



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

分子诊断与治疗杂志

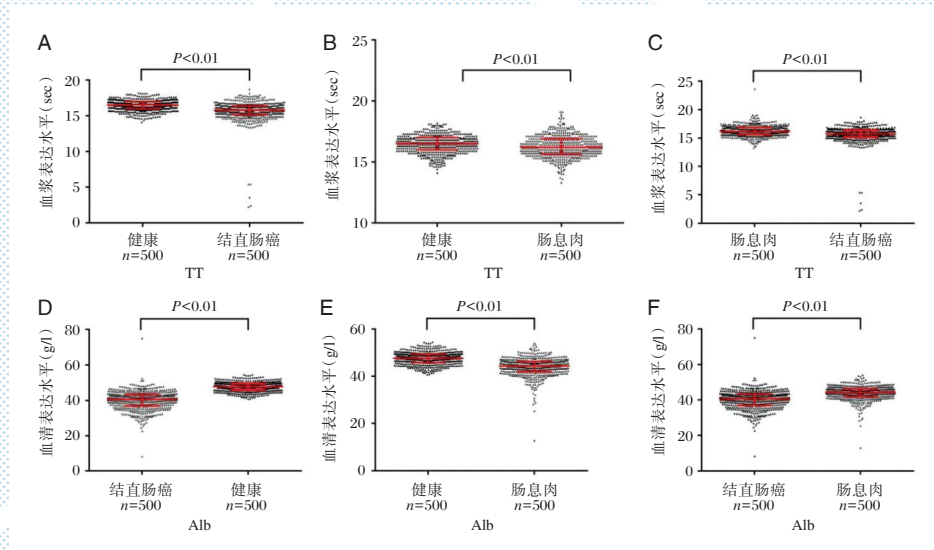
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2024年3月 第16卷 第3期 总第115期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 16 Number 3 March 2024



图(522) TT、Alb在结直肠癌与肠息肉中的相对表达水平

Figure(522) The relative expression levels of TT and Alb in colorectal cancer and intestinal polyps

中山大学 主管

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

ISSN 1674-6929



9 771674 692242



分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2024 年 3 月 第 16 卷 第 3 期 总第 115 期 Monthly Volume 16 Number 3 March 2024

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

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

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

刊号 ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R

邮发代号 46-283
发行单位 广东省报刊发行局
发行范围 国内外公开发售
广告发布登记通知书 440100190057
印刷 天意有福科技股份有限公司
出版日期 2024 年 3 月 18 日
定价 RMB 15.00 元

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

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

CSSN ISSN 1674-6929
CN 44-1656/R

Printing TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date 2024.3.18
Price RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

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

分子诊断与治疗杂志

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

特颁发此证书。

中国科学技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038 www.istic.ac.cn

2023年9月

证书编号：2022-G556-1223
有效期至：2024年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2024年3月 第16卷 第3期

目次

述评

肠道菌群影响认知功能机制的研究进展 阮舒萍 张青 刘娟 等(395)

论著

GBS、衣原体联合解脲支原体检测对胎膜早破患者妊娠结局的预测作用
..... 罗婷婷 施云 张丽(398)

血府逐瘀汤对狼疮性肾炎患者胸腺肽 $\beta 4$ 及Ea-RFC的影响 徐娜 韩梅 封锦慧 等(403)

外周血PRDX6与稳定期COPD患者临床特征及频繁急性加重的关系
..... 孙江 高骏飞 杨培草(407)

P-gp、GST π 联合TOPO II α 检测对三阴性乳腺癌新辅助化疗病理完全缓解的预测价值
..... 吕宁 王芳 陈卓(412)

抗桥粒芯蛋白1、3抗体及大疱性类天疱疮180、230抗体联合检测诊断大疱性皮肤病的应用价值
..... 徐珍珍 郑艳 刘俊杰(416)

不同神经阻滞麻醉方案对胃癌根治患者术后疼痛、认知功能及血清 $A\beta$ -42、IL-6、tau-181蛋白影响
..... 王佳奕 冯腾尘 汪业铭 等(421)

信迪利单抗注射液辅助化疗治疗非小细胞肺癌的疗效观察 阮鹏飞 吴生保 刁忆 等(425)

富血小板血浆治疗膝骨关节炎的临床疗效及对血清胃饥饿素、HMGB1水平的影响
..... 蔡良 罗丹 袁琼 等(429)

增强子RNA *RASSF8-AS1*在胃腺癌中的临床意义与分子机制 马甜甜 朱翠雯 李东旭 等(433)

小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗对妊娠期高血压UPR、MAP、凝血指标的影响
..... 乔文婷 李琴琴 云君玲(438)

2型糖尿病患者血清GLP-1、 $A\beta$ 1-42、MCP-1水平与认知功能障碍的相关性
..... 李琪 王真 任天成(442)

血清CEA、CA19-9、ITG β 6在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的意义
..... 朱雅婷 周志雄 雷晋铭(446)

经阴道彩超联合血清ADAM12-S、 β -HCG、孕酮检测在异位妊娠诊断中的应用
..... 王琳琪 牟沁 张春梅 等(450)

子宫内膜异位症不孕患者miR-145与Fascin-1、OCT4的相关性及临床意义
..... 卢煜婷 陈军平 孙瑶(454)

不同抗菌药物联合CGF应用于年轻恒牙血运重建的效果和IL-17、CCL21及IP-10水平变化
..... 郭洁 高尔东 胡姝娥 等(459)

氟西汀结合生物反馈治疗躯体形式障碍患者疗效及心理状态的变化
..... 郑荫荫 李倩 王磊 等(463)

128例病毒感染患者血清HSP 70水平变化及HSP 70-1基因多态性分析
..... 牟丽丽 黄山 夏婧 等(467)

基于心功能及IGFBP7、sST2、CGRP、ET分析沙库巴曲缬沙坦在治疗冠心病合并慢性心力衰竭中的应用效果	张娟 李宁 张文超 等(472)
<i>miR-141-3p</i> 、IL-18与老年脑出血患者病情严重程度及预后的相关性	袁蕾 万克苗 孙宁涛(476)
瓣膜置换联合冠脉旁路移植术对冠心病并瓣膜疾病患者血清IL-17、IL-6及BNP水平的影响	刘怡雪 王海彦 李少珂(481)
胃功能三项及NLR、CEA联合检测对胃溃疡良恶性的诊断价值分析	张磊 吴军 李宏伟 等(485)
CTC、RON及c-Met在早期三阴性乳腺癌预后预测中的作用	叶露 张明芳 孙萍 等(490)
<i>PI3K-AKT/mTOR</i> 信号通路与原发肾综合征患儿Treg/Th17免疫平衡的相关性	郑凤丽 谭志军 梁宙(494)
选择性痔上黏膜切除吻合术治疗Ⅲ度混合痔的5-HT、PGE2及IL-6水平变化及疗效	张智航 陈昊 赵德余(498)
益气破血化痰方对冠心病血运重建术后心绞痛患者CRP、Hcy及血管内皮功能的影响	耿振平 张富汉 程欢欢(503)
高苯丙氨酸血症家系PAH和PTS基因突变研究	李乐 戴翔 周鑫 曹翠(507)
住院AD并发肺部感染患者TLR4、NF-κB的表达及其预后评估价值	王敏 闫红静 张秀梅 等(511)
孕晚期血清Hcy、NLR及C肽与妊娠糖尿病患者产后血糖转归的关系	赵艳平 徐宏燕 宋美娜(516)
TT、A1b、CEA、CA19-9联合检测对结直肠癌与肠息肉的鉴别诊断	袁宁 张群 沙德厚 等(520)
STEMI患者外周血单个核细胞中MAPK通路与炎症反应及PCI后无复流的关系	马龙飞 韩新宇 陈昌 等(526)
血清IGF-1、MCP-1及ET-1在食管癌术后急性呼吸窘迫综合征中的表达及临床意义	康翠伟 李莹 刘宁 等(530)
HIF-1α、VEGF与暴发性心肌炎患者心肌损伤的关系	霍丽娜 刘静 刘雅莉(534)
糖尿病视网膜膜病患者SDF-1、HO-1及MDA水平变化及与IL-6、TNF-α、CRP的相关性	赵玉杰 王敏 刘钰凤 等(539)
<i>PLA2R1</i> 和 <i>HLA</i> 基因多态性与膜性肾病中医证型的相关性分析	郭红英 纪伟超 李曼曼 等(543)
Mfn2调控VEGFR2/PI3K促进卵巢癌种植转移的机制研究	郑翠 贾颖娜 何慧 徐菁华(548)
颈项透明层增厚胎儿的绒毛染色体及微阵列结果分析	刘建珍 林铿 许碧秋 等(553)
中晚期宫颈癌患者血清HE4、TK1、DCLK1水平变化及其与化疗效果的关系	张艳艳 苏克 乔龙 等(557)
血清维生素D、IL-6及IL-8水平与早产儿支气管肺发育不良的相关性	张佳 宋宴宏 孙茜 等(561)
曲妥珠单抗联合ECT化疗方案对晚期乳腺癌患者疗效、血清CA153、CEA及造血功能影响	牛猛 董燕兵 李孝涛 等(565)
胎膜早破孕妇阴道微生态和胎盘分离菌及耐药性分析	章国平 郭明亮 张肿 等(569)
大肠埃希菌血流感染产ESBLs株分子流行机制	刘伟阳 王燕 邱淑妍 等(573)
妊娠期糖尿病孕妇孕期血糖代谢情况与新生儿血糖、肾功能及胆红素代谢的相关性	叶远飞 李亚林 汪丹丹(578)
<i>miR-17-5p</i> 、IL-6及MCP-1联合检测对卵巢子宫内膜异位症患者术后复发的预测价值	刘冬霞 宋易坤 于航 等(582)

综 述

阴道菌群与HPV感染及宫颈病变的相关性研究进展	张敏 李晓聪 丁海涛(586)
-------------------------------	-----------------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 16 Number 3 March 2024

CONTENTS

COMMENTS

- Research progress on the mechanism of gut microbiota affecting cognitive function
RUAN Shuping, ZHANG Qing, LIU Juan, YE Xinhua (395)

ORIGINAL ARTICLES

- Prognostic effect of GBS, chlamydia combined with *Ureaplasma urealyticum* detection on pregnancy outcomes in patients with premature rupture of fetal membranes
LUO Tingting, SHI Yun, ZHANG Li (398)
- Effects of Xuefu Zhuyu decoction on thymosin $\beta 4$ and Ea-RFC in patients with lupus nephritis
XU Na, HAN Mei, FENG Jinhui, SUN Yao, REN Zhanfen, JIA Junli (403)
- The relationship between peripheral blood PRDX6 and clinical characteristics and frequent acute exacerbation in patients with stable COPD
SUN Jiang, GAO Junfei, YANG Peicao (407)
- Predictive value of P-gp, GST π combined with TOPO II α detection for pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer
LV Ning, WANG Fang, CHEN Zhuo (412)
- Application value of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies and bullous pemphigoid 180 and 230 antibodies in the diagnosis of bullous dermatosis
XU Zhenzhen, ZHENG Yan, LIU Junjie (416)
- Effects of different nerve block anesthesia protocols on postoperative pain, cognitive function and serum A β -42, IL-6 and tau-181 protein in patients with radical gastrectomy for gastric cancer
WANG Jiayi, FENG Tengchen, WANG Yeming, FAN Juan, SUN Xiaojia, ZHAO Jibo (421)
- Efficacy of sintilimab injection as adjuvant chemotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer
RUAN Pengfei, WU Shengbao, DIAO Yi, FENG Tianming (425)
- Clinical efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis and its effect on serum ghrelin and HMGB1 levels
CAI Liang, LUO Dan, YUAN Qiong, XU Xuemei (429)
- Clinical significance and molecular mechanism of enhancer RNA *RASSF8-AS1* in gastric adenocarcinoma
MA Tiantian, ZHU Cuiwen, LI Dongxu, ZHANG Xiaoyang, YU Mingxia (433)
- Effects of low-dose aspirin combined with calcium and vitamin E treatment on UPR, MAP and coagulation indexes of pregnancy-induced hypertension
QIAO Wenting, LI Qinqin, YUN Junling (438)
- Correlation between serum GLP-1, A β 1-42, MCP-1 levels and cognitive dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus
LI Qi, WANG Zhen, REN Tiancheng (442)
- Expression of serum CEA, CA19-9, ITG $\beta 6$ in patients undergoing radical gastrectomy for gastric cancer and their significance in prognostic assessment
ZHU Yating, ZHOU Zhixiong, LEI Jinming (446)
- Application of transvaginal color ultrasound combined with serum ADAM12-S, β -HCG and progesterone detection in the diagnosis of ectopic pregnancy
WANG Linqi, MOU Qin, ZHANG Chunmei, WU Feifei (450)
- Correlation and clinical significance of *miR-145*, Fascin-1 and OCT4 in infertile patients with endometriosis
LU Yuting, CHEN Junping, SUN Yao (454)
- Effects of different antibiotics combined with CGF on revascularization of young permanent teeth and changes of IL-17, CCL21 and IP-10 levels
GUO Jie, GAO Erdong, HU Shue, ZHAO Wenjun (459)
- Efficacy and changes in psychological state of patients with somatoform disorders treated with fluoxetine combined with biofeedback
ZHENG Yinyin, LI Qian, WANG Lei, MENG Xiangsheng, XU Congen (463)
- Changes in serum HSP 70 levels and analysis of *HSP 70-1* gene polymorphisms in 128 patients with viral infection
MU Lili, HUANG Shan, XIA Jing (467)
- Analysis of the application effect of sacubitril-valsartan in the treatment of coronary heart disease combined with chronic heart failure based on cardiac function and IGFBP7, sST2, CGRP, and ET
ZHANG Juan, LI Ning, ZHANG Wenchao (472)

Correlation between <i>miR-141-3p</i> and IL-18 and the severity of disease and prognosis in elderly patients with cerebral hemorrhage	
<i>YUAN Lei, WANG Kemiao, SUN Ningtao</i>	(476)
Effects of valve replacement combined with coronary artery bypass grafting on serum IL-17, IL-6 and BNP levels in patients with coronary artery disease and valvular disease	
<i>LIU Yixue, WANG Haiyan, LI Shaoke</i>	(481)
Analysis of the diagnostic value of three gastric function tests, and combined testing of NLR and CEA for benign and malignant gastric ulcers	
<i>ZHANG Lei, WU Jun, LI Hongwei, CHENG Lei, CHEN Jun</i>	(485)
The role of CTC, RON and c-Met in predicting the prognosis of early triple negative breast cancer	
<i>YE Lu, ZHANG Mingfang, SUN Ping, ZHANG Yuanyuan</i>	(490)
Correlation between <i>PI3K-AKT/mTOR</i> signaling pathway and Treg/Th17 immune balance in children with primary nephrotic syndrome	
<i>ZHENG Fengli, TAN Zhijun, LIANG Zhou</i>	(494)
Changes of 5-HT, PGE2 and IL-6 levels in patients with grade III mixed hemorrhoids treated with selective hemorrhoidal superior mucosa resection and anastomosis	
<i>ZHANG Zhihang, CHEN Hao, ZHAO Deyu</i>	(498)
Effects of Yiqi-Poxue-Huatan Decoction on CRP, Hcy and Vascular Endothelial Function in Patients with Angina Pectoris after Coronary Heart Disease Revascularization	
<i>GENG Zhenping, ZHANG Fuhan, CHENG Huanhuan</i>	(503)
Study on <i>PAH</i> and <i>PTS</i> gene mutations in families with hyperphenylalaninemia	
<i>LI Le, DAI Xiang, ZHOU Xin, CAO Cui</i>	(507)
Expression and prognostic value of TLR4 and NF- κ B in hospitalized patients with AD complicated with pulmonary infection	
<i>WANG Min, YAN Hongjing, ZHANG Xiumei, QIN Lihui</i>	(511)
Analysis of the relationship between serum Hcy, NLR, and C-peptide levels in the third trimester and postpartum blood glucose outcomes in patients with gestational diabetes mellitus	
<i>ZHAO Yanping, XU Hongyan, SONG Meina</i>	(516)
Differential diagnosis of colorectal cancer and intestinal polyps by combined detection of TT, Alb, CEA and CA19-9	
<i>YUAN Ning, ZHANG Qun, SHA Dehou, WU Xiaoting, ZHAOshuping, ZHANG Zhijun</i>	(520)
Relationship between MAPK pathway in peripheral blood mononuclear cells and inflammatory response, no reflow after PCI in patients with STEMI	
<i>MA Longfei, HAN Xinyu, CHEN Chang, WANG Juntao, WANG Di</i>	(526)
Expression and clinical significance of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 in acute respiratory distress syndrome after esophageal cancer surgery	
<i>KANG Cuiwei, LI Ying, LIU Ning, JIA Xiangbo</i>	(530)
Relationship between serum HIF-1 α , VEGF and myocardial injury in patients with explosive myocarditis	
<i>HUO Lina, LIU Jing, LIU Yali</i>	(534)
Changes of SDF-1, HO-1 and MDA levels in patients with diabetic retinopathy and their correlation with IL-6, TNF- α and CRP	
<i>ZHAO Yujie, WANG Min, LIU Yufeng, LIU Xuejing, ZHONG Shengnan, LI Ying</i>	(539)
Correlation between polymorphisms of <i>PLA2R1</i> and <i>HLA</i> genes and TCM syndromes of membranous nephropathy	
<i>GUO Hongying, JI Weichao, LI Manman, CHENG Xuehong, REN Meifang</i>	(543)
Study on the mechanism of Mfn2 regulating VEGFR2/PI3K to promote ovarian cancer implantation and metastasis	
<i>ZHENG Cui, JIA Yingna, HE Hui, XU Jinghua</i>	(548)
Analysis of villous chromosomes and microarray results of fetuses with thickened nuchal translucency	
<i>LIU Jianzhen, LIN Keng, XU Biqiu, MENG Xiangrong, LI Xichong, JU Aiping, QIN Yangling, CHEN Hongzhen</i>	(553)
Changes of serum levels of human epididymal protein 4, thymidine kinase 1 and bifocorticoid kinase 1 in patients with advanced cervical cancer and their relationship with chemotherapy	
<i>ZHANG Yanyan, SU Ke, QIAO Long, GUO Ruixia</i>	(557)
Correlation between serum levels of vitamin D, IL-6 and IL-8 and bronchopulmonary dysplasia in premature infants	
<i>ZHANG Jia, SONG Yanhong, SUN Qian, MA Xia</i>	(561)
Effect of trastuzumab combined with ECT chemotherapy regimen on efficacy, serum CA153, CEA and hematopoietic function in patients with advanced breast cancer	
<i>NIU Meng, DONG Yanbing, LI Xiaotao, ZHANG Junsheng, ZHANG Feng</i>	(565)
Analysis of vaginal microecology and placental isolates and drug resistance in pregnant women with premature rupture of membranes	
<i>ZHANG Guoping, GUO Mingliang, ZHANG Chong, HE Rui</i>	(569)
Molecular epidemic mechanisms of ESBLs-producing strains in bloodstream infections caused by <i>Escherichia coli</i>	
<i>LIU Weiyang, WANG Yan, QIU Shuyan, ZHU Cong, YANG Xiaolan, ZHAO Yi</i>	(573)
Association analysis of glucose metabolism during pregnancy in pregnant women with gestational diabetes mellitus with neonatal glucose, renal function and bilirubin metabolism	
<i>YE Yuanfei, LI Yalin, WANG Dandan</i>	(578)
Predictive value of combined detection of <i>miR-17-5p</i> , IL-6 and MCP-1 for postoperative recurrence in patients with ovarian endometriosis	
<i>LIU Dongxia, SONG Yikun, YU Hang, XUE Shanhui, CHEN Fei, NAI Manman, LI Lei</i>	(582)

REVIEWS

Progress in research on the relationship between vaginal flora and HPV infection and cervical lesions	
<i>ZHANG Min, LI Xiaocong, DING Haitao</i>	(586)

肠道菌群影响认知功能机制的研究进展

阮舒萍 张青 刘娟 叶新华*

[摘要] 随着人们对肠道菌群不断深入的探究,已知肠道菌群与肥胖、糖尿病、焦虑、忧郁、神经退行性疾病等多种疾病相关。其中,研究者们发现肠道菌群可以影响认知功能,“微生物-肠-脑轴”逐渐成为研究热点,肠道菌群与中枢神经系统之间的交流涉及免疫、神经、内分泌等复杂机制。本文旨在阐明肠道菌群对认知功能的影响及其机制,为认知功能障碍的治疗提供新思路。

[关键词] 肠道菌群; 认知; 微生物-肠-脑轴

Research progress on the mechanism of gut microbiota affecting cognitive function

RUAN Shuping, ZHANG Qing, LIU Juan, YE Xinhua*

(Department of Endocrinology and Metabolism, the Affiliated Changzhou NO.2 People's Hospital of Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu, China, 213164)

[ABSTRACT] With the continued exploration of gut microbiota, it is known that gut microbiota is associated with various diseases such as obesity, diabetes, anxiety, depression, and neurodegenerative diseases. Moreover, researchers have found that gut microbiota can affect cognitive function, and the “microbiota-gut-brain axis” has gradually become a hot spot for research. The communication network between gut microbiota and the central nervous system is complex and includes the immune system, nervous system, endocrine system, and so onmore. This paper review aims to elucidate the effect of gut microbiota on cognitive function and its mechanism and to provide new ideas for the treatment of cognitive dysfunction.

[KEY WORDS] Gut microbiota; Cognitive; Microbiota-gut-brain axis

随着人口老龄化,认知功能障碍患病率呈逐年上升的趋势,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)已被世界卫生组织纳入“全球公共卫生重点事项”^[1]。目前用于治疗认知功能障碍的药物只能暂时缓解相关症状,对疾病的病理无明显改善作用,且不良反应较多,疗效不尽人意^[2]。

近几十年来,随着人们对肠道菌群不断深入的探究,微生物学与神经科学领域之间的联系日益紧密,从而引出了“微生物-肠-脑轴”的概念。微生物-肠-脑轴是指肠道菌群可通过生成代谢产物或通过调节神经信号转导、内分泌和免疫等机制影响中枢神经系统。已知肠道菌群参与忧郁、焦虑、自闭症、认知功能障碍、神经退行性疾病和脑血管疾病等神

经精神疾病的发生发展^[3]。其中,动物及临床研究均表明肠道菌群可以影响认知功能,而益生菌已被证明可以改善认知功能障碍且具有副作用小的特点^[4]。关注到肠道菌群可以影响认知功能之后,探索肠道菌群影响认知功能机制的研究不断涌现,本文主要对近年来有关肠道菌群对认知功能的影响及其相关机制进行综合性阐述。

1 肠道菌群

人体体内及体表生存着数万亿的微生物,其中在肠道内密度最高。肠道微生物主要存在于大肠,肠道内细菌的浓度可达 10^{11} ~ 10^{12} /mL。人体肠道菌群主要由厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变

基金项目:中国博士后面上项目(2022M710492);常州市卫生健康青苗人才培养工程(CZQM2020078);常州市应用基础研究(CJ20210111)

作者单位:南京医科大学附属常州第二人民医院内分泌科,江苏,常州 213164

*通信作者:叶新华, E-mail: Endocrine1314@163.com

形菌门组成,其中最主要的两个门是厚壁菌门和拟杆菌门^[5]。肠道菌群的多样性及各菌群的丰度受基因、饮食、药物、神经精神状况和年龄等多因素的影响。因此,即使是在健康个体之间,肠道菌群也存在差异^[6]。肠道菌群通过防御病原体、代谢膳食营养、影响食物吸收等途径在维持宿主健康方面发挥着重要作用^[7]。肠道菌群通过调节肠道蠕动,肠道免疫反应及影响食物消化吸收直接影响肠道稳态^[8]。肠道菌群失调不仅与肠道疾病相关,也与代谢性疾病、癌症、焦虑、抑郁和神经退行性疾病等密切相关^[9]。

2 认知功能障碍

认知功能障碍涉及记忆、注意、语言、执行、推理和计算等多方面中一项或多项功能受损,可对患者的生活产生多方面的影响,降低健康相关生活质量^[10]。痴呆是认知功能障碍最严重的阶段,主要发生在老年群体^[11]。随着人口老龄化及预期寿命延长,痴呆的患病率逐年上升,已成为一个日益严重的全球公共卫生问题,其给社会和家庭带来了严重的经济和疾病负担^[12]。目前美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗痴呆的药物包括乙酰胆碱酶抑制剂如多奈哌齐、卡巴拉汀、加兰他敏,NMDA受体拮抗剂如美金刚,然而上述药物仅能暂时缓解相关症状,并且有引发失眠、头晕、头痛和心血管疾病等风险,给临床治疗带来极大困难^[13]。

由于认知功能障碍的具体机制尚未完全阐明,目前尚未研发出改善认知功能的靶向药物,现有的药物及护理措施仅能暂时缓解相关症状^[1]。因此,有关认知功能障碍的机制及相关治疗措施仍有待探索。

3 肠道菌群与认知功能障碍

肠道菌群对中枢神经系统的发育成熟至关重要。有研究发现,无菌小鼠小胶质细胞分化成熟障碍,免疫应答下降,恢复正常肠道菌群定植或补充短链脂肪酸后小鼠小胶质细胞得到修复^[14]。人的肠道也是一个复杂的神经系统,包括交感神经和副交感神经在内的自主神经系统是将中枢神经系统与肠道联系起来的重要通路。由于大部分肠道菌群定居于肠道黏液层,自主神经可通过调节肠道黏液分泌进而影响肠道菌群^[15]。在应激过程中,神经

源性信号分子释放到肠腔内,某些肠道菌群存在这些分子的受体而与之结合,表明神经系统也可以直接调节肠道菌群的行为^[16]。宿主与肠道菌群之间维持互利共生的稳态对机体的健康至关重要。

临床及动物研究均表明,认知功能障碍组与对照组肠道菌群存在差异。与移植健康人群粪菌相比,向无菌AD模型小鼠移植AD患者肠道菌群后小鼠AD相关病理加重^[17],说明肠道菌群与AD病理相关。大量研究表明,益生菌如瑞士乳杆菌NS8、长双歧杆菌1714、干酪乳杆菌均可改善小鼠认知功能障碍^[18]。同时,临床研究表明,与对照组相比,服用益生菌12周的老年人认知功能测试得分更高^[4]。综上所述,肠道菌群可以改善认知功能,有望成为治疗认知功能障碍的新靶点。

4 肠道菌群影响认知功能的机制

4.1 LPS

肠道内主要的细菌种类是革兰阴性菌,脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性菌外膜的主要成分。肠道菌群、饮食、精神压力、衰老等均可影响肠道屏障的通透性,各种因素引起的肠道屏障通透性增加使细菌成分易位进入血液循环^[19]。有研究发现AD患者及认知功能受损的小鼠肠道屏障通透性增加,血清中LPS浓度升高^[20-21]。LPS可通过血脑屏障与中枢小胶质细胞的TLR4受体结合,激活NF- κ B信号通路,上调炎症因子如TNF- α 和IL-6的表达从而引起神经炎症,导致神经元受损^[22]。此外,研究发现AD患者脑内淀粉样斑块与LPS共定位,给予小鼠腹腔注射LPS后大脑内淀粉样蛋白沉积,引发AD样病理改变^[23]。因此,肠道菌群可上调LPS引起认知功能受损。给予补充 β -葡聚糖后小鼠肠道内益生菌相对丰度升高,肠道屏障通透性降低,由肠道进入血浆中的LPS减少,海马中的炎症水平下降,突触可塑性增强,改善了认知功能^[24]。

4.2 细菌源性淀粉样蛋白

神经退行性疾病如阿尔茨海默病的重要病理特征之一是淀粉样蛋白沉积形成斑块。人类肠道中存在大量可产生淀粉样蛋白的菌群,包括大肠杆菌、链球菌、葡萄球菌、沙门氏菌、分枝杆菌、克雷伯氏菌、柠檬酸杆菌和芽孢杆菌等^[25],肠道屏障通透性增加时肠道内细菌源性淀粉样蛋白可进入血液循环中。AD患者肠道屏障通透性增加,从而使细菌源性淀粉样蛋白更易进入体循环^[19]。可溶

性淀粉样蛋白可通过血脑屏障中的 RAGE 受体进入脑组织^[26],进入中枢的淀粉样蛋白可与小胶质细胞表面的 TLR2-TLR1-CD14 复合物结合,引起促炎因子如 IL-1、IL-6 及 TNF- α 表达增多,进而引发神经炎症^[27]。此外,进入脑组织的淀粉样蛋白经过剪切、错误折叠还可在脑内沉积,形成 AD 样斑块^[28]。

4.3 短链脂肪酸

短链脂肪酸主要包括乙酸、丙酸和丁酸,由大肠中的细菌发酵未消化的碳水化合物(特别是抗性淀粉和膳食纤维)生成^[3]。乙酸和丙酸主要由双歧杆菌和黏蛋白降解细菌如嗜黏蛋白阿克曼菌产生,丁酸主要由瘤胃球菌和毛螺菌生成^[29]。肠道菌群紊乱导致上述益生菌丰度下降可引起短链脂肪酸生成减少。研究发现,短链脂肪酸中的丁酸与认知功能密切相关。与健康老年人相比,帕金森病(Parkinson's disease, PD)及 AD 患者肠道中产短链脂肪酸的菌群丰度更低,丁酸水平下降^[30]。丁酸是结肠上皮细胞主要的代谢底物,对维持肠道屏障的完整性至关重要。未被上皮细胞代谢的丁酸通过门静脉进入循环,循环中的丁酸可通过血脑屏障中的脂肪酸转运蛋白(FATP-1 和 FATP-4)进入脑组织^[31]。丁酸可显著抑制脑内组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)的活性,促进组蛋白高乙酰化^[32],组蛋白乙酰化可降低组蛋白与 DNA 之间的静电亲和力从而引起染色质松弛,促进突触可塑性相关基因表达进而改善认知功能^[33]。此外,丁酸可抑制 NF- κ B 通路,下调促炎因子 IL-12 和上调抗炎因子 IL-10 的表达从而抑制中枢炎症反应^[34-35]。

5 总结与展望

肠道菌群作为人体共生微生物且数量庞大,在维持宿主正常生理过程中发挥重要调节作用。肠道菌群紊乱与多种疾病的发生发展密切相关,近年来肠道菌群已成为各种疾病治疗的新靶点。粪菌移植、益生菌已成熟应用于肥胖、焦虑、抑郁、溃疡性结肠炎等疾病的治疗,且具有经济实惠,疗效佳,副作用小,安全性高的优点。目前 AD 等神经退行性疾病缺乏有效药物治疗,现有研究发现肠道菌群紊乱可通过减少短链脂肪酸的生成,影响肠道屏障通透性进而增加 LPS、淀粉样蛋白进入人体循环参与到认知功能障碍的发病机制中,因此肠道菌群可作为认知功能障碍治疗的新靶点。未来仍需要进一步探究调节认知功能下降患者肠道

菌群结构的有效方法,探索通过肠道菌群改善认知功能的精准治疗方案。

参考文献

- [1] Srivastava S, Ahmad R, Khare SK. Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 216:113320.
- [2] Toledo ARL, Monroy GR, Salazar FE, et al. Gut-Brain Axis as a Pathological and Therapeutic Target for Neurodegenerative Disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3):1184.
- [3] Zhu S, Jiang Y, Xu K, et al. The progress of gut microbiome research related to brain disorders [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):25.
- [4] Kim C-S, Cha L, Sim M, et al. Probiotic Supplementation Improves Cognitive Function and Mood with Changes in Gut Microbiota in Community-Dwelling Older Adults: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter Trial [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2021, 76(1):32-40.
- [5] Tiwari P, Dwivedi R, Bansal M, et al. Role of Gut Microbiota in Neurological Disorders and Its Therapeutic Significance [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(4):1650.
- [6] Liu S, Gao J, Zhu M, et al. Gut Microbiota and Dysbiosis in Alzheimer's Disease: Implications for Pathogenesis and Treatment [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(12):5026-5043.
- [7] Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(1):55-71.
- [8] Yoo JY, Groer M, Dutra SVO, et al. Gut Microbiota and Immune System Interactions [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(10):1587.
- [9] Barrio C, Arias-Sánchez S, Martín-Monzón I. The gut microbiota-brain axis, psychobiotics and its influence on brain and behaviour: A systematic review [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2022, 137:105640.
- [10] Li W, Zhou F-C, Zhang L, et al. Comparison of cognitive dysfunction between schizophrenia and bipolar disorder patients: A meta-analysis of comparative studies [J]. *J Affect Disord*, 2020, 274:652-661.
- [11] Li Z, Zhu H, Guo Y, et al. Gut microbiota regulate cognitive deficits and amyloid deposition in a model of Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2020, 155(4):448-461.
- [12] Li X, Feng X, Sun X, et al. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2019 [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14:937486.
- [13] Arvanitakis Z, Shah RC, Bennett DA. Diagnosis and Management of Dementia: Review [J]. *JAMA*, 2019, 322(16):1589-1599.
- [14] Erny D, Hrabé de Angelis AL, Jaitin D, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(7):965-977.

GBS、衣原体联合解脲支原体检测对胎膜早破患者妊娠结局的预测作用

罗婷婷 施云* 张丽

[摘要] **目的** 研究B族链球菌(GBS)、衣原体联合解脲支原体(UU)检测对胎膜早破患者妊娠结局的预测作用。**方法** 选取上海交通大学医学院附属新华医院2021年2月至2023年1月收治的胎膜早破产妇168例为观察组,另选取同期进行孕检且结果正常的165名孕妇为对照组。对比两组GBS、衣原体、UU阳性率;分析GBS、衣原体、UU单一检测对观察组不良妊娠结局的预测结果;分析GBS、衣原体、UU三者联合对观察组孕妇不良妊娠结局的预测结果。**结果** 观察组GBS阳性率、衣原体阳性率、UU阳性率均比对照组高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。GBS阴性122例,GBS阳性46例,GBS阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。衣原体阴性128例,衣原体阳性40例,衣原体阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。UU阴性117例,UU阳性51例,UU阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。168例胎膜早破孕妇中,GBS、衣原体和UU均为阴性117例,GBS、衣原体和UU为单一或两个为阳性11例,GBS、衣原体和UU均为阳性40例;GBS、衣原体和UU均为阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率均比单一或两个感染及阴性胎膜早破孕妇高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 胎膜早破孕妇的GBS、衣原体和UU阳性率均高于正常妊娠孕妇,且GBS、衣原体和UU联合检测可更准确地预测母体和胎儿不良结局。

[关键词] B族链球菌;衣原体;解脲支原体;胎膜早破;妊娠结局

Prognostic effect of GBS, chlamydia combined with *Ureaplasma urealyticum* detection on pregnancy outcomes in patients with premature rupture of fetal membranes

LUO Tingting, SHI Yun*, ZHANG Li

(Delivery Room, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China, 200092)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive effect of Group B streptococcus (GBS), chlamydia, and *Ureaplasma urealyticum* (UU) detection on pregnancy outcomes in patients with premature rupture of fetal membranes. **Methods** A total of 168 women with premature rupture of membranes admitted to Xinhua Hospital, affiliated with Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, from February 2021 to January 2023 were selected as the observation group. Another 165 pregnant women with normal results were selected as the control group. The positive rates of GBS, chlamydia and UU were compared between the two groups. The predictive results of GBS, chlamydia and UU on adverse pregnancy outcome were analyzed. **Results** The positive rates of GBS, chlamydia and UU in the observation group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). There were 122 GBS negative cases and 46 GBS positive cases. The incidence of adverse pregnancy outcomes in GBS positive pregnant women with premature rupture of membranes was higher than that in control group, and the differences were statistical-

基金项目:国家自然科学基金项目(82272641)

作者单位:上海交通大学医学院附属新华医院产房,上海200092

*通信作者:施云, E-mail:13916358623@163.com

ly significant ($P<0.05$). There were 128 cases chlamydia negative, 40 cases incidence of adverse pregnancy outcome in chlamydia positive pregnant women with premature rupture of membranes was higher than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). There were 117 UU negative cases and 51 UU positive cases. The incidence of adverse pregnancy outcomes in UU-positive pregnant women with premature rupture of membranes was higher than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Among 168 pregnant women with premature rupture of membranes, 117 cases were negative for GBS, chlamydia and UU, 11 cases were positive for one or two of GBS, chlamydia and UU, and 40 cases were positive for GBS, chlamydia and UU; GBS, chlamydia and UU were all positive. The incidence of adverse pregnancy outcomes in pregnant women with GBS, chlamydia and UU was higher than those with single or two infections and negative premature rupture of membranes, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The positive rates of GBS, chlamydia and UU in pregnant women with premature rupture of membranes are higher than those in normal pregnant women, and the combined detection of the three can more accurately predict maternal and fetal adverse outcomes.

[KEY WORDS] Group B Streptococcus; Chlamydia; Ureaplasma urealyticum; Premature rupture of membranes; Pregnancy outcome

胎膜早破是指产妇在临产前胎膜出现自然破裂的情况。现临床认为产生胎膜早破的发病机制较多,包括宫颈内口松弛、创伤、感染等^[1]。临床已证实胎膜早破可致早产率、围生儿死亡率、宫内感染率及羊水污染率上升,甚至威胁婴儿、孕妇生命安全^[2]。故早期正确评估胎膜早破妊娠结局,对早期干预方案的制定有重要指导作用,可有效降低胎膜早破妊娠母婴不良结局发生风险,提高正常分娩率^[3]。研究表明,B族链球菌(Group B Streptococcus, GBS)、衣原体和支原体感染均与不良妊娠结局有关;GBS感染可能导致胎儿感染、早产和新生儿肺炎等疾病^[4]。衣原体和解脲支原体(Ureaplasma urealyticum, UU)感染则与胎膜早破等不良事件有关,其中约40%的孕妇中发现有衣原体和UU感染^[5]。研究认为联合检测方法可以更准确地预测不良妊娠结局,从而及早采取干预措施,降低母体和胎儿的不良结局发生率^[6]。对此,本文旨在研究GBS、衣原体联合UU检测对胎膜早破患者妊娠结局的预测作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取上海交通大学医学院附属新华医院2021年2月至2023年1月收治的胎膜早破产妇168例为观察组,另选取同期进行孕检且结果正常的165名孕妇为对照组。观察组年龄21~40岁,平均年龄(29.54±3.46)岁,孕周37~41周,平均(39.53±0.34)周。对照组年龄22~39岁,平均年龄(29.43±3.15)

岁,孕周38~41周,平均(39.34±0.29)周。两组一般数据比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理学会批准,且受试者知晓并签订医患同意书。

纳入标准:①符合《实用妇产科学(第4版)》^[7]胎膜早破诊断标准;②单胎头位妊娠;③临床资料无缺乏;排除标准:①近3个月使用糖皮质激素治疗者;②并有重要脏器功能障碍者;③妊娠前存在高血压、糖尿病、甲状腺疾病等基础疾病;④患有精神障碍,无法进行交流者。

1.2 方法

1.2.1 采集样本

用专用无菌长棉棒伸入阴道或直肠内,沿腔壁旋转一圈取得分泌物样本,密闭后送到检验科进行检查。GBS检测除采集上述阴道分泌物,另需采集肛门周围分泌物,棉棒需伸入肛门约2 cm处采集。

1.2.2 GBS检测

采用荧光定量-聚合酶链反应技术检测GBS DNA,对荧光信号数据收集和分析,通过比较样品的荧光信号与标准曲线来确定GBS DNA浓度。根据DNA浓度判断GBS感染情况。试剂盒由西安天隆科技有限公司提供,判定结果根据试剂盒说明书判断,样本荧光信号的域值循环数 ≤ 38 为阳性。

1.2.3 衣原体检测

使用标记有荧光素的特异性抗体与处理后的样本混合;这些抗体与衣原体颗粒的抗原特异结合,形成抗原-抗体复合物。将标记好的样本放在荧光显微镜下观察,采用直接免疫荧光法检测,沙

眼衣原体培养试剂盒鉴定。将样本提取液样本滴置在检测块的标本窗上,15 min后鉴定。试剂盒由赛默飞世尔科技公司提供,判定结果根据试剂盒说明书判断,在适当激发光下,如出现一条肉眼可见的线为阳性,空白为阴性。

1.2.4 UU检测

采用荧光-PCR进行检测,UU检测试剂盒鉴定。将采集的样本接种在培养基上,并在一定温度下培养一段时间,荧光染料发出的荧光信号被检测器捕获,监测荧光信号的增加,计算初始模板DNA浓度或拷贝数。试剂盒由艾康生物技术有限公司提供,判定结果根据试剂盒说明书判断,培养24 h后培养基由橙黄色变成红色,表明UU阳性。

1.3 观察指标

对比两组孕妇GBS、衣原体、UU阳性率;分析GBS、衣原体、UU单一检测对观察组不良妊娠结局的预测结果,其中不良妊娠结局包括羊水污染、出生窒息、早产、宫内窘迫、宫内感染、新生儿肺炎;分析GBS、衣原体、UU三者联合(本次研究中联合诊断方式为并联诊断方式,GBS、衣原体、UU诊断胎膜早破孕妇不良妊娠结局,凡有GBS、衣原体、UU检测中一项为阳性者则判为阳性,所有检测均为阴性判为阴性)对观察组孕妇不良妊娠结局的预测结果。

1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0统计软件分析数据,计数数据采用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇GBS、衣原体、UU阳性率比较

观察组GBS阳性率、衣原体阳性率、UU阳性率均比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 GBS检测对观察组妊娠结局的预测结果

GBS阴性122例,GBS阳性46例,GBS阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 两组孕妇GBS、衣原体、UU阳性率对比 [$n(\%)$]

Table 1 Comparison of GBS, Chlamydia and UU positivity rates between the two groups of pregnant women [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	GBS 阳性	衣原体阳性	UU 阳性
对照组	165	10(6.06)	9(5.45)	10(6.06)
观察组	168	46(27.38)	40(22.62)	51(25.00)
χ^2 值		27.049	22.347	32.842
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

表2 GBS检测对观察组妊娠结局的预测结果 [$n(\%)$]

Table 2 Prediction of pregnancy outcome by GBS test in observation group [$n(\%)$]

GBS 检测结果	<i>n</i>	羊水污染	早产	出生窒息	宫内窘迫	新生儿肺炎	宫内感染
阴性	122	4(3.28)	8(6.56)	5(4.09)	15(12.30)	4(3.28)	3(2.46)
阳性	46	6(13.04)	12(26.09)	13(28.26)	12(26.09)	6(13.04)	5(10.86)
χ^2 值		5.689	12.148	20.386	4.711	5.689	5.055
<i>P</i> 值		0.017	<0.001	<0.001	0.029	0.017	0.024

2.3 衣原体检测对观察组孕妇妊娠结局的预测结果

衣原体阴性128例,衣原体阳性40例,衣原体阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 UU检测对观察组孕妇妊娠结局的预测结果

UU阴性117例,UU阳性51例,UU阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 UU检测对观察组孕妇妊娠结局的预测结果 [$n(\%)$]

Table 4 Predictive results of the test on pregnancy outcome in pregnant women in the observation group [$n(\%)$]

UU 检测结果	<i>n</i>	羊水污染	早产	出生窒息	宫内窘迫	新生儿肺炎	宫内感染
阴性	117	6(5.13)	7(5.98)	5(4.27)	6(5.13)	4(3.42)	5(4.27)
阳性	51	9(17.65)	9(17.65)	7(13.73)	12(23.53)	7(13.73)	8(15.69)
χ^2 值		6.845	5.608	4.784	12.571	6.166	6.480
<i>P</i> 值		0.008	0.017	0.028	<0.001	0.013	0.011

2.5 GBS、衣原体、UU三者联合对观察组妊娠结局的预测结果

168例胎膜早破孕妇中,GBS、衣原体和UU均

表3 衣原体检测对观察组孕妇妊娠结局的预测结果 [$n(\%)$]

Table 3 Prediction of pregnancy outcome by chlamydia testing in pregnant women in the observation group [$n(\%)$]

衣原体检测结果	<i>n</i>	羊水污染	早产	出生窒息	宫内窘迫	新生儿肺炎	宫内感染
阴性	128	3(2.34)	10(7.81)	9(7.03)	5(3.91)	3(2.34)	7(5.47)
阳性	40	8(20.00)	9(22.50)	11(27.50)	11(27.50)	5(12.50)	11(27.50)
χ^2 值		15.526	6.554	12.175	19.688	6.932	15.463
<i>P</i> 值		<0.001	0.010	<0.001	<0.001	0.008	<0.001

为阴性 117 例,GBS、衣原体和 UU 为单一一个或两个为阳性 11 例,GBS、衣原体和 UU 均为阳性 40 例;GBS、衣原体和 UU 均为阳性胎膜早破孕妇不

良妊娠结局发生率均比单一或两个感染及阴性胎膜早破孕妇高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

表 5 GBS、衣原体、UU 三者联合对观察组妊娠结局的预测结果 [$n(\%)$]

三者联合检测结果	n	羊水污染	早产	出生窒息	宫内窘迫	新生儿肺炎	宫内感染
均为阴性	117	0(0.00)	0(0.00)	1(0.85)	1(0.85)	0(0.00)	0(0.00)
GBS、衣原体、UU 单一或两个为阳性	11	2(1.81)	2(1.81)	4(3.63)	3(2.73)	1(0.91)	4(3.63)
均为阳性	40	4(10.00)	3(7.50)	7(15.00)	8(15.00)	4(10.00)	7(17.50)
χ^2 值		15.951	15.231	15.582	20.212	11.847	32.021
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

临床发现,胎膜早破可能导致早产、胎儿宫内缺氧、感染等风险增加,因此预测胎膜早破有助于提前预防和降低可能出现的风险^[8]。

目前,预测胎膜早破的方法有多种,其中包括生物标志物检测、超声检查、宫颈分泌物检查等^[9]。宫颈分泌物检查可以检测宫颈分泌物的成分和量,间接评估胎膜早破的风险,其中包括 GBS、衣原体和 UU^[10]。研究显示,GBS 对预测胎膜早破结局具有一定敏感性^[11]。本次研究显示,观察组 GBS 阳性率比对照组高,GBS 阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比 GBS 阴性高。原因在于:GBS 是一种常见的阴道和直肠细菌,大约 10%~30% 的孕妇携带 GBS,这可能导致早产、新生儿感染等问题;其次,胎膜早破患者的 GBS 阳性率较高,可能是因为胎膜破裂后,细菌更容易通过阴道和宫颈进入子宫和羊水,导致 GBS 在羊水和胎膜中定植和繁殖;再者,GBS 感染影响了胎膜的结构和功能,导致胎膜更容易破裂,GBS 阳性胎膜早破孕妇的不良妊娠结局发生率也更高^[12]。本次研究显示,观察组衣原体阳性率比对照组高,衣原体阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比衣原体阴性高。分析原因可能与生殖道感染有关,生殖道感染,尤其是衣原体感染,均可能引发胎膜炎症,降低胎膜的弹性和韧性,从而使胎膜更容易破裂^[13]。曾有学者发现,UU 感染阳性孕妇出现不良妊娠结局的概率明显高于 UU 感染阴性孕妇^[14]。提示 UU 感染与胎膜早破存在紧密联系,UU 感染可能会增加胎膜早破的发生率,而感染扩散后,会造成一系列不良妊娠结局。本次研究结果显示,观察组 UU 阳性率比对照组高,UU 阳性胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率比 UU 阴性高。分析其原因可能是:

UU 阳性会导致胎膜早破的发生,其机制可能是通过影响胎膜的结构和功能实现的;再者,UU 阳性会导致子宫内膜炎、宫颈炎等生殖道炎症,增加胎膜早破发生率,从而影响孕妇的身体健康和胎儿的生长发育;同时,UU 阳性会影响孕妇的免疫系统,降低孕妇的抵抗力,使得孕妇更容易受到其他病原体的感染,增加胎膜早破的风险,进一步导致不良妊娠结局的发生^[15]。进一步研究发现,GBS、衣原体和 UU 均为阳性的胎膜早破孕妇不良妊娠结局发生率均比单一或两个感染及阴性胎膜早破孕妇高,提示可通过 GBS、衣原体和 UU 联合检测来提高胎膜早破孕妇妊娠不良结局预测结果。

综上所述,胎膜早破孕妇的 GBS、衣原体和 UU 阳性率均高于正常妊娠孕妇,且 GBS、衣原体和 UU 联合检测可更准确地预测母体和胎儿不良结局。

参考文献

- [1] 林小巧,王洁洁.胎膜早破孕妇 B 族链球菌、解脲支原体及沙眼衣原体感染影响因素分析及其不良妊娠结局[J].中国计划生育学杂志,2022,30(10):2358-2361.
- [2] 张秋鸿,徐小红,金彩娥.生殖道解脲支原体和沙眼衣原体感染对孕晚期胎膜早破的影响[J].中国艾滋病性病,2020,26(11):1217-1220.
- [3] 刘文华,刘楠,陈路平,等.先兆流产孕妇妊娠失败影响因素研究[J].保健医学研究与实践,2022,19(9):51-54.
- [4] 林亚芬,朱秋敏.胎膜早破孕妇宫颈分泌物 B 族链球菌、支原体、衣原体感染状况及妊娠结局分析[J].中国妇幼保健,2020,35(5):817-819.
- [5] 蓝锴,林冬玲,曹楠楠,等.临床微生物学检验技术理论课线上教学新模式探索与实践[J].中华医学教育探索杂志,2021,20(6):644-647.
- [6] 徐军娟,倪娟,徐丽燕.孕晚期 GBS 感染不良妊娠结局影响因素及 IL-8 水平[J].中华医院感染学杂志,2021,31(2):272-276.
- [7] 王晓亚,陈井丽,何留品,等.血清 β -hCG、PCT、CRP 和 GBS 对胎膜早破妇女宫内感染的预测效果研究[J].现代

- 预防医学, 2020, 47(4):698-701+726.
- [8] 姚婕, 张延丽. 胎膜早破孕妇阴道 B 族链球菌、支原体、衣原体感染与妊娠结局的关系分析[J]. 中国性科学, 2021, 30(1):72-75.
- [9] 马丽影, 许晓婷, 窦倩, 等. 体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响因素探究[J]. 四川大学学报(医学版), 2022, 53(1):133-136.
- [10] 徐丛剑, 华克勤. 《实用妇产科学》(第4版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2018.
- [11] 张晓静, 李海娇, 丁峰. 孕妇 UU、CT、GBS 感染与胎膜早破的关系及对妊娠结局的影响[J]. 中国病案, 2020, 21(7):91-95.
- [12] 洪彩虹, 金娟, 李务聪. B 族链球菌感染对妊娠期女性甲状腺功能及妊娠结局的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(9):1594-1597.
- [13] 王晓稼, 邵喜英. 乳腺癌分子标志和分子分型[J]. 医学分子生物学杂志, 2008, 5(2):177-180.
- [14] 李轶, 赵智凝, 王涛, 等. 在子宫内膜癌 ECC-1 中他莫西芬通过 mir-585 调节 PAX2 蛋白表达[J]. 医学分子生物学杂志, 2010, 7(4):291-295.
- [15] 刘娟, 杨丽珍, 侯凯文. 重度子痫前期患者血清纤维蛋白原、尿素氮、NEP、LRP-1 表达水平预测胎盘早剥的临床价值分析[J]. 转化医学杂志, 2022, 11(3):133-137.

(上接第 397 页)

- [15] Begum N, Mandhare A, Tryphena KP, et al. Epigenetics in depression and gut-brain axis: A molecular crosstalk[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14:1048333.
- [16] Gubert C, Kong G, Renoir T, et al. Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative diseases [J]. *Neurobiology of Disease*, 2020, 134:104621.
- [17] Chen C, Liao J, Xia Y, et al. Gut microbiota regulate Alzheimer's disease pathologies and cognitive disorders via PUFA-associated neuroinflammation [J]. *Gut*, 2022, 71(11):2233-2252.
- [18] Yang X, Yu D, Xue L, et al. Probiotics modulate the microbiota-gut-brain axis and improve memory deficits in aged SAMP8 mice[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(3):475-487.
- [19] Martel J, Chang S-H, Ko Y-F, et al. Gut barrier disruption and chronic disease [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2022, 33(4):247-265.
- [20] Marizzoni M, Cattaneo A, Mirabelli P, et al. Short-Chain Fatty Acids and Lipopolysaccharide as Mediators Between Gut Dysbiosis and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 78(2):683-697.
- [21] Kim HS, Kim S, Shin SJ, et al. Gram-negative bacteria and their lipopolysaccharides in Alzheimer's disease: pathologic roles and therapeutic implications [J]. *Transl Neurodegener*, 2021, 10(1):49.
- [22] Calvo-Rodríguez M, García-Rodríguez C, Villalobos C, et al. Role of Toll Like Receptor 4 in Alzheimer's Disease [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1588.
- [23] Kirk RA, Kesner RP, Wang L-M, et al. Lipopolysaccharide exposure in a rat sepsis model results in hippocampal amyloid- β plaque and phosphorylated tau deposition and corresponding behavioral deficits[J]. *Geroscience*, 2019, 41(4):467-481.
- [24] Shi H, Yu Y, Lin D, et al. beta-glucan attenuates cognitive impairment via the gut-brain axis in diet-induced obese mice [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1):143.
- [25] Bessho S, Grando KCM, Kyrylchuk K, et al. Systemic exposure to bacterial amyloid curli alters the gut mucosal immune response and the microbiome, exacerbating Salmonella-induced arthritis[J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1):2221813.
- [26] Yuan Y, Sun J, Dong Q, et al. Blood-brain barrier endothelial cells in neurodegenerative diseases: Signals from the "barrier"[J]. *Front Neurosci*, 2023, 17:1047778.
- [27] Lee EY, Srinivasan Y, de Anda J, et al. Functional Reciprocity of Amyloids and Antimicrobial Peptides: Rethinking the Role of Supramolecular Assembly in Host Defense, Immune Activation, and Inflammation [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1629.
- [28] Makdissi S, Parsons BD, Di Cara F. Towards early detection of neurodegenerative diseases: A gut feeling [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11:1087091.
- [29] Verhaar BJH, Prodan A, Nieuwdorp M, et al. Gut Microbiota in Hypertension and Atherosclerosis: A Review [J]. *Nutrients*, 2020, 12(10)
- [30] Nuzum ND, Loughman A, Szymlek-Gay EA, et al. Gut microbiota differences between healthy older adults and individuals with Parkinson's disease: A systematic review [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, 112:227-241.
- [31] Acharya R, Shetty SS, Kumari NS. Fatty acid transport proteins (FATPs) in cancer [J]. *Chem Phys Lipids*, 2023, 250:105269.
- [32] Bridgeman S, Woo HC, Newsholme P, et al. Butyrate Lowers Cellular Cholesterol through HDAC Inhibition and Impaired SREBP-2 Signalling [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24):15506.
- [33] van Zundert B, Montecino M. Epigenetic Changes and Chromatin Reorganization in Brain Function: Lessons from Fear Memory Ensemble and Alzheimer's Disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20):12081.
- [34] Bairamian D, Sha S, Rolhion N, et al. Microbiota in neuroinflammation and synaptic dysfunction: a focus on Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurodegener*, 2022, 17(1):19.
- [35] Fock E, Parnova R. Mechanisms of Blood-Brain Barrier Protection by Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids [J]. *Cells*, 2023, 12(4):657.

血府逐瘀汤对狼疮性肾炎患者胸腺肽 β 4及Ea-RFC的影响

徐娜^{1*} 韩梅² 封锦慧¹ 孙焱¹ 任占芬³ 贾军利⁴

[摘要] **目的** 探讨血府逐瘀汤辅助治疗狼疮性肾炎(LN)的效果及对患者胸腺肽 β 4及Ea花环细胞(Ea-RFC)形成率的影响。**方法** 选取河北北方学院附属第二医院2020年1月至2021年6月收治的60例狼疮性肾炎患者,按随机数字表法分为观察组(行血府逐瘀汤联合泼尼松与环磷酰胺治疗)30例与对照组(行泼尼松与环磷酰胺治疗)30例,治疗18个月。观察组治疗后临床效果、中医症状、胸腺肽 β 4表达、Ea-RFC形成率、肾功能及不良反应。**结果** 观察组治疗总有效率为96.67%,高于对照组的80.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,观察组纳少腹胀、腰膝酸软、面色不华、口黏口苦等中医症状积分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,观察组红细胞沉降率、血清肌酐及胸腺肽 β 4表达低于对照组,Ea-RFC形成率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,观察组不良反应发生率与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 血府逐瘀汤辅助治疗LN患者疗效确切,能减少患者体内胸腺肽 β 4表达,提高Ea-RFC,改善肾功能,安全性较高。

[关键词] 血府逐瘀汤;狼疮性肾炎;免疫功能;胸腺肽 β 4;Ea花环细胞

Effects of Xuefu Zhuyu decoction on thymosin β 4 and Ea-RFC in patients with lupus nephritis

XU Na^{1*}, HAN Mei², FENG Jinhui¹, SUN Yao¹, REN Zhanfen³, JIA Junli⁴

(1. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075100; 2. Operating Room, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075100; 3. Rheumatology and Immunology Department, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075100; 4. Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China, 075100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the impact of Xuefu Zhuyu decoction on thymosin β 4 and erythrocyte-antibody rosette-forming cell (Ea-RFC) formation rate in the treatment of patients with lupus nephritis. **Methods** A total of 60 patients with lupus nephritis admitted to the Second Affiliated Hospital of Hebei North University from January 2020 to June 2021 were selected and divided into two groups: the observation group (Xuefu Zhuyu decoction combined with prednisone and cyclophosphamide, 30 cases) and the control group (prednisone and cyclophosphamide, 30 cases) based on the random number table method. Both groups underwent an 18-month treatment period. After treatment, the clinical outcomes, Traditional Chinese Medicine (TCM) symptoms, thymosin β 4 expression, Ea-RFC formation rate, renal function and adverse reactions were monitored and compared between the two groups. **Results** After treatment, the total effective rate of treatment in the observation group was 96.67%, which was higher than the 80.00% in the control group

基金项目:张家口市重点研发计划项目(2121133D)

作者单位:1.河北北方学院附属第二医院药剂科,河北,张家口 075100

2.河北北方学院附属第二医院手术室,河北,张家口 075100

3.河北北方学院附属第一医院风湿免疫科,河北,张家口 075100

4.河北北方学院附属第二医院肾内科,河北,张家口 075100

*通信作者:徐娜, E-mail: xuna18732395210@163.com

($P<0.05$). Additionally, the scores of TCM symptoms such as poor appetite, abdominal distension, soreness and weakness of waist and knees, pale complexion and sticky and bitter mouth in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$) after treatment. Furthermore, after treatment, the erythrocyte sedimentation rate and expressions of serum creatinine and thymosin $\beta 4$ in the observation group were lower, while the Ea-RFC formation rate was higher compared to the control group ($P<0.05$). It is important to note that after treatment, there were no statistically significant differences in the incidence rates of adverse reactions between the observation group and the control group ($P>0.05$). **Conclusion** Xuefu Zhuyu decoction has been shown have a significant efficacy in treating patients with LN. It can reduce the expression of thymosin $\beta 4$ in vivo, increase Ea-RFC and improve renal function, all while maintaining a high level of safety.

[KEY WORDS] Xuefu Zhuyu decoction; Lupus nephritis; Immune function; Thymosin $\beta 4$; Erythrocyte-antibody rosette-forming cell

狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)是系统性红斑狼疮患者常见并发症,如该症未积极治疗,后期可引起血白细胞数降低、大量蛋白尿等,久治不愈可发展为尿毒症,严重损害患者健康。临床治疗LN以泼尼松与环磷酰胺等激素为主,虽能抑制结缔组织增生,但病情易反复^[1]。祖国医学将LN归属于“肾寒”范畴,治疗以益肾而补虚扶正、益气活血为主。血府逐瘀汤载于清代王清任《医林改错》,其有补肾健脾、活血化瘀、清热解毒之功^[2]。胸腺肽 $\beta 4$ 是多功能小肽类分子,其与血管再生、炎症反应、细胞凋亡等密切相关,近来研究发现其有促肾脏纤维化作用,高水平胸腺肽 $\beta 4$ 可致机体肾功能降低^[3]。Ea花环细胞(erythrocyte-antibody rosette-forming cell, Ea-RFC)形成率是反映机体免疫功能差异性的敏感指标^[4]。本文将研究血府逐瘀汤对LN患者免疫功能、胸腺肽 $\beta 4$ 表达及Ea-RFC的影响,以期对LN患者找到更为有效的治疗方法,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取河北北方学院附属第二医院2020年1月至2021年6月收治的60例LN患者。纳入标准:①符合LN的诊断标准^[5];②符合气阴两虚型诊断标准^[6]:主症为纳少腹胀、腰膝酸软;次症:面色不华、口黏口苦;舌脉:舌淡有齿痕,脉沉细;③血尿、持续蛋白尿;④伴随肾功能不全;⑤双肾体积未缩小;⑥患者对本研究知情同意。排除标准:①严重内脏后内分泌系统功能障碍者;②精神障碍者;③妊娠期或哺乳期女性;④合并心、肝、肺器质性功能障碍者;⑤近期有肾毒性药物应用史者;⑥对本研究药物过敏者;⑦依从性较差者。按照随机

数字表法分为观察组30例与对照组30例。观察组男3例,女27例;年龄33~59岁,平均年龄(46.45 ± 10.13)岁;病程5~48个月,平均病程(26.73 ± 6.21)个月;肾脏病理分型^[7]:Ⅲ型6例,Ⅳ型15例,Ⅴ型9例。对照组患者男4例,女26例;年龄33~59岁,平均年龄(46.64 ± 11.02)岁;病程5~48个月,平均病程(26.71 ± 6.25)个月;肾脏病理分型:Ⅲ型7例,Ⅳ型15例,Ⅴ型8例。两组患者一般资料比较差异无明显统计学意义($P>0.05$)。本研究已获医院伦理委员会批准。

1.2 治疗方法

入院后,给予患者常规宣教,包括注意休息,调节饮食方案,忌烟酒、辛辣等。

对照组:采用泼尼松与环磷酰胺治疗。泼尼松(吉林省银诺克药业有限公司,国药准字H41020636,规格5 mg \times 100片)起始剂量为0.8~1 mg/(kg \cdot d),服用6~8周后开始减量,每2~3周减量5 mg,递减至20 mg/d。激素应用的同时加用环磷酰胺(江苏盛迪医疗有限公司,国药准字H32024654)静脉滴注:每次0.5~1.0 g/m²体表面积,1 h内静脉滴注,每月1次,共6次。治疗18个月。

观察组:在对照组基础上加用血府逐瘀汤,其成分为:当归8 g、赤芍8 g、川芎5 g、桃仁8 g、红花8 g、牛膝5 g、柴胡8 g、桔梗10 g、枳壳5 g、生地5 g、甘草10 g。加500 mL水煎至200 mL,每日1剂,分早晚服用,连续治疗18个月。

1.3 临床疗效

治疗18个月后评估治疗效果,参考美国风湿病学会的《LN筛查、治疗和管理指南》^[8]。显效:症状与体征完全消失,尿常规正常,尿蛋白定量 <0.15 g/24 h。有效:症状与体征基本消失,尿蛋白/红细胞较治疗前减少 $\geq 50\%$,尿蛋白定量持续 <1.0

g/24 h。无效:临床表现与实验室检查未达上述指标。总有效率=(显效例数+有效例数)/总例数。

1.4 观察指标

1.4.1 中医症状积分

治疗前及治疗18个月后对两组患者中医症状纳少腹胀、腰膝酸软、面色不华、口黏口苦进行评估。主症总4分,次症总分3分,分数高则差,分数低则优^[9]。

1.4.2 胸腺肽β4

治疗前及治疗18个月后,采集患者静脉血5 mL,3 500 r/min,离心15 min,离心半径8 cm,取上清液,采用酶联免疫吸附法检测胸腺肽β4表达情况,试剂盒购自北京百奥博科技有限公司,货号M03013。血清胸腺肽β4范围为540~670 pg/mL,其水平异常升高说明肾功能受损^[10]。

1.4.3 Ea-RFC

分别在治疗前及治疗18个月后,取患者外周静脉血0.4 mL,加入肝素0.08 mL,再加缓冲生理盐水至1.0 mL,置入含1.5 mL淋巴细胞分离液的离心管内,平衡离心,随后取沉浊带用hank's液洗,加入适量羊血,离心后取试管底部沉积物,加入染色液后涂片,在高倍镜下计数200个淋巴细胞,计数活性E玫瑰花环形成:结合3个以上的绵羊红细胞为一个花环,计算Ea-RFC,正常值为50%~80%^[11]。

1.4.4 肾功能

于治疗前、治疗18个月后,采集患者外周静脉血液标本5 mL,使用全生动态血沉仪(上海迅达医疗仪器有限公司,型号ESR-30)测定红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR);采用酶联免疫试剂盒行吸附试验检测血清肌酐(serum creatinine, Scr),试剂盒由合肥莱尔生物科技有限公司提供,操作均按试剂盒说明进行。ESR正常范围为0~20 mm/h, Scr正常范围男性44~133 μmol/L、女性50~105 μmol/L,血沉增快或Scr升高说明肾功能有损伤^[12]。

1.4.5 不良反应

统计治疗期间出现的恶心呕吐、皮肤瘙痒、头晕等不良反应发生情况。

1.5 统计学分析

采用SPSS 20.0统计分析软件处理数据;计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较独立样本 t 检验,重复测量数据使用重复测量方差分析;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 分析;疗效评价采用Ridit分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

治疗18个月后,观察组治疗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 两组临床疗效对比 [$n(\%)$]

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

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
观察组	30	24(80.00)	5(16.67)	1(3.33)	29(96.67)
对照组	30	15(50.00)	9(30.00)	6(20.00)	24(80.00)
χ^2 值					4.043
P 值					0.044

2.2 两组中医症状积分比较

治疗前两组患者纳少腹胀、腰膝酸软、面色不华、口黏口苦等中医症状积分比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗18个月后,观察组上述中医症状积分均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组胸腺肽β4表达比较

治疗前,两组患者的胸腺肽β4表达情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,观察组患者胸腺肽β4表达低于对照组患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组Ea-RFC比较

治疗前,两组患者的Ea-RFC比较差异无统计

表2 两组中医症状积分对比 [$(\bar{x} \pm s)$,分]

Table 2 Comparison of TCM symptoms between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, points]

组别	n	纳少腹胀		腰膝酸软		面色不华		口黏口苦	
		治疗前	治疗18个月后	治疗前	治疗18个月后	治疗前	治疗18个月后	治疗前	治疗18个月后
观察组	30	2.91±0.33	0.56±0.12 ^a	2.87±0.31	1.56±0.23 ^a	2.48±0.43	1.21±0.12 ^a	2.36±0.34	1.24±0.24 ^a
对照组	30	2.93±0.39	0.76±0.23 ^a	2.84±0.34	1.77±0.21 ^a	2.44±0.29	1.32±0.15 ^a	2.37±0.22	1.48±0.27 ^a
t 值		0.214	4.223	0.357	3.693	0.422	3.137	0.135	3.639
P 值		0.831	<0.001	0.722	<0.001	0.674	0.003	0.893	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组胸腺肽β4表达比较 $[(\bar{x}\pm s), \mu\text{g/mL}]$ Table 3 Comparison of thymosin β4 expression between the two groups $[(\bar{x}\pm s), \mu\text{g/mL}]$

组别	n	治疗前	治疗后6个月	治疗后12个月	治疗后18个月	F值	P值
观察组	30	3.89±1.07	4.92±1.08 ^a	7.61±1.08 ^{ab}	9.65±1.12 ^{abc}	172.962	<0.001
对照组	30	3.92±1.06	4.13±1.10 ^a	6.72±1.12 ^{ab}	9.01±1.14 ^{abc}	142.317	<0.001
t值		0.109	2.807	3.133	2.193		
P值		0.914	0.007	0.003	0.032		

注:与同组治疗前比,^a $P<0.05$;与同组治疗后6个月比,^b $P<0.05$;与同组治疗后12个月比,^c $P<0.05$ 。

表4 两组Ea-RFC比较 $[(\bar{x}\pm s), \%]$ Table 4 Comparison of Ea-RFC between the two groups $[(\bar{x}\pm s), \%]$

组别	n	治疗前	治疗后6个月	治疗后12个月	治疗后18个月	F值	P值
观察组	30	31.23±5.24	52.11±11.28 ^a	67.09±13.07 ^{ab}	72.82±4.05 ^{abc}	121.015	<0.001
对照组	30	31.65±5.12	41.19±8.28 ^a	54.06±8.11 ^{ab}	61.10±12.04 ^{abc}	67.826	<0.001
t值		0.314	4.274	4.640	5.053		
P值		0.755	<0.001	<0.001	<0.001		

注:与同组治疗前比,^a $P<0.05$;与同组治疗后6个月比,^b $P<0.05$;与同组治疗后12个月比,^c $P<0.05$ 。

学意义($P>0.05$);治疗后,观察组Ea-RFC高于对照组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.5 两组肾功能水平比较

治疗前,两组患者的ESR、Scr比较差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,观察组患者的ESR、Scr低于对照组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表5 两组肾功能水平比较 $(\bar{x}\pm s)$ Table 5 Comparison of renal function between the two groups $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	ESR(mm/h)		Scr($\mu\text{mol/L}$)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	30	81.82±10.35	31.73±8.23 ^a	142.52±12.23	76.12±12.22 ^a
对照组	30	81.84±10.24	41.43±10.22 ^a	142.54±12.33	89.91±12.33 ^a
t值		0.008	4.049	0.043	4.351
P值		0.994	<0.001	0.966	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.6 两组不良反应比较

治疗后,观察组患者的恶心呕吐、皮肤瘙痒、头晕等不良反应发生率与对照组患者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表6。

表6 两组不良反应对比 $[n(\%)]$ Table 6 Comparison of adverse reactions between the two groups $[n(\%)]$

组别	n	恶心呕吐	皮肤瘙痒	头晕	总发生率
观察组	30	1(3.33)	1(3.33)	2(6.66)	4(13.33)
对照组	30	2(6.66)	0(0.00)	1(3.33)	3(10.00)
χ^2 值		0.351	1.017	0.351	0.162
P值		0.554	0.313	0.554	0.688

3 讨论

祖国医学认为LN是由于素体禀赋不足,肾精亏损,或七情内伤,劳累使得阴阳失衡,气血失和,进而血运不畅,气滞血瘀所致,以清热解毒为治疗原则^[13]。本研究结果显示,治疗18个月后,观察组总有效率为96.67%,高于对照组的80.00%,观察组中医症状积分、ESR及Scr水平低于对照组,提示血府逐瘀汤治疗LN患者疗效确切,能改善患者临床症状及肾功能。血府逐瘀汤中的君药当归有补血活血的作用,能解热毒之邪;臣药桃仁有破血行滞而润燥的功效;红花有活血止痛的功效;佐药牛膝有活血通经功效;柴胡有疏肝利胆、升提中气功效;辅药甘草调和诸药,全方共奏滋补肝肾、益气养阴、清热解毒利尿之效^[14]。

高表达的胸腺肽β4可加速肾功能障碍患者肌动蛋白聚合体解聚,延迟肌动蛋白聚合,增强细胞运动性,导致患者病情恶化,通过监测胸腺肽β4表达可推断患者肾脏损伤情况^[15]。本研究结果显示,治疗后,观察组胸腺肽β4表达低于对照组,提示血府逐瘀汤辅助治疗LN患者能延缓肾炎进展。当归含有正丁烯酰内酯、烟酸等成分,能有效改善肾脏局部血流动力学异常;芍药中总苷成分能通过调节丝裂原活化蛋白激酶通路活性,进而影响细胞裂孔膜上的特异性蛋白表达,维持裂孔膜结构完整,延缓肾病进程;川芎中苯酐及其二聚体能减少肾脏氧气自由基产生,抑制人肾纤维细胞增殖,改善肾功能^[16]。

(下转第411页)

外周血 PRDX6 与稳定期 COPD 患者临床特征及频繁急性加重的关系

孙江* 高骏飞 杨培草

[摘要] **目的** 研究外周血过氧化物酶 6 (PRDX6) 与稳定期慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 患者临床特征及频繁急性加重的关系。**方法** 选择 2021 年 1 月至 2022 年 12 月期间寿县人民医院呼吸内科收治的 80 例稳定期 COPD 患者作为研究对象。根据既往 12 个月内急性加重情况分为频繁急性加重组 ($n=42$) 和非频繁急性加重组 ($n=38$)。比较两组患者外周血 PRDX6 水平及临床指标的差异, 采用 logistic 回归模型分析稳定期 COPD 患者频繁急性加重的影响因素。**结果** 频繁急性加重组的外周血 PRDX6 水平、第一秒用力呼气容积 (FEV1)、FEV1/用力肺活量 (FVC)、FEV1 占预计值百分比 (FEV1/pred) 低于非频繁急性加重组, 差异有统计学意义 ($t=14.509, 4.302, 5.755, 4.907, P<0.05$), BODE 指数、COPD 评估测试 (CAT) 评分均高于非频繁急性加重组, 差异有统计学意义 ($t=4.391, 9.212, P<0.05$); 稳定期 COPD 患者外周血 PRDX6 水平与 FEV1、FEV1/FVC、FEV1/pred 呈正相关 ($r=0.341, 0.327, 0.401, 0.294, 0.301, 0.342$), 与 BODE 评分、CAT 评分呈负相关 ($r=-0.328, -0.394, -0.275, -0.351, P<0.05$); logistic 回归分析显示: 外周血 PRDX6 水平增加是频繁急性加重的保护因素, CAT 评分增加是频繁急性加重的危险因素。**结论** 稳定期 COPD 患者外周血 PRDX6 水平降低与肺功能减退、临床症状加重以及频繁急性加重相关。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 频繁急性加重; 过氧化物酶 6; 影响因素

The relationship between peripheral blood PRDX6 and clinical characteristics and frequent acute exacerbation in patients with stable COPD

SUN Jiang*, GAO Junfei, YANG Peicao

(Respiratory Department of Shouxian People's Hospital, Huainan, Anhui, China, 232200)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between peripheral blood peroxiredoxin 6 (PRDX6) and clinical characteristics, frequent acute exacerbation in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** 80 stable COPD patients admitted to our department from January 2021 to December 2022 were selected as the study subjects. They were divided into two groups based on the frequency of acute exacerbation within the past 12 months: the frequent acute exacerbation group ($n=42$) and the non-frequent acute exacerbation group ($n=38$). The differences of peripheral blood PRDX6 level and clinical indicators between the two groups of patients were compared, and the logistic regression model was used to analyze the factors influencing frequent acute exacerbation in stable COPD patients. **Results** The peripheral blood PRDX6 levels, the first second forced expiratory volume (FEV1), FEV1/forced vital capacity (FVC), and FEV1 to predicted percentage (FEV1/pred) of the frequent acute exacerbation group were lower than those in the non-frequent acute exacerbation group ($t=14.509, 4.302, 5.755, 4.907, P<0.05$). Additionally, the BODE index and COPD assessment test (CAT) score were higher in the frequent acute exacerbation group compared to the non-frequent acute exacerbation group ($t=4.391, 9.212, P<0.05$). The peripheral blood PRDX6 level in stable COPD patients showed a positive correlation with FEV1, FEV1/FVC, FEV1/pred ($r=0.341, 0.327, 0.401, 0.294, 0.301, 0.342$), and a negative correlation with the BODE index and CAT score

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目 (AFWJ20223926)

作者单位:寿县人民医院呼吸内科,安徽,淮南 232200

*通信作者:孙江, E-mail: sunjiangdoctor@163.com

($r=-0.328, -0.394, -0.275, -0.351, P<0.05$). Logistic regression analysis revealed that an increased peripheral blood PRDX6 level was a protective factor for frequent acute exacerbation, while an increased CAT score was a risk factor for frequent acute exacerbation. **Conclusion** The decreased peripheral blood levels of PRDX6 in stable COPD patients are associated with decreased lung function, worsening clinical symptoms, and frequent acute exacerbations.

[KEY WORDS] Chronic obstructive pulmonary disease; Frequent acute exacerbation; Peroxiredoxin 6; Influence factor

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是常见呼吸道慢性炎症性疾病,根据病情变化分为稳定期和急性加重期。COPD频繁急性加重导致住院率和死亡率显著增加,严重影响患者的生命安全、直接增加家庭和社会的经济负^[1-2]。因此,全面认识COPD频繁急性加重的临床特点及影响因素,筛查频繁急性加重的高风险COPD人群并进行早期防治对优化病情、改善预后具有重要意义。过氧化物酶(Peroxiredoxins, PRDXs)是一组具有过氧化氢酶活性的抗氧化酶,包括PRDX1-6六个成员,在不同组织中通过抗氧化活性发挥保护作用。研究资料显示,COPD细胞模型中PRDX6表达水平降低与细胞损伤加重相关,提示PRDX6低表达可能参与COPD的发生发展^[3]。但PRDX6与COPD发生及病情进展的关系尚缺乏临床研究证据。本研究以稳定期COPD患者为对象,具体分析外周血PRDX6与临床特征及频繁急性加重的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2021年1月至2022年12月期间寿县人民医院呼吸内科收治的80例稳定期COP患者作为研究对象。根据既往12个月内急性加重情况分为频繁急性加重组($n=42$)和非频繁急性加重组($n=38$)。纳入标准:①符合指南中COPD的诊断标准^[4];②病情处于稳定期;③临床资料完整,可判断是否频繁急性加重;④入组时留取空腹外周血样本待

测。排除标准:①合并支气管哮喘、支气管扩展等其他呼吸系统疾病;②合并恶性肿瘤、精神疾病等;③存在意识障碍或肢体功能障碍。本研究获得医院临床伦理委员会批准,取得入组患者知情同意并签署知情同意书。

两组患者性别、年龄、COPD病程、体质指数(BMI)以及合并高血压、糖尿病、高脂血症的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

1.2 频繁急性加重的评估

参照指南^[4],COPD急性加重指由于感染等因素导致呼吸困难、咳嗽咳痰等呼吸系统症状加重并调整治疗方案;参照文献^[5],频繁急性加重指过去12个月内急性加重次数 ≥ 2 次或 ≥ 1 次并导致住院。

1.3 外周血PRDX6水平的检测

入组当天或次日采集空腹外周静脉血3~5 mL,采用酶联免疫吸附法试剂盒(上海西塘生物科技有限公司)检测PRDX6水平,按照试剂盒说明书检测血清样本及标准品对应的吸光值,根据标准品的浓度和吸光值绘制标准曲线,将待测血清样本的吸光值代入标准曲线、计算PRDX6水平。检测和计算均由同一名人员按照试剂盒说明书完成操作。

1.4 临床资料的收集

收集稳定期COPD患者的以下临床指标:①实验室指标:白细胞计数(White blood cell, WBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、血小板计数(platelet, PLT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、白蛋白(albumin, ALB)、肌酐(creatinine, Cr);②采用德国耶格肺功

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

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

组别	性别		年龄 (岁)	COPD 病程(年)	BMI (kg/m^2)	合并症		
	男	女				高血压	糖尿病	高脂血症
频繁急性加重组	27(64.29)	15(35.71)	67.61 \pm 5.69	5.23 \pm 0.75	22.89 \pm 3.54	22(52.38)	17(40.48)	19(45.24)
非频繁急性加重组	22(57.89)	16(42.11)	66.23 \pm 6.47	5.51 \pm 0.71	22.24 \pm 3.29	16(42.10)	13(34.21)	14(36.84)
χ^2/t 值	0.343		1.015	1.701	0.848	0.845	0.334	0.580
P 值	0.558		0.313	0.091	0.399	0.358	0.563	0.446

能仪进行肺功能测定:用力肺活量(FVC)、第一秒用力呼气容积(forced expiratory volume in the first second, FEV1),计算 FEV1\FVC 及 FEV1 占预计值百分比(FEV1 Percentage of the predicted value, FEV1/pred%);③量表评估:参照指南^[4]完成 BODE 指数(body mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index, BODE)、COPD 评估测试(COPD assessment test, CAT)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,两组间比较采用卡方检验;相关性分析采用 Pearson 检验;频繁急性加重的影响因素采用 logistic 多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 频繁急性加重组与非频繁急性加重组外周血 PRDX6 及临床指标的比较

频繁急性加重组的外周血 PRDX6 水平、FEV1、FEV1/FVC、FEV1/pred 低于非频繁急性加重组,BODE 指数、CAT 评分均高于非频繁急性加重组,差异有统计学意义($P < 0.05$);FVC、WBC、Hb、PLT、TG、TC、ALB、CRP、Cr 的水平与非频繁急性加重组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 频繁急性加重组与非频繁急性加重组外周血 PRDX6 及临床资料的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of PRDX6 and clinical data in peripheral blood between frequent acute exacerbation and infrequent acute exacerbation ($\bar{x} \pm s$)

指标	频繁急性加重组	非频繁急性加重组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
PRDX6 (pg/mL)	51.38±4.94	70.32±6.68	14.509	<0.001
FEV1 (L)	1.34±0.30	1.62±0.28	4.302	<0.001
FVC (L)	2.70±0.35	2.75±0.39	0.604	0.547
FEV1/FVC (%)	49.63±6.68	58.91±7.74	5.755	<0.001
FEV1/pred (%)	47.12±6.41	53.58±5.23	4.907	<0.001
BODE 指数	3.98±0.51	3.51±0.44	4.391	<0.001
CAT 评分	16.85±2.31	12.44±1.93	9.212	<0.001
WBC (×10 ⁹ /L)	8.12±1.42	7.73±1.21	1.315	0.192
Hb (g/L)	132.59±17.23	135.14±18.04	0.635	0.527
PLT (×10 ⁹ /L)	221.32±36.45	213.91±39.14	0.877	0.383
TG (mmol/L)	1.55±0.24	1.47±0.21	1.579	0.119
TC (mmol/L)	4.98±0.71	4.78±0.78	1.201	0.234
ALB (g/L)	35.32±6.51	36.91±5.94	1.137	0.259
CRP (mg/L)	3.11±0.84	2.79±0.78	1.760	0.082
Cr (μmol/L)	90.12±13.23	86.69±11.32	1.239	0.219

2.2 频繁急性加重组与非频繁急性加重组外周血 PRDX6 与部分临床指标的相关性

频繁急性加重组与非频繁急性加重组患者外周血 PRDX6 水平与 FEV1、FEV1/FVC、FEV1/pred 呈正相关,与 BODE 指数、CAT 评分呈负相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 外周血 PRDX6 与部分临床指标的相关性

Table 3 Correlation between PRDX6 in peripheral blood and some clinical indicators

指标	频繁急性加重组		非频繁急性加重组	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
FEV1	0.341	0.010	0.294	0.022
FEV1/FVC	0.327	0.011	0.301	0.020
FEV1/pred	0.401	0.003	0.342	0.015
BODE 指数	-0.328	0.011	-0.275	0.028
CAT 评分	-0.394	0.003	-0.351	0.014

2.3 稳定期 COPD 患者频繁急性加重的影响因素

以稳定期 COPD 患者是否发生频繁急性加重为因变量,以 2.1 中两组间比较有统计学差异的 PRDX6、FEV1、FEV1/FVC、FEV1/pred、BODE 评分、CAT 评分为自变量,经 logistic 多因素分析显示:外周血 PRDX6 水平增加是频繁急性加重的保护因素,CAT 评分增加是频繁急性加重的危险因素。见表 4。

表 4 稳定期 COPD 患者频繁急性加重的影响因素

Table 4 Influencing factors of frequent acute exacerbations in stable COPD patients

自变量	β 值	OR 值	95% CI	Wald 值	<i>P</i> 值
PRDX6	-0.165	0.848	0.773~0.961	7.482	0.002
FEV1	-0.221	0.802	0.587~1.323	1.385	0.118
FEV1/FVC	-0.661	0.516	0.309~1.105	1.771	0.092
FEV1/pred	-0.141	0.868	0.751~1.292	1.039	0.173
BODE 指数	0.671	1.956	0.901~2.552	0.739	0.219
CAT 评分	0.723	2.061	1.523~2.661	5.938	0.015

3 讨论

COPD 以不完全可逆的气流受限为主要临床特征,其临床表现具有较强异质性,病情进展过程中稳定期和急性加重期交替出现^[5]。研究资料显示,无论气道功能好坏,存在部分 COPD 患者更容易发生急性加重,这部分患者被归为频繁急性加重表型^[6-7]。频繁急性加重会导致 COPD 患者气流受限加重、引起肺功能下降,同时也增加患者的住院风险和死亡风险^[8]。因此,COPD 频繁急性加重受到越来越多临床研究的关注。

多项临床研究对稳定期 COPD 患者频繁急性加重展开分析,以过去 12 个月急性加重次数 ≥ 2 次或急性加重 1 且住院作为频繁急性加重的标准,频繁急性加重的发生率约 50%~60%^[9-11]。本研究中,80 例稳定期 COPD 患者中频繁急性加重患者 42 例,频繁急性加重的发生率 52.5%,与既往相关的研究结果接近^[9-11]。COPD 频繁急性加重表现出异质性,研究资料显示患者的肺功能指标以与是否频繁急性加重无明显关系^[9-11];常规实验室检验指标,如 WBC、中性粒细胞计数、CRP 等也与稳定期 COPD 频繁急性加重不相关^[10-12]。本研究中,频繁急性加重的稳定期 COPD 患者肺功能指标 FEV₁、FEV₁/FVC、FEV₁/pred 低于非频繁急性加重,但在多因素 logistic 回归分析中上述肺功能指标不是频繁急性加重的影响因素;频繁急性加重与非频繁急性加重的稳定期 COPD 患者各项实验室检验指标的比较无差异。本研究的上述结果与国内学者关于稳定期 COPD 频繁急性加重的研究结果相似,提示常规肺功能检测以及实验室检测对稳定期 COPD 频繁急性加重无评估价值。

炎症反应及氧化应激反应是与 COPD 病情进展密切相关的生物学环节,急性加重过程中炎症细胞活化并在气道内浸润,大量产生炎症介质及活性氧并导致气道炎症反应及氧化应激反应激活,进而使气道上皮损害及气流受限加重^[13-14]。PRDX6 是 PRDX 家族的成员之一,通过其抗氧化活性发挥抑制炎症反应和氧化应激反应的作用^[15]。相关研究显示:COPD 细胞模型中 PRDX6 表达水平降低与气道上皮损害相关^[3],提示 PRDX6 可能参与 COPD 的发生发展。本研究中,稳定期 COPD 患者外周血 PRDX6 水平与气道功能 FEV₁、FEV₁/FVC、FEV₁/pred 呈正相关,与病情评分 BODE、CAT 呈负相关,提示 PRDX6 可能在稳定期 COPD 患者中发挥保护作用,对肺功能及临床症状均具有改善作用。

为深入认识 PRDX6 在 COPD 发生发展中的作用及其对频繁发作的评估价值,本研究通过组间比较证实:频繁急性加重的稳定期 COPD 患者外周血 PRDX6 水平低于非频繁急性加重;进一步通过 logistic 回归分析证实:外周血 PRDX6 水平增加是频繁急性加重的危险因素,CAT 评分增加是频繁急性加重的保护因素。PRDX6 的分析结果提示 PRDX6 降低参与 COPD 的发生发展、与频繁急性加重相关,CAT 评分的分析结果与国内两项研究中

CAT 评分增加与频繁急性加重相关的结果吻合。

综上所述,稳定期 COPD 患者外周血 PRDX6 水平降低与肺功能减退、临床症状加重以及频繁急性加重相关。

参考文献

- [1] Jacobsen PA, Kragholm KH, Torp-Pedersen C, et al. Employment Status, Readmission and Mortality After Acute Exacerbation of COPD [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2021, 5(16): 2257-2265.
- [2] Dang X, Kang Y, Wang X, et al. Frequent exacerbators of chronic obstructive pulmonary disease have distinguishable sputum microbiome signatures during clinical stability [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 1037037.
- [3] Luo J, Wang X, Wei T, et al. Peroxinredoxin 6 reduction accelerates cigarette smoke extract-induced senescence by regulating autophagy in BEAS-2B cells [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 26(2): 375.
- [4] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组,中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021年修订版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(3): 170-205.
- [5] 韩慧珊,张成,汪利宗. PCT、CRP、EOS、NLR 对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的病情评估及预后预测[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(3): 516-520.
- [6] Zhu D, Dai H, Zhu H, et al. Identification of frequent acute exacerbations phenotype in COPD patients based on imaging and clinical characteristics[J]. *Respir Med*, 2023, 209: 107150.
- [7] Wu JJ, Xu HR, Zhang YX, et al. The characteristics of the frequent exacerbator with chronic bronchitis phenotype and non-exacerbator phenotype in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis and system review [J]. *BMC Pulm Med*, 2020, 20(1): 103.
- [8] Wu YK, Su WL, Yang MC, et al. Characterization Associated with the Frequent Severe Exacerbator Phenotype in COPD Patients [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2021, 30(16): 2475-2485.
- [9] 冯秀敏,葛海燕,戈霞晖,等. 上海地区三甲医院频繁与非频繁急性加重稳定期 COPD 患者的临床特征差异及其临床意义[J]. *国际呼吸杂志*, 2020, 40(5): 327-335.
- [10] 洗美兰,王贤君,李纯香,等. 稳定期慢性阻塞性肺疾病频繁急性加重的影响因素及其与血清 SFRP1、PGRN 水平的相关性[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(1): 151-158.
- [11] 李建英,刘远程,潘杨. 8-异前列腺素 F₂ α 和白细胞介素-17 预测慢性阻塞性肺疾病稳定期患者急性发作的作用[J]. *医学研究生学报*, 2022, 35(8): 863-867.
- [12] Zhou Y, He S, Wang W, et al. Development and Validation of Prediction Models for Exacerbation, Frequent Exacerbations and Severe Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Registry Study in North China [J]. *COPD*, 2023, 20(1): 327-337.

- [13] Raby KL, Michaeloudes C, Tonkin J, et al. Mechanisms of airway epithelial injury and abnormal repair in asthma and COPD[J]. *Front Immunol*, 2023, 13(14): 1201658.
- [14] Bollenbecker S, Heitman K, Czaya B, et al. Phosphate induces inflammation and exacerbates injury from cigarette smoke

in the bronchial epithelium[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1):4898.

- [15] Li HT, Tan F, Zhang TH, et al. Peroxiredoxin 6 mediates the protective function of curcumin pretreatment in acute lung injury induced by serum from patients undergoing one-lung ventilation in vitro[J]. *BMC Pulm Med*, 2022, 22(1):192.

(上接第406页)

系统性红斑狼疮可引起免疫反应异常, B淋巴细胞增殖分化, 产生免疫抗体, 抗体介导的红细胞表面补体激活, 累及肾脏, 导致LN。临床常用E玫瑰花结沉淀法分离淋巴细胞, 获得纯度较高的T淋巴细胞, 通过Ea-RFC形成率反映患者体内的补体效应及免疫异常状态, 肾炎患者Ea-RFC形成率显著降低^[17]。本研究显示, 治疗后, 观察组Ea-RFC高于对照组, 提示血府逐瘀汤辅助治疗能改善LN患者免疫功能。泼尼松能够抑制吞噬功能细胞因子释放, 发挥免疫抑制及抗炎效应; 环磷酰胺可抑制淋巴细胞及T细胞增殖, 阻止免疫球蛋白及抗体产生^[18]。血府逐瘀汤中的红花含有黄酮类成分、酚类成分, 可有效推动患者免疫功能恢复; 牛膝含有蜕皮甾酮, 具有蛋白质合成促进作用, 增高肝肾蛋白质合成水平, 改善肾损伤; 桔梗中含有桔梗皂苷, 具有抗炎作用, 能有效抑制肾脏炎症反应进展^[19]。本研究结果显示, 治疗后, 观察组恶心呕吐、皮肤瘙痒、头晕等不良反应发生率与对照组比较差异无统计学意义, 提示血府逐瘀汤治疗LN患者安全性较高。

综上所述, 血府逐瘀汤治疗LN患者疗效确切, 能够减少患者体内胸腺肽 $\beta 4$ 表达, 提高Ea-RFC, 改善肾脏及免疫功能, 安全性较高。

参考文献

- [1] 许东贤, 谢飞. 吗替麦考酚酯联合泼尼松治疗狼疮性肾炎临床观察[J]. *中国药业*, 2022, 31(24): 83-86.
- [2] 蒋燕. 《医林改错》瘀血病证的初步探讨[J]. *北京中医药大学学报*, 2014, 37(3): 152-155+164.
- [3] Wang W, Jia W, Zhang C. The Role of T $\beta 4$ -POP-Ac-SDKP Axis in Organ Fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21):13282.
- [4] 陈冠铭, 杨丽姿, 庞定国, 等. 双黄连可溶性粉对S180荷瘤小鼠腹腔巨噬细胞C3b和Fc受体的影响[J]. *动物医学进展*, 2023, 44(1): 90-96.
- [5] 中华医学会风湿病学分会, 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心, 中国系统性红斑狼疮研究协作组. 2020中国系统性红斑狼疮诊疗指南[J]. *中华内科杂志*, 2020, 59(3): 172-185.
- [6] 梁茂新, 高天舒. 《中药新药临床研究指导原则》脏腑诸证

考察与分析[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2008, 14(5): 330-331+342.

- [7] 中华中医药学会肾病分会. IgA肾病的诊断、辨证分型和疗效评定(试行方案)[J]. *上海中医药杂志*, 2007, 41(5): 9-10.
- [8] Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis[J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2012, 64(6): 797-808.
- [9] 商洪才, 王保和, 张伯礼. 中药新药证候及疗效评价[J]. *中药新药与临床药理*, 2004; 15(5): 365-368.
- [10] Zhang J, Long M, Sun Z, et al. Association between Thymosin beta-4, acute kidney injury, and mortality in patients with sepsis: An observational cohort study[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101(Pt A): 108167.
- [11] Park HS, Shin KS, Son BR. Neutrophil-erythrocyte rosettes in direct antiglobulin test-negative autoimmune hemolytic anemia[J]. *Blood Res*, 2019, 54(3): 164.
- [12] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程(第4版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 629-790.
- [13] 张军, 唐茂芝, 潘乾广, 等. 狼疮性肾炎伴血栓性微血管病变危险因素及预后分析[J]. *重庆医学*, 2019, 48(18): 3067-3070, 3076.
- [14] 林卫佳, 张亚平, 冯平, 等. 血府逐瘀汤联合西药对结核性胸膜炎肺功能及外周血细胞的影响[J]. *世界中医药*, 2022, 17(2): 229-232.
- [15] Mason WJ, Vasilopoulou E. The pathophysiological role of thymosin $\beta 4$ in the kidney glomerulus[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 7684.
- [16] 秦军建, 邢艳芳, 莫江彬. 益气解毒活血方联合他克莫司治疗狼疮性肾炎肾病综合征临床观察[J]. *陕西中医*, 2017, 38(8): 1059-1060.
- [17] Hair P, Goldman DW, Li J, et al. Classical complement activation on human erythrocytes in subjects with systemic lupus erythematosus and a history of autoimmune hemolytic anemia[J]. *Lupus*, 2020, 29(10): 1179-1188.
- [18] 陈士军, 张晓艳, 罗田, 等. 环磷酰胺联合泼尼松治疗对狼疮性肾炎患者免疫功能及血清类风湿因子、C反应蛋白及白介素-17水平的影响[J]. *实用临床医药杂志*, 2019, 23(15): 75-78+82.
- [19] 苗静, 姚福梅. 血府逐瘀汤加味方对冠心病合并糖尿病肾病患者肾功能、心功能、炎症反应及血管内皮功能的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2021, 30(9): 987-990.

P-gp、GST π 联合 TOPO II α 检测对三阴性乳腺癌新辅助化疗病理完全缓解的预测价值

吕宁* 王芳 陈卓

[摘要] **目的** 分析P-糖蛋白(P-gp)、谷胱甘肽转移酶(GST π)联合拓扑异构酶 II α (TOPO II α)检测对三阴性乳腺癌(TNBC)患者新辅助化疗(NAC)病理完全缓解(pCR)的预测价值。**方法** 本研究为一项回顾性、单中心、双盲法的试验,选取郑州大学第一附属医院自2020年3月至2022年10月,经纳入、排除标准共筛查135名TNBC患者作为研究对象,均为女性。采用SP免疫组化法检测P-gp、GST π 、TOPO II α ,分析TNBC患者NAC疗效,行单因素、多因素分析P-gp、GST π 、TOPO II α 表达与NAC pCR的关系,绘制ROC曲线分析P-gp、GST π 、TOPO II α 单一及联合检测对TNBC患者NAC pCR的预测价值。**结果** NAC后,cCR者47例(34.81%),cPR者72例(53.33%),SD者12例(8.90%),PD者4例(2.96%),总有效率88.14%;pCR者21例(15.55%)。经单因素分析,P-gp、GST π 阳性表达pCR率低于P-gp、GST π 阴性表达pCR率,TOPO II α 阳性表达pCR率则高于阴性性表达pCR率,差异均有统计学意义($P<0.05$)。P-gp、GST π 、TOPO II α 表达与pCR具有显著相关性[OR(95%CI)分别为1.446(1.127~1.858)、1.640(1.304~2.063)、1.548(1.227~1.984), $P<0.05$]。P-gp、GST π 、TOPO II α 联合检测对NAC pCR灵敏度、特异度分别为90.73%、86.73%,AUC(95%CI)为0.813(0.743~0.908),均高于上述指标单一检测($P<0.05$)。**结论** P-gp、GST π 和TOPO II α 表达与TNBC患者NAC pCR有一定关联,且通过联合上述指标检测NAC pCR有着较高预测价值,有利于帮助临床医生为TNBC患者进一步制定更合适的治疗策略。

[关键词] P-糖蛋白; 拓扑异构酶 II α ; 谷胱甘肽转移酶; 三阴性乳腺癌; 新辅助化疗

Predictive value of P-gp, GST π combined with TOPO II α detection for pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer

LV Ning*, WANG Fang, CHEN Zhuo

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

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of P-glycoprotein (P-gp), glutathione transferase (GST π) combined with topoisomerase II α (TOPO II α) assay for pathological complete remission (pCR) of neoadjuvant chemotherapy (NAC) in patients with triple negative breast cancer (TNBC). **Methods** This study is a retrospective, single-center, double-blind trial. A total of 135 TNBC patients, all female, were selected from the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from March 2020 to October 2022 and screened according to the inclusion and exclusion criteria. SP immunohistochemistry was used to detect P-gp, GST π , and TOPO II α to analyze the efficacy of NAC in TNBC patients, and single and multifactorial analyses were performed to analyze the relationship between the expression status of P-gp, GST π , and TOPO II α and NAC pCR. ROC curves were plotted to analyze the predictive value of P-gp, GST π , and TOPO II α single and combined assays on NAC pCR in TNBC patients. **Results** After NAC, 47 cases (34.81%) achieved complete clinical response (cCR), 72 cases (53.33%) achieved partial cPR, 12 cases (8.90%) had SD, and 4 cases (2.96%) had PD. The total effective rate was 88.14%. with 21 cases (15.55%)

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(201702016)

作者单位:郑州大学第一附属医院乳腺外科,河南,郑州 450000

*通信作者:吕宁, E-mail: 15039094152@163.com

achieving pCR. Following NAC, 21 cases (15.55%) achieved pCR, in univariate analysis, the pCR rate was lower for positive expression of P-gp and GST π compared to expression, while the pCR rate of positive expression of TOPO II α compared to negative expression, with statistically significant differences ($P < 0.05$). P-gp, GST π , and TOPO II α expression were significantly associated with pCR [OR(95% CI) 1.446 (1.127~1.858), 1.640(1.304~2.063), and 1.548(1.227~1.984), respectively, ($P < 0.05$)]. The sensitivity and specificity of combined detection of P-gp, GST π , and TOPO II α for NAC pCR were 90.73% and 86.73%, respectively, with an AUC (95% CI) of 0.813 (0.743-0.908); all of which were higher than single detection of these indicators ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of P-gp, GST π and TOPO II α was found to be correlated with NAC pCR in TNBC patients. Combining the above indicators for the detection of NAC pCR has a high predictive value. This is beneficial in helping clinicians develop more appropriate treatment strategies for TNBC patients.

[KEY WORDS] P-glycoprotein; Topoisomerase II α ; Glutathione transferase; Triple-negative breast cancer; Neoadjuvant chemotherapy

三阴性乳腺癌(Triple-negative breast cancer, TNBC)是一种特殊类型的乳腺癌,其特点在于雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体2的表达缺失,尤其好发于<40岁的年轻女性,约占全部乳腺癌10%~22%^[1]。目前临床对于TNBC缺乏针对性治疗,且相较于非三阴乳腺癌,TNBC发病年龄早、肿瘤体积较大、发生内脏转移及骨转移风险较高,因此TNBC患者预后较差^[2]。近年随着检测诊断技术和免疫治疗进展的提升,临床实践发现新辅助化疗(Neoadjuvant chemotherapy, NAC)对于侵袭性的癌症有着理想的病理完全缓解(Pathological complete response, pCR)率,可缩小肿瘤、降低分期,进而提高患者生存率^[3]。然而并不是所有TNBC均能从NAC中获益,因此,在结合经典用药的基础上,及时准确预测化疗反应具有积极作用。国内外诸多研究资料表明,P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、谷胱甘肽转移酶(Glutathione transferase, GST π)和拓扑异构酶II α (Topoisomerase II α , TOPO II α)作为预测乳腺癌患者NAC反应的生物标志物,与乳腺癌耐药性和化疗敏感性密切相关^[4]。对此,本文旨在分析P-gp、GST π 联合TOPO II α 检测对TNBC患者NAC pCR的预测价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究为一项回顾性、单中心、双盲法的试验,选取郑州大学第一附属医院自2020年3月至2022年10月,经纳入、排除标准共筛查135例TNBC患者作为研究对象,均为女性。纳入标准:①经病理检查确诊为TNBC^[5];②病理资料完整,

且年龄<70岁;③存在化疗指征,且行NAC;④无血液系统疾病史;排除标准:①既往存在放疗化疗史;②无法正常言语交流;③伴有炎性乳腺癌、双侧乳腺癌、妊娠期乳腺癌等。

135例TNBC患者中,年龄 ≤ 40 岁55例,>40岁80例;月经状况:绝经前54例,绝经后81例;肿瘤大小:<2 cm 77例,2~5 cm 58例;TNM分期(参照第8版AJCC乳腺癌分期相关标准)^[6]:II a期72例,II b期42例,III a期6例,III b期15例;病理类型:浸润性导管癌115例,其他20例;组织学分级:1~2级73例,3级62例;淋巴结转移:有55例,无80例。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案

所有研究对象均行PC方案,即紫杉醇+卡铂,具体用法用量参考文献^[7],化疗周期至少4周,行NAC术后2周,均行乳腺癌根治性手术。

疗效国际评价标准^[6]:临床完全缓解(clinical complete response, cCR):全部目标病灶通过治疗完全消失,且无新病灶出现;临床部分缓解(clinical partial response, cPR):目标病灶的直径总和缩小,且缩小幅度达到基线的30%及以上;疾病稳定(stabledisease, SD):目标病灶的直径缩小未达到30%,或增加未超过20%;疾病进展(progressive disease, PD):出现新病灶,或目标病灶的直径和相对增加至少20%;总有效率= $[(cCR + cPR)/n] \times 100\%$ 。pCR:病灶从病理学上完全变成原位癌或者完全消失。

1.2.2 P-gp、GST π 、TOPO II α 检测

均行SP免疫组化法,采用10%福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片厚度为3~4 μm ,使用柠檬酸盐缓冲液抗原修复,阻断 H_2O_2 (用3% H_2O_2 浸泡切

片 5~10 min),血清封闭,加一抗(鼠抗 P-gp、GST π 、TOPO II α ,试剂均来自上海古朵生物科技有限公司),室温下孵育 1~2 h 或 4 $^{\circ}$ C 过夜,加二抗(标记有 HRP 的抗体),室温下孵育 30~60 min,加入 DAB 显色剂显色,最后用苏木素复染,封片。

结果判读^[7]:免疫组化阳性染色为明显的黄色和棕黄色颗粒。P-gp:胞质、胞膜出现棕黄色颗粒为染色阳性;GST π :胞质、胞核出现棕黄色颗粒为染色阳性;TOPO II α :胞核出现棕黄色颗粒为染色阳性。无染色(-)为 0 分,染色较浅(+)为 1 分,染色中等(++)为 2 分,染色深且清晰(+++)为 3 分。每张切片随时观察 5 个高倍视野,每个视野计数 500 个肿瘤细胞,计算阳性细胞的百分比,<10% (-)为 0 分, \geq 10%、<25% (+)为 1 分, \geq 25%、<50% (++)为 2 分, \geq 50% (+++)为 3 分。综合判读评分 = 染色强度评分+阳性细胞百分比评分,综合判读评分 \geq 1 分则判定为阳性。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;单因素分析中,采用卡方或 Fisher 精确概率法;多因素分析中,使用向前条件逐步法逻辑回归分析,并设定相应的进入条件;绘制 ROC 曲线分析 P-gp、GST π 、TOPO II α 单一及联合检测对 TNBC 患者 NAC pCR 的预测价值;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TNBC 患者 NAC 疗效

NAC 后,cCR 者 47 例(34.81%),cPR 者 72 例(53.33%),SD 者 12 例(8.90%),PD 者 4 例(2.96%),总有效率 88.14%;pCR 者 21 例(15.55%)。

2.2 TNBC 患者 NAC 前后 P-gp、GST π 、TOPO II α 表达

NAC 后,P-gp、GST π 阳性表达高于 NAC 前,但差异无统计学意义($P>0.05$);与 NAC 前比较,NAC 后 TOPO II α 阳性表达下降,差异具有统计学

意义($P<0.05$)。见表 1。

2.3 单因素分析 P-gp、GST π 、TOPO II α 表达与 NAC pCR 之间的关系

经单因素分析,P-gp、GST π 阳性表达 pCR 率低于 P-gp、GST π 阴性表达 pCR 率,TOPO II α 阳性表达 pCR 率则高于阴性性表达 pCR 率,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 单因素分析 TNBC 患者 NAC 后 pCR 与 P-gp、GST π 、TOPO II α 表达的关系

Table 2 The relationship between pCR and P-gp, GST π and TOPO II α expression after NAC in TNBC patients was analyzed by univariate analysis

因素	n	pCR(单变量分析)					
		n	%	OR 值	95% CI	P 值	
P-gp	阳性	49	3	6.12	3.152	1.162~7.655	0.022
	阴性	86	18	20.93	1.000		
GST π	阳性	60	5	8.33	0.596	0.240~0.893	0.038
	阴性	75	16	21.33	1.000		
TOPO II α	阳性	43	13	30.23	0.375	0.158~0.768	0.001
	阴性	92	8	8.69	1.000		

2.4 多因素分析 TNBC 患者 NAC 后 pCR 与 P-gp、GST π 、TOPO II α 表达的关系

P-gp、GST π 、TOPO II α 表达与 pCR 具有显著相关性[OR(95%CI)分别为 1.446(1.127~1.858)、1.640(1.304~2.063)、1.548(1.227~1.984), $P<0.05$]。见表 3。

2.5 P-gp、GST π 、TOPO II α 单一及联合检测对 TNBC 患者 NAC pCR 的预测价值

P-gp、GST π 、TOPO II α 联合检测对 NAC pCR 灵敏度、特异度分别为 90.73%、86.73%,AUC(95%CI)为 0.813(0.743~0.908),均高于上述指标单一检测($P<0.05$)。见表 4、图 1。

3 讨论

对于 TNBC 患者而言,NAC pCR 是指化疗后,患者的肿瘤已经完全消失或缩小到几乎无法察觉的程度,且无淋巴结转移或远处转移,此种情况被

表 1 TNBC 患者 NAC 前后 P-gp、GST π 、TOPO II α 表达 [$n(\%)$]

Table 1 Expression of P-gp, GST π and TOPO II α before and after NAC in patients with TNBC [$n(\%)$]

组别	P-gp		GST π		TOPO II α	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
NAC 前	40(29.63)	95(70.37)	54(40.00)	81(60.00)	61(45.18)	74(54.82)
NAC 后	49(36.30)	86(63.70)	60(44.44)	75(55.56)	43(31.85)	92(68.15)
χ^2 值	1.357		0.546		5.067	
P 值	0.243		0.459		0.024	

表3 多因素分析 TNBC 患者 NAC 后 pCR 与 P-gp、GSTπ、TOPO II α 表达的关系

Table 3 The relationship between pCR and P-gp, GSTπ and TOPO II α expression after NAC in TNBC patients was analyzed by multiple factors

因素	赋值	pCR(多变量分析)				
		β 值	Wald χ ² 值	OR 值	95% CI	P 值
P-gp	阳性=1, 阴性=0	0.388	8.528	1.446	1.127~1.858	<0.001
GSTπ	阳性=1, 阴性=0	0.472	4.679	1.640	1.304~2.063	0.034
TOPO II α	阳性=1, 阴性=0	0.463	5.288	1.548	1.227~1.984	0.009

表4 P-gp、GSTπ、TOPO II α 单一及联合检测对 TNBC 患者 NAC pCR 的预测价值

Table 4 Prognostic value of single and combined detection of P-gp, GSTπ and TOPO II α for NAC pCR in TNBC patients

检查	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC(95% CI)	P 值
P-gp	65.83	59.40	0.580(0.453~0.682)	0.010
GSTπ	55.77	53.18	0.523(0.414~0.597)	0.029
TOPO II α	58.86	54.22	0.561(0.435~0.667)	0.019
P-gp、GSTπ、TOPO II α 联合	90.73	86.73	0.813(0.743~0.908)	<0.001

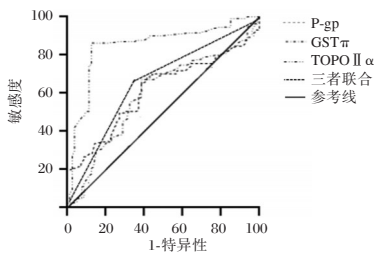


图1 ROC 曲线

Figure 1 The ROC curve

认为是 NAC 较为成功的结果,有利于提高化疗后手术切除肿瘤的机率。本次研究结果显示,NAC 总有效率 88.14%, pCR 率 15.55%,与邓丁梅等^[8] 2021 年报道 NAC pCR 率约 15.74% 高度相似。结果提示仍有部分 TNBC 患者对于 NAC 敏感度较低,化疗效果较差,甚至引发严重的不良反应;提示行 NAC 前,选择术前疾病预测因子检测具有重要作用。

近年国内外诸多学者认为 P-gp、TOPO II α 及 GSTπ 可反映化疗耐药性^[9]。P-gp 是一种由 MDR1 基因编码的跨膜蛋白,TOPO II α 则与 DNA 复制和修复有关,而 GSTπ 是一种与细胞耐药性有关的酶。Ściskalska 等^[10]通过检测 P-gp、TOPO II α 及 GSTπ 观察金胶囊联合 NAC 对浸润性乳腺癌疗效,发现化疗前后 P-gp、GSTπ、Topo II α 的阳性率及表达发生变化,但差异无统计学意义。本研

究结果:NAC 后,P-gp、GSTπ 阳性表达高于 NAC 前,但差异无统计学意义;而化疗后 TOPO II α 阳性表达下降,且差异具有统计学意义。说明 TNBC 患者经 NAC,可影响 P-gp、TOPO II α 及 GSTπ 表达,但仅 TOPO II α 表达发生显著变化,与既往部分研究^[10]存在差异,可能是标本量、研究对象不同所致。通过 P-gp 介导的主动转运,多种药物可从细胞中被清除,降低细胞内药物浓度,不利于药物疗效^[11]。Topo II α 在正常细胞的 DNA 合成和分裂中起重要作用,其水平高低与抗癌药物作用呈正比,是治疗癌症的有效靶点^[12]。在多种肿瘤中,GSTπ 呈现高表达,目前有文献认为其与肿瘤的耐药有关^[13]。Elmeliegy 等^[14]经前瞻性研究,认为 P-gp、GSTπ 阴性表达、TOPO II α 阳性表达的 TNBC 患者更可能对 NAC 产生 pCR。本研究结果显示,P-gp、GSTπ 阳性表达 pCR 率低于 P-gp、GSTπ 阴性表达 pCR 率,TOPO II α 阳性表达 pCR 率则高于阴性性表达 pCR 率;经多因素分析,P-gp、GSTπ、TOPO II α 与 pCR 具有相关性。分析原因在于:P-gp 是一种 ATP 依赖的药物外排泵,能够将化疗药物泵出细胞外,从而降低细胞内药物浓度,导致化疗耐药;GSTπ 则通过催化谷胱肽与亲电子药物结合,形成无活性或低活性的谷胱肽-药物复合物,从而降低化疗药物对肿瘤细胞的杀伤作用;TOPO II α 是一种与 DNA 复制和转录相关的酶,其表达增加可能反映了肿瘤细胞增殖活性的增强。进一步 ROC 曲线结果显示,P-gp、GSTπ、TOPO II α 联合检测对 NAC pCR 灵敏度、特异度均高于上述指标单一检测,说明三者联合可更准确预测 NAC pCR。

综上所述,P-gp、GSTπ 和 TOPO II α 表达与 TNBC 患者 NAC pCR 有一定关联,且通过联合上述指标检测 NAC pCR 有着较高预测价值,有利于帮助临床医生为 TNBC 患者进一步制定更合适的治疗策略。

(下转第 420 页)

抗桥粒芯蛋白 1、3 抗体及大疱性类天疱疮 180、230 抗体联合检测诊断大疱性皮肤病的应用价值

徐珍珍* 郑艳 刘俊杰

[摘要] **目的** 探讨抗桥粒芯蛋白 1、3(Dsg1、3)抗体及大疱性类天疱疮 180、230(BP180、230)抗体联合检测在大疱性皮肤病临床诊断中的应用价值。**方法** 自 2020 年 3 月至 2023 年 1 月,纳入郑州大学第一附属医院收治的经组织病理结果、直接免疫荧光检测确诊的大疱性皮肤病患者 88 例为观察组,选取本院同期健康体检者 76 名为对照组。分析两组 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体的阳性检出情况;分析观察组血清 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体标本诊断类型占比及观察组不同年龄组大疱性皮肤病疾病类型阳性率占比;绘制 ROC 曲线分析 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体单一及联合检测对大疱性皮肤病的诊断价值。**结果** 两组血清 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体阳性率比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。据 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体检测结果,诊断类型:BP、PV、PF、PF+BP、PV+BP 阳性率分别为 32.95%、20.45%、11.36%、7.95%、3.41%。其中 BP 阳性率占比最高,PV+BP 阳性率占比最低,两者比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。>60 岁组 BP 阳性率高于≤60 岁组,PV 及 PF 阳性率低于≤60 岁组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体联合检测对大疱性皮肤病灵敏度、特异度分别为 91.02%、88.66%,AUC(95%CI)为 0.821(0.745~0.911),均高于上述抗体单一检测($P < 0.05$)。**结论** Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体在大疱性皮肤病诊断中具有重要参考价值,且联合检测可提高诊断的准确性;大疱性皮肤病患者年龄和抗体类型之间也存在一定的关联,联合检测 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体有助于大疱性皮肤病进行更精细的诊断和治疗。

[关键词] 桥粒芯蛋白 1; 桥粒芯蛋白 3; 大疱性类天疱疮 180; 大疱性类天疱疮 230; 抗体; 大疱性皮肤病

Application value of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies and bullous pemphigoid 180 and 230 antibodies in the diagnosis of bullous dermatosis

XU Zhenzhen*, ZHENG Yan, LIU Junjie

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

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value in the clinical diagnosis of bullous dermatosis by detecting antibodies against desmoglein 1, 3 (DSG 1, 3) and bullous pemphigoid 180, 230 (BP 180, 230). **Methods** This study was a retrospective, double-blind trial conducted from March 2020 to January 2023. The study included 88 patients with Bullous pemphigoid diagnosed based on histopathological results and direct immunofluorescence detection at our hospital as the observation group. Additionally, 76 patients who underwent physical examinations at our hospital during the same period were selected as the control group. The study aims to analyze the positive detection of Dsg1, Dsg3, BP180, and BP230 antibodies in the serum of all study subjects. It also aimed to determine the percentage of diagnostic types of serum Dsg1, Dsg3, BP180, and BP230 antibody specimens in the observation group, as well as the percentage of positive rates of Bullous pemphigoid disease types in different age groups within the observation group. Furthermore, the study aimed

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190195)

作者单位:郑州大学第一附属医院皮肤科,河南,郑州 450000

*通信作者:徐珍珍, E-mail:missxuzhenzhen@163.com

to draw the ROC curves to analyze the diagnostic value of single and combined testing of Dsg1, Dsg3, BP180, and BP230 antibodies for Bullous pemphigoid. **Results** The difference in the positive rates of serum Dsg1, Dsg3, BP180 and BP230 antibodies between the two groups was statistically significant ($P<0.05$). According to the results of the Dsg1, Dsg3, BP180 and BP230 antibody tests, the positive rates of diagnostic types for BP, PV, PF, PF + BP and PV + BP were 32.95%, 20.45%, 11.36%, 7.95% and 3.41%, respectively. The percentage of BP positivity was the highest, while the percentage of PV+BP positivity was the lowest, and the difference between them was statistically significant ($P<0.05$). The rate of BP positivity was higher in the >60-year-old group than in the ≤ 60 -year-old group, and the rate of PV and PF positivity was lower than in the ≤ 60 -year-old group ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of the combined detection of antibodies against Dsg1, Dsg3, BP180 and BP230 were 91.02% and 88.66% respectively, and the AUC (95% CI) was 0.821 (0.745~0.911), which was higher than the single detection of the above antibodies ($P<0.05$). **Conclusion** Dsg1, Dsg3, BP180, and BP230 antibodies have significant reference value in the diagnosis of Bullous pemphigoid. The combination of these tests can improve diagnostic accuracy. There is also a correlation between the age of patients with Bullous pemphigoid and the type of antibody. Combined detection of Dsg1, Dsg3, BP180, and BP230 antibodies is helpful for a more precise diagnosis and treatment of Bullous skin diseases.

[KEY WORDS] Bridging core protein 1; Bridging core protein 3; Herpetic pemphigoid 180; Herpetic pemphigoid 230; Antibody; Bullous pemphigoid

大疱性皮肤病是一种自身免疫性慢性皮肤病,可累及全身皮肤及黏膜,症状严重时可导致全身皮肤、黏膜糜烂,甚至危及患者生命安全。当前,临床对于大疱性皮肤病发病机制尚未完全明确,但普遍认为该病与免疫系统异常反应有关^[1]。大疱性皮肤病类型较多,如落叶型天疱疮(Deciduous Bullous pemphigoid, PF)、寻常型天疱疮(Bullous pemphigoid vulgaris, PV)、大疱性类天疱疮(Bullous pemphigoid, BP)等,每种疾病类型均有其特定的病因、症状和治疗方法,故精确的诊断对于制定有效的治疗方案至关重要。近年来,抗体检测在诊断大疱性皮肤病中的应用受到了广泛关注。研究发现,在PF患者的血清中可以检测到抗桥粒芯蛋白1(Desmoglein 1, Dsg1)的IgG抗体,该抗体被认为与PF中的水泡形成有直接关联^[2]。PV是一种更为严重的自身免疫性发疱性疾病,其症状包括松弛性水泡和疼痛性糜烂。据临床实践发现,约60%的PV患者血清中可检测到抗Dsg1抗体IgG;除此之外,PV患者还产生了针对桥粒芯蛋白3(Desmoglein 3, Dsg3)的IgG抗体,这被认为是PV中水泡形成的另一个致病因素^[3]。BP特点是皮肤损伤部位的基底膜区域出现线性IgG或C3沉积;同时BP患者血清中还含有针对大疱性类天疱疮180(Bullous pemphigoid 180, BP180)和大疱性类天疱疮230(Bullous pemphigoid 230, BP230)的自身抗体^[4]。本文旨在探讨上述抗体联合检测在大疱性

皮肤病临床诊断中的应用价值,报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

观察组:自2020年3月至2023年1月,纳入郑州大学第一附属医院收治的经组织病理诊断、直接免疫荧光检测确诊的大疱性皮肤病患者88例,其中男46例、女42例, ≤ 60 岁41例, >60 岁47例,病程17~80 d,平均病程(35.88 \pm 8.63) d。纳入标准:①为初次确诊,参考《皮肤性病学》^[5]相关标准;②妇女非妊娠、哺乳期;③可正常言语交流;④年龄 >18 岁;排除标准:①临床资料缺乏;②近期服用系统糖皮质激素、免疫抑制剂相关治疗;③伴有其他免疫功能不全、传染病者。

对照组:选取本院同期健康体检者76名,根据体检报告已排除相关皮肤疾病(荨麻疹、大疱性、皮炎湿疹类等皮肤病)、自身免疫性疾病。其中男40名、女36名, ≤ 60 岁35名, >60 岁41名。

两组临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。本研究经医学伦理委员会批准,且患者及家属知晓并同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

采集所有研究对象清晨空腹静脉血液5 mL,室温下静置30 min后,以离心半径13.5 cm、3 500 r/min离心10 min,分离血清,按顺序标记编号,放

置-20℃冰箱中待测,采用ELISA技术检测抗Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体。

1.2.2 仪器与试剂

选用德国欧蒙公司生产的试剂盒;检测仪器采用全自动酶标分析仪(型号为BIO-RAD Model680)。

1.2.3 结果判读

参考值^[6]:抗Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体均为0~20 U/mL。

阳性标准^[6]:Dsg1阳性符合PF的临床诊断;Dsg1、Dsg3或Dsg3阳性符合PV的临床诊断;BP180、BP230阳性符合BP的临床诊断。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件包处理本研究数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用独立样本 t 检验;Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体阳性率用 χ^2 检验;绘制ROC曲线分析抗Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体单一及联合检测对大疱性皮肤病的诊断价值;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组Dsg1、Dsg3抗体的阳性检出情况

对照组、观察组Dsg1抗体阳性率分别为0.00%、34.09%,Dsg3抗体阳性率分别为3.94%、21.59%,两组Dsg1、Dsg3抗体阳性率比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组Dsg1、Dsg3抗体的阳性检出情况

Table 1 The positive detection of Dsg1 and Dsg3 antibodies between the two groups

组别	n	Dsg1 抗体		阳性率 (%)	Dsg3 抗体		阳性率 (%)
		+	-		+	-	
对照组	76	0	76	0.00	3	73	3.94
观察组	88	30	58	34.09	19	69	21.59
χ^2 值		31.709			10.929		
P值		<0.001			<0.001		

2.2 两组BP180、BP230抗体的阳性检出情况

对照组、观察组BP180抗体阳性率分别为2.63%、36.36%,BP230抗体阳性率分别为3.94%、32.95%,两组BP180、BP230抗体阳性率比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 观察组血清Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体标本诊断类型占比

诊断类型:BP阳性率32.95%(29/88)、PV阳性

表2 两组BP180、BP230抗体的阳性检出情况

Table 2 Positive detection of BP180 and BP230 antibodies between the two groups

组别	n	BP180 抗体		阳性率 (%)	BP230 抗体		阳性率 (%)
		+	-		+	-	
对照组	76	2	74	2.63	3	73	3.94
观察组	88	32	56	36.36	29	59	32.95
χ^2 值		28.236			21.848		
P值		<0.001			<0.001		

率20.45%(18/88)、PF阳性率11.36%(10/88)、PF+BP阳性率7.95%(7/88)、PV+BP阳性率3.41%(3/88)。其中BP阳性率最高,PV+BP阳性率最低,两者比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 观察组不同年龄组大疱性皮肤病疾病类型阳性率占比

>60岁组BP阳性率高于≤60岁组,PV及PF阳性率低于≤60岁组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组PF+BP、PV+BP阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 观察组不同年龄组大疱性皮肤病疾病类型阳性率占比[n(%)]

Table 3 Positive rates of Bullous pemphigoid disease types in different age groups in the observation group [n(%)]

类型	n	≤60岁组 (n=41)	>60岁组 (n=47)	χ^2 值	P值
BP阳性	29	8(9.09)	21(23.86)	6.278	0.012
PV阳性	18	13(14.77)	5(5.68)	5.974	0.014
PF阳性	10	8(9.09)	2(2.27)	5.060	0.024
PF+BP阳性	7	4(4.54)	3(3.41)	0.340	0.559
PV+BP阳性	3	1(1.13)	2(2.28)	0.219	0.639

2.5 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体单一及联合检测对大疱性皮肤病的诊断价值

Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体联合检测对大疱性皮肤病灵敏度、特异度分别为91.02%、88.66%,AUC(95%CI)为0.821(0.745~0.911),均高于Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体单一检测($P < 0.05$)。见表4、图3。

3 讨论

大疱性皮肤病是一种自身免疫性疾病,可导致表皮细胞产生自身抗体,这些抗体通常会攻击角质细胞表面,由于表皮细胞内聚力的丢失,进而出现表皮内水泡的现象。经诸多临床实践发现,在诊断大疱性皮肤病过程中,准确识别、量化这些抗体极为关键^[7-8]。临床公认组织病理结果、直接

表4 Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体单一及联合检测对大疱性皮肤病的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of single and combined detection of Dsg1, Dsg3, BP180, and BP230 antibodies for Bullous pemphigoid

项目	Cutoff值	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC(95% CI)	P值
Dsg1 抗体	15.5 U/mL	60.07	58.27	0.558(0.443~0.632)	0.011
Dsg3 抗体	15.5 U/mL	55.23	51.81	0.506(0.404~0.576)	0.031
BP180 抗体	18U/mL	60.51	58.42	0.564(0.450~0.645)	0.008
BP230 抗体	18U/mL	58.37	53.54	0.539(0.422~0.590)	0.020
Dsg1、Dsg3、BP180、BP230 抗体联合		91.02	88.66	0.821(0.745~0.911)	<0.001

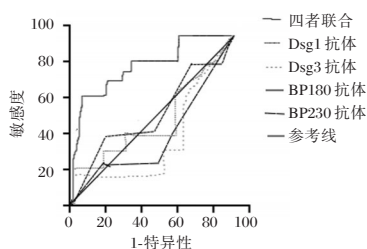


图3 ROC曲线

Figure 3 ROC curve

免疫荧光检测是诊断大疱性皮肤病的“金标准”，但上述方法操作流程复杂，无法及时监测病情变化。本次研究选用ELISA法行抗体检测，该法已被国内外诸多研究证实具有高灵敏性、特异性^[7-8]。

大疱性皮肤病患者体内产生的自身抗体可破坏细胞间黏附分子等结构，其中主要致病抗体是针对Dsg1和Dsg3的抗体。Dsg1、Dsg3抗体的存在对桥粒芯蛋白的正常功能起到干扰作用，使细胞间黏附力下降，容易形成大疱，两者致病机制主要通过空间位阻效应、抗原抗体结合后信号转导等产生^[9]。曾有印度学者研究证实，检测Dsg1、Dsg3抗体可鉴别天疱疮与其他皮肤病^[10]。本次研究结果显示，观察组Dsg1、Dsg3抗体阳性率高于对照组，与梁波等^[11]研究结果高度相似。说明大疱性皮肤病患者Dsg1、Dsg3抗体阳性率较高。BP180、BP230抗体是针对BP自身抗原的特异性抗体，在少数PV患者中可检测到。BP180、BP230抗体均是识别基底膜的主要成分，近年有研究发现，在大疱性皮肤病患者中可检测到低浓度的BP180、BP230抗体，但鲜少有研究进一步探讨其具体机制，尤其是BP230抗体^[12]。本研究发现，对照组、观察组BP180、BP230抗体阳性率比较差异具有统计学意义，说明BP180、BP230抗体对于大疱性皮肤病患者诊断有一定价值，但两者是否与大疱性皮肤病发病机制有关需更多研究探讨。大疱性皮肤病有诸多疾病类型，其临床表现多样

化，目前临床关于其多样化存在诸多假说，较为公认的为Dsg补偿假说，Dsg1、Dsg3在皮肤、黏膜中的分布不同，当两者在同一细胞发生表达，即可在功能上相互补偿自身不足^[13]。PF患者可见Dsg1阳性，但未损伤黏膜，可能与Dsg1、Dsg3在黏膜中的表达模式有关；而Dsg3为主要表达时，Dsg1可能不足以补偿Dsg3的功能不足，导致黏膜糜烂。PV和PF的水疱深度不同，这可能与Dsg1、Dsg3在表皮中的分布有关^[13]。BP主要特征是产生针对自身结构蛋白的抗体，尤其是跨细胞间连接的蛋白；BP180、BP230抗体则是与BP发病机制密切相关的抗体^[14]。Van de Gaer等^[15]采用ELISA法检测Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体，发现上述指标在诊断PV、PF和BP等具有较高准确性。本研究结果BP阳性率最高，PV+BP阳性率最低，与既往数据存在差异，可能与地区等不同有关。同时本研究发现，>60岁组BP阳性率高于≤60岁组，PV及PF阳性率低于≤60岁组，与李云珍等^[6]研究结果相似。提示BP主要好发于老年人，而PV及PF好发于中年人。另联合Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体检测大疱性皮肤病，发现其灵敏度、特异度、AUC(95%CI)均高于上述抗体单一检测，这一发现对于提高大疱性皮肤病准确性具有重要价值。

综上所述，Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体在大疱性皮肤病诊断中具有重要参考价值，且联合检测可提高诊断的准确性；大疱性皮肤病患者年龄和抗体类型之间也存在一定的关联，联合检测Dsg1、Dsg3、BP180、BP230抗体有助于大疱性皮肤病进行更精细的诊断和治疗。

参考文献

- [1] 万立, 胡彬, 罗红玉, 等. 天疱疮或大疱性类天疱疮合并单纯疱疹病毒感染8例临床特征及治疗分析[J]. 中华皮肤科杂志, 2023, 56(3): 229-233.

- [2] 许人超,潘萌. 调节性B细胞在天疱疮患者外周血中的水平及临床意义[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2016,36(8):1154-1158.
- [3] 郑金萍,高勇,李团团. HBV DNA定量与血清学标志物及CEA、HA联合检测HBV感染的临床价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023,15(2):222-225+230.
- [4] 汤晓青,郭玺,万焱,等. AKR1B10通过靶向糖酵解途径对肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 医学分子生物学杂志, 2023,20(5):397-404.
- [5] 冉玉平,蒋献,周光平,等. 循证医学和皮肤性病科学[J]. 中华皮肤科杂志, 2001,34(4):309-311.
- [6] 李云珍,李玲,刘勇,等. 血清中4种天疱疮抗体在天疱疮诊断及鉴别诊断中的价值[J]. 检验医学与临床, 2021,18(10):1398-1400.
- [7] 赵扬扬,陈欢欢,李娟. T淋巴细胞亚群、EBV-DNA检测在儿童传染性单核细胞增多症诊治中的价值[J]. 保健医学研究与实践, 2022,19(10):98-101,110.
- [8] Kridin K, Laufer-Britva R, Kridin M, et al. The relationship between Bullous pemphigoid and systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study, systematic review, and meta-analysis[J]. Immunol Res, 2019,67(1):116-122.
- [9] Batistella EÂ, Sabino da Silva R, Rivero ERC, et al. Prevalence of oral mucosal lesions in patients with Bullous pemphigoid vulgaris: A systematic review and meta-analysis[J]. J Oral Pathol Med, 2021,50(8):750-757.
- [10] Khandpur S, Sharma VK, Sharma A, et al. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay test with immunoblot assay in the diagnosis of Bullous pemphigoid in Indian patients[J]. Indian J Dermatol Venereol Leprol, 2010,76(1):27-32.
- [11] 梁波,高金平,张书梅. 天疱疮患者临床特征和Dsg1及Dsg3抗体结果分析[J]. 中华全科医学, 2022,20(8):1287-1290+1318.
- [12] Memar O, Jabbehdari S, Caughlin B, et al. Ocular surface involvement in Bullous pemphigoid vulgaris: An interdisciplinary review[J]. Ocul Surf, 2020,18(1):40-46.
- [13] 周小芳,宋志强,邓向芬,等. 血清抗桥粒芯蛋白1和3抗体在天疱疮临床诊断中的意义[J]. 实用皮肤病学杂志, 2019,12(2):82-83+86.
- [14] 胡凤侠,梁俊琴,康晓静. 天疱疮患者甲损害的临床特征及其与病情严重程度相关性分析[J]. 中国医师杂志, 2023,25(1):11-15.
- [15] Van de Gaer O, de Haes P, Bossuyt X. Detection of circulating anti-skin antibodies by indirect immunofluorescence and by ELISA: a comparative systematic review and meta-analysis[J]. Clin Chem Lab Med, 2020,58(10):1623-1633.

(上接第415页)

参考文献

- [1] 张自然,曹博,朱娟英,等. 三阴性乳腺癌患者新辅助化疗前Ki-67表达对病理完全缓解预测价值的Meta分析[J]. 浙江医学, 2023,45(14):1532-1536.
- [2] 王轩可,程绍强. 系统免疫炎症指数对激素受体阴性乳腺癌新辅助化疗后病理完全缓解的预测价值[J]. 现代肿瘤医学, 2022,30(20):3693-3697.
- [3] 吕晓皓,王蓓,陈建彬,等. 三叶青散结抗癌方对三阴性乳腺癌新辅助化疗患者病理完全缓解率的影响[J]. 中医杂志, 2014,55(23):2016-2019.
- [4] Tahmassebi A, Wengert GJ, Helbich TH, et al. Baltzer P, Clauser P, Kapetas P, Morris EA, Meyer-Baese A, Pinker K. Impact of Machine Learning With Multiparametric Magnetic Resonance Imaging of the Breast for Early Prediction of Response to Neoadjuvant Chemotherapy and Survival Outcomes in Breast Cancer Patients[J]. Invest Radiol, 2019,54(2):110-117.
- [5] 程元甲,张爽,张虹,等. AJCC第8版乳腺癌预后分期系统在三阴性乳腺癌预后评价中的临床意义[J]. 中华外科杂志, 2019,57(4):299-304.
- [6] 欧开萍,李俏,罗扬,等. 阿帕替尼联合紫杉醇和卡铂密集方案新辅助治疗三阴性乳腺癌的近期疗效及安全性[J]. 中华肿瘤杂志, 2020,42(11):966-971.
- [7] 常志坤,戚晓东,赵广章,等. Ad-p53逆转乳腺癌细胞株多药耐药性及其对P-gp、TOPO II和GST- π 表达的影响[J]. 中国癌症杂志, 2007,17(12):939-941.
- [8] 邓丁梅,叶娟,温润耀,等. ER、PR以及Ki-67状态与乳腺癌新辅助化疗疗效的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(1):83-86+90.
- [9] Jiang C, Xiu Y, Yu X, et al. Prognostic value of a modified systemic inflammation score in breast cancer patients who underwent neoadjuvant chemotherapy[J]. BMC Cancer, 2022,22(1):1249.
- [10] Ściskalska M, Milnerowicz H. The role of GST π isoform in the cells signalling and anticancer therapy[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020,24(16):8537-8550.
- [11] 刘德樟,周小忠,黄鑫,等. 动态对比增强磁共振成像特征对三阴性乳腺癌新辅助化疗肿瘤反应的预测价值研究[J]. 实用放射学杂志, 2019,35(6):909-913.
- [12] 陈珍英,傅芳萌,郑山,等. ⁹⁹Tc m-3PRGD 2 SPECT显像对乳腺癌新辅助化疗后病理完全缓解的预测价值及与¹⁸F-FDG PET/CT的对比研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2022,42(2):96-103.
- [13] 蔡鸿宁,陈慧君,吴绪峰,等. Topo II α 、GST- π 、P-gp对卵巢癌患者化疗反应及预后预测的体内外实验[J]. 肿瘤防治研究, 2012,39(8):985-991.
- [14] Elmeliegy M, Vourvahis M, Guo C, et al. Effect of P-glycoprotein (P-gp) Inducers on Exposure of P-gp Substrates: Review of Clinical Drug-Drug Interaction Studies[J]. Clin Pharmacokinet, 2020,59(6):699-714.

不同神经阻滞麻醉方案对胃癌根治患者术后疼痛、认知功能及血清 A β -42、IL-6、tau-181 蛋白影响

王佳奕 冯腾尘 汪业铭 樊娟 孙晓佳 赵继波*

[摘要] 目的 探讨不同神经阻滞麻醉方案[椎旁神经阻滞术(TPVB)和星状神经节阻滞术(SGB)]对胃癌根治患者术后疼痛、认知功能及血清 β 淀粉样蛋白-42(A β -42)、白细胞介素-6(IL-6)、tau-181蛋白影响。**方法** 选取河北北方学院附属第一医院2020年1月至2023年1月收治的择期行腹腔镜胃癌根治术的患者120例为研究对象,按照随机数字表法分为TPVB组和SGB组,各60例。两组术中全麻方式相同,TPVB组在麻醉诱导前进行椎旁神经阻滞术,SGB组在麻醉诱导前进行星状神经节阻滞术。分别采用视觉模拟评分法(VAS)及蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评估患者疼痛情况及认知功能;监测两组术后不同时间点疼痛变化情况,比较两组术前、术后1、3 d的认知功能及血清A β -42、IL-6、tau-181蛋白水平变化。**结果** 两组术后1、6、12、24 h的VAS评分差异均无统计学意义($t=1.183、1.325、0.397、0.611, P>0.05$);术后1、3 d两组MoCA量表评分比较为TPVB组评分低于SGB组,差异均有统计学意义($t=2.281、3.218, P<0.05$);术后1、3 d两组血清指标比较均为TPVB组A β -42、IL-6及tau-181蛋白水平高于SGB组,差异均有统计学意义($t=2.065、2.122、2.558、2.167、2.515、2.596, P<0.05$)。**结论** TPVB及SGB两种神经阻滞麻醉方案对胃癌根治患者术后镇痛均有良好的效果,但SGB比TPVB在减轻患者炎症反应及认知功能的改善方面更具优势。

[关键词] 神经阻滞麻醉方案;腹腔镜胃癌根治术;认知功能; β 淀粉样蛋白-42;白细胞介素-6;tau-181蛋白

Effects of different nerve block anesthesia protocols on postoperative pain, cognitive function and serum A β -42, IL-6 and tau-181 protein in patients with radical gastrectomy for gastric cancer

WANG Jiayi, FENG Tengchen, WANG Yeming, FAN Juan, SUN Xiaojia, ZHAO Jibo*

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

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of different nerve block anesthesia schemes [paravertebral nerve block (TPVB) and stellate ganglion block (SGB)] on postoperative pain, cognitive function, and serum β -amyloid protein-42 (A β -42), interleukin-6 (IL-6) and tau-181 protein in patients undergoing radical gastrectomy. **Methods** A total of 120 patients undergoing elective laparoscopic radical gastrectomy for gastric cancer at the First Affiliated Hospital of Hebei North University from January 2020 to January 2023 were selected as the research subjects. Using the random number table method, they were divided into two groups: the TPVB group and the SGB group, with 60 cases in each group. Both groups received the same general anesthesia method. The TPVB group received a paravertebral nerve block before anesthesia induction, while the SGB group received a progressive stellate ganglion block before anesthesia induction. Pain and cognitive function were assessed using the Visual Analogue Scale (VAS) and the Montreal Cognitive Assessment

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20220620);张家口市科技计划自筹经费项目(2121134D)

作者单位:河北北方学院附属第一医院麻醉科,河北,张家口 075000

*通信作者:赵继波, E-mail: 30994470@qq.com

Scale (MoCA). The changes in pain at different time points after the operation were monitored in both groups. The changes in cognitive function and levels of serum A β -42, IL-6 and tau-181 protein before the operation, 1 day and 3 days after the operation were compared between the two groups. **Results** There was no significant difference in VAS scores between the two groups at 1, 6, 12, and 24 hours after the operation ($t=1.183, 1.325, 0.397, 0.611, P>0.05$). The scores of the MoCA scale in the TPVB group were lower than those in the SGB group at 1 and 3 days after the operation, and the differences were statistically significant ($t=2.281, 3.218, P<0.05$). The levels of A β -42, IL-6 and tau-181 protein in the TPVB group were higher than those in the SGB group at 1 and 3 days after the operation, and the differences were statistically significant ($t=2.065, 2.122, 2.558, 2.167, 2.515, 2.596, P<0.05$). **Conclusion** Both TPVB and SGB nerve block anesthesia techniques have positive effects on postoperative analgesia in patients undergoing radical gastrectomy. However, SGB has more advantages than TPVB in reducing inflammatory response and improving cognitive function.

[KEY WORDS] Different nerve block anesthesia protocols; Laparoscopic radical gastrectomy for gastric cancer; Cognitive function; β -amyloid protein-42; Interleukin-6; Tau-181 protein

胃癌是一种消化道恶性肿瘤,起源于胃内黏膜细胞,并逐渐发展为组织结构异常、功能紊乱,在我国具有较高的患病率及病死率^[1]。目前,腹腔镜根治性胃切除术是治疗胃癌最为有效的方式,术后恢复快,是治疗胃癌的首选方式,但手术作为有创性的治疗手段,会导致患者术后疼痛,引发应激反应,使炎症因子过度释放,同时影响患者术后认知功能^[2]。研究指出,以区域阻滞技术为基础的镇痛方案在减轻患者术后疼痛具有明显优势^[3]。椎旁神经阻滞术(thoracic paravertebral block, TPVB)已被逐渐应用于肿瘤、脊柱等疼痛的镇痛管理中,但椎旁间隙解剖位置较深,结构复杂,对麻醉医师具有较高的技术要求^[4]。星状神经节阻滞术(stellate ganglion block, SGB)在用于恶性肿瘤手术的麻醉诱导前可以显著改善患者炎性反应,提高免疫功能,减少术后并发症的发生,但SGB亦存在损伤血管及喉返神经、发生连续性霍纳综合征的风险^[5]。本研究比较TPVB及SGB对腹腔镜胃癌根治术的患者术后疼痛、认知功能、睡眠质量及血清 β 淀粉样蛋白-42(amyloid β -42, A β -42)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、tau-181蛋白影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取河北北方学院附属第一医院2020年1月至2023年1月收治的择期行腹腔镜胃癌根治术的患者120例为研究对象,按照随机数字表法分为TPVB组和SGB组,各60例。纳入标准:①符合胃癌根治术手术指征^[6],择期行腹腔镜胃癌根治术;②肝肾功能基本正常;③美国麻醉医师协会

(American Society of Anesthesiologists, ASA)^[7]分级为II、III级;④患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①合并其他组织原发性恶性肿瘤;②长期使用镇痛、抗抑郁或抗焦虑药物;③合并重型精神疾病、中枢神经系统疾病或认知功能障碍;④脊柱结构异常;⑤穿刺部位皮肤破损或感染。其中,TPVB组男、女分别为39例、21例;年龄23~78岁,平均(49.63 \pm 5.27)岁;ASA分级II、III级分别为34例、26例。SGB组男、女分别为37例、23例;年龄21~79岁,平均(48.94 \pm 5.03)岁;ASA分级II、III级分别为32例、28例。两组患者性别、年龄及ASA分级相比,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。本研究通过河北北方学院附属第一医院医学委员伦理会批准后开展。

1.2 方法

所有患者术前常规禁水禁食,入室后进行心率、血氧饱和度等生命体征监测。开放外周静脉通路,并进行桡动脉穿刺测压。患者于全麻前进行神经阻滞操作,常规局部消毒,覆盖无菌巾,在大为医疗DW-PF522型号的彩色多普勒超声诊断仪引导下进行神经阻滞操作,探头频率10~15 MHz。TPVB组将超声探头置于与患者肋间隙平行处,将导引针穿刺至双侧T₇、T₈、T₉节段间椎旁间隙,SGB组间超声探头置于胸锁乳突肌的颈部前外侧沟上方,将导引针穿刺至颈内静脉及C₆神经根间隙,依次注入甲磺酸罗哌卡因注射液5 mL。以出现霍纳综合征为阻滞成功标准^[8]。阻滞完成后进行全麻操作。两组采用相同麻醉诱导及麻醉维持方法。手术结束后,保留气管导管送恢复室复苏,监测呼吸及心率,待患者意识清醒、自主呼

吸及吞咽反射恢复后即拔除气管导管。两组手术均由同组外科医生进行,并由相同经验丰富的麻醉科医生进行麻醉操作。

1.3 评价指标

1.3.1 疼痛情况

采用视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)^[9]比较两组术后1、6、8、12 h的疼痛情况。VAS得分范围为0~10分,分值和疼痛感正相关。

1.3.2 认知功能

以蒙特利尔认知评估量表(montreal cognitive assessment, MoCA)^[10]比较两组术前、术后1、3 d的认知功能。MoCA量表得分范围为0~30分,分值和认知功能正相关。

1.3.3 实验室指标

采集所有患者术前、术后1、3 d空腹静脉血,3 500 r/min(10 min,离心半径:8 cm)离心后,取上层血清置于-80℃环境下保存待检。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血清A β -42、IL-6、tau-181蛋白水平,试剂盒由杭州联科生物技术股份有限公司提供。

1.4 统计学方法

采用SPSS 24.0应用软件处理数据。计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$,两组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组术后1、6、12、24 h的VAS评分比较

两组术后1、6、12、24 h的VAS评分差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 两组术前、术后1、3 d时MoCA量表评分对比

术后两组MoCA量表评分比较为TPVB组评分低于SGB组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 两组术后1、6、12、24 h的VAS评分对比 $[(\bar{x} \pm s), \text{分}]$
Table 1 Comparison of VAS scores between the two groups at 1, 6, 12 and 24 hours after operation $[(\bar{x} \pm s), \text{points}]$

组别	n	术后1 h	术后6 h	术后12 h	术后24 h
TPVB组	60	1.26 \pm 0.39	2.51 \pm 0.46 ^a	2.79 \pm 0.67 ^{ab}	3.18 \pm 0.76 ^{abc}
SGB组	60	1.34 \pm 0.35	2.39 \pm 0.53 ^a	2.84 \pm 0.71 ^{ab}	3.09 \pm 0.85 ^{abc}
t 值		1.183	1.325	0.397	0.611
P 值		0.239	0.188	0.692	0.542

注:与同组术后1 h比较,^a $P > 0.05$;与同组术后6 h比较,^b $P > 0.05$;与同组术后12 h比较,^c $P > 0.05$ 。

表2 两组术前、术后1、3 d时MoCA量表评分对比 $[(\bar{x} \pm s), \text{分}]$

Table 2 Comparison of MoCA scale scores between the two groups of patients before surgery, 1 and 3 days after surgery $[(\bar{x} \pm s), \text{points}]$

组别	n	术前	术后1 d	术后3 d
TPVB组	60	27.58 \pm 1.05	23.84 \pm 0.85 ^a	25.98 \pm 0.79 ^{ab}
SGB组	60	27.66 \pm 1.17	24.17 \pm 0.73 ^a	26.45 \pm 0.81 ^{ab}
t 值		0.394	2.281	3.218
P 值		0.694	0.024	0.002

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$;与同组术后1 d比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 两组术前、术后1、3 d时血清A β -42、IL-6、tau-181蛋白水平对比

术后TPVB组A β -42、IL-6及tau-181蛋白水平均高于SGB组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

3 讨论

胃癌根治手术具有创伤性,需对患者进行镇静及镇痛操作以保证手术进展顺利,因此,麻醉方案的选择十分关键。传统静脉镇痛方法以阿片类药物为主,但其在术后镇痛方面效果并不理想,同时伴随术后呕吐、呼吸抑制等不良反应^[11]。随着区域阻滞麻醉技术的进步,TPVB及SGB被广泛应用于疾病治疗中。

TPVB通过将局部麻醉药物注入胸椎旁间隙,使注入部位附近的运动、感觉和交感达到阻滞效

表3 两组术前、术后1、3 d时血清A β -42、IL-6、tau-181蛋白水平对比 $(\bar{x} \pm s)$

Table 3 Comparison of serum A β -42, IL-6 and tau-181 protein levels between the two groups before operation, 1 and 3 days after operation $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	A β -42(ng/L)			IL-6(ng/L)			tau-181蛋白(ng/L)		
		术前	术后1 d	术后3 d	术前	术后1 d	术后3 d	术前	术后1 d	术后3 d
TPVB组	60	55.79 \pm 6.81	64.85 \pm 7.13 ^a	69.23 \pm 6.45 ^{ab}	7.65 \pm 1.79	12.88 \pm 2.24 ^a	14.25 \pm 2.63 ^{ab}	9.61 \pm 2.14	12.95 \pm 3.59 ^a	15.64 \pm 3.81 ^{ab}
SGB组	60	56.03 \pm 6.74	62.19 \pm 6.98 ^a	66.72 \pm 6.51 ^{ab}	7.43 \pm 1.54	11.85 \pm 2.17 ^a	13.28 \pm 2.26 ^{ab}	9.17 \pm 2.65	11.38 \pm 3.24 ^a	13.94 \pm 3.35 ^{ab}
t 值		0.194	2.065	2.122	0.722	2.558	2.167	1.001	2.515	2.596
P 值		0.847	0.041	0.036	0.472	0.012	0.032	0.319	0.013	0.011

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$;与同组术后1 d比较,^b $P < 0.05$ 。

果。SGB 通过将局麻药物注入颈部交感神经,使局麻药液能够扩散到支配头面部、颈部、胸部等部位的交感神经纤维,以阻断其传递功能,可以调节体内免疫系统、内分泌系统等,从而使机体维持在平衡状态。本次研究结果显示,两组术后不同时间点的 VAS 评分差异均无统计学意义,可能是因为,TPVB 通过阻滞脊髓背根神经节间隙,从而有效阻断痛觉神经疼痛信号的传导^[12];SGB 可以对颈部交感神经进行阻滞,通过阻滞神经使疼痛传导途径受到抑制而改善疼痛^[13]。因而本研究中两组均取得了较好的术后镇痛效果。围术期疼痛会引起机体产生应激反应,而使体内炎性因子释放增多及神经递质发生变化,从而干扰正常的认知功能,导致认知障碍。 $A\beta$ -42 是一种蛋白质片段,由 β -淀粉样前体蛋白通过酶解产生,可以作为反映术后认知功能的有效指标; τ 蛋白广泛存在于神经系统内,其在神经细胞中起到稳定微管结构的作用,与认知障碍密切相关,相关研究表明, $A\beta$ -42 及 τ -181 蛋白可用于评估术后认知障碍发生情况^[14]。本研究发现,TPVB 组 MoCA 评分低于 SGB 组,且 TPVB 组 $A\beta$ -42 及 τ -181 蛋白水平高于 SGB 组,表明 SGB 比 TPVB 在患者认知功能的改善方面更佳。其原因可能在于,SGB 通过可逆阻滞交感神经节以扩张大脑局部血管,使局部血液循环增强,提高血氧含量,从而改善脑部供氧和营养,增强脑细胞的代谢和功能状态;同时,SGB 还能够使血管活性物质处于平衡状态,减少游离氧碱基链反应发生,从而降低氧自由基对脑部功能造成的损害。炎症反应是手术创伤后的常见生理反应,可能导致并发症的发生。IL-6 是一种重要的炎性因子,参与炎症介质的产生和炎症反应的调节,并与机体疼痛密切相关,已被广泛用于术后恢复效果的评估。本研究中,TPVB 组 IL-6 水平高于 SGB 组,表明 SGB 更能改善患者炎症反应。其原因可能在于 SGB 能够激活免疫系统功能,使患者机体自然杀伤细胞及免疫细胞活性增强,从而削弱炎症反应,抑制 IL-6 等炎症因子的表达水平^[15]。

综上所述,TPVB 及 SGB 两种神经阻滞麻醉方案对胃癌根治患者术后镇痛均有良好的效果,但 SGB 比 TPVB 在减轻患者炎症反应及认知功能的改善方面更具优势。

参考文献

- [1] 李志娟,钱春格,李静.胃癌患者术后营养风险及影响因素研究[J].华南预防医学,2022,48(7):861-863.
- [2] Ma XF, Lv SJ, Wei SQ, et al. Influences of dexmedetomidine on stress responses and postoperative cognitive and coagulation functions in patients undergoing radical gastrectomy under general anesthesia [J]. World J Gastrointest Surg, 2023, 15(6): 1169-1177.
- [3] 李麟,祝雨思,夏中元,等.区域神经阻滞中局部麻醉药佐剂的应用进展[J].实用医学杂志,2022,38(12):1553-1557.
- [4] 陈韦东,钱蕾,瞿东滨,等.胸椎旁神经阻滞术穿刺深度的解剖学研究[J].中国临床解剖学杂志,2020,38(5):545-548.
- [5] 金璐薇,邹学军.星状神经节阻滞用于疾病治疗的研究进展[J].中华麻醉学杂志,2022,42(6):766-768.
- [6] 中国抗癌协会胃癌专业委员会,中华医学会肿瘤学分会胃肠学组,中国医师协会外科医师分会肿瘤外科医师委员会.胃癌根治术标本规范淋巴结送检及操作中国专家共识(2019版)[J].中国实用外科杂志,2019,39(9):881-889.
- [7] Horvath B, Kloesel B, Todd MM, et al. The Evolution, Current Value, and Future of the American Society of Anesthesiologists Physical Status Classification System [J]. Anesthesiology, 2021, 135(5): 904-919.
- [8] 严诗婷,于乐洋,郁言龙,等.星状神经节阻滞对老年患者腹腔镜胃肠道恶性肿瘤根治术后睡眠障碍的影响[J].临床麻醉学杂志,2023,39(5):486-491.
- [9] 吴克义,黄勇,许成浩,等.全麻联合胸椎旁神经阻滞对肺癌手术患者术后镇痛和肺部感染的影响[J].天津医药,2023,51(6):648-652.
- [10] 冯晓璐,蔡越,赵丽,等.右美托咪定不同给药方式对胃癌根治术老年患者认知功能及 Ramsay 镇静评分的影响[J].肿瘤研究与临床,2021,33(5):339-343.
- [11] 付佳,王路路,胡帅,等.不同入路腰方肌阻滞对胃癌根治患者术后恢复的影响[J].山东大学学报(医学版),2022,60(8):50-57.
- [12] 张明德,韩琨元,张志军.超声引导下竖脊肌间隙阻滞与胸椎旁神经阻滞对乳腺癌手术患者疼痛影响[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(3):430-433+437.
- [13] 罗宏丽,陶志国,韩雪,等.星状神经节阻滞对行腹腔镜胃癌根治术老年患者术后认知功能的影响[J].河北医学,2020,26(5):859-862.
- [14] 金秋艳,田秋阁,刘亚宁,等.超声引导下腹横肌平面阻滞麻醉对腹腔镜下腹股沟疝修补术患者血清 τ 蛋白、 $A\beta$ -42 表达的影响[J].广西医科大学学报,2018,35(12):1663-1666.
- [15] 林剑清,林全阳.超声引导下 SGB 复合全麻对老年胃肠手术患者胃肠道功能、炎症因子及应激反应的影响[J].中国现代医生,2022,60(9):123-126+130.

信迪利单抗注射液辅助化疗治疗非小细胞肺癌的疗效观察

阮鹏飞* 吴生保 刁忆 冯天明

[摘要] **目的** 研究信迪利单抗注射液辅助化疗治疗非小细胞肺癌对血清肿瘤标志物和外周血 Th17/Treg 的影响。**方法** 选取天长市中医院肿瘤二科 2020 年 1 月至 2023 年 1 月收治的 60 例非小细胞肺癌患者,采用随机数字表法将患者分为接受常规化疗的对照组(30 例)与接受信迪利单抗注射液辅助化疗治疗的观察组(30 例)。比较两组疗效、血清肿瘤标志物、外周血 Th17、Treg 细胞水平以及毒副反应。**结果** 观察组总有效率高于对照组,差异有统计学意义($t=4.286, P<0.05$)。治疗后两组癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 125(CA125)以及细胞角蛋白 19 片段抗原(CYFRA21-1)水平均显著低于治疗前,且治疗后观察组 CEA、CA125 及 CYFRA21-1 水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($t=6.042、25.734、7.842, P<0.05$)。治疗后两组 Th17、Treg 水平显著低于治疗前,且治疗后观察组 Th17、Treg 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($t=7.216、4.426, P<0.05$)。观察组各项发生率均高于对照组,但其中骨髓抑制、发热、肝功能异常以及腹泻差异均无统计学意义($t=0.659、0.884、1.832、0.480, P>0.05$),观察组皮疹发生率显著高于对照组,差异有统计学意义($t=4.800, P<0.05$)。**结论** 采用信迪利单抗注射液辅助化疗治疗非小细胞肺癌效果确切,可调节患者肿瘤标志物以及 T 淋巴细胞功能,但其毒副反应情况还需进一步研究。

[关键词] 非小细胞肺癌; 信迪利单抗; 肿瘤标志物; Th17/Treg; 毒副反应

Efficacy of sintilimab injection as adjuvant chemotherapy in the treatment of non - small cell lung cancer

RUAN Pengfei*, WU Shengbao, DIAO Yi, FENG Tianming

(No. 2 Department of Oncology, Tianchang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tianchang, Anhui, China, 239300)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effect of sintilimab injection as adjuvant chemotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer on serum tumor markers and peripheral blood Th17/Treg. **Methods** Sixty patients with non-small cell lung cancer were admitted to the No. 2 Department of Oncology at Tianchang Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2020 to January 2023. They were selected and divided into two groups: the control group (30 patients undergoing conventional chemotherapy) and the observation group (30 patients undergoing sintilimab injection as adjuvant chemotherapy) using the random number table method. The efficacy, serum tumor markers, peripheral blood Th17 and Treg cell levels, and toxicities in the two groups were compared. **Results** The total effective rate in the observation group was higher than that in the control group, showing a statistically significant difference ($t=4.286, P<0.05$). Following treatment, the levels of carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 125 (CA125), cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1), Th17 and Treg cells in both groups decreased significantly. The levels in the observation group were notably lower than those in the control group, with statistically significant differences ($t=6.042, 25.734, 7.842, 7.216, 4.426, P<0.05$). The incidence rates of toxicities in the observation group were higher than those in the control group. However, there was no statistically significant difference in the incidence rates

基金项目:安徽中医药大学临床科研项目立项项目(2016tcl003)

作者单位:天长市中医院肿瘤二科,安徽,天长 239300

*通信作者:阮鹏飞, E-mail:14790060118@163.com

of bone marrow suppression, fever, abnormal liver function and diarrhea ($t=0.659, 0.884, 1.832, 0.480, P>0.05$). The incidence of skin rash in the observation group was significantly higher than that in the control group, indicating a statistically significant difference ($t=4.800, P<0.05$). **Conclusion** Sintilimab injection as adjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer is proven to be effective. It can regulate tumor markers and T lymphocyte function, additional research on potential toxicities is necessary.

[KEY WORDS] Non-small cell lung cancer; Sintilimab; Tumor marker; Th17/Treg; Toxicity

非小细胞肺癌发病与多种因素相关,包括辐射、环境接触以及吸烟均可导致患病^[1]。非小细胞肺癌患者初期病情难以发现,部分患者在就诊时已经处于晚期,在5年内生存率仅15%左右,严重威胁人类生命健康^[2]。目前临床治疗晚期非小细胞肺癌主要以化疗为主,但是患者对化疗药物的耐受情况不同,使用化疗药物后产生的不良反应也不同,因此患者间化疗疗效以及安全性也存在差异^[3]。随医疗水平的发展以及临床工作者对非小细胞肺癌研究的深入,免疫药物治疗方式逐渐运用于非小细胞肺癌患者的治疗中。研究显示^[4],信迪利单抗可通过靶向作用于程序性死亡蛋白1(Programmed death-1, PD-1),以增强机体抗肿瘤免疫功能,进而消除肿瘤细胞。为进一步研究信迪利单抗在非小细胞肺癌患者中的具体效果,本研究针对30例非小细胞肺癌患者采用信迪利单抗注射液辅助化疗治疗,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取天长市中医院肿瘤二科2020年1月至2023年1月收治的60例非小细胞肺癌患者。采用随机数字表法分为对照组(30例)与观察组(30例)。对照组,男性18例,女性12例;平均年龄(63.84 ± 9.53)岁;病理类型^[5]:鳞癌10例,腺癌20例;TNM分期^[6],Ⅲ期13例,Ⅳ期17例;美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)评分0~2分,平均(0.69 ± 0.12)分。观察组,男性17例,女性13例;平均年龄(64.19 ± 9.84)岁;病理类型:鳞癌12例,腺癌18例;TNM分期,Ⅲ期14例,Ⅳ期16例;ECOG评分^[7]0~2分,平均(0.73 ± 0.14)分。

纳入标准:①年龄>18岁;②符合非小细胞肺癌诊断标准^[8];③首次确诊非小细胞肺癌且未接受其他治疗;④预计生存期 ≥ 6 个月;⑤TNM肿瘤分期处于Ⅲ~Ⅳ期;⑥患者或(和)家属签署知情同意书。排除标准:①既往肺部手术史者;②合并其他

恶性肿瘤者;③合并其他重要脏器功能障碍者;④合并精神疾病者;⑤合并自身免疫病者;⑥合并严重感染者;⑦肺部先天发育不良者;⑧哺乳、妊娠期妇女。本研究经本院伦理委员会审批。

1.2 方法

两组化疗时均接受止吐、水化以及利尿等基础治疗。对照组接受常规TP方案化疗,第1d静脉滴注紫杉醇注射液(海南海药股份有限公司,国药准字H10980170)135 mg/m²+氯化钠注射液500 mL;第1~3d静脉滴注顺铂(云南植物药业有限公司,国药准字H53021679)30 mg/m²+氯化钠注射液500 mL。观察组在对照组化疗基础上第1d增加静脉滴注信迪利单抗[信达生物制药(苏州)有限公司,国药准字S20180016]200 mg+氯化钠注射液100 mL,45 min内滴注完毕。两组均以21d为1疗程,共治疗3个疗程。

1.3 观察指标

1.3.1 疗效标准^[9]

于治疗后进行评定。完全缓解(CR):非小细胞肺癌病灶消失,并且维持4周以上。部分缓解(PR),非小细胞肺癌病灶长径总和减小>30%,并维持4周以上。病情稳定(SD),非小细胞肺癌病灶长径总和变化介于PR与PD之间。疾病进展(PD),非效细胞癌病灶长径综合增加>30%或出现新病灶。总有效率=(总例数-SD-PD)/总例数 $\times 100\%$

1.3.2 血清肿瘤标志物

于治疗前后采集两组空腹静脉血5 mL,离心取血清,采用罗氏公司 ROCHE E601 电化学发光分析仪检测两组癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原125(Carbohydrate antigen 125, CA125)以及细胞角蛋白19片段抗原(Cytokeratin 19 fragment, CYFRA21-1)水平。

1.3.3 外周血 TH17、Treg 细胞

于治疗前后采集患者空腹静脉血,采用 CytoFLEX 流式细胞仪[贝克曼库尔特国际贸易(上海)有限公司],检测两组 Th17 细胞、Treg 细胞比例。

1.3.4 毒副反应

采用美国国立癌症研究所通用毒性标准^[10]评估,包括骨髓抑制、皮疹发热、肝功能异常、腹泻等。

1.4 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行数据统计分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料使用

$n(\%)$ 表示,组间比较使用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 计为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

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

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

组别	n	性别(例)		年龄(岁)	病理类型		TNM分期		ECOG评分
		男	女		鳞癌	腺癌	III期	IV期	
观察组	30	17(56.67)	13(43.33)	64.19±9.84	12(40.00)	18(60.00)	14(46.67)	16(53.33)	0.73±0.14
对照组	30	18(60.00)	12(40.00)	63.84±9.53	10(33.33)	20(66.67)	13(43.33)	17(56.67)	0.69±0.12
χ^2 值		0.069		0.140	0.287		0.067		1.188
P 值		0.793		0.889	0.592		0.795		0.240

2.2 两组疗效比较

观察组总有效率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	CR	PR	SD	PD	总有效
观察组	30	7(23.33)	13(43.33)	2(6.67)	8(26.67)	20(66.67)
对照组	30	2(6.67)	10(33.33)	5(16.67)	13(43.33)	12(40.00)
χ^2 值		4.286				
P 值		0.038				

2.3 两组血清肿瘤标志物比较

治疗前两组CEA、CA125及CYFRA21-1水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后两组CEA、CA125以及CYFRA21-1水平均显著低于治疗前,且治疗后观察组CEA、CA125及CYFRA21-1水平均显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组外周血Th17、Treg细胞比较

治疗前两组Th17、Treg水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后两组TH17、Treg水平显著

低于治疗前,且治疗后观察组Th17、Treg水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组外周血Th17、Treg细胞比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of peripheral blood Th17 and Treg cells between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TH17(%)		Treg(%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	30	3.17±0.41	2.35±0.36*	3.05±0.46	2.36±0.32*
对照组	30	3.15±0.37	2.92±0.24*	3.08±0.39	2.72±0.31*
t 值		0.198	7.216	0.272	4.426
P 值		0.843	<0.001	0.786	<0.001

注:与同组治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

2.5 两组毒副反应比较

治疗后两组均出现毒副反应,观察组各项发生率均高于对照组,但其中骨髓抑制、发热、肝功能异常以及腹泻差异均无统计学意义($P > 0.05$),观察组皮疹发生率显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

3 讨论

针对中晚期非小细胞肺癌以往临床上TP化

表3 两组血清肿瘤标志物比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	CEA(ng/mL)		CA125(U/mL)		CYFRA21-1(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	30	12.97±2.89	5.03±1.38*	148.82±8.66	29.34±3.15*	24.68±2.75	6.84±0.42*
对照组	30	13.11±3.27	7.23±1.44*	149.17±8.53	54.27±4.27*	25.09±3.08	10.54±2.55*
t 值		0.176	6.042	0.158	25.734	0.544	7.842
P 值		0.861	<0.001	0.875	<0.001	0.589	<0.001

注:与同组治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

表5 两组毒副反应比较 [n(%)]

Table 5 Comparison of toxicities between the two groups

组别	n	[n(%)]				
		I~II级 骨髓抑制	I~II级 发热	I~II级 皮疹	I~II级 肝功能异常	I~II级 腹泻
观察组	30	12(40.00)	8(26.67)	14(46.67)	13(43.33)	6(20.00)
对照组	30	9(30.00)	5(16.67)	6(20.00)	8(26.67)	4(13.33)
χ^2 值		0.659	0.884	4.800	1.832	0.480
P值		0.417	0.347	0.028	0.176	0.488

疗方案效果显著,但其不良反应较多,不利于患者预后^[11]。越来越多肺癌诊疗指南推荐采用联合治疗方式治疗非小细胞肺癌,化疗与免疫药物联合治疗效果显著优于单独化疗,且不良反应较少。目前,其中免疫药物通过调节患者自身免疫状态,进而清除肿瘤细胞。本研究采用信迪利单抗注射液辅助化疗治疗效果显著。

结果显示,观察组总有效率显著高于对照组总有效率;提示采用信迪利单抗联合治疗与单独化疗相比对患者症状控制效果更显著,疗效更佳;其原因在于,PD-1常在免疫细胞表面表达,细胞程序性死亡受体-配体1(Programmed cell death-ligand 1, PD-L1)则在肿瘤细胞表面表达,上述两者结合可激活免疫细胞信号通路,使免疫细胞功能异常,导致肿瘤细胞不断增殖;而信利迪单抗作为PD-1单克隆抗体,可与T淋巴细胞表面PD-1特异性结合,减少或阻断PD-L1与PD-1结合,使免疫细胞功能恢复,进而清除肿瘤细胞,因此化疗联合信利迪单抗可调节免疫功能并能明显控制疾病^[12]。

在刘恒等^[13]对晚期肺腺癌免疫治疗研究中发现,患者化疗后CEA、CYFRA21-1水平的变化可作为衡量患者化疗效果的标志,上述两指标在癌症患者中均可呈现升高表达。在王冠杰等^[14]研究中显示CA125在晚期非小细胞肺癌患者中有显著升高,可作为独立预后衡量标准。而本研究发现,治疗后观察组CEA、CA125及CYFRA21-1水平均显著低于对照组;提示两组方案均可调节患者肿瘤标志物水平,但联合治疗效果显著优于对照组。除肿瘤标志物外,Th17细胞与Treg细胞可参与至肿瘤的进展过程中,在癌症患者中Th17细胞、Treg细胞均可呈现升高表现^[15]。而本研究结果显示治疗后观察组Th17、Treg水平显著低于对照组,与上述研究结论相符;表明采用信迪利单抗联合治疗可更显著改善Th17/Treg细胞水平,进而抑制肿瘤的增殖与转移,提高治疗效果。观察组各项发生率

均高于对照组,提示说明采用信迪利单抗联合化疗治疗时需要注意其毒性反应。

综上所述,针对非小细胞肺癌患者采用信迪利单抗注射液辅助化疗治疗效果显著优于常规化疗治疗,可更显著降低肿瘤标志物水平,对患者外周Th17/Treg细胞功能具有显著抑制作用,有利于疾病控制。

参考文献

- [1] 杨飞虎,张军豪,刘爱玲. CT与超声引导下经皮肺穿刺活检术诊断非小细胞癌与病理结果对比[J]. 中国临床医学影像杂志, 2021, 32(10): 726-728+737.
- [2] 石秀换,呼群,邢彤,等. 一代EGFR-TKIs一线治疗后晚期NSCLC患者生存预后影响因素研究[J]. 内蒙古医科大学学报, 2022, 44(6): 591-593+597.
- [3] 冉方兰,张孝彬,卢安静,等. 特瑞普利单抗注射液联合长春瑞滨+顺铂化疗一线治疗晚期NSCLC的效果及对外周血淋巴细胞PD-1变化的影响[J]. 实用药物与临床, 2022, 25(11): 981-985.
- [4] 胡晓鸣,李光宇,汪亮. 吉西他滨联合信迪利单抗治疗IV期肺鳞癌的临床研究[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2021, 28(3): 302-305.
- [5] 段超,邢飞. IIIa期非小细胞肺癌患者预后的单中心回顾性分析[J]. 中国医科大学学报, 2021, 50(9): 785-788+793.
- [6] 张用,毕建平,皮国良,等. 国际肺癌研究协会第八版国际肺癌TNM分期修订稿解读[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(4): 313-318.
- [7] 高雪,李智,邵昕晔,等. 不可切除肺鳞癌的预后影响因素分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(5): 569-573.
- [8] 张建芳,黄浪,毛菲. 预知护理在免疫治疗进展期非小细胞肺癌患者中的应用[J]. 国际护理学杂志, 2022, 41(18): 3385-3390.
- [9] 王锐,周宏杨,武慧杰,等. 放疗不同联合模式治疗非小细胞肺癌患者的疗效毒性反应及其预后因素分析[J]. 河北医学, 2022, 28(7): 1118-1123.
- [10] 李小峰,孙新宇,张慧. 曲妥珠单抗联合紫杉醇和卡铂治疗人表皮生长因子受体-2阳性乳腺癌的疗效及其对心功能的影响[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39(4): 376-380+386.
- [11] 刘方,刘凤英,王哲海. 重组人血管内皮抑制素对非小细胞肺癌患者临床疗效及对患者P糖蛋白表达的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(2): 166-169.
- [12] 吴林林,胡艳萍,白杨,等. PD-1、PD-L1和T细胞亚群在膀胱尿路上皮癌中的表达及临床病理特征相关性分析[J]. 诊断病理学杂志, 2021, 28(4): 256-259+263.
- [13] 刘恒,向绍华,王庆. CEA、CYFRA21-1和NSE监测晚期肺腺癌免疫治疗中肿瘤反应研究[J]. 医学研究杂志, 2022, 51(7): 100-104.
- [14] 王冠杰,王鹏. 培美曲塞联合顺铂治疗非小细胞肺癌疗效及对患者细胞角质抗原21-1、磷酸化细胞外信号调节激酶水平的影响研究[J]. 陕西医学杂志, 2020, 49(7): 804-807.
- [15] 宋晓达,向晓星. Th17和Treg细胞在肝细胞癌发生发展中作用的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2019, 39(1): 9-12.

富血小板血浆治疗膝骨关节炎的临床疗效及对血清胃饥饿素、HMGB1水平的影响

蔡良* 罗丹 袁琼 徐雪梅

[摘要] **目的** 探讨富血小板血浆(PRP)治疗膝骨关节炎的临床疗效及对患者血清胃饥饿素、高迁移率族蛋白1(HMGB1)水平的影响。**方法** 选取2021年1月至2023年1月自贡市第一人民医院收治的膝骨关节炎患者106例为研究对象,根据治疗方法分为PRP治疗组和透明质酸治疗组,各53例。比较两组治疗效果及血清胃饥饿素、HMGB1水平。**结果** PRP组治疗后1、3个月膝关节损伤及骨关节炎调查问卷(KOOS)评分、Lysholm评分、骨密度高于透明质酸组,差异有统计学意义($t=3.235、10.437、5.494、3.863、4.183、10.268, P<0.05$);PRP组治疗后1、3个月胃饥饿素水平高于透明质酸组,差异有统计学意义($t=2.065、3.611, P<0.05$);HMGB1水平低于透明质酸组,差异有统计学意义($t=2.193、6.146, P<0.05$);PRP组治疗后1、3个月视觉模拟评分(VAS)评分低于透明质酸组,生活质量评价量表(SF-36)评分高于透明质酸组,差异有统计学意义($t=3.119、6.661、2.713、3.550, P<0.05$);PRP组及透明质酸组总不良反应发生率分别为9.43%、13.21%,两组不良反应发生率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.376, P>0.05$)。**结论** PRP可以提高血清胃饥饿素水平,降低HMGB1水平,改善膝骨关节炎患者关节功能,缓解疼痛提高生活质量。

[关键词] 富血小板血浆;膝骨关节炎;胃饥饿素;高迁移率族蛋白1

Clinical efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis and its effect on serum ghrelin and HMGB1 levels

CAI Liang*, LUO Dan, YUAN Qiong, XU Xuemei

(Department of Blood Transfusion, the First People's Hospital of Zigong City, Zigong, Sichuan, China, 643000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of platelet-rich plasma (PRP) on the level of serum ghrelin and high mobility group protein 1 (HMGB1) in the treatment of knee osteoarthritis. **Methods** A total of 106 patients with knee osteoarthritis treated at Zigong First People's Hospital from January 2021 to January 2023 were selected as the study subjects. They were divided into two groups based on treatment methods: the PRP treatment group and the hyaluronic acid treatment group, each consisting of 53 cases. The study compared the therapeutic effects and serum levels of ghrelin and HMGB1 between the two groups. **Results** The Knee Injury and Osteoarthritis Questionnaire (KOOS) scores, Lysholm scores and bone mineral density in the PRP group were higher than those in the hyaluronic acid group at 1 and 3 months after treatment, with statistical significance ($t=3.235, 10.437, 5.494, 3.863, 4.183, 10.268, P<0.05$). The level of ghrelin in the PRP group was higher than that in the hyaluronic acid group at 1 and 3 months after treatment, and the difference was statistically significant ($t=2.065, 3.611, P<0.05$). HMGB1 level was lower than that in the hyaluronic acid group, and the difference was statistically significant ($t=2.193, 6.146, P<0.05$). The Visual Analogue Scale (VAS) score in the PRP group was lower than that in the hyaluronic acid group at 1 and 3 months after treatment, and the SF-36 score in the PRP group was higher than that in the hyaluronic acid group, with statis-

基金项目:四川医学科研课题计划项目(S19008)

作者单位:自贡市第一人民医院输血科,四川,自贡 643000

*通信作者:蔡良, E-mail:caixindebaobao@126.com

tical significance ($t=3.119, 6.661, 2.713, 3.550, P<0.05$). The incidence of adverse reactions in the PRP group and hyaluronic acid group was 9.43% and 13.21%, respectively, and there was no statistical significance in the incidence of adverse reactions between the two groups ($\chi^2=0.376, P>0.05$). **Conclusion** PRP can increase serum ghrelin levels, decrease HMGB1 levels, improve joint function, relieve pain and enhance the quality of life in patients with knee osteoarthritis.

[KEY WORDS] Platelet-rich plasma; Knee osteoarthritis; Ghrelin; High mobility group protein 1

膝骨关节炎是一种软骨、软骨下骨及相邻关节组织退行性疾病,好发于中老年群体,常导致患者肢体活动受限、膝关节畸形及功能障碍并伴随着膝关节慢性疼痛、肿胀,严重影响患者生活质量^[1]。因此,探索膝骨关节炎安全有效的治疗手段对提高患者生活质量、减轻家庭及社会医疗经济负担具有重要意义^[2]。富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是全血经过离心后血小板含量浓缩至全血3~5倍的血浆,PRP含大量生长因子、趋化因子、抗炎细胞因子、致密颗粒等,可以调节关节炎症介质和分解代谢酶,维持关节内稳态,刺激关节间充质干细胞的迁移和软骨细胞分化和再生,促进膝骨关节炎患者软骨组织修复,抑制关节炎症反应,缓解患者关节疼痛,改善关节功能^[3]。为进一步阐明PRP治疗膝骨关节炎作用机制及其有效性和安全性,本研究探究了富血小板血浆对膝骨关节炎的治疗效果及其对血清胃饥饿素、高迁移率族蛋白1(high mobility group protein 1, HMGB1)水平的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2023年1月自贡市第一人民医院收治的106例膝骨关节炎患者为研究对象,根据治疗方法分为PRP组和透明质酸组,各53例。PRP组男22例,女31例,年龄50~68岁,平均(59.34±6.24)岁,病程2~13年,平均(7.12±2.85)年;透明质酸组男23例,女30例,年龄51~70岁,平均(59.63±6.37)岁,病程3~14年,平均(7.26±2.44)年。纳入标准:①符合《膝骨关节炎阶梯治疗专家共识(2018年版)》^[4]中膝骨关节炎诊断标准;②年龄50~70岁;③膝关节周围皮肤完整、无感染,可耐受关节穿刺治疗;④近3个月内未接受相关外科手术、关节腔内注射治疗;⑤患者及家属知情并签署知情同意书。排除标准:①合并膝关节融合或严重畸形,合并痛风或风湿性关节炎;②自体输血禁忌症,如自身免疫性疾病、

循环肿瘤细胞阳性、脓毒血症或菌血症等;③合并严重心脑血管疾病,肝、肾、肺等多器官功能障碍;④合并精神疾病、其他原因导致的下肢功能障碍。本研究获得本院伦理委员会批准。

1.2 方法

PRP制备:PRP组患者采集肘中静脉血30 mL置于枸橼酸钠抗凝管中,1 500 r/min离心10 min,离心半径8 cm,全血分为3层,取上层及中层与下层交界面以下3 cm清液置于另一无菌离心管中进行二次离心,3 000 r/min离心10 min,离心半径8 cm,弃去离心管中3/4上清液,保留血浆及白膜层轻摇混匀即得PRP,取1 mL PRP进行血小板计数,剩余PRP在2 h内完成注射。

患者取仰卧位膝关节微屈,患肢穿刺部位常规消毒,于髌骨下缘、髌韧带外侧1 cm凹陷处与关节线呈45°夹角穿刺进入膝关节腔,回抽无血后,抽出部分关节腔内积液。PRP组注入4 mL PRP,透明质酸组注入25 mg透明质酸(北京爱美客生物科技有限公司),每周1次,连续治疗5次。

1.3 观察指标

1.3.1 关节功能及骨密度

治疗前及治疗后1、3个月采用膝关节损伤及骨关节炎调查问卷(knee injury and osteoarthritis outcome score, KOOS)、Lysholm膝关节功能评分评估患者关节功能,KOOS总分100分,评分越高膝关节功能越好;Lysholm总分100分,评分越高膝关节功能越好^[5];采用双(多)能X线测量患者膝关节骨密度,T值>-1.0 SD提示患者骨量正常,-2.5 SD<T值≤-1.0 SD提示患者骨量减少,T值≤-2.5 SD提示患者骨质疏松^[6]。

1.3.2 血清胃饥饿素、HMGB1水平

于治疗前及治疗后1、3个月采集患者空腹静脉血5 mL,3 500 r/min离心10 min,离心半径8 cm,取上层血清备检,采用酶联免疫吸附法检测血清胃饥饿素、HMGB1水平(胃饥饿素试剂盒:美国Sigma-Aldrich公司,货号RD-RX14224-48T;

HMGB1 试剂盒:美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 货号 EEL047)。

1.3.3 疼痛程度及生活质量

治疗前及治疗后 1、3 个月采用视觉模拟评分 (visual analogue scale, VAS)^[7] 评估患者疼痛程度, VAS 总分 10 分, 评分越高疼痛程度越严重; 采用生活质量评价量表 (Short Form 36-item Health Survey, SF-36) 评估患者生活质量, SF-36 总分 150 分, 评分越高生活质量越好。

1.3.4 不良反应

统计两组不良反应发生率, 包括头晕、恶心、局部感染、红肿、疼痛、瘙痒、发热等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组间采用 *t* 检验。计数资料采用 *n*(%) 表示, 行 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 关节功能及骨密度比较

治疗前两组 KOOS 评分、Lysholm 评分、骨密度比较差异无统计学意义 (*P*>0.05), PRP 组治疗后 1、3 个月 KOOS 评分、Lysholm 评分、骨密度高于透明质酸组, 差异有统计学意义 (*P*<0.05)。见表 1。

2.2 血清胃饥饿素、HMGB1 水平比较

治疗前两组胃饥饿素、HMGB1 水平比较差异无统计学意义 (*P*>0.05), PRP 组治疗后 1、3 个

表 1 关节功能及骨密度比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Comparison of joint function and bone mineral density $(\bar{x} \pm s)$

指标	PRP 组 (<i>n</i> =53)	透明质酸组 (<i>n</i> =53)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
KOOS(分)				
治疗前	40.42±6.25	41.08±6.79	0.376	0.707
治疗后 1 个月	52.22±7.78 ^a	47.16±7.94 ^a	3.235	0.002
治疗后 3 个月	68.14±7.16 ^{ab}	57.54±7.05 ^{ab}	10.437	<0.001
Lysholm(分)				
治疗前	68.67±6.37	68.25±6.14	0.346	0.730
治疗后 1 个月	78.26±6.87 ^a	71.05±6.64 ^a	5.494	<0.001
治疗后 3 个月	84.24±6.77 ^{ab}	79.26±6.50 ^{ab}	3.863	<0.001
骨密度(SD)				
治疗前	-1.87±0.32	-1.85±0.35	0.307	0.759
治疗后 1 个月	-1.54±0.25 ^a	-1.76±0.29 ^a	4.183	<0.001
治疗后 3 个月	-1.22±0.22 ^{ab}	-1.43±0.19 ^{ab}	10.268	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^a*P*<0.05; 与同组治疗后 1 个月比较, ^b*P*<0.05。

月胃饥饿素水平高于透明质酸组, HMGB1 水平低于透明质酸组, 差异有统计学意义 (*P*<0.05)。见表 2。

2.3 疼痛程度及生活质量比较

治疗前两组 VAS、SF-36 评分比较差异无统计学意义 (*P*>0.05), PRP 组治疗后 1、3 个月 VAS 评分低于透明质酸组, SF-36 评分高于透明质酸组, 差异有统计学意义 (*P*<0.05)。见表 3。

2.4 不良反应发生率比较

PRP 组及透明质酸组总不良反应发生率分别为 9.43%、13.21%, 两组不良反应发生率比较差异无统计学意义 (*P*>0.05)。见表 4。

表 2 血清胃饥饿素、HMGB1 水平比较 $(\bar{x} \pm s)$, pg/mL

Table 2 Comparison of serum ghrelin and HMGB1 levels $(\bar{x} \pm s)$, pg/mL

组别	<i>n</i>	胃饥饿素			HMGB1		
		治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月
PRP 组	53	105.34±25.23	123.38±24.51 ^a	139.47±25.68 ^{ab}	8.25±2.03	4.88±0.86 ^a	3.76±0.68 ^{ab}
透明质酸组	53	104.86±26.34	113.56±24.44 ^a	121.64±25.15 ^{ab}	8.16±2.17	5.45±0.94 ^a	4.64±0.79 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.096	2.065	3.611	0.220	2.193	6.146
<i>P</i> 值		0.924	0.041	<0.001	0.826	0.030	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^a*P*<0.05; 与同组治疗后 1 个月比较, ^b*P*<0.05。

表 3 疼痛程度及生活质量比较 $(\bar{x} \pm s)$, 分

Table 3 Comparison of pain degree and quality of life $(\bar{x} \pm s)$, score

组别	<i>n</i>	VAS			SF-36		
		治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月	治疗前	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月
PRP 组	53	7.22±1.18	4.46±1.07 ^a	3.19±0.75 ^{ab}	94.34±13.69	108.45±12.40 ^a	123.15±12.34 ^{ab}
透明质酸组	53	7.19±1.23	5.13±1.14 ^a	4.20±0.81 ^{ab}	94.17±13.41	102.45±10.27 ^a	114.54±12.63 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.128	3.119	6.661	0.065	2.713	3.550
<i>P</i> 值		0.898	0.002	<0.001	0.949	0.008	<0.001

注: 与同组治疗前比较, ^a*P*<0.05; 与同组治疗后 1 个月比较, ^b*P*<0.05。

表4 不良反应发生率比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of incidence of adverse reactions [n(%)]

组别	n	头晕	感染	红肿	疼痛	瘙痒	发热	总发生率
PRP组	53	1(1.89)	0(0.00)	2(3.77)	0(0.00)	1(3.77)	1(1.89)	5(9.43)
透明质酸组	53	0(0.00)	1(0.00)	3(5.66)	1(1.89)	2(1.89)	0(0.00)	7(13.21)
χ^2 值								0.376
P值								0.540

3 讨论

过度的机械负荷和多种促炎/抗炎细胞因子、生长因子、趋化因子介导的组织结构及其新陈代谢和功能改变是膝骨关节炎疾病发生和进展的重要原因,引起患者滑膜组织和软骨下骨改变,导致滑膜炎、软骨缺失、局部纤维化、脂肪坏死和局部骨重塑等,严重影响患者膝关节正常功能^[8]。

本研究结果显示,PRP组治疗后1、3个月KOOS评分、Lysholm评分、骨密度、SF-36评分高于透明质酸组,VAS评分低于透明质酸组,表明PRP有效改善了患者关节功能,减轻患者疼痛症状,改善生活质量。PRP富含 α 颗粒、致密颗粒等,具有免疫调节和促进组织修复再生的作用,可以提高软骨细胞分泌功能及组织特异性细胞的增殖能力,增加细胞外基质及抗炎因子的产生,抑制组织炎症反应,减少滑膜炎和关节疼痛^[9]。PRP富含多种修复性生长因子,可以恢复老化软骨多种干细胞功能,支持组织修复和再生的高代谢活性,从而增强关节软骨的修复再生,改善关节功能^[10]。本研究使用患者自体血液制备PRP进行治疗,有利于减少免疫原性反应,使PRP充分发挥治疗作用,促进患者膝关节软骨修复,减轻膝关节炎炎症反应,改善了患者临床症状。治疗后两组不良反应发生率分别为9.43%、13.21%,PRP治疗膝骨关节炎不会增加患者不良反应,安全性高,具有良好的临床应用价值。胃饥饿素参与多种代谢过程及机体免疫调节和炎症反应,可以刺激成骨细胞增殖和分化,诱导骨髓间充质干细胞的软骨分化和成熟,减少软骨细胞降解,促进关节软骨再生,同时可以抑制促炎细胞因子IL-1 β 诱导的NF- κ B活化和分解代谢基因表达,减少II型胶原蛋白和聚集蛋白聚糖的降解,抑制膝骨关节炎患者软骨破坏^[11]。本研究结果显示,PRP治疗显著提高了膝骨关节炎患者血清胃饥饿素水平,可以减少软骨丢失,有效促进患者软骨细胞的再生和修复,并减轻关节炎炎症反应,改善患者关节

功能。HMGB1是成纤维细胞样滑膜细胞释放的炎症因子,可以促进基质金属蛋白酶、血小板反应蛋白解整合素金属蛋白酶等合成和磷酸化,增加胶原蛋白和其他基底膜蛋白的降解,增加软骨基质降解和软骨细胞凋亡,诱发滑膜炎^[12]。并与Toll样受体4协同介导的自身免疫性炎症反应增加白细胞介素-6、白细胞介素-8等炎症因子生成,增加膝骨关节炎炎症反应^[13]。本研究结果显示,PRP治疗有效降低了膝骨关节炎患者血清HMGB1水平,可以抑制患者关节软骨基质和软骨细胞的凋亡和降解,减轻患者自身免疫性反应,改善炎症状态,提高患者关节功能。

综上所述,PRP可以提高血清饥饿素水平,降低HMGB1水平,抑制软骨细胞及细胞外基质降解,促进软骨修复和再生,减少组织炎症反应,改善膝关节功能和疼痛,对膝骨关节炎具有良好应用效果。

参考文献

- [1] 成帅,胡振勇,陈连锁,等.膝骨性关节炎患者生活质量及其影响因素研究[J].华南预防医学,2020,46(2):159-161.
- [2] 刘丽莹,孙明立.全身振动训练改善膝骨关节炎患者疼痛及关节功能的meta分析[J].中国康复医学杂志,2023,38(8):1133-1137.
- [3] Szwedowski D, Szczepanek J, Paczesny L, et al. The Effect of Platelet-Rich Plasma on the Intra-Articular Microenvironment in Knee Osteoarthritis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 5492.
- [4] 王波,余楠生.膝骨关节炎阶梯治疗专家共识(2018年版)[J].中华关节外科杂志(电子版),2019,13(1):124-130.
- [5] 胡鸢,石秀秀,唐金树,等.脉冲射频治疗膝骨关节炎的长期疗效研究[J].中国疼痛医学杂志,2019,25(9):682-685.
- [6] 范梦强,吕帅洁,金红婷,等.调髓补中法辅助治疗膝骨关节炎的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2021,41(7):784-789.
- [7] 屠金康,李方方,付腾飞,等.改良八段锦“前三式”对神经根型颈椎病患者的疗效探究[J].中国全科医学,2022,25(30):3783-3788.
- [8] Primorac D, Molnar V, Rod E, et al. Knee Osteoarthritis: A Review of Pathogenesis and State-Of-The-Art Non-Operative Therapeutic Considerations[J]. Genes (Basel), 2020, 11(8): 854.

增强子RNA *RASSF8-AS1* 在胃腺癌中的临床意义与分子机制

马甜甜 朱翠雯 李东旭 张晓洋 喻明霞*

[摘要] 目的 探究增强子RNA *RASSF8-AS1* 在胃腺癌(STAD)中的表达和关键靶基因预测,分析 *RASSF8-AS1* 与临床病理特征、预后的关系,探索 *RASSF8-AS1* 在 STAD 发生发展中的作用机制。方法 在 UCSC Xena 数据库中下载 33 类肿瘤的表达数据、生存数据和临床数据。采用 Kaplan-Meier 生存分析和相关性分析确定关键 eRNA 及其调控基因为 eRNA-靶基因对。使用 R 语言 ggboxplot 命令分析 *RASSF8-AS1* 表达与患者临床病理的相关性,利用 GO 和 KEGG 富集分析探索 *RASSF8-AS1* 在 STAD 中参与的信号途径。使用逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)验证 *RASSF8-AS1* 在正常和胃腺癌细胞系中的表达量。结果 *RASSF8-AS1* 的表达水平与患者的年龄、临床分级、临床分期显著相关($\chi^2=4.356$ 、 4.166 、 6.452 , P 均 <0.05)。RT-qPCR 结果表明,与正常细胞相比,胃癌细胞中 *RASSF8-AS1* 和 *RASSF8* 的表达水平显著降低,差异有统计学意义($HR=0.044$, $95\%CI: 0.032\sim0.056$, $P<0.05$)。*RASSF8-AS1* 高表达组患者的总体生存率显著低于低表达组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。GO 分析结果表明,*RASSF8-AS1* 参与了细胞外基质组织构建、细胞黏附、化学突触传递的调节、胶原代谢等多种生物过程。KEGG 通路分析中,间质发展、细胞外基质组织、膜电位的调节等信号途径被富集。结论 *RASSF8-AS1* 是胃癌中与生存相关的关键 eRNA,可能成为胃癌患者早期诊断的潜在生物标志物和潜在的治疗靶点。

[关键词] 胃腺癌; *RASSF8-AS1*; eRNA; 预后

Clinical significance and molecular mechanism of enhancer RNA *RASSF8-AS1* in gastric adenocarcinoma

MA Tiantian, ZHU Cuiwen, LI Dongxu, ZHANG Xiaoyang, YU Mingxia*

(Department of Laboratory Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the expression and key target gene prediction of enhancer RNA *RASSF8-AS1* in stomach adenocarcinoma (STAD), and to analyze the relationship between *RASSF8-AS1* and clinicopathological features and prognosis, as well as explore the mechanism of *RASSF8-AS1* in the occurrence and development of STAD. **Methods** Expression data, survival data, and clinical data for 33 tumor types from the UCSC Xena database were download. Kaplan-Meier survival analysis and correlation analysis were used to identify key eRNAs and their regulatory genes as eRNA-target gene pairs. The ggboxplot command of the R language was used to analyze the correlation between *RASSF8-AS1* expression and patient clinicopathology. Additionally, GO and KEGG enrichment analysis were used to explore the signaling pathways involved in *RASSF8-AS1* in STAD. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to validate the expression of *RASSF8-AS1* in normal and gastric adenocarcinoma cell lines. **Results** The expression level of

基金项目:国家自然科学基金(81472033、30901308);湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019M203);湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H0028);湖北省卫生和计划生育委员会青年人才项目(WJ2015Q021);武汉市应用基础研究(2017060201010171);武汉大学中南医院科技创新培育基金(cxpy2018031、cxpy20160054);武汉大学大学生创新项目(MS2017045、S2018301747)

作者单位:武汉大学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

*通信作者:喻明霞, E-mail: dewrosy520@163.com

RASSF8 was significantly correlated with the patient's age, clinical grade, and clinical stage ($\chi^2=4.356, 4.166, 6.452, P<0.05$). RT-qPCR results showed that compared with normal cells, the expression levels of *RASSF8-AS1* and *RASSF8* in gastric cancer cells were significantly decreased, with a statistically significant difference ($HR=0.044, 95\% CI: 0.032\sim 0.056, P<0.05$). The overall survival rate of patients in the high expression group of *RASSF8-AS1* was significantly lower than that of the patients in the low expression group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). GO analysis showed that *RASSF8-AS1* was involved in various biological processes such as extracellular matrix organization, cell adhesion, regulation of chemical synaptic transmission, and collagen metabolism. In the KEGG pathway analysis, signaling pathways such as interstitial development, extracellular matrix organization, and regulation of membrane potential were enriched. **Conclusion** *RASSF8-AS1* is a crucial survival-related eRNA in gastric cancer and could serve a promising biomarker and therapeutic target for the early diagnosis of patients with gastric cancer.

[KEY WORDS] STAD; *RASSF8-AS1*; eRNA; Prognosis

胃癌(gastric cancer, GC)在全球癌症发病率中排名第五,在癌症相关死亡率中排名第三。在全球范围内,每年有超过70万人死于该病^[1]。胃癌的发生归因于各种因素,包括幽门螺杆菌感染、生活方式因素(如酒精、吸烟)和遗传风险因素等^[2]。在所有胃癌病例中,胃腺癌(stomach adenocarcinoma, STAD)是最常见的亚型,STAD是一种典型的异质性恶性疾病,具有多种亚型和临床表现^[3]。虽然胃癌患者采用了手术联合化疗的多学科治疗方法,但预后仍不理想,总生存期(overall survival, OS)不足12个月^[4]。因此,识别有效的生物标志物对胃癌的早期诊断、治疗及预后至关重要,针对每个患者量身定制治疗方案的精准医疗将提高临床疗效。

增强子是一种远端调控DNA,通过与靶基因启动子相互作用来增强靶基因的转录^[5]。最近发现增强子也转录非编码RNA,称为增强子RNA(enhancer RNA, eRNA)。eRNA是从转录增强子区域由RNAPolIII转录的顺式作用元件,属于lncRNA的一种^[6]。人类细胞中已经发现了数以万计的eRNAs,其中许多被证明在介导靶基因激活的转录回路中起着重要作用^[7]。越来越多的研究表明eRNA在癌症早期诊断、治疗与预后预测中的可行性与有效性。Zhang等^[8]发现eRNA *ID2-AS1*与膀胱癌的预后和免疫治疗相关。Zhu等^[9]发现eRNA *ELOVL2-AS1*在三阴性乳腺癌中表达下调,*ELOVL2-AS1*的迁移抑制作用可能是通过调控纤毛或*ELOVL2*的关键靶基因介导的。本研究探索了胃癌患者生存相关的eRNA及其靶基因,发现*RASSF8-AS1*与胃癌的临床病理特征、患者总生存期等显著相关,可能作为胃癌早期诊断、治疗的生物标志物。

1 资料与方法

1.1 数据的下载与处理

在UCSC Xena数据库(<https://xena.ucsc.edu/>)中下载33类肿瘤的表达数据、生存数据和临床数据。将患者的临床信息和基因表达数据进行匹配,删除信息不全的数据。对基因表达数据进行归一化处理,获得了特异性增强子转录的eRNAs列表。

1.2 eRNA生存分析筛选及与靶基因相关性分析筛选

将表达数据中胃癌相关的eRNA表达量与生存数据合并,获得eRNA表达矩阵与生存信息合并的表格,筛选出目标基因*RASSF8-AS1*。根据*RASSF8-AS1*的表达量的中位数,将胃癌患者分为高、低表达两组,利用Kaplan-Meier法比较两组之间生存的差异。同时进行相关性分析过滤,获得*RASSF8-AS1*的靶基因*RASSF8*。

1.3 RT-qPCR法测定*RASSF8-AS1*和*RASSF8*水平

使用TRIzol试剂从人胃粘膜上皮细胞GES-1和胃癌细胞AGS中提取总RNA,将RNA反转录为cDNA。每组设置三个平行副本使用SYBR Green实时PCR试剂盒进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)。qPCR引物序列如下:*RASSF8-AS1*正向引物5'-CAAAGGGTGACACACCAGGA-3',反向引物5'-TGGTGATCAACACAACTGGA-3';*RASSF8*正向引物5'-AAGTATGGGTGGATG-GAGTTCAG-3',反向引物5'-ATGAGGTGCTA-AGTGTCTTTCAG-3';内参*GAPDH*正向引物5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3'和反向5'-CACCTGTTGCTGTAGCCAAA-3'。

1.4 RASSF8-AS1 表达与临床病理特征的联系与共表达分析

利用 R 语言 ggboxplot 命令分析 *RASSF8-AS1* 与胃癌患者年龄、性别、临床分期、TNM 分期等临床特征的关系,同时进行共表达分析,评估 *RASSF8-AS1* 与 *RASSF8* 之间的相关性。

1.5 GO 和 KEGG 富集分析

对 *RASSF8-AS1* 及其靶基因 *RASSF8* 进行 GO 和 KEGG 分析,确定 *RASSF8-AS1* 在胃癌发生发展中参与的信号通路。

1.6 统计学方法

使用 R4.0.2 软件和 Graphpad Prism 8.064 软件进行统计学分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示;将患者的年龄、性别、TNM 分期等临床指标进行量化赋值。生存分析采用 KM 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选目的 eRNA

提取表达数据中胃癌相关的 eRNA 表达量,通过生存分析筛选 ($P < 0.05$) 和相关性筛选 (相关系数 > 0.4 , $P < 0.05$),共鉴定出 28 对 eRNA-靶基因。部分 eRNA-靶基因见表 1。根据与生存相关的显著性排序且除去已有研究的 eRNA 基因后选定 *RASSF8-AS1* 为目的基因进一步分析。

表 1 部分生存相关的 eRNAs 及其靶基因

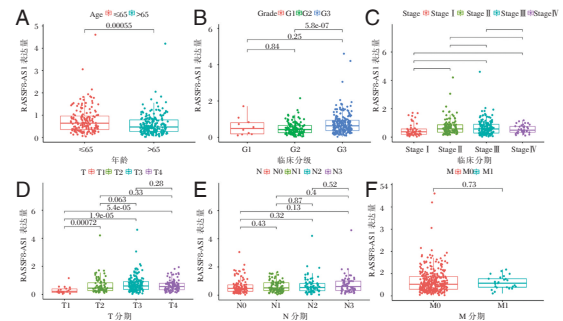
Table 1 Survival-associated eRNAs and their predicted target

eRNA	KM	靶基因	相关系数	corPval
EMX2OS	0.002	<i>EMX2</i>	0.762	0.000
AL021937.3	0.002	<i>SLC5A4</i>	0.454	0.000
HAGLR	0.002	<i>HOXD1</i>	0.759	0.000
RASSF8-AS1	0.003	<i>RASSF8</i>	0.882	0.000
CASC16	0.005	<i>TOX3</i>	0.490	0.000
NR2F1-AS1	0.005	<i>NR2F1</i>	0.855	0.000
ILDR2	0.010	<i>ILDR2</i>	1.000	0.000
VLDLR-AS1	0.013	<i>VLDLR</i>	0.774	0.000
OTX2-AS1	0.016	<i>OTX2</i>	0.505	0.000
ZFH4-AS1	0.017	<i>ZFH4</i>	0.783	0.000
LINC02381	0.018	<i>HOXC4</i>	0.653	0.000
AL445426.1	0.025	<i>WNT2B</i>	0.605	0.000
SERPINB9P1	0.029	<i>SERPINB9</i>	0.436	0.000
HSD11B1-AS1	0.029	<i>G0S2</i>	0.430	0.000
AC002451.1	0.036	<i>PDK4</i>	0.663	0.000

2.2 RASSF8-AS1 表达水平与临床病理特征的关系

RASSF8-AS1 的表达水平与胃癌患者的年龄、临床分级、临床分期、肿瘤大小显著相关。见图 1。

其中,年龄 ≤ 65 岁的患者中 *RASSF8-AS1* 的表达水平显著高于年龄 > 65 岁的患者,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.356$, $P < 0.05$)。见图 1A。G3 期患者 *RASSF8-AS1* 的表达量显著高于 G2 期患者,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.166$, $P < 0.05$)。见图 1B。临床 I 期患者 *RASSF8-AS1* 的表达量与 II 期、III 期、IV 期患者比较显著减少,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.452$, $P < 0.05$)。见图 1C。T1 期患者 *RASSF8-AS1* 的表达水平显著低于 T2 期、T3 期、T4 期患者,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.466$, $P < 0.05$)。见图 1D。*RASSF8-AS1* 在不同的 N 分期患者、M 分期患者中的表达量差异并不明显。见图 1E~F。



注:A-F 分别为年龄、临床分级、临床分期、T 分期、N 分期、M 分期与 *RASSF8-AS1* 表达量相关性分析。

图 1 *RASSF8-AS1* 表达量与肺腺癌患者临床病理特征相关性分析

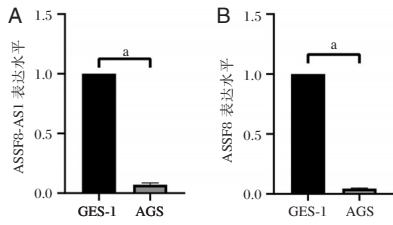
Figure 1 Correlation analysis between *RASSF8-AS1* expression and clinicopathological characteristics of lung adenocarcinoma patients

2.3 RT-qPCR 法测定 RASSF8-AS1 和 RASSF8 水平

采用逆转录聚合酶链式反应 (Real Time Quantitative PCR, RT-qPCR) 检测人正常胃粘膜上皮细胞 GES-1 和胃癌细胞 AGS 中 *RASSF8-AS1* 和 *RASSF8* 的表达水平。与正常细胞相比,胃癌细胞中 *RASSF8-AS1* 和 *RASSF8* 的表达水平显著降低,差异有统计学意义 ($HR = 0.044$, $95\% CI: 0.032 \sim 0.056$, $P < 0.05$)。见图 2。

2.4 RASSF8-AS1 在胃癌中的预后价值及共表达分析

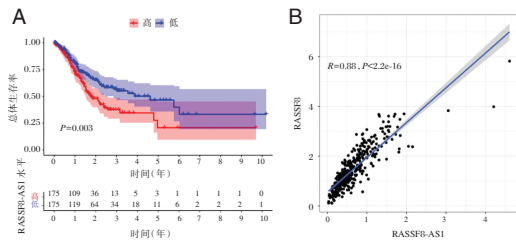
利用 Kaplan-Meier 法分析高低表达组总体生存率的差异,高表达 *RASSF8-AS1* 的患者总体生存率低于低表达组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3A。*RASSF8-AS1* 与其靶基因 *RASSF8* 的相关系数为 0.88, ($R = 0.88$, $P < 0.05$)。见图 3B。



注: a 表示 *RASSF8-ASI* (A)、*RASSF8* (B) 在 GES-1 细胞中的表达水平显著高于 AGS 细胞中的表达水平, $P < 0.01$ 。

图2 RT-qPCR 法测定 *RASSF8-ASI* 和 *RASSF8* 水平

Figure 2 *RASSF8-ASI* and *RASSF8* levels were determined by RT-qPCR



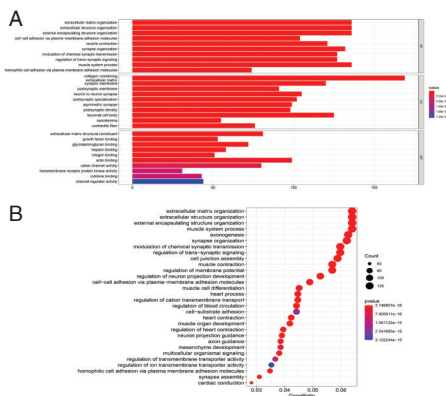
注: A, *RASSF8-ASI* 的表达与 STAD 患者预后的关系; B, *RASSF8-ASI* 与 *RASSF8* 的相关性。

图3 *RASSF8-ASI* 在胃癌中的预后价值及共表达分析

Figure 3 Prognostic value and co-expression analysis of *RASSF8-ASI* in stomach adenocarcinoma

2.5 GO 和 KEGG 富集分析

通过 GO 和 KEGG 富集分析进一步了解 *RASSF8-ASI* 在胃癌发生发展过程中参与的信号通路, GO 结果表明, *RASSF8-ASI* 参与了多种生物过程, 包括细胞外基质组织、细胞黏附、化学突触传递的调节、胶原代谢等。KEGG 通路分析中, 间质发展、细胞外基质组织、膜电位的调节等信号途径被富集。富集结果见图 4。



注: A 条形图显示 GO 分析的结果; B 气泡图显示 KEGG 富集的途径。

图4 功能富集分析

Figure 4 Functional enrichment analysis

3 讨论

胃癌是全球第五大常见癌症, 通常在内镜活检后进行组织学诊断, 并使用 CT、内镜超声、PET 和腹腔镜进行分期^[10]。早期胃癌的主要治疗方法是内镜切除, 非早期可手术的胃癌采用手术治疗, 晚期胃癌的治疗主要采用化疗, 中位生存期小于 1 年。由于胃癌往往处于诊断的晚期, 其死亡率很高, 使其成为癌症相关死亡的第三大常见原因^[11-12]。近年来, 越来越多的证据表明, eRNA 的失调与癌症的发生发展密切相关, 如 eRNA *TBX5-AS1* 可能是肺腺癌独立预后较差的生物标志物候选基因, 并与靶基因 *TBX5* 呈正相关^[13]。本研究探索了与胃癌预后相关的 eRNA, 发现 *RASSF8-ASI* 与胃癌的临床病理特征、患者的总体生存期等显著相关, 可能作为潜在的治疗靶点。

本研究利用 PreSTIGE 算法与 Kaplan-Meier 生存分析和相关性分析筛选出增强子 *RASSF8-ASI*。通过 RT-qPCR 检测发现与胃正常黏膜上皮细胞相比, *RASSF8-ASI* 和 *RASSF8* 在胃癌细胞中表达水平明显下调。此外, *RASSF8-ASI* 与胃癌患者的年龄、临床分级、临床分期、肿瘤大小显著相关。因此, *RASSF8-ASI* 的表达水平可能作为区分临床 I 期患者、T1 期患者的潜在标志物。Kaplan-Meier 生存分析显示, *RASSF8-ASI* 表达上调与总体生存率较差显著相关, *RASSF8-ASI* 表达增多可作为预后不良的生物标志物。

反义 RNA 分子是一种独特的 DNA 转录物, 由 19~23 个核苷酸组成, 与 mRNA 互补。反义 RNA 在基因复制、转录和翻译等多个层面调控基因表达中起着至关重要的作用。多项研究表明, 反义 RNA 的异常表达可以作为癌症诊断的指标。例如 Iorio 等^[14]发现 15 种 miRNAs 的表达水平在正常组织和癌组织之间存在显著差异。反义 RNA 还可以作为癌症促进基因, 如 *miR-21*、*miR-155*、*miR-17-20* 和癌症抑制基因, 如 *miR-15*、*miR-16*、*miR-143*^[15]。*RASSF8-ASI* 是 *RASSF8* 的反义 RNA, 共表达分析显示, *RASSF8-ASI* 与 *RASSF8* 显示出明显的正相关性。Ras 相关结构域家族 (RASSF) 的成员参与多种关键活动, 如细胞增殖、微管稳定性、凋亡、启动子甲基化和囊泡运输。*RASSF8* 被认为是肺癌和宫颈癌中潜在的肿瘤抑制因子, 本研究发现 *RASSF8-ASI* 在胃癌中表达下调, 可能影响 *RASSF8*

的表达,进一步对胃癌的发生发展产生重要作用。

通过基因富集分析,探究 *RASSF8-AS1* 影响胃癌发生发展的机制。GO 结果表明, *RASSF8-AS1* 参与了多种生物过程,包括细胞外基质组织、细胞黏附、化学突触传递的调节、胶原代谢等。细胞与细胞的相互作用和细胞黏附是癌症进展的关键介质,促进了癌症的特征,包括免疫逃避和转移性扩散。肿瘤微环境中许多细胞黏附分子发生改变,糖基化发生显著改变。细胞黏附分子的这些变化改变了肿瘤细胞与其他细胞和细胞外基质蛋白相互作用的能力^[16]。此外,KEGG 通路分析中,间质发展、细胞外基质组织、膜电位的调节等信号途径被富集。这些生物过程及信号通路是调节细胞骨架、间隙连接和连接子复合物、基底外侧膜和肌动蛋白细胞骨架以及细胞外泌体的重要通路,这表明 *RASSF8-AS1* 影响肿瘤细胞的侵袭性生长^[17]。

综上所述,本研究证明了 *RASSF8-AS1* 是胃癌中关键的生存相关的 eRNA,并且与胃癌的发生发展及预后密切相关,可能成为胃癌患者早期诊断的潜在生物标志物和潜在的治疗靶点。

参考文献

- [1] Zavros Y, Merchant JL. The immune microenvironment in gastric adenocarcinoma [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(7):451-467.
- [2] Waldum HL, Fossmark R. Types of gastric carcinomas [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12):4109.
- [3] Kushima R. The updated who classification of digestive system tumours-gastric adenocarcinoma and dysplasia [J]. *Pathologie*, 2022, 43(1):8-15.
- [4] Huang Q, Cheng Y, Chen L, et al. Low risk of lymph node metastasis in 495 early gastric cardiac carcinomas: A multi-center clinicopathologic study of 2101 radical gastrectomies for early gastric carcinoma [J]. *Mod Pathol*, 2018, 31(10):1599-1607.
- [5] Andersson R, Sandelin A. Determinants of enhancer and promoter activities of regulatory elements [J]. *Nat Rev Genet*, 2020, 21(2):71-87.
- [6] Ye R, Cao C, Xue Y. Enhancer RNA: Biogenesis, function, and regulation [J]. *Essays Biochem*, 2020, 64(6):883-894.
- [7] Wan L, Li W, Meng Y, et al. Inflammatory immune-associated eRNA: Mechanisms, functions and therapeutic prospects [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:849451.
- [8] Zhang L, Ding D, Liu J, et al. Identification of prognostic and immunotherapy-related eRNA ID2-AS1 in bladder cancer [J]. *Medicine*, 2022, 101(26):e29759.
- [9] Zhu M, Zhang J, Li G, et al. ELOVL2-AS1 inhibits migration of triple negative breast cancer [J]. *Peer J*, 2022, 10:e13264.
- [10] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer [J]. *Lancet*, 2020, 396(10251):635-648.
- [11] Joshi SS, Badgwell BD. Current treatment and recent progress in gastric cancer [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):264-279.
- [12] 杜记涛, 曹建, 赵稳, 等. 血清 miR-135、miR-601、CA72-4 及 CA19-9 的表达水平与胃癌诊断的相关性 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(1):111-114.
- [13] Cheng L, Han T, Chen B, et al. TBX5-AS1, an enhancer RNA, is a potential novel prognostic biomarker for lung adenocarcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1):794.
- [14] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16):7065-7070.
- [15] Zhang L, Zhao Z, Feng Z, et al. RNA interference-mediated silencing of stat5 induces apoptosis and growth suppression of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Neoplasma*, 2012, 59(3):302-309.
- [16] Läubli H, Borsig L. Altered cell adhesion and glycosylation promote cancer immune suppression and metastasis [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:21-20.
- [17] Pandey R, Zhou M, Chen Y, et al. Molecular pathways associated with kallikrein 6 overexpression in colorectal cancer [J]. *Genes*, 2021, 12:5.

(上接第 432 页)

- [9] Everts P, Onishi K, Jayaram P, et al. Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020 [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20):7794.
- [10] Szwedowski D, Szczepanek J, Paczesny Ł, et al. The Effect of Platelet-Rich Plasma on the Intra-Articular Microenvironment in Knee Osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11):5492.
- [11] Fan L, Chen J, Tao Y, Heng BC, Yu J, Yang Z, Ge Z. Enhancement of the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and cartilage repair by ghrelin [J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(6):1387-1397.
- [12] 梅伟, 洪博文, 黄桂成. 大鼠膝关节关节炎模型中高迁移率族蛋白 1 的高表达机制 [J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(8):1142-1149.
- [13] Wagner G, Lehmann C, Bode C, et al. High Mobility Group Box 1 Protein in Osteoarthritic Knee Tissue and Chondrogenic Progenitor Cells: An Ex Vivo and In Vitro Study [J]. *Cartilage*, 2021, 12(4):484-495.

小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗对妊娠期高血压UPR、MAP、凝血指标的影响

乔文婷* 李琴琴 云君玲

[摘要] 目的 分析小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E在妊娠期高血压中的治疗效果及对尿蛋白(UPR)、平均动脉压(MAP)、凝血指标的影响。方法 选取2017年7月至2022年7月于河南省第二人民医院就诊的122例妊娠期高血压患者,根据治疗方式不同分为对照组($n=60$,硫酸镁治疗)和研究组($n=62$,小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗)。比较两组治疗效果及UPR、MAP、UA、CysC及凝血指标水平,观察不良反应发生情况。结果 研究组治疗总有效率(95.16%)显著高于对照组(81.67%),差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后研究组MAP、UPR、UA及CysC水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后研究组PT、TT、APTT长于对照组,FIB低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组不良反应率(17.74%)与对照组不良反应率(8.33%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 采用小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗妊娠期高血压患者的疗效显著,可有效改善患者的UPR水平及凝血指标,有利于控制患者血压,安全性尚可,具有一定的临床使用价值。

[关键词] 妊娠期高血压;阿司匹林;钙剂;维生素E;UPR;MAP

Effects of low-dose aspirin combined with calcium and vitamin E treatment on UPR, MAP and coagulation indexes of pregnancy-induced hypertension

QIAO Wenting*, LI Qinqin, YUN Junling

(Department of Obstetrics and Gynecology, Henan Second Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 451191)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the therapeutic effects of low-dose aspirin combined with calcium and vitamin E in gestational hypertension and its effects on urine protein (UPR), mean arterial pressure (MAP) and coagulation indexes. **Methods** A total of 122 patients with gestational hypertension who were treated at the Second People's Hospital of Henan Province from July 2017 to July 2022, were selected and divided into two groups: the control group ($n=60$, treated with magnesium sulfate treatment) and the study group ($n=62$, treated with low-dose aspirin combined with calcium and vitamin E). The treatment effects, impact on UPR, MAP and coagulation indexes were compared between the two groups, and the occurrence of adverse reactions was observed. **Results** The total effective rate in the study group (95.16%) was significantly higher than that in the control group (81.67%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of MAP, UPR, UA and CysC in the study group were lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, PT, TT and APTT in the study group were longer than those in the control group, while FIB was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the adverse reaction rate between the study group (17.74%) and the control group (8.33%) ($P>0.05$). **Conclusion** Low-dose aspirin, when combined with calcium and vitamin E, is effective in treating gestational hypertension.

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20231027)

作者单位:河南省第二人民医院妇产科,河南,郑州 451191

*通信作者:乔文婷, E-mail: 763070706@qq.com

This treatment can improve patients' UPR levels and coagulation indicators, helping to control of blood pressure. It is safe and has significant clinical value.

[KEY WORDS] Gestational hypertension; Aspirin; Calcium supplements; Vitamin E; UPR; MAP

妊娠期高血压是妊娠期常见的并发症,可引起孕妇出现多器官功能损伤,影响孕妇妊娠期健康及妊娠结局^[1-2]。相关调查数据发现,随着我国居民生活方式及环境的变化,妊娠期高血压的发病率呈逐渐上升趋势,成为影响胎儿围产不良结局的高危因素之一。目前临床上对于妊娠期高血压的发病机制及病因尚未明确,故积极控制血压、对症治疗及定期监测有效临床指标,对保障妊娠期高血压患者身体健康及生命安全有重要的作用^[3]。硫酸镁作为临床常用的药物之一,具有抑制乙酰胆碱释放,扩张外周血管,从而达到控制血压的作用,但单一用药的疗效欠佳^[4]。阿司匹林是一种抗血小板聚集药物,在既往研究报道中已被证实联合钙剂、维生素E治疗妊娠期高血压的效果显著^[5]。本文旨在分析小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E在妊娠期高血压中的治疗效果及对尿蛋白(urine protein, UPR)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、凝血指标的影响,旨在为临床提高妊娠期高血压的治疗效果提供参考依据,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年7月至2022年7月于河南省第二人民医院就诊的122例妊娠期高血压患者,根据治疗方式不同分为对照组($n=60$)和研究组($n=62$)。对照组年龄22~37岁,平均(27.73 ± 3.87)岁;产次1~4次,平均(2.18 ± 0.62)次。研究组年龄21~38岁,平均(28.25 ± 3.99)岁;产次1~4次,平均(2.22 ± 1.21)次。两组一般资料比较无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①患者均符合妊娠期高血压的诊断标准^[6],且经临床专科检查确诊;②临床各方面资料完整;③患者年龄均 ≥ 18 岁;④单胎妊娠,孕周20~25周;⑤入院前未接受其他治疗,患者知情并同意研究。排除标准:①存在盆腔内炎症或泌尿系统疾患者;②对本研究所使用药物过敏者;③合并心脏、肝肾等严重疾病者;④合并恶性肿瘤、代谢异常者;⑤存在自身免疫性疾病者;⑥存在躯体功能障碍及认知功能障碍无法进行自主沟通交流者。本研究已通过医院伦理委员会批准。

1.2 方法

患者入院后均予以卧床休息,采取适当运动,及时补充蛋白食物等对症治疗。

对照组患者予以硫酸镁(河北武罗药业有限公司;国药准字H13022977;10 mL:2.5g)治疗,使用方法如下:5%葡萄糖100 mL+25%硫酸,20 mL行静脉滴注,首次在30 min内完成滴注,之后以5%葡萄糖500 mL+25%硫酸镁60 mL行输液泵输注,1 g/h,1次/d。持续治疗1个月。

研究组予以小剂量阿司匹林(石药集团欧意药业有限公司,国药准字H13023635,25 mg \times 100s)联合碳酸钙(上海诺成药业股份有限公司,国药准字H31020221,25 mg \times 60s)、维生素E(山东威高药业股份有限公司,国药准字H20103380,100 mg \times 15粒)治疗,使用方法如下:阿司匹林口服,50 mg/次,1次/d;碳酸钙口服,1片/次,1次/天;维生素E口服,1粒/次,1次/天。持续治疗1个月。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效^[7]

无效:治疗后患者血压未恢复至正常范围,UPR未转阴,水肿症状均未得到改善,甚至加重;有效:患者血压、UPR水平及水肿症状在一定程度上得到控制;显效:治疗后血压、UPR水平及水肿症状得到明显改善,血压控制在140/90~150/100 mmHg之间;痊愈:血压、UPR水平恢复至正常范围,无水腫症状。[(治愈+显效+有效)/总例数] \times 100%=治疗总有效率。

1.3.2 MAP及肾功能指标

记录治疗前后患者MAP水平变化。采集患者治疗前及治疗后空腹静脉血5~8 mL,采用尿酸酶-过氧化物酶偶联法测定血清尿酸(Uric Acid, UA)水平,采用免疫透射比浊法测定血清胱抑素C(Cystatin C, CysC)水平。收集孕妇24 h内排出的所有尿液,测定尿量,仪器:日立全自动生化分析仪,采用免疫比浊法进行24 h UPR定量,试剂盒来源上海基恩科技有限公司。

1.3.3 凝血指标

在患者治疗前及治疗结束后,采用希森美康CA1500血凝仪检测凝血指标,包括凝血酶原时间

(Prothrombin time, PT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB), 检测试剂盒都来自榆林市嘉育诊断试剂有限公司。

1.3.4 不良反应

观察并记录患者治疗期间有无恶心呕吐、便秘、低钙血症等不良反应发生。

1.4 统计学方法

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

研究组治疗总有效率(95.16%)显著高于对照组(81.67%), 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	治愈	显效	有效	无效	总有效率
研究组	62	32(51.61)	21(33.87)	6(9.68)	3(4.84)	59(95.16)
对照组	60	21(35.00)	18(30.00)	10(16.67)	11(18.33)	49(81.67)
χ^2 值						5.466
P 值						0.019

2.2 两组MAP、UPR、UA及CysC值变化比较

治疗前两组MAP、UPR、UA及CysC值比较,

表2 两组MAP、UPR、UA及CysC水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the levels of MAP, UPR, UA and CysC between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MAP(mmHg)		UPR(g/24 h)		UA(μ mol/L)		CysC(mg/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	62	130.23 \pm 7.54	105.66 \pm 5.18 ^a	2.11 \pm 0.84	0.52 \pm 0.12 ^a	313.75 \pm 26.75	236.88 \pm 23.46 ^a	1.57 \pm 0.19	0.64 \pm 0.08 ^a
对照组	60	131.64 \pm 6.94	114.22 \pm 6.48 ^a	2.18 \pm 0.71	1.14 \pm 0.44 ^a	314.23 \pm 25.63	269.14 \pm 25.01 ^a	1.53 \pm 0.20	0.93 \pm 0.15 ^a
t 值		1.074	8.073	0.496	10.693	0.101	7.350	1.132	13.383
P 值		0.285	<0.001	0.621	<0.001	0.919	<0.001	0.259	<0.001

注: 与同组治疗前相比, ^a $P < 0.05$ 。

表3 两组治疗前后凝血指标比较 [$(\bar{x} \pm s)$, 分]

Table 3 Comparison of the coagulation indexes between the two groups before and after treatment [$(\bar{x} \pm s)$, points]

组别	n	APTT(s)		PT(s)		TT(s)		FIB(g/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	62	20.56 \pm 3.25	28.32 \pm 1.52 ^a	9.12 \pm 1.54	12.98 \pm 1.13 ^a	11.05 \pm 1.68	15.59 \pm 1.32 ^a	5.88 \pm 1.13	3.10 \pm 0.84 ^a
对照组	60	21.24 \pm 3.26	23.74 \pm 1.66 ^a	9.51 \pm 1.84	11.56 \pm 1.47 ^a	10.95 \pm 1.69	13.75 \pm 1.11 ^a	5.57 \pm 1.28	4.05 \pm 0.51 ^a
t 值		1.154	15.902	1.271	5.994	0.328	8.320	1.419	7.520
P 值		0.251	<0.001	0.206	<0.001	0.744	<0.001	0.158	<0.001

注: 与同组治疗前相比, ^a $P < 0.05$ 。

差异无统计学意义($P > 0.05$), 治疗后研究组MAP、UPR、UA及CysC水平均低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组凝血指标比较

两组治疗前PT、TT、APTT、FIB比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 治疗后研究组PT、TT、APTT长于对照组, FIB低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组不良反应比较

研究组不良反应率(17.74%)与对照组不良反应率(8.33%)比较, 差异不具有统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表4 两组不良反应情况比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	恶心呕吐	便秘	低钙血症	不良反应率
研究组	62	6(9.68)	4(6.45)	1(1.61)	11(17.74)
对照组	60	2(3.33)	0(0.00)	3(5.00)	5(8.33)
χ^2 值					2.369
P 值					0.124

3 讨论

妊娠期高血压的发病率在我国为5.6%~11.11%, 患者常见的临床体征主要包括血压骤升或持续高水平血压、水肿及蛋白尿异常, 同时多伴随凝血功能亢进^[8]。硫酸镁作为一种钙拮抗剂, 可通过抑制人体肌肉和神经释放乙酰胆碱, 从而扩

张孕妇的外周血管,达到控制血压的效果^[9]。有报道认为^[10],在女性怀孕期间,血液出现的高凝状态这一生理变化在一定程度上可以预防产后出血,但高凝状态持续时间太长会增加不良妊娠结局的风险,危及母婴生命安全。另一方面,妊娠期高血压患者常伴随着钙代谢异常和脂质代谢障碍,在临床治疗过程中,除了积极控制血压外,还需要采取措施降低患者的血液粘度,以改善血液流动性,减少血管阻力。

阿司匹林作为临床常用药物,可抑制人体合成前列腺素,从而减少血管外周阻力,同时还能有效调节血栓素和前列腺素的比值,在机体血流灌注方面有着较好的改善作用^[11]。本文研究发现,研究组的治疗有效率显著高于对照组,说明小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗可有效提升妊娠期高血压患者的疗效,结果与既往文献符合^[12]。从药理学作用分析,小剂量阿司匹林通过乙酰化环氧酶抑制其催化花生四烯酸转化为TXA₂的生化过程,进而减少血小板中TXA₂的合成,达到抑制血栓形成和血小板聚集的效果;补充钙剂后,钙离子具有膜稳定作用,可以降低细胞膜通透性,提高兴奋阈值,这也有助于松弛血管平滑肌及降低血压;同时,补充维生素E可以改善磷脂代谢,减少血小板血栓素的释放,进一步抑制血小板聚集,三者联合的治疗方案充分考虑了妊娠期高血压患者血压骤升或持续高水平血压、水肿、蛋白尿异常及凝血功能亢进等病理生理特点,阿司匹林减少血小板聚集和血栓形成,钙剂缓解血管痉挛,维生素E减少自由基的产生,共同降低血压,更有利于提高整体临床效果。进一步研究发现,治疗后研究组MAP、UA及CysC水平均低于对照组,PT、TT、APTT长于对照组,FIB低于对照组,说明小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗可有效改善妊娠期高血压患者凝血功能的高凝状态,与Feng等^[13]报道内容类似。分析其中缘由,维生素E是一种脂溶性的抗氧化剂,可降低患者的脂质氧化,同时对患者的脂质代谢进行调节,在妊娠期中,孕妇的血容量上升,血液中钙浓度下降明显,需要的钙量增加明显,因此补钙及维生素E对缓解患者的病情具有重要作用,而小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E可避免血小板的聚集率,降低患者心肾功能障碍发生率。在安全性观察中,两组不良反应发生率未见明显差异,安全性尚可,

结论与以往研究结果存在一定出入^[14],考虑或与本次研究纳入样本量偏低有关。

综上所述,采用小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗妊娠期高血压患者的疗效显著,可有效改善患者的UPR水平及凝血指标,有利于控制患者血压,安全性尚可。

参考文献

- [1] 徐冬梅,苏红莉,屈慧敏.硝苯地平与小剂量阿司匹林治疗妊娠期高血压的疗效及对凝血酶的影响[J].广东医学,2019,40(11):1617-1620.
- [2] 王媛媛,王思璐,张军,等.妊娠期高血压病对早产儿脐血血红蛋白,铁蛋白及其结局的影响[J].中华实用儿科临床杂志,2022,37(8):615-620.
- [3] 李想.小剂量拜阿司匹林肠溶片对妊娠期高血压患者24h尿蛋白定量的影响[J].中国医药指南,2020,18(26):49-50.
- [4] Aelie R, Nam JC, Yun SK, et al. Predictive value of serum uric acid levels for adverse perinatal outcomes in preeclampsia [J]. *Medicine*, 2019,98(18):82-87.
- [5] 赵金娜,郭丽,王健.硝苯地平联合小剂量阿司匹林治疗妊娠期高血压疾病的疗效及对凝血指标和妊娠结局的影响[J].中国妇幼保健,2020,35(5):846-849.
- [6] Salama-Bello R, Duncan JR, Howard SL, et al. Placental Location and the Development of Hypertensive Disorders of Pregnancy[J]. *J Ultrasound Med*, 2019,38(1):173-178.
- [7] 杨孜,张为远.妊娠期高血压疾病诊治指南(2015)[J].中华妇产科杂志,2015,50(10):721-728.
- [8] 周琳.小剂量阿司匹林对妊娠期高血压患者24h尿蛋白定量的研究[J].实用药物与临床,2018,21(2):175-178.
- [9] 李静芝.硫酸镁联合小剂量阿司匹林对妊娠期高血压的治疗效果[J].心血管康复医学杂志,2018,27(3):335-337.
- [10] 龚淑芬,李雪莲,宋志红.硫酸镁联合硝苯吡啶对妊娠期高血压疾病的治疗效果及对妊娠相关蛋白A、血液流变学的影响[J].中国计划生育和妇产科,2018,10(7):85-89.
- [11] 牛会坤,吴娜,王素影,等.硫酸镁联合阿司匹林治疗妊娠期高血压疾病疗效及对超氧化物歧化酶、内皮素-1水平影响[J].中国计划生育学杂志,2021,29(2):284-287.
- [12] 郝小华,冯兰兰.小剂量阿司匹林联合拉贝洛尔治疗妊娠期高血压的临床效果[J].临床医学研究与实践,2020,5(36):172-174.
- [13] Feng XQ, Liu YP, Zhang YY, et al. New views on endothelial dysfunction in gestational hypertension and potential therapy targets[J]. *Drug Discov Today*, 2021,26(6):1420-1436.
- [14] 周南玲,周冰,高梅.小剂量阿司匹林联合钙剂、维生素E治疗妊娠期高血压疾病的疗效评价[J].中国计划生育学杂志,2020,28(3):349-352.

2型糖尿病患者血清GLP-1、A β 1-42、MCP-1水平与认知功能障碍的相关性

李琪 王真 任天成*

[摘要] 目的 探究2型糖尿病(T2DM)患者血清胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、 β 淀粉样蛋白1-42(A β 1-42)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)水平与认知功能障碍的相关性。方法 分析2020年2月至2023年2月期间南京市江宁医院收治的102例T2DM患者的临床资料,根据蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分分为认知功能正常组($n=53$)与认知功能障碍组($n=49$)。比较两组患者血清GLP-1、A β 1-42、MCP-1水平,并绘制ROC曲线评估上述指标单一及联合检测对T2DM患者出现认知功能障碍的预测价值。结果 两组GLP-1水平:认知功能正常组>认知功能障碍组,差异具有统计学意义($t=6.738, P<0.05$)。两组血清A β 1-42、MCP-1、FPG、HbA1c水平:认知功能障碍组>认知功能正常组,差异均有统计学意义($t=6.042, 8.255, 3.985, 2.259, P<0.05$)。建立相关性模型,T2DM患者认知功能与GLP-1水平呈正相关($r=0.486, P<0.05$),与A β 1-42、MCP-1水平呈负相关($r=-0.558, 0.601, P<0.05$)。多因素Logistic回归分析显示,GLP-1、A β 1-42、MCP-1是T2DM患者认知功能障碍的独立影响因素($P<0.05$)。ROC曲线显示,GLP-1、A β 1-42、MCP-1三者联合检测时,预测T2DM患者出现认知功能障碍的AUC为0.990,敏感性、特异性分别为0.910、0.952,优于单一检测($P<0.05$)。结论 T2DM认知功能障碍患者血清MCP-1水平明显显著升高,A β 1-42、GLP-1水平显著降低,三者联合检测可为T2DM患者预防认知功能损害提供重要的参考依据。

[关键词] 2型糖尿病;胰高血糖素样肽-1; β 淀粉样蛋白1-42;单核细胞趋化蛋白-1;认知功能障碍

Correlation between serum GLP-1, A β 1-42, MCP-1 levels and cognitive dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus

LI Qi, WANG Zhen, REN Tiancheng*

(Department of General Medicine, Nanjing Jiangning Hospital, Nanjing, Jiangsu, China, 211100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between serum levels of glucagon-like peptide-1 (GLP-1), amyloid beta 1-42 (A β 1-42), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and cognitive dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** The clinical data of 102 patients with T2DM admitted to Nanjing Jiangning Hospital from February 2020 to February 2023 were retrospectively analyzed. The patients were then divided into two groups: a normal group ($n=53$) and a disabled group ($n=49$) based on their Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA) scores. Serum levels of GLP-1, A β 1-42 and MCP-1 were compared between the two groups. The ROC curves were created to assess the predictive value of single and combined detection of these indicators for cognitive dysfunction in T2DM patients. **Results** The level of GLP-1 was higher in the normal group than in the disabled group, and the difference was statistically significant ($t=6.738, P<0.05$). The levels of serum A β 1-42, MCP-1, FPG and HbA1c in the two groups were higher in the cognitive dysfunction group than in the group with normal cognitive function, and the differences were statistically significant ($t=6.042, 8.255, 3.985, 2.259, P<0.05$). A correlation model was established, showing that the cognitive function of T2DM patients was positively correlated with GLP-1 level ($r=0.486, P<$

基金项目:南京市医药局资助基金(2022081);南京医科大学康达学院发展基金(KD2023KYJJ260)

作者单位:南京市江宁医院全科医学科,江苏,南京211100

*通信作者:任天成, E-mail:1506594326@qq.com

0.05), and negatively correlated with A β 1-42 and MCP-1 levels ($r=-0.558, 0.601, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis revealed that GLP-1, A β 1-42 and MCP-1 were independent influencing factors of cognitive dysfunction in T2DM patients ($P<0.05$). The ROC curve demonstrated that when GLP-1, A β 1-42 and MCP-1 were combined, the AUC for predicting cognitive dysfunction in T2DM patients was 0.990, with a sensitivity of 0.910 and specificity of 0.952, which was better than that of single detection ($P<0.05$).

Conclusion Serum MCP-1 levels were significantly increased in T2DM patients with cognitive impairment, while A β 1-42 and GLP-1 levels were significantly decreased. The combined detection of these three indicators can provide an important reference for preventing cognitive impairment in T2DM patients.

[KEY WORDS] Type 2 diabetes mellitus; Glucagon-like peptide-1; Amyloid beta 1-42; Monocyte chemotactic protein-1; Cognitive dysfunction

2型糖尿病(Type 2 diabetes, T2DM)是一组以胰岛素分泌相对不足引起高血糖为特征的代谢性疾病。据统计,2015年约有4.15亿人患有糖尿病,到2040年,这一数字可能会继续上升到6.42亿^[1]。研究表明,2型糖尿病患者发生轻度认知障碍(高达60%)和痴呆(50%~100%)的风险高于无2型糖尿病患者,不仅影响患者日常生活,且显著增加了卫生保健成本和社会负担^[2]。故临床急需寻找T2DM患者合并认知功能障碍的影响因素并指导干预,从而防治甚至逆转认知功能障碍病变。近年来,许多研究报告了T2DM患者循环血清、血浆中的生物标志物可能是诊断和预测认知障碍的关键因素。胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)是一种来自肠道的肽激素,通过协调胰岛素分泌,食物摄入和肠道蠕动,在维持餐后葡萄糖稳态中起核心作用,此外GLP-1参与了多种大脑高级中枢活动^[3]。淀粉样 β 蛋白1-42(β -amyloid 1-42, A β 1-42)水平与阿尔兹海默症密切相关,这很有可能是认知功能障碍的影响因素^[4]。单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)可能通过氧化应激和免疫应答在胰岛素抵抗、2型糖尿病、认知障碍中起关键作用^[5]。本研究主要探究血清GLP-1、A β 1-42、MCP-1三个指标与T2DM认知功能障碍的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

分析2020年2月至2023年2月期间南京市江宁医院收治的102例T2DM患者的临床资料。纳入标准:①符合《中国2型糖尿病防治指南(2017年版)》中T2DM的诊断标准^[6]并于本院确诊;②干预前半个月口服降糖药或胰岛素血糖水平无变化;③无听力、视力障碍,可进行认知测试;④病程

3年以上;⑤病历资料完整无缺失。排除标准:

①有消化功能不全、心力衰竭、肾衰竭、恶性肿瘤、严重脑血管疾病、酮症、甲状腺功能亢进、肝功能不全或者严重胆胰疾病等严重病症;②怀孕或哺乳期患者;③存在严重糖尿病并发症;④长期酗酒、有明显的抑郁症状或其他影响认知功能的习惯与倾向。根据蒙特利尔认知评估量表(Montreal Cognitive Assessment, MoCA)^[7]评分分组, ≥ 26 分的患者纳入认知功能正常组($n=53$), < 26 分的患者纳入认知功能障碍组($n=49$)。认知功能正常组男29例,女24例;年龄56~82岁,平均年龄(66.21 ± 10.60)岁;病程3~8年,平均病程(5.37 ± 2.38)年。认知功能障碍组男26例,女23例;年龄平均年龄(67.95 ± 11.41)岁;平均病程(5.72 ± 2.26)年。两组性别、年龄、病程等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。所有患者均知情并签署同意书。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 资料收集

入组后,收集以下基线信息:年龄、性别、病程。于同一日期收集以下实验室指标:空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平。

1.3 检查方法

认知功能检查^[7]:采用MoCA对患者进行测试,在大约10 min内完成。MoCA主要评估受试者的认知领域,包括注意力、集中力、执行功能、记忆和词汇、视觉构建能力、概念推理、计算等方面。MoCA的得分从0到30不等,分数越高表明认知功能越好,MOCA检测认知功能障碍的临界值为26分, < 26 分为认知功能障碍。

血清检测:于研究对象入院24小时内采集空腹肘正中静脉血5 mL,注入不含抗凝剂的分离胶试管中混匀后于室温静置30 min,3 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm),保存于4℃冰箱中待测。采用西门子 Atellicasolution 全自动生化分析仪检测血清PCT、SChE, Becton-Dickinson 流式细胞检测仪检测血清CD64水平。酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清Aβ1-42。

1.4 统计学方法

采用SPSS Statistics 23.0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。采用多因素Logistic回归分析T2DM患者认知功能障碍的独立影响因素,ROC曲线分析GLP-1、Aβ1-42、MCP-1三个指标对T2DM患者认知功能的预测价值,曲线下面积值(AUC)的比较采用非参数检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料及实验室指标比较

两组年龄、性别和病程比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组GLP-1水平:认知功能正常组>认知功能障碍组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。两组血清Aβ1-42、MCP-1、FPG、HbA1c水平:认知功能障碍组>认知功能正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料及实验室指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of two sets of general information and laboratory indicators ($\bar{x} \pm s$)

参数	认知功能障碍组 (n=49)	认知功能正常组 (n=53)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	67.95±11.41	66.21±10.60	0.798	0.427
性别(男/女)	26/23	29/24	0.028	0.867
T2DM病程(年)	5.72±2.26	5.37±2.38	0.760	0.449
GLP-1(pmol/L)	19.79±3.42	25.64±5.11	6.738	<0.001
Aβ1-42(pg/mL)	105.37±19.31	82.94±18.18	6.042	<0.001
MCP-1(ng/mL)	322.67±41.54	264.75±28.59	8.255	<0.001
FPG(mmol/L)	9.22±1.57	8.15±1.12	3.985	<0.001
HbA1c(%)	8.68±1.36	8.05±1.45	2.259	0.026
LDL-C(mmol/L)	3.27±0.64	3.16±0.52	0.956	0.342
HDL-C(mmol/L)	1.11±0.25	1.16±0.29	0.929	0.355

2.2 T2DM患者认知功能障碍的多因素 Logistic 回归分析

建立相关性模型,T2DM患者认知功能与GLP-1水平呈正相关($r=0.486, P < 0.05$),与Aβ1-42、MCP-1水平呈负相关($r=-0.558, 0.601, P < 0.05$)。

多因素 Logistic 回归分析显示, GLP-1、Aβ1-42、MCP-1是T2DM患者认知功能障碍的独立影响因素($P < 0.05$)。见表2。

表2 T2DM患者认知功能障碍的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of cognitive dysfunction in T2DM patients

影响因素	β值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
GLP-1	0.448	0.199	5.068	1.565	1.236~1.872	0.024
Aβ1-42	0.236	0.117	4.069	1.266	0.892~1.578	0.044
MCP-1	1.049	0.463	5.133	2.855	2.657~3.069	0.023
FPG	0.785	0.419	3.510	2.192	1.961~2.723	0.061
HbA1c	1.170	0.743	2.480	3.222	2.782~3.647	0.115

2.3 GLP-1、Aβ1-42、MCP-1单一及联合检测对T2DM患者认知功能障碍的预测价值

ROC曲线显示GLP-1、Aβ1-42、MCP-1三者联合检测时,预测T2DM患者出现认知功能障碍的AUC为0.990,敏感性、特异性分别为0.910、0.952,优于单一检测($P < 0.05$)。见表3、图1。

表3 GLP-1、Aβ1-42、MCP-1单一及联合检测对T2DM患者认知功能障碍的预测价值

Table 3 Prognostic value of GLP-1, Aβ1-42, MCP-1 single and combined tests on cognitive dysfunction in T2DM patients

指标	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
GLP-1	0.827	(0.747~0.908)	0.804	0.758	<0.001
Aβ1-42	0.799	(0.711~0.886)	0.742	0.764	<0.001
MCP-1	0.867	(0.797~0.937)	0.845	0.796	<0.001
GLP-1+Aβ1-42+MCP-1	0.990	(0.973~1.000)	0.910	0.952	<0.001

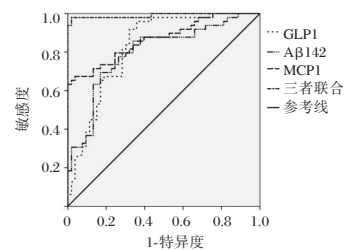


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

3 讨论

T2DM和阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)都是与年龄相关的疾病,影响着全世界数百万人^[8]。医学研究表明^[9],糖尿病患者AD的发病率增加到14.2%,超过80%的AD患者有T2DM或血糖水平异常。糖尿病到AD大致可分为3个阶段:糖尿病相关的认知减退、轻度认知障碍和痴呆。轻度认知障碍是正常认知衰老和痴呆之间的

过渡阶段,这也是干预的关键窗口。目前,认知功能障碍的评估通常以神经心理学评估为基础,如MoCA评估、简易精神状态检查等相关量表,在准确性和客观性方面受到限制,且结果易受到受试者年龄和教育程度的影响。因此,寻找简单且准确客观的生物标志物来诊断和预测认知功能障碍具有重要的现实意义。

胰高血糖素样肽1(GLP-1)作为一种主要的肽激素和生长因子,调节身体和大脑中的多种生理过程。最近的研究表明GLP-1可能在维持认知功能中起作用^[10]。GLP-1受体的表达不仅局限于胰岛,也在下丘脑、海马体、皮质和纹状体等许多重要的脑中区域中检测到,与学习、记忆等有关。卢冲等^[11]的动物学实验表明,AD小鼠给予GLP-1干预后,海马PPAR γ 蛋白分泌减少,从而改善这些AD小鼠的认知功能。另有研究指出^[12],T2DM患者由于胰岛素抵抗和高水平表达的糖化血红蛋白导致GLP-1合成减少,而血清GLP-1水平降低与大脑微结构异常和认知功能下降之间存在显著联系。本研究认知功能正常组的GLP-1水平高于认知功能障碍组,与上述研究类似,由此推测,GLP-1可能通过潜在的神经调节机制,保护T2DM患者的大脑微结构,延缓认知功能减退。到目前为止,淀粉样蛋白级联假说被广泛认为是AD发病机制的基础。 $A\beta$ 是AD患者脑内的特征性沉积物,是由其前体物质 β 淀粉样蛋白前体蛋白连续水解形成,其主要包括 $A\beta$ 1-40和 $A\beta$ 1-42两种形式。先前的研究表明,血清 $A\beta$ 1-40与 $A\beta$ 1-42水平与AD之间存在密切关系^[13]。许雪等^[13]的研究纳入180名受试者以探索血清 $A\beta$ 1-42对T2DM轻度认知功能障碍的潜在作用,结果发现T2DM认知功能障碍患者的血清 $A\beta$ 1-42水平明显高于认知功能正常患者,表明血液 $A\beta$ 1-42水平与T2DM认知功能障碍呈正相关。MCP-1是调节单核细胞/巨噬细胞迁移和浸润的最有效趋化因子。在AD病理生理学中,MCP-1主要由小胶质细胞和巨噬细胞表达,两者都参与 β -淀粉样蛋白的清除、髓磷脂降解和神经元丢失过程^[14]。李磊等^[15]研究显示,T2DM轻度认知障碍患者的血清和脑脊液中的MCP-1水平升高,脑脊液与血浆MCP-1水平之间存在显著关系,提示血清MCP-1水平较高与更严重的认知障碍相关。本研究也明确了血清 $A\beta$ 1-42、MCP-1水平与T2DM认知功能障碍之间的关系,这表明

血清 $A\beta$ 1-42、MCP-1可能是T2DM认知功能障碍的有价值的生物标志物。

此外,本研究多因素Logistic回归分析显示,GLP-1、 $A\beta$ 1-42、MCP-1是T2DM患者认知功能障碍的独立影响因素,ROC曲线显示,GLP-1、 $A\beta$ 1-42、MCP-1三者联合检测时,预测T2DM患者出现认知功能障碍的AUC为0.990,敏感性、特异性分别为91.0%、95.2%,优于单一检测。因此建议三者联合检测,以提高T2DM患者认知功能损害的检出率。

综上所述,T2DM认知功能障碍患者血清MCP-1水平显著升高, $A\beta$ 1-42、GLP-1水平显著降低,三者联合检测可为T2DM患者预防认知功能损害提供重要的参考依据。

参考文献

- [1] Li Y, Guo C, Cao Y. Secular incidence trends and effect of population aging on mortality due to type 1 and type 2 diabetes mellitus in China from 1990 to 2019: findings from the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2021, 9(2):529-534.
- [2] 陈昕羽,高静,吴晨曦,等. 2型糖尿病患者并发轻度认知功能障碍危险因素的Meta分析[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(21):4022-4027.
- [3] 董业峰,葛仁美,宋格. 2型糖尿病合并肥胖患者肠道菌群分布与A-FABP、GLP-1水平的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023, 15(2):302-305.
- [4] 毛蕾,李澎,陈晓晗,等. 血清 $A\beta$ 1-42、tau蛋白及甲状腺激素水平对缺血性卒中后认知障碍发生的预测价值[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2019, 45(7):385-389.
- [5] Cao F, Yang M, Cheng Y, et al. Correlation analysis of monocyte chemoattractant protein-1 and clinical characteristics and cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus comorbid major depressive disorder[J]. *Front Aging Neurosci*, 2023, 15(7):393-406.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2017年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4):292-344.
- [7] 吕艳,张增强,王海,等. 海南版简易智能状态检查量表和蒙特利尔认知评估量表界值划分的初步研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2020, 22(4):352-355.
- [8] 行君,侯琨,顾晓乐,等. 缺血性脑血管病患者认知功能障碍影响因素研究[J]. *华南预防医学*, 2022, 48(1):64-67.
- [9] Diniz Pereira J, Gomes Fraga V, Morais Santos AL, et al. Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus: A systematic review of proteomic studies[J]. *J Neurochem*, 2021, 156(6):753-776.
- [10] Reich N, Hölscher C. The neuroprotective effects of glucagon-like peptide 1 in Alzheimer's and Parkinson's disease: An in-depth review[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16(6):970925.

(下转第449页)

血清CEA、CA19-9、ITGβ6在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的意义

朱雅婷 周志雄 雷晋铭*

[摘要] **目的** 探讨血清CEA、CA19-9、ITGβ6在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的意义。**方法** 分析2020年4月至2021年8月湘南学院附属医院收治的29例胃癌根治术患者的临床资料,并纳入同期健康体检者49名作为对照组,同时根据胃癌根治术患者预后情况将其分为死亡组11例与存活组18例。记录两组患者入院时基线资料及入院24 h血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平并进行比较。**结果** 胃癌组患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均分别明显高于对照组,差异有统计学意义($t=6.135, 4.209, 3.943, P<0.05$)。死亡组患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均分别明显高于存活组,差异有统计学意义($t=3.723, 3.431, 3.867, P<0.05$)。CEA+CA19-9+ITGβ6联合检测的AUC值0.901,敏感度为0.909,特异度为0.944,表明三指标联合诊断胃癌根治术预后的价值更优($P<0.05$)。**结论** CEA+CA19-9+ITGβ6联合检测可有效诊断胃癌及提高对胃癌根治术患者的预后评估效果。

[关键词] CEA; CA19-9; ITGβ6; 胃癌

Expression of serum CEA, CA19-9, ITG β 6 in patients undergoing radical gastrectomy for gastric cancer and their significance in prognostic assessment

ZHU Yating, ZHOU Zhixiong, LEI Jinming*

(Department of Laboratory Medicine, the Affiliated Hospital of Xiangnan University, Chenzhou, Hunan, China, 423000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the expression and prognostic significance of serum CEA, CA19-9, and ITGβ6 in patients undergoing radical gastrectomy for gastric cancer. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the clinical data of 29 patients with gastric cancer who underwent radical surgery and were admitted to our hospital from April 2020 to August 2021. Additionally, 49 healthy individuals who underwent physical examinations during the same period were included as the control group. Furthermore, based on the prognosis of gastric cancer patients who underwent radical surgery, they were divided into a death group consisting of 11 cases and a survival group with 18 cases. Baseline data and 24-hour serum levels of CEA, CA19-9, and ITG β 6 were recorded for both groups of patients upon admission and a comparison was made. **Results** The serum CEA, CA19-9, and ITGβ6 levels of patients in the gastric cancer group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=6.135, 4.209, 3.943, P<0.05$). The serum CEA, CA19-9, and ITGβ6 levels of patients in the death group were significantly higher than those in the survival group, and the differences were statistically significant ($t=3.723, 3.431, 3.867, P<0.05$). The AUC value of the combined detection of CEA+CA19-9+ITGβ6 was 0.901, the sensitivity was 0.909, and the specificity was 0.944, indicating that the combined value of the three indicators in diagnosing the prognosis of radical gastrectomy for gastric cancer is better ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of CEA+CA19-9+ITGβ6 can effectively diagnose gastric cancer and improve the prognostic assessment of patients undergoing radical gastrectomy.

[KEY WORDS] CEA; CA19-9; ITG β 6; Gastric cancer

作者单位:湘南学院附属医院检验科,湖南,郴州 423000

*通信作者:雷晋铭, E-mail: zhuyating741@163.com

胃癌是临床常见的一种恶性肿瘤,其具有较高的发病率和病死率,对患者生命健康带来极大的威胁,全胃切除术是目前临床治疗胃癌最常用且最有效的方式,但是此种手术方式实施后造成患者消化功能丧失,进而影响患者消化能力^[1-3]。临床研究发现胃癌患者术后血清癌胚抗原 CEA (carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原 19-9 (cancer antigen 19-9, CA19-9)、血清整合素 $\beta 6$ (Integrin $\beta 6$, ITG $\beta 6$) 水平均会异常升高,但目前对于 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 的研究多集中在胃癌患者发病后及进行治疗后的浓度变化方面,而对于 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 三种指标在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的意义,目前查阅国内外文献罕有相关报道^[4]。为此本研究采用回顾性分析的方式,对血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 联合检测在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的应用价值进行探讨,以期胃癌的治疗提供参考依据。现详细汇报如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究为对病历资料进行回顾性分析。纳入 2020 年 4 月至 2021 年 8 月湘南学院附属医院收治的 29 例胃癌根治术患者的临床资料,并纳入同期健康体检者 49 名作为对照组,同时根据胃癌根治术患者预后情况将其分为死亡组 11 例与存活组 18 例。其中胃癌组患者包括男性 17 例、女性 12 例,年龄范围 21 岁~77 岁;对照组包括男性 28 名、女性 21 名,年龄范围 20 岁~75 岁。

纳入标准^[5-6]:①本组患者均实施全胃手术切除术;②术前均经过胃镜检查、消化造影和病理组织检查确诊为胃癌。排除标准^[7-9]:①癌细胞大面积扩散、不易实施手术治疗患者;②临床患者生存期<1 年,患者多器官功能障碍者。

1.2 观察指标及方法

收集两组性别及年龄等基线资料,记录两组血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 水平。

入院后 24 h 内抽取患者空腹外周肘静脉血 3~5 mL 于干燥试管,以 3 000 r/min 离心 10 min 后(离心半径 12 cm)抽取上清液置于-80℃冰箱保存。其中白细胞计数、白蛋白及血红蛋白采用 XN1000 全自动血细胞分析仪(希森美康医用电子上海有限公司)及配套试剂进行测定;CEA 和 CA19-9 采用 CL8000i 全自动化学发光免疫分析仪化学发光

法,(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)及配套试剂进行测定;ITG $\beta 6$ 水平采用比色法进行测定,所用希森美康 BX-4000 全自动生化分析仪及配套试剂均由南京新惠通生物科技有限公司提供;以上各指标测定均由湘南学院附属医院检验科两名经验丰富的医师操作完成。

1.3 统计学处理

本研究采用统计软件 SPSS 21.0 进行分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,用 t 检验,计数资料 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验。采用 ROC 曲线评价血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的意义,并计算 AUC 值及找出最佳截断值,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

两组性别比等其余基线资料之间比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组基线资料比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

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

组别	胃癌组($n=29$)	对照组($n=49$)	χ^2/t 值	P 值
性别(男/女)	17/12	28/21	1.068	>0.05
年龄(岁)	52.44±11.69	51.87±12.01	1.392	>0.05
BMI(kg/m^2)	24.29±3.04	24.42±3.11	0.714	>0.05
糖尿病	13(44.83)	21(42.86)	1.533	>0.05
高血压	10(34.48)	16(32.65)	1.661	>0.05
高脂血症	5(17.24)	8(16.33)	1.124	>0.05

2.2 两组血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 水平比较

胃癌组患者血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 水平均分别明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。胃癌患者术前及术后血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 的表达比较,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

2.3 死亡组与存活组患者血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 水平比较

根据胃癌组患者预后情况将其分为死亡组 11 例与存活组 18 例,其中死亡组患者末次随访时的血清 CEA、CA19-9、ITG $\beta 6$ 水平均分别明显高于存活组(均 $P < 0.05$)。见表 3。

2.4 三指标单独及联合检测对胃癌根治术患者预后的 ROC 曲线分析

以胃癌根治术患者预后结果为“金标准”,根据所绘制的 ROC 曲线,使用 AUC 值比较血清

表2 两组血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Two groups of serum CEA, CA19-9, and ITGβ6 level comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CEA (ng/mL)		CA19-9 (u/mL)		ITGβ6 (U/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
胃癌组	29	10.51±2.12	1.75±0.92 ^a	254.25±38.62	20.41±2.38 ^a	667.22±92.18	505.29±65.44 ^a
对照组	49	1.63±1.08		18.32±2.13		497.39±67.95	
t值		6.135		4.209		3.943	
P值		<0.05		<0.05		<0.05	

注:与同组术前比较,^aP<0.05。表3 死亡组与存活组患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平比较($\bar{x} \pm s$)Table 3 Serum CEA, CA19-9, and ITG of patients in the death and survival groups β6 level comparison ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CEA(ng/mL)	CA19-9(u/mL)	ITGβ6(U/L)
死亡组	11	12.29±2.53	293.62±43.75	789.21±111.23
存活组	18	9.43±1.87	230.19±35.48	592.67±80.54
t值		3.723	3.431	3.867
P值		<0.05	<0.05	<0.05

CEA、CA19-9、ITGβ6水平三种指标对预后的鉴别诊断价值,结果表明CEA的诊断价值优于CA19-9和ITGβ6;CA19-9和ITGβ6评估胃癌预后的能力相对较弱,CEA+CA19-9评估胃癌预后的能力更优,CEA+CA19-9+ITGβ6三指标联合诊断胃癌根治术预后的价值更优。见表4。

3 讨论

胃癌是临床常见的恶性肿瘤。根治性全胃切除术是胃癌主要治疗方式,但术后很容易发生倾倒综合征、腹泻以及反流性食管炎等无胃综合征^[10-11]。全胃切除术后生活质量和消化道重建对患者预后具有重要的作用。目前关于全胃切除术后消化道重建方式多种多样,但是至今还没有公认的最好的方式^[12]。其中单纯Roux-en-y吻合术的应用能减少碱性肠液反流,但食物排空较快,容易产生倾倒综合征现象,而P型Roux-en-y吻合

术是在此基础上改良的一种新的方式,其虽然能够有效增加代胃容量,延长了食糜排空的时间,但是手术操作较为繁琐,进而增加了手术创伤和手术时间^[13-14]。近年来本院行全胃手术切除手术的胃癌患者数量不少,基于前瞻性研究纳入病例具有一定的难度、时间跨度较长,本研究采用回顾性研究设计,纳入确诊为胃癌且接受全胃手术切除的患者、并同时纳入同时期本院体检健康者(作为对照)的临床资料进行回顾性分析。

研究发现^[15],胃癌患者术前的血清整合素β6(ITGβ6)水平与其临床病理特征及预后的关系密切。已有大量的临床研究报道胃癌患者发病后血清CEA、CA19-9水平均会异常升高。基于已有的研究结果,本研究联合监测血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平,以期探讨其在评估胃癌患者预后生存中的应用价值。本研究结果显示:胃癌组患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均分别明显高于对照组(体检健康的志愿者),这一结果证实胃癌患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均显著升高。本研究中胃癌组患者中的死亡患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均显著高于存活患者,说明血清CEA、CA19-9、ITGβ6可在一定程度上反映胃癌病情严重程度,可能有助于评估胃癌根治术患者预后。本研究中使用AUC值比较血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平三种指标对预后的鉴别诊断价值,结果发现血清CEA、

表4 三指标单独及联合检测对胃癌根治术患者预后的ROC曲线分析

Table 4 ROC curve analysis of the prognosis of gastric cancer patients undergoing radical surgery using three indicators individually and in combination

指标	AUC值	95% CI	最佳截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
CEA	0.815	0.704~0.849	10.91 ng/mL	0.727	0.778	0.011
CA19-9	0.796	0.697~0.812	269.27 u/mL	0.636	0.667	0.165
ITGβ6	0.701	0.655~0.789	701.33 U/L	0.546	0.722	0.259
CEA+ITGβ6	0.872	0.811~0.943		0.727	0.833	0.035
CA19-9+ITGβ6	0.835	0.732~0.891		0.727	0.778	0.327
CEA+CA19-9	0.881	0.822~0.958		0.818	0.889	0.026
CEA+CA19-9+ITGβ6	0.901	0.846~0.964		0.909	0.944	0.002

CA19-9、ITGβ6的曲线下面积依次为0.815、0.796、0.701,说明CEA的诊断价值优于CA19-9和ITGβ6;当CEA截断值为10.91 ng/L时,其敏感度为72.73%,特异度为77.78%,而CA19-9和ITGβ6评估胃癌预后的能力相对较弱。两种指标联合CEA+LPS、CA19-9+LPS、CEA+CA19-9评估胃癌预后的AUC值依次为0.872、0.835、0.881,敏感度依次为72.73%、72.73%、81.82%,特异度依次为83.33%、77.78%、88.89%,说明CEA+CA19-9评估胃癌预后的能力更优。CEA+CA19-9+ITGβ6联合检测的AUC值0.901,敏感度为90.91%,特异度为94.44%,说明三指标联合诊断胃癌根治术预后的价值更优。总之,本研究如上结果表明,CEA+CA19-9+ITGβ6三指标联合检测在反映胃癌患者的病情严重程度、评估胃癌根治术后患者的预后方面具有可行性且具有积极、有效的临床价值。

不同于已有的研究,本研究监测了新近临床研究中得到关注的血清整合素β6(ITGβ6)指标,将其与临床常用的胃癌监测指标血清CEA、CA19-9联合进行监测;基于胃癌根治手术已成为治疗胃癌的基本方法,本研究纳入初诊、胃癌根治术后患者作为观察对象。但是,由于本研究所选取的样本数目偏少,研究人员之间的差异可能导致统计学处理结果的偏差,因此血清CEA、CA19-9、ITGβ6在胃癌根治术患者中的表达及预后评估中的应用价值仍有待于扩大样本数目进行更深入的探讨。

综上所述,胃癌患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均明显升高,且死亡组患者血清CEA、CA19-9、ITGβ6水平均分别明显高于存活组,CEA+CA19-9+ITGβ6联合检测可显著提高胃癌患者预后评估效果。

参考文献

- [1] 黄牛,王昕,朱雄兵.腹腔镜全胃切除术应用不同食管空肠吻合合法临床疗效分析[J].中华普通外科学文献(电子版), 2017,11(6):410-413.
- [2] 周博.胃癌全胃切除与远端次全胃切除预后比较及不同消化道重建术对患者生活质量的影响[J].河南医学研究, 2017,26(19):3491-3492.
- [3] 周宇峰.不同消化道重建方式在胃癌全胃切除术患者中的应用比较[J].中国医药指南, 2017,15(32):173-174.
- [4] 林华鹏,章由贤,章志翔.全胃切除术后消化道重建对生活质量影响的对比研究[J].天津医科大学学报, 2011,(2):230-232.
- [5] 李弼鹏.全胃切除术和近端胃切除术治疗胃上部癌的预后分析[J].中外医疗, 2017,36(31):90-92.
- [6] 马逸云,蒋华,马元麟.腹腔镜辅助全胃切除术对胃癌患者术后胃肠功能恢复及血清CEA、CA50、CA19-9水平的影响[J].国际消化病杂志, 2017,37(4):259-262.
- [7] 胡子龙,张凯,胡时栋,等.腹腔镜辅助全胃切除与近端胃切除术治疗胃上部癌的围手术期临床疗效对比研究[J].腹部外科, 2017,30(4):258-260+269.
- [8] 郑玉堂.腹腔镜辅助全胃切除术对胃癌患者术后应激反应及预后的影响[J].河南医学研究, 2017,26(12):2276-2277.
- [9] 苏志伟,詹利永.肿瘤患者全胃切除连续间置空肠代胃消化道重建术观察[J].中国癌症杂志, 2011,(5):363-366.
- [10] Iwahashi M, Nakamori M, Nakamura M, et al. Evaluation of double tract reconstruction after total gastrectomy in patients with gastric cancer: prospective randomized controlled trial[J]. World J Surg, 2009,33(9):1882-1888.
- [11] 刘云宏,肖勇,雷平光.全胃切除术及近端胃切除术治疗早期胃上部癌疗效比较[J].海南医学, 2016,27(22):3742-3743.
- [12] 石志伟.胃癌全胃切除术后消化道重建术式的疗效对比评价[J].中国医药科学, 2012,(1):76+78.
- [13] 石磊,陈平,赵伟,等.非离断式Roux-en-Y吻合在腹腔镜全胃切除术消化道重建中的应用[J].中国现代普通外科进展, 2013,(12):939-941+946.
- [14] Luiz Roberto Lopes, Danielle Menezes Cesconetto, João de Souza Coelho-Neto. Técnica de Rosanov modificada na reconstrução do trato digestivo após gastrectomia total/ The modified Rosanov technique in the reconstruction of digestive tract after total gastrectomy[J]. arq bras cir dig, 2011,24(2).
- [15] 何旭,王德奋,王科壹,等.术前血清ITGβ6水平对CEA正常的可切除胃癌患者预后的预测价值[J].临床肿瘤学杂志, 2022,27(10):896-902.
- [11] 卢冲,李新宇,孙宇,等.胰高血糖素样肽1(GLP-1)改善阿尔茨海默病大鼠模型的认知功能及其机制研究[J].卒中与神经疾病, 2019,26(2):193-197.
- [12] 杨晶晶,黄婷,路瑶.2型糖尿病患者血清胰高血糖素样肽-1水平与认知功能障碍的相关性研究[J].中华保健医学杂志, 2023,25(1):62-65.
- [13] 许雪,孔璐璐,李伟.血清Aβ1-42及P-tau-181与老年2型糖尿病轻度认知功能障碍的关系[J].重庆医学, 2021,50(24):4193-4199.
- [14] 郝凤霄,曾梦楠,曹兵,等.山茱萸水提取物对Aβ25-35诱导阿尔茨海默病小鼠脑损伤和神经炎症的作用[J].中国中药杂志, 2023,48(15):4015-4026.
- [15] 李磊,李婷,周长锦,等.血清MCP-1、SAA与老年2型糖尿病患者认知功能的相关性研究[J].中国现代医学杂志, 2020,30(4):119-123.

(上接第445页)

经阴道彩超联合血清 ADAM12-S、 β -HCG、孕酮检测在异位妊娠诊断中的应用

王琳琪* 牟沁 张春梅 吴斐斐

[摘要] **目的** 分析经阴道彩超联合血清整合素-金属蛋白酶 12(ADAM12)、人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)、孕酮检测在子宫异位妊娠(EP)诊断中的作用。**方法** 收集 2018 年 1 月至 2023 年 1 月四川省安岳县人民医院收治的 94 例 EP 患者(EP 组),选取本院同期产检正常宫内妊娠孕妇 90 名(正常妊娠组)。对比两组阴道彩超及 ADAM12-S、 β -HCG、孕酮检测结果,分析经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮与临床诊断结果的一致性,分析四者联合及单独检测对子宫异位妊娠诊断的效能。**结果** EP 组子宫内膜厚度小于正常妊娠组,阻力指数值高于正常妊娠组,差异有统计学意义($P<0.05$);EP 组 ADAM12-S、 β -HCG、孕酮水平均低于正常妊娠组,差异有统计学意义($P<0.05$);经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合诊断与临床诊断结果一致性高($Kappa$ 值=0.869);经阴道彩超检测对 EP 诊断灵敏度、特异度分别为 85.12%、84.44%;ADAM12-S 诊断 EP 分别为 77.65%、81.11%; β -HCG 诊断分别为 71.77%、75.56%;孕酮诊断 EP 分别为 74.46%、78.89%;四者联合诊断 EP 灵敏度、特异度分别为 95.74%、91.11%,高于四者单独诊断。**结论** 阴道彩超、血清 ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合检测可有效提高对 EP 诊断效能,对于尽早诊断子宫异位妊娠具有重要意义。

[关键词] 经阴道彩超; ADAM12-S; β -HCG; 孕酮; 异位妊娠

Application of transvaginal color ultrasound combined with serum ADAM12-S, β -HCG and progesterone detection in the diagnosis of ectopic pregnancy

WANG Linqi*, MOU Qin, ZHANG Chunmei, WU Feifei

(Department of Ultrasound Imaging, Anyue County People's Hospital, Ziyang, Sichuan, China, 642350)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of transvaginal color Doppler ultrasound combined with serum disintegrin-metalloproteinase 12 (ADAM12), human chorionic gonadotropin (β -HCG) and progesterone detection in the diagnosis of ectopic pregnancy (EP). **Methods** 94 cases of EP patients admitted to the People's Hospital of Anyue County, in Sichuan Province from January 2018 to January 2023 were collected for the EP group. Additionally, 90 pregnant women with normal intrauterine pregnancies during the same period were selected for the normal pregnancy group. The results of vaginal color Doppler ultrasound, ADAM12-S, β -HCG, and progesterone were compared between the two groups. The consistency of transvaginal color Doppler ultrasound, ADAM12-S, β -HCG, and progesterone with clinical diagnosis results was analyzed, and the effectiveness of both the combination and single detection of these four factors in diagnosing uterine ectopic pregnancy was analyzed. **Results** The endometrial thickness in the EP group was smaller than that in the normal pregnancy group, and the resistance index value in the EP group was higher than that in the normal pregnancy group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of ADAM12-S, β -HCG, and progesterone in the EP group were lower than those in the normal pregnancy group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The combined diagnosis of transvaginal color Doppler ultrasound, ADAM12-S, β -HCG, and progesterone showed a high consistency with clinical diagnosis ($Kappa$

基金项目:四川省卫生厅科研课题(18001173)

作者单位:四川省安岳县人民医院超声影像科,四川,资阳 642350

*通信作者:王琳琪, E-mail: 13982919979@163.com

value=0.869)。The diagnostic sensitivity and specificity of transvaginal color Doppler ultrasound for EP were 85.12% and 84.44%, respectively. For ADAM12-S diagnostics of EP, the sensitivity and specificity were 77.65% and 81.11%, respectively. β -HCG diagnostics showed a sensitivity of 71.77% and a specificity of 75.56%, while progesterone diagnosis of EP had a sensitivity of 74.46% and a specificity of 78.89%. The sensitivity and specificity of the combined diagnosis of EP using the four methods were 95.74% and 91.11%, which were higher than those of the four methods used for diagnosis alone. **Conclusion** The combined detection of vaginal color Doppler ultrasound, serum ADAM12-S, β -HCG, and progesterone can effectively enhance the diagnostic efficiency of EP. This is highly significant for the early diagnosis of ectopic pregnancy.

[KEY WORDS] Transvaginal ultrasound; ADAM12-S; β -HCG; Progesterone; Ectopic pregnancy

异位妊娠(Ectopic pregnancy, EP)是指受精卵未在子宫内部着床,而是在宫外生长、发育的现象,为妇产科常见急性病症^[1]。研究显示,EP是导致孕妇死亡的常见原因,妊娠相关死亡率高达10%^[2]。近几年来随着发生率逐渐增加,如何早期检出EP对降低患者死亡风险有重要意义。目前临床对EP检测主要有生化、超声、腹腔镜等,其中超声与生化检测创伤小、操作简便、重复性好,更易被患者接受。生化检查中以孕酮和血清 β -人绒毛膜促性腺激素(β -Human chorionic gonadotropin, β -HCG)为常用指标,两者对EP诊断有较高敏感性^[3]。解整合素-金属蛋白酶12(a disintegrin and metalloprotease12, ADAM12)是一种与组织生长发育密切相关的蛋白,以往研究显示,孕妇血清中ADAM12-S(短链形式ADAM12)水平与孕周期呈正相关关系,而孕18三体、21三体中其水平明显降低^[4]。阴道彩超是一种无创性检查方式,为孕期检查中常用手段,对EP检查有重要意义^[5]。上述检查都有其侧重,本研究将通过经阴道彩超、血清ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合检测,探讨是否可提高对EP诊断的效能,以期为临床诊疗提供新方法,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年1月至2023年1月四川省安岳县人民医院收治的94例EP患者(EP组),纳入标准:①患者及家属均签署知情同意书;②临床表现为下腹坠胀、腹痛、痛经、阴道不规则出血,尿、血 β -HCG阳性;B超检查显示,无宫腔内妊娠迹象,附件区可见包块;由腹腔镜或剖腹探查切除后病理诊断证实为EP者^[6];③临床资料完整。排除标准:①近期有使用激素类药物;②合并内分泌肿瘤、严重内科疾病者;③合并自身免疫性疾病者;

④既往有子宫内膜疾病或妊娠滋养细胞疾病史等。另选取本院同期产检孕妇90名,孕妇正常宫内妊娠,阴道超声可见宫内孕囊,无阴道流血。EP组患者年龄23~38岁,平均年龄(28.69 \pm 5.33)岁,孕周4~8周,平均(5.15 \pm 1.48)周,均为输卵管异位妊娠;正常妊娠组年龄22~39岁,平均年龄(29.15 \pm 5.71)岁,孕周4~9周,平均(5.28 \pm 1.97)周,两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究已通过院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 经阴道彩超检查

在进行检查前需告知孕妇排空膀胱,以膀胱截石位进行检查。仪器为GELOGIQ-3彩色超声仪(上海朗逸医疗器械有限公司),探头频率为3.5~5.0 Mhz,观察孕子宫大小、子宫附件、宫腔、子宫内膜厚度、盆腔内有无液性暗区、阻力指数等。两组均由同一医生进行检查。

1.2.2 血清ADAM12-S、 β -HCG、孕酮检测

在清晨空腹状态下抽取静脉血液5 mL,静置后离心(离心半径:10 cm,转数:3 000 r/min,时间:10 min)处理获取血清待检,ADAM12-S、 β -HCG、孕酮均使用全自动化学发光免疫分析仪(Backman Coulter UniCel, DXI 800)进行检测,试剂为仪器所配套。

1.3 观察指标

①比较正常妊娠组与EP组患者阴道超声检查结果;②比较正常妊娠组与EP组ADAM12-S、 β -HCG、孕酮水平;③分析经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮与临床诊断结果的一致性;④分析经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合及单独检测对异位妊娠诊断灵敏度、特异度,灵敏度=[真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)] \times 100%,特异度=[真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)] \times 100%^[7]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,行 t 检验,经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮与临床诊断结果一致性使用一致性($Kappa$)检验($Kappa$ 值0~0.20不可信;0.21~0.40较低;0.41~0.60中等;0.61~0.80较高;0.81~1.00高),均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组阴道超声检查结果比较

EP组子宫内膜厚度明显小于正常妊娠组,阻力指数则明显高于正常妊娠组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组阴道超声检查结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	子宫内膜厚度(mm)	阻力指数
正常妊娠组	90	12.69±1.33	0.46±0.06
EP组	94	7.49±1.58	0.79±0.13
t 值		24.099	21.945
P 值		<0.001	<0.001

2.2 两组ADAM12-S、 β -HCG、孕酮水平比较

EP组ADAM12-S、 β -HCG、孕酮水平均低于正常妊娠组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组ADAM12-S、 β -HCG、孕酮水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ADAM12-S ($\mu\text{g/L}$)	β -HCG (IU/L)	孕酮 ($\mu\text{g/L}$)
正常妊娠组	90	19.16±0.36	3826.15±1015.33	41.29±3.74
EP组	94	2.62±0.14	2113.28±913.29	12.69±2.36
t 值		413.989	12.041	62.311
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮与临床诊断结果一致性

阴道彩超与临床诊断结果一致性较高,ADAM12-S、 β -HCG、孕酮与临床诊断结果一致性均为中等,经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合诊断与临床诊断结果一致性高($Kappa$ 值=0.869)。见表3。

2.4 经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合及单独检测对EP诊断效能

四者联合检测诊断灵敏度、特异度分别为95.74%、91.11%,四者联合诊断灵敏度、特异度均高于四者单独检测。见表4。

表3 经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮与临床诊断结果一致性

Table 3 Consistency between transvaginal color Doppler ultrasound, ADAM12-S, β -HCG, progesterone and clinical diagnosis

临床诊断	阴道彩超		ADAM12-S		β -HCG		孕酮		联合	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	80	14	73	21	67	32	70	24	90	4
阴性	14	76	17	73	22	68	19	71	8	82
$Kappa$ 值	0.696		0.587		0.430		0.533		0.869	

表4 经阴道彩超、ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合及单独检测对EP诊断效能(%)

Table 4 The diagnostic efficacy of transvaginal color Doppler ultrasound, ADAM12-S, β -HCG, progesterone combined and single detection for EP (%)

检查方法	灵敏度	特异度
阴道彩超	85.12	84.44
ADAM12-S	77.65	81.11
β -HCG	71.77	75.56
孕酮	74.46	78.89
联合	95.74	91.11

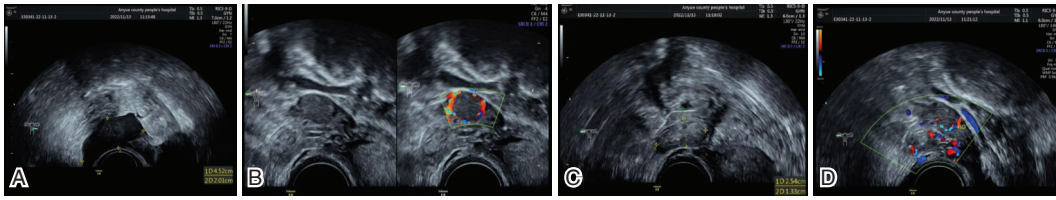
2.5 典型病例

患者,女,停经40天,腹痛1+天,超声检查:双侧卵巢显示,右侧卵巢内查见大小约1.5×1.2×1.3 cm的低回声结节,边界清楚,CDFI:其周边见环状彩色血流信号。右侧附件区查见大小约2.5×1.3×1.2 cm的不均质回声团块,边界较清,CDFI:其周边见较丰富的条状彩色血流信号。子宫直肠窝查见范围约4.5×2.0 cm的液性暗区。见图1。术中所见:盆腹腔部分粘连,广泛血染,右侧输卵管全段紫蓝色增粗,未见破口,右侧卵巢外观未见异常。切除组织中见绒毛样妊娠组织。术中诊断:右侧输卵管妊娠。

3 讨论

在临床中将输卵管、宫颈、卵巢等非宫内妊娠统称为EP,其中以输卵管EP常见^[8]。EP患者可出现停经、腹痛伴阴道不规则流血等症状,但患者受精卵未流产或破裂时其临床表现并不典型,易造成误诊或漏诊,因此需要借助辅助检查进一步确诊。

阴道彩超可直接观察子宫形态,探查盆腔内部情况,其操作简单、重复性好,因此在临床妇科疾病检查中广泛应用。研究表明,以阴道彩超检测患者子宫内膜厚度、阻力指数可为EP诊断提供参考,且子宫内膜厚度检测仅需测量子宫矢状面



注:A.子宫直肠窝扫查;B.右侧卵巢CDFI提示周围有环状彩色血流信号;C.右侧附件区出现不均质回声团块;D.提示条状彩色血流信号。

图1 异位妊娠经阴道超声影像学表现图

Figure 1 Transvaginal Ultrasound Imaging of Ectopic Pregnancy

两层内膜之和,不受检测盲区影响,具有较高的临床应用价值^[9]。本研究结果显示,EP组子宫内膜厚度值小于正常妊娠组,而阻力指数比正常妊娠组高。笔者认为,EP组子宫内膜厚度低主要是因受精卵着床位置远离子宫腔,导致子宫腔内血供减少,激素分泌量也随之降低,进而导致子宫内膜未出现增生^[10]。但有研究指出^[11],由于女性的绒毛发育、血供、激素分泌不一致,正常妊娠孕妇与EP孕子宫内膜厚度存在有较大的交叉性,仅依靠子宫内膜厚度等超声指标作为诊断指标尚有局限性。因此,建议可联合实验室检查指标进行判断及鉴别。

β -HCG、孕酮均为临床评估EP的常用指标。 β -HCG为合体滋养叶细胞所分泌的糖蛋白,在受精卵形成后的6~7d内开始分泌,9~13d后 β -HCG水平明显上升,在8~10周 β -HCG水平达到高峰期,随后降低,是检测早期妊娠的最灵敏指标^[12]。本研究结果显示,在EP组中 β -HCG值降低,与以往研究结果类似^[13]。分析原因:EP患者受精卵无法在子宫内着床,导致无法完成脱膜反应,滋养细胞发育不良,进而导致 β -HCG合成量减少。孕酮是由卵巢、输卵管、肾上腺皮质所合成的激素,女性孕酮水平上升,有利于刺激输卵管 β -肾上腺素受体,进而方便受精卵通过,其水平异常降低后,受精卵通过受阻,EP发生率也随之上升。本研究中,EP患者孕酮水平明显低于正常妊娠组。ADAM12-S是一种新的妊娠标志物,与胎盘生长发育密切相关^[14]。有研究显示^[15],ADAM12-S水平降低与宫内生长迟缓、先兆子痫、染色体异常情况相关。也有研究表明^[16],ADAM12-S水平与孕周呈正相关关系,随着孕周增加,ADAM12-S水平也明显上升。在本研究中,EP组孕妇ADAM12-S水平明显降低,分析可能与EP孕妇绒毛组织发育不良,导致滋养细胞分泌ADAM12-S不足有关,但有关具体影响机制还有待进一步深入研究。

本研究结果显示,阴道彩超、血清ADAM12-S、 β -HCG、孕酮四者联合检测与临床诊断EP结果一致性最高,Kappa值为0.869,且联合诊断灵敏度、特异度分别为95.74%、91.11%,高于四者单独检测。提示单项检测具有一定局限,存在漏诊风险,而联合诊断可有效提高对EP诊断效能,对于尽早发现异位妊娠具有重要意义,临床可根据各指标特性联合应用。

综上所述,阴道彩超、血清ADAM12-S、 β -HCG、孕酮联合检测可提高对EP的诊断效能,对EP临床诊断有一定参考价值。

参考文献

- [1] Xiao C, Shi Q, Cheng Q, et al. Non-surgical management of tubal ectopic pregnancy: A systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine*, 2021, 100(50):27851.
- [2] 王妮娜,李润,许西婵.血清 β -人绒毛膜促性腺激素、孕酮联合彩色多普勒超声对异位妊娠早期诊断的价值研究[J]. *贵州医药*, 2019, 43(12):1969-1970.
- [3] Bobdiwala S, Kyriacou C, Christodoulou E, et al. Evaluating cut-off levels for progesterone, β human chorionic gonadotropin and β human chorionic gonadotropin ratio to exclude pregnancy viability in women with a pregnancy of unknown location: A prospective multicenter cohort study[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2021, 101(1):46-55.
- [4] 孙喜东,雷丽,于淑敏,等.经阴道超声检查联合 β -人绒毛膜促性腺激素、孕酮检测在异位妊娠中的诊断价值[J]. *医学临床研究*, 2019, 36(4):1211-1214.
- [5] 孙艳芳,彭月享,蔡炜琼,等.阴道彩超联合血清 β -HCG, CK, VEGF诊断早期异位妊娠[J]. *中国计划生育学杂志*, 2020, 28(12):2077-2138.
- [6] 刘娟,韩心灯,周莉.经阴道超声检查子宫内膜厚度联合血清 β -HCG、孕酮检测评估异位妊娠价值[J]. *医学影像学杂志*, 2022, 32(10):1835-1839.
- [7] 李柯狄.经阴道彩色多普勒超声联合血清E2、 β -HCG早期预测妊娠结局价值研究[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(6):732-735.

(下转第458页)

子宫内膜异位症不孕患者 *miR-145* 与 Fascin-1、OCT4 的相关性及临床意义

卢煜婷¹ 陈军平^{1*} 孙瑶²

[摘要] 目的 研究子宫内膜异位症(EMs)不孕患者 *miR-145* 与 Fascin-1、OCT4 的相关性及临床意义。方法 选择2020年1月至2022年1月于重庆高新区第一人民医院行腹腔镜手术的100例EMs不孕患者作为研究组,留取异位子宫内膜组织;另取同期因宫腔粘连行宫腔镜手术的55例患者作为对照组,留取正常子宫内膜组织。检测两组以及EMs组中不同AFS分期患者内膜组织中 *miR-145*、Fascin-1、OCT4 的表达水平,分析EMs组中 *miR-145* 与 Fascin-1、OCT4 表达的相关性,随访EMs不孕患者术后1年的自然妊娠情况,比较EMs组中不同 *miR-145* 表达患者术后自然妊娠率。结果 EMs组子宫内膜组织中 *miR-145* 的表达水平及 Fascin-1、OCT4 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$);EMs组中 AFS III~IV期患者子宫内膜组织中 *miR-145* 的表达水平及 Fascin-1、OCT4 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于 I~II期患者,差异有统计学意义 ($P<0.05$);EMs组患者子宫内膜组织中 *miR-145* 的表达水平与 Fascin-1、OCT4 的 mRNA 和蛋白表达水平均呈正相关 ($P<0.05$);根据EMs组患者子宫内膜组织中 *miR-145* 表达水平的中位数分为 *miR-145* 高表达患者和低表达患者, *miR-145* 高表达患者术后累积自然妊娠率低于 *miR-145* 低表达患者,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 EMs不孕患者子宫内膜组织中 *miR-145* 表达增加与 Fascin-1、OCT4 表达增加及术后自然妊娠率降低有关。

[关键词] 子宫内膜异位症;不孕; *miR-145*; Fascin-1; Oct4; 自然妊娠

Correlation and clinical significance of *miR-145*, Fascin-1 and OCT4 in infertile patients with endometriosis

LU Yuting¹, CHEN Junping^{1*}, SUN Yao²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, the First People's Hospital of Chongqing High tech Zone, Chongqing, China, 401331; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Jintang County Maternal and Child Health Hospital, Chengdu, Sichuan, China, 610400)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between *miR-145* and Fascin-1, OCT4 of infertile patients with endometriosis (EMs) and its clinical significance. **Methods** A total of 100 infertility patients with EMs who underwent laparoscopic surgery at the First People's Hospital of Chongqing High-tech Zone from January 2020 to January 2022 were selected for the EMs group, and ectopic endometrial tissues were collected. Additionally, 55 patients who underwent hysteroscopic surgery for intrauterine adhesions were chosen for the control group, and normal endometrial tissues were collected. The expression levels of *miR-145*, Fascin-1, and OCT4 in the endometrial tissues of both groups as well as in patients with different AFS stages in the EMs group were measured. The correlation between *miR-145* and Fascin-1, OCT4 expression in the EMs group was analyzed. The spontaneous pregnancy rates of infertility patients who underwent EMs surgery were followed up for the first year post-surgery, and the rates were compared based on different *miR-145* ex-

项目基金:重庆市科卫联合医学科研项目(2021MTXJ182)

作者单位:1. 重庆高新区第一人民医院妇产科, 重庆 401331

2. 四川省金堂县妇幼保健院妇产科, 四川, 成都 610400

*通信作者:陈军平, E-mail:lyt12340712@163.com

pression levels in the Ems group. **Results** The expression levels of *miR-145* and the mRNA and protein expression levels of Fascin-1 and OCT4 in endometrial tissues were significantly higher in the Ems group compared to the control group ($P<0.05$). Within the EMs group, the expression levels of *miR-145* and the mRNA and protein expression levels of Fascin-1 and OCT4 in endometrial tissues were higher in patients with AFS III-IV compared to those with AFS I-II, and these differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression level of *miR-145* in endometrial tissues of the EMs group was positively correlated with the mRNA and protein expression of Fascin-1 and OCT4 ($P<0.05$). Based on the median expression level of *miR-145* in endometrial tissues of patients in the EMs group, the patients were divided into two groups: the high expression and low expression. The cumulative postoperative spontaneous pregnancy rate was significantly lower in patients with high *miR-145* expression compared to those with low *miR-145* expression ($P<0.05$). **Conclusion** The increase in *miR-145* expression in endometrial tissue with endometriosis-related infertility is associated with increased expression of Fascin-1 and Oct4, as well as a decrease in the natural pregnancy rate.

[KEY WORDS] Endometriosis; Infertility; *miR-145*; Fascin-1; Oct4; Spontaneous pregnancy

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是好发于育龄期女性的妇科内分泌疾病,可引起慢性疼痛及不孕,严重影响患者的生殖健康和生活质量。子宫内膜组织出现在子宫内膜以外的部位并生长、浸润是EMs的特征^[1],具体的发病机制尚不完全明确。Fascin-1蛋白和OCT4蛋白是目前已知与EMs发生发展相关的两种蛋白,前者对细胞的迁移、侵袭具有促进作用,后者对细胞的自我更新及增殖具有促进作用,两者对EMs病灶生长和浸润起促进作用^[2-3]。微小RNA(microRNA, miR)是一类在转录后水平调节基因表达的小分子RNA,在体内分布广泛且受其调控的靶基因众多,有研究报道在恶性肿瘤中Fascin-1和OCT4的表达受到*miR-145*的调控作用^[4-5],EMs患者的血清*miR-145*表达水平增加^[6]。但EMs发生发展中*miR-145*对Fascin-1、OCT4的调控作用以及*miR-145*与自然妊娠的关系均不清楚。因此,本研究将以接受手术治疗的EMs不孕患者为对象,分析*miR-145*表达与Fascin-1、OCT4及术后自然妊娠的相关性,旨在初步揭示*miR-145*调控Fascin-1、OCT4在EMs不孕中的作用,为今后发现EMs不孕的分子机制及治疗靶点提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2020年1月至2022年1月于重庆高新区第一人民医院行腹腔镜手术的100例EMs不孕患者作为研究的EMs组,纳入标准:①符合EMs的诊断^[7];②合并不孕;③收集异位子宫内膜组织;④术前未接受过EMs相关药物治疗;⑤术后随访资料完整。排除标准:①男方因素导致不孕;②女

方非子宫内膜异位症相关因素导致不孕;③合并生殖系统畸形、输卵管病变、宫腔粘连、子宫纵膈等影响术后自然妊娠;④术后行IVF助孕。另取同期因宫腔粘连于本院行宫腔镜手术的55例患者作为对照组,收集经病理检查确认为正常子宫内膜的组织。EMs组年龄(30.85±5.58)岁,体质指数(22.95±5.52)kg/m²,妊娠次数(1.91±0.52)次;对照组年龄(29.95±6.01)岁,体质指数(22.75±5.84)kg/m²,妊娠次数(2.08±0.44)次。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究获得医院伦理委员会批准,取得入组患者知情同意。

1.2 治疗方法

EMs患者在全麻下行腹腔镜手术,手术均由同一组医生完成,术中尽可能除去肉眼可见异位子宫内膜病灶,有盆腔粘连的患者行盆腔粘连松解术,使子宫、卵巢、输卵管正常解剖结构得以恢复。术后不进行药物治疗、人工授精等其他干预,从术后第2个月起指导患者进行同房试孕。

1.3 *miR-145*及Fascin-1、OCT4 mRNA表达水平检测

取EMs组患者的异位子宫内膜组织及对照组的正常子宫内膜组织,采用RNA抽提试剂盒(北京天根生化科技公司)抽提组织中的RNA,采用cDNA第一链合成试剂盒(北京天根生化科技公司)进行反转录、以RNA为模板合成cDNA第一链,SYBR Green荧光定量PCR试剂盒(北京天根生化科技公司)配置反应体系(cDNA 1 μL、反应混合液 10 μL、上下游引物溶液各 0.6 μL,去离子水补足至 20 μL),分别使用*miR-145*、Fascin-1、OCT4的特异性引物(*miR-145*:上游引物 5'-CAATTGC-

TATCGAGCTAG-3'、下游引物 5'-TATGCGTAGC-TACGATGC-3'; *Fascin-1*: 上游引物 5'-TCGTAGC-TATCGATGCTAA-3'、下游引物 5'-TATGCATGC-TAGCTAGTAC-3'; *OCT4*: 上游引物 5'-CGATA TTTTCAGATGCTAT-3'、下游引物 5'-CATGCAT-TATTGCTAGCTA-3'), 按照 95°C 预变性 10 min 后 95°C 变性 5 s、60°C 退火/延伸 34 s 的程序反应 40 个循环, 完成反应后得到循环曲线及循环阈值 (cycle threshold, Ct), 以 β -actin 为内参, 按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 *miR-145* 及 *Fascin-1*、*OCT4* mRNA 表达水平。

1.4 *Fascin-1*、*OCT4* 蛋白表达水平检测

取 EMs 组患者的异位子宫内膜组织及对照组的正常子宫内膜组织, 加入裂解液裂解并进行研磨, 提取组织蛋白并测定浓度, 根据测定结果将含有 20 μ g 蛋白的样本加入聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳, 分离不同分子质量的蛋白质后进行电转膜, 将蛋白从凝胶转移至硝酸纤维素膜。5% 脱脂牛奶室温封闭硝酸纤维素膜 1 h, 4°C 孵育 1:500 稀释的兔抗人 *Fascin-1* 特异性一抗 (美国 Abcam 公司)、1:800 稀释的兔抗人 *OCT4* 特异性一抗 (美国 Abcam 公司)、或 1:5 000 稀释的小鼠抗人 β -actin 特异性一抗 (美国 Abcam 公司) 过夜; 第二天, 室温孵育 1:2 000 稀释的山羊抗兔的辣根过氧化物酶二抗或兔抗小鼠的辣根过氧化物酶二抗 1 h, 在凝胶成像系统中显影得到蛋白条带, 在 Image J 软件中计算蛋白条带的灰度值, 根据灰度值、以 β -actin 为内参, 计算 *Fascin-1*/ β -actin、*OCT4*/ β -actin 灰度值的比值作为蛋白表达水平。

1.5 术后随访

术后进行 1 年随访, 随访终点事件为自然妊娠, 判断妊娠的标准为超声检查在宫腔内探及妊娠囊并可见原始心管搏动。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学处理, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验; 累积自然妊娠率采用 K-M 曲线表示, 组间比较采用 log rank 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EMs 组与对照组 *miR-145*、*Fascin-1*、*OCT4* 表达的比较

EMs 组子宫内膜组织中 *miR-145* 的表达水平, *Fascin-1*、*OCT4* 的 mRNA 表达水平和蛋白表达水

平均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 EMs 组与对照组 *miR-145*、*Fascin-1*、*OCT4* 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of expression levels of *miR-145*, *Fascin-1*, *OCT4* between EMs group and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>miR-145</i>	<i>Fascin-1</i> mRNA	<i>OCT4</i> mRNA	<i>Fascin-1</i> 蛋白	<i>OCT4</i> 蛋白
EMs 组	100	1.73 \pm 0.32	1.59 \pm 0.29	1.66 \pm 0.27	0.94 \pm 0.14	0.81 \pm 0.17
对照组	55	1.00 \pm 0.12	1.00 \pm 0.16	1.00 \pm 0.15	0.39 \pm 0.06	0.22 \pm 0.04
<i>t</i> 值		16.281	13.952	16.747	27.736	16.892
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

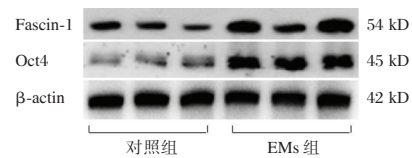


图 1 EMs 组与对照组子宫内膜组织中 *Fascin-1*、*OCT4* 的表达

Figure 1 Expression of *Fascin-1* and *OCT4* in endometrial tissue of EMs group and control group

2.2 EMs 组中不同 AFS 分期患者 *miR-145*、*Fascin-1*、*OCT4* 表达的比较

EMs 组中 AFS III-IV 期患者子宫内膜组织中 *miR-145* 的表达水平, *Fascin-1*、*OCT4* 的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平均高于 I~II 期患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2、图 2。

表 2 EMs 组中不同 AFS 分期患者 *miR-145*、*Fascin-1*、*OCT4* 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of expression levels of *miR-145*, *Fascin-1*, *OCT4* in patients with different AFS stages in EMs group ($\bar{x} \pm s$)

AFS 分期	<i>n</i>	<i>miR-145</i>	<i>Fascin-1</i> mRNA	<i>OCT4</i> mRNA	<i>Fascin-1</i> 蛋白	<i>OCT4</i> 蛋白
I~II	42	1.31 \pm 0.20	1.24 \pm 0.19	1.29 \pm 0.21	0.62 \pm 0.11	0.54 \pm 0.10
III~IV	58	2.03 \pm 0.28	1.84 \pm 0.27	1.93 \pm 0.29	1.17 \pm 0.19	1.01 \pm 0.18
<i>t</i> 值		14.233	12.349	12.170	16.816	15.287
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

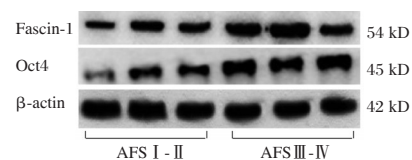


图 2 EMs 组中不同 AFS 分期患者子宫内膜组织中 *Fascin-1*、*OCT4* 的表达

Figure 2 Expression of *Fascin-1* and *OCT4* in endometrial tissue of patients with different AFS stages in EMs group

2.3 EMs组中 miR-145 与 Fascin-1、OCT4 表达的相关性

EMs 组患者子宫内膜组织中 miR-145 的表达水平与 Fascin-1、OCT4 的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平均呈正相关($P<0.05$)。见表 3。

表 3 EMs 组中 miR-145 与 Fascin-1、OCT4 表达的相关性
Table 3 Correlation between miR-145 and Fascin-1, OCT4 expression in EMs group

指标	miR-145	
	r 值	P 值
Fascin-1 mRNA	0.412	0.004
OCT4 mRNA	0.348	0.011
Fascin-1 蛋白	0.309	0.018
OCT4 蛋白	0.435	0.002

2.4 EMs 组中不同 miR-145 表达患者术后自然妊娠的比较

EMs 组患者术后 1 年共 52 例自然妊娠,自然妊娠率 52%。根据 EMs 组患者子宫内膜组织中 miR-145 表达水平的中位数 1.45 分为 miR-145 高表达患者和低表达患者,miR-145 高表达患者术后累积自然妊娠率低于 miR-145 低表达患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 3。

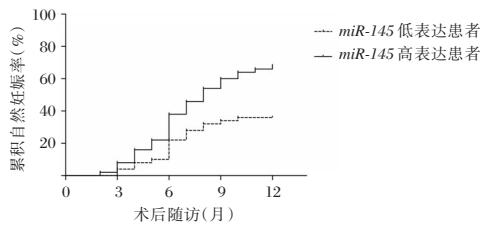


图 3 EMs 组中不同 miR-145 表达患者术后累积自然妊娠率的 K-M 曲线

Figure 3 K-M curve of postoperative cumulative natural pregnancy rate in patients with different miR-145 expression in EMs group

3 讨论

目前,对于有生育需求的 EMs 不孕患者主要采用保守手术治疗,术中尽可能去除异位子宫内膜病灶、恢复盆腔脏器解剖结构,进而有助于增加术后自然妊娠的机会。相关研究报道显示,EMs 不孕患者术后 1 年的自然妊娠率约 50%^[8-9]。因此,深入认识 EMs 的分子机制及在 EMs 不孕患者术后自然妊娠中发挥关键作用的分子,对指导 EMs 不孕的临床治疗、提高 EMs 不孕患者的自然妊娠率均有重要意义。

Fascin-1 是丝状伪足结构中的重要成分,Fascin-1 在恶性肿瘤细胞及子宫内膜细胞中对黏附、迁移、侵袭起促进作用^[2,10]。Oct4 特异性表达于多能干细胞,在恶性肿瘤细胞及子宫内膜细胞中可促进细胞生长和增殖^[11-12]。本研究中,EMs 患者的异位子宫内膜组织中 Fascin-1 和 Oct4 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于正常子宫内膜组织,提示 Fascin-1 和 Oct4 高表达与 EMs 的发病相关,这一结果与罗晓梅^[2]和 Proestling 等^[3]的研究结果相似。结合两种蛋白的生物学作用进行分析,高表达的 Fascin-1 和 Oct4 促进子宫内膜组织的异位生长、浸润和转移是两种蛋白参与 EMs 发生发展的可能机制。

Fascin-1 和 Oct4 的上游调控机制复杂且多样,其中 miR 能够在转录后水平抑制 mRNA 翻译、促进 mRNA 降解,进而发挥调控基因表达的作用。EMs 的发生发展涉及多种 miRs 表达的变化^[13-14],其中 miR-145 对 Fascin-1 和 Oct4 的表达具有调控作用^[4-5,15]。在子宫内膜基质细胞及多种恶性肿瘤细胞中,miR-145 通过调控 Fascin-1 和 Oct4 表达的方式促进细胞的增殖、黏附、迁移、侵袭。本研究中,EMs 患者的异位子宫内膜组织中 miR-145 的表达水平高于正常子宫内膜组织,并且 miR-145 与 Fascin-1、Oct4 的表达呈正相关,这一结果与既往研究中 miR-145 调控 Fascin-1 和 Oct4 的结果吻合^[4-5,15],提示 miR-145 高表达参与 EMs 的发病,调控 Fascin-1、Oct4 表达可能是 miR-145 参与 EMs 发病的相关分子机制。

本研究对 100 例 EMs 不孕患者的术后 1 年自然妊娠情况进行随访,共 52 例患者自然妊娠、自然妊娠率 52%。进一步分析 miR-145 表达与自然妊娠的关系可知:miR-145 高表达的 EMs 不孕患者术后累积自然妊娠率低于 miR-145 低表达者,提示高表达的 miR-145 不仅与 EMs 的发病相关,也影响 EMs 不孕患者的术后自然妊娠。但 miR-145 在 EMs 自然妊娠中所起的作用及分子生物学机制尚不清楚,有待今后更多的基础研究进行探索和明确。此外,本研究仅分析 miR-145 表达与 EMs 不孕患者术后自然妊娠的关系,未能对其他临床因素对自然妊娠的影响及与 miR-145 的关系展开探索,今后经补充相关研究,以更加深入地认识 miR-145 在 EMs 发生发展中的作用。

综上所述,EMs不孕患者子宫内膜组织中 *miR-145* 表达水平增加。*miR-145* 表达水平与 Fascin-1、Oct4 表达及术后自然妊娠相关,提示 *miR-145* 调控 Fascin-1、Oct4 可能与 EMs 不孕相关,为今后深入认识 EMs 不孕的分子机制及防治靶点提供了依据和思路。

参考文献

- [1] Saunders PTK, Horne AW. Endometriosis: Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects[J]. *Cell*, 2021, 184(11): 2807-2824.
 - [2] 罗晓梅,程卫,王诗章,等. Fascin-1介导自噬参与子宫内膜细胞的生物学行为改变[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2018, 43(9): 957-963.
 - [3] Proestling K, Birner P, Balendran S, et al. Enhanced expression of the stemness-related factors OCT4, SOX15 and TWIST1 in ectopic endometrium of endometriosis patients[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2016, 14(1): 81.
 - [4] Xu W, Chang J, Du X, et al. Long non-coding RNA PCAT-1 contributes to tumorigenesis by regulating FSCN1 via miR-145-5p in prostate cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1112-1118.
 - [5] Hu J, Guo H, Li H, et al. MiR-145 regulates epithelial to mesenchymal transition of breast cancer cells by targeting Oct4[J]. *PLoS One*, 2017, 7(9): e45965.
 - [6] 陶中娥,张晔. 子宫内膜异位症合并不孕患者血清 miR-145 表达及与临床病理类型及妊娠结局关系[J]. *中国计划生育学杂志*, 2021, 29(6): 1266-1269.
 - [7] 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症的诊治指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 9(3): 161-169.
 - [8] 袁志英,卜祥静,韦旖旎,等. III/IV期子宫内膜异位症合并不孕患者经腹腔镜手术治疗后的生育结局[J]. *生殖医学杂志*, 2022, 31(1): 29-37.
 - [9] Vidal F, Guerby P, Simon C, et al. Spontaneous pregnancy rate following surgery for deep infiltrating endometriosis in infertile women: The impact of the learning curve[J]. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 2022, 50(1): 101942.
 - [10] Pu J, Huang Y, Fang Q, et al. Hypoxia-induced Fascin-1 up-regulation is regulated by Akt/Rac1 axis and enhances malignant properties of liver cancer cells via mediating actin cytoskeleton rearrangement and Hippo/YAP activation[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 385-385.
 - [11] Bu X, Liu Y, Wang L, et al. Oct4 promoted proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in colon cancer cells by activating the SCF/c-Kit signaling pathway[J]. *Cell Cycle*, 2022, 22(3): 11-12.
 - [12] 张素仙,冯莉娟,伍路,等. miR-145 通过调控人子宫内膜基质细胞 OCT4 的表达促进子宫内膜异位症的发展机制[J]. *昆明医科大学学报*, 2022, 43(2): 23-33.
 - [13] Kumari P, Sharma I, Saha S, et al. Diagnostic potential of differentially regulated microRNAs among endometriosis, endometrioid ovarian cancer, and endometrial cancer[J]. *J Cancer Res Ther*, 2021, 17(4): 1003-1011.
 - [14] Cheng F, Lu L, Wang H, et al. Expression and Significance of miR-126 and miR-145 in Infertility due to Endometriosis[J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2019, 29(6): 585-587.
 - [15] Shen S, Li K, Liu Y, et al. Silencing lncRNAs PVT1 upregulates miR-145 and Confers Inhibitory Effects on Viability, Invasion, and Migration in EC[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19(C): 668-682.
-
- (上接第 453 页)
- [8] 徐新华,胡庆兰,邵铃. 经阴道超声自由解剖成像技术联合血清 β -HCG、VEGF 对输卵管妊娠的诊断价值[J]. *中南医学科学杂志*, 2021, 49(4): 423-463.
 - [9] 李家菊,丁颖,王永丽,等. 经阴道超声、MRI 联合血清 β -HCG 水平对剖宫产术后早期子宫瘢痕妊娠的诊断价值分析[J]. *中国数字医学*, 2020, 15(3): 129-131.
 - [10] 匡涌,王燕,贾严珍. 经阴道彩超联合血清 miRNA 系列检测对宫颈鳞癌的诊断价值 ROC 曲线分析[J]. *中国实验诊断学*, 2019, 23(8): 1336-1339.
 - [11] Kim SW, Kim YJ, Shin JH, et al. Correlation between Ovarian Reserve and Incidence of Ectopic Pregnancy after In Vitro Fertilization and Embryo Transfer[J]. *Yonsei Med J*, 2019, 60(3): 285-290.
 - [12] 石辛景,康志平,邢龙颜,等. 经阴道多普勒彩色超声联合血清人绒毛膜促性腺激素对子宫瘢痕妊娠的诊断价值分析[J]. *影像科学与光化学*, 2020, 38(2): 280-285.
 - [13] 姜姗姗,杨洪艳. 彩色多普勒超声联合血清 β -HCG 对妊娠早期异位妊娠的预测价值[J]. *中国超声医学杂志*, 2022, 38(9): 1043-1047.
 - [14] 古力斯坦·卡迪尔,娜菲莎·艾力,古力加哪提·吾斯曼,等. 多模态超声成像联合母体血清 AFP、F- β -HCG 水平对胎儿中枢神经系统畸形的诊断价值分析[J]. *中国妇幼健康研究*, 2022, 33(8): 120-124.
 - [15] 李丽春,吴春春,吴秋芬,等. 检测血清 HCG、P、PAPP-A 水平对早期异位妊娠与先兆流产鉴别诊断中的应用[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2023, 24(1): 66-68.
 - [16] 侯雪楠,赵淑霞,顾来梅. 妊娠晚期胎膜早破孕妇阴道菌群分布,微生态情况及与妊娠结局的关系[J]. *临床误诊误治*, 2022(5): 95-98.

不同抗菌药物联合CGF应用于年轻恒牙血运重建的效果和IL-17、CCL21及IP-10水平变化

郭洁* 高尔东 胡姝娥 赵文君

[摘要] 目的 分析不同抗菌药物联合浓缩生长因子(CGF)应用于年轻恒牙血运重建的效果和白细胞介素17(IL-17)、趋化因子配体21(CCL21)及干扰素 γ 诱导蛋白10(IP-10)水平变化。方法 选取2021年1月至2022年6月沧州市人民医院收治的270例年轻恒牙髓坏死或根尖周炎患者作为研究对象,均进行牙髓血运重建术治疗。根据不同抗菌药物使用将患者分为A组($n=90$)、B组($n=90$)及C组($n=90$),其中A组使用三联抗生素糊剂,B组使用 Vitapex 糊剂,C组使用氢氧化钙联合替硝唑糊剂封药。根据不同的支架使用,将A、B、C组患者分为A1组($n=45$)、B1组($n=45$)、C1组($n=45$)及A2组($n=45$)、B2组($n=45$)、C2组($n=45$),其中A1、B1、C1组使用CGF支架,A2、B2、C2组使用血凝块支架。在治疗后对患者随访6个月,比较各组的疗效、牙体变色情况、牙根管壁厚度、牙冠根比及龈沟液IL-17、CCL21与IP-10水平。结果 不同组之间的治疗有效率比较,差异有统计学意义($\chi^2=9.450$ 、 6.394 ,均 $P<0.05$);不同组之间的牙体变色率比较,差异有统计学意义($\chi^2=6.625$ 、 6.944 ,均 $P<0.05$);不同组之间的龈沟液IL-17、CCL21、IP-10水平比较,A1组>B1组>C1组,A2组>B2组>C2组($F=13.290$ 、 14.842 、 9.470 、 12.537 、 21.416 、 6.211 ,均 $P<0.05$)。结论 氢氧化钙联合替硝唑糊剂联合CGF对年轻恒牙血运重建的效果及龈沟液IL-17、CCL21、IP-10水平变化优于三联抗生素、Vitapex糊剂。

[关键词] 牙髓血运重建术;抗菌药物;浓缩生长因子;炎性因子

Effects of different antibiotics combined with CGF on revascularization of young permanent teeth and changes of IL-17, CCL21 and IP-10 levels

GUO Jie*, GAO Erdong, HU Shue, ZHAO Wenjun

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

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of different antibiotics combined with concentrated growth factor (CGF) on revascularization in young permanent teeth and changes in levels of interleukin-17 (IL-17), chemokine ligand 21 (CCL21) and interferon-gamma-induced protein 10 (IP-10). **Methods** A total of 270 young patients with pulp necrosis or periapical periodontitis of permanent teeth treated at Cangzhou People's Hospital from January 2021 to June 2022 were selected as the study subjects. All patients were treated with pulp revascularization. Based on the use of different antibiotics, the patients were divided into three groups: group A ($n=90$), group B ($n=90$) and group C ($n=90$). Group A received triple antibiotic paste, group B received Vitapex paste, and group C received a combination of calcium hydroxide and tinidazole paste. Within each group, patients were further divided into subgroups based on the type of stent used: A1 ($n=45$), B1 ($n=45$), C1 ($n=45$), A2 ($n=45$), B2 ($n=45$) and C2 ($n=45$). CGF stents were used in subgroups A1, B1 and C1, while blood clot stents were used in subgroups A2, B2 and C2. Patients were followed up for 6 months post-treatment, and the study compared the therapeutic outcomes, tooth discoloration, root canal wall thickness, crown-to-root ratio, and levels of IL-17, CCL21 and IP-10 in gingival crevicular fluid among all groups.

基金项目:沧州市重点研发计划自筹项目(213106043)

作者单位:沧州市人民医院口腔科,河北,沧州 061000

*通信作者:郭洁, E-mail:18131799565@163.com

Results There were significant differences in treatment effectiveness among different groups ($\chi^2=9.450, 6.394, P<0.05$). There was a significant difference in tooth discoloration rates among the different groups ($\chi^2=6.625, 6.944, P<0.05$). The levels of IL-17, CCL21 and IP-10 in the crevicular fluid of the different groups were compared as follows: Group A1>B1>C1, group A2>B2>C2 ($F=13.290, 14.842, 9.470, 12.537, 21.416, 6.211, P<0.05$). **Conclusion** The combination of calcium hydroxide and tinidazole paste with CGF has a more positive effect on the revascularization of young permanent teeth and the levels of IL-17, CCL21 and IP-10 in gingival crevicular fluid compared to triple antibiotics and Vitapex paste.

[KEY WORDS] Pulp revascularization; Antibacterial drug; Concentrated growth factor; Inflammatory factor

年轻恒牙在牙根发育时期较脆弱,外伤、发育畸形以及龋病等多种原因均可能会造成牙髓出现不可逆损伤,导致牙根发育停止,从而引发牙根短小、根管壁薄弱等问题,严重影响患者的牙齿健康与美观^[1]。牙髓血运重建术是治疗年轻恒牙牙髓坏死的有效方法,以往临床上主要使用三联抗生素糊剂进行根管消毒,但三联抗生素糊剂具有部分刺激性、免疫原性及细胞毒性,不利于彻底达到抑菌效果,而 Vitapex 糊剂与氢氧化钙糊剂对于厌氧菌以及根管内部感染均具有较好的清除效果,且刺激性较小,有利于促进根尖周组织重建^[2-3]。浓缩生长因子(Concentrated growth factor, CGF)能够促进牙根尖内部牙髓细胞与乳头干细胞的增殖分化,而且 CGF 内部的纤维蛋白网状结构可以为组织再生提供支架,对牙髓再生治疗具有良好的效果^[4]。有研究表明,在牙周内部的致病菌斑微生物与相关毒性产物的持续刺激下,会提高牙周组织局部炎性因子的表达水平,导致龈沟液内部白细胞介素 17(Interleukin 17, IL-17)等炎性因子水平升高^[5]。本研究通过分析不同抗菌药物联合 CGF 应用于年轻恒牙血运重建的效果和 IL-17、趋化因子配体 21(Chemokine ligand 21, CCL21)及干扰素 γ 诱导蛋白 10(Interferon gamma inducible protein 10, IP-10)水平变化,为临床提供参考意见。

1 资料与方法

1.1 观察对象

选取 2021 年 1 月至 2022 年 6 月沧州市人民医院收治的 270 例年轻恒牙牙髓坏死或根尖周炎患者作为研究对象,均进行牙髓血运重建术治疗,根据不同抗菌药物使用将患者分为 A 组、B 组及 C 组各 90 例。纳入标准:①均为年轻恒牙;②因牙髓坏死或根尖周炎需要接受牙髓血运重建术治疗;③患者与其家属均知情同意。排除标准:①牙根

未发育完成;②合并其余口腔疾病者;③合并重要脏器功能障碍者;④合并凝血功能障碍者;⑤对本研究使用药物过敏或不适者,本研究已通过沧州市人民医院伦理委员会审理。

1.2 治疗方法

1.2.1 亚分组与 CGF 制备

3 组患者均进行牙髓血运重建术治疗,根据术中不同的支架使用,将 A、B、C 组患者分为 A1 组、B1 组、C1 组及 A2 组、B2 组、C2 组各 45 例,其中 A1、B1、C1 组使用 CGF 支架,A2、B2、C2 组使用血凝块支架。抽取 A1、B1、C1 组患者的静脉血 9 mL,使用意大利 Silfradent srl 公司的变速离心系统(型号:Medifuge MF200)以 CGF 制备模式进行变速离心分离(30 s 加速,离心 12 min,离心半径 10 cm)。离心后血液分成 3 层,下层为红细胞层,中间层为富含纤维蛋白的 CGF 层,上层为富血小板血浆层。用无菌组织剪剪取中间 CGF 层部分,放置于生理盐水中保存。

1.2.2 药物使用

甲硝唑片(规格:0.2 g*7 片/3 板;批准文号:国药准字 H20057236;厂家:四川科伦药业股份有限公司)、盐酸米诺环素片(规格:50 mg*12 片/盒;批准文号:国药准字 H10950316;厂家:西安利君制药有限责任公司)、盐酸环丙沙星片(规格:0.25 g*9 片/盒;批准文号:国药准字 H41024142;厂家:河南天方药业股份有限公司)、Vitapex 糊剂(规格:2 g/支;批准文号:国械注进 20173632065;厂家:日本森田株式会社)、氢氧化钙糊剂(规格:5 g/支;批准文号:国药准字 H42022320;厂家:武汉沃尔药业有限公司)、替硝唑片(规格:0.5 g*8 片/盒;批准文号:国药准字 H20064128;厂家:江苏聚荣制药集团有限公司)

1.2.3 手术方法

术前对患牙根尖发育情况进行 X 线检查,完成局部麻醉,在橡皮障隔湿状态下去除坏死牙髓,

使用1.5%次氯酸钠溶液冲洗根管15 min, 17%乙二胺四乙酸溶液冲洗根管15 min, 随后使用无菌纸尖干燥根管内。使用根管消毒药物封入根管, 其中A组使用三联抗生素糊剂(由甲硝唑、米诺环素、环丙沙星按1:1:1比例混合制成), B组使用Vitapex糊剂, C组使用氢氧化钙联合替硝唑糊剂封药。在封药7 d患者症状缓解后进行第2次治疗, 局部麻醉后使用橡皮障并进行冲洗, 冲洗方法同首次治疗, 将消毒药物取出后使用无菌纸吸干根管内的液体。其中A1、B1、C1组在显微镜下将CGF送至根管内, A2、B2、C2组使用无菌根管锉刺破根尖, 使流出血液在釉-牙骨质界以下2~3 mm形成血凝块。在CGF(血凝块)上方使用三氧化物凝聚体覆盖压实, 最后应用玻璃离子+复合树脂双层进行充填封闭。

1.3 相关指标检测

在治疗4周后以吸潮纸尖法采集所有患者患牙部位的龈沟液, 采集前患者漱口, 用棉签隔湿取牙位, 对软菌与菌斑进行清除后, 使用气枪吹干取样压面后, 以高温灭菌滤纸条置入远中龈沟内, 放置30 s后取出放入无菌EP管封存。以酶联免疫吸附反应法检测龈沟液标本内的IL-17、CCL21、IP-10水平, 按照试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司)说明书完成检测操作。

1.4 疗效评价

术后6个月对各组患者进行疗效评价^[6], 治愈: 临床症状消失, 牙根延长及根尖闭合, X线片显示无根尖周阴影; 好转: 临床症状基本消失, 牙根延长不明显, X线片显示无根尖周阴影或阴影缩小; 无效: 临床症状无改善甚至加重, 牙根未见延长, X线片显示根尖周阴影无减少或增加。[(治愈+好转)/总例数]×100%=治疗有效率。

1.5 统计学方法

以SPSS 22.0统计学软件分析相关数据, 符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较行t检验, 组内比较用配对t检验, 多组间比较行F检验; 计数资料以n(%)表示, 行 χ^2 检验, 以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同抗菌药物的治疗效果比较

不同组之间的治疗有效率比较, 差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 不同抗菌药物的治疗效果比较的治疗效果比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of therapeutic effects of different antibacterial drugs [n(%)]

组别	n	治愈	好转	无效	总有效
A1组	45	14(31.11)	21(46.67)	10(22.22)	35(77.78)
B1组	45	18(40.00)	23(51.11)	4(8.89)	41(91.11)
C1组	45	20(44.44)	24(53.33)	1(2.22)	44(97.78)
χ^2 值					9.450
P值					0.009
A2组	45	13(28.89)	20(44.44)	12(26.67)	33(73.33)
B2组	45	17(37.77)	21(46.67)	7(15.56)	38(84.44)
C2组	45	18(40.00)	24(53.33)	3(6.67)	42(93.33)
χ^2 值					6.625
P值					0.036

2.2 不同抗菌药物的牙根管壁厚度、牙冠根比及牙体变色率比较

不同组之间的牙体变色率比较, 差异有统计学意义(P<0.05)。牙根管壁厚度及牙冠根比比较: A1组<B1组<C1组, A2组<B2组<C2组, 差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 不同抗菌药物的牙根管壁厚度、牙冠根比及牙体变色率比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Comparison of root canal wall thickness, crown root ratio and tooth discoloration rate among different antibacterial agents [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	牙体变色率	牙根管壁厚度(mm)	牙冠根比
A1组	45	12(26.67)	2.39±0.17	0.55±0.03
B1组	45	8(17.78)	2.48±0.21	0.58±0.04
C1组	45	3(6.67)	2.59±0.22	0.61±0.04
F/ χ^2 值		6.394	11.157	29.634
P值		0.041	<0.001	<0.001
A2组	45	14(31.11)	2.27±0.16 ^a	0.53±0.03 ^a
B2组	45	9(20.00)	2.34±0.19 ^b	0.56±0.03 ^b
C2组	45	4(8.89)	2.47±0.19 ^c	0.57±0.03 ^c
F/ χ^2 值		6.944	14.218	26.667
P值		0.031	<0.001	<0.001

注: 与A1组比较, ^aP<0.05; 与B1组比较, ^bP<0.05; 与C1组比较, ^cP<0.05。

2.3 不同抗菌药物的龈沟液IL-17、CCL21与IP-10水平比较

不同组之间的龈沟液IL-17、CCL21、IP-10水平比较, A1组>B1组>C1组, A2组>B2组>C2组(均P<0.05)。见表3。

3 讨论

无菌状态对牙髓重建术的效果具有影响, 分析不同抗菌药物联合CGF治疗年轻恒牙血运重建

表3 不同抗菌药物的龈沟液 IL-17、CCL21 与 IP-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The levels of IL-17, CCL21 and IP-10 in gingival crevicular fluid of different antibiotics were compared ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17 (pg/mL)	CCL21 (pg/nL)	IP-10 (pg/nL)
A1 组	45	8.54±1.78	26.49±4.26	141.48±17.57
B1 组	45	7.61±1.63	24.37±4.11	131.37±16.23
C1 组	45	6.73±1.58	21.89±3.63	126.64±15.72
F 值		13.290	14.842	9.470
P 值		<0.001	<0.001	<0.001
A2 组	45	9.32±1.82 ^a	28.63±4.92 ^a	163.21±18.83 ^a
B2 组	45	8.35±1.72 ^b	26.41±4.23 ^b	155.36±17.41 ^b
C2 组	45	7.49±1.66 ^c	24.37±3.89 ^c	149.92±17.68 ^c
F 值		12.537	21.416	6.211
P 值		<0.001	<0.001	0.003

注:与 A1 组比较,^a $P<0.05$;与 B1 组比较,^b $P<0.05$;与 C1 组比较,^c $P<0.05$ 。

的效果及对炎症因子水平变化,具有积极意义。

本研究结果显示,不同组之间的治疗效果、牙根管壁厚度、牙冠根比及牙体变色率比较,C1 组优于 B1 组、A1 组,B1 组优于 A1 组;C2 组优于 B2 组、A2 组,B2 组优于 A2 组。提示在年轻恒牙牙髓血运重建术中,氢氧化钙联合替硝唑糊剂封药的效果优于 Vitapex 糊剂与三联抗生素糊剂。分析原因可能是:氢氧化钙联合替硝唑糊剂的生物相容性更佳,能够刺激骨组织生长以及使根管内维持碱性状态,在保持无菌状态的同时减少微生物滋生,为牙髓血运重建提供更为良好的支持条件,促进口腔微环境恢复^[7]。张诗韵等^[8]研究指出,血凝块应用于牙髓血运重建术中通常会发根尖出血量不足、容易诱发牙冠变色以及根管钙化等问题;相比之下,CGF 的安全性更高,而且在诱导形成神经纤维、新生血管等新生组织的效果优于血凝块。本研究结果显示,A1、B1、C1 组的牙根管壁厚度及牙冠根比分别优于 A2、B2、C2 组,提示在年轻恒牙牙髓血运重建术中,使用 CGF 支架的效果较血凝块支架更好。这可能是因为 CGF 具有特殊的纤维蛋白网状结构,能够为成纤维细胞与血管细胞的迁移和黏附提供更好的环境。

IL-17 是辅助性 T 细胞 17 分泌的一种特征性细胞因子,慢性牙周炎患者的 IL-17 水平会显著升高,而且 IL-17 能够在体外诱导破骨细胞前体转化为破骨细胞,对骨吸收造成破坏^[9]。CCL21 是趋化因子家族成员之一,具有黏附和趋化双重作用,能够介导细胞间黏附以及诱导白细胞黏附迁徙,导致炎症反应和免疫损伤,并且可以通过促使破骨

细胞生成来增加牙槽骨吸收,导致牙周病加重^[10]。IP-10 是一种干扰素 γ 诱导的趋化因子,不仅能够介导辅助 T 细胞 1 释放炎症细胞因子,而且可以特异性结合靶细胞受体人 CXC 趋化因子受体 3,介导免疫细胞迁移活化,加重体内的炎症反应^[11]。本研究结果显示,不同组之间的龈沟液 IL-17、CCL21、IP-10 水平比较,C1 组优于 B1 组、A1 组,B1 组优于 A1 组;C2 组优于 B2 组、A2 组,B2 组优于 A2 组。提示在年轻恒牙牙髓血运重建术中,氢氧化钙联合替硝唑糊剂封药抑制炎症反应的效果优于 Vitapex 糊剂与三联抗生素糊剂。进一步分析结果显示,A1、B1、C1 组的龈沟液 IL-17、CCL21、IP-10 水平分别优于 A2、B2、C2 组。这可能是因为组织创伤修复过程中,CGF 能够促进形成细胞微丝骨架与细胞有丝分裂,并通过抑制细胞表面凋亡信号的表达效应,发挥对抗炎症反应的作用^[12]。

综上所述,氢氧化钙联合替硝唑糊剂联合 CGF 对年轻恒牙血运重建的效果及龈沟液 IL-17、CCL21、IP-10 水平变化优于三联抗生素、Vitapex 糊剂。

参考文献

- [1] Dragana R, Jelena M, Jovan M, et al. Antibacterial efficiency of adjuvant photodynamic therapy and high-power diode laser in the treatment of young permanent teeth with chronic periapical periodontitis. A prospective clinical study [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2023, 41: 103129.
- [2] Munir AK, Ahmed KIG, Amir NA, et al. The Effect of Calcium Hydroxide, Triple Antibiotic Paste and Chlorhexidine on Pain in Teeth with Symptomatic Apical Periodontitis: A Randomised Controlled Trial [J]. Int J Environ Res Public Health, 2023, 20(4): 3091.
- [3] 钟家旺,李立,朱凯. Vitapex 糊剂治疗根尖周炎伴牙周炎患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(12): 1518-1520+1524.
- [4] Shehadat AS, Alqabbani A, Ahmed AMH. Dental Pulp Revascularization of an Open-apex Maxillary Central Incisor Using Autologous Concentrated Growth Factor in a fifth decade patient [J]. J Clin Trials, 2021, 5(6): 1-5.
- [5] 蔡晨雨,蔡世新,李媛媛,等. 2% 盐酸米诺环素软膏对慢性牙周炎患者 IL-17、TNF- α 、sICAM-1 的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(6): 1016-1019.
- [6] 林晓明,苏江凌,卜翠萍. 显微镜下血运重建术与根尖诱导成形术治疗恒牙牙髓坏死的疗效比较[J]. 上海口腔医学, 2022, 31(3): 318-321.

(下转第 471 页)

氟西汀结合生物反馈治疗躯体形式障碍患者疗效及心理状态的变化

郑荫荫¹ 李倩² 王磊¹ 孟祥生² 徐从恩^{2*}

[摘要] **目的** 探究氟西汀结合生物反馈治疗对躯体形式障碍患者疗效及心理状态的改善效果。**方法** 选取2020年7月至2021年6月108例衡水市第七人民医院收治的躯体形式障碍患者为研究对象,随机数表法分为氟西汀治疗组(氟西汀治疗,54例)与氟西汀联合生物反馈治疗组(氟西汀联合生物反馈治疗,54例),同期招募108名健康志愿者为对照组。比较三组心率变异性(HRV)各指标差异,比较氟西汀治疗组与氟西汀联合生物反馈治疗组治疗前后的心理状态变化情况,并记录治疗期间不良反应发生情况。**结果** 治疗8周后,治疗的两组SCL-90、SSS、HAMA评分均下降,且氟西汀联合生物反馈治疗组SCL-90、SSS、HAMA评分低于氟西汀治疗组,差异有统计学意义($t=2.361$ 、 3.859 、 12.329 , $P<0.05$)。氟西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组HF、LF、LF/HF均低于对照组,HF%、LF%高于对照组,差异均具有统计学意义($F=331.611$ 、 757.501 、 80.773 、 33.151 、 410.655 , $P<0.05$)。治疗8周后,两组HF、LF、HF%、LF%水平均升高,LF/HF降低,且氟西汀联合生物反馈治疗组HF、LF、LF/HF水平高于氟西汀治疗组,HF%、LF%低于氟西汀治疗组,差异有统计学意义($t=6.417$ 、 6.075 、 3.917 、 5.738 、 2.206 , $P<0.05$)。**结论** 与单用氟西汀治疗相比,采用氟西汀结合生物反馈治疗可有效改善躯体形式障碍患者心理状态,调节自主神经系统活性,疗效及安全性均较好。

[关键词] 氟西汀;生物反馈治疗;躯体形式障碍;心率变异性

Efficacy and changes in psychological state of patients with somatoform disorders treated with fluoxetine combined with biofeedback

ZHENG Yinyin¹, LI Qian², WANG Lei¹, MENG Xiangsheng², XU Congen^{2*}

(1. Department of Psychiatry, the Seventh People's Hospital of Hengshui, Hengshui, Hebei, China, 053800;

2. Department of Function, the Seventh People's Hospital of Hengshui, Hengshui, Hebei, China, 053800)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the efficacy of fluoxetine combined with biofeedback therapy in patients with somatoform disorders and the improvement of psychological state. **Methods** A total of 108 patients with somatic form disorder were admitted to Hengshui Seventh People's Hospital from July 2020 to June 2021 and were selected as the study subjects. They were divided into two groups: the fluoxetine treatment group (fluoxetine treatment, 54 cases) and the fluoxetine combined with biofeedback treatment group (54 cases) using a random number table method. Additionally, during the same period, 108 healthy volunteers were recruited as the control group. The differences in heart rate variability (HRV) among the three groups were compared. The changes in mental state before and after treatment between the fluoxetine treatment group and the fluoxetine combined with biofeedback treatment group were compared, any occurrences of adverse reactions during treatment were recorded. **Results** After 8 weeks of treatment, the scores of SCL-90, SSS and HAMA in both groups decreased. The scores of SCL-90, SSS and HAMA in the fluoxetine combined with bio-

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20211503)

作者单位:1.河北省衡水市第七人民医院精神科,河北,衡水 053800

2.河北省衡水市第七人民医院功能科,河北,衡水 053800

*通信作者:徐从恩, E-mail: 346676638@qq.com

feedback treatment group were lower than those in the fluoxetine treatment group, with statistical significance ($t=2.361, 3.859, 12.329, P<0.05$). HF, LF and LF/HF in both the fluoxetine treatment group and the fluoxetine combined with biofeedback treatment group were lower than those in the control group. HF% and LF% were higher than those in the control group, with statistical significance ($F=331.611, 757.501, 80.773, 33.151, 410.655, P<0.05$). After 8 weeks of treatment, the levels of HF, LF, HF% and LF% increased and LF/HF decreased in both groups. The HF, LF and LF/HF levels in the fluoxetine combined with biofeedback treatment group were higher than those in the fluoxetine treatment group, while the HF% and LF% were lower than those in the fluoxetine treatment group. The difference was statistically significant ($t=6.417, 6.075, 3.917, 5.738, 2.206, P<0.05$). **Conclusion** Compared to fluoxetine alone, fluoxetine combined with biofeedback therapy can effectively improve the psychological state of patients with somatoform disorders. It can also regulate the activity of the autonomic nervous system, leading to better efficacy and safety.

[KEY WORDS] Fluoxetine; Biofeedback therapy; Somatoform disorders; Heart rate variability

躯体形式障碍是精神科常见的精神障碍疾病,指患者对自身无器质性损害或无明确的病理躯体症状产生极度关注,如疼痛、头痛、无力或呼吸短促,甚至出现妄想症状,导致严重的日常功能障碍^[1]。医学研究指出,躯体形式障碍的发生与抑郁、焦虑等情绪障碍有一定的因果关系^[2]。由于三环类抗抑郁药物不良反应较多,因此临床常用选择性5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)再摄取抑制剂进行治疗,其代表药物氟西汀能够治疗各种抑郁障碍,具有疗效好、安全性较高等优势,但单纯药物治疗虽能对躯体症状进行改善,却难以改变患者的认知模式及疑病观念,一旦停药便无法维持疗效。研究表明,生物反馈治疗可通过放松训练引导患者主动地自我心理生理活动,从改善焦虑抑郁情绪途径缓解运动障碍的严重程度^[3]。本研究将氟西汀结合生物反馈治疗躯体形式障碍患者,探究二者疗效及对心理状态的改善效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年7月至2021年6月108例衡水市第七人民医院收治的躯体形式障碍患者,随机数表法分为氟西汀治疗组(54例)与氟西汀联合生物反馈治疗组(54例)。纳入标准:①符合国际疾病分类第10版(ICD-10)躯体形式障碍的诊断标准^[4];②年龄18至60岁,文化程度小学以上;③入组前一个月内未接受任何抗焦虑、抗抑郁药物等系统治疗;④既往未患有或合并双相情感障碍、精神分裂症、抑郁症等其他精神疾病;⑤病程三个月以上。排除标准:①妊娠期和哺乳期妇女;②合并心脏病、严重糖尿病等影响心率变异的内

科疾病;③入组前2周内服用过对心率产生严重影响的药物,如激素类、抗心律失常药物。氟西汀治疗组男23例,女31例,平均年龄(41.64±10.43)岁,平均病程(4.86±1.29)年。氟西汀联合生物反馈治疗组男19例,女35例,平均年龄(42.17±10.66)岁,平均病程(4.72±1.35)年。另于同时期招募健康志愿者108名作为对照组。入组标准:①年龄18至60岁,文化程度小学以上;②经体格检查及辅助检查,既往无心血管疾病史、精神疾病史及慢性躯体疾病史;③同意参与本研究。对照组男49名,女59名,平均年龄(46.87±6.35)岁。三组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),可进行比较。本研究经本院医学伦理会审批通过(编号:2020-1),所有研究对象均知情同意。

1.2 治疗方法

氟西汀治疗组:采用口服盐酸氟西汀(西南药业股份有限公司,国药准字H20065239,规格:20 mg)的形式治疗,初始剂量每天给予20 mg,以后按照病情变化可逐渐增加至每天40 mg,1次/d,连续治疗8周。

氟西汀联合生物反馈治疗组:在口服盐酸氟西汀的基础上使用多参数生物反馈治疗仪(南京伟思医疗科技有限责任公司)给予生物反馈治疗。治疗前嘱咐患者穿着宽松衣物并将衣领、腰带解松。治疗中,要求患者集中注意力,仔细聆听系统提出的指令和要求,并按照听到的指令完成相应操作,每天治疗一次,30 min/次,共持续8周。

1.3 观察指标

1.3.1 两组治疗前后心理状态对比

以症状自评量表SCL-90中的躯体化因子、躯体化症状自评量表(somatic self-rating scale,

SSS)、汉密尔顿焦虑量表(Hamilton Anxiety Scale, HAMA)为评价工具,用以客观描述两组患者心理状态的变化情况。SCL-90中的躯体化因子采用5级评分法,严重程度从无症状到严重赋予1~5分,躯体化因子维度总分1~5分,分数 ≥ 2 分为阳性,分数越高代表心理症状越严重^[5]。SSS量表由庄琦等开发,用于帮助医生快速识别焦虑和抑郁,判断治疗效果。该量表有20个项目,按Likert 4级评分法评分(1=无症状,2=轻度,3=中度,4=重度)。分数越高,躯体症状越严重。SSS的Cronbach's α 系数为0.89,信效度良好^[6]。HAMA量表包括14个项目,并使用5级评分系统(0~4分)来评估焦虑程度,分数越高代表焦虑症状越严重^[7]。研究人员培训量表的评估使用方法后,采用观察和访谈的方式对两组患者进行评估,评估时间约为15~20 min。

1.3.2 三组HRV指标比较

对照组及氟西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组治疗前完成心率变异性(heart rate variability, HRV)指标检测。采用ZSY-1型心率变异性检测仪(沈阳威今科技有限公司)进行检测,受试者双手掌心稳定握住电极5 min,具体指标包括:高频功率(High-frequency power, HF)、低频功率(Low-frequency power, LF)、高频功率百分比(High-frequency power percentage, HF%)、低频功

率百分比(Low-frequency power percentage, LF%)、低高频功率之比(ratio of low-frequency power to high-frequency power, LF/HF)。

1.3.3 两组治疗前后HRV指标对比

氟西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组治疗前及治疗8周后采用心率变异性检测仪完成检测,检测方法同1.3.2。

1.3.4 两组治疗期间不良反应发生情况比较

由责任护士记录并比较氟西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组患者治疗期间的不良反应发生情况,包括括口干、头晕、厌食、恶心等。

1.4 统计学方法

采用SPSS Statistics 17统计学软件进行分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组比较采用单因素方差分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后的心理状态变化情况比较

治疗8周后,两组SCL-90、SSS、HAMA评分均下降,且氟西汀联合生物反馈治疗组SCL-90、SSS、HAMA评分低于氟西汀治疗组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组治疗前后的SCL-90、SSS、HAMA评分比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of SCL-90, SSS and HAMA scores before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SCL-90(分)		SSS(分)		HAMA(分)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
氟西汀联合生物反馈治疗组	54	2.23 \pm 0.57	0.83 \pm 0.26 ^a	29.27 \pm 6.78	13.27 \pm 3.45 ^a	26.54 \pm 3.47	8.67 \pm 1.61 ^a
氟西汀治疗组	54	2.14 \pm 0.46	0.96 \pm 0.31 ^a	28.54 \pm 6.63	16.12 \pm 4.19 ^a	27.31 \pm 3.54	13.03 \pm 2.04 ^a
t 值		0.903	2.361	0.566	3.859	1.142	12.329
P 值		0.369	0.020	0.573	< 0.001	0.256	< 0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 三组HRV指标比较

于氟西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组治疗前进行二者与对照组HRV指标的比较,结果显示,氟西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组HF、LF、LF/HF均低于对照组,HF%、LF%高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组治疗前后的HRV指标比较

治疗8周后,两组HF、LF、HF%、LF%水平均升高,LF/HF降低,且氟西汀联合生物反馈治疗组

HF、LF、LF/HF水平高于氟西汀治疗组,HF%、LF%低于氟西汀治疗组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组治疗期间不良反应发生情况比较

氟西汀治疗组口干2例,头晕1例,厌食1例,恶心1例。氟西汀联合生物反馈治疗组口干1例,头晕2例,厌食1例,恶心2例。两组间不良反应发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.101$, $P = 0.750$)。

表2 三组 HRV 指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of three groups of HRV indicators ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HF(ms^2)	LF(ms^2)	HF%	LF%	LF/HF
氟西汀联合生物反馈治疗组	54	593.24±67.52 ^a	537.33±53.41 ^a	1.39±0.16 ^a	0.37±0.18 ^a	2.76±0.45 ^a
氟西汀治疗组	54	587.71±64.39 ^a	543.87±65.62 ^a	1.41±0.18 ^a	0.38±0.16 ^a	2.74±0.41 ^a
对照组	108	907.68±109.54	1105.62±138.23	1.03±0.25	0.24±0.03	1.32±0.29
<i>F</i> 值		331.611	757.501	80.773	33.151	410.655
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05。表3 两组治疗前后的 HRV 指标比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of HRV indexes before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

指标	氟西汀联合生物反馈治疗组		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	氟西汀治疗组		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
HF	593.24±67.52	960.82±98.54 ^a	22.613	<0.001	587.71±64.39	851.28±77.61	19.206	<0.001
LF	537.33±53.41	930.27±84.59 ^a	28.863	<0.001	543.87±65.62	825.12±94.98	17.903	<0.001
HF%	1.39±0.16	1.11±0.15 ^a	9.382	<0.001	1.41±0.18	1.20±0.26	4.880	<0.001
LF%	0.37±0.18	0.20±0.05 ^a	4.055	<0.001	0.38±0.16	0.25±0.04	5.792	<0.001
LF/HF	2.76±0.45	1.45±0.42 ^a	15.639	<0.001	2.74±0.41	1.62±0.38	14.723	<0.001

注:与氟西汀治疗组治疗后比较,^a*P*<0.05。

3 讨论

躯体形式障碍的高患病率对患者有许多不利影响,其不仅会增加自杀意念和自杀企图的风险^[8],还会严重影响患者的生活质量,降低运动能力并导致肌肉减少症的发生^[9]。因此探究有效的躯体形式障碍治疗方案是当前精神科的研究热点。

本研究将氟西汀结合生物反馈治疗躯体形式障碍患者,结果显示说明氟西汀结合生物反馈治疗有效改善躯体形式障碍患者心理状态,减轻躯体症状严重程度。这是由于躯体形式障碍患者血清中色氨酸、5-羟色胺(5-HT)能单胺明显降低,脑脊液中5-HT能传递功能障碍,而氟西汀可选择性抑制5-HT再摄取,增加突触间隙中5-HT浓度,并透过血-脑脊液屏障进入中枢神经系统,毒性较小,患者耐受性好,生物利用率高,从而达到抗焦虑抑郁作用^[10]。有资料显示^[11],生物反馈疗法在一定程度上松弛患者肌肉,缓解整体警觉性以帮助患者学习正确的操作性条件反射,进而明显降低自身的焦虑抑郁程度,对抗病态性条件联系,稳定自身情绪,达到消除病体症状的效果。邓友梅等^[12]采用生物反馈疗法大幅度缓解了焦虑症患者的整体警觉性,提升了治疗效果。

HRV反映的是心率波动性,是反映心血管自主神经调节功能的一个指标,其数值高表明心血管自主调节功能强,HRV减少是心血管自主神经功能障碍的指标,LF/HF反映交感神经功能水平^[13]。于氟

西汀治疗组及氟西汀联合生物反馈治疗组治疗前进行二者与对照组HRV指标的比较,结果显示说明躯体形式障碍患者迷走神经功能活动下降程度较健康人群更显著。躯体症状会涉及呼吸循环系统、消化系统等多个系统,是患者体内自主神经功能紊乱的直接症状表现,与中枢神经系统中的去甲肾上腺素、5-HT等神经递质传递密切相关,直接或间接地作用于交感神经和副交感神经,出现其功能活动的异常^[14]。其病因普遍认为与患者长久存在的不良生活事件或心理社会因素有关。治疗后,两组HF、LF、HF%、LF%水平均升高,LF/HF降低,且氟西汀联合生物反馈治疗组HF、LF、LF/HF水平高于氟西汀治疗组,HF%、LF%低于氟西汀治疗组。氟西汀结合生物反馈治疗在选择性抑制5-HT再摄取的基础上利用电子仪器,确保患者掌握控制自身系列集体活动的方法,平衡交感神经和副交感神经的协调性,减轻主观的躯体不适症状,从而在改善患者躯体症状方面获得确切效果。

综上所述,与单用氟西汀治疗相比,采用氟西汀结合生物反馈治疗可有效改善躯体形式障碍患者心理状态,调节自主神经系统活性,疗效及安全性均较好。

参考文献

- [1] 杨程惠,周波,周凡,等. 躯体症状障碍患者疾病认知现状及影响因素分析[J]. 中国全科医学, 2020, 23(32): 4039-4046.

(下转第471页)

128例病毒感染患者血清HSP 70水平变化及HSP 70-1基因多态性分析

牟丽丽 黄山 夏婧*

[摘要] **目的** 分析贵州省某院128例新型冠状病毒感染患者血清HSP 70表达水平及HSP 70-1基因多态性变化,并探讨其临床价值。**方法** 选取2020年1月至2020年2月贵州省某医院收治的128例新型冠状病毒感染患者(病例组),同期128名健康体检者(对照组)。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)比较两组血清中HSP 70水平变化;采用单核苷酸多态性(SNP)基因分型方法检测HSP 70-1(+190位点)基因序列,分析基因多态性。**结果** 病例组患者血清中HSP 70蛋白高于对照组,差异有统计学意义($Z=6.924, P<0.05$),并且随着病例组患者病程的加重,血清HSP 70水平也逐渐升高,各临床分型的HSP 70水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);HSP 70-1(+190位点)的基因型GG、GC、CC在患者病例组均存在,与对照组比较,差异有统计学意义($\chi^2=6.975, P<0.05$),此外,轻型患者HSP 70-1 GC基因型的分布频率(59.26%)及普通型患者HSP 70-1 GC基因型的分布频率(52.69%)均高于对照组(39.84%)($P<0.05$),而轻型患者HSP 70-1 GG基因型的分布频率(33.33%)及普通型患者HSP 70-1 GG基因型的分布频率(38.71%)均低于对照组(53.90%),差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** HSP 70表达水平及HSP 70-1基因分型与新型冠状病毒感染的发生、发展相关,可辅助新型冠状病毒感染患者临床分型的判断。

[关键词] 病毒感染;血清热休克蛋白70;基因多态性

Changes in serum HSP 70 levels and analysis of HSP 70-1 gene polymorphisms in 128 patients with viral infection

MU Lili, HUANG Shan, XIA Jing*

(Guizhou Nursing Vocational College, Guiyang, Guizhou, China, 550025)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes in serum HSP 70 expression and its relationship with HSP 70-1 gene polymorphism in 128 patients with novel coronavirus infection at a hospital in Guizhou Province. **Methods** A total of 128 patients with novel coronavirus infection (case group) and 128 healthy subjects (control group) who were admitted to a hospital in Guizhou Province from January 2020 to February 2020 were selected for the study. The changes in serum HSP 70 levels between the two groups were compared using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping method was used to detect the HSP70-1 gene sequence at the +190 locus and analyze gene polymorphism. **Results** The serum HSP 70 protein levels in the case group were higher than those in the control group, with a statistically significant difference ($Z=6.924, P<0.05$). Additionally, the serum HSP 70 levels in the case group increased gradually as the disease progressed. The HSP 70 levels in each clinical classification were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). In the patient case group, HSP 70-1 (+190 locus) genotypes GG, GC and CC were identified, with a statistically significant difference compared to the control group ($\chi^2=6.975, P<0.05$). In addition, the distribution frequency of the HSP 70-1 GC genotype in mild patients (59.26%) and common patients (52.69%) was higher than that in the control group (39.84%) ($P<0.05$). Conversely, the distribution frequency of the HSP 70-1 GG genotype

基金项目:贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwwkj2020-1-062)

作者单位:贵州护理职业技术学院,贵阳,贵州 550025

*通信作者:夏婧, E-mail:1639188114@qq.com

in mild patients (33.33%) and common patients (38.71%) was lower than that in the control group (53.90%), with a statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression levels of HSP 70 and the *HSP 70-1* genotype are related to the occurrence and development of novel coronavirus infection. This can help in determining the clinical classification of patients with novel coronavirus infection.

[KEY WORDS] Virus infection; HSP 70; Gene Polymorphism

病毒在自然界中广泛存在,是一类形态最微小、结构最简单的微生物。当病毒侵入机体后,能在宿主靶器官细胞中复制与增殖,与机体发生相互作用的过程中,干扰正常的免疫应答,损伤或改变宿主细胞的结构和功能,继而引起病理性改变^[1-2]。热休克蛋白 70 (Heat Shock Protein 70, HSP 70) 是 HSPs 家族中最保守、最主要、含量最丰富、具有多种功能的非特异性细胞保护蛋白^[3]。大量的研究发现 HSP 70 在炎症因子表达、抑制细胞凋亡、抑制蛋白质聚集等方面发挥作用^[4]。随着研究的深入,人们发现 HSP 70 与肺癌、肺结核、哮喘等肺部疾病的发病机制关系密切^[5-7]。此外,大量研究表明 *HSP 70-1* 基因位点的多态性与缺血性脑卒中、冠状动脉粥样硬化心脏病、2 型糖尿病、肺癌、病毒感染等有关^[8]。目前尚不明确血清 HSP 70 表达水平以及 *HSP 70-1* 基因多态性是否与新型冠状病毒感染的病变状态相关,基于此本研究对新型冠状病毒感染患者血清中 HSP 70 水平变化与 *HSP 70-1* 基因多态性进行了研究,现将相关研究结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2020 年 2 月期间贵州省某医院收治的新型冠状病毒感染患者 128 例作为病例组,纳入病例组的对象均为首发病例,按照国家卫生健康委员会和国家中医药管理局联合发布的《新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)》的诊断标准^[9]将病例组分为轻型 27 例、普通型 93 例、重型 3 例、危重型 5 例。另选取同期 128 名健康体检者作为对照组。128 例新型冠状病毒感染者男性 72 例,女性 56 例,年龄为(41.77±18.01)岁,128 名健康对照组男性 64 名,女性 64 名,年龄为(44.36±12.06)岁,两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

受检者空腹 12~15 h,于次日清晨抽取外周静

脉血 5 mL,分置于含有 2% 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2) 100 μ L 的一次性试管中,共 2 管:一管置 4 mL,用于热休克蛋白检测;一管置 1 mL,用于 DNA 提取。

1.2.2 血清 HSP 70 水平检测

采用酶联免疫吸附法方法,严格按照热休克蛋白 70 试剂盒(上海生物工程有限公司)说明书对 HSP 70 标准品稀释制作标准曲线(标准品浓度依次为:160、80、40、20、10、0 pg/mL),用酶标仪在 450 nm 波长依序测量各孔的光密度(OD 值)。以标准物的浓度为横坐标,OD 值为纵坐标,在半对数坐标纸上绘出标准曲线,根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度。

1.2.3 基因型检测

所用引物由上海生工生物工程有限公司合成,*HSP 70-1* 基因(+190 G/C)位点 rs1043618 上游引物 5'-CTTCCAGAGCGAACCTGTG-3',下游引物 5'-CGTCAAACACGGTGTCTGC-3'^[10],参照 DNA 提取试剂盒说明书提取 DNA,以其为模板进行 PCR 扩增基因。反应体系为:模板 1 μ L,上下游引物各 1 μ L,dNTP 混合物 1 μ L,Taq DNA 聚合酶 0.2 μ L,10 \times Taq Buffer 2.5 μ L,加入 ddH₂O 至总体积为 25 μ L。反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,58 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 15 s,进行 30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。电泳结束后,PCR 产物取 5 μ L 1% 琼脂糖凝胶电泳,电泳参数:150 V,100 mA,10~20 min 电泳观察目的条带,使用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒(上海生工 B518131)将目的 PCR 条带切胶回收,并用 sequence analysis 软件序列分析 *HSP 70-1* 基因 190G/C 位点基因多态性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,小样本的组间比较采用 *t* 检验,大样本的组间比较用 *Z* 检验,多组间比较采用 *F* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,基因型频率和等位基因频率采用直接计数法,组间应用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 HSP 70 水平比较

病例组及对照组的血清标本中 HSP 70 蛋白表达情况比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。此外,随着患者病程的加重,血清 HSP 70 水平也逐渐升高,且各临床分型的 HSP 70 水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组血清 HSP 70 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum HSP 70 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HSP 70 ($\mu\text{g/mL}$)
病例组	128	0.27 \pm 0.17
对照组	128	0.09 \pm 0.24
Z 值		6.924
P 值		<0.05

表 2 病例组不同临床分型患者血清标本 HSP 70 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Expression of HSP 70 protein in serum samples of patients with different clinical types in case groups ($\bar{x} \pm s$)

临床分型	<i>n</i>	HSP 70 ($\mu\text{g/mL}$)
轻型	27	0.18 \pm 0.14 ^a
普通型	93	0.27 \pm 0.03 ^a
重型	3	0.32 \pm 0.01 ^a
危重型	5	0.57 \pm 0.71 ^a
对照组	128	0.09 \pm 0.24
F 值		35.65
P 值		<0.05

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组 HSP 70-1(+190 位点)基因型分布

HSP 70-1(+190 位点)的基因型 GG、GC、CC 在患者病例组均存在,与对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),其中,HSP 70-1 GC 基因型在病例组的分布频率(54.69%)高于对照组(39.84%),而 HSP 70-1 GG 基因型在病例组的分布频率(37.50%)低于对照组(53.90%)差异有统计学意义 ($\chi^2=6.975$ 、 $P < 0.05$)。C、G 等位基因分布频率在病例组和对照组之间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=4.608$ 、 $P < 0.05$)。见表 3。

2.3 各临床分型中 HSP 70-1(+190 位点)基因型分布

患者病例组轻型、普通型、重型及危重型的组间基因型分布频率比较:轻型患者 HSP 70-1 GC 基因型的分布频率(59.26%)及普通型患者 HSP 70-1 GC 基因型的分布频率(52.69%)均高于对照组

表 3 两组 HSP 70-1 基因(+190 位点)基因型分布 [$n(\%)$]

Table 3 Genotype distribution of HSP 70-1 gene (+190 locus) between the two groups [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因频率	
		GG	GC	CC	G	C
病例组	128	48(37.50)	70(54.69)	10(07.81)	166(64.84)	90(35.16)
对照组	128	69(53.90)	51(39.84)	8(6.25)	189(73.8)	67(26.2)
χ^2 值			6.975			4.608
P 值			0.050			0.050

(39.84%) ($P < 0.05$),而轻型患者 HSP 70-1 GG 基因型的分布频率(33.33%)及普通型患者 HSP 70-1 GG 基因型的分布频率(38.71%)均低于对照组(53.90%),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。轻型、普通型、重型及危重型的 C、G 等位基因分布频率分布比较:与对照组相比,各组间之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 各临床分型中 HSP 70-1 基因(+190 位点)基因型分布 [$n(\%)$]

Table 4 Distribution of genotypes of HSP 70-1 gene (+190 locus) in each clinical classification [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因频率	
		GG	GC	CC	G	C
轻型	27	9(33.33)	16(59.26)	2(7.41)	34(62.96)	20(37.04)
对照组	128	69(53.90)	51(39.84)	8(6.25)	189(73.8)	67(26.2)
χ^2 值			3.866			2.608
P 值			<0.05			>0.05
普通型	93	36(38.71)	49(52.69)	8(8.60)	121(65.05)	62(34.95)
对照组	128	69(53.90)	51(39.84)	8(6.25)	189(73.8)	67(26.2)
χ^2 值			4.994			3.055
P 值			<0.05			>0.05
重型	3	1(33.33)	2(66.67)	0(00.00)	4(66.67)	2(33.33)
对照组	128	69(53.90)	51(39.84)	8(6.25)	189(73.8)	67(26.2)
χ^2 值			0.941			0.155
P 值			>0.05			>0.05
危重型	5	2(40.00)	3(60.00)	0(00.00)	7(70.00)	3(30.00)
对照组	128	69(53.90)	51(39.84)	8(6.25)	189(73.8)	67(26.2)
χ^2 值			0.968			0.073
P 值			>0.05			>0.05

3 讨论

病毒是一种必须寄生在动植物的细胞中才能完成增殖的微小生物。当病毒侵入人体细胞后,利用细胞内的营养和物质,进行大量病毒繁殖,最终破壁而出。随后,病毒会感染更多的周边细胞或随着血流播散至其他部位,造成更大的伤害,逐渐呈现出明显的临床症状,形成病毒性感染性疾病^[11]。病毒感染可见于全身的任何部位,临床症状绝大多数源于感染引发的炎症和损伤。随病情

进展,感染还可能蔓延、播散,引起较为严重的全身性症状。有部分病毒感染在早期没有任何明显症状,直至晚期病情严重时才会出现身体不适^[12]。新型冠状病毒主要经通过呼吸道侵入人体,在呼吸道黏膜细胞中大量复制后进入全身,引发系统性症状,感染以发热、干咳、乏力等为主要表现,少数患者伴有鼻塞、流涕、腹泻等上呼吸道和消化道症状,严重者快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒和凝血功能障碍、多器官功能衰竭,少数患者病情危重甚至死亡^[13]。探讨临床常用可评估新型冠状病毒感染严重程度的生物标志物,可协助临床制定诊疗决策。基于此,本课题对患者血清 HSP 70 水平变化及 HSP 70-1 基因多态性进行分析,探讨上述指标与新型冠状病毒感染的关联性。

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一类广泛存在于哺乳动物体内的高度保守的热应激蛋白,可在创伤、感染、缺氧等应激状态下被诱导表达^[14]。HSP 家族具有细胞蛋白自稳、协同免疫、抗氧化、抗细胞凋亡等作用,在抗肿瘤免疫及抗病毒免疫中具有重要作用^[15]。HSP 70 是含量最多、最保守的一组蛋白,也是哺乳动物的组织细胞发生应激反应时所产生的主要 HSP^[15]。在正常情况下,HSP 70 只位于细胞质内,当细胞受到应激刺激时,细胞核、胞质内 HSP 70 迅速增加^[16]。HSP 70 调节着细胞蛋白质稳态的各个方面,包括蛋白质的正确折叠、蛋白质的组装及其活性的调节、抑制蛋白质聚集物的积累等^[17]。研究发现,HSP70 以多种方式参与病毒感染,HSP70 在病毒进入宿主细胞表面时形成复合物、可通过与病毒聚合酶的直接相互作用来参与病毒的复制过程、参与病毒的衣壳组装、折叠病毒蛋白质,以增加病毒在宿主条件中的生存机会^[18]。本研究结果发现,新型冠状病毒感染患者病例组及健康对照组的血清标本中 HSP 70 蛋白表达情况比较差异有统计学意义,此外,随着患者病程的加重,血清 HSP 70 水平也逐渐升高,且各临床分型的 HSP 70 水平均显著高于对照组。结果提示 HSP 70 表达水平在患者血清中的表达显著上调,与疾病发展进程有关,或可作为评估新型冠状病毒感染严重程度的生物标志物。

HSP 70 基因多态性主要表现在其相应基因位点上,各显性基因位点上等位基因的差异造成 HSP 70 基因的表达不同。研究表明,HSP 70 基因

位点的多态性与某些疾病或机体再次应激的易感性有关,HSP 70-1 基因主要在 110(A/C)、120(T/C)、190(G/C)和 438(C/T)位点存在多态性,其中研究较多的是 190(G/C)位点^[19]。本研究结果发现,HSP 70-1(+190 位点)基因型 GG、GC、CC 在病例组均存在,轻型患者 HSP 70-1 GC 基因型的分布频率及普通型患者 HSP 70-1 GC 基因型的分布频率均高于对照组,而轻型患者 HSP 70-1 GG 基因型的分布频率及普通型患者 HSP 70-1 GG 基因型的分布频率均低于对照组。轻型及普通型患者携带 HSP 70-1 GC 基因型的几率增加,携带 HSP 70-1 GG 基因型的几率降低,结果提示 HSP 70-1 GC、GG 基因型的变化可能与新型冠状病毒感染的发生、发展相关。

综上所述,HSP 70 表达水平及 HSP 70-1 基因分型与新型冠状病毒感染的发生、发展相关,可辅助新型冠状病毒感染患者临床分型的判断。

参考文献

- [1] Peres C, Tanaka Y, Martin F. Flow cytometric methodology for the detection of de novo human T-cell leukemia virus-1 infection in vitro: A tool to study novel infection inhibitors[J]. J Virol Methods, 2019, 274(1):113728.
- [2] 肖国城,袁富,武子琪,等. DNA 病毒和 RNA 病毒对宿主细胞糖酵解的调控机制研究进展[J]. 山东医药, 2023, 63(6):91-95.
- [3] Rosenzweig R, Nillegoda NB, Mayer MP. The Hsp70 chaperone network[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(11):665-680.
- [4] Ambrose AJ, Chapman E. Function, Therapeutic Potential, and Inhibition of HSP 70 Chaperones[J]. J Med Chem, 2021, 64(11):7060-7082.
- [5] Kathera CS, Longwei J, Janardhan A, et al. Lung cancer: progression of heat shock protein 70 in association with flap endonuclease 1 protein[J]. 3 Biotech, 2021, 11(3):141.
- [6] Pei Q, Ni W, Yuan Y, et al. HSP70 Ameliorates Septic Lung Injury via Inhibition of Apoptosis by Interacting with KANK2[J]. Biomolecules, 2022, 12(3):410.
- [7] Dubaniewicz A. Mycobacterial Heat Shock Proteins in Sarcoidosis and Tuberculosis[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6):5084.
- [8] Dai G, Han K, Huang X, et al. Heat shock protein 70 (HSP70) plays important role in tembusu virus infection[J]. Vet Microbiol, 2022, 267(1):109377.
- [9] 国卫办医函[2022]71号. 新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)[S]. 中国:国家卫生健康委员会,国家中医药管理局, 2022.

- [10] Fjt A, Wxl B, Yi LA, et al. Heat-shock protein 70 (HSP 70) polymorphisms affect the risk of coke-oven emission-induced neurobehavioral damage [J]. *Neurotoxicology*, 2020, 76(1):174-182.
- [11] Ciccozzi M, Lai A, Zehender G, et al. The phylogenetic approach for viral infectious disease evolution and epidemiology: An updating review [J]. *J Med Virol*, 2019, 91(10):1707-1724.
- [12] Casanova JL, Abel L. Mechanisms of viral inflammation and disease in humans [J]. *Science (New York, N.Y.)*, 2021, 374(6571):1080-1086.
- [13] Zheng Q, Lu Y, Lure F, et al. Clinical and radiological features of novel coronavirus pneumonia [J]. *J Xray Sci Technol*, 2020, 28(3):391-404.
- [14] Jong YK, Ji WK, Midori A, et al. Heat shock protein signaling in brain ischemia and injury [J]. *Neuroscience Letters*, 2020, 715(1):134642.
- [15] Azam Bolhassani. Heat shock proteins in infection [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 498(1):90-100.
- [16] Yu H, Lu S, Gasior K, et al. HSP70 chaperones RNA-free TDP-43 into anisotropic intranuclear liquid spherical shells [J]. *Science*, 2021, 371(6529):eabb4309.
- [17] Liu Q, Liang C, Zhou L. Structural and functional analysis of the Hsp70/Hsp40 chaperone system [J]. *Protein Sci*, 2020, 29(2):378-390.
- [18] Lubkowska A, Pluta W, Aleksandra S, et al. Role of Heat Shock Proteins (HSP70 and HSP90) in Viral Infection [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17):9366.
- [19] Elshahed OM, Shaker OG. Heat Shock Protein 70 Gene Polymorphism in Egyptian Patients with Type 2 Diabetes Mellitus, with and without Nephropathy [J]. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2020, 31(4):787-795.

(上接第462页)

- [7] Rams TE, Sautter JD, van Winkelhoff AJ. Comparative In Vitro Resistance of Human Periodontal Bacterial Pathogens to Tinidazole and Four Other Antibiotics [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2020, 9(2):68.
- [8] 张诗韵, 赖光云, 汪俊. 浓缩生长因子与凝血块诱导根管内组织再生的对比研究 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2020, 40(10):1365-1370.
- [9] 周焱, 王颖慧, 赵焕英, 等. IL-17 在乳牙根尖周病损组织中的表达 [J]. *口腔医学研究*, 2020, 36(4):365-368.
- [10] 王婷, 付静, 刘新强, 等. 趋化因子 CCL21、E-selectins、Hsp90 在实验性牙周炎大鼠牙周组织中的表达及意义 [J]. *上海口腔医学*, 2020, 29(4):350-354.
- [11] 俞梅, 喻锦娴, 王玮. 牙髓血运重建术对慢性根尖周炎趋化因子 CCL21、干扰素 γ 诱导蛋白 10 水平的影响 [J]. *上海口腔医学*, 2020, 29(6):628-631.
- [12] 李腾艳, 聂敏海, 刘旭倩. 浓缩生长因子与表皮生长因子干预口腔黏膜等效细胞的增殖和衰老 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(20):3164-3172.

(上接第466页)

- [2] 董香丽, 袁也丰, 孙伟铭, 等. 躯体形式障碍患者的述情障碍及其与负性情绪的相关性研究 [J]. *中国全科医学*, 2017, 20(31):3937-3941.
- [3] 菊轩, 胡希文, 陈松, 等. 脑电生物反馈联合拉莫三嗪治疗慢性精神分裂症伴迟发性运动障碍患者的临床疗效分析 [J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(8):89-92.
- [4] Gaebel W, Stricker J, Kerst A. Changes from ICD-10 to ICD-11 and future directions in psychiatric classification [J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2020, 22(1):7-15.
- [5] 王芸, 王高华, 王惠玲, 等. 躯体形式障碍患者注意偏向与躯体症状的关联 [J]. *中国临床心理学杂志*, 2019, 27(1):14-17.
- [6] 庄琦, 毛家亮, 李春波, 等. 躯体化症状自评量表的初步编制及信度和效度研究 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2010(9):847-849.
- [7] 张宇翔, 郭蓉娟, 耿东. 基于关联规则和熵聚类算法的抑郁症肝郁脾虚证患者汉密尔顿抑郁/焦虑量表研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2018, 41(9):781-786.
- [8] Torres ME, Löwe B, Schmitz S, et al. Suicide and suicidal-ty in somatic symptom and related disorders: A systematic review [J]. *J Psychosom Res*, 2021, 140(9):110290.
- [9] Cruz-Jentoft AJ, Sayer AA. Sarcopenia [J]. *Lancet*. 2019, 393(10191):2636-2646.
- [10] 曾天闻. 度洛西汀与氟西汀改善躯体形式障碍患者症状的对比观察 [J]. *中国医药指南*, 2019, 17(30):79.
- [11] 史明慧, 李靖婕, 尚清. 多参数生物反馈治疗对孤独症谱系障碍儿童注意力障碍及多动行为的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2023, 45(5):435-437.
- [12] 邓友梅, 莫妙霞, 凌瀚, 等. 焦虑症患者采用心理护理结合生物反馈进行治疗的临床疗效 [J]. *中国医药科学*, 2020, 10(16):242-244+248.
- [13] 刘松年, 伍星, 荆凌华. HCY 与 2 型糖尿病合并冠心病患者心率变异性及心律失常的相关性研究 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(5):678-682.
- [14] 王璐瑶, 杨程惠, 敬娟, 等. 躯体症状障碍患者心率变异性与疾病严重程度的相关性 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2022, 31(1):77-81.

基于心功能及IGFBP7、sST2、CGRP、ET分析沙库巴曲缬沙坦在治疗冠心病合并慢性心力衰竭中的应用效果

张娟^{1*} 李宁¹ 张文超²

[摘要] **目的** 分析冠心病(CHD)合并慢性心力衰竭(CHF)患者应用沙库巴曲缬沙坦治疗的效果。**方法** 选择2020年1月至2023年1月邯郸市第四医院收治的86例CHD合并CHF患者,以随机数字表法将其分为对照组和试验组各43例。两组CHD治疗均应用硝酸酯类、他汀类及抗血小板药物,对照组CHF治疗应用坎地沙坦酯片、醛固酮受体拮抗剂及 β 受体阻滞剂,试验组治疗则将对照组中的坎地沙坦酯片替换为沙库巴曲缬沙坦钠片。比较两组疗效、不良反应、心功能指标[左室短轴缩短率(LVFS)、左室射血分数(LVEF)、6min步行距离(6MWD)]、心室重构指标[Ⅲ型胶原前肽(PⅢP)、层粘连蛋白(LN)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)]、心肌损伤和血管内皮功能相关指标[胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP7)、可溶性生长刺激表达基因2(sST2)、降钙素基因相关肽(CGRP)、内皮素(ET)]。**结果** 与对照组比,试验组治疗3个月后的总有效率更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组治疗3个月后的LVFS、LVEF、6MWD、IGFBP7、CGRP与治疗前比升高,且试验组与对照组比更高,差异有统计学意义($P<0.05$);PⅢP、LN、MMP-9、sST2、ET降低,试验组与对照组比更低,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应总发生率对比差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 沙库巴曲缬沙坦可有效调节CHD合并CHF患者IGFBP7、sST2、CGRP、ET,改善血管内皮功能、心肌损伤、心室重构及心功能,进而可提高疗效,且具有良好的安全性。

[关键词] 沙库巴曲缬沙坦;可溶性生长刺激表达基因2;降钙素基因相关肽;内皮素;胰岛素样生长因子结合蛋白7

Analysis of the application effect of sacubitril-valsartan in the treatment of coronary heart disease combined with chronic heart failure based on cardiac function and IGFBP7, sST2, CGRP, and ET

ZHANG Juan^{1*}, LI Ning¹, ZHANG Wenchao²

[1. Department of Geriatric Medicine, the Fourth Hospital of Handan City, Handan, Hebei, China, 056200;
2. Department of Neurosurgery, the People's Hospital of Hengshui (Hengshui Harrison International Peace Hospital), Hengshui, Hebei, China, 053000]

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the efficacy of treatment with sacubitril valsartan in patients with coronary heart disease (CHD) combined with chronic heart failure (CHF). **Methods** From January 2020 to January 2023, 86 patients with CHD complicated by CHF were selected at our hospital. They were randomly divided into two groups: the control group and the experimental group, each consisting of 43 patients. Both groups received treatment for CHD with nitrates, statins and antiplatelet agents. The control group was treated for CHF with candesartan ester tablets, aldosterone receptor antagonists and beta-blockers, while the experimental group replaced candesartan ester tablets with sakubatrizol valdecoxib sodium tablets. The effica-

基金项目:衡水市科技计划项目(202201483Z)

作者单位:1. 邯郸市第四医院老年病医学科,河北,邯郸 056200

2. 衡水市人民医院(衡水哈励逊国际和平医院)神经外科,河北,衡水 053000

*通信作者:张娟, E-mail:15081706896@163.com

cy, adverse effects, cardiac function indexes [including left ventricular short-axis shortening (LVFS), left ventricular ejection fraction (LVEF), and 6-minute walking distance (6 MWD)], ventricular remodeling indexes [such as pre-collagen III peptide (P III P), laminin (LN), and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)], as well as indexes related to myocardial injury and vascular endothelial function [such as insulin-like growth factor-binding protein 7 (IGFBP7), soluble growth-stimulated expression gene 2 (sST2), calcitonin gene-related peptide (CGRP), and endothelin (ET)], were compared between the two groups. **Results** The total effective rate was higher in the test group after 3 months of treatment compared with the control group ($P < 0.05$). LVFS, LVEF, 6 MWD, and IGFBP7, CGRP were elevated after 3 months of treatment in both groups compared with pre-treatment and were higher in the experimental group compared with the control group. P III P, LN, MMP-9, sST2, and ET were lowered, and were lower in the experimental group compared with the control group ($P < 0.05$). There was no difference in the comparison of the total incidence of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Sacubitril valsartan is used to treat CHD in combination with CHF. It effectively regulates patients' IGFBP7, sST2, CGRP, and ET levels, improving vascular endothelial function, myocardial injury, ventricular remodeling and cardiac function. This, in turn, enhances the efficacy of the treatment and has a good safety profile.

[KEY WORDS] Chronic heart failure; Cardiac function; Insulin-like growth factor binding protein 7; Soluble growth-stimulated expression gene 2; Calcitonin gene-related peptide; Endothelin

冠心病(Coronary artery disease, CHD)是引起慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)的常见原因之一^[1],据报道^[2-3]显示,其具有较高的发病率,临床治疗以缓解症状为主。坎地沙坦酯作为一种前体药,可拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统,可降低血压和循环阻力,减轻心脏负荷,但其治疗CHD合并CHF患者的远期疗效仍不够理想^[4]。沙库巴曲缬沙坦不仅能够抑制脑啡肽酶,还可以抑制肾素-血管紧张素,能够发挥逆转和预防心肌重构的作用^[5]。有报道称,CHD合并CHF患者病情进展过程中多伴有心肌损伤和血管内皮功能障碍^[6]。但目前关于沙库巴曲缬沙坦对CHD合并CHF患者胰岛素样生长因子结合蛋白7(Insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7)、可溶性生长刺激表达基因2(soluble growth-stimulated expression gene 2, sST2)、降钙素基因相关肽(Calcitonin gene-related peptide, CGRP)、内皮素(Endothelin, ET)水平的影响仍需探究。基于此设立本研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2020年1月至2023年1月邯郸市第四医院收治的86例CHD合并CHF患者,以随机数字表法将其分为对照和试验组各43例,随机方法选择随机数字表法(研究设计已获得院伦理委员会

审批同意)。纳入标准:①CHD诊断依据参考文献^[7];②CHF诊断依据参考文献^[8];③年龄45~80岁者;④心功能分级Ⅱ~Ⅳ级者;⑤知情同意者等。排除标准:①对本研究药物过敏者;②其他原因所致心力衰竭者;③伴有严重感染、恶性肿瘤、风湿性瓣膜病、肺源性心脏病、急性心力衰竭及急性心肌梗死者等。其中对照组年龄平均(61.74±5.20)岁;体质指数平均(22.47±0.51)kg/m²;心功能分级^[8]:Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级分别19、16、8例;男23例,女20例;基础疾病类型:高血脂、糖尿病、高血压分别16、13、11例。试验组年龄平均(61.81±5.23)岁;体质指数平均(22.53±0.55)kg/m²;心功能分级:Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级分别20、16、7例;男22例,女21例;基础疾病类型:高血脂、糖尿病、高血压分别18、15、12例。两组资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

两组CHD治疗均应用硝酸酯类、他汀类及抗血小板药物。对照组CHF治疗应用血管紧张素Ⅱ、醛固酮受体拮抗剂及 β 受体阻滞剂,其中血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂使用广州白云山天心制药股份有限公司提供的规格为4 mg的坎地沙坦酯片(H20051217),以口服方式将4 mg/次作为初始剂量,1次/d,2~3周后将用量调整为4 mg/次,2次/d。试验组则将对照组中的坎地沙坦酯片替换为石药集团欧意药业有限公司提供的规格为0.1 g的沙库巴曲缬沙坦钠片(H20234048),以口服方式将0.1

g/次为初始剂量,2次/d,2~3周后将用量调整为0.2 g/次,2次/d,其余方案同对照组。两组均治疗3个月。

1.3 疗效判断

治疗3个月后的疗效判断依据参考文献^[9]中的相关标准,分为显效、有效、无效,其中患者症状体征明显改善,心功能分级降低 ≥ 2 级为有效;症状体征有所缓解,心功能分级降低1级为有效;无效:未达上述标准。总有效率=1-无效率。

1.4 观察指标

①治疗前和3个月后统计两组6min步行距离(6 min walking distance, 6 MWD),并用洛阳康达卡乐福医疗科技有限公司提供的型号为KCU-M8T的便携式超声仪测定两组左室射血分数、左室短轴缩短率、左室舒张末期径。②同时采集两组空腹静脉血6 mL,离心后取3 mL血清测定心室重构相关指标,包括Ⅲ型胶原前肽(Pre-type Ⅲ collagen peptide, PⅢP)、层粘蛋白(Laminin, LN)、基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)水平,检测方法为酶联免疫吸附试验(美国贝克曼库尔特有限公司提供试剂盒),离心条件:速率、时间、半径分别3 000 r/min、15 min、8 cm。③血液采集、血清制备均同②,取剩余3 mL血清测定两组心肌损伤及血管内皮功能相关指标,包括IGFBP7、sST2、CGRP、ET水平,检测方法为酶联免疫吸附试验(美国贝克曼库尔特有限公司提供试剂盒)。④记录两组治疗期间出现的不良反应,包

括嗜睡、恶心、低血压、发热等情况。

1.5 统计学方法

用SPSS 26.0软件进行数据分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组内和组间比较用配对 t 、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 两组疗效比较

与对照组总有效率相比,试验组治疗3个月后更高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组疗效比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	显效	有效	无效	总有效率
对照组	43	19(44.19)	13(30.23)	11(25.58)	32(74.42)
试验组	43	23(53.49)	16(37.21)	4(9.30)	39(90.70)
χ^2 值					3.957
P 值					0.047

2.2 两组心功能比较

两组治疗3个月后的心功能指标与治疗前比升高,试验组与对照组比更高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组心室重构相关指标比较

两组治疗3个月后的的心室重构相关指标与治疗前比降低,试验组与对照组比更低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表2 两组心功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	LVFS(%)		LVEDD(mm)		LVEF(%)		6 MWD(m)	
		治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后
对照组	43	13.12 \pm 1.54	19.76 \pm 2.06 ^a	60.09 \pm 4.12	60.14 \pm 4.08 ^a	29.98 \pm 2.19	35.27 \pm 3.09 ^a	115.43 \pm 12.46	161.56 \pm 16.75 ^a
试验组	43	13.09 \pm 1.61	25.67 \pm 3.42 ^a	59.97 \pm 4.16	60.11 \pm 4.10 ^a	30.01 \pm 2.24	48.75 \pm 3.35 ^a	115.51 \pm 12.39	276.43 \pm 25.28 ^a
t 值		0.088	9.707	0.134	0.034	0.063	19.395	0.030	24.839
P 值		0.930	0.000	0.893	0.973	0.950	0.000	0.976	0.000

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组心室重构相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	PⅢP(μ g/L)		LN(μ g/L)		MMP-9(ng/L)	
		治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后
对照组	43	103.96 \pm 9.82	81.39 \pm 5.52 ^a	84.12 \pm 6.72	62.46 \pm 4.48 ^a	249.87 \pm 15.67	145.23 \pm 10.47 ^a
试验组	43	104.02 \pm 9.76	52.61 \pm 3.37 ^a	84.09 \pm 6.65	41.09 \pm 3.35 ^a	250.01 \pm 15.58	92.14 \pm 6.72 ^a
t 值		0.028	29.181	0.021	25.050	0.042	27.983
P 值		0.977	0.000	0.983	0.000	0.967	0.000

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组肌损伤及血管内皮功能相关指标比较

两组治疗3个月后的IGFBP7、CGRP与治疗

前比升高,与对照组比,试验组更高;sST2、ET降低,与对照组比,试验组更低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 两组心肌损伤及血管内皮功能相关指标比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of indicators related to myocardial injury and vascular endothelial function between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IGFBP7(ng/L)		sST2(ng/mL)		CGRP(ng/L)		ET(ng/L)	
		治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后	治疗前	治疗3个月后
对照组	43	32.15±2.69	39.65±3.12 ^a	63.98±6.71	26.55±3.12 ^a	12.69±1.48	28.54±1.92 ^a	75.98±6.54	57.66±4.12 ^a
试验组	43	32.09±2.78	46.97±5.45 ^a	64.04±6.69	15.61±2.24 ^a	12.71±1.54	41.55±2.79 ^a	76.02±6.65	42.34±3.55 ^a
t值		0.101	7.644	0.042	18.678	0.061	25.190	0.028	18.472
P值		0.919	0.000	0.967	0.000	0.951	0.000	0.978	0.000

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.5 两组不良反应比较

两组不良反应总发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5。

表5 两组不良反应比较[n(%)]

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

组别	n	嗜睡	恶心	低血压	发热	总发生率
对照组	43	2(4.65)	1(2.33)	1(2.33)	2(4.65)	6(13.95)
试验组	43	1(2.33)	2(4.65)	0(0.00)	1(2.33)	4(9.30)
χ^2 值						0.453
P值						0.501

3 讨论

CHF是CHD患者晚期常见的并发症之一。近年来,调查数据^[10]显示,CHD合并CHF患者的患病率呈一定的升高趋势,且发病年龄逐渐年轻化。因此,积极防治CHD合并CHF尤为关键。

坎地沙坦酯口服进入机体后可迅速水解为有活性的坎地沙坦,其可抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统,促进末梢循环阻力和血压降低,进而利于心脏负荷的减轻和心功能的改善,但该药长期使用易产生较多的不良反应^[11]。而沙库巴曲缬沙坦口服可发挥阻断血管紧张素H受体、抑制脑啡肽酶的双重作用,利于心脏负荷的减轻,抑制醛固酮的分泌和释放,促进排钠、排水,扩张血管,进而有利于促进心功能的改善^[12]。本研究中与对照组比,试验组心功能指标及总有效率更高,进一步证实沙库巴曲缬沙坦与坎地沙坦酯比,其治疗CHD合并CHF可有效改善患者心功能,提高疗效。

CHD合并CHF患者病情进展过程中多伴有室室重构、心肌损伤和血管内皮功能障碍。PⅢP、LN是一类可反映心肌纤维化程度的标志物,

MMP-9可通过调节细胞外基质降解和沉积而参与心室重构和心肌纤维化过程^[13]。IGFBP7可参与多种病理生理过程,如心肌僵硬、心肌老化等过程。既往研究^[14]发现,IGFBP7在心力衰竭患者中的水平明显升高。sST2可反映心肌损伤程度,其在正常情况下的表达较低,但当心肌细胞受机械牵拉刺激后可引起其表达明显升高。CGRP、ET作为反映机体血管内皮细胞功能的敏感指标,前者具有降低血管外周阻力,调节血压的作用,而后者可发挥血管收缩作用。本研究中与对照组比,试验组PⅢP、LN、MMP-9、sST2、ET更低,IGFBP7、CGRP更高,提示沙库巴曲缬沙坦可有效调节CHD合并CHF患者IGFBP7、sST2、CGRP、ET,改善血管内皮功能、心肌损伤及心室重构。沙库巴曲缬沙坦水解后产生的缬沙坦可阻断血管紧张素受体Ⅱ活性,抑制醛固酮释放,且水解后产生的脑啡肽酶抑制剂可阻止脑啡肽酶降解,提高利钠肽水平,进而有利于促进新血管扩张,降低心脏负荷,发挥改善血管内皮功能,减轻心肌损伤,改善心室重构的作用^[15]。此外本研究还发现,两组安全性比较无差异,表明CHD合并CHF患者应用沙库巴曲缬沙坦治疗,安全性好。

综上,沙库巴曲缬沙坦可有效调节CHD合并CHF患者IGFBP7、sST2、CGRP、ET,改善血管内皮功能、心肌损伤、心室重构及心功能,进而可提高疗效,且具有良好的安全性。

参考文献

- [1] 武云涛,王玉红,姚璐,等.沙库巴曲缬沙坦对高龄老年冠心病合并慢性心力衰竭患者心功能的影响[J].中国循证心血管医学杂志,2022,14(5):559-561+564.

miR-141-3p、IL-18与老年脑出血患者病情严重程度及预后的相关性

袁蕾^{1*} 万克苗² 孙宁涛³

[摘要] 目的 探讨 miR-141-3p、白细胞介素-18(IL-18)与老年脑出血患者病情严重程度及预后的相关性。方法 分析 2021 年 1 月至 2022 年 12 月于青岛市城阳区人民医院接受治疗的老年脑出血患者 116 例临床资料,根据病情严重程度将其分为轻度组($n=51$)、中度组($n=38$)和重度组($n=27$);随访 6 个月,依据预后情况分为预后良好组($n=79$)与预后不良组($n=37$)。并选取同期体检健康志愿者 30 名作为对照组。比较对照组与轻、中、重度组的 miR-141-3p、IL-18 水平,分析患者 miR-141-3p、IL-18 水平与疾病严重程度相关性。对患者因素单、多因素分析,并绘制 ROC 曲线分析患者 miR-141-3p、IL-18 水平对其预后的预测价值。结果 miR-141-3p 水平比较:对照组>轻度组>中度组>重度组,IL-18 水平比较:重度组>中度组>轻度组>对照组($F=116.151, 77.832, P$ 均 <0.05);Spearman 分析法分析结果显示,患者疾病严重程度与 miR-141-3p 呈显著的负相关($r=-0.668, P<0.05$),与 IL-18 水平呈显著的正相关($r=0.583, P<0.05$);预后不良组与预后良好组比较,年龄、是否合并高血压、糖尿病、冠心病、疾病严重程度、是否破入脑室、出血量及 miR-141-3p、IL-18 水平差异具有统计学意义($t/\chi^2=2.106, 5.945, 5.988, 4.353, 19.669, 6.707, 4.130, 7.659, 7.405, P<0.05$);多因素分析结果显示,合并高血压、疾病越严重、miR-141-3p 水平降低、IL-18 水平升高为老年脑出血患者预后不良独立危险因素($P<0.05$);ROC 曲线结果显示,miR-141-3p、IL-18 及两项联合评估的 AUC 分别为 0.900、0.825 及 0.960($P<0.05$)。结论 miR-141-3p、IL-18 与老年脑出血患者病情严重程度及预后密切相关,且 miR-141-3p、IL-18 与联合检测对老年脑出血患者预后具有良好的评估效能。

[关键词] miR-141-3p; 白细胞介素-18; 脑出血

Correlation between miR-141-3p and IL-18 and the severity of disease and prognosis in elderly patients with cerebral hemorrhage

YUAN Lei^{1*}, WANG Kemiao², SUN Ningtao³

(1. Department of Neurology, Qingdao Chengyang District People's Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266109; 2. Department of Cardiology, Qingdao Chengyang District People's Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266109; 3. Department of Gerontology, Qingdao Chengyang District People's Hospital, Qingdao, Shandong, China, 266109)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the correlation between miR-141-3p and interleukin-18 (IL-18) and the severity and prognosis of senile patients with cerebral hemorrhage. **Methods** Clinical data from 116 elderly patients with cerebral hemorrhage treated at Chengyang District People's Hospital in Qingdao City from January 2021 to December 2022 were analyzed. The patients were divided into three groups based on disease severity: mild group ($n=51$), moderate group ($n=38$) and severe group ($n=27$). They were followed up for

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2016WS0290)

作者单位:1. 青岛市城阳区人民医院神经内科,山东,青岛 266109

2. 青岛市城阳区人民医院心内科,山东,青岛 266109

3. 青岛市城阳区人民医院老年病科,山东,青岛 266109

*通信作者:袁蕾, E-mail: yuanlei1411@163.com

6 months and categorized into either a good prognosis group ($n=79$) or a poor prognosis group ($n=37$). Thirty healthy volunteers were selected as a control group. The levels of *miR-141-3p* and IL-18 were compared between the control group and the mild, moderate and severe groups. The correlation between the levels of *miR-141-3p* and IL-18 and the severity of the disease was analyzed. The prognostic value of *miR-141-3p* and IL-18 levels in patients was assessed through single and multi-factor analysis. Furthermore, an ROC curve was generated to evaluate the prognostic value of the patients. **Results** Comparison of *miR-141-3p* levels: control group > mild group > moderate group > severe group; comparison of IL-18 levels: severe group > moderate group > mild group > control group ($F=116.151, 77.832, P<0.05$). Spearman analysis showed that disease severity was significantly negatively correlated with *miR-141-3p* ($r=-0.668, P<0.05$), and positively correlated with IL-18 ($r=0.583, P<0.05$). Compared with the poor prognosis group and the good prognosis group, there were significant differences in age, whether patients were combined with hypertension, diabetes, coronary heart disease, severity of disease, whether patients had ventricular rupture, blood loss, and *miR-141-3p* and IL-18 levels ($t/\chi^2=2.106, 5.945, 5.988, 4.353, 19.669, 6.707, 4.130, 7.659, 7.405, P<0.05$). The results of multi-factor analysis showed that hypertension, more severe disease, decreased *miR-141-3p* level and increased IL-18 level were independent risk factors for poor prognosis in elderly patients with cerebral hemorrhage ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the AUC of *miR-141-3p*, IL-18 and the two combined evaluations were 0.900, 0.825 and 0.960, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** *miR-141-3p* and IL-18 are closely related to the severity and prognosis of elderly patients with cerebral hemorrhage. The combined detection of *miR-141-3p* and IL-18 shows good efficacy in evaluating the prognosis of elderly patients with cerebral hemorrhage.

[KEY WORDS] *miR-141-3p*; Interleukin-18; Cerebral hemorrhage

脑出血是指非外伤性的脑实质出血,因起病急、病情进展快,导致该疾病的致残率及死亡率十分高,病死率高达30~40%,其中老年群体是该疾病的发病主体,老年患者占全部患者的40%^[1]。脑出血与年龄、吸烟和酗酒等危险因素有关,但其确切的发病机制尚不清楚。为了制定合理的治疗计划、提高患者的生活水平,快速准确地评估脑出血的预后至关重要。其中*miR-141-3p*的表达可减轻脑组织多造成的病理性损伤,对脑组织起到一定的保护作用^[2]。白细胞介素-18(interleukin, IL-18)参与炎症反应而损伤脑组织^[3]。可说明两者可能与脑出血病情及预后存在一定的相关性,因此本研究就血清*miR-141-3p*与IL-18水平在老年脑出血患者病情严重程度及预后相关性进行分析,报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

分析2021年1月至2022年12月于青岛市城阳区人民医院接受治疗的老年脑出血患者116例作为研究对象。患者纳入标准:①患者发病后12 h内入院,并依据《中国脑出血诊治指南2019》^[4]确诊为脑出血;②年龄60~85岁;③临床资料完整;④患者或其家属均对本研究知情同意。排除标准:①因脑外伤、脑动脉畸形、颅内

动脉破裂等导致的脑出血;②合并恶性肿瘤、凝血功能障碍等;③心脏、肝、肾等重要脏器功能障碍;④存在既往颅脑手术史;⑤认知功能障碍无法配合评估者。对照组纳入同期于本院体检相对健康者30名。老年脑出血患者:性别男54例,女62例,年龄平均(70.03±8.77)岁,体质指数(body mass index, BMI)平均(23.35±3.17)kg/m²;对照组:性别男16名,女14名,年龄平均(69.22±4.32)岁, BMI平均(23.12±3.21)kg/m²。疾病严重程度依据神经功能缺损(neurological deficit score, NIHSS)评分^[5]评估;随访6个月,预后根据格拉斯哥预后(glasgow outcome scale, GOS)评分^[6]评估。本研究已通过本院伦理委员会审查,伦理编号:2016017。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

从医院病历管理系统收集患者NIHSS评分、GOS评分、性别、年龄、BMI、吸烟、饮酒、高血压、糖尿病、冠心病、出血部位、疾病严重程度、破入脑室、出血量、手术方式等资料。

1.2.2 实验室指标检测

术后48 h采集患者空腹静脉血5 mL,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。

采用酶联免疫吸附法检测 IL-18 水平,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,操作严格按照试剂盒说明书进行。

采用 RT-PCR 检测 *miR-141-3p* 表达量,依据 Genbank 数据库达标的基因序列,应用 Primer Express 软件内参与上述蛋白的引物及荧光探针。在 PCR 反应中加入引物和探针,PCR 在条件 95°C 15 s、51°C 15 s、72°C 45 s 扩增 40 循环,参照公式 = $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算基因表达量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 版本统计学软件进行数据分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,比较用 χ^2 检验;计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组比较用 F 检验,进一步两两比较 snk-q 检验,两组间比较用独立样本 t 检验;采用 Spearman 分析法分析相关性;多因素分析采用 Logistic 回归分析;ROC 曲线验证评估效能; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 *miR-141-3p*、IL-18 水平比较

各组 *miR-141-3p* 水平比较:对照组>轻度组>中度组>重度组,差异有统计学意义($P < 0.05$),各组 IL-18 水平比较:重度组>中度组>轻度组>对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组 *miR-141-3p*、IL-18 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of *miR-141-3p* and IL-18 levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>miR-141-3p</i>	IL-18 (ng/L)
对照组	30	2.61±0.84	77.00±18.67
轻度组	51	1.20±0.42 ^a	186.36±42.35 ^a
中度组	38	0.70±0.24 ^{ab}	237.79±92.40 ^{ab}
重度组	27	0.53±0.16 ^{abc}	354.09±100.41 ^{abc}
<i>F</i> 值		116.151	77.832
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:和对照组比较,^a $P < 0.05$;和轻度组比较,^b $P < 0.05$;和中度组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 患者 *miR-141-3p*、IL-18 水平与疾病严重程度相关性分析

采用 Spearman 分析法分析结果显示,患者疾病严重程度与 *miR-141-3p* 呈显著的负相关($r = -0.668, P = 0.000$),与 IL-18 水平呈显著的正相关($r = 0.583, P = 0.000$)。

2.3 影响老年脑出血患者预后单因素分析

预后不良组与预后良好组比较,年龄、是否合

并高血压、糖尿病、冠心病、疾病严重程度、是否破入脑室、出血量及 *miR-141-3p*、IL-18 水平差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 影响老年脑出血患者预后单因素分析 [$n(\%), (\bar{x} \pm s)$]

Table 2 Single factor analysis of prognosis in elderly patients with cerebral hemorrhage [$n(\%), (\bar{x} \pm s)$]

项目	预后不良组 (<i>n</i> =37)	预后良好组 (<i>n</i> =79)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别				
男	15(40.54)	39(49.37)	0.789	0.374
女	22(59.46)	40(50.63)		
年龄(岁)	72.19±7.81	69.03±7.40	2.106	0.037
BMI(kg/m ²)	23.22±3.31	23.56±2.74	0.582	0.562
吸烟				
否	14(37.84)	45(56.96)	3.687	0.055
是	23(62.16)	34(43.04)		
饮酒				
否	25(67.57)	38(48.10)	3.355	0.067
是	12(32.43)	39(49.37)		
高血压				
否	16(43.24)	53(67.09)	5.945	0.015
是	21(56.76)	26(32.91)		
糖尿病				
否	13(35.14)	47(59.49)	5.988	0.014
是	24(64.86)	32(40.51)		
冠心病				
否	12(32.43)	42(53.16)	4.353	0.037
是	25(67.57)	37(46.84)		
出血部位				
皮质	12(32.43)	26(32.91)	1.460	0.692
基底节	11(29.73)	24(30.38)		
丘脑	9(24.32)	13(16.46)		
小脑	5(13.51)	16(20.25)		
疾病严重程度				
轻度	5(13.51)	39(49.37)	19.669	0.000
中度	13(35.14)	27(34.18)		
重度	19(51.35)	13(16.46)		
破入脑室				
否	12(32.43)	46(58.23)	6.707	0.010
是	25(67.57)	33(41.77)		
出血量(mL)				
≤30	16(43.24)	50(63.29)	4.130	0.042
>30	21(56.76)	29(36.71)		
手术方式				
小骨窗开颅术	16(43.24)	30(37.97)	0.612	0.736
骨瓣开颅血肿清除术	11(29.73)	22(27.85)		
脑室外引流术	10(27.03)	27(34.18)		
<i>miR-141-3p</i>	0.51±0.18	1.05±0.41	7.659	0.000
IL-18(ng/L)	325.89±105.41	203.09±70.72	7.405	0.000

2.4 老年脑出血患者预后不良影响因素 Logistic 回归分析

将表 2 中具有统计学意义因素纳入 Logistic 回归分析,结果显示,合并高血压、疾病越严重、*miR-141-3p* 水平降低、IL-18 水平升高为老年脑出血患者预后不良独立危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

表3 老年脑出血患者预后不良影响因素 Logistic 回归分析

Table 4 Logistic regression analysis of adverse prognostic factors in elderly patients with cerebral hemorrhage

因素	β 值	S.E 值	Wals 值	OR 值	95% CI	P 值
年龄(连续变量)	0.060	0.076	0.619	1.062	0.914~1.233	0.431
高血压(否=1,是=2)	3.047	1.368	4.965	21.063	1.443~307.412	0.026
糖尿病(否=1,是=2)	-0.813	1.233	0.435	0.444	0.040~4.969	0.510
冠心病(否=1,是=2)	1.102	1.384	0.634	3.009	0.200~45.328	0.426
疾病严重程度(轻度=1,中度=2,重度=3)	1.751	0.756	5.360	5.760	1.308~25.359	0.021
破入脑室(否=1,是=2)	1.675	1.106	2.295	5.339	0.611~46.619	0.130
出血量(≤ 30 mL=1, > 30 mL=2)	2.361	1.290	3.348	10.602	0.845~132.985	0.067
<i>miR-141-3p</i> (连续变量)	-9.797	3.047	10.339	0.000	0.000~0.022	0.001
IL-18(连续变量)	0.023	0.008	8.234	1.023	1.007~1.039	0.004
常量	-18.544	8.890	4.351	0.000		0.037

2.5 老年脑出血患者预后评估 ROC 曲线

ROC 曲线结果显示, *miR-141-3p*、IL-18 及两项联合评估的 AUC 分别为 0.900、0.825 及 0.960, 联合评估效能优于单一检测 ($P < 0.05$)。见表 4、图 1。

表 4 老年脑出血患者预后评估 ROC 曲线结果

Table 5 ROC curve results for prognosis evaluation of elderly patients with cerebral hemorrhage

变量	AUC	标准误	敏感度	特异性	95% CI	P 值
<i>miR-141-3p</i>	0.900	0.029	0.811	0.772	0.844~0.956	0.000
IL-18	0.825	0.045	0.784	0.747	0.738~0.913	0.000
联合评估	0.960	0.017	0.892	0.924	0.926~0.993	0.000

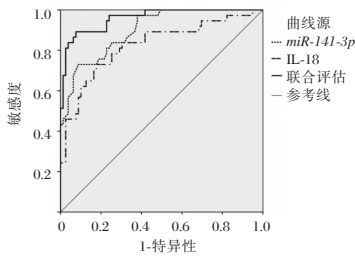


图 1 ROC 曲线图

Figure 1 The ROC curve

3 讨论

脑出血患者占有所有中风患者的 6.5%~19.6%, 而老年患者是高发人群^[7]。随着人口老龄化的发展, 脑出血的发病率也随之上升, 尽管在脑出血的治疗与护理方面取得了许多进展, 但该疾病仍然是最具有毁灭性的脑血管疾病亚型, 具有极高的致残率和死亡率。相关研究表明, 脑出血患者 1 年存活率约为 40%, 且随着年龄的增长, 30 d 死亡风险随之增加^[8]。miRNA 是内源性非编码小 RNA, 具有调节细胞代谢、增殖、凋亡及器官发育等生理、病理过程, 并具有调节极化炎症反应的功能, 和脑出血缓和神经炎症反应密切相关^[9]。

本研究比较健康对照组与轻、中、重度脑出血老年患者 *miR-141-3p*、IL-18 水平, 结果显示患者 *miR-141-3p* 水平低于对照组, 并随着病情严重程度水平降低, 而 IL-18 则相反, 表明 *miR-141-3p* 水平的升高对患者具有保护作用, 而 IL-18 水平的升高则加重患者病情, 对患者预后具有不良影响。Yu 等^[10] 研究显示, *miR-141-3p* 可通过高迁移率族蛋白质 B1 的水平起到抑制 IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等炎症因子的表达, 起到缓解炎症反应的作用, 以减少机体细胞凋亡与坏死。而上调 *miR-141-3p* 水平, 则使转录与转录激活因子-4 (activating transcription factor-4, ATF4) 的表达受到抑制, 抑制因炎症反应介导的神经损伤, 保护患者神经功能^[11], 从而减缓患者疾病的进展。IL-18 作为白细胞家族的成员, 其可促进脑组织损伤与功能障碍, 主要通过影响其下游单核细胞的浸润而发挥作用。有研究表明, 脑出血患者 IL-18 的表达显著上升, 下游核因子 κ B 被激活, 患者脑组织受到炎性破坏^[12], 因此脑出血患者 IL-18 的水平上升可加速疾病的进展。相关研究表明, *miR-141-3p* 通过降解其下游靶基因, 抑制其蛋白质合成, 调控相关通路活性, 从而抑制炎症因子反应, 包括 IL-18 等炎症因子, 从而起到抑制疾病病情的发展^[13]。

本研究对老年脑出血患者预后影响因素进行分析, 结果显示, 合并高血压、疾病越严重、*miR-141-3p* 水平降低、IL-18 水平升高为老年脑出血患者预后不良独立危险因素; 同时绘制预测预后情况的 ROC 曲线, 结果显示, *miR-141-3p*、IL-18 及两项联合评估均具有良好的评估效能, 且联合评估效能优于单项。患者 *miR-141-3p* 水平升高缓解病情的进展、IL-18 水平升高则促进病情的进展, *miR-141-3p*、IL-18 水平为老年脑出血患者预后

的影响因素,且可作为脑出血患者预后的预测指标,二者联合应用比单项更加的全面与准确。

综上所述,*miR-141-3p*、*IL-18*与老年脑出血患者病情严重程度及预后密切相关,且*miR-141-3p*、*IL-18*与两项联合检测对老年脑出血患者预后具有良好的评估效能,并助于及时实施有效的诊疗策略,以期最大限度使患者预后得到改善。

参考文献

- [1] 张人菁,黄焰霞,邓云新,等.老年脑出血开颅术后不同类型病原菌颅内感染对脑脊液NSE、NLRP3、HBP水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(1):23-27.
- [2] 刘晓雨,吕涌涛,赵修敏,等.血清miR-27a-3p与miR-141-3p在老年高血压性脑出血患者中的表达及其与预后的关系[J].国际老年医学杂志,2023,44(4):403-407.
- [3] 李改,胡兵,张会敏.瘦素、IL-18、NLRP3与高血压性脑出血严重程度、预后的关系及其在预后评估中的价值[J].实用医学杂志,2020,36(5):628-633.
- [4] 邓里娜,吴波.《中国脑出血诊治指南2019》更新要点及解读[J].心脑血管病防治,2021,21(1):13-17+34.
- [5] 全国第四届脑血管病学术会议.脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995)[J].中华神经科杂志,1996,(6):62-64.
- [6] McMillan T, Wilson L, Ponsford J, et al. The Glasgow Outcome Scale - 40 years of application and refinement[J]. Nat Rev Neurol, 2016,12(8):477-85.
- [7] Zhang T, Chen R, Wen D, et al. The prognostic value of the Charlson comorbidity index in aged patients with intracerebral hemorrhage[J]. BMC Neurol, 2022,22(1):443.
- [8] van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, et al. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Neurol, 2010,9(2):167-76.
- [9] 臧雪凤,史明语,王礼玲.高血压性脑出血患者血清miR-141-3p、miR-29a-3p水平变化及临床意义[J].山东医药,2022,62(4):16-21.
- [10] Yu M, Tian T, Zhang J, et al. miR-141-3p protects against blood-brain barrier disruption and brain injury after intracerebral hemorrhage by targeting ZEB2[J]. J Clin Neurosci, 2022,99:253-260.
- [11] 王久吉,郭红民,赵海洋,等.血清微RNA预测非创伤性脑出血早期神经功能恶化的价值分析[J].华西医学,2023,38(5):704-709.
- [12] 徐磊,古红香,李兴义,等.IL-18、NLR和NLRP3水平与高血压性脑出血严重程度及预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(10):1765-1769.
- [13] 许刚,张长春,朱坤,等.miR-141-3p对腰椎间盘突出症大鼠背根神经节炎症及下肢疼痛的抑制和改善作用[J].中国组织工程研究,2024,28(16):2593-2598.
- [2] Pagliaro BR, Cannata F, Stefanini GG, et al. Myocardial ischemia and coronary disease in heart failure[J]. Heart Fail Rev, 2020,25(1):53-65.
- [3] Rush CJ, Berry C, Oldroyd KG, et al. Prevalence of coronary artery disease and coronary microvascular dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction[J]. JAMA Cardiol, 2021,6(10):1130-1143.
- [4] 裴之海.卡维地洛联合坎地沙坦对慢性心力衰竭合并心房颤动患者的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2020,36(4):397-399.
- [5] 张丽娟,靳志涛,张铮,等.沙库巴曲缬沙坦联合美托洛尔治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病合并心力衰竭临床评价[J].中国药业,2021,30(1):48-51.
- [6] 纪焕春,姚福梅,王霞,等.沙库巴曲缬沙坦联合琥珀酸美托洛尔治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病合并慢性心力衰竭的疗效[J].国际心血管病杂志,2021,48(6):380-382.
- [7] 国家卫生计生委合理用药专家委员会,中国药师协会.冠心病合理用药指南(第2版)[J].中国医学前沿杂志(电子版),2018,10(6):135-136
- [8] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编委委员会.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.
- [9] 孙明,王蔚文.临床疾病诊断及疗效判定标准[M].北京:中国科学技术文献出版社,2010:69-72.
- [10] Ko T, Nomura S, Yamada S, et al. Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via htra3-tgf- β -igfbp7 axis[J]. Nat Commun, 2022,13(1):3275-3275.
- [11] 刘杰.坎地沙坦对冠心病心力衰竭患者心室重塑及心功能的影响[J].中国现代药物应用,2021,15(19):117-119.
- [12] 姜红峰,杜艳华,黄蔡华.沙库巴曲缬沙坦对老年慢性心力衰竭患者左心室重构和生活质量的影响[J].中华老年心脑血管病杂志,2022,24(3):251-254.
- [13] 王丽丽,刘英华,谢明,等.老年慢性心力衰竭患者血清miR-370-3p、p-STAT3水平及其与心功能、心室重构的关系[J].国际检验医学杂志,2023,44(18):2287-2290.
- [14] Rabkin SW, Tang JKK. The utility of growth differentiation factor-15, galectin-3, and sst2 as biomarkers for the diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction and compared to heart failure with reduced ejection fraction: a systematic review[J]. Heart Fail Rev, 2021,26(4):799-812.
- [15] 田瑞兆,张春林,杨鹏,等.沙库巴曲缬沙坦联合美托洛尔对冠心病慢性心力衰竭患者心功能及血清sST2、Ang II、IGFBP7水平的影响[J].川北医学院学报,2022,37(1):59-62.

(上接第475页)

瓣膜置换联合冠脉旁路移植术对冠心病并瓣膜疾病患者血清IL-17、IL-6及BNP水平的影响

刘怡雪* 王海彦 李少珂

[摘要] **目的** 探讨瓣膜置换联合冠脉旁路移植术对冠心病并瓣膜疾病患者血清白细胞介素-17 (IL-17)、白细胞介素-6 (IL-6) 及脑钠肽 (BNP) 水平的影响。**方法** 选取2021年2月至2022年1月郑州市第七人民医院收治的冠心病并瓣膜疾病患者78例,根据手术方式的不同分为对照组38例(予冠脉旁路移植术治疗)与试验组40例(予冠脉旁路移植术+瓣膜置换术治疗)。比较两组患者临床疗效、术后恢复情况、心功能[左心室射血分数(LVEF)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、心胸比]、炎症因子[IL-17、IL-6]、心衰因子[心钠肽(ANP)、BNP]及不良事件发生情况。**结果** 试验组临床总有效率(95.00%)比对照组临床总有效率(78.95%)高,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组住院时间、呼吸机应用时间、ICU监护时间相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。术后3个月,试验组LVEDD、心胸比较对照组低,LVEF比对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后3个月,两组IL-6、IL-17水平均下降,且试验组比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后3个月,两组ANP、BNP水平均下降,且试验组比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良事件总发生率相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 对冠心病并瓣膜患者进行冠脉旁路移植术+瓣膜置换术治疗具有良好的临床疗效,可有效降低患者血清IL-6、IL-17、BNP水平,改善其心功能,具有一定安全性。

[关键词] 冠心病并瓣膜疾病;瓣膜置换术;冠脉旁路移植术;IL-17;IL-6;BNP

Effects of valve replacement combined with coronary artery bypass grafting on serum IL-17, IL-6 and BNP levels in patients with coronary artery disease and valvular disease

LIU Yixue*, WANG Haiyan, LI Shaoke

(Department of Cardiac Surgery, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of valve replacement combined with coronary artery bypass grafting on serum interleukin-17 (IL-17), interleukin-6 (IL-6) and brain natriuretic peptide (BNP) levels in patients with coronary artery disease and valve disease. **Methods** A total of 78 patients with coronary heart disease and valvular disease were admitted to Zhengzhou Seventh People's Hospital from February 2021 to January 2022. They were divided into two groups: 38 cases in the control group (treated with coronary artery bypass grafting) and 40 cases in the experimental group (treated with coronary artery bypass grafting + valve replacement), based on the difference in surgical methods. The clinical efficacy, postoperative recovery, cardiac function [left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), cardiothoracic ratio], inflammatory factors [IL-17, IL-6], heart failure factors [atrial natriuretic peptide (ANP), BNP], and cardiofibrillation factors (CFF) were compared between the two groups. **Results** The total clinical effectiveness rate of the test group (95.00%) was higher than that of the control group (78.95%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There were no significant differences

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20220843)

作者单位:郑州市第七人民医院心外科,河南,郑州 450000

*通信作者:刘怡雪, E-mail:15237178751@163.com

es in hospitalization time, ventilator application time and ICU monitoring time between the two groups ($P > 0.05$). Three months postoperatively, the test group had lower LVEDD and cardiothoracic ratio compared to the control group, while LVEF was higher in the test group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Additionally, levels of IL-6 and IL-17 decreased in both groups after 3 months, with lower levels in the test group than the control group, showing statistical significance ($P < 0.05$). Furthermore, ANP and BNP levels decreased in both groups at 3 months postoperatively, with lower levels in the test group compared to the control group, which was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the total incidence of adverse events between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Coronary artery bypass grafting + with valve replacement for patients with coronary artery disease and valves issues has shown good clinical efficacy. It can effectively reduce patients' serum levels of IL-6, IL-17, and BNP, improve their cardiac function, and has a certain degree of safety.

[KEY WORDS] Coronary artery disease with valve disease; Valve replacement; Coronary artery bypass grafting; IL-17; IL-6; BNP

冠心病是临床常见的一种心血管疾病,近年数据显示该疾病发病率约达 12.3%^[1]。瓣膜疾病是冠心病常见的并发症,易对患者心脏功能造成影响,严重影响患者的健康和生命。目前,临床对于冠心病并瓣膜疾病常采取手术进行治疗,其中包括冠脉旁路移植术、瓣膜置换术、冠脉旁路移植术+瓣膜置换术等^[2]。临床发现,冠脉旁路移植术+瓣膜置换术可有效改善患者心肌缺血情况、心功能,较单一冠脉旁路移植术或瓣膜置换术疗效更佳^[3]。既往有研究证明,冠心病并瓣膜疾病可引发机体的炎症反应,白细胞介素-17(Interleukin-17, IL-17)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)作为常见的炎症因子,可能参与了冠心病、心脏瓣膜疾病的发生、发展^[4]。脑钠肽(Brain Natriuretic Peptide, BNP)是一种心脏标志物,临床常用于诊断和监测心脏疾病,BNP水平的升高提示冠心病并瓣膜疾病患者可能存在心肌损伤^[5]。本文旨在探讨瓣膜置换联合冠脉旁路移植术对冠心病并瓣膜疾病患者血清 IL-17、IL-6 及 BNP 水平的影响,现报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取 2022 年 2 月至 2023 年 1 月郑州市第七人民医院收治的冠心病并瓣膜疾病患者 78 例,根据手术方式的不同分为对照组 38 例(予冠脉旁路移植术治疗)与试验组 40 例(予冠脉旁路移植术+瓣膜置换术治疗)。其中试验组男 21 例,女 19 例,平均年龄(63.52 ± 7.63)岁,心功能分级:Ⅱ 10 例,Ⅲ 22 例,Ⅳ 8 例;对照组男 20 例,女 18 例,平均年龄(63.62 ± 7.56)岁,心功能分级:Ⅱ 9 例,Ⅲ 21 例,Ⅳ 8 例。两组临床实验资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

本研究已通过院医学伦理委员会批准。

纳入标准:①经临床、影像学检查确诊为冠心病并瓣膜疾病;②符合瓣膜置换术和冠脉旁路移植术指征;③临床资料齐全;④患者及其家属知晓研究且签署知情同意书;排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②患有精神障碍,无法进行交流者;③肝、肾功能不全者;④患有先天性和退行性心脏瓣膜病变;⑤既往有心脏手术史者。

1.2 方法

对照组:予冠脉旁路移植术治疗^[6]。

试验组:予冠脉旁路移植术+瓣膜置换术治疗^[7]。

1.3 观察指标

1.3.1 两组临床疗效比较

显效:患者临床表现、体征基本消失,心功能分级上升 >2 级;有效:患者临床表现、体征有所减轻,心功能分级上升 >1 级;无效:患者临床表现无缓解或有所加重,心功能分级无改变。总有效=显效率+有效率^[8]。

1.3.2 两组术后恢复情况比较

观察并记录两组住院时间、呼吸机应用时间、重症加强护理病房(Intensive Care Unit, ICU)监护时间。

1.3.3 两组心功能比较

采用心脏彩超检查术前和术后 3 个月患者的心功能指标,包括左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、心胸比。

1.3.4 两组炎症因子比较

抽取患者术前和术后 3 个月晨起空腹静脉血

5 mL, 静置 30 min, 离心 (3 000 r/min, 10 min, 离心半径为 9 cm), 取上清置于 -20℃ 环境待检, 采用酶联免疫吸附法检测血清 IL-6、IL-17、BNP 水平, 仪器采用全自动酶标分析仪 (型号: BIO-RAD Model680), 试剂盒由北京拜尔迪生物技术有限公司所提供。

1.3.5 两组心衰因子比较

抽取患者术前和术后 3 个月晨起空腹静脉血 5 mL, 静置 30 min, 离心 (3 000 r/min, 10 min, 离心半径为 9 cm), 取上清置于 -20℃ 环境待检, 采用酶联免疫吸附法检测血清心钠肽 (atrial natriuretic peptide, ANP)、BNP 水平, 仪器采用全自动酶标分析仪 (型号: BIO-RAD Model680), 试剂盒由广东虹业抗体科技有限公司所提供。

1.3.6 两组不良事件发生情况比较

采用上门等方式进行随访, 随访时间截止至 2022 年 11 月, 不良事件包含桥血管再狭窄、瓣周漏、心绞痛复发。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析数据, 计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 使用 t 检验; 计数数据用 $n(\%)$ 表示, 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

试验组临床总有效率 (95.00%) 比对照组临床总有效率 (78.95%) 高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组术后恢复情况比较

两组住院时间、呼吸机应用时间、ICU 监护时间相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 两组心功能比较

术后 3 个月, 试验组 LVEDD、心胸比较对照组低, LVEF 比对照组高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

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	总有效率
对照组	38	14 (36.84)	16 (42.11)	8 (21.05)	30 (78.95)
试验组	40	20 (50.00)	18 (45.00)	2 (5.00)	38 (95.00)
χ^2 值					4.493
P 值					0.341

表 2 两组术后恢复情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	住院时间 (d)	呼吸机应用时间 (h)	ICU 监护时间 (d)
对照组	38	15.32±1.64	10.68±0.51	2.67±1.67
试验组	40	15.24±1.55	10.57±0.42	2.52±1.48
t 值		0.221	1.043	0.420
P 值		0.825	0.301	0.675

2.4 两组炎症因子比较

术后 3 个月, 两组 IL-6、IL-17 水平均下降, 且试验组比对照组低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	IL-6 (ng/mL)		IL-17 (ng/mL)	
		术前	术后 3 个月	术前	术后 3 个月
对照组	38	32.28±6.44	18.33±4.78 ^a	14.72±1.20	12.38±1.13 ^a
试验组	40	32.79±6.18	10.62±3.49 ^a	14.69±1.15	10.34±0.95 ^a
t 值		0.356	8.165	0.113	8.646
P 值		0.722	<0.001	0.911	<0.001

注: 与同组术前相比, ^a $P < 0.05$ 。

2.5 两组心衰因子比较

术后 3 个月, 两组 ANP、BNP 水平均下降, 且试验组比对照组低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

2.6 两组不良事件发生情况比较

两组不良事件总发生率相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 6。

表 3 两组心功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	LVEF (%)		LVEDD (mm)		心胸比	
		术前	术后 3 个月	术前	术后 3 个月	术前	术后 3 个月
对照组	38	46.53±3.46	48.33±3.18 ^a	53.27±3.79	47.45±3.38 ^a	0.65±0.26	0.60±0.22
试验组	40	46.68±3.33	51.89±3.45 ^a	53.58±3.34	44.56±2.62 ^a	0.64±0.25	0.50±0.19 ^a
t 值		0.195	4.732	0.384	4.233	0.173	2.152
P 值		0.845	<0.001	0.702	<0.001	0.863	0.035

注: 与同组术前相比, ^a $P < 0.05$ 。

表5 两组心衰因子比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of heart failure factors between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ANP(pg/mL)		BNP(pg/mL)	
		术前	术后3个月	术前	术后3个月
对照组	38	682.36±20.85	237.27±12.19 ^a	495.88±112.80	193.05±30.98 ^a
试验组	40	682.11±20.54	153.42±10.13 ^a	505.49±99.58	149.02±27.54 ^a
t值		0.356	8.165	0.631	10.482
P值		0.722	<0.001	0.529	<0.001

注:与同组术前相比,^aP<0.05。

表6 两组术后不良事件发生情况比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of postoperative adverse events between the two groups [n(%)]

组别	n	桥血管再狭窄	瓣周漏	心绞痛复发	总发生率
对照组	38	2(5.26)	0(0.00)	1(2.63)	3(7.89)
试验组	40	1(2.50)	1(2.50)	1(2.50)	3(7.50)
χ ² 值					0.004
P值					0.948

3 讨论

冠心病和心脏瓣膜两种疾病合并会使得病情加重,常需要进行手术治疗。瓣膜置换联合冠脉旁路移植术是治疗冠心病并瓣膜患者的有效治疗手段,可改善其心脏功能,维持心肌血液供应,使其寿命得到延长^[9]。周朝元等^[10]研究显示,心脏瓣膜病患者行心脏瓣膜术联合冠状动脉旁路移植术具有良好的临床疗效^[11]。本研究结果显示:试验组临床总有效率比对照组高,说明联合术式治疗疗效优于冠脉旁路移植术单一治疗,与上述周朝元等研究结果一致。分析原因:与单一冠脉旁路移植术治疗方式比较,瓣膜置换术可恢复患者心脏瓣膜的正常功能,改善其心脏血流动力学,减少其心脏负担,有助于改善患者心脏功能,疗效更佳。再而,试验组同时进行冠脉旁路移植术和瓣膜置换术,避免二次开胸,降低了手术风险,可加快术后恢复,且联合手术治疗有缩短阻断主动脉时间优势,可缩短手术时间,确保预后良好^[12]。

BNP、ANP是反映心脏功能状态的重要标志,检测BNP、ANP水平有助于了解患者心功能状况。BNP是由心肌细胞合成,心肌受到损伤时其分泌随之增高,临床常将其应用于心脏方面疾病检查^[11]。文献报道,炎症反应在冠状动脉粥样硬化发生、发展中有重要作用,通过了解炎症介质和细胞在心脏瓣膜病中的作用,可为诊断和治疗该疾病提供方法^[13]。IL-6是与炎症相关最为典型的

细胞因子,其水平的升高可能与动脉粥样硬化和斑块不稳定相关;IL-17是促炎症细胞因子,主要由Th17细胞产生,其在诸多心血管疾病患者中呈高表达状态^[14]。当前,国内学者认为IL-6、IL-17在冠心病和心脏瓣膜疾病的发病过程中发挥了重要作用^[15]。本研究结果显示:试验组术后3个月IL-6、IL-17、BNP水平比对照组低。究其原因,冠脉旁路移植术可绕过冠状动脉狭窄部位,给心肌提供充足的血液供应,降低了心肌坏死、缺血发生,有利于改善心肌细胞功能,减轻心脏负担,降低心室壁张力,减少BNP分泌;而联合瓣膜置换术可使心脏瓣膜异常得到纠正,恢复心脏瓣膜正常功能,减少心室压力、负荷,利于降低IL-6、IL-17等炎症因子分泌,减轻心肌细胞受损和炎症反应。LVEDD、LVEF、心胸比变化可评估患者心脏受损程度^[16]。联合术式在手术中,医生会根据病变血管情况,选择合适再血管化方法,减少了心肌坏死,改善了心肌缺血,提高了心功能。进一步研究显示,两组不良事件总发生率比较差异无统计学意义,结果提示上述两种药物联合使用安全性良好。

综上所述,对冠心病并瓣膜患者行冠脉旁路移植术+瓣膜置换术治疗具有良好的临床疗效,可有效降低患者血清IL-6、IL-17、BNP水平,改善其心功能,具有一定安全性。

参考文献

- [1] 博文,周佳卫,邹程,等. 冠状动脉旁路移植术复合二尖瓣手术治疗中度至重度缺血性二尖瓣关闭不全的近期疗效分析[J]. 中国心血管病研究, 2022, 20(2): 148-153.
- [2] 安涛,杨研,乔树宾,等. 心脏瓣膜置换同期行冠状动脉旁路移植术后老年患者桥血管通畅情况观察[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2020, 20(1): 3205-3208.
- [3] Jia-You, TANG, Yang, et al. A novel case of transcatheter mitral valve-in-valve replacement using Mi-thos~(TM) system[J]. J Geriatr Cardiol, 2020, 17(4): 55-59.

(下转第489页)

胃功能三项及NLR、CEA联合检测对胃溃疡良恶性的诊断价值分析

张磊^{1*} 吴军² 李宏伟¹ 程磊¹ 陈筠¹

[摘要] 目的 分析研究胃功能三项[胃蛋白酶原 I (PG I)、胃蛋白酶原 II (PG II)、胃蛋白酶原比值(PGR)]及中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、癌胚抗原(CEA)联合检测对胃溃疡良恶性的诊断价值。方法 选取2020年1月至2022年11月淮南朝阳医院收治的胃溃疡患者为研究对象,将其命名为胃溃疡组($n=100$),另选同期在本院体检的健康人群为对照组($n=60$)。比较两组外周血 PG I、PG II、PGR、NLR 及 CEA 水平;根据内镜与病理检查结果,将胃溃疡组患者分为良性组($n=76$)与恶性组($n=24$)。采用多因素 logistics 回归分析胃溃疡恶性病变的影响因素;绘制 ROC 曲线分析外周血 PG I、PG II、PGR、NLR、CEA 对胃溃疡恶性病变的预测价值。结果 胃溃疡组的 PG I、PGR 水平均低于对照组,差异均具有统计学意义($t=22.044, 35.045, P<0.05$);胃溃疡组的 PG II、NLR、CEA 水平均高于对照组,差异均具有统计学意义($t=17.810, 9.481, 29.557, P<0.05$);多因素 logistics 回归分析显示, Hp 感染阳性($OR=1.865$)、过量饮酒($OR=2.046$)、PG I 降低($OR=2.006$)、PG II 升高($OR=2.028$)、PGR 降低($OR=2.098$)、NLR 升高($OR=1.958$)以及 CEA 水平升高($OR=2.071$)均是胃溃疡恶性病变的独立危险因素($P<0.05$);ROC 曲线分析显示, PG I、PG II、PGR、NLR、CEA 及联合检测预测胃溃疡良恶性病变的曲线下面积(AUC)分别为 0.822、0.815、0.863、0.786、0.828、0.951,联合检测优于单一检测($P<0.05$)。结论 PG I、PG II、PGR 及 NLR、CEA 联合检测对胃溃疡良恶性病变具有一定的诊断价值。

[关键词] 胃溃疡;良恶性;胃功能三项;中性粒细胞/淋巴细胞比值;癌胚抗原

Analysis of the diagnostic value of three gastric function tests, and combined testing of NLR and CEA for benign and malignant gastric ulcers

ZHANG Lei^{1*}, WU Jun², LI Hongwei¹, CHENG Lei¹, CHEN Jun¹

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

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the diagnostic value of three gastric function tests [pepsinogen I (PG I), pepsinogen II (PG II), pepsinogen ratio (PGR), neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and carcinoembryonic antigen (CEA) in benign and malignant gastric ulcers. **Methods** Patients with gastric ulcers admitted to Huainan Chaoyang Hospital from January 2020 to November 2022 were selected as the study subjects and referred to as the gastric ulcer group ($n=100$). Healthy individuals who underwent physical examinations at our hospital during the same period were chosen as the control group ($n=60$). The levels of PG I, PG II, PGR, NLR and CEA in the peripheral blood were compared between the two groups. Based on the results of endoscopy and pathological examinations, patients with gastric ulcers were divided into a benign group ($n=76$) and a malignant group ($n=24$). The influencing factors of malignant lesions in gastric ulcers were analyzed using multi-factor logistics regression. An ROC curve was drawn to assess the predictive value of peripheral blood PG I, PG II, PGR, NLR and CEA for malignant lesions in gastric ulcers. **Results** The levels of PG I and PGR in

基金项目:安徽省重点研究和开发计划项目(1804h08020267)

作者单位:1.安徽省淮南市朝阳医院老年医学科,安徽,淮南 232000

2.安徽省淮南市朝阳医院消化内科,安徽,淮南 232000

*通信作者:张磊, E-mail:15395412265@163.com

the gastric ulcer group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=22.044, 35.045, P<0.05$). The levels of PG II, NLR and CEA in the gastric ulcer group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=17.810, 9.481, 29.557, P<0.05$). Multi-factor logistics regression analysis shows that positive Hp infection ($OR=1.865$), excessive alcohol consumption ($OR=2.046$), decreased PG I ($OR=2.006$), increased PG II ($OR=2.028$), decreased PGR ($OR=2.098$), increased NLR ($OR=1.958$), and increased CEA level ($OR=2.071$) were independent risk factors for malignant lesions of gastric ulcers ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of PG I, PG II, PGR, NLR, CEA, and combined detection in predicting benign and malignant lesions in gastric ulcers were 0.822, 0.815, 0.863, 0.786, 0.828, 0.951, respectively. The combined detection was better than single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of PG I, PG II, PGR, NLR and CEA has a certain diagnostic value for distinguishing between benign and malignant gastric ulcers.

[KEY WORDS] Gastric ulcer; Benign and malignant; Three tests of gastric function; Neutrophil/lymphocyte ratio; Carcinoembryonic antigen

胃溃疡是消化内科常见病,包括良性溃疡与恶性溃疡。目前临床鉴别良、恶性胃溃疡主要通过消化内镜镜下观察以及病理形态学观察,但仍存在病理活检与胃镜检查不相匹配的情况,而且内镜医师长时间工作容易导致注意力下降,导致恶性溃疡漏检误检^[1]。因此,寻找可靠的生物标志物,对辅助鉴别胃良恶性溃疡具有积极意义。胃功能三项能够反映胃黏膜形态和功能,是筛查胃癌早期病变的有效方式,包括胃蛋白酶原 I (Pepsinogen I, PG I)、胃蛋白酶原 II (Pepsinogen II, PG II) 以及胃蛋白酶原比值 (Pepsinogen ratio, PGR),已在临床中取得较好的应用效果^[2]。中性粒细胞/淋巴细胞比值 (Neutrophil/lymphocyte ratio, NLR) 是反映机体的免疫反应与炎症反应的敏感指标,能够反应机体生理应激和总体健康状况,对胃癌患者的病情进展与预后评估具有良好的效果^[3]。癌胚抗原 (Carcino embryonic antigen, CEA) 是临床筛查肿瘤的常用指标,在胃癌的早期辅助诊断具有重要作用^[4]。本研究通过分析 PG I、PG II、PGR 及 NLR、CEA 联合检测对胃溃疡良恶性的诊断价值。报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2020 年 1 月至 2022 年 11 月淮南朝阳医院收治的 100 例胃溃疡患者为研究对象,将其命名为胃溃疡组。纳入标准:①均符合胃溃疡的相关诊断标准^[5],存在上腹痛等相关症状,内镜检查结果显示有大小数目不等的溃疡面;②无消化道手术史;③临床基本资料完整。排除标准:①合并重

要脏器功能严重障碍;②合并恶性肿瘤;③合并感染性疾病或免疫性疾病;④近三个月内使用非甾体抗炎药、糖皮质激素等药物治疗。根据胃镜和病理检查结果^[5],将胃溃疡患者分为良性组 76 例与恶性组 24 例,另选同期在本院体检的 60 名健康人群为对照组。所有参与研究人员及家属均知情同意。本研究已获得医学伦理委员会批准。

1.2 相关指标检测

1.2.1 血清胃功能三项、NLR 及 CEA 检测

于清晨空腹状态下,采集所有受试者外周血 5 mL 置入乙二胺四乙酸抗凝管内充分混匀,离心力 $5\ 000 \times g$ 离心 10 min (半径 10 cm),留取上层血清置入 -40°C 低温环境保存待检。以酶联免疫吸附试验检测血清 PG I、PG II 及 CEA 水平,试剂盒购自北京美康生物技术研究中心,并进一步计算 PGR 数值, $PGR=PG\ I/PG\ II$ ^[2]。以迈瑞 BC-5180 型全自动血液细胞分析仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 进行检测得到中性粒细胞计数与淋巴细胞计数,并计算 NLR 数值, $NLR=$ 中性粒细胞计数/淋巴细胞计数^[3]。

1.2.2 幽门螺旋杆菌 (Helicobacter pylori, Hp) 检测

于清晨空腹状态下,对良性组与恶性组进行 Hp 检测。服用稳定核素 ^{13}C 标记的底物胶囊 (规格:75 mg/粒;批准文号:国药准字 H20110130;厂家:深圳市中核海得威生物科技有限公司) 1 粒。患者在服用胶囊 20 min 后进行呼气试验,以 YH04E 型 Hp 检测仪 (安徽养和医疗器械设备有限公司) 检测呼气样本。检测值 ≥ 4.0 提示 Hp 感染阳性^[6]。

1.3 调查方法

根据电子病例系统以及自制的调查问卷收集可能影响胃溃疡患者良恶性病变的相关因素,包括年龄、性别、身体质量指数(Body mass index, BMI)、既往病史、Hp感染情况、吸烟史、饮酒史以及血清PG I、PG II、PGR、NLR、CEA等相关信息。吸烟 ≥ 1 支/d表示有吸烟;饮酒 ≥ 1 次/周表示有饮酒,男性酒精摄入量 ≤ 25 g/d,女性 ≤ 15 g/d表示适量饮酒,男性 >25 g/d,女性 >15 g/d表示过量饮酒^[7]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 23.0统计学软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本 *t*

检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多因素 Logistic 回归分析相关影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析预测相关指标对评估模型的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃溃疡患者与健康人群的外周血PG I、PG II、PGR、NLR、CEA水平比较

胃溃疡组的PG I、PGR水平低于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);胃溃疡组的PG II、NLR、CEA水平均高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 胃溃疡患者与健康人群的外周血PG I、PG II、PGR、NLR、CEA水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of peripheral blood PG I, PG II, PGR, NLR and CEA levels between patients with gastric ulcer and healthy people ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PG I ($\mu\text{g/L}$)	PG II ($\mu\text{g/L}$)	PGR	NLR	CEA (ng/mL)
胃溃疡组	100	101.67 \pm 7.19	14.36 \pm 2.68	7.08 \pm 1.18	2.06 \pm 0.37	7.74 \pm 1.22
对照组	60	133.73 \pm 11.21	7.14 \pm 2.11	18.73 \pm 2.96	1.53 \pm 0.29	2.63 \pm 0.71
<i>t</i> 值		22.044	17.810	35.045	9.481	29.557
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 胃溃疡患者良恶性病变的单因素分析

单因素分析结果显示, Hp感染、饮酒史及外周血PG I、PG II、PGR、NLR、CEA水平均是胃溃疡患者良恶性病变的影响因素($P < 0.05$)。见表2。

2.3 胃溃疡患者良恶性病变的多因素 Logistic 回归分析

以胃溃疡患者是否恶性病变为因变量,收集的相关资料为自变量,进行 Logistic 回归分析。结果显示, Hp感染阳性、过量饮酒、PG I降低、PG II升高、PGR降低、NLR升高以及CEA水平升高均是胃溃疡恶性病变的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 PG I、PG II、PGR、NLR、CEA对胃溃疡恶性病变的预测价值

ROC曲线分析显示, PG I、PG II、PGR、NLR、CEA及联合检测评估胃溃疡恶性病变的曲线下面积(AUC)高于单一检测指标($P < 0.05$)。见表4、图1。

3 讨论

相关研究表明,胃溃疡的病情进展与胃癌密切相关,恶性胃溃疡会显著增加癌变的风险^[8]。因此,提高鉴别良恶性胃溃疡的敏感度,对患者的诊断治疗以及预防癌变具有积极意义。

胃蛋白酶原是一种消化性蛋白酶,能反映胃黏膜功能状态,其中PG I由胃底腺主细胞及颈黏液细胞介导分泌,PG II由贲门腺、胃窦幽门腺等腺体组织分泌,当机体出现胃黏膜病变时,会引起胃黏膜细胞与腺体功能异常,进而引起PG I、PG II水平异常变化^[9]。黄妙灵等^[10]研究指出,胃黏膜受损会导致主细胞数量减少或消失,引起胃黏膜分泌激素功能衰减,由胃体分泌的PG I水平降低,而PG II受胃体黏膜萎缩影响较小,且由成熟腺细胞代偿分泌,能够维持水平稳定甚至轻度增加,从而引起PGR下降。本研究结果提示,胃溃疡良恶性病变与PG I、PG II及PGR水平相关。这可能是因为:胃溃疡恶性病变会进一步损伤胃黏膜组织,导致胃黏膜分泌激素的功能降低,进而降低PG I的分泌量,而PG II由于成熟腺细胞代偿作用影响,分泌量有所升高。胃溃疡是一种慢性炎症性疾病,与机体炎症反应密切相关。本研究结果显示,胃溃疡组的NLR水平高于对照组。中性粒细胞与淋巴细胞是血液白细胞的主要分型,参与机体启动和调节炎症反应与免疫调节, NLR整合了中性粒细胞炎症状态与淋巴细胞免疫调控的信息,对评估体内炎症反应具有较好的效果^[11]。本研究中,恶性组NLR水平高于良性组。分析原因

表2 胃溃疡患者良恶性病变的单因素分析 [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]
Table 2 Univariate analysis of benign and malignant lesions in patients with gastric ulcer [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

因素	良性组(n=76)	恶性组(n=24)	χ^2/t 值	P值
年龄(岁)			2.722	0.099
<60	40(52.63)	8(33.33)		
≥60	36(47.37)	16(66.67)		
性别			2.047	0.153
男	56(73.68)	14(58.33)		
女	20(26.32)	10(41.67)		
BMI(kg/m ²)			1.951	0.163
<24	31(40.79)	6(25.00)		
≥24	45(59.21)	18(75.00)		
高血压病史			1.356	0.244
无	22(28.95)	10(41.67)		
有	54(71.05)	14(58.33)		
糖尿病史			1.765	0.184
无	11(11.47)	7(29.17)		
有	65(85.53)	17(70.83)		
Hp感染			5.123	0.024
阴性	24(31.58)	2(8.33)		
阳性	52(68.42)	22(91.67)		
吸烟史			2.265	0.132
无	32(42.11)	6(25.00)		
有	44(57.89)	18(75.00)		
饮酒史			17.815	<0.001
无	27(35.53)	3(12.50)		
适量	39(51.31)	8(33.33)		
过量	10(13.16)	13(54.17)		
PG I (μg/L)	103.84±7.48	94.79±7.11	5.227	<0.001
PG II (μg/L)	13.58±2.37	16.83±2.72	5.650	<0.001
PGR	7.64±1.46	5.63±1.31	6.019	<0.001
NLR	1.93±0.43	2.47±0.52	5.094	<0.001
CEA (ng/mL)	7.27±1.39	9.23±1.67	5.731	<0.001

可能是:胃溃疡从良性向恶性病变的进展过程中,炎症因子的过度活化会加重胃黏膜处的炎症反应,引起NLR水平上升。

本研究结果提示,血清CEA水平与胃溃疡病情相关。Lehle等^[12]研究表明,CEA水平与胃溃疡的病情严重程度呈正相关,对于辅助鉴别良恶性胃溃疡具有较好的效果。本研究结果显示,恶性组的CEA水平高于良性组,与上述研究一致。

表3 胃溃疡患者良恶性病变的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of benign and malignant lesions in patients with gastric ulcer

因素	赋值	β值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
Hp感染	阳性=0, 阴性=1	0.623	0.211	8.718	1.865	1.233~2.820	0.003
饮酒史	过量=0, 适量=1, 无=2	0.716	0.247	8.403	2.046	1.261~3.321	0.004
PG I (μg/L)	连续变量	0.696	0.213	10.677	2.006	1.321~3.045	0.001
PG II (μg/L)	连续变量	0.707	0.236	8.975	2.028	1.277~3.221	0.003
PGR	连续变量	0.741	0.262	7.999	2.098	1.255~3.506	0.005
NLR	连续变量	0.672	0.209	10.338	1.958	1.300~2.950	0.001
CEA(ng/mL)	连续变量	0.728	0.251	8.412	2.071	1.266~3.387	0.004

表4 PG I、PG II、PGR、NLR、CEA对胃溃疡恶性病变的预测价值

Table 4 The predictive value of PG I, PG II, PGR, NLR and CEA in malignant lesions of gastric ulcer

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
PG I	97.72	0.822	0.716~0.928	0.829	0.792	<0.001
PG II	15.38	0.815	0.712~0.917	0.776	0.708	<0.001
PGR	6.53	0.863	0.789~0.938	0.789	0.750	<0.001
NLR	2.17	0.786	0.685~0.886	0.711	0.625	<0.001
CEA	8.43	0.828	0.722~0.933	0.737	0.708	<0.001
联合检测		0.951	0.904~0.999	0.895	0.833	<0.001

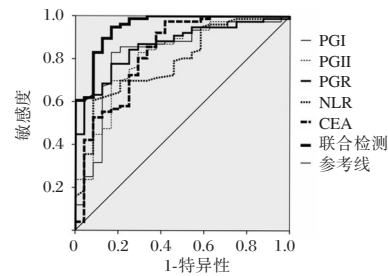


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

本研究对胃溃疡患者良恶性病变的相关影响因素进行了分析,多因素 Logistic 回归分析显示, Hp 感染阳性、高盐饮食、过量饮酒、PG I 降低、PG II 升高、PGR 降低、NLR 升高以及 CEA 水平升高均是胃溃疡恶性病变的独立危险因素。荆玉洁等^[13]研究指出, Hp 是胃部感染的主要致病菌, Hp 感染会持续损害胃黏膜,促使胃溃疡的发生发展,严重情况下甚至会形成异形增生,诱导胃癌发生。胡延华等^[14]研究表明,饮酒会持续损害胃黏膜,增加胃癌的发生风险。本研究结果显示, Hp 感染阳性、过量饮酒均会增加胃溃疡恶性病变的风险。提示临床应该重点关注这类人群,采取相关措施减少胃溃疡恶性病变发生。本进一步 ROC 曲线分析结果显示,各单一指标均可进行预测,且联合检测的效果更好。

综上所述,胃溃疡良恶性病变患者PG I、PGR表达水平降低,PG II、NLR、CEA表达水平升高,可能成为胃溃疡良恶性病变的辅助预测指标。

参考文献

- [1] 黄丽,李艳霞,吴练练,等.基于深度学习的良恶性胃溃疡人工智能辅助诊断系统研究[J].中华消化内镜杂志,2020,37(7):476-480.
- [2] Wang X, Zhang Q, Han F, et al. The application of new gastric cancer screening score system for gastric cancer screening and risk assessment of gastric precancerous lesions in China [J]. Scand J Gastroenterol, 2023,58(1):34-37.
- [3] Wang H, Gong H, Tang A, et al. Neutrophil/lymphocyte ratio predicts lymph node metastasis in patients with gastric cancer[J]. Am J Transl Res, 2023,15(2):1412-1420.
- [4] Di T, Lai YR, Luo QY, et al. A novel nomogram integrated with PDL1 and CEA to predict the prognosis of patients with gastric cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2023,25(8):2472-2486.
- [5] 王垂杰,郝微微,唐旭东,等.消化系统常见病消化性溃疡中医诊疗指南(基层医生版)[J].中华中医药杂志,2019,34(10):4721-4726.
- [6] 黄俐妍,姜波,宁永婷,等. Hp感染对高脂血症患者TLR4/NF- κ B信号通路和颈动脉粥样硬化进程的影响[J].中华医院感染学杂志,2022,32(21):3259-3262.
- [7] 中国营养学会.中国居民膳食指南(2016)[M].北京:人民卫生出版社,2016:107.
- [8] 马凤梅,李明,谭诗云.超声内镜联合活检组织病理对恶性胃溃疡假性愈合的鉴别诊断价值[J].胃肠病学和肝病学杂志,2020,29(5):534-539.
- [9] Jeong JH, Lee SY, Kim JH, et al. Useful Serum Pepsinogen Levels for Detecting Ongoing Helicobacter pylori Infection in Asymptomatic Subjects: A Cross-Sectional Study Based on 13C-urea Breath Test Findings [J]. Dig Dis Sci, 2022,67(12):5602-5609.
- [10] Wang W, Tong Y, Sun S, et al. Predictive value of NLR and PLR in response to preoperative chemotherapy and prognosis in locally advanced gastric cancer [J]. Front Oncol, 2022,12:936206.
- [11] 颜玲玲,吴坚芬,顾彬彬,等.血小板与淋巴细胞比值和中性粒细胞与淋巴细胞比值对早期胃癌诊断的预测价值[J].中华消化杂志,2022,42(3):163-170.
- [12] Lehleh EA, El-Abd N, Gohar S, et al. Diagnostic value of platelet indices, carbohydrate antigen 19-9 and carcinoembryonic antigen in differentiating malignant from benign gastric ulcers[J]. Menoufia Medical Journal, 2019,32(4):1452-1458.
- [13] 荆玉洁,高鹏,李妮,等.常见慢性消化道疾病患者幽门螺杆菌检出及耐药性分析[J].华南预防医学,2023,49(2):231-233+238.
- [14] 胡延华,陈丽君,王秀华,等.黄河三角洲地区居民膳食模式与胃粘膜萎缩的相关性研究[J].现代预防医学,2022,49(7):1196-1201.
- [4] 马丹,杜霞,冯建宇,等.非体外循环与体外循环冠状动脉旁路移植术对老年冠心病合并心脏瓣膜病患者炎症因子及心脏功能的影响[J].河北医学,2020,26(9):1509-1514.
- [5] 解洪涛,张顺.心脏瓣膜病置换术同期行冠状动脉搭桥术100例临床分析[J].山西医药杂志,2020,49(2):164-166.
- [6] 牛毅菲,贺宇,黄琼,等.经皮冠状动脉介入治疗联合经导管主动脉瓣置换术治疗冠心病合并主动脉瓣疾病的临床疗效[J].中国心血管病研究,2023,21(3):263-268.
- [7] 李辉,张闻多,汪芳,等.经导管主动脉瓣置换术治疗重度主动脉瓣狭窄合并冠心病患者的诊治进展[J].中国循环杂志,2023,38(9):994-998.
- [8] 席悦,王晰朦,刘健,等.冠心病患者冠状动脉旁路移植术近期预后的影响因素分析[J].中国动脉硬化杂志,2020,28(10):852-855.
- [9] Song C, Fan Y, Jiang S. Letter to Editor: Surgical redo mitral valve replacement in high-risk patients: The real-world experience[J]. J Card Surg, 2021,36(9):3195-3204.
- [10] 周朝元,韩培立,苏国宝,等.心脏瓣膜术联合冠状动脉旁路移植对心脏瓣膜病患者心肌损伤的影响[J].中国现代医学杂志,2020,30(22):81-85.
- [11] 张振忠.非体外循环冠状动脉旁路移植术对老年冠心病患者血管通畅率及短期预后的影响[J].中国药物与临床,2020,20(18):3070-3072.
- [12] 李波,赵旭.主动脉瓣置换术后并发冠状动脉栓塞引起急性心肌梗死1例[J].中国循证心血管医学杂志,2023,15(2):242-243.
- [13] 贺长军,李英滨,傅毕成,等.“人工智能+大数据”在胸外科金课建设中的实践和应用[J].中华医学教育探索杂志,2022,21(4):442-446.
- [14] 刘航,丁杰,吴明,等.靶向PD-1/PD-L1的结直肠癌免疫治疗研究进展[J].医学分子生物学杂志,2020,17(2):157-163.
- [15] Malik AH, Zaid S, Ahmad H, et al. A meta-analysis of 1-year outcomes of transcatheter versus surgical aortic valve replacement in low-risk patients with severe aortic stenosis [J]. J Geriatr Cardiol, 2020,17(5):43-50.
- [16] 白辰,李京倬,张帆,等.非体外循环下冠状动脉旁路移植术同期行体外循环下二尖瓣成形术:32例临床报告[J].解放军医学杂志,2020,45(9):982-985.

(上接第484页)

CTC、RON及c-Met在早期三阴性乳腺癌预后预测中的作用

叶露* 张明芳 孙萍 张园园

[摘要] **目的** 分析循环肿瘤细胞(CTC)、受体酪氨酸激酶(ROK)及间质表皮转化因子(c-Met)在早期三阴性乳腺癌(TNBC)预后预测中的作用。**方法** 分析2018年1月至2021年1月于郑州大学第一附属医院进行诊治的1 225例乳腺癌患者资料,根据纳入标准最终选取168例TNBC患者设为研究组,选取患者癌旁3 cm的组织为对照组,另选取同时期在本院进行健康体检者168名为健康组。根据患者治疗后的预后情况将研究组分为预后良好组($n=142$)以及预后不良组($n=26$)。比较研究组与健康组CTC的表达情况,比较研究组与对照组c-Met与RON的表达情况,采用多元Logistic回归分析影响TNBC预后的独立危险因素;并通过受试者工作特征曲线(ROC)分析c-Met、RON、CTC对TNBC患者预后的预测价值。**结果** 研究组CTC水平高于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组c-Met与RON阳性表达高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);预后良好组、预后不良组年龄、肿瘤直径比较差异无统计学意义($P>0.05$),预后良好组、预后不良组腋窝淋巴结、体重指数、糖尿病、RON、c-Met、CTC比较,差异有统计学意义($P<0.05$),经非条件多因素logistic回归模型分析显示,腋窝淋巴结转移、CTC阳性、RON阳性、c-Met阳性为TNBC患者预后的危险因素($P<0.05$)。CTC、RON及c-Met单独检测以及三者联合检测AUC分别为0.764、0.778、0.776、0.857,其中三者联合检测AUC值最大。**结论** 联合检测RON、c-MET、CTC水平对TNBC患者预后具有一定的预测价值。

[关键词] CTC; RON; c-Met; 三阴乳腺癌

The role of CTC, RON and c-Met in predicting the prognosis of early triple negative breast cancer

YE Lu*, ZHANG Mingfang, SUN Ping, ZHANG Yuanyuan

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

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of circulating tumor cells (CTC), receptor tyrosine kinase (RON) and cellular mesenchymal-epithelial transition factor (c-Met) in predicting the prognosis of early triple negative breast cancer (TNBC). **Methods** The data from 1 225 cases of breast cancer diagnosed and treated at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2018 to January 2021 were analyzed. The study group was divided into a good prognosis group ($n=142$) and a poor prognosis group ($n=26$) based on patient outcomes after treatment. The study aims to compare the expression of CTC between the study group and a healthy group, as well as compare the expression of c-Met and RON between the study group and a control group. Multiple logistic regression analysis will be used to identify independent risk factors affecting the prognosis of TNBC. Additionally, the study will analyze the predictive value of c-Met, RON, and CTC on the prognosis of TNBC patients through the receiver operating characteristic curve (ROC) analysis. **Results** The CTC level in the research group was higher than that in the healthy group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The positive expression of c-Met and RON in the research group was higher than

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20230127)

作者单位:郑州大学第一附属医院乳腺外科,河南,郑州 450000

*通信作者:叶露, E-mail:13653861602@163.com

that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There were 142 cases in the good prognosis group and 26 cases in the poor prognosis group, with no difference in age and tumor diameter between patients with different prognoses ($P>0.05$). However, there were statistically significant differences in axillary lymph nodes, body mass index, diabetes, RON, c-Met, and CTC between the good prognosis group and the poor prognosis group ($P<0.05$). An unconditional multivariate logistic regression model analysis revealed that axillary lymph node metastasis, CTC positivity, RON positivity, and c-Met positivity were risk factors for the prognosis of TNBC patients ($P<0.05$). The AUCs of CTC, RON and c-Met alone and the combined detection of all three were 0.764, 0.778, 0.776, and 0.857, respectively, with the highest AUC observed for the combined detection of the three. **Conclusion** The combined detection of RON, c-MET and CTC levels has a certain predictive value for the prognosis of TNBC patients.

[KEY WORDS] CTC; RON; c-Met; TNBC

三阴乳腺癌(Triple negative breast cancer, TN-BC)为雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体2均为阴性表达的乳腺癌^[1]。相关资料显示, TNBC约占所有乳腺癌中的20%左右,为恶性程度最高的乳腺癌亚型,目前临床治疗常以化疗为主。至今为止未能明确该病的发生及发展机制,由于缺乏有效的靶向治疗,对于早期TNBC的治疗缺乏针对性,导致TNBC患者预后普遍较差^[2]。有关研究表明,受体酪氨酸激酶(Recepteur d'origine nantais, RON)过表达与肿瘤患者病灶转移及预后不良均存在联系^[3]。RON蛋白是受体酪氨酸激酶间质表皮转化因子(Cellular mesenchymal-epithelial transition factor, c-Met)家族中的一员,能通过巨噬细胞刺激蛋白(Macrophage stimulating protein, MSP)配体结合活化,导致细胞、移动和基质侵袭。c-Met基因可激活下游传导通路,参与肿瘤细胞生长、增殖及转移等重要生物活动^[4]。血循环肿瘤细胞(Circulating tumor cells, CTC)为自发或诊疗操作从肿瘤组织脱离进入外周血循环中的肿瘤细胞,可通过聚集、粘附以及迁移等方式形成微小癌栓,并逐渐发展为转移灶,此乃实体瘤远处转移的必要条件^[5]。本研究将通过CTC、RON及c-Met三项指标进行联合检测,以期对TNBC患者进行更精确的预后判断,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析2018年1月至2021年1月于郑州大学第一附属医院进行乳腺癌治疗的1225例患者资料,根据纳入标准最终选取168例患者设置为研究组,同时选取168例患者癌旁3cm的组织为对照组。年龄25~72岁,平均年龄为(42.74±4.85)岁;病灶部

位:右侧86例;左侧82例。根据患者治疗后的预后情况分为预后良好组($n=142$,患者病灶体积缩小,无扩散、转移。)以及预后不良组($n=26$,患者病灶出现转移、病情加重或者死亡。)。纳入标准:①经病理穿刺检查确诊为早期TNBC者;②均已征得患者及家属同意;③临床及实验室资料完整者;④手术指征良好者。排除标准:①治疗依从性较差者;②妊娠及哺乳期女性;③研究中途退出者;④合并其他恶性肿瘤者。另选取同时期在本院进行健康体检者168名为健康组,年龄25~75岁,平均年龄(43.06±44.11)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。本研究经院伦理委员会批准通过。

1.2 方法

组织标本经10%福尔马林固定,石蜡包埋,4 μ m厚切片,常规脱蜡后经梯度酒精水化后经蒸馏水使用枸橼酸液高温高压抗原修复,用过氧化氢封闭内源性过氧化物酶10min, PBS液冲洗3次后滴加Hepsin(1:150)和c-Met与RON过夜, PBS液冲洗3次后用DAB显色,采用免疫组织化学染色法检测c-Met与RON表达水平,以PBS为阴性对照,免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

抽取所有受试者早晨空腹静脉血5 mL,高速离心(1 000 r/min,离心半径8.0 cm)5 min后备用。CTC检测方法:血液通过过滤器将外周血中的白细胞、红细胞和循环肿瘤细胞分离后使用细胞保存液保护细胞维持细胞形态和活性,采用细胞角蛋白(广谱)检测试剂盒检测外周血中上皮型的循环肿瘤细胞,采用Vimentin检测试剂盒检测外周血中间质型的循环肿瘤细胞。上述仪器及试剂盒均购自深圳睿思生命科技有限公司。

1.3 结果判断

免疫组化结果判断^[6]: c-Met 与 RON 细胞质膜有黄色至棕褐色细颗粒即为阳性。癌细胞无着色或阳性细胞<10%为(-);浅黄色、阳性细胞10%~30%为(+);棕黄色、阳性细胞30%~70%为(++);棕褐色、阳性细胞>70%为(+++),将(-)归为阴性, (+)、(++)及(+++)统归为阳性;以 CTC \geq 5个/7.5 mL 外周血判定为阳性^[7]。

1.4 观察指标

①比较研究组与健康组 CTC 的表达情况,研究组与对照组 c-Met 与 RON 的表达情况;②比较不同预后患者相关资料,分析影响 TNBC 患者预后的多因素。③采用受试者工作特征曲线(ROC)分析检测 c-Met、RON、CTC 对 TNBC 患者预后的预测价值。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析,计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,并采用 χ^2 检验;采用多元 Logistic 回归分析影响 TNBC 预后的独立危险因素;使用 ROC 分析 c-Met、RON、CTC 对 TNBC 患者预后的预测价值,计算 ROC;以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组与健康组 CTC 的表达及研究组与对照组 c-Met 与 RON 的表达情况比较

研究组 CTC 水平高于健康组,研究组 c-Met 与 RON 阳性表达高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1~2。

表 1 研究组与健康组 CTC 的表达情况比较 $(\bar{x}\pm s)$

Table 1 Comparison of CTC expression between the research group and the healthy group $(\bar{x}\pm s)$

组别	<i>n</i>	CTC
研究组	168	11.84 \pm 3.37
健康组	168	4.25 \pm 1.33
<i>t</i> 值		27.154
<i>P</i> 值		<0.001

2.2 TNBC 不同预后患者相关资料比较

预后良好组、预后不良组年龄、肿瘤直径比较差异无统计学意义(*P*>0.05),预后良好组、预后不良组腋窝淋巴结、体重指数、糖尿病、RON、c-Met、CTC 比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 2 研究组与对照组 c-Met 与 RON 表达情况比较 $[n(\%)]$

Table 2 Comparison of c-Met and RON expression between the research group and the control group $[n(\%)]$

组别	<i>n</i>	c-Met		RON	
		阳性	阴性	阳性	阴性
对照组	168	53(31.55)	115(68.45)	49(29.17)	119(70.83)
研究组	168	107(63.69)	61(36.31)	109(64.88)	59(35.12)
χ^2 值		34.793		43.010	
<i>P</i> 值		<0.001		<0.001	

表 3 TNBC 不同预后患者相关资料比较

Table 3 Comparison of relevant data on TNBC patients with different prognoses

临床资料	<i>n</i>	预后良好组 (<i>n</i> =142)	预后不良组 (<i>n</i> =26)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
年龄					
<43 岁	90	79(55.63)	11(42.31)	1.569	0.210
>43 岁	78	63(44.37)	15(57.69)		
肿瘤直径					
<2 cm	54	45(31.69)	9(34.62)	1.129	0.569
2~5 cm	82	68(47.89)	14(53.84)		
>5 cm	32	29(20.42)	3(11.54)		
腋窝淋巴结					
转移	66	49(34.51)	17(65.38)	8.784	0.003
无转移	102	93(65.49)	9(34.62)		
体重指数					
<18.5 kg/m ²	12	4(2.82)	8(30.77)	33.941	<0.001
18.5~28.0 kg/m ²	134	123(86.62)	11(42.31)		
>28.0 kg/m ²	22	15(10.56)	7(26.92)		
糖尿病					
有	59	45(31.69)	14(53.85)	4.735	0.030
无	109	97(68.31)	12(46.15)		
RON					
阳性	109	101(71.13)	8(30.77)	15.709	<0.001
阴性	59	41(28.87)	18(69.23)		
c-Met					
阳性	107	98(69.01)	9(34.62)	11.245	0.001
阴性	61	44(30.99)	17(65.38)		
CTC		10.34 \pm 3.17	20.03 \pm 4.46	13.377	<0.001

2.3 CTC、RON 及 c-Met TNBC 预后的多因素分析

经非条件多因素 logistic 回归模型分析显示,腋窝淋巴结转移、CTC 阳性、RON 阳性、c-Met 阳性为早期 TNBC 患者预后的危险因素(*P*<0.05)。见表 4。

2.4 CTC、RON 及 c-Met 联合对 TNBC 预后的预测价值分析

CTC、RON 及 c-Met 单独检测以及三者联合检测 AUC 分别为 0.764、0.778、0.776、0.857,其中三者联合检测 AUC 值最大。见表 5。

3 讨论

研究认为,血清肿瘤生化指标检测特异性、

表4 CTC、RON及c-Met TNBC预后的多因素分析

Table 4 Multivariate analysis of the prognosis of CTC, RON and c-Met TNBC

因素	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR(95% CI)值	P值
腋窝淋巴结(0=无转移,1=有转移)	0.654	0.132	6.241	1.923(1.485~2.491)	<0.001
CTC(0=阴性,1=阳性)	0.698	0.352	8.115	2.010(1.008~4.007)	<0.001
RON(0=阴性,1=阳性)	0.656	0.285	7.339	1.927(1.102~3.369)	<0.001
c-Met(0=阴性,1=阳性)	0.567	0.213	7.357	1.763(1.161~2.676)	<0.001

表5 CTC、RON及c-Met联合对TNBC预后的预测价值分析

Table 5 Analysis of the predictive value of CTC, RON, and c-Met combination for the prognosis of TNBC

预测指标	Cut-off值	敏感性	特异性	AUC	95%可信区间	约登指数
CTC	0.261	0.815	0.874	0.764	0.625~0.874	0.784
RON	0.546	0.826	0.883	0.778	0.651~0.894	0.803
c-Met	0.418	0.806	0.894	0.776	0.643~0.852	0.674
三者联合	0.338	0.896	0.931	0.857	0.794~0.954	0.846

敏感性均较高,便于临床持续监测,且能用于预后的辅助评估,临床可考虑将其应用于癌症疾病的诊疗当中^[7]。TNBC作为恶性程度最高的乳腺癌类型,更应加强对于自身敏感靶点的诊断及预后预测,以便于针对性干预,改善患者预后。

CTC为肿瘤患者血液中有活性的肿瘤细胞,当其表达含量骤升时可加大肿瘤病灶转移风险;CTC能通过血液流通分散于身体各个部位,并在新的部位形成新的肿瘤病灶,还能再次在原发病灶进行播散存活^[8]。RON在正常乳腺上皮细胞和良性乳腺损伤中呈现低表达状态,而在原发性乳腺癌中呈现异常高表达,RON的异常升高与肿瘤的发生可能有着密切联系^[9]。c-Met受体是原癌基因c-Met编码的具有酪氨酸蛋白酶活性的跨膜受体,能通过与HGF结合引发一系列的信号转移,调节细胞的增殖、分化、形态改变、侵袭运动和血管生成。既往相关研究表明,c-Met蛋白表达与癌症患者的总生存期和无复发生存期呈负相关^[10]。本文研究发现,研究组CTC水平高于健康组,研究组c-Met与RON阳性表达高于对照组;另一方面,c-Met蛋白、RON及CTC阳性患者预后不良比例更高,且c-Met蛋白阳性、RON阳性及CTC阳性为影响TNBC患者预后不良的危险因素。说明RON、c-MET、CTC可能可作为TNBC的诊断指标。

研究证实,CTC监测能够用于转移性乳腺癌患者的疗效评价和预后预测^[11]。既往动物实验和乳腺癌样本数据显示,RON相关的信号转导通路是治疗乳腺癌的新靶点,RON还能在各种肿瘤微环境炎

症反应中起关键作用,通过限制肿瘤炎症来进一步减少或消除肿瘤进展和转移^[12]。相关研究报道显示,c-Met在多种肿瘤细胞中均呈高表达,且与肿瘤的侵袭、转移具有一定关联^[13]。本研究显示,RON阳性、c-MET阳性、CTC阳性与腋窝淋巴结转移及糖尿病病史均是影响TNBC患者预后不良的独立危险因素,说明RON阳性、c-MET阳性、CTC阳性对TNBC患者预后评估具有重要参考价值。进一步研究结果提示,CTC、RON及c-Met三者指标联合检测AUC值最大,提示临床通过联合检测上述三项检测指标对TNBC的临床治疗具有较好的指导价值,可为更好地改善患者预后提供参考。

综上所述,联合检测RON、c-MET、CTC水平对TNBC患者预后具有一定的预测价值。

参考文献

- [1] Bhola NE, Jansen VM, Koch JP, et al. Correction: Treatment of Triple-Negative Breast Cancer with TORC1/2 Inhibitors Sustains a Drug-Resistant and Notch-Dependent Cancer Stem Cell Population[J]. Cancer Res, 2019, 79(4):875-878.
- [2] 蒋威华, 伊丽娜, 张晨光, 等. 三阴性乳腺癌中间质-上皮细胞转化因子及脂肪酸合成酶的表达情况及对预后的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(8):16-20.
- [3] 马亮, 陈俊丰, 马琪. 受体型酪氨酸激酶RON异构体:潜在的肿瘤治疗靶标[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2017, 33(10):985-992.
- [4] 樊桂玲, 梁晓霞, 高宝红, 等. 结直肠癌c-MET, CXCR4蛋白和微血管密度与肝转移的关系[J]. 肿瘤研究与临床, 2021, 33(11):830-833.
- [5] 林健, 贾淞淋, 方敏, 等. 早期乳腺癌患者循环肿瘤细胞TP53, 磷脂酰肌醇-3激酶基因突变分析及其与患者临床病理特征的相关性[J]. 中国临床医学, 2018, 25(2):210-216.
- [6] 张岚, 王伟伟, 姜国忠, 等. 2019版中国乳腺癌HER-2检测指南对HER-2免疫组化检测结果为不确定的浸润性乳腺癌荧光原位杂交检测结果判读的影响及临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(8):833-837.
- [7] 刘海旺, 张宏旭, 刘燃, 等. 肝细胞生长因子激酶抑制剂在乳腺癌上皮-间充质转化及细胞增殖侵袭中的作用[J]. 癌症进展, 2020, 18(20):2080-2083.

PI3K-AKT/mTOR 信号通路与原发肾病综合征患儿 Treg/Th17 免疫平衡的相关性

郑凤丽* 谭志军 梁宙

[摘要] 目的 研究磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)-蛋白激酶 B(AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路与原发肾病综合征(PNS)患儿调节性 T 细胞(Treg)/辅助性 T 细胞(Th17)免疫平衡的相关性。方法 选取 2020 年 6 月至 2022 年 7 月贵港市人民医院收治的 30 例 PNS 患儿作为肾病组,选取同期本院进行体检的 30 名健康儿童作为健康组,比较两组外周血 CD4⁺T 细胞 PI3K、mTOR、Akt 信使核糖核酸(mRNA)表达水平及外周血 Treg、Th17、Treg/Th17 水平,分析 PNS 患儿外周血 CD4⁺T 细胞 PI3K、mTOR、Akt mRNA 表达水平与外周血 Treg、Th17、Treg/Th17 水平的相关性。结果 肾病组外周血 CD4⁺T 细胞 PI3K、mTOR、Akt mRNA 表达水平及外周血 Th17 水平高于健康组,差异有统计学意义($t=10.694, 3.038, 8.915, 7.148, P<0.05$)。肾病组外周血 Treg 水平及 Treg/Th17 低于健康组,差异有统计学意义($t=8.269, 15.780, P<0.05$)。PNS 患儿外周血 CD4⁺T 细胞 PI3K、mTOR、Akt mRNA 表达水平与外周血 Treg、Treg/Th17 水平呈显著负相关关系($r=-0.637, -0.573, -0.492, -0.559, -0.511, -0.612, P<0.05$),与 Th17 呈显著正相关关系($r=0.479, 0.495, 0.603, P<0.05$)。结论 PNS 的发生可引起儿童外周血 CD4⁺T 细胞 PI3K-AKT/mTOR 信号通路指标表达水平异常升高,同时可引起机体 Treg/Th17 免疫失衡,且 PNS 患儿外周血 CD4⁺T 细胞 PI3K-AKT/mTOR 信号通路与 Treg/Th17 免疫平衡之间存在明显的相关性。

[关键词] 原发肾病综合征;磷脂酰肌醇 3-激酶;蛋白激酶 B;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;信号通路;调节性 T 细胞;辅助性 T 细胞;免疫平衡

Correlation between PI3K-AKT/mTOR signaling pathway and Treg/Th17 immune balance in children with primary nephrotic syndrome

ZHENG Fengli*, TAN Zhijun, LIANG Zhou

[Department of Pediatrics, Guigang People's Hospital (the Eighth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University), Guigang, Guangxi, China, 537100]

[ABSTRACT] **Objective** To study the correlation between phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (AKT)/mammalian target protein of rapamycin (mTOR) and the immune balance of regulatory T cells (Treg)/helper T cells (Th17) in children with primary nephrotic syndrome (PNS). **Methods** 30 children with PNS were admitted to Guigang People's Hospital from June 2020 to July 2022 and were selected as the nephropathy group. Additionally, 30 healthy children who underwent physical examinations at the same hospital during the same period were chosen as the healthy group. The expression levels of PI3K, mTOR and Akt messenger ribonucleic acid (mRNA) in CD4⁺T cells and the levels of Treg, Th17 and Treg/Th17 in peripheral blood were compared between the two groups, and the correlation between the expression levels of PI3K, mTOR and Akt mRNA in CD4⁺T cells in children with PNS and the levels of Treg, Th17 and Treg/Th17 in peripheral blood was analyzed. **Results** The expression levels of PI3K, mTOR, and Akt mRNA in CD4⁺T cells

基金项目:广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z20200776)

作者单位:贵港市人民医院(广西医科大学第八附属医院)儿科,广西,贵港 537100

*通信作者:郑凤丽, E-mail: zfl2013abc@163.com

of the nephropathy group and Th17 in the peripheral blood were higher than those in the healthy group. These differences were statistically significant ($t=10.694, 3.038, 8.915, 7.148, P<0.05$). The levels of Treg and Treg/Th17 in the peripheral blood of the nephropathy group were lower than those in the healthy group, with a statistically significant difference ($t=8.269, 15.780, P<0.05$). The expression levels of *PI3K*, *mTOR*, and *Akt* mRNA in peripheral blood CD4⁺T cells of children with PNS were significantly negatively correlated with the levels of Treg and Treg/Th17 in the peripheral blood ($r=-0.637, -0.573, -0.492, -0.559, -0.511, -0.612, P<0.05$), and significantly positively correlated with Th17 ($r=0.479, 0.495, 0.603, P<0.05$). **Conclusion** The occurrence of PNS could lead to abnormal expression levels of the *PI3K-AKT/mTOR* signaling pathway in children's peripheral blood CD4⁺T cells. Simultaneously, it could also cause an imbalance between Treg and Th17 immune cells the body. There was a clear correlation between the *PI3K-AKT/mTOR* signaling pathway in children's peripheral blood CD4⁺T cells and the Treg/Th17 immune balance.

[KEY WORDS] Primary nephrotic syndrome; Phosphatidylinositol 3- kinase; Protein kinase b; Mammalian rapamycin target protein; Signal pathway; Regulatory T cells; Helper T cells; Immune balance

原发性肾病综合征 (Primary nephrotic syndrome, PNS) 多发于儿童群体, 其临床特点包括低蛋白血症、蛋白尿等, 是一种肾小球肾炎相关的临床症候群^[1-2]。目前研究^[3]发现, 免疫功能紊乱与 PNS 的发生关系密切, 磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphatidylinositol 3- kinase, *PI3K*)-蛋白激酶 B (Protein kinase b, *AKT*)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target protein of rapamycin, *mTOR*) 信号通路则与细胞周期的调控密切相关^[4], 且有相关研究^[5]显示, 其参与了 CD4⁺T 细胞的分化和迁移过程, 因此其在 CD4⁺T 细胞中的表达情况很可能对机体免疫功能具有调节作用; 而调节性 T 细胞 (Regulatory T Cells, Treg)/辅助性 T 细胞 (Helper T Cells, Th17) 平衡情况与机体免疫功能的稳定密切相关, 两者失衡可导致患儿机体促炎/抗炎机制紊乱而影响机体免疫应答过程, 同时机体炎症反应升高也可加重患儿肾脏炎性浸润, 进而促进患儿病情进展^[6]。本研究通过分析儿童 PNS *PI3K-AKT/mTOR* 信号通路指标表达情况与 Treg/Th17 免疫平衡的相关性, 为 PNS 患儿特异性免疫治疗提供参考和依据。结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 6 月至 2022 年 7 月贵港市人民医院收治的 30 例 PNS 患儿作为肾病组, 选取同期在贵港市人民医院进行体检的 30 名健康儿童作为健康组。本研究获本院医学伦理委员会审核批准。纳入标准: ①符合 PNS 诊断标准^[7]者; ②年龄 0~14 岁者; ③入组者的监护人对本研究知情同意者;

④初诊、且未经治疗者等。排除标准: ①肾炎型肾病综合、继发性肾病综合征和遗传性疾病所致肾病综合征者; ②合并免疫功能障碍疾病者; ③合并先天性重要器官功能障碍者等。

1.2 方法

1.2.1 外周血 CD4⁺T 细胞 *PI3K-AKT/mTOR* 信号通路指标检测

使用肝素锂管收集两组外周血 6 mL, 采用 Invitrogen 中国公司提供的 CD4⁺T 细胞免疫分选磁珠分离 CD4⁺T 细胞, 后加入细胞裂解液, 混匀, 取出加入 1.5 mL EP 管中; 加入 600 μ L 含有裂解液, 混匀; 加入 450 μ L 96%~100% 乙醇, 混匀; 700 μ L 裂解液加入带有收集管的核糖核酸纯化柱中, 离心; 弃掉穿柱液, 将纯化柱重新放入收集管中; 重复以上步骤, 直到所有裂解液都已加到纯化柱上且被离心, 换成新的 2 mL 收集管; RNA 纯化柱中加入 700 μ L 的冲洗液 1, 离心; 弃掉穿柱液, 将纯化柱重新放入收集管中; 加入 600 μ L 的冲洗液 2, 离心; 弃掉穿柱液, 将纯化柱重新放入收集管中; 加入 250 μ L 的冲洗液 2, 离心; 加 50 μ L 无核酸酶的水到 GeneJET™ 核糖核酸纯化柱的膜中心, 离心; 弃掉纯化柱; 按 7 μ L 核糖核酸溶液、4 μ L dH₂O、1 μ L Oligo dT 引物配制混合物, 于 65℃ 下孵育 5 min, 每管加入以下反应体系: 5X reaction buffer 4 μ L、逆转录酶 1 μ L、核糖核酸酶抑制剂 1 μ L、dNTP Mix 1 μ L, 混匀, 按 65℃ 孵育 60 min、65℃ 孵育 10 min 进行逆转录; 后, 每管加入 2 倍体积的 TE 溶液、3 倍体积的 ddH₂O, 旋涡混匀; 选择 *GAPDH* 作为内参基因进行检测, 参照 GeneBank 中目的基因信使核糖核酸序列, 设计引物并送交

生物公司合成;配制反应体系后按进行荧光定量PCR反应,引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。序列见表1。经 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算外周血CD4⁺T细胞PI3K、mTOR、Akt mRNA表达水平。

表1 PI3K-AKT/mTOR信号通路指标引物序列
Table 1 Primer sequence of PI3K-Akt/mTOR signaling pathway indicators

指标	序列(5'→3')	长度(bp)
H-GAPDH-F	GAGTCAACGATTTGGTCGT	185
H-GAPDH-R	GACAAGCTTCCCGTTCTCAG	
H-PI3KCB-F	GACTTTGCGACAAGACTGCC	220
H-PI3KCB-R	ATCACTCATCTGTGCGAGGC	
H-AKT-F3	GGCAAGGTGATCCTGGTGAA	159
H-AKT-R3	CTTCAGGGCTGTGAGGAAGG	
H-mTOR-F	CACCCATCCAACCTGATGCT	199
H-mTOR-R	CCTCCATCACTGTGTGGCAT	

1.2.2 Treg/Th17免疫平衡指标

使用美国Becton Dickinson公司提供的FACS-Canto II流式细胞仪检测患儿外周血Treg、Th17水平,并计算Treg/Th17。

1.2.3 PNS患儿外周血CD4⁺T细胞PI3K-AKT/mTOR信号通路与Treg/Th17免疫平衡的相关性

采用Pearson相关分析PNS患儿外周血CD4⁺T细胞PI3K-AKT/mTOR信号通路与Treg/Th17免疫平衡的相关性。

1.3 统计学方法

使用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。计数资料用n(%)表示,行 χ^2 检验;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,独立样本用t检验;NS患儿外周血CD4⁺T细胞PI3K-AKT/mTOR信号通路与Treg、Th17及Treg/Th17 Pearson相关分析;以P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

肾病组和健康组性别、年龄、体重比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表2。

表2 两组一般资料比较[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]
Table 2 Comparison of two groups of general data [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	性别		年龄(岁)	体重(kg)	病程(年)
		男	女			
健康组	30	18(60.00)	12(40.00)	7.52±2.34	24.73±2.04	
肾病组	30	16(53.33)	14(46.67)	7.12±2.18	24.40±1.96	1.46±0.63
χ^2/t 值		0.271		0.685	0.639	
P值		0.602		0.496	0.525	

2.2 两组外周血CD4⁺T细胞PI3K-AKT/mTOR信号通路指标表达情况比较

肾病组外周血CD4⁺T细胞PI3K、mTOR、Akt mRNA表达水平高于健康组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 两组外周血CD4⁺T细胞PI3K-AKT/mTOR信号通路指标表达情况比较($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of PI3K-AKT/mTOR signaling pathway indexes in CD4⁺T cells of two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PI3K	AKT	mTOR
健康组	30	16.41±0.18	31.27±3.20	26.87±0.52
肾病组	30	16.95±0.21	34.12±4.02	28.15±0.59
t值		10.694	3.038	8.915
P值		0.000	0.004	0.000

2.3 两组Treg/Th17免疫平衡指标比较

肾病组外周血Treg水平及Treg/Th17低于健康组,外周血Th17水平高于健康组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

表4 两组Treg/Th17免疫平衡指标比较($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of Treg/Th17 immune balance indexes between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Treg(%)	Th17(%)	Treg/Th17
健康组	30	4.11±0.83	1.20±0.24	3.43±0.62
肾病组	30	2.67±0.47	1.82±0.41	1.47±0.28
t值		8.269	7.148	15.780
P值		0.000	0.000	0.000

2.4 PNS患儿外周血CD4⁺T细胞PI3K、mTOR、Akt mRNA表达水平与外周血Treg、Th17、Treg/Th17水平的相关性

PNS患儿外周血CD4⁺T细胞PI3K、mTOR、Akt mRNA表达水平与外周血Treg、Treg/Th17水平呈显著负相关关系(P<0.05),与Th17呈显著正相关关系(P<0.05)。见表5。

表5 PNS患儿外周血CD4⁺T细胞PI3K、mTOR、Akt mRNA表达水平与外周血Treg、Th17、Treg/Th17水平的相关性
Table 5 The correlation between the expression levels of PI3K, mTOR and Akt mRNA in CD4⁺T cells in children with PNs and the levels of Treg, Th17 and Treg/Th17 in peripheral blood

指标	Treg		Th17		Treg/Th17	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
PI3K	-0.637	0.000	0.479	0.012	-0.573	0.000
AKT	-0.492	0.003	0.495	0.002	-0.559	0.000
mTOR	-0.511	0.000	0.603	0.000	-0.612	0.000

3 讨论

PNS是免疫机制异常介导的肾小球疾病,PNS患儿普遍存在机体免疫应答异常引起的肾小球损伤和肾功能障碍^[8];而在PNS的临床治疗中,免疫抑制剂如糖皮质激素是最佳的治疗药物,大部分患儿在最初的治疗中能获得良好的效果,但PNS的治疗周期普遍较长,随着治疗时间的延长,部分患儿可出现激素依赖,使得病情反复发作,对患儿生长发育及学习生活产生严重影响^[9]。因此深层探究PNS的发生与机体免疫功能的的关系有助于患儿病情的控制。

CD4⁺T细胞分化异常是PNS发生的主要病理机制之一,其可分化为Treg、辅助性T细胞1、辅助性T细胞2、Th17,其中Treg、Th17在功能分化方面具有拮抗作用,前者具有免疫抑制特性,可通过合成抗炎因子如白介素-10而维持机体免疫耐受、控制免疫排斥反应、预防自身免疫性疾病的发生;后者则可分泌白介素-17、白介素-22等促炎因子加重机体炎症反应,因此二者动态平衡对于维持机体免疫/炎症稳态具有重要意义^[10]。本研究结果显示,肾病组外周血Treg水平及Treg/Th17低于健康组,外周血Th17水平高于健康组,说明PNS患儿机体存在明显的Treg/Th17免疫失衡。Treg/Th17的比值降低说明Treg水平降低而Th17水平升高,Treg的免疫抑制作用降低,而Th17可通过合成白介素-17促进巨噬细胞和中性粒细胞相关的趋化因子和炎性介质释放,诱导肿瘤坏死因子- α 和白介素-8等炎性因子释放增加而加重患儿肾小球炎症损伤,进而促进PNS的发生和发展^[11]。

*PI3K-AKT/mTOR*信号通路广泛存在于各种细胞中,细胞外相关生长因子的表达可激活*PI3K*,促进*Akt*磷酸化激活,进而激活下游的*mTOR*、核因子- κ B等相关信号通路,对细胞生命活动进行调节^[12];有研究^[13]显示,*PI3K-AKT/mTOR*信号通路对免疫细胞功能及机体炎症反应均具有调节作用。本研究结果显示,肾病组外周血CD4⁺T细胞*PI3K*、*mTOR*、*Akt* mRNA表达水平高于健康组,说明PNS患儿CD4⁺T细胞中*PI3K-AKT/mTOR*信号通路的表达异常升高。考虑原因在于,PNS患儿机体炎症反应异常升高引起*PI3K-AKT/mTOR*信号通路激活,相关指标表达升高对CD4⁺T细胞生命活动产生影响,促进其分化方向朝Th17倾斜,促进Treg/Th17免疫失衡而促进PNS患儿病情进展^[14]。

本研究结果显示,肾病综合征患儿外周血CD4⁺T细胞*PI3K*、*mTOR*、*Akt* mRNA表达水平与外周血Treg、Treg/Th17水平呈显著负相关关系,与Th17呈显著正相关关系,进一步证实了肾病综合征患儿外周血CD4⁺T细胞*PI3K-AKT/mTOR*信号通路表达水平与机体Treg/Th17免疫平衡之间存在明显关联,但两者间的关系及具体的分子机制还需要进一步设计实验证实。

综上所述,PNS的发生可引起儿童外周血CD4⁺T细胞*PI3K-AKT/mTOR*信号通路指标表达水平异常升高,同时可引起机体Treg/Th17免疫失衡,且PNS患儿外周血CD4⁺T细胞*PI3K-AKT/mTOR*信号通路与Treg/Th17免疫平衡之间存在明显的相关性。

参考文献

- [1] Shimizu S, Nihata K, Nishiwaki H, et al. Initiation of renin-angiotensin system inhibitors and first complete remission in patients with primary nephrotic syndrome: a nationwide cohort study[J]. Clin Exp Nephrol, 2023, 27(5): 480-489.
- [2] Drovandi S, Lipska-Zietkiewicz BS, Ozaltin F, et al. Oral Coenzyme Q10 supplementation leads to better preservation of kidney function in steroid-resistant nephrotic syndrome due to primary Coenzyme Q10 deficiency[J]. Kidney Int, 2022, 102(3): 604-612.
- [3] 高丽萍.原发性肾病综合征患儿免疫功能与治疗效果和复发的相关性研究[J].中国妇幼保健,2020,35(18):3421-3424.
- [4] Tang G, Du Y, Guan H, et al. Butyrate ameliorates skeletal muscle atrophy in diabetic nephropathy by enhancing gut barrier function and FFA2-mediated *PI3K/Akt/mTOR* signals[J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(1): 159-178.
- [5] Cui C, Bao Z, Chow SK, et al. Coapplication of Magnesium Supplementation and Vibration Modulate Macrophage Polarization to Attenuate Sarcopenic Muscle Atrophy through *PI3K/Akt/mTOR* Signaling Pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(21): 12944-12944.
- [6] 刘君,冯仕品.白细胞介素-7促进原发性肾病综合征患儿外周血CD14⁺单核细胞活性[J].临床儿科杂志,2020,38(11):861-866.
- [7] 中华医学会儿科学分会肾脏学组.儿童激素敏感、复发/依赖肾病综合征诊治循证指南(2016)[J].中华儿科杂志,2017,55(10):729-734.
- [8] Chan EY, Yu E, Angeletti A, et al. Long-Term Efficacy and Safety of Repeated Rituximab to Maintain Remission in Idiopathic Childhood Nephrotic Syndrome: An International Study[J]. J Am Soc Nephrol, 2022, 33(6): 1193-1207.

选择性痔上黏膜切除吻合术治疗Ⅲ度混合痔的5-HT、PGE₂及IL-6水平变化及疗效

张智航¹ 陈昊² 赵德余^{1*}

[摘要] 目的 分析选择性痔上黏膜切除吻合术(TST)治疗Ⅲ度混合痔的神经递质及5-羟色胺(5-HT)、前列腺素E₂(PGE₂)及白介素-6(IL-6)水平变化及临床疗效。方法 本研究采用单中心回顾性研究方法,收集2020年5月至2023年1月大连市中心医院收治的108例Ⅲ度混合痔患者,依据治疗方式分为对照组($n=53$,予吻合器痔上黏膜环切术(PPH)治疗)和观察组($n=55$,予TST治疗)。对比两组临床疗效、围手术期指标(手术时长、术中出血量、住院时间、术后首次排便时间、术后卧床时间)、5-HT、PGE₂、炎症因子[IL-6、C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平]、肛肠动力学指标[直肠感知阈值(RSTV)、肛管静息压(RASP)、直肠最大容量阈值(RMTV)]及并发症发生率。结果 观察组临床总有效率(94.55%)比对照组(81.13%)高,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组术后首次排便时间、手术时长、术后卧床时间及住院时间比对照组短,术中出血量比对照组少,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后,两组5-HT、PGE₂水平均下降,且观察组比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后,两组IL-6、CRP、TNF- α 水平均下降,且观察组比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后,观察组RSTV、RMTV比对照组高,RASP比对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组并发症总发生率(7.28%)比对照组(20.75%)低,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 采用TST治疗Ⅲ度混合痔患者疗效更显著,明显改善患者围术期指标,降低了患者5-HT、PGE₂及IL-6、TNF- α 、CRP炎症因子水平,降低术后并发症发生率,利于术后恢复。

[关键词] 选择性痔上黏膜切除吻合术;混合痔;神经递质及5-羟色胺;前列腺素E₂;白介素-6

Changes of 5-HT, PGE₂ and IL-6 levels in patients with grade III mixed hemorrhoids treated with selective hemorrhoidal superior mucosa resection and anastomosis

ZHANG Zhihang¹, CHEN Hao², ZHAO Deyu^{1*}

(1. Department of Proctology, Dalian Central Hospital, Dalian, Liaoning, China, 116000; 2. Clinical Medical Surgery, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, China, 116000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes in neurotransmitter levels, specifically 5-hydroxytryptamine (5-HT), prostaglandin E₂ (PGE₂) and interleukin-6 (IL-6), in grade III mixed hemorrhoids treated with selective superior hemorrhoidal mucosal resection and anastomosis (TST). **Methods** In this study, 108 patients with grade III mixed hemorrhoids were retrospectively collected from Dalian Central Hospital between May 2020 and January 2023. They were divided into a control group ($n=53$, treated with procedure for prolapse and hemorrhoids) and an observation group ($n=55$, treated with tissue-selecting therapy staple). Clinical efficacy, perioperative indicators (operation time, intraoperative blood loss, hospitalization time, postoperative first defecation time, postoperative bed time), 5-HT, PGE₂, inflammatory factors (interleukin-6, C-reactive protein, tumor necrosis factor- α levels), anorectal dynamic indicators (rectal sensing threshold, anal resting pressure, rectal maximum volume threshold) and complications were compared between the two groups to assess the incidence of symptoms. **Results** The total effective rate of the observation group

基金项目:辽宁省科学计划研究项目(22Z11025)

作者单位:1. 大连市中心医院肛肠科, 辽宁, 大连 116000

2. 大连医科大学临床医学外科, 辽宁, 大连 116044

*通信作者:赵德余, E-mail:117996676@qq.com

(94.55%) was higher than that of the control group (81.13%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The first postoperative defecation time, operation time, postoperative bedtime, and hospitalization time in the observation group were shorter than those in the control group, and the intraoperative blood loss was less than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After treatment, the levels of 5-HT and PGE₂ in both groups decreased, with levels in the observation group lower than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Similarly, the levels of IL-6, CRP, and TNF- α in both groups decreased, after treatment, with levels in the observation group lower than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Additionally, RSTV and RMTV in the observation group were higher than those in the control group, while RASP was lower, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The total incidence of complications in the observation group (7.28%) was lower than that in the control group (20.75%), the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** TST is more effective in treating grade III mixed hemorrhoids. It can significantly improve perioperative indexes in patients with this condition. Levels of inflammatory factors such as 5-HT, PGE₂, IL-6, CRP, and TNF- α are reduced, and postoperative complications are decreased. This is beneficial for postoperative recovery.

[KEY WORDS] Tissue-selecting therapy stapler; Mixed hemorrhoids; Neurotransmitters; 5-hydroxytryptamine; Prostaglandin E₂; Interleukin-6

混合痔是临床常见的肛肠疾病之一,主要以肛门口出现便血、肿物、疼痛、局部瘙痒为临床表现^[1]。临床依据痔核严重程度分为 I、II、III、IV 四度, III 度混合痔患者常表现为痔核脱出,无法自行复位,需手动还纳^[2]。临床对于 III 度混合痔患者常采用手术治疗。吻合器痔上黏膜环切术(procedure for prolapse and hemorrhoids, PPH)运用吻合器治疗环状脱垂痔,具有一定疗效,但该术术后易出现出血、肛瘘等并发症,且治疗费用较高。选择性痔上黏膜切除吻合术(tissue-selecting therapy stapler, TST)是根据患者痔核分布及脱出情况,选择性的切除病变部位,保留正常黏膜组织的一种个性化治疗手段和手术方式,具有创伤较小、术后恢复较快、费用相对较低等优势^[3]。既往有研究证明,混合痔患者常存在疼痛表现,且手术均会在一定程度加重患者疼痛感和炎症刺激^[4]。神经递质 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、前列腺素 E₂(Prostaglandin E₂, PGE₂)是人体重要的致痛性物质,5-HT、PGE₂水平与患者疼痛程度呈正比;白介素-6(Interleukin-6, IL-6)是重要的促炎因子,机体出现炎症反应后其水平呈高表达^[5]。本研究旨在分析 TST 治疗 III 度混合痔的 5-HT、PGE₂及 IL-6 水平变化及临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究采用单中心回顾性研究方法,收集 2020 年 5 月至 2023 年 1 月大连市中心医院收治的 108 例 III 度混合痔患者,纳入标准:①经临床确诊,

且符合《痔诊断和治疗指南》^[6]中 III 度混合痔相关标准;②一般资料完整;③可正常言语交流;④符合混合痔手术指征;排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②既往行肛门手术者;③肛周急性脓肿者;④存在严重肠道感染者。

依据治疗方式分为对照组($n=53$,予 PPH 治疗)和观察组($n=55$,予 TST 治疗)。对照组男 33 例,女 20 例;年龄 36~60 岁,平均年龄(47.97 ± 1.21)岁;病程 4~9 年,平均病程(6.46 ± 0.19)年;观察组男 34 例,女 21 例;年龄 35~59 岁,平均年龄(48.08 ± 1.38)岁;病程 5~10 年,平均病程(6.51 ± 0.28)年。两组患者临床资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),可比。

1.2 方法

对照组:予 PPH 治疗^[7]。

观察组:予 TST 治疗^[8]。

1.3 观察指标

1.3.1 两组临床疗效对比

治疗后以《中国痔病诊疗指南》^[9]为评价标准,显效:患者临床症状、痔体有明显消失,创面基本恢复;有效:患者临床症状有所缓解,痔体有所减小,创面明显恢复;无效:患者临床症状无显著缓解,痔体大小、创面无改变。总有效=显效率+有效率。

1.3.2 两组围手术期指标对比

观察并记录两组住院时间、手术时长、术中出血量、术后首次排便时间、术后卧床时间。术前将干纱布本身的重量称好,采用干纱布吸血,再测量浸满血液的纱布重量,吸引瓶中的血量=瓶-血量减去生理盐水-其他液体重量;术中出血量=血纱

布量+吸引瓶中血量-干纱布量。

1.3.3 两组 5-HT、PGE₂、炎性因子水平对比

在术前 1 d、术后 1 d,抽取患者空腹静脉血 3 mL,静置 30 min,离心(3 000 r/min, 10 min,离心半径为 12.5 cm),取上清置于-20℃保存待检。采纳酶联免疫吸附法检测血清 5-HT、PGE₂、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、C 反应蛋白(C-Reactive protein, CRP)水平,5-HT、PGE₂试剂盒由上海博尔森生物科技有限公司提供,IL-6、TNF- α 、CRP 试剂盒由天津拓普科技公司提供。

1.3.4 两组肛肠动力学指标对比

在术前 1 d、术后 1 d采用 ZGJ-D3 型肛肠压力检测仪(上海涵飞医疗器械有限公司)检测患者直肠感知阈值(rectal sensory threshold volume, RSTV)、肛管静息压(resting anal sphincter pressure, RASP)、直肠最大容量阈值(rectal maximum threshold volume, RMTV)。RASP 正常范围:50~70 mmHg, RSTV 正常范围:50~150 mL, RMTV 正常范围:170 mL~440 mL^[10]。

1.3.5 两组并发症发生率对比

并发症包含肛门出血、吻合口狭窄、肛门水肿、肛门疼痛、尿潴留等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,计量资料使用($\bar{x} \pm s$)表示,两两间数据使用 *t* 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验;以 *P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

观察组临床总有效率(94.55%)比对照组(81.13%)高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 两组临床疗效对比 [n(%)]

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率
对照组	53	19(35.85)	24(45.28)	10(18.87)	43(81.13)
观察组	55	30(54.55)	22(40.00)	3(5.45)	52(94.55)
χ^2 值					4.586
<i>P</i> 值					0.032

2.2 两组围手术期指标比较

观察组住院时间、手术时长、术后首次排便时间、术后卧床时间比对照组短,术中出血量少于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 两组围手术期指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	住院时间(d)	手术时长(min)	术中出血量(mL)	术后首次排便时间(d)	术后卧床时间(d)
对照组	53	7.74±0.45	34.32±4.64	9.27±1.67	2.68±0.51	1.76±0.44
观察组	55	4.42±0.28	20.84±5.35	4.52±0.48	1.47±0.32	1.24±0.32
<i>t</i> 值		46.217	13.966	20.247	14.827	7.043
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 两组 5-HT、PGE₂ 水平比较

治疗后,两组 5-HT、PGE₂ 水平均下降,且观察组比对照组低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

表 3 两组 5-HT、PGE₂ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of 5-HT and PGE₂ levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	5-HT(ng/L)		PGE ₂ (μ g/mL)	
		术前	术后	术前	术后
对照组	53	217.23±22.46	159.33±19.18*	243.27±15.79	162.45±12.38*
观察组	55	218.68±23.33	102.89±15.45*	243.58±16.34	110.56±10.62*
<i>t</i> 值		0.328	16.871	0.100	23.407
<i>P</i> 值		0.743	<0.001	0.920	<0.001

注:与同组术前相比,**P*<0.05。

2.4 两组炎症因子比较

治疗后,两组 IL-6、CRP、TNF- α 水平均下降,且观察组比对照组低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

2.5 两组肛肠动力学指标比较

治疗后,观察组 RSTV、RMTV 比对照组高,RASP 比对照组低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 5。

2.6 两组并发症比较

观察组并发症总发生率(7.28%)比对照组(20.75%)低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 6。

3 讨论

混合痔是痔疮类疾病中较严重的一种,Ⅲ度混合痔患者常伴有肛门出血、直肠黏膜脱出等并发症,对患者身体健康、生活质量等产生严重影响。目前,临床对于Ⅲ度混合痔患者常采取手术治疗,其中包括 PPH 和 TST。本研究结果所示,观察组临床总有效率比对照组高,住院时间、手术时长、术后首次排便时间、术后卧床时间比对照组短,术中出血量比对照组少。分析其中原因为,PPH 是通过切除痔上的粘膜,起到提拉肛垫和断流的效果,进而改善患者临床表现,稳定其病情,

表4 两组炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	IL-6 (ng/mL)		CRP (mg/L)		TNF- α (ng/mL)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
对照组	53	32.28 \pm 6.44	18.33 \pm 4.78 ^a	38.72 \pm 5.20	26.38 \pm 4.13 ^a	8.28 \pm 1.13	5.52 \pm 1.07 ^a
观察组	55	32.79 \pm 6.18	10.62 \pm 3.49 ^a	38.69 \pm 5.05	18.34 \pm 3.95 ^a	8.51 \pm 1.64	3.94 \pm 0.77 ^a
t值		0.419	9.599	0.304	10.340	0.845	8.833
P值		0.675	<0.001	0.976	<0.001	0.399	<0.001

注:与同组术前相比,^aP<0.05。

表5 两组肛肠动力学指标对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of anorectal dynamics indicators between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RASP (mmHg)		RSTV (mL)		RMTV (mL)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
对照组	53	78.51 \pm 21.43	73.94 \pm 13.13 ^a	42.19 \pm 25.12	49.73 \pm 18.81 ^a	158.63 \pm 35.91	167.35 \pm 30.42 ^a
观察组	55	78.39 \pm 21.41	61.06 \pm 10.15 ^a	42.34 \pm 25.17	63.18 \pm 17.70 ^a	159.01 \pm 35.93	193.23 \pm 36.51 ^a
t值		0.028	5.715	0.030	3.828	0.054	3.994
P值		0.977	<0.001	0.976	<0.001	0.957	<0.001

注:与同组术前相比,^aP<0.05。

表6 两组术后发生并发症情况比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of postoperative complications between the two groups [n(%)]

组别	n	肛门出血	吻合口狭窄	肛门水肿	肛门疼痛	尿潴留	总发生率
对照组	53	3(5.66)	1(1.89)	1(1.89)	1(1.89)	5(9.43)	11(20.75)
观察组	55	1(1.82)	0(0.00)	0(0.00)	1(0.00)	2(3.64)	4(7.28)
χ^2 值							4.102
P值							0.043

但该术术后因切口较大,易增多手术中出血量,同时易出现诸多并发症,影响患者术后质量和预后,使得术后恢复进程延长^[11]。TST可通过特制的肛门镜对患者痔疮上面的直肠黏膜进行精确切除,有针对性的对痔疮起到悬吊作用,具有切除精确性;另外,TST可选择性地切除点位,使用间断荷包缝合对手术出现的创口深浅、跨度进行有效控制,伤口相对较少,术中出血量较少;同时因该术创口小,可最大限度降低肛管组织的受损,且伤口属于闭合性,可有效降低并发症发生情况,故愈合快,愈合时间短,加快了患者恢复进程。

既往研究报道,混合痔患者围手术期常伴有疼痛感,且手术创伤会导致组织损伤,使得炎症因子水平上升^[12]。5-HT是神经递质,主要分布于松果体和下丘脑,可能参与痛觉等生理功能的调节;PGE₂作为重要的疼痛递质之一,可使机体痛觉阈值降低,提高患者疼痛敏感度;CRP、TNF- α 均是炎症反应相关的生物标志物,IL-6是炎症反应重要标志物,在发生内外伤、外科手术、应激反应、感染、

肿瘤产生等急性炎症反应过程中,IL-6会快速生成^[13]。本研究对两组5-HT、PGE₂、炎症因子水平均进行检测,结果显示,治疗后观察组5-HT、PGE₂、IL-6、CRP、TNF- α 水平均低于对照组。提示TST治疗Ⅲ度混合痔患者术后疼痛程度较轻,同时可有效降低患者术后炎症因子水平;分析其原因可能与两种手术方式对炎症反应的影响不同有关,TST是微创手术,有着一定针对性,创口较小,对机体损伤较小,可减少手术过程中对痔疮周围组织的损伤和刺激,从而减轻患者术后疼痛感和炎症反应的程度;其次,TST手术操作常在肛门直肠内部无痛区,保留了直肠壁和肛管的完整性,避免了切除过多的组织,从而减少了术后组织损伤和炎症反应的程度^[14]。RSTV、RASP、RMTV是临床常见的肛肠动力学指标,常用于评估患者肛门直肠功能^[15]。本次研究发现,观察组RSTV、RMTV比对照组高,RASP比对照组低,提示TST治疗Ⅲ混合痔患者可加快其肛门功能恢复进程。

综上所述,采用TST治疗Ⅲ度混合痔患者疗效更显著,明显改善了患者围术期指标,降低了患者5-HT、PGE₂及IL-6、TNF- α 、CRP炎症因子水平,降低术后并发症发生率,利于术后恢复。

参考文献

[1] 赵文俊,汪庆明,胡峻,等.痔上黏膜缝扎结合内扎外剥术治疗环状重度脱垂性混合痔的临床观察[J].上海中医药大学学报,2020,34(2):37-40.

- [2] Che D, Zhang S, Jing Z, et al. Corrigendum to "Macrophages induce EMT to promote invasion of lung cancer cells through the IL-6-mediated COX-2/PGE2/ β -catenin signalling pathway" [Mol. Immunol. 90 (2017) 197-210] - ScienceDirect[J]. Mol Immunol, 2020, 126: 165-166.
- [3] 黎淑玲, 刘俊杰, 蒋邦好, 等. PPH联合直视下痔上动脉结扎治疗ⅢⅣ度混合痔的疗效及安全性[J]. 安徽医学, 2022, 43(11): 1264-1267.
- [4] Kuropakornpong P, Itharat A, Panthong S, et al. In Vitro and In Vivo Anti-Inflammatory Activities of Benjakul: A Potential Medicinal Product from Thai Traditional Medicine[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020(44): 1-8.
- [5] 余萍, 罗兵, 喻定刚, 等. 选择性痔上直结肠黏膜环切吻合术在高原地区混合痔治疗中的临床研究[J]. 实用医院临床杂志, 2020, 17(5): 60-63.
- [6] 中华医学会消化内镜学分会内痔协作组. 中国消化内镜内痔诊疗指南及操作共识(2021)[J]. 中华消化内镜杂志, 2021, 38(9): 676-687.
- [7] 范雷涛, 孙源, 李春雨. 比较两种联合术式治疗混合痔的临床疗效和肛肠动力学变化[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2021, 28(1): 79-84.
- [8] 马静怡, 龚建明, 徐琴, 等. 弹力线套扎术与PPH术治疗Ⅱ、Ⅲ度混合痔疗效对比[J]. 中国现代普通外科进展, 2021, 24(9): 732-733+735.
- [9] 中国中西医结合学会大肠肛门病专业委员会. 中国痔病诊疗指南(2020)[J]. 结直肠肛门外科, 2020, 26(5): 519-533.
- [10] 李颖, 连彦军, 宋志岗, 等. 腹腔镜直结肠癌根治术治疗直肠癌的效果及对血清疼痛因子、miR-103、miR-21与肛肠动力学指标的影响[J]. 中国内镜杂志, 2021, 27(3): 14-20.
- [11] 许桂祥, 徐丽, 周衍照, 等. SC-TST与PPH治疗环状痔的临床效果对比分析研究[J]. 结直肠肛门外科, 2022, 28(5): 465-468.
- [12] 刘晓标, 倪伟, 周莉莉. 复方黄柏涂液联合痔上黏膜环切钉合术对混合痔术后切口肿痛的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(4): 421-423.
- [13] 罗来斌, 徐志敏, 黄湖南, 等. 吻合器痔上黏膜环切术联合地奥司明对混合痔患者肛肠动力学及血清炎症因子的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(9): 1696-1699+1733.
- [14] Cui K, Li X, Chen Q, et al. Effect of replacement of dietary fish oil with four vegetable oils on prostaglandin E2 synthetic pathway and expression of inflammatory genes in marine fish *Larimichthys crocea*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2020, 107: 529-536.
- [15] 佟瑶, 沈艺, 刘磊, 等. 内痔套扎术联合外痔切除术对Ⅱ-Ⅳ期混合痔患者围术期指标、疼痛症状及肛肠动力学指标的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(23): 4522-4525.

(上接第493页)

- [8] 王金西, 郭晓娟, 程锦红, 等. 定量沉默c-Met基因表达对乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖和化疗敏感性的影响[J]. 重庆医学, 2022, 51(12): 1993-1998+2003.
- [9] 宋寒宾, 王慧, 刘美, 等. 跨膜蛋白16A通过激活表皮生长因子受体信号通路促进乳腺癌细胞增殖的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(7): 823-836.
- [10] 盖希, 范凤凤, 李占文. 循环肿瘤细胞检测在乳腺癌预后评估中的作用及与乳腺癌分子分型的关系[J]. 浙江医学, 2018, 40(2): 202-205.
- [11] Krishnaswamy S, Bukhari I, Mohammed AK, et al. Identification of the splice variants of Recepteur d'Origine nantais (RON) in lung cancer cell lines[J]. Gene, 2018, 30(679): 335-340.
- [12] 赵静, 刘阳, 熊媛璐, 等. 酪氨酸激酶受体RON与E-cadherin在子宫内膜异位症上的表达及意义[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(5): 85-88+92.
- [13] 刘海龙, 李娟, 董小鑫, 等. NGF, TrkA及c-Met表达对原发性上皮性卵巢癌病情评估及预后预测的作用[J]. 西部医学, 2022, 34(5): 665-670+674.

(上接第497页)

- [9] 赵沛, 赵黎, 苑玉聪. 血清 β 2-MG、Cys-C、NGAL联合检测在原发性肾病综合征所致急性肾损伤早期诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(6): 1025-1029.
- [10] 刘欢, 丁宁, 田丽, 等. 霉酚酸酯诱导治疗对狼疮性肾炎患者Treg/Th17的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(12): 2140-2146.
- [11] 袁巧萌, 任星峰. 原发性肾病综合征患者T、B淋巴细胞亚群变化及其与药物疗效的关系[J]. 华南国防医学杂志, 2020, 34(9): 679-681.
- [12] Du X, Liu H, Tian Z, et al. *PI3K/AKT/mTOR* pathway mediated-cell cycle dysregulation contribute to malignant proliferation of mouse spermatogonia induced by microcystin-leucine arginine[J]. Environ Toxicol, 2023, 38(2): 343-358.
- [13] Quan Z, Yang Y, Zheng H, et al. Clinical implications of the interaction between PD-1/PD-L1 and *PI3K/AKT/mTOR* pathway in progression and treatment of non-small cell lung cancer[J]. J Cancer, 2022, 13(13): 3434-3443.
- [14] Liu Y, Liu S, Wu C, et al. PD-1-Mediated *PI3K/Akt/mTOR*, Caspase 9/Caspase 3 and ERK Pathways Are Involved in Regulating the Apoptosis and Proliferation of CD4(+) and CD8(+) T Cells During BVDV Infection in vitro[J]. Front Immunol, 2020, 11(4): 467-467.

益气破血化痰方对冠心病血运重建术后心绞痛患者CRP、Hcy及血管内皮功能的影响

耿振平* 张富汉 程欢欢

【摘要】 目的 分析益气破血化痰方对冠心病血运重建术后心绞痛患者C-反应蛋白(CRP)、同型半胱氨酸(Hcy)及血管内皮功能的影响。方法 选取2019年10月到2023年1月河南省中西医结合医院收治的82例冠心病血运重建术后心绞痛患者为研究对象,采用随机数字表法将患者分为对照组(常规西医治疗)41例和观察组(常规西医+益气破血化痰方治疗)41例。比较两组治疗效果、CRP、Hcy及血管内皮功能,并统计比较两组治疗安全性。结果 观察组临床总有效率(87.80%)显著高于对照组(60.98%),差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后两组CRP、Hcy水平均显著降低,且观察组显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后,两组中医证候积分均降低,FMD值均上升,且观察组中医证候积分低于对照组,FMD值高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组治疗安全性显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 益气破血化痰方可明显降低冠心病血运重建术后心绞痛患者CRP、Hcy水平,能更好地改善患者血管内皮功能及中医证候,临床疗效更佳,且具有一定安全性。

【关键词】 益气破血化痰方;冠心病;血运重建术;心绞痛;C反应蛋白;同型半胱氨酸;血管内皮功能

Effects of Yiqi-Poxue-Huatan Decoction on CRP, Hcy and Vascular Endothelial Function in Patients with Angina Pectoris after Coronary Heart Disease Revascularization

GENG Zhenping*, ZHANG Fuhuan, CHENG Huanhuan

(Department of Cardiovascular Disease, Henan Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the effects of Yiqi-Poxue-Huatan Decoction on CRP, Hcy, and vascular endothelial function in patients with angina pectoris after coronary heart disease revascularization. **Methods** 82 patients with angina pectoris after coronary heart disease revascularization were admitted to Henan Integrative Medicine Hospital from October 2019 to January 2023. They were selected as the research subjects. Using a random number table method, the patients were divided into a control group (treated with conventional Western medicine) of 41 cases and an observation group (treated with conventional Western medicine+Yiqi-Poxue-Huatan Decoction) of 41 cases. The therapeutic effects, CRP, Hcy, and endothelial function of blood vessels (evaluated using flow-mediated dilation-FMD) were compared between the two groups. The safety of treatment in both groups was also statistically compared. **Results** The total clinical efficacy rate (87.80%) in the observation group was significantly higher than that in the control group (60.98%), with a statistically significant difference ($P<0.05$). After treatment, levels of CRP and Hcy decreased significantly in both groups with the observation group showing significantly lower levels compared to the control group ($P<0.05$). TCM syndrome scores decreased and FMD values increased after treatment in both groups. The observation group had lower TCM syndrome scores and higher FMD value compared to the control group, with

基金项目:河南省中医药科学研究专项项目(2019ZY2009)

作者单位:河南省中西医结合医院心血管科,河南,郑州 450000

*通信作者:耿振平, E-mail: huahuaniu1980@126.com

a statistically significant difference ($P<0.05$). The safety of treatment in the observation group was significantly higher than in the control group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** The Yiqi-Poxue-Huatan Decoction can significantly reduce the levels of CRP and Hcy in patients with angina after coronary artery revascularization. It also improves the endothelial function of patients and their TCM syndrome. Additionally, it has shown better clinical efficacy and a certain level of safety.

[KEY WORDS] Yiqi-Poxue-Huatan Decoction for breaking blood and reducing phlegm; Coronary heart disease; Revascularization; Angina pectoris; C-reactive protein; Homocysteine; Vascular endothelial function

相关研究数据显示:冠心病是危害我国老年人群身体健康及城乡居民致死的主要原因^[1]。近年来,随着微创介入手术的发展及研究的不断深入,冠脉介入、移植术等冠脉血运重建术在冠心病的临床治疗中起到了重要的作用。但是大量临床实践资料表明,冠脉血运重建术后心绞痛发生率较高,且针对此类患者再次手术难度较大,严重影响患者预后。因此,有效防治心绞痛再发是冠心病患者冠脉血运重建术后的关键^[2]。近年来,随着中医研究的不断深入,中医药干预在冠心病血运重建术后心绞痛的治疗中有着较为理想的临床价值,这为冠脉血运重建患者术后血管再狭窄的中医应用治疗提供了新的切入点,是目前临床心血管领域的研究热点之一^[3]。本研究旨在分析益气破血化痰方对冠心病血运重建术后心绞痛患者C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)及血管内皮功能的影响,具体报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年10月到2023年1月河南省中西医结合医院收治的82例冠脉血运重建术后心绞痛患者,采用随机数字表法将患者分为对照组(常规西医治疗)41例和观察组(常规西医+益气破血化痰方治疗)41例。对照组男22例,女19例,平均年龄(59.16 ± 7.89)岁,合并糖尿病16例、高脂血症15例、脑梗塞6例;观察组男25例,女16例,平均年龄(60.40 ± 6.21)岁,合并糖尿病14例、高脂血症12例、脑梗塞7例,两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:①均符合冠脉血管重建术后心绞痛相关诊断标准^[4];②均实施过冠心病血运重建治疗;③血液系统、免疫功能正常者;④家属均知晓本研究治疗风险且签署知情同意书。排除标准:

①除冠心病外其他心血管疾病者;②收缩压 ≥ 180 mmHg,舒张压 ≥ 110 mmHg者;③半年内服用过或正在使用影响血脂及性激素代谢药物;④年龄在40岁以下或70岁以上、妊娠或哺乳期妇女。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

对照组:给予抗血小板聚集药物、硝酸酯类、 β 受体阻滞剂、钙拮抗剂等常规西医治疗。

观察组:在对照组基础上予以加用益气破血化痰方(方药:黄芪30 g、红景天20 g、三棱、莪术各9 g、丹参、赤芍、川芎、陈皮、茯苓各15 g、降香、红花、法半夏各10 g,用法:每次文火煎1剂,留200毫升药水,分早晚2次饭后半小时温服)治疗。

1.3 观察指标

1.3.1 两组临床疗效比较

参照《证候类中药新药临床研究技术指导原则》^[5]进行评定,显效:症状、体征较治疗前改善非常明显,且中医证候积分减少比率在70%及以上;有效:症状、体征较治疗前稍改善, $<30\%$ 中医证候积分减少比率 $<70\%$;无效:症状、体征较治疗前无任何变化,甚至进一步加重,中医证候积分减少比例在30%以下甚至无任何改变。总有效率= $[(\text{显效}+\text{有效})/\text{总例数}]\times 100.00\%$ 。

1.3.2 CRP、Hcy水平检测及血管内皮功能评估

所有患者均于治疗前后清晨空腹状态下抽取静脉血液5 mL,高速(3 000 r/min,离心半径8.0 cm)离心10 min后分离血清,置于 -4°C 冰箱贮存以待检测。于本院生化实验室采用酶联免疫吸附法检测CRP及Hcy水平,CRP、Hcy试剂盒均购自于广州市康润生物科技有限公司。应用日本欧姆龙血管内皮功能检测仪(BP-203RPEIII)监测肱动脉内皮功能,记录治疗前后血流介导的血管扩张功能(Flow-mediated dilation FMD)值,客观评价冠心病血运重建术后患者治疗前后血管内皮功能情

况,将肱动脉加压5 min后开放血管,血流产生的剪切力作用于血管内皮细胞,产生一氧化氮,引起血流介导的血管舒张反应,通过自动测量加压前后肱动脉管腔直径的变化率反映血管内皮细胞的功能。即FMD值越高表明患者血管内皮功能越好^[6]。

1.3.3 中医证候积分评定

证候评定标准^[7]:评定内容主要包括胸痛、胸闷、气短、心悸、神倦无力、胸脘痞闷、肢体沉重、痰量、舌象及脉象证候,总分为39分,轻度:中医证候积分 ≤ 13 分,中度:13<中医证候积分 ≤ 26 分,重度:中医证候积分 >26 分,得分越高,表明患者中医症状越严重。

1.3.4 CRP、Hcy水平检测及血管内皮功能评估

所有患者均于治疗前后清晨空腹状态下抽取静脉血液5 mL,高速(3 000 r/min,离心半径8.0 cm)离心10 min后分离血清,置于-4℃冰箱贮存以待检测。于本院生化实验室采用酶联免疫吸附法检测CRP及Hcy水平,CRP、Hcy试剂盒均购自于广州市康润生物科技有限公司。应用日本欧姆龙血管内皮功能检测仪(BP-203RPEIII)监测肱动脉内皮功能,记录治疗前后血流介导的血管扩张功能(Flow-mediated dilation FMD)值,客观评价冠心病血运重建术后患者治疗前后血管内皮功能情况,FMD值越高表明患者血管内皮功能越好。

1.3.5 安全性评估

安全性评价标准^[8]:1级:安全,无任何不良反应;2级:比较安全,如有不良反应,不需做任何处理可继续给药;3级:有安全性问题,有中等程度的不良反应,经处理后可继续给药;4级:因不良反应中止试验。

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 或秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

对照组总有效占比为60.98%,观察组总有效占比87.80%,观察组总有效占比大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组CRP、Hcy水平比较

治疗后两组CRP、Hcy水平均显著降低,且观察组显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

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	总有效率
对照组	41	15(36.59)	10(24.39)	16(39.02)	25(60.98)
观察组	41	26(63.41)	10(55.24.39)	5(12.20)	36(87.80)
χ^2 值					7.746
P 值					0.005

表2 两组CRP、Hcy水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of CRP and Hcy levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRP(mg/L)		Hcy(umol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	41	7.89 \pm 1.89	4.21 \pm 1.01 ^a	23.05 \pm 5.25	16.29 \pm 3.58 ^a
观察组	41	7.97 \pm 1.92	2.13 \pm 0.42 ^a	22.83 \pm 5.17	12.51 \pm 2.35 ^a
t 值		0.190	12.176	0.191	5.652
P 值		0.850	<0.001	0.849	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组中医证候积分、血管内皮功能比较

治疗后,两组中医证候积分均降低,FMD值均上升,且观察组中医证候积分低于对照组,FMD值高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组中医证候积分、血管内皮功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of traditional chinese medicine syndrome points and vascular endothelial function between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	中医证候积分(分)		FMD(%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	21.56 \pm 3.92	18.77 \pm 2.92 ^a	5.16 \pm 1.18	6.92 \pm 2.18 ^a
观察组	29	21.73 \pm 3.89	11.07 \pm 1.70 ^a	5.21 \pm 1.08	8.92 \pm 2.12 ^a
t 值		0.197	14.592	2.200	4.211
P 值		0.844	<0.001	0.842	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.4 两组安全性比较

观察组治疗安全性显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组安全性比较 [$n(\%)$]

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

组别	n	1级	2级	3级	4级
对照组	41	20(48.78)	19(46.34)	2(4.88)	0(0.00)
观察组	41	32(78.05)	8(19.51)	1(2.44)	0(0.00)
Z 值				-2.673	
P 值				0.008	

3 讨论

根据既往调查资料显示:冠心病血运重建术后心绞痛的发病因素众多且复杂,多项危险指标

在体内共存,而CRP、Hcy的高低及内皮功能状态与其发生、进程、病情的严重程度及预后等密切相关^[9]。因此,测定体内CRP、Hcy水平及评估内皮功能状态,有利于早期发现病情及指导治疗。目前,临床在冠心病血运重建术后心绞痛的治疗上多以抗血小板聚集药物等西医治疗为主,但抗血小板聚集等药物的长期使用会对肝肾功能和消化系统等造成一定影响,且停药后病情易反复,对防治血运重建术心绞痛的发生、发展均有很大的局限性^[10]。

血运重建术后心绞痛属于中医“胸痹”范畴,而胸痹是本虚标实之证。术后正气仍不足,“气不足者,邪必凑之”,气虚血瘀导致瘀血内生,痰湿聚集,有形之邪再次形成,壅阻脉络;而其中又以血瘀为主,因而血运重建术后心绞痛的病机以气虚血瘀痰浊为主^[11]。故血运重建术后心绞痛以益气破血化痰为治疗原则。本组研究结果显示;采用益气破血化痰方辅助西医治疗的患者临床总有效率更高,中医证候积分改善更加明显。益气破血化痰方药物组成有黄芪、红景天、三棱、莪术、丹参、赤芍、川芎、降香、红花、陈皮、法半夏、茯苓。方以黄芪、红景天益气活血;三棱、莪术破血行气;丹参、赤芍、川芎、降香、红花活血祛瘀;法半夏、陈皮、茯苓化痰祛湿,共为辅佐。具有正气足痰瘀消,痹痛自除的功效,诸药相合,共奏益气破血化痰之效,切中病机,从而改善患者中医证候,提高临床疗效。进一步研究显示,采用常规西医+益气破血化痰方治疗的患者,治疗后CRP、Hcy水平更低,血管内皮功能改善效果更佳。CRP是动脉斑块炎症反应的标志,与心绞痛发生发展及预后密切相关。有证据表明,Hcy与肱动脉血流介导的舒张功能有着密切联系,是冠心病内皮功能损伤及血栓形成的独立危险因素^[12]。现代药理学研究表明^[13]:红景天中含有多种抗炎活性物质,在机体抗炎反应中具有一定促进作用,可改善心肌缺血;三棱可以增加人体血浆中的纤溶活性成分,改善血小板活性;莪术具有抗动脉硬化效果;丹参可抑制血小板聚集,起到改善血管内皮功能的作用。故诸药合用,对心绞痛患者治疗效果更为显著。除此之外,针对药物使用安全性分析得:益气破血化痰方辅助西药治疗安全性更高,表明益气破血化痰方可帮助缓解西药治疗带来的部分不良反应。

综上所述,益气破血化痰方可明显降低冠心病血运重建术后心绞痛患者CRP、Hcy水平,能更好地改善患者血管内皮功能及中医证候,临床疗效及安全性更佳。

参考文献

- [1] 崔耀刚,吕小宁,庞然.冠心病PCI术后SICAM-1、RDW及vWF水平与支架内再狭窄的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(3):426-429.
- [2] 颜文婷,徐海燕,魏忠诚.老年冠心病患者血清VEGF、NT-proBNP、cTnT与冠状动脉病变程度的相关性[J].医学分子生物学杂志,2017,14(2):96-99.
- [3] 何璠琦,王凤荣,王帅,等.通脉降浊颗粒辅助干预冠心病血运重建术后再发心绞痛患者临床疗效及对生活质量的影响[J].中华中医药学刊,2022,40(4):154-158.
- [4] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.中华医学会第八次全国心血管病学术会议纪要[J].中华心血管病杂志,2005,33(3):204-209.
- [5] 黄蓓.《证候类中药新药临床研究技术指导原则》发布[J].中医药管理杂志,2018,26(21):107-107.
- [6] 黄晓东,蔺际龔,周婷婷,等.基于血流介导的血管舒张功能构建高血压亚临床靶器官损害的列线图[J].中华高血压杂志,2023,31(10):937-944.
- [7] 林昌,袁先琢,高发林,等.PCI术后再发心绞痛患者中医证候与冠脉病变关系及危险因素分析[J].中国中医急症,2022,31(3):450-453.
- [8] 乔利杰,李彬,彭广操,等.益气活血方及其拆方治疗冠心病心力衰竭气虚血瘀证的双盲随机对照试验[J].中华中医药杂志,2023,38(2):881-886.
- [9] Fouda EM, Wahba NS, Elsharawy AIM, et al. Serum homocysteine level in pediatric patients with COVID-19 and its correlation with the disease severity[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2022, 57(7):1701-1708.
- [10] 吴健,陈智龙,陈建强,等.益气破血化痰方对冠心病室性心律失常病人趋化性细胞因子、冠状动脉微循环和血管内皮功能的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(12):2224-2228.
- [11] 肖娟.中药甘松复脉汤辅助治疗对心绞痛患者心功能,血管内皮功能,C反应蛋白及肿瘤坏死因子- α 水平的影响[J].中医临床研究,2023,15(9):27-30.
- [12] Tabatabaee S, Rezaei F, Soleimani S, et al. Hyperhomocysteinemia is related to large vessel occlusion in young patients with COVID-19: Two case reports[J]. *Clin Case Rep*, 2022, 10(12):e6716.
- [13] Jin YT, Wu YC, Wu YH, et al. Anemia, hematinic deficiencies, and hyperhomocysteinemia in burning mouth syndrome patients with thyroglobulin antibody/thyroid microsomal antibody positivity but without gastric parietal cell antibody positivity[J]. *J Dent Sci*, 2022, 17(1):106-112.

高苯丙氨酸血症家系 PAH 和 PTS 基因突变研究

李乐¹ 戴翔^{2*} 周鑫³ 曹翠²

[摘要] 目的 检测湖北省地区 26 例中国人高苯丙氨酸血症家系基因突变,研究其基因型、表型和遗传学特征。方法 采集 2018 年 3 月至 2020 年 12 月在武汉儿童医院就诊的 26 例 HPA 患儿和父母静脉血样本,并收集其临床资料,提取 DNA,应用聚合酶链式反应(PCR)扩增 PAH 基因和 PTS 基因编码区及其侧翼序列,并以直接测序法对扩增产物正反测序进行突变分析。同时选取同时段来本院健康体检无明显异常儿童 100 名为正常对照组,处理方式与患儿相同。结果 患儿中检出 PAH 基因突变 24 种,其中 c.728G>A(R243Q)最常见,等位基因突变率为 15.2%(7/46)。发现一新 PTS 基因突变 IVS3+9A>G。3 例 BH4 缺乏型患儿中检出 PTS 基因 P87S、D96N 和 A111T 突变,其中 P87S 是最常见致病突变。在正常对照组中,未检出以上患儿中携带的突变,仅检出三种突变 Q232Q(c.696A>G)、V245V(c.735G>A)和 L385L(c.1155G>C),均为同义突变,不改变编码氨基酸,属于正常 DNA 多态。结论 PAH 基因突变引起患儿 PAH 缺乏型 HPA,而 PTS 基因突变引起严重型 BH4 缺乏症。基因检查的结果可为临床诊断和选择合适的治疗方案提供参考,并且可为进一步生育指导提供参考。

[关键词] 高苯丙氨酸血症; PAH; PTS; BH4; 突变

Study on PAH and PTS gene mutations in families with hyperphenylalaninemia

LI Le¹, DAI Xiang^{2*}, ZHOU Xin³, CAO Cui²

[1. Department of Prevention and Cure of Schistosomiasis and Endemic Disease of Center for Disease Control and Prevention of Hanyang District, Wuhan, Hubei, China, 430051; 2. Birth Health & Heredity Laboratory of Wuhan Children's Hospital (Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital), Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan, Hubei, China, 430016; 3. Mental Health Unit of Center for Disease Control and Prevention of Hanyang District, Wuhan, Hubei, China, 430051]

[ABSTRACT] **Objective** To detect gene mutations in 26 Chinese families with hyperphenylalaninemia in Hubei Province and to study their genotype, phenotype and genetic characteristics. **Methods** Blood samples and clinical data of the proband and their parents at Wuhan Children's Hospital were collected from March 2018 to December 2020. DNA was extracted from the blood samples. The mutations in the PAH gene and PTS gene were analyzed using PCR and direct sequencing. Meanwhile, 100 healthy individuals who visited our hospital for a physical examination during the same period, without any obvious abnormalities were selected as the normal control group. They underwent the same treatment as the patients. **Results** Mutations in the 24 PAH gene were detected in the patients, including the most common mutation c.728G>A (R243Q), with a mutation rate of 15.2% (7/46). A new PTS gene mutation, IVS3+9A>G was found, for the first time in this study. PTS mutations P87S, D96N and A111T were identified in the 3 patients with BH4 deficiency. No mutations were detected in the normal control group. Only three mutations were found Q232Q (c.696A>G), V245V (c.735G>A) and L385L (c.1155G>C), all of which are synonymous mutations, that do not change

基金项目:武汉市卫健委科研项目(WX15C20)

作者单位:1.武汉市汉阳区疾病预防控制中心血吸虫病和地方病防治科,湖北,武汉 430051

2.华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院(武汉市妇幼保健院)优生遗传实验室,湖北,武汉 430016

3.武汉市汉阳区疾病预防控制中心精神卫生科,湖北,武汉 430051

*通信作者:戴翔, E-mail: congque@163.com

coding amino acids and are likely polymorphisms. **Conclusion** Mutations in the *PAH* are responsible for *PAH* deficiency type HPA, while mutations in the *PTS* gene cause severe BH4 deficiency. Gene testing can be beneficial for clinical diagnosis, selecting a therapeutic regimen, and providing guidance for future procreation.

[KEY WORDS] Phenylketonuria; *PAH*; *PTS*; BH4; Mutation

高苯丙氨酸血症 (hyperphenylalaninemia, HPA) 是一种常见的氨基酸代谢疾病。由于苯丙氨酸 (phenylalanine, Phe) 代谢过程中酶的缺陷导致 Phe 在体内大量蓄积, 血 Phe 浓度高于 120 $\mu\text{mol/L}$ 且血 Phe 与酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 比值 (Phe/Tyr) > 2.0。过量的 Phe 和旁路代谢产物的神经毒性作用易造成患儿严重智能障碍和继发性癫痫。HPA 以常染色体隐性方式遗传, 可分为苯丙氨酸羟化酶 (phenylalanine hydroxylase, PAH) 缺乏型和四氢生物蝶呤 (tetrahydrobiopterin, BH4) 缺乏型。PAH 缺乏型 HPA 根据血 Phe 浓度又可分为经典型苯丙酮尿症 (phenylketonuria, PKU)、轻度 PKU 和轻度 HPA。PAH 缺乏型 HPA 主要由于 PAH 活性降低或丧失所致, 而 *PAH* 基因突变是其主要致病原因。BH4 缺乏型较为罕见, 病性也较经典型重, 这是由于 BH4 不仅是 PAH 的辅因子, 同时还是 Tyr 和色氨酸等芳香族氨基酸羟化酶的辅助因子。中国人中 BH4 缺乏较为常见的原因因为 6-丙酮酰四氢生物蝶呤合成酶 (6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, PTPS) 的编码基因 *PTS* 基因突变而导致 PTPS 活性降低或丧失^[1]。由于 HPA 是为数不多的可治性隐性遗传性疾病之一, 因此, 基因诊断是早期诊断、早期治疗, 以及降低患儿出生率的有效手段^[2]。此前关于 PKU 及基因的分子流行病学研究多为中国北方、南方及东南沿海地区, 而湖北省位于中国中部, 相关报道并不多见, 尤其 BH4 这类罕见病例更鲜有报道。本研究对 26 例 HPA 家系进行 *PAH* 基因和 *PTS* 基因突变分析, 报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2018 年 3 月至 2020 年 12 月在武汉儿童医院就诊的 26 例 HPA 患儿, 其中, 男 15 例, 女 11 例, 年龄: 12 天~13 岁, 平均 (1.2 \pm 2.9) 岁。入选标准: 26 例患儿均为新生儿时足后跟血筛查 Phe 结果阳性, 串联质谱法检测 Phe > 120 $\mu\text{mol/L}$ 。分型依据^[3]: 患儿均经尿蝶呤谱分析、红细胞二氢蝶啶还原酶 (dihydropteridine reductase, DHPR) 活性测

定、BH4 负荷实验, 区分 PAH 缺乏型和 BH4 缺乏型。其中, 患儿尿蝶呤谱分析结果、DHPR 测定结果和 BH4 负荷实验结果符合《中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业。高苯丙氨酸血症的诊治共识》中 BH4 缺乏型标准的为 BH4 缺乏型, 其余为 PAH 缺乏型^[3]。PAH 缺乏型患儿根据血 Phe 浓度又可分为: 血 Phe 浓度 \geq 1 200 $\mu\text{mol/L}$ 为经典型 PKU; 360 $\mu\text{mol/L}$ ~1 200 $\mu\text{mol/L}$ 为轻度 PKU; 120 $\mu\text{mol/L}$ ~360 $\mu\text{mol/L}$ 为轻度 HPA^[3]。患儿父母身体各系统未见明显异常, 家族无遗传病、重大疾病或传染病史。患儿母亲在患儿出生前无不良生育史, 怀孕期间无患病和药物应用史。选取身体各系统无明显异常者 100 名作为正常对照, 均为来自本院体检中心体检者, 男 56 名, 女 44 名, 年龄 5~10 岁, 平均 (6.9 \pm 1.3) 岁。本研究通过本院伦理委员会审核, 所有检测均在受检者监护人的知情同意下进行。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取与 PCR 反应

以 EDTA 抗凝采集患儿、患儿父母和正常对照组外周血样本, 应用 Promega 公司的 DNA 提取试剂盒 (Genomic DNA Purification Kit, Promega) 提取样本中的基因组 DNA, 经紫外分光光度计分析纯度后于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

扩增患儿及父母 *PAH* 基因全部 13 个外显子及其侧翼序列, 引物序列及反应条件参考文献报道^[4]。扩增患儿及其父母 *PTS* 基因全部 6 个外显子及其侧翼序列。引物序列见表 1。反应体系 (10 μL): 0.5 μL 基因组 DNA (约 50 ng), 正反引物 (5 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.5 μL , GoTaq Master Mix (Promega 公司) 5 μL , 加去离子水至 10 μL 。扩增反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 共循环 30 次; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 7 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保温。正常对照组同时扩增 *PAH* 基因和 *PTS* 基因全部外显子及侧翼序列。引物由上海生工合成, PCR 反应中所需聚合酶及 Buffer 应用由 Promega 公司提供试剂 GoTaq Master Mix 完成。应用 ABI 公司 9700 型 PCR 仪完成扩增反应, 产物经琼脂糖凝胶电泳检测分析。

表1 *PTS* 基因外显子与侧翼序列扩增引物

Table 1 Primers for amplification of *PTS* gene exons and flanking sequences

引物名称	序列
<i>PTS</i> E1F	TGCTCTCCGAAGAGATTCAG
<i>PTS</i> E1R	AGTCGCTCCGTTAACCATC
<i>PTS</i> E2F	GGAAACTTTTCAAAGATCAGTA
<i>PTS</i> E2R	GTTTTCCCATCTTTTATGTCTA
<i>PTS</i> E3F	ATTTAAGTATAGCTTTTGGGGACA
<i>PTS</i> E3R	AACAATGAAGCAATACTGACTGG
<i>PTS</i> E4F	TGGTGCTTCCATGCTGAG
<i>PTS</i> E4R	CCATGCGAGCAGTTCTTC
<i>PTS</i> E5F	TTCCTAATCATTACCGACAGCT
<i>PTS</i> E5R	TTACAATCCACATAAGGCAAGA
<i>PTS</i> E6F	TTGCCTTATGTGGATTGTA AAA
<i>PTS</i> E6R	ACAGAAAGAACTGGGCTTGT

1.2.2 DNA 测序及突变分析

PCR 产物经 Cycle-Pure Kit(OMEGA 公司)试剂纯化后行直接正反向测序反应,引物与 PCR 引物相同,由 ABI 公司 3130 型基因分析仪完成测序分析。序列比对应应用软件 GeneTool 完成,标准序列参考 GenBank,突变位点数据参考 HGMD 数据库(<http://www.Hgmd.cf.ac.uk>)和国际 *PAH* 基因突变数据库(<http://www.pahdb.mcgill.ca/>)。

2 结果

2.1 *PAH* 基因突变

26 例患儿中 23 例为 *PAH* 缺乏型患儿,占总患儿数 88.5%(23/26)。基因型与表型结果见表 2。23 例 *PAH* 缺乏型患儿共检出 *PAH* 基因突变 23 种,其中 c.728G>A(R243Q)最为常见,等位基因突变率为 15.2%(7/46);另外,IVS4-1G>A 突变率 8.7%(4/46)和 c.722delG 突变率 8.7%(4/46)并列为第二常见的变异。23 种突变中,属于错义突变的有 14 种(60.9%,14/23),其后依次是无义突变 4 种(17.4%,4/23),剪接位点突变 2 种(8.7%,2/23),导致编码框移的缺失突变 2 种(8.7%,2/23)和非框移缺失突变 1 种(4.3%,1/23)。

2.2 *PTS* 基因突变

本研究中 3 例为 BH4 缺乏型患儿,占总患儿数 11.5%(3/26),均检出 *PTS* 基因突变。其中,P1201 为 *PTS* 基因 P87S(c.259C>T)/D96N(c.286G>A)复合杂合突变;P1202 为 *PTS* 基因 P87S(c.259C>T)/A111T(c.331G>A)复合杂合突变;P1203 为 *PTS* 基因 P87S(c.259C>T)纯合突变;P87S 和 D96N 均位于 *PTS* 基因第 5 号外显子,A111T 位于第 6 号外显

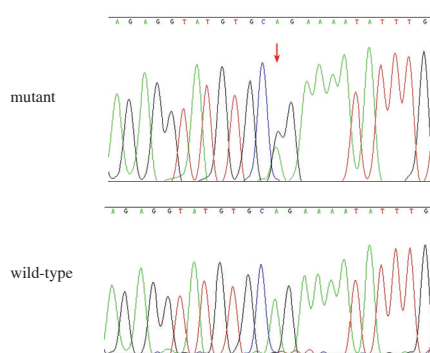
表2 *PAH* 基因突变患儿基因型、表型结果

Table 2 Genotype and phenotype of patients with *PAH* gene mutation

编号	DNA 变异	氨基酸变异	变异类型	表型
P220101	c.906delT	S303Pfs*38	Frameshift	PKU
P220102	c.728G>A	p.R243Q	Missense	PKU
	c.728G>A	p.R243Q	Missense	
P220103	IVS4-1G>A	IVS4-1G>A	Splice	PKU
	c.1068C>A	p.Y356X	Nonsense	
P220104	IVS4-1G>A		Splice	轻度 HPA
	c.1197A>T	p.V399V	Splice	
P220105	c.205C>T	p.P69S	Missense	轻度 PKU
	c.728G>A	p.R243Q	Missense	
P220106	c.722delG	R241Pfs*100	Frameshift	轻度 HPA
P220107	c.728G>A	p.R243Q	Missense	轻度 PKU
	c.889C>T	p.R297C	Missense	
P220108	c.331C>T	p.R111X	Nonsense	轻度 PKU
	C.852C>A	p.C284X	Nonsense	
P220109	c.194T>C	p.I65T	Missense	PKU
	IVS4-1G>A	IVS4-1G>A	Splice	
P220110	c.722delG	R241Pfs*100	Frameshift	轻度 PKU
	c.889C>T	p.R297C	Missense	
P220111	c.498C>G	p.Y166X	Nonsense	PKU
	c.611A>C	p.Y204C	Missense	
P220112	c.158G>A	p.R53H	Missense	轻度 HPA
	c.827T>G	p.M276R	Missense	
P220113	c.208_210delTCT	p.S70del	Deletion	PKU
	c.611A>C	p.Y204C	Missense	
P220114	c.728G>A	p.R243Q	Missense	轻度 PKU
	c.611A>C	p.Y204C	Missense	
P220115	c.728G>A	p.R243Q	Missense	轻度 PKU
	c.1301C>A	p.A434D	Missense	
P220116	c.1223G>A	p.R408Q	Missense	轻度 PKU
P220117	c.158G>A	p.R53H	Missense	轻度 HPA
	c.1197A>T	p.V399V	Splice	
P220118	c.631C>T	p.P211S	Missense	轻度 PKU
	c.728G>A	p.R243Q	Missense	
P220119	c.722delG	R241Pfs*100	Frameshift	轻度 HPA
	c.1330C>T	p.L444F	Missense	
P220120	c.721C>T	p.R241C	Missense	轻度 HPA
P220121	c.722delG	R241Pfs*100	Frameshift	轻度 PKU
	c.875C>T	p.P292L	Missense	
P220122	c.605C>T	p.A202V	Missense	轻度 HPA
P220123	IVS4-1G>A	IVS4-1G>A	Splice	轻度 PKU
	c.1068C>A	p.Y356X	Nonsense	

子,均属错义突变,其中 P87S 突变率 66.7%(4/6)最为常见。患儿的父母分别为相应突变的携带者。另外,在 1 例 *PAH* 缺乏型患儿 P220112 发现一新 *PTS* 基因突变 IVS3+9A>G。见图 1。

在 100 例正常对照组中未检出以上 *PAH* 基因和 *PTS* 基因突变。而在正常对照组中,仅检出三种 *PAH* 基因同义突变 Q232Q(c.696A>G)、V245V(c.735G>A)和 L385L(c.1155G>C),均为正常 DNA 多态,不改变编码氨基酸序列。



注: Mutant: IVS3+9A>G 杂合突变; wild-type: 野生型。

图1 PTS 基因测序图

Figure 1 Sequencing analysis of PTS gene

3 讨论

PAH 基因突变导致体内 PAH 活性降低或丧失,是引起 HPA 的主要原因。另外, Phe 经 PAH 作用转化生成 Tyr 的过程中, BH4 是重要的辅助因子,因此 BH4 的缺乏或活性丧失同样会导致 HPA。并且, BH4 缺乏型病情更重,除造成 HPA 外,还影响到脑细胞中髓鞘蛋白的合成,造成神经介质的减少^[1,5]。BH4 缺乏型 HPA 极为罕见。目前已知的与 BH4 缺乏相关的酶中以 PTPS 缺乏最多见,而编码 PTPS 的 PTS 基因突变是主要原因。本研究中 PTS 基因突变分析为湖北省首次报道。

本研究中, PAH 缺乏型患儿占 HPA 患儿 88.5%,且均检出 PAH 基因突变,是 HPA 患儿最常用的病因。PAH 突变有明显的种族差异性,如欧洲人的 PAH 突变高发区域为 12 号外显子及其侧翼序列,以 R408W 和 IVS12+1G>A 最为常见,而亚洲地区的日本 R413P 和韩国 R243Q 最常见,在我国则以 R243Q 最常见^[6-7]。

本研究中 PAH 缺乏型 HPA 患儿以 c.728G>A (R243Q) 最为常见,其次是 IVS4-1G>A 和 c.722delG 突变,这与国内其他地区的报道有相似也有不同。根据报道,中国北方人群中以 R243Q 的突变频率最高,而在南方及东南沿海有些地区则并不以 R243Q 为最常见突变^[8-9]。本研究结果提示湖北人群中可能也以 R243Q 为热点,与中部邻近省份陕西、河南和江西的报道一致^[10-11]。IVS4-1G>A 是浙江人群中的最常见突变,位于 4 号内含子与 5 号外显子剪接位点,其突变改变了 mRNA 的剪切方式,翻译产物发生较大变化,按照预测残余活性(predicted residu-

al activity, PRA) 归类属于无效突变^[12]。

PAH 酶的催化活性及功能与其结构密切相关^[13]。本研究检出的 PAH 突变中以错义突变最为常见,这些错义突变主要发生在 PAH 调节结构域和催化结构域上,其突变使 PAH 的功能丧失是导致疾病的关键原因。其次是无义突变、框移突变和剪接位点突变,这些位点的突变会导致 PAH 序列和结构大范围的变化,从而影响 PAH 的正常功能。患儿 P220101、P220106、P220116、P220120 和 P220122 均分别仅检测出一个杂合突变。按照现有的常染色体隐性遗传模式遗传致病的相关理论,并不能完全解释患儿病因,因此,仍需进一步检测 PAH 基因其他可能存在的突变,如调控序列突变、大片的缺失或插入和未知区域的突变,其病因也可能与其他因素相关。P220112 患儿为 PAH 基因 c.158 G>A/c.827T>G 复合杂合突变,串联质谱法检测 Phe 初次结果 119.85 μmol/L,复查结果 123.18 μmol/L,属轻度 HPA,与相关报道临床表型相似^[14],进一步证实 c.158 G>A 与轻度 HPA 相关。另外, P220112 患儿除检出 PAH 基因突变,同时还检出 1 个 PTS 基因突变 IVS3+9A>G,为本研究首次报道。该位点接近 PTS 基因 3 号外显子与 3 号内含子的剪接区域,其突变极有可能为致病突变,然而,患儿为 IVS3+9A>G 杂合型变异,同时患儿表型为轻度 HPA 与 PTS 基因突变导致的疾病不一致,因此 PTS 基因 IVS3+9>G 突变所致功能改变仍有待研究。

PTPS 缺乏是 BH4 缺乏症中最常见类型,但其极为罕见,在全球的发病率极低^[15],中国湖北地区相关的病例报道极少。中国患儿中以 PTS 基因 P87S 和 N52S 突变型最常见,占 70%^[4]。本研究 HPA 患儿中 3 例为 BH4 缺乏型,占总患儿数 11.5%,其中 P87S 突变最为常见,与国内的报道的数据一致。3 例 BH4 缺乏型患儿,病情严重,其基因突变的结果与临床表型相符,可明确 PTS 基因突变是其致病原因。

综上所述,本研究的结果进一步证实相关 PTS 突变是严重型 BH4 缺乏症的致病原因。BH4 缺乏症的治疗除饮食控制外,还需要配合适当的药物治疗,因此,基因检测对早期鉴别诊断具有积极意义。另外,患儿的父母均为突变基因的正常携带者,基因检测的结果可为患儿父母再生育提供指导。

(下转第 515 页)

住院AD并发肺部感染患者TLR4、NF- κ B的表达及其预后评估价值

王敏^{1*} 闫红静² 张秀梅³ 秦丽辉⁴

[摘要] 目的 探讨Toll样受体4(TLR4)、抑制核因子 κ B(NF- κ B)在住院阿尔茨海默病(AD)并发肺部感染患者外周血中的表达及其预后价值。方法 选取2020年10月至2022年9月于邯郸市第一医院住院治疗的324例AD患者作为研究对象,根据是否并发肺部感染分为未感染组(214例)与感染组(110例),比较两组患者外周血TLR4、NF- κ B水平。对AD并发肺部感染患者随访12个月,依据预后情况分为预后良好组(81例)和预后不良组(29)例,收集患者相关资料,对影响AD并发肺部感染患者预后进行单、多因素分析,绘制ROC曲线验证TLR4、NF- κ B对其预后价值。结果 感染组患者外周血TLR4、NF- κ B水平均高于未感染组,差异具有统计学意义($t=15.318, 10.233, P$ 均 <0.05);预后不良组与预后良好组年龄、AD病程、是否有吸烟史、是否长期卧床、PSI评分、PCT、中性粒细胞、WBC计数、TLR4、NF- κ B差异均具有统计学意义($\chi^2/t=9.628, 8.670, 4.116, 4.252, 8.951, 5.921, 2.455, 4.108, 4.907, 5.884, P$ 均 <0.05);Logistic回归分析结果显示:年龄、吸烟史、肺炎严重指数(PS)I评分、外周血TLR4、NF- κ B水平为影响AD并发肺部感染患者预后的独立影响因素($P<0.05$);ROC曲线结果显示:外周血TLR4、NF- κ B及两项联合预测的AUC分别为0.828(0.742~0.914)、0.819(0.728~0.911)及0.900(0.841~0.959)(P 均 <0.05)。结论 AD患者外周血TLR4、NF- κ B水平与患者并发肺部感染密切相关,外周血TLR4、NF- κ B水平及两者联合对AD并发肺部感染患者预后具有良好预测效能。

[关键词] Toll样受体4;抑制核因子 κ B;阿尔茨海默病;肺部感染

Expression and prognostic value of TLR4 and NF- κ B in hospitalized patients with AD complicated with pulmonary infection

WANG Min^{1*}, YAN Hongjing², ZHANG Xiumei³, QIN Lihui⁴

(1. Department of Public Health, the First Hospital of Handan, Handan, Hebei, China, 056002; 2. Second Department of Neurology, the First Hospital of Handan, Handan, Hebei, China, 056002; 3. Department of Head and Neck Surgery, the First Hospital of Handan, Handan, Hebei, China, 056002; 4. Department of Public Health, the First Hospital of Handan, Handan, Hebei, China, 056002)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and prognostic value of toll-like receptor 4 (TLR4) and inhibitory nuclear factor κ B (NF- κ B) in peripheral blood of hospitalized patients with pulmonary infection in Alzheimer's disease (AD). **Methods** To investigate the expression and prognostic value of Toll-like receptor 4 (TLR4) and inhibition of nuclear factor κ B (NF- κ B) in the peripheral blood of hospitalized patients with pulmonary infections in Alzheimer's disease (AD), a total of 324 patients with AD hospitalized at Handan First Hospital from October 2020 to September 2022 were selected for the study. They were categorized into an uninfected group (214 cases) and an infected group (110 cases) based on the presence of pulmonary infection. The levels of TLR4 and NF- κ B in the peripheral blood of both groups were compared. Patients

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20210117)

作者单位:1. 河北省邯郸市第一医院公共卫生科,河北,邯郸056002

2. 河北省邯郸市第一医院神经内二科,河北,邯郸056002

3. 河北省邯郸市第一医院头颈外科,河北,邯郸056002

4. 河北省邯郸市第一医院公共卫生科,河北,邯郸056002

*通信作者:王敏, E-mail:wm0909tt@163.com

with AD who were complicated by pulmonary infections were followed up for 12 months and further divided into a good prognosis group (81 cases) and a poor prognosis group (29 cases) based on their prognosis. Relevant patient data was collected, and the prognostic value of TLR4 and NF- κ B in patients with AD complicated by pulmonary infections was verified using ROC curves. **Results** The levels of TLR4 and NF- κ B in the peripheral blood of the infected group were higher than those of the uninfected group, and the differences were statistically significant ($t=15.318, 10.233, P<0.05$). There were significant differences between the poor prognosis group and the good prognosis group in age, duration of AD, smoking history, long-term bed rest, PSI score, PCT, neutrophil, WBC count, TLR4, and NF- κ B ($\chi^2/t=9.628, 8.670, 4.116, 4.252, 8.951, 5.921, 2.455, 4.108, 4.907, 5.884, P<0.05$); Logistic regression analysis showed that age, smoking history, pneumonia severity index (PSI) score, peripheral blood TLR4, and NF- κ B levels were independent factors influencing the prognosis of patients with AD complicated by pulmonary infection ($P<0.05$). ROC curve results showed that the AUC of TLR4, NF- κ B and the combined AUC were 0.828 (0.742~0.914), 0.819 (0.728~0.911) and 0.900 (0.841~0.959) in peripheral blood, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of TLR4 and NF- κ B in the peripheral blood of AD patients are closely associated with pulmonary infections. The levels of TLR4 and NF- κ B in the peripheral blood and their combination can predict the prognosis of AD patients with pulmonary infections.

[KEY WORDS] Toll-like receptor 4; Inhibition of nuclear factor κ B; Alzheimer's disease; Lung infection

随着我国社会人口的老龄化现象加剧,阿尔兹海默病(Alzheimer disease, AD)患者逐渐增多,目前占老年痴呆的60~80%,主要表现为认知与记忆力下降、社会活动存在障碍,这对患者的生活与健康具有严重的负面影响^[1]。随着AD患者神经功能衰退,患者体内器官功能下降,导致患者咳嗽反射功能减弱,同时口腔分泌物随之增加同意进入下呼吸道,因此极易引起肺部感染发生^[2],病情后期会进入不可逆状态。此外,由于部分AD患者语言功能障碍及反应迟缓,合并肺部感染临床不典型,极为容易错过最佳治疗时机,造成严重的不良后果^[3]。因此,寻找可快速准确预估AD合并肺部感染预后指标至关重要。Toll样受体4(toll like receptors 4, TLR4)是炎性反应抑制与答应关键信号之一,抑制核因子 κ B(NF- κ B)在多种炎性反应与细胞凋亡中发挥着重要的作用^[4]。本研究将探讨TLR4、NF- κ B在住院阿尔茨海默病并发肺部感染患者外周血中的表达情况并分析其与患者预后关系,报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2020年10月至2022年9月于邯郸市第一医院住院治疗的324例AD患者作为研究对象。纳入标准:①均符合美国国立神经病、语言交流障碍和卒中研究所-老年性痴呆及相关疾病学会(NINCDS-ADRDA)中AD诊断标准^[5],确诊为AD;②感染组符合《中国成人医院获得性肺炎与

呼吸机相关肺炎诊断和治疗指南(2018年版)》^[6]中肺部感染诊断标准确诊为肺部感染;③临床资料齐全;④所有患者或家属对本研究知情同意。排除标准:①近3个月内未使用过技术类或免疫抑制剂等药物治疗;②脑肿瘤、脑炎、外伤等引发的AD患者;③存在脑膜炎、脑萎缩、严重的脑血管疾病等患者。依据是否合并肺部感染将患者分为未感染组与感染组。未感染组:214例,男99例,女115例,年龄平均(76.87 \pm 3.64)岁,病程(6.16 \pm 1.64)年,体质指数(body mass index, BMI)(23.12 \pm 3.06)kg/m²;感染组:110例,男51例,女59例,年龄平均(75.27 \pm 4.12)岁,病程(7.51 \pm 2.61)年, BMI(23.47 \pm 3.48)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。

随访12个月,2023年9月30日为随访终止时间,以随访截止时间内AD合并肺部感染患者生存状况分组,生存患者分为预后良好组,死亡患者分为预后不良组,其中预后良好组81例,预后不良组29例。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

从医院病历管理系统收集患者性别、年龄、BMI、吸烟史、糖尿病、高血压、长期卧床、吞咽困难等资料。

1.2.2 实验室指标检测

患者入组时收集空腹外周静脉血5 mL,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。TLR4、NF- κ B 采用蛋白免疫印迹法检测, β -actin 为内参。采用二喹啉甲酸蛋白试剂盒(上海佰晔生物科技中心)进行总蛋白定量, 参照说明书倍数稀释 TLR4 抗体(santacruz)及内参 NF- κ B (abcam), 测定条带灰度值。降钙素原(procalcitonin, PCT)采用化学发光免疫分析仪(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司, 型号: MAGLUMI 800)。中性粒细胞计数、白细胞(white blood cell, WBC)计数采用全自动血液分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 型号: BC-10)检测。

1.2.3 调查量表

简易精神状态检查量表(mini mental stata examination, MMSE)评分^[7]: 主要对患者认知功能进行评估, 内容包括即刻记忆、延迟记忆、计算能力、注意力、空间视力、地点和时间的定向力、语言等7个方面, 共30题, 医护人员对患者进行调查、测试, 患者回答正确得1分, 错误0分, 总分为30分, 得分越高则表示患者认知功能越好。认知功能损伤: 重度0~9分, 中度10~20分, 轻度21~26分, 正常27~30分。

肺炎严重指数(pneumonia severity index, PSI)评分^[8]: 综合人口因素、并发症、身体检查结果、实验室与影像学结果进行评分, 其中年龄每年计1分、并发症80分、体检结果85分、实验室与影像学结果110分, 分数越高表明肺部感染越严重。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据分析, 计数资料用 $n(\%)$ 表示, 比较用 χ^2 检验; 计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组间比较用独立样本 t 检验; 多因素分析采用 Logistic 回归分析; ROC 曲线验证评估效能, AUC 比较采用 DeLong 检验; $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 未感染组与感染组患者外周血 TLR4、NF- κ B 水平比较

感染组患者外周血 TLR4、NF- κ B 水平均高于未感染组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 影响 AD 并发肺部感染患者预后单因素分析

预后不良组与预后良好组比较, 年龄、AD 病程、是否有吸烟史、是否长期卧床、PSI 评分、PCT、中性粒细胞、WBC 计数、TLR4、NF- κ B 差异均具有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表2。

表1 未感染组与感染组患者外周血 TLR4、NF- κ B 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of TLR4 and NF- κ B levels in peripheral blood between AD group and infected group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TLR4	NF- κ B
未感染组	214	1.51±0.54	1.37±0.44
感染组	110	2.63±0.76	1.98±0.62
<i>t</i> 值		15.318	10.233
<i>P</i> 值		0.000	0.000

表2 影响 AD 并发肺部感染患者预后单因素分析 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Analysis of single factor influencing prognosis of AD patients with pulmonary infection [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

项目	预后不良 (<i>n</i> =29)	预后良好 (<i>n</i> =81)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值	
性别	男	13(44.83)	38(46.91)	0.037	0.847
	女	16(55.17)	43(53.09)		
年龄(岁)	< 66	3(10.34)	20(24.69)	6.485	0.039
	66~84	17(58.62)	51(62.96)		
	≥85	9(31.03)	10(12.35)		
BMI(kg/m ²)	23.22±3.31	23.56±2.74	0.582	0.562	
AD 病程(年)	< 5	4(13.79)	36(44.44)	8.670	0.003
	≥5	25(86.21)	45(55.56)		
高血压	否	12(41.38)	43(53.09)	1.171	0.279
	是	17(58.62)	38(46.91)		
糖尿病	否	11(37.93)	45(55.56)	2.654	0.103
	是	18(62.07)	36(44.44)		
吞咽困难	否	14(48.28)	42(51.85)	0.109	0.741
	是	15(51.72)	39(48.15)		
吸烟史	否	9(31.03)	43(53.09)	4.116	0.041
	是	20(68.97)	38(46.91)		
长期卧床	否	10(34.48)	46(56.79)	4.252	0.039
	是	19(65.52)	35(43.21)		
MMSE 评分(分)	19.33±3.67	22.46±3.69	3.925	0.000	
PSI 评分(分)	137.56±32.45	89.62±21.41	8.951	0.000	
PCT(g/L)	5.26±1.97	3.47±1.13	5.921	0.000	
中性粒细胞($\times 10^9/L$)	12.43±3.62	10.84±2.74	2.455	0.016	
WBC 计数($\times 10^9/L$)	20.13±4.69	15.58±5.26	4.108	0.000	
TLR4	3.14±0.76	2.44±0.62	4.907	0.000	
NF- κ B	2.55±0.66	1.78±0.57	5.984	0.000	

2.3 影响 AD 并发肺部感染患者预后多因素分析

将表2中具有统计学意义因素纳入 Logistic 回归分析, 结果显示, 年龄越大、有吸烟史、PSI 评分高、外周血 TLR4、NF- κ B 水平高为 AD 并发肺部感染患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 AD 并发肺部感染患者预后预测 ROC 曲线

ROC 曲线结果显示, 外周血 TLR4、NF- κ B 及两项联合评估均具有良好的评估效能($P < 0.05$); 联合预测效能优于单项($P < 0.05$)。见表4、图1。

3 讨论

目前老年人最常诊断的疾病中, AD 是世界上

表3 影响AD并发肺部感染患者预后多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of multiple factors affecting prognosis of patients with AD combined with pulmonary infection

因素	β 值	S.E值	Wals值	OR值	95% CI	P值
年龄(<66岁=1, 66岁~=2, 73岁~=3, 84岁~=4, ≥85岁=5)	0.776	0.366	4.495	2.173	1.060~4.452	0.034
AD病程(<5年=1, ≥5年=2)	0.597	0.601	0.987	1.817	0.559~5.900	0.321
吸烟史(否=1, 是=2)	-1.471	0.676	4.735	0.230	0.061~0.864	0.030
长期卧床(否=1, 是=2)	0.701	0.661	1.125	2.016	0.552~7.364	0.289
PSI评分(连续变量)	1.678	0.435	14.880	5.355	2.283~12.561	0.000
PCT(连续变量)	1.233	0.645	3.654	3.432	0.969~12.148	0.056
中性粒细胞(连续变量)	0.476	0.366	1.691	1.610	0.786~3.298	0.193
WBC计数(连续变量)	1.138	0.708	2.584	3.121	0.779~12.499	0.108
TLR4(连续变量)	2.252	0.761	8.757	9.507	2.139~42.248	0.003
NF- κ B(连续变量)	2.782	0.584	22.693	16.151	5.142~50.736	0.000
常量	4.525	0.776	34.003	92.296		0.000

表4 AD并发肺部感染患者预后预测ROC曲线结果

Table 5 ROC curve results of prognosis prediction for AD patients with pulmonary infection

变量	AUC	标准误	敏感度	特异性	95% CI	P值
TLR4	0.828	0.044	0.828	0.765	0.742~0.914	0.000
NF- κ B	0.819	0.047	0.793	0.654	0.728~0.911	0.000
联合评估	0.900	0.030	0.862	0.778	0.841~0.959	0.000

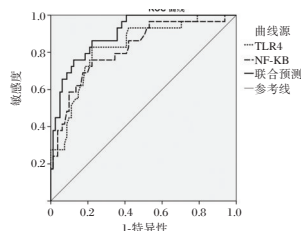


图1 ROC曲线图

Figure 1 The ROC curve

最常见的老年痴呆症病例之一,这是一个无法治愈的过程,最常导致患者死亡^[9]。尽管临床上对AD患者治疗投入了大量的精力与资金,许多药物也正在研发与临床试验,但治疗效果仍然非常有限^[10]。而随着疾病的发展,严重程度增加、病程延长,患者并发症发生风险也随之加大,其中肺部感染是最常见的并发症之一^[11],此也为临床工作中所需要解决的重要内容。本研究中,324例AD患者中并发肺部感染110例,占比33.95%,感染率相对较高,但少于研究^[12]的55.91%,其中原因可能为本院中住院AD患者中重度占比不高有关。

本研究中并发肺部感染患者TLR4、NF- κ B水平显著高于无肺部感染患者,提示该两项指标与住院AD患者发生肺部感染关系密切。TLR4是Toll样受体家族的成员,其过度激活会引发多种炎症因子的产生,这些炎症因子与多种疾病的发

生有关,如脓毒症、内毒素血症、急性肺损伤、类风湿性关节炎和心血管疾病^[13]。研究^[14]表明TLR4的表达水平与肺部感染存在密切的关联性,可激活。TLR4作为一种跨膜受体,在调节机体炎症反应中发挥着重要作用同时,可激活NF- κ B通路,而NF- κ B则为机体调控炎症反应与免疫功能的重要因子^[15],因此在机体发生感染时NF- κ B表达水平升高。本研究对住院AD并发肺部感染患者预后影响因素进行分析,结果显示患者外周血TLR4、NF- κ B表达水平升高为住院AD并发肺部感染患者预后不良的独立危险因素;同时患者外周血TLR4、NF- κ B表达水平对患者预后具有良好的预测效能,且两者联合检测预测效能更佳。其中机制可能为,患者发生肺部感染后,机体被致病菌侵袭与感染,TLR4、NF- κ B水平异常升高,TLR4/NF- κ B通路被激活,使机体炎症反应加重,从而形成了恶性循环,不仅增加患者肺部感染的风险,加重感染严重程度,导致预后不良。由此可见,早期检测AD患者TLR4、NF- κ B表达水平对预测患者疾病进展,改善患者预后具有重要意义。

本研究结果表明住院AD患者并发肺部感染严重程度越重,因此PSI评分为患者预后影响因素。由此,对于住院AD患者并发肺部感染患者的治疗,可关注年长者、有吸烟史者及PSI评分较高者,结合TLR4、NF- κ B表达水平的检测,及时对患者进行针对性的治疗,避免疾病发展到不可逆转状态,以改善患者预后。

综上所述,AD患者外周血TLR4、NF- κ B水平及两者联合对AD并发肺部感染患者预后具有良好预测效能。

参考文献

- [1] 梁大艳,孟瑞琳,李川,等. 2005-2015年广东省老年人阿尔茨海默病及其他痴呆死亡率和伤残调整寿命年及变化趋势[J]. 华南预防医学, 2022, 48(8):963-966+1028.
- [2] 王玉玲. 老年阿尔茨海默病患者合并肺部感染的危险因素研究[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2023, 7(1):31-34.
- [3] 李宝梅,赵明学,金雅君,等. 老年痴呆患者肺部感染相关因素分析与护理对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(17):2705-2707.
- [4] 韩燕梅,崔萍,柏慧. 老年急性脑梗死患者肺部感染的病原学特征及与TLR4/NF- κ B信号通路的相关性[J]. 中国实用医刊, 2023, 50(20):43-46.
- [5] McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2011, 7(3):263-269.
- [6] 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.
- [7] 贾建平. 中国痴呆与认知障碍诊治指南(2015年版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2016:27-29.
- [8] 中华医学会呼吸病学分会. 肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识(2017年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(8):578-583.
- [9] Twarowski B, Herbet M. Inflammatory Processes in Alzheimer's Disease-Pathomechanism, Diagnosis and Treatment: A Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7):6518.
- [10] Zhu CC, Fu SY, Chen YX, et al. Advances in Drug Therapy for Alzheimer's Disease[J]. *Curr Med Sci*, 2020, 40(6):999-1008.
- [11] Adel Ali Alhazzani, et al. Prevalence of complications associated with Alzheimer Disease patients in Aseer Region, Saudi Arabia[J]. *Int J Phys Med Rehab*, 2021, 9(2):1-4.
- [12] 曹萌,张力,武海燕,等. 住院阿尔茨海默病患者并发肺部感染危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(11):1659-1662.
- [13] Zhang Y, Liang X, Bao X, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: Current research and prospective[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 235:114291.
- [14] 黄蕾,杨春艳,陈艺华,等. TLR2和TLR4在维持性血液透析合并肺部感染患者外周血中的表达及意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(8):1357-1361.
- [15] 吕璟,蒋泽磊,陈薛连,等. 高血压脑出血患者肺部感染的危险因素及TLR4/NF- κ B通路水平[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(20):3057-3060.

(上接第510页)

参考文献

- [1] 陈挺,赵正言,蒋萍萍,等. 高苯丙氨酸血症表型与基因型研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版), 2018, 47(3):219-226.
- [2] Zori R, Thomas J A, Shur N, et al. Induction, titration, and maintenance dosing regimen in a phase 2 study of pegvaliase for control of blood phenylalanine in adults with phenylketonuria[J]. *Mol Genet Metab*, 2018, 125(3):217-227.
- [3] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,中华预防医学会中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业. 高苯丙氨酸血症的诊治共识[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(6):420-425.
- [4] 强荣,余伍忠,蔡娜,等. 陕西地区苯丙酮尿症患者苯丙氨酸羟化酶基因突变研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2014, 31(1):74-77.
- [5] 叶军,刘晓青,马燮琴,等. 中国南方四氢生物蝶呤缺乏症筛查、临床及基因突变的系列研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2001, 18(2):92-95.
- [6] Couce ML, Boveda MD, Fernandez-Marmiesse A, et al. Molecular epidemiology and BH4-responsiveness in patients with phenylalanine hydroxylase deficiency from Galicia region of Spain[J]. *Gene*, 2013, 521(1):100-104.
- [7] Hamzehloei T, Hosseini SA, Vakili R, et al. Mutation spectrum of the PAH gene in the PKU patients from Khorasan Razavi province of Iran[J]. *Gene*, 2012, 506(1):230-232.
- [8] 苏润,朱琳,林壹明,等. 福建泉州地区高苯丙氨酸血症相关基因变异特征的研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(11):1062-1066.
- [9] 吕金峰,候方,王伟青,等. 2013~2019年青岛市新生儿高苯丙氨酸血症筛查情况及基因突变分析[J]. 山东医药, 2020, 60(23):76-78.
- [10] 陆清,刘艳秋,杨必成,等. 苯丙酮尿症患者苯丙氨酸羟化酶基因的变异研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(11):1057-1061.
- [11] 陈晨,赵振华,任依琳,等. 河南地区113例苯丙酮尿症患者基因的变异特点[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35(6):791-795.
- [12] Bercovich D, Elimelech A, Zlotogora J, et al. Genotype-phenotype correlations analysis of mutations in the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene[J]. *J Hum Genet*, 2008, 53(5):407-418.
- [13] Trunzo R, Santacroce R, Shen N, et al. In vitro residual activity of phenylalanine hydroxylase variants and correlation with metabolic phenotypes in PKU[J]. *Gene*, 2016, 594(1):138-143.
- [14] 王杰,朱博,张丽春,等. 苯丙氨酸羟化酶基因c.158G>A(p.Arg53His)突变患儿随访及突变位点功能评估[J]. 浙江大学学报(医学版), 2021, 50(4):444-453.
- [15] van Spronsen FJ, Blau N, Harding C, et al. Phenylketonuria[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1):36.

孕晚期血清 Hcy、NLR 及 C 肽与妊娠糖尿病患者产后血糖转归的关系

赵艳平^{1*} 徐宏燕¹ 宋美娜²

[摘要] **目的** 探讨孕晚期血清同型半胱氨酸(Hcy)、中性粒细胞与淋巴细胞计数的比值(NLR)及C肽与妊娠糖尿病(GDM)患者产后血糖转归的关系。**方法** 选取2020年5月至2022年5月期间于北京丰台医院产科规律产检并住院分娩的,且产前确诊为孕晚期(孕周 ≥ 28 周)GDM患者共计109例作为研究对象,产后6周根据患者机体血糖代谢功能是否恢复正常,分为异常组($n=35$)与正常组($n=74$)。收集并比较两组临床资料及实验室指标,以多因素 Logistic 分析孕晚期血清 Hcy、NLR 及 C 肽与 GDM 患者产后血糖转归的相关性,绘制受试者工作特性曲线(ROC)评估孕晚期血清 Hcy、NLR 以及 C 肽联合检测对 GDM 患者产后血糖转归的预测价值。**结果** 单因素分析结果显示,两组的孕晚期 BMI、TG、血清 Hcy、NLR 以及 C 肽水平比较,差异均具有统计学意义($\chi^2/t=19.141、2.545、6.673、3.822、5.862, P<0.05$);多因素 Logistic 回归分析显示,孕晚期 BMI ≥ 28 kg/m²、孕晚期血清 Hcy、NLR 以及 C 肽水平升高均为影响 GDM 患者产后血糖转归的独立危险因素($P<0.05$);ROC 曲线显示,血清 Hcy、NLR、C 肽以及三者联合检测曲线下面积为 0.829、0.709、0.828 以及 0.886。**结论** 孕晚期血清 Hcy、NLR 以及 C 肽均与 GDM 患者产后血糖转归情况密切相关,且三者联合检测对 GDM 患者产后血糖转归具备较高预测价值。

[关键词] 妊娠糖尿病;同型半胱氨酸;C肽;中性粒细胞与淋巴细胞计数的比值

Analysis of the relationship between serum Hcy, NLR, and C-peptide levels in the third trimester and postpartum blood glucose outcomes in patients with gestational diabetes mellitus

ZHAO Yanping^{1*}, XU Hongyan¹, SONG Meina²

(1. Endocrinology Department, Beijing Fengtai Hospital, Beijing, China, 100071; 2. Gynaecology and Obstetrics Department, Beijing Fengtai Hospital, Beijing, China, 100071)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum homocysteine (Hcy), neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), and C-peptide levels in the third trimester of pregnancy and postpartum blood glucose outcomes among patients with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** From May 2020 to May 2022, a study was conducted at Beijing Fengtai Hospital on obstetric prenatal care, hospital childbirth, and prenatal diagnosis of late pregnancy (gestational age 28 weeks or more). The study included 109 patients with GDM as the research subjects. These patients were monitored to determine if their blood sugar metabolism returned to normal within 6 weeks postpartum. The patients were divided into two groups based on their postpartum blood sugar levels: abnormal group ($n=35$) and normal group ($n=74$). Clinical data and laboratory indicators were collected and compared between the two groups. Multivariate logistic analysis was used to analyze the correlation between serum Hcy, NLR and C-peptide levels in the third trimester of pregnancy and post-

基金项目:丰台区卫生健康系统科研项目(2020-98)

作者单位:1.北京丰台医院内分泌科,北京 100071

2.北京丰台医院妇产科,北京 100071

*通信作者:赵艳平, E-mail: drzhaoyanping@163.com

partum blood glucose outcomes in GDM patients. A receiver operating characteristic curve (ROC) was plotted to assess the predictive value of combined detection of serum Hcy, NLR and C-peptide in the third trimester of pregnancy on postpartum blood glucose outcomes in GDM patients. **Results** The results of the univariate analysis showed statistically significant differences in late pregnancy BMI, TG, serum Hcy levels, NLR, and C-peptide levels between the two groups of patients ($\chi^2/t=19.141, 2.545, 6.673, 3.822, 5.862, P<0.05$). The multivariable logistic regression analysis revealed that an elevated BMI (greater than or equal to 28 kg/m²) in late pregnancy, increased levels of serum Hcy and NLR as well as C peptide, were all identified as independent risk factors influencing postpartum glucose outcomes in GDM patients ($P<0.05$). The ROC curve demonstrated that the area under the curve for serum Hcy level was 0.829, for NLR it was 0.709, for C-peptide it was 0.828, and for their combined detection it was 0.886. **Conclusion** Serum Hcy, NLR and C-peptide levels in the third trimester are closely related to postpartum blood glucose outcomes in patients with GDM. The combined detection of these factors has a high predictive value for postpartum blood glucose outcomes in GDM patients.

[KEY WORDS] Gestational diabetes mellitus; Homocysteine; C-peptide; Ratio of neutrophil to lymphocyte count

我国妊娠糖尿病(Gestational Diabetes Mellitus, GDM)发病率较高,是临床孕妇常见的孕晚期妊娠并发症之一^[1]。部分GDM患者产后易发展为2型糖尿病等不良血糖转归结局,严重危害到产妇身心健康^[2]。探索高效、灵敏、简便的检测指标来预测GDM患者产后血糖转归情况,对GDM患者预后具有重要指导意义。研究显示,孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽均与糖代谢功能联系密切^[3]。C肽由31个氨基酸组成,其与胰岛素有共同的前体胰岛素原,且不易被肝脏降解,故能准确反映机体胰岛细胞分泌功能^[4]。血清同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)是人体内一种含硫氨基酸,已有研究表明其表达水平的变化与糖尿病、高血压等疾病密切相关^[5]。中性粒细胞与淋巴细胞计数比值(Ratio of Neutrophil Count to Lymphocyte Count, NLR)可能与GDM的发生及发展联系紧密。对此,本文特探讨孕晚期血清Hcy、NLR、C肽与GDM患者产后血糖转归的关系,以为临床GDM患者产后血糖转归的预测提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2020年5月至2022年5月期间于北京丰台医院产科规律产检并住院分娩的,且产前确诊为孕晚期(孕周 ≥ 28 周)GDM患者共计109例作为研究对象。纳入标准:①年龄18~41岁,均为初产妇,孕次1~3次;②GDM诊断参考《妊娠期糖尿病指南(2021年版)》^[6]中相关诊断标准;③临

床资料齐全。排除标准:①既往有糖尿病史;②合并严重肝脏、心血管系统疾病患者;③双胎或多妊娠;④合并认知障碍、无法正常沟通或既往出现严重精神病史患者;⑤因特殊情况必须使用影响糖代谢药物者;⑥孕期有吸烟饮酒史;⑦无法按期复查、配合随访者。本研究经院伦理委员会审核批准,且均取得患者及其家属知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集

由3名产科医生通过本院病案管理系统收集所有参试患者的临床资料及实验室指标,其中临床资料包括患者的年龄、个人病史、孕期体质指数(Body Mass Index, BMI)、分娩方式、孕次、产次。实验室指标包括糖化血红蛋白(Glycated Hemoglobin, HbA1c)、空腹血糖(Fasting Plasma Glucose, FPG)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、Hcy、NLR以及C肽表达水平。

1.2.2 指标检测方法

抽取所有参试患者空腹静脉血5 mL,低温低速离心15 min(4℃, 3 000 r/min,离心半径10 cm),离心后分离血清,置于-80℃环境下保存待检。使用全自动生化分析仪(迪瑞CS2000)及配套检测试剂盒测定患者TG、Hcy、HbA1c以及FPG;同时进行血常规检测并记录中性粒细胞及淋巴细胞测值,计算NLR;选择放射免疫法,以Cobas E601电化学发光仪(瑞士罗氏公司)测定患者C肽水平,检测试剂盒购于深圳市科润达生物工程有限公司。

1.2.3 分组标准

于产后6周,采用标准血浆校准血糖仪(HemoCueGlucose B-201+, Ängelholm, Sweden)对所有参试患者行75 g葡萄糖耐量试验(Oral Glucose Tolerance Test, OGTT),评估患者血糖水平,评估标准参考《中国2型糖尿病防治指南(2020版)》^[7]。将患者糖代谢状态分为糖代谢正常、空腹血糖受损、糖耐量受损以及2型糖尿病,其中糖代谢正常者纳入糖代谢正常组($n=74$),空腹血糖受损、糖耐量受损以及2型糖尿病患者纳入糖代谢异常组($n=35$)。

1.3 统计学方法

应用SPSS 23.0统计学软件进行分析,计数资料均以 $[n(\%)]$ 描述,行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,组间比较行独立样本 t 检验。以单、多因素Logistic回归分析GDM患者产后血糖转归的危险因素;绘制受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析孕晚期血清Hcy、NLR及C肽对GDM患者产后血糖转归的预测价值。当 $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GDM患者产后血糖转归的单因素分析

单因素分析结果显示,两组孕晚期BMI、TG、血清Hcy、NLR以及C肽水平比较,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 GDM患者产后血糖转归的多因素Logistic回归分析

以GDM患者产后血糖转归作为因变量,进行多因素Logistic回归分析,多因素Logistic回归显示,孕晚期BMI ≥ 28 kg/m²、孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽水平升高均为影响GDM患者产后血糖转归的独立危险因素($P<0.05$)。见表2。

表1 GDM患者产后血糖转归的单因素分析 $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

因素	n	正常组 ($n=74$)	异常组 ($n=35$)	χ^2/t	P 值
年龄(岁)		33.14 \pm 6.31	32.08 \pm 5.56	0.850	0.397
糖尿病家族史				3.394	0.065
是	14	6(8.11)	8(22.86)		
否	95	68(91.89)	27(77.14)		
孕晚期BMI(kg/m ²)				48.86	0.027
<28	51	40(54.05)	11(31.43)		
≥ 28	58	34(45.95)	24(68.57)		
分娩方式				0.895	0.344
顺产	52	33(44.59)	19(54.29)		
剖宫产	57	41(55.41)	16(45.71)		
孕次(次)				0.263	0.877
1	56	28(37.84)	15(42.86)		
2	53	26(35.14)	11(31.43)		
3	56	20(27.02)	9(28.71)		
HbA1c(%)		5.45 \pm 1.08	5.33 \pm 1.14	0.532	0.596
FPG(mmol/L)		5.25 \pm 0.55	5.44 \pm 0.62	1.626	0.109
TG(mmol/L)		5.86 \pm 1.04	6.44 \pm 1.25	2.545	0.012
Hcy(mmol/L)		8.12 \pm 0.98	9.53 \pm 1.13	6.673	<0.001
NLR		4.10 \pm 1.43	5.26 \pm 1.58	3.822	<0.001
C肽(ng/mL)		2.24 \pm 0.84	3.35 \pm 1.08	5.862	<0.001

2.3 孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽表达水平对于GDM患者产后血糖转归的预测价值

ROC曲线分析结果显示,孕晚期血清Hcy曲线下面积为0.829、NLR为0.709、C肽为0.828,三者联合检测的曲线下面积为0.886。见表3、图1。

表3 孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽表达水平对于GDM患者产后血糖转归的预测价值

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P 值
Hcy(mmol/L)	8.640	0.829	0.745~0.912	0.743	0.771	<0.001
NLR	4.755	0.709	0.604~0.814	0.703	0.629	<0.001
C肽(ng/mL)	2.850	0.828	0.744~0.911	0.770	0.743	<0.001
联合检测		0.886	0.824~0.948	0.838	0.800	<0.001

表2 GDM患者产后血糖转归的多因素Logistic回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of postpartum blood glucose outcome in gestational diabetes mellitus

自变量	赋值	β 值	$S.E$ 值	$Wald$ 值	OR 值	95% CI	P 值
孕晚期BMI(kg/m ²)	<28=0, $\geq 28=1$	1.266	0.654	3.547	3.547	0.984~12.779	0.053
TG(mmol/L)	连续变量	1.411	0.781	3.264	4.100	0.887~18.949	0.071
Hcy(mmol/L)	连续变量	0.354	0.039	82.391	1.425	1.320~1.538	<0.001
NLR	连续变量	0.467	0.143	10.665	1.595	1.205~2.111	0.001
C肽(ng/mL)	连续变量	1.120	0.346	10.478	3.065	1.556~6.039	0.001

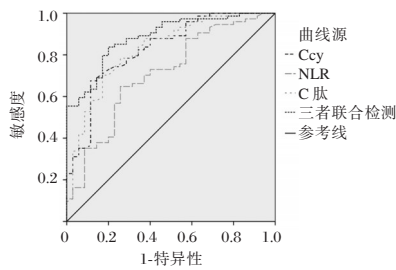


图1 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

3 讨论

GDM是临床上最常见的孕妇妊娠期代谢并发症,好发于孕中晚期。研究表明,存在GDM病史的孕妇产后出现不良血糖转归结局的概率是普通孕妇的数倍,且远期发展为2型糖尿病的风险更高^[8]。国际上糖尿病学会指南建议,应对GDM患者产后6~12周实施血糖连续监测,以鉴别患者血糖转归情况,从而予以针对性治疗或预防措施。此外,国际糖尿病联盟数据显示,2021年,2型糖尿病患者约占全球糖尿病患者总数的90%,而我国2型糖尿病患者总数居于世界前列,且呈现出逐年上升趋势,显著加剧了我国经济负担^[9]。基于GDM与2型糖尿病之间存在的密切联系,通过早期预测GDM患者产后血糖转归情况以改善GDM患者妊娠结局,降低2型糖尿病病发风险成为临床关注的重点。

本研究多因素Logistic回归分析结果表明,孕晚期BMI($\geq 28 \text{ kg/m}^2$)、孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽水平升高均为影响GDM患者产后血糖转归的独立危险因素。这与孙云霞等^[10]研究结论相类似。高龄、孕晚期BMI过高等均可能会降低外周组织对于胰岛素敏感性,从而增大产后不良血糖转归结局的风险。Hcy是蛋氨酸和半胱氨酸代谢的中间产物,其能参与机体多种氧化还原反应并释放活性氧。而活性氧过量释放会降低胰岛素分泌细胞的活力,抑制葡萄糖激酶磷酸化反应以及胰岛素分泌,使得血糖水平增高。吴路路等^[11]研究显示,Hcy在GDM患者体内出现明显的表达异常上调,对其含量进行监测可降低不良妊娠结局的发生风险。C肽是由胰岛素原经转换酶水解后产生的单链多肽,具备半衰期长、稳定性好等特点,其与胰岛素具有相同前体。胰岛素原可产生等分子数的C肽、胰岛素参与到血液循环中。

赵传宇等^[12]研究显示,C肽水平可有效反映机体胰岛细胞分泌功能,患者C肽水平升高表明机体出现胰岛素抵抗,易导致糖代谢紊乱、血糖升高。凌思思等^[13]研究显示,NLR与糖尿病等内分泌代谢类疾病均存在密切联系。一些研究证实,代谢性炎症可能是导致GDM患者胰岛素抵抗的主要原因之一,而中性粒细胞以及淋巴细胞可能通过调节代谢性炎症的发生而参与到GDM的发病进程^[14]。本研究亦证实,GDM患者产后血糖转归异常组的孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽均水平高于正常组,且三者水平升高均为影响GDM患者产后血糖转归的独立危险因素,故可将孕晚期血清Hcy、NLR均纳入评估GDM患者产后血糖转归情况的相关监测指标。以ROC曲线进一步分析Hcy、C肽及NLR对GDM患者产后血糖转归的预测价值,结果显示,以上指标均对GDM患者产后血糖转归具有良好的预测价值,且三者联合检测的预测价值更高。

综上所述,孕晚期血清Hcy、NLR以及C肽均与GDM患者产后血糖转归情况密切相关,且三者联合检测对GDM患者产后血糖转归具备较高预测价值。

参考文献

- [1] Sweeting A, Wong J, Murphy HR, et al. A Clinical Update on Gestational Diabetes Mellitus [J]. *Endocr Rev*, 2022, 43(5):763-793.
- [2] Zhu WW, Yang HX, Wei YM, et al. Evaluation of the value of fasting plasma glucose in the first prenatal visit to diagnose gestational diabetes mellitus in china [J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(3):586-590.
- [3] Lu W, Hu C. Molecular biomarkers for gestational diabetes mellitus and postpartum diabetes [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2022, 135(16):1940-1951.
- [4] 毕娅琼,付梦菲,张欢,等. C肽及胰岛自身抗体在糖尿病分型诊断中的价值研究[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2023, 52(3):376-381.
- [5] 刘韵,郭皖北,曹明艳,等. 胰岛素抗体阳性的2型糖尿病患者血清同型半胱氨酸水平变化的研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2020, 28(1):33-36.
- [6] 余昕焯,吴侠霏,漆洪波. 昆士兰卫生组织《妊娠期糖尿病指南(2021年版)》要点解读[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2021, 37(9):933-936.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2021, 41(5):482-548.

TT、Alb、CEA、CA19-9联合检测对结直肠癌与肠息肉的鉴别诊断

袁宁¹ 张群² 沙德厚³ 吴晓婷¹ 赵书平⁴ 张志军^{4*}

[摘要] **目的** 探讨TT、Alb、CEA、CA19-9联合检测对结直肠癌与肠息肉的诊断及鉴别的价值。**方法** 分析青岛大学附属泰安市中心医院2019年03月至2020年7月间,经病理诊断确诊的500例结直肠癌患者作为结直肠癌组,500例肠息肉患者作为肠息肉组,并纳入同期的500名健康者为健康组。比较三组受试者的TT、Alb、CEA、CA19-9的表达水平,绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估单独和联合检测对结直肠癌与肠息肉的诊断及鉴别诊断的效能。**结果** 与健康组相比,结直肠癌组TT、Alb水平均显著下降,CEA、CA19-9水平均显著升高,差异有统计学意义($Z=-11.69, -27.38, -18.32, -10.28, P$ 均 <0.05)。与健康组相比,肠息肉组TT、Alb水平均显著下降,CEA、CA19-9水平显著升高,差异有统计学意义($Z=-3.94, -15.95, -6.17, -3.70, P$ 均 <0.05)。结直肠癌组与肠息肉组相比较TT、Alb水平显著下降,CEA、CA19-9水平显著升高,差异有统计学意义($Z=-7.82, -13.69, -13.89, -7.07, P$ 均 <0.05)。ROC曲线分析显示,TT、Alb、CEA、CA19-9联合检测筛查结直肠癌的AUC为0.96,敏感性为0.870,特异性为0.956;联合检测用于筛查肠息肉的AUC为0.825,敏感性为0.684,特异性为0.836;鉴别结直肠癌与肠息肉的AUC为0.851,敏感性为0.772,特异性为0.820。**结论** TT、Alb、CEA、CA19-9四项联合检测对结直肠癌筛查具有较高的临床应用价值,并且能较好的区分结直肠癌与肠息肉,可为结直肠癌的筛查及与肠息肉鉴别诊断提供参考。

[关键词] TT; Alb; CEA; CA19-9; 结直肠癌; 肠息肉

Differential diagnosis of colorectal cancer and intestinal polyps by combined detection of TT, Alb, CEA and CA19-9

YUAN Ning¹, ZHANG Qun², SHA Dehou³, WU Xiaoting¹, ZHAO Shuping⁴, ZHANG Zhijun^{4*}

(1. Department of Clinical Laboratory, Binhai New Area Traditional Chinese Medicine Hospital, Tianjin, China, 300450; 2. Department of Clinical Blood Transfusion Laboratory, the Affiliated Taian City Central Hospital of Qingdao University, Taian, Shandong, China, 271000; 3. Department of Clinical Laboratory, Zaozhuang Maternal and Child Health hospital, Zaozhuang, Shandong, China, 277100; 4. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Taian City Central Hospital of Qingdao University, Taian, Shandong, China, 271000)

[ABSTRACTS] **Objective** To explore the value of combined detection of thrombin time (TT) and albumin (Alb), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 199 (CA19-9) in the differential diagnosis of colorectal cancer and intestinal polyps. **Methods** 500 patients with colorectal cancer and 500 patients with intestinal polyps diagnosed by pathology at the Affiliated Taian City Central Hospital of Qingdao University were retrospectively analyzed from March 2019 to July 2020. Additionally, 500 healthy volunteers were in-

基金项目:山东省自然科学基金项目(ZR2020QH283);青岛大学附属泰安市中心医院苗圃项目(2022MPM01)

作者单位:1. 天津市滨海新区中医医院检验科,天津 300450

2. 青岛大学附属泰安市中心医院临床输血检验科,山东,泰安 271000

3. 枣庄市妇幼保健院检验科,山东,枣庄 277100

4. 青岛大学附属泰安市中心医院临床检验中心,山东,泰安 27100

*通信作者:张志军, E-mail: ghwtzj@qdu.edu.cn

cluded as the control group during the same period. The expression levels of TT and Alb, CEA, CA19-9 in the three groups were compared, and a receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to evaluate the effectiveness of single and combined detection in diagnosing and differentiating diagnosis of colorectal cancer and intestinal polyps. **Results** Compared to the healthy group, the levels of TT and Alb in the colorectal cancer group were significantly decreased, while the levels of CEA and CA19-9 were significantly increased; the difference was statistically significant ($Z=-11.69, -27.38, -18.32, -10.28, P<0.05$). Similarly, compared to the healthy group, the levels of TT and Alb in the intestinal polyposis group were significantly decreased, while the levels of CEA and CA19-9 were significantly increased; the difference was statistically significant ($Z=-3.94, -15.95, -6.17, -3.70, P<0.05$). Furthermore, when comparing the intestinal polyposis group to the colorectal cancer group, the levels of TT and Alb were significantly decreased in the later, while the levels of CEA and CA19-9 were significantly increased; this difference was statistically significant ($Z=-7.82, -13.69, -13.89, -7.07, P<0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of TT and Alb, CEA, CA19-9 combined detection for colorectal cancer screening was 0.96, with a sensitivity of 0.870, and a specificity of 0.956. For screening intestinal polyps, the AUC of combined detection was 0.825, with a sensitivity of 0.684, and a specificity of 0.836. The AUC of distinguishing colorectal cancer from intestinal polyps was 0.851, with a sensitivity of 0.772 and a specificity of 0.820. **Conclusion** The combined detection of TT and Alb, CEA, and CA19-9 has high clinical value in colorectal cancer screening. It better distinguishes colorectal cancer from intestinal polyps, providing a reference for the screening and differential diagnosis of colorectal cancer and intestinal polyps.

[KEY WORDS] TT; Alb; CEA; CA19-9; Colorectal cancer; Intestinal polyps

结直肠癌是临床常见的胃肠道恶性肿瘤疾病之一,在中国恶性肿瘤发病率和死亡率均为第三位^[1]。目前传统的结直肠癌检查方法包括了基于粪便的检查、影像学检查、内窥镜检查、液体活检等^[2]。大多数癌症是由息肉引起的,结直肠癌的发展始于肠隐窝的异常分化,随着时间的发展逐渐为演变为息肉,并最终在10~15年期间进展为结直肠癌^[3]。由于结直肠癌起病较为隐蔽,很多患者发现不及时。传统的检查方法又存在着有侵袭性、人群接受度低、有放射性、成本高等缺点,所以患者被确诊时往往已处于疾病的中晚期^[4-5]。因此,寻找一种简便、经济、可接受度高的临床筛查指标,对提高结直肠癌患者和癌性息肉的发现率有重要的临床意义。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2019年03月至2020年7月间在青岛大学附属泰安市中心医院诊治、经病理诊断确诊的500例结直肠癌患者作为结直肠癌组,500例肠息肉患者作为肠息肉组;同期于健康查体中心检查的500名健康者作为健康组。纳入标准:所有患者骨髓、肾脏和肝功能良好,经临床、病理学及结肠镜确诊为结直肠癌、肠息肉,患者均行根治性切除手术并在术前未接受任何化疗或放疗,具有完整临床相关资料。排除标准:合并有其他恶性肿瘤

者;心肝肾等重要脏器功能障碍者;血液病或严重血栓栓塞者;自身免疫性疾病者;合并感染性疾病者。本研究经院伦理委员会批准,所有患者及家属均知情同意。

1.2 方法

收集三组受试者的基本信息和临床资料,包括年龄、性别、病理诊断、分化程度、TT、Alb、CEA、CA19-9。比较各组人群的TT、Alb、CEA、CA19-9的检测水平,绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,评价此4项指标单独和联合检测对结直肠癌与肠息肉的诊断及鉴别诊断的效能。

1.3 统计学处理

采用GraphPad Prism 6.0软件和SPSS 22.0软件进行数据分析。计量资料以四分位间数表示,数据分布的正态性检验通过应用Kolmogorov-Smirnov进行评估,采用Mann-Whitney检验进行数据分析;ROC曲线评价诊断效能。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组间TT、Alb、CEA、CA19-9相对表达水平的比较

与健康组相比,结直肠癌组TT、Alb水平均显著下降,差异有统计学意义($Z=-11.69, -27.38, P<$

0.01);CEA、CA19-9水平均显著升高,差异有统计学意义($Z=-18.32,-10.28,P<0.01$)。见图1。与健康组相比,肠息肉组TT、Alb水平均显著下降,差异有统计学意义($Z=-3.94,-15.95,P<0.01$);CEA、CA19-9水平显著升高,差异有统计学意义($Z=-6.17,-3.70,P<0.01$)。见图2。四种检测指标在各组中的相对表达水平见表1。

2.2 TT、Alb、CEA、CA19-9表达水平与结直肠癌患者、肠息肉患者临床病理特征

结直肠癌组中,TT在女性患者中的表达水平显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$);在年龄、分化程度表达上差异无统计学意义($P>0.05$)。Alb在低年龄组的表达水平显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$);在性别和分化程度表达上差异无统计学意义($P>0.05$)。CEA、CA19-9在低分化程

度上均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);在年龄和性别表达上差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。肠息肉组中,TT在女性患者中的表达水平显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$);在年龄上差异无统计学意义($P>0.05$)。Alb在年龄和性别组的表达水平均显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。CEA在年龄和性别表达上均显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。CA19-9在年龄表达上显著增高,差异有统计学意义($P<0.05$),在性别上差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.3 TT、Alb、CEA、CA19-9对结直肠癌患者及肠息肉患者的诊断效能评价

TT、Alb、CEA、CA19-9及四者联合诊断结直肠癌、肠息肉及两者鉴别诊断的敏感性、特异性、ROC曲线分别见表4、图3~5。

表1 TT、Alb、CEA、CA19-9在各组中的相对表达水平
Table 1 Relative expression levels of TT, Alb, CEA, CA19-9 in each group

组别	n	TT(sec)	Alb (g/L)	CEA (ng/mL)	CA19-9(u/mL)
结直肠癌组	500	15.80(15.20~16.40)	40.60(36.90~43.30)	4.55(2.35~11.30)	14.60(8.59~29.07)
健康组	500	16.50(16.00~17.00)	47.70(45.90~49.40)	1.64(1.10~2.42)	9.73(7.27~12.33)
P值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Z值		-11.69	-27.38	-18.32	-10.28
肠息肉组	500	16.20(15.60~16.90)	44.35(42.03~46.30)	2.15(1.35~3.26)	10.51(7.05~15.93)
健康组	500	16.50(16.00~17.00)	47.70(45.90~49.40)	1.64(1.10~2.42)	9.73(7.27~12.33)
P值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Z值		-3.94	-15.95	-6.17	-3.70
结直肠癌组	500	15.80(15.20~16.40)	40.60(36.90~43.30)	4.55(2.35~11.30)	14.60(8.59~29.07)
肠息肉组	500	16.20(15.60~16.90)	44.35(42.03~46.30)	2.15(1.35~3.26)	10.51(7.05~15.93)
P值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Z值		-7.82	-13.69	-13.89	-7.07

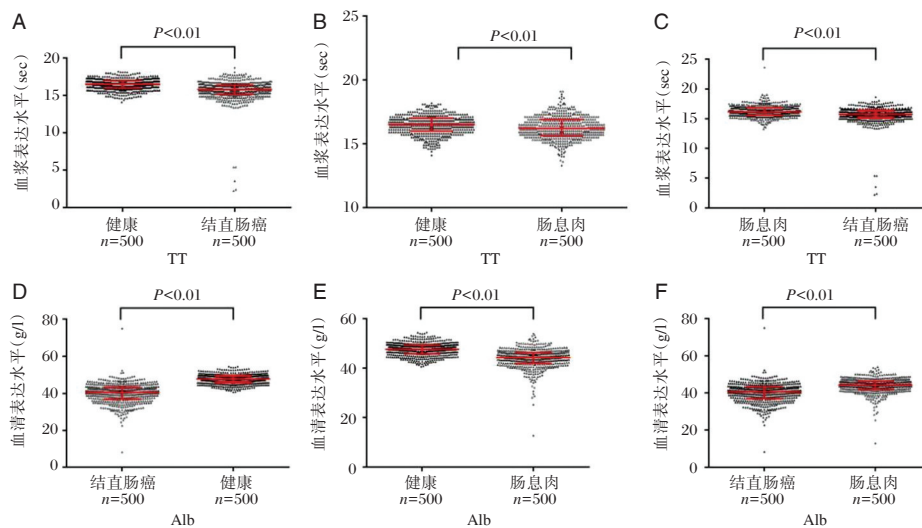


图1 TT、Alb在结直肠癌与肠息肉中的相对表达水平

Figure 1 The relative expression levels of TT and Alb in colorectal cancer and intestinal polyps

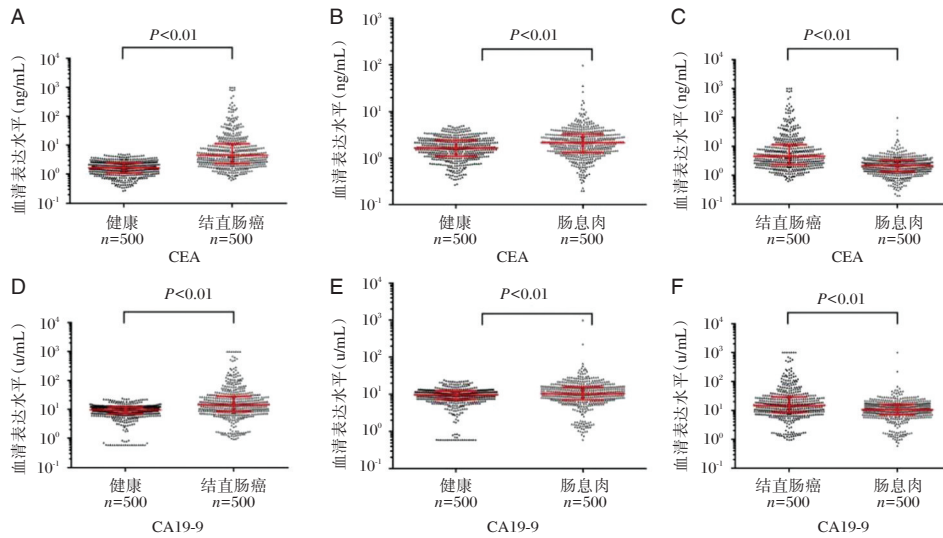


图2 CEA、CA19-9在结直肠癌与肠息肉中的相对表达水平

Figure 2 The relative expression levels of CEA and CA19-9 in colorectal cancer and intestinal polyps

表2 TT、Alb、CEA、CA19-9的表达水平与结直肠癌患者临床病理特征

Table 2 Correlation between the expression levels of TT, Alb, CEA, CA19-9 and the clinical pathology features of patients with colorectal cancer

特征参数	年龄		性别		分化程度	
	≤62 (n=199)	>62 (n=301)	男 (n=313)	女 (n=187)	低分化 (n=65)	中高分化 (n=354)
TT	四分位间数	15.60 (15.00~16.40)	15.60 (15.00~16.20)	16.10 (15.40~16.60)	15.60 (15.20~16.60)	15.80 (15.10~16.40)
	P值	>0.05		<0.01	>0.05	
	Z值	-1.70		-4.64	-0.30	
Alb	四分位间数	41.90 (38.30~44.80)	39.90 (35.80~42.60)	40.80 (37.05~43.30)	40.50 (36.40~43.40)	39.80 (34.50~43.30)
	P值	<0.01		>0.05		>0.05
	Z值	-4.88		-0.61		-1.67
CEA	四分位间数	4.49 (1.99~10.63)	4.55 (2.54~11.35)	4.53 (2.45~11.36)	4.53 (2.45~11.36)	6.28 (3.09~12.34)
	P值	>0.05		>0.05		<0.05
	Z值	-1.08		-0.49		-2.46
CA19-9	四分位间数	14.80 (7.89~27.81)	14.57 (8.96~29.53)	14.06 (8.23~27.44)	16.06 (8.99~32.07)	23.60 (9.39~54.96)
	P值	>0.05		>0.05		<0.01
	Z值	-0.51		-1.04		-3.14

3 讨论

TT目前多用于出血性疾病方面检测。Hayward等^[6]在研究中发现,对于出血性疾病的筛查试验,TT具有较高的特异性。肠息肉和早期结直肠癌最常见的症状为出血、腹痛、贫血和改变排便习惯^[7-8]。研究数据表明,同健康组相比,TT在结直肠癌组和肠息肉组的表达水平明显下降并且可在两组中显著区分。白蛋白作为负性急性时相蛋

白之一,低蛋白血症在许多慢性疾病中常见,包括恶性肿瘤、肝病、慢性传染病等^[9]。本数据表明,同健康组相比,Alb在结直肠癌组和肠息肉组的表达水平明显下降并且可在两组中显著区分。在结直肠癌和肠息肉的患者中,Alb的表达水平在低年龄组要高于高年龄组,表明年龄越大,Alb的表达水平越低。CEA除在肠道癌症升高外,在非恶性疾病中如酒精中毒、慢性炎症性肠病、胰腺炎和肝病中也会升高^[10-12]。CA19-9在胰腺癌、胃癌、肺癌、

表3 TT、Alb、CEA、CA19-9的表达水平与肠息肉患者临床病理特征

Table 3 Correlation between the expression levels of TT, Alb, CEA, CA19-9 and the clinical pathology features of patients with intestinal polyps

特征参数	年龄		性别		
	≤62(n=297)	>62(n=203)	男(n=309)	女(n=191)	
TT	四分位间数	16.10(15.60~16.80)	16.30(15.70~17.00)	16.00(15.50~16.80)	16.40(15.90~17.00)
	P值	>0.05		<0.01	
	Z值	-1.70		-3.92	
Alb	四分位间数	44.90(43.00~46.80)	43.50(41.00~45.50)	44.70(42.80~46.90)	43.60(41.60~45.50)
	P值	<0.01		<0.01	
	Z值	-4.73		-3.74	
CEA	四分位间数	1.89(1.27~2.98)	2.36(1.43~3.62)	2.24(1.49~3.58)	1.84(1.20~2.99)
	P值	<0.01		<0.01	
	Z值	-3.29		-3.43	
CA19-9	四分位间数	6.57(0.60~9.89)	7.34(1.01~11.07)	10.72(7.18~15.62)	9.88(6.99~16.16)
	P值	<0.05		>0.05	
	Z值	-2.38		-0.20	

表4 TT、Alb、CEA、CA19-9及其联合对结直肠癌、肠息肉的诊断效能

Table 4 TT, Alb, CEA, CA19-9 and their combination in the diagnosis of colorectal cancer, intestinal polyps

项目	AUC	95%CI	敏感性	特异性	
结直肠癌	TT	0.713	0.682~0.745	0.53	0.79
	Alb	0.925	0.909~0.941	0.78	0.92
	CEA	0.832	0.807~0.857	0.59	0.92
	CA19-9	0.683	0.648~0.717	0.53	0.89
	四者联合	0.96	0.948~0.972	0.87	0.95
肠息肉	TT	0.571	0.535~0.606	0.43	0.71
	Alb	0.791	0.763~0.819	0.73	0.72
	CEA	0.616	0.581~.651	0.39	0.78
	CA19-9	0.572	0.536~0.608	0.34	0.89
	四者联合	0.825	0.799~0.850	0.68	0.83
鉴别结直肠癌与肠息肉	TT	0.643	0.609~0.677	0.45	0.75
	Alb	0.75	0.720~0.780	0.74	0.65
	CEA	0.751	0.721~0.781	0.51	0.86
	CA19-9	0.624	0.590~0.659	0.31	0.91
四者联合	0.851	0.827~0.875	0.77	0.82	

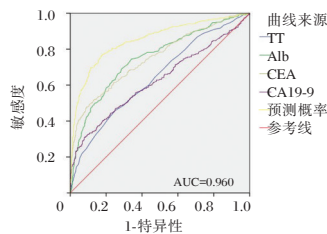


图3 TT、Alb、CEA、CA19-9及四者联合诊断结直肠癌的ROC曲线

Figure 3 ROC curves of TT, Alb, CEA, CA19-9 and their combined diagnosis of colorectal cancer

胆道癌、结直肠癌、肝硬化的患者中水平会升高^[13]。说明CEA、CA19-9可以作为结直肠癌临床诊断、治疗效果和预后判断的重要参考指标。

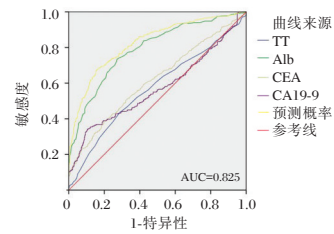


图4 TT、Alb、CEA、CA19-9及四者联合诊断肠息肉的ROC曲线

Figure 4 ROC curves of TT, Alb, CEA, CA19-9 and their combined diagnosis of intestinal polyps

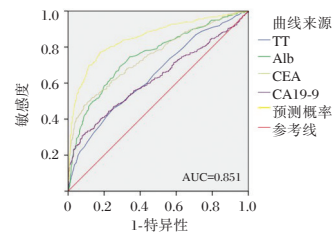


图5 TT、Alb、CEA、CA19-9及四者联合鉴别结直肠癌与肠息肉的ROC曲线

Figure 5 ROC curves of TT, Alb, CEA, CA19-9 and their combination in differentiating colorectal cancer from intestinal polyps

研究表明^[14],肠息肉是结直肠癌最常见的癌前病变,肠息肉患者中有25%~45%的患者会在3~5年内复发,1年累计复发率为52.3%,2年累计复发率为70.8%。因此,对肠息肉的早期发现、治疗和随访尤为重要。对于结直肠癌的筛查,结肠镜活检在癌症和癌前病变方面具有很高的敏感度和特异度,所以依旧是诊断结直肠癌的金标准,但也存在着侵入性和创伤性的问题^[15]。本研究中与单

个标志物相比,对TT、Alb、CEA、CA19-9联合检测用于诊断结直肠癌、肠息肉以及两者鉴别,其诊断效能、敏感性、特异性均有显著提升。因此,认为可以将TT、Alb、CEA、CA19-9的联合检测作为一种新的诊断标志物,为患者提供简便、经济、可接受度高的临床筛查方法,同时为鉴别结直肠癌与肠息肉提供参考。

本研究亦存在一些不足之处,因客观原因,结直肠癌患者的肿瘤分期并不完整,故并未对TT、Alb、CEA、CA19-9与肿瘤分期的相关性进行分析,由于长期缺乏临床随访的数据,并未评估TT、Alb、CEA、CA19-9用于结直肠癌预后的相关性。接下来将继续完善该部分内容,后续做作深入研究。

参考文献

- [1] 滕熠,曹毛毛,陈万青. 中国癌症筛查的发展、现状与挑战[J]. 中国肿瘤, 2022, 31(7): 481-487.
- [2] 赵敏,褚以恣,彭海霞. 结直肠癌和结直肠腺瘤筛查方式的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2022, 42(5): 673-679.
- [3] Evelien Dekker, Pieter J Tanis, Jasper, LA Vleugels, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394 (10207): 1467-1480.
- [4] Nerad E, Lahaye MJ, Maas M, et al. Diagnostic Accuracy of CT for Local Staging of Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. AJR Am J Roentgenol, 2016, 207(5): 984-95.
- [5] Hongda Chen, Ni Li, Jiansong Ren, et al. Participation and yield of a population-based colorectal cancer screening programme in China[J]. Gut, 2018, 68(8): 1450-1457.
- [6] Hayward CP, Moffat A, Liu Y. Laboratory investigations for bleeding disorders [J]. Semin Thromb Hemost, 2012, 38 (7): 742-752.
- [7] Schmit SL, Figueiredo JC, Cortessis VK, et al. The Influence of Screening for Precancerous Lesions on Family-Based Genetic Association Tests: An Example of Colorectal Polyps and Cancer[J]. Am J Epidemiol, 2015, 182(8): 714-722.
- [8] Patel SG, Murphy CC, Lieu CH, et al. Early age onset colorectal cancer[J]. Adv Cancer Res, 2021, 151: 1-37.
- [9] Bankey PE, Mazuski JE, Ortiz M, et al. Hepatic acute phase protein synthesis is indirectly regulated by tumor necrosis factor[J]. Trauma, 1990, 30: 1181-1187.
- [10] van der Schouw YT, Verbeek AL, Wobbes T, et al. Comparison of four serum tumour markers in the diagnosis of colorectal carcinoma[J]. Br J Cancer, 1992, 66: 148-154.
- [11] George PK, Loewenstein MS, O'Brien MJ, et al. Circulating CEA Levels in Patients with Fulminant Hepatitis [J]. Dig Dis Sci, 1982, 27, 139-142.
- [12] Tan E, Gouvas N, Nicholls RJ, et al. Diagnostic precision of carcinoembryonic antigen in the detection of recurrence of colorectal cancer[J]. Surg Oncol, 2009, 18(1): 15-24.
- [13] Kim S, Park BK, Seo JH, et al. Carbohydrate antigen 19-9 elevation without evidence of malignant or pancreatobiliary diseases[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 8820.
- [14] Symonds EL, Cole SR, Lau SY, et al. The significance of the small adenoma: a longitudinal study of surveillance colonoscopy in an Australian population [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2019, 31(5): 563-569.
- [15] Brenner H, Stock C, Hoffmeister M. Effect of screening sigmoidoscopy and screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies [J]. BMJ, 2014, 348: g2467.
- [8] 王海燕,王道警,黄守国,等. 妊娠期糖尿病孕妇血糖控制相关行为及其对母婴结局影响研究[J]. 华南预防医学, 2023, 49(6): 681-685.
- [9] 杨敏,杨艳,叶佳. 妊娠期糖尿病孕妇 VEGF 和 SFRP-5 与胰岛素抵抗的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1): 128-131.
- [10] 孙云霞,刘伟,钱慧. 妊娠糖尿病患者血清 C 肽对妊娠不良事件和胎儿生长发育的预测价值[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(11): 26-31.
- [11] 吴路路,王瑞亚,张雅宁,等. 孕中期血清 Hcy、HbA1c 及 TyG 指数对妊娠期糖尿病的预测价值[J]. 现代妇产科进展, 2023, 32(4): 283-286+292.
- [12] Zhao C, Liu H, et al. Maternal fasting serum C-peptide concentrations in the first and second trimesters and subsequent risk of gestational diabetes mellitus: A nested case-control study among Chinese women [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2024, 208: 111111.
- [13] 凌思思,徐琦,郑小冬,等. 妊娠早期炎症因子与妊娠期糖尿病发生的相关性初步探讨[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(5): 333-337.
- [14] Sahin M, Oguz A, et al. A new marker predicting gestational diabetes mellitus: First trimester neutrophil/lymphocyte ratio [J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(36): e30514.

(上接第 519 页)

STEMI患者外周血单个核细胞中MAPK通路与炎症反应及PCI后无复流的关系

马龙飞* 韩新宇 陈昌 王俊涛 王地

【摘要】目的 研究ST段抬高型心肌梗死(STEMI)患者外周血单个核细胞(PBMCs)中丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路与炎症反应及经皮冠状动脉介入术(PCI)后无复流的关系。**方法** 选取郑州市第七人民医院2021年2月至2022年10月进行PCI治疗的STEMI患者和同期进行体检的健康志愿者,分别作为STEMI组($n=92$)和对照组($n=100$)。采用荧光定量PCR法检测PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的表达水平,根据中位数将STEMI组患者分为*p38MAPK*、*JNK*高表达和低表达。检测STEMI患者血清ICAM-1、TNF- α 、IL-6含量,评估STEMI患者心肌损伤程度及无复流情况。**结果** STEMI组患者PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的表达水平高于对照组,差异有统计学意义($t=5.386$ 、 5.126 , $P<0.05$);STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*高表达患者的CK-MB峰值、cTnT峰值及ICAM-1、TNF- α 、IL-6含量均高于*p38MAPK*、*JNK*低表达患者,差异有统计学意义($t=7.143$ 、 4.999 、 9.528 、 6.805 、 6.890 、 6.226 、 8.132 、 7.807 、 7.162 、 7.588 , $P<0.05$);STEMI组中无复流患者PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的表达水平高于血流正常患者,差异有统计学意义($t=5.208$ 、 4.240 , $P<0.05$);经ROC曲线分析,PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的表达水平对STEMI患者PCI后无复流具有预测价值($P<0.05$)。**结论** STEMI患者MAPK通路中*p38MAPK*、*JNK*的高表达与炎症反应激活、PCI后无复流有关。

【关键词】 ST段抬高型心肌梗死;经皮冠状动脉介入术;丝裂原活化蛋白激酶;炎症反应;无复流

Relationship between MAPK pathway in peripheral blood mononuclear cells and inflammatory response, no reflow after PCI in patients with STEMI

MA Longfei*, HAN Xinyu, CHEN Chang, WANG Juntao, WANG Di

(Department of Cardiology, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and inflammatory response, no reflow after percutaneous coronary intervention (PCI) in patients with STEMI. **Methods** STEMI patients who underwent PCI from February 2021 to October 2022 and healthy volunteers who underwent physical examinations during the same period were divided into the STEMI group ($n=92$) and the control group ($n=100$), respectively. The expression levels of *p38MAPK* and *JNK* in PBMCs were detected using fluorescence quantitative PCR. Based on the median, the patients in the STEMI group were divided into high expression and low expression groups for *p38MAPK* and *JNK*. The levels of ICAM-1, TNF- α and IL-6 in serum were tested, and the degree of myocardial injury and no reflow in STEMI patients were evaluated. **Result** The expression levels of *p38MAPK* and *JNK* in PBMCs of the STEMI group were higher than those of the control group, and the difference was statistically significant ($t=5.386$, 5.126 , $P<0.05$). The peak values of CK-MB, cTnT and the contents of ICAM-1, TNF- α and IL-6 in the serum of patients with high expression of *p38MAPK* and *JNK* in the STEMI group were higher than those of patients with low expression of *p38MAPK* and *JNK*. The difference was statistically significant ($t=7.143$, 4.999 , 9.528 , 6.805 , 6.890 , 6.226 , 8.132 , 7.807 , 7.162 , 7.588 , $P<$

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20210745)

作者单位:郑州市第七人民医院心内科,河南,郑州450000

*通信作者:马龙飞, E-mail: m1601769317@163.com

0.05)。The expression levels of *p38MAPK* and *JNK* in PBMCs of patients with no reflow in the STEMI group were higher than those of patients with normal blood flow. The difference was statistically significant ($t=5.208, 4.240, P<0.05$)。The ROC curve analysis showed that the expression levels of *p38MAPK* and *JNK* in PBMCs can predict no reflow in STEMI patients after PCI. **Conclusion** The overexpression of *p38MAPK* and *JNK* in the MAPK pathway of STEMI patients is associated with the activation of inflammatory response and the occurrence of no reflow after PCI.

[KEY WORDS] ST segment elevation myocardial infarction; Percutaneous coronary intervention; Mitogen activated protein kinase; Inflammatory response; No reflow

经皮冠状动脉介入术(Percutaneous coronary intervention, PCI)治疗ST段抬高型心肌梗死(ST segment elevation myocardial infarction, STEMI)能够再通冠脉、恢复心肌血流。但约3%~10%的STEMI患者会在PCI后出现无复流、直接影响疗效及预后^[1-2]。因此,研究PCI后无复流的分子机制及预测手段是近些年心血管领域的热点。MAPK家族调控细胞存活、凋亡、炎症,该家族的成员*p38MAPK*、*JNK*已经被证实在大鼠心肌缺血缺氧损伤过程中表达增加且参与炎症反应的调控、与无复流有关^[3-4],但STEMI发病过程中MAPK家族中*p38MAPK*、*JNK*表达的变化及意义尚缺乏临床证据。因此,本研究将以接受PCI治疗的STEMI患者为对象,分析PCI后无复流及炎症反应与PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达的关系,旨在深入认识PCI后无复流的可能机制及分子标志物。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取郑州市第七人民医院2021年2月至2022年10月进行PCI治疗的STEMI患者和同期进行体检的健康志愿者,分别作为STEMI组($n=92$)和对照组($n=100$)。STEMI患者的入组标准:①参照指南中疾病的诊断标准确诊STEMI^[5];②均接受PCI治疗;③发病至PCI时间 ≤ 12 h;④研究所需资料及样本完整。排除标准:①既往接受PCI治疗、冠脉搭桥、溶栓等治疗;②合并影响MAPK的疾病。STEMI组中男性51例、女性41例,年龄41~67岁、平均(54.58 \pm 9.39)岁;对照组中男性59名、女性41名,年龄40~65岁、平均(53.74 \pm 10.24)岁。两组间一般资料的比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经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 PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达的检测

STEMI患者入院时采集外周静脉血3 mL、对

照组志愿者体检时采集外周静脉血3 mL,采用Ficoll分离液分离PBMCs,采用RNA提取试剂盒提取PBMCs中的RNA,采用RT-PCR试剂盒配置反应体系,cDNA 1 μ L、反应混合液10 μ L、上下游引物各0.6 μ L,去离子水不足至20 μ L,分别使用*p38MAPK*、*JNK*和 β -*actin*的特异性引物完成PCR反应,得到反应曲线及循环阈值(Ct),以 β -*actin*为内参、按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算*p38MAPK*、*JNK*的mRNA表达水平。

1.3 心肌损伤程度的评价

查阅STEMI患者的病历资料,根据入院后实验室检查结果获得磷酸肌酸激酶同工酶(CK-MB)峰值、肌钙蛋白T(cTnT)峰值。

1.4 血清炎症细胞因子含量的检测

取STEMI患者入院时的血清样本,采用酶联免疫吸附试剂盒检测ICAM-1、TNF- α 、IL-6含量。

1.5 PCI术后无复流的评估

PCI后进行血管造影,病变部位残余狭窄 $<10\%$ 且未见侧枝闭塞、内膜撕裂、远端栓塞或痉挛,根据TIMI分级判断冠脉血流,TIMI ≤ 2 级为无复流。

1.6 统计学方法

采用SPSS 21.0软件和Prism软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;无复流的预测采用ROC曲线分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 STEMI组与对照组PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达的比较

与对照组比较,STEMI组患者PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的mRNA表达水平明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*高表达与低表达患者心肌损伤程度的比较

与STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*低表达患者比

表1 STEMI组与对照组PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达的比较($\bar{x}\pm s$)

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

组别	<i>n</i>	<i>p38MAPK</i>	<i>JNK</i>
STEMI组	92	1.20±0.30	1.18±0.29
对照组	100	1.00±0.21	1.00±0.19
<i>t</i> 值		5.386	5.126
<i>P</i> 值		0.000	0.000

较, *p38MAPK*、*JNK*高表达患者血清CK-MB峰值、cTnT峰值明显增加, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*高表达与低表达患者心肌损伤程度的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of myocardial injury degree between patients with high and low expression of *p38MAPK* and *JNK* in STEMI group ($\bar{x}\pm s$)

指标	表达水平	<i>n</i>	CK-MB峰值(U/L)	cTnT峰值(ng/dL)
<i>p38MAPK</i>	高表达	46	154.94±23.81	4.51±0.93
	低表达	46	121.24±21.38	3.62±0.77
	<i>t</i> 值		7.143	4.999
	<i>P</i> 值		0.000	0.000
<i>JNK</i>	高表达	46	160.22±24.12	4.66±0.95
	低表达	46	115.96±20.27	3.47±0.71
	<i>t</i> 值		9.528	6.805
	<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.3 STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*高表达与低表达患者血清ICAM-1、TNF- α 、IL-6的比较

与STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*低表达患者比较, *p38MAPK*、*JNK*高表达患者血清中ICAM-1、TNF- α 、IL-6的含量明显增加, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 STEMI组中*p38MAPK*、*JNK*高表达与低表达患者血清ICAM-1、TNF- α 、IL-6的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum ICAM-1, TNF- α and IL-6 in patients with high and low expression of *p38MAPK* and *JNK* in STEMI group ($\bar{x}\pm s$)

指标	表达水平	<i>n</i>	ICAM-1(ng/mL)	TNF- α (ng/mL)	IL-6(pg/mL)
<i>p38MAPK</i>	高表达	46	216.44±42.58	12.77±3.52	56.51±9.25
	低表达	46	162.56±31.62	8.94±2.24	41.44±8.51
	<i>t</i> 值		6.890	6.226	8.132
	<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000
<i>JNK</i>	高表达	46	220.61±45.12	13.07±3.66	56.01±9.44
	低表达	46	158.39±29.77	8.64±2.05	41.94±8.31
	<i>t</i> 值		7.807	7.162	7.588
	<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

2.4 STEMI组PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达与无复流的关系

与STEMI组中血流正常患者比较, 无复流患者PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的mRNA表达水平明显增加, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 STEMI组PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达与无复流的关系($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Relationship between *p38MAPK* and *JNK* expression in PBMCs and no reflow of STEMI group ($\bar{x}\pm s$)

复流情况	<i>n</i>	<i>p38MAPK</i>	<i>JNK</i>
血流正常患者	78	1.14±0.27	1.14±0.26
无复流患者	14	1.54±0.23	1.46±0.26
<i>t</i> 值		5.208	4.240
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.5 PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达预测无复流的ROC曲线分析

PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达预测无复流的ROC曲线见图1。ROC曲线分析结果见表5。

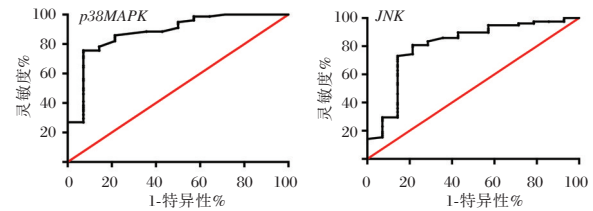


图1 PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达预测无复流的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of *p38MAPK* and *JNK* expression in PBMCs to predict no reflow

表5 PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达预测无复流的ROC曲线分析

Table 5 ROC curve analysis of *p38MAPK* and *JNK* expression in PBMCs to predict no reflow

指标	AUC	95% CI	截断值	灵敏度	特异度	<i>P</i> 值
<i>p38MAPK</i>	0.878	0.773~0.982	1.315	75.64%	92.86%	0.000
<i>JNK</i>	0.807	0.667~0.946	1.325	73.08%	85.71%	0.001

3 讨论

MAPK家族是一类丝苏氨酸激酶, 介导生物学信号由细胞外向细胞内的转导, 参与炎症反应、细胞凋亡等生物学环节的调控。相关的动物实验证实, 在心肌缺血缺氧的过程中, MAPK家族中的*p38MAPK*、*JNK*的表达均明显增加, 多种药物通过抑制*p38MAPK*、*JNK*减轻心肌缺血缺氧损伤^[6-8], 提示*p38MAPK*通路和*JNK*通路在心肌缺血缺氧

损伤中发挥重要作用。STEMI发病后冠脉闭塞、心肌出现缺血缺氧损伤,本研究对STEMI发病后MAPK通路的变化进行了分析,通过检测PBMCs中信号分子表达的变化可知:STEMI患者PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*的表达较健康志愿者明显增加,与小鼠缺血缺氧心肌中两种信号分子表达增加的结果吻合^[6-8],提示*p38MAPK*通路和*JNK*通路的过度激活与STEMI的发病有关。

*p38MAPK*通路和*JNK*通路具有广泛的生物学作用,在缺血缺氧引起心肌损伤、脓毒症引起心肌损伤过程中,抑制*p38MAPK*、*JNK*能够减轻心肌损伤程度及炎症反应程度,减少ICAM-1、TNF- α 、IL-6等多种炎症细胞因子的释放^[9-11]。本研究已经证实STEMI患者体内*p38MAPK*、*JNK*表达增加,进一步分析*p38MAPK*、*JNK*与STEMI患者心肌损伤程度及炎症反应程度的关系可知:随着STEMI患者PBMCs中*p38MAPK*、*JNK*表达增加,CK-MB峰值、cTnT峰值及ICAM-1、TNF- α 、IL-6含量均明显增加。CK-MB峰值、cTnT峰值的增加表明心肌损伤程度加剧,ICAM-1、TNF- α 、IL-6含量增加表明炎症反应加剧^[12-13],结合本研究的分析结果表明STEMI发病后*p38MAPK*、*JNK*的高表达与心肌损伤程度及炎症反应程度的加剧有关。

PCI是目前治疗STEMI的有效手段,虽然再通冠脉的效果确切,但仍有约3%~10%的患者PCI后心肌灌注不良、表现为无复流。相关的动物实验证实,炎症反应的激活、*p38MAPK*及*JNK*通路的激活均与无复流的发生有关^[3-4,14-15]。本研究已经证实STEMI发病后*p38MAPK*及*JNK*表达增加且与炎症反应激活有关,进一步分析*p38MAPK*及*JNK*与无复流的关系可知:无复流的STEMI患者PBMCs中*p38MAPK*及*JNK*的表达水平高于血流正常患者;通过ROC曲线分析证实:PBMCs中*p38MAPK*及*JNK*的表达水平对STEMI患者PCI后无复流具有预测价值。以上结果表明*p38MAPK*、*JNK*的高表达与STEMI患者PCI后无复流的发生有关,检测*p38MAPK*、*JNK*能够预测无复流并早期进行干预和防治。

综上所述,STEMI患者MAPK通路中*p38MAPK*、*JNK*的表达增加;高表达的*p38MAPK*、*JNK*与炎症反应激活、PCI后无复流有关,检测*p38MAPK*、*JNK*能够预测PCI后无复流的发生。未来,*p38MAPK*、*JNK*通路可作为研究STEMI发病机制、PCI后无复流发生机制的靶点。

参考文献

- [1] Dall'Ara G, Testa L, Tumscitz C, et al. No-Reflow Complicating Chronic Total Occlusion Coronary Revascularization [J]. *J Invasive Cardiol*, 2020, 32(2):58-63.
- [2] Buono A, Gori T. No-reflow phenomenon in acute myocardial infarction: Relieve pressure from the procedure and focus attention to the patient [J]. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2019, 30(24):100417.
- [3] Chen Y, Liu C, Zhou P, et al. Coronary Endothelium No-Reflow Injury Is Associated with ROS-Modified Mitochondrial Fission through the JNK-Drp1 Signaling Pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 30(2021):6699516.
- [4] 文俊杰, 苏展, 罗素新, 等. 七叶皂苷钠通过*p38MAPK*通路减少小鼠心肌梗死面积和无复流面积的研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(3):8-15.
- [5] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(5):380-393.
- [6] Zhou Y, Peng DD, Chong H, et al. Effect of isoflurane on myocardial ischemia - reperfusion injury through the *p38MAPK* signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(3):1342-1349.
- [7] Almeida Paiva R, Martins-Marques T, Jesus K, et al. Ischaemia alters the effects of cardiomyocyte-derived extracellular vesicles on macrophage activation [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(2):1137-1151.
- [8] Li HW, Xiao FY. Effect of hydrogen sulfide on cardiomyocyte apoptosis in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury via the JNK signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(4):2054-2061.
- [9] Feng L, Ning R, Liu J, et al. Silica nanoparticles induce JNK-mediated inflammation and myocardial contractile dysfunction [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 5(391):122206.
- [10] Yu T, Dong D, Guan J, et al. Alprostadil attenuates LPS-induced cardiomyocyte injury by inhibiting the Wnt5a/JNK/NF-kappaB pathway [J]. *Herz*, 2020, 45(Suppl 1):130-138.
- [11] Huang C, Zhang Y, Qi H, et al. Myc is involved in Genistein protecting against LPS - induced myocarditis in vitro through mediating MAPK/JNK signaling pathway [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(6):BSR20194472.
- [12] Lino DOC, Freitas IA, Meneses GC, et al. Interleukin-6 and adhesion molecules VCAM-1 and ICAM-1 as biomarkers of post-acute myocardial infarction heart failure [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2019, 52(12):e8658.
- [13] Lima BB, Hammad M, Wilmot K, et al. Posttraumatic stress disorder is associated with enhanced interleukin-6 response to mental stress in subjects with a recent myocardial infarction [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 75:26-33.
- [14] Liu WB, Han XH, Guo YY, et al. Effects of tumor necrosis factor and E-selectin on coronary artery flow [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8):1843-1849.
- [15] 刘芳, 王丽萍, 谢同杰, 等. AMI患者术中无复流与冠状动脉病变情况和内皮炎症相关性分析 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2017, 9(10):1219-1221+1225.

血清 IGF-1、MCP-1 及 ET-1 在食管癌术后急性呼吸窘迫综合征中的表达及临床意义

康翠伟¹ 李莹¹ 刘宁¹ 贾向波^{2*}

【摘要】目的 分析胰岛素样生长因子1(IGF-1)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及内皮素-1(ET-1)在食管癌术后急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的表达及临床意义。**方法** 选取2020年12月至2022年5月于河南省人民医院行食管癌手术患者256例,依据术后是否发生ARDS分为非ARDS组194例、ARDS组62例。比较非ARDS组、ARDS组的血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平。比较ARDS组术后不同时间点血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平。比较ARDS组不同病情程度血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平及APACHE II评分。采用Pearson分析血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平与APACHE II评分的相关性,绘制ROC曲线分析IGF-1、MCP-1、ET-1单独或联合检测对食管癌ARDS术后的预测价值。**结果** ARDS组血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平均明显高于非ARDS组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平比较:术后7d>术后4d>术后1d,差异具有统计学意义($P<0.05$)。血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平及APACHE II评分比较:重度组>中度组>轻度组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。血清IGF-1、MCP-1、ET-1水平与APACHE II评分呈正相关($P<0.05$)。IGF-1、MCP-1、ET-1联合检测对食管癌食管癌术后ARDS的灵敏度、特异度、AUC(95% CI)分别为93.27%、90.05%、0.811(0.774~0.932);均高于上述指标单一检测($P<0.05$)。**结论** 血清IGF-1、MCP-1、ET-1在食管癌术后ARDS中表达升高,且与ARDS病情发展相关,有望成为评判食管癌术后ARDS发生及病情程度的标志物,且三者联合检测对食管癌术后ARDS的预测价值更高。

【关键词】 胰岛素样生长因子;单核细胞趋化蛋白;内皮素-1;食管癌;急性呼吸窘迫综合征

Expression and clinical significance of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 in acute respiratory distress syndrome after esophageal cancer surgery

KANG Cuiwei¹, LI Ying¹, LIU Ning¹, JIA Xiangbo^{2*}

(1. Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine, Henan Provincial Key Medicine Laboratory of Nursing, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou University People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Department of Thoracic Surgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the expression and clinical significance of insulin-like growth factor 1 (IGF-1), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and endothelin-1 (ET-1) in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) after esophageal cancer surgery. **Methods** From December 2020 to May 2022, 256 patients with esophageal cancer were selected and divided into two groups: the non-ARDS group (194 cases) and the ARDS group (62 cases) based on the occurrence of ARDS after the operation. The levels of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 were compared between the non-ARDS and ARDS groups. The levels of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 were compared at different time points after the operation within the ARDS group. Furthermore, the levels of serum IGF-1, MCP-1, ET-1 and APACHE II score were compared with

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20210043)

作者单位:1.河南省人民医院麻醉与围术期医学科,河南省护理医学重点实验室,郑州大学人民医院,河南,郑州 450000

2.河南省人民医院胸外科,河南,郑州 450000

*通信作者:贾向波, E-mail:651693151@qq.com

the ARDS group. Pearson correlation analysis was used to examine the relationship between serum IGF-1, MCP-1, ET-1 levels and APACHE II score. Moreover, the ROC curves were drawn to analyze the predictive value of IGF-1, MCP-1 and ET-1 detection alone or in combination after ARDS for esophageal cancer. **Results** Serum levels of IGF-1, MCP-1 and ET-1 in the ARDS group were significantly higher than those in the non-ARDS group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The comparison of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 levels showed that 7 days after surgery >4 days >1 day after surgery, with a statistically significant difference ($P<0.05$). The comparison of serum IGF-1, MCP-1, ET-1 levels, and APACHE II scores indicated that the severe group $>$ moderate group $>$ mild group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). Serum levels of IGF-1, MCP-1 and ET-1 were positively correlated with APACHE II scores ($P<0.05$). The sensitivity, specificity, and AUC (95% CI) of the combined detection of IGF-1, MCP-1 and ET-1 for ARDS after esophageal cancer surgery were 93.27%, 90.05% and 0.811 (0.774~0.932) respectively. All these values were higher than the above indicators ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 are elevated in patients with ARDS following esophageal cancer surgery. This increase is associated with the development of ARDS and could serve as a marker for evaluating both the occurrence and severity of ARDS post-surgery. Additionally, the combined measurement of all three markers may be more valuable in predicting the likelihood of ARDS after esophageal cancer surgery.

[KEY WORDS] Insulin-like growth factor; Monocyte chemotactic protein; Endothelin-1; Esophageal cancer; Acute respiratory distress syndrome

食管癌术后极易发生呼吸系统并发症,是患者死亡的主要原因。据统计,急性呼吸窘迫综合征(Acute respiratory distress syndrome, ARDS)是食管癌术后发生率最高的呼吸系统并发症^[1]。食管癌术后 ARDS 临床表现以呼吸困难、呼吸窘迫及难以纠正的低氧血症等为主,且病情发展迅速,临床治疗具有一定困难。因此,食管癌术后如何有效预防 ARDS,对于降低食管癌术后病死率具有重要意义。ARDS 病因诸多,但主要原因为肺泡的非特异性炎症引发肺血管通透性肺水肿,最终引起急性呼吸衰竭^[2]。单核细胞趋化蛋白-1(Monocyte chemoattractant protein -1, MCP-1)是 β 亚家族的代表成员,对于单核细胞起到趋化作用,与机体炎症反应具有关联^[3]。内皮素-1(Endothelin -1, ET-1)由21个氨基酸残基组成,属于多效性分子,可刺激炎症因子的表达,起到促使细胞增殖的功能^[4]。有研究显示,胰岛素样生长因子1(Insulin-like growth factor 1, IGF-1)免疫耗竭可使肺成纤维细胞凋亡增加,其在 ARDS 支气管肺泡灌洗液中表达呈上升趋势^[5]。本文旨在分析 IGF-1、MCP-1 及 ET-1 在食管癌术后 ARDS 中的表达及临床意义。

1 一般资料

1.1 资料与方法

选取 2020 年 12 月至 2022 年 5 月于河南省人民医院行食管癌手术患者 256 例。纳入标准:①经

病理检查确诊为食管癌,且均行腹腔镜辅助食管癌手术^[6];②未同时进行其他系统相关手术;③未伴有其他恶性肿瘤;④年龄 >18 岁;排除标准:①临床资料缺乏;②无法正常言语交流;③肝肾功能不全者。

依据术后是否发生 ARDS [ARDS 诊断标准参考《急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南》^[7]]分为非 ARDS 组 194 例、ARDS 组 62 例。其中非 ARDS 组男 101 例,女 93 例,年龄 47~80 岁,平均年龄(62.86 \pm 8.01)岁,心功能分级:Ⅱ级 4 例、Ⅲ级 187 例、Ⅳ级 3 例,平均氧合指数(334.20 \pm 24.36)mmHg; ARDS 组男 32 例,女 30 例,年龄 46~81 岁,平均年龄(63.44 \pm 8.24)岁,心功能分级:Ⅱ级 2 例、Ⅲ级 59 例、Ⅳ级 1 例,平均氧合指数(333.57 \pm 24.22)mmHg。两组临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准,且患者家属均知晓并同意。

1.2 方法

食管癌手术患者术后 2 h 内抽取静脉血 3 mL,另 ARDS 组患者术后 1 d、4 d 及 7 d 各抽取静脉血 3 mL,置于生化采血管内,离心(4 000 r/min、10 min、离心半径 9 cm),采取血清,采用酶联免疫吸附法测定 IGF-1、MCP-1,采用放射免疫法测定 ET-1。IGF-1、MCP-1 试剂盒均来自杭州联科生物技术股份有限公司,ET-1 试剂盒来自上海富雨生物科技有限公司。

1.3 观察指标

①比较非 ARDS 组、ARDS 组的血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平。②比较 ARDS 组术后不同时间点血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平。③比较 ARDS 组不同病情程度血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平及 APACHE II 评分。病情程度根据柏林定义新标准^[7]分为轻度组(200 Torr \leq 氧合指数 \leq 300 Torr/PEEP, 压力值 5 cm H₂O)、中度组(100 Torr \leq 氧合指数 \leq 200 Torr/PEEP, 压力值 5 cm H₂O)及重度组(氧合指数 \leq 100 Torr/PEEP, 压力值 5 cm H₂O)。APACHE II 评分由急性生理、年龄及慢性健康三部分构成, 分值越高, 表示病情越严重^[8]。④分析血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平与 APACHE II 评分相关性。⑤分析 IGF-1、MCP-1、ET-1 单独或联合检测对食管癌 ARDS 术后的预测价值。

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($\bar{x} \pm s$)描述, 两两间使用 *t* 检验, 多组间采用 *F* 检验; 采用 Pearson 分析血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平与 APACHE II 评分相关性; 绘制 ROC 曲线分析 IGF-1、MCP-1、ET-1 单独或联合检测对食管癌 ARDS 术后的预测价值; 均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 非 ARDS 组、ARDS 组血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平比较

ARDS 组血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平均明显高于非 ARDS 组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 非 ARDS 组、ARDS 组的血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 levels between non ARDS and ARDS groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IGF-1 (ng/mL)	MCP-1 (pg/mL)	ET-1 (ng/L)
非 ARDS 组	194	282.84 \pm 35.52	11.58 \pm 2.47	113.94 \pm 20.58
ARDS 组	62	334.33 \pm 37.95	20.32 \pm 5.22	162.03 \pm 21.18
<i>t</i> 值		9.771	17.917	15.904
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 ARDS 组术后不同时间点血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平比较

血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平比较: 术后 7 d > 术后 4 d > 术后 1 d, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 ARDS 组术后不同时间点血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum IGF-1, MCP-1 and ET-1 levels in ARDS group at different postoperative time points ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IGF-1 (ng/mL)	MCP-1 (pg/mL)	ET-1 (ng/L)
术后 1 d	62	345.88 \pm 38.62	22.51 \pm 3.63	126.88 \pm 21.43
术后 4 d	62	376.82 \pm 39.75 ^a	31.73 \pm 4.80 ^a	136.58 \pm 22.69 ^a
术后 7 d	62	421.66 \pm 41.20 ^{ab}	43.22 \pm 6.11 ^{ab}	148.02 \pm 23.74 ^{ab}
<i>F</i> 值		56.62	272.25	13.55
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.001

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

2.3 ARDS 组不同病情程度血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平及 APACHE II 评分比较

血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平及 APACHE II 评分比较: 重度组 > 中度组 > 轻度组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 ARDS 组不同病情程度血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平及 APACHE II 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum IGF-1, MCP-1, ET-1 levels and APACHE II score in RDS group with different degrees of illness ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IGF-1 (ng/mL)	MCP-1 (pg/mL)	ET-1 (ng/L)	APACHE II 评分(分)
轻度组	17	305.56 \pm 35.86	14.45 \pm 4.26	130.59 \pm 22.04	18.05 \pm 4.84
中度组	33	336.44 \pm 37.67 ^a	20.53 \pm 5.47 ^a	165.71 \pm 23.12 ^a	23.44 \pm 5.92 ^a
重度组	12	369.32 \pm 39.50 ^{ab}	28.08 \pm 6.75 ^{ab}	196.46 \pm 25.68 ^{ab}	28.62 \pm 6.88 ^{ab}
<i>F</i> 值		10.26	22.09	28.90	11.73
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与轻度组比较, ^a $P < 0.05$; 与中度组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.4 血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平与 APACHE II 评分相关性

血清 IGF-1、MCP-1、ET-1 水平与 APACHE II 评分呈正相关($r = 0.623, 0.581, 0.630, P < 0.05$)。

2.5 IGF-1、MCP-1、ET-1 单独或联合检测对食管癌术后 ARDS 的预测价值

IGF-1、MCP-1、ET-1 联合检测对食管癌食管癌术后 ARDS 的灵敏度、特异度、AUC(95%CI)分别为 93.27%、90.05%、0.811(0.774~0.932); 均高于上述指标单一检测($P < 0.05$)。见表 4、图 1。

3 讨论

食管癌术后易发生 ARDS, 主要原因为食管癌手术需开胸, 患者术后切口处疼痛, 无法进行有效咳嗽、咳痰, 且多数食管癌患者年龄大, 常伴有吸烟史, 或慢性支气管炎、肺气肿病史。国内研究发

表4 IGF-1、MCP-1、ET-1单独或联合检测对食管癌术后ARDS的预测价值

Table 4 Predictive value of IGF-1, MCP-1 and ET-1 detection alone or in combination after ARDS for esophageal cancer

检查	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC(95% CI)	P值
IGF-1	65.08	59.74	0.578(0.456-0.678)	0.010
MCP-1	60.35	54.71	0.531(0.428-0.610)	0.018
ET-1	58.74	53.00	0.520(0.410-0.577)	0.024
三者联合	93.27	90.05	0.811(0.774-0.932)	<0.001

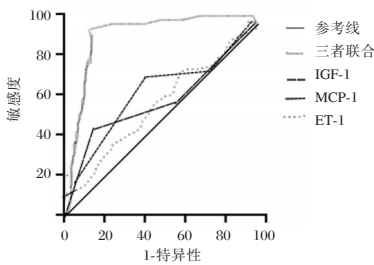


图1 ROC曲线

Figure 1 The ROC curve

现,ARDS发生时,会激活巨噬细胞、中性粒细胞等细胞因子,聚集于肺内,致使全身炎症因子发生瀑布样释放,导致促炎因子、抗炎因子平衡失调;在发病过程中,趋化因子、促炎因子、抗炎因子均可反映ARDS炎症程度^[9]。

MCP-1作为炎症趋化因子,存在于人体多个器官及组织,MCP-1与其受体相结合,可趋化、激活免疫细胞,快速迁移至炎症反应部位,引发或促发炎症反应^[10]。国外有研究发现,若抑制ARDS机体MCP-1活化,在一定程度上可避免肺组织受损,降低肺部感染的可能性^[11]。动物模型试验显示,大鼠急性坏死性胰腺炎早期肺组织中可见MCP-1表达^[12]。本次研究中,ARDS组血清MCP-1水平高于非ARDS组,且随着食管癌术后时间增长,MCP-1水平越来越高。提示食管癌术后发生ARDS可活化MCP-1,且其水平呈升高趋势。

炎症细胞在内皮细胞表面黏附、诱导内皮细胞损伤可能是导致ARDS发生的根本原因。ET-1主要分泌于内皮细胞,具有引起血管收缩、促进炎症反应等临床作用。最近有报道称,在临床及实验性肺损伤过程中刺激内皮系统,血浆、肺组织中的ET-1水平呈上升趋势^[13]。本次研究显示,ARDS组血清ET-1水平高于非ARDS组,且ARDS组术后1d、4d及7d ET-1水平呈升高趋势,与国外研究结果相似^[14]。分析原因可能是:发生ARDS时,肺组织

损伤、肺血管代谢功能发生障碍,致使ET-1升高。

IGF-1可加强肺成纤维细胞迁移,机制可能是IGF-1刺激肺成纤维细胞中IRS-2/PI3K/Akt信号通道,能有效加快肺成纤维细胞生长、增殖。研究显示,油酸致小鼠急性肺损伤发病中,IGF-1呈升高表达;百草枯中毒急性肺损伤大鼠染毒后,IGF-1亦呈升高表达^[15]。本次研究显示,ARDS组血清IGF-1水平高于非ARDS组,且ARDS组术后1d、4d及7d,IGF-1水平呈升高趋势,表明IGF-1可能在ARDS发病过程中发挥一定作用。本次研究进一步发现,随着食管癌术后ARDS病情严重程度的增加,IGF-1、MCP-1、ET-1水平呈升高趋势,且与APACHE II评分呈正相关,表明IGF-1、MCP-1、ET-1水平与ARDS病情发展相关联。另外,本研究通过绘制ROC曲线分析IGF-1、MCP-1、ET-1联合检测对食管癌术后ARDS的预测价值,结果可见IGF-1、MCP-1、ET-1联合检测对食管癌术后ARDS的灵敏度、特异度、AUC(95%CI)分别为93.27%、90.05%、0.811(0.774~0.932),均高于上述指标单一检测,提示联合检测能够更准确地预测食管癌术后ARDS的风险,可能是三者联合可达到相互调节,相互补偿的作用。

综上所述,血清IGF-1、MCP-1、ET-1在食管癌术后ARDS中的表达升高,且与ARDS病情发展具有相关性,有望成为评判食管癌术后ARDS发生及病情程度的标志物,且三者联合检测对食管癌术后ARDS的预测价值更高。

参考文献

[1] 李丽丽,刘婷隽. CXCL8/CXCR1驱动FOXS1蛋白促进食管癌ECA109细胞增殖、侵袭及迁移[J]. 现代免疫学, 2023, 43(2): 137-143.

[2] 沈桢巍,石怡,吴珊珊,等. 黄芪丹参提取物改善急性呼吸窘迫综合征大鼠肺损伤的作用和机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(2): 240-246.

[3] 赵楠,薛晖,苏晗,等. 胰岛素样生长因子结合蛋白-7在急性心力衰竭所致呼吸困难诊断中的应用[J]. 中国医科大学学报, 2023, 52(2): 110-114.

[4] 高金梅,黄映波,冯珍珍. 单核细胞趋化蛋白-1对67例全身炎症反应综合征患者的诊断价值[J]. 山东大学学报(医学版), 2021, 59(10): 75-79.

[5] 左扬松,周素芹,李亚伟. 急性呼吸窘迫综合征患者TXB2、S100 A12及Cc16蛋白的表达及临床意义[J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(12): 68-71.

HIF-1 α 、VEGF与暴发性心肌炎患者心肌损伤的关系

霍丽娜^{1*} 刘静¹ 刘雅莉²

[摘要] 目的 探究血清缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)与暴发性心肌炎患者心肌损伤程度之间的相关性。方法 选择2017年6月至2022年10月郑州大学第一附属医院收治的62例暴发性心肌炎患者及同期到医院体检的40名健康者分别作为研究组与对照组,两组均测定血清HIF-1 α 、VEGF水平。研究组依据患者预后情况分为死亡组与存活组,比较两组血清HIF-1 α 、VEGF水平、心肌损伤指标、心脏超声指标水平及住院时间差异,分析患者血清HIF-1 α 、VEGF水平与心肌损伤指标、心脏超声指标及住院时间的相关性,分析血清HIF-1 α 、VEGF水平与心肌损伤指标对患者预后的预测价值。结果 研究组血清HIF-1 α 、VEGF水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);死亡组患者血清HIF-1 α 、VEGF及心肌损伤脑钠肽(BNP)、磷酸肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)指标水平均高于存活组,左室射血分数(LVEF)、左室舒张末期内径(LVEDD)均低于存活组,住院时间长于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);Pearson相关性分析显示,血清HIF-1 α 、VEGF水平与BNP、CK-MB、cTnI呈正相关关系($P<0.05$),但与LVEF、LVEDD、住院时间之间均不存在相关关系($P>0.05$);受试者工作特征曲线显示,血清HIF-1 α 、VEGF、BNP、CK-MB、cTnI预测患者预后的曲线下面积分别为0.708、0.766、0.847、0.852、0.864。结论 血清HIF-1 α 、VEGF与暴发性心肌炎患者心肌损伤关系密切,可用于评估患者预后,有较高的临床应用价值。

[关键词] 缺氧诱导因子-1 α ; 血管内皮生长因子; 暴发性心肌炎; 心肌损伤

Relationship between serum HIF - 1 α , VEGF and myocardial injury in patients with explosive myocarditis

HUO Lina^{1*}, LIU Jing¹, LIU Yali²

(1. Department of Cardiovascular Medicine, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Digestive Endoscopy Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between serum hypoxia-inducible factor - 1 α (HIF-1 α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and myocardial injury in patients with fulminant myocarditis. **Methods** A total of 62 patients with fulminant myocarditis were admitted to the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University and 40 healthy individuals were enrolled as the study group and the control group between June 2017 and October 2022. The levels of serum HIF-1 α and VEGF were detected. Based on prognosis, patients in the study group were divided into a death group and a survival group. The levels of serum HIF-1 α and VEGF, myocardial injury markers, cardiac ultrasound parameters, and length of hospital stay in the two groups were compared. The correlation between serum HIF-1 α , VEGF and myocardial injury markers, cardiac ultrasound parameters, and length of hospital stay, as well as the prognostic value of serum HIF-1 α , VEGF and myocardial injury markers were analyzed. **Results** The levels of serum HIF-1 α and

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20220189)

作者单位:1. 郑州大学第一附属医院心血管内科,河南,郑州 450000

2. 郑州大学第一附属医院消化内镜中心,河南,郑州 450000

*通信作者:霍丽娜, E-mail:15838361219@163.com

VEGF in the study group were higher than those in the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The levels of serum HIF-1 α , VEGF, brain natriuretic peptide (BNP), creatine kinase isoenzyme (CK-MB) and cardiac troponin I (cTnI) in the death group were higher than those in the survival group. Left ventricular ejection fractions (LVEF) and left ventricular end diastolic diameter (LVEDD) were lower than those in the survival group. The length of hospital stay was longer than that in the survival group. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum HIF-1 α and VEGF were positively correlated with BNP, CK-MB and cTnI ($P < 0.05$). There was no correlation between serum HIF-1 α , VEGF levels and LVEF, LVEDD, or length of hospital stay ($P > 0.05$). The receiver operating characteristic curves showed that the area under the curve values of serum HIF-1 α , VEGF, BNP, CK-MB and cTnI for predicting prognosis were 0.708, 0.766, 0.847, 0.852 and 0.864, respectively. **Conclusions** Serum levels of HIF-1 α and VEGF are closely associated with myocardial injury in patients with fulminant myocarditis, and can be used to assess prognosis.

[KEY WORDS] Hypoxia-inducible factor-1 α ; Vascular endothelial growth factor; Fulminant myocarditis; Myocardial injury

暴发性心肌炎主要由病毒感染所致,其会导致患者出现心肌弥漫性或者局限性炎症,进而出现继发免疫反应,间接或直接诱导心肌损伤,患者若是未及时治疗,死亡率会达至75%,严重影响患者生命安全^[1-2]。因此,探寻有效的心肌损伤早期诊断方法显得尤为重要。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)为机体缺氧状态下的调控因子,可参与介导机体缺氧应答反应过程,近年来其对促血管新生因子的调控作用也引起广大学者重视。HIF-1 α 可通过调控下游细胞产生多种促血管新生因子,促进微血管形成,减少心肌缺血再灌注损伤,达到减轻心肌炎症反应、改善心脏功能的目的^[3]。王朋朋等^[4]的研究发现,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可减轻缺血诱导的心肌炎症反应,改善心肌功能,其血清表达或许可作为心肌损害的有效标志物。本研究将探究HIF-1 α 、VEGF与暴发性心肌炎患者心肌损伤程度之间的关系,以期为后期患者病情评估及预后改善提供参考依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选择2017年6月至2022年10月郑州大学第一附属医院收治的62例暴发性心肌炎患者及同期到医院体检的40名健康体检者者分别作为研究组与对照组。

1.2 纳入标准与排除标准

纳入标准:①研究组患者参考暴发性心肌炎的有关诊断^[5]确诊,对照组身体情况正常,无任何

器质性疾病;②研究组患者入院前7d内存在咽痛及发热等表现,并出现气急与胸闷症状,随后3d症状加重,出现急性肺水肿、心脏骤停、心源性休克等相关表现;③研究参与者完成研究中相关检查;④研究参与者或者其家属对研究知情同意,研究符合《赫尔辛基宣言》中伦理学要求。排除标准:①慢性心肌炎患者;②伴先天性心脏病、心肌梗死、非缺血性心肌病等心脏疾病患者;③伴肝肾功能不全或者代谢性疾病者;④入组前已经接受对症治疗者。

1.3 方法

1.3.1 资料收集

收集入组对象的临床资料,包括人口学数据(性别、年龄、体重指数)、入院时生命体征(收缩压、舒张压、心率、呼吸)、超声心动图辅助检查结果[左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)、左房内径(left atrial diameter, LAD)、左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)]及研究组住院时间等资料。

1.3.2 血清指标测定

研究组在入院次日、对照组在体检当日收集空腹静脉血3 mL, 3 000 r/min离心15 min(离心半径5 cm),采用酶联免疫吸附法测定血清HIF-1 α 、VEGF水平,人HIF-1 α 、VEG酶联免疫试剂盒均购自上海锐谷生物科技有限公司。研究组同时测定心肌损伤指标脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)、磷酸肌酸激酶同工酶(Phosphocreatine ki-

nase isoenzyme, CK-MB)及心肌肌钙蛋白I(I Cardiac troponin I, cTnI)水平,其中BNP采用全自动化学发光分析仪及其配套试剂盒(仪器型号:ADVIACENTAURXR,购自德国西门子公司)进行测定,CK-MB、cTnI使用免疫定量分析仪(明德QMT8000),以免疫层析法进行测定(试剂盒购自武汉明德生物科技股份有限公司)。具体检测方法、步骤参照说明书进行操作。

1.3.3 研究组患者预后评估

依据患者出院时是否发生院内死亡将患者分为死亡组与存活组。

1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0统计分析软件,符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验。采用Pearson分析法分析血清HIF-1 α 、VEGF水平与心肌损伤指标(BNP、CK-MB、cTnI)、心脏超声指标(LVEF、LAD、LVEDD、LVESD)及住院时间的相关性。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线分析血清HIF-1 α 、VEGF、BNP、CK-MB、cTnI对暴发性心肌炎患者患者预后的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组与对照组基线资料比较

与对照组相比,研究组入院时收缩压、舒张压更低,心率更高,差异有统计学意义($P < 0.05$);但两组性别、年龄、体重指数、呼吸等比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 研究组与对照组基线资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of baseline data between the study group and the control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	体重指数(kg/m ²)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	心率(次/min)	呼吸(次/min)
研究组	62	38/24	41.86 \pm 10.53	22.13 \pm 1.05	112.61 \pm 17.39	69.65 \pm 12.31	89.50 \pm 7.68	20.10 \pm 2.14
对照组	40	22/18	42.84 \pm 11.54	22.54 \pm 1.21	125.46 \pm 14.36	81.36 \pm 11.05	85.00 \pm 8.65	20.05 \pm 2.20
t 值		0.397	0.442	1.813	3.893	4.879	2.749	0.114
P 值		0.529	0.660	0.073	<0.001	<0.001	0.007	0.910

表3 不同预后患者血清HIF-1 α 、VEGF水平与心肌损伤指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the levels of serum HIF-1 α , VEGF and myocardial injury markers between patients with different prognoses ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HIF-1 α (ng/mL)	VEGF(pg/mL)	BNP(pg/mL)	CK-MB(U/L)	cTnI(U/L)
死亡组	11	73.64 \pm 11.51	171.29 \pm 38.51	743.86 \pm 252.64	56.23 \pm 12.52	0.63 \pm 0.19
存活组	51	63.78 \pm 12.56	150.08 \pm 27.52	576.77 \pm 184.51	44.67 \pm 12.36	0.51 \pm 0.16
t 值		2.394	2.153	2.545	2.645	2.728
P 值		0.020	0.035	0.014	0.010	0.008

2.2 研究组与对照组血清HIF-1 α 、VEGF水平比较

研究组血清HIF-1 α 、VEGF水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 研究组与对照组血清HIF-1 α 、VEGF水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the levels of serum HIF-1 α and VEGF between the study group and the control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HIF-1 α (ng/mL)	VEGF(pg/mL)
研究组	62	65.53 \pm 12.86	153.84 \pm 30.51
对照组	40	38.44 \pm 10.26	72.63 \pm 18.84
t 值		11.212	15.068
P 值		<0.001	0.001

2.3 不同预后患者血清HIF-1 α 、VEGF水平与心肌损伤指标水平比较

研究组患者死亡率为17.74%,即死亡组与存活组患者分别为11例与51例。死亡组患者血清HIF-1 α 、VEGF及心肌损伤BNP、CK-MB、cTnI指标水平均高于存活组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 不同预后患者心脏超声指标及住院时间比较

与存活组相比,死亡组患者LVEF、LVEDD更低,住院时间明显延长,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 血清HIF-1 α 、VEGF水平与心肌损伤指标、心脏超声指标及住院时间的相关性分析

Pearson相关性分析显示,血清HIF-1 α 水平与BNP、CK-MB、cTnI呈正相关关系($r=0.313, 0.408, 0.379; P < 0.05$),血清VEGF水平与BNP、CK-MB、cTnI呈正相关关系($r=0.357, 0.326, 0.475; P < 0.05$);血清HIF-1 α 、VEGF水平与LVEF、LVEDD、住院时间之间均不存在相关关系($P > 0.05$)。

表4 不同预后患者心脏超声指标及住院时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of cardiac ultrasound parameters and length of hospital stay between patients with different prognoses ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LVEF(%)	LAD(mm)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	住院时间(d)
死亡组	11	41.28±12.35	33.56±4.75	46.31±3.20	39.21±6.13	12.50±3.55
存活组	51	55.75±7.68	36.03±4.16	49.50±4.00	40.14±5.37	10.25±3.08
t值		5.040	1.742	2.474	0.508	2.140
P值		<0.001	0.087	0.016	0.613	0.037

2.6 血清 HIF-1 α 、VEGF 水平与心肌损伤指标水平对患者预后预测价值分析

ROC 曲线显示,血清 HIF-1 α 、VEGF、BNP、CK-MB、cTnI 预测患者预后的曲线下面积(Area under curve, AUC)分别为 0.708、0.766、0.847、0.852、0.864, HIF-1 α 、VEGF 预测价值与心肌损伤指标预测价值相当($Z_{\text{HIF-1}\alpha\text{vs BNP}}=1.505$, $Z_{\text{HIF-1}\alpha\text{vs CK-MB}}=1.598$, $Z_{\text{HIF-1}\alpha\text{vs cTnI}}=1.853$, $P>0.0$; $Z_{\text{HIF-1}\alpha\text{vs BNP}}=0.883$, $Z_{\text{HIF-1}\alpha\text{vs CK-MB}}=0.985$, $Z_{\text{HIF-1}\alpha\text{vs cTnI}}=0.575$, $P>0.05$)。见表5、图1。

表5 血清 HIF-1 α 、VEGF 水平与心肌损伤指标水平对患者预后预测价值分析

Table 5 Value of the levels of serum HIF-1 α , VEGF and myocardial injury markers in predicting the prognosis

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
HIF-1 α	65.58 ng/mL	0.708	0.555~0.86	100.00	41.18	0.032
VEGF	166.91 pg/mL	0.766	0.622~0.911	72.73	74.51	0.006
BNP	676.95 pg/mL	0.847	0.729~0.964	72.73	88.24	<0.001
CK-MB	53.84 U/L	0.852	0.734~0.97	72.73	86.27	<0.001
cTnI	0.59 U/L	0.864	0.772~0.955	100.00	66.67	<0.001

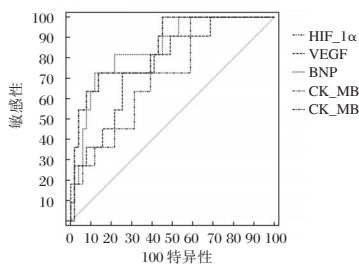


图1 ROC 曲线

Figure 1 The ROC curves

3 讨论

HIF-1 α 对低氧环境高度敏感,在心肌缺氧环境下,其可经由调节多种基因表达而促进新生血管形成,参与心血管疾病发生及进展^[6]。刘李平等^[7]发现,心力衰竭患者体内存在大量低氧动脉粥样硬化斑块,并经由促炎反应加重患者病情,而高水平 HIF-1 α 有助于减轻这些损伤。本研究显示,

相较于健康者,暴发性心肌炎患者血清 HIF-1 α 明显上升。分析原因在于,暴发性心肌炎患者炎症反应激烈,易发生心肌损伤,而机体为减轻心肌损伤,会释放大量 HIF-1 α ,以稳定心肌细胞能量,缓解心肌损伤^[8]。VEGF 为促进新生血管形成能力最强的细胞因子,与心血管疾病发生及进展密切相关^[9]。本研究发现,暴发性心肌炎患者血清 VEGF 水平较健康者更高,与刘功艳等^[10]的研究结果基本吻合,这可能与暴发性心肌炎患者心脏局部组织缺血缺氧促使 VEGF 水平升高有关。

暴发性心肌炎一般起病急骤,病情进展迅速,患者在病后短期内病死率往往很高^[11]。本研究显示,暴发性心肌炎患者死亡率为 17.74%,与赵晗等^[12]报道的 14.0% 相接近。暴发性心肌炎患者因其本身存在心肌细胞损伤坏死,同时部分心肌细胞高水肿,心功能损伤严重,使得与心功能相关的心肌损伤指标 BNP、CK-MB、cTnI 上升,超声心功能指标降低。本研究显示,与存活组相比,死亡组的 HIF-1 α 、VEGF 及 BNP、CK-MB、cTnI 指标水平更高,LVEF、LVEDD 更低,考虑其原因可能与死亡组患者往往存在较为严重的心肌细胞损伤以及炎症应激状态,导致体内大量炎性因子合成、分泌,而这些炎性因子又会反过来加重机体炎症反应和心肌损伤,使 BNP、CK-MB、cTnI 升高,LVEF、LVEDD 水平降低,延长患者住院时间,最终导致不良预后。动物实验证实,酸枣叶总黄酮可以明显减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤,而这一作用可能与其可以调节大鼠体内 HIF-1 α 水平有关,可见心肌损伤与 HIF-1 α 水平关系密切^[13]。有关基础研究也显示,糖尿病心肌梗死大鼠应用黄连素处理有助于减轻大鼠心肌损伤,促进新生血管形成,这一作用与黄连素调节 VEGF 水平关系密切,可见心肌损伤会导致 VEGF 表达异常^[14]。本研究发现,血清 HIF-1 α 、VEGF 与患者心肌损伤关系密切,推测 HIF-1 α 、VEGF 可能介导暴发性心肌炎心肌损伤,与上述研究结论相吻合。ROC 曲线分析

结果显示,HIF-1 α 、VEGF、BNP、CK-MB、cTnI 预测患者预后的 AUC 值均高于 0.7,且此五项指标对患者不良预后的预测价值比较未见统计学差异,说明 HIF-1 α 、VEGF 与心肌损伤指标对患者不良预后的预测价值相当。

综上,HIF-1 α 及 VEGF 水平异常上升与暴发性心肌炎、心肌损伤及不良预后关系密切,两指标用于预测患者预后价值与心肌损伤指标预测价值相当,有望成为评估暴发性心肌炎患者病情、心肌损伤及预后的新指标。

参考文献

- [1] Kociol RD, Cooper LT, Fang JC, et al. Recognition and Initial Management of Fulminant Myocarditis: A Scientific Statement From the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2020, 141(6):69-92.
- [2] Sharma AN, Stultz JR, Bellamkonda N, et al. Fulminant Myocarditis: Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Management. *Am J Cardiol*, 2019, 124(12):1954-1960.
- [3] 孙瑞雪,姜泓,张宁梅,等.血清 Copeptin、HIF-1 α 、CT-1 水平与新生儿败血症 心肌损伤的相关性分析[J]. *中南医学科学杂志*, 2019, 47(5):462-464.
- [4] 王朋朋,李志娟,邢适颖,等. VEGF 对小鼠急性心肌梗死后心肌细胞缺血损伤的保护作用[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(9):1071-1074.
- [5] Ginsberg F, Parrillo JE. Fulminant myocarditis [J]. *Crit Care Clin*, 2013, 29(3):465-483.
- [6] 宋慧芳,谈佳音,刘阳,等.低氧预处理通过激活低氧诱导因子 1 α 增强老年人骨髓间充质干细胞促血管新生能力 [J]. *解剖学报*, 2022, 53(1):35-41.
- [7] 刘李平,赵月妍.老年急性心肌梗死后心力衰竭患者 sFRP5、HIF-1 α 水平表达及与心功能和预后的关系 [J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(16):3894-3897.
- [8] Lai XX, Zhang N, Chen LY, et al. Latifolin protects against myocardial infarction by alleviating myocardial inflammatory via the HIF-1 α /NF- κ B/IL-6 pathway [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1):1156-1166.
- [9] 王贺,高原,王艳春.益气通脉解毒方对心肌梗死的疗效及 VEGF、ET 的变化研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(8):133-135.
- [10] 刘功艳,王琳,来利红.观察不稳定型心绞痛患者外周血管内皮生长因子水平及相关因素分析 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2019, 21(9):939-941.
- [11] 蒋建刚,刘超,崔广林,等.暴发性心肌炎患者的长期预后及心功能受损的危险因素分析 [J]. *中华心血管病杂志*, 2022, 50(3):263-269.
- [12] 赵晗,刘文娟,任燕龙,等.成人暴发性心肌炎患者住院期间死亡的影响因素分析 [J]. *中国医药*, 2020, 15(1):13-17.
- [13] 赵焕新,杨蓉,翟晓艳,等.酸枣叶总黄酮通过调控 HIF-1 α 表达减轻大鼠心肌缺血/再灌注损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(8):1384-1389.
- [14] 韩俊,彭定凤,胡勇钧,等.黄连素调节 miRNA126 及 miRNA92a 减轻糖尿病心肌梗死大鼠心肌损伤 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2022, 42(4):449-454.
- [6] Xu QL, Li H, Zhu YJ, et al. The treatments and postoperative complications of esophageal cancer: a review [J]. *J Cardiothorac Surg*, 2020, 15(1):163.
- [7] Banavasi H, Nguyen P, Osman H, et al. Management of ARDS - What Works and What Does Not [J]. *Am J Med Sci*, 2021, 362(1):13-23.
- [8] Mederos MA, Reber HA, Girgis MD. Acute Pancreatitis: A Review [J]. *JAMA*, 2021, 325(4):382-390.
- [9] 彭晓婷,李秋平.血管内皮生长因子在急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征中的研究进展 [J]. *中国小儿急救医学*, 2021, 28(5):424-428.
- [10] 蒋萍萍,叶宁,徐宝灵. miR-150 在急性呼吸窘迫综合征患者血清中的表达及临床意义 [J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(3):202-205.
- [11] Tomazini BM, Maia IS, Cavalcanti AB, et al. Effect of Dexamethasone on Days Alive and Ventilator-Free in Patients With Moderate or Severe Acute Respiratory Distress Syndrome and COVID-19: The CoDEX Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA*, 2020, 324(13):1307-1316.
- [12] 缙剑,闫海燕,嘉婷.激活素 A、转化生长因子 β 1 表达与急性呼吸窘迫综合征短期预后的相关性 [J]. *安徽医药*, 2022, 26(8):1580-1583.
- [13] Dargaville PA, Kamlin COF, Orsini F, et al. Effect of Minimally Invasive Surfactant Therapy vs Sham Treatment on Death or Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants With Respiratory Distress Syndrome: The OPTIMIST-A Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA*, 2021, 326(24):2478-2487.
- [14] Dahmer MK, Yang G, Zhang M, et al. Identification of phenotypes in paediatric patients with acute respiratory distress syndrome: a latent class analysis [J]. *Lancet Respir Med*, 2022, 10(3):289-297.
- [15] 陈永良,薛晶,卢黎明,等.体外循环下瓣膜置换术后急性呼吸窘迫综合征患者血清 IGF-1 IL-6 IL-10 的表达及临床意义 [J]. *河北医学*, 2022, 28(12):2026-2030.

(上接第 533 页)

糖尿病视网膜病变患者 SDF-1、HO-1 及 MDA 水平变化及与 IL-6、TNF- α 、CRP 的相关性

赵玉杰 王敏 刘钰凤 刘学晶 钟胜楠 李莹*

[摘要] 目的 分析糖尿病视网膜病变(DR)患者基质细胞衍生因子(SDF-1)、血红素加氧酶-1(HO-1)及丙二醛(MDA)水平变化及与白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、C反应蛋白(CRP)的相关性。方法 选取2020年5月至2023年1月解放军总医院收治的131例DR患者为DR组,另选取同期在本院住院的2型糖尿病患者100例为非DR组。比较两组SDF-1、HO-1、MDA水平;比较两组IL-6、TNF- α 、CRP水平;比较不同分期DR患者SDF-1、HO-1、MDA水平;采用Logistic回归分析影响DR发生的相关因素,分析DR组患者SDF-1、HO-1、MDA水平与IL-6、TNF- α 、CRP的相关性。结果 DR组SDF-1、HO-1水平比非DR组低,MDA水平比非DR组高,差异有统计学意义($P<0.05$);DR组IL-6、TNF- α 、CRP水平均比非DR组高,差异有统计学意义($P<0.05$);SDF-1、HO-1水平: I~II期>III~IV期>V~VI期,MDA水平: I~II期<III~IV期<V~VI期,差异有统计学意义($P<0.05$);经Logistic多因素分析显示,性别为女、BMI ≥ 24 km/m²、合并患有高血压、高血脂、IL-6>1.17 mg/mL、TNF- α >30 ng/L、CRP>10 ng/mL、SDF-1>2 ng/mL、HO-1<125 ng/mL、MDA>4.06 μ mol/mL均是影响DR发生的独立危险因素($P<0.05$);血清炎症因子IL-6、TNF- α 、CRP与SDF-1、HO-1呈负相关,与MDA呈正相关,且均为中度相关($P<0.05$)。结论 SDF-1、HO-1、MDA、IL-6、CRP、TNF- α 水平与DR的发生、发展有一定关系,通过检测上述指标水平可为进一步探讨DR的发病机制和治疗方法提供新的思路。

[关键词] 糖尿病视网膜病变; SDF-1; HO-1; MDA; IL-6; CRP; TNF- α

Changes of SDF-1, HO-1 and MDA levels in patients with diabetic retinopathy and their correlation with IL-6, TNF- α and CRP

ZHAO Yujie, WANG Min, LIU Yufeng, LIU Xuejing, ZHONG Shengnan, LI Ying*

(Department of Ophthalmology, the First Medical Center of the General Hospital of the People's Liberation Army, Beijing, China, 100853)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of stromal cell derived factor (SDF-1), heme oxygenase-1 (HO-1) and malondialdehyde (MDA) levels in patients with diabetic retinopathy (DR) and their correlation with interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF- α) and C-reactive protein (CRP). **Methods** A total of 131 patients with DR were admitted to our hospital from May 2020 to January 2023 and were selected as the DR Group. Another 100 patients with type 2 diabetes admitted to our hospital during the same period were selected as the non-DR group. The levels of SDF-1, HO-1 and MDA were compared between the two groups, as well as the levels of IL-6, TNF- α and CRP. Furthermore, the levels of SDF-1, HO-1 and MDA in patients with different stages of DR were compared. Logistic regression was used to analyze the related factors affecting the occurrence of DR, and the correlation of SDF-1, HO-1 and MDA levels with IL-6, TNF- α and CRP in the DR Group was analyzed. **Results** The levels of SDF-1 and HO-1 in the DR group were lower than those in the non-DR group, and MDA levels in the DR group were higher than those in the non-DR group ($P<0.05$). The levels of IL-6, TNF- α and CRP in the DR group were higher than those in the non-DR group

基金项目:北京市科技计划课题(Z221100007422121)

作者单位:解放军总医院第一医学中心眼科,北京 100853

*通信作者:李莹, E-mail:LiYing_0131@sina.com.cn

($P<0.05$). SDF-1 and HO-1 levels were observed to be highest in the I-II period, followed by the III-IV period, and lowest in the V-VI period. Conversely, MDA levels were highest in the V-VI period, followed by the III-IV period, and lowest in the I-II period. These difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic multivariate analysis showed that female gender, BMI ≥ 24 km/m², combined hypertension, hyperlipidemia, IL-6 >1.17 mg/mL, TNF- α >30 ng/L, CRP >10 ng/mL, SDF-1 >2 ng/mL, HO-1 <125 ng/mL, and MDA >4.06 μ mol/mL were all independent risk factors affecting the occurrence of DR ($P<0.05$). Furthermore, serum inflammatory factors IL-6, TNF- α and CRP showed a negative correlation with SDF-1 and HO-1, but a positive correlation with MDA ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of SDF-1, HO-1, MDA, IL-6, CRP, and TNF- α have a certain relationship with the occurrence and development of DR. The detection of these indicators can provide a new way to further explore the pathogenesis and treatment of DR.

[KEY WORDS] Diabetic retinopathy; SDF-1; HO-1; MDA; IL-6; CRP; TNF- α

糖尿病视网膜病变(Diabetic retinopathy, DR)是由于机体糖质代谢长期出现紊乱导致眼部神经、微血管病变,从而损伤眼部供血系统,对视力造成伤害^[1]。DR不仅是2型糖尿病患者常发生的并发症,同时也是造成2型糖尿病患者出现失明的主要原因。DR的发生、发展与内皮祖细胞的数量关系密切,而基质细胞衍生因子(Stromal cell derived factor-1, SDF-1)在内皮祖细胞的迁移、动员、归巢等过程中发挥重要作用^[2]。近年来,随着对DR的不断深入研究,研究人员发现氧化损伤在微血管病变进展中承担重要角色^[3]。血红素加氧酶-1(Heme oxygenase-1, HO-1)具有抗氧化、抗血管损伤、抗炎反应等功效;丙二醛(Malondialdehyde, MDA)水平可反映组织细胞受到自由基攻击的损伤严重程度^[4]。有报道指出,当机体出现炎症反应时,会诱导其出现异常的氧化反应,导致氧化因子浓度异常^[5]。本文旨在分析DR患者SDF-1、HO-1及MDA水平变化及与炎症因子白介素-6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月至2023年1月解放军总医院收治的131例DR患者为DR组,其中男75例,女56例;平均年龄(57.19 ± 8.62)岁;糖尿病平均病程(14.82 ± 5.27)年;平均BMI(24.65 ± 1.32)km/m²;合并疾病:高血压43例,高血脂28例;临床分期^[6]: I期18例, II期31例, III期25例, IV期27例, V期18例, VI 12例。另选取同期在本院住院的2型糖尿病患者100例为非DR组,其中男56例,女44例;平均年龄(56.83 ± 8.93)岁;糖尿病平均病程

(15.15 ± 5.33)年;平均BMI(23.17 ± 1.17)km/m²;合并疾病:高血压32例,高血脂24例。两组性别、年龄、糖尿病病程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同意。患者及家属均签署知情同意书。

纳入标准:①两组均符合2型糖尿病的相关标准^[7];②DR组符合DR的相关诊断标准^[6];③临床资料完整者。排除标准:①在住院前2周并未发生过眼部感染;②有眼部疾病史或眼部手术史;③其他类型糖尿病患者;④恶性肿瘤患者;⑤合并患有糖尿病性皮肤病;⑥患有黄斑水肿者。

1.2 方法

1.2.1 SDF-1检测

抽取两组患者空腹静脉血3 mL,采用肝素进行抗凝,将其置入4℃冰箱内进行保存,并在4 h内应用FACSCalibur型流式细胞仪检测SDF-1。

1.2.2 HO-1、MDA、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factors, TNF- α)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)检测

抽取两组患者清晨空腹静脉血8 mL,静置20 min,置入离心机中,设置离心半径为12.5 cm、离心速度为3 000 r/min、离心时间为10 min进行离心,留取血清待检测。采用酶联免疫法检测IL-6(试剂由湖南德容生物医学工程有限公司提供)、TNF- α [试剂由同昕生物技术(北京)有限公司提供]、HO-1(试剂由上海一研生物科技有限公司提供);采用免疫透射比浊法测定CRP(试剂由湖南永和阳光科技股份有限公司提供);采用比色法检测MDA(试剂由南京建成生物工程研究所提供)。

1.3 观察指标

比较两组SDF-1、HO-1、MDA水平;比较两组

IL-6、TNF- α 、CRP水平;比较不同分期DR患者SDF-1、HO-1、MDA水平;分析影响DR发生的单因素,采用Logistic回归分析影响DR发生的多因素;分析DR组患者SDF-1、HO-1、MDA水平与IL-6、TNF- α 、CRP的相关性。

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,组间比较采用*t*检验,多组间比较采用*F*检验;采用Logistic多因素分析影响DR的相关因素;采用Pearson相关性分析DR组患者SDF-1、HO-1、MDA水平与IL-6、TNF- α 、CRP的关系,以*P*<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组SDF-1、HO-1、MDA水平比较

DR组SDF-1、HO-1水平比非DR组低,MDA水平比非DR组高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

表1 两组SDF-1、HO-1、MDA水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of SDF-1, HO-1 and MDA levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SDF-1 (ng/mL)	HO-1 (ng/mL)	MDA (μ mol/mL)
非DR组	100	5.79 \pm 0.87	91.45 \pm 9.39	15.25 \pm 1.88
DR组	131	5.26 \pm 0.56	70.67 \pm 8.23	22.16 \pm 2.13
<i>t</i> 值		5.615	17.883	25.687
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组的IL-6、TNF- α 、CRP水平比较

DR组IL-6、TNF- α 、CRP水平均比非DR组高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

2.3 不同分期DR患者的SDF-1、HO-1、MDA水平比较

SDF-1、HO-1水平: I~II期>III~IV期>V~VI

表2 两组的IL-6、TNF- α 、CRP水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The levels of IL-6, TNF- α and CRP were compared between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-6 (mg/mL)	TNF- α (ng/L)	CRP (ng/L)
非DR组	100	4.32 \pm 0.73	82.46 \pm 8.26	36.25 \pm 4.19
DR组	131	6.07 \pm 0.81	128.74 \pm 11.17	56.74 \pm 6.07
<i>t</i> 值		16.973	34.795	28.900
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

期,MDA水平: I~II期<III~IV期<V~VI期,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表3。

表3 不同分期DR患者的SDF-1、HO-1、MDA水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of SDF-1, HO-1 and MDA levels in DR patients of different stages ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	SDF-1 (ng/mL)	HO-1 (ng/mL)	MDA (μ mol/mL)
I~II期	49	5.63 \pm 0.84	80.69 \pm 8.83	17.41 \pm 3.88
III~IV期	52	5.17 \pm 0.53 ^a	69.33 \pm 7.74 ^a	23.64 \pm 2.07 ^a
V~VI期	30	4.81 \pm 0.62 ^{ab}	56.63 \pm 6.42 ^{ab}	27.35 \pm 1.56 ^{ab}
<i>F</i> 值		14.24	17.883	25.687
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与I~II期相比较,^a*P*<0.05。与III~IV期相比较,^b*P*<0.05。

2.4 影响DR发生的相关因素分析

经Logistic多因素分析显示,性别为女、BMI \geq 24 km/m²、合并患有高血压、高血脂、IL-6>1.17 mg/mL、TNF- α >30 ng/L、CRP>10 ng/mL、SDF-1>2 ng/mL、HO-1<125 ng/mL、MDA>4.06 μ mol/mL水平均是影响DR发生的独立危险因素(*P*<0.05)。见表4。

2.5 SDF-1、HO-1、MDA水平与IL-6、TNF- α 、CRP的相关性分析

血清炎性因子IL-6、TNF- α 、CRP与SDF-1、HO-1呈负相关,与MDA呈正相关,且均为中度相关(*P*<0.05)。见表5。

表4 影响DR发生的相关因素分析

Table 4 Analysis of related factors affecting the occurrence of DR

因素	单因素分析			多因素分析			
	OR值	95% CI	<i>P</i> 值	赋值	OR值	95% CI	<i>P</i> 值
2型糖尿病病程	1.156	0.572~2.022	0.137				
性别	2.624	1.333~7.523	0.015	0=男性;1=女性	2.016	1.152~3.487	0.049
BMI	1.685	0.794~3.577	0.029	0=18.5~23.9 km/m ² ;1= \geq 24 km/m ²	1.697	1.005~2.864	0.007
高血压	6.252	1.820~2.473	0.004	0=无;1=有	1.104	1.036~1.177	0.002
高血脂	3.539	1.656~7.560	0.001	0=无;1=有	0.002	7.761~36.103	<0.001
IL-6	1.596	1.223~2.084	0.015	0= \leq 1.17 mg/mL;1=>1.17 mg/mL	1.736	1.026~2.437	0.001
TNF- α	1.459	0.595~3.588	0.036	0= \leq 30 ng/L;1=>30 ng/L	1.370	0.617~3.042	0.017
CRP	4.414	1.192~14.376	0.009	0= \leq 10 ng/mL;1=>10 ng/mL	1.699	1.258~2.516	0.001
SDF-1	1.443	1.185~1.832	<0.001	0= \leq 2 ng/mL;1=>2 ng/mL	1.585	1.221~2.057	0.001
HO-1	1.474	1.185~1.832	<0.001	0= \leq 125~165 ng/mL;1=<125 ng/mL或>165 ng/mL	1.540	1.236~1.918	0.001
MDA	1.697	1.005~2.864	0.007	0= \leq 4.06 μ mol/mL;1=>4.06 μ mol/mL	12.815	9.608~17.165	0.012

表5 SDF-1、HO-1、MDA水平与IL-6、TNF- α 、CRP的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of SDF-1, HO-1 and MDA levels with IL-6, TNF- α and CRP

组别	IL-6		TNF- α		CRP	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
SDF-1	-0.632	<0.001	-0.626	<0.001	-0.578	<0.001
HO-1	-0.538	<0.001	-0.779	<0.001	-0.617	<0.001
MDA	0.581	<0.001	0.634	<0.001	0.548	<0.001

3 讨论

2型糖尿病患者的血糖水平长期处于较高状态时,这会使视网膜毛细血管内的内皮细胞出现异常增生现象,基底膜也随之增厚,继而形成眼部微循环障碍,最终出现DR^[8]。DR可大幅度降低患者视力,严重会导致失明,是临床较为严重的致盲疾病。随着生活水平的提高,糖尿病的发生也随之增多,DR导致失明的概率随之提高,因此,DR也成为了临床眼科研究中的重要课题之一。

TNF- α 是一种常见的促炎因子,可使Rho激酶发挥,损伤微血管,从而造成DR的发生、进展^[9]。IL-6是机体中的一种典型的炎症因子,当发生炎症反应时,IL-6水平异常升高^[10]。CRP是急性时相反应蛋白的一种,当人体发生炎症反应时,其水平迅速升高;有效控制炎症反应后,CRP的水平则会迅速降低,可见CRP对炎症反应的灵敏性较高。在本研究中,DR组的IL-6、TNF- α 、CRP水平均比非DR组高,说明在二型糖尿病患者中,可通过判断IL-6、TNF- α 、CRP水平间接评估患者是否具有眼部血管病变,此外也表明IL-6、TNF- α 、CRP水平的异常表达可促进DR的形成与进展。

万光明等^[11]研究指出,DR患者机体内的脂质过氧化损伤严重,从而出现氧化应激反应。MDA是常用的膜脂过氧化指标,可用于反映人体氧化水平以及脂类过氧化反应进行的程度,同时可间接反映血管内皮细胞受损程度^[12]。HO-1是一种抗氧化物质,在机体中发挥重要作用,可用于抑制过氧化反应。有报道称,HO-1具有抗氧化、抑制细胞凋亡以及抗炎等作用^[13]。当机体的氧化反应增强时,糖尿病患者的视网膜炎细胞会出现浸润现象,导致视细胞出现凋亡,从而加快DR的出现、发展。本研究中,DR组的HO-1水平比非DR组低,MDA水平比非DR组高,提示与单纯2型糖

尿病患者相比较,DR患者的过氧化程度更高。

SDF-1可与CXCR4相结合,激活信号通路。当患者眼部组织缺血时,SDF-1可调节局部炎症以及诱导血管新生。郭丹等^[14]也指出,SDF-1全程参与视网膜新生血管的形成,且SDF-1水平与增殖型视网膜病变的眼部病变程度呈正比。在本次研究中,DR组的SDF-1水平比非DR组低。此外,本研究还发现BMI、血压、血脂均是影响DR发生的独立危险因素。当患者血压升高时,会增加眼底小动脉的压力,使视网膜毛细血管壁出现损伤和变性,进而诱发DR;血脂异常则会导致患者血液粘稠度增高,易形成血栓,影响视网膜工学,从而导致出现DR;此外,BMI过高会影响视网膜代谢,从而影响视网膜病变^[15]。

综上所述,SDF-1、HO-1、MDA、IL-6、CRP、TNF- α 水平与DR的发生、发展有一定关系,通过检测上述指标水平可为进一步探讨DR的发病机制和治疗方法提供新的思路。

参考文献

- [1] 李利君,钱苗苗,毛美.基于KAP理论的精细化护理在糖尿病视网膜病变患者中的应用[J].保健医学研究与实践,2022,19(6):51-54.
- [2] 章惜,王炜,叶山东,等.血清基质细胞衍生因子-1水平与糖尿病周围神经病变的相关性[J].安徽医学,2021,42(4):370-373.
- [3] 殷亮,张明雪,李家男,等.诱导巨噬细胞向M2极化降低糖尿病视网膜病变模型小鼠的氧化损伤[J].中国组织工程研究,2022,26(17):2685-2689.
- [4] 祝星意,林芳卉,徐京楠,等.硒对铝诱导小鼠脾脏氧化应激和炎症反应的颌颌作用[J].中国畜牧兽医,2021,48(5):1868-1875.
- [5] 张皓春,陈忠,文泽贤,等.急性脑梗死患者外周血miR-497表达与炎症氧化应激的关系及对预后的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(2):305-308.
- [6] 李建军.糖尿病性视网膜病变及糖尿病性黄斑水肿新的国际临床分级标准[J].国外医学(眼科学分册),2004,28(1):71-72.
- [7] 中华医学会糖尿病分会.中国2型糖尿病防治指南(2013年版)[J].中华糖尿病杂志,2014,6(7):447-489.
- [8] 关清华,程岚,赵兴,等.2型糖尿病视网膜病变患者血清25-羟维生素D水平及其发生和严重程度的影响因素分析[J].临床误诊误治,2021,34(1):98-102.
- [9] 庞庆宝,高青,孙博语,等.益气养阴活血法治疗糖尿病视网膜病变的meta分析[J].国际中医中药杂志,2023,45(9):1176-1181.

PLA2R1 和 HLA 基因多态性与膜性肾病中医证型的相关性分析

郭红英¹ 纪伟超² 李曼曼³ 成雪红³ 任美芳^{4*}

[摘要] **目的** 探讨磷脂酶 A2 受体(PLA2R1)和人类白细胞抗原(HLA)基因多态性与膜性肾病(MN)中医证型的相关性。**方法** 选取2020年1月至2022年5月石家庄市第二医院收治的148例MN患者作为研究对象,根据不同虚证(肺脾气虚证、气阴两虚证、脾肾阳虚证、肝肾阴虚证)和不同实证(瘀血内阻证、风湿挟夹证、水湿内停证、湿热内蕴证)进行分组,统计所有患者中医证型分布以及 PLA2R1(rs35771982、rs3749117)和 HLA-DQA1(rs2187668)基因多态性,并分析 PLA2R1 和 HLA 基因多态性与中医证型的相关性。**结果** 气阴两虚证组和脾肾阳虚证组 PLA2R1 rs35771982 位点 G 等位基因、PLA2R1 rs3749117 位点 T 等位基因水平高于肺脾气虚证组和肝肾阴虚证组,差异有统计学意义($P<0.05$);瘀血内阻证组和水湿内停证组 PLA2R1 rs35771982 位点 G 等位基因、PLA2R1 rs3749117 位点 T 等位基因水平高于风湿挟夹证组和湿热内蕴证组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同虚证 MN 患者 HLA-DQA1 rs2187668 位点基因型分布比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);不同实证 MN 患者 HLA-DQA1 rs2187668 位点基因型分布比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** PLA2R1(rs35771982、rs3749117)基因多态性与 MN 患者中医证型相关,且虚证(气阴两虚证、脾肾阳虚证)、实证(瘀血内阻证和水湿内停证)患者多数存在 PLA2R1 位点基因变异,而 HLA-DQA1 rs2187668 基因多态性与 MN 患者中医证型无关。

[关键词] 膜性肾病;磷脂酶 A2 受体;人类白细胞抗原;中医证型

Correlation between polymorphisms of PLA2R1 and HLA genes and TCM syndromes of membranous nephropathy

GUO Hongying¹, JI Weichao², LI Manman³, CHENG Xuehong³, REN Meifang^{4*}

(1. Department of Nephrology of Shijiazhuang Second Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000; 2. Department of Nephrology, Yiling Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000; 3. Department of Nephrology, Gaocheng People's Hospital, Shijiazhuang City, Gaocheng, Hebei, China, 052160; 4. Nephropathy Department 1 of Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between polymorphisms of phospholipase A2 receptor (PLA2R1) and human leukocyte antigen (HLA) genes and Traditional Chinese Medicine (TCM) syndromes of membranous nephropathy (MN). **Methods** A total of 148 patients with MN were admitted to Shijiazhuang Second Hospital from January 2020 to May 2022 and were enrolled as the research subjects. The distribution of TCM syndromes and polymorphisms of PLA2R1 and HLA genes in all patients was statistically analyzed, and the correlation between polymorphisms of PLA2R1 (rs35771982, rs3749117) and HLA-DQA1 rs2187668 genes and TCM syndromes was also analyzed. **Results** The levels of the G allele at the PLA2R1 rs35771982 locus and the T allele at the PLA2R1 rs3749117 locus in the qi-yin deficiency group and the spleen-

基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(2020082)

作者单位:1. 石家庄市第二医院肾内科,河北,石家庄 050000

2. 河北以岭医院肾内科,河北,石家庄 050000

3. 石家庄市藁城人民医院肾内科,河北,藁城 052160

4. 河北省中医院肾病一科,河北,石家庄 050000

*通信作者:任美芳, E-mail:renmeifang1987@126.com

kidney yang deficiency group were higher than those in the lung-spleen qi deficiency group and the liver-kidney yin deficiency group. These levels were higher in the blood stasis stagnation group and the fluid-dampness internal stagnation group compared to the wind-dampness toxicity accumulation group and the dampness-heat interior retention group. These differences were statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the distribution of genotypes at the *HLA-DQA1* rs2187668 locus among MN patients with different deficiency syndromes ($P > 0.05$). However, there was also no significant difference among MN patients with different actual symptoms ($P > 0.05$). **Conclusion** The polymorphisms of the *PLA2R1* gene are correlated with TCM syndromes in patients with MN. Most patients with deficiency symptoms (qi-yin deficiency, spleen-kidney yang deficiency) and actual syndromes (blood stasis stagnation, fluid-dampness internal stagnation) have variations in the *PLA2R1* gene (rs35771982, rs3749117). However, the polymorphisms of the *HLA-DQA1* gene, specifically rs2187668 are not correlated with TCM syndromes in MN patients.

[KEY WORDS] Membranous nephropathy; Phospholipase A2 receptor; Human leukocyte antigen; TCM syndrome

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)是成人原发性肾小球疾病的常见病理类型,尽管MN的自发缓解率为31.7%,但约三分之一的患者会进展为终末期肾病^[1]。目前尚不清楚MN的病因和发病机制,多数专家认为其主要与免疫机制异常有关。随着高通量基因测序和基因分型技术的不断完善和发展,许多基因及其单核苷酸多态性位点已被证明与MN疾病易感性密切相关^[2]。磷脂酶A2受体1(phospholipase A2 receptor 1, *PLA2R1*)位于人类染色体2q23~q24区域,含有多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点,该基因的突变会影响氨基酸的产生。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)基因复合体位于人类染色体6p21.31,是人体内多态性最多的基因系统。*HLA-DQA1*属于主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II基因,主要负责提供源自细胞外蛋白的抗原供T细胞识别^[3]。已经有研究指出,*PLA2R1*和HLA在MN的诊断、病情严重性评估以及对治疗的反应判断方面发挥着重要的作用^[4]。MN属于中医“水肿”“尿浊”“膏淋”等范畴,其病机主要为脾肾亏虚,瘀水互结。临床试验证实,中医药在提高疾病完全缓解率,降低疾病复发率方面具有显著优势^[5]。本研究将通过分析*PLA2R1*和*HLA-DQA1*几个常见基因位点多态性,观察*PLA2R1*和*HLA*基因多态性与中医证型的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年5月石家庄市第二

医院收治的148例MN患者作为研究对象,年龄23~69岁,平均(44.26±5.65)岁;男87例,女61例;临床分期^[6]:I期47例,II期82例,III期19例。纳入标准:符合西医MN诊断标准^[6],并经过肾穿刺检查确诊;符合中医《特发性膜性肾病中医临床实践指南(2021)》^[7];患者知情且签署同意书;临床资料完整;年龄>18岁。排除标准:病毒性肝炎、狼疮、药物等引起的继发性肾脏疾病;未应用激素、免疫抑制剂治疗;合并恶性肿瘤;合并感染性疾病;严重心、肝、肺部疾病者;严重意识障碍者。本研究经过医院伦理委员会审批。

1.2 资料收集

采用本院病例信息系统收集所有患者的临床资料,包括年龄、性别、体质量指数(body mass index, BMI)、临床分期等。

1.3 方法

所有患者均于入组后1d收集空腹静脉血3 mL,置于事先准备好的乙二胺四乙酸抗凝管中,-80℃冰箱保存。使用DNAzol BD试剂(赛默飞世尔科技)提取基因组DNA。采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性分析法检测*PLA2R1*和*HLA*基因多态性。PCR循环条件:96℃预变性5 min;96℃变性20 s,52℃退火30 s,72℃延伸30 s,反应35个循环;再以72℃延伸10 min。用1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增引物,放置于4℃冰箱下保存待测。基因引物序列均由华大基因技术有限公司合成。引物序列见表1。

1.4 观察指标

①参考特发性膜性肾病中医临床实践指南(2021)^[8]将MN患者根据不同虚证(肺脾气虚证、

表1 PCR扩增引物序列
Table 1 PCR amplification primer sequence

基因	序列
PLA2R1 rs35771982	上游 5'-GCT TAC ATC CAA ATC CTC CT-3'
	下游 5'-ACA CCT CTT CTT CCA CCC TA-3'
PLA2R1 rs3749117	上游 5'-GCA TGG GAA ATG CTG CTG TGT A-3'
	下游 5'-GAG CAC ATG AGC AGT AAA ACA GTG G-3'
HLA-DQA1 rs2187668	上游 5'-CAA CAA TCA TTT TAA CCA CAT GGT CCT C-3'
	下游 5'-GTT GAA GAA CAG GTA ATT TGG GTT GAT A-3'

气阴两虚证、脾肾阳虚证、肝肾阴虚证)和不同实证(瘀血内阻证、风湿兼夹证、水湿内停证、湿热内蕴证)进行分组,统计分析MN中医证型分布及一般资料。②统计分析不同虚证MN患者PLA2R1(rs35771982、rs3749117)基因型分布。③统计分析不同实证MN患者PLA2R1(rs35771982、rs3749117)基因型分布。④统计分析不同虚证MN患者HLA-DQA1 rs2187668基因型分布。⑤统计分析不同实证MN患者HLA-DQA1 rs2187668基因型分布。

1.5 统计学处理

采用SPSS 20.0分析数据,计数资料以n(%)表示,采用 χ^2 检验,等级资料采用秩和检验;计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,多组样本比较采用单因素方差检验,组间两两比较采用LSD-t检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MN中医证型分布及一般资料比较

不同虚证和实证MN性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表2~3。

2.2 不同虚证MN患者PLA2R1基因型分布

气阴两虚证组和脾肾阳虚证组PLA2R1 rs35771982位点G等位基因、PLA2R1 rs3749117位点T等位基因水平高于肺脾气虚证组和肝肾阴虚证组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.3 不同实证MN患者PLA2R1基因型分布

瘀血内阻证组和水湿内停证组PLA2R1 rs35771982位点G等位基因、PLA2R1 rs3749117位点T等位基因水平高于风湿兼夹证组和湿热内蕴证组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表2 虚证MN一般资料比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Comparison of general data of MN in deficiency syndrome [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	临床分期		
		男	女			I期	II期	III期
肺脾气虚证组	21	15(71.43)	6(28.57)	45.11±5.21	23.77±2.03	6(28.57)	10(47.62)	5(26.32)
气阴两虚证组	44	26(59.09)	18(40.91)	44.27±6.09	24.41±2.11	14(31.82)	26(59.09)	4(9.09)
脾肾阳虚证组	67	37(55.22)	30(44.78)	43.81±5.53	24.05±2.17	21(31.34)	39(59.21)	7(10.45)
肝肾阴虚证组	16	9(56.25)	7(43.75)	44.96±5.22	23.18±1.94	6(37.50)	7(43.75)	3(18.75)
χ^2/F 值		1.780		0.385	1.449	4.246		
P值		0.619		0.764	0.231	0.643		

注:与气阴两虚证组比较,* $P < 0.05$;与脾肾阳虚证组比较,^b $P < 0.05$;与肝肾阴虚证组比较,^c $P < 0.05$ 。

表3 实证MN一般资料比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 3 Comparison of general data of empirical MN [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	临床分期		
		男	女			I期	II期	III期
瘀血内阻证组	75	43(57.33)	32(42.67)	44.13±5.77	23.72±2.20	23(30.67)	43(57.33)	9(12.00)
风湿兼夹证组	33	20(60.61)	13(39.39)	45.09±5.02	24.67±2.03	10(30.30)	18(54.55)	5(15.15)
水湿内停证组	26	15(57.69)	11(42.31)	44.05±5.78	23.88±1.85	10(38.46)	13(50.00)	3(11.54)
湿热内蕴证组	14	9(64.29)	5(35.71)	43.34±5.91	24.36±2.19	4(28.57)	8(57.14)	2(14.29)
χ^2/F 值		0.298		0.389	1.717	0.898		
P值		0.960		0.761	0.166	0.989		

注:与风湿兼夹证组比较,* $P < 0.05$;与水湿内停证组比较,^b $P < 0.05$;与湿热内蕴证组比较,^c $P < 0.05$ 。

表4 不同虚证MN患者PLA2R1基因型分布 [n(%)]

Table 4 Distribution of PLA2R1 genotype in MN patients with different deficiency syndrome [n(%)]

基因位点	基因型	肺脾气虚证组 (n=21)	气阴两虚证组 (n=44)	脾肾阳虚证组 (n=67)	肝肾阴虚证组 (n=16)	χ ² 值	P值
PLA2R1 rs35771982	GG	14(66.67) ^b	38(86.36) ^c	58(86.57) ^c	9(56.25)	11.047	0.011
	GC	6(28.57)	6(13.64) ^c	9(13.43) ^c	7(43.75)	9.822	0.020
	CC	1(4.76)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	6.089	0.107
	G	34(80.95) ^{ab}	82(93.18) ^c	125(93.28) ^c	25(78.13)	11.288	0.010
	C	8(19.05)	6(6.82)	9(6.72)	7(21.88)		
PLA2R1 rs3749117	TT	13(61.90) ^{ab}	37(84.09)	59(88.06) ^c	10(62.50)	10.689	0.014
	TC	7(33.33) ^b	7(15.91)	8(11.94) ^c	6(37.50)	8.833	0.032
	CC	1(4.76)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	6.089	0.107
	T	33(78.57) ^{ab}	81(92.05)	126(94.03) ^c	26(81.25)	11.501	0.009
	C	9(21.43)	7(7.95)	8(5.97)	6(18.75)		

注:与气阴两虚证组比较,^aP<0.05;与脾肾阳虚证组比较,^bP<0.05;与肝肾阴虚证组比较,^cP<0.05。

表5 不同实证MN患者PLA2R1基因型分布 [n(%)]

Table 5 Distribution of PLA2R1 genotypes in different positive MN patients [n(%)]

基因位点	基因型	瘀血内阻证组 (n=75)	风湿兼夹证组 (n=33)	水湿内停证组 (n=26)	湿热内蕴证组 (n=14)	χ ² 值	P值
PLA2R1 rs35771982	GG	68(90.67) ^{ac}	20(18.35) ^b	23(88.46) ^c	8(57.14)	19.103	0.000
	GC	7(9.33) ^{ac}	12(36.36) ^b	3(11.54)	6(42.86) ^c	17.192	0.001
	CC	0(0.00)	1(3.03)	0(0.00)	0(0.00)	3.509	0.320
	G	143(95.33) ^{ac}	52(78.79) ^b	49(94.23)	22(78.57) ^c	18.826	0.000
	C	7(4.67)	14(21.21)	3(5.77)	6(21.43)		
PLA2R1 rs3749117	TT	67(90.67) ^{ac}	21(63.64)	22(84.62)	9(64.29)	12.286	0.006
	TC	8(10.67) ^{ac}	11(33.33)	4(15.38)	5(35.71)	10.586	0.014
	CC	0(0.00)	1(3.03)	0(0.00)	0(0.00)	3.509	0.320
	T	142(94.67)	53(80.30)	48(92.31)	23(82.14)	12.597	0.006
	C	8(5.33) ^{ac}	13(19.70)	4(7.69)	5(17.86)		

注:与风湿兼夹证组比较,^aP<0.05;与水湿内停证组比较,^bP<0.05;与湿热内蕴证组比较,^cP<0.05。

2.4 不同虚证MN患者HLA基因型分布

基因型分布比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。见表6。

不同虚证MN患者HLA-DQA1 rs2187668位点

表6 不同虚证MN患者HLA基因型分布 [n(%)]

Table 6 Distribution of HLA genotypes in MN patients with different deficiency syndrome [n(%)]

基因位点	基因型	肺脾气虚证组 (n=21)	气阴两虚证组 (n=44)	脾肾阳虚证组 (n=67)	肝肾阴虚证组 (n=16)	χ ² 值	P值
HLA-DQA1 rs2187668	CC	8(38.10)	26(59.09)	42(62.69)	7(43.75)	5.095	0.165
	CT	11(52.38)	14(31.82)	21(31.34)	8(50.00)	4.729	0.193
	TT	2(9.52)	4(9.09)	4(5.97)	1(6.25)	0.550	0.908
	C	27(64.29)	66(75.00)	105(78.36)	22(68.75)	3.903	0.272
	T	15(35.71)	22(25.00)	29(21.64)	10(31.25)		

注:与气阴两虚证组比较,^aP<0.05;与脾肾阳虚证组比较,^bP<0.05;与肝肾阴虚证组比较,^cP<0.05。

2.5 不同实证MN患者HLA基因型分布

不同实证MN患者HLA-DQA1 rs2187668位点基因型分布比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。见表7。

发病主要由肾脏肾小球上皮细胞异常导致。现代医学认为,MN主要与免疫功能障碍、靶抗原暴露以及遗传和环境因素有关^[8]。到目前为止,中医药仍然是缓解MN患者临床症状,改善肾功能的重要方法之一。

3 讨论

MN作为一种器官特异性自身免疫性疾病,其

MN属于中医“水肿”、“尿浊”的范畴,病因病机多为肺气失调,脾肾两虚,气阴两虚,导致湿热瘀

表7 不同实证MN患者HLA基因型分布 [n(%)]

Table 7 Distribution of HLA genotypes in different positive MN patients [n(%)]

基因位点	基因型	瘀血内阻证 (n=75)	风湿兼夹证 (n=33)	水湿内停证 (n=26)	湿热内蕴证 (n=14)	χ^2 值	P值
HLA-DQA1 rs2187668	CC	45(60.00)	17(51.52)	15(57.69)	6(42.86)	1.768	0.622
	CT	25(33.33)	12(36.36)	9(34.62)	8(57.14)	2.939	0.401
	TT	5(6.67)	4(12.12)	2(7.69)	0(0.00)	2.245	0.523
	C	115(76.67)	46(69.70)	39(75.00)	20(71.43)	1.307	0.727
	T	35(23.33)	20(30.30)	13(25.00)	8(28.57)	1.307	0.727

注:与风湿兼夹证组比较,* $P<0.05$;与水湿内停证组比较,* $P<0.05$;与湿热内蕴证组比较,* $P<0.05$ 。

滞。在MN中医证型分布中,虚证以脾肾阳虚和气阴两虚为主,实证以瘀血内阻为主。虚者多责于肺、脾、肾亏虚,体内气机紊乱、脏腑开阖不利,津液运化失常,可致体内湿热壅滞,瘀血浊毒蓄积,进而形成了虚实夹杂的病理局面。以往的研究指出,MN起病隐匿,不同患者临床表现、病程和预后差异很大,应采用宏观、微观辨证,中西医结合的方法治疗^[9]。本研究基于MN患者4种虚证和4种实证,分析PLA2R1和HLA基因多态性与中医证型相关性,以期为临床中医治疗MN患者提供依据。

PLA2R1属于甘露糖受体家族,是一种I型跨膜糖蛋白。先前的研究表明,PLA2R1在其表达的细胞中的生理作用与分泌型磷脂酶A2受体(secretory phospholipase A2 receptor, sPLA2)相关^[10]。本研究中,气阴两虚证组和脾肾阳虚证组PLA2R1 rs35771982位点G等位基因、PLA2R1 rs3749117位点T等位基因水平高于肺脾气虚证组和肝肾阴虚证组,提示气阴两虚证和脾肾阳虚证存在PLA2R1 rs35771982和rs3749117位点基因变异。脾肾互为先后天之本,两者相互促进,相互资助。脾胃气血足则肾之精气得以补充,肾阳温煦则脾气健运。气阴两虚则主要与疾病不断发展,阴阳失调有关。研究证实,减少肾小球上皮细胞中PLA2R1的激活并抑制PI3K/AKT/mTOR信号传导有助于防止肾小球上皮细胞凋亡^[11]。

以往的研究认为,MN肾小球基底膜的病变相当于中医的湿热蕴结成瘀^[12]。而血瘀既是MN的致病因素,又是导致病情进一步加重的重要原因。据统计,血液处于高凝导致血栓和栓塞的发病率占MN的25~40%^[13]。本研究显示,瘀血内阻证组和水湿内停证组PLA2R1 rs35771982位点G等位基因、PLA2R1 rs3749117位点T等位基因水平高于风湿兼夹证组和湿热内蕴证组,提示MN实证与PLA2R1基因存在相关性。相关研究指出,

PLA2R抗体水平可作为预测血栓栓塞并发症的独立预测因素^[14]。PLA2R可通过溶酶体通路降解sPLA2,进而干扰内皮蛋白C受体对蛋白C的增生活化作用,从而加剧血栓形成。

HLA属于糖蛋白,是一种高度多态性的同种异体抗原。HLA-DQA1是位于HLA II类上研究最多的基因之一。研究显示,HLA-DQA1与欧洲人群中高循环抗PLA2R1抗体显著相关^[15]。

研究PLA2R1(rs35771982、rs3749117)和HLA-DQA1(rs2187668)基因多态性与中医证型的相关性,对于MN患者早期诊断、临床合理用药以及制定个体化治疗方案具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] 贾蒙,韩世盛,毛逸鸣,等. 特发性膜性肾病转化为终末期肾病的关键基因及防治中药的生物信息学分析与验证[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(3): 797-810.
- [2] 盛茜,简讯,张静,等. PLA2R1基因位点rs3749117和rs3749119单核苷酸多态性与特发性膜性肾病的易感性的Meta分析[J]. 临床肾脏病杂志, 2021, 21(8): 636-642.
- [3] 王蒙,王力宁,刘楠,等. 血清抗PLA2R抗体水平对特发性膜性肾病的诊断及预后评估[J]. 中国实用内科杂志, 2020, 40(2): 153-157.
- [4] 张丹,刘爽,林芙蓉,等. 基因多态性在磷脂酶A2受体相关性膜性肾病中的意义[J]. 上海医学, 2020, 43(9): 551-556.
- [5] 高飞,王泽泽,杨冰,等. 中药复方辅助治疗膜性肾病的系统评价和Meta分析[J]. 天津中医药, 2022, 39(1): 63-70.
- [6] Rovin BH, Adler SG, Barratt J, et al. KDIGO 2021 clinical practice guideline for the management of glomerular diseases[J]. Kidney Int, 2021, 100(4): S1-S276.
- [7] 中华中医药学会肾病分会,广东省中医药学会肾病专业委员会,杨丽虹,等. 特发性膜性肾病中医临床实践指南(2021)[J]. 中国全科医学, 2023, 26(6): 647-659.
- [8] Xu Z, Chen L, Xiang H, et al. Advances in pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy[J]. Kidney Dis, 2020, 6(5): 330-345.

(下转第552页)

Mfn2 调控 VEGFR2/PI3K 促进卵巢癌种植转移的机制研究

郑翠¹ 贾颖娜² 何慧² 徐菁华^{1*}

[摘要] **目的** 探讨线粒体融合蛋白 2(Mfn2)对卵巢癌种植转移的作用以及其可能的分子机制。**方法** 选取2019年6月至2021年6月于南京医科大学附属苏州医院就诊治疗的86例卵巢癌患者作为研究对象,对比癌组织和癌旁组织Mfn2、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、磷酸酰肌醇3激酶(PI3K)蛋白表达,分析Mfn2、VEGFR2、PI3K蛋白表达与相关病理特征的关系。构建Mfn2上调/下调卵巢癌SKOV-3细胞株并验证Mfn2、VEGFR2、PI3K的表达。**结果** Mfn2、VEGFR2、PI3K在肿瘤组织中的阳性表达率高于癌旁组织,差异均有统计学意义($\chi^2=4.597、6.456、3.930, P=0.032、0.011、0.047$);不同FIGO分期、淋巴结转移、远处转移情况及生存情况中,卵巢组织中Mfn2、VEGFR2、PI3K蛋白表达比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与NC组对比,Mfn2上调组卵巢癌SKOV-3细胞中Mfn2 mRNA相对表达量和Mfn2、VEGFR2、PI3K蛋白、显著上调($P<0.05$);与shNC组对比,shMfn2下调组卵巢癌SKOV-3细胞中Mfn2 mRNA相对表达量和Mfn2、VEGFR2、PI3K蛋白显著下调($P<0.05$)。**结论** 下调Mfn2表达与VEGFR2、PI3K表达水平可以预防卵巢癌种植转移。

[关键词] 卵巢癌;线粒体融合蛋白2;血管内皮生长因子受体2;磷酸酰肌醇3激酶;细胞迁移

Study on the mechanism of Mfn2 regulating VEGFR2/PI3K to promote ovarian cancer implantation and metastasis

ZHENG Cui¹, JIA Yingna², HE Hui², XU Jinghua^{1*}

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou, Jiangsu, China, 215001; 2. Department of Gynecology, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou, Jiangsu, China, 215001)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the role of the mitochondrial fusion protein 2 (Mfn2) in ovarian cancer implantation and metastasis and to explore its potential molecular mechanism. **Methods** The study selected 86 patients with ovarian cancer who were treated at Suzhou Hospital Affiliated with Nanjing Medical University from June 2019 to June 2021 as the study subjects. The protein expressions of Mfn2, vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in cancer tissue and adjacent tissue were compared to analyze the relationship between Mfn2, VEGFR2 and PI3K protein expression and related pathological features. An up-regulated/down-regulated SKOV-3 cell line was constructed to verify the expression of Mfn2, VEGFR2 and PI3K. **Results** The positive expression rates of Mfn2, VEGFR2 and PI3K in tumor tissues were higher than those in para-cancer tissues (χ^2 values were 4.597, 6.456 and 3.930, with P values of 0.032, 0.011 and 0.047, respectively). There were statistically significant differences in the expression of Mfn2, VEGFR2 and PI3K in ovarian tissues at different FIGO stages, lymph node metastasis, distant metastasis and survival conditions ($P<0.05$). Compared with the NC group, the relative expres-

基金项目:江苏省妇幼保健科研项目(F202207)

作者单位:1.南京医科大学附属苏州医院妇产科,江苏,苏州 215001

2.南京医科大学附属苏州医院妇科,江苏,苏州 215001

*通信作者:徐菁华, E-mail: wawamoscow@163.com

sion of Mfn2 mRNA and Mfn2, VEGFR2 and PI3K proteins in SKOV-3 cells of ovarian cancer in the Mfn2 up-regulated group were significantly up-regulated ($P<0.05$). Compared with the shNC group, the relative expression of Mfn2 mRNA and Mfn2, VEGFR2, and PI3K proteins in SKOV-3 cells of ovarian cancer in the down-regulated shMfn2 group were significantly down-regulated ($P<0.05$). **Conclusion** Down-regulating Mfn2 expression and VEGFR2 and PI3K expression levels can prevent ovarian cancer implantation and metastasis.

[KEY WORDS] Ovarian cancer; Mitochondrial fusion protein 2; Vascular endothelial growth factor receptor 2; Phosphoinositide 3-kinase; Cell migration

卵巢癌发病率位居妇科恶性肿瘤第三,死亡率位居第一^[1]。研究显示,卵巢癌总体5年生存率低于50%^[2]。因此,了解卵巢癌的发病机制并寻找新的治疗靶点,对提高卵巢癌患者的临床效果有重要意义。血管内皮生长因子受体2(vascularendothelial growth factor receptor2, VEGFR-2)属于受体酪氨酸激酶,在调节内皮细胞增殖、调节血管生成等中发挥重要作用^[3]。磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)是一类具有丝/苏氨酸激酶活性的细胞内磷脂酰肌醇激酶,其所调控的信号通路可以细胞分裂、分化、凋亡。线粒体融合蛋白2(Mitochondrial fusion protein 2, Mfn2)是一种高效的抑癌基因,主要存在于线粒体外膜上。有研究报道,增高Mfn2蛋白表达能够抑制乳腺癌细胞的迁移^[4]。本研究将分析Mfn2对卵巢癌种植转移的作用,探讨Mfn2、VEGFR2、PI3K与卵巢癌患者病理特征的关系。现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

以2019年6月至2021年6月南京医科大学附属苏州医院就诊治疗的86例卵巢癌患者作为研究对象。纳入标准:①符合有关指南^[5]中卵巢癌的诊断标准,经术后病理组织检查确诊;②确诊卵巢癌前未进行任何相关治疗;③病例资料完整;④可以配合相关检查治疗及随访;⑤患者或家属知情同意本研究。排除标准:①其他类型肿瘤;②合并严重急/慢性感染性疾病;③合并严重免疫性疾病。86例卵巢癌患者年龄37~69岁,平均年(53.89±4.16)岁,国际妇产科联盟(Federation International of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期标准^[6]分为I~IV期,其中I~II期35例,III~IV期51例;有淋巴结转移37例,无淋巴结转移49例;有远处转移45例,无远处转移41例。本研究已通过院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 组织收集

86例卵巢癌患者均在进行卵巢癌切除手术时,取癌组织和癌旁组织,置于-80℃液氮中冷冻储存。卵巢癌组织均经过病理学证实。

1.2.2 免疫组化实验

取术中获取的卵巢癌组织和癌旁正常组织,用10%的中性甲醛固定,石蜡包埋、切片,将薄片置于65℃烘箱中烘烤2h,脱蜡、水化、加热,再用3%的H₂O₂除去内源过氧化氢酶,最后用3% H₂O₂进行处理。取5%正常山羊血清封闭2h,加入兔Mfn2、VEGFR2、PI3K单抗,4℃孵育过夜。次日,滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG,并于室温孵育2h。DAB显色、苏木素复染、盐酸醇析、清水洗涤返蓝、梯度酒精脱水、二甲苯澄清、中性胶密封、光镜下照相。以PBS代替一抗作为阴性对照,将已知的Mfn2、VEGFR2、PI3K蛋白阳性的卵巢癌组织切片用作阳性对照。

1.2.3 蛋白表达判断^[7]

两位病理科医师阅片。Mfn2、VEGFR2、PI3K在胞浆、胞膜和胞核中为棕黄色颗粒状。染色强度的评定:根据阳性细胞的显色程度,从无色、浅棕黄色、深棕黄色分别记0~2分。随机选取5个200倍视野,统计各视野内的阳性细胞数,并统计其所占的比例。阳性细胞比例:无为0分,<25%记1分,25%~50%记2分,>50%记3分。通过对阳性细胞的染色强度、阳性细胞比率的半定量计算,阳性:染色强度评分×阳性细胞比例评分≥2。

1.2.4 随访

对所有患者进行以电话和门诊复查为主的随访,随访截止时间为2022年6月30日。随访内容为患者生存情况,随访终点为随访时间结束或患者死亡。

1.2.5 细胞培养及转染

将购自江苏凯基生物科技有限公司的卵巢癌

SKOV-3 细胞株置于含有 10%胎牛血清和 1%青霉素链霉素双抗的 RPMI 1640 培养基中,再放置条件为 5% CO₂, 37℃培养箱中培养。将 SKOV-3 细胞分为 NC 组、*Mfn2* 上调组、sh-NC 组和 sh-*Mfn2* 下调组。培养 24 h 后,使用 LipofectamineTM3000 将构建的 NC、*Mfn2*、shNC 和 sh-*Mfn2* 质粒转染至 SKOV-3 细胞中。转染 48 h 后,收集细胞进行后续相关实验。通过 RT-qPCR 技术以及 western blot 法验证各组细胞中 *Mfn2* mRNA 和 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白的表达。实验重复 3 次。

1.2.6 实时定量 PCR 实验

应用 Trizol 法提取各组细胞 RNA,采用逆转录试剂盒将各组细胞 RNA 逆转录为 cDNA,应用 PCR 扩增仪进行 PCR 扩增。以 β -*actin* 为内参基因,引物序列为,*Mfn2* 正向:ACATAGAG-GAAGGACTGGGT,反向:TAGTTGAGGGAGA-AGCACTG; β -*actin* 正向为 GCAT CCTGCACCAC-CAACT,反向为:TCTCCTTCTGCATCCTGTCG。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 *Mfn2* mRNA 表达水平。

1.2.7 蛋白印迹实验(Western blot)实验

通过 SDS-PAGE 胶电泳分离蛋白,常温在 5% BSA 中孵育 2 h。4℃冰箱孵育一抗(Mfn2、VEGFR2、PI3K 抗体稀释比为 1:2 000、1:1 500、1:1 500, β -*actin* 为内参)过夜。应用洗涤缓冲液清洗 3 次洗去一抗。清洗完后常温孵育二抗 2 h;应用洗涤缓冲液洗膜 3 次。最后最后使用 ECL 底物观察蛋白印迹,使用 ImageJ 软件分析灰度值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据,计量资

料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 *t* 检验;计数资料以[n(%)]表示,采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达

Mfn2、VEGFR2、PI3K 在肿瘤组织中的阳性表达率高于癌旁组织,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同组织 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达 [n(%)]

组织	n	VEGFR2 阳性	PI3K 阳性	Mfn2 阳性
肿瘤组织	86	54(62.79)	63(73.26)	49(56.98)
癌旁正常组织	86	40(46.52)	47(54.65)	36(41.86)
χ^2 值		4.597	6.456	3.930
<i>P</i> 值		0.032	0.011	0.047

2.2 不同临床病理特征患者 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达水平对比

不同 FIGO 分期、淋巴结转移、远处转移情况及生存情况中,卵巢癌组织中 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 实时定量 PCR、Western Blot 验证 Mfn2 的表达

与 NC 组对比,*Mfn2* 上调组卵巢癌 SKOV-3 细胞中 *Mfn2* mRNA 相对表达量和 Mfn2 蛋白显著上调($P < 0.05$);与 shNC 组对比,sh*Mfn2* 下调组卵巢癌 SKOV-3 细胞中 *Mfn2* mRNA 的相对表达量和 Mfn2 蛋白显著下调($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

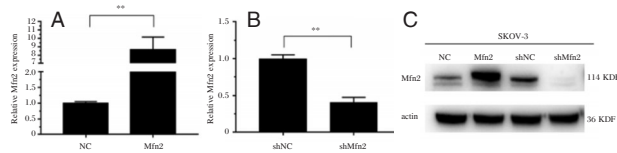
表 2 不同临床病理特征患者 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达水平对比 [n(%)]

Table 2 Comparison of Mfn2, VEGFR2 and PI3K protein expression levels in patients with different clinicopathological characteristics [n(%)]

病理特征	病理特征	VEGFR2		χ^2 值	<i>P</i> 值	PI3K		χ^2 值	<i>P</i> 值	Mfn2		χ^2 值	<i>P</i> 值
		阴性 (n=32)	阳性 (n=54)			阴性 (n=23)	阳性 (n=63)			阴性 (n=37)	阳性 (n=49)		
年龄	<60 岁	14(43.75)	20(37.03)	0.378	0.538	9(39.13)	25(39.68)	0.002	0.963	16(43.24)	18(36.75)	0.373	0.541
	≥60 岁	18(56.25)	34(62.97)			14(60.89)	38(60.32)			21(56.76)	31(63.25)		
卵巢癌患者分期	I~II 期	17(53.13)	15(27.78)	5.528	0.018	10(43.48)	19(30.16)	5.012	0.025	17(45.95)	12(24.49)	4.342	0.037
	III~IV 期	15(46.87)	39(72.22)			13(56.52)	44(69.84)			20(64.05)	37(75.51)		
淋巴结转移	有	8(25.00)	29(53.70)	5.323	0.021	5(21.74)	32(50.79)	5.802	0.016	8(21.62)	29(59.18)	12.133	<0.001
	无	24(75.00)	25(46.30)			16(69.56)	31(49.21)			29(78.38)	20(40.82)		
远处转移	有	12(37.50)	33(61.11)	4.490	0.034	6(26.09)	39(61.91)	8.665	0.003	7(18.92)	38(77.55)	29.051	<0.001
	无	20(62.50)	21(38.89)			17(73.91)	24(38.09)			30(81.08)	11(22.45)		
生存情况	生存	28(87.50)	36(66.67)	4.581	0.032	22(95.65)	42(66.67)	7.435	0.006	33(89.19)	31(63.27)	7.442	0.006
	死亡	4(12.50)	18(33.33)			1(4.35)	21(33.33)			4(10.81)	18(36.73)		

表3 不同组别 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达对比 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of Mfn2, VEGFR2 and PI3K protein expression in different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Mfn2 蛋白	VEGFR2 蛋白	PI3K 蛋白
NC 组	86	100.52±17.81	11.12±1.15	0.15±0.05
上调组	86	125.75±20.67	20.23±1.78	0.37±0.10
t 值		8.270	38.450	17.600
P 值		<0.001	<0.001	<0.001
shNC 组	86	103.25±16.16	11.33±1.26	0.14±0.06
下调组	86	78.69±10.45	7.36±1.10	0.09±0.02
t 值		11.411	21.229	7.071
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

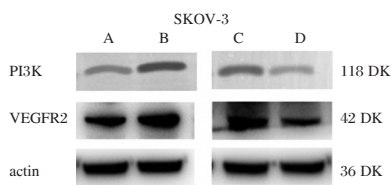


注: A. 实时定量 PCR 实验 Mfn2 上调组; B. 实时定量 PCR 实验 shMfn2 下调组; C. Western Blot 实验 Mfn2 上调组, shMfn2 下调组。

图1 Mfn2 的实时定量 PCR 实验与 Western Blot 实验
Figure 1 Real-time quantitative PCR and Western Blot experiments of Mfn2 were performed

2.4 构建 Mfn2 上调/下调卵巢癌细胞株, Western Blot 验证 VEGFR2、PI3K 蛋白的表达

与 NC 组对比, Mfn2 上调组卵巢癌 SKOV-3 细胞中 VEGFR2、PI3K 蛋白的相对表达量显著上调 ($P < 0.05$); 与 shNC 比较, shMfn2 下调组 SKOV-3 细胞中 VEGFR2、PI3K 蛋白的表达水平明显下调 ($P < 0.05$)。见表 3、图 2。



注: A. NC 组; B. 上调组; C. shNC 组; D. 下调组。

图2 VEGFR2、PI3K 的蛋白印迹实验

Figure 2 Western blot assay of VEGFR2 and PI3K

3 讨论

本研究结果显示, 肿瘤组织中的 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达水平高于临近癌旁组织。Mfn2 位于人 1 号染色体的短臂 1p36.22 位置, 当人体罹患癌症时, 这个部位的染色体可能会丢失或移位。以往研究发现, Mfn2 在黑色素瘤等^[8]多种肿瘤及其细胞株中具有抑癌作用。Ahn 等^[9]研究亦发现, Mfn2 蛋白在宫颈鳞癌组织的表达水平最

高, 并与患者的临床分期及淋巴结转移密切相关; 细胞实验发现, 下调 Mfn2 后, 宫颈癌细胞增殖、侵袭及迁移能力显著下降。肿瘤的发生发展离不开血管的供养, 新生血管生成是肿瘤持续生长、侵袭和转移的必要条件^[10]。血管内皮生长因子能够促进肿瘤新生血管的形成, 因此, 抑制血管内皮生长因子的表达可以抑制癌细胞的生成及转移^[10]。VEGFR2 是一种酪氨酸激酶受体, 当发生肿瘤时, 血管内皮生长因子被激活, 进而刺激 VEGFR2 表达上调^[3, 10]。PI3K 是一种原癌基因, 广泛分布于静息状态的细胞浆中。研究表明, PI3K 在卵巢癌中高表达, 能引起肿瘤细胞的异常增殖, 抑制 PI3K 可以降低卵巢癌细胞增殖能力^[11]。本文进一步研究分析发现, 不同 FIGO 分期、淋巴结转移、远处转移情况及生存情况中, 卵巢癌组织中 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达比较差异显著。吴颖露等^[12]研究发现, 膀胱癌组织中 Mfn2 的蛋白表达高于癌旁组织, 且参与膀胱癌病变过程。朱金红等^[13]指出, VEGFR2 在非小细胞肺癌中呈高表达, 且与肿瘤有无远处转移、生存期相关。上述结果提示临床工作者可通过检测肿瘤组织中 Mfn2、VEGFR2、PI3K 蛋白表达情况辅助完成患者临床病理特征的判断。

本研究 PCR、Western Blot 研究结果表明, Mfn2、VEGFR2、PI3K 在卵巢癌 SKOV-3 细胞中呈高表达, 提示上述指标可能参与卵巢癌病情的发生和发展。Peng 等^[14]指出, Mfn2 可通过多个信号通路调节自噬, 如 PI3K/AKT、抗病毒等信号通路^[14]。张丽君等^[15]研究则表明, Mfn2 在前列腺癌组织中呈低表达, 通过转染 Mfn2 过表达质粒能够抑制前列腺癌相关细胞株的增殖、迁移、侵袭。上述研究均表明, Mfn2 可能通过某些途径影响细胞自噬, 在诱导肿瘤细胞自噬的同时, 也能够抑制肿瘤细胞迁移与侵袭。

综上所述, Mfn2、VEGFR2、PI3K 在卵巢癌组织中呈高表达, 上述指标的阳性表达与 FIGO 分期、淋巴结转移、远处转移情况及生存情况有关。

参考文献

- [1] 吕婧豪, 田继红, 张洁. 郑州地区 ≥20 岁女性卵巢癌筛查行为及影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2023, 49(9): 1184-1187.
- [2] Wang CK, Chen TJ, Tan GYT, et al. MEX3A Mediates p53 Degradation to Suppress Ferroptosis and Facilitate Ovarian Cancer Tumorigenesis[J]. Cancer Res, 2023, 83(2): 251-263.

- [3] 万邦贝,刘波,王兆兴,等. Meis1 与 VEGFR-2 在早期肾癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中南大学学报(医学版), 2020, 45(9):1061-1067.
- [4] 李小波,谢艳,陈金霞,等. 大黄酸抑制线粒体分裂和 EMT 减缓乳腺癌细胞迁移[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(8):2692-2698.
- [5] 周琦,吴小华,刘继红,等. 卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(第四版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(7):739-749.
- [6] Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2009, 105(2):103-104.
- [7] 董良,李洪霖,杨清,等. Src 羧基端激酶结合蛋白影响线粒体分裂及 NK 细胞杀伤肺癌细胞活性的分子机制探讨[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(23):4073-4080.
- [8] 邓雅尹,黄征,章宏峰. 线粒体融合蛋白 2 在黑色素瘤组织表达及对肿瘤细胞生物活性的影响[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(1):77-82.
- [9] Ahn S Y, Li C H, Zhang X L, et al. Mitofusin-2 expression is implicated in cervical cancer pathogenesis [J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(6):3419-3426.
- [10] 张维,胡晟. 阿帕替尼调节 VEGF/MAPK/NF- κ B 信号通路抑制大鼠非小细胞肺癌的机制[J]. 生物技术, 2022, 32(2):195-199.
- [11] 张靖,冯晓杰,白惠娟. lncRNA PTPRG-AS1 通过调控 PI3K/Akt 信号通路对卵巢癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021, 56(2):275-279.
- [12] 吴颖露,白云,熊艳杰,等. 增殖抑制基因/线粒体融合蛋白 2 在膀胱癌中的表达及意义[J]. 癌症进展, 2020, 18(20):2077-2079.
- [13] 朱金红,王丽丽,王希波. VEGFR2、miR-21 在非小细胞肺癌中的表达及其与预后的关系[J]. 中国新药与临床杂志, 2023, 42(7):467-473.
- [14] Peng C, Rao W, Zhang L, et al. Mitofusin 2 exerts a protective role in ischemia reperfusion injury through increasing autophagy [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(6):2311-2324.
- [15] 张丽君,李嘉豪,谢先娇,等. PCa 组织 Mfn2 mRNA 表达及转染 Mfn2 过表达质粒的人 PCa 细胞株增殖、迁移、侵袭、凋亡观察[J]. 山东医药, 2023, 63(12):6-11.

(上接第 542 页)

- [10] Zegeye MM, Matic L, Lengquist M, et al. Interleukin-6 trans-signaling induced laminin switch contributes to reduced trans-endothelial migration of granulocytic cells [J]. *Atherosclerosis*, 2023, 371:41-53.
- [11] 万光明,薛榕. 从视网膜氧化应激与微血管改变谈糖尿病视网膜病变的发病机制和防治策略[J]. 眼科新进展, 2022, 42(7):505-509.
- [12] Elena Tulkova, Kabashnikova L. Malondialdehyde Content in the Leaves of Small-Leaved Linden *Tilia Cordata* and Norway Maple *Acer Platanoides* Under the Influence of Volatile Organic Compounds [J]. *Plant Biosystems*, 2021(1):1-12.
- [13] 罗影,左中夫,程雪,等. 白皮杉醇通过激活 Nrf2/HO-1 通路减轻糖尿病大鼠视网膜膜氧化应激反应[J]. 解剖科学进展, 2021, 27(3):325-328.
- [14] 郭丹,张娟,王洪涛,等. 基质细胞衍生因子-1 α /趋化因子 CXC 受体 4 诱导内皮祖细胞血管新生促进脑卒中的神经康复机制[J]. 实用医学杂志, 2022, 38(19):2407-2413.
- [15] 王曼丽,贾竹敏,付留俊,等. 2 型糖尿病患者并发糖尿病视网膜病变的影响因素分析[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(1):47-49.

(上接第 547 页)

- [9] 赵启涵,戴浩然,刘文斌,等. 从阳虚癥积辨识特发性膜性肾病[J]. 北京中医药, 2021, 40(2):109-113.
- [10] Jaber S, Goehrig D, Bertolino P, et al. Generation of a conditional transgenic mouse model expressing human phospholipase A2 receptor 1 [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):8190.
- [11] Chiou TTY, Chau YY, Chen JB, et al. Rapamycin attenuates PLA2R activation-mediated podocyte apoptosis via the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 144(1):112349.
- [12] 刘玉旋,李平,梁昌昌,等. 276 例特发性膜性肾病中医证候分布及其影响因素分析[J]. 世界中医药, 2022, 17(22):3229-3234, 3241.
- [13] 王钢,沈兰. 特发性膜性肾病中医、中西医结合辨析经验 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2023, 24(1):1-5.
- [14] Sun G Y, Geng X, Teng T, et al. Dynamic role of phospholipases A2 in health and diseases in the central nervous system [J]. *Cells*, 2021, 10(11):2963.
- [15] Liu X, Xu W, Yu C, et al. Associations between m-type phospholipase A2 receptor, human leukocyte antigen gene polymorphisms and idiopathic membranous nephropathy [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1):8833-8844.

颈项透明层增厚胎儿的绒毛染色体及微阵列结果分析

刘建珍 林铿 许碧秋 孟祥荣 李熹翀 鞠爱萍 覃燕龄 陈鸿桢*

[摘要] **目的** 探讨核型分析及染色体微阵列分析(CMA)技术在颈项透明层(NT)增厚胎儿产前诊断中的应用价值,评价NT增厚在产前筛查中的作用。**方法** 选取2018年1月至2020年12月孕11~13⁺周在广州市花都区妇幼保健院筛查NT增厚($NT \geq 2.5$ mm)胎儿137例,经胎盘绒毛穿刺,行“核型分析+CMA”检测,按NT值和临床指征分组,分别分为2.5~2.9 mm、3.0~3.9 mm、4.0~4.9 mm、 $NT \geq 5.0$ mm组和孤立性NT增厚组、非孤立性NT增厚组,分析各组核型分析和CMA结果。**结果** 核型分析检出率为10.95% (15/137), CMA检出率为16.79% (23/137), CMA联合核型分析异常检出率为18.25% (25/137)。2.5~2.9 mm、3.0~3.9 mm、4.0~4.9 mm、 $NT \geq 5.0$ mm组的检出率分别为7.89% (3/38)、8.20% (5/61)、33.33% (7/21)、52.94% (9/17),各组间差异有统计学意义($\chi^2=22.54, P<0.05$)。孤立性NT增厚组和非孤立性NT增厚组的检出率分别为12.24% (12/98)和26.67% (12/45),差异有统计学意义($\chi^2=4.59, P<0.05$)。**结论** 染色体核型分析联合CMA技术能提高NT增厚胎儿异常检出率,染色体异常发生率随NT值增高及合并其他超声异常明显增高。

[关键词] 颈项透明层厚度;核型分析;染色体微阵列;产前诊断

Analysis of villous chromosomes and microarray results of fetuses with thickened nuchal translucency

LIU Jianzhen, LIN Keng, XU Biqu, MENG Xiangrong, LI Xichong, JU Aiping, QIN Yangling, CHEN Hongzhen*

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

[ABSTRACT] **Objective** To explore the application value of karyotype analysis and chromosome microarray analysis (CMA) technology in fetal prenatal diagnosis of increased nuchal translucency (NT), and to evaluate the role of increased NT in fetal chromosome abnormality screening. **Methods** A total of 137 fetuses with thickened NT ($NT \geq 2.5$ mm) were screened at Guangzhou Huadu District Maternal and Child Health Hospital between January 2018 and December 2020 at 11 to 13 + 6 weeks of gestation, and transplacental chorionic puncture was performed to perform “karyotyping.” by placental villus aspiration and were divided into 2.5~2.9 mm, 3.0~3.9 mm, 4.0~4.9 mm, $NT \geq 5.0$ mm group, isolated NT thickening group and non-isolated NT thickening group, respectively. The karyotyping and CMA results were analyzed. **Results** The detection rate of chromosome karyotype analysis was 10.95% (15/137), while CMA was 16.79% (23/137). The abnormal detection rate of CMA combined with karyotype analysis was 18.25% (25/137). Detection rates for NT measurements of 2.5~2.9 mm, 3.0~3.9 mm and 4.0~4.9 mm, $NT \geq 5.0$ mm were 7.89% (3/38), 8.20% (5/61), 33.33% (7/21), and 52.94% (9/17), respectively ($\chi^2=22.54, P<0.05$). The detection rates of pure increased NT and increased NT combined with other abnormalities were 12.24% (12/98) and 26.67% (12/45), respectively, with a statistically significant difference ($\chi^2=4.59, P<0.05$). **Conclusion** Combining chromosomal karyotyping with CMA can enhance the detection rate of fetal abnormalities associated with NT thickening. The incidence of chromosomal abnormalities rises significantly with higher NT values and other ultrasound abnormalities.

[KEY WORDS] Nuchal translucency; Karyotype analysis; Chromosome microarray analysis; Prenatal diagnosis

作者单位:广州市花都区妇幼保健院检验科,广东,广州 510800

*通信作者:陈鸿桢, E-mail:498518724@qq.com

颈项透明层(nuchal translucency, NT)是指11~13⁺周胎儿颈后的皮下液体积聚,在超声图像上表现为颈后皮肤高回声带与深部软组织高回声带之间的无回声区,NT值大于同样CRL胎儿NT值95 th%为增厚^[1],是妊娠早期有效的产前筛查指标,可使产前诊断更有针对性^[2]。染色体拷贝数变异(copy number variations, CNVs),指染色体片段的重复或缺失,拷贝数存在差异且碱基数目>1 kb,可通过CMA诊断。本研究通过染色体核型与CMA技术结果对比,分析两技术在NT增厚的应用价值,并分析NT增厚值及非孤立性NT增厚染色体异常发生率的关系,为遗传咨询提供依据。现报道汇报如下。

1 研究对象

1.1 一般资料

选择2018年1月至2020年12月于广州市花都区妇幼保健院就诊,妊娠11~13⁺周经超声诊断胎儿NT \geq 2.5 mm的137例病例,由临床遗传医师对孕妇进行遗传咨询,充分告知绒毛产前诊断手术的感染风险、核型分析及CMA技术优势、局限性等,孕妇自愿选择进行绒毛产前诊断,并签署手术知情同意书。排除标准:①夫妻双方本身合并染色体异常疾病;②合并感染性疾病、凝血功能障碍疾病;③先兆流产;④胎盘前置伴出血;⑤羊水过少。纳入研究的孕妇抽取绒毛,均同时进行染色体核型分析及CMA,本研究经院医学伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 胎儿NT检测方法

使用GE Voluson E8彩色多普勒超声检查仪,对设置探头频率为3.5~5.0 MHz,测量其颈部软组织与皮肤间半透明组织的最大厚度,测量游标的内缘需与NT外缘相重合,重复测量3次,取测量的最大值为NT厚度值。

1.2.2 绒毛穿刺

临床医生在超声的引导下对孕妇实施经腹绒毛穿刺。孕妇取平卧位,适度充盈膀胱,在超声实施监控下,将活检针经腹部、子宫肌层进入胎盘,放置于适当位置后用20 mL注射器抽吸,取绒毛组织4~8 g,送至实验室。

1.2.3 染色体核型分析

细胞遗传实验室将绒毛移入培养皿,洗涤后用手术刀将绒毛枝充分切碎成糊状,加入10 mL培养基混匀,放入37℃、5% CO₂培养箱中行两线培

养培养,待有大量分裂期细胞时,加秋水仙素继续培养2 h,按标准操作规程进行收获-制片-G显带。镜下计数30个核型,如遇到嵌合体,加至100个核型,核型描述严格按《人类细胞遗传学的国际命名体制(ISCN 2016)》^[3]进行描述。

1.2.4 CMA检测

绒毛标本及时送至广东省妇幼保健院胎儿遗传医学中心行CMA检测。该中心使用美国Affymetrix公司生产的Cytoscan750k芯片对全基因组已知基因区域进行扫描,对所检出CNVs的结果判读参考本实验室内部数据库及以下国际数据库:Database of Genomic Variants、DECIPHER database、Online Mendelian Inheritance in Man、UCSC、the International Standards for Cytogenomic Arrays,根据相应的标准判断CNV的性质:①致病性CNVs;②可能致病性CNVs;③临床意义不明确的CNVs(VOUS);④可能良性CNVs;⑤良性CNVs。

1.3 随访

对所有NT增厚胎儿病例进行电话随访,记录妊娠结局,分娩新生儿随访至1岁,记录生长发育情况。

1.4 统计学方法

采用PRISM统计软件进行数据分析。计数资料以n(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CMA联合染色体核型分析结果

137例NT增厚的胎儿中,染色体核型分析发现15例染色体异常,检出率为10.95%(15/137);CMA发现23例染色体异常,检出率为16.79%(23/137);CMA联合核型分析发现25例染色体异常,检出率为18.24%(25/137)。见表1。

表1 染色体核型分析及CMA结果比较[n(%)]

检测结果	核型分析	CMA	CMA+核型分析
染色体异常			
21-三体综合征	7(5.11)	7(5.11)	7(5.11)
18-三体综合征	5(3.65)	5(3.65)	5(3.65)
Turner综合征	1(0.73)	1(0.73)	1(0.73)
嵌合体	1(0.73)	2(1.46)	3(2.19)
平衡易位	1(0.73)	0(0.00)	1(0.73)
CNVs	0(0.00)	8(5.84)	8(5.84)
染色体正常	122(89.05)	114(83.21)	112(81.75)

2.2 不同NT值的胎儿染色体异常结果的比较

2.5~2.9 mm、3.0~3.9 mm、4.0~4.9 mm、 ≥ 5.0 mm 组总异常率分别为 7.89% (3/38)、8.20% (5/61)、33.33% (7/21) 和 52.94% (9/17), 各组间异常率依次增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同NT厚度组核型分析及CMA结果 [$n(\%)$]
Table 2 Karyotyping analysis and CMA results of different NT thickness groups [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	核型分析	CMA	CMA+核型分析	χ^2 值	<i>P</i> 值
2.5~2.9 mm	38	2(5.26)	1(2.63)	3(7.89)	22.54	0.000
3.0~3.9 mm	61	0(0.00)	5(8.20)	5(8.20)		
4.0~4.9 mm	21	5(23.81)	2(9.52)	7(33.33)		
≥ 5.0 mm	17	8(47.06)	1(5.88)	9(52.94)		

2.3 孤立性及非孤立性NT增厚胎儿核型分析和CMA结果

孤立性NT增厚组 98 例, 总异常检出率为 12.24% (12/98), 非孤立性NT增厚组 45 例, 总异常检出率为 26.67% (12/45), 两组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。非孤立NT增厚组中, NT增厚合并其他超声异常的检出率高达 75% (9/12), 均终止妊娠。见表 4。

表 3 孤立性及非孤立性NT增厚胎儿核型分析和CMA结果 [$n(\%)$]

Table 3 Fetal karyotyping and CMA results of isolated and non-isolated NT thickening examples [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	核型分析	CMA	CMA+核型分析	χ^2 值	<i>P</i> 值
孤立性NT增厚组	98	7(7.14)	5(5.10)	12(12.24)	4.59	0.032
非孤立性NT增厚组	45	9(20.00)	3(6.67)	12(26.67)		
NT增厚合并高龄	8	1(12.50)	0(0.00)	1(12.50)		
NT增厚合并不良孕产史	6	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)		
NT增厚合并唐氏高风险	19	1(5.26)	1(5.26)	2(10.52)		
NT增厚合并其他超声异常	12	7(58.33)	2(16.67)	9(75.00)		

表 4 9例NT增厚合并其他超声异常的临床资料、检测结果及妊娠结局

Table 4 Clinical data, test results and pregnancy outcomes of 9 cases of NT thickening combined with other ultrasound abnormalities

编号	年龄 (岁)	NT值 (mm)	其他超声异常结果	核型分析	CMA结果	妊娠结局
1	35	5.3	脐疝/胎儿心脏增大	47, XN, +18	同核型分析	终止妊娠
2	36	6.2	鼻骨未显示	47, XN, +18	同核型分析	终止妊娠
3	25	6.2	胎儿腹腔囊性包块	47, XN, +21	同核型分析	终止妊娠
4	34	5.5	胎儿淋巴管水囊瘤/胎儿左手形态异常	47, XN, +18	同核型分析	终止妊娠
5	18	5.3	胎儿颈部水囊瘤	46, XN	arr[hg19]17q11.2(29,083,586-30,409,336)x3	终止妊娠
6	38	3.8	胎儿全身皮肤增厚	46, XN	arr[hg19]4q12q13.1(58,193,591-62,730,657)x3	终止妊娠
7	29	5.6	胎儿全身皮肤增厚水囊状淋巴管瘤/胸腔积液	45, X	同核型分析	终止妊娠
8	39	4.7	巨大膀胱	47, XN, +18	同核型分析	终止妊娠
9	25	3.7	胎儿颈部水囊瘤/鼻骨显示不清	47, XN, +21	同核型分析	终止妊娠

3 讨论

NT的测量是由 Benacerraf 等^[4]最先应用于 21-三体综合征检测, 后来多项研究表明 NT 增厚与染色体异常关系密切^[5-6]。本研究对孕早期 NT 增厚胎儿进行遗传学诊断, 发现染色体总异常检出率高达 18.24%, 可见 NT 增厚是胎儿染色体异常的敏感性指标, 其中 21-三体综合征和 18-三体综合征检出率最高, 与姜楠等^[7]研究相符。21-三体综合征和 18-三体综合征是人类最常见染色体病, 是引起新生儿先天性智力低下的主要原因之一。患儿有明显的智能落后、生长发育障碍及多发畸形等症状, 给家庭和社会造成极大的精神和经济负担。绒毛穿刺是现阶段早期产前诊断的重要手段, 但因有一定的技术风险, 且细胞培养和制备染色体的技术难度较大, 目前我国开展绒毛穿刺术及检测的机构较少, 使胎儿 NT 增厚孕妇只能等到孕中期才可以行羊水穿刺检查, 错过了早期诊断的最佳时机。故推广绒毛检测技术对 NT 增厚胎儿早期诊断, 对有效减少缺陷儿的出生有着重要的意义。

染色体核型分析作为传统的产前诊断技术,可检出染色体数目及大片段结构性异常,是检测染色体的金标准,但对小于10 Mb的染色体异常难以检出。CMA技术能够在全基因组水平进行检测染色体不平衡的拷贝数变异,较染色体核型分析具有更高的分辨率和敏感度。本研究采用核型分析和CMA对NT增厚胎儿进行检测,检出25例异常结果,其中13例在两种检测技术中结果一致。CMA未见异常结果中,核型分析提示异常2例,包括1例平衡易位和1例嵌合体;而核型分析未见异常结果中,CMA提示异常10例,包括2例嵌合体和8例CNVs。CMA较核型分析检出率提高了5.84%,丁小瑞等^[8-9]也发现,对NT增厚但染色体核型分析正常的胎儿进行CMA检测,可检测染色体微缺失、微重复达3.45~8.3%。“核型分析+CMA”模式较单独使用核型分析或CMA,其检出率分别提高了7.30%和1.46%,与国内多项报道基本相符^[10-11]。所以,对NT增厚胎儿行染色体核型分析联合CMA技术,可以明显提高染色体异常检出率,并使异常结果得到验证,为产前咨询医生评估胎儿预后提供可靠的依据。

本研究,胎儿染色体异常率随着NT值厚度依次增加,与王晖等^[12]研究结果一致。当NT \geq 3 mm时,胎儿染色体异常发生率高达22.22%,故对NT \geq 3 mm胎儿行产前诊断,明确遗传学病因非常重要。而NT厚度在2.5~2.9 mm胎儿检测中,染色体异常检出率达7.89%,故对该部分人群胎儿的密切关注仍不可忽略。

本研究非孤立性NT增厚中,NT增厚合并其他超声异常者(胎儿淋巴管水囊瘤、鼻骨未显示、胎儿腹腔囊性包块、脐疝、胎儿心脏增大等)异常检出率最高,达75%。在9例异常检出结果中,除了7例染色体非整倍体异常外,还检出2例致病性CNVs,故对NT增厚合并其他超声异常胎儿进行产前诊断时,首选CMA进行产前诊断,可检出常规的染色体核型分析无法检出的CNVs^[13],排除染色体异常和微缺失、微重复综合征^[14]。

综上所述,NT检测是早期产前筛查的有效手段,染色体异常发生率随NT值增高及合并其他超声异常明显增高。采用染色体核型分析联合CMA检测模式,能提高NT增厚胎儿染色体异常

检出率,对减少缺陷儿的出生及提高优生优育有着重要的意义。

参考文献

- [1] 北京协和医院. 超声诊断科诊疗常规[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012: 468.
- [2] 朱亚芳,周佳梅,汪琳华,等. 颈项透明层检查在孕早期胎儿异常筛查中的应用价值[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(3): 565-567.
- [3] ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016); McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M (eds), (Karger, Basel 2016); also in Cytogenet Genome Res 149: 1-140 (2016).
- [4] Benacerraf BR, Frigoletto FD Jr, Laboda LA. Sonographic diagnosis of Down syndrome in the second trimester [J]. Am J Obstet Gynecol, 1985, 153: 495-2.
- [5] 黄细娟,陈艳珊,王彦. 孕早期NT增厚胎儿的染色体核型与妊娠结局探讨[J]. 影像研究与医学应用, 2022, 6(6): 46-48.
- [6] 王游声,张亿聪,张琪,等. 胎儿颈项透明层增厚的产前诊断结果分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2022, 39(2): 248-250.
- [7] 姜楠,张印帅,俞冬熠. 染色体微阵列分析技术在核型正常的颈部透明层增厚胎儿产前诊断中的应用[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(10): 687-691.
- [8] 丁小瑞. 染色体微阵列分析技术在颈项透明层增厚胎儿中的研究应用[D]. 呼和浩特:内蒙古医科大学, 2020.
- [9] 刘敏,曾静,曾云,吴丽芳. 颈项透明层厚度增厚胎儿应用染色体微阵列技术效果分析及其临床意义[J]. 中国医药科学, 2021, 11(13): 21-24.
- [10] 徐梅梅,王海霞. 全基因组染色体微阵列分析及核型分析在颈项透明层增厚胎儿遗传学诊断中的价值[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(15): 21-28.
- [11] Grande M, Jansen FAR, Blumenfeld YJ, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2015, 46(6): 650-658.
- [12] 王晖,沈晓亚. 早期产前筛查中胎儿颈项透明层厚度与绒毛染色体异常的相关性分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2017, 9(6): 30-33.
- [13] 杨培峰,单婉婉,张琳琳,等. 染色体微阵列检测技术在NT增厚胎儿中的应用[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(5): 330-332.
- [14] Charan P, Woodrow N, Walker SP, et al. High-resolution microarray in the assessment of fetal anomalies detected by ultrasound [J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2014, 51(1): 46-52.

中晚期宫颈癌患者血清 HE4、TK1、DCLK1 水平变化及其与化疗效果的关系

张艳艳* 苏克 乔龙 郭瑞霞

【摘要】 目的 分析中晚期宫颈癌患者血清人附睾蛋白4(HE4)、胸苷激酶1(TK1)、双皮质素样激酶1(DCLK1)变化及其与化疗效果的关系。方法 收集2020年1月至2023年1月于郑州大学第一附属医院接受化疗的215例中晚期宫颈癌患者的病历资料,根据纳入患者的化疗效果将其分为良好组和不良组,其中良好组疗效评估结果为完全缓解(CR)与部分缓解(PR),共173例,不良组疗效评估结果为稳定(SD)与进展(PD),共42例。比较两组血清HE4、TK1、DCLK1水平等临床资料,分析中晚期宫颈癌患者血清HE4、TK1、DCLK1水平与化疗效果的关系。结果 良好组临床分期为Ⅱ期比例、高分化比例、无淋巴结转移比例均高于不良组,肿瘤最大直径以及血清HE4、TK1、DCLK1水平均低于不良组,差异均有统计学意义($P<0.05$);经logistic多因素分析显示,肿瘤的临床分期达到Ⅳ期、分化程度为中低分化、淋巴结转移以及血清HE4、TK1、DCLK1水平升高均为影响中晚期宫颈癌患者化疗效果的独立因素($P<0.05$);经Spearman相关性分析显示,中晚期宫颈癌患者临床分期、淋巴结转移以及血清HE4、TK1、DCLK1水平与其化疗效果成负相关,分化程度与其化疗效果成正相关($P<0.05$)。结论 中晚期宫颈癌患者临床分期越晚、分化程度越差、临床转移以及HE4、TK1、DCLK1水平越高,越不利于患者的化疗,上述指标对其预后均具有一定预测价值。

【关键词】 中晚期宫颈癌;人附睾蛋白4;胸苷激酶1;双皮质素样激酶1

Changes of serum levels of human epididymal protein 4, thymidine kinase 1 and bifocorticoid kinase 1 in patients with advanced cervical cancer and their relationship with chemotherapy

ZHANG Yanyan*, SU Ke, QIAO Long, GUO Ruixia

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

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the changes in serum human epididymis protein 4 (HE4), thymidine kinase 1 (TK1) and doublecortin-like kinase protein 1 (DCLK1) in patients with advanced cervical cancer and their relationship with the effect of chemotherapy. **Methods** The medical records of 215 patients with advanced cervical cancer who received chemotherapy in the hospital from January 2020 to January 2023 were collected retrospectively. The enrolled patients were divided into two groups based on the effect of chemotherapy: a good group consisting of 173 patients with complete remission (CR) and partial remission (PR) and a poor group with 42 patients showing stable disease (SD) and progressive disease (PD). Serum levels of HE4, TK1 and DCLK1 in the two groups were compared. The study aimed to analyze the relationship between serum levels of HE4, TK1 and DCLK1 and the effectiveness of chemotherapy in patients with advanced cervical cancer. **Results** The proportions of clinical stage II, high differentiation, and no lymph node metastasis in the good group were higher than those in the poor group. The maximum tumor diameter, serum levels of HE4, TK1 and DCLK1 were lower in the good group compared to the poor group ($P<0.05$). Logistic multi-

基金项目:河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20190115)

作者单位:郑州大学第一附属医院妇科,河南,郑州 450000

*通信作者:张艳艳, E-mail: yzhang301@163.com

ivariate analysis revealed that the tumor reaching stage IV, moderate to low differentiation, lymph node metastasis, and elevated levels of serum HE4, TK1, and DCLK1 were independent factors affecting chemotherapy efficacy in patients with advanced cervical cancer ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that clinical staging, lymph node metastasis, and serum levels of HE4, TK1 and DCLK1 were negatively correlated with chemotherapy effectiveness in patients with advanced cervical cancer, while differentiation degree was positively correlated with chemotherapy effectiveness ($P<0.05$). **Conclusion** The later the clinical stage, the worse the differentiation, the higher the clinical metastasis, and the higher the levels of HE4, TK1, and DCLK1 in patients with advanced cervical cancer, the more unfavorable chemotherapy is for the patient. These indicators have a certain predictive value for their prognosis

[KEY WORDS] Advanced cervical cancer; Human epididymis protein 4; Thymidine kinase 1; Doublecortin-like kinase protein 1

宫颈癌为女性生殖系统常见恶性肿瘤之一,早期临床症状及体征隐匿性极强,多数患者确诊时病情已至中晚期,错失手术最佳治疗时机,治疗难度与死亡风险也相对较高^[1]。化疗是中晚期宫颈癌治疗方法之一,但受肿瘤异质性影响,不同患者治疗结果与预后存在较大差异,故找寻可对中晚期宫颈癌化疗效果进行有效评估和预测的生物学指标具有重要意义^[2]。人附睾蛋白4(Human epididymis protein 4, HE4)是临床新发现的肿瘤标志物,近年来在卵巢癌、宫颈癌等的诊断中已取得较好应用效果^[3]。胸苷激酶1(Thymidine kinase 1, TK1)是临床反映细胞异常增殖的标志物之一,参与肿瘤细胞增殖、血管生成以及侵袭转移等过程,对肿瘤的诊断具有重要参考价值^[4]。双皮质素样激酶1(doublecortin-like kinase 1, DCLK1)属于苏氨酸激酶,其有两个双皮质素(Doublecortin, DCX)结构域,可特异性表达于肿瘤干细胞,并参与肿瘤转移与侵袭过程^[5]。本研究主要分析上述三个指标在中晚期宫颈癌化疗患者中的水平变化,旨在为临床疗效评估提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

经郑州大学第一附属医院医学伦理委员会批准,收集2020年1月至2023年1月于本院接受化疗的215例中晚期宫颈癌患者,纳入标准:①经影像学及病理检查结果首次确诊为宫颈癌^[6],且临床分期为II~IV期;②既往无系统性抗癌治疗史;③符合化疗适应证,且患者对化疗方案知情同意;④年龄不低于18周岁;⑤病历资料完整;⑥受试者已签署《知情同意书》。排除标准:①合并其它恶性肿瘤;②对化疗药物过敏或无法耐受常规化疗

药物;③合并严重免疫系统性疾病或感染性疾病;④肝、肾等重要脏器功能障碍较为严重;⑤合并其它子宫疾病,如子宫肌瘤、子宫内膜异位症、宫颈糜烂等;⑥子宫或附件存在手术史。

1.2 方法

收集患者的临床资料,包括患者入院时的年龄、临床分期、病理类型、肿瘤直径、分化程度等基线资料以及治疗后的疗效和血清HE4、TK1、DCLK1水平等资料。其中血清指标检测方法为采集患者清晨空腹静脉血3 mL,通过3 000 r/min(离心半径10 cm)的速度离心处理10 min后提取血清,使用酶联免疫吸附法对患者血清HE4、TK1、DCLK1水平进行检测,HE4试剂盒购自武汉赛培生物科技有限公司(型号:SP11752),TK1试剂盒购自武汉默沙克生物科技有限公司(型号:kt36964),DCLK1试剂盒购自武汉三鹰生物技术有限公司(型号:29800-1-AP)。患者化疗结束后继续随访3个月,通过随访结果对患者的疗效进行评估,具体评估方法为:①完全缓解(CR),肿瘤病灶以及临床症状均消失,且持续时间>1个月;②部分缓解(PR),患者的肿瘤病灶体积较化疗前缩小 $\geq 50\%$,临床症状基本消失,且持续时间>1个月;③稳定(SD),患者的肿瘤病灶体积较化疗前缩小或增大 $\leq 25\%$;④进展(PD),患者的肿瘤病灶体积较治疗前 $\geq 25\%$,或出现新的肿瘤病灶。根据纳入患者的化疗效果将其分为良好组和不良组,其中良好组疗效评估结果为CR与PR,共173例,不良组疗效评估结果为SD与PD,共42例。

1.3 观察指标

①比较两组临床资料;②分析中晚期宫颈癌患者血清HE4、TK1、DCLK1水平与化疗效果的关系。

1.4 统计学方法

数据处理与分析均由 SPSS 24.0 统计学软件完成,计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间差异经由卡方检验分析;符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间差异经由 t 检验分析。通过 logistic 回归分析影响中晚期宫颈癌患者化疗效果的相关因素;通过 Spearman 相关性分析中晚期宫颈癌血清 HE4、TK1、DCLK1 水平与化疗效果的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料

良好组临床分期为 II 期比例、高分化比例、无淋巴结转移比例均高于不良组,肿瘤最大直径以及血清 HE4、TK1、DCLK1 水平均低于不良组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

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

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

单因素	良好组 ($n=173$)	不良组 (42)	t/χ^2 值	P 值	
年龄(岁)	50.12±4.39	51.55±4.27	1.903	0.058	
临床分期	II 期	75(43.35)	8(19.05)	15.610	0.000
	III 期	61(35.26)	13(30.95)		
	IV 期	37(21.39)	21(50.00)		
病理类型	腺癌	73(42.20)	15(35.71)	0.588	0.745
	鳞状细胞癌	67(38.73)	18(42.86)		
	腺鳞癌	33(19.08)	9(21.43)		
肿瘤最大直径(cm)	5.66±1.07	6.18±1.13	2.702	0.007	
分化程度	中/低分化	78(45.09)	31(73.81)	11.155	0.001
	高分化	95(54.91)	11(26.19)		
淋巴结转移	有	69(39.88)	30(71.43)	13.536	0.000
	无	104(60.12)	12(28.57)		
HE4(pmol/L)	51.31±6.35	63.47±7.42	10.760	0.000	
TK1(pmol/L)	0.86±0.22	1.41±0.59	9.816	0.000	
DCLK1(ng/mL)	3.11±0.67	4.25±0.83	9.419	0.000	

2.2 影响中晚期宫颈癌患者化疗效果的多因素分析

经 logistic 多因素分析显示,肿瘤的临床分期

达到 IV 期、分化程度为中低分化、淋巴结转移以及血清 HE4、TK1、DCLK1 水平升高均为影响中晚期宫颈癌患者化疗效果的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 中晚期宫颈癌患者血清 HE4、TK1、DCLK1 水平与化疗效果的相关性分析

经 Spearman 相关性分析显示,中晚期宫颈癌患者临床分期、淋巴结转移以及血清 HE4、TK1、DCLK1 水平与其化疗效果成负相关 ($r = -0.411$ 、 -0.428 、 -0.469 、 -0.453 、 -0.462 , $P < 0.05$),分化程度与其化疗效果成正相关 ($r = 0.385$, $P < 0.05$)。

3 讨论

中晚期宫颈癌临床分期越高、分化程度越低以及淋巴结转移,均表明患者病情已出现较为严重的进展,治疗难度更高,易对化疗效果产生不良影响^[7]。Pereira 等^[8]研究显示,宫颈癌患者临床分期越晚、分化程度越低,患者治疗生存率与生存期相对越低。张洁等^[9]研究结果也显示,淋巴结转移是影响宫颈癌预后的独立危险因素。本研究结果显示,良好组 II 期比例、高分化比例、无淋巴结转移比例均高于不良组,肿瘤最大直径低于不良组,也表明上述因素与中晚期宫颈癌患者化疗效果存在较为密切的相关性。

TK1 属于 DNA 补救途径酶,其对于胸苷具有催化作用,可促使 1-磷酸胸苷酶形成,从而在 DNA 的合成和修复过程中发挥重要作用,同时 TK1 可对细胞周期因子的表达进行调节,而肿瘤的主要病理特征之一即为细胞周期蛋白发生失调或突变^[10]。曾琛等^[11]研究显示,TK1 可在肿瘤病灶中通过新途径促使胸苷形成胸苷酸,从而影响接受胸苷酸合酶类靶向药物治疗的肿瘤细胞的耐药性,而经 siRNA 靶向 TK1 有利于提高肿瘤细胞胸苷酸合酶类靶向药物的敏感性。本研究中,良好

表 2 影响中晚期宫颈癌患者化疗效果的多因素分析

Table 2 Multivariate analysis of factors influencing the effect of chemotherapy on patients with advanced cervical cancer

因素	赋值	β 值	SE 值	wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
临床分期	IV 期=1, II 期、III 期=0	1.682	0.471	12.753	5.376	2.136~13.533	<0.05
肿瘤最大直径	按照实际值分析	1.208	0.637	3.596	3.347	0.960~11.664	>0.05
分化程度	中/低分化=1,高分化=0	1.422	0.403	12.451	4.145	1.882~9.133	<0.05
淋巴结转移	有=1,无=0	1.548	0.462	11.227	4.702	1.901~11.629	<0.05
HE4	按照实际值分析	1.603	0.421	14.498	4.968	2.177~11.338	<0.05
TK1	按照实际值分析	1.597	0.436	13.416	4.938	2.101~11.606	<0.05
DCLK1	按照实际值分析	1.635	0.517	10.001	5.129	1.862~14.130	<0.05

组 TK1 水平较不良组低,结果也表明 TK1 对于中晚期宫颈癌患者化疗效果存在不良影响。

HE4 属于附睾蛋白的一种,对血管内皮细胞生长具有促进作用,并可提高基质金属酶表达和翻译水平,从而促使肿瘤病灶周围生成更多血管,造成组织基质降解,进而对肿瘤细胞生长形成刺激作用,同时对肿瘤细胞异质性和侵袭能力也具有增强作用^[12]。李高峰等^[13]研究显示,HE4 的表达水平对卵巢癌具有重要识别和诊断作用,在临床分期越高、浸润程度越深的患者中,其表达水平也相对更高。本研究中,良好组 HE4 水平低于不良组,结果也表明中晚期宫颈癌患者 HE4 表达水平越高,病情越严重,化疗效果越差。

有研究^[14]发现,宫颈癌患者的 DCLK1 表达水平异常升高,且与疾病不良预后存在较为密切的相关性。目前关于 DCLK1 的具体调控机制尚未明确,临床认为其可能机制为以下 3 点:其一为具备 DCLK1 表达的细胞通常也存在肿瘤细胞相关功能与特性,从而对肿瘤后代子细胞的更新和分化具有促进作用,同时对化疗药物的抵抗性也具有增强效果;其二为 DCLK1 对肿瘤相关信号通路具有激活作用,从而可对原癌基因的表达进行调节,进而有利于增强肿瘤细胞侵袭性;其三为 DCLK1 对上皮间质-转化(Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)关键转录因子的表达可通过 microRNA 依赖机制调高,从而对于 EMT 具有促进作用,进而对肿瘤细胞的远处转移具有增强作用^[15]。而 EMT 是导致肿瘤组织侵袭性、远处转移能力以及耐药性升高的重要因素之一。本研究中,良好组 DCLK1 水平低于不良组,结果也表明中晚期宫颈癌患者 DCLK1 表达水平越高,越不利于其预后。

进一步经 logistic 多因素分析显示,肿瘤的临床分期达到 IV 期、分化程度为中低分化、淋巴结转移以及血清 HE4、TK1、DCLK1 水平升高均为影响中晚期宫颈癌患者化疗效果的独立危险因素;经 Spearman 相关性分析显示,中晚期宫颈癌患者临床分期、淋巴结转移以及血清 HE4、TK1、DCLK1 水平与其化疗效果成负相关,分化程度与其化疗效果成正相关。结果进一步表明中晚期患者临床分期、分化程度、淋巴结转移情况以及血清 HE4、TK1、DCLK1 水平对于其化疗效果具有一定预测价值。

综上所述,中晚期宫颈癌放疗结束时患者血清 HE4、TK1、DCLK1 水平越高,对化疗药物的耐药性的

影响也越大,上述指标与患者的预后存在密切关联,临床可通过上述因素对化疗效果进行评估和判断。

参考文献

- [1] Nierengarten MB. Balancing the benefits and harms of cervical cancer screening in older women [J]. *Cancer*, 2023, 129(7):979-980.
- [2] Fleming GF. Concurrent Chemotherapy/Radiotherapy for Cervical Cancer [J]. *Journal of clinical oncology*, 2023, 41(29):4603-4604.
- [3] 白云鹤,王阳,齐丽丽,等. 乳腺癌患者手术前后 CA-153、SCC 和 HE4 水平变化及复发预测分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(9):1570-1573.
- [4] 钱永连,钟玉芳,徐云峰,等. 食管鳞状细胞癌患者血清 sPD-L1、TK1 表达水平及对预后的影响 [J]. *临床误诊误治*, 2022, 35(9):47-51.
- [5] 陈玉平,李柯良,盛春泉,等. 双肾上腺皮质激素样酶 1 小分子抑制剂的研究进展 [J]. *药理学*, 2022, 57(10):2914-2920.
- [6] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 宫颈癌诊断与治疗指南(第四版) [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(6):613-622.
- [7] Pachigolla SL, Markovina S, Lin AJ, et al. Intensity Modulated Radiation Therapy and Concurrent Chemotherapy for Locally Advanced Cervical Cancer Not Amenable to Brachytherapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 111(3S):620.
- [8] Pereira E, Nair N, Gorski J, et al. The addition of chemotherapy to adjuvant radiotherapy in patients with intermediate-risk stage IB cervical cancer and the effect on survival [J]. *Gynecol Oncol*, 2017, 124(1):163-67.
- [9] 李红,伍文霞,王文艳,等. 三维能量多普勒超声及血清 FGFR4、Spondin-2 对宫颈癌化疗疗效的评估价值 [J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(15):12-18.
- [10] 穆雪峰,康文全,丁巍,等. 血清胸苷激酶 1 对老年大肠癌的预测及术后监测效果评价 [J]. *国际老年医学杂志*, 2021, 42(1):43-45.
- [11] 曾琛,杨光华,向森,等. HSP60 和 TK1 在宫颈癌中的表达 [J]. *安徽医学*, 2021, 42(3):261-266.
- [12] 陈雁南,李飞燕,白忻如,等. 高效孕激素联合化疗治疗子宫内膜癌的疗效及对患者血清肿瘤标志物和炎症因子的影响 [J]. *癌症进展*, 2021, 19(8):840-843.
- [13] 李高峰,曾兰芬. MRI、经阴道超声联合血清 CA724 和 HE4 检测诊断卵巢癌价值 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(11):2583-2586.
- [14] 杨开华,周乐源. 非小细胞肺癌组织 DCLK1 和 Bmi-1 蛋白表达及其与三维适形放疗效果的相关性研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(6):177-182.
- [15] 樊涛,李江鹏. MicroRNA-216b 靶向 DCLK1 调控卵巢癌 HO-8910 细胞的增殖迁移和侵袭 [J]. *河北医学*, 2021, 27(4):534-538.

血清维生素D、IL-6及IL-8水平与早产儿支气管肺发育不良的相关性

张佳* 宋宴宏 孙茜 马霞

[摘要] 目的 分析血清维生素D、白介素-6(IL-6)、白介素-8(IL-8)水平与早产儿支气管肺发育不良(BPD)的相关性。方法 选择2020年1月至2023年1月于唐山市妇幼保健院三级新生儿重症监护病房出生的早产儿(胎龄 ≤ 35 周,住院时长 ≥ 28 d)216例,依据BPD诊断标准分为BPD组($n=120$)、非BPD组($n=96$)。比较两组第1、7、14、21、28d血清1,25-二羟维生素D₃[1,25-(OH)₂D₃]、IL-6、IL-8水平变化。比较BPD组出院时不同病情程度血清1,25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平变化。分析血清1,25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平与FiO₂水平变化的相关性。结果 随着时间推移,两组血清1,25-(OH)₂D₃水平均在第21d降到最低值,且BPD组在各时间点血清1,25-(OH)₂D₃水平均低于非BPD组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。随着时间推移,两组血清IL-6、IL-8水平分别在第14、21d达到顶峰,且BPD组各时间血清IL-6、IL-8水平均高于非BPD组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。1,25-(OH)₂D₃水平:重度<中度<轻度,IL-6、IL-8水平:重度>中度>轻度,差异具有统计学意义($P<0.05$)。以血清1,25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8为因变量,经Pearson's Correlation皮尔逊相关性结果得知,血清1,25-(OH)₂D₃与FiO₂水平呈负相关,血清IL-6、IL-8水平与FiO₂水平呈正相关($P<0.05$)。结论 血清维生素D、IL-6及IL-8水平与早产儿BPD发生发展具有一定联系,动态监测上述水平有利于评估早产儿BPD病情发展,并为临床实践中早期发现和干预BPD提供有价值的参考信息。

[关键词] 维生素D; IL-6; IL-8; 早产儿; 支气管肺发育不良

Correlation between serum levels of vitamin D, IL-6 and IL-8 and bronchopulmonary dysplasia in premature infants

ZHANG Jia*, SONG Yanhong, SUN Qian, MA Xia

(Neonatal Department 2, Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between serum levels of vitamin D, interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and bronchopulmonary dysplasia (BPD) in preterm infants in order to find more effective treatment. **Methods** A total of 216 premature infants (gestational age ≤ 35 weeks, length of stay ≥ 28 days) born in the tertiary neonatal intensive care unit at Tangshan Maternal and Child Health Hospital from January 2020 to January 2023 were selected and divided into a BPD group ($n=120$) and a non-BPD group ($n=96$) according to the diagnostic criteria for BPD. The study aimed to compare the changes in serum 1, 25-dihydroxyvitamin D₃, 1, 25-(OH)₂D₃, IL-6, and IL-8 levels on the 1st, 7th, 14th, 21st, and 28th days between the two groups. Additionally, the research examined the changes in serum 1, 25-(OH)₂D₃, IL-6, and IL-8 levels in the BPD group at the time of discharge from the hospital with different degrees of the disease. Furthermore, the study analyzed the correlation between serum 1, 25-(OH)₂D₃, IL-6, and IL-8 levels and changes in FiO₂ levels. **Results** Over time, serum 1, 25-(OH)₂D₃ levels in both groups decreased to their lowest value at the 21st day, with levels in the BPD group consistently lower than those in the non-BPD group at all-time

基金项目:河北省医学科学研究项目(20241366)

作者单位:唐山市妇幼保健院新生儿二科,河北,唐山 063000

*通信作者:张佳, E-mail: zhangjiazj26@163.com

points. This difference was statistically significant ($P<0.05$). Similarly, serum IL-6 and IL-8 levels peaked at the 14th and 21st day in both groups, with levels in the BPD group consistently higher than those in the non-BPD group at all times. This difference was statistically significant ($P<0.05$). The order of severity for 1, 25-(OH)₂D₃ level was: severe <moderate <mild, IL-6 and IL-8 levels: severe >moderate >mild, the difference was statistically significant ($P<0.05$). According to Pearson's Correlation results, serum 1, 25-(OH)₂D₃ was negatively correlated with FiO₂ levels, and serum IL-6 and IL-8 levels were positively correlated with FiO₂ levels ($P<0.05$). **Conclusion** Serum levels of vitamin D, IL-6 and IL-8 are associated with the development of BPD in premature infants. Regular monitoring of these levels helps evaluate progression of BPD in preterm infants, and offers crucial insights for the timely identification and treatment of BPD in clinical settings.

[KEY WORDS] Vitamin D; IL-6; IL-8; Preterm infants; Bronchopulmonary dysplasia

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)属于肺部疾病,是早产儿的严重并发症之一^[1]。BPD发病机制涉及多个方面,如长期用氧、机械通气等可导致早产儿肺部受到严重损伤或发生炎症反应,不利于肺部正常发育。近年,随着医学研究的逐步深入,临床对BPD的发病机制有了进一步了解。国外有学者经动物模型发现,维生素D可促进胚胎肺发育^[2]。在人体中,1,25-二羟维生素D₃[1, 25-dihydroxyvitamin D₃, 1, 25-(OH)₂D₃]是维生素D的活性形式,其通过与维生素D受体结合,在多种细胞组织中发挥生物效应^[3]。诸多研究表明,肺部炎症在BPD发病过程中起着关键作用,白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)为炎症因子的典型代表,它们在BPD炎症反应过程中扮演着重要角色^[4-5]。近年来,随着医疗技术的进步,BPD的治疗方法也不断更新和完善。目前,主要的治疗方法包括机械通气和抗炎治疗等,上述方法在一定程度上能够缓解BPD症状,但仍存在许多挑战和未解决的问题。因此,本文旨在进一步分析血清维生素D、IL-6及IL-8水平与早产儿BPD的相关性,以寻找更有效的治疗方法。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选择2020年1月至2023年1月于唐山市妇幼保健院三级新生儿重症监护病房出生的早产儿(胎龄 ≤ 35 周,住院时长 ≥ 28 d)242例,纳入标准:①病例资料完全;②研究期间未死亡或转院;③经受试者监护人知晓且同意;④孕妇均为剖宫产,年龄25~30岁。排除标准:①伴有染色体异常、TORCH感染等;②母亲有内分泌、遗传代谢性疾病史;③伴有先天性心脏病或其他先天性代谢异

常疾病;④伴有窒息、双胎输血综合征。经纳入、排除标准,符合条件的早产儿216例,依据BPD诊断标准^[6]分为BPD组($n=120$)、非BPD组($n=96$)。BPD组:男、女分别为68、52例,平均胎龄(28.34 ± 3.45)周,平均出生体重(1.30 ± 0.37)kg,平均肺表面活性物质(Pulmonary surfactant, PS)应用次数(3.15 ± 0.50)次;非BPD组:男、女分别为55、41例,平均胎龄(29.11 ± 3.60)周,平均出生体重(1.47 ± 0.42)kg,PS应用次数(3.50 ± 0.58)次。两组资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。本研究经医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 早产儿基本治疗措施

首先,呼吸机行辅助治疗、连续气道正压通气;其次,据药敏实验结果给予敏感抗生素控制感染;最后,限制液体量,调节机体水、电解质和酸碱平衡、使用PS促进早产儿的生长发育。

1.2.2 标本采集

所有受试者分别于入院第1 d晨起及住院后第7、14、21、28 d晨起空腹状态行肘静脉血采集3 mL,放入离心机离心(3 000 r/min, 15 min, 离心半径8 cm),取1.5 mL血清样本,放置-70℃冰箱中待测。采用美国Beckman Coulter公司的C702型免疫分析仪测血清维生素D(采用1, 25-(OH)₂D₃表示),采用酶联免疫吸附法检测血清IL-6、IL-8水平。1, 25-(OH)₂D₃试剂盒来自广东固康生物科技有限公司,IL-6、IL-8试剂盒均来自武汉纯度生物科技有限公司。

1.2.3 BPD组病情程度

出院时,以《实用新生儿学》^[7]评价BPD组病情程度,具体标准:FiO₂为自然空气水平(约0.21)为轻度;FiO₂小于0.30为中度;FiO₂为0.30及以上,或需持续气道正压力通气、机械通气的情况为重度。

1.3 观察指标

比较两组第1、7、14、21、28 d血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平变化;比较BPD组出院时不同病情程度血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平变化;分析血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平与FiO₂水平变化的相关性。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计学软件包处理数据,正态分布的计量资料($\bar{x} \pm s$),方差齐的两组间用独立样本 t 检验,多个均值间用单因素方差分析,行LSD检验;计数资料用 χ^2 检验;采用Pearson's Correlation皮尔逊相关性分析血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平与FiO₂水平变化的相关性;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清1, 25-(OH)₂D₃水平动态变化比较

随着时间的推移,两组血清1, 25-(OH)₂D₃水平均在第21 d降到最低值,且BPD组在各时间点血清1, 25-(OH)₂D₃水平均低于非BPD组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组血清IL-6水平动态变化比较

随着时间增长,两组血清IL-6水平在第14 d达到顶峰,且BPD组各时间血清IL-6水平均高于非BPD组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组血清IL-8水平动态变化比较

随着时间增长,两组血清IL-8水平在第21 d达到顶峰,且BPD组各时间血清IL-8水平均高于非BPD组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 BPD组不同病情程度血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平比较

1, 25-(OH)₂D₃水平:重度<中度<轻度,IL-6、IL-8水平:重度>中度>轻度,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平与FiO₂水平变化的相关性

以血清1, 25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8为因变量,经Pearson's Correlation皮尔逊相关性结果得知,血清1, 25-(OH)₂D₃与FiO₂水平呈负相关($r = -0.617, P < 0.001$),血清IL-6、IL-8水平与FiO₂水平呈正相关($r = 0.693, 0.754, P < 0.001$)。

表1 两组血清1, 25-(OH)₂D₃水平动态变化比较 [$(\bar{x} \pm s)$, ng/mL]

Table 1 Comparison of dynamic changes in serum 1, 25-(OH)₂D₃ levels between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, ng/mL]

组别	<i>n</i>	第1 d	第7 d	第14 d	第21 d	第28 d
非BPD组	96	23.74±5.82	22.43±5.51	21.68±5.37 ^a	20.88±5.26 ^{ab}	24.35±6.01 ^{abcd}
BPD组	120	16.52±4.40	15.15±3.72 ^a	14.36±3.41 ^a	13.26±3.04 ^{abc}	14.55±3.50 ^{cd}
<i>t</i> 值		10.380	11.554	12.178	13.332	14.973
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与第1 d比较,^a $P < 0.05$;与第7 d比较,^b $P < 0.05$;与第14 d比较,^c $P < 0.05$;与第21 d比较,^d $P < 0.05$ 。

表2 两组血清IL-6水平动态变化比较 [$(\bar{x} \pm s)$, ng/mL]

Table 2 Comparison of dynamic changes in serum IL-6 levels between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, ng/mL]

组别	<i>n</i>	第1 d	第7 d	第14 d	第21 d	第28 d
非BPD组	96	206.11±18.63	234.54±19.66 ^a	271.08±21.32 ^{ab}	265.17±20.50 ^{ab}	255.16±20.36 ^{abcd}
BPD组	120	317.14±30.15	355.28±32.26 ^a	448.50±37.61 ^{ab}	371.63±33.15 ^{abc}	390.55±34.27 ^{abcd}
<i>t</i> 值		31.572	32.190	41.214	27.528	34.174
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与第1 d比较,^a $P < 0.05$;与第7 d比较,^b $P < 0.05$;与第14 d比较,^c $P < 0.05$;与第21 d比较,^d $P < 0.05$ 。

表3 两组血清IL-8水平动态变化比较 [$(\bar{x} \pm s)$, ng/mL]

Table 3 Comparison of dynamic changes in serum IL-8 levels between the two groups [$(\bar{x} \pm s)$, ng/mL]

组别	<i>n</i>	第1 d	第7 d	第14 d	第21 d	第28 d
非BPD组	96	0.15±0.02	0.36±0.12 ^a	0.63±0.21 ^{ab}	0.88±0.29 ^{ab}	0.82±0.26 ^{abcd}
BPD组	120	0.23±0.06	0.55±0.19 ^a	0.97±0.32 ^{ab}	1.57±0.60 ^{abc}	1.33±0.57 ^{abcd}
<i>t</i> 值		12.514	8.529	8.976	10.339	8.114
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与第1 d比较,^a $P < 0.05$;与第7 d比较,^b $P < 0.05$;与第14 d比较,^c $P < 0.05$;与第21 d比较,^d $P < 0.05$ 。

表4 BPD组不同病情程度血清1,25-(OH)₂D₃、IL-6、IL-8水平变化比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum levels of 1,25-(OH)₂D₃, IL-6 and IL-8 in BPD group with different disease degree ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	1,25-(OH) ₂ D ₃ (ng/mL)	IL-6(ng/L)	IL-8(ng/mL)
轻度	40	19.08±5.07	260.55±30.40	0.05±0.01
中度	42	16.23±4.13 ^a	311.18±31.26 ^a	0.24±0.09 ^a
重度	38	14.15±3.02 ^{ab}	383.29±32.73 ^b	0.40±0.13 ^b
F值		13.74	149.54	145.90
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度比较,^aP<0.05;与中度比较,^bP<0.05。

3 讨论

国内外越来越多研究指出,维生素D的缺乏与BPD发病具有紧密联系^[8-9]。维生素D在肺发育中起到一定关键作用,其缺乏可能促进BPD发展。其一,可加快促进内毒素暴露后的肺发育,对肺中维生素D受体及相关酶表达造成影响;其二,维生素D缺乏可能降低CYP24A1(维生素D调节酶)及减少肺中维生素D受体、1 α -羟化酶(1 α -hydroxylase, 1 α -OHase)的表达,从而促进内毒素暴露后BPD发展;其三,对血管生成及发生过程造成影响,进而发生肺损伤^[10]。本次研究发现,随着时间的推移,两组血清1,25-(OH)₂D₃水平均在第21d水平降到最低值,且BPD组在各时间点血清1,25-(OH)₂D₃水平均低于非BPD组;随着BPD组病情程度的增加,血清1,25-(OH)₂D₃水平呈现越来越低的趋势;血清1,25-(OH)₂D₃水平与FiO₂水平呈负相关。结果与卢田甜等^[11]研究结果一致,说明维生素D在BPD发病过程中发挥重要作用。

Park等^[12]发现,若产前缺乏维生素D,可大大增加气道炎症发生的概率。国内研究也表明,BPD患者肺组织中存在大量的炎性细胞浸润,包括巨噬细胞、中性粒细胞和T淋巴细胞等,当受到一定刺激后,会释放IL-6和IL-8等炎性细胞,对BPD发生起到加速、加重的作用^[12-13]。IL-6是一种促炎因子,能够促进炎症细胞的活化和聚集。研究表明,IL-6的上调可以诱导肺部炎症细胞的活化,从而加重肺部的炎症反应^[14]。IL-8是一种重要的趋化因子,能够吸引和激活炎症细胞,参与炎症反应。有研究发现,慢性肺病高风险的早产儿支气管肺泡灌洗液中的IL-8水平呈上升水平^[15]。本研究结果显示,随着时间推移,两组血清IL-6、IL-8水平分别第14、21d达到顶峰,提示在这两个时间点,肺部炎症反应的表现可能较为剧烈,故针对这两个时间点的抗炎治

疗策略可能更为有效。此外,BPD组各时间血清IL-6、IL-8水平均高于非BPD组,表明IL-6和IL-8在BPD的发病机制中发挥了关键作用,通过早期监测上述炎症因子,利于临床更好了解患者炎症反应状况,进而制定更为精准的治疗方案。本研究进一步经Pearson's Correlation皮尔逊相关性结果得知,血清IL-6、IL-8水平与FiO₂水平呈正相关,进一步证实炎症反应在BPD肺损伤中的重要作用。动态监测IL-6、IL-8水平有助于评估BPD病情的进展,从而及时调整治疗方案。但目前该方面研究仍处于初级阶段,需要更多的实验证据和临床研究来证实,在未来研究中,将深入探讨IL-6和IL-8在BPD中的作用机制、寻找有效的调控方法。

综上所述,血清维生素D、IL-6及IL-8水平与早产儿BPD发生发展具有一定联系,动态监测上述水平有利于评估早产儿BPD病情发展,并为临床实践中早期发现和干预BPD提供有价值的参考信息。

参考文献

- [1] 许花芬,冯琼,李春蕾. miR-29a-3p与ELN在早产儿支气管肺发育不良患儿中的表达意义[J]. 重庆医学, 2022, 51(17):2932-2935+2941.
- [2] 白静莹,岳冬梅. Claudin-7蛋白在早产儿支气管肺发育不良发病机制中的影响作用[J]. 中国实用儿科杂志, 2023, 38(2):145-150.
- [3] 王秋霞,江君生,卢红艳,等. 早产儿支气管肺发育不良的影响因素分析[J]. 江苏医药, 2022, 48(12):1225-1228,1233.
- [4] 贾楠,贺玉娟,赵晓晓,等. 血流动力学指标对早产儿支气管肺发育不良的预测价值研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(8):963-968.
- [5] 戴淑珍,李书书,周美云,等. 支气管肺发育不良伴肺动脉高压的危险因素评估与列线图预测模型构建[J]. 中华儿科杂志, 2023, 61(10):902-909.
- [6] 王陈红,沈晓霞,陈鸣艳,等. 不同诊断标准下早产儿支气管肺发育不良诊断及预后分析[J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(5):381-386.
- [7] [1]金汉珍,黄德珉,官希吉. 实用新生儿学-第3版[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003.
- [8] 王建伟,张庆龙,王楠楠,等. 重症肺炎患者治疗期间血清sICAM-1、IL-8动态监测对病情进展的影响[J]. 广东医学, 2023, 44(1):13-18.
- [9] Sun T, Yu HY, Yang M, et al. Risk of asthma in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and meta-analysis[J]. World J Pediatr, 2023, 19(6):549-556.
- [10] 欧阳晓君,刘王凯,彭婉妮,等. 不同诊断标准下支气管肺发育不良的呼吸系统预后分析及诊断的预测比较[J]. 中华围产医学杂志, 2022, 25(6):416-423.

(下转第577页)

· 论 著 ·

曲妥珠单抗联合ECT化疗方案对晚期乳腺癌患者疗效、血清CA153、CEA及造血功能影响

牛猛¹ 董燕兵¹ 李孝涛² 张俊生³ 张峰^{1*}

[摘要] **目的** 探讨曲妥珠单抗联合表柔比星(E)+环磷酰胺(C)+紫杉醇(T)化疗方案对晚期乳腺癌患者疗效、血清癌抗原153(CA153)、癌胚抗原(CEA)及造血功能的影响。**方法** 选择安徽阜南县人民医院2019年10月至2022年10月收治的60例晚期乳腺癌患者,按照随机数表法分为ECT组30例(接受表柔比星+环磷酰胺、多西他赛治疗)和联合组30例(ECT组基础上使用曲妥珠单抗),比较两组临床疗效、血清CA153、CEA、造血功能、不良反应。**结果** 联合组有效率高于ECT组(96.67% vs. 80.00%),差异有统计学意义($\chi^2=4.043, P<0.05$)。两组血清CA153、CEA均较治疗前降低,疗程结束时,联合组上述水平低于ECT组,差异有统计学意义($t=14.795, 17.472, P<0.05$)。两组血小板计数(PLT)、血红蛋白(Hb)、白细胞计数(WBC)均较治疗前降低,疗程结束时,两组上述指标及不良反应比较差异无统计学意义($t=1.052, 1.751, 1.676, P>0.05$)。**结论** 相较于单一使用ECT化疗方案,ECT化疗方案联合曲妥珠单抗可以提高晚期乳腺癌患者临床疗效,降低血清CA153、CEA水平,且不会对患者造血功能造成影响。

[关键词] 乳腺癌;晚期;曲妥珠单抗;ECT化疗方案;癌抗原153;癌胚抗原

Effect of trastuzumab combined with ECT chemotherapy regimen on efficacy, serum CA153, CEA and hematopoietic function in patients with advanced breast cancer

NIU Meng¹, DONG Yanbing¹, LI Xiaotao², ZHANG Junsheng³, ZHANG Feng^{1*}

(1. Department of Oncology, Funan County People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236000; 2. Thoracic Surgery, General Surgery, Funan County People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the impact of trastuzumab combined with epirubicin (E), cyclophosphamide (C) and taxol (T) chemotherapy on therapeutic effects, serum carbohydrate antigen 153 (CA153), carcinoembryonic antigen (CEA) and hematopoietic function in patients with advanced breast cancer. **Methods** A total of 60 patients with advanced breast cancer who were admitted to Funan County People's Hospital in Anhui Province from October 2019 to October 2022 were selected. They were divided into two groups: the ECT group (30 patients receiving ECT chemotherapy) and the combination group (30 patients treated with trastuzumab in addition to ECT chemotherapy), based on a random number table. Clinical efficacy, serum levels of CA153 and CEA, hematopoietic function, and adverse reactions were compared between the two groups. **Results** The effective rate in the combination group was higher than that in the ECT group (96.67% vs. 80.00%), with a statistically significant difference ($\chi^2=4.043, P<0.05$). After treatment, serum CA153 and CEA levels in both groups decreased. By the end of the treatment course, serum CA153 and CEA levels in the combination group were lower than those in the ECT group, with statistically significant differences ($t=14.795, 17.472, P<0.05$). Platelet count (PLT), hemoglobin (Hb), and white blood cell count (WBC) decreased in both groups after treatment. At the end of the treatment course, there were no statistically significant differences in the above indicators or the incidence of adverse reactions between the two groups ($t=$

基金项目:安徽省科技攻关计划项目(19010422173)

作者单位:1.阜南县人民医院肿瘤科,安徽,阜阳 236000

2.阜南县人民医院胸心外科,普外科,安徽,阜阳 236000

*通信作者:张峰, E-mail: nalichen9310@163.com

1.052, 1.751, 1.676, $P>0.05$). **Conclusion** Compared to using ECT chemotherapy alone, combining ECT chemotherapy with trastuzumab can enhance the clinical outcomes for patients with advanced breast cancer. This combination treatment also lowers serum CA153 and CEA levels without impacting hematopoietic and immune functions.

[KEY WORDS] Breast cancer; Advanced stage; Trastuzumab; ECT chemotherapy; Carbohydrate antigen 153; Carcinoembryonic antigen

女性乳腺癌已经超过肺癌成为全球最常见的癌症,新发病例年趋增多,其危害性不仅体现在生理层面,还涉及患者的心理、社会及生活方面^[1]。乳腺癌具有高度异质性,不同亚型的乳腺癌治疗手段有所差异,人类表皮生长因子受体2(Human epidermal growth factor receptor 2, HER2)阳性乳腺癌是乳腺癌的一种常见亚型,约占全部乳腺癌病例的25%左右,临床特点为肿瘤细胞过度表达HER2蛋白^[2]。据报道,HER2乳腺癌患者更易转移、复发,预后较差,但这类乳腺癌对化疗和靶向药物具有较高的敏感性^[3]。靶向药物是近年来临床肿瘤治疗的新兴疗法,彻底改变了晚期乳腺癌患者的整体预后,曲妥珠单抗是HER2乳腺癌的靶向治疗药物,有报道指出曲妥珠单抗和化疗药物联用可以提高晚期乳腺癌患者疗效及总生存率^[4]。表柔比星(E)+环磷酰胺(C)+紫杉醇(T)化疗方案是临床对于已确诊的晚期乳腺癌患者常用的治疗手段,虽然在一定程度上能够杀灭肿瘤,但作用有限,且患者副作用较大。本研究将重点探讨二者联合治疗对晚期乳腺癌癌抗原153(Carbohydrate antigen 15-3, CA153)、癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)等指标的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年10月至2022年10月安徽阜南县人民医院(包括北区)肿瘤相关科室收治的60例晚期乳腺癌患者。纳入标准:①经穿刺活检确诊为乳腺癌晚期^[5],经染色法确认为HER-2阳性;②女性,年龄>18岁;③Karnofsky评分^[6]>70分;④病历资料完整;⑤知情研究内容,有良好的依从性,愿意配合随访。排除标准:①既往抗HER2药物使用史和化疗药物治疗史;②复发患者;③预计生存时间<3个月;④合并心肝肾等严重功能障碍、骨髓造血功能抑制、贫血、严重感染性疾病、活动性溃疡等;⑤对曲妥珠单抗、化疗药品及辅料过敏者;

⑥合并身体其他部位恶性肿瘤;⑦治疗不耐受,中断疗程者。按照随机数表法将60例晚期乳腺癌患者分为ECT组30例和联合组30例,ECT组年龄39~72(48.62±6.41)岁;绝经20例;患侧:左侧15例,右侧15例;TNM分期^[7]:Ⅲ期18例,Ⅳ期12例;分化程度:高分化7例,中分化13例,低分化10例。联合组年龄31~73(47.86±7.01)岁;绝经21例;患侧:左侧16例,右侧14例;TNM分期:Ⅲ期19例,Ⅳ期11例;分化程度:高分化8例,中分化13例,低分化9例。两组基础资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),均衡可比。研究经安徽阜南县人民医院医学伦理委员会批准。

1.2 治疗方法

ECT组采用单一ECT化疗方案治疗,使用表柔比星+环磷酰胺+多西他赛治疗(21d为一个周期),第1d开始用药,60 mg·m⁻²表柔比星(10 mg注射剂,瀚晖制药有限公司,国药准字H19990280)加入生理盐水静脉注射,600 mg·m⁻²环磷酰胺(1.0 g注射剂,国药一心制药有限公司,国药准字H20058600)加入生理盐水静脉注射;75 mg·m⁻²多西他赛(1 mL:40 mg注射剂,齐鲁制药有限公司,国药准字H20041129)静脉注射。联合组采用曲妥珠单抗联合ECT化疗方案,化疗方案参考ECT组,8 mg·kg⁻¹曲妥珠单抗[440 mg注射剂, Roche Pharma (Schweiz) AG, 国药准字SJ20181016]静脉滴注,1次/3周,第2次开始调整剂量为6 mg·kg⁻¹。均治疗4个周期。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效

参照实体瘤疗效^[8],于治疗结束后2周评价临床疗效,完全缓解(CR):目标病灶消失;部分缓解(PR):病灶直径和减小超过基线30%;稳定(SD):介于PR、PD之间;进展(PD):病灶直径和增大超过基线20%。

1.3.2 血清CA153、CEA水平的检测

于治疗前及疗程结束时采集空腹静脉血3 mL

×3,其中2份3 000 r(离心半径13.5 cm)离心10 min,留存血清,另外一份保存全血,取一份留存血清使用酶联免疫吸附试验检测血清CA153(试剂盒为上海雅酶生物医药科技有限公司产品,货号:HJ014)、CEA(试剂盒为上海生工生物工程股份有限公司产品,货号:D711374)。

1.3.3 造血功能

取一份留存全血样本使用XS-1000i全自动血液分析仪(日本Sysmex公司产品)检测血小板计数(Platelet, PLT)、血红蛋白(Haemoglobin, Hb)、白细胞计数(White blood cell, WBC)。

1.3.4 不良反应

参照CTCAE v4.0标准^[9]判断肿瘤不良反应。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0进行数据分析。计量数据符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间使用 t 检验;计数数据以 $n(\%)$ 表示,组间使用 χ^2 、Fisher精确检验,等级资料采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组TNM分期及临床疗效比较

疗程结束时,两组TNM分期差异无统计学意义($P > 0.05$),联合组有效率高于ECT组(96.67% vs. 80.00%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组血清CA153、CEA比较

两组血清CA153、CEA均较治疗前降低,疗程

结束时,联合组低于ECT组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组血清CA153、CEA比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of serum CA153 and CEA between the two groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	CA153(U/mL)		CEA(μ g/L)	
	治疗前	疗程结束时	治疗前	疗程结束时
联合组	58.64±6.42	9.52±2.36 ^a	62.49±4.86	6.22±0.94 ^a
ECT组	59.75±8.12	20.13±3.14 ^a	63.04±5.61	11.52±1.37 ^a
t 值	0.587	14.795	0.406	17.472
P 值	0.559	<0.001	0.686	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组造血功能比较

两组PLT、Hb、WBC均较治疗前降低,疗程结束时,两组PLT、Hb、WBC差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

2.4 两组KPS评分比较

两组恶心呕吐、脱发、皮肤反应、心功能不全、肝肾功能受损、骨髓抑制发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表4 两组不良反应比较 $[n(\%)]$

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

组别	恶心呕吐	脱发	皮肤反应	心功能不全	肝肾功能受损	骨髓抑制
联合组	15	3(10.00)	4(3.33)	2(6.67)	6(3.33)	3(10.00)
ECT组	12	3(10.00)	3(6.67)	1(3.33)	5(3.33)	2(6.67)
χ^2 /Fisher值	0.606				0.111	
P 值	0.436	1.000	1.000	1.000	0.739	1.000

表1 两组临床疗效比较 $[n(\%)]$

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

组别	TNM分期				临床疗效				
	I期	II期	III期	IV期	CR	PR	SD	PD	有效率
联合组	3(10.00)	20(66.67)	7(23.33)	0(0.00)	1(3.33)	18(60.00)	10(33.33)	1(3.33)	29(96.67)
ECT组	1(3.33)	16(53.33)	12(40.00)	1(3.33)	0(0.00)	12(40.00)	12(40.00)	6(20.00)	24(80.00)
Z/χ^2 值		1.824					2.190		4.043
P 值		0.068					0.029		0.044

表3 两组造血功能比较 $(\bar{x} \pm s)$

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

组别	PLT($\times 10^9 \cdot L$)		Hb(g/L)		WBC($\times 10^9 \cdot L$)	
	治疗前	疗程结束时	治疗前	疗程结束时	治疗前	疗程结束时
联合组	178.59±46.25	149.36±34.22 ^a	117.89±20.12	106.52±12.37 ^a	6.88±1.83	4.62±1.77 ^a
ECT组	174.85±45.18	161.78±41.86 ^a	116.74±24.55	112.69±14.82 ^a	6.74±1.69	5.35±1.60 ^a
t 值	0.317	1.052	0.198	1.751	0.308	1.676
P 值	0.753	0.297	0.843	0.085	0.759	0.099

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

HER2 阳性乳腺癌是最常见的乳腺癌类型之一,尽管它对化疗药物的敏感性高于其他亚型,但却没有带来较好的预后,据研究报告,HER2 阳性晚期乳腺癌患者接受治疗后,仍有 62.9% 的患者无病生存期未超过 1 年,68.3% 的患者发生肝转移^[10]。目前如何提高晚期乳腺癌患者的疗效是临床面临的一大难题。

表柔比星属于蒽环类抗癌药,抗癌机理是干扰肿瘤 DNA 转录合成,使肿瘤细胞中止于 G2 期,阻止肿瘤分裂,但研究指出表柔比星用于晚期乳腺癌已出现耐药性^[11]。环磷酰胺进入机体后可以被分解为醛磷酰胺,醛磷酰胺可水解为酰胺氮芥和丙烯醛,均为肿瘤细胞有杀灭作用,可以破坏肿瘤细胞 DNA 和 RNA 功能,阻止肿瘤分裂^[12]。表柔比星和环磷酰胺为 EC 方案,加入多西他赛则为 ECT 方案,有丝分裂是肿瘤细胞分裂过程中的重要一环,其中微管网络的解聚是组装形成纺锤体的前提,多西他赛可以干扰微管蛋白聚合,抑制其解聚,从而中止有丝分裂过程^[13],该方案虽对肿瘤有一定杀灭效果,但仍未达到临床预期。曲妥珠单抗可以诱导细胞周期阻滞,抑制血管新生,使肿瘤细胞凋亡,并诱导机体产生免疫反应^[14]。本研究结果显示,联合组有效率为 96.67%,高于 ECT 组的 80.00%,说明曲妥珠单抗联合 ECT 化疗方案对晚期乳腺癌患者有协同增效作用,可以提高晚期乳腺癌患者的临床疗效。陈莉杰等^[15] 研究报告,多西他赛、环磷酰胺化疗联合曲妥珠单抗可以提供 HER 阳性患者近期疗效,并改善生活质量,与本研究结果部分相似。曲妥珠单抗的抗癌机制与阻断 PI3K/Akt 通路、抑制 PI3K 磷酸化有关,能够给让肿瘤细胞的生长周期停滞在 G 期,使肿瘤细胞凋亡^[16]。

据研究报告,乳腺癌患者群体的血清 CA153、CEA 水平较乳腺良性病变群体和健康群体显著升高,且据动态监测,随着 CA153、CEA 水平越高,乳腺癌转移、复发几率也越高^[17]。本研究结果还显示,两组血清 CA153、CEA 均较治疗前降低,但疗程结束时,联合组血清 CA153、CEA 水平低于 ECT 组,这可能也是联合组疗效更佳的主要原因,提示了接受曲妥珠单抗和 ECT 化疗方案治疗的晚期乳腺癌患者,其血清 CA153、CEA 水平得到显著降低。曲妥珠单抗和化疗均会导致肿瘤患者出现毒

副作用,但本研究发现两组患者疗程结束时的造血功能差异无统计意义,两组恶心呕吐、脱发、皮肤反应、心功能不全等不良反应也无显著差异,说明与对照组相比,加入曲妥珠单抗治疗对晚期乳腺癌患者造血系统和免疫机制不会造成显著影响,也不会增加毒副作用。

综上所述,晚期乳腺癌患者使用曲妥珠单抗和 ECT 化疗方案治疗可以在单一 ECT 化疗方案基础上进一步提高患者肿瘤治疗有效率,降低血清 CA153、CEA 水平,且不会显著影响患者造血功能,毒副作用较小,值得推广应用。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [2] 罗师萍,张捷,俞育帅,等. HER2 阳性乳腺癌的靶向治疗进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2023, 28(8):876-886.
- [3] 杨柳,张明坤,季福庆,等. HER-2 阳性乳腺癌新辅助化疗疗效影响因素分析及相关预后模型的构建 [J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(11):2037-2041.
- [4] 郝凯峰,张明芳,仲广生. 吉西他滨联合曲妥珠单抗治疗人表皮生长因子受体 2 阳性晚期乳腺癌的疗效 [J]. *癌症进展*, 2023, 21(1):105-107.
- [5] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017 年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(9):695-759.
- [6] Friendlander AH, Ettinger RL. Karnofsky performance status scale [J]. *Spec Care Dentist*, 2009, 29(4):147-8.
- [7] Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN. Eighth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Breast Cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25(7):1783-1785.
- [8] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2):228-47.
- [9] CTCAEv4.0, Common Terminology Criteria for Adverse Events [EB/OL]. [2011/09/01] http://www.calgb.org/PublicMeetings/presentations/2009/summer_group/cra_cont_ed/06a_CTCAE-Setser_062009.pdf.
- [10] 肖琦琪,李智,石晶,等. 基于 HER2 阳性晚期乳腺癌患者预后因素分析的回顾性研究及预后模型的建立 [J]. *中国医科大学学报*, 2021, 50(1):57-62.
- [11] Luiz MT, Dutra JAP, Di Filippo LD, et al. Epirubicin: Biological Properties, Analytical Methods, and Drug Delivery Nanosystems [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2023, 53(5):1080-1093.

胎膜早破孕妇阴道微生态和胎盘分离菌及耐药性分析

章国平^{1*} 郭明亮² 张种¹ 贺锐¹

[摘要] **目的** 比较胎膜早破和正常破裂孕妇孕晚期(孕35~37周)阴道微生态、胎盘拭子细菌分布和耐药性情况,为临床预防和治疗提供病原学依据。**方法** 收集甘肃省妇幼保健院产科2020年1月1日至2022年6月30日胎盘拭子培养结果,将培养阳性的孕妇分成胎膜早破组和正常破裂组,比较两组基本临床特征及孕晚期阴道微生态、胎盘分离菌和药敏结果。**结果** 两组孕周、年龄、细菌性阴道病和正常微生态情况差异有统计学意义($P<0.05$);多因素 Logistic 回归分析显示孕周($\beta=-0.711$, $OR=0.491$)和正常微生态($\beta=-1.412$, $OR=4.103$)与胎膜早破发生呈负相关,年龄($\beta=0.076$, $OR=1.079$)呈正相关,细菌性阴道病的差异无统计学意义($P>0.05$)。两组胎盘主要分离菌为革兰阴性杆菌,差异无统计学意义($P>0.05$),以大肠埃希菌为主,检出率差异有统计学意义($P<0.05$),胎膜早破组产超广谱 β -内酰胺酶比例较高,对氨苄西林、头孢类耐药性高,差异有统计学意义($P<0.05$);其次是革兰阳性球菌(粪肠球菌和无乳链球菌为主),差异无统计学意义($P>0.05$)。无乳链球菌对青霉素类、糖肽类等敏感,对喹诺酮类耐药率较高;粪肠球菌对青霉素类、糖肽类、恶唑烷酮类等敏感,对红霉素和克林霉素的耐药性较高。**结论** 胎膜早破组年龄偏大且孕周小,孕晚期易发生阴道微生态异常,其胎盘拭子大肠埃希菌检出率、对青霉素和头孢类抗生素耐药性较高。

[关键词] 胎膜早破;阴道微生态;胎盘拭子;分离菌;耐药性

Analysis of vaginal microecology and placental isolates and drug resistance in pregnant women with premature rupture of membranes

ZHANG Guoping^{1*}, GUO Mingliang², ZHANG Chong¹, HE Rui¹

[1. Department of Clinical Laboratory, Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital (Gansu Province Central Hospital), Lanzhou, Gansu, China, 730050; 2. Department of Clinical Laboratory, Lanzhou Second People's Hospital, Lanzhou, Gansu, China, 730000]

[ABSTRACT] **Objective** To compare the vaginal microecology, placental swab bacterial distribution and drug resistance in pregnant women with premature rupture of membranes and normal rupture of membranes in late pregnancy (35-37 weeks of pregnancy), to provide etiological basis for clinical prevention and treatment. **Methods** The results of placental swab cultures at the Obstetrics Department of Gansu Provincial Maternity and Childcare Hospital from January 1, 2020 to June 30, 2022 were collected. Pregnant women with positive cultures were divided into two groups: those with premature rupture of membranes and those with normal rupture of membranes. The study analyzed the basic clinical characteristics, vaginal microecology in late pregnancy, and the distribution and drug sensitivity results of the main isolates in placental swab cultures of the two groups. **Results** There were significant differences in gestational age, bacterial vaginosis and normal microecology between the two groups ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that pregnancy week ($\beta=-0.711$, $OR=0.491$) and normal microecology ($\beta=-1.412$, $OR=4.103$) were negatively correlated with the occurrence of premature rupture of fetal membranes, while age ($\beta=0.076$, $OR=1.079$) was positively correlated. There was no significant difference in bacterial vaginosis ($P>0.05$). The main bacteria

基金项目:甘肃省卫生健康行业科研计划项目(GSWSQN2022-09);兰州市人才创新创业项目(2018-RC-23)

作者单位:1. 甘肃省妇幼保健院(甘肃省中心医院)临床检验中心,甘肃,兰州 730050

2. 兰州市第二人民医院临床检验中心,甘肃,兰州 730000

*通信作者:章国平, E-mail: 275452990@qq.com

isolated from the placenta between the two groups were gram-negative bacteria, with no significant difference ($P>0.05$), mainly *Escherichia coli*. The difference in detection rate was statistically significant ($P<0.05$). The proportion of ultra-broad spectrum β -lactamase production in the premature rupture group was higher, and the resistance to ampicillin and cephalosporin was also higher, with a statistically significant difference ($P<0.05$). The second most common bacteria were gram-positive cocci (*E. faecalis* and *Streptococcus agalactis*), with no statistically significant difference ($P>0.05$). *Streptococcus agalactis* is sensitive to penicillins and glycopeptides, with a high resistance rate to quinolones. *Enterococcus faecalis* was sensitive to penicillins, glycopeptides, and oxazolidinones, but had high resistance to erythromycin and clindamycin. **Conclusion** The premature rupture of membranes group includes both older and younger individuals, with vaginal microecological abnormalities more likely to occur in late pregnancy. The detection rate of *Escherichia coli* in placenta swabs as well as resistance to penicillin and cephalosporin antibiotics, is higher in this group.

[KEY WORDS] Premature rupture of membranes; Vaginal microecology; Placenta swab; Isolated bacteria; Drug resistance

胎膜早破是由多种原因导致临产前绒毛膜与羊膜发生非正常破裂,是最常见的分娩并发症,发生率为6%~12%,生殖道感染是胎膜早破重要原因之一^[1-3],胎盘拭子培养有助于宫内感染的辅助诊断。与正常孕妇相比,胎膜早破者是否存在孕晚期阴道微生态、胎盘分离菌和耐药性的差异,目前国内外研究报道尚少。本文通过分析比较胎膜早破与正常破裂孕妇阴道微生态环境、胎盘分离菌及耐药情况,为临床预防和诊治提供病原学依据,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2020年1月1日至2022年6月30日甘肃省妇幼保健院636例胎盘拭子培养阳性孕妇,根据临床诊断分成胎膜早破组(194例)和正常破裂组(442例)。收集两组临床资料,比较孕晚期阴道微生态、胎盘分离菌及药敏情况。纳入标准:近半月无抗生素、免疫抑制药等用药史;排除标准:多胎妊娠、前置胎盘、心脏病、呼吸系统疾病等。本研究已申请免除患者知情同意并经过医院伦理委员会审批通过。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集

专用棉签采集孕35~37周的患者阴道侧壁上1/3处的分泌物,均匀涂抹于清洁载玻片行形态学检测;另1根棉签于相同部位刮取分泌物置于试管内行功能学检测。

胎盘拭子采集是在分娩时胎盘娩出后用一次性无菌拭子于胎盘胎膜表面涂抹后,至于试管内及时送检。

1.2.2 阴道微生态检测

1.2.2.1 形态学检测 对涂片进行革兰染色镜检分析菌群结构,包括密集度:细菌的紧密度,反映菌群总生物量的多少(I~IV级);多样性:涂片中细菌种类(I~IV级);优势菌:涂片中生物量或种群密集度最大的细菌;病原微生物:可造成生殖道感染性疾病的滴虫或真菌等;白细胞计数: >10 个/HP提示可能有炎症存在^[4]。

1.2.2.2 功能学检测 测定 H_2O_2 、白细胞酯酶、唾液酸苷酶、 β -葡糖醛酸糖苷酶、凝固酶。以上诊断标准参考2016版《阴道微生态评价的临床应用专家共识》^[4]。

1.2.3 细菌培养鉴定

涂布法将胎盘拭子接种于血平板、巧克力平板(郑州安图),35℃的 CO_2 培养箱中培养24~48 h,全自动鉴定药敏分析仪(法国梅里埃)进行菌种鉴定和药敏试验。相关标准参考M100-S28^[5]。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, t 检验进行两样本比较;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验和Fisher确切概率法检验进行组间比较。多因素分析采用Logistic回归模型。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床特征和阴道微生态比较

两组孕周、年龄、细菌性阴道病、正常微生态情况差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。多因素Logistic回归分析显示孕周($\beta=-0.711, OR=0.491$)和正常微生态($\beta=-1.412, OR=4.103$)与胎膜早破发生

呈负相关,年龄($\beta=0.076, OR=1.079$)呈正相关,细菌性阴道病的差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表1 一般临床特征和阴道微生态比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$
Table 1 Comparison of general clinical features and vaginal microecology $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

临床特征	胎膜早破组 (n=194)	正常破裂组 (n=442)	t/χ^2 值	P值
孕周(周)	37.64±1.15	38.44±2.21	2.561	0.011
年龄(岁)	31.05±3.62	29.16±3.43	2.091	0.037
基础疾病				
妊娠期糖尿病	18(9.28)	36(8.14)	0.112	0.738
妊娠期高血压	10(5.15)	32(7.24)	0.475	0.490
贫血	28(14.43)	80(18.10)	0.643	0.423
乙肝、梅毒等传染病	4(2.06)	24(5.43)	1.105	0.293
羊水过多或过少	8(4.12)	38(8.60)	2.011	0.156
孕晚期阴道微生态				
需氧菌阴道炎	6(3.09)	28(6.33)	1.403	0.237
细菌性阴道病	82(42.27)	136(30.77)	3.957	0.047
外阴阴道假丝酵母菌病	8(4.12)	18(9.28)	0.082	0.775
混合感染 ^a	16(8.25)	12(2.71)	3.676	0.055
大量白细胞	24(12.37)	42(9.50)	0.597	0.439
正常微生态	58(29.90)	206(46.61)	7.752	0.045

注:^a表示两种及两种以上感染。

表2 一般临床特征和阴道微生态多因素分析
Table 2 Multifactor analysis of general clinical features and vaginal microecology

因素	β 值	S.E.值	Wald值	OR值	95% CI	P值
孕周	-0.711	0.136	27.312	0.491	0.376~0.641	0.009
年龄	0.076	0.038	4.001	1.079	1.002~1.162	0.045
正常微生态	-1.412	0.581	5.906	4.103	1.314~12.813	0.035
细菌性阴道病	1.477	0.794	3.465	4.381	0.925~20.757	0.063

2.2 胎盘拭子培养结果比较

两组主要分离菌均为革兰阴性杆菌,以大肠埃希菌为主;革兰阳性菌以粪肠球菌、无乳链球菌为主。除大肠埃希菌检出差异有统计学意义($P<0.05$),其他差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.3 大肠埃希菌耐药性比较

胎膜早破组大肠埃希菌对产超广谱 β -内酰胺酶(Extended-Spectrum β -lactamase, ESBLs)、氨基西林以头孢类(除头孢他啶)耐药性以及的比例较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.4 无乳链球菌耐药性比较

两组对青霉素类、糖肽类均敏感,而对喹诺酮类耐药率较高,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5。

2.5 粪肠球菌耐药性比较

两组对青霉素类、糖肽类、恶唑烷酮类等均敏感,对红霉素和克林霉素的耐药性较高,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表6。

表3 两组胎盘拭子培养结果比较 $[n(\%)]$
Table 3 Comparison of placental swab culture results between two groups $[n(\%)]$

菌株	胎膜早破组 (n=194)	正常破裂组 (n=442)	χ^2 值	P值
革兰阴性菌	132(68.04)	268(60.63)	1.585	0.208
大肠埃希菌	126(64.95)	234(52.94)	3.957	0.047
肺炎克雷伯菌	4(2.06)	20(4.52)	0.550	0.458
阴沟肠杆菌	2(1.03)	8(1.81)	0.006	0.981
奇异变形杆菌	0(0.00)	6(1.36)	0.019	0.185
革兰阳性菌	62(31.96)	174(39.37)	1.585	0.208
粪肠球菌	28(14.43)	56(12.67)	0.183	0.669
无乳链球菌	22(11.34)	56(12.67)	0.111	0.739
金黄色葡萄球菌	6(3.09)	16(3.62)	0.009	0.923
屎肠球菌	4(2.06)	12(2.71)	0.002	0.963
鹌鹑肠球菌	2(1.03)	12(2.71)	0.278	0.598
解链食子酸链球菌	0(0.00)	12(2.71)	0.037	0.062
单核细胞增多李斯特菌	0(0.00)	6(1.36)	0.019	0.185
咽峡炎链球菌	0(0.00)	4(0.90)	0.012	0.319

表4 两组胎盘拭子检出大肠埃希菌耐药性比较 $[n(\%)]$
Table 4 Comparison of Escherichia coli drug resistance detected in placental swabs between two groups $[n(\%)]$

抗生素	胎膜早破组 (n=126)	正常破裂组 (n=234)	χ^2 值	P值
产ESBLs	62(49.21)	82(35.04)	6.845	0.009
氨基西林	70(55.56)	64(27.35)	13.940	0.002
复方新诺明	48(38.10)	112(47.86)	1.582	0.208
左氧氟沙星	100(79.37)	170(72.65)	0.985	0.321
头孢西丁	8(6.35)	16(6.84)	0.035	0.851
头孢曲松	64(50.79)	54(23.07)	14.282	0.002
头孢呋辛	64(50.79)	56(23.93)	13.294	0.003
头孢噻肟	64(50.79)	58(24.78)	12.362	0.004
头孢他啶	22(17.46)	20(8.77)	3.157	0.076
头孢哌酮	64(50.79)	68(29.06)	8.329	0.003
头孢呋辛酯	64(50.79)	58(24.78)	12.362	0.002
哌拉西林他唑巴坦	6(4.76)	12(5.12)	0.063	0.802
阿莫西林克拉维酸	18(14.28)	20(8.55)	1.428	0.232
亚胺培南	0(0.00)	2(0.85)	0.011	0.544
美洛培南	0(0.00)	2(0.85)	0.011	0.544
厄他培南	0(0.00)	2(0.85)	0.011	0.544
阿米卡星	2(1.59)	2(0.85)	0.009	0.614
头孢哌酮舒巴坦	2(1.59)	2(0.85)	0.009	0.614
替加环素	0(0.00)	0(0.00)	-	-

注:表格中“-”表示两组数据均为0,未进行统计学分析。

3 讨论

胎膜早破是围生期最常见分娩并发症,会继发早产、新生儿窒息和脑损伤等不良妊娠结局,危害母婴健康,生殖道感染与之关系密切^[6-8]。本研究表明该地区胎膜早破组平均年龄大于对照组,低于北京地区(32.48岁)和南宁地区(32.15岁)^[9-10];发生胎膜早破平均孕周为37.64周,高于南宁地区(36.86周)^[10],与重庆地区(37.85周)接

表5 两组胎盘拭子检出无乳链球菌耐药性比较 [n(%)]

抗生素	胎膜早破组 (n=22)	正常破裂组 (n=56)	χ^2 值	P值
青霉素	0(0.00)	0(0.00)		
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)		
替加环素	0(0.00)	0(0.00)		
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)		
莫西沙星	18(81.81)	40(71.43)	3.140	0.103
左氧氟沙星	18(81.81)	40(71.43)	3.140	0.103

表6 两组胎盘拭子检出粪肠球菌耐药性比较 [n(%)]

抗生素	胎膜早破组 (n=28)	正常破裂组 (n=56)	χ^2 值	P值
青霉素	0(0.00)	0(0.00)		
氨苄西林	0(0.00)	0(0.00)		
红霉素	26(92.86)	54(96.43)	0.035	0.853
克林霉素	24(85.71)	50(89.29)	0.028	0.866
左氧氟沙星	8(28.57)	4(7.14)	1.969	0.161
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)		
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)		
达托霉素	0(0.00)	0(0.00)		

近^[11],因此,年龄是发生胎膜早破的危险因素之一,且存在地区差异,应加强高龄女性孕产保健工作,以减少或避免不良妊娠结局的发生。

由于妊娠期女性体内激素水平变化,影响阴道内菌群结构,抵御病原菌的能力下降,增加了妊娠不良结局的风险。本研究发现孕晚期阴道微生态异常与胎膜早破存在一定关系,尽早进行有效干预,利于降低胎膜早破的发生。由于阴道内pH的改变,细菌溶酶体分泌增加,提高羊膜组织上皮细胞间质细胞的裂解程度,是生殖道感染诱发胎膜早破的主要原因^[12]。本研究利用胎盘拭子培养辅助诊断宫内感染,发现两组患者胎盘分离菌均以大肠埃希菌为主,与国内其他研究一致^[13],由于大肠埃希菌是人体肠道正常定居菌以及女性特殊的生理构造,生殖道内更易检出该菌,且胎膜早破组更易感大肠埃希菌,产ESBLs比例、对氨苄西林和头孢类等耐药性较高。由于大量研究表明无乳链球菌是宫内感染的独立危险因素,是引起孕产妇和新生儿感染的重要病原菌^[14]。本研究显示两组胎盘无乳链球菌检出率达11.34%和12.67%,高于国内其他研究^[15],与本院为省级妇幼保健专科

医院,孕产妇相对较多,感染症状较重有关。针对以上主要分离菌,进行经验性预防或治疗时宜选择两组均敏感的药物,结合临床感染症状及药物毒理作用,从而保证疗效。

本研究综合分析孕产妇的一般临床特征、阴道微生态、胎盘分离菌及耐药性,提示需重视在妊娠期间监测母体阴道微环境变化,及早发现并改善阴道微生态环境,加强孕产妇生殖道感染相关检查,为临床预防和治疗相关感染提供实验室依据,对降低或避免胎膜早破的发生提供一定帮助,改善母婴结局。

参考文献

- [1] Azami M, Badfar GH, Mansouri A, et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis in Pregnant Iranian Women: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. Int J Fertil Steril, 2018, 12(3):191-199.
- [2] Assefa NE, Berhe H, Girma F, et al. Risk factors of premature rupture of membranes in public hospitals at Mekele city, Tigray, a case control study [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2018, 18(1):386.
- [3] Tchirikov M, Schlabritz-Loutsevitch N, Maher J, et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome [J]. J Perinat Med, 2018, 46(5):465-488.
- [4] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 阴道微生态评价的临床应用专家共识 [J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(10):721-723.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S28 Performance standards for antimicrobial susceptibility test [EB/OL]. [2021-06-23]. www.clsi.org.
- [6] Jain VG, Willis KA, Jobe A, et al. Chorioamnionitis and neonatal outcomes [J]. Pediatr Res, 2022, 91(2):289-296.
- [7] Tang W, Mao J, Li KT, et al. Pregnancy and fertility-related adverse outcomes associated with Chlamydia trachomatis infection: a global systematic review and meta-analysis [J]. Sex Transm Infect, 2020, 96(5):322-329.
- [8] Gupta S, Malik S, Gupta S. Neonatal complications in women with premature rupture of membranes (PROM) at term and near term and its correlation with time lapsed since PROM to delivery [J]. Trop Doct, 2020, 50(1):8-11.
- [9] 孙文娟,王坤,张艳梅. 胎膜早破产妇产道病原体感染及其对母婴结局影响研究 [J]. 华南预防医学, 2023, 49(2):184-187+191.
- [10] 刘敏雪,黄丽英,王双杰,等. 胎膜早破与正常胎膜破裂患者羊水产杆菌分布及药敏分析 [J]. 重庆医学, 2022, 51(7):1147-1151.

(下转第577页)

大肠埃希菌血流感染产ESBLs株分子流行机制

刘伟阳^{1,2} 王燕¹ 邱淑妍² 朱丛² 杨小兰² 赵毅^{1*}

[摘要] **目的** 调查分析大肠埃希菌血流感染产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)株分子流行机制,阐明不同耐药基因介导的耐药情况。**方法** 收集惠州市第三人民医院2019年1月至2022年12月期间血流感染住院患者中分离的ESBLs阳性大肠埃希菌株50例,通过聚合酶链式反应(PCR)扩增法检测菌株耐药基因表达情况,并选取部分扩增阳性产物外送测序,分析其基因亚型及对应耐药性。**结果** 50株ESBLs阳性大肠埃希菌株中有45株菌携带有*bla*CTX-M基因,占比90.00%(45/50),30株菌携带有*bla*TEM基因,占60.00%(30/50);CTX-M基因中16株为CTX-M-1亚群,占35.56%(16/45),29株为CTX-M-9亚群,占64.4%(29/45)。未检出*bla*SHV基因。经测序,CTX-M-1亚群以CTX-M-15为主,CTX-M-9亚群以CTX-M-14亚型为主。CTX-M-9组菌株头孢他啶及头孢吡肟耐药率低于CTX-M-1组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 惠州地区ESBLs阳性大肠埃希菌株耐药基因以CTX-M型为主,且以CTX-M-9亚群为主要类型,而CTX-M-9亚群以CTX-M-14亚型为主,CTX-M-14亚型对头孢他啶和头孢吡肟耐药率低于CTX-M-1亚群及CTX-M-15亚型。

[关键词] 大肠埃希菌;血流感染;耐药性分析;耐药基因;分型

Molecular epidemic mechanisms of ESBLs-producing strains in bloodstream infections caused by *Escherichia coli*

LIU Weiyang^{1,2}, WANG Yan¹, QIU Shuyan², ZHU Cong², YANG Xiaolan², ZHAO Yi^{1*}

(1. Department of Microbiology and Immunology, School of Basic Medicine, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong, China, 523808; 2. Department of Laboratory Medicine, Huizhou Third People's Hospital, Huizhou, Guangdong, China, 516002)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate and analyze the molecular epidemic mechanisms of *Escherichia coli* bloodstream infection producing super-broad spectrum β-lactamase (ESBLs) strains and elucidate the drug resistance mediated by different drug resistance genes. **Methods** Fifty ESBLs-positive *Escherichia coli* strains were isolated from hospitalized patients with bloodstream infection from January 2019 to December 2022 at Huizhou Third People's Hospital. The expression of drug resistance genes in these strains was detected through polymerase chain reaction (PCR) amplification, and some of the positively amplified products were sent for sequencing to determine gene subtypes and corresponding drug resistance patterns. **Results** 45 out of the 50 *Escherichia coli* strains tested positive for ESBLs, carrying the *bla*CTX-M gene, which accounted for 90.00% (45/50), while 30 strains carried the *bla*TEM gene, accounting for 60.00% (30/50). Within the CTX-M genes, 16 strains belonged to the CTX-M-1 subgroup, making up 35.56% (16/45), and 29 strains belonged to the CTX-M-9 subgroup, accounting for 64.4% (29/45). No *bla*SHV gene was found. Upon sequencing, it was revealed that the CTX-M-1 subgroup was primarily composed of the CTX-M-15 subtype, while the CTX-M-9 subgroup was dominated by CTX-M-14 subtype. The resistance rates of ceftazidime and cefepime in the CTX-M-9 group were lower compared to those in the CTX-M-1 group, with statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** In Huizhou, ESBLs-positive *Escherichia coli* strains, the dominant drug resistance gene, is CTX-M type, with the CTX-M-9 subgroup being the main type. Within the CTX-M-9 subgroup, the

基金项目:惠州市医疗卫生领域科技计划项目(2022CZ010228)

作者单位:1. 广东医科大学基础医学院微生物与免疫学教研室,广东,东莞 523808

2. 惠州市第三人民医院检验科,广东,惠州 516002

*通信作者:赵毅, E-mail: zhaoyicomnet@gdmu.edu.cn

dominant subtype is CTX-M-14. The resistance rate of the CTX-M-14 subtype to ceftazidime and cefepime was lower than that of the CTX-M-1 subgroup and CTX-M-15 subtype.

[KEY WORDS] *Escherichia coli*; Bloodstream infection; Drug resistance analysis; Drug resistance gene; Parting

大肠埃希菌作为肠道正常菌群的一部分,正常生理条件下并不导致疾病发生,但特定的病原性菌株在机体免疫力下降的情况下能够引起如泌尿系统感染、腹泻症状及血流感染等多种疾病^[1]。相关研究指出^[2],大肠埃希菌是血流感染最为常见的革兰阴性肠杆菌,其所致的死亡率高达16%,且随耐药性增加而呈上升趋势。目前临床医生根据经验选择广谱抗生素治疗细菌引起的血流感染仍然比较普遍,使得细菌在药物的选择下,产生获得性耐药,这种耐药细菌的生存和繁殖,导致细菌的耐药性的不断增高,耐药性细菌的传播和流行,给临床抗感染治疗带来巨大的困难和挑战^[3]。而在抗生素使用广泛及过度滥用的影响下,多重抗药性大肠埃希菌株的出现给临床治疗造成了巨大难题^[4]。特别是产超广谱 β -内酰胺酶(extended spectrum β lactamases, ESBLs)的大肠埃希菌,其能水解第三代及第四代头孢类药物,使得这些常用抗生素失效,从而加剧抗药问题^[5]。ESBLs的基因型具有复杂多变性,对抗菌素敏感性在不同基因型中存在差异,且大肠埃希菌表达ESBLs的流行情况在不同年代、时间及地区也呈现出差异性,因此临床感染的治疗效果也会有所不同^[6]。本研究通过分析大肠埃希菌血流感染产ESBLs株的分子流行机制及耐药基因,以期为临床治疗提供理论依据,为抗药性防控策略的制定提供科学支撑。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集惠州市第三人民医院2019年1月至2022年12月期间血流感染住院患者中分离的ESBLs阳性大肠埃希菌株50例。纳入标准:复苏良好,表型确证为阳性大肠埃希菌株。排除标准:同一患者分离的重复菌株。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署知情同意书。

1.2 主要仪器与设备

PCR引物(武汉金开瑞生物公司);Tap Master Mix酶(天根生化科技有限公司);TBE缓冲液(天根生化科技有限公司);DNA Marke(武汉金开瑞

生物公司);6 \times Loading Buffer(天根生化科技有限公司);琼脂糖粉(美国Sigma公司);大肠埃希菌质粒提取试剂盒(天根生化科技有限公司);高速离心机(北京白洋仪器设备公司,型号:BY-G16);恒温金属浴(杭州博日科技有限公司);移液器(赛默飞有限公司);高压蒸汽灭菌器(山东博科消毒设备有限公司);漩涡振荡仪(聚创环保有限公司);PCR扩增仪(ABI公司);电泳仪(美国Thermo生物公司);凝胶紫外成像系统(美国UVP公司)。

1.3 菌株鉴定

将保存于-70 $^{\circ}$ C冰箱中的细菌取出并接种于血琼脂平板,37 $^{\circ}$ C温箱孵育18~24 h,获取纯的复苏新鲜菌落进行细菌鉴定。采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(厂家:法国生物梅里埃公司,型号:MALDI-TOFMS)进行鉴定,采用磁珠法将菌株放入-70 $^{\circ}$ C冰箱冷冻保存备用。

1.4 产ESBLs大肠埃希菌耐药基因检测

使用试剂盒并严格按照试剂盒说明书提取质粒DNA后,以聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增法检测目的基因(*blaTEM*、*blaSHV*、*BlaCTX-M-1*、*BlaCTX-M-9*)。引物序列由武汉金开瑞公司合成。见表1。PCR引物反应条件为预变性94 $^{\circ}$ C 5 min,而后变性95 $^{\circ}$ C 30 s,退火63 $^{\circ}$ C 30 s,延伸72 $^{\circ}$ C 4 min,循环35次,再延伸72 $^{\circ}$ C 5 min。PCR扩增产物以琼脂糖凝胶电泳进行分析,在凝胶成像仪上观察电泳条带位置,并与Marker比较被扩增产物长度,观察实验结果。将阳性扩增产物送金开瑞研究中心有限公司进行纯化及测序后,所得序列在<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>上进行比对。

1.5 药敏实验

通过K-B纸片法进行实验,结果参照美国临床实验室标准化协会(Clinical and laboratory standards institute, CLSI)2016版^[7]判定。

1.6 统计学方法

采用SPSS 23.0软件进行数据分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,两组间比较分布差异使用卡方检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

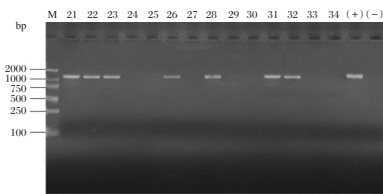
表1 PCR引物序列
Table 1 PCR primer sequences

目标基因	基因序列(5'-3')	产物长度(bp)
<i>blaTEM</i>	正向: ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTC 反向: TTAATCAGTGAGCACTATCTC	851
<i>blaSHV</i>	正向: TTATATTCGCCTGTGTATTATCTCCC 反向: GTTAGCGTTGCCAGTGCTCG	856
<i>BlaCTX-M-1</i>	正向: ATGGTTAAAAAATCACTGCGCCAG 反向: CCGTCGGTGACGATTTTAGCCG	869
<i>BlaCTX-M-9</i>	正向: GGTGACAAAGAGAGTGCAACGG 反向: CCCTTCGGCGATGATTCTCGC	868

2 结果

2.1 ESBLs 阳性大肠埃希菌耐药基因扩增结果

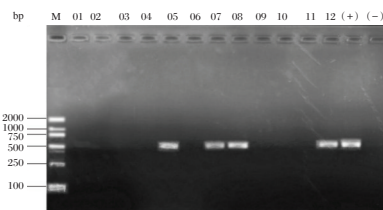
50株大肠埃希菌中,有45株菌携带 *blaCTX-M* 基因,占比 90.00% (45/50); 30株菌携带 *blaTEM* 基因,占比 60.00% (30/50),该基因片段位于 1 000~2 000 bp 之间,靠近 1 000 bp 处,PCR 扩增后电泳图。见图 1。CTX-M 基因中 16 株为 CTX-M-1 亚群,占比 35.56% (16/45),该基因片段位于 500~750 bp 之间,PCR 扩增后电泳图。见图 2。29 株为 CTX-M-9 亚群,占比 64.4% (29/45),该基因长度位于 750~1 000 bp 之间,PCR 扩增后电泳图。见图 3。



注: M: marker, 阳性样本: 21、22、23、26、28、31、32; 阴性样本: 24、27、29、30、33、34; (+): 阳性对照, (-): 阴性对照。

图1 部分 TEM 型 PCR 扩增产物电泳图谱

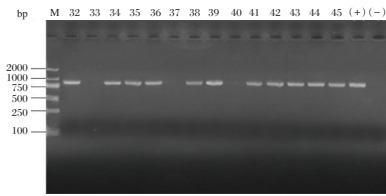
Figure 1 Electrophoretogram of some TEM PCR products



注: M: marker, 阳性样本: 05、07、08、12; 阴性样本: 01、02、03、06、09、10、11; (+): 阳性对照, (-): 阴性对照。

图2 部分 CTX-M-1 亚群 PCR 扩增产物电泳图谱

Figure 2 Electrophoretogram of PCR amplification products of CTX-M-1 subpopulation



注: M: marker, 阳性样本: 32、34、35、36、38、39、41、42、43、44、45; 阴性样本: 33、37、40; (+): 阳性对照, (-): 阴性对照。

图3 部分 CTX-M-9 亚群 PCR 扩增产物电泳图谱

Figure 3 Electrophoretogram of PCR amplification products of CTX-M-9 subpopulation

2.2 ESBLs 阳性大肠埃希菌耐药基因测序结果

CTX-M-1 亚群和 CTX-M-9 亚群阳性扩增产物组随机各抽取 10 份外送测序,CTX-M-1 亚群中有 8 株与 CTX-M-15 (序列号: KM052216.1) 99.0% 相同,2 株的亚型未能确定。见图 4。CTX-M-9 亚群阳性组抽取的 10 株中,有 9 株与 CTX-M-14 (序列号 KR338943.1) 99.0% 相似,1 株亚型未能确定。见图 5。

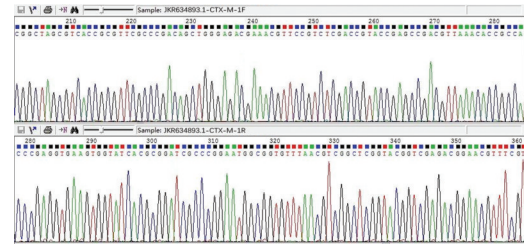


图4 部分 CTX-M-1 PCR 产物测序结果

Figure 4 Sequencing results of CTX-M-1 PCR products

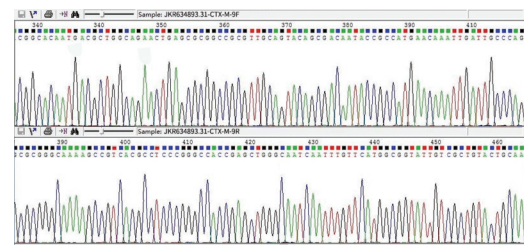


图5 部分 CTX-M-9 PCR 产物测序结果

Figure 5 Sequencing results of CTX-M-9 PCR products

2.3 不同基因型 ESBLs 阳性大肠埃希菌耐药表型

分析 CTX-M-1 组与 CTX-M-9 两组对应药敏结果发现,CTX-M-9 组菌株头孢他啶及头孢吡肟耐药率低于 CTX-M-1 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

3 讨论

大肠埃希菌的耐药机制除阻止抗生素进入菌

表2 CTX-M-1与CTX-M-9两组菌株对第三、四代头孢耐药率差异情况

Table 2 The difference of resistance rates of CTX-M-1 and CTX-M-9 to the third and fourth generation cephalosporins between the two groups of strains

ESBLs 阳性 大肠埃希菌	n	头孢他啶		头孢吡肟	
		耐药 株数	百分比 (%)	耐药 株数	百分比 (%)
CTX-M-1	16	12	75.00	10	62.50
CTX-M-9	29	11	37.93	9	31.03
χ^2 值		5.670		4.185	
P值		0.017		0.041	

体或改变它们作用靶点以及主动外排泵活跃之外,还可以降解或修饰抗生素,从而降低抗生素对它们的作用或使之失效。细菌对抗生素的酶解、修饰是产生耐药性的一个主要机制^[8]。ESBLs 阳性大肠埃希菌通过质粒介导的结合、转移和传导等多种途径传播其耐药基因,进而积聚了一系列抗性基因群,这种多基因耐药聚合现象引致该菌种呈现出多种耐药表型^[9]。目前常见的 ESBLs 基因型主要为 TEM 型、SHV 型、CTX-M 型、OXA 型等类型^[10]。我国为 CTX-M 型 ESBLs 高发区、其发生率高于其他各类基因型,居发生率首位^[11]。本研究结果显示,惠州地区 ESBLs 阳性大肠埃希菌基因型多为 CTX-M 型,并且以 CTX-M-9 亚群为主,与周鹰豪等^[12]报道的大肠埃希菌中产 ESBLs 的最常分型为 CTX-M 型,并以 CTX-M-9 亚群及 CTX-M-1 亚群为主的研究结论相似;而与董路宁等^[13]报道的 ESBLs 阳性大肠埃希菌主要型别为 CTX-M-65 型、唐雯娟等^[14]报道的 CTX-M-13 型菌株检出率最高有不同之处。其原因可能在于不同地区及级别的医疗机构对感染控制力度不同及对患者用药习惯的差异。

TEM 型大肠埃希菌主要是对头孢噻肟的水解能力较强而被命名,其对青霉素类抗生素及三代头孢菌素同样具有水解能力,并且携带 blaTEM 基因大肠埃希菌对 β 内酰胺酶抑制剂类复合抗生素也耐药^[15]。测序结果显示,CTX-M 菌株以 CTX-M-9 亚群为主,进一步测序比对结果表明 CTX-M-9 亚群以 CTX-M-14 亚型为主。由于 CTX-M-14 酶存在 ser167→pro 氨基酸变异,导致其对头孢他啶的亲合力降低^[16]。实验结果亦显示,主要构成为 CTX-M-14 亚型的 CTX-M-9 组菌株对头孢他啶、头孢吡肟的耐药率低于 CTX-M-1 组。由于在临床治疗大肠埃希菌感染较常使用三代头孢菌素或头

孢菌素酶抑制剂,因此在临床治疗中,此类药物对于 CTX-M-1 型大肠埃希菌引起的感染可能无效,药物的选择更需要根据药敏试验结果进行选择 and 调整,早期检测菌株的基因亚型将有助于临床治疗方案的及时修正。

本次 PCR 扩增和电泳结果显示,在 50 株大肠埃希菌中,有 45 株菌携带有 blaCTX-M 基因,占比 90.00%;30 株菌携带有 blaTEM 基因,占比 60%。提示有部分菌株同时携带有 blaCTX-M 基因和 blaTEM 基因,这与 Haider 等学者研究有相似之处^[17]。当同一株大肠埃希菌同时携带有多种耐药基因时,抗生素耐药表型可能会发生改变导致 ESBLs 型别鉴定困难,同时其底物水解谱会更广泛,从而使耐药性进一步增强,加大临床治疗难度^[18]。

综上所述,惠州地区 ESBLs 阳性大肠埃希菌株耐药基因以 CTX-M 型为主,且以 CTX-M-9 亚群为主要类型,而 CTX-M-9 亚群以 CTX-M-14 亚型为主,CTX-M-14 亚型对头孢他啶和头孢吡肟耐药率低于 CTX-M-1 亚群及 CTX-M-15 亚型。在治疗 ESBLs 产生的大肠埃希菌血流感染时,需考虑 β -内酰胺酶产生的分子异质性及对不同抗生素耐药性的可能性。

参考文献

- [1] 金牡丹,黄晓春,井杰.上海市某中医医院临床大肠埃希菌分布及耐药性分析[J].华南预防医学,2023,49(1):68-71.
- [2] 王海如,侯亚彬,李艳芳,等.血流感染中大肠埃希菌的药物敏感性、耐药基因及同源性分析[J].中国抗生素杂志,2022,47(9):962-966.
- [3] 郭亮,张传领.产 ESBL 大肠埃希菌在血流感染中的流行及危险因素分析[J].中国卫生检验杂志,2018,28(17):2103-2106.
- [4] Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection [J]. JAC Antimicrob Resist, 2021, 3(3): dlab092.
- [5] 钱超,刘敏,吴炳辰.白血病患者产 ESBLs 大肠埃希菌血流感染和耐药性调查及感染的危险因素分析[J].中国病原生物学杂志,2021,16(11):1338-1341.
- [6] 袁星,蒋斌,曹雷.临床分离产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌耐药性分析及相关基因研究[J].华北理工大学学报(医学版),2020,22(5):341-347.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. performance standards for antimicrobial susceptibility testing twenty-sixth informational supplement [S]. CLSI document M100 - S26. Wayne, PA: CLSI, 2016.

- [8] 吕银凤,薛萌,黄欣月,等. 抗菌肽联合传统抗菌药物对抗细菌耐药性研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(10):1266-1273.
- [9] 宋志纯,吕雷立,王朋,等. 膀胱癌术后并发大肠埃希菌泌尿系感染的超广谱 β -内酰胺酶基因型及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(4):545-549.
- [10] Shiita G, Makanjuola O, Adefioye O, et al. Extended-spectrum beta lactamase (ESBL), blaTEM, blaSHV and blaCTX-M, resistance genes in community and healthcare associated gram negative bacteria from osun state, Nigeria[J]. Infect Disord Drug Targets, 2021, 21(4):595-602.
- [11] 陈韩,郑周,陈思思,等. 血流感染大肠埃希菌的耐药性分析[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(4):321-325.
- [12] 周鹰豪,蔡志军,刘军. 产ESBLs大肠埃希菌检出率、基因型分布及其耐药性分析[J]. 中国医学创新, 2020, 17(36):156-160.
- [13] 杨宏斌,张妍. 甘肃省天水地区产ESBLs大肠埃希菌尿路感染的基因分型及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3):55-58+61.
- [14] 唐雯娟,谢兰,罗林凤. 呼吸道感染患者产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌检测及耐药性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(3):393-397.
- [15] 王秀倩. 抗生素耐药性分子机制研究进展[J]. 口岸卫生控制, 2018, 23(3):24-31.
- [16] Bian F, Yao M Fu H, et al. Resistance characteristics of CTX-M type Shigella flexneri in China [J]. Biosci Rep, 2019, 9(9):BSR20191741.
- [17] Haider MH, McHugh TD, Roulston K, et al. Detection of carbapenemases blaOXA48-blaKPC-blaNDM-blaVIM and extended - spectrum - β - lactamase blaOXA1 - blaSHV - blaTEM genes in Gram-negative bacterial isolates from ICU burns patients [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2022, 21(1):18.
- [18] 沈姣姣,王晓华,姜萍,等. ICU肺部感染患者分离产ESBLs大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌基因亚型及同源性[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(5):664-668.

(上接第564页)

- [11] 卢田甜,蔡江云,刘敏,等. 血清维生素D、IL-8、IL-10、TGF- β 1水平与早产儿支气管肺发育不良的相关性分析[J]. 转化医学杂志, 2022, 11(1):50-53.
- [12] Park HW, Lim G, Park YM, et al. Association between vitamin D level and bronchopulmonary dysplasia: A systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2020, 15(7):e0235332.
- [13] 刘海娟,王玮,毛杨芳. 血清25-羟维生素D维生素D结合蛋白水平与早产儿支气管肺发育不良的关系[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(17):3120-3123.
- [14] Kwok TC, Batey N, Luu KL, et al. Bronchopulmonary dysplasia prediction models: a systematic review and meta-analysis with validation[J]. Pediatr Res, 2023, 94(1):43-54.
- [15] Fan X, Tang Y, Tang J, et al. New-generation intravenous fat emulsions and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: a systematic review and meta-analysis [J]. J Perinatol, 2020, 40(11):1585-1596.

(上接第568页)

- [12] 韩晓军,苏梅,杨巧,等. 吡柔比星、环磷酰胺联合白蛋白结合型紫杉醇新辅助化疗对三阴性乳腺癌患者Ki-67、MMP-9、VEGF及预后的影响[J]. 临床误诊误治, 2022, 35(9):58-62.
- [13] 李燕,寇晓梅,柯永莉. 黄花蒿醇液联合多西他赛对乳腺癌耐药细胞MCF-7/DTX逆转作用的研究[J]. 海军医学杂志, 2022, 43(4):429-433.
- [14] Lee J, Park YH. Trastuzumab deruxtecan for HER2 + advanced breast cancer[J]. Future Oncol, 2022, 18(1):7-19.
- [15] 陈莉杰,许红霞,纪存丽,等. 曲妥珠单抗联合化疗治疗表皮生长因子受体-2阳性乳腺癌的临床效果观察[J]. 中国基层医药, 2021, 28(2):199-202.
- [16] Qiu N, He YF, Zhang SM, et al. Cullin7 enhances resistance to trastuzumab therapy in Her2 positive breast cancer via degrading IRS-1 and downregulating IGFBP-3 to activate the PI3K/AKT pathway[J]. Cancer Lett, 2019, 464:25-36.
- [17] 骆文龙,田静,钱宇峰. CA153、CEA、HCY在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2023, 43(4):646-651.

(上接第572页)

- [11] 杨晓燕,周玮. 胎膜早破产妇胎膜细菌培养及药敏结果分析[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(3):223-227.
- [12] 熊国海. 胎膜早破孕产妇生殖道病原体感染情况及其与早产的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(15):2837-2839.
- [13] 柳月霞,刘小丽,魏菊红,等. 胎膜早破并发宫内感染病原菌及Caspase-3和Bcl-2与AIF表达[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(3):459-462.
- [14] Burcham LR, Spencer BL, Keeler LR, et al. Determinants of Group B streptococcal virulence potential amongst vaginal clinical isolates from pregnant women [J]. PLoS One, 2019, 14(12):e0226699.
- [15] 刘敏,吴昕,李晶晶,等. 孕妇生殖道感染对胎膜早破和妊娠不良结局的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(10):1586-1590.

妊娠期糖尿病孕妇孕期血糖代谢情况与新生儿血糖、肾功能及胆红素代谢的相关性

叶远飞* 李亚林 汪丹丹

[摘要] **目的** 分析妊娠期糖尿病(GDM)孕妇孕期糖代谢情况与新生儿血糖、肾功能及胆红素代谢的相关性。**方法** 选取宣城市人民医院在2021年1月至2023年3月期间收治的95例GDM患者及所分娩的新生儿进行研究,GDM产妇根据分娩完成时的血糖水平分为血糖控制理想组与血糖控制不佳组;另选取同期妊娠的100名健康产妇及所分娩的新生儿为对照组。比较三组产妇妊娠完成时的血糖水平;比较三组新生儿入住新生儿科时的血糖值、血红蛋白及血钙水平;比较三组新生儿入住新生儿科时的肾功能指标[血尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)];比较三组新生儿入住新生儿科时的胆红素代谢情况[总胆红素(TBil)、直接胆红素(DBil)以及间接胆红素(IBil)];分析新生儿血糖水平、肾功能、胆红素水平与GDM产妇血糖代谢的相关性。**结果** 95例患者中,有54例患者血糖控制理想(血糖控制理想组),41例患者血糖控制不佳(血糖控制不佳组)。血糖控制不佳组的空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2h血糖均高于对照组、血糖控制理想组,差异均有统计学意义($P<0.05$);新生儿出生时血糖值、血钙水平:对照组>血糖控制理想组>血糖控制不佳组,血红蛋白、SCr、TBil、IBil水平:对照组<血糖控制理想组<血糖控制不佳组,差异均有统计学意义($P<0.05$);新生儿血糖、血钙水平与GDM产妇血糖代谢呈负相关,血红蛋白、SCr、TBil、IBil水平与GDM产妇血糖代谢呈正相关($P<0.05$)。**结论** GDM对胎儿及新生儿影响较大,应加强妊娠期血糖控制,密切关注GDM产妇所生新生儿血糖、肾功能及胆红素代谢情况,防止并发症的发生。

[关键词] 妊娠期糖尿病;孕期糖代谢情况;新生儿;血糖;肾功能;胆红素代谢

Association analysis of glucose metabolism during pregnancy in pregnant women with gestational diabetes mellitus with neonatal glucose, renal function and bilirubin metabolism

YE Yuanfei*, LI Yalin, WANG Dandan

(Department of Neonatology, Xuancheng People's Hospital, Xuancheng, Anhui, China, 242000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyse the association between glucose metabolic profile during pregnancy in pregnant women with gestational diabetes mellitus and neonatal glucose, renal function and bilirubin metabolism. **Methods** Ninety-five newborns delivered by GDM patients admitted to Xuancheng People's Hospital from January 2021 to March 2023 were retrospectively selected for the study, and 100 neonates delivered by healthy mothers in the same period of gestation were selected as the control group. The blood glucose levels at the end of pregnancy were compared among the three groups; the blood glucose, hemoglobin and calcium levels of the three groups were compared when checked into the neonatology department. Renal function indexes [Blood urea nitrogen (BUN) and Serum Creatinine (SCr)] were compared among the three groups when checked into the neonatology department. The bilirubin metabolism of the three groups of neonates when checked into the neonatology department [Total bilirubin (TBil), direct bilirubin (DBil) and Indirect bilirubin (IBil)] were also compared. Additionally, the correlation between neonatal blood glucose levels, renal function, bilirubin levels and maternal glucose metabolism in GDM were analyzed. **Results** Among the 95 patients, 54 had ideal blood glucose control (ideal blood glucose control group) and 41 had poor blood glucose control (poor blood glucose control group). Fasting blood glucose, glycated hemoglobin and 2-hour post-

基金项目:安徽省自然科学基金面上项目(201803859MH368)

作者单位:宣城市人民医院新生儿科,安徽,宣城 242000

*通信作者:叶远飞, E-mail:18956308260@163.com

prandial blood glucose in the poor blood glucose control group were higher than those in the control group and ideal blood glucose control group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). The blood glucose values and blood calcium levels of newborns at birth were as follows: control group >ideal blood glucose control group >poorly controlled blood glucose control group. Hemoglobin levels were: control group <ideal blood glucose control group <poorly controlled blood glucose control group. Hemoglobin, SCr, TBil and IBil levels were: control group <ideal blood glucose control group <poor blood glucose control group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of blood glucose and blood calcium in newborns were negatively correlated with the blood glucose metabolism of GDM mothers, while the levels of hemoglobin, SCr, TBil and IBil were positively correlated with the blood glucose metabolism of GDM mothers. These differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** GDM has a significant impact on fetuses and newborns. It is important to enhance blood glucose control during pregnancy and closely monitor the blood glucose levels, renal function and bilirubin metabolism of newborns born to mothers with GDM in order to prevent complications.

[KEY WORDS] Gestational diabetes mellitus; Glucose metabolic profile during pregnancy; Neonate; Blood glucose; Renal function; Bilirubin metabolism

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是指妊娠前糖代谢正常或潜在糖耐量弱化,妊娠期才出现或确诊的糖尿病。数据显示,世界各国GDM发生率约为1%~14%,其中中国发病率为1%~5%^[1]。GDM的发病机制尚不明确,可影响产妇、婴儿妊娠结局,故临床对此应给予一定重视。GDM的发生主要是因为孕妇于妊娠期中发生胰岛素抵抗或胰岛素分泌缺陷,造成糖代谢紊乱,从而导致孕妇长期处于高血糖状态,直至分娩后血糖渐渐恢复正常值^[2]。GDM患者体内的胚胎长期处于高糖环境中,从而对其肾脏的生长发育产生一定影响,导致新生儿出生后易出现低血糖、高胆红素症等诸多并发症^[3]。本文旨在分析妊娠期糖尿病孕妇孕期糖代谢情况与新生儿血糖、肾功能及胆红素代谢的相关性,报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 资料

选取宣城市人民医院在2021年1月至2023年3月期间收治的95例GDM患者及所分娩的新生儿进行研究,其中产妇平均年龄(26.82 ± 3.74)岁;平均孕周(38.16 ± 0.81)周;初产妇57例,经产妇38例;男婴52例,女婴43例;巨大儿10例,非巨大儿85例。另选取同期妊娠的100名健康产妇及所分娩的新生儿为对照组,其中男婴62名,女婴38名;巨大儿7名,非巨大儿93名。两组产妇及新生儿基本情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试新生儿监护人已知情同意。

纳入标准:①GDM产妇的诊断标准参考

《妊娠期糖尿病筛查与诊断标准探讨》^[4];②单胎妊娠;③临床资料齐全;④均为孕中期血糖升高。排除标准:①肝肾功能缺陷;②无法正常言语交流;③所有新生儿均无严重感染等疾病。

1.2 方法

1.2.1 产妇妊娠期完成时血糖监测

采集产妇5 mL空腹静脉血,使用血型血清学离心机HT12MM,离心($3\ 000\ \text{r/min}$, 10 min, 离心半径8 cm),采用HCC200Plus全自动生化分析仪(国康实业有限公司)检测空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2 h血糖。正常范围:餐前与空腹血糖:3.1~5.6 mmol/L,餐后2 h:4.4~8.5 mmol/L。当空腹血糖 ≥ 5.6 mmol/L以及餐后2 h血糖 ≥ 8.5 mmol/L则为血糖控制不佳,否则为血糖控制理想^[5]。根据分娩完成时的血糖水平将GDM产妇分为血糖控制理想组与血糖控制不佳组。

1.2.2 新生儿血糖监测

于新生儿入住新生儿科时,取其足跟血,应用快速血糖仪检测血糖值。

1.2.3 新生儿血红蛋白检测

抽取1 mL外周静脉血,采用血液学分析仪检测血红蛋白水平。

1.2.4 新生儿肾功能、胆红素、血钙检测

抽取所有新生儿外周静脉血2 mL,静置1 h后行离心(转速4 000 rpm,离心半径10 cm,离心时间15 min),采取上清液。应用URIT-8036全自动生化分析仪检测血钙水平、血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(Serum Creatinine, SCr)、总胆红素(Total bilirubin, TBil)、直接胆红素(Bilirubin direct, DBil)以及间接胆红素(Indirect bilirubin, IBil)。

1.3 观察指标

比较三组产妇妊娠完成时的血糖水平;比较三组新生儿在出生时的血糖值、血红蛋白及血钙水平;比较三组新生儿出生时的肾功能指标;比较三组新生儿出生时的胆红素代谢情况;分析新生儿血糖水平、肾功能、胆红素水平与GDM产妇血糖代谢的相关性。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件进行统计分析,计量资料应用($\bar{x} \pm s$)表示,两两间采用独立非参数 t 检验;多组间比较采用 F 检验;采用 *Pearson* 分析新生儿血糖、肾功能、胆红素水平与产妇妊娠期血糖的相关性;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组产妇妊娠完成时的血糖水平比较

95例患者中,有54例患者血糖控制理想(血糖控制理想组),41例患者血糖控制不佳(血糖控制不佳组)。对照组的空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2h血糖与血糖控制理想组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);血糖控制不佳组的空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2h血糖均高于对照组、血糖控制理想组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 三组产妇妊娠完成时的血糖水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood glucose levels at the end of pregnancy among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	空腹血糖 (mmol/L)	糖化血红蛋白 (%)	餐后2h血糖 (mmol/L)
对照组	100	4.09±0.86	5.38±0.79	6.17±1.02
血糖控制理想组	54	4.24±0.75	5.62±0.82	6.48±1.13
血糖控制不佳组	41	5.74±0.89 ^{ab}	6.37±0.57 ^{ab}	7.82±1.15 ^{ab}
<i>F</i> 值		59.44	24.86	34.48
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比较,^a $P < 0.05$;与血糖控制理想组相比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 三组新生儿在入住新生儿科时的血糖值、血红蛋白及血钙水平比较

新生儿在入住新生儿科时血糖值、血钙水平:对照组>血糖控制理想组>血糖控制不佳组,血红蛋白水平:对照组<血糖控制理想组<血糖控制不佳组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 三组新生儿入住新生儿科时的肾功能指标比较

SCr水平:对照组<血糖控制理想组<血糖控制不佳组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),三组BUN水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表2 三组新生儿在入住新生儿科时的血糖值、血红蛋白及血钙水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of blood glucose, hemoglobin, and blood calcium levels among the three groups of newborns at admission ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	血糖 (mmol/L)	血红蛋白 (g/L)	血钙 (mmol/L)
对照组	100	3.81±0.98	167.38±28.79	2.37±0.12
血糖控制理想组	54	3.51±0.82 ^a	235.62±30.87 ^a	2.18±0.13 ^a
血糖控制不佳组	41	2.94±1.08 ^{ab}	254.38±25.57 ^{ab}	2.01±0.15 ^{ab}
<i>F</i> 值		11.96	176.67	120.78
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比较,^a $P < 0.05$;与血糖控制理想组相比较,^b $P < 0.05$ 。

表3 三组新生儿入住新生儿科时的肾功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of renal function indicators at admission of the three groups of newborns ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	BUN(mmol/L)	SCr(μ mol/L)
对照组	100	3.01±0.35	62.14±5.73
血糖控制理想组	54	2.95±0.42	70.11±8.72 ^a
血糖控制不佳组	41	2.87±0.33	75.05±7.64 ^{ab}
<i>F</i> 值		2.17	55.32
<i>P</i> 值		0.073	<0.001

注:与对照组相比较,^a $P < 0.05$;与血糖控制理想组相比较,^b $P < 0.05$ 。

2.4 三组新生儿入住新生儿科时的胆红素代谢情况比较

TBil、IBil水平比较:对照组<血糖控制理想组<血糖控制不佳组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),三组DBil水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表4 三组新生儿入住新生儿科时的胆红素代谢情况比较($\bar{x} \pm s, \mu$ mol/L)

Table 4 Comparison of bilirubin metabolism among the three groups of newborns upon admission ($\bar{x} \pm s, \mu$ mol/L)

组别	<i>n</i>	TBil	DBil	IBil
对照组	100	106.42±26.76	10.57±3.48	112.85±36.68
血糖控制理想组	54	145.63±28.39 ^a	10.43±5.27	129.08±29.65 ^a
血糖控制不佳组	41	164.72±30.33 ^{ab}	10.62±5.15	150.32±30.19 ^{ab}
<i>F</i> 值		75.43	0.03	18.62
<i>P</i> 值		<0.001	0.967	<0.001

注:与对照组相比较,^a $P < 0.05$;与血糖控制理想组相比较,^b $P < 0.05$ 。

2.5 新生儿血糖水平、肾功能、胆红素水平与GDM产妇血糖代谢的相关性分析

新生儿血糖、血钙水平与GDM产妇血糖代谢呈负相关关系($r = -0.421, -0.275, P < 0.001$),血红蛋白、SCr、TBil、IBil水平与GDM产妇血糖代谢

呈正相关关系($r=0.338, 0.338, 0.417, 0.384, P<0.001$); BUN、DBil 水平与 GDM 产妇血糖代谢无明显相关性($r=-0.111, 0.632, P>0.05$)。

3 讨论

随着社会生活水平的提高,妊娠期糖尿病患者发病人数也呈逐年升高趋势^[6]。相关研究指出,GDM 易对新生儿产生影响,具体表现为新生儿出生后的脏器发育不成熟,易诱发低血糖、高胆红素血症及电解质紊乱等症状^[7]。有报道称,GDM 患者在孕期的血糖代谢情况与新生儿预后密切相关^[8]。

GDM 患者所生的新生儿中约有 30% 会出现低血糖现象,其通常发生在妊娠后的 1~2 h 内^[9],这与本次研究的结果相符合。在本次研究中,相较于妊娠期血糖控制不佳的患者,健康及妊娠期血糖控制理想的产妇所生的新生儿在出生时的血糖值比控制不佳者高,与陈黎慧等^[10]的研究结果相似,说明 GDM 产妇血糖控制不佳更易导致新生儿出现低血糖现象。GDM 产妇腹中的胎儿长期处于高血糖环境中,导致其出现慢性高血糖症,此时胎儿机体中的胰岛素分泌增多,再加之高糖环境会过度刺激胰腺,使 β 细胞发生增生,诱发胎儿出现高胰岛素血症,胎儿被分娩后,母体不再提供葡萄糖供给,最终导致新生儿发生低血糖^[11]。

近年来,国内外针对 GDM 的发病机制进行深入研究,研究结果表明妊娠期胰岛素抵抗是 GDM 发病的主要原因^[12]。当出现高胰岛素血症及胰岛素抵抗时,胰岛素无血管扩张作用,并有反常血管收缩反应,使肾小动脉痉挛,肾血流量下降^[13]。此外,产妇的高血糖可降低胎盘对胎儿的血氧供应,加之胎儿的高胰岛素血症使组织耗氧升高,导致胎儿宫内缺氧,使肾血管收缩,肾灌注降低,肾小球滤过率下降,从而影响肾功能。目前,常用 BUN 评估肾功能,但有研究指出 BUN 不能早期评估肾功能的损害情况^[14]。在正常情况下 SCr 的排出量基本保持恒定,但当肾脏轻度损伤时,其排出量则会异常升高^[15]。本次研究中,SCr 水平:对照组<血糖控制理想组<血糖控制不佳组,而三组 BUN 水平比较差异无统计学意义,提示 GDM 产妇所生的新生儿存在肾功能损伤。分析原因在于:GDM 产妇血糖控制不佳会刺激胎儿合成大量胰岛素,使基础代谢、氧耗增多,胎儿出现慢性缺氧,从而加重酸中毒,使肾损伤更加严重。

综上所述,GDM 对胎儿及新生儿影响较大,应加强妊娠期血糖控制,密切关注 GDM 产妇所生新生儿血糖、肾功能及胆红素代谢情况,防止并发症的发生。

参考文献

- [1] 范婷婷,冯素文,金颖,等.妊娠期糖尿病产妇分娩的新生儿出生后 24 小时内血糖变化规律与护理对策[J].中华护理杂志,2020,55(10):1490-1496.
- [2] 范洋洋,袁宁霞,朱丽红,等.血清血管细胞黏附分子-1、纤溶酶原激活物抑制物-1、血管生成素样蛋白 8 与妊娠期糖尿病患者妊娠结局的关系研究[J].现代生物医学进展,2022,22(9):1724-1728.
- [3] 李明,段世博,侯秀真,等.PI3K 在妊娠期糖尿病发病机制中的作用生物信息分析及验证[J].转化医学杂志,2020,9(5):271-275.
- [4] 陈俊,刘玉环,徐明娟.妊娠期糖尿病筛查与诊断标准探讨[J].上海医学,2021,44(2):116-120.
- [5] 殷亚东,刘岚.内源性多肽在妊娠期糖尿病中的研究进展[J].国际妇产科学杂志,2021,48(6):651-655.
- [6] 赵瑞东,周晓萍,刘璐.门诊延续性护理干预在改善妊娠期糖尿病母婴结局中的应用效果[J].国际护理学杂志,2023,42(22):4212-4215.
- [7] 郑刘芳,赵富清,李娟.血清 Omentin-1 和 β -trophin 对妊娠期糖尿病诊断及预后预测价值分析[J].医学综述,2020,26(14):2891-2895.
- [8] 赵洋洋,高学军,王欣.回授法健康教育对妊娠期糖尿病患者认知,行为及预后的影响[J].医学临床研究,2020,37(3):419-421.
- [9] 黄玉秋,戴骏骏,陈芳.妊娠期糖尿病孕妇血清 GA、Visfatin、C 肽水平与新生儿低血糖的影响[J].中国病案,2022,23(3):106-110.
- [10] 陈黎慧,徐超英,吴婷婷,等.妊娠期糖尿病母亲所娩新生儿低血糖的危险因素分析及风险模型构建[J].蚌埠医学院学报,2023,48(10):1441-1444.
- [11] 邓芬,朱贝贝,黄锷,等.不同妊娠期糖尿病诊断标准对不良妊娠结局的预测能力比较[J].现代预防医学,2020,47(5):835-838,902.
- [12] Musa E, Petres ES, Levitt N, et al. Placental endocrine function is altered in obese women in association with changes in placental structure and GDM diagnosis [J]. Placenta, 2021, 112:e9-e10.
- [13] 孙尚绘,朱秀娟.基于网络信息化护理管理模式在妊娠期糖尿病肾病并发蛋白尿患者肾功能改善中的效果[J].中国性科学,2021,30(2):107-109.
- [14] 母淑娟,陈静,李雪,等.糖尿病肾病不同分期的中医主证型及其与血清中 miR-133,Scr,BUN,Cys-C 及 CTGF 水平相关性分析[J].世界中西医结合杂志,2020,15(5):911-914.
- [15] Dhont E, Heggen T, Snauwaert E, et al. 27Risk factors of augmented renal clearance in critically ill children using iohexol clearance for renal function assessment [J]. Arch Dis Child, 2023, 108:A9-A9.

miR-17-5p、IL-6及MCP-1联合检测对卵巢子宫内膜异位症患者术后复发的预测价值

刘冬霞 宋易坤 于航 薛闪辉 陈飞 奈嫚嫚 李蕾*

[摘要] **目的** 分析研究血清微小RNA-17-5p(miR-17-5p)、白细胞介素-6(IL-6)及单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)联合检测对卵巢子宫内膜异位症(OEM)患者术后复发的预测价值。**方法** 选取郑州大学第三附属医院2019年1月至2022年12月收治的OEM患者作为研究对象,将其命名为OEM组($n=100$),另选同期在本院进行体检的健康女性为对照组($n=60$)。比较两组血清miR-17-5p、IL-6及MCP-1水平;OEM组患者在入院后均进行手术与药物对症治疗,在治疗结束后对患者随访12个月。以多因素Logistic回归分析OEM患者术后复发的影响因素,并绘制ROC曲线分析血清miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平对OEM患者术后复发的预测价值。**结果** OEM组的血清miR-17-5p水平低于对照组,IL-6、MCP-1水平均高于对照组,差异有统计学意义($t=11.015, 59.651, 38.199$,均 $P<0.05$);多因素Logistic回归分析显示,囊肿直径 >5 cm($OR=1.828$)、ASRM分期为Ⅲ~Ⅳ期($OR=1.815$)、血清miR-17-5p水平降低($OR=2.042$)、IL-6水平升高($OR=2.136$)及MCP-1水平升高($OR=1.966$)均是OEM患者术后复发的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,血清miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平及联合检测的曲线下面积(AUC)分别为0.816、0.781、0.745、0.933,联合检测优于单一检测($P<0.05$)。**结论** miR-17-5p、IL-6及MCP-1联合检测对OEM患者术后复发具有一定预测价值。

[关键词] 卵巢子宫内膜异位症;微小RNA-17-5p;白细胞介素-6;单核细胞趋化蛋白1;术后复发

Predictive value of combined detection of miR-17-5p, IL-6 and MCP-1 for postoperative recurrence in patients with ovarian endometriosis

LIU Dongxia, SONG Yikun, YU Hang, XUE Shanhui, CHEN Fei, NAI Manman, LI Lei*

(Department of Pelvic Floor Reconstruction, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450052)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of serum microRNA-17-5P (miR-17-5p), interleukin-6 (IL-6) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) combined detection for postoperative recurrence in patients with ovarian endometriosis (OEM). **Methods** The OEM patients admitted to the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2019 to December 2022 were retrospectively selected as the research subjects and named categorized as the OEM group ($n=100$). and the healthy women who underwent physical examinations in our hospital during the same period were selected chosen as the control group ($n=60$). The serum levels of miR-17-5p, IL-6 and MCP-1 were compared between the two groups. All patients in the OEM group received surgery and symptomatic treatment after admission, and were followed up for 12 months after post-treatment. Univariate and multivariate Logistic regression analyses were used to analyze the influencing factors of postoperative recurrence in patients with OEM. and An ROC curve was drawn to analyze the predictive value of serum miR-17-5p, IL-6 and MCP-1 levels for postoperative recurrence in patients with OEM. **Results** The level of serum miR-17-5p in the OEM group was lower than that in the control group, and while the levels of IL-6 and MCP-1 in the OEM group were higher than those in the control group. These and the

基金项目:河南省医学科技攻关计划(联合共建)(号LHGJ20190362)

作者单位:郑州大学第三附属医院盆底重建科,河南,郑州450052

*通信作者:李蕾, E-mail:Beileili2004@126.com

differences were statistically significant ($t=11.015, 59.651, 38.199$, all $P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that The a cyst diameter >5 cm ($OR=1.828$), ASRM stage III~IV ($OR=1.815$), decreased serum *miR-17-5p* level decreased ($OR=2.042$), increased IL-6 level increased ($OR=2.136$) and increased MCP-1 level increased ($OR=1.966$) were all independent risk factors of postoperative recurrence in OEM patients Risk factors ($P<0.05$). ROC curve analysis showed revealed that the levels of serum *miR-17-5p*, IL-6 and MCP-1 and the AUC of combined detection were 0.816, 0.781, 0.745 and 0.933, respectively. Combined detection was shown to be superior to single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of *miR-17-5p*, IL-6 and MCP-1 has a certain predictive value for postoperative recurrence in patients with OEM.

[KEY WORDS] Ovarian endometriosis; *MicroRNA-17-5p*; Interleukin-6; Monocyte chemoattractant protein 1; Postoperative recurrence

子宫内膜异位症(Endometriosis, EM)是子宫内
膜组织在子宫以外的部位增殖生长, 侵及卵巢、输
卵管及骶韧带等部位, 引发疼痛、不孕及结节或包
块的妇科疾病, 其病情发展与遗传因素、性激素水
平、免疫反应以及炎症反应等多种因素有关^[1]。目
前临床上对于EM患者的主要治疗方案是进行腹
腔镜手术, 但患者术后复发EM的概率居高不下,
如何有效控制并预防术后复发是EM长期管理中
的重要难题^[2]。微小RNA-17-5p(*MicroRNA-17-5p*,
miR-17-5p)是一种包含20~22个核苷酸的非编码链
RNA分子, 其通过结合靶基因mRNA可以调控基
因转录后的表达水平, 参与调控机体细胞增殖分
化、炎症反应等生理过程^[3]。白细胞介素-6(*Interleu-*
kin-6, IL-6)是人体中重要的免疫调节细胞因子, 其
能够调节多种促炎细胞因子的表达水平, 介导组织
浸润和破坏, 在EM的发生过程中起到重要的作
用^[4]。单核细胞趋化蛋白1(*Monocyte chemoattrac-*
tant protein 1, MCP-1)属于单核-巨噬细胞特异性趋
化因子, 其通过募集巨噬细胞向炎症部位移动, 参与
子宫内膜增生和子宫内膜再生修复过程^[5]。本研究通
过分析*miR-17-5p*、IL-6及MCP-1联合检测对卵巢子
宫内膜异位症(Ovarian endometriosis, OEM)患者术
后复发的预测价值, 为临床诊治提供参考意见。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取郑州大学第三附属医院2019年1月至
2022年12月收治的100例OEM患者作为研究对
象, 为OEM组。纳入标准: ①存在慢性盆腔痛、胃
肠道不适及泌尿系统不适等符合OEM的相关症
状, 并经影像学检查确诊^[6]。②年龄 ≥ 18 岁; ③均
接受手术治疗; ④患者及其家属均知情同意。排
除标准: ①合并子宫肌瘤等其他严重妇科疾病;

②合并感染性疾病或免疫性疾病; ③合并恶性肿
瘤; ④不符合手术指征; ⑤妊娠期或哺乳期女性。
另选同期本院体检的健康女性共60名为对照组。
本研究经郑州大学第三附属医院伦理委员会通过。

1.2 手术治疗

OEM组患者进行腹腔镜手术治疗。患者进行
全身麻醉, 采取截石位。建立人工气腹后, 于麦克
伯尼点、反麦克伯尼点及脐部偏左侧进行穿刺置
入腹腔镜行探查, 探明病灶及周围组织黏连情况,
并测量囊肿直径大小。分解盆腔粘连与剥除囊肿
后, 用可吸收线缝合, 术后给予常规抗感染治疗。

1.3 血清指标检测

于清晨空腹状态下, 采集OEM组术前、对
照组体检当天的静脉血5 mL置入抗凝管中。
以3 500 r/min离心10 min, 离心半径为12 cm,
将离心分离的清液存放于 -80°C 冰箱中保存待检。

1.3.1 *miR-17-5p* 检测

利用Trizo试剂盒提取血清总RNA, 通过反
转录试剂盒进行反转录合成cDNA。以荧光定量
聚合酶链式反应法检测血清*miR-17-5p*的表达水
平, 相关反应条件如下: 95°C 变性30 s; 70°C 退火
45 s; 72°C 延伸40 s, 共40个循环。U6作内参, 引
物序列: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACAC-3'; R: 5'-
AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; *miR-17-5p*引
物序列: F: 5'-TGCGCCAAAGTGCTTACAGTGCA
-3'; R: 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT-3'。
以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算*miR-17-5p*的相对表达量。Trizo试
剂盒、反转录试剂盒均购于赛默飞世尔科技(中
国)有限公司。

1.3.2 IL-6、MCP-1 检测

IL-6与MCP-1均以酶联免疫吸附试验法(试剂
盒: 上海酶联生物技术有限公司)完成检测。检测仪
器为MK3型全自动酶标仪(芬兰Labsystem公司)。

1.4 调查方法

在手术出院后,以门诊定期复查的方式,每3个月对OEM组患者随访1次,共随访12个月。以随访期间患者出现痛经或慢性盆腔痛等阳性体征,且超声检查提示卵巢囊肿复发,将患者分为复发组23例与无复发组77例。收集年龄、孕次、产次、术后妊娠、囊肿直径、既往病史(高血压、糖尿病)、盆腔手术史、美国生殖医学学会(American Society for Reproductive Medicine, ASRM)分期[Ⅰ期(微小病变)、Ⅱ期(轻度)、Ⅲ期(中度)、Ⅳ期(重度)]^[6]以及血清miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平等可能影响OEM患者术后复发的资料。

1.5 统计学方法

采用SPSS 21.0统计学软件分析采集的数据。计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;以多因素Logistic回归分析OEM患者术后复发的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平对OEM患者术后复发的预测价值。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的血清miR-17-5p、IL-6与MCP-1水平比较

OEM组的miR-17-5p水平低于对照组;差异有统计学意义($P < 0.05$);OEM组的IL-6、MCP-1水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 OEM组与对照组的血清miR-17-5p、IL-6与MCP-1水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

Table 1 Comparison of serum miR-17-5p, IL-6 and MCP-1 levels between OEM group and control group $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	miR-17-5p	IL-6(pg/mL)	MCP-1(ng/L)
OEM组	100	0.76±0.17	132.57±13.49	35.71±4.48
对照组	60	1.11±0.23	23.63±5.44	11.83±2.36
<i>t</i> 值		11.015	59.651	38.199
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 OEM患者术后复发的单因素分析

单因素分析结果显示,复发组与无复发组的囊肿直径、ASRM分期以及miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 OEM患者术后复发的多因素Logistic回归分析

以OEM患者术后是否复发为因变量,将囊肿直径、ASRM分期以及miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平为

表2 OEM患者术后复发的单因素分析 $[n(\%), (\bar{x} \pm s)]$

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

因素	复发组 (<i>n</i> =23)	无复发组 (<i>n</i> =77)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)			0.869	0.351
≤30	10(43.48)	42(54.55)		
>30	13(56.52)	35(45.45)		
孕次(次)			2.091	0.148
≤1	8(34.78)	40(51.95)		
>1	15(65.22)	37(48.05)		
产次(次)			2.307	0.129
≤1	9(39.13)	44(57.14)		
>1	14(60.87)	33(42.86)		
术后妊娠			1.861	0.173
有	6(26.09)	9(11.69)		
无	17(73.91)	68(88.31)		
囊肿直径(cm)			13.376	<0.001
≤5	6(26.09)	53(68.83)		
>5	17(73.91)	24(31.17)		
高血压			0.305	0.581
有	7(30.43)	19(24.68)		
无	16(69.57)	58(75.32)		
糖尿病			0.283	0.595
有	5(21.74)	11(14.29)		
无	18(78.26)	66(85.71)		
盆腔手术史			0.698	0.404
有	9(39.13)	23(29.87)		
无	14(60.87)	54(70.13)		
ASRM分期			18.070	<0.001
Ⅰ~Ⅱ期	4(17.39)	52(67.53)		
Ⅲ~Ⅳ期	19(82.61)	25(32.47)		
miR-1-5p	0.59±0.14	0.81±0.19	5.144	<0.001
IL-6(pg/mL)	144.58±14.27	128.98±13.62	4.768	<0.001
MCP-1(ng/L)	39.13±4.87	34.69±4.32	4.199	<0.001

自变量进行Logistic回归分析。分析结果表明,囊肿直径>5 cm、ASRM分期为Ⅲ~Ⅳ期、血清miR-17-5p降低、IL-6升高及MCP-1升高均属于OEM患者术后复发的独立危险因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 血清miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平对OEM患者术后复发的预测价值

ROC曲线显示,血清miR-17-5p、IL-6、MCP-1水平及联合检测曲线下面积分别为0.816、0.781、0.745、0.933,联合的预测价值高于单一检测指标。见表4、图1。

3 讨论

OEM是妇科常见病,具有形态多样、侵袭性高和治疗后复发性高等一项调查研究表明,OEM患者术后复发率高达27.9%,约有8.3%的复发患者需要再次进行手术治疗,对卵巢功能造成不利影

表3 OEM患者术后复发的多因素Logistic回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of postoperative recurrence in OEM patients

因素	赋值	β 值	<i>S.E</i> 值	Wald值	OR值	95% CI	<i>P</i> 值
囊肿直径(cm)	$\leq 5=0, >5=1$	0.603	0.178	11.476	1.828	1.289~2.591	0.001
ASRM分期	I~II期=0, III~IV期=1	0.596	0.182	10.724	1.815	1.270~2.593	0.001
<i>miR-17-5p</i>	连续变量	0.714	0.263	7.370	2.042	1.220~3.419	0.007
IL-6(pg/mL)	连续变量	0.759	0.244	9.676	2.136	1.324~3.446	0.002
MCP-1(ng/L)	连续变量	0.676	0.207	10.665	1.966	1.310~2.950	0.001

表4 血清*miR-17-5p*、IL-6、MCP-1水平对OEM患者术后复发的预测价值

Table 4 The predictive value of serum *miR-17-5p*, IL-6 and MCP-1 levels for postoperative recurrence in patients with OEM

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	<i>P</i> 值
<i>miR-17-5p</i>	0.71	0.816	0.731~0.901	0.739	0.740	<0.001
IL-6	134.87	0.781	0.673~0.890	0.783	0.701	<0.001
MCP-1	36.16	0.745	0.632~0.859	0.652	0.597	<0.001
联合检测		0.933	0.884~0.983	0.870	0.831	<0.001

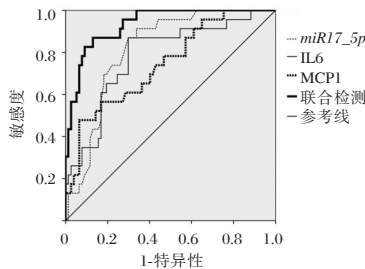


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

响^[7]。因此,分析与OEM术后复发相关的影响因素,对改善患者的预后具有积极意义。

EM是一种多因素和多基因疾病,异位子宫内膜能够黏附、增殖及浸润细胞外基质,其病理机制包括蛋白质水解及血管生成,可能与miRNA表达失调相关^[8]。许晓月等^[9]研究发现,*miR-17-5p*通过靶向调控血管生成基因的表达参与OEM的病情发展,*miR-17-5p*表达水平降低会促使卵巢子宫内膜异位囊肿的血管内皮生成因子与血小板反应蛋白-1表达,进而促使囊肿血管浸润生长。本研究结果显示,OEM组的血清*miR-17-5p*水平低于对照组,且复发组*miR-17-5p*水平低于未复发组,提示*miR-17-5p*水平与OEM病情的发生发展密切相关,*miR-17-5p*表达水平下降会促使异位囊肿血管增殖生长,诱导OEM患者术后复发。IL-6是一种促炎细胞因子,主要由T淋巴细胞、巨噬细胞等细胞介导分泌,其能够诱导多种细胞的增殖分化,参与调节机体的免

疫反应与炎症反应,对炎症相关疾病的诊断与评估具有重要作用^[10]。邹胜男等^[11]研究指出,IL-6可促使淋巴细胞增殖活化,造成EM患者发生免疫炎症损伤,并通过诱导异位内膜细胞增殖分化,进而加快EM病情进展。本研究结果显示,OEM组的血清IL-6水平高于对照组,且复发组IL-6水平高于未复发组。这可能是IL-6水平升高会引起OEM患者的免疫功能失衡,加重异位子宫内膜的侵袭性,导致OEM患者的病情进展与术后复发。

马雪莲等^[12]研究指出,MCP-1水平升高会加重EM患者体内的炎症反应,炎性介质和趋化因子会改变患者盆腔及腹腔环境,促使EM的发生发展。本研究结果显示,OEM组的血清MCP-1水平高于对照组,且复发组MCP-1水平高于未复发组,提示MCP-1水平与OEM病情进展及术后复发密切相关。多因素Logistic回归分析结果表明,囊肿直径>5 cm、ASRM分期为III~IV期、血清*miR-17-5p*降低、IL-6升高及MCP-1升高均属于OEM患者术后复发的独立危险因素。陈福健等^[13]研究指出,囊肿大小对OEM病情具有重要影响,囊肿直径越大,病情恶化的风险越高。朱晴晴等^[14]研究表明,ASRM分期为III~IV期的OEM患者囊肿间质浸润和侵袭程度更高,手术难以完整剥除,导致患者手术后复发的风险性较高。本研究结果显示,囊肿直径>5 cm、ASRM分期为III~IV期均会增加OEM患者术后复发的风险,与上述研究结果一致。提示临床应该重点关注相关患者群体,尽早进行治疗。进一步验证血清*miR-17-5p*、IL-6、MCP-1水平对OEM患者术后复发的评估作用,ROC曲线分析结果表明,各单一指标均具有较好的预测效果,联合检测能够提高敏感度和特异度。

综上所述,血清*miR-17-5p*、IL-6及MCP-1水平与OEM患者的病情进展相关,可能成为OEM患者术后复发的辅助预测指标。

阴道菌群与HPV感染及宫颈病变的相关性研究进展

张敏¹ 李晓聪² 丁海涛^{2*}

[摘要] 宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤,高危型人乳头瘤病毒的持续性感染是导致宫颈癌前病变发生并进展为宫颈癌的必要不充分条件。女性生殖道表面定植着众多微生物,以乳酸杆菌主导的健康阴道菌群对人体起着关键性的保护作用。随着高通量测序技术的发展,通过16SrRNA测序、宏基因组学测序等新的分子技术实现了对阴道菌群的准确分析。乳酸杆菌缺乏伴随多种厌氧菌增加的阴道菌群失调与HPV感染、宫颈病变发生发展密切相关。本文对阴道菌群与HPV感染及宫颈病变的相关性研究进行综述,并总结了种族、激素水平等因素对阴道菌群的影响,归纳了阴道菌群的相关检测手段,为HPV感染和癌前病变的研究提供新的思路,为进一步研究女性生殖道疾病的病因及发病机制提供科学依据,为预防以及治疗相关疾病奠定基础。

[关键词] 阴道菌群; HPV感染; 宫颈癌; 乳酸杆菌

Progress in research on the relationship between vaginal flora and HPV infection and cervical lesions

ZHANG Min¹, LI Xiaocong², DING Haitao^{2*}

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

[ABSTRACT] Cervical cancer is a common malignant tumor in women. Persistent infection with high-risk human papillomavirus is a necessary but insufficient condition for the occurrence of precancerous lesions and progression to cervical cancer. Many microorganisms colonize the surface of the female genital tract. The healthy vaginal flora dominated by *Lactobacillus* plays a key role in protecting the human body. With the development of high-throughput sequencing technology, 16S rRNA sequencing, metagenomics sequencing and other new molecular technologies have achieved accurate analysis of vaginal microbiota. *Lactobacillus* deficiency, along with an increase in multiple anaerobic bacteria, is widely associated with human papillomavirus infection and cervical lesions. This paper reviews the correlation between vaginal flora and human papillomavirus infection and cervical lesions. It also summarizes the effects of race, hormone levels, and other factors on vaginal flora as well as the detection methods of vaginal flora, providing new ideas for the prevention and treatment of HPV infection and precancerous lesions. Furthermore, it provides a scientific basis for further study on the etiology and pathogenesis of female reproductive tract diseases and lays a foundation for the prevention and treatment of related diseases.

[KEY WORDS] Vaginal flora; HPV infection; Cervical cancer; *Lactobacillus*

宫颈癌是全球第四大常见癌症,也是女性癌症相关死亡的第四大原因,2020年估计有60.4万新病例和34.2万人死亡^[1]。高危型人乳头瘤病毒

(high-risk human papillomavirus, hr-HPV)感染是宫颈癌及癌前病变的主要原因。全球大多数女性一生中至少感染过一次HPV或一种以上的HPV类

基金项目:内蒙古自治区卫生健康委医疗卫生科技计划项目(202201054)

作者单位:1. 内蒙古医科大学,内蒙古,呼和浩特 010059

2. 内蒙古自治区人民医院检验科,内蒙古,呼和浩特 010017

*通信作者:丁海涛, E-mail:htding2013@163.com

型,但强致癌型 HPV 的持续存在只在某些人中构成了进展为癌前病变和浸润性宫颈癌的直接风险。这表明在很大程度上其他不确定的辅助因素也在起作用。目前,阴道菌群、黏膜免疫、雌激素水平和宿主遗传因素等都被认为与 HPV 易感性及随后的疾病发展密切相关。近年来,越来越多的证据表明,阴道菌群的失调可能是宫颈癌发生的重要因素^[2]。

我国自 50 年代开始研究菌群失调,传统技术的限制无法详细阐明阴道菌群与疾病的具体联系,随着高通量测序技术的发展,新的区别于传统培养方法的分子技术使得阴道菌群的相关研究迈入新的领域。目前关于阴道菌群与人乳头瘤病毒感染、宫颈病变发生发展的相关性尚处于观察性研究阶段^[3]。近期国外的一项研究揭示了一种新的病毒免疫逃避策略,HPV 癌蛋白通过抑制维持乳酸杆菌属生存的宿主粘膜炎肽,进而导致阴道菌群失衡^[4]。而厌氧菌增多以及持续存在导致的氧化应激会促进 HPV 相关肿瘤病变的进展,HPV 与阴道菌群之间的联系是复杂和双向的,目前关于二者之间的关系尚不明确,需要更多的研究来证实。现就阴道菌群与 HPV 感染及宫颈病变的相关性研究进展进行具体综述,以期为进一步的机制研究以及乳酸杆菌干预等治疗方式提供新的依据。

1 阴道菌群的组成及作用

菌群是指多种微生物聚居在一起形成的系统,也称之为微生物群落。菌群定植在人体表面或腔道中,与宿主之间存在着互惠互利的关系。德国妇科医生阿尔伯特·多德莱恩于 1892 年首次描述了阴道菌群。2011 年 Ravel 利用高通量测序技术进一步将阴道菌群分为 5 类,分别是卷曲乳杆菌(*Lactobacillus crispatus*, *L. crispatus*)、加氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*, *L. gasseri*)、惰性乳杆菌(*Lactobacillus iners*, *L. iners*)、以厌氧菌为主的菌群、詹氏乳杆菌(*Lactobacillus jensenii*, *L. jensenii*)。正常阴道菌群是维持人体健康和生殖功能健全的重要防御机制之一,菌群的稳定性可以阻止共生微生物的异常增殖和外来病原体的定居,从而防止机体感染。

乳酸杆菌(*Lactobacillus*)是一组革兰氏阳性厌氧细菌,是人类胃肠道和泌尿生殖道的标准共生菌群,对潜在致病微生物有着天然抗性。作为正常阴道菌群中的优势菌,乳酸杆菌可与阴道黏膜的上皮

细胞受体结合,产生占位效应,通过竞争机制阻止病原微生物的黏附,此外乳杆菌还可以产生有机酸、过氧化氢和细菌素等自身调节因子,从而调节非特异性宿主免疫反应,进而抵御致病菌侵袭。

2 阴道菌群组成的影响因素

健康状态下,阴道菌群的组成受多种因素的影响。目前已证实,种族因素与菌群的差异组成显著相关^[5]。与西班牙裔和黑人女性相比,白人和亚洲女性更显著地表现出以乳酸杆菌为优势菌群^[6]。这些差异可能是由于影响黏膜免疫或代谢途径的遗传因素造成的,从而导致了特定人群体内的优势菌种定植。虽然遗传因素可能是形成阴道群落的关键,但也有研究表明,人类的生活习惯,如个人卫生^[7]、节育方法^[8]和性行为^[9]等也会对阴道菌群产生很大影响,这些习惯不同程度地影响着阴道菌群分布及阴道免疫活动。

女性荷尔蒙对阴道菌群的组成和稳定性也有重要影响。育龄期女性,其阴道菌群成分的波动可能与整个月经周期中周期性分泌的雌激素和孕酮有关,同时张展等发现相较于黄体期和卵泡期,月经期间阴道菌群物种多样性最高^[10]。

此外,研究者通过追踪不同生活方式的年轻健康女性,发现使用局部释放的孕激素避孕药、素食饮食和剧烈运动可能会导致阴道菌群改变和乳酸杆菌缺失^[11]。探究不同因素对阴道菌群的影响,对于了解阴道群落的稳定性、抵抗力和恢复力以及制定维持女性阴道健康和预防疾病的策略具有重要意义。

3 阴道菌群与人乳头瘤病毒感染的相关性

3.1 阴道菌群与 HPV 感染、持续感染及自然清除的相关性

几乎所有的横断面研究都发现,感染 HPV 的女性与未感染的女性相比,其阴道菌群的多样性明显增高,而且伴随着乳酸杆菌的枯竭和厌氧菌的过度生长。报告发现感染 HPV 的女性,阴道菌群中的加德纳菌属(*Gardnerella vaginalis*)、纤毛菌属(*Sneathia*)、阿托波菌属(*Atopobium*)、普雷沃菌属(*Prevotella*)等相对丰度增高,乳酸杆菌的含量降低^[3]。此外,研究发现在 hr-HPV 持续性感染中,阴道菌群也呈现出上述紊乱状态^[12]。近期研究表明,阴道中 *Prevotella* 通过宿主 NF- κ B 和 C-myc 通

路影响 hr-HPV 持续性感染以及相关宫颈病变的发生^[13]。由此可见,感染 HPV 的阴道菌群中富集的 *Prevotella* 等细菌可作为 HPV 感染的微生物标志物,相关特定物种在 HPV 感染过程中的作用和机制仍需进一步的研究探讨。

阴道菌群与 HPV 感染的自然清除也存在相关性。研究发现,在 HPV 自然清除过程中,女性阴道菌群中含有丰富的 *L. crispatus*^[14]。相反,阴道菌群中含有丰富的 *Atopobium* 则显著减慢了 HPV 的缓解率。研究表明,由 *L. gasseri* 或 *L. jensenii* 主导的阴道菌群可以帮助免疫细胞清除 HPV 感染,绕过病毒逃逸并恢复免疫稳态^[15]。由此可见,阴道菌群多样性增加、乳酸杆菌缺乏会增加 HPV 的易感性,影响 HPV 病毒的清除,造成持续性感染。

3.2 阴道菌群可能的保护作用及致病机制

乳酸杆菌产生的乳酸有 D-乳酸和 L-乳酸两种,前者主要由 *L. jensenii*、*L. crispatus*、*L. gasseri* 产生,后者由 *L. iners* 和多种厌氧菌产生。*L. iners* 和非乳酸杆菌占优势的阴道菌群有较高的 L-乳酸和 D-乳酸比率,增强了细胞外基质金属蛋白酶诱导物的表达,激活了基质金属蛋白酶 8,从而通过改变宫颈完整性,促进 HPV 进入基底角质形成细胞。相反,以 *L. crispatus* 为主的阴道菌群可增加宫颈阴道粘液的粘度,促进病毒捕获。此外,*L. iners* 占据优势的阴道菌群,相较于其他群落类型更加不稳定。*L. iners* 会增加严格厌氧菌生长的机会,从而过渡到以非乳杆菌为主的阴道菌群。相关研究也证实了这点,即在 HPV 持续感染的女性中往往会发现以 *L. iners* 为主的阴道菌群^[12]。唾液酸酶是一组粘蛋白降解酶,由细菌性阴道炎(Bacterial vaginosis, BV)相关的细菌产生,可以破坏粘膜和上皮的完整性,帮助 HPV 进入基底角质形成细胞。因此,患有 BV 的女性更容易感染 HPV。阴道菌群与 HPV 感染的具体机制,阴道菌群、HPV 以及宿主之间的相互作用需要更深入的研究。

4 阴道菌群与宫颈病变的相关性

4.1 阴道菌群与宫颈病变程度及宫颈上皮内瘤变消退的相关性

研究者陆续对不同程度的宫颈病变患者的阴道菌群结构进行了研究,发现疾病严重程度的加深与阴道微生物多样性的增加有关,并且菌群可能参与调节病毒感染和疾病进展^[16]。与健康人相

比,患有宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的女性阴道菌群多样性显著增加,某些细菌分类群显著上升,因此差异菌群可以作为宫颈病变的生物标志物^[2]。此外,乳酸杆菌丰度降低以及特定厌氧类群的存在与宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)的持续性和较慢的消退有关^[17]。在物种水平上,阴道菌群以 *L. crispatus* 为主的女性有更快的消退率和更高的 CIN 缓解率。目前,横断面研究能够发现阴道菌群与宫颈病变之间存在的关联,但无法明确其因果关系,仍需进行更多的前瞻性研究深入探讨,筛选微生物标志物用于临床诊治。

4.2 阴道菌群参与宫颈病变的发生

研究发现,宫颈抗炎因子白介素-4(interleukin-4, IL-4)和转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)的高表达与梭杆菌的存在有关^[18],促炎症因子、趋化因子、造血细胞因子等与非乳酸杆菌主导的阴道菌群有关^[19]。此外,已知的循环肿瘤生物标志物与阴道菌群失调呈正相关^[20]。由此可见,阴道菌群失调可能是宫颈病变发生的危险因素之一,宫颈癌的发病机制较复杂,有学者认为阴道菌群作为粘膜屏障的一部分参与机体免疫,尤其是在局部免疫中发挥作用,因此这些微生物可能通过对局部炎症或局部免疫监视的调节间接参与宫颈病变发生发展^[21]。研究显示,宫颈病变患者的菌群代谢物与健康人相比存在显著差异^[22]。其中,乳杆菌丰度相关的特定代谢物集合主要涉及肽、氨基酸和核苷酸途径,而非乳杆菌占优势的菌群,氨基酸和核苷酸代谢紊乱。抗炎分子腺苷和胞嘧啶与乳杆菌丰度呈正相关,而甘氨酸、脱氧胆酸和肉碱代谢与非乳杆菌、生殖器炎症相关。因此,阴道微生态失衡可能有利于 HPV 在局部微环境中持续存在,从而增加肿瘤疾病的风险。也有可能是生殖器炎症、阴道菌群失调以及代谢紊乱与感染高危 HPV 的共同作用直接影响癌症的特征(如细胞增殖、逃避凋亡、DNA 突变和甲基化等),从而加剧癌前病变的发展和癌症的进展。总而言之,阴道菌群失衡可能上调致癌的关键途径,相比之下,*L. crispatus* 等乳杆菌的存在可能通过调节细胞周期、降低 HPV 癌基因的表达和增加肿瘤抑制因子 p21 的表达从而对宫颈癌细胞的生存能力产生抑制作用^[23]。仍需进一步的研究探讨阴道菌群在宫颈病变发生发展过程中的作用机制,发掘阴道菌群的潜在诊疗价值。

5 阴道菌群的检测手段

传统的微生物种群的鉴定方法包括:选择性培养、显微镜形态学观察、纯种细菌分离和生化鉴定等。这些传统的分析方法费时、敏感性低,很多复杂菌群受培养技术和生化鉴定的限制,无法培养和鉴别。研究微生物分子生物学的方法也多种多样,常见的包括:分子杂交、克隆文库和变性高效液相色谱等^[24]。这些方法相对易于实验操作但分辨率低、信息量有限。随着高通量测序的发展,新的独立于培养的分子技术,如16SrRNA测序、宏基因组学测序^[25]、代谢分子谱等技术使进一步研究阴道菌群的特征成为可能。

5.1 16SrRNA 测序与宏基因组学测序

16SrRNA 可变区测序分析的方法是基于核糖体 rRNA 基因的扩增子测序来反映系统中微生物多样性的组成,通过扩增某个或某几个高变区,一般可精确到“属”水平,少数可鉴定到“种”。对于某些菌,高变区中序列的相似度非常高,或者区分不同菌的序列片段不在扩增区域内,均会导致无法鉴定到“种”。而宏基因组学对生态环境中全部微小生物的基因组进行测序,更真实地反应样本中微生物组成、互作情况;直接分析微生物中所含全部基因组信息并在分子水平挖掘其代谢通路、基因功能。

5.2 代谢组学

代谢组学可通过对生物体系在一特定生理时期内所有小分子代谢物的组成及其含量变化进行测定,从而表征生物体系的整体代谢特征。通过菌群代谢物的检测可以更深入地探索菌群所处的微生态环境。由于生态失调或环境因素引起的宫颈阴道微生物群落的变化可改变宫颈阴道代谢物,癌细胞的分泌物以及微生物发酵产物最终可以调节微环境,并影响宿主和微生物的代谢。因此,宫颈阴道微环境的代谢分子谱有可能揭示宿主和微生物之间在疾病发展过程中的相互作用。

6 展望

尽管多项研究已表明阴道菌群与疾病发生发展有密切的联系,但仍需要更多的工作来研究患病人群与健康人群阴道菌群组成差异、功能差异及代谢物的差异,从而进一步全面、客观地了解女性生殖道疾病的病因及发病机制,为稳定阴道菌

群结构的治疗提供新的着力点,使阴道菌群能够有效抵御病原微生物的入侵。此外,阴道菌群结构的改变作为 HPV 感染及宫颈病变风险增加的微生物指标还有待证实,未来需要更多的研究来挖掘阴道菌群在预防、诊断及治疗方面的潜力。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Liu H, Liang H, Li D, et al. Association of cervical dysbacteriosis, hpv oncogene expression, and cervical lesion progression [J]. *Microbiol Spectr*, 2022: e0015122.
- [3] Fang B, Li Q, Wan Z, et al. Exploring the association between cervical microbiota and hr-hpv infection based on 16s rna gene and metagenomic sequencing [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 922554.
- [4] Lebeau A, Bruyere D, Roncarati P, et al. Hpv infection alters vaginal microbiome through down-regulating host mucosal innate peptides used by lactobacilli as amino acid sources [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1076.
- [5] Hotkani ZG, Ghaedmohammadi S, Mozdoori N. Meta-analysis of race and age influence on the vaginal microbiome in pregnant and nonpregnant healthy women [J]. *Future Microbiol*, 2022, 17: 1147-1159.
- [6] Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 Suppl 1 (Suppl 1): 4680-4687.
- [7] Aslan E, Bechelaghem N. To 'douche' or not to 'douche': Hygiene habits may have detrimental effects on vaginal microbiota [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2018, 38(5): 678-681.
- [8] Bastianelli C, Farris M, Bianchi P, et al. The effect of different contraceptive methods on the vaginal microbiome [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2021, 14(7): 821-836.
- [9] Sivro A, Mwatelah R, Kambaran C, et al. Sex work is associated with increased vaginal microbiome diversity in young women from mombasa, kenya [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2020, 85(1): 79-87.
- [10] Zhang Z, Bai HH, Zong XN, et al. [dynamics of vaginal microbiota in women of reproductive age during the menstrual cycle] [J]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 2022, 57(2): 101-109.
- [11] Song SD, Acharya KD, Zhu JE, et al. Daily vaginal microbiota fluctuations associated with natural hormonal cycle, contraceptives, diet, and exercise [J]. *mSphere*, 2020, 5(4): e00593-20.
- [12] Mei L, Wang T, Chen Y, et al. Dysbiosis of vaginal microbiota associated with persistent high-risk human papilloma virus infection [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 12.

- [13] Dong B, Huang Y, Cai H, et al. Prevotella as the hub of the cervicovaginal microbiota affects the occurrence of persistent human papillomavirus infection and cervical lesions in women of childbearing age via host nf- κ b/c-myc [J]. *J Med Virol*, 2022, 94(11): 5519-5534.
- [14] Brotman RM, Shardell MD, Gajer P, et al. Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection [J]. *J Infect Dis*, 2014, 210(11): 1723-1733.
- [15] Nicolò S, Tanturli M, Mattiuz G, et al. Vaginal lactobacilli and vaginal dysbiosis-associated bacteria differently affect cervical epithelial and immune homeostasis and anti-viral defenses [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6487.
- [16] Chen Y, Qiu X, Wang W, et al. Human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia progression are associated with increased vaginal microbiome diversity in a chinese cohort [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 629.
- [17] Mitra A, MacIntyre DA, Ntrisos G, et al. The vaginal microbiota associates with the regression of untreated cervical intraepithelial neoplasia 2 lesions [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1999.
- [18] Audirac-Chalifour A, Torres-Poveda K, Bahena-Román M, et al. Cervical microbiome and cytokine profile at various stages of cervical cancer: A pilot study [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153274.
- [19] Łaniewski P, Barnes D, Goulder A, et al. Linking cervicovaginal immune signatures, hpv and microbiota composition in cervical carcinogenesis in non-hispanic and hispanic women [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7593.
- [20] Łaniewski P, Cui H, Roe DJ, et al. Features of the cervicovaginal microenvironment drive cancer biomarker signatures in patients across cervical carcinogenesis [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7333.
- [21] Łaniewski P, Cui H, Roe DJ, et al. Vaginal microbiota, genital inflammation, and neoplasia impact immune checkpoint protein profiles in the cervicovaginal microenvironment [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2020, 4: 22.
- [22] İlhan ZE, Łaniewski P, Thomas N, et al. Deciphering the complex interplay between microbiota, hpv, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling [J]. *EBioMedicine*, 2019, 44: 675-690.
- [23] Wang KD, Xu DJ, Wang BY, et al. Inhibitory effect of vaginal lactobacillus supernatants on cervical cancer cells [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2018, 10(2): 236-242.
- [24] Nocker A, Burr M, Camper AK. Genotypic microbial community profiling: A critical technical review [J]. *Microb Ecol*, 2007, 54(2): 276-289.
- [25] Li N, Cai Q, Miao Q, et al. High-throughput metagenomics for identification of pathogens in the clinical settings [J]. *Small Methods*, 2021, 5(1): 2000792.

(上接第 585 页)

参考文献

- [1] Horne AW, Missmer SA. Pathophysiology, diagnosis, and management of endometriosis [J]. *BMJ*, 2022, 379: e070750.
- [2] Chiu CC, Hsu TF, Jiang LY, et al. Maintenance Therapy for Preventing Endometrioma Recurrence after Endometriosis Resection Surgery-A Systematic Review and Network Meta-analysis [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2022, 29(5): 602-612.
- [3] 刘聪, 刘肃. miR-17-5p 调控低氧诱导因子 1 α 介导脂肪细胞分化及血管生成的分子机制 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(7): 1069-1074.
- [4] El-Zayadi AA, Mohamed SA, Arafa M, et al. Anti-IL-6 receptor monoclonal antibody as a new treatment of endometriosis [J]. *Immunol Res*, 2020, 68(6): 389-397.
- [5] Heidari S, Kolahdouz-Mohammadi R, Khodaverdi S, et al. Expression levels of MCP-1, HGF, and IGF-1 in endometriotic patients compared with non-endometriotic controls [J]. *BMC Womens Health*, 2021, 21(1): 422.
- [6] 中国医师协会妇产科医师分会, 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症诊治指南(第三版) [J]. *中华妇产科杂志*, 2021, 56(12): 812-824.
- [7] Choi SH, Kim S, Lee SW, et al. Recurrence, Reoperation, Pregnancy Rates, and Risk Factors for Recurrence after Ovarian Endometrioma Surgery: Long-Term Follow-Up of 756 Women [J]. *Yonsei Med J*, 2023, 64(3): 204-212.
- [8] 陈渝, 夏晓梦. MicroRNA 早期诊断子宫内膜异位症的研究进展 [J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(6): 49-55.
- [9] 袁明, 汪雯雯, 王世宣, 等. 卵巢子宫内膜异位症患者血浆中 miRNA 的表达及临床意义 [J]. *现代妇产科进展*, 2021, 30(3): 193-196.
- [10] Said EA, Al-Reesi I, Al-Shizawi N, et al. Defining IL-6 levels in healthy individuals: A meta-analysis [J]. *J Med Virol*, 2021, 93(6): 3915-3924.
- [11] 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.
- [12] 马雪莲, 李海燕. GnRH- α 联合 LNG-IUS 对子宫内膜异位术后患者血清 ENA-78 及 MCP-1 水平的影响 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(7): 910-913.
- [13] 陈福健, 刘学良, 刘欣. 卵巢型子宫内膜异位症恶变危险因素初步分析 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2023, 30(7): 419-423.
- [14] 朱晴晴, 吴明富, 冯严支, 等. III/IV 期卵巢子宫内膜异位症保守手术后复发相关因素分析 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2021, 50(1): 90-93.

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。

