等肿瘤具有一定联系^[5]。本文旨在分析SCC、CYFRA21-1及NSE在贝伐珠单抗联合FP治疗肺癌中的临床意义,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析2018年1月至2021年4月濰溪县医院收治肺癌患者83例为研究对象,纳入标准:符合《2015年肺癌诊疗指南:共识和争议》中肺癌诊断标准^[6];在检查前均未进行放疗或化疗;均符合ECOG评分 ≤ 2 分者;临床资料完整。排除标准:凝血功能异常者;合并存在心、肝、肾等严重原发性疾病者;免疫功能异常者;认知功能异常者,无法正常交流。其中男52例,女31例,平均年龄(66.84 \pm 9.57)岁,平均病程(6.83 \pm 1.52)个月,病理类型:腺癌60例,非小细胞肺癌23例。各组一般临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 收集资料

收集患者临床资料,包括年龄、性别、吸烟史、ECOG评分、病理特征等,病理特征包括:临床分期(Ⅲ期、Ⅳ期)、组织分化(低分化、中高分化)。

1.2.2 治疗方案

所有研究对象均接受贝伐珠单抗+培美曲塞+卡铂治疗方案。给予患者静脉滴注贝伐珠单抗(齐鲁制药有限公司,国药准字-S20190040)7.5 mg/kg, 1次/d;静脉注射培美曲塞(齐鲁制药有限公司,国药准字-H20060672)500 mg/m², 1次/d;另静脉滴注卡铂(齐鲁制药有限公司,国药准字-H20020180),剂量为每个疗程第1 d按曲线下面积=5的剂量水平给药,21 d为一个疗程,均治疗4个疗程。根据实体瘤疗效评价标准^[7]分为缓解组、非缓解组。

1.2.3 SCC、CYFRA21-1及NSE检测

治疗后采取研究对象5 mL空腹静脉血,及时送检,应用离心机离心(3 000 r/min, 15 min, 离心半径:10 cm),采取上清液,放置冰箱冷藏待检。应用化学发光仪检验SCC、CYFRA21-1及NSE水平,试剂盒由深圳市新产业生物医学工程股份有限公司提供,严格按照试剂盒和仪器说明书进行操作。参考值:SCC $\leq 1.5 \mu\text{g/mL}$, CYFRA21-1:0~3.3 ng/mL, NSE:0~25.0 ng/mL^[7]。

1.3 观察指标

1.3.1 肺癌患者疗效评估

根据实体瘤疗效评价标准进行评估,CR:所有病灶消失,未出现新病灶,肿瘤标志物下降至正常,并维持至少4周;PR:肿瘤最长直径总和减少 $\geq 30\%$ 并维持至少4周;SD:靶病灶减少的程度未达到PR,增加程度也未达到PD水平,在两者之间,研究时将直径的最小值作为参考;PD:肿瘤最大直径增加 $\geq 20\%$ 或出现新病灶。CR+PR为缓解组,SD+PD为非缓解组。无进展生存期(progression-free survival, PFS)定义为从贝伐珠单抗联合化疗治疗开始到肿瘤进展或患者死亡时间^[8]。

1.3.2 非缓解组与缓解组临床资料、SCC、CYFRA21-1及NSE水平对比

主要包括研究对象年龄、性别、吸烟史、ECOG评分、临床分期、组织分化、SCC、CYFRA21-1及NSE水平。

1.3.3 不同预后 SCC、CYFRA21-1 及 NSE 水平对比

随访1年,随访截止时间2022年4月,了解患者预后情况,根据其进行分组:预后良好(无复发、转移、死亡),预后不良(死亡、转移、复发等)。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;并采用多元Logistic回归分析SCC、CYFRA21-1及NSE与肺癌患者疗效;采用COX回归分析影响肺癌患者预后死亡的相关危险因素;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 疗效

肺癌患者经贝伐珠单抗+培美曲塞+卡铂治疗,发现CR 18例(21.69%),PR 33例(39.75%),SD 21例(25.30%),PD 11例(13.25%);缓解组例数为51例,非缓解组例数32例。

2.2 两组临床资料、SCC、CYFRA21-1及NSE水平

两组年龄、性别、吸烟史、临床分期、组织分化比较差异无统计学意义($P > 0.05$);两组ECOG评分、SCC、CYFRA21-1及NSE比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.3 影响肺癌患者疗效相关因素分析

经Logistic回归模型分析得知:ECOG评分、SCC、CYFRA21-1及NSE与肺癌疗效有关($P < 0.05$)。见表2。

2.4 不同预后 SCC、CYFRA21-1 及 NSE 水平

经随访,预后良好58例,预后不良25例。预后不良组SCC、CYFRA21-1及NSE水平明显高于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.5 影响肺癌患者预后不良的危险因素分析

ECOG评分、临床分期、SCC、CYFRA21-1及NSE是影响肺癌患者预后不良的危险因素($P < 0.05$)。见表4。

表1 两组临床资料、SCC、CYFRA21-1及NSE水平比较
[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

| 因素 | 缓解组 ($n=51$) | 非缓解组 ($n=32$) | χ^2/t 值 | P 值 |
|------------------|-------------------|--------------------|--------------|--------|
| 年龄 | 57.27±8.55 | 58.92±8.67 | 0.851 | 0.397 |
| 性别 | | | | |
| 男 | 34(66.67) | 18(56.25) | 0.911 | 0.339 |
| 女 | 17(33.33) | 14(43.75) | | |
| 吸烟史 | | | | |
| 有 | 23(45.10) | 15(46.87) | 0.025 | 0.874 |
| 无 | 28(54.90) | 17(53.12) | | |
| ECOG评分(分) | | | | |
| 0~1 | 47(92.16) | 23(71.87) | 6.123 | 0.013 |
| 2 | 4(7.84) | 9(28.12) | | |
| 临床分期 | | | | |
| III期 | 20(39.21) | 12(37.50) | 0.024 | 0.875 |
| IV期 | 31(60.79) | 20(62.50) | | |
| 组织分化 | | | | |
| 低分化 | 28(54.90) | 18(56.25) | 0.014 | 0.904 |
| 中高分化 | 23(45.10) | 14(43.75) | | |
| SCC(ng/mL) | 6.08±1.38 | 9.26±2.67 | 7.136 | <0.001 |
| CYFRA21-1(ng/mL) | 3.92±0.92 | 28.37±6.41 | 26.897 | <0.001 |
| NSE(ng/mL) | 14.08±5.94 | 33.72±9.43 | 11.657 | <0.001 |

表2 影响肺癌患者疗效多因素

Table 2 Multiple factors affecting the curative effect of lung cancer patients

| 因素 | 回归系数 | 标准误差 | Wald χ^2 值 | P 值 | OR(95% CI)值 |
|----------------------|-------|-------|-----------------|-------|---------------------|
| ECOG评分(0=0-1,1=2) | 1.691 | 0.521 | 9.254 | 0.001 | 5.424(1.953~15.061) |
| SCC(0=正常,1=异常) | 0.873 | 0.250 | 8.835 | 0.003 | 2.394(1.466~3.907) |
| CYFRA21-1(0=正常,1=异常) | 1.812 | 0.701 | 8.052 | 0.033 | 6.122(1.549~24.190) |
| NSE(0=正常,1=异常) | 0.924 | 0.427 | 9.013 | 0.002 | 2.519(1.090~5.817) |

表3 不同预后 SCC、CYFRA21-1 及 NSE 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of SCC, CYFRA21-1 and NSE levels with different prognosis ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | SCC (ng/mL) | CYFRA21-1 (ng/mL) | NSE (ng/mL) |
|-------|-----|----------------|----------------------|----------------|
| 预后良好组 | 58 | 6.11±1.86 | 5.93±2.51 | 15.26±5.19 |
| 预后不良组 | 25 | 9.25±3.47 | 28.05±6.48 | 33.46±10.73 |
| t 值 | | 5.356 | 22.506 | 10.442 |
| P 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

3 讨论

贝伐珠单抗作为抗肿瘤血管生成的重要药物之一,目前被临床广泛应用于肺癌治疗中^[9]。然而抗血管生成药物阻断血管内皮生长因子参与肿瘤生长过程,肿瘤环境则会发生变化,激活成纤维细胞生长因子,再次引起血管生成,导致肿瘤复发、转移。肿瘤标志物是在肿瘤细胞生物合成、释放

表4 影响肺癌患者预后不良的危险因素分析
Table 4 Analysis of risk factors for poor prognosis in patients with lung cancer

| 变量 | B值 | SE值 | Wald χ^2 值 | P值 | OR(95% CI)值 |
|-------------------------|-------|-------|-----------------|-------|--------------------|
| 年龄 (≥60岁 vs <60岁) | 0.763 | 0.464 | 3.894 | 0.767 | 1.549(0.675~1.875) |
| 性别(男 vs 女) | 0.628 | 0.419 | 5.553 | 0.784 | 1.673(0.789~1.898) |
| 吸烟史(有 vs 无) | 0.662 | 0.431 | 4.028 | 0.716 | 1.533(0.625~1.834) |
| ECOG评分 (0~1分Ⅲ期2分) | 0.607 | 0.263 | 7.162 | 0.041 | 1.402(1.270~1.892) |
| 临床分期 (Ⅲ期Ⅲ vs Ⅳ期) | 0.621 | 0.219 | 8.031 | 0.038 | 1.467(1.336~1.758) |
| 组织分化 (低分化 vs 中高分化) | 0.638 | 0.482 | 5.647 | 0.724 | 1.588(0.634~1.859) |
| SCC(正常 vs 异常) | 0.563 | 0.236 | 7.248 | 0.039 | 1.341(1.123~1.698) |
| CYFRA21-1 (正常 vs 异常) | 0.697 | 0.342 | 7.062 | 0.034 | 1.397(1.206~1.786) |
| NSE(正常 vs 异常) | 0.582 | 0.276 | 6.896 | 0.044 | 1.326(1.107~1.894) |

对癌类反应所产生的物质,其存在或发生变量对肿瘤分类诊断、疗效、复发转移具有重要指导意义,如 SCC、CYFRA21-1 及 NSE 等肿瘤标志物对多种恶性肿瘤的诊断具有一定作用^[10]。

SCC 是鳞癌的肿瘤标志物,是一种糖蛋白,其有利于判断肿瘤性质,同时 SCC 水平随病情加重而升高,可作为宫颈癌、肺癌的辅助诊断指标。SCC 水平与肿瘤负荷、肿瘤细胞的活跃程度相关^[11]。国外有文献报道连续动态监测 SCC 有助于评估治疗效果,尤其是监测手术疗效^[12]。SCC 水平在血液中的生物半衰期仅数分钟,一旦根治性肿瘤切除后,术前异常的 SCC 可在 72 小时内迅速降至正常;而在姑息性切除后,鳞状上皮细胞癌抗原水平可暂时下降,但多数仍高于正常。本次研究显示,肺癌非缓解组 SCC 水平高于缓解组,且经 Logistic 回归模型分析得知,其与肺癌疗效具有相关性,间接证实 SCC 对于肺癌疗效具有重要意义,在一定程度上可反映肺癌对化疗的效果,其水平下降意味着化疗有效。另外,SCC 水平可以于短期内出现明显变化,提示恶性肿瘤进展;若经过一段时间,肿瘤出现复发或转移现象,短期内 SCC 可出现再次升高现象。本次研究,说明 SCC 也可作为肺癌复发转移预后的监测指标。

CYFRA21-1 本身是非小细胞肺癌的首选标志物,其对非小细胞肺癌的早期诊断、疗效监测和预后判断均有重要意义。CYFRA21-1 水平与肿瘤生长有一定联系,其在肺癌患者的血清中会出现增高的现象,尤其是鳞癌。国外曾有学者报道在化疗过程

中 CYFRA21-1 水平变化与化疗疗效具有密切联系,若 CYFRA21-1 水平下降,则说明化疗有效,若出现上升则说明需重新选择化疗方案^[13]。本次研究显示非缓解期 CYFRA21-1 水平高于缓解期,说明 CYFRA21-1 对肺癌疗效检测具有重要意义。CYFRA21-1 作为一种肿瘤标志物,其含量偏高对于肿瘤生长具有促进作用,当子宫、肺等组织发生恶变时,血液中 CYFRA21-1 水平可见升高。本次研究显示预后不良组 CYFRA21-1 水平高于预后良好组,且其是影响肺癌患者预后不良的危险因素,与以往研究一致^[14],说明 CYFRA21-1 可用于肺癌预后评估。

NSE 存在于神经组织和神经内分泌组织中,其作用是参与糖类酵解,小细胞肺癌、神经母细胞瘤等肿瘤性疾病可导致 NSE 水平上升。NSE 可作为儿童神经母细胞瘤和肺癌诊断的辅助检查,同时其也可以分析相关恶性肿瘤疾病治疗的进展情况。国外有研究报道 NSE 是局限性肺癌的预后预测因子,其水平变化与生存期下降率具有一定联系,但其在肺癌患者预后中是次要因素^[15]。本次研究经 Logistic 回归模型分析得知,NSE 与肺癌疗效有关,且预后不良组 NSE 水平高于预后良好组,NSE 是影响肺癌患者预后不良的危险因素,说明 NSE 在肺癌疗效和预后评估中均具有重要作用。

综上,SCC、CYFRA21-1 及 NSE 水平低,则说明贝伐珠单抗联合 FP 治疗肺癌疗效及预后良好,三因子对肺癌疗效和预后评估均具有重要意义。

参考文献

- [1] 李陶威,马天江,张耀勇,等.重组人血管内皮抑制素联合贝伐珠单抗治疗中晚期非小细胞肺癌的疗效及对血清 CEA、CYFRA21-1 和 VEGF 水平的影响[J].实用癌症杂志,2021,36(8):1309-1312.
- [2] 王永,解华,李凌云.贝伐珠单抗联合厄洛替尼对晚期非小细胞肺癌患者疗效、血清 CYFRA21-1 水平及 KPS 评分的影响[J].临床和实验医学杂志,2021,20(8):827-830.
- [3] 刘亚杰,马晓波.肿瘤标志物 GSTP1、CYFRA21-1 及 SCC-Ag 对非小细胞肺癌的预后评估价值[J].中国现代医学杂志,2020,30(14):42-46.
- [4] 李品宏,王云龙,吴立翔,等.多种肿瘤标志物水平与非小细胞肺癌靶向动脉灌注治疗效果及预后的相关性分析[J].临床肺科杂志,2020,25(5):734-739.
- [5] 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.

炎症性肠病患儿 HP 感染与 GAS、chemerin 和 CHE 的关系

林仁德* 彭琼 冯广斌

[摘要] **目的** 探究炎症性肠病(IBD)患儿幽门螺杆菌(HP)感染与血清胃泌素(GAS)、脂肪细胞因子(chemerin)、胆碱酯酶(CHE)水平的关系。**方法** 选取2019年6月至2020年12月于颍上县人民医院就诊的106例IBD患儿,根据HP感染情况分为感染组22例与未感染组84例。比较两组血清GAS、chemerin、CHE水平,采用Logistic回归分析模型分析血清GAS、chemerin、CHE水平与IBD患儿HP感染的关系,采用受试者工作特征曲线(ROC)评估上述指标对IBD患儿HP感染的诊断效能。**结果** 感染组血清GAS、chemerin水平显著高于未感染组,CHE水平显著低于未感染组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Logistic回归分析显示,血清GAS、chemerin、CHE水平与IBD患儿HP感染具有显著相关性($P < 0.05$)。GAS、chemerin、CHE诊断IBD患儿HP感染的ROC曲线AUC分别为0.788、0.857、0.917,截断值分别为152.52 pg/mL、119.89 $\mu\text{g/L}$ 、6233.64 U/L,诊断效能良好($P < 0.05$)。**结论** 血清GAS、chemerin、CHE水平诊断IBD患儿HP感染效能良好,可为IBD患儿HP感染诊断提供参考。

[关键词] 炎症性肠病;幽门螺杆菌;胃泌素;脂肪细胞因子;胆碱酯酶

Relationship between HP infection and GAS, chemerin and CHE in children with inflammatory bowel disease

LIN Rende*, PENG Qiong, FENG Guangbin

(The Second Department of Pediatrics, The People's Hospital of Yingshang, Yingshang, Anhui, China, 236200)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between Helicobacter pylori (HP) infection and levels of serum gastrin (GAS), adipocytokine (chemerin) and cholinesterase (CHE) in children with inflammatory bowel disease (IBD). **Methods** 106 children with IBD who were treated in the People's Hospital of Yingshang were selected between June 2019 and December 2020. According to the HP infection, the children were divided into 22 cases in the infected group and 84 cases in the uninfected group. The levels of serum GAS, chemerin and CHE were compared between the two groups. Logistic regression analysis model was used to analyze the relationship between levels of serum GAS, chemerin and CHE and HP infection in children with IBD, and receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic efficiency of the above indicators on HP infection in children with IBD. **Results** The levels of serum GAS and chemerin in the infected group were significantly higher than those in the uninfected group while the level of CHE was significantly lower than that in the uninfected group ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that the levels of serum GAS, chemerin and CHE were significantly correlated with HP infection in children with IBD ($P < 0.05$). The AUC values of ROC curves of the above indicators in the diagnosis of HP infection in children with IBD were 0.788, 0.857 and 0.917, and the cut-off values were 152.52 pg/mL, 119.89 $\mu\text{g/L}$ and 6233.64 U/L respectively, with good diagnostic efficiency ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of serum GAS, chemerin and

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(KJ2017A473)

作者单位:颍上县人民医院儿二科,安徽,颍上 236200

*通信作者:林仁德, E-mail: Linrd2000@163.com

CHE have good efficiency in diagnosing HP infection in children with IBD, and can provide a reference for the diagnosis of HP infection in children with IBD.

[KEY WORDS] Inflammatory bowel disease; Helicobacter pylori; Gastrin; Adipocytokine; Cholinesterase

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD) 作为一类肠道炎症性疾病,其发病多累及直肠、结肠,甚至可累及整个消化道,患者除常见的腹泻、腹痛症状表现外,亦可出现贫血、发热、营养不良等全身症状表现^[1-2]。IBD发病机制目前尚无统一的定论,但大多数学者认为肠道黏膜免疫功能异常所引发的免疫炎症反应属于其发病的重要因素,此外该病还与环境、遗传、感染等诸多因素有关^[3-4]。幽门螺杆菌(Helicobacter pylori, HP)最早成功分离于慢性活动性胃炎患者胃黏膜组织活检中,属于目前已知的唯一可在人体胃内存活的微生物^[5]。多数患者在感染HP早期并未伴随明显感染症状,部分感染患者可出现腹痛、腹胀等急性胃炎症状,若不及时治疗,可迁延数年甚至终生。相关研究显示,HP感染后所释放的毒力因子以及引发的炎症反应均可加剧胃肠道黏膜损伤^[6-7],而其在胃黏膜局部引发的免疫炎症反应亦可引起胃外促炎因子释放,加重肠道炎症反应程度。HP感染早期诊断尚存在一定难度,胃泌素(gastrin, GAS)、脂肪细胞因子(chemerin)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)均被指出可在HP感染发生后出现水平波动^[8-9]。本次研究将探究IBD患儿HP感染与血清GAS、chemerin、CHE水平的关系,现将所得成果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年6月至2020年12月期间于颍上县人民医院就诊的106例IBD患儿临床资料,根据患儿HP感染情况分为感染组22例与未感染组84例。纳入标准:①所有患儿均符合《炎症性肠病的诊断和治疗进展》中IBD相关诊断标准^[10];②均接受本次研究所涉及指标的检查;③感染组均经14C尿素呼气试验检查确认感染HP者。排除标准:①合并急性感染性结肠炎者;②存在肝肾等重要脏器功能障碍者;③临床资料保存不完整者。感染组22例患者中,男13例,女9例,平均年龄(7.32±2.10)岁,疾病活动度^[11]:轻度活动14例,中度活动6例,重度活动2例;未感染组84例患者中,男48例,女36例,平均年龄(7.23±2.18)岁,疾病活动度:轻度活动56例,中度活

动22例,重度活动6例。两组性别、年龄、疾病活动度比较差异无统计学意义($P>0.05$),均衡可比。本研究符合赫尔辛人体试验标准,经院医学伦理委员会批准,所有患儿监护人均签署知情同意书。

1.2 方法

收集IBD患儿清晨空腹外周静脉血3 mL,经3 000 r/min离心10 min,离心半径10 cm,分离血清,置于-60℃备检,采用酶联免疫吸附实验法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对血清GAS、chemerin水平进行测定,采用全自动生化仪及其相关试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)测定血清CHE水平。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件分析数据,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,采用独立样本 t 检验进行组间比较,相关性评估采用Logistic回归分析模型,诊断效能分析采用ROC曲线,并确定曲线下面积(AUC)及截断值,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清GAS、chemerin、CHE水平比较

感染组血清GAS、chemerin水平显著高于未感染组,CHE水平显著低于未感染组,组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组血清GAS、chemerin、CHE水平比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | GAS (pg/mL) | chemerin (μg/L) | CHE (U/L) |
|------------|----------|--------------|-----------------|-------------------|
| 感染组 | 22 | 157.29±27.39 | 129.86±10.36 | 4 851.29±824.62 |
| 未感染组 | 84 | 130.36±15.42 | 114.36±10.56 | 7 065.95±1 429.67 |
| <i>t</i> 值 | | 6.086 | 6.152 | 6.953 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.2 血清GAS、chemerin、CHE水平与IBD患儿HP感染的相关性分析

Logistic回归分析显示,血清GAS、chemerin、CHE水平与IBD患儿HP感染具有显著相关性($P<0.05$)。见表2。

2.3 血清GAS、chemerin、CHE水平诊断IBD患儿HP感染的效能分析

血清GAS、chemerin、CHE水平诊断IBD患儿

表2 血清 GAS、chemerin、CHE 水平与 IBD 患儿 HP 感染的相关性分析

Table 2 Correlation between levels of serum GAS, chemerin and CHE and HP infection in children with IBD

| 指标 | β 值 | SE 值 | Wald χ^2 值 | P 值 | OR 值 |
|----------|-----------|-------|-----------------|--------|-------|
| GAS | 0.247 | 0.047 | 27.618 | <0.001 | 1.280 |
| chemerin | 0.222 | 0.053 | 17.545 | <0.001 | 1.248 |
| CHE | 0.199 | 0.047 | 17.927 | <0.001 | 1.220 |

HP 感染的 ROC 曲线 AUC 分别为 0.788、0.857、0.917, 截断值分别为 152.52 pg/mL、119.89 μ g/L、6233.64 U/L, 诊断效能良好($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 ROC 曲线参数

Table 3 ROC curve parameters

| 指标 | AUC | 95% CI | 敏感度 (%) | 特异度 (%) | 截断值 |
|----------|--------------------|-------------|---------|---------|------------------|
| GAS | 0.788 ^a | 0.698-0.861 | 91.67 | 63.64 | 152.52 pg/mL |
| chemerin | 0.857 ^a | 0.775-0.917 | 73.81 | 86.36 | 119.89 μ g/L |
| CHE | 0.917 ^a | 0.847-0.962 | 77.38 | 100.00 | 6233.64 U/L |

注:与参考线相比,^a $P<0.05$ 。

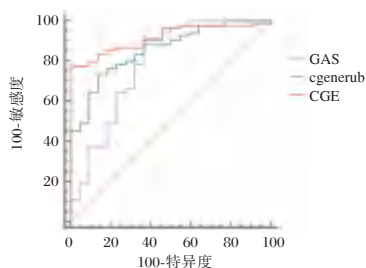


图1 血清 GAS、chemerin、CHE 水平诊断 IBD 患儿 HP 感染的 ROC 曲线

Figure 1 ROC curves of levels of serum GAS, chemerin and CHE in the diagnosis of HP infection in children with IBD

3 讨论

IBD 患者发病后除伴随肠道黏膜损伤外,亦可能出现肠道功能衰竭、恶性肿瘤等一系列严重并发症,大致发病过程为具备易感因素者在多种致病因素影响下出现肠道菌群的紊乱变化,使肠道特异性免疫及天然免疫反应异常激活,从而使肠粘膜屏障遭受严重损伤,并出现免疫炎症反应加剧、炎性增生及溃疡不愈等现象,部分患者病情加重则与 HP 感染有关^[12],但其 HP 感染特异性症状并不显著,易引起临床漏诊,故探究 IBD 患者 HP 感染相关血清学指标变化极为必要。

GAS 作为一类重要胃肠激素,主要由胃窦 G 细胞分泌,可促进胃酸分泌,同时可与乙酰胆碱、组胺协同作用,调节胃肠道功能^[13]。Chemerin 炎性趋化

作用较强,可增加机体炎性因子分泌。本研究选取 106 例 IBD 患儿,分析其 HP 感染情况,结果显示 HP 感染 22 例,未感染 84 例。比较两组血清血清 GAS、chemerin 水平,发现感染组的上述指标显著高于未感染组。分析其中原因,可能是由于 HP 感染可产生大量尿素氮,促进胃内尿素水解,使胃表 pH 升高,导致胃酸对 GAS 分泌的生理抑制作用减弱,同时胃内氨可促进胺的形成,刺激 G 细胞分泌 GAS。陈瑾等^[14]指出,胃溃疡 HP 感染患者的血清 GAS 水平显著高于未感染组。还有研究显示,HP 感染可导致胃肠激素分泌紊乱,引发促胃液素释放肽刺激 GAS 水平上升,在 HP 根除治疗后其血清 GAS 可逐步恢复正常水平^[15]。IBD 患儿 HP 感染伴肠黏膜固有层炎性浸润,chemerin 可参与促进免疫效应细胞向炎症部位的迁移,进一步增强炎症反应。另外,GAS 水平升高可促进中性粒细胞生成各类蛋白酶,使 chemerin 前体异常活化,引起血清 chemerin 水平上升。本研究证明观察组患者的 chemerin 水平明显升高,可为临床 IBD 患者 HP 感染的诊断提供参考。本研究还发现,血清 GAS、chemerin 水平与 IBD 患儿 HP 感染具有显著相关性,且对 IBD 患儿 HP 感染有良好的诊断价值,说明血清 GAS、chemerin 水平可作为 HP 检测呼气试验辅助手段。

CHE 作为一类以多种同工酶形式存在于机体的糖蛋白,可有效反映肝功能,近年来研究发现其水平变化与机体炎症反应密切相关^[16]。本研究中感染组血清 CHE 水平较未感染组明显更低,这与相关研究结论相符^[17]。Logistic 回归分析显示,血清 CHE 水平与 IBD 患儿 HP 感染具有显著相关性,提示 IBD 患儿感染 HP 可伴随血清 CHE 水平的下降。ROC 曲线进一步分析发现,血清 CHE 诊断 IBD 患儿 HP 感染的曲线 AUC 为 0.917,提示在 CHE 水平达到相应临界值后其对 IBD 患儿 HP 感染的诊断效能良好。分析原因,HP 感染后,患儿机体内多种细胞因子水平上升,局部炎症反应加剧,而胆碱抗炎通路属于机体固有免疫的神经环路,可参与 IBD 患儿免疫炎症反应的发生发展,使 CHE 与单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞等多种免疫细胞表面的特异性尼古丁-乙酰胆碱受体相结合,进而下调转录因子表达,并促进 T 淋巴细胞、中性粒细胞趋化、动员,共同参与抑制炎症反应,使 CHE 大量消耗,表现出血清表达水平的下降。此外,研究表明,血清 CHE 水平与危重感染者的急性生理学与慢性健康状况评

分系统Ⅱ呈负相关,是影响患者预后的独立危险因素,进一步为本研究提供支持^[18]。

本文证实炎症性肠病患者 HP 感染与 GAS、chemerin 和 CHE 具有相关性,但研究也存在不足之处,如样本量纳入偏少,感染与未感染患者例数存在不平衡情况,后续将扩大样本量进一步验证结论。

综上所述,发生 HP 感染的 IBD 患儿在血清 GAS、chemerin、CHE 表达方面与未感染患儿存在差异,其上述指标水平与感染状况具有显著相关性,可用于诊断该病患者 HP 感染,且具备较佳效能。

参考文献

[1] 张永超,周广玺,孔令斌. 炎症相关信号通路对结肠炎相关结直肠癌发生的影响研究进展[J]. 中国临床实用医学, 2019, 10(2): 59-61.

[2] 王慧玲,赵静,李刚. 炎症性肠病患者脊柱关节炎的表现特点[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1):103-106.

[3] Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis [J]. Surg Clin North Am, 2019, 99(6): 1051-1062.

[4] Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease[J]. J Med Life, 2019, 12(2): 113-122.

[5] 曾莎莎,肖玲巧,唐瑶,等. 幽门螺杆菌 Tipα 通过 Wnt/β-catenin 通路诱导胃癌细胞 EMT[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(6): 618-623.

[6] de Brito BB, da Silva FAF, Soares AS, et al. Pathogenesis and clinical management of Helicobacter pylori gastric infection[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(37): 5578-5589.

[7] Sabbagh P, Javanian M, Koppolu V, et al. Helicobacter pylori infection in children: an overview of diagnostic methods [J].

Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(6): 1035-1045.

[8] Costa L, Corre S, Michel V, et al. USF1 defect drives p53 degradation during Helicobacter pylori infection and accelerates gastric carcinogenesis[J]. Gut, 2020, 69(9): 1582-1591.

[9] Pinzon-Guzman C, Meyer AR, Wise R, et al. Evaluation of Lineage Changes in the Gastric Mucosa Following Infection With Helicobacter pylori and Specified Intestinal Flora in INS-GAS Mice[J]. J Histochem Cytochem, 2019, 67(1): 53-63.

[10] 涂梦莹,宋丽君. 炎症性肠病的诊断和治疗进展[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(7): 552-556.

[11] 中华医学会消化病分会. 对炎症性肠病诊断治疗规范的建议[J]. 中华消化杂志, 2001, 21(4): 236.

[12] 何尧儿,陈茜,韩清清,等. 炎症性肠病患者幽门螺杆菌感染状态研究[J]. 浙江医学, 2019, 41(24): 2596-2599.

[13] Weng YJ, Gan HY, Li X, et al. Correlation of diet, microbiota and metabolite networks in inflammatory bowel disease [J]. J Dig Dis, 2019, 20(9): 447-459.

[14] 陈瑾,丁希云,王国平,等. 消化性溃疡患者 Hp 感染影响因素及胃蛋白酶水平[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(19): 2970-2974.

[15] 樊冬杰,黄玉伟. 铝碳酸镁联合四联疗法治疗幽门螺杆菌感染并十二指肠溃疡 120 例临床观察[J]. 安徽医药, 2020, 24(2): 393-397.

[16] 张淑艳,申洁,赵文慧. 老年慢性心力衰竭患者肺部感染后血清胆碱酯酶和胱抑素 C 及炎症因子分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019(3): 365-368.

[17] Singh SP, Chand HS, Banerjee S, et al. Acetylcholinesterase Inhibitor Pyridostigmine Bromide Attenuates Gut Pathology and Bacterial Dysbiosis in a Murine Model of Ulcerative Colitis[J]. Dig Dis Sci, 2020, 65(1): 141-149.

[18] 赵茜,郭慧,吕畅,等. 感染可能性评分及血清胆碱酯酶和淀粉样蛋白 A 与危重症感染患者生存情况的关系[J]. 中国医药, 2020, 15(12): 1891-1895.

(上接第 2101 页)

[6] 陆舜,虞永峰,纪文翔. 2015 年肺癌诊疗指南:共识和争议[J]. 解放军医学杂志, 2016, 41(1): 1-6.

[7] 丁婕,戴旭,孟宪运,等. 实体瘤疗效评价标准的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2015, 22(9): 1150-1152.

[8] 高翔,陈艳炯. 血清肿瘤标记物 NSE、CEA、SCC、ProGRP 及 CYFRA21-1 对肺癌病理类型的鉴别诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(3): 366-368.

[9] 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.

[10] 秦淑芳,何海妮. ProGRP、SCC-Ag、CYFRA21-1 对小细胞肺癌的诊断价值分析[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(11): 1814-1816.

[11] 王茜,夏睿,董惠霞,等. ProGRP、NSE、CEA、CYFRA21-1、SCC 单独及联合检测在肺癌鉴别诊断中的价值[J]. 临床

检验杂志, 2020, 38(12): 930-932.

[12] LI YA, KUANG Y, JIA Y, et al. Diagnostic value of NSE factor combined with ultrasound hemodynamic indexes in cervical lymph node metastasis of lung cancer [J]. Oncology letters, 2020, 20(1 Pt.B): 699-704.

[13] 纪芳芳. Cyfra21-1、SCC-Ag、TK1 在头颈部鳞癌患者尼妥珠单抗治疗预测疗效中的应用[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(12): 1761-1763.

[14] REZA BA, ZAHRA NE, HALEH R, et al. Physical and mechanical properties of polymer modified self-compacting concrete (SCC) using natural and recycled aggregates [J]. Journal of Sustainable Cement-Based Materials, 2020, 9(1): 1-16.

[15] LARA B. Environmentalists Cite SCC Ruling In Push For Stricter Power Plant ELGs [J]. Water policy report, 2020, 29(17): 1-5.

不同性别2型糖尿病患者血糖控制与颈动脉斑块、骨密度相关性

谢翠华 谢慧琴 孙艳 江妍 陈文娟*

[摘要] 目的 探究不同性别2型糖尿病患者血糖控制与颈动脉斑块、骨密度(BMD)的相关性。方法 选取2019年1月至2022年3月江苏省如皋市中医院的2型糖尿病患者158例为研究对象。采用糖化血红蛋白分析仪、定量CT(QCT)、颈动脉超声测定所有患者糖化血红蛋白(HbA1c)、BMD与颈动脉斑块稳定性,根据患者血糖控制情况分为血糖控制良好组(HbA1c值 \leq 7.5%)和血糖控制不佳组(HbA1c值 $>$ 7.5%)。对比两组不同性别患者年龄、BMI、病程、BMD、FPG、25(OH)D,采用Spearman分析不同性别2型糖尿病患者血糖控制与BMD、25(OH)D、颈动脉斑块稳定性的相关性。进一步将血糖控制不良组按照血糖控制不良时间分为长时间血糖控制不良组与短时间血糖控制不良组,探究HbA1c值的升高时间与BMD的关系。结果 两组不同性别2型糖尿病患者年龄、病程、BMI比较,差异无统计学意义($t=1.354, 1.472, 1.454, P>0.05$)。与血糖控制良好组同性比较,血糖控制不良组男性与女性25(OH)D、BMD水平均显著降低,差异有统计学意义($t_{\text{男性}}=2.254, 7.026, t_{\text{女性}}=2.849, 5.610, P$ 均 <0.05)。血糖控制良好组与不良组中颈动脉斑块稳定男性均少于女性,差异均有统计学意义($\chi^2=6.122, 3.902, P<0.05$)。Spearman相关性分析结果显示,男性2型糖尿病患者血糖控制与BMD、血清25(OH)D呈负相关($r=-0.411, -0.359, P$ 均 <0.05),与颈动脉粥样硬化斑块稳定性呈正相关($r=1.344, P<0.05$);女性2型糖尿病患者血糖控制与BMD、血清25(OH)D呈负相关($r=-0.413, -0.361, P$ 均 <0.05),与颈动脉粥样硬化斑块稳定性呈正相关($r=1.258, P<0.05$)。与短时间血糖控制不良组同性比较,长时间血糖控制不良组男性与女性25(OH)D、BMD水平均显著降低,HbA1c水平升高,差异均有统计学意义($t_{\text{男性}}=3.137, 5.692, 4.621, t_{\text{女性}}=2.255, 5.805, 2.364, P$ 均 <0.05)。结论 不同性别2型糖尿病患者血糖控制与BMD、25(OH)D水平、颈动脉斑块稳定性密切相关,且随着血糖失控时间的延长BMD逐渐降低,早期严格控制血糖可改善骨代谢,降低动脉硬化发生的风险。

[关键词] 2型糖尿病;血糖控制;骨密度;颈动脉狭窄

Correlation between blood glucose control and carotid plaque, bone mineral density in type 2 diabetes patients of different sexes

XIE Cuihua, XIE Huiqin, SUN Yan, JIANG Yan, CHEN Wenjuan*

(Department of Laboratory Medicine, Rugao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Rugao, Jiangsu, China, 226500)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between blood glucose control and bone mineral density (BMD) in patients with type 2 diabetes of different genders. **Methods** A total of 158 patients with type 2 diabetes mellitus in Rugao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Province from January 2019 to March 2022 were selected as the research subjects. HbA1c, BMD and carotid plaque stability of all patients were measured by glycosylated hemoglobin analyzer, quantitative CT (QCT) and carotid ultrasound. According to the blood glucose control of patients, they were divided into two groups: good blood glucose control group (HbA1c value \leq 7.5%) and poor blood glucose control group (HbA1c value $>$ 7.5%). Age, BMI,

基金项目:江苏省卫生健康委科研项目(Z2021044)

作者单位:江苏省如皋市中医院检验科,江苏,如皋226500

*通信作者:陈文娟, E-mail:1017191563@qq.com

course of disease, BMD, FPG, 25 (OH) D of patients of different genders were compared, Spearman was used to analyze the correlation between blood glucose control and BMD, 25(OH) D, carotid plaque stability in type 2 diabetes patients of different sexes. The poor blood glucose control group was further divided into long-term poor blood glucose control group and short-term poor blood glucose control group according to the time of poor blood glucose control, and the relationship between the rise time of HbA1c value and BMD was explored.

Results There was no significant difference in age, course of disease and BMI between the two groups of patients with type 2 diabetes of different genders ($t=1.354, 1.472, 1.454, P>0.05$). Compared with the group with good blood glucose control, the levels of 25 (OH) D and BMD in males and females of the group with poor blood glucose control were significantly lower, with statistically significant differences ($t_{\text{males}}=2.254, 7.026, t_{\text{females}}=2.849, 5.610, P<0.05$). In the good blood glucose control group and the bad group, the number of men with stable carotid plaque was less than that of women, and the difference was statistically significant ($\chi^2=6.122, 3.902, P<0.05$). The results of Spearman's correlation analysis showed that blood glucose control in type 2 diabetic males was negatively correlated with BMD and serum 25(OH)D ($r=-0.411, -0.359, \text{both } P<0.05$), and positively correlated with the stability of carotid atherosclerotic plaque ($r=1.344, P<0.05$); serum 25(OH)D was negatively correlated ($r=-0.413, -0.361, P<0.05$), and positively correlated with the stability of carotid atherosclerotic plaque ($r=1.258, P<0.05$). Compared with the same sex in the control group of short-term poor blood glucose, the levels of 25 (OH) D and BMD in the control group of long-term poor blood glucose were significantly lower in men and women, and the level of HbA1c was higher, with statistically significant differences ($t_{\text{male}}=3.137, 5.692, 4.621, t_{\text{female}}=2.255, 5.805, 2.364, P<0.05$). **Conclusion** Blood glucose control in patients with type 2 diabetes of different genders is closely related to BMD and 25 (OH) d levels, BMD and carotid plaque stability gradually decreases with the prolongation of uncontrolled blood glucose. Strict control of blood glucose in the early stage can improve bone metabolism and reduce the risk of atherosclerosis.

[KEY WORDS] Type 2 diabetes; Blood sugar control; Bone mineral density; Carotid artery stenosis

2型糖尿病主要是由遗传和环境因素引起外周组织胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷引起的以慢性高血糖为特征的一组代谢性疾病。2型糖尿病的发病率和死亡率每年都在增加,且由于胰岛素是一种骨合成代谢激素,胰岛素分泌和胰岛素作用的表现可能导致2型糖尿病相关的骨代谢改变^[1-2]。骨质疏松症是一种全身性骨骼疾病,其特征是骨骼质量受损和微结构恶化,导致骨折的可能性增加。研究显示^[3],糖尿病患者骨质疏松的发生率高达60%。目前对于血糖控制情况与骨密度(bone mineral density, BMD)及骨代谢的相关研究甚少。25羟维生素D[25-hydroxyvitamin D, 25(OH)D]可反映骨钙代谢的相关指标^[4]。此外,糖尿病与心血管病的发生发展密切相关,其动脉硬化的发病风险较非糖尿病患者高2倍。故本研究旨在探究不同性别2型糖尿病患者血糖控制与BMD、骨代谢及颈动脉斑块稳定性的相关性,为2型糖尿病患者控制血糖以改善骨代谢,减少骨质疏松的发生,预防动脉硬化的发生发展提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2019年1月至2022年3月江苏省如皋市

中医院的2型糖尿病患者158例为研究对象,其中男性81例,女性77例。纳入标准:①符合《中国2型糖尿病防治指南(2017年版)》^[5]的标准确诊为2型糖尿病;②病程1~5年;③年龄 ≥ 18 岁;④女性患者均已停经;⑤所有入试者均知情并签署同意书。排除标准:①合并其他自身免疫性疾病或血液系统疾病;②合并严重心脑血管疾病;③精神疾病或意识障碍;④贫血或低蛋白血症;⑤近三个月内改变过降糖方案或使用过影响糖代谢的药物;⑥合并肺感染、心力衰竭、肾衰竭等可能影响糖代谢的疾病。不同性别2型糖尿病患者年龄、病程、BMI、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。根据患者血糖控制情况分为血糖控制良好组(HbA1c值 $\leq 7.5\%$)和血糖控制不良组(HbA1c值 $>7.5\%$),随后进一步将血糖控制不良组按照血糖控制不良时间(>3 个月纳入长时间血糖控制不良组, ≤ 3 个月纳入短时间血糖控制不良组)分为长时间血糖控制不良组与短时间血糖控制不良组^[6]。本研究经院医学伦理会审批并通过。

1.2 研究方法

采集所有研究对象空腹静脉血5 mL, 3 000 r/

表1 不同性别2型糖尿病患者一般资料比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$
Table 1 Comparison of general data of patients with type 2 diabetes of different genders $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

| 因素 | 男性(n=81) | 女性(n=77) | t/χ^2 值 | P值 |
|-------------------------|------------|------------|--------------|--------|
| 年龄(岁) | 63.75±6.79 | 62.45±6.68 | 1.514 | 0.132 |
| 病程(年) | 3.47±1.84 | 3.72±1.23 | 0.999 | 0.320 |
| BMI(kg/m ²) | 23.83±4.15 | 22.79±4.21 | 1.564 | 0.120 |
| FPG(mmol/L) | 6.24±2.30 | 5.83±2.02 | 1.188 | 0.237 |
| 25(OH)D(nmol/L) | 29.63±8.84 | 24.18±7.05 | 4.271 | <0.001 |
| HbA1c(%) | 7.37±2.61 | 8.86±4.39 | 2.608 | 0.010 |
| BMD(g/m ²) | 1.18±0.29 | 1.06±0.17 | 3.152 | 0.002 |
| 颈动脉斑块稳定(例) | 36(44.44) | 47(61.04) | 4.359 | 0.037 |

min 离心 3 min (离心半径 10 cm) 后取上层血清, 保存于 -20℃ 冰箱中待测。采用 DCA2000+ 糖化血红蛋白分析仪 (德国拜耳公司) 测定所有患者糖化血红蛋白 (Glycated hemoglobin, HbA1c), 定量 CT (quantitative computed tomography, QCT) (美国 Mindways 公司) 测定所有患者双侧股骨处 BMD。采用 XevoTQ-S 型三重四级杆串联质谱仪 (美国 Waters 公司) 及其配套试剂盒, 以液相色谱-串联质谱法检测血清 25-羟维生素 D (25(OH)D)。采用西门子 Acuson S2000 彩色多普勒超声诊断仪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。根据患者血糖控制情况将 HbA1c 值 ≤ 7.5% 的患者纳入血糖控制良好组 (n=83), HbA1c 值 > 7.5% 的患者纳入血糖控制不良组 (n=75), 比较两组不同性别患者年龄、BMI、病程、BMD、FPG、25(OH)D, 采用 Spearman 分析不同性别 2 型糖尿病患者血糖控制与 BMD、25(OH)D 的相关性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS Statistics 21 统计学软件进行分析。

表2 两组不同性别2型糖尿病患者一般资料、HbA1c、BMD及25(OH)D比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 2 Comparison of general data, HbA1c, BMD and 25(OH)D in patients with type 2 diabetes of different genders between two groups $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

| 组别 | 性别 | 年龄(岁) | 病程(年) | BMI(kg/m ²) | 25(OH)D(nmol/L) | BMD(g/m ²) | 斑块稳定(例) |
|---------------|---------|------------|-----------|-------------------------|-----------------|------------------------|-----------|
| 血糖控制良好组(n=83) | 男(n=44) | 61.51±6.87 | 3.39±1.54 | 22.73±4.98 | 31.25±9.14 | 1.24±0.22 | 21(47.73) |
| | 女(n=39) | 59.49±6.68 | 3.83±1.12 | 21.18±4.69 | 23.87±7.71 | 1.13±0.24 | 29(74.35) |
| t/χ^2 值 | | 1.354 | 1.472 | 1.454 | 3.948 | 2.178 | 6.122 |
| P值 | | 0.179 | 0.145 | 0.150 | <0.001 | 0.032 | 0.013 |
| 血糖控制不良组(n=75) | 男(n=40) | 64.59±6.37 | 3.59±1.26 | 24.63±4.81 | 26.95±8.26* | 0.93±0.18* | 16(40.00) |
| | 女(n=35) | 63.68±6.54 | 3.83±1.67 | 23.65±4.42 | 18.91±7.21* | 0.84±0.20* | 22(62.86) |
| t/χ^2 值 | | 0.610 | 0.708 | 0.914 | 4.460 | 2.051 | 3.902 |
| P值 | | 0.544 | 0.481 | 0.364 | <0.001 | 0.044 | 0.048 |

注:与血糖控制良好组同性比较,*P<0.05。

计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验。采用 Spearman 相关分析不同性别 2 型糖尿病患者血糖控制与 BMD、颈动脉粥样硬化斑块稳定性的相关性, 以相关系数 r 表示两资料间的相关性。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组不同性别2型糖尿病患者一般资料、HbA1c、BMD及25(OH)D比较

两组不同性别 2 型糖尿病患者年龄、病程、BMI 比较, 差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。与血糖控制良好组同性比较, 血糖控制不良组男性与女性 25(OH)D、BMD 水平均显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。血糖控制良好组与不良组中颈动脉斑块稳定男性均少于女性, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。见表 2。

2.2 不同性别2型糖尿病患者血糖控制情况与BMD、25(OH)D的相关性分析

Spearman 相关性分析结果显示, 男性 2 型糖尿病患者血糖控制与 BMD、血清 25(OH)D 呈负相关 (P 均 < 0.05), 与颈动脉粥样硬化斑块稳定性呈正相关 ($P < 0.05$); 女性 2 型糖尿病患者血糖控制与 BMD、血清 25(OH)D 呈负相关 (P 均 < 0.05), 与颈动脉粥样硬化斑块稳定性呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 长时间血糖控制不良组与短时间血糖控制不良组患者HbA1c、BMD、25(OH)D比较

与短时间血糖控制不良组同性比较, 长时间血糖控制不良组男性与女性 25(OH)D、BMD 水平均显著降低, HbA1c 水平升高, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。见表 4。

表3 不同性别2型糖尿病患者血糖控制情况与BMD、25(OH)D的相关性

Table 3 Correlation of blood glucose control with BMD and 25(OH)D in patients with type 2 diabetes of different genders

| 性别 | BMD | | 25(OH)D | | 颈动脉粥样硬化斑块稳定性 | |
|----|--------|-------|---------|-------|--------------|-------|
| | r值 | P值 | r值 | P值 | r值 | P值 |
| 男性 | -0.411 | 0.012 | -0.359 | 0.035 | 1.344 | 0.041 |
| 女性 | -0.413 | 0.015 | -0.361 | 0.027 | 1.258 | 0.045 |

表4 长时间血糖控制不良组与短时间血糖控制不良组患者HbA1c、BMD、25(OH)D比较

Table 4 Comparison of HbA1c, BMD and 25(OH)D in patients with long-term and short-term poor blood glucose control

| 因素 | 长时间血糖控制不良组(n=41) | | 短时间血糖控制不良组(n=34) | |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------|------------|
| | | | | |
| | 男性(n=19) | 女性(n=22) | 男性(n=18) | 女性(n=16) |
| 25(OH)D (nmol/L) | 21.63±9.02 ^a | 22.15±7.23 ^a | 30.69±8.52 | 27.65±7.56 |
| BMD(g/m ²) | 0.85±0.11 ^a | 0.91±0.14 ^a | 1.22±0.26 | 1.30±0.27 |
| HbA1c(%) | 8.36±2.34 ^a | 8.12±2.65 ^a | 6.41±1.38 | 6.29±1.87 |

注:与短时间血糖控制不良组同性比较,^aP<0.05。

3 讨论

2型糖尿病的特点是胰岛素抵抗和高胰岛素血症,二者都与骨代谢之间存在关联。医学研究表明^[7],2型糖尿病患者的骨质疏松和骨折发生率高于非糖尿病患者,且BMD降低患者的骨质疏松和骨折发生率更高。熊丹等^[8]的研究表明,与对照组相比,2型糖尿病患者糖尿病病程超过15年时骨折风险增加2.5~3.4倍。这与长期高血糖状态诱发脂的代谢和负氮平衡障碍有关,从而使糖尿病患者骨组织受损,骨组织内的胶原和糖蛋白合成减少,分解加速,导致骨基质丢失^[9]。

维生素D也在2型糖尿病的发展和血糖控制中发挥作用,维生素D受体在胰腺的β细胞中表达,可通过炎症因子IL-6和TNF-α介导,对胰岛素的产生有直接影响^[10]。维生素D在肝脏内转化为25(OH)D,25(OH)D半衰期长,在血液中浓度稳定,是反映人体内维生素D水平的最佳指标。25(OH)D可参与骨的矿物质代谢,促使骨基质的形成,能够促进类骨质的矿化^[11]。本研究结果也提示,2型糖尿病患者血糖控制情况越好,血清25(OH)D水平与BMD越高。这可能是由于胰岛素能够直接刺激成骨细胞膜上的胰岛素受体,从而促进骨胶原的合成,当胰岛素分泌不足时,这种直

接刺激作用明显减弱,导致骨基质的形成不足,影响骨的重建^[12-13]。Loureiro等^[14]的研究也指出,糖尿病患者的BMD低于健康人群,且BMD与血清葡萄糖水平和HbA1c呈负相关。颈动脉斑块对缺血性事件的影响与其稳定性有关。不稳定斑块与稳定斑块相比有较大的易损性,其易于破裂脱落形成栓子或在破裂部位形成血栓,使患者发生缺血性卒中的风险增加。高智玉等^[15]报道,与女性比较,男性颈动脉斑块中的细胞浸润、炎症反应和新生毛细血管更高,钙化程度较低。本研究结果显示,血糖控制良好组与不良组中颈动脉斑块稳定男性均少于女性,这说明男性动脉粥样硬化程度高于女性,合理控制血糖有利于增加颈动脉斑块的稳定性,减少因动脉粥样斑块破裂的风险。

本研究还发现与短时间血糖控制不良组同性比较,长时间血糖控制不良组男性与女性25(OH)D、BMD水平均显著降低,HbA1c水平升高,这说明随着血糖失控时间的延长BMD逐渐降低。这可能是因为2型糖尿病患者血糖控制不良时间越久,氧化应激活化、糖毒性下的骨老化、骨组织中晚期糖基化终末产物(AGEs)逐渐堆积,高糖渗透性利尿致钙、镁、磷丢失等途径越活跃,均加剧了骨吸收和骨形成之间的失衡,导致骨组织微结构改变、BMD水平逐渐降低。

综上,不同性别2型糖尿病患者血糖控制与BMD、25(OH)D水平、颈动脉斑块稳定性密切相关,且随着血糖失控时间的延长BMD逐渐降低,早期严格控制血糖可改善骨代谢,降低动脉硬化发生的风险。

参考文献

- [1] 皮艳,王浩然,谭兴容,等. 胰岛素抵抗与2型糖尿病合并骨质疏松发生骨折风险的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(2): 247-250+259.
- [2] 王盼,吴科峰,崔燎. 不同阶段2型糖尿病诱发骨质疏松症的致病机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(4): 619-624.
- [3] 《中国老年2型糖尿病防治临床指南》编写组. 中国老年2型糖尿病防治临床指南(2022年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2022, 30(1): 2-51.
- [4] 王莲地,王贺,阳琰,等. 不同骨代谢状态下T2DM患者血清25(OH)D及Omentin-1水平的变化及其意义[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(11): 1405-1408+1430.

(下转第2114页)

MiR-129-5p 在肺腺癌中的表达及其临床意义

张建海* 王巍 王前 许佳伦 高娜

[摘要] **目的** 探讨肺腺癌组织中微小 RNA-129-5p (MiR-129-5p) 的表达变化及临床意义。**方法** 选取 2014 年 1 月至 2017 年 1 月本院收治的 50 例肺腺癌患者 (肺腺癌组), 和 30 名健康者 (健康对照组)。所有患者血清中提取 RNA。使用 QiagenValenicaCA 将 RNA 逆转录为 cDNA。使用 QSystem (Qiagen) 进行定量 PCR (qPCR)。分析 MiR-129-5p 表达变化与肺腺癌患者临床病理特征的关系; 对患者随访 5 年, 分析 MiR-129-5p 表达变化与患者生存预后的关系。建立受试者操作特征 (ROC) 曲线, 对微小 RNA-129-5p 诊断肺腺癌效率进行评估。**结果** 与健康对照组比较, 肺腺癌血清中 MiR-129-5p 相对表达量低, 差异有统计学意义 ($t=48.215, P<0.001$)。MiR-129-5p 表达与肺腺癌分化程度、淋巴结转移、远处转移、年龄 (>60 岁与 <60 岁)、TNM 分期、浸润深度、表皮生长因子受体 (EGFR) 基因突变有关 (P 均 < 0.05), 与患者性别、吸烟与否、肿瘤大小无关 ($P>0.05$)。以肺腺癌血清中 MiR-129-5p 表达的中位数为基准, 将肺腺癌分为高、低表达组。MiR-129-5p 高表达组 5 年总生存率高于 MiR-129-5p 低表达组, 差异有统计学意义 ($\chi^2=23.765, P<0.05$)。通过绘制 ROC 曲线 MiR-129-5p 诊断肺腺癌的敏感性为 65.6%, 特异性为 75.0%, AUC 为 0.751 ($P<0.05$), 临界值 0.452, 95% CI 为 0.613-0.887。**结论** 肺腺癌组织中 MiR-129-5p 低表达, 其表达变化与肺腺癌发生发展及预后有关; 血清 MiR-129-5p 可用作肺腺癌诊断和预后的潜在生物标志物。

[关键词] 肺腺癌; 微小 RNA-129-5p; 诊断; 生存率

Expression of MiR-129-5p in lung adenocarcinoma and its clinical significance

ZHANG Jianhai*, WANG Wei, WANG Qian, XU Jialun, GAO Na

(Pathology Department, Beijing Daxing District Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Beijing, China, 100076)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of microRNA-129-5p (MiR-129-5p) in lung adenocarcinoma and its clinical significance. **Methods** 80 patients treated in our hospital from January 2014 to January 2017 were divided into 30 healthy control subjects and 50 patients with lung adenocarcinoma. RNA was extracted from the sera of all subjects. RNA was reverse transcribed into cDNA using Qiagenvalenicaca. Quantitative PCR (qPCR) was performed using Qsystem (Qiagen). The relationship between the expression changes of MiR-129-5p and the clinicopathological features of patients with lung adenocarcinoma was analyzed; the patients were followed up for 5 years, and the relationship between the changes of MiR-129-5p expression and the survival and prognosis of patients was analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curve was established to evaluate the efficiency of microRNA-129-5p in the diagnosis of lung adenocarcinoma. **Results** Compared with the healthy control group, the relative expression of MiR-129-5p in serum of lung adenocarcinoma was low ($t=48.215, P<0.001$). The expression of MiR-129-5p was related to the degree of differentiation, lymph node metastasis, distant metastasis, age (> 60 years and < 60 years), TNM stage, depth of invasion and epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutation of lung adenocarcinoma ($P<0.05$). It was not related to gender, smoking and tumor size ($P>0.05$). Based on the median expression of MiR-129-5p in

基金项目: 中国中医科学院中医药“一带一路”合作专项项目 (GH2017-04-04)

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

serum of lung adenocarcinoma, lung adenocarcinoma was divided into high and low expression groups. The 5-year overall survival rate of the MiR-129-5p high expression group was higher than that of the MiR-129-5p low expression group ($\chi^2=23.765, P<0.05$). By plotting ROC curve, the sensitivity of MiR-129-5p in the diagnosis of lung adenocarcinoma was 65.6%, the specificity was 75.0%, AUC=0.751, $P=0.002<0.05$, the critical value was 0.452, and 95% CI: 0.613~0.887. **Conclusion** The expression of MiR-129-5p was low in lung adenocarcinoma, and its expression changes were related to the occurrence, development and prognosis of lung adenocarcinoma; Serum MiR-129-5p can be used as a potential biomarker for the diagnosis and prognosis of lung adenocarcinoma.

[KEY WORDS] Lung adenocarcinoma; Microrna-129-5p; Diagnosis; Survival rate

肺癌是国内第一大癌症疾病,死亡率也位居所有癌症之首,5年以上存活率仅18%^[1]。由于肺癌患者早期症状普遍不明显,实验室指标也不具特异性,导致肺癌临床诊断存在一定困难,目前临床对于肺癌的诊断主要通过影像学及病理学检查,其中以病理活检诊断准确率最高,是诊断肺癌及其分型的金标准,但该诊断方式具有有创性,临床应用存在一定的局限性^[2]。环状RNA(circular-RNA, circRNA)是近年来发现的一种新型竞争性内源性RNA(ceRNAs),其在生物体内含量较为丰富,主要由mRNA前体(pre-mRNA)经反向剪接环化而形成,具有稳定性、保守性、普遍性、组织和疾病特异性的特点,有望成为一种癌症诊断及预后生物学标志物^[3]。近年来,相关文献报道了circRNA应用于胃癌、乳腺癌及神经胶质瘤等多种癌症诊断及患者预后评估方面的价值^[4,5]。本实验对肺腺癌患者组织中差异性表达的环状RNA进行筛选及验证,以初步探讨MiR-129-5p作为肺腺癌早期诊断分子生物标志物的价值。

1 对象与方法

1.1 临床标本

收集2014年1月至2017年1月年度北京市大兴区中西医结合医院的50例肺腺癌病人的外周血液样本10 mL(肺腺癌组),同时选取门诊体检的健康志愿者30名(健康对照组),抽取外周血液10 mL。肺腺癌患者,纳入标准:术中、医院病理学检查确诊为浸润性腺癌,排除标准:①病理学诊断为非腺癌或混合型癌,依据第八版肿瘤TNM分期标准进行肿瘤分期;②在采血之前,接受过任何手术、化疗、放疗;③合并肺结核、高血压、冠心病等基础疾病;④病历资料不完全。患者均签署知情同意书,本研究通过了北京市大兴区中西医结合医院的伦理委员会批准。

1.2 样品收集

抽取患者10毫升血液并放置于三个试管中;其中一个含有用于全血细胞计数(Whole blood cell count, WBC)的乙二胺四乙酸(Ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA),第二个含有用于凝血酶原时间(prothrombin time, PT)测量的柠檬酸钠,第三个离心管用于血清分离。血清用于测定所有血清学测试,包括ELISA和分子生物学技术。

1.3 RNA提取

使用Qiagen(Valencia, CA)试剂盒从血清中提取RNA。RNA浓度由NanoDrop2000(ThermoScientific)测定。

1.4 逆转录反应

使用Qiagen通过RT-PCR试剂盒将RNA逆转录为cDNA。使用miScriptSYBRGreenPCRKit(Qiagen)试剂盒通过实时RT-PCR扩增cDNA模板。使用转子基因QSystem(Qiagen)进行定量PCR(qPCR)。而MiR-129-5p的基因表达被标准化为SNORD68表达。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算RNA的相对表达。MiR-129-5p的引物由德国Qiagene公司提供。用于扩增NEAT1基因表达的引物是(776716R5485):正向50-TGGCTAGCT-CAGGGCTTCAG-30和反向50-TGAAAACCTT-TACCCAGGA-30(Invitrogen)。

1.5 定量实时PCR(qRT-PCR)

使用TRIzol试剂从培养的细胞中提取总RNA。使用总RNA用cDNA合成试剂盒(FastQuantRT试剂盒,中国北京天根)合成cDNA。根据制造商的建议,使用SuperRealPreMixPlus(天根)进行qRT-PCR。用于qRT-PCR的所有引物的序列列于补充表1。所有实验均以三份形式进行。 β -actin和U6表达分别用于mRNA和MiR-129-5p表达的正常化。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法确定了相对表达水平。

1.6 随访

术后追踪病人全部经门诊或电话追踪,直至2022年1月份,并进行5年的整体生存统计。

1.7 统计分析

使用SPSS 23软件版本分析数据。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用*t*检验;计数资料用频数表示,采用卡方检验或秩和检验。将患者5年存活率进行Kaplan-Meier(K-M)生存曲线分析。ROC曲线用于确定MiR-129-5p的最高灵敏度和特异性的截止点, $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组MiR-129-5p表达水平比较

肺腺癌组MiR-129-5p(0.92 ± 0.06)的表达水平低于对照组(0.18 ± 0.07),比较差异有统计学意义($t=48.215, P < 0.001$)。见图1。

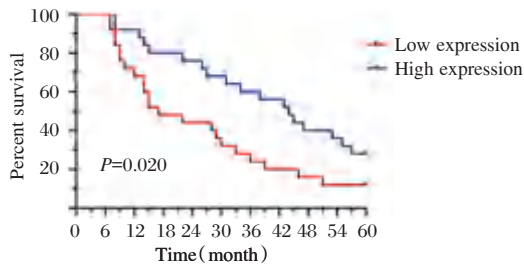


图2 MiR-129-5p 高低表达肺腺癌患者5年生存率K-M分析
Figure 2 K-M analysis of 5-year survival rate of patients with high and low expression of MiR-129-5p in lung adenocarcinoma

2.2 MiR-129-5p 表达与肺腺癌患者临床病理特征的关系

MiR-129-5p 表达与肺腺癌分化程度、淋巴结转移、远处转移、年龄(>60岁与<60岁)、TNM分期、浸润深度、表皮生长因子受体(Epidermal-growthfactorreceptor, EGFR)基因突变有关(P 均<0.05),与患者性别、吸烟与否、肿瘤大小无关($P > 0.05$)。见表1。

2.3 生存分析显示

以肺腺癌血清中MiR-129-5p表达的中位数为基准,将肺腺癌分为高、低表达组。MiR-129-5p高表达组5年总生存率高于MiR-129-5p低表达组($P < 0.05$)。Cox回归分析发现,肺腺癌分化程度、淋巴结转移、远处转移、TNM分期、浸润深度和MiR-129-5p表达是肺腺癌患者预后的独立风险因素。见图2、表2。

表1 MiR-5129-55p 表达与肺腺癌患者临床病理特征的关系

Table 1 Relationship between MiR-5129-55p expression and clinicopathological features of patients with lung adenocarcinoma

| 临床病理特征 | 肺腺癌 MiR-129-5p 表达 | | | |
|----------|-------------------|--|--------|-------|
| | n | 相对表达量[M(Q _L , Q ₀)] | Z值 | P值 |
| 性别 | | | -0.608 | 0.543 |
| 男 | 30 | 0.66(0.49,0.87) | | |
| 女 | 20 | 0.69(0.60,0.81) | | |
| 年龄(岁) | | | -3.277 | 0.001 |
| >60 | 27 | 0.62(0.51,0.89) | | |
| ≤60 | 23 | 0.77(0.54,0.90) | | |
| 肿瘤大小(cm) | | | -0.541 | 0.588 |
| >3 | 23 | 0.66(0.56,0.79) | | |
| ≤3 | 27 | 0.67(0.51,0.89) | | |
| 肿瘤分化程度 | | | -2.246 | 0.025 |
| 中高分化 | 21 | 0.74(0.54,0.91) | | |
| 低分化 | 29 | 0.63(0.51,0.74) | | |
| EGFR 突变 | | | -4.298 | 0.000 |
| 突变 | 18 | 0.64(0.54,0.71) | | |
| 未突变 | 32 | 0.73(0.51,0.94) | | |
| 吸烟 | | | -0.738 | 0.521 |
| 是 | 27 | 0.64(0.51,0.85) | | |
| 否 | 23 | 0.63(0.52,0.71) | | |
| TNM 分期 | | | -3.363 | 0.001 |
| I、II期 | 24 | 0.75(0.55,0.94) | | |
| III期 | 26 | 0.62(0.47,0.73) | | |
| 浸润深度 | | | -3.246 | 0.001 |
| T1+T2 | 23 | 0.75(0.55,0.95) | | |
| T3+T4 | 27 | 0.62(0.47,0.74) | | |
| 淋巴结转移 | | | -3.075 | 0.002 |
| 有 | 16 | 0.63(0.48,0.76) | | |
| 无 | 34 | 0.75(0.55,0.95) | | |
| 远处转移 | | | -4.458 | 0.000 |
| 有 | 9 | 0.76(0.52,0.95) | | |
| 无 | 41 | 0.64(0.53,0.78) | | |

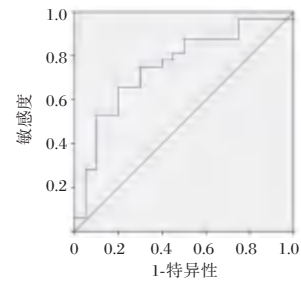


图2 MiR-129-5p 相关的ROC曲线
Figure 2 The ROC curve of MiR-129-5p

2.4 MiR-129-5p 对肺腺癌的诊断效率

通过绘制ROC曲线($n=80$),包括肺腺癌组=50例,健康对照组=30例,MiR-129-5p诊断肺腺癌的敏感性为65.6%,特异性为75.0%, $AUC=0.751, P=0.002$,临界值0.452,95%CI为0.613~0.887。

表2 肺腺癌患者预后的风险因素分析

Table 2 Analysis of prognostic risk factors in patients with lung adenocarcinoma

| 因素 | 单因素 Cox 分析 | | | 多因素 Cox 分析 | | |
|---------------------|------------|--------------|-------|------------|-------------|-------|
| | Exp(B) | 95 CI | P 值 | Exp(B) | 95 CI | P 值 |
| 性别 | 0.369 | 0.192~0.709 | 0.003 | 0.706 | 0.286~1.741 | 0.449 |
| 年龄 | 1.064 | 0.571~1.986 | 0.844 | | | |
| 吸烟史 | 0.923 | 0.460~1.853 | 0.822 | | | |
| 肺腺癌分化程度 | 6.035 | 3.032~12.011 | 0.000 | 3.076 | 1.414~0.294 | 0.005 |
| TNM 分期 | 0.092 | 0.039~0.218 | 0.000 | 0.270 | 0.089~0.818 | 0.021 |
| 肿瘤大小 | 0.974 | 0.522~1.817 | 0.934 | | | |
| 淋巴转移 | 10.615 | 4.452~25.31 | 0.000 | 1.930 | 1.225~3.167 | 0.005 |
| 远处转移 | 3.278 | 1.637~6.565 | 0.001 | 1.063 | 1.015~1.113 | 0.008 |
| MiR-129-5p(高表达与低表达) | 0.002 | 0.00~0.028 | 0.000 | 0.014 | 0.001~0.263 | 0.004 |
| 浸润深度 | 7.257 | 3.278~11.254 | 0.000 | 1.644 | 1.396~1.936 | 0.000 |

3 讨论

肺腺癌是原发性肺癌较为常见的一种亚型,其属于腺上皮恶性肿瘤,具有众多的组织学分类,可以以腺泡、细支气管肺泡、乳头等形式存在。有研究报道,肿瘤标志物的水平高低可以预测瘤体的大小和 TNM 分期^[6]。此外,首次诊断或治疗前升高的标志物水平也可以用于监测后续的治疗效果和预后判断。

随着基因组测序技术的快速发展,近年来越来越多不具备蛋白质编码功能的 RNA 被发现。MiRNA 是一类长 19~25 个核苷酸的内源性非编码小 RNA,多位于肿瘤相关的脆性位点或基因区域,其能够与具备蛋白质编码功能的信使 RNA 结合广泛参与肿瘤病理生理过程^[7-8]。MiR-129-5p 由 MiR-129-1 和 MiR-129-2 协同转录而成,近年来,有研究报道^[9]显示, MiR-129-5p 可在多种恶性肿瘤中发挥重要作用。在胃癌中, miR-129-5p 可通过靶向白细胞介素-8 参与胃癌细胞的迁移和入侵。在乳腺癌中, miR-129-5p 通过靶向 HMGB1 来减弱辐照诱导自噬,并降低乳腺癌细胞的辐射抵抗力; miR-129-5p 是肿瘤生长的抑制剂。但在喉癌组织中 MiR-129-5p 表达则显著上调,其主要是通过靶向作用于含 WW 结构域的 E3 泛素蛋白连接酶 1 而促进癌细胞增殖和浸润。MiR-129-5p 在肺癌组织中表达显著下调,其主要通过靶向抑制肺癌组织中血管内皮生长因子的生成而发挥对癌细胞迁移和侵袭能力的抑制作用。MiR-129-5p 在肝癌组织中表达下调,上调其表达可提升其对钙调蛋白依赖性蛋白激酶 4 的调节作用,进而进一步起到对癌细胞增殖、迁移、浸润的抑制作用^[10-11]。本研究结果提

示, MiR-129-5p 在肺腺癌细胞中表达显著下调,明显低于健康对照组患者,由此推测, MiR-129-5p 与肺腺癌疾病发生、进展、预后可能存在某种关系,可通过调控下游靶基因,从而发挥促癌或抑癌的作用,具有成为诊断肺腺癌的生物标志物潜力。

进一步验证其在肺腺癌血液中表达水平与临床病理特征的相关性及对肺腺癌诊断效率分析。研究发现,扩大样本量进行 qRT-PCR 发现, MiR-129-5p 表达水平与肺腺癌分化程度、淋巴结转移、远处转移、年龄、TNM 分期、浸润深度、EGFR 基因突变有关,但在患者性别、吸烟与否、肿瘤大小未见显著性差异。它与分化程度呈负相关,分化程度越高,表达水平就越低,这表明 miR-129-5p 在肺腺癌的发生和进展中起着重要作用。此外,它与 TNM 分期、浸润深度、EGFR 基因突变呈负相关;表达水平越低,疾病的严重程度就越高,这表明 miR-129-5p 可用于判断疾病的严重程度。

胡俊华等^[12]发现 MiR-129-5p 可能成为结肠癌新的治疗靶点。MiR-129-5p 表达可能会对肿瘤化疗敏感性产生影响。Lu 等^[13]发现, MiR-129-5p 通过下调 RpS6,使 Her-2 阳性乳腺癌对曲妥珠单抗过敏。Ma 等^[14]研究报告称, MiR-129-5p 通过直接靶向 DLK1 来抑制 NSCLC 和化疗耐药性。Zeng 等^[15]发现, microRNA-129-5p 通过靶向 SOX2 抑制乳腺癌中的阿霉素耐药性。基于上述研究,我们可以确认 MiR-129-5p 可能成为肺腺癌预后的潜在生物标志物,但 MiR-129-5p 在肺腺癌中的作用机制仍不清楚。本研究发现 MiR-129-5p 低表达患者的 5 年存活率明显下降,预后不佳。此外 ROC 曲线提示 MiR-129-5p 对肺腺癌的诊断准确度高,这表明 MiR-129-5p 相对表达水平对评估肺腺癌诊

断、预后和癌症治疗疗效具有重要价值。

本研究从表达水平、与临床病理特征、预后关系等多方面研究了 miR-129-5p 在肺腺癌患者血液中的表达水平,为临床研究提供了参考。但研仍存在一些局限性,仅侧重于血清学以探索其价值,过于单一。且由于肺腺癌5年以上存活率低,随访时间短,加上治疗差异,miR-129-5p 与肺腺癌患者长期生存预后之间的关联仍需进一步研究。总之,肺腺癌组织中 MiR-129-5p 低表达,其表达变化与肺腺癌发生发展及预后有关;血清 MiR-129-5p 可用作肺腺癌癌症诊断和预后的潜在生物标志物。

参考文献

- [1] 车娟娟,甄洪超,王婧,等. 盘状大同源物5在肺腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2019,25(3):257-261.
- [2] 中华医学会肺癌临床诊疗指南(2019版)[J]. 肿瘤研究与临床, 2020,(4):217-249.
- [3] 王珏,郭占领. I期至III_A期肺癌外科规范化治疗的研究进展[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2014,21(5):675-680.
- [4] Qu S, Zhong Y, Shang R, et al. The emerging landscape of circular RNA in life processes [J]. RNA Biol, 2017, 14(8):992-999.
- [5] Kelly S, Greenman C, Cook PR, et al. Exon Skipping Is Correlated with Exon Circularization [J]. J Mol Biol, 2015, 427(15):2414-2417.
- [6] Aucamp J, Bronkhorst AJ, Pretorius PJ. A Historical and Evolutionary Perspective on Circulating Nucleic Acids and Extracellular Vesicles: Circulating Nucleic Acids as Homeostatic Genetic Entities [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 924:91-95.
- [7] 何琼,吴龙波,王志华,等. 肺腺癌组织中 EGFR, ROS1、ALK mRNA 表达意义 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(6):853-856.
- [8] 何本夫,朱成全,肖烈钢. EBV-miRNA-BHRF1-1 对鼻咽癌细胞 p53 基因表达的影响 [J]. 华南预防医学, 2014, 40(1):34-37.
- [9] Lu WY. Roles of the circular RNA circ-Foxo3 in breast cancer progression [J]. Cell Cycle, 2017, 16(7):589-590.
- [10] Sun H, Wang Q, Yuan G, et al. Hsa_circ_0001649 restrains gastric carcinomagrowth and metastasis by downregulation of miR-20a [J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(6):e23235.
- [11] Su Y, Xu C, Liu Y, et al. Circular RNA hsa_circ_0001649 inhibits hepatocellular carcinoma progression via multiple miRNAs sponge [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(10):3362-3375.
- [12] 胡俊华,喻琴,杨艳果,等. MiR-129-5p 通过靶定胸苷酸合成酶调节结肠癌细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感性 [J]. 临床内科杂志, 2014, 31(10):709-711.
- [13] Lu X, Ma J, Chu J, et al. MiR-129-5p Sensitizes the Response of Her-2 Positive Breast Cancer to Trastuzumab by Reducing Rps6 [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44:2346-2356.
- [14] Ma Z, Cai H, Zhang Y, et al. MiR-129-5p inhibits non-small cell lung cancer cell stemness and chemoresistance through targeting DLK1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 490:309-316.
- [15] Zeng H, Wang L, Wang J, et al. microRNA-129-5p suppresses Adriamycin resistance in breast cancer by targeting SOX2 [J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 651:52-60.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4):292-344.
- [6] 张育专,郑南生,黄田,等. 绝经后糖尿病患者血糖控制与骨密度相关性 [J]. 实用预防医学, 2022, 29(3):375-377.
- [7] Ferrari SL, Abrahamsen B, Napoli N, et al. Diagnosis and management of bone fragility in diabetes: an emerging challenge [J]. Osteoporos Int, 2018, 29(12):2585-2596.
- [8] 熊丹,刘丽君,贺佩祥,等. 2 型糖尿病患者内脏脂肪与骨密度及骨折风险的相关性研究 [J]. 中国全科医学, 2022, 25(6):682-688.
- [9] 李硕,倪向敏,王建. 2 型糖尿病性骨质疏松症发病机制研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(11):1661-1665.
- [10] 董美娟,刘媛媛,姚迪,等. 初诊 2 型糖尿病患者血清维生素 D 及胰岛素抵抗与炎症因子关系 [J]. 医学研究生学报, 2017, 30(10):1057-1060.
- [11] 井源,孙健斌,张晓梅. 老年 2 型糖尿病患者血尿酸水平与骨代谢、骨密度及骨质疏松的关系 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(1):114-118+138.
- [12] Yao X, Xu X, Jin F, et al. The Correlation of Type 2 Diabetes Status with Bone Mineral Density in Middle-Aged Adults [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2020, 13:3269-3276.
- [13] 张银华,龚瑞,李晨钟,等. 2 型糖尿病女性患者骨密度与骨转换率的相关性 [J]. 分子影像学杂志, 2021, 44(2):309-313.
- [14] Loureiro MB, Ururahy MA, Freire-Neto FP, et al. Low bone mineral density is associated to poor glycemic control and increased OPG expression in children and adolescents with type 1 diabetes [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2014, 103(3):452-457.
- [15] 高智玉,王雯,方筱静,等. 颈动脉超声检查各指标与年龄和性别关系的分析 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(12):1245-1248.

(上接第 2109 页)

血清 ADA、ANA、抗 CCP 抗体与类风湿关节炎合并骨关节炎预后的相关性

魏竹节 王涛 李志军*

[摘要] **目的** 探究血清腺苷脱氨酶(ADA)、抗核抗体(ANA)、抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体与类风湿关节炎(RA)合并骨关节炎(OA)预后的相关性。**方法** 收集2020年1月至2021年6月蚌埠医学院第一附属医院风湿免疫科收治的RA合并OA 88例患者,根据预后结果分为预后良好组(RF<16.294 IU/mL, $n=78$)和预后不良组(RF \geq 16.294 IU/mL, $n=10$),比较两组间的临床资料以及血清ADA表达水平以及ANA和抗CCP抗体的阳性率;采用spearman分析法分析各组患者血清ADA、ANA、抗CCP抗体与类风湿关节炎合并骨关节炎预后不良的相关性;采用多因素Logistic回归分析RA合并OA预后不良的影响因素,并绘制受试者工作(ROC)曲线判断血清ADA、ANA、抗CCP抗体对类风湿关节炎合并骨关节炎预后不良的预测价值。**结果** 预后良好组与预后不良组的血清ADA、ANA、抗CCP抗体水平比较差异有统计学意义($t=2.374$, $\chi^2=4.412$, 5.533 , $P<0.05$);经Spearman相关分析,患者的血清ADA、ANA、抗CCP抗体水平与类风湿关节炎合并骨关节炎预后不良呈正相关($P<0.05$);Logistic回归分析结果显示,血清ADA、ANA、抗CCP抗体为RA合并OA患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,血清ADA、ANA、抗CCP抗体以及联合检测预测类风湿关节炎合并骨关节炎预后不良的曲线下面积分别为0.791、0.826、0.841、0.911。**结论** 血清ADA、ANA、抗CCP抗体三者联合检测预测类风湿关节炎合并骨关节炎预后不良的预测价值较高,可以为类风湿关节炎合并骨关节炎患者预测预后结局提供理论依据。

[关键词] 血清腺苷脱氨酶;抗核抗体;抗环瓜氨酸肽;类风湿关节炎;骨关节炎

Correlation between serum ADA, ANA and anti-CCP antibodies and prognosis of rheumatoid arthritis complicated with osteoarthritis

WEI Zhujie, WANG Tao, LI Zhijun*

(Department of Rheumatology and Immunology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui, China, 233400)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between serum adenosine deaminase (ADA), antinuclear antibody (ANA), anticyclic citrullinated peptide (CCP) antibody and the prognosis of rheumatoid arthritis (RA) complicated with osteoarthritis (OA). **Methods** A total of 88 patients with RA complicated by OA who were admitted to the Department of Rheumatology and Immunology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College from January 2020 to June 2021 were collected. According to the prognosis, they were divided into a good prognosis group ($n=78$) and a poor prognosis group ($n=10$), the clinical data, serum ADA expression levels, and the positive rates of ANA and anti-CCP antibodies were compared between the two groups. Spearman analysis was used to analyze the correlation between serum ADA, ANA, anti-CCP antibody and poor prognosis of rheumatoid arthritis combined with osteoarthritis in patients in each group; multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of poor prognosis of RA combined with OA, and the subjects were plotted The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to judge the

基金项目:安徽省卫生健康软科学研究项目(2020WR03013)

作者单位:蚌埠医学院第一附属医院风湿免疫科,安徽,蚌埠 233400

*通信作者:李志军, E-mail: lizhijundr@126.com

predictive value of serum ADA, ANA, and anti-CCP antibody on the poor prognosis of rheumatoid arthritis combined with osteoarthritis. **Results** There were significant differences in serum ADA, ANA and anti-CCP antibody levels between the good prognosis group and the poor prognosis group ($t=2.374$, $\chi^2=4.412$, 5.533 , $P<0.05$). The levels of ANA and anti-CCP antibodies were positively correlated with the poor prognosis of rheumatoid arthritis combined with osteoarthritis ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that serum ADA, ANA and anti-CCP antibodies were independent risk factors for poor prognosis in patients with RA combined with OA. ($P<0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the areas under the curve of serum ADA, ANA, anti-CCP antibodies and combined detection for predicting poor prognosis of rheumatoid arthritis combined with OA were 0.791, 0.826, 0.841, and 0.911, respectively. **Conclusion** The combined detection of serum ADA, ANA and anti-CCP antibody has a high predictive value in predicting the poor prognosis of rheumatoid arthritis combined with osteoarthritis, and can provide a theoretical basis for predicting the prognosis of patients with rheumatoid arthritis combined with osteoarthritis.

[KEY WORDS] Serum adenosine deaminase; Anti-nuclear antibody; Anti-cyclic citrullinated peptide; Rheumatoid arthritis; Osteoarthritis

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是指一种病因未明、以炎性滑膜炎为主的慢性疾病,高发年龄为30~50岁,根据有关研究^[1]显示,RA的患病率高达39%,主要集中在双侧对称手指小关节的之间以及掌指。RA具有较高的致残率,最终可导致患者关节畸形甚至功能丧失。骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种非炎症性的退行性关节病,尤其是在长时间活动后,患者表现为关节疼痛、僵硬等。OA常与RA合并发作,患者常因关节疼痛或者功能障碍影响生活质量,因此早期判断患者预后结果,早判断,早治疗能够有效地改善患者的生存质量,减轻患者的负担。目前国内尚无RA合并OA患者预后不良的预测指标的有关研究。腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)是作用于嘌呤核苷酸代谢过程中的一种关键性的酶,能够调节免疫系统的发育、成熟以及免疫细胞的活性,其检测在临床上已广泛运用于RA以及OA的诊断,但其对患者预后不良的研究尚少^[2]。抗核抗体(Antinuclear antibody, ANA)泛指抗各种核成分的抗体,广泛存在于血清中,被视为RA患者早期即可出现的特异性抗体^[3]。抗环瓜氨酸肽(Anti-cyclic citrullinated peptide antibody, CCP)抗体是一种以IgG型为主的抗体,由RA患者的B淋巴细胞分泌而成的抗体,其特异性极高,能够作为诊断RA的指标,在RA早期检测出^[4]。故本研究通过对RA合并OA患者的血清ADA、ANA、抗CCP抗体的检测来分析这三个血清学指标对RA合并OA患者预后不良的相关性,并评估血清ADA、ANA、抗CCP抗体对RA合并OA患者预后不良的预测

价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2021年6月蚌埠医学院第一附属医院风湿免疫科收治的88例RA合并OA患者,并根据预后结局将患者分为预后良好组(RF<16.294 IU/mL, $n=78$)和预后不良组(RF \geq 16.294 IU/mL, $n=10$)。纳入标准:①符合美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)、欧洲抗风湿病联盟(European League Against Rheumatism, EULAR)2009年修订的RA分类标准^[5];②符合《骨关节炎诊疗指南(2018年版)》^[6]中的相关诊断标准;③开始研究前3个月未服用免疫抑制类药物以及激素;④临床资料完整;⑤患者均签署知情同意书。排除标准:①合并有慢性关节炎以及免疫性疾病者;②合并恶性肿瘤者;③精神失常且不具备正常认知能力者;④哺乳期或妊娠期;⑤合并其他诊断明确的结缔组织疾病。本研究经安徽省蚌埠医学院第一附属医院医学伦理委员会审批通过。

1.2 方法

于患者清晨空腹采集其静脉血液5 mL,采用高速离心机以3 000 r/min的速度,离心半径8 cm,离心6 min,分离出上层血清后置于-20℃的环境中保存待检。采用全自动生化仪分析仪(型号:日立7180型,厂家:南京新惠通生物科技有限公司)及其配套试剂检测ADA水平;采用全自动生化发光分析系统(型号:雅培c16200,厂家:广州博康生物技术有限公司)检测抗CCP抗体和ANA,其中

ANA试剂为德国欧蒙生物工程有限公司提供的,抗CCP抗体的检测试剂盒由美国雅培公司提供的。

1.3 观察指标

①比较血清ADA水平、ANA阳性率和抗CCP抗体阳性率在不同人群中的差异,其中ANA测定结果是以ANA滴度 $\geq 1:100$ 为阳性;CCP测定结果以大于等于5 U/mL为阳性^[7]。②比较预后不良组和预后良好组的血清ADA水平、ANA阳性率和抗CCP抗体阳性率以及患者的临床资料;③分析影响RA合并OA患者预后不良的危险因素,并判断血清ADA、ANA、抗CCP抗体预测RA合并OA患者预后不良的价值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间采用t检验;计数资料以n(%)表示,采用 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析影响RA合并OA患者预后不良的危险因素,并采用ROC曲线判断血清ADA、ANA、抗CCP抗体对RA合并OA患者预后不良的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响RA合并OA患者预后不良的因素分析

预后不良组的年龄、病程、ADA水平、ANA阳性率、抗CCP抗体阳性率均高于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组的性别、体重指数相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 影响RA合并OA患者预后不良的单因素分析
[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Univariate analysis of poor prognosis in patients with RA and OA [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

| 因素 | 预后不良组 (n=10) | 预后良好组 (n=78) | χ^2/t 值 | P值 |
|--------------------------|------------------|------------------|--------------|-------|
| 年龄(岁) | 59.12 \pm 4.77 | 55.62 \pm 5.07 | 2.068 | 0.042 |
| 性别 | | | | |
| 男 | 4(40.00) | 11(14.10) | | |
| 女 | 6(60.00) | 67(85.90) | 2.572 | 0.109 |
| 体重指数(kg/m ²) | 24.07 \pm 3.36 | 24.21 \pm 3.42 | 0.122 | 0.903 |
| 病程(年) | 2.02 \pm 0.61 | 1.56 \pm 0.58 | 2.348 | 0.021 |
| ADA(U/L) | 32.17 \pm 8.94 | 26.28 \pm 8.48 | 2.056 | 0.043 |
| ANA | | | | |
| 阳性 | 8(80.00) | 32(41.03) | | |
| 阴性 | 2(20.00) | 46(58.97) | 3.972 | 0.046 |
| 抗CCP抗体 | | | | |
| 阳性 | 8(80.00) | 36(46.15) | | |
| 阴性 | 2(20.00) | 42(53.85) | 4.062 | 0.044 |

2.2 血清ADA、ANA、抗CCP抗体与RA合并OA患者预后不良的相关性分析

经Spearman相关分析,患者的血清ADA水平

与RA合并OA患者预后不良呈正相关($r=0.425$, $P < 0.05$),患者的ANA阳性率与RA合并OA患者预后不良呈正相关($r=0.464$, $P < 0.05$),患者的抗CCP抗体阳性率与RA合并OA患者预后不良呈正相关($r=0.502$, $P < 0.05$)。

2.3 影响RA合并OA患者预后不良的多因素Logistic回归分析

以RA合并OA患者是否预后不良为因变量(否=0,是=1),以年龄、病程、血清ADA水平、ANA水平(阴性=0,阳性=1)、抗CCP抗体水平(阴性=0,阳性=1)作为自变量急性多因素Logistic回归分析。Logistic回归分析结果显示,病程、年龄、血清ADA、ANA、抗CCP抗体为RA合并OA患者预后不良的独立影响因素($P < 0.05$)。见表2。

表2 RA合并OA患者预后不良的多因素Logistic回归分析
Table 2 Multivariate logistic regression analysis of poor prognosis in patients with RA and OA

| 指标 | β 值 | SE值 | Wald | OR值 | 95% CI | P值 |
|--------|-----------|-------|-------|-------|--------------|-------|
| 病程 | 1.407 | 0.569 | 6.115 | 4.084 | 1.339~12.456 | 0.013 |
| 年龄 | 0.917 | 0.454 | 4.080 | 2.502 | 1.028~6.091 | 0.043 |
| ADA | 1.233 | 0.494 | 6.230 | 3.432 | 1.303~9.036 | 0.013 |
| ANA | 1.401 | 0.678 | 4.270 | 4.059 | 1.075~15.331 | 0.039 |
| 抗CCP抗体 | 0.957 | 0.326 | 8.618 | 2.604 | 1.374~4.933 | 0.003 |

2.4 血清ADA、ANA、抗CCP抗体对RA合并OA患者预后不良的预测价值

绘制血清ADA、ANA、抗CCP抗体预测RA合并OA患者预后不良的ROC曲线,ROC曲线分析显示,血清ADA、ANA、抗CCP抗体以及三者联合预测预后不良对应的AUC为0.791、0.826、0.841、0.911,其对应的约登系数为0.417、0.592、0.626、0.821。联合预测的价值高于血清ADA、ANA、抗CCP抗体单独对RA合并OA患者预后不良的预测价值。见表3、图1。

表3 血清ADA、ANA、抗CCP抗体以及联合检测对RA合并OA患者预后不良的预测价值

Table 3 The predictive value of serum ADA, ANA, CCP and combined detection for poor prognosis in patients with RA and OA

| 指标 | 临界值 | 约登指数 | 敏感度 | 特异度 | AUC | 95% CI |
|----------|--------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| ADA(U/L) | 16.347 | 0.417 | 0.625 | 0.792 | 0.791 | 0.721~0.835 |
| ANA | | 0.592 | 0.789 | 0.804 | 0.826 | 0.754~0.901 |
| 抗CCP抗体 | 4.125 | 0.626 | 0.825 | 0.801 | 0.841 | 0.799~0.921 |
| 联合检测 | | 0.821 | 0.922 | 0.899 | 0.911 | 0.887~0.994 |

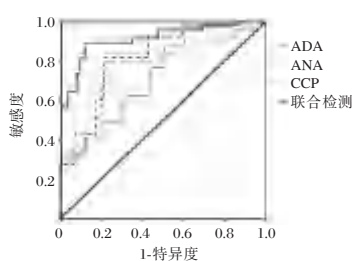


图1 ROC曲线
Figure 1 ROC curve

3 讨论

RA是一种慢性且对称性的自身免疫性疾病,最终会造成人体的关节的变形,最终可能导致患者终身残疾,我国作为RA的高发地区,每年大约有400~500万RA病例^[8]。OA多发生于老年群体,能够对骨关节造成不同程度的损伤,更有甚者可能出现关节畸变甚至是残疾等情况,骨关节炎在人群中的发生率为0.5%左右,常见于中老年男性以及绝经后的妇女,是影响心血管疾病的危险因素^[9]。老年RA常与OA一起发生,发病率高达51.7%,并且随着病情的发展,RA与OA相互影响并加剧^[10]。因此,及时并明确的判断患者的预后结果并采取积极措施干预治疗能够有效地改善患者的预后生活质量。本研究就血清ADA、ANA、抗CCP抗体这三个血清学指标与RA合并OA患者预后不良的相关性进行研究,旨在能够为早期判断RA合并OA患者预后结果提供依据。

王洁等^[11]的研究表示,RA合并OA患者的关节症状会比单纯OA、单纯RA患者的严重,并且病程较长。血清ADA作为嘌呤代谢过程中起着重要作用的酶,常被认为是细胞免疫的重要标志物^[12]。蔡昕添等^[13]通过荟萃分析得出RA患者的ADA平均水平高于对照组,RA患者关节滑液以及血清中ADA的水平较正常人群的高,ADA可以作为反应RA严重程度的指标。本研究结果表明,血清ADA水平在RA合并OA患者中表达水平较高,与上述研究结果一致。且ADA的表达水平与RA合并OA患者预后不良呈正相关,考虑可能因为血清中的ADA水平能够作为评估RA患者炎症活动的标志物,因此,ADA水平越高,患者的炎症活动越严重,其预后结果为不良的可能性就越高^[14]。血清抗CCP抗体作为一种适用于早期RA临床诊断的新型血清标志物,在RA患者的诊断中具有一定的优势。血清ANA又称为抗核酸抗原

抗体,在广义上属于一组各有不同临床意义的抗核抗体谱,ANA滴度对OA诊断的特异性较高^[15]。抗CCP抗体常与ANA合并使用用于RA患者的诊断中,本研究结果显示,观察组的ANA检测阳性率77.27%、抗CCP抗体检测阳性率为86.36%明显高于对照组,与李建军^[7]的研究结果一致,由研究结果可知ANA、抗CCP抗体在RA合并OA患者中存在较高的阳性率,对疾病的诊断具有重要意义。并且ANA、抗CCP抗体阳性率与RA合并OA患者预后不良呈正相关,考虑可能因为:其一是在OA发病的过程中,随着T细胞的参与以及B细胞的活化,患者ANA的含量上升,导致机体自身的组织和器官损伤,使得患者预后结果不良;其二是抗CCP抗体能够用于RA患者病情进展的检测,并且抗CCP抗体阳性者的骨破坏程度明显严重于抗CCP抗体阴性患者,因此患者预后不良的几率较高。本研究中,病程、年龄、ADA、ANA、抗CCP抗体为RA合并OA患者预后不良的独立影响因素,考虑可能原因如下:①随着患者病程以及年龄的增长,关节的损耗增加以及身体机能下降,患者出现预后不良的几率随之增加;②ADA水平异常升高能够导致机体产生异常的炎症反应强度,破坏机体的免疫稳态,使得免疫系统攻击自身,损坏身体机能;③抗CCP抗体为RA患者B淋巴细胞分泌而成的,ANA、抗CCP抗体阳性率提高,说明患者的免疫系统活动异常,会加重自身免疫性疾病RA、OA的严重程度。

研究结果提示三项指标联合检测可能可以弥补单项指标监测的不足,能够为有关医疗机构检测RA合并OA患者的预后结果提供简单易行的方案。

综上所述,血清ADA、ANA、CCP与RA合并OA患者预后不良相关,联合检测能够在临床上作为预测RA合并OA患者预后不良的新方法,为临床治疗提供理论依据。

参考文献

- [1] 张嘉怡,戎娜,李贞.郑州市居民类风湿关节炎筛查结果分析[J].华南预防医学,2021,47(11):1458-1460.
- [2] 马海航,郜赵伟,赵冠华,等.腺苷脱氨酶及同工酶对自身免疫病诊断和病情监测的作用[J].现代生物医学进展,2020,20(23):4427-4431.
- [3] 翟建昭,刘在栓,张乃丹,等.关节痛型狼疮与类风湿关节炎实验室指标鉴别[J].中国实验诊断学,2021,25(9):1276-1279.

(下转第2124页)

苏州市第九人民医院慢性肾脏病贫血状况的单中心横断面调查

李晔 马春园 徐燕*

[摘要] **目的** 调查慢性肾脏病(CKD)患者贫血的患病率及特点,分析其危险因素,为改善肾性贫血提供参考。**方法** 采用回顾性研究方法,选取2017年1月至2021年6月在苏州市第九人民医院住院治疗的305例CKD期患者作为研究对象。入选患者依据估算的肾小球滤过率(eGFR)进行分组,收集入选患者的一般资料及临床实验室指标并进行统计分析,调查CKD患者贫血的患病率及临床特点,分析此类患者发生贫血的高危因素。**结果** 共计305例患者纳入此项研究,年龄平均(67.05±13.05)岁。CKD3期组、CKD4期组、CKD5期组患者血红蛋白(Hb)浓度比较差异有统计学意义($P<0.05$)。贫血总检出率为72.46%,其中主要为轻度(51.13%)及中度(45.25%)贫血;以正细胞正色素性贫血为主(62.44%)。CKD3期组、CKD4期组、CKD5期组患者的贫血患病率比较差异具有统计学意义($\chi^2=37.11, P<0.05$)。直线回归得出Hb与eGFR之间的关系式为:Hb(g/L)=77.6+0.85×eGFR(mL/min/1.73 m²)。随着CKD的进展,患者血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、B2微球蛋白、甲状旁腺激素(PTH)、磷(P)呈升高趋势,而估算肾小球滤过率(eGFR)、白蛋白(ALB)及钙(Ca)、甘油三酯呈下降趋势,组间差异有统计学意义($P<0.05$)。贫血组BMI、eGFR、Ca、Alb、甘油三酯、总胆固醇高于非贫血组,而BUN、Scr、B-2微球蛋白、P、PTH、红细胞生成素(EPO)均低于非贫血组,差异存在统计学意义($P<0.05$)。单因素logistic回归提示eGFR、Ca、P、白蛋白、甘油三酯为CKD患者贫血的危险因素($P<0.05$),多因素logistic回归提示eGFR、低白蛋白血症是CKD患者发生贫血的独立危险因素($OR=5.13, 2.48, P<0.05$)。**结论** CKD患者常并发贫血,且随着肾功能进展,贫血发生率及严重程度均升高。

[关键词] 慢性肾脏病;贫血;横断面研究;危险因素

Single-center cross-sectional survey of stage 3-5 anemia status of chronic kidney disease in the Ninth People's Hospital of Suzhou City

LI Ye, MA Chunyuan, XU Yan*

(Department of Nephrology, Suzhou Ninth People's Hospital, Suzhou, Jiangsu, China, 215200)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the prevalence and characteristics of anemia in patients with chronic kidney disease (CKD), analyze the risk factors, and provide a reference for improving renal anemia. **Methods** Using a retrospective study method, 305 patients with CKD in Suzhou Ninth People's Hospital from January 2017 to June 2021 were selected as the research objects. The selected patients were grouped according to the estimated glomerular filtration rate (eGFR), the general information and clinical laboratory indicators of the selected patients were collected and statistically analyzed, the prevalence and clinical characteristics of anemia in CKD patients were investigated, and the incidence of anemia in these patients was analyzed risk factors for anemia. **Results** A total of 305 patients were included in the study, with a mean age of (67.05 ± 13.05) years old. The hemoglobin (Hb) concentrations in stage CKD3 group, stage CKD4 group and stage CKD5 group, the difference was statistically significant among the three groups ($P<0.05$). The total detection rate of anemia was 72.46%, mainly mild (51.13%) and moderate (45.25%) anemia, and normocytic normochromic anemia was

基金项目:苏州市第九人民医院院级科研项目(YK202224)

作者单位:苏州市第九人民医院肾内科,江苏,苏州215200

*通信作者:徐燕, E-mail:xyfrancecrazy@163.com

the main one (62.44%). The prevalence of anemia in stage CKD3 group, stage CKD4 group and stage CKD5 group the difference was statistically significant ($\chi^2 = 37.11, P < 0.05$). The relationship between Hb and eGFR was obtained by linear regression: $Hb (g/L) = 77.6 + 0.85 \times eGFR (mL/min/1.73 m^2)$. With the progression of CKD, serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), B-2 microglobulin, parathyroid hormone (PTH) and phosphorus (P) showed an increasing trend, while the estimated glomerular filtration rate (eGFR), albumin (ALb), calcium (Ca) and triglyceride showed a downward trend, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). BMI, eGFR, Ca, Alb, triglycerides, and total cholesterol in anemia group were higher than those in the non-anaemic group, while BUN, Scr, B-2 microglobulin, P, PTH and erythropoietin (EPO) were lower than those in the non-anemia group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression indicated that eGFR and hypoalbuminemia were independent risk factors for anemia in CKD patients ($P < 0.05$). **Conclusion** CKD patients are often complicated by anemia, and the incidence and severity of anemia increase with the progress of renal function.

[KEY WORDS] Chronic kidney disease; Anemia; Cross-sectional study; Risk factors

目前慢性肾脏病(Chronic kidney disease, CKD)的发病率呈逐年增长的趋势,CKD患者约占中国成年人的10.8%^[1]。肾性贫血是CKD患者较为常见的并发症之一,约有50%的CKD患者并发贫血,且随着肾功能受损,贫血患病率也呈逐步升高的趋势。贫血可导致氧分压降低,心脏负荷加重,引起左心室肥大,甚至全心扩大、心力衰竭,从而增加患者的病死率^[2]。本文通过对CKD患者贫血情况的调查,旨在了解CKD患者贫血的患病率、临床特点、危险因素,为临床诊治提供理论依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2017年1月至2021年6月在苏州市第九人民医院住院治疗的CKD患者为研究对象。

纳入标准:年龄 ≥ 18 岁;满足2020年改善全球肾脏病预后组织(Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO)指南对CKD的诊断标准^[3],且估算的肾小球滤过率(Estimated glomerular filtration rate, eGFR) $< 60 mL/(min \cdot 1.73 m^2)$ 。

排除标准:妊娠期及哺乳期妇女;已行血液透析、腹膜透析及肾移植;合并血液系统恶性肿瘤、严重感染、严重妇科疾病、活动性出血或其他可引起贫血的疾病;长期有激素类药物治疗史。

1.2 资料收集

本次临床调查采用单中心、回顾性横断面研究设计,采用问诊与电子病历回顾结合的方式采集患者的临床资料,包括一般人口学资料:年龄、性别、身高、体重,贫血相关指标:血红蛋白(Hemoglobin, Hb)、红细胞压积(Hematocrit, Hct)、平均红

细胞体积(Mean corpuscular volume, MCV)、平均红细胞血红蛋白量(Mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(Mean Erythrocyte Hemoglobin concentration, MCHC)、叶酸、铁蛋白、维生素B12、促红细胞生成素(Erythropoietin, EPO),其他实验室指标:白蛋白(Albumin, ALb)、血清肌酐(Serum creatinine, Scr)、血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)、尿酸、eGFR、甘油三酯、总胆固醇、钙(Calcium, Ca)、磷(Phosphorus, P)、甲状旁腺激素(Parathyroid hormone, PTH)。

1.3 相关诊断标准及分组

1.3.1 CKD的诊断标准及分组

依据K/DOQI关于CKD定义标准^[4]进行筛选,利用肾脏病饮食改良(modification of diet in renal disease, MDRD)简化公式计算^[5]: $eGFR = 186 \times Scr^{-1.154} \times \text{年龄}(\text{岁})^{-0.203} \times 0.742(\text{女性}) \times 1.227(\text{中国人})$,根据eGFR结果,将入选患者分为3组,即CKD 3期组($30 \leq eGFR < 60 mL/min/1.73 m^2$)、CKD 4期组($15 \leq eGFR < 30 mL/min/1.73 m^2$)、CKD 5期组($eGFR < 15 mL/min/1.73 m^2$)。

1.3.2 贫血的诊断标准及分级

1.3.2.1 贫血的诊断 依据2020年KDIGO指南^[3],男性Hb $< 130 g/L$,女性Hb $< 120 g/L$ 。

1.3.2.2 贫血程度分级^[6] 轻度贫血: $90 g/L \leq Hb < 130 g/L$;中度贫血: $60 g/L \leq Hb < 90 g/L$;重度贫血: $Hb < 60 g/L$ 。

1.3.2.3 贫血形态学分类^[4] 按MCHC值将贫血分为低色素性贫血($MCHC < 32\%$),正色素性贫血($32\% \leq MCHC < 36\%$),高色素性贫血($MCHC \geq 36\%$);按MCV值将贫血分为小细胞性贫血

(MCV<80fl), 正细胞性贫血(80fl≤MCV<100fl), 大细胞性贫血(MCV≥100fl)。

1.4 统计学处理

数据处理采用 SPSS 22.0 统计软件;正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;非正态分布的计量资料用中位数(四分位数间距)表示,组间比较采用非参数检验;计数资料用 *n*(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;危险因素分析采用单因素及多因素 logistic 回归。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

305 例患者入选本研究,其中男 167 例(54.75%),女 138 例(45.25%);平均年龄(67.05±13.05)岁。

各组患者的一般资料及原发病情况见表 1。

表 1 各组患者的一般资料及原发病情况 [$(\bar{x} \pm s)$, *n*(%)]

Table 1 General information and primary disease of patients in each group [$(\bar{x} \pm s)$, *n*(%)]

| 分组 | CKD 3 期 (<i>n</i> =88) | CKD 4 期 (<i>n</i> =104) | CKD 5 期 (<i>n</i> =113) | <i>F</i> / χ^2 值 | <i>P</i> 值 |
|---------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------|------------|
| 年龄(岁) | 66.84±9.84 | 67.81±14.57 | 66.52±13.83 | 0.28 | 0.76 |
| 性别(男/女) | 46/42 | 69/35 | 52/61 | 9.34 | <0.01 |
| BMI | 24.18±3.57 | 23.61±3.97 | 22.93±3.25 ^a | 2.09 | 0.05 |
| 原发病 | | | | | |
| 慢性肾炎 | 36(40.91) | 35(33.65) | 46(40.71) | | |
| 糖尿病肾病 | 30(34.09) | 42(40.38) | 40(35.40) | | |
| 高血压肾病 | 14(15.91) | 18(17.32) | 14(12.39) | 3.67 | 0.96 |
| 狼疮性肾炎 | 5(5.68) | 4(3.85) | 6(5.31) | | |
| 血管炎 | 2(2.27) | 3(2.88) | 4(3.54) | | |
| 多囊肾 | 1(1.14) | 2(1.92) | 3(2.65) | | |

注:a 为 CKD 3 期比较,*P*<0.05。

2.2 贫血情况

2.2.1 贫血及其严重程度情况

305 例患者中有 221 例诊断贫血,贫血总检出率为 72.46%,其中轻、中及重度贫血所占比例分别为 113 例(51.13%)、100 例(45.25%)及 8 例(3.62%)。

CKD3 期组、CKD4 期组、CKD5 期组患者的贫血患病率分别为 43 例(48.86%)、80 例(76.92%)、98 例(86.73%),三组间比较差异具有统计学意义($\chi^2=37.11, P<0.05$)。CKD3 期组患者主要以轻度贫血为主(占 CKD3 期总贫血患者的 74.42%)。CKD4 期组患者主要以轻、中度贫血为主(占 CKD4 期总贫血患者的 96.25%)。CKD5 期组患者主要以中、重度贫血为主(占 CKD5 期总贫血患者的 63.27%)。见图 1。

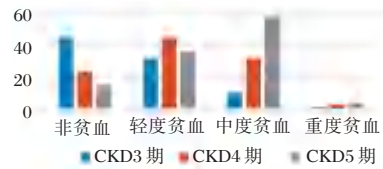


图 1 CKD 患者贫血严重程度分类

Figure 1 Classification of anemia severity of CKD patients

2.2.2 贫血患者的红细胞形态学分析

CKD 患者的贫血以正细胞正色素型贫血为主(62.44%),其所占比例分别为:CKD 3 期[33(76.74%)],CKD 4 期[53(66.25%)],CKD 5 期[52(53.06%)].见图 2。

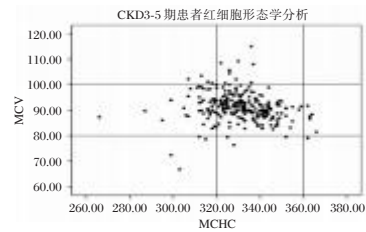


图 2 CKD 贫血患者的红细胞形态学分析

Figure 2 Morphological analysis of red blood cells in CKD anemia patients

2.3 不同 CKD 分期主要实验室指标比较

2.3.1 贫血指标

随着 CKD 进展,患者的 RBC、Hb 及 Hct 逐步下降,组间差异具有统计学意义(*P*<0.05);与 CKD 4 期相比,CKD 5 期患者的铁蛋白、维生素 B12 减少,差异有统计学意义(*P*<0.05);叶酸、红细胞生成素、MCV、MCH、MCHC 各组之间比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

2.3.2 其他实验室指标

随着 CKD 的进展,患者 Scr、BUN、B2 微球蛋白、PTH、P 呈升高趋势,而 eGFR、血 ALb 及 Ca、甘油三酯呈下降趋势,组间差异有统计学意义(*P*<0.05);收缩压、舒张压、胆固醇各组间比较,差异无统计学意义。见表 3。

2.4 贫血组及非贫血组各项指标比较

贫血组 BMI、eGFR、Ca、Alb、甘油三酯、总胆固醇高于非贫血组,而 BUN、Scr、B-2 微球蛋白、P、PTH、EPO 均低于非贫血组,差异有统计学意义(*P*<0.05),而两组年龄、收缩压、舒张压、尿酸、铁蛋白、叶酸、维生素 B12、HCT、MCV、MCH、MCHC、RBC 比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 4。

表2 各组患者贫血及相关指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of anemia and related indicators among groups ($\bar{x} \pm s$)

| 分组 | CKD 3期(n=88) | CKD 4期(n=104) | CKD 5期(n=113) | F值 | P值 |
|---------|---------------|--------------------------|--------------------------------|-------|-------|
| 叶酸 | 26.84±15.9 | 27.43±17.38 | 27.84±17.52 | 0.09 | 0.92 |
| 铁蛋白 | 175[101,301] | 195.5[108,314.5] | 169.9[88.2,313.6] ^b | 0.34 | <0.01 |
| 维生素 B12 | 301.82±129.03 | 370.81±234.68 | 368.68±222.45 ^b | 3.49 | 0.03 |
| EPO | 12[9.7,17.3] | 11.17[6.9,18.67] | 11.7[7.8,20.9] | 0.35 | 0.82 |
| RBC | 3.72±0.71 | 3.18±0.66 ^a | 2.85±0.57 ^{ab} | 1.57 | <0.01 |
| Hb | 114.57±19.95 | 96.16±19.62 ^a | 85.76±15.77 ^{ab} | 61.20 | <0.01 |
| HCT | 33.77±6.4 | 29.03±5.95 ^a | 25.85±4.91 ^{ab} | 47.30 | <0.01 |
| MCV | 91.18±5.68 | 91.50±5.63 | 91.03±5.46 | 0.14 | 0.82 |
| MCH | 30.42±2.11 | 30.17±1.95 | 30.24±1.89 | 0.42 | 0.66 |
| MCHC | 332.81±13.78 | 328.67±13.82 | 330.93±15.82 | 1.94 | 0.15 |

注:与CKD 3期比较, ^aP<0.05; 与CKD 4期比较, ^bP<0.05。

表3 各组患者其他实验室指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of other laboratory indexes of patients in each group ($\bar{x} \pm s$)

| 分组 | CKD 3期(n=88) | CKD 4期(n=104) | CKD 5期(n=113) | F/Z值 | P值 |
|---------|---------------|---------------------------|-----------------------------|--------|-------|
| 收缩压 | 144.14±21.58 | 146.15±23.18 | 150.78±24.01 | 2.25 | 0.11 |
| 舒张压 | 81.85±13.59 | 78.11±12.88 | 80.81±13.91 | 1.35 | 0.13 |
| eGFR | 43.05±8.71 | 21.88±4.17 ^a | 9.7±2.73 ^{ab} | 907.22 | <0.01 |
| Scr | 140.69±31.94 | 259.61±55.72 ^a | 526.35±206.53 ^{ab} | 233.37 | <0.01 |
| BUN | 10.62±4.66 | 15.46±6.02 ^a | 23.59±7.71 ^{ab} | 107.31 | <0.01 |
| B2 微球蛋白 | 5.83±3.54 | 9.38±3.54 ^a | 18.74±9.26 ^{ab} | 115.73 | <0.01 |
| 尿酸 | 451.67±117.46 | 462.75±114.82 | 491.2±114.59 ^a | 3.22 | 0.04 |
| Ca | 2.17±0.19 | 2.11±0.24 | 2.02±0.25 ^a | 0.97 | <0.01 |
| P | 1.18±0.22 | 1.2±0.27 | 1.51±0.41 ^{ab} | 36.42 | <0.01 |
| PTH | 83.01±54.37 | 130.81±109.68 | 229.55±265.95 ^{ab} | 43.73 | <0.01 |
| ALb | 38.21±4.98 | 36.12±5.61 ^a | 35.41±5.76 ^{ab} | 6.75 | <0.01 |
| 甘油三酯 | 1.83±0.93 | 1.57±0.85 | 1.5±0.74 ^a | 5.22 | 0.02 |
| 胆固醇 | 4.51±1.06 | 4.52±1.14 | 4.22±1.16 | 1.22 | 0.1 |

注:与CKD 3期比较, ^aP<0.05; 与CKD 4期比较, ^bP<0.05。

2.5 CKD患者发生贫血的危险因素

以贫血为因变量,性别、年龄、BMI、eGFR、糖皮质激素、Ca、P、PTH、ALb、甘油三酯、总胆固醇、叶酸、铁蛋白、维生素 B12、EPO 为自变量,进行单因素及多因素 logistic 回归分析后发现,eGFR、低白蛋白血症是CKD患者发生贫血的独立危险因素(P<0.05)。见表5。

2.6 eGFR与Hb双变量之间的关系

以eGFR为自变量,Hb为因变量,进行直线回归,建立回归方程:Hb(g/L)=77.6+0.85×eGFR(mL/min/1.73 m²),再对回归方程进行假设检验,得出回归系数不为0(P<0.05),即直线回归方程成立;从CKD 3~5期,患者eGFR每下降10 mL/min/1.73 m²,Hb约减少8.5 g/L。见图3。

3 讨论

肾性贫血是CKD患者常见的临床表现及早期并发症之一,国内有很多关于贫血的多项横断面研究,

例如上海市一项多中心横断面研究发现^[7],CKD 3~5期患者贫血患病率分别为51.1%、79.2%及90.2%。

李欣等^[8]对云南省迪庆藏族自治州人民医院(高原地区)525例CKD 3a~5D期患者进行研究后,发现贫血总检出率为44.4%,CKD 3a~5D期贫血患病率分别为29.0%、33.6%、64.3%、88.9%及96.1%。在本研究中,305例CKD 3~5期患者的贫血检出率为72.46%,且随着CKD的进展,贫血患病率呈不断上升趋势,分别为48.86%、76.92%、86.73%。KDIGO指南^[9]制定贫血治疗的靶目标为Hb在110~120 g/L之间,而此次的研究发现本中心CKD各期的贫血均不达标,说明贫血情况控制不佳,亟待引起重视并采取相关措施来改善这一情况。

本研究结果与国内外有关研究结果一致^[10-11]。进一步发现CKD贫血的患者血清EPO水平明显低于未发生贫血的患者。当EPO的产生不足时,骨髓造血干细胞增殖分化障碍,无法生产出足够数量的红细胞。因而,肾性贫血主要表现为

表4 贫血组及非贫血组各项指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of indexes between anemia group and non anemia group ($\bar{x} \pm s$)

| | 贫血组 (n=221) | 非贫血组 (n=84) | t/U值 | P值 |
|---------|----------------|----------------|--------|-------|
| 年龄 | 67.24±12.13 | 66.56±13.36 | -1.26 | 0.21 |
| BMI | 23.84±3.48 | 22.69±3.63 | 2.55 | 0.01 |
| 收缩压 | 146.23±20.09 | 150.06±24.13 | -1.45 | 0.15 |
| 舒张压 | 80.24±12.06 | 80.06±13.97 | 0.11 | 0.91 |
| eGFR | 24.81±2.13 | 19.96±2.51 | 16.89 | <0.01 |
| Scr | 291.47±172.21 | 410.03±203.44 | -7.53 | <0.01 |
| BUN | 14.12±5.78 | 24.85±8.16 | 12.85 | <0.01 |
| B2微球蛋白 | 10.13±7.99 | 16.28±8.04 | -8.78 | <0.01 |
| 尿酸 | 465.12±114.63 | 483.18±116.96 | -0.46 | 0.65 |
| Ca | 2.16±0.22 | 1.92±0.24 | 8.30 | <0.01 |
| P | 1.2±0.26 | 1.60±0.37 | -11.30 | <0.01 |
| PTH | 130.14±105.41 | 215.33±206.94 | -6.09 | <0.01 |
| ALb | 38.85±4.81 | 30.17±5.62 | 13.42 | <0.01 |
| 甘油三酯 | 1.83±0.92 | 1.06±0.79 | 6.78 | <0.01 |
| 胆固醇 | 4.62±1.06 | 3.84±1.15 | 5.61 | <0.01 |
| 叶酸 | 27.88±16.35 | 26.18±17.21 | 0.80 | 0.42 |
| 铁蛋白 | 173.25±148.44 | 198.12±132.47 | -0.26 | 0.79 |
| 维生素 b12 | 339.23±150.58 | 378.75±193.75 | -1.37 | 0.17 |
| EPO | 10.12±7.14 | 15.52±8.62 | -2.46 | 0.01 |
| Hb | 101.73±14.15 | 86.80±15.14 | 8.07 | <0.01 |
| HCT | 29.53±6.31 | 28.40±7.13 | 1.35 | 0.18 |
| MCV | 91.52±6.11 | 90.48±5.31 | 0.32 | 0.75 |
| MCH | 30.31±2.08 | 30.16±1.76 | 0.59 | 0.56 |
| MCHC | 330.91±11.15 | 330.15±14.98 | 0.48 | 0.63 |
| RBC | 3.22±0.77 | 3.20±0.76 | 0.20 | 0.84 |

表5 CKD患者贫血危险因素的单因素及多因素 Logistic 回归分析结果

Table 5 Single factor and multi factor logistic regression analysis results of anemia risk factors in CKD patients

| 参数 | 单因素分析 | | | 多因素分析 | | |
|---------|-------|------------|-------|-------|----------|-------|
| | OR值 | 95% CI | P值 | OR值 | 95% CI | P值 |
| 性别 | 1.42 | 0.84~2.37 | 0.19 | | | |
| 年龄 | 0.98 | 0.55~1.73 | 0.94 | | | |
| BMI | 0.69 | 0.44~1.09 | 0.11 | | | |
| eGFR | 5.35 | 3.46~8.27 | <0.01 | 5.13 | 3.3~7.96 | <0.01 |
| 糖尿病 | 0.83 | 0.43~1.58 | 0.57 | | | |
| Ca | 2.67 | 1.57~4.55 | <0.01 | | | |
| P | 5.18 | 1.56~17.30 | <0.01 | | | |
| PTH | 2.29 | 0.77~6.80 | 0.14 | | | |
| ALb | 2.94 | 1.6~5.41 | <0.01 | 2.48 | 1.25~4.9 | 0.01 |
| 甘油三酯 | 0.39 | 0.23~0.66 | <0.01 | | | |
| 总胆固醇 | 0.90 | 0.41~1.95 | 0.78 | | | |
| 叶酸 | 2.35 | 1.06~5.21 | 0.04 | | | |
| 铁蛋白 | 0.79 | 0.47~1.34 | 0.39 | | | |
| 维生素 B12 | 1.18 | 0.70~1.97 | 0.54 | | | |
| EPO | 1.27 | 0.74~2.19 | 0.39 | | | |

红细胞数目的减少,贫血的红细胞血形态主要为正细胞正色素性贫血。

本研究发现eGFR为CKD患者发生贫血的独立危险因素,这与既往国内外多个关于CKD患者发生贫血危险因素的研究结果一致^[12]。进一步行

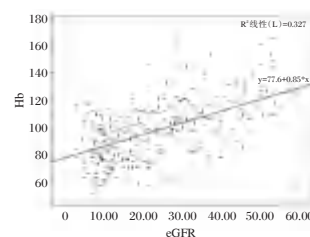


图3 CKD 3~5期患者eGFR与Hb双变量之间的关系

Figure 3 The relationship between eGFR and Hb bivariate in patients with CKD 3 stage 3~5

直线回归得出Hb与eGFR之间的关系式为:Hb(g/L)=77.6+0.85×eGFR(mL/min/1.73 m²),即从CKD 3~5期,患者eGFR每下降10 mL/min/1.73 m²,Hb约减少8.5 g/L。McClellan等^[13]发现,当eGFR从60 mL/min/1.73 m²下降至15 mL/min/1.73 m²,Hb<120 g/L的患者比例则由26.7%上升至75.5%。推测可能与患者的肾脏分泌功能逐步下降有关,随着CKD病情进展,EPO生成逐渐减少,同时伴随对铁及叶酸的吸收功能下降,加之体内毒素排除减少,以及骨髓再生能力下降,从而导致贫血。

本研究结果提示CKD患者贫血与营养不良相关,这一结果与国内外研究发现的ALb和Hb呈正相关性^[14]相一致。进一步发现低蛋白血症为CKD患者发生贫血的独立危险因素。分析原因为,大多数CKD患者伴有胃纳欠佳,同时存在慢性炎症抑制白蛋白的合成并促进分解,导致CKD患者常合并低蛋白血症,进而导致红细胞合成原料缺乏,且低蛋白血症会加重血细胞氧化应激反应,从而产生贫血。

本研究中,贫血组患者血钙低于非贫血组,而血P相反;单因素Logistic回归分析提示低钙、高磷为CKD患者贫血的危险因素。分析原因可能为,CKD患者肾功能下降,导致血P排泄减少,而由于钙磷乘积一定,因此血Ca水平下降,刺激PTH分泌增多,直接影响EPO的生成^[15];此外PTH还通过抑制钠、钙离子的交换,从而减少钙离子外排,使得红细胞受损,产生贫血^[16]。

综上所述,CKD患者常并发贫血,且随着肾功能进展,贫血发生率及严重程度均升高。早期评估贫血情况,监测体内铁蛋白、EPO、白蛋白等情况,有利于改善患者预后情况。

参考文献

[1] 肖祥,毛楠,陈琪,等.慢性肾脏病患者的管理现状及对策[J].成都医学院学报,2021,16(5):661-665,669.

- [2] 中华医学肾脏病学分会肾性贫血诊断和治疗共识专家组. 肾性贫血诊断与治疗中国专家共识(2018修订版)[J]. 中华肾脏病杂志, 2018, 34(11):789-792.
- [3] 涂金鹏.《改善全球肾脏病预后组织(KDIGO):肾移植候选者评估和管理临床实践指南(2020版)》解读[J]. 实用器官移植电子杂志, 2021, 9(6):431-435.
- [4] De B, Lan H, Rossing P, et al. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Diabetes Work Group. KDIGO 2020 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease Introduction[J]. *Kidney international*, 2020, 98(4S):S19-21.
- [5] 张新鹏, 吴丽娜. 4种估算肾小球滤过率计算公式对患者肾功能的评估结果比较[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(18):2214-2218.
- [6] 李菲, 魏日胞. 促红细胞生成素产生细胞与慢性肾脏病贫血及肾纤维化关系的研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45(6):680-684.
- [7] 何樟秀, 罗磊, 谢欢, 等. 湘南地区慢性肾脏病3-5D期患者贫血状况的单中心横断面调查[J]. *临床肾脏病杂志*, 2019, 19(1):8-13.
- [8] 李欣, 李国慧, 张俊, 等. 高原地区慢性肾脏病3a-5D期患者贫血状况的横断面研究[J]. *中国实用内科杂志*, 2019, 39(10):879-885.
- [9] 李晓敏, 王桂花, 邵华, 等. 对2020年版KDIGO指南草案中关于膜性肾病患者预防性抗凝策略的看法和思考[J]. *中华肾脏病杂志*, 2021, 37(10):785-788.
- [10] Gor D, Gerber BS, Walton SM, et al. Antidiabetic drug use trends in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease: A cross-sectional analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey[J]. *Journal of diabetes*, 2020, 12(5):385-395.
- [11] Stirnadel-Farrant HA, Luo J, Kler L, et al. Anemia and mortality in patients with nondialysis-dependent chronic kidney disease[J]. *BMC Nephrol*, 2018, 19(1):135.
- [12] Hasegawa T, Zhao J, Fuller DS, et al. Erythropoietin Hyporesponsiveness in Dialysis Patients: Possible Role of Statins[J]. *American Journal of Nephrology*, 2017, 46(1):11-17.
- [13] Awan AA, Walther CP, Richardson PA, et al. Prevalence, correlates and outcomes of absolute and functional iron deficiency anemia in nondialysis-dependent chronic kidney disease[J]. 2021, 36(1):129-136.
- [14] Ryu SR, Park SK, Jung JY, et al. The prevalence and management of anemia in chronic kidney disease patients: result from the KoreaN cohort study for Outcomes in Patients With Chronic Kidney Disease (KNOW-CKD)[J]. *J Korean Med Sci*, 2017, 32(2):249-256.
- [15] Lebensburger JD, Cutter GR, Howard TH, et al. Evaluating risk factors for chronic kidney disease in pediatric patients with sickle cell anemia[J]. *Pediatr Nephrol*. 2017, 32(9):1565-1573.
- [16] 王世琚, 张宁, 于潇波, 等. 非透析慢性肾脏病患者病程进展的危险因素分析及中药固本泻浊法干预作用[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(6):617-622.

(上接第2118页)

- [4] 杨波, 徐磊, 贾伟, 等. RDW、DD联合抗CCP抗体检测对RA诊断及病情活动的价值分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(7):952-955.
- [5] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(9):2569-81.
- [6] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)[J]. *中华骨科杂志*, 2018, 38(12):705-715.
- [7] 李建军. 抗核抗体、抗CCP抗体和RF联合检查对类风湿关节炎诊断价值研究[J]. *临床研究*, 2022, 30(2):120-124.
- [8] 马玲, 范文强, 杨福娟. 风湿性疾病慢病管理模式在类风湿关节炎患者中的应用效果[J]. *中华现代护理杂志*, 2017, 23(10):1357-1360.
- [9] Barrachina L, Cequier A, Romero A, et al. Allo-antibody production after intraarticular administration of mesenchymal stem cells (MSCs) in an equine osteoarthritis model: effect of repeated administration, MSC inflammatory stimulation, and equine leukocyte antigen (ELA) compatibility[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):e52.
- [10] 张旭飞, 李振彬, 刁玉晓, 等. 类风湿关节炎共病的临床特点及危险因素分析[J]. *风湿病与关节炎*, 2018, 7(3):13-17.
- [11] 王洁, 房丽华, 刘晓萍, 等. 老年类风湿关节炎及其合并骨关节炎临床特点比较分析[J]. *中华风湿病学杂志*, 2019, 23(9):593-598.
- [12] Gao ZW, Zhao GH, Zhang Z, et al. Serum adenosine deaminase activity is increased in systemic lupus erythematosus patients and correlated with disease activity[J]. *Immunol Res*, 2018, 66(2):299-304.
- [13] 蔡昕添, 朱晴, 吴婷, 等. 腺苷脱氨酶水平与类风湿关节炎关系的荟萃分析[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(7):81-85.
- [14] da Silva J, Passos DF, Bernardes VM, et al. ATP and adenosine: Role in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Immunol Lett*, 2019, 214:55-64.
- [15] Varkas G, Ribbens C, Louis E, et al. Expert consensus: practical algorithms for management of inflammatory bowel disease patients presenting with back pain or peripheral arthropathies[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 50(11-12):1204-1213.

PCT、NT-pro-BNP在心力衰竭并肺炎疾病程度、预后评估中的作用

黄飞^{1*} 梁磊²

[摘要] **目的** 研究降钙素原(PCT)、氨基酸B型钠尿酸前体(NT-pro-BNP)在心力衰竭并肺炎疾病程度、预后评估中的作用。**方法** 选取2019年1月至2021年6月于山东大学齐鲁医院就诊的128例心力衰竭合并肺炎患者为研究组,同期98例体检正常者为对照组。比较不同人群PCT、NT-pro-BNP水平,分析PCT、NT-pro-BNP检测对心力衰竭并肺炎患者预后的预测价值。**结果** 研究组PCT、NT-pro-BNP水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。不同疾病程度患者PCT、NT-pro-BNP水平比较为:高危组>中危组>低危组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组在随访结束后死亡15例(11.72%),存活113例(88.28%)。死亡组PCT、NT-pro-BNP水平高于存活组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,联合PCT、NT-pro-BNP两者检测预测心力衰竭并肺炎患者预后死亡的灵敏度和特异度分别为76.20%、71.40%, $AUC=(95\% CI: 0.696\sim 0.950)$,明显高于两者单独检测($P<0.05$)。**结论** PCT、NT-pro-BNP在心力衰竭合并肺炎患者中表达均明显上调,通过检测上述因子水平可了解患者病情进展变化、评估预后情况。

[关键词] PCT; NT-pro-BNP; 心力衰竭; 肺炎

The role of PCT and NT-pro-BNP in the evaluation of the disease degree and prognosis of heart failure complicated with pneumonia

HUANG Fei^{1*}, LIANG Lei²

(1. Qilu Hospital, School Hospital of Shandong University, Qingdao, Shandong, China, 266035; 2. Department of Medical Oncology, Qilu Hospital, Shandong University, Qingdao, Shandong, China, 266035)

[ABSTRACT] **Objective** To study the role of procalcitonin (PCT) and Amino acid B-type natriuretic peptide precursor (NT - pro - BNP) in the evaluation of the disease degree and prognosis of heart failure complicated with pneumonia. **Methods** 128 patients with heart failure and pneumonia who were treated in Qilu Hospital of Shandong University from January 2019 to June 2021 were selected as the research group, 98 patients with health examination during the same time period were set as the control group. The expression levels of PCT and NT - pro - BNP in different populations were compared, and the predictive value of PCT and NT - pro - BNP testing for the prognosis of patients with heart failure and pneumonia was analyzed. **Results** The levels of PCT and NT - pro - BNP in the study group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The comparison of PCT and NT - pro - BNP levels in patients with different disease levels: high-risk group > medium-risk group > low-risk group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). In the study group, 15 cases died (11.72%), 113 cases survived (88.28%) after the follow-up. PCT and NT-pro-BNP levels in the death group were significantly higher than those in the survival group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the sensitivity and specificity of combined PCT and NT-pro-BNP detection to predict the prognosis of death in patients with heart failure and pneumonia were 76.20% and 71.40%, respectively, $AUC=(95\% CI: 0.696\sim 0.950)$, which were significantly higher than those of the two separate tests ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of PCT and

基金项目:山东省重点研发计划(2019GSF108215)

作者单位:1. 山东大学齐鲁医院(青岛)校医院,山东,青岛 266035

2. 山东大学齐鲁医院(青岛)肿瘤内科,山东,青岛 266035

*通信作者:黄飞, E-mail: woshihaima00@126.com

NT-pro-BNP are significantly up-regulated in patients with heart failure and pneumonia. By detecting the levels of the above factors, we can understand the progress of the patient's disease and evaluate the prognosis.

[KEY WORDS] PCT; NT-pro-BNP; Heart failure; Pneumonia

心力衰竭是心脏收缩和舒张功能出现障碍,从而引起回心血量排出受阻、动脉血液灌溉不足、静脉血液淤积的一类心脏循环障碍症候群^[1]。当前,心力衰竭的发病率呈逐年上升趋势,患者猝死发生率为正常人群的5倍^[2]。相关研究显示,心力衰竭患者由于心脏泵血功能存在异常,致使肺静脉血液回心血量减少,从而易出现不同程度的肺水肿、瘀血状态,进而易并发肺炎,加重患者心功能负担,对患者预后造成严重不良影响^[3]。研究指出,早期诊断心力衰竭合并肺炎,准确判断疾病发展程度,并对患者的预后进行判断对改善预后具有重要意义^[4]。氨基酸B型钠尿肽前体(Amino acid B-type natriuretic peptide precursor, NT-pro-BNP)是临床中监测心功能的重要指标,对患者预后、治疗均有重要参考价值。降钙素原(Procalcitonin, PCT)是临床感染性疾病诊断的敏感指征。本文旨在分析PCT、NT-pro-BNP检测在心力衰竭合并肺炎疾病程度、预后评估中的作用,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年6月于山东大学齐鲁医院就诊的心力衰竭合并肺炎患者128例,归为研究组。其中男75例,女53例,平均年龄(64.29±7.36)岁。纳入标准:①患者均满足《2018中国心力衰竭诊断和治疗指南》中关于心力衰竭的诊断^[5];②均经影像诊断确诊为肺炎;③临床病历资料完整无缺漏。排除标准:①合并其他重要脏器功能异常者;②精神疾病或存在相关家族史者;③合并血液系统疾病、免疫系统疾病、恶性肿瘤者;④存在肺部外其他严重感染者;⑤入院24 h内死亡者。

另将本院同时间段98例进行健康检查显示正常者设为对照组,男64名,女34名,平均年龄(62.18±8.76)岁。各组基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。患者及其家属均知情同意并签署同意书,本研究经院医学伦理委员会批准同意。

1.2 方法

1.2.1 检测

对照组于体检当日、研究组于入院24 h内采用

未加抗凝剂的标准采样管采集清晨空腹静脉全血5 mL,离心(3 000 r/min,半径为10 cm,时间10 min),分离血清存放于EP管中,于-80℃保存待检。使用电化学发光法检测PCT、NT-ProBNP水平,仪器为罗氏电化学发光分析仪及其配套试剂盒。所有操作均按试剂或仪器所配套说明书进行,由专业人员操作。

1.2.2 肺炎严重程度评分

使用肺炎严重程度评分(Pneumonia severity score, PSI)^[6]对患者进行评价,共20个评价项目,根据总分进行分级:I~II级为≤70分,III~IV级为≤130分,V级为>130分。将I~II级归为低危组,III~IV级为中危组,V级为高危组。

1.3 随访

对心力衰竭合并肺炎患者随访3个月,随访时间截止2021年9月,随访方式:电话随访或门诊复查,了解患者预后(生存及死亡)情况,并对比不同预后的患者PCT、NT-pro-BNP的表达水平。

1.4 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,多组间比较采用 F 检验;采用ROC曲线分析PCT、NT-pro-BNP及两者联合对心力衰竭合并肺炎患者预后死亡的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组PCT、NT-pro-BNP水平比较

研究组PCT、NT-pro-BNP水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组PCT、NT-pro-BNP水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of PCT and NT-pro-BNP levels between the 2 groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | PCT (ng/mL) | NT-pro-BNP (pg/mL) |
|------------|----------|-------------|--------------------|
| 研究组 | 128 | 3.42±0.96 | 5 434.77±132.54 |
| 对照组 | 98 | 0.25±0.07 | 85.96±15.28 |
| <i>t</i> 值 | | 32.606 | 397.286 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 |

2.2 不同疾病程度心力衰竭合并肺炎患者PCT、NT-pro-BNP的表达水平比较

128例患者中根据PSI分级可得:低危组54例,中危组52例,高危组22例。不同疾病程度患者

PCT、NT-pro-BNP水平比较显示:高危组>中危组>低危组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同疾病程度心力衰竭合并肺炎患者PCT、NT-pro-BNP的表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of the expression levels of PCT and NT-pro-BNP in patients with different degrees of heart failure complicated with pneumonia ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | PCT(ng/mL) | NT-pro-BNP(pg/mL) |
|-----|----|-------------------------|-------------------------------|
| 低危组 | 54 | 2.89±0.86 | 3 786.17±125.94 |
| 中危组 | 52 | 3.51±0.97 ^a | 6 458.65±149.27 ^a |
| 高危组 | 22 | 4.51±1.14 ^{ab} | 7 061.25±249.12 ^{ab} |
| F值 | | 19.12 | 5132.88 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 |

注:^a与低危组相比, $P<0.05$;^b与中危组相比, $P<0.05$ 。

2.3 不同预后的心力衰竭合并肺炎患者PCT、NT-pro-BNP的表达水平比较

研究组在随访结束后死亡15例(11.72%),存活113例(88.28%)。死亡组PCT、NT-pro-BNP水平明显高于存活组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 不同预后的心力衰竭合并肺炎患者PCT、NT-pro-BNP的表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of the expression levels of PCT and NT-pro-BNP in heart failure patients with pneumonia with different prognosis ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | PCT(ng/mL) | NT-pro-BNP(pg/mL) |
|-----|-----|------------|-------------------|
| 存活组 | 113 | 3.26±0.85 | 5 170.51±158.69 |
| 死亡组 | 15 | 4.63±1.16 | 7 425.53±272.61 |
| t值 | | 10.246 | 77.943 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 |

2.4 PCT、NT-pro-BNP及两者联合对心力衰竭合并肺炎患者预后死亡的预测价值分析

ROC曲线分析结果显示,联合PCT、NT-pro-BNP两者检测预测心力衰竭合并肺炎患者预后死亡的灵敏度和特异度分别为76.20%、71.40%, $AUC=(95\%CI:0.696\sim0.950)$,明显高于两者单独检测($P<0.05$)。见表4、图1。

3 讨论

据临床统计,心力衰竭发病率随着年龄的增高而上升,随着我国社会老龄化的发展,心力衰竭发病率逐年增高^[7]。在心力衰竭疾病发展过程中,多数患者均出现心功能进行性恶化,继而会出现活动受限、体力下降等表现,给患者预后造成严重影响^[8]。相关文献报道,由于心力衰竭患者的心脏

表4 PCT、NT-pro-BNP及两者联合对心力衰竭合并肺炎患者预后死亡的预测价值分析

Table 4 Predictive value of PCT, NT-pro-BNP and their combination on the prognosis and death of patients with heart failure and pneumonia

| 预测因子 | AUC | 95% CI | 敏感度 | 特异度 | 约登指数 | P值 |
|----------------|-------|-------------|-------|-------|-------|--------|
| PCT | 0.715 | 0.538~0.892 | 0.712 | 0.695 | 0.407 | <0.001 |
| NT-pro-BNP | 0.706 | 0.545~0.868 | 0.723 | 0.698 | 0.421 | <0.001 |
| PCT+NT-pro-BNP | 0.823 | 0.696~0.950 | 0.762 | 0.714 | 0.476 | <0.001 |

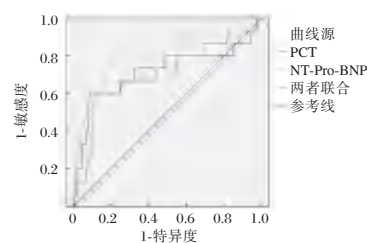


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

收缩力降低,使得室壁的顺应性也随之下落,从而造成左室舒张末期及左房压力的上升,增加了肺静脉回流阻力,引起肺循环毛细血管静脉压的增大,继而导致患者肺部的充血,诱发肺水肿的情况出现^[9-10]。心力衰竭的患者自身本就存在缺氧的情况,若合并肺水肿,则可能使得肺换气功能的障碍,使得机体的缺氧情况加重,致使肺部损伤,从而易造成细菌聚积于肺部,诱发肺炎的发生^[11]。相关研究显示,当心力衰竭患者并发肺炎时,会出现相互影响的情况,使得患者缺氧情况进一步加重,影响患者的预后,严重情况下可导致患者死亡^[12]。因此,寻求正确判断病情严重程度、评估患者预后情况的有效指标,为治疗提供有效参考,已成为临床研究者关注的重点问题^[13]。

PCT是血清降钙素的前肽物质,由116个氨基酸组成,是无激素活性糖蛋白的一种^[14]。正常情况下,PCT的表达主要局限于甲状腺和肺的神经内分泌细胞中,而在感染状态下,PCT可在各个组织、器官大量形成并释放进入血液循环^[15]。相关研究显示,PCT的高水平表达与感染性疾病和结构损伤密切相关^[16]。本研究结果显示,研究组PCT水平明显高于对照组,这与既往研究结果相符^[17]。进一步比较发现,不同疾病程度患者PCT水平为:高危组>中危组>低危组,提示PCT水平越高,意味着患者病情越严重。且死亡组PCT水平明显高于存活组,提示PCT水平的变化与心力衰竭合并肺炎患者

预后有关,故推测 PCT 有望成为心力衰竭合并肺炎患者临床预后的预测指标之一。

NT-pro-BNP 属于心肌功能状态生物学标志物,主要在心室肌细胞合成和分泌,是维持血压和机体水钠代谢平衡的重要调控因子,在心室压力增大、心肌细胞牵拉等因素的作用下会出现升高^[18]。Youssef 等^[19]研究指出,炎症因子可引起心肌损伤,导致 NT-pro-BNP 水平的增加。在本研究中,研究组 NT-pro-BNP 水平明显高于对照组,这可能是由于心力衰竭合并肺炎会造成机体基础代谢率的增加,致使心脏负担加重,从而引起心肌合成 NT-pro-BNP 的增多。且 NT-pro-BNP 水平随着患者病情加重而上升,这一研究结果与既往文献报道结果一致^[20]。同时本研究还发现,死亡组 NT-pro-BNP 水平明显高于存活组,提示 NT-pro-BNP 有望成为心力衰竭合并肺炎患者预后评估的关键指标。进一步采用 ROC 曲线分析 PCT、NT-pro-BNP 及两者联合对心力衰竭合并肺炎患者预后死亡的预测价值,结果发现联合检测 PCT、NT-pro-BNP 的 AUC 明显大于两者单独检测,进一步提示临床可通过联合检测 PCT、NT-pro-BNP 水平提高对心力衰竭合并肺炎患者预后情况的评估价值。

综上所述,PCT、NT-pro-BNP 在心力衰竭合并肺炎患者中表达均明显上调,临床通过检测上述因子水平可了解患者病情进展变化、评估预后情况。

参考文献

- [1] 徐沛演. 血清氨基末端脑钠肽前体及降钙素原浓度对老年心力衰竭合并肺炎患者预后的评估作用[J]. 岭南心血管病杂志, 2020, 26(4):444-446, 451.
- [2] 杨凤春,李丹,孙雪莲,等. 联合 NT-proBNP 与 QRS 波群时限预测慢性心力衰竭致心源性猝死发生风险[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(14):1538-1541.
- [3] Arif AW, Murthi M, Mehdi SA, et al. Is heart failure associated with worse outcomes in patients admitted with pneumonia-nationwide analysis[J]. Eur Heart J, 2021, 42(S1):587-592.
- [4] 董芳,任嘉玮,胡晓娟,等. 血清 NT-pro-BNP 及 PCT 水平对老年心力衰竭合并肺炎患者近期预后的意义[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(3):469-473.
- [5] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J]. 中华心血管病杂志, 2018, 46(10):760-789.
- [6] Singanayagam A, Aliberti S, Cillóniz C, et al. Evaluation of severity score-guided approaches to macrolide use in community-acquired pneumonia[J]. Eur Respir J, 2017, 38(3):847-849.
- [7] 王晨,水颖,陈学清,等. 慢性心力衰竭合并重症院内感染性肺炎患者应激状况及炎症指标水平检测分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(23):3581-3585.
- [8] Li S, Jhund PS, Anand IS, et al. Incidence and Outcomes of Pneumonia in Patients With Heart Failure[J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(16):1961-1973.
- [9] 鲍晓梅,郑宏超. 血清降钙素原水平在诊治老年心力衰竭合并肺炎患者中的临床意义[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2019, 18(2):122-126.
- [10] Zhao J, Xu G, Feng C, et al. Trihexyphenidyl induced malignant hyperthermia in a patient with Parkinson's disease complicated with pneumonia: A case report[J]. Med, 2020, 99(20):1226-1231.
- [11] Lee M, Altman N L, Branch-Elliman W. Expanding Use of New Technology Creates New Challenges in Preventing and Managing Infections: a Review of Diagnostic and Management Considerations for Infections Among Patients with Long-Term Invasive Devices for Advanced Heart Failure[J]. Current Infect Dis Rep, 2020, 22(6):117-125.
- [12] 豆书梅,刘美霞,谢飞飞,等. 血清降钙素原及 C 反应蛋白在老年慢性心力衰竭合并肺部感染患者中的应用价值[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(8):797-800.
- [13] 吴瑶,时小妍,杨丽坤,等. ProADM、sRAGE、HMGB-1 对 ICU 感染患者病情严重程度及预后的评估价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(12):1700-1703.
- [14] Thereaux J. A Commentary on: Diagnostic accuracy of procalcitonin as an early predictor of infection after radical gastrectomy for gastric cancer: a prospective bicenter cohort study[J]. Internat J Surg (London, England), 2020, 75(11):1109-1113.
- [15] Godínez-Vidal AR, Alcántara-Gordillo R, Aguirre-Rojano VI, et al. Evaluation of C-reactive protein, procalcitonin and the PCR/PCT index as indicators of mortality in abdominal sepsis[J]. Cirugia y cirujanos, 2020, 88(2):437-439.
- [16] 常鑫,袁颖,王明义. Th1/Th2 与 PCT 检测在感染性疾病诊断中的临床应用[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(4):477-480.
- [17] 陈淑琴,李宇青,冯高华,等. 血清 NT-proBNP 与 PCT 在医院获得性肺炎病情及预后评估中的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(3):342-345.
- [18] Gregorio T, Albuquerque I, Neves V, et al. NT-pro-BNP correlates with disease severity and predicts outcome in cerebral haemorrhage patients: Cohort study[J]. J Neurolog Sci, 2019, 56(8):442-448.
- [19] Youssef G, Sulaiman L, Hisham D, et al. The integrated role of NT-pro BNP and STE-GLS for the early detection of chemotherapy-induced cardiotoxicity[J]. Eur Heart J, 2020, 41(12):599-602.
- [20] Selcuk M, Keskin M, Cinar T, et al. Prognostic significance of N-Terminal Pro-BNP in patients with COVID-19 pneumonia without previous history of heart failure[J]. Eur Heart J, 2021, 42(2):325-329.

TTF-1、CYFRA21-1 在诊断非小细胞肺癌患者中的临床效果评价

牛慧¹ 程君² 刘芸芸² 高炜² 刘武¹ 田春香^{1*}

[摘要] 目的 分析甲状腺转录因子-1(TTF-1)、细胞角蛋白19片段抗原21-1(CYFRA21-1)水平在诊断非小细胞肺癌患者中的临床效果。**方法** 选取2018年9月至2020年9月青岛大学附属医院青岛市中心医院收治的68例非小细胞肺癌患者作为研究组,另选取72名同时间段进行健康体检的健康人群作为对照组。比较68例非小细胞肺癌患者和72名健康人群、不同病理类型非小细胞肺癌患者(鳞癌、腺癌)、非小细胞肺癌不同分期(I~II期、III~IV期)临床资料中TTF-1、CYFRA21-1水平差异,分析TTF-1、CYFRA21-1水平对非小细胞肺癌患者的诊断价值。**结果** 研究组TTF-1、CYFRA21-1水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。TTF-1、CYFRA21-1联合检测诊断非小细胞肺癌的敏感度为0.823、特异度为0.941、AUC为0.938,明显高于单一TTF-1、CYFRA21-1的检测诊断结果($P<0.05$)。不同病理类型非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平比较:腺癌<鳞癌,差异具有统计学意义($P<0.05$)。III~IV期非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平明显高于I~II期,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 相较于健康人群,非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平均异常升高;联合检测在非小细胞肺癌的早期诊断、TNM分期以及病理分型均具有较高的临床诊断应用效果,值得临床进一步研究。

[关键词] TTF-1; CYFRA21-1; 非小细胞肺癌; TNM分期

Evaluation of clinical effect of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in the diagnosis of non-small cell lung cancer patients

NIU Hui¹, CHENG Jun², LIU Yunyun², GAO Wei², LIU Wu¹, TIAN Chunxiang^{1*}

(1. The Second Department of Radiotherapy, Qingdao Central Hospital, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266000; 2. Department of Traditional Chinese and Western Medicine, Qingdao Central Hospital, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) and cytokeratin 19 fragment antigen 21-1 (Recombinant Cytokeratin Fragment Antigen 21-1, CYFRA21-1) levels in the diagnosis of non-small cell lung cancer patient effect. **Methods** 68 patients with non-small cell lung cancer admitted to our hospital from September 2018 to September 2020 were retrospectively selected as the research group, and 72 healthy people who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of TTF-1 and CYFRA21-1 in the clinical data of 68 patients with non-small cell lung cancer, 72 healthy people, patients with different pathological types of non-small cell lung cancer (squamous cell carcinoma, adenocarcinoma), and patients with different stages of non-small cell lung cancer (stages I~II and III~IV) were compared, and the diagnostic value of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in patients with non-small cell lung cancer was analyzed. **Results** The levels of TTF-1 and CYFRA21-1 in the study group were higher

基金项目:青岛市中医药科研计划项目(2020-zyy030)

作者单位:1. 青岛大学附属医院青岛市中心医院放射治疗二科,山东,青岛 266000

2. 青岛大学附属医院青岛市中心医院中医科,山东,青岛 266000

*通信作者:田春香, E-mail: 18660228683@163.com

than those in the control group ($P<0.05$). The sensitivity, specificity and AUC of TTF-1 and CyFRA21-1 combined in the diagnosis of non-small cell lung cancer were 0.823, 0.941 and 0.938, respectively, which were significantly higher than those of TTF-1 and CyFRA21-1 alone detection, and the comparison was statistically significant ($P<0.05$). Comparison of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in patients with different pathological types of non-small cell lung cancer: adenocarcinoma < squamous cell carcinoma, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of TTF-1 and CYFRA21-1 of non-small cell lung cancer patients in stage III to IV were significantly higher than those in stage I to II ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of TTF-1 and CYFRA21-1 in non-small cell lung cancer patients are abnormally higher than those in healthy people. Combined detection has high clinical diagnosis application effect, in the early diagnosis, TNM staging and pathological classification of non-small cell lung cancer, worthy of further clinical research.

[KEY WORDS] TTF-1; CYFRA21-1; Non-small cell lung cancer; TNM staging

肺癌是全球发病率、死亡率均居首位的一种恶性肿瘤,约占全世界每年新发癌症病例的12%左右,其中非小细胞肺癌为最常见的一种肺癌类型^[1]。由于早期的非小细胞肺癌无特殊的临床症状,致使多数患者确诊时病情已为中晚期,此时一般预后较差^[2]。因此早期诊断和治疗对改善非小细胞肺癌患者预后具有积极意义。随着近些年分子生物学检测技术与理论不断发展,分子标志物检测已成为临床早期诊断恶性肿瘤的重要辅助方法^[3]。甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor-1, TTF-1)是肺及甲状腺来源肿瘤的重要标记物,近年来被广大临床医师所认可^[4]。细胞角蛋白19片段抗原21-1(Recombinant Cytokeratin Fragment Antigen 21-1, CYFRA21-1)参与了恶性肿瘤增殖、分化等过程,是近年发现的肺癌诊断分子标志^[5]。本研究对TTF-1、CYFRA21-1水平在诊断非小细胞肺癌患者中的临床效果进行分析,旨在为临床诊断提供理论依据,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年9月至2020年9月青岛大学附属医院青岛市中心医院收治的68例非小细胞肺癌患者作为研究组,其中男41例,女27例;平均年龄(60.24±9.38)岁;分型^[6]:鳞癌30例,腺癌38例;TNM分期^[7]: I~II期39例, III~IV期29例。

纳入标准:①诊断均满足2018版《中华医学会肺癌临床诊疗指南》^[8]中的相关标准,且经病理学检查、细胞学检查以及影像学检查确诊为非小细胞肺癌;②所有患者的病理组织及影像学资料均完整;③入院前未接受过放疗、化疗、手术治疗;

④均签署相关协议。排除标准:①存在免疫系统疾病者;②小细胞肺癌或其他恶性肿瘤者;③伴随严重心、肝、肾功能不全患者;④存在活动性结核或其他感染性疾病者;⑤存在精神疾病、依从性差者。

另选取72名同时间段进行健康体检的健康人群作为对照组,其中男33名,女39名,平均(57.33±10.25)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。

1.2 方法

研究组患者在入院后次日清晨空腹抽取静脉血液5 mL,对照组则在体检当日清晨空腹抽取静脉血液5 mL,3 500 r/min离心10 min,离心半径5 cm,分离血清,置于-70℃下保存待检。TTF-1水平采用酶联免疫吸附试验检测,试剂盒由北京中杉金桥生物技术有限公司提供;CYFRA21-1水平采用电化学发光法检测,试剂盒由罗氏诊断产品(上海)有限公司提供;操作严格按照说明书进行。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析TTF-1、CYFRA21-1水平对非小细胞肺癌患者的诊断价值, $P<0.05$ 为差异存在统计学意义。

2 结果

2.1 两组TTF-1、CYFRA21-1水平比较

研究组TTF-1、CYFRA21-1水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组TTF-1、CYFRA21-1水平比较($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of TTF-1 and CYFRA21-1 levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | TTF-1 (ng/mL) | CYFRA21-1 (ng/mL) |
|-----|----|---------------|-------------------|
| 研究组 | 68 | 12.17±3.45 | 10.49±2.28 |
| 对照组 | 72 | 4.28±1.39 | 2.03±0.64 |
| t值 | | 17.928 | 30.253 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 |

2.2 TTF-1、CYFRA21-1水平对非小细胞肺癌患者的诊断价值分析

ROC曲线结果显示, TTF-1、CYFRA21-1联合检测诊断非小细胞肺癌的敏感度为0.823、特异度为0.941、AUC为0.938, 明显高于单一TTF-1、CYFRA21-1的检测诊断结果($P<0.05$)。见表2、图1。

表2 TTF-1、CYFRA21-1水平对非小细胞肺癌患者的诊断价值分析

Table 2 Analysis of the diagnostic value of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in patients with non-small cell lung cancer

| 检查指标 | AUC | 95% CI | 敏感度 | 特异度 |
|-----------------|-------|-------------|-------|-------|
| TTF-1 | 0.872 | 0.814-0.930 | 0.602 | 0.852 |
| CYFRA21-1 | 0.877 | 0.809-0.945 | 0.647 | 0.779 |
| TTF-1+CYFRA21-1 | 0.938 | 0.893-0.982 | 0.823 | 0.941 |

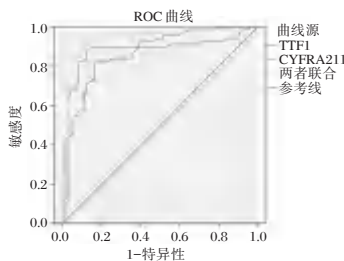


图1 ROC曲线
Figure 1 ROC curve

2.3 不同病理类型非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平比较

不同病理类型非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平比较:腺癌<鳞癌, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 不同病理类型非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in patients with different pathological types of non-small cell lung cancer ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | TTF-1 (ng/mL) | CYFRA21-1 (ng/mL) |
|----|----|---------------|-------------------|
| 鳞癌 | 30 | 14.60±4.67 | 12.20±4.03 |
| 腺癌 | 38 | 10.25±3.38 | 9.14±2.97 |
| t值 | | 4.455 | 3.605 |
| P值 | | <0.001 | 0.001 |

2.4 不同TNM分期非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平比较

Ⅲ~Ⅳ期非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平明显高于Ⅰ~Ⅱ期, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 不同TNM分期非小细胞肺癌患者TTF-1、CYFRA21-1水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of TTF-1 and CYFRA21-1 levels in patients with non-small cell lung cancer in different TNM stages ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | TTF-1 (ng/mL) | CYFRA21-1 (ng/mL) |
|------|----|---------------|-------------------|
| Ⅰ~Ⅱ期 | 39 | 9.98±3.23 | 8.79±2.93 |
| Ⅲ~Ⅳ期 | 29 | 15.12±4.85 | 12.78±4.16 |
| t值 | | 5.243 | 4.643 |
| P值 | | <0.001 | <0.001 |

3 讨论

据相关数据统计得出, 肺癌患者中80%为非小细胞肺癌^[9]。非小细胞肺癌一般预后较差, 临床的典型症状为胸部胀痛、咳嗽、低热等, 可造成呼吸、循环系统的损害, 甚至危及生命, 已成为严重危害人类健康和生命安全的恶性肿瘤之一^[10-11]。据相关研究指出, 早期对非小细胞肺癌患者进行诊断和治疗对延长患者的生存周期至关重要^[12]。目前临床上常用的检查非小细胞肺癌方法为细胞学检查、影像学检查、纤维支气管镜检查以及肿瘤标志物检查^[13]。在进行细胞学检查中, 对患者会造成一定的创伤, 且标本采集也存在一定困难, 不利于早期诊断; 影像学检查由于其敏感性较低, 且对于疑似的阳性患者需再次进行细胞学或者病理学检测的依从性较低, 因此致使多数患者的早期确诊率较低; 而肿瘤标志物检查有着无创、简便、快速等优点, 且其异常改变往往早于影像学变化, 现已成为临床上用于疾病辅助诊断的研究方向之一^[14]。

CYFRA21-1作为细胞角蛋白19中的可溶性片段, 也是细胞骨架重要组成, 广泛存在肺上皮细胞, 在正常情况下其处于寡聚物形式, 在血清中几乎无表达^[15]。而一旦出现恶化上皮细胞, 角蛋白在酶蛋白活性被激活时降解, 而由于CYFRA21-1的可融性, 其就会在血清中出现表达上升, 特别是在非小细胞肺癌中有高表达^[16]。本文研究结果中非小细胞肺癌患者的CYFRA21-1水平明显高于正常健康人群, 这与既往文献报道相符合^[17]。证实

了CYFRA21-1是非小细胞肺癌患者辅助诊断的重要标志物。

TTF-1是一种分子量为38 LD的转录因子,是由371个氨基酸组成的核转录蛋白^[18]。既往学者研究报道^[19],TTF-1与许多肺部疾病之间有着密切联系,TTF-1在肺组织及甲状腺组织癌变过程中呈高表达状态,影响多种基因调控,认为TTF-1可能是肺癌、甲状腺癌等恶性肿瘤的一个驱动核心。本研究结果说明TTF-1对非小细胞肺癌的辅助诊断具有可行性。

本研究通过分析TTF-1、CYFRA21-1水平对非小细胞肺癌患者的诊断价值发现,两者联合检测的灵敏度、特异度、准确度均优于单一检测,提示联合检测可为临床诊断提供参考。此外,研究结果提示TTF-1、CYFRA21-1在非小细胞肺癌的不同发展阶段会呈现改变,会随着病情的加重而逐渐升高;同时肿瘤负荷加重,TTF-1、CYFRA21-1水平出现明显升高,说明两水平升高与肺癌病理类型具有一定联系,在腺癌中两者水平较高,与肿瘤高发和转移有密切联系。因此可以通过检测非小细胞肺癌表达水平对非小细胞肺癌患者的病情发展进行动态监测,以便及时调整临床诊疗方案。

综上所述,相较于健康人群,非小细胞肺癌患者体内的TTF-1、CYFRA21-1水平均异常升高;且联合检测在非小细胞肺癌的早期诊断、TNM分期以及病理分型均具有较高的临床诊断价值,值得临床进一步研究。

参考文献

[1] 刘文楼,王红梅,秦晓冰,等.血清HE4,VEGF,CYFRA21-1联合检测在非小细胞肺癌诊断中的意义及其与临床病理特征的关系[J].徐州医科大学学报,2020,40(9):625-630.

[2] 杨昕,刘芳,杜静,等.叉头框转录因子M1和转移相关基因1蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其与临床特征和预后的相关性分析[J].临床误诊误治,2020,33(3):102-106.

[3] Tao J, Yuchen B, Fei Z, et al. Clinical value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with non-small-cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors[J]. Lung Cancer, 2019,35(6):130-138.

[4] 李雪芹,朱述阳.血清CEA CA125及Cyfra21-1水平对中期非小细胞肺癌患者预后的影响[J].河北医学,2019,25(11):1761-1764.

[5] Lee SM, Upadhyay S, Lewanski C, et al. The clinical role of

VeriStrat testing in patients with advanced non-small cell lung cancer considered unfit for first-line platinum-based chemotherapy[J]. Eur J Cancer, 2019,30(12):86-96.

[6] 陈雯微.血清CEA、CA125及Cyfra21-1水平与中晚期非小细胞肺癌患者的临床特征与预后相关性分析[J].中国医师杂志,2019,21(11):1714-1716.

[7] O'Dea D, Lyng FM, Nicholson S, et al. Recent advances in the vibrational spectroscopic diagnosis of non-small cell lung cancer[J]. Vibrat Spectr, 2019,28(10):104-108.

[8] 中华医学会肺癌临床诊疗指南(2018版)[J].肿瘤研究与临床,2018,30(12):793-824.

[9] 李世荣,刘艳,王振明,等.血清miR-483-5p、miR-21和miR-25检测在非小细胞肺癌诊断中的价值[J].山东医药,2019,59(23):19-22.

[10] Li L, Yuan S, Zheng J, et al. The Clinical Pathologic Characteristics of Angiogenesis Obtained By 18F-RGD PET in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Interna J Radiat Oncol Biol Phys, 2019,105(11):516-519.

[11] 汪赛兵,周美文,张宜武.血清CYFRA21-1、HE4水平与非小细胞肺癌患者病理特征和预后的相关性[J].西部医学,2022,34(7):1073-1077.

[12] Takada K, Shimokawa M, Takamori S, et al. Clinical impact of probiotics on the efficacy of anti-PD-1 monotherapy in patients with nonsmall cell lung cancer: A multicenter retrospective survival analysis study with inverse probability of treatment weighting[J]. Internat J Cancer, 2021,149(2):1248-1253.

[13] 伍惠静,诸佩超,谢蓉. CYFRA21-1, CA199, NSE, SCC 诊断肺癌的临床价值分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(5): 680-682.

[14] 段素华,王素梅.血清CYFRA21-1,CEA,CA125联合检测在非小细胞肺癌中的诊断价值[J].实用临床医药杂志,2020,24(8):55-57+62.

[15] 陈燕,马尚,白万秋,等.联合检测血清IDH1和Cyfra21-1在非小细胞肺癌中的临床价值[J].国际呼吸杂志,2019,39(14):1053-1056.

[16] 范伟,孙振宇,孟祥宽,等.血清CEA,CYFRA21-1,VEGF,STK1及SF联合检测在非小细胞肺癌患者诊断中的价值分析[J].标记免疫分析与临床,2020,27(3):480-483+507.

[17] 杨颖,夏曙,何肇晴,等.血清CA125、Cyfra21-1和VEGF水平在非小细胞肺癌患者化疗敏感性和预后评估中的应用价值[J].实用癌症杂志,2019,34(6):940-943.

[18] Hong TA, Liang SA, Az A, et al. Distribution of EML4-ALK fusion variants and clinical outcomes in patients with resected non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2020, 36(5):154-161.

[19] Sireci A, Hess LM, Han Y, et al. Clinical outcomes between patients with and without RET fusions in advanced/metastatic non-small cell lung cancer in the United States[J]. J Clin Oncol, 2020,38(15):726-729.

低分子肝素钙局部注射对断指再植患者D-D、ET-1及凝血功能的影响

武延朋* 张永 裴敬仲

[摘要] **目的** 探讨低分子肝素钙局部注射治疗断指再植患者的效果及对D-二聚体(D-D)、内皮素-1(ET-1)及凝血功能的影响。**方法** 收集2020年1月至2021年8月新乡市第二人民医院收治的92例断指再植患者的资料。按治疗方法不同分为对照组($n=44$,改良骨间后动脉岛状皮瓣修复)、研究组($n=48$,改良骨间后动脉岛状皮瓣修复联合低分子肝素钙局部注射)。比较两组临床疗效、D-D、ET-1、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、凝血功能指标[凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、血浆纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)]及并发症。**结果** 两组成活率、断指血管危象发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$),但研究组术后再植体周径明显短于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后,两组D-D、ET-1、MDA水平较术前增高,SOD水平较术前下降,但研究组SOD水平明显高于对照组,D-D、ET-1、MDA水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。术后,两组PT、TT、APTT及FIB水平明显较术前增高,但研究组上述指标水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。研究组并发症总发生率为4.17%,对照组为9.09%,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 改良骨间后动脉岛状皮瓣修复联合低分子肝素钙局部注射治疗断指再植患者效果确切,可改善患者凝血功能,促进微循环恢复,且安全可靠。

[关键词] 改良骨间后动脉岛状皮瓣术;低分子肝素钙;断肢再植;凝血功能

Effect of local injection of low molecular weight heparin calcium on D-D, ET-1 and blood coagulation function in patients with severed finger replantation

WU Yanpeng*, ZHANG Yong, PEI Jingzhong

(Ward 1, Burn Treatment Center, Xinxiang Second People's Hospital, Xinxiang, Henan, China, 453000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the therapeutic effect of local injection of low molecular weight heparin calcium in patients with severed finger replantation and its effects on D-dimer (D-D), Endothelin-1 (ET-1) and the coagulation function. **Methods** The data of 92 patients with severed finger replantation admitted to Xinxiang Second People's Hospital from January 2020 to August 2021 were collected. According to different treatment methods, they were divided into the control group ($n=44$, modified posterior interosseous artery island flap repair) and the study group ($n=48$, modified posterior interosseous artery island flap repair combined with local injection of low molecular weight heparin calcium). The clinical efficacy, D-D, ET-1, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), coagulation function indexes [Prothrombin time (PT), Activated partial prothrombin time (APTT), Fibrinogen (FIB), Thrombin time (TT)] and complications were compared between the two groups. **Results** There was no difference between the two groups in terms of viability index and the incidence of severed vascular crisis ($P>0.05$), but the postoperative replant circumference in the study group was significantly shorter than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After operation, the levels of D-D, ET-1, and MDA in the two groups were increased

基金项目:河南省科技攻关项目(20210230413)

作者单位:新乡市第二人民医院烧伤诊疗中心一病区,河南,新乡 453000

*通信作者:武延朋, E-mail: wuyanpeng2022@163.com

compared with those before operation, and the level of SOD was decreased compared with that before operation, but the level of SOD in the study group was significantly higher than that in the control group, the levels of D-D, ET-1 and MDA were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After operation, the levels of PT, TT, APTT and FIB in the two groups were significantly increase compared with those before operation, but the above indexes in the study group were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The total incidence of complications was 4.17% in the study group and 9.09% in the control group, and the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Improved posterior interosseous artery island flap repair combined with local injection of low molecular weight heparin calcium in the treatment of severed finger replantation is effective, can improve blood coagulation function, promote microcirculation recovery, and is safe and reliable.

[KEY WORDS] Modified posterior interosseous artery island flap; Low molecular weight heparin calcium; Severed limb replantation; Coagulation function

断指再植术是指显微镜辅助操作下,吻合患者断离肢体血管,同时清创创面,修复神经、皮肤及肌腱,并注重患者术后恢复的一种手术^[1]。血管是否连通是目前临床评估断指再植术成功与否的重要指标。对于部分合并指动静脉缺损、软组织缺损的患者,术者常会因手术难度大、失败率高等而放弃手术^[2]。传统断指再植术是通过修复患者关节,再依次缝合神经、血管等,而改良后的骨间后动脉皮瓣修复手术可同时修复患者创面、重建指动静脉回流,在临床中得以广泛应用。相关报道指出,患者术后受伤部位动静脉功能恢复与血栓形成存在紧密联系,而患者凝血功能是其术后动静脉血栓形成影响因素之一^[3]。低分子肝素钙作为抗凝药物,在改善患者凝血功能中具有重要作用^[4]。本研究通过分析断指再植患者资料,旨在探讨改良骨间后动脉岛状皮瓣修复联合低分子肝素钙局部注射治疗对患者D-二聚体(D-dimer, D-D)、内皮素-1(Endothelin-1, ET-1)及凝血功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2020年1月至2021年8月新乡市第二人民医院收治的92例断指再植患者的资料。纳入标准:①单指单平面离断伤。②受伤至就诊时间不超

过6h;③伴手背大面积皮肤软组织缺损;④依从性高,可配合完成研究。排除标准:①凝血功能严重障碍;②对本研究治疗药物过敏或不耐受手术;③伴全身急、慢性感染病者;④资料丢失或缺损。

按治疗方法不同分为对照组($n=44$,改良骨间后动脉岛状皮瓣修复)、研究组($n=48$,改良骨间后动脉岛状皮瓣修复联合低分子肝素钙局部注射)。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

两组均行断指再植+改良骨间后动脉岛状皮瓣修复治疗^[5]。对照组于术后给予常规抗炎、消肿止痛、改善微循环等治疗。

研究组在对照组基础上联合低分子肝素钙局部注射治疗:术后,经患者脐周皮下注射低分子肝素钙(广东天普生化医药股份有限公司,国药准字H20030925),注射剂量0.4 mL/次,12 h/次,共7 d。

1.3 观察指标

1.3.1 疗效

对患者进行6个月随访,对比两组断指成活率、血管危象发生率^[6],并于术后7 d采用皮尺对两组再植体周径进行测量,对比两组指体肿

表1 两组资料比较 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

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

| 组别 | n | 性别(男/女) | 平均年龄(岁) | 受伤部位 | | 受伤类型 | | |
|-----|----|---------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | | | 左 | 右 | 近节离断 | 中节离断 | 近指间关节离断 |
| 研究组 | 48 | 24/24 | 35.63±3.36 | 22(45.83) | 26(54.17) | 14(29.17) | 23(47.92) | 11(22.91) |
| 对照组 | 44 | 21/23 | 34.56±2.61 | 24(54.55) | 20(45.45) | 12(27.27) | 22(50.00) | 10(22.73) |
| t值 | | 0.048 | 1.695 | | 0.697 | | | 0.050 |
| P值 | | 0.828 | 0.094 | | 0.404 | | | 0.975 |

胀程度^[7]。

1.3.2 D-D、ET-1、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 和超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、凝血功能指标

于术前、术后 3 d 抽取患者血清,常规离心,随后分离血清,立即送检或-20℃低温保存待检。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测 D-D,全波长酶标仪检测 ET-1,黄嘌呤氧化法测定 SOD,硫代巴比妥酸法检测 MDA,全自动凝血分析仪以凝固法检测凝血酶原时间 (Prothrombin time, PT)、活化部分凝血酶原时间 (Activated partial prothrombin time, APTT)、血浆纤维蛋白原 (Fibrinogen, FIB)、凝血酶时间 (Thrombin time, TT)。

1.3.3 并发症

比较两组感染、皮疹等发生情况。

1.4 统计学方法

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

表 3 两组 D-D、ET-1、MDA 及 SOD 水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 3 Comparison of D-D, ET-1, MDA and SOD levels between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

| 组别 | n | D-D (g/L) | | ET-1 ($\mu\text{g/mL}$) | | MDA (mmol/L) | | SOD (U/mL) | |
|-----|----|--------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------|------------------------|------------|-------------------------|
| | | 术前 | 术后 | 术前 | 术后 | 术前 | 术后 | 术前 | 术后 |
| 研究组 | 48 | 437.56±65.41 | 952.35±151.33 ^a | 50.17±6.82 | 59.29±6.36 ^a | 4.97±0.52 | 6.62±1.02 ^a | 96.45±7.66 | 82.02±5.36 ^a |
| 对照组 | 44 | 436.96±64.02 | 1623.56±255.62 ^a | 51.96±7.03 | 63.36±8.02 ^a | 5.11±0.42 | 8.31±1.33 ^a | 97.36±7.39 | 73.72±5.91 ^a |
| t 值 | | 0.044 | 15.477 | 1.239 | 2.708 | 1.413 | 6.872 | 0.579 | 7.064 |
| P 值 | | 0.965 | <0.001 | 0.219 | 0.009 | 0.161 | <0.001 | 0.564 | <0.001 |

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组凝血功能指标比较

术后,两组 PT、TT、APTT 及 FIB 水平明显较术前增高,研究组上述指标水平明显低于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组并发症比较

研究组并发症总发生率为 4.17%,对照组为 9.09%,两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 4 两组凝血功能指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

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

| 组别 | n | PT (s) | | TT (s) | | APTT (s) | | FIB (g/L) | |
|-----|----|------------|-------------------------|-----------|-------------------------|------------|-------------------------|-----------|------------------------|
| | | 术前 | 术后 | 术前 | 术后 | 术前 | 术后 | 术前 | 术后 |
| 研究组 | 48 | 16.26±2.36 | 18.21±2.69 ^a | 9.57±2.38 | 11.63±1.36 ^a | 29.74±5.36 | 35.71±5.36 ^a | 4.12±0.78 | 5.81±0.56 ^a |
| 对照组 | 44 | 15.96±2.11 | 23.14±3.25 ^a | 9.01±2.44 | 13.96±2.68 ^a | 30.32±6.01 | 38.65±6.66 ^a | 4.22±0.72 | 7.89±1.36 ^a |
| t 值 | | 0.641 | 7.951 | 1.114 | 5.324 | 0.489 | 2.302 | 0.637 | 9.737 |
| P 值 | | 0.524 | <0.001 | 0.268 | <0.001 | 0.626 | 0.021 | 0.526 | <0.001 |

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

两组成活率、断指血管危象发生率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),研究组术后再植体周径明显短于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组临床疗效比较 $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

Table 2 Comparison of clinical efficacy between the two groups $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

| 组别 | n | 成活率 | 断指血管危象发生 | 再植体周径 (cm) |
|---------------|----|------------|----------|------------|
| 研究组 | 48 | 47 (97.92) | 2 (4.17) | 5.06±0.64 |
| 对照组 | 44 | 42 (95.45) | 1 (2.27) | 6.15±1.14 |
| t/ χ^2 值 | - | 0.441 | 0.261 | 5.716 |
| P 值 | - | 0.507 | 0.609 | <0.001 |

2.2 两组 D-D、ET-1、MDA 及 SOD 水平比较

术后,两组 D-D、ET-1、MDA 水平均较术前增高,SOD 水平较术前下降,研究组 SOD 水平明显高于对照组,D-D、ET-1、MDA 水平低于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

手指断离患者常伴手背部软组织广泛受损,患者的肢体虽较完整,但在手术过程中常需结合静脉移植与皮瓣修复手术,该手术难度较大,成功率不高。近年来临床常采用骨间后动脉皮瓣修复术来修复手指断离伴手背软组织受损患者,该手

表5 两组并发症发生率比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of the incidence of complications between the two groups [n(%)]

| 组别 | n | 感染 | 皮疹 | 胃肠道反应 | 头晕头痛 | 合计 |
|------------|----|---------|---------|---------|---------|---------|
| 研究组 | 48 | 0(0.00) | 0(0.00) | 1(2.08) | 1(2.08) | 2(4.17) |
| 对照组 | 44 | 1(2.27) | 1(2.27) | 2(4.55) | 0(0.00) | 4(9.09) |
| χ^2 值 | | | | | | 0.913 |
| P值 | | | | | | 0.339 |

术方法具有取材方便、手术过程简单等优势,且患者解剖变异程度小,具有较高的安全性^[8]。本研究中,在治疗患者过程中通过对骨间后动脉岛状皮瓣的改良,在皮瓣中埋入携带有与主干经脉相互联系的静脉,再修复创面,一定程度上确保皮瓣成活率。同时在修复过程中,皮瓣与主干皮瓣始终相连,对局部其他组织功能性损失小,有效提升了手术实用性。

手指断离患者经断指再植术治疗后,因炎症因子与巨噬细胞分泌,机体会大量分泌血管紧张素、儿茶酚胺等,导致患者断指部位发生血管痉挛,而长时间血管痉挛易发生缺血,诱发手指血管危象发生^[9]。国内外相关研究指出,断指再植术后 24~48 h 是痉挛的高发期,若短期内无法改善患者血管痉挛,会增加血栓发生风险^[10-11]。因此,密切观察患者凝血功能,定期检测尤其重要。李俊洁等^[12]指出,PT、TT、APTT 等凝血功能指标在指导抗凝剂使用上具有重要意义。PT 反映外源性凝血途径及凝血因子的变化;APTT 反映内源性凝血系统,其延迟见于内源性途径的凝血因子缺陷;TT 是指在血浆中加入标准化的凝血酶后血液凝固的时间,TT 延长见于血浆纤维蛋白原减低或结构异常。FIB 在凝血过程中属于凝血第一因子,FIB 长期处于一个较高的水平能够有效刺激内皮细胞的分泌与合成,导致内皮的正常功能受损,还能有效促进血小板的聚集^[13-14]。D-D 属于纤维蛋白单体的降解产物,相关报道显示,D-二聚体水平增高可作为机体内继发性纤溶亢进及高龄的标志,是评估凝血状态与纤溶系统功能的常用指标^[15]。本研究发现,D-D、PT、TT、APTT 及 FIB 水平均较术前增高,说明患者经断指再植手术可激活体内凝血机制,使血液呈高凝状态。但术后,研究组上述指标均低于对照组,与既往结果报道一致^[16]。由此可见,低分子肝素钙可有效改善高凝状态,防止或抑制血栓形成。

ET-1 是存在于各组织细胞中的一种缩血管物质,可调节心血管功能、维持血管张力等^[17]。MDA 反映自由基对机体细胞损伤程度。SOD 体现机体

清除氧自由基的能力,上述指标可有效评估缺血再灌注损失的程度。本研究发现,与对照组相比,研究组 SOD 水平更高,ET-1、MDA 水平更低,且研究组再植体周径更短,肿胀程度更低。说明改良骨间后动脉岛状皮瓣联合低分子肝素钙更有助于改善缺血再灌注损失,促进微循环恢复,从而降低肿胀程度。进一步对比两组并发症发现,改良骨间后动脉岛状皮瓣联合低分子肝素钙治疗不会增加并发症发生,具有一定安全性。

综上所述,改良骨间后动脉岛状皮瓣联合低分子肝素钙局部注射治疗断指再植患者效果确切,可改善患者凝血功能,促进微循环恢复,且安全可靠。

参考文献

- [1] 张清红.《骨科护理手册(第2版)》出版:研究心理护理干预对断指再植术后患者心理及再植指功能恢复的影响[J].介入放射学杂志,2021,30(10):1082.
- [2] 王凯,相元翠,栗浩然.低分子肝素钙防治剖宫产术后下肢深静脉血栓对患者凝血功能指标的影响[J].检验医学与临床,2018,15(11):1569-1572.
- [3] Yur'eva KP, Frumin LE, Baeva EA, et al. Molecular Weight Characteristics and Anticoagulant Activity of Low-Molecular-Weight Heparin Obtained By Nitrous Acid Depolymerization[J]. Pharmac Chem J, 2021, 55(2):147-149.
- [4] Godugu K, Mousa S, Darwish N, et al. Effect of Sulfated NON-Anticoagulant Low Molecular Weight Heparin in Cancer and NON-Cancer Associated Thrombosis[J]. Blood, 2019, 134(Supplement_1):3670-3670.
- [5] 章建新,吴向科,毛晓晖,等.同指指动脉顺行岛状皮瓣修复指端缺损[J].临床骨科杂志,2020,23(3):367-368.
- [6] 魏苏明,陆征峰,刘宇舟,等.游离骨间后动脉双皮瓣移植修复两指软组织缺损[J].中华显微外科杂志,2019,42(1):59-61.
- [7] 胡恺,李建成,陈默,等.两种不同游离组织瓣在上颌组织缺损修复中的应用[J].中华全科医学,2018,16(9):1424-1426.
- [8] Massamba N, Dirani A, Knoeri J, et al. Evaluating the impact of summer vacation on the visual acuity of AMD patients treated with ranibizumab[J]. Eye (London, England), 2018, 29(11):1453-1457.
- [9] 范思有,张雷.断指再植术后未成活采用当归四逆汤治愈一则[J].国际中医中药杂志,2018,40(7):669-670.
- [10] 王西迅,陈旭辉,李钧,等.按摩疗法治疗断指再植术后迟发性动脉痉挛[J].中国矫形外科杂志,2020,28(22):2098-2100.
- [11] Wang Z, Kosheleff AR, Adejojo LW, et al. Impact of a High-Fat Meal and Sprinkled Administration on the Bioavailability and Pharmacokinetics of Viloxazine Extended-Release Capsules (Qelbree™) in Healthy Adult Subjects[J]. Eur J Drug Metabol Pharmacok, 2021, 47(1):69-79.

miR-21、ILK及Bax蛋白在CIN中的表达及临床意义

董芮 赵琳 董琴 管业秋 徐爱芳*

【摘要】目的 探究微小RNA-21(miR-21)、整合素连接激酶(ILK)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)在宫颈上皮内瘤变(CIN)中的表达及临床意义。**方法** 将2020年1月至2022年10月苏州科技城医院收诊并治疗的63例宫颈上皮内瘤变(CIN组)纳入研究,选择同期84名健康志愿者(对照组)共同参与本次研究,对比两组miR-21、ILK及bax蛋白的表达,分析宫颈组织中miR-21、ILK及Bax蛋白阳性表达与病理特征的关系。**结果** CIN组miR-21相对量高于对照组,差异有统计学意义($t=16.906, P<0.05$);CIN组Bax蛋白阳性率低于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=70.948, P<0.05$);CIN组ILK阳性率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=109.485, P<0.05$);不同年龄阶段、不同组织类型的miR-21、Bax蛋白、ILK阳性表达率比较差异无统计学意义($P>0.05$);而CIN分级越高,宫颈组织中ILK阳性率高,Bax阳性率越低,miR-21相对量越多,差异均有统计学意义($\chi^2=0.005, \chi^2=0.001, t=0.027, P<0.05$)。**结论** miR-21、ILK、Bax蛋白均在CIN患者中异常表达,与病变细胞的凋亡密切相关。

【关键词】 微小RNA-21;整合素连接激酶;Bcl-2相关X蛋白;宫颈上皮内瘤变

Expression and clinical significance of miR-21, ILK and Bax proteins in CIN

DONG Rui, ZHAO Lin, DONG Qin, GUAN Yequiu, XU Aifang*

(Department of Obstetrics and Gynecology, Suzhou Science and Technology City Hospital, Suzhou, Jiangsu, China, 215000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the expression and clinical significance of microRNA-21(miR-21), integrin-linked kinase(ILK), and apoptosis-promoting gene(Bax) in cervical intraepithelial neoplasia(CIN). **Methods** 63 cases with cervical intraepithelial neoplasia(CIN group) admitted and treated in Suzhou Science and Technology City Hospital from January 2020 to October 2022 were included in the study, and 84 healthy volunteers(the control group) participated in this study during the same period were selected, and the expressions of miR-21, ILK and bax proteins were compared between the two groups, and the relationship between the positive expression of miR-21, ILK and Bax protein and pathological features in cervical tissue was analyzed. **Results** The relative amount of miR-21 in the CIN group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant($t=16.906, P<0.05$). The positive rate of Bax protein in the CIN group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant($\chi^2=70.948, P<0.05$). The positive rate of ILK in the CIN group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant($\chi^2=109.485, P<0.05$). There was no significant difference in the positive expression rates of miR-21, Bax protein and ILK in different age stages and different tissue types($P>0.05$). The higher the CIN grade, the higher the positive rate of ILK in cervical tissue, the lower the positive rate of Bax, and the higher the relative amount of miR-21, and the differences were statistically significant($\chi^2=0.005, \chi^2=0.001, t=0.027, P<0.05$). **Conclusion** miR-21, ILK and Bax proteins are abnormally expressed in CIN patients, and are closely related to the apoptosis of diseased cells.

【KEY WORDS】 MicroRNA-21; Integrin-linked kinase; Bcl-2-related X protein; Cervical intraepithelial neoplasia

基金项目:苏州市科技计划项目(SKJYD2021057)

作者单位:苏州科技城医院妇产科,江苏,苏州215000

*通信作者:徐爱芳, E-mail: xaf17715187318@163.com

宫颈癌是女性最为常见的恶性肿瘤之一,有着较高的病死率^[1]。近些年来该病患病率持续升高且趋于年轻化,对社会造成沉重的压力^[2]。据报道,宫颈癌的发生与宫颈上皮内瘤变(Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)有一定关联^[3]。CIN主要由于人类乳头状瘤病毒(Human Papillomavirus, HPV)对女性生殖器的持续性感染所致。目前,医学研究员致力于寻找更有效的指标对CIN进行早期诊断,以缓解宫颈浸润速度^[4]。严晓春等学者^[5]研究显示内源性非编码RNA对肿瘤细胞的增殖有一定刺激作用。随着对肿瘤细胞的深入研究,多数学者认为促凋亡基因与诱导肿瘤细胞凋亡有明显相关性^[6]。综合上述观点,本文推测促凋亡基因、内源性非编码RNA对CIN病变细胞死亡有一定影响。故本文展开对微小RNA-21(miRNA-21, miR-21)、整合素连接激酶(Integrin-Linked Kinase, ILK)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 Associated X protein, Bax)三种相关因子进行研究,探寻其表达水平对CIN的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将2020年1月至2022年10月苏州科技城医院收诊并治疗的63例宫颈上皮内瘤变患者纳入CIN组进行研究,选择同期84名健康志愿者纳入对照组进行研究。所有研究对象均为女性,其中CIN组平均年龄(46.72±5.13)岁;对照组平均年龄(47.03±5.10)岁。两组患者年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

CIN纳入标准:①符合《子宫颈上皮内瘤变或原位腺癌的处理》^[7]标准;②既往无化疗史及大型手术治疗史;排除标准:①既往有CC治疗史患者;②未签署知情同意书患者;③合并其他肿瘤患者。本研究经医学伦理委员会通过,受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

采集两组受试者宫颈组织,对宫颈表面进行清洁后将宫颈窥探器置入宫颈表面旋转,并将宫颈刷上宫颈组织制成病理标本;采集两组受试者外周静脉血5 mL,对血液样本进离心处理(2 800 r/min 离心半径8 cm, 10 min)后取血浆保存至-60℃环境中,采用RNA试剂盒(规格:MA-6000,苏州雅睿生物技术有限公司,国械注准

20173401410)对血浆中总RNA进行提取,并通过反转录试剂(规格:48T,深圳市晋百慧生物有限公司,国械注准20183400108)制成cDNA,再由荧光定量PCR测定仪(型号:RTQ-960,艾康生物技术(杭州)有限公司,国械注准20134524139)在高温下进行变性、循环等操作,最终用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算机体组织的miR-21的相对表达量。联合ILK试剂盒(规格:96T,上海晶抗生物工程有限公司,国械注准20167438241)、Bax试剂盒(规格:96T,广州万孚生物科技股份有限公司,粤穗械备20191982号)及细胞色素氧化酶二氨基联苯胺显色试剂盒[规格:2×3 mL,罗氏诊断产品(上海)有限公司,国械备20161582号],根据试剂盒说明书对宫颈组织进行常规免疫组化检验,用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照,用已知阳性片作阳性对照。所有切片均在相同条件下进行。

结果判定^[8]:ILK及Bax阳性表现为细胞质中出现棕黄色颗粒。在高倍显微镜下随机对5个视野进行查看,单个视野中选200个细胞进行计数,根据阳性细胞所占百分比对结果进行计分,0分:细胞占比<5%,1分:5~25%,2分:26~50%,3分:51%~75%,4分:>75%;再根据阳性细胞着色程度进行计分,1分:呈淡黄色,2分:呈黄色,3分:呈黄棕色。最终阳性强度为阳性细胞所占百分比分与阳性细胞着色程度的乘积,阴性:-,0分,弱阳性:+,1~4分,阳性:++,5~12分,强阳性:+++,>12分,采用 $\geq++$ 率表示阳性表达率。

1.3 统计学方法

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

2 结果

2.1 两组 miR-21 表达比较

CIN组miR-21相对表达量(2.57±0.82)高于对照组(1.03±0.14),差异有统计学意义($t=16.906, P<0.05$)。

2.2 两组 Bax 表达比较

CIN组Bax蛋白阳性率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.3 两组 ILK 表达比较

CIN组ILK阳性率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 Bax蛋白在各组宫颈组织中的表达 [n(%)]
Table 1 Expression of Bax protein in cervical tissues of each group [n(%)]

| 组别 | n | Bax 蛋白表达 | | | | ≥++率 (%) |
|------------------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| | | - | + | ++ | +++ | |
| CIN组 | 63 | 25(39.68) | 18(28.57) | 13(20.63) | 7(11.11) | 31.75 |
| 对照组 | 84 | 0(0.00) | 6(7.14) | 20(23.81) | 58(69.05) | 92.86 |
| χ ² 值 | | 70.948 | | | | |
| P值 | | 0.012 | | | | |

表2 ILK在各组宫颈组织中的表达 [n(%)]
Table 2 Expression of ILK in cervical tissues of each group [n(%)]

| 组别 | n | ILK 表达 | | | | ≥++率 (%) |
|------------------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| | | - | + | ++ | +++ | |
| CIN组 | 63 | 4(6.35) | 17(26.98) | 19(30.16) | 23(36.51) | 66.67 |
| 对照组 | 84 | 77(91.67) | 6(7.14) | 1(1.19) | 0(0.00) | 1.19 |
| χ ² 值 | | 109.485 | | | | |
| P值 | | 0.008 | | | | |

2.4 宫颈组织中 miR-21、ILK 及 Bax 蛋白阳性表达与病理特征的关系

不同年龄阶段、不同组织类型的 miR-21、Bax 蛋白、ILK 阳性表达率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而 CIN 分级越高, 宫颈组织中 ILK 阳性率高, Bax 阳性率越低, miR-21 相对量越多, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

近些年来, 宫颈癌患病人群呈上升趋势, 研究学者力求寻找更有效的治疗方案, 进一步对宫颈癌相关病理机制及其癌前病变进展情况探究。研究发现 CIN 病变细胞的分化、凋亡与细胞间信息传递有密切关系^[9]。因而阻断病变细胞信号传导并诱导病变细胞凋亡成为了 CIN 治疗的新方向。

大量研究显示, miR-21 能促进肿瘤细胞的增殖和分化, 对肿瘤细胞的凋亡有抑制作用^[10]。

韩宁^[11]对 154 例宫颈癌患者进行研究发现, 宫颈癌组织中 miR-21 的相对表达量较高。而许娟秀^[12]对 CIN 患者深入探究后提出, miR-21 在 CIN 患者等宫颈组织中也有较高的表达。上述研究与本文对 CIN 患者探究后得出的结果一致。由此猜测 miR-21 可能通过识别病变细胞的脆性定位点, 削弱 mRNA 对病变细胞基因的调控作用, 进而抑制病变细胞的凋亡, 加速 CIN 的发展。同时李允利等^[13]在研究中提出 miR-21 可能具有致癌基因的功。但目前对于该论点的相关文献较少, 需对此进一步研究证实。

王秀灵等^[14]通过上调肿瘤患者体内 Bax 蛋白, 发现其化疗效果得到有效提高, 分析推测 Bax 蛋白增加了机体对化疗的敏感度。本文同样对 Bax 蛋白深入研究, 结果显示 CIN 组 Bax 蛋白阳性率显著低于对照组, 此结果与孔佑度^[15]一致。Bax 蛋白是一种促进细胞凋亡的因子, 在机体内以二聚体的形式诱导病变细胞死亡, 同时抑制 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 的抗凋亡作用, 推进病变细胞的凋亡, 抑制癌前病变的发展, 曾永蕾等^[16]也曾推测 Bax 蛋白可逐渐发展成为癌变的预测因子。

ILK 因子是一种新型信号导转因子, 能提高激活蛋白 (Activator Protein 1, AP-1) 的活性, 进而对基因表达进行调控。ILK 在 CIN 患者体内能有效抑制病变细胞凋亡, 提高细胞间的信号传导, 进而增强病变细胞的侵袭能力, 推动宫颈组织的恶化, 致使 CIN 向浸润癌发展。Godínez 等^[17]科研学者通过将 ILK 阳性细胞植入实验鼠体内, 观察到实验鼠随着植入细胞的生长, 其正常细胞逐渐发展成为恶性肿瘤细胞。而本文对 ILK 展开研究, 结果显示 CIN 组患者宫颈组织中 ILK 呈现高表达, 与吴雪艳等^[18]研究结果相符。进一步对

表3 宫颈组织中 miR-21、ILK 及 Bax 蛋白水平表达与病理特征的关系 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 3 Relationship between expression of miR-21, ILK and Bax proteins and pathological features in cervical tissues [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

| 组别 | n | Bax 蛋白 | | | ILK | | | miR-21 | | | |
|--------|---------|--------|----------------|-------|-------|----------------|--------|--------|----------------|-------|-------|
| | | 阳性 | χ ² | P 值 | 阳性 | χ ² | P 值 | 相对表达量 | χ ² | P 值 | |
| 年龄 | <40 | 37 | 11(29.73) | 0.168 | 0.682 | 25(67.57) | 0.033 | 0.856 | 4.37±1.24 | 0.642 | 0.523 |
| | ≥40 | 26 | 9(34.62) | | | 17(65.38) | | | 4.58±1.33 | | |
| CIN 分级 | I~II 级 | 29 | 4(13.79) | 7.993 | 0.005 | 13(44.83) | 11.533 | 0.001 | 4.03±1.16 | 2.356 | 0.027 |
| | III 级 | 34 | 16(47.06) | | | 29(85.29) | | | 4.89±1.74 | | |
| 组织类型 | 高级别鳞状上皮 | 54 | 17(31.48) | 0.116 | 0.734 | 38(70.37) | 1.323 | 0.690 | 4.12±1.20 | 0.756 | 0.452 |
| | 低级别鳞状上皮 | 8 | 3(37.50) | | | 4(50.00) | | | 4.48±1.62 | | |

miR-21、ILK、Bax 研究可知,不同年龄阶段、不同组织类型的 miR-21、Bax 蛋白、ILK 阳性表达率比较差异无统计学意义;而 CIN 分级越高,宫颈组织中 ILK 阳性率高,Bax 阳性率越低,miR-21 相对量越多。但此结论与李晓丹^[19]研究得出的观点存在较大差异,推测其可能原因为本研究样本不足,导致组间对比不充分,同时本文未对 miR-21、ILK、Bax 蛋白因子间相互影响进行分析,导致研究结果受到干扰,因此需再深入研究证实。

综上,miR-21、ILK 在 CIN 患者宫颈组织中呈现高表达,Bax 蛋白呈现低表达,而 miR-21、ILK、Bax 蛋白水平与 CIN 病变细胞的凋亡有密切关联。

参考文献

- [1] 邢少宁,陈燕娥,刘威. 外周血 T 细胞白细胞相关免疫球蛋白样受体 1 的表达与宫颈上皮内瘤变Ⅲ级及宫颈癌患者高危型人乳头瘤病毒感染的关系[J]. 中国性科学, 2022, 31(6):83-87.
- [2] 周斌,谢福源,苏学英,等. 人乳头状瘤病毒与人类疱疹病毒重叠感染在宫颈上皮内瘤变及宫颈癌中的意义[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(12):1654-1658.
- [3] 薛雯娣,宫美丽,李旭,等. 高级别宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者宫颈液基薄层细胞学检查和高危型人乳头状瘤病毒检测结果分析[J]. 中国药物与临床, 2021, 21(3):492-494.
- [4] 周晓红,卢晓丽,杨雪,等. 熊果酸对喉癌 Hep-2 细胞 bcl-2、Bax 基因表达和凋亡影响[J]. 中国实验诊断学, 2021, 25(3):434-437.
- [5] 严晓春,李玥,何飞燕,等. miR-205 和 miR-944 在宫颈癌患者血清中的表达及其临床意义[J]. 临床输血与检验, 2021, 23(1):95-99.
- [6] 刘娟,魏瑜,高艳,等. 整合素连接激酶在食管鳞状细胞癌中的表达和生物信息分析[J]. 新疆医科大学学报, 2022, 45(6):581-587.
- [7] Thomas C, Wright, JR, Stewart, et al. Cervical intraepithelial neoplasia or the processing of adenocarcinoma in situ (2006 edition)[J]. Evidence-based med, 2008, 8(5):306-309,316.
- [8] 刘兆华,邓希颖,张振涛. 存活素、Bax 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 31(5):572.
- [9] 刘艳,冯宁. Galectin-3、VEGF-C、SFRP1 在宫颈鳞癌、宫颈上皮内瘤变及宫颈炎组织中的表达及其临床意义[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(15):2073-2077.
- [10] 周蕊敏,李枫. 血清白细胞介素 33 在宫颈上皮内病变及宫颈癌中的表达及临床意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(6):711-714.
- [11] 韩宁,侯芳娟. 高危型 HPV 阳性宫颈癌患者 miRNA-34a-5p 的表达及临床意义[J]. 传染病信息, 2020, 33(5):426-430.
- [12] 许娟秀,吴海根. 宫颈上皮内瘤变Ⅲ级与宫颈癌患者及其配偶人乳头状瘤病毒 16 型和 18 型感染情况[J]. 广西医学, 2020, 42(24):3241-3243.
- [13] 郑云,李允利,贾乐,等. 不同人乳头瘤状病毒亚型感染与宫颈癌及宫颈上皮内瘤变严重程度的关系分析[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2021, 28(5):561-564.
- [14] 王秀灵,孙虹,周琼华,等. 不同亚型高危型 HPV 感染与宫颈病变严重程度的相关性分析[J]. 肿瘤预防与治疗, 2022, 35(6):549-553.
- [15] 王小玉,唐寅,孔佑虔,等. 上皮性卵巢癌中 Bax、Gal-3 及 GST- π 表达与顺铂化疗耐药的关系[J]. 西部医学, 2021, 33(10):1544-1548.
- [16] 杨繁,曾永蕾. 苦参碱对宫颈癌细胞中 Bcl-2/Bax 表达水平及生物学行为的影响[J]. 陕西中医, 2021, 42(7):840-843.
- [17] Ibáñez R, Féllez S, Godínez JM, et al. Interlaboratory reproducibility and proficiency testing within the human papillomavirus cervical cancer screening program in Catalonia, Spain[J]. J clin microbiol, 2021, 52(5):1511-1518.
- [18] 吴雪艳,赵依纳,王小杰,等. 半乳糖凝集素 3 表达抑制对人胃癌 MGC-803 细胞中 Bcl-2 和 Bax 表达的影响及其促凋亡作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2020, 46(2):335-339,前插 3.
- [19] 李晓丹,费晓莺,王敬苗,等. 小干扰 RNA 靶向沉默整合素连接激酶基因对宫颈鳞状上皮细胞生物学行为的影响[J]. 新乡医学院学报, 2020, 37(5):425-429.
- [12] 李俊洁,张敬治. 心脑血管疾病患者检验中的凝血功能指标的应用与意义探析[J]. 临床检验杂志:电子版, 2019, 8(4):169.
- [13] 邓丽芸,肖涌,刘劫,等. 低分子肝素钙联合胰岛素治疗重症高脂血症急性胰腺炎的疗效及对血清氧化应激和炎症因子的影响[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(2):209-213.
- [14] Kiykim E, Zubarioglu T, Cansever MS, et al. Coagulation Disturbances in Patients with Argininemia[J]. Acta Haematol, 2018, 140(11):221-225.
- [15] 黄佩荣. 低分子肝素钙联合利伐沙班治疗急性肺栓塞患者的疗效及对其 D-二聚体水平的影响[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(8):1346-1347.
- [16] 杨晓亮,于晓飞,刘宁. 改良骨间后动脉岛状皮瓣联合复方丹参滴丸在复杂性断指再植中的效果及对凝血状况的影响[J]. 骨科, 2019, 10(2):5115-119.
- [17] 杨志虹,杨孝芳,张宁,等. 体外适宜温热刺激对络脉相关血管内皮细胞血管舒缩物质 ET-1, TM, PGI₂ 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(1):284-286.

(上接第 2136 页)

CD64、LPR 联合改良 Baux 评分在大面积烧伤患者预后评估中的价值

方越洋* 陈宇 惠灿灿

[摘要] **目的** 探讨 CD64、早期淋巴细胞/血小板比值(LPR)联合改良 Baux 评分评估大面积烧伤患者的预后价值。**方法** 选取2019年1月至2021年12月安徽医科大学第一附属医院收治的106例大面积烧伤患者作为研究对象,并按照患者住院期间的预后情况分成死亡组($n=22$)和生存组($n=84$)。检测两组患者入院后第1 d CD64水平及血小板和淋巴细胞,并计算LPR值;收集两组患者入院后改良 Baux 评分及临床资料,进一步单因素及多因素筛选患者死亡的危险因素。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 CD64、LPR 及改良 Baux 评分对大面积烧伤患者发生死亡的预测价值。**结果** 106例大面积烧伤患者中有22例发生死亡,死亡率为20.75%。单因分析显示,年龄、是否合并吸入性损伤、烧伤总面积、CD64、LPR、改良 Baux 评分均为患者死亡的危险因素($P<0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示,年龄、是否合并吸入性损伤、烧伤总面积、CD64、LPR、改良 Baux 评分均为患者死亡的独立危险因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,CD64、LPR、改良 Baux 评分及三者联合检测的 AUC 分别为0.838、0.705、0.906、0.925。**结论** CD64、LPR、改良 Baux 评分对大面积烧伤患者死亡风险均具有较好的预测价值,其中三者联合检测预测效果最佳,可为大面积烧伤患者预后评估指标。

[关键词] CD64;早期淋巴细胞/血小板比值;改良 Baux 评分;大面积烧伤

Prognostic value of CD64 and LPR combined with modified Baux score in patients with extensive burns

FANG Yueyang*, CHEN Yu, HUI Cancan

(Department of Burns and Wound Repair, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the prognostic value of CD64, early lymphocyte/platelet ratio (LPR) combined with modified Baux score in assessing patients with extensive burns. **Methods** One hundred and six patients with large burns admitted to the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University from January 2019 to December 2021 were selected as the study subjects. The patients were also divided into a death group ($n=22$) and a survival group ($n=84$) according to their prognosis during hospitalization. CD64 levels, platelets and lymphocytes were measured on the first day after admission in both groups, and the LPR value was calculated. The modified Baux score and clinical data were collected after admission in both groups, and the risk factors for death of patients were further analyzed by single factor and multifactor screening. Predictive value of CD64, LPR and modified Baux score for the occurrence of death in patients with large burns was evaluated using subject work characteristic (ROC) curves. **Results** Death occurred in 22 of 106 patients with large burns, with a mortality of 20.75%. Univariate analysis showed that age, presence of combined inhalation injury, total burn area, CD64, LPR, and modified Baux score were all risk factors for patient death ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that age, presence of combined inhalation injury, total burn area, CD64, LPR and modified Baux

基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(1804h08020267)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院烧伤与创面修复科,安徽,合肥230000

*通信作者:方越洋, E-mail: afyysk@126.com

score were all independent risk factors for patient death ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of CD64, LPR, modified Baux score and the combination of CD64, LPR and Baux were 0.838, 0.705, 0.906 and 0.925, respectively. **Conclusion** CD64, LPR and modified Baux score all have good predictive value for the risk of death in patients with extensive burns, and the combined detection of the three has the best predictive effect, which can be used as indicators for evaluating the prognosis of patients with extensive burns.

[KEY WORDS] CD64; Early lymphocyte/platelet ratio; Modified Baux score; Large-scale burns

烧伤是生活中常见的突发性创伤,大面积烧伤指的是烧伤面积 $>30\%$ 或Ⅲ度烧伤面积在 $21\% \sim 49\%$,其是临床上常见的严重创伤之一^[1]。皮肤是人体的首层防御屏障,烧伤一旦发生则会失去屏障及其功能,进而会增加患者发生感染的风险,且局部受损组织会出现炎症反应。大面积烧伤患者因烧伤面积较大,皮肤屏障功能的丧失及免疫力的低下,更容易出现伤口愈合不良、感染等多种问题,且病程较长,严重影响患者预后,甚至导致患者发生死亡^[2]。因此,如何在烧伤后早期利用实用、简易、准确的监测指标对大面积烧伤患者的病情进行有效评估及预测,对患者的预后情况具有重要的临床价值。重组蛋白64(Recombinant cluster of differentiation 64, CD64)是一种补体调节蛋白,与T细胞活化过程密切相关^[3]。早期淋巴细胞/血小板比值(Lymphocyte-platelet ratio, LPR)是一种简单、经济的炎症指标,其与多种疾病的活动有着密切联系。另有研究认为^[4],预后预测工具的评估内容会使预测内容更加科学和准确,其中改良Baux评分对烧伤患者预后评分在国外被证实是有效的。目前,有关CD64、LPR、改良Baux评分在大面积烧伤患者预后中的评估价值,无论是其中单一指标还是三者联合预测均较少有研究报道。本研究通过探讨CD64、LPR联合改良Baux评分在大面积烧伤患者预后评估中的价值,以期为大面积烧伤患者提供简易、准确的预后评估工具及指标,降低患者的临床病死率,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年12月安徽医科大学第一附属医院收治的106例大面积烧伤患者作为研究对象,平均年龄(39.45 ± 10.13)岁,其中男性78例,女性28例。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②符合大面积烧伤的诊断标准^[5],即总面积均 $\geq 30\%$,创伤面积 $\geq 20\%$;③在烧伤后24 h内入院治疗;④患

者及家属知情同意并自愿参与本研究。排除标准:①合并严重复合伤者;②合并心肝肾等重要器官障碍者;③入院3d内死亡者;④合并血液系统疾病、免疫系统疾病者;⑤入院前已服用改变血小板、淋巴细胞等指标药物者;⑥妊娠期及哺乳期女性。本研究已通过安徽医科大学第一附属医院医学伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 入院后治疗

入院后对患者的伤情进行及时评估,并快速采取对应措施进行个体化治疗。根据患者是否合并吸入性损伤行气管切开治疗以维持患者的呼吸功能,根据患者的烧伤面积、身体情况等进行补液,并及时应用广谱抗生素进行抗感染治疗等措施。根据患者伤情尽快行削痂植皮手术,同时术后注意防治感染。

1.2.2 资料收集

采用本院自制的调查表收集研究对象的临床资料,内容包括性别、年龄、烧伤原因、烧伤总面积、是否合并吸入性损伤、是否机械通气、入院CD64水平、入院LPR值、入院时改良Baux评分等临床资料。根据住院期间是否发生院内死亡,将患者分成死亡组和生存组。

1.2.3 CD64、LPR的检测

于患者入院后第1d清晨采集抽取外周静脉血5 mL,以3 000 r/min离心10 min(半径为8 cm),分离后取上清液。采用宝特ELX800型酶标仪以酶联免疫吸附法检测患者的CD64水平,采用迈瑞Mindray全自动血液细胞分析仪及其配套试剂检测血常规,收集淋巴细胞计数、血小板计数、计算LPR值。LPR通过淋巴细胞计数除以血小板计数获得。

1.2.4 改良Baux评分

采用Osler T等^[6]改良的Baux评分系统对患者进行预后的评估,使用年龄、烧伤的总面积和吸入性损伤作为预测指标,改良Baux评分=年龄(岁)+烧伤总面积(百分比)+(17*吸入性损伤)。

其中,年龄和烧伤总面积为实际值,吸人性损伤赋值为有=1、无=0。

1.2.4 预后评估

所有患者从烧伤入院开始进行90 d观察,以病死为终点,表示死亡;以住院治疗病情好转或病情稳定为终点,表示生存。记录2组患者死亡、生存情况。

1.3 统计学方法

应用SPSS 22.0软件分析处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,行 t 检验。单因素及多因素分析大面积烧伤患者发生死亡的危险因素;受试者工作曲线(ROC)分析CD64、LPR联合改良Baux评分在大面积烧伤患者发生死亡的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响大面积烧伤患者预后的单因素分析

106例大面积烧伤患者中有22例发生死亡,死亡率为20.75%。单因素分析显示,年龄、是否合并吸人性损伤、烧伤总面积、CD64、LPR、改良Baux评分均为患者死亡的危险因素($P < 0.05$)。见表1。

2.2 影响大面积烧伤患者预后的多因素分析

以大面积烧伤患者预后为因变量,将上述具有统计学意义的因素纳入Logistic回归模型。经多因素Logistic回归分析显示,年龄、是否合并吸人性损伤、烧伤总面积、CD64、LPR、改良Baux评分均为患者死亡的独立危险因素($P < 0.05$)。见表2。

2.3 大面积烧伤患者发生死亡的ROC结果

ROC曲线分析显示,CD64、LPR、改良Baux评分及三者联合检测的AUC分别为0.838、0.705、0.906、0.925,联合检测预测患者发生死亡的风险诊断价值高于单一检测指标,敏感度0.955、特异度0.976。见表3、图1。

表1 影响大面积烧伤患者预后的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 1 Univariate analysis of influencing factors for the prognosis of patients with extensive burns [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

| 因素 | 分类 | 死亡组 (n=22) | 生存组 (n=84) | χ^2/t 值 | P值 |
|-------------|--------|---------------|---------------|--------------|--------|
| 年龄(岁) | | 42.03±10.97 | 37.01±9.46 | 2.142 | 0.035 |
| 性别 | 男 | 18(81.82) | 60(71.43) | 0.968 | 0.325 |
| | 女 | 4(18.18) | 24(28.57) | | |
| 烧伤原因 | 热液伤 | 5(22.73) | 25(29.76) | 0.450 | 0.799 |
| | 火焰伤 | 8(36.36) | 29(34.52) | | |
| | 其他 | 9(40.91) | 30(35.71) | | |
| 是否合并吸人性损伤 | 是 | 13(59.09) | 22(26.19) | 4.645 | 0.031 |
| | 否 | 9(40.91) | 62(73.81) | | |
| 是否机械通气 | 是 | 10(45.45) | 15(17.86) | 0.418 | 0.700 |
| | 否 | 12(54.55) | 69(82.14) | | |
| 烧伤总面积(%) | 30~60 | 8(36.36) | 58(69.05) | 8.500 | 0.004 |
| | 61~100 | 14(63.64) | 26(30.95) | | |
| CD64(pg/mL) | | 19.68±2.35 | 12.53±3.15 | 9.933 | <0.001 |
| LPR | | 8.61±1.12 | 6.48±1.05 | 8.355 | <0.001 |
| Baux评分(分) | | 143.25±5.12 | 125.68±3.31 | 19.581 | <0.001 |

表3 CD64、LPR、改良Baux评分对大面积烧伤患者预后评估的价值

Table 3 Value of CD64, LPR and modified Baux score in prognosis assessment of patients with extensive burns

| 检测指标 | 最佳截断值 | AUC | 95% CI | 敏感度 | 特异度 | P值 |
|-------------|--------|-------|-------------|-------|-------|--------|
| CD64(pg/mL) | 16.11 | 0.838 | 0.694~0.906 | 0.909 | 0.869 | <0.001 |
| LPR | 7.54 | 0.705 | 0.528~0.836 | 0.727 | 0.810 | <0.001 |
| Baux评分(分) | 134.47 | 0.906 | 0.852~0.966 | 0.864 | 0.893 | <0.001 |
| 联合检测 | | 0.925 | 0.884~0.992 | 0.955 | 0.976 | <0.001 |

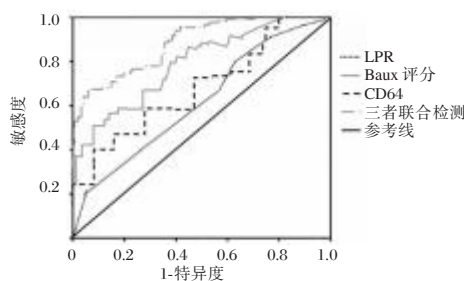


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

表2 影响大面积烧伤患者预后的多因素分析

Table 2 Multivariate analysis of influencing factors for the prognosis of patients with extensive burns

| 因素 | 赋值说明 | β 值 | S.E值 | Wald值 | OR值 | 95% CI | P值 |
|-------------|-------------------|-----------|-------|--------|-------|--------------|--------|
| 年龄(岁) | 连续变量 | 0.045 | 0.012 | 14.063 | 1.046 | 1.021~1.071 | <0.001 |
| 烧伤总面积(%) | 30~60=0, 61~100=1 | 0.542 | 0.213 | 6.475 | 1.719 | 1.133~2.609 | 0.011 |
| 是否合并吸人性损伤 | 否=0, 是=1 | 1.571 | 0.584 | 7.236 | 4.812 | 1.531~15.120 | 0.007 |
| CD64(pg/mL) | 连续变量 | 0.846 | 0.313 | 7.306 | 2.604 | 1.262~4.302 | 0.007 |
| LPR | 连续变量 | 0.126 | 0.062 | 4.130 | 1.134 | 1.004~1.282 | 0.042 |
| Baux评分(分) | 连续变量 | 0.316 | 0.081 | 15.220 | 1.372 | 1.170~1.608 | <0.001 |

3 讨论

大面积烧伤是损害机体的一种严重烧伤,可导致患者发生残疾、死亡。大面积烧伤患者需住院时间较长,且费用较高,严重增加患者的经济压力,使患者的生活质量严重下降。患者一旦发生烧伤会使其皮肤屏障功能遭受到损坏,体液、血液会大量流失,导致机体内环境不稳定,免疫力因此而降低,易发生全身炎症反应。此外,在热力、炎症介质等作用下,会破坏患者的血管内皮细胞,造成抗血小板黏附、聚集功能降低,凝血系统的进一步激活,促进血栓的形成,还可能发生多器官衰竭,加重病情^[7]。朱思前等^[8]研究表明,患者烧伤后虽带来的后果比较严重,但烧伤后采取有效的应急措施进行预防,对患者的预后改善情况具有一定的积极作用。因此,本研究通过分析 CD64、LPR 联合改良 Baux 评分在大面积烧伤患者预后评估中的价值,以期临床改善患者的预后提供指导依据。

本研究将 106 例大面积烧伤患者纳入研究,其中有 22 例患者发生死亡,死亡率为 20.75%,与既往研究相近^[9],提示大面积烧伤患者预后较差,临床需早期采取有效措施进行干预,降低病死率的发生。本研究分析大面积烧伤患者预后的影响因素,结果显示,年龄、合并吸入性损伤、烧伤总面积、CD64、LPR、改良 Baux 评分均为患者死亡的独立危险因素。年龄较高者发生死亡风险更高,与孙海伟等^[10]研究一致,可能随着年龄的增长患者的机体功能会逐渐下降,愈合更慢,同时容易并发多种并发症,导致预后不良。因此,临床需密切关注高龄烧伤患者的生命体征,必要时予以呼吸机维持患者的呼吸功能,进行抗感染治疗,术后予以营养支持,降低病死率。患者合并有吸入性损伤会损伤其呼吸道及肺部实质性,进而使并发症的发生率及死亡率增加,严重影响患者预后^[11]。烧伤面积是评估烧伤患者病情严重程度的重要指标,面积越大,皮肤屏障功能受损越严重,更容易发生病原菌感染,且炎症反应更严重,故增加患者死亡的风险,与肖昆等^[12]研究报道一致。

炎症反应烧伤患者的主要病理生理变化,张茜等^[13]分析了 CD64 的变化趋势,发现通过 CD64 能了解烧伤脓毒症预后情况,且死亡组的 CD64 从第 1·35 d 呈不断上升趋势,本研究中死亡组患者的 CD64 也高于生存组,可能是因病情越严重,其局部的炎症反应越激烈,导致大量释放促炎细胞因

子。目前,CD64 是细胞感染最具特异性和灵敏度的指标,因此,CD64 不仅能评估患者的病情,还能对患者的预后情况进行评估。淋巴细胞与血小板均是全身炎症反应性的相关指标。淋巴细胞能使机体免疫功能紊乱,大面积的烧伤及过度的急性炎症反应会使机体出现免疫抑制,从而缩减了外周循环中的淋巴细胞数目,甚至发生凋亡;患者烧伤后使血浆中大量物质渗出血管外,而血浆中物质成分的改变能使血小板聚集增强,容易形成血栓,进一步引发肺动脉血栓、深静脉血栓等并发症,增加患者死亡风险^[14]。徐龙等^[15]通过探讨 LPR 的变化趋势及特点,发现 LPR 与患者入院 90 d 内的存活率密切相关,可作为大面积烧伤预后的评估指标。改良 Baux 评分包含了烧伤患者的年龄、烧伤总面积、是否合并损伤三个维度对患者病情进行综合评估,既往多用于国外研究,国内较少有研究报道。多项研究表明^[16-17]改良 Baux 评分对烧伤患者病情评估及预后均有较高的应用价值,而本研究结果显示 Baux 评分评估患者的预测价值高于 CD64、LPR 单一预测指标,提示改良 Baux 评分具有较高的准确性。本研究 ROC 曲线分析显示,CD64、LPR、改良 Baux 评分对烧伤患者预后评估均有一定的预测价值,而三者联合检测预测价值会更高,提示临床可通过 CD64、LPR 联合改良 Baux 评分预测大面积烧伤患者的预后情况。

综上,CD64、LPR、改良 Baux 评分及时评估大面积烧伤患者的预后情况,对早期采取临床干预和治疗具有重要的指导意义。

参考文献

- [1] 吴坤平,陈佩,茹天峰,等. 功率自行车康复训练对大面积烧伤致下肢功能障碍患者股四头肌和步行能力影响的前瞻性随机对照研究[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2022, 38(5):447-453.
- [2] Kao Y, Loh EW, Hsu CC, et al. Fluid Resuscitation in Patients With Severe Burns: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials[J]. Acad Emerg Med, 2018, 25(3):320-329.
- [3] Patnaik R, Azim A, Agarwal V. Neutrophil CD64 a Diagnostic and Prognostic Marker of Sepsis in Adult Critically Ill Patients: A Brief Review[J]. Indian J Crit Care Med, 2020, 24(12):1242-1250.
- [4] Chiu YJ, Huang YC, Chen TW, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Extracorporeal Membrane Oxygenation in Patients with Burns [J]. Plast Reconstr Surg, 2022, 149(6):1181e-1190e.

(下转第 2149 页)

急性/亚急性脑静脉血栓患者血清CRP、PCT、NLR水平与静脉梗死的相关性

吴昌礼^{1*} 赵人杰² 何阳² 赵宝珠² 陈梦飞¹

[摘要] 目的 旨在分析急性/亚急性脑静脉血栓(CVT)患者中特定炎症生物标志物,包括降钙素原(PCT)、C反应蛋白(CRP)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)与静脉梗死的关系。方法 2016年7月至2021年12月,共招募82例诊断为CVT的患者。根据CVT分期和是否存在静脉梗死分为3组:急性/亚急性CVT伴静脉梗死(ASVI)组($n=44$)、急性/亚急性CVT不伴静脉梗死(ASOVI)组($n=26$)和慢性CVT组($n=12$)。在入院时评估了血清炎症生物标志物:CRP、PCT、中性粒细胞绝对计数、淋巴细胞绝对计数。并使用NIH卒中量表(NIHSS)评估患者入院时临床症状严重程度。结果 三组中性粒细胞计数,白细胞计数、NLR、CRP、PCT比较:ASVI组>ASOVI组>慢性CVT组,差异有统计学意义($H=8.731, 7.359, 23.650, 11.809, 16.336, P<0.05$)。NLR、血清CRP、PCT三者联合检测来鉴别ASVI和ASOVI的AUC为0.865,灵敏度和特异度分别为87.12%、100%。急性/亚急性CVT患者中,多变量Logistic回归分析显示NLR($HR=1.468, 95\%CI: 1.083\sim 1.989$)和PCT($HR=1.419, 95\%CI: 1.003\sim 1.835$)是静脉梗死发生的独立预测因子;且在入院时NLR、血清PCT水平与NIHSS呈正相关性($P<0.05$)。结论 在急性/亚急性CVT患者中,静脉梗死与潜在的炎症有关。NLR、PCT可作为反映急性/亚急性期CVT临床严重程度的生物标志物。

[关键词] 急性/亚急性脑静脉血栓; 炎症生物标志物; 静脉梗死; 中性粒细胞与淋巴细胞比值

Correlation between serum CRP, PCT and NLR levels in patients with acute / subacute cerebral venous thrombosis and venous infarction

WU Changli^{1*}, ZHAO Renjie², HE Yang², ZHAO Baozhu², CHEN Mengfei¹

(1. Department of Neurology, Dongfang People's Hospital, Dongfang, HaiNan, China, 572600; 2. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan, China, 570102)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between serum C-reactive protein (CRP), PCT and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) levels in patients with acute / subacute cerebral venous thrombosis (CVT) and venous infarction. **Methods** From July 2016 to December 2021, 82 patients diagnosed with CVT were recruited. According to CVT stage and the presence of venous infarction, they were divided into three groups: acute / subacute CVT with venous infarction (ASVI) group ($n=44$), acute/subacute CVT without venous infarction (ASOVI) group ($n=26$) and chronic CVT group ($n=12$). Serum inflammatory biomarkers: CRP, PCT, absolute neutrophil count and absolute lymphocyte count were evaluated at admission. The NIH Stroke Scale (NIHSS) was used to evaluate the severity of clinical symptoms at admission. **Results** Comparison of neutrophil count, white blood cell count, NLR, CRP, and PCT among the three groups: ASVI group > ASOVI group > chronic CVT group, the difference was statistically significant ($H=8.731, 7.359, 23.650, 11.809, 16.336, P<0.05$). ASVI group > ASOVI group > chronic CVT group. The combined detection of NLR, serum CRP, and PCT to identify ASVI and ASOVI had an AUC of 0.865, and a sensitivity and

基金项目:海南省自然科学基金面上项目(818MS173)

作者单位:1. 东方市人民医院神经内科,海南,东方 572600

2. 海南医学院第一附属医院神经内科,海南,海口 570102

*通信作者:吴昌礼, E-mail: wuchangli11833@126.com

specificity of 87.12% and 100%, respectively. In patients with acute / subacute CVT, multivariate logistic regression analysis showed that NLR ($HR=1.468$, 95% CI : 1.083~1.989) and PCT ($HR=1.419$, 95% CI : 1.003~1.835) were independent predictors of venous infarction. NLR and serum PCT levels were positively correlated with NIHSS at admission ($P<0.05$). **Conclusion** In patients with acute / subacute CVT, venous infarction is associated with underlying inflammation. NLR and PCT can be used as biomarkers reflecting the clinical severity of CVT in acute / subacute stage.

[KEY WORDS] Acute / subacute cerebral venous thrombosis; Inflammatory biomarkers; Venous infarction; Neutrophil to lymphocyte ratio

随着传统或新型成像技术的发展,大约60%的脑静脉血栓(cerebral venous thrombosis, CVT)患者发现有脑静脉梗死的情况^[1]。在急性/亚急性CVT患者中,脑静脉梗死的存在与更严重的临床表现和更差的预后相关^[2-3]。尽管进行了临床和实验研究,但CVT患者静脉梗死的潜在病理生理学仍存在争议。识别度相关的生物标志物可能有助于未来临床的防治工作。据最新研究表明,CVT后可能会发生炎症,并且与入院时临床症状的严重程度和出院时的不良预后显著相关^[4]。C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)在临床实践中进行常规检测,用于评估炎症水平^[5-6]。本文评估CRP、PCT、NLR水平与静脉梗死的相关性。

1 对象与方法

1.1 一般资料

研究方案由当地医院伦理委员会批准。在2016年7月至2021年12月期间,对连续入院的可能患有CVT的患者进行前瞻性筛查,共招募82例诊断为CVT的患者参与本研究。所有患者均知情并签署同意书。纳入标准如下:①年龄>18岁;②同意参与研究,并在入院时接受影像学和相关实验室检测;③CVT由经验丰富的神经科医生根据临床表现(头痛或与颅内高压、局灶性神经功能缺损、癫痫或脑病相一致的症状)和颅脑影像学(包括常规磁共振[MRI]、计算机断层扫描/静脉期血管造影[CT/CTA]、非对比二维飞行时间磁共振静脉造影或对比磁共振静脉造影[MRV])确诊为急性、亚急性或慢性CVT^[7];④至少完成1次随访预约。排除标准:入院时感染、自身免疫、炎症、严重的肝肾功能障碍、创伤性脑损伤、急性缺血性中风和/或血液学疾病的患者,以及因禁忌症或危急情况未接受MRI检查者。

1.2 分组

根据症状出现和入院之间的间隔时间,CVT可分为急性(0~7天)、亚急性(8~15天)或慢性(>15天)^[8]。静脉梗死被定义为脑实质病变的存在,包括局部水肿和瘀点或汇合性脑出血,MRI证实这是由脑静脉或窦闭塞引起的。所有CVT患者根据CVT分期和是否存在静脉梗死分为3组:急性/亚急性CVT伴静脉梗死(ASVI)组、急性/亚急性CVT不伴静脉梗死(ASOVI)组和慢性CVT组(包括伴和不伴静脉梗死的患者)。

1.3 各项炎症指标数据收集

收集人口统计学信息和心血管风险因素。临床因素包括入院时间、美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale, NIHSS)^[9]初始评分等。最初的NIHSS评分由本院神经科医生从入院到出院每天进行评估。入院后24 h内进行实验室检查,包括血清PCT、CRP水平和全血细胞计数。取血清,用全自动分析仪(XE-2100,日本Sysmex公司)检测CRP和PCT水平,试剂盒购于武汉Elabscience公司。另取全血,用全自动分析仪检测血细胞计数,试剂盒购于武汉Elabscience公司。

1.4 统计学方法

所有数据分析均使用SPSS版本20.0进行。正态计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析,两两比较用LSD检验;非正态计量资料用中位值(四分位间距, IQR)表示,采用Mann-Whitney检验或Kruskal-Wallis检验。计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线和曲线下面积(AUC)评估血清PCT。进行单变量和多变量Logistic回归分析急性/亚急性CVT患者静脉梗死的存在与临床特征以及血清PCT、NLR水平之间的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者临床资料比较

最终 82 例 CVT 患者被纳入研究, ASVI 组 44 例, ASOVI 组 26 例, CVT 组 12 例(4 例有静脉梗死, 8 例无静脉梗死)。三组性别、年龄、体重指数及头疼、视力丢失、重影、意识障碍、失语症、运动障碍、感觉丧失、癫痫、颅内高压、局灶性神经缺损、肥胖、偏头痛、遗传/获得性血栓前状态占比的比较差异无统计学意义($P>0.05$)。三组症状出现至入院时间比较: ASVI 组<ASOVI 组<慢性 CVT 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。三组 NIHSS 评分比较: ASVI 组>ASOVI 组和慢性 CVT 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 3组患者炎症相关指标比较

三组淋巴细胞计数、单核细胞计数、血小板计数、LDL、ESR 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。三组中性粒细胞计数、白细胞计数、NLR、CRP、PCT 比较: ASVI 组>ASOVI 组>慢性 CVT 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 NLR、CRP、PCT 鉴别 ASVI 和 ASOVI 的 ROC 曲线分析

NLR、血清 CRP、PCT 三者联合检测来鉴别 ASVI 和 ASOVI 的 AUC 为 0.865, 灵敏度和特异度分别为 87.12%、100%, 优于单一检测($P<0.05$)。见表 3 和图 1。

2.4 多元 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析显示 NLR 和 PCT 是静脉梗死发生的独立预测因子($P<0.05$)。见表 4。

表 1 3组患者临床特征资料比较 [$(\bar{x}\pm s), n(\%)$]

Table 1 Comparison of clinical characteristics among the three groups [$(\bar{x}\pm s), n(\%)$]

| 临床参数 | ASVI(n=44) | ASOVI(n=26) | 慢性 CVT(n=12) | F/H/ χ^2 | P 值 |
|--------------------------|----------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------|--------|
| 年龄(岁) | 56.11±13.01 | 57.35±16.07 | 55.17±16.78 | 0.106 | 0.899 |
| 男性 | 30(68.18) | 14(53.85) | 7(58.33) | 1.518 | 0.468 |
| 体重指数(kg/m ²) | 24.10±3.31 | 24.25±3.87 | 24.55±4.42 | 0.073 | 0.930 |
| 临床特征 | | | | | |
| 症状出现至入院时间(d) | 9.5(6.0, 19.0) | 15.0(6.5~24.0) ^a | 45.0(31.0~75.0) ^{ab} | 7.651 | <0.001 |
| 头疼 | 40(90.91) | 18(69.23) | 10(83.33) | 5.426 | 0.066 |
| 视力丢失 | 8(18.18) | 2(7.69) | 4(33.33) | 3.895 | 0.143 |
| 重影 | 4(9.09) | 1(3.85) | 2(16.67) | 1.766 | 0.414 |
| 意识障碍 | 6(13.64) | 0 | 0 | 5.591 | 0.061 |
| 失语症 | 6(13.64) | 2(7.69) | 0 | 2.176 | 0.337 |
| 运动障碍 | 5(11.36) | 3(11.54) | 0 | 1.520 | 0.468 |
| 感觉丧失 | 4(9.09) | 1(3.85) | 2(16.67) | 1.766 | 0.414 |
| 癫痫 | 11(25.0) | 5(19.23) | 1(8.33) | 1.646 | 0.439 |
| 颅内高压 | 30(68.18) | 16(61.54) | 8(66.67) | 0.325 | 0.850 |
| 局灶性神经缺损 | 13(29.55) | 9(34.62) | 2(16.67) | 1.281 | 0.527 |
| 高危因素 | | | | | |
| 肥胖 | 11(25.0) | 3(11.54) | 3(25.0) | 1.958 | 0.376 |
| 偏头痛 | 4(9.09) | 2(7.69) | 0 | 1.629 | 0.443 |
| 遗传/获得性血栓前状态 | 40(90.91) | 18(69.23) | 10(83.33) | 5.426 | 0.066 |
| NIHSS 评分 | 5.0(3.0, 8.0) | 1.0(0.0, 3.0) ^a | 1.0(0.0, 2.0) ^a | 22.669 | <0.001 |

注:与 ASVI 组相比, ^a $P<0.05$;与 ASPVI 组相比, ^b $P<0.05$ 。

表 2 3组患者炎症相关指标比较

Table 2 Comparison of inflammation-related indicators among the three groups

| 指标 | ASVI(n=44) | ASOVI(n=26) | 慢性 CVT(n=12) | H/F | P 值 |
|---------------------------|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------|--------|
| 中性粒细胞计数, $\times 10^9/L$ | 8.11(4.96, 9.32) | 6.21(4.60, 10.08) ^a | 4.32(3.70, 5.02) ^{ab} | 8.731 | 0.017 |
| 淋巴细胞计数, $\times 10^9/L$ | 1.72(1.05, 2.03) | 2.05(1.25, 3.08) | 2.34(1.30, 3.18) | 4.002 | 0.168 |
| 白细胞计数, $\times 10^9/L$ | 10.03(8.37, 11.90) | 9.23(7.78, 12.20) ^a | 7.27(6.21, 8.68) ^{ab} | 7.359 | 0.047 |
| 单核细胞计数, $\times 10^9/L$ | 0.57(0.40, 0.89) | 0.67(0.47, 0.93) | 0.64(0.42, 0.73) | 3.134 | 0.384 |
| 血小板计数, $\times 10^{12}/L$ | 215.0(185.5, 270.0) | 246.5(185.5, 287.75) | 209.0(174.0, 248.0) | 2.895 | 0.631 |
| NLR | 4.31(2.76, 8.09) | 2.86(2.14, 4.03) ^a | 1.53(0.98, 2.01) ^{ab} | 23.650 | <0.001 |
| LDL, mmol/L | 4.77±1.09 | 4.49±1.22 | 4.21±0.71 | 1.436 | 0.244 |
| ESR, mm/h | 14.1(8.71, 44.55) | 12.40(7.20, 34.15) | 14.15(6.50, 21.34) | 3.246 | 0.411 |
| CRP, mg/L | 16.83(11.57, 34.11) | 10.19(4.18, 22.86) ^a | 5.94(3.38, 11.81) ^{ab} | 11.809 | 0.003 |
| PCT, ng/mL | 2.88(0.75, 11.72) | 0.87(0.17, 1.94) ^a | 0.59(0.34, 1.09) ^{ab} | 16.336 | <0.001 |

注:与 ASVI 组相比, ^a $P<0.05$;与 ASPVI 组相比, ^b $P<0.05$ 。

表3 NLR、CRP、PCT 鉴别 ASVI 和 ASOVI 的效能分析
Table 3 Effectiveness Analysis of NLR, CRP and PCT in Identifying ASVI and ASOVI

| 指标 | 临界值 | AUC | 95% CI | 灵敏度 | 特异度 | P 值 |
|-----|------------|-------|-------------|-------|-------|--------|
| NLR | 10.95 mg/L | 0.668 | 0.532-0.804 | 0.833 | 0.447 | 0.020 |
| CRP | 0.54 ng/mL | 0.792 | 0.687-0.897 | 0.841 | 0.654 | <0.001 |
| PCT | 5.07 ng/mL | 0.775 | 0.668-0.882 | 0.455 | 1.000 | <0.001 |
| 联合 | | 0.865 | 0.821-0.965 | 0.871 | 1.000 | <0.001 |

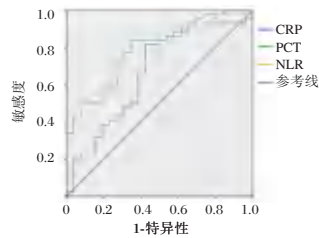


图1 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve

表4 急性/亚急性 CVT 患者静脉梗死患者特征和生物标志物之间相关性的多元 Logistic 回归分析

Table 4 Multivariate Logistic Regression Analysis of the Correlation between the Characteristics of Patients with Venous Infarction and Biomarkers in Acute/Subacute CVT Patients

| 指标 | B 值 | S.E. 值 | Walds | HR 值 | 95% CI | P 值 |
|-------------|-------|--------|-------|-------|--------------|-------|
| 意识丧失 | 0.984 | 1.290 | 0.580 | 2.675 | 0.214-33.488 | 0.446 |
| 遗传/获得性血栓前状态 | 1.637 | 0.961 | 2.905 | 5.140 | 0.782-33.779 | 0.088 |
| NLR | 0.384 | 0.155 | 6.135 | 1.468 | 1.083-1.989 | 0.013 |
| CRP | 0.013 | 0.014 | 0.782 | 1.013 | 0.985-1.042 | 0.376 |
| PCT | 0.299 | 0.156 | 3.754 | 1.419 | 1.003-1.835 | 0.041 |

2.5 入院时 NLR、PCT、CRP 与 NIHSS 的关系

在急性/亚急性 CVT 患者中,入院时 NLR ($r=0.399, P=0.007$)、血清 PCT 水平 ($r=0.391, P=0.009$) 与 NIHSS 评分呈正相关。血清 CRP 与 NIHSS 评分无相关 ($r=0.190, P=0.217$)。校正年龄、性别、入院时间后,多元线性回归分析结果显示,入院时 NLR ($\beta=0.230, 95\% CI: 0.041-0.420, P=0.019$)、血清 PCT 水平 ($\beta=0.041, 95\% CI: 0.003-0.085, P=0.044$) 与 NIHSS 评分呈正相关性。

3 讨论

本研究对 82 例 CVT 患者进行了横断面研究,主要评估了血清中与炎症相关的生物标志物水平及其与静脉梗死的关系。结果显示,急性/亚急性 CVT 患者 NLR、CRP、PCT 明显高于慢性 CVT 患者。此外,在急性/亚急性 CVT 患者中,较高水平的 NLR、PCT 与静脉梗死相关,ROC 分析对

静脉梗死具有良好的预测价值(AUC 分别为 0.792 和 0.775)。而且 NLR、PCT 与入院时 NIHSS 呈线性正相关,说明可以反映急性/亚急性 CVT 患者临床症状的严重程度。

CVT 相较于动脉血栓较为罕见,而且患病人群普遍更年轻化^[2-3]。与动脉血栓不同的是, CVT 的时间表现具有高度特异性,从发作到更隐匿的形式,并伴有持续性头痛,其发作有时可能难以确定^[10]。治疗的决定取决于症状的持续时间,因为慢性形式通常不受益于抗凝治疗。炎症和炎症生物标志物在血栓性疾病(即脑血管疾病)中的作用是最近讨论的主题。一些研究探讨了 NLR 和 CRP 在动脉梗死中的作用^[4-5]。然而,关于他们参与其他脑血管疾病,如 CVT 的数据仍然很少。

与慢性 CVT 人群相比,急性/亚急性 CVT 患者 NLR、PCT、CRP 增加,这是 CVT 炎症增强的直接证据。我们的研究表明,中性粒细胞在急性/亚急性 CVT 中存在早期浸润,虽然急性/亚急性 CVT 没有发现白细胞减少,但我们确实观察到淋巴细胞计数降低的趋势,慢性期淋巴细胞增多,中性粒细胞减少。因此,观察到 NLR 结果似乎可以反映这种病理变化。之前的研究表明,动脉粥样硬化血栓形成和静脉血栓形成中存在明显的炎症^[11]。CRP 作为全身炎症的可靠生物标志物,与心血管疾病有关^[12-14]。众所周知,缺血性中风^[13]和心肌梗死^[14]在急性和亚急性阶段表现出轻度炎症反应,例如血清 CRP、PCT 水平升高。据报道,根据 NIHSS 的计算值,PCT、NLR 与中风严重程度相关。最近的一项实验研究表明,CVT 诱导的血脑屏障破坏和静脉梗死可能依赖于炎症细胞的浸润,这有助于 CVT 的水肿反应^[13]。在这项研究中,我们发现血清 CRP、PCT 与急性/亚急性 CVT 患者的静脉梗死显著相关。此外,入院时血清 PCT 水平与 NIHSS 呈正相关,这证实了之前的研究结果^[12],并进一步强调了炎症在与静脉梗死相关的血脑屏障破裂中的重要作用。然而,CVT 与静脉血栓栓塞(如深静脉血栓或肺栓塞)具有相同的风险因素,炎症是静脉血栓栓塞的几种风险因素(如癌症、感染、自身免疫状况、创伤、手术、妊娠)的共同特征^[15]。炎症可以破坏止血系统,促进血栓形成^[13]。总之,NLR、CRP、PCT 可能与急性/亚急性 CVT 患者的静脉梗死显著相关,尤其是入院时 NLR 和 PCT 是发生静脉梗死的独立预测因素。这

些结果表明,炎症反应可能参与了 CVT 患者静脉梗死的发病机制。因此,抗炎治疗可能是急性/亚急性 CVT 伴静脉梗死的一种有前途的治疗策略。未来需要更大样本量的纵向研究和对这些生物标志物的系列评估来证实这些发现。

参考文献

- [1] 侯丽敏,刘芳艳,孟雪,等.急性缺血性脑卒中和颅内静脉窦及脑静脉血栓形成患者血管内治疗术后发生下肢深静脉血栓形成的影响因素及其预测指标研究[J].实用心脑血管病杂志,2021,29(10):42-46,52.
- [2] 李晶晶,龚沈初,姜洪标,等.脑静脉血栓形成的影像特征及诊断[J].南京医科大学学报(自然科学版),2019,39(11):1650-1653+1662.
- [3] Cohen O, Pegoraro S, Ageno W. Cerebral venous thrombosis [J]. *Minerva Med*, 2021, 112(6):755-766.
- [4] Zhang X, Ding R, Li H, et al. An association between inflammation and cerebral venous thrombosis: a retrospective study [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30(11):106084.
- [5] 李爱林,袁鼎山.脓毒症患者血清 CRP、sTREM-1 和 PCT 水平变化及其临床意义研究[J].东南大学学报(医学版),2018,37(4):729-733.
- [6] Shatzel JJ, O'Donnell M, Olson SR, et al. Venous thrombosis in unusual sites: A practical review for the hematologist [J]. *Eur J Haematol*, 2019, 102(1):53-62.
- [7] Ferro JM, Bousser MG, Canhão P, et al. European Stroke Organization guideline for the diagnosis and treatment of cerebral venous thrombosis - endorsed by the European Academy of Neurology [J]. *Eur J Neurol*, 2017, 24(10):1203-1213.
- [8] Ghoneim A, Straiton J, Pollard C, et al. Imaging of cerebral venous thrombosis [J]. *Clin Radiol*, 2020, 75(4):254-264.
- [9] Kwah LK, Diong J. National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) [J]. *J Physiother*, 2014, 60(1):61.
- [10] 孟强.加强脑静脉血栓形成早期征象的识别[J].中华老年心脑血管病杂志,2021,23(11):1121-1124.
- [11] Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, et al. Circulating platelets as mediators of immunity, inflammation, and thrombosis [J]. *Circ Res*, 2018, 122(2):337-351.
- [12] Lasek-Bal A, Jedrzejowska-Szypulka H, Student S, et al. The importance of selected markers of inflammation and blood-brain barrier damage for short-term ischemic stroke prognosis [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2019, 70(2):209-217.
- [13] Lee S, Song IU, Na SH, et al. Association between long-term functional outcome and change in hs-CRP level in patients with acute ischemic stroke [J]. *Neurologist*, 2020, 25(5):122-125.
- [14] Gholoobi A, Askari VR, Naghedinia H, et al. Colchicine effectively attenuates inflammatory biomarker high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in patients with non-ST-segment elevation myocardial infarction: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(5):1379-1387.
- [15] 何琪芳,刘军,李超,等.中性粒细胞/淋巴细胞值、中性粒细胞/前白蛋白值对脓毒症患者预后及器官损伤早期预警价值的研究[J].东南大学学报(医学版),2021,40(2):141-147.

(上接第 2144 页)

- [5] 郑建军,王子恩,郑林文,等.血常规指标及其比值对成年大面积烧伤患者预后的判断价值[J].中华烧伤杂志,2020,36(12):1167-1172.
- [6] Osler T, Glance LG, Hosmer DW. Simplified estimates of the probability of death after burn injuries: extending and updating the baux score [J]. *J Trauma*, 2010, 68(3):690-697.
- [7] 张成书,王俊,李恒,等.烧伤患者血清炎症因子、Ang II、可溶性选择素及 CD46 变化[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(7):1145-1148.
- [8] 朱思前,李燕,于海萍,等.2015-2019年北京市烧伤病例流行特征[J].华南预防医学,2020,46(6):695-697+705.
- [9] 曾洁梅,蔡柔妹,黄伟丽,等.大面积烧伤患者的流行病学特点及预后影响因素分析[J].中国公共卫生管理,2022,38(3):407-410.
- [10] 孙海伟,毛自若,周保纯,等.特重度烧伤患者预后影响因素的 COX 回归分析[J].中华急诊医学杂志,2021,30(1):89-92.
- [11] Focerrada G, Culnan DM, Capek KD, et al. Inhalation Injury in the Burned Patient [J]. *Ann Plast Surg*, 2018, 80(3 Suppl 2):S98-S105.
- [12] 肖昆,赵斐,廖新成,等.早期纠正凝血功能障碍降低大面积烧伤成年患者 28d 病死率[J].中南大学学报(医学版),2021,46(8):851-857.
- [13] 张茜,王志学,闫欣欣,等.CD64 指数在特重度烧伤脓毒症患者预后评估中的价值[J].山东医药,2017,57(9):84-86.
- [14] 叶慧,张钧,谢鑫友.红细胞分布宽度与血小板计数比值、中性粒细胞计数与血小板计数比值对严重烧伤患者的预后评估[J].临床检验杂志,2021,39(1):40-42.
- [15] 徐龙,胡伦阳,王宝丽,等.早期淋巴细胞/血小板比值对大面积烧伤患者预后的意义[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(1):57-62.
- [16] 谢志勤,郭光华,杨珍,等.三种评分预测严重烧伤患者死亡风险的对比研究[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(2):184-189.
- [17] Yoshimura Y, Saitoh D, Yamada K, et al. Comparison of prognostic models for burn patients: A retrospective nationwide registry study [J]. *Burns*, 2020, 46(8):1746-1755.

微小RNA-375在急性胰腺炎患者外周血中的表达及与并发急性肝损伤的相关性

陈映群 张卫星* 尹子涵 林旭伟

[摘要] 目的 探讨急性胰腺炎(AP)患者外周血中微小RNA-375(miRNA-375)表达及与并发急性肝损伤(ALI)的相关性。方法 选取2020年1月至2021年12月北京大学深圳医院AP患者146例为观察组,同期选取健康体检者45名为对照组。比较两组血清miRNA-375水平及不同病情AP患者血清miRNA-375、淀粉酶水平、急性生理学及慢性健康状况评分系统(APACHE II)评分、Ranson评分、改良CT严重指数(MCTSI),分析AP患者血清miRNA-375水平与淀粉酶水平、APACHE II评分、Ranson评分、MCTSI指数相关性,二元Logistic回归分析AP患者并发ALI的影响因素,受试者工作特征(ROC)分析miRNA-375对AP患者并发ALI的预测价值。结果 观察组血清miRNA-375水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);重型AP(SAP)患者血清miRNA-375、淀粉酶水平、APACHE II评分、Ranson评分、MCTSI指数高于轻型AP(MAP)患者,差异均有统计学意义($P<0.05$);AP患者血清miRNA-375水平与淀粉酶水平、APACHE II评分、Ranson评分、MCTSI指数均呈正相关($P<0.05$);二元Logistic回归分析显示,淀粉酶、miRNA-375升高为AP患者并发ALI的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线显示,miRNA-375预测AP患者并发ALI的AUC为0.810,对应特异度、敏感度分别为0.746、0.791。结论 AP患者血清miRNA-375异常高表达,与患者病情严重程度有关,且可作为并发ALI的预测标志物。

[关键词] 急性胰腺炎;微小RNA-375;病情;急性肝损伤

Expression of microRNA-375 in peripheral blood of patients with acute pancreatitis and its correlation with concurrent acute liver injury

CHEN Yingqun, ZHANG Weixing*, YIN Zihan, LIN Xuwei

(Intensive Care, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of microRNA - 375 (miRNA - 375) in peripheral blood of patients with acute pancreatitis (AP) and its correlation with concurrent acute liver injury (ALI). **Methods** From January 2020 to December 2021, 146 AP patients in Peking University Shenzhen Hospital were selected as the observation group, and 45 healthy subjects were selected as the control group during the same period. The serum miRNA-375 levels of the two groups, serum miRNA-375, amylase levels, acute physiology and chronic health status scoring system (APACHE II) score, Ranson score, and modified CT severity index (MCTSI) in AP patients with different conditions were compared. The correlation between miRNA - 375 level and amylase level, APACHE II score, Ranson score, MCTSI index, binary logistic regression analysis of the influencing factors of AP patients complicated with ALI were analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) analysis was drawn to evaluate the effect of miRNA - 375 on AP patients complicated with ALI predicted value. **Results** The serum miRNA - 375 level in the observation group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum miRNA-375, amylase level, APACHE II score, Ranson score and MCTSI index in patients with severe AP (SAP) were

基金项目:创伤、烧伤与复苏国家重点实验室开放基金项目(SKLF202011)

作者地址:北京大学深圳医院重症医学科,广东,深圳 518000

*通信作者:张卫星, E-mail:gdh4597@163.com

higher than those in mild AP. AP (MAP) patients, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Serum miRNA-375 level in AP patients was positively correlated with amylase level, APACHE II score, Ranson score, MCTSI index ($P < 0.05$). Binary Logistic Regression analysis showed that elevated amylase and miRNA-375 were independent risk factors for AP patients complicated with ALI ($P < 0.05$). The ROC curve showed that the AUC of miRNA-375 in predicting AP patients with ALI was 0.810, and the corresponding specificity and sensitivity were 0.746 and 0.791, respectively. **Conclusion** The abnormally high expression of serum miRNA-375 in AP patients is related to the severity of the disease and can be used as a predictive marker for concurrent ALI.

[KEY WORDS] Acute pancreatitis; MicroRNA-375; Disease condition; Acute liver injury

急性胰腺炎(Acute pancreatitis, AP)是临床最常见急腹症之一,发展迅速、预后凶险,可伴有其他器官功能改变,严重者合并多器官功能障碍综合征^[1]。研究指出,AP时胰外脏器距胰腺越近,损伤风险越大,急性肝损伤(Acute liver injury, ALI)最为常见^[2]。ALI可通过释放大量炎症介质、影响毒素代谢等途径进一步加重全身炎症反应,增加AP死亡率^[3]。因此,及时准确评估AP严重程度、尽早预测ALI并积极治疗,显得尤其重要。微小RNA(miRNA)是内源性非编码RNA,广泛参与炎症反应及发育、代谢等多种生理病理过程。近年研究发现,miRNA与AP发生、发展密切相关^[4-5]。傅冬阳等^[6]利用miRNA表达谱芯片及荧光定量聚合酶链反应得出miRNA-375在AP患者血清中明显高表达,且与病情程度有关。但关于miRNA-375与AP并发ALI的相关性,尚未见研究报道。因此,本研究对此展开探讨,旨在为临床合理治疗提供依据。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2021年12月北京大学深圳医院AP患者146例为观察组,纳入标准:均符合AP诊断标准^[7];发病24h内就诊;病例有完整记录;患者或家属知情同意。同期选取健康体检者45名为对照组,纳入标准:体检未见异常;知情同意并签署同意书。排除标准:合并慢性肝功能不全;冠心病病史;肝恶性肿瘤;7d内有大量饮酒、服用肝毒性药物等可疑引发肝损伤行为;恶性肿瘤、艾滋病等重大影响免疫力的疾病;孕妇或哺乳期妇女。观察组男84例,女62例,年龄43~75岁,平均(61.28±6.35)岁,合并糖尿病13例,高血压25例。对照组男25名,女20名,年龄43~75岁,平均(61.28±6.35)岁。两组基线资料均衡可比($P > 0.05$)。本研究经院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集患者一般资料,包括年龄、性别、合并症、肝功能指标[碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)、丙氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酰转肽酶(Gamma glutamyl transferase, GGT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素]、血液学参数、淀粉酶、急性生理学及慢性健康状况评分系统(Acute Physiology and Chronic Health Status Scoring System, APACHE II)评分、Ranson评分、改良CT严重指数(Modified CT severity index, MCTSI)。

1.2.2 血清miRNA-375检测

采集空腹肘静脉血3 mL,离心(时间5 min,半径8 cm,转速1800 r/min),取血清,提取总RNA,进行逆转录-聚合酶链反应,U6作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-375相对表达量。

1.2.3 AP病情程度:轻型AP(Mild acute pancreatitis, MAP)

轻度器官功能不良,无SAP临床表现,对恰当补液反应良好,CT增强可见胰实质正常。重型AP(Severe acute pancreatitis, SAP):AP伴有器官衰竭和/或局部并发症。

1.2.4 ALI诊断标准^[8]

(1)ALT和AST升高 $\geq 3 \times$ 参考范围(upper limit of normal, ULN);(2)ALP或GGT升高 $\geq 2 \times$ ULN。符合(1)或(2)为ALI。ALT和AST的ULN均为40 IU/L;ALP的ULN为160 U/L;GGT的ULN为50 U/L。

1.3 统计学处理

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,以 t 检验进行组间比较;计数资料用 $n(\%)$ 表示,以 χ^2 检验进行统计分析;采用Pearson分析相关性;二元Logistic回归分析ALI影响因素;诊断价值采用受试者工作特征(ROC)曲线,

获取 AUC、置信区间、敏感度、特异度。均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 miRNA-375 水平比较

观察组血清 miRNA-375 水平为 (3.49 ± 0.68) , 显著高于对照组的 (0.59 ± 0.09) , 差异有统计学意义

($t = 28.481, P < 0.001$)。

2.2 不同病情 AP 患者血清 miRNA-375 水平、淀粉酶水平、APACHE II 评分、Ranson 评分、MCTSI 指数比较

SAP 患者血清 miRNA-375 水平、淀粉酶水平、APACHE II 评分、Ranson 评分、MCTSI 指数均显著高于 MAP 患者,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同病情 AP 患者血清 miRNA-375 水平、淀粉酶水平、APACHE II 评分、Ranson 评分、MCTSI 指数 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Serum miRNA-375 level, amylase level, APACHE II score, Ranson score, MCTSI index in AP patients with different conditions ($\bar{x} \pm s$)

| 病情程度 | n | miRNA-375 | 淀粉酶 (IU/L) | APACHE II 评分 (分) | Ranson 评分 (分) | MCTSI 指数 |
|------|----|-----------|--------------|------------------|---------------|-----------|
| MAP | 75 | 3.19±0.65 | 208.26±55.63 | 3.46±1.08 | 2.51±0.84 | 2.26±0.79 |
| SAP | 71 | 3.81±0.74 | 313.69±79.64 | 7.09±1.57 | 6.25±1.12 | 6.38±1.05 |
| t 值 | | 5.386 | 9.314 | 16.351 | 22.905 | 26.883 |
| P 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.3 AP 患者血清 miRNA-375 水平与淀粉酶水平、APACHE II 评分、Ranson 评分、MCTSI 指数相关性

AP 患者血清 miRNA-375 水平与淀粉酶水平 ($r = 0.643, P < 0.001$)、APACHE II 评分 ($r = 0.856, P < 0.001$)、Ranson 评分 ($r = 0.830, P < 0.001$)、MCTSI 指数 ($r = 0.893, P < 0.001$) 均呈正相关。

2.4 AP 患者并发 ALI 的单因素分析

146 例 AP 患者中, 91 例并发 ALI, 55 例无 ALI。并发 ALI 的 AP 患者血清淀粉酶、miRNA-375 水平均显著高于无 ALI 者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.5 二元 Logistic 回归分析

以是否发生 ALI 为因变量, 以淀粉酶和 miRNA-375 为自变量进行二元 Logistic 回归分析, 结果显示, 淀粉酶和 miRNA-375 升高为 AP 患者并发 ALI 的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.6 淀粉酶、miRNA-375 对 AP 患者并发 ALI 的预测价值

ROC 曲线显示, miRNA-375 预测 AP 患者并发 ALI 的 AUC 为 0.810, 95%CI 为 0.735~0.884, cut-off 值 3.31, 对应特异度、敏感度分别为 0.746、0.791; 淀粉酶预测 AP 患者并发 ALI 的 AUC 为 0.708, 95%CI 为 0.608~0.875, cut-off 值 259.72 IU/L, 对应特异度、敏感度分别为 0.711、0.736。见图 2。

3 讨论

AP 可累及胰腺周围组织及远隔器官, 以全身炎

表 2 AP 患者并发 ALI 的单因素分析 [$n(\%), (\bar{x} \pm s)$]
Table 2 Univariate analysis of AP patients complicated with ALI [$n(\%), (\bar{x} \pm s)$]

| 临床特征 | ALI (n=91) | 无 ALI (n=55) | χ^2/t 值 | P 值 |
|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| 年龄 | | | | |
| <60 岁 | 39 (42.86) | 31 (56.36) | 2.506 | 0.113 |
| ≥60 岁 | 52 (57.14) | 24 (43.64) | | |
| 性别 | | | 0.015 | 0.902 |
| 男 | 52 (57.14) | 32 (58.18) | | |
| 女 | 39 (42.86) | 23 (41.82) | | |
| 糖尿病 | | | 0.057 | 0.812 |
| 有 | 9 (9.89) | 4 (7.27) | | |
| 无 | 82 (90.11) | 51 (92.73) | | |
| 高血压 | | | 0.413 | 0.520 |
| 有 | 17 (18.68) | 8 (14.55) | | |
| 无 | 74 (81.32) | 47 (85.45) | | |
| 肝功能指标 | | | | |
| ALP (U/L) | 138.82±64.26 | 129.65±57.39 | 0.869 | 0.386 |
| ALT (U/L) | 159.32±71.08 | 151.07±62.37 | 0.711 | 0.478 |
| GGT (U/L) | 251.63±76.89 | 243.58±65.72 | 0.647 | 0.519 |
| AST (U/L) | 102.51±36.82 | 95.07±33.28 | 1.226 | 0.222 |
| 总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$) | 29.84±9.65 | 28.72±8.43 | 0.712 | 0.478 |
| 血液学参数 | | | | |
| 中性粒细胞 ($\times 10^9/\text{L}$) | 12.06±3.51 | 11.35±3.07 | 1.240 | 0.217 |
| 白细胞计数 ($\times 10^9/\text{L}$) | 12.57±3.81 | 11.50±3.42 | 1.708 | 0.090 |
| 淋巴细胞 ($\times 10^9/\text{L}$) | 0.97±0.29 | 1.05±0.27 | 1.657 | 0.100 |
| 淀粉酶 (IU/L) | 282.53±72.49 | 221.47±53.61 | 5.413 | <0.001 |
| APACHE II 评分 (分) | 5.39±1.51 | 4.96±1.28 | 1.763 | 0.080 |
| Ranson 评分 (分) | 4.44±1.08 | 4.15±0.97 | 1.633 | 0.105 |
| MCTSI 指数 | 4.36±1.16 | 4.09±0.92 | 1.469 | 0.144 |
| miRNA-375 | 3.72±0.71 | 3.11±0.63 | 5.244 | <0.001 |

表3 AP患者并发ALI的多因素 Logistic 回归分析
Table 3 Multi factor Logistic Regression Analysis of AP Patients Complicated with ALI

| 因素 | β值 | SE值 | Wald χ ² 值 | OR值 | 95% CI | P值 |
|-----------|-------|-------|-----------------------|-------|-------------|--------|
| 淀粉酶 | 1.374 | 0.527 | 6.798 | 3.951 | 2.083~7.495 | <0.001 |
| miRNA-375 | 1.779 | 0.551 | 10.421 | 5.922 | 3.824~9.172 | <0.001 |

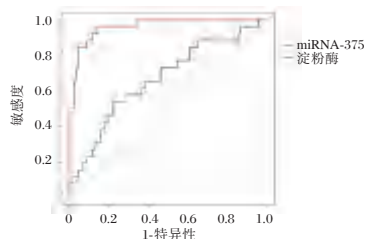


图2 ROC 曲线
Figure 2 ROC curve

症反应、多器官功能障碍综合征为主要病理特征^[9]。AP发生时,大量炎症因子经门静脉进入肝脏,引起ALI,而ALI又会引起对胰源性致病因素的屏障作用损伤,进一步加重患者病情,增加患者病死率^[10]。因此,应对AP合并的ALI予以充分重视。

miRNA参与细胞增殖、分化、凋亡等一系列生命过程中的重要进程,生物信息学统计表明,现阶段已发现的miRNA调节人类基因达50%以上^[11]。血清miRNA具有稳定性高、取材方便、检测快速的特性,可作为疾病的诊断及预后评价的无创生物标志物。miRNA-375是在胰腺组织中检测到的第一个miRNA,可在胰腺中高度特异性表达^[12]。miRNA-375在胰腺中的作用包括调控胰腺细胞生长及B细胞分化,进而调节胰岛素分泌,因而早期研究主要集中在胰腺、miRNA-375、糖尿病三者的关系^[13]。近年研究发现,AP患者血清miRNA-375显著上调,且可用于病情严重程度评估^[14]。本研究显示,AP患者血清miRNA-375水平明显高于健康体检者,且与淀粉酶水平、APACHE II评分、Ranson评分、MCTSI指数均呈正相关,与上述报道一致。有研究指出,miRNA-375可特异性调节胰岛表达,抑制胰岛素分泌,诱发胰岛素抵抗^[15]。胰岛素抵抗是一种慢性炎症状态,对AP起致病性作用,同时,炎症因子通过Janus酪氨酸蛋白激酶信号传导与转录激活蛋白(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)干扰葡萄糖代谢功能,加重胰岛素抵抗,形成恶性循环,加重AP炎症反应过程^[16]。因此,miRNA-375可能成为AP诊断及病情评价的生物标志物。

AP常并发胰外脏器损伤(肝、肾等),而肝脏是胰腺血液回流第一站,可认为是最主要累及的胰外脏器之一^[17]。研究报道,SAP患者肝损伤发生率高达88.9%^[18]。本研究显示,146例AP患者中,91例并发ALI,发生率为62.33%(91/146),与上述报道存在差异,考虑与病例选取有关。目前,已有研究评估miRNA-375在AP患者诊断、病情评价中的作用,然而其对AP并发ALI的预测价值尚不明确。本研究创新性探讨发现,AP患者并发ALI者血清miRNA-375水平显著高于无ALI者,且二元Logistic回归分析显示,miRNA-375升高为AP患者并发ALI的独立危险因素,表明miRNA-375可一定程度预测AP患者并发ALI的风险。胰岛素抵抗可引起肝细胞防御能力(抗脂质毒性、抗氧化等)减弱,促进脂质溶解,促进肝细胞内脂质沉积,导致肝细胞损伤^[19]。因此,推测AP患者miRNA-375高表达可能通过诱导胰岛素抵抗引发ALI。另研究显示,miRNA-375可调控Hippo信号通路的下游效应器Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)^[20],而YAP活性变化可对肝脏结构及功能产生重要影响^[21],也可能是miRNA-375促进AP发生ALI的机制之一。ROC曲线分析表明,miRNA-375预测AP患者并发ALI的AUC为0.810,高于淀粉酶,对应特异度、敏感度分别为0.746、0.791,进一步提示miRNA-375对ALI发生风险具有较高预测价值,从而指导临床尽早采取针对性干预措施。

综上所述,AP患者血清miRNA-375异常高表达,与患者病情严重程度有关,且可作为并发ALI的预测标志物,为早期针对性治疗提供参考。

参考文献

- [1] Masamune A, Hamada S, Kikuta K. Implementation of Pancreatitis Bundles Is Associated With Reduced Mortality in Patients With Severe Acute Pancreatitis in Japan [J]. *Pancreas*, 2021, 50(2): e24-e25.
- [2] 刘玉兰,王洋. 重症急性胰腺炎致肝损伤的诊断和治疗 [J]. *中华消化杂志*, 2019, 39(5): 292-294.
- [3] 党琳,宋亮,张晓芹,等. 柴苓承气汤通过抑制TLR4/NF-κB p65通路减轻小鼠重症急性胰腺炎并发肝损伤 [J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(1): 134-139.
- [4] Yang Y, Huang Q, Luo C, et al. MicroRNAs in acute pancreatitis: From pathogenesis to novel diagnosis and therapy [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11): 1948-1961.
- [5] 张薇,冯海娟. 急性胰腺炎患者体表胃电参数与外周血miR-551-5p、MicroRNA141变化的关系 [J]. *现代消化及介入诊疗*, 2021, 26(8): 1034-1037. (下转第2158页)

中国汉族人群肺结核易感 *HLA* 基因型荟萃分析

吕钰冰^{1,2} 林国旺¹ 何鹏¹ 林丽娟¹ 方艳平¹ 江凌晓^{1*}

[摘要] 目的 研究汉族人群肺结核的易感 *HLA* 基因型,并精确定位易感 *HLA* 基因编码的关键氨基酸位点。方法 本研究基于公开的北方汉族人 SNP 芯片数据开展基因型插补(imputation),获得 967 例肺结核病例和 7 034 例对照样本的 MHC 区间变异位点及经典 *HLA* 等位基因型信息;利用逻辑回归模型分析遗传变异与肺结核的关联性;基于本研究及上海地区发表的肺结核关联分析结果(含 833 个肺结核病例和 1 220 个对照)开展荟萃分析以明确汉族人群肺结核风险 *HLA* 等位基因型,并精确定位易感基因的关键氨基酸位点。结果 *HLA* 区间肺结核 SNP 荟萃分析结果显示 *HLA-B* 区间存在两个显著位点 rs112974895 ($OR=1.35; P=6.44\times 10^{-7}$)、rs9266067 ($OR=1.34; P=1.31\times 10^{-6}$)。肺结核 *HLA* 基因型荟萃分析发现共有 4 个 *HLA* 等位基因型与肺结核显著关联,*HLA-B*46:01* 关联性最为显著 ($OR=1.44; P=2.98\times 10^{-7}$),其余 3 个显著关联的基因分别为 *HLA-DQA1*01:03* ($OR=1.28; P=1.36\times 10^{-4}$)、*HLA-DQA1*01:04* ($OR=1.37; P=2.63\times 10^{-4}$)、*HLA-DQB1*06:01* ($OR=1.31; P=5.32\times 10^{-5}$),其中 *HLA-B* 首次被报道为汉族人肺结核风险基因。精细定位分析发现,*HLA-B* 基因的第 66-69-76 位氨基酸构成的单倍型 Lys66-Arg69-Val76 与肺结核发病密切相关 ($OR=1.53, P=1.92\times 10^{-5}$),是易感基因的关键氨基酸位点。*HLA-B*46:01* 与麻风病发病密切相关 ($OR=0.33, P=1.13\times 10^{-10}$),但其作用与肺结核的相反,是麻风病的保护因素。结论 本研究证明 *HLA-B*46:01* 是汉族人的肺结核易感基因型,同时发现该基因型在麻风病中起保护作用,为疾病的精准防治提供新的参考依据。

[关键词] 肺结核;遗传易感性;*HLA* 基因;麻风病

A meta-analysis of *HLA* genotypes of tuberculosis susceptibility in Chinese Han population

LV Yubing^{1,2}, LIN Guowang¹, HE Peng¹, LIN Lijuan¹, FANG Yanping¹, JIANG Lingxiao^{1*}

(1. Department of Laboratory Medicine, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510000; 2. Department of Laboratory Medicine, Panyu Central Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 511400)

[ABSTRACT] **Objective** To study the *HLA* genotypes susceptible to tuberculosis in Han population, and to accurately locate the key amino acid sites of susceptible *HLA* genes. **Method** This study carried out imputation genotype on SNP chip data of Han population in northern China, so as to obtain MHC region mutation site and classical *HLA* allele information of 967 pulmonary tuberculosis cases and 7 034 control samples; Logistic regression model was used to analyze the association between these genetic variants and pulmonary tuberculosis; Based on the results of this study and the association analysis of pulmonary tuberculosis published in Shanghai (including 833 pulmonary tuberculosis cases and 1 220 controls), a meta-analysis was conducted to identify *HLA* alleles at risk of pulmonary tuberculosis in Han population, and fine mapped the key amino acid sites of susceptible genes. **Result** Meta analysis of tuberculosis SNP in *HLA* region showed that there were two significant loci rs112974895 ($OR=1.35; P=6.44\times 10^{-7}$)、rs9266067 ($OR=1.34; P=1.31\times 10^{-6}$) in *HLA-B* region. A meta-analysis of *HLA* genotypes in tuberculosis found that there were 4 *HLA* alleles significantly associated with pulmonary tuberculosis, among which *HLA-B*46:01* was the most significant ($OR=$

基金项目:广东省重点研发计划项目(2019B020231001)

作者单位:1.南方医科大学珠江医院检验医学部,广东,广州 510000

2.广州市番禺区中心医院检验科,广东,广州 511400

*通信作者:江凌晓, E-mail:jiang-lingxiao@163.com

1.44; $P=2.98 \times 10^{-7}$), and the other three significantly associated genes were *HLA-DQA1*01:03* ($OR=1.28$; $P=1.36 \times 10^{-4}$), *HLA-DQA1*01:04* ($OR=1.37$; $P=2.63 \times 10^{-4}$), *HLA-DQB1*06:01* ($OR=1.31$; $P=5.32 \times 10^{-5}$), *HLA-B* was first reported as a tuberculosis risk gene in Han population. Fine mapping analysis showed that the haplotype lys66-arg69-val76 composed of amino acids 66-69-76 of *HLA-B* gene was closely associated with the incidence of pulmonary tuberculosis ($OR=1.53$, $P=1.92 \times 10^{-5}$), which is the key amino acid site of susceptibility genes. *HLA-B*46:01* was closely associated to leprosy ($OR=0.33$, $P=1.13 \times 10^{-10}$), but its effect is opposite to that of pulmonary tuberculosis and is a protective factor of leprosy. **Conclusion** This study proves that *HLA-B*46:01* is the susceptible genotype of pulmonary tuberculosis in the Han population, and it is also found that this genotype plays a protective role in leprosy. The results of this study can provide new reference for the precise prevention and treatment of diseases.

[KEY WORDS] Tuberculosis; Genetic predisposition; *HLA* genes; Leprosy

肺结核是结核分枝杆菌感染引起的慢性呼吸系统疾病。据统计,全球接近 1/3 人口感染过结核分枝杆菌,其中近 10% 感染者会进展为活动性肺结核,其余感染者则处于潜伏感染或恢复健康状态^[1]。肺结核的致病机制复杂,营养不良、拥挤的环境等因素与该疾病的发生、传播密切相关。此外研究表明遗传易感因素与肺结核发生也存在关联性^[2]。

目前已有多个国外人群的全基因组关联分析 (Genome-wide association study, GWAS) 研究揭示 *ASAPI*、*WT1*、*DUSP14* 等基因是肺结核的易感基因^[3-5], 并发现主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 区间 *HLA-DQ/DR* 基因与该疾病存在显著的关联性^[6]。在汉族人群中, 已开展了两项肺结核 GWAS 研究, 其中北京中心^[7]报道的 *MFN2*、*RGS12* 及上海中心^[8]报道的 *ESRRB*、*TGM6* 是汉族人的易感基因。此外, 北京中心的研究也证实 *HLA-DR/DQ* 基因区间存在肺结核易感单核苷酸多态性位点 (single nucleotide polymorphsim, SNP), 但上海中心的研究在该区间并未检出与肺结核显著关联信号。另一项南方汉族人群 *HLA* 与肺结核关联分析证实 *HLA-DRB1*14:54* 是该疾病风险基因, 还发现 *HLA-A*01:01* ($\chi^2=10.79$, $P=0.001$) 与肺结核存在一定关联性^[9]。上述研究提示, 不同研究间汉族人群肺结核易感 *HLA* 基因型存在较大差异, 这可能与纳入研究的样本量不足或不同地域汉族群体遗传背景差异有关, 与肺结核相关联的 *HLA* 风险基因型仍有待明确。

HLA 基因编码的蛋白在机体免疫过程中起到重要作用, 经典 *HLA-I* 类和 *II* 类基因多态性与多种感染性疾病发生密切相关^[10]。经典 *HLA* 分子主要负责呈递非己抗原并由 T 细胞识别, 抗原结合域氨基酸多态性决定了抗原肽结合的亲和力及

特异性, 影响抗原呈递并直接导致机体对病原清除能力差异。在 *HLA* 易感基因相关疾病中, 这种氨基酸位点被认为是疾病的因果变异。针对 *HLA* 区间, 关联分析常借助基因型插补以获得样本氨基酸多态性信息, 并通过单倍型及精细定位分析明确易感 *HLA* 基因的关键氨基酸位点, 为阐明疾病发生的分子机制提供更精准的依据。

1 材料与方法

1.1 研究样本

本研究所用的基因型数据来自 GEO 数据库, 样本均为汉族人。病例组含 1 008 个北方汉族人肺结核病例 (GSE83397), 使用 ZhongHua-8 芯片进行基因分型, 共有 894 541 个 SNP; 对照样本数据为 12 398 个自述健康的个体 (GSE131670), 使用 Human Exome Fine 芯片分型, 包含 270 241 个 SNP。麻风病易感 *HLA* 基因分析用 728 个麻风病例及 1 276 个对照基因型 (GSE119367) 使用 Human610-Quad 芯片进行基因分型, 含 3 397 个 SNP。肺结核易感基因荟萃分析还纳入 Ruijuan Zheng 等^[8]人发表的上海地区汉族人肺结核 GWAS 结果, 该数据集含有 833 个肺结核病例和 1 220 个健康对照。

1.2 数据质控

在 SNP 层面舍弃次要等位基因频率 (Minor Allele Frequency, MAF) 小于 0.01 或总体分型率小于 0.95 的 SNP, 并移除偏离哈迪温伯格平衡的位点 ($P < 1 \times 10^{-6}$); 在样本层面, 移除 SNP 总体检出率低于 0.95 的样本, 同时移除基因型异质性偏差过大的个体 (异质性位于均值 ± 3 倍标准差之外); 通过 IBD 分析 (identity by descent) 鉴定样本间情缘关系, 在一级或二级情缘关系的样本 (IBD 比例大于 0.185) 对中只保留分型检出率较高的个体; 最

后对 SNP 数据进行主成分分析(principal component analysis, PCA),该分析首先将 1 000 Genomes 数据库中北方汉族(Han Chinese in Beijing, CHB)和南方汉族(Han Chinese South, CHS)人群为参照,保留遗传背景更接近北方汉族人的个体。接着再对病例与对照组进行 PCA,并移除遗传背景离群的个体。上述分析均使用 Plink 1.9 完成。

本研究北方汉族人群数据质控后肺结核组保留 967 个样本(男性占 64.2%)含 803 621 个 SNP,对照组保留 7 034 个样本(男性占 51.5%)含 47 982 个 SNP;两者于 *HLA* 区间共有 1 389 个 SNP 可用于基因型插补。对插补数据进行质控,最终得到 17 397 个 SNP、114 个四位数分辨率 *HLA* 等位基因型及 557 个氨基酸位点。结合北方汉族人肺结核关联分析结果与上海地区发表的肺结核 GWAS 于 *HLA* 区间共有 12 494 个交集 SNP。麻风病易感 *HLA* 基因分析包括 728 个麻风病例及 1 276 个对照样本,比较肺结核与麻风病的易感 *HLA* 基因型针对麻风病队列基因型数据进行质控,共获得 2 525 个 SNP。

1.3 *HLA* 基因型和氨基酸位点插补

本研究选取数据质控后 6 号染色体 28 至 34 Mb 区间的基因型数据,以 Han-MHC 数据库作为单倍型参考面板(含 21 378 个单倍型)开展插补。样本基因型数据的定相(phasing)及插补工具均使用默认参数条件的 Beagle5.2 进行。插补后共获得 SNP、氨基酸位点、*HLA* 等位基因型三种变异类型。插补后只保留插补 INFO>0.6 的位点并将后推概率小于 0.9 的变异位点设置为缺失。

1.4 统计学方法

本研究的遗传易感性分析采用加性模型(additive model),即不同拷贝数的等位基因对于某一性状的整体作用等于单独作用之和。统计学方法层面,使用逻辑回归模型(logistic linear regression),分析 SNP、*HLA* 等位基因型与肺结核发病的关联性,模型纳入研究人群前 5 个主成分作为协变量,降低研究个体遗传背景差异对关联分析造成的干扰。利用荟萃分析统计本研究及已报道的肺结核关联分析结果,荟萃分析异质性指数 $I^2 < 30$ 时采用固定值效应模型(fixed-effects),否则采用随机效应值模型(random-effects)。通过连锁不平衡及条件逻辑回归分析矫正强连锁关联信号,精准定位肺结核发病相关的关键氨基酸位点。本研究 SNP 荟萃分析显著 P 值为 4×10^{-6} ,由单次假设检验

显著 P 值 0.05 校正 SNP 数量后获得(即 $0.05/12494$);*HLA* 基因型显著水平 P 值为 6.76×10^{-4} (即 $0.05/74$)。上述统计学分析均采用 Plink 1.9 完成。

2 结果

2.1 *HLA* 区间肺结核 SNP 荟萃分析

病例与对照组样本基因型数据 PCA 结果显示在 PC1 和 PC2 中无明显的人群分层现象,且遗传背景与 1000 Genomes 数据库北京汉族人群更为接近,见图 1A,被归为北方汉族队列。荟萃分析北方汉族人群队列与中部汉族人群队列(上海地区)两项 GWAS 结果,*HLA* 区间检出 122 个 SNP 达到显著阈值($P=4 \times 10^{-6}$,最显著 SNP 为 rs3135386 ($OR=1.39$; $P=1.04 \times 10^{-9}$),见图 1B。大部分显著易感 SNP 位于 *HLA II* 类基因区间,而 *I* 类基因 *HLA-B* 区间存在两个位点 rs112974895 ($OR=1.35$; $P=6.44 \times 10^{-7}$)、rs9266067 ($OR=1.34$; $P=1.31 \times 10^{-6}$)与表型的关联性达到了显著水平。

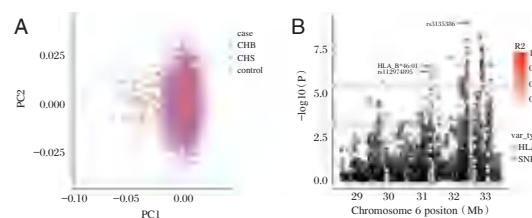


图 1 主成分分析及荟萃分析结果

Figure 1 Results of principal component analysis and meta-analysis

2.2 肺结核 *HLA* 基因型荟萃分析

对两组数据插补所得的 *HLA* 基因型进行荟萃分析,两者交集的 *HLA* 基因型(4 位数分辨率)共 74 个。基因型中达到假设检验显著阈值($P=6.76 \times 10^{-4}$)的 *HLA* 基因型共 4 个,见图 1、表 1。其中 *HLA-B*46:01* 与肺结核关联性最强,当携带该等位基因型增加一个拷贝时,个体的肺结核风险相应增加 1.44 倍($OR=1.44$, $P=2.98 \times 10^{-7}$)。其余 3 个显著关联的基因均位于 *HLA-DR/DQ* 区间,分别为 *HLA-DQB1*06:01* ($OR=1.31$, $P=5.32 \times 10^{-5}$)、*HLA-DQA1*01:03* ($OR=1.28$, $P=1.36 \times 10^{-4}$)、*HLA-DQA1*01:04* ($OR=1.37$, $P=2.63 \times 10^{-4}$)。基因连锁分析发现,肺结核关联信号最强的位点 rs3135386 与 *HLA-DQA1*01:03*、*HLA-DQB1*06:01* 存在较强的连锁关系,但与 *HLA-B*46:01* 及 *HLA-DQA1*01:04* 连锁关系很弱,见表 1。基于北方汉

族队列的插补所得数据,对 *HLA-B* 的氨基酸位点进行单倍型构建,连锁分析发现 *HLA-B* 第 66、69、76 位氨基酸构成的单倍型 Lys66-Arg69-Val76 与 *HLA-B*46:01* 完全连锁($r^2=1.0$),且在北方队列中

该单倍型为肺结核的发病风险因素($OR=1.53, P=1.92\times 10^{-5}$)。通过条件逻辑回归模型,矫正单倍型 Lys66-Arg69-Val76 的作用后发现 *HLA-DQB1*06:01* 与肺结核关联性不再显著。

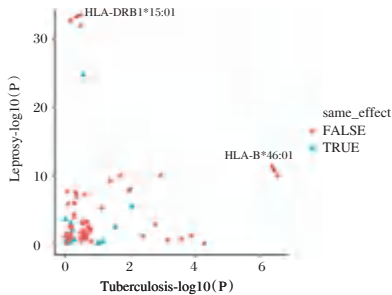
表 1 4 个 *HLA* 基因型与肺结核的荟萃分析结果

Table 1 Results of meta-analysis of four *HLA* genotypes and pulmonary tuberculosis

| <i>HLA</i> 基因型 | 北方汉族队列 | | | | 中部汉族队列 | | | | 荟萃分析 | | | 连锁强度(r^2) | |
|-----------------------|-----------|-----------|---------------|----------------------|-----------|-----------|---------------|----------------------|-----------|----------------------|--------------|---------------|-------------|
| | <i>AF</i> | <i>OR</i> | 95% <i>CI</i> | <i>P</i> 值 | <i>AF</i> | <i>OR</i> | 95% <i>CI</i> | <i>P</i> 值 | <i>OR</i> | <i>P</i> 值 | $P_{het}I^2$ | rs3135386 | rs112974895 |
| <i>HLA-B*46:01</i> | 0.058 | 1.53 | 1.26~1.85 | 1.92×10^{-5} | 0.103 | 1.36 | 1.11~1.66 | 3.25×10^{-3} | 1.44 | 2.98×10^{-7} | 0.40/0 | 0.008 | 0.009 |
| <i>HLA-DQA1*01:03</i> | 0.092 | 1.28 | 1.10~1.50 | 1.77×10^{-3} | 0.086 | 1.28 | 1.03~1.60 | 0.029 | 1.28 | 1.36×10^{-4} | 0.99/0 | 0.216 | 0.002 |
| <i>HLA-DQA1*01:04</i> | 0.047 | 1.40 | 1.14~1.71 | 1.14×10^{-3} | 0.051 | 1.30 | 0.96~1.74 | 0.088 | 1.37 | 2.63×10^{-4} | 0.67/0 | 0.006 | 0.001 |
| <i>HLA-DQB1*06:01</i> | 0.078 | 1.35 | 1.15~1.59 | 3.51×10^{-4} | 0.091 | 1.25 | 1.00~1.55 | 0.049 | 1.31 | 5.32×10^{-5} | 0.57/0 | 0.128 | 0.003 |

2.3 肺结核与麻风病共遗传分析

麻风病基因型数据与肺结核荟萃分析结果交集有 70 个 *HLA* 等位基因,见图 2。分析发现,*HLA-DRB1*15:01* 与麻风病的关联性最为显著($OR=3.03, P=2.0\times 10^{-33}$),但该基因型在肺结核荟萃分析中关联性并不显著($P=0.69$)。此外在本次荟萃分析呈现显著的 4 个 *HLA* 基因型中,只有 *HLA-B*46:01* 同样与麻风病存在关联性,然而该基因在麻风病中为保护因素($OR=0.33, P=1.13\times 10^{-10}$)。



注:两种表型的 *HLA* 遗传共性并不明显。红色圆点表示 *OR* 值在两种表型的方向一致(same effect),绿色三角形表示 *OR* 值在两种表型中呈现相反(opposite effect)。

图 2 肺结核与麻风病的关联分析

Figure 2 Analysis of the association between pulmonary tuberculosis leprosy

3 讨论

肺结核是呼吸系统常见的传染性疾病,也是影响地区医疗卫生发展的重要疾病负担。该疾病的发生发展受环境和宿主遗传易感性共同作用^[11],因此明确汉族人肺结核的易感基因有利于实现该疾病的精准诊治。

本研究通过荟萃分析,首次报道 *HLA-B* 基因与汉族人群活动性肺结核高度关联,是新的肺结核易感基因。*HLA-B* 基因属于经典 *HLA-I* 类,负

责向 CD+8 T 细胞的表面分子呈递内源肽,并被免疫系统识别。当细胞被病原体感染时,所呈递的蛋白质(抗原肽)将来自病原体,并被识别为外源,CD8+细胞毒性 T 细胞上的抗原受体负责这种识别,并会刺激破坏细胞的免疫反应。*HLA-B* 位点的多态性最为复杂,研究发现 *HLA-B*46:01* 等位基因相关的 CD8+T 细胞反应在 HIV 感染^[12]、鼻咽癌^[13]、重症肌无力^[14]等疾病中发挥了重要的作用。HIV 感染是 TB 的风险因素,*HLA-B*46:01* 在两种传染疾病的致病机制异同值得深入研究。

麻风病和结核病是慢性肉芽肿性传染病,除病原体和环境因素外,宿主遗传易感因素对这两种疾病的发生有重大贡献。据报道,中国汉族人群麻风病与结核病之间没有共同的易感基因座^[15],但本研究发现,*HLA-B*46:01* 与麻风病存在关联性,然而该基因在麻风病中为保护因素,即携带该基因型个体其罹患麻风病风险降低。由此可见,在 *HLA* 等位基因水平,汉族人肺结核与麻风的遗传共性并不明显,表明两种疾病发病机理的遗传基础可能差异很大。

本研究开展了目前为止样本规模最大的汉族人群肺结核易感 *HLA* 基因分析,证实 *HLA-B*46:01* 是北方、中部汉族人群的共有易感基因,为研究肺结核的致病机理和疾病的诊疗提供新的参考依据。

参考文献

[1] Moonan PK, Zetola NM, Tobias JL, et al. Oeltmann JE (2020) A neighbor-based approach to identify tuberculosis exposure, the Kopanyo study [J]. Emerg Infect Dis, 2020, 26 (5): 1010-1013.

[2] Luo F, Zou P, Liao Y, et al. Association between TAP gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in a Han Chinese population in Guangdong [J]. Mol Genet Genomics, 2022, 297(3): 779-790.

- [3] Curtis J, Luo Y, Zenner HL, et al. Susceptibility to tuberculosis is associated with variants in the ASAP1 gene encoding a regulator of dendritic cell migration [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(5):523-527.
- [4] Chimusa ER, Zaitlen N, Daya M, et al. Genome-wide association study of ancestry-specific TB risk in the South African Coloured population [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(3):796-809.
- [5] Hijikata M, Matsushita I, Le Hang NT, et al. Influence of the polymorphism of the DUSP14 gene on the expression of immune-related genes and development of pulmonary tuberculosis [J]. *Genes Immun*, 2016, 17(4):207-12.
- [6] Odera S, Mureithi M, Aballa A, et al. Association between human leukocyte antigen class II (HLA-DRB and -DQB) alleles and outcome of exposure to *Mycobacterium tuberculosis*: a cross-sectional study in Nairobi, Kenya [J]. *Pan Afr Med J*, 2022, 41:149.
- [7] Qi H, Zhang YB, Sun L, et al. Discovery of susceptibility loci associated with tuberculosis in Han Chinese [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(23):4752-4763.
- [8] Zheng R, Li Z, He F, et al. Genome-wide association study identifies two risk loci for tuberculosis in Han Chinese [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):4072.
- [9] Liao C, Yang J, Wang J, et al. Association between HLA-A and HLA-DRB1 allele polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in southern Chinese population [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2018, 38(1):95-100.
- [10] Liu B, Shao Y, Fu R. Current research status of HLA in immune-related diseases [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9(2):340-350.
- [11] Möller M, Kinnear CJ. Human global and population-specific genetic susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2020, 26(3):302-310.
- [12] Li SS, Hickey A, Shangguan S, et al. HLA-B*46 associates with rapid HIV disease progression in Asian cohorts and prominent differences in NK cell phenotype [J]. *Cell Host Microbe*, 2022, 30(8):1173-1185.
- [13] Tian W, Zhu F, Cai J, et al. Multiple low-frequency and rare HLA-B allelic variants are associated with reduced risk in 1,105 nasopharyngeal carcinoma patients in Hunan province, southern China [J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(5):1397-1404.
- [14] Feng HY, Yang LX, Liu WB, et al. The HLA-B*4601-DRB1*0901 haplotype is positively correlated with juvenile ocular myasthenia gravis in a southern Chinese Han population [J]. *Neurol Sci*, 2015, 36(7):1135-40.
- [15] Wang C, Wang N, Yu Y, et al. Tuberculosis risk-associated single nucleotide polymorphisms do not show association with leprosy in Chinese population [J]. *Int J Infect Dis*, 2015, 35:1-2.

(上接第2153页)

- [6] 傅冬阳, 黄元林, 陈建洪. miRNA在急性胰腺炎诊断和评估病情严重程度的作用 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2016, 15(14):1398-1401.
- [7] 中国医师协会胰腺病学专业委员会, Professional Committee of Pancreatic Disease, Chin. 中国急性胰腺炎多学科诊治共识意见 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(11):1770-1775.
- [9] Yang S, Song Y, Wang Q, et al. Daphnetin ameliorates acute lung injury in mice with severe acute pancreatitis by inhibiting the JAK2-STAT3 pathway [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):11491.
- [10] 李娜, 李雷, 王警建, 等. 急性胰腺炎肝脏T2值、脂肪分数的变化规律及分析 [J]. *实用放射学杂志*, 2020, 36(2):223-226.
- [11] Yang Y, Huang Q, Luo C, et al. MicroRNAs in acute pancreatitis: From pathogenesis to novel diagnosis and therapy [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(11):1948-1961.
- [12] Zhen J, Chen W, Liu Y, et al. Baicalin Protects Against Acute Pancreatitis Involving JNK Signaling Pathway via Regulating miR-15a [J]. *Am J Chin Med*, 2020, 49(1):147-161.
- [13] 李华, 李天艺, 王瑞强, 等. miRNAs水平与老年人糖尿病发病的相关性研究 [J]. *中华老年医学杂志*, 2018, 37(5):528-531.
- [14] 唐曦平, 张露艺, 梁志海, 等. 基因芯片筛选 ghrelin miRNA 转染胰腺炎细胞模型后的差异表达基因 [J]. *胃肠病学*, 2020, 25(2):96-100.
- [15] 龙春梅. miRNA-375的研究进展 [J]. *实用医院临床杂志*, 2020, 17(2):259-261.
- [16] 吴艳杰, 朱爱华, 刘佳, 等. 重症急性胰腺炎患者胰岛素抵抗指数、可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体水平及其与预后相关性分析 [J]. *创伤与急危重病医学*, 2020, 8(5):312-316.
- [17] Qian W, Lei S, Yi W, et al. RNA sequence analysis reveals pathways and candidate genes associated with liver injury in a rat pancreatitis model [J]. *Pancreatology*, 2018, 18(7):753-763.
- [18] Hu Y, Yu Y. Dysregulation of miR-192-5p in acute pancreatitis patients with nonalcoholic fatty liver and its functional role in acute pancreatitis progression [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(5):BSR20194345.
- [19] 李知行, 张海华, 蓝丹纯, 等. 电针对高脂诱导胰岛素抵抗大鼠肝脏腺苷酸活化蛋白激酶信号转导通路相关蛋白表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2019, 44(1):8-12, 56.
- [20] Bertocchini L, Sentinelli F, Incani M, et al. Circulating miRNA-375 levels are increased in autoantibodies-positive first-degree relatives of type 1 diabetes patients [J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56(6):707-710.
- [21] 毕惠嫦, 范仕成, 高悦. Hepatology1 过氧化物酶体增殖物激活受体 α 通过 YAP-TEAD 信号通路促进肝脏增大和肝脏再生 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(2):341.

高血压合并颈动脉粥样硬化患者 IMT 与 CK-MB、hsTnI 及 CRP 水平的相关性

李欣* 王彦婷 仇秀莹 紫晓

[摘要] **目的** 探究高血压合并颈动脉粥样硬化患者颈动脉内膜中层厚度(IMT)与血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)、超敏肌钙蛋白(hsTnI)及C-反应蛋白(CRP)水平的相关性。**方法** 选取首都医科大学附属北京世纪坛医院2019年12月至2022年2月收治的118例高血压患者,对患者进行颈动脉超声检查并记录动脉粥样硬化情况,将患者分为颈动脉粥样硬化组、无颈动脉粥样硬化组,并检测患者TG、TC、HDL-C、LDL-C、CK-MB、hsTnI及CRP等指标水平,进一步分析其相关性。**结果** 颈动脉粥样硬化组63例,占比为53.39%;无颈动脉粥样硬化组55例,占比为46.61%。两组性别、年龄、体质量指数(BMI)、心率(HR)、TG、TC、HDL-C、LDL-C、血糖(GLU)比较差异无统计学意义($P>0.05$),颈动脉粥样硬化组收缩压、舒张压以及IMT显著高于无颈动脉粥样硬化组,差异有统计学意义($P<0.05$)。颈动脉粥样硬化组患者CK-MB、hsTnI、CRP水平均显著高于无颈动脉粥样硬化组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。收缩压、舒张压、CK-MB、hsTnI、CRP与颈动脉IMT具有相关性($P<0.05$),且舒张压、hsTnI具有显著相关性($P<0.01$)。**结论** CK-MB、hsTnI及CRP水平与高血压合并患者超声诊断颈动脉粥样硬化密切相关,临床应密切监测上述指标。

[关键词] 高血压;颈动脉粥样硬化;超声;血清肌酸激酶同工酶;高敏肌钙蛋白;C-反应蛋白

Correlation between IMT and CK-MB, hsTnI and CRP levels in patients with hypertension and carotid atherosclerosis

LI Xin*, WANG Yanting, QIU Xiuying, ZI Xiao

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

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between intima-media thickness (IMT) and serum creatine kinase MB (CK-MB), high-sensitivity troponin (hsTnI) and C-reactive protein (CRP) levels in patients with hypertension and carotid atherosclerosis. **Methods** A total of 118 patients with hypertension admitted to Beijing Shijitan Hospital affiliated to Capital Medical University from December 2019 to February 2022 were selected. All underwent carotid ultrasound examination. According to the presence or absence of atherosclerosis, the patients were divided into the carotid atherosclerosis group and the non-carotid atherosclerosis group. The levels of TG, TC, HDL-C, LDL-C, CK-MB, hsTnI and CRP were measured, and their correlation with IMT was analyzed. **Results** There were 63 patients with carotid atherosclerosis and 55 patients without carotid atherosclerosis in this study, accounting for 53.39% and 46.61%, respectively. There were no statistically significant differences in gender, age, body mass index (BMI), heart rate (HR), TG, TC, HDL-C, LDL-C and GLU between the two groups ($P>0.05$). The systolic blood pressure, diastolic blood pressure and IMT in the carotid atherosclerosis group were significantly higher/larger than those in the non-

基金项目:北京市自然科学基金面上项目(7182131)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院心血管内科一病区,北京 100038

*通信作者:李欣, E-mail:lixin3250@bjsjth.cn

carotid atherosclerosis group ($P<0.05$). The levels of CK-MB, hsTnI and CRP in the carotid atherosclerosis group were significantly higher than those in the non-carotid atherosclerosis group ($P<0.05$). The systolic blood pressure, diastolic blood pressure, CK-MB, hsTnI and CRP were correlated with carotid IMT ($P<0.05$). The diastolic blood pressure was significantly correlated with hsTnI ($P<0.01$). **Conclusion** The levels of CK-MB, hsTnI and CRP are closely related to carotid atherosclerosis in patients with hypertension. Therefore, these indicators should be monitored closely in clinical practice.

[KEY WORDS] Hypertension; Carotid atherosclerosis; Ultrasound; Serum creatine kinase MB; High-sensitivity troponin; C-reactive protein

近年随着人们饮食习惯及生活习惯的改变,高血压发病率逐年升高,高血压病人易伴有中风、心力衰竭等并发症,影响患者机体健康^[1-2]。动脉粥样硬化不仅可引发动脉内膜增厚、弹性降低、内腔狭窄以及不稳定斑块出现,严重者甚至会导致内脏器官或组织坏死或缺血,致使心肌梗死发作^[3]。随着影像学技术的发展,颈动脉超声检测愈发方便。颈动脉是全身动脉组织部分之一,亦是观察全身变化的重要窗口^[4]。血清肌酸激酶同工酶(creatinase kinase MB, CK-MB)主要存在于机体骨骼肌细胞以及心肌细胞胞质中,是诊断动脉粥样硬化较为良好的血清指标,但特异性不高^[5]。超敏肌钙蛋白(high-sensitivity troponin, hsTnI)水平是患者心力衰竭判断标准,hsTnI诊断急性心肌梗死敏感性高^[6]。CRP是一种炎症因子标志物,其升高提示机体炎症的发生以及组织出现损伤,具有较高敏感性^[7]。本研究对高血压合并颈动脉粥样硬化患者颈动脉内膜中层厚度(Intima-media thickness, IMT)与CK-MB、hsTnI及CRP水平的相关性进行分析,以期临床高血压患者治疗及预后提供科学依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年12月首都医科大学附属北京世纪坛医院2022年2月本院收治的118例高血压患者,其中男性66例,女性52例,平均年龄(64.36 ± 6.78)岁。纳入标准:①均符合中国高血压防治指南中高血压相关诊断标准^[8];②近2周内均未接受高血压治疗或降压药物治疗;③均知情同意本次研究。排除标准:①伴有肝、肾功能存在严重异常患者;②为继发性高血压患者;③伴有免疫疾病患者;④伴有急慢性感染疾病患者;⑤伴有恶性肿瘤患者;⑥精神状态严重不良患者;⑦近期服用过避

孕药、抗癫痫药物以及维生素药物患者。本研究经院伦理委员会审核通过。

1.2 方法

1.2.1 颈动脉超声检测

所有患者入院后均接受颈动脉彩色多普勒超声检查,仪器选择飞利浦公司IE33型彩色多普勒超声仪,参数设定为探头频率:7 MHz,嘱患者取仰卧位,头部向检查对侧偏转,充分将颈部暴露,自颈动脉起始处按照纵向检查,依次对双侧颈总动脉、颈总动脉分叉、颈内动脉以及颈外动脉进行探测。于双侧颈动脉分叉近段10 mm处,分别测量双侧颈动脉3个心动周期的IMT,计算平均值。斑块定义为局限性回声结构突触管腔,厚度为1.3 mm及以上。以IMT为0.9 mm及以上判断是否为颈动脉壁增厚标准。以IMT是否为0.9 mm及以上作为颈动脉壁增厚标准。采用颈动脉IMT厚度0.9 mm以上或是否存在颈动脉斑块为标准判断动脉粥样硬化,据此将本文病例分为颈动脉粥样硬化组、无颈动脉粥样硬化组。

1.2.2 基线临床指标收集

包括性别、年龄、体质量指数(Body Mass Index, BMI)、心率(Heart Rate, HR)、收缩压、舒张压等。采用标准台式汞柱血压仪测定患者血压,嘱患者测量前休息5 min,共测量3次(间隔为2 min),计算平均值。

1.2.3 实验室指标检测

取患者空腹静脉血3 mL,离心半径10 cm, 3 500 r/min离心5 min,取上层血清液,采用酶法检测患者甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C),仪器均使用全自动生化分析仪(日立, 7060型),试剂盒购自于上海依科赛生物有限公

司;采用电化学免疫发光法测定血清肌酸激酶同工酶(creatinase kinase MB,CK-MB),仪器罗氏电化学发光自动免疫分析仪和配套试剂盒;采用化学发光微粒子免疫检测法测定超敏肌钙蛋白(high-sensitivity troponin, hsTnI),仪器选择雅培 ARCHITECT i200;采用酶联免疫吸附法检测C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP),试剂盒购自于上海依科赛生物有限公司。所有检测严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法

应用SPSS 20.0统计软件进行统计处理,计数资料采用n(%)表示,行 χ^2 检验;计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,采用t检验,相关性分析采用Pearson相关性分析法,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颈动脉粥样硬化超声诊断结果

颈动脉粥样硬化组 63 例,占比为 53.39%;无颈动脉粥样硬化组 55 例,占比为 46.61%。

2.2 两组患者基线资料比较

两组患者性别、年龄、BMI、HR、TG、TC、HDL-C、LDL-C、GLU 比较差异无统计学意义(P>0.05),颈动脉粥样硬化组收缩压、舒张压以及IMT显著高于无颈动脉粥样硬化组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 两组患者基线资料比较($\bar{x}\pm s$)

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

| 项目 | 颈动脉粥样硬化组 (n=63) | 无颈动脉粥样硬化组 (n=55) | t/ χ^2 值 | P值 |
|-------------------------|--------------------|---------------------|---------------|-------|
| 性别(男/女) | 32/31 | 34/21 | 1.448 | 0.229 |
| 年龄(岁) | 61.97±3.90 | 60.83±4.67 | 1.444 | 0.151 |
| BMI(kg/m ²) | 22.96±1.63 | 22.71±1.26 | 0.921 | 0.358 |
| HR(bpm) | 73.52±8.41 | 74.96±9.32 | 0.882 | 0.379 |
| 收缩压(mmHg) | 147.91±9.33 | 135.25±7.47 | 8.056 | 0.000 |
| 舒张压(mmHg) | 92.61±9.63 | 84.35±11.73 | 4.199 | 0.000 |
| TG(mmol/L) | 1.32±0.28 | 1.26±0.29 | 1.142 | 0.255 |
| TC(mmol/L) | 5.40±0.43 | 5.53±1.04 | 0.907 | 0.365 |
| HDL-C(mmol/L) | 1.14±0.47 | 1.05±0.33 | 1.223 | 0.223 |
| LDL-C(mmol/L) | 3.04±0.68 | 2.93±0.72 | 0.852 | 0.395 |
| GLU(mmol/L) | 5.08±1.12 | 5.12±0.73 | 0.226 | 0.821 |
| IMT(mm) | 1.22±0.25 | 0.89±0.19 | 7.980 | 0.000 |

2.3 两组患者实验室指标比较

颈动脉粥样硬化组患者CK-MB、hsTnI、CRP水平均显著高于无颈动脉粥样硬化组患者,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 两组患者实验室指标比较($\bar{x}\pm s$)

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

| 组别 | n | CK-MB (U/L) | hsTnI (μ g/L) | CRP (mg/L) |
|-----------|----|----------------|-----------------------|---------------|
| 颈动脉粥样硬化组 | 63 | 18.06±5.13 | 1.29±0.42 | 5.11±3.40 |
| 无颈动脉粥样硬化组 | 55 | 12.35±2.71 | 0.80±0.32 | 3.92±2.20 |
| t值 | | 7.399 | 7.047 | 2.220 |
| P值 | | 0.000 | 0.000 | 0.028 |

2.4 颈动脉IMT相关性分析

收缩压、舒张压、CK-MB、hsTnI、CRP与颈动脉IMT具有相关性(P<0.05),其中舒张压、hsTnI具有显著相关性(P<0.01)。见表3。

表3 颈动脉IMT相关性分析

Table 3 Correlation analysis of carotid artery IMT

| 项目 | r | P |
|-------|-------|-------|
| 收缩压 | 0.396 | 0.045 |
| 舒张压 | 0.513 | 0.002 |
| CK-MB | 0.215 | 0.023 |
| hsTnI | 0.545 | 0.000 |
| CRP | 0.235 | 0.022 |

3 讨论

随着我国国民饮食结构变化与人口老龄化,高血压疾病患病率显著升高,我国老年群体中高血压发病率约为50%以上^[9]。高血压可导致内皮机能受损,促使动脉硬化症的发生。血压长时间内上升可导致血管内膜损伤,这是斑块形成的病理依据^[10]。颈动脉超声检测因其简单、方便以及无创的优势广泛应用于临床,通过对IMT检测可提示动脉粥样硬化病变,相关研究表明IMT是心血管疾病死亡率的独立影响因素^[11]。CK-MB是CK的心肌特异性同工酶,为一种胞液酶,脑梗死、急性心肌梗死等均可导致其升高^[12]。hsTnI约有6%为胞浆游离型,其余为肌丝结合型,这两种类型的钙蛋白于肌细胞受损时进入血液,多于动脉粥样硬化发作4h内开始上升,其与疾病进展密切相关^[13]。CRP是一种炎症因子,具有免疫调节等功能,所以其对动脉粥样硬化特异度并不高,但有研究表明其是介导动脉粥样斑块的形成因素之一,尤为冠状动脉粥样斑块,亦是判断患者预后的重要指标之一^[14]。

本研究结果纳为颈动脉粥样硬化组63例,占比为53.39%;无颈动脉粥样硬化组55例,占比为46.61%。本研究结果显示两组患者性别、年龄、

BMI、HR、TG、TC、HDL-C、LDL-C、GLU 比较差异不具有统计学意义,颈动脉粥样硬化组收缩压、舒张压以及IMT显著高于无颈动脉粥样硬化组,这与孙晓兰等^[15]研究结果相似。本研究结果还显示颈动脉粥样硬化组患者CK-MB、hsTnI、CRP水平均显著高于无颈动脉粥样硬化组患者,这与阿布都扎依尔·买买提等^[16]研究结果具有相似性。分析原因可能是因为高血压合并动脉粥样硬化患者心脏长期处于超负荷血流动力学状态,神经内分泌代谢异常,左心室发生重构导致心肌肥厚以及心腔扩大,损伤心脏泵功能,另心脏负担过重时心肌纤维拉长,同时出现移位现象,心肌细胞膜受到损伤,因此CK-MB升高;高血压合并动脉粥样硬化患者颈动脉内存在不稳定斑块或者斑块破裂,致使血管出现堵塞,导致心肌损伤发生,机体内hsTnI升高;高血压合并动脉粥样硬化患者血管内膜受到损伤,长期受到高血压及异常血流影响,患者血管内皮损害,激活单核-巨噬细胞系统,刺激肝细胞产生CRP;另原发性高血压患者循环系统中免疫复合物明显高于健康人群,并可沉积在血管基底膜上,引发血管内皮损伤从而刺激肝细胞产生CRP^[17-18]。本研究结果还显示收缩压、舒张压、CK-MB、hsTnI、CRP与颈动脉IMT具有相关性,其中舒张压、hsTnI具有显著相关性,提示CK-MB、hsTnI及CRP水平可能参与高血压患者动脉粥样硬化过程。

综上所述,CK-MB、hsTnI及CRP水平与高血压患者动脉粥样硬化发生密切相关,提示这些因子水平可能参与了相关病理生理过程,临床应密切监测其水平。

参考文献

[1] 许双斌,张力,胡竹君,等.老年高血压患者卧立位血压水平的变化及与颈动脉粥样硬化的相关性[J].中华高血压杂志,2019,27(1):81-83.

[2] 黄珊,杨洋,孟庆雯,等.收缩压和舒张压的时间变化速率与老年高血压患者颈动脉粥样硬化的关系[J].实用医学杂志,2019,35(12):1944-1947.

[3] Goncalves M, Mantsopoulos K, Schapher M, et al. Ultrasound in the diagnosis of parotid duct obstruction not caused by sialolithiasis: diagnostic value in reference to direct visualization with sialendoscopy [J]. Dentomaxillofacial Radiol, 2020, 50(3):202-211.

[4] Zhao H, Li H. Meta-analysis of ultrasound for cervical lymph

nodes in papillary thyroid cancer: Diagnosis of central and lateral compartment nodal metastases [J]. Eur J Radiol, 2019, 112(3):14-21.

[5] 王有秀,杨兴唐,冯彩滑,等.高血压患者血清NT-proBNP、CK-MB、Cys-C水平及其临床意义[J].心脑血管病防治,2020,20(3):260-262.

[6] 曹瑞华,朱兵,肖文凯,等.社区老年高血压人群中高敏肌钙蛋白T对不良心血管事件的独立预测作用[J].中华老年心脑血管病杂志,2020,22(2):141-144.

[7] 霍静,姜海军,李伟,等.Hs-CRP、Hcy、 β 2-MG和UA水平在老年高血压合并下肢动脉硬化闭塞症患者中的风险评估价值[J].中国心血管杂志,2021,26(2):165-168.

[8] 中国高血压防治指南修订委员会,高血压联盟(中国,中华医学会心血管病学分会中国医师协会高血压专业委员会,等.中国高血压防治指南(2018年修订版)[J].中国心血管杂志,2019,24(1):24-56.

[9] Wu Y, Xie M, Zhang L, et al. Carotid Intima-Media Roughness and Elasticity in Hypertensive Patients With Normal Carotid Intimamedia Thickness [J]. J Ultrasound Med, 2018, 38(6):1545-1552.

[10] Kołakowska U, Kuroczycka-Saniutycz E, Olański W, et al. Correlation of Salusin Beta with hs-CRP and ADMA in Hypertensive Children and Adolescents [J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(30):3551-3557.

[11] 林从娟,郑建清,蔡川奇,等.血压变异性与血浆同型半胱氨酸对高血压患者颈动脉粥样硬化的影响[J].中华高血压杂志,2021,29(12):1238-1244.

[12] 王用,贺永明.血清肌酸激酶同工酶水平对冠心病的诊断价值研究[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(7):21-26.

[13] 罗常有,王善花,姜华丽,等.超敏心肌肌钙蛋白I联合D-二聚体对急性主动脉夹层与急性心肌梗死的鉴别诊断价值[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(6):53-57.

[14] 陈勇,李贵,苏明宽,等.联合检测同型半胱氨酸、高敏C反应蛋白和脂蛋白相关磷脂酶A2评估原发性高血压伴颈动脉粥样硬化的风险[J].中华高血压杂志,2018,26(10):973-977.

[15] 孙晓兰,陈敏.基于ROC曲线分析Hcy、hs-CRP、PCSK-9诊断原发性高血压患者颈动脉粥样硬化的价值[J].海南医学,2018,29(2):208-211.

[16] 阿布都扎依尔·买买提,阿不来提·艾则孜,木卡达斯·迪力夏提.新疆原发性高血压患者颈动脉粥样硬化与血清Cys-C、PAPP-A及FGF-21水平间的相关性研究[J].医学研究杂志,2018,47(12):129-134.

[17] 陈燕,周丹,黄雨晴,等.中性粒细胞与淋巴细胞比值与H型高血压患者颈动脉粥样硬化的相关性分析[J].岭南心脑血管病杂志,2018,24(3):314-317.

[18] 黄利强,程道宾,叶子明,等.血小板内皮细胞黏附分子1联合血清脂蛋白相关磷脂酶A2对颈动脉粥样硬化斑块稳定性的诊断价值[J].中国全科医学,2021,24(2):170-175.

血小板输注无效患者外周血 T、B、NK 细胞和血小板抗体表达

张玲 孙庆正 王晓珍 刘加军*

[摘要] **目的** 测定血小板输注无效患者外周血中 T、B、NK 细胞比例以及血小板特异性抗体表达,探讨其在血小板输注无效中的作用。**方法** 选择中山大学附属第三医院血液内科住院的 22 例血小板输注无效的患者,同时选取 33 例血小板输注有效的患者作为对照组,通过流式细胞术检测两组患者外周血中 B 细胞, NK 细胞, T 细胞比例,同时采用固相凝集法测定血小板特异性抗体。**结果** 无效组血小板特异性抗体阳性率明显高于血小板输注有效组,差异有统计学意义(86.36% vs 15.15%, $\chi^2=27.22$, $P<0.05$);在淋巴细胞亚群变化中,相对于有效组,无效组 B 淋巴细胞比例升高, $CD3^+CD4^+$ T 淋巴细胞比例下降, $CD3^+CD8^+$ T 淋巴细胞比例升高, $CD4^+/CD8^+$ 比值下降, $CD3^+$ T 淋巴细胞和 NK 细胞比例差异无统计学意义($t=1.864$, 0.05185 , $P>0.05$)。**结论** 血小板特异性抗体的产生及淋巴细胞亚群的变化在血小板输注无效的发生过程中发挥重要作用,有助于指导临床治疗。

[关键词] 血小板输注无效;血小板特异性抗体; T/B/NK 细胞

Changes of platelet specific autoantibody, T, B, NK cells in patients with platelet transfusion refractoriness

ZHANG Ling, SUN Qingzheng, WANG Xiaozhen, LIU Jiajun*

(Department of Hematology, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat - sen University, Guangzhou, Guangdong, China, 510630)

[ABSTRACT] **Objective** To detect the proportion of T, B, NK cells and platelet antibody in the peripheral blood of patients with platelet transfusion refractoriness (PTR), and to explore their possible role in PTR. **Methods** 22 patients with PTR admitted to the Department of Hematology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University were chosen as case group and 33 patients without PTR were control group. The proportion of T, B, NK cells in the peripheral blood of patients in both groups were detected by flow cytometry, and the platelet specific antibody in the serum of which were detected by solid phase agglutination method. **Results** The positive rate of platelet antibody in the case group was significantly higher than that in the control group (86.36% vs 15.15%, $\chi^2=27.22$, $P<0.05$); For the aspect of lymphocyte subsets changes, the proportion of B cells increased in the case group, while the proportion of $CD3^+CD4^+$ T cells decreased, the proportion of $CD3^+CD8^+$ T cells increased, the proportion of $CD4^+/CD8^+$ decreased. There was no significant difference in the proportion of NK cells and $CD3^+$ T cells between two groups. **Conclusion** The generation of platelet specific antibody and lymphocyte subsets changes play an important role in the pathogenesis of PTR, and will provide promising references for the treatment strategies of PTR patients.

[KEY WORDS] Platelet transfusion refractoriness (PTR); Platelet specific antibody; T/B/NK cells

血小板输注是指通过补充外源性血小板,从而预防和治疗血小板功能异常或者血小板数量下降引起的出血。血小板输注是目前治疗各种血液

病的有效支持治疗^[1]。但血小板输注过程中可能会出现血小板输注无效(platelet transfusion refractoriness, PTR),尤其常见于反复多次输血小板这

基金项目:广东省重点领域研发计划项目(2022B1111020003)

作者单位:中山大学附属第三医院血液内科,广东,广州 510630

*通信作者:刘加军, E-mail: jiajun.l@163.com

类患者中,发生率约38.3%至40.9%,患者血小板数量未见提高,出血症状无明显改善^[2-4]。本研究拟通过分析血小板输注无效患者外周血中T、B、NK细胞比例和血小板特异性抗体表达,探讨其在血小板输注无效中的作用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

以2018年1月至2021年12月中山大学附属第三医院收治的22例血小板输注无效的患者作为研究对象,其中急性髓系白血病(AML)14例,急性淋巴细胞白血病(ALL)8例,男8例,女14例,平均年龄(46.09±3.253)岁。以33例输注有效的患者作为对照组,其中急性髓系白血病(AML)24例,急性淋巴细胞白血病(ALL)9例,男18例,女15例,平均年龄(43.67±3.24)岁。纳入标准:①急性髓系白血病或者急性淋巴细胞白血病;②签署知情同意书。排除标准:①脾功能亢进,抗血小板药物,弥散性血管内凝血(DIC)等引起的血小板输注无效;②缺失重要诊疗信息患者。所有患者均签署知情同意书。该研究符合中山大学附属第三医院相关伦理要求。

1.2 方法

1.2.1 患者外周血T、B、NK淋巴细胞比例检测

留取EDTA抗凝管2 mL外周血,PBS液洗涤后调整细胞数至(1~10)×10⁹/L;按比例分别加入CD19、CD3、CD4、CD8、CD56和CD45抗体(Becton Dickinson公司),室温避光孵育20 min;然后再加入红细胞裂解液,避光孵育10 min,用PBS液洗涤,离心后弃上清;加入500 μL PBS液重悬细胞,上机检测,以CD45-SSC设门圈出淋巴细胞,计算T淋巴细胞亚群(CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺)比例,B淋巴细胞(CD19⁺),NK细胞(CD56⁺)比例。

1.2.2 血小板特异性抗体检测

血小板表面携带有血小板特异性抗原(HPA),通过固相凝集法检测血小板特异性抗体(HPA抗体),留取EDTA抗凝管2 mL外周血,

4 000 rpm,离心半径为16.3 cm,离心5分钟后取上层血浆,冻存至负80度冰箱待检。按照血小板抗体检测试剂盒说明书进行操作。

1.2.3 统计学分析

采用SPSS 26.0进行统计学处理。计数资料采用n(%)表示,用χ²检验。计量资料采用(̄x±s)表示,两组间比较采用t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血小板特异性抗体表达情况比较

无效组血小板特异性抗体表达阳性率明显高于有效组,差异具有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 血小板输注患者血小板特异性抗体表达情况 [n(%)]

| 组别 | n | 阳性率 | 阴性率 |
|------------------|----|-----------|-----------|
| 无效组 | 22 | 19(86.37) | 3(13.63) |
| 有效组 | 33 | 5(15.16) | 28(84.84) |
| χ ² 值 | | 27.22 | |
| P值 | | <0.0011 | |

2.2 流式细胞术检测患者外周血T、B、NK淋巴细胞比值

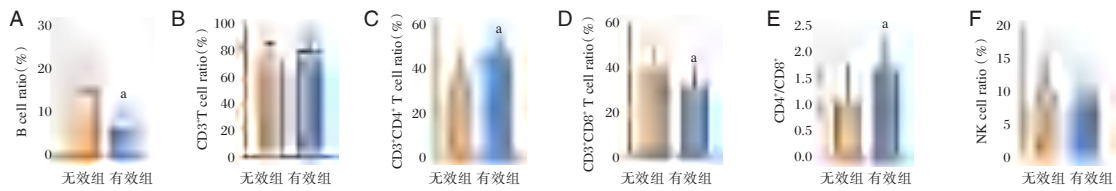
与有效组相比较,无效组患者外周血B细胞升高,CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞下降,CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞升高,CD4⁺/CD8⁺比值下降,CD3⁺T淋巴细胞和NK细胞比例,两组差异无统计学意义(P>0.05)。见表2、图1。

3 讨论

血小板输注是治疗血小板减少的有效手段。在需要长期血小板支持性治疗的患者中,血小板输注无效(platelet transfusion refractoriness, PTR)是常见的临床棘手问题,其发生时,外源性输入的血小板迅速被破坏,严重时可危及生命。血小板输注无效是指连续两次或者两次以上输注血小板,输注后10分钟至1小时,血小板计数增加指数<5×10⁹/L^[5]。

表2 血小板输注患者外周血T、B、NK细胞比例(%)

| 组别 | B细胞 | CD3 ⁺ T | CD3 ⁺ CD4 ⁺ T | CD3 ⁺ CD8 ⁺ T | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | NK细胞 |
|-----|-------------|--------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------|
| 无效组 | 15.14±2.05 | 74.91±1.987 | 35.22±2.612 | 38.89±2.273 | 1.081±0.152 | 1.023±1.076 |
| 有效组 | 6.242±1.108 | 79.19±1.322 | 46.38±1.346 | 31.32±1.59 | 1.669±0.1231 | 10.3±0.8622 |
| t值 | 4.137 | 1.864 | 4.145 | 2.815 | 3.012 | 0.05185 |
| P值 | 0.001 | 0.0679 | 0.001 | 0.0068 | 0.004 | 0.9588 |



注:A为B淋巴细胞比例;B为CD3⁺T淋巴细胞比例;C为CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞比例;D为CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞比例;E为CD4⁺/CD8⁺比值;F为NK细胞比例; *P<0.01。

图1 血小板输注患者外周血T、B、NK细胞比例(%)

Figure 1 The Proportion of T, B and NK cells in peripheral blood of patients received platelet transfusion (%)

PTR发生的常见原因包括非免疫因素和免疫因素。非免疫因素主要为机体出现发热、服用抗血小板药物、脾功能亢进、弥散性血管内凝血(DIC)等,导致血小板消耗过多或破坏增加,从而引起血小板输注无效。这些可通过祛除病因和对症治疗来提高血小板输注效果^[6]。免疫性因素主要指同种异体免疫,即输注的外源性血小板,作为同种异体抗原,诱发机体的同种异体免疫反应,从而导致血小板输注无效^[7-8]。

血小板表面携带人类白细胞抗原(HLA)、血小板特异性抗原(HPA),可产生的HPA抗体、HLA抗体和HLA/HPA复合抗体,这些抗体是导致无效输注发生的主要原因^[9-12]。在本研究中我们分析了血小板输注无效组和有效组血小板特异性抗体(抗HPA抗体)的表达,发现无效组血小板特异性抗体阳性率明显高于有效组(86.36% vs 15.15%, P<0.01),提示血小板特异性抗体在血小板输注无效中发挥重要作用,与研究报道相符^[13]。临床上通过检测血小板特异性抗体及输注配型血小板有助于预防血小板输注无效的发生。

血小板输注后引起的同种异体免疫需要启动和激活特异于源自血小板抗原肽的CD4⁺T细胞,CD4⁺T细胞激活后反过来刺激B淋巴细胞,B细胞进一步分化成浆细胞,浆细胞产生免疫球蛋白G(IgG)抗体,这些抗体可结合血小板表面,从而导致血小板输注无效^[14]。

目前关于机体产生同种免疫反应的机制尚不清楚。因此,我们分析了血小板输注患者外周血T、B和NK细胞比例,以探讨血小板输注无效可能的免疫机制。研究发现,血小板输注无效患者外周血中B淋巴细胞比例升高,B淋巴细胞可能进一步分化为浆细胞,产生血小板抗体从而引起血小板输注无效,提示临床上可使用利妥昔单抗提高血小板输注效果。

T淋巴细胞在机体细胞免疫和体液免疫中发挥重要作用,CD3仅存在于T淋巴细胞表面,参与抗原识别和信号转导。T淋巴细胞亚群分为辅助性T淋巴细胞和细胞毒性T淋巴细胞,CD4为辅助性T淋巴细胞的主要标记,具有刺激B淋巴细胞分化为浆细胞,辅助T淋巴细胞转化成效应细胞。CD8为细胞毒性T淋巴细胞的主要标记,通过分泌细胞因子参与细胞免疫。本研究通过CD45设门圈出淋巴细胞,CD3标记T淋巴细胞,然后通过CD4,CD8标记CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞,CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞,分析T淋巴细胞亚群变化,发现PTR患者较有效组CD3⁺CD8⁺T细胞比例增高,而CD3⁺CD4⁺T细胞比例减低,提示CD8阳性T淋巴细胞在血小板输注无效中发挥重要作用,与研究报道相符^[15]。CD4阳性T细胞与CD8阳性T细胞的比值保持动态平衡,从而维持机体的细胞免疫。本研究发现血小板输注无效患者CD4⁺/CD8⁺比值下降,T淋巴细胞比例失衡,CD8⁺T淋巴细胞增高,促进B细胞活化产生抗体,从而导致血小板输注无效。

NK细胞称自然杀伤细胞,是机体重要的免疫细胞,CD56是NK细胞的表面标志物。目前关于NK细胞在PTR中的作用尚不明确,本研究尚未观察到NK细胞在血小板输注中的差异,可能与本研究样本量偏少有关,未来尚需扩大样本量进一步明确NK细胞在血小板输注无效中的作用及可能的机制。

综上所述,血小板特异性抗体表达,T、B淋巴细胞异常在血小板输注无效中发挥重要作用,但其具体作用机制尚不明确。进一步探讨血小板输注无效的发生机制,有助于预防和治疗血小板输注无效。

参考文献

[1] Prodger CF, Rampotas A, Estcourt LJ, et al. Platelet transfusion: Alloimmunization and refractoriness [J]. Semin Hematol, 2020, 57(2):92-99. (下转第2170页)

CT灌注参数与胃癌临床病理特征及 Wnt/ β -catenin 通路介导血管新生的关系

陈思敏 林怀雄 刘昌华* 李亮 林建坤

[摘要] **目的** 研究CT灌注参数与胃癌临床病理特征及Wnt/ β -catenin通路介导血管新生的关系。**方法** 选择2018年1月至2020年12月在中国人民解放军陆军第七十三集团军医院经病理诊断的胃癌患者作为研究对象,术前进行CT灌注成像检查并测量血流量(BF)及血容量(BV)、达峰时间(TTP)、平均通过时间(MTT);术后收集胃癌组织,检测Wnt1、Wnt3a、 β -catenin、bFGF、VEGF的mRNA表达水平及微血管密度(MVD)。**结果** TNM III期胃癌的CT灌注参数BF、BV均高于TNM I~II期胃癌,TTP、MTT低于TNM I~II期胃癌,差异有统计学意义($t=5.793, 2.668, 2.057, 4.975, P<0.05$);低分化胃癌的CT灌注参数BF、BV均高于中高分化胃癌,TTP、MTT低于中高分化胃癌,差异有统计学意义($t=4.772, 2.668, 2.231, 5.520, P<0.05$);胃癌组织的BF、BV与Wnt1、Wnt3a、 β -catenin、bFGF、VEGF的mRNA表达水平及MVD水平均呈正相关,TTP、MTT与Wnt1、Wnt3a、 β -catenin、bFGF、VEGF的mRNA表达水平及MVD水平均呈负相关($P<0.05$);胃癌组织BF、BV \geq 中位数的患者OS率和PFS率低于BF、BV<中位数的患者,TTP、MTT \geq 中位数的患者OS率和PFS率高于TTP、MTT<中位数的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 胃癌CT灌注参数BF、BV、TTP、MTT的变化与TNM分期增加、分化程度降低及生存预后不良有关,Wnt/ β -catenin通路介导的血管新生与CT灌注参数的变化相关。

[关键词] 胃癌;CT灌注成像;Wnt/ β -catenin通路;血管新生

Relationship between CT perfusion parameters and clinicopathological features and Wnt/ β -catenin pathway mediated angiogenesis in gastric cancer

CHEN Simin, LIN Huaixiong, LIU Changhua*, LI Liang, LIN Jiankun

(Imaging Department of the 73rd Army Group Hospital of the PLA, Xiamen, Fujian, China, 361003)

[ABSTRACT] **Objective** To study the relationship between CT perfusion parameters and clinicopathological features, Wnt/ β -catenin pathway mediated angiogenesis in gastric cancer. **Methods** Patients with gastric cancer diagnosed by pathology in the 73rd Army Group Hospital of the PLA from 2018 to December 2020 were selected as the study subjects. CT perfusion imaging was performed before operation and blood flow (BF), blood volume (BV), time to peak (TTP) and mean transit time, MTT were measured. The gastric cancer tissues were collected after operation and the mRNA expression levels of Wnt1, Wnt3a, β -catenin, bFGF, VEGF and the level of micro vessel density (MVD) were detected. **Results** The CT perfusion parameters BF, BV of TNM III gastric cancer were higher than those of TNM I~II gastric cancer, and TTP, MTT was lower than that of TNM I~II gastric cancer ($t=5.793, 2.668, 2.057, 4.975, P<0.05$). The CT perfusion parameters BF, BV of poorly differentiated gastric cancer were higher than those of medium and high differentiated gastric cancer, and TTP, MTT was lower than that of medium and high differentiated gastric cancer ($t=4.772, 2.668, 2.231, 5.520, P<0.05$). BF and BV were positively correlated with the mRNA expression levels of Wnt1, Wnt3a, β -catenin, bFGF, VEGF and the level of MVD, TTP, MTT was negatively correlated with the mRNA expression levels of Wnt1, Wnt3a, β -catenin, bFGF, VEGF and the level of MVD. The OS rate and PFS rate of patients with BF, BV \geq median was lower than those with BF, BV < median, while the OS rate and PFS rate

基金项目:厦门市医学优势亚专科建设项目{厦卫科教[2018]296号文}

作者单位:中国人民解放军陆军第七十三集团军医院影像科,福建,厦门361003

*通信作者:刘昌华, E-mail:liuxingc@126.com

of patients with TTP, $MTT \geq \text{median}$ were higher than those with TTP, $MTT < \text{median}$ ($P < 0.05$). **Conclusion**

The changes of CT perfusion parameters BF, BV, TTP and MTT in gastric cancer are related to the increase of TNM stage, the decrease of differentiation and the poor survival prognosis. The angiogenesis mediated by Wnt/ β -catenin pathway is related to the changes of CT perfusion parameters.

[KEY WORDS] Gastric cancer; CT perfusion imaging; Wnt/ β -catenin pathway; Angiogenesis

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,其发病率在男性恶性肿瘤中居第二位、女性恶性肿瘤中居第一位^[1-2]。肿瘤血管新生在胃癌的发生发展中起重要作用,局部肿瘤组织中丰富的血流灌注直接影响癌细胞的生物学行为,进而参与肿瘤复发和转移的过程、与胃癌患者的预后密切相关。Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)通路在胃癌血管新生中发挥重要作用,该通路激活后促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(Basic fibroblast growth factor, bFGF)表达和释放,进而促进新生血管形成^[3]。CT灌注成像是近些年兴起的影像检查手段,基于静脉注射造影剂后的局部组织密度的变化间接反映血流灌注情况和血管新生情况。胃癌组织中多项CT灌注成像参数发生变化^[4-5],为进一步认识CT灌注成像在胃癌中的应用价值,本研究分析了CT灌注参数与胃癌临床病理特征及Wnt/ β -catenin通路介导血管新生的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2018年1月至2020年12月在中国人民解放军陆军第七十三集团军医院经病理诊断的80例胃癌患者作为研究对象,其中男性45例、女性35例,年龄(58.39 ± 8.92)岁。纳入标准:①符合胃癌的诊断标准^[6];②接受手术切除治疗;③美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)分期I~III期^[6];④术前均接受多层螺旋CT灌注成像检查;⑤具有完整的病史资料。排除标准:①术前接受过放化疗或其他抗癌治疗;②未接受多层螺旋CT灌注成像检查或胃充盈效果差、图像显示不清;③既往有其他恶性肿瘤病史;④存在使用造影剂禁忌症。

1.2 CT灌注成像检查

采用东芝320CT进行检查,检查前禁食12 h,检查前5 min饮用适量温水,扫描时设置参数如下:管电流200 mAs、电压120 kV、螺距1.0 mm,扫描范围从膈顶至肝脏下缘,先进行常规平扫、确定灌注扫描的靶平面。采用双筒高压注射器以注射

速度3.5 mL/s注射对比剂碘普罗胺,注射后延迟7 s开始进行扫描灌注扫描,扫描模式为Dy-Volume连续动态扫描。完成扫描、得到图像后进行分析,选择腹主动脉作为输入动脉,绘制感兴趣区,测量血流量(blood flow, BF)及血容量(blood volume, BV)、达峰时间(time to peak, TTP)、平均通过时间(mean transit time, MTT)。

1.3 胃癌组织中Wnt1、Wnt3a、 β -catenin、bFGF、VEGF表达水平的检测

取手术切除的胃癌组织,采用总RNA提取试剂盒提取组织中的总RNA,采用通用反转录试剂盒M-MLV将总RNA反转录为cDNA,最后采用Real-time PCR荧光定量试剂盒进行检测,PCR的反应体系为:cDNA 1 μ L、M-MLV反应混合液10 μ L、上下游引物各0.6 μ L、去离子水补足至20.0 μ L;PCR的反应程序为:95 $^{\circ}$ C预变性3 min,95 $^{\circ}$ C 15 s、特异性退火温度(Wnt1 60.0 $^{\circ}$ C、Wnt3a 58.0 $^{\circ}$ C、 β -catenin 56.0 $^{\circ}$ C、bFGF 60.0 $^{\circ}$ C、VEGF 58 $^{\circ}$ C、 β -actin 60.0 $^{\circ}$ C)25 s、72 $^{\circ}$ C 30 s,共进行50个循环的PCR反应,反应结束后得到循环曲线及相应的循环阈值(Cycle threshold, Ct),以 β -actin为内参、按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算Wnt1、Wnt3a、 β -catenin、bFGF、VEGF的mRNA表达水平。

1.4 胃癌患者预后的随访

采用电话回访的方式进行术后随访,随访起始时间为手术后当天、截止时间为2022年5月31日。随访终点事件为发生复发、转移或死亡,计算无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)。

1.5 统计学处理

采用SPSS 23.0版本进行统计学处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,相关性分析采用Pearson检验;PFS和OS采用K-M曲线表示,两组间比较采用log rank检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同临床病理特征胃癌CT灌注参数的比较

TNM III期胃癌的CT灌注参数BF、BV均高于TNM I~II期胃癌,TTP、MTT低于TNM I~II期

胃癌,差异有统计学意义($P<0.05$);低分化胃癌的CT灌注参数BF、BV均高于中高分化胃癌,TTP、MTT低于中高分化胃癌,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图1、表1。

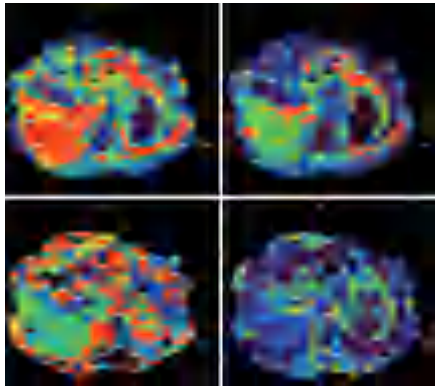


图1 CT灌注成像的典型胃癌病例

Figure 1 Typical gastric cancer cases with CT perfusion imaging

表1 不同临床病理特征胃癌CT灌注参数的比较($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Comparison of CT perfusion parameters of gastric cancer with different clinicopathological characteristics ($\bar{x}\pm s$)

| 特征分类 | <i>n</i> | BF[mL (100 g·min)] | BV (mL/100g) | TTP (s) | MTT (s) |
|------------|----------|--------------------|--------------|------------|------------|
| 性别 | | | | | |
| 男 | 45 | 112.45±14.11 | 11.34±2.81 | 10.84±4.81 | 10.44±2.84 |
| 女 | 35 | 111.11±13.84 | 10.83±2.92 | 11.15±5.24 | 10.60±2.91 |
| <i>t</i> 值 | | 0.413 | 0.105 | 0.276 | 0.249 |
| <i>P</i> 值 | | 0.681 | 0.917 | 0.783 | 0.804 |
| 年龄 | | | | | |
| ≥55岁 | 48 | 110.82±13.77 | 11.05±2.75 | 11.21±5.12 | 10.61±2.84 |
| <55岁 | 32 | 113.43±14.02 | 11.22±2.84 | 10.62±5.28 | 10.36±3.01 |
| <i>t</i> 值 | | 0.824 | 0.239 | 0.513 | 0.307 |
| <i>P</i> 值 | | 0.412 | 0.812 | 0.609 | 0.760 |
| TNM分期 | | | | | |
| I~II | 30 | 99.74±12.15 | 10.03±2.47 | 12.45±5.29 | 12.44±3.31 |
| III | 50 | 119.14±15.72 | 11.77±3.01 | 10.09±4.92 | 9.35±2.09 |
| <i>t</i> 值 | | 5.793 | 2.668 | 2.057 | 4.975 |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | 0.009 | 0.043 | 0.000 |
| 分化程度 | | | | | |
| 低分化 | 46 | 118.23±14.52 | 11.84±2.94 | 10.15±3.52 | 9.12±2.25 |
| 中高分化 | 34 | 103.25±12.75 | 10.14±2.72 | 12.09±4.12 | 12.39±3.14 |
| <i>t</i> 值 | | 4.772 | 2.668 | 2.231 | 5.520 |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | 0.009 | 0.029 | 0.000 |

2.2 不同临床病理特征胃癌组织中 Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF 表达水平的比较

TNM III~IV 期胃癌组织中 Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF 的表达水平均高于 TNM I~II 期胃癌组织,差异有统计学意义($P<0.05$);低分化胃癌组织中 Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、

VEGF 的表达水平均高于中高分化胃癌组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 不同临床病理特征胃癌组织中 Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF 表达水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of Wnt1, Wnt3a β-catenin, bFGF, VEGF expression levels in gastric cancer with different clinicopathological characteristics ($\bar{x}\pm s$)

| 特征分类 | <i>n</i> | Wnt1 | Wnt3a | β-catenin | bFGF | VEGF |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 性别 | | | | | | |
| 男 | 45 | 1.60±0.30 | 1.59±0.32 | 1.48±0.32 | 1.51±0.31 | 1.69±0.36 |
| 女 | 35 | 1.54±0.32 | 1.56±0.34 | 1.53±0.37 | 1.49±0.33 | 1.65±0.33 |
| <i>t</i> 值 | | 0.862 | 0.405 | 0.637 | 0.279 | 0.511 |
| <i>P</i> 值 | | 0.391 | 0.686 | 0.518 | 0.782 | 0.611 |
| 年龄 | | | | | | |
| ≥55岁 | 48 | 1.55±0.30 | 1.62±0.31 | 1.52±0.36 | 1.49±0.32 | 1.65±0.34 |
| <55岁 | 32 | 1.61±0.32 | 1.66±0.35 | 1.48±0.31 | 1.52±0.29 | 1.70±0.31 |
| <i>t</i> 值 | | 0.711 | 0.541 | 0.523 | 0.678 | 0.433 |
| <i>P</i> 值 | | 0.478 | 0.590 | 0.602 | 0.500 | 0.666 |
| TNM分期 | | | | | | |
| I~II | 30 | 1.31±0.34 | 1.45±0.29 | 1.32±0.28 | 1.24±0.30 | 1.34±0.32 |
| III | 50 | 1.74±0.28 | 1.75±0.32 | 1.61±0.35 | 1.66±0.27 | 1.87±0.33 |
| <i>t</i> 值 | | 6.131 | 4.201 | 3.855 | 6.460 | 6.767 |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 分化程度 | | | | | | |
| 低分化 | 46 | 1.75±0.32 | 1.81±0.25 | 1.66±0.31 | 1.68±0.25 | 1.88±0.31 |
| 中高分化 | 34 | 1.34±0.25 | 1.40±0.31 | 1.29±0.24 | 1.22±0.26 | 1.39±0.25 |
| <i>t</i> 值 | | 6.199 | 6.545 | 5.791 | 7.999 | 7.571 |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

2.3 不同临床病理特征胃癌组织中 MVD 水平的比较

TNM III 期胃癌组织的 MVD 水平均高于 TNM I~II 期胃癌($P<0.05$)。见表3。

表3 不同临床病理特征胃癌组织中 MVD 水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of MVD level in gastric cancer with different clinicopathological characteristics ($\bar{x}\pm s$)

| 特征 | 分类 | <i>n</i> | MVD |
|------------|------|----------|------------|
| 性别 | 男 | 45 | 46.24±8.22 |
| | 女 | 35 | 45.82±8.75 |
| <i>t</i> 值 | | | 0.232 |
| <i>P</i> 值 | | | 0.817 |
| 年龄 | ≥55岁 | 48 | 45.93±8.62 |
| | <55岁 | 32 | 46.25±8.91 |
| <i>t</i> 值 | | | 0.161 |
| <i>P</i> 值 | | | 0.873 |
| TNM分期 | I~II | 30 | 35.52±7.71 |
| | III | 50 | 52.38±9.24 |
| <i>t</i> 值 | | | 8.402 |
| <i>P</i> 值 | | | 0.000 |
| 分化程度 | 低分化 | 46 | 45.53±8.23 |
| | 中高分化 | 34 | 46.77±8.84 |
| <i>t</i> 值 | | | 8.884 |
| <i>P</i> 值 | | | 0.000 |

2.4 胃癌CT灌注参数与Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF、MVD的相关性

胃癌CT灌注参数BF、BV与Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF的表达水平及MVD水平均呈正相关,TTP、MTT与Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF的表达水平及MVD水平均呈负相关($P<0.05$)。见表4。

表4 胃癌CT灌注参数与Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF、MVD的相关性

Table 4 Correlation of CT perfusion parameters and Wnt1, Wnt3a β-catenin, bFGF, VEGF, MVD in gastric cancer

| 指标 | BF[mL (100g·min)] | | BV (mL/100g) | | TTP (s) | | MTT (s) | |
|-----------|-------------------|-------|--------------|-------|---------|--------|---------|--------|
| | r值 | P值 | r值 | P值 | r值 | P值 | r值 | P值 |
| | Wnt1 | 0.321 | <0.05 | 0.372 | <0.05 | -0.341 | <0.05 | -0.388 |
| Wnt3a | 0.394 | <0.05 | 0.441 | <0.05 | -0.332 | <0.05 | -0.324 | <0.05 |
| β-catenin | 0.288 | <0.05 | 0.291 | <0.05 | -0.427 | <0.05 | -0.371 | <0.05 |
| bFGF | 0.401 | <0.05 | 0.308 | <0.05 | -0.294 | <0.05 | -0.392 | <0.05 |
| VEGF | 0.356 | <0.05 | 0.356 | <0.05 | -0.344 | <0.05 | -0.412 | <0.05 |
| MVD | 0.275 | <0.05 | 0.419 | <0.05 | -0.412 | <0.05 | -0.294 | <0.05 |

2.5 不同CT灌注成像参数的胃癌患者预后的比较

不同CT灌注成像参数的胃癌患者OS、PFS的K-M曲线见图2和图3。经log-rank检验,胃癌组织BF、BV≥中位数的患者OS率和PFS率低于BF、BV<中位数的患者,TTP、MTT≥中位数的患者OS率和PFS率高于TTP、MTT<中位数的患者($P<0.05$)。

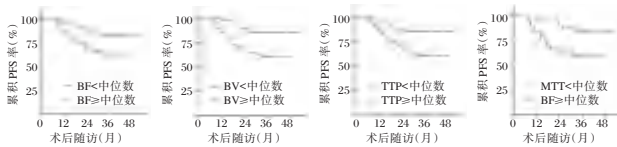


图2 不同CT灌注成像参数的胃癌患者PFS的K-M曲线

Figure 2 PFS K-M curve of gastric cancer patients with different CT perfusion imaging parameters

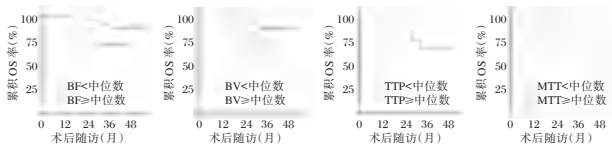


图3 不同CT灌注成像参数的胃癌患者OS的K-M曲线

Figure 3 OS K-M curve of gastric cancer patients with different CT perfusion imaging parameters

3 讨论

肿瘤血管新生是促进恶性肿瘤发生发展的重要生物学行为,准确评估肿瘤血管新生的状态对判断肿瘤的病理特征及预后、指导个体化治疗均

具有重要意义^[7-8]。胃癌是常见的消化道富血供肿瘤,在不同信号通路、细胞因子的作用下生成新生血管对胃癌发生及病理进展具有促进作用^[9-10],准确评价胃癌病灶内的血管新生特征、深入挖掘血管新生相关的调控机制有助于为进一步认识胃癌发病的分子机制、发现胃癌新的治疗靶点提供依据。

CT灌注成像是一种评价脏器血流灌注特征的影像检查手段,BF、BV、TTP、MTT等CT灌注参数能够反映局部组织的血流灌注特征^[11-13]。既往多项胃癌相关的研究^[4-5]及本研究均证实胃癌组织的CT灌注参数发生明显变化,随着肿瘤分期增加、分化程度降低,BF、BV水平增加,TTP、MTT水平降低。上述CT灌注参数的变化反映了胃癌组织中新生血管增多、血流灌注丰富且新生血管的通透性和完整性下降,这些变化可能导致了胃癌的病理进展、如TNM分期增加及分化程度降低。

为了进一步从分子层面认识CT灌注参数变化与胃癌血管新生的关系,本研究对血管新生血管的信号通路和细胞因子进行了检测。Wnt/β-catenin通路是已知参与多种恶性肿瘤发生发展的信号通路,具有促进癌细胞增殖、迁移、侵袭以及促进血管新生的生物学作用^[14]。胃癌相关的细胞实验证实该通路促进胃癌细胞中血管新生相关细胞因子bFGF、VEGF的生成^[3, 15]。本研究对胃癌中上述分子表达的分析证实:随着胃癌TNM分期的增加,Wnt1、Wnt3a、β-catenin、bFGF、VEGF的表达水平也呈增加趋势;进一步通过相关性分析证实:胃癌组织的四项CT灌注参数与血管新生分子的表达均具有相关性,这一结果从分子层面揭示了胃癌病灶内CT灌注参数变化与胃癌血管新生的关系。

MVD是直接反应血管新生的指标,本研究的相关性分析显示:CT灌注参数BF、BV与MVD呈正相关,TTP、MTT与MVD呈负相关,这一结果表明胃癌组织中新生血管增多造成了CT灌注参数的变化。另有胃癌MVD与预后相关的研究证实:MVD增加是胃癌患者预后不良的危险因素,提示胃癌病灶内血管新生影响胃癌患者的预后^[16]。本研究随访胃癌患者的生存预后并分析可知:患者的累积PFS率和OS率随着BF、BV的增加而降低、随着TTP、MTT的增加而增加,提示CT灌注参数的变化与胃癌患者的预后有关。

综上所述,胃癌CT灌注参数BF、BV、TTP、MTT的变化与TNM分期增加、分化程度降低及生

存预后不良有关, Wnt/ β -catenin 通路介导的血管新生与 CT 灌注参数的变化相关。

参考文献

- [1] 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状[J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(1): 52-58.
 - [2] Kun Gao, Jun Wu. 中国胃癌死亡率趋势(2003-2015): 一项基于人群的研究[J]. 癌症, 2019, 38(9): 385-389.
 - [3] 赵越, 冯菲, 王军, 等. 幽门螺杆菌通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对胃癌细胞侵袭及血管新生因子的作用研究[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(13): 5-10.
 - [4] 米玉霞, 苏慧东, 李飞, 等. 胃癌 CT 灌注参数和组织学特征的关系[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(7): 1133-1136.
 - [5] 常宝, 马发鹏, 任伟, 等. 基于多层螺旋 CT 灌注成像评估胃癌患者血流动力学改变及其与临床病理参数的关系[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2021, 19(9): 119-121.
 - [6] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版)[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(16): 1169-1189.
 - [7] Viillard C, Larrivée B, Viillard C, et al. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets[J]. Angiogenesis, 2017, 20(4): 409-426.
 - [8] Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, et al. Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review[J]. Anticancer Res, 2020, 40(11): 6009-6015.
 - [9] Sammarco G, Varricchi G, Ferraro V, et al. Mast Cells, Angiogenesis and Lymphangiogenesis in Human Gastric Cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9): 2106.
 - [10] Lin Y, Zheng Y, Wang HL, et al. Global Patterns and Trends in Gastric Cancer Incidence Rates (1988-2012) and Predictions to 2030[J]. Gastroenterology, 2021, 161(1): 116-127.
 - [11] Caballo M, Michielsen K, Fedon C, et al. Towards 4D dedicated breast CT perfusion imaging of cancer: development and validation of computer simulated images[J]. Phys Med Biol, 2019, 64(24): 245004.
 - [12] Sun Z, Hu S, Li J, et al. An application study of CT perfusion imaging in assessing metastatic involvement of perigastric lymph nodes in patients with T1 gastric cancer[J]. Br J Radiol, 2020, 93(1106): 20190790.
 - [13] Sun Z, Li J, Wang T, et al. Predicting perigastric lymph node metastasis in gastric cancer with CT perfusion imaging: A prospective analysis[J]. Eur J Radiol, 2020, 122: 108753.
 - [14] Krishnamurthy N, Kurzrock R, Krishnamurthy N, et al. Targeting the Wnt/ β -catenin pathway in cancer: Update on effectors and inhibitors[J]. Cancer Treat Rev, 2018, 62: 50-60.
 - [15] Mawalla B, Yuan X, Luo X, et al. Treatment outcome of anti-angiogenesis through VEGF-pathway in the management of gastric cancer: a systematic review of phase II and III clinical trials[J]. BMC Res Notes, 2018, 11(1): 21.
 - [16] 刘霞, 高立永, 张弛, 等. 胃癌组织中基质金属蛋白酶 2 蛋白表达及微血管密度与患者临床病理特征的关系[J]. 肿瘤研究与临床, 2020, 32(6): 400-404.
-
- (上接第 2165 页)
- [2] Cohn CS. Platelet transfusion refractoriness: how do I diagnose and manage [J]? Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2020(1): 527-532.
 - [3] Holbro A, Infanti L, Sigle J, et al. Platelet transfusion: basic aspects[J]. Swiss Med Wkly, 2013, 143: w13885.
 - [4] Liu WB, Wu DJ, Hu TL, et al. Efficiency of treatment with rituximab in platelet transfusion refractoriness: a study of 7 cases[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(8): 14080-14084.
 - [5] Schiffer CA, Anderson KC, Bennett CL, et al. Platelet transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology[J]. J Clin Oncol, 2001, 19: 1519-1538.
 - [6] Hod E, Schwartz. Platelet transfusion refractoriness[J]. Br J Haematol, 2008, 142(3): 348-60.
 - [7] 杨晓莉, 余泽波. 血小板输注无效的原因及对策进展[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(7): 985-988.
 - [8] Slichter SJ, Bailey SL, Gettinger I, et al. Pathogen reduction with amotosalen/UVA reduces platelet refractoriness in a dog platelet transfusion model[J]. Vox Sang, 2019, 114(6): 595-604.
 - [9] Hopkins M, Calvert A, Poles A. Platelet transfusion refractoriness due to multiple human platelet antigen (HPA) antibody specificities: a case study[J]. EFI/BSHI, 2020, 5(13): 23-29.
 - [10] Seike K, Fujii N, Asano N, et al. Efficacy of HLA virtual cross matched platelet transfusions for platelet transfusion refractoriness in hematopoietic stem cell transplantation [J]. Transfusion, 2020, 60(3): 156-159.
 - [11] Meinke S, Karlström C, Höglund P. Complement as an Immune Barrier in Platelet Transfusion Refractoriness [J]. Transfus Med Rev, 2019, 33(4): 231-235.
 - [12] Arabi S, Almahayni AO, Alomair AA, et al. Prevalence, Risk Factors, and Outcomes of Platelet Transfusion Refractoriness in Critically Ill Patients: A Retrospective Cohort Study [J]. Crit Care Res Pract, 2021, 2021: 5589768.
 - [13] Hayashi T, Hirayama F. Advances in alloimmune thrombocytopenia: perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping [J]. Blood Transfus, 2015; 13(3): 464-471.
 - [14] Gilson CR, Zimring JC. Alloimmunization to transfused platelets requires priming of CD4⁺ T cells in the splenic microenvironment in a murine model [J]. Transfusion, 2012, 52(4): 849-59.
 - [15] 梁静, 凯赛尔江多来提, 刘雯, 等. 基于免疫性 PTR 的血小板膜糖蛋白及 T/B 淋巴细胞表达水平研究[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(4): 727-730.

血清 ANGPTL5、AFP 表达与胃癌临床病理特征及预后的关系

于佳瀚 高立明* 孔梦悦 王昭慧 王超群

[摘要] 目的 分析胃癌患者血清血管生成素样蛋白5(ANGPTL5)及甲胎蛋白(AFP)的表达水平,并探讨二者与胃癌患者临床病理特征及预后的关系。方法 选取2014年5月至2017年5月在承德医学院附属秦皇岛市第一医院接受治疗的胃癌患者52例为胃癌组;选取同时期在本院体检的健康者52名为对照组。检测两组血清 ANGPTL5、AFP 表达水平;采用 Kaplan-Meier 对胃癌患者3年的生存情况进行分析;采用 COX 法分析影响胃癌患者不良预后的危险因素。结果 与对照组相比,胃癌组血清 ANGPTL5、AFP 表达水平较高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ANGPTL5、AFP 与胃癌患者临床分期、分化程度、淋巴结转移、浸润深度相关($P<0.05$)。Kaplan-Meier 法显示 ANGPTL5、AFP 低表达胃癌患者平均生存时间显著长于高表达患者,经 Log Rank 检验均具有统计学意义($\chi^2=8.002, 8.074, P<0.05$)。COX 单因素及多因素分析显示,浸润深度 HR 为 2.005(95% CI: 1.624~2.476)、ANGPTL5 高表达 HR 为 2.427(95% CI: 1.604~3.673)、AFP 高表达 HR 为 2.564(95% CI: 1.724~3.812)是影响胃癌患者不良预后的独立危险因素(P 均 <0.05)。结论 胃癌患者血清 ANGPTL5、AFP 表达水平呈升高趋势,与预后具有密切关系,可为临床诊治提供参考依据。

[关键词] 胃癌;血管生成素样蛋白5;甲胎蛋白;预后

Expression of serum ANGPTL5 and AFP in patients with gastric cancer and their correlation with prognosis

YU Jiahao, GAO Liming*, KONG Mengyue, WANG Zhaohui, WANG Chaoqun

(Department of Oncology, Qinhuangdao First Hospital Affiliated to Chengde Medical College, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the expression levels of serum angiopoietin like protein 5 (ANGPTL5) and alpha fetoprotein (AFP) in patients with gastric cancer, and to explore their relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** 52 patients with gastric cancer who were treated in Qinhuangdao First Hospital Affiliated to Chengde Medical College from May 2014 to May 2017 were selected as gastric cancer group; 52 healthy people who received physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The expression levels of serum ANGPTL5 and AFP in the two groups were detected. Kaplan Meier was used to analyze the 3-year survival of gastric cancer patients. Cox method was used to analyze the risk factors affecting the poor prognosis of gastric cancer patients. **Results** Compared with the control group, the expression levels of serum ANGPTL5 and AFP in gastric cancer group were higher, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). ANGPTL5 and AFP were correlated with clinical stage, degree of differentiation, lymph node metastasis and depth of invasion ($P<0.05$). Kaplan Meier analysis showed that the average survival time of gastric cancer patients with low expression of ANGPTL5 and AFP was significantly longer than that of patients with high expression, which was statistically significant by log rank test ($\chi^2=8.002, 8.074, P<0.05$). Cox univariate and multivariate analysis showed that HR of depth of invasion was

基金项目:河北省科技计划资助项目(182777164)

作者单位:承德医学院附属秦皇岛市第一医院肿瘤科,河北,秦皇岛 066000

*通信作者:高立明, E-mail: Tshgaoliming@163.com

2.005 (95% CI: 1.624-2.476), HR of high expression of ANGPTL5 was 2.427 (95% CI: 1.604-3.673), HR of high expression of AFP was 2.564 (95% CI: 1.724-3.812) were independent risk factors for poor prognosis of gastric cancer patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of serum ANGPTL5 and AFP in patients with gastric cancer showed an increasing trend, which is closely related to the prognosis, and can provide reference for clinical diagnosis and treatment.

[KEY WORDS] Gastric cancer; Angiopoietin like protein 5; Alpha-fetoprotein; prognosis

据2015年报道,中国主要恶性消化系统肿瘤(胃癌、食管癌、结直肠癌、胰腺癌、肝癌)占全部新发恶性肿瘤病例的48.69%,其中胃癌占全部恶性肿瘤发病的第2位^[1-2]。目前手术切除是治疗胃癌的有效方法,但进展期胃癌的预后仍因诊断晚而预后较差^[3]。近年来肿瘤标志物对肿瘤预后的临床应用价值正在逐步提高。血清肿瘤标志物是与肿瘤相关的抗原,在一定程度上能够反映癌症的发展,对肿瘤疗效评价、预后判断等具有重要意义^[4]。甲胎蛋白(Alpha-fetoprotein, AFP)是临床常见的肿瘤标志物,对恶性肿瘤的评估具有重要作用^[5]。血管生成素样蛋白5(angiotensin like protein 5, ANGPTL5)作为ANGPTLs家族成员之一,主要起调节甘油三酯代谢,对糖尿病及肥胖具有潜在作用,但在癌症中作用研究较少^[6]。本研究将重点分析胃癌患者ANGPTL5、AFP表达水平与临床病理特征及预后的关系,以期为临床诊治胃癌患者提供新的生物学依据。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2014年5月至2017年5月在承德医学院附属秦皇岛市第一医院接受治疗的胃癌患者52例为胃癌组,所有患者癌组织均经2位有经验的医生进行病理诊断,术后经组织病理学确诊为胃癌^[7]。男29例,女23例;年龄平均(63.74±8.56)岁。纳入标准:①患者未进行化疗、放疗及其他药物治疗;②患者临床资料完整、能够配合完成随访。排除标准:①患者并发其它恶性肿瘤;②肝、肾功能严重异常;③合并自身免疫性疾病者;④血液系统疾病。选取同时期在本院体检的健康者52名为对照组,男27名,女25名;年龄平均(64.11±8.64)岁。胃癌组、对照组年龄、性别比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 样品采集

胃癌组所有患者在入院24 h内、体检者于体检当天采取静脉血4~6 mL装于普通采血管中,4℃,3 500 r/min(离心半径为8 cm),离心15 min,留上清,冻存于-80度冰箱中,待测。

1.2.2 检测血清中ANGPTL5、AFP水平

采用化学发光微粒子免疫分析法检测血清中AFP水平,应用Roche Elecsys2010电化学发光免疫分析仪。采用酶联免疫吸附法检测ANGPTL5水平,试剂盒由武汉华美生物工程有限公司提供并按照说明书步骤严格操作。

1.3 随访

所有患者均由2名以上主治医师讨论治疗方案,并经患者同意后使用相应的化疗方案。所有胃癌患者术后均同意接受随访,无失访患者。随访计划为术后随访3年,术后第1、2年内每隔4个月让患者入院复查一次(条件不允许的半年复查1次),第3年让患者入院复查一次,并每3个月对患者进行电话随访,记录胃癌患者复发,肿瘤转移及生存死亡情况。本次随访截止日期2020年5月。

1.4 统计学分析

采用SPSS 25.0统计软件对数据进行统计分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间行独立样本 t 检验。采用Kaplan-Meier法分析血清ANGPTL5、AFP水平与胃癌患者3年的生存情况的关系。采用COX法分析影响胃癌患者不良预后的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清ANGPTL5、AFP表达水平

与对照组相比,胃癌组血清ANGPTL5、AFP表达水平较高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 血清ANGPTL5、AFP水平与胃癌患者临床病理特征关系

根据ANGPTL5、AFP平均值将胃癌患者分为

表1 两组血清 ANGPTL5、AFP 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Expression levels of serum ANGPTL5 and AFP in 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | ANGPTL5 (ng/mL) | AFP (IU/mL) |
|-----|----|-----------------|-------------|
| 胃癌组 | 52 | 35.64±5.71 | 5.33±2.04 |
| 对照组 | 52 | 7.07±1.05 | 0.94±0.32 |
| t 值 | | 35.486 | 15.331 |
| P 值 | | 0.000 | 0.000 |

高表达组与低表达组。结果显示 ANGPTL5 高表达组、AFP 高表达组临床 III~IV 期的比例、中、高分化程度的比例、淋巴结转移的比例、浸润至浆膜的比例明显高于 ANGPTL5 低表达组、AFP 低表达组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 ANGPTL5、AFP 表达与胃癌患者术后 3 年预后

52 例胃癌患者 3 年内生存 24 例 (46.15%), 死亡 28 例 (53.82%)。Kaplan-Meier 法显示 ANGPTL5 低表达胃癌患者平均生存时间为 (30.14±1.79) 个月, 显著长于高表达胃癌患者的 (19.69±2.12) 个月, 差异有统计学意义, 经 Log Rank 检验显示, $\chi^2 = 8.002, P = 0.005$ 。AFP 低表达胃癌患者平均生存时间为 (27.81±1.76) 个月, 显著长于 AFP 高表达胃癌患者的 (17.44±2.32) 个月, 差异有统计学意义, 经 Log Rank 检验显示, $\chi^2 = 8.074, P = 0.004$ 。见图 1。

2.4 影响胃癌患者不良预后的危险因素分析

应用 COX 回归分析影响胃癌患者预后的危险因素显示, 浸润深度、ANGPTL5 及 AFP 高表达是影响胃癌患者不良预后的独立危险因素 (P 均 < 0.05)。见表 3。

3 讨论

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤。调查显示, 我国每年新发胃癌病例为 67.9 万, 死亡病例

表2 血清 ANGPTL5、AFP 水平与胃癌患者临床病理特征关系 [$n(\%)$]

Table 2 Relationship between serum ANGPTL5 and AFP levels and clinicopathological characteristics of gastric cancer patients [$n(\%)$]

| 项目 | n | ANGPTL5 | | AFP | |
|----------|--------------|-------------|----------------|-------------|----------------|
| | | 高表达组 (n=30) | χ^2 值 P 值 | 高表达组 (n=20) | χ^2 值 P 值 |
| 年龄 | | | 1.081 0.299 | | 0.495 0.482 |
| <64 岁 | 24 12(50.00) | | | 8(33.33) | |
| ≥64 岁 | 28 18(64.29) | | | 12(42.86) | |
| 性别 | | | 2.382 0.123 | | 0.236 0.627 |
| 男 | 29 14(48.28) | | | 12(41.38) | |
| 女 | 23 16(69.57) | | | 8(34.79) | |
| 组织学分型 | | | 0.071 0.790 | | 0.587 0.444 |
| 腺癌 | 32 18(56.28) | | | 11(34.38) | |
| 鳞癌 | 20 12(60.00) | | | 9(45.00) | |
| 临床分期 | | | 5.332 0.021 | | 5.080 0.024 |
| I~II 期 | 19 7(36.84) | | | 3(15.79) | |
| III~IV 期 | 33 23(69.70) | | | 17(51.52) | |
| 分化程度 | | | 8.194 0.004 | | 10.211 0.001 |
| 中、高分化 | 32 13(40.63) | | | 8(25.00) | |
| 低分化 | 20 17(85.00) | | | 14(70.00) | |
| 淋巴结转移 | | | 12.239 0.000 | | 10.496 0.001 |
| 有 | 31 24(77.42) | | | 18(58.06) | |
| 无 | 21 6(28.57) | | | 2(9.52) | |
| 浸润深度 | | | 10.093 0.001 | | 7.023 0.008 |
| 浸润至浆膜 | 34 25(73.53) | | | 18(52.94) | |
| 浸润未至浆膜 | 18 5(27.78) | | | 2(11.11) | |

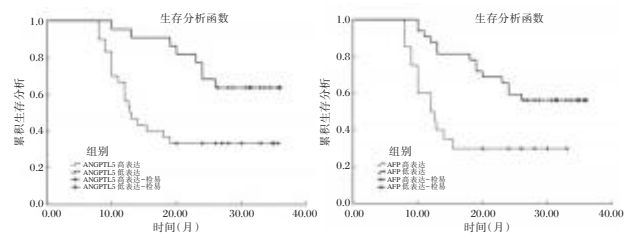


图1 ANGPTL5、AFP 表达水平与胃癌患者预后的关系
Figure 1 The relationship between the expression level of ANGPTL5, AFP and the prognosis of gastric cancer patients

表3 影响胃癌患者预后的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors affecting the prognosis of patients with gastric cancer

| 变量 | 单因素分析 | | | 多因素分析 | | |
|----------------------------|-------|-------------|-------|-------|-------------|-------|
| | HR 值 | 95% CI | P 值 | HR 值 | 95% CI | P 值 |
| 年龄(<64 岁 vs ≥64 岁) | 0.875 | 0.527~1.452 | 0.183 | | | |
| 性别(女 vs 男) | 0.763 | 0.387~1.506 | 0.197 | | | |
| 组织学分型(鳞癌 vs 腺癌) | 1.214 | 0.846~1.741 | 0.072 | | | |
| 临床分期(I~II 期 vs ≥ III~IV 期) | 1.870 | 1.264~2.807 | 0.040 | | | |
| 分化程度(中、高分化 vs 低分化) | 2.025 | 1.425~2.877 | 0.014 | | | |
| 淋巴结转移(无 vs 有) | 2.188 | 1.564~3.062 | 0.009 | | | |
| 浸润深度(未至浆膜 vs 至浆膜) | 2.637 | 1.865~3.728 | 0.001 | 2.005 | 1.624~2.476 | 0.013 |
| ANGPTL5(低表达 vs 高表达) | 2.589 | 1.539~4.357 | 0.002 | 2.427 | 1.604~3.673 | 0.004 |
| AFP(低表达 vs 高表达) | 2.659 | 1.660~4.261 | 0.000 | 2.564 | 1.724~3.812 | 0.002 |

为49.8万,胃癌是危害中国人类健康的恶性肿瘤之一^[8]。早期胃癌患者大部分临床表现无特异性,少数会有呕吐、腹疼痛、恶心等,因此,大多数患者在医院确诊时已处于中晚期。

近年来,胃癌患者血清肿瘤标志物逐渐应用于检测患者预后,为临床治疗提供合理有效的方案^[9]。AFP是胚胎发育过程中由卵黄囊和肝细胞合成的一种糖蛋白,是原发性肝癌的肿瘤标志物,同时还可参与细胞增殖和代谢的调控,在免疫应答过程中可抑制肿瘤患者多肿瘤细胞的免疫应答^[10-11]。近年来越来越多的学者认识到胃癌、胰腺癌、胆囊癌等恶性肿瘤均可不同程度产生AFP,其中胃癌产生率最高^[12]。成人在正常生理情况下,AFP浓度较低,在胃癌患者血清中存在显著高表达^[13]。调查显示,AFP高表达胃癌患者具有癌细胞增殖强、细胞凋亡低、新生血管增多、恶性程度更高、易转移、预后差的特点,临床上更需要关注患者预后情况^[14]。Feng等^[15]研究认为AFP与胃癌肿瘤大小、肿瘤浸润深度、淋巴结转移等有关,此外,术前AFP水平的升高被证明与胃癌不良预后相关。本研究显示,胃癌组血清AFP表达水平明显高于对照组,进一步分析显示,AFP与患者的临床分期、分化程度、淋巴结转移、浸润深度相关,提示AFP可能与胃癌发生、发展有关。本研究结果显示AFP与胃癌分化程度相关,与Feng等^[15]研究有差异,可能原因是本研究仅纳入52例患者,样本量不足够丰富,可能引起结果与以往研究结果存在一定差异。

ANGPTL5多表达于脂肪组织,可参与糖脂代谢、血细胞生成及癌症发生。有研究显示,肥胖儿童ANGPTL5水平异常升高,ANGPTL5可能参与心血管疾病,在预测肥胖症及代谢类疾病预后中具有重要作用^[16]。另有研究对非小细胞肺癌患者组织中ANGPTL5表达进行检测显示,癌组织ANGPTL5高表达率达55.3%,且阳性表达患者的总体生存率明显低于阴性表达者,推测阻断ANGPTL5或可作为治疗非小细胞肺癌有效途径之一^[17]。本研究提示ANGPTL5可能与胃癌发生有关。对ANGPTL5与临床特征进一步分析显示,本研究发现ANGPTL5与患者的临床分期、分化程度、淋巴结转移、浸润深度相关,与聂思月等^[18]结果相似,提示ANGPTL5可能与胃癌的病情进展有关,猜测ANGPTL5可能通过调控胃癌肿瘤的细胞增殖与凋亡而参与胃癌进展。对患者术后进行为期3年随访,结果显示ANGPTL5、AFP高表达胃癌

患者生存时间显著低于低表达者,提示高水平ANGPTL5、AFP对胃癌患者预后造成不良影响。另进行COX多因素分析显示,浸润深度、ANGPTL5及AFP高表达是影响胃癌患者不良预后的危险因素,提示浸润深度越深,ANGPTL5及AFP表达水平越高,则患者预后越差,可能为临床预测患者预后提供一定参考依据。临床应关注有高危因素患者,及时检测血清指标,便于及时发现异常,采取相应治疗措施,以尽可能改善患者预后,延长生存期。

综上所述,胃癌患者血清ANGPTL5、AFP表达水平均明显上升,可能参与不良预后的发生,可能为临床评估患者预后提供理论参考。

参考文献

- [1] 单晓丽,杨丽秋,何慧,等.哈尔滨市南岗区2006~2015年消化系统恶性肿瘤发病、死亡趋势分析及预测[J].肿瘤预防与治疗,2018,31(2):127-136.
- [2] Wei Z, Ji XL. The impact of MicroRNA-133a on prognosis and clinicopathological parameters for digestive system cancers: a comprehensive study based on meta-analysis and TCGA database[J]. Pathol Oncol Res, 2020,26(2):771-781.
- [3] Coburn N, Cosby R, Klein L, et al. Staging and surgical approaches in gastric cancer: A systematic review [J]. Cancer Treat Rev, 2018,63(1):104-115.
- [4] 刘红芬,王征,王莉,等.肿瘤标志物对胃癌诊断和预后判断的价值以及与免疫炎症反应指标的相关性[J].河北医科大学学报,2019,40(7):855-858.
- [5] 谢振华,祁洪刚,张曙伟,等.血清CK19和AFP等七项肿瘤标志物联合诊断膀胱癌的研究[J].中国现代医生,2017,55(32):23-26.
- [6] Alghanim G, Qaddoumi MG, Alhasawi N, et al. Higher levels of ANGPTL5 in the circulation of subjects with obesity and type 2 diabetes are associated with insulin resistance [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019,10:495.
- [7] 郭峰.胃镜活检与外科病理诊断胃癌的临床比较研究[J].中国卫生标准管理,2015,6(32):188-189.
- [8] 国家消化系统疾病临床医学研究中心,中华医学会消化内镜学分会,中华医学会健康管理学分会,等.中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案)(2017年,上海)[J].中华健康管理学杂志,2018,38(1):8-14.
- [9] 郑春喜,田润华,傅桂霞.血清肿瘤标志物在胃癌诊断及预后评估中的应用[J].临床合理用药杂志,2019,12(26):14-15.
- [10] 葛晓松,高翔,王晓莉,等.76例AFP阳性胃癌患者临床病理资料及预后分析[J].中国血液流变学杂志,2017,27(3):256-260.
- [11] 张一鸣,于圣平,刘沛东,等.肿瘤微环境中胶质瘤细胞和免疫细胞代谢对抗肿瘤免疫的调控作用[J].中国现代神经疾病杂志,2020,20(2):73-78.

(下转第2179页)

CD20、Ki-67及P53蛋白在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达及其临床意义

蒋磊 周颖 王银花 许倩*

[摘要] 目的 探讨弥漫大B细胞淋巴瘤是否表达CD20、Ki-67及P53蛋白,及其与临床病理和预后的关系。方法 分析2018年3月~2022年3月苏州市第九人民医院血液科收治的86例弥漫大B细胞淋巴瘤患者的临床和病理学资料。采用免疫组化法检测患者肿瘤石蜡组织中CD20、Ki-67及P53蛋白阳性表达率,并分析其与患者临床病理参数和预后的关系。结果 患者肿瘤石蜡组织中CD20、Ki-67及P53蛋白阳性表达率分别为38.37%(33/86)、82.56%(71/86)和80.23%(69/86)。CD20、Ki-67及P53蛋白阳性和阴性表达患者的Ann Arbor III+IV分期患者比例、国际预后指数(IPI)评分 ≥ 2 分患者比例、ECOG PS评分 ≥ 2 分患者比例、Hans GCB分型患者比例、骨髓浸润发生率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67和P53蛋白表达均可影响其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润状况,且三者联合判断其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润等的效能良好($P < 0.05$)。结论 CD20、Ki-67及P53蛋白在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达与其临床病理和预后状况均密切相关,可作为其临床病理和预后状况判断辅助参考指标。

[关键词] CD20; Ki-67; P53; 蛋白; 弥漫大B细胞淋巴瘤

Expression of CD20, Ki-67 and P53 proteins in diffuse large B-cell lymphoma and clinical significance

JIANG Lei, ZHOU Ying, WANG Yinhu, XU Qian*

(Department of Hematology, Suzhou Ninth People's Hospital, Suzhou, Jiangsu, China, 215200)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of CD20, Ki-67 and P53 proteins in diffuse large B-cell lymphoma, and analyze their correlation with clinicopathological parameters and prognosis. **Methods** The clinical and pathological data of 86 patients with diffuse large B-cell lymphoma admitted to the Department of Hematology, Suzhou Ninth People's Hospital from March 2018 to March 2022 were retrospectively analyzed. Immunohistochemical method was used to detect the positive expression rates of CD20, Ki-67 and P53 proteins in the tumor paraffin tissue of the patients, and their relationship with the clinicopathological parameters and prognosis of the patients was analyzed. **Results** The positive expression rates of CD20, Ki-67 and P53 proteins in tumor paraffin tissues were 38.37% (33/86), 82.56% (71/86) and 80.23% (69/86), respectively. The proportion of patients with Ann Arbor III+IV stage, the proportion of patients with International Prognostic Index (IPI) score ≥ 2 , the proportion of patients with ECOG PS score ≥ 2 , and the Hans GCB type of patients with CD20, Ki-67 and P53 protein positive and negative expression There were statistically significant differences in the proportion and incidence of bone marrow infiltration ($P < 0.05$). The expression of CD20, Ki-67 and P53 proteins in diffuse large B-cell lymphoma can affect its IPI score, ECOG PS score, Hans classification and bone marrow infiltration, and the combined of the three had a good evaluating effect on its IPI score, ECOG PS score, Hans classification, and bone marrow infiltration ($P < 0.05$).

基金项目:苏州市吴江区“科教兴卫”项目(WWK202010)

作者单位:苏州市第九人民医院血液科,江苏,苏州 215200

*通信作者:许倩, E-mail:szhoujy@163.com

Conclusion The expression of CD20, Ki-67 and P53 protein in diffuse large B-cell lymphoma is closely related to its clinical pathology and prognosis, which can be used as auxiliary reference indicators for judging its clinicopathology and prognosis.

[KEY WORDS] CD20; Ki-67; P53; Protein; Diffuse large B-cell lymphoma

近年来弥漫大B细胞淋巴瘤治疗取得了较大进展,但仍有相当多的患者治疗反应不敏感,治疗后复发亦常有发生^[1]。Ki-67、P53均与弥漫大B细胞淋巴瘤密切相关,而CD20阴性弥漫大B细胞淋巴瘤侵袭性较强且预后状况较差^[2-4]。由此可见,CD20、Ki-67及P53均可能与弥漫大B细胞淋巴瘤病情和预后相关。联合检测多个基因蛋白表达可更全面准确进行预后判断^[5]。因此,本研究探讨CD20、Ki-67及P53蛋白在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达水平,并分析其对临床病理特征及预后的判断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析2018年3月~2022年3月苏州市第九人民医院血液科收治的86例弥漫大B细胞淋巴瘤患者的临床和病理学资料。其中男45例,女41例,平均年龄(53.68±9.85)岁,≥60岁39例,<60岁47例,结外累及53例,霍奇金淋巴瘤分期(staging of Hodgkin's lymphoma, Ann Arbor分期)^[6]为Ⅲ+Ⅳ分期患者55例而Ⅰ+Ⅱ分期患者31例,国际预后指数(international prognostic index, IPI评分)^[7]≥2分39例而<2分47例,东部肿瘤协作组体能状态(Eastern Cooperative Oncology Group performance status, ECOG PS评分)^[8]≥2分35例而<2分51例,汉斯(Hans)免疫分型为生发中心B细胞型(Germinal center B cell, GCB)分型^[9]30例而ABC分型56例,骨髓浸润48例。

纳入标准:符合WHO(2016)关于淋巴组织肿瘤修订版相关分类标准^[10],淋巴结活检确诊为弥漫大B细胞淋巴瘤。均为成年患者。确诊后生存期>6个月。检查完善且资料齐全。排除标准:合并坏死性淋巴炎、其他原发肿瘤疾病或转移性肿瘤疾病、传染性单核细胞增多症、髓外白血病或全身重要脏器严重疾患者。患者均知情同意且研究经本院伦理委员会审核批准。

1.2 研究方法

采用免疫组化法检测肿瘤石蜡组织中CD20、

Ki-67及P53蛋白表达。将石蜡组织切制成4~5 μm厚连续切片,80℃烤箱烤片半小时,二甲苯脱蜡和常规梯度酒精水化,柠檬酸缓冲液煮沸修复抗原,磷酸盐(PBS)缓冲液冲洗,3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性。向切片滴加一抗,在4℃恒温箱中孵育过夜,PBS缓冲液冲洗,滴加通用型免疫球蛋白G抗体-辣根过氧化物酶多聚体,37℃恒温箱中孵育15 min,PBS缓冲液冲洗,行二氨基联苯胺试剂染色、苏木素轻度复染细胞核,PBS缓冲液冲洗,梯度酒精脱水干燥,中性树胶封片。阴性对照为采用PBS代替一抗。

由2名以上病理学专家确定免疫组化病理结果。当肿瘤细胞内有定位清晰的棕黄色或棕褐色颗粒时判断为阳性,随机选取10个视野(200×)观察,确定着色强度和阳性细胞数量占比,其中没有着色0分,浅黄色1分,棕黄色2分,棕褐色3分;阳性细胞数占比<25%1分,25%~50%2分,>50%3分,取着色强度和阳性细胞数量占比分值相乘分值结果,分值在0~1分阴性(-),2~4分弱阳性(+),5~8分中等阳性(++),9~12分强阳性(+++),中等阳性和强阳性均计入阳性表达^[11]。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0软件。计数资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用*t*检验。采用Logistics回归模型分析弥漫大B细胞淋巴瘤CD20、Ki-67及P53蛋白表达状况的影响因素,诊断性试验四格表分析三者的临床病理和预后状况的判断效能。*P*<0.05时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67及P53蛋白表达水平分析

CD20蛋白表达定位于细胞膜,Ki-67、P53蛋白表达均定位于细胞核。86例弥漫大B细胞淋巴瘤患者肿瘤石蜡组织中CD20、Ki-67及P53蛋白阳性表达率分别为38.37%(33/86)、82.56%(71/86)和80.23%(69/86)。见图1。



图1 弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67及P53蛋白表达免疫组化检测结果(SP, ×200)

Figure 1 Immunohistochemical detection results of CD20, Ki-67 and P53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma tissue (SP, ×200)

2.2 不同CD20、Ki-67及P53蛋白表达情况患者的临床病理参数和预后参数比较

CD20、Ki-67及P53蛋白阳性和阴性表达患者的Ann Arbor III+IV分期患者比例、IPI评分≥2分患者比例、ECOG PS评分≥2分患者比例、Hans GCB分型患者比例、骨髓浸润发生率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.3 弥漫大B细胞淋巴瘤患者CD20、Ki-67及P53蛋白阳性表达状况的危险因素分析

弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67和P53蛋白表达均可影响其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润状况($P < 0.05$)。见表2和表3。

表1 不同CD20、Ki-67及P53蛋白表达情况患者的临床病理参数和预后参数比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of clinicopathological parameters and prognostic parameters in patients with different CD20, Ki-67 and P53 protein expressions [n(%)]

| 临床病理和预后参数 | CD20 阳性(n=33) | χ^2 值 | P 值 | Ki-67 阳性(n=71) | χ^2 值 | P 值 | P53 阳性(n=69) | χ^2 值 | P 值 |
|--------------|---------------|------------|--------|----------------|------------|-------|--------------|------------|--------|
| 性别 | | 0.014 | 0.906 | | 0.007 | 0.931 | | 0.359 | 0.549 |
| 男 | 17(51.52) | | | 37(52.11) | | | 35(50.72) | | |
| 女 | 16(48.48) | | | 34(47.89) | | | 34(49.28) | | |
| 年龄 | | 0.000 | 0.989 | | 0.013 | 0.910 | | 0.025 | 0.874 |
| ≥60岁 | 15(45.45) | | | 32(45.07) | | | 31(44.93) | | |
| <60岁 | 18(54.55) | | | 39(54.93) | | | 38(55.07) | | |
| 结外累及 | | 0.091 | 0.763 | | 0.195 | 0.659 | | 0.085 | 0.771 |
| 是 | 21(6.64) | | | 43(60.56) | | | 42(60.87) | | |
| 否 | 12(36.36) | | | 28(39.44) | | | 27(39.13) | | |
| Ann Arbor 分期 | | 48.663 | <0.001 | | 7.390 | 0.007 | | 7.549 | 0.006 |
| III+IV期 | 6(18.18) | | | 50(70.42) | | | 49(71.01) | | |
| I+II期 | 27(81.82) | | | 21(29.58) | | | 20(28.99) | | |
| IPI 评分 | | 19.702 | <0.001 | | 4.711 | 0.030 | | 9.643 | 0.002 |
| ≥2分 | 5(15.15) | | | 36(50.70) | | | 37(53.62) | | |
| <2分 | 28(84.85) | | | 35(49.30) | | | 32(46.38) | | |
| ECOG PS 评分 | | 22.164 | <0.001 | | 5.637 | 0.018 | | 4.665 | 0.031 |
| ≥2分 | 3(9.09) | | | 33(46.48) | | | 32(46.38) | | |
| <2分 | 30(90.91) | | | 38(53.52) | | | 37(53.62) | | |
| Hans 分型 | | 9.179 | 0.002 | | 6.369 | 0.012 | | 4.986 | 0.026 |
| GCB分型 | 5(15.15) | | | 29(40.85) | | | 28(40.58) | | |
| ABC分型 | 28(84.85) | | | 42(59.15) | | | 41(59.42) | | |
| 骨髓浸润 | | 21.642 | <0.001 | | 6.259 | 0.012 | | 16.671 | <0.001 |
| 是 | 8(24.24) | | | 44(61.97) | | | 46(66.67) | | |
| 否 | 25(75.76) | | | 27(38.03) | | | 23(33.33) | | |

表2 变量赋值

Table 2 Assignment of arguments

| 变量 | 赋值 |
|--------------|--------------------|
| Ann Arbor 分期 | I+II期=0, III+IV期=1 |
| IPI 评分 | <2分=0, ≥2分=1 |
| ECOG PS 评分 | <2分=0, ≥2分=1 |
| Hans 分型 | ABC分型=0, GCB分型=1 |
| 骨髓浸润 | 否=0, 是=1 |

2.4 弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67及P53蛋白表达情况对其临床病理和预后状况的判断效能

弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67及P53蛋白表达情况对其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润等的判断效能均良好,以三者联合判断效能最佳。见表4。

3 讨论

弥漫大B细胞淋巴瘤约占非霍奇金淋巴瘤的32.5%,具有侵袭性强的特点,可侵犯患者全身多个部位,患者预后情况差^[12]。对弥漫大B细胞淋巴瘤进行及时有效诊治对改善其预后的重要意义,目前其治疗以免疫化疗为主,但有相当一部分患者肿瘤治疗困难且可出现疾病复发情况的发生^[13]。因此,

表3 弥漫大B细胞淋巴瘤患者CD20、Ki-67及P53蛋白表达状况的危险因素分析

Table 3 Analysis of risk factors for expression of CD20, Ki-67 and p53 protein of patients with diffuse large B-cell lymphoma

| 因变量 | 自变量 | β | SE | WALD | OR | 95% CI |
|-------------|--------------|---------|-------|--------|-------|--------------|
| CD20 阴性 | Ann Arbor 分期 | 0.362 | 0.249 | 2.114 | 1.436 | 0.882~2.340 |
| | IPI 评分 | 1.287 | 0.295 | 19.033 | 3.622 | 2.032~6.457 |
| | ECOG PS 评分 | 1.248 | 0.288 | 18.778 | 3.483 | 1.981~6.126 |
| | Hans 分型 | 1.313 | 0.305 | 18.532 | 3.717 | 2.045~6.758 |
| Ki-67 阳性 | Ann Arbor 分期 | 0.345 | 0.233 | 2.192 | 1.412 | 0.894~2.229 |
| | IPI 评分 | 1.458 | 0.374 | 15.197 | 4.297 | 2.065~8.945 |
| | ECOG PS 评分 | 1.485 | 0.382 | 15.112 | 4.415 | 2.088~9.335 |
| | Hans 分型 | 1.426 | 0.357 | 15.955 | 4.162 | 2.067~8.379 |
| P53 阳性 | Ann Arbor 分期 | 0.388 | 0.257 | 2.279 | 1.474 | 0.891~2.439 |
| | IPI 评分 | 1.662 | 0.473 | 12.346 | 5.270 | 2.085~13.318 |
| | ECOG PS 评分 | 1.597 | 0.338 | 22.324 | 4.938 | 2.546~9.578 |
| | Hans 分型 | 1.639 | 0.433 | 14.328 | 5.150 | 2.204~12.033 |
| | 骨髓浸润 | 1.672 | 0.484 | 11.934 | 5.323 | 2.061~13.745 |

表4 弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20、Ki-67及P53蛋白表达情况对其临床病理和预后状况的判断效能

Table 4 The efficacy of CD20, Ki-67 and P53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma tissue for evaluating its clinicopathological and prognostic status

| 判断项 | 判断指标 | 灵敏度 (%) | 特异度 (%) | 准确性 (%) |
|-----------------------|-----------------------------|---------|---------|---------|
| IPI 评分 ≥ 2 分 | CD20 阴性 | 87.18 | 59.57 | 72.09 |
| | Ki-67 阳性 | 92.31 | 32.43 | 63.16 |
| | P53 阳性 | 94.87 | 31.91 | 60.47 |
| | CD20 阴性/Ki-67 阳性/ P53 阳性 | 94.87 | 87.23 | 90.70 |
| ECOG PS 评分 ≥ 2 分 | CD20 阴性 | 91.43 | 60.38 | 72.73 |
| | Ki-67 阳性 | 94.29 | 25.49 | 53.49 |
| | P53 阳性 | 91.43 | 27.45 | 53.49 |
| | CD20 阴性/Ki-67 阳性/ P53 阳性 | 100.00 | 90.57 | 94.32 |
| Hans GCB 分型 | CD20 阴性 | 83.33 | 50.00 | 61.63 |
| | Ki-67 阳性 | 96.67 | 25.00 | 50.00 |
| | P53 阳性 | 93.33 | 26.79 | 50.00 |
| | CD20 阴性/Ki-67 阳性/ P53 阳性 | 92.50 | 81.13 | 86.02 |
| 骨髓浸润 | CD20 阴性 | 83.33 | 65.79 | 75.58 |
| | Ki-67 阳性 | 91.67 | 28.95 | 63.95 |
| | P53 阳性 | 95.83 | 39.47 | 70.93 |
| | CD20 阴性/Ki-67 阳性/ P53 阳性 | 97.92 | 73.68 | 87.21 |

改善弥漫大B细胞淋巴瘤疗效和预后仍是目前需解决的重要医疗问题。弥漫大B细胞淋巴瘤的发生发展涉及多种机制和相关基因蛋白的异常表达,目前已发现多种基因蛋白参与其中^[14]。通过相关因子检测早期确定肿瘤病情恶化或不良预后风险,

可为其治疗方案调控优化和靶向治疗提供参考。

Ki-67是与多种肿瘤密切相关的核蛋白,可通过核糖体RNA的转录影响细胞增殖活跃度,而张静等^[15]的研究免疫组化法检测弥漫大B细胞淋巴瘤患者癌组织和癌旁组织的Ki-67蛋白的表达情况,结果表明其在弥漫大B细胞淋巴瘤癌组织中异常高表达,且其癌组织中Ki-67蛋白高表达甚至可作为患者不良预后的独立危险因素。而本研究中弥漫大B细胞淋巴瘤癌组织中的Ki-67蛋白阳性表达率为82.56%,与张静等^[15]的研究中的90.14%差异不大,进一步确定了Ki-67蛋白表达在弥漫大B细胞淋巴瘤中的高表达。本研究中,Ki-67蛋白阳性表达患者的Ann Arbor III+IV分期患者比例、IPI评分 ≥ 2 分患者比例、ECOG PS评分 ≥ 2 分患者比例、Hans GCB分型患者比例、骨髓浸润发生率均高于其相应蛋白阴性表达患者,弥漫大B细胞淋巴瘤组织Ki-67蛋白表达可影响其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润状况,而诊断性试验四格表分析肯定了弥漫大B细胞淋巴瘤组织Ki-67蛋白表达情况对其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润等的判断效能。

P53基因调控细胞周期组织、衰老、凋亡等过程,且弥漫大B细胞淋巴瘤中P53蛋白阳性表达为其独立预后因素,可作为其预后评估指标^[16]。本研究中弥漫大B细胞淋巴瘤组织中P53蛋白阳性表达率较高,且蛋白阳性表达和阴性患者的Ann Arbor III+IV分期患者比例、IPI评分 ≥ 2 分患者比例、ECOG PS评分 ≥ 2 分患者比例、Hans GCB分型患者比例、骨髓浸润发生率有较大差异,弥漫大B细胞淋巴瘤组织P53蛋白表达可影响其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润状况且P53蛋白表达对其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸润等具有较好的判断效能。

CD20阴性的弥漫大B细胞淋巴瘤临床较少见,但是CD20阴性的弥漫大B细胞淋巴瘤具有更强的肿瘤侵袭性,患者预后情况也更差^[17]。本研究中,弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20阴性表达患者比例为38.37%,且相对于CD20阳性患者,CD20阴性患者的Ann Arbor III+IV分期患者比例、IPI评分 ≥ 2 分患者比例、ECOG PS评分 ≥ 2 分患者比例、Hans GCB分型患者比例、骨髓浸润发生率均更高,弥漫大B细胞淋巴瘤组织CD20蛋白表达可影响其IPI评分、ECOG PS评分、Hans分型、骨髓浸

润状况,且对其 IPI 评分、ECOG PS 评分、Hans 分型、骨髓浸润等的判断效能均良好,CD20、Ki-67 及 P53 蛋白表达三者联合判断弥漫大 B 细胞淋巴瘤临床病理和预后状况的效能最佳,提示 CD20、Ki-67 及 P53 蛋白联合检测在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中具有更佳的应用价值,可更好地指导弥漫大 B 细胞淋巴瘤诊治,从而改善疗效和预后。

综上所述,在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中 Ki-67 及 P53 蛋白阳性水平较高而 CD20 蛋白阴性表达,三者与患者临床病理和预后状况均密切相关且联合应用可更好判断其临床病理和预后状况,但本研究尚不能确定三者可作为弥漫大 B 细胞淋巴瘤靶向干预基因,仍需更多的基因干预实验确定其可能性。

参考文献

- [1] Kanas G, Ge W, Quek RGW, et al. Epidemiology of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and follicular lymphoma (FL) in the United States and Western Europe: population-level projections for 2020-2025[J]. *Leuk Lymphoma*, 2022, 63(1):54-63.
- [2] Maeshima AM, Taniguchi H, Hori Y, et al. Diagnostic utility and prognostic significance of the Ki-67 labeling index in diffuse large B-cell lymphoma transformed from follicular lymphoma: a study of 76 patients[J]. *Pathol Int*, 2021, 71(10):674-681.
- [3] Pascual M, Mena-Varas M, Robles EF, et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint and p53 loss facilitate tumor progression in activated B-cell diffuse large B-cell lymphomas[J]. *Blood*, 2019, 133(22):2401-2412.
- [4] 孙梦琪,赵曙,张清媛. CD20 阴性的弥漫大 B 细胞淋巴瘤的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2017, 22(5):461-464.
- [5] 郑永青,孙明东,王瑞芳,等. 血清 β 2-MG 联合 LDH 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤预后判断中的意义[J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(6):582-587.
- [6] 袁媛,李金娇,肖萃,等. Ann Arbor 分期划分淋巴瘤淋巴结区域的意义探讨[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(10):107-111.
- [7] 冯要须,苏丽萍. 国际预后指数修订国际预后指数改良国际预后指数及西班牙淋巴瘤组/自体骨髓移植国际预后指数对弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的预后评估价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2020, 42(11):949-954.
- [8] Neeman E, Gresham G, Ovasapians N, et al. Comparing Physician and Nurse Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG-PS) Ratings as Predictors of Clinical Outcomes in Patients with Cancer[J]. *Oncologist*, 2019, 24(12):e1460-e1466.
- [9] 郭旦,周露,曹琬琪,等. 外周血 T 细胞亚群在不同分期及 Hans 分型的弥漫大 B 细胞淋巴瘤的表达与意义[J]. *医学信息*, 2022, 35(7):95-98.
- [10] 缪伟,朱华渊,徐卫. 世界卫生组织 2016 年淋巴瘤分类更新解读[J]. *中国实用内科杂志*, 2016, 36(8):647-653.
- [11] 张辛未. P-gp1、Gst- π 、P53 和 Ki-67 蛋白表达与弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者临床特征及化疗耐药相关因素研究[D]. 辽宁:大连医科大学, 2018:15-16.
- [12] Wright GW, Huang DW, Phelan JD, et al. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(4):551-568.e14.
- [13] 周众,时云飞. 基于基因表达谱数据分析弥漫大 B 细胞淋巴瘤肿瘤相关巨噬细胞浸润情况及其与患者预后的相关性[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2022, 31(3):143-150.
- [14] 姚明,杨灿,林永丽. Ki-67、nm23 和 PTEN 在 CMM 中的表达及与淋巴结转移的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(2):210-213+217.
- [15] 张静,颜丽华,许伟,等. Ki-67、B 细胞淋巴瘤/白血病-6 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及与患者临床特征和预后的关系[J]. *癌症进展*, 2020, 18(17):1746-1749+1753.
- [16] 李红艳,于国华,隋小龙,等. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤中 p53 蛋白的表达及预后分析[J]. *诊断病理学杂志*, 2022, 29(1):6-11.
- [17] 祁昱,管雪,杨亦宸,等. 原发 CD20 阴性非特殊亚型弥漫性大 B 细胞淋巴瘤临床病理分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2021, 28(23):1820-1825.

(上接第 2174 页)

- [12] 方瑜,王琳,李桂梅,等. c-Met, VEGF 在 AFP 阳性胃癌中的表达及意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2015, 50(3):357-360.
- [13] Pak VN. The use of alpha-fetoprotein for the treatment of autoimmune diseases and cancer[J]. *Ther Deliv*, 2018, 9(1):37-46.
- [14] Wang D, Li C, Xu Y, et al. Clinicopathological characteristics and prognosis of alpha-fetoprotein positive gastric cancer in Chinese patients[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6):6345-6355.
- [15] Feng F, Sun L, Liu Z, et al. Prognostic values of normal pre-operative serum cancer markers for gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(36):58459-58469.
- [16] Hammad MM, Abu-Farha M, Al-Ta'ar A, et al. Correlation of circulating ANGPTL5 levels with obesity, high sensitivity C-reactive protein and oxidized low-density lipoprotein in adolescents[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):6330.
- [17] Wang L, Geng T, Guo X, et al. Co-expression of immunoglobulin-like transcript 4 and angiopoietin-like proteins in human non-small cell lung cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(4):2789-96.
- [18] 聂思月,王震,孙靖宇,等. ANGPTL5 在人胃癌组织中的表达及临床意义[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2017, 55(8):67-71.

2例3M综合征产前诊断的病例报道及文献复习

王逾男^{1,2} 汪安石^{1,2} 熊盈^{1,2} 曾玉坤^{1,2} 余丽华^{1,2} 何天文^{1,2*}

[摘要] **目的** 利用高通量测序技术为两例严重宫内生长发育迟缓胎儿揭示遗传学病因。**方法** 分析2017年至今本院产前诊断中心就诊的两例3M综合征胎儿产前超声表现及产前诊断结果。采集先证胎儿羊水及其家庭成员的外周血,进行父母子医学外显测序检测。并采用生物信息学方法针对致病基因突变位点进行预测,鉴定其致病性。**结果** 医学外显结果提示本研究中两例胎儿 *CUL7* 基因均存在复合杂合变异,且变异均遗传自父母,Sanger测序结果与高通量测序结果一致。两对夫妻经遗传咨询后,均决定放弃本次妊娠。胎儿一尸检结果符合3M综合征诊断,胎儿二父母拒绝进一步尸检及大体检查。**结论** 本研究利用高通量测序技术成功鉴定了两例 *CUL7* 基因复合杂合变异导致的中国人3M综合征的新变异,新变异的发现丰富了中国人群的胎儿宫内生长发育迟缓的遗传信息。

[关键词] 3M综合征;高通量测序技术;新变异;胎儿宫内发育迟缓

Prenatal diagnosis of 3M syndrome: 2 case report and literature review

WANG Yunan^{1,2}, WANG Anshi^{1,2}, XIONG Ying^{1,2}, ZENG Yukun^{1,2}, YU Lihua^{1,2}, HE Tianwen^{1,2*}

(1. Medical Genetic Center, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 511442; 2. Maternal and Children Metabolic - Genetic Key Laboratory, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 511442)

[ABSTRACT] **Objective** High-throughput sequencing was employed to reveal the underlying genetic etiology of two severe intrauterine growth retardation fetuses. **Methods** The prenatal ultrasound findings and prenatal diagnosis results of two 3M syndrome fetuses referred to the Prenatal Diagnosis Center of our hospital since 2017 were retrospectively analyzed. Trio - Medical exome sequencing was performed on two severe intrauterine growth retardation fetuses, and bioinformatics methods were used to predict at the mutation site of the disease -causing gene to identify its pathogenicity. **Results** Trio -MES and Sanger sequencing revealed biparental -origin compound heterozygotes *CUL7* mutations of both fetuses inherited from both parents. The autopsy results of the first fetus were consistent with the diagnosis of 3M syndrome, and the parents refused the second fetus for further autopsy and gross examination. **Conclusion** In this study, four novel homozygous mutations were identified in two Chinese 3M syndrome fetuses by high-throughput sequencing. The discovery of new mutations enriched the genetic information of intrauterine growth retardation in Chinese population.

[KEY WORDS] 3M syndrome; High-throughput sequencing; Novel mutation; Intrauterine growth retardation

3M综合征是一种罕见的常染色体隐性遗传性疾病,发病率不明,目前全世界仅100余例报道。其临床表现为产前和产后生长发育迟缓、特

殊面容、头围增大和骨骼发育异常等,而智力水平和内分泌功能通常正常,男性常伴有性腺功能减退,偶有尿道下裂^[1]。1975年,三位遗传学家米

基金项目:广州市基础研究计划基础与应用基础研究项目(202102020847)

作者单位:1. 广东省妇幼保健院医学遗传中心,广东,广州511442

2. 广东省妇幼保健院妇幼代谢与遗传病重点实验室,广东,广州511442

*通信作者:何天文, E-mail:love830415@126.com

勒、麦库西克和马尔沃首次发现并报道了本病,故其以三位遗传学家名字的首字母命名^[2]。根据2019年修订的遗传性骨骼疾病分类,3M综合征被归类为细长骨发育不良组,其典型的骨骼改变为管状骨,椎体缩短和骨龄延迟^[3]。3M综合征的生长障碍大多是由致病基因 *CCDC8*、*OBSL1*、*CUL7* 突变而引起的,占比分别为 8%、23%、69%^[4]。本病大多数于儿童期或成年后诊断,若无先证者,极难在产前明确诊断。本研究分析了两例宫内表现为严重宫内生长发育迟缓的3M综合征胎儿的产前超声表现及产前诊断结果,以期丰富中国人群宫内生长发育迟缓的遗传信息。提高大家对3M综合征宫内表现的认识,有助于其早期宫内诊断。

1 研究对象与方法

1.1 病例资料

病例1,孕妇邹××,29岁。孕18周因“NT增厚4.2 mm,超声提示胎儿股骨径小于孕周3周”转诊到本院。G2P1A0,2015年孕37周因胎儿四肢短小,胸廓狭窄,双肺发育不良,羊水过少外院引产1次;夫妻双方正常身高。孕妇于18周接受了羊水染色体核型分析、染色体微阵列基因芯片检测(chromosomal microarray, CMA)及 *FGFR3* 基因测序检查,结果均未见异常。孕妇于孕23⁺周行Ⅲ级超声检查,结果提示胎儿四肢长骨明显小于孕周(4~5周),为进一步明确病因,拟采用高通量测序方法针对孕妇本人、孕妇丈夫以及胎儿进行医学外显子组序列分析。胎儿孕期不同孕周生长径线情况。见表1。

表1 病例1胎儿不同孕周生长径线情况

Table 1 Growth diameter at different gestational weeks of Fetus 1

| 2D 测量 | 18周(测量值 mm/标准差) | 25周(测量值 mm/标准差) | 33周3天(测量值 mm/标准差) |
|-----------|--------------------|--------------------|----------------------|
| 双顶径(BPD) | 39(-0.3SD) | 61(-0.5SD) | 83(-0.4SD) |
| 头围(HC) | 149(0.5SD) | 234(0.7SD) | 301(-0.3SD) |
| 腹围(AC) | 124(-0.2SD) | 190(-1.2SD) | 262(-1.8SD) |
| 股骨长(FL) | 17(-4.2SD) | 31(-5.9SD) | 46(-6.3SD) |
| 胫骨长(TIB) | | 27(-6.0SD) | 38(-6.7SD) |
| 腓骨长(FIB) | | 28(-5.1SD) | 38(-6.1SD) |
| 肱骨长(HL) | | 28(-6.3SD) | 38(-7.1SD) |
| 桡骨长(RAD) | | 24(-5.3SD) | 35(-4.7SD) |
| 尺骨长(Ulna) | | 27(-5.7SD) | 36(-6.6SD) |

病例2,孕妇林××,34岁,孕29+周因“胎儿四肢长骨明显小于孕周5~7周”转诊到本院。孕期NT检查正常范围。外院已行介入性产前诊断,

检查项目包括羊水染色体核型分析、CMA及 *FGFR3* 基因测序检查,结果均未见异常。孕产史无特殊。为进一步明确病因,拟采用高通量测序方法针对孕妇本人、孕妇丈夫以及胎儿进行医学外显子组序列分析。胎儿孕期不同孕周生长径线情况见表2。

表2 病例2胎儿不同孕周生长径线情况

Table 2 Growth diameter at different gestational weeks of Fetus 2

| 2D 测量 | 23周6天 (测量值 mm/标准差) | 27周1天 (测量值 mm/标准差) | 29周5天 (测量值 mm/标准差) |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 双顶径(BPD) | 59(0.4SD) | 67(-0.2SD) | 78(-0.7SD) |
| 头围(HC) | 221(0.7SD) | 225(0.5SD) | 274(-0.1SD) |
| 腹围(AC) | 190(-0.1SD) | 225(-0.1SD) | 245(-0.5SD) |
| 股骨长(FL) | 34(-3.5SD) | 40(-4.1SD) | 44(-4.3SD) |
| 胫骨长(TIB) | 29(-4.1SD) | 33(-5.1SD) | 36(-5.6SD) |
| 腓骨长(FIB) | 29(-3.7SD) | 32(-5.0SD) | 34(-5.8SD) |
| 肱骨长(HL) | 31(-4.1SD) | 35(-4.9SD) | 38(-5.3SD) |
| 桡骨长(RAD) | 26(-3.7SD) | 30(-4.0SD) | 33(-4.1SD) |
| 尺骨长(Ulna) | 30(-3.6SD) | 30(-4.7SD) | 36(-5.0SD) |

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

采用血液基因组DNA提取试剂盒(厦门致善生物科技股份有限公司)提取外周血基因组DNA;利用柱提法对产前诊断标本(羊水/脐血)进行基因组DNA提取(Qiamp DNA Blood Mini Kit)。提取完成后,用NanoDrop 2000超微量分光光度计DNA进行纯度和浓度的测定,合格DNA保存于-20℃备用。

1.2.2 医学外显子组序列分析

通过快速QF-PCR(Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction)法对D13S252、D18S386、D21S11等26个STR位点进行检测,分析胎儿染色体非整倍体情况,及排除所采集的胎儿标本无母体DNA污染。将提取的孕妇及丈夫外周血全基因组DNA及产前诊断标本(羊水/脐血)DNA各100 μL,送至广州嘉检医学检测有限公司进行与人类疾病相关的4000个已知基因编码外显子区域及侧翼区的序列分析。测序后获得的原始数据通过使用BWA软件进行序列比对,采用GATK和Var Scan软件对变异进行识别,包括单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)、插入与缺失等进行检测、注释和统计分析。利用AnnoVar软件从外部数据库进行变异位

点注释,以评估给定的序列变异的影响。根据数据分析结果,参考 db SNP 数据库和 HGMD 数据库找出可能的致病突变。并对致病变异进行 Sanger 测序验证。通过数据库查找具有代表性的不同物种间该位点氨基酸保守性分析,以期揭示突变区域是否高度保守。

1.2.3 Sanger 测序验证

根据经医学外显子组高通量测序后分析结果,使用 Sanger 测序方法对胎儿及父母变异位点进行验证。采用 Primer5 软件设计引物,用聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)技术扩增 *CUL7* 基因(NM_014780)变异位点

c.2416C>T (R806*)、c.3489delG (W1163Cfs*44)、*CUL7* 基因(NM_001168370)c.5011C>T(p.Q1671*)、c.4585C>T(p.R1529*)相应外显子及其侧翼序列,引物由天一辉远广州基因科技,有限公司合成,引物序列如下表 3。按以下条件进行 PCR 扩增: LATaq 预混液 12.5 μ L, 甜菜碱 5 μ L, 正、反向引物各 1 μ L, 样本 DNA 1 μ L, 无核酸水至 25 μ L; PCR 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 62 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 进行 40 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物送至天一辉远广州基因科技有限公司进行 Sanger 测序。

表 3 *CUL7* 基因各变异位点引物序列

Table 3 Primer sequences of each variant locus of *CUL7* gene

| 转录本 | 变异位点 | 上游引物序列(5'-3') | 下游引物序列(5'-3') |
|--------------|---------------------------|----------------------|---------------------|
| NM_001168370 | c.4585C>T(p.R1529*) | CTCCAACACCAACTCCCTCC | CGTGGGCTCTCCACTGAGT |
| NM_001168370 | c.5011C>T(p.Q1671*) | CTCTGAGGCAGGGCCAG | GGGAGCAGTCTACAGGACA |
| NM_001168370 | c.2416C>T(p.R806*) | CGTGTTCCTGTGTGTCTC | GACGCCCTGTGTTTGT |
| NM_001168370 | c.3489delC(p.F1164Sfs*61) | GACTTGGGAGTGGAGGGG | CCGACAAACTCTCCCTCCT |

1.2.4 随访

追踪妊娠结局,包括出生孕周,分娩方式,出生体重等信息,对引产标本进行尸检,包括大体检查和显微镜检查等。

2 结果

2.1 医学外显子组测序结果

2.1.1 高通量测序数据质控参数

基因包检测区间覆盖有人类基因组中致病机制明确的 4 000 个相关基因, 74 566 个编码区总共含有 12 424 088 个碱基。平均覆盖深度 256 \pm 180X, 大于 10X 覆盖区间占 97.4%, 大于 20X 覆盖区间占 94.4%, 参考序列版本号: GRCh37/hg19。

2.1.2 医学外显子检测突变及 Sanger 测序验证结果

通过数据分析后发现病例一中胎儿 *CUL7* 基因存在复合杂合变异位点 c.2416C>T (p.R806*) (父亲杂合) 和 c.3489delC (p.F1164Sfs*61) (母亲杂合)。发现病例二中胎儿 *CUL7* 基因存在复合杂合变异位点 c.5011C>T (p.Q1671*) (父亲杂合)、*CUL7* 基因 c.4585C>T (p.R1529*) (母亲杂合)。Sanger 测序结果与高通量测序结果一致。

2.2 随访

两对夫妻经遗传咨询后,均决定放弃本次妊

娠。病例 1 胎儿于 33⁺周顺产娩出,男胎,重 1 365 g。大体表现为:前额突出、头围相对偏大、三角脸、鼻梁低平、肉的朝天鼻、唇部饱满、尖下巴、四肢明显短小、后跟突出。解剖结果与产前超声基本吻合:四肢短粗。镜下:取胫骨干骺端,见软骨细胞增多,交界线整齐。全身 X 光提示:前额突出,唇部饱满,四肢长骨明显短小,管型骨。病例 2 胎儿于 30 周顺产娩出,为男胎,孕妇及家属拒绝进一步尸检及大体检查。

3 讨论

3M 综合征是一种罕见的遗传性疾病,迄今为止,仅有约 100 余例 3M 综合征的报道,中国仅报道了 4 例病例^[5-6],而关于 3M 综合征胎儿产前诊断研究报道更少^[7]。3M 患者的典型面部特征往往直到青春期才出现,一些临床表型并非仅限于 3M 综合征,故对 3M 综合征的诊断,临床表型往往缺乏特异性,容易漏诊。本研究中病例 1 中引产胎儿有严重生长迟缓,特征性面容(相对头大、三角脸、鼻尖多肉、长人中、嘴宽唇厚、尖下巴),影像学表现(长骨细,明显短小,管型骨),与 3M 综合征的临床诊断基本是符合的。大多数 3M 综合征患者于儿童期或成年后诊断,若无先证者,极难在产前明确诊断。其产前超声无特异表现,部分文献报道

宫内有NT增厚表现^[3],在本研究中,病例一胎儿在妊娠12⁺周发现NT增厚4.2 mm,病例2中胎儿NT正常范围。还有一些文献报道了另外一个非特异性超声表现是宫内发育迟缓^[3, 8-9],本研究中2例胎儿都呈现随着孕周进行性加重的胎儿四肢长骨小于孕周,而双顶径,头围和腹围都大致正常。由于目前产前报道的3M综合征较少,目前宫内报道的超声表现——宫内生长发育迟缓和NT增厚并不特异,不是3M综合征所特有的,故本病的确诊还需要进一步的分子诊断。

文献研究表明,CUL7基因是3M综合征的主要致病基因^[4],它位于6p21.1,包含26个外显子,编码包含1 698个氨基酸的CUL7蛋白^[10]。CUL7蛋白属于cullin家族一员,它与SKP1-FBX29(FBXW8)和ROC1构成泛素连接酶E3,且在泛素连接酶E3的组装中起骨架作用^[11-12]。CUL7基因的突变可导致CUL7蛋白功能失调,使其不能招募ROC1,从而阻止了底物在体内的泛素化、降解和积累,这可能在胎儿宫内生长迟缓的机制中发挥重要作用。CUL7基因敲除小鼠胚胎也表现出宫内生长迟缓的现象,可能因为CUL7蛋白可以与p53结合,抑制p53的转录激活效应,从而促进细胞增殖,在CUL7基因敲除小鼠胚胎成纤维细胞中,p53的活性显著增加,导致了小鼠的宫内生长发育迟缓^[13]。综上CUL7基因变异可能是导致3M综合征的原因。本研究的变异位点中,其中c.2416C>T(p.R806*)、c.4585C>T(p.R1529*)与c.5011C>T(p.Q1671*)变异使得原编码氨基酸突变为终止密码子,使得编码蛋白提前终止(PVS1);c.3489delC(p.F1164Sfs*61)为缺失变异,碱基的缺失使得后续阅读框发生了移码改变,同样致使编码蛋白提前终止,正常合成的功能蛋白发生截短而影响蛋白发挥正常功能(PVS1)。查询clinvar数据库可知,CUL7基因的致病和疑似致病变异中,主要以无义变异(28:67)和移码变异(24:67)为主;查询gnomAD数据库得知上述变异人群频率极低(PM2_Supporting),采用varcards(<http://varcards.biols.ac.cn/>)在线针对上述变异位点进行生物信息学致病性分析,预测为致病的可能性较大。综合分析按照ACMG指南的致病性分析评级为LP(疑似致病变异)。

本研究利用高通量测序技术成功鉴定了两例CUL7基因复合杂合变异导致的中国人3M综合征的新变异,新变异的发现丰富了中国人人群的胎儿宫内生长发育迟缓的遗传信息。

参考文献

- [1] Simsek-kiper PO, Taskiran E, Kosukcu C, et al. Further expanding the mutational spectrum and investigation of genotype-phenotype correlation in 3M syndrome [J]. Am J Med Genet A, 2019, 179(7):1157-1172.
- [2] Miller JD, Mckusick VA, Malvaux P, et al. The 3-M syndrome: a heritable low birthweight dwarfism [J]. Birth Defects Orig Artic Ser, 1975, 11(5):39-47.
- [3] Guo L, Feng Z, JIN X, et al. A novel mutation within intron 17 of the CUL7 gene results in appearance of premature termination codon [J]. Clin Chim Acta, 2020, 507:23-30.
- [4] Huber C, Delezoide AL, Guimiot F, et al. A large-scale mutation search reveals genetic heterogeneity in 3M syndrome [J]. Eur J Hum Genet, 2009, 17(3):395-400.
- [5] 张亚男,皮亚雷,陶雪,等. 3M综合征家系报道及临床分析 [J]. 河北医科大学学报, 2016, 37(4):464-466.
- [6] 庄娇容,蔡少华,林茂增,等. 3-M综合征并生长激素治疗一例 [J]. 新医学, 2021, 52(4):293-295.
- [7] Hu X, Li H, Gui B, et al. Prenatal and early diagnosis of Chinese 3-M syndrome patients with novel pathogenic variants [J]. Clinica Chimica Acta, 2017, 474.
- [8] Lugli L, Bertucci E, Mazza V, et al. Pre- and post-natal growth in two sisters with 3-M syndrome [J]. Eur J Med Genet, 2016, 59(4):232-236.
- [9] Isik E, Arican D, Atik T, et al. A rare cause of syndromic short stature: 3M syndrome in three families [J]. Am J Med Genet A, 2021, 185(2):461-468.
- [10] Dias DC, Dolios G, Wang R, et al. CUL7: A DOC domain-containing cullin selectively binds Skp1.Fbx29 to form an SCF-like complex [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(26):16601-16606.
- [11] Kong C, Samovski D, Srikanth P, et al. Ubiquitination and degradation of the hominoid-specific oncoprotein TBC1D3 is mediated by CUL7 E3 ligase [J]. PLoS One, 2012, 7(9):e46485.
- [12] Jackson PK. Regulating microtubules and genome stability via the CUL7/3M syndrome complex and CUL9 [J]. Mol Cell, 2014, 54(5):713-715.
- [13] Arai T, Kasper JS, Skaar JR, et al. Targeted disruption of p185/Cul7 gene results in abnormal vascular morphogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(17):9855-9860.

紫杉醇脂质体联合铂类化疗同步放疗在宫颈癌中的应用及对CA125、TA-4、SCC水平及预后的影响

田祎^{1*} 高静¹ 林琳¹ 郝士丹² 田菲³

【摘要】 目的 分析紫杉醇脂质体联合铂类同步放化在宫颈癌中的应用价值及对糖类抗原-125 (CA125)、肿瘤抗原-4(TA-4)、鳞状上皮细胞癌抗原(SCC)水平及预后的影响。方法 选取2019年5月至2021年5月期间唐山市弘慈医院接收的106例宫颈癌患者,根据不同治疗方法分为观察组(紫杉醇脂质体联合铂类化疗同步放疗, $n=54$)和对照组(紫杉醇和顺铂化疗同步放疗, $n=52$)。比较两组的临床疗效、CA125、TA-4、SCC水平的变化、1年内生存率、毒副作用和生活质量。结果 观察组的临床总有效率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后两组CA125、TA-4、SCC-Ag水平均降低,观察组下降更为明显,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后观察组生活质量优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组1年生存率高于对照组,毒副作用发生率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 紫杉醇脂质体联合铂类同步放化在宫颈癌中的应用价值高,能有效提高患者的生存率,减少毒副作用的发生。

【关键词】 紫杉醇脂质体; 铂类; 宫颈癌; 预后

Application of paclitaxel liposome combined with platinum - based chemotherapy and concurrent radiotherapy in cervical cancer and its effects on CA125 , TA-4 , SCC levels and prognosis

TIAN Yi^{1*}, GAO Jing¹, LIN Lin¹, HAO Shidan², TIAN Fei³

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Tangshan Hongci Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000; 2. Department of Gastroenterology, Tangshan Hongci Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000; 3. Department of Radiotherapy, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei, China, 063000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the application value of paclitaxel liposome combined with simultaneous platinum - based radiochemistry in cervical cancer and its effects on carbohydrate antigen - 125 (CA125), tumor antigen-4 (TA-4), squamous cell carcinoma antigen (SCC) levels and prognosis. **Methods** 106 cervical cancer patients admitted to Tangshan Hongci Hospital from May 2019 to May 2021 were selected as the research objects, and according to different treatment methods, they were divided into the observation group (paclitaxel liposome combined with platinum-based chemotherapy and concurrent radiotherapy, $n=54$) and the control group (paclitaxel and cisplatin chemotherapy and concurrent radiotherapy, $n=52$). The clinical efficacy, the changes of CA125, TA-4 and SCC levels, 1-year survival rate, toxic and side effects and quality of life of the two groups of patients were compared. **Results** The total clinical effective rate in the observation group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of CA125, TA-4 and SCC-Ag in the two groups were decreased, and the decrease was more obvious in the observation group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After

基金项目:河北省2020年医学科学研究课题计划项目(20201005)

作者单位:1.唐山市弘慈医院妇产科,河北,唐山 063000

2.唐山市弘慈医院消化内科,河北,唐山 063000

3.华北理工大学附属医院放疗科,河北,唐山 063000

*通信作者:田祎, E-mail:tianyi20220823@163.com

treatment, the quality of life in the observation group was better than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The 1-year survival rate of the observation group was higher than that of the control group, and the incidence of side effects of the observation group was lower than that of the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Paclitaxel liposome combined with platinum-based simultaneous radiochemotherapy has high application value in cervical cancer, which can effectively improve the survival rate of patients and reduce the occurrence of toxic and side effects.

[KEY WORDS] Paclitaxel liposome; Platinum; Cervical cancer; Prognosis

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一^[1]。据统计,早期宫颈癌患者治疗后预后较好,5年生存率达到90%;但中晚期肿瘤患者难以达到理想的恢复效果,5年生存率仅51%~72%^[2]。目前,紫杉醇和顺铂同步放疗已成为临床治疗宫颈癌的常用方案之一。但铂类、紫杉醇等化疗药物存在一定的不良反应,影响患者恢复期的生活质量。脂质体作为抗肿瘤药物的载体,不仅能实现对肿瘤的靶向治疗,且毒副作用较小。有研究表明,血清肿瘤标志物与肿瘤的大小、浸润程度及患者淋巴结转移情况有关,肿瘤标记物的检测广泛应用于临床^[3]。糖类抗原-125(Carbohydrate antigen-125, CA125)、鳞状上皮细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCC-Ag)、肿瘤抗原-4(Tumour Antigen-4, TA-4)是广谱的肿瘤标记物,在宫颈癌的检测中受到高度重视^[4]。本文主要分析紫杉醇脂质体联合铂类同步放疗在宫颈癌中的应用价值及对CA125、TA-4、SCC水平及预后的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年5月至2021年5月期间唐山市弘慈医院接收的106例宫颈癌患者,根据患者意愿采取不同的治疗方法,将患者分为观察组(紫杉醇脂质体联合铂类同步放疗, $n=54$),平均年龄(48.37 ± 2.41)岁;临床分期^[5]: II b期10例, III a期25例, III b期19例。对照组(紫杉醇和顺铂同步放疗, $n=52$),平均年龄(47.96 ± 2.48)岁;临床分期: II b期9例, III a期24例, III b期19例。两组患者病理分期、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。纳入标准:①经病理组织学确诊,符合《宫颈癌筛查及早诊早治指南》中的诊断标准^[6];②病历资料完整;③无其他原发恶性肿瘤疾病;排除标准:①合并其他恶性肿瘤的患者;②严重的精神疾病患者。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

对照组:采用紫杉醇和顺铂化疗同步放疗,治疗第1天给予紫杉醇(海南紫杉园制药有限公司,国药准字H20066906) 135 mg/m^2 行静脉滴注,第2天采用顺铂(锦州九泰药业有限责任公司,国药准字H21020751) 30 mg/m^2 行静脉滴注,每周治疗1次。

观察组:采用紫杉醇脂质体联合铂类化疗同步放疗,治疗第1天给予紫杉醇脂质体(南京绿叶制药有限公司,国药准字H20030357)治疗, 135 mg/m^2 静脉滴注,持续3 h,第2天取顺铂(锦州九泰药业有限责任公司,国药准字H21020751) 30 mg/m^2 行静脉滴注,每周治疗1次。两组化疗3周作为1个疗程,共3个疗程,在进行化疗当日同步进行放疗。患者在行放疗时,若存在淋巴结呈阳性则需将放疗视野延伸,以 2 Gy/1f ,逐渐扩大至 30 Gy/15f ,总剂量在 50 Gy/25f ;检测的淋巴结呈阴性时,取 1.8 Gy/25f ,总放射量在 45 Gy/25f 。

1.3 观察指标

1.3.1 两组的临床疗效比较

参照实体肿瘤疗效评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)^[7],其中完全缓解指目标病灶完全消失;部分缓解指肿瘤病灶减小 $>30\%$;进展指肿瘤病灶增加 $>20\%$ 或出现新的病变区域;稳定指肿瘤病灶减小 $<30\%$ 或有所增加 $<20\%$ 。有效率= $[(\text{完全缓解}+\text{部分缓解})/\text{总例数}]\times 100\%$ 。

1.3.2 两组治疗前后CA125、TA-4、SCC-Ag水平比较

分别在治疗前和治疗3个疗程后,清晨抽取患者空腹静脉血5 mL,进行离心处理(转速为 $3\ 000\text{ r/min}$, 10 min ,离心半径: 8 cm),凝固分离得到血清。使用全自动化学发光免疫分析仪(深圳市爱康生物科技有限公司,粤械注准20202220827),运用化学发光分析法检测SCC-Ag、CA125水平;运用放射免疫分析法测定TA-4水平。

1.3.3 两组的生存率比较

通过电话、微信等方式随访,记录患者1年的生存情况。随访截止时间为3个疗程结束后的第12个月,对于1年内死亡患者随访截止时间为死亡当月。

1.3.4 两组生活质量比较

采用生存质量调查问卷(quality of life questionnaire-eore30, QLQ-C30)^[8],记录治疗前后的生存质量评分。功能表得分越高则表示患者情况越好,症状量表得分越高则情况越严重。

1.3.5 两组患者的毒副反应比较

包括腹泻腹痛、骨髓抑制、恶心呕吐等^[9]。

1.4 统计学方法

使用SPSS 18.0软件统计进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,两两间使用t检验;计数资料采用n(%)表示,行 χ^2 检验;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

观察组的临床总有效率(88.89%)明显高于对照组(73.08%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组CA125、TA-4、SCC-Ag水平比较

与治疗前相比,两组CA125、TA-4、SCC-Ag水平均明显降低,其中观察组更为明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后CA125、TA-4、SCC-Ag水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of CA125, TA-4 and SCC Ag levels between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CA125(U/mL) | | SCC-Ag(μ g/L) | | TA-4(μ U/mL) | |
|-----|----|-------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------|------------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 对照组 | 52 | 39.12 \pm 12.79 | 33.67 \pm 11.09 ^a | 5.26 \pm 2.14 | 3.11 \pm 1.15 ^a | 38.69 \pm 2.84 | 7.59 \pm 1.21 ^a |
| 观察组 | 54 | 39.68 \pm 13.76 | 28.94 \pm 11.59 ^a | 5.38 \pm 2.07 | 1.65 \pm 1.29 ^a | 37.97 \pm 2.94 | 6.69 \pm 1.67 ^a |
| t值 | | 0.217 | 2.145 | 0.293 | 6.143 | 1.282 | 3.167 |
| P值 | | 0.828 | 0.034 | 0.769 | <0.001 | 0.203 | 0.002 |

注:同组间与治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组治疗前后生活质量评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of quality of life scores of the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 躯体功能 | | 认知功能 | | 情绪功能 | | 角色功能 | | 社会功能 | | 疲乏 | | 食欲减退 | | 疼痛 | |
|-----|----|-------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 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 | 52 | 66.25 \pm 20.38 | 78.35 \pm 17.51 ^a | 66.19 \pm 17.24 | 67.24 \pm 16.98 | 68.49 \pm 24.67 | 80.69 \pm 24.67 ^a | 58.49 \pm 28.96 | 59.67 \pm 23.43 | 61.97 \pm 22.67 | 72.69 \pm 16.91 ^a | 54.67 \pm 21.59 | 44.69 \pm 18.42 ^a | 39.91 \pm 25.16 | 26.58 \pm 16.97 ^a | 37.96 \pm 26.75 | 26.94 \pm 16.52 ^a |
| 观察组 | 54 | 66.59 \pm 19.68 | 84.69 \pm 15.34 ^a | 65.26 \pm 18.49 | 68.14 \pm 16.28 | 67.92 \pm 23.91 | 88.96 \pm 16.15 ^a | 58.39 \pm 29.32 | 60.91 \pm 21.65 | 62.05 \pm 21.97 | 80.12 \pm 15.94 ^a | 55.13 \pm 20.97 | 37.47 \pm 16.49 ^a | 40.36 \pm 24.97 | 19.94 \pm 17.43 ^a | 36.45 \pm 25.27 | 20.64 \pm 15.47 ^a |
| t值 | | 0.087 | 1.985 | 0.268 | 0.279 | 0.121 | 2.049 | 0.018 | 0.283 | 0.018 | 2.329 | 0.111 | 2.128 | 0.092 | 1.986 | 0.299 | 2.027 |
| P值 | | 0.931 | 0.049 | 0.789 | 0.781 | 0.904 | 0.043 | 0.986 | 0.778 | 0.985 | 0.022 | 0.912 | 0.036 | 0.926 | 0.049 | 0.766 | 0.045 |

注:同组间与治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表1 两组临床疗效比较[n(%)]

Table 1 Comparison of clinical efficacy between the two groups [n(%)]

| 组别 | n | 完全缓解 | 部分缓解 | 稳定 | 进展 | 临床总有效 |
|------------|----|-----------|-----------|-----------|---------|-----------|
| 对照组 | 52 | 14(26.92) | 24(46.15) | 10(19.23) | 4(7.69) | 38(73.08) |
| 观察组 | 54 | 19(35.19) | 29(53.70) | 4(7.41) | 2(3.70) | 48(88.89) |
| χ^2 值 | | | | | | 4.326 |
| P值 | | | | | | 0.038 |

2.3 两组患者1年生存率比较

对照组1年生存46例,死亡6例;观察组1年生存53例,死亡1例。观察组(98.15%)1年生存率显著高于对照组(88.46%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 两组生活质量比较

治疗后观察组生活质量优于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.5 毒副反应

观察组的毒副反应发生率明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

近年来,宫颈癌的患病率呈逐年上升的趋势,且该病趋于年轻化,严重影响女性的生命健康。目前,药物化疗同步放疗是治疗中晚期宫颈癌患者的重要治疗方案,临床常用的化疗药物有顺铂、卡铂、紫杉醇等,能快速降低癌细胞活性,有效控制癌细胞的扩散和转移。

表4 两组毒副反应比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of toxic and side effects of two groups [n(%)]

| 组别 | n | 骨髓抑制 | 白细胞减少 | 肝功能异常 | 恶心呕吐 | 腹泻腹痛 | 毒副反应总发生 |
|------------|----|---------|----------|----------|----------|---------|-----------|
| 对照组 | 52 | 3(5.77) | 6(11.54) | 6(11.54) | 7(13.46) | 5(9.62) | 27(51.92) |
| 观察组 | 54 | 2(3.70) | 3(5.56) | 4(7.41) | 5(9.26) | 3(5.56) | 17(31.48) |
| χ^2 值 | | | | | | | 4.559 |
| P值 | | | | | | | 0.033 |

紫杉醇作为一种植物类抗肿瘤药物,能促进细胞微管蛋白结合,从而阻止纺锤体的形成,抑制肿瘤细胞的分裂^[10]。而铂类药物主要通过与其体内DNA产生链内、间交联,引起DNA链的中断与损伤,达到阻止肿瘤细胞DNA继续复制、转录的作用^[11]。紫杉醇作为一种水溶性较差的药物,需要借助无水乙醇和聚氧乙基蓖麻油作为助溶剂,而机体为降解聚氧乙基蓖麻油会产生变态反应。祁丹阳学者^[12]研究发现,用脂质体作为紫杉醇的药物载体,能有效提高其组织相容性,其临床疗效优于单纯使用紫杉醇。本次结果表明,观察组的临床总有效率明显高于对照组,与上述研究结果一致。分析与紫杉醇脂质体药代动力学相关,与紫杉醇相比,紫杉醇脂质体的半衰期较长,稳定性较好,可造成缓释效果,充分发挥其作用。以往研究显示,血清中的肿瘤标志物对于监测病情变化、改善治疗方案有着重要意义^[13]。进一步研究结果表明,治疗后两组CA125、TA-4、SCC-Ag水平均明显降低,其中观察组降低更为明显。说明紫杉醇脂质体联合铂类同步放疗对CA125、TA-4、SCC-Ag的影响更为显著。分析原因在于,通过紫杉醇脂质体联合铂类同步放疗有效抑制鳞状上皮细胞的异常分裂、分化,阻止癌细胞侵入基层组织,从而减少CA125、TA-4、SCC-Ag等肿瘤相关因子透过血管、淋巴管,起到降低血清中相关因子水平的作用^[14]。本次研究进一步研究结果提示紫杉醇脂质体联合铂类化疗同步放疗对延长患者生存时间、改善其生活质量有较大作用。Okamoto学者^[15]发现,紫杉醇脂质体能显著减少降解作用释放的组胺等活性胺化合物,避免患者机体发生过敏反应。本次研究结果显示,观察组的毒副反应发生率明显低于对照组。推测原因在于脂质体是一种肿瘤药物载体,能与紫杉醇等难以水溶的药物结合。紫杉醇脂质体经过特殊处理后,增加了药物水溶性细胞亲和度,且能持续高浓度存在于肝、脾、肺等脏器,有效延长药物的半衰期,提

高其在体内分布的靶向性,减少毒副反应。

综上所述,紫杉醇脂质体联合铂类同步放疗在宫颈癌中的应用价值高,能有效提高患者的生存率,减少毒副反应的发生,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 钱江,宋文灿,鲍瑜,等.紫杉醇联合洛铂治疗宫颈癌的疗效以及对患者血清FGFR4、SCCA、Spondin-2水平的影响[J].临床和实验医学杂志,2022,21(10):1085-1088.
- [2] 李芷茹,曾守群,李超,等.紫杉醇和顺铂联合调强放疗治疗宫颈癌的临床疗效[J].中国妇幼健康研究,2018,29(7):929-932.
- [3] 齐小芬,白宾,薛会朝,等.乳腺癌组织中Cath-D、c-erbB-2的表达及其与肿瘤标志物水平、淋巴结转移的相关性[J].实用癌症杂志,2021,36(3):404-407.
- [4] 魏春清,梅军华,张志安,等.血清Bmi-1、SCC-Ag及HPV-DNA分型联合检测对宫颈癌的诊断价值[J].临床和实验医学杂志,2022,21(7):762-765.
- [5] 尹树旺,彭丽艳,韩秀青,等.不同放疗方案联合紫杉醇脂质体和顺铂治疗局部晚期宫颈癌临床比较[J].中国药业,2022,31(4):97-101.
- [6] 董志伟,乔友林,孔灵芝,等.中国癌症早诊早治的策略与实践[J].中国肿瘤,2008,17(4):256-263.
- [7] 李战娜,张秀丽,张莉.紫杉醇脂质体联合铂类新辅助化疗对IIa-IV期宫颈癌患者的近期疗效观察[J].癌症进展,2017,15(8):939-941,952.
- [8] 杨九霄,姜淮芜,陶小亮,等.进展期胃癌患者全胃切除调节型双通道间置空肠消化道重建术后的生存质量和营养状况[J].广西医学,2020,42(3):252-257.
- [9] 袁永兴,高建建,逯蕾.紫杉醇脂质体联合顺铂化疗对中晚期宫颈癌患者T淋巴细胞亚群、肿瘤标志物的影响[J].癌症进展,2022,20(9):952-955.
- [10] 朱冰鸥,孙红霞,崔秀红.白蛋白结合型紫杉醇新辅助化疗治疗中晚期宫颈癌的疗效及对肿瘤负荷的影响[J].临床和实验医学杂志,2020,19(1):61-64.
- [11] 郑莉花,金延泽,曾婕,等.卡铂联合紫杉醇对宫颈癌患者Th1/Th2类细胞因子的影响及疗效分析[J].肿瘤药学,2018,8(6):880-884.
- [12] 祁丹阳,尼晓丽,蔡田培.紫杉醇脂质体联合铂类同步放疗对宫颈癌CA125、Glut-1及sCC水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(7):1149-1152,1157.
- [13] Shi QH, Lang D, Han MZ, et al. Co-delivery of TRAIL and paclitaxel by fibronectin-targeting liposomal nanodisk for effective lung melanoma metastasis treatment[J]. Nanoresearch, 2022, 15(1):728-737.
- [14] 李墨,徐洋,贾彤,等.扶正化痰消癌汤和多西紫杉醇对老年宫颈癌复发患者生活质量及预后的影响[J].中国肿瘤临床与康复,2021,28(2):199-202.
- [15] Okamoto Y, Taguchi K, Imoto S, et al. Cell uptake and anti-tumor effect of liposomes containing encapsulated paclitaxel-bound albumin against breast cancer cells in 2D and 3D cultured models[J]. Journal of drug delivery science and technology, 2020, 55(1):21-27.

维生素D辅助治疗对老年女性糖尿病肾病患者骨代谢及微炎症状态的影响

侯言涛* 温小军 白艳艳 王旭

[摘要] **目的** 探究维生素D辅助治疗对老年女性糖尿病肾病(DKD)患者25-羟基维生素D[25-(OH)D]、甲状旁腺激素(PTH)、骨钙蛋白(BGP)、 β -胶原特殊序列(β -CTX)及微炎症状态的影响。**方法** 将2019年1月至2022年2月在北京世纪坛医院就诊的102例DKD患者按随机数字表法分为对照组和观察组,各51例,对照组给予常规治疗,观察组口服维生素D辅助治疗。检测患者空腹血糖(FPG)、餐后2h血糖(2hPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹胰岛素(FINS)、尿白蛋白(Alb)、血尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)、尿白蛋白排泄率(UAER)、C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)。**结果** 治疗1个月后,两组患者HbA1c、FPG、2hPG、空腹胰岛素FINS较治疗前均降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组患者UAER、BUN、Scr较治疗前均降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组患者25-(OH)D、BGP较治疗前升高,且观察组高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),两组患者PTH、 β -CTX较治疗前降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组患者CRP、TNF- α 、IL-6较治疗前降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 维生素D辅助治疗能有效改善老年女性DKD患者血糖水平及肾功能障碍,调节骨代谢指标,改善微炎症状态。

[关键词] 糖尿病肾病;老年女性;维生素D;骨代谢标志物;微炎症

Effect of Vitamin D adjuvant therapy on bone metabolism and micro-inflammatory state in elderly female patients with diabetic kidney disease

HOU Yantao*, WEN Xiaojun, BAI Yanyan, WANG Xu

(General Department of Cadres, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of vitamin D (VD) adjuvant therapy on 25-hydroxyvitamin D [25-(OH)D], parathyroid hormone (PTH), bone gla protein (BGP), β -CTX and micro-inflammatory state in elderly female patients with diabetic kidney disease (DKD). **Methods** A total of 102 patients with DKD admitted to Beijing Shijitan Hospital from January 2019 to February 2022 were divided into the control group and the observation group by random number table method with 51 cases in each group. The control group received conventional treatment, and the observation group received oral vitamin D adjuvant therapy. fasting plasma glucose (FPG), 2 h postprandial plasma glucose (2 hPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting insulin (FINS), urine albumin (Alb), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr), urinary albumin excretion rate (UAER), C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-6 (IL-6) were detected. **Results** After 1 month of treatment, HbA1c, FPG, 2 hPG, FINS, UAER, BUN, and Scr in the two groups decreased ($P<0.05$), and these indicator in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$). 25-(OH)D and BGP in the two groups increased ($P<0.05$), and the two in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$). PTH and β -CTX in

基金项目:北京市科技计划课题(Z191100001718132)

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:侯言涛, E-mail:houyantao3190@bjsjth.cn

the two groups decreased ($P<0.05$), and the two in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$). CRP, TNF- α , and IL-6 in the two groups decreased ($P<0.05$), and these indicators in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$). **Conclusion** VD adjuvant therapy can effectively improve blood glucose level and renal dysfunction, regulate bone metabolism markers, and improve micro-inflammatory state in elderly female patients with DKD.

[KEY WORDS] DKD; Elderly female; Vitamin D; Bone metabolism marker; Micro-inflammation

糖尿病肾病(Diabetic kidney disease, DKD)是糖尿病(Diabetes mellitus, DM)常见的微血管病变并发症,病变可累及全肾,主要是由于肾小球系膜区有大量细胞外基质堆积,导致肾小球硬化和肾小管间质纤维化而引起的肾功能衰竭,是DM患者致死的主要原因^[1-2]。数据显示^[3],我国老年人口约2.604亿,而老年DM患者就有7 812万人,DKD不仅严重影响老年人的晚年生活,还造成家庭经济负担和生活压力,因此老年DKD的治疗应得到重视。25-羟基维生素D[25-hydroxy vitamin D, 25-(OH)D]、甲状旁腺激素(Parathyroid hormone, PTH)、骨钙蛋白(Bone gla protein, BGP)、 β -胶原特殊序列(β -CrossLaps, β -CTX)属于血液中钙、磷调节指标以及骨代谢标志物^[4],研究显示肾脏损伤可导致骨代谢异常^[5]。维生素D(Vitamin D, VD)是人体必需的营养物质,可调节钙、磷代谢及骨吸收。研究显示,VD水平降低与DM及其并发症的发生发展有关^[6]。女性较男性而言更易缺乏VD,且绝经后女性雌激素急速下降,骨质疏松的风险更大。因此,本研究探究VD辅助治疗对老年女性DKD患者25-(OH)D、PTH、BGP、 β -CTX及微炎症状态的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

研究对象为2019年1月至2022年2月在北京世纪坛医院就诊的102例DKD老年女性患者,按照随机数字表法分为对照组($n=51$)和观察组($n=51$)。对照组平均年龄(72.14 ± 6.01)岁;平均病程(6.45 ± 2.13)年;身体质量指数(BMI)平均(25.01 ± 1.95) kg/m^2 ;DKD分期^[7]:I期:18例,II期:20例,III期:13例;总胆固醇平均(4.88 ± 0.45) mmol/L 。观察组平均年龄(73.14 ± 6.54)岁;平均病程(6.89 ± 2.44)年;BMI平均(25.51 ± 2.21) kg/m^2 ;DKD分期:I期:16例,II期:21例,III期:14例;总胆固醇平均(4.99 ± 0.46) mmol/L 。纳入标准:年龄 ≥ 60

的女性患者;符合《中国2型糖尿病防治指南(2013年版)》^[8]中DKD诊断标准;肾功能分期I~III期;同意并签署知情同意书。排除标准:伴有恶性肿瘤患者;患有严重的肝脏、心脏等系统疾病患者;尿道感染患者。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究通过医院伦理委员会审核。

1.2 方法

对照组:进行常规降血糖、调脂、控制血压等对症治疗,并滴注前列地尔注射液(厂家:海南碧凯药业有限公司,批号:H20103292)100 μg +5%葡萄糖溶液250 mL,口服缬沙坦胶囊(厂家:丽珠集团丽珠制药厂,批号:H20000622),80 mg/次,1次/d。观察组在对照组的基础上口服VD(厂家:青岛双鲸药业有限公司,批号:H20113033)进行辅助治疗,1颗/d。两组治疗周期均为1个月。

1.3 观察指标

治疗前后采集患者空腹静脉血8 mL,离心机2 500 rpm(离心半径10 cm)离心10 min后,置于 -20°C 保存。①血糖及胰岛素水平检测:治疗前、治疗后(治疗1个月后,下同)采用葡萄糖氧化酶法(上海复旦张江生物医药股份有限公司)检测患者空腹血糖(Fasting blood glucose, FPG)、餐后2 h血糖(2 hour postprandial blood glucose, 2 hPG),采用比色法测定糖化血红蛋白(Glycosylated hemoglobin, HbA1c),采用放射免疫法(北京福瑞生物工程公司)测定空腹胰岛素(Fasting insulin, FINS)水平;②肾功能指标检测:治疗前、治疗后采用酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)(上海将来实业股份有限公司)检测两组尿白蛋白(Urinary albumin, Alb)水平,采用全自动生化分析仪检测患者血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)及血肌酐(Serum creatinine, Scr)水平,并计算两组尿白蛋白排泄率(Urinary albumin excretion rate, UAER)水平。③骨代谢指标检测:治疗前、治疗后采用电化学发光法(罗氏诊断有限公司)测定D, 25-(OH)D、PTH、BGP、 β -CTX水

平。④血清炎症指标检测:治疗前、治疗后采用ELISA法检测患者的血清C反应蛋白(C-Reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)。

1.4 统计学方法

统计分析软件为SPSS 26.0,对于满足正态性及方差齐性的数据,以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行*t*检验,两两比较采用LSD-*t*检验;以*P*<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血糖及胰岛素水平比较

治疗1个月后,两组患者HbA1c、FPG、2 hPG、FINS较治疗前降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

2.2 两组肾功能指标比较

治疗1个月后,两组患者Alb、UAER、BUN、Scr较治疗前降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

2.3 两组骨代谢标志物比较

治疗1个月后,两组患者25-(OH)D、BGP较治疗前升高,且观察组高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05);两组患者PTH、 β -CTX较治疗前降低,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 两组血清炎症因子比较

两组患者CRP、TNF- α 、IL-6较治疗前降低,且观察组低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表4。

3 讨论

DKD早期症状不明显,不易察觉,若早期干预不及时,导致大量蛋白尿,则可加速进展为终末肾脏疾病,增加死亡率^[9]。研究显示DKD可导致患者机体钙、磷代谢紊乱,引发骨质疏松(osteoporosis, OP);雌激素可预防骨质流失,较同龄男性相比,绝经后女性体内雌激素水平急速下降,发生OP的风险更大^[10]。早期诊断与预防老年女性DKD患者骨

表1 两组血糖及胰岛素水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood glucose and insulin levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | HbA1c(%) | | FPG(mmol/L) | | 2 hPG(mmol/L) | | FINS(mU/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 |
| 观察组 | 51 | 8.21±0.63 | 6.23±0.67 ^a | 9.94±0.62 | 6.58±0.71 ^a | 12.12±1.12 | 8.16±0.84 ^a | 4.01±0.64 | 2.56±0.52 ^a |
| 对照组 | 51 | 8.24±0.59 | 6.74±0.51 ^a | 9.89±0.52 | 6.99±0.62 ^a | 12.16±1.06 | 8.78±1.02 ^a | 4.03±0.67 | 3.14±0.56 ^a |
| <i>t</i> 值 | | 0.248 | 4.325 | 0.441 | 3.106 | 0.185 | 3.837 | 0.154 | 5.420 |
| <i>P</i> 值 | | 0.804 | 0.000 | 0.660 | 0.003 | 0.853 | 0.000 | 0.878 | 0.000 |

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05。

表2 两组肾功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

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

| 组别 | <i>n</i> | Alb(mg/L) | | UAER(μ g/min) | | BUN(mmol/L) | | Scr(μ mol/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 |
| 观察组 | 51 | 28.66±4.98 | 16.02±3.48 ^a | 105.64±11.02 | 66.35±8.98 ^a | 7.98±1.01 | 6.35±0.59 ^a | 107.25±12.36 | 80.31±9.36 ^a |
| 对照组 | 51 | 28.41±5.02 | 18.12±4.01 ^a | 105.36±11.34 | 71.36±9.06 ^a | 7.94±0.89 | 7.11±0.63 ^a | 106.74±13.14 | 91.86±10.02 ^a |
| <i>t</i> 值 | | 0.252 | 2.701 | 0.126 | 2.805 | 0.212 | 6.288 | 0.202 | 6.016 |
| <i>P</i> 值 | | 0.801 | 0.008 | 0.899 | 0.006 | 0.832 | 0.000 | 0.840 | 0.000 |

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05。

表3 两组骨代谢标志物比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of bone metabolism markers between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | 25-(OH)D(mg/mL) | | PTH(pg/mL) | | BGP(ng/mL) | | β -CTX(pg/mL) | |
|------------|----------|-----------------|-------------------------|------------|-------------------------|------------|-------------------------|---------------------|---------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 51 | 41.36±6.84 | 53.26±6.91 ^a | 89.36±9.61 | 68.36±6.74 ^a | 11.66±2.14 | 15.52±1.98 ^a | 430.25±60.23 | 335.38±51.74 ^a |
| 对照组 | 51 | 42.15±6.54 | 46.58±6.32 ^a | 87.41±9.24 | 75.21±7.34 ^a | 11.47±2.54 | 13.25±2.84 ^a | 441.47±65.31 | 396.41±55.38 ^a |
| <i>t</i> 值 | | 0.596 | 5.094 | 1.045 | 4.909 | 0.408 | 4.682 | 0.902 | 5.231 |
| <i>P</i> 值 | | 0.552 | 0.000 | 0.299 | 0.000 | 0.684 | 0.000 | 0.369 | 0.000 |

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05。

表4 两组血清炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum inflammatory factors between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CRP(mg/L) | | TNF- α (ng/L) | | IL-6(ng/L) | |
|-----|----|-----------------|------------------------------|----------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 观察组 | 51 | 8.14 \pm 2.36 | 5.32 \pm 1.55 ^a | 47.69 \pm 11.36 | 28.65 \pm 8.31 ^a | 22.36 \pm 5.35 | 14.85 \pm 3.84 ^a |
| 对照组 | 51 | 8.27 \pm 2.41 | 6.16 \pm 1.64 ^a | 48.31 \pm 10.14 | 33.25 \pm 7.21 ^a | 21.54 \pm 6.01 | 17.24 \pm 3.91 ^a |
| t值 | | 0.275 | 2.658 | 0.291 | 2.986 | 0.728 | 3.114 |
| P值 | | 0.784 | 0.009 | 0.772 | 0.004 | 0.468 | 0.002 |

注:与治疗前比较,^aP<0.05。

量流失,可提高患者存活率,改善其生活质量。已有研究证实VD在预防骨量流失及改善DKD上有积极作用^[11]。因此,本研究探究VD辅助治疗对老年女性DKD患者25-(OH)D、PTH、BGP、 β -CTX及微炎症状态的影响。

本研究结果显示,两组患者治疗后HbA1c、FPG、2 hPG、FINS水平较治疗前均降低,且观察组HbA1c、FPG、2 hPG、FINS水平较对照组更低。何玉敏^[12]及李文和等^[13]研究显示,DM主要特征是机体血糖升高以及胰岛素抵抗,VD的缺乏会导致糖代谢紊乱和胰岛素抵抗,增加并发DKD的风险。本研究对患者肾功能评估显示,两组患者治疗后Alb、UAER、BUN、Scr较治疗前降低,且观察组低于对照组。黄朦等^[14]研究显示,VD干预治疗可降低DKD患者Alb、BUN等水平,保护DKD患者肾功能及延缓病情的发展。本研究结果提示,VD能降低DKD患者血糖水平,有效缓解肾功能障碍。

VD在体内被肝脏中催化为25(OH)D,最后转运至肾脏中被催化为具有生物活性的1,25-二羟维生素D₃[1,25-Dihydroxyvitamin D₃,1,25(OH)₂D₃],与靶组织中受体结合,发生反应。25(OH)D可评估机体VD缺乏状态,在一定程度上也能反映DKD患者疾病严重程度。PTH属于肽类激素,能促进肾小管对钙的重吸收,减弱对磷的重吸收作用,以达到机体钙磷代谢平衡,PTH最终在肾脏中清除,因此PTH也是肾功能检测的重要指标^[15]。BGP也叫骨钙素,是由成骨细胞分泌的特异性蛋白,可调节骨代谢和糖脂代谢,与DKD风险增加有关。 β -CTX是骨吸收标志物,是DM患者骨折的标志物。薛海燕等^[16]研究显示DKD患者分期越高,25(OH)D水平越低。王英彪等^[17]研究显示,DKD患者血清骨钙素水平低于单纯DM患者。丁志兰等^[18]研究显示, β -CTX随着DKD的严重而增加,可独立作为蛋白尿发生的影响因子。本研

究结果提示,骨代谢标志物与DKD风险有关,VD补充治疗可有效调节血清中骨代谢标志物的水平,促进机体钙、磷代谢平衡,降低DKD风险。

在DKD患者中,微炎症状态可持续存在,引发机体糖代谢紊乱、胰岛素抵抗以及肾功能损害。研究显示^[19]补充维生素D或其活性衍生物减少DKD患者炎症反应,延缓DKD进展。本研究结果提示VD有助于降低DKD患者机体炎症因子的释放,改善微炎症状态。

综上所述,VD辅助治疗有利于改善DKD患者血糖及胰岛素抵抗,改善肾功能障碍,调节骨代谢标志物表达水平,降低微炎症状态,促进机体钙、磷代谢平衡,预防老年女性体内骨量大量流失,降低骨质疏松风险。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Samsu N. Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment[J]. Biomed Res Int, 2021: 1497-1499.
- [3] 中国老年2型糖尿病防治临床指南编写组,中国老年医学学会老年内分泌代谢分会,中国老年保健医学研究会老年内分泌与代谢分会,等. 中国老年2型糖尿病防治临床指南(2022年版)[J]. 中华内科杂志, 2022, 61(1):12-50.
- [4] 谢作棒,沈皆亮,郝杰,等. 骨代谢生化指标对预测绝经后骨质疏松性椎体骨折的临床意义[J]. 创伤外科杂志, 2018, 20(5):346-349.
- [5] 刘明明,王磊,华臻,等. 糖尿病肾病继发性骨质疏松的病因病机[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(23):5451-5454.
- [6] 方凤贞,李壮苗,陈婷玉. 2型糖尿病患者发生糖尿病肾脏疾病危险因素的系统评价[J]. 中国全科医学, 2021, 24(33):4261-4267.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 糖尿病肾病防治专家共识(2014年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(11):792-801.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2013年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(8):2-42.

(下转第2197页)

UCHL1-AS1/miR-629 轴调控食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的调控机制

王佳¹ 许红英² 高峰^{1*} 严士海³

[摘要] 目的 探讨长链非编码RNA(lncRNA)反义泛素C端水解酶L1(UCHL1-AS1)介导miR-629对食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及机制。方法 选取33例于2019年3月至2020年2月在南京中医药大学附属医院收治的食管癌患者的癌组织及对应癌旁组织,RT-qPCR检测组织UCHL1-AS1表达。Eca-109细胞分为pcDN3.1-UCHL1-AS1组、pcDN3.1组、anti-miR-629组、anti-miR-NC组、pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC和pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-629组。RT-qPCR检测细胞UCHL1-AS1和miR-629水平,MTT检测细胞存活率,Transwell检测细胞迁移和侵袭,Western Blot检测细胞增殖核抗原67(Ki67)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)和神经型钙粘素(N-cadherin)蛋白表达。双荧光素酶报告基因实验验证miR-629与UCHL1-AS1调控关系。结果 食管癌组织UCHL1-AS1表达低于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$)。pcDN3.1-UCHL1-AS1组Eca-109细胞存活率、迁移和侵袭数及Ki67和N-cadherin蛋白表达均低于pcDN3.1组,E-cadherin蛋白表达高于pcDN3.1组,差异有统计学意义($P<0.05$)。anti-miR-629组Eca-109细胞存活率、迁移和侵袭数及Ki67和N-cadherin蛋白表达均低于anti-miR-NC组,E-cadherin蛋白表达高于anti-miR-NC组,差异有统计学意义($P<0.05$)。共转染WT-UCHL1-AS1与miR-629 mimics的细胞荧光素酶活性低于WT-UCHL1-AS1与miR-NC,差异有统计学意义($P<0.05$);共转染MUT-UCHL1-AS1与miR-629 mimics、MUT-UCHL1-AS1与miR-NC细胞荧光素酶活性差异无统计学意义($P>0.05$);与pcDN3.1组比较,pcDN3.1-UCHL1-AS1组Eca-109细胞中UCHL1-AS1表达水平升高,miR-629表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-629组Eca-109细胞存活率、迁移和侵袭数及Ki67和N-cadherin蛋白表达均低于pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC组,E-cadherin蛋白表达高于pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 UCHL1-AS1在食管癌组织中呈低表达,其可通过靶向下调miR-629抑制食管癌细胞增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 食管癌; UCHL1-AS1; miR-629; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞侵袭

Study on the mechanism of UCHL1-AS1/miR-629 axis in regulating the proliferation, migration and invasion of esophageal cancer cells

WANG Jia¹, XU Hongying², GAO Feng^{1*}, YAN Shihai³

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu, Nanjing, 210029; 2. Department of Pathology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu, Nanjing, 210029; 3. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu, Nanjing, 210029)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of long non-coding RNA (lncRNA) antisense ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCHL1-AS1) on the proliferation, migration and invasion of esophageal cancer cells and its mechanism. **Methods** The cancer tissues and corresponding adjacent tissues of 33

作者单位:1. 南京中医药大学附属医院检验科,江苏,南京210029

2. 南京中医药大学附属医院病理科,江苏,南京210029

3. 南京中医药大学附属医院药理科,江苏,南京210029

*通信作者:高峰, E-mail: jsfzsw@163.com

patients with esophageal cancer who were diagnosed and underwent surgical treatment in the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine from March 2019 to February 2020 were selected, and real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of UCHL1-AS1 in the tissues. Eca-109 cells were divided into pcDN3.1-UCHL1-AS1 group, pcDN3.1 group, and anti-miR-629 group, anti-miR-NC group, pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC, and pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-629 group. Then the expression levels of UCHL1-AS1 and miR-629 were detected by RT-qPCR, cell survival was detected by MTT, cell migration and invasion was detected by Transwell, and the expression levels of proliferating nuclear antigen 67 (Ki67), epithelial cadherin (E-cadherin) and neuronal cadherin (N-cadherin) protein were detected by Western Blot. The double luciferase reporter gene experiment verified the regulatory relationship between miR-629 and UCHL1-AS1. **Results** The expression of UCHL1-AS1 in esophageal cancer tissues was lower than that in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The survival rate, number of migrating and invading cells, and the expression levels of Ki67 and N-cadherin protein in pcDN3.1-UCHL1-AS1 group were lower than pcDN3.1 group, but the expression level of E-cadherin protein was higher than pcDN3.1 group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The survival rate, number of migrating and invading cells, and the expression levels of Ki67 and N-cadherin protein in the anti-miR-629 group were lower than anti-miR-NC group, but the expression level of E-cadherin was higher than anti-miR-NC group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The luciferase activity of cells co transfected with WT-UCHL1-AS1 and miR-629 mimics was significantly lower than that of WT-UCHL1-AS1 and miR-NC ($P<0.05$); There was no significant difference in luciferase activity between co transfected MUT-UCHL1-AS1 and miR-629 mimics, MUT-UCHL1-AS1 and miR-NC cells ($P>0.05$); Compared with pcDN3.1 group, the expression level of UCHL1-AS1 in Eca-109 cells of pcDN3.1-UCHL1-AS1 group increased, and the expression level of miR-629 decreased, with a statistically significant difference ($P<0.05$). The survival rate, number of migrating and invading cells, and the expression levels of Ki67 and N-cadherin protein in pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-629 group were all lower than pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC group, but the expression level of E-cadherin was higher than pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** UCHL1-AS1 is low expressed in esophageal cancer tissues, which can inhibit the proliferation, migration and invasion of esophageal cancer cells by targeting down-regulation of miR-629.

[KEY WORDS] Esophageal cancer; UCHL1-AS1; miR-629; Cell proliferation; Cell migration; Cell invasion

食管癌是常见的恶性肿瘤之一,发病机制尚未明了^[1]。反义泛素C端水解酶L1(antisense ubiquitin carboxylterminal hydrolase L1, UCHL1-AS1)是一种长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA),因与常规编码基因泛素C端水解酶L1(antisense Uchl1, UCHL1)互补而得名。研究显示,上调UCHL1-AS1可有效抑制肝癌细胞迁移^[2],增强雷帕霉素对人肝癌细胞Bel-7404增殖的抑制作用^[3],但UCHL1-AS1在食管癌中的表达及其对食管癌细胞恶性生物学行为的影响还未知。生物信息学软件预测显示,miR-629是UCHL1-AS1的靶基因。miR-629是肝癌^[4]、宫颈癌^[5]等肿瘤组织或细胞中表达升高的微小RNA(microRNA, miRNA),对这些肿瘤的发展起促进作用。但miR-629对食管癌发生发展的影响还未知。本研究旨在观察UCHL1-AS1/miR-629轴对食管癌Eca-109

细胞增殖、迁移和侵袭的影响,以期为食管癌发病机制的阐明及治疗靶点的选择提供新途径。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2019年3月至2020年2月于南京中医药大学附属医院行手术切除的33例食管癌患者食管癌组织及癌旁组织(距离原发灶>3 cm,病理检测未发现癌细胞),液氮保存。男19例,女14例,平均(57.3±8.24)岁。纳入标准:初发食管癌;术前未行放疗、免疫治疗等抗肿瘤治疗。排除标准:合并其他恶性肿瘤;合并慢性病者;合并血液系统疾病、自身免疫性疾病等。研究符合《赫尔辛基宣言》原则。

1.2 实验材料

Eca-109细胞系,中国科学院上海细胞库;胎牛血清,美国Hyclone公司;RPMI 1640培养基、

MTT、BCA 蛋白检测试剂盒和双荧光素酶活性检测试剂盒,北京索莱宝;Lipofectamine™ 2000 试剂盒,美国 Invitrogen 公司;PCR 实验相关试剂盒,大连宝生物;引物序列、UCHL1-AS1 过表达载体 (pcDN3.1-UCHL1-AS1)、空载体 (pcDNA3.1)、miR-629 抑制剂 (anti-miR-629)、抑制剂阴性序列 (anti-miR-NC)、野生型 (WT) 和突变型 (MUT) UCHL1-AS1 荧光素酶报告载体,上海吉凯基因化学技术有限公司;蛋白质印迹实验相关抗体,北京中杉。

1.3 方法

1.3.1 RT-qPCR 检测 UCHL1-AS1 和 miR-629 表达

用 RNA 提取试剂盒获取组织中总 RNA,反转录为 cDNA,进行 PCR 反应。引物序列: UCHL1-AS1 上游 5'-AGG CCAGATGAGGAACTG A-3', 下游 5'-AAGGTGGACACCAGCTCATC-3'; miR-629 上游 5'-G TCGAAAGCTGCGCTGC GTGACGT-3', 下游 5'-CGDTAGCGCGTDGCGGDGTCG-3'。2^{-ΔΔCt} 法计算 UCHL1-AS1 相对 GAPDH、miR-629 相对 U6 的表达。

1.3.2 细胞培养和转染

用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基培养 Eca-109 细胞。将 Eca-109 细胞接种至 6 孔板中,接种浓度为 1×10^5 个/孔。培养 24 h 后,利用 Lipofectamine™ 2000 试剂盒分别转染 pcDN3.1-UCHL1-AS1 (pcDN3.1-UCHL1-AS1 组)、pcDN3.1 (pcDN3.1 组)、anti-miR-629 (anti-miR-629 组)、anti-miR-NC (anti-miR-NC 组)、共转染 pcDN3.1-UCHL1-AS1 与 anti-miR-NC (pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC 组)、pcDN3.1-UCHL1-AS1 与 anti-miR-629 (pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-629 组),转染时间 6 h。RT-qPCR 法检测细胞中 UCHL1-AS1 或 miR-629 表达,验证转染效果后,将细胞用于后续实验。

1.3.3 MTT 法检测细胞存活率

将六组细胞接种至 96 孔板中,接种浓度为 2.5×10^4 个/孔。培养 24 h 后,加 20 μ L 5 g/L MTT,孵育 4 h。弃培养基,加 150 μ L 二甲基亚砜,振荡混匀,酶标仪 490 nm 处测定吸光度值 (A)。细胞存活率 (%) = $A_{\text{实验组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

1.3.4 Transwell 检测细胞迁移和侵袭

迁移实验:将含 8 μ m 微孔聚碳酸酯膜的 Transwell 小室置于 24 孔板中,上室分别接种六组细胞,接种浓度为 1.0×10^4 个/孔。下室加 500 μ L 完全培养基。培养 24 h 后,将下室细胞进行固定和

染色。显微镜观察,计数。侵袭实验:铺 Matrigel 基质胶于 Transwell 上室,自然晾干后,再接种六组细胞,其余步骤同迁移实验。

1.3.5 Western Blot 法检测 Ki67、N-cadherin 和 E-cadherin 蛋白表达

将六组细胞接种至 6 孔板中,接种浓度为 1.0×10^5 个/孔。培养 24 h 后,用 RIPA 试剂提取细胞中总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度。SDS-PAGE 实验分离总蛋白,并转至 PVDF 膜,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。于 4℃ 冰箱中,分别用 Ki67 (1:1 000)、N-cadherin (1:2 000)、E-cadherin (1:2 000) 和 GAPDH (1:1 000) 一抗孵育过夜,洗膜后,置于山羊抗兔二抗 (1:5 000) 中,37℃ 孵育 2 h。滴加显液显影,曝光拍照。

1.3.6 UCHL1-AS1 与 miR-629 靶向关系验证

将 Eca-109 细胞接种至 6 孔板中,接种浓度为 1×10^5 个/孔。培养 24 h 后,利用 Lipofectamine™ 2000 试剂盒分别共转染 WT-UCHL1-AS1 与 miR-629 mimic (或 miR-NC)、MUT-UCHL1-AS1 与 miR-629 mimic (miR-NC),转染时间为 6 h。然后裂解细胞,以离心半径 10 cm、3 500 r/min 离心 10 min 后,取上清液,分别加 100 μ L 萤火虫或海肾荧光素酶反应工作液,检测萤火虫和海肾的荧光强度。以萤火虫与海肾荧光强度的比值表示荧光素酶活性。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件分析实验数据。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UCHL1-AS1 在食管癌中的表达

食管癌组织 UCHL1-AS1 表达低于癌旁组织 [(0.18±0.03) vs (1.02±0.05)], 差异有统计学意义 ($t=82.755, P < 0.05$)。

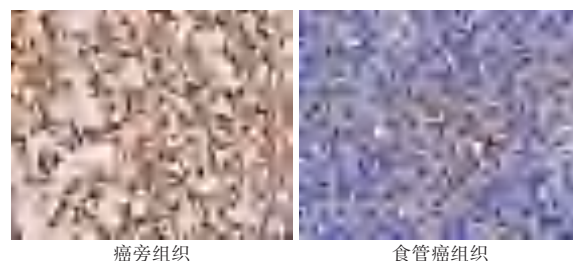
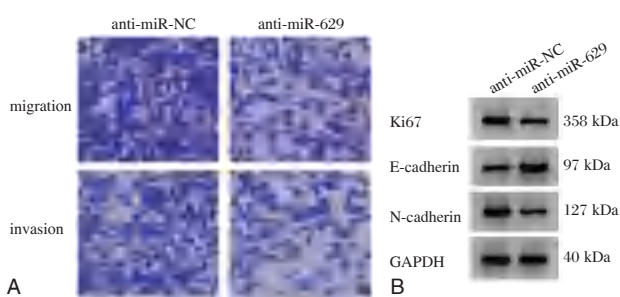


图1 UCHL1-AS1 在食管癌组织中的表达 (DAB 显色, $\times 400$)
Figure 1 Expression of UCHL1-AS1 in esophageal cancer tissue (DAB color, $\times 400$)



注:A, Transwell 检测下调 miR-629 对 Eca-109 细胞迁移和侵袭的影响($\times 200$, 结晶紫染色); B, Western Blot 检测下调 miR-629 的 Eca-109 细胞中 Ki67、E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达

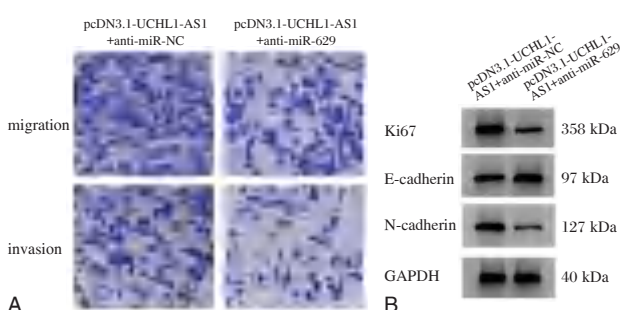
图 3 下调 miR-629 对 Eca-109 细胞迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响

Figure 3 Effects of down-regulated miR-629 on migration, invasion and related protein expression of Eca-109 cells

表 4 下调 miR-629 可增强 UCHL1-AS1 对 Eca-109 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Down-regulation of miR-629 can enhance the effects of UCHL1-AS1 on proliferation, migration and invasion of Eca-109 cells ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | miR-629 | 细胞存活率(%) | 迁移数(个) | 侵袭数(个) | Ki67 蛋白 | N-cadherin 蛋白 | E-cadherin 蛋白 |
|----------------------------------|---|-----------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-629 组 | 3 | 0.35 \pm 0.03 | 34.68 \pm 3.18 | 52.00 \pm 3.65 | 28.00 \pm 2.46 | 0.06 \pm 0.01 | 0.03 \pm 0.01 | 0.93 \pm 0.06 |
| pcDN3.1-UCHL1-AS1+anti-miR-NC 组 | 3 | 0.99 \pm 0.05 | 52.27 \pm 5.26 | 80.00 \pm 5.11 | 47.00 \pm 3.44 | 0.21 \pm 0.02 | 0.17 \pm 0.02 | 0.61 \pm 0.04 |
| t 值 | | 32.928 | 4.957 | 13.376 | 13.478 | 20.125 | 17.441 | 13.313 |
| P 值 | | <0.001 | 0.008 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |



注:A, 下调 miR-629 增强 UCHL1-AS1 对 Eca-109 细胞迁移、侵袭的影响($\times 200$, 结晶紫染色); B, 下调 miR-629 增强 UCHL1-AS1 对 Eca-109 细胞中 Ki67、E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达的影响。

图 4 下调 miR-629 增强 UCHL1-AS1 对 Eca-109 细胞迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响

Figure 4 Down-regulating miR-629 enhanced the effect of UCHL1-AS1 on migration, invasion and expression of related proteins in Eca-109 cells

食管癌中的研究才刚起步,其对食管癌发生发展的影响和机制还未知,因此本研究特对此展开探究。

本研究结果显示,食管癌组织 UCHL1-AS1 表达明显低于癌旁组织,上调 UCHL1-AS1 导致食管癌细胞增殖、迁移及侵袭能力受到抑制,提示 UCHL1-AS1 作为抑癌基因参与食管癌的进展过

程,可作为食管癌治疗的分子靶点。Ki67 是一种与细胞增殖特异相关的核蛋白,与核糖体 RNA 的转录有关,其表达升高可促进细胞增殖^[9]。上皮间质转化是肿瘤细胞迁移和侵袭的主要机制之一,主要特点是上皮型钙黏蛋白 E-cadherin 表达降低,而神经型钙黏 N-cadherin 表达升高^[10-11]。本实验数据显示,上调 UCHL1-AS1 表达降低了 Eca-109 细胞中 Ki67 和 N-cadherin 蛋白表达,但促进了 E-cadherin 蛋白表达,进一步说明上调 UCHL1-AS1 抑制 Eca-109 细胞的恶性行为。

此外,本研究证实了 UCHL1-AS1 靶向结合并负调控 miR-629 表达。miR-629 是一个在多种肿瘤中异常表达的 miRNA。miR-629 在胃癌组织中表达上调,下调 miR-629 降低胃癌细胞的增殖能力,并促进细胞凋亡,miR-629 可能是胃癌的治疗靶标^[12];胰腺癌中 miR-629 表达上调,下调 miR-629 表达可能通过靶向上调 FOXO3 抑制胰腺癌细胞的细胞增殖和迁移^[13];卵巢癌组织中 miR-629 上调,上调 miR-629 表达促进卵巢癌细胞迁移和侵袭能力,并抑制细胞凋亡^[14]。本研究显示,下调 miR-629 表达可有效抑制食管癌 Eca-109

细胞增殖、迁移和侵袭,且可增强 UCHL1-AS1 对 Eca-109 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用,提示 UCHL1-AS1 可能通过靶向下调 miR-629 表达发挥抗食管癌作用,但 UCHL1-AS1 具体作用于 miR-629 的靶基因还有待进一步探究。

综上,UCHL1-AS1 在食管癌组织中表达下调,上调 UCHL1-AS1 导致食管癌 Eca-109 细胞增殖、迁移和侵袭能力显著降低,这可能与上调 UCHL1-AS1 导致细胞中 miR-629 表达降低有关。接下来,本研究将进一步探讨 UCHL1-AS1 影响食管癌细胞恶性生物学行为的其他作用机制及对移植瘤裸鼠肿瘤生长的影响,以期对食管癌的靶向分子治疗提供新途径。

参考文献

[1] 朱雄杰,田瑶,朱娟娟,等.食管癌的靶向治疗研究进展[J].实用医学杂志,2017,33(12):1910-1912.

[2] Zhang R, Wei YC, Zhu LO, et al. in vitro LncRNA UCHL1-AS1 prevents cell mobility of hepatocellular carcinoma: a study based on and bioinformatics[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2018, 11(5):2270-2280.

[3] 朱礼欧,肖晓玲,冯振博.过表达 UCHL1-AS1 及联合雷帕霉素对人肝癌细胞 Bel-7404 增殖的影响[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(48):9-11.

[4] Zhang XW, Luo P, Jing W, et al. circSMAD2 inhibits the epithelial-mesenchymal transition by targeting miR-629 in hepatocellular carcinoma[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11(3):2853-2863.

[5] Phuah NH, Azmi MN, Awang K, et al. Suppression of microRNA-629 enhances sensitivity of cervical cancer cells to

'S-1'-acetoxychavicol acetate via regulating RSU1[J]. Onco Targets Ther, 2017, 10(4):1695-1705.

[6] Qiu BQ, Lin XH, Ye XD, et al. Long non-coding RNA PS-MA3-AS1 promotes malignant phenotypes of esophageal cancer by modulating the miR-101/EZH2 axis as a ceRNA[J]. Aging, 2020, 12(2):1843-1856.

[7] Carrieri C, Cimatti L, Biagioli M, et al. Long non-coding antisense RNA controls Uchl1 translation through an embedded SINEB2 repeat[J]. Nature, 2012, 491(7424):454-457.

[8] 闫文姬,郭明洲,杨云生.泛素羧基末端酯酶 L1 启动子区甲基化在食管癌变过程中的作用[J].中华内科杂志,2012(5):390-393.

[9] Zorin V, Zorina A, Smetanina N, et al. Diffuse colonies of human skin fibroblasts in relation to cellular senescence and proliferation[J]. Aging, 2017, 9(5):1404-1413.

[10] Yang H, Geng YH, Wang P, et al. Extracellular ATP promotes breast cancer invasion and epithelial-mesenchymal transition via hypoxia-inducible factor 2 α signaling[J]. Cancer Sci, 2019, 110(8):2456-2470.

[11] Zhu GJ, Song PP, Zhou H, et al. Role of epithelial-mesenchymal transition markers E-cadherin, N-cadherin, β -catenin and ZEB2 in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 15(3):3472-3481.

[12] Li M, Wang YX, Liu X, et al. miR-629 targets FOXO3 to promote cell apoptosis in gastric cancer[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(1):294-300.

[13] Yan H, Li Q, Wu J, et al. MiR-629 promotes human pancreatic cancer progression by targeting FOXO3[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10):e3154.

[14] Shao LP, Shen ZJ, Qian H, et al. Knockdown of miR-629 inhibits ovarian cancer malignant behaviors by targeting testis-specific Y-like protein 5[J]. DNA Cell Biol, 2017, 36(12):1108-1116.

(上接第 2191 页)

[9] Thipsawat S. Early detection of diabetic nephropathy in patient with type 2 diabetes mellitus: A review of the literature[J]. Diab Vasc Dis Res, 2021, 18(6):1479-1481.

[10] 伍海艳,吴荣艳,钟凤元,等.雌激素代谢紊乱对老年女性骨质疏松患者的影响[J].中国老年学杂志,2021,41(12):2567-2569.

[11] 韩玉梅,田凤胜,白海龙.维生素 D 与糖尿病肾病及骨质疏松的中西医研究进展[J].中国医药导报,2020,17(19):43-46.

[12] 何玉敏,刘军,孙晓敏.维生素 D 干预 2 型糖尿病机制研究现状[J].中国临床药理学杂志,2021,37(14):1902-1906.

[13] 李文和,张丽娟,胡译方,等.2 型糖尿病患者血清 25 羟基维生素 D 与糖尿病肾脏疾病的相关性研究[J].中国糖尿病杂志,2018,26(5):402-406.

[14] 黄朦,徐秋笔,廖湘平.维生素 D 对糖尿病肾病的影响及其研究进展[J].中国医师杂志,2018,20(6):951-954.

[15] 金成,程歆琦,禹松林,等.中国人群血清甲状旁腺素水平[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2018,11(3):233-239.

[16] 薛海燕,李振江,孔令强.不同分期糖尿病肾病患者 25 羟基维生素 D、低氧诱导因子-1 α 检测及临床意义[J].陕西医学杂志,2021,50(5):614-617.

[17] 王英彪,郝光霞.糖尿病肾病患者 1,25-二羟基维生素 D3 与骨钙素水平变化及其相关性分析[J].中国药物与临床,2019,19(11):1892-1893.

[18] 丁志兰,李诗琪,叶晓峰.2 型糖尿病肾病患者血清骨转换标志物的表达水平和临床价值探讨[J].中国卫生检验杂志,2021,31(10):1226-1229.

[19] 文章新,刘红,盛志峰,等.维生素 D 及其受体对糖尿病肾病保护作用的研究进展[J].中国医师杂志,2021,23(12):1901-1904.

凝血功能联合血脂指标检测在结直肠癌诊断中的应用

孙英 林洁 吉益玢 楚志芬 卢瑞云 王园园*

[摘要] 目的 探讨凝血功能联合血脂指标检测在结直肠癌诊断中的应用价值。方法 选取2020年1月至2022年2月于河北医科大学第一医院普外科确诊的结直肠癌患者106例作为观察组,并选取同期住院的结直肠良性疾病患者106例作为对照组。根据TNM分期将观察组患者分为I+II期组($n=67$)和III+IV期组($n=39$),根据结直肠癌是否发生转移将观察组患者分为转移组($n=21$)和无转移组($n=85$)。比较观察组和对照组患者的凝血功能指标[凝血酶原活动度(AT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)、活化部分凝血酶原时间(APTT)]以及血脂指标[高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)],比较I+II期组和III+IV期组以及转移组和无转移组之间凝血功能指标和血脂指标的水平。结果 观察组的FIB高于对照组,且观察组的AT、PT以及APTT均低于对照组,观察组HDL-C血脂指标明显低于对照组,且LDL-C、TC水平高于对照组,差异有统计学意义($t=14.788, 2.136, 10.707, 10.739, 9.359, 10.871, 17.458, P<0.05$); I+II期结直肠癌患者的FIB、LDL-C、TC明显低于III+IV期,而I+II期的HDL-C明显高于III+IV期,差异有统计学意义($t=2.178, 9.243, 2.263, P<0.05$);转移组的FIB、LDL-C、TC高于无转移组患者,且转移组的HDL-C低于无转移组,差异有统计学意义($t=7.678, 3.636, 3.996, 2.697, P<0.05$)。FIB、HDL-C、LDL-C、TC以及四者联合检测对结直肠癌的诊断价值的曲线下面积(AUC)分别为0.874、0.794、0.786、0.807、0.921。结论 凝血功能以及血脂指标对结直肠癌的诊断价值较高,随着各项指标的异常变化能够评估结直肠癌患者的病情发展以及是否转移,且FIB、HDL-C、LDL-C、TC四个指标联合检测对结直肠癌的诊断价值高于单独检测的诊断价值,具有较高的临床应用价值。

[关键词] 凝血功能;血脂指标;结直肠癌;诊断价值

Application value of blood coagulation function combined with blood lipid index in the diagnosis of colorectal cancer

SUN Ying, LIN Jie, JI Yiding, CHU Zhifen, LU Ruiyun, WANG Yuanyuan*

(1. Department of Emergency, Hengshui Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hengshui, Hebei, China, 053000; 2. Department of Gastroenterology, The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China, 050021)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value of coagulation function combined with blood lipid index detection in the diagnosis of colorectal cancer. **Methods** From January 2020 to February 2022, 106 patients with colorectal cancer diagnosed in the Department of General Surgery of the First Hospital of Hebei Medical University were selected as the observation group, and 106 patients with benign colorectal diseases who were hospitalized during the same period were selected as the control group. According to TNM staging, the patients in the observation group were divided into the stage I + II group ($n=67$) and the stage III + IV group ($n=39$) and no metastasis group ($n=85$). The coagulation function indexes [prothrombin activity (AT), prothrombin time (PT), fibrinogen (FIB), activated partial prothrombin time (APTT)] and blood lipid

基金项目:河北省卫计委项目(20201189)

作者单位:1. 河北省衡水市中医医院急诊科,河北,衡水 053000

2. 河北医科大学第一医院胃肠外二科,河北,石家庄 050021

*通信作者:王园园, E-mail: 35906326@qq.com

indexes were compared between the observation group and the control group. High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC) were compared between the stage I + II group and the stage III + IV group, the metastasis group and the non-metastasis group were analyzed. **Results** The FIB in the observation group was higher than that in the control group, and the AT, PT and APTT in the observation group were lower than those in the control group. The HDL-C blood lipid index in the observation group was significantly lower than that in the control group, and the levels of LDL-C and TC were higher than those in the control group. There was statistically significant ($t=14.788, 2.136, 10.707, 10.739, 9.359, 10.871, 17.458, P<0.05$). The FIB, LDL-C and TC of patients at stage I + II colorectal cancer were significantly lower than those at stage III + IV, while HDL-C at stage I + II was significantly higher than that at stage III + IV, the difference was statistically significant ($t=2.178, 9.243, 2.263, P<0.05$). The FIB, LDL-C and TC in the metastatic group were higher than those in the non-metastatic group, and the HDL-C in the metastatic group was lower than that in the non-metastatic group, with a statistically significant difference ($t=7.678, 3.636, 3.996, 2.697, P<0.05$). The areas under the curve (AUC) of the diagnostic value of FIB, HDL-C, LDL-C, TC and the combination of the four indexes for colorectal cancer were 0.874, 0.794, 0.786, 0.807, and 0.921, respectively. **Conclusion** The blood coagulation function and blood lipid indexes have high diagnostic value for colorectal cancer. With the abnormal changes of each index, the disease development and metastasis of colorectal cancer patients can be evaluated. The diagnostic value of the combined detection of these indicators for colorectal cancer is higher than the diagnostic value of the single detection, and has high clinical application value.

[KEY WORDS] Coagulation function; Blood lipid index; Colorectal cancer; Diagnostic value

结直肠癌是一种发病率极高的恶性肿瘤,其临床特点为起病快、病死率高等,患者极易产生严重的疾病负担以及健康损失,是我国常见的恶性肿瘤之一^[1]。有研究^[2]表明,结直肠癌的男性患者比例较多,且预后的平均生存期为35.54个月,3年生存率为56.86%,5年生存率仅达41.83%。近年来,随着恶性肿瘤早诊治的相关知识的普及以及恶性肿瘤诊疗技术的提高,寻找合适的指标诊断结直肠癌成为该领域的研究热点。目前已有研究表明凝血功能检测对结直肠癌具有一定的诊断价值,且大部分结直肠癌患者均伴有较严重的血脂异常情况,且血脂异常水平也为结直肠癌发生发展的危险因素。因此,对于结直肠癌患者的凝血功能和血脂指标值得进一步深入研究。本研究以结直肠癌患者作为研究对象,观察凝血功能以及血脂指标对结直肠癌的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取河北医科大学第一医院2020年1月至2022年2月收治并确诊的106例结直肠癌患者作为观察组,并选取同期住院的结直肠良性疾病患者106例作为对照组。观察组男64例,女42例,年龄平均(60.37±8.03)岁;对照组男60

例,女46例,年龄平均(62.37±8.01),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。

纳入标准:①经组织病理学确诊为结直肠癌^[3];②病情以及相关生命体征平稳;③非哺乳期以及妊娠期患者;④临床资料完整。排除标准:①合并精神类疾病;②合并血液功能障碍;③合并严重心血管疾病。本研究经河北医科大学第一医院伦理委员会批准。

1.2 方法

采集所有受试者空腹静脉血5 mL,置于含有1/10体积的0.109 mol/L的枸橼酸钠抗凝液的试管中,于3 000 r/min,离心半径8 cm的条件下离心10 min,收集上层血浆后,采用全自动凝血分析仪(厂商:深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,型号: CX-9000)测定凝血酶原活动度(prothrombin time activity, AT)、凝血酶原时间(Prothrombin time, PT)、纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)、活化部分凝血酶原时间(activated partial thromboplastin time, APTT)水平,采用酶联免疫法,使用全自动生化分析仪(厂商:贝克曼库尔特公司,型号: AU5800)对TC、HDL-C、LDL-C进行检测^[4-5]。根据国际抗癌联盟的TNM分期标准^[6]对观察组患者进行分组,分为I、II、III、IV期。采用多层螺旋CT显现评估结直肠癌是否出现转移^[7]。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据处理,符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组与对照组凝血功能指标表达比较

观察组的 FIB 高于对照组,且观察组的 AT、PT 以及 APTT 均低于对照组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者凝血功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

| 组别 | <i>n</i> | AT (%) | PT (s) | FIB (g/L) | APTT (s) |
|------------|----------|-------------|------------|-----------|------------|
| 对照组 | 106 | 83.97±12.41 | 14.39±2.99 | 2.57±0.81 | 37.26±7.84 |
| 观察组 | 106 | 87.46±11.36 | 10.08±2.87 | 4.77±1.30 | 26.71±6.39 |
| <i>t</i> 值 | | 2.136 | 10.707 | 14.788 | 10.739 |
| <i>P</i> 值 | | 0.034 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.2 观察组与对照组血脂指标比较

观察组 HDL-C 血脂指标明显低于对照组,且 LDL-C、TC 水平高于对照组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者血脂指标对比 [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

Table 2 Comparison of blood lipid indexes between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

| 组别 | <i>n</i> | HDL-C | LDL-C | TC |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 对照组 | 106 | 1.52±0.40 | 1.86±0.22 | 3.43±0.36 |
| 观察组 | 106 | 1.06±0.31 | 2.37±0.43 | 4.33±0.39 |
| <i>t</i> 值 | | 9.359 | 10.871 | 17.458 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.3 TNM 分期患者凝血功能以及血脂指标比较

两组患者的 AT、PT、ATPP 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); I + II 期结肠癌患者的 FIB、LDL-C、TC 明显低于 III + IV 期,而 I + II 期的 HDL-C 明显高于 III + IV 期,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3、4。

表 3 TNM 分期患者凝血功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of coagulation function in patients with TNM staging ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | AT (%) | PT (s) | FIB (g/L) | APTT (s) |
|------------|----------|-------------|------------|-----------|------------|
| I + II 期 | 67 | 86.01±12.97 | 10.21±2.17 | 4.57±1.27 | 25.71±7.11 |
| III + IV 期 | 39 | 89.95±13.12 | 9.86±2.61 | 5.11±1.16 | 28.43±6.30 |
| <i>t</i> 值 | | 1.502 | 0.743 | 2.178 | 1.979 |
| <i>P</i> 值 | | 0.136 | 0.460 | 0.032 | 0.051 |

表 4 TNM 分期患者血脂指标比较 [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

Table 4 Comparison of blood lipid indexes in patients with TNM staging [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

| 组别 | <i>n</i> | HDL-C | LDL-C | TC |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 转移组 | 21 | 0.94±0.17 | 2.59±0.36 | 4.57±0.34 |
| 无转移组 | 85 | 1.09±0.24 | 2.32±0.29 | 4.27±0.30 |
| <i>t</i> 值 | | 2.697 | 3.636 | 3.996 |
| <i>P</i> 值 | | 0.008 | <0.001 | <0.001 |

2.4 结直肠癌有无转移患者凝血功能以及血脂指标比较

两组患者的 AT、PT、APTT 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 转移组的 FIB、LDL-C、TC 高于无转移组患者,且转移组的 HDL-C 低于无转移组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5、6。

表 5 结直肠癌有无转移患者凝血功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of coagulation function in patients with colorectal cancer with or without metastasis ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | HDL-C | LDL-C | TC |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| I + II 期 | 67 | 1.13±0.23 | 2.18±0.21 | 4.27±0.31 |
| III + IV 期 | 39 | 0.94±0.16 | 2.70±0.37 | 4.42±0.36 |
| <i>t</i> 值 | | 4.553 | 9.243 | 2.263 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 | 0.026 |

表 6 结直肠癌有无转移患者血脂指标比较 [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

Table 6 Comparison of blood lipid indexes in patients with colorectal cancer with or without metastasis [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

| 组别 | <i>n</i> | AT (%) | PT (s) | FIB (g/L) | APTT (s) |
|------------|----------|-------------|------------|-----------|------------|
| 转移组 | 21 | 91.47±12.26 | 9.95±2.29 | 6.25±1.59 | 24.91±5.24 |
| 无转移组 | 85 | 86.47±12.37 | 10.11±2.43 | 4.40±0.78 | 27.15±5.70 |
| <i>t</i> 值 | | 1.662 | 0.273 | 7.678 | 1.637 |
| <i>P</i> 值 | | 0.100 | 0.785 | <0.001 | 0.105 |

2.5 凝血功能联合血脂指标检测对结直肠癌的诊断价值

绘制 FIB、HDL-C、LDL-C、TC 对诊断结直肠癌的 ROC 曲线,ROC 曲线显示 FIB、HDL-C、LDL-C、TC 以及联合检测诊断结直肠癌对应的 AUC 为 0.874、0.794、0.786、0.807、0.921,其对应的约登系数为 0.688、0.621、0.518、0.548、0.836。联合检测的价值高于单独检测对结直肠癌的诊断价值。见表 7、图 1。

3 讨论

结直肠癌作为常见的消化道恶性肿瘤,具有较高的发病率以及死亡率,自 20 世纪 90 年代中期以来,其发生率逐渐呈年轻趋势。据有关研究报道,2020 全球预计结直肠癌新发病例数为 19.32 万

表7 FIB、HDL-C、LDL-C、TC对结直肠癌的诊断价值
Table 7 Diagnostic value of FIB, HDL-C, LDL-C and TC for colorectal cancer

| 指标 | 临界值 | 约登指数 | 敏感度 (%) | 特异度 (%) | AUC | 95% CI |
|----------------|------|-------|---------|---------|-------|-------------|
| FIB (g/L) | 4.45 | 0.688 | 83.17 | 85.62 | 0.874 | 0.831-0.918 |
| HDL-C (mmol/L) | 1.14 | 0.621 | 79.94 | 82.15 | 0.794 | 0.766-0.843 |
| LDL-C (mmol/L) | 1.97 | 0.518 | 75.69 | 76.11 | 0.786 | 0.715-0.820 |
| TC (mmol/L) | 3.69 | 0.548 | 80.12 | 74.65 | 0.807 | 0.762-0.858 |
| 联合检测 | - | 0.836 | 91.23 | 92.37 | 0.921 | 0.893-0.994 |

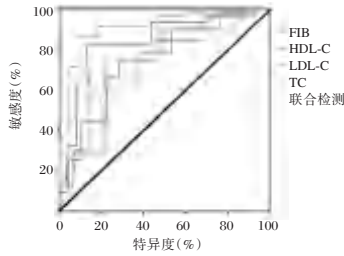


图1 ROC曲线
Figure 1 ROC curve

例,我国2004-2018年死于结直肠癌的患者共有213 513例。由于恶性肿瘤的早期没有明显的临床特征可供辨别,大部分确诊患者已处于疾病的晚期,病情较难控制,因此恶性肿瘤预防的关键为早发现早诊断。目前,凝血功能和血脂指标已被分别研究,但目前缺少两者联合诊断结直肠癌的研究。因此,本研究通过比较不同类型患者间的凝血功能以及血脂指标,一起找到能够为早期诊断结直肠癌提供一定的参考依据。

FIB作为肝脏细胞合成以及分泌的凝血因子,其含量升高可表示机体正处于高凝状态,当结直肠癌患者的凝血功能出现异常时,患者的FIB会出现异常升高,FIB在血小板的聚集以及血液凝固中具有重要的作用,此外,FIB还能够作为血管钙化的预测指标^[8-9]。目前已有研究^[10]证实,结直肠癌患者的FIB水平与肿瘤标志物癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、细胞角蛋白19片段(Cytokeratin 19 fragment, Cyfra 21-1)的水平呈正相关,且FIB在原发肿瘤浸润程度较高以及区域淋巴结发生转移的情况下水平较高。钱香等^[11]研究结果显示FIB水平不仅与肿瘤发生部位、浸润程度、淋巴结转移有关,还能够作为结直肠癌患者预后的预测指标。消化道恶性肿瘤的产生原因之一可能为血脂代谢紊乱,有相关报道,恶性肿瘤的病死率与患者的血脂指标水平存在密切的关系。本研究结果显示,结直肠癌患者FIB、LDL-C、

TC的表达水平高于结直肠良性患者,且HDL-C水平低于结直肠良性患者;由此可知,结直肠癌患者的血液呈现高凝状态,并且存在血脂代谢异常的现象,可能是由于恶性肿瘤患者的肿瘤细胞能够分泌出黏蛋白以及组织因子,使得凝血因子X激活,升高纤维蛋白原的含量,而血脂代谢异常使得前列腺素的合成以及脂质过氧化反应被促进,从而加速雌激素代谢并损伤机体的免疫功能,从而诱发结直肠癌。FIB不仅能够促进肿瘤细胞形成血管,还能够增加血管中肿瘤细胞的黏附以及肿瘤基质的形成,并且促进肿瘤细胞生长以及转移。左麦红等^[12]研究表示,FIB水平与淋巴结转移以及血管受侵情况具有一定的关系。Ⅲ+Ⅳ期的结直肠癌患者具有较高水平的消耗性代谢,且吸收功能逐步衰退,导致机体合成的载脂蛋白Apo-A1的数量下降,从而减少机体HDL-C的水平,且晚期性或转移性结直肠癌的肿瘤细胞需要的胆固醇增加,使得LDL-C、TC的含量上升。此外,肿瘤细胞在中晚期结肠癌会出现不断增生的现象,使得肿瘤坏死因子- α 的水平升高,降低脂蛋白酯酶的活性,使得TC难以想象组织转化,机体内TC的水平升高。Jiang等^[13]研究表示HDL-C、LDL-C能够作为结直肠癌肿瘤的良恶性以及临床分期的诊断,与本研究结果一致。

此外,本研究采用ROC曲线对FIB、HDL-C、LDL-C、TC以及联合检测诊断结直肠癌的价值进行评估,结果可见FIB、HDL-C、LDL-C、TC对于结直肠癌均具有一定的诊断价值,与王玉颖等^[14]研究结果以及何爽^[15]的研究结果一致。本研究在独立检测的基础上,联合四个指标检测诊断结直肠癌,发现四者联合检测的诊断价值最高,可能是由于三者联合诊断能够避免一些单独指标检测所具有的漏洞。

综上所述,凝血功能和血脂指标检测对诊断结直肠癌并且检测肿瘤转移以及病情进展具有一定的价值,并且采用FIB、HDL-C、LDL-C、TC联合检测的诊断价值较高。

参考文献

[1] 周义志,张忠伟,向立斌,等. 结直肠癌组织中Rictor蛋白的表达及其与临床病理特征、预后的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(15): 80-83+88.
[2] 卢晓华,田红梅,王孟娇,等. 5016例结直肠癌病例特征及预后分析[J]. 华南预防医学, 2022, 48(6): 742-744+748.

北京通州区某医院45岁以上健康体检人群代谢综合征的流行病学调查

秦瑞娟^{1*} 刘胜利¹ 张艺¹ 吴春颖²

[摘要] 目的 调查北京市某医院45岁以上的健康体检人群代谢综合征(MS)流行现状和特征,为科学防控MS提供参考。方法 以通州区某医院体检中心体检人群为对象,纳入2021年10月至2021年12月1100名健康体检者数据进行横断面调查。调查内容包括基本情况调查、体格检查以及实验室检查,并根据世界卫生组织(WHO)和美国国家胆固醇教育计划(NCEP)及国际糖尿病联盟(IDF)(2009)关于MS的诊断标准分成MS组($n=415$)和非MS组($n=685$),进一步采用单因素和多因素Logistic分析两组的调查资料。结果 北京通州区45岁以上健康体检人群中MS的患病人数为415人,患病率为37.73%。单因素分析表示,年龄、饮酒史、糖尿病家族史、体力劳动程度、同型半胱氨酸(Hcy)、尿酸(UA)均是发生MS的影响因素($\chi^2=32.907$ 、4.834、9.843、19.808, $t=18.707$ 、11.662, $P<0.05$);多因素Logistic分析表示,饮酒史、糖尿病家族史、体力劳动程度、Hcy、UA均是发生MS的独立影响因素($P<0.05$)。结论 北京通州区某医院45岁以上健康体检人群MS的患病率较高,应针对相关危险因素采取对应措施,降低MS的发生,并控制其进行性发展。

[关键词] 北京市;健康体检人群;代谢综合征;流行病学;影响因素

Epidemiological investigation of metabolic syndrome among healthy population aged over 45 years in a hospital in Tongzhou District, Beijing

QIN Ruijuan^{1*}, LIU Shengli¹, ZHANG Yi¹, WU Chunying²

(1. MEC, Beijing Luhe Hospital Capital Medical University, Beijing, China, 101100; 2. Clinical Laboratory, Beijing Luhe Hospital Capital Medical University, Beijing, China, 101100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the prevalence and characteristics of metabolic syndrome (MS) in healthy people aged over 45 years in Tongzhou District of Beijing, and to provide reference for scientific prevention and control of MS. **Methods** A cross-sectional survey was conducted among 1100 people aged over 45 years who underwent physical examination in the Physical Examination Center of Luhe Hospital, Tongzhou District, Beijing from October to December 2021 by multi-stage random sampling. According to the diagnostic criteria of the World Health Organization (WHO), the National Cholesterol Education Program (NCEP) and the International Diabetes Federation (IDF) (2009), the patients were divided into the MS group ($n=415$) and the non-MS group ($n=685$). Univariate and multivariate Logistic analysis were used to analyze the data of the two groups. **Results** The prevalence of MS was 37.73% in 415 people aged over 45 years in Tongzhou District, Beijing. Univariate analysis showed that age, drinking history, family history of diabetes, degree of physical labor, homocysteine (Hcy), uric acid (UA) were the influencing factors of MS ($\chi^2=32.907$ 、4.834、9.843、19.808, $t=18.707$ 、11.662, $P<0.05$). Multivariate Logistic analysis showed that drinking history, family history of diabetes, degree of physical labor, Hcy and UA were independent influencing factors of MS

基金项目:吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金(320.6750.19089-98)

作者单位:1.首都医科大学附属北京潞河医院体检中心,北京101100

2.首都医科大学附属北京潞河医院检验科,北京101100

*通信作者:秦瑞娟, E-mail: qinruijuan2022@126.com

($P < 0.05$). **Conclusion** The prevalence of MS is high in healthy people over 45 years old in Tongzhou District of Beijing. Corresponding measures should be taken to reduce the incidence of MS and control its progressive development according to related risk factors.

[KEY WORDS] Beijing municipal; Health check-up population; Metabolic syndrome; Epidemiology; Influence factor.

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是以肥胖、高血糖、血脂异常及高血压等多种慢性疾病共存的综合性疾病,也是在代谢上相互关联的危险因素组合,直接影响到患者的健康问题^[1]。研究表明^[2],MS与糖尿病、急性心肌梗死、脑卒中等疾病的发生密切相关,且被认为是心血管疾病的独立危险因素。近年来,随着我国社会经济的发展,人们生活习惯的改变,由MS引发的心血管疾病呈逐年不断上升趋势。因此,早期采取针对性的措施防治MS具有重要意义。国内已有较多研究对MS的流行状况进行分析,但受到各地人口学特征以及生活方式等影响,不同地区人群间MS的流行状况各有差异^[3]。本研究通过了解北京通州区45岁以上健康体检人群MS的流行现状和特征,为日后开展MS的防控工作提供科学依据,从而促进居民的身体健康。

1 对象与方法

1.1 调查对象

本研究在北京潞河医院开展,截取2021年10月至2021年12月在本医院体检中心进行健康体检人群(主要为党政机关、企事业单位等工作人群),共纳入调查1200名体检人员。其中,剔除基本信息缺失41名,血液样本检测指标不全32名,认知困难27名,最终共计1100名体检者为本次的研究对象。本研究已通过北京市通州区潞河医院伦理委员会审核。

1.2 调查方法

1.2.1 问卷调查

采用体检中心自制的基本情况调查表,由经过统一培训并考核合格的调查员面对面调查研究对象的基本情况。调查内容包括性别、年龄、文化程度、婚姻情况、家族史(高血压家族史、糖尿病家族史)、吸烟史、饮酒史等。

1.2.2 体格检查

使用统一设备测量所有研究对象的身高、体重、血压等。①血压测量:采用HBP-9020型血压

计(中国欧姆龙公司)电子血压计测量收缩压(Systolic blood pressure, SBP)和舒张压(Diastolic blood pressure, DBP),测量前要求受试者禁烟酒、喝咖啡或茶以及剧烈运动,休息5min后坐位测量右上臂血压,均需要连续测量3次,每次间隔30s,取3次测量的平均值为个体的血压值,如有2次测量的血压值相差 >10 mmHg,则取其中血压值相近的2次结果的平均值。②身高、体重测量:使用SK-X80超声体检机(深圳双佳电子有限公司)测量受试者的身高、体重,并计算体重指数(Body Mass Index, BMI)。BMI=体重(kg)/身高²(m²)。

1.2.3 实验室检查

采集所有研究对象的空腹静脉血5 mL,3000 rpm转速离心10 min(离心半径15 cm),4℃保存,待测。由首都医科大学附属北京潞河医院体检中心检验科人员检测空腹血糖(Fasting blood glucose, FBG)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)、尿酸(Uric acid, UA)等指标。检测标准依据国家临床检验中心提供的国标方法,采用BM6010/C型全自动生化分析仪(日本电子Sysmex公司)及配套试剂进行检测。

1.3 质量控制

统一培训所有参与本次研究的工作人员,严格遵守规章制度操作,且保证各测量仪器在校正日期内。体格检查和生物样本的采集按照统一方法进行,由专人管理数据管理平台和生物样本,若发现存在数据缺失问题,需重新就相关缺失内容进行补充,且对调查中存在逻辑问题的情况及时上报并核查,从而确保流行病学调查资料的质量。

1.4 诊断标准

1.4.1 MS诊断标准

根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)^[4]和美国国家胆固醇教育计划(National Cholesterol Education Program, NCEP)^[5]及

国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)(2009)^[6]关于代谢综合征的诊断标准,并结合体检中心实际情况综合定为:符合下列三项及以上者:①高血压^[7]:SBP/DBP≥130/85 mmHg;②高血糖^[7]:FBG≥5.6 mmol/L;③高TG^[8]:TG≥1.7 mmol/L;④低HDL-C^[8]:HDL-C≤1.04 mmol/L;⑤超重或肥胖^[7]:BMI≥25 kg/m²。

1.4.2 吸烟史、饮酒史^[9]

吸烟史指过去半年内每天吸烟≥1支,饮酒史指过去半年内每周饮酒≥30 g。

1.4.3 体力劳动程度^[10]

①轻度:以静坐伏案为主或走动较少的工作(如办公室人员、教师、售货员等);②中度:有一定活动量(如机动车驾驶、电工安装、车窗操作等);③重度:活动量很大(如手工农业劳动、搬运等)。

1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析,计数资料以n(%)描述,行卡方检验;计量资料以(x̄±s)表示,组间比较行独立样本t检验。进行单因素和多因素分析,以筛选出发生MS的影响因素,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 调查情况

本次调查分析共包括1100人,调查年龄范围为45~93岁,男性687人(62.45%),女性413人(37.55%)。MS的患病人数为415人,患病率为37.73%,男性中MS患病率为43.96%(302/687),其中45~50岁患病率为44.71%(76/170),51~60岁患病率为51.97%(145/279),>60岁患病率为34.03%(81/238);女性中MS患病率为27.36%(113/413),45~50岁患病率为22.88%(27/118),51~60岁患病率为22.09%(36/163),>60岁患病率为37.88%(50/132)。男性MS总体患病率高于女性(43.96% vs 27.36%, P<0.05),男性在45岁至60岁时患病率均高于女性(P<0.05),而到61岁及以后女性患病率更高,但差异不显著(P>0.05)。见图1。

2.2 北京通州区某医院MS患病的单因素分析

单因素分析表示,年龄、饮酒史、糖尿病家族史、体力劳动程度、Hcy、UA均是发生MS的影响因素(P<0.05)。见表1。

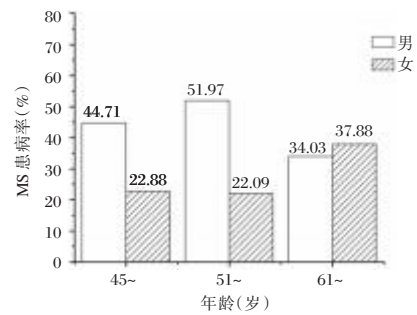


图1 不同年龄段不同性别MS患病率

Figure 1 Prevalence of MS in different age groups and genders

表1 北京通州区MS患病的单因素分析 [n(%), (x̄±s)]
Table 1 Univariate analysis of MS prevalence in Tongzhou District, Beijing [n(%), (x̄±s)]

| 因素分类 | MS组 (n=415) | 非MS组 (n=685) | χ ² 值/ t值 | P值 |
|---------------|--------------|--------------|-------------------------|--------|
| 年龄(岁) | | | | |
| <60 | 329(79.28) | 430(62.77) | 32.907 | <0.001 |
| ≥60 | 86(20.72) | 255(37.23) | | |
| 文化程度 | | | 0.557 | 0.455 |
| 高中及以下 | 119(28.67) | 211(30.80) | | |
| 大专及以上 | 296(47.23) | 474(69.20) | | |
| 婚姻情况 | | | 1.426 | 0.232 |
| 未婚/丧偶 | 105(25.30) | 196(28.61) | | |
| 已婚 | 310(74.70) | 489(73.39) | | |
| 吸烟史 | | | 1.747 | 0.186 |
| 有 | 155(37.35) | 229(33.43) | | |
| 无 | 260(62.65) | 456(66.57) | | |
| 饮酒史 | | | 4.834 | 0.028 |
| 有 | 186(44.82) | 261(38.10) | | |
| 无 | 229(55.18) | 424(61.90) | | |
| 糖尿病家族史 | | | 9.843 | <0.001 |
| 是 | 174(41.93) | 223(32.55) | | |
| 否 | 241(58.07) | 462(67.45) | | |
| 高血压家族史 | | | 3.746 | 0.053 |
| 是 | 103(24.82) | 136(19.85) | | |
| 否 | 312(75.18) | 549(80.15) | | |
| 体力劳动程度 | | | 19.808 | <0.001 |
| 轻度 | 221(53.25) | 457(66.72) | | |
| 中度/重度 | 194(44.34) | 228(33.28) | | |
| LDL-C(mmol/L) | 3.20±0.71 | 3.14±0.66 | 1.420 | 0.156 |
| Hcy(μmol/L) | 15.84±4.75 | 11.05±3.68 | 18.707 | <0.001 |
| UA(mol/L) | 407.64±93.81 | 341.18±90.26 | 11.662 | <0.001 |

2.3 北京通州区某医院MS患病的多因素分析

以研究对象的调查资料为因变量,将上述具有统计学意义的因素纳入Logistic回归模型。自变量赋值情况见表2。多因素分析表示,年龄、饮酒史、糖尿病家族史、体力劳动程度、Hcy、UA均是发生MS的独立影响因素(P<0.05)。见表3。

表2 自变量赋值表

Table 2 Assignment table of independent variables

| 变量 | 赋值说明 |
|-------------|---------------|
| 年龄(岁) | <60=0, ≥60=1 |
| 饮酒史 | 无=0, 有=1 |
| 糖尿病家族史 | 否=0, 是=1 |
| 体力劳动程度 | 轻度=0, 中度/重度=1 |
| Hcy(μmol/L) | 连续变量 |
| UA(μmol/L) | 连续变量 |

表3 北京通州区MS患病的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of MS prevalence in Tongzhou district, Beijing

| 因素 | β值 | S.E值 | Wald值 | OR值 | 95% CI | P值 |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------------|-------|
| 年龄(岁) | 0.762 | 0.495 | 2.370 | 2.143 | 0.812~5.652 | 0.124 |
| 饮酒史 | 0.022 | 0.008 | 7.563 | 1.022 | 1.006~1.039 | 0.006 |
| 糖尿病家族史 | 0.279 | 0.105 | 7.060 | 1.322 | 1.078~1.624 | 0.008 |
| 体力劳动程度 | 0.197 | 0.067 | 8.645 | 1.218 | 1.068~1.388 | 0.003 |
| Hcy | 1.448 | 0.642 | 5.087 | 4.255 | 1.252~14.969 | 0.024 |
| UA | 0.005 | 0.002 | 6.250 | 1.005 | 1.001~1.009 | 0.012 |

3 讨论

MS的发病机制暂未有研究明确,大多数观点认为是基因和环境相互影响的结果。近年来,随着社会经济的快速发展以及人们生活方式的改变,MS的发病率、患病率逐年上升,且已成为全球各地主要的公共卫生问题之一。早期预防及治疗MS,对降低慢性疾病的发生风险具有重要意义。因此,了解MS的患病率情况及其影响因素起着关键的临床指导作用。

本研究通过对北京通州区某医院45岁以上健康体检人群进行横断面调查,调查结果显示,1100名体检者中MS的患病人数为415人,患病率为37.73%,高于北京某社区成年体检人群MS患病率(15.69%),可能与MS的诊断标准以及病例的选择有关^[11]。提示北京通州区具有较高MS的患病率,需引起警惕,仍需继续采取有效的防控措施降低本地区MS的患病率。本研究结果显示男性的患病率较女性更高,与郭海健等^[12]研究相符。一方面可能因为炎症情况的增加有关,男性MS患者分离出来的外周血单核细胞中会产生过量的促炎细胞因子,而女性常体现为抗炎脂肪因子(脂联素)水平的降低;另一方面可能由于性激素影响葡萄糖和脂质代谢,从而导致MS的发生^[13]。而女性在≤60岁时MS患病率低于男性,>60岁高于男性,可能因60岁后大多数女性已绝经,而绝经后会引雌激素水平快速下降,从而发生胰岛素抵抗,同时

提示绝经有可能是MS的危险因素之一^[14]。因此,在MS防控工作中需要针对不同性别及不同年龄段的人群采取不同措施。

本次调查显示,饮酒史、糖尿病家族史、体力劳动程度、Hcy、UA是MS患病率的影响因素,提示临床可针对相关因素采取对应防控措施,降低MS患病率。有研究表明^[15],饮酒是MS的危险因素,可能与饮酒后能量过度摄取以及脂质代谢紊乱有关。因此,倡导健康饮酒是预防MS的有效措施。孙睿旋等研究表明^[16],糖尿病家族史可能影响MS的发生及发展,这可能与家庭的饮食习惯、生活习惯以及遗传因素有着密切联系。本研究发现与轻度体力劳动者比较,中度及重度的体力劳动者MS的患病风险更低,与赵晶晶等^[17]研究一致,可能因中度及重度劳动者热量消耗较高,使得体重及身体保持在比较健康状态,而轻度劳动者久坐不动,较难消耗热量,故MS的患病率也较高。Hcy通过氧化应激造成心血管内皮细胞及其功能受损,进而增加了炎症反应。另有研究表明^[18],与非MS患者相比,MS患者的Hcy水平更高,提示Hcy与MS可能存在着关联,对由MS引起的心血管疾病的健康风险可能有一定的评估作用。本研究发现尿酸与MS的发生有关,与国外研究一致^[19],可能因UA水平可促进脂质过氧化,从而增加血脂,进而引发MS。TG升高主要反映的是极低密度脂蛋白及其残粒的增加情况,而残粒脂蛋白可能会导致动脉粥样硬化。

综上所述,北京市通州区居民具有较高的MS患病率,严重危害人们的身体健康,相关部门应采取有效的对应措施进行综合干预,以减少MS及各组分的发生,提高人们的生活质量。本研究存在着一定的局限性,如年龄涉及范围较小,且本研究为横断面调查,仍需进一步更广范围以及动态观察MS患者发展情况的队列研究。

参考文献

- [1] Lemieux I, Després JP. Metabolic Syndrome: Past, Present and Future[J]. *Nutrients*, 2020, 12(11):3501.
- [2] 王小蕊,孟开顺. 三亚市机关事业单位45~60岁人群代谢综合征现状及影响因素[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(12): 1552-1554.
- [3] Huang X, Hu Y, Du L, et al. Metabolic syndrome in native populations living at high altitude: a cross-sectional survey in Derong, China[J]. *BMJ Open*, 2020, 10(1):e032840.

- [4] García-García FJ, Monistrol-Mula A, Cardellach F, et al. Nutrition, Bioenergetics, and Metabolic Syndrome[J]. *Nutrients*, 2020, 12(9):2785.
- [5] Santos AC, Lopes C, Barros H. Prevalence of metabolic syndrome in the city of Porto [J]. *Rev Port Cardiol*, 2004, 23(1):45-52.
- [6] ALBERTIKGMM, ECKELRH, GRUNDYSM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome a joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity]. *Circulation*, 2009, 120(16):1640-1645.
- [7] 方欣,陈春云,饶洪才,等.福建省代谢综合征流行现状及影响因素分析[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2020, 28(10):721-724+730.
- [8] 马腾,杨妮,孙志宏,等.益生菌:代谢性疾病调控新靶向[J]. *科学通报*, 2021, 66(27):3604-3616.
- [9] Guo C, Cao H, Shan G, et al. Elevated lipoprotein (a) and risk of coronary heart disease according to different lipid profiles in the general Chinese community population: the CHCN-BTH study[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(1):26.
- [10] He H, Pan L, Pa L, et al. Data Resource Profile: The China National Health Survey (CNHS) [J]. *Int J Epidemiol*, 2018, 47(6):1734-1735.
- [11] 齐莹.北京某社区成年体检人群代谢综合征流行现状分析[J]. *中国卫生统计*, 2020, 37(4):590-592.
- [12] 郭海健,念馨,梁友芳,等.基于多中心横断面调查的中国人人群代谢综合征的流行情况及危险因素[J]. *中华疾病控制杂志*, 2019, 23(7):796-801.
- [13] Ter Horst R, van den Munckhof ICL, Schraa K, et al. Sex-Specific Regulation of Inflammation and Metabolic Syndrome in Obesity [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(7):1787-1800.
- [14] 高维,郭蓉娟,王建伟,等.北京市丰台区中老年人人群代谢综合征中医证候特点研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2019, 26(5):23-26.
- [15] 周轶敏,袁磊,钱怡男,等.江苏省18~65岁居民代谢综合征流行状况及影响因素分析[J]. *中国健康教育*, 2022, 38(4):291-294+303.
- [16] 孙睿旋,郭宝福,谢国祥,等.2010~2013年南京市成年居民代谢综合征患病情况及流行特征[J]. *卫生研究*, 2019, 48(1):61-65+75.
- [17] 赵晶晶,曹亚景,孙纪新,等.河北省成人代谢综合征的流行及相关因素分析[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(23):4370-4376.
- [18] 郁晔,王森,黎桂福,等.上海市青浦区社区居民代谢综合征流行现状及影响因素分析[J]. *中国健康教育*, 2021, 37(8):718-722.
- [19] Chen S, Wu N, Yu C, et al. Association between baseline and changes in serum uric acid and incident metabolic syndrome: a nation-wide cohort study and updated meta-analysis [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2021, 18(1):59.

(上接第2201页)

- [3] 李田园,徐淑宁,李克,等.恶性肿瘤家族史与结直肠癌患者临床病理特征的关系[J]. *肿瘤研究与临床*, 2018, 30(5):319-323.
- [4] 卢晓华,田红梅,王冲,等.凝血四项、血浆D-D、NT-proBNP水平与结直肠癌患者术后DVT的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(3):495-498+502.
- [5] 孙灵杰. PCSK9基因rs562556与冠心病患者血脂水平的相关性分析[J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(7):1084-1086.
- [6] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [7] 王振,高星,王金勇.多层螺旋CT显像对结直肠癌术后再分期、区域淋巴结转移及疗效的评估价值[J]. *实用癌症杂志*, 2022, 37(7):1125-1127+1139.
- [8] 靳四海.结直肠癌患者FIB、ApoA1、AGR的表达变化及其临床意义[J]. *中国肛肠病杂志*, 2022, 42(4):4-6.
- [9] Zhang J, Yang Y, Zhang H, et al. Study on the predictive effect of fibrinogen on vascular calcification [J]. *Vascular*, 2021, 29(6):952-958.
- [10] 阳莎,何佳,陈鸣.结直肠癌患者凝血功能指标和肿瘤标志物与临床病理特征的关系[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(3):257-262.
- [11] 钱香,王宏,任真,等. NLR与FIB和CEA及CA19-9在结直肠癌中的应用价值. *中华预防医学杂志*, 2021, 55(4):499-505.
- [12] 左麦红.结直肠癌患者术前检测血浆纤维蛋白原和D-二聚体水平的临床意义[J]. *中国肛肠病杂志*, 2019, 39(8):16-17.
- [13] Jiang M, Ding G, Li G. Diagnostic value of combined detection of multiple tumor markers and blood lipid indexes in colorectal cancer and its prediction on adverse reactions of chemotherapy [J]. *J BUON*, 2021, 26(4):1226-1230.
- [14] 王玉颖,朱晓峰,薛玉玲,等.联合检测凝血4项和肿瘤标志物在结直肠癌中的临床意义和诊断价值[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(4):615-618.
- [15] 何爽.血脂指标及多项血清肿瘤标志物对结直肠癌的诊断价值[J]. *系统医学*, 2022, 7(12):38-41.

初产妇剖宫产后大出血 PTSD 发生现状及影响因素分析

魏文静 邓祯珍* 黄沛嫔

[摘要] **目的** 探讨初产妇剖宫产后大出血创伤后应激障碍(PTSD)发生现状及影响因素。**方法** 选取2019年1月至2021年12月广东省惠州市中心人民医院进行剖宫产后大出血的82例初产妇为研究对象,另选取同期本院进行剖宫产后无出血的产妇30例为对照组,采用创伤后应激障碍量表(PCL-C)评估两组的PTSD评分;另采用一般资料调查表、焦虑自评量表(SAS)及抑郁自评量表(SDS)对剖宫产后大出血产妇进行调查评估,以PCL-C总分 ≥ 38 分为PTSD症状阳性划界标准,进一步应用单因素及二元Logistic回归分析初产妇剖宫产后大出血发生PTSD的影响因素。**结果** 经剖宫产后大出血发生PTSD有15例(18.29%);产后大出血组、PTSD阳性组的PTSD总分及各维度评分均高于产后无大出血组、PTSD阴性组,差异有统计学意义($t=11.210, 7.713, 9.526, 15.135, 6.727, 3.637, 3.539, 14.048, P<0.05$)。单因素分析表明创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症、SAS和SDS评分均是初产妇剖宫产后大出血发生PTSD的影响因素($\chi^2=16.452, 4.679, 9.856, 18.988, 4.874, 6.504, P<0.05$);二元Logistic回归分析表明创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症、SAS和SDS评分均是初产妇剖宫产后大出血发生PTSD的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症均、焦虑、抑郁均是初产妇剖宫产后大出血发生PTSD的独立危险因素,临床上应结合相关影响因素,早期采取预防策略和措施,降低PTSD的发生率,保障母婴健康。

[关键词] 初产妇;剖宫产;产后大出血;创伤后应激障碍;影响因素

Analysis of the occurrence status and influencing factors of PTSD in primiparas with massive hemorrhage after cesarean section

WEI Wenjing, DENG Zhenzhen*, HUANG Peibin

(Maternity District 2, Huizhou Central People's Hospital, Guangdong Province, Huizhou, Guangdong, China, 516000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the status and influencing factors of post-traumatic stress disorder (PTSD) in primiparas after cesarean section. **Methods** From January 2019 to December 2021, 82 primiparas with massive hemorrhage after cesarean section in Huizhou Central People's Hospital, Guangdong Province were selected as the research object. In addition, 30 women without bleeding after cesarean section in our hospital during the same period were selected as the control group. Post-traumatic stress Disorder Scale (PCL-C) was used to evaluate the PTSD scores of the two groups. In addition, the general data questionnaire, self-rating anxiety scale (SAS) and self-rating depression scale (SDS) were used to investigate and evaluate the postpartum hemorrhage after cesarean section. The PCL-C score ≥ 38 was divided into positive criteria for PTSD symptoms. Single factor and binary Logistic regression were used to analyze the influencing factors of PTSD in primiparas after cesarean section. **Results** 15 cases (18.29%) had PTSD after cesarean section. The total PTSD score and all dimensions scores of the postpartum hemorrhage group and the PTSD positive group were higher

基金项目:2020年惠州市科技计划(医疗卫生)项目(2020Y018)

作者单位:广东省惠州市中心人民医院产科二区,广东,惠州 516000

*通信作者:邓祯珍, E-mail:362589521@qq.com

than those of the postpartum hemorrhage group and PTSD negative group, and the difference was statistically significant in the PTSD positive group ($t=11.210, 7.713, 9.526, 15.135, 6.727, 3.637, 3.539, 14.048, P<0.05$). Univariate analysis showed that trauma history, sleep quality, hospital support, neonatal complications, SAS and SDS scores were all influencing factors of PTSD in primiparas after cesarean section. ($\chi^2=16.452, 4.679, 9.856, 18.988, 4.874, 6.504, P<0.05$). Binary Logistic regression analysis showed that trauma history, sleep quality, hospital support, neonatal complications, SAS and SDS scores were all independent risk factors for PTSD after cesarean section in primiparas ($P<0.05$). **Conclusion** Trauma history, sleep quality, in-hospital medical support, neonatal complications, anxiety and depression are all independent risk factors for post-cesarean hemorrhage PTSD in primiparas. Clinically, relevant influencing factors should be combined to take early prevention strategies and measures, reduce the incidence of PTSD, and protect the health of mothers and babies.

[KEY WORDS] Primiparous mothers; Cesarean section; Postpartum hemorrhage; Posttraumatic stress disorder; Influencing factors

剖宫产后大出血指的是产妇进行剖宫产术分娩后 24 h 内出血量 $\geq 1\ 000$ mL, 是产妇剖宫产后一种严重的并发症^[1]。创伤后应激障碍(Posttraumatic stress disorder, PTSD)主要表现为精神上遭受过强烈的损伤或生活上经历了重大事件后而引发延迟性精神病理反应的一类应激障碍^[2]。PTSD 病程长且容易反复发作, 会给患者的生命质量造成严重影响, 王相茹等^[3]研究表示患者会因该疾病出现负面、过激行为, 给社会及家庭造成严重的负担。自我国开放生育政策后, 产妇的数量逐年增加, 从分娩应激创伤角度关注产妇的精神及心理健康已成为研究热门。既往有关 PTSD 的研究报道多在灾难、重大疾病等创伤事件中开展, 关于产妇产后 PTSD 的研究较少, 尤其是初产妇剖宫产后大出血的研究。本研究选择进行剖宫产后大出血的初产妇进行调查分析, 明确其发生 PTSD 的现状并分析其影响因素, 现报道具体如下。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 1 月至 2021 年 12 月广东省惠州市中心人民医院进行剖宫产后大出血的 82 例初产妇为研究对象。纳入标准: ①均为初产妇; ②年龄 18~45 岁; ③计划 45 d 内返回本院复诊; ④具有一定的阅读理解能力以及语言表达能力, 能独立填写调查问卷; ⑤初产妇知情同意并自愿参与本研究。排除标准: ①有精神病史者; ②有认知功能障碍者; ③合并有其他严重慢性疾病者。82 例产后大出血初产妇平均年龄为(31.26 \pm 8.16)岁, 平均分娩孕周为(38.65 \pm 1.15)周。另选取同期本院进行剖宫产后无出血的产妇 30 例为对照组。本研究已

通过院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 调查工具

①一般资料调查表。采用本院自制的调查表收集初产妇的年龄、文化程度、创伤史、睡眠质量、住院期间医护支持情况、家庭收入情况、产后有无负性情绪、新生儿有无并发症等, 其中将年龄以 35 岁进行分类^[4]。②创伤后应激障碍检查量表-平民版(Post-traumatic stress checklist-civilian version, PCL-C)^[5]: 该量表总共有 17 个条目, 包含有再体验症状群(5 个条目)、回避麻木症状群(7 个条目)和高警觉症状群 3 个症状群(5 个条目)。该量表的单个条目评分 ≥ 3 分判定该条目为阳性, 其中再体验症状群 ≥ 1 分为阳性症状群, 回避麻木症状群 ≥ 3 分为阳性症状群, 高警觉性症状群为 ≥ 2 分为阳性症状群。应用 Likert 5 级评分法, 该量表总分范围为 17~85 分, 分数越高表示 PTSD 发生风险越大, 以 PCL-C 总分 ≥ 38 分为 PTSD 症状阳性划界标准。③焦虑自评量表、抑郁自评量表: 采用焦虑自评量表(Self-Rating Anxiety Scale, SAS)^[6]对产妇的焦虑情况进行评估, < 50 分为正常, ≥ 50 分分数越高表示焦虑情况越严重; 抑郁自评量表(Self-rating depression scale, SDS)^[7], < 41 分为正常, ≥ 41 分表示抑郁情况越严重。

1.2.2 调查方法

在经医院伦理委员会审核批准后, 严格根据纳入标准及排除标准选择研究对象, 在进行调查前详细讲解本研究的目的并征得研究对象同意。采用问卷调查的方式收集初产妇的一般资料, 于现场发放及回收调查表, SAS、SDS 评分及 PTSD 评估于初产妇产后 45 d 内在本院复诊时进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 15.0 统计学软件进行数据分析; 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 行独立样本 *t* 检验; 计数资料以 $[n(\%)]$ 表示, 行卡方检验; PTSD 的影响因素应用单因素及二元 Logistic 回归分析; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 产后大出血与产后无大出血、PTSD 阳性组与 PTSD 阴性组 PTSD 得分比较

产后大出血组 PTSD 总分及各维度评分高于产后无大出血组, 阳性组的 PTSD 总分及各维度评分均高于 PTSD 阴性组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 产后大出血与产后无大出血、PTSD 阳性组与 PTSD 阴性组 PTSD 得分比较 ($\bar{x} \pm s$, 分)

Table 1 Comparison of PTSD scores between postpartum hemorrhage and non-postpartum hemorrhage, PTSD positive group and PTSD negative group ($\bar{x} \pm s$, scores)

| 组别 | n | PTSD 总分 | 再体验症状群 | 回避麻木症状群 | 高警觉症状群 |
|------------|----|------------|------------|------------|-------------|
| 产后大出血 | 82 | 38.29±6.81 | 11.25±2.15 | 13.75±2.11 | 14.05±2.54 |
| 产后无大出血 | 30 | 22.58±5.84 | 6.65±1.72 | 9.31±2.38 | 6.51±1.63 |
| <i>t</i> 值 | | 11.210 | 7.713 | 9.526 | 15.135 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| PTSD 阳性组 | 15 | 39.57±7.16 | 11.35±2.05 | 12.58±2.35 | 15.22±2.795 |
| PTSD 阴性组 | 67 | 26.88±6.48 | 9.28±1.98 | 10.37±2.15 | 7.54±1.67 |
| <i>t</i> 值 | | 6.727 | 3.637 | 3.539 | 14.048 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

2.2 初产妇剖宫产后大出血 PTSD 的单因素分析

单因素分析表明, 创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症、SAS 和 SDS 评分均是初产妇剖宫产后大出血发生 PTSD 的影响因素 ($\chi^2=16.452, 4.679, 9.856, 18.988, 4.874, 6.504, P < 0.05$)。见表 2。

2.3 初产妇剖宫产后大出血 PTSD 的二元 Logistic 回归分析

以初产妇剖宫产后发生 PTSD 与否为因变量, 以患者的一般资料为自变量行 Logistic 回归分析。变量赋值见表 3。二元 Logistic 回归分析表明创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症、SAS 和 SDS 评分均是初产妇剖宫产后大出血发生 PTSD 的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

产后 PTSD 主要是分娩创伤长时间且持续影响

表 2 初产妇剖宫产后大出血 PTSD 的单因素分析 $[n(\%)]$

Table 2 Univariate analysis of POST-Cesarean hemorrhage PTSD in primipara $[n(\%)]$

| 因素 | 分类 | PTSD 阳性 (n=15) | PTSD 阴性 (n=67) | χ^2 值 | <i>P</i> 值 |
|-----------|-------|-------------------|-------------------|------------|------------|
| 年龄(岁) | <35 | 5(33.33) | 32(47.76) | 1.030 | 0.310 |
| | ≥35 | 10(66.67) | 35(52.24) | | |
| 文化程度 | 高中及以下 | 4(26.67) | 16(23.88) | 0.011 | 0.916 |
| | 大专及以上 | 11(73.33) | 51(76.12) | | |
| 创伤史 | 有 | 13(86.67) | 20(29.85) | 16.452 | <0.01 |
| | 无 | 2(13.33) | 47(70.15) | | |
| 睡眠质量 | 良好 | 3(20.00) | 33(49.25) | 4.679 | 0.031 |
| | 差 | 12(80.00) | 34(50.75) | | |
| 妊娠单双胎 | 单胎 | 13(86.67) | 55(64.18) | 0.002 | 0.963 |
| | 双胎 | 2(13.33) | 12(17.91) | | |
| 新生儿性别是否吻合 | 是 | 10(66.67) | 43(64.18) | 0.033 | 0.855 |
| | 否 | 5(33.33) | 24(35.82) | | |
| 住院期医护支持 | 良好 | 4(26.67) | 20(29.85) | 9.856 | 0.002 |
| | 差 | 11(73.33) | 47(70.15) | | |
| 年收入(万元) | ≤5 | 5(33.33) | 26(38.81) | 0.156 | 0.693 |
| | >5 | 10(66.67) | 41(61.19) | | |
| 新生儿并发症 | 有 | 11(73.33) | 10(14.93) | 18.988 | <0.001 |
| | 无 | 4(26.67) | 57(85.07) | | |
| SAS(分) | <50 | 9(60.00) | 20(29.85) | 4.874 | 0.027 |
| | ≥50 | 6(40.00) | 47(70.15) | | |
| SDS(分) | <41 | 5(33.33) | 46(68.66) | 6.504 | 0.011 |
| | ≥41 | 10(66.67) | 21(31.34) | | |

表 3 变量赋值表

Table 3 Variable assignment table

| 变量 | 赋值说明 |
|---------|--------------|
| 创伤史 | 无=0, 有=1 |
| 睡眠质量 | 良好=0, 差=1 |
| 住院期医护支持 | 良好=0, 差=1 |
| 新生儿并发症 | 无=0, 有=1 |
| SAS | <50=0, ≥50=1 |
| SDS | <41=0, ≥41=1 |

表 4 初产妇剖宫产后大出血 PTSD 的二元 Logistic 回归分析

Table 4 Binary Logistic regression analysis of PTSD of primipara after cesarean section after massive hemorrhage

| 因素 | β 值 | <i>S.E</i> 值 | <i>Wald</i> 值 | <i>P</i> 值 | <i>OR</i> 值 | 95% <i>CI</i> |
|---------|-----------|--------------|---------------|------------|-------------|---------------|
| 创伤史 | 1.358 | 0.584 | 5.407 | 0.020 | 3.888 | 1.237~12.219 |
| 睡眠质量 | 0.491 | 0.113 | 13.749 | <0.001 | 1.634 | 1.218~2.038 |
| 住院期医护支持 | 0.568 | 0.125 | 20.648 | <0.001 | 0.493 | 0.248~0.978 |
| 新生儿并发症 | 1.065 | 0.357 | 8.899 | 0.003 | 2.901 | 1.441~5.842 |
| SAS | 1.667 | 0.649 | 6.598 | 0.010 | 5.296 | 1.484~18.897 |
| SDS | 1.895 | 0.774 | 5.994 | 0.014 | 6.653 | 1.459~30.326 |

产妇的心理健康结果。PTSD 主要表现为反复体验、回避麻木、警惕性加强, 严重影响产妇的身心健康^[8]。张洁琼等^[9]研究发现, 对产后发生 PTSD 的患者及时进行护理干预, 有利于产妇顺利度过围产期, 有效调节心理健康问题, 帮助其适应角色的转变。

本研究结果显示, 产后大出血组 PTSD 总分及各维度评分高于产后无大出血组, 提示产后大出血

会增加 PTSD 的发生,与国外研究一致^[10],由于大出血不仅给身体造成创伤,且在一定程度上增加了产妇的心理压力,使其产生恐惧、焦虑心理,从而增加 PTSD 的发生风险。产后的 PTSD 症状主要以警觉性增高为主,与陈彦芳等^[11]研究相似。与其他灾害性及严重疾病相比,产后 PTSD 的发生概率较低,有可能就灾难性、严重疾病如癌症等而言,分娩新生命孕育着新的希望,在一定程度上是正面应激。亦有可能是由于应激使产妇机体内的内分泌发生改变所致^[12]。既往国内研究报道^[13]产后发生 PTSD 的概率为 16.2%,而本文产后 PTSD 的阳性率为 18.29%,可能由于本研究开展的是剖宫产后大出血的研究,因此本次产后 PTSD 发生的概率会增高。

本研究结果显示,创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症、焦虑和抑郁均是初产妇剖宫产后大出血发生 PTSD 的独立危险因素。黄雯婧等^[14]研究表明,在产妇围生期创伤史对 PTSD 有较好的预测能力。而焦虑、抑郁等负面情绪也会增加 PTSD 的发生,这是由于产妇在围生期情绪波动较大,而既往的创伤或负面情绪再加上各种妊娠期反应更易导致其产生敏感脆弱情绪,同时也担心婴儿的成长等。因此,应及时予以心理干预,帮助其建立积极正确的心理状态。睡眠质量也是影响 PTSD 的重要因素,剖宫产后大出血可能会加重产妇的不适感,且是初次分娩,而围生期的睡眠质量同时也影响着婴儿的身体及智力发育,故围生期间良好的睡眠质量有利于缓解产妇的疲惫心理及精神压力^[15]。对于产妇而言,新生儿的健康状态是 PTSD 的应激源,会提高产后 PTSD 的发生风险^[16]。此外,住院期间医护支持是初产妇产后 PTSD 的影响因素,影响着初产妇精神及心理健康,提示医护人员的人文关怀可减少 PTSD 的发生。因初产妇没有分娩经验,而进行手术后出现大出血,严重影响其身心健康。因此,护理人员要加强对初产妇的关注,予以初产妇足够的支持,尽早提供针对性的心理干预,并强调家属予以家庭支持,从而尽快缓解不良情绪,降低产后 PTSD 的发生^[17]。

综上所述,初产妇剖宫产后大出血发生 PTSD 较高,而创伤史、睡眠质量、住院期医护支持、新生儿并发症、焦虑和抑郁均是初产妇剖宫产后大出血发生 PTSD 的独立危险因素,医护人员可结合相关危险因素及时采取干预措施,降低产后 PTSD 的发生。本研究样本量较少,有待展开大样本量的进一步研究。

参考文献

- [1] Evensen A, Anderson JM, Fontaine P. Postpartum Hemorrhage: Prevention and Treatment [J]. *Am Fam Physician*, 2017, 95(7):442-449.
- [2] Williamson JB, Jaffee MS, Jorge RE. Posttraumatic Stress Disorder and Anxiety - Related Conditions [J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2021, 27(6):1738-1763.
- [3] 王相茹,王梅芳,李小妹. 产妇神经质人格与产后创伤后应激障碍的相关性研究[J]. *解放军护理杂志*, 2020, 37(1):51-55.
- [4] 曾金妹,陈日玲,何洁云,等. 高龄初产妇妊娠并发症和不良妊娠结局分析[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2021, 41(11):1485-1490.
- [5] Hatch R, Young D, Barber V, et al. Anxiety, Depression and Post Traumatic Stress Disorder after critical illness: a UK-wide prospective cohort study[J]. *Crit Care*, 2018, 22(1):310.
- [6] 杜洁,李荣瑶,孙立娟. 普通高校毕业班学生的焦虑状况及其与自我和谐的关系研究[J]. *教育理论与实践*, 2020, 40(30):47-49.
- [7] 王青霞,曹晓霞,吴秀颖,等. COVID-19 流行期间医院急诊患者焦虑与抑郁现状调查[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(9):1369-1372.
- [8] Canfield D, Silver RM. Detection and Prevention of Postpartum Posttraumatic Stress Disorder: A Call to Action [J]. *Obstet Gynecol*, 2020, 136(5):1030-1035.
- [9] 张洁琼,余晓燕,孙世文,等. 胎儿异常孕产妇网络同伴支持系统的构建及应用效果评价[J]. *中华护理杂志*, 2018, 53(7):795-800.
- [10] van Steijn ME, Scheepstra KWF, Zaat TR, et al. Severe postpartum hemorrhage increases risk of posttraumatic stress disorder: a prospective cohort study [J]. *J Psychosom Obstet Gynaecol*, 2021, 42(4):335-345.
- [11] 陈彦芳,谢日华,李萌,等. 产后创伤后应激障碍危险因素的调查分析[J]. *护理学杂志*, 2021, 36(10):14-16+29.
- [12] 王梅芳,王相茹,李小妹. 产妇创伤后应激障碍现状与心理弹性关系的研究[J]. *解放军护理杂志*, 2018, 35(16):1-7.
- [13] 甘泉,周冬,程若沁. 产后创伤后应激障碍的相关因素分析[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28(11):1025-1029.
- [14] 黄雯婧,陆巍,郑雅宁. 高危妊娠女性创伤后应激障碍现状及影响因素[J]. *护理研究*, 2019, 33(22):3823-3829.
- [15] 许贵如,邱萍萍,王小燕,等. 产妇 PTSD 的发生率及影响因素研究[J]. *福建医科大学学报(社会科学版)*, 2021, 22(1):14-19.
- [16] Sperlich M, Seng JS, Li Y, et al. Integrating Trauma-Informed Care Into Maternity Care Practice: Conceptual and Practical Issues [J]. *J Midwifery Womens Health*, 2017, 62(6):661-672.
- [17] Lopez U, Meyer M, Loures V, et al. Post-traumatic stress disorder in parturients delivering by caesarean section and the implication of anaesthesia: a prospective cohort study [J]. *Health Qual Life Outcomes*, 2017, 15(1):118.

钠-葡萄糖协同转运蛋白-2 抑制剂联合胰岛素泵对 T2DM 患者 HOMA-IR、ET 及 FMD 水平的影响

郝士丹^{1*} 许颖² 郝士玉³ 张景义²

[摘要] **目的** 分析钠-葡萄糖协同转运蛋白-2 抑制剂(SGLT-2)联合胰岛素泵对 2 型糖尿病(T2DM)患者稳态模拟胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、内皮素(ET)及内皮舒张功能(FMD)水平的影响。**方法** 选取唐山弘慈医院 2019 年 8 月至 2021 年 8 月收治的 T2DM 患者 93 例,按照治疗方案不同(遵医嘱)分为对照组(胰岛素泵)45 例和观察组(SGLT-2 抑制剂+胰岛素泵)48 例。对比两组治疗前后空腹血糖(FBG)、餐后 2 小时血糖(2hPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹胰岛素(FIns)、HOMA-IR、胰岛 β 细胞功能指数(HOMA- β)、ET、FMD 水平及不良反应。**结果** 两组治疗后 HbA1c、FBG、2hPG 水平均下降,且观察组治疗后 HbA1c、FBG、2hPG 水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组治疗后 FIns、HOMA-IR 水平低于对照组,HOMA- β 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组治疗后 ET 水平低于对照组,FMD 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组不良反应发生率 13.32%,观察组不良反应发生率 4.16%,两组不良反应比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** T2DM 患者应用 SGLT-2 抑制剂联合胰岛素泵治疗可有效控制血糖水平,进一步改善 HOMA-IR、ET 及 FMD 水平。

[关键词] 钠-葡萄糖协同转运蛋白-2 抑制剂;胰岛素泵;2 型糖尿病;HOMA-IR;ET;FMD

Effects of sodium - glucose cotransporter - 2 inhibitor combined with insulin pump on HOMA-IR, ET and FMD levels in patients with T2DM

HAO Shidan^{1*}, XU Ying², HAO Shiyu³, ZHANG Jingyi²

(1. Department of Endocrinology, Tangshan Hongci Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000; 2. Department of Endocrinology, Kailuan General Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000; 3. Department of Cardiology, Tangshan Hongci Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor (SGLT-2) combined with insulin pump on steady state simulated insulin resistance index (HOMA-IR), endothelin (ET) and endothelial diastolic function (FMD) levels in patients with type 2 diabetes (T2DM) mellitus. **Methods** 93 patients with T2DM admitted to Tangshan Hongci hospital from August 2019 to August 2021 were selected and divided into the control group (insulin pump) 45 cases and the observation group (SGLT-2 inhibitor + insulin pump) 48 cases according to different treatment schemes (according to medical advice). Fasting blood glucose (FBG), blood glucose 2 hours after meal (2hPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting insulin (FIns), HOMA-IR, Islet of Langerhans β Cell function index (HOMA- β), ET, FMD levels and adverse reactions before and after treatment were compared between the two groups. **Results** The levels of HbA1c, FBG and 2hPG in the two groups decreased after treatment, and the levels of HbA1c, FBG and 2hPG in the observation group were significantly lower than those in the control group after treatment ($P<0.05$). After treatment, the levels of FIns and HOMA-IR in the observation group were lower than those in the control group, and the level of HOMA- β was higher than that in the control group ($P<0.05$). After treatment,

基金项目:河北省卫生健康委医学科学研究课题计划项目(20210902)

作者单位:1.唐山弘慈医院内分泌科,河北,唐山 063000

2.开滦总医院内分泌科,河北,唐山 063000

3.唐山弘慈医院心内科,河北,唐山 063000

*通信作者:郝士丹, E-mail:hsdshanghai@126.com

the level of ET in the observation group was lower than that in the control group, and the level of FMD was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The incidence of adverse reactions was 13.32% in the control group and 4.16% in the observation group ($P > 0.05$). **Conclusion** SGLT-2 inhibitor combined with insulin pump therapy can effectively control blood glucose level in T2DM patients, and further improve the levels of HOMA-IR, ET and FMD.

[KEY WORDS] Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor; Insulin pump; type 2 diabetes; HOMA-IR; ET; FMD

2型糖尿病(Type 2 diabetes, T2DM)是一种慢性病,其中胰岛素抵抗全程贯穿于T2DM发生过程中,胰岛素 β 细胞分泌不足是该病发生的前提条件,胰岛素 β 细胞分泌不足对血糖代谢混乱、严重程度具有重要影响^[1]。胰岛素泵是一个胰岛素注射装置,其用途在于模拟胰腺分泌功能,按照人体需要的剂量将胰岛素持续地推注到使用者的皮下,保持全天血糖稳定,以达到控制糖尿病的目的^[2]。血管病变是糖尿病常见并发症之一,早期表现为内皮细胞损伤,内皮细胞损伤会导致动脉粥样硬化,血管逐渐发生狭窄、闭塞,诱发心肌梗死、脑梗死等,外周循环受累时,血管闭塞会造成颈动脉和双下肢动脉粥样硬化,导致发生糖尿病风险增高,故控制血糖同时也需保护血管内皮功能^[3]。钠-葡萄糖协同转运蛋白-2抑制剂(Sodium glucose cotransporter-2 inhibitor, SGLT-2)是一种新型降糖药物,其作用于肾脏,抑制肾脏葡萄糖重新吸收进入血液,从而起到降低血糖、增加尿糖排出的作用^[4]。本文旨在分析SGLT-2抑制剂联合胰岛素泵对T2DM患者稳态模拟胰岛素抵抗指数(Steady state simulated insulin resistance index, HOMA-IR)、内皮素(Endothelin, ET)及内皮舒张功能(Endothelial diastolic function, FMD)水平的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取唐山弘慈医院2019年8月至2021年月8月收治的T2DM患者93例,遵医嘱按照治疗方案不同分为对照组(胰岛素泵)45例和观察组(SGLT-2抑制剂+胰岛素泵)48例。其中对照组男24例,女21例,平均年龄(54.29 ± 10.18)岁,空腹血糖(Fasting blood glucose, FBG)平均值(10.26 ± 1.74) mmol/L,平均体质指数(Average body mass index, BMI) (25.17 ± 6.92) kg/m²;观察组男26例,女22例,平均年龄(55.13 ± 10.24)岁,空腹血糖平均值(10.88 ± 1.77) mmol/L,平均BMI (24.68 ± 6.85)

kg/m²。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

纳入标准:①符合《中国2型糖尿病防治指南(2013版)》^[5]中T2DM分型及诊断标准;②既往无胰岛素治疗史;③FBG >7.0 mmol/L,餐后2小时血糖(Blood glucose 2 hours after meal, 2hPG) >11.1 mmol/L,糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c) $<9.0\%$ ^[6];④临床资料完整。排除标准:①免疫系统及凝血功能障碍者;②1型糖尿病或其他类型糖尿病患者;③对本研究药物有禁忌症者。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 方法

对照组(胰岛素泵):首先采用动态血糖检测仪监测患者3日内血糖水平,随后应用胰岛素泵将门冬胰岛素-诺和锐皮下注射,治疗时间共持续2周,且确保餐后1h血糖不超过8.0 mmol/L,空腹血糖及睡前水平在3.6~7.5 mmol/L水平内。若患者出现乏力、饥饿等低血糖症状,需立即监测血糖并给出相应措施,根据监测血糖变化调整胰岛素泵剂量。

观察组(SGLT-2抑制剂+胰岛素泵):胰岛素泵方法措施同对照组一致,同时采用SGLT-2抑制剂,选取达格列净片(生产厂家:AstraZeneca AB,国药准字J20170039)治疗,每日晨服5 mg,持续治疗12周。

1.3 观察指标

1.3.1 两组血糖指标对比

均于治疗前后清晨空腹状态采集动脉血6 mL,及时送检,血液标本均行离心,转速3 000 r/min, 10 min,离心半径10 cm,取血清,应用全自动HbA1c分析仪检查HbA1c水平,应用血糖分析仪检查FBG、2hPBC水平。

1.3.2 两组治疗前后胰岛 β 细胞功能对比

分别于治疗前后应用生化分析仪检验空腹胰岛素(Fasting insulin, FIns)水平,计算HOMA-IR及胰岛 β 细胞功能指数(Islet of Langerhans β Cell function index, HOMA- β),计算公式:HOMA-IR= $FIns \times FBG / 22.5$, HOMA- $\beta = 20 \times FIns / (FBG - 3.5)$ ^[7]。

1.3.3 两组 ET 及 FMD 水平对比

分别于治疗前后抽取空腹状态外周静脉血 3 mL,行离心(3 000 r/min, 10 min,离心半径 10 cm),取上清液,放置-70℃保存,采用酶联免疫吸附法检测 ET 水平;采用 UNEXEF38G 声波图像(由 Unex 公司提供)诊断装置监测两组患者治疗前后血流介导的 FMD 水平。

1.3.4 对比两组不良反应

主要包括肾功能下降(抽血检查肾功能指标,主要包括血肌酐、尿素氮、胱抑素 c、β₂-微球蛋白和尿酸五项指标,水平异常说明肾功能减退。)、消化不良(分为功能性消化不良和器质性消化不良,前者即腹部 B 超检查,未发现疑难疾病,行胃肠镜检查基本在正常范围之内,单纯有早饱、腹胀等症状;后者通过胃镜、肠镜、CT、腹部超声等检查确定患者存在胃炎、胃溃疡等器质性病变。)、恶心呕吐等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,并采用 χ^2 检验;均以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血糖指标比较

两组治疗后 HbA_{1c}、FBG、2hPBC 水平均下降,且观察组治疗后 HbA_{1c}、FBG、2hPBC 水平均显著低于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 两组胰岛 β 细胞功能比较

观察组治疗后 FIns、HOMA-IR 水平低于对照组,HOMA-β 水平高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 1 两组治疗前后血糖指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood glucose indexes before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | HbA _{1c} (%) | | FBG(mmol/L) | | 2hPBC(mmol/L) | |
|------------|----------|-----------------------|------------------------|-------------|------------------------|---------------|------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 对照组 | 45 | 8.73±3.41 | 7.02±2.57 ^a | 8.99±3.52 | 7.83±2.65 ^a | 12.49±5.06 | 9.87±4.31 ^a |
| 观察组 | 48 | 8.61±3.38 | 6.03±1.61 ^a | 8.73±3.43 | 6.76±1.43 ^a | 12.88±5.11 | 8.37±2.08 ^a |
| <i>t</i> 值 | | 0.170 | 2.241 | 0.360 | 2.444 | 0.369 | 2.158 |
| <i>P</i> 值 | | 0.865 | 0.027 | 0.719 | 0.016 | 0.712 | 0.033 |

注:两组治疗前后间比较,^a*P*<0.05。

表 2 两组治疗前后胰岛 β 细胞功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 islets before and after treatment in both groups β Cell function comparison ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | <i>n</i> | FIns(U/L) | | HOMA-IR | | HOMA-β | |
|------------|----------|-----------|-------------------------|-----------|------------------------|-------------|--------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 对照组 | 45 | 9.72±3.46 | 11.86±2.37 ^a | 3.52±1.66 | 2.69±1.13 ^a | 52.69±11.08 | 63.72±12.93 ^a |
| 观察组 | 48 | 9.53±3.41 | 10.46±1.05 ^a | 3.43±1.62 | 2.05±0.82 ^a | 53.14±11.26 | 70.38±13.59 ^a |
| <i>t</i> 值 | | 0.266 | 3.722 | 0.264 | 3.140 | 0.194 | 2.417 |
| <i>P</i> 值 | | 0.790 | <0.001 | 0.791 | 0.002 | 0.846 | 0.017 |

注:两组治疗前后间比较,^a*P*<0.05。

2.3 两组 ET、FMD 水平比较

观察组治疗后 ET 水平低于对照组,FMD 水平显著高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

2.4 两组不良反应比较

两组不良反应比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 4。

3 讨论

目前针对糖尿病临床部分医生倾向使用胰岛素泵,因为其可缓慢释放胰岛素,工作原理类似于正常胰腺,同时胰岛素泵另一项优势为无需抽取

表 3 两组治疗前后 ET、FMD 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

| 组别 | <i>n</i> | ET(μg/L) | | FMD(%) | |
|------------|----------|-----------|------------------------|-----------|------------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 对照组 | 45 | 2.42±0.84 | 1.99±0.59 ^a | 4.56±0.89 | 5.16±1.54 ^a |
| 观察组 | 48 | 2.36±0.81 | 1.61±0.35 ^a | 4.62±0.91 | 6.02±2.53 ^a |
| <i>t</i> 值 | | 0.350 | 3.805 | 0.321 | 2.028 |
| <i>P</i> 值 | | 0.726 | <0.001 | 0.748 | 0.045 |

注:两组治疗前后间比较,^a*P*<0.05。

剂量胰岛素至注射器中^[8-9]。目前针对胰岛素泵在血糖控制方面是否优于每日注射一次或多次胰岛

表4 两组不良反应发生率比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of adverse reaction rates between the two groups [n(%)]

| 组别 | n | 肾功能下降 | 消化不良 | 恶心呕吐 | 总发生率 |
|------------|----|---------|---------|---------|----------|
| 对照组 | 45 | 1(2.22) | 2(4.44) | 3(6.66) | 6(13.32) |
| 观察组 | 48 | 0(0.00) | 1(2.08) | 1(2.08) | 2(4.16) |
| χ^2 值 | | | | | 2.482 |
| P值 | | | | | 0.115 |

素,相关报道研究结果未得到统一^[10]。应用胰岛素泵的治疗目的在于控糖,其不能从根本上控制病情。有研究提出针对 T2DM 治疗单一应用或联合应用 SGLT-2 抑制剂可控制血糖效果^[11]。

SGLT-2 抑制剂是一类非胰岛素依赖性的新型降血糖药物,其通过作用于体内 SGLT-2 转运蛋白,防止已滤过的葡萄糖在肾脏内重吸收,从而有效控制血糖水平。有文献报道 SGLT-2 抑制剂与其他传统降糖药物相比,后者需将糖留置体内,而前者直接通过肾脏将糖排出体外^[12]。国外多项研究表明,SGLT-2 抑制剂可使 T2DM 患者 HbA1c、FPG 水平出现不同程度的降低^[13]。本次研究结果间接证实胰岛素泵在血糖控制方面应用效果良好,且其与 SGLT-2 抑制剂联用治疗 T2DM 可获取更好疗效。推测原因可能是 SGLT-2 利用钠离子的电化学梯度势能逆浓度梯度转运葡萄糖重新进入血液,抑制肾脏对葡萄糖的重吸收,使过量的葡萄糖从尿液中排出,直接降低血糖。T2DM 患者发病机制可能也与胰岛 β 细胞缺陷、分泌胰岛素迟钝有关,第一高峰消失可导致胰岛素分泌不足,从而引起高血糖,若长期持续高血糖可刺激 β 细胞分泌增多;同时胰岛素的储备功能耗损,也可造成胰岛素分泌相对不足,最终 β 细胞功能衰竭而导致发病。近年来越来越多的研究表明 SGLT-2 抑制剂不通过胰岛素发挥降糖作用,其可降低胰岛 β 细胞的负荷,且机体血糖降低后,可对应缓解胰岛 β 细胞的糖毒性,由此可见 SGLT-2 抑制剂具有保护胰岛 β 细胞的作用^[14]。本次研究结果说明 SGLT-2 抑制剂联合胰岛素泵可缓解 T2DM 患者病情发展,保护胰岛 β 细胞功能。针对 T2DM 患者控制并发症也是治疗重点,血管内皮损伤是引发 T2DM 患者并发症的原因之一。血管内皮损伤可能与炎症因子、血管活性激素、生长因子、血管内皮生长因子等失衡有一定联系。FMD 表达水平的高低可反映内皮细胞功能、结构是否完整,其主要是由血管内皮细胞受到生理、药物打击,大量释

放 NO 所引发^[15]。有研究认为 FMD 表达水平与心血管疾病、血管炎症及预后存在具有密切联系^[16]。ET 是一种多功能生理调节激素,具有促进血栓形成、刺激心钠素释放、收缩血管及抑制肾素释放等作用。ET 表达水平增高可能提示机体血氧缺失,或遭受肾上腺激素刺激所引起^[17]。本次研究结果说明 SGLT-2 抑制剂联合胰岛素泵可缓解血管内皮功能,降低心脑血管损伤程度,利于改善预后,原因可能是 SGLT-2 抑制剂可降低心脏前后负荷、氧耗,且降糖效果良好,可减少血糖对血管内皮造成有害刺激。同时本次研究显示两组不良反应比较无差异统计学意义,说明 SGLT-2 联合胰岛素泵不良反应低,具有一定安全性。

综上,T2DM 患者应用 SGLT-2 抑制剂联合胰岛素泵治疗可有效控制血糖水平,进一步改善 HOMA-IR、ET 及 FMD 水平。

参考文献

- [1] 史晓荻,魏志杰. SGLT-2 抑制剂联合常规降糖治疗对 2 型糖尿病患者血管内皮功能的影响[J]. 安徽医学, 2020, 41(1):42-46.
- [2] 王宏涛,陈培红,丁花花. 沙格列汀联合胰岛素泵短期强化降血糖治疗对 2 型糖尿病患者 β 细胞分泌功能及胰岛素抵抗的影响[J]. 药物评价研究, 2019, 42(11):2226-2229.
- [3] 武金文,刘欣,游成姝. 益气养阴活血中药联合胰岛素泵治疗 2 型糖尿病的效果及其对患者胰岛功能的影响研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(2):245-248.
- [4] 戴强,崔艳,沈小璇,等. 维拉帕米联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病合并高血压的效果及对患者 HOMA- β 、ET-1 的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(10):1058-1061.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2014(7):447-498.
- [6] 刘刚,赵玉,李芳菲. 胰岛素泵强化治疗 2 型糖尿病足溃疡愈合的临床效果及对血清同型半胱氨酸和基质金属蛋白酶水平的影响[J]. 中国医师杂志, 2020, 22(5):752-755.
- [7] 王宏涛,陈培红,丁花花. 沙格列汀联合胰岛素泵短期强化降血糖治疗对 2 型糖尿病患者 β 细胞分泌功能及胰岛素抵抗的影响[J]. 药物评价研究, 2019, 42(11):2226-2229.
- [8] 湛文世,王龙,凌小元,等. 胰岛素泵强化治疗对初诊 2 型糖尿病患者糖脂代谢及胰岛 β 细胞功能的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2021, 49(4):427-430.
- [9] 张喜婷,刘莉娟,曾维伟,等. 短期胰岛素泵强化治疗联合自我血糖监测对新诊断 2 型糖尿病患者血糖控制的评价[J]. 中国糖尿病杂志, 2018, 26(12):998-1003.
- [10] 张展,杨凯,姜德龙,等. 应用改良 Homa 公式评价益气养阴法联合短期胰岛素泵强化的初诊 2 型糖尿病气阴两虚型患者的胰岛功能[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(1):77-80.
- [11] 李鑫. 短期胰岛素泵治疗初诊 2 型糖尿病患者的疗效观察[J]. 医学临床研究, 2018, 35(1):136-137.

CT、NG与HPV感染的关系及与宫颈病变发生的相关性

许艳茹* 林景涛 周正维 宣春 邱彩玲

【摘要】目的 分析沙眼衣原体(CT)、淋病奈瑟菌(NG)和人乳头瘤病毒(HPV)感染的关系及与宫颈病变发生的相关性。方法 选取2018年2月至2021年2月于东莞市大朗医院进行宫颈病变治疗的205例患者的病变宫颈组织作为研究组,另选取距离病变旁5 cm以上的正常组织205份为对照组,观察两组CT、NG与HPV的表达情况以及研究组不同分期患者中CT、NG与HPV的表达情况,分析CT、NG与HPV在宫颈病变中的病理特征关系以及CT、NG及HPV与宫颈病变相关性。结果 研究组CT、NG与HPV阳性表达均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);CT、NG与HPV阳性率:CIN3分期>CIN2分期>CIN1分期,差异均有统计学意义($P<0.05$)。文化程度高中以下、首次性生活年龄 ≤ 20 岁、流产次数 >3 次患者CT、NG、HPV的阳性表达高于文化程度高中以上、首次性生活年龄 >20 岁、流产次数 ≤ 3 者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson相关分析得知,研究组CT、NG及HPV与宫颈病变呈正相关($r_{CT}=0.597, r_{NG}=0.541, r_{HPV}=0.634, P$ 均 <0.05)。结论 CT、NG协助HPV检测对于宫颈病变严重程度具有较高的诊断价值,可作为病情进展过程中的参考指标。

【关键词】 沙眼衣原体;淋病奈瑟菌;人乳头瘤病毒;宫颈病变

The relationship between CT, NG and HPV infection and its correlation with cervical lesions

XU Yanru*, LIN Jingtao, ZHOU Zhengwei, XUAN Chun, QIU Cailing

(Department of Laboratory, Dalang Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523770)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the relationship between Chlamydia trachomatis (CT), Neisseria gonorrhoeae (NG) and human papilloma virus (HPV) infection and its correlation with cervical lesions. Methods From February 2018 to February 2021, the diseased cervical tissues of 205 patients who were treated for cervical lesions in Dongguan Dalang Hospital were selected as the study group, and 205 normal tissues more than 5cm from the side of the lesions were selected as the control group, To observe the expression of CT, NG and HPV in the two groups, as well as the expression of CT, NG and HPV in patients at different stages of the study group, and the relationship between CT, NG and HPV in the pathological characteristics of cervical lesions, and analyze the correlation between CT, NG and HPV and cervical lesions. Results The positive expressions of CT, NG and HPV in the tissues of the study group were higher than those of the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The positive rate of CT, NG and HPV: CIN3 stage >CIN2 stage >CIN1 stage, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expressions of CT, NG and HPV in the tissues of the study group were higher than those of the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that CT, NG and HPV in the study group were positively correlated with cervical lesions ($r_{CT}=0.597, r_{NG}=0.541, r_{HPV}=0.634, all P<0.05$). Conclusion Assisted by CT and NG, HPV has high detection value for the severity of cervical lesions, and can be used as a reference index in the progress of disease.

【KEY WORDS】 Chlamydia trachomatis; Neisseria gonorrhoeae; Human papillomavirus; Cervical lesions

基金项目:东莞市社会科技发展重点项目(202050715040224)

作者单位:东莞市大朗医院检验科,广东,东莞 523770

*通信作者:许艳茹, E-mail:1223528680@qq.com

宫颈癌是临床较为常见的恶性肿瘤,其病因较为复杂,大都与生育次数过多,性生活过早以及吸烟等因素具有相关联系^[1]。据相关数据统计,全球每年宫颈癌的发病人数近53万,除此之外,宫颈癌发病率逐渐年轻化,其中人乳头瘤病毒(Human papillomavirus, HPV)持续感染为宫颈出现癌变的高危因素^[2-4]。近年来随着当代女性对自身健康的关注以及对宫颈疾病认识的提高,对较为常见的病原体如沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)、淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, NG)和人乳头瘤病毒(Human papilloma virus, HPV)均有不同程度的相关了解。其中CT可引发非淋菌性尿道炎和阴道炎,而NG所致炎症主要为淋球菌性尿道炎及阴道炎,此外,HPV感染是宫颈癌变的病因之一,严重可导致会阴部及肛门等相关部位的癌变^[5]。据相关研究显示,细菌、衣原体、支原体等各种细菌感染之间均存在相关联系,当出现一种病原体时,可成为另一种病原菌体感染的危险因素^[6]。本研究根据宫颈病变中的CT、NG协助HPV的感染情况进行相关性研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年2月至2021年2月于东莞市大朗医院进行宫颈病变治疗的205例患者的病变宫颈组织作为研究组。平均年龄为(34.35±5.24)岁;平均体重为(52.17±8.47)kg;首次月经年龄11~17岁;平均首次月经年龄为(14.76±3.75)岁,病理活检:CIN1 84例,CIN2 79例,CIN3 42例。另选取距离病变旁5 cm以上的正常组织205份为对照组,纳入标准:①宫颈癌及宫颈上皮内瘤变患者符合子宫颈癌筛查异常妇女处理的共识指南(2006版)标准者^[7];②无子宫切除史、宫颈手术史以及HIV治疗史;③临床资料完整者;④妊娠期妇女。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②凝血功能异常者;③肝肾功能异常者;④存在严重精神疾病者。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,受试者已签署知情同意书。

1.2 方法

在检测前,告知患者注意在检查前24 h无性行为、检查前72 h内无阴道内检、阴道冲洗及阴道内治疗药物。进行病理检查时,在妇科医生指导下进行阴道检查,在进行病原标本收集时,由医生以窥阴镜或阴道张开器暴露宫颈,将宫颈刷置于宫颈口,轻轻搓动宫颈刷使其顺时针旋转数圈,取出宫颈刷,将其放入标有患者编号的取样管中,取样管内已加入专用细胞保存液,拧紧瓶盖,对可疑部位进行多点取材,组织标本用甲醛固定后及时送检。方法及标准^[8-9]: HPV分型检测:采用PCR+导流杂交法检测HPV,试剂使用潮州凯普生物化学有限公司产品,检测37种HPV型别(含13种高危型、5种中危型、19种低危型)。NG检测:NG宫颈分泌物采用PCR-荧光探针法。CT检测:CT宫颈分泌物采用PCR-荧光探针法。NG、CT试剂使用广州达安基因股份有限公司产品。检测方法严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学方法

本研究数据均采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,行 t 检验;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验,相关性采用Pearson相关分析;均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组CT、NG与HPV表达比较

研究组组织中CT、NG与HPV阳性表达均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 宫颈病变CIN1、CIN2、CIN3分期患者CT、NG与HPV的表达

CT、NG与HPV阳性率:CIN3分期>CIN2分期>CIN1分期,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 两组CT、NG与HPV表达 [$n(\%)$]

Table 1 Expression of CT, NG and HPV between the two groups [$n(\%)$]

| 组别 | n | CT | | NG | | HPV | |
|------------|-----|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| | | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 |
| 对照组 | 203 | 21(10.34) | 182(89.66) | 24(11.82) | 179(88.18) | 14(6.90) | 189(93.10) |
| 研究组 | 205 | 85(41.46) | 120(58.54) | 79(38.54) | 126(61.46) | 58(28.29) | 147(71.70) |
| χ^2 值 | | 51.361 | | 36.570 | | 32.130 | |
| P 值 | | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | |

表2 宫颈病变CIN1、CIN2、CIN3分期患者CT、NG与HPV的表达 [n(%)]

Table 2 Expression of CT, NG and HPV in patients with CIN1, CIN2, and CIN3 stages of cervical lesions [n(%)]

| 组别 | n | CT | | NG | | HPV | |
|------------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 |
| CIN1 | 84 | 18(21.43) | 66(78.57) | 25(31.65) | 59(46.83) | 25(29.41) | 59(49.17) |
| CIN2 | 79 | 24(30.38) | 55(69.62) | 24(30.38) | 55(43.65) | 29(36.71) | 50(63.29) |
| CIN3 | 42 | 29(69.05) | 13(30.95) | 30(37.97) | 12(9.52) | 35(83.33) | 7(16.67) |
| χ^2 值 | | 29.073 | | 24.134 | | 35.063 | |
| P值 | | 0.000 | | 0.000 | | 0.000 | |

2.3 CT、NG与HPV在宫颈病变中的病理特征关系

文化程度高中以下、首次性生活年龄 ≤ 20 岁、

流产次数 >3 次患者CT、NG、HPV的阳性表达高于文化程度高中以上、首次性生活年龄 >20 岁、流产次数 ≤ 3 者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 CT、NG与HPV与宫颈病变的病理特征关系 [n(%)]

Table 3 The relationship between CT, NG, HPV and pathological features of cervical lesions [n(%)]

| 病理特征 | CT 阳性 (85) | CT 阴性 (120) | χ^2 值 | P值 | NG 阳性 (79) | NG 阴性 (126) | χ^2 值 | P值 | HPV 阳性 (58) | HPV 阴性 (147) | χ^2 值 | P值 |
|----------------------|------------|-------------|------------|----------|------------|-------------|------------|----------|-------------|--------------|------------|----------|
| 文化程度 高中以下 | 79(92.94) | 31(25.33) | 90.112 | <0.001 | 65(82.28) | 45(35.71) | 42.339 | <0.001 | 41(70.69) | 58(39.46) | 16.248 | <0.001 |
| 高中以上 | 6(7.06) | 89(74.17) | | | 14(17.72) | 81(64.29) | | | 17(29.31) | 89(60.54) | | |
| 病理类型 鳞癌 | 53(62.35) | 59(49.17) | 3.491 | 0.062 | 49(62.03) | 71(56.35) | 0.645 | 0.422 | 40(68.97) | 84(57.14) | 2.432 | 0.119 |
| 腺癌及其他 | 32(37.65) | 61(50.83) | | | 30(37.97) | 55(43.65) | | | 18(31.03) | 63(42.86) | | |
| 首次性 生活年龄 ≤ 20 岁 | 58(68.24) | 47(39.17) | 16.827 | <0.001 | 56(70.89) | 49(38.89) | 19.897 | <0.001 | 43(74.14) | 63(42.86) | 16.297 | <0.001 |
| >20 岁 | 27(31.76) | 73(60.83) | | | 23(29.11) | 77(61.11) | | | 15(25.86) | 84(57.14) | | |
| 流产次数 >3 | 62(72.94) | 45(37.5) | 25.047 | 0.001 | 57(72.15) | 52(41.27) | 18.598 | <0.001 | 42(72.41) | 65(44.22) | 13.252 | 0.000 |
| ≤ 3 | 23(27.06) | 75(62.5) | | | 22(27.85) | 74(58.73) | | | 16(27.59) | 82(55.78) | | |
| 初次来月 经年龄 ≤ 14 岁 | 42(49.41) | 64(53.33) | 0.306 | 0.580 | 45(56.96) | 65(51.59) | 0.723 | 0.395 | 31(53.45) | 76(51.70) | 0.051 | 0.821 |
| >14 岁 | 43(50.59) | 56(46.67) | | | 34(43.04) | 61(48.41) | | | 27(46.55) | 71(48.30) | | |

2.4 研究组CT、NG及HPV与宫颈病变相关性

Pearson 相关分析得知,研究组CT、NG及HPV与宫颈病变呈正相关($r_{CT}=0.597$, $r_{NG}=0.541$, $r_{HPV}=0.634$, P 均 <0.05)。

3 讨论

子宫颈病变可分为子宫颈上皮瘤变、子宫颈瘤等,其中宫颈的上皮内瘤变主要分为三级,包括CIN 1、CIN 2和CIN 3,这三级病变是逐渐演变的过程,统称为癌前病变,当女性出现宫颈的上皮内瘤变,就可能存在癌变的风险。宫颈病变是宫颈癌的早期阶段,若能尽早筛查出宫颈病变,对于预防宫颈癌、改善预后具有积极作用。据相关资料显示,肿瘤的发生与机体免疫调节失衡关系密切,失衡的免疫系统为肿瘤发生的根源所在,在机体免疫力较低时,高危HPV感染能够引起宫颈异常增殖和恶变^[10]。宫颈病变发展的重要因素不仅包括病毒HPV,还有较为常见的生殖道感染病原体CT和NG^[11]。鉴于此,可通过对生殖道感染中的CT、NG协助HPV实施监测,以掌握病情,改善宫颈病变程度。

HPV是性传播途径感染较为常见的病原体,是乳头状病毒亚群中的一类DNA病毒,目前经发现存在200多种类型,可依据致病程度分为高危致病型、可能高危致病型、低危致病型。据流行病学研究发现,高危型HPV是宫颈癌病程发展的重要因素,当机体免疫力低下或感染其他病原体时,持续的HPV感染会造成宫颈上皮细胞内的遗传物质失去稳定性,引发癌细胞恶性增殖^[12]。另一方面,HPV病毒载量与宫颈癌前病变存在明显的量效关系,病毒载量越高,宫颈病变程度加重的风险越高,现如今已明确HPV感染与宫颈癌关联密切^[13]。CT能在女性宫颈柱状上皮细胞内生长繁殖,引起细胞发生炎症反应,造成子宫内膜炎、输卵管炎和盆腔炎^[14]。据杨雨等^[15]研究显示,CT感染会增加宫颈癌变的风险,影响患者自身免疫系统对于HPV的反应度,造成机体持续性感染现象。另外,NG与CT同为泌尿道感染病原体,严重可造成女性不孕不育和早产现象,在临床实际检测中,NG主要寄居在急性尿道炎和阴道炎的脓性分泌物的白细胞中,在早期确诊后给予积极治疗预后效果

较为良好。本文通过将 NG、CT 协助 HPV 进行检测研究发现,CT、NG 与 HPV 阳性率:CIN3 分期>CIN2 分期>CIN1 分期,且宫颈病变患者中的 CT、NG 与 HPV 阳性率明显高于正常宫颈组织人群,说明当病情越严重时,CT、NG 与 HPV 阳性率会出现不同程度的增高现象,与上述研究基本一致。据相关研究显示,CT 感染阳性患者中,HPV 的检出率也出现不同程度的升高^[16]。进一步研究发现,文化程度高中以下、首次性生活年龄≤20 岁、流产次数>3 次患者 CT、NG、HPV 的阳性表达高于文化程度高中以上、首次性生活年龄>20 岁、流产次数≤3 者,差异有统计学意义。由 Pearson 相关分析得知,CT、NG 与 HPV 与宫颈病变组织呈正相关,和 Mungati 等^[17]的研究相似,提示 CT、NG 协助检测 HPV 在宫颈病变中的表达具有较高的诊断价值。

综上所述,CT、NG 协助 HPV 检测对于宫颈病变严重程度具有较高的诊断价值,可作为病情进展过程中的参考指标。

参考文献

- [1] 吴菊意, 校丽绒, 胡泷, 等. 艾滋病病毒感染者和艾滋病患者合并宫颈癌与癌前病变的相关影响因素[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(5):846-849.
 - [2] Karim S, Souho T, Benlemlih M, et al. Cervical Cancer Induction Enhancement Potential of Chlamydia Trachomatis: A Systematic Review[J]. *Curr Microbiol*, 2018, 75(12):1667-1674.
 - [3] Zhang X, Zhi Y, Li Y, et al. Study on the relationship between methylation status of HPV 16 E2 binding sites and cervical lesions[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 67(493):98-103.
 - [4] 范永霞, 王英, 刘春燕, 等. 成都市 9142 例女性 HPV 感染状况, 亚型分布及与宫颈病变的关系分析[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(7):584-589.
 - [5] 肖超群, 潘淑敏, 李仲均, 等. 妊娠晚期宫颈沙眼衣原体及其不同基因型感染与胎膜早破相关性研究[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(7):1136-1138+1142.
 - [6] 张群先, 梁慧娜. 解脲支原体, 沙眼衣原体, 淋球菌感染与盆腔炎患者不同发病状态宫颈, 盆腔分泌物菌群分布的关系及优势菌敏感性抗菌药物的筛选[J]. 中国性科学, 2022, 31(3):97-101.
 - [7] Thomas C. Wrisht Jr, L. Stewart Massad, Charles J. Dunton, 等. 子宫颈癌筛查异常妇女处理的共识指南(2006 版)[J]. 循证医学, 2008, 8(5):239-247.
 - [8] 胡丽庆, 彭雨萌, 葛玉梅. 实时荧光 PCR 法联合检测泌尿生殖道沙眼衣原体解脲支原体淋病奈瑟菌结果分析[J]. 中国艾滋病性病, 2021, 27(12):1429-1430.
 - [9] 武丽蕊, 王兰朋, 李红霞, 等. 免疫细胞及肿瘤标志物与高危型 HPV 感染宫颈癌患者 HPV 水平的相关性及与预后的关系[J]. 癌症进展, 2019, 17(11):1342-1346.
 - [10] 杜利君, 邢晏, 张兵, 等. 高危型人乳头瘤状病毒基因分型与宫颈病变的相关性分析[J]. 西部医学, 2018, 30(11):1686-1690.
 - [11] 赵洪萍, 冯琴琴, 黄俊杰, 等. NOB1 在宫颈癌及癌前病变中的表达及其与高危型 HPV 感染的关系[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2018, 10(6):349-352.
 - [12] 何晓艳, 梁毓, 李颖, 等. HPV 感染和宫颈病变的相关性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2020, 28(1):58-59.
 - [13] 田智丹, 王劲松, 黄文斌. HPV E6/E7 mRNA 联合 HPV L1 衣壳蛋白在子宫颈癌前病变诊断中的价值[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(3):351-353.
 - [14] van Liere GAFS, Hoebe C JPA, Dirks JA, et al. Spontaneous clearance of urogenital, anorectal and oropharyngeal Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in women, MSM and heterosexual men visiting the STI clinic: a prospective cohort study[J]. *Sex Transm Infect*, 2019, 95(7):505-510.
 - [15] 杨雨, 李彤, 李岩. CT, NG, MH, UP, UU 与 HPV 分型及宫颈病变程度的相关性研究[J]. 中国医师杂志, 2018, 20(11):1707-1711.
 - [16] 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支原体, 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.
 - [17] Mungati M, Machiha A, Mugurungi O, et al. The Etiology of Genital Ulcer Disease and Coinfections With Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Zimbabwe: Results From the Zimbabwe STI Etiology Study [J]. *Sex Transm Dis*, 2018, 45(1):61-68.
-
- (上接第 2214 页)
- [12] 许桂煌, 张莹, 郑思远, 等. 不同口服降糖药对 2 型糖尿病患者胰岛素强化治疗患者胰岛功能及预后的影响[J]. 西部医学, 2020, 32(6):832-835.
 - [13] Daryl JF, Gianluca N, Vikas KD, et al. Overview of the Clinical Pharmacology of Ertugliflozin, a Novel Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) Inhibitor [J]. *Clinical pharmacokinetics*, 2020, 59(8):949-965.
 - [14] 周欣荣, 李艳, 朱嘉俊, 等. SGLT2 抑制剂对 2 型糖尿病合并心血管疾病患者心血管不良事件影响的 meta 分析与试验序贯分析[J]. 中国医药导报, 2022, 19(8):64-68.
 - [15] 孔晓艳, 鲁一兵. SGLT2 抑制剂对 2 型糖尿病患者尿酸水平的影响[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2020, 40(2):97-99, 120.
 - [16] Emily AD, Rebecca JF, Jessie HL, et al. The SGLT2 inhibitor canagliflozin suppresses lipid synthesis and interleukin-1 beta in ApoE deficient mice [J]. *Biochem J*, 2020, 477(12):2347-2361.
 - [17] Ahmed EI, Shaaban AM, Abdel L, et al. Effect of Canagliflozin, an SGLT2 Inhibitor, in Comparison with Atorvastatin on Dexamethasone-Induced Hepatic Steatosis in Albino Rats [J]. *Bentham Science*[J]. *Curr drug ther*, 2020, 15(3):274-282.

中性粒细胞胞外诱捕网在急性缺血性脑卒中的研究进展

徐跃轩 赵晓丽*

[摘要] 急性缺血性脑卒中(AIS)病死率、致残率高,是世界范围内的主要死亡及残疾原因之一。中性粒细胞作为机体免疫防御的第一道防线,参与了多种疾病的发生发展。近年来有研究证实,活化的中性粒细胞可产生中性粒细胞胞外诱捕网(NETs),促使脑血栓的形成,进而参与急性缺血性脑卒中的发生发展,但发病机制尚未阐明。本文将围绕最近的研究,详述中性粒细胞及NETs在急性缺血性脑卒中的作用、对预后的影响、治疗的意义。

[关键词] 中性粒细胞胞外诱捕网;急性缺血性脑卒中;血栓形成

Research progress of neutrophil extracellular traps (NETs) in acute ischemic stroke

XU Yuexuan, ZHAO Xiaoli*

(Department of Clinical Laboratory, the Ganmei Hospital Affiliated of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, China, 650000)

[ABSTRACT] Acute ischemic stroke (AIS) is one of the major causes of death and disability worldwide with high mortality and disability rate. Neutrophils, as the first line of immune defense, participate in the occurrence and development of many diseases. In recent years, studies have confirmed that activated neutrophils can produce neutrophil extracellular traps (NETs), promote the formation of cerebral thrombus, and then participate in the occurrence and development of acute ischemic stroke, but the pathogenesis has not yet been elucidated. This article will focus on recent studies to detail the role of neutrophils and NETs in acute ischemic stroke, their impact on prognosis, and the significance of treatment.

[KEY WORDS] Neutrophil extracellular traps (NETs); Acute ischemic stroke; Thrombosis

急性缺血性脑卒中又称急性脑梗死,是指各种脑血管病变所致脑部血液供应障碍,导致局部脑组织缺血、缺氧性坏死而迅速出现相应神经功能缺损的一类临床综合征。据全球疾病负担 2017 (Global Burden of Diseases 2017, GBD2017) 显示,缺血性脑卒中是世界范围内死亡和永久性残疾的主要原因之一^[1]。在美国,每年有近 70 万人经历新发或复发性缺血性卒中,有 3% 的美国人口受到卒中的影响,卒中已成为美国第五大死亡原因^[2]。我国住院急性

缺血性脑卒中患者发病后 3 个月时病死率 9%~9.6%,致死/残疾率为 34.5%~37.1%^[3]。最近有研究发现活化的中性粒细胞产生的中性粒细胞胞外诱捕网 (Neutrophil extracellular traps, NETs) 可以捕获微生物以阻止其传播,并可以保持局部高浓度的抗菌药物以降解毒素、杀灭细菌^[4]。但近来有研究证实 NETs 与急性缺血性脑卒中的发生发展有关^[5]。本文将围绕 NETs 的形成及其在急性缺血性脑卒中的意义进行概述。

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2022Y198);昆明市西山区科技计划项目(西科字 23 号)

作者单位:昆明医科大学附属甘美医院检验科,云南,昆明,650000

*通信作者:赵晓丽, E-mail: 972414487@qq.com

1 NETs 概述

1.1 NETs 的发现及构成

2004年 Brinkmann 等^[4]人首次发现了活化的中性粒细胞会向胞外释放一种由解聚的DNA及多种颗粒蛋白组成的纤维网状结构,即NETs。NETs的主要成分为DNA,主要蛋白质成分为组蛋白(Histone, H),主要是组蛋白H2A, H2B, H3和H4,其他蛋白质成分包括中性粒细胞弹性蛋白酶(Neutrophil elastase, NE)、髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)、乳铁蛋白、凝胶酶、防御素、钙卫蛋白和抗菌肽等^[4]。

1.2 NETs 的形成机制

Brinkmann 等^[4]人发现NETs在中性粒细胞激活后10分钟形成,其进程早于细胞凋亡。Fuchs等人认为NETs形成不同于细胞凋亡和坏死,是一种新的中性粒细胞的死亡方式^[6]。研究表明,诱导NETs形成的因素诸多,如细菌、病毒、真菌、白介素-8、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、自身抗体、佛波酯(Phorbol myristate acetate, PMA)等均可诱导NETs形成。

近年来的研究证实,不同的诱导因素所介导的NETs形成方式也有所不同。其中最为经典且研究最为详细的为还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)依赖性活性氧(Reactive oxygen species, ROS)途径。Fuchs等人证实了NETs形成依赖于NADPH产生的ROS^[6]。在PMA或者LPS等刺激因素作用下,在NADPH酶生成的ROS和钙离子的作用下,蛋白精氨酸去亚胺酶4(Peptidylarginine deiminase 4, PAD4)诱导中性粒细胞的组蛋白H3瓜氨酸化及染色质结构改变,导致染色质去聚化,ROS作为第二信使作用于MPO和NE从胞质颗粒迁移到细胞核内,增强染色质去聚化及促使核膜破裂,进而导致中性粒细胞释放解聚的核DNA及相关颗粒蛋白组成NETs^[7-9]。同时, Li等^[8]人的研究表明PAD4的活性对于NETs的形成也至关重要^[9]。Hakkim等人证实Raf-MEK-ERK通路位于NADPH氧化酶的上游,参与了NETs的形成。Kang等^[10]人证实了银纳米粒子(AgNPs)也是通过NADPH依赖ROS途径诱导NETs形成。

其他诱导途径如金黄色葡萄球菌可以激活Toll样受体2(Toll like receptor 2, TLR2)及补体途

径诱导NETs形成,但需要TLR2和补体同时存在,单独的TLR2或补体存在均不能诱导NETs形成^[11]。金黄色葡萄球菌还可以通过一些成孔毒素如 γ 溶血素在中性粒细胞核膜上形成孔,诱导组蛋白、含有MPO和NE的颗粒蛋白释放到胞外来刺激NETs形成^[12]。除此之外,肌动蛋白骨架重排、梗死灶周围的酸碱环境、氧浓度和铁离子也可能影响NET的形成^[5,13]。

1.3 NETs 的检测

NETs的结构比较复杂,至今尚未统一检测指标及方法,但在近些年的研究中,瓜氨酸组蛋白H3(Citrullinated histone H3, citH3)被普遍用于NETs的检测,通常用citH3的含量代表NETs的含量^[14-15]。除此以外,由中性粒细胞产生的游离胞外DNA(Cell-free DNA, cfDNA)作为NETs的主要成分也常用于NETs的检测,而NE、MPO等NETs的蛋白组分也被广泛应用于NETs的双通道检测。

2 NETs 的分类

根据中性粒细胞的形态变化,NETs可分为三种类型:①suicidal NETosis:由细胞溶解性死亡释放NETs,细菌、真菌、病毒、PMA、白介素-8等诱导中性粒细胞通过NADPH依赖性ROS途径释放解聚的核DNA及相关颗粒蛋白组成的NETs,通常在2~20小时内发生;②Vital NETs:由活细胞将NETs通过囊泡运输的方式释放至胞外,金黄色葡萄球菌诱导中性粒细胞通过依赖TLR2途径释放核DNA等组成的NETs,通常在10~60分钟内发生;③mitochondrial NETs:由活细胞释放的NETs,经过粒-巨噬细胞集落刺激因子(Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)预处理,中性粒细胞在LPS或补体因子5a刺激下释放由线粒体DNA组成的NETs,通常在15~20分钟内发生^[16]。

3 NETs 在急性缺血性脑卒发生中的作用

依据局部脑组织发生缺血坏死的机制可将缺血性脑卒中分为三种主要病理生理学类型:脑血栓形成(Cerebral thrombosis)、脑栓塞(Cerebral embolism)和血流动力学机制所致的缺血性脑卒中。脑血栓形成和脑栓塞均是由于脑供血动脉急性闭塞或严重狭窄所致,约占全部急性脑梗死的80%~90%。最近,大量的研究发现NETs与脑血栓形成有关^[5,17]。

3.1 NETs在动脉粥样硬化中的作用

动脉粥样硬化是缺血性脑卒中的常见病因,其随着年龄的增长而加重,高龄、高血压病、高脂血症、吸烟、糖尿病是其重要的危险因素。近年来,有研究证实NETs可以促进动脉粥样硬化的发展。NETs形成后反馈诱导DNase反应,这也是NETs清除的重要机制。Dhawan等^[18]人发现高胆固醇血症会损害Apoe^{-/-}小鼠的DNase反应,导致NETs清除延迟并加重炎症,通过外源性补充DNase1清除NETs后,炎症减轻并出现了有益的动脉粥样硬化斑块重塑^[1],这表明了调节NETs在体内的水平可能成为延缓或阻止动脉粥样硬化进展的治疗手段。

3.2 NETs在脑血栓形成中的作用

血栓形成是在某些诱导因素下血液中的有形成分聚集,形成固体块的过程。近年来大量的研究证实NETs在血栓形成部位存在,为血栓的组分之一^[19-20]。

2017年Laridan等^[19]人采用免疫组化及免疫荧光染色法首次证实了缺血性脑卒中的血栓中存在NETs,且其为缺血性脑卒中的血栓的共同组分。2018年Ducroux等^[20]的研究表明,所有急性缺血性脑卒中的血栓均含有NETs,且NETs主要位于血栓的外层。2020年Novotny等^[21]人的研究也证实了急性缺血性脑卒中的血栓中百分百含有NETs。2022年Li等^[5]人的研究表明中性粒细胞和NETs存在于缺血损伤后梗死灶同侧的血管周围,在缺血后1~3天达到峰值。基于这些发现,目前关于急性缺血性脑卒中的研究方向和研究热点有所转移,如NETs如何影响血栓形成。

大量的研究证实NETs通过以下途径促进血栓形成:①NETs对 endothelial cells 具有细胞毒性,并与血管性血友病因子(Von Willebrand Factor, VWF)等共同促进高凝状态^[22];②NETs为血小板、红细胞和促凝剂分子提供骨骼支持,以促进血栓形成^[23];③NETs中包含的蛋白质成分激活内源性凝血途径,如血小板可以增强中性粒细胞释放NETs,在组蛋白等的作用下,诱导凝血因子FXII(Coagulation factor FXII, FXIIa)依赖性凝血,进而促进血液的高凝状态^[22,24]。组蛋白释放到循环后,还可以在凝血因子FXIII(Coagulation factor FXIII, FXIIIa)等的作用下与纤维蛋白交联,促进凝血和增加凝块的稳定性,导致动脉、静脉和微血管血栓形成^[25]。

4 NETs在急性缺血性脑卒中预后中的作用

2017年Vallés等人研究表明急性缺血性脑卒中患者的citH3水平显著升高与下列因素相关,如年龄较大、血糖水平升高、房颤史、心栓塞性卒中和卒中严重程度升高^[5]。这表明血浆中citH3水平可能作为脑卒中患者的预后衡量指标,同时也可作为脑卒中患者的评估卒中严重程度的指标。2019年Lim等^[26]人通过测量急性缺血性脑卒中患者血浆中的双链DNA(dsDNA)和DNA-组蛋白复合物的浓度来评估NETs的含量,证实了急性缺血性脑卒中患者在初始阶段时NETs的水平升高。与此同时,Lim等使用ROC曲线分析dsDNA浓度在急性缺血性脑卒中初始阶段是否是有效的标记物,计算得到AUC值为0.859,即dsDNA浓度在急性缺血性脑卒中初始阶段是有效的标记物。但此研究存在方法学上的局限性,结论的准确性还需进一步探索。

5 NETs在急性缺血性脑卒中治疗中的意义

2021年Genchi等^[27]对80例缺血性脑卒中患者经血管内机械取栓提取的人脑血栓进行组织学分析,描述了NETs的组成并采用免疫组化染色法测定了血栓NETs含量及采用ELISA法测定了血浆NETs含量,结果发现量化NETs可以区分心源性栓塞性卒中和大动脉粥样硬化性卒中。此前Laridan等^[19]人的研究中也发现心源性栓塞性卒中的NETs含量为非心源性栓塞性卒中的两倍。这为临床正确的区分缺血性脑卒中的类型提供了有力的支撑,后续的治疗也将更加具有针对性。但目前的结论大多建立在动物模型之上,进一步的探索将具有重大的临床意义。Dhawan等^[27]人通过外源性补充DNase1纠正了DNase反应缺陷的情况也表明了NETs作为新兴的治疗靶点可能性。

6 总结

从上述的研究和讨论中可以明显看出NETs与血栓形成的关系及其在急性缺血性脑卒中的发生发展中的作用。目前急性缺血性卒中溶栓治疗的成功率较低,更加深入地了解急性缺血性脑卒中的血栓形成就至关重要。此外,关于急性缺血性脑卒中血栓的研究对于脑血栓的靶向治疗的进展也极其重要。

目前关于 NETs 的研究报道较少,其在急性缺血性脑卒中发生发展中的作用机制尚未完全阐明,但根据目前的研究成果,NETs 在急性缺血性脑卒中的作用有进一步的临床研究价值,需要深入的探索与研讨。NETs 除了与急性缺血性脑卒中的发生有关,还与其他血栓性疾病、自身免疫性疾病、脓毒血症、肿瘤、牙周炎的发生发展有关。综上所述,更加深入细致地研究 NETs 形成的确切机制,以及 NETs 在疾病发生发展中扮演的角色,对于阐明疾病的发生机制及发现新的诊疗手段具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] GBD, 07 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators; Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2018, 392(10159): 1789-1858.
- [2] Lyden S, Wold J. Acute Treatment of Ischemic Stroke [J]. *Neurol Clin*, 2022, 40(1): 17-32.
- [3] 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.
- [4] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria [J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532-1535.
- [5] Li C, Xing Y, Zhang Y, et al. Neutrophil Extracellular Traps Exacerbate Ischemic Brain Damage [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(1): 643-656.
- [6] Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps [J]. *J Cell Biol*, 2007, 176(2): 231-41.
- [7] Karlsson A, Dahlgren C. Assembly and activation of the neutrophil NADPH oxidase in granule membranes [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(1): 49-60.
- [8] Hakkim A, Fuchs TA, Martinez NE, et al. Activation of the RafMEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(2): 75-77.
- [9] Li P, Li M, Lindberg MR, et al. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(9): 1853-1862.
- [10] Kang H., Seo J, Yang E. -J, Choi, I. -H. Silver Nanoparticles Induce Neutrophil Extracellular Traps Via Activation of PAD and Neutrophil Elastase. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 317.
- [11] Yipp BG, Petri B, Salina D, et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo [J]. *Nat Med*, 2012, 18(9): 1386-1393.
- [12] Meyers S, Crescente M, Verhamme P, et al. Staphylococcus aureus and Neutrophil Extracellular Traps: The Master Manipulator Meets Its Match in Immunothrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2022, 42(3): 261-276.
- [13] Sprengeler EGG, Tool, ATJ, Henriet S, et al. Formation of neutrophil extracellular traps requires actin cytoskeleton rearrangements. *Blood*, 2022 Jan 14; blood.2021013565.
- [14] 曹维嘉, 邵子玮, 段孟洮, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网 (NETs) 及其在相关炎症疾病的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(5): 635-638.
- [15] Hofbauer TM, Ondracek AS, Lang IM. Neutrophil Extracellular Traps in Atherosclerosis and Thrombosis [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2022, 270: 405-425.
- [16] Tan C, Aziz M, Wang P. The vitals of NETs [J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(4): 797-808.
- [17] Vallés J, Lago A, Santos MT, et al. Neutrophil extracellular traps are increased in patients with acute ischemic stroke: prognostic significance [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(10): 1919-1929.
- [18] Dhawan UK, Bhattacharya P, Narayanan S, et al. Hypercholesterolemia Impairs Clearance of Neutrophil Extracellular Traps and Promotes Inflammation and Atherosclerotic Plaque Progression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(10): 2598-2615.
- [19] Laridan E, Denorme F, Desender L, et al. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi [J]. *Ann Neurol*, 2017, 82(2): 223-232.
- [20] Ducroux C, Di Meglio L, Loyau S, et al. Thrombus Neutrophil Extracellular Traps Content Impair tPA-Induced Thrombolysis in Acute Ischemic Stroke [J]. *Stroke*, 2018, 49(3): 754-757.
- [21] Novotny J, Oberdieck P, Titova A, et al. Thrombus NET content is associated with clinical outcome in stroke and myocardial infarction [J]. *Neurology*, 2020, 94(22): e2346-e2360.
- [22] Yang J, Wu Z, Long Q, Huang J, et al. Insights into immunothrombosis: the interplay among neutrophil extracellular trap, von Willebrand factor, and ADAMTS13. *Front Immunol*, 2020, 11: 610696.
- [23] Zhou Y, Tao W, Shen F, et al. The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Arterial, Venous and Cancer-Associated Thrombosis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 786387.
- [24] Zhou P, Li T, Jin J, et al. Interactions between neutrophil extracellular traps and activated platelets enhance procoagulant activity in acute stroke patients with ICA occlusion. *EBioMedicine*, 2020, 53: 102671.
- [25] Locke M, Longstaff C. Extracellular histones inhibit fibrinolysis through noncovalent and covalent interactions with fibrin. *Thromb Haemost*, 2021, 121: 464-476.
- [26] Lim HH, Jeong IH, An GD, et al. Evaluation of neutrophil extracellular traps as the circulating marker for patients with acute coronary syndrome and acute ischemic stroke [J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(5): e23190.
- [27] Genchi A, Semerano A, Gullotta GS, et al. Cerebral thrombi of cardioembolic etiology have an increased content of neutrophil extracellular traps [J]. *J Neurol Sci*, 2021, 423: 117355.

同济大学附属上海市第四人民医院检验医学科

同济大学附属上海市第四人民医院检验医学科位于上海市虹口区三门路1279号,总计占地面积1573平方米,下设7个实验室和一个科研学组,主要包括临床血液实验室、临床体液实验室、临床生化实验室、临床微生物实验室、临床免疫实验室、临床分子生物实验室、24小时急诊检验实验室及临床检验科研学组。医学检验科学科团队总计人数为46人,是由医、技、研、护构成完成的学科队,现有高级职称人员2名,中级职称21人,硕士5人,在职博士2人,博士1人。

在硬件建设方面配备有西门子 Atellica 生化免疫流水线、希思美康血液分析系统流水线、尿液流水线和凝血检测系统流水线、全自动迈瑞流水线,拥有 Beckman Coulter DxFlex 流式检测细胞仪、illumina MiSeqDx 基因测序仪器、PCR 扩增仪器 16 台和质谱仪器等大型先进仪器设备。开展检测项目 600 余项,每年都参加上海市临床检验中心和国家卫生部临检中心室间质评,成绩优秀。

本实验室是长三角一体化基因检测联盟培训基地,长三角一体化基因检测联盟理事单位,上海市健康科技协会基因健康专委会肿瘤基因诊断中心,目前临床分子生物检测实验室已经成功搭建了病原微生物核酸检测平台和药物基因检测平台。作为上海市首批获得大规模新型冠状病毒核酸检测实验室之一和虹口区新冠病毒核酸检测中心,本实验室在疫情期间承担了多次上海市及虹口区应急检测任务,目前实验室已经面向全社会总计检测新冠病毒核酸检测样本 200 多万管。

在科研方面,学科带头人满秋红教授带领团队以检验多平台和样本资源整合平台标准化建设和老年多病共患专病队列检验标志物应用研究为方向,近3年整个团队科研成绩突出,先后获得国自然青年项目、上海市科委、上海市卫健委、上海市虹口卫健委等各项重点、重大科研项目 20 余项。在 Clinical and translational medicine、Advanced science、Molecular cancer 等发表高质量的 SCI 论文 10 余篇,参与编著 6 部,参与国家行业标准制定工作 5 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。

