



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

分子诊断与治疗杂志

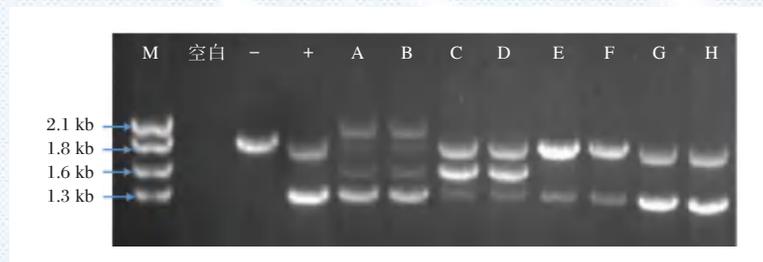
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2023年3月 第15卷 第3期 总第103期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 15 Number 3 March 2023



注: M为Markers; -, +分别为阴性对照和阳性对照, A至D为病例1基因型- $\alpha^2/\alpha\alpha$ 和病例2基因型- $\alpha^2/\alpha\alpha^{SEA}$ 的DNA样本按照上述比例混合液; E至H为病例3基因型 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha^{SEA}$ 和病例4基因型 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 的DNA样本按照上述比例混合液。

图(411) 缺失型 α 地中海贫血 Gap-PCR 电泳图

Figure(411) Gap-PCR electrophoresis of deletional alpha-thalassemia

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



龚倩



龚倩,1974年11月出生。1996年毕业于上海交通大学医学院,获医院管理硕士学位。

主任技师,现任复旦大学附属中山医院青浦分院检验科主任。获第三届上海市“十佳医技工作者”提名、复旦大学“优秀医技工作者”、“青浦工匠”、“白求恩式检验人”、青浦区“最美卫健人”等荣誉称号。担任上海市医学会检验医学专科分会委员、区协作组副组长,上海市医师协会检验医师分会委员,上海康复医学会检验与健康专委会副主任委员,上海市中医药学会第二届检验医学分会管理学组副组长,白求恩精神研究会区域检验专委会副主任委员兼秘书长,国家卫生健康委人才交流服务中心卫生健康人才评价题库

建设专家,上海市科学技术专家库成员,第三届上海市中西医结合学会医学检验专业委员会常务委员,上海市医学装备协会实验医学专业委员会副主任委员,《中华检验医学杂志》第九届编辑委员会青年委员,《中华预防医学杂志》审稿专家,《国际检验医学杂志》青年编委,Clin Chim Acta(CCA)杂志特邀审稿专家等学术职务。

龚倩教授长期从事实验室精益管理、区域检验中心建设及肿瘤免疫学实验室诊断等研究。近年来,带领团队参与国家重点研发计划子课题子课题4项,蚌埠医学院自然科学项目1项,上海市级课题6项,青浦区级课题13项,院级课题8项;获得专利5项;发表相关论文50余篇,其中中文核心期刊收录40余篇(“检验医学与临床”、“中华检验医学杂志”、“国际检验医学杂志”、“标记免疫分析与临床”、“中国医药科学”、“检验医学”等),SCI收录7篇(“OncoImmunology”,“Clin Chim Acta”,“Drug Design, Development and Therapy”,“Comput Math Methods Med”,“Oncol Lett”,“Gene”等);主编高校教材2部;培养区级“医苑新星”1名、硕士研究生2名、检验医师2名、高级职称人员6名。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2023 年 3 月 第 15 卷 第 3 期 总第 103 期 Monthly Volume 15 Number 3 March 2023

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	2023 年 3 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>2023.3.18</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

2022年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2023年3月 第15卷 第3期

目次

述评

糖尿病肾病中 Notch 信号通路调控机制的研究进展 王乐 陈骅(361)

论著

合肥地区不孕不育患者 *MTHFR* 基因多态性分析 穆薇智 张蕾(364)

数字 PCR 检测循环肿瘤 DNA 中 *HER2* 基因扩增对胃癌的预后评估
..... 刘厚聪 周和凯 王纪东 等(368)

奥拉帕利维持治疗铂敏感复发性卵巢癌疗效及血清 HE4、SDF-1、CA125 变化分析
..... 王妮妮 王芳(373)

基于 ceRNA 调节网络结直肠癌预后关键基因的筛选与分析 黄奔 柳家翠 王萍 等(378)

小梁切除术、视网膜光凝联合治疗对 NVG 患者 IP-10、TNF- α 、VEGF 的影响
..... 李世强 孙璐 程亚辉 等(383)

慢性肾小球肾炎患者血清 DAO、D-LA 表达与 TH1/TH2 失衡的关系 韩博 于敏 熊锡山(387)

血清 miR-28-5p、HMGB1 表达与多发性骨髓瘤患者病理特征及预后的关系
..... 李超 杨如玉 段丽娟(392)

Lp(a)、Hcy 及 sT2 联合超声心动图对 ACS 诊断及预后的价值 王礼才 魏鹏程 陈言飞(396)

血清 PCT、D-LA、BT、DAO 水平对急性胰腺炎的预测价值分析 裴柳 陈宏伟 左志刚 等(401)

血清 miR-155、GATA3 与寻常型银屑病患者 Th1/Th2 平衡、PASI 评分的相关性
..... 张丽 安永涛 姬静静 等(405)

低比例 DNA 污染对地中海贫血基因检测结果的影响 许晨霞 王德刚 张艳芳 等(409)

足月新生儿高胆红素血症光疗后胆红素反弹影响因素分析 孙亚伟 黄金华 李亚蕊(413)

某医院流感嗜血杆菌的耐药性及分子流行病学特征 吴玲玲 李震 姜梅杰 等(417)

ALP、LDH 联合 AFP 在原发性肝癌中的表达及诊断价值 白宁 张卉 马许辉 等(422)

SHR、ESR、IL-6 联合检测在髌、膝关节置换术后早期感染的预测价值
..... 张新统 庄焕雄 符克杨 等(426)

超声引导竖脊肌间隙阻滞与胸椎椎旁神经阻滞对乳腺癌手术患者疼痛影响
..... 张明德 韩琨元 张志军(430)

急性脑卒中患者 PTH、IL-6 表达水平与其神经功能、近期预后的关系
..... 张绵 王真珍 孙雯雯(434)

不同阶段胃癌血清 PGI、PGII、CA50 和 CA724 的表达水平与短期预后的关系
..... 邓海连 康春博 李彩菊 等(438)

一种国产血液核酸检测系统的性能评价 詹莉 杨文杰 陈志强 等(442)

PDCA 循环在优化感染性疾病核酸检测 TAT 时间中的应用 李穗雯 杨悦林 钱净 等(446)

CKMB、cT-nT、NT-proBNP 联合检测在 NSCLC 并发心力衰竭患者病情评估、预后中的价值
..... 黄杭镇 施晓军(450)

早期康复训练对脑梗死偏瘫患者神经功能及PI3K/AKT信号通路的影响
 谢永权 郭书玲 谢桂芬(454)

乳腺癌患者超声弹性成像AR值与硬度评分与MMP-9、BRCA1、P53表达的相关性
 王艳 吕宝如 郑智(459)

膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射PRP治疗对OA患者Lysholm膝关节评分、VAS评分及
 并发症的影响 刘晓东 陈贝 杨杰(463)

不同TNM分期肺癌患者糖脂代谢、Fib、D-D水平变化及与预后的关系
 杨剑 费维伦 钟玲玲等(468)

动态监测脓毒症患者Lac、cTnI、FBG、D-D水平的临床意义 张苗苗 周冠华 王助衡(472)

经鼻高流量湿化氧疗治疗对支气管扩张合并感染患者肺功能指标及血清IL-6、 γ -干扰素、
 TNF- α 的影响 杨智晖 赵宇博 许倩等(477)

血清S-ChE、NLR联合LDH对细菌性血流感染脓毒症患者预后的预测分析
 韩英 张志斌 王楚等(481)

PCT与血清ADA、Hb对肺部感染的诊断价值分析 马尧尧 茹金玲 周贤平(485)

广东惠州地区46例血红蛋白J-Bangkok的分子诊断及血液学特征分析
 徐志邦 官志扬 叶健翔等(489)

肺癌根治术后感染对机体JAK/STAT通路蛋白及T细胞亚群的影响
 魏一泽 王宾宾 黄文军等(493)

学龄前儿童骨折后25-(OH)D含量变化及与骨密度的关系 任飞 刘锋卫 李刚(497)

血清IgG-RF、IL-1 β 和生存素对通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎疗效的预测价值
 生钦钢 杨彩虹 孙海军等(501)

Hcy、BGP及CTX水平与T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的关系
 李丽燕 邓丽 葛梦君等(505)

质量管理规则联合质量目标指数在肿瘤标志物检测质量控制中的应用
 毛亚萍 韦浩 赵倩倩等(509)

血清Lp(a)、GAL3、Vaspin与前循环急性缺血性脑卒中患者Trevor支架取栓术后转归的相关性
 康梅娟 温昌明 张保朝等(514)

NLR、PDW对服用不同剂量利伐沙班的非瓣膜心脏病房颤患者出血事件的预测价值
 李梅 孙洪伟 王菲菲(518)

H-FABP、NLR、VEGF水平与急性脑梗死神经功能缺损评估及预后相关性
 周建 代磊 韩亚汇(522)

血清乳酸、降钙素原、内毒素对脓毒症及感染性休克预后的预测价值
 孟鹏飞 石正松 陈亚君等(527)

老年COPD合并RF患者血清CysC、IL-6、ACTA水平变化及与病情急性发作和预后的相关性
 马祥兵 龙超 郭健(531)

2019-2021年扬州市禽流感监测及职业暴露人群血清学分析 张有江 周乐 王寅等(536)

综 述

基于高通量测序方法的伴随诊断试剂现状 李冉 方丽 徐超(541)

专家风采

龚倩 (封二)

实验室巡礼

复旦大学附属中山医院青浦分院检验科 (封三)

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 15 Number 3 March 2023

CONTENTS

COMMENTS

- Research progress on the regulatory mechanism of Notch signaling pathway in diabetic nephropathy
WANG Le, CHEN Hua (361)

ORIGINAL ARTICLES

- Association of *MTHFR* gene polymorphism with infertility in Hefei
MU Weizhi, ZHANG Lei (364)
- Prognostic assessment of gastric cancer by detection of *HER2* gene amplification in circulating tumor DNA by digital PCR
LIU Houcong, ZHOU Hekai, WANG Jidong, FU Xiaohong, DU Jihui (368)
- Analysis of curative effect and changes of serum HE4, SDF-1 and CA125 in maintenance treatment of platinum-sensitive recurrent ovarian cancer with olaparib
WANG Weiwei, WANG Fang (373)
- Screening and analysis of prognostic key genes in colorectal cancer based on ceRNA regulatory network
HUANG Ben, LIU Jiabei, WANG Ping, DUAN Yiping, CHEN Liangyue, MA Tiantian, YU Mingxia (378)
- Effect of trabeculectomy combined with retinal photocoagulation on IP-10, TNF- α , VEGF in patients with NVG
LI Shiqiang, SUN Lu, CHENG Yahui, LI Weiwei, CHENG Jiaoyang (383)
- Relationship between serum DAO, D-LA expression and TH1/TH2 imbalance in patients with chronic glomerulonephritis
HAN Bo, YU Min, XIONG Xishan (387)
- Relationship between serum miR-28-5p, HMGB1 expression and pathological features and prognosis of patients with multiple myeloma
LI Chao, YANG Ruyi, DUAN Lijuan (392)
- Value of Lp(a), Hcy and sST2 combined with echocardiography in diagnosis and prognosis of ACS
WANG Licai, WEI Pengcheng, CHEN Yanfei (396)
- Analysis of the predictive value of serum PCT, D-LA, BT and DAO levels in acute pancreatitis
PEI Liu, CHEN Hongwei, ZUO Zhigang, ZHANG Meixiang, ZHAO Likun, LI Kaishuang, LIU Xiujuan (401)
- Correlation of serum miR-155 and GATA3 with Th1/Th2 balance and PASI score in patients with psoriasis vulgaris
ZHANG Li, AN Yongtao, JI Jingjing, ZHU Jieli (405)
- Effect of low proportion of DNA contamination on the results of thalassemia gene testing
XU Chenxia, WANG Degang, ZHANG Yanfang, DONG Xingsheng, TANG Haishen, LIANG Rui, PENG Jianming (409)
- Analysis of influencing factors of bilirubin rebound after phototherapy in full-term neonates with hyperbilirubinemia
SUN Yawei, HUANG Jinhua, LI Yarui (413)
- Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae* in a hospital
WU Lingling, LI Zhen, JIANG Meijie, ZHOU Guangfei, ZHANG Zhijun, ZHAO Shuping (417)
- Expression and diagnostic value of ALP, LDH combined with AFP in primary liver cancer
BAI Ning, ZHANG Hui, MA Xuhui, ZHAO Jianghai (422)
- Predictive value of combined detection of SHR, ESR and IL-6 in early infection after hip and knee arthroplasty
ZHANG Xintong, ZHUANG Huanxiong, FU Keyang, CUI Hongwang (426)
- Comparative study of ultrasound-guided erector spinae plane block and thoracic paravertebral block on pain and inflammatory factors in patients undergoing breast cancer surgery
ZHANG Mingde, HAN Kunyuan, ZHANG Zhijun (430)
- Relationship between expression levels of PTH and IL-6 and neurological function and short-term prognosis in patients with acute stroke
ZHANG Mian, WANG Zhenzhen, SUN Wenwen (434)
- Relationship between serum PGI, PGII, CA50 and CA724 expression levels and short-term prognosis in gastric cancer at different stages
DENG Hailian, KANG Chunbo, LI Caiju, GAO Yanfang (438)
- Performance evaluation of a domestic blood nucleic acid detection system
ZHAN Li, YANG Wenjie, CHEN Zhiqiang, FAN Zhangping (442)

Application of PDCA cycle in optimizing Turn-Around-Time (TAT) of nucleic acid detection for infectious diseases <i>LI Suiwen, YANG Yuelin, QIAN Jing, SHI Qionghua, LIU Rui, ZHAO Yan, ZHAO Xiaoli, ZHU Weishu</i>	(446)
Value of combined detection of CKMB, cT-nT and NT-proBNP in the evaluation and prognosis of patients with NSCLC complicated with heart failure <i>HUANG Hangzhen, SHI Xiaojun</i>	(450)
Effect of early rehabilitation training on nerve function and PI3K/AKT signal pathway in patients with cerebral infarction complicated with hemiplegia <i>XIE Yongquan, GUO Shuling, XIE Guifen</i>	(454)
Correlation between ultrasound elastography AR value and hardness score and expression of MMP-9, BRCA1 and P53 in breast cancer patients <i>WANG Yan, LV Baoru, ZHENG Zhi</i>	(459)
Effect of intra-articular injection of PRP after knee arthroscopic debridement on Lysholm knee score, VAS score and complications in patients with OA <i>LIU Xiaodong, CHEN Bei, YANG Jie</i>	(463)
Changes of glucolipid metabolism, Fib and D-D levels and their relationship with prognosis in lung cancer patients with different TNM stages <i>YANG Jian, FEI Weilun, ZHONG Lingling, LIANG Chunyang, YANG Fengfan</i>	(468)
Clinical significance of dynamic monitoring of Lac, cTnI, FBG and D-D levels in patients with sepsis <i>ZHANG Miaomiao, ZHOU Guanhua, WANG Zhuheng</i>	(472)
Effect of nasal high-flow humidified oxygen therapy on pulmonary function indicators and serum IL-6, γ -interferon, TNF- α in patients with bronchiectasis complicated with infection <i>YANG Zhihui, ZHAO Yubo, XU Qian, PAN Jie, CHANG Xingfang, LU Kang, XU Ning</i>	(477)
Predictive analysis of serum S-ChE, NLR combined with LDH on the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection <i>HAN Ying, ZHANG Zhibin, WANG Chu, QIAN Jing</i>	(481)
Analysis of the diagnostic value of PCT and serum ADA and Hb in pulmonary infection <i>MA Yaoyao, RU Jinling, ZHOU Xianping</i>	(485)
Molecular diagnosis and hematological characteristics of 46 cases of hemoglobin J-Bangkok in Huizhou, Guangdong Province <i>XU Zhibang, GUAN Zhiyang, YE Jianxiang, ZENG Huihua, CHEN Jianhong</i>	(489)
Effects of infection on JAK/STAT pathway proteins and T cell subsets in vivo after radical resection of lung cancer <i>WEI Yize, WANG Binbin, HUANG Wenjun, GAO Congrong, DONG Mingjie</i>	(493)
Changes of 25-(OH) D content and its relationship with bone mineral density in preschool children after fracture <i>REN Fei, LIU Fengwei, LI Gang</i>	(497)
The predictive value of serum IgG-RF, IL-1 β and survivin on the curative effect of Tongbi capsule combined with tofacitinib in the treatment of rheumatoid arthritis <i>SHENG Qingang, YANG Caihong, SUN Haijun, LIU Xiaolong</i>	(501)
Relationship between Hcy, BGP and CTX levels and vascular calcification in patients with T2DM complicated with osteoporosis <i>LI Liyan, DENG Li, GE Mengjun, GAO Beibei, LI Lei</i>	(505)
Application of quality management rules combined with quality goal index in quality control of tumor marker detection <i>MAO Yaping, WEI Hao, ZHAO Qianqian, XU Weijie</i>	(509)
Correlation between serum Lp(a), GAL3, vaspin and outcome after Trevo stent thrombectomy in patients with acute ischemic stroke in anterior circulation <i>KANG Meijuan, WEN Changming, ZHANG Baochao, SUN Jun, WANG Ning, ZHANG Donghuan, ZHANG Manli</i>	(514)
Predictive value of NLR and PDW for bleeding events in patients with non-valvular heart disease and atrial fibrillation taking different doses of rivaroxaban <i>LI Mei, SUN Hongwei, WANG Feifei</i>	(518)
Correlation between the levels of H-FABP, NLR, VEGF and the evaluation of neurological impairment and prognosis in patients with acute cerebral infarction <i>ZHOU Jian, DAI Lei, HAN Yahui</i>	(522)
Prognostic value of serum lactate, procalcitonin and endotoxin on the prognosis of sepsis and septic shock <i>MENG Pengfei, SHI Zhengsong, CHEN Yajun, ZHAO Zhiqiang, ZHANG Dingcheng, WANG Dechang</i>	(527)
Changes of serum CysC, IL-6 and ACTA levels in elderly patients with COPD complicated with RF and their correlation with acute exacerbation and prognosis <i>MA Xiangbing, LONG Chao, GUO Jian</i>	(531)
Surveillance of avian influenza virus and serological analysis of occupationally exposure population in Yangzhou City from 2019 to 2021 <i>ZHANG Youjiang, ZHOU Le, WANG Yin, ZHANG Xiuling, XU Rongrong, BIAN Yuxun, HUANG Yao</i>	(536)

REVIEWS

Current status of companion diagnostic reagents based on high-throughput sequencing methods <i>LI Ran, FANG Li, XU Chao</i>	(541)
--	-------

糖尿病肾病中 Notch 信号通路调控机制的研究进展

王乐 陈骅*

【摘要】 Notch 信号通路为生物细胞重要的信息通路,在生物的进化过程起关键作用。近年来,肾脏病领域的研究证实 Notch 信号通路与糖尿病肾病有关,参与肾间质纤维化、肾小球硬化的发生。本文以理论探析为研究方法,以既往文献及报道为核心数据,旨在介绍 Notch 信号通路在糖尿病肾病的调控机制,为创新糖尿病肾病理论提供依据。

【关键词】 Notch 信号通路; 糖尿病肾病; Notch 受体; DNA 结合蛋白

Research progress on the regulatory mechanism of Notch signaling pathway in diabetic nephropathy

WANG Le, CHEN Hua*

(Department of Nephrology, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei, China, 071000)

【ABSTRACT】 The Notch signaling pathway is a biological cell information device that plays a key role in the life process of cells. In recent years, studies in the field of kidney disease have confirmed that the Notch signaling pathway is related to diabetic nephropathy and is involved in the occurrence of renal interstitial fibrosis and glomerular sclerosis. With theoretical analysis as the research method and previous literature and reports as the core data, this review aims to introduce the regulatory mechanism of Notch signaling pathway in diabetic nephropathy, and provide a basis for the innovating the theory of diabetic nephropathy.

【KEY WORDS】 Notch signaling pathway; Diabetic nephropathy; Notch receptor; DNA binding protein

糖尿病肾脏疾病是糖尿病较为严重的并发症,与高糖环境相关。糖尿病肾病的发生率与日俱增,且病死可能性大,对患者健康危害极大,其发病机制与肾小球变化密不可分^[1-2]。目前,糖尿病肾病缺乏特异性的治疗措施,临床以维持治疗为主,旨在控制病情、规避进展风险。研究证明,Notch 信号通路参与肾小球病变的过程^[3-4],与多种肾脏损害相关。本文从 Notch 信号通路着手,分析 Notch 信号通路参与疾病的主要成分及环节,进而阐述糖尿病肾病的相关通路机制,以寻求创新糖尿病肾病的诊疗理念。

1 Notch 信号通路的概况

Notch 信号通路存在于多种物种中,进化模式

相对保守,在细胞发育中扮演着“中介角色”,通过细胞间联结作用而调节相关机制,对生命的繁殖、细胞凋亡具有重要意义^[5]。Notch 受体是 Notch 信号通路发挥效用的重要联系分子,其活化后可调控细胞分化、细胞异变等多种生命的生物学变化。在多种肾小球病变中,Notch 受体呈显著活化,通过 Notch 信号通路参与肾细胞病变的过程^[6-7]。Notch 受体有 4 种亚型: Notch1、Notch2、Notch3 和 Notch 4,过去已有研究显示,Notch1、Notch2 两种亚型参与了糖尿病肾病的发生环节,而近年涉及的 Notch3 对糖尿病肾病的发展也逐渐引起重视^[8]。Notch 配体包括 5 种跨膜蛋白: Delta-like1、Delta-like3、Delta-like4、Jagged1、Jagged2,

基金项目:河北省重点研发计划项目(21377730D)

作者单位:河北大学附属医院肾内科,河北,保定 071000

*通信作者:陈骅, E-mail:hedachenhua62@163.com

Notch 信号通路的信号传递通过细胞配体与细胞受体方式进行,可精准地传递细胞信号。细胞受体与之对应配体结合为传递细胞信号的开关,即受体与配体一经结合即是细胞下传的开始,配体、受体间的结合使 Notch 受体发生结构改变,使 Notch 受体对金属蛋白酶、 γ -secretase 酶敏感性增强,金属蛋白酶断开 Notch 受体的细胞外段, γ -secretase 酶裂开 Notch 胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD),并把 NICD 转运至细胞核内,在细胞核与细胞内效应分子(CBF1/suppressor of hairless/Lag-1, CSL)结合后可促进 Notch 基因转录,激活 Notch 信号通路^[9]。

2 Notch 信号通路与糖尿病肾病

Notch 受体及 Notch 受体配体在肾泡及逗号体阶段被测及,说明在 Notch 信号通路参与肾形成初期阶段。此外,在肾 S 形体组织中也测出 Notch1。Notch2 基因变异大鼠出现致命性的肾小球血管发育缺陷,提示此阶段 Notch 信号通路在肾脏的血管发生中可能起关键作用。众多研究结果显示,Notch 信号通路在肾脏发育的不同阶段均可见一定程度的表达,近乎参与肾脏发育的全过程^[10-12]。Notch 信号通过影响细胞形态,进而影响肾脏的结构状态。糖尿病肾病为糖尿病重要并发症之一,已成为终末期肾病的第二要因,肾间质纤维化及肾小球硬化是糖尿病肾病发展至后期的主要病理变化,而作为肾脏各阶段发育的参与者,Notch 信号通路也与糖尿病肾病肾间质纤维化、肾小球硬化调节具有密切关联。Notch 信号通路主要从以下几个方面调控糖尿病肾病发生和发展。

2.1 Notch 信号通路与足细胞损伤

足细胞损伤在糖尿病肾病中出现较早,可作为肾小球病变的标志。研究表明,糖尿病肾病可通过激活 Notch 信号通路介导足细胞损伤^[13]。Notch 通路能调节细胞凋亡、细胞增殖和细胞分化,在组织器官形态形成中发挥关键作用。在糖尿病肾病中,Notch 信号通路参与了足细胞分化过程,Notch 受体及配体在足细胞和肾小管间质均有表达,且会随着足细胞成熟而下降,而 Notch 受体及配体表达水平与糖尿病肾病病情严重程度呈正相关^[14]。体内、外实验证实,Notch 信号通路 ICN1 重复表达均可引起足细胞损伤^[15-16]。此外,转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β , TGF- β 1)也参与了足细胞

损伤的过程,TGF- β 1 激活 Notch 通路,继而激活 p53 导致足细胞损伤甚则凋亡^[17]。研究发现,阻断 Notch 信号通路可恢复足细胞的标志蛋白表达^[18]。因此,临床可通过 Notch 信号通路来减低足细胞损伤及凋亡速率,缓解糖尿病肾病阳性症状。

2.2 Notch 信号通路与肾小管间质纤维化

在糖尿病肾病发生与发展的过程中,肾小管间质纤维化及肾小管上皮-间质转化(EMT)均起到了重要作用,而 Notch 信号通路作为肾小管上皮细胞发育要素,其活性会随着肾小管上皮的成熟而发生下降^[19]。在糖尿病肾病肾小管上皮细胞中,Jagged1 表达升高;在肾脏疾病(包括糖尿病肾病)患者肾小管间质中,Notch1 蛋白表达升高,且与肾纤维化严重程度表现出高度相关性^[20]。高血糖状态下,TGF- β 可以诱导 Jagged1 表达升高,继而使得肾小管上皮细胞 Notch 信号通路被激活。Snail 具有基因表达调控作用,可以影响细胞分化,其除了能够抑制钙黏蛋白转录,降低钙黏蛋白表达,使得上皮细胞黏附力减弱甚至丧失,继而促使 EMT 发生^[21]。而 Notch 信号通路对 Snail 具有调控作用,可激活 Snail,进而 EMT^[22]。故而 Notch/Snail 信号通路与糖尿病肾病肾间质纤维化具有密切相关性。此外,生长激素(growth hormone, GH)信号过度激活也可引发肾脏纤维化,这是因为肾小球足细胞可以表达 GH 受体,当 GH 明显增多时,Notch1 信号通路也会受到影响而被激活,并由 EMT 引发肾脏纤维化^[23]。EMT 是糖尿病肾病肾单位丢失要因,但这种转化过程在一定条件下可逆,因此抑制 EMT 转化有利于延缓糖尿病肾病进展。

2.3 Notch 信号通路与血管生成

糖尿病肾病患者可出现微血管障碍,具体表现为小动脉透明样变性、微血管结构破坏等。Notch 信号通路参与了血管发育调控,可影响血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)是否成为尖端细胞或茎细胞。ECs 中 Delta-like4 水平越高,其越容易成为尖端细胞。在茎细胞中,Notch 信号通路可以使血管内皮生长因子受体 2(Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2, VEGFR 2)等表达下降,上调 VEGFR 1,继而减弱 VEGF-A 应答^[24]。尽管目前无法直接对 Notch 信号通路在糖尿病中对肾小动脉功能的作用进行评估,但是 Notch 信号通路能够通过影响血管祖细胞对血管内皮生长因子(vascularendothelial growth factor, VEGF)的敏感性

以阻碍糖尿病肾外血管生成。应用 γ -分泌酶抑制剂(DAPT)抑制Notch信号通路,能够改善糖尿病患者新生血管,调节缺血患肢灌注水平^[25]。但肾脏新血管形成是否有益于糖尿病肾病还处于探索中,Notch信号通路在糖尿病肾病内皮细胞中所扮演的角色作用仍待验证。

2.4 Notch信号通路与免疫炎症反应

炎症因子在糖尿病肾病的发病中具有重要意义,糖尿病肾病为微血管病变,以慢性低度炎症为特征,白介素-1(Interleukin-1, IL-1)和肿瘤坏死因子- α (Tumour necrosis factor- α , TNF- α)为广为研究的炎症因子,其可诱导糖尿病肾病相关通路活化。炎症环境导致肾小球相关细胞的转变、成纤维细胞分化和增殖,增加EMT,从而促进糖尿病肾病肾纤维化进程。Notch信号通路是一种参与免疫炎症反应的重要信号通路,其在细胞氧化应激、细胞炎症反应起至关重要的作用。IL-1可致Jagged1活化而上调,而TNF- α 是Notch信号通路的下游因子之一,抑制Notch信号通路可以减轻炎症反应和抑制纤维化进程,进而减缓糖尿病肾病进展,因此控制炎症表达可作为糖尿病肾病治疗的新思路。

3 总结与展望

Notch信号途径在肾脏发育中的研究不断深入进展,Notch信号与多个肾脏疾病发展的相关,可控制调节肾细胞分化,与糖尿病肾病关系密切。尽管近年已有研究结果证实,Notch信号通路通过细胞凋亡、细胞分化、炎症等机制,在糖尿病肾病发生、发展中起到一定作用,但其参与该疾病的详细机制及相关信号途径需要更多的实验证据证明。

参考文献

[1] 方晓琳,杨海波,李宪,等. HMGA2基因调控Notch信号通路对高糖诱导的肾小管上皮细胞凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(7): 1261-1267.

[2] 张慧,梁栋,林千愉,等. Notch信号通路对糖尿病肾脏疾病发生发展作用的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2021, 29(10): 790-794.

[3] 汪姣,谢贵交,徐积兄. 糖尿病肾脏疾病中表观遗传修饰与miRNAs相互作用的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(3): 738-740.

[4] 李婷,于青. Notch信号通路在肾脏发育和肾脏疾病的机制研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志, 2014, 34(4): 589-592.

[5] 曾庆敏,李均. Wnt和Notch信号通路在肾纤维化中的作用研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2019, 20

(12): 1124-1126.

[6] 马东红,王志信,吕玉敏,等. 糖尿病肾脏疾病与其他慢性肾脏疾病腹膜透析患者临床特点及心血管疾病患病率和危险因素的对比分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(12): 903-910.

[7] Bonegio R, Susztak K. Notch signaling in diabetic nephropathy[J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(9): 986-992.

[8] 高林,杨炎林,孙崇凯,等. 肾脏不同细胞间对话在糖尿病肾脏疾病中的研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2021, 29(11): 867-870.

[9] 高峰,刘淑霞,赵玉峰,等. Notch信号通路在糖尿病小鼠肾组织的表达及意义[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2014, 23(5): 445-449.

[10] 刘利飞,李雅纯,国芳,等. Notch通路在糖尿病肾病大鼠的表达及化痰通络中药的干预作用[J]. 中草药, 2018, 49(8): 1866-1870.

[11] Jing Z, Hu L, Su Y, et al. Potential signaling pathway through which Notch regulates oxidative damage and apoptosis in renal tubular epithelial cells induced by high glucose [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021, 41(4): 357-362.

[12] Tung C, Hsu Y, Shih Y, et al. Glomerular mesangial cell and podocyte injuries in diabetic nephropathy [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2018, 23(Suppl 4): 32-37.

[13] Pagie S, Gérard N, Charreau B. Notch signaling triggered via the ligand DLL4 impedes M2 macrophage differentiation and promotes their apoptosis [J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1): 4.

[14] Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, et al. Longterm prevention of renalin sufficiency, excess matrix gene expression and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal anti transforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(14): 8015-8020.

[15] 方堃,许丹,余晓洋,等. 2型糖尿病患者非糖尿病肾脏疾病临床病理特征分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2021, 29(6): 416-421.

[16] Liu L, Gao C, Chen G, et al. Notch signaling molecules activate TGF-beta in rat mesangial cells under high glucose conditions [J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013: 979702.

[17] Shimizu K, Chiba S, Kumano K, et al. Mouse jagged1 physically interacts with notch2 and other notch receptors. Assessment by quantitative methods [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(46): 32961-32969.

[18] 吴丹琳,叶健斌,温俊杰,等. Notch信号通路在肿瘤免疫中对巨噬细胞的调控作用[J]. 免疫学杂志, 2019, 35(4): 356-362.

[19] 孙倩,李姗姗,杨少宁,等. 中医药调控Notch信号通路防治肾脏疾病研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(24): 227-234.

[20] 李东哲,王丹丹,蔡明,等. 糖尿病肾病影响因素及相关信号通路研究进展[J]. 承德医学院学报, 2020, 37(4): 333-337.

(下转第372页)

合肥地区不孕不育患者 *MTHFR* 基因多态性分析

穆薇智¹ 张蕾^{2*}

[摘要] **目的** 通过分析亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)基因 C677T 位点基因多态性,探讨合肥地区不孕不育与 *MTHFR* 基因 C677T 位点多态性的相关性。**方法** 采用实时荧光 PCR 技术,测定 2 995 例不孕不育患者(疾病组)和 1 122 名正常育龄人群(对照组)全血样本中 *MTHFR* 基因 C677T 基因型。通过统计学分析,比较该地区不孕不育患者与正常育龄人群 *MTHFR* C677T 基因多态性分布差异。**结果** 检出 *MTHFR* C677T 多态性分别为 CC、CT、TT 3 种基因型,疾病组基因型分布频率依次为 CC 26.44%、CT 48.05%、TT 25.51%,与对照组基因型分布频率(CC 37.17%、CT 46.79%、TT 16.04%)比较,差异有统计学意义($\chi^2=64.121, P<0.001$)。疾病组 *MTHFR* C677T 等位基因分布频率与对照组比较,差异也有统计学意义,其中疾病组等位基因 C 的分布频率低于对照组,而等位基因 T 的分布频率则高于对照组($\chi^2=66.809, P<0.001$)。等位基因 T 发生不孕不育的风险是 C 基因的 1.507 倍。含有等位基因 T 的基因型相对于 CC 基因型也增加了不孕不育的发病风险,其中 CT 是 CC 的 1.443 倍,TT 是 CC 的 2.235 倍。但在原发不孕和继发不孕患者 *MTHFR* C677T 无论是基因型还是等位基因分布频率比较都无统计学意义($\chi^2=3.407, P=0.182; \chi^2=0.734, P=0.391$)。**结论** 合肥地区不孕不育与 *MTHFR* C677T 基因多态性具有一定相关性,T 等位基因可成为不孕不育发病的危险因素。

[关键词] 不孕不育;亚甲基四氢叶酸还原酶;叶酸;单核苷酸多态性

Association of *MTHFR* gene polymorphism with infertility in Hefei

MU Weizhi¹, ZHANG Lei^{2*}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China, 230001; 2. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China (USTC), Hefei, Anhui, China, 230001)

[ABSTRACT] **Objective** To determine whether 5, 10 - methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T gene poly-morphisms is associated with infertility in Hefei. **Methods** In this study, blood samples were collected from 2 995 patients with infertility and 1 122 healthy individuals in the childbearing age. Single nucleotide polymorphism (SNP) analysis was carried out in genomic DNA by Real time polymerase chain reaction (PCR) method for *MTHFR* C677T genotypes. Statistical analyses were performed for distribution of *MTHFR* C677T genotypes and alleles between control and infertile populations. **Result** The *MTHFR* C677T polymorphisms were detected as CC, CT, and TT genotypes, and the genotype distribution frequencies of the disease group were CC 26.44%, CT 48.05%, and TT 25.51%, respectively, and the genotype distribution frequencies of the control group (CC 37.17%, CT 46.79%, TT 16.04%), the difference was statistically significant ($\chi^2=64.121, P<0.001$). The distribution frequency of the *MTHFR* C677T allele in the disease group was also significantly different from that in the control group. The distribution frequency of the allele C in the disease group was lower than that in the control group, while the distribution frequency of the allele T in the disease group was higher than that in the control group ($\chi^2=66.809, P<0.001$). The risk of infertility for the

基金项目:国家自然科学基金项目(82003740);中国博士后科学基金第 69 批面上项目(2021M693102);中央高校基本科研业务费专项资金(WK9110000079)

作者单位:1. 安徽中医药大学药学院,安徽,合肥 230001

2. 中国科学技术大学附属第一医院药剂科,安徽,合肥 230001

*通信作者:张蕾, E-mail:76zhanglei@163.com

allele T was 1.507 times that of the C gene. Compared with the CC genotype, the genotype containing the allele T also increased the risk of infertility, among which CT was 1.443 times that of CC, and TT was 2.235 times that of CC. However, there was no statistical significance in the genotype or allele distribution frequency of *MTHFR* C677T in patients with primary infertility and secondary infertility ($\chi^2=3.407$, $P=0.182$; $\chi^2=0.734$, $P=0.391$). **Conclusion** Infertility in Hefei has a certain correlation with *MTHFR* C677T gene polymorphism, and T allele can be a risk factor for infertility.

[KEY WORDS] Infertility; Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*); Folic acid; Single nucleotide polymorphisms

叶酸是水溶性的B族维生素,参与核苷酸及蛋白质合成,在细胞增殖过程中发挥着重要作用,其在体内需经过多种酶催化才具有代谢活性。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*)是人体内叶酸代谢的关键酶。研究^[1]表明 *MTHFR* 基因突变可引起酶活性的改变,导致叶酸代谢异常,造成叶酸水平降低、同型半胱氨酸水平升高。*MTHFR* 基因最常见的突变位点是 677C→T,在生殖健康领域中 *MTHFR* C677T 的多态性常与复发性流产、胎儿神经管畸形及不孕不育等有关。但目前研究^[2-4]对叶酸代谢基因 *MTHFR* C677T 多态性与不孕不育的相关性尚存争议。本研究通过对安徽省合肥市某三甲医院就诊的不孕不育患者进行 *MTHFR* 基因 C677T 检测,并对多态性数据进行分析,旨在探讨 *MTHFR* 基因 C677T 多态性与该地区不孕不育的相关性,以期对生殖健康和叶酸增补提供依据。报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2021年1至6月安徽省合肥市某三甲医院就诊明确诊断为不孕不育的2995例患者为疾病组,年龄为19~55岁,其中女性不孕患者1261例,年龄为(30.46±4.85)岁;男性不育患者1734例,年龄为(31.72±5.25)岁。以1122名正常育龄人群为对照组,年龄18~50岁。其中女性611名,年龄为(29.59±3.99)岁;男性511名,年龄为(30.02±4.88)岁。并将女性不孕患者根据医院病案信息管理系统进行溯源,其中明确诊断为原发性不孕患者206例,继发性不孕患者140例,诊断为不孕症但是无法区分原(继)发性不孕症患者915例。各组均进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验,符合遗传平衡($P>0.05$),均具有群体代表性。

由于本研究为回顾性分析,客观上不可能获得受试者的知情同意且该临床研究对受试者几乎

没有风险,适用免于知情同意。

1.2 实验方法与仪器

1.2.1 标本准备和核酸提取

抽取外周全血2 mL, EDTA-K₂抗凝,吸取200 μ L进行全血DNA提取纯化,核酸浓度不少于20 ng/ μ L,纯度OD 260/OD 280=1.7~2.0。核酸提取与纯化试剂购置于安徽同科生物科技有限公司。

1.2.2 *MTHFR* 基因 C677T 多态性位点检测

取待测标本核酸和质控品各4 μ L加入 *MTHFR* 基因 C677T 扩增体系中,设置反应条件为50°C 2 min, 1个循环;95°C 2 min, 1个循环;PCR循环:95°C变性15 s, 60°C退火与延伸60 s,并在60°C退火与延伸步骤收集荧光,循环数为45次。扩增结束后依据试剂说明书进行结果判读,通过报告荧光的的不同分辨出样本中 *MTHFR* 基因 C677T 位点的基因型。严格按照试剂说明书操作。*MTHFR* C677T 检测试剂购置于深圳泰乐德医疗有限公司。

1.2.3 主要仪器

美国ABI公司生产的7500型实时荧光PCR仪。

1.3 统计方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析,其中计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用Hardy-Weinberg平衡定律检验各组样本代表性。与疾病发生的关联程度用优势比(OR)及95%可信区间(CI)表示,评估相对风险度。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *MTHFR* 基因 C677T 位点基因型分布频率比较

疾病组与对照组,不孕组与女性对照组,不育组和男性对照组基因型的分布频率比较,差异都有统计学意义($P<0.05$)。在不同基因型的分组比较中,CC基因型分布频率疾病组低于对照组,

TT 基因型高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 CT 基因型在各组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 *MTHFR* 基因 C677T 位点的基因型分布频率比较 [n(%)]

组别	n	基因型分布频率			χ^2 值	P 值
		CC	CT	TT		
疾病组	2 995	792 (26.44)	1 439 (48.05)	764 (25.51)	64.121	<0.001
对照组	1 122	417 (37.17)	525 (46.79)	180 (16.04)		
χ^2 值		45.235	0.516	41.390		
P 值		<0.001	0.473	<0.001		
不孕组	1 261	337 (26.72)	603 (47.82)	321 (25.46)	21.003	<0.001
女性对照组	611	214 (35.02)	290 (47.46)	107 (17.51)		
χ^2 值		13.650	0.021	14.726		
P 值		<0.001	0.885	<0.001		
不育组	1 734	455 (26.24)	836 (48.21)	443 (25.55)	46.681	<0.001
男性对照组	511	203 (39.73)	235 (45.99)	73 (14.28)		
χ^2 值		34.646	0.783	28.280		
P 值		<0.001	0.376	<0.001		

注: *P 疾病组与对照组基因型总体分布频率比较; *P 疾病组与对照组各基因型分布频率比较。

2.2 *MTHFR* 基因 C677T 位点等位基因分布频率比较

无论疾病组总体还是不孕组和不育组分别与相应的对照组进行 *MTHFR* C677T 等位基因的分布频率比较, 疾病组的等位基因 C 分布频率低于对照组, 而等位基因 T 分布频率则高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 *MTHFR* 基因多态性与不孕不育的发病风险估计

等位基因 T 发生不孕不育的风险是 C 基因的 1.507 倍, 风险增加 50.7%。含有突变等位基因 T 的基因型相对于 CC 基因型也增加了不孕不育的发病风险, 突变型 (CT+TT) 是野生型 CC 的 1.645

表 2 *MTHFR* 基因 C677T 位点的等位基因分布频率比较 [n(%)]

组别	n	等位基因分布频率		χ^2 值	P 值
		C	T		
疾病组	2 995	3 023 (50.47)	2 967 (49.53)	66.809	<0.001
对照组	1 122	1 359 (60.56)	885 (39.44)		
χ^2 值		66.809	66.809		
P 值		<0.001	<0.001		
不孕组	1 261	1 277 (50.63)	1 245 (49.37)	21.813	<0.001
女性对照组	611	718 (58.76)	504 (41.24)		
χ^2 值		21.813	21.813		
P 值		<0.001	<0.001		
不育组	1 734	1 746 (50.35)	1 722 (49.65)	48.542	<0.001
男性对照组	511	641 (62.72)	381 (37.28)		
χ^2 值		48.542	48.542		
P 值		<0.001	<0.001		

注: *P 疾病组与对照组等位基因总体分布频率比较; *P 疾病组与对照组各等位基因分布频率比较。

倍, 风险增加 64.5%; 其中 CT 是 CC 的 1.443 倍, 风险增加 44.3%; TT 是 CC 的 2.235 倍, 风险增加 123.5%。见表 3。

表 3 *MTHFR* 基因多态性与不孕不育的发生风险关系

Table 3 The relationship of *MTHFR* C677T gene Polymorphisms and Infertility

基因型	疾病组	对照组	OR(95% CI) 值	χ^2 值	P 值
CC	792	417	1.000		
CT	1 439	525	1.443 (1.236~1.685)	21.589	<0.001
TT	764	180	2.235 (1.828~2.732)	62.925	<0.001
CT+TT	2 203	705	1.645 (1.422~1.903)	45.235	<0.001
C	3 023	1 359	1.000		
T	2 967	885	1.507 (1.366~1.663)	66.809	<0.001

2.4 原发性和继发不孕组患者 *MTHFR* 基因 C677T 基因型及等位基因分布频率比较

原发性不孕和继发性不孕患者无论是 *MTHFR* C677T 基因型和等位基因分布频率的差异都没有统计学意义 (P 值均 > 0.05)。见表 4。

表 4 原发/继发不孕组 *MTHFR* 基因 C677T 基因型及等位基因分布频率 [n(%)]

Table 4 Comparison of the frequency of *MTHFR* C677T genotypes and alleles between Primary and secondary infertile women [n(%)]

组别	n	基因型分布频率			χ^2 值	P 值	等位基因分布频率		χ^2 值	P 值
		CC	CT	TT			C	T		
原发不孕	206	64 (31.07)	82 (39.80)	60 (29.13)	3.407	0.182	210	202	0.734	0.391
继发不孕	140	42 (30.0)	68 (48.57)	30 (21.43)			152	128		
χ^2 值		0.045	2.608	2.566						
P 值		0.832	0.106	0.109						

注: *P 组原发不孕组与继发不孕组基因型总体分布比较; *P 原发不孕组与继发不孕组各基因型频率比较; *P 原发不孕组与继发不孕组等位基因总体分布频率比较。

3 讨论

MTHFR 是叶酸与甲硫氨酸-同型半胱氨酸代谢循环中的关键酶,主要作用是在叶酸代谢通路中将 5,10-亚甲基四氢叶酸转化成为人体内具有生物学活性的叶酸形式-5-甲基四氢叶酸。MTHFR 基因常见突变位点 C677T 发生突变后易引起酶活性降低或丧失,导致叶酸浓度降低和同型半胱氨酸(HCY)浓度升高,引起氧化应激增加,进而影响 DNA 合成和甲基化,对生殖功能造成损害^[2]。近年来,关于 MTHFR 基因多态性与不孕不育发生的相关研究日益增多^[5-6]。Ménézo 等^[7]报道不孕不育患者的 MTHFR C677T 多态性分布无性别差异。Shi 等^[8]报道 C677T 基因位点的多态性与亚洲地区男性不育存在相关。在本研究中,无论是对 2 995 名不孕不育患者总体和 1 122 名正常育龄人群的 MTHFR 基因 C677T 基因位点进行多态性比较,还是对 1 734 例男性不育患者和男性对照组的 MTHFR 基因 C677T 基因位点多态性进行比较分析,结果发现无论是 MTHFR C677T 基因型还是等位基因的分布频率差异在疾病组和对照组间均有统计学意义,支持 C677T 基因位点的多态性与不育存在相关性的观点^[9]。而国内外研究^[4,10]亦有报道 MTHFR 基因 C677T 位点的基因型多态性和男性不育没有相关性。研究结果的不一致原因可能是 MTHFR C677T 基因多态性存在地区和人种的差异。

Ménézo 等^[7]发现不孕不育患者中表达 MTHFR 基因 C677T 位点突变型基因型的患者比例高达 56%, Shi 等^[8]对 MTHFR C677T 基因多态性的 5 种遗传模型和亚洲地区男性不育关系进行分析,结果说明 MTHFR 基因 C677T 位点突变增加了不育的发病风险。本研究从 MTHFR C677T 基因多态性的 CT/CC、TT/CC、CT+TT/CC 及 T/C4 种遗传模型进行 MTHFR C677T 基因多态性与不孕不育发病关系进行分析,发现等位基因 T 比 C 基因发生不孕不育的风险增加 50.7%;突变型基因型(CT+TT)比野生型 CC 的发病风险增加 64.5%,其中基因型 CT 比 CC 增加 44.3%;而纯合突变基因型 TT 比 CC 风险增加高达 123.5%。

女性受孕生育有着更为复杂的生理机制,诸多因素引起不孕,其中叶酸代谢异常也是原因之一^[11]。有报道^[3]MTHFR 基因 C677T 位点的多态性与塞尔维亚不明原因不孕发病相关。国内也报道

MTHFR 基因 C677T 位点的多态性与西藏地区汉族女性原发性不孕症存在相关性^[12]。本研究对 1 261 例不孕患者与 611 例正常孕产女性的 MTHFR C677T 基因多态性进行分析,不孕组的 CC 基因型和等位基因 C 的分布频率均低于正常孕产女性,而 TT 基因型和等位基因 T 分布频率则高于正常组,分布频率差异有统计学意义,提示 MTHFR 基因 C677T 位点的多态性与合肥地区不孕发生相关。但是也有 MTHFR 基因 C677T 位点的多态性与女性不孕症发生不存在相关性的观点^[13-15],存在争议的原因可能来源于研究对象的地域和种族的差异。原发性和继发性不孕的病因明显不同,笔者对诊断明确的原发性和继发性不孕患者的 MTHFR C677T 基因型和等位基因分布频率进行分析,结果无论是 MTHFR C677T 基因型或者等位基因分布频率在这两组差异都没有统计学意义,说明在合肥地区原发性和继发性不孕患者的 MTHFR C677T 基因多态性分布特征相似。

综上,本研究通过回顾性分析,了解本地区人群 MTHFR C677T 多态性分布特征,为后续叶酸个体化增补的相关研究提供依据。尽管由于地域差异,研究方法等原因导致 MTHFR 基因多态性与不孕不育发生的相关研究结果不尽相同^[16],然而叶酸代谢相关基因多态性对于叶酸的精准医疗意义已成共识。

参考文献

- [1] 周佳菁,袁箐,韩峻松,等.亚甲基四氢叶酸还原酶多态性的临床应用研究进展[J].医学综述,2018,24(7):1266-1272.
- [2] 郭凯敏,田润辉.MTHFR 基因多态性与不孕不育关系的研究进展[J].中华男科学杂志,2016,22(2):171-174.
- [3] Milenkovic J, Milojkovic M, Mitic D, et al. Interaction of thrombophilic SNPs in patients with unexplained infertility - multifactor dimensionality reduction (MDR) model analysis [J]. J Assist Reprod Genet, 2020,37:1449-1458.
- [4] Raigani M, Lakpour N, Soleimani M, et al. Association of MTHFR C677T and MTRR A66G Gene Polymorphisms with Iranian Male Infertility and Its Effect on Seminal Folate and Vitamin B12[J]. Int J Fertil Steril, 2021,15(1):20-25.
- [5] Ghaderian SMH, Akbarzadeh R, Salehpour S. Involvement of single nucleotide polymorphisms in ovarian poor response [J]. J Assist Reprod Genet, 2021,38(9):2405-2413.
- [6] Zeng H, Liu Z, Zhang L, Liu N. MTHFR 677TT is associated with decreased number of embryos and cumulative live birth rate in patients undergoing GnRHa short protocol: a retrospective study[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2022,22(1):170.

(下转第 377 页)

数字PCR检测循环肿瘤DNA中HER2基因扩增对胃癌的预后评估

刘厚聪¹ 周和凯¹ 王纪东¹ 付晓红² 杜冀晖^{1*}

[摘要] **目的** 探讨基于数字PCR(dPCR)检测循环肿瘤DNA(ctDNA)中人类表皮生长因子受体2(HER2)基因扩增在胃癌进展监测及预后评估的临床应用价值。**方法** 选取2018年11月至2020年12月华中科技大学协和深圳医院收治的60例胃癌患者为病例组,以同期20名健康体检者为对照组。建立dPCR技术方法检测胃癌患者ctDNA中HER2基因扩增及阳性阈值,评价其与免疫组织化学(IHC)联合荧光原位杂交技术(FISH)病理诊断HER2表达结果一致性,分析胃癌患者术前ctDNA中HER2基因扩增与临床病理特征的关系。同时选择24例Ⅲ、Ⅳ期的进展期胃癌患者纳入随访研究,分析术后监测ctDNA中HER2基因扩增与无进展生存时间的关系。**结果** HER2基因扩增比值的阳性阈值设为1.40,dPCR技术定量检测ctDNA中HER2基因扩增的敏感度、特异性分别达到0.90、0.94;胃癌患者dPCR检测HER2基因扩增、IHC与FISH联合检测HER2表达阳性率分别为20%(12/60)、16.7%(10/60),两种方法检测结果符合率一致性较好($\kappa=0.778, P<0.01$)。dPCR检测胃癌患者术前ctDNA的HER2基因扩增阳性患者的肿瘤组织高-中分化、远处转移比例明显高于HER2阴性者,差异有统计学意义($P<0.05$)。进展转移组患者ctDNA中HER2基因扩增比值为 (1.88 ± 0.76) ,明显高于无进展转移组的 (1.14 ± 0.42) ,差异有统计学意义($P<0.05$)。HER2基因扩增阳性患者的中位无进展生存时间(PFS)为8.5月,明显低于HER2阴性患者的18.9月,风险比率(hazard ratio, HR)为0.321(95%CI: 0.12, 0.90),差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 利用dPCR技术不仅可以定量检测ctDNA中HER2基因扩增比值水平,还适用于晚期或进展转移胃癌患者术后监测HER2基因扩增变化,对于胃癌进展及预后评估具有一定临床应用意义。

[关键词] 数字PCR; 人类表皮生长因子受体2; 循环肿瘤DNA; 胃癌

Prognostic assessment of gastric cancer by detection of HER2 gene amplification in circulating tumor DNA by digital PCR

LIU Houcong¹, ZHOU Hekai¹, WANG Jidong¹, FU Xiaohong², DU Jihui^{1*}

(1. Research Center for Clinical and Translational Medicine, Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518052; 2. Department of Oncology, Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518052)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical application of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) gene amplification in circulating tumor DNA (ctDNA) based on digital PCR (dPCR) in gastric cancer progression monitoring and prognosis evaluation. **Methods** The 60 gastric cancer patients admitted to Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital from November 2018 to December 2020 were selected as the case group, and 20 healthy subjects in the same period were selected as the control group. Digital PCR method was established to detect HER2 gene amplification and positive threshold in ctDNA of gastric cancer patients, and its consistency with immunohistochemistry (IHC) combined with fluorescence in situ hybridization (FISH) pathological diagnosis of HER2 expression was evaluated. The

基金项目:深圳市卫生系统科研资助项目(SZLY2018013)

作者单位:1. 华中科技大学协和深圳医院临床医学转化中心,广东,深圳518052

2. 华中科技大学协和深圳医院肿瘤科,广东,深圳518052

*通信作者:杜冀晖, E-mail: jihuidu@email.szu.edu.cn

relationship between *HER2* gene amplification and clinicopathological features in preoperative ctDNA of patients with gastric cancer was analyzed. Meanwhile, 24 patients with stage III and IV advanced gastric cancer were included in the follow-up study to analyze the relationship between *HER2* gene amplification in postoperative ctDNA and progression-free survival time. **Results** The positive threshold of the *HER2* gene amplification ratio was set at 1.40. The sensitivity and specificity of *HER2* gene amplification in ctDNA were 0.90 and 0.94, respectively. The positive rate of *HER2* gene amplification detected by dPCR and *HER2* expression by IHC combined with FISH was 20% (12/60) and 16.7% (10/60), respectively. The coincidence rate of the two methods was good ($\kappa=0.778$, $P<0.01$). The proportion of tumor tissues with high-moderate differentiation and distant metastasis in gastric cancer patients with preoperative ctDNA positive amplification of *HER2* gene detected by dPCR was significantly higher than that in *HER2*-negative patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The ratio of *HER2* gene amplification in the ctDNA in the patients with progressive metastasis was (1.88 ± 0.76), which was significantly higher than that in the non-progressive metastasis group (1.14 ± 0.42), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The median progression-free survival (PFS) of *HER2* gene amplification-positive patients was 8.5 months, which was significantly lower than that of *HER2*-negative patients of 18.9 months, with a hazard ratio (HR) of 0.321 (95% CI: 0.12, 0.90). The difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Using dPCR technology can not only quantitatively detect the *HER2* gene amplification ratio level in ctDNA, but also is suitable for postoperative monitoring of *HER2* gene amplification changes in patients with advanced or advanced metastatic gastric cancer, which has certain clinical significance for the evaluation of gastric cancer progression and prognosis.

[KEY WORDS] Digital PCR; Human epidermal growth factor receptor 2; Circulating tumor DNA; Gastric cancer

胃癌 (Gastric cancer, GC) 是常见的恶性肿瘤之一, 全球每年新发病例约 120 万, 60% 以上患者就诊时已为局部晚期或进展期, 5 年生存率不足 30%^[1], 寻找新治疗靶点及监测指标值得关注。研究发现, 人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor 2, *HER2*) 在乳腺癌、结肠癌、胃癌等多种肿瘤中存在不同程度的基因扩增和/或蛋白过表达, 参与了肿瘤细胞的增殖、分化、转移^[2]。针对 *HER2* 阳性的乳腺癌靶向治疗已达成共识^[3], 但采用免疫组织化学 (Immunohistochemistry, IHC) 检测 *HER2* 在胃癌中的表达率为 6.8%~34.0% 不等^[4], 差异较大且与胃癌的临床病理特征、预后的关系尚无一致结论, 主要原因可能与 *HER2* 基因扩增的检测方法、评分标准及肿瘤组织异质性等有关^[4]。近年来研究表明, 利用微滴式数字 PCR (droplet digital PCR, dPCR) 技术对循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 进行绝对核酸定量检测可用于肿瘤的治疗监测及预后评估^[5-6], 成为一种高灵敏的非侵入性肿瘤“液体活检”创新方法。本研究采用 dPCR 技术对胃癌患者外周血 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增进行检测, 分析其与肿瘤组织样本 IHC/FISH 结果的一致性, 探讨术后监测 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增在胃癌复发进

展、预后评估中临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2018 年 11 月至 2020 年 12 月华中科技大学协和深圳医院收治的 60 例胃癌患者为研究对象纳入病例组, 纳入标准: 依据美国癌症联合委员会/国际抗癌联盟 (AJCC/UICC) 胃癌 TNM 分级系统 (2016 年第 8 版)^[7], 经胃镜或手术、组织病理学确诊为胃腺癌。排除标准: 患有其他恶性肿瘤, 或患有其他严重影响身体机能的重大疾病。其中男性 43 例, 女性 17 例, 平均年龄 (59.36 ± 12.03) 岁。所纳入的胃癌患者于术前采集外周血样本, 同时选择 24 例 III、IV 期的进展期胃癌患者纳入治疗动态监测研究, 于术后每隔 3~6 个月检测外周血 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增状态, 并经 CT 等影像学评估肿瘤进展转移情况。选取 20 名同期在本院做健康体检者作为对照组, 男性 14 名, 女性 6 名, 平均年龄 (55.28 ± 10.15) 岁, 入选者身体健康, 无其他影响本研究的疾病。两组一般资料比较差无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准通过, 受试者均签署知情同意书。

1.2 血浆标本的收集和循环游离DNA提取

胃癌患者及健康对照者空腹采集 EDTA-Na₂ 抗凝血 10 mL, 血标本采集后 2 h 内 4℃、1 600 g 离心 10 min。取上清液 4℃、10 000 g 离心 10 min。收集血浆于 -80℃ 保存待用。按照试剂制造商的说明, 使用 QIAamp 循环核酸提取试剂盒 (Qiagen, Inc. Valencia, CA, USA) 从血浆中提取外周血中的游离 DNA, 用于后续 dPCR 检测分析。

1.3 IHC 及 FISH 检测 HER2 表达及结果判读

胃癌石蜡病理组织标本按照常规免疫组织化学 IHC 染色方法, 采用罗氏 Benchmark XT 全自动免疫组化分析仪对 HER2 表达进行检测, HER2 评分为 2+ 的不确定病例进行荧光原位杂交 (Fluorescence in situ hybridization, FISH) 检测。根据《胃癌 HER2 检测指南 (2016 版)》^[8], IHC 评分为 3+ 则判读为 HER2 表达阳性, IHC 评分为 0 和 1+ 则判读为阴性, IHC 评分为 2+ 时则需进行 FISH 检测, 以 IHC2+/FISH 阳性判读为 HER2 表达阳性。

1.4 dPCR 定量检测 ctDNA 中 HER2 基因扩增拷贝数

以 Pumilio RNA 结合家族成员 1 (PUM1) 作为内参比基因, 利用探针法荧光定量 PCR 方法设计 HER2、PUM1 探针, 建立及优化 dPCR 检测体系。采用 Bio-Rad QX200 dPCR 系统检测 HER2 基因扩增, 将配制好的 PCR 扩增体系混匀, 加入液滴发生仪中制备微滴。转移 40 μL 微滴至 96 孔 PCR 反应板, 于 Bio-Rad T100 PCR 仪进行扩增。PCR 反应条件为 95℃ 预变性 10 min, 接着 94℃ 30 s、59℃ 1 min 共 40 个循环。将 PCR 反应板转移至液滴分析仪, 进行微滴计数及荧光信号检测; 利用 QuantaSoft Analysis 软件对液滴进行分类, 计算 HER2 和 PUM1 的拷贝数 (Copy Number, CN), HER2 基因扩增比值 (Ratio) = HER2 基因拷贝数 / PUM1 参比基因拷贝数。

1.5 预后随访

采用门诊定期复查、电话回访等方式每隔 3~6 个月进行随访, 截止时间为 2021 年 10 月 31 日, 随访内容为患者治疗疗效、进展转移和生存情况, 依据患者经治疗后肿瘤病灶增大 ≥20%、或出现新发转移则归为进展转移组, 反之则为无进展转移组, 计算无进展生存期 (Progression Free Survival, PFS)。

1.6 统计分析方法

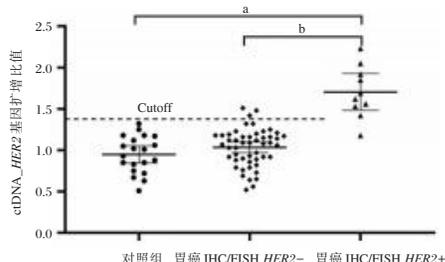
采用 SPSS 21.0 软件进行数据统计; 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验; 计数

资料以 *n*(%) 表示, 比较采用 Fisher's exact 检验; 采用 kappa 一致性检验分析 dPCR 检测与 IHC 联合 FISH 检测 HER2 结果符合率的一致性, 当 $\kappa > 0.75$ 、 $P < 0.01$ 认为两检测方法一致性较好; 采用 Kaplan-Meier 法描述生存曲线, Log-rank 检验比较 HER2 基因扩增与无进展生存期 (PFS) 的关系; 所有检验均为双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 dPCR 检测 ctDNA 中 HER2 基因扩增阳性阈值及检测特异性、敏感性

依据正常对照组 ctDNA 中 HER2 基因扩增比值 (0.95 ± 0.22) 的均值 + 2SD 为临界值 (cutoff), 将 HER2 基因扩增阳性阈值设为 1.40。见图 1。受试者工作曲线分析显示, dPCR 检测胃癌患者 ctDNA 中 HER2 基因扩增的敏感度、特异性分别为 0.90、0.94, 曲线下面积 (Area under curve, AUC) > 0.95。见图 2。



注: 与正常对照组比较, $^a P < 0.01$; 与胃癌 IHC/FISH (-) 组比较, $^b P < 0.01$ 。

图 1 dPCR 检测 ctDNA 中 HER2 基因扩增比值阳性阈值
Figure 1 The amplification ratio and positive threshold of HER2 in ctDNA detected by dPCR

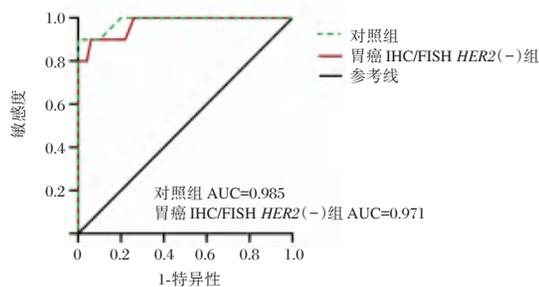


图 2 ROC 曲线图

Figure 2 ROC curve

2.2 dPCR 检测胃癌患者 ctDNA 中 HER2 扩增与 IHC/FISH 检测 HER2 表达结果比较

胃癌患者 dPCR 检测 HER2 基因扩增、IHC 与 FISH 联合检测 HER2 表达阳性率分别为 20% (12/60)、16.7% (10/60)。经 Kappa 一致性检验分析, 两

种方法检测 *HER2* 基因扩增表达结果符合率一致性较好 ($\kappa=0.778, P<0.01$)。见表1。

表1 dPCR检测胃癌患者ctDNA中*HER2*扩增与IHC/FISH检测结果比较

Table 1 Comparison of *HER2* amplification in ctDNA of gastric cancer patients by dPCR with IHC/FISH detection results

IHC联合FISH检测	dPCR检测 ctDNA <i>HER2</i> 扩增		合计
	+	-	
+	9	1	10
-	3	47	50
合计	12	48	60

注:kappa一致性检验, $\kappa=0.778, P<0.01$ 。

2.3 胃癌患者术前ctDNA中*HER2*基因扩增与临床病理特征的关系

dPCR检测胃癌患者术前ctDNA中*HER2*基因扩增阳性、阴性组的年龄、性别、肿瘤TNM分期和淋巴结转移比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 而ctDNA的*HER2*基因扩增阳性患者的肿瘤组织高-中分化、远处转移比例明显高于*HER2*阴性者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表2。

表2 胃癌患者术前ctDNA中*HER2*基因扩增状态与临床病理特征比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of clinical characteristics and *HER2* gene amplification status in preoperative ctDNA of patients with gastric cancer [n(%)]

临床病理特征	ctDNA中 <i>HER2</i> 基因扩增状态		P值	
	阴性(n=50)	阳性(n=12)		
年龄	<60	17(80.9)	4(19.1)	0.839
	≥60	31(79.5)	8(20.5)	
性别	男	33(76.7)	10(23.3)	0.479
	女	15(88.2)	2(11.8)	
肿瘤TNM分期	I~II期	11(78.6)	3(21.4)	0.819
	III~IV期	37(80.4)	9(19.6)	
肿瘤分化程度	高-中分化	13(61.9)	8(38.1)	0.017
	低分化	35(89.7)	4(10.3)	
远处转移	无(M0)	30(90.9)	3(9.1)	0.026
	有(M1)	18(66.7)	9(33.3)	
淋巴结转移	无	18(72.0)	7(28.0)	0.211
	有	30(85.7)	5(14.3)	

注:Fisher's exact test。

2.4 胃癌患者术后监测ctDNA中*HER2*基因扩增与病情进展及预后的关系

24例胃癌患者术后定期复查至随访结束, 发生进展转移16例、死亡11例, 生存率为54.2%(13/24)。进展转移组患者ctDNA中*HER2*基因扩增比值为(1.88±0.76), 明显高于无进展转移组的(1.14±0.42), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。生存

曲线分析提示ctDNA中*HER2*基因扩增阳性患者的中位无进展生存时间(PFS)为8.5月, 明显低于*HER2*阴性患者的18.9月, 风险比率(hazard ratio, HR)为0.321(95%CI: 0.12, 0.90), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见图3。

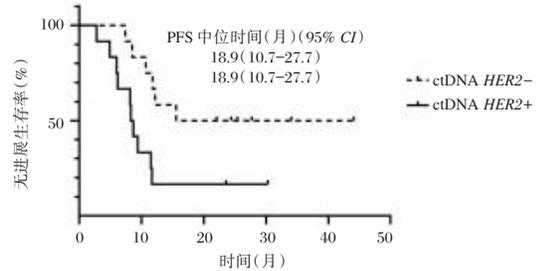


图3 胃癌患者ctDNA中*HER2*基因扩增与预后的关系
Figure 3 Relationship between *HER2* gene amplification in ctDNA and prognosis in patients with gastric cancer

3 讨论

研究表明*HER2*是肿瘤发生的关键驱动因子, 参与肿瘤细胞增殖、粘附、迁移和分化^[4], 众多国内外指南和共识提出*HER2*表达状态是乳腺癌重要的预后评估指标和抗*HER2*治疗选择的主要预测指标^[3,9], 但是*HER2*的过表达能否作为胃癌患者治疗和影响预后的指标仍存在争议^[10-11]。目前临床常规采用IHC与FISH结合方案诊断肿瘤组织*HER2*表达, 存在肿瘤异质性、判读结果主观性、操作繁琐等缺点^[12]。因此, 需要更精准、客观、灵敏的*HER2*基因扩增表达检测方法。ctDNA是由肿瘤细胞释放的、携带有肿瘤特异性突变的游离基因组片段, 能克服常规肿瘤组织活检所无法突破的肿瘤时间、空间异质性问题^[13], 结合数字PCR高灵敏度、特异性和绝对定量技术优势, 已被证实可用于乳腺癌、胃癌等ctDNA中*HER2*的扩增拷贝数检测分析^[14-16]。

本研究结果显示, 利用dPCR技术可以准确定量检测ctDNA中*HER2*基因扩增比值, 检测敏感性、特异性分别达到90%、94%; 值得注意的是有3例胃癌患者IHC联合FISH检测为阴性, 而dPCR检测ctDNA转变为*HER2*阳性, 可能是由于血清与组织不同样本保存状态、DNA与蛋白质水平的表达差异所致。一项研究显示, 53.84%(7/13)初次手术时*HER2*阴性的胃癌患者, 在术后随访中采用dPCR方法检测血浆中*HER2*基因扩增呈现较高的阳性转换率^[16], 可能与肿瘤时空异质性或*HER2*发生基因突变有关。因此, 组织样本*HER2*检测的阴

性结果并不能反映肿瘤的全貌,应用 dPCR 检测胃癌外周血 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增状态,能客观准确反映体内肿瘤负荷变化,可作为组织样本检测的有效补充。

有研究发现 *HER2* 过表达与胃癌淋巴转移、浸润相关,且患者预后往往较差^[10],亦有报道 *HER2* 表达与胃癌的临床病理特征、预后之间无明显相关性^[11]。本研究结果显示,胃癌术前 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增与肿瘤高-中分化、远处转移有关,术后进展转移组胃癌患者 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增比值明显高于无进展组,且 *HER2* 基因扩增阳性组无进展生存时间明显缩短,提示 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增变化与胃癌患者进展转移有关,有望作为胃癌进展复发、疗效评估的生物标志物。

综上所述,基于 dPCR 技术不仅可以精确定量检测 ctDNA 中 *HER2* 基因扩增水平,具有灵敏、特异、无创的特点,还适用于组织不可获得的晚期或复发转移胃癌患者术后动态监测 *HER2* 基因扩增变化,有助于指导 *HER2* 阳性胃癌患者的靶向治疗,对于肿瘤进展监测及预后评估具有一定的临床应用价值。

参考文献

- [1] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer [J]. *Lancet*, 2020, 396(10251): 635-648.
- [2] Yan M, Schwaederle M, Arguello D, et al. HER2 expression status in diverse cancers: review of results from 37,992 patients [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2015, 34(1): 157-164.
- [3] 中国临床肿瘤学会乳腺癌专家委员会, 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 人表皮生长因子受体 2 阳性乳腺癌临床诊疗专家共识(2021 版)[J]. *中华医学杂志*, 2021, 8(17): 1226-1231.
- [4] Van Cutsem E, Bang YJ, Feng-Yi F, et al. HER2 screening data from ToGA: targeting HER2 in gastric and gastroesophageal junction cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2015, 18(3): 476-484.
- [5] Belmonte FR, Martin JL, Frescura K, et al. Digital PCR methods improve detection sensitivity and measurement precision of low abundance mtDNA deletions [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 25186.
- [6] Hamakawa T, Kukita Y, Kurokawa Y, et al. Monitoring gastric cancer progression with circulating tumour DNA [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(2): 352-356.
- [7] Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(2): 93-99.
- [8] 胃癌 *HER2* 检测指南(2016 版)编写组. 胃癌 *HER2* 检测指南(2016 版)[J]. *中华病理学杂志*, 2016, 45(8): 528-532.
- [9] Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, et al. HER2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline focused update summary [J]. *J Oncol Pract*, 2018, 14(7): 437-441.
- [10] Lei YY, Huang JY, Zhao QR, et al. The clinicopathological parameters and prognostic significance of HER2 expression in gastric cancer patients: a meta-analysis of literature [J]. *World J Surg Oncol*, 2017, 15(1): 68-75.
- [11] Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, et al. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value-conclusions from 924 cases of two independent series [J]. *Cell Oncol*, 2010, 32(1-2): 57-65.
- [12] Zhang H, Wang Y, Wang Y, et al. Intratumoral and intertumoral heterogeneity of HER2 immunohistochemical expression in gastric cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(11): 153229.
- [13] Murtaza M, Dawson SJ, Tsui DW, et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA [J]. *Nature*, 2013, 497(7447): 108-112.
- [14] Xie S, Wang Y, Gong Z, et al. Liquid Biopsy and Tissue Biopsy Comparison with Digital PCR and IHC/FISH for HER2 Amplification Detection in Breast Cancer Patients [J]. *J Cancer*, 2022, 13(3): 744-751.
- [15] Kinugasa H, Nouse K, Tanaka T, et al. Droplet digital PCR measurement of HER2 in patients with gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(10): 1652-1655.
- [16] Shoda K, Ichikawa D, Fujita Y, et al. Monitoring the HER2 copy number status in circulating tumor DNA by droplet digital PCR in patients with gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2017, 20(1): 126-135.
- [21] 张亚, 尚进, 王璐瑶, 等. NOD2 调控 Snail 表达在糖尿病肾病足细胞上皮-间质转化中的作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2018, 34(9): 673-680.
- [22] 万峰云, 卢红艳, 万雪晴, 等. Notch1/Hes1 信号调控 C/EBP α 表达对 AEC II 细胞增殖与分化的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(3): 495-499.
- [23] 邓文荣, 石文清, 李海俏, 等. 姜黄素对糖尿病肾病大鼠肾功能及肾组织 JNK、Notch2/hes1 信号通路的影响[J]. *山东医药*, 2020, 60(14): 5-8.
- [24] 许静摘, 杨卓审校. 调节 Notch-1 信号可减轻血管内皮生长因子介导的糖尿病肾病[J]. *天津医药*, 2011, 39(6): 526.
- [25] 梁师钢, 姚丽君, 王玉梅. TRB3 在糖尿病肾病中的表达及调控 Notch 信号通路对人肾小管上皮细胞增殖凋亡的实验研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2018, 19(4): 292-295.

(上接第 363 页)

奥拉帕利维持治疗铂敏感复发性卵巢癌疗效及血清HE4、SDF-1、CA125变化分析

王妮妮¹ 王芳^{2*}

[摘要] **目的** 探讨奥拉帕利维持治疗在铂敏感复发性卵巢癌患者中的应用效果及对血清人附睾蛋白4(HE4)、基质细胞衍生因子-1(SDF-1)及癌胚抗原125(CA125)的影响。**方法** 选取淮安市肿瘤医院肿瘤内科2021年4月至2022年4月收治的108例铂敏感复发性卵巢癌患者,依照随机数字表法分为对照组和研究组,各54例,对照组患者给予铂类药物(TP)化疗,研究组在对照组基础上给予奥拉帕利维持治疗,比较两组近期疗效、血清HE4、SDF-1及CA125水平、免疫功能指标、安全性评价及治疗后半年生存质量(QoL)评分。**结果** 治疗结束后1个月,研究组患者的ORR、DCR占比率均显著高于对照组($\chi^2=4.216, P<0.05$)。治疗结束后1个月,研究组患者血清HE4、SDF-1及CA125低于对照组($t=9.698、2.927、13.705, P<0.05$)。治疗结束后1个月,研究组患者血清T淋巴细胞亚群CD3+、CD4+、NK细胞水平显著高于对照组,CD8+细胞显著低于对照组($t=6.141、8.165、8.524、14.239, P<0.05$)。两组血红蛋白下降、白细胞下降、血压升高、消化道反应、呼吸困难、疲劳或乏力等不良事件发生率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.614, P>0.05$)。研究组治疗后1个月、3个月及6个月的生存质量QoL评分均高于对照组($t=4.249、6.732、4.755, P<0.05$)。**结论** 铂敏感复发性卵巢癌患者在TP治疗的基础上应用奥拉帕利维持治疗可有效降低血清肿瘤标志物HE4、CA125及SDF-1水平,改善患者近期免疫功能,提升患者生存质量。

[关键词] 复发性卵巢癌;铂敏感;奥拉帕利;维持治疗

Analysis of curative effect and changes of serum HE4, SDF-1 and CA125 in maintenance treatment of platinum-sensitive recurrent ovarian cancer with olaparib

WANG Weiwei¹, WANG Fang^{2*}

(1. Department of Oncology, Huai'an Cancer Hospital, Huaian, Jiangsu, China, 223200; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Huai'an Cancer Hospital, Huaian, Jiangsu, China, 223200)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer and the effect on serum human epithelial protein 4 (HE4), stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) and carcinoembryonic antigen 125 (CA125). **Methods** 108 patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer admitted to the Department of Medical Oncology of Huai'an Cancer Hospital from April 2021 to April 2022 were selected and divided into a control group and a study group according to the random number table method, with 54 patients in each group. Patients in the control group were given platinum-based drug (TP) chemotherapy, and the study group was given olaparib maintenance therapy on the basis of the control group. The recent efficacy, serum HE4, SDF-1 and CA125 levels, immune function indexes, safety evaluation and quality of survival (QoL) scores at six months after treatment were compared between the two groups. **Results** One month after the end of treatment, the ratios of ORR and DCR in the study group were significantly higher than those in the control group ($\chi^2=4.216, P<0.05$). One month after the

项目基金:江苏省自然科学基金面上项目(BK20191152)

作者单位:1. 淮安市肿瘤医院肿瘤内科,江苏,淮安 223200

2. 淮安市肿瘤医院妇产科,江苏,淮安 223200

*通信作者:王芳, E-mail:www5559833@163.com

end of treatment, serum HE4, SDF-1 and CA125 of patients in the study group were lower than those in the control group ($t=9.698, 2.927, 13.705, P<0.05$). One month after the end of treatment, the levels of serum T lymphocyte subsets CD3+, CD4+, and NK cells in the study group were significantly higher than those in the control group, and CD8+ cells were significantly lower than those in the control group ($t=6.141, 8.165, 8.524, 14.239, P<0.05$). There was no statistically significant difference in the incidence of adverse events such as decreased hemoglobin, decreased white blood cells, increased blood pressure, gastrointestinal reactions, dyspnea, fatigue or malaise between the two groups ($\chi^2=0.614, P>0.05$). The survival QoL scores at one month, three months and six months after treatment in the study group were higher than those in the control group ($t=4.249, 6.732, 4.755, P<0.05$). **Conclusion** The application of olaparib maintenance therapy on top of TP therapy in platinum-sensitive recurrent ovarian cancer patients can effectively reduce the levels of serum tumor markers HE4, CA125 and SDF-1 levels, improve the recent immune function of patients, and the quality of life of patients.

[KEY WORDS] Recurrent ovarian cancer; Platinum sensitivity; Olaparib; Maintenance therapy

临床对于卵巢癌的治疗手段主要有手术、化疗及免疫生物治疗等,而复发性卵巢癌患者病情多反复不可治愈,复发多次增加了对铂类药物的耐药性,导致患者无进展生存期日渐缩短,严重影响了患者的生活和生存质量^[1-2]。奥拉帕利为聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]的一种,为最早获批的新型卵巢癌靶向治疗药物,其可于肿瘤细胞DNA的单链断裂点捕获PARP,从而促进单点断裂并产生双链断裂而使肿瘤细胞凋亡^[3-4]。人附睾蛋白4(human epididymis protein 4, HE4)、糖类抗原125(carbohydrate antigen 125, CA125)为临床常用的肿瘤标志物,其对于卵巢癌病情发生发展、临床治疗及患者预后等均具有较好的指示作用^[5]。基质细胞衍生因子-1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)为具有趋化活性的一种细胞因子,其在炎症、肿瘤等病理性疾病患者体内表达异常升高。近年来研究证实^[6], SDF-1在卵巢癌侵袭转移、化疗耐药中发挥重要作用。本研究通过观察治疗前后血清HE4、SDF-1及CA125变化,作为奥拉帕利维持在铂敏感复发性卵巢癌应用疗效评估的指导指标,以期更好地指导其临床应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取淮安市肿瘤医院肿瘤内科2021年4月至2022年4月收治的108例铂敏感复发性卵巢癌患者,纳入标准:①符合卵巢癌的诊断标准^[7],并经影像学、组织细胞学等检查确诊复发;②复发时间在计划化疗6个月后;③卡氏功能评分(Karnofsky

performance status, KPS)^[8]≥70分,预计生存期≥6个月;④自愿参与本研究并签署知情同意书。排除标准:①中途退出研究、更改治疗方案者;②无法完成随访者;③合并肝、肾等重要脏器严重功能异常者;④合并其他恶性肿瘤者。将所有患者依照随机数字表法分为对照组和研究组,各54例,其中对照组患者平均年龄(53.6±3.9)岁,病理类型:粘液性腺癌15例,浆液性现在19例,子宫内膜样癌10例,透明细胞癌5例,其他类型5例;病灶位置:盆腔25例,腹腔16例,腹盆腔13例;临床分期:I~II期29例,III~IV期25例;病灶直径≤5cm27例,>5cm27例。研究组患者平均年龄(54.1±4.4)岁,病理类型:粘液性腺癌16例,浆液性现在18例,子宫内膜样癌11例,透明细胞癌4例,其他类型5例;病灶位置:盆腔27例,腹腔14例,腹盆腔13例;临床分期:I~II期30例,III~IV期24例;病灶直径≤5cm29例,>5cm25例。两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准通过。

1.2 方法

对照组患者给予铂类药物(Taxel & Platinum, TP)化疗,给予紫杉醇(扬子江药业集团有限公司,国药准字:H20053001)135 mg/m²联合顺铂(江苏豪森药业有限公司,国药准字:H20010743)75 mg/m²静脉滴注进行化疗,紫杉醇应用前做常规预处理,预防患者紫杉醇超敏反应的发生。每21d为一个疗程,连续治疗6个疗程。研究组在对照组基础上于化疗结束后8周内给予奥拉帕利维持治疗,给予奥拉帕利[利普卓,阿斯利康投资(中国)有限公司,注册证号:H20180048,药品标准编号:

JX20180119]300 mg/次口服治疗,2次/d,每次服药间隔时长 ≥ 12 h。

1.3 观测指标

1.3.1 近期疗效评价

治疗结束后1个月,依照实体瘤疗效评价标准^[9]对所有患者治疗效果进行评估,分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、病情稳定(stable disease, SD)、病情进展(progressive disease, PD)。并计算客观缓解率(objective response rate, ORR)=(CR+PR)/患者总例数,以及疾病控制率(disease control rate, DCR)=(CR+PR+SD)/患者总例数。

1.3.2 血清 HE4、SDF-1 及 CA125 水平及免疫功能检测

所有患者于治疗前、治疗结束后1个月收集清晨空腹静脉血5 mL,3 000 r/min离心15 min分离血清,离心半径15 cm, -80℃保存待测。采用DX2800发光分析仪及原装试剂盒(贝克曼公司)检测血清HE4、CA125水平。采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清SDF-1水平,试剂盒购自上海语纯生物科技有限公司。采用全自动流式细胞仪及原装试剂盒(贝克曼库尔特公司)检测T淋巴细胞亚群CD3+、CD4+、CD8+和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)水平。

1.3.3 治疗安全性评价

统计两组患者治疗过程中血红蛋白下降、白细胞下降、血压升高、消化道反应、呼吸困难、疲劳或乏力等不良事件发生率。

1.3.4 生存质量(quality of life, QoL)评分^[10]

所有患者治疗后随访6个月,于治疗结束后1、3及6个月评估生存质量, QoL评分满分60分,评分越高,生存质量越好。

1.4 统计学分析

本研究数据应用SPSS 20.0统计软件进行数据分析,计数资料用 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,组间行 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组近期疗效比较

治疗结束后1个月,研究组患者的ORR、DCR均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组治疗前后血清 HE4、SDF-1 及 CA125 水平比较

治疗前,研究组与对照血清HE4、SDF-1及CA125水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗结束后1个月,研究组患者血清HE4、SDF-1及CA125低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组治疗前后免疫功能指标比较

治疗前,研究组和对照组T淋巴细胞亚群CD3+、CD4+、CD8+、NK细胞水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗结束后1个月,研究组患者血清T淋巴细胞亚群CD3+、CD4+、NK细胞水平显著高于对照组,CD8+细胞显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表1 两组近期疗效比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of recent efficacy between two groups [$n(\%)$]

组别	n	CR	PR	SD	PD	ORR	DCR
对照组	54	7(13.0)	12(22.2)	18(33.3)	17(31.5)	19(35.2)	37(64.8)
研究组	54	15(27.8)	19(35.2)	12(22.2)	8(14.8)	34(63.0)	46(85.2)
χ^2 值						8.336	4.216
P 值						0.004	0.040

表2 两组治疗前后血清 HE4、SDF-1 及 CA125 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum HE4, SDF-1 and CA125 levels before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HE4(pmol/L)		SDF-1(pg/mL)		CA125(U/L)	
		治疗前	1月后	治疗前	1月后	治疗前	1月后
对照组	54	285.3 \pm 44.1	170.2 \pm 29.0 ^a	5825.3 \pm 1121.4	4092.8 \pm 1053.8 ^a	667.8 \pm 77.9	320.8 \pm 46.7 ^a
研究组	54	288.6 \pm 41.5	120.1 \pm 24.5 ^a	5810.5 \pm 1166.0	3512.1 \pm 1007.5 ^a	669.2 \pm 73.4	213.5 \pm 33.6 ^a
t 值		0.400	9.698	0.067	2.927	0.096	13.705
P 值		0.690	0.000	0.947	0.004	0.924	0.000

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组治疗前后免疫功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of immune function indexes before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3+		CD4+		CD8+		NK 细胞	
		治疗前	1月后	治疗前	1月后	治疗前	1月后	治疗前	1月后
对照组	54	49.1±5.1	54.2±5.5 ^a	26.3±4.4	29.6±3.1 ^a	34.4±1.9	29.2±1.5 ^a	15.4±1.1	19.6±2.2 ^a
研究组	54	49.2±3.5	60.3±4.8 ^a	26.1±4.0	35.4±4.2 ^a	34.5±1.7	26.3±2.0 ^a	15.7±1.6	26.5±2.8 ^a
t 值		0.119	6.141	0.247	8.165	0.288	8.524	1.135	14.239
P 值		0.906	0.000	0.805	0.000	0.774	0.000	0.259	0.000

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组治疗安全性评价

两组血红蛋白下降、白细胞下降、血压升高、消化道反应、呼吸困难、疲劳或乏力等不良事件发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

2.5 两组治疗前后生存质量 QoL 评分比较

研究组治疗结束后1个月、3个月及6个月的生存质量 QoL 评分均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表4 两组治疗安全性评价 [$n(\%)$]Table 4 Evaluation of treatment safety in the two groups [$n(\%)$]

组别	n	血红蛋白下降	白细胞下降	血压升高	消化道反应	呼吸困难	疲劳或乏力	总发生率
对照组	54	3(5.6)	3(5.6)	2(3.7)	15(27.8)	0	7(13.0)	30(55.6)
研究组	54	5(9.3)	2(3.7)	1(1.9)	17(31.5)	1(1.9)	8(14.8)	34(62.9)
χ^2 值								0.614
P 值								0.433

表5 两组治疗前后生存质量 QoL 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of quality of survival QoL scores before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	治疗前	1月后	3月后	6月后
对照组	54	42.5±3.3	46.8±3.9 ^a	51.5±3.5 ^a	54.2±2.9 ^a
研究组	54	42.2±3.0	50.2±4.4 ^a	56.1±3.6 ^a	56.9±3.0 ^a
t 值		0.494	4.249	6.732	4.755
P 值		0.622	0.000	0.000	0.000

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

大量研究证实^[11],奥拉帕利用于一线/二线维持治疗可显著降低恶性肿瘤患者复发率和死亡率。本研究铂敏感复发性卵巢癌患者应用奥拉帕利维持治疗相较于对照组患者 ORR、DCR 均得到显著提高,提示对于铂敏感复发性卵巢癌患者应用奥拉帕利维持治疗+TP 治疗方案疗效显著优于单用 TP 方案。HE4、CA125 为临床常用的肿瘤标志物,多种肿瘤标志物联合检测可提升恶性肿瘤诊断的敏感性和特异度。HE4 为 WFDC2 基因编码的一种小分子分泌蛋白,研究证实其在卵巢癌患者血清中过表达,并对于区分卵巢癌和卵巢良性疾病具有较高灵敏度^[12]。CA125 为一种高度糖基化的跨膜蛋白,是临床公认的卵巢癌诊断血清标志物之一。间断检测卵巢癌患者血清 CA125 水

平是否增加为卵巢癌复发的预后指标^[13]。SDF-1 对于淋巴细胞具有强烈的趋化作用,在肿瘤疾病发生发展中,其可诱导肿瘤细胞进行复制转移,并在此过程中显著高表达。研究显示^[14],SDF-1 对于卵巢癌等恶性肿瘤具有一定的诊断价值。本研究中,奥拉帕利维持治疗+TP 治疗方案相较于单用 TP 方案可降低铂敏感复发性卵巢癌患者血清 HE4、CA125 及 SDF-1 水平,患者免疫功能指标 CD3+、CD4+、CD8+、NK 细胞水平在治疗后均较单用 TP 方案显著提升。提示,奥拉帕利维持治疗可显著降低铂敏感复发性卵巢癌患者血清肿瘤标志物水平,改善患者免疫功能,从而减少病情复发,提升治疗效果。

本研究中,在 TP 方案治疗后应用奥拉帕利对含铂化疗敏感人群继续治疗,虽然患者的治疗时间持续较长,但在血红蛋白下降、白细胞下降、血压升高、消化道反应、呼吸困难、疲劳或乏力等不良事件发生率上与仅采用 TP 方案治疗复发性卵巢癌患者比较无明显差异,提示奥拉帕利在铂敏感复发性卵巢癌患者维持治疗中具有较高的安全性。奥拉帕利发挥效果的关键在于其利用合成致死性能力,可选择性的杀死肿瘤细胞,并保留健康组织,从而降低毒副反应。本研究中,研究组治疗结束后1个月、3个月及6个月的生存质量 QoL 评

分均高于对照组,提示奥拉帕利有助于在治疗后近期内显著提升患者生存质量,这对于患者良好预后具有重要意义。然而,本研究患者随访时间较短,无法对患者远期无进展生存时间、远期生存率及远期毒副作用等进行说明,这将有待于进一步的观察研究。而有研究证明^[15],奥拉帕利可改善卵巢癌患者预后,提升患者中位生存时间和生存率,本研究将继续观察加以印证。

综上所述,铂敏感复发性卵巢癌患者在TP治疗的基础上应用奥拉帕利维持治疗相较于无维持治疗患者临床缓解明显,可有效降低血清肿瘤标志物HE4、CA125及SDF-1水平,改善患者近期免疫功能,提升患者生存质量,且不增加不良事件发生率,安全性较好。

参考文献

- [1] 刘兰兰,王志新,袁思锐,等. BRCA1、BRCA2、RAD51和FANCD2在上皮性卵巢癌中的表达及其与临床病理特征的关系[J]. 江苏大学学报(医学版), 2022, 32(2): 113-117.
- [2] 程晓东,王芬芬. 复发性卵巢癌的诊治热点[J]. 浙江医学, 2021, 43(15): 1593-1599.
- [3] Biswas G. Rucaparib as a Salvage Treatment in Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Carcinoma: A Case Report[J]. Cureus, 2022, 14(10): e30405.
- [4] 常鑫,韩璐. 铂敏感复发性卵巢癌维持治疗药物的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2022, 49(4): 382-387.
- [5] 朱丽君,侯义福,陈传平. 术前血清人附睾蛋白4水平与上皮性卵巢癌复发风险的关系[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(5): 1148-1154.
- [6] 赵凌昆,吕红梅. SDF-1及MMP-2在子宫颈癌的表达[J]. 黑龙江医药科学, 2020, 43(4): 71-72.
- [7] 卢淮武,林荣春,林仲秋. 2017 NCCN《卵巢癌临床实践指南(第一版)》解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(5): 485-493.
- [8] 杨艳杰,邱晓惠,卢明俊,等. 癌症患者生存质量分析[J]. 中国公共卫生, 2005.
- [9] 皋文君,刘砚燕,袁长蓉. 国际肿瘤化疗药物不良反应评价系统——通用不良反应术语标准4.0版[J]. 肿瘤, 2012, 32(2): 142-144.
- [10] 万崇华,罗家洪,张灿珍,等. 癌症患者生活质量测定量表体系研究[J]. 中国行为医学科学, 2003.
- [11] Cheng LJ, Wong G, Chay WY, et al. Cost-effectiveness of olaparib maintenance therapy when used with and without restriction by BRCA1/2 mutation status for platinum-sensitive relapsed ovarian cancer [J]. Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res, 2021, 21(3): 441-448.
- [12] 胡丽花,袁明,赵嫦娥,等. 上皮性卵巢癌患者血清CA125、IGF1、Annexin A3、HE4与卡铂耐药和预后的关系研究[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(18): 3494-3498.
- [13] 李胜霞,朱晨辰,张安娜,等. CA125动力学变化预测新辅助化疗晚期卵巢癌患者满意减瘤临床分析[J]. 现代妇产科进展, 2022, 31(10): 745-750.
- [14] Ma CY. Effect of bevacizumab combined with chemotherapy on SDF-1 and CXCR4 in epithelial ovarian cancer and its prognosis[J]. World J Surg Oncol, 2022, 20(1): 154.
- [15] 王光慧,杜文升. 奥拉帕利在铂敏感晚期卵巢癌维持治疗的疗效观察[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2020, 7(19): 32-33.

(上接第367页)

- [7] Ménéz Y, Patrizio P, Alvarez S, et al. MTHFR (methylene-tetrahydrofolate reductase: EC1.5.1.20) SNPs (single-nucleotide polymorphisms) and homocysteine in patients referred for investigation of fertility [J]. J Assist Reprod Genet, 2021, 38(9): 2383-2389.
- [8] Shi TL, Wu Y, Li Y, et al. The relevance of MTHFR C677T, A1298C, and MTRR A66G polymorphisms with response to male infertility in Asians: A meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(8): e14283.
- [9] 赵蕾,李娟. MTHFR基因C677T多态性、血清Hcy水平与少弱精子症不育患者精液质量的关联性研究[J]. 生殖医学杂志, 2022, 31(3): 315-320.
- [10] 李晓阳,叶竞争,丁显平,等. MTHFR基因A1298C和MS基因A2756G多态性与四川地区男性不育的相关性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(4): 26-29.
- [11] 胡浩梅,杨华. 叶酸与不良生育的相关研究[J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48(1): 89-94.
- [12] 王荣,李君,李春霞,等. 西藏地区汉族女性MTHFR、MTRR基因位点多态性与原发性不孕症相关性研究[J]. 高原科学学报, 2020, 4(2): 75-78+92.
- [13] 刘帅妹,周青,张瑞金,等. MTHFR基因多态性与女性不孕症关系的meta分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2021, 29(12): 2492-2497.
- [14] 赖燕霞,柯璐琳,张陈枝. 福建籍汉族女性MTHFR基因多态性与不孕症相关性分析研究[J]. 海峡药学, 2022, 34(6): 99-104.
- [15] 杨琳,邵军晖,丁娇,等. 新余市女性叶酸代谢关键酶基因多态性与原发性不孕症的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(19): 3645-3647.
- [16] 朱娟娟,唐吉斌. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性分析的临床应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(6): 361-366.

基于 ceRNA 调节网络结直肠癌预后关键基因的筛选与分析

黄奔¹ 柳家翠² 王萍³ 段怡平² 陈梁玥² 马甜甜² 喻明霞^{2*}

[摘要] **目的** 本研究利用癌症基因组图谱(TCGA)数据库分别构建结肠癌和直肠癌的 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 调控网络,寻找网络中与患者总体生存率相关的基因,为结直肠癌提供新型预后分子标志物。**方法** 在 TCGA 数据库分别下载结肠癌和直肠癌的原始转录组测序数据和临床数据,利用 R 4.0.4 软件的 edgeR 程序包进行差异基因的分析。根据差异基因靶向调控关系,构建 lncRNA-miRNA-mRNA 调节网络。利用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制网络调节图。结合患者的临床资料,利用 Survival 程序包寻找调控网络中与患者总体生存率相关的基因。**结果** 在结肠癌的 ceRNA 网络中,共涉及 29 个 miRNA、128 个 lncRNA 和 53 个 mRNA,有 9 个 lncRNA (*AC002511.1*、*AL590483.1*、*AP004609.1*、*GAS6-AS1*、*HOTAIR*、*ITCH-IT1*、*KCNQ1OT1*、*LINC00491*、*PVT1*),4 个 mRNA (*FJX1*、*SERPINE1*、*TPM2*、*ULBP2*),4 个 miRNA (miR-145、miR-193b、miR-216a、miR-375)与患者预后相关($P<0.05$)。而在直肠癌的 ceRNA 网络中,共包括 19 个 miRNA、23 个 lncRNA 以及 66 个 mRNA。只有 1 个 mRNA (*SALL4*)和 1 个 miRNA (*miR-107*)与患者预后相关($P<0.05$)。**结论** 成功构建了结肠癌和直肠癌的 ceRNA 调控网络,并分别寻找到了潜在的预后关键基因。

[关键词] TCGA; 结直肠癌; ceRNA; 预后标志物

Screening and analysis of prognostic key genes in colorectal cancer based on ceRNA regulatory network

HUANG Ben¹, LIU Jiacy², WANG Ping³, DUAN Yiping², CHEN Liangyue², MA Tiantian², YU Mingxia^{2*}

(1. Department of Laboratory Medicine, Jiangsu Provincial People's Hospital/The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, China, 210009; 2. Department of Laboratory Medicine, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 3. Department of Laboratory Pathology, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** To construct the ceRNA regulatory network of lncRNA-miRNA-mRNA for colon cancer and rectal cancer using the Cancer Genome Atlas (TCGA) database, to find the genes in the network related to the overall survival rate of patients, and to provide prognostic molecular markers for colorectal cancer. **Methods** The transcriptome sequencing data and clinical data of colon cancer and rectal cancer were downloaded from the TCGA database, and the edgeR package of R 4.0.4 software was used to analyze the differential genes. According to the targeting regulation relationship, the lncRNA-miRNA-mRNA regulatory network was constructed. The Cytoscape 3.7.1 software was used to draw the network. Combined with the clinical data of the patients, the survival package was used to find the genes related to the overall survival rate of

基金项目:国家自然科学基金(81472033);湖北省医学青年后备人才(青年拔尖人才)(HB20200409);湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H0028);湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019M203);武汉市应用基础研究(2017060201010171);武汉大学医学部教学研究项目(2020048);武汉大学中南医院科技创新培育基金(cxpy2019051、cxpy2018031);武汉大学大学生创新项目(MS2017045、S2018301747)

作者单位:1. 江苏省人民医院/南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏,南京 210009

2. 武汉大学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

3. 武汉大学中南医院病理科,湖北,武汉 430071

*通信作者:喻明霞, E-mail: dewrosy520@163.com

the patients in the network. **Results** In the ceRNA network of colon cancer, 29 miRNAs, 128 lncRNAs and 53 mRNAs were involved, and 9 lncRNAs (*AC002511.1*, *AL590483.1*, *AP004609.1*, *GAS6-AS1*, *HOTAIR*, *ITCH-IT1*, *KCNQ1OT1*, *LINC00491*, *PVT1*), 4 mRNAs (*FJX1*, *SERPINE1*, *TPM2*, *ULBP2*), 4 miRNAs (*miR-145*, *miR-193b*, *miR-216a*, *miR-375*) were related to patients' prognosis ($P<0.05$). In the ceRNA network of rectal cancer, a total of 19 miRNAs, 23 lncRNAs and 66 mRNAs were included. Only 1 mRNA (*SALL4*) and 1 miRNA (*miR-107*) were associated with patient prognosis ($P<0.05$). **Conclusion** The ceRNA regulatory network of colon cancer and rectal cancer were constructed, and potential key genes for prognosis were found.

[KEY WORDS] TCGA; Colorectal cancer; ceRNA; Prognostic markers

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)是全球第三大常见癌症。许多危险因素可能与CRC有关,包括感染、饮酒、吸烟,年龄,溃疡性结肠炎和久坐不动的生活方式等^[1]。据预测,到2030年,CRC的病例数将增加60%以上,新增病例220万例,死亡病例1100万例^[2]。研究显示,原发性结肠癌和直肠癌不应视为同一疾病的不同实体,并且结肠癌和直肠癌的基因表达谱和致癌途径存在差异^[3]。鉴于TCGA数据库提供公开可用的癌症基因组数据集,旨在为改进癌症诊断方法,寻找治疗标准,为癌症预防提供依据。本研究通过利用癌症基因组图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库,分别下载结肠癌和直肠癌的测序数据、患者的临床资料,利用生物信息学分析,分别构建结肠癌和直肠癌的lncRNA-miRNA-mRNA的ceRNA调控网络,揭示两者在分子机制上的差异,并根据调控网络图,寻找可能的预后关键基因。

1 材料和方法

1.1 原始测序数据的下载

本研究所使用的数据下载于TCGA官方网站(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)。共下载到结肠癌测序数据514例,其中肿瘤组织473例,正常组织41例;直肠癌测序数据91例,其中肿瘤组织89例,正常组织2例。结肠癌miRNA测序数据458例,直肠癌测序数据84例。

1.2 差异基因的分析

设置筛选条件为 $|\text{IFold change}| \geq 2$, 错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.01 , 利用R4.0.4软件的edgeR程序包进行差异基因分析。分析数据时,若多个基因检测探针检测同一个基因,则取多个探针测序的平均值作为该基因的表达量。

1.3 构建ceRNA调节网络

①将差异表达的lncRNA提交至miRcode数据库中比对,寻找与其相互作用的miRNA,构建出

具有相互调节的lncRNA-miRNA关系对。②将差异表达的miRNA提交至starBase在线软件(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)进行对比与转换;再利用miRDB(<http://www.miRdb.org/>)、miRTarBase(<http://miRtarbase.mbc.nctu.edu.tw/index.html>)以及TargetScan(http://www.targetscan.org/mamm_31/)在线网站对差异的miRNA的靶基因再次预测,将3个数据库都预测到的mRNA才作为miRNA的靶基因。对预测的结果取交集部分作为预测到的miRNA-mRNA关系对。构建好互相调节的关系对后,利用Cytoscape 3.7.1软件绘制网络调节图。

1.4 预后相关基因的分析

使用Active Perl 5.24.3软件提取临床资料中患者的生存数据,根据基因的表达量,以中位数为截点,将患者分为高表达组和低表达组。使用R4.0.4软件的“Survival”程序包计算并分析与预后相关基因。

1.5 统计学分析

利用R4.0.4软件进行统计学分析,edgeR程序包进行差异基因的分析,以 $|\text{IFold change}| \geq 2$, FDR < 0.01 的基因为差异表达基因;生存分析使用Cox风险比例模型; $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

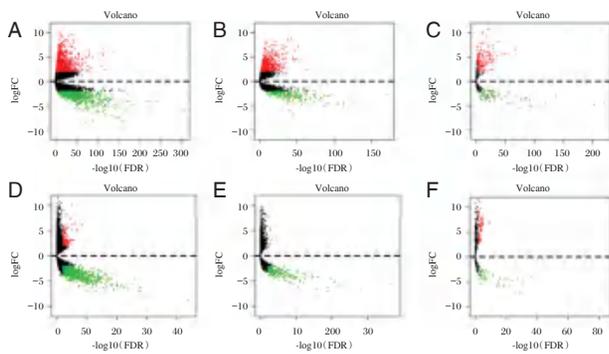
2 结果

2.1 差异表达基因的分析

在TCGA数据库中,与正常组织相比,结肠癌组织中有2 068个差异表达的mRNA, 1143个差异表达的lncRNA, 252个差异表达的miRNA。见图1A-C。而在直肠癌中,有1136个差异表达的mRNA, 204个差异表达的lncRNA, 124个差异表达的miRNA。见图1D-F。

2.2 差异基因的GO和KEGG功能富集分析

在结肠癌中,GO富集分析的结果显示,差异基因主要参与表皮发育、细胞角化、抗菌体液反应等生物学过程中,富集在顶端质膜、细胞外基质、

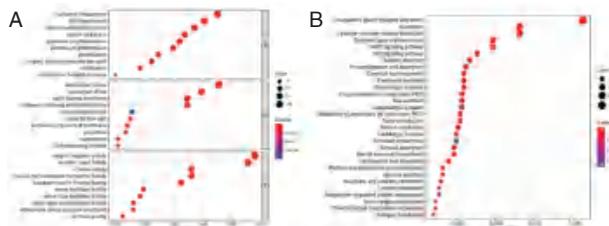


注: A~C 为结肠癌差异基因 mRNA、lncRNA、miRNA 表达的火山图; D~F 为直肠癌差异基因 mRNA、lncRNA、miRNA 表达的火山图; 红色表示表示该基因在肿瘤组织中表达上调, 蓝色表示下调。

图 1 差异基因表达的火山图

Figure 1 Volcano map of differential gene

DNA 包装复合物等细胞学组分, 富集在受体配体作用、激素活性以及细胞外基质结构组成等分子功能。见图 2A。KEGG 功能富集分析显示, 差异的基因主要参与刺激神经组织的配体-受体相互作用、细胞因子-细胞因子受体的相互作用、蛋白质消化吸收、cAMP 和 Wnt 信号途径等多种途径。见图 2B。



注: 图 A 为结肠癌中差异 mRNA 的 GO 功能富集分析; 图 B 为 KEGG 富集分析。

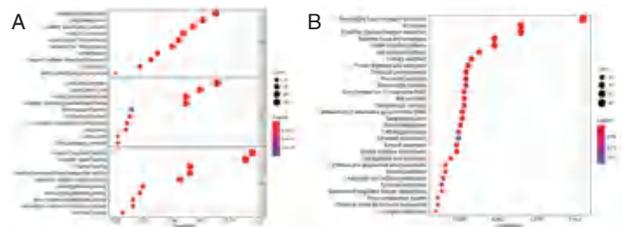
图 2 结肠癌中差异 mRNA 的 GO 功能富集分析和 KEGG 富集分析

Figure 2 GO enrichment analysis and KEGG enrichment analysis of differential mRNA in colon cancer

在直肠癌中, 差异的 mRNA 主要参与膜电位调节、调节化学突触传递、胞质钙离子浓度的调节等生物学行为, 富集在脑突触体膜、跨膜转运体复合体、收缩纤维等细胞学组分, 参与阳离子通道活动、离子通道活性、被动跨膜转运蛋白活性等分子功能。见图 3A。KEGG 功能富集分析显示, 差异的基因主要参与刺激神经组织的配体-受体相互作用、钙信号途径、cGMP-PKG 信号通路、cAMP 信号通路等生物学途径中。见图 3B。

2.3 ceRNA 网络的构建

经过差异基因的靶向调控关系对的建立, 结

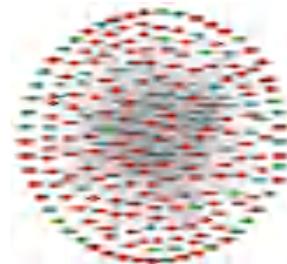


注: 图 A 为直肠癌中差异 mRNA 的 GO 功能富集分析; 图 B 为 KEGG pathway 功能富集分析。

图 3 直肠癌中差异 mRNA 的 GO 功能富集分析和 KEGG 功能富集分析

Figure 3 GO enrichment analysis and KEGG enrichment analysis of differential mRNA in rectal cancer

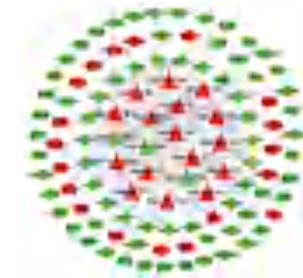
果发现在结肠癌中, 共有 29 个 miRNA, 128 个 lncRNA, 53 个 mRNA 参与 ceRNA 网络的构建。而在直肠癌中, 有 19 个 miRNA, 23 个 lncRNA 以及 66 个 mRNA 参与网络的构建。将经过比对得到的配对的关系对导入 Cytoscape 3.7.1 软件绘制 ceRNA 网络。在结肠癌中, 29 个处于调控中心的 miRNA 中有 5 个表达下调, 24 个表达上调。见图 4。在直肠癌中, 19 个调控的 miRNA 中有 3 个表达下调, 16 个表达上调。提示两者具有不同的调控机制。见图 5。



注: 三角形代表 miRNA, 椭圆形代表 mRNA, 菱形代表 lncRNA, 红色表示该基因在结肠癌中表达上调, 蓝色表示下调。

图 4 结肠癌中 ceRNA 网络

Figure 4 CeRNA network in colon cancer



注: 三角形代表 miRNA, 圆形代表 mRNA, 菱形代表 lncRNA, 红色表示表示该基因在结肠癌中表达上调, 蓝色表示下调。

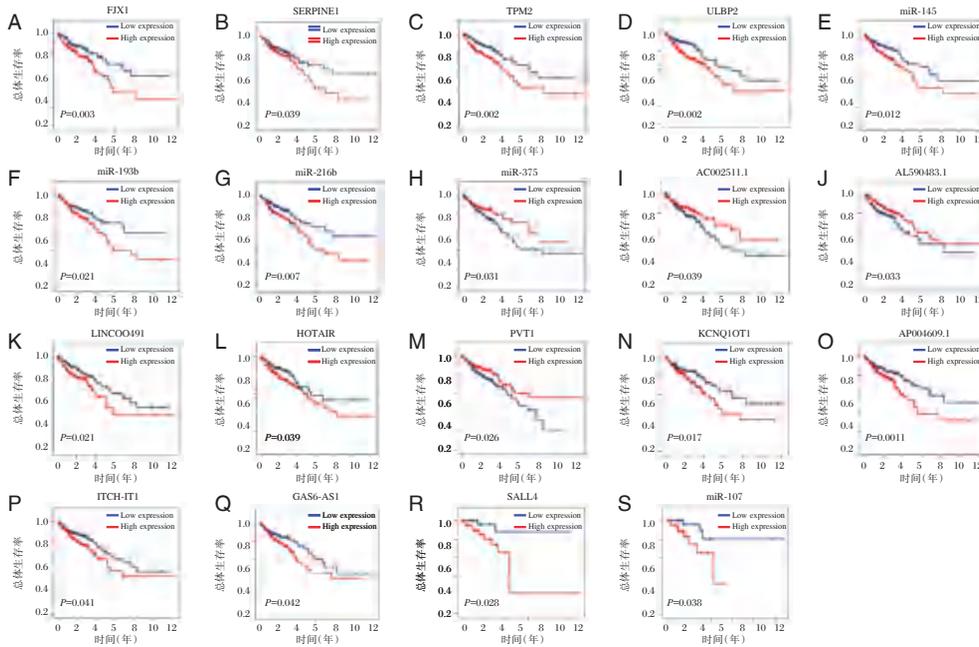
图 5 直肠癌中 ceRNA 网络

Figure 5 CeRNA network in rectal cancer

2.4 预后相关基因的分析

在结肠癌的 ceRNA 调控网络中,有 9 个 lncRNA (*AC002511.1*、*AL590483.1*、*AP004609.1*、*GAS6 - AS1*、*HOTAIR*、*ITCH - IT1*、*KCNQ1OT1*、*LINC00491*、*PVT1*), 4 个 mRNA (*FJX1*、*SERPINE1*、

TPM2、*ULBP2*), 4 个 miRNA (*miR-145*、*miR-193b*、*miR-216a*、*miR-375*) 与肿瘤病人预后相关 ($P < 0.05$), 在直肠癌调控网络中,有 1 个 mRNA (*SALL4*) 和 1 个 miRNA (*miR-107*) 与肿瘤病人预后相关 ($P < 0.05$)。见图 6。



注:A-Q为结肠癌 ceRNA 网络中与预后相关的 4 个 mRNA、4 个 miRNA 和 9 个 lncRNA 的生存曲线图,R-S 为直肠癌 ceRNA 网络中与预后相关的 1 个 mRNA 和 1 个 miRNA 的生存曲线图。

图 6 ceRNA 网络中与预后相关基因的生存曲线图
Figure 6 Survival curves of prognostic genes in the ceRNA network

3 讨论

结肠癌和直肠癌具有许多相似的临床特征,多数研究将它们组合一起。在临床上,直肠癌患者使用辅助化疗的支持通常是从结肠癌的数据中推断出来的^[3]。研究表明,结肠腺癌和直肠腺癌之间的蛋白质表达和细胞周期蛋白基因扩增存在差异,近端结肠癌比直肠和远端结肠肿瘤更可能具有微卫星不稳定性,CpG 岛甲基化表型和 KRAS 突变,而直肠和远端结肠肿瘤比近端结肠肿瘤更可能发生 P53 突变^[4]。因此,深入了解肿瘤发生发展的分子机制,筛选潜在的分子标志物对疾病诊断及治疗具有重要意义。CeRNA 机制的发现便引起了许多研究者和学者的关注。由于多数研究将结肠癌和直肠癌组合在一起,并未阐明两者各自的分子机制特征。因此,本研究分别构建了结肠癌和直肠癌的 ceRNA 网络,寻找出其中与预后相关的基因表达谱,旨在阐明结直肠和直肠癌各自

的分子机制,筛选新型预后分子标志物。

本研究构建的结肠癌的 ceRNA 网络中,共涉及 29 个 miRNA、128 个 lncRNA 和 53 个 mRNA,生存分析显示,有 9 个 lncRNA (*AC002511.1*、*AL590483.1*、*AP004609.1*、*GAS6 - AS1*、*HOTAIR*、*ITCH - IT1*、*KCNQ1OT1*、*LINC00491*、*PVT1*), 4 个 mRNA (*FJX1*、*SERPINE1*、*TPM2*、*ULBP2*), 4 个 miRNA (*miR-145*、*miR-193b*、*miR-216a*、*miR-375*) 与肿瘤病人预后相关。已有部分研究显示这些基因的 ceRNA 调控作用在结肠癌中起到了重要的作用。其中有 4 个 lncRNA 被报道了在结肠癌中的功能:*HOTAIR* 在结肠癌组织中表达显著增加,可能通过调节 *miR-34a* 促进了结肠癌的恶性进展^[5]。*KCNQ1OT1* 通过作为 *miR-34a* 的分子海绵上调 *Atg4B* 的表达,促进了结肠癌的耐药^[6]。作为 ceRNA, *LINC00491* 通过作为 *miR-145* 的分子海绵来促进 *SERPINE1* 表达,发挥了致癌作用^[7]。*PVT1* 可以作为 ceRNA 使得 *miR-26b* 海绵化,并抑

制其表达促进了结肠癌细胞的转移和增殖^[8]。

在上述4个miRNA分子中,有3个miRNA(*miR-145*、*miR-193b*、*miR-375*)已有相关文献报道。Zhai等^[9]的研究表明,*miR-145*通过下调靶基因MYC和FSCN1的表达可促进结肠癌细胞凋亡。*MicroRNA-193b*可与*LncRNA SNHG7*、*TGF-β*和*SMAD3*信号互相作用影响结肠癌的细胞生长^[10];通过靶向*RAB22A*,*miRNA-193b*可以作为结肠癌进展中的抑制因子^[11]。此外,通过靶向*miR-375*,*LncRNA ROR1-AS1*和*SNHG17*也可以增强结直肠癌细胞的侵袭和转移^[12]。*MicroRNA-216a*尚未有研究指出在结肠癌中的作用,因此需要进一步的实验来研究。

在上述预后基因中,*FJX1*、*SERPINE1*、*TPM2*、*ULBP2*这4个mRNA及其ceRNA调控也被证明发挥了重要的作用。Zhao等^[13]的研究显示,TPM2在结肠癌组织中表达下调,与*RhoA*激活和肿瘤增殖相关;*ULBP2/STAT3*轴可以作为提高结肠癌细胞免疫疗法效率的潜在候选靶标^[13];Dang等^[14]的研究显示,*FJX1*基因可以作为结肠癌的不良预后因素;通过靶向调节*FJX1*,*miR-1249*可以抑制结肠癌细胞增殖,迁移和侵袭。这些基因是结肠癌分子调控的关键基因。

在构建的直肠癌ceRNA网络中,共包括19个miRNA、23个lncRNA以及66个mRNA。其中只有1个mRNA(*SALL4*)和1个miRNA(*miR-107*)与肿瘤病人预后相关。虽然现有的研究尚未报告*SALL4*在结肠癌中的ceRNA调控作用,但*SALL4*已被证明参与了肿瘤进展^[15]。*LncRNA UASR1*通过作为*miR-107*的分子海绵调节癌基因*CDK8*的表达,促进了结直肠癌细胞的增殖^[16]。

综上,本研究利用生物信息学的分析方法分别构建了结肠癌和直肠癌lncRNA-miRNA-mRNA的ceRNA调控网络图,揭示了两者在分子机制上存在一定的差异,并寻找到了网络中与患者总体生存率相关的预后关键基因。这些基因不仅参与ceRNA网络的调控,而且影响着患者的生存,因此是潜在的结直肠癌的预后分子标志物,这些关键基因有望为后续深入研究提供线索。

参考文献

- [1] Thanikachalam K, Khan G. Colorectal Cancer and Nutrition [J]. *Nutrients*, 2019, 11(1):164.
- [2] Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality [J]. *Gut*, 2017, 66(4):683-691.
- [3] Qiu M, Hu J, Yang D, et al. Pattern of distant metastases in colorectal cancer: a SEER based study [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36):38658-38666.
- [4] Slattery ML, Curtin K, Wolff RK, et al. A comparison of colon and rectal somatic DNA alterations [J]. *Dis Colon Rectum*, 2009, 52(7):1304-1311.
- [5] Peng CL, Zhao XJ, Wei CC, et al. LncRNA HOTAIR promotes colon cancer development by down-regulating miRNA-34a [J]. *Eur Rev Med PharmacolSci*, 2019, 23(13):5752-5761.
- [6] Li Y, Li C, Li D, et al. LncRNA KCNQ10T1 enhances the chemoresistance of oxaliplatin in colon cancer by targeting the miR-34a/ATG4B pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12:2649-2660.
- [7] Wan J, Deng D, Wang X, et al. LINC00491 as a new molecular marker can promote the proliferation, migration and invasion of colon adenocarcinoma cells [J]. *OncoTargets Ther*, 2019, 12:6471-6480.
- [8] Zhang R, Li J, Yan X, et al. Long Noncoding RNA Plasma-cytoma Variant Translocation 1 (PVT1) Promotes Colon Cancer Progression via Endogenous Sponging miR-26b [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:8685-8692.
- [9] Zhai J, Zhu Y, Liu J, et al. Enhanced Suppression of Disulfide Cross-Linking Micelles Nanocarriers Loaded miR-145 Delivering System via Down-Regulation of MYC and FSCN1 in Colon Cancer Cells [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2020, 16(8):1183-1195.
- [10] Liu KL, Wu J, Li WK, et al. LncRNA SNHG7 is an Oncogenic Biomarker Interacting with MicroRNA-193b in Colon Carcinogenesis [J]. *Clin Lab*, 2019, 65(11).
- [11] Fang Z, Li C, Li S. MicroRNA-193b acts as a tumor suppressor in colon cancer progression via targeting RAB22A [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5):3921-3928.
- [12] Wang FZ, Zhang MQ, Zhang L, et al. Long non-coding RNA ROR1-AS1 enhances colorectal cancer metastasis by targeting miR-375 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(16):6899-6905.
- [13] Zhao B, Baloch Z, Ma Y, et al. Identification of Potential Key Genes and Pathways in Early-Onset Colorectal Cancer Through Bioinformatics Analysis [J]. *Cancer Control*, 2019, 26(1):1073274819831260.
- [14] Dang W, Zhu Z. MicroRNA-1249 targets four-jointed box kinase 1 and reduces cell proliferation, migration and invasion of colon adenocarcinoma [J]. *J Gene Med*, 2020, 22(7):e3183.
- [15] Li J, Zhang Y, Tao X, et al. Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(24):1678.
- [16] Zhang Q, Chen Z. LncRNA UASR1 sponges miR-107 in colorectal cancer to upregulate oncogenic CDK8 and promote cell proliferation [J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(6):305.

小梁切除术、视网膜光凝联合治疗对 NVG 患者 IP-10、TNF- α 、VEGF 的影响

李世强 孙璐* 程亚辉 李威威 成娇阳

[摘要] 目的 分析小梁切除术、视网膜光凝联合治疗对新生血管性青光眼(NVG)患者干扰素诱导蛋白-10(IP-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、血管内皮生长因子(VEGF)的影响。方法 选取2019年3月至2022年8月期间保定市第一中心医院接收的103例(103眼)NVG患者,根据不同治疗方法分为观察组(小梁切除术联合视网膜光凝治疗, $n=53$)和对照组(睫状体冷凝术联合视网膜光凝治疗, $n=50$)。比较两组临床疗效及IP-10、TNF- α 、VEGF水平,记录眼压、神经纤维层厚度及视野缺损值及术后并发症情况。结果 观察组临床总有效率(98.11%)高于对照组(88.00%),差异有统计学意义($\chi^2=4.154, P<0.05$)。术后15 d、1个月观察组眼压低于对照组($t=5.208, P<0.05; t=4.532, P<0.05$),视野缺损值低于对照组($t=2.525, P<0.05; t=5.881, P<0.05$),神经纤维层厚度大于对照组($t=4.577, P<0.05; t=5.372, P<0.05$),差异均有统计学意义($P<0.05$)。术后1个月观察组IP-10水平高于对照组($t=3.469, P<0.05$),TNF- α 、VEGF水平低于对照组($t=3.938, P<0.05; t=4.024, P<0.05$),差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组视力提高率(84.91%)高于对照组(68.00%),差异有统计学意义($\chi^2=4.114, P<0.05$)。观察组并发症发生率(9.43%)低于对照组(26.00%),差异有统计学意义($\chi^2=4.896, P<0.05$)。结论 小梁切除术、视网膜光凝联合治疗NVG患者的临床显著,能有效改善眼痛、畏光等症状,减少并发症的发生。

[关键词] 小梁切除术; 新生血管性青光眼; IP-10

Effect of trabeculectomy combined with retinal photocoagulation on IP-10, TNF- α , VEGF in patients with NVG

LI Shiqiang, SUN Lu*, CHENG Yahui, LI Weiwei, CHENG Jiaoyang

(Department of Ophthalmology, Baoding First Central Hospital, Baoding, Hebei, China, 071000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of combined trabeculectomy and retinal photocoagulation on interferon-inducible protein-10 (IP-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α), vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with neovascular glaucoma (NVG). **Methods** 103 cases (103 eyes) of NVG patients received in Baoding First Central Hospital from March 2019 to August 2022 were selected, and according to different treatment methods, they were divided into the observation group (trabeculectomy combined with retinal photocoagulation treatment, $n=53$) and the control group (cyclocondensation combined with retinal photocoagulation treatment, $n=50$). The clinical efficacy and the levels of IP-10, TNF- α and VEGF were compared between the two groups, and the intraocular pressure and visual field defect values and postoperative complications were recorded in the two groups after treatment. **Results** The clinical total effective rate in the observation group (98.11%) was higher than that in the control group (88.00%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.154, P<0.05$). 15 days and 1 month after operation, the intraocular pressure in the observation group was lower than that in the control group ($t=5.208, P<0.05; t=4.532, P<0.05$), the visual field defect val-

基金项目:保定市科技计划项目(2141ZF259)

作者单位:保定市第一中心医院眼三科,河北,保定 071000

*通信作者:孙璐, E-mail:sl132200022@163.com

ue of the observation group was lower than that of the control group ($t=2.525, P<0.05; t=5.881, P<0.05$). The thickness of the nerve fiber layer in the observation group was greater than that in the control group, and the difference was statistically significant ($t=4.577, P<0.05; t=5.372, P<0.05$). One month after operation, the levels of serum IP-10 in the observation group was higher than that in the control group ($t=3.469, P<0.05$), while the levels of TNF- α and VEGF in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($t=3.938, P<0.05; t=4.024, P<0.05$). The improvement rate of visual acuity in the observation group (84.91%) was higher than that in the control group (68.00%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.114, P<0.05$). The incidence of complications in the observation group (9.43%) was lower than that in the control group (26.00%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.896, P<0.05$). **Conclusion** Trabeculectomy combined with retinal photocoagulation has a significant clinical effect in the treatment of NVG patients, which can effectively improve the symptoms such as eye pain and photophobia, reduce the incidence of complications.

[KEY WORDS] Trabeculectomy; Neovascular glaucoma; IP-10

新生血管性青光眼(neovascular glaucoma, NVG)是临床常见的致盲性眼病,具有失明率高、进展快、病因复杂等特点^[1]。目前临床主要采用视网膜光凝术治疗 NVG,其可起到促进新生血管消退、重建视网膜血运等作用^[2]。但血管完全消退时间较长,患者眼压持续升高会造成房角关闭、视神经损伤等情况发生。据张璐等^[3]在 NVG 的治疗中发现,小梁切除术能有效改善房水屏障、从而达到降低眼压的目的。随着对 NVG 研究的深入,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)逐渐受到重视,其与新生血管的形成、发展密切相关^[4]。干扰素诱导蛋白-10(Interferon Induced Protein-10, IP-10)可降低促血管因子的表达,而肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)可促进炎症反应的发生,加剧眼部的进一步损伤。本文主要分析小梁切除术、视网膜光凝联合治疗对 NVG 患者 IP-10、TNF- α 、VEGF 的影响。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 3 月至 2022 年 8 月期间保定市第一中心医院接收的 103 例(103 眼) NVG 患者,根据患者意愿采用不同的治疗方法,分为观察组($n=53$)和对照组($n=50$)。其中观察组男性 34 例,女性 19 例;年龄:45~78 岁,平均年龄(60.38 ± 6.81)岁;共 53 眼。对照组男性 32 例,女性 18 例;年龄:46~80 岁,平均年龄(61.17 ± 5.96)岁;共 50 眼。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经本院医学伦理委员会审批通过;患者或家

属已签署《知情同意书》。

纳入标准:①符合《中华眼科学》^[5]关于 NVG 的诊断标准;②经眼底血管造影显示视网膜有新生血管;排除标准:①玻璃体受损患者;②既往有青光眼手术史者。

1.2 方法

对照组:采用睫状体冷凝术联合视网膜光凝治疗。睫状体冷凝术:对患者睫状神经节进行麻醉,将球结膜剪开后采用 DH-286C 型冷冻治疗仪(宝应县大海机电设备制造厂,苏械注准 20152160969)进行治疗,将直径大小为 2.5 mm 的冷凝投至角膜缘后 3 mm 位置,采用冷凝 8~10 点,将温度设置成 -70°C ,每次冷凝时间设置为 45 s,在 3、9 点钟方向处进行再次冷凝。将 1 mL 空针刺穿患者前房,缝合球结膜后,再注射适量妥布霉素地塞米松眼膏(齐鲁制药有限公司,国药准字 H20020496)。在术后 1 个月内,患者眼压下降及角膜透明后采取视网膜光凝术治疗。视网膜光凝术:选取 532 nm 的激光,将光斑直径设置成 200~3 000 μm ,每次曝光时间选择在 0.15~0.25 s 范围内,功率:100~300 mW,中间间隔设置为 0.5 PD,分为 1~2 次完成,一次完成 1 000~1 200 点,将 1 个月的总点数控制在 2 200~2 500 点间。

观察组:采用小梁切除术联合视网膜光凝治疗。小梁切除术:采用盐酸奥布卡因滴眼液(沈阳绿洲制药有限责任公司,国药准字 H21023202)行眼球表面麻醉,在眼球穹隆位置做结膜瓣,4 mm \times 5 mm 的矩形巩膜瓣,厚度设置为 1/2 巩膜。随后将 0.4 g/L 撕裂霉素 C 的棉片放入巩膜瓣下,等待 4 min,用生理盐水反复冲洗巩膜瓣、

角膜表面等位置。选取颞侧透明角膜缘做穿刺小口,放置备用,将带有小梁组织的1 mm×2 mm巩膜窗切除,参照睫状突调节缝线,用10-0可吸收缝线缝合巩膜瓣和结膜瓣,在备用口位置重新建立前房,随后注射适量妥布霉素地塞米松眼膏于结膜下位置,随后进行包扎处理。在患者术后1周至1月内行视网膜光凝术,方法同上。

1.3 观察指标

1.3.1 两组临床疗效比较

在治疗后2个月进行疗效判定^[6]。显效:患者症状完全消失,视力明显提高。有效:患者症状明显改善,眼压得到控制,但仍需使用少量抗青光眼药物。无效:患者病情无变化或加重,需继续使用抗青光眼药物。临床疗效=[(显效+有效)/总例数]×100%。

1.3.2 两组手术前后相关指标比较

选取非接触式眼压计检测眼压情况,采用眼科光学相干断层扫描仪计算视网膜神经纤维层厚度及视野缺损值。

1.3.3 两组IP-10、TNF-α、VEGF水平比较

在术前、术后1个月时,抽取空腹静脉血5 mL,使用酶联免疫吸附法检测IP-10、TNF-α、VEGF水平,试剂盒均购自上海劲马实验设备有限公司。

1.3.4 两组视力恢复情况比较

在术前及术后1个月,采用国际标准视力表^[7]进行检查。提高:视力较术前提升2行以上;不变:视力变化范围在1行内;减退:视力较术前下降2行以上。

1.3.5 两组术后并发症情况比较

术后并发症包括恶性青光眼、浅前房、前房出血、角膜水肿、睫状体充血、眼球萎缩。

1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件进行统计分析,计量采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,两两间使用 t 检验;计数采用 $n(\%)$ 表示,并用 χ^2 检验;均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

观察组临床总有效率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of clinical efficacy between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总有效
观察组	53	33(62.26)	19(35.85)	1(1.89)	52(98.11)
对照组	50	26(52.00)	18(36.00)	6(12.00)	44(88.00)
χ^2 值					4.154
P 值					0.0415

2.2 两组手术前后相关指标比较

术后15 d、1个月观察组眼压及视野缺损值明显低于对照组,神经纤维层厚度大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组血清相关指标比较

术后1个月观察组IP-10水平高于对照组,TNF-α、VEGF水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表2 两组手术前后相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of relevant indexes before and after operation between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	眼压(mmHg)			神经纤维层厚度(μm)			视野缺损值(dB)		
		术前	术后15 d	术后1个月	术前	术后15 d	术后1个月	术前	术后15 d	术后1个月
观察组	53	51.06±5.71	21.48±6.54 ^a	17.85±5.06 ^a	78.26±6.12	88.54±5.21 ^a	92.64±5.74 ^a	19.54±2.46	15.26±2.54 ^a	12.33±2.54 ^a
对照组	50	52.11±4.71	26.97±3.68 ^a	22.14±4.51 ^a	77.15±7.32	83.61±5.72 ^a	86.97±4.91 ^a	19.07±2.67	16.47±2.31 ^a	15.07±2.16 ^a
t 值		1.015	5.208	4.532	0.837	4.577	5.372	0.930	2.525	5.881
P 值		0.313	<0.001	<0.001	0.405	<0.001	<0.001	0.355	0.013	<0.001

注:与术前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组血清相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum related indexes between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IP-10		TNF-α		VEGF	
		术前	术后1个月	术前	术后1个月	术前	术后1个月
观察组	53	28.22±5.37	53.96±9.12 ^a	42.17±6.25	22.15±5.43 ^a	188.12±31.26	133.65±24.19 ^a
对照组	50	27.96±5.91	48.01±8.23 ^a	41.96±7.08	26.57±5.96 ^a	184.56±32.57	153.62±26.17 ^a
t 值		0.234	3.469	0.160	3.938	0.800	4.024
P 值		0.816	<0.001	0.873	<0.001	0.426	<0.001

注:同组间与术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组视力情况比较

观察组视力提高率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.5 两组并发症情况比较

观察组并发症发生率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表4 两组视力情况比较 [$n(\%)$]

Table 4 Comparison of visual acuity between the two groups [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	提高	不变	减退
观察组	53	45(84.91)	7(13.21)	1(1.89)
对照组	50	34(68.00)	13(26.00)	3(6.00)
χ^2 值		4.114		
<i>P</i> 值		0.043		

表5 两组并发症情况比较 [$n(\%)$]

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

组别	<i>n</i>	恶性青光眼	浅前房	前房出血	睫状体充血	角膜水肿	眼球萎缩	总发生率
观察组	53	1(1.89)	2(3.77)	1(1.89)	0(0.00)	1(1.89)	0(0.00)	5(9.43)
对照组	50	0(0.00)	5(10.00)	4(8.00)	1(2.00)	2(4.00)	1(2.00)	13(26.00)
χ^2 值		4.896						
<i>P</i> 值		0.027						

3 讨论

NVG是目前眼科治疗的难题之一,当患者视网膜处于缺氧缺血时,会产生大量VEGF,刺激虹膜、房角形成新生血管及纤维血管膜,出现房角堵塞、关闭等情况,进一步损伤视神经^[8]。

张小牛等^[9]认为,单一药物或手术治疗NVG能暂时缓解患者的临床症状,但远期治疗效果并不理想。在行视网膜光凝术前进行睫状体冷凝术可有效降低房水分泌,达到控制眼压、破坏睫状上皮的目的^[10]。本次研究结果显示,观察组临床总有效率高于对照组,结果与季瑛等^[11]研究结果一致。推测原因在于,小梁切除术采用丝裂霉素C后,建立了有助于患者恢复的功能性滤过泡,从而提高临床疗效^[12]。此外,本次结果表明,术后15d、1个月观察组眼压及视野缺损值明显低于对照组,神经纤维层厚度大于对照组。提示小梁切除术、视网膜光凝联合治疗NVG患者的降眼压效果较好,能有效改善视网膜血液循环,恢复视网膜功能。孙曹毓等^[13]研究发现,NVG患者的房水组织中VEGF水平明显升高。VEGF作为一种特异性有丝分裂原,能促进血管内皮细胞增殖,而IP-10具有阻止血管内皮细胞发生迁移、抑制管腔生成的作用。本次结果表明,术后1个月观察组IP-10水平高于对照组,TNF- α 、VEGF水平低于对照组。说明小梁切除术联合视网膜光凝治疗对患者血清IP-10、TNF- α 、VEGF水平影响更为显著。分析原因在于,血清VEGF的升高,有助于提高新生血管对虹膜及前房角的覆盖率,引起纤维血管膜

收缩,造成眼压顽固性升高,而小梁切除术联合视网膜光凝治疗通过建立房水引流通道,有效降低眼压、抑制血清VEGF水平升高;同时,通过IP-10对促血管生成因子的抑制作用,使得角膜组织中白细胞介素-6、TNF- α 及VEGF水平明显下降,有利于改善视网膜缺氧缺血状态^[14]。

除此之外,本次结果显示,观察组视力提高率高于对照组,同时观察组并发症发生率低于对照组。说明小梁切除术联合视网膜光凝治疗有利于促进NVG患者视力恢复,且安全性相对较高。值得注意的是,本次研究还发现观察组术后出现前房出血的情况明显低于对照组,推测睫状体冷凝术更易增加新生血管破裂出血的风险,可能与睫状体冷凝术中剂量控制不佳有关^[15]。

综上所述,小梁切除术、视网膜光凝联合治疗NVG患者疗效显著,能有效改善患者眼痛、畏光等症状,减少并发症的发生。

参考文献

- [1] Sun C, Zhang HS, Tang Y, et al. Aqueous Inflammation and Ischemia-Related Biomarkers in Neovascular Glaucoma with Stable Iris Neovascularization[J]. *Curr Eye Res*, 2020, 45(12):1504-1513.
- [2] 胡海涛,高文红,王红,等.复明片在糖尿病视网膜病变患者视网膜光凝术后的应用效果分析[J]. *四川医学*, 2020, 41(3):285-289.
- [3] 张璐,于敬妮.贝伐单抗联合小梁切除术与全视网膜光凝术治疗新生血管性青光眼疗效对比研究[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(8):999-1002.

慢性肾小球肾炎患者血清 DAO、D-LA 表达与 TH1/TH2 失衡的关系

韩博¹ 于敏¹ 熊锡山^{2*}

【摘要】目的 探讨慢性肾小球肾炎(CGN)患者血清二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-LA)表达与辅助型T细胞1(TH1)/辅助型T细胞2(TH2)失衡的关系。**方法** 选取2021年1月至2022年1月于中国人民解放军总医院确诊为CGN的患者108例作为CGN组,按照慢性肾脏疾病(CKD)分期将患者按照疾病的严重程度分组,32例为CKD1~2组,40例为CKD3~4组,36例为CKD5组。选取本院同期85名正常的体检健康人群为对照组。检测并比较两组以及CGN组不同疾病严重程度患者TH1/TH2、DAO、D-LA水平以及TH1细胞分泌的白介素-2(IL-2)和干扰素- γ (IFN- γ)及TH2细胞分泌的白介素-4(IL-4)和白介素-10(IL-10)的含量。采用Pearson相关性分析DAO、D-LA水平及二者与TH1、TH2、TH1/TH2、IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-10的相关性。**结果** CGN组患者血清DAO和D-LA水平较对照组显著升高,差异具有统计学意义($t=6.917、19.051, P<0.05$);DAO和D-LA的水平:CKD5组>CKD3~4组>CKD1~2组,差异有统计学意义($F=16.364、F=21.333, P<0.05$);Pearson相关性分析结果显示CGN患者DAO和D-LA水平呈正相关关系($r=0.488, P<0.001$)。CGN组TH1、TH1/TH2的比例以及IL-2、IFN- γ 的水平显著高于对照组,差异有统计学意义($t=5.703、10.539、10.435、7.737, P<0.05$),TH2比例以及IL-4、IL-10水平显著低于对照组,差异具有统计学意义($t=6.831、11.202、25.630, P<0.05$)。随着CGN组疾病严重程度升高,TH2比例以及IL-4、IL-10水平明显降低,TH1、TH1/TH2比例以及IL-2、IFN- γ 水平明显升高($P<0.05$);CGN患者血清DAO和D-LA水平与TH1、TH1/TH2、IL-2、IFN- γ 呈正相关,与TH2、IL-4、IL-10水平呈负相关($P<0.05$)。**结论** CGN患者血清DAO、D-LA呈高水平,推断二者水平变化与TH1/TH2失衡有关。

关键词 慢性肾小球肾炎;二胺氧化酶;D-乳酸;TH1/TH2

Relationship between serum DAO, D-LA expression and TH1/TH2 imbalance in patients with chronic glomerulonephritis

HAN Bo¹, YU Min¹, XIONG Xishan^{2*}

(1. Department of Nephrology, the Fifth Medical Centre, Chinese PLA General Hospital, Beijing, China, 100071; 2. Department of Nephrology, Suzhou Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Suzhou, Anhui, China, 234000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the relationship between expression of serum diamine oxidase (DAO), D-lactate (D-LA) and the imbalance of T helper 1 (TH1)/helper 2 (TH2) in patients with chronic glomerulonephritis (CGN). **Methods** A total of 108 patients diagnosed with CGN in the General Hospital of Chinese People's Liberation Army from January 2021 to January 2022 were selected as the CGN group. According to the stage of chronic kidney disease (CKD), the patients were divided into the CKD1-2 group ($n=32$), the CKD3-4 group ($n=40$) and the CKD-5 group ($n=36$). A total of 85 healthy people with

基金项目:安徽省高校自然科学研究项目(KJ2021A0346)

作者单位:1. 中国人民解放军总医院第五医学中心肾脏病科,北京 100071

2. 安徽医科大学附属宿州医院肾脏内科,安徽,宿州 234000

*通信作者:熊锡山, E-mail: sunghai@163.com

normal physical examination were selected as the control group. The levels of TH1/TH2, DAO and D-LA as well as the contents of interleukin-2 (IL-2) and interferon- γ (IFN- γ) secreted by TH1 cells and interleukin-4 (IL-4) and interleukin-10 (IL-10) secreted by TH2 cells were detected and compared in the two groups and the CGN group with different disease severity. Pearson correlation was used to analyze the levels of DAO and D-LA and their correlation with TH1, TH2, TH1/TH2, IL-2, IFN- γ , IL-4 and IL-10. **Results** The levels of serum DAO and D-LA in the CGN group were significantly higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($t=6.917, P<0.05; t=19.051, P<0.05$). The levels of DAO and D-LA were as follows: CKD5 group > CKD3-4 group > CKD1-2 group, the difference was statistically significant ($F=16.364, P<0.05; F=21.333, P<0.05$); Pearson correlation analysis showed a positive correlation between DAO and D-LA levels in CGN patients ($r=0.488, P<0.001$). The proportions of TH1, TH1/TH2 and levels of IL-2 and IFN- γ in the CGN group were significantly higher than those in the control group ($t=5.703, 10.539, 10.435, 7.737, P<0.05$), and the proportions of TH2 and levels of IL-4 and IL-10 in the CGN group were significantly lower than those in the control group, the difference was statistically significant ($t=6.831, 11.202, 25.630, P<0.05$). With the increase of disease severity in the CGN group, the proportion of TH2 and the level of IL-4 and IL-10 decreased significantly, while the proportion of TH1 and TH1/TH2 and the level of IL-2 IFN- γ increased significantly ($P<0.05$). The levels of serum DAO and D-LA in CGN patients were positively correlated with TH1, TH1/TH2, IL-2, and IFN- γ , and negatively correlated with the levels of TH2, IL-4, and IL-10 ($P<0.05$). **Conclusion** Serum DAO and D-LA in CGN patients are high, and the changes of the two levels are related to the imbalance of TH1/TH2.

[KEY WORDS] Chronic glomerulonephritis; Diamine oxidase; D-lactate; TH1/TH2

慢性肾小球肾炎(chronic glomerulonephritis, CGN)是一种以肾脏长期功能不佳为特征的疾病,通常是由其他对肾脏造成压力的疾病引起的,例如高血压、糖尿病、高胆固醇、肾脏感染等^[1]。二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)存在于小肠粘膜上层,受损的肠道黏膜细胞释放大量 DAO,可以反映肠黏膜受损的情况,进而影响肾脏的功能^[2]。在发生肾病时,大量的 D-乳酸(d-lactate, D-LA)通过受损粘膜,促使血液中 D-LA 的水平升高^[3]。细胞因子在免疫反应中发挥关键的作用,辅助型 T 细胞 1(type I helper T cells, TH1)因子主要参与细胞免疫反应、细胞毒 T 细胞的介导以及巨噬细胞的活化反应,辅助型 T 细胞 2(type2 helper T cells, TH2)因子主要介导体液免疫,辅导 B 细胞的分化,研究表明,TH1 和 TH2 的失衡与大多数 CGN 等免疫性疾病相关^[4]。本研究通过检测 CGN 患者与健康体检者血清 DAO、D-LA 的表达水平,探讨 DAO、D-LA 表达与 TH1/TH2 失衡的关系,旨在为 CGN 的临床治疗提供有效的依据。报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2021 年 1 月至 2022 年 1 月于中国人民解放军总医院确诊为 CGN 的患者 108 例作为 CGN

组,根据患者人表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, eGFR)检测结果,按照慢性肾脏疾病(chronic kidney diseases, CKD)分期,将患者按照疾病的严重程度分组,32 例为 CKD1~2 组,40 例为 CKD3~4 组,36 例为 CKD5 组^[5]。选取本院同期 85 名正常健康体检人群为对照组。研究已经通过本院伦理委员会审核批准,所有受试者均知情并签署知情同意书。CGN 患者纳入标准:①符合《慢性肾脏病的诊断和治疗专辑(二)——慢性肾小球肾炎》中关于 CGN 的诊断标准^[6];②伴有水肿、高血压、尿常规异常症状的患者;③尿蛋白定型为阳性患者。排除标准:①其他免疫性疾病患者;②合并恶性肿瘤以及炎症性疾病者;③妊娠期或者哺乳期患者;④凝血功能受损的患者。两组性别、年龄、BMI、血清白蛋白、三酰甘油的含量比较差异无统计学意义($P>0.05$);24 h 尿蛋白、血尿酸、血清肌酐比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

1.2 方法

1.2.1 DAO、D-LA 的表达水平以及 IL-2、IFN- γ 、IL-4 和 IL-10 的含量的测定

CGN 患者和对照组于检查日清晨抽取空腹静脉血 10 mL,其中 5 mL 于 4℃ 下 4 500 r/m 离心 10 min,离心半径为 10 cm,收集血清,-20℃ 保存待测。采用酶联免疫吸附法(enzyme linked im-

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

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

组别	CGN组 ($n=108$)	对照组 ($n=85$)	t/χ^2 值	P 值
性别				
男	58(53.70)	44(51.76)		
女	50(46.30)	41(48.24)	0.072	0.789
年龄(岁)	42.50±4.56	41.40±4.86	1.616	0.108
身体质量指数 (kg/m^2)	24.88±2.65	24.35±2.84	1.336	0.183
血清白蛋白 (g/L)	39.65±5.24	39.02±4.12	0.909	0.364
三酰甘油 (mmol/L)	2.05±0.25	2.10±0.36	1.137	0.257
24 h尿蛋白(g)	2.26±0.25	1.21±0.23	29.997	<0.001
血尿酸 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	389.45±45.36	315.47±35.15	12.389	<0.001
血清肌酐 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	121.36±20.64	69.55±8.36	21.770	<0.001

munosorbent assay, ELISA)法检测血清中DAO、D-LA、白介素-2(Interleukin-2, IL-2)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、白介素-4(Interleukin-4, IL-4)和白介素-10(Interleukin-10, IL-10)水平,检测试剂购自Benchmark公司(美国),实验操作严格按照说明书完成。

1.2.2 流式细胞术检测TH1、TH2细胞水平

将另一份静脉血(5 mL)注入EDTA抗凝管,加入1640培养液稀释混匀,加入佛波脂、离子霉素,于37°C,5 mg/dL CO₂培养箱孵育4.5 h(每2 h震荡混匀一次)后加入CD3和CD8抗体各5 μL ,混匀,室温避光孵育15 min,对T细胞表面抗原和细胞内因子染色,加入破膜剂,使用流式细胞仪检测TH1和TH2的比例,计算TH1/TH2的值。

1.2.3 统计方法

数据处理使用SPSS 25.0统计软件;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用独立样本 t 检验分析,多组间比较行单因素方差分析,进一步比较采用SNK- q 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,比较行 χ^2 检验。采用Pearson相关性分析DAO、D-LA水平及二者与TH1、TH2、TH1/TH2、IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-10水平的相关性。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清DAO、D-LA水平比较

CGN组患者血清DAO和D-LA水平较对照组显著升高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组血清DAO和D-LA水平比较 [$(\bar{x} \pm s)$, pg/mL]

Table 2 Comparison of serum DAO and D-LA levels between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, pg/mL]

组别	n	DAO	D-LA
对照组	85	7.25±0.81	8.33±1.24
CGN组	108	8.12±0.91	12.36±1.61
t 值		6.917	19.051
P 值		<0.001	<0.001

2.2 CGN组不同疾病严重程度患者血清DAO、D-LA水平比较

DAO和D-LA的水平:CKD5组>CKD3~4组>CKD1~2组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 CGN组不同疾病严重程度患者血清DAO、D-LA水平比较 [$(\bar{x} \pm s)$, pg/mL]

Table 3 Comparison of serum DAO D-LA levels in patients with different disease severity in CGN group Comparison of serum DAO D-LA levels among the three groups

组别	n	DAO	D-LA
CKD1~2组	32	7.45±0.91	11.16±1.61
CKD3~4组	40	8.12±0.92 ^a	12.12±1.62 ^a
CKD5组	36	8.72±0.91 ^{ab}	13.68±1.61 ^{ab}
F 值		16.364	21.333
P 值		<0.001	<0.001

注:与CKD1~2组比较,^a $P<0.05$;与CKD3~4组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 DAO和D-LA的相关性分析

Pearson相关性分析结果显示CGN患者DAO和D-LA水平呈正相关关系($r=0.488$, $P<0.001$)。

2.4 两组TH1、TH2、TH1/TH2及其相关细胞因子之间的比较

CGN组TH1、TH1/TH2的比例以及IL-2、IFN- γ 的水平显著高于对照组,TH2比例以及IL-4、IL-10水平显著低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表4、5。

表4 两组TH1、TH2以及TH1/TH2比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of TH1, TH2 and TH1/TH2 between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TH1(%)	TH2(%)	TH1/TH2
对照组	85	9.85±2.15	1.55±0.35	6.35±2.12
CGN组	108	12.36±3.58	1.25±0.26	9.89±2.46
t 值		5.703	6.831	10.539
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 GN组不同疾病严重程度患者TH1、TH2以及TH1/TH2及其相关细胞因子之间的比较

H2比例以及IL-4、IL-10水平:CKD5组<

表5 两组相关细胞因子水平比较 $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$ Table 5 Comparison of cytokine levels between the two groups $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$

组别	<i>n</i>	IL-2	IFN- γ	IL-4	IL-10
对照组	85	6.45 \pm 0.89	5.84 \pm 0.65	2.95 \pm 0.34	8.40 \pm 2.45
CGN组	108	8.25 \pm 1.38	7.15 \pm 1.45	2.45 \pm 0.28	2.25 \pm 0.42
<i>t</i> 值		10.435	7.737	11.202	25.630
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

CKD3~4组<CKD1~2组, TH1、TH1/TH2的比例以及IL-2、IFN- γ 的水平:CKD5组>CKD3~4组>CKD1~2组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表6、7。

表6 CGN组不同疾病严重程度患者相关细胞因子水平比较 $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$ Table 6 Comparison of the levels of related cytokines in patients with different disease severity in CGN group $[(\bar{x} \pm s), \text{pg/mL}]$

组别	<i>n</i>	TH1 (%)	TH2 (%)	TH1/TH2
CKD1~2组	32	10.25 \pm 3.57	1.35 \pm 0.27	7.59 \pm 2.45
CKD3~4组	40	12.36 \pm 3.57 ^a	1.25 \pm 0.25 ^a	9.89 \pm 2.46 ^a
CKD5组	36	14.25 \pm 3.59 ^{ab}	1.15 \pm 0.25 ^a	11.93 \pm 2.48 ^{ab}
<i>F</i> 值		10.594	5.174	26.285
<i>P</i> 值		<0.001	0.007	<0.001

注:与CKD1~2组比较,^a $P<0.05$;与CKD3~4组比较,^b $P<0.05$ 。

表7 CGN组不同疾病严重程度患者TH1、TH2以及TH1/TH2比较 $(\bar{x} \pm s)$ Table 7 Comparison of TH1, TH2 and TH1/TH2 in patients with different disease severity in CGN group $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	IL-2	IFN- γ	IL-4	IL-10
CKD1~2组	32	6.42 \pm 0.88	6.15 \pm 1.35	2.68 \pm 0.29	3.35 \pm 0.45
CKD3~4组	40	8.25 \pm 1.38 ^a	7.15 \pm 1.46 ^a	2.45 \pm 0.28 ^a	2.26 \pm 0.42 ^a
CKD5组	36	9.88 \pm 1.82 ^{ab}	8.05 \pm 1.53 ^{ab}	2.25 \pm 0.26 ^{ab}	1.25 \pm 0.40 ^{ab}
<i>F</i> 值		49.706	14.492	20.479	209.144
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与CKD1~2组比较,^a $P<0.05$;与CKD3~4组比较,^b $P<0.05$ 。

2.6 CGN患者血清DAO、D-LA表达与TH1、TH2、TH1/TH2以及相关细胞因子之间的相关性

CGN组患者血清DAO和D-LA的表达水平与TH1、TH1/TH2、IL-2、IFN- γ 呈正相关,与TH2、IL-4、IL-10的水平呈负相关($P<0.05$)。见表8。

3 讨论

CGN是一种病程缓慢、进行性发展的慢性肾病,主要是由肾小球发生损伤所致,严重时会导致肾功能衰竭,严重威胁患者的生命安全^[7]。在肾损伤的情况下,不能由肾脏排泄而蓄积在体内的代谢物通过肠壁血管进入到肠腔,从而影响肠道

表8 CGN患者血清DAO、D-LA表达与TH1、TH2、TH1/TH2以及相关细胞因子之间的相关性

Table 8 Correlation between serum DAO D-LA expression and TH1, TH2, TH1/TH2 and related cytokine in CGN patients

指标	DAO		D-LA	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
TH1	0.521	<0.001	0.328	0.012
TH2	-0.341	0.008	-0.434	<0.001
TH1/TH2	0.512	<0.001	0.442	<0.001
IL-2	0.336	0.009	0.325	0.013
IFN- γ	0.324	0.014	0.459	<0.001
IL-4	-0.426	<0.001	-0.311	0.021
IL-10	-0.305	0.024	-0.301	0.026

屏障功能,使得肠道菌群严重失衡^[8]。

DAO是人类肠粘膜上层绒毛细胞中具有高度活性的酶,少量分布在肾脏组织中,肠粘膜和外周血的DAO可以反映肠上皮细胞的完整度,其变化可以反映肠粘膜屏障的功能状况^[9]。研究表明,肠组织缺血或缺氧会导致DAO在血浆中水平显著升高^[10]。在受到创伤和感染状况下,肠道细菌产生大量的D-LA进入血液,引起血浆中D-LA的表达水平显著升高^[11]。本次研究显示,CGN组患者血清DAO和D-LA水平较对照组显著升高;随着CGN组疾病严重程度升高DAO和D-LA水平明显升高,提示DAO和D-LA可能参与CGN的发生和发展。

正常人受到感染等外界刺激时会导致机体单核细胞、T细胞激活而产生一系列的细胞因子,参与机体自身稳定性调节^[12]。在CGN患者的炎症反应中,T细胞在肾脏免疫功能损伤中发挥重要作用^[13],TH1、TH2细胞效应与CGN的发生和发展密切相关。已有研究表明,CGN患者存在严重的TH1/TH2失衡^[14]。在CGN病变的肠粘膜中IL-2、IFN- γ 作为与炎症相关的因子,能够加重体内炎症反应,而IL-4、IL-10具有免疫调节作用,二者发挥了抗炎作用^[15]。本研究表明,CGN组TH1、TH1/TH2的比例以及IL-2、IFN- γ 的水平显著高于对照组,TH2比例以及IL-4、IL-10水平显著低于对照组,并且随着CKD病情严重程度升高TH2比例以及IL-4、IL-10水平明显降低,TH1、TH1/TH2的比例以及IL-2、IFN- γ 的水平明显升高,与前人研究一致,TH1细胞间接促进肾组织发生炎症,从而加重了肾脏的损伤,提示CGN的发生与TH1、TH2、TH1/TH2失衡有关。

进一步 Pearson 相关性分析结果显示,CGN 患者 DAO 和 D-LA 水平呈正相关关系,且二者与 TH1、TH1/TH2、IL-2、IFN- γ 呈正相关,与 TH2、IL-4、IL-10 的水平呈负相关,提示 CGN 患者发生 TH1/TH2 失衡,TH1/TH2 与免疫病理过程有关,机体内环境的稳态被打破,炎症反应发生,DAO 和 D-LA 的表达与炎症相关,间接提示 DAO 和 D-LA 参与了 TH1/TH2 的调控过程。

综上所述,CGN 患者血清中 DAO 和 D-LA 呈高水平并参与 CGN 的发生,二者呈正相关关系,通过对 CGN 患者 TH1/TH2 的检测,有助于了解体内免疫状态,对 CGN 病情研究有一定的临床价值。

参考文献

- [1] 周雅丽,翁震,何杨. 糖尿病肾脏疾病引起的肾小球微血栓与炎症相关性研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2021, 29(12):945-947.
- [2] 陶芳. 基于肠-肾轴理论探讨通腑泄浊法中药灌肠治疗慢性肾脏病 3-4 期临床观察研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2020.
- [3] 吴彪,王春友. 急性胰腺炎肠道屏障功能损伤时血浆内毒素和 D-乳酸的变化[J]. 中国普通外科杂志, 2009, 18(3):224-227.
- [4] 程亮,徐永. 2 型糖尿病患者循环 CD4⁺(+)T 细胞亚群与肾脏损伤的相关性研究[J]. 河北医科大学学报, 2021, 42(12):1392-1396.
- [5] 吴东,杨山珊,张庆红,等. 血清 HIF-1 α ,eGFR 水平变化与慢性肾炎患者疾病严重程度的相关性分析[J]. 国际泌尿系统杂志, 2021, 41(5):899-902.
- [6] 成田一卫,史春虹,李昌臣. 慢性肾脏病的诊断和治疗专辑(二)-慢性肾小球肾炎[J]. 日本医学介绍, 2007, 28(7):289-291.
- [7] 王加平,孟晓波,李恒星,等. 缙沙坦联合前列地尔治疗慢性肾小球肾炎的疗效及对肾功能,血流变学,t-PA 和 PAI-1 的影响[J]. 海南医学, 2017, 28(24):4036-4039.
- [8] 李昭君,陈晓光,张森. 肠道菌群-代谢物网络同慢性肾病发生发展的关系及其关联机制研究进展[J]. 药理学报, 2020, 55(12):2777-2784.
- [9] 诸小飞,傅恺,曹婷婷. 奥曲肽联合早期肠内营养对老年重症急性胰腺炎患者肠黏膜屏障功能,肠道菌群和细胞因子的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(3):588-590.
- [10] 姚俊鹏,赵妍,陈颖,等. 电针对腹泻型肠易激综合征大鼠肠上皮黏膜屏障功能的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(5):357-362.
- [11] 尚威,吴华,陈艳,等. 蒙花苷对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜屏障的影响[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(5):424-431.
- [12] 李嘉铃,姜露,杨庆利,等. Th1 和 Th2 细胞因子的基因多态性与新生儿乙型肝炎疫苗低免疫应答的关联性研究[J]. 中国疫苗和免疫, 2020, 26(3):253-260.
- [13] 王明秋,翟文豪,朱子豪,等. 免疫炎症反应在对比剂急性肾损伤发病机制中的作用[J]. 现代免疫学, 2018, 38(3):257-260.
- [14] 王莉,冯仕品,罗苇,等. 玉屏风颗粒联合他克莫司对原发性肾病综合征患儿肾功能,免疫功能以及 Th1/Th2 细胞平衡的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(17):3354-3357.
- [15] 刘心亮,熊益群,周大桥,等. 补肾清透方对慢性乙肝 HBeAg 阳性患者血清 IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α 及 IFN- γ 的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(5):565-566+571.

(上接第 386 页)

- [4] Liu H, Ma Y, Xu HC, et al. Updates on the Management of Ocular Vasculopathies with VEGF Inhibitor Conbercept [J]. Curr Eye Res, 2020, 45(12):1467-1476.
- [5] 李海凌. 《中华眼科学》(第 3 版)一书出版[J]. 临床眼科杂志, 2016, 24(5):468-468.
- [6] 罗丽娟,韩英军,张荷珍. 康柏西普小梁切除术及视网膜光凝治疗新生血管性青光眼[J]. 中华眼外伤职业眼病杂志, 2020, 42(4):273-277.
- [7] 宋钰,马玉娜,刘桂香,等. 运用视动性眼球震颤法检测视力的可行性研究[J]. 中国斜视与小兒眼科杂志, 2020, 28(1):25+28-29+23.
- [8] Sastry A, Ryu C, Jiang X, et al. Visual Outcomes in Eyes With Neovascular Glaucoma and Anterior Segment Neovascularization Without Glaucoma [J]. Am J Ophthalmol, 2022, 236:1-11.
- [9] 张小牛,李世洋,肖建和. 抗 VEGF 综合治疗对新生血管性青光眼的疗效[J]. 国际眼科杂志, 2020, 20(2):243-246.
- [10] 方伟,李海东,徐一珺,等. 全视网膜光凝术对视网膜黄斑部微循环状态的影响[J]. 眼科新进展, 2022, 42(5):382-385.
- [11] 季瑛,刘世龙,郭倩. 玻璃体腔注射雷珠单抗联合复合式小梁切除术及全视网膜光凝治疗新生血管性青光眼的临床疗效[J]. 河北医学, 2020, 26(2):325-329.
- [12] 吴英杰,程方. 小梁切除术后滤过泡的评估方法[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2021, 21(6):473-476.
- [13] 许多,阳建政,刘蕊,等. 血管新生性青光眼患者房水中 EPO、VEGF 的表达研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(1):78-81,86.
- [14] Aldaas KM, Randall C, Eftekhari K, et al. Orbital Diffuse Large B-Cell Lymphoma Initially Presenting as Neovascular Glaucoma [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2020, 36(1):e12-e13.
- [15] 宋娅琴,马雪英,王笃亲,等. 全视网膜光凝技术联合康柏西普对新生血管性青光眼的疗效[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(12):1941-1945.

血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达与多发性骨髓瘤患者病理特征及预后的关系

李超* 杨如玉 段丽娟

[摘要] 目的 探讨血清 *miR-28-5p*、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 表达与多发性骨髓瘤 (MM) 患者病理特征及预后的关系。方法 选取 2018 年 1 月至 2019 年 6 月于河南省南阳市中心医院就诊的 MM 患者 124 例为病例组, 选取同期健康志愿者 50 名为对照组, 分析两组血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平与患者病理特征及其预后的关系。结果 与对照组比较, 病例组血清 *miR-28-5p* 表达水平降低、血清 HMGB1 水平升高, 差异有统计学意义 ($t=30.327, 16.269, P$ 均 <0.05); 不同 D-S 分期、ISS 分期患者随着分期越晚血清 *miR-28-5p* 表达水平降低, 差异有统计学意义 ($F=19.541, 22.173, P$ 均 <0.05); 不同 ISS 分期患者随着分期越晚血清 HMGB1 水平越高, 差异有统计学意义 ($F=6.891, P<0.05$); 存活患者 *miR-28-5p* 水平高于死亡患者、HMGB1 水平低于死亡患者, 差异有统计学意义 ($t=4.416, 2.546, P<0.05$)。高表达水平 *miR-28-5p*、低水平 HMGB1 的累计生存率更高, 差异有统计学意义 ($\chi^2=16.930, 12.417, P$ 均 <0.05)。结论 MM 患者血清 *miR-28-5p* 表达水平降低、HMGB1 表达水平升高, 两项指标均与患者预后有关, 或可作为 MM 患者预后评价的血清生物学指标。

[关键词] *miR-28-5p*; 迁移率族蛋白 B1; 多发性骨髓瘤; 临床病理特征

Relationship between serum *miR-28-5p*, HMGB1 expression and pathological features and prognosis of patients with multiple myeloma

LI Chao*, YANG Ruyu, DUAN Lijuan

(Department of Hematology, Nanyang Central Hospital of Henan Province, Nanyang, Henan, China, 473009)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum *miR-28-5p* and high mobility group box 1 (HMGB1) expression and the pathological features and prognosis of multiple myeloma (MM) patients. **Methods** 124 MM patients who visited Nanyang Central Hospital of Henan Province from January 2018 to June 2019 were selected as the case group, and 50 healthy volunteers of the same period were selected as the control group. The relationship between the expression levels of serum *miR-28-5p* and HMGB1 and the pathological characteristics and prognosis of patients in the two groups was analyzed. **Results** Compared with the control group, serum *miR-28-5p* expression levels decreased and serum HMGB1 levels increased in the case group, the difference was statistically significant ($t=30.327, 16.269, P<0.05$). The expression level of serum *miR-28-5p* in patients with different D-S stages and ISS stages decreased with the later stage, and the difference was statistically significant ($F=19.541, 22.173, P<0.05$). Patients with different ISS stages had higher serum HMGB1 levels with the later stages, and the difference was statistically significant ($F=6.891, P<0.05$). The level of *miR-28-5p* in surviving patients was higher than that in dead patients, and the level of HMGB1 was lower than that in dead patients, and the difference was statistically significant ($t=4.416, 2.546, P<0.05$). The cumulative survival rate was higher in patients with high expression level of *miR-28-5p* and low level of HMGB1, the difference was statistically significant ($\chi^2=16.930, 12.417, P<0.05$). **Conclusion** The expression level of

基金项目: 河南省中医药科学研究专题课题 (20-21ZY1070)

作者单位: 河南省南阳市中心医院血液内科, 河南, 南阳 473009

*通信作者: 李超, E-mail: ny20221009@126.com

serum *miR-28-5p* decreased and the expression level of HMGB1 increased in patients with MM. Both indicators are related to the prognosis of patients, and may be used as serum biological indicators for the evaluation of the prognosis of MM patients.

[KEY WORDS] *miR-28-5p*; Mobility group protein B1; Multiple myeloma; Clinicopathological characteristics

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是多发于老年人群的一种血液系统恶性肿瘤疾病,具有克隆浆血细胞异常增殖的特征,其发病率在血液系统恶性肿瘤疾病中第二,对患者生存质量带来极大的不良影响^[1]。临床上,免疫调节剂、干细胞移植、蛋白酶体抑制剂等在血液系统恶性肿瘤中广泛应用,MM患者在治疗下,病情及预后均得到明显的改善^[2]。MM患者在治疗下总生存期(overall survival, OS)与无进展生存期(progression-free-survival, PFS)均有一定的延长,但该疾病仍然无法治愈。MM的常见表现,如骨痛、疲劳和体重减轻,可能是非特异性的,并且通常最初被患者和医生忽视或遗漏^[3]。同时MM在治疗中不良反应较大,患者的治疗中断率则随之增高,因此精准评估患者预后是临床关注的重点。而肿瘤的发生与发展离不开微环境,其中与免疫与炎症的关系尤为突出。*miR-28-5p*是近期新发现的与肿瘤侵袭转移有关的miRNA,已有报道发现其在MM患者表达下调^[4]。高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)是一种炎症因子,有研究表明该因子在炎症、免疫系统疾病以及肿瘤中均存在异常表达,在疾病的诊断、疗效预测及预后评估中具有良好的应用效果^[5]。本研究对MM患者血清*miR-28-5p*、HMGB1表达进行检测,分析两项指标与患者病理特征及预后的关系。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2019年6月于河南省南阳市中心医院就诊的MM患者124例作为病例组,选取同期本院体检健康志愿者50名作为对照组。纳入标准:①MM患者符合《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2022年修订)》中MM诊断标准^[6];②临床病理以及随访资料完整;③对本研究知情同意者。排除标准:①合并其他恶性肿瘤及治疗史;②合并白血病、淋巴瘤等其他血液系统疾病;③存

在精神障碍不能配合治疗或随访患者;④入组前接受过其他治疗者。病例组:男63例,女61例,年龄45~80岁,平均年龄(57.52±9.54)岁,国际分期系统(international staging system, ISS)分期^[7]: I期60例、II期51例、III期13例, D-S分期: I期54例、II期43例、III期27例;对照组:选取同期本院健康体检志愿者,男26名,女24名,平均年龄(56.21±6.34)岁。两组性别比例与年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法

病例组患者在入组72 h内采集静脉血3 mL各两管,对照组在体检当天进行采集,采用TG16-II台式高速离心机(湖南平凡科技有限公司),4℃下3 000 r/min(离心半径为10 cm)离心20 min,取上层血清,在-80℃低温下保存,48 h内完成检测。

采用RT-PCR法测定*miR-28-5p*表达水平,常规使用Trizol提取RNA,上游引物为5'-AAGGAG-CUCAGUCUAUUGAG-3',下游引物为5'-CAAU-AGAGUGUGAGCUCUUUU-3', PCR在条件95℃ 15 s、51℃ 15 s、72℃ 45 s扩增40循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式计算*miR-28-5p*的相对表达量。mRNA反转录试剂盒、RT-PCR试剂盒产自宝生物工程(大连)有限公司,引物序列由TAKARA公司设计合成。

采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测HMGB1水平,严格参照ELISA试剂盒说明书进行操作。ELISA试剂盒产自上海酶联生物科技有限公司。

1.3 随访

对病例组患者从入组开始进行36个月的随访,截止时间为2022年6月,每1个月随访1次,随访方式由门诊复查、电话随访、上门面对面随访及微信等形式进行。以死亡作为随访终点事件。

1.4 统计学方法

本研究数据采用SPSS 21.0进行统计分析。

计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较行方差分析;计数资料用 $n(\%)$ 表示,比较用 χ^2 检验;Kaplan-Meier 生存曲线分析指标与预后关系,用 Log rank 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平比较

与对照组比较,病例组血清 *miR-28-5p* 表达水平降低,血清 HMGB1 水平升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum *miR-28-5p* and HMGB1 expression levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>miR-28-5p</i>	HMGB1 (pg/mL)
病例组	124	0.39±0.08	371.66±149.17
对照组	50	0.91±0.11	56.43±21.52
<i>t</i> 值		30.327	16.269
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.2 不同临床特征 MM 患者血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平比较

不同 D-S 分期、ISS 分期的 MM 患者随着分期越晚血清 *miR-28-5p* 表达水平降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);不同 ISS 分期的 MM 患者随着分

期越晚血清 HMGB1 水平越高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);预后存活患者血清 *miR-28-5p* 水平高于死亡患者、HMGB1 水平低于死亡患者,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平 MM 患者 Kaplan-Meier 生存分析

以 124 例 MM 患者血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平平均值 (0.39, 371.66 pg/mL) 作为界限,其中 *miR-28-5p* 表达水平 ≤ 0.39 、HMGB1 水平 ≤ 371.66 pg/mL 为低水平组,其余为高水平组,高表达水平 *miR-28-5p*、低水平 HMGB1 的累积生存率高于低水平 *miR-28-5p*、高水平 HMGB1 ($\chi^2 = 16.930$ 、12.417, P 均 < 0.05)。见图 1。

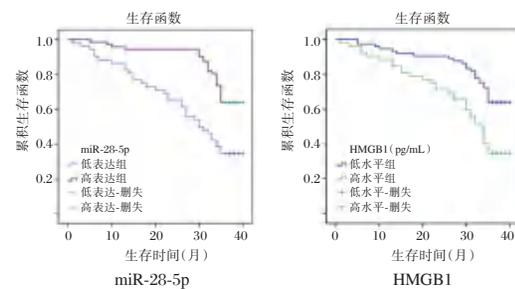


图 1 不同血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平 MM 患者 Kaplan-Meier 生存分析

Figure 1 Kaplan Meier survival analysis of MM patients with different serum *miR-28-5p* and HMGB1 expression levels

表 2 不同临床特征 MM 患者血清 *miR-28-5p*、HMGB1 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum *miR-28-5p* and HMGB1 expression levels in MM patients with different clinical features ($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	<i>miR-28-5p</i>	<i>t/F</i> 值	<i>P</i> 值	HMGB1 (pg/mL)	<i>t/F</i> 值	<i>P</i> 值	
年龄 (岁)	≤ 60	76	0.90±0.09	1.657	0.100	368.58±151.71	0.278	0.782
	> 60	48	0.93±0.11			376.54±161.23		
性别	男	63	0.93±0.12	1.933	0.056	371.74±144.53	0.006	0.995
	女	61	0.89±0.11			371.58±156.62		
D-S 分期	I 期	54	1.00±0.09	19.541	0.000	365.58±125.49	0.135	0.874
	II 期	43	0.93±0.10			373.45±136.41		
	III 期	27	0.85±0.13			380.97±122.35		
ISS 分期	I 期	60	1.02±0.11	22.173	0.000	344.52±121.43	6.891	0.002
	II 期	51	0.93±0.10			375.54±141.34		
	III 期	13	0.87±0.08			481.70±173.69		
诊断分型	IgG 型	97	0.91±0.08	0.073	0.930	371.25±159.63	0.002	0.998
	IgA 型	20	0.92±0.09			372.41±151.06		
	轻链型或其他	7	0.88±1.01			375.20±140.31		
乳酸脱氢酶 (U/L)	< 245	69	0.90±0.13	0.910	0.365	370.58±132.09	0.101	0.920
	≥ 245	55	0.92±0.11			373.01±135.49		
血清钙 (nmol/L)	< 2.98	62	0.90±0.20	0.645	0.520	369.45±139.68	0.176	0.861
	≥ 2.98	62	0.92±0.14			373.87±140.58		
血红蛋白 (g/L)	< 100	59	0.89±0.13	1.260	0.210	174.73±141.58	0.232	0.817
	≥ 100	65	0.93±0.21			368.87±139.65		
生存预后	存活	64	0.96±0.11	4.416	0.000	318.53±129.76	2.546	0.012
	死亡	60	0.88±0.09			385.72±163.20		

3 讨论

MM是以分泌产生M蛋白的浆细胞恶性克隆增生为特征的疾病,在血液系统肿瘤中占13%,在所有的肿瘤疾病总占1%,MM细胞的过度增殖可导致患者出现贫血、肾功能损伤、骨质病变、感染、高钙血症等临床症状,对人来的健康带来了严重的威胁^[8]。肿瘤标志物是肿瘤发生发展的构成中,合成、释放于肿瘤细胞的物质,方便采样、检测简单、创伤小、可重复以及患者更容易接受等优点,在癌症的诊断、病情监测以及预后评估中具有十分重要的作用。

本研究结果显示,与健康者相比,MM患者的血清 *miR-28-5p* 表达水平显著降低, HMGB1 水平显著升高,结果与研究^[9]一致,提示 *miR-28-5p*、HMGB1 可能参与疾病的发展,进而导致不良预后。分子生物学研究发现,MM的发病过程是逐渐变化的,其中非编码RNA在MM的疾病发生与发展过程中发挥着重要的调控功能,对于细胞的发育、增殖、凋亡等生物学过程,miRNA是一项重要的调控因子^[10]。其中,*miR-28-5p*是位于染色体3q27-28的LPP基因中一种新型的miRNA,在细胞发育和进程中均具有调节作用,同时*miR-28-5p*的表达下调可激活核因子 κ B (uclear factor- κ , BNF- κ B)的信号通路,促进炎症因子的表达,而MM细胞的生长和增殖与全身炎症反应密切相关^[11]。相关研究表明^[12],*miR-28-5p*异常表达与结直肠癌、肾细胞癌及非霍奇金淋巴瘤等肿瘤的增殖、转移及预后存在一定的联系。HMGB1是存在于所有细胞类型中的高度保守的核蛋白,最初是作为一种DNA核蛋白被发现的,是一种重要的转录调节因子,并可维持核小体结构的稳定,参与组织的再生及肿瘤转移等,而在肝、脑等组织中, HMGB1 主要参与机体炎症反应^[13]。HMGB1通过激活Toll样受体4多肽(Toll-like Receptor 4 Polypeptide, TLR4)/BNF- κ B信号通路,诱导激白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-8等多种炎症细胞因子,促使促炎介质的释放,从而进一步活化单核巨噬细胞,后者又引起HMGB1进一步释放,而HMGB1又可和某些免疫蛋白家族成员结合,放大配体生物作用,使细胞通透性增高,因此在组织和细胞损伤或死亡中起到重要作用^[14]。本研究中血清HMGB1在MM患者中高表达,证实其与MM发病

有关,可能机制是机体处于炎症或肿瘤病理状态时,细胞核内HMGB1就会进入细胞外,随后与细胞表面受体结合,接着通过激活TLR4/BNF- κ B信号通路开展各种活动,转而又增加了炎症因子的表达,形成“炎症-HMGB1-炎症”的恶性循环。本研究结果显示,不同D-S分期、ISS分期的MM患者随着分期越晚血清*miR-28-5p*表达水平降低,且低水平患者3年内总生存率显著低于高水平患者,进一步明确血清*miR-28-5p*水平与MM患者的病情发展与预后密切相关,可能随着疾病分期越晚,病灶部位越大,新生肿瘤活动越活跃,导致*miR-28-5p*表达水平降低。此外,ISS临床分期在MM患者的临床判断及预后评估中具有重要应用价值^[15]。本研究中MM患者的血清HMGB1水平也随着ISS分期的升高,其水平也随着上升,提示HMGB1与MM疾病发生相关,且高水平患者3年内总生存率显著低于低水平患者,提示HMGB1对MM患者的诊断和疗效监测具有一定的辅助价值,血清HMGB1有望成为MM预后的辅助检测指标,与研究^[16]结论一致。

综上所述,MM患者血清*miR-28-5p*表达水平降低、HMGB1表达水平升高,两项指标可能同时通过激活BNF- κ B信号通路,诱导机体炎症因子的释放,从而影响患者疾病进程与预后,因此两项指标均与患者预后有关,或可作为MM患者预后评价的血清生物学指标。

参考文献

- [1] 吕殿亮,张宽顺,吴艺,等. S100A2, Blimp1 在多发骨髓瘤患者骨髓单个核细胞中的表达水平及意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(11): 1805-1808.
- [2] Shah UA, Mailankody S. Emerging immunotherapies in multiple myeloma[J]. BMJ, 2020, 370: 3176.
- [3] Joshua DE, Bryant C, Dix C, et al. Biology and therapy of multiple myeloma[J]. Med J Aust, 2019, 210(8): 375-380.
- [4] 高铁男,马艳萍. microRNA-28-5p 在多发骨髓瘤的表达分析与表观遗传学研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(5): 1540-1547.
- [5] 王娟,曾爱明,梁树芬. 血清 HMGB1、sRAGE 在初诊多发性骨髓瘤的诊断、疗效监测及预后中的价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(2): 493-500.
- [6] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2022年修订)[J]. 中华内科杂志, 2022, 61(5): 480-487.
- [7] 黄娟娟,卓芬,肖华,等. 血清 miR-424 及 miR-520 在多发骨髓瘤中的表达及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(7): 1268-1272.

(下转第400页)

Lp(a)、Hcy 及 sST2 联合超声心动图对 ACS 诊断及预后的价值

王礼才^{1*} 魏鹏程¹ 陈言飞²

[摘要] **目的** 探讨血浆脂蛋白 a[Lp(a)]、血清同型半胱氨酸(Hcy)及可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白(sST2)联合超声心动图对急性冠脉综合征(ACS)诊断及预后的价值。**方法** 将 2020 年 5 月至 2022 年 2 月期间安徽省庐江县人民医院收治的 96 例 ACS 患者为观察组,根据预后情况分为预后良好组与预后不良组,根据认知障碍程度将患者分为轻度组、中度组、重度组,另选 98 名健康志愿者作为对照组,两组均进行 Lp(a)、Hcy、sST2 检测及超声心动图检查,采用多元 Logistic 回归分析 Lp(a)、Hcy 及 sST2 联合超声心动图检测与 ACS 患者预后的相关性。**结果** 观察组左室射血分数(LVEF)低于对照组,左室舒张末内径(LVEDd)、Lp(a)、Hcy、sST2 高于对照组,差异有统计学意义($t=17.122, 86.717, 4.622, 20.868, 19.076, P<0.05$)。Lp(a)+Hcy+sST2+超声心动图检测诊断效能高于单项检测($P<0.05$)。96 例 ACS 患者轻度冠脉病变 48 例,中度冠脉病变 28 例,重度冠脉病变 20 例。随着冠脉病变程度加重,LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2 升高,LVEF 降低($F=9.429, 11.103, 6.365, 10.627, 9.955, P<0.05$)。96 例 ACS 患者中预后良好 71 例,预后不良 25 例。预后不良患者 LVEDd、Lp(a)、Hcy、ST2 指标均高于预后良好患者,LVEF 低于预后良好者,差异有统计学意义($t=28.005, t=3.662, t=4.573, t=43.223, t=28.440, P<0.05$)。LVEF、LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2 指标均是 ACS 患者预后不良危险因素($P<0.05$)。**结论** Lp(a)、Hcy 及 sST2 联合超声心动图对 ACS 有较高的诊断价值,对 ACS 患者预后及病变程度均有一定评估价值。

[关键词] Lp(a); Hcy; sST2; 超声心动图; ACS

Value of Lp(a), Hcy and sST2 combined with echocardiography in diagnosis and prognosis of ACS

WANG Licai^{1*}, WEI Pengcheng¹, CHEN Yanfei²

(1. Department of Ultrasound, Lujiang People's Hospital of Anhui Province, Hefei, Anhui, China, 231500;

2. Department of Cardiovascular Medicine, Lujiang People's Hospital of Anhui Province, Hefei, Anhui, China, 231500)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of plasma lipoprotein a[Lp(a)], serum homocysteine (Hcy) and soluble growth-stimulating gene 2 (sST2) combined with echocardiography in diagnosis and prognosis of acute coronary syndrome (ACS). **Methods** 96 patients with ACS admitted to Lujiang County People's Hospital of Anhui Province from May 2020 to February 2022 were collected as the observation group, and were divided into the good prognosis group and the poor prognosis group according to the prognosis, and patients were divided into mild prognosis group and mild prognosis group according to the degree of cognitive impairment. 98 healthy volunteers were selected as the control group. Lp(a), Hcy and sST2 detection and echocardiography were performed in the both groups. Multiple logistic regression analysis was used to analyze the correlation between Lp(a), Hcy and sST2 combined with echocardiography and the prognosis of

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2020085QH005)

作者单位:1. 安徽省庐江县人民医院超声诊断科,安徽,合肥 231500

2. 安徽省庐江县人民医院心血管内科,安徽,合肥 231500

*通信作者:王礼才, E-mail: wanghao900@163.com

ACS patients. **Results** The left ventricular ejection fraction (LVEF) in the observation group was lower than that in the control group, and the left ventricular end-diastolic diameter (LVEDd), Lp(a), Hcy, and sST2 were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=17.122$, 86.717 , 4.622 , 20.868 , 19.076 , $P<0.05$). Among the 96 ACS patients, 48 had mild coronary artery disease, 28 had moderate coronary artery disease, and 20 had severe coronary artery disease. With the aggravation of coronary lesions, the LVEDd, Lp(a), Hcy, and sST2 ($F=9.429$, $F=11.103$, $F=6.365$, $F=10.627$) increased, while the LVEF ($F=9.955$) decreased ($P<0.05$). Among the 96 ACS patients, 71 had good prognosis and 25 had poor prognosis. The LVEDd, Lp(a), Hcy and sST2 indicators in patients with poor prognosis were higher than those in patients with good prognosis, and the LVEF was lower than that of patients with good prognosis, the difference was statistically significant ($t=28.005$, $t=3.662$, $t=4.573$, $t=43.223$, $t=28.440$, $P<0.05$). LVEF, LVEDd, Lp(a), Hcy and sST2 were risk factors for poor prognosis in ACS patients ($P<0.05$). **Conclusion** Lp(a), Hcy and sST2 combined with echocardiography have a high diagnostic value for ACS, and have certain evaluation value for the prognosis and lesion degree of ACS patients.

[KEY WORDS] Lp(a); Hcy; sST2; Echocardiography; ACS

急性冠脉综合征(Acute Coronary Syndrome, ACS)是冠状动脉粥样硬化发生后,斑块破裂导致心肌缺血所致。据流行病学记载,ACS病发一周病死率极高,复发率高达20%,多发于中老年男性群体,且逐渐趋于年轻化^[1]。ACS常出现胸痛、上肢放射痛及呼吸异常等症状,病症发作时间长,随着病变程度加重,还会出现窒息感、昏厥心律不齐等现象,给患者身心造成严重创伤。早期诊断及治疗可有效缓解患者病变程度,提高预后效果^[2]。近几年来,有大量学者提出脂蛋白a[Lipoprotein(a), Lp(a)]、血清同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)、可溶性生长刺激表达基因2蛋白(Soluble growth STimulation expressed gene2, sST2)、超声心动图检测与ACS诊断及预后密切相关^[3]。因此,本文对ACS诊断、病情程度、预后的相关因素展开研究,以期临床诊断及评估提供依据。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2020年5月至2022年2月期间安徽省庐江县人民医院收治的96例ACS患者为观察组,其中男71例(占73.96%),女25例(占26.04%),年龄41~72岁,平均年龄(67.59 ± 6.42)岁;另选取98名健康志愿者作为对照组,其中男68名(占69.39%),女30名(占30.61%),年龄40~69岁,平均年龄(65.83 ± 6.69)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

ACS患者纳入标准:①符合《急性冠脉综合征

治疗策略流程》^[4]且经病理检查确诊为急性冠脉综合征;②首次就诊治疗患者;③年龄>18岁;④全程参与本次研究未中途退出者;排除标准:①存在心源性休克患者;②合并严重心功能不全患者;③严重凝血功能障碍者;④合并肾脏疾病及肺部疾病者。所有受试者或家属均知情同意并签署知情同意书。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

两组受试者均进行血浆Lp(a)、Hcy及sST2、超声心动图检测及冠状动脉造影检测。嘱受检者受检前一夜禁食,受检当天清晨由监测人员统一采集空腹静脉血3 mL,进行2 500 r/min(离心半径8 cm)离心10 min处理,收集离心后的血浆,制成血浆样本。确保取血5 h内对样本进行检测。采用免疫比浊法配合血液分析仪(上海之江生物医药科技有限公司,国械注准20203220012)测量血浆Lp(a)指标;采用sST2试剂盒(武汉艾迪抗生物科技有限公司,国械注准20202400198)配合双抗体酶联免疫吸附试验检测sST2指标;采用全自动生化分析仪(迪瑞医疗科技股份有限公司,吉械注准201624002102021)配合放射酶试验法检测Hcy指标。

超声心动图检查:由两名经验丰富的超声科医生采用彩色多普勒超声探测仪(陕西凯思特科技有限公司,苏械注准20182231047)进行检测,调整仪器参数,频率:4 MHz,深度:20 cm。嘱患者仰卧位,将探头放置胸骨旁及心尖处进行图像采集,记录左室射血分数(Left Ventricular Ejection Frac-

tion, LVEF)、左室舒张末内径(Left Ventricular End-diastolic Diameter, LVEDd)。

冠状动脉造影检查:采用全数字血管造影系统(通用电气医疗系统贸易发展(上海)有限公司,国械注准 20173401349)对冠状动脉进行检测,结果均由两位经验丰富的影像学医生进行程度判定,统一意见后得出。

1.3 观察指标

①对比两组血浆 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检测结果。②分析浆 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检查对 ACS 患者诊断性能。③不同程度冠状动脉病变组 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检测结果比较:采用冠脉狭窄程度积分(Gensini's degree integral, Gensini)法^[5],狭窄程度低于 25%计 1 分,26%~50%计 2 分,51%~75%计 4 分,76%~90%计 8 分,91%~99%计 16 分,冠状动脉全闭计 32 分;根据病变部位决定评分系数,右冠状动脉×1、左主干×5、左前降支近段×2.5、左前降支中段×1.5、左前降支远端×1、左回旋支近段×2.5、左回旋支中或远段×1.0、小分支×0.5;冠状动脉评分=狭窄程度积分×病变系数,总分=各冠状动脉评分总和;总分 0~20:轻度病变,21~40:中度病变,>40:重度病变。④分析影响 ACS 患者预后的因素:预后评估标准为:预后良好:机体状

态稳定,心肌功能部分恢复;预后不良:病情恶化,心肌功能进一步下降或死亡患者^[6]。根据患者近 3 个月的预后情况将观察组分为预后良好组、预后不良组。⑤分析 ACS 患者预后不良的危险因素。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 27.0 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;多组间数据对比使用重复测量方差分析 *F* 值检验;采用多元 Logistic 回归分析 Lp(a)、Hcy 及 sST2 联合超声心动图检测与 ACS 患者预后的相关性;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血浆 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检测结果比较

观察组 LVEF 低于对照组, LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2 指标均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检查结果对 ACS 患者诊断性能分析

Lp(a)+Hcy+sST2+超声心动图联合检查灵敏度为 95.83%、特异度为 91.84%,均高于单项检测($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组血浆 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of plasma Lp(a), Hcy, sST2 and echocardiography results between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Lp(a)(mg/L)	Hcy(mg/L)	sST2(ng/mL)	LVEF(%)	LVEDd(mm)
观察组	96	326.99±297.04	27.42±6.53	29.41±4.57	46.57±6.69	43.66±4.72
对照组	98	175.68±128.22	8.57±3.69	18.69±3.14	60.31±4.24	38.23±3.96
<i>t</i> 值		4.622	20.868	19.076	17.122	86.717
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检查对 ACS 患者的诊断性能比较

Table 2 Comparison of diagnostic performance of Lp(A), Hcy, sST2 and echocardiography in patients with ACS

项目	真阳性	假阴性	真阴性	假阳性	灵敏度(%)	特异度(%)
Lp(a)	80	16	79	19	83.33	80.61
Hcy	82	14	80	18	85.42	81.63
sST2	85	11	84	14	88.54	85.71
超声心动图检查	84	12	81	17	87.50	82.65
Lp(a)+ Hcy+ sST2+ 超声心动图检查	92	4	90	8	95.83	91.84

2.3 不同程度冠状动脉病变组 Lp(a)、Hcy 及 sST2、超声心动图检测结果比较

96 例 ACS 患者轻度冠脉病变 48 例,中度冠脉病变 28 例,重度冠脉病变 20 例。其中 LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2 指标:重度>中度>轻度,LVEF 指标:重度<中度<轻度,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 影响 HF 患者预后单因素分析

96 例 ACS 患者中预后良好 71 例,预后不良 25 例。

预后不良患者 LVEDd、Lp(a)、Hcy、ST2 指标均高于预后良好患者,LVEF 低于预后良好者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表3 不同程度冠状动脉病变组Lp(a)、Hcy及sST2、超声心动图检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of detection results of Lp(a), Hcy, sST2 and echocardiography in patients with different degrees of coronary artery disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Lp(a)(mg/L)	Hcy(mg/L)	sST2(ng/mL)	LVEF(%)	LVEDd(mm)
轻度	48	291.31±158.34	21.86±3.91	19.43±3.56	53.83±6.94	34.47±3.23
中度	28	313.57±225.33 ^a	27.47±4.79 ^a	24.66±4.11 ^a	42.92±5.37 ^a	42.88±4.43 ^a
重度	20	431.41±288.12 ^{ab}	40.69±6.22 ^{ab}	60.01±6.39 ^{ab}	34.26±3.59 ^{ab}	66.81±5.62 ^{ab}
F值		11.103	6.365	10.627	9.955	9.429
P值		0.004	0.042	0.005	0.007	0.009

注:与轻度组比较,^aP<0.05,与中度组比较,^bP<0.05。

表4 影响HF患者预后不良单因素分析($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Univariate analysis of poor prognosis in HF patients ($\bar{x} \pm s$)

项目	预后良好(n=71)	预后不良(n=25)	t值	P值
年龄(岁)	63.72±6.77	64.89±6.54	0.750	0.455
Lp(a)(mg/L)	286.57±136.42	441.78±275.35	3.662	0.004
Hcy(mg/L)	26.25±3.44	30.74±5.94	4.573	<0.001
sST2(ng/mL)	19.62±3.56	57.21±4.22	43.223	<0.001
LVEF(%)	55.39±4.73	21.52±6.12	28.440	<0.001
LVEDd(mm)	37.26±3.27	61.84±4.96	28.005	<0.001

2.5 ACS患者预后不良危险因素分析

以LVEF、LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2指标为自变量,因变量参数为预后不良=1,预后良好=0;显示LVEF、LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2指标均是ACS患者预后不良的危险因素(P<0.05)。见表5、6。

表5 待分析因素的意义及赋值

Table 5 Significance and assignment of factors to be analyzed

因素	变量	变量赋值
X ₁	Lp(a)	<200 mg/L=0; >200 mg/L=1
X ₂	Hcy	<15 mg/L =0; >15 mg/L=1
X ₃	sST2	<20 ng/mL=0; >20 ng/mL=1
X ₄	LVEF	>50%=0; <50%=1
X ₅	LVEDd	<40 mm=0; >40 mm=1

表6 HF患者预后不良危险因素分析

Table 6 Analysis of risk factors for poor prognosis in patients with HF

项目	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	P值
Lp(a)	7.593	8.679	1.531~10.964	0.013
Hcy	7.624	7.543	1.659~11.743	0.007
sST2	8.527	8.996	1.239~10.558	0.016
LVEF	9.438	9.137	1.126~12.468	0.007
LVEDd	11.698	6.459	1.027~8.654	0.005

3 讨论

ACS发病过程会激活炎症细胞,刺激炎症因子的表达,进一步诱导血小板凝集,加重冠状动脉病变程度,严重影响患者预后及生命健康。如何

快速有效地监测ACS病情进展及判断预后情况成为近几年的研究热点。

Hcy是心血管疾病的独立危险因素之一^[7]。Hcy参与蛋氨酸代谢过程,其异常表达会促进巨噬细胞吞噬脂肪,进而转变为泡沫细胞,而泡沫细胞是动脉粥样硬化斑块形成的主导因素。本文研究显示,研究组Hcy指标明显高于对照组,与刘晓川等^[8]结果一致。分析可知,Hcy高水平异常表达参与多重机制,进而刺激参与ACS的发生发展。此外,Lp(a)是一种由肝脏合成的大分子蛋白,可参与ACS的病变过程;sST2主要在心肌细胞、冠状动脉的血管内皮细胞上表达^[9]。本研究分析得出,观察组LVEF低于对照组,其LVEDd、Lp(a)、sST2指标均高于对照组,与张蕊等^[10]结果吻合。分析原因:ACS患者因斑块不稳定破裂导致心肌细胞受损,加重左心室负担,造成LVEDd增加、LVEF比值下降,而ACS患者心肌细胞受到刺激,促进成纤维细胞分泌sST2,导致机体功能进一步损伤。此外,本研究结果显示,Lp(a)+Hcy+sST2+超声心动图检查联合检测灵敏度及特异度均高于单项检测,与陈梅香等^[11]结果一致。Lp(a)、Hcy、sST2等因子检测对心血管疾病患者有一定敏感性,但均因试剂盒及血液样本保存环境等因素干扰易导致单项检测结果具有一定偏倚。而超声心动图检查能有效监测冠状动脉病变对机体造成的损伤,将四种检测方法有效结合,可避免单一因素对结果造成干扰,综合检测后减少漏诊误诊的发生,进而提高对ACS患者的诊断效能。另一方面,Gensini积分评估能有效反映ACS患者冠状动脉狭窄及病变血管情况。本文对此深入探究得出,随着冠状动脉病变加重,LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2指标均升高,LVEF随之降低。分析其缘由为,sST2与ST2L竞争,结合白介素33形成信息传导通路,减少白介素33与ST2L传导通路对巨噬细胞的抑制,提

高机体泡沫细胞的合成,促进动脉粥样硬化斑块的形成,诱导冠状动脉进一步病变;而Lp(a)通过促进机体纤维蛋白溶解,达到促进凝血的作用;同时Hcy对动脉粥样硬化的形成也有一定刺激作用,在多种因素影响下冠状动脉病变加重,进一步刺激心肌细胞,造成心功能下降。另外,有学者猜测Lp(a)、sST2指标与ACS患者预后不良有密切关联^[12]。本文分析得出,LVEF、LVEDd、Lp(a)、Hcy、sST2指标均是ACS患者预后不良危险因素,此结果与李华、Rae等^[13-14]一致。Lp(a)、Hcy、sST2等因子高表达会诱导ACS患者心血管不良事件的发生,同时异常LVEF、LVEDd会加重心脏负担,造成机体功能下降,致使预后不良。

综上,血浆Lp(a)、Hcy及sST2联合超声心动图对ACS有较高的诊断价值,对ACS患者预后及病变程度均有一定评估价值,可进一步展开研究。

参考文献

- [1] 陈彬,张永军,马智会,等. 碎裂QRS波群与ACS患者冠脉病变程度及短期预后的关系[J]. 心血管康复医学杂志, 2020, 29(4): 439-442.
- [2] 陆哲远,黄颖. 脂蛋白a联合MHR对NSTE-ACS患者冠状动脉病变严重程度及预后的评估价值[J]. 中国临床研究, 2022, 35(1): 16-20.
- [3] 赵娅,李媛媛,石韵,等. 冠状动脉综合征患者TIMI危险评分与NT-proB型利钠肽C反应蛋白及同型半胱氨酸的相关性研究[J]. 山西医药杂志, 2021, 50(5): 770-771.
- [4] 张奇,沈卫峰. 非ST段抬高型急性冠脉综合征治疗策略流程——2014AHA/ACC指南解读[J]. 国际心血管病杂志, 2015, 42(2): 65-67.
- [5] 程敏菊,魏庆民,程敏静,等. 急性冠脉综合征患者Gensini评分与MACE的关系[J]. 医学临床研究, 2018, 35(2): 268-270.
- [6] 龙曼,陈爱华,邓敏峰,等. 妊娠相关蛋白A对急性冠脉综合征预后的评价[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(3): 279-284.
- [7] 高伟杰,黑耀宗,王飞. 血清神经元特异性烯醇化酶同型半胱氨酸联合检测对急性脑梗死合并冠状动脉粥样硬化性心脏病患者的诊断及病情严重程度判断的临床意义[J]. 中国药物与临床, 2022, 22(1): 13-16+97.
- [8] 刘晓川,于海初,孙桂霞,等. PLR与急性冠状动脉综合征病变严重程度及预后关系的Meta分析[J]. 青岛大学学报(医学版), 2020, 56(4): 444-450.
- [9] Rallidis LS, Kosmas N, Rallidi T, et al. Homocysteine is an independent predictor of long-term cardiac mortality in patients with stable coronary artery disease in the era of statins[J]. Coron Artery Dis, 2020, 31(2): 152-156.
- [10] 张蕊,秦诗阳,王艳新,等. 2型糖尿病患者血浆同型半胱氨酸、脂蛋白a与颈动脉粥样硬化的相关性分析[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(4): 95-100.
- [11] 陈梅香,刘芄,黄建玉,等. 二维斑点追踪成像联合实时三维超声心动图对非ST段抬高型急性冠脉综合征疑似患者冠状动脉显著狭窄的预测价值[J]. 中华超声影像学杂志, 2022, 31(2): 93-100.
- [12] Shao QY, Xiao T, Yang ZQ, et al. Prognostic significance of multiple triglycerides-derived metabolic indices in patients with acute coronary syndrome[J]. J Geriatr Cardiol, 2022, 19(6): 456-468.
- [13] 李华,赵玲玲,徐伟. 双源CT血管成像对非ST段抬高型急性冠脉综合征的诊断价值临床研究[J]. 中国CT和MRI杂志, 2021, 19(8): 86-88+97.
- [14] Rae A, Mfar B, Sih A, et al. The association of megalin and cubilin genetic variants with serum levels of 25-hydroxyvitamin D and the incidence of acute coronary syndrome in Egyptians: A case control study - ScienceDirect[J]. J Adv Res, 2020, 21(2): 49-56.
- [8] 阿纳尔,贾国荣. 多发性骨髓瘤中表观遗传学修饰的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(21): 4000-4004.
- [9] Gao YN, Ma YP. Expression Analysis and Epigenetics of MicroRNA-28-5p in Multiple Myeloma[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2019, 27(5): 1540-1547.
- [10] 秦慧兵,张保朝,张小林,等. 血清MCP-1、HMGB1、APN、oxLDL水平与老年脑梗死病情及颈动脉粥样硬化关系[J]. 华南预防医学, 2020, 46(1): 72-75.
- [11] 陈娟,石志,娄慧娟,等. 系统免疫-炎症指数对初诊多发性骨髓瘤患者预后的评估价值[J]. 临床血液学杂志, 2022, 35(3): 180-186.
- [12] Hu JC, Zhu TP, Gui YC, et al. miR-28-5p inhibits carcinogenesis in colon cancer cells and is necessary for erastin-induced ferroptosis[J]. Transl Cancer Res, 2020, 9(4): 2931-2940.
- [13] Yang H, Wang H, Andersson U. Targeting Inflammation Driven by HMGB1[J]. Front Immunol, 2020, 11: 484.
- [14] 卓素艳,廖莉. 高迁移率族蛋白1在新生儿败血症中的表达与机制[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(2): 131-138.
- [15] 樊慧守,刘佳慧,毛雪涵,等. 修订的国际分期系统(R-ISS)对初诊多发性骨髓瘤患者预后评估价值及局限性[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(20): 1074-1079.
- [16] Wang J, Zeng AM, Liang SF. The Value of Serum HMGB1 and sRAGE in the Diagnosis, Efficacy Monitoring and Prognosis of Newly Diagnosed Multiple Myeloma[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2022, 30(2): 493-500.

(上接第395页)

血清PCT、D-LA、BT、DAO水平对急性胰腺炎的预测价值分析

裴柳¹ 陈宏伟¹ 左志刚^{2*} 张梅香² 赵丽坤² 李开双² 刘秀娟²

[摘要] **目的** 分析血清降钙素原(PCT)、D-乳酸(D-LA)、内毒素(BT)、二胺氧化酶(DAO)水平对急性胰腺炎的预测价值。**方法** 将秦皇岛市第一医院2020年1月至2021年12月收治的112例急性胰腺炎患者作为急性胰腺炎组,选取同期在秦皇岛市第一医院进行体检的100名健康体检者作为健康对照组,比较两组血清细胞因子水平和急性生理与慢性健康评分(APACHE II),根据急性胰腺炎患者病情严重程度将其分为重症组(48例)和轻症组(64例),比较不同病情严重程度急性胰腺炎患者血清细胞因子水平和APACHE II评分,采用Pearson相关系数模型分析急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分的相关性,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,根据曲线下面积(AUC)评价血清PCT、D-LA、BT、DAO水平单独及联合检测对急性胰腺炎的预测价值。**结果** 急性胰腺炎组血清PCT、D-LA、BT、DAO水平及APACHE II评分均高于对照组,差异有统计学意义($t=42.425, 13.980, 21.007, 27.478, 21.983, P<0.05$)。重症组血清PCT、D-LA、BT、DAO水平及APACHE II评分均高于轻症组,差异有统计学意义($t=13.145, 9.261, 7.819, 22.440, 10.684, P<0.05$)。急性胰腺炎患者血清PCT、D-LA、BT、DAO水平与APACHE II评分均呈显著正相关关系($r=0.784, 0.599, 0.937, 0.668, P<0.05$)。绘制ROC曲线,结果显示血清PCT、D-LA、BT、DAO水平联合检测预测急性胰腺炎的AUC为0.925(95%CI:0.881~0.957),高于PCT、D-LA、BT、DAO单一检测(AUC分别为0.778、0.820、0.808、0.823,95%CI分别为0.716~0.832、0.761~0.869、0.749~0.869、0.765~0.872, $P<0.05$)。**结论** 随着急性胰腺炎患者病情严重程度升高,血清PCT、D-LA、BT、DAO水平升高,同时血清PCT、D-LA、BT、DAO水平与APACHE II评分呈显著正相关关系,四者联合对急性胰腺炎具有较好的预测价值。

[关键词] 急性胰腺炎;降钙素原;D-乳酸;内毒素;二胺氧化酶

Analysis of the predictive value of serum PCT, D-LA, BT and DAO levels in acute pancreatitis

PEI Liu¹, CHEN Hongwei¹, ZUO Zhigang^{2*}, ZHANG Meixiang², ZHAO Likun², LI Kaishuang², LIU Xiujuan²
(1. Department of Inspection, the First Hospital of Qinghuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000;
2. Department of Critical Medicine, the First Hospital of Qinghuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of serum procalcitonin (PCT), D-lactic acid (D-LA), endotoxin (BT), diamine oxidase (DAO) levels in acute pancreatitis. **Methods** 112 patients with acute pancreatitis treated in the First Hospital of Qinghuangdao from January 2020 to December 2021 were taken as the acute pancreatitis group, and 100 healthy people who underwent physical examination in the First Hospital of Qinghuangdao in the same period were selected as the healthy control group. The levels of serum cytokine and score of acutephysiology and chronic health evaluation (APACHE II) were compared between the two groups. According to the severity of acute pancreatitis, the patients were divided into the severe group (48 cases) and the mild group (64 cases). The levels of serum cytokine in patients with acute pancreatitis with

基金项目:秦皇岛市科学技术研究与发展计划项目(202004A118)

作者单位:1. 秦皇岛市第一医院检验科,河北,秦皇岛 066000

2. 秦皇岛市第一医院重症医学科,河北,秦皇岛 066000

*通信作者:左志刚, E-mail: zuozhigang168@163.com

different severity and score of APACHE II were compared. The *Pearson* correlation coefficient model was used to analyze the correlation between serum level of cytokine of patients with acute pancreatitis and score of APACHE II. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn, and the predictive value of serum PCT, D-LA, BT, and DAO levels alone and in combination for acute pancreatitis was evaluated according to the area under the curve (AUC). **Results** The levels of serum PCT, D-LA, BT, DAO and score of APACHE II in the acute pancreatitis group were higher than those in the control group ($t=42.425, 13.980, 21.007, 27.478, 21.983, P<0.05$). The levels of serum PCT, D-LA, BT, DAO and score of APACHE II in the severe group were higher than those in the mild group ($t=13.145, 9.261, 7.819, 22.440, 10.684, P<0.05$). The levels of serum PCT, D-LA, BT, and DAO in patients with acute pancreatitis were positively correlated with score of APACHE II ($r=0.784, 0.599, 0.937, \text{ and } 0.668, P<0.05$). The results of ROC curve showed that AUC of combined test of levels of serum PCT, D-LA, BT and DAO for acute pancreatitis was 0.925 (95% CI: 0.881~0.957), which was higher than those of PCT, D-LA, BT and DAO single tests (AUC: 0.778, 0.820, 0.808 and 0.823, respectively; 95% CI: 0.716~0.832, 0.761~0.869, 0.749~0.869 and 0.765~0.872, respectively, $P<0.05$). **Conclusion** As the severity of acute pancreatitis increases, the levels of serum PCT, D-LA, BT and DAO increase, and there was a significant positive correlation between the levels of serum PCT, D-LA, BT and DAO and score of APACHE II. The combination of the four factors had good predictive value for acute pancreatitis.

[KEY WORDS] Acute pancreatitis; Procalcitonin; D-lactic acid; Endotoxin; Diamine oxidase

急性胰腺炎病情极易发展为重症,对患者生命安全造成严重威胁^[1]。目前认为急性胰腺炎病情进展与与细菌感染严重程度、机体缺氧程度及肠道黏膜屏障功能密切相关^[2]。降钙素原(procalcitonin, PCT)是机体重要的炎性因子, D-乳酸(D-lactic acid, D-LA)、内毒素(endotoxin, BT)、二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)则与患者胃肠道黏膜功能密切相关^[3-4],而目前临床关于血清PCT、D-LA、BT、DAO水平与急性胰腺炎患者病情进展的关系尚未完全明确。本研究通过分析健康体检者及不同病情严重程度急性胰腺炎患者血清PCT、D-LA、BT、DAO水平变化情况,旨在探讨血清PCT、D-LA、BT、DAO水平对急性胰腺炎的预测价值及其与患者病情进展的关系,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取秦皇岛市第一医院2020年1月至2021年12月收治的112例急性胰腺炎患者作为急性胰腺炎组,选取同期在秦皇岛市第一医院进行体检的100名健康体检者作为健康对照组。急性胰腺炎组男58例,女54例;平均年龄(57.84 ± 3.92)岁。健康对照组男54名,女46名;平均年龄(57.63 ± 3.77)岁。两组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。研究获院医学伦理委员会审核批准(伦理审批号:2019C013),受试者或家属已签署知情同意书。纳入标准:急

性胰腺炎诊断符合《中国急性胰腺炎诊治指南(2019年,沈阳)》^[5]相关标准者;血清淀粉酶或血清脂肪酶水平超过正常范围峰值的3倍以上者;临床资料完整者等。排除标准:诊断为出血坏死型胰腺炎者;多器官功能衰竭者;妊娠或哺乳期妇女等。

1.2 方法与观察指标

1.2.1 血清细胞因子水平与APACHE II评分

患者入院后,抽取其静脉血5 mL,离心(3 500 rpm, 10 min, 离心半径:15 cm)收集血清,采用酶联免疫吸附试验检测患者血清PCT、D-LA、BT、DAO水平(合肥莱尔生物科技有限公司);采用急性生理与慢性健康评分^[6](acute physiology and chronic health evaluation, APACHE II)对患者身体状况进行评价,分总分71分,得分越高患者病情越严重。

1.2.2 不同病情严重程度急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分

根据急性胰腺炎患者病情严重程度将其分为重症组(48例, APACHE II评分 ≥ 8 分)和轻症组(64例, APACHE II评分 < 8 分),统计不同病情严重程度急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分,方法同1.2.1。

1.2.3 急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分的相关性

采用*Pearson*相关系数模型分析急性胰腺炎患者血清PCT、D-LA、BT、DAO水平与APACHE II评分的相关性。

1.2.4 血清细胞因子水平对急性胰腺炎的预测价值

绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curves, ROC),根据曲线下面积(area under curve, AUC)分析血清PCT、D-LA、BT、DAO水平单独及联合检测的预测价值。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析;计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本*t*检验;急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分的相关性分析采用Pearson相关系数模型进行分析;绘制ROC曲线,AUC分析血清细胞因子单独及联合检测的预测价值。以*P*<

0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清细胞因子水平与APACHE II评分比较

急性胰腺炎组血清PCT、D-LA、BT、DAO水平及APACHE II评分均高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

2.2 不同病情严重程度急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分比较

重症组血清PCT、D-LA、BT、DAO水平及APACHE II评分均高于轻症组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表1 两组血清细胞因子水平与APACHE II评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum cytokine levels between the two groups and score of APACHE II ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PCT(ng/mL)	D-LA(mg/L)	BT(U/L)	DAO(U/L)	APACHE II评分(分)
健康对照组	100	0.63±0.08	26.47±8.72	6.09±1.10	11.73±2.74	1.27±0.26
急性胰腺炎组	112	3.07±0.57	45.73±11.04	26.38±9.60	38.05±9.22	9.27±3.63
<i>t</i> 值		42.425	13.980	21.007	27.478	21.983
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表2 不同病情严重程度急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum cytokine levels and score of APACHE II in patients with acute pancreatitis with different severity ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PCT(ng/mL)	D-LA(mg/L)	BT(U/L)	DAO(U/L)	APACHE II评分(分)
重症组	48	3.73±0.58	55.84±11.33	31.09±7.58	56.04±9.40	12.27±4.46
轻症组	64	2.58±0.34	38.29±8.73	21.37±5.58	22.03±6.64	6.05±1.18
<i>t</i> 值		13.145	9.261	7.819	22.440	10.684
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 急性胰腺炎患者血清细胞因子水平与APACHE II评分的相关性分析

急性胰腺炎患者血清PCT、D-LA、BT、DAO水平与APACHE II评分均呈显著正相关关系(*P*<0.05)。见表3。

表3 血清细胞因子水平与APACHE II评分的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between serum cytokine level and score of APACHE II

血清细胞因子	APACHE II评分	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
PCT	0.784	<0.05
D-LA	0.599	<0.05
BT	0.937	<0.05
DAO	0.668	<0.05

2.4 血清细胞因子水平对急性胰腺炎的预测价值以健康对照组为阴性,急性胰腺炎组为阳

性,绘制ROC曲线,发现血清PCT、D-LA、BT、DAO水平联合检测预测急性胰腺炎的AUC为0.925(95%CI: 0.881~0.957),高于PCT、D-LA、BT、DAO单一检测(AUC分别为0.778、0.820、0.808、0.823,95%CI分别为0.716~0.832、0.761~0.869、0.749~0.869、0.765~0.872,*P*<0.05)。见表4、图1。

表4 血清细胞因子水平对急性胰腺炎的预测价值

Table 4 Predictive value of serum cytokine levels in acute pancreatitis

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度	特异度
PCT(ng/mL)	0.778	0.716~0.832	0.08	0.80	0.70
D-LA(mg/L)	0.820	0.761~0.869	35.12	0.66	0.97
BT(U/L)	0.808	0.749~0.869	17.15	0.70	0.94
DAO(U/L)	0.823	0.765~0.872	26.21	0.69	0.91
联合诊断	0.925	0.881~0.957	12.82	0.93	0.78

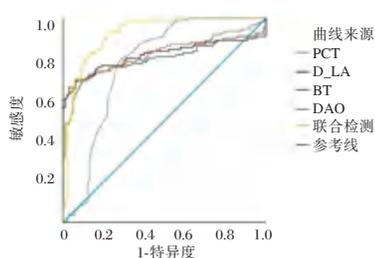


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curves

3 讨论

胰腺炎是临床常见急腹症,近年来其发病率逐渐上升,具有起病急、病情多变、病情严重、死亡率高的特点,可引起机体炎症反应综合征、多器官功能衰竭等严重并发症的发生^[7-8],相关统计研究^[9]结果显示,重症胰腺炎患者死亡率超过35%,因此早期对患者疾病进行预测,并控制患者病情进展对于改善患者预后具有重要意义。

细菌感染是导致急性胰腺炎患者病情进展的主要原因,PCT主要在炎症因子、细菌BT等作用下诱导产生^[10]。而APACHE II评分可从患者生命体征、免疫功能等多方面对急性胰腺炎患者病情状况进行评价^[11]。本研究结果显示,急性胰腺炎组血清PCT水平及APACHE II评分均高于对照组,重症组血清PCT水平及APACHE II评分均高于轻症组,同时急性胰腺炎患者血清PCT水平与APACHE II评分均呈显著正相关关系,说明血清PCT水平及APACHE II评分可随着急性胰腺炎患者病情严重程度的增加而升高,而血清PCT水平预测急性胰腺炎的AUC为0.778,其预测急性胰腺炎的准确度较低,但具有一定临床参考价值。

急性胰腺炎患者容易发生肠道黏膜屏障受损,使得肠道细菌突破肠道黏膜进入血液循环,引起患者肠源性感染的发生,促进患者病情进展^[12]。D-LA主要是由乳酸菌、大肠杆菌、克雷伯杆菌等肠道固有细菌代谢产生,急性胰腺炎患者可导致肠道黏膜屏障功能障碍的发生,导致肠通透性增加,使得D-LA通过受损肠黏膜进入血液循环^[13];BT主要为革兰氏阴性细菌细胞壁中的脂多糖,急性胰腺炎患者肠道黏膜屏障功能受损可引起BT进入血液循环,导致内毒素血症的发生^[14];DAO主要存在于肠黏膜细胞中,能准确、快速地反映肠上皮细胞成熟度和完整性,进而反映肠道黏膜屏障的完整性和损伤程度,急性胰腺炎患者肠黏膜屏障受损使得肠黏

膜细胞脱落坏死,DAO外漏进入淋巴管间隙及血流中,引起其在血液中的水平升高^[15]。本研究结果显示,急性胰腺炎组血清D-LA、BT、DAO水平及APACHE II评分均高于对照组,重症组血清D-LA、BT、DAO水平及APACHE II评分高于轻症组,同时急性胰腺炎患者血清D-LA、BT、DAO水平与APACHE II评分均呈显著正相关关系,进一步说明血清D-LA、BT、DAO水平可随着急性胰腺炎患者病情严重程度的增加而升高。此外,本研究结果显示,血清PCT、D-LA、BT、DAO水平联合检测预测急性胰腺炎的AUC高于PCT、D-LA、BT、DAO单一检测,说明PCT、D-LA、BT、DAO联合可相互补足,提高预测急性胰腺炎的准确性。

综上,临床可联合血清PCT、D-LA、BT、DAO水平对急性胰腺炎进行预测以提高疾病诊断的敏感性和特异性,对急性胰腺炎早期诊断及病情评估具有重要临床参考价值,有助于辅助临床诊治。

参考文献

- [1] Bannone E, Andrianello S, Marchegiani G, et al. Postoperative hyperamylasemia (poh) and acute pancreatitis after pancreaticoduodenectomy (poap): state of the art and systematic review[J]. *Surgery*, 2021, 169(2): 377-387.
- [2] Furey C, Buxbaum J, Chambliss A B. A review of biomarker utilization in the diagnosis and management of acute pancreatitis reveals amylase ordering is favored in patients requiring laparoscopic cholecystectomy [J]. *Clin Biochem*, 2020, 77(2): 54-56.
- [3] 余水泉, 施迎春. 急性胰腺炎患者PCT、ALB、AMY及CRP水平检测的临床价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(2): 234-237.
- [4] 龚玉婷, 黄丹, 陈志芬. 急性胰腺炎患者早期血清D-乳酸、内毒素及二胺氧化酶在病情评估中的价值[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2019, 40(1): 112-115.
- [5] 杜奕奇, 陈其奎, 李宏宇, 等. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019年, 沈阳)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(12): 2706-2711.
- [6] 王静, 金霞霞, 卢国光, 等. 有核红细胞联合Ranson评分及APACHE II评分构建重症急性胰腺炎患者的结局预测模型[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43(1): 63-64.
- [7] Sang C, Wang S, Zhang Z, et al. Characteristics and outcome of severe preeclampsia/eclampsia concurrent with or complicated by acute pancreatitis: a report of five cases and literature review[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(4): 633-640.
- [8] Wang YH, Xu ZH, Zhou YH, et al. The clinical characteristic of biliary-hyperlipidemic etiologically complex type of acute pancreatitis: a retrospective study from a tertiary center in China [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(3): 1462-1471.

(下转第408页)

血清 miR-155、GATA3 与寻常型银屑病患者 Th1/Th2 平衡、PASI 评分的相关性

张丽* 安永涛 姬静静 朱洁丽

[摘要] 目的 分析血清 microRNA-155(miR-155)、GATA 结合蛋白-3(GATA-3)水平与寻常型银屑病患者 Th1/Th2 平衡、PASI 评分的相关性。方法 选取 2017 年 8 月至 2021 年 8 月于阜南县人民医院治疗的 107 例寻常型银屑病患者临床资料,将其设为研究组,另选取 82 名同时间段进行健康体检者作为对照组。比较研究组与对照组、不同病情程度患者 miR-155、GATA3 水平以及 Th1/Th2;分析血清 miR-155、GATA3 水平与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分的相关性。结果 研究组 miR-155、Th1/Th2 高于对照组,GATA3 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。miR-155、Th1/Th2 水平:重度组>中度组>轻度组,GATA3 水平:重度组<中度组<轻度组,组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,miR-155 与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分呈正相关($r=0.651, 0.563, P<0.05$),GATA3 与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分呈负相关($r=-0.586, -0.612, P<0.05$)。结论 miR-155、GATA3 水平在寻常型银屑病患者中有着不同的表达,同时,miR-155、GATA3 水平与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分存在一定的相关性,可为临床病情诊断提供参考。

[关键词] miR-155; GATA3; 寻常型银屑病; Th1/Th2 平衡; PASI 评分

Correlation of serum miR-155 and GATA3 with Th1/Th2 balance and PASI score in patients with psoriasis vulgaris

ZHANG Li*, AN Yongtao, JI Jingjing, ZHU Jieli

(Department of Dermatology, Funan County People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236300)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between serum microRNA-155 (miR-155), GATA-binding protein-3 (GATA-3) levels and Th1/Th2 balance, PASI score in patients with psoriasis vulgaris. **Methods** The clinical data of 107 patients with psoriasis vulgaris who were treated in our hospital from August 2017 to August 2021 were retrospectively analyzed, and they were set as the study group, another 82 subjects who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of miR-155, GATA3 and Th1/Th2 between the study group and the control group were compared, and the patients with different disease degrees were also compared; the correlation between serum miR-155, GATA3 levels and Th1/Th2 balance, PASI score was analyzed. **Results** The levels of miR-155 and Th1/Th2 in the study group were higher than those in the control group, and the level of GATA3 in the study group was lower than that in the control group ($P<0.05$). MiR-155, Th1/Th2: severe group > moderate group > mild group, GATA3 level: severe group < moderate group < mild group, the differences among three groups were statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that miR-155 was positively correlated with Th1/Th2 balance and PASI score ($r=0.651, 0.563, P<0.05$), while GATA3 was negatively correlated with Th1/Th2 balance and PASI score ($r=-0.586, -0.612, P<0.05$). **Conclusion** The levels of miR-155 and GATA3 had different expressions in patients with psoriasis vulgaris. At the same time, the levels of miR-155 and GATA3 had a certain correlation with Th1/Th2 balance and PASI score, which could provide a reference for clinical diagnosis.

[KEY WORDS] MiR-155; GATA3; Psoriasis vulgaris; Th1/Th2 balance; PASI score

基金项目:安徽省卫生健康委员会科研计划项目(2017SEY016)

作者单位:阜南县人民医院皮肤科,安徽,阜阳 236300

*通信作者:张丽, E-mail: 13866206869@163.com

银屑病又称牛皮癣,属于慢性炎症性皮肤病,由免疫反应异常引起,多以红斑丘疹上覆有多层银白色鳞屑为主要临床特征,严重时可导致严重的银屑病关节炎,甚至累及肝、肾、心血管等组织,严重影响患者生理和心理健康^[1-2]。银屑病发病机制尚不清楚,环境、遗传、免疫、心理等因素均可能参与银屑病的发病机制。

银屑病病理生理特征主要为T淋巴细胞的异常激活和浸润介导的免疫功能障碍,其中CD⁺辅助性T细胞(helper T cell, Th)在银屑病免疫应答中起着非常重要的作用。非编码RNAs为不编码蛋白质的RNA,已被证明在适应性免疫系统和先天性疾病中发挥重要作用,microRNA-155(miR-155)是miRNA家族的重要成员,在T淋巴细胞的调控中发挥重要作用^[3-4]。GATA结合蛋白-3(GATA-binding protein 3, GATA-3)是锌指蛋白GATA家族成员之一,属于Th2特异性转录因子。随着临床不断深入,发现鲜少有生物标志物可以帮助监测寻常型银屑病严重程度和皮损面积^[5]。对此,本研究对血清miR-155、GATA3水平与寻常型银屑病患者Th1/Th2平衡、银屑病皮损面积和严重程度指数(psoriasis area and severity, PASI)评分的相关性进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年8月至2021年8月107例于阜南县人民医院治疗的寻常型银屑病患者,将其设为研究组。其中男60例,女47例;年龄25~66岁,平均(38.59±5.48)岁;病程4个月~9年,平均(4.38±1.03)年。同时根据银屑病严重程度分级^[6]分为轻度组43例(体表受累面积<3%,PASI评分<6,皮肤病生活质量指数<6),中度组38例(体表受累面积为3%~<10%,PASI评分为3~<10,皮肤病生活质量指数为6~<12)和重度组26例(体表受累面积≥10%,PASI评分≥12,皮肤病生活质量指数≥10)。纳入标准:①符合寻常型银屑病诊断标准^[7];②所有患者的临床资料、实验室资料均完整;③患者及家属均同意参加本次研究。排除标准:①近两周已进行相关治疗者;②患有恶性肿瘤、严重感染、内分泌、免疫性疾病者;③器脏功能障碍;④患有精神疾病者。另选取82名同时间段进行健康体检者作为对照组,

其中男40名,女42名,年龄21~63岁,平均(38.07±5.63)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 检测方法

miR-155、GATA3检测:采集外周血3 mL, EDTA抗凝。TRIzol总RNA抽提试剂提取外周血总RNA, TaKa-Ra反转录试剂盒转录合成cDNA, 进行qRT-PCR反应。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算外周血miR-155、GATA3相对表达量。

Th1/Th2检测:取1 mL抗凝外周血,RPMI1640培养基等体积稀释外周血100 μ L,加入10 μ L刺激剂,5%浓度二氧化碳培养箱37℃孵育4 h。加入抗体,避光孵育15 min。裂解,破膜,加入抗体,避光孵育20 min。洗涤后使用流式细胞仪检测外周血Th1、Th2,并计算Th1/Th2。

1.3 观察指标

比较研究组与对照组患者miR-155、GATA3水平以及Th1/Th2;比较不同病情程度患者miR-155、GATA3水平以及Th1/Th2;分析血清miR-155、GATA3水平与Th1/Th2平衡、PASI评分的相关性。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件分析数据。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间行 F 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用Spearman分析血清miR-155、GATA3水平与Th1/Th2平衡、PASI评分的相关性;以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者miR-155、GATA3水平以及Th1/Th2比较

研究组miR-155、Th1/Th2高于对照组,GATA3水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同病情程度患者miR-155、GATA3水平以及Th1/Th2比较

miR-155、Th1/Th2水平:重度组>中度组>轻度组,GATA3水平:重度组<中度组<轻度组,组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 血清miR-155、GATA3水平与Th1/Th2平衡、PASI评分的相关性分析

Spearman相关分析显示,miR-155与Th1/Th2

表1 两组患者 miR-155、GATA3 水平以及 Th1/Th2 比较
($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the levels of miR-155, GATA3 and Th1/Th2 between the 2 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-155	GATA3	Th1/Th2
研究组	107	6.08±1.65	1.08±0.18	22.43±2.95
对照组	82	1.76±0.51	1.91±0.37	17.68±1.07
t 值		22.874	20.292	13.890
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 不同病情程度患者 miR-155、GATA3 水平以及 Th1/Th2 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of miR-155, GATA3 levels and Th1/Th2 in patients with different disease degrees ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-155	GATA3	Th1/Th2
轻度组	43	4.55±0.96 ^{ab}	1.30±0.15 ^{ab}	14.95±2.48 ^{ab}
中度组	38	6.71±1.04 ^a	1.10±0.10 ^a	22.56±3.31 ^a
重度组	26	7.69±1.25	0.69±0.11	34.61±5.34
F 值		80.85	194.53	236.61
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与重度组相比,^a $P<0.05$;与中度组相比,^b $P<0.05$ 。

平衡、PASI 评分呈正相关,GATA3 与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分呈负相关($P<0.05$)。见表3。

表3 分析血清 miR-155、GATA3 水平与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分的相关性

Table 3 Analysis of the correlation of serum miR-155 and GATA3 levels with Th1/Th2 balance and PASI score

组别	Th1/Th2 平衡		PASI 评分	
	r 值	P 值	r 值	P 值
miR-155	0.651	0.005	0.563	0.009
GATA3	-0.586	0.010	-0.612	0.041

3 讨论

95%以上银屑病为寻常型银屑病,其表现为银白色鳞屑、点状出血和发亮的薄膜,多发生在头皮、四肢伸侧。寻常型银屑病具有病程缓慢、易反复的特点,虽不会对患者生命安全造成威胁,但在一定程度上对患者日常生活、工作、学习等方面造成影响,且目前尚无有效的方法可以彻底治愈。目前认为,银屑病的发生主要是由于免疫反应异常、环境、遗传等因素的相互作用导致炎症反应和(或)软骨细胞和滑膜角质形成细胞的异常增殖引起的。T 淋巴细胞是人体的主要免疫细胞,其在聚集于银屑病皮损前就处于异常活化状态,浸润表皮或真皮层后可促进银屑病进一步发展;在生理状态下,Th1/Th2 细胞处于相对平衡状态,当免疫功能出现异常时,Th1/Th2 失衡,可使血清和皮

损局部 Th1 细胞分泌 INF- γ 、IL-2 因子明显增多,导致角质形成细胞过度增殖和炎性细胞浸润,是影响寻常型银屑病皮损面积和严重程度的重要原因,因此临床认为银屑病防治的重要方向为纠正 Th1/Th2 失衡^[8-10]。对此本研究对患者的 Th1/Th2 比值进行研究发现,研究组 Th1/Th2 高于对照组,且随着病情的严重程度 Th1/Th2 比值随之升高,由此可看出银屑病患者存在 Th1/Th2 失衡,且病情越严重失衡越厉害。

miRNA 是一种内源性非编码小分子 RNA,广泛存在于生物体内,在细胞增殖、分化、凋亡过程中发挥重要作用,miRNA 通过与靶基因 mRNA 的非编码区特异性结合,抑制或促进蛋白质翻译。miRNA 同时参与免疫细胞的发育和分化,维持免疫稳态,研究表明,多种 miRNA 通过调控 Th1/Th2 平衡在银屑病发生发展中发挥重要作用^[11-12]。miR-155 定位于人染色体 21q21.3,已被证明在先天和适应性免疫过程中发挥重要作用,包括 T 细胞分化、抗原提呈、炎症和细胞因子产生^[13-14]。GATA3 是锌指蛋白 GATA 家族成员之一,其在整个 T 淋巴细胞的发育和分化过程中均大量表达,当 T 细胞分化为 Th2 细胞时,GATA3 水平升高,而分化为 Th1 细胞后水平下降。GATA-3 基因导入分化的 Th1 细胞后,改变分化方向,抑制 IFN- γ 基因表达,大量表达 TH2 型细胞因子,因此 GATA3 是 Th2 特异性转录因子^[15-16]。本研究中研究组 miR-155 高于对照组,同时 GATA3 水平低于对照组。肖艳玲等^[17]认为寻常型银屑病患者外周血 miR-155 水平升高,其可能通过调节 Th1/Th2 平衡介导寻常型银屑病免疫应答,参与寻常型银屑病发生发展。本文还对不同病情程度的寻常型银屑病患者的 miR-155、GATA3 水平进行研究,结果显示 miR-155 水平:重度组>中度组>轻度组,GATA3 水平:重度组<中度组<轻度组。分析原因主要是由于 GATA3 是 Th2 细胞特异的转录因子,主要表达于 Th2 细胞并上调 Th2 细胞因子的表达,因此当患者病情越严重可导致 GATA3 表达降低,抑制 Th2 的生成^[18-19];而 miR-155 与细胞增殖等多种过程关系密切,在调控免疫系统和维持免疫平衡中发挥不可或缺的作用,当 T 淋巴细胞 B 淋巴细胞功能受损越严重,miR-155 表达会随之上调^[20]。同时本研究 Spearman 相关分析显示,miR-155 与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分呈正相关,GATA3 与 Th1/Th2 平衡、

PASI评分呈负相关,说明 miR-155、GATA3 水平可通过影响 Th1、Th2 细胞分化及相关细胞因子的释放,参与寻常型银屑病发病及病情进展。

综上所述,miR-155、GATA3 水平在寻常型银屑病患者中有着不同的表达,同时,miR-155、GATA3 水平与 Th1/Th2 平衡、PASI 评分存在一定的相关性,可为临床病情诊断提供参考。

参考文献

- [1] 董晓龙,王晓阳,徐宏俊,等.寻常型银屑病患者 VEGF、IFN- γ 和 S100A12 的表达及与疾病活动性的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(2):214-217.
- [2] 彭友华,张予晋,罗美俊子,等. MiR-155 靶向抑制 GATA3 调节银屑病患者血液中 Th1/Th2 比例[J].中国皮肤性病学杂志,2020,34(9):988-992.
- [3] 肖勤,黄巍,汪亚利,等.寻常型银屑病患者血清 IL-4、IL-8、TNF- α 水平和 T 细胞亚群结构与预后转归的关系[J].河北医药,2019,41(22):3376-3379+3384.
- [4] 郑锦仁,李静,赵淑珍.寻常性银屑病患者血清 IL-17 和 IL-22 的水平与皮损面积和严重程度指数的相关性[J].临床检验杂志(电子版),2019,8(2):157-158.
- [5] 王亚莎,张敏,陈卫卫.消疔汤对银屑病患者外周血免疫细胞平衡及 NF- κ B、Lp-PLA2 的影响[J].中医药信息,2021,38(11):66-70.
- [6] 运蓓蕾,林伟,刘悦.寻常型银屑病患者血清 Lipocalin-2 检测水平及与疾病活动性、炎症标志物、代谢指标的关系[J].中国实验诊断学,2021,25(1):39-42.
- [7] Griffiths CEM, Armstrong AW, Gudjonsson JE, et al. Psoriasis[J]. Lancet, 2021,397(10281):1301-1315.
- [8] 李鹏远,郭海霞,刘刚.寻常性银屑病患者血清内皮细胞特异性分子、nesfatin-1 的水平变化及其意义[J].山东医药,2019,59(6):82-85.
- [9] 麦莉莉,何海春,黄捷,等.窄谱中波紫外线对寻常型银屑病患者血清维生素 D 及内皮细胞特异性分子的影响[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2019,18(2):141-144.
- [10] Nast A, Smith C, Spuls PI, et al. EuroGuiDerm Guideline on the systemic treatment of Psoriasis vulgaris - Part 2: specific clinical and comorbid situations[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2021,35(2):281-317.
- [11] 曾菁莘,田歆,朱慧兰,等.微小 RNA-148a-3p 在寻常型银屑病患者外周血 CD4⁺T 淋巴细胞中的表达及临床意义[J].中华皮肤科杂志,2019,52(4):231-235.
- [12] 孙惠敏,王美霞,郑瑞.寻常性银屑病患者血清白细胞介素-26 水平与疾病严重程度相关性分析[J].临床皮肤科杂志,2022,51(2):74-76.
- [13] Bachelez H. Pustular Psoriasis: The Dawn of a New Era[J]. Acta Derm Venereol, 2020,100(3):34-35.
- [14] 师绍敏,冀雅聪,张艳丽,等.寻常性银屑病患者外周血单个核细胞中 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3 mRNA、血清干扰素- γ 及白细胞介素-17A 表达水平的研究[J].临床皮肤科杂志,2020,49(11):664-666.
- [15] 夏米娜,刘彦群,翟晓翔.寻常型银屑病皮损中 Cx 蛋白及其 mRNA 表达及与病情严重程度相关性研究[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2019,18(4):316-319.
- [16] 朴莉玲,张春韶,唐妮,等.寻常型银屑病患者血清 IL-4、IL-8、TNF- α 水平、T 细胞亚群结构与患者预后转归的关系[J].海南医学院学报,2019,25(14):1096-1099.
- [17] 肖艳玲,李东宁,王勤.寻常型银屑病患者外周血 miR-155 水平变化及其与 Th1/Th2 平衡的关系[J].山东医药,2022,62(4):31-35.
- [18] Hanami Y, Kumekawa M, Yamamoto T. Psoriasis vulgaris in a patient with antisynthetase syndrome [J]. J Dermatol, 2021,48(1):e39-e40.
- [19] 寇乐,崔莉,张薇,等.血清 IL-17A、miR-1266-5p 水平与银屑病严重程度指数的相关性分析[J].宁夏医科大学学报,2019,41(8):773-776.
- [20] Zheng J, Liu N, Wang Y, et al. Pemphigus vulgaris with psoriasis vulgaris successfully treated with methotrexate and low-dose methylprednisolone [J]. Dermatol Ther, 2020,33(1):65-131.

(上接第 404 页)

- [9] 赵永生,李欣欣,孔令雪,等.老年重症急性胰腺炎患者死亡风险分析[J].中华老年多器官疾病杂志,2021,20(6):406-409.
- [10] 赵冰,刘巍,刘丹.重症急性胰腺炎患者血清 Hcy PCT HCT 水平与肠道黏膜损伤程度的相关性分析[J].河北医学,2021,27(12):1983-1987.
- [11] 何文华,郑西,祝荫,等.基于大样本数据库比较 APACHE II、Ranson、BISAP 和 CTSI 评分在早期预测急性胰腺炎病情严重程度的价值[J].中华胰腺病杂志,2019,19(3):172-176.
- [12] 薛建波,陈娟,仝建军,等.红细胞分布宽度和 D-乳酸对急性胰腺炎病情评估的价值研究[J].北京医学,2020,42(8):731-733.
- [13] 王嫒嫒,郑洋,周哲,等.黄芪注射液对急性胰腺炎肠道屏障功能和微炎症反应状态的影响[J].世界中医药,2018,13(4):818-821.
- [14] 杨艳英,张建民.重型急性胰腺炎患者血清 α -MSH、TNF- α 、内毒素水平变化及其与病情的关系[J].山东医药,2018,58(34):63-65.
- [15] 刘伟伟,丁士芳.肠内免疫营养支持联合 CBP 对老年重症急性胰腺炎患者症状改善及血清 DAO、AMY、LPS 水平变化的影响[J].中国免疫学杂志,2019,35(22):2774-2779.

低比例DNA污染对地中海贫血基因检测结果的影响

许晨霞 王德刚 张艳芳 董兴盛 唐海深 梁睿 彭建明*

[摘要] **目的** 研究低比例DNA污染对地中海贫血基因检测结果判读的影响,以及荧光定量PCR(QF-PCR)技术的鉴定污染的能力。**方法** 2019年1月至2020年1月在中山市博爱医院进行地中海贫血基因检测的11 128名受检者中,选取其中7例确诊基因型分别为 $-\alpha^{A2}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{SEA}$ 、 $\alpha^{WS}\alpha/-\alpha^{SEA}$ 、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\beta^{CD41-42}/\beta^N$ 、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\beta^{VS-II-654}/\beta^N$ 、 $\alpha^{OS}\alpha/\alpha\alpha$ 的患者为研究对象,提取外周血DNA,建立污染模型。用QF-PCR技术检测低比例污染样本。分别用PCR-流式荧光杂交方法和Gap-PCR+反向点杂交法检测污染模型。**结果** 当DNA污染比例小于10%(2 ng/ μ L)时QF-PCR技术易漏检,而PCR-流式荧光杂交法能提示3.7缺失型(Gap-PCR不提示);反向点杂交膜条法能提示WS、QS突变型 α 地贫和17种突变型 β 地贫(PCR-流式荧光杂交法不提示)。**结论** 两种方法相比较PCR-流式荧光杂交法对检测3.7缺失型更加灵敏,反向点杂交膜条检测法对 α 、 β 点突变的检测灵敏度更高。

[关键词] 地中海贫血; QF-PCR; PCR-流式荧光杂交; Gap-PCR+反向点杂交

Effect of low proportion of DNA contamination on the results of thalassemia gene testing

XU Chenxia, WANG Degang, ZHANG Yanfang, DONG Xingsheng, TANG Haishen, LIANG Rui, PENG Jianming*

(Prenatal Diagnosis Center, Bo'ai Hospital of Zhongshan, Zhongshan, Guangdong, China, 528400)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the effect of low proportion DNA contamination on the results of thalassemia gene testing and the ability of quantitative fluorescence PCR technique to identify contamination. **Methods** From January 2019 to January 2020, among the 11,128 subjects who underwent thalassemia gene testing at Zhongshan Bo'ai Hospital, 7 of them were selected to be confirmed as $-\alpha^{A2}/\alpha\alpha$, $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{SEA}$. Patients with $\alpha^{WS}\alpha/-\alpha^{SEA}$, $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$, $\beta^{CD41-42}/\beta^N$, $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$, $\beta^{VS-II-654}/\beta^N$, $\alpha^{OS}\alpha/\alpha\alpha$ were used as the research objects, and peripheral blood DNA was extracted to establish a contamination model. Low-proportion contamination samples were detected by QF-PCR technique. The contamination models were detected by PCR-flow fluorescence hybridization method and Gap-PCR+reverse dot hybridization method respectively. **Results** When the DNA contamination ratio is less than 10% (2 ng/ μ L), QF-PCR technology is easy to miss detection, while PCR-flow fluorescence hybridization method can prompt 3.7 deletion type (Gap-PCR does not prompt). Reverse dot blot strip method can reveal WS, QS mutant α -thalassemia and 17 kinds of mutant β -thalassemia (PCR-flow cytometry fluorescence hybridization method does not prompt). **Conclusion** The PCR-flow fluorescent hybridization method is more sensitive to detect the 3.7 deletion type, and the reverse dot blot membrane strip detection method is more sensitive to the detection of α and β point mutations.

[KEY WORDS] Thalassemia; QF-PCR; PCR-flow fluorescence hybridization; Gap-PCR+ reverse dot hybridization

地中海贫血即珠蛋白生成障碍性贫血,是一种常染色体隐性遗传病,是由珠蛋白基因的缺失

或者点突变引起珠蛋白肽链合成障碍或速率下降,致使血红蛋白产量减少而引起的溶血性贫血

基金项目:中山市医学科研项目(2021A020096)

作者单位:中山市博爱医院产前诊断中心,广东,中山 528400

*通信作者:彭建明, E-mail: pengjm2001@sina.com

血^[1-2]。父母双方同时携带相同类型的地中海贫血基因并遗传给胎儿,可导致孕妇流产;出生后严重贫血,从而导致器官受累,甚至死亡。目前临床上对地中海贫血基因检测常用的方法是 α 和 β -地贫基因检测试剂盒 Gap-PCR+反向点杂交和 PCR-流式荧光杂交法^[3-6]。为提高地贫基因检测效能,本研究检测两种方法对患者 DNA 的不同污染比例检测的敏感性,并比较这两种方法在相同污染比例条件下检测 α 和 β -地贫的优劣势。在知晓父母基因型的情况下为临床产前诊断胎儿 α 和 β -地中海贫血选择不同检测方法提供参考。目前常规运用荧光定量 PCR (Quantitative Fluorescence PCR, QF-PCR) 对母体细胞污染(maternal cell contamination, MCC) 进行鉴定。但有文献报道, QF-PCR 对低比例的 MCC 检测能力有限,容易被漏检^[7-9]。由于穿刺过程有流产风险,当发现 MCC 时,不推荐再次侵入性取样^[10]。本研究针对低比例 DNA 污染对地中海贫血基因检测方法的影响进行研究,为临床进行正确的地中海贫血基因诊断提供更优选的实验方法,有效的减少地中海贫血的漏诊、误诊。

1 材料和方法

1.1 标本来源

2019年1月至2020年1月在中山市博爱医院进行地中海贫血基因检测的11 128名受检者,选取其中7例确诊基因型分别为 $-\alpha^{A.2}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{SEA}$ 、 $\alpha^{WS}\alpha/-\alpha^{SEA}$ 、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\beta^{CD41-42}/\beta^N$ 、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$ 、 $\alpha^{OS}\alpha/\alpha\alpha$ 的患者为研究对象。见表1。纳入标准:①在本院接受地贫基因检测项目;②患者地贫基因型为亚能生物技术(深圳)有限公司和广州达安基因股份有限公司地贫基因检测试剂盒包括的常见位点;③经过提取外周血 DNA 浓度 >20 ng/ μ L,纯度(A260/280)为1.7~2.0者。排除标准:①患者为罕见地贫;②提取外周血 DNA 浓度过低者;③拒绝签署知情同意不配合本研究者;④无法进

表1 7名地贫患者的基因型

Table 1 Genotypes of 7 patients with thalassemia

基因型	α 缺失型	α 点突变	β 点突变
病例1	$-\alpha^{A.2}/\alpha\alpha$	normal	normal
病例2	$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{SEA}$	normal	normal
病例3	normal	$\alpha^{WS}\alpha/-\alpha^{SEA}$	normal
病例4	normal	$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$	normal
病例5	normal	normal	$\beta^{CD41-42}/\beta^N$
病例6	normal	$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$	$\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$
病例7	normal	$\alpha^{OS}\alpha/\alpha\alpha$	normal

行正常沟通交流者;⑤近期有输血史的患者。本研究经院伦理委员会审核批准,以上患者均签署了知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器

多重 STR 基因分型试剂盒(荧光 PCR 毛细管电泳法),批号 202005,规格 50 人份/盒,购自广州市达瑞生物技术有限公司;ABI PCR 仪 2720(美国应用生物系统公司);ABI 基因分析仪 3500Dx(美国应用生物系统公司); α 和 β -地贫基因检测试剂盒(PCR+膜杂交法)购自亚能生物技术(深圳)有限公司,批号 A202010005(α 地贫)、BX202011004(β 地贫)、AD202010006(非缺 α 地贫),规格 25 人份;地中海贫血(α/β)基因检测试剂盒(PCR-流式荧光杂交法)购自广州达安基因股份有限公司,批号 2020006,规格 48 人份;Lab-Aid 820 核酸提取仪(厦门致善生物科技有限公司),微量分光光度计 CapitalBio Nano-Q™,ABI 9700PCR 仪(美国应用生物系统公司),Luminex 200 杂交检测仪(美国纳斯达克公司)。

1.3 方法

1.3.1 地贫基因的检测

按照试剂盒操作说明书进行标本采集、DNA 提取、扩增、电泳及结果判断。抗凝管采集枸橼酸盐抗凝的静脉血 3 mL,提取 DNA。检测 3 种缺失型 α 地贫($-\alpha^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{A.2}$)、3 种突变型 α 地贫 [$\alpha^{Quong Sze}(\alpha^{OS}\alpha)$ 、 $\alpha^{Constant Spring}(\alpha^{CS}\alpha)$ 、 $\alpha^{Westmead}(\alpha^{WS}\alpha)$], 17 种 β -地贫突变常见位点(CD41-42、IVS-2-654、-28、CD71-72、CD17、CD26、CD43、-29、CD31、-32、IVS-I-1、CD27-28、 βE 、CD14-15、Cap、Int、IVS-I-5)。每批试验均设阴、阳及空白对照,操作严格按照说明书进行。

1.3.2 多重定量荧光 PCR

选择 D21S1433、21q11.2、D21S1411、D21S1414、D21S1412、D21S1445 共 6 个 21 号染色体上的位点,上游引物标记荧光(FAM 为蓝色荧光,HEX 为绿色荧光)。D18S1002、D18S386、D18S391、D18S535 共 4 个 18 号染色体上的位点,D13S305、D13S628、D13S634、D13S742 共 4 个 13 号染色体上的位点,DXS1187、DXS6809、DXS8377、DXS981、AMXY 共 5 个 X 染色体上的位点,一个 Y 染色体上的 SRY 位点。

1.3.3 样本浓度的检测

用微量分光光度计 CapitalBio NanoQ™ 检测以上 7 个 DNA 样本浓度。见表 2。

表2 7名地贫患者外周血DNA浓度

Table 2 Peripheral blood DNA concentrations in 7 thalassemia patients

入选病例	病例1	病例2	病例3	病例4	病例5	病例6	病例7
浓度(ng/μL)	68.24	162.82	41.12	114.89	89.21	47.77	121.54

1.3.4 建立污染模型

上述样本均稀释成 20 ng/μL 的稀释液,然后按照比例进行混样,例如病例1的DNA样本稀释液 1 μL+ 病例2样本稀释液 19 μL 混合成为病例1 DNA 占比 5%(1/20, 1 ng/μL)的混合样本。取混合后的 A 至 N 管中 DNA 3 μL 进行 PCR 扩增。见表 3。

表3 两两混样污染模型的建立

Table 3 The establishment of pairing-pairing-mixed pollution model

混样比例	5%	10%	95%	90%
病例1+病例2	A	B	C	D
病例3+病例4	E	F	G	H
病例5+病例6	I	J	K	L
病例7+病例5	M	N		

注:以上百分率为病例1、3、5、7占混样病例中的DNA比例。

2 结果

2.1 QF-PCR 检测结果

图1为DNA污染比例5%(1 ng/μL)的混合液,A1-A3区域的STR位点除正常双峰以外可见突起小峰。图2为DNA污染比例10%(2 ng/μL)的混合液,箭头所指位置峰值随污染比例增加而增高。由于其余17个STR位点峰型结果相似,因此图未列出。



图1 DNA污染占比5%的QF-PCR电泳结果

Figure 1 Results of QF-PCR with DNA contamination accounts for 5%

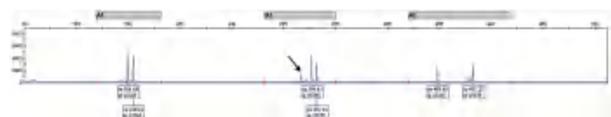


图2 DNA污染比例10%时的QF-PCR电泳结果

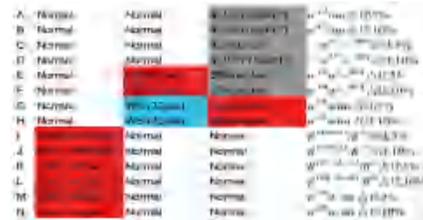
Figure 2 Results of QF-PCR with DNA contamination accounts for 10%

2.2 地贫基因检测结果

2.2.1 PCR-流式荧光杂交法检测结果

基因型 3.7 缺失型 DNA 占总 DNA 量 10%(2

ng/μL)时,PCR-流式荧光杂交法提示 3.7 缺失型灰区结果,所有 α、β 突变位点 DNA 占总 DNA 量 5%(1 ng/μL)和 10%(2 ng/μL)时结果均不显示该突变位点且不提示灰区。见图 3。



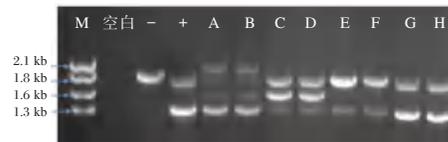
注:按照表3中的污染比例进行建模,图中百分率为该基因型的DNA含量占混样总DNA量的比例。

图3 PCR-流式荧光杂交

Figure 3 PCR-Flow cytometry fluorescence Hybridization assay

2.2.2 缺失型 α 地中海贫血琼脂糖凝胶电泳结果

基因型-α4.2/αα 占比 5%和 10%(A、B),4.2 缺失型和正常条带的位置存在浅条带;基因型-α3.7/--SEA 占比 5%和 10%(C、D),3.7 缺失型条带不显示,SEA 缺失型的位置显示浅带。见图 4。



注:M为Markers;-、+分别为阴性对照和阳性对照,A至D为病例1基因型-α4.2/αα和病例2基因型-α3.7/--SEA的DNA样本按照上述比例混合液;E至H为病例3基因型αWSα/--SEA和病例4基因型αCSα/αα的DNA样本按照上述比例混合液。

图4 缺失型 α 地中海贫血 Gap-PCR 电泳图

Figure 4 Gap-PCR electrophoresis of deletion alpha-thalassemia

2.2.3 α、β 点突变反向点杂交结果

基因型 αWSα/--SEA、αQSα/αα 在污染模型中占比 5%和 10%(E、F 和 M、N),WS 和 QS 突变点位置提示突变,基因型 αCSα/αα 占比 5%和 10%(G、H),CS 突变位点和 WS 正常位点均不提示;基因型 βCD41-42/βN、βIVS-II-654/βN 的 DNA 占比 5%和 10%(I、K 和 J、L),CD41-42 和 IVS-II-654 突变位点均提示突变。见图 5。

3 讨论

地中海贫血的地理分布以南方最高,由南至北呈下降趋势,广东地区是地中海贫血的高发地区之一^[11]。在 2012 年 Lin 等^[12]采取反向点杂交方



注: E、F为基因型 $\alpha^{WS}\alpha/-^{SEA}$ 分别占比 5% 和 10% 时的膜条图; G、H 为 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 分别占比 5% 和 10% 时的膜条图; M、N 为基因型 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 分别占比 5% 和 10% 的膜条图; I 至 L 为基因型 $\beta^{CD41-42}\beta^N$ 与基因型 $\beta^{IVS-II-654}\beta^N$ 的病例按照上述比例混样后的膜条图。

图5 α 、 β 点突变型地贫反向点杂交技术显色结果

Figure 5 Colored reaction results of α 、 β Thalassemia Mutations by reverse dot hybridization

法联合快速导流杂交技术平台,对中国人群众常见的5种 α -地中海贫血基因和16种 β -地中海贫血基因进行快速、同步检测,该技术可实现野生型和地中海贫血基因的可靠基因分型,提示该技术是一种简便、快速、准确、经济、适用于中国人群众常见地中海贫血基因型的检测方法。使用QF-PCR评估母体细胞污染是一种常用的检测方法,可以快速判断产前样本是否存在污染。在进行QF-PCR报告发放前,每个实验室应根据本实验室数据评估母体细胞污染率的检测水平^[9]。虽然获取和处理样本的娴熟手法可以降低污染率,但由于MCC造成的误诊仍然是产前诊断领域一个需要引起重视的问题^[13-14]。有研究表明,微滴式数字PCR(Droplet digital PCR, DD-PCR)技术比荧光定量PCR对产前诊断标本进行MCC检测的精确度和敏感性更高,而QF-PCR技术只能在MCC \geq 6.25%时才提示产前诊断标本存在400 bp的母源性特有峰^[8]。有研究显示,在307份产前样本中,有17.8%没有肉眼可见的血细胞污染,但是仍然能检测出存在MCC^[15]。因此对产前样本进行检测前必须先进行MCC鉴定。本研究表明当污染DNA量占总的DNA含量的5%(1 ng/ μ L)时,QF-PCR较难检测出DNA污染。在没有DD-PCR技术时经验丰富的检验者可以通过Gap-PCR琼脂糖凝胶电泳条带和反向点杂交膜条上探针杂交产生蓝色点的深浅来初步判断是否存在污染;PCR-流式荧光杂交法根据探针的信号高低数值及3.7/a2、Normal/Mutant等的比值初步判断是否存在污染。从图3中可知,PCR-流式荧光杂交法对所有 α 、 β 突变位点检查的敏感性较低,但基因型3.7缺失型占总

DNA量10%(2 ng/ μ L)时会提示3.7缺失型灰区结果。如图4中可知,Gap-PCR琼脂糖检测方法对缺失型地贫检测敏感性较低,当提取的DNA浓度 \leq 2 ng/ μ L(10%)时,3.7缺失型地贫基因携带者因DNA浓度过低而易漏检。如图5中可知,反向点杂交方法对点突变型地贫检测较敏感,但当提取的DNA浓度 \leq 2 ng/ μ L(10%)时,CS突变型和WS野生型位点因DNA浓度过低而漏检。本研究还做了其余15个 β 突变位点的污染模型,当突变位点DNA含量占混样比例5%时,PCR-流式荧光杂交法和膜条法与上述两个 β 突变位点结果类似。本研究将PCR-流式荧光杂交法与Gap-PCR+反向点杂交检测方法进行比较:PCR-流式荧光杂交法对3.7缺失型更加灵敏,但是对 α 、 β 点突变的灵敏度低于反向点杂交膜条法。综上所述,低比例DNA污染对地中海贫血基因的产前诊断结果存在影响。本文的结果为检测者选择地中海贫血基因检测方法提供依据。在提取到的羊水DNA浓度较低时,当怀疑为 α 缺失型地中海贫血,检验者可选择对缺失型地贫更灵敏的PCR-流式荧光杂交检测法;基因型为点突变时,则选择对点突变更为敏感的膜条杂交法检测法。

参考文献

- [1] Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia[J]. Genet Med, 2010, 12(2): 61-76.
- [2] Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden[J]. Blood, 2010, 115(22): 4331-4336.
- [3] 杨发达,高维鸿,梁丽笙,等.佛山市9236例孕产妇301型地中海贫血基因检测结果分析[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(9):1147-1151.
- [4] 林珺芳,曾志勇,杨阿碰,等.中国福建省福州地区地中海贫血孕妇基因类型分析[J].中国实验血液学杂志,2020,28(4):1303-1306.
- [5] 甘建玲,丁芳骐,刘红宇.江西萍乡地区地中海贫血患者基因型分析[J].中华医学遗传学杂志,2020,37(10):1101-1103.
- [6] 张丽科,余学高,陈培松,等.PCR-流式荧光杂交技术在地中海贫血基因诊断中的应用[J].热带医学杂志,2018,18(1):36-39.
- [7] 夏勇,熊礼宽,麦光兴.低比例母体细胞污染对 α -地中海贫血产前诊断的影响研究[J].中国卫生标准管理,2020,11(16):109-112.
- [8] Geng J, Liu C, Zhou XC, et al. Application study of droplet digital PCR to detect maternal cell contamination in prenatal diagnosis[J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2017, 52(2): 93-97.

(下转第421页)

足月新生儿高胆红素血症光疗后胆红素反弹影响因素分析

孙亚伟 黄金华* 李亚蕊

[摘要] **目的** 探讨足月新生儿高胆红素血症光疗后胆红素反弹(SBR)的影响因素。**方法** 选取合肥市第一人民医院南区(合肥市滨湖医院)2019年1月到2022年7月新生儿科收治的97例高胆红素血症新生儿为研究对象。根据患儿光疗结束后72 h内最高TSB水平有无达到光疗开始前阈值,将其分为SBR组($n=12$)和非SBR组($n=85$)。通过电子病历系统收集患儿性别、出生时胎龄、顺产、出生时体质量、严重程度、发病类型、发病原因、围产因素以及相关实验室检查结果(光疗前TSB、光疗后TSB、白蛋白/球蛋白比值),对光疗后SBR影响因素进行Logistic回归分析。**结果** 两组性别、出生时胎龄、顺产、出生体质量、严重程度、发病类型、发病原因、围产因素比较差异无统计学意义($P>0.05$)。SBR组与非SBR组光疗后TSB水平、白蛋白/球蛋白比值比较差异具有统计学意义($t=5.298, 3.472, P<0.05$);两组光疗前TSB比较差异无统计学意义($P>0.05$);多因素Logistic回归分析结果显示光疗后TSB和白蛋白/球蛋白比值是高胆红素血症新生儿光疗后SBR的独立影响因素($P<0.05$);ROC分析结果显示光疗后TSB和白蛋白/球蛋白比值预测SBR发生曲线下面积为0.850和0.841,均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** SBR在足月新生儿高胆红素血症光疗后并不鲜见,光疗后TSB和白蛋白/球蛋白比值对SBR有一定预测价值。

[关键词] 新生儿高胆红素血症;光疗;胆红素反弹;影响因素

Analysis of influencing factors of bilirubin rebound after phototherapy in full-term neonates with hyperbilirubinemia

SUN Yawei, HUANG Jinhua*, LI Yaru

(Department of Pediatrics, South District of Hefei First People's Hospital, Hefei, Anhui, China, 238000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the influencing factors of bilirubin rebound (SBR) in term neonates with hyperbilirubinemia after phototherapy. **Methods** A total of 97 neonates with hyperbilirubinemia who were admitted to the Neonatology Department of the Southern District of Hefei First People's Hospital (Hefei Binhu Hospital) from January 2019 to July 2022 were selected as the research objects. The children were divided into the SBR group ($n=12$) and the non SBR group ($n=85$) according to whether the highest TSB level reached the threshold before phototherapy within 72 hours after the end of phototherapy. The electronic medical record system was used to collect the children's sex, gestational age at birth, spontaneous labor, body mass at birth, severity, type of disease, cause of disease, perinatal factors and relevant laboratory examination results (TSB before phototherapy, TSB after phototherapy, albumin/globulin ratio). Logistic regression analysis was performed on the influencing factors of SBR after phototherapy. **Results** There was no significant difference between the two groups in gender, gestational age at birth, spontaneous labor, birth weight, severity, type of disease, cause of disease, and perinatal factors ($P>0.05$). There were significant differences in TSB level and albumin/globulin ratio between the SBR group and the non SBR group after phototherapy ($t=5.298, 3.472, P<0.05$). There was no significant difference in TSB between the two groups before

基金项目:安徽省科学技术厅研究项目(202104j07020056)

作者单位:合肥市第一人民医院南区儿科,安徽,合肥238000

*通信作者:黄金华, E-mail:304105167@qq.com

phototherapy ($P>0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that TSB and albumin/globulin ratio were independent influencing factors affecting SBR in hyperbilirubinemia neonates after phototherapy ($P<0.05$). The ROC analysis showed that the areas under the curve predicted by TSB and albumin/globulin ratio after phototherapy was 0.850 and 0.841, both of which were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** SBR is not uncommon after phototherapy in full-term neonates with hyperbilirubinemia, and TSB and albumin/globulin ratio after phototherapy have certain predictive value for SBR.

[KEY WORDS] Neonatal hyperbilirubinemia; Phototherapy; Bilirubin rebound; Influencing factors

新生儿因红细胞破坏较多而导致血清胆红素浓度增加,其自身胆红素代谢能力不足可能导致新生儿出现高胆红素血症,引起患儿嗜睡、吃奶差、肌张力亢进等表现,还可对新生儿远期听力、智力发育产生不良影响。光疗是临床治疗新生儿高胆红素血症的常用手段^[1],然而国外研究^[2]发现,部分患儿在光疗结束后出现胆红素显著反弹(significant bilirubin rebound, SBR),其定义为光疗后72小时内总血清胆红素(total serum bilirubin, TSB)恢复到光疗前阈值,导致患儿过度治疗,增加了疾病负担和经济负担^[3]。光疗主要是通过异构的作用,让胆红素变成水溶性的胆红素,更容易排出体外,起到降低黄疸的作用。但停止光疗后,深部胆红素会在皮肤上有所体现,因此在光疗之后可能会出现SBR。美国儿科学会(AAP)的指南明确推荐了黄疸患儿起始光疗的指征,但结束光疗时机的临床证据较少^[4]。1991年有综述推荐黄疸住院患儿可在连续2次胆红素水平 $<11\text{ mg/dL}$ 后结束光疗;英国的指南对胆红素水平要求更低,推荐足月产儿可在胆红素 $<17.5\text{ mg/dL}$ 后即可停止治疗^[5]。较早结束光疗出现反复高胆红素血症的临床风险更高,从而需要进一步的光疗同时延长了住院时间。掌握SBR影响因素并及早采取措施予以干预对于提升光疗治疗效果尤为重要。目前国内研究对新生儿高胆红素血症光疗后出现SBR发生率和影响因素报道较少。

1 对象及方法

1.1 研究对象

选择合肥市第一人民医院南区(合肥市滨湖医院)2019年1月到2022年7月新生儿科收治的97例高胆红素血症新生儿。男59例,女38例,出生时胎龄(39.05 ± 1.05)周,出生体质量(3363.81 ± 405.04)g,其中83例顺产,14例剖宫产。发病类型:早发型(生后0~7天发生)53例,晚发型(生后8~28天发生)44例。纳入标准:①符合新生儿高胆

红素血症诊断标准^[6],且在本院接受光疗治疗。②出生时胎龄 >37 周。③入院日龄 $<28\text{ d}$ 。④相关病历信息完整。排除标准:①合并其他影响胆红素水平的非溶血性疾病。②合并地中海贫血、G6PD缺乏症、遗传性疾病。③凝血功能异常。④不符合光疗治疗标准。根据患儿光疗治疗停止后72h内最高TSB水平是否达到光疗开始前阈值,将其分为SBR组($n=12$)和非SBR组($n=85$)。本研究经新生儿监护人知情同意,本实验经医院医学伦理委员会批准。

1.2 资料收集及相关定义

通过电子病历系统收集患儿性别、出生时胎龄、顺产、出生时体质量、严重程度(极重度:光疗前 $\text{TSB}>427\text{ }\mu\text{mol/L}$,重度:光疗前 $427\text{ }\mu\text{mol/L}\geq\text{TSB}>340\text{ }\mu\text{mol/L}$)^[6]、发病类型、发病原因、围产因素以及相关实验室检查结果(光疗前TSB、光疗后TSB、白蛋白/球蛋白比值)。围产因素包括妊娠期高血压、脐绕颈、妊娠期糖尿病、妊娠期甲状腺功能减退和胎膜早破。光疗治疗:光疗是采用光照疗法降低新生儿血清未结合胆红素的治疗方法,选择新生儿黄疸治疗仪BT-400(上海颂柯医疗器械有限公司)对患儿进行持续照射治疗,治疗光线波长范围450~475nm,治疗前先对光疗箱进行预热处理,温度以 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 为宜,然后将新生儿放于光疗箱,平卧位,采用黑色眼罩遮盖双眼,避免损伤到视网膜;与此同时使用尿不湿遮盖肛门、会阴部位,持续照射6~12h,间隔2h以上再进行下一次照射,累计照射72h左右。

1.3 统计学分析

实验数据使用SPSS 21.0进行分析,符合正态分布的计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,比较采用独立样本 t 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,比较采用 χ^2 检验,以单因素分析和多因素Logistic回归分析高胆红素血症新生儿发生SBR影响因素,以受试者工作特征曲线分析指标对SBR的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

两组性别、出生时胎龄、顺产、出生体质量、严重程度、发病类型、发病原因、围产因素比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组临床资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

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

因素	分类	SBR组 ($n=12$)	非SBR组 ($n=85$)	χ^2/t 值	P 值
性别	女	2(16.67)	36(42.35)	2.912	0.088
	男	10(83.33)	49(57.65)		
出生时胎龄(周)		38.50 \pm 1.45	38.72 \pm 1.08	0.632	0.529
顺产	是	10(83.33)	73(85.88)	0.055	0.814
	否	2(16.67)	12(14.12)		
出生体质量(g)		3206.25 \pm 278.53	3386.06 \pm 416.27	1.448	0.151
严重程度	重度	10(83.33)	78(91.76)	0.888	0.346
	极重度	2(16.67)	7(8.24)		
发病类型	早发型	7(58.33)	46(54.12)	0.075	0.784
	晚发型	5(41.67)	39(45.88)		
喂养方式	母乳	4(33.33)	30(35.29)	0.600	0.896
	人工	0(0.00)	2(2.35)		
	混合	5(41.67)	28(32.94)		
	不详	3(25.00)	25(29.42)		
合并感染	是	2(16.67)	28(32.94)	1.304	0.254
	否	10(83.33)	57(67.06)		

2.2 两组实验室资料比较

SBR组与非SBR组光疗后TSB水平、白蛋白/球蛋白比值比较差异具有统计学意义($P<0.05$)；两组光疗前TSB比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 两组实验室资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

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

指标	SBR组 ($n=12$)	非SBR组 ($n=85$)	t 值	P 值
光疗前TSB($\mu\text{mol/L}$)	379.51 \pm 41.63	378.62 \pm 29.22	0.094	0.926
光疗后TSB($\mu\text{mol/L}$)	203.57 \pm 39.62	155.53 \pm 27.79	5.298	<0.001
白蛋白/球蛋白比值	1.58 \pm 0.20	1.93 \pm 0.34	3.472	<0.001

2.3 多因素 Logistic 回归分析高胆红素血症新生儿光疗后 SBR 影响因素

以光疗后TSB水平(以实际值代入)、白蛋白/球蛋白比值(以实际值代入)作为自变量,以高胆红素血症新生儿光疗后是否发生SBR为因变量,设置进入方差 $\alpha=0.05$,多因素 Logistic 回归分析结

果显示光疗后TSB和白蛋白/球蛋白比值是高胆红素血症新生儿光疗后SBR的独立影响因素($P<0.05$)。见表3。

表3 多因素 Logistic 回归分析高胆红素血症新生儿光疗后 SBR 影响因素

Table 3 Multi-factor Logistic regression analysis of SBR influencing factors after phototherapy in neonates with hyperbilirubinemia

危险因素	β 值	SE值	Wald值	OR值	95% CI	P 值
光疗后TSB	0.932	0.230	16.412	2.539	1.618~3.985	<0.001
白蛋白/球蛋白比值	0.624	0.211	8.755	1.867	1.235~2.823	<0.001

2.4 ROC 分析光疗后 TSB 和白蛋白/球蛋白比值对 SBR 的预测价值

ROC分析结果显示,光疗后TSB和白蛋白/球蛋白比值水平预测SBR发生曲线下面积为0.850和0.841,灵敏度分别为82.80%、81.10%,特异度分别为0.799、0.776,95%CI分别为0.828~0.876、0.813~0.865,均具有统计学意义($P<0.05$)。见图1。

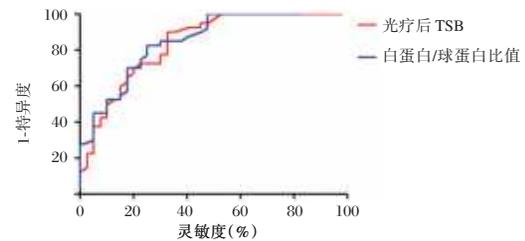


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

新生儿高胆红素血症是由于新生儿出生后红细胞破坏增多导致血清胆红素增加,而自身胆红素代谢能力低下出现的暂时性血清胆红素升高现象,绝大多数病例预后良好,但由于胎龄、溶血性因素、合并严重疾病等因素可能导致患儿预后不良^[7-8]。研究发现,SBR是导致新生儿高胆红素血症再次入院的影响因素,同时增加了高胆红素血症后胆红素脑病和核黄疸发生风险^[9-10]。本研究结果中SBR发生率为12.37%(12/97),国外有部分研究对SBR发生率进行报告,埃及儿童中SBR发生率为24.9%^[11],加拿大儿童中为20.3%^[12],本研究SBR发生率在已有报道中处于偏低水平,考虑不同国家及地区SBR发生率差异与患儿病情、病因或治疗方式的不同有关。

本研究经过多因素 Logistic 回归分析,显示光疗后 TSB 和白蛋白/球蛋白比值是高胆红素血症新生儿光疗后 SBR 的独立影响因素,与既往报道一致^[13]。该研究结果提示,光疗后 TSB 和白蛋白/球蛋白比值与 SBR 的发生独立相关。新生儿高胆红素血症主要病因是体内聚积过多胆红素,导致皮肤或其他器官黄染。约 80% 的正常新生儿在生后早期会出现皮肤黄染的现象。当 TSB>5 mg/dl 肉眼可见皮肤黄染,TSB 的升高往往意味着新生儿体内胆红素水平未控制到正常水平,对 SBR 影响因素的探讨对于优化患儿 TSB 持续检测和随访策略调整有一定指导意义。

本研究光疗后 SBR 组 TSB 为 (203.57±39.62) μmol/L,高于非 SBR 组的 (155.53±27.79) μmol/L,差异显著,表明 TSB 与 SBR 的发生密切相关。新生儿出生后肝脏系统发育不成熟,体内红细胞可能出现破坏,肝细胞对胆红素的摄取能力较弱,从而可能出现 TSB 偏高。新生儿高胆红素血症经过光疗后出现反弹可能是因为 TSB 上升,由于患儿症状并未得到完全控制,基础疾病未治愈,若出现溶血,将会损伤到血液细胞,引起 TSB 升高,进而引起 SBR。因此,需要加强对 TSB 的监测,及时预测患儿 SBR 风险,积极采取措施予以干预,以预防 SBR 的发生。

对比两组患儿白蛋白/球蛋白比值,显示 SBR 组为 (1.58±0.20),低于非 SBR 组的 (1.93±0.34),表明 SBR 患儿伴随白蛋白/球蛋白比值下降。白蛋白、球蛋白均为人体血浆的重要蛋白质,前者主要功能为维持机体营养与渗透压平衡,正常情况下白蛋白含量为 38~48 g/L,占据了血浆总蛋白的一半,可保障细胞内液、外液与组织液交流。白蛋白/球蛋白比值的降低,考虑是体内胆红素代谢异常所致。

光疗利用光线的辐射作用于皮肤,皮肤浅层中的胆红素吸收光线后,变成异构体,由原来的脂溶性变成水溶性,使胆红素可以不通过肝脏代谢,可以直接从胆汁、尿液中排去体外,从而清除胆红素。而事实上新生儿 SBR 内脏也存在黄染,需要经过一段时期的治疗,才能充分的使血液中的胆红素清除,若尚存在引起胆红素增加因素,还会出现反弹。国外儿科协会建议对于有 SBR 风险高胆红素血症新生儿在停止光疗后进一步随访胆红素水平^[14],以防出现反跳。而产生 SBR 的深层机制可能与不同新生儿个体胆红素产生、代谢进程变化差异有关^[15]。另外在光疗过程中应注意对新生

儿补充液体,除常规喂养外,配合静脉输注,护理人员做好精心护理,准确记录开始光疗的时间,加强巡视,关注新生儿神志反应,以减少光疗相关不良反应的发生,提升光疗效果。

综上所述,足月新生儿高胆红素血症光疗后 SBR 并不鲜见,光疗后 TSB 和白蛋白/球蛋白比值对 SBR 有一定预测价值。

参考文献

- [1] Hegyi T, Kleinfeld A. Neonatal hyperbilirubinemia and the role of unbound bilirubin [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 26: 1-7.
- [2] Hung TW, Tsai JD, Pan HH, et al. Is Neonatal Hyperbilirubinemia Exposure Associated with a Risk of Autism Spectrum Disorder? A Nationwide Cohort Study [J]. *Am J Perinatol*, 2021, 38(12): 1244-1253.
- [3] Gu J, Zhu Y, Zhao J. The efficacy of intravenous fluid supplementation for neonatal hyperbilirubinemia; a meta-analysis of randomized controlled studies [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 34(21): 3580-3585.
- [4] van der Geest BAM, de Mol MJS, Barendse ISA, de Graaf JP, Bertens LCM, Poley MJ, Ista E, Kornelisse RF, Reiss IKM, Steegers EAP, Been JV; STARSHIP Study Group. Assessment, management, and incidence of neonatal jaundice in healthy neonates cared for in primary care: a prospective cohort study [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 14385.
- [5] Almohammadi H, Nasef N, Al-Harbi A, et al. Risk Factors and Predictors of Rebound Hyperbilirubinemia in a Term and Late - Preterm Infant with Hemolysis [J]. *Am J Perinatol*, 2022, 39(8): 836-843.
- [6] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识 [J]. *中华儿科杂志*, 2014, 52(10): 745-748.
- [7] 王增芹, 高艳, 董小玥, 等. 产科出院后因严重高胆红素血症住院新生儿入院前随访情况及随访依从性影响因素的多中心调查 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2022, 24(6): 669-674.
- [8] 雷蕾, 樊蕊, 贺姣姣, 等. 重度高胆红素血症新生儿肠道微生态环境对神经发育的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2022, 34(4): 430-433+439.
- [9] 张钊, 马永倩, 张捷宇, 等. 头颅磁共振 G/P 值、GP/CSF 值在新生儿急性胆红素脑病早期的预测价值 [J]. *临床放射学杂志*, 2022, 41(2): 325-329.
- [10] 王义, 田家豪, 马乐, 等. 血浆置换治疗新生儿高胆红素血症 (极重度) 疗效评价 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2021, 36(12): 951-957.
- [11] Khajehei M, Gidaszewski B, Maheshwari R. Clinical outcomes and cost-effectiveness of large-scale midwifery-led, paediatrician-overseen home phototherapy and neonatal jaundice surveillance: A retrospective cohort study [J]. *J Paediatr Child Health*, 2022, 58(7): 1159-1167. (下转第 421 页)

某医院流感嗜血杆菌的耐药性及分子流行病学特征

吴玲玲 张志军 李震 姜梅杰 周广飞 赵书平*

[摘要] **目的** 探讨本院流感嗜血杆菌(HI)的耐药性、血清型分型和多位点序列分型(MLST),为指导临床合理用药提供依据。**方法** 收集2019年1至5月泰安市中心医院临床分离30株HI,采用纸片扩散法检测其对抗菌药物的敏感性,采用玻片凝集法进行血清学分型,头孢硝噻吩纸片法检测细菌 β -内酰胺酶表型,PCR扩增耐药基因,MLST鉴定菌株之间的亲缘关系。**结果** 30株细菌血清型均为不定型(NTHI),对氨苄西林、复方新诺明和头孢呋辛耐药率分别为70.00%、70.00%和46.67%,阿奇霉素的非敏感率为36.67%,对其他抗菌药物敏感性高。70.00%(21/30)菌株检测到 β -内酰胺酶基因,与表型一致,基因型均为TEM-1型,未检测到ROB-1型。MLST结果显示30株细菌共检出18种ST型,ST12型检出率最高。**结论** 本院分离HI对氨苄西林和复方新诺明呈现出严重耐药性,三代头孢菌素和 β 内酰胺酶抑制剂可作为临床治疗的首选药物。 β -内酰胺酶基因分型均为TEM-1型且菌株以散发为主。

[关键词] 流感嗜血杆菌;血清分型;耐药性;多位点序列分型

Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae* in a hospital

WU Lingling, ZHANG Zhijun, LI Zhen, JIANG Meijie, ZHOU Guangfei, ZHAO Shuping*

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Taian City Central Hospital of Qingdao University, Taian, Shandong, China, 271000)

[ABSTRACT] **Objective** To determine the antimicrobial resistance, serotype distribution and multilocus sequence type (MLST) of *Haemophilus influenzae*, and to provide the basis for clinical experience. **Methods** A total of 30 strains isolates were consecutively collected from patients from January to May 2019. Antimicrobial susceptibility test was carried out by the Kirby-Bauer diffusion methods. Serological typing was performed by slide agglutination test. β -lactamase production was detected by cefinase disk. Drug-resistant genes were amplified by PCR, and the genetic relationship between the strains was identified by MLST. **Results** The serotypes of the 30 bacterial strains were all indeterminate (NTHI), and the resistance rates to ampicillin, co-trimoxazole and cefuroxime were 70.00%, 70.00% and 46.67%, respectively, and the non-sensitivity rate to azithromycin was 36.67%. Drug sensitivity is high. The β -lactamase gene was detected in 70.00% (21/30) of the strains, which was consistent with the phenotype. The genotypes were all TEM-1, and no ROB-1 was detected. The results of MLST showed that 18 ST types were detected in 30 strains of bacteria, and the detection rate of ST12 type was the highest. **Conclusion** *Haemophilus influenzae* isolates showed serious resistance to ampicillin and trimethoprim/sulfamethoxazole, and third-generation cephalosporins and β -lactamase inhibitors can be used as the first choice for clinical treatment. The β -lactamase genotypes were all TEM-1 type and the strains were mainly sporadic.

[KEY WORDS] *Haemophilus influenzae*; Serotype; Drug resistance; Multilocus sequence type

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2016HL44);泰安市科学技术发展计划(2019NS172)

作者单位:青岛大学附属泰安市中心医院检验科,山东,泰安 271000

*通信作者:赵书平, E-mail:dczhshp8@126.com

流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*, HI)为革兰阴性小杆菌,广泛寄居在人类上呼吸道,是条件致病菌,可引起上呼吸道感染、肺炎等呼吸道疾病,还可侵入血液、脑脊液等引起败血症、脑膜炎等严重感染^[1]。近年来,随着抗菌药物的不合理应用,HI的耐药率不断上升。为了解泰安地区HI的耐药情况,为临床经验治疗提供科学的参考依据,本研究对30株分离自泰安某三甲医院HI进行耐药性分析、血清分型及多位点序列分型(multilocus sequence type, MLST)研究,结果如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

30株HI(剔除重复菌株)均分离自2019年1至5月泰安市中心医院住院患者,标本类型为痰液和灌洗液,均为合格标本。菌株均接种于菌种保存管,-40℃冰箱保存。

1.2 试剂与仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱MS1000(郑州安图生物公司);PCR扩增仪Bio-Rad PTC-100、电泳仪Bio-Rad Mini-PROTEAN、凝胶成像仪Bio-Rad ChemiDoc XRS+(美国Bio-Rad公司)。万古霉素巧克力平板购自郑州安图生物公司;药敏纸片氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、复方新诺明、头孢呋辛、头孢噻肟、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、左氧氟沙星、环丙沙星、四环素、阿奇霉素、氯霉素、头孢硝噻吩纸片均购自英国Oxoid公司;嗜血杆菌药敏试验培养基(HTM平板)购自温州市康泰生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株复苏及鉴定

将保存于-40℃的HI复苏,分区划线接种巧克力平板,35℃、5% CO₂培养20~24 h。所有菌株均使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定。

1.3.2 体外药物敏感性试验

药敏试验采用纸片扩散法,质控菌株为流感嗜血杆菌ATCC 49247,参照CLSI M100-S29标准判断。

1.3.3 β-内酰胺酶检测

用头孢硝噻吩纸片刮取少许巧克力平板上菌落,15 min内观察,若纸片变红为β-内酰胺酶阳性,反之为阴性。

1.3.4 血清分型

采用玻片凝集法对分离到的HI进行血清分型,加入a、b、c、d、e、f型抗血清后,1 min内发生肉眼可见凝集反应即为相应的血清型,均不凝集则为不定型(Nontypeable *haemophilus influenzae*, NTHI)。

1.3.5 耐药基因检测

煮沸法提取细菌DNA,采用PCR方法对耐药基因TEM-1和ROB-1基因进行扩增,引物序列参照文献^[2],序列见表1,由上海生物工程公司合成。PCR扩增条件:95℃预变性5 min,95℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s,30个循环;72℃延伸10 min。扩增产物经1%的琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统观察结果并拍照储存,同时送上海生物工程公司进行测序,结果进行BLAST序列比对分析。

表1 PCR引物序列
Table 1 PCR primer sequence

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
TEM-1	F: TAAGAGAATTATGCAGTGCTGCC	458
	R: TCCATAGTTGCCTGACTCCCC	
ROB-1	F: AAGCCCGCATTGGCGTTTAT	231
	R: GGGCAATCGTCATGCCTTTG	

1.3.6 Multilocus Sequence Type (MLST)

参照Emma等^[3]提出的MLST方案,对7个管家基因(*adk*、*atpG*、*frdB*、*fuck*、*mdh*、*pgi*和*recA*)进行PCR扩增及测序,测序结果通过MLST数据库进行比对,获得该菌株相应的序列型(STs)。(https://pubmlst.org/organisms/haemophilus-influenzae/)。根据菌株的等位基因号和序列型,应用phyloviz 2.0软件绘制最小生成树。引物序列见表2。

表2 MLST引物序列
Table 2 MLST primer sequence

管家基因	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
<i>adk</i>	GGTGACCGGGTGCAGGTAA	477
	CCTAAGATTTTATCTAACTC	
<i>atpG</i>	ATGGCAGGTGCAAAAGAGAT	447
	TTGTACAACAGGCTTTTGCG	
<i>frdB</i>	CTTATCGTTGGTCTTGCCGT	489
	TTGGCACTTTCCACTTTTCC	
<i>fuck</i>	ACCACTTTTCGGCGTGGATGG	345
	AAGATTTCCCAGGTGCCAGA	
<i>mdh</i>	TCATTGTATGATATTGCCCC	405
	ACTTCTGTACCTGCATTTTG	
<i>pgi</i>	GGTGAAAAAATCAATCGTAC	468
	ATTGAAAGACCAATAGCTGA	
<i>recA</i>	ATGGCAACTCAAGAAGAAAA	426
	TTACCAAACATCAGCCTAT	

1.4 统计学方法

应用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病原菌分布

2019年1月至5月共分离出30株流感嗜血杆菌。标本类型以痰液为主,占83.33%(25/30)。20株分离自男性(占66.67%),10株分离自女性(占33.33%)。科室以儿科为主(19株,占63.33%),其次为呼吸内科(4株,占13.33%)。5岁以内儿童占53.33%(16/30),50岁以上老年患者占33.33%(10/30)。其中,年龄、标本类型和科室比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),性别比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 30株流感嗜血杆菌分布构成比 [$n(\%)$]

Table 3 The composition ratio of 30 Haemophilus influenzae strains [$n(\%)$]

分类	菌株数	χ^2 值	P 值
年龄	≤5岁	16(53.33)	7.200
	6~49岁	4(13.33)	
	≥50岁	10(33.33)	
性别	男性	20(66.67)	3.333
	女性	10(33.33)	
标本类型	痰液	25(83.33)	13.333
	灌洗液	5(16.67)	
科室	儿科	19(63.33)	12.600
	呼吸内科	4(13.33)	
	其他科室	7(23.33)	

2.2 血清分型和药敏试验结果

玻片凝集试验显示本研究中的所有菌株均为不定型(NTHI)。30株HI对氨苄西林、复方新诺明和头孢呋辛的耐药率分别为70.00%、70.00%和46.67%。对头孢噻肟、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、左氧氟沙星、环丙沙星、四环素、氯霉素全部敏感。阿奇霉素的非敏感率为36.67%。见表4。

2.3 β -内酰胺酶表型和 β -内酰胺酶基因型检测结果

头孢硝噻吩纸片法结果显示30株菌株中21株 β -内酰胺酶阳性,检出率70.00%(21/30),均为氨苄西林耐药株。PCR结果显示21株氨苄西林耐药菌株均检测到TEM-1型 β -内酰胺酶基因,与头孢硝噻吩纸片法结果一致。未检测到ROB-1型。部分扩增产物的凝胶电泳结果见图1。

表4 30株流感嗜血杆菌药敏试验结果

Table 4 Antimicrobial susceptibility of 30 Haemophilus influenzae strains

抗菌药物	耐药率(%)	敏感率(%)
氨苄西林	70.00	30.00
阿莫西林/克拉维酸	3.33	96.67
氨苄西林/舒巴坦	10.00	90.00
复方新诺明	70.00	30.00
头孢呋辛	46.67	36.67
头孢噻肟	0.00	100.00
头孢吡肟	0.00	100.00
亚胺培南	0.00	100.00
美罗培南	0.00	100.00
左氧氟沙星	0.00	100.00
环丙沙星	0.00	100.00
阿奇霉素	36.67 ^a	63.33
四环素	0.00	100.00
氯霉素	0.00	100.00

注:^a为非敏感结果。

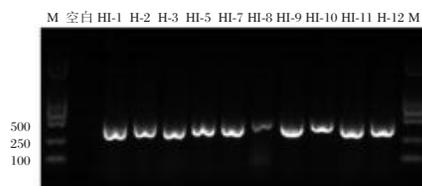
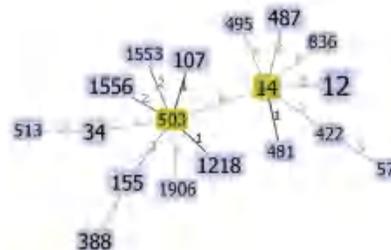


图1 TEM-1基因的PCR产物电泳图

Figure 1 Electrophoresis map of PCR amplification products of TEM-1 gene

2.4 MLST分型

30株HI共检出18种ST型。其中ST-12型5株,占27.78%;其次ST-388、ST-1556、ST-107、ST-34、ST-155、ST-14、ST-487和ST-1218型各2株;ST-836、ST-481、ST-503、ST-1553、ST-495、ST-1906、ST-57、ST-513和ST-422型各1株。最小生成树见图2。共有两个克隆复合体,一个为CC503(包括ST503、ST107和ST1218)共5株;另一个为CC14(包括ST14和ST481)共3株。



注:每个方框代表一个ST型,方框的大小代表菌株数目的多少,两个ST连线间的数字表示等位差异数量。

图2 30株流感嗜血杆菌的最小生成树

Figure 2 Phylogenetic tree of 30 Haemophilus influenzae strains generated by the phyloviz 2.0

3 讨论

流感嗜血杆菌是一种条件致病菌,大多分布在上呼吸道,少数寄居于胃肠道和泌尿生殖道,当机体免疫力下降时,则会侵入呼吸道黏膜引起感染。流感嗜血杆菌主要通过空气飞沫和密切接触在人与人之间传播。本院分离的30株HI主要分离自以5岁内的患儿和老年患者,与相关报道一致^[4-6],原因可能与这部分人群抵抗力较弱容易感染有关。

血清学分型是研究流感嗜血杆菌致病性的重要基础,根据细胞壁外荚膜多糖抗原的有无将有荚膜型分成a、b、c、d、e、f六个血清型和无荚膜不定型(NTHI)。其中Hib型目前被认为是毒力最强、危害最大的血清型。随着Hib疫苗接种率的增加,Hib的感染率显著下降,随之其他各型逐渐上升。我国幅员辽阔,不同地区、不同人群分离的流感嗜血杆菌血清型存在一定的差异。胡颖等^[7]对昆明地区分离自儿童下呼吸道182株流感嗜血杆菌血清分型结果发现NTHI占94.51%。刘东华等^[8]对2009-2012年湖北孝感地区分离自儿童呼吸道的流感嗜血杆菌血清分型结果发现,血清型以NTHI(39.24%)和Hia(30.76%)为主。上海地区的一项研究中51株分离自成人的流感嗜血杆菌血清分型均为NTHI^[9]。本研究中的30株分离株均被鉴定为NTHI,与相关结果研究一致,提示应重视NTHI的感染。

药敏结果显示,本研究中流感嗜血杆菌对氨苄西林和复方新诺明的耐药率较高(均为70.00%),高于我国2016年CHINET细菌耐药性监测数据(分别为53.50%和66.70%)^[10]。说明本院已经不适合采用这两种药物进行HI感染的经验性治疗。对头孢呋辛的耐药率和阿奇霉素的不敏感率(分别为46.67%和36.67%)均高于本医院2017年的数据(分别为27.17%和5.43%)^[11],明显升高的原因可能与这两种药物作为呼吸道感染的常用药物有关。喹诺酮类(左氧氟沙星和环丙沙星)、四环素和氯霉素均敏感,但由于它们可能对儿童的骨骼发育或造血系统造成不良影响,因此不建议用于儿童呼吸道感染的治疗。本研究中流感嗜血杆菌对阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦耐药率较低,对头孢噻肟、头孢吡肟、美罗培南和亚胺培南均敏感,有较好的抗菌活性,可供临床参考用药。

流感嗜血杆菌对氨苄西林耐药的主要机制是细菌产生 β -内酰胺酶, β -内酰胺酶可由多种基因

编码,由质粒介导的TEM-1基因最为常见,其次是ROB-1型。本研究中用头孢硝噻吩纸片法检测发现21株菌株 β -内酰胺酶阳性,均为氨苄西林耐药菌。PCR结果显示此21株菌株的基因型均为TEM-1型,未检测到ROB-1,说明本院分离的HI携带的耐药基因以TEM-1为主,与国内报道一致^[12]。未发现 β -内酰胺酶阴性氨苄西林耐药菌株(β -lactamase negative ampicillin resistant strains, BLNAR)。但在日本,临床分离菌株中大部分是BLNAR^[13],BLNAR是由于ftsI基因氨基酸位点置换使青霉素结合蛋白3(penicillin-binding protein 3, PBP3)空间构象改变,使其对氨苄西林及其他 β 内酰胺类抗生素的亲合力降低而耐药。两种机制同时出现导致阿莫西林/克拉维酸耐药的菌株称 β -内酰胺酶阳性阿莫西林/克拉维酸耐药(β -lactamase positive amoxicillin-clavulanate resistant, BLP-ACR)^[14]。本研究中有1株BLPACR,其具体的耐药机制有待进一步的研究。

MLST是近年来发展很快的细菌分型方法,有很高的分辨能力,既可用于流行病学研究,也可用于分子进化学的研究。国外的一项研究^[15]表明当前血清型b型分离株属于ST-6克隆复合体。文献报道^[9]上海地区以ST103分离率最高。董叶青等^[16]报道金华武义社区分离的流感嗜血杆菌以ST422最为多见。本研究中共检出18种ST,以ST12型为主,与相关报道不一致,可能是地区分布不同。但从整体数据看,本院分离的流感嗜血杆菌以散发为主,没有发现主要的流行克隆,可能与其主要引起社区获得性感染相关。

综上所述,临床工作中应注重加强细菌的耐药监测,有助于临床合理选择抗菌药物,延缓耐药菌株的产生。但本研究中涉及的菌株数量较少,今后须扩大标本量持续关注流感嗜血杆菌的耐药性。

参考文献

- [1] Jalalvand F, Riesbeck K. Haemophilus influenzae: recent advances in the understanding of molecular pathogenesis and polymicrobial infections [J]. Curr Opin Infect Dis, 2014, 27(3):268-274.
- [2] 秦惠宏,王春,潘芬,等. 儿童分离流感嗜血杆菌的耐药性及 β -内酰胺酶基因分型[J]. 临床检验杂志, 2019,37(1):48-50.
- [3] Meats E, Feil EJ, Stringer S, et al. Characterization of encapsulated and noncapsulated Haemophilus influenzae and determination of phylogenetic relationships by multilocus sequence typing [J]. J Clin Microbiol, 2003,41(4):1623-1636.

- [4] 陈静宜, 廖飞, 冯磊. 2016年玉溪市某院儿童下呼吸道感染细菌菌群分布及耐药性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(3): 148-152.
- [5] 孙志豪, 张荣华, 钟超珍. 东莞市2017-2018年儿童下呼吸道感染病例监测结果[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(4): 329-337.
- [6] 刘春国, 邵嘉佳, 王凌. 2015-2017年某院流感嗜血杆菌的耐药性分析及耐药基因检测[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(19): 2332-2334.
- [7] 胡莹, 夏晓玲, 黄海林, 等. 昆明地区儿童下呼吸道感染流感嗜血杆菌分离株的耐药性和血清分型研究[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(2): 118-120.
- [8] 刘东华, 胡艳华, 王少敏. 5岁以下儿童呼吸道感染流感嗜血杆菌血清学分型及耐药性分析[J]. 儿科药学杂志, 2014, 20(12): 27-29.
- [9] Li XX, Xiao SZ, Gu FF, et al. Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance of *Haemophilus influenzae* in Adult Patients in Shanghai, China [J]. *Front Public Health*, 2020, 8: 95.
- [10] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2016年中国CHINE细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [11] 朱刚, 张志军, 魏绪廷, 等. 2016-2017年流感嗜血杆菌分布及耐药性分析[J]. 社区医学杂志, 2020, 18(7): 469-472.
- [12] 田磊, 张真, 陈中举, 等. 某院流感嗜血杆菌耐药性及其对氨苄西林耐药机制[J]. 中国感染控制杂志, 2015, 14(2): 73-76.
- [13] Wajima T, Seyama S, Nakamura Y, et al. Prevalence of macrolide-non-susceptible isolates among β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* in a tertiary care hospital in Japan [J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2016, 6: 22-26.
- [14] García-Cobos S, Campos J, Lázaro E, et al. Ampicillin-resistant non- β -lactamase-producing *Haemophilus influenzae* in Spain: recent emergence of clonal isolates with increased resistance to cefotaxime and cefixime [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(7): 2564-2573.
- [15] Tuyama M, Corrêa-Antônio J, Schlackman J, et al. Invasive *Haemophilus influenzae* disease in the vaccine era in Rio de Janeiro, Brazil [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2017, 112(3): 196-202.
- [16] 董叶青, 董春富, 俞增仙, 等. 金华武义社区耐氨苄西林流感嗜血杆菌的流行现状及耐药性研究[J]. 实用预防医学, 2019, 26(8): 1012-1015.

(上接第412页)

- [9] Buchovecky CM, Nahum O, Levy B. Assessment of Maternal Cell Contamination in Prenatal Samples by Quantitative Fluorescent PCR (QF-PCR) [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1885: 117-127.
- [10] Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45(1): 16-26.
- [11] Lai K, Huang G, Su L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 920.
- [12] Lin M, Zhu JJ, Wang Q, et al. Development and evaluation of a reverse dot blot assay for the simultaneous detection of common alpha and beta thalassemia in Chinese [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2012, 48(2): 86-90.
- [13] Weida J, Patil AS, Schubert FP, et al. Prevalence of maternal cell contamination in amniotic fluid samples [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2017, 30(17): 2133-2137.
- [14] Saura R, Roux D, Taine L, et al. Early amniocentesis versus chorionic villus sampling for fetal karyotyping [J]. *Lancet*, 1994, 344(8925): 825-826.
- [15] Stojilkovic-Mikic T, Mann K, Docherty Z, et al. Maternal cell contamination of prenatal samples assessed by QF-PCR genotyping [J]. *Prenat Diagn*, 2005, 25(1): 79-83.

(上接第416页)

- [12] So V, Khurshid F. Treatment practices and implementation of guidelines for hyperbilirubinemia and rebound hyperbilirubinemia [J]. *J Neonatal Perinatal Med*, 2022, 15(2): 335-343.
- [13] 杨敏, 洪珊蝶. 人血白蛋白注射液结合蓝光光疗对新生儿黄疸患儿血清胆红素及生长发育的影响[J]. 临床医学工程, 2022, 29(10): 1341-1342.
- [14] Mutlu M, Aslan Y, Kader Ş, et al. Preventive Effects of Probiotic Supplementation on Neonatal Hyperbilirubinemia Caused by Isoimmunization [J]. *Am J Perinatol*, 2020, 37(11): 1173-1176.
- [15] 多中心新生儿换血研究协作组. 换血技术治疗新生儿高胆红素血症相关问题的多中心回顾性调查[J]. 中华围产医学杂志, 2021, 24(10): 764-769.

ALP、LDH联合AFP在原发性肝癌中的表达及诊断价值

白宁* 张卉 马许辉 赵江海

【摘要】目的 分析碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)联合甲胎蛋白(AFP)检测在原发性肝癌(PHC)的表达及诊断价值。方法 收集2018年7月至2020年6月河南大学淮河医院收治的113例原发性肝癌患者(PHC组),以及同期行健康体检者100名为对照组,及同期乙型肝炎患者105例作为乙型肝炎组。对比不同人群中ALP、LDH、AFP表达水平。对比不同分级PHC患者中ALP、LDH、AFP表达水平。对比不同预后PHC患者中ALP、LDH、AFP表达水平。绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评估不同诊断方式的诊断效能。结果 ALP、LDH、AFP表达水平:PHC组>乙型肝炎组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);Ⅲ~Ⅳ级PHC患者ALP、LDH、AFP表达水平明显高于Ⅰ~Ⅱ级,差异有统计学意义($P<0.05$);随访截止至2021年10月,113例患者中,预后不良34例,预后良好79例,预后不良者其ALP、LDH、AFP表达水平明显高于预后良好者,差异有统计学意义($P<0.05$);ALP、LDH联合AFP检测对PHC的诊断灵敏度、特异度分别0.915、0.882,ALP、LDH、AFP联合MRI灵敏度、特异度分别0.976、0.915。结论 ALP、LDH、AFP在PHC中均为高表达,与患者病情严重程度及预后有一定的联系,三者联合检测诊断效能较高,与MRI检查联合检测诊断效能更佳,可为临床早期诊断、治疗提供一定诊断线索和参考依据。

【关键词】 碱性磷酸酶;乳酸脱氢酶;甲胎蛋白;原发性肝癌

Expression and diagnostic value of ALP, LDH combined with AFP in primary liver cancer

BAI Ning*, ZHANG Hui, MA Xuhui, ZHAO Jianghai

(Department of Gastroenterology, Huaihe Hospital, Henan University, Kaifeng, Henan, China, 475000)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the expression and diagnostic value of alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) combined with alpha-fetoprotein (AFP) detection in primary liver cancer (PHC). **Methods** A total of 113 patients with primary liver cancer admitted to Huaihe Hospital of Henan University from July 2018 to June 2020 (PHC group), 100 healthy subjects who underwent physical examination during the same period were selected as the control group, and 105 patients with benign liver disease during the same period were selected as the benign group. (1)The expression levels of ALP, LDH, and AFP in different populations were compared. (2)The expression levels of ALP, LDH, and AFP in PHC patients of different grades were compared. (3)The expression levels of ALP, LDH, and AFP in PHC patients with different prognosis were compared. (4)Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to evaluate the diagnostic effectiveness of different diagnostic methods. **Results** The expression levels of ALP, LDH and AFP were as follows: PHC group > benign group > control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of ALP, LDH, and AFP in patients with grade Ⅲ~Ⅳ PHC were significantly higher than those in patients with grade Ⅰ~Ⅱ, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The follow-up ended in October 2021, among the 113 patients, 34 had a poor prognosis and 79 had a good prognosis, the expression levels of ALP, LDH, and AFP in those with poor prognosis were significantly higher than those with good prognosis, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The diagnostic sensitivity and specificity of

基金项目:河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20190519)

作者单位:河南大学淮河医院消化内科,河南,开封 475000

*通信作者:白宁, E-mail:baining666888@163.com

ALP and LDH combined with AFP for PHC were 0.915 and 0.882, respectively; the diagnostic sensitivity and specificity of ALP, LDH and AFP combined with MRI were 0.976 and 0.915, respectively. **Conclusion** ALP, LDH and AFP are highly expressed in PHC, and have a certain relationship with the severity and prognosis of patients. The combined detection of the three has higher diagnostic efficacy, and the combined detection with MRI is better. It can provide certain diagnostic clues and references for early clinical diagnosis and treatment.

[KEY WORDS] ALP; LDH; AFP; Primary liver cancer

我国肝癌发病率较高,原发性肝癌(Primary liver cancer, PHC)病情进展快,大多数患者早期并无明显临床症状,确诊时多为晚期,预后情况不理想,且部分中晚期患者行根治手术治疗后复发率较高^[1]。因此,早期诊断及治疗是提高患者生存率的关键。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)是诊断肝脏相关疾病时常用的检测指标,以往研究发现,ALP在肝癌患者中表达水平出现明显升高,可为PHC诊断提供参考依据^[2]。乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)在机体中广泛分布,是糖异生、糖酵解过程中所产生的一种重要的酶,报道显示,PHC患者LDH活力明显升高,为正常人的6倍^[3]。甲胎蛋白(Alpha fetoprotein, AFP)是临床中诊断PHC的特异度标志物,也可作为PHC治疗效果评估的参考指标^[4]。本文将通过分析ALP、LDH、AFP在PHC患者中的表达情况,了解其与患者预后的关系,以期提高PHC早期诊断率,为临床诊疗提供参考,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年7月至2020年6月期间河南大学淮河医院收治的113例原发性肝癌患者的临床资料(PHC组),其中男93例,女20例,年龄38~79岁,平均年龄为(50.26±5.11)岁,Edmondson病理分级^[5]: I~II级62例, III~IV级51例。另选取同期行健康体检者100名为对照组,以及同期乙型肝炎患者105例作为乙型肝炎组,对照组中男81名,女19名,年龄39~79岁,平均年龄为(50.38±5.34)岁;乙型肝炎组中男84例,女21例,年龄38~79岁,平均年龄为(50.32±5.27)岁,入选者在一般资料上比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:①所有研究对象临床相关实验资料完整;②PHC组符合《原发性肝癌临床诊断与分期标准》中相关诊断标准^[5],且经病理检查确诊;③乙型肝炎组符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015

年)》相关标准^[6];排除标准:①PHC组入院前有行放疗或手术治疗者;②所有研究对象存在代谢性疾病者;③所有研究对象合并其他脏器肿瘤者。本研究经本院伦理委员会同意,患者或家属已签署《知情同意书》。

1.2 方法

1.2.1 ALP、LDH、AFP检测方法

PHC组入院后次日与乙型肝炎组检查确诊次日清晨抽取静脉血5 mL,对照组则在体检当日清晨抽取静脉血液5 mL,使用3 000 r/min离心机离心5 min,离心半径9 cm,获取上清液,待检。ALP、LDH采用生化法进行检测,通过西门子advia2400全自动生化分析仪进行测定;AFP采用化学发光法检测进行检测,通过罗氏Cobase601型全自动电化学发光免疫分析仪进行测定。阳性标准^[7]:ALP>140 U/L,LDH>245 U/L、AFP>25 ng/mL。

1.2.2 MRI检查

应用1.5T磁共振诊断仪器,进行专用体部包裹线圈,T1加权像采用SE序列,T2加权像采用TSE序列,脂肪抑制使用T2及T1加权预饱和反转恢复序列,扫描横轴位、冠状位、矢状位,层厚5 mm,多h值弥散序列(H=50/400/800)。

1.2.3 预后情况

PHC组113例患者,其中78例为外科手术治疗,35例为介入治疗,通过电话、上门等方式对患者进行随访,随访时间为6个月,随访截止至2020年12月,总结患者预后情况,治疗后6个月内发生复发、转移、肿瘤相关性死亡为预后不良,其余为预后良好。

1.3 观察指标

①对比三组人群中ALP、LDH、AFP表达水平;②对比不同分级PHC患者中ALP、LDH、AFP表达水平;③对比不同预后PHC患者中ALP、LDH、AFP表达水平;④分析不同检测方式PHC的诊断效能,绘制受试者工作特征(Receiver operating characteristic, ROC)曲线,评估不同诊断方式的诊断效能。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述, 组间比较行 t 检验, 多组间比较行方差检验; 绘制 ROC 曲线, 评估不同诊断方式的诊断效能; 均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同人群中 ALP、LDH、AFP 表达水平比较

ALP、LDH、AFP 表达水平: PHC 组 > 乙型肝炎组 > 对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同人群中 ALP、LDH、AFP 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of expression levels of ALP, LDH and AFP in different populations ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALP(U/L)	LDH(U/L)	AFP(ng/mL)
对照组	100	61.12±10.13	105.64±9.84	13.12±3.38
乙型肝炎组	105	113.25±10.58 ^a	188.57±15.46 ^a	18.36±4.29 ^a
PHC 组	113	281.54±15.31 ^{ab}	328.54±20.64 ^{ab}	95.24±15.56 ^{ab}
<i>F</i> 值		416.31	230.17	407.64
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与乙型肝炎组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.2 不同 PHC 患者中 ALP、LDH、AFP 表达水平比较

Ⅲ~Ⅳ级 PHC 患者 ALP、LDH、AFP 表达水平明显高于 I~Ⅱ级, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同 PHC 患者中 ALP、LDH、AFP 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of expression levels of ALP, LDH and AFP in different PHC patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALP(U/L)	LDH(U/L)	AFP(ng/mL)
I~Ⅱ级	62	225.56±15.24	273.69±20.64	88.58±15.24
Ⅲ~Ⅳ级	51	349.59±15.60	395.22±20.13	103.33±15.30
<i>t</i> 值		45.594	31.495	5.110
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同预后 PHC 患者中 ALP、LDH、AFP 表达水平比较

113 例患者中, 预后不良 34 例, 预后良好 79 例。预后不良者其 ALP、LDH、AFP 表达水平明显高于预后良好者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 不同检测方式对 PHC 的诊断效能

ALP、LDH 联合 AFP 检测对 PHC 的诊断灵敏度、特异度分别 0.915、0.882, ALP、LDH、AFP 联合 MRI 灵敏度、特异度分别 0.976、0.915。见表 4、图 1。

表 3 不同预后 PHC 患者中 ALP、LDH、AFP 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of expression levels of ALP, LDH and AFP in PHC patients with different prognosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALP(U/L)	LDH(U/L)	AFP(ng/mL)
预后良好	79	130.52±10.14	174.52±15.60	31.26±7.14
预后不良	34	632.43±15.96	686.41±20.57	243.89±15.70
<i>t</i> 值		201.158	144.862	99.246
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

表 4 ALP、LDH 联合 AFP 检测对 PHC 的诊断效能

Table 4 Diagnostic efficacy of ALP, LDH and AFP for PHC

指标	灵敏度	特异度	AUC	95% CI
ALP	0.786	0.714	0.824	0.802~0.853
LDH	0.828	0.733	0.852	0.818~0.918
AFP	0.892	0.753	0.876	0.822~0.926
ALP+LDH+AFP	0.915	0.882	0.936	0.934~0.959
ALP+LDH+AFP+MRI	0.976	0.915	0.990	0.000~1.000

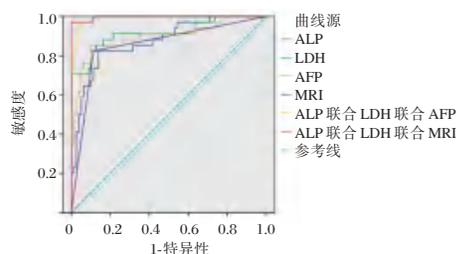


图 1 诊断效能

Figure 1 Diagnostic effectiveness

3 讨论

ALP 在临床中主要用于原发性肝癌、继发性肝癌、肝炎、阻塞性黄疸等疾病的诊断。在机体出现上述疾病时, 肝细胞可过度制造 ALP, ALP 再经过淋巴道、肝窦进入到血液, 而肝内胆道胆汁排泄障碍, 导致反流入血, 从而引起 ALP 表达明显增加。以往研究显示, 在肝癌患者中 ALP 的含量明显升高, 且高于肝炎性疾病与健康人群, 在肝癌患者中 ALP 异常升高率高达 80%^[8], 与本研究所得结果一致。在 PHC 患者中 ALP 表达明显升高, 且分级越高, 预后不良者 ALP 水平越高, 提示 ALP 与 PHC 发生、发展均存在一定的联系, 且其水平越高可能预示着患者预后不良。但在临床应用中发现, 各种原因导致的肝脏炎症均可造成 ALP 升高, 而部分慢性重症肝炎患者 ALP 升高程度比肝癌患者更明显, 所以 ALP 对 PHC 的诊断灵敏度不理想。研究显示, ALP 在单独诊断 PHC 时, 其灵敏度仅为 49.50%, 特异度 87.4%^[9]。在本研究中, ALP 对 PHC 诊断灵敏度、

特异度分别为0.786、0.714,与上述研究结果相似。

LDH广泛存在于各组织中,是细胞代谢的敏感指标,在肿瘤患者未出现影像学改变之前,LDH的活性变化可提示缺氧、恶性转化、无氧酵解等现象。有研究表明,大多数的肿瘤患者中,其糖酵解呈高表达,且代谢旺盛,细胞坏死速度加快,细胞膜的通透性也明显增加,而此些因素也影响酶的释放,导致LDH在血液中表达增加^[10]。本研究结果显示,LDH在PHC患者中表达增加,且其表达水平与肿瘤分级及预后存在一定的联系,与以往研究结果相符^[10]。

AFP来源于卵黄囊以及未分化肝细胞,属于胚胎细胞所产生的特异蛋白质,在出生后不久可逐渐消失^[11]。早在1967年AFP就应用于PHC的早期筛查诊断中,其表达水平与肿瘤大小、生物特征以及分化程度均存在相关性,可有效反映患者病情变化及治疗效果^[12-13]。本研究发现,AFP表达明显升高,且随着病情程度增加其表达也明显增加,且与预后相关,与上述研究结果相符。有研究显示,70% PHC患者AFP水平会明显升高,但仍存在假阳性及假阴性的现象,敏感性和特异度仍有不如意之处;且在妊娠、卵巢癌、胚胎癌中AFP表达也会明显增加,限制其对PHC早期诊断价值^[14-15]。在本研究中,ALP、LDH联合AFP检测对PHC的诊断灵敏度、特异度分别0.915、0.882,ALP、LDH、AFP联合MRI灵敏度、特异度分别0.976、0.915,ALP、LDH联合AFP检测诊断效能较高,三者与MRI联合检测诊断效能更佳,能为临床医师诊断该疾病提供有效的科学依据,帮助提高临床诊断的准确率,降低误漏诊的发生。

综上所述,ALP、LDH、AFP在PHC中均为高表达,与患者病情严重程度及预后有一定的联系,三者联合检测诊断效能较高,与MRI检查联合检测诊断效能更佳,可为临床早期诊断、治疗提供一定诊断线索和参考依据。

参考文献

[1] 童林,黄晨军,高致远,等.基于临床常用检验项目的原发性肝细胞肝癌术前微血管侵犯诊断模型研究[J].检验医学,2020,35(8):741-748.

- [2] 王晖,汤旻,沈颖,等.中晚期原发性肝癌患者TACE术后血管内皮生长因子受体表达与疗效的关系[J].医学临床研究,2021,38(8):1128-1131+1135.
- [3] Xie X, Cao C, Wei W, et al. Ligand - assisted capping growth of self-supporting ultrathin FeNi-LDH nanosheet arrays with atomically dispersed chromium atoms for efficient electrocatalytic water oxidation[J]. Nanoscale, 2020,12(10):160-167.
- [4] 张立营,赵丽艳,赵权. GP73和AFP联合检测在原发性肝癌诊断中的价值[J].中国医药生物技术,2019,14(1):43-45.
- [5] 中国抗癌协会肝癌专业委员会.原发性肝癌的临床诊断与分期标准[J].肿瘤防治研究,2002,29(1):83.
- [6] 王贵强,王福生,成军,等.慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2015,19(5):1-18.
- [7] 李政霖,侯雪晶,漆栋梁,等.血清学指标在原发性肝癌临床诊断中的应用价值[J].国际流行病学传染病学杂志,2019,46(6):495-499.
- [8] 孙艳华,夏瑞雪,王宁,等. AFP-L3、AFP、GP73、ALP联合检测对原发性肝癌的诊断价值研究[J].肝脏,2020,25(1):63-66.
- [9] Anjum MJ, Zhao J, Asl VZ, et al. In-situ intercalation of 8-hydroxyquinoline in Mg-Al LDH coating to improve the corrosion resistance of AZ31[J]. Corros Sci, 2019,157(AUGa):1-10.
- [10] 崔琦,董延娥,霍云龙,等.多种血清肿瘤标志物联合检测在原发性肝癌临床诊断中的价值[J].现代肿瘤医学,2019,27(18):3267-3270.
- [11] Hu H, Liu J, Xu Z, et al. Hierarchical porous Ni/Co-LDH hollow dodecahedron with excellent adsorption property for Congo red and Cr(VI) ions[J]. App Surf Scie, 2019,33(3):601-603.
- [12] 宋月雯,袁向飞,熊梦裳,等.跨膜型抗CD3单链抗体介导淋巴细胞体外特异性杀伤AFP阳性肝癌细胞活性观察[J].山东医药,2020,60(2):1-5.
- [13] 杨启,吕新远,万春.原发性肝癌的超声特征及联合AFP、CEA的诊断价值[J].中国现代普通外科进展,2021,24(1):61-63.
- [14] 张晓坤,司徒瑞儒.甲胎蛋白、甲胎蛋白异质体3比率、高尔基体蛋白73联合检测在原发性肝癌诊断中的价值[J].实用医学杂志,2021,37(8):1068-1071.
- [15] 崔琦,董延娥,霍云龙,等.血清AFP、GP73、SF、DCP联合检测在原发性肝癌诊断中的应用[J].中国医科大学学报,2019,48(5):434-436.

勘误声明

《分子诊断与治疗杂志》第15卷,第2期,第222页摘要部分第8-9行中“小三阳患者HBV DNA阳性15/31例(48.39%),其他类型组患者HBV DNA阳性3/28例(10.71%)”改为“小三阳患者HBV DNA阳性19/31例(61.29%),其他类型组患者HBV DNA阳性4/28例(14.29%)”;英文摘要中第8行中“15/31(48.39)”改为“19/31(61.29)”;第9行中“3/28(10.71%)”改为“4/28(14.29%)”;第225页讨论部分最后一段第2行中“三”改为“四”。

SHR、ESR、IL-6联合检测在髋、膝关节置换术后早期感染的预测价值

张新统^{1*} 庄焕雄¹ 符克杨¹ 崔红旺²

[摘要] **目的** 探讨应激性血糖升高比值(SHR)、红细胞沉降率(ESR)、白细胞介素-6(IL-6)在髋、膝关节置换术后早期感染的预测价值。**方法** 选取于2020年1月至2022年2月于东方市人民医院骨科行髋、膝关节置换术的患者196例作为研究对象,按照术后是否出现感染分为感染组($n=28$)和未感染组($n=168$)。采用单因素分析髋、膝关节置换术后早期感染的影响因素。采用多因素Logistic回归分析髋、膝关节置换术后早期感染的独立影响因素,并利用受试者工作(ROC)曲线分析SHR、ESR、IL-6单独检测和联合检测术后早期感染的价值。**结果** 196例患者术后出现早期感染的患者数为28例,感染率为14.29%。单因素分析结果显示,感染组的吸烟史、合并糖尿病、手术时间 ≥ 90 min的病例数显著高于未感染组,且SHR、ESR、IL-6明显高于未感染组,差异有统计学意义($\chi^2=5.756、3.960、6.031, t=7.025、7.583、53.874, P<0.05$)。多因素Logistic回归分析显示,SHR、ESR、IL-6为髋、膝关节置换术后早期感染的独立危险因素($P<0.05$),且SHR、ESR、IL-6以及联合检测的ROC曲线下面积分别为0.801、0.852、0.836、0.903。**结论** SHR、ESR、IL-6对髋、膝关节置换术后早期感染均具有较高的预测价值,且三者联合检测的预测价值最高,可以为临床预测髋、膝关节置换术后早期感染提供参考。

[关键词] 应激性血糖升高比值;红细胞沉降率;白细胞介素-6;髋、膝关节置换术;早期感染

Predictive value of combined detection of SHR, ESR and IL-6 in early infection after hip and knee arthroplasty

ZHANG Xintong^{1*}, ZHUANG Huanxiong¹, FU Keyang¹, CUI Hongwang²

(1. Orthopedics Department of Dongfang People's Hospital, Dongfang, Hainan, China, 572600; 2. Trauma Medicine Center, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan, China, 570102)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of stress hyperglycemia ratio (SHR), erythrocyte sedimentation rate (ESR) and interleukin-6 (IL-6) in early infection after hip and knee replacement. **Methods** 196 patients who underwent hip and knee arthroplasty in the Orthopedics Department of Dongfang People's Hospital from January 2020 to February 2022 were selected as the study subjects. They were divided into the infected group ($n=28$) and the uninfected group ($n=168$) according to whether there was infection after surgery. Single factor analysis was used to analyze the influencing factors of early infection after hip and knee replacement. Multivariate logistic regression was used to analyze the independent influencing factors of early infection after hip and knee replacement, and the ROC curve was used to analyze the value of SHR, ESR, IL-6 detection alone and jointly. **Results** Among the 196 patients, 28 had early infection after operation, and the infection rate was 14.29%. The results of univariate analysis showed that the number of cases with smoking history, diabetes, operation time ≥ 90 min in the infected group was significantly higher than that in the uninfected group, and SHR, ESR, IL-6 were significantly higher than those in the uninfected group ($\chi^2=5.756,$

基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(19A200104)

作者单位:1. 东方市人民医院骨科,海南,东方 572600

2. 海南医学院第一附属医院创伤医学中心,海南,海口 570102

*通信作者:张新统, E-mail: zhangxintong13976@163.com

3.960, 6.031, $t=7.025, 7.583, 53.874, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that SHR, ESR and IL-6 were independent risk factors for early infection after hip and knee replacement ($P<0.05$), and the area under the ROC curve of SHR, ESR, IL-6 and joint detection is 0.801, 0.852, 0.836 and 0.903 respectively. **Conclusion** SHR, ESR and IL-6 have high predictive value for early infection after hip and knee replacement, and the combined detection of SHR, ESR and IL-6 has the highest predictive value, which can provide reference for clinical prediction of early infection after hip and knee replacement.

[KEY WORDS] Stress hyperglycemia ratio; Erythrocyte sedimentation rate; Interleukin-6; Hip and knee replacement; Early infection

骨科关节手术是指通过固定、矫正等方法重建患者受损的骨骼并恢复机体原有的生理功能,而由于在体内加设固定物、手术创伤以及麻醉等原因,术后医院感染的风险十分高^[1]。髋、膝关节置换术是骨科常见的治疗方法,有研究表明,全膝关节置换术术后感染率为1%~3%,全髋关节置换术的术后感染率为0.7%~2.5%^[2]。国内研究报道,医院感染是接近26.63%的住院患者死亡的原因,因此,术后感染成为医疗行业关注的重点^[3]。术后早期感染不仅会加重患者的经济负担,还会影响患者预后,如果术后切口感染难以控制,患者甚至有截肢或生命危险。因此,术后感染的早期诊断尤为重要,不仅能够有效控制感染,还能够改善患者预后。应激性血糖升高比值(stress hyperglycemia ratio, SHR)是2015年提出的评估机体应激状态下的血糖水平的指标。红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)是术后协助诊断感染的常用炎症指标,是参与骨组织损伤以及愈合过程的细胞因子,其数值的增加能够体现组织损伤的坏死程度以及机体炎症反应的程度。而白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)是与软骨破坏相关的细胞因子,机体对感染、应激以及创伤反应会导致IL-6水平的上升。本研究探讨SHR、ESR以及IL-6在髋、膝关节置换术后早期感染的预测价值,以期在髋、膝关节置换术后早期感染的预测提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年2月于东方市人民医院骨科行髋、膝关节置换术的患者196例作为研究对象。按照术后是否出现感染分为感染组($n=28$)和未感染组($n=168$)。纳入标准:①符合《医院感染的诊断标准》^[4]中关于术后早期感染的相关诊断标准;②首次接受髋、膝关节置换术治疗;③具有良好手术指征;④患者及其家属均签署

知情同意书;⑤年龄 ≥ 18 岁。排除标准:①合并精神类疾病;②合并恶性肿瘤以及心脑血管疾病;③合并全身感染;④生活无法自理者。本研究经过医院伦理委员会批准。

1.2 方法^[5-6]

患者术后4 d抽取患者空腹静脉血6 mL,分为两份,一份在3 000 r/min的速度、半径为10 cm的条件下离心10 min,获取上清液,采用酶联免疫吸附法检测IL-6、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)。一份采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝全血后,采用全自动血细胞分析仪(厂家:希森美康,型号: XN350)检测ESR水平。患者术后1 h内立即采集外周血3 mL,置于含有EDTA-K2的抗凝管中,混匀后,采用全自动糖化分析仪(厂家:济南欧莱博科学仪器有限公司,型号:MQ2000PT)测定糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c),并利用血糖仪(厂商:美国台欣生物技术有限公司,型号: EZ-SMART)测定血糖水平,并计算SHR, $SHR = (\text{术后即刻血糖水平}) / (1.59 \times HbA1c - 2.59)$ 。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验进行分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验进行分析;采用多元Logistic回归分析影响髋、膝关节置换术后早期感染的独立危险因素,并采用ROC曲线估计SHR、ESR、IL-6单独检测及联合检测对髋、膝关节置换术后早期感染的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染结果以及影响髋、膝关节置换术后早期感染的单因素分析

196例患者术后出现早期感染的患者数为28例,感染率为14.29%。单因素分析结果显示,年龄、性别、体质量指数、麻醉方式以及术中出血量

在两组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);感染组的手术时间 ≥ 90 min的病例数显著高于未感染组,且PCT、CRP、SHR、ESR、IL-6明显高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 影响髋、膝关节置换术后早期感染的单因素分析
[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Single factor analysis of early infection after hip and knee replacement [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

项目		感染组 ($n=28$)	未感染组 ($n=168$)	χ^2 值	P 值
年龄	≥ 60 岁	22(78.57)	142(84.52)	0.263	0.608
	<60 岁	6(21.43)	26(15.48)		
性别	男	16(57.14)	112(66.67)	0.961	0.327
	女	12(42.86)	56(33.33)		
体质量指数	>23.9 kg/m ²	22(78.57)	138(82.14)	0.204	0.651
	≤ 23.9 kg/m ²	6(21.43)	30(17.86)		
麻醉方式	联合麻醉	15(53.57)	69(41.07)	1.531	0.216
	全身麻醉	13(46.43)	99(58.93)		
术中出血量	≥ 150 mL	18(64.29)	85(50.60)	1.804	0.179
	<150 mL	10(35.71)	83(49.40)		
手术时间	≥ 90 min	19(67.86)	72(42.86)	6.031	0.014
	<90 min	9(32.14)	96(57.14)		
PCT(ng/mL)		8.71 \pm 1.33	1.16 \pm 0.30	65.014	<0.001
CRP(mg/L)		46.32 \pm 8.91	34.19 \pm 5.49	9.110	<0.001
SHR		1.37 \pm 0.13	1.18 \pm 0.07	7.553	<0.001
ESR(mm/h)		46.13 \pm 11.09	34.56 \pm 6.71	7.583	<0.001
IL-6(pg/mL)		146.23 \pm 20.41	60.74 \pm 11.69	21.582	<0.001

2.2 影响髋、膝关节置换术后早期感染的多因素 Logistic 回归分析

以髋、膝关节置换术后早期感染作为因变量(否=0,是=1),以吸烟史(有=1,无=0)、合并糖尿病(有=1,无=0)、手术时间(≥ 90 min=1, <90 min=0)、PCT、CRP、SHR、ESR、IL-6作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,SHR、ESR、IL-6均为髋、膝关节置换术后早期感染独立危险因素($P<0.05$)。见表2。

表2 影响髋、膝关节置换术后早期感染的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Logistic regression analysis of multiple factors influencing early infection after hip and knee replacement

指标	β 值	SE值	Wald值	OR值	95% CI	P 值
吸烟	1.033	0.639	2.613	2.809	0.803~9.830	0.106
合并糖尿病	1.221	0.594	4.225	3.391	1.058~10.862	0.040
手术时间 ≥ 90 min	1.117	0.791	1.994	3.056	0.648~14.402	0.163
PCT	0.466	0.261	3.188	1.594	0.955~2.658	0.074
CRP	0.439	0.224	3.841	1.251	1.000~2.406	0.050
SHR	1.478	0.536	7.604	4.384	1.533~12.535	0.006
ESR	1.477	0.671	4.845	4.380	1.176~16.316	0.028
IL-6	0.798	0.368	4.702	2.221	1.080~4.569	0.030

2.3 SHR、ESR、IL-6单独检测及联合检测对髋、膝关节置换术后早期感染的预测价值

绘制SHR、ESR、IL-6对诊断髋、膝关节置换术后早期感染的ROC曲线,ROC曲线显示SHR、ESR、IL-6以及联合检测诊断髋、膝关节置换术后早期感染对应的AUC为0.803、0.800、0.811、0.909,其对应的约登系数为0.545、0.494、0.522、0.628。联合检测的价值高于单独检测对髋、膝关节置换术后早期感染的诊断价值。见表3、图1。

表3 SHR、ESR、IL-6单独检测及联合检测预测髋、膝关节置换术后早期感染的价值

Table 3 Value of SHR, ESR and IL-6 detection alone and jointly in predicting early infection after hip and knee replacement

指标	临界值	约登指数	敏感度 (%)	特异度 (%)	AUC	95% CI
SHR	1.20	0.453	75.39	69.91	0.877	0.825~0.916
ESR(mm/h)	43.67	0.399	74.31	65.54	0.869	0.840~0.901
IL-6(pg/mL)	123.96	0.513	80.19	71.12	0.881	0.855~0.923
联合检测		0.612	81.17	80.05	0.913	0.884~0.938

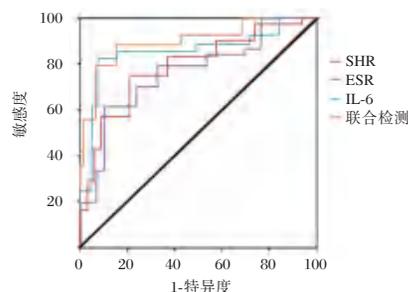


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

随着人工关节置换水平在近年不断地发展,逐步走向精细化和微创化,髋、膝关节置换术成为了严重骨关节炎、关节肿瘤等常见的治疗方式,这种治疗方法的成功率高达90%以上^[7]。但是感染作为其最严重的并发症之一,容易引起患者关节疼痛以及病变,具有较高的治疗难度,如果患者感染后没有有效控制住,可能会出现残疾甚至死亡的结局。因此,找到能够早期诊断髋、膝关节置换术后早期感染的参考指标是十分重要的。

机体处于应激情况下的血糖水平升高的现象称为应激性血糖升高,SHR正是将应激血糖以基础血糖进行对比得出的指标,能够反映机体在应激情况下的血糖相对变化^[8]。ESR在正常情况下波

动较小,会在病理状态下异常加快,能够作为反应红细胞聚集程度以及血纤维蛋白原、免疫球蛋白聚集的指标^[9]。感染往往伴随着炎症反应,IL-6作为多效性细胞因子,产生于单核巨噬细胞、T细胞,能够有效地促使炎症介质生成,能够通过该指标的水平判断机体的炎症反应状态^[10]。本研究结果显示,感染组的SHR、ESR、IL-6均高于未感染的患者,且SHR、ESR、IL-6均为髌、膝关节置换术后早期感染的独立危险因素。考虑可能原因为:其一,机体在感染的状态下,引起过度代谢,导致蛋白质、脂质以及碳水化合物代谢受到影响,使得机体在应激激素以及促炎细胞因子的作用下产生糖异生现象以及外周胰岛素抵抗,引起SHR的升高^[11]。其二,ESR反应的是炎症24~48 h内纤维蛋白原的变化情况,炎症反应产生的蛋白质会使红细胞下降的速度增快,使得ESR的数值增大^[12]。其三,机体在感染状态下会提高机体内肿瘤坏死因子- α 的水平,增加其促进IL-6的释放的作用,使其参与血液循环,引发炎症反应,提高血液中IL-6的水平^[13]。蔡巧萍等^[14]研究结果表明,IL-6对骨科术后早期感染具有较高的预测价值,与本研究结果一致。本研究的Logistic回归分析还发现,合并糖尿病是髌、膝关节置换术后早期感染的影响因素,考虑可能的原因是,高血糖患者由于长期地处于高血糖的生理状态,导致机体的代谢功能出现异常,自身的抗菌能力有所下降,且糖尿病患者由于具有含糖量较高的皮肤表面,有利于病原菌定植、扩散,因此发生感染的可能性更高^[15]。

此外,本研究通过ROC曲线分析SHR、ESR、IL-6预测髌、膝关节置换术后早期感染的价值,结果发现,其对应的曲线下面积为0.877、0.869、0.881,各自对应的约登系数为0.453、0.399、0.513。由于各指标单独检测具有一定的局限性,且ESR通常由于年龄、营养状态等外界因素的影响,需要与其他指标联合预测才能够具有较高的准确性。因此,进一步将三个指标联合检测预测髌、膝关节置换术后早期感染,其曲线下面积为0.913,具有的敏感度和特异度分别为81.17、80.05,说明三者联合预测髌、膝关节置换术后早期感染具有较高的价值。

综上所述,SHR、ESR、IL-6联合检测对髌、膝关节置换术后早期感染具有较高的预测价值,能够作为预测髌、膝关节置换术后早期感染的辅助指标,为临床诊治提供参考。

参考文献

- [1] 孟楠,张烁,屈燕馨. 8798例骨科关节手术后感染病原学及耐药性分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(10): 1258-1261.
- [2] 付中敏,宁宁,陈佳丽,等. 加速康复理念下髌膝关节置换术后手术部位感染预防的最佳证据总结[J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21(6): 554-561.
- [3] 王成龙,罗岳,李存宽. 上肢开放性骨折术后医院感染发生情况分析[J]. 华南预防医学, 2019, 45(5): 419-422+500.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001(5): 61-67.
- [5] 李润峰,王万卿,李万军,等. ESR、LDH及IL-2检测在高血压性脑出血术后发生颅内感染的诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(1): 112-115.
- [6] 全炜琨,胡弦. 应激性血糖升高比值对人工关节置换术后感染的预测价值[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30(2): 69-73.
- [7] 杨寿林,吴路发,李勇. D-二聚体、PCT在关节置换术后并发假体周围感染诊断中的应用研究[J]. 江西医药, 2022, 57(7): 787-788+797.
- [8] Roberts G, Sires J, Chen A, et al. A comparison of the stress hyperglycemia ratio, glycemic gap, and glucose to assess the impact of stress-induced hyperglycemia on ischemic stroke outcome[J]. J Diabetes, 2021, 13(12): 1034-1042.
- [9] Lapić I, Padoan A, Bozzato D, et al. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-Reactive Protein in Acute Inflammation[J]. Am J Clin Pathol, 2020, 153(1): 14-29.
- [10] 戚晓冬,徐宁. 髓内钉治疗慢性感染性胫骨平台骨折不愈的疗效及其对膝关节功能和炎症反应的影响[J]. 河北医科大学学报, 2020, 41(10): 1145-1148+1153.
- [11] 汤赐俊,张素冕,马少林,等. 应激性血糖升高比值对脓毒症预后的预测价值[J]. 中国急救医学, 2021, 41(2): 132-136.
- [12] 袁青,徐浩. 降钙素原、C-反应蛋白和血沉在膝关节炎化脓性感染中的诊断价值及意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(2): 213-214+218.
- [13] 王瑶,刘爽爽,刘志永,等. 多指标联合检测对心脏外科术后深部胸骨切口感染的早期预判价值研究[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2022, 22(4): 4805-4808.
- [14] 蔡巧萍,陈焕文. 白介素6、降钙素原与超敏C反应蛋白在骨科内固定术后早期感染中的应用[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2022, 34(4): 459-462.
- [15] 沈建伟,龙如超,戚飞成. 骨关节术后医院感染病原学及其危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(6): 901-905.

超声引导竖脊肌间隙阻滞与胸椎椎旁神经阻滞对乳腺癌手术患者疼痛影响

张明德 韩琨元* 张志军

[摘要] **目的** 探讨超声引导竖脊肌间隙阻滞与胸椎椎旁神经阻滞对乳腺癌手术患者疼痛及炎症因子的影响。**方法** 选取2019年1月至2021年6月河南省安阳市人民医院择期行单侧乳腺癌根治术治疗的女性患者80例,随机分为ESPB组与TPVB组,各40例,分别行超声引导竖脊肌间隙阻滞与超声引导胸椎椎旁神经阻滞,观察患者手术时间、术中出血量、丙泊酚及瑞芬太尼用量,术后疼痛程度(VAS),术后24h内镇痛泵按压次数,术前和术后24h时的血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)和白细胞介素-8(IL-8)变化。**结果** 两组患者手术时间、术中出血量、丙泊酚及瑞芬太尼用量比较差异无统计学意义($P>0.05$);TPVB组术后2、6、12、24h、48h时静息和咳嗽状态下的VAS评分低于ESPB组,差异有统计学意义(静息状态 $t=5.076$ 、 6.821 、 3.716 、 4.205 、 6.105 ,咳嗽状态 $t=5.512$ 、 3.566 、 3.448 、 3.724 h、 7.272 , $P<0.05$);TPVB组术后24h内镇痛泵按压次数少于ESPB组,差异有统计学意义($t=7.255$, $P<0.05$);两组术前TNF- α 、IL-6、IL-8水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),术后较术前有所升高,且ESPB组高于TPBV组,差异有统计学意义($t=3.583$ 、 5.108 、 3.468 , $P<0.05$)。**结论** 超声引导竖脊肌间隙阻滞应用于乳腺癌手术能够有效降低患者的疼痛程度及炎症因子水平,具有更佳的术后镇痛效果及抑制围术期炎症反应效果,可以作为优选麻醉方案。

[关键词] 乳腺癌;超声引导竖脊肌间隙阻滞;超声引导胸椎椎旁神经阻滞;疼痛;炎症因子

Comparative study of ultrasound-guided erector spinae plane block and thoracic paravertebral block on pain and inflammatory factors in patients undergoing breast cancer surgery

ZHANG Mingde, HAN Kunyuan*, ZHANG Zhijun

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

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of ultrasound-guided erector spinae plane block and thoracic paravertebral block on pain and inflammatory factors in patients undergoing breast cancer surgery. **Methods** From January 2019 to June 2021 in Anyang People's Hospital, 80 patients with radical mastectomy for breast cancer were randomly divided into the ESPB group and the TPVB group, 40 cases in each group. Ultrasound-guided erector spinae plane block and ultrasound-guided thoracic paravertebral block were performed before operation. The operation time, intraoperative blood loss, dosage of propofol and remifentanyl, postoperative pain level (VAS), pressing times of analgesic pump within 24 hours after operation, serum tumor levels before operation and 24 hours after operation were observed. The levels of serum tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-8 (IL-8) at 24 h before and after surgery were measured and analyzed. **Results** There was no significant difference between the two groups in operation time, intraoperative blood loss, propofol and remifentanyl dosage ($P>0.05$). The VAS scores in resting and cough state at 2 h, 6 h, 12 h, 24 h and 48 h postoperatively was lower in the TPVB group than those in the ESPB group (resting state $t=5.076$, 6.821 , 3.716 , 4.205 , 6.105 , cough state $t=5.512$, 3.566 , 3.448 , 3.724 h, 7.272 , $P<0.05$). The number of

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200800)

作者单位:河南省安阳市人民医院麻醉科,河南,安阳455000

*通信作者:韩坤元, E-mail:707884183@qq.com

analgesia pump pressure in the TPVB group were lower than that in the ESPB group within 24 h after operation ($t=7.255, P<0.05$). There was no significant difference in the preoperative levels of TNF- α , IL-6 and IL-8 between the two groups ($P>0.05$), but they were higher after operation than before operation, and the ESPB group was higher than the TPBV group, the difference was statistically significant Significance ($t=3.583, 5.108, 3.468, P<0.05$). **Conclusion** Ultrasound-guided erector spinae space block applied to breast cancer surgery can effectively reduce pain and inflammatory factor levels of patients, have better postoperative analgesic effect and inhibit perioperative inflammatory response, and can be used as an optimal anesthesia scheme.

[KEY WORDS] Breast cancer; Ultrasound-guided erector spinae plane block; Ultrasound-guided thoracic paravertebral block; Pain; Inflammatory factors

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,手术是乳腺癌的主要治疗方法^[1],但是患者在术后容易发生疼痛^[2-3],成为后续影响到患者生活质量的主要因素之一。研究显示^[2-3],乳腺癌术后疼痛的产生主要与腋窝淋巴结清扫后对神经功能的损伤有关,同时手术的创伤性和机体的应激反应可产生大量的促炎因子释放,促炎因子也是导致疼痛产生的主要原因。目前,为了减轻手术患者术后的疼痛感,临床上常给与止痛药物或神经阻滞麻醉,超声引导竖脊肌间隙阻滞与胸椎椎旁神经阻滞均是临床上常用的胸腹部手术后镇痛方式,本研究对超声引导竖脊肌间隙阻滞与胸椎椎旁神经阻滞对乳腺癌手术患者疼痛及炎症因子的影响进行了对照研究,以进一步评估以上两种区域性神经阻滞麻醉在乳腺癌手术后的效果,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月期间在河南省安阳市人民医院择期行单侧乳腺癌根治术治疗的女性患者80例为研究对象,纳入标准:①均符合《乳腺癌诊疗规范(2018年版)》^[4]中诊断标准。②拟行乳腺癌改良根治术。③美国麻醉医师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)^[5]分级I~II级。④对使用的麻醉药物无过敏史。排除标准:①肥胖者(体重指数 $>35\text{ kg/m}^2$)。②严重心、肺、肝、肾等功能不全。③合并急慢性感染性疾病。④凝血功能异常或血液系统疾病。⑤使用抗凝药物或长期服用镇痛类药物者。⑥认知功能障碍者。将患者随机分为超声引导竖脊肌间隙阻滞(erector spinae plane block, ESPB)组与胸椎椎旁神经阻滞(Thoracic paravertebral nerve block, TPVB)组,两组各40例,两组麻醉方式适应症及手术并发症是否一致。ESPB组患者的年龄($51.23\pm$

9.54)岁,体质量(59.32 ± 7.13)kg,身高(152.55 ± 4.49)cm,ASA分级I级16例、II级24例;TPVB组年龄(51.36 ± 8.74)岁,体质量(59.60 ± 7.02)kg,身高(152.38 ± 4.25)cm,ASA分级I级17例、II级23例。两组患者一般资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究经患者及其家属知情同意,同时经医院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

两组患者均行乳腺癌改良根治术,在手术室内进行手术时全程进行心电图、无创血压、血氧饱和度等生命体征的密切监测,在全凭静脉麻醉下进行手术,麻醉诱导用药:咪达唑仑 0.05 mg/kg 、舒芬太尼 $0.3\text{ }\mu\text{g/kg}$ 、丙泊酚 2 mg/kg 、罗库溴铵 0.6 mg/kg ,麻醉诱导成功后进行气管插管接呼吸机,呼吸机参数设置:潮气量(VT) $8\sim 10\text{ mL/kg}$,呼吸频率(RR)为 $12\sim 14$ 次/分,吸呼比(I/E) $1:2$ 。麻醉维持用药:丙泊酚 $4\sim 6\text{ mg/(kg}\cdot\text{h)}$ 、瑞芬太尼 $6\sim 8\text{ }\mu\text{g/(kg}\cdot\text{h)}$,术中根据患者情况间断推注罗库溴铵,根据呼气末二氧化碳分压对呼吸参数和丙泊酚的输注速度进行适当调整。患者在缝合切口时停止以上药物的输注。术后镇痛给与静脉自控镇痛,镇痛药物配方组成为氢吗啡酮 0.1 mg/kg +右美托咪定 $2\text{ }\mu\text{g/kg}$,生理盐水稀释至 100 mL ,镇痛泵参数设置:背景剂量 2 mL/h ,单次按压给药剂量为 0.5 mL ,锁定时间为 15 min 。

1.2.1 ESPB组

在麻醉诱导前进行超声引导竖脊肌间隙阻滞。患者取俯卧位,超声探头在T3、T4、T5棘突水平的纵向放置后向手术侧的中线位置移动大约 3 cm ,观察及确定T3、T4、T5横突及其上方可视斜方肌和竖脊肌、菱形肌位置,进行定位,然后常规进行穿刺部位皮肤消毒后穿刺针沿着超声探头长轴以 $30^\circ\sim 40^\circ$ 的角度穿刺直达竖脊肌直至定T3、T4、T5横突,先注入 0.9% 的氯化钠 3 mL 将竖脊肌

表4 两组术前和术后24 h时的血清炎症因子变化比较
($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of changes in serum inflammatory factors between the two groups of patients before and 24 hours after surgery ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (ng/L)	IL-8 (ng/L)	
ESPB组	40	术前	5.58 \pm 1.20	9.84 \pm 1.96	24 h.05 \pm 7.43
		术后24 h	12.64 \pm 3.82	15.45 \pm 2.43	37.09 \pm 8.80
		t值	11.152	11.365	7.161
		P值	<0.001	<0.001	<0.001
TPVB组	40	术前	5.62 \pm 1.22 ^a	9.87 \pm 1.92 ^a	23.99 \pm 7.50 ^a
		术后24 h	9.72 \pm 3.46 ^b	12.72 \pm 2.35 ^b	30.30 \pm 8.71 ^b
		t值	7.068	5.940	3.472
		P值	<0.001	<0.001	0.001

注:与ESPB组术前比较,^a $P < 0.05$,与ESPB组术后24 h比较,^b $P < 0.05$ 。

康复速度和生活质量^[8],因此如何降低术后疼痛是医务人员围术期面临的挑战。

在静脉自控镇痛的基础上采用区域神经阻滞等复合麻醉方式对于乳腺癌、肺癌根治术等患者更有助于减轻术后疼痛^[9]。超声引导下竖脊肌间隙阻滞是将局部麻醉药物注射到竖脊肌筋膜层,麻醉药物通过椎旁间隙穿透到横突连接组织,进一步作用于脊髓神经腹侧支或胸侧支,从而起到镇痛效果,T3-T5横突和竖脊肌间隙能阻断这个区域神经支配的前支和后支,对胸部手术能起到良好镇痛效果^[10]。胸椎椎旁神经阻滞用于胸外科手术的报道较多^[11-12],是将局部麻醉药物注射在胸椎旁间隙,对脊髓背根神经节间隙阻滞,从而阻断痛觉的神经传导通路,同时胸椎旁间隙与肋间隙也是横向相通的,麻醉药物还能对肋间神经起到一定阻滞作用,镇痛效果较好。超声引导下竖脊肌间隙阻滞与胸椎椎旁神经阻滞对于胸腹部手术患者均能起到镇痛效果^[10-12]。本研究结果显示,TPVB组术后VAS评分低于ESPB组,24 h内镇痛泵按压次数少于ESPB组,提示对于乳腺癌手术患者超声引导下胸椎椎旁神经阻滞术后镇痛效果更好一些。乳腺癌根治术创伤性较大,手术会破坏机体的内环境和免疫稳态,导致大量的促炎因子被释放^[13],而且还会出现免疫抑制^[14],促炎因子可激活和调节应激反应和炎症反应,引起疼痛介质的大量释放导致疼痛^[15],因此抑制炎症反应对减轻术后疼痛是有益的。研究结果显示,TPVB组与ESPB组术前炎症因子水平差异无统计学意义,而术后24 h TPVB组TNF- α 、IL-6、IL-8等促炎因子在术后早期其水平也低于ESPB组,考虑TPVB组麻醉药物直接作用于椎旁间隙的脊神经和交感神经,能够

有效降低神经炎症反应,减轻手术创伤导致的全身炎症反应,促炎因子TNF- α 、IL-6、IL-8水平更低。而TPVB组更佳的镇痛效果可能也与降低血清促炎因子的水平、能同时阻滞肋间神经等有关,因此对于乳腺癌根治术患者可能超声引导下胸椎椎旁神经阻滞应用于术后镇痛更为适宜。

综上所述,超声引导下竖脊肌间隙阻滞应用于乳腺癌手术能够有效降低患者的疼痛程度及炎症因子水平,具有更佳的术后镇痛效果及抑制围术期炎症反应效果,可以作为优选麻醉方案。

参考文献

- [1] 段学宁. 乳腺癌手术治疗百年历史回顾与启示[J]. 中国实用外科杂志, 2018, 38(11): 1227-1231.
- [2] 焦岗军, 李天牧, 李晓达, 等. 乳腺癌患者腋窝淋巴结清扫术后慢性疼痛发生情况分析[J]. 中国性科学, 2019, 28(9): 26-29.
- [3] Massingill J, Jorgensen C, Dolata J, et al. Myofascial Massage for Chronic Pain and Decreased Upper Extremity Mobility After Breast Cancer Surgery[J]. Int J Ther Massage Bodywork, 2018, 11(3): 4-9.
- [4] 国家卫生健康委办公厅. 乳腺癌诊疗规范(2018年版)[OL](2018-12-21)[2021-10-05] <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7659/201812/b21802b199814ab7b1219b87de0cae51.shtml>.
- [5] Kopp VJ. Use of the american society of anesthesiologists physical status classification system in research[J]. Anesth Analg, 2013, 117(3): 752.
- [6] 孙兵, 车晓明(整理). 视觉模拟评分法(VAS)[J]. 中华神经外科杂志, 2012, 28(6): 645.
- [7] Habib AS, Kertai MD, Cooter M, et al. Risk factors for severe acute pain and persistent pain after surgery for breast cancer: a prospective observational study[J]. Region Anesth Pain Med, 2019, 44(2): 192-199.
- [8] Tolstrup MB, Thorup T, Ismail Gogenur. Chronic Pain, Quality of Life and Functional Impairment After Emergency Laparotomy[J]. World J Surg, 2019, 43(1): 161-168.
- [9] 王甜. 竖脊肌平面阻滞的临床应用研究进展[J]. 中国微创外科杂志, 2018, 18(10): 927-930.
- [10] Cornish PB. Erector Spinae Plane Block: The "Happily Accidental" Paravertebral Block[J]. Reg Anesth Pain Med, 2018, 43(6): 644-645.
- [11] 王蕾, 白冰, 裴丽坚, 等. 胸椎旁神经阻滞联合全身麻醉对乳腺癌手术患者术后早期康复的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2018, 38(3): 320-323.
- [12] Hutchins JL, Grandelis AJ, Kaizer AM, et al. Thoracic paravertebral block versus thoracic epidural analgesia for post-operative pain control in open pancreatic surgery: A randomized controlled trial[J]. J Clin Anesth, 2018, 48(3): 41-45.

急性脑卒中患者 PTH、IL-6 表达水平与其神经功能、近期预后的关系

张绵* 王真珍 孙雯雯

[摘要] **目的** 分析急性脑卒中患者血清甲状旁腺素(PTH)、白细胞介素6(IL-6)表达水平与其神经功能、近期预后的关系。**方法** 收集2019年1月至2022年1月郑州市第七人民医院收治的124例急性缺血性脑卒中(AIS)患者临床资料(AIS组),并纳入62名同期健康体检者为对照组,比较两组血清PTH、IL-6、25羟维生素D[25-(OH)D]及收缩压(SBP)、舒张压(DBP)差异,分析AIS患者血清PTH、IL-6与25-(OH)D、SBP、DBP的相关性,及入院时美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、随访3个月时改良Rankin量表(mRS)评分与血清PTH、IL-6的相关性。**结果** AIS组血清PTH、IL-6及SBP、DBP均显著高于对照组,血清25-(OH)D则低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。Pearson相关系数分析显示,AIS患者血清PTH、IL-6均与血清25-(OH)D呈显著负相关,均与SBP、DBP呈显著正相关($P<0.05$)。NIHSS 16~45分者血清PTH、IL-6水平明显高于0~15分者,差异有统计学意义($P<0.05$)。mRS评分3~5分者血清PTH、IL-6水平明显高于0~2分者,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson相关系数分析显示,AIS患者血清PTH、IL-6与入院时NIHSS评分及随访3个月mRS评分均呈显著正相关($P<0.05$)。**结论** 血清PTH、IL-6水平与AIS患者入院时神经功能及近期预后密切相关,有望成为AIS诊疗新靶点。

[关键词] 急性缺血性脑卒中; PTH; IL-6; 神经功能

Relationship between expression levels of PTH and IL-6 and neurological function and short-term prognosis in patients with acute stroke

ZHANG Mian*, WANG Zhenzhen, SUN Wenwen

(Department of Comprehensive ICU, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450016)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship of expression levels of serum parathyroid hormone (PTH) and interleukin-6 (IL-6) with neurological function and short-term prognosis in patients with acute stroke. **Methods** The clinical data of 124 patients with acute ischemic stroke (AIS) who were treated in the Zhengzhou Seventh People's Hospital from January 2019 to January 2022 were collected (AIS group), and 62 healthy subjects with physical examination were included as the control group. The differences in serum PTH, IL-6, 25-hydroxyvitamin D [25-(OH) D], systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were compared between the two groups, the correlation between serum PTH, IL-6 and 25-(OH) D, SBP, DBP in patients with AIS, and the correlation between National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score at admission, Modified Rankin Scale (mRS) score at 3 months and serum PTH, IL-6 was analyzed. **Results** Serum PTH, IL-6, SBP and DBP in the AIS group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$) while the level of serum 25-(OH) D was significantly lower than that in the control group ($P<0.05$). Serum levels of PTH and IL-6 in patients with AIS were negatively correlated with serum 25-(OH) D ($P<0.05$), and were positively correlated with SBP and DBP ($P<0.05$). The levels of serum PTH and

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019020847)

作者单位:郑州市第七人民医院综合ICU,河南,郑州450016

*通信作者:张绵, E-mail:lvyouyou123321@163.com

IL-6 in patients with NIHSS score of 16-45 points were significantly higher than those in patients with NIHSS score of 0-15 points ($P<0.05$), and serum levels of PTH and IL-6 in patients with mRS score of 3-5 points were significantly higher than those in patients with mRS score of 0-2 points ($P<0.05$). Pearson correlation coefficient analysis showed that serum PTH and IL-6 in patients with AIS were significantly positively correlated with NIHSS score at admission and mRS score at 3 months of follow-up ($P<0.05$). **Conclusion** Serum PTH and IL-6 levels are closely related to neurological function at admission and short-term prognosis in patients with AIS, which may become new targets for the diagnosis and treatment of AIS.

[KEY WORDS] Acute ischemic stroke; PTH; IL-6; Neurological function

脑卒中是我国第一大致死疾病,2016年脑卒中中致死人数占总死亡人数的20%,急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)是最常见的脑卒中类型,约占69.6%~70.8%^[1]。分析脑卒中影响因素,积极控制高危因素,是减少脑卒中发生率及改善脑卒中预后的关键。动脉粥样硬化是AIS的主要诱因,前者被认为是一种慢性炎症性疾病。白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)作为重要的炎症介质,可通过参与动脉粥样硬化的形成与进展,影响AIS的发生、发展^[2]。除炎症介质外,近年研究发现^[3],甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)表达的升高与心脑血管系统、内分泌系统损伤均有关,PTH的高表达可促进内皮功能障碍,诱导冠脉微血管功能障碍及高血压。而PTH与25羟维生素D[25-hydroxyvitamin D, 25-(OH)D]呈负反馈调节,高PTH与低25-(OH)D二者可能协同促进血管钙化,加速动脉粥样硬化进程。故IL-6与PTH的表达可能与AIS病情及进展密切相关。本研究就血清PTH、IL-6表达水平与AIS患者入院时神经功能及近期预后的关联性展开分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2019年1月至2022年1月郑州市第七人民医院收治的124例AIS患者临床资料(AIS组)。纳入标准:符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》^[4]AIS诊断标准;发病至入院时间 ≤ 24 h;入院后实验室检查等资料完整。排除标准:合并自身免疫性疾病、血液疾病、恶性肿瘤;既往甲状腺、甲状旁腺疾病;合并肝、肾功能不全或感染性疾病;合并软骨病、骨折等骨病;入院前1周内服用骨化三醇等影响PTH代谢的药物。并纳入62名同期健康体检者为对照组。AIS组男性68例,女性56例;年龄51~78(64.02 \pm 7.13)岁;高血压61例,糖尿病36例,冠心病30例,高脂血症33例,

吸烟史39例,饮酒史14例。对照组男性36名,女性26名;年龄48~75(62.89 \pm 6.90)岁。两组基线资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者家属已签署知情同意书。

1.2 方法

AIS组患者在入院次日采集空腹外周肘静脉血,对照组在体检当日上午采集空腹外周肘静脉血4~5 mL,经3 500 r/min(离心半径8 cm)离心10 min获得血清,使用酶联免疫吸附法(试剂盒购自北京利德曼生化股份有限公司)检测血清PTH、IL-6水平,采用电化学发光免疫法(试剂盒购自德国罗氏公司)检测血清25-(OH)D水平,并在采集静脉血前使用电子血压计评估收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)。

AIS组在入院时,使用美国国立卫生研究院卒中量表(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)^[5]评估神经功能缺损情况,总分0~45分,0~15分为轻中型缺损,16~45分为重型缺损,评分越高,神经功能缺损越严重。随访3个月时,使用改良Rankin量表(Modified Rankin Scale, mRS)^[6]评估近期预后,总分0~5分,0~2分为预后良好,3~5分为预后不良,评分越高,预后越差。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 23.0软件处理;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;相关性采用Pearson相关系数分析;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AIS组与对照组血清PTH、IL-6、25-(OH)D及SBP、DBP比较

AIS组血清PTH、IL-6及SBP、DBP均显著高于对照组,血清25-(OH)D则低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 AIS组与对照组血清PTH、IL-6、25-(OH)D及SBP、DBP比较($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of serum PTH, IL-6, 25-(OH)D, SBP and DBP between AIS group and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PTH(pg/mL)	IL-6(pg/mL)	25-(OH)D(ng/mL)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)
AIS组	124	12.67±2.11	12.27±2.03	10.58±1.98	135.44±6.35	84.12±5.25
对照组	62	10.21±2.02	4.50±0.85	16.22±2.73	125.36±5.89	73.09±5.13
t值		7.601	28.869	16.070	10.450	13.610
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 AIS患者血清PTH、IL-6与25-(OH)D、SBP、DBP的相关性

Pearson 相关系数分析显示, AIS患者血清PTH、IL-6均与血清25-(OH)D呈显著负相关, 均与SBP、DBP呈显著正相关($P < 0.05$)。见表2。

表2 AIS患者血清PTH、IL-6与25-(OH)D、SBP、DBP的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of serum PTH, IL-6 and 25-(OH)D, SBP, DBP in AIS patients

指标	25-(OH)D	SBP	DBP
PTH	-0.581*	0.473*	0.405*
IL-6	-0.432*	0.415*	0.372*

注:* $P < 0.001$ 。

2.3 血清PTH、IL-6与AIS患者神经功能的关联性分析

入院时NIHSS评分为0~15分者95例, 16~45分者29例。NIHSS 16~45分者血清PTH、IL-6水平明显高于0~15分者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。Pearson 相关系数分析显示, AIS患者血清PTH、IL-6与入院时NIHSS评分呈显著正相关($r = 0.493, 0.622, P < 0.001$)。

表3 不同NIHSS评分者血清PTH、IL-6比较($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of serum PTH and IL-6 in patients with different NIHSS scores ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PTH(pg/mL)	IL-6(pg/mL)
NIHSS 0~15分	95	12.19±2.03	10.96±1.97
NIHSS 16~45分	29	14.24±2.31	16.55±2.83
t值		4.607	11.991
P值		<0.001	<0.001

2.4 血清PTH、IL-6与AIS患者近期预后的关联性分析

随访3个月, mRS评分为0~2分者87例, 3~5分者37例。mRS评分3~5分者血清PTH、IL-6水平明显高于0~2分者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。Pearson 相关系数分析显示, AIS患者血清PTH、IL-6与随访3个月mRS评分呈显著正相关($r = 0.447, 0.598, P < 0.001$)。

表4 不同mRS评分者血清PTH、IL-6比较($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of serum PTH and IL-6 in patients with different mRS scores ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PTH(pg/mL)	IL-6(pg/mL)
mRS 0~2分	87	12.11±2.01	10.77±1.90
mRS 3~5分	37	13.98±2.33	15.79±2.88
t值		4.517	11.447
P值		<0.001	<0.001

3 讨论

血管钙化及炎症反应均能促进动脉粥样硬化进程, 诱导AIS的发生与进展^[7]。有报道指出^[8], PTH作为肽类激素, 其不仅是人体矿物质代谢的关键激素, 还可促进血管钙化, 诱导动脉壁增厚及弹性丧失, 引起动脉粥样硬化。有学者对PTH的促血管钙化机制展开分析, 发现PTH可诱导血管平滑肌细胞向成骨样细胞转化, 后者可促进钙盐沉积于血管壁, 引起血管钙化、血压升高, 促进一系列心脑血管疾病的发生^[9]。Wajda等^[10]还发现, PTH与25-(OH)D呈负反馈调节, 25-(OH)D的缺乏可刺激甲状旁腺增生, 诱导PTH分泌增多, 且高PTH水平与低25-(OH)D水平是AIS预后不良的危险因素。上述报道提示, PTH的高表达可能通过多种途径促进动脉粥样硬化, 加速AIS疾病进展。本研究中, AIS组血清PTH及SBP、DBP均显著高于对照组, 血清25-(OH)D低于对照组, 且AIS患者血清PTH与血清25-(OH)D呈显著负相关, 与SBP、DBP呈显著正相关, 提示25-(OH)D缺乏越严重, PTH水平越高, 更易引起血管钙化, 诱导血压升高, 二者可能协同参与AIS的发生发展, 与上述报道基本一致。AIS患者血清PTH与入院时NIHSS评分呈显著正相关, 提示急性发病时PTH表达越高, 神经功能障碍越严重。PTH对血管钙化、内皮功能障碍的影响, 可能影响颅内大动脉血管或加速动脉粥样硬化, 促进神经功能缺损。IL-6作为炎症介质, 不仅可以促进加速脂质沉积及泡沫细胞形成, 还可以刺激血管内皮-钙黏蛋白磷酸化, 使血管损伤, 也能诱导

细胞毒性T淋巴细胞活化,促进B细胞产生抗体,通过多种途径促进动脉粥样硬化,参与AIS的发生^[11]。本研究中,AIS患者血清IL-6与SBP、DBP呈显著正相关,可能与IL-6损伤血管、加速动脉粥样硬化、使血压升高有关。不仅如此,AIS患者血清IL-6与血清25-(OH)D呈显著负相关,提示25-(OH)D的缺乏与IL-6表达增加存在密切关联。二者关联性的机制尚未得到,但二者在大肠癌、克罗恩病人群中的表达均呈负相关^[12-13],具体机理仍待进一步探究。另外,AIS患者血清IL-6与入院时NIHSS评分呈显著正相关,即IL-6与AIS急性期神经功能密切相关,与目前研究结果一致^[14]。

本研究还评估了AIS患者近期预后情况,发现AIS患者血清PTH、IL-6与随访3个月mRS评分呈显著正相关,提示急性发作时PTH、IL-6高表达者AIS预后恶化风险更高。分析其原因可能为:①PTH促进血管钙化,PTH高表达提示患者血管壁弹性差,血管再生能力较弱,形成侧支循环的能力不足,导致预后较差^[15];②IL-6高表达可促进血管损伤、加速脂质沉积,导致血管顺应性下降,调节能力差,侧支循环难以形成,神经功能损伤严重而较难转归^[16]。

综上所述,IL-6作为炎症介质,与AIS患者神经功能及预后的关联性显著,PTH作为人体矿物质代谢的关键激素,可促进血管钙化及内皮功能障碍,与AIS患者神经功能及近期预后密切相关,检测二者表达水平可为AIS诊疗提供指导建议。本文还发现25-(OH)D与IL-6及PTH呈负相关,提示维生素D缺乏对IL-6及PTH的表达升高有促进作用,三项可能互为因果,形成恶性循环,影响AIS的发生及发展,可能为AIS诊疗提供新方向。

参考文献

- [1] 陈安,曹霄,张慧林,等. 针灸辅助治疗对急性缺血性脑卒中患者外周血炎症因子水平及神经功能的影响研究[J]. 中国全科医学, 2022,25(3):331-335.
- [2] 任英巧,李占增,伍淑玲,等. IL-8、IL-6、hs-CRP在缺血性脑血管病手术前后表达变化及临床价值[J]. 分子诊断与

治疗杂志, 2020,12(7):923-927.

- [3] Jayakumar P, Sharma A, Lippmann S. Insomnia in elderly people[J]. Proc (Bayl Univ Med Cent), 2019, 33(1):47-48.
- [4] 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.
- [5] 张磊,刘建民. 美国国立卫生研究院卒中量表[J]. 中华神经外科杂志, 2014,30(1):79.
- [6] 张磊,刘建民. 改良Rankin量表[J]. 中华神经外科杂志, 2012,28(5):512.
- [7] 董妮,张淑娟,魏秀,等. 联合应用颈动脉超声及经颅多普勒超声对缺血性脑卒中的诊断价值[J]. 中国超声医学杂志, 2022,16(1):94-96.
- [8] Brandtner EM, Muendlein A, Leiberer A, et al. Serum parathyroid hormone predicts mortality in coronary angiography patients with type 2 diabetes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(11):e512.
- [9] Golüke NMS, Schoffemeer MA, De Jonghe A, et al. Serum biomarkers for arterial calcification in humans: A systematic review[J]. Bone Rep, 2022, 17(1):e101599.
- [10] Wajda J, Świat M, Owczarek AJ, et al. Severity of vitamin d deficiency predicts mortality in ischemic stroke patients [J]. Dis Markers, 2019, 12(1):1-10.
- [11] 吴章薇,张通,赵军,等. 急性缺血性卒中后炎症因子水平与神经功能恢复的关系研究[J]. 中国卒中杂志, 2021, 16(10):1023-1028.
- [12] Boughanem H, Ruiz-Limon P, Crujeiras AB, et al. 25-Hydroxyvitamin D status is associated with interleukin-6 methylation in adipose tissue from patients with colorectal cancer [J]. Food Funct, 2021, 12(20):9620-9631.
- [13] 梁月凤,黄秀敏,温兰玲,等. 血清脑源性神经营养因子与子宫内膜异位症临床分期及痛经的相关性[J]. 中华医学杂志, 2020,100(10):771-774.
- [14] 肖东芳,王瑶,邸丽丽,等. 血清Hcy Hs-CRP TNF-αIL-6水平与急性缺血性脑梗死严重程度的关系研究[J]. 河北医学, 2021,27(3):414-418.
- [15] Cek L, Ocek O, Mizrak S. Association between serum 25-hydroxyvitamin d and early recurrent ischemic stroke [J]. Ann Med Res, 2020, 27(6):1745-1751.
- [16] Mechtouff L, Bochaton T, Paccat A, et al. A lower admission level of interleukin-6 is associated with first-pass effect in ischemic stroke patients [J]. J Neurointerv Surg, 2022, 14(3):248-251.

(上接第433页)

- [13] 潘音桦,邹全庆,周燕秋. 乳腺癌根治术围术期血清GH和IGF-1水平与其免疫功能的关系及其联合预测预后[J]. 实用癌症杂志, 2018, 198(9):8-11.
- [14] 罗勇,李崎,华特波. 新辅助化疗联合乳腺癌改良根治术对乳腺癌患者免疫功能、基质金属蛋白酶及血管内皮生长

因子的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(1):104-109.

- [15] Russo R, Cristiano C, Avagliano C, et al. Gut-brain axis: Role of lipids in the regulation of inflammation, pain and CNS diseases[J]. Curr Med Chem, 2018, 24(32):3930.

不同阶段胃癌血清 PGI、PGII、CA50 和 CA724 的表达水平与短期预后的关系

邓海连 康春博* 李彩菊 高艳芳

[摘要] **目的** 分析不同阶段胃癌血清胃蛋白酶原(PGI、PGII)、血清糖链抗原(CA50、CA724)的表达水平与短期预后的关系。**方法** 选取2021年3月至2022年7月首都医科大学附属北京康复医院收治的105例胃癌患者作为研究组,选择同期108名健康志愿者作为对照组,比较两组血清中 PGI、PGI、CA50、CA724 水平,分析不同阶段胃癌的 PGI、PGI、CA50、CA724 水平情况与患者短期预后的关系。**结果** 观察组 PGII、CA50、CA724 水平高于对照组,PGI 水平低于对照组,差异有统计学意义($t=45.622$ 、 $t=62.297$ 、 $t=58.701$ 、 $t=32.800$, $P<0.05$);胃癌早期患者49例,胃癌进展期患者56例,其中胃癌进展期患者 PGII、CA50、CA724 高于胃癌早期患者,PGI 水平低于胃癌早期患者,差异有统计学意义($t=18.438$ 、 $t=14.754$ 、 $t=10.910$ 、 $t=17.182$, $P<0.05$);胃癌患者中,预后良好患者有70例,预后不良患者有35例,其中预后不良患者 PGI 水平低于预后良好患者,PGII、CA50、CA724 水平均高于预后良好患者,差异有统计学意义($t=15.725$ 、 $t=34.892$ 、 $t=16.038$ 、 $t=13.375$, $P<0.05$);Logistic 回归分析结果显示,血清中 PGI、PGII、CA50、CA724 水平为影响胃癌患者预后不良的危险因素($P<0.05$)。**结论** 血清 PGI、PGII、CA50、CA724 水平可能参与胃癌的发生、进展过程,是影响胃癌患者预后的相关因素。

[关键词] 不同阶段胃癌; PGI; PGII; CA50; CA72

Relationship between serum PGI, PGII, CA50 and CA724 expression levels and short-term prognosis in gastric cancer at different stages

DENG Hailian, KANG Chunbo*, LI Caiju, GAO Yanfang

(Department of Gastrointestinal Rehabilitation Center, Beijing Rehabilitation Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100144)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the expression levels of serum pepsinogen (PGI, PGII), serum glycochain antigen (CA50, CA724) and short-term prognosis of gastric cancer at different stages. **Methods** 105 patients with gastric cancer admitted to Beijing Rehabilitation Hospital Affiliated to Capital Medical University from March 2021 to July 2022 were selected as the study group, and 108 healthy volunteers during the same period were selected as the control group, the serum levels of PGI, PGI, CA50 and CA724 were compared between the two groups, and the relationship between the levels of PGI, PGI, CA50, CA724 and the short-term prognosis of patients with gastric cancer at different stages was analyzed. **Results** The levels of PGII, CA50, and CA724 in the observation group were higher than those in the control group, and the level of PGI in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($t=45.622$, $t=62.297$, $t=58.701$, $t=32.800$, $P<0.05$). There were 49 patients with early gastric cancer and 56 patients with advanced gastric cancer, among them, the PGII, CA50, and CA724 levels of advanced gastric cancer patients were higher than those of early gastric cancer patients, and the PGI level of advanced

基金项目:首都医科大学附属北京康复医院引进人才科研启动基金立项任务书(2019R-001)

作者单位:首都医科大学附属北京康复医院胃肠康复中心,北京 100144

*通信作者:康春博, E-mail: chunbokang@163.com

gastric cancer patients was lower than that of early gastric cancer patients, and the difference was statistically significant ($t=18.438$, $t=14.754$, $t=10.910$, $t=17.182$, $P<0.05$). Among the patients with gastric cancer, there were 70 patients with good prognosis and 35 patients with poor prognosis, the PGI level in patients with poor prognosis was lower than that in patients with good prognosis, and the PGII, CA50 and CA724 levels in patients with poor prognosis were higher than those in patients with good prognosis, and the difference was statistically significant ($t=15.725$, $t=34.892$, $t=16.038$, $t=13.375$, $P<0.05$). Logistic regression analysis showed that the levels of serum PGI, PGII, CA50 and CA724 were risk factors for poor prognosis in patients with gastric cancer ($P<0.05$). **Conclusion** Serum PGI, PGII, CA50, CA724 levels may be involved in the occurrence and progression of gastric cancer, and are related factors affecting the prognosis of gastric cancer patients.

[KEY WORDS] Different stages of gastric cancer; PGI, PGII; CA50; CA72

胃癌是我国发病率第三的恶性肿瘤,平均每年胃癌死亡患者达17万,严重危害患者生命安全。临床专家曾表示对于恶性肿瘤患者需遵循“早发现、早治疗、防大于治”的治疗理念^[1]。早期胃癌患者无特征性病理症状,导致早期诊断效果不佳,延误治疗黄金时间^[2-3]。中晚期胃癌患者癌细胞进一步扩散,侵袭周围组织,出现梗阻、黑便、呕血、持续性剧痛、腹水等病理表现,该阶段的胃癌患者因机体受损程度加重,其治疗后复发、感染可能性高,5年生存率低^[4]。目前,胃癌患者主要采用病理组织活检、内镜检查等方法进行诊断,而为了提高诊断的精准性,临床学者认为可借助血清学指标进行辅助诊断,进一步降低误诊、漏诊的概率^[5]。阴丽慧^[6]曾提出,血清学指标检测作为新型诊断方法,对患者预后评估也有一定帮助。对此,本文在上述观点的基础上对不同阶段胃癌血清胃蛋白酶原I(Pepsinogen I, PGI)、胃蛋白酶原II(Pepsinogen II, PGII)、糖链抗原50(Carbohydrate Antigen 50, CA50)、糖链抗原724(Carbohydrate Antigen 724, CA724)的表达水平与短期预后的关系进行分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年3月至2022年7月首都医科大学附属北京康复医院收治的105例胃癌患者作为研究组,同期选择108名健康志愿者作为对照组,其中研究组患者男65例(占61.90%),女40例(占38.10%),年龄41~73岁,平均年龄(55.42±4.96)岁;对照组男69名(占63.89%),女39名(占36.11%),年龄43~75岁,平均年龄(56.03±4.57)岁。两组资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。所有研究对象均签署知情同意书。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

胃癌患者纳入标准:①符合《胃癌治疗指南》^[7]中的诊断标准,且经胃镜活检确诊为胃癌,早期患者:胃内存在肿块,肿瘤细胞未发生远处转移;进展期患者:胃壁可见明显增厚且肿瘤细胞发生转移,侵袭周围其他组织;②无认知功能障碍;③符合手术治疗标准且无手术禁忌证;④既往无化疗史。

所有研究对象排除标准:①合并严重免疫系统疾病者;②有严重凝血功能障碍者;③既往有大型胃肠道开放手术治疗史者;④妊娠期妇女;⑤合并其他感染性疾病者。

1.2 方法

收集两组空腹状态下的肘静脉血4 mL,借助3 000 r/min, 10 min, 半径8 cm离心机(烟台澳斯邦生物工程有限公司,国械注准20071412105)离心后制成血清检测样本,并将样本置入-60℃的低温环境中保存。使用胃蛋白酶原试剂盒(上海恒远生物科技有限公司,国械注准20082400926)、酶联免疫吸附试验检测样本中的PGI、PGII水平,使用糖链抗原试剂盒(郑州安图绿科生物工程有限公司,国械注准20153402301)、磁微粒化学发光法检测样本中CA50、CA724水平。

1.3 观察指标

①对比两组PGI、PGII、CA50、CA724水平。②对比不同阶段胃癌血清PGI、PGII、CA50、CA724的表达水平。③对比不同预后的胃癌患者血清PGI、PGII、CA50、CA724的表达水平及其他因素:对胃癌患者短期预后情况进行判定,预后良好:治疗3个月后病理症状明显改善,癌细胞未进一步扩散且未出现复发、感染患者;预后不良:治疗3个月后癌细胞进一步扩散、转移,出现复发、感染、死亡患者^[8]。④分析胃癌患者血清PGI、PGII、CA50、CA724水平与短期预后情况的关系。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 27.0 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, 组间比较采用卡方 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 PGI、PGII、CA50、CA724 水平比较

观察组 PGII、CA50、CA724 水平高于对照组, PGI 水平低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 PGI、PGII、CA50、CA724 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of PGI, PGII, CA50 and CA724 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PGI (mg/mL)	PGII (mg/mL)	CA50 (IU/mL)	CA724 (IU/mL)
观察组	105	35.83±4.65	16.08±1.44	29.64±3.91	31.60±4.72
对照组	108	63.75±7.42	8.91±0.76	5.60±0.88	4.51±0.84
<i>t</i> 值		32.800	45.622	62.297	58.701
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同阶段胃癌血清 PGI、PGII、CA50、CA724 的表达水平比较

胃癌早期患者 49 例, 胃癌进展期患者 56 例, 其中胃癌进展期患者 PGII、CA50、CA724 高于胃癌早期患者, PGI 水平低于胃癌早期患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同阶段胃癌血清 PGI、PGII、CA50、CA724 的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum PGI, PGII, CA50, CA724 expression levels in different stages of gastric cancer ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PGI (mg/mL)	PGII (mg/mL)	CA50 (IU/mL)	CA724 (IU/mL)
胃癌早期	49	48.04±5.73	13.44±1.07	23.47±3.15	26.41±3.88
胃癌进展期	56	25.15±2.46	18.39±1.59	35.04±4.63	36.13±5.07
<i>t</i> 值		17.182	18.438	14.754	10.910
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同预后的胃癌患者血清 PGI、PGII、CA50、CA724 的表达水平及其他因素

胃癌患者中, 预后良好患者有 70 例, 预后不良患者有 35 例, 两组在性别、年龄、糖尿病史、高血压病史方面比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而预后不良患者 PGI 水平低于预后良好患者, PGII、CA50、CA724 水平均高于预后良好患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同预后的胃癌患者血清 PGI、PGII、CA50、CA724 的表达水平及其他因素 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

Table 3 Serum PGI, PGII, CA50, CA724 expression levels and other factors in patients with gastric cancer with different prognosis [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

因素	预后良好 (<i>n</i> =70)	预后不良 (<i>n</i> =35)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别 57/48(男/女)	36/34	21/14	0.691	0.406
年龄(岁)	54.96±4.73	55.52±4.41	0.585	0.560
糖尿病史	23(32.86)	11(31.43)	0.022	0.883
高血压病史	37(52.86)	23(65.71)	1.575	0.209
PGI(mg/mL)	40.28±4.78	26.93±2.14	15.725	<0.001
PGII(mg/mL)	11.34±1.55	25.56±2.62	34.892	<0.001
CA50(IU/mL)	25.51±3.24	37.9±4.57	16.038	<0.001
CA724(IU/mL)	27.59±3.97	39.62±5.02	13.375	<0.001

2.4 胃癌血清 PGI、PGII、CA50、CA724 水平与短期预后情况的关系分析

采用 Logistic 回归分析得出血清中 PGI、PGII、CA50、CA724 水平为胃癌患者预后不良的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 胃癌患者血清 PGI、PGII、CA50、CA724 水平与预后不良情况的关系分析

Table 4 Analysis of the relationship between serum PGI, PGII, CA50, CA724 levels and poor prognosis in patients with gastric cancer

变量	β 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
PGI	0.871	1.860	1.410~4.335	0.001
PGII	0.892	1.903	1.364~4.021	<0.001
CA50	0.594	1.472	1.103~3.547	0.013
CA724	0.657	1.596	1.116~3.271	0.005

3 讨论

早期诊断及其预后评估在胃癌治疗中有重要作用, 内镜检查虽能有效检测患者胃部组织情况, 但不同患者对此项检查的耐受度不同, 加大了检测的难度。对此, 陈慧娟等^[9]提出, 血清学指标检测简便快速, 方便进行大规模筛查及测评, 推测可辅助用于胃癌诊断。

有学者对血清学指标进行研究发现, 血清中 PG 水平与胃粘膜功能存在一定联系^[10]。栗丽娜等^[11]研究表明, PG 指标可协助进行胃癌诊断。本文对胃癌患者血清中 PG 水平进行检测发现, 观察组 PGII 水平高于对照组, 其 PGI 水平低于对照组, 与李慧文等^[12]研究结论一致。PG 是胃蛋白酶的前体, 在正常生理状态下血清中 PG 水平趋于稳定, 而胃组织受损后 PG 分泌细胞受到刺激, 导致

血清中PG水平发生改变。承丽萍等^[13]在研究胃癌组织时提出,CA作为肿瘤标记物,在正常机体内呈现低水平,在消化道恶性肿瘤患者体内呈现高水平表达,与本文研究结果吻合。CA50、CA724主要存在于胃癌、卵巢癌组织中,且对于消化道组织病变有较高的灵敏度。本文进一步对CA50、CA724、PGI、PGII研究发现,胃癌进展期患者PGII、CA50、CA724水平高于胃癌早期,其PGI水平低于胃癌早期患者,同Tran等^[14]研究结论相似。表明随着胃癌的发展,PGI呈下降趋势,而PGII、CA50、CA724呈上升趋势。推测其原因可能为,PGI主要由胃体胃底分泌,PGII由胃腺分泌,在活化的胃蛋白酶作用下可将PGI、PGII转变成成为胃蛋白酶,而肿瘤细胞扩散过程中对胃组织造成持续性损伤,对PGI、PGII的生成产生一定影响,导致胃蛋白酶减少,胃功能进一步下降。CA724作为黏蛋白类癌胚抗原,参与肿瘤细胞的骨架构成,其水平升高可进一步促进肿瘤细胞的转移及生成^[15-16]。CA50是肿瘤抗原,在肿瘤细胞转移和恶变过程中糖基转移酶活性降低可能导致CA50水平发生改变。另外,PGI、PGII水平变化能一定程度上反映胃黏膜不同组织部位病变情况,胃黏膜受损严重会导致PGI、PGII比值升高,进一步影响其他正常组织功能,导致机体免疫防御功能下降,提高感染及复发的危险性。而治疗过程中未完全清除的肿瘤细胞可能在CA724、CA50高水平环境下快速发展,极大增加了复发的可能性,严重影响患者的预后。而本文对105例胃癌患者预后情况进行分析,结果显示,预后良好患者有70例,预后不良患者有35例,其中预后不良患者PGI水平低于预后良好患者,PGII、CA50、CA724水平均高于预后良好患者。再通过Logistic回归分析得出,血清中PGI、PGII、CA50、CA724水平为胃癌患者预后不良的危险因素,与李祥佩、付立业等^[17-18]研究结论吻合。间接证实PGI、PGII、CA50、CA724对胃癌患者与较高的评估价值。

综上所述,血清PGI、PGII、CA50、CA724水平可能参与胃癌的发生、进展过程,是影响胃癌患者预后的相关因素。

参考文献

- [1] 邢华蕊,冯亚妮,黎小芳,等.血清肿瘤标志物水平与卵巢癌患者病理特征及预后的关系分析[J].河北医学,2020,26(8):1404-1408.
- [2] 吴维宇,汪力,张雪莲,等.胃癌患者血清miR-515-3p水平与临床病理特征及预后的关系[J].国际消化病杂志,2021,41(2):113-117.
- [3] 方宏娇,李承慧.胃癌患者血清CA199、CA724及CEA水平与病情严重程度及预后的关系[J].川北医学院学报,2022,37(2):248-251.
- [4] 郭慧敏,张磊,王丽红.miR-125b-5p和miR-196a-5p在胃癌根治术后患者血清中的表达水平及其与临床病理参数和预后的关系[J].实用癌症杂志,2022,37(2):292-295.
- [5] 高娟,井晓,董亚宁.血清CA724、PGI、PGII、G-17在胃癌不同时期的表达情况及与术后感染、复发的关系[J].检验医学与临床,2022,19(7):910-912,917.
- [6] 阴丽慧.CEA、AFP、CA199、CA242、CA724对胃癌诊断及预后的评估价值[J].河北医药,2020,42(9):1348-1350,1354.
- [7] 胡祥.2014年第4版日本《胃癌治疗指南》更新要旨[J].中国实用外科杂志,2015(1):16-19.
- [8] 李忠武.早期胃癌规范化诊治流程及预后因素[J].临床与病理杂志,2015(6):928-932.
- [9] 陈慧娟,徐瀚峰,万莉,等.胃腺癌患者组织内TOP II A蛋白的表达水平与临床特征及预后的关系[J].热带医学杂志,2020,20(11):1459-1462+1471+1537.
- [10] 袁春艳,吴艳.PES1高表达与胃癌的进展和预后的关系[J].临床与病理杂志,2020,40(5):1108-1113.
- [11] 栗丽娜,温春丽,董宏强,等.不同证型急性脑梗死患者血清Hcy、IMA水平及与神经功能缺损程度、短期预后的关系[J].世界中西医结合杂志,2021,16(2):330-333.
- [12] Li HW, Huang B. miR-19a targets CLCA4 to regulate the proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer cells[J].Eur J Histochem,2022(1):66-69.
- [13] 承丽萍,谭勇.胃癌组织中miR-320a表达水平与临床病理特征及预后的关系[J].湖南师范大学学报(医学版),2022,19(1):176-179.
- [14] Tran T, Gunathilake M, Lee J, et al. The association of dietary fibre intake and the IL13 rs20541 polymorphism with the risk of gastric cancer: a case-control study in Korea[J].Eur J Clin Nutr,2022(7):76-78.
- [15] 杨莉,李晓南,杨晓雪.血清肿瘤标志物CEA、CA19-9及CA724联合检测在胃癌诊断中的价值分析[J].临床和实验医学杂志,2020,19(4):387-391.
- [16] 董曲文,陈晓,丁纪元.早期胃癌患者内镜黏膜下剥离术前后血清胃泌素-17、糖类抗原-125及胃蛋白酶原水平的变化和意义[J].中国内镜杂志,2020,26(2):37-42.
- [17] 李祥佩,王屹然,王军生,等.胃癌组织中Apaf-1、LMO1表达及其与临床预后的关系[J].疑难病杂志,2022,21(8):834-839.
- [18] 王宁,付立业,隋承光,等.胃癌患者血清中IGF-1与CEA、CA125、CA199、CA724水平的相关性分析及在胃癌诊断中的意义[J].中国实验诊断学,2021,25(2):194-197.

一种国产血液核酸检测系统的性能评价

詹莉* 杨文杰 陈志强 范章平

[摘要] **目的** 对一种国产血液核酸检测系统用于血源筛查的主要性能指标及其应用价值进行评价。**方法** 参考WS/T 492-2016文件要求对检测系统的精密度、抗交叉污染能力、灵敏度、抗干扰能力、样本保存稳定性及准确性进行验证分析。**结果** HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA重复检测的变异系数(CV)分别为1.88%、1.06%、1.58%;7例阴性和7例阳性样本一阴一阳交叉排列单检未见交叉污染;单检灵敏度为HBV-DNA 2.5 IU/mL、HCV-RNA 12.5 IU/mL、HIV-RNA 12.5 IU/mL,混检灵敏度浓度为HBV-DNA 20 IU/mL、HCV-RNA 100 IU/mL、HIV-RNA 250 IU/mL;溶血标本对于阳性标本的检出影响不大,严重脂血标本(如指数6时)会导致HIV的CT值延后;样本在2~8℃条件保存72 h内对检出影响不明显,超过72 h后HBV-DNA与HIV-RNA的CT值会有轻微延后。30例室间质评样本混检和拆分检验阳性样本、阴性样本符合率均为100%;与全国该试剂均值比较,HBV-DNA(混样 $t=0.060$, $P=0.953$;拆分 $t=-0.619$, $P=0.543$)、HCV-RNA(混样 $Z=-0.378$, $P=0.705$;拆分 $Z=-1.592$, $P=0.111$)、HIV-RNA(混样 $t=1.901$, $P=0.082$;拆分 $t=-0.899$, $P=0.386$)阳性样本CT值差异无统计学意义(P 均 >0.05)。阴性样本CT值均为45。该系统与罗氏系统混样和拆分检测30例室间质量评价样本的结果均完全一致。**结论** 该国产血液核酸检测系统各项指标在本实验室条件下均可达到或优于厂家声明的性能,能满足本站血液核酸检测需求。

[关键词] 核酸检测;血源筛查;性能验证

Performance evaluation of a domestic blood nucleic acid detection system

ZHAN Li*, YANG Wenjie, CHEN Zhiqiang, FAN Zhangping

(Department Clinical Laboratory, Maoming Center Blood Station, Maoming, Guangdong, China, 525000)

[ABSTRACT] **Objective** To evaluate the main performance index and the application value of a domestic blood nucleic acid detection system in blood screening. **Methods** The precision, anti-cross-contamination, detection limits, anti-interference, sample storage stability and accuracy of the DaAn blood nucleic acid detection system were verified with reference to the requirements of the relevant documents of WS/T 492-2016. **Results** The coefficient of variation for repeated detection of HBV-DNA, HCV-RNA and HIV-RNA were 1.88%, 1.06% and 1.58%, respectively. There were no cross contamination between 7 negative samples and 7 positive samples arranged in a cross way. The detection limits of HBV-DNA, HCV-RNA and HIV-RNA were 2.5 IU/mL, 12.5 IU/mL and 12.5 IU/mL, while those were 20 IU/mL, 100 IU/mL and 250 IU/mL in 8-in-1 mixed mode. Hemolysis had no significant impact to the detection of positive samples, while severe hyperlipidemia specimens (when index of chyle were 6) influenced the CT value of HIV-RNA and made it delay. Samples preserved in 2~8℃ conditions within 72 hours had no significant impact to check out, and more than 72 hours HBV-DNA and HIV-RNA CT value will be a slight delay. The detection coincidence rate of 30 external quality assessment samples (include negative samples and positive samples) was 100%. Compared with the national average, there were no significant difference in CT value of positive samples of HBV-DNA (mixed test: $t=0.060$, $P=0.953$; split test: $t=-0.619$, $P=0.543$), HCV-RNA (mixed test: $Z=-0.378$, $P=0.705$; split test: $Z=-1.592$, $P=0.111$) and HIV-RNA (mixed test: $t=1.901$, $P=0.082$; split test: $t=-0.899$, $P=0.386$) ($P>$

基金项目:茂名市科技计划项目(210406194552019)

作者单位:茂名市中心血站检验科,广东,茂名525000

*通信作者:詹莉, E-mail: zhanli1802@163.com

0.05)。The CT value of negative samples was 45. Compared with roche system, the domestic blood nucleic acid detection system had the same result in testing 30 external quality assessment samples. **Conclusion** The main performance index of the domestic blood nucleic acid detection system can reach or exceed the performance declared by the manufacturer under the conditions of detection. The domestic blood nucleic acid detection system can meet the needs of blood screening in blood stations.

[KEY WORDS] Nucleic acid test; Blood screening; Performance verification

“窗口期”漏检、病毒变异和病毒隐匿性感染(免疫静默感染)等导致的输血传播疾病是输血安全的最大威胁^[1-2]。核酸检测技术(Nucleic Acid Technology, NAT)能更早检测到病毒核酸,在检测模式上与酶联免疫吸附测定法形成互补,可有效提高病毒变异、隐匿性感染的检出率,保障输血安全^[3-4]。目前我国核酸检测系统的主要性能参数由生产商在最理想的测试条件下生成和提供^[5],临床实验室在引入新的检测方法或检测系统时,需验证其在本实验室能否达到厂家声明的性能^[6-7]。本文主要对一种国产血液核酸检测系统(以下简称“该系统”)的精密度、抗交叉污染能力、灵敏度、抗干扰能力、样本保存稳定性及准确性进行评估。

1 材料与方法

1.1 标本来源

血源性筛查 HBV/HCV/HIV1 核酸血清液体质控品(HBV-DNA: 500 IU/mL; HCV-RNA: 2 500 IU/mL; HIV-RNA: 2 500 IU/mL), 购自广州邦德盛生物科技有限公司, 以下简称“质控品”。室间质评样本: 国家卫生健康委临床检验中心 2020 年第二次及 2021 年第一次、第二次采供血机构病毒核酸检测室间质量评价样本(共 30 例)。阳性样本: 使用质控品制备。阴性样本: 经 ELISA(两种不同厂家试剂)和核酸(NAT)检测均无反应性的样本。

1.2 仪器试剂

仪器: AFD4800 实时荧光定量 PCR 仪, 购自杭州安誉科技有限公司; DA3500S 全自动核酸提取仪, 购自广州达安基因股份有限公司。试剂: 乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒(1 型)核酸检测试剂盒(PCR-荧光法), 购自广州达安基因股份有限公司。真空静脉采血管(ESGT 管): 含 K₂EDTA 和分离胶, 购自韩国速压科技有限公司。

1.3 评估方法

1.3.1 精密度试验

将质控品稀释制备最高为 3 倍 LOD 值(HBV-DNA: 50 IU/mL; HCV-RNA: 300 IU/mL; HIV-RNA:

300 IU/mL)的阳性标本。每天以单检模式重复实验 4 次, 由不同人员连续检测 5 天, 记录并计算每个项目循环阈值(CT 值)的标准差和变异系数(CV 值), 与厂家 CV 值进行比较。

1.3.2 抗交叉污染试验

7 例阴性和 7 例阳性标本一阴一阳交叉排列, 以单检模式进行检测, 分析阴性和阳性样本的检出率符合情况。

1.3.3 灵敏度试验

将质控品稀释为两个浓度梯度: 第 1 梯度, HBV-DNA 系列浓度为 40.0、20.0、10.0、5.0、2.5 IU/mL, HCV-RNA 和 HIV-RNA 系列浓度为 200.0、100.0、50.0、25.0、12.5 IU/mL; 第 2 梯度, HBV-DNA 系列浓度为 100.0、50.0、20.0 IU/mL, HCV-RNA 和 HIV-RNA 系列浓度为 500.0、250.0、100.0 IU/mL。第 1 梯度以单检模式重复检测 10 次, 第 2 梯度以混检模式重复检测 10 次。

1.3.4 抗干扰性试验

溶血标本: 将一正常全血标本经 3 次洗涤制成血红蛋白浓度为 61 g/L 的溶血起始标本, 将其用纯水溶解为 10 g/L 和 5 g/L 作为溶血液起始浓度, 方案终浓度为 5 g/L 和 2.5 g/L。脂血标本: 参照 WS/T550-2017《全血及成分血质量监测指南》^[8]将稀释倍数作为乳糜指数来评价样本脂血程度。通过指数稀释方法确认一份脂血标本原浓度为指数 6, 再与稀释得到的指数 5 血浆同时作为起始浓度。质控品用已知浓度溶血和脂血标本稀释制备最高为 1 倍 LOD 值(HBV-DNA: 20 IU/mL; HCV-RNA: 100 IU/mL; HIV-RNA: 100 IU/mL)的阳性标本各 3 支, 同时设置空白对照组, 单检模式重复 3 孔检测。

1.3.5 样本保存稳定性试验

将质控品配制最高为 1 倍 LOD 阳性标本, 分装到 7 支 ESGT 管里, 编号 WDX1-1、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7; 其中 WDX1-1、1-2、1-3 号放置于 2~8℃ 保存超过 72 h, WDX1-4、1-5、1-6 放置 -20℃ 冷冻超过 72 h, WDX1-7 放置 2~8℃ 不超过 72 h(正常时效内), 以单检模式检测。

1.3.6 准确性试验

对30例室间质评样本进行混样(用正常样本进行8混样)及拆分检测,统计阳性和阴性样本符合率,分析各项目CT值是否处于国家卫生健康委临床检验中心给定的允许范围内。

1.3.7 与罗氏系统比较

该系统与罗氏系统同时对30例室间质评样本进行混样及拆分检测,比较两个不同检测系统的一致性。

1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行数据分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两两比较采用 t 检验或Mann-Whitney U检验。一致性评价采用Kappa一致性检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精密度试验结果

HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA重复检测的变异系数(CV)分别为1.88%、1.06%、1.58%,均优于厂家的CV值标准(5%以内)。见表1。

表1 该国产血液核酸检测系统精密度试验结果

Table 1 Repeatability test results of the domestic blood nucleic acid detection system

项目	n	CT值		
		均值	标准差	CV(%)
HBV-DNA(50 IU/mL)	20	31.99	0.60	1.88
HCV-RNA(300 IU/mL)	20	32.10	0.34	1.06
HIV-RNA(300 IU/mL)	20	33.52	0.53	1.58

2.2 抗交叉污染试验结果

阴性样本和阳性样本交叉排列单检结果显示,7例阴性样本的结果均为无反应性,阴性符合率100%;7例阳性质控样本(含HBV-DNA、HCV-RNA和HIV-RNA)的检测结果均为反应性,阳性符合率为100%。未出现检测样本之间的相互交叉污染情况。

2.3 检测灵敏度结果

单检灵敏度:HBV-DNA 2.5 IU/mL、HCV-RNA 12.5 IU/mL、HIV-RNA 12.5 IU/mL;混检灵敏度:HBV-DNA 20 IU/mL、HCV-RNA 100 IU/mL、HIV-RNA 250 IU/mL。

2.4 抗干扰性试验结果

溶血标本在5 g/L和2.5 g/L条件下对于阳性标本的检出影响不大,严重脂血标本对于HIV阳性检测值有影响,如指数6时会导致CT值延后。见表2。

表2 该系统对不同浓度溶血和脂血抗干扰能力验证结果

Table 2 Results of the system against hemolysis and lipid blood of different concentrations

项目	样本编号	CT值		
		HBV-DNA (20 IU/mL)	HCV-RNA (100 IU/mL)	HIV-RNA (100 IU/mL)
溶血(5 g/L)	RX1-1	34.42	33.44	34.20
	RX1-2	36.27	33.62	34.69
	RX1-3	34.60	35.00	34.44
溶血(2.5 g/L)	RX2-1	36.17	35.05	33.27
	RX2-2	35.47	34.34	34.77
	RX2-3	35.27	35.30	34.25
脂血(指数6)	ZX1-1	35.2	34.79	34.60
	ZX1-2	34.63	35.02	36.41
	ZX1-3	35.42	34.08	36.72
脂血(指数5)	ZX2-1	34.58	33.92	35.63
	ZX2-2	35.09	34.64	33.94
	ZX2-3	34.79	34.14	33.91

2.5 样本保存稳定性试验结果

2~8℃保存超过72 h,对HBV-DNA 20 IU/mL、HCV-RNA 100 IU/mL、HIV-RNA 100 IU/mL浓度标本的反应性检出影响不明显,HBV-DNA与HIV-RNA的CT值会有轻微延后。见表3。

表3 该系统样本保存条件稳定性试验结果

Table 3 Stability results of the system sample storage conditions

项目	样本编号	CT值		
		HBV-DNA (20 IU/mL)	HCV-RNA (100 IU/mL)	HIV-RNA (100 IU/mL)
2~8℃ ^a	WDX1-1	35.54	34.28	36.49
	WDX1-2	35.09	34.19	36.33
	WDX1-3	35.64	34.23	35.79
-20℃ ^b	WDX1-4	34.58	34.59	35.48
	WDX1-5	34.26	34.13	35.19
	WDX1-6	34.87	34.17	35.88
正常时效内 ^c	WDX1-7	34.43	34.46	34.50

注:^a2~8℃冷藏超过72 h,^b-20℃冷冻超过72 h,^c2~8℃冷藏不超过72 h。

2.6 准确性试验结果

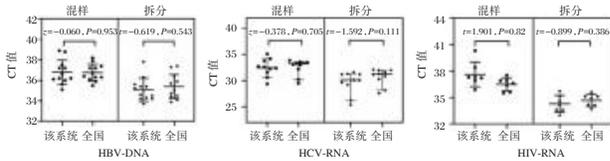
该系统对30例室间质评样本进行混样和拆分检测,HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA阳性和阴性样本检测符合率均为100%。见表4。阳性样本HBV-DNA(混样 $t=0.060$, $P=0.953$;拆分 $t=-0.619$, $P=0.543$)、HCV-RNA(混样 $Z=-0.378$, $P=0.705$;拆分 $Z=-1.592$, $P=0.111$)、HIV-RNA(混样 $t=1.901$, $P=0.082$;拆分 $t=-0.899$, $P=0.386$)的CT值与全国该试剂均值比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。见图1。阴性样本(含HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA)CT值均为45,与全国该试剂的阴性CT值完全一致。

表4 该系统混样和拆分检测阴阳性符合率

Table 4 Conformity rate of mixed sample and split test of the system

项目	混样		拆分		阳性符合率 ^a (%)	阴性符合率 ^a (%)
	阳性	阴性	阳性	阴性		
HBV-DNA	12	18	12	18	100	100
HCV-RNA	10	20	10	20	100	100
HIV-RNA	7	23	7	23	100	100

注：^a参考国家卫生健康委临床检验中心室间质量评价报告结果。



注：全国表示该试剂全国室间质评均值，数据来源于国家卫生健康委临床检验中心。

图1 该系统室间质量评价CT值与全国该试剂均值的比较

Figure 1 Comparison of the CT value between the system and the national average value in external quality assessment

2.7 与罗氏系统一致性

对30例室间质量评价样本进行混样和拆分检测,该系统与罗氏系统的检测结果完全一致。见表5。

表5 该系统与罗氏系统Kappa一致性检验

Table 5 Kappa consistency test of the system and roche system

项目	模式	该系统		罗氏系统		Kappa值	P值
		阳性	阴性	阳性	阴性		
HBV-DNA	混样/拆分	12	18	12	18	1.000	<0.001
HCV-RNA	混样/拆分	10	20	10	20	1.000	<0.001
HIV-RNA	混样/拆分	7	23	7	23	1.000	<0.001

3 讨论

核酸检测技术特异性和敏感性均高于血清学抗体检测技术,能更早检测到标本中极微量的病毒核酸,可显著缩短病毒感染检测“窗口期”^[9-10],规避因病毒变异、免疫静默感染以及人工操作错误而导致的漏检,使输血传播疾病的危险性降到最低^[11-12]。

循环阈值(CT值)为每个反应管内荧光信号达到设定阈值时所需循环数,是与病毒拷贝数线性相关的重要参数,本文使用CT值的变异系数来评价精密度。灵敏度可用系统能检测出目标物质的最小浓度来判断和评价^[13],故本文以单检和混检模式的最低检出浓度作为该国产系统单检和混检的灵敏度。

样本、设备、操作、试剂、产物和实验室环境等是核酸实验室主要污染来源,本文阳性样本属于高浓度核酸样本(LOD值的3~5倍),与阴性样本交叉排

列后以单检模式进行检测,旨在评价该系统在加样过程中的抗交叉污染能力,结果为阴性血浆均为非反应性,证实该系统具有较好的抗交叉污染能力。

参照WS/T550-2017《全血及成分血质量监测指南》^[8],指数 ≤ 2 为轻度脂血, $2 < \text{指数} \leq 5$ 为中度脂血,指数 > 5 为重度脂血。本文发现严重脂血标本(指数为6时)会导致HIV-RNA的CT值延后,可能与严重脂血标本易凝成胶冻乳糜状导致仪器加样不准确有关,也可能与脂肪颗粒阻隔和稀释标本病毒有关。

《血站技术操作规程(2019版)》^[14]:核酸检测样本加样前和加样后转移在2~8℃中保存,因特殊原因不能在72h内完成检测的标本应在-18℃以下冻存,所以本文在验证样本保存稳定性时,主要从2~8℃冷藏保存与-20℃冷冻保存(超过72h)两个方面进行评价。

在准确性验证中,本文主要从两个维度进行评价:一是通过国家卫生健康委临床检验中心室间质量评价,从阴阳性样本检测符合率(定性角度)和阴阳性样本CT值(定量角度)两个角度,与全国该系统进行比较和评价;二是与罗氏系统同时检测同一室间质评样本,分析比较两个系统检测结果的一致性。罗氏系统具有优异的灵敏度、准确度和可重复性已得到业内乃至国际的认可^[15],故本文选用罗氏系统作参比系统。

综上所述,本文证实了该国产血液核酸检测系统具有较优异的灵敏度、准确度、精密度、抗交叉污染能力、抗干扰能力和样本保存稳定性,各项指标在本实验室条件下均可达到或优于厂家声明的性能,能满足本站血液核酸检测需要。

参考文献

- [1] 周陆. 核酸检测技术在献血者血液筛查中的应用[J]. 临床检验杂志(电子版), 2020, 9(1): 188-189.
- [2] 赵菲. 开展核酸检测后南阳地区献血者HBV/HCV/HIV检测结果分析[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(5): 513-515.
- [3] 陈红霞. ELISA联合NAT技术在献血者血液筛查和输血残余风险分析中的应用[J]. 广州医药, 2020, 51(6): 117-119.
- [4] 蒋祺. 酶联免疫吸附试验、核酸扩增技术检测在无偿献血者血液筛查中的应用[J]. 临床医学, 2020, 40(7): 82-84.
- [5] 郑旭焱. 一种国产血液核酸检测系统的性能验证研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1): 44-48.
- [6] 黄华霖, 郑欣, 曾劲峰. 某型血液筛查核酸检测扩增系统方法学性能验证评价[J]. 中国输血杂志, 2021, 34(2): 128-131.
- [7] 赵春城, 张珺珂, 陈强, 杨洪岗. 核酸检测系统确认方法探讨[J]. 云南医药, 2017, 38(4): 389-391. (下转第449页)

PDCA 循环在优化感染性疾病核酸检测 TAT 时间中的应用

李穗雯¹ 杨悦林¹ 钱净^{1*} 史琼华¹ 刘蕊² 赵妍¹ 赵晓丽¹ 朱卫书¹

[摘要] 目的 应用 PDCA 循环管理缩短感染性疾病核酸检测报告 TAT 时间。方法 利用 PDCA 循环方法,分析影响核酸检测 TAT 时间的原因,制定改进目标,本次 PDCA 改进目标确定为 TAT 时间 ≤ 6 小时,制定人员、工作模式、仪器配置、试剂四个方面的改进措施并执行,利用改进前后 TAT 数据进行效果分析,评价改进措施的有效性。结果 执行改进措施后病原体核酸检测 TAT 时间低于改进前,差异有统计学意义($Z=-76.53, P<0.05$)。执行改进措施前后样本 TAT 达标率比较,差异有统计学意义($\chi^2=3\ 116.557, P<0.05$)。2021 年 11 月~12 月改进后,仍然有 8 593 份样本 TAT 时间超过 6 小时,其中样本多、样本复查是造成 TAT 超时的主要原因,分别占超时原因比例的 60.53% 和 28.60%。计划阶段制定的改进措施有效。样本多造成的超时主要反映的是工作人员数量及设备不足、送样不及时造成样本堆积的问题。样本复查的原因主要是异常扩增曲线及内标扩增曲线阴性样本的复查,造成这两种扩增结果的原因较多,其中人员操作熟练程度及对整个检测过程质控点的把控程度是重要原因。结论 应用 PDCA 循环管理从核酸检测人员、工作模式、仪器配置、检测试剂四个方面进行改进,可以有效缩短核酸检测 TAT 时间。

[关键词] 戴明环; 核酸检测; 检验结果回报时间

Application of PDCA cycle in optimizing Turn-Around-Time (TAT) of nucleic acid detection for infectious diseases

LI Suiwen¹, YANG Yuelin¹, QIAN Jing^{1*}, SHI Qionghua¹, LIU Rui², ZHAO Yan¹, ZHAO Xiaoli¹, ZHU Weishu¹
(1. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital, Kunming, Yunnan, China, 650000;
2. Nursing Department, the First People's Hospital, Kunming, Yunnan, China, 650000)

[ABSTRACT] **Objective** To apply PDCA cycle management to shorten the Turn-Around-Time of infectious disease nucleic acid test. **Methods** The PDCA cycle method was used to analyze the reasons that affect the TAT of nucleic acid detection and establish improvement goals. The PDCA improvement goal is determined to be TAT ≤ 6 hours. The improvement measures from four aspects of personnel, working mode, instrument configuration and reagent were formulated and implemented. **Results** After the improvement measures were implemented, the TAT time of pathogen nucleic acid detection was lower than that before the improvement, and the difference was statistically significant ($Z=-76.53, P<0.05$). There was a statistically significant difference in the TAT compliance rate of samples before and after implementing the improvement measures ($\chi^2=3\ 116.557, P<0.05$). After the improvement from November to December 2021, there are still 8 593 samples whose TAT time exceeds 6 hours. Among them, the large number of samples and sample re-examination are the main reasons for TAT overtime, accounting for 60.53% and 28.60% of the overtime reasons respectively. The improvement measures formulated in the planning phase are effective. The overtime caused by too many samples mainly reflects the problem of accumulation of samples caused by insufficient number of

作者单位:1. 昆明市第一人民医院检验科, 云南, 昆明 650000

2. 昆明市第一人民医院护理部, 云南, 昆明 650000

*通信作者:钱净, E-mail: rmyyqj@163.com

staff and equipment, and the untimely delivery of samples. The main reasons for sample re-examination are the re-examination of abnormal amplification curves and internal standard amplification curves of negative samples. There are many reasons for these two types of amplification results, among which the operational proficiency of the personnel and the degree of control over the quality control points of the entire detection process is an important reason. **Conclusion** Applying PDCA cycle management to improve the four aspects of nucleic acid testing personnel, working mode, instrument configuration, and testing reagents can effectively shorten the TAT time of nucleic acid testing.

[KEY WORDS] PDCA; Nucleic acid detection; Turn-Around-Time

感染性疾病是临床常见的疾病类型,引发感染性疾病的病原体种类繁多,如何对感染性疾病进行早期诊断是临床亟待解决的实际问题。感染性疾病的诊断除了依据临床表现外,更主要的是病原学的诊断。与传统常规病原体检测方法相比,病原体核酸检测灵敏度高、特异性好、稳定性强,是目前临床应用较好的病原体检测方法。TAT(Turn-Around-Time)即检验结果回报时间,是指从医嘱申请到结果发送时间的整个过程,可以分为三个部分:①申请至采样时间;②采样至核收时间;③标本核收至结果发送时间,是评价实验室检测服务能力及质量的重要指标^[1-3]。PDCA循环是全面质量管理的工具之一,按照计划(Plan)、执行(Do)、检查(Check)、总结改进(Action)四个阶段来进行活动,促进质量的全面改善^[4]。本研究拟应用PDCA循环管理对病原体核酸检测进行全流程优化,旨在缩短病原体核酸检测报告TAT,提升实验室的检测能力,为临床及受检者提供快速、精准的报告。

1 资料与方法

1.1 一般资料

为了有效缩短核酸检测报告TAT,检验科分子诊断组于2021年11月开始开展流程优化活动。通过实验室信息系统(Laboratory Information System, LIS)收集昆明市第一人民医院2021年9月至2021年12月门诊病原体核酸样本检测报告

数据,随机抽取PDCA活动前标本(2021年9月~10月)21 498例,PDCA执行改进措施阶段标本(2021年11~12月)32 732例。

1.2 方法

1.2.1 计划阶段

检验科成立PDCA改进小组,对核酸实验室工作人员进行“影响病原体核酸检测TAT时间因素”问卷调查,结合检验科质量管理小组掌握的病原体核酸样本检测的基础数据,分析影响病原体核酸检测TAT的因素。见图1。

基于影响病原体核酸检测TAT原因分析结果,制定TAT改进措施,并在2021年11-12月执行。(①人员:增加核酸检测组工作人员。②工作模式:增加排班班次,延长日常工作时间,每班次由一名熟练人员统筹协调该班次的检测工作。增加送样频次,缩短时间间隔。③仪器配置:增加96通道核酸提取仪1台、96通道核酸扩增仪2台,仪器设备增加后,实验室核酸提取仪为5台,PCR扩增仪为7台。④试剂:增加两种较原试剂扩增时间更短的试剂,用于复查及急查样本。确定本次PDCA改进的目标为“采样-结果发送TAT时间”≤6小时。大部分门诊患者是通过医院公众号进行核酸检测预约申请,申请-采样TAT不可控,未计入TAT时间。部分样本存在先检测后录入LIS系统的情况,核收时间点不准确,未划分“采样-核收TAT”、“核收-审核TAT”。

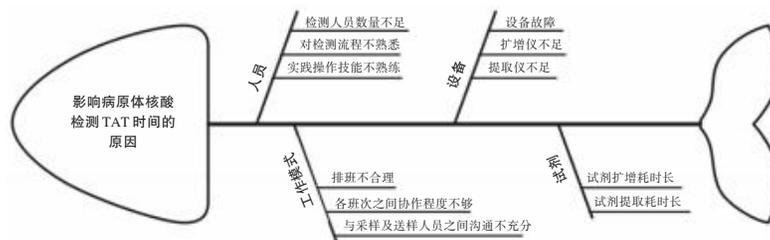


图1 影响病原体核酸检测TAT时间因素分析鱼骨图

Figure 1 Analysis of the factors that affecting pathogen nucleic acid detection TAT

1.2.2 执行阶段

在2021年11~12月执行计划阶段制定的提升病原体核酸检测TAT的工作措施。

1.2.3 检查及改进阶段

以2021年9~10月PDCA活动前病原体核酸检测TAT为对照,总结2021年11~12月执行阶段病原体核酸TAT实际情况,制定下一阶段的工作目标及改进措施。

1.3 统计学处理

采用SPSS 23.0进行数据分析;TAT时间以中位数(范围)表示,采用Mann-Whitney U检验进行组间比较,TAT达标率使用卡方检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检查PDCA计划改进措施实施效果

2.1.1 执行改进措施前后病原体核酸检测TAT时间比较

执行改进措施后病原体核酸检测TAT时间低于改进前,差异有统计学意义(Z 值=-76.53, $P < 0.05$)。见表1。

表1 执行改进措施前后病原体核酸检测TAT时间比较
[M(P25, P75)]

组别	TAT时间
改进前	360.0(308.0, 431.0)
改进后	315.0(274.0, 363.0)
Z值	-76.53
P值	<0.001

2.1.2 执行改进措施前后病原体核酸检测TAT时间达标率

以改进目标TAT=360 min作为达标时间,执行改进措施前后样本TAT达标率比较,差异有统计学意义($\chi^2=3116.557$, $P < 0.05$)。见表2。

2.2 执行阶段样本超时原因分析

2021年11月~12月改进后,仍然有8 593份样本TAT时间超过6小时,其中样本多、样本复查是造成TAT超时的主要原因,分别占超时原因比例的

表2 执行改进措施前后病原体核酸检测TAT达标率的比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of TAT compliance rate of nucleic acid test after executed of improved measures [n(%)]

分组	n	TAT不达标率	TAT达标率
改进前	21 498	10 687(49.71)	10 811(50.29)
改进后	32 732	8 593(26.25)	24 139(73.75)
χ^2 值			3116.557
P值			<0.001

60.53%和28.60%。具体TAT超时原因果见表3。

2.3 对执行阶段情况数据的检查及分析

执行改进后各项数据说明在计划阶段制定的改进措施有效。样本多造成的超时主要反映的是工作人员数量及设备不足、送样不及时造成样本堆积的问题。样本复查的原因主要是异常扩增曲线及内标扩增曲线阴性样本的复查,造成这两种扩增结果的原因较多,其中人员操作熟练程度及对整个检测过程质控点的把控程度是重要原因。

3 讨论

快速而精准的感染性疾病病原学诊断是患者得到有效治疗的前提条件。本文尝试通过PDCA质量管理工具提升感染性疾病病原体核酸检测TAT时间,更好的满足临床医生及患者的需求。

在“P(计划)、D(执行)”阶段,根据PDCA小组掌握的影响病原体核酸检测TAT时间因素,对检测人员、工作模式、检测设备、检测试剂四个方面进行分析制定相应措施并执行。①检测人员:主要涉及到人员数量及技能熟练程度两方面。本院检验科下设多个专业组,每个专业组按日常工作量及岗位设置人员数量且相对固定。在突发公共卫生事件有大量核酸检测的需求,PCR组人员数量有缺口,为应对此种情况,检验科执行双轨制人员工作模式,即定岗在其他专业组的工作人员,应急安排到PCR组工作。由此引发的问题是人员技能操作熟练程度不足会影响检测速度,为此对轮岗人员安排了“核酸检测轮转计划”基础培训,组建合格的后备人员库。加强人员业务素养并双轨制排班是有效的满足日常工作与应急状况下人

表3 执行阶段TAT超过6小时样本原因分析 [n(%)]

Table 3 The Cause analysis of TAT over 6 hours samples [n(%)]

超时样本	n	超时原因					
		样本复查	样本多	仪器原因	试剂原因	审核原因	其他
数量	8 593	2 458(28.60)	5 201(60.53)	383(4.46)	356(4.14)	153(1.78)	42(0.49)

力资源需求的策略^[5]。②工作模式:主要涉及到排班班次、班次交接、实验室与采样点对接三方面。对每个送样时段的样本数量进行统计分析,增加排班班次是有效缩短样本检验前至检测中 TAT 的策略。每个班次间高效且清晰明确的工作交接班也可以减少检测时间的损耗。PCR 的技术及 PCR 扩增仪的特点决定了核酸批量化检测是高效的检测策略,在采样点会有一些样本积压的问题,及时了解采样点样本采集数量,灵活调整送样频率,让送检样本与实验室人员与仪器数量匹配,可以减少采样点样本积压及避免瞬时大量样本对 TAT 的影响^[6]。③检测设备:主要涉及核酸提取仪及核酸扩增仪。增加设备数量可以减少样本上机检测等待时间缩短 TAT。具体增加的核酸检测设备配置数量应考量医院的区域内功能定位、日门急诊量、日核酸检测量等因素,同时应明确核酸检测流程的各个环节,并确定各环节在实际工作中所占用的具体时间,以此作为各类设备配备比例的依据^[7-8]。④试剂:不同厂家的提取试剂及检测试剂耗时不同,对于样本量大的检测的项目,在保证试剂性能的基础上,选择用时短的 1~2 种试剂有效缩短整个检测流程。同时实验室使用多种试剂,一是有利于样本复查;其次在实验室其中一种试剂发生阳性扩增物污染时,去除污染原因后,可使用另一种试剂进行检测,尽可能不影响检测工作的运行。

在“C(检查)A(总结改进)”阶段,执行措施改进前后 TAT 时间、TAT 达标率两个指标评价说明“P(计划)、D(执行)”分析制定并执行的改进措施的有效性,同时分析执行改进措施后,造成样本 TAT 时间仍不达标的原因,为下一轮 PDCA 活动做准备。

本研究应用 PDCA 循环对核酸检测样本 TAT 优化有效,分析检测流程中影响 TAT 时间的因素并制定针对性改进措施,为降低核酸检测 TAT 时间提

供了有效依据。但本研究为单中心的回顾性研究,研究结果不能反应其他医院的情况,同时研究内容有一定的局限性,比如没有细化“申请-采样 TAT”,“采样-核收 TAT”,“核收-审核 TAT”,具体划分 TAT 以后,可以更精确的分析影响每一段 TAT 的时间因素并提出措施^[9-10]。今后研究将在新一轮 PDCA 活动中,解决这些不足之处。通过 PDCA 法循环促进病原核酸检测 TAT 管理逐步走向科学化、规范化和常态化,从而实现管理质量的持续改进。

参考文献

- [1] 熊志刚,费阳,王旭,等. 临床检验急诊血常规标本周转时间分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(1):40-43.
- [2] 鱼丽娟,曹三成,吴守振. 等应用 PDCA 缩短生化检验实验室内周转时间[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(18):2757-2759+2764.
- [3] 谢小娟,李小侠,王晶,等. 陕西省临床实验室标本周转时间调查[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(3):206-210.
- [4] William Edwards Deming. 戴明论质量管理[M]. 海口:海南出版社, 2003:223-289.
- [5] 王玉梅,刘义兰,熊莉娟,等. 项目管理视角下综合医院应对全员核酸检测采样的护理人力资源应急管理[J]. 护理学杂志, 2022, 37(5):48-51.
- [6] 赵多爱,周蕾,赵文霞,等. 运行 ISO 15189 提高基层医院急诊 TAT 的管理水平[J]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2020, 8(2):118-121.
- [7] 徐恒,许锋. 疫情期间医院核酸检测设备配置及标准探讨[J]. 医院管理论坛, 2021, 38(12):81-83+87.
- [8] 李青云,孙晓明,徐英,等. 引入 PDCA 循环在医疗设备精细化全程管理中的应用价值[J]. 中国医药导报, 2022, 19(4):161-165.
- [9] 黄金凤,欧尽南,李乐之,等. 基于 1M3S 的 PDCA 循环管理模式在血液科输血护理质量改进中的应用[J]. 中国护理管理, 2019, 19(6):929-933.
- [10] 唐丽皎,刘小柳,莫红梅. 应用 PDCA 循环法提高急诊检验项目全程 TAT 达标率[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(1):31-34.
- [8] WS/T550-2017,全血及成分血质量监测指南[S]. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2017.
- [9] 侯云,冯秋霞,杨忠思. cobas s201 核酸混样检测系统性能确认研究[J]. 中国医疗器械信息, 2019, 25(22):1-2.
- [10] 危燕芬. 酶联免疫检测技术与核酸检测技术在血液筛查中的对比分析[J]. 泰山医学院学报, 2018, 39(7):763-765.
- [11] 樊新艳. 核酸检测在血液筛选中的应用研究[J]. 山西职工医学院学报, 2019, 29(1):23-25.
- [12] 庞文静,赵素萍,杜勤. 核酸检测技术应用于血站献血者血液筛查中的价值[J]. 中国农村卫生, 2017, 126(24):85.
- [13] 潘细牙,胡红梅. 医学检验检测系统的性能评价及优化建议[J]. 临床检验杂志(电子版), 2018, 7(3):567.
- [14] 国家卫生健康委员会. 血站技术操作规程(2019版),国卫医函[2019]98号.
- [15] 戎国栋,赵鸿,吴蕾,等. 全自动核酸提取检测仪选择和评价方案的建立和应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(3):233-237.

(上接第 445 页)

CKMB、cT-nT、NT-proBNP联合检测在NSCLC并发心力衰竭患者病情评估、预后中的价值

黄杭镇 施晓军*

[摘要] **目的** 分析心肌酶谱(CKMB)、肌钙蛋白T(CcTnT)、N-末端利钠肽前体(NT-proBNP)联合检测在非小细胞肺癌(NSCLC)并发心力衰竭患者病情评估、预后中的价值。**方法** 选取2019年6月至2021年6月上海市奉贤区中心医院收治的124例NSCLC患者,采用双向侧流免疫法检测血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP水平,对比NSCLC有无心力衰竭患者血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP水平、比较不同心功能分级血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP水平及三项指标单独诊断与联合诊断的预后价值,观察NSCLC并发心力衰竭患者预后情况,分析血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP与NSCLC并发心力衰竭相关性。**结果** 根据是否伴有心力衰竭将NSCLC患者分为NSCLC组(85例)和NSCLC并发心力衰竭组(39例),NSCLC并发心力衰竭组CKMB、cT-nT、NT-proBNP水平高于NSCLC组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。NSCLC并发心力衰竭组Ⅳ级CKMB、cT-nT、NT-proBNP水平均高于Ⅱ、Ⅲ级;Ⅲ级CKMB、cT-nT、NT-proBNP水平均高于Ⅱ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。通过多因素分析得知:年龄、吸烟史、临床病理分期、肺部感染、心功能分级、血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP为影响NSCLC并发心力衰竭的预后因素($P < 0.05$)。CKMB、cT-nT、NT-proBNP联合诊断的敏感度、特异度分别高于CKMB、cT-nT、NT-proBNP单独检测($P < 0.05$)。Pearson相关性分析显示,血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP与NSCLC并发心力衰竭呈正相关($r_{CKMB}=0.697, r_{cT-nT}=0.713, r_{NT-proBNP}=0.726, P$ 均 < 0.001)。**结论** 血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP联合检测可提高NSCLC并发心力衰竭诊断价值,能够有效评估病情严重程度,可作为患者预后判断的重要指标。

[关键词] CKMB; cT-nT; NT-proBNP; NSCLC; 心力衰竭

Value of combined detection of CKMB, cT-nT and NT-proBNP in the evaluation and prognosis of patients with NSCLC complicated with heart failure

HUANG Hangzhen, SHI Xiaojun*

(Department of Emergency Medicine, Shanghai Fengxian District Central hospital, Shanghai, China, 201406)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the value of combined detection of CreatineKinase-MB (CKMB), Cardiac troponinT (cTnT), N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in the evaluation and prognosis of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) complicated with heart failure. **Methods** A total of 124 NSCLC patients admitted to Shanghai Fengxian District Central Hospital from June 2019 to June 2021 were selected, and the two-way lateral flow immunoassay was used to detect serum levels of CKMB, cT-nT and NT-proBNP, and the serum levels of CKMB, cT-nT, NT-proBNP in NSCLC patients with to compare the levels of serum CKMB, cT-nT and NT-proBNP in different cardiac function grades and without heart failure, and the prognostic value of the three indicators alone and combined diagnosis were compared, the prognosis of patients with NSCLC complicated with heart failure was observed, and the relationship between serum CKMB, cT-nT, NT-proBNP and NSCLC complicated with heart failure was analyzed. **Results** NSCLC patients were divided into the NSCLC group (85 cases) and NSCLC complicated with heart failure

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(19411971715)

作者单位:上海市奉贤区中心医院急诊医学科,上海 201406

*通信作者:施晓军, E-mail:438009246@qq.com

group (39 cases) according to whether they were accompanied by heart failure. The levels of CKMB, cT-nT and NT-proBNP in the NSCLC complicated with heart failure group were higher than those in the NSCLC group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of CKMB, cT-nT and NT-proBNP in grade IV of NSCLC complicated with heart failure were higher than those in grade II and III. The levels of CKMB, cT-nT and NT-proBNP in class III were higher than those in class II, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that age, smoking history, clinicopathological stage, lung infection, cardiac function classification, serum CKMB, cT-nT, NT-proBNP were prognostic factors affecting NSCLC complicated with heart failure ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of combined diagnosis of CKMB, cT-nT and NT-proBNP were higher than those of CKMB, cT-nT and NT-proBNP alone ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum CKMB, cT-nT and NT-proBNP were positively correlated with NSCLC complicated with heart failure ($r_{CKMB}=0.697$, $r_{cT-nT}=0.713$, $r_{NT-proBNP}=0.726$, $P<0.001$).

Conclusion The combined detection of serum CKMB, cT-nT and NT-proBNP can improve the diagnostic value of NSCLC complicated with heart failure, can effectively evaluate the severity of the disease, and can be used as an important indicator for the prognosis of patients.

[KEY WORDS] CKMB; cT-nT; NT-proBNP; NSCLC; Heart failure

由于发病机制和临床表现的差异,肺癌可有多种表现类型,其中非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)是较为常见的病理类型,该病患者早期无明显临床表现,随着疾病的进展可出现胸部胀痛、血痰、咳嗽及呼吸困难等症状^[1-2]。肺部疾病引起的摄氧量不足不仅仅会使得心脏供血的右心压力增大导致病变,同时也会损伤左心室,进一步引发心力衰竭^[3-4]。因此,密切监测 NSCLC 预后,明确相关指标对于病情的发展十分重要。心肌酶谱(Creatine Kinase-MB, CKMB)与肌钙蛋白 T(Cardiac troponin T, cTnT)能有效反映心肌缺血、坏死情况及细胞膜通透性,被广泛使用于心肌损伤的诊断中,在心脏疾病的早期诊断、治疗评估以及危险分层中具有重要价值^[5-6]。N-末端利钠肽前体(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)为心室肌细胞合成、分泌的肽类激素,目前已知心力衰竭时,心室残余血量增加,心室肌细胞受牵张刺激,可增加 NT-proBNP 合成,NT-proBNP 在临床中是心力衰竭的生物标志物之一^[7-8]。本研究主要针对 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 联合检测在 NSCLC 并发心力衰竭患者病情及预后评估中的应用效果进行分析,具体报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 6 月至 2021 年 6 月上海市奉贤区中心医院收治的 124 例 NSCLC 患者。其中男 78 例,女 46 例,年龄 41~87 岁,平均年龄为(61.92±

6.57)岁。研究经院医学伦理委员会批准通过,患者或家属已签署知情同意书。

纳入标准:①符合 NSCLC 诊断标准者^[9];②临床及实验室资料完整者;③凝血功能正常者;④肝肾功能正常者。排除标准:①合并其他恶性肿瘤疾病者;②免疫功能障碍者;③存在抑制病史者;④在入组前未接受任何抗肿瘤治疗者。

1.2 方法

所有研究对象晨起抽取空腹外周静脉血 8 mL,均经离心处理(3 000 r/min,离心半径 8 cm,离心时间 10 min)后收集上层血清,置于-70℃的冰箱中待检。CKMB、cT-nT、NT-proBNP 均采用博雅 SJK-2 多功能免疫检测仪,采用双向侧流免疫法进行监测,试剂盒均采用仪器配套试剂盒进行,操作流程均按照说明书进行。

1.3 观察指标

①统计 NSCLC 并发心力衰竭患者情况,心力衰竭符合《中国心力衰竭诊断与治疗指南 2018 年》^[10]的诊断标准。②对比 NSCLC 组与 NSCLC 并发心力衰竭组血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平。③比较不同心功能分级^[11]血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平。④经随访 12 个月,根据 NSCLC 并发心力衰竭患者治疗后的不同预后情况,将其分为预后良好组(病情未加重,无死亡、转移)和预后不良组(病情加重,死亡、出现转移),分析血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平与 NSCLC 并发心力衰竭预后因素。⑤分析 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 单独诊断与联合诊断对于

NSCLC 并发心力衰竭预后价值。⑥分析血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 与 NSCLC 并发心力衰竭相关性。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 统计软件进行统计学分析, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间均数用独立样本 *t* 检验, 计数资料采用 *n*(%) 表示, 用 χ^2 检验, 采用 Pearson 相关性进行分析血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 与 NSCLC 并发心力衰竭相关性, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 并发心力衰竭患者情况

经过统计随访资料, 本研究纳入 NSCLC 患者 124 例, 根据是否伴有心力衰竭将其分为 NSCLC 组和 NSCLC 并发心力衰竭组, 其中 NSCLC 组 85 (68.55%) 例, NSCLC 并发心力衰竭组 39 (31.45%) 例。

2.2 NSCLC 组与 NSCLC 并发心力衰竭组血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平

NSCLC 并发心力衰竭组 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平高于 NSCLC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 NSCLC 组与 NSCLC 并发心力衰竭组血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Serum CKMB, cT nT, NT proBNP levels in NSCLC group and NSCLC group with heart failure $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	CKMB (ng/L)	cT-nT (μ g/L)	NT-proBNP (ng/L)
NSCLC 组	85	4.37±0.78	0.21±0.05	583.56±9.37
NSCLC 并发心力衰竭组	39	6.06±1.04	0.47±0.08	697.56±9.56
<i>t</i> 值		10.051	22.057	62.509
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同心功能分级血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平

经统计, II 级患者 13 例, III 级患者 12 例, IV 级患者 14 例。NSCLC 并发心力衰竭组 IV 级 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平均高于 II、III 级; III 级 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平均高于 II, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平与 NSCLC 并发心力衰竭预后因素分析

根据 NSCLC 并发心力衰竭患者治疗后的预后

表 2 NSCLC 并发心力衰竭组不同心功能分级血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Serum CKMB, cT-nT and NT-proBNP levels in NSCLC patients with heart failure at different cardiac function grades $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	CKMB (ng/L)	cT-nT (μ g/L)	NT-proBNP (ng/L)
II 级	13	5.02±0.61	0.27±0.09	603.71±9.24
III 级	12	6.13±1.27 ^a	0.42±0.11 ^a	688.19±9.93 ^a
IV 级	14	6.96±1.55 ^{ab}	0.69±0.27 ^{ab}	792.73±10.64 ^{ab}
<i>F</i> 值		8.58	18.75	1218.25
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

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

情况 (有无出现转移、病情加重或死亡), 将 39 例 NSCLC 并发心力衰竭患者分为预后良好组 21 (53.85%) 例、预后不良组 18 (46.15%) 例。通过因素分析得知: 年龄、吸烟史、临床病理分期、肺部感染、心功能分级、血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 为影响 NSCLC 并发心力衰竭的预后因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 水平与 NSCLC 并发心力衰竭预后因素分析 [*n*(%), $(\bar{x} \pm s)$]

Table 3 Analysis of serum CKMB, cT-nT, NT proBNP levels and prognostic factors of NSCLC complicated with heart failure [*n*(%), $(\bar{x} \pm s)$]

因素	预后良好组 (<i>n</i> =21)	预后不良组 (<i>n</i> =18)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值	
性别	男	12 (57.14)	0.958	0.328	
	女	9 (42.86)			5 (27.78)
年龄 (岁)	≥60	6 (28.57)	4.174	0.041	
	<60	15 (71.43)			7 (38.89)
吸烟史	有	8 (38.10)	6.207	0.013	
	无	13 (61.90)			4 (22.22)
临床病理分期	I、II	16 (76.19)	13.745	<0.001	
	III、IV	5 (23.81)			15 (83.33)
高血压	有	11 (52.38)	0.818	0.366	
	无	10 (47.62)			6 (33.33)
高脂血症	有	5 (23.81)	1.035	0.309	
	无	16 (76.19)			11 (61.11)
肺部感染	有	7 (33.33)	12.364	<0.001	
	无	14 (66.67)			2 (11.11)
心功能分级	I、II 级	9 (42.86)	6.709	0.010	
	III、IV 级	12 (57.14)			3 (16.67)
CKMB (ng/L)		5.37±1.01	6.86±1.03	4.551	<0.001
cT-nT (μ g/L)		0.42±0.05	0.52±0.09	4.371	<0.001
NT-proBNP (ng/L)		657.56±9.14	744.22±9.44	29.075	<0.001

2.5 血清 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 及三者联合检测的预后价值

CKMB、cT-nT、NT-proBNP 联合诊断的敏感度、特异度分别高于 CKMB、cT-nT、NT-proBNP 单独检测 ($P < 0.05$)。见表 4。

表4 血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP及三者联合检测的预后价值

Table 4 Prognostic value of serum CKMB, cT-nT, NT-proBNP and their combined detection

指标	回归系数	wald χ^2 值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	OR(95% CI)值
CKMB	0.768	7.137	75.35	78.21	1.013(0.761~1.762)
cT-nT	0.728	7.035	74.22	76.09	1.448(0.628~2.031)
NT-proBNP	0.725	7.239	71.69	77.42	1.229(0.769~2.388)
三者联合检测	0.893	8.623	82.44	85.64	2.829(1.012~2.693)

2.6 血清CKMB、cT-nT、NT-proB与NSCLC并发心力衰竭相关性

血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP与NSCLC并发心力衰竭呈正相关(P 均 <0.001)。见表5。

表5 血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP与NSCLC并发心力衰竭相关性分析

Table 5 Correlation analysis of serum CKMB, cT-nT, NT-proBNP and NSCLC complicated with heart failure

类别	r 值	P 值
CKMB	0.697	<0.001
cT-nT	0.713	<0.001
NT-proBNP	0.726	<0.001

3 讨论

田艳珍等^[12]发现,当发生心力衰竭时,体内血液动力学发生改变,利钠肽系统被激活,引起BNP合成和分泌增加,随之NT-proBNP水平不断升高。本研究中的NSCLC并发心力衰竭患者中NT-proBNP水平大幅度升高,其含量与NSCLC并发心力衰竭病情发展呈正相关,与田艳珍等^[12]研究结果一致。据曾文莉等^[13]研究显示,cT-nT是目前最好的心肌损伤标志物,其在预测梗死面积、评估溶栓效果,鉴别不稳定心绞痛等多个领域有重要价值。CKMB是心肌功能生化诊断方面较为常用的指标,但由于CKMB并非心脏所特有,在正常人骨骼中也有少量存在,且在心肌梗死发生4~8h后才开始升高,持续时间较短,在临床单独应用易受限制,临床常与cT-nT与CKMB联合使用。以往研究显示,NT-proBNP、cT-nT与CKMB水平在心功能分级中呈阶梯式升高^[14]。本研究结果显示,在NSCLC并发心力衰竭患者中cT-nT与CKMB含量出现不同程度升高,且随着心功能分级越高,血清CKMB、cT-nT水平随之上升,其水平与病情的严重程度密切相关,均呈正

相关,表明两者对于NSCLC病情的评估具有重要的应用价值。

本研究显示年龄、吸烟史、临床病理分期、肺部感染、心功能分级、血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP为影响NSCLC并发心力衰竭的预后因素。其原因可能为:年龄越大患有冠心病及慢阻肺的几率越大;存在吸烟的NSCLC患者患有心血管疾病的风险会增加,进而诱发心衰;肺部感染可直接损害心肌,加重心脏负荷;NSCLC临床病理分期越高以及心功能分级越高的患者,会加快患者病情进展,影响预后恢复。同时心力衰竭时,会导致心肌损伤,而心肌损伤发生改变会导致受损细胞膜失去其作为生物半透膜特性;而CK-MB作为心肌来源的同工酶,当心肌受损时,心肌细胞膜通透性随之变化,血浆中心激酶活性增加,其水平也随之上升;心肌受到各种损伤时,心肌内cT-nT易释放至血液内,cT-nT水平越高,则心肌坏死的程度越重、范围越大;NT-proBNP作为BNP前体裂解形成的无生物活性物质,在血浆中不易降解,当心力衰竭负荷增大则心肌细胞合成,分泌NT-proBNP含量也显著上升。再次间接证实血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP与心力衰竭病情变化具有相关性,通过检测上述指标对于心力衰竭治疗及预后具有重要意义^[15]。另一方面,血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP三者联合检测对于NSCLC并发心力衰竭的价值显著高于单一指标检测,其敏感性与特异性均明显升高,说明三者联合检测更有利于NSCLC并发心力衰竭患者病情评估及预后分析。

综上所述,血清CKMB、cT-nT、NT-proBNP联合检测可提高NSCLC并发心力衰竭诊断价值,能够有效评估病情严重程度,可作为患者预后判断的重要指标。

参考文献

- [1] Dou L, Han K, Xiao M, et al. miR-223-5p Suppresses Tumor Growth and Metastasis in Non-Small Cell Lung Cancer by Targeting E2F8[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(2):261-268.
- [2] 张漓, 张靖, 王渊, 等. 榄香烯注射液辅助顺铂方案在非小细胞肺癌术后患者中的疗效及对错配切割修复蛋白表达的影响[J]. *河北医学*, 2019, 25(1):70-75.
- [3] Takada K, Shimokawa M, Akamine T, et al. Association of Low Body Mass Index With Poor Clinical Outcomes After Resection of Non-small Cell Lung Cancer[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(4):1987-1996.

(下转第458页)

早期康复训练对脑梗死偏瘫患者神经功能及 PI3K/AKT 信号通路的影响

谢永权* 郭书玲 谢桂芬

[摘要] **目的** 研究早期康复训练对脑梗死偏瘫患者神经功能及 PI3K/AKT 信号通路的影响。**方法** 选择 2020 年 1 月至 2021 年 6 月期间遵化市人民医院收治的 113 例脑梗死偏瘫患者作为研究对象,根据康复训练起始时间分为进行早期康复训练的观察组($n=51$ 例)、进行常规康复训练的对照组($n=62$ 例)。入院时及起病后 2 周时,进行功能独立性测评(FIM)、Fugl-Meyer 测评(FMA)、改良 Barthel 指数测评(MBI);检测生化指标谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、血肌酐(Scr)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC),外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平,血清脑源性神经营养因子(BDNF)、血管内皮生长因子(VEGF)含量;随访起病后 1 年内脑梗死累积复发情况。**结果** 起病后 2 周时,观察组的 FIM 评分、FMA 评分、MBI 评分、外周血 p-PI3K 及 p-AKT 表达水平、血清 BDNF 及 VEGF 含量均高于对照组,差异有统计学意义($t=6.623, 10.383, 9.932, 19.394, 24.582, 10.932, 8.958, P<0.05$), ALT、AST、Scr、TC、TG 与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);起病后 1 年内进行随访,观察组的脑梗死累积复发率低于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.529, P<0.05$)。**结论** 早期康复训练改善脑梗死偏瘫患者的神经功能及预后,激活 PI3K/AKT 通路,增加 BDNF 及 VEGF 生成与这一改善作用相关。

[关键词] 脑梗死;偏瘫;早期康复训练;PI3K/AKT 信号通路

Effect of early rehabilitation training on nerve function and PI3K / AKT signal pathway in patients with cerebral infarction complicated with hemiplegia

XIE Yongquan*, GUO Shuling, XIE Guifen

(Department of Neurology, Zunhua People's Hospital, Tangshan, Heibei, China, 064200)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effect of early rehabilitation training on the neural function and PI3K / AKT signal pathway in patients with cerebral infarction complicated with hemiplegia. **Methods** 113 patients with cerebral infarction complicated with hemiplegia who were treated from January 2020 to June 2021 in Zunhua People's Hospital were selected as the study subjects. The patients were divided into the observation group received early rehabilitation training ($n=51$) and the control group received routine rehabilitation training according to the starting time of rehabilitation training ($n=62$). On admission and 2 weeks after onset of illness, functional independence test (FIM), Fugl Meyer assessment (FMA) and modified Barthel index (MBI) were measured. The biochemical indicators of ALT, AST, Scr, TG, TC, the expression levels of p-P3K and p-AKT in peripheral blood and the contents of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum were measured. The cumulative recurrence of cerebral infarction within 1 year after onset was followed up. **Results** Two weeks after the onset, the FIM score, FMA score, MBI score, the expression level of p-PI3K and p-AKT in the peripheral blood, the content of BDNF and VEGF in the observation group were higher than those in the control group ($t=6.623, 10.383, 9.932, 19.394, 24.582, 10.932, 8.958, P<0.05$). There were no significant differences of serum ALT, AST, Scr, TC and TG levels

基金项目:河北省卫生健康委医学科学研究课题计划(20181416)

作者单位:遵化市人民医院神经内科,河北,唐山 064200

*通信作者:谢永权, E-mail: guoshuling2022@163.com

between the two groups ($P>0.05$). Follow-up within 1 year after onset showed that the cumulative recurrence rate of cerebral infarction in the observation group was lower than that in the control group ($\chi^2=4.529$, $P<0.05$).

Conclusion Early rehabilitation training can improve the neurological function and prognosis of cerebral infarction patients complicated with hemiplegia. The activation of PI3K/AKT pathway and increase of BDNF and VEGF are related to this improvement.

[KEY WORDS] Cerebral infarction; Hemiplegia; Early rehabilitation training; PI3K/AKT signaling pathway

脑梗死是常见的脑血管疾病,虽然通过及时的溶栓、抗凝、抗氧化等治疗能够提高生存率,但患者遗留不同程度的神经功能缺损,其中肢体偏瘫是常见的神经功能缺损症状,既降低患者的生活质量、也增加了家庭和社会的医疗负担^[1]。现代医学研究认为早期进行康复训练有利于脑梗死患者的神经功能恢复,对脑梗死偏瘫患者的治疗效果显著^[2];相关的分子生物学研究认为PI3K/AKT信号通路介导的神经元再生及血管新生参与脑缺血缺氧损伤后的神经功能重建,运动训练通过激活PI3K/AKT信号通路发挥改善神经功能的作用^[3]。为了深入认识早期康复训练在脑梗死偏瘫患者中的应用价值及生物学机制,本研究观察了早期康复训练对脑梗死偏瘫患者神经功能及PI3K/AKT信号通路的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2020年1月至2021年6月期间遵化市人民医院收治的脑梗死偏瘫患者作为研究对象,纳入标准:①符合脑梗死的诊断^[4];②合并至少一侧步态不平衡、肢体功能受限等偏瘫症状;③接受保守治疗,包括抗血小板、降脂、清除自由基、改善循环等;④住院期间进行康复训练。排除标准:①既往有脑卒中、脑外伤、脑肿瘤病史;②脊髓损伤等其他原因导致肢体功能障碍。共纳入113例患者,包括男性62例、女性51例,年龄(62.21 ± 8.69)岁。本研究在获得医院伦理委员会批准后实施,实施前取得患者及家属知情同意。

1.2 分组方法

查阅入组患者的病史资料,根据康复训练起始时间不同进行分组,观察组进行早期康复训练、对照组进行常规康复训练。观察组共51例,其中男性28例、女性23例,年龄(61.93 ± 9.42)岁,合并高血压28例、糖尿病19例、冠心病14例,入院时美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute

of Health stroke scale, NIHSS)^[5]评分(25.23 ± 5.82);对照组共62例,其中男性34例、女性28例,年龄(62.51 ± 9.15)岁,合并高血压32例、糖尿病25例、冠心病13例,入院时NIHSS评分(25.75 ± 4.92)。两组间性别、年龄、合并症、NIHSS评分的比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.3 干预方法

观察组在脑梗死开始治疗后24 h内且在无生命危险、病情稳定时进行康复训练,对照组在开始治疗后3~5 d且病情稳定时进行康复训练。训练内容如下:①关节运动:在床上进行关节被动运动,运动顺序由大关节到小关节、由健侧到患侧,运动幅度由小到大,每天2次、每次15 min;②翻身训练和按摩:每2 h进行1次翻身,翻身时摆放肢体在功能位;对患者上下肢进行有节奏的按摩;③系统功能训练:待患者神经功能逐步恢复后,先在床边进行肢体和躯干的运动功能训练,然后进行上下楼及步行训练、协调和平衡训练、日常生活动作训练等。

1.4 观察指标

1.4.1 功能量表评分

入院时及起病后2周时,参照指南^[5]进行功能独立性测评(functional independence assessment, FIM)、Fugl-Meyer测评(Fugl-Meyer assessment, FMA)、改良Barthel指数测评(modified Barthel index, MBI),得分越高、神经功能恢复越好。

1.4.2 实验室指标

入院时及起病后2周时,分别采集两组患者的外周静脉血5 mL,采用全自动生化分析仪检测谷丙转氨酶(Alanine Transaminase, ALT)、谷草转氨酶(Aspartate Transaminase, AST)、血肌酐(Serum creatinine, Scr)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)。

1.4.3 外周血p-PI3K、p-AKT表达水平

入院时及起病后2周时,分别采集两组患者的外周静脉血5 mL,采用Ficoll密度梯度离心法分

离外周血单个核细胞,加入裂解液提取细胞蛋白,检测蛋白浓度后将含有 20 μg 蛋白的样本在聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,而后电转移至硝酸纤维素膜,将膜放入 5%脱脂牛奶中室温封闭 1 h,洗膜后放入 p-PI3K 一抗(1:500)、p-AKT 一抗(1:600)及 β -actin 一抗(1:2 500)中 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,洗膜后放入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3 000)中室温孵育 1 h。最后,将膜放入凝胶成像系统,采用电化学发光法显影得到蛋白条带,以 β -actin 为内参、计算 p-PI3K、p-AKT 的表达水平。

1.4.4 血清 BDNF、VEGF 含量

入院时及起病后 2 周时,分别采集两组患者的外周静脉血 5 mL,静置 10 min 凝血后 3 000 g、离心半径 10 cm、离心 10 min,分离血清后采用酶联免疫吸附试剂盒(上海酶联生物科技公司)检测 BDNF、VEGF 的含量。

1.4.5 脑梗死累积复发率

随访两组患者起病后 1 年内脑梗死的复发情况,随访方式包括门诊复诊、电话回访、查阅影像资料等。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 23.0 版本软件进行统计学处理,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 差表示,组内治疗前后比较采用配对样本 t 检验、组间比较采用独立样本 t 检验;脑梗死的累积复发率采用 K-M 曲线描述、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 两组患者干预前后 FIM、FMA、MBI 评分的比较

起病后 2 周时两组间 FIM、FMA、MBI 评分比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)且观察组的 FIM、FMA、MBI 评分均高于对照组;组内起病后 2 周时与入院时 FIM、FMA、MBI 评分比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)且起病后 2 周时的 FIM、FMA、MBI 评分均高于入院时。见表 1。

2.2 两组患者干预前后实验室指标的比较

干预前及起病后 2 周时两组间 ALT、AST、Scr、TC、TG 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);组内起病后 2 周时与入院时 ALT、AST、Scr、TC、TG 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 两组患者干预前后外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平的比较

起病后 2 周时两组间外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)且观察组的外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平均高于对照组;组内起病后 2 周时与入院时外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)且起病后 2 周时的外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平均高于入院时。见表 3。

2.4 两组患者干预前后血清 BDNF、VEGF 含量的比较

起病后 2 周时两组间血清 BDNF、VEGF 含量

表 1 两组患者干预前后 FIM、FMA、MBI 评分的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of FIM, FMA, MBI score before and after intervention between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FIM		FMA		MBI	
		入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周
观察组	51	64.58 \pm 8.41	78.39 \pm 9.34 ^a	28.32 \pm 5.42	43.57 \pm 6.16 ^a	38.12 \pm 6.23	56.34 \pm 8.12 ^a
对照组	62	64.11 \pm 9.12	71.32 \pm 8.48 ^a	27.84 \pm 5.61	35.51 \pm 6.27 ^a	37.76 \pm 5.97	43.62 \pm 7.24 ^a
t 值		0.282	4.123	0.460	6.854	0.313	8.797
P 值		0.778	0.000	0.647	0.000	0.755	0.000

注:组内起病后 2 周时与入院时比较,^a $P < 0.05$ 。

表 2 两组患者干预前后实验室指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of laboratory indicators before and after intervention between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT(U/L)		AST(U/L)		Scr($\mu\text{mol/L}$)		TC(mmol/L)		TG(mmol/L)	
		入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周
观察组	51	23.12 \pm 5.23	22.74 \pm 4.12 ^a	17.58 \pm 4.68	19.11 \pm 7.42 ^a	83.95 \pm 15.82	80.38 \pm 15.58 ^a	5.22 \pm 0.82	5.13 \pm 0.94 ^a	2.25 \pm 0.72	2.09 \pm 0.84 ^a
对照组	62	23.95 \pm 7.23	22.36 \pm 8.12 ^a	18.37 \pm 6.38	17.96 \pm 8.39 ^a	82.75 \pm 14.57	80.94 \pm 16.47 ^a	5.31 \pm 1.03	5.25 \pm 0.98 ^a	2.20 \pm 0.78	2.11 \pm 0.84 ^a
t 值		0.685	0.303	0.736	0.763	0.419	0.184	0.506	0.660	0.351	0.126
P 值		0.495	0.762	0.463	0.447	0.676	0.854	0.614	0.511	0.726	0.900

注:组内起病后 2 周时与入院时比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组患者干预前后外周血 p-PI3K、p-AKT 表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of p-P3IK, p-AKT in peripheral blood before and after intervention between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	p-PI3K		p-AKT	
		入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周
观察组	51	0.58±0.08	1.31±0.19 ^a	0.21±0.05	0.69±0.10 ^a
对照组	62	0.55±0.09	0.89±0.12 ^a	0.23±0.06	0.48±0.07 ^a
t 值		1.853	14.290	1.899	13.094
P 值		0.067	0.000	0.060	0.000

注:组内起病后 2 周时与入院时比较,^aP<0.05。

比较,差异均有统计学意义(P<0.05)且观察组的血清 BDNF、VEGF 含量均高于对照组;组内起病后 2 周时与入院时血清 BDNF、VEGF 含量比较,差异均有统计学意义(P<0.05)且起病后 2 周时的血清 BDNF、VEGF 含量均高于入院时。见表 4。

表4 两组患者干预前后血清 BDNF、VEGF 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of BDNF, VEGF in serum before and after intervention between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BDNF (ng/mL)		VEGF (pg/mL)	
		入院时	起病后 2 周	入院时	起病后 2 周
观察组	51	16.58±4.23	30.29±6.72 ^a	215.62±42.62	342.63±61.44 ^a
对照组	62	15.94±5.14	24.65±5.52 ^a	220.85±51.95	289.45±58.68 ^a
t 值		0.712	4.900	0.577	4.693
P 值		0.477	0.00	0.565	0.000

注:组内起病后 2 周时与入院时比较,^aP<0.05。

2.5 两组患者起病 1 年内累积复发率的比较

随访两组患者起病后 1 年内脑梗死的累积复发情况,观察组患者的脑梗死累积复发率低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见图 1。

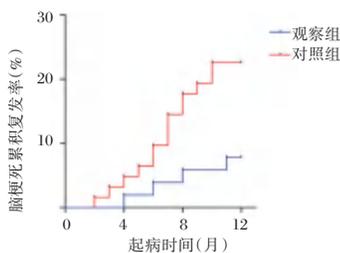


图1 两组患者起病 1 年内累积复发率的比较

Figure 1 Comparison of the cumulative recurrence rate of two groups of patients within one year of onset

3 讨论

康复训练是脑梗死综合治疗的重要组成部分,脑梗死发病后尽早开展康复训练有助于促进神经功能恢复、降低疾病致残率。偏瘫是脑梗死

常见的神经功能损害临床表现,肢体活动功能障碍一方面造成患者的日常生活质量下降,另一方面增加家庭及社会的负担,通过有效的康复训练改善肢体活动功能具有积极的临床价值。

相关的临床研究资料显示,康复训练的开始时间是影响治疗效果、神经功能恢复程度的重要因素^[5],多名学者均报道了早期康复训练对脑梗死偏瘫患者神经功能的改善作用优于常规康复训练^[6-7]。早期康复训练的开展时机是脑梗死开始治疗后 24 h 内且在无生命危险、病情稳定时,尽早开展康复训练可能有利于神经元再生、梗死灶周围血管新生,进而促进神经功能恢复。本研究提示不同康复训练均起到改善神经功能的作用;并且早期康复训练后的各项功能评分均高于常规康复训练后,与既往其他学者报道的结果相似^[6-7],提示早期康复训练有利于脑梗死偏瘫患者神经功能的恢复。

多项脑缺血相关的动物实验证实,康复训练改善脑缺血大鼠神经功能的作用与激活 PI3K/AKT 信号通路、增加通路下游 VEGF 和 BDNF 的生成有关^[3, 8]。VEGF 的生物学作用是促进血管新生、有利于增加脑缺血灶周围的侧枝循环,BDNF 的生物学作用是促进神经元的存活和再生、有利于脑缺血灶周围濒死神经细胞的存活^[9-10]。本研究中,不同康复训练后 p-PI3K、p-AKT 的表达及 VEGF、BDNF 的含量均增加,且早期康复训练后上述指标的增加较常规康复训练更显著,表明早期康复训练用于脑梗死偏瘫显著激活 PI3K/AKT 信号通路、促进通路下游 VEGF 和 BDNF 的生成,最终起到改善神经功能的作用。

脑梗死的临床防治策略不仅包括急性期的对症处理,还包括亚急性期和慢性期的二级预防,通过药物治疗、生活方式干预、康复训练等降低脑梗死复发的风险对改善患者预后、降低疾病死亡率具有重要意义^[11-12]。VEGF 和 BDNF 两种分子在脑梗死后的神经功能恢复中发挥重要作用,已有研究报道血清中 VEGF 和 BDNF 的含量与脑梗死的预后相关,两种分子的含量越低、预后不良及脑梗死复发的风险越高^[13-14]。本研究研究证实早期康复训练激活 PI3K/AKT 信号通路、增加 VEGF 和 BDNF 的生成,进一步对脑梗死复发进行 1 年随访可知:接受早期康复训练的脑梗死偏瘫患者脑梗死累积复发率低于接受常规康复训练的患者,提示早期康复训练不仅改善脑梗死偏瘫患者的神经功能,还能

起到二级预防价值、降低疾病复发的风险。

综上所述,早期康复训练改善脑梗死偏瘫患者的神经功能及预后,激活PI3K/AKT通路、增加BDBF及VEGF生成与这一改善作用相关。

参考文献

- [1] Sarkar S, Chakraborty D, Bhowmik A, et al. Cerebral ischemic stroke: cellular fate and therapeutic opportunities [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2019, 1(24): 435-450.
 - [2] 戴贤勇, 王燕, 陈玮. 早期康复训练对急性脑梗死偏瘫患者的治疗效果及机制探讨[J]. *重庆医学*, 2017, 46(21): 2940-2942+2944.
 - [3] 姚文超, 李梦醒, 刘箐, 等. 电针联合康复训练调控PI3K/Akt信号通路介导脑缺血后血管新生相关因子的表达[J]. *康复学报*, 2020, 30(5): 377-386.
 - [4] 符晓艳, 王羚入, 董茂渝, 等. 脑梗死偏瘫患者主动运动依从性及其影响因素的研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2018, 20(8): 827-831.
 - [5] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4): 246-257.
 - [6] 黄裕桂, 李范强, 黄日荷, 等. 早期康复训练在促进急性脑梗死偏瘫患者肌力、神经功能恢复及改善患者生存质量中的作用[J]. *按摩与康复医学*, 2018, 9(7): 23-24.
 - [7] Lin RC, Chiang SL, Heitkemper MM, et al. Effectiveness of Early Rehabilitation Combined With Virtual Reality Training on Muscle Strength, Mood State, and Functional Status in Patients With Acute Stroke: A Randomized Controlled Trial [J]. *Worldviews Evid Based Nurs*, 2020, 17(2): 158-167.
 - [8] Jin XF, Wang S, Shen M, et al. Effects of rehabilitation training on apoptosis of nerve cells and the recovery of neural and motor functions in rats with ischemic stroke through the PI3K/Akt and Nrf2/ARE signaling pathways [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 134: 236-245.
 - [9] Shen X, Luo L, Wang F, et al. An Enriched Environment Enhances Angiogenesis Surrounding the Cingulum in Ischaemic Stroke Rats [J]. *Neural Plast*, 2020, 12(2020): 8840319.
 - [10] Shi FP, Wang XH, Zhang HX, et al. MiR-103 regulates the angiogenesis of ischemic stroke rats by targeting vascular endothelial growth factor (VEGF) [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(3): 318-324.
 - [11] 赵楠楠, 郑印, 黄穹琼, 等. 急性缺血性脑卒中早期预后不良的危险因素分析及预测模型构建[J]. *中国临床研究*, 2022, 35(4): 456-461.
 - [12] 吕铭新, 刘双洁. 低高频联合rTMS对脑梗死后上肢运动功能恢复的影响[J]. *宁夏医科大学学报*, 2021, 43(10): 1008-1012.
 - [13] Sookaromdee P, Wiwanitkit V. Brain-derived neurotrophic factor as biomarker [J]. *Anatol J Cardiol*, 2020, 23(3): 192.
 - [14] Koroleva ES, Tolmachev IV, Alifirova VM, et al. Serum BDNF's Role as a Biomarker for Motor Training in the Context of AR-Based Rehabilitation after Ischemic Stroke [J]. *Brain Sci*, 2020, 10(9): 623.
-
- (上接第453页)
- [4] 崔泽岩, 臧艳静, 高淑娜. 血清糖类抗原125, 氨基末端脑钠肽前体和尿酸联合检测对慢性心力衰竭合并心房颤动患者预后的评估价值[J]. *临床内科杂志*, 2021, 38(2): 97-100.
 - [5] 黄慧君. 老年高血压病人血清NT-proBNP, BMI, 心肌酶谱水平与射血分数保留性心力衰竭发生的关系[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(1): 126-129.
 - [6] 龙竞伟, 李平. 肌钙蛋白T和CRP与NT-proBNP联合检测在慢性心力衰竭早期诊断的价值[J]. *中华全科医学*, 2020, 18(3): 435-437.
 - [7] 程娟, 程冉. 联合检测PTH和NT-proBNP对急性心力衰竭患者临床诊断及预后的价值[J]. *心血管康复医学杂志*, 2020, 29(2): 227-230.
 - [8] 冯星源, 陈谦, 关义健. NT-proMPT、CTnI、C-反应蛋白联合检测对急性心力衰竭患者预后评价价值研究[J]. *河北医药*, 2019, 41(2): 215-218.
 - [9] 丁香园. 2015版美国国立综合癌症网络(NCCN)指南: 非小细胞肺癌更新要点[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2015, 23(2): 55.
 - [10] 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.
 - [11] 王跃荣, 张栋梁, 李岚, 等. 慢性心力衰竭患者氨基末端B型钠尿肽与心肌肌钙蛋白I水平分析[J]. *检验医学*, 2011, 26(7): 433-435.
 - [12] 田艳珍, 崔继婷, 赵金芳, 等. 血清NT-proBNP水平对心力衰竭心脏再同步化治疗患者临床预后的影响[J]. *临床误诊误治*, 2019, 32(4): 64-68.
 - [13] 杨威, 任杰, 罗继文. 肺楔形切除术治疗非小细胞肺癌的疗效及术后复发风险模型的构建[J]. *国际外科学杂志*, 2021, 48(10): 685-690.
 - [14] 王永兴, 王好婕, 常晓巍, 等. 非小细胞肺癌患者癌组织异常纺锤体样小头畸形相关蛋白和三结构域蛋白59表达及意义[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(9): 879-880.
 - [15] 方长清, 丁春晓, 刘小虎, 等. 结合恶性胸腔积液中脱落细胞探讨上皮细胞-间质转化与非小细胞肺癌的相关性[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(1): 43-47.

乳腺癌患者超声弹性成像AR值与硬度评分与MMP-9、BRCA1、P53表达的相关性

王艳¹ 吕宝如² 郑智^{3*}

[摘要] **目的** 分析乳腺癌患者超声弹性成像AR值与硬度评分与基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、乳腺癌易感基因1(BRCA1)、抑癌基因(P53)表达的相关性。**方法** 选取廊坊市第四人民医院2019年8月至2022年8月期间接收的58例乳腺癌患者作为观察组;另选取同期接收的61例乳腺良性病变患者作为对照组。两组均进行乳腺超声弹性检查,比较两组AR值与硬度评分并分析超声弹性成像检查的诊断价值。记录不同MMP-9、BRCA1、P53表达情况的乳腺癌患者超声弹性成像特征及相关性。**结果** 观察组AR值大于对照组,硬度评分高于对照组,差异有统计学意义($t=5.688, 18.122, P<0.05$)。超声弹性成像检查敏感度为94.83%、特异度为93.44%、准确率为94.12%。有无边缘毛刺征的乳腺癌患者MMP-9、P53、BRCA1表达比较差异具有统计学意义($\chi^2=5.770, 8.194, 8.192, P<0.05$)。有无后方回声衰减的乳腺癌患者MMP-9、P53、BRCA1表达比较差异具有统计学意义($\chi^2=4.459, 6.810, 7.008, P<0.05$)。Pearson相关性分析得出,乳腺癌患者MMP-9、P53的表达与硬度评分及AR值呈正相关($r=0.256, 0.351, 0.324, 0.401, P<0.05$), BRCA1的表达与硬度评分及AR值呈负相关($r=-0.496, -0.427, P<0.05$)。**结论** 超声弹性成像检查对于乳腺癌的诊断具有较高的应用价值,且AR值、硬度评分与MMP-9、P53、BRCA1的表达情况相关。

[关键词] 乳腺癌;超声弹性成像;MMP-9;BRCA1

Correlation between ultrasound elastography AR value and hardness score and expression of MMP-9, BRCA1 and P53 in breast cancer patients

WANG Yan¹, LV Baoru², ZHENG Zhi^{3*}

(1. Department of Ultrasound, Langfang Fourth People's Hospital, Langfang, Hebei, China, 065700;
2. Department of Obstetrics, Bazhou Maternal and Child Health Hospital, Bazhou, Hebei, China, 065799;
3. Department of Preventive Health Care, the Fourth People's Hospital of Langfang City, Langfang, Hebei, China, 065700)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between ultrasound elastography AR value and hardness score and expression of metalloproteinase-9 (MMP-9), breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) and tumor suppressor gene (P53) in breast cancer patients. **Methods** 58 breast cancer patients received in Langfang Fourth People's Hospital from August 2019 to August 2022 were selected as the observation group; 61 patients with benign breast lesions received during the same period were selected as the control group. Both groups underwent breast ultrasound elasticity examination, compared the AR value and hardness score of the two groups, and analyzed the diagnostic value of ultrasound elasticity imaging examination. The characteristics and correlation of ultrasound elastography in breast cancer patients with different MMP-9, BRCA1, and P53 expressions were recorded. **Results** The AR value of the observation group was higher than that of the control group, and the hardness score of the observation group was higher than that of the control group, the difference

基金项目:廊坊市科学技术研究与发展计划(第二批)自筹经费项目(2020013120)

作者单位:1. 廊坊市第四人民医院超声科,河北,廊坊 065700

2. 霸州市妇幼保健院产科,河北,霸州 065799

3. 廊坊市第四人民医院预防保健科,河北,廊坊 065700

*通信作者:郑智, E-mail:doublezhi@163.com

was statistically significant ($t=5.688, 18.122, P<0.05$). The sensitivity of ultrasound elastography was 94.83%, the specificity was 93.44%, and the accuracy was 94.12%. The expression of MMP-9, P53 and BRCA1 in breast cancer patients with and without edge spur sign had statistically significant differences ($\chi^2=5.770, 8.194, 8.192, P<0.05$). The expression of MMP-9, P53 and BRCA1 in breast cancer patients with and without posterior echo attenuation had statistically significant differences ($\chi^2=4.459, 6.810, 7.008, P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the expression of MMP-9 and P53 in breast cancer patients was positively correlated with hardness score and AR value ($r=0.256, 0.351, 0.324, 0.401, P<0.05$), and the expression of BRCA1 was negatively correlated with hardness score and AR value ($r=-0.496, -0.427, P<0.05$). **Conclusion** Ultrasound elastography has high application value in the diagnosis of breast cancer, and the AR value and hardness score are related to the expression of MMP-9, P53 and BRCA1.

[KEY WORDS] Breast cancer; Ultrasound elastography; MMP-9; BRCA1

乳腺癌是妇科常见的恶性肿瘤,其高侵袭性、易转移是导致患者预后不良的主要原因^[1]。超声弹性成像作为一种新型的诊断技术,被广泛应用于甲状腺、前列腺等多种疾病的诊断中。随着乳腺癌筛查工作的积极开展,部分学者逐渐发现乳腺癌的组织生物学特性存在个体化差异,推测与患者体内相关基因的异常表达有关^[2]。P53作为一种抑癌基因,对细胞凋亡、增殖有调节作用,其突变后可引起个体肿瘤易感,难以保证体内细胞正常凋亡、增殖,从而间接促进肿瘤发展与转移。基因金属蛋白酶9(matrix Metalloproteinase-9, MMP-9)作为机体重要的水解酶,参与降解细胞外基质及细胞侵袭转移的过程。乳腺癌易感基因1(Breast cancer1, BRCA1)在肿瘤组织内呈现出极低表达趋势,发生突变后易间接影响抑癌基因发生作用^[3]。本文旨在分析超声弹性成像AR值与硬度评分对乳腺癌的诊断价值及与MMP-9、BRCA1、P53的相关性。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取廊坊市第四人民医院2019年8月至2022年8月期间接收的58例乳腺癌患者,将其纳入观察组;另选取同期接收的61例乳腺良性病变患者作为对照组,参与本次研究者均为女性患者。其中观察组年龄:33~65岁,平均年龄(47.21±3.52)岁。对照组年龄:34~64岁,平均年龄(46.37±3.24)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医学伦理委员会审批通过,受试者或家属已签署知情同意书。

纳入标准:①病历资料完整;②观察组患者均符合《NCCN乳腺癌临床实践指南》^[4]的相关诊断

标准,并经病理学检查确诊为乳腺癌;③未合并其他恶性肿瘤;排除标准:①研究前进行相关放疗、化疗者;②合并免疫系统疾病者;③存在重要脏器功能障碍者。

1.2 方法

1.2.1 超声弹性成像检查

两组均进行超声弹性成像检查,使用彩色超声诊断仪(无锡贝尔森影像技术有限公司,苏械注准20182061295,型号:BELSON 5000F)进行扫描,频率为5~10 MHz,先对患者进行常规超声检查,详细记录各病灶大小、数目、回声及周围组织钙化情况,将感兴趣区调至弹性成像模式,随后显示出病灶的弹性、灰阶图,放大至2~3倍,结合Color2彩色显示法进行详细观察,并记录组织硬度情况^[5]。将质控量化参数保持在60以上,启动Area Rati自动测量AR值。硬度评分标准^[6]:病灶区域呈现出均匀粉色为1分;紫色混合绿色则表示2分;绿色混合黄色为3分;红色混合黄色则4分;病灶及周围组织均呈现出红色为5分,以硬度评分4分及以上考虑为恶性,3分及以下考虑为良性。

1.2.2 MMP-9、BRCA1、P53水平检测

将组织进行福尔马林固定、石蜡切片脱蜡处理,随后使用缓冲液反复冲洗3次,高温高压条件下加热12 min,封闭处理非特异性抗原,随后滴加鼠抗人MMP-9、BRCA1、P53单克隆抗体(美国Santa cruz公司),在4℃条件下储存过夜,复温后滴加二抗试剂,等待显色后使用苏木素复染、冲洗。结果判定:MMP-9阳性反应颗粒在细胞浆中表达, BRCA1、P53的阳性反应表达位于细胞核中,随机选取5~10个高倍视野进行观察。染色强度:无色为0分、浅黄为1分、黄色为2分、棕褐色为3分。染色比例:≤10%为0分,10%~25%为1分,26%~50%为2

分,50%~75%为3分,≥75%为4分。最终积分=染色比例×染色强度,≤3分为阴性,≥4分为阳性^[7]。

1.3 观察指标

①比较两组AR值与硬度评分。②分析超声弹性成像检查对乳腺癌的诊断价值,包括敏感度、特异度、准确率。敏感度={阳性(例)/[阳性(例)+假阴性(例)]}×100%;特异度={阴性(例)/[阴性(例)+假阳性(例)]}×100%。准确率=(真阳性人数+真阴性人数)÷总人数。③比较不同MMP-9、BRCA1、P53表达情况的乳腺癌患者超声弹性特征。④分析超声弹性成像参数与MMP-9、BRCA1、P53的相关性。

1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件进行统计分析,计量采用($\bar{x} \pm s$)描述,两两间使用 t 检验;计数采用 $n(\%)$ 表示,并用 χ^2 检验;相关性采用Pearson相关分析,均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组AR值及硬度评分比较

观察组AR值大于对照组,硬度评分高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 超声弹性成像检查的诊断价值

超声弹性成像检查敏感度为94.83%(55/58)、

表1 两组AR值及硬度评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of AR values and hardness scores between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AR值	硬度评分
观察组	58	1.55±0.21	4.24±0.34
对照组	61	1.32±0.23	3.16±0.31
t 值		5.688	18.122
P 值		<0.001	<0.001

特异度为93.44%(57/61)、准确率为94.12%(112/119)。见表2。

表2 超声弹性成像检查与病理结果比较 [$n(\%)$]

Table 2 Comparison between ultrasonic elastography and pathological results [$n(\%)$]

超声弹性成像检查	病理检查		合计
	恶性	良性	
恶性	55(93.22)	4(6.78)	59
良性	3(5.00)	57(95.00)	60
合计	58	61	119

2.3 乳腺癌患者MMP-9、BRCA1、P53的不同表达与超声弹性成像特征分析

有无边缘毛刺征的乳腺癌患者MMP-9、P53、BRCA1表达比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。有无后方回声衰减的乳腺癌患者MMP-9、P53、BRCA1表达比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同表达情况的MMP-9、BRCA1、P53与乳腺癌患者超声弹性特征分析 [$n(\%)$]

Table 3 Ultrasonic elastic characteristics of MMP-9, BRCA1, P53 and breast cancer patients with different expressions [$n(\%)$]

项目	n	MMP-9		χ^2 值	P 值	BRCA1		χ^2 值	P 值	P53		χ^2 值	P 值
		阳性 ($n=30$)	阴性 ($n=28$)			阳性 ($n=18$)	阴性 ($n=40$)			阳性 ($n=35$)	阴性 ($n=23$)		
肿瘤直径													
<3 cm	23	10(43.48)	13(56.52)	1.038	0.308	8(34.78)	15(65.22)	0.250	0.617	12(52.17)	11(47.83)	1.063	0.302
≥3 cm	35	20(57.14)	15(42.86)			10(28.57)	25(71.43)			23(65.71)	12(34.29)		
微钙化													
有	26	16(61.54)	10(38.46)	1.818	0.178	6(23.08)	20(76.92)	1.394	0.238	18(69.23)	8(30.77)	1.555	0.212
无	32	14(43.75)	18(56.25)			12(37.50)	20(62.50)			17(53.13)	15(46.87)		
边缘毛刺征													
有	38	24(63.16)	14(36.84)	5.770	0.016	7(18.42)	31(81.58)	8.192	0.004	28(73.68)	10(26.32)	8.194	0.004
无	20	6(30.00)	14(70.00)			11(55.00)	9(45.00)			7(35.00)	13(65.00)		
后方回声衰减													
有	37	23(62.16)	14(37.84)	4.459	0.035	7(18.92)	30(81.08)	7.008	0.008	27(72.97)	10(27.03)	6.810	0.009
无	21	7(33.33)	14(66.67)			11(52.38)	10(47.62)			8(38.10)	13(61.90)		
形状规则													
是	26	9(34.62)	17(65.38)	5.524	0.019	12(46.15)	14(53.85)	5.033	0.025	9(34.62)	17(65.38)	13.037	<0.001
否	32	21(65.63)	11(34.38)			6(18.75)	26(81.25)			26(81.25)	6(18.75)		
边界情况													
清晰	21	6(28.57)	15(71.43)	7.067	0.008	10(47.62)	11(52.38)	4.230	0.040	6(28.57)	15(71.43)	13.888	<0.001
不清晰	37	24(64.86)	13(35.14)			8(21.62)	29(78.38)			29(78.38)	8(21.62)		
淋巴结转移													
是	28	19(67.86)	9(32.14)	5.643	0.018	5(17.86)	23(82.14)	4.392	0.036	21(75.00)	7(25.00)	4.859	0.028
否	30	11(36.67)	19(63.33)			13(43.33)	17(56.67)			14(46.67)	16(53.33)		

2.4 超声弹性成像参数与 MMP-9、BRCA1、P53 的相关性

Pearson 相关性分析得出,乳腺癌患者 MMP-9、P53 的表达与硬度评分及 AR 值呈正相关, BRCA1 的表达与硬度评分及 AR 值呈负相关 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 超声弹性成像参数与 MMP-9、BRCA1、P53 的相关性

Table 4 Correlation between ultrasonic elastic imaging parameters and MMP-9, BRCA1, P53

指标	硬度评分		AR 值	
	r 值	P 值	r 值	P 值
MMP-9	0.256	<0.001	0.324	<0.001
BRCA1	-0.496	<0.001	-0.427	<0.001
P53	0.351	<0.001	0.401	<0.001

3 讨论

储荣先等^[8]研究发现,多数乳腺癌患者存在微小病灶或早期恶性征象不明显的情况,从而直接影响诊断的准确性。而超声弹性成像检查主要通过不同组织间的硬度来进行判断,利用组织内部反映的不同位移信号得以计算肿块变形程度。

何晓玲等^[9]研究结果显示,利用 AR 值等参数能有效评估肿瘤组织硬度,为临床诊疗打开新思路。本研究结果显示,观察组 AR 值大于对照组,硬度评分高于对照组,与连俊等学者^[5]研究结果基本一致。分析与恶性肿瘤的生长方式有关,在浸润性生长过程中,肿瘤易与周围组织发生黏连,使得自身活动度下降,导致局部组织硬度有所增加。另一方面,超声弹性成像检查对于乳腺癌的诊断价值一直备受关注。本次研究通过与病理学检查结果进行对比,得出超声弹性成像检查敏感度为 94.83%、特异度为 93.44%、准确率为 94.12%。说明超声弹性成像检查能有效判断病灶良恶性。分析原因在于,超声弹性成像技术将细小血管及重叠病灶进行突显,有效规避常规超声的局限性,进一步提高诊断准确性。以往研究显示, BRCA1 对细胞生长具有调节作用,能显著抑制肿瘤细胞的生长发育,促进 DNA 的损伤修复,而其阴性表达可减弱抑癌作用^[10]。进一步研究结果显示 58 例乳腺癌患者中 BRCA1 阳性表达仅有 18 例,有无后方回声衰减的乳腺癌患者 BRCA1 的表达比较差异具有统计学意义,与蒋南等^[11]的研究结果基本

相符。但陈功泉等^[12]的研究提出, BRCA1 阴性患者的后方回声以增强为主,与本次研究结果存在出入,提示恶性程度低的局部病灶可能存在多样性改变的情况。研究实验发现 P53 主要分为野生、突变两种类型,野生型 P53 能有效抑制细胞的异常增殖,降低细胞癌变率^[13]。本次结果显示,有无边缘毛刺征、后方回声衰减的乳腺癌患者 MMP-9、P53 的表达比较差异具有统计学意义。分析原因在于 P53 在肿瘤患者体内突变率较高,突变型 P53 易产生 P53 蛋白,促进细胞的癌变与增殖。MMP-9 能有效降解细胞外基质、基底膜,对组织重塑存在一定影响,可间接促进肿瘤的浸润、血管生成、转移^[14]。而后方回声、边缘毛刺征等表现均与组织内部成分密切相关,若癌相关肌成纤维细胞水平越高,则胶原纤维越多,对超声波具有较强吸收能力,造成后方回声衰减、边缘毛刺征等超声特征。

焦丹等^[15]的研究结果显示, P53 阳性表达患者淋巴结转移率高达 81.08%,证实 P53 的阳性表达对肿瘤迁移存在促进效果,易增加乳腺癌恶化风险。而本次结果显示发生淋巴结转移的患者 P53 阳性表达率较高,与上述研究相符。进一步研究结果显示,乳腺癌患者 MMP-9、P53 的表达与硬度评分及 AR 值呈正相关, BRCA1 的表达与硬度评分及 AR 值呈负相关。当 MMP-9、P53 表达上调时,可通过重塑 IV、V 型胶原等细胞外基质的动态平衡、迟滞细胞的正常凋亡等一系列过程,导致肿瘤细胞不断增殖、新生血管逐渐形成,病灶组织弹性持续降低,出现硬度评分逐渐升高的情况;当 BRCA1 表达水平下降时,机体抑癌作用逐渐减弱,硬度评分及 AR 值持续升高。

综上所述,超声弹性成像检查对于乳腺癌的诊断具有较高的应用价值,且 AR 值、硬度评分均与 MMP-9、P53、BRCA1 的表达情况相关。

参考文献

- [1] 褚福涛,胡丽,解云涛. BRCA1/2 致病胚系突变携带者的乳腺癌预防及治疗[J]. 临床肿瘤学杂志, 2020, 25(8): 750-754.
- [2] 徐晶晶,邱岑,郑建明. 乳腺癌组织中 ALDH1、BRCA1、nm23 蛋白表达变化及意义[J]. 山东医药, 2020, 60(28): 50-53.
- [3] 张科,刘志良,陈雪琴,等. BRCA1、AR 及 Ki-67 在三阴性乳腺癌中的表达及临床病理意义[J]. 实用癌症杂志, 2021, 36(9): 1398-1401.

(下转第 467 页)

膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP 治疗对 OA 患者 Lysholm 膝关节评分、VAS 评分及并发症的影响

刘骁东* 陈贝 杨杰

[摘要] 目的 分析膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP 治疗对骨关节炎(OA)患者 Lysholm 膝关节评分、VAS 评分及并发症的影响。方法 选取 2020 年 7 月至 2022 年 5 月阜阳市第五人民医院收治的 OA 患者 83 例,按照治疗方案不同分为对照组(膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射玻璃酸钠)40 例和观察组(膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP)43 例。对比两组临床疗效、Lysholm 膝关节评分、VAS 评分、西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数(WOMAC)、骨钙素(BGP)、 β 胶原降解产物(β -CTX)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)及并发症发生率。结果 观察组总疗效高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组 Lysholm 膝关节评分高于对照组,VAS 评分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组躯体功能、僵硬、疼痛评分均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组 BGP、 β -CTX、IGF-1 水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组并发症发生率占比低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 OA 患者应用膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP 治疗疗效理想,可有效改善患者 Lysholm 膝关节评分、VAS 评分,改善骨代谢指标,减少并发症发生率,值得临床大力推广应用。

[关键词] 膝关节镜清理术; 富血小板血浆; 骨关节炎; Lysholm 膝关节评分; VAS 评分

Effect of intra-articular injection of PRP after knee arthroscopic debridement on Lysholm knee score, VAS score and complications in patients with OA

LIU Xiaodong*, CHEN Bei, YANG Jie

(Department of Bone and Joint Trauma, Fuyang Fifth People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of assisted intra-articular injection of PRP on Lysholm knee score, VAS score and complications in patients with osteoarthritis (OA) after knee arthroscopic debridement. **Methods** A total of 83 cases of OA patients admitted to Fuyang Fifth People's Hospital from July 2020 to May 2022 were selected and divided into the control group (assisted articular injection of sodium hyaluronate after arthroscopy) (40 cases) and the observation group (assisted articular injection of PRP after arthroscopy) (43 cases) according to different treatment plans. Clinical efficacy, Lysholm knee score, VAS score, Western Ontario and McMaster University osteoarthritis index (WOMAC), osteocalcin (BGP), beta collagen degradation products (β -CTX), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and complication rate were compared between the two groups. **Results** The total curative effect in the observation group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The Lysholm knee score in the observation group was higher than that in the control group, and the VAS score in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The physical

基金项目:阜阳市自筹经费科技计划项目(FK202081123)

作者单位:阜阳市第五人民医院骨关节创伤科,安徽,阜阳 236000

*通信作者:刘骁东, E-mail:liu7788991226@163.com

function, stiffness, and pain scores in the observation group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of BGP, β -CTX and IGF-1 in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The incidence rate of complications in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The curative effect of intra-articular injection of PRP in patients with OA after arthroscopic debridement is satisfactory. It can effectively improve the Lysholm knee joint score, VAS score and bone metabolism index, reduce the incidence of complications. It is worthy of clinical promotion and application.

[KEY WORDS] Knee arthroscopic debridement; Platelet-rich plasma; Osteoarthritis; Lysholm knee score; VAS score

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是一种以软骨损伤为主,累及整个关节组织的关节疾病。OA好发于负重较大的膝关节、髌关节、脊柱及远侧指间关节等部位,主要发病人群为中老年人,也是中老年人致残的主要原因^[1]。OA临床表现为进展性关节疼痛,可有晨僵、关节肿大等。膝关节镜清理术是治疗OA的主要手术方案,利用关节镜对关节腔内部病变组织进行清理、摘除,在一定程度上可有效缓解关节疼痛、延缓病情。然而由于关节软组织修复功能低下,若未及时修复易促进病情发展,目前临床针对膝关节镜清理术的疗效存在异议^[2]。随着医学技术的飞速发展,有研究指出膝骨性关节炎患者应用富血小板血浆(Platelet-rich plasma, PRP)治疗治疗效果确切,可有效缓解患者临床症状^[3]。PRP是通过采取自体血,经离心从自体血中制备出富血小板血浆浓缩物,PRP中含有大量血小板和生长因子,且是正常血液的4~6倍。本文旨在分析膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射PRP治疗对OA患者Lysholm膝关节评分、VAS评分及并发症的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年7月至2022年5月阜阳市第五人民医院收治OA发患者83例,按照治疗方案不同分为对照组(膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射玻璃酸钠)40例和观察组(膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射PRP)43例。对照组男23例,女17例,年龄45~72岁,平均年龄(63.19±7.42)岁,病程4个月~1年,平均病程(8.63±2.06)个月,单膝36例,双膝4例;观察组男25例,女18例,年龄45~70岁,平均年龄(62.73±7.26)岁,病程5个月~1年,平均病程(8.07±2.01)个月,单膝37例,双膝6例。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本

研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

纳入标准:①OA诊断标准符合中华医学骨科学分会《骨关节炎诊疗指南》^[4]相关标准,且均经影像学检查确诊;②既往无其他类型关节疾病;③临床资料完整;④未合并心、脑、肾功能障碍者;排除标准:①凝血功能、免疫功能异常者;②手术依从性差者;③合并其他器官并发症者。

1.2 方法

两组均进行膝关节镜清理术,详细手术步骤参考文献^[4]。

对照组采用膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射玻璃酸钠,手术步骤同上,完成后关节处进行消毒,行针尖向髌旁内侧向中央倾斜方式进行穿刺,达到关节腔内将积液抽取,向其中注入2~2.5 mL玻璃酸钠(上海昊海生物科技股份有限公司,国药准字H20051837),闭合切口,术后加压包扎,术后拆除包扎后再次向关节腔内注入同样剂量玻璃酸钠,每隔1周注射1次,共持续治疗5周。

观察组采用膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射PRP,手术步骤同上,制备PRP方法:取患者30 mL静脉血(前提是2周内未应用过阿司匹林等抑制血小板功能药物)放置含有柠檬酸钠(天津金耀药物有限公司,国药准字H12020997)的无菌注射器内,经抗凝处理后使用PRP制备仪器(山东威高集团医用高分子制品股份有限公司)及同公司PRP专用离心机行二次离心法。第1次离心(2 000 r/min, 10 min,离心半径15.5 cm),离心后血液分为三层,从上至下为血清层、白膜层、红细胞。吸取白膜层红细胞再次行离心(2 200 r/min, 10 min,离心半径15.5 cm),分为两层,分别为贫血小板血浆、下层为PRP血小板浓缩液,注射器吸弃上层血小板血浆,剩余5 mL与下层PRP混匀后备

用。注射方式同玻璃酸钠。每隔1周注射1次,共持续治疗5周。

1.3 观察指标

1.3.1 两组临床疗效比较

治疗后,按照临床疗效标准进行评价^[5]。显效:临床症状完全消失,膝关节曲曲角度恢复正常;有效:临床症状有所改善,膝关节曲曲角度稍微恢复正常;无效:关节仍反复疼痛,膝关节曲曲角度未得到改善,甚至更严重。总疗效率=显效率+有效率。

1.3.2 两组膝关节功能、疼痛程度比较

治疗前后采用Lysholm膝关节评分^[6]评价膝关节功能,总分100分,以70分为界限,低于70分说明膝关节功能受到显著影响,分数越低代表膝关节功能越差;疼痛程度采用视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)^[7]进行评价,总分0~10分,0分表示无痛,10分表示剧烈疼痛,分数越高代表疼痛越严重。

1.3.3 两组西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数(Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis Index, WOMAC)比较

治疗前后采用WOMAC评分^[8]进行评价,主要包含3个方面,即躯体功能、僵硬、疼痛程度;分为无、轻、中、重、很重5个评分等级,分别赋予0、1、2、3、4分,分数越低代表症状越轻。

1.3.4 两组骨代谢指标比较

治疗前后分别抽取患者静脉血3 mL,行离心(3 500 r/min, 15 min, 离心半径10 cm),取上清液,待测。应用酶联免疫吸附法检测骨钙素(Osteocalcin, BGP)、 β 胶原降解产物(Beta collagen degradation products, β -CTX)及胰岛素样生长因子-1(Insulin-like growth factor-1, IGF-1)。BGP试剂盒来自上海邦景实业有限公司, β -CTX试剂盒来自上海市瑞番生物科技有限公司,IGF-1试剂盒来自深圳市科润达生物工程有限公司。严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3.5 两组并发症比较

治疗后统计并观察并发症发生情况,主要包括关节积液、关节感染、下肢肿胀等。

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。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

对照组总疗效为72.50%,观察组总疗效为93.02%,观察组总疗效高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of clinical efficacy between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	显效	有效	无效	总疗效
对照组	40	9(22.50)	20(50.00)	11(27.50)	29(72.50)
观察组	43	22(51.16)	18(41.86)	3(6.98)	40(93.02)
χ^2 值					6.224
P 值					0.012

2.2 两组Lysholm膝关节、VAS评分比较

两组治疗后Lysholm膝关节下降,VAS评分上升,且观察组Lysholm膝关节评分高于对照组,VAS评分低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后Lysholm膝关节、VAS评分比较 [$(\bar{x} \pm s)$, 分]

Table 2 Comparison of lysholm knee joint and VAS scores before and after treatment between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, score]

组别	n	Lysholm 膝关节评分		VAS 评分	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	40	66.27 \pm 5.37	75.29 \pm 7.08 ^a	7.34 \pm 1.54	4.97 \pm 1.01 ^a
观察组	43	65.68 \pm 5.21	82.11 \pm 8.94 ^a	7.18 \pm 1.25	3.62 \pm 0.73 ^a
t 值		0.507	3.833	0.521	7.014
P 值		0.612	<0.001	0.603	<0.001

注:同组之间治疗前后比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组WOMAC评分比较

两组治疗后躯体功能、僵硬、疼痛评分均有所下降,且观察组上述评分均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组骨代谢指标比较

两组治疗后BGP、 β -CTX、IGF-1水平均下降,且观察组BGP、 β -CTX、IGF-1水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 两组并发症比较

对照组并发症发生率占比22.50%,观察组并发症发生率占比6.97%,观察组并发症发生率占比低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表3 两组治疗前后 WOMAC 评分比较 [$(\bar{x} \pm s)$, 分]Table 3 Comparison of WOMAC scores between the two groups before and after treatment [$(\bar{x} \pm s)$, score]

组别	n	躯体功能		僵硬		疼痛	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	40	3.74±1.27	2.09±0.67 ^a	3.11±1.08	2.18±0.68 ^a	3.94±1.53	2.14±0.63 ^a
观察组	43	3.56±1.18	1.43±0.42 ^a	3.03±1.02	1.42±0.41 ^a	3.62±1.46	1.09±0.23 ^a
t 值		0.669	5.417	0.347	6.215	0.974	10.224
P 值		0.505	<0.001	0.729	<0.001	0.332	<0.001

注:同组之间治疗前后比较,^aP<0.05。表4 两组治疗前后骨代谢指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of bone metabolism indexes between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BGP($\mu\text{g/L}$)		β -CTX(ng/mL)		IGF-1($\mu\text{g/L}$)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	40	17.65±5.36	13.14±3.58 ^a	1.37±0.49	0.83±0.37 ^a	15.73±4.87	12.34±3.05 ^a
观察组	43	18.02±5.54	9.07±2.37 ^a	1.53±0.56	0.37±0.21 ^a	15.26±1.72	8.93±2.18 ^a
t 值		0.308	6.147	1.380	7.027	0.594	5.891
P 值		0.758	<0.001	0.171	<0.001	0.553	<0.001

注:同组之间治疗前后比较,^aP<0.05。表5 两组并发症发生率比较 [$n(\%)$]Table 5 Comparison of complication rates between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	关节积液	关节感染	下肢肿胀	总发生率
对照组	40	3(7.50)	5(12.50)	1(2.50)	9(22.50)
观察组	43	1(2.32)	2(4.65)	0(0.00)	3(6.97)
χ^2 值					4.037
P 值					0.044

3 讨论

膝关节镜清理术是治疗 OA 的一种偏保守的手术方法,具有创伤小、恢复快等优势;但针对长期治疗效果而言,治疗后期易出现膝关节粘连、关节功能恢复不完全、渗出物增多等弊端^[9-10]。既往临床常采用关节腔内注射玻璃酸钠对 OA 患者进行治疗,可修复已被破坏的生理屏障,防止软骨基质进一步丢失;但长期采用该方法易发生膝关节内组织感染,关于其疗效目前临床未得到统一结论^[11]。PRP 是自体外周血离心得到以血小板和白细胞为主的血浆。血小板 α 颗粒中储存着大量的生长因子和细胞因子,当血小板被激活时, α 颗粒会释放大量生长因子,其中 PDGF 和 TGF- β 起主要作用。 α 颗粒中的 TGF- β 大多以前体形式存在,当机体局部损伤时,其前体通过胞吐转化为活性转化生长因子 β ,并被相关酶激活^[12]。研究表明,大量的细胞生长因子可以促进细胞分化、增殖、细胞外基质和胶原合成,从

而促进关节软骨和韧带的再生和修复。同时,细胞生长因子可以改善病变部位的炎症,减轻临床症状。另外,PRP 还含有大量的白细胞,白细胞和血小板可以释放多种抗菌肽与病原体结合,从而抑制和杀死病原体,起到抗菌作用^[13]。近年有研究发现针对膝关节骨性关节炎使用关节腔内注射 PRP 进行治疗效果优于玻璃酸钠^[14]。本研究结果显示,观察组总疗效高于对照组,且治疗后观察组 Lysholm 膝关节、VAS、WOMAC 评分均优于对照组,说明膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP 治疗临床疗效确切,可有效改善疼痛程度以及膝关节功能。

BGP 作为反映骨转换的生理指标,由成骨细胞、破骨细胞所分泌,当骨转化升高时,BGP 随之上升。 β -CTX 是以破坏骨细胞活性增强为特点的骨吸收有效标志物之一。IGF-1 可以刺激前成骨细胞增殖并分化为成骨细胞,以维持骨量平衡,其水平与生长激素具有紧密联系^[15]。本次研究显示,治疗后观察组 BGP、 β -CTX、IGF-1 水平均显著低于对照组。分析原因:PRP 含有的各种生长因子通过三种生物效应即趋化作用、合成分泌和增植物效应作用来促进细胞的增殖分化;且不同细胞对不同因子起反应,使各种细胞有各自的修复过程。另外,本次研究中观察组并发症发生率占比低于对照组,说明膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP 治疗具有一定安全性。分析原因可

能是, PRP 治疗技术因使用患者自身血液进行分离萃取血小板血浆, 大大减少了治疗后排斥的可能性, 减少了并发症的发生。

综上, OA 患者应用膝关节镜清理术后辅助关节腔内注射 PRP 治疗疗效理想, 可有效改善患者 Lysholm 膝关节、VAS 评分, 改善骨代谢指标, 且减少并发症发生率, 值得临床大力推广应用。

参考文献

- [1] 郑守超, 石晶, 王峰, 等. 关节镜下半月板成形术治疗膝关节半月板损伤患者的效果观察及对 Lysholm 评分、关节生理功能的影响[J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(3): 82-86.
- [2] 唐永秀, 陈明, 唐忠银, 等. 针刀技术联合富血小板血浆技术治疗膝关节炎的作用机制及对修复功能的影响[J]. 针灸临床杂志, 2022, 38(6): 30-34.
- [3] 陶金刚. 富血小板血浆联合塞来昔布治疗膝关节骨性关节炎患者[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(4): 758-763.
- [4] 曹彭凯, 王晓猛, 白伟侠, 等. 2018年版《骨关节炎诊疗指南》解读[J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(11): 1241-1243.
- [5] 卓泽铭, 邢势, 王和杰, 等. 脉冲射频术对膝关节骨性关节炎患者膝关节功能及血清 IL-7R、TNF- α 、IGF 水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(13): 2551-2554.
- [6] 鲍瑞林. 膝关节交叉韧带重建手术前后 lysholm 膝关节活动评分比较[J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(12): 1410-1413.
- [7] 严广斌. 视觉模拟评分法[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2014(2): 273.
- [8] 沈正东, 于慧敏, 王俊婷, 等. 改良版西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数量表在膝关节炎中的应用[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(7): 537-541.
- [9] 曲波, 朱立军, 马根成. 胫骨高位截骨术与全膝关节置换术对膝关节骨性关节炎患者 Lysholm 膝关节评分、关节活动度和术后并发症影响[J]. 临床误诊误治, 2021, 34(12): 73-76.
- [10] 于瑞杰, 刘艳伟, 孟爱霞, 等. 火针联合玻璃酸钠注射液关节腔注射对膝骨关节炎患者 Lysholm 评分和外周血 TLR4 浓度的影响[J]. 河北医学, 2019, 25(10): 1753-1756.
- [11] Sánchez M, Jorquera C, Sánchez P, et al. Platelet-rich plasma injections delay the need for knee arthroplasty: a retrospective study and survival analysis[J]. Int Orthop, 2021, 45(2): 401-410.
- [12] 卢庆峰, 李琳琳, 周祖忠, 等. 关节镜清理结合富血小板血浆注射治疗膝关节骨性关节炎疗效分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(13): 1915-1918.
- [13] 向成浩, 范成龙, 覃文婕, 等. 关节镜下清理联合富血小板血浆注射治疗 Kellgren-Lawrence 分级 I-III 级膝关节炎[J]. 中国骨伤, 2022, 35(1): 26-32.
- [14] 周宙, 谭丽娟, 陈茂华. 富血小板血浆对关节镜治疗膝关节退行性病变患者疗效的影响[J]. 中国内镜杂志, 2019, 25(10): 73-77.
- [15] 闫理想, 张正, 张德志, 等. 关节镜联合富含血小板血浆治疗半月板体部及后根部损伤的术后疗效[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(3): 50-56.

(上接第 462 页)

- [4] 林锦娜, 刘强. 2019 年 NCCN 乳腺癌临床实践指南更新解读: 乳腺癌局部治疗新进展[J]. 临床外科杂志, 2020, 28(1): 27-30.
- [5] 连俊, 李苗, 伍玉容, 等. 超声弹性成像参数在浸润性乳腺癌诊断中的应用及其与组织 NKD1、HER-2 表达量的关系[J]. 海南医学, 2022, 33(14): 1852-1855.
- [6] 王凹弟, 付佳兴, 姚邗山, 等. 超声弹性成像硬度评分法联合面积比法对乳腺病灶良恶性诊断价值研究[J]. 创伤与急危重病医学, 2020, 8(1): 35-37.
- [7] 陈淑如, 方勤, 陈晓越. 2 种新辅助化疗方案对可手术三阴性乳腺癌的临床疗效及其与 BRCA1 基因的相关性研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(24): 3009-3013.
- [8] 储荣先, 彭梅. 浸润性乳腺癌患者组织 ER、PR 及 HER-2 与超声影像的关系分析[J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(9): 986-989.
- [9] 何晓玲, 杜鹏辉, 刘欣, 等. 乳腺癌患者 120 例临床超声弹性成像评分、病理特征分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020, 17(5): 80-84.
- [10] 廖天志, 成宏. 人参皂苷 Rg3 联合沉默 MMP-9 抑制乳腺癌肿瘤细胞的生长和转移[J]. 河北医药, 2020, 42(9): 1285-1290.
- [11] 蒋南, 金壮, 于馨, 等. 三阴性乳腺癌超声表现及其与细胞角蛋白 5/6、BRCA1 表达相关性分析[J]. 临床军医杂志, 2022, 50(7): 670-673.
- [12] 陈功泉, 石琳, 胡卯秀, 等. 三阴性乳腺癌的超声图像特征及其与 P53、BRCA1 蛋白表达的相关性[J]. 临床超声医学杂志, 2021, 23(6): 406-409.
- [13] Lee JM, Kopans DB, McMahon PM, et al. Breast cancer screening in BRCA1 mutation carriers: effectiveness of MR imaging--Markov Monte Carlo decision analysis[J]. Radiology, 2008, 246(3): 763-771.
- [14] 王彦龙, 肖兰, 朱丽娜, 等. 不同 p53 表达乳腺癌临床病理特征及 MRI 表现对照分析[J]. 四川医学, 2021, 42(2): 162-166.
- [15] 焦丹, 刘越. p53 和 Bcl-2 阳性表达与乳腺癌患者临床特征的关系[J]. 癌症进展, 2019, 17(12): 1445-1448.

不同 TNM 分期肺癌患者糖脂代谢、Fib、D-D 水平变化及与预后的关系

杨剑 费维伦 钟玲玲* 梁春阳 杨枫凡

[摘要] **目的** 探究并分析不同 TNM 分期肺癌患者糖脂代谢、纤维蛋白原(Fib)、D-二聚体(D-D)水平变化及与预后的关系。**方法** 收集2018年1月至2021年9月期间安徽医科大学第一附属医院东城院区收治的肺癌患者98例作为肺癌组,依据TNM分期不同将其分为I、II期($n=16$)、III期($n=44$)和IV期($n=38$)。同时收集同期体检中心内100名体检结果正常的人群作为对照组,比较不同TNM分期肺癌患者及对照组的空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等糖脂代谢水平及Fib和D-D水平变化情况,并对影响肺癌患者预后的因子进行单、多因素分析。**结果** FPG、HbA1c、LDL-C、Fib和D-D水平:IV期>III期>I、II期>对照组,HDL-C水平:IV期<III期<I、II期<对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。将肺癌患者按照1年生存情况分为生存组($n=72$)和死亡组($n=26$),生存组患者FPG、HbA1c、TC、TG、LDL-C、Fib和D-D低于死亡组,HDL-C高于死亡组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Logistic多因素回归分析结果显示,高FPG、TC、LDL-C、Fib、D-D、吸烟和TNM分期晚均是影响肺癌患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 肺癌患者糖脂代谢异常程度及血清Fib和D-D水平随TNM分期的升高呈规律性变化,且高水平FPG、TC、LDL-C、Fib和D-D均是肺癌患者不良预后的高危因素,提示或可通过降低机体糖脂代谢异常程度来改善患者预后。

[关键词] TNM分期;肺癌;糖脂代谢;纤维蛋白原;D-二聚体

Changes of glucolipid metabolism, Fib and D - D levels and their relationship with prognosis in lung cancer patients with different TNM stages

YANG Jian, FEI Weilun, ZHONG Lingling*, LIANG Chunyang, YANG Fengfan

(Department of Clinical Laboratory, Dongcheng Branch, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 231600)

[ABSTRACT] **Objective** To explore and analyze the changes of glucolipid metabolism, fibrinogen (Fib) and D-dimer (D-D) levels and their relationship with prognosis in lung cancer patients with different TNM stages. **Methods** 98 patients with lung cancer treated in the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University from January 2018 to September 2021 were collected as the lung cancer group and they were classified into the stage I - II group ($n=16$), the stage III group ($n=44$) and the stage IV group ($n=38$) according to TNM staging, and 100 people with normal physical examination results in the physical examination center during the same period were collected as the control group. The levels of glucolipid metabolism indicators of fasting plasma glucose (FPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and levels of Fib and D-D were compared among patients with lung cancer of different TNM stages and the control group, and the factors affecting the prognosis of patients with lung cancer were analyzed by univariate analysis and

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2020085QH101)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院东城院区检验科,安徽,合肥 231600

*通信作者:钟玲玲, E-mail:z15357953476@163.com

multivariate analysis. **Results** The levels of FPG, HbA1c, TC, TG, LDL-C, Fib and D-D were shown as stage IV group > stage III group > stage I ~ II group > control group while the level of HDL-C showed stage IV group < stage III group < stage I ~ II group < control group ($P < 0.05$). Patients with lung cancer were divided into the survival group ($n=72$) and the death group ($n=26$) according to 1-year survival status. The levels of FPG, HbA1c, TC, TG, LDL-C, Fib and D-D in the survival group were lower than those in the death group, and HDL-C was higher than that in the death group ($P < 0.05$). Logistic multivariate regression analysis revealed that high levels of FPG, TC, LDL-C, Fib and D-D, smoking and advanced TNM stage were independent risk factors for the prognosis of patients with lung cancer ($P < 0.05$). **Conclusion** The abnormal degree of glucolipid metabolism and levels of serum Fib and D-D in patients with lung cancer change regularly with the increase of TNM stage. High levels of FPG, TC, LDL-C, Fib and D-D are high-risk factors for poor prognosis of patients with lung cancer, suggesting that the prognosis of patients can be improved by reducing the abnormal degree of glucolipid metabolism in vivo.

[KEY WORDS] TNM staging; Lung cancer; Glucolipid metabolism; Fibrinogen; D-dimer

肺癌是世界范围内最为常见的恶性肿瘤之一,也是肿瘤相关性死亡的主要原因,其发病机制较为复杂,不同的分子类型、病理分型和肿瘤分期的患者预后均不尽相同^[1],且目前仍缺乏较为精准的诊断和评估肺癌预后的血液学指标。最新研究表明,血糖代谢异常和血脂代谢异常一定程度上与恶性肿瘤的发生发展有关,例如肥胖、高血糖症、高血脂症均是多种恶性肿瘤发病的高危因素^[2]。此外,恶性肿瘤的疾病进展也与肿瘤标志物的异常改变以及外周血指标的异常变化高度相关,尤其是肺癌患者,相较于正常人群和其他恶性肿瘤患者而言,肺癌外周血高凝状态更为明显^[3]。纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)和D-二聚体(D-dimer, D-D)作为反映机体凝血功能的重要指标,在多种凝血疾病中表达异常。然而目前尚不清楚肺癌患者糖脂代谢异常及外周血Fib、D-D水平是否与其预后有关,本次研究将比较肺癌不同预后患者血糖、血脂、Fib和D-D水平的差异,分析影响肺癌预后的危险因素,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年1月至2021年9月期间安徽医科大学第一附属医院东城院区收治的肺癌患者98例作为肺癌组,纳入标准:符合《中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)》中关于肺癌的诊断标准^[4];术前一周内有完整血液学检测报告者;术前半年内未接受过性激素、糖皮质激素和免疫抑制剂治疗者;患者入院前未接受过胰岛素治疗者;病历资料完整者。排除标准:肝、肾、脾功能异常或其他系

统病变且近3个月内接受过影响血糖、血脂及凝血指标治疗的患者;急慢性感染、传染疾病者;合并胸腔积液、消化道出血者;合并其他恶性肿瘤疾病者;合并影响凝血功能的血液系统相关疾病者。肺癌组男性61例,女性37例,年龄为40~61岁,平均年龄(50.97 ± 6.52)岁,体质指数20~24 kg/m²,平均体质指数(21.65 ± 1.48)kg/m²;病理类型为鳞癌61例,腺癌37例;TNM分期^[4]为I、II期16例(I期7例,II期9例;I期和II期均为TNM分期早期,且患者人数较少,因此将其合并),III期44例,IV期38例。另选同期体检中心内100名体检结果正常的人群(年龄相仿且无肿瘤疾病)作为对照组,对照组男性65名,女性35名,年龄为40~62岁,平均年龄(52.33 ± 5.75)岁,体质指数20~24 kg/m²,平均体质指数(22.01 ± 1.23)kg/m²。两组性别、年龄、体质指数等一般资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血糖测定

抽取不同TNM分期肺癌患者入院时及对照组体检当天晨起空腹静脉血3 mL,采用己糖激酶法^[5]检查空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)水平。使用糖化血红蛋白仪(品牌:Bio-Rad;型号:VARIANT II TURBO)以高效液相色谱法检查糖化血红蛋白(Glycosylated hemoglobin, HbA1c)水平,严格按照说明书要求操作。

1.2.2 血脂测定

抽取不同TNM分期肺癌患者入院时及对照

组体检当天晨起空腹静脉血 3 mL,以 3 000 r/min 的速率进行离心处理(离心半径 15 cm),离心时间为 10 min,采用全自动生化分析仪(品牌:贝克曼;型号:AU5800)检测总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平,严格按照说明书要求操作。

1.2.3 Fib 和 D-D 水平测定

抽取不同 TNM 分期肺癌患者入院时及对照组体检当天晨起空腹静脉血 3 mL,以 3 000 r/min 的速率进行离心处理(离心半径 15 cm),离心时间为 10 min,留取上层血浆,采用凝固法^[6]测定 Fib 水平,采用免疫比浊法^[7]测定 D-D 水平,所有试剂盒均购自德国西门子公司,严格按照说明书要求操作。

1.2.4 预后

采用门诊复诊或电话随访的方式对肺癌患者生存情况进行随访,随访时间为入院后 1 年,根据患者随访期间生存情况将肺癌组分为生存

组及死亡组。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行处理,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较行 *t* 检验,多组间比较采用重复测量方差分析。计数资料率采用 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验,患者预后影响因素采用多因素 Logistic 回归分析检验,当 $P < 0.05$ 时为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组糖脂代谢水平及 Fib 和 D-D 水平比较

FPG、HbA1c、LDL-C、Fib 和 D-D 水平:IV 期>III 期>I、II 期>对照组, HDL-C 水平:IV 期<III 期<I、II 期<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同预后患者糖脂代谢及 Fib、D-D 水平比较

随访期间共出现死亡患者 26 例,死亡率为 26.53%。生存组患者 FPG、HbA1c、TC、TG、LDL-C 及 Fib、D-D 水平明显低于死亡组, HDL-C 水平明显高于死亡组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 四组糖脂代谢水平及 Fib 和 D-D 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of glucolipid and levels of Fib and D-D metabolism among the four groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	Fib(g/L)	D-D(μ g/mL)
I、II 期	16	5.12±0.55 ^a	4.53±0.62 ^a	4.92±0.50 ^a	1.23±0.36 ^a	3.02±0.42 ^a	1.33±0.21 ^a	3.76±0.82 ^a	0.68±0.15 ^a
III 期	44	5.98±0.79 ^{ab}	4.86±0.51 ^{ab}	5.01±0.48 ^{ab}	1.29±0.39 ^{ab}	3.24±0.35 ^{ab}	1.27±0.19 ^{ab}	4.47±0.74 ^{ab}	0.79±0.13 ^{ab}
IV 期	38	6.45±1.03 ^{abc}	5.33±0.75 ^{abc}	5.13±0.71 ^{abc}	1.31±0.43 ^{abc}	3.58±0.61 ^{abc}	1.20±0.25 ^{abc}	5.88±0.85 ^{abc}	0.85±0.12 ^{abc}
对照组	100	4.92±0.87	4.48±0.62	4.80±0.69	1.15±0.28	2.92±0.37	1.38±0.23	3.41±0.73	0.35±0.09
<i>F</i> 值		23.309	11.900	1.850	1.860	15.412	4.410	65.650	178.982
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.141	0.140	<0.001	0.006	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 I、II 期比较,^b $P < 0.05$;与 III 期比较,^c $P < 0.05$ 。

表 2 不同预后患者糖脂代谢及 Fib、D-D 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of glucolipid metabolism and levels of Fib and D-D among patients with different prognosis status ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	Fib(g/L)	D-D(μ g/mL)
生存组	72	5.46±0.84	4.72±0.46	4.91±0.57	1.24±0.28	3.26±0.45	1.31±0.34	4.51±0.52	0.76±0.18
死亡组	26	7.58±0.95	5.73±0.43	5.41±0.53	1.42±0.33	3.55±0.49	1.09±0.26	5.98±0.44	1.89±0.21
<i>t</i> 值		10.650	9.758	3.903	2.677	2.751	2.995	12.839	26.232
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.009	0.007	0.003	0.001	0.001

2.3 影响肺癌患者预后的单因素分析

生存组与死亡组性别、年龄、高血压史、冠心病史、糖尿病史和病理分型比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);死亡组中有吸烟史、TNM 分期为 III/IV 期的人数比例高于生存组,差异有统计学意

义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 影响肺癌患者预后的多因素分析

多因素分析结果表明,高 FPG、TC、LDL-C、Fib、D-D、吸烟和 TNM 分期晚均是影响肺癌患者预后的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

表3 影响肺癌患者预后的单因素分析 [n(%)]
Table 5 Univariate analysis of affecting the prognosis in patients with lung cancer [n(%)]

因素	n	生存组 (n=72)	死亡组 (n=26)	χ^2 值	P值
性别	男	45	35(48.61)	0.792	0.373
	女	53	37(51.39)		
年龄(岁)	≥60	56	42(58.33)	0.157	0.692
	<60	42	30(41.67)		
吸烟史	有	51	32(44.44)	6.275	0.012
	无	47	40(55.56)		
高血压史	有	44	33(45.83)	0.096	0.757
	无	54	39(54.17)		
冠心病史	有	49	37(51.39)	0.209	0.647
	无	49	35(48.61)		
糖尿病史	有	53	41(56.94)	0.896	0.344
	无	45	31(43.06)		
病理分型	鳞癌	61	46(63.89)	0.312	0.576
	腺癌	37	26(36.11)		
TNM分期	I、II期	44	38(52.78)	6.811	0.009
	III、IV期	54	34(47.22)		

表4 影响肺癌患者预后的多因素分析

Table 6 Multivariate analysis of affecting the prognosis in patients with lung cancer

因素	β 值	S.E.值	Wald值	OR值	95% CI	P值
FPG	0.847	0.315	7.230	2.333	1.258~4.325	0.007
TC	1.045	0.473	4.881	0.352	0.139~0.889	0.028
LDL-C	0.961	0.382	6.329	0.383	0.181~0.809	0.013
Fib	0.975	0.408	5.711	2.651	1.192~5.898	0.017
D-D	1.135	0.419	7.338	3.111	1.369~7.073	0.007
吸烟史	0.878	0.362	5.883	2.406	1.184~4.892	0.016
TNM分期	0.733	0.215	11.623	2.081	1.366~3.172	<0.001

注:赋值:FPG(≥6.1 mmol/L为1, <6.1 mmol/L为0); TC(≥5.2 mmol/L为1, <5.2 mmol/L为0); LDL-C(≥3.4 mmol/L为1, <3.4 mmol/L为0); Fib(≥4 g/L为1, <4 g/L为0); D-D(≥0.5 μg/mL为1, <0.5 μg/mL为0);吸烟史(有为1, 无为0); TNM分期(III、IV期为1, I、II期为0)。

3 讨论

既往研究发现, TNM分期越晚的患者癌细胞恶性程度越高, 出现糖脂代谢异常和凝血功能紊乱的可能性随之增加^[8-9]。Fib和D-D作为反映机体凝血系统活性的两大重要指标, 参与调节纤维蛋白的重塑过程, 对于纤维蛋白降解过程极为敏感, 而纤维蛋白重塑过程几乎发生在肺癌等恶性肿瘤转移过程的所有阶段^[10], 高Fib和D-D水平预示着更多的肿瘤细胞转移。本次研究结果显示, 肺癌患者存在糖代谢异常、脂代谢异常和凝血功能异常, 且与TNM分期有关, 这与郭苗等^[9]的研究拥有相似结论, 推测肺癌患者恶性肿瘤的

发生发展与其自身糖代谢、脂代谢以及凝血功能密切相关。TC和TG是癌细胞膜的重要组成部分, 肿瘤细胞的快速分裂增殖需要大量的TC和TG支持, 机体长期处于高脂状态可加速癌细胞的生长和分化, 并抑制癌细胞凋亡, 加重患者病情。血清中LDL-C和HDL-C水平异常的促癌机制在于其可影响癌细胞周期中的促分裂原活化蛋白激酶信号转导途径, 进而发挥对细胞凋亡的抑制效应^[11]。

肺癌在全球范围内的发病率和死亡率仍处于较高水平, 低剂量胸部CT筛查虽然可提高早期肺癌的检出率, 但由于肺癌易复发和转移, 使得患者生存情况仍不够理想^[12]。因此, 探寻能够在早期发现、诊断肺癌的有效标志物对于改善患者肿瘤诊断、预后评估和术后复发等方面而言非常关键。本次研究通过比较肺癌不同预后患者血糖、血脂、外周血Fib和D-D水平, 发现高FPG、TC、LDL-C、Fib、D-D、有吸烟史和TNM分期晚均是影响肺癌患者预后的独立危险因素, 与国外一项研究结果相符^[13]。肺癌患者肺组织正常结构和功能受到肿瘤细胞组织侵害, 吸烟可进一步加剧这种损害, 使得患者肺功能进一步下降, 不利于患者病情恢复。TNM分期越晚的患者肿瘤浸润程度和区域淋巴结受累越严重, 出现远处转移的概率更大, 肿瘤恶性程度更高, 预后越不理想^[14]。高FPG、TC、LDL-C、Fib和D-D的患者体内糖脂代谢紊乱, 凝血功能异常, 高糖、高脂和血液高凝状态使得恶性肿瘤栓子与靶器官血管壁之间的粘附作用增加, 为肿瘤细胞分裂、生长、增殖和转移提供有利条件^[15]。因此, 高FPG、TC、LDL-C、Fib、D-D的肺癌患者预后更差。

综上所述, TNM分期越晚的肺癌患者血糖、血脂水平升高, 糖脂代谢异常, 血清Fib和D-D水平显著升高, 高水平FPG、TC、LDL-C、Fib、D-D与肺癌患者预后不良高度相关, 临床需重点加强对肺癌患者血糖、血脂、血清Fib和D-D水平的监测, 以更好地延缓病情进展, 改善患者预后。

参考文献

- [1] Forde PM, Spicer J, Lu S, et al. Neoadjuvant Nivolumab plus Chemotherapy in Resectable Lung Cancer [J]. N Engl J Med, 2022, 386(21): 1973-1985.
- [2] 卜寒莉, 刘钊, 高修银, 等. 化疗对乳腺癌患者血脂、血糖、尿酸的影响及因素分析 [J]. 医学研究杂志, 2020, 49(10): 145-149.

(下转第476页)

动态监测脓毒症患者 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平的临床意义

张苗苗* 周冠华 王助衡

[摘要] **目的** 探讨脓毒症患者血乳酸(Lac)、肌钙蛋白I(cTnI)、纤维蛋白原(FBG)、D-二聚体(D-D)动态变化特点及临床意义。**方法** 将首都医科大学大兴教学医院2019年1月至2022年1月156例脓毒症患者分为未休克组($n=89$)、休克组($n=67$),分别于入院时(T_0)、入院6h(T_1)、入院12h(T_2)、入院48h(T_3)检测Lac、cTnI、FBG、D-D并进行比较。以28d为研究终点,以存活情况将患者分为生存组和死亡组,比较不同时间点上述血清指标变化,并分析死亡的影响因素。**结果** 休克组 T_0 ~ T_3 时各时间点血清Lac、cTnI、FBG、D-D水平高于未休克组,差异有统计学意义($P<0.05$);未休克组入院48h上述血清指标持续下降, T_3 时上述各项指标较 T_0 时均降低,差异有统计学意义($P<0.05$);休克组入院48h上述血清指标先升高后下降($P<0.05$);死亡组 T_0 ~ T_3 时各时间点血清Lac、cTnI、FBG、D-D水平高于存活组,差异有统计学意义($P<0.05$);存活组入院48h上述血清指标持续下降,死亡组入院48h血清上述血清指标持续上升, T_0 ~ T_3 时各时间点上述血清指标高于存活组,差异有统计学意义($P<0.05$);Lac、cTnI、FBG、D-D水平升高是脓毒症患者短期死亡的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** Lac、cTnI、FBG、D-D水平与脓毒症患者入院48h病情程度和生存情况显著相关,动态监测上述指标水平变化有助于预后的判断。

[关键词] 脓毒症; 血乳酸; 肌钙蛋白; 纤维蛋白原; D-二聚体

Clinical significance of dynamic monitoring of Lac, cTnI, FBG and D-D levels in patients with sepsis

ZHANG Miaomiao*, ZHOU Guanhua, WANG Zhuheng

(Department of Critical Care Medicine, Daxing Teaching Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 102600)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the dynamic changes of blood lactic acid (Lac), cardiac troponin I (cTnI), fibrinogen (FBG) and D-dimer (D-D) in patients with sepsis, and their clinical significance. **Methods** A total of 156 patients with sepsis who were admitted to Daxing Teaching Hospital, Capital Medical University from January 2019 to January 2022 were divided into the non-shock group ($n=89$) and the shock group ($n=67$). Lac, cTnI, FBG and D-D were detected at admission (T_0), 6h after admission (T_1), 12h after admission (T_2) and 48h after admission (T_3). According to the 28d survival status, the patients were divided into the survival group and the death group. Changes of above-mentioned serum indicators were compared between the groups. The influencing factors of death were analyzed. **Results** The levels of serum Lac, cTnI, FBG and D-D levels in the shock group from T_0 to T_3 were higher than those in the non-shock group ($P<0.05$). These serum indicators in the non-shock group continuously decreased in 48h after admission ($P<0.05$), while the levels in the shock group increased firstly and then decreased in 48h after admission ($P<0.05$). Serum Lac, cTnI, FBG and D-D levels in the death group from T_0 to T_3 were higher than those in the survival group ($P<0.05$). These serum indicators in the survival group continuously decreased in 48h after admission, while the levels in the death group continuously increased in 48h after admission ($P<0.05$). The increased levels of

基金项目:北京市自然科学基金(7204215)

作者单位:首都医科大学大兴教学医院重症医学科,北京 102600

*通信作者:张苗苗, E-mail: daxingzhongzheng@163.com

Lac, cTnI, FBG and D-D were independent risk factors for short-term death of patients with sepsis ($P<0.05$).

Conclusion The levels of Lac, cTnI, FBG and D-D are closely related to the condition and survival status of the patients with sepsis in 48 h after admission. Dynamic monitoring of the changes in the levels of these indicators is helpful for the judgment of prognosis.

[KEY WORDS] Sepsis; Blood lactic acid; Cardiac troponin; Fibrinogen; D-dimer

脓毒症是由感染因素引起的机体反应失调,可导致器官功能障碍,此类患者血压降低后经快速液体复苏仍无法恢复,可引发脓毒性休克,多个器官或系统产生功能障碍无法维持内环境稳态时可发生多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),短期病死率高达20%~35%,严重威胁患者的生命安全^[1]。寻找早期可有效反映患者疾病严重程度及预后评估的生物学指标对脓毒症的治疗具有重要意义。血乳酸(Lactic Acid, Lac)是机体糖代谢的中间产物,脓毒症患者由于组织灌注不足和缺氧原因,Lac明显高于正常水平。缺氧不仅易造成血液Lac增加,还能诱导心肌损伤,从而造成肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)等心肌损伤相关指标异常。脓毒症发生过程中体内免疫系统过度激活,炎性因子和介质形成的级联反应使机体炎症反应失调,形成继发性的凝血功能异常^[2]。有研究显示,脓毒症预后与凝血指标变化密切相关^[3]。纤维蛋白原(fibrinogen, FBG)、D-二聚体(D-Dimer, D-D)是反映机体凝血功能的常见监测指标。本文将研究通过检测不同病情进展程度、不同生存情况脓毒症患者血清Lac、cTnI、FBG、D-D水平,分析上述指标与病情进展及预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取首都医科大学大兴教学医院2019年1月至2022年1月收治的脓毒症患者156例作为研究对象,其中男95例,女61例,纳入标准:①患者诊断符合2016年欧洲重症医学会发布的《脓毒症和脓毒性休克定义的第三次国际共识(Sepsis-3.0)》中脓毒症诊断标准,存在感染且序贯性器官功能衰竭评估(Sequential organ failure assessment, SOFA)评分 ≥ 2 分^[4];②年龄超过18岁;③获得患者家属知情同意;④本研究符合《赫尔辛基宣言》。排除标准:①存活时间 < 48 h;②合并恶性肿瘤、先天性心脑血管疾病;③先天性凝血功能异常、原发性免疫功能缺陷(原发性丙种球蛋白缺乏症、孤立性IgA缺乏

症等);④急性心肌梗死、心源性休克、哮喘。

1.2 研究方法

1.2.1 分组

根据中国严重脓毒症脓毒性休克治疗指南(2014)^[5]将脓毒症患者分为未休克组和休克组,分别为89例、67例。以28 d为研究终点,根据存活情况将脓毒症患者分为生存组和死亡组,分别为97例、59例。

1.2.2 观测指标

①入院时收集两组患者的人口学体征,如性别、年龄等;②记录两组患者入院时体温、感染部位及受累脏器情况;③入院时检测患者常规实验室指标,如血清白蛋白等;④入院时采集患者感染部位样本,分离培养并鉴定病原菌构成;⑤SOFA评分^[6]:包括呼吸、凝血、肝脏、循环、神经、肾脏6项,每项4分,分值范围0~24分,分值越高,预后越差;⑥分别于入院时(T_0)、入院6 h(T_1)、入院12 h(T_2)、入院48 h(T_3)采集患者外周静脉血,检测Lac、cTnI、FBG、D-D水平。Lac使用酶电极法检测,cTnI使用酶联免疫吸附法检测,FBG、D-D使用免疫化学发光法测定,试剂盒均来自于上海广锐科技有限公司。

1.3 统计学方法

使用SPSS 23.0统计学软件进行数据分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验。使用单因素及多因素logistics分析脓毒症患者死亡的危险因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症休克组与未休克组患者血清Lac、cTnI、FBG、D-D水平比较

休克组 T_0 ~ T_3 时各时间点血清Lac、cTnI、FBG、D-D水平高于未休克组,差异有统计学意义($P<0.05$);未休克组入院48 h血清Lac、cTnI、FBG、D-D持续下降, T_3 时上述各项指标较 T_0 时均降低,差异有统计学意义($P<0.05$);休克组入院48 h血清Lac、cTnI、FBG、D-D水平先升高后下降($P<0.05$)。见表1。

表1 脓毒症休克组与未休克组患者血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of serum Lac, cTnI, FBG and D-D levels between the shock group and the non-shock group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Lac (mmol/L)				cTnI (ng/mL)			
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
未休克组	89	3.22±0.63	2.80±0.51	1.21±0.18	1.03±0.15 ^a	0.25±0.04	0.22±0.02	0.18±0.03	0.16±0.03 ^a
休克组	67	3.89±0.65	4.12±0.86	4.55±0.82	1.12±0.17	0.30±0.01	0.42±0.03	0.55±0.07	0.36±0.05
t 值		6.486	11.960	37.288	3.502	8.059	48.890	44.740	31.052
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

续表

组别	n	FBG (g/L)				D-D (mg/L)			
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
未休克组	89	3.72±0.69	3.51±0.66	3.40±0.59 ^a	3.32±0.55	0.42±0.08	0.37±0.06	0.25±0.04	0.16±0.02 ^a
休克组	67	4.09±0.53	4.15±0.55	4.32±0.55	4.01±0.42	2.12±0.42	3.65±0.69	4.57±0.71	2.36±0.45
t 值		3.652	6.431	9.923	8.558	37.333	44.669	57.341	46.110
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与未休克组 T₀时刻比较,^aP<0.05。

2.2 不同预后脓毒症患者血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平比较

死亡组 T₀~T₃时各时间点血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平高于存活组,差异有统计学意义(P<0.05);存活组入院 48 h 血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平持

续下降,T₃时上述各项指标较 T₀时均降低,差异有统计学意义(P<0.05);死亡组入院 48 h 血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平持续上升,T₃时上述各项指标较 T₀时均升高,差异有统计学意义(P<0.05)。见表 2。

表2 不同预后脓毒症患者血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of serum Lac, cTnI, FBG and D-D levels in sepsis patients with different prognosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Lac (mmol/L)				cTnI (ng/mL)			
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
存活组	97	3.45±0.56	3.02±0.46	2.31±0.42	1.05±0.18 ^a	0.22±0.04	0.21±0.03	0.21±0.03	0.18±0.02 ^a
死亡组	59	3.72±0.72	4.01±0.75	3.18±0.80	1.34±0.89 ^b	0.33±0.05	0.41±0.04	0.55±0.05	0.36±0.06 ^b
t 值		2.635	10.173	8.783	2.997	15.262	35.695	52.788	26.441
P 值		0.009	<0.001	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

续表

组别	n	FBG (g/L)				D-D (mg/L)			
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
存活组	97	3.59±0.73	3.25±0.69	3.10±0.61	3.01±0.58 ^a	0.42±0.05	0.36±0.04	0.45±0.03	0.25±0.04 ^a
死亡组	59	4.36±0.56	4.34±0.47	4.96±0.52	4.15±0.55 ^b	2.36±0.41	3.60±0.58	4.82±0.75	2.44±0.81 ^b
t 值		7.186	11.128	20.063	12.423	44.250	52.589	54.968	25.493
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与存活组 T₀时刻比较,^aP<0.05;与死亡组 T₀时比较,^bP<0.05。

2.3 影响脓毒症患者死亡的单因素分析

两组 SOFA 评分、脏器受累个数、休克、MODS、白蛋白水平比较差异有统计学意义(P<0.05);两组性别、年龄、体温、感染部位、细菌培养阳性比例差异无统计学意义(P>0.05)。见表 3。胃肠道感染 56 例,胆道感染 50 例,泌尿道感染 39 例,肺部感染 7 例,其他部位感染 4 例。

2.4 影响脓毒症患者死亡的多因素回归分析

以脓毒症患者 28 d 生存情况赋值(存活=1,死亡=0),纳入 SOFA 评分、脏器受累个数、MODS

(发生 MODS=1,未发生 MODS=0)、入院 Lac、cTnI、FBG、D-D 等指标进行 Logistic 回归分析,结果显示,SOFA 评分升高、合并 MODS、白蛋白水平下降、Lac、cTnI、FBG、D-D 水平升高均是导致脓毒症患者死亡的独立危险因素(P<0.05),VIF 均<3。见表 4。

3 讨论

本研究对脓毒症患者入院 48 h 的 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平进行动态监测,结果显示,休克组

表3 影响脓毒症患者死亡的单因素分析 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

指标	存活组 (n=97)	死亡组 (n=59)	χ^2/t 值	P值
性别(男/女)	55/42	40/19	1.897	0.168
年龄(岁)	56.36±5.78	56.69±5.61	0.004	0.997
体温(℃)	38.38±1.49	38.62±1.32	1.018	0.310
SOFA评分(分)	7.68±1.32	12.36±2.35	15.931	<0.001
感染部位				
肺	4(4.12)	3(5.08)	0.079	0.779
胃肠道	39(40.21)	17(28.81)	1.222	0.269
胆道	30(30.93)	20(33.89)	0.149	0.700
泌尿道	21(21.65)	18(30.51)	2.143	0.143
其他	3(3.09)	1(1.69)	0.287	0.592
脏器受累个数(个)	2.07±0.82	3.52±1.14	9.214	<0.001
MODS	15(15.46)	20(33.90)	7.162	0.007
ARDS	9(9.28)	12(20.34)	3.231	0.072
细菌培养				
阳性	38(39.18)	26(44.07)		
阴性	59(60.82)	33(55.93)	0.361	0.547
白蛋白(g/L)	26.17±3.25	19.89±3.74	10.049	<0.001

表4 影响脓毒症患者死亡的 Logistic 回归分析

Table 4 Logistic regression analysis of death of sepsis patients

因素	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	VIF值	P值
SOFA评分	0.132	0.084	5.975	1.141	1.027~1.2169	1.559	0.012
脏器受累 个数	0.249	0.117	4.243	1.273	1.012~1.601	2.098	0.060
MODS	0.151	0.119	1.610	1.163	0.921~1.468	1.155	0.035
白蛋白	0.208	0.095	4.794	1.231	1.022~1.483	1.545	0.029
Lac	0.187	0.062	9.097	1.206	1.068~1.361	1.360	0.013
cTnI	0.072	0.138	0.272	1.075	0.820~1.408	2.853	0.042
FBG	2.154	1.420	2.301	8.691	0.533~1.395	1.475	0.036
D-D	0.107	0.098	1.192	1.113	0.918~1.349	1.112	0.029

T₀~T₃时各时间点血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平高于未休克组；未休克组入院 48 h 血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 持续下降，T₃时上述各项指标较 T₀时均降低；休克组入院 48 h 血清 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平先升高后下降。Lac 是反映循环灌注及细胞缺氧程度的重要临床指标；FBG 是由肝细胞合成的糖蛋白，可促进血小板聚集，增加血液粘滞性和运行阻力，促进凝血作用；D-D 是纤维蛋白降解产物之一，当机体处于高凝状态时可检测到 D-D 水平增加；cTnI 可以反映心肌损伤情况^[7-8]。结合本文结果提示 Lac、cTnI、FBG、D-D 可作为反映脓毒症病情进展的参考指标，对后续病情发展有一定预测作用。

脓毒症患者 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平也与其预后情况密切相关，本研究分析存活组和死亡组

患者 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平发现，两组患者上述血清指标在同一时间点比较，差异均具有统计学意义。既往研究显示，脓毒症休克患者入院即刻、24 h 外周血 Lac 水平显著高于非休克患者，28 d 死亡脓毒症患者入院即刻、24 h 外周血 Lac 水平也显著高于存活患者^[9]。Mustafić 等^[10]以受试者工作特征曲线评估 Lac 对脓毒症预后的预测价值，结果显示，Lac 评估脓毒症患者 28 d 预后的 AUC 值为 0.95，具有一定的临床应用价值，与本文研究结论相似。脓毒症患者体内存在的炎症反应失调和氧化应激异常会损伤心肌细胞，造成心肌收缩功能受限和心室重构。有研究报告，内毒素感染后 1 h 就可检测到外周血 cTnI 水平增加，提示脓毒症患者早期就存在不同程度的心肌损伤^[11]。本研究结果提示，28 d 死亡患者 cTnI 水平较存活患者增加，提示随着外周血 cTnI 的增加，脓毒症患者死亡风险增加。分析原因如下：cTnI 反映心肌细胞膜的损伤，脓毒症发生时多种心肌抑制因子及心肌细胞 Ca²⁺ 超载等因素相互作用，从而出现脓毒症诱导的心肌功能障碍，且该疾病早期，患者体内的血管紧张素 II、白细胞介素-6、肾上腺素等水平升高均能对心肌细胞产生刺激，cTnI 水平升高^[12]。局部凝血系统的激活有利于阻断微生物在体内的传播，是机体防御机制的重要组成部分。但脓毒症等重症感染时微生物入侵血液系统并依靠其传播，全身的凝血体系激活，弥散微血栓的形成可造成器官或系统血流灌注障碍，死亡风险增加^[13]。有研究显示^[14]，凝血指标能在一定程度上反映脓毒症患者病情危重程度，对脓毒症患者预后及存活率的预测具有指导意义。本研究结果显示，不同生存情况的脓毒症患者外周血 FBG、D-D 水平比较，差异有统计学意义。李梅等^[15]研究发现，不同严重程度的脓毒症患者 D-D 水平存在差异，脓毒症休克患者 D-D 水平和死亡率均高于非休克脓毒症患者，结合本文结果提示 FBG、D-D 的检测有助于脓毒症患者危险分层和预后评估。此外，本研究显示 Lac、cTnI、FBG、D-D 水平升高均是导致脓毒症患者死亡的独立危险因素。

综上所述，Lac、cTnI、FBG、D-D 水平与脓毒症患者入院 48 h 病情程度和生存情况显著相关，动态监测上述指标水平变化有助于预后的判断。

参考文献

- [1] Vallejos A, Olivares P, Gatica S, et al. Endotoxemia - induced endothelial fibrosis inhibition improves hypotension, tachycardia, multiple organ dysfunction syndrome, cytokine response, oxidative stress, and survival[J]. *Lab Invest*, 2019, 99(8):1173-1192.
- [2] Iba T, Levi M, Levy JH. Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2020, 46(1):89-95.
- [3] Iba T, Levy JH, Warkentin TE, et al. Diagnosis and management of sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation [J]. *J Thromb Haemost*, 2019, 17(11):1989-1994.
- [4] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septicshock; 2016[J]. *Intensive Care Med*, 2017, 43(3):304-377.
- [5] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症脓毒性休克治疗指南(2014)[J]. *中国实用乡村医生杂志*, 2015(20):11-15.
- [6] 明颖, 闫妹妹, 刘秋霞, 等. 脓毒症患者血清降钙素原、炎症因子水平与 APACHE II、SOFA 评分的相关性[J]. *现代医学*, 2020, 48(3):357-361.
- [7] 梅婉雯, 姚峰, 浦秦华, 等. 炎症因子和 Lac 在脓毒症病情及预后中的评估价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(20):3051-3055.
- [8] Gattinoni L, Vasques F, Camporota L, et al. Understanding Lactatemia in Human Sepsis. Potential Impact for Early Management[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(5):582-589.
- [9] 李湘, 罗燕青, 曲雷. 血乳酸、C 反应蛋白、 β_2 微球蛋白在脓毒症患者病情和预后评估中的应用[J]. *宁夏医科大学学报*, 2017, 39(10):1182-1184+1111.
- [10] Mustafić S, Brkić S, Prnjavorac B, et al. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with sepsis [J]. *Med Glas (Zenica)*, 2018, 15(2):93-100.
- [11] Walsh D, Gekle R, Bramante R, et al. Emergency department sepsis huddles: Achieving excellence for sepsis benchmarks in New York State[J]. *Am J Emerg Med*, 2020, 38(2):222-224.
- [12] 杨超, 冯霞, 黄婧源. PCT、Lac、cTnI、cTnT 及其联合检测对 ICU 脓毒症合并 AKI 患者的诊断价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(3):447-451.
- [13] Georgakopoulou A, Papadimitriou - Olivergeris M, Karakantza M, et al. Role of inherited thrombophilic profile on survival of patients with sepsis [J]. *J Investig Med*, 2019, 67(8):1131-1135.
- [14] Mihajlovic D, Brkic S, Lendak D, et al. Endogenous thrombin potential as marker of procoagulant response that can be useful in early stage of sepsis [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2017, 28(6):460-467.
- [15] 李梅, 荣爱国, 王宝栋. C 反应蛋白和 D-二聚体在不同严重程度脓毒症的表达及临床意义[J]. *山西医药杂志*, 2019, 48(21):2591-2593.

(上接第 471 页)

- [3] 张莹, 王灿. 肺癌患者凝血指标与临床特征的相关性[J]. *血栓与止血学*, 2022, 28(1):4-6.
- [4] 支修益, 石远凯, 于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(1):67-78.
- [5] 许航, 贺丹, 罗晴. 育龄妇女年龄、孕前 BMI 和孕早期空腹血糖水平分布在妊娠期糖尿病预测中的价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2021, 36(5):169-173.
- [6] Hou C, JIANG F, Ma H, et al. Prognostic role of preoperative platelet, fibrinogen, and D-dimer levels in patients with non-small cell lung cancer: A multicenter prospective study [J]. *Thorac Cancer*, 2019, 10(2):304-311.
- [7] Pang M, Zhao F, Yu P, et al. The significance of coagulation and fibrinolysis-related parameters in predicting postoperative venous thrombosis in patients with breast cancer [J]. *Gland Surg*, 2021, 10(4):1439-1446.
- [8] Jungblut L, von Garnier C, Puhani M, et al. The Swiss Approach - feasibility of a national low-dose CT lung cancer screening program[J]. *Swiss Med Wkly*, 2022, 152(15-16):Swiss Med Wkly, 2022, 152:w30154.
- [9] 郭苗, 刘玮, 李伟. FIB、NLR、PLR 联合检测在肺癌早期诊断及预后评估中的价值[J]. *海南医学*, 2020, 31(15):1954-1957.
- [10] 叶茂英, 陈霞, 漆奋强. 不同剂量纳布啡对肺癌根治术患者高迁移率族蛋白 B1 及晚期糖基化终末产物受体表达水平的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(8):852-856.
- [11] 宋高杰, 尚超, 李一权, 等. Ad-apoptin 通过 AMPK/ACC 信号通路抑制肺癌细胞脂代谢[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(5):569-573+579.
- [12] 黄晗, 胡朝阳, 张小红. 肺癌合并急性肺栓塞患者治疗前后血清 FIB、D-D、PT 和 APTT 水平变化及危险因素分析[J]. *实用癌症杂志*, 2021, 36(10):1640-1643.
- [13] Liu M, Yang J, Wan L, et al. Elevated Pretreatment Fibrinogen-to-Lymphocyte Percentage Ratio Predict Tumor Staging and Poor Survival in Non-Small Cell Lung Cancer Patients with Chemotherapy or Surgery Combined with Chemotherapy [J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13(1):4921-4933.
- [14] 赵论, 石默晗, 张浩然, 等. 不同 TNM 分期肺癌患者血清 D-D、FIB、APTT 的水平变化[J]. *中南医学科学杂志*, 2022, 50(3):395-397+401.
- [15] 张利改, 吴宇, 陈鸣, 等. 凝血功能指标结合肿瘤标志物在肺癌临床分期中的应用研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(13):1546-1551.

经鼻高流量湿化氧疗治疗对支气管扩张合并感染患者肺功能指标及血清IL-6、 γ -干扰素、TNF- α 的影响

杨智晖^{1*} 赵宇博² 许倩³ 潘洁⁴ 常兴芳³ 路康³ 许宁⁵

[摘要] 目的 分析经鼻高流量湿化氧疗治疗对支气管扩张合并感染患者肺功能指标及血清白细胞介素-6(IL-6)、 γ -干扰素(IFN- γ)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响。方法 将2019年6月至2022年7月于河北省老年病医院就诊的支气管扩张合并感染患者153例纳入研究,按照不同治疗方法分为对照组(常规氧疗, $n=75$)和观察组(经鼻高流量湿化氧疗, $n=78$),观察两组动脉血氧分压(PaO₂)、动脉血氧饱和度(SaO₂)、动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)水平、第1秒用力呼气容积(FEV1)、用力肺活量(FVC)及FEV1/FVC、氧中毒、呼吸抑制、鼻腔干燥、IL-6、IFN- γ 及TNF- α ,并进行对比分析。结果 与治疗前相比,治疗后两组PaO₂、SaO₂水平均明显升高,PaCO₂水平明显降低,其中观察组更为显著,差异有统计学意义($P<0.05$)。与治疗前相比,治疗后两组FEV1、FVC、FEV1/FVC值均明显增加,其中观察组更为显著,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组并发症发生次数明显减少,其发生率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与治疗前相比,治疗后两组IL-6、IFN- γ 及TNF- α 水平均明显下降,其中观察组更为显著,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 针对支气管扩张合并感染患者实施经鼻高流量湿化氧疗有较满意的临床疗效,能有效改善患者的肺功能,促进其临床症状好转,控制病情发展,改善预后。

[关键词] 支气管扩张; 感染; 经鼻高流量湿化氧疗; IL-6; IFN- γ ; TNF- α

Effect of nasal high-flow humidified oxygen therapy on pulmonary function indicators and serum IL-6, γ -interferon, TNF- α in patients with bronchiectasis complicated with infection

YANG Zhihui^{1*}, ZHAO Yubo², XU Qian³, PAN Jie⁴, CHANG Xingfang³, LU Kang³, XU Ning⁵

(1. Department of Respiratory, Hebei Provincial Geriatric Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 2. Department of Radiology, Hebei Provincial Geriatric Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 3. Department of Laboratory Medicine, Hebei Provincial Geriatric Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 4. Department of Nosocomial Infection, Hebei Provincial Geriatric Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050011; 5. Department of Otolaryngology, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of nasal high-flow humidification oxygen therapy on pulmonary function indicators and serum Interleukin-6 (IL-6) and γ -interferon (IFN- γ), tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with bronchiectasis complicated with infection. **Methods** 153 patients with bronchiectasis complicated by infection who were treated in our hospital from June 2019 to July 2022 were enrolled in the study, and according to different treatment methods, the patients were divided into the control group (conven-

基金项目:河北省卫生厅重点科技研究计划项目(20211513)

作者单位:1. 河北省老年病医院呼吸科,河北,石家庄 050011

2. 河北省老年病医院放射科,河北,石家庄 050011

3. 河北省老年病医院检验科,河北,石家庄 050011

4. 河北省老年病医院院感科,河北,石家庄 050011

5. 河北省儿童医院耳鼻喉科,河北,石家庄 050000

*通信作者:杨智晖, E-mail: hehe001840@163.com

tional oxygen therapy, $n=75$) and The observation group (by nasal high-flow humidification oxygen therapy, $n=78$). Arterial partial pressure of oxygen (PaO₂), arterial oxygen saturation (SaO₂), arterial partial pressure of carbon dioxide (PaCO₂), forced expiratory volume in the first second (FEV₁), forced vital capacity (FVC) and FEV₁/FVC, oxygen poisoning, respiratory depression, dry nasal cavity, IL-6, IFN- γ and TNF- α were compared between the two groups. **Results** Compared with before treatment, the PaO₂ and SaO₂ levels in the two groups were significantly increased after treatment, and the PaCO₂ level was significantly decreased, especially in the observation group ($P<0.05$). Compared with before treatment, the values of FEV₁, FVC and FEV₁/FVC in both groups were significantly increased, especially in the observation group ($P<0.05$). The incidence of complications in the observation group was significantly lower than that in the control group ($P<0.05$). Compared with before treatment, the levels of IL-6, IFN- γ and TNF- α in the two groups were significantly decreased, especially in the observation group ($P<0.05$). **Conclusion** Nasal high-flow humidified oxygen therapy for patients with bronchiectasis and infection has a satisfactory clinical effect, can effectively improve the lung function of the patients, promote the improvement of their clinical symptoms, control the development of the disease, and improve the prognosis.

[KEY WORDS] Bronchiectasis; Infection; Nasal high-flow humidified oxygen therapy; IL-6; IFN- γ ; TNF- α

支气管扩张是由于支气管壁的肌肉和弹性组织破坏,导致支气管变形及持久扩张^[1-2]。其主要发病因素为支气管-肺组织的感染和支气管阻塞感染引起管腔粘膜的充血、水肿,导致管腔狭小分泌物易阻塞管腔,进而诱发肺部感染,两者互相影响促使支气管扩张发生和发展^[3-4]。支气管扩张的治疗原则是消除病原,促进痰液排出,控制感染等内科保守治疗,必要时才行外科手术^[5]。20世纪初开始将鼻导管应用于氧疗中,这为现代氧疗技术奠定了医疗基础。经鼻高流量湿化氧疗治疗是通过加热加湿装置对大流量、一定氧浓度的空气氧混合物进行充分的加热加湿,与普通氧疗相比,可明显提高增温加湿效果,它能提供超过患者吸气流量需求的空气氧混合气体流量,患者吸入的氧气浓度不会被空气稀释,保持恒定的氧气浓度^[6-7]。对此,本组研究收集 153 例支气管扩张合并感染患者临床资料,旨在研究经鼻高流量湿化氧疗治疗支气管扩张合并感染患者的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将 2019 年 6 月至 2022 年 7 月于河北省老年病医院就诊的支气管扩张合并感染患者 153 例纳入研究,按照不同治疗方法将患者分为对照组(常规氧疗, $n=75$)和观察组(经鼻高流量湿化氧疗, $n=78$)。纳入标准:①符合支气管扩张诊断标准^[8];②伴有低氧血症,无紧急气管插管指征;③患者或

家属同意参加本研究;④本研究获得医学伦理委员会同意批准。排除标准:①有严重造血系统疾病和传染病者;②合并心、肺、肝、肾等其他脏器并发症者;③合并恶性肿瘤和全身感染者;④存在认知功能障碍和心理问题者。其中对照组男 50 例,女 25 例,年龄 60~88 岁,平均年龄(72.35 \pm 1.53)岁;观察组男 56 例,女 22 例,年龄 62~90 岁,平均年龄(72.29 \pm 1.77)岁。两组资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

两组患者入院后均给予抗感染、缓解气道痉挛、解热、对症等综合治疗。对照组给予常规氧疗,感染患者根据临床经验、细菌培养及药敏结果给予敏感抗菌药物抗感染治疗。对感染患者进行心功能不全纠正,积极控制血糖,稳定血压,并根据病情进行内环境紊乱、酸碱平衡紊乱、电解质紊乱等纠正。在上述治疗的基础上,观察组患者每日给予鼻高流量氧疗 2 次,每次持续 5 h。两组总疗程为 7 天。

1.3 观察指标

1.3.1 两组血气分析对比

分别于治疗前后在清晨抽取患者空腹动脉血 3 mL,进行离心处理(离心半径 15 cm,转速 3 000 r/min, 10 min),随后将血清放置于-20 $^{\circ}$ C 低温储存。采用美国麦迪卡 EasyStat 全自动血气分析仪检测 PaO₂、SaO₂、PaCO₂ 水平。

1.3.2 两组肺功能指标对比

于治疗前后使用日本 MINATO 肺功能检测仪

对两组肺功能进行检查,包括 FEV1、FVC 及 FEV1/FVC 等相关指标变化,各项指标分别测量 3 次,取平均值作为最后结果。

1.3.3 两组并发症对比

如果患者长时间采用经鼻高流量湿化氧疗,导致过量氧气滞留,可能会引起氧中毒,大概表现为肌肉抽搐、恶心呕吐、眩晕等;如果患者出现肺通气不足,经鼻高流量湿化氧疗会使患者吸入高浓度的氧气,进而引起呼吸抑制;且长时间鼻腔内放置导管,吸氧时间过长可能会导致鼻腔干燥,出现流鼻血、鼻部敏感等症状。

1.3.4 两组炎性因子对比

分别于治疗前后取两组患者空腹肘静脉血 5 mL,进行离心处理(离心半径 15 cm,转速 3 000 r/min,10 min),获得上层血清,置于-20℃冰箱内冷冻待测。采用免疫比浊法(浙江生物有限科技公司配套试剂盒)检测 IL-6、IFN- γ 及 TNF- α 水平。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 28.0 统计软件统计数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 进行描述,行 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血气分析比较

与治疗前相比,治疗后两组 PaO₂、SaO₂ 水平均明显升高,PaCO₂ 水平明显降低,其中观察组更为显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组肺功能比较

与治疗前相比,治疗后两组 FEV1、FVC、FEV1/FVC 值均明显增加,其中观察组更为显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组并发症比较

观察组并发症发生次数明显减少,其发生率低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 两组血气分析比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood gas analysis between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PaO ₂ (mmHg)		SaO ₂ (%)		PaCO ₂ (mmHg)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	78	54.32±3.07	69.32±2.32 ^a	87.24±2.62	92.25±1.05 ^a	55.77±3.86	45.84±2.31 ^a
对照组	75	54.05±2.98	57.88±1.85 ^a	87.04±1.36	88.59±1.60 ^a	56.78±2.69	53.57±3.03 ^a
t 值		0.459	28.067	0.493	13.923	1.563	14.770
P 值		0.647	<0.001	0.623	<0.001	0.121	<0.001

注:与同组治疗前相比较,^a $P < 0.05$ 。

表 2 两组肺功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	FEV1 (%)		FVC (L·s ⁻¹)		FEV1/FVC (%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	78	52.33±6.11	78.34±5.45 ^a	1.25±0.13	1.75±0.69 ^a	41.36±5.74	71.59±5.16 ^a
对照组	75	52.72±6.44	63.51±4.25 ^a	1.28±0.15	1.42±0.53 ^a	43.37±5.83	61.53±4.87 ^a
t 值		0.320	15.622	1.100	2.761	1.789	10.322
P 值		0.750	<0.001	0.274	0.007	0.077	<0.001

注:与同组治疗前相比较,^a $P < 0.05$ 。

表 3 两组并发症发生率比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	氧中毒	呼吸抑制	鼻腔干燥	总发生率
观察组	78	1(1.28)	2(2.56)	3(3.85)	6(7.69)
对照组	75	3(4.00)	5(6.67)	8(10.67)	16(21.33)
χ^2 值					5.779
P 值					0.016

2.4 两组炎性因子比较

与治疗前相比,治疗后两组 IL-6、IFN- γ 及

TNF- α 水平均明显下降,其中观察组更为显著,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

支气管扩张症是结构性肺病的一种,常合并慢性感染性,支扩合并肺部感染后,气道和全身炎症反应加重,肺组织会受到进一步破坏,导致肺功能下降,生活质量下降,死亡率增高。近年来,出现了一种新型氧疗,可以通过改进湿化,从而减少对患者呼吸道黏膜的损伤,保障纤毛的功能正常^[9]。

表4 两组炎症因子水平 ($\bar{x} \pm s$)Table 4 Levels of inflammatory factors in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6(pg/mL)		IFN- γ (ng/L)		TNF- α (pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	78	84.16 \pm 12.60	37.15 \pm 7.16 ^a	153.14 \pm 10.90	62.37 \pm 15.23 ^a	3.42 \pm 1.82	1.24 \pm 0.21 ^a
对照组	75	84.32 \pm 11.82	52.11 \pm 8.75 ^a	153.46 \pm 10.13	112.34 \pm 18.68 ^a	3.81 \pm 1.79	2.24 \pm 0.87 ^a
t值		0.095	13.687	0.157	15.094	1.580	11.557
P值		0.923	<0.001	0.876	<0.001	0.115	<0.001

注:与同组治疗前相比较,^aP<0.05。

近年来,随着我国医学道路的进步与发展,临床开始应用经鼻高流量氧疗治疗支气管扩张类疾病,该加温湿化装置最高流量可以达到 20 L/min,可以自动调节和精准调控氧浓度、温度等指标^[10-11]。经鼻高流量湿化氧疗主要通过无需密封的鼻塞导管直接将一定氧浓度的空氧混合高流量气体输送给患者,为患者提供可以调控并相对恒定的吸氧浓度(21%~100%)、温度(31~37℃)和高湿度的高流量(8~80 L/min)吸入气体的治疗方式^[12]。作为一种无创呼吸支持的形式,其能有效地改善氧合,可以应用于急性低氧性呼吸衰竭患者、外科手术后患者、呼吸衰竭未行气管插管患者、免疫抑制患者、心功能不全患者等^[13]。

免疫细胞在遇到损伤相关分子模式或病原体相关分子模式后迅速表达,在感染或组织损伤过程中释放,促进先天和获得性免疫反应。IL-6是天然棉衣防御策略的一部分,可以清除感染细胞或受损组织,在病毒感染中、心脏疾病中、肿瘤疾病中或者在免疫反应时,IL-6会显著递增和增加。IFN- γ 是可溶性二聚体细胞因子,其主要生物学功能是抗肿瘤、抗病毒和免疫调节,在抵抗原生动物的适应性免疫和固有免疫中起到作用。TNF- α 是一种多效的细胞因子,作为炎症的放大器,几乎参与了所有的急性炎症反应^[14]。本次研究中,与治疗前相比,各治疗组的 PaO₂、SaO₂水平均明显升高,PaCO₂水平明显降低,各治疗组的HR、RR水平和Borg's评分均明显下降,各治疗组的IL-6、IFN- γ 及TNF- α 水平均明显下降,其中观察组更为显著,与付会文等人的研究结果相类似。付会文等^[15]将204例重症难治性肺炎合并呼吸衰竭患者纳入研究,随机分成两组,分别在常规治疗基础上给予经鼻正压通气吸氧治疗和经鼻高流量鼻导管湿化氧疗治疗,结果发现,治疗后观察组肺部啰音消失时间、气短消失时间、紫绀消失时间、Borg's评分、炎症因子水平、PaO₂、SaO₂、

PaCO₂均优于对照组。这间接证实了经鼻高流量湿化氧疗治疗支气管扩张合并感染患者通过改善炎症因子水平,恢复一般生命体征,并改善血气水平,从而改善患者氧饱和度、肺功能,进一步改善了患者生活质量。

综上,针对支气管扩张合并感染患者实施经鼻高流量湿化氧疗有较满意的临床疗效,能有效改善患者的肺功能,促进其临床症状好转,控制病情发展,改善预后。

参考文献

- [1] Wang YQ, Hao CL, Jiang WJ, et al. a novel CFTR mutation found in a Chinese patient with cystic fibrosis: A case report and review of the literature [J]. World J Clin Cases, 2019, 7(15):2110-2119.
- [2] Bian C, Zhao X, Liu Y, et al. Case report of neurofibromatosis type 1 combined with primary ciliary dyskinesia [J]. 医学前沿, 2021, 15(6):933-937.
- [3] 梁金排,刘淑红,赵红玲,等. 经鼻高流量氧疗对AECOPD患者血清淀粉样蛋白A及细胞因子的水平变化分析[J]. 河北医药, 2021, 43(10):1531-1534.
- [4] 吴薇薇,陈鸿敏,吕洪萍. 经鼻高流量湿化氧疗治疗AECOPD合并II型呼吸衰竭的疗效及对血清HIF-1 α 和IL-17水平的影响[J]. 中国医学装备, 2021, 18(8):118-122.
- [5] Gregson EC. Which antibiotics should be used to treat children with an acute exacerbation of bronchiectasis and as long-term prevention of exacerbations [J]? Arch Dis Child, 2019, 104(10):1013-1016.
- [6] 解立新. 经鼻高流量湿化氧疗治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重——临床与研究的证据[J]. 广东医学, 2020, 41(7):666-667.
- [7] Dogru D, Polat SE, Tan C, et al. Impact of mannose-binding lectin 2 gene polymorphisms on disease severity in non-cystic fibrosis bronchiectasis in children [J]. Pediatr Pulmonol, 2020, 55(5):1190-1198.
- [8] 成人支气管扩张症诊治专家共识编写组. 成人支气管扩张症诊治专家共识(2012版) [J]. 中华危重症医学杂志(电子版), 2012, 5(5):20-30.

(下转第488页)

血清 S-ChE、NLR 联合 LDH 对细菌性血流感染脓毒症患者预后的预测分析

韩英* 张志斌 王楚 钱晶

[摘要] **目的** 探讨血清胆碱酯酶(S-ChE)、中性粒细胞淋巴细胞比值(NLR)联合乳酸脱氢酶(LDH)对细菌性血流感染脓毒症患者预后的预测价值。**方法** 选取2020年1月至2022年6月河北北方学院附属第一医院就诊的84例细菌性血流感染脓毒症患者作为研究对象。依据患者入院后90 d内的生存情况分为死亡组($n=29$)和存活组($n=55$),比较两组一般资料和相关实验室指标,Logistic回归分析影响细菌性血流感染脓毒症患者预后的危险因素以及ROC曲线,分析血清S-ChE、NLR联合LDH对细菌性血流感染脓毒症患者预后不良的预测价值。**结果** 两组住院时间、合并休克、APACHE II评分、血清S-ChE、NLR、LDH水平比较,差异均有统计学意义($t/\chi^2=2.720、5.836、4.870、13.292、3.869、5.371, P$ 均 <0.05);Logistic回归分析结果显示,低S-ChE、高NLR以及高LDH为细菌性血流感染脓毒症患者预后结局的独立影响因素($P<0.05$);ROC曲线分析结果显示,S-ChE、NLR和LDH联合检测对细菌性血流感染脓毒症患者预后预测的AUC=0.996(95% CI:0.989~1.000)。**结论** 血清S-ChE、NLR和LDH联合检测在细菌性血流感染脓毒症患者预后评估方面具有较高的价值。

[关键词] 血清胆碱酯酶;中性粒细胞淋巴细胞比值;乳酸脱氢酶;细菌性血流感染;脓毒症;预后

Predictive analysis of serum S-ChE, NLR combined with LDH on the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection

HAN Ying*, ZHANG Zhibin, WANG Chu, QIAN Jing

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

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of serum cholinesterase (S-ChE), neutrophil lymphocyte ratio (NLR) combined with lactate dehydrogenase (LDH) on the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection. **Methods** A total of 84 sepsis patients with bacterial bloodstream infection who were treated in the First Affiliated Hospital of Hebei North University from January 2020 to June 2022 were selected as subjects. The patients were divided into the death group ($n=29$) and the survival group ($n=55$) according to the survival condition within 90 days after admission. The general data and related laboratory indicators were compared between the two groups. Logistic regression analysis was used to analyze the risk factors affecting the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection and ROC curve was used to analyze the predictive value of serum S-ChE, NLR combined with LDH on the poor prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection. **Results** Univariate analysis showed that there were significant differences in hospitalization time, combined shock, APACHE II score, serum S-ChE, NLR and LDH levels between the two groups ($t/\chi^2=2.720, 5.836, 4.870, 13.292, 3.869, 5.371, P<0.05$). The results of Logistic regression analysis showed that low S-ChE, high NLR and high LDH were independent influencing factors for the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection ($P<0.05$). The ROC curve

基金项目:张家口市市级科技计划自筹经费项目(2121120D)

作者单位:河北北方学院附属第一医院急诊科,河北,张家口 075000

*通信作者:韩英, E-mail:hy130702@163.com

analysis results showed that the AUC of the prognosis prediction of patients with bacterial blood flow infection sepsis by the combined detection of S-ChE, NLR and LDH was 0.996 (95% CI: 0.989-1.000). **Conclusion** The combined detection of serum S-ChE, NLR and LDH has a high value in evaluating the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection.

[KEY WORDS] Serum cholinesterase; Neutrophil lymphocyte ratio; Lactate dehydrogenase; Bacterial bloodstream infection; Sepsis; Prognosis

脓毒症是由感染引起的机体免疫反应失衡所致的一种严重器官功能障碍的全身炎症反应综合征,该病发病率高,死亡率高,患者预后也较差,是目前临床上最常见的一种急性危重疾病,据报道,我国脓毒症患者院内死亡率高达33%^[1]。血流感染是临床上最严重的感染之一,相关研究表明,细菌性血流感染所致的脓毒症死亡率高达35%^[2]。有研究显示,脓毒症病死率高的原因可能与其病因认识不足、早期筛查难度大、入院管理不善等因素有关,因此,早期判断其预后,并给予针对性的个体化治疗,是提高其预后的重要手段^[3]。血清胆碱酯酶(serum cholinesterase, S-ChE)肝脏合成功能的一个重要指标,中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)常见的炎症指标,乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)则反映机体细胞坏死程度以及免疫情况。本研究通过检测细菌性血流感染脓毒症患者血清S-ChE、NLR和LDH水平变化,探讨其在细菌性血流感染脓毒症患者短期预后评估中的临床价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年6月河北北方学院附属第一医院就诊的84例细菌性血流感染脓毒症患者作为研究对象。纳入标准:①符合《脓毒症和脓毒性休克国际治疗指南》^[4](2016年版)中脓毒症的相关诊断标准,并经血常规、血液培养结果证实为细菌性血流感染;②序贯器官衰竭评分^[5](sequential organ failure assessment, SOFA)≥2分;③感染部位一个或一个以上;④体温≥38.5℃;⑤近1个月内未服用抗菌药物以及免疫抑制剂;⑥患者及家属知情同意;排除标准:①临床资料不全;②合并恶性肿瘤疾病;③合并自身免疫性疾病;④全身感染性疾病;⑤凝血功能异常、具有出血倾向;⑥合并其他原因导致的多器官功能障碍。本

研究经医院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集患者性别、年龄、体重指数、基础疾病史(包括高血压、糖尿病、高血脂、冠心病)、感染部位(包括肺部、腹腔、其他部位)、住院时间、是否合并休克、急性生理学与慢性健康状况评分^[5]Ⅱ(acute physiology and chronic health evaluation Ⅱ, APACHE Ⅱ)。

1.2.2 实验室指标检测

入院2 d内完成相关实验室指标检测,取5 mL空腹肘静脉血,4 000 r/min(离心半径15 cm)速度离心后,取上清液。采用全自动血细胞分析仪(迈瑞全自动BC-5800)检测白细胞计数(white blood cell, WBC);采用全自动生化分析仪(日本日立,7170A型)以酶联免疫吸附法检测超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP);用溴甲酚绿法检测白蛋白;用速率法检测血清胆碱酯酶(serum cholinesterase, S-ChE)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH);计算中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR),计算公式为:中性粒细胞计数/淋巴细胞计数;计算血小板与淋巴细胞比值(platelet to lymphocyte ratio, PLR),计算公式为血小板计数/淋巴细胞计数。

1.2.3 随访以及分组方法

随访记录患者入院后90 d内的生存情况,将存活者纳入生存组,死亡的患者纳入死亡组。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0统计学软件分析数据,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验;Logistic回归分析影响细菌性血流感染脓毒症患者预后的危险因素;ROC曲线分析血清S-ChE、NLR联合LDH对细菌性血流感染脓毒症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 影响细菌性血流感染脓毒症患者预后的单因素分析

两组住院时间、合并休克、APACHE II 评分、血清 S-ChE、NLR、LDH 水平比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 影响细菌性血流感染脓毒症患者预后的单因素分析
[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Single factor analysis of prognosis in sepsis patients with bacterial bloodstream infection [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

项目	生存组 ($n=55$)	死亡组 ($n=29$)	t/χ^2 值	P 值
性别			0.002	0.964
男	35(63.63)	15(51.72)		
女	25(36.37)	14(48.28)		
年龄	59.53±5.45	62.17±6.55	1.966	0.052
体重指数(kg/m ²)	22.12±1.23	22.05±1.56	0.225	0.822
基础疾病				
高血压	27(49.09)	16(55.17)	0.281	0.596
糖尿病	21(38.18)	12(41.37)	0.081	0.775
高血脂	18(37.72)	14(48.28)	1.947	0.162
冠心病	16(29.09)	11(37.93)	0.680	0.409
感染部位				
肺部	20(36.36)	12(41.37)	0.611	0.736
腹腔	26(47.27)	14(48.27)		
其他	9(16.37)	3(10.36)		
住院时间	12.17±4.55	15.24±5.56	2.720	0.008
合并休克	19(34.54)	18(62.06)	5.836	0.015
APACHE II 评分			4.870	0.027
<15 分	29(52.72)	8(27.58)		
≥15 分	26(47.28)	21(72.42)		
WBC($\times 10^9/L$)	16.15±5.94	16.84±4.25	0.554	0.580
hs-CRP(mg/L)	2.95±0.24	3.10±0.52	1.811	0.073
白蛋白(g/L)	41.16±3.28	39.45±5.25	1.834	0.070
PLR	192.75±52.36	215.70±68.33	1.715	0.090
S-ChE(kU/L)	5.87±1.61	1.77±0.54	13.292	0.000
NLR	65.13±10.92	78.14±19.97	3.869	0.000
LDH(U/L)	218.62±71.84	322.15±103.46	5.371	0.000

2.2 影响细菌性血流感染脓毒症患者预后的 Logistic 回归分析

将细菌性血流感染脓毒症患者预后情况设为因变量并赋值(死亡=0,生存=1),将单因素差异存在统计学意义的指标设为自变量并赋值:合并休克(是=0、否=1)、APACHE II 评分(≥ 15 分=0, <15分=1);住院时间、血清 S-ChE、NLR、LDH 原值输入)。Logistic 回归分析结果显示,低 S-ChE、高 NLR 以及高 LDH 为细菌性血流感染脓毒症患者预后结局的独立影响因素($P<0.05$)。见表 2。

表 2 影响细菌性血流感染脓毒症患者预后的 Logistic 回归分析

Table 2 Logistic regression analysis affecting the prognosis of sepsis patients with bacterial bloodstream infection

变量	β 值	$S\cdot E$ 值	Wald χ^2 值	Exp(β) 值	95% CI	P 值
住院时间	0.245	0.135	3.293	1.277	0.980~1.644	0.069
合并休克	1.152	0.683	2.844	3.164	0.829~12.069	0.091
APACHE II 评分	0.740	0.392	3.563	2.095	0.972~4.519	0.059
S-ChE(kU/L)	-4.215	1.909	4.875	0.014	0.0003~0.622	0.027
NLR	0.282	0.130	4.705	1.325	1.027~1.710	0.030
LDH(U/L)	0.218	0.104	4.393	1.243	1.014~1.524	0.036

2.3 血清 S-ChE、NLR 联合 LDH 对细菌性血流感染脓毒症患者预后的预测价值分析

以细菌性血流感染脓毒症患者死亡为状态变量,以 S-ChE、NLR、LDH 为检验变量,绘制 ROC 曲线,结果显示,S-ChE、NLR 联合 LDH 检测对细菌性血流感染脓毒症患者预后预测的 AUC=0.996(95% CI:0.989~1.000),按照约登指数最大法确定三者联合检测时的最佳临界值,当约登指数为 0.996 时,灵敏度为 1.000,特异度为 0.982。见表 3、图 1。

表 3 血清 S-ChE、NLR 联合 LDH 对细菌性血流感染脓毒症患者预后的预测价值分析

Table 3 Prognostic value of serum S-ChE, NLR combined with LDH in sepsis patients with bacterial bloodstream infection

指标	AUC	最佳截断值	敏感度	特异度	95% CI	P 值
S-ChE(kU/L)	0.995	0.355	1.000	0.982	0.984~1.000	0.000
NLR	0.703	82.77	0.483	0.982	0.571~0.834	0.002
LDH(U/L)	0.786	324.125	0.586	0.8945	0.672~0.899	0.000
联合检测	0.996		1.000	0.984	0.989~1.000	0.000

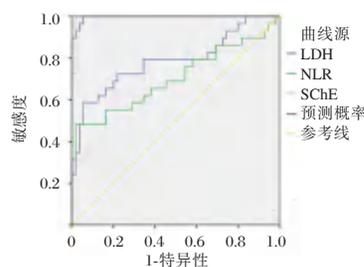


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

脓毒症发病率高,全球每年都会有 1800 万人发生脓毒症,而脓毒症的死亡率也很高,是重症监护室里最主要的死因^[6]。还有研究显示,在脓毒症

患者中有近一半会表现出不同程度的心肌抑制,一旦出現心肌抑制,其死亡率高达70%,对患者的健康构成了极大的威胁^[7]。现阶段细菌性血流感染脓毒症的治疗方法以抗感染治疗为主,通常只能控制病情进展,总体上临床治疗效果欠佳,且预后较差,病死率较高。因此,寻找一种与细菌性血流感染脓毒症预后相关、敏感性及特异性均高的指标对于临床治疗及早期评估均有积极意义。

本研究单因素分析结果显示:两组住院时间、合并休克、APACHE II评分、血清S-ChE、NLR、LDH水平与细菌性血流感染脓症患者预后相关。住院时间长提示患者器官功能障碍越严重,加重病情,导致住院时间延长。脓症患者以发热、心动过速、呼吸急促为主要症状,严重者可出现休克,病情发展迅速,约9%的败血症可发展为脓毒症合并休克,如不及时得到有效救治,可危及生命^[8]。APACHE II评分是一种在临床上被广泛用于危重症病情评估的评分系统,能客观、准确、快速地预测病情的发生,随着病情的加重,APACHE II的评分会逐渐升高。已有研究报道,脓症患者病情越严重,APACHE II评分越高^[9]。但本研究多因素显示,APACHE II评分不是细菌性血流感染脓毒症的独立危险因素,与以往研究存在差异,原因可能是本研究样本量限制了回归结果的稳定性。

进一步Logistic回归分析结果显示,低S-ChE、高NLR以及高LDH水平为细菌性血流感染脓症患者预后结局的独立影响因素。细菌性血流感染脓毒症多累及肝脏,造成急性肝损伤,肝功能受损时患者血清S-ChE会明显降低;同时,当致病菌入侵时,机体受到感染后会释放大量炎症物质,促发机体微循环障碍,肝脏合成的S-ChE减少^[10-11]。NLR是一种能够反映机体炎症严重程度的重要指标,有文献发现,NLR水平的增加与脓毒症的炎症状态有关^[12]。本研究高NLR是细菌性血流感染脓毒症预后的影响因素,与陈居根等^[13]研究结果相一致。机体炎症反应促使中性粒细胞的凋亡减少,同时激活的淋巴细胞向炎症组织迁移,淋巴细胞过度凋亡导致淋巴细胞数量下降,进而导致机体NLR升高。因此,高NLR水平可以作为细菌性血流感染脓毒症患者的一个预后评估指标。LDH参与糖酵解过程,免疫和循环系统紊乱是脓毒症的主要原因,严重的炎症反应会导致血液的流量、血管通透性发生变化,从而导致细胞和组织中的

供氧不足,细胞组织缺氧时,供能方式为氧化磷酸化向糖酵解转化,可快速产生能量和乳酸^[14]。在糖酵解过程中,血清LDH是丙酮酸向乳酸转化的重要酶,当组织细胞缺氧时,机体血清LDH水平也会随之增加。因此,血清LDH可作为细菌性血流感染脓症患者预后的一个客观指标。

ROC曲线分析结果显示,S-ChE、NLR与LDH联合检测对细菌性血流感染脓症患者预后预测的AUC为0.996,当约登指数为0.996时,灵敏度为1.000,特异度为0.982。提示临床上,血清S-ChE、NLR与LDH联合检测有望应用于预测细菌性血流感染脓毒症患者的预后不良。

综上所述,血清S-ChE、NLR与LDH联合检测对细菌性血流感染脓症患者预后的诊断价值高于单一检测,且灵敏度和特异度分别高达100.00%和98.20%,临床上需密切关注上述指标水平变化,对预测预后具有一定借鉴作用。

参考文献

- [1] 李俊玉,王雅慧,刘慧珍,等.红细胞分布宽度与血小板计数比值对急诊脓症患者预后的预测价值[J].临床急诊杂志,2022,23(2):132-137.
- [2] 刘英其,李春梅,叶晓燕,等.血流感染脓症患者炎症因子水平动态变化对病情严重程度及预后的预测分析[J].中华医院感染学杂志,2018,28(10):1459-1462.
- [3] Chen R, Zhou X, Rui Q, et al. Combined predictive value of the risk factors influencing the short-term prognosis of sepsis[J]. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue, 2020, 32(3):307-312.
- [4] Rhodes A, Evans L E, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016[J]. Crit Care Med, 2017, 45(3):486-552.
- [5] 逯峰,马德晶,朱委委,等.肠杆菌科细菌致血流感染重症患者的预后分析[J].中华危重病急救医学,2020,32(4):454-457.
- [6] 胡小勇,夏洪韬. SAA、PCT及淋巴细胞计数在脓毒血症预后评估中的作用分析[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(9):1515-1518.
- [7] 柳双燕,晋金兰.广州市重症监护室脓毒症心脏病患者睡眠状况调查[J].华南预防医学,2019,45(5):414-418.
- [8] Lee JH, Kim SH, Jang JH, et al. Clinical usefulness of biomarkers for diagnosis and prediction of prognosis in sepsis and septic shock[J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(48):e31895.
- [9] 简万均,蒋昌华,符宜龙,等.老年脓毒症病人28 d死亡的危险因素及预测模型建立[J].实用老年医学,2022,36(9):892-896.

(下转第488页)

PCT与血清ADA、Hb对肺部感染的诊断价值分析

马尧尧* 茹金玲 周贤平

【摘要】目的 探究降钙素原(PCT)与血清腺苷脱氨酶(ADA)、血红蛋白(Hb)对肺部感染(PI)的诊断价值。方法 选取2020年1月至2022年3月在亳州市人民医院就诊并确诊为PI的109例患者作为观察组,另选取同期的75名健康人群作为对照组,比较两组的血清PCT、ADA、Hb水平以及临床资料;采用多因素Logistic回归分析患者PI的独立危险因素;采用受试者工作(ROC)曲线分析血清PCT、ADA以及Hb对PI的诊断价值。结果 观察组的血清PCT、ADA水平明显高于对照组,Hb水平明显低于对照组,差异有统计学意义($t=5.759, 66.420, 2.451, P$ 均 <0.05);多因素Logistic回归分析显示,患者的血清PCT、ADA、Hb水平为其PI的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线分析结果显示,血清PCT、ADA、Hb水平对PI诊断的AUC分别为0.726、0.692、0.778,且三者联合诊断的AUC为0.903。结论 PCT、血清ADA、Hb水平对PI具有一定的诊断价值,并且三者联合检测的诊断价值大于单独监测,可以为临床上诊断PI提供新的理论依据。

【关键词】 肺部感染;降钙素原;血清腺苷脱氨酶;血红蛋白

Analysis of the diagnostic value of PCT and serum ADA and Hb in pulmonary infection

MA Yaoyao*, RU Jinling, ZHOU Xianping

(Department of Clinical Laboratory, Bozhou People's Hospital, Bozhou, Anhui, China, 236800)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the diagnostic value of procalcitonin (PCT), serum adenosine deaminase (ADA) and hemoglobin (Hb) in pulmonary infection (PI). **Methods** From January 2020 to March 2022, 109 patients diagnosed as PI in Bozhou People's Hospital were selected as the observation group, and 75 non pulmonary infection patients in the same period were selected as the control group. The levels of serum PCT, ADA, Hb and clinical data in the control group and the observation group were compared. Multivariate logistic regression was used to analyze the independent risk factors of PI. The diagnostic value of PCT, ADA and Hb in serum for PI was analyzed by ROC curve. **Results** The results of single factor analysis showed that the levels of serum PCT and ADA in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the level of Hb in the observation group was significantly lower than that in the control group ($t=5.759, 66.420, 2.451, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that serum PCT, ADA and Hb levels were independent risk factors for PI ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the AUC of PI diagnosed by serum PCT, ADA, Hb levels were 0.726, 0.692, 0.778, respectively, and the AUC of the three combined diagnosis was 0.903. **Conclusion** The levels of PCT, serum ADA and Hb have a certain diagnostic value for PI, and the diagnostic value of combined detection of PCT, serum ADA and Hb is greater than that of single monitoring, which can provide a new theoretical basis for the clinical diagnosis of PI.

【KEY WORDS】 Lung infection; Procalcitonin; Serum adenosine deaminase; Hemoglobin

基金项目:安徽省亳州市重点研发计划项目(bzzc2019021)

作者单位:安徽省亳州市人民医院检验科,安徽,亳州 236800

*通信作者:马尧尧, E-mail: mayaoyao0511@126.com

肺部感染(pulmonary infection, PI)作为临床中最常见的医院感染,主要是由于临床针对器官移植及癌症治疗等,对患者使用大量的免疫抑制剂,使得患者的免疫功能下降。其发病率和死亡率均较高,其中最具有代表性的PI即为感染性肺炎^[1]。PI常见的临床表现为呼吸困难、发热、咳嗽以及咳痰等,其病情发展快速且预后差,因此快速精准的病原学诊断直接决定了患者的预后结果^[2]。降钙素原(Procalcitonin, PCT)是一种蛋白质,反映了全身炎症反应的活跃程度。影响PCT水平的因素包括被感染器官的大小和类型、细菌的种类、炎症的程度和免疫反应的状况。临床上已有研究表明PCT对于肺部感染患者具有较高的诊断价值。腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)是腺嘌呤代谢的重要酶类,位于第22对染色体上,与细胞的免疫活性程度具有密切关系。而且血红蛋白(Hemoglobin, Hb)作为红细胞中运输氧的特殊蛋白质,其水平与机体的免疫功能也具有一定的关系,当机体的Hb水平下降时,可以判断患者处于贫血状态。目前临床上对以上三个指标联合诊断肺部感染的相关研究较少,因此,本研究分析PCT与血清腺苷脱氨酶(ADA)、血红蛋白(Hb)对肺部感染(PI)的诊断价值,以期对肺部感染的早期诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年3月亳州市人民医院就诊并确诊为PI的患者109例作为观察组,另选取同期体检的76名健康人群作为对照组。观察组男52例,女57例,年龄19~79岁,平均(62.46±17.62)岁;对照组男44名,女32名,年龄18~89岁,平均年龄(60.48±18.77)岁。两组一般资料比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.110, t=1.956, P>0.05$)。

纳入标准:①符合《中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018年版)》^[3];②患者及其家属对研究知情并签署知情同意书;③患者具有自我意识,能够配合研究。排除标准:①合并重要脏器功能障碍;②合并恶性肿瘤;③影像学结果难以判断;④患有先天性免疫缺陷病;⑤临床资料不完整。本研究经亳州市人民医院伦理委员会审批通过。

1.2 PCT、血清ADA、Hb水平检测方法

采集患者清晨空腹的肘静脉血5 mL,置于肝素抗凝真空管中以2 000 rpm/min的速度,离心半径为10 cm的条件下离心5 min,收集上层血清于-20℃的条件下备用待测。采用迈瑞CL6000i全自动化学发光免疫分析仪进行PCT检测,检测方法为化学发光法(使用泛欧生物科技有限公司生产的试剂盒)^[4-5];使用P800全自动生化分析仪检测患者ADA水平,试剂盒由北京利德曼生化股份有限公司提供^[6];Hb测定采用EDTA抗凝管采集3 mL静脉血,使用希森美康血细胞分析仪测定Hb水平^[7]。

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,采用 t 检验进行分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验进行分析;采用多元Logistic回归分析分析影响PI的危险因素,并采用ROC曲线判断血清ADA、PCT、Hb水平对PI的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的血清ADA、PCT、Hb水平比较

观察组血清ADA、PCT明显高于对照组,且Hb水平明显低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 观察组和对照组血清ADA、PCT、Hb水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum ADA, PCT and Hb levels between the observation group and the control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ADA(U/L)	PCT(ng/mL)	Hb(g/L)
对照组	76	9.81±5.12	0.22±0.05	121.61±15.40
观察组	109	18.23±12.00	6.10±0.77	115.78±16.27
t 值		5.759	66.420	2.451
P 值		<0.001	<0.001	0.015

2.2 影响PI的多因素Logistic回归分析

以患者是否确诊为PI作为因变量(否=0,是=1),以血清PCT、ADA、Hb水平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ADA低表达、PCT ≥ 10 ng/L、Hb高表达为PI的独立危险因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 血清ADA、PCT、Hb对PI的诊断价值

绘制血清ADA、PCT、Hb预测PI的ROC曲线,ROC曲线分析显示,血清PCT、ADA、Hb以及联合检测诊断PI对应的AUC为0.726、0.692、

表2 影响PI的多因素Logistic回归分析

Table 2 Multivariate Logistic Regression Analysis of Influencing Pulmonary Infection

指标	β 值	SE值	WALD值	OR值	95% CI	P值
PCT(ng/mL)	0.730	0.312	5.474	2.075	1.126~3.825	0.019
ADA(U/L)	-0.077	0.024	10.293	1.080	1.030~1.132	0.001
Hb(g/L)	0.031	0.009	11.864	0.969	0.953~0.987	0.001

0.778、0.903,其对应的约登系数为0.582、0.523、0.577、0.683。联合检测的价值高于血清ADA、PCT、Hb单独检测对PI的诊断价值($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 血清ADA、PCT、Hb对PI的诊断价值

Table 3 Diagnosis value of serum ADA, PCT and Hb for pulmonary infection

指标	临界值	约登指数	敏感度	特异度	AUC	95% CI	P值
PCT(ng/mL)	6.04	0.582	78.1	80.1	0.726	0.645~0.801	<0.001
ADA(U/L)	15.23	0.523	75.5	76.8	0.692	0.613~0.760	<0.001
Hb(g/L)	122.36	0.577	78.4	79.3	0.778	0.706~0.811	<0.001
联合检测		0.683	80.5	87.8	0.903	0.867~0.952	<0.001

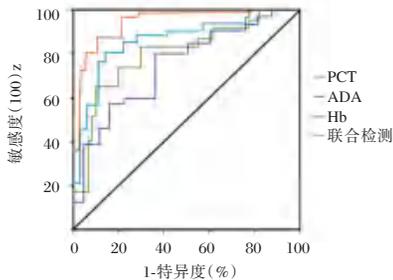


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curves

3 讨论

PI作为临床上常见的医院感染,主要是由多种病原体引起的肺实质炎症反应,不仅影响患者病情,还有可能成为患者预后不良的重要因素^[8]。PI的病死率较高,多发于术后或服用较多的免疫抑制剂时,发病人群较广,对患者的病情恢复不利,在诊疗中应提高对PI的重视程度^[9]。目前,寻找准确快速地诊断PI的指标是临床研究的热点,对患者的预后具有积极影响。故本研究通过探讨血清ADA、PCT、Hb对PI的诊断价值,以期在临床上早期诊断PI提供参考依据。

PCT属于降钙素的前体物质,正常情况下在机体内的含量很低,且其具有良好的稳定性,不会受患者免疫状态、激素水平等因素的干扰,只有在发生细菌感染的情况下,血清中PCT含量会急剧

升高,在病情得到控制、炎症反应缓解后,其水平也会相应降低,对感染程度以及预后效果均能进行有效评估^[10]。ADA主要分布于人体的血液细胞中,其与人体血清乳酸脱氢酶的比例能够鉴别PI的性质^[11]。而Hb水平能够反映机体的抵抗力程度,其水平偏低则表明患者存在贫血的状况。本研究结果显示,观察组血清PCT、ADA水平明显高于对照组,且Hb水平明显低于对照组,且血清PCT、ADA以及Hb水平为肺部感染的独立危险因素。考虑可能原因如下:PCT作为临床检测细菌与真菌感染的主要指标之一,它能反映出机体全身炎症反应的活跃度;通常情况下,该指标在人体中的含量极低,但当机体组织被细菌感染或组织受损后,PCT便会出现器质性变化,同时还会在人体其他组织中产生PCT。故此检测PCT后,结果显示其表达水平上升,则提示患者机体存在炎症反应或急性感染^[12]。ADA能够参与人体的免疫反应,机体感染后免疫系统被激活以抵抗病原体的入侵,而ADA在淋巴细胞中的活性较高,能够增加进入血液的ADA,使血清ADA的活性提高,进而肺部感染患者表现为ADA高水平。Hb在临床上可以表明患者是否存在贫血状况,缪欢欢等^[13]研究表明高龄住院患者发生肺部感染的危险因素之一为贫血,潘峰等^[14]研究结果表明,贫血是延长感染治愈时间的重要因素之一。Hb低水平容易导致患者的抵抗力下降,减弱患者的免疫能力,使得患者出现贫血症状。孙立娜等^[15]采用Logistic回归模型认为临床因素、营养状况、炎症指标对维持性血液透析患者并发PI的预测价值,结果显示感染组的Hb水平明显低于未感染组,且Hb为维持性血液透析并发PI的独立保护因素,与本研究结果一致。

此外,本研究采用ROC曲线对血清ADA、PCT、Hb诊断PI的价值进行评估,结果发现,血清PCT、ADA、Hb诊断PI的ROC曲线下面积分别为0.726、0.692、0.778,可见血清PCT、ADA、Hb对于PI均具有一定的诊断价值。此外本研究对血清PCT、ADA、Hb三者联合检测诊断PI的价值进行评估,结果发现,其诊断PI的ROC曲线的AUC为0.903,高于三者单独检测的预测价值。

综上所述,血清PCT、ADA、Hb与PI具有一定的关系,且血清PCT、ADA、Hb三者联合检测对PI具有较高的诊断价值,可以为临床诊断PI提供参考。

参考文献

- [1] 况建华,魏春艳,向豪.广安市住院新生儿院内PI病原学特征及影响因素分析[J].华南预防医学,2020,46(4):368-371.
- [2] 韩心远,高小娟,韦洁宏,等.痰液宏基因组测序在肺部感染中的诊断价值[J].检验医学与临床,2022,19(15):2022-2025.
- [3] 中华医学会呼吸病学分会感染学组.中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018年版)[J].中华结核和呼吸杂志,2018,41(4):255-280.
- [4] 黄丽亚,刘丹,符永宁,等.免疫指标在血液透析糖尿病肾病患者肺部感染的诊断价值[J].中华医院感染学杂志,2022(21):3239-3243.
- [5] 博海平.PCT、CRP、IL-6联合检测在新生儿肺部感染诊断中的应用价值分析[J].中国实用医药,2022,17(22):96-98.
- [6] 任淑君,赵勇,刘新,等.血清ADA、TOS、CA153联合检测对肺结核的诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(12):1999-2002+2007.
- [7] 延净德,胡彬,闫磊,等.全膝关节置换术对KOA患者血清SOD、Hb和IL-6水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(2):291-294.
- [8] Wani SR, Wattal C, Raveendran R. Epidemiology and risk factors associated with NTM pulmonary and extrapulmonary infections in a high tuberculosis endemic Region[J]. Indian J Med Microbiol, 2020,38(2):169-175.
- [9] Cribbs SK, Crothers K, Morris A. Pathogenesis of HIV-Related Lung Disease: Immunity, Infection, and Inflammation[J]. Physiol Rev, 2020,100(2):603-632.
- [10] 王玉翠,田佳萍.血清PCT、SOD联合CPIS评分对重症肺部感染的影响[J].内蒙古医学杂志,2022,54(7):874-877.
- [11] Wen P, Wei M, Guo X, et al. Mycoplasma pneumoniae infection mimicking tuberculous pleurisy in a young woman: a case report and literature review[J]. J Int Med Res, 2020,48(4):300060520918701.
- [12] 柳菲,侯栋.降钙素原、C反应蛋白在急性左心衰竭患者肺部感染诊断中的应用效果[J].中国医药科学,2022,12(14):126-129.
- [13] 缪欢欢,罗梦琪,沈伟,等.高龄住院患者肺部感染的危险因素分析[J].中国临床保健杂志,2022,25(1):119-122.
- [14] 潘峰,贾连顺,黄凯,等.老年患者颈脊髓完全损伤合并肺部感染治疗及其疗效的相关因素分析[J].老年医学与保健,2022,28(4):819-822+827.
- [15] 孙立娜,王云飞,颜利求,等.Logistic回归模型拟合临床因素、营养状况、炎症指标对维持性血液透析患者并发肺部感染的预测价值[J].解放军医药杂志,2022,34(4):50-54.

(上接第480页)

- [9] 田建霞,陈晓香,王继莘.改良英国医学研究委员会呼吸困难量表评分、慢性阻塞性肺疾病评估测试评分与慢性阻塞性肺疾病患者肺功能的相关性及其对肺动脉高压的预测价值[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(12):44-48.
- [10] 杨圣强,张贵真,刘贞,等.经鼻高流量氧疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重患者膈肌功能的影响:一项前瞻性随机对照研究[J].中华危重病急救医学,2019,31(5):551-555.
- [11] 王莎莎,方婷,李小红.经鼻高流量氧疗对高血压脑出血术后低氧血症患者的临床疗效及对肠内营养治疗的影响[J].中国医药,2019,14(6):895-899.
- [12] 李江涛,王媛,王亮,等.血清HDAC2和SP-D对经鼻高流量氧疗治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并轻度II型呼吸衰竭患者预后的诊断价值[J].中国医药导报,2022,19(10):25-29.
- [13] 李蔚,程宁.乌司他丁联合经鼻高流量氧疗对I型呼吸衰竭患者血清HMGB1及HIF-1 α 的影响[J].中华保健医学杂志,2020,22(1):77-79.
- [14] 庄箭波,顾岚,马岩,等.经鼻高流量湿化氧疗对新生儿肺炎血清CRP、PCT、IL-6水平的影响[J].河北医药,2020,42(23):3552-3555.
- [15] 付会文,赵智东,郭安,等.经鼻高流量鼻导管湿化氧疗治疗中老年重症难治性肺炎合并呼吸衰竭的临床观察[J].疑难病杂志,2019,18(2):136-139.

(上接第484页)

- [10] 么鑫,蔡花,黄翠影,等.双歧杆菌三联活菌散治疗腹型过敏性紫癜患儿疗效及血清S-ChE、LPO及sTLR2水平的影响[J].临床和实验医学杂志,2022,21(10):1095-1099.
- [11] 张晓慧,郭娜,宁海慧,等.Nrf2及其信号通路在脓毒症相关脏器损伤中的研究进展[J].中国急救医学,2022,42(1):81-86.
- [12] 李娟,王开金,刘翩.血清IL-8、hs-CRP、NLR与老年吸入性肺炎患者病情严重程度和预后的关系[J].河北医药,2020,42(8):1125-1129+1134.
- [13] 陈居根,杨光,李文明.血清CD4 $^{+}$ /CD8 $^{-}$ 、降钙素原、中性粒细胞与淋巴细胞比值与脓毒症患者疾病转归的关系[J].河南医学研究,2022,31(13):2409-2412.
- [14] 孙妍茹,霍静雨,刘艳.血清D-D、LDH及PGE2评估脓毒症血流感染患儿预后的临床价值[J].中国妇幼保健研究,2022,33(8):65-69.

广东惠州地区46例血红蛋白J-Bangkok的分子诊断及血液学特征分析

徐志邦¹ 官志扬¹ 叶健翔¹ 曾惠华² 陈剑虹^{1*}

[摘要] **目的** 分析血红蛋白J-Bangkok(Hb J-Bangkok)患者的血液学特征。**方法** 收集2015年10月至2021年3月于惠州市第一妇幼保健院就诊的患者共86 645例,使用全自动毛细管电泳仪检测其外周血样本,对筛查出Hb J条带的样本行血细胞分析和DNA测序。采用悬浮阵列技术检测 α 和 β 地中海贫血(简称地贫)基因。**结果** 共检出46例Hb J-Bangkok(HBB:c.170G>A)患者,人群发生率为0.053%。单纯Hb J-Bangkok杂合子患者无血液学表型;Hb J-Bangkok合并SEA杂合子患者表现为轻型 α 地贫特征。首次报道了两例罕见类型,分别为Hb J-Bangkok合并Hb New York杂合子和Hb J-Bangkok合并SEA及 β CD81杂合子。前者患者无明显血液学改变,其Hb J、Hb K和Hb A₂分别为59.7%、39.5%和0.8%;后者患者表现为轻型 α 地贫特征。**结论** 惠州地区人群Hb J-Bangkok发生率高,本研究有助于为疾病筛查提供参考数据以及完善惠州地区的地贫防控工作。

[关键词] 血红蛋白J-Bangkok;地中海贫血;血液学;基因型;DNA测序

Molecular diagnosis and hematological characteristics of 46 cases of hemoglobin J-Bangkok in Huizhou, Guangdong Province

XU Zhibang¹, GUAN Zhiyang¹, YE Jianxiang¹, ZENG Huihua², CHEN Jianhong^{1*}

(1. Department of Medical Genetics and Prenatal Diagnosis, Huizhou First Maternal and Child Health Care Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516007; 2. Department of Clinical Laboratory, Huizhou First Maternal and Child Health Care Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516007)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze hematological characteristics of the patients with hemoglobin J-Bangkok (Hb J-Bangkok). **Methods** A total of 86 645 patients that were screened for thalassemia in Huizhou First Maternal and Child Health Care Hospital during the period from October 2015 through March 2021 were recruited. The peripheral blood samples that were collected from each patient were screened by capillary electrophoresis. Samples suspected with Hb J strips were subjected to blood cell count and DNA sequencing. Suspension array technique was used for the detection of α - and β -thalassemia. **Results** Forty-six patients with Hb J-Bangkok (HBB: c. 170 G >A) were identified and the incidence of Hb J-Bangkok was 0.053%. Patients with Hb J-Bangkok had no hematological phenotype, but concomitant with SEA heterozygotes presented mild α -thalassemia trait. Two rare types were first reported, a double heterozygosity for Hb J-Bangkok and Hb New York, and a triple heterozygosity for Hb J-Bangkok, SEA and β ^{CD81}, respectively. The former patient had no obvious hematological phenotype and the Hb J, Hb K and Hb A₂ were 59.7%, 39.5% and 0.8%, respectively, while the latter patient presented mild α -thalassemia trait. **Conclusion** The incidence of Hb J-Bangkok is high in Huizhou area. This study is helpful to provide reference data for disease screening and improve the prevention and control of thalassemia in Huizhou area.

[KEY WORDS] Hemoglobin J-Bangkok; Thalassemia; Hematology; Genotype; DNA sequencing

基金项目:惠州市科技计划项目(2020Y034)

作者单位:1. 惠州市第一妇幼保健院医学遗传与产前诊断科,广东,惠州516007

2. 惠州市第一妇幼保健院检验科,广东,惠州516007

*通信作者:陈剑虹, E-mail:1296275774@qq.com

血红蛋白病(hemoglobinopathy)是由于血红蛋白分子结构异常(异常血红蛋白),或珠蛋白肽链合成速率异常(地中海贫血,简称地贫)所引起的一组遗传性血液病^[1]。在我国南方地区,较为常见的异常血红蛋白主要有血红蛋白E(Hemoglobin E, Hb E)、血红蛋白 New York(Hb New York)、血红蛋白 Q-Thailand(Hb Q-Thailand)和血红蛋白 J-Bangkok(Hb J-Bangkok)等^[2-4]。目前关于Hb J-Bangkok的详细报道极少^[5],且前人关于广东惠州地区Hb J-Bangkok的报道^[6],其涉及的病例数极少,并不能代表惠州地区人群Hb J-Bangkok的发生率。惠州市位于广东省珠三角地区,是血红蛋白病的高发地区之一。本研究通过分析惠州地区46例Hb J-Bangkok病例的血液学特征,为疾病筛查提供可靠的参考数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2015年10月至2021年3月于惠州市第一妇幼保健院就诊的患者共86 645例,选取其中经血红蛋白电泳筛查有异常Hb J带,而后经DNA测序确诊其携带有 β 珠蛋白基因杂合突变(*HBB*: c.170G>A)的46例患者作为研究对象,其中男19例,女27例,年龄8月~56岁,平均年龄(29.73 ± 8.11)岁。所有研究对象均签署知情同意书。本研究获得本院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂

日本Sysmex公司XN-10血细胞分析仪,法国Sebia公司Capillaris 2 flex piercing全自动毛细管电泳仪,厦门致善生物公司Lab-Aid 824核酸提取仪,美国Applied Biosystems公司Veriti Dx PCR扩增仪及3500Dx一代测序仪,美国Luminex公司Luminex Magpix液态悬浮芯片检测仪。血常规及电泳试剂均为仪器配套;DNA提取试剂盒购自厦门致善生物公司;地中海贫血(α/β 型)基因检测试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样本采集

采集所有研究对象静脉血两管(2 mL/管),一管以乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,用于血常规检测;一管以酸性柠檬酸葡萄糖(ACD)抗凝,用于血红蛋白电泳分析、地贫基因分析和DNA测序。

1.3.2 血液学分析

使用XN-10血细胞分析仪检测红细胞参数,

主要观察指标为血红蛋白(hemoglobin, Hb)、红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)及平均红细胞血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH);使用全自动毛细管电泳仪分析血红蛋白组分及含量。

1.3.3 DNA提取

使用Lab-Aid 824核酸提取仪配套使用DNA提取试剂盒提取全血DNA。

1.3.4 地贫基因分析

获取的全血DNA采用地中海贫血(α/β 型)基因检测试剂盒,使用悬浮阵列技术进行地贫基因分析,检测中国人常见的3种缺失型 α 地贫(--^{SEA}、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$)、3种非缺失型 α 地贫($\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{OS}\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha$)和17种 β 地贫[-28、-29、-30、-32、CD14-15、CD17、CD26(βE)、CD27-28、CD31、CD41-42、CD43、CD71-72、IVS-I-1、IVS-I-5、IVS-II-654、Initiation codon、Cap+40-43],具体实验步骤严格按照试剂说明书和仪器操作使用说明书进行操作及结果判读。

1.3.5 DNA测序

根据GenBank中 β -珠蛋白基因的序列号(NG_000007.3),使用Primer Premier6.0软件设计引物,扩增 β -珠蛋白基因序列,引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成。采用ABI3500Dx一代测序仪对所有筛查阳性样本进行正向测序,然后用Vector NTI序列分析软件进行DNA序列分析。

1.3.6 统计学处理

采用SPSS 20.0软件对数据进行处理和分析;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料用 n 表示。

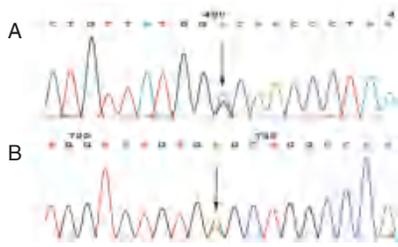
2 结果

2.1 DNA测序结果

在86 645例样本中检测出46例 β 珠蛋白基因杂合突变(*HBB*: c.170G>A),为异常Hb J-Bangkok,人群发生率为0.053%(46/86 645)。46例Hb J-Bangkok患者中还检出 β 珠蛋白基因杂合突变Hb New York(*HBB*: c.341T>A)和CD81(CTC>CTA, Leu>Leu)(*HBB*: c.246C>A)各1例。测序结果分别见图1、2。

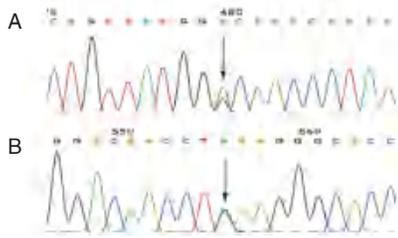
2.2 常规地贫基因检测结果

46例患者经 α/β 地贫基因检测,其中35例为阴性,11例患者检出 α 地贫,为Hb J-Bangkok合并 α 地贫,其中7例为Hb J-Bangkok合并SEA杂合子。其它基因型结果见表1。



注:横坐标代表碱基的位置;纵坐标代表碱基的信号强度; A, Hb J-Bangkok(箭头所示为HBB:c.170G>A); B, Hb New York(箭头所示为HBB:c.341T>A)。

图1 Hb J-Bangkok 合并 Hb New York 杂合变异测序图
Figure 1 DNA sequencing of compound heterozygote of Hb J-Bangkok and Hb New York



注:横坐标代表碱基的位置;纵坐标代表碱基的信号强度; A, Hb J-Bangkok(箭头所示为HBB:c.170G>A); B, β^{CD81} (箭头所示为HBB:c.246C>A)。

图2 Hb J-Bangkok 合并 β^{CD81} 杂合变异测序图
Figure 2 DNA sequencing of compound heterozygote of Hb J-Bangkok and β^{CD81}

2.3 血红蛋白电泳结果

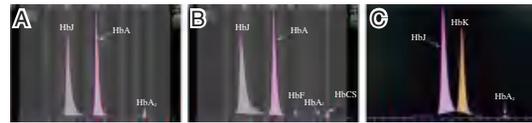
46例患者中均检出异常Hb J条带。见图3。

2.4 血液学特征

46例患者的红细胞参数和血红蛋白含量以及不同基因型的血液学表型见表1。

3 讨论

Hb J-Bangkok 是一种快速泳动的异常血红蛋白,是由于 β 珠蛋白基因第56位密码子GGC突变为GAC,相对应于甘氨酸被天门冬氨酸替代所造成的^[7]。Hb J-Bangkok 杂合子一般无血液学表型,



注:横坐标代表时间点,每时间点为1.6秒;纵坐标代表吸光度(OD值); A, Hb J-Bangkok 杂合子电泳图; B, Hb J-Bangkok 合并 α^{CS}/α^{WS} 电泳图; C, Hb J-Bangkok 合并 Hb New York 电泳图。

图3 血红蛋白 J-Bangkok 毛细管电泳图
Figure 3 Pattern of Hb J-Bangkok by capillary electrophoresis

仅通过血常规检测及常规地贫基因检测是无法发现的,但通过血红蛋白电泳会检出异常Hb J条带,然而检出Hb J并不能确定是Hb J-Bangkok,也有可能是其它异常Hb,如Hb Ube-2和Hb J-Beijing等^[8]。通过进一步行DNA测序,既能鉴别发生的变异是 α 珠蛋白基因上的还是 β 珠蛋白基因上的,又能确定其突变位点。

本研究共检出46例Hb J-Bangkok,人群发生率为0.053%,高于广东东莞地区(0.019%)^[9]、深圳地区(0.043%)^[5]和梅州地区(0.046%)^[10],低于珠海地区(0.127%)^[11]。单纯Hb J-Bangkok 杂合子患者Hb J含量为总Hb的(49.43±6.41)%,Hb J-Bangkok 合并 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 或 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 患者Hb J含量均为总Hb的50%左右,表明 α 地贫不会影响Hb J含量的生成。Hb J-Bangkok 合并 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 或 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 患者均表现为静止型地贫,Hb J-Bangkok 合并 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 患者表现为小细胞低色素贫血,表明Hb J-Bangkok 合并 α 地贫患者的表型与单纯 α 地贫相似,不会加重 α 地贫的血液学表型,与前人研究结果一致^[5]。

值得注意的是,Hb J-Bangkok 合并 α^{CS}/α^{WS} 患者无明显血液学改变,通过血红蛋白电泳既能检出Hb J又能检出Hb CS,且Hb J含量不受影响,但Hb A₂含量极低,仅有0.2%。而本研究单纯Hb J-Bangkok 杂合子患者的Hb A₂含量为总Hb的(2.42±0.40)%,Hb J-Bangkok 合并 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 患者Hb

表1 不同基因型 Hb J-Bangkok 的血液学表型 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The hematological parameters of Hb J-Bangkok with different genotypes ($\bar{x} \pm s$)

基因型	n	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	Hb A ₂ (%)	Hb J(%)
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$, Hb J-Bangkok/ β^N	34	134.73±22.42	90.63±5.64	29.57±2.48	2.42±0.40	49.43±6.41
$--^{SEA}/\alpha\alpha$, Hb J-Bangkok/ β^N	7	108.00±23.69	67.46±7.33	20.30±2.77	2.00±0.27	47.59±8.69
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, Hb J-Bangkok/ β^N	1	111	87.9	28.5	2.4	51.0
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$, Hb J-Bangkok/ β^N	1	113	80.5	26.8	2.8	50.6
α^{CS}/α^{WS} , Hb J-Bangkok/ β^{Na}	1	136	86.7	26.2	0.2	49.8
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$, Hb J-Bangkok/ Hb New York ^b	1	123	85.3	26.5	0.8	59.7
$--^{SEA}/\alpha\alpha$, Hb J-Bangkok/ β^{CD81}	1	110	70.3	22.8	2.2	51.3

注:^a基因型患者还检出Hb CS,含量为1.5%;^b基因型患者还检出Hb New York,含量为39.5%。

A₂含量为总Hb的(2.00±0.27)%。且据文献报道^[12],α^{CS}/α^{WS}患者表现为轻型地贫,Hb A₂含量稍降低。这可能是因为在Hb J-Bangkok与Hb CS的相互作用下影响了Hb A₂含量的生成。由于α地贫导致α珠蛋白肽链合成减少,又由于Hb J-Bangkok的存在,导致正常的β珠蛋白肽链合成减少,取而代之的是变异的β珠蛋白肽链与α珠蛋白肽链结合而成的Hb J,从而导致Hb A₂(α₂δ₂)含量合成相对减少。同时突变的α链和β链得以保持相对平衡,减轻了个体的临床表型,故无明显血液学改变。但这是个案,需收集更多的样本进一步研究。

研究首次报道了一例Hb J-Bangkok合并Hb New York,其患者无Hb A合成,但无明显血液学改变。原因可能是双重突变虽然导致无Hb A合成,但生成了稳定的异常血红蛋白,只是改变了血红蛋白的一级结构,而携带氧气能力并未降低^[13]。研究还发现了一例罕见β珠蛋白基因突变CD81,在人类异常血红蛋白地中海贫血库(<https://globin.bx.psu.edu/hbvar/>)中未见报道。在本研究中,其合并了--^{SEA}/αα和Hb J-Bangkok,血液学表现为轻型α地贫的特征,原因可能是CD81(CTC>CTA)突变并未造成氨基酸改变,均是翻译成亮氨酸,不影响血液学表型,故与Hb J-Bangkok合并--^{SEA}/αα患者的血液学表型相似。

有研究者发现^[14],Hb J-Bangkok合并Hb Q-Thailand会产生一种新的异常血红蛋白(Hb JQ),而本研究的Hb J-Bangkok合并Hb CS或Hb New York均未产生新的异常血红蛋白,表明不同的异常血红蛋白相互作用的结果不一样。本研究有3例Hb J-Bangkok患者的配偶是β地贫携带者。据文献报道^[15],Hb J-Bangkok复合β地贫患者的临床表型与单纯的β地贫携带者相似,只需要注意遗传咨询要点,无需进行产前诊断。因此,本研究3例Hb J-Bangkok患者未进行产前诊断。

国内外有关Hb J-Bangkok的研究中,李育敏等^[5]和HUANG等^[7]的研究均表明单纯Hb J-Bangkok杂合子患者表型正常,但合并不同类型的地贫时其血液学表型存在差异。因此,对血红蛋白病的明确诊断是非常必要的。

综上所述,惠州地区是血红蛋白病的高发地区之一,Hb J-Bangkok发生率较高,本研究能在一定程度上补充该地区的流行病学数据。此外,研究发现^[16],Hb J-Bangkok会干扰某些生化指标的测定,如糖化血红蛋白(Hb A_{1c}),导致测量值降低,因此在测

定血糖指标时应注意。本研究通过对Hb J-Bangkok患者的血液学特征分析,为疾病筛查提供可靠的参考数据,同时有助于完善惠州地区的地贫防控工作。

参考文献

- [1] 徐湘民. 血红蛋白病的人群筛查和产前诊断[J]. 海南医学, 2019(S1):47-55.
- [2] Xu AP, Chen WD, Xie WJ, et al. Hemoglobin variants in southern China: results obtained during the measurement of glycosylated hemoglobin in a large population[J]. Clin Chem Lab Med, 2020, -1(ahead-of-print).
- [3] 杨继青, 王华伟, 张尊月, 等. 云南省100例异常血红蛋白E患者的血液学和基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(1):33-36.
- [4] 钟泽艳, 陈剑虹, 官志扬, 等. 45例血红蛋白Q-Thailand的表型和基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(5):723-726.
- [5] 李育敏, 蔡钦泉, 金潇, 等. 血红蛋白J-Bangkok及其合并地中海贫血的表型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(1):7-11.
- [6] 何静, 余小燕, 温玮霞, 等. 广东惠州地区102例异常血红蛋白病分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(14):2049-2051+2054.
- [7] Huang HL, Xu LP, Chen MH, et al. Molecular characterization of thalassemia and hemoglobinopathy in Southeastern China[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):3493.
- [8] 王妍, 林敏, 韩志君, 等. 江苏省无锡市地区异常血红蛋白病的流行病学调查[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(2):316-318.
- [9] Lou JW, Wang T, Liu YH, et al. Prevalence and Molecular Characterization of Structural Hemoglobin Variants in the Dongguan Region of Guangdong Province, Southern China [J]. Hemoglobin, 2014, 38(4):282-286.
- [10] Lin M, Wen YF, Wu JR, et al. Hemoglobinopathy: Molecular Epidemiological Characteristics and Health Effects on Hakka People in the Meizhou Region, Southern China [J]. Plos One, 2013, 8(2):e55024.
- [11] 谢建红, 汪国庆, 肖奇志, 等. 异常血红蛋白的筛查及其分子诊断[J]. 检验医学, 2016, 31(1):22-25.
- [12] 韦媛, 李东明, 何升, 等. 广西地区323例血红蛋白Constant Spring基因型与表型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(10):27-29.
- [13] 胡听听, 郭浩, 秦丹卿, 等. 异常血红蛋白Hb J-Bangkok的分子诊断及血液学特征分析[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(3):171-174.
- [14] Jiang F, Zhou JY, Yan JM, et al. First Report of a Chinese Family Carrying a Double Heterozygosity for Hb Q-Thailand and Hb J-Bangkok[J]. Hemoglobin, 2016, 40(6):425-427.
- [15] 赵颖, 商璇, 熊符, 等. 异常血红蛋白(Hb J-Bangkok)合并β-地中海贫血的临床表型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30(2):148-151.
- [16] Xu AP, Chen WD, Xia Y, et al. Effects of common hemoglobin variants on HbA_{1c} measurements in China: results for α- and β-globin variants measured by six methods[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(8):1353-1361.

肺癌根治术后感染对机体 JAK/STAT 通路蛋白及 T 细胞亚群的影响

魏一泽* 王宾宾 黄文军 高从荣 董明杰

[摘要] 目的 探讨肺癌根治术后感染对机体 JAK/STAT 通路蛋白及 T 细胞亚群的影响。方法 选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月于合肥市第二人民医院胸外科收治的行肺癌根治术的 114 例患者作为研究对象。按患者术后是否发生肺部感染分为发生组($n=24$)和未发生组($n=90$),统计分析两组肺组织中 JAK/STAT 相关通路蛋白[EFhD2、磷酸化 JAK2(p-JAK2)、JAK2、p-STAT3、STAT3]表达量、外周血 T 淋巴细胞亚群[CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺]、炎症反应因子[胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、和肽素、IV 型胶原(IV-C)]及早期预后情况。结果 与未发生组相比,发生组肺组织中 EFhD2、磷酸化 JAK2(p-JAK2)、JAK2、p-STAT3、STAT3 的表达均上调,差异有统计学意义($t=5.005$ 、 2.261 、 2.657 、 4.189 、 3.625 , $P<0.05$)。与未发生组相比,发生组外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均降低,差异有统计学意义($t=2.230$ 、 2.344 、 2.162 、 5.377 , $P<0.05$)。与未发生组相比,发生组炎症反应因子 IGF-1、和肽素、IV-C 水平均升高,差异有统计学意义($t=1.999$ 、 2.269 、 5.663 , $P<0.05$)。与未发生组相比,发生组恶心呕吐发生率更高,差异有统计学意义($\chi^2=5.296$, $P<0.05$)。结论 肺癌根治术后感染能够明显影响患者体 JAK/STAT 通路蛋白、T 细胞亚群及相关炎症指标,可能影响肺癌患者预后。可能影响患者肺癌的远期预后? 还是此次感染后的预后。

[关键词] 肺癌; 术后肺部感染; JAK/STAT 通路蛋白; T 细胞亚群

Effects of infection on JAK/STAT pathway proteins and T cell subsets in vivo after radical resection of lung cancer

WEI Yize*, WANG Binbin, HUANG Wenjun, GAO Congrong, DONG Mingjie

(Department of Cardiothoracic Surgery, Hefei Second People's Hospital, Hefei, Anhui, China, 230011)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of infection after radical resection of lung cancer on JAK/STAT pathway protein and T cell subsets. **Methods** A total of 114 patients who underwent radical resection of lung cancer in the Department of Thoracic Surgery of Hefei Second People's Hospital from January 2020 to December 2021 were selected as the study subjects. The patients were divided into the occurrence group ($n=24$) and the non-occurrence group ($n=90$) according to whether the postoperative pulmonary infection occurred or not. The expression of JAK/STAT related pathway proteins [EFhD2, phosphorylated JAK2 (p-JAK2), JAK2, p-STAT3, STAT3], peripheral blood T lymphocyte subsets [CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺], inflammatory response factors [insulin-like growth factor-1 (IGF-1), copeptin, type IV collagen (IV-C)] and early prognosis were statistically analyzed. **Results** Compared with the non-occurrence group, the expression of EFhD2, phosphorylated JAK2 (p-JAK2), JAK2, p-STAT3 and STAT3 in the lung tissue of the occurrence group was up-regulated, and the difference was statistically significant ($t=5.005$, 2.261 , 2.657 , 4.189 , 3.625 , $P<0.05$). Compared with the non-occurrence group, the levels of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood T cell subsets in the occurrence group decreased, and the difference was statistically

基金项目:合肥市第二人民医院院级科研项目(2021yqn10)

作者单位:合肥市第二人民医院胸心外科,安徽,合肥 230011

*通信作者:魏一泽, E-mail: wyz18815512451@163.com

significant ($t=2.230, 2.344, 2.162, 5.377, P<0.05$). Compared with the non-occurrence group, the levels of inflammatory response factors IGF-1, copeptin and IV-C in the occurrence group were increased, and the differences were statistically significant ($t=1.999, 2.269, 5.663, P<0.05$). Compared with the non-occurrence group, the incidence of nausea and vomiting in the occurrence group was higher, the difference was statistically significant ($\chi^2=5.296, P<0.05$). **Conclusion** Infection after radical resection of lung cancer can significantly affect JAK/STAT pathway protein, T cell subsets and related inflammatory indicators, which may affect the prognosis of patients with lung cancer.

[KEY WORDS] Lung cancer; Postoperative pulmonary infection; JAK/STAT pathway protein; T-cell subpopulation

据文献报道,肺癌是属于临床常见的呼吸系统恶性肿瘤疾病,已成为严重危害人类生命健康的疾病之一^[1-2]。研究发现^[3],肺癌的发生发展与多种因素存在密切的关系,其中高危因素有高龄、高血压、高血糖等,如今随着人口老龄化的加速,加上饮食不规律、生活压力大、生活环境的恶化等使得肺癌的发病率不断升高。目前在肺癌早期进行手术切除是最有效的治疗手段,能最大程度地降低患者死亡率,但仍存在部分患者术后出现肺部感染等并发症,进而影响其预后效果,不利于患者术后康复^[4-5]。国内外较多文献报道,JAK/STAT信号通路参与调控癌细胞免疫逃避,STAT的高表达能限制机体对癌细胞的免疫应答,从而影响机体免疫反应^[6-7]。本研究通过探讨肺癌根治术后感染对机体 JAK/STAT 通路蛋白及 T 细胞亚群的影响,旨在改善肺癌患者预后。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月于合肥市第二人民医院胸外科收治的行肺癌根治术的 114 例患者作为研究对象。按患者术后是否发生肺部感染分为发生组($n=24$)和未发生组($n=90$)。纳入标准:①经病理组织检查结果确诊为肺癌^[8];②术前无放化疗治疗史;③符合手术指征,自愿接受肺癌根治术;④均行胸腔镜肺叶切除术;⑤术后 48 h 内发生肺部感染症状,经 X 线检查、症状等确诊。排除标准:①术前出现严重心、肝、肾等严重内科疾病;②合并其他恶性肿瘤;③长期机械通气易发生肺部感染者;④存在肺部手术治疗史者;⑤研究期间中途退出者。本研究所有患者均知情,且签署知情同意书,并经过医院医学伦理委员会批准。

1.2 术后肺部感染判断标准及分组

采用临床肺部感染评分(Clinical pulmonary

infection score, CPIS)标准^[9]评估患者术后肺部感染程度,包括分泌物、体温、气体交换指标、白细胞计数、X 线胸片浸润影,满分 10 分,分值越高患者病情越严重, ≤ 6 分的患者纳入未感染组, ≥ 7 分的患者纳入感染组。

1.3 观察指标

采集所有患者晨起 5 mL 空腹静脉血,将血液标本经离心机(3 500 r/min 离心 5 min,半径为 8.6 cm)处理后获得血清,将其置于 -20°C 条件下待检。

1.3.1 JAK/STAT 相关通路蛋白

于手术时收集发生组和未发生组患者肺组织,经组织裂解液进行裂解,胰蛋白酶消化后,离心机冰上高速离心 10 min($12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心半径 6.2 cm),获取上清液,用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测两组肺组织中 JAK/STAT 相关通路蛋白[EFhD2、磷酸化 JAK2(p-JAK2)、JAK2、p-STAT3、STAT3]表达量。

1.3.2 T 淋巴细胞亚群

采用流式细胞仪(BD FACSCalibur)检测两组外周血 T 淋巴细胞亚群[CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺]变化。

1.3.3 炎症反应因子

采用酶联免疫吸附法检测两组胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、和肽素水平,检测仪器为多功能酶标仪(厂家:美国伯腾公司;型号:Synergy2;试剂盒:南京生物工程研究所);采用放射免疫法检测两组手术前后 IV 型胶原(IV-C)水平,检测仪器为放射免疫计数仪(厂家:安徽中佳公司;型号:GC-1200 γ ;试剂盒:北京北方生物科技有限公司)。

1.3.4 早期预后

记录两组患者住院期间恶心呕吐、新发心律失常、呼吸衰竭及支气管痉挛情况。呼吸衰竭:患者术后动脉血氧饱和度 $<60\ \text{mmHg}$,脉搏血氧仪测定动脉血氧饱和度 $<90\%$,动脉血氧饱和度与吸氧

氧分数比值<300或需要进行氧疗者。支气管痉挛:新出现哮鸣音需要提供支气管舒张剂治疗。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据处理,计数资料以n(%)表示,采用 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间采用独立样本t检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基线资料比较

两组研究对象性别、年龄、病理分期、肺癌类型、肺部肿瘤、吸烟情况比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。见表1。

表1 两组基线资料比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

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

组别	n	性别		年龄(岁)	病理分期		肺癌类型		肿瘤位置		吸烟	
		男	女		I期	II~III期	腺癌	鳞癌	周围型	中央型	有	无
发生组	24	15(62.50)	9(37.50)	61.27±7.16	7(29.17)	17(70.83)	6(25.00)	18(75.00)	10(41.67)	14(58.33)	14(58.33)	10(41.67)
未发生组	90	48(53.33)	42(46.67)	59.58±6.89	20(22.22)	70(77.78)	27(30.00)	63(70.00)	43(47.78)	47(52.22)	63(70.00)	27(30.00)
t/ χ^2 值		0.644		1.059	0.505		0.230		0.284		2.137	
P值		0.422		0.291	0.477		0.631		0.593		0.144	

表2 两组肺组织中JAK/STAT相关通路蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of JAK/STAT related pathway protein expression in lung tissue between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	EFhD2	p-JAK2	JAK2	p-STAT3	STAT3
发生组	24	0.85±0.17	0.81±0.30	0.96±0.22	0.84±0.23	1.03±0.20
未发生组	90	0.69±0.13	0.65±0.31	0.84±0.19	0.67±0.16	0.87±0.19
t值		5.005	2.261	2.657	4.189	3.625
P值		<0.001	0.026	0.009	<0.001	<0.001

表3 两组外周血T细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of peripheral blood T cell subsets between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
发生组	24	61.85±9.17	34.30±6.48	20.26±5.72	0.63±0.21
未发生组	90	66.29±8.53	37.46±5.70	23.01±5.49	0.87±0.19
t值		2.230	2.344	2.162	5.377
P值		0.027	0.021	0.033	<0.001

表4 两组炎症反应因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of inflammatory response factors between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGF-1(ng/mL)	和肽素(pmol/L)	IV-C(ng/mL)
发生组	24	220.86±20.15	11.28±4.03	85.16±14.23
未发生组	90	213.01±16.21	9.66±3.48	68.15±12.76
t值		1.999	2.269	5.663
P值		0.048	0.025	<0.001

2.2 两组肺组织中JAK/STAT相关通路蛋白表达量比较

与未发生组相比,发生组肺组织中EFhD2、磷酸化JAK2(p-JAK2)、JAK2、p-STAT3、STAT3的表达均上调,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

2.3 两组外周血T细胞亚群比较

与未发生组相比,发生组外周血T细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平均降低,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

2.4 两组炎症反应因子比较

与未发生组相比,发生组炎症反应因子IGF-1、和肽素、IV-C水平均升高,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

2.5 两组早期预后比较

两组新发心律失常、呼吸衰竭及支气管痉挛发生率比较,差异无统计学意义(P>0.05);与未发生组相比,发生组恶心呕吐发生率更高,差异有统计学意义(P<0.05)。见表5。

表5 两组早期预后比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of early prognosis between two groups [n(%)]

组别	n	恶心呕吐	新发心律失常	呼吸衰竭	支气管痉挛
发生组	24	4(16.66)	4(8.33)	1(4.16)	2(8.33)
未发生组	90	2(2.22)	3(1.11)	1(1.11)	1(1.11)
χ^2 值		5.296	3.760	1.026	3.346
P值		0.021	0.052	0.311	0.062

3 讨论

手术过程中对患侧肺部组织的反复牵拉在一定程度上会引起肺循环受损,加上术中长时间的肺暴露,更易发生术后感染风险。肺癌根治术后肺部感染是临床较为严重的并发症之一,其对患者预后产生不良影响。因此,探讨该疾病的潜在分子机制对于预防、控制术后肺部感染,增强治疗效果而言十分重要。

目前多项研究均证实JAK/STAT信号通路参

与多种肿瘤发生发展、激活等生物学过程,是研究肿瘤信号传导通路的热点^[10-11]。研究发现^[12],调控 JAK/STAT 信号通路能够降低肿瘤微环境中的髓源性抑制细胞,起到抑制癌细胞免疫逃逸,进一步发挥抗肿瘤、抗肿瘤血管生成等作用。以上研究说明 JAK/STAT 信号通路在肿瘤免疫逃逸中具有重要意义。此外,ZHANG 等^[13]的研究表明,EFhD2 能够通过激活 JAK/STAT 信号通路,起到调控机体免疫功能的作用。本研究结果显示,与未发生组相比,发生组肺组织中 EFhD2、磷酸化 JAK2(p-JAK2)、JAK2、p-STAT3、STAT3 的表达均上调,证实机体术后肺部感染会影响 JAK/STAT 信号通路的正常作用。免疫系统主要通过帮助机体识别、排除抗原性异物,维持机体生理平衡,且与肺癌的发生发展存在密切的联系。T 细胞亚群在机体细胞免疫反应中起重要作用,当患者处于疾病进展期时,其细胞免疫功能遭到破坏,处于紊乱状态。本研究结果表明,与未发生组相比,发生组外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均降低,猜测肺癌根治术后感染会导致机体细胞免疫功能失去平衡,而正常的细胞免疫功能、免疫环境更有助于患者术后恢复。

血清炎症标志物能反映机体的炎症反应及感染情况。临床监测和肽素能有效反映机体下丘脑-垂体-肾上腺轴反应,在肺部感染发生中较为敏感。IV-C 是基底膜的主要成分,而基质金属蛋白酶-9 能够降解基底膜、细胞外基质的所有成分,在正常状态下呈微表达,但当机体发生感染时,基质金属蛋白酶-9 呈高表达,使基底膜受损,刺激 IV-C 分泌,加重内皮细胞损伤、血浆蛋白渗出以及组织水肿,进一步破坏脏器中的细胞及组织,影响患者预后。而 IGF-1 能够刺激细胞增殖,表现为促进细胞分化、促进机体新陈代谢等。有研究发现,在慢性肺发病中,炎症刺激导致 IGF-1 含量增加,在肺部感染患者的代谢异常中有良好的诊断价值^[14]。本研究结果显示,与未发生组相比,发生组炎症反应因子 IGF-1、和肽素、IV-C 水平均升高,说明肺癌根治术后感染患者其 IGF-1、和肽素、IV-C 水平均呈高表达,若不及时进行有效干预,可能会导致患者病情恶化。

在预后方面,本研究发现与未发生组相比,发生组恶心呕吐发生率更高,可能是肺部感染患者多数会出现咳嗽以及咳痰,导致部分患者会引起恶心呕吐症状。另外肺部感染急性期一般会引

起发烧,发烧可使患者出现心率加快情况;另外肺部感染严重者大量肺组织将会出现炎症,从而干扰肺部血氧交换,引起缺氧,造成呼吸困难,出现支气管痉挛,甚至呼吸衰竭。但本研究两组新发心律失常、呼吸衰竭及支气管痉挛发生率比较,差异无统计学意义,可能是样本量较小导致。

综上所述,肺癌根治术后感染能够明显影响患者体 JAK/STAT 通路蛋白、T 细胞亚群及相关炎症指标,在临床治疗时应关注上述指标的变化并及时采取有效治疗手段。

参考文献

- [1] Miranda-Filho A, Piñeros M, Bray F. The descriptive epidemiology of lung cancer and tobacco control: A global overview 2018. *Epidemiologia descriptiva del cancer de pulmon y control de tabaco en 2018: Una vision global*[J]. *Salud Publica Mex*, 2019, 61(3):219-229.
- [2] 乔晶喆,张丽辉,纪月然,等. 石家庄地区 4742 例恶性肿瘤新诊断病例疾病特征及变化趋势分析[J]. *华南预防医学*, 2022, 48(3):326-329.
- [3] 王新,王炯杰,王雷,等. 肺癌患者胸腔镜术后心肺并发症预测模型的建立与分析[J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(13):2351-2356.
- [4] 赵金栋,胡春玲,班跃松. 模式化单操作孔胸腔镜行肺癌根治术的临床疗效观察[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(9):1489-1492+1497.
- [5] 陈国平,范平明,陈峙霖,等. 胸腔镜肺癌根治术后肺部感染危险因素及血清指标的预测价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(13):2005-2009.
- [6] 金振硕,王海燕. 通过 JAK 通路促进乳腺癌的免疫治疗[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(23):2942-2945.
- [7] Moreira D, Adamus T, Zhao X, et al. STAT3 inhibition combined with CpG immunostimulation activates antitumor immunity to eradicate genetically distinct castration-resistant prostate cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(23):5948-5962.
- [8] Ettinger DS, Aisner DL, Wood DE, et al. NCCN guidelines insights: non-small cell lung cancer, version 5.2018 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(7):807-821.
- [9] 焦文好,高爱华. 血清可溶性髓系细胞触发受体-1 与临床肺部感染评分在慢性阻塞性肺疾病呼吸机相关性肺炎早期诊断及预后判断中的效能研究[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(12):1630-1633+1637.
- [10] Trivedi S, Starz-Gaiano M. Drosophila Jak/STAT signaling: Regulation and relevance in human cancer and metastasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12):4056.
- [11] 刘贵廷,杨柳. SOX9 基因下调 JAK2/STAT3 信号诱导肺癌细胞凋亡及降低免疫逃逸相关因子表达的研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(1):65-69. (下转第 500 页)

学龄前儿童骨折后 25-(OH)D 含量变化及与骨密度的关系

任飞^{1*} 刘锋卫² 李刚³

[摘要] **目的** 分析学龄前儿童骨折后血清 25-羟维生素 D[25-(OH)D]与骨密度水平情况及两者间的相关性。**方法** 选取河南省洛阳正骨医院 2017 年 12 月至 2020 年 12 月收治的学龄前骨折儿童 83 例临床资料为观察组,另选 78 名本院体检健康学龄前儿童作为对照组,对所有儿童 25-(OH)D 水平及骨密度情况进行检测,根据 25-(OH)D 水平将儿童分为充足组、不足组、缺乏组,观察两组骨密度水平情况;采用 Pearson 相关性分析 25-(OH)D 水平与骨密度的相关性。**结果** 观察组骨密度指标 SOS 值、Z 值、25-(OH)D 水平与对照组比较,差异有统计学意义($t=3.592, 6.878, 10.622, P_{均}<0.05$)。观察组根据其 25-(OH)D 水平进行分类发现,充足患者 43 例、不足者 34 例、缺乏组 6 例;对照组中充足者 72 例、不足者 6 例,无缺乏患者。观察组、对照组患者骨密度 SOS、Z 值指标比较,差异有统计学意义($F=24.598, 113.955, P<0.05$);观察组 25-(OH)D 水平充足者、不足者 SOS、Z 值与对照组同类型患者比较,差异有统计学意义($t, Z=4.473, 7.872, 2.244, 7.809, P<0.05$)。观察组充足组 SOS<不足组<缺乏组, Z 值>不足组<缺乏组($t, Z=2.710, 6.140, 8.010, P<0.05, t, Z=12.476, 9.642, 13.690$),对照组充足者 SPS 值<不足者, Z 值>不足组($t=4.540, 2410, P<0.05$)。Pearson 相关性分析显示:25-(OH)D 与 SOS 值呈负相关关系,与 Z 值呈正相关关系。**结论** 学龄前儿童骨折后其 25-(OH)D 水平、骨密度水平会发生明显改变,25-(OH)D 的表达与骨密度之间存在明显相关性。

[关键词] 学龄前儿童;骨折;25-羟维生素;骨密度

Changes of 25-(OH) D content and its relationship with bone mineral density in preschool children after fracture

REN Fei^{1*}, LIU Fengwei², LI Gang³

(1. Department of Pediatric Orthopedics and Traumatology, Luoyang Orthopedic Hospital, Luoyang, Henan, China, 471082; 2. Department of Limb Function Reconstruction, Henan Orthopedic Hospital, Luoyang, Henan, China, 471082; 3. Orthopedic Department, Henan Orthopedic Hospital, Luoyang, Henan, China, 471082)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between serum 25 hydroxyvitamin D[25-(OH)D] and bone mineral density in preschool children after fracture. **Methods** The clinical data of 83 preschool children with fracture admitted by Luoyang Orthopedic Hospital of Henan Province from December 2017 to December 2020 were selected as the observation group, and 78 healthy preschool children were selected as the control group. The level of 25-(OH)D and bone mineral density of all children were tested. According to the level of 25-(OH)D, children were divided into the sufficient group, the insufficient group, the deficient group and the severe deficient group. The bone mineral density of the two groups was observed. Pearson correlation was used to analyze the correlation between 25-(OH)D level and bone mineral density. **Results**

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2018032662)

作者单位:1. 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)小儿骨伤科,河南,洛阳 471082

2. 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)肢体功能重建科,河南,洛阳 471082

3. 河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)矫形科,河南,洛阳 471082

*通信作者:任飞, E-mail: doctorren@163.com

Compared with the control group, the SOS value, Z value and 25-(OH)D level of bone mineral density in the observation group were significantly different ($t=3.592, 6.878, 10.622, P<0.05$). The observation group was classified according to their 25-(OH) D levels and found there were 43 cases of sufficient patients, 34 cases of insufficient patients, and 6 cases of deficient group. In the control group, 72 cases were sufficient, 6 cases were insufficient, and no patients were deficient. There was statistically significant difference between the observation group and the control group in bone mineral density (SOS, Z) ($F=24.598113.955, P<0.05$). The SOS and Z values of the patients with sufficient and insufficient 25-(OH)D levels in the observation group were significantly different from those of the same type of patients in the control group ($t, Z=4.473, 7.872, 2.244, 7.809, P<0.05$). In the observation group, the SOS of the sufficient group < the deficient group < the deficient group, Z value > the deficient group < the deficient group ($t, Z=2.710, 6.140, 8.010, P<0.05, t, Z=12.476, 9.642, 13.690$). In the control group, the SPS value of the sufficient group was lower than that of the insufficient group, and the Z value was higher than that of the insufficient group ($t=4.5402410, P<0.05$). **Conclusion** The levels of 25-(OH) D and bone mineral density in preschool children will change significantly after fracture. There is a significant correlation between the expression of 25-(OH)D and bone mineral density.

[KEY WORDS] Preschool children; Fracture; 25 hydroxyvitamin; Bone mineral density

学龄前儿童其机体新陈代谢、生长发育活跃,此时正处于骨量增加、骨骼发育时期,定期对骨量进行评估有助于儿童生长发育。研究^[1]指出,儿童期骨密度是获得骨峰的关键所在,而骨峰则能够有效降低成年后骨质疏松的发病率。骨密度为骨矿物密度,主要是单位面积为骨矿物质的含量,也是反应骨质量的重要指标。研究^[2]指出,学龄前儿童骨密度异常率高达20%~30%,若出现下降儿童易出现骨折,佝偻病的发生率也明显增加。25-羟维生素D(25-hydroxyvitamin D(25OHD))是反映人体维生素D营养状态的敏感指标,同时其也具有促进钙吸收及促进其在骨骼中沉积的作用^[3-4]。目前,临床中有大量研究指出骨折的发生与骨密度及25-(OH)D水平有关,但关于学龄前儿童骨折后其骨密度及25-(OH)D水平研究较少,为探讨密度及25-(OH)D水平在学龄前儿童中扮演的角色及两者的相关性,本文作者结合自身临床实践分析本院收治83例学龄前骨折儿童临床资料进行分析。现将研究结果报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取河南省洛阳正骨医院2017年12月至2020年12月收治的学龄前骨折儿童83例临床资料为观察组,观察组儿童年龄平均年龄(2.8±0.5)岁;男53例、女30例。另选78名同期体检健康学龄前儿童作为对照组。对照组年龄平均(2.9±0.4)岁;男41例、女37例。两组性别年龄比较差异无统计学意

义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:①年龄<7岁;②临床资料完整无缺失;③经影像学明确诊断为骨折;④本文纳入的骨折儿童均为肢体骨折。排除标准:①儿童近3个月内无感染疾病、代谢疾病、骨骼疾病;②患有肝肾功能障碍或是存在功能障碍;③内分泌代谢性疾病;④畸形性骨炎、成骨发育不全疾病者。所有监护人均知情同意。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

25-(OH)D水平测定:抽取儿童入院时静脉血放置于4℃环境中保存,离心机3000 r/min,离心10 min,离心半径15 cm,分离血清,采用酶联免疫吸附法对25-(OH)D水平进行检测,实验试剂盒购自北京欧蒙生物技术有限公司。25-(OH)D水平 ≥ 30 ng/mL定义为充足组;25-(OH)D水平21~30 ng/mL定义为不足;25-(OH)D水平11~20 ng/mL定义为缺乏,25-(OH)D水平<10 ng/mL定义为严重缺乏组^[5]。

1.3 观察指标

根据25-(OH)D水平将儿童分为充足组(≥ 30 ng/mL)、不足组(21~30 ng/mL)、缺乏组(11~20 ng/mL),观察两组骨密度水平情况;采用Pearson相关性分析25-(OH)D水平与骨密度的相关性^[5]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计学分析。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用独立样本 χ^2 检验。正态计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,两组比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析和多

重比较LSD-t检验。偏态计量资料,采用中位数M(P25,P75)表示,采用K-W秩检验+多重比较M-W秩检验。骨密度与25-(OH)D的相关性,采用Pearson相关性分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组骨密度及25-(OH)D水平比较

观察组骨密度指标SOS值(3145.52±238.23)、Z值[0.15±0.78, 0.13(0.07, 1.85)]与对照组SOS值(3280.83±218.79); Z值[0.93±0.22, 0.80(0.44, 1.28)]比较明显为高,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组25-(OH)D水平(30.91±0.69)ng/mL与对照组(43.86±8.73)比较明显为低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图1。

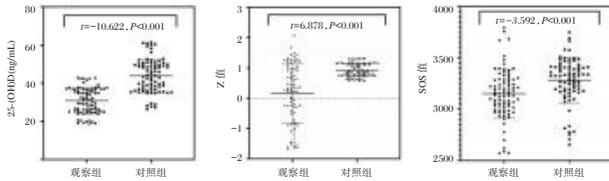


图1 观察组与对照组25-(OH)D、骨密度Z值、骨密度SOS值比较

Figure 1 Comparison of 25-(OH)D, bone mineral density Z and bone mineral density SOS between the observation group and the control group

2.2 不同25-(OH)D水平儿童骨密度SOS、Z值比较

观察组25-(OH)D水平充足者、不足者SOS明显低于对照组同类型患者Z值则高于,差异有统计学意义($P<0.05$)。

观察组25-(OH)D水平充足者SOS、Z值水平明显低于不足、缺乏者,不足者又明显低于缺乏者,差异有统计学意义($P<0.05$);对照组充足者上述指标SOS明显低于不足者、Z值则明显高于不足者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.3 25-(OH)D水平与骨密度之间相关性情况

经Pearson相关分析,25-(OH)D与SOS值呈负相关关系($r=-0.602, P<0.05$),与Z值呈正相关关系($r=0.496, P<0.05$)。

3 讨论

骨折是儿童时期常见的外科损伤类疾病之一,学龄前儿童正处于生长发育的关键时期,发生骨折极易影响其生长发育,也是导致发生骨质软

表1 不同25-(OH)D水平儿童骨密度SOS、Z值比较
[($\bar{x}\pm s$), M(P25, P75)]

Table 1 Comparison of SOS and Z values of bone mineral density in children with different 25-(OH)D levels
[($\bar{x}\pm s$), M(P25, P75)]

25-(OH)D情况(n)	n	SOS值	Z值
观察组	充足组	43 3 070.73±225.08 ^a	0.83(0.49, 1.73) ^a
	不足组	34 3 150.96±142.99 ^{ab}	-0.76(-0.47, 0.45) ^{ab}
	缺乏组	6 3 650.60±125.98 ^{ab}	0.88(0.51, 2.69) ^{ab}
	F(Hc)值	24.598	(113.955)
对照组	充足组	72 3 251.84±200.72	0.95±0.22
	不足组	6 3 628.67±88.35 ^a	0.73±0.12 ^a
	t值	4.540	2.410
	P值	0.000	0.018

注:与对照组同类型患者比较,^a $P<0.05$,与组内充足组比较,^a $P<0.05$;与组内不足组比较,^b $P<0.05$ 。

化症、佝偻病的主要原因^[6]。骨折发生后因疼痛等原因,其可能会出现移动或是解开固定等原因,导致骨骼矫形效果较差,影响预后。骨密度是反映骨健康与骨营养状况的重要指标,近年来随着科技发展与相关知识的普及,我国家长对儿童骨密度的重视程度越来越重视。25-(OH)D是人体必需的一种脂溶性维生素,若人体缺乏最主要表现为骨骼代谢与生长发育异常^[7]。从以往研究结果来看,25-(OH)D与骨密度有着极为紧密关系,两者可相互影响参与骨骼代谢、生长^[8]。研究^[9]也指出,学龄前儿童25-(OH)D与骨密度对儿童生长发育有重要关系。但临床中关于25-(OH)D与骨密度与学龄前儿童骨折后的研究较少,对此进行研究可了解25-(OH)D及骨密度与骨折发生的关系。本文对骨折后学龄前儿童及未骨折的正常学龄儿童进行研究,骨折儿童骨密度指标SOS、Z值、25-(OH)D水平明显低于未发生骨折的正常儿童。这表明儿童发生骨折后其骨密度与25-(OH)D水平会发生改变。分析原因:25-(OH)D主要来源于皮肤中的脱氢胆固醇,人接受阳光中波长290~315 nm的紫外线照射时转化而成。25-(OH)D不仅参与骨骼的代谢,还具有增加肌力、预防跌倒、提升免疫力的作用^[10]。研究^[11]指出,25-(OH)D缺乏可导致骨转换加快,骨折风险提升。当儿童发生骨折时可出现应激反应,人体炎症指标明显升高,加之痛觉刺激等多种因素,机体功能处于紊乱状态引起25-(OH)D转化减缓,另外骨折导致钙等微量元素流失,导致本文骨折儿童上

述指标水平的下降。本文根据儿童 25-(OH)D 水平进行分组发现,骨折儿童中 25-(OH)D 充足、不足者 SOS、Z 值水平低于未骨折儿童。这进一步佐证骨折可导致儿童骨密度的下降。另外,未骨折儿童中无 25-(OH)D 缺乏者。这与临床多类研究相同^[12]。主要因 25-(OH)D 缺乏,人体甲状腺旁腺素水平将明显升高,而其具有激活成骨细胞,促进破骨细胞的增殖,进一步导致骨骼代谢、骨密度的减少。

本文研究结果显示:25-(OH)D 与骨密度指标 SOS 值呈负相关关系与 Z 值呈正相关关系。这表明 25-(OH)D 与骨密度存在密切关系。骨密度 SOS 值、Z 值随着年龄增长均会呈现上升趋势,骨强度不足时呈下降趋势。研究^[13]指出,若儿童缺乏 25-(OH)D 或是未及时补充相关制剂,且该阶段缺钙儿童后续生长发育将受到明显影响。结合本文内容可以得出 25-(OH)D 与骨密度存在相关性,在两者的影响中 25-(OH)D 占据了主导地位。从目前国内外研究来看,25-(OH)D 与骨密度的相关性研究并无统一结论。外国学者研究指出,当 25-(OH)D 水平升高时,骨密度可呈现上升趋势,即正相关关系^[14]。但我国有学者指出,当 25-(OH)D 不足时与骨密度存在正性直线关系,但充足时两者并不存在显著关系^[15]。但笔者认为,作为骨骼代谢的主要调节基因,其在等位基因多态性上具有调控 25-(OH)D、钙、磷等多种微量元素的作用,进而影响骨密度与成骨细胞的合成,而 25-(OH)D 具有与钙、磷等物质结合作用,起到促进骨骼生成代谢等作用,所以两者具有相关性。

综上所述,学龄前儿童骨折后 25-(OH)D 与骨密度可出现明显下降,且不同程度 25-(OH)D 水平缺乏骨折儿童,骨密度指标与正常儿童存在明显差异,同时 25-(OH)D 与骨密度之间两者存在密切关系,但 25-(OH)D 在其中起到的诱导作用更大。

参考文献

[1] 方兵,程翰林,虞红林,等.血清 E2、PINP 水平对绝经后骨

质疏松性腰椎骨折风险的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(7):956-959.

- [2] Halper A, Sanchez B, Hodges JS, et al. Use of an aromatase inhibitor in children with congenital adrenal hyperplasia: Impact of anastrozole on bone mineral density and visceral adipose tissue[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2019, 91(1):124-130.
- [3] 邢存乔,陈海琼,曾广萍.学龄前儿童骨密度与血清 25-(OH)D 水平的相关性[J].中国医药导报,2019,16(17):63-67.
- [4] 邹晋梅,李思吟,杨静,等.类风湿关节炎患者血清 25-(OH)D₃ 水平与骨密度的关系[J].中国医药导报,2019,16(19):109-112.
- [5] 中华医学会儿科学分会儿童保健学组,《中华儿科杂志》编辑委员会.儿童微量营养素缺乏防治建议[J].中华儿科杂志,2010,48(7):502-509.
- [6] Dehbozorgi A, Mousavi-Roknabadi RS, Hosseini-Marvast SR, et al. Diagnosing skull fracture in children with closed head injury using point-of-care ultrasound vs. computed tomography scan[J]. Eur J Pediatr, 2021, 180(2):477-484.
- [7] 黄莹芝,汤步阳,郭法平,等.2 型糖尿病患者血清 25-羟维生素 D 水平与骨密度的关系[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(1):89-92.
- [8] 王信,朱玉玉,罗丽娅,等.2 型糖尿病合并不同骨量患者外周血 Runx2 mRNA 表达与 25(OH)D 的关系[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(2):146-151.
- [9] 王颖,刘晓莉,白增华,等.248 名 0~6 岁儿童血清 25(OH)D Ca²⁺水平测定及与其骨密度的关联性分析[J].中国药物与临床,2019,19(13):2172-2173.
- [10] 连佳群.维生素 D 联合复方锌铁钙颗粒对维生素 D 缺乏性佝偻病患儿血清 25-(OH)D₃,NBAP 水平变化的影响[J].临床医药文献电子杂志,2020,7(31):156-157.
- [11] 樊化,孙萍,杨璐,等.绝经后骨质疏松老年女性血清 Hepcidin、BMP6、s-HJV 水平与骨折的相关性分析[J].河北医药,2020,42(22):3424-3427.
- [12] 孔锐,宋媛,叶侃,等.苏州市 0-6 岁儿童骨密度调查及其与 25 羟维生素 D 关系研究[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(9):1219-1224.
- [13] 王茜,田艳荣,张莉.儿童血清 25-羟基维生素 D、维生素 A 的表达及临床意义[J].河南医学研究,2019,28(22):4055-4056.
- [14] 董林.200 例学龄前儿童血清 25 羟维生素 D 水平及其与体格发育指标的关系分析[J].河南预防医学杂志,2019,30(2):87-89.
- [15] 熊菲,杨凡,杨速飞,等.0~7 岁儿童 25 羟维生素 D 和骨密度的关系研究[J].中国当代儿科杂志,2014,16(9):883-886.

(上接第 496 页)

- [12] Liu JF, Deng WW, Chen L, et al. Inhibition of JAK2/STAT3 reduces tumor-induced angiogenesis and myeloid-derived suppressor cells in head and neck cancer[J]. Mol Carcinog, 2018, 57(3):429-439.
- [13] Zhang S, Tu Y, Sun YM, et al. Swiprosin-1 deficiency im-

pairs macrophage immune response of septic mice[J]. JCI Insight, 2018, 3(3):e95396.

- [14] 朱秀英,朱林文,张旭红,等.老年肺癌患者术后血和肽素、IGF-I、IV-C 与肺部感染及感染转归的关系[J].中华医院感染学杂志,2022(16):2487-2490.

血清 IgG-RF、IL-1 β 和生存素对通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎疗效的预测价值

生钦钢¹ 杨彩虹² 孙海军³ 刘小龙^{1*}

[摘要] **目的** 探讨血清人类风湿因子(IgG-RF)、人白介素 1 β (IL-1 β)和生存素对通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎(RA)疗效的预测价值。**方法** 选取2019年6月至2022年5月于山东省东营市东营区人民医院122例接受通痹胶囊联合托法替布治疗的RA患者作为研究对象,观察并记录患者治疗3个月后的临床疗效,根据疗效分为有效组($n=86$)和无效组($n=36$),调查两组患者一般资料及入组时两组血清IgG-RF、IL-1 β 和生存素水平,分析类RA患者血清IgG-RF、IL-1 β 、生存素水平对通痹胶囊联合托法替布治疗RA疗效的预测价值。**结果** 有效组与无效组患者关节功能、X线分期、年龄、IgG-RF、IL-1 β 、生存素差异具有统计学意义($\chi^2=4.871, 4.484, t=2.158, 5.646, 8.091, 6.183, P<0.05$);多因素 logistic 回归分析结果显示,患者IgG-RF、IL-1 β 与生存素的高水平均为通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎治疗无效的独立危险因素($P<0.05$);患者IgG-RF、IL-1 β 、生存素水平级三项联合预测对通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎疗效预测曲线下面积(AUC)分别为0.853、0.847、0.761、0.947,均有良好的预测效能($P<0.05$),其中联合预测效能高于单项。**结论** 血清IgG-RF、IL-1 β 和生存素水平对通痹胶囊联合托法替布治疗RA疗效具有良好的预测价值,三项联合检测预测效能更高。

[关键词] IgG-RF; IL-1 β ; 生存素; 类风湿关节炎

The predictive value of serum IgG-RF, IL-1 β and survivin on the curative effect of Tongbi capsule combined with tofacitinib in the treatment of rheumatoid arthritis

SHENG Qingang¹, YANG Caihong², SUN Haijun³, LIU Xiaolong^{1*}

(1. Orthopaedic Surgery, Dongying People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000; 2. The Brotherhood of Surgical, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000; 3. Pharmacy Department, Dongying District People's Hospital, Dongying, Shandong, China, 257000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the levels of serum human rheumatic factor (IgG-RF), human interleukin 1 β (IL-1 β) and the predictive value of survivin for the efficacy of combination of Tongbi capsules and tofacitinib in rheumatoid arthritis (RA). **Methods** A total of 122 RA patients who were treated with Tongbi capsule combined with tofacitinib were selected from Dongying city, Dongying District, Shandong province from June 2019 to May 2022, to observe and record the clinical curative effect of the patients after 3 months treatment, according to the curative effect, the patients were divided into the effective group ($n=86$) and the ineffective group ($n=36$). The general data of the patients in the two groups and the levels of serum IgG-RF, IL-1 β and survivin were investigated, to analyze the predictive value of serum levels of IgG-RF, IL-1 β and survivin in RA-like patients for the therapeutic effect of Tongbi capsule combined with tofacitinib on RA. **Results** There were statistically significant differences in joint function, X-ray stage, age, IgG-RF, IL-1 β , and survivin between the effective group and the ineffective group ($\chi^2=4.871, 4.484, t=2.158, 5.646, 8.091, 6.183, P<0.05$). The results of multivariate logistic regression analysis showed that the high

基金项目:山东省东营市卫生和计划生育委员会基金项目(2017HW252)

作者单位:1. 山东省东营市东营区人民医院骨外科, 山东, 东营 257000

2. 山东省东营市东营区人民医院药剂科, 山东, 东营 257000

3. 山东省东营市人民医院手足外科, 山东, 东营 257000

*通信作者:刘小龙, E-mail:lxlvictor@163.com

levels of IgG-RF, IL-1 β and survivin were all independent risk factors for the failure of Tongbi Capsules combined with Tofacitinib in the treatment of rheumatoid arthritis ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) of the combination of IgG-RF, IL-1 β and survivin in patients with rheumatoid arthritis was 0.853, 0.847, 0.761, 0.947, respectively, both of them has good prediction efficiency ($P<0.05$), and the combined prediction efficiency was higher than that of single detection. **Conclusion** Serum IgG-RF, IL-1 β and survivin levels have good predictive value for the efficacy of Tongbi Capsules combined with tofacitinib in the treatment of RA, and the combined detection of the three has a higher predictive effect.

[KEY WORDS] IgG-RF; IL-1 β ; Survivin; Rheumatoid arthritis

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是主要表现为炎性滑膜炎的慢性疾病,在我国患病率在0.36%~0.42%,全球范围内发病率为0.5%~1.0%,该疾病的发生受到遗传、生活环境、感染及生活习惯等多种因素影响,是一种危害患者关节功能的自身免疫性疾病^[1-2]。RA的病情持续时间长且容易复发,早期表现为患者关节功能受损、疼痛、肿胀等,晚期关节畸形、僵硬等,严重者甚至骨骼肌发生萎缩、骨头损伤,严重影响着患者日常生活^[3]。托法替布是一种JAK抑制剂,过抑制剂JAK通路降低细胞因子信号传导、细胞因子诱导的基因表达及细胞的激活,从而降低多种慢性炎症反应,国家药监局于2017年3月正式批准该药用于治疗甲氨喋呤效果不佳的中重度RA患者。同时由于西药毒副作用较大,相关报道提出中西药结合治疗的方法,其中通痹胶囊具有消肿止痛、祛风胜湿及调补气血等效果^[4]。然而通痹胶囊联合托法替布治疗类RA的疗效尚不明确,因此本研究对患者血清人类风湿因子(anti cholinergic antibodies, IgG-RF)、人白介素1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)和生存素进行检测,分析其对通痹胶囊联合托法替布治疗类RA效果的预测效能。报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2019年6月至2022年5月于山东省东营市东营区人民医院122例接受通痹胶囊联合托法替布治疗的RA患者作为研究对象。纳入标准:①符合《类风湿关节炎诊断及治疗指南》中关于类风湿关节炎诊断标准^[5],关节功能II~III期,X线分期II~III期;②年龄 ≥ 18 岁;③临床资料完整并签署知情同意书者。排除标准:①经期服用相关药物或其他中药患者;②对本研究所使用药物不耐受患者;③合并严重心、肝、肾等重要器官疾病、恶性肿瘤等患者;④妊娠或哺乳期妇女;⑤存在严重认知

障碍、精神异常患者;⑥不能准医嘱按时服药者。

观察并记录患者治疗3个月后的临床疗效,根据疗效分为有效组和无效组。本研究已经医院伦理委员会批准同意。

疗效标准:根据红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、关节肿胀计数(supreme judicial court, SJC)、关节压痛技术(tenderness joint count, TJC)、视觉模拟评分法(visual analogue scale/score, VAS)计算28个关节疾病活动度评分(disease activity score₂₈, DAS₂₈),评分改善 $\geq 30\%$ 为有效,评分改善 $< 30\%$ 为无效^[6]。采用魏氏法则检测ESR水平;SJC、TJC由同一个医师进行触诊记录;VAS平跟由统一医师对患者进行调查,总分1~10分,分数越高表明疼痛程度越高。 $DAS_{28-ESR}=0.56*\sqrt{TJC}+0.28*\sqrt{SJC}+0.7*In(ESR)+0.014*VAS$ ^[6]。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

枸橼酸托法替布片(江苏万邦生化医药集团有限责任公司,国药准字H20213431,5mg),口服,10mg/次,2次/d;通痹胶囊(烟台渤海制药集团有限公司,国药准字Z10960010,0.31g)饭后口服,1粒/次,2次/d;治疗3个月。

1.2.2 资料收集及指标检测方法

患者性别、年龄、文化程度、关节功能、X线分期等资料均来源于本院电子病历信息管理系统。治疗前进行实验室检查:采集患者静脉血5mL,采用TG16-II台式高速离心机(湖南平凡科技有限公司),4 $^{\circ}C$ 下3000r/min(离心半径为10cm)离心20min,去上层血清,在-80 $^{\circ}C$ 低温下保存,48h内完成检测。采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清IgG-RF、IL-1 β 、生存素水平严格参照ELISA试剂盒说明书进行操作,ELISA试剂盒产自上海酶联生物科技有限公司。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 21.0 进行数据统计分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 *t* 检验;计数资料用 *n*(%)表示,用 χ^2 检验;多因素分析采用 logistic 回归分析;指标疗效预测效能用 ROC 曲线分析;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗3个月患者疗效情况

通过通痹胶囊联合托法替布治疗3个月后,纳入的122例RA患者中有效患者86例(70.49%)、无效患者36例(29.51%),其中有效患者记为有效组(*n*=86),无效患者记为无效组(*n*=36)。

2.2 两组RA患者基线资料与相关指标比较

有效组与无效组RA患者基线资料与相关指标比较,年龄、关节功能、X线分期、IgG-RF、IL-1 β 、生存素比较差异具有统计学意义(*P* < 0.05)。见表1。

表1 有效组与无效组RA患者基线资料与相关指标比较
[*n*(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of baseline data of RA patients in the effective vs. inactive groups with relevant indexes

资料与指标	有效组 (<i>n</i> =86)	无效组 (<i>n</i> =36)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别				
男	42(48.84)	19(52.78)	0.158	0.691
女	44(51.16)	17(47.22)		
文化程度				
初中及以下	13(15.12)	6(16.67)	0.426	0.808
中专或高中	49(56.98)	22(61.11)		
大专及以上	24(27.91)	8(22.22)		
工作类型				
体力劳动	32(37.21)	20(55.56)	3.493	0.062
非体力劳动	54(62.79)	16(44.44)		
关节功能				
II期	25(29.07)	18(50.00)	4.871	0.027
III期	61(70.93)	18(50.00)		
X线分期				
II期	56(65.12)	16(44.44)	4.484	0.034
III期	30(34.88)	20(55.56)		
年龄(岁)	67.64 \pm 13.41	62.49 \pm 7.67	2.158	0.033
病程(年)	5.21 \pm 1.49	5.07 \pm 1.24	0.197	0.845
IgG-RF(IU/mL)	55.21 \pm 17.34	76.52 \pm 22.57	5.646	0.000
IL-1 β (pg/mL)	35.59 \pm 15.84	59.26 \pm 21.43	8.091	0.000
生存素(pg/mL)	86.27 \pm 26.51	122.46 \pm 35.69	6.183	0.000

2.3 通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎治疗无效多因素 logistic 回归分析

多因素 logistic 回归分析结果显示,患者 IgG-RF、IL-1 β 与生存素的高水平均为通痹胶囊联

合托法替布治疗类风湿关节炎治疗无效的独立危险因素(*P* < 0.05)。见表2。

表2 通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎治疗无效多因素 logistic 回归分析

Table 2 multiple logistic regression analysis of treatment failure of Tongbi capsules combined with tofacitinib in rheumatoid arthritis

自变量	β 值	S.E. 值	Wald 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
IgG-RF	0.765	0.379	4.074	2.149	1.022~4.517	0.044
IL-1 β	1.976	0.608	10.563	7.214	2.191~23.752	0.001
生存素	0.405	0.201	4.060	1.499	0.997~2.254	0.044
常量	2.247	1.024	4.818	9.459		0.028

2.4 通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎疗效预测 ROC 曲线

患者 IgG-RF、IL-1 β 及生存素水平对通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎疗效均具有良好的预测效能,其中联合预测效能高于单项(*P* < 0.05)。见表3、图1。

表3 通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎疗效预测 ROC 曲线结果

Table 3 results of ROC curve for prediction of efficacy of Tongbi capsules combined with tofacitinib in rheumatoid arthritis

变量	AUC	标准误	敏感度	特异性	95% CI	<i>P</i> 值
IgG-RF	0.853	0.041	0.667	0.942	0.773~0.932	0.000
IL-1 β	0.847	0.042	0.611	0.942	0.765~0.929	0.000
生存素	0.761	0.052	0.611	0.860	0.659~0.863	0.000
联合预测	0.947	0.022	0.861	0.930	0.903~0.991	0.000

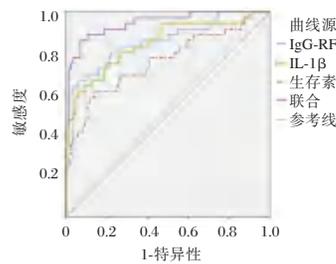


图1 ROC 曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

RA 的发病机制较为复杂,与环境、遗传、机体免疫紊乱等多种因素存在密切关系,而甲氨蝶呤为 RA 的基础用药,RA 对甲氨蝶呤的耐受性好、见效快,但部分中晚期 RA 患者对于甲氨蝶呤的效果不佳^[7]。信号转导和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)蛋白构成 JAK-STAT 途径,这对免疫调节至关重要,JAK-

STAT途径在免疫介导的病理学中也起着至关重要的作用,包括RA,托法替布是一种口服JAK抑制剂,在甲氨蝶呤效果不佳RA患者治疗中具有良好的效果^[8]。中医理论认为,RA属于“痹症”范畴,寒湿痹阻最为常见,而通痹胶囊是具有祛风湿、活血通络、散寒止痛等效果的中成药^[9]。RA作为慢性疾病,该疾病的治疗需要长期服药,部分患者因长期的西药治疗而发生副作用,从而导致患者治疗依从性不理性,影响治疗效果。因此甲氨蝶呤治疗效果不佳RA患者,采用托法替布联合通痹胶囊中西药结合治疗,或可提高治疗效果,减少副作用,但该方案治疗效果尚未确定。

本研究将托法替布联合通痹胶囊治疗3个月后效果进行分组,比较两组患者入组时血清IgG-RF、IL-1 β 与生存素水平,结果显示无效组患者血清IgG-RF、IL-1 β 与生存素水平均高于有效组患者,多因素分析结果显示IgG-RF、IL-1 β 与生存素的高水平均为通痹胶囊联合托法替布治疗类风湿关节炎治疗无效的独立危险因素,同时三项指标均对托法替布联合通痹胶囊治疗RA的效果具有良好的预测效能。存在于类风湿性关节炎患者中的变性免疫球蛋白(Immunoglobulin G, IgG)类风湿因子——IgG-RF免疫复合物显示出促进破骨细胞分化^[10]。IgG是靶抗原的自身抗体,在RA患者血清与关节液中均有存在,可激活补体系统、诱发炎症反应^[11],因此IgG-RF可对RA的治疗效果具有一定的预测作用。RA是一种自身免疫性疾病,其特征慢在于慢性全身性炎症,而IL-1 β 被认为在RA的进展中起到关键作用。IL-1 β 激活软骨细胞,导致软骨损伤,并激活破骨细胞,导致骨吸收^[12]。而促炎细胞与趋化因子不受控制表达可能促进RA的发生,同时研究^[13]表明,IL-1 β 可作为RA早期诊断的生物标志物。

抑制JAK,阻断信号的转导,可抑制IL-1 β 的释放。生存素是一种进化上保守的真核蛋白,对细胞分裂至关重要,可抑制细胞死亡。作为关键的抗凋亡蛋白,存活蛋白对细胞凋亡的抑制有助于RA中自身反应性T淋巴细胞的持续存在,除了抗细胞凋亡作用外,同时生存素与RA也具有预后相关性^[14-15]。生存素对RA治疗效果具有预测作用,其中原因可能为生存素抑制细胞凋亡,促进细胞增殖,从而使RA类风湿关节炎慢性细胞增多。

综上所述,血清IgG-RF、IL-1 β 和生存素水平对通痹胶囊联合托法替布治疗RA疗效具有良好

的预测价值,三项联合检测预测效能更高,建议早期检测患者血清IgG-RF、IL-1 β 和生存素水平,可能对患者临床疗效的预测具有积极意义。

参考文献

- [1] 李巧凤,蒋俊杰,曾鸽,等.滑膜超声造影在类风湿关节炎患者诊断及疗效评估中的应用价值[J].中国超声医学杂志,2022,38(10):1178-1182.
- [2] 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.
- [3] 庄建阳,刘雪梅,代思明,等.PPAR- γ 、MMP-3及Bcl6水平变化与RA病情活动性和病理评分的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(8):1301-1304.
- [4] 田昱平,彭飞,白洁.通痹胶囊联合JAK抑制剂托法替布对RA患者VAS评分、MMP-3及ESR的影响[J].现代免疫学,2019,39(6):465-469.
- [5] 中华医学会风湿病学分会.类风湿关节炎诊断及治疗指南[J].中华风湿病学杂志,2010(4):265-270.
- [6] 姚寿林,汪珊,夏光云,等.CRP、NLR及PLR联合检测用于老年RA疾病活动度及对患者预后的评估价值[J].中国老年学杂志,2022,42(18):4474-4477.
- [7] 田昱平,彭飞,白洁.通痹胶囊联合JAK抑制剂托法替布对RA患者VAS评分、MMP-3及ESR的影响[J].现代免疫学,2019,39(6):465-469.
- [8] Traves PG, Murray B, Campigotto F, et al. JAK selectivity and the implications for clinical inhibition of pharmacodynamic cytokine signalling by filgotinib, upadacitinib, tofacitinib and baricitinib[J]. Ann Rheum Dis, 2021,80(7):865-875.
- [9] 李婷,郑宝林,叶美杏,等.通痹胶囊治疗类风湿关节炎的疗效及对微循环和血清MMP-1、MMP-3的影响[J].现代生物医学进展,2020,20(16):3117-3120.
- [10] Grötsch B, Lux A, Rombouts Y, et al. Fc γ 1 Controls Rheumatoid Factor Autoantibody Production by Bone Marrow Plasma Cells and the Development of Autoimmune Bone Loss[J]. J Bone Miner Res, 2019,34(7):1352-1365.
- [11] 周颖,邢嘉翌.血清抗CCP抗体、IgG-RF检测在RA合并IPF患者中的临床应用价值[J].检验医学与临床,2022,19(2):243-245.
- [12] Kondo N, Kuroda T, Kobayashi D. Cytokine Networks in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis[J]. Int J Mol Sci, 2021,22(20):10922.
- [13] Alturaiki W, Alhamad A, Alturaiky M, et al. Assessment of IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, and CCL5 levels in newly diagnosed Saudi patients with rheumatoid arthritis[J]. Int J Rheum Dis, 2022,25(9):1013-1019.
- [14] Zafari P, Rafiei A, Esmaeili SA, et al. Survivin a pivotal antiapoptotic protein in rheumatoid arthritis[J]. J Cell Physiol, 2019,234(12):21575-21587.
- [15] 韩俊,张英.血清生存素水平在预测肿瘤坏死因子- α 抑制剂治疗类风湿关节炎临床疗效中的作用[J].中国医科大学学报,2019,48(2):153-158.

Hcy、BGP及CTX水平与T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的关系

李丽燕* 邓丽 葛梦君 高贝贝 李雷

[摘要] 目的 分析同型半胱氨酸(Hcy)、骨钙素(BGP)及I型胶原C端肽(CTX)水平与2型糖尿病(T2DM)合并骨质疏松患者血管钙化的关系。方法 选取2020年5月至2022年9月徐州医科大学附属医院收治的129例T2DM合并骨质疏松患者为研究对象,将其纳入观察组。另选取同期体检骨量正常的121例T2DM患者,将其纳入对照组,对比两组Hcy、BGP及CTX水平。根据是否发生血管钙化将观察组患者分为钙化组和非钙化组,分析影响T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的危险因素,ROC曲线分析Hcy、BGP及CTX对T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的预测价值。结果 观察组患者血清Hcy、CTX、BGP水平高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。129例患者中,发生钙化者27例。钙化组与非钙化组患者的性别、年龄、吸烟饮酒史、BMI、钙、磷、维生素D比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。钙化组与非钙化组患者Hcy、BGP及CTX水平比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。Logistic回归分析结果显示,血清Hcy、BGP及CTX水平是T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的独立危险因素($P<0.05$)。依据ROC曲线可知,Hcy、BGP及CTX联合检测T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的敏感度和特异度分别为0.852和0.823;AUC=0.858(95% CI: 0.778~0.938),明显高于Hcy、BGP及CTX单独检测。结论 Hcy、BGP及CTX表达异常是T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的影响因素,密切监测三者水平变化,可为早期明确T2DM合并骨质疏松患者是否发生血管钙化提供临床依据。

[关键词] Hcy; BGP; T2DM; 骨质疏松; 血管钙化

Relationship between Hcy, BGP and CTX levels and vascular calcification in patients with T2DM complicated with osteoporosis

LI Liyan*, DENG Li, GE Mengjun, GAO Beibei, LI Lei

(Department of General Medicine, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, China, 221000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between the levels of homocysteine (Hcy), osteocalcin (BGP) and type I collagen C-telopeptide (CTX) and vascular calcification in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) complicated with osteoporosis. **Methods** 129 T2DM patients with osteoporosis admitted to the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University from May 2020 to September 2022 were selected as the research subjects, and were included in the observation group. Another 121 T2DM patients with normal bone mass in the same period of physical examination were selected, and were included in the control group, and the levels of Hcy, BGP and CTX were compared between the two groups. According to the occurrence of vascular calcification, the patients in the observation group were divided into the calcification group and the non-calcification group, and the risk factors affecting the occurrence of vascular calcification in T2DM patients with osteoporosis were analyzed. **Results** The levels of serum Hcy, CTX, and BGP in the

基金项目:江苏省老年健康科研项目(LK2021015)

作者单位:徐州医科大学附属医院全科医学科,江苏,徐州 221000

*通信作者:李丽燕, E-mail: liliyan66688@163.com

observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Among 129 patients, 27 had calcification. There was no significant difference in gender, age, smoking and drinking history, BMI, calcium, phosphorus, and vitamin D between the calcification group and the non-calcification group ($P > 0.05$). There were statistically significant differences in the levels of Hcy, BGP and CTX between the calcification group and the non-calcification group ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that serum Hcy, BGP and CTX levels were independent risk factors for vascular calcification in T2DM patients with osteoporosis ($P < 0.05$). According to the ROC curve, the sensitivity and specificity of Hcy, BGP and CTX combined detection of vascular calcification in T2DM patients with osteoporosis were 0.852 and 0.823; $AUC = 0.858$ (95% CI : 0.778 ~ 0.938), which was significantly higher than that of Hcy, BGP and CTX detected alone. **Conclusion** The abnormal expression of Hcy, BGP and CTX is the influencing factor of vascular calcification in patients with T2DM and osteoporosis, and closely monitor the changes of the three levels to provide clinical basis for early identification of vascular calcification in patients with T2DM and osteoporosis.

[KEY WORDS] Hcy; BGP; T2DM; Osteoporosis; Vascular calcification

2型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)是一种慢性代谢疾病,是由于胰岛素抵抗或分泌不足导致患者血糖水平升高^[1]。由于T2DM患者长时间处于高糖状态,易影响肠道内钙质的吸收,造成钙质流失加速,出现骨质疏松的情况^[2]。宾小昌等^[3]认为,T2DM合并骨质疏松患者发生骨代谢异常、血管钙化的风险较高。血管钙化主要由于管腔内钙盐沉积所致,导致血管顺应力下降、血管硬度增高。以往研究显示,I型胶原C端肽(type I collagen cross-linked C-terminal telopeptide, CTX)能有效反映破骨细胞活性状态,是衡量骨代谢情况的骨标志物^[4]。骨钙素(serum osteocalcin, BGP)主要通过显示成骨细胞活性状态来反映患者骨代谢情况。同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是一种含硫氨基酸,Hcy的浓度升高容易增加冠心病、外周血管疾病和脑血管病发生的风险。近年来,CTX、BGP、Hcy在骨质疏松症及心血管疾病的诊断及预后评估中的应用研究诸多,但其与T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的关系分析较少,因此,本文旨在探讨三者与T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月至2022年9月徐州医科大学附属医院收治的129例T2DM合并骨质疏松患者为研究对象,将其纳入观察组,另选取同期体检为骨量正常的121例T2DM患者,将其纳入对照组。观察组男72例、女57例;年龄:51~75岁,平均年龄(65.31±4.05)岁。对照组男69例、女52例;年

龄:49~76岁,平均年龄(66.23±3.96)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

纳入标准:①患者均符合《国际疾病分类第十一修订本》中关于糖尿病的诊断标准^[5]:葡萄糖耐量试验2 h血糖在11.1 mmol/L以上,空腹血糖检测结果显示在7.0 mmol/L以上;②判断骨质疏松症的标准参照《骨科疾病诊疗指南》的相关诊断标准^[6]:骨密度值低于同年龄同种族同性别人骨峰值2.5个标准差;③病历资料完整。排除标准:①存在骨软化症、甲状腺、肾上腺等影响骨代谢的疾病;②存在其他影响钙质吸收的肾脏或消化道疾病;③合并恶性肿瘤。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

患者入院时,由专业医务人员详细记录患者年龄、性别、家族史、吸烟饮酒史等一般资料,收集患者钙、磷、维生素D等相关指标。

1.2.2 血管钙化的判定

通过患者颈部血管彩超、胸部正位片及踝肱指数对血管钙化情况进行判断。通过西门子Vx Plus行胸部正位片检查。应用西门子2000彩色多普勒系统和9.0 MHz探头探测患者颈部动脉情况,钙化斑块判定标准^[7]:与血管外膜比较,显示强回声并伴有声影。应用多普勒血流探测仪(北京林电科技有限公司,国械注进20213070154)测定踝肱指数,判定标准^[8]:ABI在1.3以上则说明动脉钙化。三种检查方法能显示患者不同位置的动脉情况,如足背及胫后动脉、颈动脉及胸主动脉,存在

一处钙化即判定为血管钙化。将发生血管钙化的T2DM合并骨质疏松患者纳入钙化组,剩余患者纳入非钙化组。

1.2.3 Hcy、BGP及CTX水平的测定

取患者清晨空腹静脉血5 mL,置于2% EDTA-Na₂试管中,进行离心处理(10 min, 3 000 r/min, 离心半径:8 cm),得到血清后,将其放置在-70℃冰箱中保存。采用酶联免疫吸附法测定血清BGP及CTX水平,采用循环酶法测定Hcy,上述试剂盒均购自上海拜力生物科技有限公司,严格遵循试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学方法

使用SPSS 18.0统计软件进行统计分析,计量采用($\bar{x} \pm s$)描述,两两间使用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,并用 χ^2 检验;采用Logistic回归分析T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的影响因素,均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组Hcy、BGP及CTX水平比较

观察组患者血清Hcy、CTX、BGP水平高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组Hcy、BGP及CTX水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Hcy, BGP and CTX levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	BGP($\mu\text{g/L}$)	CTX(pg/mL)
对照组	121	15.01 \pm 2.31	8.15 \pm 1.76	331.75 \pm 25.68
观察组	129	18.65 \pm 2.14	16.53 \pm 2.58	413.61 \pm 29.62
t 值		12.933	29.809	23.281
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 影响T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的单因素分析

129例患者中,发生钙化者27例。钙化组与非钙化组患者的性别、年龄、吸烟饮酒史、BMI、钙、磷、维生素D比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。钙化组与非钙化组患者Hcy、BGP及CTX水平比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 影响T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的多因素分析

Logistic回归分析结果显示,血清Hcy、BGP及CTX水平升高是T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3、4。

表2 影响T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 2 Single factor analysis of vascular calcification in T2DM patients with osteoporosis [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

因素	钙化组 ($n=27$)	非钙化组 ($n=102$)	t/χ^2 值	P 值
男女(例)	15/12	57/45	0.001	0.976
年龄(岁)	66.07 \pm 3.21 9(33.33)	65.11 \pm 2.94 31(30.39)	1.480	0.141
吸烟史(例)	11(40.74)	41(40.20)	0.086	0.769
饮酒史(例)	11(40.74)	41(40.20)	0.003	0.959
BMI(kg/m^2)	24.55 \pm 2.57	24.13 \pm 2.76	0.713	0.477
钙(mmol/L)	2.12 \pm 0.87	2.07 \pm 0.91	0.256	0.798
磷(mmol/L)	2.04 \pm 0.64	2.11 \pm 0.57	0.553	0.581
维生素D(mmol/L)	4.53 \pm 0.81	4.77 \pm 0.74	1.469	0.144
Hcy($\mu\text{mol/L}$)	22.31 \pm 2.43	17.68 \pm 2.16	9.645	<0.001
BGP(ng/mL)	20.12 \pm 2.11	15.58 \pm 2.52	8.591	<0.001
CTX(pg/mL)	469.13 \pm 17.53	398.91 \pm 18.14	18.008	<0.001

表3 变量赋值

Table 3 Variable Assignment

因素	变量	赋值
X_1	Hcy	实测值
X_2	BGP	实测值
X_3	CTX	实测值
X_4	血管钙化	0=未发生, 1=发生

表4 T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化多因素Logistic回归分析

Table 4 Multi factor Logistic regression analysis of vascular calcification in T2DM patients with osteoporosis

因素	回归系数	标准误	Wald值	OR(95% CI)值	P 值
Hcy	1.021	0.439	5.315	2.776(1.174~6.563)	0.022
BGP	3.401	0.756	20.157	29.994(6.816~131.995)	<0.001
CTX	2.125	0.669	10.086	8.373(2.256~31.070)	0.001

2.4 Hcy、BGP及CTX对T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的预测价值

依据ROC曲线可知,Hcy、BGP及CTX联合检测T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的敏感度和特异度分别为0.852和0.823;AUC=0.858(95% CI: 0.778~0.938),明显高于Hcy、BGP及CTX单独检测。见表5、图1。

表5 Hcy、BGP及CTX对T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的预测价值

Table 5 Value of Hcy, BGP and CTX in predicting vascular calcification in T2DM patients with osteoporosis

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度
Hcy	0.741	0.630~0.852	0.778	0.662
BGP	0.788	0.691~0.885	0.741	0.769
CTX	0.704	0.584~0.824	0.692	0.604
三者联合	0.858	0.778~0.938	0.852	0.823

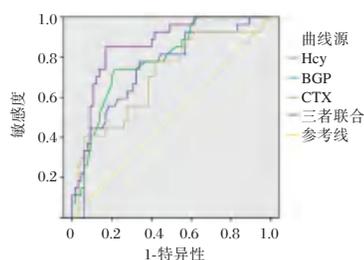


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

骨质疏松是T2DM常见的并发症之一,主要以骨脆性增加、骨的微结构退化及骨量减少为典型特征。Blumel等^[9]研究表明,多数T2DM患者由于高血糖导致渗透性利尿,使得钙、磷排泄增加,且患者由于长时间缺乏胰岛素使得骨基质的转换、合成下降,从而影响骨吸收,造成骨质疏松的发生。

近年来,寻找科学、有效的生物学指标对T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化进行筛查已成为临床研究的热点。BGP主要由成骨细胞合成和分泌,其能维持骨的正常矿化速度。刘娟等^[10]研究结果显示,T2DM患者骨密度与血清BGP水平升高呈负相关,即血清BGP水平越高,骨折及骨质疏松发生风险越高。CTX含量能直观反映出I型胶原合成速率及骨转换情况。程力等^[11]研究表明,T2DM合并骨质疏松或骨量减少患者的CTX水平显著升高,说明CTX的表达情况在T2DM合并骨质疏松的发病早期已有较大改变。Hcy是一种含硫氨基酸,在人体内主要以硫化物形式与血浆蛋白结合。汪晓晨等^[12]研究表明,T2DM合并骨质疏松患者的血管钙化率明显高于骨量正常的T2DM患者。本次研究结果显示,在129例T2DM合并骨质疏松患者中有27例患者发生血管钙化,发生率为20.93%。进一步分析发现,观察组患者血清Hcy、CTX、BGP水平高于对照组,与贾海梅等^[13]研究结果一致。说明,三者指标在T2DM合并骨质疏松的早期筛查中应用价值较高。以往研究显示,动脉粥样硬化的发生与Hcy水平的升高关系密切,而血管钙化是动脉粥样硬化主要的病理表现之一^[14]。以往涉及Hcy与T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的关系研究较少,本研究发现,钙化组与非钙化组患者Hcy水平比较差异具有统计学意义,这与安冬梅等^[15]研究表明的冠状动脉钙化与Hcy等因素有关这一结论

相符合。分析原因在于,Hcy对血管平滑肌细胞的增殖起到促进作用,且能间接引起患者氧化应激反应,不仅易损伤血管内皮细胞,同时可通过对单核细胞和间充质干细胞的刺激作用增强成骨细胞分化的能力,继而促进患者血管平滑肌发生钙化。BGP作为骨形成的有效指标,是一种由成骨细胞产生和分泌的非胶原蛋白,而CTX能有效反映破骨细胞活性状态,是衡量骨代谢情况的骨标志物。刘玉章等^[16]通过体外细胞培养发现,CTX的活性随着Hcy水平升高而增强,两者可通过诱导血管平滑肌细胞DNA合成加速平滑肌细胞增殖与老化,从而促进血管壁组织纤维化。血管钙化属于蛋白介导与基因的主动调节过程,而钙化抑制因子与促进因子失调是造成血管钙化的重要原因,而BGP在高磷刺激下可出现过表达的情况,进而刺激血管平滑肌钙化,在管壁细胞上形成钙结节。本次结果显示,血清BGP及CTX水平升高是T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的独立危险因素。且根据ROC曲线可知,Hcy、BGP及CTX联合检测T2DM合并骨质疏松患者发生血管钙化的AUC为0.858,明显高于Hcy、BGP及CTX单独检测,说明三者联合检测的预测作用更为显著,同时也间接证实了血清CTX、BGP及Hcy水平变化与T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的发生、发展密切相关。

综上所述,Hcy、BGP及CTX表达异常是T2DM合并骨质疏松患者血管钙化的影响因素,密切监测三者水平变化,可为早期明确T2DM合并骨质疏松患者是否发生血管钙化提供临床依据。

参考文献

- [1] Babynets L, Sasyk H. Analysis of the Pancreas Functional Capacity at the Comorbidity of Chronic Pancreatitis with Diabetes Mellitus Type 2[J]. Fam Med, 2021, 5(6):47-50.
- [2] 彭娅萍,戴丽芬,刘腾雁. 低密度脂蛋白在2型糖尿病骨质疏松中的作用研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(7):1087-1092.
- [3] 宾小昌,温玉洁,胡欣,等. 探讨锝(99Tc)亚甲基二磷酸盐治疗2型糖尿病合并骨质疏松对心血管的影响[J]. 四川医学, 2021, 42(2):175-180.
- [4] 涂欢,邢蒙. I型胶原C端肽β降解产物和I型胶原氨基端延长肽在肺结核合并2型糖尿病患者血清中的表达水平及其意义[J]. 医学临床研究, 2022, 39(4):608-610.

(下转第513页)

质量管理规则联合质量目标指数在肿瘤标志物检测质量控制中的应用

毛亚萍* 韦浩 赵倩倩 徐炜杰

【摘要】 目的 探讨质量管理规则联合质量目标指数(QGI)在肿瘤标志物检测质量控制中的应用效果。方法 采用化学发光免疫分析仪及配套试剂、校准物和质控品检验血清甲胎蛋白(AFP)、鳞状细胞癌抗原(SCCA)、癌胚抗原(CEA)、总前列腺特异抗原(TPSA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、糖类抗原125(CA125)、糖类抗原15-3(CA15-3)、糖类抗原19-9(CA19-9)、糖类抗原72-4(CA72-4),并获取变异系数(CV)、不准确度(Bias)及允许总误差(TEa),分析9项肿瘤标志物 σ 值、检测性能、 σ 水平对应Westgard质量控制规则关系选择、QGI值、质控改进方向和改进结果。结果 9项肿瘤标志物检查显示,CEA、TPSA的 σ 水平 ≥ 6 ,世界一流,选择 1_{3s} ($N=2, R=1$);NSE、CA125的 σ 水平在 $5 \leq \sigma < 6$,性能优秀,选择 $1_{3s}2_{2s}R_{4s}$ ($N=2, R=1$);AFP、CA19-9、CA72-4的 σ 水平在 $4 \leq \sigma < 5$,性能良好,选择 $1_{3s}2_{2s}R_{4s}4_{1s}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2, R=2$);SCCA、CA15-3的 σ 水平在 $3 \leq \sigma < 4$,性能一般,选择 $1_{3s}2_{2s}R_{4s}4_{1s}8_x$ ($N=4, R=2$ 或 $N=2, R=4$)。除CEA的QGI指数为0.9以外,其他8项均在0.8以内,除TPSA和CEA不选择改进方向以外,其余7项均选择优先改进精密度,经改进后7项 σ 值和检测性能均提高。结论 质量管理规则联合QGI用于肿瘤标志物检测质量控制中能提高检验性能和明确质量改进方向。

【关键词】 质量管理规则;质量目标指数;肿瘤标志物检测质量控制

Application of quality management rules combined with quality goal index in quality control of tumor marker detection

MAO Yaping*, WEI Hao, ZHAO Qianqian, XU Weijie

(Department of Clinical Laboratory, Danyang Third People's Hospital, Zhenjiang, Jiangsu, China, 212399)

【ABSTRACT】 **Objective** To explore the application effects of quality management rules combined with quality goal index (QGI) in quality control of tumor marker detection. **Methods** Chemiluminescence immunoassay analyzer and matching reagents, calibrator and quality control were used to detect the levels of serum alpha-fetoprotein (AFP), squamous cell carcinoma antigen (SCCA), carcinoembryonic antigen (CEA), total prostate specific antigen (TPSA), neuron specific enolase (NSE), carbohydrate antigen 125 (CA125), carbohydrate antigen 15-3 (CA15-3), carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) and carbohydrate antigen 72-4 (CA72-4), and the coefficient of variation (CV), inaccuracy (Bias). Total error allowance (TEa) were calculated. The σ value, detection performance, selection of Westgard quality control relationship corresponding to σ level, QGI value, quality control improvement direction and improvement results of the 9 tumor markers were analyzed. **Results** Nine tumor marker results showed that the σ levels of CEA and TPSA were ≥ 6 , with world-class performance and relationship of 1_{3s} ($N=2, R=1$). The σ levels of NSE and CA125 were $5 \leq \sigma < 6$, with excellent performance and relationship of $1_{3s}2_{2s}R_{4s}$ ($N=2, R=1$). The σ levels of AFP, CA19-9 and CA72-4 were $4 \leq \sigma < 5$, with good performance and $1_{3s}2_{2s}R_{4s}4_{1s}$ ($N=4, R=1$ or $N=2, R=2$). The σ levels

基金项目:江苏省卫生和计划生育委员会科研项目(H201802)

作者单位:丹阳市第三人民医院检验科,江苏,镇江 212399

*通信作者:毛亚萍, E-mail: maoyaping0202@163.com

of SCCA and CA15-3 were $3 \leq \sigma$ value < 4 , showing general performance and $1_{3,2,2}R_{4,4,8}$ ($N=4$, $R=2$ or $N=2$, $R=4$). Except the QGI index of CEA which is 0.9, the other 8 items were all within 0.8. Except for TP-SA and CEA which do not choose the direction of improvement, the remaining 7 items were selected to preferentially improve the precision. After improvement, the σ values and detection performances of the 7 items were enhanced. **Conclusion** The combination of quality management rules and QGI in the quality control of tumor marker detection can improve the performance of the test and clarify the direction of quality improvement.

[KEY WORDS] Quality management rules; Quality goal index; Quality control of tumor marker detection

肿瘤标志物是能反映肿瘤发生和增殖的一类物质,产生于机体对肿瘤细胞反应和肿瘤细胞本身,常用于肿瘤的诊断、筛查、监测、实体瘤疗效观察及预后评价等,具有重大检测意义^[1]。因此,临床检验实验室对肿瘤标志物的定量检测能力和质量有很高的要求。六西格玛(6σ)质量管理是一种以强调“用数据说话”为特点的质量管理理论,能客观、有效分析检验项目的方法性能,同时能提供合适的质量管理规则以确保检验项目质量的不断持续改进^[2]。质量目标指数(quality goal index, QGI)用于检验项目中,为质控改进方向提供决策依据,可通过对检验仪器进行优先改进精密度还是优先改进准确度,或两者均改,或两者均不改,以提高优化检验仪器的检测能力和质量^[3]。本文将 6σ 质量管理规则联合QGI应用于丹阳市第三人民医院深圳新产业的X8型化学发光免疫分析仪中,对9项肿瘤标志物进行检验管理,探讨本管理方案的应用效果,现将结果进行报道。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

采用产自深圳新产业品牌的X8型化学发光免疫分析仪,采用相应配套的试剂、校准物和质控品。

1.2 评价指标

参与本次研究的肿瘤标志物项目共有9项。具体为:甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、鳞状细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCCA)、癌胚抗原(carcinoembryonic, CEA)、总前列腺特异抗原(total prostate specific antigen, TPSA)、神经元特异性烯醇化酶(neuron specific enolase, NSE)、糖类抗原125(carbohydrate125, CA125)、糖类抗原15-3(carbohydrate15-3, CA15-3)、糖类抗原19-9(carbohydrate19-9, CA19-9)、糖类抗原72-4(carbohydrate72-4, CA15-3)。

1.3 质量管理规则

1.3.1 变异系数(coefficient of variation, CV)

根据本检验科实验室2020年室内质控测定的低、中、高共3个水平所累积加权的平均CV,作为本次方法的不精密度。

1.3.2 不准确度(Inaccuracy, Bias)

参照卫生部临床检验中心2020年室间质评的回报结果^[4],择取用配套校准物、校准仪器与靶值的偏倚值,获取绝对偏移值,并计算2次校准的平均偏倚值。

1.3.3 允许总误差(allowable total error, TEa)

选用国家卫生行业标准WS/T 406-2012^[5]的TEa进行质量规范参考。

1.3.4 σ 值计算

每个肿瘤标志物检验均可获取2个浓度水平的 σ 值,即质量控制,两个 σ 值的差值 < 1.5 时,则方法性评价和设计质量控制方案选择较低值 σ 值;当两个 σ 值的差值 ≥ 1.5 时,则计算两个 σ 值的平均值,为质量控制所选值。

σ 值计算公式^[6]: σ 值 = $[\text{TEa}(\%) - \text{Bias}(\%)] / \text{CV}(\%)$ 。

1.3.5 设计质量控制方法

应用标准化 σ 性能验证图设计室内质量控制方法^[7]。

1.4 质量改进方法

1.4.1 计算QGI值

通过QGI值观察查找质量水平未达到 6σ 的主要原因。

1.4.2 QGI计算公式^[8]

计算公式为: $\text{QGI} = \text{Bias}(\%) / [1.5 \times \text{CV}(\%)]$ 。

1.5 判断标准

1.5.1 分析性能水平判断标准

①当 $\sigma < 2$ 时,提示本次质量控制水平不可接受,检测性能差;②当 $2 \leq \sigma < 3$ 时,提示本次质量控

制水平有待提高,检测性能欠佳;③当 $3 \leq \sigma < 4$ 时,提示本次质量控制水平属于能接受的最低质量要求,是检测性能的临界值;④当 $4 \leq \sigma < 5$ 时,提示本次质量控制水平一般,检测性能评价为良好;⑤当 $5 \leq \sigma < 6$ 时,提示本次质量控制水平改进需首先达到目标,检测性能评价为优秀;⑥当 $\sigma \geq 6$ 时,提示本次质量控制水平能符合最终质量目标,检测性能评价为世界一流。

1.5.2 质量改进方法选择

参照 σ 值变化对应 Westgard 质量控制规则关系进行质量改进方法选择。①当 σ 值 ≥ 6 时,质量改进方法选择 1_{3S} ($N=2, R=1$),以满足质量控制要求;②当 $5 \leq \sigma$ 值 < 6 时,质量改进方法选择 $1_{3S}2_{2S}R_{4S}$ ($N=2, R=1$),以满足质量控制要求;③ $4 \leq \sigma$ 值 < 5 时,质量改进方法选择 $1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2, R=2$),以满足质量控制要求;④当 $3 \leq \sigma$ 值 < 4 时, $1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}8_x$ ($N=4, R=2$ 或 $N=2, R=4$)。见图1。

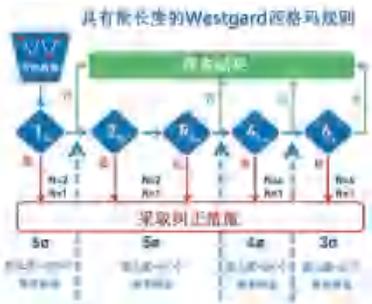


图1 具有批长度的 Westgard 质量控制规则关系图

Figure 1 Westgard quality control rule diagram

1.5.3 质量改进方向判断

①当 $QGI < 0.8$ 时,提示造成检测性能欠佳的主要原因是精密度超出允许范围,应优先改进精密度;②当 $QGI > 1.5$ 时,提示造成检测性能欠佳的主要原因是方法准确度较差,应优先改进准确度;③当 $0.8 \leq QGI \leq 1.5$ 时,提示需改进准确度和精密度,以改善检测性能;④当 $\sigma \geq 6$ 时,提示检测性能已达最终质量目标,无需计算 QGI 。

2 结果

2.1 9项肿瘤标志物的 σ 值及分析性能水平

9项肿瘤标志物检查显示,CEA、TPSA的 σ 水平 ≥ 6 ,检测性能属于世界一流;NSE、CA125的 σ 水平在 $5 \leq \sigma < 6$,检测性能优秀;AFP、CA19-9、CA72-4的 σ 水平在 $4 \leq \sigma < 5$,检测性能良好;SCCA、CA15-3的 σ 水平在 $3 \leq \sigma < 4$,检测性能一般。见表1、图2。

表1 9项肿瘤标志物 σ 值及分析性能水平

Table 1 σ values and analytical performance levels of 9 tumor markers

项目	TEa(%)	CV(%)	Bias(%)	σ 值	性能评价
AFP	25.00	5.28	2.62	4.24	良好
SCCA	25.00	6.86	2.95	3.21	临界
CEA	25.00	3.18	4.08	6.58	世界一流
TPSA	25.00	3.89	0.56	6.28	世界一流
NSE	25.00	4.26	3.11	5.14	优秀
CA125	25.00	4.23	1.44	5.57	优秀
CA15-3	25.00	6.52	2.85	3.40	临界
CA19-9	25.00	5.31	2.05	4.32	良好
CA72-4	25.00	4.65	4.09	4.50	良好

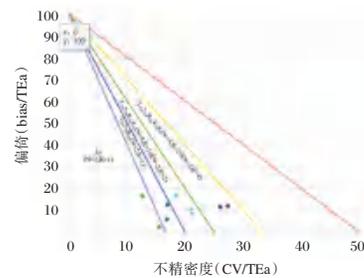


图2 9项肿瘤标志物项目标准化 σ 性能验证和选择质量控制规则图

Figure 2 Diagram of standardized σ performance verification and selection quality control rules for 9 tumor marker items

2.2 9项肿瘤标志物选择质量控制规则

9项肿瘤标志物按照 σ 水平对应 Westgard 质量控制规则关系进行选择,CEA、TPSA选择 1_{3S} ($N=2, R=1$);NSE、CA125选择 $1_{3S}2_{2S}R_{4S}$ ($N=2, R=1$);AFP、CA19-9、CA72-4选择 $1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2, R=2$);SCCA、CA15-3选择 $1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}8_x$ ($N=4, R=2$ 或 $N=2, R=4$)。见表2、图2。

表2 9项肿瘤标志物选择质量控制规则

Table 2 9 quality control rules for tumor marker selection

项目	σ 值	Westgard 质量控制规则选择
AFP	4.24	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2, R=2$)
SCCA	3.21	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}8_x$ ($N=4, R=2$ 或 $N=2, R=4$)
CEA	6.58	1_{3S} ($N=2, R=1$)
TPSA	6.28	1_{3S} ($N=2, R=1$)
NSE	5.14	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}$ ($N=2, R=1$)
CA125	5.57	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}$ ($N=2, R=1$)
CA15-3	3.40	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}8_x$ ($N=4, R=2$ 或 $N=2, R=4$)
CA19-9	4.32	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2, R=2$)
CA72-4	4.50	$1_{3S}2_{2S}R_{4S}4_{1S}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2, R=2$)

2.3 9项肿瘤标志物项目的QGI指数及优先改进方向

AFP、SCCA、TPSA、NSE、CA125、CA15-3、

CA19-9、CA72-4的QGI指数均在0.8以内,CEA的QGI指数为0.9,除TPSA和CEA不选择改进方向以外,其余7项均选择优先改进精密度。见表3。

表3 9项肿瘤标志物项目的QGI指数及优先改进方向

项目	QGI指数	优先改进方向
AFP	0.3	优先改进精密度
SCCA	0.3	优先改进精密度
CEA	0.9	
TPSA	0.1	
NSE	0.5	优先改进精密度
CA125	0.2	优先改进精密度
CA15-3	0.3	优先改进精密度
CA19-9	0.3	优先改进精密度
CA72-4	0.6	优先改进精密度

2.4 7项肿瘤标志物改进后的 σ 值及分析性能水平

7项肿瘤标志物改进后 σ 值及分析性能水平均较改进前有所提高,其中NSE、CA125的 σ 水平 ≥ 6 ,检测性能属于世界一流;AFP、CA19-9、CA72-4 σ 水平在 $5 \leq \sigma < 6$,检测性能优秀;SCCA水平在 $4 \leq \sigma < 5$,检测性能良好。见表4。

表4 7项肿瘤标志物改进后的 σ 值及分析性能水平

Table 4 σ values and analytical performances of 7 tumor markers after the improvement

项目	TEa (%)	CV (%)	Bias (%)	σ 值	性能评价
AFP	25.00	4.12	1.25	5.76	优秀
SCCA	25.00	4.82	1.25	4.93	良好
NSE	25.00	3.82	2.05	6.01	世界一流
CA125	25.00	3.85	1.32	6.15	世界一流
CA15-3	25.00	5.45	1.85	4.25	良好
CA19-9	25.00	4.65	1.56	5.04	优秀
CA72-4	25.00	4.21	3.55	5.10	优秀

3 讨论

本文研究采用质量管理规则联合QGI,应用本院化学发光免疫分析仪及配套试剂、校准物和质控品,对9项肿瘤标志物项目(AFP、SCCA、CEA、TPSA、NSE、CA125、CA15-3、CA19-9、CA15-3)进行检验质控发现,X8型化学发光免疫分析仪检验CEA、TPSA的 σ 水平 ≥ 6 ,检测性能属于世界一流,质量管理规则选择 1_{3s} ($N=2, R=1$)进行质控管理;NSE、CA125的 σ 水平在 $5 \leq \sigma < 6$,检测性能优秀,选择 $1_{3s}2_{2s}R_{4s}$ ($N=2, R=1$)规则,并优先改进精密度;AFP、CA19-9、CA72-4的 σ 水平在 $4 \leq \sigma < 5$,检测性能良好,选择 $1_{3s}2_{2s}R_{4s}4_{1s}$ ($N=4, R=1$ 或 $N=2,$

$R=2$)规则,并优先改进精密度;SCCA、CA15-3的 σ 水平较低,在 $3 \leq \sigma < 4$,检测性能一般,选择 $1_{3s}2_{2s}R_{4s}4_{1s}8_x$ ($N=4, R=2$ 或 $N=2, R=4$)规则,并优先改进精密度。 6σ 管理和图法绘制是定量检测肿瘤标志物的重要管理工具,已获得《临床检验定量测定室内质量控制》(WS/T641-2018)批准,要求检验实验室依据所检验项目的 σ 水平,并选择所对应的Westgard质量控制规则进行室内质控管理,以高标准、高质量、依据数据客观评估室内质控管理质量,矫正实验室检验人员对方法性能的非客观看法^[9-10]。马红叶等^[11]报道称,采用六 σ 质量管理应用于12项实验室肿瘤标志物的检测,结果显示未达 6σ 的12项检测项目,有91.67%项目选择优先改进精密度,有8.33%项目需同时改进精密度和准确度,与本文结果相似。陈丽婉等^[12]采用 6σ 质量管理方法结合IQC指数应用于临床血液常规检测项目中发现,造成血液常规检测结果未达 6σ 水平的原因之一可能在于本次试剂品每2个月更换1次生产批号,临床应重视校准品的溯源性,减少批间差,并校准不同批次试剂,以提高检测性能。造成肿瘤标志物检验项目不精密度的影响因素有不同批号校准品、不同批号试剂、多次校准、操作者不同等分量,开展IQC项目,并由此方法评定不精密度所引入的不确定度,能设置合适质量评价目标,评价临床实验室检测质量和持续改进^[13]。

本研究结果显示,7项肿瘤标志物项目质检结果中选择优先改进精密度,改进后的 σ 值及分析性能水平均较改进前有所提高,其中NSE、CA125的 σ 水平 ≥ 6 ,检测性能属于世界一流;AFP、CA19-9、CA72-4 σ 水平在 $5 \leq \sigma < 6$,检测性能优秀;SCCA水平在 $4 \leq \sigma < 5$,检测性能良好。通过计算出各项肿瘤标志物项目的 σ 水平,客观评价分析仪器的检测性能,并根据Westgard质量控制规则,选择合适的质控改进方案,再计算出各项检测项目的QGI指数,明确优先改进方向,不仅能为肿瘤标志物检测性能提供改进方案与方向,还能确保室内失控管理质量的持续改进^[14]。荣智慧等^[15]研究指出,采用批长度Westgard σ 规则用于临床生化项目中,首先不可一味按照 σ 规则流程处理,应先提高分析性能,其次根据批长度Westgard σ 规则选择所对应的分析批长度、质控规则及检测频率,以降低质控成本,完成检测质量目标。本文后期仍需再

开展试验进行批长度 Westgard σ 规则质控管理研究,并增设检测设备,以便客观分析肿瘤标志物的检测性能。

综上所述,6 σ 质量管理规则联合 QGI 应用于肿瘤标志物的化学发光免疫分析中,能客观评价肿瘤标志物检测项目的方法性能,并提供合适的质量控制方案和和优先质量改进方向,为肿瘤标志物检验的质量管理不断持续改进提供客观思路,利于检验实验室的管理质量提高。

参考文献

- [1] 牛爱军,杜鲁涛,靖旭,等. 肿瘤标志物在不同检测系统间的应用现状及建议[J]. 临床检验杂志, 2021,39(3):161-164.
- [2] 刘玲丽,彭镜蓉. 应用6 σ 质量管理方法评价 c16000 全自动生化分析系统检测质量水平[J]. 检验医学, 2020,35(2):164-167.
- [3] 杨沙沙,刘露,钟玉敏,等. 西格玛度量及质量目标指数在常规生化质量评价中的应用[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2020,17(2):40-43.
- [4] 李东阳,王勇,朱林敏,等. 2019-2021年参加国家卫生健康委临检中心室间质评结果分析[J]. 中国实验诊断学, 2022,26(7):1020-1025.
- [5] 艾红梅. WS/T406-2012 标准对血液学常规项目检测质量控制的试行评估[J]. 中国医学装备, 2014,11(B08):231-232.
- [6] Westgard JO, Westgard SA. The quality of laboratory testing today. an assessment of σ metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance [J]. Am J Clin Pathol, 2006,125(3):343-354.
- [7] Westgard JO, Westgard SA. Equivalent quality testing versus equivalent QC procedures[J]. Lab Med, 2005,36(10):626-629.
- [8] Coskun A. Six sigma and calculated laboratory test [J]. Clin Chem, 2006,52(4):770-771.
- [9] 范艳佳,陈美红,颜林林. 化学发光免疫法在肿瘤生物标志物检测中的应用价值[J]. 实用预防医学, 2021,28(11):1397-1400.
- [10] 陈铿铿,陈念光,张碧珠. 应用六西格玛质量管理方法改进全自动生化分析仪管理流程[J]. 中国工业医学杂志, 2022,35(1):92-94+97.
- [11] 马红叶,洪燕英,郭宏林,等. 六西格玛质量管理在临床肿瘤标志物检验质量控制中的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2021,28(12):2162-2165.
- [12] 陈丽婉,罗东,余曼,等. 六西格玛质量管理方法在临床血液学常规项目检测性能评价和质量控制中的应用[J]. 实验与检验医学, 2021,39(1):76-78.
- [13] 秦妍妍,杨延敏. 采用室内质量控制和室间质评数据评定肿瘤标志物检验项目的测量不确定度[J]. 海南医学, 2021,32(9):1112-1116.
- [14] 陈荣贵,张勇刚,施俊柱,等. 应用 σ 度量对深圳市龙华区三家综合医院临床生化检验结果互认的评价研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021,36(1):141-146.
- [15] 荣智慧,刘春霞. 分析批长度 Westgard 西格玛规则在临床生化检测项目分析质量评价中的应用[J]. 检验医学与临床, 2021,18(11):1560-1562.

(上接第 508 页)

- [5] 周强,李明,董全伟,等. 《国际疾病分类第十一次修订本(ICD-11)》传统医学章节与新版中医国家标准的比较研究[J]. 上海中医药杂志, 2021,55(5):1-6+23.
- [6] 陈安民,李锋. 骨科疾病诊疗指南. 第3版[M]. 北京:科学出版社, 2013.
- [7] 张燕,黄争艳,李自光. 糖尿病肾病患者血清 PTH 与血管钙化的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022,14(3):383-387.
- [8] 马懿,曾蜀春. 糖尿病肾病患者血清肌肉生长抑制素水平与血管钙化的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2022,43(16):2020-2023.
- [9] Blumel JE, Arteaga E, Aedo S, et al. Metformin use is associated with a lower risk of osteoporosis in adult women independent of type 2 diabetes mellitus and obesity. REDLINC IX study [J]. Gynecol Endocrinol, 2020,36(5):421-425.
- [10] 刘娟,刘艳,潘登. 2型糖尿病患者尿白蛋白排泄率与血清 PINP、BGP、25(OH)D3 水平的相关性[J]. 海南医学, 2022,33(1):21-24.
- [11] 程力,常九州,周卫东. 绝经后 2 型糖尿病患者骨硬化蛋白、PINP、CTX 与骨密度相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017,23(7):874-878+883.
- [12] 汪晓晨,汤日宁,刘必成. 慢性肾脏病患者骨质疏松及血管钙化共同发病机制的研究进展[J]. 中国实用内科杂志, 2021,41(6):554-557.
- [13] 贾海梅,蔡艳丽. 骨代谢指标 NBAP、BGP、CTX 与 2 型糖尿病合并骨质疏松的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2019,26(2):225-229.
- [14] 林锋,陈斌,黄鼎三,等. 血浆 MIP-1 α 、Hcy、KL-6 与冠状动脉粥样硬化病变程度的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2020,19(21):2303-2306.
- [15] 安冬梅,刘洁,曹丽. 血清同型半胱氨酸与冠状动脉钙化积分对急性冠状动脉综合征患者短期预后的评估价值[J]. 实用临床医药杂志, 2022,26(10):62-67.
- [16] 刘玉章,潘东续,赵晓英,等. 特立帕肽联合双膦酸盐对老年性椎体压缩骨折术后骨质疏松患者 PINP 和 CTX-1 的影响[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2020,6(5):271-278.

血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归的相关性

康梅娟¹ 温昌明^{1*} 张保朝¹ 孙军¹ 汪宁¹ 张东焕¹ 张缙莉²

[摘要] **目的** 探究血清脂蛋白 a[Lp(a)]、半乳糖凝集素 3(GAL3)、内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(Vaspin)与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归的相关性。**方法** 选取 2019年6月至2022年3月南阳市中心医院神经内科收治的前循环急性缺血性脑卒中 112例患者为研究对象,均给予 Trevo 支架取栓。根据患者术后第 14天的改良 Rankin 量表(mRS)评分将患者分为转归优良组(76例)及转归不良组(36例)。对比两组入院、术后即刻、术后3天、术后1周、术后2周的血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 水平,采用 Spearman 分析血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归的相关性。**结果** 术后3天、术后1周、术后2周,转归优良组的血清 Lp(a)和 GAL3 均低于转归不良组($t=7.725、10.602、9.578、2.888、5.875、9.45$, P 均 <0.05); Vaspin 水平均高于转归不良组($t=23.416、14.754、8.428$, P 均 <0.05); Spearman 相关性分析结果显示,前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归优良与血清 Lp(a)、GAL3 正相关,与 Vaspin 水平负相关。**结论** 血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归情况具有相关性,可参考对患者血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 进行监测及时给予相应临床措施以改善患者取栓术后转归情况。

[关键词] 血清脂蛋白 a; 半乳糖凝集素 3; 内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂; 缺血性脑卒中; Trevo 支架取栓术

Correlation between serum Lp(a), GAL3, vaspin and outcome after Trevo stent thrombectomy in patients with acute ischemic stroke in anterior circulation

KANG Meijuan¹, WEN Changming^{1*}, ZHANG Baochao¹, SUN Jun¹, WANG Ning¹, ZHANG Donghuan¹, ZHANG Manli²

(1. Neurology, Nanyang City Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000; 2. General External Wound Surgery, Nanyang City Central Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between serum lipoprotein (a)[Lp(a)], galectin 3 (GAL3), visceral adipose-specific serine protease inhibitor (vaspin) and the outcome of Trevo stent thrombectomy in patients with acute ischemic stroke in anterior circulation. **Methods** A total of 112 patients with circulating acute ischemic stroke admitted to the Department of Neurology, Nanyang Central Hospital from June 2019 to March 2022 were selected as the research objects. All patients were given Trevo stent thrombectomy. According to the modified Rankin Scale (mRS) score on the 14th day after Trevo stent thrombectomy, the patients were divided into the excellent outcome group (76 cases) and the poor outcome group (36 cases). Serum Lp(a), GAL3 and vaspin levels in the two groups were measured at admission, immediately after surgery, 3 days, 1 week and 2 weeks after surgery. Spearman was used to analyze the correlation between serum Lp(a), GAL3, vaspin and the outcome of Trevo stent thrombectomy in patients

基金项目:河南省科技计划项目(192102310349)

作者单位:1. 南阳市中心医院神经内科脑血管病介入病区,河南,南阳 473000

2. 南阳市中心医院普外创面外科,河南,南阳 473000

*通信作者:温昌明, E-mail: 13838729696@sina.com

with acute ischemic stroke in anterior circulation. **Results** The serum Lp(a) and GAL3 in the excellent outcome group were lower than those in the poor outcome group at 3 days, 1 week and 2 weeks after Trevo stent thrombolectomy ($t=7.725, 10.602, 9.578, 2.888, 5.875, 9.45, P<0.05$). Vaspin level was higher than that in the poor outcome group ($t=23.416, 14.754, 8.428, P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that the excellent outcome of Trevo stent thrombolectomy in patients with acute ischemic stroke in anterior circulation was positively correlated with serum Lp(a) and GAL3, and negatively correlated with vaspin level. **Conclusion** Serum Lp(a), GAL3 and vaspin are correlated with the outcome of Trevo stent thrombolectomy in patients with acute ischemic stroke in anterior circulation. Those results can be referred to the monitoring of patients' serum Lp(a), GAL3 and vaspin for timely administration of appropriate clinical measures to improve the outcome of patients after thrombolectomy.

[KEY WORDS] Lp(a); GAL3; Vaspin; Acute ischemic stroke in anterior circulation; Trevo stent thrombolectomy

急性缺血性脑卒中的致残率及致死率均较高,随着目前老龄化情况加剧,发病率呈升高趋势^[1]。尽早保障血液流通,恢复灌注,拯救大脑的缺血半暗带部分是目前临床最理想的治疗方案,对于超急性期的急性缺血性脑卒中患者的治疗主要为溶栓和取栓^[2]。Trevo支架的主干柔软,可以轻易通过颅内迂曲血管,精准定位,完全可视化,便于血管融入网内并取出,近年来较为常见地应用于急性缺血性脑卒中的取栓治疗方案中^[3]。血清脂蛋白a [lipoproteins(a), Lp(a)]是一种为血管特异性炎症标志物,可对氧化磷脂类物质进行水解后加速促炎物质产生,对动脉斑块发生发展具有推动作用^[4];半乳糖凝集素3(galectin 3, GAL3)是参与细胞的增殖、迁移、炎症反应过程的一种因子,可能直接参与对心脑血管疾病发生发展^[5];内脏脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制因子(Vaspin)与肥胖及其代谢相关的一种脂肪因子,具有胰岛素增敏和抗炎作用^[6]。本研究探讨血清Lp(a)、GAL3、Vaspin与前循环急性缺血性脑卒中患者Trevo支架取栓术后转归的相关性,为改善前循环急性缺血性脑卒中患者Trevo支架取栓术后转归情况提供新的监测方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年6月至2022年3月南阳市中心医院神经内科收治的前循环急性缺血性脑卒中112例患者为研究对象,患者均进行Trevo支架取栓术。根据术后第14天的改良Rankin量表(Modified Rankin Scale, mRS)^[7]将患者分组,mRS评分范围为0~2分认为患者预后良好,为转归优良组(76例);mRS评分范围为3~6分认为患者预后不

良,为转归不良组(36例)。纳入标准:①经头颅MRI或CT影像学检查证实颅内前循环大血管闭塞;②符合《中国AIS诊治指南2018》诊断标准^[8]于本院确诊为前循环急性缺血性脑卒中;③均进行Trevo支架取栓;④患者均首次发病,发病时间<4.5h;⑤患者入院前未接受任何形式的治疗方案,无任何溶栓禁忌证;⑥患者及其家属对本研究均知情同意且签署同意书。排除标准:①患者入院已出现合并严重腹腔器官功能不全;②患者具有血液病病史并有出血性血管疾病;③患者有免疫系统疾病、恶性肿瘤、多发性硬化等有可能引起脑白质变性的恶性疾病;④闭塞的血管累及前后循环;⑤未能完成随访者。转归优良组40例女性,36例男性,发病时间0.5~4h,平均发病时间(2.15±0.30)h,合并高血压13例,合并糖尿病16例,8例患者有脑卒中家族遗传史。转归不良组20例女性,16例男性,发病时间0.5~3.8h,平均发病时间(2.13±0.26)h,合并高血压5例,合并糖尿病6例,3例患者有脑卒中家族遗传史。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具可比性。本研究经南阳市中心医院医学伦理会审批并通过。

1.2 研究方法

采集所有研究对象入院、术后即刻、术后3天、术后1周、术后2周的空腹静脉血5mL,离心后取血清,使用美国BECK-MAN公司所生产的COULTER全自动生化分析仪测定血清Lp(a)水平;采用ELISA法对GAL3、Vaspin水平进行检测。所有步骤严格按照包装说明书进行操作。根据脑卒中后第14天的改良Rankin量表(mRS)评分将患者分为转归良好组(76例)及转归不良组(36例)。比较两组入院、术后即刻、术后3天、术后1周、术后2周

的血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 水平,采用 Spearman 分析血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归的相关性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS Statistics 21 统计学软件进行分析。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 Lp(a)、GAL3、Vaspin 与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归的相关。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组不同时间点血清 Lp(a)水平比较

入院时、术后即刻,两组在血清 Lp(a)水平对比上的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);术后 3

天、术后 1 周、术后 2 周,转归优良组的血清 Lp(a)水平均低于转归不良组,差异均具有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 1。

2.2 两组不同时间点的 GAL3 水平比较

入院时、术后即刻,两组在 GAL3 水平对比上的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);术后 3 天、术后 1 周、术后 2 周,转归优良组的 GAL3 水平均低于转归不良组,差异均具有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 2。

2.3 两组不同时间点的 Vaspin 水平比较

入院时、术后即刻,两组在 Vaspin 水平对比上的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05);术后 3 天、术后 1 周、术后 2 周,转归优良组的 Vaspin 水平均高于转归不良组,差异均具有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表 3。

表 1 两组不同时间点血清 Lp(a)水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum Lp (a) levels between the two groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	入院时	术后即刻	术后 3 天	术后 1 周	术后 2 周
转归优良组	76	364.33±50.55	344.79±48.22	279.68±48.94	280.32±57.28	265.56±89.58
转归不良组	36	360.47±49.84	344.43±41.09	350.71±36.85	404.65±59.39	446.49±101.00
<i>t</i> 值		0.379	0.039	7.725	10.602	9.578
<i>P</i> 值		0.705	0.969	0.000	0.000	0.000

表 2 两组入不同时间点的 GAL3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of GAL3 levels between two groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	入院时	术后即刻	术后 3 天	术后 1 周	术后 2 周
转归优良组	76	19.21±6.25	17.51±5.48	15.46±4.66	12.35±4.18	9.84±3.31
转归不良组	36	19.18±6.24	18.85±5.36	18.33±5.41	17.88±5.53	17.53±5.23
<i>t</i> 值		0.024	1.217	2.888	5.875	9.451
<i>P</i> 值		0.981	0.226	0.005	0.000	0.000

表 3 两组不同时间点的 Vaspin 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of Vaspin levels between two groups at different time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	入院时	术后即刻	术后 3 天	术后 1 周	术后 2 周
转归优良组	76	0.20±0.05	0.48±0.11	5.84±0.86	11.39±1.43	15.33±2.14
转归不良组	36	0.19±0.05	0.51±0.09	2.42±0.23	7.64±0.76	12.10±1.21
<i>t</i> 值		0.989	1.425	23.416	14.754	8.428
<i>P</i> 值		0.325	0.157	0.000	0.000	0.000

2.4 血清 Lp(a)、GAL3、Vaspin 与前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归优良的相关性

Spearman 相关性分析结果显示,前循环急性缺血性脑卒中患者 Trevo 支架取栓术后转归优良与血清 Lp(a)、GAL3 正相关($r=0.312$ 、 0.251 , $P < 0.05$),与 Vaspin 水平负相关($r=-0.323$, $P < 0.05$)。

3 讨论

缺血性脑卒中是由于各种原因的脑动脉闭塞导致脑组织局部组织发生缺血缺氧,并伴随着脑神经、胶质细胞等一系列细胞的损伤,诱发神经功能障碍,导致主要中枢神经系统致残^[9]。会对患者的生命安全和生存质量产生消极影响,对患者及其家庭、社会、医疗系统均会带来沉重的负担^[10]。

近年来随着生活节奏、饮食结构的改变,急性缺血性脑卒中的发病率呈逐年升高趋势,且发病年龄也越来越小,甚至复发率高达25%^[11]。随着医疗技术进步,血管内取栓治疗逐渐成为治疗急性缺血性脑卒中患者最主要方案之一^[12]。随着血管内取栓治疗技术的发展及取栓装置迭代更新,Trevo支架取栓术因其可视性、血栓捕获能力强、血管再通率高等优势而逐渐成为前循环急性缺血性脑卒中取栓的主要方案之一^[13]。

患者在取栓后的短期转归情况对患者预后及生活质量恢复具有相当大的意义,临床对患者转归的判断主要依靠影像学中血栓的清除情况及患者临床恢复状态,对血液中生物标志物的研究较少。有回顾性分析中得到研究结果为血清Lp(a)水平升高是青年急性脑卒中发生的独立危险因素之一^[14]。本研究中对前循环急性缺血性脑卒中患者Trevo支架取栓术后转归情况进行分组研究,结果显示转归良好组的血清Lp(a)的水平在取栓后逐渐降低,且低于对照组,认为原因为:Lp(a)会刺激动脉粥样硬化,高水平的Lp(a)与动脉粥样硬化有着密切关系,对动脉粥样硬化发生发展均有促进作用,且在某种程度上会促进血栓的形成^[15]。且两组患者在Trevo支架取栓术后的Lp(a)水平均下降,显示出Trevo支架取栓术对急性缺血性脑卒中患者的疗效具有一定的积极意义,且转归优良组在取栓术后的Lp(a)水平低于转归不良组,且Spearmen相关性分析结果也显示取栓术后的转归情况与血清Lp(a)水平正相关。转归良好组取栓后GAL3水平均开始下降,且低于对照组,原因在于GAL3是一种 β -半乳糖苷动物凝集素,在脑卒中发生时由于脑组织缺血,脑部神经元、星形细胞会遭受一定程度破坏,导致GAL3从细胞游离出来,急性缺血性脑卒中患者损伤的血脑屏障中会出现更高水平的游离GAL3,通过血脑屏障会继续进入机体的血液循环中,升高血液中的GAL3水平^[16]。且相关性分析中也显示出取栓术后的转归情况与GAL3水平正相关,与刘爱芹等^[17]的研究有着相似之处。孙小雪等^[18]的研究得出缺血性脑卒中患者的血清vaspin水平降低,且与缺血性脑卒中的疾病严重程度分级具有相关性,在一定程度上提示vaspin参与缺血性脑卒中发生、进展。在本研究中,转归优良组在取栓术后的Vaspin水平开始逐步上升,且高于转归不良组,原因在于Vaspin参与动

脉粥样硬化的进程,并且可以调控糖脂代谢,并对炎症因子的释放进行抑制,间接起到保护脑功能的作用,促进患者康复,且Spearmen相关性分析结果也显示前循环急性缺血性脑卒中患者Trevo支架取栓术后转归与Vaspin水平负相关。

综上所述,前循环急性缺血性脑卒中患者Trevo支架取栓术后转归优良与血清Lp(a)、GAL3正相关,与Vaspin水平负相关,临床中对Trevo支架取栓术患者进行血清Lp(a)、GAL3、Vaspin水平的监控及积极控制,优化患者转归情况。

参考文献

- [1] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China: Results from a Nationwide Population-Based Survey of 480 687 Adults [J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
- [2] Sardana V, Shringi P. Neurological Manifestations of Scrub Typhus: A Case Series from Tertiary Care Hospital in Southern East Rajasthan [J]. *Ann Indian Acad Neurol*, 2020, 23(6): 808-811.
- [3] 吴卫平,王宁,张杨,等. TREVO支架取栓术治疗分支动脉病变致急性缺血性卒中疗效及安全性研究[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2020, 20(8): 733-739.
- [4] 刘朋. 急性脑卒中患者血清MMP-9、Hcy及Lp(a)水平变化及临床意义分析[J]. *实用中西医结合临床*, 2021, 21(6): 123-124.
- [5] Andreassová T, Vránová J, Vondráková D, et al. Role of biomarkers of cardiac remodeling, myofibrosis, and inflammation in assessment of disease severity in euvoletic patients with chronic stable heart failure [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(8): 300060520947869.
- [6] 张自艳,郭鹏,张富慧,等. 血清vaspin因子在预测缺血性脑卒中患者血管风险事件复发的价值分析[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2021, 38(2): 105-108.
- [7] 左宇,顾艳,朱欢欢,等. 胱抑素C水平与急性缺血性脑卒中患者血管内治疗效果的相关性分析[J]. *卒中与神经疾病*, 2020, 27(6): 738-742.
- [8] 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.
- [9] 孙丹丹,韩柳,巴馨悦,等. 吉林地区居民缺血性脑卒中患病现状及危险因素分析[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(12): 1316-1318+1322.
- [10] Wachter R, Gröschel K. Akuttherapie und Sekundärprophylaxe des ischämischen Schlaganfalls: Ein Musterbeispiel für personalisierte Medizin [Acute treatment and secondary prophylaxis of ischemic stroke: An excellent example for personalized medicine] [J]. *Internist (Berl)*, 2018, 59(3): 241-251.

NLR、PDW 对服用不同剂量利伐沙班的非瓣膜心脏病房颤患者出血事件的预测价值

李梅¹ 孙洪伟^{1*} 王菲菲²

[摘要] **目的** 探讨中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、红细胞分布宽度(PDW)对服用不同剂量利伐沙班的非瓣膜心脏病房颤(NVAF)患者出血事件的预测价值。**方法** 选取2019年3月至2022年3月在安徽合肥京东方医院心血管内科就诊的NVAF患者92例作为研究对象。依据给药剂量不同分为标准剂量组($n=45$)和低剂量组($n=47$),检测患者应用利伐沙班治疗前后血清NLR、PDW等相关指标变化,记录两组用药12个月内发生的出血事件,分析血清NLR、PDW对出血事件的预测效能。**结果** 两组总出血发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2=2.386, P>0.05$);出血组血清NLR、PDW水平均高于未出血组,差异有统计学意义($t=3.679, 3.001, P<0.05$);多因素Logistic分析结果显示,血清NLR、PDW升高是NVAF患者利伐沙班治疗后发生出血事件的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,血清NLR、PDW联合检测时的AUC为0.872($P<0.05$)。**结论** NVAF患者应用利伐沙班治疗时出血的发生率较低,临床上可通过联合检测患者血清NLR、PDW来预测其出血事件。

[关键词] 中性粒细胞与淋巴细胞比值;红细胞分布宽度;非瓣膜心脏病房颤;出血事件

Predictive value of NLR and PDW for bleeding events in patients with non-valvular heart disease and atrial fibrillation taking different doses of rivaroxaban

LI Mei¹, SUN Hongwei^{1*}, WANG Feifei²

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Hefei Orient Hospital, Hefei, Anhui, China, 230000;

2. Department of Pharmacy, Peking Oriental Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and red blood cell distribution width (PDW) on bleeding events in patients with non-valvular atrial fibrillation (NVAF) taking different doses of rivaroxaban. **Methods** A total of 92 patients with NVAF who were admitted to the Department of Cardiology, Jingdongfang Hospital, Hefei, Anhui Province from March 2019 to March 2022 were selected as the study subjects. According to the different doses, the patients were divided into the standard dose group ($n=45$) and the low dose group ($n=47$). The changes of serum NLR, PDW and other related indicators before and after rivaroxaban treatment were detected. The bleeding events occurred within 12 months were recorded, and the predictive efficacy of serum NLR and PDW on bleeding events was analyzed. **Results** There was no significant difference in the incidence of total bleeding between the two groups ($\chi^2=2.386, P>0.05$). The levels of serum NLR and PDW in the bleeding group were higher than those in the non-bleeding group, and the differences were statistically significant ($t=3.679, 3.001, P<0.05$). Multivariate Logistic analysis showed that elevated serum NLR and PDW were independent risk factors for bleeding events after rivaroxaban treatment in NVAF patients ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of combined detection of serum NLR and PDW was 0.872 ($P<0.05$). **Conclusion** The incidence of bleeding in NVAF

基金项目:安徽省重点研究和计划项目(1804b08020267)

作者单位:1. 安徽省合肥京东方医院心血管内科,安徽,合肥 230000

2. 安徽省合肥京东方医院药学科,安徽,合肥 230000

*通信作者:李梅, E-mail:lm_332749324@163.com

patients treated with rivaroxaban is low. Clinically, bleeding events can be predicted by combined detection of serum NLR and PDW.

[KEY WORDS] Neutrophil-to-lymphocyte ratio; Red blood cell distribution width; Non-valvular heart disease atrial fibrillation; Bleeding events

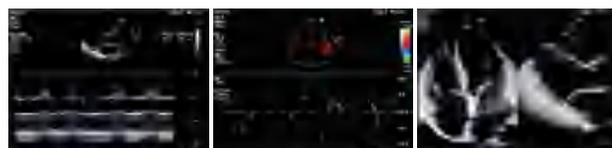
非瓣膜性心房颤动(Non-Valvular Atrial Fibrillation, NVAF)是一种常见的心律失常疾病,主要发生在60岁以上老年人群,我国居民NVAF总体患病率约为0.77%,且随着年龄的增长而增高^[1]。各种血栓栓塞是NVAF的主要并发症,据文献报道,80岁以上患者血栓发生率约为10%,血栓脱落或增大会引起缺血性脑卒中,严重降低患者的生活质量,并有可能造成死亡^[2]。预防血栓栓塞是NVAF临床治疗的基础,抗凝治疗是其治疗关键,可以抑制静脉血栓的蔓延,促进血栓再溶和管腔再通^[3]。利伐沙班是当前新型抗血栓栓塞药物,最佳使用剂量可以降低患者颅内出血等发生风险,故此,临床上对于NVAF患者利伐沙班的抗凝治疗需重点关注其剂量问题。中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)、红细胞分布宽度(red blood cell distribution width, PDW)是血液检查常见相关指标,均与机体炎症状态密切相关,相关研究显示,NLR、PDW与出血不良反应存在相关性^[4]。本研究将探索NLR、PDW对服用不同剂量利伐沙班的NVAF患者出血事件预测价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年3月至2022年3月在安徽合肥京东方医院心血管内科就诊的NVAF患者92例作为研究对象。纳入标准:①符合相关指南^[5]中NVAF的诊断,并经心电图结果证实。见图1;②房颤血栓危险度评分^[6](CHA2DS2-VASc)≥2分;③临床资料完整;④治疗依从性、用药依从性良好;⑤无本研究所用药物过敏;⑥接受随访且随访资料齐全。⑦所有患者知情并签署同意书;排除标准:①心脏瓣膜成形或置换术史、肿瘤病史;②造血系统疾病;③住院前曾接受过相关治疗;④精神障碍;⑤严重感染性疾病;⑥自身免疫系统疾病。标准剂量组45例中,男28例,女20例;平均年龄(79.80±5.43)岁;身体质量指数(24.29±2.47)kg/m²;低剂量组47例中,男21例,女23例;平均年龄(81.60±6.54)岁;身体质量指数(23.50±2.66)kg/m²。两组一

般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准。



注:超声示:双房增大,二尖瓣反流(轻度),三尖瓣口见少量偏多反流。

图1 NVAF的超声心电图

Figure 1 Ultrasonic electrocardiogram of atrial fibrillation in non-valvular heart disease

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

标准剂量组给予15 mg/d利伐沙班(生产厂家:Bayey AG,国药准字J20180076)治疗,低剂量组给予10 mg/d利伐沙班治疗。均于每天清晨餐时顿服,2组从治疗初期开始,每月一次电话或一次门诊,随访12个月。

1.2.2 收集资料

收集患者一般资料,包括性别、年龄、身体质量指数、基础疾病史、心房颤动类型、房颤出血风险评分、房颤血栓危险度评分情况。

1.2.3 血清检测

治疗12个月后取所有患者早晨空腹静脉血4 mL,放置2 h,采用离心机离心10 min,离心速度为3 000 r/min,离心半径为15 cm,取上层血清于冰箱冷藏备用。采用血细胞自动分析仪检测血清白细胞计数(White blood cell count, WBC)、血小板计数(platelet, PLT)、中性粒细胞、NLR、PDW;采用酶联免疫吸附法检测高敏C反应蛋白(High-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)。所有的检查均严格按照有关的操作规程进行,手术切除的组织标本在医院病理实验室进行病理检查。

1.2.4 随访分组

随访12个月,记录患者随访期间出血情况,包括口腔出血、胃肠道出血、脑出血、鼻出血、直肠出血、泌尿道出血,出现上述出血者,纳入出血组,反

之则未出血组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表述,行 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表述,采用 χ^2 检验;多因素 Logistic 分析 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的独立危险因素;ROC 曲线分析 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的诊断效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 两组随访期间出血事件发生情况 [$n(\%)$]

Table 1 Incidence of bleeding events during follow-up in two groups [$n(\%)$]

组别	n	口腔出血	胃肠道出血	脑出血	鼻出血	直肠出血	泌尿道出血	总出血情况
标准剂量组	45	2(4.44)	1(2.22)	0(0.00)	2(4.44)	0(0.00)	1(2.22)	6(13.32)
低剂量组	47	1(2.125)	0(0.00)	0(0.00)	1(2.125)	0(0.00)	0(0.00)	2(4.25)
χ^2 值								2.386
P 值								0.122

表 2 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的单因素分析 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 2 Univariate analysis of bleeding events in patients with non-valvular heart disease atrial fibrillation after rivaroxaban treatment [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

因素	出血 ($n=8$)	未出血 ($n=84$)	t/χ^2 值	P 值
性别				
男	5(62.50)	44(52.38)	0.300	0.583
女	3(37.50)	40(47.62)		
年龄(岁)	83.37±6.19	80.44±5.93	1.330	0.186
身体质量指数 (kg/m^2)	24.23±2.22	23.87±2.63	0.654	0.514
合并高血压	4(50.00)	35(41.66)	0.208	0.648
合并糖尿病	2(25.00)	30(35.71)	0.370	0.543
合并冠心病	3(37.50)	25(29.76)	0.010	0.920
心房颤动类型				
永久型	1(12.50)	1(1.19)	5.238	0.069
持续型	1(12.50)	19(22.61)		
阵发型	5(75.00)	65(77.38)		
房颤出血风险 评分(分)	2.49±0.43	2.40±0.45	0.542	0.588
房颤血栓危险度 评分(分)	4.53±0.84	4.46±0.71	0.262	0.793
WBC($\times 10^9/\text{L}$)	4.24±1.25	3.98±1.08	0.642	0.522
PLT($\times 10^9/\text{L}$)	320.39±40.06	348.91±44.25	1.754	0.082
中性粒细胞($\times 10^9/\text{L}$)	8.11±3.02	7.12±2.25	1.153	0.251
Hs-CRP(ng/mL)	5.81±0.70	5.45±0.55	1.727	0.087
NLR	4.38±0.72	3.07±0.98	3.679	0.000
PDW(%)	15.66±1.62	13.51±1.96	3.001	0.003

2.3 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的多因素 Logistic 分析

以发生出血事件为因变量(0=未出血,1=出血),表 1 中有统计学意义的指标为自变量进行多

2 结果

2.1 两组随访期间出血事件发生情况

两组总出血事件发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的多因素 Logistic 分析

出血组血清 NLR、PDW 水平均高于未出血组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

因素 Logistic 分析。结果显示,血清 NLR、PDW 升高是 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的多因素 Logistic 分析

Table 3 Multivariate logistic analysis of bleeding events in patients with non-valvular heart disease atrial fibrillation after rivaroxaban treatment

因素	β 值	$S \cdot E$ 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
NLR	1.002	0.376	7.106	2.725	1.304~5.696	0.008
PDW	0.603	0.267	5.084	1.828	1.082~3.088	0.024

2.4 血清 NLR、PDW 预测 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件的诊断价值

ROC 曲线分析显示,血清 NLR、PDW 联合预测 NVAF 患者利伐沙班治疗后发生出血事件时的 AUC 为 0.872($P < 0.05$)。见表 4、图 2。

3 讨论

非瓣膜性心房颤动是常见的心律失常类型,预防 NVAF 引起的血栓使其治疗关键。利伐沙班是一种具有选择性抑制凝血酶的新型抗凝药物,且该药物无需要对凝血功能进行监控和频繁更换给药剂量,其抗凝作用优于华法林,此外,该药还可使致命性出血风险降低 40%^[7]。Xa 因子是外源性和内源性凝血通路的交叉点,可以促进凝血酶原转化为凝血酶,还能够促成纤维蛋白凝块的使形成,利伐沙班通过直接抑制 Xa 因子发挥抗凝作

表4 血清NLR、PDW预测NVAF患者利伐沙班治疗后发生出血事件的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of serum NLR and PDW in predicting bleeding events in patients with non-valvular heart disease atrial fibrillation after rivaroxaban treatment

因素	AUC	最佳 截断值	标准误	敏感度	特异度	95% CI	P值
NLR	0.860	3.315	0.046	1.000	0.655	0.769~0.951	0.001
PDW	0.784	13.260	0.070	1.000	0.512	0.647~0.921	0.008
NLR+PDW	0.872		0.063	0.750	0.929	0.748~0.996	0.001

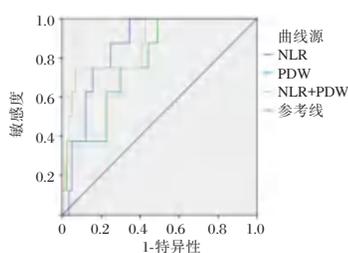


图2 ROC曲线图

Figure 2 Roc curve

用^[6]。本研究结果显示,低剂量组出血事件发生率稍低于标准剂量组,但两组总出血事件发生率比较无显著差异,研究结果与彭琛等^[8]研究结果相似。因此,临床上可根据患者实际病情个性化给药。

本研究结果显示,出血组患者血清NLR、PDW水平均高于未出血组,进一步多因素Logistic分析显示,血清NLR、PDW升高是NVAF患者利伐沙班治疗后发生出血事件的独立危险因素。NLR可反映出先天性(嗜中性白细胞)和自适应性(淋巴细胞)的免疫反应,而NLR增加也与多种炎症因子的浓度增加相关,该指标已被证实能够有效反映机体炎症情况,且与相关疾病非溶栓治疗后出血性转化相关^[9]。嗜中性粒细胞是首个到达脑组织的细胞因子,被激活后的中性粒细胞促进基质金属蛋白酶的合成和释放,而基质金属蛋白酶能通过阻断血-脑脊液屏障,促进血管通透性,继而发生出血性转化。淋巴细胞具有抗炎及内皮保护作用,当机体发生免疫抑制时,淋巴细胞含量减少,促使炎症反应失调,增加机体出血风险。文献报道,NLR与NVAF消融术后抗凝出血危险升高的相关,并将原因猜测为,炎症因子接到的周围区域血管通透性增加、过度增生,血管中的炎性细胞渗入会造成血管内皮屏障功能的失调,进而引发破裂出血^[10]。因此,临床医师应密切关注NLR升高的患者。RDW是红细胞大小变异系数,反映红细胞大小离散程度,也是反映全身炎症反应的标志

物,贫血、炎性反应均能引起RDW水平变化异常,RDW水平含量越高,红细胞大小差异越大^[11]。研究发现,RDW可以预测包括心房颤动在内的多种患者的心血管结局,且RDW的升高还与急性冠状动脉综合征等患者的高出血率有关^[12]。裘存新等^[13]研究结果显示,高RDW能够预测心房颤动发病及反映病情程度,而心房颤动极易引起血液动力学障碍和动脉栓塞等并发症,继而引起心血管不良反应。本研究中,相较于未出血组患者,出血组RDW较高,原因推测为是由于营养不良、贫血和炎症反应所致。此外,血红蛋白缺乏也可能引起出血事件风险增加。因此,RDW作为一个简单易取的实验室指标,与NLR相结合检测,有助于临床医师对危险分层进行优化,预防出血事件^[14-15]。本研究ROC曲线分析也显示了,血清NLR、PDW联合检测时的AUC为0.872,诊断效能最高。

综上所述,NVAF患者应用利伐沙班治疗时出血的发生率较低,血清NLR、PDW水平升高增加出血风险,临床上可通过联合检测患者血清NLR、PDW来预测其出血事件。

参考文献

- [1] 纪焕文,韩通,王东伟. 高龄老年非瓣膜性心房颤动患者长期应用利伐沙班的疗效及安全性[J]. 中国实用医刊, 2019(20):95-97.
- [2] 吴宣,许雪清,汪家淑,等. 不同剂量利伐沙班与华法林对高龄非瓣膜性心房颤动患者的抗凝治疗效果及安全性比较[J]. 中国当代医药, 2021,28(3):90-94.
- [3] 吴国芳,潘艳,刘爱芬,等. 外科术后静脉血栓栓塞症发生现状及影响因素[J]. 华南预防医学, 2021,47(9):1123-1126.
- [4] 孟佳雪,贺帅,谢惠芳,等. 阿替普酶治疗急性脑梗死患者的出血不良反应影响因素分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2018,34(14):1595-1597.
- [5] Members WC, January CT, Wann LS, et al. 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the management of patients with atrial fibrillation: A report of the American college of cardiology / American heart association task force on practice guidelines and the heart rhythm society [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 64(21):2246-2280.
- [6] 哈丽米乃·地力木拉提,刘克坚,邱强. 利伐沙班用于非瓣膜性房颤患者抗凝治疗的安全性评价[J]. 吉林医学, 2021,42(1):110-113.
- [7] 王海明,赵芸漳,刘子凡,等. 不同剂量利伐沙班治疗老年非瓣膜性房颤的疗效及安全性评估[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2021,20(7):481-487.
- [8] 彭琛,沈相福,卫静茹,等. 不同剂量利伐沙班对高龄非瓣膜性心房颤动患者卒中预防效果及安全性评价[J]. 中国现代医学杂志, 2022,32(13):81-86. (下转第526页)

H-FABP、NLR、VEGF水平与急性脑梗死神经功能缺损评估及预后相关性

周建* 代磊 韩亚汇

[摘要] 目的 探讨心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、血管内皮生长因子(VEGF)水平与急性脑梗死(ACI)神经功能缺损评估及预后的相关性。方法 选取2021年1月至2021年12月于青岛市城阳区人民医院急诊内科就诊的96例ACI患者作为观察对象,并按照神经功能缺损评分将观察组患者分为轻度组(<4分, $n=33$),中度组(4~15分, $n=40$),重度组(>15分, $n=23$);按照改良Rankin量表进行评分,将患者分为预后不良组(<3分, $n=35$)和预后良好组(≥ 3 分, $n=61$)。比较轻度组、中度组以及重度组的H-FABP、NLR、VEGF水平,比较预后不良组和预后良好组的H-FABP、NLR、VEGF水平。采用Pearson相关性分析分析H-FABP、NLR、VEGF水平与ACI患者神经功能缺损程度的相关性。采用Logistic回归分析ACI患者预后不良的独立危险因素。采用受试者工作(ROC)曲线评估H-FABP、NLR、VEGF对ACI患者预后不良的预测价值。结果 H-FABP、NLR水平比较:轻度组<中度组<重度组,预后良好组<预后不良组,VEGF水平:轻度组>中度组>重度组,预后良好组>预后不良组,差异具有统计学意义($F=45.928、42.396, t=12.657、13.520, F=66.335, t=81.667, P<0.05$)。Pearson相关性分析结果显示,H-FABP、NLR水平均与ACI患者神经缺损程度呈正相关,VEGF水平均与ACI患者神经缺损程度呈负相关($r=0.556、0.674、-0.701, P<0.05$)。Logistic回归分析结果显示,H-FABP、NLR、VEGF均为ACI患者预后不良的独立影响因素($P<0.05$)。ROC曲线显示,H-FABP、NLR、VEGF以及联合检测预测ACI患者预后不良的曲线下面积为0.754、0.769、0.733、0.901。结论 H-FABP、NLR、VEGF水平与ACI患者神经功能缺损以及预后具有一定的相关性,且H-FABP、NLR、VEGF联合检测对ACI患者预后不良具有较高的价值,能够为临床评估患者预后结果提供参考价值。

[关键词] 心脏型脂肪酸结合蛋白;中性粒细胞与淋巴细胞比值;血管内皮生长因子;急性脑梗死;神经功能缺损

Correlation between the levels of H-FABP, NLR, VEGF and the evaluation of neurological impairment and prognosis in patients with acute cerebral infarction

ZHOU Jian*, DAI Lei, HAN Yahui

(Department of Emergency Medicine, Qingdao Chengyang District People's Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266109)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the levels of heart type fatty acid binding protein (H-FABP), neutrophil lymphocyte ratio (NLR), vascular endothelial growth factor (VEGF) and the evaluation of neurological impairment and prognosis in acute cerebral infarction (ACI). **Methods** From January 2021 to December 2021, 96 patients with ACI who were hospitalized in the Emergency Department of Qingdao Chengyang District People's Hospital were selected as the subjects of observation. The patients were divided into the mild group (<4 points, $n=33$), the moderate group (4-15 points, $n=40$), and the severe group (>15 points, $n=23$) according to the neurological deficit score. Based on the modified Rankin

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2016WS0290)

作者单位:青岛市城阳区人民医院急诊内科,山东,青岛266109

*通信作者:周建, E-mail:18661656618@163.com

scale, patients were divided into the poor prognosis group (<3 points, $n=35$) and the good prognosis group (≥ 3 points, $n=61$). The levels of H-FABP, NLR and VEGF in the mild group, the moderate group and the severe group were compared, and the levels of H-FABP, NLR and VEGF in the poor prognosis group and the good prognosis group were compared. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the levels of H-FABP, NLR, VEGF and the degree of neurological impairment in patients with ACI. Logistic regression was used to analyze the independent risk factors of poor prognosis in ACI patients. The predictive value of H-FABP, NLR, VEGF on the poor prognosis of ACI patients was evaluated by receiver operating curve (ROC). **Results** The levels of H-FABP and NLR: mild group $<$ moderate group $<$ severe group, good prognosis group $<$ poor prognosis group, VEGF level: mild group $>$ moderate group $>$ severe group, good prognosis group $>$ poor prognosis group, the difference was statistically significant ($F=45.928, 42.396, t=12.657, 13.520, F=66.335, t=81.667, P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the levels of H-FABP and NLR were directly associated with the degree of nerve defect in ACI patients, and the levels of VEGF were inversely associated with the degree of nerve defect in ACI patients ($r=0.556, 0.674, -0.701, P<0.05$). Logistic regression analysis showed that H-FABP, NLR and VEGF were independent factors influencing the poor prognosis of ACI patients ($P<0.05$). The ROC curve showed that the areas under the curve of H-FABP, NLR, VEGF and combined detection to predict the poor prognosis of patients with ACI were 0.754, 0.769, 0.733 and 0.901, respectively. **Conclusion** The levels of H-FABP, NLR and VEGF have a certain correlation with the neurological deficit and prognosis of ACI patients, and the combined detection of H-FABP, NLR and VEGF has a high value for the poor prognosis of ACI patients, and can provide a reference value for clinical evaluation for the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Heart type fatty acid binding protein; The ratio of neutrophils to lymphocytes; Vascular endothelial growth factor; Acute cerebral infarction; Nerve function defect

急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)是一种致死率、致残率以及复发率均较高的脑血管疾病,其病理生理基础为血管内发生炎症反应、凝血异常以及血管内皮出现有功能不全的现象^[1]。ACI患者的神经细胞会由于发病时缺血缺氧导致部分的脑组织发生病变并且坏死而在短时间内死亡,使得患者神经功能出现缺损,影响患者预后,影响患者的生活质量并给患者及其家庭造成严重负担。心脏型脂肪酸结合蛋白(Heart type fatty acid binding protein, H-FABP)作为心脏最丰富的蛋白质之一,能够通过影响脂肪酸的代谢,从而促进氧化自由基的富集,不利于脑组织的功能恢复^[2]。中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)是近年来不断被重视的一个新型的炎症指标,该指标的获得较简单,比较有利于研究的开展,且其与ACI的严重程度以及短期临床预后均密切相关^[3]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在临床上对于诊断肿瘤的发生、转归、预后以及反映细胞分化程度均具有重要的意义,有研究^[4]表明,VEGF对ACI患者的神经功能预后不良具有较高的预测价值。因此,本研究通过探讨H-FABP、NLR、VEGF水平与急性脑梗死神经

功能缺损评估及预后,旨在为临床上评估ACI患者的神经功能缺损程度以及预后结果提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2021年12月于青岛市城阳区人民医院急诊内科就诊的96例ACI患者作为观察对象,并按照美国国立卫生院神经功能缺损评分(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)评估病人神经功能^[5]。将观察组患者分为轻度组(<4 分, $n=33$),中度组(4~15分, $n=40$),重度组(>15 分, $n=23$);在取栓治疗半年后,对研究对象进行随访,按照改良Rankin量表^[6]进行评分,将患者分为预后不良组(<3 分, $n=35$)和预后良好组(≥ 3 分, $n=61$)。纳入标准:①符合ACI的相关诊断标准^[7];②首次发病;③ ≥ 18 岁;④梗死部位为大脑皮层。排除标准:①合并精神类疾病;②合并心肺功能障碍;③颅内占位、脑出血患者;④血液疾病者。本研究经青岛市城阳区人民医院伦理委员会审批通过。全部患者均签署知情同意书。

1.2 方法

抽取研究对象清晨空腹静脉血6 mL,分为两

份,一份置于肝素锂抗凝管中,在3 000 r/min,半径10 cm的条件下离心15 min。取血浆待检,H-FABP、VEGF水平采用酶联免疫吸附法检验,试剂盒购自德国罗氏公司,按照说明书严格操作。一份直接采用全自动血细胞分析仪(型号SYSMEX XE-5000,厂商:日本东亚公司)检测血浆中性粒细胞以及淋巴细胞,并计算NLR。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件处理数据,呈正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t/F 检验进行分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验进行分析;采用Spearman分析H-FABP、NLR、VEGF与ACI患者神经功能缺损程度的相关性;采用多因素Logistic回归分析ACI患者预后不良的独立影响因素,并采用受试者工作(ROC)曲线分析H-FABP、NLR、VEGF对ACI患者预后不良的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 比较不同神经功能缺损程度患者的H-FABP、NLR、VEGF水平

三组的H-FABP、NLR水平比较为:重度组>中度组>轻度组,三组的VEGF水平比较为:重度组<中度组<轻度组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 不同神经功能缺损程度患者的H-FABP、NLR、VEGF水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	H-FABP($\mu\text{g/L}$)	NLR	VEGF(pg/L)
轻度组	33	11.51 \pm 2.78	2.01 \pm 0.41	371.05 \pm 20.73
中度组	40	16.27 \pm 3.69 ^a	2.59 \pm 0.39 ^a	331.47 \pm 18.62 ^a
重度组	23	19.83 \pm 3.12 ^{ab}	2.98 \pm 0.40 ^{ab}	315.33 \pm 17.56 ^{ab}
<i>F</i> 值		45.928	42.396	66.335
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度组相比,^a $P < 0.05$;与中度组比,^b $P < 0.05$ 。

2.2 比较预后不良组和预后良好组的H-FABP、NLR、VEGF水平

预后良好组的H-FABP、NLR水平明显低于预后不良组,VEGF水平明显高于预后不良组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 H-FABP、NLR、VEGF水平与ACI患者神经功能缺损程度的相关性

Pearson相关性分析显示,H-FABP、NLR、

表2 预后良好组及预后不良组H-FABP、NLR、VEGF水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of H-FABP, NLR and VEGF levels between groups with good prognosis and those with poor prognosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	H-FABP($\mu\text{g/L}$)	NLR	VEGF(pg/L)
预后良好组	61	12.47 \pm 2.66	2.18 \pm 0.30	591.74 \pm 21.79
预后不良组	35	20.74 \pm 3.71	3.01 \pm 0.27	226.98 \pm 20.64
<i>t</i> 值		12.657	13.520	81.667
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

VEGF水平均与ACI患者神经缺损程度呈正相关($r=0.556, 0.674, -0.701, P < 0.05$)。

2.4 影响ACI患者预后不良的多因素Logistic回归分析

以患者治疗后半年时的日常生活能力评分分组(预后不良=0,预后良好=1)作为因变量,以H-FABP、NLR、VEGF作为自变量进行多因素Logistic回归分析。Logistic回归分析结果显示,H-FABP、NLR、VEGF为ACI患者预后不良的独立影响因素($P < 0.05$)。见表3。

表3 影响ACI患者预后不良的多因素Logistic回归分析
Table 3 Multivariate Logistic Regression Analysis of Affecting Poor Prognosis of ACI Patients

指标	β 值	SE值	WALD值	OR值	95% CI	<i>P</i> 值
H-FABP($\mu\text{g/L}$)	1.023	0.435	5.531	2.782	1.186-6.525	0.019
NLR	0.437	0.212	4.249	1.236	1.022-2.346	0.039
VEGF(pg/L)	1.366	0.471	8.411	0.255	0.101-0.642	0.004

2.5 H-FABP、NLR、VEGF单独检测和联合检测预测ACI患者预后不良的价值

ROC曲线分析显示,H-FABP、NLR、VEGF单独检测和联合检测预测ACI患者预后不良对应的AUC为0.754、0.769、0.733、0.901。联合预测的价值高于H-FABP、NLR、VEGF单独检测对ACI患者预后不良的预测价值。见表4、图1。

表4 H-FABP、NLR、VEGF对ACI患者预后不良的预测价值

Table 4 Predictive value of H-FABP, NLR and VEGF for poor prognosis of ACI patients

指标	临界值	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	AUC	95% CI
H-FABP($\mu\text{g/L}$)	13.31	0.343	65.97	68.29	0.754	0.710-0.799
NLR	2.43	0.443	74.36	69.93	0.769	0.709-0.811
VEGF(pg/L)	267.98	0.308	66.62	64.17	0.733	0.687-0.806
联合检测		0.555	80.15	75.39	0.901	0.873-0.965

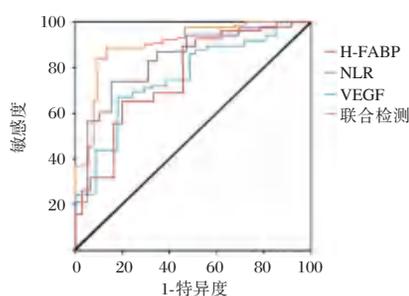


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

ACI作为常见的脑血管疾病,其发病率主要占脑血管疾病总发病率的60%~80%,并且ACI在致死原因与致残原因中分别排列在第三位和第一位,ACI的防治形势较为严峻^[8]。目前临床上诊断脑梗死的方法主要有CT扫描、头颅磁共振扫描以及脑血管造影,但上述方法均有缺点,因此寻找简便、快捷的血清学指标早期识别ACI患者的神经缺损程度,并且及时干预治疗,有利于ACI患者预后的改善^[9]。

H-FABP作为脂肪酸相关的代谢因子,能够对脂肪酸进入线粒体的能力产生影响并且加剧短链脂肪酸的蓄积,使得炎症细胞趋化,聚集在病变部位,使得脑组织的局部功能受到影响。NLR作为一种较易获得的标志物,整合了中性粒细胞非特异性炎症和淋巴细胞免疫调控的信息,与脑血管疾病具有密切关系,与患者的炎症反应的严重程度呈正相关。VEGF与ACI之后新血管形成的过程具有一定的关系,具有多种生物学活性,例如神经保护、增加血管通透性以及促进血管扩张等。本研究结果显示,H-FABP、NLR水平在神经功能缺损程度不同的患者中表达水平为:轻度组<中度组<重度组,VEGF水平在神经功能缺损程度不同的患者中表达水平为:轻度组>中度组>重度组,并且H-FABP、NLR均与ACI患者神经功能缺损程度呈正相关,VEGF与ACI患者神经功能缺损程度呈负相关。考虑可能原因为:其一,H-FABP与脑组织神经功能信号的传导密切相关,当脑组织缺血时,其血脑屏障会遭到破坏,使得神经细胞内的H-FABP穿过血脑屏障而在血清中高水平表达,而由于脑组织中的H-FABP大量减少,使得脑组织的神经系统损伤^[10]。李桂华等^[11]研究表示H-FABP水平的变化能够在一定程度上反应ACI患者神经

功能缺损程度,与本研究结果一致。其二,有研究表明中性粒细胞水平降低能够抑制血肿周围神经细胞的凋亡,从而改善神经功能,但其浸润至出血部位后会损伤细胞,加重脑损伤的程度,同时淋巴细胞能够作为免疫识别的指标。NLR为这两个指标的比值,其平衡一旦被打破,机体的炎性反应可能会加重,NLR上升说明中性粒细胞的相对增加以及淋巴细胞的相对减少,可能会出现轴突损伤、血脑屏障渗漏的现象加剧并出现短暂性的免疫缺陷,加剧神经损伤程度。其三,VEGF作为血管生成肽,能够在血管内皮区与其受体结合,使得脑组织缺血区血管内皮细胞数量增加,促进神经细胞生长微环境的改善,并且缓解周围神经元以及神经胶质细胞的损伤,使得神经功能缺损程度降低^[12]。

本研究结果显示,ACI患者预后不良的独立影响因素为H-FABP、NLR、VEGF。ROC曲线分析结果显示,H-FABP、NLR、VEGF以及联合检测预测ACI患者预后不良的曲线下面积分别为0.754、0.769、0.733、0.901,具有较高的预测价值。考虑可能原因为:其一,H-FABP水平的上升可能激活炎症信号NF- κ B,也可能加剧高血脂诱导氧化应激反应的加剧,使得ACI病情进展,体内血脂成分代谢利用率提高,加剧患者的代谢紊乱现象,使得预后较差^[13]。其二,中性粒细胞会释放出损伤血-脑脊液屏障的中性粒细胞外诱捕网,且其中一部分成分会加剧脑出血的现象导致再灌注损伤。并且ACI的发生使得机体发生免疫抑制,使得炎症反应失控,对脑损伤具有加重的作用,使得患者预后较差^[14]。其三,VEGF有利于缺血组织侧支循环的重建,并且能够促进血管内皮细胞的增殖,有利于患者的预后^[15]。

综上所述,H-FABP、NLR、VEGF均与ACI患者的神经功能缺损程度具有密切关系,且H-FABP、NLR、VEGF联合检测对ACI患者预后不良具有较高的价值,可为临床诊治提供参考。

参考文献

- [1] 王兴萍,岳学静,程度,等.单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值评估高血压患者并发性脑梗死预后价值[J].华南预防医学,2020,46(1):66-68.
- [2] Ye XD, He Y, Wang S, et al. Heart-type fatty acid binding protein (H-FABP) as a biomarker for acute myocardial injury and long-term post-ischemic prognosis [J]. Acta Pharmacol Sin, 2018,39(7):1155-1163.

- [3] 高云, 巩涛, 王东玉. NLR、PLR、NT-proBNP 水平与急性脑梗死严重程度及短期临床预后的相关性研究[J]. 中国医学创新, 2022, 19(2): 5-10.
- [4] 梁国聪, 陈军, 潘剑罡, 等. VEGF、BDNF、IL-12 与急性脑梗死神经功能康复的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(12): 1986-1989.
- [5] 郑莹莹, 陈涛, 吴佳力, 等. 联合检测缺血性脑卒中患者血清 Hcy 和 NSE 水平与神经功能缺损程度的关系研究[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(1): 1-3.
- [6] 李茂新, 乐灵丹, 赵宏宇. 中性粒细胞与淋巴细胞比值和血小板与淋巴细胞比值对急性脑梗死患者预后的预测价值研究[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(6): 531-535.
- [7] 彭斌, 吴波. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.
- [8] 梁菊萍, 杨旸, 董继存. 急性脑梗死患者流行病学调查及危险因素[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(12): 2484-2487.
- [9] Zhang W, Cheng J, Zhang Y, et al. Analysis of CT and MRI Combined Examination for the Diagnosis of Acute Cerebral Infarction[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2019, 29(9): 898-899.
- [10] 吴芳, 刘悦, 蔡志友. 急性脑梗死患者神经功能缺损程度与血清 H-FABP、CD62P 水平的关系[J]. 卒中与神经疾病, 2018, 25(2): 142-145+149.
- [11] 李桂华, 曹本玥. PA、hs-CRP、ox-LDL 及 H-FABP 与 ACI 患者神经功能缺损程度的关系[J]. 医学信息, 2021, 34(16): 112-114.
- [12] 杨鑫, 彭涛, 刘婷, 等. 脑小血管病患者中血管内皮生长因子、超敏 C 反应蛋白水平与临床症状及神经功能受损的关系[J]. 实用医院临床杂志, 2021, 18(5): 137-140.
- [13] 孙娜, 马先军, 肖辉, 等. 血清 sICAM-1、VEGF 在缺血性脑卒中致血管性痴呆患者中的表达及临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(13): 15-20.
- [14] 吴章松, 陈然, 徐菲, 等. NLR、PLR、hs-CRP、Hb、D-D 与急性脑梗死非溶栓治疗后出血性转化的相关性分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(1): 22-25.
- [15] 王军芳, 白慧, 马献清. 急性脑梗死病人血清 VEGF、bFGF 及侧支循环评分与预后的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(22): 3979-3981.

(上接第 517 页)

- [11] 周娟娟, 王翠琴, 朱胜康, 等. 缺血性脑卒中复发的影响因素及其预测模型构建: 基于五年的随访数据[J]. 实用心肺血管病杂志, 2022, 30(2): 13-17.
- [12] Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, et al. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: 2019 Update to the 2018 Guidelines for the Early Management of Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association[J]. Stroke, 2019, 50(12): e344-e418.
- [13] 伍振富, 黎冠东, 刘根, 等. Trevo 支架取栓治疗前循环急性缺血性脑卒中中的疗效分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(15): 1682-1688.
- [14] 匡俊鑫. 血 Lp(a)、Hcy、UA 水平与青年急性缺血性脑卒中关系的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2021.
- [15] 张坦, 罗毅, 张强. 急性缺血性脑卒中患者血清淀粉样蛋白 A、脂蛋白磷脂酶 A2、同型半胱氨酸水平变化及临床意义[J]. 中国医药导报, 2019, 16(23): 77-81.
- [16] 葛冰磊, 俞善春, 金纪伟. 急性缺血性脑卒中患者血清 Hcy、GAL3、MCP-1 表达及其临床意义[J]. 中国医师杂志, 2019, 21(6): 893-897.
- [17] 刘爱芹, 岳冬雪, 张津溶, 等. 不同 mRS 评分的急性缺血性脑卒中患者血清 PTX3、GAL3、Npt 水平[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(21): 4617-4619.
- [18] 孙小雪, 王金玉, 董桂君, 等. 血清 Vaspin 水平与缺血性脑卒中的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(4): 352-355.

(上接第 521 页)

- [9] 吴章松, 陈然, 徐菲, 等. NLR、PLR、hs-CRP、Hb、D-D 与急性脑梗死非溶栓治疗后出血性转化的相关性分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(1): 22-25.
- [10] 夏熠, 李道博, 王运松, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值对非瓣膜病心房颤动患者射频消融围术期抗凝出血风险的预测价值[J]. 临床心血管病杂志, 2020, 36(1): 55-59.
- [11] 周庄, 张建东, 刘秀梅. 红细胞分布宽度对心房颤动病人华法林抗凝出血风险的预测价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(2): 321-325.
- [12] 付源, 李奎宝, 杨新春. 红细胞分布宽度与老年非瓣膜性心房颤动患者左心耳血栓状态的相关性[J]. 中华心血管病杂志, 2019, 47(12): 974-978.
- [13] 裘存新, 胡剑平, 余琳, 等. RDW 对高血压并发房颤的诊断预测[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(8): 1026-1029+1043.
- [14] 周润露, 赵雅静, 莫金鑫, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值与心血管病相关性的研究现状[J]. 内科, 2021, 16(4): 496-499.
- [15] 郭贺杰, 林刚, 陆丽, 等. 红细胞分布宽度对老年阵发性非瓣膜性房颤病人导管消融术后服用达比加群酯出血事件的预测价值[J]. 实用老年医学, 2020, 34(7): 683-686.

血清乳酸、降钙素原、内毒素对脓毒症及感染性休克预后的预测价值

孟鹏飞* 石正松 陈亚君 赵志强 张定成 王德昌

[摘要] 目的 探究乳酸(Lac)、降钙素原(PCT)、内毒素(ETX)在血清中的水平对脓毒症及感染性休克预后的预测价值。方法 选取郑州市第一人民医院2019年2月至2022年2月收治的脓毒症患者和感染性休克患者103例作为研究对象,根据病情程度分为单纯脓毒症组(65例)、感染性休克组(38例)。对比两组血清Lac、PCT、ETX水平, Spearman相关性系数分析各血清指标与脓毒症和感染性休克病情程度的相关性。随访28 d,判定两组预后情况,对比不同预后患者血清Lac、PCT、ETX水平,受试者工作特征(ROC)曲线分析三者单独及联合预测预后的价值。结果 感染性休克组血清Lac、PCT、ETX水平高于单纯脓毒症组,差异有统计学意义($t=13.815, 5.740, 5.945, P<0.05$);血清Lac、PCT、ETX与脓毒症病情程度呈正相关($r=0.784, 0.626, 0.701, P<0.05$);单纯脓毒症组、感染性休克组死亡者血清Lac、PCT、ETX水平高于生存者($t=3.876, 3.806, 4.056, 3.413, 3.001/4.188, P<0.05$);血清Lac、PCT、ETX联合预测单纯脓毒症预后、感染性休克预后的AUC值分别为0.878、0.858,均大于各指标单独检测0.802、0.810、0.748、0.813、0.794、0.714($P<0.05$)。结论 脓症患者存在血Lac、PCT、ETX高表达情况,且与病情程度、预后关系密切,联合检测可为临床评价病情程度及预后提供客观依据,指导制定治疗方案。

[关键词] 乳酸;降钙素原;内毒素;脓毒症;感染性休克

Prognostic value of serum lactate, procalcitonin and endotoxin on the prognosis of sepsis and septic shock

MENG Pengfei*, SHI Zhengsong, CHEN Yajun, ZHAO Zhiqiang, ZHANG Dingcheng, WANG Dechang (SICU, Zhengzhou First People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of serum levels of lactate (Lac), procalcitonin (PCT) and endotoxin (ETX) in sepsis and septic shock. **Methods** A total of 103 patients with sepsis and septic shock admitted to the First People's Hospital of Zhengzhou from February 2019 to February 2022 were selected as research objects. According to the severity of the disease, they were divided into the simple sepsis group (65 cases) and the septic shock group (38 cases). Serum Lac, PCT and ETX levels were compared between the two groups. Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation between serum indicators and the severity of sepsis and septic shock. After 28 days of follow-up, the prognosis of the two groups was determined, the serum Lac, PCT and ETX levels of patients with different prognosis were compared, and the value of individual and combined prediction of the three groups was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Serum Lac, PCT and ETX levels were higher in the infected shock group than in the simple sepsis group, with statistically significant differences ($t=13.815, 5.740, 5.945, P<0.05$). Serum Lac, PCT and ETX were positively correlated with the degree of sepsis ($r=0.784, 0.626,$

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20191123)

作者单位:郑州市第一人民医院 SICU,河南,郑州 450000

*通信作者:孟鹏飞, E-mail: zzyysicu@126.com

0.701, $P < 0.05$). Serum Lac, PCT and ETX levels were higher in the simple sepsis group, the serum Lac, PCT and ETX levels were higher in those who died than in those who survived ($t=3.876, 3.806, 4.056, 3.413, 3.001/4.188, P < 0.05$). The AUC values of serum Lac, PCT and ETX combined to predict the prognosis of simple sepsis and infectious shock were 0.878 and 0.858, respectively, which were greater than those of 0.802, 0.810, 0.748, 0.813, 0.794 and 0.714 for each indicator alone ($P < 0.05$). **Conclusion** Patients with sepsis have high blood expression of Lac, PCT, and ETX, which are closely related to the severity and prognosis of the disease. The combined detection can provide an objective basis for clinical evaluation of the severity and prognosis of the disease, and guide the formulation of treatment plans.

[KEY WORDS] Lactic acid; Procalcitonin; Endotoxin; Sepsis; Septic shock

脓毒症为ICU最常见、多发临床病症,是一种感染所致全身炎症反应综合征,其病情进展迅速,可进一步诱发感染性休克,死亡风险极高^[1]。目前临床主要采取急性生理与慢性健康评分(Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, APACHE II)系统评价脓毒症病情程度、预后,虽操作简便但易受评价者主观因素影响,缺乏客观性^[2]。革兰氏阴性菌(G⁻菌)是引起感染重要病菌,所生成内毒素(Endotoxin, ETX)是机体炎症反应关键触发剂,并介导一系列病理生理改变,在脓毒症发病、发展中发挥关键作用^[3];降钙素原(Procalcitonin, PCT)是降钙素前体物质,其表达关联于感染进展,可较好反映病情严重程度^[4];乳酸(Lactic acid, Lac)是机体糖代谢中间产物,可反映组织灌注不足、细胞缺氧程度,而脓毒症患者普遍存在组织灌注不良、氧供不足,无法满足代谢需求,表现血Lac异常升高^[5]。既往已有研究探讨血Lac、PCT、ETX与脓毒症病情程度间关系,但鲜见联合检测在预测预后中的应用,本研究对此探讨,旨在为临床评价预后提供参考依据。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取郑州市第一人民医院2019年2月至2022年2月收治的脓毒症患者和感染性休克患者103例作为研究对象,根据病情程度分为单纯脓毒症组(65例)、感染性休克组(38例)。纳入标准:符合脓毒症诊断标准^[6];发病时间 < 6 h;血液细菌培养阳性;患者或家属知情并签署同意书。排除标准:合并恶性肿瘤者;伴免疫系统或血液系统疾病者;哺乳及妊娠期女性;伴严重创伤者。两组年龄、性别、体质量指数、细菌培养结果、发病时间、病史等一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有

可比性。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

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

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

一般资料	单纯脓毒症组 ($n=65$)	感染性休克组 ($n=38$)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)	44.96±6.85	45.13±6.33	(0.125)	0.901
性别				
男	37(56.92)	22(57.89)	0.009	0.923
女	28(43.08)	16(42.11)		
体质量指数(kg/m ²)	20.96±1.12	21.21±1.09	(1.104)	0.272
细菌培养结果				
G ⁻ 菌感染	39(60.00)	23(60.53)	0.576	0.750
G ⁺ 菌感染	20(30.77)	13(34.21)		
混合感染	6(9.23)	2(5.26)		
病史				
高血压	13(20.00)	7(18.42)	0.038	0.845
高血脂	8(12.31)	4(10.53)	0.002	0.963
脑卒中	4(6.15)	1(2.63)	0.107	0.743
发病时间(h)	3.28±1.11	3.31±1.08	(0.134)	0.894

1.2 方法

入院详细记录神志、体温、脉搏、呼吸等生命体征,转入ICU 24 h内以非抗凝管取肘静脉血2 mL,离心(半径8 cm,转速3 500 r/min)15 min,取血清,以上海西塘生物科技有限公司Lac酶联免疫试剂盒测Lac水平、上海酶联生物科技有限公司PCT酶联免疫试剂盒、ETX酶联免疫试剂盒测PCT、ETX水平。操作由资深检验医师参考试剂盒说明步骤规范完成。随访28 d记录疾病转归(生存或死亡)。

1.3 统计学处理

使用SPSS 23.0软件进行数据分析。计量数据呈正态性分布以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述。组间比较用 t 检验。计数资料以 $n(\%)$ 描述,用 χ^2 检验。相关分析为Spearman相关检验。预测诊断价值分析为接收者工作特征曲线(ROC)分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 Lac、PCT、ETX 水平比较

感染性休克组血清 Lac、PCT、ETX 水平高于单纯脓毒症组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组血清 Lac、PCT、ETX 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of serum Lac, PCT and ETX levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Lac(mmol/L)	PCT(μ g/L)	ETX(Eu/mL)
感染性休克组	38	6.53 \pm 1.27	12.96 \pm 3.10	0.53 \pm 0.15
单纯脓毒症组	65	3.31 \pm 1.06	9.72 \pm 2.55	0.37 \pm 0.12
t值		13.815	5.740	5.945
P值		0.000	0.000	0.000

2.2 血清 Lac、PCT、ETX 与脓毒症病情程度的相关性

赋值病情程度哑变量为:1=单纯脓毒症组,2=感染性休克组,分别和血清 Lac、PCT、ETX 行 Spearman 相关性分析。结果发现:血清 Lac($r=0.784$)、PCT($r=0.626$)、ETX($r=0.701$)与脓毒症病情程度均呈正相关($P<0.05$)。

2.3 单纯脓毒症组不同预后患者血清 Lac、PCT、ETX 水平

单纯脓毒症组死亡者血清 Lac、PCT、ETX 水平高于生存者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 单纯脓毒症组不同预后患者血清 Lac、PCT、ETX 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum Lac, PCT and ETX levels in patients with different prognosis in the simple sepsis group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Lac(mmol/L)	PCT(μ g/L)	ETX(Eu/mL)
死亡者	14	4.28 \pm 1.17	10.87 \pm 1.58	0.48 \pm 0.13
生存者	51	3.04 \pm 1.03	9.40 \pm 1.19	0.34 \pm 0.11
t值		3.876	3.806	4.056
P值		0.000	0.000	0.000

2.4 感染性休克组不同预后患者血清 Lac、PCT、ETX 水平

感染性休克组死亡者血清 Lac、PCT、ETX 水平高于生存者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.5 血清 Lac、PCT、ETX 对单纯脓毒症预后预测价值

进一步探讨血清 Lac、PCT、ETX 对单纯脓毒症预后预测价值,如下:①各指标的单独应用:以单独脓毒症死亡患者为阳性样本,以单独脓毒症生存患者为阴性样本,建立 ROC 曲线诊断分析模

表4 感染性休克组不同预后患者血清 Lac、PCT、ETX 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of serum Lac, PCT and ETX levels in patients with different prognosis in the infectious shock group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Lac(mmol/L)	PCT(μ g/L)	ETX(Eu/mL)
死亡者	16	7.24 \pm 1.12	14.16 \pm 2.14	0.64 \pm 0.16
生存者	22	6.01 \pm 1.08	12.09 \pm 2.07	0.45 \pm 0.12
t值		3.413	3.001	4.188
P值		0.002	0.005	0.000

型。经分析知:三指标均具有较高的预后预测价值,AUC分别为0.802、0.810、0.748。②三指标的联合应用:采用SPSS软件的联合应用ROC理论模式(LogP模式:对各单独应用指标进行 Logistic 综合回归,再依据所得回归系数B,归一化加权计算并对应处理各样本资料,并据其进行联合应用的 ROC 分析)。结果:联合应用对单纯脓毒症预后预测价值:AUC为0.878,优于单一检测($P<0.05$)。见表5、图1。

表5 ROC 曲线分析对单纯脓毒症预后预测价值

Table 5 Predictive value of ROC curve analysis for prognosis of simple sepsis

指标	AUC(95% CI)	Z值	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)
Lac	0.802(0.671~0.959)	4.628	>3.52 mmol/L	85.71	70.59
PCT	0.810(0.701~0.936)	5.074	>10.49 μ g/L	71.43	76.47
ETX	0.748(0.621~0.901)	3.755	>0.38 Eu/mL	78.57	66.67
联合	0.878(0.819~0.941)	7.540		71.43	90.20

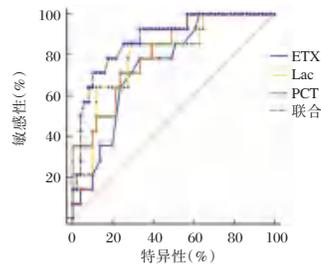


图1 预测价值

Figure 1 Predictive value

2.6 血清 Lac、PCT、ETX 对感染性休克预后预测价值

仍参考前述 ROC 分析方法,以感染性休克死亡患者为阳性样本,以感染性休克生存患者为阴性样本,分别进行 ROC 分析并绘制血清 Lac、PCT、ETX 单独及联合预测感染性休克预后的 ROC 曲线,结果显示均有较高的预测价值,其 AUC 分别为 0.813、0.794、0.714 及 0.858。联合检测 AUC 值高于单一检测($P<0.05$)。见表6、图2。

表6 ROC曲线分析对感染性休克预后预测价值
Table 6 Prognostic value of ROC curve analysis for prognosis of infectious shock

指标	AUC(95% CI)	Z值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)
Lac	0.813(0.688~0.961)	4.576	>6.18 mmol/L	93.75	54.55
PCT	0.794(0.701~0.900)	3.883	>12.83 μg/L	87.50	68.18
ETX	0.714(0.518~0.984)	2.458	>0.49 Eu/mL	68.75	72.73
联合	0.858(0.793~0.929)	6.098		87.50	75.20

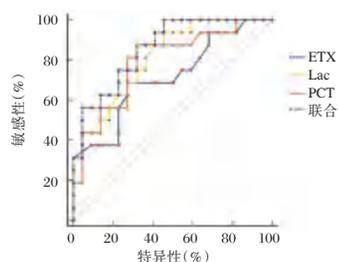


图2 预测价值

Figure 2 Prognostic value

3 讨论

尽管近年器官支持技术、抗感染疗法广泛应用于临床,但脓毒症病死率仍无实质性改观^[7]。早期能对脓症患者病情程度进行客观性评估,强化针对性治疗是改善预后的关键环节。

本研究显示,感染性休克组血清Lac、PCT、ETX水平高于单纯脓毒症组,与Liu Y, Yang、王军宇等^[8-9]研究结果近似,提示血清Lac、PCT、ETX水平变化可能与脓毒症病情进展有关,可为临床评价病情提供新方向。ETX可与单核细胞、巨噬细胞等效应细胞细胞膜上CD14、TLR4受体结合完成信号传导过程,激活机体一系列酶学反应介导肿瘤坏死因子、白介素等炎性介质发挥生物学效应,加重机体组织炎性损伤过程^[10]。健康群体外周血PCT水平极低,但机体感染细菌时,甲状腺以外组织大量生成PCT,且其水平不受免疫抑制状态影响,随感染进展,外周血PCT呈持续升高态势^[11]。相关研究显示,肝脏功能状态正常时,血清Lac水平越高,反映机体组织缺氧越严重^[12]。当发生脓毒症时,机体普遍存在组织氧供不足、灌注不良,甚至难以满足代谢需求,继而引起血清Lac水平升高,且伴随脓毒症病理生理进展过程,肝脏清除Lac能力大幅削弱,继而导致血清Lac水平进一步增加。Spearman相关性分析显示,血清Lac、PCT、ETX与脓毒症病情程度呈正相关,说明血清Lac、PCT、ETX水平与脓毒症病情进展关系密切。

此外,本研究进一步对比发现,预后死亡者血清Lac、PCT、ETX水平高于生存者。脓症患者血氧供给无法满足代谢需求,且随病理生理过程进展,肝脏清除Lac能力显著降低,体内Lac不断集聚引起机体酸中毒进一步加剧机体血氧供给障碍,形成恶性循环。Brazg等^[13]研究显示,脓毒症存活患者外周血Lac水平可在发病后48 h内恢复至正常水平,而死亡患者各时间点外周血Lac水平均高于存活患者。本研究结果与此一致。有学者研究了145例脓毒症休克患者发病前3 d的外周血Lac水平,结果提示,入院2 d内外周血Lac升高趋势对预测预后最有意义^[14]。本研究在患者转入ICU 24 h内即检测其血清Lac含量,ROC分析显示,血清Lac预测单纯脓毒症预后的AUC值为0.802,预测感染性休克预后的AUC值为0.813,敏感度均达85%以上,但特异度相对较低,单独应用血清Lac预测预后可能会引起过度治疗。另外,考虑脓症患者随抗菌治疗G⁺菌菌体死亡裂解,会释放ETX入血,因此外周血ETX所引起炎症反应最为强烈,有学者提出,外周血ETX对预测预后更具特异性^[15]。本研究显示,相对Lac、PCT,ETX无论预测单纯脓毒症预后,还是感染性休克预后,其AUC值均较低,分析可能是因本研究所选病例中还占有一定比例G⁺菌及混合感染患者,单独ETX检测存在局限性,而多种因子联合检测更符合临床实际。本研究显示,血清Lac、PCT、ETX联合预测单纯脓毒症预后、感染性休克预后的AUC值分别为0.878、0.858均大于单独检测。本研究也显示,任一血清Lac、PCT、ETX预测预后均存在敏感度或特异度低的问题,3种因子联合检测可发挥互补作用,有效提高预测价值。

综上所述,脓症患者存在血Lac、PCT、ETX异常表达情况,且与病情程度、预后关系密切,联合检测可为临床评价病情程度及预后提供客观依据,指导制定治疗方案。

参考文献

- [1] Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for the Management of Septic Shock and Sepsis - Associated Organ Dysfunction in Children[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2020, 21(2): e52-e106.
- [2] Luo L, Shaver CM, Zhao Z, et al. Clinical Predictors of Hospital Mortality Differ Between Direct and Indirect ARDS[J]. *Chest*, 2017, 151(4): 755-763.

(下转第535页)

老年 COPD 合并 RF 患者血清 CysC、IL-6、ACTA 水平变化及与病情急性发作和预后的相关性

马祥兵^{1*} 龙超² 郭健³

[摘要] 目的 探讨老年慢性阻塞性肺病(COPD)合并呼吸衰竭(RF)患者血清胱抑素(CysC)、白介素-6(IL-6)、激活素 A(ACTA)水平变化及与病情急性发作和预后的相关性。方法 选取2020年1月至2022年5月中国人民解放军联勤保障部队第904医院收治的132例老年 COPD 合并 RF 患者一般临床资料,分析对比不同疾病严重程度的老年 COPD 合并 RF 患者血清 CysC、IL-6、ACTA 水平,另记录患者出院3个月内急性发作再入院治疗率,将急性发作者纳入急性组,将未急性发作者纳入对照组,分析影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的危险因素,记录132例老年 COPD 合并 RF 患者预后,并分析血清 CysC、IL-6、ACTA 水平与预后的相关性。结果 CysC、IL-6、ACTA 水平:IV级>III级>II级>I级,差异有统计学意义($P<0.05$);经 Logistic 回归分析发现,CysC、IL-6、ACTA 是影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的独立危险因素($P<0.05$),将危险因素构建风险预测模型,CysC、IL-6、ACTA 三者联合对老年 COPD 合并 RF 急性发作中的预测敏感度 93.75%、特异度为 97.36%,AUC 为 0.969;预后良好组血清 CysC、IL-6、ACTA 水平显著低于预后不良组,差异有统计学意义($P<0.05$);相关性分析发现,血清 CysC、IL-6、ACTA 水平与老年 COPD 合并 RF 患者预后呈显著相关($P<0.05$)。结论 血清 CysC、IL-6、ACTA 是影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的重要因素,其水平的监测在改善患者预后中十分关键。

[关键词] 老年;慢性阻塞性肺病;呼吸衰竭;胱抑素;白介素-6;激活素 A

Changes of serum CysC, IL-6 and ACTA levels in elderly patients with COPD complicated with RF and their correlation with acute exacerbation and prognosis

MA Xiangbing^{1*}, LONG Chao², GUO Jian³

(1. Department of Rehabilitation and Pain, Changzhou Medical District, 904th Hospital of the People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Changzhou, Jiangsu, China, 213003; 2. Department of Internal Medicine, Changzhou Medical District, 904th Hospital of the People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Changzhou, Jiangsu, China, 213003; 3. Department of Respiratory Medicine, Changzhou Medical District, 904th Hospital of the People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Changzhou, Jiangsu, China, 213003)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes of serum cystatin (CysC), interleukin-6 (IL-6) and activin A (ACTA) levels in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) complicated with respiratory failure (RF), and their correlation with acute exacerbation and the prognosis. **Methods** A total of 132 elderly patients with COPD and RF who were admitted to 904th Hospital of the People's Liberation Army Joint Logistic Support Force from January 2020 to May 2022 were selected as the research subjects. Serum CysC, IL-6 and ACTA levels in patients with different severity were comparatively analyzed. The readmission rate due to acute exacerbation within 3 months after discharge was recorded. Patients with acute

基金项目:江苏省卫生计生委面上项目(H2020073)

作者单位:1. 中国人民解放军联勤保障部队第904医院常州医疗区康复疼痛科,江苏,常州 213003

2. 中国人民解放军联勤保障部队第904医院常州医疗区内科,江苏,常州 213003

3. 中国人民解放军联勤保障部队第904医院常州医疗区呼吸内科,江苏,常州 213003

*通信作者:马祥兵, E-mail:ma_xb1972@163.com

exacerbation were included in the acute group, and those without were included in the control group. The risk factors for acute exacerbation in elderly patients with COPD and RF were analyzed. The correlation between serum CysC, IL-6 and ACTA levels and the prognosis was analyzed. **Results** Serum CysC, IL-6 and ACTA levels increased as the severity increased from grade I, grade II, grade III to grade IV ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that CysC, IL-6 and ACTA were independent risk factors for acute exacerbation in elderly patients with COPD and RF ($P<0.05$). A risk prediction model was constructed based on these risk factors. The sensitivity, specificity and AUC of this model in predicting acute exacerbation of COPD with RF in the elderly were 93.75%, 97.36% and 0.969. Serum CysC, IL-6 and ACTA levels in the good prognosis group were significantly lower than those in the poor prognosis group ($P<0.05$). Correlation analysis showed that serum CysC, IL-6 and ACTA levels were correlated with the prognosis of elderly patients with COPD and RF ($P<0.05$). **Conclusion** Serum CysC, IL-6 and ACTA are important factors affecting the acute exacerbation in elderly patients with COPD and RF, and the monitoring of their levels is crucial to improve the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Elderly; Chronic obstructive pulmonary disease; Respiratory failure; Cystatin; Interleukin-6; Activin A

慢性阻塞性肺病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)患者多伴随有肺功能障碍,易引起不同程度高碳酸血症及低氧血症,诱发呼吸衰竭(respiratory failure, RF),而中老年人免疫功能均较差,疾病进展较快,一旦确诊需积极治疗^[1]。研究发现,COPD合并RF呈进行性发展,病因机制相对复杂,治疗周期较长,且病情极易反复发作,易引起全身性并发症,而急性发作者甚至可能引发致死性并发症,威胁生命安全^[2]。因此评估老年COPD合并RF患者病情进展是改善患者预后关键,血清学指标在其预后评估中有重要作用。血清胱抑素(cystatin, CysC)主要应用余肾功能评估中,研究发现CysC水平与肺动脉疾病、冠心病等密切相关^[3]。白介素-6(Interleukin-6, IL-6)是评估机体组织损伤及炎症的敏感性指标^[4]。激活素A(Activin A, ACTA)可参与机体炎症反应,其水平增加会进一步增加机体炎症^[5]。本研究就血清CysC、IL-6、ACTA与老年COPD合并RF急性发作期关系展开分析,探讨上述因素的应用价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年5月中国人民解放军联勤保障部队第904医院收治的132例老年COPD合并RF患者作为研究对象,纳入标准:①均符合COPD^[6]合并RF^[7]相关诊断标准;②近2个月未使用免疫抑制剂药物;③依从性较佳者;④患者或家属已签署知情同意书。排除标准:

①合并血液系统疾病者;②合并恶性肿瘤者;③严重感染者;④合并免疫功能缺陷者。其中男77例,女55例;年龄61~83岁,平均年龄(71.04±8.33)岁;病程6~26年,平均病程(16.37±2.58)年。本研究符合赫尔辛基宣言相关准则。

1.2 方法及观察指标

1.2.1 不同疾病严重程度患者血清CysC、IL-6、ACTA水平比较

依据文献^[6]对COPD合并RF严重程度进行评估:I级:FEV1预计值在80%以上;II级:FEV1预计值在50%~79%之间;III级:FEV1预计值在30%~49%;IV级:FEV1预计值在30%以下;对比分析不同严重程度患者血清CysC、IL-6、ACTA水平,抽取患者清晨空腹静脉血5 mL,离心后取血清,采用免疫比浊法检测血清CysC水平(试剂盒购自北京利德曼生化股份有限公司,注册编号:京械注准20172400747),采用免疫增强比浊法检测血清ACTA水平[试剂盒购自南京诺尔曼生物技术有限公司,注册编号:苏食药监械(准)字2012第2400696号],应用ELISA法检测血清IL-6水平(试剂盒购自上海科培瑞生物科技有限公司,货号为KPR-E11138)。

1.2.2 危险因素分析

依据文献^[8]评估急性发作:病情超越日常状况,且呈持续恶化,需要改变日常基础用药,且患者的喘息、气短、咳嗽加重,痰量增多,呈黏脓性、脓性,伴随发热症状。将急性发作者纳入急性组,将未急性发作者纳入对照组,对比分析两组一般资料,包括性别、吸烟史、年龄、BMI、PaO₂、

PaCO₂、COPD 病程,血清 CysC、IL-6、ACTA。

1.2.3 预测模型构建

将危险因素构建风险预测模型,探索危险因素在老年 COPD 合并 RF 急性发作中预测价值。

1.2.4 预后

预后良好组:患者经治疗后体征及临床症状得到改善,情况好转;预后不良组:患者经治疗后体征及临床症状无改善甚至加重,严重者经抢救无效死亡^[9]。分析血清 CysC、IL-6、ACTA 水平与老年 COPD 合并 RF 患者预后的相关性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件处理数据,计数资料

以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组内计量资料比较采用配对样本 t 检验,组间计量资料比较采用独立样本 t 检验,多组间计量资料采用 F 检验,两两比较应用 LSD- t 检验,多因素分析采用 Logistic 回归分析,采用 Spearman 分析相关性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同严重程度老年 COPD 合并 RF 患者血清 CysC、IL-6、ACTA 水平比较

CysC、IL-6、ACTA 水平:IV级>III级>II级>I级,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同严重程度老年 COPD 合并 RF 患者血清 CysC、IL-6、ACTA 水平比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 1 Comparison of serum CysC, IL-6 and ACTA levels among elderly patients with different severity of COPD and RF $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

组别	<i>n</i>	CysC(ng/L)	IL-6(pg/mL)	ACTA(pg/mL)	年龄(岁)	性别(男)
I 级	36	0.77±0.08	236.54±24.19	35.59±4.17	71.13±17.36	21(58.33)
II 级	46	0.94±0.12 ^a	273.64±28.11 ^a	41.25±4.33 ^a	71.25±17.62	26(56.52)
III 级	39	1.15±0.13 ^{ab}	304.26±32.59 ^{ab}	46.97±5.28 ^{ab}	70.98±18.47	22(56.41)
IV 级	11	1.37±0.15 ^{abc}	356.41±37.21 ^{abc}	51.58±6.37 ^{abc}	70.08±18.15	8(72.73)
<i>F</i> 值		300.587	329.294	7.652	2.564	1.059
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.057	0.787

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

2.2 急性组与对照组一般临床资料比较

两组性别、吸烟史、年龄、BMI、PaO₂、PaCO₂、COPD 病程比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但急性组血清 CysC、IL-6、ACTA 显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 急性组与对照组一般临床资料比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 2 Comparison of general clinical data between the acute group and the control group $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

	急性组 (<i>n</i> =48)	对照组 (<i>n</i> =84)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别(男/女)	29/19	48/36	0.135	0.714
吸烟史(%)	16(33.33)	29(34.52)	0.019	0.890
年龄(岁)	70.65±8.33	71.27±7.54	0.437	0.663
BMI(kg/m ²)	23.41±2.64	23.29±2.58	0.255	0.799
CysC(mg/L)	1.26±0.18	0.84±0.09	17.864	<0.001
IL-6(pg/mL)	294.56±31.65	270.84±28.61	4.407	<0.001
ACTA(pg/mL)	49.26±5.68	38.26±4.33	12.505	<0.001
PaO ₂ (mmHg)	68.33±7.14	69.25±7.16	0.711	0.478
PaCO ₂ (mmHg)	56.49±6.21	56.38±6.57	0.094	0.925
COPD 病程(年)	16.52±2.64	16.29±2.45	0.504	0.615

2.3 影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的危险因素分析

经 Logistic 回归分析发现,CysC、IL-6、ACTA

是影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的危险因素分析

Table 3 Risk factors for acute attack in elderly patients with COPD and RF

自变量	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
CysC	1.365	0.549	6.182	3.916	1.335~11.485	0.013
IL-6	1.547	0.628	6.068	4.697	1.372~16.085	0.014
ACTA	1.433	0.597	5.762	4.191	1.301~13.506	0.017

2.4 血清 CysC、IL-6、ACTA 水平在老年 COPD 合并 RF 急性发作中的预测价值

将上述危险因素构建老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的预测模型,概率 $P=1/[1 + e^{(1.365 \times \text{CysC} + 1.547 \times \text{IL-6} + 1.433 \times \text{ACTA})}]$,采用 ROC 曲线,得出上述因素在老年 COPD 合并 RF 急性发作中的预测敏感度 93.75%、特异度为 97.36%,AUC 为 0.969。见表 4、图 1。

2.5 血清 CysC、IL-6、ACTA 水平在老年 COPD 合并 RF 患者预后相关性分析

预后良好组血清 CysC、IL-6、ACTA 水平显著

表4 老年 COPD 合并 RF 急性发作预测模型

Table 4 Prediction model for acute attack of COPD complicated with RF in the elderly

自变量	敏感度 (%)	特异度 (%)	AUC	SE 值	95% CI	P 值
CysC	95.33	87.21	0.991	0.005	0.956-1.000	<0.001
IL-6	72.92	78.57	0.764	0.046	0.683-0.834	<0.001
ACTA	85.42	86.90	0.911	0.028	0.849-0.954	<0.001
预测	93.75	97.36	0.969	0.018	0.923-0.991	<0.001

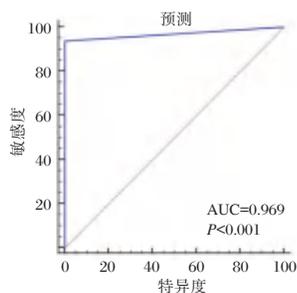


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

低于预后不良组,差异有统计学意义($P<0.05$),且相关性分析发现,血清 CysC、IL-6、ACTA 水平与老年 COPD 合并 RF 患者预后呈显著相关($P<0.05$)。见表 5、6。

表5 不同预后患者血清 CysC、IL-6、ACTA 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)Table 5 Comparison of serum CysC, IL-6 and ACTA levels between patients with different prognosis ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CysC (ng/L)	IL-6 (pg/mL)	ACTA (pg/mL)
预后良好组	39	0.56±0.07	260.12±28.47	30.17±4.56
预后不良组	93	1.17±0.14	287.58±31.54	47.33±6.27
t 值		25.848	4.693	15.449
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表6 血清 CysC、IL-6、ACTA 水平在老年 COPD 合并 RF 患者预后相关性分析

Table 6 Correlation analysis of serum CysC, IL-6 and ACTA levels and the prognosis of elderly patients with COPD and RF

指标	r 值	P 值
CysC	0.903	<0.05
IL-6	0.469	<0.05
ACTA	0.771	<0.05

3 讨论

COPD 患者在发病后会出现气流受限症状,发病率及病死率均较高。流行病学学数据显示,国内有四千万 COPD 患者,而每年因疾病致残率高达 25%,致死率高达 2.5%^[10],严重威胁患者生命及身

心健康。RF 为 COPD 常见合并症,是临床评估疾病进展严重的重要标志。有学者提出,COPD 的发生发展可能与机体炎症因子亢进、细胞因子浸润后引起肺组织破坏及气道功能受损有关。

ACTA 为多效性细胞因子,参与细胞增殖分化、炎症反应及肺纤维化发生、发展^[11]。CysC 分布在心脏、肺中,正常情况下相对稳定,当机体在受到炎症刺激后其水平会出现显著升高趋势^[12]。IL-6 为炎症水平标志物,在结合可溶性受体后可促进巨噬细胞分化、活化免疫细胞,进一步促进机体释放大量促炎细胞因子、趋化因子,损伤机体正常组织细胞及免疫系统稳态,加重病情^[13]。本研究结果发现,随着疾病进展,老年 COPD 合并 RF 患者血清 CysC、IL-6、ACTA 呈升高趋势,提示在临床治疗中可监测上述指标对疾病严重程度进行评估。分析原因,COPD 合并 RF 患者多伴随气流受阻,导致呼气时气体可能在肺部陷闭,而肺部过度充气增加内压,亦会引发不同程度高碳酸血症及低氧血症,促进炎症因子分泌,导致血清中 IL-6 及 CysC 水平升高;而机体炎症反应会加重对肺功能的损伤,促进机体合成 ACTA,加重病情^[14]。

进一步 Logistic 回归分析发现,CysC、IL-6、ACTA 是影响老年 COPD 合并 RF 患者急性发作的独立危险因素,提示临床可针对上述因素进行干预,降低急性发作风险。COPD 患者在出院时病情相对稳定,但也可能伴随不同程度低氧血症及高碳酸血症^[15]。本研究联合 CysC、IL-6、ACTA 构建模型,发现三者老年 COPD 合并 RF 患者急性发作风险中预测敏感度 93.75%、特异度为 97.36%,AUC 为 0.969,提示在临床治疗中监测血清 CysC、IL-6、ACTA 水平可对老年 COPD 合并 RF 患者急性发作预测提供有效价值,有望降低急性发作风险。本研究发现,预后良好组血清 CysC、IL-6、ACTA 水平显著低于预后不良组,且相关性分析发现,血清 CysC、IL-6、ACTA 水平与老年 COPD 合并 RF 患者预后呈显著相关。提示临床可叮嘱老年 COPD 合并 RF 患者出院后定期复查,监测血清 CysC、IL-6、ACTA 水平,一旦出现异常,应及时采取针对性措施。本研究中 IL-6 对老年 COPD 合并 RF 风险预测效能不及 CysC、ACTA,且 IL-6 与疾病预后相关性分析亦较 CysC、ACTA 更低,笔者推测,可能与研究样本量较少有关,将在后续扩大样本量进行验证。

综上所述,监测老年 COPD 合并 RF 患者血清 CysC、IL-6、ACTA 水平,可为疾病严重程度评估及降低 COPD 合并 RF 急性发作风险提供有效依据,三者水平变化与预后显著相关。

参考文献

- [1] 李萍,林桦,张爱丽,等.血清磷水平与老年慢性阻塞性肺疾病合并 II 型呼吸衰竭患者机械通气撤机结局的相关性分析[J].中华老年医学杂志,2020,39(6):613-617.
 - [2] Trethewey SP, Edgar RG, Morlet J, et al. Late presentation of acute hypercapnic respiratory failure carries a high mortality risk in COPD patients treated with ward-based NIV [J]. *Respir Med*, 2019,151(17):128-132.
 - [3] 陈玉群,肖叶,胡大碧,等.血清同型半胱氨酸,胱抑素 C 水平对 COPD 合并呼吸衰竭患者预后的影响[J].中国煤炭工业医学杂志,2020,23(3):293-298.
 - [4] 谢小兵,高云,牛灵,等.急性加重期和稳定期 COPD 患者血清 CRP,IL-6,PCT 及 BNP 水平变化[J].山东医药,2020,60(30):73-75.
 - [5] 卡迪丽娅·阿不都卫力,阿孜古丽·买买提吐尔逊,李敬萍,等. COPD 稳定期合并骨骼肌萎缩患者血清激活素 A,肌肉生长抑制素水平研究[J].浙江医学,2022,44(1):50-54.
 - [6] Mittal R, Chhabra SK. GOLD Classification of COPD: Discordance in Criteria for Symptoms and Exacerbation Risk Assessment[J]. *COPD*, 2017,14(1):1-6.
 - [7] 蔡柏蔷,李龙芸主编.《协和呼吸病学》第二版[J].国际呼吸杂志,2016,36(24):1881-1881.
 - [8] 卫生部.慢性阻塞性肺疾病诊疗规范(2011年版)(二)[J].全科医学临床与教育,2012,10(5):486-489.
 - [9] 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[J].中国医学前沿杂志(电子版),2014,6(2):67-80.
 - [10] 李静,毕煜玲,陈敏.急性加重期 COPD 合并呼吸衰竭患者 hs-CRP/Alb,CysC 与预后的相关性分析[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2020,15(3):311-314.
 - [11] 陆小华,张学会,沈静妍,等.氨茶碱与多索茶碱对老年慢性阻塞性肺疾病患者气道重塑及血清激活素 A、转化生长因子 $\beta 1$ 水平影响的对比研究[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(7):70-73.
 - [12] 唐丹丹,黄远东.降钙素原和炎症因子在 COPD 急性加重期病原鉴别诊断中的价值[J].内蒙古医科大学学报,2020,42(3):292-295.
 - [13] 李丽.慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压病人血清 CRP、CysC 和 ET-1 水平变化及临床意义[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(6):1051-1053.
 - [14] 李鋈璐,邢夏,刘洋,等.存在免疫抑制的 SCAP 患者血清 TNF- α 、IL-6 水平变化及其与病情严重程度相关性[J].山东医药,2022,62(6):16-20.
 - [15] 胡银霞,张丽,范锦秀.老年慢性阻塞性肺疾病病人肺功能指标变化以及危险因素分析[J].实用老年医学,2020,34(9):934-936.
-
- (上接第 530 页)
- [3] Skorup P, Maudsdotter L, Tano E, et al. Dynamics of Endotoxin, Inflammatory Variables, and Organ Dysfunction After Treatment With Antibiotics in an Escherichia coli Porcine Intensive Care Sepsis Model[J]. *Crit Care Med*, 2018,46(7):e634-e641.
 - [4] Wu CC, Lan HM, Han ST, et al. Comparison of diagnostic accuracy in sepsis between presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Intensive Care*, 2017,7(1):91.
 - [5] 尹燕燕,董秉生,姜利.降钙素原联合血乳酸水平预测脓毒症休克患者预后[J].中国感染与化疗杂志,2019,19(06):600-604.
 - [6] 中国医师协会急诊医师分会,中国研究型医院学会,休克与脓毒症专业委员会.中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J].临床急诊杂志,2018,19(9):567-588.
 - [7] LaRovere K, Tasker RC. Muscle Weakness After Sepsis in the Critically Ill: Identifiable and Functionally Remediable [J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2019,20(9):888-889.
 - [8] Liu Y, Yang W, Wei J. Guiding Effect of Serum Procalcitonin (PCT) on the Antibiotic Application to Patients with Sepsis[J]. *Iran J Public Health*, 2017,46(11):1535-1539.
 - [9] 王军宇,王宏伟,刘温馨,等.降钙素原和血乳酸及病情严重程度评分对脓症患者预后的评估价值[J].中华危重病急救医学,2019,31(8):938-941.
 - [10] Fujii T, Ganeko R, Kataoka Y, et al. Polymyxin B-immobilized hemoperfusion and mortality in critically ill adult patients with sepsis/septic shock: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis[J]. *Intensive Care Med*, 2018,44(2):279-280.
 - [11] Jacobs DM, Holsen M, Chen S, et al. Procalcitonin to Detect Bacterial Infections in Critically Ill Pediatric Patients [J]. *Clin Pediatr (Phila)*, 2017,56(9):821-827.
 - [12] Huang T, Zhu D, Yang Y, et al. Theoretical consideration on the prediction of in vivo toxicity from in vitro toxicity: Effect of bio-uptake equilibrium, kinetics and mode of action [J]. *Chemosphere*, 2019,221(1):433-440.
 - [13] Brazg J, Huang P, Weiner C, et al. Relocation of blood gas laboratory to the emergency department helps decrease lactic acid values[J]. *Am J Emerg Med*, 2018,36(11):2035-2037.
 - [14] 高雪花,李培杰,曹雯.中心静脉-动脉二氧化碳分压差与动脉-中心静脉氧含量差的比值联合乳酸清除率指导脓毒症休克早期复苏治疗[J].中华医学杂志,2018,98(7):508-513.
 - [15] 丁莉,胡怡倩,卞雯,等.炎症因子对重症肺部感染合并脓毒症患者预后的评估价值[J].中华医院感染学杂志,2019,29(16):2418-2421.

2019–2021年扬州市禽流感监测及职业暴露人群血清学分析

张有江¹ 周乐² 王寅² 张秀玲² 许蓉蓉² 卞宇旬² 黄瑶^{2*}

[摘要] **目的** 了解扬州市禽流感病毒(AIV)在外环境中的流行分布及职业暴露人群中暴露和感染情况,及时发现有公共卫生意义的AIV变异情况,为本地区禽流感疫情防控提供科学依据。**方法** 采集禽类外环境标本、猪呼吸道标本及禽、猪职业暴露人群血清,利用实时荧光PCR技术对外环境标本及猪呼吸道标本进行FluA及H5、H7、H9、N1、N2、N6、N9亚型检测,HI实验检测血清标本中的H5、H7和H9禽流感抗体。**结果** 禽相关外环境禽流感监测,2019—2021年共采集标本1 196份,FluA、H5、H9、N1、N2及N6阳性率分别为12.29%(147/1 196)、2.17%(18/1 196)、11.62%(139/1 196)、0.33%(4/1 196)、11.79%(141/1 196)及3.26%(39/1 196),未检测出H7和N9亚型,两种及以上HA或NA亚型AIV同时检出共有35例,阳性率达2.93%(35/1 196)。不同年份、场所、标本类型AIV阳性率比较差异均有统计学意义($\chi^2=118.28, 163.74, 285.74, P<0.05$)。AIV在2021年阳性检出率最高,达到30.63%(83/271);四类监测场所中,AIV在城乡活禽市场高发,检出率达到24.95%(126/505);六类标本类型中其他类型环境标本、宰杀或摆放禽肉案板表面的擦拭标本及清洗禽类的污水AIV阳性率超过50%。猪呼吸道标本监测,采集标本180份,未检测出AIV。禽与猪等职业暴露人群血清监测553份,未检测出H5、H7、H9禽流感抗体。**结论** 扬州市外环境中AIV阳性率较高,型别多样,易发生基因重组,感染人的风险较高,应积极采取综合性防控措施,降低本地区外环境AIV阳性检出率,减少人感染风险。

[关键词] 禽流感病毒;禽相关外环境;职业暴露人群;监测

Surveillance of avian influenza virus and serological analysis of occupationally exposure population in Yangzhou City from 2019 to 2021

ZHANG Youjiang¹, ZHOU Le², WANG Yin², ZHANG Xiuling², XU Rongrong², BIAN Yuxun², HUANG Yao^{2*}

(1. Guangling District Center for Disease Control and Prevention of Yangzhou City, Yangzhou, Jiangsu, China, 225001; 2. Yangzhou Center for Disease Control and Prevention, Yangzhou, Jiangsu, China, 225001)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the distribution of avian influenza virus in the poultry related environment and the infection of avian influenza virus in population with occupational exposure to avian influenza virus, and provide evidence for the prevention and control of human avian influenza in this area. **Methods** The poultry related environment samples, the respiratory tract samples of pigs and the serum of population with occupational exposure to poultry and pigs were collected. Real time fluorescence quantitative PCR was used to detect the nucleic acid of influenza A virus in the poultry related environment samples and the respiratory tract samples of pigs. The positive samples were tested for nucleic of subtype H5, H7, H9, N1, N2, N6 and N9. The antibodies to influenza A (H5N6), (H7N9) and (H9N2) viruses in the serum of population with occupational exposure were detected by erythrocyte agglutination inhibition test (HI). **Results** Avian

基金项目:江苏省人兽共患病重点实验室开放课题(R2001, R2002);扬州市科技计划项目(YZ2020121、YZ2020122)

作者单位:1.扬州市广陵区疾病预防控制中心,江苏,扬州 225001

2.扬州市疾病预防控制中心,江苏,扬州 225001

*通信作者:黄瑶, E-mail:21176208@qq.com

influenza surveillance in poultry-related external environment, a total of 1 196 samples were collected from 2019 to 2021, and the positive rates of FluA, H5, H9, N1, N2 and N6 were 12.29% (147/1 196), 2.17% (18/1 196), 11.62% (139/1 196), 0.33% (4/1 196), 11.79% (141/1 196) and 3.26% (39/1 196), H7 and N9 subtypes were not detected. Two or more HA or NA subtypes of AIV were detected simultaneously in 35 cases, with a positive rate of 2.93% (35/1 196). There were significant differences in the positive rate of AIV in different years, monitoring sites and sample types ($\chi^2=118.28, 163.74, 285.74, P<0.05$). AIV has the highest positive detection rate in 2021, reaching 30.63% (83/271); among the four types of surveillance sites, AIV is highly prevalent in urban and rural live poultry markets, with a detection rate of 24.95% (126/505). Among the six types of samples, the AIV positive rate of other types of environmental samples, wiped specimens on the cutting board surface of slaughtered or placed poultry meat, and sewage from washing poultry exceeded 50%. No AIV positive was detected in 180 samples of porcine respiratory tract. 553 samples of serum samples from occupationally exposed groups such as poultry and pigs were monitored, and no H5, H7, H9 avian influenza antibodies were detected. **Conclusion** The positive rate of avian influenza virus in poultry related environment in Yangzhou is high, the AIV types are diverse, the genetic recombination is prone to occur, and the risk of infecting people is high. Therefore, comprehensive prevention and control measures should be actively taken to reduce the positive detection rate of avian influenza in the external environment of the region and reduce human infection risk.

[KEY WORDS] Avian influenza virus; Poultry related environment; Population with occupational exposure; Surveillance

禽流感是由禽流感病毒(Avian Influenza Virus, AIV)感染禽类导致的一种急性呼吸道传染病,我国常见亚型为H5、H7、H9。AIV由于存在种属屏障和受体特异性,通常只感染禽类,但由于其分节段易变异的特点,在不断的传播复制过程中逐渐获得感染人的能力,目前已有不同亚型AIV感染人的病例报道^[1-3]。研究表明,禽类接触史是人感染AIV的重要因素^[4],一般认为禽类养殖、贩卖、屠宰加工等职业的暴露人群是感染禽流感病毒的高危人群。此外,猪被认为市人和禽流感病毒的混合器,使得病毒在人、禽、猪之间跨种传播比较普遍,所以猪呼吸道标本及职业相关暴露人群在禽流感风险监测中也是值得关注的。扬州地区地处里下河平原,水域众多,畜禽养殖业发达,为具有跨物种传播潜力的新型AIV出现和传播提供了适宜环境。为动态了解本地区AIV污染状况和感染现状,评估人感染AIV发生风险,本研究对2019—2021年扬州市禽相关外环境、猪呼吸道标本及职业暴露人群中禽流感病毒感染现状进行分析,报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本采集及保存

1.1.1 禽相关外环境禽流感监测

依照《江苏省职业暴露人群血清学和环境高

致病性禽流感监测方案》(2012)^[5]要求,在本市的城乡活禽市场、家禽规模养殖场(户)、家禽散养户集中地区、野生候鸟栖息地4类监测场所采集各类外环境标本,包括笼具表面擦拭标本、宰杀或摆放禽肉案板表面的擦拭标本、禽类粪便标本、清洗禽鸟类的污水标本及其他共6类不同类型标本。全年开展,每月一次,每次至少采集10份。

1.1.2 猪呼吸道标本禽流感监测

每年的3月和10月在猪集中屠宰场开展猪呼吸道标本的AIV监测采样,每次采样60份。

1.1.3 禽与猪相关职业人群禽流感病毒血清监测

每年3月、10月开展职业人群血清监测,采集职业人群血清每人3 mL。

1.2 标本保存及运送

禽流感外环境监测标本及猪呼吸道标本采用病毒保存液采样管采集标本并保存在4℃条件下,48 h内送至扬州市疾控中心流感网络实验室进行检测。血清标本采集后冻存在-20℃下,1月内上送江苏省疾控中心进行禽流感抗体检测。

1.3 实验室检测

1.3.1 禽流感病毒核酸检测

市疾控流感网络实验室收到标本后24 h内进行检测,实时荧光PCR检测甲型流感病毒(Influenza A virus, FluA),阳性标本进一步进行H5、H7和H9亚型及N1、N2、N6及N9分型检测。核酸提取

由浙江医脉赛生物科技股份有限公司生产的全自动核酸提取仪 Emagpure192 完成,试剂为配套核酸提取试剂盒。甲型流感病毒核酸检测试剂盒及流感病毒亚型 H5、H7、H9、N1、N2、N6 及 N9 分型试剂盒均为江苏硕世生物科技有限公司生产,荧光定量 PCR 仪(ABI 7500)购自美国 ABI 公司,反应条件具体见硕世试剂盒说明书。

1.3.2 禽流感抗体检测

血清样本上送江苏省疾控中心检测 H5、H7、H9 抗体水平,采用中国疾病预防控制中心病毒所提供的毒株(H5N6: A/Guangdong/18sf020/2018RG; H7N9: A/Hunan/02650/2016; H9N2: A/Anhui-Luijiang/39/2018Z)作为抗原,新鲜配置 1% 马红细胞悬液采用凝集抑制试验(erythrocyte agglutination inhibition test, HI)对职业暴露人群血清标本开展 AIV 抗体检测,按照监测方案中国家流感中心判读标准^[5],以 HI 滴度 ≥ 1 ; 160 判为阳性。

1.4 数据处理

使用 SPSS Statistic 22.0 建立数据库,采用描述性流行病学方法进行分析。计数资料用 $n(\%)$ 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 禽相关外环境禽流感监测

2.1.1 总体监测情况

2019 年 1 月—2021 年 12 月,扬州市禽相关外环境禽流感监测共采集标本 1 196 份,其中 A 型流感阳性标本 147 份,阳性率为 12.29%。进一步进行亚型检测, H5 和 H9 总阳性率分别为 2.17% (26/1 196) 和 11.62% (139/1 196), N1、N2、N6 总阳性率分别为 0.33% (4/1 196), 11.79% (141/1 196), 3.26% (39/1 196), 未检测出 H7 和 N9 亚型,两种及以上亚型禽流感病毒同时检出共有 35 例,阳性率达 2.93%。不同年份禽流感外环境阳性检出率比较差异存在统计学意义($\chi^2=118.28, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2019—2021 年扬州市禽相关外环境禽流感核酸检出情况 [$n(\%)$]

Table 1 Result of surveillance for avian influenza in poultry related environment in Yangzhou, 2019—2021 [$n(\%)$]

年份	标本例数	HA 亚型阳性数				NA 亚型阳性数						FluA 阳性数	χ^2 值	P 值	
		H5	H7	H9	H5+H9	N1	N2	N6	N9	N1+N2+N6	N1+N2				N2+N6
2019	538	7(1.3)	0(0)	34(6.32)	11(2.04)	0(0)	27(5.02)	5(0.93)	0(0)	2(0.37)	2(0.37)	16(2.97)	52(9.66)	118.28	<0.05
2020	387	0(0)	0(0)	12(3.1)	0(0)	12(3.1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	12(3.10)			
2021	271	2(0.74)	0(0)	75(27.68)	6(2.21)	0(0)	67(24.72)	1(0.37)	0(0)	0(0)	0(0)	15(5.54)	83(30.63)		
合计	1196	9(0.75)	0(0)	121(10.12)	17(1.42)	0(0)	106(8.86)	6(0.5)	0(0)	2(0.17)	2(0.17)	31(2.59)	147(12.29)		

2.1.2 禽相关外环境禽流感监测各亚型分布

外环境监测筛选出 147 份 A 型流感阳性标本,进一步进行 HA 亚型 H5、H7、H9 和 NA 亚型 N1、N2、N6、N9 的分型,检出 H9N2 106 例, H5N6 6 例,混合阳性标本 35 例。其中 H5、H9、N2、N6 混合阳性为 15 例, H9、N2、N6 阳性 13 例, H5、N2、N6 阳性 3 例; H5、H9、N1、N2、N6 阳性 2 例, H9、N1、N2 阳性 2 例。见图 1。

2.1.3 不同监测场所禽流感病毒检出情况

在监测的四类监测场所中,城乡活禽市场共采集标本 379 份,检出 126 份阳性,阳性率 24.95%; 家禽散养户共采集标本 82 份,检出 21 份阳性,阳性率 20.39%, 规模养殖户采集标本 388 份,野鸟栖息地采集标本 200 份,均未检测出 AIV 阳性。不同监测场所, AIV 阳性检出率比较差异有统计学意义($\chi^2=163.74, P < 0.05$)。见表 2。

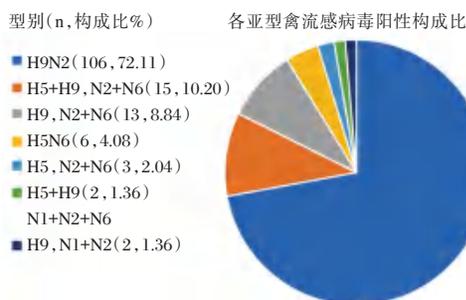


图 1 2019—2021 年扬州市禽相关外环境禽流感监测病毒亚型分布

Figure 1 Results of different subtypes of avian influenza virus detections of samples from poultry related environments in Yangzhou, 2019—2021

2.1.4 不同类型标本禽流感病毒检出情况

共采集了六类标本,包括笼具表面擦拭标本、宰杀或摆放禽肉的案板擦拭标本、禽粪便、清洗禽鸟类的污水、禽类饮水及其他类型。这六类标本均检测出了禽流感病毒阳性,其中检出率最高的

表2 2019—2021 扬州不同监测场所禽流感病毒检测结果 [n(%)]

Table 2 Results of avian influenza virus detections in different sites in Yangzhou, 2019—2021 [n(%)]

监测场所	标本例数	HA 亚型阳性数				NA 亚型阳性数						FluA 阳性数	χ^2 值	P值	
		H5	H7	H9	H5+H9	N1	N2	N6	N9	N1+N2+N6	N1+N2				N2+N6
城乡活禽市场	505	9(1.78)	0(0)	101(20.00)	16(3.17)	0(0)	86(17.03)	6(1.19)	0(0)	2(0.40)	2(0.40)	30(5.94)	126(24.95)		
规模养殖户	388	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)		
家禽散养户	103	0(0)	0(0)	20(19.42)	1(0.97)	0(0)	20(19.42)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(5.54)	21(20.39)	163.74	<0.05
野鸟栖息地	200	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)		
合计	1 196	9(0.75)	0(0)	121(10.12)	17(1.42)	0(0)	106(8.86)	6(0.50)	0(0)	2(0.17)	2(0.17)	31(2.59)	147(12.29)		

标本类型为其他类型标本,这类标本采集了监测场所其他环境涂抹标本,包括地面、墙面、脱毛机、台面及市场污水等标本,检出率高达 67.92%,粪便

标本检出率最低,为 2.58%。见表 3。不同类型标本禽流感病毒检出率比较差异有统计学意义($\chi^2=285.74, P<0.05$)。

表3 2019—2021 扬州市不同类型标本禽流感病毒检出情况 [n(%)]

Table 3 Results of avian influenza virus detection in different types of samples in Yangzhou, 2019—2021 [n(%)]

标本种类	标本例数	HA 亚型阳性数				NA 亚型阳性数						FluA 阳性数	χ^2 值	P值	
		H5	H7	H9	H5+H9	N1	N2	N6	N9	N1+N2+N6	N1+N2				N2+N6
笼具表面擦拭标本	45	0(0)	0(0)	12(26.67)	0(0)	0(0)	12(26.67)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	12(26.67)		
宰杀或摆放禽肉的案板擦拭标本	57	1(1.75)	0(0)	25(43.86)	8(14.04)	0(0)	19(33.33)	0(0)	0(0)	0(0)	2(3.51)	13(22.81)	34(59.65)		
禽粪便	891	1(0.11)	0(0)	19(2.13)	3(0.33)	0(0)	17(1.91)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0.67)	23(2.58)	285.74	<0.05
清洗禽鸟类的污水	66	5(7.58)	0(0)	28(42.42)	4(6.06)	0(0)	24(36.36)	5(7.58)	0(0)	1(1.52)	0(0)	7(10.6)	37(56.06)		
禽类饮水	84	2(2.38)	0(0)	1(1.1)	2(2.38)	0(0)	1(1.19)	1(1.19)	0(0)	1(1.19)	0(0)	2(2.38)	5(5.95)		
其他(环境涂抹标本)	53	0(0)	0(0)	36(67.92)	0(0)	0(0)	33(62.26)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(5.66)	36(67.92)		
合计	1 196	9(0.75)	0(0)	121(10.12)	17(1.42)	0(0)	106(8.86)	6(0.50)	0(0)	2(0.17)	2(0.17)	31(2.59)	147(12.29)		

2.2 猪呼吸道标本检测

2019—2021 年在猪集中屠宰场所,共采集猪呼吸道标本 180 份,未检测出 AIV。

2.3 禽与猪相关职业人群禽流感病毒血清学监测

共采集禽与猪相关职业人群血清 533 份,2019 年采集 158 份,2020 年采集 237 份,2021 年采集 158 份,进行了 H5N6、H9N2 和 H7N9 禽流感抗体检测,未检测出禽流感抗体阳性。

3 讨论

2019—2021 年扬州市禽相关外环境 AIV 监测,每年都检出 AIV,除 2020 年检出率 3.10% 较低,2019 及 2021 年检出率均高于 2012—2018 年 AIV 平均检出率 8.38%^[6],2021 年最高达 30.63%,高于国内外多地的监测数据^[7-9]。尽管 2020—2021 年由于新冠疫情防控政策,监测采样一度中断而导致标本量不足,但监测数据仍表明扬州市外环

境中 AIV 流行一直处于活跃状态。

从监测的 AIV 亚型病原谱来看,扬州市流行 AIV 以 H9N2 为主, H5、H9 及 N1、N2、N6 多种亚型混合存在,为 AIV 基因重组创造了条件。与往年监测结果有所不同^[6],未检测出 H7N9 亚型,这可能得益于 2013 年人 H7N9 疫情出现后,卫生及农业部门采取的积极防控政策,该监测结果与浙江省 2016—2020 年监测结果较为一致^[10]。因为监测中 HA 和 NA 亚型检测的局限性,只检测了常规亚型,而没有检测所有的 HA 和 NA 亚型,与欧洲监测数据相比^[11],型别种类较少,本地区实际 AIV 亚型分布可能更为复杂,这有待于后续监测工作的进一步深入。

从监测的场所来看,城乡活禽市场 AIV 阳性检出率最高,其次为家禽散养户,规模养殖户与野鸟栖息地均未检测到阳性,这一结果和百色^[12]、临仓^[13]及五家渠^[14]等地区监测结果基本一致。活禽市场各类家禽聚集众多,来源复杂,极易造成

不同家禽之间不同亚型 AIV 的交叉感染,为 AIV 重组与变异创造了条件^[15],加之场所封闭,人员密集且流动性大,易发生 AIV 人际传播。家禽散养户主要是因为户主缺乏足够的免疫防护意识,家禽免疫率较低,散养家禽活动范围又较大,易造成交叉感染。规模养殖户的家禽免疫率较高,活动范围限制,极少发生感染。而野鸟监测自本市开展禽流感监测以来,一直未监测到阳性。本市 AIV 主要来源于活禽市场及家禽散养户。

从监测的标本种类来看,AIV 检出率从高到低为其他类型标本>宰杀或摆放禽肉的案板>清洗禽鸟类的污水>擦拭笼具表面>禽类饮水>禽类粪便,与全国各地监测结果基本一致^[10,12-14]。本研究较其他监测多了其他类型标本,这类标本为活禽市场其他环境涂抹标本,包括地面、墙面、脱毛机、台面及市场污水等标本,阳性率高达 67.92%,宰杀或摆放禽肉的案板阳性率及清洗禽鸟类的污水阳性率也大于 50%。可见活禽市场卫生堪忧,职业暴露人群卫生情况不佳,暴露风险较大,开展职业暴露人群禽流感抗体监测,掌握职业暴露人群的感染情况就显得十分必要。

猪呼吸道标本由于新冠疫情的影响,3 年仅采样了 180 份,并采自同一家集中屠宰场,采样点的单一及采样频次过少使得阴性结果不具有代表性,将在今后监测中扩大采样布点,加大采样力度,提高监测质量。

禽与猪相关职业暴露人群血清监测共采集血清 553 份,未检测出 H5N6、H7N9、H9N2 禽流感抗体,和郑州市监测结果一致^[7]低于浙江地区^[10]研究结果,虽未发现 AIV 隐性感染,但这并不意味着本地区禽流感人际传播的风险不存在,事实是 2021 年底,本地区已有人感染 H9N2 禽流感病例出现,同年外环境中 AIV 阳性率也为近十年来最高,大大增加了人感染 AIV 的风险。

综上所述,本地区 AIV 流行长年处于活跃状态,H9 亚型为主,多种亚型共同存在,易发生基因重组。城乡活禽市场及家禽散养户为主要污染源,监测标本中环境涂抹标本、宰杀摆放禽肉的案板及清洗禽鸟类的污水阳性率较高,应提高职业暴露人群自我防护意识,并加强城乡活禽市场的环境消杀,对排放污水进行消毒处理,降低活禽市场的 AIV 阳性检出率,从而降低本地区 AIV 人际传播风险。

参考文献

- [1] Chen P, Xie JF, Lin Q, et al. A study of the relationship between human infection with avian influenza A (H5N6) and environmental avian influenza viruses in Fujian, China [J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1):762.
- [2] Um S, Siegers JY, Sar B, et al. Human Infection with Avian Influenza A (H9N2) Virus, Cambodia, February 2021 [J]. Emerg Infect Dis, 2021, 27(10):2742-2745.
- [3] Tang RB, Chen HL. An overview of the recent outbreaks of the avian-origin influenza A (H7N9) virus in the human [J]. J Chin Med Assoc, 2013, 76(5):245-248.
- [4] Yassine HM, Lee CW, Saif YM. Interspecies Transmission of Influenza A Viruses Between Swine and Poultry [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2013, 370:227-240.
- [5] 江苏省卫生厅.关于印发江苏省职业暴露人群血清学和环境高致病性禽流感监测方案的通知(苏卫办应急[2012]3号)[EB/OL]. [2012-2-16].http://wjw.jiangsu.gov.cn/art/2012/2/16/art_7309_4423247.html.
- [6] 刘文俊,吴倩,周乐,等.2012-2018年扬州市禽流感职业暴露人群抗体及外环境监测结果分析[J].国际病毒学杂志,2019,26(6):361-364.
- [7] 李国伟,陈巧格,陈彦哲,等.郑州市2018-2019年禽流感职业暴露人群和外环境监测分析[J].医学动物防制,2021,37(10):947-950.
- [8] 余建,陈宇鸿.2016-2019年温岭市禽流感外环境监测结果分析[J].中国公共卫生管理,2021,37(2):211-213.
- [9] Deliberto TJ, Swafford SR, Nolte DL, et al. Surveillance for highly pathogenic avian influenza in wild birds in the USA [J]. Integr Zool, 2009, 4(4):426-439.
- [10] 楼秀玉,王欣莹,颜浩,等.2016-2020年浙江省禽类相关外环境禽流感病毒污染状况及职业暴露人群血清监测[J/OL].疾病监测:1-6[2022-09-11].http://43.143.174.75/kcms/detail/11.2928.R.20220805.1001.012.html.
- [11] Verhagen JH, Fouchier RAM, Lewis N. Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses at the Wild-Domestic Bird Interface in Europe: Future Directions for Research and Surveillance [J]. Viruses, 2021, 13(2):212.
- [12] 农胜钧,农智,邓积广,等.2014-2018年广西百色市禽流感外环境监测结果分析[J].应用预防医学,2020,26(5):370-373+378.
- [13] 李华昌,刘红兵,张汉菊,等.2014年-2019年临沧市外环境禽流感监测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2021,31(6):761-763+766.
- [14] 张宏伟,刘宪峰,张裴雯,等.五家渠市2013年-2021年涉禽外环境禽流感病毒监测结果[J].中国卫生检验杂志,2022,32(9):1131-1134.
- [15] Wei K, Li Y. Global genetic variation and transmission dynamics of H9N2 avian influenza virus [J]. Transbound Emerg Dis, 2018, 65(2):504-517.

基于高通量测序方法的伴随诊断试剂现状

李冉 方丽 徐超*

[摘要] 随着精准医疗和抗肿瘤药物的飞速发展,靶向治疗和免疫治疗的应用越来越广泛,通过伴随诊断试剂检测合适的生物标志物,筛选出对药物疗效更加敏感的患者,可以使患者在临床诊疗得到更加精准的治疗。目前应用高通量测序方法进行伴随诊断试剂检测的产品日益增多,本文对于国内外基于NGS方法的伴随诊断产品进行分析探讨,为相关产品的上市评价提供参考。

[关键词] 精准医疗;高通量测序;伴随诊断试剂

Current status of companion diagnostic reagents based on high-throughput sequencing methods

LI Ran, FANG Li, XU Chao*

(Center for Medical Device Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing, China, 100081)

[ABSTRACT] With the rapid development of precision medicine and antitumor drugs, the application of targeted therapy and immunotherapy is becoming more and more extensive. Monitoring suitable biomarkers through companion diagnostic reagents and screening patients who are more sensitive to drug efficacy can enable patients to clinical diagnosis and treatment get more precise treatment. At present, the number of products using high-throughput sequencing methods for companion diagnostic reagent detection is increasing, this review analyzes and discusses the companion diagnostic products based on NGS method, and provides a reference for the market evaluation of related products.

[KEY WORDS] Precision medicine; High-throughput sequencing; Companion diagnostic reagents

伴随诊断试剂^[1]通过检测肿瘤患者生物样本中生物标志物来为抗肿瘤药物的安全和有效使用提供重要信息,确定最有可能从相关药物治疗过程中受益的患者,最终实现提高相关治疗药物疗效,减轻不良反应,促进医疗资源的合理利用的作用。在伴随诊断试剂检测的基础上,可以对筛选出的肿瘤患者进行特异性的靶向治疗和免疫治疗等。国家卫生健康委员会办公厅印发的新型抗肿瘤药物临床应用指导原则(2021年版)^[2]明确指出,对于明确作用靶点的药物,须遵循靶点检测后方可使用的原则。检测所用的仪器设备、诊断试剂和检测方法应当经过国家药品监督管理部门批准,特别是经过伴随诊断验证的方法。不得在未做相关检查的情况下盲目用药。本文

将对基于高通量测序方法的伴随诊断试剂在美国和中国的批准情况以及临床证据进行分析,为我国基于高通量测序方法开发的伴随诊断试剂的开发提供参考。

1 中国和美国基于高通量测序的伴随诊断试剂审批概况

目前伴随诊断试剂检测靶点主要为基因检测,基因变异形式包括点突变、插入/缺失、融合、拷贝数变异等^[3]。常规检测方法包括荧光聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR),荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)等,随着技术的进步,检测方法不再局限于传统的聚合酶链式反应,高通量测序技术即下一

作者单位:国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心,北京100081

*通信作者:徐超, E-mail: xuchao@cmde.org.cn

代测序技术(Next-Generation Sequencing, NGS)能够实现几十万到几百万 DNA 分子同时进行平行测序^[4],其检测规模和通量大幅提高,可以一次性检测所有感兴趣的基因变异,弥补了传统方法多次检测中需要花费的大量检测时间和检测样本量的缺陷,涵盖广泛的检测靶标,在临床应用中有其自身优势^[5]。

本文探讨的基于 NGS 技术的伴随诊断试剂,截至 2022 年 11 月,中国国家药品监督管理局已批准 17 个产品。见表 1。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准 8 个产品。见表 2。以下将对境内外已批准基于 NGS 方法的伴随诊断产品进行分析,从产品检测靶标、肿瘤类型、样本类型、上市途径等方面进行探讨。

表 1 中国批准伴随诊断产品情况

Table 1 List of Approved Companion Diagnostic Products (NMPA)

产品名称	肿瘤类型	样本类型	靶基因
人 <i>EGFR/KRAS/BRAF/ALK/ROS1</i> 基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i>
人 <i>EGFR, BRAF, KRAS, ALK, ROS1</i> 基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i>
人 <i>EGFR/ALK</i> 基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK</i>
人类 9 基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i>
人 <i>KRAS/NRAS/BRAF/PIK3CA</i> 基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	结直肠癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>KRAS</i>
人类 10 基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌 结直肠癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本 石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i> <i>KRAS</i>
人 <i>EGFR/ALK/BRAF/KRAS</i> 基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK</i>
<i>EGFR/ALK/ROS1/BRAF/KRAS/HER2</i> 基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i>
人类 <i>BRCA1</i> 基因和 <i>BRCA2</i> 基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	卵巢癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>BRCA1 和 BRCA2</i>
人 <i>EGFR/KRAS/BRAF/PIK3CA/ALK/ROS1</i> 基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i>
人 <i>KRAS/BRAF/PIK3CA</i> 基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	结直肠癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>KRAS</i>
人 <i>KRAS/BRAF/PIK3CA</i> 基因突变检测试剂盒(可逆末端终止测序法)	结直肠癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>KRAS</i>
人 <i>EGFR/KRAS/ALK</i> 基因突变检测试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK</i>
<i>EGFR/KRAS/ALK</i> 基因突变联合检测试剂盒(联合探针锚定聚合测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK</i>
人 <i>EGFR/KRAS/BRAF/HER2/ALK/ROS1</i> 基因突变检测试剂盒(半导体测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK</i>
人类 8 基因突变联合检测试剂盒(半导体测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK</i>
人 <i>EGFR, KRAS, BRAF, PIK3CA, ALK, ROS1</i> 基因突变检测试剂盒(半导体测序法)	非小细胞肺癌	石蜡包埋(FFPE)的组织样本	<i>EGFR, ALK, ROS1</i>

1.1 肿瘤类型和检测靶标

2022 年中国国家癌症中心发布最新的癌症登记年度报告^[6]显示,我国 2016 年估计 406.4 万例新发癌症,约 241.35 万人死于癌症,平均每天超过 1.1 万人被诊断为癌症,男性癌症发病率从高到低依次为肺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌和食道癌等,女性依次为乳腺癌、肺癌、结肠直肠癌、甲状腺癌和胃癌等。其中肺癌是两性癌症死亡最常见的原因,男性癌症死亡率从高到低依次为肺癌、肝癌、胃癌、食道癌和结肠直肠癌等,女性依次为肺癌、胃癌、肝癌、结直肠癌和乳腺癌等。

目前国内已有将非小细胞肺癌,结直肠癌和卵巢癌患者作为目标人群的伴随诊断试剂,基本为针对单一癌种的基因检测,所用 NGS 检测平台包括可逆末端终止测序法、半导体测序法和联合探针锚定聚合测序法。对于非小细胞肺癌,具有明确伴随诊断意义的检测靶标为 *EGFR* 基因 19 外显子缺失和 L858R 点突变、*EGFR* 基因 T790M 点突变、*ALK* 重排/融合和 *ROS1* 重排/融合。对于结直肠癌,具有明确伴随诊断意义的检测靶标为 *KRAS* 基因。对于卵巢癌,具有明确伴随诊断意义的检测靶标为 *BRCA1* 基因和 *BRCA2* 基因。临床

表2 FDA批准伴随诊断产品情况

Table 2 List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (FDA)

产品名称	肿瘤类型	样本类型	靶基因
FoundationFocus CDxBRCA Assay	Ovarian Cancer	Tissue	<i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i>
Guardant360 CDx	Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	Plasma	<i>EGFR</i> ; <i>KRAS</i> ; <i>ERBB2 (HER2)</i>
Myriad myChoice CDx	Ovarian Cancer	Tissue	Myriad HRD
Praxis Extended RAS Panel	Colorectal cancer	Tissue	<i>KRAS</i> and <i>NRAS</i>
FoundationOne CDx	Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	Tissue	<i>EGFR</i> ; <i>ALK</i> ; <i>BRAF</i> ; <i>MET</i> ; <i>ROS1</i>
	Breast Cancer		<i>ERBB2 (HER2)</i> ; <i>PIK3CA</i>
	Colorectal Cancer		<i>KRAS</i> and <i>NRAS</i>
	Ovarian Cancer		<i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i>
	Cholangiocarcinoma		<i>FGFR2</i>
	Solid Tumors		<i>NTRK1</i> , <i>NTRK2</i> and <i>NTRK3</i> ; TMB;
	Metastatic Castrate Resistant Prostate Cancer (mCRPC)		Microsatellite instability-High (MSI-H)
	Melanoma		Homologous recombination repair (HRR) genes
FoundationOne Liquid CDx	Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	Plasma	<i>BRAF</i>
	Metastatic Castrate Resistant Prostate Cancer (mCRPC)		<i>EGFR</i> ; <i>MET</i> ; <i>ALK</i>
	Ovarian Cancer		<i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> ; <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> and <i>ATM</i>
	Breast Cancer		<i>PIK3CA</i>
ONCO/Reveal Dx Lung & Colon Cancer Assay (O/RDx-LCCA)	Colorectal Cancer	Tissue	<i>KRAS</i>
	Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)		<i>EGFR</i>
Oncomine Dx Target Test	Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	Tissue	<i>BRAF</i> ; <i>ROS1</i> ; <i>EGFR</i> ; <i>RET</i> ; <i>ERBB2 (HER2)</i>
	Cholangiocarcinoma		<i>IDH1</i>
	Medullary Thyroid Cancer (MTC)		<i>RET</i>
	Thyroid Cancer (TC)		<i>RET</i>

注:数据来源于FDA网站,详细信息见 <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools>。

应用中可以使用伴随诊断试剂筛选出能够从靶向治疗中获益的患者,给予患者个体化药物治疗方案,提高疾病诊治效益。

FDA已批准基于NGS方法的肿瘤药物伴随诊断产品包括针对单癌种、多癌种的检测。其中针对单癌种的产品有4个,包括FoundationFocus CDxBRCA Assay、Guardant360 CDx、Myriad myChoice CDx、Praxis Extended RAS Panel,针对多靶点多癌种的产品有4个,包括FoundationOne CDx、FoundationOne Liquid CDx、ONCO/Reveal Dx Lung & Colon Cancer Assay、Oncomine Dx Target Test。FDA批准的癌种和靶点更加多样,涉及非小细胞肺癌、结直肠癌、乳腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、胆管癌、转移性去势抵抗性前列腺癌、甲状腺癌等多种恶性肿瘤,涉及靶基因*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRCA1*和*BRCA2*、*HER2*、*KRAS*和*NRAS*、*BRAF*、*IDH1*、*PIK3CA*、*RET*、*FGFR2*、HRR、HRD等分别伴随单一肿瘤的不同治疗药物进行检测,另外FoundationOne CDx中TMB、MSI-H和*NTRK1/NTRK2/NTRK3*则作为实体肿瘤的伴随诊断试剂检测靶标获批。

1.2 样本类型

国内批准17个产品中,16个为体细胞突变检

测,均使用福尔马林固定石蜡包埋组织样本,另外有*BRCA1*和*BRCA2*检测为胚系突变,使用样本类型为外周血。我国2019年批准了采用荧光PCR方法的*EGFR*液体活检伴随诊断试剂上市,但尚无基于NGS方法的体细胞突变液体活检产品。

FDA于2020年相继批准Guardant360 CDx和FoundationOne Liquid CDx作为液体活检伴随诊断试剂上市,均使用血浆作为检测样本。

1.3 临床评价

我国国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心已于2021年和2022年分别发布了《抗肿瘤药物的非原研伴随诊断试剂临床试验注册审查指导原则》(2021年第95号)和《与抗肿瘤药物同步研发的原研伴随诊断试剂临床试验注册审查指导原则》(2022年第28号)^[7-8],指导原则对伴随诊断试剂与抗肿瘤药物同步研发的情形,以及抗肿瘤药物上市后开发的伴随诊断试剂的情形分别进行阐述,为国内伴随诊断试剂的临床研究提供路径参考。指导原则已明确与抗肿瘤药物同步开发的伴随诊断试剂,其临床证据主要为药物临床试验;在抗肿瘤药物上市后开发的伴随诊断试剂,可通过桥接试验,一致性比对研究、已上市抗肿瘤药物疗效的观

察性研究等多种途径验证产品的伴随诊断用途。

我国已批准 NGS 伴随诊断试剂主要提交两部分临床证据:一是临床性能的研究,采用参考方法或已上市同类产品评估其临床性能。二是伴随诊断用途的确认,基本为通过与原研伴随诊断试剂进行一致性研究或外部等效性研究。目前国内使用药物临床试验/桥接试验作为伴随诊断试剂伴随用途临床证据的获批产品较少,具备此种伴随诊断证据的产品多数尚在开发过程中。

FDA 批准产品主要采用药物临床试验/桥接试验作为产品上市的伴随诊断证据,部分位点采用外部一致性研究、回顾性研究等作为产品上市的临床证据。

2 对 NGS 伴随诊断产品的思考

NGS 技术具有高准确度,高通量,高自动化等优势,且随着技术不断改进,测序读长和测序深度也在不断的增加,NGS 技术在医学领域得到广泛应用,尤其在肿瘤分子诊断领域占有重要地位。基于基因检测技术,可以获得患者基因变异信息,为肿瘤患者的诊断治疗提供针对性指导。目前基于 NGS 技术的产品开发,涵盖广泛的检测靶标,产品较为复杂,在临床性能研究中逐一验证并不现实。

2.1 检测靶标的选择

肿瘤伴随诊断基因突变检测试剂对于有明确的伴随诊断用途的基因变异检测,如该基因针对相同伴随诊断用途已知有多种突变位点,则后续产品设计应结合产品风险受益分析充分考虑突变位点的覆盖程度,不应随意缩小位点的检测范围。

对于 NGS 伴随诊断试剂,应有明确的预期用途,一般来讲,应以某一癌种的人群作为产品适用人群,应包含具有明确伴随诊断意义的位点。对于具有显著临床意义的基因变异检测,应有相关的权威临床指南、诊疗规范等支持其临床意义的声称。

2.2 样本类型

国内 NGS 伴随诊断试剂以组织样本为主,已上市的基于荧光 PCR 方法的 *EGFR* 液体活检试剂说明书中已明确血浆样本适用于不能获取肿瘤活检结果的患者,采用血浆样本检测结果显示突变为阴性的患者应转到采用常规组织活检。

3 临床评价的考虑

对于肿瘤 NGS 伴随诊断产品的伴随诊断用途的确认,如有已上市的原研伴随诊断试剂,且相关

抗肿瘤药物已上市、临床应用广泛、意义明确、判读易于标准化并且临床应用多年的伴随诊断生物标志物,例如:对于非小细胞肺癌,可指导奥希替尼使用的 *EGFR* T790M 位点,可通过一致性比对,与 cobas® *EGFR* Mutation Test v2 进行一致性研究,对产品的伴随诊断意义进行验证。

如产品包含全新的具有伴随诊断意义的位点,则应采用药物临床试验/桥接试验进行伴随诊断意义的验证,例如:产品用于卵巢癌患者进行帕米帕利胶囊治疗的用药指导,使用了帕米帕利胶囊药物临床试验作为支持其伴随诊断用途的证据。

针对目前伴随诊断试剂产品的飞速发展,我们也相继制定了相关指导原则,但是指导原则的制订主要基于目前国内和国际对于伴随诊断试剂的认知和观点,不能完全解决该产品所面对的复杂情况,我们也希望后续行业的研究参与能够加深所有相关方对该类产品的认识,共同促进行业发展。

参考文献

- [1] U.S.FDA. Principles for Codevelopment of an In Vitro Companion Diagnostic Device with a Therapeutic Product, Draft Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff [EB/OL]. <https://www.fda.gov/media/99030/download>, 2016-07-15.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会网站. 国家卫生健康委办公厅关于印发新型抗肿瘤药物临床应用指导原则(2021年版)的通知[EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7659/202112/0fbf3f04092b4d67be3b3e89040d8489.shtml>, 2021-12-17.
- [3] 方丽,徐超,李冉,等. 美国 FDA 批准的伴随诊断试剂临床试验证据的分析与思考[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(5):679-682.
- [4] 侯英勇,钱梦佳,程韵枫,等. 基因检测在精准治疗中的应用与管理[J]. 中国临床医学, 2022, 29(1):7-10.
- [5] 高宇,吕允凤. 基于高通量测序的伴随诊断试剂临床评价方法及运用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 11(7):982-986.
- [6] Zheng RZ, Zhang SW, Zeng HM, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. JNCC, 2022, 2(1):1-9.
- [7] 国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心网站. 抗肿瘤药物的非原研伴随诊断试剂临床试验注册审查指导原则(2021年第95号)[EB/OL]. <https://www.cmde.org.cn/flfg/zdyz/zdyzwbk/20211202153351951.html>, 2021-12-01.
- [8] 国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心网站. 与抗肿瘤药物同步研发的原研伴随诊断试剂临床试验注册审查指导原则(2022年第28号)[EB/OL]. <https://www.cmde.org.cn/flfg/zdyz/zdyzwbk/20220711100756101.html>, 2022-06-28.

复旦大学附属中山医院青浦分院检验科

复旦大学附属中山医院青浦分院检验科位于上海市青浦区公园东路1158号。2015年11月成为青浦区区域临床检验中心，担辖区2家二级医院、12家社区卫生服务中心的临床检验工作，是一个集医、教、研为一体的综合性现代化实验室。2019年成为青浦区区医学重点学科，2021年通过ISO15189国际质量认可实验室。

2019年在上海市率先启动区域内检验结果同质化管理平台建设，取得了一定社会成效。2021年5月，青浦区区域临床检验中心继续探索创新，联合吴江、嘉善、安徽、上海等兄弟单位成立了长三角一体化区域检验中心检验联盟，立足青浦区，辐射周边地区和长三角。近年来获得全国十佳白求恩式检验科、复旦大学抗击新冠肺炎疫情先进集体、青浦区三八红旗集体等多项荣誉，连续多年获得院“先进科室”表彰。拥有上海市十佳医技提名奖1名、复旦大学“优秀医技工作者”1名、中共上海市委组织部第1期青年英才1名、青浦区工匠1名、复旦大学抗击新冠肺炎疫情先进个人2名、青浦区业务能手10名。

人才梯队方面，检验科在编职工53名：其中正高1名，副高7名，中级32名；博士1名，硕士8名，本科27名。区学科带头人1名，1人入选区医苑新星培养计划，4人获得检验医师资质。

科研方面，学科本着与院内优势学科协同合作、共同发展的理念，以感染性疾病、血液疾病诊断、药物基因检测指导临床合理用药相关基础研究作为辅线，以区域医疗集中检测模式的实践与研究作为主攻方向，参与国家重点研发计划子课题子课题4项，主持蚌埠医学院自然科学基金项目1项，市科委、市卫计委课题6项，区科委、区卫计委课题13项；累计发表科研核心期刊文章50篇，其中SCI文章10篇；主编高校教材2部，参编著作1部；发明专利5项。

教学方面，检验科承担多所医学高校和基层医院的见习、实习和进修任务，近年来累计带教实习生30名，进修生5名。

学科带头人长期从事实验室精益管理、区域检验中心建设、肿瘤免疫学实验室诊断，担任上海市医学会检验医学专科分会委员、区协作组副组长，上海市医师协会检验医师分会委员，上海康复医学会检验与健康专委会副主任委员，上海市中医药学会第二届检验医学分会管理学组副组长，白求恩精神研究会区域检验专委会副主任委员兼秘书长，国家卫生健康委人才交流服务中心卫生健康人才评价题库建设专家，上海市科学技术专家库成员，第三届上海市中西医结合学会医学检验专业委员会常务委员，上海市医学装备协会实验医学专业委员会副主任委员，《中华检验医学杂志》第九届编辑委员会青年委员，《中华预防医学杂志》审稿专家，《国际检验医学杂志》青年编委，中华预防医学杂志、国际临床化学与检验医学协会(IFCC)官方杂志 Clin Chim Acta(CCA)杂志特邀审稿专家等学术职务。



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。

