



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

分子诊断与治疗杂志

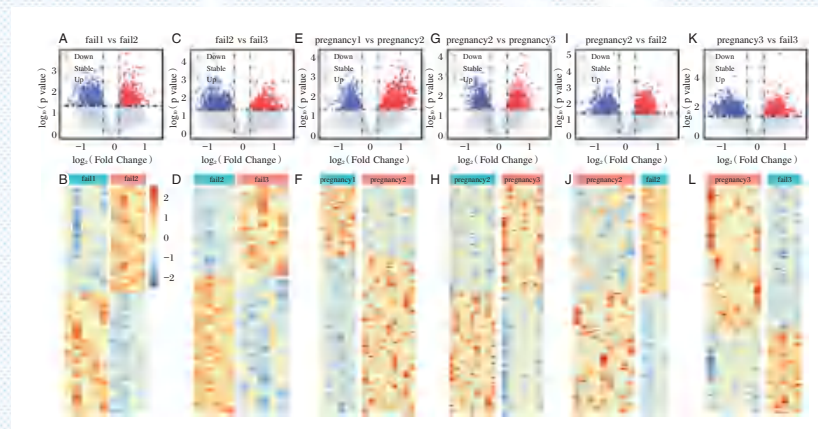
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2023年12月 第15卷 第12期 总第112期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 15 Number 12 December 2023



注: A 表示 Fail1 和 Fail2 的 TSS 差异分析的火山图,图中蓝、红和灰点分别表示 TSS 基因表达显著下调、显著上调和无差异;B 表示 Fail1 和 Fail2 的 TSS 差异基因在不同样本中的覆盖深度分布的热图;其它图注释类似。

图(2208) 不同组间 cfDNA TSS 的差异分析及覆盖深度分析

Figure(2208) Differential analysis and coverage depth analysis of cfDNA TSS between different groups

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



曹汴川



曹汴川，1986年8月出生。2019年毕业于广西医科大学，医学博士学位。现任西南医科大学附属医院感染二科主任助理，凉山彝族自治州越西县第一人民医院副院长（挂职）。担任四川省防痨协会结核潜伏感染与免疫分会副主任委员，中国防痨协会青年分会委员，四川省康复医学会感染病学专委会委员，四川省医学会第十届感染病学专委会秘书，四川省艾滋病治疗四片区质控专家组成员，泸州市艾滋病治疗质控专家组成员。

曹汴川博士从事艾滋病的基础与临床研究，致力于艾滋病功能性治愈、HIV低病毒血症及耐药检测等方面研究。现主持中国性病艾滋病防治协会、四川省卫生健康委、凉山州科技局及泸州市卫生健康委等各级科研课题7项，以第一作者或通讯作者在相关领域的国内外期刊上发表论文28篇。

分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2023 年 12 月 第 15 卷 第 12 期 总第 112 期 Monthly Volume 15 Number 12 December 2023

主管	中山大学
主办	《中国家庭医生》杂志社有限公司
承办	广州达安基因股份有限公司
总编辑	张翼鹏
顾问	申子瑜
主编	李明
编辑部主任	刘悦
编辑部	《分子诊断与治疗杂志》编辑部
编辑	李晓兰 李彩珍 莫源浩
出版	《中国家庭医生》杂志社有限公司
地址	广州市天河区天河北路 179 号祥龙大厦 11 楼 (510620)
电话	(020) 32290789-206, 32290789-201
电子邮箱	jmdt@vip.163.com
刊号	ISSN 1674-6929 CN 44-1656/R
邮发代号	46-283
发行单位	广东省报刊发行局
发行范围	国内外公开发售
广告发布登记通知书	440100190057
印刷	天意有福科技股份有限公司
出版日期	2023 年 12 月 18 日
定价	RMB 15.00 元
Responsible Institution	<i>Sun Yat-sen University</i>
Sponsor	<i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i>
Organizer	<i>Daan Gene Co., Ltd.</i>
Editor in Chief	<i>ZHANG Yipeng</i>
Consultant	<i>SHEN Ziyu</i>
Editor in Chief	<i>LI Ming</i>
Managing Director	<i>LIU Yue</i>
Editorial Office	<i><JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office</i>
Editors	<i>LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao</i>
Editing	<i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i>
Add	<i>11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620</i>
Tel	<i>(020) 32290789-206, 32290789-201</i>
E-mail	<i>jmdt@vip.163.com</i>
CSSN	<i>ISSN 1674-6929 CN 44-1656/R</i>
Printing	<i>TianYi Yofus Technology Co., Ltd.</i>
Publish Date	<i>2023.12.18</i>
Price	<i>RMB 15.00</i>



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》



中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

收录证书

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

分子诊断与治疗杂志

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

特颁发此证书。

中国科学技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038 www.istic.ac.cn

2022年12月



分子诊断与治疗杂志

月刊 2023年12月 第15卷 第12期

目次

述评

药物基因组学标志物检测产品发展的现状和思考 李冉 方丽 刘容枝(2041)

论著

生长抑素联合奥曲肽治疗对肝硬化上消化道出血患者炎性介质、氧化应激及凝血功能的影响
..... 彭静 孙海丽 沈爱等(2044)

BANCR 通过 miR-145-5p/Notch2/Nur77 轴调节黑色素瘤细胞干性的机制
..... 陈向军 于丽 王星等(2048)

APO-A1、Hcy 及 RBP 在糖尿病足诊断及评估中的应用价值 马庆 鹿亮(2053)

血浆维生素 D 水平与恶性血液病替代供体异基因造血干细胞移植预后后的相关性
..... 杨梓艺 刘红星 张建平 等(2057)

孕期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平监测在预测胎儿生长受限中的作用
..... 张晓丹 杜德奇 徐毅(2062)

肺结核合并 2 型糖尿病患者结核分枝杆菌 *rpoB* 基因的检测和意义
..... 侯永华 殷智晔 王永峰 等(2066)

Cys-C、ALB 及 A/G 在结直肠癌预后中的评估价值 杨敏 李雯 朱虹(2071)

AMI 并发室性心律失常患者 QTc、Tp-Tec 间期变化及其与心功能的相关性
..... 姚丽红 王亚亚 张媛(2075)

年龄休克指数、PALBI 评分及 BUN/Cr 比值对急性消化道出血输血治疗患者预后的预测价值
..... 吴永美 卞熠 俞远怀 等(2079)

超声引导下不同标记法对不可触及乳腺肿物病灶切除准确率及切除组织量的影响
..... 朱涛 徐洁 田甜 等(2083)

孕中期双胎妊娠孕妇血清 E2、P、 β -HCG 联合检测对母婴结局的判断价值分析
..... 董丹 杜娜 董倩 等(2088)

内侧开放楔形胫骨高位截骨术治疗膝关节内翻畸形患者的效果及对血清 Cor、ACTH 及 MDA 水平
的影响 何维栋 李洪娥 张建 等(2092)

血清肿瘤标记物及 IL-18、VEGF 对大肠息肉复发的预测价值 王宇彤 王亚晴 贯芳(2097)

河源地区 *MTHFR* 及 *MTRR* 基因位点多态性与妊娠期高血压疾病的关系
..... 谢利英 熊爱群 陈贻继(2101)

红细胞增多症 *SOCS3* mRNA 的表达情况及其与 JAK2V617F 点突变的相关性研究
..... 刘珊 邢晶晶 李志赏 等(2105)

肺癌合并肺部感染病原学特点及其血清 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平检测价值分析
..... 郭淑娟 韩吉香 姜文青(2109)

输血治疗对消化道出血 HB、HCT、止血效果与再出血的影响分析 郭进 朱文娟 应斐 等(2113)

血清 Cys-c、NLR、TFF3 对妊娠期糖尿病早期肾功能损伤的预测价值 张娟娟 杜云 陈群 等(2117)

增强 CT 检查联合 EGFR、NSE 及 SCC 检测在肺癌诊断及预后评估中的应用
..... 柏昆 张铭 剧素贞 等(2121)

七叶皂苷钠联合软通道穿刺引流术对高血压脑出血患者 IL-17、NF- κ Bp65 表达的影响
..... 董文征 陈平 苗壮(2125)

血清 MIF 水平检测及其对子宫内膜异位症的临床诊断价值	梁玉珍 邓润叨 钟树林(2130)
右美托咪定复合舒芬太尼靶控镇痛对腹腔镜术后应激反应及睡眠质量的影响	苏晓颜 万兆星 郭正轩(2134)
颈动脉超声定量参数联合 NLR、SII 对 2 型糖尿病患者并发脑梗死的诊断价值	张燕 葛健康 陈小盼 等(2138)
消化内科老年重症患者医院感染 CRE 感染特征及有关危险因素分析	李津锋 董亚辉 白言声 等(2142)
结肠癌患者 <i>miR-148a-3p</i> 、 <i>miR-19a</i> 表达及与预后的关系	胡敏 牛雅轩 王瑾琳 等(2147)
CA125 联合 HE4 在判断晚期卵巢癌新辅助化疗疗效的价值	徐建波 高玲玲 王卫杰(2151)
血清 Apelin-13、MCP-1 及 PTX3 对膝关节骨性关节炎患者合并骨质疏松的诊断价值	孙智 张方青 王清虎 等(2155)
慢性乙型肝炎患者乙肝病毒基因分型和病毒载量的相关性及其临床意义	刘明 卞成蓉 杨宁 等(2159)
低频重复经颅磁刺激辅助手术治疗对重型颅脑损伤患者炎症因子、血流动力学及预后的影响	李华 张俊(2163)
外周血 <i>miR-21</i> 、MIP-2、PCT 及 IL-6 在冠心病慢性心力衰竭合并肺部感染患者中的表达及意义	王建爱 于蕾 罗育红 等(2167)
血小板计数、凝血酶原时间及纤维蛋白原对多发性创伤患者下肢深静脉血栓形成的预测价值	陆森 徐进宇 张云(2172)
2020-2022 年深圳市某中医院细菌耐药监测及耐药性分析	卫清 李瑜珍 张惠媚 等(2176)
BNP、血小板参数联合 Tei 指数在重症肺炎患儿病情评估中的作用	赵亮 王彦波 周彬(2181)
sICAM-1、CRP、MMP-12 与结肠癌伴糖尿病围术期血糖及术后感染预测	邱巍 陈素梅 刘东声(2185)
LDH、LMR 及 ALI 在肺癌诊断及预后评估中的预测价值	顾海迪 王晨洁 杨军(2189)
Lichtenstein、TEP 及 TAPP 对成人腹股沟疝患者术后 VAS 评分及 CRP、IL-6 和 TNF- α 水平的影响	田国标 陈晓波 朱江 等(2194)
HP 阳性慢性萎缩性胃炎患者血清 CD47、NF- κ B 及 TFF2 变化分析	朱丽妮 张磊 张李群 等(2198)
PAPP-A、MMP-9 联合 β -HCG 检测在稽留流产中的预测价值	李燕 耿媛媛 董君 等(2202)
胚胎移植不同结局人群的游离 DNA 核小体印迹差异表达分析	梅凤琦 蔡晶 何珮清 等(2206)
肺结核病人人工智能辅助诊断系统微信小程序的开发和应用	李耿聪 林健雄 彭东东 等(2211)
<i>miR-21</i> 、TGF- β 1、CD26 在瘢痕疙瘩组织中的表达及相关性分析	韩晓梅 胡彩霞 江绍乾 等(2215)
<i>BDNF</i> 基因多态性与脑卒中认知障碍遗传易感性的相关性	胡国艳 谭锻玲 李雨晴 等(2219)
ACR、Cys C、ApoA1 水平与慢性心力衰竭患者病情严重程度及预后的相关性分析	史蓓蓓 王妍 崔晓婷(2224)
肺结核患者抗结核治疗前后呼吸道菌群生态的变化	林媛 谭守勇 蔡杏珊 等(2229)
脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8、IL-18 变化及其与神经功能缺损程度的关系	邓希兰 董瑞 王志琪(2233)
PCR-金磁微粒层析法检测 <i>MTHFR C677T</i> 基因多态性方法的建立及评价	陈锦亮 蓝槐敏 黄慧莹 等(2237)

综 述

分子诊断及疾病治疗的新工具: CRISPR/cas13 系统	赵亚楠 曹啟新 赵建平 等(2242)
--------------------------------------	---------------------

专家风采

曹汴川	(封二)
-----------	------

实验室巡礼

西南医科大学附属医院感染与免疫实验室	(封三)
--------------------------	------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 15 Number 12 December 2023

CONTENTS

COMMENTS

- Current situation and consideration on the development of pharmacogenomic marker detection products
LI Ran, FANG Li, LIU Rongzhi (2041)

ORIGINAL ARTICLES

- Effects of somatostatin combined with octreotide therapy on inflammatory mediators, oxidative stress and coagulation function in patients with liver cirrhosis combining upper gastrointestinal bleeding
PENG Jing, SUN Haili, SHEN Ai, YUAN Yuting, FENG Haijuan (2044)
- BANCR regulates melanoma cell stemness through the miR-145-5p/Notch2/Nur77 axis
CHEN Xiangjun, YU Li, WANG Xing, LIANG Junqing, WU Di, LIU Zhaoxing, LIU Sha (2048)
- Application value of APO-A1, Hcy and RBP in diagnosis and evaluation of diabetic foot
MA Qing, LU Liang (2053)
- Correlation between plasma vitamin D levels and outcome of alternative donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for malignant hematologic diseases
YANG Ziyi, LIU Hongxing, ZHANG Jianping, WANG Lei, ZHANG Qian, ZHAO Ying (2057)
- The role of monitoring serum sVEGFR2, HPL, and IGF-1 levels during pregnancy in predicting fetal growth restriction
ZHANG Xiaodan, DU Deqi, XU Yi (2062)
- Detection and significance of *rpoB* gene of *Mycobacterium tuberculosis* in patients with pulmonary tuberculosis complicated with type 2 diabetes mellitus
HOU Yonghua, YIN Zhiye, WANG Yongfeng, MA Qingyan, XU Na, ZHANG Huan, YU Liwei (2066)
- Evaluation value of Cys-C, ALB and A/G in the prognosis of colorectal cancer
YANG Min, LI Wen, ZHU Hong (2071)
- Changes of QTc and Tp-Tec intervals in patients with AMI complicated with ventricular arrhythmia and their correlation with cardiac function
YAO Lihong, WANG Yaya, ZHANG Yuan (2075)
- Prognostic value of age shock index, PALBI score and BUN/Cr ratio in patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated by blood transfusion
WU Yongmei, BIAN Yi, YU Yuanhuai, WU Yuanyuan (2079)
- The influence of different ultrasound-guided labeling methods on the accuracy of excision of untouchable breast tumor and the amount of excision tissue
ZHU Tao, XU Jie, TIAN Tian, CHENG Yao (2083)
- Analysis of the value of combined detection of serum E₂, P, and β-HCG in pregnant women with twin pregnancies in the second trimester to determine maternal and fetal outcomes
DONG Dan, DU Na, DONG Qian, GUO Liang (2088)
- Effect of medial open wedge high tibial osteotomy on patients with varus of knee joint and its influence on serum levels of Cor, ACTH and MDA
HE Weidong, LI Hong'e, ZHANG Jian, YAN Chen, DONG Yuefu, LIU Jian (2092)
- Predictive value of serum tumor markers, IL-18 and VEGF for recurrence of colorectal polyps
WANG Yutong, WANG Yaqing, GUAN Fang (2097)
- Relationship between polymorphism of *MTHFR* and *MTRR* gene loci and gestational hypertension in Heyuan region
XIE Liying, XIONG Aiqun, CHEN Yiji (2101)
- Study on the expression of *SOCS3* mRNA in polycythemia and its correlation with *JAK2* V617F point mutation
LIU Shan, XING Jingjing, LI Zhishang, WANG Dongmei (2105)
- Etiological characteristics and detection value of serum TNF-α, IL-1β and IL-6 in lung cancer combined with lung infection
GUO Shujuan, HAN Jixiang, JIANG Wenqing (2109)
- Analysis of the impact of blood transfusion therapy on HB, HCT, hemostatic effect and rebleeding in gastrointestinal bleeding
GUO Jin, ZHU Wenjuan, YING Fei, QIAN Yefa (2113)
- Prognostic value of serum Cys-c, NLR and TFF3 for early renal function impairment in gestational diabetes mellitus
ZHANG Juanjuan, DU Yun, CHEN Qun, WEI Yanling (2117)
- Application of Contrast-enhanced CT examination combined with EGFR, NSE and SCC detection in the diagnosis and prognosis evaluation of lung cancer
BAI Kun, ZHANG Ming, JU Suzhen, FENG Yun, FU Hongchao, LIANG Kaiyi (2121)
- Effect of sodium heptasaponin combined with soft-channel puncture drainage on the expression of IL-17 and NF-κBp65 in patients with hypertensive cerebral hemorrhage
DONG Wenzheng, CHEN Ping, MIAO Zhuang (2125)

Detection of serum MIF level and its value in clinical diagnosis of endometriosis <i>LIANG Yuzhen, DENG Rundao, ZHONG Shulin</i>	(2130)
Effects of target-controlled analgesia with dexmedetomidine combined with sufentanil on stress response and sleep quality after laparoscopy <i>SU Xiaoyan, WAN Zhaoxing, GUO Zhengxuan</i>	(2134)
Diagnostic value of carotid ultrasound quantitative parameters combined with NLR and SII in type 2 diabetes patients with cerebral infarction <i>ZHANG Yan, GE Jiankang, CHEN Xiaopan, JIANG Zhimin, LI Fangqi, LV Jia, WANG Feng</i>	(2138)
Analysis of characteristics and related risk factors of nosocomial CRE infection in elderly critically ill patients in the Department of Gastroenterology <i>LI Jinfeng, DONG Yahui, BAI Yansheng, BAI Tao, TANG Yinpei, ZHANG Yuanyuan, LIU Yijie</i>	(2142)
Expressions of <i>miR-148a-3p</i> and <i>miR-19a</i> in patients with colon cancer and their relationship with prognosis <i>HU Min, NIU Yaxuan, WANG Jinlin, CHEN Xiao, CUI Facai</i>	(2147)
Value of CA125 combined with HE4 in evaluating the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer <i>XU Jianbo, GAO Lingling, WANG Weijie</i>	(2151)
Diagnostic value of serum Apelin-13, MCP-1 and PTX3 in patients with knee osteoarthritis complicated with osteoporosis <i>SUN Zhi, ZHANG Fangqing, WANG Qinghu, ZHAO Lijuan</i>	(2155)
Correlation and clinical significance of hepatitis B virus genotype and viral load in patients with chronic hepatitis B <i>LIU Ming, BIAN Chengrong, YANG Ning, ZHANG Wang, YANG Guang, XU Jun, SU Yinliang, LIU Xuedi, LI Bo'an</i>	(2159)
Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation-assisted surgery on inflammatory factors, hemodynamics and prognosis in patients with severe traumatic brain injury <i>LI Hua, ZHANG Jun</i>	(2163)
Expression and significance of <i>miR-21</i> , MIP-2, PCT and IL-6 in peripheral blood in patients with coronary heart disease and chronic heart failure complicated with pulmonary infection <i>WANG Jianai, YU Lei, LUO Yuhong, ZHANG Hui, HU Jianxiu</i>	(2167)
Predictive value of platelet count, prothrombin time and fibrinogen for deep vein thrombosis of lower limbs in patients with multiple trauma <i>LU Miao, XU Jinyu, ZHANG Yun</i>	(2172)
Surveillance of bacterial resistance in Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital from 2020 to 2022 <i>WEI Qing, LI Yuzhen, ZHANG Huimei, DENG Ying, CAI Chuangchuang, LI Cheng, YUAN Rui, ZHANG Chunlei</i>	(2176)
The effects of BNP, platelet parameters combined with Tei index in the assessment of children with severe pneumonia <i>ZHAO Liang, WANG Yanbo, ZHOU Bin</i>	(2181)
Prognostic effects of sICAM-1, CRP, MMP-12 on perioperative blood glucose and postoperative infection in patients with colon cancer and diabetes <i>QIU Wei, CHEN Sumei, LIU Dongsheng</i>	(2185)
Predictive value of LDH, LMR and ALI in diagnosis and prognosis evaluation of lung cancer <i>GU Haidi, WANG Chenjie, YANG Jun</i>	(2189)
Effects of Lichtenstein, TEP and TAPP on postoperative VAS score and the levels of CRP, IL-6 and TNF- α in adults with inguinal hernia <i>TIAN Guobiao, CHEN Xiaobo, ZHU Jiang, ZHANG Jianguo, DI Chang'an</i>	(2194)
Analysis of changes in serum CD47, NF- κ B and TFF2 in patients with HP-positive chronic atrophic gastritis <i>ZHU Lini, ZHANG Lei, ZHANG Liqun, WANG Dongmei</i>	(2198)
Predictive value of PAPP-A, MMP-9 combined with β -HCG detection in missed abortion <i>LI Yan, GENG Yuanyuan, DONG Jun, SUN Wenmei, LIU Yuegai</i>	(2202)
Differential expression analysis of cell-free DNA nucleosome imprinting in populations with different embryo transfer outcomes <i>MEI Fengqi, CAI Jing, HE Peiqing, LIU Yanhui</i>	(2206)
Development and application of an artificial intelligence-assisted diagnosis system for tuberculosis embedded in a WeChat applet <i>LI Gengcong, LIN Jianxiong, PENG Dongdong, JI Liwei, LAN Bangyang</i>	(2211)
Expression and correlation analysis of <i>miR-21</i> , TGF- β 1 and CD26 in keloid tissues <i>HAN Xiaomei, HU Caixia, JIANG Shaoqian, ZHAO Lu</i>	(2215)
Correlation between gene polymorphism of <i>BDNF</i> and genetic susceptibility of post-stroke cognitive impairment <i>HU Guoyan, TAN Duanling, LI Yuqing, JIANG Huizhen, YANG Xin</i>	(2219)
Correlation analysis of ACR, Cys C and ApoA1 levels with the severity and prognosis of patients with chronic heart failure <i>SHI Beibei, WANG Yan, CUI Xiaoting</i>	(2224)
Ecological changes of respiratory tract microbial flora in patients with pulmonary tuberculosis before and after anti-tuberculosis treatment <i>LIN Yuan, TAN Shouyong, CAI Xinshan, LUO Yang, WU Bitong, FENG Yongzhong, CAI Zhiqun, HE Siqi, CHEN Zhihong</i>	(2229)
Changes of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 in patients with stroke and their relationship with degree of neurological impairment <i>DENG Xilan, DONG Rui, WANG Zhiqi</i>	(2233)
Establishment and evaluation of PCR-gold magnetic particle chromatography for detection of <i>MTHFR C677T</i> gene polymorphism <i>CHEN Jinliang, LAN Huaimin, HUANG Huiying, CHEN Weizhong</i>	(2237)

REVIEWS

New Tools for molecular diagnosis and disease treatment: CRISPR/CAS13 System <i>ZHAO Yanan, CAO Qixin, ZHAO Jianping, CUI Xiuge, DING Haitao</i>	(2242)
---	--------

药物基因组学标志物检测产品发展的现状和思考

李冉 方丽 刘容枝*

[摘要] 药品说明书中出现的众多药物基因组学标志物,此类标志物检测是药物开发重要工具,也为相关检测试剂的开发提供了广阔的空间。本文针对药物基因组学标志物检测产品,阐述了国内外对药物基因组学标志物检测产品临床评价方面的相关要求,并对该类标志物检测需求和产品评价方面存在的问题进行思考,为该类检测试剂产品开发提供参考。

[关键词] 药物代谢酶; 药物基因组学; 基因多态性; 临床试验

Current situation and consideration on the development of pharmacogenomic marker detection products

LI Ran, FANG Li, LIU Rongzhi*

(Center for Medical Device Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing, China, 100081)

[ABSTRACT] The detection of many pharmacogenomic markers in drug labels is an important tool for drug development and provides a broad space for the development of related detection reagents. This article explains the relevant requirements for clinical evaluation of pharmacogenomics marker detection products and considers the existing problems in the needs of this type of marker detection and product evaluation and provides guidance for this type of pharmacogenomics marker detection products.

[KEY WORDS] Drug metabolizing enzyme; Pharmacogenomics; Gene polymorphism; Clinical trials

基因组学生物标志物是一种可测量的DNA和/或RNA特征,是正常生物过程、病理过程和/或对治疗或其他干预的反应的一种指示物^[1]。随着人类基因组学的发展,药物基因组学逐渐成为指导临床个性化用药和评估药物不良反应发生风险的重要工具^[2]。药物基因组学定义为对药物反应相关的DNA和RNA特征变化的研究^[1],旨在研究药物效应(药物体内过程、安全性和有效性)的个体差异与药物代谢酶、转运体和药物作用靶点基因多态性之间的关系^[3]。

本文主要对基于药物基因组学相关标志物的检测进行探讨,为个性化用药提供参考,不包括肿瘤个体化治疗中作为伴随诊断试剂的基因组变异,以及微生物基因组变异。

1 药品说明书中药物基因组学标志物相关描述

我国国家药品监督管理局药品审评中心 2022

年发布的《化学药品及生物制品说明书通用格式和撰写指南》中“临床药理”项下,包括“遗传药理学:应包括影响药物体内过程以及治疗相关的基因变异相关数据或信息”^[4]。

美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)2013年发布《临床药物基因组学指导原则:早期临床研究的上市前评价和对药品说明书的建议》,“药物基因组学”出现在“临床药理”项下,当这些信息对药物的安全有效使用有重要影响,并且基因变异的后果导致限制使用,剂量调整,禁忌或警告的建议时,这些信息将酌情在标签的其他部分进行总结(例如,加框警告、适应证、剂量和给药、禁忌、警告和注意事项、药物相互作用),相关的遗传信息应整合到最合适的标签部分^[5]。

FDA在已批准的药品说明书中增加药物基因组信息,截至2023年6月,药品标签中涉及的药物

基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFC2008305)

作者单位:国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心,北京 100081

*通信作者:刘容枝, E-mail: liurz@cmde.org.cn

基因组学标志物包括 *CYP2C19*、*NAT2*、*CYP2D6*、*UGT1A1*、*CYP2C9*、*CYP2B6*、*DYPD*、*SLCO1B1*、*CYP1A2*、*APOE*、*IFNL3*、*VKORC1* 等^[6]。

2 已有检测产品的药物基因组学标志物

截至2023年9月,国内批准个性化用药相关基因检测产品包括 *CYP2C19*、*CYP2C9*、*UGT1A1*、*CYP2D6*、*ALDH2*、*CYP3A5*、*CYP3A5*、*SLCO1B1*、*VKORC1*、*APOE*、*ACE*、*TOP2A*、*PML-RAR α* 等标志物。FDA 批准的药物代谢酶相关基因检测产品,包括 *CYP2D6*、*CYP2C19*、*CYP2C9*、*UGT1A1*、*VKORC1* 等标志物。

检测常用的方法有实时荧光聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR)、PCR-电泳分析、PCR-基因芯片法、PCR-Sanger 测序、熔解曲线法等分子生物学方法。我国已上市检测产品说明书预期用途的临床背景信息部分,一般会包括基因标志物多态性的描述,并阐述基因多态性和药物反应之间的关系。

3 国内外药物基因组学标志物检测产品的管理和临床性能要求(以药物代谢酶为例)

3.1 中国药物代谢酶基因检测产品

我国药物代谢酶基因检测产品所属的产品类别为Ⅲ-3 与人类基因检测相关的试剂,作为三类体外诊断试剂管理,国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心2019年发布《*CYP2C19* 药物代谢酶基因多态性检测试剂注册技术审查指导原则》^[7]。

指导原则对临床试验要求进行了详细的阐述,明确了 *CYP2C19* 用于氯吡格雷的用药指导,临床试验应入组正在服用或将要服用氯吡格雷进行抗血小板治疗的冠心病患者,主要为急性冠脉综合征 (Acute Coronary Syndrome, ACS) 且进行经皮冠状动脉介入治疗 (Percutaneous coronary intervention, PCI) 的患者 (ACS/PCI 患者)、PCI 术后血栓高危且计划调整 P2Y₁₂ 抑制剂治疗方案的患者、缺血高风险或出血高风险患者等。其中,PCI 术后血栓高危患者以及缺血高风险/出血高风险患者的人群限定可参考相关指南。

临床试验应采集临床原始样本,如静脉抗凝全血等,不应直接采用提取的基因组 DNA 进行试验。临床样本的采集、处理、保存和提取等应同时

满足申报产品说明书以及对比试剂说明书(如适用)的相关要求。临床证据应包括两部分:临床检测准确性验证和用药指导有效性的验证。对于临床准确性的验证:对于有已上市同类产品的标志物,可选择已上市同类产品进行对比,无已上市同类产品的多态性位点,可选择基因测序作为对比方法,验证产品检测的准确性。与已上市同类产品/测序的对比试验,可通过两种方法的阳性符合率和阴性符合率指标体现产品检测的准确性,阳性符合率和阴性符合率的95%置信区间下限不低于95%。

对于新的标志物,除临床准确性验证以外,还需要提供用药指导有效性的高级别证据,如 *CYP2C19* 用于氯吡格雷的用药指导:①如新已获行业认可(包括:CPIC、国内相关指南或专家共识、相关药物说明书以及临床应用等的认可),且有充分的中国人群的体内临床数据。②如新多态性位点未获行业认可,应提交基于中国人群的充分的体内临床数据,包括但不限于 *CYP2C19* 对氯吡格雷代谢动力学研究资料和指导用药有效性证据等。

3.2 美国药物代谢酶基因检测产品

美国药物代谢酶基因分型产品所属类别为《美国联邦法规》第21卷中第862.3360节:药物代谢酶基因分型系统,用于检测临床样品中提取的脱氧核糖核酸,以鉴定样本中存在或不存在编码药物代谢酶的人类基因型标记。该产品用于辅助确定主要由特定酶代谢的治疗药物的治疗选择和个体化治疗剂量,该系统提供有关该特定酶的基因型信息。分类类别为Ⅱ类(特殊控制),是FDA 2005年发布Ⅱ类特殊控制指导文件《药物代谢酶基因分型系统》^[8]。

指导文件提出应进行方法学比较研究,证明该设备可以检测到所声称检测的基因型,并且在不突变时突变无法检出。这些研究中使用的样本应该是来自预期使用人群的患者样本,以表明该设备所声称的在特定临床情景中的功能。建议在三个或更多的地点进行方法比较研究。由于可用于对患者药物代谢酶进行基因分型的技术丰富,因此在方法、仪器和样品来源方面,检测可能会有很大差异,这使得直接比较变得困难。产品的检测结果应与双向 DNA 序列分析进行比较。

临床验证方面:如果已有足够的科学证据支持器械的临床有效性,应提供相关的同行评审的参考资料。这些研究应包括对适当人群进行测试的多项研究。如果文献不能充分支持所声称的适应证,则需要进行研究(通常是前瞻性研究)来支持设备预期用途的声称。在任何一种情况下,都应该证明药物代谢酶基因型和基于对研究对象测试结果的药物代谢类型之间的关联。

对于罕见的突变等位基因,指导文件提出可以使用基因组DNA样品或克隆混合物,从这些测试样品的组成应尽可能接近真实临床样品的蛋白质和DNA含量和浓度。在产品标签上,应提供具体的结果解释,清楚地定义任何表型(例如:细胞色素P450 2D6的情况下,强代谢者,中间代谢者,弱代谢者或超强代谢者)。提供基因型解释或表型预测(如果适用)的代表性文献参考,以使用户能够访问有关特定基因型的信息。提供有关特定等位基因流行率的数据,包括不同民族和种族的等位基因流行率。

此外,大多数药物代谢酶基因分型系统应包含以下限制,应清晰描述:①这种类型的基因检测提供的结果一般只能用于其他治疗决策手段的补充,需要与医生的其他监测结果相结合。②特定药物代谢酶等位基因对药物代谢的影响可能因特定药物或者特定药物类别而异。特定等位基因对某些药物代谢的影响已被充分证明;对于其他药物,它们未被充分证明。因此,临床医生在解释这类测试的结果时应使用专业判断。③在以下情况下,此类检测结果不应用于预测患者对药物的反应:该等位基因的药物代谢酶活性尚未确定或药物的代谢途径尚未明确建立。

4 对我国药物基因组学标志物检测产品发展的思考

药物基因组学是药物开发和评价的重要工具,相关标志物的检测有助于研究药物在体内吸收、分布、代谢、排泄的过程,以及药物在体内的作用机制,与作用靶点之间相互作用引起的生理学变化过程等。药物说明书涉及的药物基因组学标志物中仍有部分标志物尚无已批准上市的检测试剂。对于该部分标志物以及未来可能出现的新的药物基因组学标志物,在产品开发的过程中,需考虑如何提供基因多态性和药物作用/不良反应之间关系的

证据。对于标志物临床试验验证,建议参考与标志物相关的药物说明书,入组药物说明书中适应证的人群。

药物基因组学的发展是精准医疗的基础,具有重要的临床意义和应用前景。同时,临床药物的使用涉及多个学科的交叉,包括药物基因组学、药物代谢动力学、药物效应动力学、临床药理、药物相互作用等,药物的作用是由多基因多因素决定的,对于新的生物标志物检测产品,需要具有高级别证据说明新标志物检测的必要性,为临床用药提供参考。

参考文献

- [1] ICH E15: Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories [EB/OL]. 2023. https://database.ich.org/sites/default/files/E15_Guideline.pdf.
- [2] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)[EB/OL]. 2023. <http://www.nhc.gov.cn/zyyji/s3593/201507/ca7d0216fed429cac797cdafa2ba466.shtml>.
- [3] 周权,余露山,曾苏. 基于药物代谢酶和转运体基因组学的药物精准治疗[J]. 药学学报, 2017, 52(1): 1-7.
- [4] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《化学药品及生物制品说明书通用格式和撰写指南》的通告(2022年第28号)[EB/OL]. 2023. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/181ed96619e3bef4ce8154bb66d91bb>.
- [5] FDA. Clinical Pharmacogenomics: Premarket Evaluation in Early-Phase Clinical Studies and Recommendations for Labeling [EB/OL]. 2023. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/clinical-pharmacogenomics-premarket-evaluation-early-phase-clinical-studies-and-recommendations>.
- [6] FDA. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling [EB/OL]. 2023. <https://www.fda.gov/drugs/science-and-research-drugs/table-pharmacogenomic-biomarkers-drug-labeling>.
- [7] 国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心. CYP2C19药物代谢酶基因多态性检测试剂注册技术审查指导原则(2019年第83号)[EB/OL]. 2023. <https://www.cmde.org.cn/flfg/zdyz/zdyzwbk/20191206094601705.html>.
- [8] FDA. Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System - Class II Special Controls Guidance for Industry and FDA Staff [EB/OL]. 2023. <https://www.fda.gov/medical-devices/guidance-documents-medical-devices-and-radiation-emitting-products/drug-metabolizing-enzyme-genotyping-system-class-ii-special-controls-guidance-industry-and-fda-staff>.

生长抑素联合奥曲肽治疗对肝硬化上消化道出血患者炎性介质、氧化应激及凝血功能的影响

彭静 孙海丽* 沈爱 袁宇婷 冯海娟

[摘要] **目的** 探讨生长抑素联合奥曲肽治疗对肝硬化上消化道出血患者炎性介质、氧化应激及凝血功能的影响。**方法** 选取2021年1月至2023年2月如皋市人民医院收治的122例肝硬化上消化道出血患者作为研究对象,根据治疗方案的不同分为对照组60例(采用奥曲肽治疗)和观察组62例(采用生长抑素联合奥曲肽治疗)。分析两组治疗前后炎性介质[白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、血清C反应蛋白(CRP)]、氧化应激[丙二醛(MDA)、血清胆碱酯酶(CHE)和超氧化物歧化酶(SOD)]、凝血功能[纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)以及凝血酶原时间(PT)]以及不良反应发生率。**结果** 治疗后,两组IL-6、IL-8、TNF- α 及CRP水平均下降,且观察组治疗后IL-6、IL-8、TNF- α 及CRP水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗后CHE、SOD水平升高,且观察组治疗后CHE、SOD水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗后MDA水平下降,且观察组治疗后MDA水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗后FIB水平升高,且观察组治疗后FIB水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组治疗后APTT、TT以及PT水平均下降,且观察组治疗后APTT、TT以及PT水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组不良反应发生率对比,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 应用生长抑素联合奥曲肽治疗肝硬化上消化道出血中可以减轻患者炎性反应,改善凝血障碍,安全性尚可,值得临床推广。

[关键词] 生长抑素;奥曲肽;肝硬化上消化道出血;炎性介质;氧化应激;凝血功能

Effects of somatostatin combined with octreotide therapy on inflammatory mediators, oxidative stress and coagulation function in patients with liver cirrhosis combining upper gastrointestinal bleeding

PENG Jing, SUN Haili*, SHEN Ai, YUAN Yuting, FENG Haijuan

(Department of Gastroenterology, Rugao People's Hospital, Nantong, Jiangsu, China, 226500)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of somatostatin combined with octreotide therapy on inflammatory mediators, oxidative stress, and blood coagulation in patients with liver cirrhosis combining upper gastrointestinal bleeding. **Methods** 122 patients with upper gastrointestinal bleeding due to liver cirrhosis admitted to our hospital from January 2021 to February 2023 were selected as the study subjects, and according to different treatment plans, they were divided into 60 cases in the control group (treated with octreotide) and 62 cases in the observation group (treated with somatostatin combined with octreotide therapy). The inflammatory mediators [Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) and serum C-reactive protein (CRP)], oxidative stress [malondialdehyde (MDA), serum cholinesterase (CHE) and superoxide dismutase (SOD)], coagulation function [fibrinogen (FIB), activated partial thromboplastin time

基金项目:江苏省卫生健康委医学科研项目(M20214023)

作者单位:如皋市人民医院消化内科,江苏,南通 226500

*通信作者:孙海丽, E-mail: pj1596235896@126.com

(APTT), thrombin time (TT) and prothrombin time (PT)] and the incidence of adverse reactions before and after treatment in the two groups were analyzed. **Results** After treatment, the levels of IL-6, IL-8, TNF- α and CRP in the two groups decreased, and the levels of IL-6, IL-8, TNF- α and CRP in the observation group were lower than those in the control group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of CHE and SOD in the two groups increased after treatment, and the levels of CHE and SOD in the observation group were higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of MDA in the two groups decreased after treatment, and the MDA levels in the observation group were lower than those in the control group after treatment. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). FIB levels in the two groups increased after treatment, and FIB levels in the observation group were higher than those in the control group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). APTT, TT and PT levels in the two groups decreased after treatment, and the levels of APTT, TT and PT in the observation group were lower than those in the control group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). Comparison of adverse reaction rates between two groups, and the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** The application of somatostatin combined with octreotide in patients with liver cirrhosis and upper gastrointestinal bleeding can reduce inflammatory reactions, improve coagulation disorders, and acceptable safety, which is worthy of clinical promotion.

[KEY WORDS] Somatostatin; Octreotide; Upper gastrointestinal bleeding in cirrhosis; Inflammatory mediators; Oxidative stress; Coagulation function

在肝硬化晚期,患者常因门静脉压力过高,引起胃底食管静脉曲张,导致上消化道大出血,该病具有发病突然、出血量大、病情严重等特点^[1]。肝硬化上消化道出血的常见临床表现为呕血、黑便,预后较差,具有较高的病死率,对患者的身心健康、生命安全造成严重的威胁^[2]。针对肝硬化上消化出血,临床坚持以早诊断、早治疗为原则。奥曲肽在临床常用于肝硬化上消化道出血,其对该疾病具有较好的临床效果,但容易产生一些不良反应,如恶心呕吐、心悸等,且其作用较慢^[3]。生长抑素可以有效减少门静脉血流量,从而降低门静脉压力,对上消化道出血进行控制,达到止血的作用^[4]。过往有研究表明^[5],应用生长抑素联合奥曲肽治疗肝硬化上消化道出血可以显著减少出血量,具有较好的临床疗效。本文意在探讨生长抑素联合奥曲肽治疗对肝硬化上消化道出血患者炎性介质、氧化应激及凝血功能的影响,报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2023年2月如皋市人民医院收治的122例肝硬化上消化道出血患者作为研究对象,根据治疗方案的不同分为对照组60例(采用奥曲肽治疗)和观察组62例(采用生长抑素联合奥曲肽治疗)。对照组男37例,女23例;平均年龄

(65.35 \pm 9.73)岁;平均体质量(21.65 \pm 1.46)kg/m²。观察组男38例,女24例;平均年龄(64.27 \pm 8.46)岁;平均体质量(20.01 \pm 1.55)kg/m²。两组患者年龄、性别等一般情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医学伦理委员会批准,患者或家属对研究知情同意。

纳入标准:①经临床检查均符合《现代肝硬化诊断治疗学》^[6]中肝硬化的诊断标准,经胃镜检查,确诊为肝硬化上消化道出血;②临床资料无缺乏;③均为初次发生上消化道出血;④均未进行过肝胆手术。排除标准:①妊娠期或哺乳期患者;②具有精神意识障碍,无法配合治疗;③合并患有严重感染性疾病;④重要器官严重功能障碍。

1.2 方法

1.2.1 对照组

采用奥曲肽(长春金赛药业有限责任公司,国药准字H20041533)治疗。每隔12h使用一次,每次用0.1mg的奥曲肽注射液混合0.9%的氯化钠注射液进行静脉滴注给药,2次/d。一共治疗7d。

1.2.2 观察组

采用生长抑素联合奥曲肽进行治疗。生长抑素(江苏海岸药业有限公司,国药准字H20066708)每隔12h使用一次,每次使用3mg生长抑素混合0.9%的氯化钠注射液通过静脉滴注给药,2次/d;奥曲肽用法同对照组一样。一共治疗7d。

1.3 观察指标

1.3.1 两组炎性介质对比

于治疗前后分别抽取两组研究对象 10 mL 空腹静脉血,使用血型血清学离心机 HT12MM 以 3 000 r/min 的转速、离心半径为 5 cm 进行离心 10 min 处理,提取血清。采用双抗体夹心法检测白介素-6(Interleukin-6, IL-6)和白介素-8(Interleukin-8, IL-8)(试剂盒购自艾美捷科技有限公司),采用酶联免疫吸附法检测肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)(试剂盒购自上海广锐生物科技有限公司),采用免疫荧光分析法检测血清 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)(仪器采用 i-CHROMA Reader 免疫荧光分析仪)。

1.3.2 两组氧化应激水平对比

方法同上,采用酶联免疫法对丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、血清胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)和超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)水平进行检测(试剂盒购自北京普赞生物技术有限公司)。

1.3.3 两组凝血功能变化对比

方法同上,使用法国 STA Compact 全自动血凝仪对纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)、活化部分凝血活酶时间(Activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间(Thrombin time, TT)以及凝血酶原时间(Prothrombin time, PT)进行检测。

1.3.4 两组不良反应发生情况对比

不良反应包括胸闷、恶心呕吐以及心悸等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,组间使用 *t* 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,用 χ^2 检验;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组炎性介质比较

治疗后,两组 II-6、II-8、TNF- α 及 CRP 水平均下降,且观察组治疗后 II-6、II-8、TNF- α 及 CRP 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组氧化应激水平比较

两组治疗后 CHE、SOD 水平升高,且观察组治疗后 CHE、SOD 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组治疗后 MDA 水平下降,且观察组治疗后 MDA 水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组凝血功能比较

两组治疗后 FIB 水平升高,且观察组治疗后 FIB 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组治疗后 APTT、TT 以及 PT 水平均下降,且观察组治疗后 APTT、TT 以及 PT 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组不良反应发生率比较

两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 1 两组治疗前后炎性介质对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of inflammatory mediators between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	II-6 (ng/L)		II-8 (ng/L)		TNF- α (ng/L)		CRP (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
对照组	60	70.36 \pm 5.67	44.35 \pm 4.79 ^a	147.35 \pm 27.76	85.25 \pm 20.89 ^a	177.11 \pm 28.88	83.45 \pm 12.12 ^a	866.65 \pm 35.23	67.56 \pm 14.17 ^a
观察组	62	69.71 \pm 5.46	34.43 \pm 3.20 ^a	146.97 \pm 27.45	64.14 \pm 15.05 ^a	174.59 \pm 27.13	68.33 \pm 10.11 ^a	867.58 \pm 36.63	38.04 \pm 11.99 ^a
<i>t</i> 值		0.645	13.504	0.091	6.419	0.496	7.492	0.142	12.436
<i>P</i> 值		0.520	<0.001	0.928	<0.001	0.620	<0.001	0.886	<0.001

注:与同组间治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表 2 两组治疗前后氧化应激水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of oxidative stress levels between the two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MDA (U/L)		CHE (μ /L)		SOD (U/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	60	60.56 \pm 7.89	37.55 \pm 7.64 ^b	3214.44 \pm 127.69	5765.35 \pm 213.52 ^b	26.45 \pm 4.16	33.25 \pm 5.88 ^b
观察组	62	61.02 \pm 7.96	26.32 \pm 5.77 ^b	3211.75 \pm 126.34	6866.74 \pm 257.01 ^b	27.01 \pm 4.40	43.26 \pm 7.01 ^b
<i>t</i> 值		0.320	9.181	0.007	25.702	0.721	8.531
<i>P</i> 值		0.749	<0.001	0.907	<0.001	0.471	<0.001

注:与同组间治疗前相比,^b $P < 0.05$ 。

表3 两组治疗前后凝血功能对比 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	FIB(g/L)		APTT(s)		TT(s)		PT(s)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	60	1.56±0.35	2.12±0.55 ^c	40.36±10.73	35.25±9.35 ^c	22.13±5.74	19.57±4.59 ^c	14.78±3.24	13.12±3.45 ^c
观察组	62	1.49±0.27	2.56±0.62 ^c	41.05±10.85	32.16±8.77 ^c	21.97±5.55	17.06±4.10 ^c	14.25±3.16	11.12±2.07 ^c
t值		1.234	4.142	0.353	2.487	0.156	3.187	0.814	3.897
P值		0.219	0.001	0.724	0.014	0.875	0.001	0.362	<0.001

注:与同组间治疗前相比,^cP<0.05。

表4 两组不良反应发生率对比 [n(%)]

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

组别	n	胸闷	恶心呕吐	心悸	总发生率
对照组	60	1(1.67)	1(1.67)	1(1.67)	6(5.00)
观察组	62	0(0.00)	2(3.22)	0(0.00)	2(3.22)
χ ² 值					2.283
P值					0.130

3 讨论

肝硬化是常见的慢性肝病,可由一种或多种原因引起,易造成肝脏损伤^[7]。上消化道出血是肝硬化最常见的并发症,当患者发生肝硬化上消化道出血时,会对肝功能造成极大的伤害,并会增加并发症发生的风险,如肝性脑病、肝源性腹水等^[8]。肝硬化上消化道出血的出血量较大,病情较凶险,在临床上主要以止血为主,这是患者抢救成功的关键。

生长抑素可抑制生长激素、胃蛋白酶以及胃泌素的释放,以减少一定的内脏血流量,从而降低门静脉压力,降低侧支循环的血流和压力,减少肝脏血流量。生长抑素可直接作用于血管平滑肌上,可抑制扩血管激素的分泌,降低患者肝内血管阻力以及肝动脉血流量,从而抑制上消化出血^[9]。奥曲肽是人工合成的八肽化合物,为十四肽人生长抑素类似物,可降低内脏血流量,抑制胃泌素、血管活性肠肽、胃蛋白酶原、胃动素等分泌,治疗肝硬化上消化道出血^[10]。

上消化道出血难以止血的主要原因是患者的凝血功能发生障碍,此时,胃内的pH值偏低也会导致止血困难,抑制了血小板的大量聚集和血浆进行凝血。本次研究与刘慧等^[11]学者的研究结果一致,提示生长抑素联合奥曲肽治疗肝硬化上消化道出血可改善患者的凝血功能。分析原因在于:生长抑素会使胃酸、消化酶的分泌减少,扭转胃内的酸性环境,使胃内的pH值维持在一个较高状态,避免影响血小板活性,加快血小板的聚

集速度,从而使凝血速度得到提升,达到改善凝血功能障碍的目的^[12]。上消化出血会造成凝血功能障碍,使血小板数量减少,产生机体炎症反应。IL-6是目前临床上检测感染性疾病常用的指标,是炎症反应的促发剂^[13]。IL-8是一种多功能因子,可以促进炎症反应进程,临床显示IL-8与多种炎症反应性疾病的发生和发展密切相关^[14]。IL-6、IL-8在临床中被认为是最能反应全身炎症反应的炎症因子,可以应用于炎症的分级判断^[15]。CRP是一种非特异性炎症标志物,通过检测CRP水平可以判断感染的严重程度^[16]。TNF-α是一种多向性的促炎性细胞因子,是炎症和免疫反应中重要的介质^[17]。本文研究发现,生长抑素联合奥曲肽治疗后IL-6、IL-8、TNF-α及CRP水平均低于奥曲肽单独治疗。说明生长抑素联合奥曲肽治疗比单独应用奥曲肽的疗效更好,联合应用削弱了因出血带来的应激反应。进一步研究发现,两组不良反应发生率比较差异无统计学意义,提示两种药物的安全性均较好。

综上所述,应用生长抑素联合奥曲肽治疗肝硬化上消化道出血中可以减轻患者炎症反应,改善凝血障碍,安全性尚可,值得临床推广。

参考文献

- [1] 王继涛,祁小龙.肝静脉压力梯度在肝硬化外科手术中的应用现状及前景[J].中华消化外科杂志,2021,20(10):1113-1116.
- [2] 梁毅,林诚,钟文洲.裸花紫珠颗粒联合奥曲肽治疗肝硬化上消化道出血的临床研究[J].现代药物与临床,2020,35(4):756-759.
- [3] 祝捷,蔡梦琪,张英媛,等.奥曲肽注射液治疗肝硬化引起的食管胃底静脉曲张破裂引起的上消化道出血的临床疗效观察[J].贵州医药,2022,46(9):1396-1397.
- [4] 熊劲松.雷贝拉唑联合生长抑素治疗肝硬化上消化道出血患者的临床疗效[J].血栓与止血学,2022,28(3):623-624.

BANCR 通过 miR-145-5p/Notch2/Nur77 轴调节黑色素瘤细胞干性的机制

陈向军^{1*} 于丽² 王星³ 梁俊青⁴ 吴迪¹ 刘肇兴⁵ 刘沙⁶

[摘要] 目的 阐明 BANCR 作为竞争性内源 RNA 调控黑色素瘤的葡萄糖代谢和肿瘤干性的机制,为黑色素瘤的临床诊治和研究提供理论依据和新的治疗思路。方法 取人皮肤黑色素瘤细胞株 A375 进行培养,将对数生长期细胞分为对照组(转染无义序列)、BANCR 质粒转染组和 miR-145-5p 质粒转染组。采用 CCK8 实验分析 3 组细胞增殖情况,葡萄糖检测分析试剂盒检测计算细胞葡萄糖摄取量,RT-PCR 检测 BANCR 和 miR-145-5p 表达。Western blotting 法检测 Notch2 和 Nur77 的表达水平,同时测定肿瘤干性标记物 Sox2、OCT4、Nanog 的表达水平。结果 培养 24、48、72 h 后 3 组吸光度大小顺序均为 miR-145-5p 质粒转染组<BANCR 质粒转染组<对照组,差异有统计学意义($F=4.639, 4.737, 5.819, P<0.05$)。培养 72 h 后各组细胞葡萄糖摄取量:miR-145-5p 质粒转染组<BANCR 质粒转染组<对照组,差异有统计学意义($F=4.857, P=0.024$)。各组 BANCR 和 miR-145-5p 表达水平: BANCR 质粒转染组>对照组>miR-145-5p 质粒转染组,差异有统计学意义($F=89.815, 68.452, P<0.001$)。与对照组比较,miR-145-5p 质粒转染组、BANCR 质粒转染组 Notch2、Nur77 和肿瘤干性标记物表达水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 BANCR 调节黑色素瘤细胞干性的机制可能与 miR-145-5p 轴的调节有关;miR-145-5p 作用于靶蛋白 Notch2 和 Nur77,继而调控黑色素瘤细胞葡萄糖代谢,最终参与调节黑色素瘤细胞的能量代谢水平和肿瘤干性。

[关键词] 黑色素瘤;葡萄糖代谢;肿瘤干性;竞争性内源 RNA;长链非编码 RNA

BANCR regulates melanoma cell stemness through the miR-145-5p/Notch2/Nur77 axis

CHEN Xiangjun^{1*}, YU Li², WANG Xing³, LIANG Junqing⁴, WU Di¹, LIU Zhaoxing⁵, LIU Sha⁶

(1. Plastic Surgery Department, Inner Mongolia Cancer Hospital, Hohhot, China, 010107; 2. Department of Critical Care Medicine, 969 Hospital, Joint Logistic Support Force of PLA, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010051; 3. Department of Human Anatomy, School of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010107; 4. Breast Surgery Department B, Inner Mongolia Cancer Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010107; 5. Emergency Department, Erdos Hospital of Traditional Chinese Medicine, Erdos, Inner Mongolia, China, 017000; 6. Department of Plastic and Aesthetic Surgery, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, China, 712099)

[ABSTRACT] **Objective** To elucidate the mechanism of BANCR as a competitive endogenous RNA regulating glucose metabolism and tumor stemness in melanoma, and to provide theoretical basis and new therapeutic ideas for clinical diagnosis, treatment, and research of melanoma. **Methods** Human skin melanoma cell line A375 was cultured, and the cells were divided into the control group (transfected with nonsense sequence), the BANCR plasmid transfection group and the miR-145-5p plasmid transfection group. The cell pro-

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81971854)

作者单位:1. 内蒙古自治区肿瘤医院整形外科,内蒙古,呼和浩特 010107

2. 中国人民解放军联勤保障部队第九六九医院重症医学科,内蒙古,呼和浩特 010051

3. 内蒙古医科大学基础医学院人体解剖学教研室,内蒙古,呼和浩特 010107

4. 内蒙古自治区肿瘤医院乳腺外科 B 病区,内蒙古,呼和浩特 010107

5. 鄂尔多斯市中医医院急诊科,内蒙古,鄂尔多斯 017000

6. 陕西中医药大学附属医院整形美容外科,陕西,咸阳 712099

*通信作者:陈向军, E-mail: cxj-253@163.com

liferation of the 3 groups was analyzed by CCK8 assay, glucose intake was calculated by glucose assay kit, and the expression of BANCR and miR-145-5p was detected by RT-PCR. The expression levels of Notch2 and Nur77 were detected by Western blotting, and the expression levels of tumor stemness markers of Sox2, OCT4 and Nanog were also measured. **Results** Comparison of absorbance among three groups at 24, 48, and 72 hours: miR-145-5p plasmid transfection group <BANCR plasmid transfection group <control group, with statistically significant differences ($F=4.639, 4.737, 5.819, P<0.05$). After 72 hours of cultivation cell glucose uptake in each group: miR-145-5p plasmid transfection group <BANCR plasmid transfection group <control group, with a statistically significant difference ($F=4.857, P=0.024$). The expression levels of BANCR and miR-145-5p in each group were: BANCR plasmid transfection group > control group > miR-145-5p plasmid transfection group, with statistically significant differences ($F=89.815, 68.452, P<0.001$). Compared with the control group, the expression levels of Notch2, Nur77, and tumor stemness markers in the miR-145-5p plasmid transfection group and BANCR plasmid transfection group were significantly increased, with a statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** The mechanism by which BANCR regulates the stemness of melanoma cells may be related to the regulation of the miR-145-5p axis; miR-145-5p acts on the target proteins Notch2 and Nur77, and then regulates the glucose metabolism of melanoma cells, and ultimately participates in regulating the energy of melanoma cells. Metabolic levels and tumor stemness.

[KEY WORDS] Melanoma; Glucose metabolism; Tumor stemness; Competing endogenous RNA; Long non-coding RNA

黑色素瘤是一种从黑色素细胞发展而来的癌症,也是临床上较为常见的皮肤黏膜和色素膜的恶性肿瘤,由于其具有易转移,病情进展迅速等特点,治疗效果尚不理想^[1]。据统计,黑色素瘤是发病率增长最快的恶性肿瘤之一,年增长率为3%~5%^[2]。目前对于早期的局限性病变,常采用外科手术切除,但术后易发生转移。对于晚期转移性恶性黑色素瘤患者,则需接受全身性系统治疗,但是黑色素瘤细胞对传统的放、化疗均不敏感^[3]。因此,进一步深入探寻黑色素瘤的发病机制,寻找新型治疗黑色素瘤的分子靶点迫在眉睫。现有研究表明^[4-5],BRAF基因激活的非编码RNA(BRAF-activated non-coding RNA, BANCR)在人类恶性黑色素瘤中高表达, BANCR对黑色素瘤细胞增殖、细胞干性具有重要影响,因此有望成为临床治疗黑色素瘤和监测预后的潜在靶点。但BANCR的作用靶点和信号通路尚不明确,不利于有效的生物靶向药物的研制。本研究通过一系列实验来分析阐明 BANCR 作为竞争性内源 RNA 调控黑色素瘤的葡萄糖代谢和肿瘤干性的机制,为黑色素瘤的临床诊治和研究提供理论依据和新的治疗思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验细胞与试剂

人皮肤黑色素瘤细胞株 A375(美国 ATCC 公

司);葡萄糖检测分析试剂盒(美国 Biovision 公司);兔抗 Notch2 多克隆抗体(美国 CST 公司);兔抗人 Nur77(北京博奥森公司);慢病毒纯化试剂盒(北京英茂盛业生物科技有限公司);Sox2 一抗及二抗(美国 Proteintech 公司)、OCT4 一抗及二抗(Bioss 公司)、鼠抗 Nanog(美国 BD 公司);小牛血清(批号 1658396, Hyclone 公司);PCR 检测试剂盒(Pierce 公司);ELISA 试剂盒(上海恒远生物科技有限公司);葡萄糖检测分析试剂盒(美国 Biovision 公司);CCK-8 试剂(Thermo 公司);BANCR 和 miR-145-5p 质粒委托上海吉玛公司化学合成;PCR 引物委托 Invitrogen 公司设计合成。

1.1.2 实验仪器与设备

酶标仪(DENLEYDRAGON Wellscan MK3, 美国 Thermo 公司);荧光-共聚焦显微镜(EVOS M5000 型, 美国 Thermo 公司);CO₂ 培养箱(型号 Model310, 美国 Thermo 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

取对数期生长的人黑色素瘤细胞株在 DMEM 培养基中进行传代培养,并添加 10% 小牛血清、100 μg/mL 的链霉素 100 μL。所有细胞均置于饱和湿度、37℃ 的 5% CO₂ 培养箱中孵育,每 1~2 d 换液 1 次。

1.2.2 实验分组、BANCR 和 miR-145-5p 的合成和细胞转染

黑色素瘤细胞系分为对照组(转染无义序列)、

BANCR 质粒转染组和 miR-145-5p 质粒转染组共计 3 组, 每组随机分配 100 个培养皿。将黑色素瘤细胞种植于 6 孔培养板中, 置于细胞培养箱中继续培养, 待细胞密度约为 50 至 60% 时候进行转染, 将相应的寡聚核苷酸混合到 Opti-MEMI 中得到转染混合液, 孵育 15 min 后更换六孔板中的培养基为转染混合液, 放入条件为 37℃、5% CO₂ 化培养箱中继续培养, 培养加后更换为完全培养基。

1.2.3 CCK8 实验分析 3 组细胞增殖情况

各组黑色素瘤细胞消化并重悬于完全培养基中, 向每个孔中加入 10 μL CCK-8 试剂后, 将板返回培养箱 1 h, 细胞接种转染 24、48、72 h 后使用酶标仪测定各孔的吸光度值。各处理组的取值为其 5 孔平均值, 检测波长为 450 nm, 实验重复 3 次。

1.2.4 葡萄糖检测分析试剂盒检测计算细胞葡萄糖摄取量

葡萄糖检测分析试剂盒检测培养基中葡萄糖浓度, 并据此计算各组细胞葡萄糖摄取量。

1.2.5 RT-PCR 检测 BANCR 和 miR-145-5p 表达

转染 48 h 后提取各组细胞总 RNA, 以 GAPDH 为内参, 反应程序为 95℃ 30 s、95℃ 5 s、60℃ 20 s 共 35 个循环, 采用 2^{-ΔΔCt} 算法计算 BANCR 和 miR-145-5p 的相对表达量。

1.2.6 Western blot 法检测 Notch2 和 Nur77 表达水平

转染 48 h 后采用 TRIzol 法提取各组细胞总 RNA, 配置样品后将兔抗 Notch2 和 Nur77 抗体稀释孵育蛋白条带, 条带过夜后洗膜, 孵育二抗, 洗膜后 ECL 显色, 成像仪曝光拍摄。采用 Image J 软件对各组条带的灰度值进行定量分析, 灰度值表示 Notch2 和 Nur77 的相对表达含量高低。

1.2.7 Western blot 法测定肿瘤干性标记物表达水平

转染 48 h 后提取各组细胞总 RNA, 凝胶电泳分离蛋白将 Sox2、OCT4、Nanog 一抗孵育过夜后洗膜, 稀释二抗 (1:2 000) 洗膜后 ECL 显影后拍照。采用 Image J 软件对各组条带的灰度值进行定量分析。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行统计学处理, 计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 来表示, 多组间比较采用 *F* 检验, 两组间比较采用 SNK-*q* 检验。以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组不同时间点吸光度值比较

3 组在不同时间点吸光度比较: miR-145-5p 质粒转染组 < BANCR 质粒转染组 < 对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。不同时间点 miR-145-5p 质粒转染组和 BANCR 质粒转染组吸光度值比较, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 1。

表 1 各组不同时间点吸光度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	<i>n</i>	0 h	24 h	48 h	72 h
miR-145-5p 质粒转染组	6	0.55±0.09	0.86±0.21 ^a	1.48±0.28 ^a	2.31±0.24 ^a
BANCR 质粒转染组	6	0.54±0.11	0.79±0.19 ^a	1.39±0.24 ^a	2.16±0.22 ^a
对照组	6	0.53±0.12	1.14±0.23	1.88±0.35	2.75±0.43
<i>F</i> 值		0.052	4.639	4.737	5.819
<i>P</i> 值		0.950	0.027	0.025	0.014

注: 与对照组比较, ^a*P* < 0.05。

2.2 各组细胞葡萄糖摄取量比较

各组细胞葡萄糖摄取量: miR-145-5p 质粒转染组 (1.11±0.35) mmol/L < BANCR 质粒转染组 (1.26±0.44) mmol/L < 对照组 (1.92±0.61) mmol/L, 差异有统计学意义 (*F* = 4.857, *P* = 0.024)。

2.3 各组 BANCR 和 miR-145-5p 表达水平比较

各组 BANCR 和 miR-145-5p 表达水平: BANCR 质粒转染组 > 对照组 > miR-145-5p 质粒转染组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.001)。miR-145-5p 质粒转染组和 BANCR 质粒转染组 BANCR 和 miR-145-5p 表达水平比较, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见表 2。

表 2 各组 BANCR 和 miR-145-5p 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

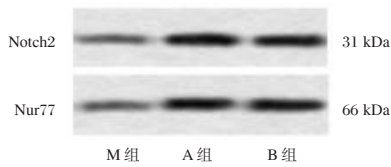
Table 2 Comparison of BANCR and miR-145-5p expression levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	BANCR	miR-145-5p
miR-145-5p 质粒转染组	6	1.26±0.07 ^a	2.58±0.31 ^a
BANCR 质粒转染组	6	0.64±0.05 ^a	0.73±0.39 ^a
对照组	6	1.01±0.11	1.00±0.12
<i>F</i> 值		89.815	68.452
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, ^a*P* < 0.05。

2.4 各组 Notch2 和 Nur77 表达水平比较

与对照组比较, miR-145-5p 质粒转染组、BANCR 质粒转染组 Notch2 和 Nur77 表达水平显著升高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见图 1。



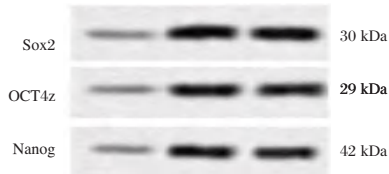
注:M组为对照组;A组为BANCR质粒转染组;B组为miR-145-5p质粒转染组

图1 各组 Notch2 和 Nur77 表达水平

Figure 1 Expression levels of Notch2 and Nur77 in each groups

2.5 各组肿瘤干性标记物表达水平比较

与对照组比较,miR-145-5p质粒转染组、BANCR质粒转染组肿瘤干性标记物Sox2、OCT4、Nanog表达水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图2。



注:M组为对照组;A组为BANCR质粒转染组;B组为miR-145-5p质粒转染组。

图2 各组 Sox2、OCT4、Nanog 表达水平

Figure 2 Expression levels of Sox2, OCT4, and Nanog in each groups

3 讨论

黑色素瘤是最具侵袭性的皮肤癌类型,常见于15~45岁的中青年,通常发生于皮肤,其特征是转移到区域淋巴结和远处器官的进展迅速,治疗效果不理想^[6]。尽管黑色素瘤仅占皮肤恶性肿瘤中4%,但它导致了超过80%的皮肤癌患者死亡^[7]。因此,有必要明确哪些因素涉及黑色素瘤的发展和进展。既往cDNA克隆研究和基因组微阵列分析已经证明,超过90%的人类基因组转录产物不编码蛋白质,这些蛋白质被称为非蛋白质编码RNA。最近的研究表明,长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA)通过调节细胞增殖、迁移和凋亡等肿瘤发生至关重要的几个细胞过程来促进癌症的进展^[8-9]。但其在黑色素瘤发生和进展中的作用仍需进一步探究。

BANCR于2012年由Flockhart等人在RNA测序筛选中首次鉴定,他们确定BANCR是一种693bp的LncRNA,其基因有9个外显子位于17号染色

体上。Li等^[10]发现BANCR在恶性黑色素瘤组织和细胞系中显著上调。微小RNA是一类核苷酸长度较短的非编码RNA,miR-145-5p是其成员之一。miR-145-5p的异常表达也与肿瘤进展过程密切相关,并被证实在肿瘤进展过程中发挥抑癌基因功能。本研究的细胞增殖实验、RT-PCR检测也有验证了上述结论,经过24h、48h、72h培养后3组吸光度、BANCR和miR-145-5p表达水平从小到大依次为miR-145-5p质粒转染组、BANCR质粒转染组、对照组,差异有统计学意义。说明BANCR可作为竞争性内源RNA通过海绵化miR-145-5p,并对黑色素瘤细胞增殖产生影响。Cai等^[11]也发现BANCR通过作为竞争性内源性RNA通过海绵miR-2上调Notch204表达,从而促进黑色素瘤的生长和侵袭。

Notch2在细胞分化中起着重要作用,是黑素细胞恶变的关键环节^[12]。最新的研究发现,核受体Nur77促进黑色素瘤抵抗葡萄糖饥饿的新机制。核受体Nur77通过保护脂肪酸氧化关键酶TP β 免于氧化失活、保证葡萄糖饥饿状况下的脂肪酸氧化,从而促进细胞的存活,而且脂肪酸氧化在黑色素瘤转移中发挥重要作用^[13]。本课题组前期研究发现,BANCR可作为竞争性内源RNA通过海绵化miR-145-5p,而miR-145-5p可调控黑色素瘤细胞的能量代谢水平。本研究发现,BANCR质粒转染组的细胞葡萄糖摄取量高于对照组,miR-145-5p质粒转染组的细胞葡萄糖摄取量最低,说明BANCR能够通过下调miR-145-5p参与黑色素瘤细胞的能量代谢水平调控。在多种肿瘤的干细胞中,干性转录因子Nanog、OCT-4、SOX2的表达均上调,这些转录调控因子在维持肿瘤干细胞的无限增殖和自我更新中发挥重要作用,其上调与肿瘤的发生、转移和耐药密切相关。研究表明^[14-15],OCT-4、Nanog、SOX-2等干性转录因子是Wnt/ β -catenin信号通路的下游靶基因,该通路的激活可促进这些转录因子的表达,在维持肿瘤细胞的干性中发挥作用。本研究结果说明了BANCR对肿瘤干性功能维持的作用。

综上所述,BANCR可作为竞争性内源RNA通过海绵化miR-145-5p;miR-145-5p作用于靶蛋白Notch2和Nur77,继而调控黑色素瘤细胞线粒体功能,最终参与调节黑色素瘤细胞的能量代谢水平和肿瘤干性。本研究下一阶段的研究任务主要是通过动物实验探究BANCR对裸鼠肿瘤的增殖和代谢水平的影响。

参考文献

- [1] 陈丽红, 林健贤, 李永平, 等. 眼睑无色素性黑色素瘤伪装成霰粒肿1例[J]. 眼科学报(英文版), 2017, 32(1):51-55.
- [2] Bobos M. Histopathologic classification and prognostic factors of melanoma: a 2021 update [J]. *Ital J Dermatol Venereol*, 2021, 156(3):300-321.
- [3] 姚明, 杨灿, 林永丽. Ki-67, nm23 和 PTEN 在 CMM 中的表达及与淋巴结转移的关系 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(2):210-213+217.
- [4] 杨晓静, 孟玮, 徐宏俊, 等. 长链非编码 BANCR 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路调控黑色素瘤细胞迁移和侵袭行为 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(1):50-54+59.
- [5] Li R, Zhang L, Jia L, et al. Long non-coding RNA BANCR promotes proliferation in malignant melanoma by regulating MAPK pathway activation [J]. *PLoS One*, 2014, 26(6): e100893.
- [6] 周启明, 李巍, 袁建辉, 等. miR-21 抑制黑色素瘤细胞凋亡的机制研究 [J]. *华南预防医学*, 2017, 43(3):235-239.
- [7] 杨明, 汪舒文, 宇传华. 1990-2019 年中国皮肤恶性肿瘤疾病负担状况及发病趋势预测 [J]. *中国肿瘤*, 2022, 31(11):853-861.
- [8] 陈晓云, 杨伟敏, 邓小茜, 等. 葡萄膜恶性黑色素瘤转移相关的非编码 RNA 表达谱及竞争性内源 RNA 调控网络分析 [J]. *眼科学报*, 2022, 37(1):25-35.
- [9] 汪显坤, 林欣娅, 胡雪峰. 长链非编码 RNA 及其与人类疾病之间关系的研究概述 [J]. *生物学教学*, 2019, 44(12):4-7.
- [10] Li R, Zhang L, Jia L, et al. Long non-coding RNA BANCR promotes proliferation in malignant melanoma by regulating MAPK pathway activation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100893.
- [11] Cai B, Zheng Y, Ma S, et al. BANCR contributes to the growth and invasion of melanoma by functioning as a competing endogenous RNA to upregulate Notch2 expression by sponging miR-204 [J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(6):1941-1951.
- [12] Sun YW, Li XH, Wang H, et al. MiR-431 is a prognostic marker and suppresses cell growth, migration and invasion by targeting NOTCH2 in melanoma [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(9):3876-3884.
- [13] 黄玉兰, 严慧玲, 蒋玉洁. Nur77 对葡萄糖代谢调控作用的研究进展 [J]. *海南医学*, 2023, 34(5):732-735.
- [14] 陶洪, 吴福道, 张小静, 等. SOX2 在胰腺癌干细胞干性维持及对化疗敏感性的作用及机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(11):1380-1383+1386.
- [15] 文小玲, 陈思盼, 田甜, 等. Linc-ROR RNA 在卵巢癌干细胞样细胞干性调控及功能维持中的作用 [J]. *现代妇产科进展*, 2022, 31(9):662-667.
-
- (上接第 2047 页)
- [5] 杨熹, 宋冬梅, 华敏. 生长抑素联合奥曲肽治疗肝硬化并发上消化道出血患者疗效及其对凝血功能指标的影响再观察 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2020, 23(5):695-698.
- [6] 周永兴. 现代肝硬化诊断治疗学 [M]. 人民军医出版社, 2002.
- [7] 杜鹏, 李笃民, 张冉, 等. 脾 CT 影像学诺模图在肝硬化上消化道出血风险预测中的价值 [J]. *北京:中国现代普通外科进展*, 2022, 25(6):455-460.
- [8] 王萍, 王实朴, 张春涛, 等. 内镜下套扎联合奥美拉唑钠治疗肝硬化上消化道出血及对血流动力学、凝血功能和不良反应的影响 [J]. *川北医学院学报*, 2023, 38(1):25-27+58.
- [9] 常晋芳. 生长抑素联合血凝酶治疗肝硬化合并上消化道出血的临床疗效 [J]. *中国药物与临床*, 2020, 20(7):1128-1130.
- [10] 沈秀英, 谭丽, 胡艳, 等. 奥曲肽辅助治疗肝硬化上消化道出血的止血效果及对血流动力学和全身应激状态的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(11):1195-1198.
- [11] 刘慧, 张诒凤, 郁磊. 特利加压素联合生长抑素治疗肝硬化并发上消化道出血患者疗效研究 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2020, 23(6):857-860.
- [12] 赵红, 肖静蓉, 于海燕. 生长抑素联合白蛋白治疗急性胰腺炎患者的效果及对胰腺功能和免疫功能的影响 [J]. *临床误诊误治*, 2021, 34(1):26-30.
- [13] 石晓. 富马酸替诺福韦二吡呋酯对乙型肝炎肝硬化患者免疫功能及 IL-6, CRP 水平的影响 [J]. *保健医学研究与实践*, 2022, 19(S02):58-59.
- [14] Poderoso T, Paloma Martínez De la Riva, Belén Ivarez, et al. CD200R family receptors are expressed on porcine monocytes and modulate the production of IL-8 and TNF- α triggered by TLR4 or TLR7 in these cells [J]. *Mol Immunol*, 2022, 144:166-177.
- [15] 张桐硕, 刘金龙, 赵跃, 等. IL-6 与上皮性卵巢癌分期进展关系及其作用机制的生物信息学分析 [J]. *转化医学杂志*, 2020, 9(4):197-201.
- [16] 马明娟, 王素娟, 刘晓梅. 血清 VEGF、hs-CRP、MMP 在急性脑梗死中的诊断价值及临床意义 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(6):905-908+912.
- [17] Kalita J, Tripathi A, Shukla R, et al. Role of Caspase-3, TNF- α , and IL6 mRNA Expression in Intracranial Tuberculoma [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(8):4869-4878.

APO-A1、Hcy 及 RBP 在糖尿病足诊断及评估中的应用价值

马庆 鹿亮*

[摘要] **目的** 分析载脂蛋白 A1 (APO-A1)、同型半胱氨酸 (Hcy) 及视黄醇结合蛋白 (RBP) 在糖尿病足 (DF) 诊断及评估中的应用价值。**方法** 选取 2021 年 3 月至 2023 年 3 月中国科学技术大学附属第一医院收治的 DF 患者 82 例 (DF 组), 无 DF 的糖尿病患者 70 例 (无 DF 组), 选取同期进行健康体检者 70 名为对照组。对比三组一般资料、血清 APO-A1、Hcy、RBP 水平; 比较 DF 患者不同 Wagner 分级的 APO-A1、Hcy、RBP 水平; 采用 Logistic 回归分析影响 DF 发生的危险因素; 绘制 ROC 曲线分析 APO-A1、Hcy、RBP 单独及联合诊断糖尿病足的效能。**结果** 三组年龄、性别、BMI 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 血清 APO-A1 水平: 对照组>无 DF 组>DF 组, 血清 Hcy 水平: DF 组>无 DF 组>对照组, 血清 RBP 水平: DF 组>无 DF 组>对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 血清 APO-A1 水平: I 级>II~III 级>IV~V 级, 血清 Hcy 水平: IV~V 级>II~III 级>I 级, 血清 RBP 水平: IV~V 级>II~III 级>I 级, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); Logistic 回归分析显示, APO-A1、Hcy、RBP 为影响 DF 发生的独立影响因素 ($P<0.05$); APO-A1、Hcy、RBP 三者联合诊断 DF 的 AUC 为 0.983, 高于 APO-A1、Hcy、RBP 单独检测 ($P<0.05$)。**结论** DF 患者的 APO-A1、Hcy、RBP 水平均处于异常状态, 监测上述指标有助于为临床 DF 早期诊断、治疗及预后提供有效的依据。

[关键词] 载脂蛋白 A1; 同型半胱氨酸; 视黄醇结合蛋白; 糖尿病足

Application value of APO-A1, Hcy and RBP in diagnosis and evaluation of diabetic foot

MA Qing, LU Liang*

[Department of Orthopedics Surgery, the First Affiliated Hospital of the University of Science and Technology of China (Anhui Provincial Hospital), Hefei, Anhui, China, 230036]

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of apoprotein A1 (APO-A1), homocysteine (Hcy) and retinol-binding protein (RBP) on diabetic foot (DF) and evaluate the application value in diagnosis. **Methods** 82 cases of DF patients (DF group), 70 cases of diabetic patients without DF (non-DF group) admitted to our hospital from March 2021 to March 2023 were selected, and 70 cases of healthy people who underwent physical examination during the same period were selected as the control group. The general data, serum APO-A1, Hcy and RBP levels of the three groups were compared; the APO-A1, Hcy, and RBP levels of DF patients were compared according to the Wagner classification; the risk factors affecting the occurrence of DF were analyzed by logistic regression; the ROC curve was drawn to analyze the value of APO-A1, Hcy, and RBP alone and in combination in diagnosing diabetic foot. **Results** There was no significant difference in age, sex, and BMI among the three groups ($P>0.05$). The serum APO-A1 level: control group > no DF group > DF group, serum Hcy level: DF group > no DF group > control group, serum RBP level: DF group > no DF group > control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The serum APO A1 - level: I level > II~III level > IV~V level, serum Hcy levels: IV~V level > II~III level > I level, serum RBP level: level IV~V > II~III level > I level, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Logistic regression

基金项目: 国家自然科学基金 (82102601)

作者单位: 中国科学技术大学附属第一医院 (安徽省立医院) 骨科, 安徽, 合肥 230036

*通信作者: 鹿亮, E-mail: luliangszcsgk@163.com

analysis found that APO-A1, Hcy, and RBP were independent factors affecting DF; the AUC of APO-A1, Hcy, and RBP in the diagnosis of DF was 0.983, which was higher than APO-A1, Hcy, and RBP tested individually. **Conclusion** The levels of APO-A1, Hcy, and RBP in DF patients are abnormal. Monitoring the above indicators can help provide an effective basis for early diagnosis, treatment, and prognosis of clinical DF.

[KEY WORDS] Apoprotein A1; Homocysteine; Retinol-binding protein; Diabetic foot

2型糖尿病患者随病情进展易发生糖尿病足(Diabetic foot, DF), DF的发病率占糖尿病人群的4%~15%, 每年足溃疡的发病率为2%~3%, 且每年需要进行截肢治疗的患者超过50%, 5年死亡率高达39%~68%^[1]。糖尿病足的发病机制较为复杂, 与神经病变、血管病变以及感染等因素息息相关, 给患者带来了严重的影响, 因此, 早期诊断评估患者病情程度意义重大^[2]。载脂蛋白A1(Apoprotein A1, APO-A1)是血浆脂蛋白中的蛋白质部分, 可以结合及运输血脂到机体各组织中进行代谢及利用, 但其不受调脂药物的影响, 可对体内脂质代谢情况进行直观反映^[3]。同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)是一种含硫氨基酸, 是蛋氨酸代谢过程中的重要代谢中间产物, 其巯基参与氧化还原反应并引起氧化应激。Hcy异常是目前公认的心血管疾病与脑卒中的危险因素之一, 而DF的发生、发展与血管病变存在密切关系^[4]。视黄醇结合蛋白(Retinol-Binding Protein, RBP)是一类新的脂肪因子, 其与胰岛素拮抗有关。据相关报道指出^[5], RBP水平变化与心脑血管疾病息息相关, 且糖尿病大血管病变并发症也与RBP有关。本文将分析APO-A1、Hcy及RBP在DF患者诊断与评估中的应用价值。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年3月至2023年3月中国科学技术大学附属第一医院收治的DF患者82例(DF组), 无DF的糖尿病患者70例(无DF组)。DF组男61例, 女21例; 平均年龄(57.76±6.15)岁; 平均BMI(23.95±3.84)kg/m²; Wagner分级^[6]: I级: 31例, II级: 20例, III级: 14例, IV级: 12例, V级: 5例。无DF组男42例, 女28例; 平均年龄(57.93±6.02)岁; 平均BMI(23.89±3.77)kg/m²。选取同期进行健康体检者70名为对照组, 其中男50例, 女20例; 平均年龄(57.69±5.94)岁; 平均BMI(24.12±3.69)kg/m²。三组研究对象一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。本研

究经院医学伦理委员会批准通过, 患者或其家属对研究知情同意。

纳入标准: ①DF组患者均符合《糖尿病足诊断指南》^[7]中DF的诊断标准; DF组与无DF组患者均符合《2020年美国糖尿病学会糖尿病医学诊断标准(微血管和糖尿病足部分)的更新与解毒》^[8]中糖尿病的诊断标准; ②DF的Wagner分级为1~5级; ③临床资料无缺乏; ④无精神、语言障碍。排除标准: ①合并患有自身免疫性疾病; ②严重肝肾功能不全; ③患有恶性肿瘤者; ④妊娠期或哺乳期患者。

1.2 方法

APO-A1、Hcy、RBP的检测: 抽取所有受试者空腹静脉血5 mL, 使用LC-10C低速离心机(由安徽中科中佳教学仪器有限公司提供), 以3 000 r/min的转速、离心半径为8 cm进行离心10 min处理, 提取血清。采用免疫透射比浊法检测APO-A1(试剂盒由上海以达进出口有限公司提供), 采用循环酶速率法检测Hcy水平(试剂盒由芜湖森爱驰生物科技有限公司提供), 采用乳胶增强比浊法测定RBP水平(试剂盒由芜湖森爱驰生物科技有限公司提供)。

1.3 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; 计数资料通过 $n(\%)$ 表示, 并采用 χ^2 检验; 采用Logistic回归分析影响DF发生的多因素; 绘制ROC曲线并计算血清APO-A1、Hcy、RBP单独以及联合诊断DF的曲线下面积; 均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组一般资料、各指标比较

三组年龄、性别、BMI比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 血清APO-A1水平: 对照组>无DF组>DF组, 血清Hcy水平: DF组>无DF组>对照组, 血清RBP水平: DF组>无DF组>对照组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 三组一般资料与AMS、BUN、β-HB水平对比
[n(%), (x̄±s)]

Table 1 Comparison of general information with AMS, BUN and β-HB levels among the three groups
[n(%), (x̄±s)]

资料	DF组 (n=82)	无DF组 (n=70)	对照组 (n=70)	χ ² /t/F值	P值
合并疾病					
高血脂症	15(18.29)	12(17.14)		0.034	0.835
心脏病	2(2.43)	2(5.00)		0.026	0.872
高血压	4(4.86)	6(8.57)		0.838	0.359
感染	16(19.51)	11(15.71)		0.373	0.541
APO-A1(g/L)	0.74±0.22	0.92±0.25 ^{ab}	1.36±0.34 ^{ab}	46.357	<0.001
Hcy(μmol/L)	25.66±4.48	21.59±3.84 ^{ab}	17.61±3.14 ^{ab}	59.748	<0.001
RBP(mg/L)	76.83±5.72	67.33±5.06 ^{ab}	44.25±3.91 ^{ab}	62.329	<0.001

注:与DF组相比,^aP<0.05;与无DF组相比,^bP<0.05。

2.2 不同Wagner分级患者各指标水平比较

血清APO-A1水平: I级>II~III级>IV~V级,血清Hcy水平: IV~V级>II~III级>I级,血清RBP水平: IV~V级>II~III级>I级,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 不同Wagner分级患者APO-A1、Hcy、RBP水平对比
(x̄±s)

Table 2 Comparison of APO-A1, Hcy, and RBP levels in patients with different Wagner grades (x̄±s)

组别	n	APO-A1(g/L)	Hcy(μmol/L)	RBP(mg/L)
I级	31	0.85±0.14	22.73±2.28	73.64±3.17
II~III级	34	0.72±0.23 ^a	26.36±4.05 ^a	77.25±3.88 ^a
IV~V级	17	0.57±0.28 ^{ab}	29.60±4.45 ^{ab}	81.81±4.74 ^{ab}

注:与I级相比,^aP<0.05;与II~III级相比,^bP<0.05。

2.3 影响DF发生的多因素分析

Logistic回归分析结果显示,APO-A1、Hcy、RBP均是DF的独立影响因素(P<0.05)。见表3。

2.4 血清APO-A1、Hcy、RBP单独以及联合诊断DF的价值

APO-A1、Hcy、RBP三者联合诊断DF的AUC为0.983,高于APO-A1、Hcy、RBP单独检测(P<0.05)。见表4、图1。

表4 APO-A1、Hcy、RBP在DF患者中的诊断价值

Table 4 Diagnostic value of APO-A1, Hcy, and RBP in DF patients

类别	敏感度	特异度	AUC	95% CI	P值
APO-A1	0.821	0.808	0.597	0.504~0.689	<0.001
Hcy	0.845	0.838	0.598	0.505~0.691	<0.001
RBP	0.871	0.881	0.599	0.509~0.689	<0.001
三者联合	0.963	0.974	0.804	0.733~0.876	<0.001

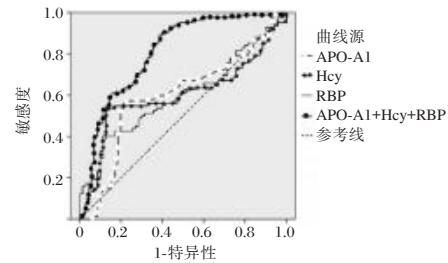


图1 各指标诊断DF价值

Figure 1 Diagnostic DF Value of Each Indicator

3 讨论

糖尿病易引起末梢神经发生病变,从而导致患者下肢血管动脉硬化与血管病变,最终造成DF。DF的发病机制较为复杂,糖尿病周围神经病变是造成DF发生的高危因素之一。DF患者长期处于高血糖以及营养不良的状态时,细菌开始大量繁殖,再加之此时的免疫细胞受到损伤,白细胞趋化和吞噬功能处于异常状态,使DF患者更易发生感染。因此,DF患者的早期感染判断以及防控具有关键的治疗意义^[9]。数字血管造影是有创检查,其费用较为昂贵,使其临床推广受到限制。而生物学标志的检测具有一定的诊断价值,且价格较低,有助于DF早期诊断,同时对患者病情严重程度评估也具有重要意义^[10]。

APO-A1是低密度脂蛋白胆固醇的核心结构蛋白,后者可转运内源性总胆固醇,在长期高血糖环境下,低密度脂蛋白胆固醇极易发生氧化糖基化,并可渗透动脉内膜,最终引起动脉硬化,APO-A1是冠心病等疾病主要实发原因之一^[11]。但低密度脂蛋白胆固醇与APO-A1相比,易受短时间内饮

表3 Logistic回归分析影响DF发生的危险因素

Table 3 The risk factors affecting the occurrence of DF analyzed by Logistic regression

指标	赋值	β值	SE值	Wald值	OR值	95% CI	P值
APO-A1	0=1.00~1.76 g/L; 1=<1.00 g/L 或>1.76 g/L	0.448	0.077	33.579	1.566	1.346~1.823	<0.001
Hcy	0=15~20 μmol/L; 1=<15 μmol/L 或>20 μmol/L	0.044	0.007	41.419	1.045	1.031~1.059	<0.001
RBP	0=25~70 mg/L; 1=<25 mg/L 或>70 mg/L	0.206	0.057	12.943	1.229	1.098~1.375	<0.001

食、瞬时血糖等因素影响,因此,APO-A1可真实反映DF患者的促动脉硬化血脂蛋白变化的趋势;且APO-A1可作为代谢综合征的重要风险因子,与胰岛素抵抗发生呈正相关,而胰岛素抵抗能够显著促进DF发生^[12]。本次研究结果提示APO-A1水平变化可反映DF患者病情的严重程度。

本研究结果显示,Hcy水平升高是影响DF发生的危险因素,与徐卫平等^[13]学者的研究结果相似。目前认为Hcy可导致内皮细胞功能紊乱,其通过氧化应激、促进脂质过氧化、抑制一氧化氮合成酶削弱一氧化氮的作用、诱导细胞坏死和凋亡等机制直接损伤和破坏血管内皮细胞;同时Hcy可促进血管平滑肌细胞增殖,损伤血小板及破坏机体凝血-纤溶平衡等,造成血管内皮损伤,从而加速动脉粥样硬化的进展和血栓形成^[14]。也有观点认为^[15],Hcy通过细胞的毒性反应,导致小动脉硬化闭塞,从而产生神经缺血缺氧性损伤;Hcy还可通过内质网的应激作用直接损伤神经细胞,从而促进糖尿病患者DF的发生、发展。肖曦^[16]学者研究中发现,在DF患者中,Hcy与糖尿病患者的周围血管病变未见明显相关性,是独立于血管病变的DF危险因素。

近年来研究指出^[17],RBP的表达水平与DF有关,RBP与胰岛素拮抗息息相关。RBP源自肝细胞和脂肪细胞,宋书朋学者指出心脑血管疾病和RBP存在密切关系,且糖尿病大血管病变并发症也与RBP有关^[18]。DF患者均会发生不同程度的周围血管病变,患者主要生理性病变特征为动脉粥样硬化,RBP表达水平升高会促使动脉粥样硬化狭窄,进而加重局部供血障碍,使DF患者的病情加重。本次研究发现,DF患者病情越严重,其RBP水平则越高,充分印证上述理论。进一步ROC曲线分析结果显示,APO-A1、Hcy、RBP三者联合检测DF的诊断效能高于三指标单独检测,表明APO-A1、Hcy、RBP均可应用于DF的早期诊断,且三者联合检测更有诊断意义。

综上所述,DF患者的APO-A1、Hcy、RBP水平均处于异常状态,监测上述指标有助于为临床DF早期诊断、治疗及预后提供有效的依据。

参考文献

[1] 彭玲,张彩英,姚国仙.深圳西部社区2型糖尿病患者糖尿病足健康知识与行为掌握调查现状,危险因素分析[J].河北医药,2022,44(9):1417-1420.

[2] Appil R, Sjattar EL, Yusuf S, et al. Effect of Family Empowerment on HbA1c Levels and Healing of Diabetic Foot Ulcers. [J]. Int J Low Extremi Wounds, 2022, 21(2): 154-160.

[3] 叶桂云,陈丽娟,赖小铮,等.二甲双胍治疗后2型糖尿病患者血清铁蛋白和载脂蛋白B/A1水平变化及意义[J].中国糖尿病杂志,2023,31(2):120-123.

[4] 牛立锋,李佳骏.血清UA、Hcy检测对脑梗死患者复发的预测价值[J].保健医学研究与实践,2022,19(12):61-64.

[5] 景鑫,王德琴,缪娟静. microRNA-93-5p联合在早期糖尿病肾病诊断中的研究[J].转化医学杂志,2022,11(6):388-391.

[6] 梁渝捷,陈大伟,文晓蓉,等.联合应用自体富血小板凝胶与β受体阻滞剂成功治愈缺血性糖尿病足溃疡1例报告[J].四川大学学报(医学版),2020,51(4):582-586.

[7] 中国医疗保健国际交流促进会糖尿病足病分会,国际血管联盟中国分部糖尿病足病专家委员会.中国糖尿病足诊断指南[J].中国临床医生杂志,2020,48(1):19-27.

[8] 李一卉,杨慧,余洋,等.2020年美国糖尿病学会糖尿病医学诊疗标准(微血管和糖尿病足部分)的更新与解读[J].中华糖尿病杂志,2020,12(9):733-735.

[9] 吕剑,高征环,冯晓涛.2型糖尿病血清载脂蛋白A1、B及脂蛋白(a)水平的变化及临床意义[J].海南医学,2020,31(9):1097-1099.

[10] 孙丹丹,唐阳,鲁丽,等.中性粒细胞淋巴细胞比值与糖尿病足溃疡病情严重程度的关系及对预后的预测价值[J].临床误诊误治,2022,35(1):52-56.

[11] 吕剑,高征环,冯晓涛.2型糖尿病血清载脂蛋白A1、B及脂蛋白(a)水平的变化及临床意义[J].海南医学,2020,31(9):1097-1099.

[12] 徐艳,陈键.血清淀粉样蛋白A和载脂蛋白B/载脂蛋白A1比值在糖尿病足中的变化及意义[J].河北医学,2021,27(2):250-254.

[13] 徐卫平,张国英,蔡峰,等.南京地区糖尿病足与血清UA、Hcy、HbA1c和LDL-c水平相关性研究[J].公共卫生与预防医学,2022,33(5):69-72.

[14] 王礼才,魏鹏程,陈言飞. Lp(a)、Hcy及sST2联合超声心动图对ACS诊断及预后的价值[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(3):396-400.

[15] 汤煜媛,魏爱生.尿酸、同型半胱氨酸、血脂水平与瘀血阻络型糖尿病足病严重程度的相关性研究[J].广东药科大学学报,2020,36(1):128-133.

[16] 肖曦,陈键.同型半胱氨酸、血清淀粉样蛋白A、脂蛋白相关磷脂酶A2在早期糖尿病足中的诊断价值[J].医学临床研究,2020,37(10):1520-1522.

[17] Wang F, Jin XW. Application effect of RBP and CysC combined detection in early diagnosis of diabetic nephropathy [J]. Lab Med Clin, 2020, 17(9): 1278-1281.

[18] 宋书朋,田新军,李伏醒.血清摄食抑制因子-1、8-异前列腺素F2α、RBP与糖尿病肾病患者病情及肾功能的相关性[J].热带医学杂志,2021,21(4):503-507.

血浆维生素D水平与恶性血液病替代供体异基因造血干细胞移植预后的相关性

杨梓艺¹ 刘红星^{1,2,3*} 张建平⁴ 王磊¹ 张乾⁴ 赵颖¹

【摘要】 目的 分析血液病恶性肿瘤患者25羟基维生素D[25(OH)D]水平对替代供体的异基因造血干细胞移植预后的影响以及并发症急性移植物抗宿主病(aGVHD)的影响。方法 回顾性分析2019年1月至2022年5月期间在河北燕达陆道培医院进行血浆25(OH)D浓度检测的212例患者,查阅HSCT的病例资料及其临床特点,通过Kaplan-Meier法绘制生存曲线;采用cox回归分析进行单因素、多因素分析。结果 33例(15.57%)患者的25(OH)D浓度<12 ng/mL,62例(29.25%)患者的25(OH)D浓度12~20 ng/mL,72例(33.96%)患者的25(OH)D浓度20~30 ng/mL,45例(21.23%)患者的25(OH)D浓度≥30 ng/mL。多因素Cox回归分析显示25(OH)D₂+D₃<12 ng/mL($P<0.001$)和Ⅳ度aGVHD($P=0.026$; 0.023)均是无白血病生存LFS和总生存OS的独立风险因素,二次移植是LFS的独立风险因素($P=0.017$)。25(OH)D₂+D₃<12 ng/mL是aGVHD($P=0.0082$)和Ⅱ~Ⅳ度aGVHD($P<0.001$)的独立风险因素,年龄≥36岁是aGVHD的独立风险因素($P=0.026$)。结论 维生素D缺乏是影响HSCT结果的一个独立危险因素;不利于患者预后,容易发生并发症aGVHD,故应及时进行治疗干预。

【关键词】 25羟基维生素D;造血干细胞;急性移植物抗宿主病;血液病恶性肿瘤

Correlation between plasma vitamin D levels and outcome of alternative donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for malignant hematologic diseases

YANG Ziyi¹, LIU Hongxing^{1,2,3*}, ZHANG Jianping⁴, WANG Lei¹, ZHANG Qian⁴, ZHAO Ying¹

(1. Clinical Pharmacology Laboratory, Department of Laboratory Medicine, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang, Hebei, China, 065201; 2. Division of Pathology & Laboratory Medicine, Beijing Lu Daopei Hospital, Beijing, China, 100176; 3. Beijing Lu Daopei Institute of Hematology, Beijing, China, 100176; 4. Department of Transplantation, Lu Daopei Hospital, Yanda, Hebei, China, 065201)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the effect of 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels on the prognosis of allogeneic HSCT (allo-HSCT) in patients with hematological malignancies and the complication acute graft-versus-host disease (aGVHD). **Methods** 212 patients underwent 25(OH)D testing at Hebei Yanda Lu Daopei Hospital between January 2019 and May 2022 were retrospectively analyzed to review the case data of HSCT and its clinical characteristics, and the survival curves were plotted by the Kaplan-Meier method; unifactorial and multifactorial analyses were performed using Cox regression analysis. **Results** Thirty-three patients (15.57%) had a 25(OH)D concentration of less than 12 ng/mL, 62 patients (29.25%) had a 25(OH)D concentration of 12~20 ng/mL, 72 patients (33.96%) had a 25(OH)D concentration of 20~30 ng/mL, and 45 patients (21.23%) had a 25(OH)D concentration of ≥ 30 ng/mL. Multifactorial Cox regression analysis showed that 25(OH)D₂+D₃<12 ng/mL ($P<0.001$) and grade Ⅳ GVHD ($P=0.026$; 0.023) were both independent risk

基金项目:河北省医学科学研究课题(20230256);廊坊市科学技术研究与发展计划自筹经费项目(2022013001)

作者单位:1.河北燕达陆道培医院检验科临床药理室,河北,廊坊065201

2.北京陆道培医院病理和检验医学科,北京100176

3.北京陆道培血液病研究院,北京100176

4.河北燕达陆道培医院移植科,河北,廊坊065201

*通信作者:刘红星, E-mail: starliu@pku.edu.cn

factors for leukemia free survival LFS and overall survival OS, and secondary transplantation was an independent risk factor for LFS ($P=0.017$). $25(\text{OH})\text{D}_2 + \text{D}_3 < 12 \text{ ng/mL}$ was an independent risk factor for aGVHD ($P=0.008$) and degrees II ~ IV aGVHD ($P<0.001$), and age ≥ 36 years was an independent risk factor for aGVHD ($P=0.026$). **Conclusion** In patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation, vitamin D deficiency has a detrimental impact on the prognosis and increases the risk of complications aGVHD, therefore, timely therapeutic intervention is necessary.

[KEY WORDS] $25(\text{OH})\text{D}$; Allogeneic hematopoietic stem cell; aGVHD; Hematological malignancies

造血干细胞移植 (Hematopoietic Stem Cell Transplantation, HSCT) 患者由于长期住院缺乏日照并伴有营养不良, 所以易缺乏维生素 D。维生素 D 作用广泛, 对心脏、骨代谢尤其是免疫系统等多方面都有影响。维生素 D 通过结合免疫细胞中的维生素 D 受体发挥其生物学功能, 并且可以增强免疫细胞耐受性从而达到免疫平衡。但是在维生素 D 缺乏的情况下, 这种平衡可能会被打破, 从而引发自身免疫性疾病。在异基因 HSCT 患者中, 维生素 D 缺乏也会影响 HSCT 后的并发症, 如移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD)。其病理生理学与自身免疫调节失衡有关。尽管如此, HSCT 的临床指南仅关注维生素 D 在骨骼健康和矿物质代谢中的作用^[1-2]。目前仍未有指南给出维生素 D 的最佳水平, 以应对维生素 D 缺乏对 HSCT 后并发症和患者预后的潜在影响。为了更好地了解本院替代供体的恶性血液病移植患者维生素 D 缺乏现状, 探讨维生素 D 缺乏和患者预后总生存期 (overall survival, OS) 无白血病生存期 (Leukemia-free survival, LFS) 以及急性 GVHD 的相关性, 开展此研究。

1 资料与方法

1.1 病例

选取 2019 年 1 月至 2022 年 5 月期间于北京陆道培医院及河北燕达陆道培医院接受同种异基因 HSCT 的 212 例连续病例纳入本评估。纳入标准: ① 收集患者至少进行过两次维生素 D 水平检测, 排除只有 1 次检测和未进行检测的患者。② 收集诊断为恶性血液病的患者, 包括急性淋巴细胞白血病、急性髓系白血病、慢性粒细胞白血病 (急淋变)、淋巴瘤。③ 收集半相合单倍体移植和非血缘的患者。对这些病例进行纵向随访, 包括 1 年内的 25 羟基维生素 D [$25(\text{OH})\text{D}$] 浓度水平和 1~3 年的总生存期 (OS)、无白血病生存期 (LFS)、急性移植物抗宿主病 acute GVHD (aGVHD) 直到死亡或失去随访。所有患者的最后一次随访终点为 2023 年

5 月 1 日。不排除二次移植的病例。本研究经医院伦理委员会批准同意, [2022] 第 17 号。本研究为回顾性研究, 故免知情同意。

1.2 方法

1.2.1 预处理方案及 GVHD 预防

所有血液学恶性肿瘤的患者均接受了基于 GIAC 方案的清髓 HSCT^[3]。详细方案参考本院前期报道^[4]。

1.2.2 相关诊断标准和定义

主要观察影响因素为血浆总 $25(\text{OH})\text{D}$, $25(\text{OH})\text{D}_2$, $25(\text{OH})\text{D}_3$ 水平。主要观测结局是 OS、LFS、aGVHD (所有等级)。aGVHD 根据修订的 Glucksberg 标准分度 (0~IV)^[5], 并记录从造血干细胞回输结束第 0 天到发生 aGVHD 的时间。OS 定义为单次 HSCT 第 0 天至最后一次随访时间或任何原因死亡时间。LFS 定义为从回输结束第 0 天到复发或非疾病复发死亡的时间。复发: 缓解后再次出现骨髓中白血病细胞 $>5\%$ 或髓外白血病。血浆 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平评价标准参照美国内分泌协会分布的指南^[6] 充足 ($\geq 30 \text{ ng/mL}$ 、不足 ($20\sim 30 \text{ ng/mL}$)、缺乏 ($<20 \text{ ng/mL}$)。同时参考 2020 年 11 月我国新实施的卫生行业标准 WS/T677-2020 人群维生素 D 缺乏筛查方法, 血浆 $25(\text{OH})\text{D} < 12 \text{ ng/mL}$ 判定为维生素 D 缺乏, 在本篇定义为严重缺乏。

1.2.3 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平实验室检查

抽空腹静脉血 2 mL, 并经 3 000 rpm 离心 10 min, 离心半径 15 cm, 并经过血浆分离后置于 -20°C 冰箱保存, 于 3 天内进行检测。 $25(\text{OH})\text{D}$ 检测采用液质联用的方法 (HPLC~MS/MS)。JasperTM 高效液相色谱仪、SCIEX 4500 串联四极杆质谱仪、大气压化学电离源 (APCI) 以及 Analyst MD Version 1.6.2 分析软件均来自美国 SCIEX 公司。

1.2.4 统计学分析

采用 SAS 9.4 进行数据统计分析。计数资料采用 $n(\%)$ 进行描述。对于服从正态分布的资料, 采用 $(\bar{x} \pm s)$ 进行描述, 不服从正态分布定量资料, 采

用 $M(P_{25}, P_{75})$ 描述。通过 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线;采用单因素 Cox 回归分析进行单因素分析,采用多因素 Cox 回归进行多因素分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及患者维生素 D 水平情况

212 例患者中男 116 例,女 96 例。25 例(11.79%)患者为 2 次移植。按照移植时年龄分类:儿童 63 例,青年 109 例,中老年人 40 例。25(OH)D 总检测次为 671 次,平均每位患者 3.12 检测次。见表 1。

2.2 维生素 D 缺乏与生存的关系

212 例患者中位随访时间 20.98(1.37~51.9)个月。1 年总生存率为 90.57%(85.76%~93.81%),两年为 82.80%(76.19%~97.73%),3 年为 80.15%(72.52%~85.86%)。1 年无白血病生存率为 87.73%(82.51%~91.48%),两年为 82.61%(76.29%~87.38%),3 年为 78.09%(69.69%~84.41%)。Kaplan-Meier 生存曲线显示 25(OH)D < 12 ng/mL 预示较差的 OS($P < 0.001$)和较差的 LFS($P < 0.001$)。见图 1。

多因素 Cox 回归分析结果显示 25(OH)D₂+D₃ < 12 ng/mL ($P < 0.001$)和 IV 度 aGVHD ($=0.026$; 0.023)均是 LFS 和 OS 的独立风险因素,二次移植是 LFS 的独立风险因素($P=0.017$)。见表 2、图 2。

2.3 维生素 D 缺乏与 aGVHD 的关系

212 例患者在第+100 天时 aGVHD 的累积发生率为 43.4%(95%CI: 36.7%~49.9%)。

多因素 Cox 回归分析结果显示 25(OH)D₂+D₃ < 12 ng/mL 是 aGVHD ($P=0.008$ 和 II~IV 度 aGVHD ($P < 0.001$)的独立风险因素,见图 3。年龄 ≥ 36 岁是 aGVHD 的独立危险因素($P=0.026$)。见表 3。

3 讨论

异基因 HSCT 是治疗大多数血液系统恶性肿瘤的有效治愈方法。由于部分患者缺乏 HLA(组织相同性抗原)相同的兄弟姐妹,替代供体 HSCT 发挥着重要作用。此次全面的研究了本院 212 例替代供体的异基因 HSCT 患者维生素 D 缺乏对预后的影响并探讨了对并发症 aGVHD 的影响。结果显示维生素 D 缺乏是影响 HSCT 结果的一个独立的风险因素,不利于患者预后,容易发生并发症 aGVHD。

表 1 212 例替代供体的恶性血液病 HSCT 患者一般资料
[$n(\%)$, $M(P_{25}, P_{75})$]

Table 1 General clinical data of 212 patients undergoing alternative donor hematopoietic stem cell transplantation for malignant hematologic diseases [$n(\%)$, $M(P_{25}, P_{75})$]

变量	结果
性别	
男	116(54.72)
女	96(45.28)
年龄	
≤ 14	63(29.72)
15~35	109(51.42)
≥ 36	40(18.87)
诊断	
ALL	106(50.00)
AML	94(44.34)
其他	12(5.66)
移植预处理方案	
以 TBI 为基础	115(54.25)
以 BU 为基础	97(45.75)
供者类型	
亲缘单倍体	176(83.02)
非血缘	36(16.98)
维生素 D 水平[ng/mL]	
25(OH)D ₂	1.35(0.17, 9.70)
25(OH)D ₃	15.05(8.65, 21.60)
25(OH)D ₂ +D ₃	20.55(15.35, 28.10)
25(OH)D ₂ +D ₃	
< 12	33(15.57)
12~19	62(29.25)
20~30	72(33.96)
≥ 30	45(21.23)
GVHD 发病情况	
无	47(22.17)
I 度	38(17.92)
II 度	40(18.87)
III 度	30(14.15)
IV 度	18(8.49)
慢性	39(18.40)
二次移植	
是	25(11.79)
否	187(88.21)

注:ALL 为急性淋巴细胞白血病;AML 为急性髓系白血病;其他为慢性粒细胞白血病急淋变,淋巴瘤;GVHD 为移植物抗宿主病;25(OH)D 为 25-羟基维生素 D。

本研究显示 25(OH)D 缺乏不利于 HSCT 预后。2020 年的一项研究从机制上解释了这一现象^[7]。维生素 D 受体可以调节体内干细胞稳态,并且可以抑制白血病细胞增殖。在急性髓系白血病小鼠模型中,维生素 D 受体(Vitamin D receptor, VDR)启动子被甲基化,VDR 激动剂与低甲基化药物联合使用可促进白血病干细胞衰竭并减轻肿瘤负担。当 VDR 表达下降时,会导致髓系祖细胞分化受

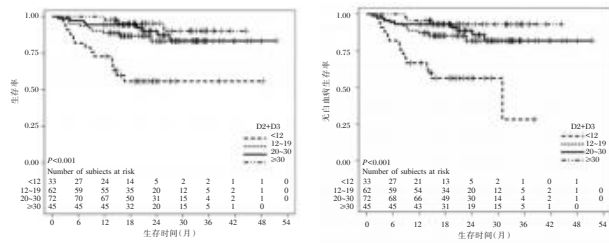


图1 25(OH)D缺乏对生存率和无白血病生存率影响的生存曲线

Figure 1 Survival Curves for the Impact of 25(OH)D Deficiency on OS and LFS

表2 LFS和OS的多因素Cox回归分析
Table 2 Multivariate Cox regression analysis of LFS and OS

变量	多因素分析(LFS)		多因素分析(OS)	
	HR(95% CI)	P值	HR(95% CI)	P值
25(OH)D2+D3				
<12	1.00(ref)		1.00(ref)	
12~19	0.35(0.14~0.88)	0.025	0.34(0.13~0.87)	0.025
20~30	0.32(0.12~0.83)	0.019	0.29(0.11~0.78)	0.014
≥30	0.15(0.04~0.63)	0.009	0.15(0.04~0.64)	0.010
GVHD发病情况				
无	1.00(ref)		1.00(ref)	
I度	1.53(0.33~7.10)	0.586	1.04(0.20~5.37)	0.965
II度	2.04(0.50~8.40)	0.323	1.85(0.44~7.82)	0.403
III度	2.47(0.60~10.12)	0.209	2.62(0.64~10.77)	0.180
IV度	5.06(1.21~21.12)	0.026	5.24(1.26~21.88)	0.023
慢性	1.63(0.40~6.72)	0.499	1.35(0.32~5.79)	0.682
二次移植				
否	1.00(ref)		1.00(ref)	
是	2.65(1.19~5.92)	0.017	2.18(0.91~5.19)	0.080

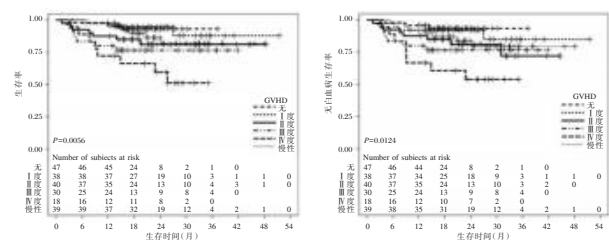


图2 GVHD对生存率和无白血病生存率影响的生存曲线
Figure 2 Survival Curves for the Impact of GVHD on OS and LFS

阻,促进幼稚细胞自我复制,白血病干细胞数量和静止造血干细胞数量增加,这是急性髓系白血病预后差的一个因素。临床研究也表明较低的维生素D水平与髓系和淋巴系恶性肿瘤较差的预后显著相关。一组183例自体移植患者研究^[9]显示和低水平患者相比,维生素D水平>52 nmol/L(20.8 ng/mL)患者预后更好:更好的无进展生存期(P=

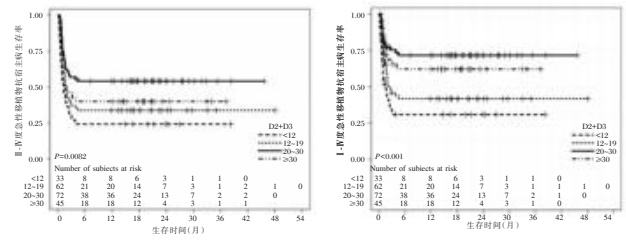


图3 25(OH)D缺乏对急性移植抗宿主病和II~IV度急性移植抗宿主病影响的生存曲线

Figure 3 Survival Curves for the Impact of 25(OH)D Deficiency on aGVHD and II~IV aGVHD

表3 aGVHD和II~IVaGVHD的多因素Cox回归分析
Table 3 Multivariate Cox regression analysis of aGVHD and II~IV aGVHD

变量	多因素分析aGVHD		多因素分析II~IVaGVHD	
	HR(95% CI)	P值	HR(95% CI)	P值
年龄				
≤14	1.00(ref)		1.00(ref)	
15~35	0.70(0.46~1.07)	0.098	0.62(0.37~1.05)	0.074
≥36	0.52(0.29~0.93)	0.026	0.64(0.34~1.22)	0.177
25(OH)D2+D3				
<12	1.00(ref)		1.00(ref)	
12~19	0.73(0.44~1.21)	0.220	0.66(0.37~1.15)	0.140
20~30	0.41(0.24~0.70)	0.001	0.27(0.14~0.50)	<0.001
≥30	0.59(0.33~1.06)	0.076	0.35(0.17~0.70)	0.003

0.019)和更好的总生存期OS(P=0.011)。总体来讲,维生素D水平较低与髓系和淋巴系恶性肿瘤以及几种淋巴瘤亚型(包括弥漫大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和T细胞淋巴瘤)的预后较差有关^[9-11]。

本研究结果中,发现维生素D缺乏的患者容易发生严重的aGVHD,浓度水平小于12 ng/mL的患者和大于20 ng/mL的患者相比,非常容易发生II~IV度aGVHD。移植抗宿主疾病(GVHD)仍然是异基因HSCT(HSCT)成功的主要障碍。发生GVHD的原因是异基因移植中的供者T细胞将基因不同的宿主视为异物,并攻击移植受者的组织。虽然供者和受者之间的基因不相容性是决定免疫反应程度的主要因素,但GVHD的发生率和严重程度也受到非遗传因素的影响。免疫学的最新研究进展表明,膳食中的微量营养素在调节各种免疫反应方面起着重要作用,并可能影响实验动物和人类对自身免疫性和炎症性疾病的易感性。维生素D可以抑制促炎症淋巴细胞亚群,同时增强其抗炎性及耐受性。

多项国外临床研究证据与本研究结果相似,证明了维生素D可能是异基因HSCT后的GVHD的危险因素。Kreutz等^[12]研究表明25(OH)D₃<10 ng/mL患者容易发生Ⅲ~Ⅳ度aGVHD($P=0.031$)。Caballero-Velázquez等^[13]研究结果表明与没有进行维生素D治疗的患者相比,低剂量组和高剂量组治疗的患者1年后发生慢性GVHD的风险较低($P<0.05$)。Von Bahr等^[14]研究显示慢性GVHD的发生与25(OH)D₃血浆状态密切相关(RR 2.66)。另一方面本研究发现 ≥ 30 ng/mL水平似乎没有20~30 ng/mL在预防aGVHD方面表现好,对此国外也有项研究结果与我们的很相似^[15]。他们发现,移植前维生素D水平为85 nmol/L(34 ng/mL)的患者发生Ⅱ~Ⅳ度aGVHD的几率是维生素D水平为47 nmol/L(18.8 ng/mL)的患者的1.5倍。这也预示着浓度应该保持一个适度水平。

欧洲血液和骨髓移植学会 European Society for Blood and Marrow Transplantation(EBMT)2019年的一项调查^[16]显示,在欧洲各个干细胞移植中心当中,不同的中心在监测和补充维生素D方面也存在差异。EBMT建议在干细胞移植后,还是应该给予患者维生素D补充治疗。但是对于血浆维生素D到底补到多少合适,EBMT也未能给出一个合适的临界值范围。目前全世界范围内都需要一个针对移植患者的维生素D的标准化建议。

通过不断监测维生素D的水平,对缺乏的患者给予适量的补充来干预患者体内维生素D的水平,具有成本低、副作用小的优势,还可增强免疫耐受能力并预防一些HSCT后并发症。但是往往在管理这些复杂的患者时很容易忽视对维生素D的监测。因此鼓励识别高风险患者并优化其管理,以便及时进行治疗干预。

参考文献

- [1] Bhatia S, Armenian SH, Landier W. How I monitor long-term and late effects after blood or marrow transplantation [J]. *Blood*, 2017, 130(11): 1302-1314.
- [2] Inamoto Y, Lee SJ. Late effects of blood and marrow transplantation [J]. *Haematologica*, 2017, 102(4): 614-625.
- [3] LU D P, Dong L, WU T, et al. Conditioning including anti-thymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation [J]. *Blood*, 2006, 107(8): 3065-3073.
- [4] 曹星玉,魏志杰,刘德琰,等.亲缘单倍型和同胞相合HSCT治疗完全缓解期急性T淋巴细胞白血病疗效比较[J].*中华血液学杂志*, 2021, 42(3): 210-216.
- [5] Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1995, 15(6): 825-828.
- [6] Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(7): 1911-1930.
- [7] Paubelle E, Zylbersztejn F, Maciel TT, et al. Vitamin D Receptor Controls Cell Stemness in Acute Myeloid Leukemia and in Normal Bone Marrow [J]. *Cell Rep*, 2020, 30(3): 739-754 e4.
- [8] Eicher F, Mansouri Taleghani B, Schild C, et al. Reduced survival after autologous stem cell transplantation in myeloma and lymphoma patients with low vitamin D serum levels [J]. *Hematol Oncol*, 2020, 38(4): 523-530.
- [9] LI M, Chen P, LI J, et al. Review: the impacts of circulating 25-hydroxyvitamin D levels on cancer patient outcomes: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(7): 2327-2346.
- [10] Wang W, LI G, HE X, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and prognosis in hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(5): 1999-2005.
- [11] ITO Y, Honda A, Kurokawa M. Impact of vitamin D level at diagnosis and transplantation on the prognosis of hematological malignancy: a meta-analysis [J]. *Blood Adv*, 2022, 6(5): 1499-1511.
- [12] Kreutz M, Eissner G, Hahn J, et al. Variations in 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ serum levels during allogeneic bone marrow transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(8): 871-873.
- [13] Caballero-Velazquez T, Montero I, Sanchez-Guijo F, et al. Immunomodulatory Effect of Vitamin D after Allogeneic Stem Cell Transplantation: Results of a Prospective Multi-center Clinical Trial [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(23): 5673-3681.
- [14] Vonbahr L, Blennow O, Alm J, et al. Increased incidence of chronic GvHD and CMV disease in patients with vitamin D deficiency before allogeneic stem cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2015, 50(9): 1217-1223.
- [15] Gjaerde LK, Ostrowski SR, Andersen N S, et al. Pre-transplantation plasma vitamin D levels and acute graft-versus-host disease after myeloablative hematopoietic cell transplantation in adults [J]. *Transpl Immunol*, 2021, 68: 101437.
- [16] Ros-Soto J, Snowden JA, Salooja N, et al. Current Practice in Vitamin D Management in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Survey by the Transplant Complications Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019, 25(10): 2079-2085.

孕期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平监测在预测胎儿生长受限中的作用

张晓丹 杜德奇 徐毅*

[摘要] 目的 探讨孕期血清水溶性血管内皮生长因子受体2(sVEGFR2)、人胎盘泌乳素(HPL)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)水平监测在预测胎儿生长受限(FGR)中的作用。方法 选取2020年10月至2022年10月在郑州市妇幼保健院经临床检查疑胎儿生长受限并住院分娩的110例产妇作为研究对象,纳入为观察组,选取同期正常妊娠110例产妇作为对照组,比较两组血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平,根据新生儿体质量将疑FGR产妇分为FGR组(98例)及非FGR组(12例),分析sVEGFR2、HPL、IGF-1单独及联合检测对FGR的诊断价值。结果 对照组产妇产中、晚期血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平均高于观察组,差异有统计学意义($t=28.457, 28.902, 24.076, 26.234, 30.474, 25.908, P<0.05$);FGR组羊水指数、白蛋白、雌三醇、sVEGFR2、HPL、IGF-1均较非FGR组低,差异有统计学意义($t=11.672, 6.159, 16.459, 29.335, 26.600, 39.433, P<0.05$);Logistic多因素回归分析结果显示,羊水指数、白蛋白、雌三醇、sVEGFR2、HPL、IGF-1为FGR的独立影响因素($P<0.05$);ROC曲线分析结果显示,sVEGFR2、HPL、IGF-1三者单独及联合诊断曲线下面积(AUC)分别为0.798、0.845、0.812、0.955,联合检测优于单一检测($P<0.05$)。结论 FGR产妇产期血清sVEGFR2、HPL、IGF-1较正常妊娠产妇低,三者联合检测对FGR具有较高的诊断效能。

[关键词] 胎儿生长受限;水溶性血管内皮生长因子受体2;人胎盘泌乳素;胰岛素样生长因子-1

The role of monitoring serum sVEGFR2, HPL, and IGF-1 levels during pregnancy in predicting fetal growth restriction

ZHANG Xiaodan, DU Deqi, XU Yi*

(Department of Obstetrics and Gynecology, Zhengzhou Maternal and Child Health Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450012)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the role of serum water-soluble vascular endothelial growth factor receptor 2 (sVEGFR2), human placental prolactin (HPL) and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in predicting fetal growth restriction (FGR) during pregnancy. **Methods** From October 2020 to October 2022, 110 pregnant women with suspected fetal growth restriction and hospitalized delivery in Zhengzhou Maternal and Child Health Hospital were selected as the study objects and included as the observation group, and 110 pregnant women with normal pregnancy during the same period were selected as the control group. Serum levels of sVEGFR2, HPL and IGF-1 were compared between the two groups. According to neonatal body mass score, the pregnant women suspected of FGR were divided into the FGR group (98 cases) and the non-FGR group (12 cases). The diagnostic value of sVEGFR2, HPL and IGF-1 alone and combined in FGR was analyzed. **Results** The levels of serum sVEGFR2, HPL and IGF-1 in the middle and late pregnancy in the control group were higher than those in the observation group, and the differences were statistically significant ($t=28.457, 28.902, 24.076, 26.234, 30.474, 25.908, P<0.05$). Amniotic fluid index, albumin, estriol, sVEGFR2, HPL, IGF-1 in the FGR group were lower than those in the non-FGR group, and the differences were statistically sig-

基金项目:河南省科技攻关计划联合共建项目基金(LHGJ20210785)

作者单位:郑州市妇幼保健院妇产科,河南,郑州 450012

*通信作者:徐毅, E-mail: xuyi97520@126.com

nificant ($t=11.672, 6.159, 16.459, 29.335, 26.600, 39.433, P<0.05$). Logistic multivariate regression analysis showed that amniotic fluid index, smoking history, albumin, estriol, sVEGFR2, HPL and IGF-1 were independent influencing factors of FGR ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the area under the curve (AUC) of sVEGFR2, HPL and IGF-1 alone and combined were 0.798, 0.845, 0.812 and 0.955, respectively. Combined detection was superior to single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of sVEGFR2, HPL and IGF-1 in pregnant women with FGR are lower than those in normal pregnant women. sVEGFR2, HPL and IGF-1 are independent influencing factors of FGR, and the combined detection of these three factors has high diagnostic efficacy for FGR.

[KEY WORDS] FGR; sVEGFR2; HPL; IGF-1

胎儿生长受限(Fetal growth restriction, FGR)是围产期严重的并发症,严重影响胎儿的生长发育,是导致胎儿宫内死亡的主要原因,并且导致新生儿患病率及病死率增加。对存活者而言,FGR还会造成远期严重影响,大多数FGR患儿在青少年时期出现大脑发育不良、认知缺陷、身高受限、心血管疾病等严重并发症^[1]。调查研究显示^[2],我国FGR的发病率为6.39%,早发现早诊断,并及时有效干预对提高胎儿生存率及生存质量,改善远期预后具有重要意义。目前临床上仍缺乏有效的FGR早期诊断方法,超声检查、子宫高度测量、Hadlock法计算是目前临床评估FGR的主要方法,然而临床仍有40%的FGR未能在产前诊断出来^[3]。近年来围绕母体血液中分子标志物检测成为FGR研究热点,寻找灵敏度高、特异度好的蛋白、核酸、代谢物或将为临床FGR早期诊断提供新的思路和方法^[4]。目前,FGR相关生物标志物的研究仍面临诸多挑战,机体内蛋白、核酸等因子水平受多种因素影响,单一生物标志物无法准确诊断FGR,因此将几种不同的生物标志物结合,进行多种因素综合分析,最终实现FGR早期诊断及干预是临床关注的重点。本研究探究孕期血清可溶性血管内皮生长因子2(soluble Vascular endothelial growth factor receptor 2, sVEGFR2)、人胎盘泌乳素(Human placental lactogen, HPL)、胰岛素样生长因子-1(Insulin-like growth factor-1, IGF-1)水平监测在预测胎儿生长受限中的作用,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年10月至2022年10月在郑州市妇幼保健院经临床检查疑胎儿生长受限并住院分娩的110例产妇作为研究对象,纳入为观察组,选取同期正常妊娠110例产妇作为对照组。观察组年

龄平均(28.37 ± 3.54)岁,分娩孕周平均(38.26 ± 1.41)周。对照组年龄平均(28.65 ± 3.74)岁,分娩孕周平均(38.41 ± 1.32)周。纳入标准:①符合2021年美国妇产科医师协会发布的《胎儿生长受限指南》^[5]中相关FGR诊断标准。②年龄18~35岁,自然受孕的单胎初孕妇;③常规产检提示无妊娠并发症,无家族遗传史;④无胎儿结构畸形、胎儿染色体异常;排除标准:①有先兆流产,曾服用保胎药物、激素等;②神经系统疾病、精神疾病、认知功能障碍;③既往生殖系统手术史,辅助生殖技术受孕;④合并心、肝、肾等重要器官功能障碍。两组产妇一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),所有受试者均对本研究知情并签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平检测

采集所有产妇孕期清晨空腹静脉血5 mL,以3 500 r/min离心10 min,离心半径10 cm。分离上层血清,采用酶联免疫吸附法检测血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平,sVEGFR2、IGF-1试剂盒购自美国R&D公司,HPL试剂盒购自北京瑞达恒辉公司。

1.2.2 FGR诊断

根据2021年美国妇产科医师协会发布的《胎儿生长受限指南》中相关诊断标准^[6],新生儿体质量或腹围小于同孕龄新生儿体质量第10百分位,足月分娩新生儿出生体重低于2 500 g,则诊断为FGR。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0对数据进行统计分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,进行 t 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验,多因素使用Logistic回归分析影响FGR的独立影响因素,并采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平对FGR的诊断效能, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组产妇产中、晚期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平比较

对照组产妇产中、晚期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平均高于观察组,差异有统计学意义($P <$

0.05)。见表1。

2.2 影响FGR的单因素分析

根据新生儿体质量将疑FGR产妇分为FGR组(98例)及非FGR组(12例),FGR组羊水指数、白蛋白、雌三醇、sVEGFR2、HPL、IGF-1水平均较非FGR组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 两组产妇产中、晚期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum levels of sVEGFR2, HPL and IGF-1 in the middle and late pregnancy between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sVEGFR2(pg/mL)		HPL(μ g/mL)		IGF-1(μ g/L)	
		孕中期	孕晚期	孕中期	孕晚期	孕中期	孕晚期
对照组	110	384.16 \pm 45.23	386.25 \pm 41.58	5.25 \pm 1.04	7.63 \pm 1.16 ^a	42.17 \pm 7.34	82.49 \pm 7.62 ^a
观察组	110	224.73 \pm 37.51	234.42 \pm 36.15	2.56 \pm 0.54	4.34 \pm 0.62 ^a	16.05 \pm 5.19	57.94 \pm 6.38 ^a
t 值		28.457	28.902	24.076	26.234	30.474	25.908
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与同组孕中期比较,^a $P < 0.05$ 。

表2 影响FGR的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 2 Analysis of single factors affecting FGR [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

项目	非FGR组 (n=12)	FGR组 (n=98)	t/ χ^2 值	P 值
年龄(岁)	28.65 \pm 3.74	28.37 \pm 3.54	0.570	0.569
分娩孕周(周)	38.41 \pm 1.32	38.26 \pm 1.41	0.814	0.416
新生儿性别				
男	5(41.67)	47(47.96)	0.169	0.680
女	7(58.33)	51(52.04)		
分娩方式				
顺产	8(66.67)	64(65.31)	0.311	0.577
剖宫产	4(33.33)	34(34.69)		
BMI(kg/m ²)	27.03 \pm 2.15	26.42 \pm 2.57	1.909	0.058
羊水指数(cm)	12.34 \pm 1.28	10.12 \pm 1.53	11.672	<0.001
白蛋白(g/L)	36.31 \pm 2.44	34.25 \pm 2.52	6.159	<0.001
雌三醇(ng/mL)	20.82 \pm 3.47	13.57 \pm 3.05	16.459	<0.001
sVEGFR2(pg/mL)	385.62 \pm 42.31	228.91 \pm 36.73	29.335	<0.001
HPL(μ g/mL)	7.26 \pm 1.08	3.79 \pm 0.84	26.600	<0.001
IGF-1(μ g/L)	76.56 \pm 6.48	43.28 \pm 6.03	39.433	<0.001

2.3 影响FGR的多因素回归分析

以FGR为因变量,以单因素分析差异有统计学意义的因素为自变量。Logistic多因素回归分析结果显示,羊水指数、白蛋白、雌三醇、sVEGFR2、HPL、IGF-1为FGR的独立影响因素($P < 0.05$)。见表3。

表3 影响FGR的多因素回归分析

Table 3 Regression analysis of multiple factors influencing FGR

项目	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
羊水指数	-0.826	0.312	7.009	2.284	0.214~3.438	0.008
白蛋白	-0.764	0.243	9.885	2.147	0.288~3.240	0.001
雌三醇	-0.954	0.336	8.062	2.596	0.292~3.612	0.004
sVEGFR2	-0.901	0.327	7.592	2.462	0.260~3.542	0.006
HPL	-1.132	0.397	8.130	3.102	0.354~4.910	0.004
IGF-1	-1.061	0.402	6.965	2.889	0.273~3.849	0.008

2.4 产妇产期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平对FGR的诊断效能分析

ROC曲线分析结果显示,孕期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平对FGR具有良好的诊断效能,三者单独及联合诊断 AUC 分别为 0.798、0.845、0.812、0.955,优于单一检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表4 产妇产期血清 sVEGFR2、HPL、IGF-1 水平对FGR的诊断效能分析

Table 4 Diagnostic efficacy analysis of serum sVEGFR2, HPL and IGF-1 levels for FGR during pregnancy

指标	截断值	AUC	95% CI	约登指数	特异度	灵敏度	P 值
sVEGFR2	360.215	0.798	0.737~0.878	0.621	0.757	0.864	<0.001
HPL	6.855	0.845	0.794~0.924	0.580	0.824	0.756	<0.001
IGF-1	72.945	0.812	0.757~0.913	0.474	0.703	0.771	<0.001
联合诊断		0.955	0.931~0.978	0.843	0.909	0.934	<0.001

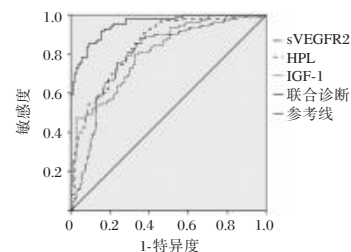


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

胎儿的生长受母体情况、遗传、宫内感染、胎盘功能等多种因素的影响,FGR病因复杂,目前国际上仍未形成统一的FGR发生及发展的机制解释,大部分学者认为,胎盘功能不全是导致FGR的重

要原因^[7]。胎盘是胎儿与母体营养及代谢交换的枢纽,为胎儿提供所需的生长发育物质,胎盘功能障碍会严重影响胎儿生长发育过程。巫裕花等^[8]通过对FGR产妇产胎盘组织基因功能进行富集分析,研究指出FGR与HIF-1信号通路、葡萄糖、氨基酸等代谢相关通路、癌症相关通路、胰岛素信号通路以及免疫相关通路有关。胎盘血管系统发育不良是胎盘功能不全的主要原因,早发型FGR表现为胎儿大脑中动脉、脐动脉和孕子宫动脉多普勒血流异常改变,继而进展为胎儿严重的心血管变化、代谢异常、胎心监护重复减速,最终导致胎儿宫内死亡。晚发型FGR则表现为胎儿轻度缺氧及大脑血流的适应性改变^[9-10]。以上提示,血管系统、能量代谢、胰岛素通路的各项指标可能是FGR早期诊断的有效依据。

本研究结果显示,FGR产妇产中、晚期血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平较正常妊娠降低。VEGFR2是主要表达于胎盘血管内皮细胞的血管内皮生长因子(VEGF)受体,在胚胎发育及血管形成中发挥重要作用。VEGF通过与受体VEGFR2结合激活诱导免疫受体sVEGFR2形成,并刺激胎盘及胚胎新血管形成,维持血管壁的完整性及通透性^[11]。在正常妊娠中,滋养层细胞聚集并将帮助胚胎在母体子宫着床,同时为胎儿提供获取营养及氧气,排出代谢废物的途径。子宫脱膜过程中的蜕膜自然杀伤(dNK)细胞和巨噬细胞释放VEGF以支持血液绒毛膜胎盘形成,并通过扩张和弹性丧失转变为低阻力血管,为胎儿从获取营养及氧气,交换代谢废物提供便利^[12]。多种原因引起的FGR中,母体滋养层细胞功能障碍,胎盘血流量减少,VEGF表达下降,导致sVEGFR2形成减少,影响胎盘及胚胎血管形成,进一步导致胎盘发育不良及FGR。因此sVEGFR2与其配体VEGF是FGR发病机制中的一个重要因素,与Arias等研究相符^[13]。IGF-1是胎儿生长的关键调节因子,促进细胞的增殖、分化、成熟。胎盘可以通过分泌HPL及生长素促进母体肝细胞及胎膜组织产生IGF-1,并通过磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶信号通路促进胎盘滋养层细胞的增殖、迁移和侵袭^[14]。母体高水平的IGF-1可以增加母体葡萄糖、氨基酸向胎儿的转运,刺激胎儿IGF-1的分泌及生物利用度,增加胎儿组织的同化作用,加速胎儿糖原、蛋白质、脂肪的合成。IGF1信号传导对胎盘功能及胎儿生长的作用机制极为复杂。Wilson等^[15]指出,通过Igf1敲除小鼠表现为FGR,

而腺病毒介导的兔子HIGF1增加胎儿的重量。因此,母体IGF-1水平降低会引起胎盘功能不全,葡萄糖、氨基酸转运受阻,影响胎儿蛋白质、糖原合成,影响胎儿代谢及营养物质的供应,导致FGR。HPL是由胎盘产生的肽激素,在调节母体代谢以满足胎儿生长发育所需的能量中起重要作用,HPL与生长素协同促进母体产生IGF-1,调节中间代谢,增加母体胰岛素抵抗,提高母体血糖水平,增加葡萄糖及氨基酸经胎盘转移,为胎儿生长发育提供能量,同时HPL通过作用于催乳素受体促进母体 β 细胞功能,促进胰岛素合成分泌,以抑制母体血糖异常升高^[16]。大量研究研究表明,HPL参与母体和胎儿妊娠适应的调节,抑制母体对胎儿的排斥,并且直接参与胎儿的生长调节,与新生儿的体重显著相关^[17]。HPL在妊娠期间葡萄糖和胰岛素动力学的调节中起关键作用,胎盘功能不全会导致HPL合成分泌不足,从而使葡萄糖及氨基酸转运受阻,胎儿摄入能量不足,导致生长发育受限。

综上所述,sVEGFR2、HPL、IGF-1与胎盘功能及胎儿生长发育密切相关,孕期血清sVEGFR2、HPL、IGF-1水平监测可以反应胎儿生长发育情况,三者联合检测在FGR中具有较高的诊断效能。

参考文献

- [1] 柏艳红,饶洪杰,李敏.基于超声检测S/D、IFI、CPR预测胎儿宫内生长受限的效能及意义[J].影像科学与光化学,2022,40(2):243-247.
- [2] 刘洋,李超,乔炳龙,等.血清妊娠相关蛋白A联合子宫动脉多普勒超声在妊娠早期预测胎儿生长受限的临床价值[J].解放军医学院学报,2021,42(1):53-56.
- [3] 刘兆敏,蒲元林,吴慧捷,等.不同孕期微量元素水平对胎儿生长受限的预测作用[J].中国全科医学,2020,23(32):4059-4063.
- [4] 王诗明,王依闻,张拥军.生物标志物用于胎儿生长受限早期诊断研究进展[J].临床儿科杂志,2023,41(2):150-155.
- [5] 陈瑞欣,漆洪波,刘兴会.2021年美国妇产科医师协会胎儿生长受限指南解读[J].实用妇产科杂志,2021,37(12):907-909.
- [6] American College of Obstetricians and Gynecologists. Fetal Growth Restriction: ACOG Practice Bulletin, Number 227 [J]. Obstet Gynecol, 2021, 137(2):e16-e28.
- [7] 王婵敏,郝蕊,黄丽华,等.胎儿生长受限营养干预效果不良的影响因素分析[J].华南预防医学,2020,46(2):111-115.
- [8] 巫裕花,徐彩玲,傅嘉慧,等.基于加权基因共表达网络对胎儿生长受限发病机制的分析诊断标记物筛选[J].医学研究生学报,2022,35(1):51-57.

(下转第2070页)

肺结核合并2型糖尿病患者结核分枝杆菌 *rpoB* 基因的检测和意义

侯永华¹ 殷智晔¹ 王永峰² 马清艳^{3*} 许娜⁴ 张焕⁵ 于丽微¹

[摘要] **目的** 探究结核分枝杆菌 *rpoB* 基因检测在肺结核合并2型糖尿病患者中的诊断价值。**方法** 选取河北省胸科医院2016年1月至2018年5月住院的单纯肺结核患者125例作为单纯组、肺结核合并2型糖尿病且糖化血红蛋白<9%患者81例作为轻度组、肺结核合并2型糖尿病且糖化血红蛋白>9%患者59例作为重度组;所有患者均接受结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测(Xpert MTB/RIF)、痰涂片、干扰素试验(T-SPOT.TB)、结核菌培养,以结核菌培养结果为金标准,分析比较不同检测方法的特异性及敏感性。**结果** 三组咳嗽、盗汗、胸痛、厌食、体重减轻、呼吸困难、咯血等症发生比较差异均无统计学意义($P>0.05$);以结核菌培养为金标准,结果显示,单纯组阳性率63.2%(79/125)低于轻度组76.5%(62/81)和重度组91.5%(54/59),差异有统计学意义($P<0.05$);三种检测方式在三组中的诊断特异度比较差异无统计学意义($P>0.05$);在单纯组中,Xpert MTB/RIF以及T-SPOT.TB诊断敏感度、准确度高于痰涂片,差异有统计学意义($P<0.05$);在轻度组、重度组中,Xpert MTB/RIF诊断敏感度、准确度高于痰涂片以及T-SPOT.TB,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 与单纯肺结核相比,合并2型糖尿病患者结核分枝杆菌阳性检出率更高。对于肺结核合并2型糖尿病患者,Xpert MTB/RIF诊断敏感度、准确度较好,可用于临床检测。

[关键词] 结核分枝杆菌; *rpoB* 基因; 痰涂片; 肺结核; 干扰素释放试验; 糖尿病

Detection and significance of *rpoB* gene of *Mycobacterium tuberculosis* in patients with pulmonary tuberculosis complicated with type 2 diabetes mellitus

HOU Yonghua¹, YIN Zhiye¹, WANG Yongfeng², MA Qingyan^{3*}, XU Na⁴, ZHANG Huan⁵, YU Liwei¹

(1. Department of Endocrinology, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050041; 2. The Third Department of Tumor, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050041; 3. The Fourth Department of Tuberculosis, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050041; 4. Women's Health Department of Qiaoxi District Maternal and Child Health Station, Shijiazhuang City, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000; 5. The Third Tuberculosis Department of Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China, 050041)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of *Mycobacterium tuberculosis rpoB* gene test for pulmonary tuberculosis with type 2 diabetes. **Methods** A total of 125 patients with simple pulmonary tuberculosis admitted to Hebei Chest Hospital from January 2016 to May 2018 were selected as the simple group, 81 patients with pulmonary tuberculosis combined with type 2 diabetes mellitus and HBA1c <9% were selected as the mild group, and 59 patients with pulmonary tuberculosis combined with type 2 diabetes mellitus

基金项目:河北省医学科学研究计划项目(20191005)

作者单位:1. 河北省胸科医院内分泌科,河北,石家庄050041

2. 河北省胸科医院肿瘤三科,河北,石家庄050041

3. 河北省胸科医院结核四科,河北,石家庄050041

4. 石家庄市桥西区妇幼保健站妇女保健部,河北,石家庄050000

5. 河北省胸科医院结核三科,河北,石家庄050041

*通信简介:马清艳, E-mail: 513507607@qq.com

and HbA1c >9% were selected as the severe group. All patients received real-time fluorescence quantitative nucleic acid amplification test for *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance (Xpert MTB/RIF), sputum smear, interferon test (T-SPOT.TB), and tuberculosis culture. The specificity and sensitivity of different detection methods were compared with the results of tuberculosis culture as the gold standard. **Results** There was no significant difference in the incidence of cough, night sweats, chest pain, anorexia, weight loss, dyspnea, and hemoptysis among the three groups ($P>0.05$). Taking TB culture as the gold standard, the positive rate of the simple group was 63.2% (79/125), which was significantly lower than that of the mild group (76.5%) and the severe group (91.5%), with statistical significance ($P<0.05$). There was no significant difference in the diagnostic specificity of the three methods in the three group ($P>0.05$). In the simple group, the diagnostic sensitivity and accuracy of Xpert MTB/RIF and T-SPOT.TB were higher than those of sputum smear, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). In the mild and severe groups, the diagnostic sensitivity and accuracy of Xpert MTB/RIF were higher than those of sputum smear and T-SPOT.TB, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Compared with simple tuberculosis, the positive detection rate of *Mycobacterium tuberculosis* in patients with type 2 diabetes is higher. For patients with tuberculosis and type 2 diabetes, Xpert MTB/RIF has good diagnostic sensitivity and accuracy and can be used for clinical testing.

[KEY WORDS] *Mycobacterium tuberculosis*; *RpoB* gene; Sputum smear; Tuberculosis; Interferon release test; Diabetes

肺结核是由结核分枝杆菌引起的传染病,而2型糖尿病则是血糖调节障碍引起的代谢性疾病,当两种疾病同时存在时,不仅会使病情进展加快,影响肺结核预后,导致结核病复发概率增大,还会增加死亡风险^[1]。有研究报道,糖尿病患者易并发肺结核,其肺结核患病相对危险度较非糖尿病患者约高2倍,同时肺结核合并2型糖尿病患者治疗后涂片转阴的概率较单纯结核患者低,治疗失败率较高^[2]。因此,准确地诊断和评估肺结核合并2型糖尿病患者病情,对于其治疗和预后的选择至关重要。结核分枝杆菌 *rpoB* 基因检测是一种新型快速诊断方法,已被广泛应用于肺结核的诊断中^[3]。然而,这种诊断方法在不同严重程度的肺结核合并2型糖尿病患者中的诊断价值仍需进一步研究和探讨。笔者随机选取河北省胸科医院近两年收治的肺结核合并2型糖尿病患者作为试验对象,并根据糖化血红蛋白水平进行分组,分析了结核分枝杆菌 *rpoB* 基因检测对肺结核合并2型糖尿病的检测价值,现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院2016年1月至2018年5月住院的单纯肺结核患者125例(单纯组)、肺结核合并2型糖尿病150例,其中肺结核合并2型糖尿病患者根据糖化血红蛋白是否 $\leq 9\%$ 分为轻度组($\leq 9\%$)81例和

重度组($>9\%$)59例^[4]。纳入标准:①肺结核符合2018《肺结核基层诊疗指南》^[5]中相关定义;②糖尿病符合2022年的《Classification and diagnosis of diabetes》^[6]中相关定义;③存在典型肺结核临床表现与X线表现;④肺外组织病理证实肺结核病。排除标准:①存在其他严重局部或全身感染;②合并恶性肿瘤或硅沉着病;③既往有肺结核病史。三组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究符合《赫尔辛基宣言》内容,患者均签署知情同意书。

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

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

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	病程(月)	性别	
				男	女
单纯组	125	41.20±6.73	5.10±3.16	70(56.0)	55(44.0)
轻度组	81	40.07±6.99	5.17±3.18	51(63.0)	30(37.0)
重度组	59	41.83±6.99	5.19±3.24	35(59.3)	24(40.7)
χ^2/F 值		1.221	0.023	0.991	
<i>P</i> 值		0.297	0.978	0.609	

1.2 方法

1.2.1 基线资料收集

入院时收集并记录患者一般资料(年龄、病程、性别)及临床症状(咳嗽、盗汗、胸痛、厌食、体重减轻、呼吸困难、咯血)。

1.2.2 实验室检测

1.2.2.1 结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量

核酸扩增检测(real-time fluorescence quantitative nucleic acid amplification detection of Mycobacterium tuberculosis/rifampicin, XpertMTB/RIF) 收集所有患者痰液样本 4 mL,使用美国 Cepheid 公司生产的 GeneXpert MTB/RIF 荧光素检测试剂盒,按照说明书指导处理样本后,使用赛沛(上海)商贸有限公司生产的 Infinity-80GeneXpert 仪器检测结核分枝杆菌水平。

1.2.2.2 T-SPOT.TB 收集所有患者静脉血样本 3 mL,将血样加入包含结核特异性抗原的试剂盘,使 T 淋巴细胞与抗原结合并激活,分泌干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ),之后再将其试剂盘置入恒温仪中孵育约 16~24 h,待 IFN- γ 积累到足够浓度后,将其移至自动化检测平台,检测 IFN- γ 的反应程度,评估 T 淋巴细胞对抗原的反应情况,根据 IFN- γ 的反应值判断患者是否存在结核感染^[7]。

1.2.2.3 痰涂片 收集所有患者痰液样本 4 mL,于玻璃涂片上滴适量痰液样本,再使用另一个玻璃涂片将痰液均匀涂抹开,自然干燥后,使用经火焰消毒的镊子将制片缚边,将涂片在火焰中短暂加热,使其表面微微变色,以固定细胞和病原体。使用浓度为 1% 的苏木精溶液作为基础染料,再用 0.3% 的甲基蓝溶液进行反染色。染色后清洗干净,待其自然晾干或用酒精吹干,使用显微镜观察是否存在结核分枝杆菌^[8]。

1.2.2.4 结核菌培养 收集所有患者痰液样本 4 mL,使用半螺旋体棒蘸取适量痰液样本接种到固定的培养基上,在 37℃ 的条件下进行密闭的观察培养,通过显色试验观察有无结核杆菌^[9]。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件行数据分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组临床症状比较

三组咳嗽、盗汗、胸痛、厌食、体重减轻、呼吸困难、咯血等临床症状发生率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.2 结核菌培养在不同组患者中检测结果比较

以结核菌培养为金标准,培养结果显示,单纯组阳性率为 63.2% (79/125),明显低于轻度组阳性

表 2 三组临床症状比较 [$n(\%)$]

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

症状	单纯组 ($n=125$)	轻度组 ($n=81$)	重度组 ($n=59$)	χ^2 值	P 值
咳嗽				1.024	0.599
≥2 周	91 (72.8)	60 (74.1)	47 (79.7)		
<2 周	34 (27.2)	21 (25.9)	12 (20.3)		
呼吸困难				0.701	0.704
有	88 (70.4)	59 (72.8)	45 (76.3)		
无	37 (29.6)	22 (27.2)	14 (23.7)		
体重减轻				0.564	0.754
有	87 (69.6)	59 (72.8)	44 (74.6)		
无	38 (30.4)	22 (27.2)	15 (25.4)		
厌食				0.455	0.797
有	85 (68.0)	56 (69.1)	43 (72.9)		
无	40 (32.0)	25 (30.9)	16 (27.1)		
盗汗				0.634	0.728
有	84 (67.2)	55 (67.9)	43 (72.9)		
无	41 (32.8)	26 (32.1)	16 (27.1)		
胸痛				1.011	0.603
有	82 (65.6)	54 (66.7)	43 (72.9)		
无	43 (34.4)	27 (33.3)	16 (27.1)		
咯血				0.594	0.743
有	80 (64.0)	52 (64.2)	41 (69.5)		
无	45 (36.0)	29 (35.8)	18 (30.5)		

率 76.5% (62/81)、重度组 91.5% (54/59),差异有统计学意义 ($\chi^2=17.070, P < 0.05$)。见图 1。

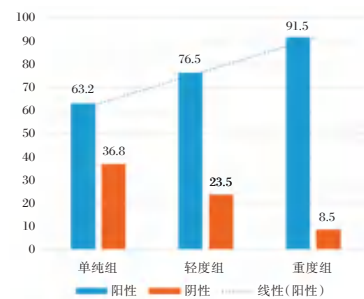


图 1 结核菌培养在不同组患者中检测结果比较

Figure 1 Comparison of TB culture results in different groups of patients

2.3 单纯组不同检测方法诊断效能比较

在单纯组中,三种检测方式诊断特异度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), XpertMTB/RIF 以及 T-SPOT.TB 诊断敏感度、准确度高于痰涂片,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 轻度组不同检测方法诊断效能比较

在轻度组中,三种检测方式诊断特异度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), Xpert MTB/RIF 诊断敏感度、准确度高于痰涂片以及 T-SPOT.TB,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表3 单纯组不同检测方法诊断效能比较 (n=125)

Table 3 Comparison of diagnostic efficiency of different detection methods in simple group (n=125)

检测方法	结核菌培养		特异度(%)	敏感度(%)	准确度(%)
	阳性	阴性			
Xpert MTB/RIF			91.3(42/46)	91.1(72/79) ^a	91.2(114/125) ^a
阳性	72	4			
阴性	7	42			
痰涂片			76.1(35/46)	75.9(60/79)	76.0(95/125)
阳性	60	11			
阴性	19	35			
T-SPOT.TB			89.1(41/46)	89.9(71/79) ^a	89.6(112/125) ^a
阳性	71	5			
阴性	8	41			
χ^2 值			5.029	9.134	14.148
P值			0.081	0.010	0.001

注:与痰涂片比较,^aP<0.05。

表4 轻度组不同检测方法诊断效能比较 (n=81)

Table 4 Comparison of diagnostic efficacy of different detection methods in mild group (n=81)

检测方法	结核菌培养		特异度(%)	敏感度(%)	准确度(%)
	阳性	阴性			
Xpert MTB/RIF			89.5(17/19)	96.8(60/62) ^{ab}	95.1(77/81) ^{ab}
阳性	60	2			
阴性	2	17			
痰涂片			63.2(12/19)	71.0(44/62)	69.1(56/81)
阳性	44	7			
阴性	18	12			
T-SPOT.TB			68.4(13/19)	80.6(50/62)	77.8(63/81)
阳性	50	6			
阴性	12	13			
χ^2 值			3.800	14.795	18.096
P值			0.150	0.001	<0.001

注:与痰涂片比较,^aP<0.05;与T-SPOT.TB比较,^bP<0.05。

2.5 重度组不同检测方法诊断效能比较

在重度组中,三种检测方式诊断特异度比较差异无统计学意义(P>0.05),Xpert MTB/RIF 诊断敏感度、准确度高于痰涂片以及 T-SPOT.TB,差异有统计学意义(P<0.05)。见表5。

3 讨论

糖尿病是一种代谢性疾病,患者常伴随免疫功能下降,故易感染各种病原体,其中包括结核分枝杆菌。结核分枝杆菌和高血糖状态都会引起机体内部的慢性炎症,而慢性炎症则会促进疾病之间的相互影响、合并和恶化。据统计,肺结核病患

表5 重度组不同检测方法诊断效能比较 (n=59)

Table 5 Comparison of diagnostic efficacy of different detection methods in the severe group (n=59)

检测方法	结核菌培养		特异度(%)	敏感度(%)	准确度(%)
	阳性	阴性			
Xpert MTB/RIF			80.0(4/5)	94.4(51/54) ^{ab}	93.2(55/59) ^{ab}
阳性	51	1			
阴性	3	4			
痰涂片			60.0(3/5)	72.2(39/54)	71.2(42/59)
阳性	39	2			
阴性	15	3			
T-SPOT.TB			60.0(3/5)	74.1(40/54)	72.9(43/59)
阳性	40	2			
阴性	14	3			
χ^2 值			0.600	10.359	10.729
P值			0.741	0.006	0.005

注:与痰涂片比较,^aP<0.05;与T-SPOT.TB比较,^bP<0.05。

者并发糖尿病的发病率约为10%~15%^[10]。Kuruva等^[11]在2021年的一项研究指出,糖尿病是导致肺结核预后不良的重要危险因素之一,同时肺结核也会影响糖尿病血糖的控制,肺结核病合并糖尿病患者抗结核治疗期间的死亡风险也显著高于单纯肺结核患者。因此,探究更准确更灵敏的鉴别诊断方法,对肺结核病合并糖尿病患者的个体化治疗和预后意义重大。

叶晓丽等^[12]研究表明,与单纯肺结核患者相比,合并糖尿病患者更易出现各种临床症状。本文研究结果显示:轻度组和重度组的咳嗽、呼吸困难、体重减轻、厌食、盗汗、胸痛、咯血病症发生率虽均略高于单纯组,但三组比较差异无统计学意义。结论出现不同的原因可能与选取的样本量较少有关。本文研究结果与陈秋景等^[13]在2022年的研究结论一致。究其原因可能为:2型糖尿病会降低机体免疫功能,使得机体对结核菌的清除能力下降,从而增加了结核菌培养阳性的可能性。本文研究结果说明Xpert MTB/RIF在肺结核病合并糖尿病中诊断敏感度、准确度较好。究其原因可能为:Xpert MTB/RIF和T-SPOT.TB是基于分子生物学和免疫学原理的检测方法,可以对结核分枝杆菌DNA或特定的蛋白质进行检测;而痰涂片则是基于显微镜原理,只能通过人工观察痰液中的结核杆菌形态来判断是否感染,其需要大量细菌才能在显微镜下观察到,对于低细菌载量的患者会出现假阴性结果的可能^[14],而Xpert MTB/RIF和T-SPOT.TB在低细菌载量的情况下仍能够提供可靠的结果。

因此,前两种方法更为准确和敏感。但 T-SPOT.TB 是一种基于细胞免疫学原理的检测方法,需要大量 T 细胞参与反应,因此在免疫功能下降的患者中其诊断效果可能会受到影响。而 Xpert MTB/RIF 是基于分子生物学,可以检测到结核分枝杆菌 DNA,并且可以区分出耐药和非耐药菌株,因此在患者免疫力低的情况下仍然能够提供准确的结果,敏感性及准确性较 T-SPOT.TB 更高。刘莉等^[15]在 2018 年的一项研究中也得出了类似的结论。

综上所述,对于肺结核合并 2 型糖尿病患者, XpertMTB/RIF 是一种先进、敏感性高、特异性强、有效便捷的检测方法,可用于临床检测与推广。

参考文献

- [1] To K, Cao R, Yegiazaryan A, et al. Effects of Oral Liposomal Glutathione in Altering the Immune Responses Against Mycobacterium tuberculosis and the Mycobacterium bovis BCG Strain in Individuals With Type 2 Diabetes [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11(0):657775.
 - [2] 曾旋,陆坚,胡豪飞,等. 2 型糖尿病合并活动性肺结核患者空腹血糖水平与痰培养的相关性[J]. *中国热带医学*, 2020, 20(2): 171-173.
 - [3] Park M, Kon OM. Use of Xpert MTB/RIF and Xpert Ultra in extrapulmonary tuberculosis[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2021, 19(1):65-77.
 - [4] 翟振艳,陆峰. 不同浓度糖化血红蛋白及空腹血糖的 2 型糖尿病患者 β -羟丁酸水平变化分析[J]. *微循环学杂志*, 2012, 22(2): 43-44.
 - [5] 中华医学会,中华医学杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 肺结核基层诊疗指南(2018 年)[J]. *中华全科医师杂志*, 2019, 18(8): 709-717.
 - [6] Elliott T L, Pfothenauer K M. Classification and diagnosis of diabetes[J]. *Primary Care*, 2022, 49(2): 191-200.
 - [7] 武桂萍,曹文利,邬俊峰,等. 痰 Xpret MTB/RIF 和血 T-SPOT.TB 对老年肺结核的临床诊断价值[J]. *医学综述*, 2020, 26(14): 2896-2899.
 - [8] 周艳艳. 痰涂片检查结合结核杆菌培养诊断肺结核的准确性研究[J]. *航空航天医学杂志*, 2023, 34(2): 158-160.
 - [9] 黄祥虎,宋金刚,王曼,等. 2016-2018 年武汉市东西湖区痰培养阳性肺结核患者耐药情况分析[J]. *预防医学情报杂志*, 2020, 36(5): 605-608+613.
 - [10] 张菊侠,杨万福. 肺结核病合并 2 型糖尿病患者的痰涂片抗酸染色阳性率分析[J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(4): 596-599.
 - [11] Kuruva P, Kandi SR, Kandi S. Clinico-radiological profile and treatment outcome of pulmonary tuberculosis with and without type 2 diabetes mellitus [J]. *Indian J Tuberc*, 2021, 68(2): 249-254.
 - [12] 叶晓丽,樊春燕. 肺结核合并糖尿病患者的临床特征及临床疗效分析[J]. *糖尿病天地*, 2019, 16(4): 141-143.
 - [13] 陈秋景,覃勇民,罗文昭. 2 型糖尿病合并活动性肺结核患者糖化血红蛋白与结核分枝杆菌及利福平耐药检测的相关性分析[J]. *临床内科杂志*, 2022, 39(11): 767-768.
 - [14] Rasheed W, Rao NA, Adel H, et al. Diagnostic Accuracy of Xpert MTB/RIF in Sputum Smear-Negative Pulmonary Tuberculosis [J]. *Cureus*, 2019, 11(8): e5391.
 - [15] 刘莉,周祎,张宁,等. TB-RNA 和 Gen-Xpert MTB/RIF 检测在糖尿病并发肺结核中的诊断价值研究[J]. *陕西医学杂志*, 2018, 47(12): 1651-1654.
-
- (上接第 2065 页)
- [9] 谢宁,李红岩,李丽. 血清 PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉 S/D 值预测 FGR 的临床价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(8): 1231-1234+1238.
 - [10] Melamed N, Baschat A, Yinon Y, et al. FIGO (international Federation of Gynecology and obstetrics) initiative on fetal growth: best practice advice for screening, diagnosis, and management of fetal growth restriction [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2021, 152, 1(1): 3-57.
 - [11] 刘蕾,朱锦明,李亚楠,等. 胎儿生长受限孕妇血清、胎盘组织中 Klotho 及 VEGFR2 蛋白的表达及其临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(3): 331-335.
 - [12] Rana S, Burke SD, Karumanchi SA. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2022, 226(2S): S1019-S1034.
 - [13] Arias A, Schander JA, Bariani MV, et al. Dexamethasone-induced intrauterine growth restriction modulates expression of placental vascular growth factors and fetal and placental growth [J]. *Mol Hum Reprod*, 2021, 27, 27(3): gaab006.
 - [14] Mishra JS, Chen DB, Kumar S. AT2R activation increases in vitro angiogenesis in pregnant human uterine artery endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2022, 29, 17(4): e0267826.
 - [15] Wilson RL, Troja W, Sumser EK, et al. Insulin-like growth factor 1 signaling in the placenta requires endothelial nitric oxide synthase to support trophoblast function and normal fetal growth [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2021, 320(5): R653-R662.
 - [16] Rassie KL, Giri R, Melder A, et al. Lactogenic hormones in relation to maternal metabolic health in pregnancy and postpartum: protocol for a systematic review [J]. *BMJ Open*, 2022, 21, 12(2): e055257.
 - [17] 朱家麒,徐元元,倪雪君. 晚孕期多血管血流参数联合胎盘功能评估胎儿生长受限的价值[J]. *生物医学工程与临床*, 2023, 27(3): 298-303.

Cys-C、ALB 及 A/G 在结直肠癌预后中的评估价值

杨敏^{1*} 李雯² 朱虹¹

[摘要] **目的** 探讨血清胱抑素 C(Cys-C)、白蛋白(Alb)及白/球蛋白比值(A/G)在结直肠癌预后中的评估价值。**方法** 选取2020年1月至2022年8月武汉大学中南医院收治的结直肠癌患者153例为观察组,另选取同期在本院行体检且各项指标正常者148名为对照组。对比两组Cys-C、Alb及A/G水平,对比观察组不同预后情况基线资料及临床特征,采用多元Logistic回归分析影响结直肠癌预后的危险因素,分析Cys-C、Alb、A/G单一及联合对结直肠癌患者预后不良的预测效果。**结果** 观察组Cys-C、A/G水平均明显高于对照组,Alb水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。预后不良组41例,预后好转组112例,两组年龄、性别、饮酒、糖尿病、高血压、冠心病等既往史、收缩压、舒张压水平、远处转移比较差异无统计学意义($P>0.05$);两组吸烟、肿瘤直径、TNM分期、淋巴结转移、Cys-C、Alb及A/G水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。多元Logistic回归分析结果显示,Cys-C水平 <0.98 mg/L、Alb水平 <35 g/L, >35 g/L、A/G水平 <1.5 、 >2.5 及淋巴结转移是影响结直肠癌患者预后的危险因素($P<0.05$)。ROC结果显示,三者联合预测结直肠癌预后不良的敏感度和特异度分别为0.874、0.719; $AUC=0.827$,明显高于Cys-C、Alb、A/G单独预测($P<0.05$)。**结论** Cys-C、A/G及Alb水平与结直肠癌患者预后具有紧密联系,对评估其预后具有一定参考价值。

[关键词] 胱抑素 C; 白蛋白; 白/球蛋白比值; 结直肠癌

Evaluation value of Cys-C, ALB and A/G in the prognosis of colorectal cancer

YANG Min^{1*}, LI Wen², ZHU Hong¹

(1. Department of Colorectal Surgery, Wuhan University Central South Hospital, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. Department of Arthrology and Sports Medicine, Wuhan University Central South Hospital, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the evaluation value of serum cystatin C (Cys-C), albumin (Alb) and albumin/globulin (A/G) in the prognosis of colorectal cancer. **Methods** 153 patients with colorectal cancer admitted to Zhongnan Hospital of Wuhan University from January 2020 to August 2022 were selected as the observation group, another 148 patients who underwent physical examination in our hospital during the same period and had normal indicators were selected as the control group. The levels of Cys-C, Alb, and A/G in the two groups were compared, and the baseline data and clinical characteristics of the observation group were compared. Multivariate logistic regression was used to analyze the risk factors affecting the prognosis of colorectal cancer, the predictive value of Cys-C, Alb, A/G alone and in combination for poor prognosis in patients with colorectal cancer was analyzed. **Results** The Cys-C and A/G levels in the observation group were significantly higher than those in the control group, the Alb level in the observation group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There were 41 cases in the poor prognosis group, and 112 cases in the improved prognosis group, there were no statistically significant differences in age, gender, alcohol consumption, diabetes, hypertension, and coronary heart disease and other history, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and distant metastasis between the two groups ($P>0.05$). There

基金项目:湖北卫健委联合基金项目(WJ2021H037)

作者单位:1. 武汉大学中南医院结直肠外科,湖北,武汉 430071

2. 武汉大学中南医院关节与运动医学科,湖北,武汉 430071

*通信作者:杨敏, E-mail: yangminym23@163.com

were significant differences in smoking, tumor diameter, TNM stage, lymph node metastasis, Cys-C, Alb and A/G levels between the poor prognosis group and the improved prognosis group ($P < 0.05$). The results of multiple logistic regression analysis showed that Cys-C level < 0.98 mg/L, Alb level < 35 g/L, > 35 g/L, A/G level < 1.5 , > 2.5 and lymph node metastasis were risk factors affecting the prognosis of patients with colorectal cancer ($P < 0.05$). The ROC results showed that the sensitivity and specificity of the combination of the three in predicting poor prognosis of colorectal cancer were 0.874 and 0.719, respectively; AUC=0.827, which was significantly higher than Cys-C, Alb, A/G alone predicted ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of Cys-C, A/G and Alb are closely related to the prognosis of patients with colorectal cancer, which have certain reference value for evaluating the prognosis.

[KEY WORDS] Cystatin C; Albumin; Albumin/globulin ratio; Colorectal cancer

结直肠癌是临床上常见的恶性肿瘤之一,据相关数据统计,结直肠癌主要好发于45岁左右的中年男性人群,发病率在消化系统恶性肿瘤中排名第三,严重威胁人们的生命安全^[1]。临床上常采取手术治疗晚期结直肠癌患者,但手术治疗后需结合放疗、化疗方案进行治疗,延长患者生存时间^[2]。临床上往往采取检测血清肿瘤标志物水平来评估肿瘤疾病患者预后情况和治疗疗效。胱抑素C(Cystatin C, Cys-C)是反映肾小球滤过功能变化的重要指标,其水平不受蛋白质、饮食、肌酸等因素影响,特异度高^[3]。白蛋白(Albumin, Alb)是由肝脏产生的蛋白质,临床证实其可反映患者慢性营养状态,常用于评估患者自身抵抗疾病能力^[4]。相关研究报道,测定白/球蛋白比值(albumin/globulin, A/G)可作为判断慢性肝病患者预后的良好指标^[5]。本文旨在探讨Cys-C、Alb及A/G在结直肠癌预后中的评估价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年8月武汉大学中南医院收治的结直肠癌患者153例为观察组,其中男96例,女57例,平均年龄(66.05 ± 10.18)岁,TNM分期:I期32例,II期61例,III期60例。纳入标准:①符合结直肠癌诊断标准^[6],且经病理学及影像学检查确诊者;②治疗前3个月内未采取相关放化疗治疗,且近期末服用激素类药物者;③临床资料无缺乏;④均为术后放疗;⑤经影像学检查发现无肺、肝等远处转移。排除标准:①凝血功能、免疫功能异常;②合并其他器官恶性肿瘤者;③合并认知功能障碍,无法正常交流。另选取同期在本院行体检各项正常者148名为对照组,其中男89例,女59例,平均年龄(65.73 ± 9.75)岁。两组一般资料比较差异

无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 方法

采集所有受试者清晨空腹静脉血5 mL,放置非抗凝管内,离心3 500 r/min,离心半径18 cm,10 min取上清置于 -80°C 冰箱冷藏备用。使用贝克曼库尔特AU5800全自动生化分析仪,采用胶体免疫比浊法检测Cys-C水平,试剂盒由上海西塘生物技术公司提供;采用速率法检测Alb水平,试剂盒由上海科艾博生物有限公司提供;在酶标仪上采用BCA法检测总蛋白质量浓度,试剂盒由上海碧云天生物有限公司提供;使用GF-D800型半自动生化分析仪,采用溴甲酚绿法检测白蛋白的质量浓度,试剂盒由长春汇力生物技术有限公司;得出白蛋白和总蛋白的检测结果后,根据总蛋白减去白蛋白得出球蛋白质量浓度,后计算出A/G水平。

1.3 随访

分析观察组患者预后情况,患者均进行手术治疗,术后通过电话随访至2023年3月,次数以3个月为一次。经影像学检查出现复发灶、转移(远端和近端转移)及死亡者为预后不良组,反之为预后好转组。分析影响结直肠癌患者预后的单因素(年龄、性别、饮酒、吸烟、糖尿病、高血压、冠心病等既往史、收缩压、舒张压、肿瘤直径、TNM分期、远处转移、淋巴结转移、Cys-C、Alb及A/G水平)。

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,使用 t 检验;计数数据采用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;采用多元Logistic回归分析影响结直肠癌预后的独立危险因素;绘制ROC曲线并计算曲线下面积;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 Cys-C、Alb 及 A/G 比较

观察组 Cys-C、A/G 水平均明显高于对照组，Alb 水平低于对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 Cys-C、Alb 及 A/G 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Cys-C, Alb and A/G between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cys-C(mg/L)	Alb(g/L)	A/G
对照组	148	0.81±0.32	36.88±6.83	1.69±0.31
观察组	153	1.83±0.69	23.85±4.11	1.94±0.36
t 值		15.556	17.974	6.447
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 观察组不同预后情况基线资料及临床特征分析

截止随访结束，153 例结直肠癌患者中影像学检查 41 例患者发生远处转移、出现复发灶，112 例患者无发生远处转移、无出现复发灶。预后不良组 41 例，预后好转组 112 例。两组年龄、性别、饮酒、糖尿病、高血压、冠心病等既往史、收缩压、舒张压水平、远处转移比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组吸烟、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移、Cys-C、Alb 及 A/G 水平比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 影响结直肠癌患者预后的多因素

经多元 Logistic 回归分析显示：Cys-C 水平 < 0.98 mg/L、Alb 水平 < 35 g/L、 > 35 g/L、A/G 水平 < 1.5 、 > 2.5 及淋巴结转移是影响结直肠癌患者预后的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 Cys-C、Alb 及 A/G 水平对结直肠癌患者预后不良的评估价值

ROC 结果显示，三者联合预测结直肠癌预后不良明显高于 Cys-C、Alb、A/G 单独预测 ($P < 0.05$)。见表 4 及图 1。

表 2 观察组不同预后情况基线资料及临床特征分析 [$(\bar{x} \pm s)$, n(%)]

Table 2 Analysis of baseline data and clinical characteristics for different prognosis situations [$(\bar{x} \pm s)$, n(%)]

因素	预后不良组 (n=41)	预后好转组 (n=112)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)	61.28±6.88	62.05±6.93	0.609	0.542
男性	27(65.85)	69(61.60)	0.231	0.630
女性	14(34.15)	43(38.39)		
吸烟	35(85.36)	51(45.53)	19.343	<0.001
饮酒	20(48.78)	50(44.64)	0.207	0.649
高血压	22(53.65)	52(46.42)	0.628	0.428
糖尿病	12(29.26)	31(27.67)	0.037	0.846
冠心病	7(17.07)	17(15.17)	0.081	0.775
收缩压(mmHg)	143.28±20.18	144.28±19.85	0.274	0.783
舒张压(mmHg)	87.15±15.27	83.25±14.81	1.430	0.154
肿瘤直径			4.003	0.045
>2	29(70.73)	59(52.68)		
≤2	12(29.27)	53(47.32)		
TNM 分期			23.338	<0.001
I-II	12(29.27)	81(72.32)		
III 期	29(70.73)	31(27.68)		
远处转移			1.054	0.304
有	8(19.51)	31(27.68)		
无	33(80.49)	81(72.32)		
淋巴结转移			4.267	0.038
有	16(39.02)	25(22.32)		
无	25(60.98)	87(77.68)		
Cys-C(mg/L)	2.02±0.93	1.76±0.60	2.027	0.044
Alb(g/L)	12.93±3.02	27.85±4.50	19.651	<0.001
A/G	2.16±0.67	1.86±0.25	4.047	<0.001

表 4 Cys-C、Alb 及 A/G 水平对结直肠癌患者预后不良的评估价值

Table 4 Evaluation value of Cys-C, Alb and A/G levels for poor prognosis in colorectal cancer patients

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度
Cys-C	0.383	0.289~0.476	0.643	0.589
Alb	0.394	0.287~0.502	0.711	0.604
A/G	0.421	0.324~0.518	0.756	0.628
三者联合	0.827	0.731~0.923	0.874	0.719

3 讨论

结直肠癌具有高发病率、高死亡率的特点，在

表 3 影响结直肠癌患者预后的多因素 logistic 回归分析

Table 3 Multivariate logistic regression analysis on prognosis of colorectal cancer patients

因素	变量	赋值	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	P 值
	吸烟	有=1, 无=0					
X ₂	肿瘤直径	>2 cm=1, ≤2=0	-0.324	0.241	6.869	1.534(0.548~3.251)	0.511
X ₃	TNM 分期	I-II 期=1, III 期=0	-0.582	0.276	6.981	1.326(1.107~1.894)	0.744
X ₄	淋巴结转移	有=1, 无=0	0.754	0.373	6.238	2.624(1.333~7.523)	0.015
X ₅	Cys-C	<0.98 mg/L=1, ≥0.98 mg/L=0	0.674	0.265	6.147	2.016(1.152~3.487)	<0.001
X ₆	Alb	<35 g/L, >35 g/L=1, 33~35 g/L=0	0.827	0.354	7.135	2.341(1.107~4.911)	0.019
X ₇	A/G	<1.5, >2.5=1, 1.5~2.5=0	0.743	0.287	6.527	2.104(1.169~3.495)	0.021

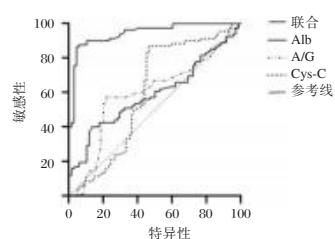


图1 Cys-C、Alb、A/G对结直肠癌预后不良的预测ROC图
Figure 1 ROC chart of Cys-C, Alb, A/G predicting poor prognosis in colorectal cancer

人们饮食习惯、生活方式改变等因素的影响下,结直肠癌发病率呈逐年上升趋势。据我国国家癌症中心数据显示,结直肠癌居我国恶性肿瘤发病率第三位,死亡率第五位^[7]。结直肠癌的治疗方式主要为手术为主,术后需进行放疗和化疗。有学者认为在结直肠癌患者术后通过检测血清肿瘤标志物水平来评估患者预后情况极其必要,可及时调整治疗方案^[8]。

随着结直肠癌研究的深入,相关血清生物标志物的检测被广泛应用于临床中。刘云霄^[9]等学者认为,在恶性肿瘤疾病中Cys-C水平上升往往预示预后不良,Cys-C水平变化可为临床病情诊断及预后评估提供参考。本次研究结果提示Cys-C水平可能与结直肠癌患者预后具有一定联系,且该指标水平的升高与结直肠癌的发生、发展相关。推测原因在于:浸润及转移是恶性肿瘤的特征性表现,而肿瘤细胞能产生多种水解酶降解细胞外基质,破坏患者黏膜屏障,促使肿瘤细胞穿透基底膜向深层组织浸润及远处转移;半胱氨酸蛋白酶B在多种肿瘤组织及肿瘤患者血清中升高^[10],Cys-C作为半胱氨酸蛋白酶B最主要的抑制剂,通过与半胱氨酸蛋白酶结合,形成酶-抑制剂,抑制酶的水解活性,进而抑制半胱氨酸蛋白酶对基底膜及间质组织的破坏作用,抑制肿瘤细胞侵袭能力^[11]。正常时二者处于平衡状况,当结直肠癌发生发展时,半胱氨酸水解酶类表达失控,过度破坏基底膜与间质组织,使肿瘤细胞向外浸润及转移^[12-13]。相关研究报道,检测血清Alb还可预测恶性肿瘤根治性放疗患者的预后情况^[14]。本次研究提示Alb可为结直肠癌早期诊断及预后评估提供一定参考信息。近年来临床报道,A/G可作为评估肝癌、肺癌、结直肠癌等多种恶性肿瘤预后的一个指标^[15]。本研究通过对比预后不良及预后好转两组A/G水平,发现预后不良组A/G更低,且多元Logistic回归分析结果显示

A/G水平 <1.5 、 >2.5 可能是影响结直肠癌预后危险因素,提示A/G可能对于结直肠癌的生存预后具有一定评估价值。推测原因可能是:机体肿瘤的发展发生均与患者本身存在的慢性炎症有关,而A/G是血液中白蛋白和球蛋白的比例,其值过高可反映机体的免疫系统出现问题,如出现慢性炎症等,所以A/G水平变化程度对肿瘤预后评估有着一定作用^[16]。进一步ROC曲线结果显示,Cys-C、A/G联合Alb检测结直肠癌患者预后的敏感度、特异度均高于三者单一检测,说明三者联合检测更能全面、准确反映结直肠癌患者预后情况。

综上所述,Cys-C、A/G及Alb水平与结直肠癌患者预后具有紧密联系,对评估其预后具有一定参考价值。

参考文献

- [1] 田传鑫,曹景玉,陈玉,等.同时性结直肠癌肝转移影响因素分析(附3172例报告)[J].中华消化外科杂志,2021,20(2):220-226.
- [2] 姚青林,王景杰,李欢,等.中性粒细胞/淋巴细胞比率、C反应蛋白/白蛋白比率、血小板/淋巴细胞比率与结直肠癌患者预后的关系[J].疑难病杂志,2020,19(6):595-598+616.
- [3] 邓建忠,金建华,陆文斌,等.术前外周血纤维蛋白原水平联合血小板与淋巴细胞比值的评分对结直肠癌中预后的评估价值[J].医学研究生学报,2020,33(3):274-279.
- [4] Cen F, Zhu T, Lin Z. THE VALUE of NGAL, CYS-C, and STREM-1 in the DIAGNOSIS and PREDICTION of ACUTE RENAL INJURY in SEPSIS [J]. Acta Medica Mediterranea, 2021, 37(1):99-103.
- [5] 张净,王珊,石赟,等.血清胱抑素C、尿白蛋白肌酐比值在老年COPD合并肾损伤早期诊断中的价值[J].河北医药,2021,43(19):2983-2985.
- [6] 季云,李学勇,高怡,等.纤维蛋白原与前白蛋白比值在结直肠癌预后预测中的作用[J].现代消化及介入诊疗,2022,27(4):489-493.
- [7] 付翼,黎鑫,周业江.辅助化疗前后C反应蛋白与白蛋白比值对结直肠癌预后的评估价值[J].中国综合临床,2020,36(4):371-375.
- [8] Dasari A, Sobrero A, Yao J, et al. FRESCO-2: a global Phase III study investigating the efficacy and safety of fruquintinib in metastatic colorectal cancer [J]. Future Oncology, 2021, 17(24):3151-3162.
- [9] 刘云霄,王玉柳明,王贵玉.C-反应蛋白与血清白蛋白比值在结直肠癌中的应用进展[J].结直肠肛门外科,2021,27(6):626-628.
- [10] 韩议鹏,来比江·吾斯曼,宋二处,等.纤维蛋白原与白蛋白比值对I-III期结直肠癌患者预后的预测价值[J].新疆医科大学学报,2022,45(11):1283-1289.

(下转第2078页)

AMI 并发室性心律失常患者 QTc、Tp-Tec 间期变化及其与心功能的相关性

姚丽红 王亚亚* 张媛

[摘要] **目的** 探讨急性心肌梗死(AMI)并发室性心律失常患者矫正后心室收缩时间(QTc)、校正后 T 波峰末(Tp-Tec)间期变化,并分析其与心功能的相关性。**方法** 选取 2020 年 6 月至 2022 年 12 月聊城市人民医院收治的 130 例 AMI 患者的临床资料,根据住院期间室性心律失常发生情况分组,其中 52 例有室性心律失常的患者作为观察组,78 例无室性心律失常的患者为对照组。比较两组心功能指标[美国纽约心脏病协会(NYHA)分级、N 末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)、肌钙蛋白(cTnI)、左室射血分数(LVEF)、每搏输出量(SV)]、QTc、Tp-Tec 间期,采用 *Pearson* 法分析 QTc、Tp-Tec 间期与心功能的相关性。**结果** 观察组 NYHA 分级 III~IV 级患者多于对照组,NT-proBNP、cTnI 水平均明显高于对照组,LVEF、SV 均明显低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);观察组入院时 QTc、Tp-Tec 间期均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组出院时 QTc、Tp-Tec 间期比较,差异无统计学意义($P>0.05$);经 *Pearson* 相关性分析显示,QTc、Tp-Tec 间期与 NYHA 分级、NT-proBNP、cTnI 均呈正相关,与 LVEF、SV 均呈负相关($P<0.05$)。**结论** AMI 并发室性心律失常患者 QTc、Tp-Tec 间期明显升高,且 QTc、Tp-Tec 间期与心功能均具有明显相关性,临床上应予以密切关注。

[关键词] 急性心肌梗死;室性心律失常;心电图;矫正后心室收缩时间;校正后 T 波峰末

Changes of QTc and Tp-Tec intervals in patients with AMI complicated with ventricular arrhythmia and their correlation with cardiac function

YAO Lihong, WANG Yaya*, ZHANG Yuan

(ECG Room of Liaocheng People's Hospital, Liaocheng, Shandong, China, 252000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the changes of corrected ventricular systolic time (QTc) and corrected T wave peak to end (Tp-Tec) interval in patients with acute myocardial infarction (AMI) complicated with ventricular arrhythmia, and to analyze its correlation with cardiac function. **Methods** The clinical data of 130 AMI patients admitted to Liaocheng People's Hospital from June 2020 to December 2022 were selected and grouped according to the occurrence of ventricular arrhythmias during hospitalization. Among them, 52 patients with ventricular arrhythmia served as the observation group, and 78 patients without ventricular arrhythmia served as the control group. The cardiac function indexes [New York Heart Association (NYHA) grading, N-terminal pro brain natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiac troponin (cTnI), left ventricular ejection fraction (LVEF), and stroke output (SV)], QTc and Tp-Tec intervals were compared between the two groups, *Pearson* method was used to analyze the correlation between QTc, Tp-Tec interval, and cardiac function. **Results** There were more patients with NYHA grade III~IV in the observation group than in the control group. The levels of NT-proBNP and cTnI were significantly higher than those in the control group. LVEF and SV were significantly lower than those in the control group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). The QTc and Tp-Tec intervals at admission in the observation group were higher than those in the control group, with statistically significant ($P<0.05$), there was no statistically significant difference in QTc and Tp-Tec inter-

基金项目:山东省科技处医学科技奖(科技创新成果奖)(2015-01-03-69-3)

作者单位:聊城市人民医院心电图室,山东,聊城 252000

*通信作者:王亚亚, E-mail: 15117048258@163.com

vals between the two groups at discharge ($P>0.05$). Pearson correlation analysis showed that QTc and Tp-Tec intervals were positively correlated with the NYHA grading, NT proBNP, cTnI, and negatively correlated with LVEF and SV ($P<0.05$). **Conclusion** The QTc and Tp-Tec intervals in AMI patients with ventricular arrhythmia are significantly increased, and there is a significant correlation between QTc, Tp-Tec intervals with cardiac function, which should be closely monitored in clinical practice.

[KEY WORDS] AMI; Ventricular arrhythmia; QTc; Electrocardiogram; Tp-Tec

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是临床上常见的心血管疾病, 其具有起病急骤、病情进展迅速、并发症多、死亡率高等特点^[1-2]。AMI 发病后, 心肌细胞局部儿茶酚胺浓度增加, 极易导致患者出现室性心律失常, 可明显增加患者死亡率, 影响预后^[3]。早期诊断、防治 AMI, 在改善患者预后方面占据着重要地位。心电图是临床诊断 AMI、心律失常患者的常用方式, 随着近年来心电图技术的不断进展, 以矫正后心室收缩时间 (corrected ventricular systolic time, QTc)、校正后 T 波峰末 (corrected T wave peak to end, Tp-Tec) 间期为代表的心电图指标也被广泛应用于临床诊断中^[4-5]。有研究发现, 随着 QTc、Tp-Tec 间期的延长, 恶性室性心律失常的发生风险也会增加^[6]。本研究将通过观察 AMI 并发室性心律失常患者 QTc、Tp-Tec 间期变化情况, 并分析其与心功能指标的相关性, 以期为临床诊治提供参考依据, 现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2020 年 6 月至 2022 年 12 月聊城市人民医院收治的 130 例 AMI 患者的临床资料, 纳入标准: ①符合 AMI 诊断标准, 并根据心电图检查、影像学检查、实验室检查等确诊^[7]; ②初次发病, 发病至入院时间 <24 h; ③临床资料完整。排除标准: ①由于高血压等其余原因所致的心功能异常; ②合并心房颤动、电解质紊乱等情况; ③伴有急慢性感染、恶性肿瘤等; ④肝肾功能不全; ⑤近 1 个月内服用过胺碘酮、心房颤动等对 T 波有影响的药物。根据患者住院期间室性心律失常发生情况分组, 诊断标准参照《室性心律失常中国专家共识》^[8], 其中 52 例有室性心律失常的患者作为观察组, 78 例无室性心律失常的患者为对照组。本研究已通过院伦理委员会批准实施, 且患者及家属均签署研究同意书。

1.2 观察指标及评价方法

1.2.1 资料收集分析

收集所有患者性别、年龄、身体质量指数

(body mass index, BMI), 是否吸烟、饮酒, 是否合并高血压、糖尿病。

1.2.2 心功能检查

记录所有患者入院时心功能指标结果。①美国纽约心脏病协会 (New York Heart Association, NYHA)^[9] 分级: 其中 I 级表示日常活动能力不受影响, II 级表示日常活动能力轻度受限, III 级表示日常活动能力明显受限, IV 级表示不能进行任何日常活动; ②N 末端脑利钠肽前体 (N-terminal pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP)、肌钙蛋白 (cardiac troponin, cTnI): 采集入院当日空腹静脉血 3 mL, 常规离心处理 (转速 3 500 r/min, 时间 10 min, 离心半径 10 cm), 提取上层血清液备检, 均采用全自动化学免疫分析仪 shine i2000 型 (北京北方生物技术研究所有限公司) 进行检测; ③左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)、每搏输出量 (stroke output, SV): 均采用彩色多普勒超声诊断仪 5500 型 (荷兰飞利浦公司) 测定。

1.2.3 心电图检查

记录所有患者入院时、出院时心电图检查结果, 仪器采用 Cardico 1211 心电图机, 走纸速度设置为 25 mm/s, 标定振幅设置为 10 mm/mV, 接受 24 h 动态心电图检测, 根据结果计算 QTc、Tp-Tec 间期。计算公式: QTc 间期 = QT 间期 / 标准化心率值 (standardized heart rate ratio, RR)^{0.5}, Tp-Tec 间期 = Tp-Te 间期 / RR^{0.5}^[9]。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 26.0 软件包进行数据统计学分析, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 t 检验, 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验, 采用 Pearson 相关性分析分析 QTc、Tp-Tec 间期与心功能指标的相关性, 以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般情况比较

两组性别、年龄、BMI、吸烟、饮酒、高血压及糖尿病情况比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表1 两组一般情况比较 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

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

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	吸烟	饮酒	高血压	糖尿病
		男	女						
观察组	52	33(63.46)	19(36.54)	61.30±7.47	23.77±2.60	32(61.54)	19(36.54)	34(65.38)	10(19.23)
对照组	78	45(57.69)	33(42.31)	60.98±8.12	23.85±2.45	41(52.56)	25(32.05)	44(56.41)	12(15.38)
χ^2/t 值		0.433		0.227	0.178	1.021	0.281	1.047	0.328
P值		0.511		0.821	0.859	0.312	0.596	0.306	0.567

2.2 两组心功能指标比较

观察组 NYHA 分级 III~IV 级患者多于对照组, NT-proBNP、cTnI 均明显高于对照组, LVEF、SV 均

明显比对照组低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表2 两组心功能指标比较 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

Table 2 Comparison of cardiac function indicators between the two groups [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

组别	n	入院时 NYHA 分级		NT-proBNP(pg/mL)	cTnI(μ g/L)	LVEF(%)	SV(mL)
		I~II级	III~IV级				
观察组	52	23(44.23)	29(55.77)	1129.21±158.37	0.78±0.14	45.27±4.81	55.72±4.91
对照组	78	50(64.10)	28(35.90)	995.69±121.05	0.69±0.12	54.39±4.26	63.21±7.04
t值		5.004		5.438	3.917	11.353	6.663
P值		0.025		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 两组 QTc、Tp-Tec 比较

入院时, 观察组 QTc、Tp-Tec 间期均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 两组出院时 QTc、Tp-Tec 间期较入院时均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 两组出院时 QTc、Tp-Tec 间期比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表3 两组 QTc、Tp-Tec 间期比较 ($\bar{x} \pm s$, 毫秒)

Table 3 Comparison of QTc and Tp-Tec Intervals between the two groups ($\bar{x} \pm s$, millisecond)

组别	n	QTc		Tp-Tec	
		入院时	出院时	入院时	出院时
观察组	52	458.23±61.92	406.96±38.02*	121.57±13.83	101.92±12.02*
对照组	78	420.19±43.29	401.37±45.93*	109.78±11.24	100.34±13.95*
t值		4.124	0.727	5.338	0.668
P值		<0.001	0.469	<0.001	0.505

注: 和同组入院时比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 QTc、Tp-Tec 间期与心功能的相关性分析

经 Pearson 相关性分析显示, QTc、Tp-Tec 间期与 NYHA 分级、NT-proBNP、cTnI 均呈正相关, 与 LVEF、SV 均呈负相关 ($P < 0.05$)。见表 4。

表4 QTc、Tp-Tec 间期与心功能的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of QTc, Tp-Tec interval and cardiac function

心功能	QTc		Tp-Tec	
	r值	P值	r值	P值
NYHA 分级	0.623	<0.05	0.547	<0.05
NT-proBNP	0.573	<0.05	0.612	<0.05
cTnI	0.607	<0.05	0.648	<0.05
LVEF	-0.598	<0.05	-0.529	<0.05
SV	-0.492	<0.05	-0.601	<0.05

患者并发室性心律失常后, 不仅会降低患者的心功能, 还能进一步加重心肌缺血、缺氧程度, 影响患者预后^[12]。因此, 早期诊断、预防室性心律失常的发生, 在改善 AMI 患者预后中占据着重要地位。

心电图在心血管疾病的诊断中有着重要价值, 其能有效监测心律失常, 具有较高的准确率^[13-14]。QTc 间期主要指心电图 QRS 波起点至 T 波终点之间的间期, 主要反映心室除极与复极激动时间, 也是评价心肌细胞复极化的关键指标。然而仅仅关注 QTc 间期难以准确地了解室壁复极离散度, 需进一步结合心电图 T 波的变化。Tp-Tec 间期主要指心电图 T 波顶点到 T 波终点之间的时间间期, 可评价室壁复极离散度。

本研究结果显示, AMI 并发室性心律失常患者入院时 QTc、Tp-Tec 间期明显更高, 但出院时与未并发室性心律失常的患者相比, 差异无统计学意义。

3 讨论

室性心律失常是心血管疾病中的常见类型, 可单独发病, 也可继发于其它心血管疾病。AMI 患者的心肌组织极易出现电重构化、电稳定性较差等情况, 此时发生心律失常的风险也较高^[10-11]。AMI

主要原因是由于,室性心律失常的患者由于心脏解剖形态学发生改变,影响到心脏电生理功能,导致心电图发生改变;患者在经过有效治疗后,心脏电生理功能得到逐渐恢复,QTc、Tp-Tec间期也随之改善。

进一步研究结果提示 QTc、Tp-Tec 间期与心功能有明显相关性。分析主要原因是:随着 QTc、Tp-Tec 间期的延长,心室肌细胞、T波进入相对不应期,致使局部心肌缺血缺氧区域和非缺血缺氧区域的复极电压梯度增加,加重患者心肌缺氧、缺血程度,增加心脏负荷,从而影响到心功能;而心功能的恶化也会影响到心脏电生理功能,导致 QTc、Tp-Tec 间期的延长,形成一种恶性循环。相关报道也显示,AMI 急性期并发室性心律失常患者的心电图 QTc、Tp-Tec 间期指标明显升高,同时随着患者病情的恢复,QTc、Tp-Tec 间期逐渐降低,认为 QTc、Tp-Tec 间期和 AMI 患者发生室性心律失常具有明显相关性^[15]。同时也有报道显示,QTc、Tp-Tec 间期对 AMI 后室性心律失常的发生有较好的预测价值,两指标和室性心律失常发生密切相关^[16]。由此可见,临床上在接诊 AMI 患者时,在对患者开展常规心电图检查的同时,可增加 QTc、Tp-Tec 间期的动态监测,对有异常的患者做到早发现、早防治,以进一步改善患者预后。

综上所述,AMI 并发室性心律失常患者 QTc、Tp-Tec 间期明显升高,且 QTc、Tp-Tec 间期与心功能均具有明显相关性,临床上应予以密切关注。

参考文献

[1] 钱华,谭茗月,刘艳.动态心电图评估急性心肌梗死患者心率变异性、心脏自主神经功能的价值研究[J].川北医学院学报,2022,37(5):582-586.
[2] Thiele H, Zahn R. Acute myocardial infarction-actual issues

[J]. Herz, 2020, 45(6): 507-508.
[3] Wu P, Vaseghi M. The autonomic nervous system and ventricular arrhythmias in myocardial infarction and heart failure [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2020, 43(2): 172-180.
[4] 刘晓慧,闫兴国,张学萍. AMI 病人心电图 Tp-Te、Tp-Te/QT 与室性心律失常及心功能的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(13): 2491-2493.
[5] 宁娜,徐小文,张晓东,等. ICHE14/S7B 问答:QT 间期延长和致心律失常潜在作用综合风险评估的新策略及其挑战[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(12): 1424-1427.
[6] 曹蕊,李俊峡,韩硕,等. 心电图 Tp-Te 间期、Tp-Te/QT 比值与恶性室性心律失常的关系[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2021, 13(3): 366-368.
[7] 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.
[8] 中国医师协会心律学专业委员会. 室性心律失常中国专家共识[J]. 中华心律失常学杂志, 2016, 20(4): 279-326.
[9] 葛均波,徐永健. 内科学[M]. 第 8 版. 北京:人民卫生出版社, 2013:230.
[10] Wu P, Vaseghi M. The autonomic nervous system and ventricular arrhythmias in myocardial infarction and heart failure [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2020, 43(2): 172-180.
[11] 岳英芳. 心肌梗死后交感神经激活致室性心律失常机制的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(7): 1685-1689.
[12] 苏杭,刘思丽,吴婕. 急性心肌梗死并发室性心律失常及心室重构患者 12 导联同步心电图监测及预后分析[J]. 海南医学, 2023, 34(2): 180-184.
[13] 曹丹丹,汪品矜,王丽. 动态心电图在急性心肌梗死冠心病患者心律失常中的诊断效果[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(3): 335-337.
[14] 侯娜. 动态心电图诊断冠心病患者心肌缺血与心律失常的价值[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(10): 11-14.
[15] 林茹秀,符艾文,欧哲聪. 心电图 Tp-Te、Tp-Tec、QTc、Tp-Te/QT 比值与 AMI 病人急性期发生室性心律失常的相关性[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(14): 2403-2405.
[16] 朱明辉,杨磊,殷珺妹,等. QTc、Tp-Tec 间期联合血清 CTRP9 水平对急性心肌梗死后室性心律失常发生的预测价值[J]. 山东医药, 2022, 62(13): 24-28.

(上接第 2074 页)

[11] 王宏刚,胡浩然,夏勇,等. 白蛋白与纤维蛋白原的比值对结直肠癌根治术患者预后的预测价值[J]. 中华普通外科杂志, 2022, 37(4): 241-244.
[12] 李在峰,宇龙,王培斌. 血浆纤维蛋白原水平及清蛋白/球蛋白比值与直肠癌患者预后的关系[J]. 癌症进展, 2020, 18(3): 271-274.
[13] Khalil M, Abbass MA. Neoadjuvant immunotherapy in microsatellite unstable colorectal cancer: Are we in the era of non-operative management? [J]. J Surg Oncol, 2023, 127(8):

1296-1299.
[14] 王培馨,田磊,刘连成. 术前白蛋白-球蛋白比值对结肠癌预后的临床意义[J]. 中国现代手术学杂志, 2023, 27(1): 14-20.
[15] 谢巴图白音,李伟,张勇刚. CEA、HSP60、SEPT9 联合检测在结直肠癌早期诊断、预后中的应用价值[J]. 解放军医药杂志, 2022, 34(6): 17-20.
[16] 李汝东,王宏. 结直肠癌患者外周血白蛋白及 FOXQ1、CCL11 水平与预后的相关性分析[J]. 中国现代普通外科进展, 2022, 25(6): 431.

年龄休克指数、PALBI评分及BUN/Cr比值对急性消化道出血输血治疗患者预后的预测价值

吴永美^{1*} 卞熠² 俞远怀³ 吴媛媛³

[摘要] **目的** 分析研究年龄休克指数(Age-SI)、血小板-白蛋白-胆红素评分(PALBI)及尿素氮/肌酐(BUN/Cr)比值对急性消化道出血输血治疗患者预后的预测价值。**方法** 选取2019年4月至2022年4月合肥市第八人民医院收治120例的急性消化道出血输血治疗患者作为研究对象,在治疗后对患者进行1年随访,以随访期间出现再次消化道出血、需急诊外科手术干预及死亡等事件为预后不良,将患者分为预后良好组($n=94$)与预后不良组($n=26$)。比较两组的Age-SI、PALBI及BUN/Cr,采用多因素Logistic回归分析急性消化道出血输血治疗患者预后不良的影响因素,并绘制ROC曲线分析Age-SI、PALBI及BUN/Cr对急性消化道出血输血治疗患者评估的价值。**结果** 预后不良组的Age-SI、PALBI及BUN/Cr均高于预后良好组,差异均具有统计学意义($t=10.749, 8.569, 8.984, P<0.05$);多因素Logistic回归分析显示,有幽门螺杆菌感染史、有消化道溃疡史、输血量增加、Age-SI升高、PALBI升高、BUN/Cr升高均是急性消化道出血输血治疗患者预后的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示, Age-SI、PALBI、BUN/Cr及二者联合检测评估急性消化道出血输血治疗患者预后不良的曲线下面积(AUC)分别为0.961、0.929、0.914、0.984,联合检测优于单一检测($P<0.05$)。**结论** Age-SI、PALBI及BUN/Cr对急性消化道出血输血治疗患者预后具有较好的预测价值。

[关键词] 急性消化道出血;年龄休克指数;血小板-白蛋白-胆红素评分;尿素氮/肌酐

Prognostic value of age shock index, PALBI score and BUN/Cr ratio in patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated by blood transfusion

WU Yongmei^{1*}, BIAN Yi², YU Yuanhuai³, WU Yuanyuan³

(1. Department of Blood Transfusion, the Eighth People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 238000;

2. Department of Clinical Laboratory, the Eighth People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 238000;

3. Department of Gastroenterology, the Eighth People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 238000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the prognostic value of age shock index (AGE-SI), platelet-albumin-bilirubin score (PALBI) and blood urea nitrogen/creatinine (BUN/Cr) ratio in patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated by blood transfusion. **Methods** A total of 120 patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated by blood transfusion in the Eighth People's Hospital of Hefei City from April 2019 to April 2022 were selected as the study objects. The patients were followed up for 1 year after treatment. The recurrence of gastrointestinal hemorrhage, the need for emergency surgical intervention and death during the follow-up period were considered as poor prognosis. The patients were divided into the good prognosis group ($n=94$) and the poor prognosis group ($n=26$). Age-SI, PALBI and BUN/Cr of the two groups were compared. Multivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of poor prognosis in patients with acute gastrointestinal bleeding treated with blood transfusion, and The ROC curve was drawn to analyze the value of Age-SI, PALBI and BUN/Cr in the evaluation of patients with acute gastrointestinal bleeding treated with blood transfu-

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021a010)

作者单位:1.合肥市第八人民医院输血科,安徽,合肥238000

2.合肥市第八人民医院检验科,安徽,合肥238000

3.合肥市第八人民医院消化内科,安徽,合肥238000

*通信作者:吴永美, E-mail: 13965424391@163.com

sion. **Results** Age-SI, PALBI and BUN/Cr in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group, and the differences were statistically significant ($t=10.749, 8.569, 8.984, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the history of *Helicobacter pylori* infection, the history of digestive tract ulcers ($OR=1.179$), increased blood transfusion, Age-SI increase, PALBI increase, BUN/Cr increase were independent risk factors for prognosis in patients treated with acute gastrointestinal bleeding transfusion ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of Age-SI, PALBI, BUN/Cr and their combined detection to evaluate the poor prognosis of patients treated with acute gastrointestinal bleeding were 0.961, 0.929, 0.914 and 0.984, respectively, and the combined detection was superior to the single detection ($P<0.05$). **Conclusion** Age-SI, PALBI and BUN/Cr have good prognostic value in patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated by blood transfusion.

[KEY WORDS] Acute gastrointestinal hemorrhage; Age-SI; PALBI; BUN/Cr

急性消化道出血是临床常见的疾病类型之一,具有发病急、病情进展迅速及死亡率高等特征,患者多伴有呕血、黑便或血便等症状,严重者甚至会出现全身血容量减少或贫血,需要进行输血救治^[1]。目前对急性消化道的诊断方式主要为内镜检查,但胃镜检查需要进行术前准备且流程繁琐,而双气囊小肠镜及胶囊内镜等检查方式对下消化道出血存在一定局限性,消化道出血若诊断不及时,将会影响后续治疗,严重威胁患者的生命健康安全^[2]。年龄休克指数(Age shock index, Age-SI)是通过年龄乘以心率除以收缩压所得的参数,能够较好的显示血流动力学的状态,对病情严重程度具有较好的评估作用^[3]。血小板-白蛋白-胆红素(Platelet albumin-bilirubin, PALBI)评分能够反映肝脏合成与代谢功能及门静脉高压程度,对于急性静脉曲张出血患者再出血具有较好的预测价值^[4]。尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)与肌酐(Creatinine, Cr)是反映肾小球滤过功能的相关指标,相关研究表明,尿素氮/肌酐(Blood urea nitrogen/Creatinine, BUN/Cr)对消化道出血具有较好的诊断效能^[5]。本研究通过分析Age-SI、PALBI及BUN/Cr对急性消化道出血输血治疗患者预后的预测价值,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2019年4月至2022年4月合肥市第八人民医院收治120例的急性消化道出血输血治疗患者作为研究对象,根据预后情况将患者分为预后良好组94例,预后不良组26例。纳入标准:①经检查确认存在急性消化道出血^[6];②年龄 ≥ 18 周岁;③无阿司匹林或其余引起消化道出血的药物服用史;④患者及其家属均签署与研究相关的知情同意书。排

除标准:①血友病等先天性凝血功能异常者;②合并存在胃癌或其他恶性肿瘤者;③合并存在严重免疫性或感染性疾病者;④存在心肾等重要器官功能障碍者。本研究已取得医院伦理委员会审查批准。

1.2 血清指标检测

于清晨下采集所有患者的静脉血5 mL,在4℃下以3 500 r/min(半径15 cm)离心10 min,收集上层清液置于-80℃冰箱保存待检。采用日立7600型全自动生化分析仪检测血清标本中的血小板、白蛋白、胆红素、BUN及Cr水平。

1.3 观察指标

$Age-SI^{[3]} = \text{年龄} \times \text{心率} / \text{收缩压}$; $PALBI \text{ 评分}^{[7]} = 2.02 \times \log_{10} [\text{胆红素} (\mu\text{mol/L})] - 0.37 \times \log_{10} [\text{胆红素} (\mu\text{mol/L})]^2 - 0.04 \times \text{白蛋白} (\text{g/L}) - 3.48 \times \log_{10} [\text{血小板} (1\ 000/\mu\text{L})] + 1.01 \times \log_{10} [\text{血小板} (1\ 000/\mu\text{L})]^2$ 。

1.4 调查方法

根据门诊定期复查或电话等通讯方式,每3个月对急性消化道出血输血治疗患者随访1次,时长为1年。以随访期间出现再次消化道出血、需急诊外科手术干预及死亡等事件为预后不良,随访截止时间为2023年4月或期间患者死亡。结果显示,预后良好的患者为94例,预后不良的患者为26例。收集对急性消化道出血输血治疗患者预后可能存在影响的相关因素,包括年龄、性别、身体质量指数(Body mass index, BMI)、幽门螺杆菌感染史、消化道溃疡史、输血量、Age-SI、PALBI及BUN/Cr等相关信息。

1.5 统计学方法

以SPSS 24.0统计学软件分析相关数据。服从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;以多因素Logistic回归分析影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析Age-SI、PALBI及BUN/Cr对急

性消化道出血输血治疗患者预后不良的预测价值,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性消化道出血输血治疗患者预后单因素分析
对影响急性消化道出血输血治疗患者患者预后的因素进行分析,幽门螺杆菌感染史、消化道溃疡史、输血量、Age-SI、PALBI 及 BUN/Cr 均是急性消化道出血输血治疗患者预后不良的影响因素 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 急性消化道出血输血治疗患者预后单因素分析
[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 single factor analysis of prognosis of patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated with blood transfusion [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

因素	预后良好组 ($n=94$)	预后不良组 ($n=26$)	χ^2/t 值	P 值
性别				
男	56 (59.57)	17 (65.38)	0.289	0.591
女	38 (40.43)	9 (34.62)		
年龄(岁)				
≤60	51 (54.26)	12 (46.15)	0.536	0.464
>60	43 (45.74)	14 (53.85)		
bmi 指数(kg/m^2)				
≤24	37 (39.36)	9 (34.62)	0.194	0.660
>24	57 (60.64)	17 (65.38)		
幽门螺杆菌感染史				
有	23 (24.49)	19 (73.08)	21.153	<0.001
无	71 (75.51)	7 (26.92)		
消化道溃疡史				
有	26 (27.66)	20 (76.92)	20.910	<0.001
无	68 (72.34)	6 (23.08)		
输血量(mL)	289.27±36.43	413.46±48.97	14.217	<0.001
age-si	41.36±4.97	53.62±5.76	10.749	<0.001
palbi(分)	-2.04±0.37	-1.36±0.33	8.569	<0.001
bun/cr	37.13±3.46	44.37±4.19	8.984	<0.001

2.2 急性消化道出血输血治疗患者预后不良的多因素 Logistic 回归分析

以急性消化道出血输血治疗患者是否出现预后不良为因变量,以采集的信息为自变量进行

Logistic 回归分析。结果显示,有幽门螺杆菌感染史、有消化道溃疡史、输血量增加、Age-SI 升高、PALBI 升高及 BUN/Cr 升高均是急性消化道出血输血治疗患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 Age-SI、PALBI 及 BUN/Cr 对急性消化道出血输血治疗患者预后不良的预测价值

ROC 曲线显示, Age-SI、PALBI、BUN/Cr 联合检测预测价值高于单一检测指标 ($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

表 3 Age-SI、PALBI 及 BUN/Cr 对急性消化道出血输血治疗患者预后不良的预测价值

Table 3 Prognostic value of Age-SI, PALBI and BUN/Cr in patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated by blood transfusion

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P 值
Age-SI	47.95	0.961	0.923~0.998	0.904	0.846	<0.001
PALBI	-1.72	0.929	0.883~0.976	0.851	0.808	<0.001
BUN/Cr	40.32	0.914	0.860~0.967	0.809	0.808	<0.001
联合检测		0.984	0.964~0.999	0.936	0.885	<0.001

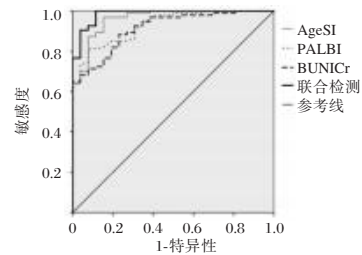


图 1 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

3 讨论

急性消化道出血是由多种原因引起的从食管到肛门之间消化道发生出血的疾病,其中屈氏韧带以上的位置出血称为上消化道出血,屈氏韧带以下的位置出血称为下消化道出血^[8]。李雅洁等^[9]研究指出,每年上消化道出血的成人发病率约为每 10 万人 67~103 例,病死率达到 2%~8%,每年

表 2 急性消化道出血输血治疗患者预后不良的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of poor prognosis in patients with acute gastrointestinal hemorrhage treated with blood transfusion

因素	赋值	β 值	$S.E$ 值	$Wald$ 值	OR 值	95% CI	P 值
幽门螺杆菌感染史	有=0,无=1	0.536	0.191	7.875	1.709	1.175~2.485	0.005
消化道溃疡史	有=0,无=1	0.542	0.189	8.224	1.719	1.187~2.490	0.004
输血量(mL)	连续变量	0.673	0.258	6.804	1.960	1.182~3.250	0.009
Age-SI	连续变量	0.864	0.301	8.239	2.372	1.315~4.280	0.004
PALBI(分)	连续变量	0.749	0.237	9.988	2.115	1.329~3.365	0.002
BUN/Cr	连续变量	0.733	0.246	8.878	2.081	1.285~3.371	0.003

因为上消化道出血住院的治疗费用巨大,给社会与患者家庭带来巨大的经济负担。肖雪等^[10]研究表明,下消化道出血患者约占消化道出血的20%,病死率为3.4%~8.8%,而且在首次止血成功后,患者住院期间再出血率达到13%,一年内再出血率依然高达9%,严重威胁患者的生命健康安全。因此,对急性消化道出血进行及时有效的诊断,有利于患者的临床治疗和生存预后。

休克指数是评估血流动力学稳定性的指标,而Age-SI诊断的准确性能够降低诊断的假阴性率,对多种疾病的严重程度与预后情况具有较好的评估效果^[11]。Kocaoğlu等^[12]研究表明,Age-SI能够评估急性消化道出血危重程度,对高风险与低风险的患者进行区分,有利于内镜检查、及时输血治疗救治,有利于患者的预后生存。本研究结果提示Age-SI对急性消化道出血输血治疗患者预后不良的具有较好的评估效果,可以作为相关评估指标之一。门静脉高压是引起门静脉高压性胃病、门静脉高压相关性消化性溃疡以及食管胃底静脉曲张破裂出血等疾病的主要原因,PALBI包括血小板计数,能够反映门静脉高压程度,对与其相关的消化道出血疾病具有较好的评估作用^[13]。Elshaarawy等^[14]研究表明,PALBI对肝硬化引起的急性上消化道出血发生再出血以及短期死亡等不良事件具有良好的预测效果。本研究结果提示PALBI对急性消化道出血输血治疗患者预后不良具有较好的评估作用。BUN/Cr与消化道出血密切相关,消化道出血后,残留在肠道内的红细胞、血浆蛋白等物质可转变为氮源,在被吸收进入血液循环后会导导致BUN水平升高,同时低血容量引起的肾灌注不足也会使BUN升高,而血清Cr水平主要与肾灌注流量相关^[15]。冯佳兴等^[16]研究指出,急性消化道出血患者机体BUN/Cr上升反映了出血早期液体复苏不足,容易增加再出血的风险,是患者出现不良预后的独立危险因素。

本研究对急性消化道出血输血治疗患者预后不良的影响因素进行分析,多因素Logistic回归分析显示,有幽门螺杆菌感染史、有消化道溃疡史、Age-SI升高、PALBI升高及BUN/Cr升高均是急性消化道出血输血治疗患者预后不良的独立危险因素。夏迪等^[17]研究指出,消化道溃疡是引起急性消化道出血的主要原因之一,而幽门螺杆菌感染会显著增加消化道溃疡的发生。陆少颜等^[18]研究表明,输血量是影响老年肝硬化并发上消化道出

血患者预后的重要影响因素,对患者的28d死亡等不良预后具有较好的评估价值。本研究结果显示,有幽门螺杆菌感染史、消化道溃疡史及输血量增加会增加急性消化道出血输血治疗患者预后不良的发生风险,与上述研究结果一致。本研究结果提示Age-SI、PALBI及BUN/Cr均可作为急性消化道出血输血治疗患者预后不良的诊断指标,联合检测能够提高预测的敏感度和特异度。

综上所述,Age-SI、PALBI及BUN/Cr与急性消化道出血输血治疗患者的预后情况密切相关,可能成为急性消化道出血输血治疗患者的辅助预测指标。

参考文献

- [1] Locantore-FP, Pechar JE, Ford DW, et al. A Collaborative Approach: Clinical Pathway for Gastrointestinal Bleeding When Transfusion Is Not an Option [J]. *Blood*, 2022, 140 (S1): 10743-10745.
- [2] 《中华消化外科杂志》编辑委员会,《中华消化杂志》编辑委员会.急性非静脉曲张性上消化道出血多学科防治专家共识(2019版)[J].*中华消化外科杂志*, 2019,18(12):1094-1100.
- [3] Lee K, Jang JS, Kim J, et al. Age shock index, shock index, and modified shock index for predicting postintubation hypotension in the emergency department [J]. *Am J Emerg Med*, 2020,38(5):911-915.
- [4] Faisal MS, Singh T, Amin H, et al. Role of platelet-albumin-bilirubin score in predicting re-bleeding after band ligation for acute variceal hemorrhage [J].*World J Hepatol*, 2020, 12 (10):880-882.
- [5] Khalaf M, El Serogy H, Farrag A, et al. Study of the benefit of blood urea nitrogen/creatinine ratio and some other parameters to detect site, cause, and severity of gastrointestinal hemorrhage noninvasively [J].*Tanta Med J*, 2020, 48(1): 16-21.
- [6] 中国医师协会急诊医师分会,中华医学会急诊医学分会,全军急救医学专业委员会等.急性上消化道出血急诊诊疗流程专家共识(2020版)[J].*中华急诊医学杂志*, 2021,30(1):15-24.
- [7] 李慧,夏志波,肖年军,等.经颈静脉肝内门体分流术预后模型的研究现状[J].*临床肝胆病杂志*, 2023,39(5):1191-1196.
- [8] 吴天山,杨杰,马宏飞,等.剖腹探查结合术中肠镜在消化道出血诊疗的应用及RBC、Hb和HCT改变[J].*分子诊断与治疗杂志*, 2022,14(3):443-446.
- [9] 李雅洁,赵雅闻,宋明洋,等.新的评估上消化道出血安全出院的预测模型[J].*中华急诊医学杂志*, 2022,31(12): 1680-1684.
- [10] 肖雪,苏瑞亚·帕力哈提,周敏,等.下消化道出血的临床诊治现状与指南解读[J].*四川大学学报(医学版)*, 2022, 53 (3):367-374.
- [11] 孙亚召,陈志坤,孟杰杰,等.血清白蛋白和年龄休克指数及Qanadli指数与老年肺血栓栓塞的相关性研究[J].*中华老年心脑血管病杂志*, 2022,24(11):1156-1158.

(下转第2087页)

超声引导下不同标记法对不可触及乳腺肿物病灶切除准确率及切除组织量的影响

朱涛¹ 徐洁^{2*} 田甜¹ 程尧²

[摘要] **目的** 分析研究超声引导下不同标记法对不可触及乳腺肿物病灶切除准确率及切除组织量的影响。**方法** 选取2020年1月至2020年12月在焦作市人民医院乳腺甲状腺外科确诊的100例存在不可触及乳腺肿物病灶(NBPL)患者作为研究对象,分为亚甲蓝组($n=50$)和对照组($n=50$),亚甲蓝组采用超声引导下亚甲蓝注射定位后手术切除,对照组采用超声体表标记定位后手术切除。比较两组的手术时间、术中出血量、切口直径和切除组织量;比较两组的切除病灶准确率和术后并发症发生率。**结果** 亚甲蓝组的手术时间短于对照组、术中出血量少于对照组以及切口直径小于对照组,差异均具有统计学意义($t=11.080, 6.281, 7.169$, 均 $P<0.05$)。亚甲蓝组切除组织量少于对照组,差异具有统计学意义($t=8.327, P<0.05$)。亚甲蓝组切除病灶的准确率高于对照组,差异具有统计学意义($\chi^2=5.005, P<0.05$)。两组的术后并发症发生率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.842, P>0.05$)。**结论** 超声引导下,亚甲蓝标记切除不可触及乳腺肿物病灶的效果优于体表标记定位。

[关键词] 超声引导;不可触及乳腺肿物;亚甲蓝标记法

The influence of different ultrasound-guided labeling methods on the accuracy of excision of untouchable breast tumor and the amount of excision tissue

ZHU Tao¹, XU Jie^{2*}, TIAN Tian¹, CHENG Yao²

(1. Department of Breast and Nail Surgery, Jiaozuo People's Hospital, Jiaozuo, Henan, China, 454000;
2. Department of Oncology, Jiaozuo People's Hospital, Jiaozuo, Henan, China, 454000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the influence of different ultrasound-guided labeling methods on the accuracy of excision and the amount of resected tissue of untouchable breast tumors. **Methods** A total of 100 patients with untouchable breast masses (NBPL) diagnosed in the Department of Breast and Thyroid Surgery of Jiaozuo People's Hospital from January 2020 to December 2020 were selected as the research objects and divided into the methylene blue group ($n=50$) and the control group ($n=50$). The methylene blue group was treated with ultrasound-guided methylene-blue injection localization followed by surgical resection. The control group was excised by ultrasonic body surface labeling. Operation time, intraoperative blood loss, incision diameter and excised tissue volume were compared between the two groups. The accuracy rate of lesion resection and the incidence of postoperative complications were compared between the two groups. **Results** The operation time, intraoperative blood loss and incision diameter in the methylene blue group were shorter than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t=11.080, 6.281, 7.169, P<0.05$). The amount of resected tissue in the methylene blue group was smaller than that in the control group, and the difference was statistically significant ($t=8.327, P<0.05$). The accuracy of lesion resection in the methylene blue group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=5.005, P<$

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20191335)

作者单位:1.焦作市人民医院乳甲外科,河南,焦作 454000

2.焦作市人民医院肿瘤内科,河南,焦作 454000

*通信作者:徐洁, E-mail:doctorxuxu01@163.com

0.05). There was no significant difference in the incidence of postoperative complications between the two groups ($\chi^2=0.842, P>0.05$). **Conclusion** Ultrasound-guided methylene blue labeling was better than body surface labeling in the resection of untouchable breast tumors.

[KEY WORDS] Ultrasonic guidance; Non-palpable breast mass; Methylene blue labeling method

乳腺肿物是中老年女性群体的常见疾病之一,根据病理组织成分区分,良性乳腺肿物主要有乳腺结节增生、错构瘤、纤维腺瘤与导管内乳头状瘤等,恶性乳腺肿物多见于浸润性导管癌、导管原位癌和浸润性乳头状癌等^[1-2]。乳腺肿物具有不同的类型,在临床触诊体察为阴性的,需要借助彩色超声、CT和MRI等方式才能检查出来的乳腺肿物称为不可触及乳腺肿物(non-palpable breast lesions, NPBL)^[3]。由于乳房肿物体积小、肿物位置深和乳腺组织增生致密等原因,在NPBL临床体查中很难触摸到明显的肿块,患者往往容易忽视相关的诊查做进一步的确认,容易错过最佳的诊疗时间,增加恶性癌症病变的可能性^[4]。目前临床上对于NPBL的治疗方式主要是在超声引导下进行手术切除,主要的标记方式有注射染色剂标记、细针穿刺以及导丝定位等,术前对NPBL的精准定位有助于手术顺利进行和保证切除的效果^[5]。本研究通过对本院100例NPBL患者分别采用超声引导下亚甲蓝注射定位和超声体表标记定位后进行手术切除,以探讨超声引导下不同标记法对NPBL病灶的切除准确率及切除组织量的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2020年12月在焦作市人民医院乳腺甲状腺外科就诊的100例NPBL患者作为研究对象,年龄为26~65岁,平均年龄(36.45±11.69)岁。其中存在单个病灶68例,多个病灶32例;病灶位于外上象限42例,外下象限20例,内上象限26例,内下象限9例,中央区3例。病例纳入标准:①在彩超检查下经乳腺影响和数据报告系统(Breast Imaging Reporting and Data System, BI-RADS)^[6]的评价分类均达到3级以上者;②肿物边界清晰,薄膜完整,周围器官未被侵犯,无转移病灶;③患者及其家属均已签署与本项研究有关的知情同意书。排除标准:①经超声或其他影像学检查结果为其类型肿瘤者;②对亚甲蓝注射

液过敏者;③存在心、肺、肝、肾功能不全者;④存在认知功能障碍或精神障碍的患者。本研究在医院医学伦理委员会审核批准同意下进行。

1.2 定位方法

对照组:选用美国通用电气医疗系统有限公司的LOGIQ V2型超声诊断仪,将探头频率设置为7.5~12 MHz。引导患者取仰卧位,双手朝头部方向伸展,让双侧乳腺和腋窝充分暴露,在患者存在不适症状的位置涂上广工牌医用超声耦合剂(规格:0.25L,批准文号:粤穗食药监械(准)字2013第1230064号),利用超声探头进行充分检查,观察记录NPBL的分布、数量、大小和边界,见图1。测定NPBL与皮肤的距离,并在体表做好标记。



图1 患者,女,31岁,超声检查显示右乳存在1个NPBL
Figure 1 The patient, a 31-year-old female, demonstrated an NPBL in her right breast on ultrasound

亚甲蓝组:超声定位方法同对照组,并进行常规消毒铺巾处理,确定穿刺点位置进行局部麻醉,选用济川药业集团有限公司的亚甲蓝注射液(规格:2 mL:20 mg×5支/盒,国药准字H32025285),在超声引导下用7号注射针头刺入选定的NPBL位置,在针尖进入病灶内部时,缓慢注射0.2 mL亚甲蓝注射液进行染色,注射结束后负压退出空针,在标记1小时后对患者进行切除手术。

1.3 手术方法

对照组:选用美国巴德医疗科技有限公司的Encor CM3000真空辅助旋切系统(vacuum-assisted biopsy, VAB),做好术前准备工作,告知患者需要注意的相关事宜。患者取仰卧位,上肢外展,对患者进行充分麻醉。根据超声检查的体表标记以及肿物的大小,在乳房外侧或乳晕等相关私密性

较好的位置选取合适的切口,根据病灶与体表皮之间的距离确定切口深度。在确认肿物的具体位置后,在超声引导下使用旋切刀对乳腺肿物进行旋切,直至病灶完全切除,见图2。如果在体表标记的切口位置下找不到肿物,则在术中对可疑位置继续进行超声检查,在重新找到并确认肿物位置后予以进行切除。根据术前超声检查的肿物大小与切除肿物组织的大小进行对比,基本无误后对切口予以止血处理并进行常规缝合。术中出血量根据浸透纱布重量进行估算(大纱布浸透约为20 mL,小纱布浸透约为5 mL)。对切除的肿物组织进行称重记录,在急速冷冻后送往病理检查。

亚甲蓝组:相关术前准备工作与对照组一致,在术中根据蓝染组织的区域,确定肿物存在的位置后,在超声引导下使用旋切刀对乳腺肿物进行旋切,直至病灶完全切除。如果在蓝染区域内找不到肿物或者肿物的体积大小超出蓝染区域的范围,则继续根据蓝染区域扩大检查范围,必要时继续进行超声检查,在重新确认肿物位置后予以进行切除,在确保病灶组织被完整切除后,对切口进行对切口予以止血处理并进行常规缝合。亚甲蓝组术中出血量估算方法以及术后对肿物病理组织的处理方式与对照组一致。

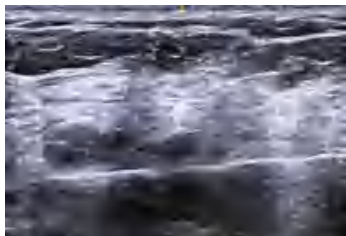


图2 旋切手术影像

Figure 2 Images of rotary incision

1.4 观察指标

①根据切除肿物组织的病理检查结果,统计区分两组中良性(乳腺结节增生、错构瘤、纤维腺瘤、导管内乳头状瘤等)和恶性肿瘤(浸润性导管癌、导管

原位癌和浸润性乳头状癌等)的检出情况^[7]。②统计比较两组的手术指标,包括手术时间,术中出血量和切口直径;根据切除病灶的重量大小,统计比较两组的切除组织量。

1.5 统计学方法

以SPSS 25.0软件对采集的数据进行分析,对计量资料进行正态性与方差齐性检验,服从正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,使用t检验;不符合正态分布的计量资料以中位数M(P25, P75)描述。计数资料用百分比表示,使用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组的病理结果分析

根据随机数字表法将患者分为亚甲蓝组($n=50$)和对照组($n=50$),两组的一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。根据切除肿物组织的病理检查结果,亚甲蓝组的良性肿瘤有37例(74.00%),恶性肿瘤有13例(26.00%);对照组的良性肿瘤有36例(72.00%),恶性肿瘤有14例(28.00%),两组的良性肿瘤与恶性肿瘤检出率相比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。部分良性肿瘤与恶性肿瘤的病理学检查。见图3、4。

2.2 两组的手术指标与切除组织量比较

亚甲蓝组的手术时间短于对照组、术中出血量少于对照组以及切口直径小于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);亚甲蓝组切除组织量少于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组的切除病灶准确率与术后并发症发生率比较

亚甲蓝组切除病灶的准确率高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);两组术后并发症发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表1 两组的病理结果分析 [$n(\%)$]

Table 1 The pathological results of the two groups were analyzed [$n(\%)$]

组别	n	良性肿瘤(n=37)				恶性肿瘤(n=13)		
		乳腺结节增生	错构瘤	纤维腺瘤	导管内乳头状瘤	浸润性导管癌	导管原位癌	浸润性乳头状癌
亚甲蓝组	50	21(42.00)	1(2.00)	12(24.00)	3(6.00)	9(18.00)	3(6.00)	1(2.00)
对照组	50	23(46.00)	0(0.00)	11(22.00)	2(4.00)	10(20.00)	2(4.00)	2(4.00)
χ^2 值				0.051			0.051	
P值				0.822			0.822	



图3 患者,女,32岁,病理结果:乳腺结节增生(HE,×200)
Figure 3 The patient, a 32-year-old female, had hyperplasia of breast nodules (HE, ×200)



图4 患者,女,41岁,病理结果:导管内乳头状瘤(HE,×200)
Figure 4 The patient, a 41-year-old female, had hyperplasia of intraductal papilloma (HE, ×200)

表2 两组的手术指标与切除组织量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of surgical indexes and excised tissue volume between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	手术时间 (min)	术中出血量 (mL)	切口直径 (cm)	切除组织量 (g)
亚甲蓝组	50	20.36±2.98	13.54±3.93	2.21±0.13	14.91±6.32
对照组	50	34.83±8.74	19.21±4.37	2.84±0.57	28.39±9.47
t值		11.080	6.821	7.619	8.372
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

NPBL是女性群体常见的疾病类型,多伴随有乳房胀痛、胸部不适等症状,及时诊查发现与进行外科手术切除能够降低进展为乳腺癌的风险^[8]。由于NPBL在体察触诊中不易被发现,乳腺疾病的高危人群很难通过乳腺自检的方式发现,而且女性对乳腺癌的相关知识认识不足,容易忽略乳腺健康,不利于乳腺癌的防控与诊治^[9]。目前临床上对于NPBL的诊断主要通过影像学检查,超声对乳腺病灶的敏感度较高,是诊查NPBL的主要方

法^[10]。高分辨率的彩超不仅能够准确显示病灶的位置、大小和数量,定位病灶与体表皮肤的距离,而且能够辨识0.5 cm大小及以下的病灶,对NPBL诊断的准确性较高^[11]。

金思励等^[12]研究表明,NPBL患者存在接近30%的高危或恶性癌症病变,具有高发性,需要提高对NPBL的警惕和重视,及时诊查与进行外科手术切除能够降低恶性癌变的风险。本研究结果显示,亚甲蓝组和对照组患者中NPBL为恶性肿瘤类型的占比分别为26%、28%,与上述研究基本相吻合,提示需要对NPBL进行及时的手术切除治疗。亚甲蓝是一种深蓝色的染色剂,在临床上被用以乳腺切除等多种外科手术的示踪剂,对病灶具有很好的染色和定位效果,在使用过程中需要注意亚甲蓝注射液的用量,避免标记的组织范围太大,造成不必要的切除,增加对机体的创伤^[13]。Li H等^[14]研究认为,应用超声引导下亚甲蓝标记定位能够提高乳腺病灶诊断的准确率,有利于开展后续的手术切除治疗。在超声引导注射亚甲蓝标记的情况下,术中对NPBL定位的时间大大缩短,有利于降低操作难度,加快手术进程。术中出血量减少,能够减少对患者机体创伤。而且切口直径的缩短,能够减少术后瘢痕组织增生,降低对美观的影响,更容易被患者接受^[15]。任辉等^[16]研究指出,亚甲蓝标记通过对病灶进行较小范围的染色,能够让医生在手术中精准快速找到乳腺病灶,在确保病灶切除干净的前提下,最大限度地减少了对正常组织的损伤。本研究结果显示,亚甲蓝组切除组织量少于对照组,这是因为对照组对NPBL的定位不够精确,在术中需要扩大手术切口来保证切除效果,容易增加切除组织量。张曦等^[17]研究认为,术前定位对于切除病灶的准确率具有重要影响,而且切除范围跟术后畸形和并发症存在关联性。本研究结果显示,亚甲蓝组手术中切除病灶准确率高,对照组对于多发的乳腺肿瘤的一次切除效果不佳,术中需要进行超

表3 两组的切除病灶准确率与术后并发症发生率比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of lesion resection accuracy rate and postoperative complication rate between the two groups [$n(\%)$]

组别	n	切除病灶准确率(%)	并发症发生情况				合计
			切口感染	皮下血肿	脂肪液化	组织坏死	
亚甲蓝组	50	48(96.00)	0(0.00)	1(2.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(2.00)
对照组	50	41(82.00)	2(4.00)	2(4.00)	0(0.00)	0(0.00)	4(8.00)
χ^2 值		5.005					0.842
P值		0.025					0.358

声检查定位标记,增加手术难度。亚甲蓝组通过注射亚甲蓝标记,蓝染区域里 NPBL 的标记清晰,基本上可以做到一次完整切除。本研究结果显示,亚甲蓝组的并发症发生率低于对照组,并发症发生情况控制良好,并未因为使用亚甲蓝注射液而增加并发症发生情况,具有较好的安全性。

综上所述,NPBL 存在较高恶性癌变的可能性,需要警惕和重视。在超声引导下定位穿刺亚甲蓝标记下切除 NPBL,具有切除准确率高、切除组织量少以及术后并发症发生率低等特点,且手术对患者机体的创伤较低。亚甲蓝标记对 NPBL 的切除效果优于体表标记定位。

参考文献

- [1] 魏秀霞,沈庆龄,李裕生. 纵横比对不同大小乳腺肿物的超声诊断价值[J]. 中国超声医学杂志, 2021, 37(4): 390-393.
- [2] Waldman RA, Finch J, Grant-Kels JM, et al. Skin diseases of the breast and nipple: Benign and malignant tumors [J]. J Am Acad Dermatol, 2019, 80(6): 1467-1481.
- [3] Omar Farouk, Mohamed Ezzat, Adel El-Badrawy, et al. Charcoal Localization for Surgical Resection of Non-Palpable Suspicious Breast Lesions [J]. Chirurgia (Bucur), 2022, 117(6): 671-680.
- [4] 安显鸿,梁国欣,韩宪静,等. 多普勒超声及钼靶 X 线检查在老年不可触及乳腺病灶诊断中价值[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2): 438-440.
- [5] Kataria K, Singh A, Jayaram J, et al. Comparison of Wire-Guided Lumpectomy (WGL) Versus Hematoma-Directed Ultrasound-Guided Lumpectomy (HDUGL) in Management of Nonpalpable Breast Lesions in Achieving a Negative Resection Margin: a Randomized Trial with Superiority Hypothesis and Cost-effectiveness Analysis [J]. Indian J Surg Oncol, 2022, 13(4): 834-841.
- [6] 任少杰,姜菊,吕洪兵. 多模态超声对于乳腺癌不同 BI-RADS 分类诊断的价值及与分子分型的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9): 1242-1245+1250.
- [7] 杨光飞,常瑞姣,武雅婷,等. 超声与 MRI 对乳腺 BI-RADS 3-5 类肿物的诊断分类一致性比较[J]. 中国医学影像学杂志, 2022, 30(10): 991-995.
- [8] Wen H, Xu T, Huang Q, et al. Nonpalpable breast masses: One-year ultrasound follow-up and morbidity outcomes in Shanghai [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(50): e23556.
- [9] 郭琪,姚昶,郭宇飞. 乳腺疾病高危人群乳腺癌认知度与乳腺自检现状调查及相关性研究[J]. 华南预防医学, 2020, 46(1): 18-21.
- [10] Park KW, Park K, Shon I, et al. Non-mass lesions detected by breast US: stratification of cancer risk for clinical management [J]. Eur Radiol, 2021, 31(3): 1693-1706.
- [11] 王伟,赵丹,兰晶,等. 多模态超声成像评分法对非肿块型乳腺病变良恶性的鉴别诊断价值[J]. 中国超声医学杂志, 2022, 38(10): 1097-1100.
- [12] 金思励,赵毅. 真空辅助旋切系统在不可触及乳腺占位性病应用价值分析[J]. 中国实用外科杂志, 2018, 38(11): 1285-1288.
- [13] Budner O, Cwalinski T, Skokowski J, et al. Methylene Blue Near-Infrared Fluorescence Imaging in Breast Cancer Sentinel Node Biopsy [J]. Cancers (Basel), 2022, 14(7): 1817.
- [14] Li H, Jun Z, Zhi-Cheng G, et al. Factors that affect the false negative rate of sentinel lymph node mapping with methylene blue dye alone in breast cancer [J]. J Int Med Res, 2019, 47(10): 4841-4853.
- [15] 闫智清,顾岳山,苑著,等. 触诊阴性乳腺肿瘤术中应用超声引导下亚甲蓝定位与导丝定位的对比分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(S1): 38-39.
- [16] 任辉,王海全,王俊杰,等. 彩色多普勒超声引导下亚甲蓝边界定位法在乳腺癌保乳手术中的应用价值[J]. 临床肿瘤学杂志, 2020, 25(4): 339-342.
- [17] 张曦,黄伍奎,赵彦博,等. 乳腺 BI-RADS 分类在乳腺立体穿刺定位术的应用价值[J]. 临床放射学杂志, 2018, 37(4): 596-599.

(上接第 2082 页)

- [12] Kocaoğlu S, Çetinkaya HB. Use of age shock index in determining severity of illness in patients presenting to the emergency department with gastrointestinal bleeding [J]. Am J Emerg Med, 2021, 47: 274-278.
- [13] 徐陈,蒋森. PALBI 评分对肝硬化合并急性上消化道出血患者短期预后的预测价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(7): 1578-1581.
- [14] Elshaarawy O, Allam N, Abdelsamea E, et al. Platelet-albumin-bilirubin score - a predictor of outcome of acute variceal bleeding in patients with cirrhosis [J]. World J Hepatol, 2020, 12(3): 99-107.
- [15] Wu KH, Shih HA, Hung MS, et al. The association between blood urea nitrogen to creatinine ratio and mortality in patients with upper gastrointestinal bleeding [J]. Arab J Gastroenterol, 2018, 19(4): 143-147.
- [16] 冯佳兴,林澜,许鸿志,等. 血尿素氮/肌酐比值判断消化道出血部位及急性非静脉曲张性上消化道出血患者预后的价值[J]. 四川大学学报(医学版), 2022, 53(3): 391-397.
- [17] 夏迪,张铭光. 成都市某医院上消化道出血住院患者病例特征及治疗费用分析[J]. 华南预防医学, 2020, 46(5): 498-501+505.
- [18] 陆少颜,刘莹. 改良 NUTRIC 评分和预后营养指数在老年肝硬化合并上消化道出血患者预后评估中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(3): 584-587.

孕中期双胎妊娠孕妇血清 E₂、P、β-HCG 联合检测对母婴结局的判断价值分析

董丹^{1*} 杜娜² 董倩¹ 郭亮³

[摘要] 目的 探讨孕中期双胎妊娠孕妇血清雌二醇(E₂)、孕酮(P)、β-人绒毛膜促性腺激素(β-HCG)联合检测对母婴结局的判断价值分析。方法 回顾性选取2018年6月至2021年3月在吉林大学第一医院接受正规产检的孕中期双胎妊娠孕妇60例纳入双胎组,另选取同期在本院产检的孕中期单胎妊娠孕妇98名纳入单胎组,对比两组孕妇孕中期血清E₂、P、β-HCG水平,根据母体及胎儿结局将双胎组划分为母体及胎儿正常亚组、母体不良亚组与胎儿不良亚组,采用 Spearman 分析双胎组孕妇孕中期血清E₂、P、β-HCG水平与母婴结局的相关性;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析孕中期血清E₂、P、β-HCG水平单一及联合检测对双胎妊娠母体、胎儿不良结局的预测价值,并计算曲线下面积(AUC)。结果 双胎组孕妇孕中期血清β-HCG、E₂、P水平均高于单胎组孕妇,差异有统计学意义(P<0.05);血清β-HCG、E₂、P水平:母体及胎儿正常亚组>母体不良亚组>胎儿不良亚组,差异具体统计学意义(P<0.05)。母体不良结局、胎儿不良结局与孕妇孕中期血清β-HCG、E₂、P水平具有较高负相关性(P<0.05)。孕中期血清E₂、P、β-HCG三者联合预测母体、胎儿不良结局的AUC分别为0.963、0.853,均高于血清E₂、P、β-HCG单项检测(P<0.05)。结论 双胎妊娠孕妇孕中期血清E₂、P、β-HCG水平高于单胎妊娠,双胎妊娠母婴不良结局风险随着孕妇血清E₂、P、β-HCG水平的异常降低而增大,三者联合检测可提高预测母体、胎儿不良结局的概率。

[关键词] 双胎妊娠;孕中期;血清雌二醇;孕酮;β-HCG

Analysis of the value of combined detection of serum E₂, P, and β-HCG in pregnant women with twin pregnancies in the second trimester to determine maternal and fetal outcomes

DONG Dan^{1*}, DU Na², DONG Qian¹, GUO Liang³

(1. Department of Obstetrics and Gynecology Center, the First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin, China, 130021; 2. Department of Infectious Diseases, the First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin, China, 130021; 3. Department of Pathology, the First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin, China, 130021)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of serum estradiol (E₂), progesterone (P) and β-HCG combined detection in pregnant women during the second trimester of pregnancy. **Methods** 60 pregnant women with twin pregnancies in the second trimester who received regular birth examination at the First Hospital of Jilin University from June 2018 to March 2021 were retrospectively selected to be included in the twin group, another 98 pregnant women with single pregnancies in the second trimester who received birth examination in our hospital during the same period were selected to be included in the single group, Serum E₂, P, β-HCG levels of pregnant women in the second trimester were compared between the two groups, according to the delivery outcome, the twin groups were divided into the normal maternal and fetal subgroups, poor maternal subgroups and poor fetal subgroups, Spearman was used to analyze the correlation between serum

基金项目:吉林省科技厅重点研发项目(20220404209YY)

作者单位:1. 吉林大学第一医院妇产中心,吉林,长春 130021

2. 吉林大学第一医院感染科,吉林,长春 130021

3. 吉林大学第一医院病理科,吉林,长春 130021

*通信作者:董丹, E-mail: dan_dong2022@163.com

E_2 , P, β -HCG levels and maternal and infant outcomes in the second trimester of the twin group. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the predictive value of single and combined detection of serum E_2 , P, and β -HCG levels in the second trimester for maternal and fetus adverse outcomes in twin pregnancies, and the area under the curve (AUC) was calculated. **Results** The serum β -HCG, E_2 , and P levels in the second trimester of pregnancy in the twin group were higher than those in the single group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum β -HCG, E_2 and P: normal maternal and fetal subgroups > poor maternal subgroups > poor fetal subgroups, with specific statistical significance ($P<0.05$). Maternal adverse outcomes and fetal adverse outcomes were negatively correlated with serum levels of β -HCG, E_2 and P in pregnant women in the second trimester ($P<0.05$). The AUC of serum E_2 , P, and β -HCG in the second trimester to jointly predict maternal and fetus adverse pregnancy outcomes were 0.963 and 0.853 respectively, both of which were higher than serum E_2 , P, and β -HCG single test ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of serum E_2 , P and β -HCG in the second trimester of twin pregnancy are higher than those in single pregnancy. The risk of adverse outcomes increases with the abnormal decrease of serum E_2 , P and β -HCG in twin pregnancy, the combination detection of the three can improve the probability of predicting adverse maternal and fetus outcomes.

[KEY WORDS] Twin pregnancy; Second trimester; Serum estradiol, progesterone, β -HCG

我国辅助生殖技术于近年来得到长足发展,在促排卵药物的作用下,我国双胎妊娠率逐渐升高^[1-2]。然而与单胎妊娠比较,双胎妊娠具有更高的妊娠期风险,且孕期流产、胎儿宫内死亡、胎儿宫内窘迫等的发生率均有所增加。同时双胎妊娠过程中对于母亲身体的负担更重,妊娠期合并症及产后并发症的发生风险也明显升高,导致双胎妊娠的母婴不良结局发生风险也随之增加。因此,早期正确评估双胎妊娠结局,对于妊娠期、围产期治疗方案的制定具有重要的指导作用。尽早正确开展对症治疗,能够有效降低双胎妊娠母婴不良结局的发生风险,提高正常分娩率。目前临床上对于双胎妊娠母婴结局的评估尚缺乏一种高效、重复性良好、操作便捷的诊断依据。胎儿的生长、发育过程需要母体血清相关激素维持。近年有研究指出,母体血清雌二醇(Estradiol, E_2)、孕酮(Progesterone, P)、 β -人绒毛膜促性腺激素(β -human chorionic gonadotropin, β -HCG)表达水平能够为母婴结局的判断提供必要参考^[3]。血清激素水平的检测取材便捷、易于开展、重复性好^[4-5],为此吉林大学第一医院特开展研究,量化性评估双胎妊娠孕妇血清 β -HCG、 E_2 、P表达水平与母婴结局的关系,以期为今后双胎妊娠母婴结局的评估方案提供新的思路与科学性参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性选取2018年6月至2021年3月在本院接受正规产检的孕中期双胎妊娠孕妇60例纳入双

胎组,另选取同期在本院产检的孕中期单胎妊娠孕妇98例纳入单胎组。纳入标准:①在本院建档体检且最终在本院分娩的孕妇;②经本院医学影像学检查并经最终分娩确认的双胎或单胎妊娠;③在本院有孕20周均血清 β -HCG、 E_2 、P水平检测资料;④在本院相关资料完整。排除标准:①异位妊娠;②妊娠前存在高血压、糖尿病、甲状腺疾病等基础疾病;③合并胎盘植入、前置胎盘、瘢痕子宫、宫内感染、卵巢囊肿;④合并妊娠甲状腺功能异常。纳入单胎组的孕妇年龄平均(29.42±3.26)岁;孕次平均(1.71±0.32)次;产次平均(1.28±0.21)次。双胎组孕妇年龄平均(29.28±3.17)岁;孕次平均(1.69±0.31)次;产次平均(1.27±0.19)次。两组孕妇一般资料对比差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

血清 β -HCG、 E_2 、P水平检测,调取两组孕妇孕20周时到院检查时检查结果。全部孕妇均采集清晨空腹肘静脉血样3 mL,无菌避光静置20 min后,置入离心机按3 000 rpm速度离心10 min,离心半径12.5 cm,取血清检测;使用罗氏Cobase601型全自动型化学发光免疫分析仪及配套试剂盒(德国罗氏公司提供)、化学发光法检测 β -HCG、 E_2 、P表达水平。

1.3 研究方法

对比两组孕妇孕中期血清 E_2 、P、 β -HCG水平,正常参考范围: E_2 1 000~8 000 pg/mL, P 100~200 ng/mL, β -HCG>10 IU/L^[6]。将并发各种妊娠期并发症及产后并发症作为母体不良结局^[7],以双胎组

分娩结局作为胎儿结局,根据母体及胎儿结局将双胎组划分为母体及胎儿正常亚组(母体及胎儿结局均良好)、母体不良亚组(母体结局不良)与胎儿不良亚组(胎儿结局不良),胎儿不良结局包括:流产、宫内死亡、宫内窘迫、出生5 min时Apgar评分 ≤ 7 分^[7],对比三胎组孕妇孕中期血清E₂、P、 β -HCG水平。

1.4 统计学处理

本研究数据采用SPSS 21.0统计软件进行统计分析,计量资料均符合正态分布,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用t检验;多组间采用F检验;计数资料通过n(%)表示,并采用 χ^2 检验;采用Spearman分析相关性;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析孕中期血清E₂、P、 β -HCG水平单一及联合检测对双胎妊娠母体、胎儿不良结局的预测价值,并计算曲线下面积(AUC),均以P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 单胎组与双胎组血清 β -HCG、E₂、P对比

双胎组孕妇孕中期血清 β -HCG、E₂、P水平均高于单胎组孕妇,差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 单胎组与双胎组血清 β -HCG、E₂、P对比 $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	β -HCG(IU/mL)	E ₂ (pg/mL)	P(ng/mL)
单胎组	98	21.93 \pm 2.21	3872.64 \pm 106.47	79.43 \pm 9.62
双胎组	60	30.54 \pm 3.08	5585.59 \pm 209.78	143.48 \pm 27.13
t值		20.407	67.888	21.318
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 双胎组三胎组血清 β -HCG、E₂、P对比

血清 β -HCG、E₂、P水平:母体及胎儿正常亚组>母体不良亚组>胎儿不良亚组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 双胎组三胎组血清 β -HCG、E₂、P对比 $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of serum β -HCG, E₂ and P among three subgroups of twins groups $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	β -HCG(IU/mL)	E ₂ (pg/mL)	P(ng/mL)
母体及胎儿正常亚组	45	31.80 \pm 2.26	6175.70 \pm 134.02	153.77 \pm 22.13
母体不良亚组	6	28.47 \pm 0.24 ^a	6034.62 \pm 15.43 ^a	127.88 \pm 1.79 ^a
胎儿不良亚组	9	25.67 \pm 1.68 ^{ab}	5688.27 \pm 21.44 ^{ab}	102.48 \pm 8.15 ^{ab}
F值		35.634	64.556	27.550
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与母体及胎儿正常亚组比较,^aP<0.05;与母体不良亚组比较,^bP<0.05。

2.3 双胎组孕妇孕中期血清E₂、P、 β -HCG水平与母婴结局的相关性

母体不良结局、胎儿不良结局与孕妇孕中期血清 β -HCG、E₂、P水平具有较高负相关性(P<0.05)。见表3。

表3 双胎组孕妇孕中期血清E₂、P、 β -HCG水平与母婴结局的相关性

Table 3 Correlation between serum E₂, P, β -HCG levels and maternal and infant outcomes in the second trimester of pregnant women in twin group

变量	统计值	β -HCG	E ₂	P
母体不良结局	r值	-0.804	-0.804	-0.804
	P值	<0.001	0.000	0.000
胎儿不良结局	r值	-0.758	-0.758	-0.758
	P值	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 孕中期血清E₂、P、 β -HCG水平单一及联合检测对双胎妊娠母体、胎儿不良结局的预测价值

孕中期血清E₂、P、 β -HCG三者联合预测母体、胎儿不良结局的AUC、95%CI分别为0.963(0.876-0.975)、0.853(0.818-0.874),均高于血清E₂、P、 β -HCG单项检测(P<0.05)。见表4、图1及图2。

表4 血清E₂、P、 β -HCG水平单一及联合检测对双胎妊娠不良结局的预测价值

Table 4 The predictive value of single and combined detection of serum E₂, P and β -HCG levels on adverse outcomes of twin pregnancy

指标	母体不良结局					胎儿不良结局				
	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感性	特异性	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感性	特异性
E ₂ (pg/mL)	6 000.00	0.533	0.502~0.584	63.29	60.54	6001.52	0.547	0.511~0.589	63.88	61.20
P(ng/mL)	115.86	0.551	0.518~0.602	68.93	64.22	118.25	0.567	0.534~0.612	69.11	65.25
β -HCG(IU/mL)	26.83	0.548	0.510~0.597	67.37	63.84	26.37	0.532	0.526~0.600	68.21	64.01
三者联合		0.963	0.876~0.975	93.27	90.09		0.853	0.818~0.874	94.11	90.28

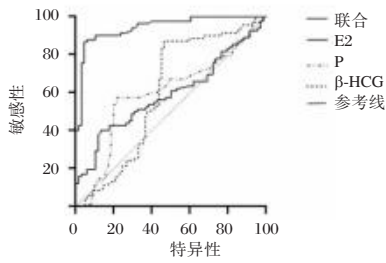


图1 血清E₂、P、β-HCG水平单一及联合检测对母体不良结局的预测价值ROC图

Figure 1 ROC chart of predictive value of single and combined detection of serum E₂, P and β-HCG levels for maternal adverse outcomes

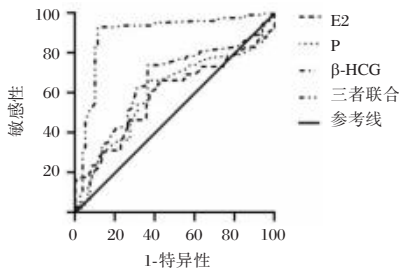


图2 血清E₂、P、β-HCG水平单一及联合检测对胎儿不良结局的预测价值ROC图

Figure 2 ROC chart of predictive value of single and combined detection of serum E₂, P, and β-HCG levels for fetal adverse outcomes

3 讨论

双胎妊娠是一种高危妊娠类型,与单胎妊娠相比,其早产、流产、围产期新生儿死亡等不良婴儿结局发生率均较高,且孕妇发生妊娠期合并症的风险明显升高。双胎妊娠不良母婴结局的诱因较多,以双胎导致的宫腔内压力升高诱发胎膜早破为主要诱因,同时亦可受到诸多其他诱因的影响,其中以孕妇内分泌激素水平异常最为常见^[8-9]。本次研究结果表明,双胎妊娠孕妇孕中期血清β-HCG、E₂、P水平均明显高于单胎妊娠孕妇。分析原因:孕妇血清内β-HCG主要来源于胎盘细胞,双胎妊娠孕妇存在两个胎盘,单胎妊娠孕妇则仅存在一个胎盘,因此双胎妊娠孕妇的血清β-HCG水平更高^[10-11];血清E₂是在HCG作用下黄体转变过程中合成的妊娠黄体,因此E₂的表达水平随β-HCG水平的升高而升高^[12];P主要经胎盘组织持续分泌,双胎妊娠孕妇在存在双胎盘的情况下其血清P水平明显升高^[13]。通过进一步对比发现,母体及胎儿正常亚组孕妇的血清β-HCG、E₂、P水平维持在较高水平,而母体不良结局与胎儿不

良结局孕妇血清β-HCG、E₂、P水平均出现明显下降。血清β-HCG水平具有维持胎盘正常发育的作用,随着孕妇孕周的延长,滋养叶细胞的数量出现逐渐增多,β-HCG水平也逐渐上升,并于妊娠8~10周时达到峰值,于峰值水平维持约1~2周后开始快速降低,随后维持在高于非妊娠期的水平至分娩。双胎妊娠进入孕中期时所需的β-HCG较单胎妊娠更高,如β-HCG分泌不足,则会导致胎盘功能出现异常减弱,难以保障胚胎生长发育的需要,从而出现流产、胎儿宫内死亡等不良结局。双胎妊娠至孕中期时易出现E₂分泌不足,此时难以维持妊娠状态,易导致流产的发生。血清P能够拮抗双胎导致的子宫过度膨胀,且可对子宫平滑肌的兴奋度形成抑制,削减缩宫素的敏感度,从而抑制子宫收缩,促进胎儿的正常生长发育。双胎妊娠对P需要更高,如分泌不足则可致正常妊娠过程难以维系,发生流产等不良结局。通过相关性分析可知,母体不良结局、胎儿不良结局与孕妇孕中期血清β-HCG、E₂、P水平具有较高负相关性,双胎妊娠母婴不良结局风险随着孕妇血清E₂、P、β-HCG水平的异常降低而增大。既往有学者提出,血清E₂、P、β-HCG均对单胎妊娠母体不良结局有一定预测价值^[14]。本次研究进一步分析显示,孕中期血清E₂、P、β-HCG三者联合预测母体、胎儿不良结局的AUC,均高于血清E₂、P、β-HCG单项检测,提示三者联合检测可提高双胎妊娠不良结局预测价值。结合以往报道^[15],分析原因在于:双胎妊娠对母体的刺激较强,胎儿受营养供应有限,导致生长发育受到显著限制,母体和胎儿的状态均相对不佳,血清E₂、P、β-HCG水平处于异常状态,三者联合检测可提高双胎妊娠不良结局的灵敏度与特异度。

综上所述,双胎妊娠需要更高的孕妇血清E₂、P、β-HCG水平维持正常妊娠过程,如孕中期时孕妇E₂、P、β-HCG分泌不足则易诱发母婴不良结局。双胎妊娠母婴不良结局风险随着孕妇血清E₂、P、β-HCG水平的异常降低而增大,三者联合可提高预测母体和胎儿不良结局的概率。临床需及时调控血清E₂、P、β-HCG水平,降低母婴不良结局的发生风险。

参考文献

[1] 徐恒,卢佳萍,戴希望. 双胎妊娠孕妇孕中期血清β-HCG, E₂和P水平检测及对不良妊娠结局的预测作用[J]. 中国性科学, 2020, 29(10): 60-64. (下转第2096页)

内侧开放楔形胫骨高位截骨术治疗膝关节内翻畸形患者的效果及对血清Cor、ACTH及MDA水平的影响

何维栋¹ 李洪娥² 张建¹ 颜宸¹ 董跃福¹ 刘建^{1*}

[摘要] **目的** 分析内侧开放楔形胫骨高位截骨术(OWHTO)治疗膝关节内翻畸形患者的效果及对血清皮质醇(Cor)、促肾上腺皮质激素(ACTH)及丙二醛(MDA)水平的影响。**方法** 选取2021年1月至2022年12月连云港市第一人民医院收治的膝关节内翻畸形患者133例,根据手术选择方案的不同分为人工全膝关节置换(TKA)组64例及OWHTO组69例。对比两组手术指标、膝关节活动度、视觉模拟评分表(VAS)、膝关节量表(HSS)、血清Cor、ACTH及MDA水平、下肢力线。**结果** OWHTO组手术时间、切口长度及术后住院时间均显著短于TKA组,术中失血量少于TKA组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组术后3个月ROM均升高,且OWHTO组术后1个月ROM高于TKA组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组术后1个月及3个月VAS评分较术前降低,HSS评分较术前上升,且OWHTO组术后1个月VAS评分低于TKA组,HSS评分高于TKA组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组术后3d及7d血清Cor、ACTH及MDA水平均先上升后降低,且OWHTO组术后3d及7d血清Cor、ACTH及MDA水平低于TKA组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组术后3个月FTA较术前降低,HKA较术前升高($P<0.05$);两组组间术前1d、术后3个月FTA、HKA比较差异无统计学意义($P>0.05$)。OWHTO组并发症总发生率低于TKA组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** TKA、OWHTO治疗膝关节内翻畸形均可获取良好的下肢力线,均可有效促进膝关节恢复,后者切口更小、失血量更少,从安全性、应激反应等方面考虑,为了保障治疗的持续性,临床应尽量采用OWHTO术治疗膝关节内翻畸形。

[关键词] 内侧开放楔形胫骨高位截骨术; 膝关节内翻畸形; 皮质醇; 促肾上腺皮质激素; 丙二醛

Effect of medial open wedge high tibial osteotomy on patients with varus of knee joint and its influence on serum levels of Cor, ACTH and MDA

HE Weidong¹, LI Hong'e², ZHANG Jian¹, YAN Chen¹, DONG Yuefu¹, LIU Jian^{1*}

(1. Department of Joint Surgery, Lianyungang First People's Hospital, Lianyungang, Jiangsu, China, 222000;

2. Department of Ultrasound, Lianyungang First People's Hospital, Lianyungang, Jiangsu, China, 222000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of medial open wedge high tibial osteotomy (OWHTO) treatment on serum cortisol (Cor), adrenocorticotropin (ACTH) and malondialdehyde (MDA) levels in patients with varus knee joint. **Methods** 133 patients with knee varus malformations admitted to Lianyungang First People's Hospital from January 2021 to December 2022 were selected and were divided into the total knee arthroplasty (TKA) group of 64 cases and the OWHTO group of 69 cases according to different surgical options. The surgical indexes, knee range of motion, visual analogue scale (VAS), American hospital for special surgery knee score (HSS), serum Cor, ACTH and MDA levels, and lower limb force line were compared between the two groups. **Results** The operation time, duration of hospital stay and incision length in the OWHTO group were significantly shorter than those in the TKA group, and the intraoperative blood loss was less than that in the TKA group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). 3 months after surgery, the

基金项目:连云港市卫生科技项目(202101)

作者单位:1.连云港市第一人民医院关节外科,江苏,连云港 222000

2.连云港市第一人民医院超声科,江苏,连云港 222000

*通信作者:刘建, E-mail:ljmlfz@163.com

ROM of the two groups were increased, and the ROM of the OWHTO group was higher than that of the TKA group at 1 month after operation, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The VAS scores of 1 month and 3 months after surgery decreased compared with that before surgery, while the HSS scores were increased compared with that before surgery. The VAS score in the OWHTO group was lower than that in the TKA group, the HSS score of the OWHTO group was higher than that in the TKA group 1 month after surgery, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Serum Cor, ACTH, and MDA levels in the two groups increased first and then decreased at 3 and 7 days after surgery, and serum Cor, ACTH and MDA levels in the OWHTO group were lower than those in the TKA group at 3 and 7 days after surgery, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in FTA and HKA between the two groups 1 day before surgery and 3 months after surgery ($P<0.05$). The total incidence of complications in the OWHTO group was lower than that in the TKA group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Both TKA and OWHTO can obtain good lower limb force line in the treatment of knee varus deformity, which all can effectively promote knee joint recovery, but the latter has smaller incision and less blood loss. From the aspects of safety and stress response, OWHTO should be used to treat varus deformity of knee joint as far as possible to ensure the continuity of treatment.

[KEY WORDS] OWHTO; Varus deformity of knee joint; Cortisol; ACTH; MDA

膝内翻畸形通常见于终末期关节疾病患者,常常伴有严重的疼痛、膝关节功能受限、行走困难等临床表现。膝关节内翻畸形主要治疗方案以手术治疗为主,既往临床常采用人工全膝关节置换(Total knee arthroplasty, TKA)进行治疗,该术可帮助膝关节功能恢复至正常水平,但手术方案较为复杂,如重建下肢力线、实现内外侧软组织平衡、处理可能存在的骨缺损等,上述问题的处理对手术操作者具有较高的技能要求^[1]。近年来,随着手术技术与内植物性能的大大提高,内侧开放楔形胫骨高位截骨术(open-wedge high tibial osteotomy, OWHTO)已成为一项成熟的技术手段,其具有无需腓骨截骨、对假体周围骨折小等优点,在临床被广泛应用^[2-3]。有报道称,TKA可一次性解决膝关节的全部病变风险,改善关节内翻畸形的临床症状^[4]。亦有学者指出,TKA存在假体松动和磨损的风险,OWHTO恰好可避免上述并发症,改善膝关节内翻畸形患者的临床症状^[5]。本文旨在对比TKA、OWHTO治疗膝关节内翻畸形患者的效果及对血清皮质醇(Cortisol, Cor)、促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotrophic hormone, ACTH)及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)水平的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2022年12月连云港市第一人民医院收治的膝关节内翻畸形患者133例,根据手术选择方案的不同分为TKA组64例及

OWHTO组69例。纳入标准:①经X线片确诊为膝关节内翻畸形,且符合《骨关节炎诊治指南》^[6];②临床资料齐全;③生命体征平稳;④膝关节内翻畸形 $\leq 20^\circ$,膝关节活动度 $>90^\circ$,屈曲挛缩畸形 $\leq 15^\circ$ 。排除标准:①伴有严重心脑血管疾病;②入院前3个月内服用非类固醇类药物、类固醇类药物;③肝肾功能不全者。

其中TKA组男37例,女27例,平均年龄(66.28 ± 10.72)岁,体质量指数平均(23.88 ± 4.03) kg/m^2 ,平均病程(8.62 ± 4.15)个月。OWHTO组男40例,女29例,平均年龄(67.54 ± 10.86)岁,平均体质量指数(23.24 ± 3.87) kg/m^2 ,平均病程(9.23 ± 4.34)个月。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究已通过院伦理委员会审批,受试者或家属已签署《知情同意书》。

1.2 方法

TKA组采用TKA术进行,手术具体步骤见文献^[7]。

OWHTO组采用OWHTO术进行,手术具体步骤见文献^[8]。

1.3 观察指标

1.3.1 两组手术指标比较

主要包含手术时间、切口长度、术中失血量、术后住院时间。

1.3.2 两组膝关节活动度比较

术前1d、术后1个月及术后3个月分别测定膝关节活动度(Range of motion, ROM),患者放松状态,使关节处于中立位,动用量角器或者尺子测

量关节活动的范围,伸直状态是中立位 0° ,测量屈膝时的度数,ROM越高越好^[8]。

1.3.3 两组VAS、HSS评分比较

术前1 d、术后1个月及术后3个月分别评估患者疼痛程度、膝关节恢复情况。疼痛程度应用视觉模拟评分表(Visual analogue rating sheet, VAS)^[9],总分10分,分值越高,则代表疼痛程度越严重。膝关节恢复情况应用膝关节量表(Hospital of Special Surgery, HSS)^[10],分为4个部分,包括疼痛(30分)、膝关节功能(22分)、活动度(18分)、肌力(10分)、屈曲畸形(10分、稳定性(10分),总分100分;分值越高,则代表膝关节功能越好。

1.3.4 两组应激指标比较

术前1 d、术后3 d、7 d分别抽取患者晨起静脉血4 mL,进行离心(3 500 r/min, 15 min,离心半径8 cm),分离血清,采用酶联免疫吸附法检测血清皮质醇(Cortisol, Cor)、促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotrophic hormone, ACTH)及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)水平,试剂盒均来自上海宾穗生物科技有限公司。

1.3.5 两组下肢力线比较

术前1 d及术后3个月采用下肢全长X线片检测骨胫角(femoral tibial angle, FTA)、髌-膝-踝角(Hip-knee-ankle Angle, HKA)^[8]。

1.3.6 两组并发症比较

并发症包括切口感染、血管损伤、假体周围骨折等。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 手术指标

OWHTO组手术时间、切口长度及术后住院时

间均显著短于TKA组,术中失血量少于TKA组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组手术指标比较 $(\bar{x} \pm s)$

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

组别	<i>n</i>	手术时间 (min)	切口长度 (cm)	术中失血量 (mL)	术后住院时间 (d)
TKA组	64	98.33±15.72	11.77±4.26	458.64±43.71	8.24±3.05
OWHTO组	69	81.08±10.83	5.93±1.55	362.81±35.69	5.43±2.41
<i>t</i> 值		7.414	10.655	13.891	5.916
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 膝关节活动度

两组术后3个月ROM均升高,且OWHTO组术后1个月ROM高于TKA组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组术前1 d及术后3个月ROM比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 两组术前后ROM比较 $[(\bar{x} \pm s), ^{\circ}]$

Table 2 Comparison of ROM before and after surgery between the two groups $[(\bar{x} \pm s), ^{\circ}]$

组别	<i>n</i>	术前1 d	术后1个月	术后3个月
TKA组	64	33.15±4.52	61.08±6.82 ^a	105.33±10.42 ^{ab}
OWHTO组	69	32.57±4.36	78.62±8.63 ^a	106.94±10.68 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.753	12.937	0.878
<i>P</i> 值		0.452	<0.001	0.381

注:同组间与术前1 d比较,^a $P < 0.05$;与术后1个月,^b $P < 0.05$ 。

2.3 VAS、HSS评分

两组术后1个月及3个月VAS评分较术前降低,HSS评分较术前上升,且OWHTO组术后1个月VAS评分低于TKA组,HSS评分高于TKA组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 应激指标

两组术后3 d及7 d血清Cor、ACTH及MDA水平均先上升后降低,且OWHTO组术后3 d及7 d血清Cor、ACTH及MDA水平低于TKA组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.5 下肢力线

两组术后3个月FTA较术前降低,HKA较术

表3 两组术前后VAS、HSS评分比较 $[(\bar{x} \pm s), \text{分}]$

Table 3 Comparison of VAS and HSS scores between the two groups before and after surgery $[(\bar{x} \pm s), \text{score}]$

组别	<i>n</i>	VAS评分			HSS评分		
		术前1 d	术后1个月	术后3个月	术前1 d	术后1个月	术后3个月
TKA组	64	6.22±3.27	3.75±1.86 ^a	1.56±0.84 ^{ab}	42.83±6.83	63.44±8.63 ^a	84.63±13.55 ^{ab}
OWHTO组	69	6.00±3.14	2.36±1.39 ^a	1.34±0.77 ^{ab}	41.88±6.67	75.11±10.58 ^a	85.94±13.87 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.395	4.904	1.575	0.811	6.938	0.550
<i>P</i> 值		0.692	<0.001	0.117	0.418	<0.001	0.583

注:同组间与术前1 d比较,^a $P < 0.05$;与术后1个月,^b $P < 0.05$ 。

表4 两组术前后血清Cor、ACTH及MDA水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum Cor, ACTH and MDA levels between the two groups before and after surgery ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cor(ng/mL)			ACTH(pmol/L)			MDA(nmol/L)		
		术前1 d	术后3 d	术后7 d	术前1 d	术后3 d	术后7 d	术前1 d	术后3 d	术后7 d
TKA组	64	193.52±56.88	368.45±72.75 ^a	296.33±61.25 ^{ab}	13.52±3.42	29.68±7.33 ^a	23.68±5.68 ^{ab}	3.58±1.05	12.86±4.88 ^a	9.86±3.42 ^{ab}
OWHTO组	69	194.62±56.97	287.04±67.63 ^a	243.68±60.16 ^{ab}	12.86±3.37	22.41±5.86 ^a	16.39±4.52 ^{ab}	3.78±1.15	10.13±4.28 ^a	6.44±2.68 ^{ab}
t值		0.111	6.688	4.999	1.120	6.339	8.219	1.044	3.435	6.443
P值		0.911	<0.001	<0.001	0.264	<0.001	0.001	0.298	<0.001	<0.001

注:同组间与术前1 d比较,^aP<0.05;与术后3 d,^bP<0.05。

前升高(P<0.05);两组组间术前1 d、术后3个月FTA、HKA比较差异无统计学意义(P>0.05)。见表5。

表5 两组下肢力线比较 [$(\bar{x} \pm s), ^\circ$]

Table 5 Comparison of lower limb force lines between the two groups [$(\bar{x} \pm s), ^\circ$]

组别	n	FTA		HKA	
		术前1 d	术后3个月	术前1 d	术后3个月
TKA组	64	184.26±10.55	174.55±8.75 ^a	171.25±10.23	185.96±8.68 ^a
OWHTO组	69	183.53±10.37	173.11±8.66 ^a	169.93±10.07	184.63±8.57 ^a
t值		0.402	0.953	0.749	0.888
P值		0.688	0.342	0.454	0.375

注:同组间与术前1 d比较,^aP<0.05。

2.6 并发症

OWHTO组并发症总发生率低于TKA组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表6。

表6 两组并发症发生比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of complications between the two groups

组别	n	[n(%)]			
		切口	血管损伤	假体周围骨折	总发生率
TKA组	64	4(6.25)	2(3.12)	3(4.69)	9(14.06)
OWHTO组	69	2(2.89)	0(0.00)	0(0.00)	2(2.89)
χ^2 值					5.454
P值					0.019

3 讨论

膝关节内翻畸形的首选治疗手段为手术治疗,既往临床常选用TKA治疗各种类型终末期膝关节内病变,其可有效矫正内外翻、屈曲痉挛、屈曲强直等膝关节畸形,缓解患者疼痛,进而促进膝关节功能恢复,但是该术存在创伤大、术后恢复慢等弊端,同时部分患者术后出现感染、假体周围骨折等并发症风险较高,对患者手术疗效及康复有一定影响。OWHTO具有创伤小、切口小、操作简单等优点,可精准矫正冠状面及矢状面的下肢力线,最大限度保留更多胫骨近端骨量。近年国内外诸多文献报道

显示,OWHTO在膝关节内翻畸形患者中具有良好的应用效果^[11-12]。本次研究结果提示膝关节内翻畸形患者应用OWHTO治疗术后膝关节恢复更快,但随着治疗时间的增长,TKA、OWHTO治疗均可获得良好的下肢力线,且促进术后膝关节恢复。TKA手术通过切除膝关节病变、磨损、增生的软骨及骨赘,且术中对内侧软组织进行松解平衡,可获取良好的ROM,使膝关节术后能获得较高的稳定性,后续再安装股骨假体、胫骨假体来替代磨损的关节软骨,最终促进膝关节恢复^[13]。OWHTO则是通过胫骨高位截骨、矫正膝关节轴线等操作增加了关节稳定性,最大程度保留了膝关节,有效改善了关节活动度;同时OWHTO亦可清除膝关节中赘生物等,减少并发症发生率,进而促使膝关节恢复^[14]。

李国鲁等通过对比TKA、OWHTO治疗膝关节内翻畸形,发现两者疗效相当,且后者创伤更小^[15]。本研究结果显示,OWHTO组手术时间、切口长度及术后住院时间均显著短于TKA组,且OWHTO组术中失血量少于TKA组,说明OWHTO术创伤更小,术后恢复更快。Cor是肾上腺所分泌的皮质激素,ACTH是一类脑垂前叶分泌的激素,两者均能反映手术应激状态;MDA作为脂质过氧化反应的主要产物,其水平可反映机体内脂质过氧化程度^[16]。本研究说明TKA、OWHTO治疗膝关节内翻畸形均出现一定应激反应,但后者应激反应更小。推断原因在于TKA切口较大,在术野暴露过程中,更易损伤四周肌肉组织,而OWHTO切口小,在手术过程中对于患侧病变四周组织切除、牵拉较少。

综上所述,TKA、OWHTO治疗膝关节内翻畸形均可获取良好的下肢力线,均可有效促进膝关节恢复,后者切口更小、失血量更少,从安全性、应激反应等方面考虑,为了保障治疗的持续性,临床应尽量采用OWHTO术治疗膝关节内翻畸形。

参考文献

- [1] 李立,李一凡,符东林,等.内侧开放楔形胫骨高位截骨术治疗膝关节内侧间室骨关节炎伴内翻畸形的短期疗效[J].国际骨科学杂志,2022,43(1):60-64.
- [2] 李格,崔中锋.IL-6、NE-CPD联合皮肤温度变化对膝关节置换术后早期感染的预测价值[J].保健医学研究与实践,2023,20(2):33-38.
- [3] 刘立军,甘经岳,卢立军.全膝关节置换术对晚期KOA患者IL-1 β 、SOD及TGF- β 1水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(1):120-123.
- [4] 刘国强,潘浩,王青田,等.关节镜联合内侧开放楔形胫骨高位截骨术后的步态分析[J].实用手外科杂志,2021,35(2):166-169+172.
- [5] 陈浩,刘铎,孙光权,等.胫骨外侧闭合截骨术治疗膝内翻1例并文献回顾[J].中国临床研究,2022,35(2):259-263.
- [6] 中华医学会骨科学分会.骨关节炎诊治指南(2007年版)[J].中华骨科杂志,2007,27(10):793-796.
- [7] 胡静文,武圣超,王上增.全膝关节置换联合内上髁滑移截骨术治疗严重膝内翻畸形的加速康复策略[J].中国骨与关节损伤杂志,2022,37(2):201-203.
- [8] 董跃福,宋群山,徐祥钧,等.全膝关节置换术中Pie-crusting技术治疗膝骨关节炎内翻畸形的临床研究[J].中国医药导报,2022,19(6):85-88.
- [9] 曹卉娟,邢建民,刘建平.视觉模拟评分法在症状类结局评价测量中的应用[J].中医杂志,2009,50(7):600-602.
- [10] 陈安基,高建新,龙志忠,等.碳酸氢钠预处理对膝关节置换手术中中止血带后的血流动力学的影响[J].转化医学杂志,2021,10(5):307-309+286.
- [11] Belsey J, Yaseen SK, Jobson S, et al. Return to Physical Activity After High Tibial Osteotomy or Unicompartmental Knee Arthroplasty: A Systematic Review and Pooling Data Analysis[J]. Am J Sports Med, 2021, 49(5): 1372-1380.
- [12] 马根成,杨自立,刘旭.开放楔形胫骨高位截骨术治疗膝关节内侧间室骨性关节炎对髌骨参数及关节功能的影响[J].临床误诊误治,2022,35(1):62-66.
- [13] 杨璐,李玲利,徐彬,等.全膝关节置换术围手术期应用地塞米松缓解术后疲乏的临床研究[J].四川大学学报(医学版),2018,49(2):312-314.
- [14] 齐欣,徐永清,夏桑,等.最小化内固定结合Ilizarov技术在胫骨平台骨折术后膝关节内翻畸形中的应用[J].创伤外科杂志,2021,23(2):114-119.
- [15] 李国鲁,赵红波,张俊松,等.内侧开放楔形胫骨高位截骨术治疗膝关节内翻畸形的疗效及对术后下肢力线和创伤应激的影响[J].现代生物医学进展,2023,23(2):345-349.
- [16] Goshima K, Sawaguchi T, Shigemoto K, et al. Open-wedge high tibial osteotomy for spontaneous osteonecrosis of the medial tibial plateau shows excellent clinical outcomes [J]. J Exp Orthop, 2020, 7(1): 14.
-
- (上接第2091页)
- [2] 周玉华,凌奕,胡春霞,等.双胎妊娠合并胎膜早破组织学绒毛膜羊膜炎的早期实验室筛查方法[J].中华医院感染学杂志,2021,31(16):2507-2511.
- [3] Harrington P, Nelson-Piercy C, Williamson C, et al. Refractory severe immune thrombocytopenia in a twin pregnancy [J]. Obstet Med, 2018, 11(1): 35-38.
- [4] Shi Y, Liu M, Long X, et al. Effect of abnormal GpG methylation in the second trimester of pregnancy on adverse health risk of offspring [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(4): 2875-2880.
- [5] Chen Y, Liu Y, Zhang Y, et al. Gestational Weight Gain per Pre-Pregnancy Body Mass Index and Birth Weight in Twin Pregnancies: A Cohort Study in Wuhan, China [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 12496-12496.
- [6] Mohammadi H, Papp E, Cahill L, et al. HIV antiretroviral exposure in pregnancy induces detrimental placenta vascular changes that are rescued by progesterone supplementation [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 6552-6552.
- [7] Kamath MS, Antonisamy B, Selliah HY, et al. Perinatal outcomes of singleton live births with and without vanishing twin following transfer of multiple embryos: analysis of 113 784 singleton live births [J]. Hum Reprod, 2018, 33(11): 2018-2022.
- [8] Hoffman M, Habli M, Donepudi R, et al. Perinatal outcomes of single fetal survivor after fetal intervention for complicated monochorionic twins [J]. Prenat Diagn, 2018, 38(7): 511-516.
- [9] Xiao Y, Shen M, Ma S, et al. The association between weight gain during pregnancy and intertwin delivery weight discordance using 2011-2015 birth registration data from the USA [J]. Int J Gynaecol Obstet, 2018, 141(3): 371-377.
- [10] 胡樱,姚欣,叶华.结合血清 β -HCG、E2、P及E2/P对391例肾虚型早孕患者妊娠结局的回顾性研究[J].广州中医药大学学报,2020,37(2):243-249.
- [11] 韩娜,方海艳,李洁,等.双胎妊娠孕11~13(+6)w唐氏筛查血清标志物及miR-200c水平与分娩结局的关系探讨[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(5):571-574.
- [12] 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.
- [13] 范丽.探讨孕中期血清甲胎蛋白、游离 β 人绒毛膜促性腺激素联合游离雌三醇(uE₃)对双胎妊娠母体不良妊娠结局的预测[J].中国优生与遗传杂志,2020,28(8):1004-1007.
- [14] Garofalo G, Garofalo A, Sochirca O, et al. Maternal outcomes in first and second trimester termination of pregnancy: which are the risk factors? [J]. J Perinat Med, 2018, 46(4): 373-378.
- [15] 孟晶晶,黄煜,宋黄贝,等.联合检测血清孕酮、雌二醇对早期宫内妊娠结局的预测价值[J].中国计划生育和妇产科,2020,12(5):33-38.

血清肿瘤标记物及 IL-18、VEGF 对大肠息肉复发的预测价值

王宇彤* 王亚晴 贯芳

[摘要] **目的** 探讨血清肿瘤标记物及白介素-18(IL-18)、血管内皮生长因子(VEGF)水平对大肠息肉复发的预测价值。**方法** 选取2018年1月至2021年4月在北京市首都医科大学附属北京世纪坛医院行手术切除术的128例大肠息肉患者作为研究对象。术后对患者进行随访至少2年的随访,根据随访结果分为复发组和未复发组,比较两组相关临床资料及血清癌胚抗原(CEA)、糖类抗原125(CA125)、IL-18、VEGF水平等。采用ROC曲线分析血清肿瘤标记物及IL-18、VEGF对大肠息肉复发的预测价值。**结果** 复发组年龄、息肉直径、血清CEA、CA125、IL-18、VEGF水平均高于未复发组,差异有统计学意义(t/χ^2 值分别为7.134、4.661、10.655、5.454、2.715、8.512, $P<0.01$)。多因素Logistic回归分析显示,年龄、息肉直径、血清CEA、CA125、IL-18、VEGF水平是大肠息肉复发的独立影响因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,年龄、息肉直径、血清CEA、CA125、IL-18及VEGF检测对大肠息肉复发均具有较高的预测价值(均 $P<0.001$),其中联合检测的预测价值最高(AUC=0.991),特异度和敏感度预测明显高于各指标单独检测($P<0.01$)。**结论** 大肠息肉复发的影响因素较多,血清肿瘤标记物及IL-18、VEGF对大肠息肉患者大肠息肉复发具有较高的预测价值。

[关键词] 大肠息肉;复发;血清肿瘤标记物;IL-18;VEGF

Predictive value of serum tumor markers, IL-18 and VEGF for recurrence of colorectal polyps

WANG Yutong*, WANG Yaqing, GUAN Fang

(Department of Gastroenterology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100038)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of serum tumor markers, IL-18 and VEGF in the recurrence of colorectal polyps. **Methods** A total of 128 patients with colorectal polyps who underwent surgical resection in Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University from January 2018 to April 2021 were selected as the study subjects. The patients were followed up for at least 1 year after the operation. According to the follow-up results, they were divided into the recurrence group and the non-recurrence group. The related clinical data and serum carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 125 (CA125), interleukin-18 (IL-18), vascular endothelial growth factor (VEGF) levels were compared between the two groups. The ROC curve was used to analyze the predictive value of serum tumor markers, IL-18 and VEGF for recurrence of colorectal polyps. **Results** The age, polyp diameter, serum CEA, CA125, IL-18 and VEGF levels in the recurrence group were higher than those in the non-recurrence group (The t/χ^2 values were 7.134, 4.661, 10.655, 5.454, 2.715 and 8.512, respectively $P<0.01$). Multivariate Logistic regression analysis showed that age, polyp diameter, serum CEA, CA125, IL-18 and VEGF levels were independent influencing factors of colorectal polyp recurrence ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that age, polyp diameter, serum CEA, CA125, IL-18 and VEGF detection had high predictive value for colorectal polyp recurrence ($P<0.001$), the predictive value

基金项目:首都卫生发展科研专项项目(首发2020-4-2085)

作者单位:首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科,北京100038

*通信作者:王宇彤, E-mail: wangyutong7314@bjsjth.cn

of combined detection was the highest (AUC=0.991), and the specificity and sensitivity prediction were significantly higher than those of individual indicators ($P<0.001$). **Conclusion** There are many factors affecting the recurrence of colorectal polyps. Serum tumor markers, IL-18 and VEGF have high predictive value for the recurrence of colorectal polyps in patients with colorectal polyps.

[KEY WORDS] Colorectal polyps; Recurrence; Serum tumor markers; IL-18; VEGF

大肠息肉主要是大肠黏膜面突出赘生物的疾病,是大肠的良性肿瘤。该病较为隐匿,临床症状多不典型,多表现为腹部不适、胀痛和大便水分过多或过少等^[1]。大肠息肉是癌变前状态,某些大肠息肉尤其是腺瘤性息肉的癌变风险较高,故尽早发现大肠息肉并切除是预防癌变的有效方法。虽然手术可以完整切除息肉,但大肠息肉经手术切除术后复发风险仍然较高,有研究显示,大肠息肉的复发率为50%^[2]。而导致大肠息肉的因素如今仍未十分明确,因此及时地对大肠息肉的患者息肉复发因素进行评估,积极调整其治疗方案,对降低息肉复发率和癌变具有重要意义。肿瘤标记物是肿瘤所产生的或者是宿主对肿瘤反应产生的物质^[3],在肿瘤诊断、肿瘤转移、复发的监测方面均具有重要的临床参考价值,其中癌胚抗原(Carcino-embryonic antigen, CEA)、糖类抗原125(Carbohydrate antigen 125, CA125)是临床上最为常见的肿瘤标记物。白介素-18(Interleukin 18, IL-18)是机体常见的促炎因子,血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)血管内皮功能敏感指标,二者对肿瘤形成及细胞生物学行为均有重要影响^[4-5]。目前,临床上尚无有效预测大肠息肉复发的指标。本研究通过探讨血清肿瘤标记物及IL-18、VEGF对大肠息肉复发的预测价值,以期对早期预测大肠息肉复发提供参考价值。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2021年4月在北京市首都医科大学附属北京世纪坛医院行手术切除术的128例大肠息肉患者作为研究对象。纳入标准:①符合《消化内科疾病诊疗指南》^[6]中大肠息肉的诊断标准,且经病理学检测及肠镜检查证实为腺瘤性息肉;②均于本院行手术切除治疗;③术后自愿接受定期随访;④每次检查均为全结肠镜检查,临床资料完整;⑤均知情同意本研究。排除标准:①伴全身感染,血液疾病及恶性肿;②家族性息肉

病及其他病理类型息肉;③溃疡性结肠炎、克罗恩病;④严重心肺疾病;⑤妊娠、哺乳期妇女;⑥精神障碍疾病。本研究经伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

采用医院自行设计的一般资料收集表收集患者一般资料,具体包括性别、年龄、身体质量指数、烟酒嗜好、息肉数目、息肉直径、合并症(高血压、糖尿病、高血脂)、家族史、息肉部位(盲肠、升结肠、横结肠、降结肠、乙状结肠、直肠)、病理特征(炎性息肉、增生性息肉、腺瘤性息肉、局灶癌变息肉、锯齿状腺瘤)。

1.2.3 实验室指标检测

于患者入院次日清晨抽取静脉血5 mL,采用离心半径为10 cm的离心机,以离心速度3 000 r/min,离心10 min,去上层血清,冷藏备用。采用全自动化学发光免疫分析仪检测血清CEA、CA125水平,CEA试剂盒由贝克曼库尔特公司提供,CA125上海恒斐生物科技有限公司提供。采用酶联免疫吸附法检测血清IL-18水平,试剂盒由上海源叶生物科技有限公司提供。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测VEGF水平,试剂盒由杰辉生物(北京)科技发展有限公司提供。

1.2.4 随访与分组

术后通过电话和门诊复查等方式对患者进行随访至少2年的随访,随访时间截止至2023年4月31日。记录随访期间患者复发情况,即患者经治疗后并明确上一次手术切除时已将所有息肉切除,其后进行肠镜检查发现大肠息肉。通过随访,患者2年内息肉复发49例,未复发79例。

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,两组间比较行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,两组间比较采用 χ^2 检验。多因素Logistic回归分析大肠息肉患者息肉复发的独立影响因素;采用ROC曲线分析血清肿瘤标记物及IL-18、VEGF对大肠息肉复发的预测价值。以 $P<0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基本情况及相关实验室指标比较

两组性别、吸烟、饮酒、体质数、息肉数目、合并症、家族史、息肉部位比较,差异无统计学意义($P>0.05$);复发组年龄、息肉直径、血清 CEA、CA125、IL-18、VEGF 水平均高于未复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者基本情况及相关实验室指标比较
[n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

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

指标	复发组 (n=49)	未复发组 (n=79)	t/χ^2 值	P值
性别			1.411	0.234
男	22(44.90)	44(55.70)		
女	27(55.10)	35(44.30)		
年龄	55.33±6.12	46.59±7.09	7.134	<0.001
BIM(kg/m ²)	24.31±2.36	24.75±2.81	0.913	0.362
吸烟史			0.103	0.748
有	25(51.02)	38(48.10)		
无	24(48.98)	41(51.90)		
饮酒史			0.196	0.658
有	18(36.73)	26(32.81)		
无	31(63.26)	53(67.09)		
息肉数目(个)			0.102	0.950
1	19(38.77)	32(40.51)		
2	17(34.69)	28(35.44)		
≥3	13(26.54)	19(24.05)		
息肉直径(mm)	12.15±3.19	9.58±2.93	4.661	<0.001
合并症			0.325	0.568
有	12(24.48)	23(29.12)		
无	37(75.52)	56(70.88)		
家族史			0.099	0.752
有	13(26.53)	19(24.05)		
无	36(73.47)	60(75.95)		
息肉部位			6.118	0.294
盲肠	13(26.53)	10(12.66)		
升结肠	4(8.16)	12(15.19)		
横结肠	12(24.49)	17(21.52)		
降结肠	5(10.20)	15(18.99)		
乙状结肠	9(18.37)	16(20.25)		
直肠	6(12.25)	9(11.39)		
CEA (ng/mL)	3.07±0.96	1.77±0.40	10.655	<0.001
CA125 (U/mL)	16.75±5.18	12.62±3.39	5.454	<0.001
IL-18 (ng/L)	0.41±0.15	0.35±0.10	2.715	0.007
VEGF (ng/L)	146.39±8.61	133.47±8.18	8.512	<0.001

2.2 大肠息肉复发的多因素 Logistic 回归分析

以大肠息肉患者是否息肉复发作为因变量(复发=0,未复发=1),以年龄、息肉直径、CEA、

CA125、IL-18、VEGF 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,年龄越大,息肉直径越长,血清 CEA、CA125、IL-18、VEGF 水平升高是大肠息肉复发的独立影响因素($P<0.05$)。见表 2。

表 2 大肠息肉复发的多因素 Logistic 回归分析
Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of recurrence of colorectal polyps

因素	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR(95%CI)	P值
年龄	0.586	0.224	6.843	1.796(1.158~2.787)	0.008
息肉直径(mm)	0.279	0.131	4.535	1.321(1.022~1.708)	0.033
CEA (ng/mL)	0.182	0.063	8.345	1.199(1.060~1.357)	0.003
CA125 (U/mL)	0.895	0.441	4.118	2.447(1.031~5.808)	0.042
IL-18 (ng/L)	0.710	0.310	5.245	2.033(1.107~3.734)	0.022
VEGF (ng/L)	0.892	0.448	3.964	2.440(1.014~5.871)	0.046

2.3 血清肿瘤标记物及 IL-18、VEGF 对大肠息肉复发的预测价值

ROC 曲线分析显示,血清肿瘤标记物及 IL-18、VEGF 单独和联合检测对大肠息肉复发均具有较高的预测价值(均 $P<0.001$),其中联合检测的预测价值最高,AUC 为 0.991,特异度和敏感度预测明显高于各指标单独检测($P<0.001$)。见表 3。

表 3 血清肿瘤标记物及 IL-18、VEGF 对大肠息肉复发的预测价值

Table 3 Predictive value of serum tumor markers, IL-18 and VEGF for recurrence of colorectal polyps

检验结果变量	截断值	AUC	敏感度	特异度	P值
年龄	54.40	0.887	0.980	0.899	<0.001
息肉直径	10.95	0.737	0.735	0.684	<0.001
CEA (ng/ml)	2.15	0.909	0.878	0.861	<0.001
CA125 (U/ml)	16.55	0.738	0.571	0.861	<0.001
IL-18 (ng/L)	0.35	0.621	0.673	0.519	0.021
VEGF (ng/L)	144.80	0.864	0.612	0.962	<0.001
联合检测		0.991	0.980	0.962	<0.001

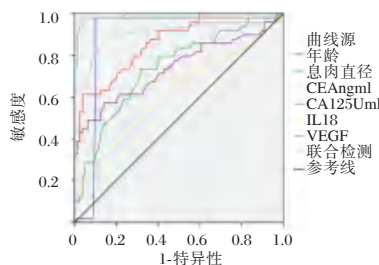


图 1 血清肿瘤标记物及 IL-18、VEGF 对大肠息肉复发的 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis of serum tumor markers, IL-18 and VEGF on recurrence of colorectal polyps

3 讨论

近年来,大肠息肉的发病率呈增长趋势,大肠息肉是大肠癌早期能够被监测到的始发事件,绝大部分的大肠癌都是由大肠息肉发展而来^[7]。大肠息肉并无明显的临床特征,如果息肉发生恶化,很有可能在短时间内进展为大肠癌,因此,一旦发现大肠息肉的存在要尽早进行治疗。但大肠息肉术后较高的复发率严重影响患者生活质量,促使临床研究中不断地寻找和分析影响大肠息肉复发的独立影响因素,从而能为不同复发风险的大肠息肉患者制定针对性的治疗方案,这也是预防大肠息肉复发是降低息肉恶化为大肠癌的有效途径。

本次研究发现,在年龄越大、息肉直径越长及血清CEA、CA125、IL-18及VEGF水平越高是大肠息肉复发的独立影响因素。大肠息肉在各年龄段均有可能发病,随着年龄的增加,大肠息肉的发病率也随之增加。伴随着年龄的增长,结直肠息肉引起的结直肠癌发病率增加^[8]。老年人群肠道机能减退,容易发生便秘、睡眠不足等症状,影响脑肠轴正常功能,这些原因会对大肠粘膜进行间接刺激,促使大肠粘膜细胞生长速度要比大肠息肉凋亡速度快,导致大肠发病率提高,与此同时,也会提高腺瘤性息肉检出率以及切除术后的复发率。息肉直径越长,癌变风险越高。程婷婷^[9]研究发现,直径<10 mm的息肉,癌变风险相对较低,直径>20 mm的息肉,癌变风险约为15%~50%,直径>30 mm的息肉属于巨大息肉,癌变风险高达90%。息肉直径>1 cm可能会促使正常黏膜增长速度加快,容易导致大肠息肉更易复发。且<1 cm的息肉病灶完整切除率较高,病灶残留风险相对较低。

CEA和CA125是目前公认的大肠肿瘤标记物,同时也是评价肿瘤患者病情特征的重要参考指标^[10]。CEA在内胚叶起源的消化系统肿瘤中广泛存在,同时在正常胚胎的消化管组织以及正常健康人群的血清中也可有存在。CA125则在间皮组织的细胞表明广泛存在。CEA、CA125在一定程度上可以反映肿瘤的发生发展,在在恶性肿瘤、良性肿瘤和癌前病变组织中呈高表达,其中大肠肉属于良性病变,也存在着恶变的可能。符娇文等^[11]研究发现,结直肠息肉患者经治疗后,患者CEA、CA125均有所降低。本次研究也显示,未复发组患者血清CEA、CA125低于复发组,由此推测,大肠息肉患者

血清水平相对较高,监测二者水平变化有助于评估息肉复发情况。大肠腺瘤性息肉是大肠息肉中的一种,贺芝兰等^[12]研究结果显示,腺瘤性息肉患者血清及肠息肉组织中IL-18表达显著高于健康者和非腺瘤息肉患者。IL-18是一种新的促炎因子,能够激活淋巴细胞分泌干扰素- γ ,进而发挥免疫调节、抗肿瘤等生物活性,IL-18水平增加会导致多种炎症性疾病的发生。有研究显示,结直肠息肉患者的肠粘膜存在慢性炎症,慢性炎症的刺激是导致大肠息肉发生的重要原因^[13]。VEGF是一种血管生成刺激因子,可加速细胞外基质的降解,及血管内皮细胞的增殖和迁移。VEGF水平升高会导致大肠息肉患者术后结直肠黏连的发生风险升高。郑明传等^[14]研究显示,经治疗后,结直肠息肉患者血清VEGF水平有所下降。本次研究结果提示,复发组患者血清VEGF水平相对较高。推测,在大肠息肉患者中,血清VEGF水平相对较高。将年龄、息肉直径及血清CEA、CA125、IL-18及VEGF水平利用ROC曲线预测发现,上述指标联合检测的曲下面积为0.991,提示这上述指标联合检测对大肠息肉复发有较好预测意义。

综上所述,大肠息肉复发患者血清肿瘤标记物及IL-18、VEGF水平较高,年龄、息肉直径和上述血清指标是大肠息肉复发的影响因素,联合检测对大肠息肉患者大肠息肉复发具有较高的预测价值,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 吴震宇,张声生. 大肠息肉患者442例病证分布特点及相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(10): 5962-5966.
- [2] Hao Y, Wang Y, Qi M, et al. Risk Factors for Recurrent-Colorectal Polyps[J]. Gut Liver, 2020, 14(4): 399-411.
- [3] Bayo Calero J, Castaño López MA, Casado Monge PG, et al. Analysis of blood markers for early colorectal cancer diagnosis[J]. J Gastrointest Oncol, 2022, 13(5): 2259-2268.
- [4] 关玉峰,贺丽荣,王浩志. IL-18对BALBc小鼠结直肠癌肝转移模型PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达水平的影响[J]. 解剖学研究, 2021, 43(2): 128-132.
- [5] 童小梅. 冷圈套器息肉切除术、热圈套器息肉切除术与内镜下黏膜切除术对结直肠小息肉完整切除率与出血率的影响对比[J]. 中国医疗器械信息, 2023, 29(7): 119-121.
- [6] 张允历. 消化内科疾病诊疗指南[S]. 北京: 学苑出版社, 2008.
- [7] Sullivan BA, Noujaim M, Roper J. Cause, Epidemiology, and Histology of Polyps and Pathways to Colorectal Cancer[J]. Gastrointest Endosc Clin N Am, 2022, 32(2): 177-194.

河源地区 *MTHFR* 及 *MTRR* 基因位点多态性与妊娠期高血压疾病的关系

谢利英^{1*} 熊爱群¹ 陈贻继²

[摘要] **目的** 分析广东河源地区叶酸代谢相关酶亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)及甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)基因位点多态性与妊娠期高血压疾病的关系。**方法** 采用回顾性分析方法,选取2022年1月至2022年12月孕期在河源市妇幼保健院行叶酸代谢相关酶基因位点(*MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点以及 *MTRR* 基因 A66G 位点)检测且孕晚期在本院产科住院分娩的孕妇作为研究对象,将100例合并有妊娠期高血压疾病的孕妇纳入实验组,200名无妊娠期高血压疾病的健康孕妇纳入对照组,比较两组两个基因三个位点的多态性情况。**结果** 实验组 *MTHFR* C677T 位点 TT 基因型频率及 T 等位基因频率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);实验组 *MTHFR* A1298C 位点 AA/AC/CC 三种基因型频率以及 A、C 等位基因频率, *MTRR* A66G 位点 AA/AG/GG 三种基因型频率以及 A、G 等位基因频率,与对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 河源地区 *MTHFR* 基因 C677T 位点多态性与妊娠期高血压疾病有关,可以通过检测孕妇 *MTHFR* 基因 C677T 位点为临床上防治妊娠期高血压疾病以及个性化叶酸的增补提供理论指导。

[关键词] 妊娠期高血压疾病; 叶酸代谢; *MTHFR*; *MTRR*; 基因位点多态性

Relationship between polymorphism of *MTHFR* and *MTRR* gene loci and gestational hypertension in Heyuan region

XIE Liying^{1*}, XIONG Aiqun¹, CHEN Yiji²

(1. Obstetrics, Heyuan Maternal and Child Health Hospital, Heyuan, Guangdong, China, 517000; 2. Laboratory, Heyuan Maternal and Child Health Hospital, Heyuan, Guangdong, China, 517000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the relationship between polymorphisms in the gene loci of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) and methionine synthase reductase (*MTRR*) related to folate metabolism in the Heyuan region of Guangdong province and gestational hypertension. **Methods** A retrospective analysis method was used to select pregnant women who underwent folate metabolism related enzyme gene loci (*MTHFR* gene C677T, A1298C locus, and *MTRR* gene A66G locus) detection at Heyuan Maternal and Child Health Hospital from January 2022 to December 2022. Subsequently, pregnant women who delivered in our hospital's obstetrics department in the late pregnancy were selected as the research subjects. 100 pregnant women with gestational hypertension were included in the experimental group, 200 healthy pregnant women without gestational hypertension were included in the control group to compare the polymorphism of two genes and three loci between the two groups. **Results** The TT genotype frequency and T allele frequency at the *MTHFR* C677T locus in the experimental group were higher than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). The experimental group showed no statistically significant differences in the frequencies of the three genotypes AA/AC/CC and A, C alleles at the *MTHFR* A1298C locus, AA/AG/GG at the *MTRR* A66G locus, and

基金项目:河源市社会发展科技计划项目(河科057)

作者单位:1.河源市妇幼保健院产科,广东,河源 517000

2.河源市妇幼保健院检验科,广东,河源 517000

*通信作者:谢利英, E-mail:460423779@qq.com

A, G alleles compared to the control group ($P>0.05$). **Conclusion** The C677T polymorphism of *MTHFR* gene in Heyuan region is related to gestational hypertension. Detecting the C677T locus of *MTHFR* gene in pregnant women can provide theoretical guidance for clinical prevention and treatment of gestational hypertension and personalized supplementation of folic acid.

[KEY WORDS] Pregnancy induced hypertension; Folate metabolism; *MTHFR*; *MTRR*; Genetic site polymorphism

妊娠期高血压疾病是由于全身小血管痉挛引起全身各系统各脏器灌注减少而引发多脏器功能受损的一组疾病,为妊娠期所特有,发生率为5%~12%,是孕产妇死亡的四大原因之一^[1],严重影响母婴健康。妊娠期高血压疾病的发生与多种因素有关,但其确切的发病机制尚不明确,因而增加了临床上的防治难度^[2]。研究表明,血浆中高同型半胱氨酸浓度会引发妊娠期高血压疾病,两者间存在密切相关性。叶酸代谢途径中的两个关键酶亚甲基四氢叶酸还原酶(5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*)以及甲硫氨酸合成酶还原酶(Methionine synthase reductase, *MTRR*),参与了体内同型半胱氨酸的代谢;当这两种关键酶基因位点发生突变后,两者的酶活性不同程度地降低,同型半胱氨酸代谢受阻,导致血浆中同型半胱氨酸浓度升高,进而引起血管平滑肌细胞以及内皮细胞损伤,最终导致一系列不良妊娠结局,包括妊高症、早产、胎儿畸形等^[3-4]。本文将通过比较妊娠期高血压疾病孕妇与健康孕妇 *MTHFR* 以及 *MTRR* 基因位点多态性,探讨该两种基因位点与妊娠期高血压疾病之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年1月至2022年12月于孕前或孕早期在河源市妇幼保健院行叶酸代谢相关酶基因位点(*MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点以及 *MTRR* 基因 A66G 位点)检测并在本院产科住院分娩的孕妇,将100例合并有妊娠期高血压疾病的孕妇纳入实验组。纳入标准:①符合全国高等医学院校教材《妇产科学》(第九版)中妊娠期高血压疾病的诊断标准^[1];②单胎妊娠。排除标准:妊娠前有高血压、冠心病、糖尿病、严重肝肾功能障碍、精神病、肿瘤等病史。另选取同期200名无妊娠期高血压疾病的健康孕妇纳入对照组,均为单胎,无妊娠期合并症或并发症。实验组年龄平均

(29.050±5.135)岁;孕次平均(1.940±1.246);产次平均(1.320±0.665);孕周平均(38.205±1.917)周。对照组年龄平均(28.630±4.485)岁;孕次平均(1.905±1.115);产次平均(1.395±0.664);孕周平均(38.496±1.668)周。两组在年龄、孕周方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

采集两组的EDTA抗凝静脉血样本,每份样本采集量为2~3 mL。严格按照DNA自动提取仪Lab-Aid 824的操作说明,配合厦门至善公司提供的核酸提取试剂,进行核酸提取。对 *MTHFR* 基因的C677T和A1298C位点以及 *MTRR* 基因的A66G位点进行检测,试剂盒来源于江西诺德医疗器械有限公司。使用CFX96 Real-time System 荧光定量PCR仪,对每个样品的PCR反应终点荧光进行定量读取。最后,使用专业的分析软件对荧光信号数据进行处理和分析,准确确定每个样本在 *MTHFR* 基因的C677T、A1298C位点和 *MTRR* 基因的A66G位点上的基因分型结果。

1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0统计软件进行统计学处理,以($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,采用独立样本 *t* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组孕妇在年龄、孕次、产次、孕周方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general data between the two groups

		($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	年龄(岁)	孕次	产次	孕周
实验组	100	29.050±5.135	1.940±1.246	1.320±0.665	38.205±1.917
对照组	200	28.630±4.485	1.905±1.115	1.395±0.664	38.496±1.668
<i>t</i> 值		0.728	0.246	0.922	1.352
<i>P</i> 值		0.467	0.806	0.357	0.177

2.2 两组 MTHFR 基因 C677T 位点多态性比较

实验组 MTHFR 677 位点的 TT 基因型频率以及 C、T 等位基因频率与对照组相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), TT 基因型频率及 T 等位基因频率高于对照组;而 CC/CT 两个基因型频率与对照组比较,差异具无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 MTHFR 基因 C677T 位点多态性比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of polymorphisms at the C677T site between the two groups of MTHFR genes [n(%)]

组别	n	MTHFR 基因型频率			等位基因频率(%)	
		CC 型	CT 型	TT 型	C	T
实验组	100	42(42.00)	30(30.00)	28(28.00)	57.00	43.00
对照组	200	106(53.00)	71(35.50)	23(11.50)	70.75	29.25
χ^2 值		3.227	0.903	12.863	4.253	
P 值		0.072	0.342	<0.001	0.039	

2.3 两组 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性比较

实验组 MTHFR 1298 位点的 AA/AC/CC 三种基因型频率以及 A、C 等位基因频率与对照组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 两组 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性比较 [n(%)]

Table 3 Comparison of polymorphism at A1298C locus between the two groups of MTHFR genes [n(%)]

组别	n	MTHFR 基因型频率			等位基因频率(%)	
		AA 型	AC 型	CC 型	A	C
实验组	100	57(57.00)	38(38.00)	5(5.00)	76.00	24.00
对照组	200	106(53.00)	76(38.00)	18(9.00)	72.00	28.00
χ^2 值		0.430	<0.001	1.507	0.416	
P 值		0.512	1.000	0.220	0.519	

2.4 两组 MTRR 基因 A66G 位点多态性比较

实验组 MTRR 66 位点的 AA/AG/GG 三种基因型频率以及 A、G 等位基因频率与对照组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 两组 MTRR 基因 A66G 位点多态性比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of A66G polymorphisms between the two groups of MTRR genes [n(%)]

组别	n	MTRR 基因型频率			等位基因频率(%)	
		AA 型	AG 型	GG 型	A	G
实验组	100	55(55.00)	35(35.00)	10(10.00)	72.50	27.50
对照组	200	117(58.50)	68(34.00)	15(7.50)	75.50	24.50
χ^2 值		0.334	0.030	0.545	0.230	
P 值		0.563	0.863	0.460	0.631	

3 讨论

妊娠期高血压疾病多发生在妊娠 20 周之后,

临床上主要表现为高血压、水肿、伴或不伴有蛋白尿,严重者可出现多器官功能损害,其发病率日益增加,严重威胁母婴生命安全^[5]。其发病机制一直为国内外专家学者研究的热点,但至今仍不明确。近年来,临床研究表明,该病与高水平的同型半胱氨酸血症存在相关性,合并有妊娠期高血压疾病的孕产妇存在不同程度的高同型半胱氨酸血症^[6-7]。血浆中同型半胱氨酸水平升高,破坏体内氧化还原系统,氧化物物质及氧自由基生成增加,从而促进细胞增殖及血管内皮细胞受损;同时还引起内皮素等血管收缩因子增加,一氧化氮等血管舒张因子减少,进而引起全身小动脉痉挛,引发妊娠期高血压疾病^[8]。

叶酸代谢相关酶 N5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶以及甲硫氨酸合成酶还原酶是同型半胱氨酸代谢途径中的代谢酶,当编码这两个酶的基因 (MTHFR 和 MTRR) 发生杂合性和(或)纯合性突变时,会引起相应酶的活性改变,从而影响叶酸的代谢以及同型半胱氨酸水平^[9]。MTHFR 基因的 C677T 位点是较多专家学者研究的位点,该基因检测结果有 CC/CT/TT 3 种类型。当该位点 C→T 发生点突变, MTHFR 酶活性下降;杂合性突变及纯合性突变后,酶活性分别只有 71%、34%。酶活性的下降导致叶酸转化为 5-甲基四氢叶酸受阻,同型半胱氨酸甲基化能力下降,血浆中同型半胱氨酸水平升高, DNA 合成、修复及甲基化异常,进而导致神经管畸形、先天性心脏病、复发性流产、早产、妊娠期高血压疾病等一系列不良妊娠结局^[10]。本研究结果表明,实验组 MTHFR 677 的 TT 基因型频率以及 T 等位基因频率明显高于对照组,提示 MTHFR 基因的 C667T 位点的纯合突变可能会导致妊娠期高血压疾病,与 Kwak-Kim 等^[11]的研究结果相一致。而段倩等^[12]的研究发现, MTHFR 677 C/T 多态性基因分型中 CT 基因型增加妊娠期高血压疾病的风险,与本研究结果不同。进一步研究结果显示,实验组 MTHFR A1298C 以及 MTRR A66G 基因多态性,与对照组比较差异均无统计学意义,提示 MTHFR 基因的 A1298C 位点以及 MTRR 基因 A66G 位点多态性与妊娠期高血压疾病无关,与国内高永梅等^[13]的研究以及王伟华等^[14]的研究结果相一致。而何传凤^[15]的研究发现, MTRR A66G 多态性基因分型中 AG 基因型增加妊娠期高血压疾病的风险,与本研究结果不同。以上结果表明,不同地区叶酸

代谢相关酶同一基因不同位点或不同基因位点的突变与妊娠期高血压疾病具有不同的相关性。

叶酸代谢相关酶基因的突变影响了叶酸以及同型半胱氨酸的代谢。Wen SW 等^[16]的研究发现,孕妇在整个孕期进行叶酸补充,提高血浆中叶酸水平,可有效降低血浆中同型半胱氨酸浓度,降低先兆子痫发生风险。也有很多研究表明^[17],叶酸是现阶段降低血清同型半胱氨酸水平经济有效的手段,叶酸摄入不足会增加妊高症、胎儿神经管畸形等母胎不良结局的风险,补充叶酸对母胎健康安全有着至关重要的意义。

综上所述,河源地区 *MTHFR* 基因 C667T 位点的遗传多态性与妊娠期高血压疾病的发生存在相关性。临床上可以通过对备孕女性进行 *MTHFR* 基因 C667T 位点检测,评估个体对叶酸的吸收利用水平,科学指导增补叶酸,为防治妊娠期高血压疾病以及降低其它母婴并发症提供理论指导。

参考文献

- [1] 谢幸,孔北华,段涛,主编. 妇产科学[M]. 第9版. 北京:人民卫生出版社, 2018:83-91.
- [2] 王燕侠. 孕前及孕期叶酸摄入与妊娠期高血压疾病的关联性研究[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(24):6087-6091.
- [3] 刘江,任明,樊世明. 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性在心血管疾病中的临床研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(58):192-193.
- [4] Lee HA, Park EA, Cho SJ, et al. Mendelian randomization analysis of the effect of maternal homocysteine during pregnancy, as represented by maternal *MTHFR* C677T genotype, on Birth Weight[J]. J Epidemiol, 2013, 23(5):371-375.
- [5] 杨孜. 重视妊娠期高血压疾病的规范化诊断与处理[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(12):881-885.
- [6] Sultana R, Choudhury SS, Bose S, et al. Increased homocysteine expression associated with genetic changes in the folate pathway as a key determinant of preeclampsia: A prospective study from lower Assam, India [J]. Meta Gene, 2020, 26: 100775.
- [7] 王娟,温庆丽,李永慧,等. 不同类型妊娠期高血压疾病中同型半胱氨酸、叶酸及维生素 B12 水平的研究[J]. 系统医学, 2022, 7(15):35-38.
- [8] 王中蓉,木拉力别克,黑扎提,等. 血浆同型半胱氨酸与高血压关系的回顾性队列研究[J]. 医学信息, 2021, (15):79-82.
- [9] Zhang HP, Wang YH, Ma SC, et al. Homocysteine inhibits endothelial progenitor cells proliferation via DNMT1-mediated hypomethylation of Cyclin A [J]. Exp Cell Res, 2018, 362(1):217-226.
- [10] Mohanraj PS, Rahat B, Mahajan A, et al. Temporal expression of genes involved in folate metabolism and transport during placental development, preeclampsia and neural tube defects[J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(3): 3193-3201.
- [11] Kwak-Kim J, Mizunuma H, Damvaeba S, et al. Effects of *MTHFR* C677T polymorphism on vitamin D, homocysteine and natural killer cell cytotoxicity in women with recurrent pregnancy losses [J]. Hum Reprod, 2020, 5(6): 1276-1287.
- [12] 段倩,李建华,李文佳,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与青海汉族妊娠期高血压疾病的相关性[J]. 解剖学报, 2022, 53(3):354-359.
- [13] 高永海,邸文治,张瀚文,等. 沧州地区 *MTHFR* 基因多态性与妊娠期高血压相关性的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 26(11):28-29.
- [14] 王伟华,胡晓梅,黄冬梅,等. 叶酸代谢相关酶基因多态性与妊娠期高血压疾病的相关性分析[J]. 中国民康医学, 2022, 34(4):1-3.
- [15] 何传凤. 叶酸代谢中相关酶基因多态性与妊娠期高血压疾病的关系的研究[J]. 中外女性健康研究, 2019, (12):81+129.
- [16] Wen SW, Chen XK. Folic acid supplementation in early second trimester and the risk of preeclampsia [J]. Am J Obstet Gynecol, 2008, 198(1):45-47.
- [17] 王敌,成晨,华丽,张婷,等. 小剂量补充叶酸对妊娠期高血压疾病和血压的影响[J]. 实用妇产科杂志, 2018, 34(5):385-390.
- [8] Skouras T, Bond A, Gaglia A, et al. Outcomes and adverse factors for endoscopic mucosal resection (EMR) of colorectal polyps in elderly patients [J]. Frontl Gastroent, 2020, 25, 12(2):95-101.
- [9] 程婷婷. 无痛肠镜下钛夹联合高频电凝电切术治疗大肠息肉的临床分析[J]. 中国医疗器械信息, 2023, 29(1):107-109.
- [10] Luo H, Shen K, Li B, et al. Clinical significance and diagnostic value of serum NSE, CEA, CA19-9, CA125 and CA242 levels in colorectal cancer [J]. Oncol Lett, 2020, 20(1):742-750.
- [11] 符娇文,韩平,高飞. 中医消瘿汤防治结肠息肉术后复发及对血清肿瘤标记物的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(3):727-729.
- [12] 贺芝兰,谢文瑞,何君连,等. 白介素 18、炎症小体在大肠腺瘤性息肉患者体内的表达及其临床意义[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(23):3644-3649.
- [13] 牛学敏,赵树巧,贾彦红,等. 石家庄市大肠息肉发病的危险因素及临床特征[J]. 河北医药, 2021, 43(24):3825-3828.
- [14] 郑明传,叶凡,李琢,等. 冷圈套黏膜切除术对直径≤1.0 cm 结肠息肉患者血清疼痛因子、应激反应及 VEGF、TXB2 水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(10):1898-1901+1939.

(上接第 2100 页)

红细胞增多症 *SOCS3* mRNA 的表达情况及其与 *JAK2 V617F* 点突变的相关性研究

刘珊* 邢晶晶 李志赏 王冬梅

[摘要] **目的** 研究真性红细胞增多症(PV)细胞因子信号传导抑制蛋白(*SOCS3*)mRNA 的表达情况及其与 *JAK2 V617F* 点突变的相关性。**方法** 选取2017年3月至2019年2月间衡水市人民医院收治的PV患者192例作为观察组,根据 *JAK2 V617F* 点突变情况将其分为突变阳性组(130例)和突变阴性组(62例),选择同期健康体检者90名作为对照组。比较三组血清 *SOCS3* mRNA 表达水平,并计算 *SOCS3* mRNA 诊断PV患者 *JAK2 V617F* 点突变的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及准确度,同时采用单因素和多因素 Logistic 回归分析PV患者 *JAK2 V617F* 点突变的影响因素。**结果** 三组 *SOCS3* mRNA 表达水平:突变阳性组>突变阴性组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);*SOCS3* mRNA 诊断PV患者 *JAK2 V617F* 点突变的敏感度为91.76%,特异度为92.00%,准确度为92.86%,阳性预测值为90.22%,阴性预测值为93.15%;单因素分析结果显示,*JAK2 V617F* 突变阳性组与突变阴性组的性别、年龄、WBC、Hb、红细胞压积、PLT、*SOCS3*mRNA 比较差异均有统计学意义($P<0.05$);Logistic 多因素回归分析结果显示,*SOCS3* mRNA>0.25 nmol/L、Hb>170 g/L、红细胞压积>55%、PLT>420×10⁹/L 均为影响PV患者 *JAK2 V617F* 点突变的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** PV患者 *JAK2 V617F* 点突变受多种因素影响,*SOCS3* mRNA 表达水平增高为其独立危险因素,*SOCS3* mRNA 表达水平可为临床早期诊断PV患者 *JAK2 V617F* 点突变提供指导方向。

[关键词] 真性红细胞增多症; *SOCS3* mRNA; *JAK2V617F* 点突变

Study on the expression of *SOCS3* mRNA in polycythemia and its correlation with *JAK2 V617F* point mutation

LIU Shan*, XING Jingjing, LI Zhishang, WANG Dongmei

(Blood Center, Hengshui People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the mRNA expression of cytokine signaling suppressor protein (*SOCS3*) in polycythemia vera and its correlation with *JAK2 V617F* point mutation. **Methods** A total of 192 PV patients admitted to Hengshui People's Hospital from March 2017 to February 2019 were selected as the observation group. They were divided into a mutation-positive group (130 cases) and a mutation-negative group (62 cases) based on the *JAK2 V617F* point mutation. During the same period, 90 cases of healthy patients were selected as the control group. The expression levels of serum *SOCS3* mRNA in the three groups were compared, and the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of *SOCS3* mRNA in the diagnosis of *JAK2 V617F* point mutation in PV patients were calculated. Meanwhile, univariate, and multivariate Logistic regression were used to analyze the influencing factors of *JAK2 V617F* point mutation in PV patients. **Results** The *SOCS3* mRNA expression levels in the three groups: mutation positive group > control group > mutation negative group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity of *SOCS3* mRNA in diagnosing *JAK2V617F* point mutation in PV patients is 91.76%,

基金项目:河北省卫健委科技计划项目(20191771)

作者单位:衡水市人民医院血液科,河北,衡水 053000

*通信作者:刘珊, E-mail:liushanhs@163.com

the specificity is 92.00%, the accuracy is 92.86%, the positive predictive value is 90.22%, and the negative predictive value is 93.15%. The results of single factor analysis showed that there were statistically significant differences in gender, age, WBC, Hb, hematocrit, PLT, and SOCS3mRNA between the *JAK2 V617F* mutation-positive group and the mutation-negative group ($P < 0.05$). Logistic multivariate regression analysis showed that *SOCS3* mRNA > 0.25 nmol/L, Hb > 170 g/L, hematocrit $> 55\%$, PLT $> 420 \times 10^9/L$ were all independent risk factors affecting the *JAK2 V617F* point mutations in PV patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The *JAK2 V617F* point mutation in PV patients is affected by a variety of factors, and the increased *SOCS3* mRNA expression level is an independent risk factor. *SOCS3* mRNA expression level can provide guidance for the early clinical diagnosis of *JAK2 V617F* point mutation in PV patients.

[KEY WORDS] Polycythemia vera; *SOCS3* mRNA; *JAK2 V617F* point mutation

真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)是临床上常见的一种造血干细胞的慢性克隆性疾病,属于BCR/ABL阴性的慢性骨髓增殖性肿瘤^[1]。该症早期发病具有隐匿性,且随着病情延长,疾病危险性增加,因此该症的早诊断早治疗对改善患者预后至关重要^[2]。研究显示,多数PV患者均多伴有*JAK2 V617F*点突变,其本质为酪氨酸激酶JAK2的获得性点突变,与JAK-STAT通路的异常持续性激活密切相关^[3]。JAK-STAT通路是细胞增殖信号转导通路,存在于多种肿瘤性疾病中,能够促进细胞增殖、抑制细胞凋亡,具有自发激活性,其为PV发病机制的研究带来了新方向^[4]。因此,PV患者*JAK2 V617F*点突变的早期诊断也具有重要意义。最新研究发现,细胞因子传导抑制蛋白(suppressor of cytokine signaling, SOCS)家族是具有抑制多种细胞因子作用的胞质蛋白分子,其主要机制为抑制JAK-STAT通路,可作为一种诊断PV的新型指标^[5]。本研究将探究其在PV中的表达水平及与*JAK2 V617F*点突变相关性,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究经衡水市人民医院医学伦理委员会批准,选取2017年3月至2019年2月间本院收治的PV患者192例作为观察组,根据*JAK2 V617F*点突变情况分为突变阳性组(130例)和突变阴性组(62例),同期选择健康体检者90名作为对照组。PV患者纳入标准:①均符合第九版《内科学》中关于PV的诊断标准^[6];②均为首次诊断出PV,且病程 > 2 周;③无沟通交流障碍者;④均获得患者及其家属同意,并签署知情同意书。排除标准:①合并骨髓增殖性肿瘤中其他类型疾病者;②非PV所致的

*JAK2 V617F*点突变;③合并有其他血液系统疾病者;④合并有精神障碍者。

1.2 方法

所有观察组入院后,进行一般资料记载,包括年龄、性别、体质指数(Body Mass Index, BMI)、经济收入、文化程度、白细胞计数(white blood cell count, WBC)、血红蛋白水平(Hemoglobin, Hb)、红细胞压积、血小板数(platelet, PLT)。

1.2.1 *JAK2 V617F* mRNA、*SOCS3* mRNA水平测定

采用实时荧光定量PCR进行mRNA测定。抽取观察组和对照组外周血10 mL,加以新鲜肝素抗凝,并采用Ficoll液分离单个核细胞以备用,采用TRIzol提取细胞总RNA,逆转录合成cDNA。以94℃ 5 min、94℃ 45 s、60℃ 1 min为一个循环,循环40次,以PCR反应前3~15个循环的荧光信号作为荧光本底信号,调节基线至适宜处,各荧光曲线与基线交叉点的循环数即为C(t)值,并以此计算*JAK2 V617F*基因mRNA、*SOCS3*基因mRNA相对表达量。*JAK2 V617F*基因引物序列为F: 5'-CAGCAAGTATGATGAGCAAGCTTT-3', R: 5'-CCAGAATATTCTCGTCTCCACTGAA-3', *SOCS3*基因引物序列为F: CCTGGAGCCCCCTCCTTCC, R: TCCGACAGAGATGCTGAAGAGTG,引物由北京赛百盛生物公司合成。

1.2.2 *JAK2 V617F*点突变情况判断

采用半定量PCR进行判断。选取上述*JAK2 V617F*扩增产物8 μ L经脂糖凝胶电泳(含EB, 100V, 30 min, 0.5 \times TBE电泳缓冲液)后置于紫外灯下,用读胶仪AlphaImager1200进行扫描,若在83 bp位置处显示有条带者为*JAK2 V617F*突变阳性,反之为阴性^[7]。

1.2.3 WBC、Hb、PLT计数

抽取病患清晨空腹外周血10 mL,采用血细胞

分析仪(迈瑞 BC-5390)对 WBC、PLT 计数,采用 Elisa 试剂盒(上海通蔚实业有限公司)测定 Hb 水平。

1.3 统计学方法

所有统计学数据录入 SPSS 21.0 软件包,计量资料满足正态分布,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间的差异采用单因素方差分析进行比较,多组两两间的差异采用 SNK-*q* 比较。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 进行比较。采用 Logistic 回归分析 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变阳性的独立影响因素;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清 *SOCS3* mRNA 水平比较

三组 *SOCS3* mRNA 表达水平,突变阳性组 > 突变阴性组 > 对照组,三组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组血清 *SOCS3* mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum *SOCS3* mRNA levels among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>SOCS3</i> mRNA (nmol/L)
突变阳性组	130	0.35±0.06 ^a
突变阴性组	62	0.26±0.02 ^{ab}
对照组	90	0.09±0.02
<i>F</i> 值		49.501
<i>P</i> 值		< 0.001

注:^a与对照组比较, $P < 0.05$;^b与突变阳性组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 *SOCS3* mRNA 诊断 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变的评价指标

SOCS3 mRNA 诊断 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变的敏感度为 91.76%,特异度为 92.00%,准确度为 92.86%,阳性预测值为 90.22%,阴性预测值为 93.15%。

2.3 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变影响因素的单因素分析

将性别、年龄、BMI、经济收入、文化程度、WBC、Hb、红细胞压积、PLT、*SOCS3* mRNA 纳入单

因素分析,结果显示,*JAK2 V617F* 突变阳性组与突变阴性组的性别、年龄、WBC、Hb、红细胞压积、PLT、*SOCS3* mRNA 比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 真性红细胞增多症患者 *JAK2 V617F* 点突变影响因素的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s)$, ($n\%$)]

Table 2 Univariate analysis of influencing factors of *JAK2 V617F* point mutation in patients with polycythemia vera [$(\bar{x} \pm s)$, ($n\%$)]

指标		突变阴性组 (<i>n</i> =62)	突变阳性组 (<i>n</i> =130)	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别	男	37(23.57)	120(76.43)	29.985	0.000
	女	25(71.43)	10(28.57)		
年龄(岁)	60~70	15(18.99)	64(81.01)	4.563	0.010
	>70	47(41.59)	66(58.41)		
BMI(kg/m ²)	≥28	32(34.78)	60(65.22)	0.501	0.479
	<28	30(30.00)	70(70.00)		
经济收入(元/人年)	≥10 000	38(34.55)	72(65.45)	4.631	0.041
	<10 000	24(29.27)	58(70.73)		
文化程度	中学以下	28(32.18)	59(67.82)	1.041	0.160
	中学以上	34(32.38)	71(67.62)		
WBC(10 ⁹ /L)	>10	20(15.38)	110(84.62)	52.633	<0.001
	≤10	42(67.74)	20(32.26)		
Hb(g/L)	>170	20(19.05)	85(80.95)	18.590	<0.001
	≤170	42(48.28)	45(51.72)		
红细胞压积(%)	>55	20(18.87)	86(81.13)	4.312	0.013
	≤55	42(48.84)	44(51.16)		
PLT(10 ⁹ /L)	>420	21(17.36)	100(82.64)	33.387	<0.001
	≤420	41(57.75)	30(42.25)		
<i>SOCS3</i> mRNA (nmol/L)	>0.25	33(21.71)	119(78.29)	37.361	<0.001
	≤0.25	29(72.50)	11(27.50)		

2.4 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变影响因素的多因素 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析显示,*SOCS3* mRNA > 0.25 nmol/L、Hb > 170 g/L、红细胞压积 > 55%、PLT > 420 × 10⁹/L 为影响 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变阳性的独立影响因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

临床指出,PV 具有出血、血栓形成的典型表现,可造成患者全身多器官损伤,而 PV 的早期诊断及及时加以干预可使患者预后质量达到最优化,因

表 3 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变影响因素的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of influencing factors of *JAK2 V617F* point mutation in PV patients

指标	赋值	β 值	<i>S.E</i> 值	<i>Wald</i> χ^2 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
<i>SOCS3</i> mRNA	>0.25 nmol/L=1; ≤0.25 nmol/L=0	0.201	0.036	36.180	1.102	1.011~1.232	<0.001
Hb	>170 g/L=1; ≤170 g/L=0	2.616	0.443	23.221	1.355	1.267~1.567	0.002
红细胞压积	>55%=1; ≤55%=0	-6.277	1.233	14.868	1.234	1.009~1.276	0.002
PLT	>420×10 ⁹ /L=1; ≤420×10 ⁹ /L=0	-21.032	4.258	34.520	13.211	11.232~15.345	0.001

此寻求准确度高、科学性强的实验室诊断标准极为重要。鉴于 *JAK2 V617F* 点突变所致的 JAK/STAT 通路异常激活是 PV 的主要发病原因,故与其相关性较高的实验室诊断指标有待用于 PV 的诊断。

多种具有反馈性抑制作用的蛋白因子可对 JAK/STAT 信号通路产生抑制调节作用,以 SOCS 家族蛋白最为重要且常见^[8]。SOCS 家族蛋白成员众多,以 *SOCS3* 研究最为成熟。*SOCS3* 不仅是 JAK-STAT 的靶基因,也是其负反馈调控因子,对细胞生长、增殖、分化等生物学行为起着同样重要的调节作用,可改善 JAK-STAT 通路的异常活化,对其起负向调控作用,最终抑制相关疾病、肿瘤的进展恶化^[9]。本研究结果说明了 *SOCS3* mRNA 水平与 PV 的发生发展密切相关。*SOCS3* mRNA 诊断 PV 患者 *JAK2 V617F* 点突变的评价指标中,敏感度为 91.76%,特异度为 92.00%,准确度为 92.86%,阳性预测值为 90.22%,阴性预测值为 93.15%。马张婧等^[10]研究指出,乳腺癌患者多伴有 *SOCS3* mRNA 水平的增高。Beldiferchiou A 等^[11]研究指出,多发性骨髓瘤患者中的 JAK/STAT 通路异常活化与 *SOCS3* mRNA 水平密切相关。吴正玉等^[12]报道称,急性髓系白血病患者中, *SOCS3* mRNA 水平明显高于正常者,且其与自身 *JAK2 V617F* 突变点有明显相关性。以上均证实 *JAK2 V617F* 突变点与 *SOCS3* mRNA 水平相关联。

本研究发现,将性别、年龄、BMI、经济收入、文化程度、WBC、Hb、红细胞压积、PLT、*SOCS3* mRNA 纳入单因素分析,结果显示, *JAK2 V617F* 突变阳性组与突变阴性组的性别、年龄、WBC、Hb、红细胞压积、PLT、*SOCS3* mRNA 均有显著差异。既往大量研究发现,年龄、性别等因素与真性红细胞增多症 *JAK2 V617F* 突变点有一定相关性^[13]。分析原因在于: *JAK2 V617F* 突变点可导致酪氨酸过度活化, JAK-STAT 通路得以被其异常激活,持续时间过长则对相关生物学行为包括细胞增殖、分化、凋亡等造成异常影响。有研究显示, JAK-STAT 通路的异常激活多伴有肿瘤的发生、发展,同时肿瘤的发生又以老年男性患者居多^[14]。由于 PV 的本质为红系细胞的异常增生,因此,该疾病患者多表现为血红蛋白水平、白细胞计数等增高,而绝大多数患者又伴有 *JAK2 V617F* 突变点,可间接说明 *JAK2 V617F* 突变点与上述实验室指标有相关性^[15],与本研究结果一致。进一步 Logistic 回归分析显示, *SOCS3* mRNA 为影响 PV

患者 *JAK2 V617F* 点突变阳性的独立影响因素,证明了 *SOCS3* mRNA 与 *JAK2 V617F* 点突变的相关性,与上述研究结果一致。

综上所述,真性红细胞增多症 *JAK2 V617F* 点突变受多种因素影响, *SOCS3* mRNA 表达水平增高为其独立危险因素,且其诊断价值显著,可作为实验室诊断指标值得在临床推广。

参考文献

- [1] 尚晓玲,任嘉彦.从“虚损生积”论治真性红细胞增多症[J].中国中医基础医学杂志,2023,29(2):330-332+344.
- [2] Le M, Ghazawi FM, Rahme E, et al. Identification of significant geographic clustering of polycythemia vera cases in Montreal, Canada[J]. Cancer, 2019, 125(22):162-163.
- [3] Robyn MS, Holly LG, Amylou CD, et al. The potential role of hematocrit control on symptom burden among polycythemia vera patients: Insights from the CYTO-PV and MPN-SAF patient cohorts [J]. Leukem Lymphoma, 2017, 58(6):1481-1487.
- [4] 刘丹,张培红,徐泽锋,等.伴 *JAK2* exon12 突变与 *JAK2 V617F* 突变真性红细胞增多症患者的临床与实验室特征比较[J].中华血液学杂志,2022,10(2):107-114.
- [5] 康虹阳,刘洁,陈哲,等.真性红细胞增多症患者外周血 JAK/STAT 信号通路中关键因子表达意义[J].分子诊断与治疗杂志,2022,18(5):861-865.
- [6] 李琳,彭雪扬,李威,等. *JAK2V617F* 突变真性红细胞增多症及真性红细胞增多症后骨髓纤维化临床特点[J].肿瘤基础与临床,2022,8(1):44-49.
- [7] 袁建龙,师迎旭,杜华,等.多重 PCR 结合毛细管电泳检测骨髓增殖性肿瘤患者 *JAK2V617F* 及 *CALR* 基因突变[J].中国实验血液学杂志,2020,12(6):1998-2003.
- [8] 周斌,万少兵,王瑛,等. *SOCS3* 通过调控 *JAK2/STAT3* 信号通路改善急性肺损伤[J].山西医科大学学报,2023,23(6):778-784.
- [9] 何金媛,晁红颖,周民,等.核心结合因子相关急性髓系白血病的分子遗传学特点[J].中华医学遗传学杂志,2019,36(7):657-661.
- [10] 马张婧,王敬强. *SOCS3* 在乳腺癌中的研究进展[J].基因组学与应用生物学,2018,37(8):3699-3705.
- [11] Beldiferchiou A, Skouri N, Ali C B, et al. Abnormal repression of SHP-1, SHP-2 and SOCS-1 transcription sustains the activation of the JAK/STAT3 pathway and the progression of the disease in multiple myeloma [J]. 2017, 12(4): e0174835.
- [12] 吴正玉,王宁玲,刘亢亢,等.儿童急性淋巴细胞白血病 *SOCS3* mRNA 的表达水平与临床特点、早期治疗反应的相关性[J].中国实验血液学杂志,2017,25(5):1367-1372.

肺癌合并肺部感染病原学特点及其血清 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平检测价值分析

郭淑娟^{1,2} 韩吉香² 姜文青^{3*}

[摘要] **目的** 探讨肺癌合并肺部感染患者的病原学特征、血清炎症因子水平变化及其临床意义。**方法** 收集2022年5月至2023年5月阳光融和医院收治的49例非小细胞肺癌(NSCLC)合并肺部感染患者设为感染组,选取同期未合并感染的52例NSCLC患者设为非感染组。采集空腹静脉血检测两组肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)及白细胞介素-6(IL-6)水平;采用ROC曲线评价TNF- α 、IL-1 β 及IL-6对NSCLC合并肺部感染的诊断效能。**结果** 49例NSCLC合并肺部感染患者中,咳嗽咳痰34例(69.39%),发热32例(65.31%),白细胞计数升高14例(28.57%),中性粒细胞计数增高30例(61.22%),胸片及CT示散在小片状阴影34例(69.39%)、大片状阴影7例(14.29%);共培养分离出病原菌58株,其中革兰阳性菌13株(22.41%),革兰阴性菌38株(65.52%),真菌和结核杆菌7株(12.07%)。感染组明显高于非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。TNF- α 、IL-1 β 及IL-6三者联合诊断NSCLC合并肺部感染的AUC分别大于IL-1 β 和TNF- α 单项诊断NSCLC合并肺部感染的AUC($P<0.05$),与IL-6单项诊断NSCLC合并肺部感染的AUC比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** NSCLC合并肺部感染临床表现不典型,呼吸道症状不明显,以革兰阴性菌感染为主;患者血清TNF- α 、IL-1 β 及IL-6水平明显升高,联合检测此三项指标有助于鉴别诊断NSCLC合并肺部感染。

[关键词] 肺癌;肺部感染;病原学特征;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-1 β ;白细胞介素-6

Etiological characteristics and detection value of serum TNF- α , IL-1 β and IL-6 in lung cancer combined with lung infection

GUO Shujuan^{1,2}, HAN Jixiang², JIANG Wenqing^{3*}

(1. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266071; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Yangguang Harmony Hospital, Weifang, Shandong, China, 261000; 3. Department of Respiratory, Qingdao Haici Medical Group, Qingdao, Shandong, China, 266000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore etiological characteristics, changes and clinical significance of serum inflammatory factors in patients with lung cancer and lung infection. **Methods** A total of 49 patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and lung infection and 52 NSCLC patients without lung infection in Yangguang Harmony Hospital were enrolled as the infection group and the non-infection group between May 2022 and May 2023. Fasting venous blood was collected to detect levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6). The diagnostic efficiency of TNF- α , IL-1 β and IL-6 for NSCLC combined with lung infection was evaluated by the receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** Among the 49 patients with NSCLC and lung infection, there were 34 cases (69.39%) with cough and expectoration, 32 cases (65.31%) with fever, 14 cases (28.57%) with increased white blood cell count and 30 cases (61.22%) with increased neutrophil count. X-ray and CT showed that there were 34 cases (69.39%)

基金项目:山东省科技厅自然科学基金项目(ZR2022HL108)

作者单位:1. 青岛大学中西医结合医学科,山东,青岛 266071

2. 阳光融和医院呼吸与危重医学科,山东,潍坊 261000

3. 青岛海慈医疗集团呼吸科,山东,青岛 266000

*通信作者:姜文青, E-mail:jiangwenqing126@126.com

with small patchy shadows and 7 cases (14.29%) with large patchy shadows. There were 58 strains of pathogens, including 13 strains (22.41%) of Gram-positive bacteria, 38 strains (65.52%) of Gram-negative bacteria and 7 strains (12.07%) of fungi and Mycobacterium tuberculosis. The levels of serum TNF- α , IL-1 β and IL-6 in the infection group were significantly higher than those in the non-infection group ($P<0.05$). The AUC of TNF- α combined with IL-1 β and IL-6 in the diagnosis of NSCLC combined with lung infection was greater than that of IL-1 β and TNF- α alone ($P<0.05$), but there was no significant difference in the AUC between IL-6 and combined detection ($P>0.05$). **Conclusion** The clinical manifestations of NSCLC combined with lung infection are atypical, and the respiratory symptoms are not significant. Gram-negative bacteria infection is in the majority. The levels of serum TNF- α , IL-1 β and IL-6 in patients are significantly increased. The combined detection of the three indicators is conducive to differential diagnosis of NSCLC combined with lung infection.

[KEY WORDS] Lung cancer; Lung infection; Etiological characteristic; TNF- α ; IL-1 β ; IL-6

肺癌是临床常见的恶性肿瘤之一,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占85%以上^[1-2]。肺癌患者常合并免疫力低下,尤其在放化疗后,患者感染风险明显升高。而合并肺部感染并发症极大地影响患者的治疗及预后,是预后不良的促进因素。肺癌合并肺部感染早期症状不典型,对肺癌合并肺部感染进行早期鉴别和规范治疗显得尤为重要^[3]。已有研究^[4-5]显示,免疫炎症信号通路在机体感染引起的免疫反应中发挥重要作用,其活化后引起下游炎性细胞因子包括肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)及白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等大量形成,并引起炎症信号级联放大。目前关于上述指标对肺癌合并肺部感染的鉴别诊断价值尚无统一结论。本研究将对肺癌合并肺部感染患者的临床特点进行分析,同时检测患者外周血 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平,探讨其对肺癌合并肺部感染的鉴别诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年5月至2023年5月阳光融和医院收治的49例NSCLC合并肺部患者(感染组, $n=49$), 年龄平均(62.25 \pm 7.50)岁; 男性34例, 女性15例。入选标准: ①符合《中华医学会肺癌临床诊疗指南(2018版)》中NSCLC的诊断标准^[6], 且经组织病理学确诊; ②符合肺部感染的诊断标准^[7]; ③年龄 ≥ 18 岁; ④研究取得患者或家属知情同意。排除标准: ①存在肺外感染灶; ②合并自身免疫性疾病者; ③合并其他系统原发性肿瘤; ④临床资料不完整者。另选择同期52例非感染NSCLC患者(非感染组, $n=52$), 均排除各种急性慢性感染、其他系统肿瘤以及自身免疫性疾病, 年龄平均(60.87 \pm 8.71)岁; 男性35例, 女性17例。两组一

般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$), 见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

表1 两组的一般资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

Table 1 Comparison of general data between the two groups

		[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]			
项目		感染组 ($n=49$)	非感染组 ($n=52$)	χ^2/t 值	P 值
性别	男	34(69.39)	35(67.31)	0.050	0.822
	女	15(30.61)	17(32.69)		
年龄(岁)		62.25 \pm 7.50	60.87 \pm 8.71	0.851	0.397
BMI(kg/m ²)		23.74 \pm 2.81	23.51 \pm 2.69	0.420	0.675
吸烟史		32(65.31)	28(53.85)	1.374	0.241
TNM分期	I/II	20(40.82)	23(44.23)	0.120	0.729
	III/IV	29(59.18)	29(55.77)		

1.2 方法

1.2.1 资料收集

通过查阅电子病历系统收集患者的性别、年龄、吸烟史、TNM分期、临床表现、影像学表现、病原学培养结果等资料。

1.2.1 血清炎症因子水平检测

患者入院后次日清晨采集外周静脉血5 mL, 其中2 mL行血常规检测, 其余3 mL血样以3 000 r/min, 离心半径15 cm, 离心10 min后分离血清于-80 $^{\circ}$ C保存。采用Elisa法检测血清TNF- α 、IL-1 β 及IL-6, 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 统计学方法

应用SPSS 20.0统计软件分析数据, 计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料采用 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验; 应用受试者特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)评价各指标的诊断效能, AUC的比较采用 Z 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC合并肺部感染的临床特点

49例NSCLC合并肺部感染患者中, 咳嗽咳痰

34例(69.39%);发热32例(65.31%),其中20例(62.50%)低热起病,临床不易发现;白细胞计数升高14例(28.57%),中性粒细胞计数增高30例(61.22%);胸片及CT示散在小片状阴影34例(69.39%),大片状阴影7例(14.29%);49例合并肺部感染患者共培养分离病原菌58株。见表2。

表2 NSCLC合并肺部感染的病原菌分布

Table 2 Bacterial distribution of NSCLC combined with lung infection

病原菌	菌株数(株)	比例(%)
革兰阳性菌	13	22.41
肺炎链球菌	8	
表皮葡萄球菌	5	
革兰阴性菌	38	65.52
大肠杆菌	18	
克雷伯杆菌	10	
不动杆菌	5	
阴沟肠杆菌	3	
铜绿假单胞菌	2	
其他	7	12.07
真菌	6	
结核杆菌	1	

2.2 两组血清炎性细胞因子 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平比较

感染组血清 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平显著高于非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组血清 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serum TNF-α, IL-1β and IL-6 level between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TNF-α(ng/L)	IL-1β(ng/L)	IL-6(ng/L)
感染组	49	220.71±30.35	17.38±5.79	91.89±10.58
非感染组	52	165.14±26.09	13.61±4.90	53.46±7.20
t值		9.885	3.539	21.450
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 对 NSCLC 合并肺部感染的诊断价值

绘制 ROC 曲线,以约登指数最大为最佳临界点, TNF-α、IL-1β 及 IL-6 三者联合诊断的 AUC 大于各指标单独诊断($Z=1.804, P=0.071$)。见表4和图1。

3 讨论

NSCLC 合并肺部感染后,可导致患者的病情迅速进展并复杂化,同时延误抗肿瘤治疗疗程,极不利于患者的生存质量以及预后的改善^[8-9]。NSCLC 合并肺部感染患者的临床表现常不典型,可与 NSCLC 的临床表现相重叠而难以辨别和区

表4 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 对 NSCLC 合并肺部感染的诊断效能比较

Table 4 Comparison of diagnostic efficiency of TNF-α, IL-1β and IL-6 in the diagnosis of NSCLC combined with lung infection

指标	最佳截值	AUC	SE	95% CI
TNF-α(ng/L)	182.64	0.726	0.047	0.640~0.801
IL-1β(ng/L)	15.82	0.644	0.050	0.554~0.727
IL-6(ng/L)	75.10	0.770	0.043	0.687~0.840
三者联合		0.822	0.038	0.744~0.884

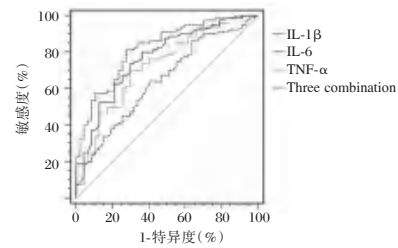


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

分。本组病例中,大部分的患者表现为低热或无发热起病,临床不易早期发现和识别,仅少部分患者呈现高热起病;呼吸道症状不典型,仅 69.39% 的患者出现咳嗽咳痰;胸片及 CT 主要以单侧或双侧肺散在片状浸润影为典型表现,本组病例中出现这一影像表现者达 69.39%,少部分(14.29%)的患者表现为大片状阴影,部分仅可见肺部纹理增多、模糊;病原学培养结果提示 NSCLC 合并肺部患者以革兰阴性细菌感染为主,少数患者合并真菌或结核杆菌感染,与以往研究报道^[10-11]中 NSCLC 合并肺部感染的病原分布特征相符合,这一结果对获得病原学结果之前的经验性抗生素应用具有一定的指导意义。此外,本组病例中仅有 28.57% 的合并肺部感染患者表现为 WBC 水平升高。由此可见,对于 NSCLC 合并肺部感染患者,常规实验室指标往往难以对感染进行准确的诊断。

存在于免疫细胞表面的 Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)是一类重要的模式识别受体,也是天然免疫系统的重要组成部分^[12-13]。在感染性疾病的病程中,TLRs 首先通过识别细菌或病毒的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)后激活,并将信号向胞内下游传递,最终刺激 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 等炎症细胞因子的大量形成和释放^[14]。TNF-α 已被证实是参与肺部组织炎症损伤反应过程的主要细胞因子之一。IL-6 可促进多种炎症因子的生成,既往报道^[15-16]中,在细菌性肺

炎急性期,外周血液循环中能检测到 IL-6 水平的明显升高,其可能诱导 T 淋巴细胞的分化,并进一步促进炎症细胞因子产生,增加炎症反应程度。IL-1 β 属于白介素 1 家族成员,是参与炎症级联反应的主要炎性介质之一^[17],以往相关研究^[18]显示,铜绿假单胞菌感染后,小鼠 *IL-1 β* mRNA 表达水平明显升高,而降低 IL-1 β 水平则可以改善其肺部炎症损伤,提示 IL-1 β 在肺部感染后的炎症反应及组织损伤中发挥了重要作用。本研究与姚达等^[19]研究结论相一致,提示上述血清炎症细胞因子水平可能是鉴别 NSCLC 合并肺部感染的潜在诊断指标。通过进一步的 ROC 曲线分析,笔者发现血清 TNF- α 及 IL-6 对 NSCLC 合并肺部感染均有较好的鉴别诊断价值, AUC 均大于 0.7,而将三者联合用于鉴别诊断时, AUC 达 0.822,鉴别诊断效能明显提高,有助于对 NSCLC 合并肺部感染进行早期鉴别诊断。

综上所述,NSCLC 合并肺部感染患者的临床表现不典型,呼吸道症状不明显,病原学分布以革兰阴性菌感染为主;患者的血清 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平明显升高,其联合检测有助于鉴别诊断 NSCLC 合并肺部感染。

参考文献

- [1] 王娟,潘鑫,徐永茂.血清外泌体中 NY-ESO-1, Alix, PLAP 联合对非小细胞肺癌的诊断价值[J].中南医学科学杂志, 2020, 48(6):633-636.
- [2] 闫庆韬,万斯傲,刘意,等.刺槐素对非小细胞肺癌 A549 细胞的抑制作用及其机制[J].江苏大学学报(医学版), 2023, 33(6):461-469.
- [3] 程玲,张利,马艳艳,等.危重症管理小组对肺癌并发重症肺部感染患者临床疗效及预后的影响[J].癌症进展, 2018, 16(14):1811-1814.
- [4] Chen F, Zou L, Williams B, et al. Targeting Toll-Like Receptors in Sepsis: From Bench to Clinical Trials[J]. Antioxid Redox Signal, 2021, 35(15):1324-1339.
- [5] Kircheis R, Planz O. The Role of Toll-like Receptors (TLRs) and Their Related Signaling Pathways in Viral Infection and Inflammation[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(7):6701.
- [6] 中华医学会,中华医学会儿科学分会,中华医学会儿科分会.中华医学会儿科临床诊疗指南(2018版)[J].中华儿科杂志, 2018, 40(12):935-964.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会.社区获得性肺炎诊断和治疗指南[J].中国实用乡村医生杂志, 2006, 20(3):158-160.
- [8] Zhao M, Liu Y, Liu R, et al. Upregulation of IL-11, an IL-6 Family Cytokine, Promotes Tumor Progression and Correlates with Poor Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45(6):2213-2224.
- [9] 张俐丽,冯国琴.个体化预测非小细胞肺癌患者化疗期间肺部感染风险 Nomogram 模型的建立与验证[J].中国感染控制杂志, 2022, 21(2):171-179.
- [10] 何利,沈继录,王友梅.老年 NSCLC 合并肺部感染患者病原菌分布特点及影响因素[J].中国老年学杂志, 2020, 40(23):4975-4978.
- [11] 王鹏,张东,郭学光,等.老年非小细胞肺癌患者肺部感染病原学分布与耐药性分析[J].现代生物医学进展, 2017, 17(32):6260-6266.
- [12] 张坤,杨铁柱.血清 NLR, TLR2, CRP/ALB 水平与股骨颈骨折术后感染相关性分析及临床预测价值分析[J].转化医学杂志, 2022, 11(3):170-174.
- [13] 胡元慧,汤冬玲,张平安.外周血单个核细胞 Toll 样受体 4 基因检测联合降钙素原对脓毒症的诊断价值研究[J].中国全科医学, 2022, 25(26):3246-3251.
- [14] 黄灵童,方雪玲,方强. Toll 样受体相关制剂在感染性疾病防治中的研究进展[J].中华临床感染病杂志, 2018, 11(3):234-240.
- [15] 徐辉,徐朝晖,沈克彦,等.细菌性肺炎儿童外周血中性粒细胞中 Wip1 的表达和临床意义[J].西部医学, 2020, 32(5):717-721.
- [16] 杨铮雯,白桂红,邵润霞.肺癌患者血清降钙素原和白细胞介素-6 水平与凝血指标的相关性[J].广东医学, 2017, 38(2):237-240.
- [17] Ito H, Hosomi S, Koyama Y, et al. Sepsis-associated encephalopathy: a mini-review of inflammation in the brain and body[J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14:912866.
- [18] 张玉昆,胡梦萍,姚光喜.铜绿假单胞菌肺炎大鼠血浆内毒素与肺组织白细胞介素 1 和肿瘤坏死因子的关系[J].中国医药导报, 2013, 10(18):55-56.
- [19] 姚达,池惠良,万延辉,等.肺癌合并肺部感染患者血清炎症因子水平变化及临床意义[J].中华医院感染学, 2019, 29(13):1959-1962.
- [13] Perricone M, Palandri F, Ottaviani E, et al. Assessment of the interlaboratory variability and robustness of JAK2V617F mutation assays: A study involving a consortium of 19 Italian laboratories[J]. Oncotarget, 2017, 8(20):32608-32617.
- [14] Aboulhoda BE. Age-Related Remodeling of the JAK/STAT/ SOCS Signaling Pathway and Associated Myocardial Changes: From Histological to Molecular Level[J]. Ann Anat, 2017, 214(42):16176-16176.
- [15] Kotapalli SS, Dasari C, Duscharla D, et al. All-Trans-Retinoic Acid Stimulates Overexpression of Tumor Protein D52 (TPD52, Isoform 3) and Neuronal Differentiation of IMR-32 Cells[J]. 2017, 118(12):30-32.

(上接第 2108 页)

输血治疗对消化道出血 HB、HCT、止血效果与再出血的影响分析

郭进^{1*} 朱文娟¹ 应斐² 钱业法²

[摘要] **目的** 探究输血治疗对消化道出血患者血红蛋白(HB)、血细胞比容(HCT)、止血效果的影响,并分析治疗后再出血的影响因素。**方法** 选取2019年2月至2023年3月在芜湖市第一人民医院进行治疗的消化道出血患者130例为研究对象。根据不同治疗方法将患者分为两组,研究组(80例)给予常规治疗+输血治疗,对照组(50例)仅给予常规治疗。比较两组患者消化道治疗情况、治疗前后HB、HCT水平变化和治疗后止血效果;分析研究组输血治疗后再出血的影响因素。**结果** 研究组住院时间、治疗总有效率高于对照组(53.75% vs 36.00%),差异均有统计学意义($t=3.562, \chi^2=3.892, P<0.05$)。治疗前,两组患者HB、HCT差异均无统计学意义($t=1.898, 1.888, P>0.05$);治疗后,两组患者HB、HCT均有不同程度的升高,研究组患者HB、HCT均高于对照组,差异均有统计学意义($t=2.483, 2.228, P<0.05$)。研究组治疗24 h止血率、72 h止血率均高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=3.864, 4.588, P<0.05$)。研究组输血后再次出血患者18例(22.5%)。二元 Logistic 回归分析显示72 h早期止血($OR=0.217$),合理输血($OR=0.262$)是异体输血后再出血的保护因素($P<0.05$)。**结论** 输血治疗对消化道出血早期止血效果显著。加强对老龄、女性患者的护理、合理输血、早期止血可预防再出血的发生,并提高临床治疗效果。

[关键词] 消化道出血;输血治疗;止血效果;再出血

Analysis of the impact of blood transfusion therapy on HB, HCT, hemostatic effect and rebleeding in gastrointestinal bleeding

GUO Jin^{1*}, ZHU Wenjuan¹, YING Fei², QIAN Yefan²

(1. Department of Blood Transfusion, the First People's Hospital of Wuhu City, Wuhu, Anhui, China, 241000;

2. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Wuhu, Wuhu, Anhui, China, 241000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the influence of allogeneic blood transfusion therapy on HB, HCT and hemostatic effect of gastrointestinal bleeding, and analyze the influencing factors of rebleeding after treatment. **Methods** A total of 130 patients with gastrointestinal bleeding who were treated in Wuhu First People's Hospital from February 2019 to March 2023 were selected as the study subjects. The patients were divided into two groups according to different treatment methods. The study group (80 cases) was given routine treatment plus blood transfusion, and the control group (50 cases) was only given routine treatment. The treatment of digestive tract, the changes of HB and HCT levels before and after treatment and the hemostatic effect after treatment were compared between the two groups. The influencing factors of rebleeding after blood transfusion treatment in the study group were analyzed. **Results** The hospitalization time and total effective rate of treatment in the study group were higher than those in the control group (53.75% vs 36.00%), the differences were statistically significant ($t=3.562, \chi^2=3.892, P<0.05$). After treatment, the levels of HB and HCT in the two groups increased to varying degrees, while HB and HCT in the study group were higher than those in the control group, the differences were statistically significant ($t=2.483, 2.228, P<0.05$). The hemostasis rate at 24 h and 72 h in

基金项目:安徽省高校自然科学研究项目(KJ2020A0341)

作者单位:1.芜湖市第一人民医院输血科,安徽,芜湖241000

2.芜湖市第一人民医院检验科,安徽,芜湖241000

*通信作者:郭进, E-mail: guojin936@163.com

the study group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($\chi^2=3.864, 4.588, P<0.05$). In the study group, 18 patients (22.5%) had rebleeding after blood transfusion, and 62 patients (77.5%) had no rebleeding. Binary Logistic regression analysis showed that early hemostasis at 72 h ($OR=0.217$) and reasonable blood transfusion ($OR=0.262$) were protective factors for rebleeding after allogeneic blood transfusion ($P<0.05$). **Conclusion** Blood transfusion therapy has a significant effect on early hemostasis of gastrointestinal bleeding. Strengthening nursing care of elderly and female patients, reasonable blood transfusion and early hemostasis can prevent further bleeding and improve clinical treatment effects.

[KEY WORDS] Gastrointestinal bleeding; Transfusion therapy; Hemostatic effect; Bleeding again

消化道出血发生率高,少量出血情况下可伴有头晕、乏力、冷汗等症状,大量出血下表现为便血、呕血、血压异常及血红蛋白降低等,严重时可能造成失血性休克,影响患者的生命安全,因此及时纠正贫血为治疗的关键点^[1-2]。成分输血在临床抢救治疗中的作用已得到证实,在去除病因和对症处理的同时,掌握正确的输血指征,选择科学合理的输血治疗的尤为重要^[3-4]。现临床上关于输血应用于消化道出血临床治疗的报道较多,但输血对患者止血效果与再出血的影响仍存在较大争议;且对于异体输血后患者再出血影响因素分析的研究较少。本研究探讨异体输血对消化道出血患者血红蛋白(hemoglobin, HB)、血细胞比容(hematocrit, HCT)、止血效果及再出血的影响,并分析其影响因素。结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年2月至2023年3月在芜湖市第一人民医院进行治疗的消化道出血患者130例为研究对象,患者知情并自愿参与研究。所有患者入院后均进行相关检查,结合病史或内镜检查明确消化道出血诊断。纳入标准:①结合实验室检查、内镜检查及临床症状符合《现代消化道出血诊治指南》^[5]中关于消化道出血的诊断标准;②患者认知与表达能力清晰,且临床资料齐全。排除标准:①白血病贫血患者;②再生障碍性贫血患者;③患有血液系统或其他急症大量出血者。入选患者根据不同治疗方案分为两组,研究组(80例)给予常规治疗+异体输血治疗,其中符合输血指征43例,男性50例占比62.5%,女性30例占比37.5%,平均年龄(65.74±14.91)岁,胃溃疡(含复合型)23例、十二指肠溃疡14例、胃占位病变/穿孔/胃癌10例、结肠十二指肠占位/恶性肿瘤5例、食管胃底静脉曲张/食管疾病12例、慢性胃炎11例、其他5例。对照组(50例)仅

给予常规治疗,其中符合输血指征6例,男性35例占比70%、女性15例占比30%,平均年龄(60.84±19.95)岁,胃溃疡(含复合型)18例、十二指肠溃疡11例、食道病变3例、慢性胃炎6例、胃癌2例、其他10例。本研究已通过芜湖市第一人民医院医学伦理委员会审查(伦理批号:YYLL20200053)

1.2 方法

所有患者入院后均进行血压、心率及血氧饱和度(Pulse Oximetry Oxygen Saturation, SPO₂)等监测,建立静脉通道,给予乳酸钠林格液体维持血容量,并进行抑酸护胃,止血,纠正贫血等对症处理。研究组完成配血后,输入红细胞悬液、血浆等成分,根据患者耐受情况逐步调节输注速度,输血过程中注意观察有无不良反应,结束之后将血袋送回到输血科保存^[6],密切关注患者生命体征情况及再出血情况。

1.3 观察指标

(1)血清检测:分别与治疗前后采集两组患者外周静脉血4 mL,离心20 min(3 000 r/min,离心半径10 cm),分离上清。使用全自动血细胞分析仪(XS-500I)对患者血清HB、HCT进行检测。(2)疗效及止血评定标准参考《实用内科学》制定标准^[7]。疗效评定:①有效:患者24~72 h止血并且再无发生出血现象者;②无效:患者72 h后出血仍未停止者。止血标准:①休克、贫血等各临床表现与症状都得到了改善,脉搏血压正常,尿量>40 mL/h提示出血停止。②血压稳定,肠鸣音正常,没有产生反复呕血和黑便或患者的血红蛋白、血压及心率等生命体征稳定。③胃管内引流液无血性并且胃镜确定出血终止。以上三项中一项符合则表明出血终止。(3)合理输血指征判断标准参照《临床单病种输血》^[8]:消化道出血患者①有慢性贫血Hb≤60 g/L或Hct≤0.20;②Hb<70 g/L或Hct<0.25,患者处于消化道活动性出血,有缺氧症状;③出现失血性休克。

1.4 统计学处理

采用SPSS 23.0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,行t检验及单因素方差分析。影响因素分析采用二元Logistic回归分析。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组消化道出血患者治疗情况比较

研究组患者住院时间高于对照组,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 两组消化道出血患者治疗情况比较 [$(\bar{x}\pm s), n(\%)$]

分组	n	住院时间(d)	治疗有效率
研究组	80	9.69±4.11	43(53.75)
对照组	50	7.32±2.87	18(36.00)
t值		3.562	3.892
P值		0.001	0.049

2.2 两组消化道出血患者血常规水平比较

治疗前,两组患者HB、HCT比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,两组患者出院HB及HCT均有不同程度的升高,而研究组治疗后HB、HCT均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 消化道出血患者血常规水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of blood routine levels in patients with gastrointestinal bleeding ($\bar{x}\pm s$)

分组	n	HB(g/L)		HCT(%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组	80	67.74±17.58	73.68±9.09*	21.61±5.27	24.35±2.82*
对照组	50	72.76±8.06	72.26±9.35*	23.19±3.44	23.11±3.42*
t值		1.898	2.483	1.886	2.228
P值		0.060	0.014	0.062	0.028

注:与同组治疗前比较* $P<0.05$ 。

2.3 两组消化道出血患者止血效果比较

研究组治疗24 h、72 h的止血率均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),48 h止血率略高于对照组,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.4 异体输血患者再出血影响因素分析

两组患者性别、年龄、输血前HCT、合理输血,72 h止血等差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.5 异体输血患者再出血 Logistic 回归分析

以“有无再出血”为因变量(赋值:0=出血,1=未出血),以性别(女=0男=1)、年龄>60岁(是=0,否=1)、合理输血(否=0,是=1)、72 h止血(否=0,是=1)、输血前HCT(连续性变量)为自变量,纳入二元Logistic回归分析。多因素Logistic回归分析显示,合理输血、72 h早期止血为消化道出血再出血的保护因素($P<0.05$)。见表5。

表3 消化道出血患者止血效果比较 [$n(\%)$]

Table 3 Comparison of hemostatic effects in patients with gastrointestinal bleeding [$n(\%)$]

组别	n	止血效果		
		治疗24 h	治疗48 h	治疗72 h
研究组	80	19(23.75)	41(51.25)	49(61.25)
对照组	50	5(10.00)	22(44.00)	21(42.00)
χ^2 值		3.864	0.648	4.588
P值		0.049	0.421	0.032

表4 异体输血患者再出血影响因素分析 [$n(\%), (\bar{x}\pm s)$]

Table 4 Analysis of influencing factors of rebleeding in patients with allogeneic blood transfusion [$n(\%), (\bar{x}\pm s)$]

变量	n	再出血组(18)	未出血组(62)	t/ χ^2 值	P值
性别					
男	50	7(38.89)	43(69.35)	5.524	0.019
女	30	11(61.11)	19(30.65)		
年龄>60(岁)					
是	53	16(88.89)	37(59.68)	5.324	0.021
否	27	2(11.11)	25(40.32)		
输血前HB(g/L)	80	63.83±9.10	58.77±9.90	1.941	0.056
输血前HCT(%)	80	20.65±3.03	18.97±3.04	2.071	0.042
合理输血					
是	43	5(27.78)	38(61.29)	6.302	0.012
否	37	13(72.22)	24(38.71)		
72 h止血					
是	49	6(12.24)	43(87.76)	7.626	0.006
否	31	12(29.27)	19(46.34)		

=1)、输血前HCT(连续性变量)为自变量,纳入二元Logistic回归分析。多因素Logistic回归分析显示,合理输血、72 h早期止血为消化道出血再出血的保护因素($P<0.05$)。见表5。

表5 异体输血患者再出血 Logistic 回归分析

Table 5 Logistic regression analysis of rebleeding in patients with allogeneic blood transfusion

相关因素	B值	S.E.值	Wald值	自由度	OR值	95% CI	P值
性别	-0.956	0.609	2.461	1	0.385	0.117~1.269	0.117
年龄>60岁	0.876	0.583	2.258	1	2.401	0.766~7.528	0.133
合理输血	-1.340	0.638	4.415	1	0.262	0.075~0.914	0.036
72 h止血	-1.528	0.614	6.180	1	0.217	0.065~0.724	0.013
输血前HCT	-0.067	0.096	0.487	1	0.935	0.775~1.129	0.485

3 讨论

消化道出血为临床常见症候群,指的是消化道内的血管破裂导致血液流出,其发生率高,致病原因多且复杂,少量出血情况下可伴有头晕、乏力、冷汗等症状,急性大量出血情况下可造成患者血压及血容量下降,严重时可引起失血性休克,影响患者的生命健康^[9-10]。因此对于消化道出血患者,最首

要的任务便是止血、补充血容量。已有研究指出,紧急情况下,输血治疗对患者血容量的维持、微循环灌注的改善均具有重要作用^[11]。而HB及HCT均为输血治疗中重要的指标,其中HB是一种存在于红细胞内的蛋白质,其含量可以反应血液中氧气的携带能力,血红蛋白水平的异常可以提示贫血、失血、营养不良或其他健康问题。HCT是指一定容积全血中红细胞所占的体积比例,红细胞压积的测量可以帮助评估红细胞数量和血液稠度,其可作为患者是否需要补充电解质的依据^[12]。本研究旨在探讨异体输血对消化道出血患者HB、HCT、止血效果及再出血的影响,并分析其影响因素。

临床上针对消化道出血患者先给予平衡液及葡萄糖液补充,以扩充患者血容量,常规抑酸止血治疗同时检测HB、HCT。对HB、HCT较低患者申请悬浮红细胞或血浆等成分,确保机体红细胞量的快速补充,提高携氧能力,进而有效降低患者失血过多而造成的休克及死亡^[13]。本研究中研究组入院时,两组患者HB、HCT差异均无统计学意义;经治疗后,两组患者出院HB及HCT均有不同程度的升高,但研究组出院时的HB、HCT均高于对照组,差异均具有统计学意义,原因可能为HB较低时输血补充患者体内缺乏的红细胞,血浆和其他血液成分,最大化激活患者的自我修复调节能力^[14],此外红细胞会释放一些细胞内成分,例如钾离子。这些释放的成分可以导致细胞外液中的溶质浓度升高,从而使HB和HCT的测量值升高。因此合理输血并提高输血的时效性对消化道出血止血有重要意义。

异体输血可补充消化道出血患者血容量、提高携氧能力,是医疗救治的重要措施,但仍存在输血安全的风险,可引起过敏反应、发热、呼吸困难,严重可危及生命^[15]。本研究中,研究组临床有效率高于对照组,输血后再次出血患者占22.50%,多因素Logistic回归分析显示,合理输血、72h内早期止血为消化道出血患者异体输血后再出血的保护因素。原因为:合理输血在改善失血症状的基础上,纠正患者血容量,刺激机体生成血小板,从而促进凝血,减短止血时间^[16],且消化道出血患者机体贫血情况越严重,输血量相对较多,异体输血虽可维持血容量,防止血压下降,但输血量过多易引发急性肺水肿或再次出血。早期止血可以有效控制出血源,有助于稳定患者病情,为后续治疗提供更好的条件。

综上所述,消化道出血可通过提高输血治疗的

时效性,促进患者贫血状态的恢复,改善出血状态,但要注意监测HB、HCT指标,合理输血并预防不良反应的发生。消化道出血治疗中加强老龄女性的护理,严格掌握输血指征可有效预防再出血的发生。

参考文献

- [1] 张旭,黎学聪,林道壮.奥曲肽联合恩替卡韦治疗老年肝硬化合并上消化道出血的临床疗效及对输血量、止血时间的影响[J].中国老年学杂志,2021,41(12):2526-2528.
- [2] 吴天山,杨杰,马宏飞,等.剖腹探查结合术中肠镜在消化道出血治疗的应用及RBC、Hb和HCT改变[J].分子诊断与治疗杂志,2022,(3):443-446.
- [3] Mark DG, Huang J, Plimier C, et al. Red blood cell transfusions for emergency department patients with gastrointestinal bleeding within an integrated health system [J]. *Am J Emerg Med*, 2020,38(4):746-753.
- [4] 冯晓林,周秀杰,朱晓维,等.去白细胞输血治疗急性白血病的疗效分析[J].中国全科医学,2021,24(S1):129-130.
- [5] 池肇春,许慧,李方儒.现代消化道出血诊治指南[M].北京:军事医学出版社,2005.
- [6] 潘丽,阮峥,王韵暄.洗涤红细胞对反复输注红细胞患者输血效果的影响分析[J].中国农村卫生,2020,(24):96.
- [7] 尹凡,王召辉.内镜下注射蛇毒血凝酶联合静脉滴注奥美拉唑治疗溃疡性上消化道出血的疗效[J].分子影像学杂志,2022,45(5):678-682.
- [8] 高德兰,朱青.消化道出血患者输注血液制品现状的分析[J].临床消化病杂志,2019,31(1):9-11.
- [9] Dray X, Koulaouzidis A. Panenteric capsule endoscopy: a new soldier at the forefront of lower gastrointestinal bleeding workup and beyond [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 33(7):947-948.
- [10] 殷振华,庞智睿,方献春,等.骨髓增生异常综合征患者输血治疗有效性分析[J].中国实验血液学杂志,2020,28(5):1648-1653.
- [11] Maher PJ, Khan S, Karim R, et al. Determinants of empiric transfusion in gastrointestinal bleeding in the emergency department [J]. *Am J Emerg Med*, 2020,38(5):962-965.
- [12] 孙娟,左诗怡,陈珍珍,等.电解质紊乱与原发脑干出血患者意识障碍转归的相关性分析[J].第三军医大学学报,2021,43(15):1424-1429.
- [13] Hamarneh Z, Robinson K, Andrews J, et al. Transfusion strategies in upper gastrointestinal bleeding management: a review of South Australian hospital practice [J]. *Intern Med J*, 2020,50(5):582-589.
- [14] 张吉桂,周翔禹.消化内镜下不同止血夹治疗上消化道出血的疗效及对白蛋白、血红蛋白和血小板水平的影响[J].中国内镜杂志,2021,27(2):76-82.
- [15] Renukprasad AK, Narayanaswamy SRV. A Comparative Analysis of Risk Scoring Systems in Predicting Clinical Outcomes in Upper Gastrointestinal Bleed [J]. *Cureus*, 2022, 14(7):e26669-e26669.
- [16] 李英,张琳,于欣,等.限制性输血与开放性输血对肝硬化上消化道出血患者血清凝血因子及预后的影响[J].中西医结合肝病杂志,2023,33(7):603-605.

血清 Cys-c、NLR、TFF3 对妊娠期糖尿病早期肾功能损伤的预测价值

张娟娟¹ 杜云² 陈群¹ 魏艳玲^{3*}

【摘要】 目的 探讨血清中胱抑素-C(Cys-c)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、三叶因子3(TFF3)在妊娠期糖尿病(GDM)患者中的表达情况以及对GDM患者早期肾损伤的预测价值。方法 选取2021年1月至2023年1月就诊于西北妇女儿童医院的105例GDM患者为观察组,选择同期就诊的62名健康孕妇作为对照组。观察组根据有无肾功能损伤分为肾功能正常组58例,肾功能损伤组47例;根据糖化血红蛋白(HbA1c)水平分为<5.5% 21例,HbA1c 5.5%~6.5% 36例,HbA1c>6.5% 48例。收集所有观察对象一般资料,比较观察组与对照组Cys-c、NLR、TFF3水平差异。比较观察组HbA1c(<5.5%,5.5%~6.5%,>6.5%)三组间Cys-c、NLR、TFF3水平差异。比较观察组肾功能正常组与肾功能损伤组Cys-c、NLR、TFF3水平差异。采用受试者工作特征曲线(ROC)分析Cys-c、NLR、TFF3对早期肾功能损害的预测价值。结果 观察组血清Cys-c、NLR、TFF3水平高于对照组,差异有统计学意义($t=8.45, 8.27, 8.99, P<0.05$)。血清Cys-c、NLR、TFF3水平:HbA1c>6.5%组>HbA1c5.5%~6.5%组>HbA1c<5.5%组,差异有统计学意义($F=20.993, 45.293, 55.855, P<0.05$)。肾功能损伤组血清Cys-c、NLR、TFF3水平高于肾功能正常组,差异有统计学意义($t=6.02, 9.20, 7.07, P<0.05$)。ROC结果显示,Cys-c、NLR、TFF3及联合检测的AUC分别为0.859,0.857,0.864,0.873。结论 血清Cys-c、NLR、TFF3均在GDM患者中显著升高,三者联合检测对GDM患者早期肾损伤预测有一定价值,可能为GDM患者早期肾损伤的预测提供新的途径与方法。

【关键词】 妊娠期糖尿病;胱抑素-C;中性粒细胞与淋巴细胞比值;三叶因子3

Prognostic value of serum Cys-c, NLR and TFF3 for early renal function impairment in gestational diabetes mellitus

ZHANG Juanjuan¹, DU Yun², CHEN Qun¹, WEI Yanling^{3*}

(1. Gynecology Department of Northwest Women and Children's Hospital Xi'an, Shaanxi, 710061; 2. Northwest Women and Children's Hospital Obstetrics and Gynecology, Xi'an, 710061, Shaanxi; 3. Obstetrics and Gynecology Department of the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University Xi'an, Shaanxi, 710032)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the expression of serum cystatin C (Cys-c), neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), and trefoil factor 3 (TFF3) in patients with gestational diabetes (GDM), and to predict the early renal injury in GDM patients. **Methods** 105 GDM patients who visited Hospital in Northwest Women's and Children's from January 2021 to January 2023 were selected as the observation group, and 62 healthy pregnant women who visited the same period were selected as the control group. The observation group was divided into a normal renal function group of 58 cases and a renal function injury group of 47 cases based on the presence or absence of renal function injury. According to the level of glycosylated hemoglobin (HbA1c), 21 cases were classified as <5.5%, 36 cases as HbA1c 5.5%~6.5%, and 48 cases as HbA1c >6.5%. The general

基金项目:陕西省重点研发项目(2018SF-064)

作者单位:1. 西北妇女儿童医院妇科,陕西,西安710061

2. 西北妇女儿童医院产科,陕西,西安710061

3. 空军军医大学第一附属医院妇产科,陕西,西安710032

*通信作者:魏艳玲, E-mail:Weiyanling369@126.com

data of all observation subjects and the differences in Cys-c, NLR, and TFF3 levels between the observation group and the control group were compared. The differences in Cys-c, NLR, and TFF3 levels among the three groups in the observation group HbA1c (<5.5%, 5.5%~6.5%, >6.5%) were compared. The differences in Cys-c, NLR, and TFF3 levels between the normal renal function group and the renal function injury group in the observation group were compared. The predictive value of Cys-c, NLR, and TFF3 in early renal function impairment was analyzed using the receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** The serum levels of Cys-c, NLR, and TFF3 in the observation group were higher than those in the control group, with statistically significant differences ($t=8.45, 8.27, 8.99, P<0.05$). Serum Cys-c, NLR, and TFF3 levels: HbA1c > 6.5% group > HbA1c 5.5%~6.5% group > HbA1c <5.5% group, with statistically significant differences ($F=20.993, 45.293, 55.855, P<0.05$). The serum levels of Cys-c, NLR, and TFF3 in the group with renal dysfunction were higher than those in the group with normal renal function, and the difference was statistically significant ($t=6.02, 9.20, 7.07, P<0.05$). The ROC results showed that the AUC for Cys-c, NLR, TFF3, and combined detection were 0.859, 0.857, 0.864, and 0.873, respectively. **Conclusion** Serum Cys-c, NLR and TFF3 are significantly increased in GDM patients, and the combined detection of the three has a certain value in the prediction of early renal injury in GDM and may provide a new way and method for the prediction of early renal injury in GDM.

[KEY WORDS] Gestational diabetes mellitus; Cys-c; NLR; TFF3

妊娠期糖尿病 (stational diabetes mellitus, GDM) 被定义为在怀孕期间首次发生或在怀孕前存在但以前未被诊断出的碳水化合物耐受性障碍^[1]。未经适当治疗的 GDM 患者可能会生出 2 型糖尿病和超重的高风险婴儿, 从而导致胎儿后果不佳。研究表明, 患有 GDM 的女性可能具有多个器官功能损伤的高风险, 例如肾脏, 因此对于 GDM 和由 GDM 引起的肾功能损伤的早期诊断具有重要的临床意义^[2]。胱抑素-C (Cystatin-c, Cys-c) 是一种低分子量蛋白质, 相关研究报道, GDM 是导致 Cys-c 水平升高的重要因素, Cys-c 可能成为孕妇 GDM 可靠、有用的标志物^[3]。先前的研究证明, 炎症在 GDM 的发展中起作用, 而中性粒细胞与淋巴细胞比值 (neutrophil to lymphocyte ratio, NLR) 就是炎症标志物, 而且 NLR 值的升高是肾损害的危险因素^[4]。三叶因子 3 (trefoil factor3, TFF3) 是一种小的可溶性肽, 含有称为 TFF 结构域的三叶结构, 对诊断肾损伤有帮助作用^[5]。本研究将进一步探讨血清 Cys-c、NLR、TFF3 联合检测对 GDM 患者早期肾损伤的预测价值, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2023 年 1 月西北妇女儿童医院收治的 105 例 GDM 患者为观察组, 根据有无肾功能损伤分为肾功能正常组 58 例, 肾功能损伤组 47 例; 根据糖化血红蛋白 (HbA1c) 分为 3 组^[6]: HbA1c<5.5% 21 例, HbA1c5.5%~6.5% 36 例,

HbA1c>6.5% 48 例。纳入标准: ①符合《孕期糖尿病诊治指南》^[7] 中的妊娠期糖尿病相关诊断。②GDM 合并肾功能损伤诊断标准^[8] 为 mALB \geq 0.2/24 h。③患者均首次妊娠。④孕前无糖尿病病史。⑤孕 24~28 周。排除标准: ①孕前有糖尿病、甲状腺等疾病者。②其他原因导致肾损害。③胎儿畸形或多胎妊娠。④合并其他疾病患者。另选取在本院同期就诊的 62 名健康孕妇作为对照组。两组年龄、孕周、体重、孕前 BMI 等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。本研究经院医学伦理委员会审核批准, 所有受试者者知情同意。

表 1 两组一般资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of General Information between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	年龄(岁)	孕周(周)	体重(kg)	孕前 BMI(kg/m ²)
观察组	105	26.53 \pm 4.55	26.15 \pm 2.37	59.12 \pm 9.23	26.52 \pm 2.91
对照组	62	26.76 \pm 4.81	25.76 \pm 2.07	58.02 \pm 6.32	26.92 \pm 2.04
t 值		0.308	1.077	0.833	0.958
P 值		0.759	0.283	0.406	0.339

1.2 检测方法

1.2.1 血清 Cys-c、TFF3 检测

采集孕 24~28 周受试者静脉血液 8 mL, 室温放置 25 min, 离心机离心, 3 500 r/min, 离心半径 10 cm, 离心 15 min, 分离出上层清液约 5 mL, -20℃ 冰箱保存。采用酶联免疫吸附法检测血清、TFF3, 试剂购自 Abcam 公司。

1.2.2 血清 NLR 检测

采集孕 24~28 周受试者静脉血液 5 mL, 应用

贝克曼库尔特 LH750 型全自动流式血细胞分析仪测定患者血清淋巴细胞水平、中性粒细胞水平,通过中性粒细胞和淋巴细胞计数计算 NLR。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 23.0 统计软件分析数据。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 ROC 曲线分析 Cys-c、NLR、TFF3 对 GDM 患者早期肾损害的诊断价值。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平比较

观察组血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组血清中 Cys-c、NLR、TFF3 水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	Cys-c(mg/L)	NLR	TFF3(μ g/L)
观察组	105	1.92 \pm 0.61	2.17 \pm 0.66	20.33
对照组	62	1.20 \pm 0.34	1.43 \pm 0.33	14.07
<i>t</i> 值		8.45	8.27	8.99
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平与 HbA1c 的关系

血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平: HbA1c>6.5%组>HbA1c5.5%~6.5%组>HbA1c<5.5%组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平与 HbA1c 的关系 $(\bar{x} \pm s)$

组别	Cys-c(mg/L)	NLR	TFF3(μ g/L)
HbA1c<5.5% (<i>n</i> =21)	1.38 \pm 0.51	1.45 \pm 0.21	14.29 \pm 2.48
HbA1c5.5%~6.5% (<i>n</i> =36)	1.82 \pm 0.39 ^a	2.01 \pm 0.46 ^a	19.35 \pm 2.82 ^a
HbA1c>6.5% (<i>n</i> =48)	2.24 \pm 0.61 ^{ab}	2.61 \pm 0.58 ^{ab}	23.82 \pm 4.28 ^{ab}
<i>F</i> 值	20.993	45.293	55.855
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 HbA1c<5.5%相比,^a $P < 0.05$;与 HbA1c5.5%~6.5%相比,^b $P < 0.05$ 。

2.3 GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平与肾损伤的关系

肾损伤组血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平均显著高于非肾损伤组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平与肾损伤的关系 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	Cys-c(mg/L)	NLR	TFF3(μ g/L)
肾功能正常组	58	1.64 \pm 0.53	1.78 \pm 0.44	17.65 \pm 3.71
肾功能损伤组	47	2.27 \pm 0.55	2.66 \pm 0.54	23.75 \pm 4.43
<i>t</i> 值		6.02	9.20	7.67
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 对早期肾损害的预测价值

血清 Cys-c、NLR、TFF3 及三者联合诊断 GDM 患者早期肾功能损害的 AUC 分别为 0.859, 0.857, 0.864, 0.873。见表 5, 图 1。

表 5 GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 对早期肾损害的 ROC 曲线

因素	敏感度	特异性	截断值	AUC	95% CI
Cys-c(mg/L)	0.781	0.855	0.636	0.859	0.802~0.915
NLR	0.848	0.742	0.59	0.857	0.801~0.914
TFF3(μ g/L)	0.819	0.790	0.609	0.864	0.808~0.919
联合检测	0.771	0.871	0.642	0.873	0.819~0.926

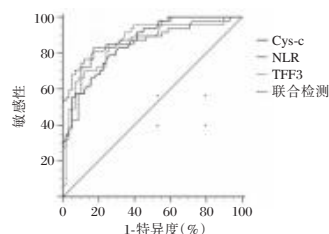


图 1 ROC 曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis

3 讨论

GDM 是一种常见的妊娠期代谢紊乱疾病,其发病机制尚不清楚。有研究报道表明^[9],GDM 患者早期肾损伤症状不明显,检测出现尿白蛋白、肌酐异常时,往往已形成 GDM 合并肾病。由于尿白蛋白、肌酐等检测指标对早期肾损伤判断有一定滞后性,且这类指标易受性别、年龄、饮食习惯、使用药物等因素的影响,使其在 GDM 早期肾损伤应用价值较低。因此,需要探索更为合理、高效、特异性好的检测指标,这对 GDM 早期肾损伤诊断及治疗有重要的意义。

Cys-c 是有核细胞产生的半胱氨酸蛋白酶抑制剂,Cys-c 形成过程较为恒定,不易受到外界因

素变化的影响。Cys-c 的血浆浓度稳定,其可以通过肾小球膜自由过滤并被肾小管细胞重吸收和分解代谢,是反映肾小球滤过率的良好内源性标志物^[10]。Cys-c 可用于妊娠患者肾功能损害的密切监督和早期诊断^[11]。NLR 是 GDM 的预测标志物,也是 GDM 肾损伤的标志物^[12]。Zhang 等^[13]通过肾活检证实了 NLR 水平上升会导致糖尿病患者的肾功能损伤,且 NLR 水平与糖尿病患者的肾小管萎缩和肾间质纤维化有显著的相关性。TFF3 是三叶因子家族的重要成员之一,能诱导激活下游的炎症因子白细胞介素-6 等,促进相关炎症疾病发展。既往研究表明^[14],TFF3 在肾小管损伤中上调,并通过结合肾小球基底膜细胞上的糖蛋白结合受体,造成肾小球细胞的氧化应激障碍,从而导致肾功能损伤。本研究结果表明 Cys-c、NLR、TFF3 可能与妊娠糖尿病的发生密切相关。

本研究结果显示,随着 HbA1c 水平升高,GDM 患者血清 Cys-c、NLR、TFF3 水平也呈升高趋势。HbA1c 是判断糖尿病患者血糖控制效果的金标准,同时可提示肾脏微血管损伤^[15]。HbA1c 高说明机体处于高糖状态,红细胞携氧能力减弱,组织缺氧,内皮细胞受损,易造成肾小球滤过压升高、肾脏血流减少,引发肾脏损伤^[16]。

Cys-c 只能通过肾脏排出体外,早期肾损伤可引起血清 Cys-c 上升,Cys-c 评估早期肾功能损伤特异性较高。Cys-c 检测方法简单且干扰因素较少,采用 Cys-c 作为检测指标观察早期肾功能损伤具有一定优越性。参与肾损伤炎症反应的细胞因子较多,如肾脏固有细胞、自然杀伤细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等外来细胞,因此,采用 NLR 作为炎症标志物,能准确反映 GDM 患者早期肾功能损伤。姚燕珍等^[17]研究报道,血清 TFF3 水平与糖尿病肾病患者 24 h 尿微量清蛋白排泄率呈正相关,提示 TFF3 与肾脏损伤严重程度相关,其对早期肾损伤具有一定反映价值。

进一步 ROC 曲线分析结果显示,三者联合检测能有效提高敏感度和特异性,因此推荐血清 Cys-c、NLR、TFF3 联合检测预测 GDM 患者早期肾功能损伤。

综上所述,血清 Cys-c、NLR、TFF3 与 GDM 患者早期肾功能损伤具有一定关系,且联合检测预测 GDM 患者早期肾功能损伤有较高的预测价值,可为临床诊断和治疗 GDM 患者早期肾功能损伤提供一定参考。

参考文献

- [1] Packer CH, Pilliod RA, Chatroux LR, et al. Increased rates of adverse perinatal outcomes in women with gestational diabetes and depression [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 34(23):3862-3866.
- [2] 王远远. 血糖控制不良 GDM 孕妇血清 LRG1 与早期肾损伤指标关系 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2021, 29(7):1484-1487.
- [3] 刘倩, 雷伟, 蒋红雨. 探讨 NGAL、IL-18、Cys-C 在妊娠期糖尿病母亲分娩新生儿早期肾损伤的预警价值 [J]. *贵州医药*, 2021, 45(7):1081-1083.
- [4] 宋晶, 王蕾, 闫琼, 等. NLR、IL-1 β 、IL-8 及 Hcy 联合超声心动图在 GDM 孕妇胎儿心功能评估中的应用 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023, 15(4):669-672.
- [5] 徐婧. 基于血清 TFF3、SFRP5、Gal-3 和 NES-1 的糖尿病肾病诊断预测公式 [J]. *国际生物医学工程杂志*, 2022, 45(1):47-51.
- [6] 赵春华, 杨梅. 妊娠糖尿病患者糖化血红蛋白与新生儿低血糖发病风险的关系 [J]. *中国保健营养*, 2017, 27(25):27-28.
- [7] 陈海天, 张少凤, 王子莲. 美国糖尿病学会 2020 年《孕期糖尿病诊治指南》摘译和解读 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2020, 36(12):1003-1008.
- [8] 颜红梅, 夏姣, 唐云琳, 等. 妊娠期糖尿病孕妇血清 TRF、LN、 α 1-MG 预测早期肾损伤价值 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(5):1123-1127.
- [9] 王肇. 血清 Spexin、Irisin 和 NRG4 水平在妊娠期糖尿病患者肾功能损伤中的诊断价值 [J]. *检验医学与临床*, 2022, 19(19):2695-2698, 2721.
- [10] 周敏, 薛文翠, 马玮龙, 等. β 2-MG、UACR 及 Cys-C 对原发性老年高血压肾损伤的预测价值 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(1):115-118.
- [11] 黄子初, 郑铭奇, 陈辉雄. sdLDL-C、NLR 结合 ACR 评估糖尿病早期肾损伤的临床价值 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2022, 29(12):2085-2089.
- [12] 舒晓芳, 李思吟, 王亮. 妊娠早期 NLR、铁蛋白、Hcy 与妊娠期糖尿病、产后糖代谢异常的相关性分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2023, 34(9):23-27.
- [13] Zhang J, Zhang R, Wang Y, et al. Effects of neutrophil-lymphocyte ratio on renal function and histologic lesions in patients with diabetic nephropathy [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2019, 24(11):1115-1121.
- [14] 徐婧. 基于血清 TFF3、SFRP5、Gal-3 和 NES-1 的糖尿病肾病诊断预测公式 [J]. *国际生物医学工程杂志*, 2022, 45(1):47-51.
- [15] 高娇, 张静, 董瑾, 等. FPG、HbA1c、Sur、Scr、Cys-C、C1q 对早期糖尿病肾病的诊断价值 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2022, 29(7):1093-1097.
- [16] 刘欢, 樊焱, 吴玉霞, 等. 高 HbA1c 变异性增加老年 2 型糖尿病患者肾小球滤过率下降风险 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2022, 38(10):859-864.
- [17] 姚燕珍, 李翊卫, 鲍舟君, 等. 三叶因子 3 在糖尿病肾病中的研究 [J]. *中国预防医学杂志*, 2018, 19(2):119-123.

增强CT检查联合EGFR、NSE及SCC检测在肺癌诊断及预后评估中的应用

柏昆¹ 张铭¹ 刷素贞² 冯赞¹ 伏红超¹ 梁凯轶^{1*}

[摘要] **目的** 分析增强CT(CECT)检查联合磷酸脂酶与表皮生长因子(EGFR)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)及鳞状细胞癌抗原(SCC)检测在肺癌诊断及预后评估中的应用。**方法** 选取上海健康医学院附属嘉定区中心医院2019年1月至2022年5月经手术或穿刺病理确诊的158例NSCLC患者为恶性组,另选取同期70例肺内有团块阴影但最终被确诊为炎症的患者为对照组。对比两组研究对象以及恶性组I~II期、III~IV期患者CECT值、EGFR表达以及NSE、SCC水平;分析恶性组的预后情况与CECT、NSE、SCC、EGFR单独及联合检测肺癌的诊断效能;分析肺癌患者CECT表现的典型病例。**结果** 恶性组NSE、SCC水平、CECT的CT值以及EGFR阳性率均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);III~IV期肺癌患者NSE、SCC水平、CECT的CT值以及EGFR阳性率均高于I~II期患者,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗后随访12个月,发现出现转移复发患者41例(进展组),无发生事件患者117例(无事件发生组);进展组的CECT的CT值、NSE、SCC水平高于无事件发生组,EGFR突变率低于无事件发生组,差异有统计学意义($P<0.05$);CECT+NSE+SCC+EGFR联合诊断肺癌的灵敏度、特异度、准确率、阳性预测值以及阴性预测值均高于CECT、NSE、SCC、EGFR单独检测($P<0.05$)。**结论** CECT影像检查联合NSE、SCC与EGFR检测在肺癌诊断及预后判断中具有重要意义,可指导临床工作者进一步优化治疗策略。

[关键词] CECT; EGFR; NSE; SCC; 肺癌

Application of Contrast-enhanced CT examination combined with EGFR, NSE and SCC detection in the diagnosis and prognosis evaluation of lung cancer

BAI Kun¹, ZHANG Ming¹, JU Suzhen², FENG Yun¹, FU Hongchao¹, LIANG Kaiyi^{1*}

(1. Department of Radiology, Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences/Key Laboratory of Shanghai Municipal Health Commission for Smart Image, Shanghai, China, 201800; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai, China, 201800)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the application of contrast-enhanced CT (CECT) examination combined with phospholipase and epidermal growth factor receptor (EGFR), neuron-specific enolase (NSE) and squamous cell carcinoma antigen (SCC) detection in the diagnosis and prognosis evaluation of lung cancer. **Methods** 158 patients with NSCLC diagnosed by surgery or puncture pathology in Jiading District Central Hospital Affiliated to Shanghai Health Medical College from January 2019 to May 2022 were selected as the malignant tumor group, and another 70 patients with lung mass shadow who were eventually diagnosed as inflammation were selected as the control group. CECT value, EGFR expression, NSE and SCC levels were compared between the two groups and the malignant group in stage I - Stage II, stage III - stage IV; and the prognosis of the malignant group and the diagnostic performance of CECT, NSE, SCC, and EGFR single and joint detection of lung cancer were analyzed; the typical cases of CECT manifestations in patients with lung cancer was ana-

基金项目:上海市嘉定区卫健委重点项目(2020-ZD-04);上海市嘉定区医学重点专科(2020-jdyxzdzk-02)

作者单位:1.上海健康医学院附属嘉定区中心医院放射科/上海市卫健委智慧影像重点实验室,上海201800

2.上海健康医学院附属嘉定区中心医院呼吸与危重症医学科,上海201800

*通信作者:梁凯轶, E-mail:liangkaiyi77@163.com

lyzed. **Results** The NSE, SCC levels, CECT CT value and EGFR positive rate in the malignant group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of NSE, SCC levels, ositive rate of EGFR and CT value of CECT in stage III~IV lung cancer patients were higher than those in stage I~II patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Follow-up 12 months after treatment, 41 patients with metastasis and recurrence were found (progression group) and 117 patients with no event (no event group), the CT value, NSE, and SCC levels of CECT in the progression group were higher than those in the event-free group, the EGFR mutation rate was lower than that of the event-free group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, and negative predictive value of CECT+NSE+SCC+EGFR in the combined diagnosis of lung cancer were higher than CECT, NSE, SCC, and EGFR were detected separately ($P<0.05$). **Conclusion** CECT imaging combined with NSE, SCC and EGFR detection is of great significance in the diagnosis and prognosis of lung cancer and can guide clinical workers to further optimize treatment strategies.

[KEY WORDS] CECT; EGFR; NSE; SCC; Lung cancer

肺癌是肺部最常见的恶性肿瘤,绝大多数的肺癌起源于支气管粘膜上皮,故称支气管肺癌。据世界卫生组织报道,近50年来肺癌的发病率明显增高,肺癌在男性癌症患者中居首位,在女性患者中发病率也迅速增高,占女性常见恶性肿瘤的第2位或第3位^[1]。肺癌分为非小细胞肺癌(Non-small-cell lung carcinoma, NSCLC)和小细胞肺癌两大类,其中,NSCLC最常见,约占肺癌总发病率的85%~90%^[2]。早期肺癌症状无特异性,极易与其他肺部疾病混淆,耽误最佳诊疗时间,影响后期治疗效果。病理活检是目前肺癌常用的诊断方法,但其具有一定侵犯性及创伤性,导致部分患者对该项检测有较高的排斥性^[3]。因此,在保证原发性肺癌诊断准确的同时,也需要进一步提高实用性。目前增强CT(Contrast-enhanced CT, CECT)检查在高危人群肺癌筛查中应用广泛,但其对于一些小病灶容易发生误诊及漏诊^[4]。血清肿瘤标志物检测可用于检测恶性肿瘤相关因子,其在恶性肿瘤的诊断中越来越受到临床关注,可对影像学诊断起到补充作用^[5]。磷酸脂酶与表皮生长因子(Epidermal growth factor receptor, EGFR)、神经元特异性烯醇化酶(Neuron-specific enolase, NSE)及鳞状细胞癌抗原(Squamous cell carcinoma antigen, SCC)是与肺癌发展密切相关的标志物,本文旨在分析CECT检查联合NSE及SCC检测与EGFR检测在肺癌诊断及预后评估中的应用。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取上海健康医学院附属嘉定区中心医院

2019年1月至2022年5月经病理确诊的158例NSCLC患者为恶性组,其中男111例,女47例;平均年龄(71.72 ± 11.13)岁;临床分期^[6]: I期和II期共88例、III期和IV期共70例;组织类型:鳞癌54例,腺癌86例,小细胞癌10例,大细胞癌6例,鳞腺癌1例,肉瘤样癌1例。另选取70例肺内有团块阴影但最终被确诊为炎症的患者为对照组,其中男性41例,女性29例;平均年龄(64.71 ± 12.83)岁。本研究为回顾性研究,无需经医院医学伦理委员会批准。

恶性组纳入标准:①经病理学检查均符合《中国肺癌筛查与早诊早治指南》^[7]中肺癌的诊断标准。②临床资料完整者;③无精神障碍,可以配合治疗。④确诊前均未接受任何抗肿瘤类药物的治疗。排除标准:①妊娠期患者;②患有其他恶性肿瘤者;③重要器官功能异常者;④不能配合完成检查者。

1.2 方法

1.2.1 病理活检

所有研究对象均采用支气管镜下或经皮肺穿刺取活体组织进行病理检查。

1.2.2 CECT检查方法

采用联影UCT960+(320排)CECT机,调整扫描参数至:管电压120 kV,管电流210 mA,扫描层厚及层间距均为5 mm,螺距为1.0,重建层厚为1 mm,层间距1 mm。先对患者的全肺进行平扫,平扫完成后进行增强扫描,将扫描所得信息上传至后台进行处理,所有图像均由同一位经验丰富的影像学医师进行评估。肺癌患者CECT影像一般表现为:癌灶呈现类圆形包块且无序生长,其边缘出现膨胀,远端有“腊肠样”尾巴,出现血管包埋、“分叶”征、结构“集中”征、“毛刺”征、胸膜“凹陷”

征,大部分可见较明显均匀强化,部分病灶强化不均匀,肿块内部结构可见CT值变化,取增强扫描中肿块实行成分最高强化值记录。

1.2.3 EGFR 检测方法

取组织后外送杭州迪安医学检验中心,测序平台: Illumina NextSeq。

平均测序深度:组织>1000×,ctDNA>20 000×。检测下限:组织≥2%,ctDNA:热点≥0.1%,非热点≥0.3%。参考序列:人类基因组 UCSC hg19 Feb.2009。

1.2.4 NSE 及 SCC 检测方法

抽取两组研究对象空腹静脉血 5 mL,所有样本均在室温下放置 30 min,使用血型血清学离心机以 3 000 r/min 的转速、离心半径为 8 cm 进行离心 10 min 处理,提取血清,采用电化学发光法对 NSE、SCC 进行检测,其中 SCC 检测仪器采用雅培 ARCHITZCTi2000SR,试剂由雅培公司提供,NSE 检测仪器采用新产业生物 MAGLUMI X8,试剂由新产业生物提供。严格按照试剂盒说明书执行。

1.2.5 随访

患者出院后随访 12 个月,每 3 个月至医院复查一次,在随访过程中,当患者出现复发、新的转移灶或死亡事件,立即停止随访,此为进展组;若在整个随访过程中,未出现复发、新的转移灶或死亡现象则为无发生事件组^[8]。

1.3 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;计数资料通过 *n*(%)表示,并采用 χ^2 检验;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 NSE、SCC 水平、EGFR 表达和 CECT 值比较

恶性组 NSE、SCC 水平、CECT 的 CT 值以及 EGFR 阳性率均高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同分期肺癌患者 EGFR 表达、NSE、SCC 水平以及 CECT 值

Ⅲ~Ⅳ期肺癌患者 NSE、SCC 水平以及 EGFR 阳性率均高于 I~Ⅱ期患者,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), I~Ⅱ期患者的 CECT 的 CT 值大于Ⅲ~Ⅳ期患者,但两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 两组 NSE、SCC 水平、EGFR 表达和 CECT 值比较
[($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

Table 1 Comparison of the expression of EGFR, NSE, SCC and CECT between the two groups [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

组别	<i>n</i>	NSE (ng/mL)	SCC (ng/mL)	CECT 的 CT 值(HU)	EGFR +
恶性组	158	24.06±13.24	2.09±1.16	71.45±9.65	116(73.42)
对照组	70	9.64±3.68	0.92±0.48	68.34±8.17	28(40.00)
<i>t</i> / χ^2 值		8.955	8.122	2.348	23.281
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.019	<0.001

表 2 对比不同分期肺癌患者 EGFR 表达、NSE、SCC 水平和 CECT 值 [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

Table 2 EGFR expression, NSE, SCC and CECT were compared in patients with different stages of lung cancer [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

临床分期	<i>n</i>	NSE (ng/mL)	SCC (ng/mL)	CECT 的 CT 值 (HU)	EGFR +
I~Ⅱ期	88	17.68±10.79	1.61±1.02	72.80±10.01	56(63.64)
Ⅲ~Ⅳ期	70	32.08±11.61	2.69±1.05	69.75±9.21	60(85.71)
<i>t</i> / χ^2 值		8.058	6.528	1.971	9.738
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	0.051	<0.001

2.3 各指标对恶性组的预后评价

治疗后随访 12 个月,发现出现转移复发患者 41 例(进展组),无发生事件患者 117 例(无事件发生组);进展组的 CECT 的 CT 值、NSE、SCC 水平高于无事件发生组,EGFR 突变率低于无事件发生组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 恶性组患者的预后情况分析 [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

Table 3 Analysis of the prognosis of patients in the malignant group [($\bar{x} \pm s$), *n*(%)]

组别	<i>n</i>	NSE (ng/mL)	SCC (ng/mL)	CECT 的 CT 值(HU)	EGFR 突变 +
进展组	41	33.05±9.79	3.73±1.27	80.85±7.43	17(41.46)
无发生事件组	117	20.91±10.78	2.53±1.04	68.15±9.59	99(84.62)
<i>t</i> / χ^2 值		6.349	5.992	7.702	28.968
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 各指标对 NSCLC 的诊断效能

CECT+NSE+SCC+EGFR 联合诊断肺癌的灵敏度、特异度、准确率、阳性预测值以及阴性预测值均高于 CECT、NSE、SCC、EGFR 单独检测 ($P < 0.05$)。见表 4。

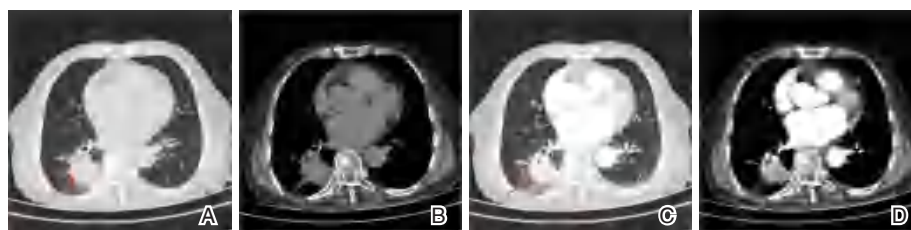
2.5 CECT 影像学表现

158 例患者中,肿瘤大小:>5 cm 126 例,<5 cm 32 例;病灶位置:中央型肺癌 72 例,周围型肺癌 86 例;具有坏死空洞 39 例;有深分叶征 71 例。部分患者影像学结果见图 1。

表4 CECT、NSE、SCC、EGFR 单独及联合检测肺癌的诊断效能 (%)

Table 4 Diagnostic efficacy of CECT, NSE, SCC and EGFR alone and in combination (%)

检查方式	n	灵敏度	特异度	准确性	阳性预测值	阴性预测值
NSE	228	79.71(110/138)	42.00(42/100)	66.67(152/228)	69.62(110/158)	60.00(42/70)
SCC	228	84.92(107/126)	50.00(51/102)	69.30(158/228)	67.72(107/158)	72.86(51/70)
EGFR	228	80.56(116/144)	50.00(42/84)	69.30(158/228)	73.42(116/158)	60.00(42/70)
CECT	228	86.01(123/143)	58.82(50/85)	75.88(173/228)	77.85(123/158)	71.43(50/70)
四者联合	228	94.94(150/158)	89.04(62/70)	92.98(212/228)	94.94(150/158)	92.86(62/70)



注:图A、B分别是胸部平扫CT肺窗和胸部平扫CT纵膈窗图像,平扫示右肺下叶不规则肿块,如红色箭头所示,约4.8 cm×4.3 cm,平扫CT值约43HU,边缘欠光整,可见毛刺及浅分叶,可见血管穿入。图C、D是胸部CECT肺窗和胸部CECT纵膈窗图像,增强后肿块可见明显强化,其内强化程度不均匀,可见低密度坏死区,肿块强化后CT值约为49-93HU之间。

图1 部分肺癌患者胸部CT以及CECT影像结果

Figure 1 Chest CT and CECT imaging results of some lung cancer patients

3 讨论

当肺癌表现为原发性肿瘤时,患者常会出现咳嗽、咳血、发热以及胸闷气短等现象,在晚期常表现为体重减轻、支气管狭窄等症状;当肺部肿瘤开始扩张时,患者临床症状表现为呼吸困难、咽下困难、胸痛以及压迫喉返神经等,对生命健康安全造成极大的威胁^[9]。因此早期正确诊断以及治疗至关重要。

SCC是一种糖蛋白,是鳞状上皮癌的相关标志物,当上皮细胞发生恶变时,恶性细胞增殖产生大量SCC释放进入血液,引起外周血SCC异常增高。NSE是目前临床常用于诊断肺癌的指标之一,其在神经元中广泛存在^[10],特别是在小细胞未分化癌内高水平表达的内分泌细胞内存在。目前临床也将NSE认为是诊断小细胞癌的标志之一,其还有助于判断患者化疗是否有效^[11]。本文研究与伍惠静^[12]学者所得出的结论相似。

CECT具有操作简便、扫描速度快、分辨率高等特点,在临床中使用率高。本次研究结果显示:恶性组CECT值高于对照组,说明CECT对肺癌具有一定的诊断价值,与牟江等^[13]学者的研究结论相似。推测原因可能为:CECT对病灶可进行多角度、多切面、全方位扫描,其利用容积显示及表面遮盖技术对扫描后图像进行处理后可有效观察病灶内部结构及周围组织关系,从而对肺部病变进行有效

定性诊断;同时CECT检测的CT值对良恶性疾病有一定的鉴别能力,有效提高了其诊断价值。

EGFR基因是肺癌的重要调节基因,在肿瘤的形成和进展中有着不可替代的功能^[14]。特别是对于存在EGFR基因变异的肺癌患者,该基因变异点是重要的治疗靶向点。本实验中,肺癌III~IV期肺癌患者EGFR阳性率高于I~II期患者,说明EGFR的表达与肺癌分期、转移及预后有关联。有研究显示^[15],EGFR可作为评价肿瘤恶性程度及预测预后的重要指标,与本文的观点相似。

综上所述,CECT影像检查联合NSE、SCC与EGFR检测在肺癌诊断及预后判断中具有重要意义,可指导临床工作者进一步优化治疗策略。

参考文献

- [1] Shi D, Zhang K, Li G, et al. MiR-1471 protects the aggravation of non-small-cell lung carcinoma by targeting FOXL1[J]. BioFactors, 2020, 46(5): 734-742.
- [2] 焦兰晨,王可铮. PET/CT预测非小细胞肺癌PD-1/PD-L1表达及免疫治疗评估中的价值[J]. 中国肿瘤, 2022, 31(8): 672-678.
- [3] 刘歆茵,崔亚男,李俊,等. FBXW7基因突变对非小细胞肺癌患者免疫治疗预后的影响[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(13): 914-921.
- [4] 张继光. 周围型肺癌CECT影像表现及病理学特征与肿瘤浸润转移的相关性研究[J]. 中国CT和MRI杂志, 2022, 20(11): 72-73.

(下转第2129页)

七叶皂苷钠联合软通道穿刺引流术对高血压脑出血患者IL-17、NF-κBp65表达的影响

董文征^{1*} 陈平² 苗壮³

[摘要] **目的** 探讨七叶皂苷钠联合软通道穿刺引流术对高血压脑出血患者白细胞介素-17(IL-17)、核因子-κBp65(NF-κBp65)表达的影响。**方法** 将2021年5月至2023年4月期间周口市中心医院收治的106例高血压脑出血患者按治疗方案分为实验组($n=64$)、对照组($n=42$),对照组予以软通道穿刺引流术及术后常规内科治疗,实验组在对照组基础上联合七叶皂苷钠治疗,均治疗4周。比较两组的临床疗效、治疗前及治疗后4周的美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、格拉斯哥昏迷(GCS)评分、日常生活活动能力(ADL)评分、脑水肿指标、血管紧张素Ⅱ1型受体(AT₁R)、血清P物质(SP)、IL-17、NF-κBp65水平。**结果** 实验组的临床总有效率高于对照组($\chi^2=5.342, P<0.05$);治疗后,两组的NIHSS评分、脑水肿相关指标均降低,GCS评分及ADL评分均提高,且实验组改善程度优于对照组($t=10.083, 7.251, 3.248, 2.747, 6.353, P<0.05$);治疗后,实验组的AT₁R、IL-17、NF-κBp65表达水平均低于对照组,SP表达水平高于对照组($t=6.229, 10.667, 17.503, 5.815, P<0.05$)。**结论** 七叶皂苷钠联合软通道穿刺引流术治疗高血压脑出血患者可提高临床效果,其可能通过降低AT₁R、提高SP水平以及调节IL-17与NF-κBp65表达有关。

[关键词] 七叶皂苷钠;软通道穿刺引流术;高血压脑出血;白细胞介素-17;核因子-κBp65

Effect of sodium heptasaponin combined with soft-channel puncture drainage on the expression of IL-17 and NF-κBp65 in patients with hypertensive cerebral hemorrhage

DONG Wenzheng^{1*}, CHEN Ping², MIAO Zhuang³

(1. Department of Neurosurgery, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou 466000, China; 2. Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan Province 675299, China; 3. Department of Neurosurgery, China-Japan Friendship Hospital, Geely University, Changchun, Jilin 130021, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of sodium heptasaponin combined with soft channel puncture drainage on the expression of interleukin-17 (IL-17) and nuclear factor-kappa B p65 (NF-κBp65) in patients with hypertensive cerebral hemorrhage. **Methods** 106 hypertensive cerebral hemorrhage patients admitted to Zhoukou Central Hospital between May 2021 and April 2023 were divided into the experimental group ($n=64$) and the control group ($n=42$) according to the treatment plan. The control group was treated with soft channel puncture and drainage and postoperative conventional internal medicine, and the experimental group was treated with heptaphyllum saponin sodium based on the control group, both of which were treated for 4 weeks. The clinical efficacy, National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) scores, Glasgow Coma (GCS) scores, activities of daily living (ADL) scores, cerebral oedema indexes, angiotensin II type I receptor (AT₁R), serum substance P (SP), IL-17, and NF-κBp65 levels were compared between the two groups before

基金项目:河南省医学教育研究项目(wjcg2020048)

作者单位:1.周口市中心医院神经外科,河南,周口 466000

2.南华大学第二附属医院神经外科,湖南,衡阳 675299

3.吉林大学中日联谊医院神经外科,吉林,长春 130021

*通信作者:董文征, E-mail: a842946915@163.com

and 4 weeks after treatment. **Results** The total clinical effectiveness rate of the experimental group was higher than that of the control group ($\chi^2=5.342, P<0.05$). After treatment, the NIHSS scores and cerebral edema-related indexes were reduced, and the GCS scores and ADL scores were improved in both groups, and the experimental group showed a better degree of improvement than the control group ($t=10.083, 7.251, 3.248, 2.747, 6.353, P<0.05$). After treatment, the expression levels of AT₁R, IL-17, and NF- κ Bp65 in the experimental group were lower than those in the control group, and the expression level of SP was higher than that in the control group ($t=6.229, 10.667, 17.503, 5.815, P<0.05$). **Conclusion** Sodium heptasaponin combined with soft-channel puncture drainage for the treatment of patients with hypertensive cerebral hemorrhage improves clinical outcomes, which may be related to the reduction of AT₁R, the increase in SP levels and the regulation of IL-17 and NF- κ Bp65 expression.

[KEY WORDS] Sodium heptasaponin; Soft channel puncture drainage; Hypertensive cerebral hemorrhage; Interleukin-17; Nuclear factor-kappa Bp65

高血压脑出血具有高发病率、高致残率、高发病率等特点,预后较差^[1]。软通道穿刺引流术因微创、快速恢复等优势在高血压脑出血领域得到广泛应用,但对术后恢复要求较高。因此,提高该类患者的术后恢复亦是临床关注的重点。有研究表明^[2],天师粟的有效成分七叶皂苷钠可促进高血压脑出血患者的术后恢复,但其与软通道穿刺引流术的联合应用在高血压脑出血中鲜少有研究报道。此外,由于炎症反应是脑出血组织受损的危险因素,因此尽早减轻炎症反应对于患者的术后恢复具有积极作用。核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 属一种多功能核转录因子,当被激活时可参与炎症反应的调控^[3]。白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 是炎症反应中的关键细胞因子,有研究表明^[4]其可调节 NF- κ B 的表达,进一步介导炎症反应的发生。为此,本文探讨七叶皂苷钠联合软通道穿刺引流术对高血压脑出血患者 IL-17、NF- κ Bp65 表达水平的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将2021年5月至2023年4月期间于周口市中心医院接受治疗的106例高血压脑出血患者按治疗方案分成实验组、对照组。对照组42例,男性26例,女性16例,年龄平均(60.81±11.27)岁,脑出血量平均(41.27±6.96)mL,出血部位:基底节区28例、下丘脑8例、其他6例;实验组64例,男性39例,女性25例,年龄平均(62.47±13.88)岁,脑出血量平均(43.81±8.05)mL,出血部位:基底节区41例、下丘脑13例、其他10例。两组性别、年龄、脑出血量、出血部位等一般资料对比,差异无统计学

意义($P>0.05$)。

纳入标准:①年龄≥18岁;②均符合《中国脑出血诊治指南》^[5]中高血压脑出血诊断标准;③首次发作,发病时间<6h;④格拉斯哥昏迷(Glasgow coma scale, GCS)评分≥6分^[6];⑤患者及家属知情同意。排除标准:①除高血压外引发的脑出血;②合并凝血功能障碍、自身免疫性疾病;③过敏体质及精神疾病者。本研究获得本院伦理委员会批准。

1.2 治疗方法

1.2.1 对照组

软通道穿刺引流术及术后常规内科治疗。①软通道穿刺引流术:患者局部麻醉,以计算机X线断层扫描(Computed Tomography, CT)确定血肿中心坐标值、穿刺角度及深度。切开头皮,取5mm颅锥锥颅以穿刺针破硬脑膜,再用引流管穿刺到血肿最大层面中心靶点,随后与注射器连接进行体外引流,以抽吸量为总量的20%~30%缓慢抽吸血肿,再往血肿腔内注入稀释后尿激酶3~5万单位,夹闭管2h后再进行引流,反复2~3次,并持续引流3~5d,期间采用CT监测血肿量情况,当血肿清除达到80%~90%时可停止引流、拔管。②常规内科治疗:包括吸氧、颅内降压、预防感染、肠内营养支持及维持水电解质平衡等,必要时需用呼吸机辅助呼吸,同时密切监测颅脑CT以防脑积水、再次出血等并发症发生。

1.2.2 实验组

实验组在对照组的基础上联合应用七叶皂苷钠(南京南大药业有限责任公司,国药准字H20083572),使用10mg七叶皂苷钠加入至250mL生理盐水中静脉滴注,每日一次。两组均进行4周治疗。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效^[7]

基本痊愈:美国国立卫生研究院卒中量表(national institutes of health stroke scale, NIHSS)评分减少>90%;显著进步:NIHSS评分减少46%~90%;进步:NIHSS评分减少18%~45%;无效:NIHSS评分减少<18%或增加≥18%。总有效率=(基本痊愈+显著进步+进步)例数/总例数×100%。

1.3.2 NIHSS评分

治疗前及治疗后4周采用NIHSS量表评估患者的神经缺损程度,该量表共含11个条目,总分42分,分数越高提示神经缺损越严重。

1.3.3 GCS评分

治疗前及治疗后4周GCS量表评估患者的昏迷程度,该量表共3个维度,总分15分,总分越高提示昏迷程度越轻。

1.3.4 日常生活活动能力

治疗前及治疗后4周采用日常生活活动能力(Activities of Daily Living, ADL)量表评估患者的日常生活活动能力,总分100分,得分越高表示日常生活能力越佳。

1.3.5 脑水肿指标

于治疗前、治疗后4周,采用无创脑水肿动态监护仪检测患者的综合扰动系数(健侧、患侧),而脑水肿体积结合CT利用多田公式得出,多田公式= $\pi/6 \times \text{长轴}(\text{cm}) \times \text{短轴}(\text{cm}) \times \text{血(水)肿层面}(1\text{层为}1\text{cm})$,单位 cm^3 。

1.3.6 实验室检查

于治疗前、治疗后4周抽取患者的外周静脉血5 mL,以3 000 r/min离心(半径为8 cm)离心10 min,取上层血清保存待测。采用酶联免疫吸附法检测IL-17、血管紧张素II 1型受体(angiotensin II type I receptor, AT₁R)表达水平,试剂盒购自上海士锋生物科技有限公司;采用放射免疫法检测血清P物质(substance P in serum, SP),试剂盒购自

Bio-Swamp公司,仪器均使用贝克曼库尔特AU5800全自动生化分析仪检测。采用Western blot法检测NF- κ Bp65蛋白表达,血清加入PMSF液得到细胞裂解液,用BCA试剂盒(北京中杉金桥生物有限公司)测定蛋白浓度,细胞裂解液置于样品孔,电泳分离蛋白后移至PVDF膜上,封闭并加NF- κ Bp65、 β -actin一抗(北京博奥森生物技术有限公司),4℃下孵育过夜,PBST洗涤,加辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗,孵育1 h,加化学发光试剂,曝光显影,Odyssey成像系统分析条带灰度值,以目的条带与 β -actin条带灰度值之比作为目的蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法

SPSS 23.0软件处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较行独立样本 t 检验,组内比较行配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较

实验组总有效率为92.19%,对照组总有效率为76.19%,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	基本痊愈	显著进步	进步	无效	总有效率
实验组	64	29(45.31)	16(25.00)	14(21.88)	5(7.81)	59(92.19)
对照组	42	18(42.86)	8(19.05)	6(14.29)	10(23.81)	32(76.19)
χ^2 值						5.342
P 值						0.021

2.2 两组治疗前后NIHSS评分、GCS评分、ADL评分比较

治疗后,实验组的NIHSS评分低于对照组,GCS评分、ADL评分均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后NIHSS评分、GCS评分、ADL评分比较 ($\bar{x} \pm s$,分)

Table 2 Comparison of NIHSS scores, GCS scores, and ADL scores before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$, points)

组别	n	NIHSS评分		GCS评分		ADL评分	
		治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月
实验组	64	12.91±3.46	5.38±1.27 ^a	8.21±2.55	13.32±2.23 ^a	47.58±4.61	81.25±3.05 ^a
对照组	42	12.74±2.15	8.22±1.62 ^a	8.36±2.13	11.91±3.05 ^a	48.91±4.57	77.51±2.84 ^a
t 值		0.284	10.083	0.316	2.747	1.458	6.353
P 值		0.777	<0.001	0.753	0.007	0.148	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组治疗前后脑水肿相关指标比较

治疗后,两组的周围脑水肿体积、患侧综合扰动系数均上升,但实验组均低于对照组,但两组健侧综合扰动系数差异无统计学意义差异有统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.4 两组治疗前后 AT1R、SP、IL-17、NF-κBp65 表达水平比较

治疗后,实验组的 AT1R、IL-17、NF-κBp65 表达水平均低于对照组,SP 表达水平高于对照组 ($P<0.05$)。见表4。

表3 两组治疗前后脑水肿相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cerebral edema-related indexes before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	周围脑水肿体积(mL)		患侧综合扰动系数		健侧综合扰动系数	
		治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月
实验组	64	13.42±2.91	15.27±2.81 ^a	6.15±1.22	7.35±1.12 ^a	7.69±1.37	7.35±1.04
对照组	42	13.22±2.38	19.84±3.66 ^a	6.12±1.19	8.05±1.03 ^a	7.61±1.23	7.68±1.25
t值		0.371	7.251	0.125	3.248	0.306	1.474
P值		0.711	<0.001	0.901	0.002	0.760	0.144

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

表4 两组治疗前后脑水肿相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of cerebral edema-related indexes before and after treatment in the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17(pg/mL)		NF-κBp65(pg/mL)		AT1R(mg/L)		SP(ng/L)	
		治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月	治疗前	治疗后4月
实验组	64	330.51±26.81	245.25±17.18 ^a	419.81±31.57	251.71±18.27 ^a	2.51±0.39	1.45±0.16 ^a	13.77±3.25	29.81±5.81 ^a
对照组	42	328.81±24.81	284.51±20.44 ^a	416.78±23.96	320.81±22.13 ^a	2.46±0.33	2.08±0.24 ^a	13.81±3.04	23.47±4.96 ^a
t值		0.329	10.667	0.530	17.503	0.288	16.229	0.064	5.815
P值		0.743	<0.001	0.596	<0.001	0.774	<0.001	0.949	<0.001

注:与同组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

手术是治疗高血压脑出血的常用措施,软通道穿刺引流术具有出血少、创伤小、并发症少等优势,但部分患者仍存在难以恢复等问题。七叶皂苷钠具有增强静脉张力、抗渗出、抗炎等作用,有学者发现^[8]其能改善微循环、缓解脑水肿,但其联合软通道穿刺引流术是否可提高该疾病的治疗效果尚待验证。因此,本研究初步探讨七叶皂苷钠联合软通道穿刺引流术的应用效果,并探讨其发挥疗效的可能机制,对于提高患者的生存质量及改善预后具有积极意义。

本研究结果提示加用七叶皂苷钠后可提高患者的临床疗效,与钟晖东等^[9]研究相似。软通道穿刺引流术是临床微创治疗中广泛应用的一种术式,但该术式对术后的恢复要求较高。因此,术后的维持治疗同样十分重要。已有研究证实^[10],炎症反应是诱发脑出血损伤的主因,故有效缓解炎症反应对于提高术后恢复具有重要意义。七叶皂苷钠是一种天然提取物,范永会等^[11]表示其可调节抗炎因子表达,抑制脑出血引发的炎症反应,并减轻受损情况,利于神经功能的改善。推测七叶

皂苷钠可能通过抑制炎症因子表达,进而抑制炎症反应,从而改善神经功能。

NF-κB 是中枢神经系统的核蛋白因子,而 NF-κBp65 是 NF-κB 家族亚型之一,活化后可诱导下游炎症因子基因的转录,参与出血后的脑损伤。Xu 等^[12]表明七叶皂苷钠可通过 NF-κB 通路发挥神经保护作用。郭秦乐等^[13]也表明,脑出血小鼠应用七叶皂苷钠后,可减轻脑损伤,改善神经功能。IL-17 是炎症反应启动因子,张涛等^[14]表示使用七叶皂苷钠后能提高肾上腺皮质激素含量,拮抗 5-羟色胺等炎性介质,降低 IL-17 的生成。阳军^[15]表示活化的 IL-17 能激活 NF-κBp65,导致脑损伤。祁科乐等^[16]表示,脑出血患者的血肿周围组织 IL-17、NF-κBp65 增高,提示抑制 IL-17/NF-κBp65 通路能显著抑制脑出血后的 NF-κB 介导的炎症反应。本研究结果显示,治疗后试验组的 IL-17、NF-κBp65 显著降低,可能与七叶皂苷钠具有调节 IL-17 与 NF-κBp65 表达有关。此外,实验组治疗后的 AT1R 水平低于对照组,SP 水平高于对照组,与王海波等^[17]相符。AT1R 经结合后可激活肾素血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS),而 SP 可随着脑损伤降低,使脑损伤加重。七叶皂

昔钠可能通过抑制 AT₁R 表达,对 RAS 产生抑制作用,进而改善脑功能。

综上所述,七叶皂昔钠联合软通道穿刺引流术可显著提高高血压脑出血患者的疗效,其发挥疗效的作用机制可能与降低 AT₁R、提高 SP 水平及调节 IL-17 与 NF- κ Bp65 表达有关,为高血压脑出血的防治提供新思路。

参考文献

[1] Li W, Wu LX, Huang BS, et al. A pilot study: Gut microbiota, metabolism and inflammation in hypertensive intracerebral haemorrhage[J]. *J Appl Microbiol*, 2022, 133(2):972-986.

[2] Ren P, Cao L, Zhao XK, et al. [Network Meta-analysis of Chinese medicine injections in treatment of hypertensive intracerebral hemorrhage] [J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2022, 47(13):3637-3647.

[3] Fordjour FA, Asiedu E, Larbi A, et al. The role of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in filarial pathology[J]. *J Cell Commun Signal*, 2021, 15(2):185-193.

[4] Wei L, Liu M, Xiong H, et al. Up-regulation of IL-23 expression in human dental pulp fibroblasts by IL-17 via activation of the NF- κ B and MAPK pathways [J]. *Int Endod J*, 2018, 51(6):622-631.

[5] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国脑出血诊治指南(2019)[J].*中华神经科杂志*, 2019, 52(12):994-1005.

[6] Nordness MF, Maiga AW, Wilson LD, et al. Effect of propranolol and clonidine after severe traumatic brain injury: a pilot randomized clinical trial[J]. *Crit Care*, 2023, 27(1):228.

[7] 中华医学会全国第4次脑血管病学术会议.各类脑血管疾病诊断要点[J].*中华神经科杂志*, 2010, 29(6):379.

[8] Zhang L, Fei M, Wang H, et al. Sodium aescinate provides neuroprotection in experimental traumatic brain injury via the Nrf2-ARE pathway[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 157(1):26-36.

[9] 钟晖东,黎开宇,张海冰,等.早期强化降压联合 β -七叶皂昔钠对高血压性脑出血患者术后神经功能及炎症反应的影响[J].*广东医科大学学报*, 2019, 37(6):651-654.

[10] Xia S, Zheng Y, Yan F, et al. MicroRNAs modulate neuroinflammation after intracerebral hemorrhage: Prospects for new therapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13(1):945860.

[11] 范永会,王星利,张永丽,等.七叶皂昔钠通过上调 SOCS-1 表达抑制脑内出血诱发的炎症反应[J].*实用药物与临床*, 2018, 21(6):632-636.

[12] Xu F, Jiang Y, Wang X, et al. Sodium aescinate inhibits microglia activation through NF- κ B pathway and exerts neuroprotective effect[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14(1):1086429.

[13] 郭秦乐,霍康,宋银雪,等. β -七叶皂昔钠对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护机制研究[J].*基因组学与应用生物学*, 2020, 39(7):3312-3317.

[14] 张涛,徐文昱,周素敏.泼尼松联合七叶皂昔钠治疗面神经炎的疗效及对调节性T细胞/辅助性T细胞17细胞因子、自由基生成的影响[J].*中国药物经济学*, 2021, 16(3):95-98.

[15] 阳军. IL-17/NF- κ B p65 通路相关因子对急性脑出血病情和预后的诊断价值[J].*临床输血与检验*, 2019, 21(3):313-317.

[16] 祁科乐,季新忠,蒯涛,等. IL-17/NF- κ Bp65 信号通路在老年急性脑出血发病及组织损伤中的机制研究[J].*华中科技大学学报(医学版)*, 2016, 45(5):509-513.

[17] 王海波,管义祥,李军,等.七叶皂昔钠对高血压脑出血者恢复情况的影响[J].*中华高血压杂志*, 2021, 29(2):169-172.

(上接第 2124 页)

[5] 曹栋栋,吕伟,王宪章,等. CECT 三期增强扫描联合 5 种血清肿瘤标志物检测在肺癌诊断及临床病理分型中的应用价值[J].*中国 CT 和 MRI 杂志*, 2022(7):64-66.

[6] 赵亮,曾联婷. miR-130b、miR-506 的表达与非小细胞肺癌患者病情及预后的关系[J].*医学临床研究*, 2023, 40(4):612-614.

[7] 李东航,姚颀,耿庆.中国临床肿瘤学会肺癌诊疗指南(2018 版)更新解读[J].*临床外科杂志*, 2019, 27(1):36-39.

[8] 张国桥,彭浩,曾蓉. PDCD1 和 PD-L1 及 CTLA-4 基因联合检测非小细胞肺癌预后评估[J].*中华肿瘤防治杂志*, 2021, 28(4):280-285.

[9] Visser S, Koolen S, Donk NV, et al. Genetic polymorphism inATICis associated with effectiveness and toxicity of pemetrexed in non-small-cell lung cancer [J]. *Thorax*, 2021, 76(11):1150-1153.

[10] 周光廷,张波克. CYFRA211, NSE, TK1 及 SCC 对早期肺癌的诊断价值[J].*医学综述*, 2021, 27(10):2045-2049.

[11] 王妮娜,李晓花,陈敏丽,等.肺癌患者血清 NSE, SCC, CA125 及 CYFRA21-1 水平检测在不同病理类型早期诊断和化疗疗效评价中的应用价值[J].*现代检验医学杂志*, 2021, 36(1):33-37.

[12] 伍惠静,诸佩超,谢蓉. CYFRA21-1、CA199、NSE、SCC 诊断肺癌的临床价值分析[J].*检验医学与临床*, 2020, 17(5):680-682.

[13] 牟江,万雄.陈旧性肺结核并发周围型肺癌胸片及 CECT 影像学表现及其诊断价值分析[J].*中国 CT 和 MRI 杂志*, 2020, 18(7):48-50.

[14] 王哲哲,祁晓莉,武迪,等.非小细胞肺癌 EGFR 和 KRAS 基因突变和临床病理特征分析[J].*临床和实验医学杂志*, 2022, 21(4):360-364.

[15] Qing Z, Gabrail N, Uprety D, et al. 22P EMB-01: An EGFR-cMET bispecific antibody, in advanced/metastatic solid tumors phase I results[J]. *Ann Oncol*, 2022, 33:S39-S40.

血清 MIF 水平检测及其对子宫内膜异位症的临床诊断价值

梁玉珍 邓润叨 钟树林*

[摘要] **目的** 检测子宫内膜异位症患者血清巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)水平,分析MIF对子宫内膜异位症的诊断价值。**方法** 本研究选取2021年12月至2022年12月期间于东莞市人民医院妇产科行手术治疗的子宫内膜异位症患者,将其作为实验组($n=68$)。选取同期有慢性盆腔疼痛或不孕症的育龄期女性患者与同期在本院体检的健康女性各30例,并分别作为对照组与健康组。所有受试者于晨起时、实验组患者分别于术前(T0)、术后当天(T1)、术后第3天(T2)、术后第5天(T3)晨起时采集外周静脉血,检测各组MIF与癌抗原125(CA125)水平。并绘制受试者操作特征曲线(ROC曲线)分析诊断价值。**结果** 血清MIF水平:实验组>对照组>健康组,差异有统计学意义($F=65.426, P<0.001$);血清CA125水平:实验组>对照组>健康组,差异有统计学意义($F=85.743, P<0.001$);实验组患者T2、T3的MIF与CA125水平均明显低于术前,差异有统计学意义($P<0.001$);MIF诊断的AUC为0.899,敏感性与特异性分别为0.838、0.867;联合诊断的AUC为0.900,敏感性与特异性分别为0.779、0.967($P<0.05$)。**结论** 血清MIF检测可能有助于评估手术治疗对子宫内膜异位症病灶的清除情况;血清MIF水平对其诊断效能较高,且与联合CA125检测有助于提升诊断的特异性。

[关键词] 血清;子宫内膜异位症;生物标记物;巨噬细胞迁移抑制因子

Detection of serum MIF level and its value in clinical diagnosis of endometriosis

LIANG Yuzhen, DENG Rundao, ZHONG Shulin*

(Department of Gynecology, Dongguan People's Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523000)

[ABSTRACT] **Objective** To detect the level of serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) in patients with endometriosis, and analyze the value of MIF in the diagnosis of endometriosis. **Methods** In this study, patients with endometriosis who underwent surgical treatment in the Obstetrics and Gynecology Department of Dongguan People's Hospital from December 2021 to December 2022 were selected as the experimental group ($n=68$). A total of 30 female patients of reproductive age with chronic pelvic pain or infertility and 30 healthy women in our hospital were selected as the control group and healthy group respectively. Peripheral venous blood was collected from all subjects in the morning and from the experimental group before surgery (T0), on the day after surgery (T1), on the third day after surgery (T2), and on the fifth day after surgery (T3), respectively, and the levels of MIF and cancer antigen 125 (CA125) in each group were detected. The receiver operating characteristic curve (ROC curve) was drawn to analyze the diagnostic value. **Results** Serum MIF level: experimental group > Control group > Healthy group, the difference was statistically significant ($F=65.426, P<0.001$). Serum CA125 level: experimental group > Control group > Healthy group, the difference was statistically significant ($F=85.743, P<0.001$). The MIF and CA125 levels of T2 and T3 in the experimental group were significantly lower than those before surgery, and the difference was statistically significant ($P<0.001$). The AUC of MIF diagnosis was 0.899, and the sensitivity and specificity were 0.838 and 0.867, respectively. The AUC of combined diagnosis was 0.900, and the sensitivity and specificity were 0.779 and 0.967, re-

基金项目:东莞市社会科技发展(一般)项目(201650715001557)

作者单位:广东省东莞市人民医院妇科,广东,东莞523000

*通信作者:钟树林, E-mail: ryanchong_angela@163.com

spectively ($P<0.05$). **Conclusion** Serum MIF detection may be helpful to evaluate the clearance of endometriosis lesions after surgical treatment. Serum MIF level has high diagnostic efficacy, and combined with CA125 detection can help improve the specificity of diagnosis.

[KEY WORDS] Serum; Endometriosis; Biomarkers; Macrophage migration inhibitory factor

子宫内膜异位症(Endometriosis, EM)是指具有生长功能的子宫内膜组织异位到宫腔以外的部位生长引起的疾病。可分为腹膜型、卵巢型、深部浸润型及其他部位的内异症。生育期是子宫内膜异位症的高发时期,育龄期女性的发病率约为5%~15%,其中50%的患者合并不孕,不孕率为非内异症患者的20倍^[1]。据临床病历统计分析,卵巢内异症的恶变率是0.7%~5%,一旦发生恶变,则患者预后较差^[2]。通过彩超、影像学检查可以帮助明确病情,由于内异症患者症状缺乏特异性,需通过腹腔镜检查才能确诊^[3];此外,常见的标记物,如血清癌抗原125(Cancer antigen 125, CA125)等诊断的准确度、灵敏度较低。因此部分患者自出现症状到确诊的时间发生延迟,平均延迟时间可达6.7年^[4]。巨噬细胞迁移抑制因子(Macrophage migration inhibitory factor, MIF)是先天性免疫的重要调节因子,细菌抗原刺激白细胞释放MIF到血液中。其在炎症反应、免疫应答、细胞增殖、肿瘤形成等多种生理生化过程均发挥着关键作用^[5-6]。

有研究发现,相比于健康育龄期女性,子宫内膜异位症患者血清中MIF表达水平明显较高^[7]。然而,国内外的研究关于MIF可否作为子宫内膜异位症诊断的生物标记物仍具有较大的争议,因此,本研究旨在通过血清MIF水平的测定,分析其对子宫内膜异位症的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2021年12月至2022年12月期间在东莞市人民医院妇产科就诊并行手术治疗的子宫内膜异位症患者,根据以下纳入标准与排除标准进行筛选:纳入标准:①符合《子宫内膜异位症临床诊断和治疗》诊断中的标准^[8];②无腹腔镜检查禁忌症的患者;③手术治疗前未接受过其他药物及激素治疗。排除标准:①患者基本信息及病历资料不完整;②合并肝、肾功能及凝血功能不全的患者;③合并中枢神经系统疾病、内分泌系统疾病及其它严重躯体疾病。

经过筛选后,纳入68例符合标准的子宫内膜异位症患者作为实验组。此外,选取同期有慢性盆腔

疼痛或不孕症的育龄期女性(年龄20~50周岁)患者与同期在本院体检的健康女性各30例,并将其分别作为对照组与健康组。研究经医院医学伦理委员会批准,患者及其家属签署相应的知情同意书。

1.2 血液标本采集

所有受试者于晨起时、实验组患者分别于术前(T_0)、术后当天(T_1)、术后第3天(T_2)、术后第5天(T_3)晨起时采集空腹外周静脉血5 mL至促凝管中,将采集的血液样本立即送至实验室,以3 000 r/min条件离心10 min,收集上清液并置于-80℃冰箱保存备用。

1.3 血清MIF、CA125水平检测

采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定血清MIF水平,检测流程严格按照MIF检测试剂盒(购自上海酶联生物科技有限公司)说明书进行。CA125检测采用免疫透射比浊法,检测流程严格按照CA125检测试剂盒(美国SYNTRON)说明书进行。

1.4 子宫内膜异位症分期^[9]

根据r-AFS分期标准^[9]进行子宫内膜异位症分期,具体标准为:I期:微型,腹腔镜下可见孤立病灶,无明显粘连,分值1~5分;II期:轻型,病灶表浅,分散在卵巢及覆膜表面,无明显粘连,分值6~15分;III期:中型,多个表浅或深层病灶,粘连明显,分值16~40分;IV期:重型,多个病灶及巧克力囊肿,盆腔粘连致密,分值>40分。

1.5 统计学方法

本研究采用SPSS 24.0软件包进行统计学数据分析。根据Shapiro-Wilk test检验数据是否为正态分布,符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间采用独立样本 t 检验,多组间比较用 F 检验;不符合正态分布的计量资料采用秩和检验。计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验。应用受试者操作特征曲线(ROC曲线)确定最佳临界值及其对应的灵敏度、特异度及曲线下面积(AUC)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者基本信息比较

根据r-AFS分期标准将实验组68例子宫内膜异

位患者分为 I 期 23 例 (33.82%)、II 期 21 例 (30.88%)、III 期 16 例 (23.53%) 及 IV 期 8 例 (11.77%)。

三组患者年龄及分娩次数差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组患者基本信息 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$
Table 1 Basic information of subjects of each groups $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

组别	n	年龄	分娩次数		
			0	1	>1
健康组	30	31.23 ± 4.22	10(33.33)	18(60.00)	2(6.67)
对照组	30	30.69 ± 4.65	9(30.00)	19(63.33)	2(6.67)
实验组	68	31.49 ± 4.08	20(29.41)	43(63.24)	5(7.35)
F/ χ^2 值		0.368		0.201	
P 值		0.692		1.000	

2.2 三组患者血清 MIF、CA125 水平检测

血清指标检测结果显示,血清 MIF 水平:实验组>对照组>健康组,差异具有统计学意义 ($P<0.05$);血清 CA125 水平:实验组>对照组>健康组,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 三组患者血清指标检测 $(\bar{x}\pm s)$
Figure 2 Detection of serum indexes in three groups of patients $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	MIF (ng/mL)	CA125 (KU/L)
健康组	30	3.09 ± 0.43	18.33 ± 5.23
对照组	30	3.23 ± 0.41	36.95 ± 8.15 ^a
实验组	68	6.21 ± 0.52 ^{ab}	42.18 ± 9.45 ^{ab}
F 值		65.426	85.743
P 值		<0.001	<0.001

注:与健康组比较,^a $P<0.05$;与对照组比较,^b $P<0.05$ 。

2.3 实验组患者手术前后血清指标变化

分别于术前(T0)、术后当天(T1)、术后第3天(T2)、术后第5天(T3)检测实验组患者血清 MIF 与 CA125 水平。随着术后时间的延长,患者血清 MIF 与 CA125 均随之呈下降趋势。T2、T3 的 MIF 与 CA125 水平均明显低于术前,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

2.4 血清 MIF 对子宫内膜异位症的诊断价值

ROC 曲线分析结果显示,CA125、MIF 两者联合诊断的 AUC 为 0.900,敏感度与特异性分别为

0.779、0.967,高于单一检测 ($P<0.05$)。见表 4、图 1。

表 4 MIF 的诊断效能分析

Table 4 Diagnostic efficiency analysis of MIF

指标	AUC	95% CI	敏感度	特异性	P 值
CA125	0.654	0.540~0.768	0.546	0.833	0.048
MIF	0.899	0.828~0.970	0.838	0.867	0.025
CA125 联合 MIF	0.900	0.829~0.971	0.779	0.967	0.012

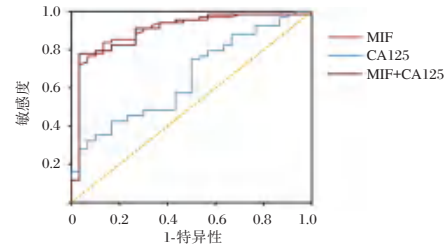


图 1 MIF 对子宫内膜异位症诊断价值的 ROC 曲线
Figure 1 ROC curve of diagnostic value of MIF in endometriosis

3 讨论

子宫内膜异位症是引起女性不孕不育以及痛经的常见原因。其诊断包括:根据临床症状,目前的研究表明子宫内膜异位症是引起继发性痛经的首要原因,因此若在生理期出现下腹明显的剧烈疼痛,即高度怀疑是否存在子宫内膜异位症^[10];影像学检查,通过做 B 超或磁共振可以在盆腔以内看到明显的内膜异位病灶,例如存在巧克力囊肿或其他部位的子宫内膜异位症;标记物检测,通过查 CA125 若发现该指标水平异常升高,也有助于诊断子宫内膜异位症。因此,子宫内膜异位症的临床诊断是一个综合性的诊断。CA125 是目前最常用的用于子宫内膜异位症诊断的一种糖蛋白,其敏感性与疾病的严重程度呈正相关。MIF 作为一种经典的促炎因子,在先天性和适应性免疫应答调节中均发挥着重要的作用。多项研究表明,MIF 可以对肿瘤的发生发展过程发挥关键的促进作用,在肿瘤的靶向治疗中具有一定的潜在价值^[11-12]。石瑾秋等^[13]的研究表明,MIF 在子宫内膜

表 3 实验组患者手术前后血清指标变化 $(\bar{x}\pm s)$

Table 3 Changes of serum indexes in experimental group before and after operation $(\bar{x}\pm s)$

指标	T0	T1	T2	T3	F 值	P 值
MIF (ng/mL)	6.21±0.52	6.23±0.49	5.08±0.41 ^{ab}	4.81±0.38 ^{ab}	18.652	<0.001
CA125 (KU/L)	42.18±9.45	43.01±5.46	30.24±4.38 ^{ab}	26.33±5.61 ^{ab}	30.254	<0.001

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

异位患者的血清及异位组织中均存在高表达。本研究检测研究对象血清 MIF、CA125 水平,结果显示,实验组血清 MIF 与 CA125 水平均明显高于健康组与对照组,差异具有统计学意义,即子宫内膜异位症患者血清 MIF 与 CA125 水平明显高于非子宫内膜异位症的患者及健康女性。推测 MIF 与 CA125 可能具有作为子宫内膜异位症诊断标记物的潜能。

然而 CA125 对子宫内膜异位症诊断的特异性较低,因此目前临床较倾向于联合其他指标^[14]。Abdul Karim Ak 等^[15]的研究显示,在盆腔疼痛的患者中单独采用 CA125 诊断子宫内膜异位症,其敏感度仅有 57%。而苏家林等^[16]的研究显示,将其联合癌抗原 199(Cancer antigen 199, CA199)后诊断的敏感度可达到 60%以上。此外,杨婧如等的研究^[25]发现,将其与生存素、血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)联合后的诊断敏感度和特异性均明显的升高。因此,本研究对比了单独采用 CA125、单独采用 MIF 及两者联合对子宫内膜异位症的诊断价值,结果与上述研究结果相似,本研究将 CA125 与 MIF 联合后的诊断敏感性与特异性均明显升高。MIF 诊断的 AUC 为 0.899,敏感度与特异性分别为 0.838、0.867,表明 MIF 对子宫内膜异位症的诊断效能较高,具有作为子宫内膜异位症诊断标记物的潜能。而将其与 CA125 联合检测有助于提升诊断的特异性。此外,本研究分析了术前术后不同时间子宫内膜异位症患者血清 MIF 水平变化,结果,随着术后时间的延长,患者血清 MIF 随之呈下降趋势。T2、T3 的 MIF 水平明显低于术前。可能是由于手术治疗对异位内膜进行清除,并对盆腔微环境产生一定的影响,从而降低了 MIF 的合成,使其水平下降^[17]。

综上所述,血清 MIF 检测可能有助于评估手术治疗对子宫内膜异位症病灶的清除情况;血清 MIF 水平对其诊断效能较高,且与联合 CA125 检测有助于提升诊断的特异性。

参考文献

- [1] Chopyak VV, Koval HD, Havrylyuk AM, et al. Immunopathogenesis of endometriosis - a novel look at an old problem [J]. Cent Eur J Immunol, 2022, 47(1): 109-116.
- [2] Azari ZD, Aljubran F, Nothnick WB. Inflammatory MicroRNAs and the Pathophysiology of Endometriosis and Atherosclerosis: Common Pathways and Future Directions Towards Elucidating the Relationship [J]. Reprod Sci, 2022, 29(8): 2089-2104.
- [3] 张金焕, 王伟, 刘思宇, 等. 经腹彩色多普勒超声检查对子宫内膜异位症的诊断价值[J]. 影像科学与光化学, 2021, 39(2): 5.
- [4] 王军玲, 朱涛. 巨噬细胞移动抑制因子、糖类抗原 125 及血管内皮生长因子在子宫内膜异位症患者血清中的表达及临床意义[J]. 中国生育健康杂志, 2017, 28(6): 574-575+582.
- [5] 谷杭芝, 林蒙蒙, 林蓉蓉, 等. 巨噬细胞移动抑制因子基因多态性与子宫内膜异位症的相关性研究[J]. 浙江医学, 2019, 41(3): 238-241.
- [6] Nothnick WB, Graham A. Dissecting the miR-451a-Mif Pathway in Endometriosis Pathophysiology Using a Syngeneic Mouse Model: Temporal Expression of Lesion Mif Receptors, Cd74 and Cxcr4 [J]. Biomedicine, 2022, 10(7): 1699.
- [7] Irungu S, Mavrelis D, Worthington J, et al. Discovery of non-invasive biomarkers for the diagnosis of endometriosis [J]. Clin Proteomics, 2019, 16: 14.
- [8] 王燕, 李明清, 贾罗琦. 来曲唑联合地屈孕酮治疗子宫内膜异位症的疗效及对患者性激素和 CA125 水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(24): 4699-4702.
- [9] Chekini Z, Poursadoughian Yaran A, Ansari-Pour N, et al. A novel gene-wide haplotype at the macrophage migration inhibitory factor (MIF) locus is associated with endometrioma [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2020, 247: 6-9.
- [10] Han X, Hu F, Chen F, et al. The inhibition of bone morphogenetic protein 1 attenuates endometriosis lesions in vivo and in vitro [J]. Arch Gynecol Obstet, 2020, 302(2): 415-422.
- [11] 闫文杰, 皮洁, 杨菁. MIF、COX-2 在子宫内膜异位症中的表达及相关性研究[J]. 中国性科学, 2017, 26(12): 34-37.
- [12] Chekini Z, Shakhoseini M, Aflatoonian R, et al. The Relationship between Functional Promoter Variants of Macrophage Migration Inhibitory Factor and Endometriosis [J]. Cell J, 2021, 22(4): 450-456.
- [13] 石瑾秋, 卢健翔, 常亮, 等. 阻断巨噬细胞集落刺激因子抑制子宫内膜异位症基质细胞迁移研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016, 32(7): 685-688.
- [14] 刘佳, 曾俊萍, 林蓉蓉, 等. 凝血与炎症因子联合血清 CA125 在子宫内膜异位症诊断中的价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(16): 2353-2357.
- [15] Abdul Karim AK, Abd Aziz NH, Md Zin RR, et al. The Effect of Surgical Intervention of Endometriosis to CA-125 and Pain [J]. Malays J Med Sci, 2020, 27(6): 7-14.
- [16] 苏家林, 张赞, 卢朝霞, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值、血清 CA125 及 CA199 检测在子宫肌瘤病和子宫内膜异位症中的临床意义[J]. 中国当代医药, 2021, 28(1): 132-134+138.
- [17] Elbaradie SMY, Bakry MS, Bosilah AH. Serum macrophage migration inhibition factor for diagnosing endometriosis and its severity: case-control study [J]. BMC Womens Health, 2020, 20(1): b189.

右美托咪定复合舒芬太尼靶控镇痛对腹腔镜术后应激反应及睡眠质量的影响

苏晓颜^{1*} 万兆星¹ 郭正轩²

[摘要] **目的** 探讨右美托咪定复合舒芬太尼靶控镇痛对腹腔镜手术后应激反应及睡眠质量的影响。**方法** 选择 96 例行腹腔镜手术患者,随机分为研究组及对照组,研究组给予右美托咪定复合舒芬太尼靶控镇痛,对照组给予舒芬太尼镇痛,比较两组患者舒芬太尼用量,镇痛及镇静效果、术后应激反应及睡眠质量。**结果** 术后 12 h、24 h、48 h 研究组患者 VAS 评分低于对照组,差异有统计学意义($t=9.714, 6.502, 6.502, P<0.05$), Ramsay 评分研究组高于对照组,差异有统计学意义($t=2.719, 5.462, 4.294, P<0.05$);研究组术后 48 h 舒芬太尼用量低于对照组,差异有统计学意义($t=4.916, P=0.002$),研究组镇痛不良反应发生率低于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=7.940, P=0.005$)。两组术前 PSQI 评分比较差异无统计学意义($t=0.174, P=0.669$),术后 48 h 研究组 PSQI 评分低于对照组,差异有统计学意义($t=3.917, P=0.002$),两组患者术前去甲肾上腺素(NA)、肾上腺素(A)及 HR 及 SBP 水平比较,差异无统计学意义($t=1.074, 0.816, 0.339, 0.285, P<0.05$),术后 12 h、24 h、48 h 研究组患者血清 NA 及 A 水平低于对照组,差异有统计学意义(12 h: $t=3.719, 3.412, P<0.05$; 24 h: $t=4.497, 3.812, P<0.05$; 48 h: $t=4.716, 5.202, P<0.05$), HR 及 SBP 低于对照组,差异有统计学意义(12 h: $t=4.012, t=0.002, 2.594, P<0.05$; 24 h: $t=2.794, 2.146, P<0.05$; 72 h: $t=2.179, 2.162, P<0.05$)。**结论** 右美托咪定复合舒芬太尼靶控镇痛能够改善腹腔镜手术后镇痛及镇静效果,降低应激反应,维护心血管系统稳定,改善患者睡眠质量。

[关键词] 右美托咪定; 舒芬太尼; 靶控镇痛; 腹腔镜手术; 应激反应; 睡眠质量

Effects of target-controlled analgesia with dexmedetomidine combined with sufentanil on stress response and sleep quality after laparoscopy

SU Xiaoyan^{1*}, WAN Zhaoxing¹, GUO Zhengxuan²

(1. Anesthesiology Department, Anyang District Hospital, Puyang, Henan, China, 455000; 2. Department of Oncology, Anyang District Hospital, Puyang, Henan, China, 455000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of dexmedetomidine combined with sufentanil on stress response and sleep quality after laparoscopic surgery. **Methods** 96 patients who underwent laparoscopic surgery were randomly divided into the research group and the control group. Patients in the study group were give right holder microphones set target compound ShuShu fentanyl analgesia, patients in the control group were give right supporting micocomposite sufentanil target controlled analgesia, fentanyl dosage, analgesic and sedative effect, the postoperative stress reaction and sleep quality were contrast between study and control group. **Results** VAS score was lower in the study group than that in the control group postoperative at 12 h, 24 h, 48 h after operation ($t=9.714, 6.502, 6.502, P<0.05$), Ramsay score= is higher in the study than that in the control group ($t=2.719, 5.462, 4.294, P<0.05$). The dosage of sufentanil was lower in the study group than that in the control group at 48 hours after the operation ($t=4.916, P<0.05$), and incidence of analgesic adverse reactions was lower in the study group than that in the control group ($\chi^2=7.940, P<0.05$). PSQI score was no

基金项目:河南省医学教育研究项目(Wjlx2020475)

作者单位:1. 河南省濮阳市安阳地区医院麻醉科,河南,濮阳 455000

2. 河南省濮阳市安阳地区医院肿瘤科,河南,濮阳 455000

*通信作者:苏晓颜, E-mail: 56315745@qq.com

significant difference between two groups before operation ($t=0.174$, $P<0.05$), and was lower in the control group than that in the study group at 48 hours after operation ($t=3.917$, $P<0.05$). The level of NA, A, HR and SBP were no significant difference in two groups before operation ($t=1.074$, 0.816 , 0.339 , 0.285 , $P<0.05$), and the level of NA and A was lower (12 h: $t=3.719$, 3.412 , $P<0.05$; 24 h: $t=4.497$, 3.812 , $P<0.05$; 48 h: $t=4.716$, 5.202 , $P<0.05$), the level of HR and SBP was lower in the study group than that in the control group at 12 h, 24 h, 48 h after operation (12 h: $t=4.012$, 2.594 , $P<0.05$; 24 h: $t=2.794$, 2.146 , $P<0.05$; 72 h: $t=2.179$, 2.162 , $P<0.05$). **Conclusion** Dexmedetomidine combined with fentanyl can improve the analgesic and sedative effects after laparoscopic surgery, reduce the stress response, maintain the stability of cardiovascular system, and improve the sleep quality of patients.

[KEY WORDS] Dexmedetomidine; Fentanyl; Target controlled analgesia; Laparoscopic surgery; Stress response; Sleep quality

腹腔镜手术是经典的微创手术方式,但术后疼痛仍然是影响术后患者康复及短期生活质量的主要原因,尤其是术后48 h内,手术创伤引起的疼痛往往较为明显,甚至引起患者生命体征的不稳定以及睡眠障碍^[1],影响患者的治疗感受。术后镇痛能够有效的缓解疼痛,减轻患者术后的不适感,舒芬太尼是术后镇痛常用的药物,舒芬太尼属阿片类药物,具有极好的镇痛作用,但其在应用过程中的副作用也较为明显^[2],如消化道反应,呼吸功能抑制等,限制了其镇痛效果的发挥。右美托咪啶属 α_1 肾上腺受体激动剂,具有镇痛及镇静的作用,而且具有起效时间短,恢复快等特点^[3],其镇痛时与舒芬太尼具有协同作用,本文就右美托咪啶与舒芬太尼复合应用在腹腔镜手术术后镇痛的效果及其对睡眠质量的影响进行研究。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择河南省濮阳市安阳地区医院2019年11月至2020年3月行腹腔镜手术患者96例,患者入选标准:①腹腔镜手术为:腹腔镜下胆囊,阑尾切除术,腹腔下子宫,卵巢,输卵管切除术;②年龄 ≥ 16 周岁;③患者同意纳入研究,并签署知情同意书。排除标准:①合并急性胆囊炎或肝内胆管结石;②术中中转开腹;③合并认知功能障碍或精神疾病;④合并消化性溃疡等其他消化道疾病;⑤合并睡眠障碍。患者入选后随机分为对照组及研究组,其中对照组48例,男10例,女38例,患者平均年龄(43.0 ± 5.3)岁,其中胆囊手术14例,阑尾手术12例,子宫手术10例,输卵管手术11例,卵巢手术1例,ASA分级^[4]一级24例,二级24例,研究组患者48例,其中男14例,女34例,患者平均年龄

(42.8 ± 4.7)岁,其中其中胆囊手术14例,阑尾手术12例,子宫手术10例,输卵管手术10例,卵巢手术2例,ASA分级一级19例,二级29例,两组患者性别、年龄、胆囊病变类型及麻醉ASA分级比较差异无统计学意义($P>0.05$)。研究内容经本院医学伦理委员会批准,符合医学伦理学要求。

1.2 麻醉方法

患者均采用气管插管全麻,咪达唑仑 0.05 mg/kg 、舒芬太尼($0.6\sim 0.8$) $\mu\text{g/kg}$ 、依托咪酯($0.2\sim 0.3$) mg/kg 、顺式苯磺酸阿曲库铵 0.25 mg/kg 麻醉诱导,气管插管后机械通气,靶控泵入丙泊酚($3\sim 4$) $\text{mg/kg}\cdot\text{h}$,间断给舒芬太尼及顺式苯磺酸阿曲库铵。维持麻醉深度D1-D2之间,手术结束后生命体征平稳、清醒且自主呼吸恢复良好后拔管。

1.3 镇痛方法

患者采用电子靶控镇痛泵镇痛,对照组 $0.04\ \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 舒芬太尼+ 5 mg 托烷司琼,生理盐水稀释至 100 mL ,加入镇痛泵。研究组患者给予 $0.04\ \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 舒芬太尼+ $0.15\ \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 右美托咪啶+ 5 mg 托烷司琼,生理盐水配制成 100 mL ,加入镇痛泵,两组镇痛时均首次调整负荷剂量为 2 mL ,维持剂量控制在 2 mL/h ,锁定时间 15 min ,追加计量为 0.5 mL 。

1.4 评估方法

1.4.1 镇痛及镇静效果观察

术后12、24、48 h对两组患者进行疼痛及镇静效果评估,疼痛评估采用VAS评分,评分 $0\sim 10$ 分,分别代表疼痛程度由轻到重,镇静程度评估采用临床镇静评分系统(Ramsay sedation scores, Ramsay)评分^[5]。

1.4.2 睡眠质量评估

术后48 h对患者采用的匹兹堡睡眠质量指数

(pittsburgh sleep qualify index, PSQI)对患者睡眠质量进行评估^[6-7]。

1.4.3 应激水平评估

术后 12、24、48 h 采集空腹静脉血,分离血清,采用放射免疫法检测血清 NA 及 A 水平,检测试剂盒购自天津原子能公司,检测仪器为 HH6003 型 γ 放射免疫分析仪(天津核海源科技发展有限公司),检测过程严格按照试剂及仪器使用说明书进行。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计学软件包处理数据。计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验或方差分析。计数资料 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两种患者镇痛及镇静情况

两组患者随术后时间延长 VAS 评分逐渐降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),术后研究组各时间点 VAS 评分低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),各时间点 Ramsay 评分研究组高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者不同时间点 VAS 及 Ramsay 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VAS 评分			Ramsay 评分		
		术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
对照组	48	4.1±0.6	3.4±0.5 ^a	2.3±0.4 ^{ab}	3.2±0.4	2.1±0.4 ^a	1.9±0.2 ^{ab}
研究组	48	2.9±0.5	2.7±0.6 ^a	1.8±0.4 ^{ab}	3.6±0.6	3.1±0.3 ^a	2.4±0.2 ^{ab}
t 值		9.714	6.502	4.606	2.719	5.462	4.294
P 值		0.000	0.000	0.002	0.027	0.000	0.002

注:与同组术后 12 h 比较,^a $P < 0.05$;与同组术后 24 h 比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 两组镇痛不良反应发生情况

研究组镇痛不良反应发生率低于对照组,差异有统计意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者镇痛不良反应发生率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	恶心呕吐	头晕嗜睡	寒颤	心动过缓	呼吸抑制	发生率
对照组	48	6	5	2	1	1	31.3%
研究组	48	1	2	1	0	0	8.3%
χ^2 值							7.940
P 值							0.005

2.3 两组舒芬太尼用量比较

研究组舒芬太尼用量低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者舒芬太尼用量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	舒芬太尼用量(μg)
对照组	48	152.6±12.6
研究组	48	121.3±10.3
t 值		4.916
P 值		0.002

2.4 两组患者睡眠情况

两组患者术前 PSQI 评分经统计学分析差异无统计学意义 ($P > 0.05$),术后 48 h 两组患者 PSQI 评分均升高,研究组 PSQI 评分低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组患者 PSQI 评分比较

组别	n	PSQI 评分	
		术前	术后 48 h
对照组	48	3.6±0.7	5.2±1.1 ^a
研究组	48	3.5±0.6	4.3±0.9 ^a
t 值		0.174	3.917
P 值		0.669	0.002

注:与同组术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.5 两组患者应激反应情况

两组患者术前 NA 及 A 水平经统计学分析差异无统计学意义 ($P > 0.05$),术后各时间点 NA 及 A 水平均较术前增高,术后各时间点研究组 NA 及 A 水平低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),术后各时间点研究组 HR 及 SBP 均低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 两组患者各时间点应激反应指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	T	NA (ng/L)	A (ng/L)	HR	SBP
对照组 (n=48)	术前	412.4±21.4	131.6±12.8	68.4±5.2	121.4±8.9
	术后 12 h	559.8±33.6	184.5±15.4	81.6±6.9	139.6±11.4
	术后 24 h	536.2±24.9	167.2±14.5	77.4±5.2	129.5±10.2
	术后 48 h	481.7±22.6	153.7±13.7	73.9±5.4	124.7±7.6
F 值		27.426	33.197	16.120	15.399
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000
研究组 (n=48)	术前	409.6±23.4	132.4±11.6	69.1±5.5	120.8±7.4
	术后 12 h	517.4±30.8 ^a	164.2±14.3 ^a	76.8±6.1 ^a	134.7±9.7 ^a
	术后 24 h	496.2±25.4 ^a	150.6±10.9 ^a	73.2±5.4 ^a	125.1±6.2 ^a
	术后 48 h	452.7±20.4 ^a	141.6±8.2 ^a	70.6±5.1 ^a	122.4±6.9 ^a
F 值		16.514	10.217	13.114	11.417
P 值		0.000	0.002	0.000	0.001

注:同对照组同时时间点比较,^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

随着近年来微创理念的进展。患者微创手术不仅仅单一的包括手术操作过程的微创,也包括患者围手术期疼痛及不适症状的管理甚至心理健康的维护^[8-9]。术后镇痛是减轻患者术后疼痛、改善患者手术不良体验的主要方式。以阿片类药物为主要药物的镇痛方法在临床应用较为广泛,舒芬太尼是芬太尼的衍生物,相对于芬太尼具有起效快,镇痛效果好及副作用小等特点,但是仍然存在抑制呼吸道纤毛运动,引起呼吸道内痰液聚集,以及诱发恶心、呕吐等消化道症状等问题^[10]。而且在反复追加剂量后如果累积量过大,容易发生中枢神经系统抑制作用,如嗜睡、呼吸抑制等^[11-12],甚至导致生命体征的波动,影响术后的镇痛安全及患者的主观感受。右美托咪定是选择性 α_2 受体拮抗剂,具有镇痛及镇静的双重作用,同时尚能够对自主神经功能进行调节,维持血流动力学的稳定,并且具有心肌保护作用,是麻醉诱导过程及术后镇静常用的药物^[13-15]。

在腹腔镜术后患者给予右美托咪定复合舒芬太尼镇痛后发现,研究组患者术后VAS评分均显著下降,提示右美托咪定复合舒芬太尼能够增强镇痛效果,而且研究组患者的Ramsay评分要高于对照组,评分在2.4~3.6之间,处于较为理想的状态,说明0.05 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 右美托咪定的泵入速度,在维持较好的镇静状态的同时具有较好的安全性^[16]。对两组患者的舒芬太尼用量比较发现对照组的用量要明显高于研究组,而且患者不良反应的发生率也明显增高。说明单纯使用舒芬太尼的镇痛效果不足或无镇静作用,可能导致患者反复的追加剂量,引起舒芬太尼的累积量增加,导致副反应的风险增加^[17]。手术创伤及术后的疼痛等因素能够引起的机体的应激反应,导致神经内分泌机制的紊乱,影响患者术后的康复,甚至引起严重并发症的发生,其中肾上腺素(A)及去甲肾上腺素(NA)是手术创伤引起应激反应的主要激素之一,A及NA水平变化能够引起心血管系统的应激反应,引起心率、血压等生命体征的变化。在对两组患者的比较发现,研究组患者术后血清NA及A的水平低于对照组,HR及SBP也较对照组低,说明右美托咪定联合舒芬太尼能够减轻患者术后的应激反应,维持心血管系统的稳定,其可能与右美托咪定镇静镇痛作用减轻患者的疼痛、对自主功能

的调节及心肌功能调节等因素有关^[18-19]。

手术造成的生理不适及心理压力能够引起患者的睡眠功能障碍,不利于患者术后的康复,尤其对患者的手术的主观感受的影响最为明显,阿片类镇痛药物能够引起睡眠功能的紊乱^[20],对两组患者的比较发现,两组患者术后短期内均有不同程度的睡眠质量下降,但研究组术后的PSQI评分要明显低于对照组,考虑与右美托咪定良好的镇痛、镇静作用减少患者术后疼痛引起的不良刺激以及心理应激有关,也与右美托咪定对自主神经的调节有关^[21]。

综上所述,右美托咪定联合舒芬太尼靶控镇痛能够改善腹腔镜术后患者的镇痛效果,并且起到良好的镇静作用,减轻机体的应激反应,维护心血管系统的稳定,改善患者术后短期内的睡眠质量,具有较好的效果。

参考文献

- [1] 郑民华. 消化道微创手术: 砥砺前行30年[J]. 中华消化外科杂志, 2022, 21(1): 27-29.
- [2] 谭莹. 地佐辛复合舒芬太尼与单用舒芬太尼对腹腔镜胆囊切除术后镇痛效果的比较[J]. 海峡药学, 2019, 31(2): 149-150.
- [3] 李玉琢. 舒芬太尼联合右美托咪定的麻醉和术后镇痛效果[J]. 河南医学研究, 2019, 28(9): 1634-1635.
- [4] 李渊, 朱伟生. 老年髋部骨折患者预后的预测中使用美国麻醉医师协会分级的价值分析[J]. 中国基层医药, 2021, 28(11): 755-758.
- [5] 王鹏飞, 储勤军. 右美托咪定联合舒芬太尼对大鼠认知功能的影响及机制研究[J]. 海峡药学, 2019, 31(3): 92-94.
- [6] 李永华, 施春波, 厉为良. 电子支气管镜检查镇静中Ramsay评分的信度和效度[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(10): 1000-1001.
- [7] 路桃影, 李艳, 夏萍, 等. 匹兹堡睡眠质量指数的信度及效度分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(3): 260-263.
- [8] 潘晓梅. ERAS理念在腹腔镜胆囊切除术围手术期护理的应用[J]. 内蒙古医学杂志, 2019, 51(9): 1112-1113.
- [9] 邬文伟, 郑德强, 刘宇权, 等. 七氟烷与七氟烷及丙泊酚复合舒芬太尼应用在腹腔镜胆囊切除术中对血流动力学变化及术后镇痛效果影响对比[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2019, 40(5): 567-568.
- [10] 刘亚军, 刘晓芳, 冯宇峰. 纳布啡与舒芬太尼联合用于腹腔镜胆囊切除术后镇痛对比研究[J]. 中国医学创新, 2019, 16(11): 26-29.
- [11] 江伟群. 地佐辛和舒芬太尼用于腹腔镜胆囊切除术后镇痛的比较[J]. 南昌大学学报(医学版), 2012, 52(11): 80-81+84.
- [12] 张艳阁. 舒芬太尼用于术后自控静脉镇痛的剂量探讨[J]. 河南外科学杂志, 2016, 22(5): 57-58.

(下转第2146页)

颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死的诊断价值

张燕¹ 葛健康^{2*} 陈小盼³ 蒋志敏¹ 李方祺⁴ 吕佳⁵ 汪峰¹

[摘要] 目的 分析颈动脉超声定量参数联合中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、系统性免疫炎症指数(SII)对2型糖尿病患者并发脑梗死的诊断价值。方法 选取2020年8月至2023年1月广德市人民医院收治的2型糖尿病患者并发脑梗死患者作为研究对象,将其命名为合并脑梗死组($n=86$),另选同期本院收治的单纯性2型糖尿病患者为对照组($n=86$)。比较两组的颈动脉超声定量参数[颈总动脉内膜中层厚度(IMT)、颈总动脉收缩期峰值血流速度(PSV)、舒张末期血流速度(EDV)]与NLR、SII水平;采用多因素 Logistic 回归分析2型糖尿病患者并发脑梗死的相关影响因素,并绘制 ROC 曲线分析颈动脉超声定量参数(IMT、PSV、EDV)联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死的预测价值。结果 合并脑梗死组的IMT、EDV、NLR、SII水平均高于对照组($t=9.267、10.282、6.113、12.548$,均 $P<0.05$),PSV低于对照组,差异均具有统计学意义($t=8.144$,均 $P<0.05$);多因素 Logistic 回归分析显示,IMT升高($OR=1.696$)、PSV降低($OR=1.846$)、EDV升高($OR=1.943$)、NLR水平升高($OR=2.323$)及SII水平升高($OR=2.083$)均是2型糖尿病患者并发脑梗死的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析结果显示,IMT、PSV、EDV、NLR、SII水平联合检测优于单一检测($P<0.05$)。结论 颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死具有较好的诊断价值。

[关键词] 2型糖尿病;脑梗死;颈动脉超声;中性粒细胞/淋巴细胞比值;系统性免疫炎症指数

Diagnostic value of carotid ultrasound quantitative parameters combined with NLR and SII in type 2 diabetes patients with cerebral infarction

ZHANG Yan¹, GE Jiankang^{2*}, CHEN Xiaopan³, JIANG Zhimin¹, LI Fangqi⁴, LV Jia⁵, WANG Feng¹

(1. Department of Ultrasound, Guangde People's Hospital, Xuancheng, Anhui, China, 242200; 2. Department of General Surgery, Guangde People's Hospital, Xuancheng, Anhui, China, 242200; 3. Department of Anesthesiology, Guangde People's Hospital, Xuancheng, Anhui, China, 242200; 4. Clinical Laboratory, Guangde People's Hospital, Xuancheng, Anhui, China, 242200; 5. Department of Neurology, Guangde People's Hospital, Xuancheng, Anhui, China, 242200)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the diagnostic value of carotid ultrasound quantitative parameters combined with neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and systemic immunoinflammatory index (SII) in patients with type 2 diabetes complicated with cerebral infarction. **Methods** Patients with type 2 diabetes complicated with cerebral infarction admitted to Guangde People's Hospital from August 2020 to January 2023 were selected as the study object and named as the combined cerebral infarction group ($n=86$), and patients with simple type 2 diabetes admitted to our hospital during the same period were selected as the control group ($n=86$).

基金项目:宣城市卫生健康科研一般项目(XCWJ2022039)

作者单位:1.安徽省宣城市广德市人民医院超声科,安徽,宣城 242200

2.安徽省宣城市广德市人民医院普外科,安徽,宣城 242200

3.安徽省宣城市广德市人民医院麻醉科,安徽,宣城 242200

4.安徽省宣城市广德市人民医院检验科,安徽,宣城 242200

5.安徽省宣城市广德市人民医院神经内科,安徽,宣城 242200

*通信作者:葛健康, E-mail: gjk0521@163.com

Carotid artery ultrasound quantitative parameters [(common carotid intima media thickness (IMT), peak systolic blood velocity (PSV), end-diastolic blood velocity (EDV)] and NLR and SII were compared between the two groups. Multivariate Logistic regression was used to analyze the related influencing factors of cerebral infarction in patients with type 2 diabetes, and the ROC curve was drawn to analyze the predictive value of carotid artery ultrasound quantitative parameters (IMT, PSV, EDV) combined with NLR and SII in patients with type 2 diabetes complicated with cerebral infarction. **Results** The levels of IMT, EDV, NLR and SII in the combined cerebral infarction group were higher than those in the control group ($t=9.267, 10.282, 6.113, 12.548, P<0.05$), and PSV was lower than those in the control group, the differences were statistically significant ($t=8.144, P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that elevated IMT ($OR=1.696$), decreased PSV ($OR=1.846$), elevated EDV ($OR=1.943$), and elevated NLR ($OR=2.323$) and increased SII level ($OR=2.083$) were independent risk factors for cerebral infarction in type 2 diabetes patients ($P<0.05$). The ROC curve analysis results showed that the levels of IMT, PSV, EDV, NLR, SII respectively, and combined detection was superior to single detection ($P<0.05$). **Conclusion** Carotid ultrasound quantitative parameters combined with NLR and SII have good diagnostic value in type 2 diabetes patients complicated with cerebral infarction.

[KEY WORDS] Type 2 diabetes mellitus; Cerebral infarction; Carotid ultrasound; Neutrophil/lymphocyte ratio; Systemic immune inflammatory index

2型糖尿病是一种以高血糖与胰岛素抵抗为特征的代谢性疾病,由其引起的血脂异常、血液高凝状态以及高胰岛素血症等是导致心脑血管并发症发生的原因,与健康人群相比,2型糖尿病患者发生脑梗死的风险会增加2~6倍^[1]。彩色多普勒超声检测是目前评估颈动脉粥样硬化病变严重程度的重要方法之一。颈动脉超声能够直接检测血管的血流动力学变化,并且能够对动脉内斑块与血管狭窄程度进行准确计算,对糖尿病患者并发脑梗死的诊查具有积极意义^[2]。中性粒细胞/淋巴细胞比值(Neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)可以评估机体的炎症水平,能够反映动脉斑块内嗜中性粒细胞的激活状态,对血管微炎症病变程度进行评估,而且淋巴细胞减少容易促进斑块不稳定性进展,与脑梗死患者密切相关^[3]。系统性免疫炎症指数(Systemic immune inflammatory index, SII)是由中性粒细胞计数、淋巴细胞计数与血小板计数构成的炎性生物标志物,能够反映机体的炎性反应与免疫状态,在评估动脉粥样硬化、冠心病以及脑梗死等多种心脑血管疾病方面具有较好的应用效果^[4]。本研究通过分析颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死的诊断价值,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2020年8月至2023年1月广德市人民医院收治的86例2型糖尿病患者并发脑梗死患者作为研究对象,将其命名为合并脑梗死组,病例纳入

标准:①均符合2型糖尿病的相关诊断标准^[5];②经影像学诊查确诊并发脑梗死^[6];③年龄 ≥ 18 周岁。排除标准:①合并存在恶性肿瘤或免疫性疾病者;②存在发热、咳嗽、腹泻等急性感染症状者;③合并存在颅内出血性疾病者;④存在心肺、肝肾等重要器官功能障碍者。另选同期本院收治的86例单纯性2型糖尿病患者为对照组。本研究已获得本院医学伦理委员会批准,所有参与研究者及其家属均知情同意。

1.2 颈动脉超声检查

仪器使用GE Voluson 730、飞利浦 IE33、GE VolusonE8、迈瑞 DC-8 彩色多普勒超声诊断仪,选用L11-3、L12-3、11L-D探头,将探头频率设置为5.0~10.0 MHz。引导患者取平卧位并自然放松颈部,检查左侧颈动脉时让患者头略偏向右侧,检查右侧时偏向左侧。通过二维超声显像探查工作模式,检查颈总动脉、颈内动脉以及颈外动脉的横切面和纵切面,观察是否存在动脉斑块,并检测颈总动脉内膜中层厚度(Intermediate thickness, IMT)。将超声切换为彩色多普勒功能模式,检测颈总动脉收缩期峰值血流速度(Peak systolic blood flow velocity, PSV)与舒张末期血流速度(End-diastolic blood flow velocity, EDV)。

1.3 血清指标检测

采集两组静脉血2 mL置入EDTA抗凝管,以迈瑞7500、迈瑞5180、希森美康XN-1000型全自动血球分析仪进行血常规检测,得到中性粒细胞计数、淋巴细胞计数及血小板计数,计算NLR与SII

的数值, NLR=中性粒细胞/淋巴细胞, SII=血小板计数×NLR^[7]。

1.4 调查方法

收集可能影响2型糖尿病患者并发脑梗死的相关因素,包括年龄、性别、身体质量指数(Body mass index, BMI)、高血压病史、颈动脉超声定量参数及血清NLR、SII等相关信息。

1.5 统计学方法

通过SPSS 24.0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,采用独立样本t检验;计数资料以n(%)表示,采用 χ^2 检验;以多因素Logistic回归分析影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死的预测价值,以P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2型糖尿病患者并发脑梗死的单因素分析

对2型糖尿病患者并发脑梗死的因素进行分析,IMT、PSV、EDV、NLR、SII水平均是2型糖尿病患者并发脑梗死的影响因素(P<0.05)。见表1。

表1 2型糖尿病患者并发脑梗死的单因素分析
[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Univariate analysis of cerebral infarction in patients with type 2 diabetes mellitus [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

因素	合并脑梗死组 (n=86)	对照组 (n=86)	χ^2/t 值	P值
性别				
男	45(52.33)	46(53.49)	0.023	0.879
女	41(47.67)	40(46.51)		
年龄(岁)				
≤60	30(34.88)	38(44.19)	1.557	0.212
>60	56(65.12)	48(55.81)		
BMI指数(kg/m ²)				
≤24	31(36.05)	39(45.35)	1.512	0.214
>24	55(63.95)	47(54.65)		
高血压病史				
有	46(53.49)	43(50.00)	0.210	0.647
无	40(46.51)	43(50.00)		
IMT(mm)	0.96±0.21	0.69±0.17	9.267	<0.001
PSV(cm/s)	48.36±8.42	59.43±9.38	8.144	<0.001
EDV(cm/s)	24.17±4.29	17.86±3.74	10.282	<0.001
NLR	2.34±0.63	1.78±0.57	6.113	<0.001
SII	561.46±76.47	421.68±69.46	12.548	<0.001

2.2 2型糖尿病患者并发脑梗死的多因素 Logistic 回归分析

以2型糖尿病患者是否并发脑梗死为因变量,将采集的数据为自变量进行多因素Logistic回归

分析。结果显示,IMT升高、PSV降低、EDV升高、NLR水平升高及SII水平升高均是2型糖尿病患者并发脑梗死的独立危险因素(P<0.05)。见表2。

表2 2型糖尿病患者并发脑梗死的多因素 Logistic 回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of cerebral infarction in type 2 diabetic patients

因素	赋值	β 值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
IMT(mm)	连续变量	0.528	0.146	13.079	1.696	1.274~2.257	<0.001
PSV(cm/s)	连续变量	0.613	0.169	13.157	1.846	1.325~2.571	<0.001
EDV(cm/s)	连续变量	0.664	0.171	15.078	1.943	1.389~2.716	<0.001
NLR	连续变量	0.843	0.296	8.111	2.323	1.301~4.150	0.004
SII	连续变量	0.734	0.251	8.552	2.083	1.274~3.407	0.003

2.3 颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死的预测价值

ROC曲线显示,IMT、PSV、EDV、NLR、SII水平联合的预测价值高于单一检测指标(P<0.05)。见表3、图1。

表3 颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死的预测价值

Table 3 Prognostic value of carotid ultrasound quantitative parameters combined with NLR and SII in patients with type 2 diabetes complicated with cerebral infarction

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
IMT	0.79	0.845	0.786~0.903	0.785	0.763	<0.001
PSV	55.33	0.810	0.747~0.872	0.753	0.699	<0.001
EDV	20.53	0.864	0.813~0.915	0.774	0.763	<0.001
NLR	1.99	0.737	0.666~0.809	0.731	0.645	<0.001
SII	490.06	0.903	0.861~0.946	0.806	0.817	<0.001
联合检测		0.956	0.919~0.993	0.946	0.903	<0.001

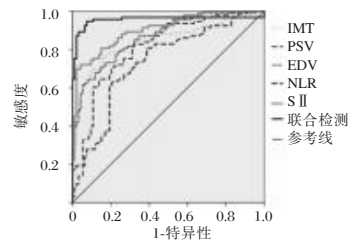


图1 ROC曲线分析
Figure 1 ROC curve

3 讨论

近年来,随着人口老龄化进程与居民生活方式的改变,我国糖尿病与心血管疾病的发病率不断升高,患病人数高达数亿,需要接受多种药物终生治疗与预防糖尿病与心血管疾病的人数越来越多,严重影响患者的生活质量与生命健康安全^[8]。脑梗死是血管平滑肌增生、炎症细胞浸润以及血

栓形成等慢性炎症疾病的病理过程,其主要病理因素是动脉粥样硬化,而2型糖尿病引起的血脂代谢异常是导致动脉粥样硬化斑块形成的重要原因,与脑梗死发生密切相关^[9]。相关研究指出,我国约有700余万脑梗死患者,每年新发病例约200余万,且具有较高的死亡率,每年死亡病例150余万,早期诊治对延缓脑梗死患者病情恶化,促进预后改善具有重要作用^[10]。因此,对2型糖尿病患者并发脑梗死患者进行及时有效的诊断,有利于指导患者的临床诊治与生存预后。

颈动脉超声能够实时显示颈动脉粥样硬化斑块内部的新生血管,而且可以通过半定量与定量分析评估斑块的新生血管分布情况,在一定程度上帮助早期识别脑梗死面积,有助于预测脑梗死的发生与判断预后^[11]。周利等^[12]研究表明,颈动脉超声能够清晰显示颈动脉横轴、纵轴的解剖图像,动态观察斑块的大小与形态,根据颈动脉超声IMT、PSV、EDV等定量参数能够综合评估颈动脉狭窄范围及程度,准确反映颈动脉粥样硬化引起的血管壁和血流的变化。汪宁等^[13]研究指出,脑梗死患者的神经功能受损,会引起颈动脉狭窄程度加重,舒张末期狭窄段形成涡流或湍流,造成EDV明显上升,而血小板聚集引起血管壁发生脂代谢紊乱,脂质沉积进一步导致颈动脉IMT增加与PSV降低。本研究结果与上述研究结果一致,提示颈动脉超声定量参数对2型糖尿病并发脑梗死具有一定诊断价值。

中性粒细胞与淋巴细胞是血液白细胞的重要组成部分,对机体启动和调节炎症反应以及免疫调节具有重要作用,血小板计数能够对中性粒细胞与淋巴细胞产生刺激作用,进而影响中性粒细胞与淋巴细胞参与炎症反应的过程^[14]。Wang等^[15]研究指出,脑梗死患者与体内的炎症反应状态密切相关,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,能够反映血管炎症反应的程度,是预测脑梗死患者的重要指标。陶珍等^[16]研究表明,中性粒细胞激活或炎症反应加剧均会促进NLR上升,使神经元细胞膜完整性遭到破坏,而且NLR上升还会加剧肿瘤坏死因子- α 激活,加剧脑组织损伤,导致脑梗死病情的发生发展。SII综合参考中性粒细胞、淋巴细胞与血小板计数,是反映机体炎症状态的标志物。李巍等^[17]研究认为,脑梗死患者出现局部脑血管堵塞,脑组织缺血缺氧以及神经细胞缺血死亡时,容易引起中性粒细胞增加与淋巴细

胞下降,导致炎症反应加剧,炎性因子能够通过破坏的血脑屏障进入体循环,引起机体SII上升。本研究结果提示血清NLR、SII水平可以作为评估2型糖尿病患者并发脑梗死的指标。本研究对2型糖尿病患者并发脑梗死的相关影响因素进行分析,多因素Logistic回归分析显示,IMT升高、PSV降低、EDV升高、NLR水平升高及SII水平升高均是2型糖尿病患者并发脑梗死的独立危险因素。本研究进一步验证提示IMT、PSV、EDV联合NLR、SII可作为2型糖尿病患者并发脑梗死的诊断指标,联合检测能够提升敏感度和特异度。

综上所述,颈动脉超声定量参数联合NLR、SII对2型糖尿病患者并发脑梗死具有较好的诊断价值。

参考文献

- [1] 刘杨,张作念,倪梦园,等.急性脑梗死合并2型糖尿病患者小而密低密度脂蛋白胆固醇与其病情严重程度相关性研究[J].中国糖尿病杂志,2023,31(5):330-334.
- [2] Wu Y, Xin X, Guo A, et al. Assessment of the predictive value of carotid color Doppler ultrasound Crouse score combined with high-sensitivity C-reactive protein in elderly diabetics with cerebral infarction [J]. Clin Physiol Funct Imaging, 2022, 42(6):453-459.
- [3] Qiu Z, Guo T, Sheng X, et al. Prognostic Value of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Chronic Internal Carotid Artery Occlusion Complicated by Cerebral Infarction [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2022, 18:2265-2271.
- [4] Dzedzic EA, Gąsior JS, Tuzimek A, et al. Investigation of the Associations of Novel Inflammatory Biomarkers-Systemic Inflammatory Index (SII) and Systemic Inflammatory Response Index (SIRI) - With the Severity of Coronary Artery Disease and Acute Coronary Syndrome Occurrence [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(17):9553.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会.中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(上)[J].中国实用内科杂志,2021,41(8):668-695.
- [6] 高长玉,吴成翰,赵建国等.中国脑梗死中西医结合诊治指南(2017)[J].中国中西医结合杂志,2018,38(2):136-144.
- [7] 刘丽,张巧玲,杨红梅等.临床新型炎症指标对糖尿病肾脏疾病辅助诊断价值的研究[J].中国糖尿病杂志,2023,31(3):181-186.
- [8] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2021概要[J].中国循环杂志,2022,37(6):553-578.
- [9] Yu Y, Wang L, Zhu X, et al. Sodium ozagrel and atorvastatin for type 2 diabetes patients with lacunar cerebral infarction [J]. World J Diabet, 2021, 12(12):2096-2106.
- [10] 胡孙玉,李名兰,闵敏,等.脑梗死合并高血压病例血清脂肪细胞因子与预后相关性[J].华南预防医学,2021,47(11):1379-1383. (下转第2146页)

消化内科老年重症患者医院感染CRE感染特征及有关危险因素分析

李津锋* 董亚辉 白言声 白涛 唐银佩 张园园 刘一杰

[摘要] **目的** 探讨消化内科老年重症患者医院感染耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)感染特征,并进一步对相关危险因素行多元回归分析。**方法** 选择感染的老年重症患者作为研究对象,根据病原菌药敏试验分为CRE组与碳青霉烯类敏感肠杆菌科(CSE)组,比较两组患者临床特征差异,CRE组患者耐药情况及分析危险因素。**结果** CRE组合并慢性阻塞性肺疾病、机械通气、中心静脉置管、碳氢酶烯类暴露、喹诺酮类暴露、抗生素使用种类 ≥ 2 种、抗生素使用时间 ≥ 7 d、使用糖皮质激素比例、年龄及APACHE II评分均高于CSE组,差异有统计学意义($\chi^2=6.120, 4.564, 5.656, 7.792, 6.630, 6.448, 7.697, 5.102, t=3.658, 4.251, P<0.05$)。多因素logistic回归分析显示:合并慢性阻塞性肺疾病、机械通气、中心静脉置管、碳氢酶烯类暴露、抗生素使用种类 ≥ 2 种、抗生素使用时间 ≥ 7 d、使用糖皮质激素是CRE发生的危险因素($P<0.05$)。CRE耐药菌种以肺炎克雷伯菌最常见,占83.93%,其次为肠杆菌属(5.36%)、大肠埃希菌(3.57%)。2019年与2020年CRE对头孢菌素类、碳氢酶烯类耐药率均为100.00%,对阿米卡星、庆大霉素、左氧氟沙星的耐药率均较高,目前尚未发现对替加环素的耐药菌株。生存分析发现140例患者28d内死亡26例,占18.57%,其中CRE死亡18例(32.14%),CSE组死亡8例(9.52%),两组比较差异有统计学意义($\chi^2=11.368, P<0.05$)。**结论** 消化内科老年重症患者医院感染CRE感染主要以肺炎克雷伯菌为主,严格把控抗菌药物使用指征,避免侵入性操作,控制激素使用可降低CRE发生率。

[关键词] 消化内科;老年;重症;耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌

Analysis of characteristics and related risk factors of nosocomial CRE infection in elderly critically ill patients in the Department of Gastroenterology

LI Jinfeng*, DONG Yahui, BAI Yansheng, BAI Tao, TANG Yinpei, ZHANG Yuanyuan, LIU Yijie

(Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Nanyang City, Henan Province, No.1 Ward, Nanyang, Henan, China, 473000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the characteristics of hospital-acquired carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) in elderly critically ill patients in the Department of Gastroenterology, and further perform multiple regression analysis on related risk factors. **Methods** Elderly critically ill patients with infection were selected as the research subjects and were divided into the CRE group and the carbapenem sensitive Enterobacteriaceae (CSE) group based on pathogen susceptibility tests. The clinical characteristics of the two groups of patients were compared, and the drug resistance of the CRE group of patients was analyzed, along with risk factors. **Results** The CRE group complicated with chronic obstructive pulmonary disease, mechanical ventilation, central venous catheterization, hydrocarbon alkene exposure, quinolones exposure, antibiotic use types ≥ 2 , antibiotic use time ≥ 7 d, glucocorticoid use ratio, age and APACHE II score were all higher than those in CSE group, and the differences were statistically significant ($\chi^2=6.120, 4.564, 5.656, 7.792, 6.630, 6.448, 7.697, 5.102, t=3.658, 4.251, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the risk factors of CRE were chronic obstructive pulmonary disease, mechanical ventilation, central venous catheterization, hydrocar-

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2019092175)

作者单位:河南省南阳市第二人民医院消化内科一病区,河南,南阳473000

*通信作者:李津锋, E-mail:597760638@qq.com

bon exposure, antibiotic use types ≥ 2 , antibiotic use time ≥ 7 days and glucocorticoid use ($P < 0.05$). *Klebsiella pneumoniae* was the most common drug-resistant bacteria, accounting for 83.93%, followed by *Enterobacter* (5.36%) and *Escherichia coli* (3.57%). In 2019 and 2020, the resistance rates of CRE to cephalosporins and hydrocarbenes were all 100.00%, and the resistance rates to amikacin, gentamicin and levofloxacin were all high. So far, no strains resistant to tigecycline have been found. Survival analysis showed that 26 of 140 patients died within 28 days, accounting for 18.57%, including 18 cases of CRE (32.14%) and 8 cases of CSE (9.52%). The difference between the two groups was statistically significant ($\chi^2=11.368$, $P < 0.05$). **Conclusion** *Klebsiella pneumoniae* is the main cause of nosocomial infection in elderly patients with severe gastroenterology. Strictly controlling the indications of antibacterial drugs, avoiding invasive operation, and controlling hormone use can reduce the incidence of CRE.

[KEY WORDS] Department of gastroenterology; Old age; Severe illness; CRE

临床上碳氢酶烯类抗生素是目前多重耐药革兰氏阴性菌的最终选择方案,但由于抗菌药物使用增多,同时存在不合理使用现象,耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)检出率日益增多,已经成为院内感染最高级别,其高度耐药的特性为临床治疗带来的巨大挑战,是院内死亡的独立危险因素^[1]。消化内科患者由于不同程度的消化道症状,影响患者的进食,导致营养摄入不足,存在严重的营养不良,机体免疫力严重降低,特别是对于老年重症患者而言,并发感染的风险更高。为此本研究即探讨消化内科老年重症患者医院感染 CRE 感染的特征,并进一步对相关危险因素行多元回归分析,以期早期控制相关危险因素,降低发生风险。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择 2020 年 1 月至 2022 年 1 月 140 例河南省南阳市第二人民医院消化内科医院感染的老年重症患者作为研究对象,男 89 例,女 51 例,平均年龄(69.12 ± 5.34)岁。根据病原菌药敏试验^[2]分为 CRE 组 56 例与碳青霉烯类敏感肠杆菌科(CSE)组 84 例,其中 CRE 组男 36 例,女 20 例,平均年龄(71.73 ± 6.11)岁,CSE 组男 53 例,女 31 例,平均年龄(68.14 ± 5.24)岁。

纳入标准:①年龄 ≥ 60 岁;②所有患者细菌培养均为院内感染,且明确为肠杆菌科细菌感染;③急性生理学和慢性健康状况 II (acute physiology and chronic health evaluationscoring system, APACHE II 评分) ≥ 15 分^[3];④感染诊断参照《医院感染诊断标准(试行)》^[4];⑤临床资料完整;⑥家属签署知情同意书。排除标准:①年龄 < 60 岁;

②入院前或 48 h 内存在感染;③精神异常或认知功能异常者;④临床资料不完整。

1.2 研究方法

1.2.1 详细记录基本信息

年龄、性别、体质指数(BMI)、感染部位、合并基础疾病、侵入性操作、抗生素使用情况、吸烟史、饮酒史等。

1.2.2 病原菌结果

采用全自动微生物分析系统(梅里埃)ATB COcompact 进行病原菌分析明确为肠杆菌科细菌,药敏试验采用纸片扩散法。质控标准:KpnATCC-700603, EcoATCC25922 作为阴性对照。

CRE 首先根据美国临床与实验室标准学会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)标准进行判读(亚胺培南或美罗培南最低抑制浓度 $\geq 4 \mu\text{g/mL}$,或厄他培南最低抑制浓度 $\geq 2 \mu\text{g/mL}$)^[2];随后可疑菌株进一步行 Hodge 试验联合 EDTA 双纸片协同试验^[5],Hodge 试验阳性,EDTA 双纸片协同试验阴性为产丝氨酸型碳青霉烯酶;Hodge 试验阴性,EDTA 协同试验阳性为产金属酶。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件包处理实验数据。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,采用 Fisher 确切概率法。影响因素分析为多因素非条件 Logistic 回归,采用逐步后退法进行变量的选择和剔除。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床特征比较

CRE 组合并慢性阻塞性肺疾病、机械通气、中心静脉置管、碳氢酶烯类暴露、喹诺酮类暴露、

APACHE II评分、抗生素使用种类 ≥ 2 种、抗生素使用时间 ≥ 7 d、使用糖皮质激素比例、年龄及APACHE II评分均高于CSE组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 影响CRE发生的多因素 Logistic 回归分析

合并慢性阻塞性肺疾病、机械通气、中心静脉置管、碳氢酶烯类暴露、抗生素使用种类 ≥ 2 种、抗生素使用时间 ≥ 7 d、使用糖皮质激素是CRE发生的危险因素($P < 0.05$)。见表2。

2.3 CRE 耐药菌种分布

CRE 耐药菌种以肺炎克雷伯菌最常见,占83.93%,其次为肠杆菌属(5.36%)、大肠埃希菌(3.57%)。见表3。

2.4 耐药情况分析

2019年与2020年CRE对头孢菌素类、碳氢酶烯类耐药率均为100.00%,对阿米卡星、庆大霉素、左氧氟沙星的耐药率均较高,目前尚未发现对替加环素的耐药菌株。见表4。

2.5 两组患者 28 d 生存情况分析

140例患者28 d内死亡26例,占18.57%,其中CRE死亡18例(32.14%),CSE组死亡8例(9.52%),两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 11.368$, $P < 0.05$)。生存曲线见图1。

3 讨论

肠杆菌科细菌广泛存在于院内、病房内、人体等环境中,一直是引起院内感染的主要条件致病菌^[6]。临床上碳氢酶烯类抗菌药具有较强的抗菌活性及对 β -内酰胺酶的稳定性,因此是多重耐药肠杆菌科细菌的最终保障,但近年来随着碳氢酶烯类抗菌药的广泛使用,CRE日益增多,虽然其可能对替加环素等较为敏感,但存在副作用大的不足,且由于CRE感染患者常常合并多种基础疾病,因此目前临床尚缺乏较为认可的治疗方案,该类患者死亡率较高,有研究发现,CRE引起的血流感染死亡率高达50.0%^[7]。

由于CRE感染可造成严重的后果,因此临床上了解CRE发生的危险因素,以便提前给予必要的干预,以期减少其发生风险或降低其严重程度至关重要。通过本研究的结果发现,合并慢性阻塞性肺疾病的老年患者本身已存在呼吸系统防御功能的严重下降,当患者存在消化系统疾病导致免疫功能进一步降低时,呼吸道存在的条件致病

表1 两组患者临床特征比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of clinical features between two groups

因素	CRE组(n=56)		CSE组(n=84)		$\chi^2(t)$ 值	P值
	例数	构成比	例数	构成比		
性别						
男	36	64.29	53	63.10	0.021	0.886
女	20	35.71	31	36.90		
BMI						
$\geq 24 \text{ kg/m}^2$	30	53.57%	54	64.29	1.607	0.205
$< 24 \text{ kg/m}^2$	26	46.43	30	35.71		
感染部位						
呼吸系统	28	50.00	46	54.76	0.950	0.813
消化系统	14	25.00	16	19.05		
泌尿系统	10	17.86	14	16.67		
其他	4	7.14	8	9.52		
合并糖尿病						
有	20	35.71	20	23.81	2.333	0.127
无	36	64.29	64	76.19		
合并高血压						
有	14	25.00	20	23.81	0.026	0.872
无	42	75.00	64	76.19		
合并冠心病						
有	6	10.71	12	14.29	0.383	0.536
无	50	89.29	72	85.71		
合并慢性阻塞性肺疾病						
有	12	21.43	6	7.14	6.120	0.013
无	44	78.57	78	92.86		
机械通气						
有	18	32.14	14	16.67	4.564	0.033
无	38	67.86	70	83.33		
中心静脉置管						
有	24	42.86	20	23.81	5.656	0.017
无	32	57.14	64	76.19		
留置胃管						
有	50	89.29	72	85.71	0.383	0.536
无	6	10.71	12	14.29		
留置尿管						
有	36	64.29	64	76.19	2.333	0.127
无	20	35.71	20	23.81		
碳氢酶烯类暴露						
有	26	46.43	20	23.81	7.792	0.005
无	30	53.57	64	76.19		
头孢菌素暴露						
有	12	21.43	12	14.29	1.207	0.272
无	44	78.57	72	85.71		
喹诺酮类暴露						
有	20	35.71	14	16.6	6.630	0.010
无	36	64.29	70	83.33		
氨基糖苷类						
有	6	10.71	12	14.29	0.383	0.536
无	50	89.29	72	85.71		
抗生素使用种类						
≥ 2 种	19	33.93	13	15.48	6.488	0.011
< 2 种	37	66.07	71	84.52		
抗生素使用时间						
≥ 7 d	29	51.79	24	28.57	7.697	0.005
< 7 d	27	48.21	60	71.43		
使用糖皮质激素						
有	9	16.07	4	4.76	5.102	0.024
无	47	83.93	80	95.24		
年龄(岁)	71.73 \pm 6.11		68.14 \pm 5.24		3.658	0.000
APACHE II评分(分)	22.01 \pm 3.54		18.58 \pm 3.13		4.251	0.000
最高体温($^{\circ}\text{C}$)	39.12 \pm 1.12		39.17 \pm 1.11		0.526	0.365
平均脉搏(次/分)	89.48 \pm 16.54		90.61 \pm 15.34		0.418	0.547
平均呼吸(次/分)	22.17 \pm 1.54		22.43 \pm 1.66		0.568	0.321

表2 影响CRE发生的多因素 Logistic 回归分析
Table 2 Multi-factor Logistic regression analysis of influencing CRE

因素	回归系数	标准误差	Wald χ^2	OR	95% CI	P 值
合并慢性阻塞性肺疾病	0.444	0.213	4.327	1.559	1.026~2.369	0.038
机械通气	1.132	0.194	34.150	3.102	2.122~4.535	0.000
中心静脉置管	0.859	0.292	8.653	2.361	1.332~4.185	0.003
碳氢酶烯类暴露	1.093	0.425	6.626	2.984	1.298~6.860	0.010
抗生素使用种类 ≥ 2 种	1.237	0.281	19.409	3.445	1.987~5.973	0.000
抗生素使用时间 ≥ 7 d	1.392	0.229	37.061	4.021	2.569~6.294	0.000
使用糖皮质激素常数项	1.517	0.196	59.685	4.558	3.102~6.697	0.000
	1.812	0.671	8.423			0.000

表3 CRE耐药菌种分布(%)

Table 3 Distribution of CRE-resistant Bacteria (%)

病原菌	2019年(n=78)		2020年(n=62)		合计(n=140)	
	株数	百分比	株数	百分比	株数	百分比
肺炎克雷伯菌	27	34.62	20	32.26	47	33.57
大肠埃希菌	1	1.28	1	1.61	2	1.43
变形杆菌属	1	1.28	0	0.00	1	0.71
肠杆菌属	2	2.56	1	1.61	3	2.14
沙雷菌属	0	0.00	1	1.61	1	0.71
柠檬酸杆菌属	0	0.00	1	1.61	1	0.71
摩根菌属	1	1.28	0	0.00	1	0.71
合计	32	41.03	24	38.71	56	40.00

表4 革兰氏阳性菌耐药情况(%)

Table 4 Drug resistance of Gram-positive bacteria (%)

抗菌药物	2019年(n=32)		2020年(n=24)		合计(n=56)	
	株数	百分比	株数	百分比	株数	百分比
头孢哌酮/舒巴坦	32	100.00	24	100.00	56	100.00
哌拉西林/他唑巴坦	32	100.00	24	100.00	56	100.00
头孢唑林	32	100.00	24	100.00	56	100.00
头孢他啶	32	100.00	24	100.00	56	100.00
头孢噻肟	32	100.00	24	100.00	56	100.00
氨曲南	32	100.00	24	100.00	56	100.00
亚胺培南	32	100.00	24	100.00	56	100.00
美罗培南	32	100.00	24	100.00	56	100.00
阿米卡星	18	56.25	13	54.17	31	55.36
庆大霉素	20	62.50	15	62.50	35	62.50
左氧氟沙星	31	96.88	24	100.00	55	98.21
替加环素	0	0.00	0	0.00	0	0.00

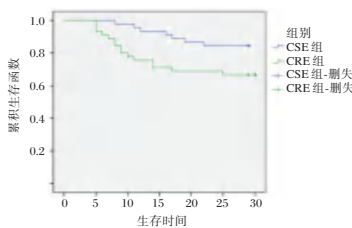


图1 两组患者28 d生存情况分析

Figure 1 Analysis of 28 d survival of 2 groups of patients

菌即可引发感染;此外合并慢性阻塞性肺疾病明显增加了老年患者机械通气风险^[8]。机械通气与中心静脉置管均为侵入性操作,在操作过程中会破坏机体原有的防御机制,如机械通气可降低呼吸道纤毛清除病原菌的能力,增加CRE的气道定植风险;中心静脉置管会增加CRE的血流感染风险,随着时间延长,导管操作次数增加,感染风险越大^[9]。目前喹诺酮类抗菌药物是院内革兰氏阴性菌常用抗生素,研究证实^[10],使用头孢菌素类及喹诺酮类抗菌药物是CRE发生的危险因素。本研究未发现头孢菌素类抗菌药使用可增加CRE发生风险,其可能原因与我院头孢菌素类抗菌药使用少有关。临床上碳氢酶烯类暴露可激活肠杆菌科细菌膜孔蛋白渗透的缺陷及外排泵的过度表达等其他耐药机制^[11],增加患者发生CRE的风险;且联用抗生素种类增加及使用时间长已被证实是多重耐药产生的主要诱因^[12]。糖皮质激素是一种强力的免疫抑制剂,不仅可以治疗炎症相关的各种疾病,且可同时抑制机体免疫系统^[13]。对于老年患者而言,在早期使用糖皮质激素降低炎症反应的同时,可能会进一步增加感染风险。有研究认为^[14],糖皮质激素使用超过7 d可使耐碳氢酶烯类肺炎克雷伯菌的发生风险增加4.528倍。因此对于老年患者而言糖皮质激素的使用需谨慎。

本研究分析发现我院近2年CRE均以肺炎克雷伯菌为主,与国内其他研究报道一致^[15]。因此建议临床上可针对肺炎克雷伯菌感染途径更加严格控制、预防。耐药情况分析发现除了替加环素外,CRE均对其他抗菌药物均有较高耐药率。目前临床上虽然多项研究表明替加环素联合碳氢酶烯类抗菌药物是治疗CRE感染的首选方案。此外,本研究进一步分析28 d短期生存情况发现,CRE组死亡率明显高于CSE组。分析认为可能与CRE菌株的毒力更高有关,亦可能由于CRE菌株的高度耐药特性给临床抗感染治疗造成严重困难有关。张嫫^[16]分析CRE与CSE引起感染的30 d生存情况亦发现,CRE组30 d生存率仅为35.8%,明显低于CSE组的75.2%。再次提示碳氢酶烯类抗菌药的不合理使用等多种因素造成的CRE需要高度警惕。

综上所述,消化内科老年重症患者医院感染CRE感染主要以肺炎克雷伯菌为主,严格把控抗菌药物使用指征,避免侵入性操作,控制激素使用可降低CRE发生率。

参考文献

- [1] 郭嘉健,彭永正. 肠道耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌临床特征及危险因素分析[J]. 热带医学杂志, 2023,23(11):1563-1567+1596.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing twenty-seventh informational supplement[S]. CLSL, 2017, M100-s27.
- [3] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al. APACHE II: a severity of disease classification system [J]. Crit Care Med, 1985 13(10):818-29.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001,81(5):314-320.
- [5] 何红,黄紫嫣,李军,等. 改良 Hodge 试验、CNPt 及 mCIM 筛选肺炎克雷伯菌产碳青霉烯酶的价值[J]. 中国感染控制杂志, 2019,18(5):375-379.
- [6] 杨红梅,陶建敏,魏甜,等. 2015-2019年上海某中西医结合医院住院患者碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌耐药性分析[J]. 检验医学, 2021,36(1):87-91.
- [7] 陈崧,牛司强,邱菊,等. 重症急性胰腺炎合并感染耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的危险因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021,42(5):627-630.
- [8] 刘家旭,汪志勇. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药机制及流行高危因素的研究进展[J]. 贵州医药, 2020,44(4):543-546.
- [9] 杨海清. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌临床分布特点及耐药性分析[J]. 山西卫生健康职业学院学报, 2020,30(4):31-33.
- [10] 王波. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌对喹诺酮类耐药机制的研究[J]. 糖尿病天地, 2020,17(11):52.
- [11] 王黎一,史利克,王悦,等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌血症影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2020,30(3):321-326.
- [12] 许玲英,吴燕青,赵丽丽. 浙江省海盐地区耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的耐药性分析[J]. 中华危重症医学杂志(电子版), 2020,13(3):218-220.
- [13] 杜霞,余嘉茵. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药的临床危险因素分析[J]. 感染、炎症、修复, 2020,21(1):36-39.
- [14] 王静,彭宇,谷娅,等. 重症监护室患者耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌血流感染的影响因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(13):1936-1939.
- [15] 葛婷婷,叶鸿雁,谢红意,等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的分布特点及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2020,30(9):1079-1081+1084.
- [16] 张嫫,董爱英,汪亚斯,等. 2013-2017年临床耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌感染检测结果分析[J]. 中国抗生素杂志, 2018,43(5):553-557.

(上接第 2137 页)

- [13] 梁永新,古妙宁,王世端,等. 右美托咪定和丙泊酚用于硬膜外麻醉下妇科手术患者镇静的比较[J]. 临床麻醉学,2011,27(4):376-378.
- [14] 吴娴,徐海军,王立伟,等. 右美托咪定在妇科腹腔镜手术中的应用效果研究[J]. 热带医学杂志, 2015,15(5):655-658.
- [15] 唐金清,潘佳美,韩明,等. 右美托咪定对心脏瓣膜置换术患者麻醉诱导期血流动力学的影响[J]. 广东医学, 2018,39(9):1297-1300.
- [16] 郭耸,陈娟,江智毅,等. 右美托咪定和丙泊酚对机械通气患者浅镇静水平脑电活动的影响[J]. 2017,17(5):574-577+579.
- [17] 刘冬子,陈志强,徐江叶,等. 右美托咪定对老年高血压患者免疫功能及血流动力学参数的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2019,47(1):71-74.
- [18] 郭学思. 右美托咪定对胃癌手术麻醉应激反应的抑制作用研究[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018,6(36):68-69.
- [19] 杜英杰. 右美托咪定的心脏保护作用[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2012,12(5):313-316.
- [20] 张辉,王新强,梁敏运. 右美托咪定联合舒芬太尼镇痛对宫颈癌患者术后睡眠质量的影响[J]. 江苏医药, 2019,45(3):319-320
- [21] 金春花,陈建丰. 右美托咪定联合舒芬太尼术后镇痛对乳腺癌患者术后睡眠质量的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2019,29(6):504-506.

(上接第 2141 页)

- [11] Bill O, Mazya MV, Michel P, et al. Intima-Media Thickness and Pulsatility Index of Common Carotid Arteries in Acute Ischaemic Stroke Patients with Diabetes Mellitus [J]. J Clin Med, 2022,12(1):246.
- [12] 周利,徐莉,邵汝升,等. 颈动脉超声定量参数联合血清 miR-128b、miR-146a 对急性缺血性脑卒中的诊断价值及对预后的评价意义[J]. 影像科学与光化学, 2021,39(3):401-406.
- [13] 汪宁,彭兆快. 脑梗死老年患者经颅多普勒超声及颈动脉超声血管检测[J]. 中国老年学杂志, 2023,43(12):2844-2847.
- [14] 王越,郑汝杰,袁明月,等. 系统性免疫炎症指数对老年心房颤动患者预后价值的研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2022,24(2):136-139.
- [15] Wang ML, Yu MM, Li WB, et al. Application of neutrophil to lymphocyte ratio to identify CT-negative cerebral infarction with nonfocal symptom [J]. Ann Transl Med, 2020,8(21):1359.
- [16] 陶珍,崔连奇,赵磊,等. NLR、血清 CHE、Ang-1 与 ACI 患者病情变化的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(5):575-578+586.
- [17] 李巍,王莉莉. 中性粒细胞与淋巴细胞比值和系统免疫炎症指数对急性脑梗死患者卒中相关性肺炎的诊断价值[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2021,23(9):968-971.

结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达及与预后的关系

胡敏* 牛雅轩 王瑾琳 陈晓 崔发财

[摘要] 目的 探究结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达及其与预后的关系。方法 选择2019年1月至2020年1月于郑州大学人民医院就诊的98例结肠癌患者作为观察组,并选择同期于本院进行体检且结果为健康者49例作为对照组。收集所有研究对象入组时的一般资料;比较两组患者血清 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达量;比较不同临床特征患者的 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达;随访患者生存时间,采用单因素生存分析 Kaplan-Meier 绘制生存曲线,COX 风险比例回归分析影响患者预后的因素。结果 观察组血清 *miR-148a-3p* 表达量显著低于对照组,差异有统计学意义 ($t=2.669, P<0.05$), *miR-19a* 的表达量显著高于对照组,差异有统计学意义 ($t=2.929, P<0.05$);结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达水平与肿瘤分化程度、TNM 分期有关 ($t=4.075, 2.110, P<0.05$); *miR-148a-3p* 低表达患者3年总生存率和3年无病生存率均显著低于高表达患者 ($\chi^2=6.978, 8.025, P<0.05$); *miR-19a* 高表达患者3年总生存率和3年无病生存率均显著低于低表达患者 ($\chi^2=8.252, 4.474, P<0.05$); *miR-148a-3p* 下调、*miR-19a* 上调为影响结肠癌患者3年无病生存率的独立危险因素 ($P<0.05$)。结论 结肠癌患者血清 *miR-148a-3p* 异常低表达, *miR-19a* 异常高表达,且其异常表达可降低患者3年总生存率和无病生存率。

[关键词] 结肠癌; *miR-148a-3p*; *miR-19a*; 生存率

Expressions of *miR-148a-3p* and *miR-19a* in patients with colon cancer and their relationship with prognosis

HU Min*, NIU Yaxuan, WANG Jinlin, CHEN Xiao, CUI Facai

(Department of Laboratory Medicine, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou University People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the expressions of microRNA (*miR*)-*148a-3p* and *miR-19a*, and their relationship with prognosis in patients with colon cancer. **Methods** A total of 98 patients with colon cancer and 49 healthy controls in People's Hospital of Zhengzhou University were enrolled as the observation group and the control group from January 2019 to January 2020, respectively. The general data of all objects were collected and enrollment. The expression levels of serum *miR-148a-3p* and *miR-19a* were compared between the two groups and among patients with different clinical characteristics. The survival time of patients was followed up. The survival curves were drawn by Kaplan-Meier analysis. The influencing factors of prognosis were analyzed by COX proportional hazard regression. **Results** The expression level of serum *miR-148a-3p* in the observation group was significantly lower than that in the control group ($t=2.669, P<0.05$), while *miR-19a* was significantly higher than that in the control group ($t=2.929, P<0.05$). The expression levels of *miR-148a-3p* and *miR-19a* were correlated with the degree of tumor differentiation and TNM stage ($t=4.075, 2.110, P<0.05$). The 3-year overall survival rate and 3-year disease-free survival rate in patients with low expression of *miR-148a-3p* were significantly lower than those with high expression ($\chi^2=6.978, 8.025, P<0.05$). The 3-year overall survival rate and disease-free survival rate in patients with high expression of *miR-19a* were significantly lower than those with low expression ($\chi^2=8.252, 4.474, P<0.05$). Downregulated of *miR-148a-3p* and upregulated of *miR-19a* were independent risk factors affecting the 3-year disease-free survival rate of

基金项目:河南省科技攻关项目(20210231010325)

作者单位:河南省人民医院,郑州大学人民医院检验科,河南,郑州 450000

*通信作者:胡敏, E-mail: yaushz@163.com

patients with colon cancer ($OR=0.024, 2.642, P<0.05$). **Conclusion** Patients with colon cancer have abnormally low expression of serum *miR-148a-3p* and abnormally high expression of *miR-19a*, and their abnormal expression can reduce the patient's 3-year overall survival rate and disease-free survival rate.

[KEY WORDS] Colon cancer; *MiR-148a-3p*; *MiR-19a*; Survival rate

结肠癌是一类常见的消化系统恶性肿瘤疾病,其发病率及病死率均居恶性肿瘤前列,且随着社会的发展,结肠癌的发病率呈逐年上升趋势,发病人群逐渐趋于年轻化^[1-2]。结肠癌早期症状并不明显,多数患者确诊时已为中晚期,研究表明,结肠癌患者5年生存率不足50%,并且约有40%患者会出现转移或复发^[3]。目前临床上对结肠癌的诊断方法包括筛查试验、结肠镜检查、粪便隐血检查、组织病理学检查等,并以结肠镜联合组织病理检查作为诊断的金标准,对于患者的预后结局,临床常根据肿瘤的病理类型、TNM分期及分化程度进行推测^[4]。但在实际工作中,诊断所使用的有创检测方法往往不容易被患者所接受,并且肿瘤状态相似的患者也可能出现不同的生存结局,因此需寻找新的标志物来协助病情诊断和预后评估^[5]。微小RNA(microRNA, miR)是单链非编码RNA,长度介于22~25nt之间,参与细胞分裂、代谢及物质运输等生理过程,其表达失调参与恶性肿瘤的发生与发展^[6]。有研究表明,*miR-148a-3p*和*miR-19a*参与肿瘤发生发展过程,与结肠癌预后不良密切相关^[7-8]。因此本研究通过对98例结肠癌患者血清*miR-148a-3p*、*miR-19a*表达水平的比较探究其表达与预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年1月至2020年1月于郑州大学人民医院就诊的98例结肠癌患者作为观察组,并选择同期于本院进行体检且结果为健康者49例作为对照组。观察组男/女(51/47例);平均年龄(60.57±5.32)岁;病理类型^[9]:溃疡型68例,隆起型19例,浸润型11例;肿瘤最大径:≥5 cm 41例, <5 cm 57例;肿瘤TNM分期^[9]: I~II期患者52例, III~IV期患者46例;肿瘤分化程度:高分化29例,中分化37例,低分化32例。对照组男/女(25/24例);平均年龄(59.70±11.29)岁。两组患者性别、年龄经比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①观察组患者经病理学检查确诊为结直肠癌^[9];②对照组患者体检结果为健康,结

肠镜检查结果无异常;②年龄≥18岁;③经医院医学伦理委员会批准,患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①并发其他系统或组织的恶性肿瘤;②合并严重肝肾功能不全、心、脑血管疾病者;③依从性差者。

1.2 检测指标

于入组时抽取研究对象静脉血5 mL,以3 000 r/min离心5 min,分离血清。采用Trizol法提取总RNA,经反转录试剂盒合成cDNA,进行实时定量PCR反应,试剂盒均购自美国赛默飞公司。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各组*miR-148a-3p*、*miR-19a*相对表达水平,以U6为内参,引物序列见表1,每个样本重复检测3次,取平均值。见表2。

表1 *miR-148a-3p*、*miR-19a*、U6引物序列

Table 1 Primer sequence of *miR-148a-3p*, *miR-19a* and U6

基因	引物序列
<i>miR-148a-3p</i>	5'-UCAGUGCACUACAGAACUUUGU-3'
<i>miR-19a</i>	5'-CGCTGTGCAAATCTATGCAA-3'
U6	5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'

表2 PCR反应条件

Table 2 Reaction conditions of PCR

步骤	温度	时间
预变性	95℃	30 s
变性	95℃	5 s
退火	60℃	30 s
延伸	72℃	30 s
退火	60℃	20 s

注:共30个循环数。

1.3 治疗方法

结肠癌患者的临床治疗参考《中国结直肠癌诊疗规范2015版》^[9]进行。所有纳入患者均给予支持治疗和化疗,化疗方案采用mFOLFOX6方案(奥沙利铂+亚叶酸钙+5-氟尿嘧啶),每21 d为1个周期。

1.4 随访方法

患者自病理确诊之日起开始经门诊复查或电话随访,随访记录患者生存时间及随访时状态(存活、死亡或其他),随访截止日期为2023年1月,共计随访36个月。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析, 满足正态分布的计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用两样本独立 *t* 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验; 采用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线, 分别以 3 年总生存率和 3 年无病生存率作为观察终点, 比较采用 Log-rank χ^2 检验; 采用 Pearson 相关性分析 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 之间相关性, 若二者为互不关联的独立因素则采用 COX 分析影响直肠癌患者三年无病生存率的危险因素; 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 的表达水平

观察组血清 *miR-148a-3p* 表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), *miR-19a* 的表达量显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 血清 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Expression levels of serum *miR-148a-3p* and *miR-19a* ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>miR-148a-3p</i>	<i>miR-19a</i>
观察组	98	0.54±0.13	1.22±0.37
对照组	49	1.06±0.24	1.04±0.31
<i>t</i> 值		2.669	2.929
<i>P</i> 值		0.009	0.004

2.2 结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达与临床特征之间的关系

结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达水平与肿瘤分化程度、TNM 分期有关 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.3 结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 的表达与预后结局的相关性

根据 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 的表达量, 采用中位数法, 将患者分为 *miR-148a-3p* 高表达组和低表达组各 49 例, *miR-19a* 高表达组和低表达组各 49 例。*miR-148a-3p* 低表达患者 3 年总生存率和 3 年无病生存率均显著低于高表达患者; *miR-19a* 高表达患者 3 年总生存率和 3 年无病生存率均显著低于低表达患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

2.4 COX 分析 *miR-148a-3p* 和 *miR-19a* 对结肠癌患者三年无病生存率的影响

以结肠癌患者 3 年无病生存情况为因变量, 进行 OX 风险回归分析。结果表明 *miR-148a-3p* 下调、*miR-19a* 上调为影响结肠癌患者 3 年无病生存率的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 6。

表 4 血清 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达与临床特征之间的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Relationship between serum *miR-148a-3p*, *miR-19a* expression and clinical characteristics ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>miR-148a-3p</i>	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	<i>miR-19a</i>	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别							
男	51	0.52±0.11	1.579	0.118	1.25±0.33	0.939	0.350
女	47	0.56±0.14			1.19±0.30		
病理类型							
溃疡型	68	0.53±0.13	0.630	0.535	1.24±0.37	0.965	0.385
隆起型	19	0.57±0.18			1.23±0.32		
浸润型	11	0.55±0.13			1.08±0.32		
肿瘤直径 (cm)							
≥5	41	0.52±0.12	1.945	0.053	1.26±0.36	1.446	0.149
<5	57	0.56±0.14			1.19±0.31		
肿瘤分化程度							
低分化	32	0.49±0.12	5.435	0.006	1.33±0.35	4.075	0.020
中分化	37	0.53±0.15			1.23±0.29		
高分化	29	0.61±0.16			1.09±0.21		
TNM 分期							
I~II 期	52	0.58±0.15	3.349	0.001	1.16±0.29	2.110	0.038
III~IV 期	46	0.49±0.11			1.29±0.32		

表 5 *miR-148a-3p* 和 *miR-19a* 与直肠癌患者预后生存率

Table 5 *miR-148a-3p* and *miR-19a* and prognostic survival in patients with rectal cancer

组别	总生存率 1%	Log-rank χ^2	<i>P</i> 值	无病 生存率1%	Log-rank χ^2	<i>P</i> 值
<i>miR-148a-3p</i> 低表达	40.82			26.53		
<i>miR-148a-3p</i> 高表达	71.43	6.978	0.008	59.18	8.025	0.005
<i>miR-19a</i> 高表达	42.86			30.61		
<i>miR-19a</i> 低表达	69.39	8.252	0.004	53.06	4.474	0.034

表 6 COX 分析影响结肠癌三年无病生存率的因素

Table 6 COX analysis of factors affecting three-year disease-free survival rate of colon cancer

因素	回归系数	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
<i>miR-148a-3p</i>	-3.741	1.230	9.253	0.024	0.002~0.264	0.002
<i>miR-19a</i>	0.972	0.476	4.174	2.642	1.040~6.711	0.041

3 讨论

结肠癌是一种具有高致残率和不良预后的消化系统恶性肿瘤, 其起病隐蔽, 症状早期多为粪便性质变化、腹胀等^[10]。结肠是人类消化系统重要的组成部分, 主要负责吸取水分与盐分, 使排泄物成为固态并将之排除体外。结肠癌的产生是许多因素综合影响的结果, 如遗传、环境、炎症反应、免疫调控紊乱及 miR 的异常表达^[11]。研究表明^[12],

新型调控分子 miR 可通过调控癌基因和肿瘤抑制基因表达参与结肠癌发生发展过程。miR 是一种由内源基因编码的,全长仅为二十二个核苷酸的单链 RNA,稳定地存在于组织液和组织中,在信号传导、生长发育、炎症反应、细胞增殖、侵袭、凋亡、免疫平衡等生物学过程中起调节作用。miR 可通过与靶分子 miR 的 3'-UTR 片段进行特异性结合加速靶分子的 miR 的降解,抑制翻译过程^[13]。结肠癌患者中特异性表达的 miR 将近有 100 多种,其中部分 miR 也参与了人类结肠癌的形成进程,基于此,miR 或许会成为肿瘤的治疗靶点^[14]。

本研究通过对结肠癌患者 *miR-148a-3p*、*miR-19a* 表达量的检测发现,观察组血清 *miR-148a-3p* 表达量显著低于对照组,*miR-19a* 的表达量显著高于对照组,并且 *miR-148a-3p* 下调、*miR-19a* 上调为影响结肠癌患者 3 年无病生存率的独立危险因素。*miR-148a-3p* 被报道可抑制食管癌、胰腺癌、乳腺癌等肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移^[15]。Qin 等^[16]的研究发现,*miR-148a* 在人肝癌细胞中低表达,具有抑癌作用,其表达量与人肝癌细胞总生存期正相关可以作为肝癌预后的生物标志物。金秀盈等^[17]的研究发现在肺癌细胞中,过表达 *miR-148a-3p* 可发挥对细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用。曹作增等^[18]的研究中发现,宫颈人乳头瘤病毒(HPV)持续感染患者脱落细胞中 *miR-148a-3p* 表达水平明显降低,脱落细胞中 *miR-148a-3p* 表达水平有望作为判断宫颈 HPV 持续感染发生的重要分子标记物。目前,将 *miR-148a-3p* 作为结肠癌诊断与预后的可能生物标志物的研究较少,但结合其他癌症相关文献与本研究结论可以发现 *miR-148a-3p* 表达量可以作为预测结肠癌患者预后结局的指标。

miR-19a 位于人类第 13 号染色体上 Clorf25 基因初级转录本的第 3 个内含子区,属于 *miR-17-92* 基因簇成员^[19]。研究表明^[20],*miR-19a* 和 *miR-19b* 参与了细胞新陈代谢、血管生成、细胞自噬相关的细胞信号通路、细胞周期,可通过调节 MXD1 促进宫颈癌细胞、结肠癌细胞、胃癌细胞的侵袭和转移。王丽萍等^[21]的研究发现 *miR-19a* 在肝癌组织中呈高表达状态,促进肝癌 HepG2 细胞的增殖及迁移能力。

综上所述,*miR-148a-3p* 在结肠癌患者体内呈下调状态,*miR-19a* 在结肠癌患者体内呈上调状态,且 *miR-148a-3p* 低表达患者三年总生存率和三年无病生存率低于高表达患者,*miR-19a* 高表达患

者三年总生存率和三年无病生存率低于低表达患者。*miR-148a-3p* 下调、*miR-19a* 上调为影响结肠癌患者 3 年无病生存率的独立危险因素,可作为预测患者预后结局的指标。

参考文献

- [1] 曹红亮,黄少军,刘爱华,等. miR-155 在结肠癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华消化外科杂志, 2013, 12(6): 440-440.
- [2] 程晨,吴云桦,徐正水,等. II~III 期结肠癌根治术后复发危险因素分析及其列线图预测模型的应用价值[J]. 中华消化外科杂志, 2021, 20(3): 331-338.
- [3] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-13.
- [4] 刘志军,康剑锋,袁世发,等. LncRNA MALAT1 在结肠癌组织中的表达及其与预后的相关性研究[J]. 临床误诊误治, 2019, 32(9): 70-75.
- [5] 杨战锋,郭晓磊,郭魁元,等. 炎症标志物对结直肠癌患者预后影响的临床研究[J]. 医学研究杂志, 2023, 52(1): 142-147.
- [6] Meredith Hill, Nham Tran. miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer[J]. Dis Model Mech, 2021, 14(4): 47662.
- [7] 蒋学军,杨勇,庾磊,等. miR-148a 靶向 Wnt1 通路对结直肠癌细胞侵袭、迁移能力的影响[J]. 山东医药, 2020, 60(26): 24-28.
- [8] 杨庚,李昱,贺亚峰. miRNA-19a 对结肠癌 LoVo 细胞生物学特性影响的机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(5): 530-533.
- [9] 国家卫生计生委医政医管局,中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2015 版)[J]. 中华胃肠外科杂志, 2015, 18(10): 961-973.
- [10] Katsaounou K, Nicolaou E, Vogazianos P, et al. Colon Cancer: From Epidemiology to Prevention[J]. Metabolites, 2022, 12(6): 499-524.
- [11] 李海燕,李凡. miR-148a-3p 靶向 DLL4 基因影响婴幼儿血管瘤内皮细胞增殖和凋亡[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(5): 601-605.
- [12] Gebert LFR, MacRae IJ. Regulation of microRNA function in animals[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(1): 21-37.
- [13] Peng C, Ye Y, Wang Z, et al. Circulating microRNAs for the diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Dig Liver Dis, 2019, 51(5): 621-631.
- [14] Sur DG, Colceriu M, Sur G, et al. MiRNAs roles in the diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer[J]. Exp Rev Proteom, 2019, 16(10): 851-856.
- [15] Wang Y, Hu Y, Guo J, et al. miR-148a-3p suppresses the proliferation and invasion of esophageal cancer by targeting DNMT1[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2019, 23(2): 98-104.

(下转第 2154 页)

CA125联合HE4在判断晚期卵巢癌新辅助化疗疗效的价值

徐建波 高玲玲* 王卫杰

【摘要】目的 探讨血清糖类抗原125(CA125)联合人附睾蛋白4(HE4)在判断晚期卵巢癌新辅助化疗疗效的价值。**方法** 分析江苏省苏北人民医院妇产科2017年1月至2022年12月纳入的78例晚期卵巢癌新辅助化疗患者作为观察组,另选择在江苏省苏北人民医院妇产科进行健康体检的42名作为对照组。比较化疗前后血清CA125、HE4水平,综合评估化疗效果。**结果** 观察组的血清CA125、HE4水平均高于对照组,差异有统计学意义($t=40.383, 38.154, P<0.05$)。血清CA125在年龄 <40 岁与年龄 ≥ 40 岁、BMI <24.0 kg/m²与BMI ≥ 24.0 kg/m²、淋巴结转移有与无、TNM分级I~II与III~IV比较,差异无统计学意义($t=1.858, 1.780, 1.441, 1.522, P>0.05$);血清HE4在年龄 <40 岁与年龄 ≥ 40 岁、BMI <24.0 kg/m²与BMI ≥ 24.0 kg/m²比较,差异无统计学意义($t=0.787, 0.030, P>0.05$);血清HE4在淋巴结转移有与无、TNM分级I~II与III~IV比较,差异有统计学意义($t=6.679, 7.190, P<0.05$)。血清CA125、HE4联合检测的特异度、灵敏度、阴性检测值、阳性检测值、约登指数及准确度高于血清CA125、HE4单项检测,血清CA125、HE4联合检测的漏诊率低于血清CA125、HE4单项检测($P<0.05$)。**结论** 相较于单项检测而言,血清CA125、HE4联合检测在判断晚期卵巢癌新辅助化疗疗效方面具有显著的优势,在临床中具有广泛的应用价值。

【关键词】 CA125; HE4; 晚期卵巢癌; 新辅助化疗; 疗效评估

Value of CA125 combined with HE4 in evaluating the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer

XU Jianbo, GAO Lingling*, WANG Weijie

(Department of Obstetrics and Gynecology, Jiangsu Subei People's Hospital, Yangzhou, Jiangsu, China, 225001)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the value of serum carbohydrate antigen 125 (CA125) combined with human epididymal protein 4 (HE4) in evaluating the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer. **Methods** 78 patients with advanced ovarian cancer enrolled in the Department of Obstetrics and Gynecology of Jiangsu Subei People's Hospital from January 2017 to December 2022 were retrospectively analyzed as the observation group, and 42 who underwent physical examination in the Department of Obstetrics and Gynecology of Jiangsu Subei People's Hospital were selected as the control group. The serum CA125 and HE4 levels were compared before and after chemotherapy to evaluate the chemotherapy effect comprehensively. **Results** The serum levels of CA125 and HE4 in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($t=40.383, 38.154, P<0.05$). There was no significant difference in serum CA125 between age <40 and age ≥ 40 , BMI <24.0 kg/m² and BMI ≥ 24.0 kg/m², lymph node metastasis and TNM grades I~II and III~IV ($t=1.858, 1.780, 1.441, 1.522, P>0.05$). There was no significant difference in serum HE4 between age <40 and age ≥ 40 , BMI <24.0 kg/m² and BMI ≥ 24.0 kg/m² ($t=0.787, 0.030, P>0.05$). There were statistically significant differences between the presence or absence of serum HE4 in lymph node metastasis and TNM grades I~II and III~IV ($t=6.679, 7.190, P<0.05$). The specificity, sensitivity, negative detection value, positive detection value, Jordan index and accuracy of combined detec-

基金项目:扬州市自然科学基金青年基金(YZ2014021)

作者单位:江苏省苏北人民医院妇产科,江苏,扬州225001

*通信作者:高玲玲, E-mail: Gaolingling86@gmail.com

tion of serum CA125 and HE4 were higher than those of single detection of serum CA125 and HE4, and the missed diagnosis rate of combined detection of serum CA125 and HE4 was lower than that of single detection of serum CA125 and HE4, with statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** Compared with the single detection, the combined detection of serum CA125 and HE4 has significant advantages in judging the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for advanced ovarian cancer and has a wide range of clinical application value.

[KEY WORDS] CA125; HE4; Advanced ovarian cancer; Neoadjuvant chemotherapy; Efficacy evaluation

卵巢癌是临床威胁女性健康的生殖器官肿瘤,常见于上皮性癌^[1]。由于早期卵巢癌的临床表现缺乏特异性,该疾病起病较为隐匿,多数患者确诊时已至临床晚期,导致治疗效果较差,且远期生存率较低,逐渐成为危及女性患者健康的公共卫生问题之一。对于晚期卵巢癌患者,如何改善其临床疗效是目前医学工作者关注的重要话题。现如今新辅助化疗作为治疗晚期卵巢癌的重要手段之一,虽可改善患者的临床症状,但远期疗效欠佳。随着近年来医疗技术的不断发展与完善,血清实验室指标不断在临床中推广应用。其中血清糖类抗原 125(CA125)作为临床较为常见的癌症观察指标之一,在癌症中表达水平普遍异常,但血清 CA125 存在较高的假阳性预测率,进而导致其在早期诊断与疗效评估中的准确率较差^[2]。因此,应予以有效、敏感的血清实验室指标提高晚期卵巢癌患者的疗效诊断价值。既往研究^[3]指出,人附睾蛋白 4(HE4)是发现于附睾远端上皮组织,且在卵巢癌组织中呈过度表达。但目前血清 CA125、HE4 在晚期卵巢癌新辅助化疗中的疗效评估价值尚不明确。本研究旨在通过检测血清 CA125、HE4 水平,探讨两者在判断晚期卵巢癌患者的疗效价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

分析江苏省苏北人民医院妇产科 2017 年 1 月至 2022 年 12 月纳入的 78 例晚期卵巢癌新辅助化疗患者作为观察组,另选择江苏省苏北人民医院妇产科的 42 名健康体检者作为对照组。经患者及家属同意及医院伦理委员会批准。

观察组纳入标准:①符合《卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(2021 年版)》^[4]中的晚期卵巢癌纳入标准者;②经肿瘤细胞减灭术后病理证实,且行铂类联合紫杉醇化疗者;③采集血清前未接受化疗。排除标准:①合并化疗前后肿瘤标志物监测不全者;②合并其他恶性肿瘤者;③合并精神疾

病,意识不清者。对照组纳入标准:①自愿参加体检者;②体检资料齐全者。排除标准:①合并高血压、心脏病者;②合并精神疾病,意识不清者。

1.2 方法

抽取全部患者的外周静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm)分离血清,使用流式荧光发光法(广州达泰生物工程有限公司,粤械注准 20232401069,型号规格:96 人份/盒)测定血清 CA125 水平,使用磁微粒化学发光法(湖南康思润业生物技术有限公司,湘械注准 20222401399,型号规格:50 测试/盒)测定血清 HE4 水平。各指标参考标准^[5]:血清 CA125 正常值在 0~35 U/mL,且高于 35 U/mL 为阳性;血清 HE4 正常值在 0~150 pmol/L,且高于 150 pmol/L 为阳性;血清 CA125 与 HE4 联合检测时,任意一项判定为阳性,则该联合检测结果判定为阳性。

1.3 统计学方法

数据录入 SPSS 22.0 软件中分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 CA125、HE4 水平比较

观察组的血清 CA125 水平的阳性率 69.23%(54/78);血清 HE4 水平的阳性率 85.90%(67/78)。观察组的血清 CA125、HE4 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 血清 CA125、HE4 水平与晚期卵巢癌临床病例特征的关系

血清 CA125 在年龄 <40 岁与年龄 ≥ 40 岁、BMI <24.0 kg/m² 与 BMI ≥ 24.0 kg/m²、淋巴结转移有与无、TNM 分级 I~II 与 III~IV 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);血清 HE4 在年龄 <40 岁与年龄 ≥ 40 岁、BMI <24.0 kg/m² 与 BMI ≥ 24.0 kg/m² 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);血清 HE4 在淋巴结转移有与无、TNM 分级 I~II 与 III~IV 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表1 两组血清CA125、HE4水平对比 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum CA125 and HE4 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

	n	CA125(U/mL)	HE4(pmol/L)
观察组	78	136.89±18.24	143.05±15.41
对照组	42	21.40±4.22	42.19±8.85
t值		40.383	38.154
P值		<0.001	<0.001

表2 血清CA125、HE4水平与晚期卵巢癌临床病例特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Relationship between serum CA125 and HE4 levels and clinical characteristics of advanced ovarian cancer ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	CA125(U/mL)	t值	P值	HE4(pmol/L)	t值	P值
年龄							
<40岁	41	134.58±11.79	1.858	0.067	141.23±10.45	0.787	0.434
≥40岁	37	139.46±11.35			143.19±11.56		
BMI							
<24.0 kg/m ²	29	140.24±10.85	1.780	0.079	142.51±12.57	0.030	0.977
≥24.0 kg/m ²	49	135.73±10.79			142.60±13.25		
淋巴结转移							
有	47	135.26±11.74	1.441	0.154	151.35±12.24	6.679	<0.001
无	31	138.59±10.62			130.48±15.24		
TNM分级							
I~II	36	135.59±11.27	1.522	0.132	134.56±12.84	7.190	<0.001
III~IV	42	132.41±10.86			154.32±10.23		

表3 血清CA125、HE4单项检测与联合检测对晚期卵巢癌评估疗效的价值

Table 3 Value of single and combined detection of serum CA125 and HE4 in evaluating the efficacy of advanced ovarian cancer

评估方法	特异度	灵敏度	阴性检测值	阳性检测值	约登指数	漏诊率	准确度
CA125	80.00 ^a	85.29 ^a	44.44 ^a	96.67 ^a	65.29 ^a	24.95 ^a	84.62 ^a
HE4	60.00 ^a	73.53 ^a	25.00 ^a	92.59 ^a	33.53 ^a	26.56 ^a	74.36 ^a
CA125+HE4	90.00	95.59	75.00	98.48	85.59	10.13	94.87

注:与CA125+HE4联合检测比较,^aP<0.05。

3 讨论

卵巢癌是在各年龄段女性中出现的恶性肿瘤之一,且肿瘤细胞易转移、扩散,病情随之进展至晚期,加之患者的卵巢组织较为复杂、生物恶性较高,给患者的生命安全带来威胁^[6]。目前对于晚期卵巢癌患者,采用新辅助化疗可有效抑制肿瘤细胞,但晚期卵巢癌患者首次采取肿瘤减灭术不能达到良好的疗效及存活率^[7-8]。所以,面对严峻的形势,迫切需要寻求准确、灵敏的评估手段改善晚期卵巢癌患者的临床疗效。

肿瘤标志物属于评估肿瘤患者疗效的关键指标,其中CA125作为糖类抗原之一,主要源自胚胎发育期体腔上皮细胞^[9]。安民^[10]等人在相关研究中

2.3 血清CA125、HE4单项检测与联合检测对晚期卵巢癌评估疗效的价值

血清CA125、HE4联合检测的特异度、灵敏度、阴性检测值、阳性检测值、约登指数及准确度高于血清CA125、HE4单项检测,血清CA125、HE4联合检测的漏诊率低于血清CA125、HE4单项检测,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

指出,正常卵巢组织中无法检出CA125,且CA125在卵巢良性病变中呈低表达,然而CA125在卵巢恶性肿瘤中呈高表达。HE4是来源于卵巢上皮、子宫内膜分泌的分泌型糖蛋白之一,且HE4的表达水平与卵巢癌细胞的增值有关。周敏等^[11]在相关研究中显示,相较于卵巢癌术后缓解组、稳定组、进展组,可见预后良好的患者的HE4水平较低。

血清CA125、HE4联合检测的特异度、灵敏度、阴性检测值、阳性检测值、约登指数及准确度高于血清CA125、HE4单项检测,血清CA125、HE4联合检测的漏诊率低于血清CA125、HE4单项检测,差异有统计学意义。这提示相较于单项检测而言,血清CA125、HE4联合检测在判断晚期卵巢癌新辅助化疗疗效方面具有显著的优势,在临床中具有广泛的应用价值。分析其原因为血清CA125作为一种高分子糖蛋白,在正常卵巢组织中不表达,但在良性、交界性、恶性卵巢肿瘤中检测出CA125,特别在恶性卵巢肿瘤中表达水平较高^[12]。HE4属于目前较为新型的一种新型肿瘤标志物,其具有较高的灵敏度与特异度^[13]。侯晓茹等^[14]在研究中表明,HE4在卵巢癌中呈显著的高表达状态,由此可见观察组的血清CA125、HE4水平明显呈高表达状态。患者在进行新辅助化疗时,如果疗效显著,血清CA125、HE4水平逐渐降低到正常水平。若患者经治疗后

病情再次复发,则机体内血清 CA125、HE4 水平呈升高状态,促使临床医师在治疗过程中通过监测血清 CA125、HE4 水平对治疗方案进行调整,防止患者出现过度治疗的情况^[15-16]。但血清 CA125、HE4 水平具有各自的优势,单一采用血清 CA125 诊断的敏感性较低,朱斌^[17]在研究中显示,50%早期卵巢癌患者的血清 CA125 存在低表达状态,使晚期卵巢癌患者血清 HE4 与淋巴结转移、TNM 分级呈线性状态^[18]。且在临床中单一检测血清 CA125、HE4 水平的漏诊率较高,影响临床诊断结果,使患者的疗效不理想。在本研究中显示,血清 CA125、HE4 联合检测可明显防止出现血清 CA125、HE4 单一检测的缺点,提高特异度、灵敏度、阴性检测值、阳性检测值、约登指数及准确度,且降低漏诊率,在临床中具有较高的应用价值。

综上所述,相较于单项检测而言,血清 CA125、HE4 联合检测在判断晚期卵巢癌新辅助化疗疗效方面具有显著的优势,在临床中具有广泛的应用价值。

参考文献

- [1] 南云泽,李萌萌,王彤,等.新辅助化疗联合间歇型肿瘤细胞减灭术治疗 34 例晚期卵巢癌的疗效及预后分析[J].延边大学学报,2021,44(1):52-55.
- [2] 林丽淑,任溪,陈睿,等.CA125,HE4, β -HCG 和 AMH 联合检测在卵巢癌早期诊断中的应用价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(13):1553-1556.
- [3] 王建伟,谢海花,孙嘉峰,等.血清癌胚抗原人附睾蛋白 4 糖类抗原 125 糖类抗原 199 单独和联合检测在卵巢癌中的诊断价值[J].实用医技杂志,2021,28(6):723-725+封3.
- [4] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会.卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(2021年版)[J].中国癌症杂志,2021,31(6):490-500.
- [5] 杨芸.血清人附睾蛋白 4 在卵巢良、恶性肿瘤诊断的临床价值[D].天津:天津医科大学,2012.
- [6] 缪玉娥,刘海燕,衣启君,等.甲磺酸阿帕替尼联合腹腔灌注顺铂治疗合并腹腔积液的老年晚期卵巢癌的临床疗效[J].肿瘤药学,2019,9(2):291-295.
- [7] 张晓明,孙杰.新辅助化疗联合中间性肿瘤细胞减灭术治疗晚期上皮性卵巢癌的临床研究[J].贵州医药,2021,45(10):1634-1635.
- [8] 王雅菲,王健,刘军华.肿瘤细胞减灭术后行腹腔热灌注 5-FU+卡铂化疗联合静脉化疗治疗晚期卵巢癌的效果观察[J].中国妇产科临床杂志,2022,23(5):452-454.
- [9] 赵娜,韩宁,陈莹莹,等.环磷酰胺联合顺铂治疗晚期卵巢癌的疗效及对患者血清 CA125,HE4 与 Ki-67 水平的影响[J].实用癌症杂志,2020,35(7):1102-1105.
- [10] 安民,郭建宾,段华,等.CA125 阴性上皮性卵巢癌患者的临床病理特征及预后[J].现代妇产科进展,2020,29(8):576-579.
- [11] 周敏,覃小敏,李琳,等.主动循环热灌注化疗对卵巢癌腹水疗效及 HE4、CA125、VEGF 和 B7-H4 水平的影响[J].中国妇产科临床杂志,2021,22(1):17-19.
- [12] 刘毅,焦云专,肖伟强,等.血清 CA125、AFP、CA199、CEA、HE4 联合检测对卵巢癌及其临床分期的诊断价值[J].中国实用医刊,2021,48(8):27-30.
- [13] 付妮娜,范婧晖,钟慧.CA125,HE4 和 MMP7 联合检测在 I 型和 II 型上皮性卵巢癌患者诊断中的价值[J].现代检验医学杂志,2019,34(6):109-112+156.
- [14] 侯晓茹,郭田田,秦峰.新辅助化疗联合中间性肿瘤细胞减灭术治疗晚期上皮性卵巢癌的疗效及对 HE4、VEGF、CA125 水平的影响[J].癌症进展,2018,16(6):722-725.
- [15] 赵敏利,何平,杨腾腾,等.CA125,HE4 及 ROMA,CPH-I 值在卵巢肿瘤辅助诊断中的应用价值[J].上海医药,2022,43(23):44-48.
- [16] 董飞天,李瑞宁.甲磺酸阿帕替尼治疗晚期卵巢癌的疗效及对血清 HE4,hK10,CA125 水平的影响[J].医学临床研究,2022,39(7):1054-1057.
- [17] 朱斌.血清 HE4、CA125 联合检测和 ROMA 风险评估对卵巢癌的诊断价值[J].海峡预防医学杂志,2017,23(4):97-99.
- [18] 刘检,李敏,陆明洋,等.卵巢癌患者血液 NLR,CA125,HE4 水平联合检测的实验诊断和预后价值研究[J].现代检验医学杂志,2021,36(5):28-32.

(上接第 2150 页)

- [16] Qin L, Huang J, Wang G, et al. Integrated analysis of clinical significance and functional involvement of microRNAs in hepatocellular carcinoma [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 23581-23595.
- [17] 金秀盈,丁岩.miR-148a-3p 靶向谷氧还蛋白 5 抑制肺癌细胞增殖迁移与侵袭[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2023,32(1):32-40.
- [18] 曹作增,张蕾.宫颈 HPV 持续感染患者脱落细胞中 miR-148a-3p 的表达水平及意义[J].安徽医学,2020,41(12):1447-1450.
- [19] Li Y, Lauriola M, Kim D, et al. Adenomatous polyposis coli (APC) regulates miR17-92 cluster through β -catenin pathway in colorectal cancer[J]. Oncogene, 2016, 35(1):4558-4568.
- [20] Zhang J, Xiao Z, Lai D, et al. miR-21, miR-17 and miR-19a induced by phosphatase of regenerating liver-3 promote the proliferation and metastasis of colon cancer [J]. Br J Cancer, 2012, 107(1):352-359.
- [21] 王丽萍,孙士萍,华正祥.miR-19a 在肝癌组织中高表达对肝癌 HepG2 细胞上皮-间质样转化的影响[J].河北医药,2018,40(10):1450-1454.

血清 Apelin-13、MCP-1 及 PTX3 对膝关节骨性关节炎患者合并骨质疏松的诊断价值

孙智^{1*} 张方青¹ 王清虎² 赵丽娟³

[摘要] **目的** 探究血清脂肪细胞因子-13(Apelin-13)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及五聚素 3 (PTX3)对膝关节骨性关节炎(KOA)患者合并骨质疏松(OP)的诊断价值。**方法** 选取2019年1月至2022年2月期间邢台市第三医院收治的130例KOA患者作为研究对象,并按是否并发OP分为KOA组($n=63$)和合并组($n=67$)。比较各组基线资料、Apelin-13、MCP-1、PTX3、腰椎及整体的骨密度、血清骨代谢指标和炎症因子的水平差异。采用多因素 Logistic 回归分析 KOA 合并 OP 患者影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 Apelin-13、MCP-1 及 PTX3 对 KOA 合并 OP 患者的预测价值。**结果** 单因素分析显示,KOA 严重程度分级、Apelin-13、MCP-1 及 PTX3 水平、整体及腰椎骨密度、降钙素(CT)、骨钙素(BGP)、骨保护素(OPG)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)均是 KOA 患者合并 OP 的影响因素($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示 KOA 严重程度分级、MCP-1、PTX3、整体及腰椎骨密度、CT、BGP、OPG、IL-6、IL-10 及 TNF- α 均为 KOA 合并 OP 患者的独立危险因素($P<0.05$),Apelin-13 为 KOA 合并 OP 患者的独立保护因素($P<0.05$)。ROC 曲线显示血清 Apelin-13、MCP-1、PTX3 单独及三者联合预测 KOA 合并 OP 患者的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.684、0.606、0.685 和 0.764($P<0.05$)。**结论** 血清 Apelin-13、PTX3 和 MCP 均与 KOA 合并 OP 密切相关,三者联合检测有助于 KOA 合并 OP 的诊断,有望成为 KOA 合并 OP 的预测指标。

[关键词] 膝关节骨性关节炎;骨质疏松;脂肪细胞因子-13;单核细胞趋化蛋白-1;五聚素 3

Diagnostic value of serum Apelin-13, MCP-1 and PTX3 in patients with knee osteoarthritis complicated with osteoporosis

SUN Zhi^{1*}, ZHANG Fangqing¹, WANG Qinghu², ZHAO Lijuan³

(1. Department of Orthopedics, the Third Hospital of Xingtai, Xingtai, Hebei, China, 054000; 2. Department of Orthopaedics, the Third Hospital of Xingtai, Xingtai, Hebei, China, 054000; 3. Department of Endocrinology, the Third Hospital of Xingtai, Xingtai, Hebei, China, 054000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the diagnostic value of serum Apelin-13, MCP-1 and PTX3 in patients with knee osteoarthritis (KOA) complicated with osteoporosis (OP). **Methods** A total of 130 patients with KOA admitted to the Third Hospital of Xingtai City from January 2019 to February 2022 were enrolled as the research subjects, and they were divided into the KOA group ($n=63$) and the combined group ($n=67$) according to whether they were concurrent OPs. The baseline data, Apelin-13, MCP-1, PTX3, lumbar spine and overall bone mineral density, serum bone metabolism indexes and inflammatory factors were compared. Multivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of KOA and OP patients. The receiver operating characteristics (ROC) curve was plotted to analyze the predictive value of serum Apelin-13,

基金项目:邢台市科技局项目(2021ZC113)

作者单位:1. 河北省邢台市第三医院骨外科,河北,邢台 054000

2. 河北省邢台市第三医院骨科,河北,邢台 054000

3. 河北省邢台市第三医院内分泌科,河北,邢台 054000

*通信作者:孙智, E-mail:xtsdsy2023@163.com

MCP-1 and PTX3 in patients with KOA and OP. **Results** Univariate analysis showed that KOA severity grade, Apelin-13, MCP-1 and PTX3 levels, overall and lumbar bone mineral density, CT, BGP, OPG, IL-6, IL-10 and TNF- α were the influencing factors of OP in patients with KOA ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that KOA severity grade, MCP-1, PTX3, global and lumbar bone mineral density, CT, BGP, OPG, IL-6, IL-10 and TNF- α were independent risk factors for patients with KOA and OP ($P<0.05$), and Apelin-13 was an independent protective factor in patients with KOA and OP ($P<0.05$). The ROC curve showed that serum Apelin-13, MCP-1 and PTX3 alone and in combination predicted the area under the ROC curve (AUC) of 0.684, 0.606, 0.685 and 0.764 ($P<0.05$), respectively. **Conclusion** Serum Apelin-13, PTX3 and MCP are closely related to KOA combined OP, and the combined detection of the three is helpful for the diagnosis of KOA combined OP, and is expected to become a predictor of KOA combined OP.

[KEY WORDS] Knee osteoarthritis; Osteoporosis; Apelin-13; MCP-1; PTX3

膝关节骨性关节炎(knee osteoarthritis, KOA)与骨质疏松症(osteoporosis, OP)均属于老年退行性骨代谢疾病, KOA病理表现为膝关节软骨变性、破坏所致疼痛甚至致残等; OP病理表现为骨量减少、骨组织结构破坏所致骨脆性和骨折危险性的增加^[1]。随着对KOA的深入研究,发现KOA与OP常同时出现,这种现象与骨代谢、炎症等相关。研究表明脂肪细胞因子-13(Apelin-13)作为人类G蛋白受体内源性配体家族中研究最多的成员之一,会抑制OP发生^[2]。单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)作为CC-motif趋化因子家族的成员,已被证实可以促进破骨细胞分化且参与骨代谢过程,其高水平表达在骨免疫系统中发挥重要作用^[3]。五聚素3(pentraxin3, PTX3)是五聚蛋白超家族的成员,在调节炎症反应、骨代谢调节方面均有重要作用^[4]。上述三种因子均对骨代谢有一定的影响,进而影响KOA合并OP的发生、发展。目前,三者与KOA合并OP的相关研究仍较少,本研究旨在分析血清Apelin-13、MCP-1及PTX3对KOA患者合并OP的关系和诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2022年2月期间邢台市第三医院收治的130例KOA患者,并按是否并发OP分为KOA组($n=63$)和合并组($n=67$)。纳入标准:①合并组患者符合《中国人骨质疏松症诊断标准专家共识(2014年版)》^[5]中OP的诊断标准;②所有受试者均接受膝关节X线检查并符合《骨关节炎诊断及治疗指南(2018版)》^[6]KOA的诊断标准;③受试者的临床资料完整。④所有患

者均签署知情同意书。排除标准:①患者处于妊娠期;②合并有自身免疫性疾病;③近期有应用骨代谢药物病史;④合并恶性肿瘤、冠心病及糖尿病等其他重大疾病。本研究经本院伦理委员会审核批准通过。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

通过查阅病例资料等收集患者的临床资料:性别、年龄、BMI、KOA严重程度分级等,其中KOA的严重程度分级根据Kellgren-Lawrence(KL)分期标准^[7]进行评估:I级为关节间隙可疑狭窄;II级为有骨赘,关节间隙可疑狭窄;III级为中度骨赘,关节间隙明显狭窄,软骨下骨部分硬化;IV级为巨大骨赘,关节间隙明显狭窄,软骨下骨严重硬化,伴有畸形。

1.2.2 实验室检测

1.2.2.1 血清学检测 所有患者均采集早晨空腹静脉血,离心半径15 cm,转速2 500 r/min,离心时间10 min,分离上层血清并于-80℃条件保存待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清Apelin-13、PTX3、MCP-1和OPG的水平。采用放射免疫发光法检测CT和BGP水平。采用罗氏自动电化学发光系统(Roche Diagnostics GmbH, Germany)检测血清骨代谢相关炎症因子水平,包括IL-6、TNF- α 及IL-10。由资深实验人员严格按照相关试剂盒说明书及仪器操作规范进行。试剂盒信息:Apelin-13 ELISA试剂盒购自上海纪宁实验有限公司;科研用人MCP-1 ELISA试剂盒购自上海沪鼎生物科技有限公司;PTX3 ELISA试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;OPG试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司;IL-6、TNF- α 及IL-10试剂盒购自美国R&D Systems公司。

1.2.2.2 骨密度检测 采用 Hologic QDR-apex 3.1 型骨密度仪检测所有患者的整体以及腰椎骨密度,其中变异系数 CV 值<1.0%。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 28.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较使用独立样本 *t* 检验;计数资料采用以 *n*(%)表示,行 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;采用多因素 Logistic 回归分析 KOA 合并 OP 患者的影响因素;绘制受试者工作曲线 (ROC) 分析 Apelin-13、MCP-1 及 PTX3 水平对 KOA 合并 OP 的预测价值。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KOA 组和合并组各临床资料及研究资料变量比较

单因素分析显示,KOA 严重程度分级、Apelin-13、MCP-1、PTX3、整体及腰椎骨密度、CT、BGP、OPG、IL-6、IL-10 和 TNF- α 均是 KOA 患者合并 OP 的影响因素,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 KOA 合并 OP 患者的多因素 Logistic 回归分析

以是否诊断为 KOA 合并 OP 作为因变量(否=0,是=1),以 KOA 严重程度分级、Apelin-13、MCP-1、PTX3、整体及腰椎骨密度、CT、BGP、OPG、IL-6、IL-10 及 TNF- α 作为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,显示 KOA 严重程度分级、MCP-1、PTX3、整体及腰椎骨密度、CT、BGP、OPG、IL-6、IL-10 及 TNF- α 均为 KOA 合并 OP 患者的独立危险因素(*P*<0.05),Apelin-13 为 KOA 合并 OP 患者的独立保护因素(*P*<0.05)。见表 2。

2.3 血清 Apelin-13、MCP-1 及 PTX3 对 KOA 合并 OP 患者的预测价值

ROC 曲线分析显示,血清 Apelin-13、MCP-1、PTX3 三者联合预测价值高于单一检测指标(*P*<0.05)。见表 3 和图 1。

3 讨论

KOA 的发生发展可能为软骨基质降解产物引起的继发性改变,进而导致滑膜出现炎症,刺激多种细胞因子表达升高及滑膜增生,进而形成恶性循环加重 KOA 血清炎症指标表达水平,最终破坏

表 1 KOA 组和合并组各临床资料及研究资料变量比较
[*n*(%),($\bar{x} \pm s$)]

Table 1 Comparison of clinical data and study data variables between KOA group and combined group
[*n*(%),($\bar{x} \pm s$)]

项目	KOA 组 (<i>n</i> =63)	合并组 (<i>n</i> =67)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
性别			0.081	0.775
男	11(17.46)	13(19.40)		
女	52(82.54)	54(80.60)		
年龄(岁)			0.044	0.998
≤49	7(11.11)	8(11.94)		
50~59	12(19.05)	12(17.91)		
60~69	27(42.86)	29(43.28)		
≥70	17(26.98)	18(26.87)		
BMI(kg/m ²)			2.00	0.572
≤18.4	7(11.11)	11(16.42)		
18.5~23.9	46(73.02)	50(76.12)		
24.0~27.9	6(9.52)	4(4.48)		
≥28.0	4(6.35)	2(2.99)		
KOA 严重程度 分级			12.981	0.005
I 级	16(25.40)	9(13.43)		
II 级	23(36.51)	14(20.90)		
III 级	18(28.57)	23(34.33)		
IV 级	6(9.52)	21(31.34)		
腰椎骨密度(g/cm ²)	0.82±0.10	0.76±0.12	3.087	0.003
整体骨密度(g/cm ²)	0.86±0.13	0.81±0.11	2.372	0.019
Apelin-13(pg/mL)	902.29±176.43	786.53±171.97	3.788	<0.001
MCP-1(pg/mL)	760.81±124.62	805.62±118.53	2.101	0.038
PTX3(ng/mL)	4.23±1.14	5.06±1.21	4.020	<0.001
CT(ng/L)	6.27±2.15	10.64±2.33	11.094	<0.001
BGP(mg/L)	2.10±0.47	3.28±0.49	13.996	<0.001
OPG(ng/L)	2.43±0.59	3.34±0.86	6.992	<0.001
IL-6(ng/L)	25.97±5.66	34.83±5.45	9.092	<0.001
IL-10(ng/L)	21.78±5.43	35.42±5.31	14.478	<0.001
TNF- α (ng/L)	116.97±15.37	136.32±7.68	9.162	<0.001

软骨加速 KOA 进展^[8]。我国是 OP 患者最多的国家,OP 发病率位于骨科常见病之首且随人均预期寿命的延长而不断上升,OP 发病因素主要是全身骨质量减少、骨组织的微结构劣化和骨组织强度降低等且可根据发病因素不同分为原发性、继发性及特发性三类^[9]。KOA 和 OP 通常合并存在,KOA 合并 OP 的病理过程涉及到炎症、激素、骨代谢等多种途径和作用的调节,KOA 和 OP 两者间相互影响且存在着复杂关联性^[10]。其中骨代谢是骨组织不断进行改建和重建活动的复杂过程,包括骨吸收、骨形成,骨代谢生化指标可反映骨转换状态从而利于诊断和预防^[11]。针对 KOA 合并 OP 的复杂关联性,寻找新的诊断标志物尤为重要。

表2 KOA合并OP患者的多因素Logistic回归分析
Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of KOA patients with OP

自变量	赋值	β 值	S.E值	Wald χ^2	95% CI	OR	P值
KOA严重程度分级	I级=1, II级=2, III级=3, IV级=4	1.235	0.584	4.472	1.095~10.801	3.438	0.034
Apelin-13	连续变量	-1.160	0.420	7.628	0.138~0.714	0.313	0.006
MCP-1	连续变量	0.006	0.002	9.000	1.002~1.010	1.006	0.003
PTX3	连续变量	0.007	0.003	5.444	0.987~0.999	0.993	0.020
腰椎骨密度	连续变量	0.153	0.055	7.739	1.046~1.298	1.165	0.005
整体骨密度	连续变量	1.256	0.572	4.822	1.144~10.774	3.511	0.028
CT	连续变量	0.84	0.325	6.680	1.225~4.380	2.316	0.010
BGP	连续变量	0.132	0.049	7.257	1.037~1.256	1.141	0.007
OPG	连续变量	0.151	0.042	12.926	1.071~1.263	1.163	0.000
IL-6	连续变量	0.023	0.011	4.372	1.001~1.046	1.023	0.037
IL-10	连续变量	0.272	0.135	4.059	1.007~1.710	1.313	0.044
TNF- α	连续变量	0.006	0.002	9.000	1.002~1.010	1.006	0.003

表3 血清Apelin-13、MCP-1及PTX3对KOA合并OP患者的预测效能分析

Table 3 Analysis of predictive efficacy of serum Apelin-13, MCP-1 and PTX3 in patients with KOA and OP

因素	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
Apelin-13 (pg/mL)	0.001	0.684	0.593~0.775	0.642	0.667	<0.001
MCP-1 (pg/mL)	740.610	0.606	0.050~0.037	0.687	0.476	0.037
PTX3 (ng/mL)	4.395	0.685	0.594~0.776	0.746	0.587	<0.001
三者联合		0.764	0.682~0.845	0.761	0.683	<0.001

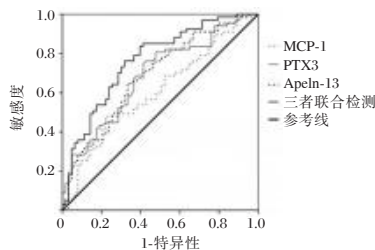


图1 血清Apelin-13、MCP-1及PTX3对KOA合并OP患者的ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve analysis of serum Apelin-13, MCP-1 and PTX3 in KOA patients with OP

本研究多因素Logistic回归分析显示,KOA严重程度分级、整体及腰椎骨密度、CT、BGP、OPG、IL-6、IL-10及TNF- α 均为KOA合并OP患者的独立危险因素。提示KOA合并OP的发生及发展是由多种因素共同影响的结果,故了解KOA患者合并OP的相关因素,对早期制定应对措施以降低或防止KOA合并OP的发生及发展均有积极意义。推测KOA病情加重导致炎症反应加剧,使骨转换降低、破骨细胞活性增强等对骨代谢的不利影响增多,导致骨质量下降、骨代谢因子表达进一步升高,从而加剧并发OP的风险。尹伟等^[12]的研究也显示,OP合并KOA患者骨密度、骨代谢指标以及炎症细胞因子与单纯

KOA患者的表达水平有显著差异。因此,当KOA患者出现上述指标异常时,应予以密切关注,尽早采取有效措施以减少OP的发生风险。

本研究多因素Logistic回归分析发现,Apelin-13为KOA合并OP患者的独立保护因素,MCP-1和PTX3均为KOA合并OP患者的独立危险因素。提示Apelin-13、MCP-1和PTX3均可能参与KOA合并OP发生发展过程。张爱萍等^[13]的研究发现,正常机体血清Apelin-13可促进I型胶原生成,从而介导Wnt/ β -catenin信号通路发挥骨密度调节作用。故KOA患者因体内Apelin-13水平异常下降,可导致KOA患者骨密度异常下降,从而增加OP的发生风险。霍亚杰等^[14]的研究发现MCP-1的异常表达可趋化炎性细胞,诱导阳性端粒酶的产生,进而促使单核细胞产生破骨细胞以致最终引发OP。洪坤豪等^[15]的研究发现,KOA的发生可导致机体产生局部炎症,使骨组织PTX3表达异常升高,进而促进成骨前体细胞分化为破骨细胞谱系从而最终导致OP的发生。因此,KOA患者体内MCP-1和PTX3水平异常升高,可导致KOA患者炎性细胞因子水平表达升高,进而降低骨代谢从而增加OP的发生风险。本研究ROC曲线提示Apelin-13、MCP-1和PTX3三者联合检测有助于KOA合并OP的早期诊断,可能作为新的血清生物标志物参与KOA合并OP的诊断。

综上所述,血清中Apelin-13、MCP-1和PTX3可作为辅助预测指标参与KOA合并OP患者诊断,且三者联合的预测价值更高。但对于血清Apelin-13、MCP-1和PTX3三者影响KOA合并OP的机制尚不明确,仍需要多中心研究验证以及针对性试验进行相关补充。

(下转第2162页)

慢性乙型肝炎患者乙肝病毒基因分型和病毒载量的相关性及其临床意义

刘明 卞成蓉 杨宁 张旺 杨光 徐军 苏银亮 刘学迪 李伯安*

[摘要] **目的** 探讨乙肝病毒基因分型和乙肝病毒载量及临床表现的关系。**方法** 选取中国人民解放军总医院第五医学中心2019年1月至2021年12月收治的乙型肝炎患者600例,统计分析患者采用荧光PCR的方法进行乙肝病毒基因分型和HBV DNA载量。**结果** 根据病毒基因分型结果显示,B型123例(20.5%),C型447例(74.5%),B/C混合型2例(0.3%),非B非C型28例(4.7%)。HBV DNA载量结果显示,C型HBV DNA水平较B型显著增高,C型患者肝硬化、原发性肝癌与B型患者比较,差异有统计学意义($\chi^2=10.75, P<0.05$);C型HBV DNA水平明显高于B型,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 感染HBV基因型以C型为主,C型HBV DNA水平显著高于B型,C型较B型对肝脏损伤大。

[关键词] 乙型肝炎病毒;基因分型;病毒载量

Correlation and clinical significance of hepatitis B virus genotype and viral load in patients with chronic hepatitis B

LIU Ming, BIAN Chengrong, YANG Ning, ZHANG Wang, YANG Guang, XU Jun, SU Yinliang, LIU Xuedi, LI Bo'an*

[Department of Clinical Laboratory, the Fifth Medical Center, Chinese People's Liberation Army (PLA) General Hospital, Beijing, China, 100039]

[ABSTRACT] **Objective** To explore the relationship between hepatitis B virus genotype and hepatitis B virus load and clinical manifestations. **Methods** 600 patients with hepatitis B admitted to the Fifth Medical Center of the General Hospital of the Chinese People's Liberation Army from January 2019 to December 2021 were selected. The patients were statistically analyzed for hepatitis B virus genotyping and HBV DNA load by fluorescent PCR. **Results** According to the results of viral genotyping, 123 cases (20.5%) were type B, 447 cases (74.5%) were type C, 2 cases (0.3%) were mixed type B/C, and 28 cases (4.7%) were non-B non-C. The HBV DNA load results showed that the level of HBV DNA in genotype C was significantly higher than that in genotype B, and there was a significant difference in the incidence of cirrhosis and primary liver cancer between genotype C and B patients ($\chi^2=10.75, P<0.05$). The level of HBV DNA in type C was significantly higher than that in type B, with a statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** The most common genotype of HBV infection is genotype C, and the level of HBV DNA in genotype C is significantly higher than that in genotype B. Genotype C has a greater impact on liver injury than genotype B.

[KEY WORDS] Hepatitis B virus; Genotyping; Viral load

乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)是乙型肝炎的病原体,主要引起宿主肝脏病变^[1-2]。HBV感染呈世界性流行,而发展中国家的

感染率最高^[3-4]。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)报道,全球约20亿人曾感染过HBV,其中慢性感染者约有4亿^[5-6],严重危害人

作者单位:中国人民解放军总医院第五医学中心检验科,北京 100039

*通信作者:李伯安, E-mail:lba@263.net

们的身体健康。目前,我国已经成为世界上乙型肝炎病毒性肝炎患者最多的国家,其HBV携带者高达1.2亿,患病人群高达2 000万人^[7]。1988年Okamoto等^[8]根据不同基因型之间的序列差异大于8%、相同基因型之间的序列差异小于92%的标准,将HBV DNA分为A~D 4种基因型,初步建立了HBV基因分型标准。1993年Norder等^[9]利用聚合酶链反应技术扩增了6株HBV DNA全序列,将它们分为A~F 6种基因型。随后的研究又相继发现了I和H等基因型,目前将HBV分为A~J共10种基因型^[10]。研究表明HBV基因型的分布存在地理和种族间差异,亚洲人群主要流行病型B、C型,而A型主要分布在中非和欧洲^[11-12]。不同HBV基因分型的临床特征和流行病学也各不相同,并且与药物治疗效果及肝脏病变程度具有一定的相关性,治疗效果及预后也存在差异。本文旨在对乙肝病毒基因分型与其病毒载量及临床诊断的关系进行分析和探讨,为临床早期正确诊疗提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2019年1月至2021年12月期间在中国人民解放军总医院第五医学中心住院的慢性HBV感染患者600例,其中男性384例(64%),女性216例(36%),年龄0~96岁;慢性乙型病毒性肝炎452例(75.4%),乙肝肝硬化143例(23.8%),肝癌5例(0.8%)。纳入标准:本次所有患者诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南》中关于慢性乙型病毒性肝炎(Chronic Hepatitis B, CHB)的诊断标准^[13],同时依据诊断指南^[14-16]。排除标准:①患者患有甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、丁型肝炎病毒(hepatitis D virus, HDV)、戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)或人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)等的合并感染。②酒精性肝病和非酒精性脂肪肝等造成肝脏损害的病症;合并恶性肿瘤、自身免疫系统疾病、恶性血液系统疾病等严重疾病者。③处于哺乳期或妊娠期患者。④患有精神疾病史,不能自主意愿者。本研究经院医学伦理审查(审批号:KY-2021-10-19-1)。由于本研究为回顾性分析,故院伦理委员会审核豁免知情同意。

1.2 仪器与试剂

采用SLAN-96P实时荧光定量PCR仪(上海宏

石医疗科技有限公司),LightCycler 480荧光PCR仪;乙肝基因分型试剂(广州达安基因股份有限公司);乙型肝炎病毒核酸定量试剂(湖南圣湘生物科技有限公司)。

1.3 标本采集

静脉采集全血,两小时内分离血清,留取血清标本-20℃保存待作基因分型和HBV DNA定量检测。

1.4 HBV DNA检测

采用HBV DNA定量检测试剂盒(湖南圣湘生物科技有限公司)检测HBV DNA。本试剂盒采用磁珠法提取血清样品中的乙型肝炎病毒-DNA,利用针对HBV核酸保守区设计的一对特异性引物、一条特异荧光探针(TaqMan探针5'末端标记ROX荧光素),配以PCR反应液,应用实时荧光定量PCR检测技术进行HBV DNA扩增。反应体系为:缓冲液40 μL,氯化镁、引物、Taq酶各2 μL,HBV DNA模板3 μL,总反应体积为49 μL。扩增条件为:95℃变性15 s;58℃退火,延伸及荧光采集30 s,共45个循环。HBV DNA检测下限为40 IU/mL,操作严格按照试剂盒和仪器说明进行。

1.5 乙肝基因分型检测

采用乙肝基因分型试剂(广州达安基因股份有限公司)进行基因型检测,本试剂盒采用聚合酶链式反应结合,利用聚合酶链式反应结合Taqman荧光探针技术,试剂盒中使用dUTP和UNG酶防止扩增产物污染,操作严格按照试剂盒和仪器说明进行。

1.6 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乙肝患者的基因分型情况

收治的600例慢性HBV感染患者的HBV基因分型情况为B型123例(20.5%),C型447例(74.5%),B/C混合型2例(0.3%),非B非C型27例(4.7%)。

2.2 不同乙肝基因分型患者的临床诊断

C型患者中肝硬化及原发性肝癌发病率均高于B型,差异有统计学意义($\chi^2=10.75, P<0.05$)。见表1。

表1 乙肝基因分型与临床表现的关系 [n(%)]
Table 1 Relationship between hepatitis B genotype and clinical manifestation [n(%)]

基因分型	n	CHB	LC	HCC
B型	123	108(88)	13(11)	2(1)
C型	447	330(74)	109(24) ^a	8(2) ^a
非B非C型	28	22(8)	5(18)	1(1)
B/C混合型	2	1(50)	1(50)	0(0)

注：慢性乙型肝炎(CHB)、肝硬化(LC)和原发性肝细胞癌(HCC)；a表示和B型比较， $\chi^2=10.75, P<0.05$ 。

2.3 乙肝基因分型与HBV DNA载量

C型HBV DNA水平明显高于B型，差异有统计学意义($P<0.05$)。C型和非B非C型HBV DNA水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 乙肝基因分型与临HBV DNA载量的比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of hepatitis B genotype and HBV DNA load ($\bar{x}\pm s$)

基因分型	n	HBV DNA(log 值)
B型	123	5.49±1.85 ^a
C型	447	6.01±1.80
非B非C型	28	5.06±1.72 ^a
B/C混合型	2	5.98±2.63

注：^a表示和C型比较。

3 讨论

HBV感染呈世界流行，发展中国家发病率最高，全世界每年约有百万人死于HBV感染引起的各类肝病。据调查显示，世界范围内的HBV携带者高达3亿多人^[17]。我国是CHB高发国家，目前已证实的我国HBV感染者中有A、B、C、D 4种基因型，而目前我国的测序方法仅能检测最常见的B、C和D 3种基因型，其中以B型和C型流行程度最高^[18-19]，且有明显的地域分布差异，其中长江以北以C型为主，长江以南以B型为主^[20]。本研究结果表明，HBV基因分型以B型和C型为主，其他型与混合感染更为少见，与全国分布一致^[20]。

临床上为筛查HBV感染以及判断乙型肝炎疾病严重程度，常进行乙肝病毒载量、乙型肝炎5项和肝功能等指标检测，并结合影像学等检查做出诊断。研究发现，C基因型患者的HBV DNA水平明显高于B基因型患者^[21]。本研究统计了600例HBV DNA检测乙型肝炎患者基因分型数据，探讨了乙肝病毒不同基因分型和病毒载量及临床表现的关系，结果提示C型的复制性和传染性高于B型，进一步证实了感染C型HBV后更易发展为较

严重的肝脏病变，C型HBV-DNA复制较活跃，易形成持续病毒血症。乙肝病毒载量值高表明患者体内病毒复制活跃，传染性更强。病毒载量高、毒力强，在肝细胞内大量复制释放，会使肝功能损伤严重。长久的肝细胞变性和坏死会导致肝纤维组织增生和肝细胞结节状增生，最终导致肝硬化和肝癌发生^[22]。本文研究结果表明C型及混合型患者的传染性相对更强，这与之前相关的研究结果一致^[23]。

本次研究表明，C基因型患者LC和HCC发病率高于B基因型和非B非C型，且差异较明显，说明C型肝脏损害明显比B型严重，CHB进展为HCC的过程，C型基因具有较高的发病率，与林瑞等^[22]研究结果相一致。谢佳新等^[20]研究表明B型基因多见于急性肝炎、慢性无症状HBV携带者等轻型肝病，而C型基因常见于肝硬化和肝细胞癌等较重的肝病。本研究结果表明C基因型患者病情较B基因型和非B非C型更剧烈，C基因型对肝细胞破坏程度更高，在临床更易发展为重症肝炎，肝硬化及肝癌，预后较差。

综上所述，C基因型患者病毒载量更高，传染性更强，肝硬化及原发性肝癌患者乙肝基因分型主要为C基因型。在临床诊断中可通过乙肝患者基因分型结果，做好早期预防措施，及时正确治疗，减缓患者病情进展。

参考文献

- [1] Pattyn J, Hendrickx G, Vorsters A, et al. Hepatitis B Vaccines[J]. J Infect Dis, 2021, 224(Suppl 4): S343-S351.
- [2] 国际肝胆胰协会中国分会, 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中国研究型医院学会肝胆胰外科专业委员会, 等. 乙肝病毒相关肝细胞癌抗病毒治疗中国专家共识(2023版)[J]. 中华消化外科杂志, 2023, 22(1): 29-41.
- [3] 林路英. 乙肝患者发生原发性肝癌的调查及影响因素[J]. 公共卫生与预防医学, 2020, 31(5): 101-104.
- [4] 刘红艳. 氟尿嘧啶联合放疗对原发性肝癌患者治疗效果及对血清LPO、MDA水平的影响[J]. 公共卫生与预防医学, 2020, 31(1): 105-108.
- [5] World Health Organization. World Health Statistics 2022 report [R]. Geneva: World Health Organization, 2022, [EB/OL]. [2022-5-19]. <https://www.who.int/data/gho/publications/world-health-statistics>.
- [6] 吴明山, 刘振球, 陈兴栋, 等. 全球乙型肝炎病毒基因型的分布现状[J]. 中华疾病控制杂志, 2020, 24(2): 217-221.
- [7] Charre C, Levrero M, Zoulim F, et al. Non-invasive biomarkers for chronic hepatitis B virus infection management [J]. Antiviral Res, 2019;169:104553.
- [8] Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of

- surface antigen subtypes[J]. *J Gen Virol*, 1988, 69(pt 10): 2575-2583.
- [9] Norder H, Hammas B, Lofdahl S, et al. Genetic relatedness of hepatitis B viral strains of diverse geographical origin and natural variations in the primary structure of the surface antigen[J]. *Gen Virol*, 1992, 73: 1201-1208.
- [10] Wang H, Chen X, Chen X, et al. Associations between hepatitis B virus exposure and the risk of extrahepatic digestive system cancers: A hospital-based, case-control study (SIGES)[J]. *Cancer Med*, 2021, 10(11): 3741-3755.
- [11] Alshabi A, Fatuma N, Marwan A, et al. Epidemiology screening and genotyping analysis for Hepatitis B virus in Southwestern region of Saudi Arabia[J]. *J Infect Public Heal*, 2021, 14(2): 187-192.
- [12] Limhc, Gordanjd. Tumor hepatitis B virus RNA identifies a clinically and molecularly distinct subset of hepatocellular carcinoma[J]. *PLOS COMPUT Biol*, 2021, 17(2): 1008699.
- [13] Bosch, Zen Y, Boukhar SA, et al. Hepatocellular carcinoma in primary sclerosing cholangitis and primary biliary cholangitis: a clinical and pathological study in an uncommon but emerging setting [J]. *Virchowsarch*, 2021, 2(495): 1131-1143.
- [14] 中华医师学会肝病学会, 中华医师学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(12): 2648-2669.
- [15] 中华医学会传染病与寄生虫学会、肝脏病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6): 324-329.
- [16] 中华医学会感染病学会分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南[J]. *实用肝脏病杂志*, 2013, 16(3): 210-216.
- [17] 李洁萍, 谢新生, 张戡, 等. 基因分型与病理及耐药的关系[J]. *全科医学临床与教育*, 2014, 12(2): 159-160+163.
- [18] Liuy, Mayl, Liux, et al. Developing a sensitive HBV genotyping assay for HBV DNA suppressed patients using both DNA and RNA sequencing[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 851.
- [19] Oversoesk, Clementms, Weber B, et al. Combining tissue and circulating tumor DNA increases the detection rate of a Ctnnb1 mutation in hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 376.
- [20] 谢佳新, 丁一波, 张丽, 等. 乙型肝炎前S基因变异与乙型肝炎硬化的相关性研究[J]. *实用预防医学*, 2020, 27(5): 547-550.
- [21] Takada H, Amemiya F, Yasumura T, et al. Relationship between presarcopenia and event occurrence in patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Rep - UK*, 2020, 10(1): 10186.
- [22] 中华医学会感染病学会, 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(12): 938-961.
- [23] 王欣, 宋乐, 方昕, 等. 182例患者乙型肝炎病毒基因分型与原发肝癌的关系[J]. *公共卫生与预防医学*, 2022, 33(4): 141-144.

(上接第2158页)

参考文献

- [1] Cotts KG, Cifu AS. Treatment of osteoporosis [J]. *JAMA*, 2018, 319(10): 1040-1041.
- [2] Liu S, Wang W, Yin L, et al. Influence of Apelin-13 on osteoporosis in type-2 diabetes mellitus: a clinical study [J]. *Pak J Med Sci*, 2018, 34(1): 159-163.
- [3] 林适, 袁嘉尧, 林贤灿, 等. 外周血干扰素 γ 、单核细胞趋化蛋白1对绝经后骨质疏松症的预测价值[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(2): 165-170.
- [4] Parente R, Sobacchi C, Bottazzi B, et al. The long pentraxin PTX3 in bone homeostasis and pathology [J]. *Front Immunol*, 2019, 10(8): 2628-2634.
- [5] 张智海, 刘忠厚, 李娜, 等. 中国人骨质疏松症诊断标准专家共识(第三稿·2014版)[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(9): 1007-1010.
- [6] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)[J]. *中华骨科杂志*, 2018, 38(12): 705-715.
- [7] Takahashi A, Abe K, Fujita M, et al. Simple resistance exercise decreases cytokeratin 18 and fibroblast growth factor 21 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A retrospective clinical study [J]. *Medicine*, 2020, 9(15): 75-79.
- [8] 郭健, 邢乾龙, 胡滨, 等. IL-1 β 、IL-1和MMP-13在膝关节骨性关节炎中的表达及临床意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(8): 1363-1366.
- [9] 赵卓杰. 血清中骨质疏松相关蛋白分子标志物的筛选研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2017.
- [10] Zhang C, Zhuang Z, Chen X, et al. Osteoporosis is associated with varus deformity in postmenopausal women with knee osteoarthritis: A cross-sectional study [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2021, 22(1): 694-670.
- [11] 杜超, 周维天, 夏伟. 岳池县中老年女性骨代谢指标与骨质疏松的相关性研究[J]. *华南预防医学*, 2021, 47(8): 985-988+993.
- [12] 尹伟, 杨斌辉, 张波, 等. 骨质疏松症合并膝骨性关节炎患者骨密度及血清骨代谢指标、炎症因子水平研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(8): 1121-1124.
- [13] 张爱萍, 刘爱华, 惠文鹏. 血清LCN2、Apelin-13水平对老年男性骨质疏松预测价值[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(3): 587-591.
- [14] 霍亚杰, 刘凯, 孙玲, 等. 血清TNF- α 、MCP-1水平与老年骨质疏松症患者骨代谢指标的相关性研究[J]. *临床医学工程*, 2023, 30(1): 37-38.
- [15] 洪坤豪, 吴淮, 刘文刚, 等. 血清五聚素3和C1q/TNF相关蛋白3对膝关节骨性关节炎患者合并骨质疏松的诊断价值[J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(16): 2046-2050.

低频重复经颅磁刺激辅助手术治疗对重型颅脑损伤患者炎性因子、血流动力学及预后的影响

李华¹ 张俊^{2*}

[摘要] **目的** 分析低频重复经颅磁刺激辅助手术治疗对重型颅脑损伤患者炎性因子、血流动力学及预后的影响。**方法** 选取2020年5月至2022年11月于空军军医大学第二附属医院唐都医院神经外科治疗的重型颅脑损伤患者132例,根据治疗方案分为对照组(大骨瓣减压手术)64例与观察组(低频重复经颅磁刺激辅助大骨瓣减压手术)68例。对比两组炎性因子[白介素-4(IL-4)、白介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]、血流动力学[双侧颈内动脉搏动指数(PI)、收缩期最大血流速度(V_s)和平均血流速度(V_m)]、预后情况及并发症发生率。**结果** 两组治疗后IL-4、IL-6及TNF- α 水平均显著下降,且观察组IL-4、IL-6及TNF- α 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组PI水平低于对照组, V_s 、 V_m 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组预后良好率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组并发症总发生率低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 低频重复经颅磁刺激辅助手术治疗对重型颅脑损伤患者炎性因子起到改善作用,可有效调节大脑血流速度与血流量,降低脑血流阻力,利于改善患者预后。

[关键词] 低频重复经颅磁刺激;重型颅脑损伤;炎性因子;血流动力学

Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation-assisted surgery on inflammatory factors, hemodynamics and prognosis in patients with severe traumatic brain injury

LI Hua¹, ZHANG Jun^{2*}

(1. Department of Neurosurgery Care Unit, Tangdu Hospital, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, China, 710038; 2. Department of Rehabilitation Medicine, Tangdu Hospital, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, China, 710038)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation-assisted surgery on inflammatory factors, hemodynamics, and prognosis in patients with severe traumatic brain injury. **Methods** 132 patients with severe craniocerebral injury who were treated in the Neurosurgery Department of Tangdu Hospital, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University from May 2020 to November 2022 were selected, and according to the treatment plan, they were divided into the control group (large bone craniectomy) of 64 cases and the observation group (low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation assisted large bone craniectomy) 68 cases. The inflammatory factors [Interleukin-4 (IL-4), Interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)], hemodynamics [bilateral internal carotid artery pulsation index (PI), systolic maximum blood flow velocity (V_s) and mean blood flow velocity (V_m)], prognosis and complication rate between the two groups were compared. **Results** The levels of IL-4,

基金项目:陕西省重点研发计划项目(2020SF-2012)

作者单位:1.空军军医大学第二附属医院唐都医院神经外科监护室,陕西,西安 710038

2.空军军医大学第二附属医院唐都医院康复医学,陕西,西安 710038

*通信作者:张俊, E-mail:zhangjun850615@163.com

IL-6 and TNF- α in two groups were significantly decreased after treatment, and the levels of IL-4, IL-6 and TNF- α in the observation group were lower than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The PI levels in the observation group were lower than those in the control group, while the Vs and Vm levels in the observation group were higher than those in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The good prognosis rate of the observation group was higher than that of the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The total incidence in the observation group was lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation-assisted surgery can improve inflammatory factors in patients with severe traumatic brain injury, can effectively regulate cerebral blood flow velocity and blood flow, reduce cerebral blood flow resistance, and help improve prognosis patients.

[KEY WORDS] Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation; Severe traumatic brain injury; Inflammatory factors; Hemodynamics

颅脑损伤是神经科室常见的急症,是由外部暴力对头部造成的创伤,可涉及头皮、颅骨及脑组织等颅腔内容物。现代交通的大力发展使颅脑损伤发生率显著升高,其具有高致残率、高死亡率的特点。据统计,重型颅脑损伤发病率位居创伤的首位,占全身各部位创伤的9%~21%^[1]。重型颅脑损伤是颅脑损伤的严重类型,常伴有脑水肿、脑肿胀等并发症,甚至对生命构成威胁。在大多数情况下,重型颅脑损伤的临床治疗原则强调紧急抢救、纠正休克及大骨瓣减压手术^[2]。大骨瓣减压手术由于术野得到充分暴露,能将颅内血肿及坏死脑组织彻底清除,减压效果充分,有利于提高抢救成功率^[3]。然而经多年临床实践发现,大骨瓣减压手术创伤性大,过度减压易使脑组织结构发生移位,深度牵拉脑深部组织,增加术后并发症发生率,患者单一应用大骨瓣减压手术治疗,预后情况不太乐观^[4]。低频重复经颅磁刺激属于无创技术,其凭借对大脑中枢神经系统施加脉冲磁场,改变大脑皮层神经膜的电位,利于脑内的代谢,且可降低并发症发生率^[5]。本文旨在分析低频重复经颅磁刺激辅助手术治疗对重型颅脑损伤患者炎性因子、血流动力学及预后的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年5月至2022年11月于空军军医大学第二附属医院唐都医院神经外科治疗的重型颅脑损伤患者132例,根据治疗方案分为对照组(大骨瓣减压手术)64例与观察组(低频重复经颅磁刺激辅助大骨瓣减压手术)68例。其中对照组男37例,女27例,平均年龄(63.51 \pm 14.22)岁;观察

组男39例,女29例,平均年龄(62.67 \pm 14.08)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。见表1。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》。

表1 两组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

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

组别	<i>n</i>	性别 (男/女)	年龄 (岁)	受伤至入院 时间(h)	受伤原因(高空 坠落/钝器 敲打/车祸)
对照组	64	37/27	63.51 \pm 14.22	3.37 \pm 1.20	15/21/28
观察组	68	39/29	62.67 \pm 14.08	3.11 \pm 1.14	16/25/27
χ^2 值		0.002	0.340	1.276	0.277
<i>P</i> 值		0.957	0.733	0.204	0.870

纳入标准:①重型颅脑损伤符合《颅脑损伤临床救治指南》^[6]中相关诊断标准;②患者受伤至入院时间 <6 h;③临床资料无丢失;④未存在大骨瓣减压手术禁忌症。排除标准:①既往行颅脑损伤相关手术;②合并精神或心理疾病,无法沟通;③合并其他恶性肿瘤。

1.2 方法

两组均行大骨瓣减压手术,患者体位呈仰卧,行全身麻醉,铺巾消毒,切口位于侧颧弓上耳屏前方1 cm,沿耳廓向上延伸至头顶骨中线,继续开放至前额发际线,再将骨瓣定位于前额中线旁2~3 cm矢状窦处,对骨瓣进行切除,大小为12 cm \times 15 cm。清除患者硬膜外血肿,切开硬膜并悬吊。充分暴露手术区,清除颅内血肿、硬膜下血肿和挫伤。在此过程中,密切观察出血情况并及时止血。操作结束后无需骨瓣还纳,依次缝合硬脑膜、头皮等组织。术后给予脱水降颅内压、止血、消炎、补液等对症治疗,保持气道通畅,防止并发症发生。

另观察组给予低频重复经颅磁刺激,选择M-30Ultimate型经颅磁刺激仪,将线圈水平放置在患者健侧的背外侧前额叶上,颅骨表面与线圈相切;此时,刺激点是两个圈的交接点中间。刺激强度静息运动阈值80%,刺激频率1HZ,刺激时间3s,每9s刺激1次,20min/次,1次/d,5次/周。两组均治疗3个月。

1.3 观察指标

1.3.1 两组炎性因子对比

分别于患者治疗前后空腹状态抽取静脉血3mL,进行离心(3500r/min,离心半径9cm,15min),采集上清液,放置冰箱-80℃进行冷藏。应用酶联免疫吸附法检测白介素-4(Interleukin-4,IL-4)、白介素-6(Interleukin-6,IL-6)及肿瘤坏死因子-α(Tumor necrosis factor-α,TNF-α)水平,IL-4、IL-6试剂盒来自北京索莱宝科技有限公司,TNF-α试剂盒来自艾美捷科技有限公司。

1.3.2 两组血流动力学对比

治疗前后分别采用彩色多普勒超声诊断仪(仪器厂家:深圳开立生物医疗科技股份有限公司,粤械注准20172060875),探头频率为1.6MHz测定双侧颈内动脉搏动指数(Arterial pulse index,PI),用全自动血液流变学测定收缩期最大血流速度(Systolic maximum blood flow velocity,Vs)和平均血流速度(Mean blood flow velocity,Vm)。

1.3.3 两组患者预后情况对比

采用电话行6个月随访,随访截止时间至

2023年5月,进行格拉斯哥预后评分(Glasgow prognostic score,GCS)^[7]评估,根据评分分为I~V级,V级:轻度残疾,但已恢复正常工作和生活;IV级:中度残疾,具备一定的日常生活活动能力,但仍存在神经功能轻度障碍。III级:重度残疾;II级:持续性植物状态;I级:死亡。预后良好为GCSIV~V级,预后不良为II~III级,I级为死亡。统计两组患者预后良好率、预后不良率与死亡率。

1.3.4 两组并发症发生率对比

并发症包括脑水肿、脑积水、颅内感染等。

1.4 统计学方法

采用SPSS 21.0统计软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验;计数资料以n(%)表示,并采用 χ^2 检验,均以P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后炎性因子水平比较

两组治疗后IL-4、IL-6及TNF-α水平均显著下降,且观察组上述指标水平均低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

2.2 两组血流动力学比较

两组治疗后PI水平下降,Vs、Vm水平上升,且观察组PI水平低于对照组,Vs、Vm水平高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

2.3 两组预后情况比较

经6个月随访,对照组预后良好率38.10%,

表2 两组治疗前后炎性因子水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/L)

Table 2 Comparison of inflammatory factors before and after treatment between the two groups ($\bar{x} \pm s$,ng/L)

组别	n	IL-4		IL-6		TNF-α	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	64	5.83±1.67	4.66±1.24 ^a	123.85±15.15	38.65±10.35 ^a	36.72±9.82	19.58±5.08 ^a
观察组	68	5.36±1.54	3.36±0.68 ^a	122.08±15.02	25.52±8.23 ^a	35.78±9.68	13.84±3.68 ^a
t值		1.682	4.771	0.673	8.091	0.553	7.466
P值		0.094	<0.001	0.501	<0.001	0.580	<0.001

注:同组治疗前后比较,^aP<0.05。

表3 两组血流动力学比较($\bar{x} \pm s$)

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

组别	n	PI		Vs(cm/s)		Vm(cm/s)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	64	0.76±0.17	0.62±0.11 ^a	78.89±3.46	83.26±4.11 ^a	43.56±3.39	50.16±4.21 ^a
观察组	68	0.81±0.20	0.50±0.06 ^a	79.19±3.52	89.13±4.66 ^a	43.95±3.43	51.89±4.46 ^a
t值		1.542	7.842	0.493	7.656	0.656	2.288
P值		0.125	<0.001	0.622	<0.001	0.512	0.023

注:同组治疗前后比较,^aP<0.05。

观察组预后良好率 60.00%，观察组预后良好率高于对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；两组病死率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 两组预后情况比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of prognosis between the two groups

[n(%)]				
组别	n	预后良好率	预后不良率	死亡率
对照组	64	31(38.10)	33(50.00)	7(11.90)
观察组	68	47(60.00)	21(33.33)	3(6.67)
χ^2 值		5.832		2.005
P值		0.015		0.156

2.4 两组并发症情况比较

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

表 5 两组并发症情况比较 [n(%)]

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

组别	n	脑水肿	脑积水	颅内感染	总发生率
对照组	64	6(9.37)	3(4.68)	2(3.12)	11(17.17)
观察组	68	2(2.94)	1(1.47)	1(1.47)	4(5.88)
χ^2 值					4.427
P值					0.035

3 讨论

据国内外研究指出，大骨瓣减压手术是治疗重型颅脑损伤的常用手术方式，然而仅依靠大骨瓣减压手术治疗亦有不足之处^[8,9]。国外有研究报道，采用大骨瓣减压手术会破坏颅腔的完整性，术后易发生颅内感染，且患者受自身各方面因素影响，病死率难以得到下降^[10]。因此，寻找可辅助大骨瓣减压手术治疗重型颅脑损伤的方案对临床具有重大意义。

脑损伤导致血清炎症因子过度表达、脑血流量降低，可使患者意识功能减退。目前已有研究证明，低频重复经颅磁刺激可增加脑血流量，改善脑部供血供氧及脑皮质代谢，使大脑神经网络得到重造，修复患者神经功能，促进意识恢复^[11]。低频重复经颅磁刺激属于神经电生理技术，对脉冲磁场具有作用，可刺激脑部神经元，兴奋皮质神经元，激发神经网络重新建立，且在皮质层作用下可加速皮质下多巴胺释放，加强皮质兴奋性^[12]。本次研究结果提示，低频重复经颅磁刺激辅助大骨瓣减压手术治疗可缓解患者脑水肿，改善血管痉挛与脑组织缺血缺氧；同时对脑损伤后炎症反应

进行阻断，利于患者意识恢复，维护脑组织，与何淮军等学者观点类似^[13]。本次研究选取 IL-4、IL-6 及 TNF- α 的原因是三者可准确反映炎症水平状态，其中：IL-4 参与机体抗感染防御，有研究指出，缺血性脑损伤后血清 IL-4 水平与损伤发生和恢复相关；IL-6 通过激活中性粒细胞，可加强血管内皮细胞中黏附分子表达，加重炎症反应，刺激补体系统，释放氧自由基，使脑神经元凋亡；TNF- α 可促使一氧化氮和氨基酸释放增加，产生自由基，造成神经毒性和加重氧化损伤，引起血管收缩，加重凝血状态，增加脑梗死风险及血性脑损伤程度^[12]。PI、Vs、Vm 是常见的脑血流动力学指标，其中：PI 可反映动脉发生弹性，若增高则提示脑血管病理生理过程发生变化；Vs、Vm 与颅脑损伤病情有一定联系^[14]。

脑水肿和脑梗死是重型颅脑损伤后常见的并发症^[15]。有文献指出，如果患者术后出现脑水肿，预后极有可能很差，病死率明显增加^[16]。因此，有效预防和治疗术后脑水肿对提高手术治愈率和预后具有一定的意义。本次研究结果可见低频重复经颅磁刺激辅助大骨瓣减压手术的有效实施可显著降低脑水肿、颅内感染等并发症，进而改善预后。原因可能在于：低频重复经颅磁刺激通过调节人脑中关于背外侧前额叶皮质的脑区，可使脑源性神经营养因子水平上升，一定程度控制神经细胞兴奋度，防止神经递质与神经肽过度分泌；同时低频重复经颅磁所产生的电流对大脑皮质有生理反应，可重构大脑皮层，利于防止脑缺血、缺氧发生，提升血氧含量，加快血液循环。

综上所述，低频重复经颅磁刺激辅助手术治疗可对重型颅脑损伤患者炎症因子起到改善作用，有效调节大脑血流速度与血流量，降低脑血流阻力，利于改善患者预后。

参考文献

- [1] 侯轶,李婧,刘洋,等. 夹脊电针疗法联合重复经颅磁刺激对不完全性脊髓损伤后神经病理性疼痛患者心理状态、血清炎症因子和疼痛介质的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(19): 3724-3728.
- [2] 高英,廖利萍,何琦,等. 血管内低温治疗对重型颅脑损伤标准大骨瓣减压术后患者颅内压及脑血流动力学的影响[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(13): 1307-1313.
- [3] 马淮滨,张冉,熊金丹,等. 低频重复经颅磁刺激对颅脑损伤后持续植物状态患者的促醒作用[J]. 中国医师杂志, 2023, 25(4): 614-617.

外周血 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 在冠心病慢性心力衰竭合并肺部感染患者中的表达及意义

王建爱^{1*} 于蕾² 罗育红¹ 张晖¹ 胡建秀¹

[摘要] 目的 分析外周血 microRNA-21 (*miR-21*)、巨噬细胞炎性蛋白-2 (MIP-2)、降钙素原 (PCT) 及白介素-6 (IL-6) 在冠心病慢性心力衰竭 (CHF) 合并肺部感染 (PI) 患者中的表达及意义。方法 选取 2020 年 2 月至 2023 年 3 月秦皇岛市第二医院收治的冠心病慢性心力衰竭患者 121 例为研究对象, 根据是否发生 PI 分为 CHF 合并 PI 组 37 例与 CHF 无 PI 组 84 例。比较两组一般资料及外周血 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平, 采用 Logistic 分析影响冠心病慢性心力衰竭合并肺部感染发生的危险因素; 采用 Pearson 相关性分析外周血 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平与临床肺部感染评分 (CPIS)、序贯器官衰竭评分 (SOFA) 的相关性; 分析 CHF 合并 PI 组病原菌情况, 对比不同病原菌外周血 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平。结果 两组性别、年龄、CHF 病程、吸烟史、饮酒史、中性粒细胞百分比、肌酸激酶、心肌肌酸激酶同工酶比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 两组白细胞计数、CPIS、SOFA 评分、*miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平比较, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。多元 Logistic 回归分析结果显示, 白细胞计数、CPIS、SOFA 评分、*miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平升高均是影响冠心病 CHF 合并 PI 发生的危险因素 ($P<0.05$)。*miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平均与 CPIS、SOFA 评分呈正相关 ($P<0.05$)。37 例 CHF 合并 PI 患者痰液标本检出 48 株病原菌, 其中 34 株革兰阴性菌, 12 株革兰阳性菌, 2 株真菌。*miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平: 革兰阴性菌>革兰阳性菌>真菌, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平在冠心病 CHF 合并 PI 患者中呈上升趋势, 且与 PI 病情程度、病原菌类型相关, 早期检测 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平对于冠心病 CHF 合并 PI 患者的诊断、病情及鉴别病原菌类型具有重要价值。

[关键词] *miR-21*; MIP-2; PCT; IL-6; 慢性心力衰; 肺部感染

Expression and significance of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 in peripheral blood in patients with coronary heart disease and chronic heart failure complicated with pulmonary infection

WANG Jianai^{1*}, YU Lei², LUO Yuhong¹, ZHANG Hui¹, HU Jianxiu¹

(1. Department of Critical Care Medicine, Qinhuangdao Second Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066600; 2. Emergency Care Unit of Qinhuangdao Second Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066600)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the expression and significance of microRNA-21 (*miR-21*), macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2), procalcitonin (PCT) and interleukin-6 (IL-6) in peripheral blood in patients with coronary heart disease and chronic heart failure (CHF) complicated with pulmonary infection (PI). **Methods** 121 patients with coronary heart disease and chronic heart failure admitted to the Second Hospital of Qinhuangdao City from February 2020 to March 2023 were selected as the study objects and were divided into the CHF group with PI of 37 cases and the CHF group without PI of 84 cases according to whether PI occurred. General data and levels of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 in peripheral blood were compared between

基金项目:河北省卫生厅科研基金项目(20221361)

作者单位:1. 秦皇岛市第二医院重症医学科, 河北, 秦皇岛 066600

2. 秦皇岛市第二医院急诊监护室, 河北, 秦皇岛 066600

*通信作者:王建爱, E-mail: wjazz78910@163.com

the two groups, Multivariate logistic analysis was used to analyze the risk factors affecting the occurrence of CHD chronic heart failure with pulmonary infection. Pearson correlation was used to analyze the correlation of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 levels in peripheral blood with clinical pulmonary infection score (CPIS) and sequential organ failure score (SOFA); the pathogenic bacteria in CHF combined with PI group were analyzed, the levels of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 in peripheral blood of different pathogenic bacteria were compared.

Results There was no significant difference in gender, age, CHF course, smoking history, drinking history, neutrophil percentage, creatine kinase and myocardial creatine kinase isoenzyme between the two groups ($P > 0.05$). There were statistically significant differences in WBC count, CPIS, SOFA score, *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 levels between the two groups ($P < 0.05$). Multiple logistic regression analysis showed that the increase of leukocyte count, CPIS, SOFA score, *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 levels were risk factors for the occurrence of coronary heart disease CHF combined with PI in CHD ($P < 0.05$). The levels of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 were positively correlated with CPIS and SOFA scores ($P < 0.05$). 48 strains of pathogenic bacteria were detected in sputum samples of 37 CHF patients with PI, including 34 gram-negative bacteria, 12 gram-positive bacteria and 2 fungi. *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 levels: Gram-negative bacteria > gram-positive bacteria > fungi, the difference was statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion The levels of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 in CHF patients with PI shows an increasing trend and are related to the degree of PI disease and the type of pathogenic bacteria, early detection of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 levels is of great value for the diagnosis, condition and identification of pathogenic bacteria in CHF patients with PI.

[KEY WORDS] *MiR-21*; MIP-2; PCT; IL-6; Chronic heart failure; Pulmonary infection

冠心病是常见的心血管疾病,易引起各种并发症,其中慢性心力衰竭是冠心病的主要死亡原因^[1]。冠心病慢性心力衰竭(Chronic heart failure, CHF)患者发病人群通常为老年人,其免疫功能薄弱,且通常合并多种慢性基础疾病,极易增加肺部感染(Pulmonary infection, PI)发生的概率^[2]。冠心病慢性心力衰竭合并肺部感染患者早期症状不明显,易被原发疾病掩盖,给临床医生诊断及病情评估等方面造成困扰。血清白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)是反映机体炎症反应、感染程度的重要指标,其表达水平与病情严重程度密切相关^[3]。IL-6、PCT在感染性疾病的诊断及预后价值已被广泛研究,但亦有研究指出两者单一检测诊断价值较低^[3]。循环外泌体及其内容物易快速检测,且能反映组织、细胞的生物学与病理学功能。外周血 microRNA-21(*miR-21*)是外泌体中重要的功能载体之一,有学者发现,心功能分级越高,CHF患者的*miR-21*水平则越高^[4]。巨噬细胞炎症蛋白-2(Macrophage inflammatory protein-2, MIP-2)是重要的趋化因子,经证实其在炎症反应及PI病原菌鉴别中发挥一定作用^[5]。本文旨在分析外周血*miR-21*、MIP-2、PCT及IL-6在冠心病慢性心力衰竭合并肺部感染患者中的表达及意义,现报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年2月至2023年3月秦皇岛市第二医院收治冠心病CHF患者121例为研究对象,其中男71例,女50例,平均年龄(68.52 ± 12.63)岁,CHF平均CHF病程(3.04 ± 1.05)年。根据是否发生PI^[6]分为CHF合并PI组37例与CHF无PI组84例。两组临床资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经秦皇岛市第二医院伦理委员会批准,且患者及家属知晓并同意。

纳入标准:①CHF参考《中国心力衰竭诊断和治疗指南》(2018年)^[6];②参考《呼吸内科疾病诊断标准》,经临床表现、理化检查、体征、影像学检查等诊断为PI^[7];③临床资料齐全;④近期内未服用抗感染药物;⑤无其他呼吸道疾病;排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②心理、精神异常者,无法正常交流;③肝肾功能不全者。

1.2 方法

1.2.1 外周血*miR-21*、MIP-2、PCT及IL-6检测

全部研究对象早晨空腹抽取外周血5 mL,送往实验室,进行离心($3\ 500\ \text{r/min}$,离心半径10 cm,15 min),采集血清。应用实时荧光定量PCR技术检测*miR-21*水平,试剂盒来自无锡天萃生物科技有限公司。应用酶联吸附试验法检测MIP-2、IL-6

水平,试剂盒均来自上海酶研生物科技有限公司。采用电化学发光法检测 PCT,试剂盒来自上海恒雅生物科技有限公司。

1.2.2 病原菌检测

收集 CHF 合并 PI 组患者晨起痰液,排痰前注意漱口,保持口腔清洁,用力咳出呼吸道深处痰液,收集至无菌广口瓶内。采用 phoenix100 细菌培养鉴定仪培养鉴定病原菌。

1.3 观察指标

比较两组一般资料[包括性别、年龄、CHF 病程、吸烟史、饮酒史、白细胞计数、中性粒细胞百分比、肌酸激酶、心肌型肌酸激酶同工酶、临床肺部感染评分(Clinical pulmonary infection score, CPIS)及序贯器官衰竭评分(Sequential organ failure score, SOFA)评分]及 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平,采用 Logistic 分析影响冠心病 CHF 合并 PI 发生的危险因素。采用 Pearson 分析 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平与 CPIS、SOFA 的相关性;CPIS 包含 6 项,总分 12 分,分值与感染程度呈正比;SOFA 包含 6 项,总分 24 分,分值与病情程度呈正比^[7]。分析 CHF 合并 PI 组病原菌情况,对比不同病原菌 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,采用独立样本 *t* 检验。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;采用 Logistic 分析影响冠心病 CHF 合并 PI 发生的危险因素;采用 Pearson 分析 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平与 CPIS、SOFA 的相关性;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料及 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平比较

两组性别、年龄、CHF 病程、吸烟史、饮酒史、中性粒细胞百分比、肌酸激酶、心肌型肌酸激酶同工酶比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组白细胞计数、CPIS、SOFA 评分、*miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 影响冠心病 CHF 合并 PI 发生的危险因素

多元 Logistic 回归分析显示,白细胞计数、CPIS、SOFA 评分、*miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平升高均是影响冠心病 CHF 合并 PI 发生的危险因素($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 两组一般资料及 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平比较 [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

Table 1 Comparison of general data and levels of *miR-21*, MIP-2, PCT and IL-6 between the two groups [$n(\%)$, $(\bar{x} \pm s)$]

项目	CHF 合并 PI 组 ($n=37$)	CHF 无 PI 组 ($n=84$)	χ^2/t 值	P 值
性别			1.737	0.187
男	25(67.57)	46(54.76)		
女	12(32.43)	38(45.24)		
年龄(岁)	68.63±12.66	67.77±12.48	0.347	0.728
CHF 病程(年)	3.22±1.13	2.86±1.04	1.708	0.090
吸烟史	28(75.67)	51(60.71)	2.537	0.111
饮酒史	22(59.46)	43(51.19)	0.706	0.400
白细胞计数($\times 10^9/L$)	7.93±2.66	5.86±1.37	5.648	<0.001
中性粒细胞百分比(%)	58.96±10.56	57.69±10.45	0.613	0.540
肌酸激酶(U/L)	300.18±60.18	296.33±59.83	0.325	0.745
心肌型肌酸激酶同工酶(U/L)	34.25±5.86	33.49±5.77	0.664	0.507
CPIS(分)	9.88±2.76	7.83±1.59	5.151	<0.001
SOFA(分)	14.55±3.65	9.04±2.37	9.905	<0.001
<i>miR-21</i>	1.99±0.53	1.13±0.26	11.990	<0.001
MIP-2(pg/mL)	87.63±15.33	73.22±13.58	5.167	<0.001
PCT($\mu g/mL$)	3.65±1.46	1.44±0.41	12.830	<0.001
IL-6(pg/mL)	13.52±3.47	6.72±1.62	14.731	<0.001

2.3 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平与 CPIS、SOFA 评分的相关性

miR-21、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平均与 CPIS、SOFA 评分呈正相关($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 CHF 合并 PI 组病原菌情况

37 例 CHF 合并 PI 患者痰液标本检出 48 株病原菌,其中 34 株革兰阴性菌,12 株革兰阳性菌,2 株真菌。见表 4。

2.5 不同病原菌 *miR-21*、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平比较

miR-21、MIP-2、PCT 及 IL-6 水平:革兰阴性菌>革兰阳性菌>真菌,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

炎症反应是冠心病 CHF 发生 PI 的重要病理机制^[8]。IL-6、PCT 均是反映机体炎症反应、感染程度的重要指标,其表达水平与病情严重程度密切相关。IL-6 是一种功能广泛的多效性细胞因子,具有急性期反应调节等作用^[8]。国内有学者指出,IL-6 与 CHF 合并 PI 患者心功能、感染指标密切相关^[9]。正常机体血液内 PCT 含量微乎其微,若机体遭遇感染,PCT 水平会呈现上升趋势。研究表明,PCT 水平和细菌感染程度有一定联系;随

表2 Logistic分析影响冠心病CHF合并PI发生的危险因素

Table 2 Logistic analysis of risk factors affecting the occurrence of coronary heart disease (CHF) complicated with PI

因素	赋值	β系数	SE	Wald χ ² 值	OR值	95% CI	P值
白细胞计数	0=4.0~10.0×10 ⁹ /L, 1=<4.0~10.0×10 ⁹ /L, >4.0~10.0×10 ⁹ /L	1.386	0.617	8.326	3.998	1.193~13.400	0.021
CPIS	0=<8分, 1=≥8分	1.313	0.600	8.673	3.717	1.146~12.049	0.010
SOFA	0=<11分, 1=≥11分	1.326	0.609	8.455	3.765	1.141~12.424	0.014
miR-21	实测值	0.884	0.524	9.371	2.420	0.866~6.760	<0.001
MIP-2	实测值	0.865	0.518	9.559	2.375	0.860~6.555	<0.001
PCT	0=0~0.5 ng/mL, 1=<0~0.5 ng/mL, >0~0.5 ng/mL	0.933	0.576	8.934	2.542	0.822~7.861	0.001
IL-6	0=0.373~0.463 ng/L, 1=<0.373~0.463, >0.373~0.463	0.927	0.553	9.015	2.526	0.854~7.469	0.001

表3 miR-21、MIP-2、PCT及IL-6水平与CPIS、SOFA评分的相关性

Table 3 Correlation between miR-21, MIP-2, PCT, and IL-6 levels and CPIS and SOFA scores

指标	CPIS评分		SOFA评分	
	r值	P值	r值	P值
miR-21	0.513	0.001	0.611	<0.001
MIP-2	0.601	<0.001	0.532	<0.001
PCT	0.583	<0.001	0.501	0.001
IL-6	0.537	<0.001	0.515	0.001

表4 CHF合并PI组病原菌情况

Table 4 Pathogenic bacteria in the CHF combined with PI group

病原菌类型		n	%
革兰阴性菌	鲍曼不动杆菌	11	22.92
	铜绿假单胞菌	8	16.67
	肺炎克雷伯菌	4	8.32
	阴沟肠杆菌	2	4.16
	聚团肠杆菌	2	4.16
	大肠埃希菌	6	12.50
	奇异变形菌	1	2.08
革兰阳性菌	金黄色葡萄球菌	8	16.67
	肺炎链球菌	2	4.16
	表皮葡萄球菌	2	4.16
真菌	白色假丝酵母菌	2	4.16
共计		48	100

表5 不同病原菌miR-21、MIP-2、PCT及IL-6水平比较(̄x±s)

Table 5 Comparison of levels of miR-21, MIP-2, PCT and IL-6 among different pathogens (̄x±s)

病原菌类型	n	miR-21	MIP-2 (pg/mL)	PCT (μg/mL)	IL-6 (pg/mL)
革兰阴性菌	34	2.12±0.57 ^{ab}	89.63±7.43 ^{ab}	3.78±1.15 ^{ab}	13.52±3.66 ^{ab}
革兰阳性菌	12	1.71±0.36 ^a	78.66±6.27 ^a	2.66±0.83 ^a	10.52±2.87 ^a
真菌	2	1.44±0.21	71.43±5.68	1.75±0.56	9.63±1.67
F值		3.91	14.94	7.38	4.13
P值		0.027	<0.001	0.001	0.022

注:与真菌比较,^bP<0.05;与革兰阳性菌比较,^aP<0.05。

着冠心病病情加重,炎症反应亦加重,PCT水平显著升高,其能在一定程度上提示患者是否并发感染或预后不良^[10-11]。MIP-2在机体中具有双重作

用:其一特异性趋化中性粒细胞至炎症组织,彻底清除病原菌;其二对中性粒细胞释放过量的髓过氧化物酶等酶类产生刺激,对组织造成损伤^[12]。国外有研究指出,MIP-2水平异常可对细胞表面黏附分子表达形成刺激,引起炎症反应,导致中性粒细胞与ICAM-1结合,使白介素、肿瘤坏死因子-α等炎症因子水平上升,加强炎症因子浸润程度,进而提高血管通透性^[13]。既往已有研究报道,miR-21通过调节多种心血管疾病中蛋白的表达,参与心律失常和心肌梗死等心脏病理生理过程的调控^[14]。miR-21在心肌细胞生长、凋亡、纤维化及血管平滑肌异常增殖过程起着参与作用,且不易受外界因素干扰。国内近年有研究表明,社区获得性肺炎患者miR-21与肺炎严重程度评分及CRP呈正相关^[14-15]。

CHF合并PI可使正常胶原蛋白分解,调动缺失连接结构的纤维性间质集成,损害心肌基质胶原网,刺激整合素生成、炎症细胞的活性,使大量炎症因子获得释放,导致病情进一步加重。本次研究与鲍利改等学者研究结果高度一致^[16]。进一步探讨CHF合并PI组病原菌情况,发现37例CHF合并PI患者痰液标本检出48株病原菌,以革兰阴性菌为主,与国内病原菌分布相吻合^[15],结果可为临床用药方案提供一定数据支持。同时研究结果显示,miR-21、MIP-2、PCT及IL-6水平:革兰阴性菌>革兰阳性菌>真菌,说明通过检测miR-21、MIP-2、PCT及IL-6水平,对于鉴别CHF合并PI病原菌类型具有一定价值。

综上所述,miR-21、MIP-2、PCT及IL-6水平在冠心病CHF合并PI患者中呈上升趋势,且与PI病情程度、病原菌类型相关,早期检测miR-21、MIP-2、PCT及IL-6水平对于冠心病CHF合并PI患者的诊断、病情及鉴别病原菌类型具有重要价值。

参考文献

[1] 贾向红,刘亚博,孟玉娟,等.老年心力衰竭合并肺部感染病人病原菌分布,血清MMPs,NT-proBNP,IL-6及PCT水平变化[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(20):3762-3765.

[2] 吴佳妮,成群,高光霞,等.胸腺肽联合血必净治疗对AECCO-PD合并脓毒症患者外周血PCT、CRP、IL-6及淋巴细胞表达的影响[J].贵州医科大学学报,2022,47(4):472-476.

[3] 何爱凤,秦晓梦,尹江宁,等.基于生物信息学分析miR-30a及相关炎症指标在脓毒症中的表达及临床意义[J].江苏大学学报(医学版),2022,32(2):118-123.

[4] 杨丽,丁志欣,崔莹,等.老年慢性心力衰竭肺部感染对外周血单核细胞Toll样受体4及核因子- κ B信号通路的影响[J].中华医院感染学杂志,2021,31(16):2452-2456.

[5] 豆书梅,赵贺,张莉,等.可溶性生长刺激表达基因2蛋白及降钙素原在心力衰竭合并肺部感染患者中的应用价值[J].中华老年心脑血管病杂志,2021,23(1):89-91.

[6] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南2018[J].中华心血管病杂志,2018,46(10):760-789.

[7] 王红阳,张庆,郭健全.呼吸内科疾病诊断标准[M].科学技术文献出版社,2009.

[8] 温连彬,伍玉洁,肖飞,等.老年慢性心力衰竭患者肺部感染病原学及危险因素与预测模型构建[J].中华医院感染学杂志,2023,33(9):1303-1307.

[9] 王建军,郭莹,张淑芳.LncRNA GAS5和miR-142-5p在慢性心力衰竭患者血清中表达及临床意义[J].中国循证心血管医学杂志,2022,14(6):696-699,703.

[10] Li Y, Min L, Zhang X. Usefulness of procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), and white blood cell (WBC) levels in the differential diagnosis of acute bacterial, viral, and mycoplasmal respiratory tract infections in children[J]. BMC Pulm Med, 2021,21(1):386.

[11] Kyriazopoulou E, Liaskou - Antoniou L, Adamis G, et al. Procalcitonin to Reduce Long-Term Infection-associated Adverse Events in Sepsis. A Randomized Trial[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021,203(2):202-210.

[12] Sevransky JE, Rothman RE, Hager DN, et al. Effect of Vitamin C, Thiamine, and Hydrocortisone on Ventilator- and Vasopressor-Free Days in Patients With Sepsis: The VICTAS Randomized Clinical Trial[J]. JAMA, 2021,325(8):742-750.

[13] Perkins GD, Ji C, Connolly BA, et al. Effect of Noninvasive Respiratory Strategies on Intubation or Mortality Among Patients With Acute Hypoxemic Respiratory Failure and COVID-19: The RECOVERY-RS Randomized Clinical Trial[J]. JAMA, 2022,327(6):546-558.

[14] Pesonen E, Vlasov H, Suojaranta R, et al. Effect of 4% Albumin Solution vs Ringer Acetate on Major Adverse Events in Patients Undergoing Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass: A Randomized Clinical Trial[J]. JAMA, 2022,328(3):251-258.

[15] 李俊梅,李荣荣,陈晓娟,等.血清FSTL1、MIP-2和NT-proBNP在重症肺炎合并心力衰竭患者中表达及与预后关系研究[J].临床和实验医学杂志,2021,20(17):1828-1831.

[16] 鲍利改,董谦.慢性心力衰竭合并肺部感染患者MIP-2、MMP-9、D-D、miR-21表达及与病原菌类型、心肌功能的关联性研究[J].临床误诊误治,2022,35(3):78-83.

(上接第2166页)

[4] Lefaucheur JP, Aleman A, Baeken C, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014-2018)[J]. Clin Neurophysiol, 2020,131(2):474-528.

[5] Starosta M, Cichoń N, Saluk-Bijak J, et al. Benefits from Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation in Post-Stroke Rehabilitation[J]. J Clin Med, 2022,11(8):2149.

[6] 李延生,林颖.重型颅脑损伤的临床分析[J].中外医疗,2010,29(19):28.

[7] 甘宁,刘思思,李英姿,等.重型颅脑损伤患者改良大骨瓣减压术中渐进减压与常规减压对比观察[J].山东医药,2017,57(27):70-72.

[8] Lee Y, Oh BM, Park SH, et al. Low-Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation in the Early Subacute Phase of Stroke Enhances Angiogenic Mechanisms in Rats[J].Ann Rehabil Med, 2022,46(5):228-236.

[9] 张永超,吴秀丽,陈兴.重复经颅磁刺激对老年抑郁症认知功能及生活质量的影响[J].华南国防医学杂志,2021,35(6):422-425+441.

[10] 吴超伦,段志新,杨海霞,等.早期高压氧辅助治疗重型颅脑损伤去骨瓣术后患者的临床效果以及对血清炎症因子的影响研究[J].创伤外科杂志,2021,23(4):250-253.

[11] Buetefisch CM, Wei L, Gu X, et al. Neuroprotection of Low-Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation after Ischemic Stroke in Rats[J]. Ann Neurol, 2023,93(2):336-347.

[12] 高见,张华,刘国成,等.右美托咪定对重型颅脑损伤患者术后血清炎症因子和神经细胞因子水平及预后的影响[J].中国医药导报,2021,18(1):111-114,139.

[13] 何淮军,黄敬东,卢思冀.低频重复经颅磁刺激联合大骨瓣减压术治疗重症颅脑损伤患者的临床效果[J].医疗装备,2022,35(16):70-72.

[14] 赵东升,徐锋,别小华,等.rTMS联合高压氧治疗对重型颅脑损伤昏迷患者炎症因子、认知功能及脑血流的影响[J].医学临床研究,2021,38(7):990-994.

[15] 陈莲,付庆华.高频重复经颅磁刺激治疗卒中后睡眠障碍的效果及对患者睡眠质量血清脑源性神经营养因子水平的影响[J].山西医药杂志,2021,50(6):981-984.

[16] 齐飞,苏延玲,张慧.高压氧联合重复经颅磁刺激治疗脑梗死后认知功能障碍患者的疗效及对血流动力学的影响[J].中华航海医学与高气压医学杂志,2021,28(3):383-388.

血小板计数、凝血酶原时间及纤维蛋白原对多发性创伤患者下肢深静脉血栓形成的预测价值

陆淼¹ 徐进宇² 张云^{1*}

[摘要] 目的 探讨血小板计数(PLT)、凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(FIB)对多发性创伤患者下肢深静脉血栓(DVT)形成的预测价值。方法 选取2019年8月至2023年3月无锡市人民医院收治的多发性创伤患者198例作为研究对象,统计患者下肢DVT发生率,将发生下肢DVT的患者作为DVT组,未发生下肢DVT的患者作为对照组,比较两组患者基本资料及PLT、PT及FIB等指标水平,采用多因素Logistic回归模型分析患者下肢DVT形成的影响因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析PLT、PT及FIB对下肢DVT形成的预测价值。结果 多发性创伤患者下肢DVT发生率为35.86%(71/198);DVT组PLT及FIB水平高于对照组,PT水平低于对照组,差异均有统计学意义($t=6.237, 6.113, 6.109$, 均 $P<0.05$);DVT组合并糖尿病率及下肢骨折率高于对照组,差异均有统计学意义($t=0.039, 0.025$, 均 $P<0.05$);多因素Logistic回归分析显示,下肢骨折、PLT、PT及FIB水平是多发性创伤患者发生下肢DVT的影响因素($P<0.05$);ROC曲线分析显示,PLT、PT、FIB及其联合检测预测下肢DVT发生的AUC分别为0.857、0.743、0.745、0.908。结论 PLT、PT及FIB水平在多发性创伤后发生下肢DVT患者中表达异常,通过联合检测三者水平对于预测多发性创伤患者下肢DVT的形成具有较好的应用价值。

[关键词] 血小板计数;凝血酶原时间;纤维蛋白原;多发性创伤;下肢深静脉血栓

Predictive value of platelet count, prothrombin time and fibrinogen for deep vein thrombosis of lower limbs in patients with multiple trauma

LU Miao¹, XU Jinyu², ZHANG Yun^{1*}

(1. Department of Emergency, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu, China, 214000; 2. Department of Emergency Surgery, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu, China, 214000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of platelet count (PLT), prothrombin time (PT) and fibrinogen (FIB) on the formation of deep venous thrombosis (DVT) in patients with multiple trauma. **Methods** A total of 198 patients with multiple trauma admitted to Wuxi People's Hospital from August 2019 to March 2023 were selected as the research objects. The incidence of lower extremity DVT was counted. The patients with lower extremity DVT were taken as the DVT group, and the patients without lower extremity DVT were taken as the control group. The basic data and the levels of PLT, PT and FIB were compared between the two groups. Multivariate logistic regression model was used to analyze the influencing factors of lower extremity DVT formation. The Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of PLT, PT and FIB for lower extremity DVT formation. **Results** The incidence of lower extremity DVT in patients with multiple trauma was 35.86% (71/198). The levels of PLT and FIB in the DVT group were higher than those in the control group, and the PT level was lower than that in the control group, the differences were statistically significant ($t=6.237, 6.113, 6.109, P<0.05$). The incidence of diabetes mellitus and lower

基金项目:江苏省卫生计生委项目(QNRC2016833)

作者单位:1.南京医科大学附属无锡人民医院急诊科,江苏,无锡214000

2.南京医科大学附属无锡人民医院急诊外科,江苏,无锡214000

*通信作者:张云, E-mail:zhangyun@njmu.edu.cn

limb fracture in the DVT group were higher than those in the control group ($t=0.039, 0.025, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that lower limb fracture, PLT, PT and FIB were the influencing factors of lower limb DVT in patients with multiple trauma ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the AUC of PLT, PT, FIB and their combined detection in predicting the occurrence of lower extremity DVT were 0.857, 0.743, 0.745 and 0.908, respectively. **Conclusion** The levels of PLT, PT and FIB are abnormally expressed in patients with lower extremity DVT after multiple trauma. The combined detection of the three has a good application value in predicting the formation of lower extremity DVT in patients with multiple trauma.

[KEY WORDS] Platelet count; Prothrombin time; Fibrinogen; Multiple trauma; Deep venous thrombosis of lower extremity

多发性创伤是指患者有两处或两处以上身体区域的严重损伤,具有高发病率、高死亡率的特点,是威胁公众健康的重要公共卫生问题之一^[1]。而多发性创伤患者在受伤存活后,易出现多器官功能障碍、呼吸系统并发症或静脉血栓栓塞等并发症,严重威胁患者生存质量^[2]。下肢深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)是静脉血栓栓塞的一种常见类型,其在创伤患者中发病率、致残及致死率高,下肢DVT发病过程隐匿,早期症状主要表现为下肢疼痛及肿胀,易与创伤后皮肤感染所致的下肢疼痛肿胀症状混淆,且有部分患者在早期是无症状的,因而容易出现误诊或漏诊,不利于对患者早期诊断及治疗^[3]。因此,寻找早期下肢DVT形成的预测指标,对于预防及尽早治疗DVT至关重要。已有研究证实^[4],凝血功能对DVT的形成及发展作用重大。血小板计数(Platelet count, PLT)、凝血酶原时间(Prothrombin time, PT)及纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)均为临床常用的凝血功能指标,均能反映凝血因子活性及凝血状态,与患者凝血功能密切相关^[5]。本研究探讨PLT、PT及FIB水平对多发性创伤患者下肢DVT形成的预测价值,以期尽早治疗DVT提供参考依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2019年8月至2023年3月无锡市人民医院收治的多发性创伤患者198例作为研究对象,男110例,女88例,年龄18~89岁,平均(46.36±9.82)岁。纳入标准:①符合多发性创伤诊断标准^[6];②未使用抗凝血药物治疗;③下肢健全;④临床资料及影像学资料完整;⑤患者及其家属知情同意并签署知情同意书;排除标准:①合并血液系统或免疫系统疾病;②合并恶性肿瘤;③下肢为开放性骨折的患者;④住院期间死亡;⑤已患有血栓疾病

且仍在治疗中。本研究经无锡市人民医院医学委员会伦理会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 下肢DVT评定及分组方法

下肢DVT诊断标准^[7]:小腿或股三角区域明显有压痛;下肢表面静脉凸出;下肢皮肤颜色暗红且温度上升,伴随剧烈疼痛或胀痛;经彩色多普勒超声诊断仪[型号:DW-T6,生产厂家:大为医疗(江苏)有限公司]检测确诊,将发生下肢DVT的患者作为DVT组,未发生下肢DVT的患者作为对照组。

1.2.2 实验室指标检验方法

采集患者入院次日清晨空腹外周静脉血6 mL,分别置于两支试管中,将其中一支采用全自动血液分析仪(型号:BC-2800,厂家:上海晓曦医疗器械有限公司)检测PLT水平;将另一支试管的血液以3 000 r/min离心10 min(离心半径:8 cm)离心处理后,取上层血浆,采用全自动凝血分析仪(型号:AC800,厂家:泰州中勤世帝生物技术有限公司)检测PT、FIB水平。

1.3 统计分析

使用SPSS 24.0统计学软件对数据进行分析。以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示计量资料,比较采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;采用多因素Logistic回归模型分析患者下肢DVT形成的影响因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析PLT、PT及FIB对下肢DVT形成的预测价值。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 多发性创伤患者下肢DVT发生率情况

198例多发性创伤患者最终有71例出现下肢DVT,发生率为35.86%。

2.2 DVT组与对照组基本资料及实验室指标比较

DVT组PLT及FIB水平高于对照组,PT水平低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);

DVT组下肢骨折率及合并糖尿病率高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表1。

表1 DVT组与对照组基本资料及实验室指标比较
[($\bar{x}\pm s$), $n(\%)$]

Table 1 Comparison of basic data and laboratory indexes between DVT group and control group [($\bar{x}\pm s$), $n(\%)$]

指标	DVT组($n=71$)	对照组($n=127$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	47.31±9.53	45.82±8.69	1.117	0.265
性别			0.018	0.895
男	39(54.93)	71(55.91)		
女	32(45.07)	56(44.09)		
BMI(kg/m^2)	24.19±3.15	23.84±3.07	0.762	0.447
致伤原因(例)			2.226	0.329
交通事故	31(43.66)	69(54.33)		
高处坠落	24(33.80)	37(29.13)		
其他	16(22.54)	21(16.54)		
合并高血压			1.902	0.168
是	9(12.68)	26(20.47)		
否	62(87.32)	101(79.53)		
合并糖尿病			4.627	0.031
是	12(16.90)	9(7.09)		
否	59(83.10)	118(92.91)		
下肢骨折			5.046	0.025
是	42(59.15)	54(42.52)		
否	29(40.85)	73(92.91)		
PLT($\times 10^9/\text{L}$)	196.71±19.73	170.84±15.57	6.237	<0.001
PT(s)	8.76±2.58	11.31±2.94	6.109	<0.001
FIB(g/L)	4.47±0.84	3.83±0.62	6.113	<0.001

2.3 多发性创伤患者下肢DVT形成影响因素的多因素Logistic回归分析

结果显示,下肢骨折、PLT、PT及FIB水平是多发性创伤患者发生下肢DVT的影响因素($P<0.05$)。见表2。

表2 多发性创伤患者下肢DVT形成影响因素的多因素Logistic回归分析

Table 2 Multivariate Logistic regression analysis of influencing factors of lower extremity DVT in patients with multiple trauma

因素	赋值	β 值	$S.E.$ 值	$Wald$ 值	OR 值	95% CI	P 值
糖尿病	是=1, 否=0	0.657	0.542	1.469	1.929	0.667~5.581	0.225
下肢骨折	是=1, 否=0	0.138	0.057	5.861	1.148	1.027~1.284	0.015
PLT	实际值	2.639	0.817	10.434	13.999	2.823~69.430	0.001
PT	实际值	-0.179	0.081	8.611	0.836	0.741~0.942	0.003
FIB	实际值	0.543	0.176	9.519	1.721	1.219~2.430	0.002

2.4 PLT、PT、FIB及三者联合检测对多发性创伤患者下肢DVT形成的预测价值

ROC曲线结果显示,PLT、PT、FIB预测多发性创伤患者下肢DVT的AUC分别为0.857、0.743、

0.745,而三者联合检测0.908,高于任一指标单独检测。见表3,图1。

表3 PLT、PT、FIB及三者联合检测对多发性创伤患者下肢DVT形成的预测价值

Table 3 The predictive value of PLT, PT, FIB and their combined detection for the formation of lower extremity DVT in patients with multiple trauma

指标	临界值	AUC	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	95% CI	P 值
PLT	186.80	0.857	0.624	76.1	86.6	0.799~0.916	<0.05
PT	11.72	0.743	0.501	74.3	71.8	0.672~0.183	<0.05
FIB	4.40	0.745	0.516	72.7	78.9	0.669~0.820	<0.05
联合检测		0.908	0.780	87.3	90.7	0.865~0.951	<0.05

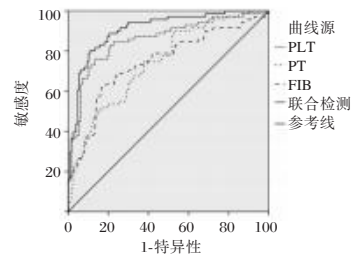


图1 PLT、PT、FIB及三者联合检测预测多发性创伤患者下肢DVT形成的ROC曲线

Figure 1 The ROC curve of PLT, PT, FIB and their combined detection in predicting the formation of lower extremity DVT in patients with multiple trauma

3 讨论

下肢DVT是因下肢深静脉内发生血液异常凝结,阻碍了血液的正常回流,进而导致血块或血栓的形成,其会引起患者下肢肿胀疼痛、浅静脉曲张等;而随着病情发展,深静脉内栓子脱落后随着血流进入肺部,引起肺动脉堵塞,导致肺动脉栓塞的发生,严重危及患者生命健康^[8]。多发性创伤患者因外源性的伤害、长期卧床或行动受限,导致血管壁损伤、下肢静脉回流障碍及血液淤滞,易导致下肢DVT的发生。目前,临床通常使用下肢静脉造影以诊断下肢DVT的发生,其准确度高,但具有侵入性,易引起患者过敏反应、静脉炎等并发症,对患者预后产生不利影响^[9]。因此,探索简便及准确的生物学指标用于辅助预测DVT的形成意义重大。

本研究结果显示,多发性创伤患者下肢DVT发生率为35.86%,与徐瑞敏等^[10]报道的32.8%结果相近。可见下肢DVT在多发性创伤患者中的发生率较高,需引起足够的重视。血管壁损伤、静脉回流障碍和血液高凝状态是下肢DVT形成的主要

原因,因此,凝血指标的检测可以用于预测DVT的形成^[11]。本研究显示,DVT组PLT、FIB水平高于对照组,PT水平低于对照组,这一结果与张玥等^[12]、任翔等^[13]的报道一致。可能的机制是:PLT是血液中含有最多的细胞成分,具有重要的止血及凝血功能,在其止血及凝血过程中会释放凝血因子,引起血栓形成,高PLT水平可能会导致血小板在血管内过度聚集,从而增加了形成血栓的风险^[14];PT是外源凝血系统较为灵敏和最为常用的筛选试验,主要反映凝血因子Ⅶ、Ⅹ、Ⅱ、Ⅴ以及组织因子在体内的活性,当其缩短时,则提示凝血时间缩短,机体处于高凝状态^[15];FIB即凝血因子I,是血液中含有最高的凝血因子,既是凝血酶作用的底物又是高浓度纤维溶酶的靶物质,在凝血系统和纤溶系统中同时发挥重要作用,FIB水平升高反映了纤维蛋白形成增加和降解减少,增加血液中纤维蛋白的沉积和稳定性,促进血栓形成^[16]。

多因素 Logistic 分析结果显示,PLT、PT 及 FIB 是多发性创伤患者下肢 DVT 形成的影响因素。可能的解释是:PLT、PT 及 FIB 水平异常反映机体凝血状态异常,增加了血液中微血栓的形成和沉积的可能性。同时,经多因素 Logistic 分析,下肢骨折亦是影响多发性创伤患者下肢 DVT 形成的因素,这可能是由于下肢骨折会造成组织及血管壁的严重损伤,同时,骨折后患者活动受限,致使下肢静脉血流动减慢,引起 DVT 形成风险增加^[17]。

ROC 曲线分析结果表明,PLT、PT 及 FIB 水平可以作为多发性创伤患者下肢 DVT 的预测指标,且联合检测的效果优于单一检测。可能的原因是:PLT、PT 及 FIB 水平分别反映了凝血系统的不同环节,即血小板功能、外源性凝血系统和纤维蛋白形成;联合检测可以更全面地评估机体的凝血状态且排除单一检测的偶然误差,提高了准确性和可靠性。

综上所述,PLT、PT 及 FIB 水平在多发性创伤后发生下肢 DVT 患者中表达异常,通过联合检测三者水平对于预测多发性创伤患者下肢 DVT 的形成具有较好的诊断效能,对于多发性创伤患者,可以在早期进行 PLT、PT 及 FIB 水平的检测,根据预测结果进行相应检查及治疗,预防 DVT 的发生,改善患者预后。PLT、PT 和 FIB 的联合检测可成为多发性创伤后 DVT 风险评估的新工具,且富有前景,但本研究病例数相对不足,尚需进行更广泛的、多中心、大样本量的研究以验证上述生物标志物在多

发性创伤患者中预测 DVT 的实际效果和可行性。

参考文献

- [1] Upadhyaya GK, Iyengar KP, Jain VK, et al. Evolving concepts and strategies in the management of polytrauma patients [J]. J Clin Orthop Trauma, 2021, 12(1): 58-65.
- [2] Mi YH, Xu MY. Trauma-induced pulmonary thromboembolism: What's update? [J]. Chin J Traumatol, 2022, 25(2): 67-76.
- [3] 仲伟喜,黄冠东,黄剑吟,等.血栓弹力图联合常规凝血功能在术前创伤患者深静脉血栓形成的预测价值.中华急诊医学杂志, 2023, 32(5): 600-605.
- [4] 边春红,郭胜香,何逸林,等.老年住院患者 FIB、APTT 水平变化与下肢 DVT 的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(3): 422-425.
- [5] 熊炜,童岷奎,舒君瑜,等.血栓弹力图联合凝血六项指标评估急诊多发性创伤患者病情严重程度的应用价值[J]. 现代医院, 2023, 23(6): 981-984.
- [6] 张连阳,王正国.多发伤定义的演进[J]. 中华创伤杂志, 2015, 31(9): 802-804.
- [7] 侯玉芬,刘政.下肢深静脉血栓形成诊断及疗效标准(2015年修订稿)[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2016, 22(5): 520-521.
- [8] 吴国芳,潘艳,刘爱芬,等.外科术后静脉血栓栓塞症发生现状及影响因素[J]. 华南预防医学, 2021, 47(9): 1123-1126.
- [9] 任飞,刘锋卫,李刚.四肢骨折患儿外周血 FIB、FDP、D-二聚体水平与 DVT 发生的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(1): 124-127.
- [10] 徐瑞敏,甘惠玲,代伟宏,等.血清 microRNA-374b-5p 水平预测多发性创伤患者下肢深静脉血栓风险的价值[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(8): 74-80.
- [11] 高慧,何婷婷,高玲.凝血功能指标与创伤性骨折患者术后深静脉血栓形成的关系[J]. 血栓与止血学, 2021, 27(1): 112-113.
- [12] 张玥,亓雪,刘湘,等.血小板参数、纤维蛋白原和 D-二聚体对深静脉血栓形成的诊断价值[J]. 解放军医学杂志, 2021, 46(9): 906-911.
- [13] 任翔,方智靛,李燕萍.彩色多普勒超声和 D-二聚体及凝血酶原时间联合检测对脑梗死患者下肢深静脉血栓的诊断价值[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2023, 25(3): 312-314.
- [14] 叶俊英,黄丽清,余彪,等.创伤性骨折术后凝血功能指标变化与深静脉血栓形成的相关性分析[J]. 基层医学论坛, 2023, 27(17): 142-144.
- [15] 李丽丽,刘洋,屠海霞,等. D-二聚体联合凝血四项指标对下肢深静脉血栓的诊断价值[J]. 血管与腔内血管外科杂志, 2022, 8(7): 856-860.
- [16] 杨松杰,张清旭,吴晓滨,等.血浆纤维蛋白原、D-二聚体检测及双下肢静脉彩超诊断老年下肢骨折并发深静脉血栓的临床价值[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(12): 2930-2932.
- [17] 李欢欢,吴敏.多发伤合并粉碎性骨折患者下肢深静脉血栓形成危险因素分析[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2020, 12(10): 71-74.

2020–2022年深圳市某中医院细菌耐药监测及耐药性分析

卫清¹ 李瑜珍¹ 张惠媚¹ 邓英¹ 蔡闯闯¹ 李诚¹ 袁瑞¹ 张春雷^{2*}

[摘要] **目的** 监测深圳某中医医院2020年至2022年分离菌株的构成及对抗菌药物的耐药性,为中医医院院感防控及临床经验用药提供参考依据。**方法** 选取深圳市某中医院2020至2022年门诊及住院患者标本,采用自动化仪器法、纸片扩散法及E-Test法进行药物敏感试验,以CLSI 2022年文件为标准,利用WHONET 5.6软件对本院三年数据进行分析。**结果** 2020–2022年三年共分离到非重复菌株6 564株,其中住院患者分离出4 232株(64.5%),门诊患者分离2 332株(35.5%)。住院患者分离前5位细菌分别是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌;门诊患者分离前5位的细菌分别是无乳链球菌、大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌、粪肠球菌、淋病奈瑟菌。三年来MRSA的检出率为12.3%~21.1%。粪肠球菌的耐药率显著低于屎肠球菌。肠杆菌目中,大肠埃希菌产超广谱内酰胺酶(ESBL)率为40.2%~43.4%,肺炎克雷伯菌产ESBL率为23.7%~38.2%。非发酵菌中,铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌对大多数抗菌药物的耐药率低于全国水平。CRE检出率为3.2%~3.9%,其中以耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(CRKP)为主。**结论** 本院三年来耐碳青霉烯铜绿假单胞菌(CRPA)的检出率保持平稳,耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌(CRAB)明显下降,MRSA、CRE略有升高,但低于全国水平,应加强院感防控。

[关键词] 细菌耐药性监测;分布;抗菌药物

Surveillance of bacterial resistance in Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital from 2020 to 2022

WEI Qing¹, LI Yuzhen¹, ZHANG Huimei¹, DENG Ying¹, CAI Chuangchuang¹, LI Cheng¹, YUAN Rui¹, ZHANG Chunlei^{2*}

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518000; 2. Clinical Laboratory Center, Southern University of Science and Technology Yantian Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518000)

[ABSTRACT] **Objective** To monitor the composition and antimicrobial resistance of isolates isolated from a hospital of traditional Chinese Medicine in Shenzhen from 2020 to 2022, so as to provide a reference for hospital infection prevention and control and clinical empirical drug use in hospitals of traditional Chinese medicine. **Methods** Specimens of outpatient and inpatient patients from a traditional Chinese medicine hospital in Shenzhen from 2020 to 2022 were selected. Antimicrobial susceptibility testing was carried out according to the CHINET unified protocol using the Kirby-Bauer method, automated systems, and the E-test method. Results were interpreted according to the breakpoints recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute in 2020. Three years of data were retrospectively analyzed by WHONET 5.6 software. **Results** A total of 6564 non-repeating strains were isolated from 2020 to 2022, among which 4232 (64.5%) were isolated from inpatients and 2332 (35.5%) were isolated from outpatients. The top 5 isolates of hospitalized patients were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter*

基金项目:深圳市医学检验分子诊断重点实验室开放课题(ZDSYSKFKT01)

作者单位:1. 深圳市中医院检验科, 广东, 深圳 518000

2. 南方科技大学盐田医院医学检验中心, 广东, 深圳 518000

*通信作者:张春雷, E-mail: czhang0755@163.com

baumannii. The top 5 isolates of outpatients were *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, Coagulase negative staphylococci, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*. The detection rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the past three years was 12.3%~21.1%. The resistance rate of *Enterococcus faecalis* is significantly lower than that of *Enterococcus faecalis*. Among Enterobacteriaceae, the production rate of extended-spectrum lactamases (ESBL) by *Escherichia coli* is 40.2%~43.4%, and the production rate of ESBL by *Klebsiella pneumoniae* is 23.7%~38.2%. Among non-fermenting bacteria, the resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* to most antibiotics are lower than the national level. The detection rate of CRE is 3.2%~3.9%, with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) being the main strain. **Conclusions** The detection rate of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (CRPA) in our hospital has remained stable over the past three years, while that of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) has significantly decreased. The detection rate of MRSA and CRE slightly increased, but lower than the national level. The prevention and control of hospital infection should be strengthened.

[KEY WORDS] Bacterial resistance surveillance; Distribution; Antimicrobial agent

随着抗菌药物的广泛应用,细菌耐药已经成为人类共同关注的话题。综合性西医院感染多重耐药菌的多中心调查研究^[1]显示,近年来各种多重耐药细菌显著增加,已经给临床抗感染疾病的治疗和医院感染的控制带来了严峻的挑战。然而已有的耐药监测数据大部分均来自西医医院,国内关于综合性中医院情况的报道比较少见。为此,本文回顾性分析深圳市中医院(以下简称“本院”)2020–2022年分离的6 564株细菌及耐药监测数据,旨在为中医院院感防控及临床经验性用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细菌来源

收集深圳市中医院2020–2022年住院及门诊患者分离的菌株,共6 564株(剔除同一患者分离的重复菌株)

1.1.2 实验材料

全自动生化鉴定仪及药敏系统(Vitek 2 Compact, 法国生物梅里埃公司)。哥伦比亚血琼脂、巧克力琼脂、MAC琼脂、MH琼脂和HTM琼脂(均购自广州迪景微生物有限公司)。药敏纸片购自Oxoid公司。

1.2 方法

1.2.1 鉴定及药敏材料

6 564株细菌经VITEK 2 Compact T细菌鉴定仪鉴定。常见细菌药敏试验采用自动化仪器法,革兰阳性球菌用GP67药敏卡,尿液标本革兰阴性杆菌采用GN13卡、非尿标本氧化酶阴性的采用N334卡,氧化酶阳性的采用N335药敏卡进行药敏试验。黏液型铜绿假单胞菌、流感嗜血杆菌及链球菌(无乳链球菌除外)采用纸片扩散法,调0.5麦氏单位菌悬

液接种于相应药敏平板,贴纸片孵育18~24 h后量抑菌圈直径。 α 溶血链球菌青霉素采用E-Test法。质控菌株为大肠埃希菌ATCC25922、铜绿假单胞菌ATCC27853、金黄色葡萄球菌ATCC25923、肺炎链球菌ATCC49619和流感嗜血杆菌ATCC49247。

1.2.2 补充药敏

β -内酰胺酶检测:流感嗜血杆菌、淋球菌、卡他莫拉菌、凝固酶阴性葡萄球菌采用头孢硝噻吩纸片法检测,金黄色葡萄球菌采用青霉素边缘试验检测。克林霉素诱导试验(D-试验):对红霉素耐药且克林霉素非耐药的葡萄球菌、肺炎链球菌、 β -溶血链球菌进行D试验。替加环素:采用微量肉汤稀释法复核最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值。碳青霉烯耐药肠杆菌目细菌(Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)检测:改良碳青霉烯类失活法(Modified carbapenem inactivation method, mCIM)和EDTA-碳青霉烯类失活法(EDTA-modified carbapenem inactivation method, eCIM)。以上检测方法均参照美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)及美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)文件标准^[2-3]。

1.3 统计学方法

采用WHONET5.6软件进行数据处理。计数资料用 n 或(%)表示。

2 结果

2.1 细菌的分布及种类

2020–2022年共分离到非重复菌株6 564株。其中门诊病人分离2 332株(阳性菌1 272株,阴性菌1 060株)。住院病人分离4 232株(阳性菌1 383

株,阴性菌2 849株),门诊及住院患者前五位细菌见表1。

2.2 革兰阳性菌药敏情况

金黄色葡萄球菌343株,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)51株,甲氧西林敏感的金黄色葡萄球菌(MSSA)292株。三年来MRSA的检出率为12.3%~21.1%。肠球菌属321株,粪肠球菌190株,屎肠球菌98株。链球菌属287株,肺炎链球菌40株,均非脑脊液分离株。化脓链球菌7株,对红霉素和克林霉素耐药率为83.3%,其余敏感;无乳链球菌97株,对左氧氟沙星、红霉素、克林霉素和四环素耐药率分别是32.1%、57.4%、43.8%和83.1%。耐药率情况见表2。

2.3 革兰阴性菌药敏情况

2.3.1 肠杆菌目细菌

住院病人分离革兰阴性菌共2 849株。其中

大肠埃希菌三年来产超广谱内酰胺酶(Extended-Spectrum β -Lactamases, ESBL)率分别是40.2%、43.4%、41.3%,肺炎克雷伯菌产ESBL率分别是23.7%、38.2%、30.1%。其他药敏结果见表3。

2.3.2 非发酵革兰阴性杆菌

鲍曼不动杆菌共检出218株,铜绿假单胞菌共检出439株,嗜麦芽窄食单胞菌115株。耐药率结果见表4。

2.3.3 其他

流感嗜血杆菌31株,对氨苄西林、复方新诺明的耐药率为34.6%和31.6%。卡他莫拉菌12株,未发现耐药率超过30%的抗菌药物。

2.4 碳青霉烯类耐药的革兰阴性杆菌

三年内共分离到耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌62株,见表5。三年CRAB检出率分别是41.9%、10.4%、20.8%,CRPA的检出率分别是17.2%、16.9%、18.7%。

表1 2020-2022年门诊及住院标本前五位菌株构成情况

Table 1 Composition of the top five isolates in outpatients and inpatients from 2020 to 2022

门诊			住院		
细菌	n	构成比(%)	细菌	n	构成比(%)
无乳链球菌	525	22.5	大肠埃希菌	1 000	23.6
大肠埃希菌	475	20.4	肺炎克雷伯菌	469	11.1
凝固酶阴性葡萄球菌	284	12.2	铜绿假单胞菌	439	10.4
粪肠球菌	271	11.6	金黄色葡萄球菌	343	8.1
淋病奈瑟菌	126	5.4	鲍曼不动杆菌	218	5.2

表2 2020-2022年主要革兰阳性菌耐药率情况

Table 2 Drug resistance rate of mainly gram-positive bacteria in inpatient from 2020 to 2022

抗菌药物	MRSA		MSSA		粪肠球菌		屎肠球菌		肺炎链球菌	
	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)
青霉素G	51	100.0	270	82.2	173	1.2	91	95.6	37	2.7
苯唑西林	51	100.0	264	0.0	-	-	-	-	-	-
庆大霉素	51	23.5	272	2.2	-	-	-	-	-	-
环丙沙星	50	44.0	271	7.4	54	16.7	37	97.3	-	-
左氧沙星	51	43.1	272	7.4	56	19.6	38	97.4	34	8.8
莫西沙星	44	40.9	270	5.9	-	-	-	-	-	-
复方新诺明	51	21.6	272	5.1	-	-	-	-	34	55.9
克林霉素	47	70.2	257	5.8	2	50.0	-	-	-	-
红霉素	47	72.3	257	26.1	149	59.7	68	89.7	35	97.1
利奈唑胺	51	0.0	272	0.0	142	0.0	89	0.0	-	-
万古霉素	51	0.0	270	0.0	173	0.0	91	0.0	37	0.0
四环素	50	32.0	270	15.9	99	88.9	58	70.7	34	94.1
呋喃妥因	2	0.0	15	0.0	49	2.0	35	62.9	-	-
高浓度庆大霉素	-	-	-	-	167	0.0	91	0.0	-	-
高浓度链霉素	-	-	-	-	163	0.0	89	1.1	-	-
阿莫西林	-	-	-	-	-	-	-	-	30	0.0
头孢曲松	-	-	-	-	-	-	-	-	36	2.8
头孢噻肟	-	-	-	-	-	-	-	-	33	3.0
厄他培南	-	-	-	-	-	-	-	-	34	0.0

注:“-”代表未作这些药物。

表3 2020-2022年主要肠杆菌目细菌对常见抗菌药物的耐药性分析

Table 3 Analysis the resistance of Enterobacterales strains to antimicrobial agents from 2020 to 2022

抗菌药物	大肠埃希菌		肺炎克雷伯菌		阴沟肠杆菌		产气克雷伯菌		奇异变形杆菌	
	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)
ESBL	884	41.2	421	32.1	-	-	-	-	-	-
氨苄西林	654	75.5	-	-	-	-	-	-	61	42.6
阿莫西林/克拉维酸	246	12.2	254	17.7	-	-	-	-	12	0.0
头孢哌酮/舒巴坦	249	6.0	262	10.3	42	19.0	32	3.1	30	0.0
氨苄西林/舒巴坦	649	43.1	173	43.4	-	-	-	-	61	27.9
哌拉西林/他唑巴坦	892	1.7	435	9.4	55	30.9	53	22.6	90	0.0
头孢唑啉	528	42.2	103	36.9	-	-	-	-	44	20.5
头孢呋辛	251	50.2	255	36.5	3	0.0	20	45.0	29	20.7
头孢他啶	901	17.8	433	19.6	55	40.0	51	29.4	91	2.2
头孢曲松	900	42.2	428	34.6	54	40.7	53	41.5	90	17.8
头孢吡肟	897	15.5	434	21.9	54	20.4	51	3.9	91	2.2
头孢替坦	649	0.8	173	2.9	-	-	-	-	61	0.0
头孢西丁	238	10.9	246	9.3	-	-	-	-	27	3.7
氨基南	652	26.7	182	30.8	14	21.4	21	19.0	62	1.6
厄他培南	880	0.3	417	1.7	48	14.6	51	2.0	81	0.0
亚胺培南	899	0.8	433	3.2	54	9.3	43	2.3	21	0.0
美洛培南	12	8.3	11	36.4	2	0.0	1	0.0	1	0.0
阿米卡星	904	1.0	435	3.2	55	0.0	51	0.0	90	0.0
庆大霉素	621	23.8	169	16.0	13	0.0	21	0.0	57	12.3
妥布霉素	613	6.0	170	10.0	13	15.4	21	0.0	59	6.8
环丙沙星	654	51.8	179	24.0	14	28.6	21	4.8	62	21.0
左氧氟沙星	867	48.1	431	15.1	55	23.6	51	9.8	89	11.2
呋喃妥因	527	0.8	105	30.5	9	33.3	15	26.7	-	-
复方新诺明	905	43.0	434	35.0	55	29.1	51	7.8	91	47.3

注：“-”代表未作这些药物。

表4 2020-2022年主要非发酵菌对常见抗生素的耐药性分析

Table 4 Analysis the resistance of Nonfermentative bacteria to antimicrobial agents from 2020 to 2022

抗菌药物	鲍曼不动杆菌		铜绿假单胞菌		嗜麦芽窄食单胞菌	
	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)	n	耐药率(%)
	头孢哌酮/舒巴坦	159	12.6	240	12.9	-
氨苄西林/舒巴坦	53	18.9	-	-	-	-
哌拉西林/他唑巴坦	158	22.2	312	1.9	-	-
头孢他啶	212	20.3	404	11.1	34	23.5
头孢吡肟	210	15.7	405	4.7	-	-
亚胺培南	211	20.4	406	17.7	-	-
美洛培南	20	65.0	317	13.2	-	-
阿米卡星	9	44.4	410	0.7	-	-
庆大霉素	53	17.0	173	0.6	-	-
妥布霉素	73	20.5	340	0.9	-	-
环丙沙星	73	37.0	385	6.0	-	-
左氧沙星	212	18.9	403	8.2	132	7.6
复方新诺明	212	19.3	-	-	131	1.5
多西环素	20	70.0	-	-	-	-
米诺环素	20	40.0	-	-	95	2.1
替加环素	92	0.0	-	-	-	-
哌拉西林	-	-	138	10.1	-	-
氨基南	-	-	46	13.0	-	-

注：“-”代表未做这些药物。

表5 2020-2022年CRE菌株变迁

Table 5 Changes of CRE strains from 2020 to 2022

细菌名称	2020		2021		2022		总计	
	n	占比(%)	n	占比(%)	n	占比(%)	n	占比(%)
大肠埃希菌	3	20.0	6	35.3	5	17.9	15	24.2
肺炎克雷伯菌	9	60.0	6	35.3	14	50.0	30	48.4
产气克雷伯菌	1	6.7	-	-	1	3.6	2	3.2
粘质沙雷菌	1	6.7	1	5.9	-	-	2	3.2
弗劳地枸橼酸杆菌	1	6.7	1	5.9	2	7.1	4	6.5
阴沟肠杆菌	-	-	3	17.7	4	14.3	7	11.3
差异柠檬酸杆菌	-	-	-	-	1	3.6	1	1.6
产酸克雷伯菌	-	-	-	-	1	3.6	1	1.6
总共	15	-	17	-	28	-	62	-

注：“-”代表未作这些药物。

3 讨论

影响耐药菌流行的因素包括地区、人群、临床感染类型、当地风俗等⁽⁴⁻⁵⁾。自2005年建立“两网”以来,各医院持续监测细菌耐药变迁情况,以了解当地的细菌耐药情况。

本院在2020-2022年间门诊病人分离菌株占35.5%(2 332/6 564)。本院男科门诊是特色门诊,门诊菌株主要来源于前列腺液培养及精液培养。对比全国耐药监测数据,历年门诊患者分离菌株

占比为 10.4%~17.4%^[6],本院门诊分离株明显较高。其中,前列腺液及精液标本占有所有门诊标本 66.7%(1 563/2 332)。且菌株构成也明显不同,本院门诊菌株前 5 位分别是无乳链球菌、大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌、粪肠球菌、淋病奈瑟菌,皆为泌尿生殖道感染常见病原菌^[7-8]。其中,无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*, GBS) 525 株(181 株分离自产科门诊,325 株分离自男科标本)。GBS 是新生儿感染的主要病原菌,妊娠晚期妇女的重要筛查项目,本院男科标本 GBS 占 20.8%(325/1 563),比例相当于女性携带者的 10%~30%^[9],男性人群中如此高的携带率是否会对新生儿有潜在感染风险还有待于进一步研究。淋球菌共分离出 126 株,21~40 岁 94 株,为淋球菌高发年龄段。20 岁以下患者检出 20 株,可见,未成年人性行为安全防护意识需进一步加强。

住院病人三年来分离的菌株逐年增加,病原菌种类以革兰阴性菌居多,但细菌的构成及所占比例基本稳定,其中肺炎克雷伯菌增加较为明显。本院分离的金黄色葡萄球菌中青霉素敏感株有 48 株,耐药率为 85.0%,低于国内相关报道 92.9%^[10]。凝固酶阴性葡萄球菌中青霉素敏感株有 26 株,耐药率为 89.1%。低于国内数据 94.9%^[11],可见本院青霉素敏感性较高。目前未发现万古霉素、利奈唑胺耐药株。

肠杆菌目耐药监测显示,大肠埃希菌三年中 ESBL 分离率大致平稳,肺炎克雷伯菌 ESBL 分离率呈上升趋势且耐药形式逐年增加,与胡小蹇^[12]报道一致,但仍低于全国水平。对碳青霉烯耐药的革兰阴性杆菌,三年内数量逐渐增加,以肺炎克雷伯菌增加最为明显。虽然与综合性西医院^[13]相比,本院 CRE 分离率显著较低,但呈上升趋势,应引起重视。本院已开展多粘菌素、替加环素和头孢他啶阿维巴坦的药敏试验,未发现耐药株。对于非发酵菌,鲍曼不动杆菌近两年数量明显增多。CRAB 三年检出率由 41.9% 下降到 20.8%,CRPA 保持平稳,但耐药率远低于全国耐药监测数据^[6]。可见,本院多重耐药菌形势较为乐观。

综上所述,与 CHINET 细菌耐药监测网及国内其他报道相比,本院多重耐药菌的检出率显著较低。今后,除了继续做好耐药监测工作外,微生物室工作人员应加强与临床、院感科的沟通,遏制耐药菌的扩散。其次,可加强院感防控方面,如减少侵入性操作,主动筛查,加强病房隔离措施,增加

消毒次数等^[14-15]。另外,MIC 数据对严重感染的治疗至关重要,工作人员应及时提供准确的药敏报告,为临床合理规范用药提供帮助。

参考文献

- [1] Wang Q, Wang X, Wang J, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Data From a Longitudinal Large-scale CRE Study in China (2012-2016) [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67 (suppl_2): S196-S205.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. M100-S30. Wayne, PA: CLSI, 2020.
- [3] U.S. Food and Drug Administration. FDA-identified interpretive criteria [EB/OL]. [2021-04-12]. <https://www.fda.gov/drugs/development-resources/tigecycline-injection-products>.
- [4] Snitkin ES, Zelazny AM, Thomas PG, et al. Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing [J]. *SciTransl Med*, 2012, 4: 148ra116.
- [5] Goodman KE, Simmer PJ, Tamma PD, et al. Infection control implications of heterogeneous resistance mechanisms in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016, 14: 95-108.
- [6] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2022, 22(5): 521-530.
- [7] 陈君,陈轼,倪娜. 门诊男性泌尿系统感染的病原体分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2019, 29(10): 1144-1281.
- [8] 庄东明,于爱莲. 泌尿生殖道细菌感染与男性不育的研究进展 [J]. *泰山医学院学报*, 2007(10): 831-833.
- [9] Tanno D, Saito K, Ohashi K, et al. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry with Time-of-Flight Peak Analysis for Rapid and Accurate Detection of Group B *Streptococcus* in Pregnant Women [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(3): e0173221.
- [10] 张玉娟,刘小荣,郭雅琼,等. 金黄色葡萄球菌感染的临床分析和耐药性监测 [J]. *甘肃医药*, 2022, 41(4): 352-353.
- [11] Cui J, Liang Z, Mo Z, et al. The species distribution, antimicrobial resistance and risk factors for poor outcome of coagulase-negative staphylococci bacteraemia in China [J]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2019, 8: 65.
- [12] 胡小蹇,王琴. 某院 2015-2019 年肺炎克雷伯菌的耐药性及耐药基因分析 [J]. *中国抗生素杂志*, 2022, 47(7): 711-718.
- [13] 吴滢,胡付品,蒋晓飞,等. 2019 年上海市三级医院细菌耐药监测 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2021, 21(1): 1-10.
- [14] 孙丹,施施,杨金燕,等. 2017-2021 年热带地区医院感染细菌监测及耐药性 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2023(7): 1106-1111.
- [15] Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis [J]. [published correction appears in *Lancet*, 2022 Oct 1; 400(10358): 1102]. *Lancet*, 2022, 399(10325): 629-655.

BNP、血小板参数联合 Tei 指数在重症肺炎患儿病情评估中的作用

赵亮 王彦波 周彬*

[摘要] **目的** 分析 B 型钠尿肽(BNP)、血小板参数联合 Tei 指数在重症肺炎(SP)患儿病情评估中的作用。**方法** 对 2021 年 1 月至 2022 年 6 月期间徐州市中心医院诊疗的 112 例 SP 患儿(观察组)及同期 80 名健康儿童(健康组)展开研究,根据 SPI 评分将 SP 患儿分成高危组(SPI: V 级, $n=31$)、中危组(SPI: IV 级, $n=49$)、低危组(SPI: I ~ III 级, $n=32$),并对比健康组、观察组及不同 SP 患儿 BNP、血小板参数、Tei 指数,采用 Pearson 相关性分析 BNP、血小板参数、Tei 指数与 SP 患儿严重程度的相关性。**结果** 健康组 BNP、PLT 指标水平及左、右心室 Tei 指数均低于 SP 患儿,而 PDW、MPV、P-LCR 指标均高于 SP 患儿,差异均有统计学意义($P<0.05$);不同病情严重程度的 SP 患儿 BNP、PLT、左右心室 Tei 指数呈现:低危组<中危组<高危组,而 PDW、MPV、P-LCR 指标呈现:低危组>中危组>高危组,差异均有统计学意义($P<0.05$);经 Pearson 相关性分析得出,SP 患儿病情严重程度与 BNP、PLT、Tei 指数呈正相关($r_{\text{BNP}}=0.842$ 、 $r_{\text{PLT}}=0.932$ 、 $r_{\text{Tei 指数}}=0.764$),与 PDW、MPV、P-LCR 呈负相关($r_{\text{PDW}}=-0.753$ 、 $r_{\text{MPV}}=-0.641$ 、 $r_{\text{P-LCR}}=-0.814$)。**结论** BNP、血小板参数、Tei 指数均与 SP 患儿病情严重程度存在明显的相关性,三指标对患儿病情评估有指导性意义,可为患儿提供更好的临床治疗依据。

[关键词] B 型钠尿肽;血小板参数;Tei 指数;重症肺炎患儿

The effects of BNP, platelet parameters combined with Tei index in the assessment of children with severe pneumonia

ZHAO Liang, WANG Yanbo, ZHOU Bin*

(Department of Pediatrics, Xuzhou Central Hospital, Xuzhou, Jiangsu, 221000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the effects of B-type natriuretic peptide (BNP), platelet parameters and Tei index in the assessment of children with severe pneumonia (SP). **Methods** 112 children with SP (observation group) and 80 healthy children (healthy group) diagnosed and treated in Xuzhou Central Hospital from January 2021 to June 2022 were selected for study, and according to SPI score, the SP children were divided into the high-risk group (SPI: V, $n=31$), the middle-risk group (SPI: IV, $n=49$) and the low-risk group (SPI: I ~ III, $n=32$), BNP, platelet parameters combined and Tei index were compared among the healthy group, the observation group and different SP children, and Pearson correlation was used to analyze the correlation between BNP, platelet parameters combined with Tei index and the severity of SP children. **Results** The levels of BNP, PLT and Tei index of left and right ventricle in the healthy group were lower than those in children with SP, while the indexes of PDW, MPV and P-LCR in the healthy group were all higher than those in children with SP, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Among SP children with different severity of disease, BNP, PLT, left and right ventricular Tei index showed: low risk group <middle risk group <high risk group, while PDW, MPV, P-LCR index showed: low risk group > middle risk group > high risk group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the disease severity of SP children was positively correlated with BNP, PLT and Tei index ($r_{\text{BNP}}=0.842$, $r_{\text{PLT}}=$

基金项目:江苏省自然科学基金面上项目(BK2021121203)

作者单位:徐州市中心医院儿科,江苏,徐州 221000

*通信作者:周彬, E-mail:zhaoliang8224@163.com

0.932, $r_{\text{Tei index}}=0.764$). It was negatively correlated with PDW, MPV and P-LCR ($r_{\text{PDW}}=-0.753$, $r_{\text{MPV}}=-0.641$, $r_{\text{P-LCR}}=-0.814$). **Conclusion** There is a significant correlation between BNP, platelet parameters and Tei index and the severity of children with SP, the three indicators have guiding significance for the evaluation of the disease and can provide better clinical treatment basis for children.

[KEY WORDS] B-type natriuretic peptide; Platelet parameters; Tei index; Children with severe pneumonia

重症肺炎(Severe Pneumonia, SP)是儿科常见的呼吸疾病之一,其主要病因是病原菌感染呼吸道,致使患儿肺部发生炎症,从而进一步引发肺气肿、肺换气功能障碍^[1]。据相关数据报道,SP为我国5岁以下儿童危重症死亡的最主要原因,目前已经达到21%^[2]。而呼吸衰竭、中毒性脑病、心力衰竭等多种并发症是SP患儿主要的致死原因。早期展开积极治疗、有效监控病情发展、预防并发症发生是保障SP患儿生命安全的关键^[3]。B型钠尿肽(B-brain Natriuretic Peptide, BNP)由心房和心室肌细胞产生,与心房压升高和心室舒张期拉伸、心脏舒张功能密切相关,在机体炎症反应中也有着一定的作用^[4]。全心功能指数(Tei指数)作为一个评估心室整体功能的新指标,在评估成人及儿童心室功能中得到广泛的应用,有研究指出,Tei指数是一种评价肺炎患者心脏功能损伤的有效指标^[5]。血小板参数对机体炎症异常敏感,在机体炎症反应过程中起着重要作用。近些年来,大量研究证实上述指标与SP患者的生存情况有着密切联系^[6]。为精准监测SP患儿的病情发展,动态调整治疗与预防方案,本文主要对BNP、血小板参数、Tei指数在SP患儿病情评估中的作用展开分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

对2021年1月至2022年6月期间徐州市中心医院诊疗的112例SP患儿(观察组)及同期80名健康儿童(健康组)展开研究,根据SPI评分^[7]将患儿分成高危组(SPI: V级, $n=31$)、中危组(SPI: IV级, $n=49$)、低危组(SPI: I~III级, $n=32$),其中高危组男18例、女13例;年龄:1~5岁,平均年龄(3.14±0.57)岁;中危组男31例、女18例;年龄:1~5岁,平均年龄(3.41±0.32)岁;低危组男16例、女16例;年龄:1~4岁,平均年龄(3.21±0.40)岁;健康组男48例、女32例,年龄:1~6岁,平均年龄(3.21±0.53)岁。四组资料对比差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组纳入标准:①符合重症肺炎临床诊疗相关

标准^[8];②临床资料完整;③患儿均出现神经系统、呼吸系统、心力衰竭等症状;排除标准:①合并先天性心脏病患儿;②合并原发性神经系统类疾病;③近半个月服用过影响神经系统、呼吸系统、心功能指标的药物。本研究已通过院医学伦理委员会批准,所有患儿监护人均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

采集所有儿童静脉血5 mL,操作时严格按照无菌原则,并在样本采集的60 min内对其进行检验。

1.2.1 BNP检测

将其中3 mL血液样本进行离心(2 800 r/min, 10 min, 离心半径8 cm)处理后取上清液进行BNP水平检测,检测试剂盒由美国伯腾仪器有限公司提供,严格遵照试剂盒说明书进行操作。BNP正常值范围: <100 pg/mL^[9]。

1.2.2 血小板参数检测

将剩余2 mL样本采用血细胞分析仪(型号:BC-2600,迈瑞生物医疗电子股份有限公司,粤械注准2011223066)检测血小板体积分布宽度(Platelet Volume Distribution Width, PDW)、血小板平均体积(Mean Platelet Volume, MPV)、大血小板比率(Large Platelet Cell Ratio, P-LCR)、血小板计数(Platelet Count, PLT)。PDW正常值范围:15~17fl; MPV正常值范围:9.0~13fl; P-LCR正常值范围:17.5%~42.3%; PLT正常值范围:100~300×10⁹/L^[10]。

1.2.3 Tei指数检测

所有儿童均采用彩色多普勒超声心动检测仪(型号:XF3500,绵阳市先锋医疗器械有限公司,川械注准20182230089)检测左右心室情况,并根据心室等容收缩时间(Isovolumetric Contraction Time, ICT)、心室射血时间(Ejection Time, ET)、等容舒张时间(Isovolumic Relaxation Time, IRT)值计算Tei指数, Tei指数=(ICT+IRT)/ET,最终测值取四个心动周期的平均值。左心室Tei正常值范围:0.22~0.39;右心室Tei正常值范围0.29~0.49^[11]。

1.3 统计学方法

采用SPSS 27.0统计学软件分析数据,计量资

料采用($\bar{x} \pm s$)的形式表示,两组间采用 t 检验,多组间用 F 检验;采用 Pearson 相关性分析 BNP、血小板参数联合 Tei 指数与患者病情发展的相关性;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 BNP 水平及血小板参数联合 Tei 指数情况比较

健康组 BNP、PLT 指标水平及左、右心室 Tei 指数均低于 SP 患儿,而 PDW、MPV、P-LCR 指标均高于 SP 患儿,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 BNP 水平及血小板参数联合 Tei 指数情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 BNP level and platelet parameters combined with Tei index between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BNP(pg/mL)	PDW(fl)	MPV(fl)	P-LCR(%)	PLT($\times 10^9/L$)	左心室 Tei	右心室 Tei
健康组	80	76.51 \pm 11.03	15.87 \pm 1.54	11.58 \pm 2.31	22.64 \pm 3.71	205.67 \pm 20.11	0.22 \pm 0.06	0.30 \pm 0.05
观察组	112	124.88 \pm 38.99	8.13 \pm 1.58	9.48 \pm 1.68	13.58 \pm 4.49	278.60 \pm 35.23	0.39 \pm 0.07	0.46 \pm 0.10
t 值		10.785	33.818	7.295	14.795	16.670	17.589	13.176
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与高危组相比,^a $P < 0.05$,与中危组相比,^b $P < 0.05$ 。

表 2 不同病情严重程度的 SP 患者 BNP 水平及血小板参数联合 Tei 指数情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 BNP level and platelet parameters combined with Tei index of SP patients with different severity of disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BNP(pg/mL)	PDW(fl)	MPV(fl)	P-LCR(%)	PLT($\times 10^9/L$)
高危组	31	139.65 \pm 41.55	5.99 \pm 1.03	8.54 \pm 1.14	11.56 \pm 4.10	288.79 \pm 39.17
中危组	49	131.74 \pm 39.71 ^a	8.38 \pm 1.59 ^a	9.12 \pm 1.59 ^a	13.73 \pm 5.76 ^a	279.93 \pm 36.74 ^a
低危组	32	100.07 \pm 35.40 ^{ab}	9.82 \pm 2.11 ^{ab}	10.93 \pm 2.37 ^{ab}	15.31 \pm 6.43 ^{ab}	266.69 \pm 29.09 ^{ab}
F 值		9.43	44.25	45.82	3.60	3.12
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.031	0.048

注:与高危组相比,^a $P < 0.05$,与中危组相比,^b $P < 0.05$ 。

表 3 不同病情严重程度的 SP 患儿 Tei 指数情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Tei index of SP children with different severity of disease ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	左心室 Tei	右心室 Tei
高危组	31	0.56 \pm 0.13	0.57 \pm 0.19
中危组	49	0.39 \pm 0.08 ^a	0.49 \pm 0.09 ^a
低危组	32	0.24 \pm 0.01 ^{ab}	0.30 \pm 0.02 ^{ab}
F 值		133.64	37.65
P 值		<0.001	<0.001

注:与高危组相比,^a $P < 0.05$,与中危组相比,^b $P < 0.05$ 。

2.2 不同病情严重程度的 SP 患儿 BNP 水平及血小板参数联合 Tei 指数情况比较

不同病情严重程度的 SP 患儿 BNP、PLT 指标呈现:低危组<中危组<高危组,而 PDW、MPV、P-LCR 指标呈现:低危组>中危组>高危组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同病情严重程度的 SP 患儿 Tei 指数情况比较

不同病情严重程度的 SP 患儿左右心室 Tei 指数呈现:低危组<中危组<高危组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 4 BNP、血小板参数、Tei 指数与 SP 患儿病情发展的相关性

Table 4 Correlation between BNP, platelet parameters, Tei index and the development of severe pneumonia in children

指标	病情严重程度	
	r 值	P 值
BNP	0.842	<0.001
PDW	-0.753	<0.001
MPV	-0.641	<0.001
P-LCR	-0.814	<0.001
PLT	0.932	<0.001
Tei 指数	0.764	<0.001

善,故临床常根据患儿的临床症状、体征、影像学表现等情况,进一步综合临床医师的过往经验进行评估。但此方案较为繁琐,且主观意识影响较大,导致评估结果严谨性、精准性不高^[12]。

BNP 是一类由心肌细胞合成的天然激素,主要分布于心室,部分存在于脑组织内,具有排钠排水、增加心肌供血的能力,是心力衰竭重要的定量

3 讨论

SP 患儿病情评估的临床规范性指标并未完

标志物。本文分析发现,SP患儿血清BNP水平显著高于健康儿童,且不同病情严重程度的SP患儿BNP指标呈现低危组<中危组<高危组,与任茂等^[13]学者研究结果基本一致。进一步经Pearson分析得出,SP患儿病情严重程度与BNP呈正相关,同国内外研究学者的相关论点基本相符^[14]。推测其原因为,SP患儿发生炎症反应后炎症因子进入血液,导致毛细血管发生痉挛,对心脏负荷产生了干扰,同时刺激了心肌细胞,诱导BNP前体由活化酶裂解形成活性环状多肽,并进入血液循环,导致机体血清内BNP水平升高;而随着病情严重程度增加,心脏负荷进一步增大,加重了心肌细胞缺氧情况,进而增加了BNP代偿性分泌。

血小板是参与机体免疫应答的重要部分,可通过淋巴细胞、抗原呈递细胞等参与机体的适应性调节,同时维持着机体纤溶系统的平衡^[15]。而PDW、MPV、P-LCR、PLT等血小板相关参数能够直接反映血小板情况,包括血小板数量、生成状态、活跃程度等。本文进一步分析发现,SP患儿病情严重程度与PLT呈正相关,与PDW、MPV、P-LCR呈负相关,与刘艳辉等^[16]学者研究相符。推测其原因为,PDW主要反映血小板体积的均一性,当机体受到炎症刺激,可促进骨髓增生生成新的血小板,而全新的血小板一般体积较大,因而血小板均一性较差,且炎症反应越严重,PDW变化越明显;MPV代表所有单个血小板的平均体积,当机体受到感染刺激时可导致血小板的破坏和血小板消耗的增加;新生的血小板由于体积较大,可导致MPV继发性增大;P-LCR是指大型血小板比率,由于新生血小板较多,所以在SP患儿P-LCR显著降低^[17]。

此外,本文进一步研究显示:SP患儿左、右心室Tei指数均高于健康儿童,不同病情严重程度的SP患儿左右心室Tei指数呈现低危组<中危组<高危组,其病情严重程度与Tei指数呈正相关,与薛庆辉^[18]学者在肺炎相关研究中所得出结论一致。分析原因:随着肺炎的发展,SP患儿心肌进一步缺血损坏,导致其心脏功能障碍程度加重,致使其心室舒张末内径增大,缩短了心室射血时间,造成Tei指数升高。这也间接说明Tei指数可作为心功能综合评价指标,其对SP患儿病情评估有较高的临床价值。

综上所述,BNP、血小板参数、Tei指数均与SP患儿病情严重程度存在明显的相关性,对患儿病情评估有指导性意义,可为患儿提供更好的临床治疗依据。

参考文献

- [1] Losonczy G, Lukácsovits J, Süttő Z, et al. Súlyos hypoxaemia légszomj nélkül COVID-19-pneumóniában [Severe hypoxaemia without dyspnoea in COVID-19 pneumonia] [J]. Orv Hetil, 2021, 162(10):362-365.
- [2] Haessler S, Guo N, Deshpande A, et al. Etiology, Treatments, and Outcomes of Patients With Severe Community-Acquired Pneumonia in a Large U.S. Sample [J]. Crit Care Med, 2022, 50(7):1063-1071.
- [3] Du H, Dong X, Zhang JJ, et al. Clinical characteristics of 182 pediatric COVID-19 patients with different severities and allergic status [J]. Allergy, 2021, 76(2):510-532.
- [4] Rueda ZV, Aguilar Y, Maya MA, et al. Etiology and the challenge of diagnostic testing of community-acquired pneumonia in children and adolescents [J]. BMC Pediatr, 2022, 22(1):169-178.
- [5] Morimoto Y, Ishiguro T, Uozumi R, et al. Significance of Hypophosphatemia in Patients with Pneumonia [J]. Intern Med, 2022, 61(7):979-988.
- [6] Godoy MCB, Ferreira DP HR, Truong MT, et al. Invasive Fungal Pneumonia in Immunocompromised Patients [J]. Radiol Clin North Am, 2022, 60(3):497-506.
- [7] 曹彬,蔡柏蔷.美国胸科协会和美国感染病学会对医院内获得性肺炎诊治指南的修订 [J]. 中华内科杂志, 2005, 44(12):945-948.
- [8] 梅雪,李蕾,苑少欣,等.肺炎严重指数与社区获得性肺炎病原学关系的研究 [J]. 中国急救医学, 2017, 37(7):668-672.
- [9] Ferreira-Coimbra J, Sarda C, Rello J. Burden of Community-Acquired Pneumonia and Unmet Clinical Needs [J]. Adv Ther, 2020, 37(4):1302-1318.
- [10] 刘芳,杨翠.基于全人照护管理模式的细心护理干预在小儿肺炎护理中的应用 [J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(5):113-116.
- [11] Chen X, Cao K, Wei Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of severe pneumonias caused by Chlamydia psittaci [J]. Infection, 2020, 48(4):535-542.
- [12] 王宇铤,李悠然,朱宇,等. CK-MB、CRP和CysC在重症肺炎中的表达及与心力衰竭的关系 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(7):1137-1140.
- [13] 任茂,谢云,王天轶,等. 胸腺法新辅助治疗重症社区获得性肺炎临床效果及对细胞免疫功能和炎症反应的影响 [J]. 临床误诊误治, 2022, 35(1):20-23.
- [14] 秦瑶,尹万红,曾学英,等. 重症超声在病毒性肺炎患者循环障碍中的应用思考——基于重症超声的新分型与精准治疗 [J]. 四川大学学报(医学版), 2021, 52(4):555-560.
- [15] 成丹丹,徐春霞,马莉,等. 新型冠状病毒肺炎流行期间来华医学留学生心理健康状况调查研究 [J]. 中华医学教育探索杂志, 2021, 20(3):355-359.
- [16] 刘艳辉,范永会,王建文. 重症肺炎患者外周血NLRP3炎性小体表达水平的变化及临床意义 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(6):970-974.
- [17] 梁云香,徐容,赵颖琼,等. 外周血sTREM-1、sIL-2R及leptin水平与新生儿肺炎病情程度及预后的相关性 [J]. 临床误诊误治, 2022, 35(8):90-94.
- [18] 薛庆辉,安玉凤. 难治性肺炎支原体肺炎患儿外周血PCT、DD及IL-17水平的检测意义 [J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(7):59-62.

sICAM-1、CRP、MMP-12与结肠癌伴糖尿病围术期血糖及术后感染预测

邱巍 陈素梅 刘东声*

[摘要] **目的** 探讨可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)、C反应蛋白(CRP)、基质金属蛋白酶-12(MMP-12)表达情况与结肠癌合并糖尿病患者围术期血糖水平的关系及术后感染的预测价值。**方法** 分析徐州医科大学附属宿迁医院2020年1月至2021年6月纳入的98例结肠癌合并糖尿病患者,以是否发生术后感染为依据,分为感染组($n=40$)及未感染组($n=58$)。观察两组的一般资料,比较术前、术后7d两组的sICAM-1、CRP、MMP-12、血糖水平,并运用Logistic回归分析术后发生感染的影响因素,通过受试者工作特征曲线(ROC)评估血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平对术后发生感染的预测价值。**结果** 两组间围术期血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$);术后7d感染组的sICAM-1、CRP、MMP-12、血糖水平高于未感染组,差异有统计学意义($t=36.466, 8.491, 8.103, 2.045, P$ 均 <0.05);通过多因素Logistic回归分析结果显示围手术期血糖控制不佳与sICAM-1 $\geq 211.0 \mu\text{g/L}$ 、CRP $<0.8 \text{ mg/L}$ 或者 $>8.0 \text{ mg/L}$ 、MMP-12 $<80.0 \text{ mg/L}$ 或者 $>140.0 \text{ mg/L}$ 水平是影响术后发生感染的独立危险因素,差异有统计学意义($P<0.05$);ROC曲线结果显示,血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平四者联合检测诊断价值优于各项单独检测。**结论** sICAM-1、CRP、MMP-12水平升高可促使结肠癌合并糖尿病患者围术期血糖水平增加,且血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平是影响术后发生感染的危险因素,并且血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平四者联合检测对术后发生感染的诊断、预测价值较高。

[关键词] sICAM-1; CRP; MMP-12; 结肠癌; 糖尿病; 术后感染

Prognostic effects of sICAM-1, CRP, MMP-12 on perioperative blood glucose and postoperative infection in patients with colon cancer and diabetes

QIU Wei, CHEN Sumei, LIU Dongsheng*

(Department of Laboratory Medicine, Suqian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University/ Jiangsu Suqian Key Laboratory of Medicine, Suqian, Jiangsu, China, 223800)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expressions of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), C-reactive protein (CRP), matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) and perioperative blood glucose level in patients with colon cancer complicated with diabetes, and the predictive value of postoperative infection. **Methods** 98 patients with colon cancer and diabetes mellitus enrolled in Suqian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University from January 2020 to June 2021 were analyzed and divided into the infected group ($n=40$) and the uninfected group ($n=58$) according to whether postoperative infection occurred. The general data of the two groups were observed, the sICAM-1, CRP, MMP-12 and blood glucose levels of the two groups were compared before and 7 days after surgery, and the influencing factors of postoperative infection were analyzed by logistic regression. The predictive value of blood glucose control and sICAM-1, CRP and MMP-12 levels for postoperative infection was evaluated by the receiver operating characteristic curve

基金项目:江苏省宿迁市科技项目(S201813);江苏省宿迁市检验医学重点实验室项目(M201603)

作者单位:徐州医科大学附属宿迁医院检验科/江苏省宿迁市检验医学重点实验室,江苏,宿迁 223800

*通信作者:刘东声, E-mail: 13739132375@163.com

(ROC). **Results** There was a statistical significance in perioperative blood glucose control and sICAM-1, CRP and MMP-12 levels between the two groups ($P<0.05$). The levels of sICAM-1, CRP, MMP-12 and blood glucose in the infected group were higher than those in the uninfected group 7 days after surgery, and the difference was statistically significant ($t=36.466, 8.491, 8.103, 2.045, P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that perioperative poor glycemic control was associated with sICAM-1 $\geq 211.0 \mu\text{g/L}$, CRP $<0.8 \text{ mg/L}$ or $>8.0 \text{ mg/L}$, MMP-12 $<80.0 \text{ mg/L}$ or $>140.0 \text{ mg/L}$ level is an independent risk factor for postoperative infection, with statistical significance ($P<0.05$). The ROC curve results showed that the combined detection value of blood glucose control and sICAM-1, CRP and MMP-12 levels is better than each individual detection. **Conclusion** The increase of sICAM-1, CRP and MMP-12 levels can promote the increase of perioperative blood glucose level in patients with colon cancer and diabetes, and the control of blood glucose and the levels of sICAM-1, CRP and MMP-12 are risk factors for postoperative infection. Moreover, the combined detection of blood glucose control and sICAM-1, CRP and MMP-12 levels have a high value in the diagnosis and prediction of postoperative infection.

[KEY WORDS] sICAM-1; CRP; MMP-12; Colon cancer; Diabetes; Postoperative infection

结肠癌是常发于结肠的恶性肿瘤,其症状表现为腹部肿块、肠梗阻、脓血便等,严重影响患者的身体健康^[1]。近年来由于不良的生活习惯、西化的饮食结构、糖尿病患者不断增加等因素影响,使得该疾病的发病率呈上升趋势。现如今,手术作为治疗结肠癌的重要手段,但结肠癌合并糖尿病患者具有血糖水平较高、免疫力低的特征,为细菌繁殖提供适宜的环境,导致患者术后易引发感染,影响治疗效果。史又文等^[2]研究显示,围术期炎症反应对术后恢复具有重要影响。可溶性细胞间黏附分子-1(soluble intercellular adhesion molecules-1, sICAM-1)在抗原呈递细胞膜表面表达, sICAM-1在自身免疫性疾病中呈高水平表达。C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是因某些因子损伤机体组织或者器官,致使血浆中浓度明显上升的一种急性蛋白。基质金属蛋白酶-12(matrix metalloproteinase-12, MMP-12)属于一种金属蛋白酶,由巨噬细胞产生,并参与炎症反应过程^[3]。但目前对于结肠癌合并糖尿病患者中 sICAM-1、CRP、MMP-12及血糖水平与临床意义尚不明确,本研究旨在通过检测 sICAM-1、CRP、MMP-12、围术期血糖水平,探讨四者对结肠癌合并糖尿病患者的诊断及预测价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择本院2020年1月至2021年6月纳入的98例结肠癌合并糖尿病患者作为研究对象,以是否发生术后感染为依据,分为感染组($n=40$)以及未

感染组($n=58$),其感染组的平均年龄为(50.87 ± 5.74)岁,未感染组的平均年龄为(51.45 ± 5.92)岁,两组年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),可比。纳入标准:①符合《NCCN结肠癌临床诊疗指南解读》^[4]中结肠癌诊断标准者,且术后通过手术病理学检查证实;②符合《2010年ADA糖尿病诊疗指南》^[5]中糖尿病诊断标准者,且通过糖耐量检查证实;③术中未发生肠粘连等不良情况等。排除标准:①合并其他感染性疾病者;②合并肝、肾等重要脏器功能异常者;③长期服用抗菌药物或者类似治疗等。研究经患者及家属同意,研究经院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

采集两组患者的外周静脉血4 mL,血清sICAM-1、CRP、MMP-12水平由酶联免疫吸附进行检测,根据试剂盒的说明书进行严格操作。各指标正常参考范围:sICAM-1低于 $211.0 \mu\text{g/L}$ 、CRP在 $0.8\sim 8.0 \text{ mg/L}$ 之间、MMP-12在 $80.0\sim 140.0 \text{ mg/L}$ 之间。测定患者的空腹血糖,血糖控制良好范围在 $3.9\sim 6.1 \text{ mmol/L}$ 之间,血糖控制不佳范围高于 6.1 mmol/L 。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;应用Logistic回归分析术后发生感染的影响因素。通过ROC评价血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平与联合检测对术后发生感染的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

两组间的性别、年龄、肿瘤直径、结肠癌合并糖尿病平均病程比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组间的围手术期血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料比较 [$n(\%)$]

因素	感染组 ($n=40$)	未感染组 ($n=58$)	χ^2 值	P 值
性别				
男	17(42.50)	25(43.10)	0.004	0.953
女	23(57.50)	33(56.90)		
年龄(岁)				
>45	26(65.00)	27(46.55)	3.244	0.072
≤45	14(35.00)	31(53.45)		
肿瘤直径(cm)				
<5	18(45.00)	35(60.34)	2.245	0.134
≥5	22(55.00)	23(39.66)		
结肠癌合并糖尿病 平均病程(年)				
<1	19(47.50)	20(34.49)	1.674	0.196
1~2	21(52.50)	38(65.51)		
围手术期血糖控制情况				
不佳	9(22.50)	4(6.90)	5.009	0.025
良好	31(77.50)	54(93.10)		
sICAM-1($\mu\text{g/L}$)				
≥211.0	29(72.50)	30(51.72)	4.265	0.039
<211.0	11(27.50)	28(48.28)		
CRP(mg/L)				
0.8~8.0	5(12.50)	18(31.03)	4.528	0.033
<0.8或者>8.0	35(87.50)	40(68.97)		
MMP-12(mg/L)				
80.0~140.0	4(10.00)	16(27.59)	4.507	0.034
<80.0或者>140.0	36(90.00)	42(72.41)		

2.2 两组 sICAM-1、CRP、MMP-12、血糖水平比较

术前,两组间sICAM-1、CRP、MMP-12、血糖水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与术前比

表2 两组 sICAM-1、CRP、MMP-12、血糖水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sICAM-1($\mu\text{g/L}$)		CRP(mg/L)		MMP-12(mg/L)		血糖(mmol/L)	
		术前	术后7d	术前	术后7d	术前	术后7d	术前	术后7d
感染组	40	114.12±9.15	216.09±9.50 ^a	2.19±1.10	3.52±0.71 ^a	102.41±12.57	164.76±35.83 ^a	6.20±1.05	6.74±0.45 ^a
未感染组	58	114.32±10.45	137.36±11.14 ^a	2.15±1.12	2.41±0.58 ^a	103.16±11.98	117.59±21.74 ^a	6.24±1.21	6.57±0.37 ^a
t 值		0.098	36.466	0.175	8.491	0.299	8.103	0.170	2.045
P 值		0.922	<0.001	0.861	<0.001	0.766	<0.001	0.866	0.044

注:与术前比较,^a $P < 0.05$ 。

较,术后7d两组间sICAM-1、CRP、MMP-12、血糖水平均上升,且感染组高于未感染组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 影响结肠癌合并糖尿病患者术后发生感染的多因素 Logistic 回归分析

因变量为术后感染,自变量为围手术期血糖控制情况(不佳=1,良好=0)与sICAM-1($\geq 211.0 \mu\text{g/L}=1, < 211.0 \mu\text{g/L}=0$)、CRP($< 0.8 \text{ mg/L}$ 或者 $> 8.0 \text{ mg/L}=1, 0.8 \sim 8.0 \text{ mg/L}=0$)、MMP-12($< 80.0 \text{ mg/L}$ 或者 $> 140.0 \text{ mg/L}=1, 80.0 \sim 140.0 \text{ mg/L}=0$)水平,通过多因素 Logistic 回归分析结果显示围手术期血糖控制不佳与sICAM-1 $\geq 211.0 \mu\text{g/L}$ 、CRP $< 0.8 \text{ mg/L}$ 或者 $> 8.0 \text{ mg/L}$ 、MMP-12 $< 80.0 \text{ mg/L}$ 或者 $> 140.0 \text{ mg/L}$ 水平是影响结肠癌合并糖尿病患者术后发生感染的独立危险因素,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 Logistic 回归分析结肠癌合并糖尿病患者术后发生感染的影响因素

Table 3 Logistic regression analysis of the influencing factors of postoperative infection in patients with colon cancer and diabetes

变量	回归系数	S.E.值	Wald χ^2	OR	95% CI	P 值
血糖控制	0.559	0.228	7.157	2.291	1.600~3.312	0.009
sICAM-1	1.058	3.274	1.335	1.628	1.331~2.316	0.003
CRP	1.018	2.370	1.325	1.022	0.899~1.931	0.002
MMP-12	0.529	0.251	5.548	1.676	1.052~2.743	0.012

2.4 血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平对结肠癌合并糖尿病患者术后发生感染的预测价值

ROC 曲线结果显示,血糖控制情况、sICAM-1、CRP、MMP-12 四者联合检测诊断价值优于各项单独检测。见表4、图1。

3 讨论

结肠癌的病理机制尚未研究透彻,可能与腺瘤性息肉、环境、遗传等因素有关^[6-8]。罗琼等^[9]相

表4 血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平对结肠癌合并糖尿病患者术后发生感染的预测价值

Table 4 Predictive value of blood glucose control and sICAM-1, CRP, MMP-12 levels on postoperative infection in patients with colon cancer and diabetes

变量	AUC	敏感度	特异度	95% CI
血糖控制情况	0.736	0.761	0.642	0.668~0.794
sICAM-1	0.961	0.633	0.883	0.741~0.872
CRP	0.934	0.651	0.894	0.751~0.880
MMP-12	0.921	0.632	0.857	0.734~0.862
联合诊断	0.987	0.931	0.980	0.961~0.983

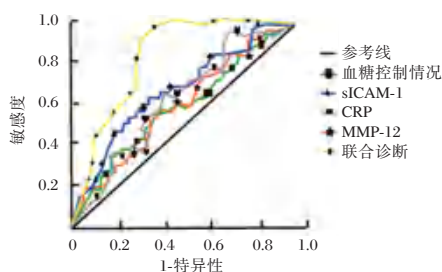


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

关研究中显示,由于高脂高蛋白饮食结构、肥胖、缺乏运动等因素影响,提高2型糖尿病与结直肠癌共同发生的危险性。McKeown-Eyssen G等^[10]的研究中以结直肠癌的发病机制为依据提出“高胰岛素血症假说”,即胰岛素抵抗提高机体葡萄糖、胰岛素水平,进而引发有丝分裂效应导致结直肠癌的发病率增加。对于结肠癌患者,手术是当前治疗该疾病的首选方案,但结肠癌合并糖尿病患者可因持续高血糖造成代谢失衡,进而引发并发症,增加术后感染的概率^[11-12]。

sICAM-1作为免疫球蛋白超家族成员,可通过蛋白酶裂解细胞外膜成分脱落形成,且在炎症与免疫反应中作用突出。CRP是急性时相蛋白中较为敏感的一种炎症指标,可直接或间接参与炎症反应过程。MMP-12具有底物特异性、ECM重建特性的特点,可参与脑梗死、肺纤维化、肿瘤转移等多种病理过程。

本研究结果提示sICAM-1、CRP、MMP-12水平升高可促使患者围术期血糖水平增加,且血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平是影响术后发生感染的危险因素,并且血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平四者联合检测对术后发生感染的诊断、预测价值较高。分析其原因

为结肠癌合并糖尿病是临床较为复杂的一种综合性疾病,且糖尿病在术后易引发不良事件^[13-14]。术后患者会降低机体免疫功能,且手术带有创伤性,使患者在术后发生感染^[15]。周子凡^[16]在研究中指出,由于手术创伤、炎症因子以及身体免疫反应,以糖尿病为代表的基础性疾病可造成患者在术后发生不同程度的感染,影响身体康复。同时患者在术后免疫功能降低可促进炎症细胞释放炎症因子与趋化因子,致使体内聚集过多的活化中性粒细胞,且细胞间的黏附性提高,为炎症因子提供适合的生存环境。sICAM-1同表面含有相应配体的细胞产生反应,并刺激炎症反应。CRP作为机体内存在感染的炎症指标,能够预测患者发生感染或者死亡的概率,可利于炎症介质进入血液,激活内皮细胞因子并使血液出现凝固。MMP-12能够对细胞外基质的蛋白酶产生降解作用,并在炎症反应中促使MMP-12水平上升。可见,血糖水平与sICAM-1、CRP、MMP-12水平呈正相关。另外,机体蛋白代谢异常以及血脂紊乱影响有关蛋白分解,致使手术切口愈合需要的蛋白质含量不足,并且糖尿病会对机体的微循环造成一定程度的影响,延迟术后伤口愈合。术后切口炎症介质大量释放,菌群大肆繁殖,持续高血糖引起多种并发症,加重术后感染。因此,血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平是影响患者术后感染的独立危险因素。

综上所述,sICAM-1、CRP、MMP-12水平升高可促使患者围术期血糖水平增加,且血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平是影响患者术后发生感染的危险因素,并且血糖控制情况与sICAM-1、CRP、MMP-12水平四者联合检测对术后发生感染的诊断、预测价值较高。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中国结直肠癌诊疗规范(2023版)[J]. 中华消化外科杂志, 2023, 22(6):667-698.
- [2] 史又文. 围手术期快速康复护理对腹腔镜前列腺癌根治术患者免疫功能及炎症反应的影响[J]. 河北医药, 2019, 41(18):2877-2880.
- [3] 杨松鹏, 杜昕, 刘寒松. 炎症因子水平对结直肠癌合并糖尿病患者术后感染的预测价值[J]. 癌症进展, 2020, 18(15):1559-1562.
- [4] 郑树, 黄彦钦. NCCN结直肠癌临床诊疗指南解读[J]. 实用肿瘤杂志, 2007, 22(3):206-207.
- [5] 美国糖尿病协会. 2010年ADA糖尿病诊疗指南[J]. 糖尿病天地·临床(下旬), 2010, 4(2):56-65.

(下转第2193页)

LDH、LMR及ALI在肺癌诊断及预后评估中的预测价值

顾海迪 王晨洁 杨军*

[摘要] **目的** 研究乳酸脱氢酶(LDH)、淋巴细胞/单核细胞比值(LMR)及肺癌炎症指数(ALI)在肺癌诊断及预后评估中的预测价值。**方法** 选取2019年3月-2021年3月南京医科大学附属苏州医院收治的非小细胞肺癌患者161例,根据病理组织学结合影像分析行肿瘤分期诊断,其中I~II期52例,III~IV期109例。比较不同分期患者血清LDH、LMR及ALI水平,分析血清LDH、LMR、ALI单一及三者联合检测对肺癌的诊断价值;分析无进展生存期(PFS)与总生存期(OS)与临床病理特征及血清LDH、LMR及ALI水平的关系,分析影响肺癌患者生存预后的影响因素。**结果** III~IV期血清LDH、LMR水平高于I~II期,血清ALI水平低于I~II期,差异具有统计学意义($P<0.05$)。LDH+LMR+ALI检测敏感性 & 特异性高于单一检测,敏感性 & 特异性分别为92.07%、86.38%。随访结束,161例肺癌患者中位PFS为8月,中位OS为12月。不同年龄、性别、病理类型的肺癌患者PFS、OS比较差异无统计学意义($P>0.05$);吸烟与不吸烟、临床分期I~II期与临床分期III~IV期、血清LDH <230 U/L与LDH ≥ 230 U/L、LMR <5.93 与LMR ≥ 5.93 、ALI >45.83 与ALI ≤ 45.83 的PFS、OS比较差异有统计学意义($P<0.05$)。COX单因素分析显示,吸烟、临床分期为III~IV期、血清LDH ≥ 230 U/L、LMR ≥ 5.93 及ALI ≤ 45.83 是影响肺癌患者OS的不良预后因素($P<0.05$);COX多因素分析显示,临床分期为III~IV期、血清LDH ≥ 230 U/L、LMR ≥ 5.93 及ALI ≤ 45.83 是影响肺癌患者OS的独立预后危险因素($P<0.05$)。**结论** 检测血清LDH、LMR及ALI对肺癌诊断具有一定价值,三者联合可提高诊断敏感性、特异性;同时,LDH、LMR及ALI可作为影响肺癌总生存预后的独立危险因素,早期检测LDH、LMR及ALI利于评估肺癌患者预后。

[关键词] 乳酸脱氢酶;淋巴细胞/单核细胞比值;肺癌炎症指数;肺癌

Predictive value of LDH, LMR and ALI in diagnosis and prognosis evaluation of lung cancer

GU Haidi, WANG Chenjie, YANG Jun*

(Department of Oncology, Suzhou Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, China, 215000)

[ABSTRACT] **Objective** To study the predictive value of lactate dehydrogenase (LDH), lymphocyte/monocyte ratio (LMR) and advanced lung cancer inflammatory index (ALI) in the diagnosis and prognosis evaluation of lung cancer. **Methods** 161 patients with non-small cell lung cancer admitted to Suzhou Hospital of Nanjing Medical University from March 2019 to March 2021 were selected. According to histopathology combined with image analysis, the tumor stages were diagnosed, including 52 cases of stage I~II and 109 cases of stage III~IV. Serum LDH, LMR and ALI levels of patients were compared at different stages, and the diagnostic value of serum LDH, LMR and ALI alone or combined detection was analyzed; the relationship between progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) and clinicopathological features, serum LDH, LMR and ALI levels were analyzed, the influencing factors on survival and prognosis of patients with lung cancer were analyzed. **Results** The serum LDH and LMR levels in stage III~IV were higher than those in stage I~II, and the serum ALI levels in stage III~IV were lower than those in stage I~II, the difference was statistically sig-

基金项目:苏州市科技计划项目(SYS2020167);苏州市科技发展计划项目(SKJYD2021118)

作者单位:南京医科大学附属苏州医院肿瘤内科,江苏,苏州 215000

*通信作者:杨军, E-mail:287247701@qq.com

nificant ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of LDH+LMR+ALI detection were higher than those of single detection, the sensitivity and specificity were 92.07% and 86.38%, respectively. At the end of follow-up, the median PFS of 161 patients with lung cancer was 8 months and the median OS was 12 months. There is no statistically significant difference in PFS and OS between lung cancer patients of different ages, genders, and pathological types ($P > 0.05$); there were statistically significant differences in PFS and OS between smoking and non-smoking, clinical stage I ~ II and clinical stage III ~ IV, and serum LDH < 230 U and LDH \geq 230 U/L, LMR < 5.93 and LMR \geq 5.93, ALI > 45.83 and ALI \leq 45.83 ($P < 0.05$); COX multivariate analysis showed that clinical stage III ~ IV, serum LDH \geq 230 U/L, LMR \geq 5.93 and ALI \leq 45.83 were independent prognostic risk factors for OS in lung cancer patients ($P < 0.05$). **Conclusion** Detecting serum LDH, LMR and ALI has certain value in the diagnosis of lung cancer, the combination of the three can improve the diagnostic sensitivity and specificity; and LDH, LMR and ALI can be used as independent risk factors affecting the overall survival and prognosis of lung cancer, and early detection of LDH, LMR and ALI is helpful for evaluating the prognosis of lung cancer patients.

[KEY WORDS] LDH; LMR; ALI; Lung cancer

肺癌是危害生命健康的常见恶性肿瘤,近年来肺癌发病率显著增高,尤其是在欧美工业发达地区及我国部分工业大城市中^[1]。肺癌患者早期可能未见症状,主要是由于肺泡无感觉神经,无法感受到疼痛;随着疾病进展,会出现慢性咳嗽、咯血、胸痛等临床症状。大部分肺癌患者发展至晚期才确诊,易错过最佳治疗时机。因此,尽早对患者进行诊断,有利于后期治疗及降低死亡率。临床早已公认肿瘤标志物在肺癌诊断中具有一定临床意义,如神经元特异性烯醇化酶、细胞角蛋白19片段抗原、鳞状细胞癌相关抗原、胃泌素释放肽前体等。但上述肿瘤标志物单一应用诊断敏感性较低,故寻找新颖、敏感性较高的肿瘤标志物已成为临床热点话题^[2]。乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)作为糖酵解途径中的重要酶类之一,可催化葡萄糖向乳酸转化,其与包括小细胞肺癌在内的诸多实体肿瘤预后相关^[2]。淋巴细胞/单核细胞比值(Lymphocyte/monocyte ratio, LMR)是有效反映全身炎症反应的重要指标,而机体炎症反应与免疫状态对于肿瘤发生发展具有一定作用,目前临床已证实 LMR 对直肠癌、鼻咽癌预后具有一定预测价值^[3]。有研究显示,晚期肺癌炎症指数(advanced lung cancer inflammatory index, ALI)对于晚期肺癌患者预后具有较高预测价值,但对于早期肺癌的预后价值尚未清楚^[4]。对此,本文旨在初步研究 LDH、LMR 及 ALI 在肺癌诊断及预后评估中的预测价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 3 月至 2021 年 3 月南京医科大学

附属苏州医院收治的非小细胞肺癌患者 161 例,其中男 111 例,女 50 例,平均年龄(68.22±7.57)岁,病理类型:腺癌 101 例,鳞癌 60 例,根据病理组织学结合影像分析行肿瘤分期^[5]诊断,其中 I ~ II 期 52 例,III ~ IV 期 109 例。

纳入标准:①临床资料无丢失,可满足本次研究需求;②经病理学确诊的非小细胞肺癌^[5];③未行放疗、靶向治疗、免疫检查点抑制剂等抗肿瘤治疗;④意识清晰,可正常沟通者。排除标准:①其他肿瘤患者;②合并其他系统性疾病如心、肝、肾等严重系统性疾病;③近 2 周内使用造血因子或糖皮质激素,近 1 个月内服用抗血小板药物等。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 LDH、LMR 及 ALI 标本采集及检测方法

研究对象于清晨空腹抽取静脉血 5 mL,经离心(3 500 r/min, 15 min, 离心半径 9 cm),抽取上清液,采用西门子全自动生化分析仪及配套试剂盒检测血清 LDH、白蛋白(Albumin, ALB)水平,采用迈瑞全自动血液细胞分析仪器及配套试剂盒检测获得中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、单核细胞计数,LMR、NLR 通过计算获得;BMI=体重(kg)/身高(m)²,ALI=BMI(kg/m²)×ALB(g/dl)/NLR。

1.2.2 随访

均对患者及家属行 2 年电话随访,询问出院后患者病情及生存情况,随访截止时间至 2023 年 3 月。同时观察无进展生存期(Progression free survival, PFS)与总生存期(Overall survival, OS)。PFS 即患者初次治疗日起至患者状态恶化无法坚

持化疗或第1次发现复发转移或死亡时间;OS即初次治疗日至死亡时间。

1.3 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;符合正态分布的计数资料通过n(%)表示,并采用 χ^2 检验,采用Kaplan-Meier方法做生存分析,行Log-rank检验;采用Cox比例风险模型分析影响肺癌患者远期生存预后的影响因素;均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌患者不同分期血清LDH、LMR及ALI水平比较

Ⅲ~Ⅳ期血清LDH、LMR水平高于Ⅰ~Ⅱ期,血清ALI水平低于Ⅰ~Ⅱ期,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 不同分期血清LDH、LMR及ALI水平比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum LDH, LMR and ALI levels in different stages ($\bar{x} \pm s$)

临床分期	n	LDH(U/L)	LMR	ALI
Ⅰ~Ⅱ期	52	210.83±43.62	5.46±1.44	51.67±8.12
Ⅲ~Ⅳ期	109	288.42±51.70	7.58±2.86	40.54±3.63
t值		9.347	5.043	12.037
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 血清LDH、LMR、ALI单一及三者联合对肺癌的诊断价值

单一检测中ALI敏感性及特异性最高,而LDH+

LMR+ALI检测敏感性及特异性高于单一检测,敏感性及特异性分别为92.07%、86.38%。见表2。

表2 血清LDH、LMR、ALI单一及三者联合对肺癌的诊断价值

Table 2 Diagnostic value of serum LDH, LMR, ALI alone or combined in lung cancer

指标	AUC(95% CI)	敏感性 (%)	特异性 (%)	截断值	约登指数
LDH	0.695(0.66~0.81)	69.36	67.42	230U/L	0.493
LMR	0.722(0.70~0.84)	70.53	69.43	5.93	0.538
ALI	0.753(0.72~0.86)	72.08	69.55	45.83	0.587
LDH+LMR+ALI	0.928(0.86~0.93)	92.07	86.38		0.746

2.3 肺癌PFS、OS与临床病理特征及血清LDH、LMR及ALI水平的关系

随访结束,161例肺癌患者中位PFS为8月,中位OS为12月。不同年龄、性别、病理类型的肺癌患者PFS、OS比较差异无统计学意义($P > 0.05$);吸烟与不吸烟、临床分期Ⅰ~Ⅱ期与临床分期Ⅲ~Ⅳ期、血清LDH<230 U/L与LDH≥230U/L、LMR<5.93与LMR≥5.93、ALI>45.83与ALI≤45.83的PFS、OS比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 影响肺癌患者总生存的COX单因素与多因素

COX单因素分析显示,吸烟、临床分期为Ⅲ~Ⅳ期、血清LDH≥230 U/L、LMR≥5.93及ALI≤45.83是影响肺癌患者OS的不良预后因素($P < 0.05$);COX多因素分析显示,临床分期为Ⅲ~Ⅳ期、血清LDH≥230 U/L、LMR≥5.93及ALI≤45.83是影响肺癌患者OS的独立预后危险因素($P < 0.05$)。见表4。

表3 肺癌PFS、OS与临床病理特征及血清LDH、LMR及ALI水平的关系

Table 3 The relationship between PFS, OS, clinicopathological features and serum LDH, LMR and ALI levels in lung cancer

临床特征	PFS(95% CI)	χ^2 值	P值	OS(95% CI)	χ^2 值	P值
年龄	<60岁	12.00(5.84~20.55)	0.832	>0.05	17.00(13.84~20.47)	0.976
	≥60岁	10.00(7.11~12.75)			15.00(11.73~18.59)	
性别	男	11.00(6.27~17.55)	0.263	>0.05	15.00(10.86~17.83)	0.342
	女	10.39(4.85~16.77)			16.00(11.55~18.39)	
吸烟	是	6.00(3.85~7.69)	4.684	<0.001	10.83(8.66~14.52)	5.113
	否	15.00(13.75~23.42)			16.00(11.52~21.75)	
病理类型	腺癌	14.00(12.52~15.17)	0.373	>0.05	15.00(13.72~18.83)	0.438
	鳞癌	14.00(8.57~22.58)			17.00(14.52~20.18)	
临床分期	Ⅰ期~Ⅱ期	15.00(10.25~20.72)	4.886	<0.001	19.00(15.25~22.43)	6.030
	Ⅲ期~Ⅳ期	7.00(5.68~11.43)			14.00(12.57~18.32)	
LDH	<230U/L	18.00(13.47~20.52)	15.639	<0.001	19.00(15.66~23.75)	17.361
	≥230U/L	7.00(5.63~11.73)			10.00(8.52~14.10)	
LMR	<5.93	18.00(12.59~23.14)	14.863	<0.001	18.00(14.34~21.52)	15.273
	≥5.93	8.00(6.59~10.43)			11.00(9.52~15.13)	
ALI	>45.83	18.00(12.38~23.10)	15.873	<0.001	19.00(15.63~23.77)	20.17
	≤45.83	7.00(5.36~10.22)			12.00(10.24~15.88)	

表4 影响肺癌患者总生存的COX单因素与多因素

Table 4 COX univariate and multivariate factors affecting the overall survival of lung cancer patients

项目	赋值	单因素		多因素	
		HR(95% CI)值	P值	HR(95% CI)值	P值
年龄	<60岁 vs ≥60岁	0.813(0.428~1.189)	0.211		
性别	女 vs 男	0.750(0.336~1.059)	0.118		
吸烟	否 vs 是	1.835(1.137~2.315)	0.015	1.359(0.583~1.633)	0.139
病理类型	鳞癌 vs 腺癌	0.713(0.321~1.076)	0.102		
临床分期	I~II期 vs III~IV期	2.436(1.680~3.428)	<0.001	1.487(1.103~2.234)	0.008
LDH	<230 U/L vs ≥230 U/L	3.308(2.188~5.027)	<0.001	1.866(1.112~2.576)	0.003
LMR	<5.93 vs ≥5.93	3.483(2.014~5.147)	<0.001	2.147(1.108~3.528)	<0.001
ALI	>45.83 vs ≤45.83	4.112(2.371~6.811)	<0.001	2.385(1.117~3.863)	<0.001

3 讨论

有氧糖酵解是肿瘤细胞能量代谢的重要特征,LDH是参与糖酵解的关键酶,当肿瘤组织中氧气含量不足时,LDH水平出现上升,经过糖酵解代谢可利于癌细胞产生足够的能量。研究显示,约50%~60%的小细胞肺癌中可检测到血清LDH水平的上升^[6]。有资料显示,炎症相关细胞可向肿瘤微环境中分泌细胞因子,促使肿瘤生长、血管生成及侵袭^[7]。LMR是系统性衡量炎症的重要指标,淋巴细胞与单核细胞在人类免疫反应中起到一定作用。国外有文献报道,以LMR为代表的炎症因子在预测肿瘤预后方面具有独特的临床应用价值^[8]。10年前Jafri SH等^[9-10]学者针对晚期肺癌患者提出一种新的预后指标,称之为ALI。ALI综合了BMI、ALB、NLR等与肿瘤进展有关的指标,与单一NLR比较,更有参考价值。国内有学者^[11-12]发现,ALI值低则表示全身性炎症程度高,其可作为多种癌症患者有效的预后标志物。本次研究结果显示,随着临床分期的增加,血清LDH、LMR水平均呈现上升,ALI水平随之下降,说明血清LDH、LMR、ALI对肺癌诊断具有一定价值。本研究也发现,上述三指标单一检测敏感性与特异性低于三者联合,提示单一检测敏感性 & 特异性无法达到统一的高度,不利于肿瘤的诊断,联合检测则可提高敏感性 & 特异性。

LDH在糖酵解过程中具有重要作用,机体LDH水平可反映肿瘤组织的代谢水平与活跃状态。临床研究显示,血清LDH可作为肿瘤组织与不良预后的重要标志物^[13]。有研究表明^[14],LMR可作为判断诸多实体肿瘤预后的有效指标,如肺癌、鼻咽癌等。在ALI与小细胞肺癌的预后

相关性研究中,发现低ALI(<19.5)与小细胞肺癌总生存率具有显著相关性^[15]。本次研究显示,肺癌患者吸烟与不吸烟、临床分期I~II期与临床分期III~IV期、血清LDH<230 U/L与LDH≥230 U/L、LMR<5.93与LMR≥5.93、ALI>45.83与ALI≤45.83的PFS、OS比较差异有统计学意义;COX多因素分析显示,临床分期为III~IV期、血清LDH≥230 U/L、LMR≥5.93及ALI≤45.83是影响肺癌患者OS的独立预后危险因素。说明血清LDH、LMR及ALI水平与肺癌的预后具有密切的联系。笔者推测血清LDH升高与肺癌预后不良的机制在于三方面,血清LDH水平在一定程度上可反映肿瘤细胞代谢活跃状态,其水平越高意味着肿瘤细胞增殖越快、侵袭度越高;其二血清LDH水平上升可介导缺氧诱导因子的级联反应,促使肿瘤微血管形成,加快肿瘤远处转移;其三LDH活性增强可引发乳酸大量堆积,激活多种免疫抑制细胞,削弱机体抗肿瘤免疫反应,形成免疫抑制的肿瘤微环境。LMR结合淋巴细胞核单核细胞的变化趋势,可以扩大对预后的预测值,放大淋巴细胞在肿瘤进展中的作用。本次研究高LMR的PFS、OS小于低LMR的原因可能是:LMR可平衡淋巴细胞与单核细胞的比值,而单核细胞是肿瘤进展的影响因素。这也间接进一步证实免疫功能与肿瘤进展之间存在联系。但本次LMR与预后之间的相关性与国外学者的研究结果^[15]有出入,可能是选取的截断值不同。

综上所述,检测血清LDH、LMR及ALI对肺癌诊断具有一定价值,三者联合可提高诊断敏感性、特异性;同时,LDH、LMR及ALI可作为影响肺癌总生存预后的独立危险因素,早期检测LDH、LMR及ALI利于评估肺癌患者预后。

参考文献

- [1] 杨齐,曲良卓,李倩.血清IL-38对原发性肺癌患者发生肺栓塞的预测效果[J].保健医学研究与实践,2022,19(1):76-79.
- [2] 吕蕊花,史琳娜,张喜荣,等.代谢组学在肺癌诊断及预后评估中的应用研究进展[J].广西医学,2020,42(8):1028-1030.
- [3] 上官子妍,陈琪,姜敏,等.术前PLR联合NLR检测在肺癌预后评估中的价值[J].海南医学院学报,2022,28(3):198-203+208.
- [4] 赫捷.关于《原发性肺癌诊断标准》的几点说明和体会[J].中国卫生标准管理,2010,1(4):31-32.
- [5] 高波波,唐晓雅,李艳燕,等.肺癌组织中半乳糖凝集素1表达与临床病理特征的关系及其预后评估价值分析[J].东南大学学报(医学版),2021,40(6):743-749.
- [6] 余剑桥,周俊,付海琴.CYFRA21 1、LDH联合NSE检测辅助诊断肺癌及与TNM分期的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(10):1619-1622.
- [7] Mandaliya H, Jones M, Oldmeadow C, et al. Prognostic biomarkers in stage IV non-small cell lung cancer (NSCLC): neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), lymphocyte to monocyte ratio (LMR), platelet to lymphocyte ratio (PLR) and advanced lung cancer inflammation index (ALI) [J]. Transl Lung Cancer Res, 2019,8(6):886-894.
- [8] 蔡宝松,张雁,赵晨阳,等.康艾注射液联合DP方案治疗老年中晚期非小细胞肺癌近期效果及对患者免疫功能影响[J].临床误诊误治,2021,34(1):47-52.
- [9] 杨雁,刘行仁,金钊.干扰UCA1及抑制miR-185-5p对非小细胞肺癌β-Catenin通路的活化、自噬和存活影响[J].四川大学学报(医学版),2019,50(2):157-163.
- [10] 万里,蒋超,尤振兵,等.放化疗在初治不可切除ⅢB期非小细胞肺癌转化治疗中的应用[J].转化医学杂志,2023,12(1):22-25.
- [11] 田阳,宋诗玲,孙启峰.炎症指标及肿瘤标志物在非小细胞肺癌诊断及肿瘤分期中的临床应用[J].国际呼吸杂志,2020,40(22):1723-1728.
- [12] 梁丽红,王维,杨芳.肺癌患者血清淋巴细胞-单核细胞比值、中性粒细胞-淋巴细胞比值及血小板-淋巴细胞比值变化及对预后的预测价值[J].实用医院临床杂志,2022,19(2):126-130.
- [13] 杨进,赵卉,陆友金.NLR、PLR及LMR在恶性胸腔积液诊断中的价值[J].临床肺科杂志,2020,25(10):1478-1481.
- [14] 阙敬文,刘涛,罗达远,等.炎症指标及CT影像学对可手术肺癌患者出现气道播散的预测价值[J].四川医学,2022,43(4):339-344.
- [15] Zhai B, Chen J, Wu J, et al. Predictive value of the hemoglobin, albumin, lymphocyte, and platelet (HALP) score and lymphocyte-to-monocyte ratio (LMR) in patients with non-small cell lung cancer after radical lung cancer surgery [J]. Ann Transl Med, 2021,9(12):976.

(上接第2188页)

- [6] Gorlova OY, Demidenko EI, Amos CI, et al. Downstream targets of GWAS-detected genes for breast, lung, and prostate and colon cancer converge to G1/S transition pathway [J]. Hum Mol Genet, 2017, 26(8):1465-1471.
- [7] Erkinantti S, Marttila M, Sund R, et al. Association of Metformin, Other Antidiabetic Medications, and Statins With Incidence of Colon Cancer in Patients With Type 2 Diabetes [J]. Clin Colorectal Cancer, 2021, 20(2):113-119.
- [8] 钟杰,江丽,鲍宇.1例乙状结肠癌合并糖尿病患者PICC穿刺点反复感染的原因分析及护理[J].医药前沿,2021,11(18):158-159.
- [9] 罗琼,文格波,刘江华.2型糖尿病与结直肠癌关系的研究进展[J].国际病理科学与临床杂志,2009,29(5):421-425.
- [10] Mckeown-Eyssen G. Epidemiology of colorectal cancer revisited: are serum triglycerides and/or plasma glucose associated with risk? [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1994, 3(8):687-695.
- [11] Achebe I, Mbachi C, Palacios P, et al. Predictors of venous thromboembolism in hospitalized patients with inflammatory bowel disease and colon cancer: A retrospective cohort study [J]. Thromb Res, 2021, 199(17):14-18.
- [12] Islam R, Khan R, Ali A, et al. Clinical Factors Affecting Bevacizumab Efficacy With and Without Conventional Chemotherapy in Metastatic Colon Cancer [J]. Am J Ther, 2020, 27(5):500-506.
- [13] Schootman M, Jeffe DB, Ratnapradipa KL, et al. Increased 30-Day Mortality Risk in Patients With Diabetes Mellitus After Colon Cancer Surgery: A Mediation Analysis [J]. Dis Colon Rectum, 2020, 63(3):290-299.
- [14] 孙婷婷.护理干预措施对结肠癌合并糖尿病患者手术预后的影响分析[J].中国医药指南,2019,17(33):319-320.
- [15] Waters EA, Caitlin B, Kaphingst KA, et al. Examining the Interrelations Among Objective and Subjective Health Literacy and Numeracy and Their Associations with Health Knowledge [J]. J Gen Intern Med, 2018, 33(11):1945-1953.
- [16] 周子凡,马小龙,王龙飞,等.感染性心内膜炎术后可溶性细胞间黏附分子1、可溶性P-选择素和凝血功能的表达及其临床意义[J].中国综合临床,2020,36(3):212-216.

Lichtenstein、TEP及TAPP对成人腹股沟疝患者术后VAS评分及CRP、IL-6和TNF- α 水平的影响

田国标* 陈晓波 朱江 张建国 狄长安

[摘要] **目的** 探讨无张力疝修补术(Lichtenstein)、完全腹膜外疝修补术(TEP)及腹腔镜腹膜前疝修补术(TAPP)对成人腹股沟疝患者术后视觉模拟疼痛(VAS)及C反应蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子(TNF- α)的影响。**方法** 选取2018年1月至2020年12月于北京市平谷区医院进行治疗的158例成人腹股沟疝患者临床资料,依据手术方式不同分为A组(TEP)51例、B组(TAAP)53例及C组(Lichtenstein)54例。分析三组手术状况、住院时间及并发症发生率;比较术后即刻、术后24 h、术后7 d、术后1个月及术后3个月患者VAS评分;比较术前与术后7 d患者CRP、IL-6及TNF- α 变化。**结果** A组、B组手术时间长于C组,术中出血量及住院时间均少于C组,术后即刻、术后24 h、术后7 d、术后1个月及术后3个月VAS评分均低于C组,术后7 d,CRP、IL-6及TNF- α 水平均低于C组,差异均有统计学意义($P<0.05$),但A组与B组间手术时间、术中出血量、住院时间、VAS评分、CRP、IL-6及TNF- α 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。三组并发症发生率分别为9.80%、5.66%及16.67%,三组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 较Lichtenstein术,腹腔镜下TEP、TAPP治疗能更有效降低患者术后VAS评分,促进CRP、IL-6及TNF- α 水平下降,可在临床推广应用。

[关键词] 腹腔镜下完全腹膜外疝修补术;腹膜前疝修补术;平片式无张力疝修补术;成人腹股沟疝

Effects of Lichtenstein, TEP and TAPP on postoperative VAS score and the levels of CRP, IL-6 and TNF- α in adults with inguinal hernia

TIAN Guobiao*, CHEN Xiaobo, ZHU Jiang, ZHANG Jianguo, DI Chang'an

(Department of General Surgery, Pinggu District Hospital, Beijing, China, 101200)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of tension-free herniorrhaphy (Lichtenstein), totally extraperitoneal (TEP) hernia repair and transabdominal preperitoneal (TAPP) repair on postoperative Visual Analog Scale (VAS) score, C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF- α) in adults with inguinal hernia. **Methods** The clinical data of 158 adults with inguinal hernia who were treated in Pinggu District Hospital, Beijing from January 2018 to December 2020 were collected. According to different surgical methods, the subjects were divided into group A (51 patients treated with TEP hernia repair), group B (53 patients treated with TAPP repair) and group C (54 patients treated with Lichtenstein). Surgical conditions, hospital stay and the incidence of complications in the three groups were analyzed. The VAS scores immediately after operation, at 24 h after operation, on the 7th day after operation, and at 1 month and 3 months after operation were compared. The changes in CRP, IL-6 and TNF- α before operation and on the 7th day after operation were compared. **Results** The operation time of group A and group B was longer than that of group C. The intraoperative blood loss and hospital stay were less/shorter than those of group C. The VAS scores immediately after operation, at 24 h after operation, on the 7th day after operation, and at 1 month and 3 months after

基金项目:平谷区科技攻关计划项目(201907332)

作者单位:北京市平谷区医院普外科,北京 101200

*通信作者:田国标, E-mail: TianGB12366@163.com

operation were lower than those of group C. On the 7th day after operation, the levels of CRP, IL-6 and TNF- α were lower than those in group C ($P < 0.05$). The above-mentioned indicators showed no statistically significant difference between group A and group B ($P > 0.05$). The incidence rates of complications in the three groups were 9.80%, 5.66% and 16.67%, without statistically significant difference among the groups ($P > 0.05$).

Conclusion Compared with Lichtenstein operation, laparoscopic TEP and TAPP can reduce postoperative VAS score of adults with inguinal hernia more effectively, and help lower the levels of CRP, IL-6 and TNF- α .

[KEY WORDS] TEP; TAPP; Tension-free herniorrhaphy; Adult inguinal hernia

腹股沟疝是一种常见的外科疾病,在腹外疝中占90%,主要因腹股沟区域解剖缺陷引起腹腔内脏器向体表突出,发病时患者会出现腹部不适甚至剧烈疼痛,对患者生活质量产生严重影响^[1]。临床多采取手术治疗该疾病,其中平片式无张力疝修补术(Lichtenstein)因其术后复发率低、创伤小等优点逐渐取代传统张力修补术,成为目前治疗腹股沟疝的首选治疗方式^[2-3]。随着微创技术及腹腔镜疝手术技术的发展,腹腔镜下疝修补术应用比例逐渐升高,目前临床应用较多的微创手术包括腹腔镜下完全腹膜外疝修补术(totally extraperitoneal, TEP)、腹腔镜腹膜前疝修补术(transabdominal preperitoneal, TAPP)^[4]。腹股沟疝术后疼痛是术后常见并发症之一,不仅影响治疗效果,且会对患者生活质量产生影响^[5]。因此,探讨不同手术方式对成人腹股沟疝患者治疗效果具有重要意义,本研究通过分析Lichtenstein、TEP及TAPP对患者VAS评分及C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素-6(interleukin-6,

IL-6)及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2018年1月至2020年12月北京市平谷区医院收治的158例腹股沟疝患者临床资料。纳入标准:①均满足腹股沟疝诊断标准^[6];②均为年龄>18岁的成年人;③均拟接受手术治疗,且满足手术指征;④单侧腹股沟疝;⑤患者均对研究知情同意,临床资料完善。排除标准:①合并重要脏器功能障碍;②既往腹部手术史;③合并恶性肿瘤;④凝血功能障碍;⑤免疫系统疾病;⑥嵌顿疝、滑疝、复发疝;⑦妊娠期女性。依据手术方式不同分成A组(TEP手术)51例、B组(TAAP手术)53例及C组(Lichtenstein手术)54例,三组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。本研究经医院伦理委员会审核批准。

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

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

组别	n	年龄(岁)	病程(月)	体重指数(kg/m ²)	性别		类型		
					男性	女性	直疝	斜疝	复合
A组	51	52.39±5.03	32.15±2.75	18.33±2.01	30(58.82)	21(41.18)	15(29.41)	27(52.94)	9(17.65)
B组	53	53.16±5.28	32.69±2.86	18.82±2.16	29(54.72)	24(45.28)	14(26.42)	30(56.60)	9(16.98)
C组	54	52.74±5.11	33.07±2.59	18.93±2.24	31(57.41)	23(42.59)	16(29.63)	31(57.41)	7(12.96)
χ^2/F 值		0.293	1.495	1.156	0.185		0.657		
P值		0.747	0.227	0.317	0.911		0.957		

1.2 治疗方法

三组患者分别予以TEP、TAPP及Lichtenstein手术治疗,具体手术操作同龚义军^[1]、胡昊颀^[2]及鞠雷^[3]等。所有患者手术均由同一手术团队进行。

1.3 观察指标

1.3.1 手术状况

记录三组手术时间、术中出血量、首次肛门排

气时间及首次下床活动时间并进行比较。

1.3.2 住院时间

记录三组住院时间并进行比较。

1.3.3 疼痛程度

分别于术后即刻、术后24h、术后3d、术后1个月及术后3个月对三组进行视觉疼痛模拟量表(The Visual Analogue Scale, VAS)^[7]评分,总分10分,数值越大表明疼痛程度越重。

1.3.4 炎性应激指标

分别于术前、术后3 d采集三组外周静脉血4.0 mL,以3 000 r/min离心15 min(离心半径10 cm)后取上层清液,使用酶联免疫吸附法检测两组CRP、IL-6及TNF- α 水平,试剂盒均来自北京百奥莱博公司。

1.3.5 并发症

记录三组尿潴留、补片感染、局部血肿、肠粘连、肠梗阻等并发症发生情况。

1.4 统计学方法

采用SPASS 24.0软件对数据进行统计学分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;计量资料($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用重复方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组手术状况及住院时间比较

三组首次肛门排气时间、首次下床活动时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);A组、B组手术时间长于C组,术中出血量及住院时间均少于C组,差异有统计学意义($P < 0.05$),但A组与B组两组间手术时间、术中出血量及住院时间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 三组手术状况指标及住院时间比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of surgical indicators and length of hospital stay among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别 n	手术时间 (min)	术中出血量 (mL)	首次肛门排气时间 (d)	首次下床活动时间 (d)	住院时间 (d)
A组 51	53.31 \pm 7.03 ^{ab}	16.29 \pm 2.58 ^b	0.73 \pm 0.21	1.32 \pm 0.16	3.13 \pm 0.54 ^{ab}
B组 53	52.46 \pm 6.21 ^a	17.13 \pm 2.67 ^a	0.75 \pm 0.22	1.30 \pm 0.17	3.04 \pm 0.51 ^a
C组 54	49.19 \pm 6.59	18.26 \pm 3.16	0.78 \pm 0.23	1.35 \pm 0.15	3.86 \pm 0.62
F值	5.739	6.466	1.329	1.322	34.542
P值	0.004	0.002	0.268	0.270	<0.001

注:与C组比较,^a $P < 0.05$;与B组比较,^b $P > 0.05$ 。

表4 三组CRP、IL-6及TNF- α 水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of CRP, IL-6 and TNF- α levels among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRP(mg/L)		IL-6(pg/mL)		TNF- α (ng/L)	
		术前	术后7 d	术前	术后7 d	术前	术后7 d
A组	51	3.56 \pm 1.11	8.11 \pm 1.54 ^{abc}	9.52 \pm 2.24	14.18 \pm 3.16 ^{abc}	3.22 \pm 0.81	7.13 \pm 1.24 ^{abc}
B组	53	3.62 \pm 1.25	8.02 \pm 1.46 ^{ac}	9.46 \pm 2.21	14.29 \pm 3.21 ^{ac}	3.31 \pm 0.85	7.04 \pm 1.13 ^{ac}
C组	54	3.51 \pm 1.03	10.33 \pm 1.67 ^c	9.41 \pm 2.18	20.13 \pm 3.54 ^c	3.26 \pm 0.84	9.25 \pm 1.48 ^c
F值		0.126	37.534	0.033	56.329	0.152	49.884
P值		0.881	<0.001	0.968	<0.001	0.859	<0.001

注:与C组比较,^a $P < 0.05$;与B组比较,^b $P > 0.05$;与本组术前比较,^c $P < 0.05$ 。

2.2 三组疼痛程度比较

三组间术后即刻、术后24 h、术后7 d、术后1个月及术后3个月VAS评分比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且A组、B组术后即刻、术后24 h、术后7 d、术后1个月及术后3个月VAS评分均低于C组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而A组与B组间术后即刻、术后24 h、术后7 d、术后1个月及术后3个月VAS评分比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 三组VAS评分比较($\bar{x} \pm s$,分)

Table 3 Comparison of VAS scores among the three groups ($\bar{x} \pm s$, minutes)

组别 n	术后即刻	术后24 h	术后7 d	术后1个月	术后3个月
A组 51	3.67 \pm 0.84 ^{ab}	3.22 \pm 0.77 ^{ab}	2.57 \pm 0.71 ^{ab}	1.16 \pm 0.24 ^{ab}	0.61 \pm 0.15 ^{ab}
B组 53	3.54 \pm 0.81 ^a	3.14 \pm 0.74 ^a	2.46 \pm 0.67 ^a	1.03 \pm 0.22 ^a	0.58 \pm 0.17 ^a
C组 54	4.21 \pm 0.95	3.82 \pm 0.84	3.28 \pm 0.78	2.01 \pm 0.36	1.25 \pm 0.21
F值	8.927	12.267	20.310	191.319	238.602
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与C组比较,^a $P < 0.05$;与B组比较,^b $P > 0.05$ 。

2.3 三组炎性应激指标比较

术前,三组CRP、IL-6及TNF- α 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);术后7 d,A组、B组CRP、IL-6及TNF- α 水平均低于C组,差异有统计学意义($P < 0.05$),A组、B组间CRP、IL-6及TNF- α 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

2.4 三组并发症发生率比较

三组间并发症发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

表5 三组并发症发生率比较 [$n(\%)$]

Table 5 Comparison of the incidence rates of complications among the three groups [$n(\%)$]

组别 n	尿潴留	补片感染	局部血肿	肠粘连	肠梗阻	总发生
A组 51	2(3.92)	0(0.00)	2(3.92)	1(1.96)	0(0.00)	5(9.80)
B组 53	1(1.89)	0(0.00)	2(3.77)	0(0.00)	0(0.00)	3(5.66)
C组 54	4(7.41)	0(0.00)	3(5.56)	2(3.70)	0(0.00)	9(16.67)
χ^2 值						5.392
P值						0.067

3 讨论

近年来,随着外科手术的发展,尤其是无张力修补材料的进步,使得成人腹股沟疝外科治疗水平得到巨大进步,目前已有研究证实实施腹股沟疝手术后复发率已低于1%^[8-9]。因此,临床医师对手术关注重点逐渐从单纯疾病复发转变到如何减少术后并发症,加速术后恢复。

补片作为一种植入机体的假体,已经过大量临床试验证实与各个组织相适应,Lichtenstein术已成为腹股沟疝首选手术治疗方式,其主要优势在于创伤小,不会对周围正常组织造成损伤,无需缝合疝缺损处周围肌肉,可减轻张力问题,且手术时间短^[10-11]。随着微创技术的发展,TEP、TAPP的应用逐渐广泛,TEP能够充分保留患者腹膜完整,置入补片后无需再次固定,符合人体解剖特点^[12];TAPP的优势在于术中操作区域集中、可避免生殖股神经损伤、补片覆盖范围广^[13]。本研究结果提示腹腔镜下TEP、TAPP较Lichtenstein术更能促进患者术后恢复。分析原因,腹腔镜下TEP、TAPP在腹腔镜下操作,提高了手术精细化程度,有效避免了对周围血管组织的损伤,降低了术中出血量,缩短了术后住院时间。但是TEP、TAPP手术难度增加,且腹膜缝合更为复杂,从而增加手术时间。术后腹股沟疝区疼痛是术后常见并发症之一,多为术区排除其他疾病引起的放电样疼痛,目前发病机制尚不清晰^[14]。但有学者指出^[15],腹股沟疝术后术区疼痛多与患者年龄、手术方式等有关。本研究结果提示腹腔镜下TEP、TAPP较Lichtenstein术更有利于减轻患者术后疼痛。分析原因,腹腔镜下TEP、TAPP属于后入路手术,补片对腹股沟区神经束造成压迫几率更小;TEP仅需要在腹腔镜下打开腹膜层并放入补片,无需进入腹腔即刻完成手术,TAPP置入补片能够完整覆盖耻骨孔,符合人体解剖结构。两种手术方式对患者造成的创伤较小,进而降低术后疼痛程度^[16]。术后炎症应激反应是手术创伤的重要组成部分,可影响患者免疫功能,影响术后恢复。此外,本研究还显示A、B、C三组间并发症发生率比较差异无统计学意义。

综上所述,与Lichtenstein术比较,腹腔镜下TEP、TAPP在降低术后VAS评分,促进CRP、IL-6及TNF- α 水平下降方面优势更加明显。

参考文献

- [1] 龚义军,任军,谢泽民,等. TAPP术治疗成人腹股沟疝的疗效及其炎症应激及疼痛的影响分析[J]. 空军医学杂志, 2019,35(4):328-330.
- [2] 胡昊颢,吴其肯,夏龙飞,等. 疝环充填式无张力疝修补术治疗成年人腹股沟疝的临床效果观察[J]. 中国基层医药, 2020,27(19):2394-2397.
- [3] 鞠雷,魏士博,尚海. 腹腔镜经腹腔腹膜前疝修补术与Lichtenstein无张力疝修补术治疗腹股沟疝临床对照研究[J]. 临床军医杂志, 2019,47(7):693-694.
- [4] 张敏剑,吴永友,钟丰云,等. 腹腔镜下完全腹膜外疝修补术与经腹腔腹膜前疝修补术治疗成人单侧初发腹股沟疝的效果比较[J]. 中国医药导报, 2023,20(10):84-87+99.
- [5] 吴立胜,余建伟,李煜. 复发腹股沟疝手术方式的选择及临床疗效[J]. 中华消化外科杂志, 2019,18(11):1043-1043.
- [6] 中华医学会外科学分会疝与腹壁外科学组,中国医师协会外科医师分会疝和腹壁外科医师委员会. 成人腹股沟疝诊断和治疗指南(2018年版)[J]. 中华胃肠外科杂志, 2018,21(7):721-724.
- [7] 唐迎泉,向进见,李键,等. 4K高清镜下层解剖联合TEP治疗老年腹股沟疝的临床效果[J]. 中国老年学杂志, 2022,42(8):1869-1872.
- [8] 薛佩,李绍杰,乐飞,等. 新型生物补片在腹腔镜腹股沟疝修补术中临床价值的多中心前瞻性随机对照研究[J]. 中华消化外科杂志, 2023,22(4):532-540.
- [9] 元海成,董国强,张楠,等. 腹股沟复发疝治疗现状及研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2019,25(6):1070-1073.
- [10] 王志,孙敏,李义亮,等. 两种腹腔镜腹股沟疝修补术对男性腹股沟疝患者精索血管及睾丸功能影响的对比分析[J]. 中国医师杂志, 2019,21(2):243-246.
- [11] 黄磊. Lichtenstein手术在当今腹股沟疝治疗中的地位和再认识[J]. 外科理论与实践, 2021,26(5):386-389.
- [12] 曾玉剑,张同,施承民,等. 腹腔镜完全腹膜外疝修补术的临床应用进展[J]. 中华消化外科杂志, 2022,21(9):1197-1200.
- [13] Chen D, Zhang P, Zhang H, et al. Resection of mesothelial cyst of uterine round ligament by laparoscopic transabdominal preperitoneal procedure alone or combined with open surgery [J]. J Int Med Res, 2019,47(11):5475-5482.
- [14] 邹永红,田瑞雪. 三种成人腹股沟疝术式的疗效及手术对术区术后慢性疼痛影响的比较研究[J]. 医学临床研究, 2021,38(9):1331-1333+1337.
- [15] 蒋正顺,尤祥正. 腹腔镜腹股沟疝无张力修补术后并发症的危险因素分析[J]. 腹腔镜外科杂志, 2019,24(8):608-612.
- [16] 张敏剑,吴永友,钟丰云,等. 腹腔镜下完全腹膜外疝修补术与经腹腔腹膜前疝修补术治疗成人单侧初发腹股沟疝的效果比较[J]. 中国医药导报, 2023,20(10):84-87+99.

HP阳性慢性萎缩性胃炎患者血清CD47、NF- κ B及TFF2变化分析

朱丽妮 张磊 张李群 王冬梅*

[摘要] **目的** 探讨HP阳性慢性萎缩性胃炎(CAG)患者血清CD47、核转录因子- κ B(NF- κ B)及三叶因子2(TFF2)变化及意义。**方法** 收集2021年2月至2023年2月间在上海交通大学附属仁济医院浦南分院收治且经胃镜、组织病理学活检确诊为慢性萎缩性胃炎患者228例作为研究对象,根据是否合并HP阳性分为HP阳性CAG组($n=93$)、HP阴性CAG组($n=135$)。另取同期在本院进行体检的健康志愿者100名作为正常对照组。对比三组研究对象的血清CD47、NF- κ B及TFF2水平差异,分析HP阳性CAG患者血清中CD47水平与NF- κ B、TFF2的相关性。根据Sydney系统将CAG患者的炎症反应程度分为1级(轻度)、2级(中度)、3级(重度),根据慢性胃炎OLGA评估系统将CAG患者的病变分期分为I期、II期、III期、IV期,对比不同病情严重程度HP阳性CAG患者的血清CD47、NF- κ B及TFF2水平差异。**结果** 三组间血清CD47、NF- κ B水平的比较为HP阳性CAG组>HP阴性CAG组>正常对照组,TFF2水平的比较为HP阳性CAG组<HP阴性CAG组<正常对照组,差异有统计学意义($F=165.938, 189.372, 131.713, P<0.05$)。Pearson检验发现,HP阳性CAG患者血清CD47水平与NF- κ B水平呈正相关($r=0.374$),与TFF2水平呈负相关($r=-0.391$)($P<0.05$)。不同分级的HP阳性CAG患者血清CD47、NF- κ B水平的比较结果为1级<2级<3级,TFF2水平的比较结果为1级>2级>3级,差异均有统计学意义($F=27.135, 26.833, 21.618, P<0.05$);不同分期的HP阳性CAG患者血清CD47、NF- κ B水平的比较结果为I期<II期<III期<IV期,TFF2水平的比较结果为I期>II期>III期>IV期,差异有统计学意义($F=37.216, 27.917, 25.384, P<0.05$)。**结论** HP阳性CAG患者的血清CD47、NF- κ B水平异常增加,TFF2水平异常降低且与病变严重程度加重相关。

[关键词] 慢性萎缩性胃炎;幽门螺旋杆菌;CD47;NF- κ B;TFF2

Analysis of changes in serum CD47, NF- κ B and TFF2 in patients with HP-positive chronic atrophic gastritis

ZHU Lini, ZHANG Lei, ZHANG Liqun, WANG Dongmei*

(Department of Gastroenterology, Punan Branch, Renji Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, China, 200125)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes and significance of CD47, nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) and three-leaf factor 2 (TFF2) in serum of HP-positive chronic atrophic gastritis (CAG). **Methods** A total of 228 patients admitted to Shanghai Jiaotong University Affiliated Renji Hospital Punan Branch from February 2021 to February 2023 who were diagnosed with chronic atrophic gastritis by gastroscopy and histopathological biopsy were collected as research objects and divided into the HP-positive CAG group ($n=93$) and the Hp-negative CAG group ($n=135$) according to whether they were combined with HP positive. Another 100 health volunteers who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the normal control group. The serum levels of CD47, NF- κ B and TFF2 in three groups were compared, correlation between serum levels of CD47 and NF- κ B and TFF2 in patients with HP-positive CAG was analyzed. According to the Sydney system, degree of inflammatory response in patients with CAG was divided

项目基金:上海市浦东新区浦南分院卫生科技项目(PN2021A5)

作者单位:上海交通大学附属仁济医院浦南分院消化内科,上海200125

*通信作者:王冬梅, E-mail: punan_wangdongmei@163.com

into grade 1 (mild), grade 2 (moderate) and grade 3 (severe), according to OLGA evaluation system of chronic gastritis, pathological stages of patients with CAG were divided into stage I, stage II, stage III and stage IV. The serum levels of CD47, NF- κ B and TFF2 in HP-positive CAG patients with different severity were compared. **Results** The comparison of serum CD47 and NF- κ B levels among the three groups was HP-positive CAG group > HP-negative CAG group > normal control group, and the comparison of TFF2 levels was HP-positive CAG group < HP-negative CAG group < normal control group, the difference was statistically significant ($F=165.938, 189.372, 131.713, P<0.05$). Pearson test showed that the serum CD47 level in HP-positive CAG patients was positively correlated with NF- κ B level ($r=0.374$) and negatively correlated with TFF2 level ($r=-0.391$) ($P<0.05$). The comparison of serum CD47 and NF- κ B levels in different grades of HP-positive CAG patients were grade 1 < grade 2 < grade 3, and the comparison results of TFF2 levels were grade 1 > grade 2 > grade 3, the difference was statistically significant ($F=27.135, 26.833, 21.618, P<0.05$). The comparison of serum CD47 and NF- κ B levels in HP-positive CAG patients with different stages were stage I < stage II < stage III < stage IV, and the comparison of TFF2 levels were stage I > stage II > stage III > stage IV, the difference was statistically significant ($F=37.216, 27.917, 25.384, P<0.05$). **Conclusion** Levels of CD47 and NF- κ B in serum of patients with HP-positive CAG are abnormally increased, level of TFF2 is abnormally decreased, which correlate with the aggravation of lesion severity.

[KEY WORDS] Chronic atrophic gastritis; Helicobacter pylori; CD47; NF- κ B; TFF2

慢性萎缩性胃炎(Chronic atrophic gastritis, CAG)是临床最常见的胃炎类型,病理上以胃黏膜上皮、腺体萎缩且数目减少,可伴幽门腺化生、肠腺化生、不典型增生等,患者伴有上腹部隐痛、嗝气、食欲不振、消瘦、贫血等多个临床不适^[1-2]。幽门螺杆菌(Helicobacter pylori, Hp)感染被认为是CAG发生的最重要病因之一^[3-4]。CD47与胃癌发生相关,已经有研究证实其高表达于胃癌患者的病灶组织中且与总体生存率较差显著相关,也与HP感染相关^[5]。相关研究^[6]发现在CAG患者胃黏膜组织中也存在CD47高表达,可能参与疾病的发生发展及远期癌变过程,但关于CD47通过何种途径影响CAG的发展目前尚无明确结论。核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)参与机体炎症反应、免疫应答等多个过程,与CAG的进展密切相关^[7];三叶因子2(trefoil factor family 2, TFF2)是一种胃窦黏膜上皮细胞合成和分泌的小分子蛋白质,具有修复胃黏膜的功能,CAG患者胃黏膜组织中TFF2的表达进行性减少。本文对HP阳性CAG患者的血清CD47、NF- κ B、TFF2水平及相关性进行分析,旨在为HP阳性CAG患者的病情评估及机制探索等进行新尝试。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2021年2月至2023年2月间在上海交通大学附属仁济医院浦南分院收治且经胃镜、组织

病理学活检确诊为慢性萎缩性胃炎患者228例作为研究对象,由本人签署知情同意书,根据是否合并HP阳性分为HP阳性CAG组($n=93$)、HP阴性CAG组($n=135$)。纳入标准:①经病理检查明确为慢性胃炎^[8];②患者年龄>18周岁且<80周岁;③既往无胃部手术史;④全程配合检查干预等,临床资料完整。排除标准:①合并严重心肝肾功能不全、自身免疫性疾病等可能影响Hp相关性慢性胃炎的检查及治疗的重要疾患;②正在服药可能影响胃部功能的药物;③现在或者入组前6个月内激素服药史;④入组前3个月内抗生素、胃黏膜保护剂、抑酸剂等药物治疗者;⑤合并恶性肿瘤性疾病;⑥妊娠或者哺乳期女性。另取同期在本院进行体检的健康志愿者100名作为正常对照组,各项检查指标均在正常范围内、既往无胃部手术史,均由本人签署知情同意书。萎缩性胃炎组、非萎缩性胃炎组、正常对照组的性别、年龄、体质指数(BMI)等基础资料分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本院伦理委员会审核批准此次研究计划。

表1 三组研究对象的基础资料比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of basic data among three groups of study subjects ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	男/女	年龄(周岁)	BMI(kg/m ²)
HP阳性CAG组	93	48/45	48.29±7.10	22.73±2.19
HP阴性CAG组	135	70/65	48.56±6.88	22.68±2.34
正常对照组	100	54/46	48.30±7.42	22.45±2.62
χ^2/F 值		0.834	0.055	0.394
<i>P</i> 值		0.328	0.946	0.675

1.2 HP 感染诊断标准^[9]

¹⁴C-尿素呼气试验(¹⁴C-UBT)与抗 HP 抗体检测结果均提示 HP 感染阳性。

1.3 胃镜检查与病理学诊断

所有 CAG 患者均接受胃镜及活体组织病理检查确诊,符合中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会制定的《慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2017年)》^[10]中对 CAG 的定义。根据 Sydney 系统将 CAG 患者的炎症反应程度分为 1 级(轻度)、2 级(中度)、3 级(重度)。根据慢性胃炎 OLGA 评估系统判断文中慢性萎缩性胃炎的病变分期,具体可分为 I 期、II 期、III 期、IV 期。

1.4 血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平检测

留取 HP 阳性 CAG 患者的空腹外周静脉血标本,分离血清后采用酶联免疫吸附法检测其中 CD47、核转录因子-κB(NF-κB)及三叶因子 2(TFF2)的水平。

1.5 统计学方法

使用软件 SPSS 23.0 对数据进行统计分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,两组间比较采用卡方检验。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间采用 F 检验。相关性分析采用 Pearson 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组的血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平比较

三组间血清 CD47、NF-κB 水平的比较显示:HP 阳性 CAG 组 > HP 阴性 CAG 组 > 正常对照组;TFF2 比较结果为 HP 阳性 CAG 组 < HP 阴性 CAG 组 < 正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 三组的血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparison of serum CD47, NF-κB, TFF2 among three groups of study subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD47 (ng/mL)	NF-κB (pg/mL)	TFF2 (pg/mL)
HP 阳性 CAG 组	93	25.17±4.10	18.65±2.29	63.32±8.74
HP 阴性 CAG 组	135	21.52±3.76	14.69±2.53	76.06±10.43
正常对照组	100	18.06±2.43	11.40±1.89	82.35±9.60
<i>F</i> 值		165.938	189.372	131.713
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01

2.2 HP 阳性 CAG 患者血清 CD47 与 NF-κB 及 TFF2 的相关性

Pearson 检验发现,HP 阳性 CAG 患者血清 CD47 水平与 NF-κB 水平($r=0.374$)呈正相关,与

TFF2 水平呈负相关($r=-0.391$)($P < 0.05$)。

2.3 HP 阳性 CAG 患者炎症反应程度与血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平的关系

不同分级的 HP 阳性 CAG 患者血清 CD47、NF-κB 水平的比较结果为 1 级 < 2 级 < 3 级, TFF2 水平的比较结果为 1 级 > 2 级 > 3 级,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 HP 阳性 CAG 患者炎症反应程度与血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The relationship between inflammatory response degree and serum CD47, NF-κB, TFF2 levels of HP positive CAG patients ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD47 (ng/mL)	NF-κB (pg/mL)	TFF2 (pg/mL)
1 级	41	22.58±3.60	16.59±2.74	68.91±8.42
2 级	32	24.95±4.22 ^a	19.13±2.38 ^a	60.83±7.15 ^a
3 级	20	30.81±4.83 ^{ab}	22.10±3.46 ^{ab}	55.85±7.19 ^{ab}
<i>F</i> 值		27.135	26.833	21.618
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01

注:与 1 级患者比较,^a $P < 0.05$;与 2 级患者比较,^b $P < 0.05$ 。

2.4 HP 阳性 CAG 患者病变分期与血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平的关系

93 例 HP 阳性 CAG 患者中,OLGA 评估系统将其分为 I 期 29 例、II 期 22 例、III 期 27 例、IV 期 15 例。不同分期的 HP 阳性 CAG 患者血清 CD47、NF-κB 水平的比较结果为 I 期 < II 期 < III 期 < IV 期, TFF2 水平的比较结果为 I 期 > II 期 > III 期 > IV 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 HP 阳性 CAG 患者病变分期与血清 CD47、NF-κB 及 TFF2 水平的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Serum CD47 and NF levels in patients with HP positive chronic atrophic gastritis-κ Analysis of changes in B and TFF2

组别	<i>n</i>	CD47 (ng/mL)	NF-κB (pg/mL)	TFF2 (pg/mL)
I 期	29	19.95±2.43	15.01±2.12	72.75±9.01
II 期	22	23.07±3.29 ^a	17.86±2.34 ^a	65.12±8.53 ^a
III 期	27	28.32±4.17 ^{ab}	20.02±3.05 ^{ab}	57.99±7.48 ^{ab}
IV 期	15	32.67±5.12 ^{abc}	24.38±3.68 ^{abc}	52.04±6.24 ^{abc}
<i>F</i> 值		37.216	27.917	25.384
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01

注:与 I 期患者比较,^a $P < 0.05$;与 II 期患者比较,^b $P < 0.05$;与 III 期患者比较,^c $P < 0.05$ 。

3 讨论

国内 CAG 的发病率越来越高,其中合并 HP 阳性者不在少数,除了该病本身造成的躯体痛苦外,其潜在的癌变风险更是导致胃癌发生率增加的重

要原因^[11]。对存在胃部不适的患者早期进行筛查是HP阳性CAG救治的重要原则,HP阳性诊断目前主要依靠¹⁴C-尿素呼气试验,较为便捷;CAG的诊断金标准是胃镜黏膜组织活检,有创且可重复性差,无法作为常规筛查及病情评估项目,故寻找与疾病关系紧密的血液指标作为初筛手段,用于CAG风险评估、检查及治疗指导,是十分理想可行的。

CD47是近年较受关注的胃癌相关分子,且在胃癌的癌前病变CAG中也有所涉及。Zhou等^[12]指出CD47高表达与胃癌的发生密切相关,可作为独立危险因素评估患者预后。文中结果提示CD47参与CAG的发生发展,同时HP阳性CAG患者的血清CD47水平更高,提示HP感染可进一步促进CD47表达,这也是HP感染促进CAG病情进展、增加癌变风险的重要途径之一^[13]。NF- κ B参与CAG患者的炎症进展,HP感染后可进一步激活TLR4/NF- κ B/COX-2致炎信号通路并增加NF- κ B及其下游炎症因子释放,增加病灶局部及全身的炎症反应程度,加剧病情进展甚至诱导组织癌变^[14]。文中CAG患者血清中NF- κ B水平较正常人群高,且HP阳性CAG患者中其水平更高,这与HP感染加剧CAG患者的炎症反应程度相吻合,持续高表达的NF- κ B不断加重胃黏膜炎症并诱导损伤加重,这也是HP感染对胃黏膜的重要伤害之一。TFF2是一种胃黏膜保护因子,可促进黏膜上皮细胞向黏膜破损部位移行,有研究^[15]发现在胃癌组织中TFF2表达下降且不少中药治疗CAG有效的重要机制之一就是增加胃黏膜中TFF2的表达。文中观察到在CAG患者血清中TFF2水平大幅下降,且在HP阳性患者中下降幅度更显著,说明HP感染可进一步损伤胃黏膜并抑制其修复。相关性分析提示CD47可能通过促进炎症反应、抑制胃黏膜修复等途径影响CAG患者的病情发展。

在HP阳性CAG患者的具体病情分级方面,本研究的结果显示:随病情加重血清CD47、NF- κ B、TFF2水平也发生相应改变,如随炎症反应加重、黏膜病变加重,HP阳性CAG患者均表现出CD47、NF- κ B水平依次增加,TFF2水平依次降低趋势,推测该指标的血清水平检测可间接评估患者病情。在后续临床实践中,可将上述指标作为胃部不适患者的常规早期筛查指标,对存在明显异常者可完善胃镜、病理检查等一系列检查,并辅助评估病情严重程度;治疗期间定期检查上述指

标水平,也可用于疗效的评估等,具有简便、可靠、经济等优势。

综上所述,在HP阳性CAG患者血清中存在CD47、NF- κ B、TFF2水平的明显异常,且存在CD47对NF- κ B、TFF2的一定调控作用,关于其途径调控途径、机制等需后续更多研究开展明确。血清CD47、NF- κ B、TFF2水平与HP阳性CAG患者的病情严重程度间存在紧密关联,可能作为后续临床常规检查手段服务于患者的病情评估、治疗指导等。

参考文献

- [1] Zhang Y, Li F, Yuan F, et al. Diagnosing chronic atrophic gastritis by gastroscopy using artificial intelligence [J]. *Dig Liver Dis*, 2020, 52(5): 566-572.
- [2] Luo J, Cao S, Ding N, et al. A deep learning method to assist with chronic atrophic gastritis diagnosis using white light images [J]. *Dig Liver Dis*, 2022, 54(11): 1513-1519.
- [3] 杨小乔,梁彪,叶丽芳,等.慢性萎缩性胃炎Hp感染患者胃黏膜形态及IL-34、PLR水平探讨[J].*分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(11): 1854-1857.
- [4] Rao W, Xie M, Zang YJ, et al. Chronic atrophic gastritis and Helicobacter pylori infection status in liver transplant recipients [J]. *Transpl Infect Dis*, 2021, 23(3): e13513.
- [5] Zhou Y, Zeng J, Zhou W, et al. Prognostic significance of CKS2 and CD47 expression in patients with gastric cancer who underwent radical gastrectomy [J]. *Scand J Immunol*, 2022, 96(4): e13198.
- [6] 黄婷婷,谢桂丹,蔡潇阳,等.血清CD47水平与幽门螺杆菌感染及慢性萎缩性胃炎进展的关系[J].*国际消化病杂志*, 2022, 42(4): 237-242.
- [7] 李霞,杨云,王慧纬,等.慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜组织中TFF2、miR-181a、RKIP的表达及相关性研究[J].*国际检验医学杂志*, 2022, 43(1): 2578-2582.
- [8] 中华医学会消化病学分会.中国慢性胃炎共识意见(2017年,上海)[J].*胃肠病学*, 2017, 22(11): 670-687.
- [9] 国家消化系统疾病临床医学研究中心(上海),国家消化道早癌防治中心联盟.中国幽门螺杆菌根除与胃癌防控的专家共识意见(2019年,上海)[J].*中华健康管理学杂志*, 2019, 13(4): 285-291.
- [10] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会.慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2017年)[J].*中国中西医结合消化杂志*, 2018, 26(2): 121-131.
- [11] Yang H, Zhou X, Hu B. The 'reversibility' of chronic atrophic gastritis after the eradication of Helicobacter pylori [J]. *Postgrad Med*, 2022, 134(5): 474-479.
- [12] Zhou Y, Zeng J, Zhou W, et al. Prognostic significance of CKS2 and CD47 expression in patients with gastric cancer who underwent radical gastrectomy [J]. *Scand J Immunol*, 2022, 96(4): e13198.

PAPP-A、MMP-9联合 β -HCG检测在稽留流产中的预测价值

李燕^{1*} 耿媛媛² 董君³ 孙文妹¹ 刘月改²

[摘要] **目的** 分析妊娠相关血浆蛋白-A(PAPP-A)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)联合人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)检测在稽留流产中的预测价值。**方法** 选取2018年6月至2020年6月衡水市第二人民医院妇产科的稽留流产女性53例为观察组,另选取同期到院进行孕前检查未发生过自然流产的健康体检者59名为对照组;对比两组不同孕周段(孕8周、孕10周)PAPP-A、MMP-9、 β -HCG值;采用多元Logistic回归分析影响稽留流产的单多因素;对比PAPP-A、MMP-9、 β -HCG单一及联合对稽留流产的预测价值。**结果** 观察组不同孕周段者中MMP-9、 β -HCG水平均高于对照组,PAPP-A水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。多元Logistic回归分析分析结果显示,年龄(>26 岁)、有吸烟史、PAPP-A(<0.42 mIU/L, >2.5 mIU/L)、MMP-9(>537.675 μ g/L)、 β -HCG(<2 500 IU/L, >6 500 IU/L)均为影响稽留流产的相关因素($P<0.05$)。ROC结果显示,PAPP-A、MMP-9、 β -HCG三指标联合预测稽留流产的敏感度和特异度分别为0.812、0.755, $AUC=0.827$ (95% $CI: 0.731-0.923$),明显高于三指标单独预测($P<0.05$)。**结论** 血清PAPP-A、MMP-9、 β -HCG检测对预测稽留流产有一定指导价值,三者联合预测效能更佳,可为临床早期诊断稽留流产提供依据。

[关键词] 妊娠相关血浆蛋白-A; 基质金属蛋白酶-9; 人绒毛膜促性腺激素; 稽留流产

Predictive value of PAPP-A, MMP-9 combined with β -HCG detection in missed abortion

LI Yan^{1*}, GENG Yuanyuan², DONG Jun³, SUN Wenmei¹, LIU Yuegai²

(1. Department of Gynecology, Hengshui Second People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 2. Department of Obstetrics, Hengshui Second People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000; 3. Department of Infertility, the Affiliated Hospital of Hengshui Health School, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the predictive value of pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) combined with Human chorionic gonadotropin (β -HCG) detection in missed abortion. **Methods** 53 missed aborted women from the Obstetrics and Gynecology Department of the Second People's Hospital of Hengshui City from June 2018 to June 2020 were selected as the observation group, and 59 healthy women who had not had spontaneous abortion during the same period were selected as the control group. PAPP-A, MMP-9 and β -HCG values between the two groups were compared at the different gestational stages (8 weeks and 10 weeks). The single and multiple factors affecting missed abortion were analyzed. The prediction value of PAPP-A, MMP-9 and β -HCG in missed abortion was compared. **Results** The levels of MMP-9 and β -HCG in the observation group were higher than those in the control group, and the levels of PAPP-A were lower than those in the control group, with statistical significance ($P<0.05$). Multiple Logistic regression analysis showed that age (>26 years old), smoking history, PAPP-A (<0.42 mIU/L, >2.5 mIU/L), MMP-9 (>537.675 μ g/L) and β -HCG (<2 500 IU/L, >6 500 IU/L)

基金项目:衡水市科技计划项目(2020014042Z)

作者单位:1.衡水市第二人民医院妇科,河北,衡水 053000

2.衡水市第二人民医院产科,河北,衡水 053000

3.衡水卫生学校附属医院不孕不育科,河北,衡水 053000

*通信作者:李燕, E-mail: liyanliyan26@163.com

were related factors affecting the adverse outcome of missed abortion ($P<0.05$). The ROC results showed that the sensitivity and specificity of the three indicators of PAPP-A, MMP-9 and β -HCG combined to predict missed abortion were 0.812 and 0.755, respectively; $AUC=0.827$ (95% CI: 0.731-0.923), which was significantly higher than the three indicators alone ($P<0.05$). **Conclusion** Serum PAPP-A, MMP-9 and β -HCG detection has a certain guiding value in predicting missed abortion. The combination of the three has better prediction performance and can provide a basis for early clinical diagnosis of missed abortion.

[KEY WORDS] PAPP-A; MMP-9; β -HCG; Missed abortion

稽留流产是指胚胎或胎儿死亡并留在子宫腔,无法及时排除,是比较特殊的一种流产类型,严重时引发机体凝血功能障碍,严重威胁患者生命安全^[1]。相关研究报道,稽留流产发病率呈上升趋势,但现临床对于稽留流产的发病机制尚未明确,缺乏早期预测靶标^[2]。对此,寻找有效、简单的生化指标来预测稽留流产极其必要。临床上常采取血清生化指标检测对稽留流产等不良情况进行筛查,如人绒毛膜促性腺激素(Human chorionic gonadotropin, β -HCG)、妊娠相关血浆蛋白-A(pregnancy associated plasma protein-A, PAPP-A)等^[3]。PAPP-A是由蜕膜和胎盘产生的大分子糖蛋白,临床已证实PAPP-A是唐氏综合征筛查标记物之一^[4]。基因金属蛋白酶9(matrix Metalloproteinase-9, MMP-9)是机体重要的水解酶,其参与了降解细胞外基质及细胞侵袭转移的过程。 β -HCG是由胎盘滋养层细胞分泌的一种糖蛋白,是早期妊娠中常用的诊断指标。本研究旨在分析PAPP-A、MMP-9联合 β -HCG检测在稽留流产中的预测价值,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年6月至2020年6月衡水市第二人民医院妇产科的稽留流产女性53例为观察组,另选取同期到院进行孕前检查未发生过自然流产的健康体检者59名为对照组。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已全部签署知情同意书。

稽留流产纳入标准:①经超声检查无胎心搏动或胚胎停止发育,确诊为稽留流产者;②临床资料无缺乏;③生殖系统结构无异常者;④无认知功能障碍者。排除标准:①合并自身免疫性疾病者;②合并心、肝、肾等重要脏器并发症者;③存在严重精神疾病,不能进行正常沟通者。

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 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

一般资料	对照组($n=59$)	观察组($n=53$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	23.59 \pm 1.84	28.15 \pm 2.55	10.931	<0.001
吸烟	26(44.07)	39(73.58)	9.988	<0.001
饮酒	25(42.37)	26(49.06)	0.503	0.478
停经时间(d)	52.11 \pm 8.24	51.78 \pm 8.58	1.122	0.263
平均体重(kg)	57.87 \pm 9.64	58.33 \pm 9.16	0.209	0.647
平均产次(次)	0.84 \pm 0.19	0.86 \pm 0.17	0.259	0.796
平均孕次(次)	1.68 \pm 0.43	1.57 \pm 0.47	0.209	0.647
平均孕周(周)	10.28 \pm 1.23	10.18 \pm 1.43	0.259	0.796

1.2 方法

所有受试者在妊娠孕8周、孕10周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,置于-20℃环境中冷冻备用。使用酶联免疫检测PAPP-A、MMP-9,全自动酶标仪由山东博科生物产业有限公司提供,试剂盒由上海泽叶生物科技有限公司所提供;使用微粒子酶免分析法检测 β -HCG,试剂及仪器均为美国雅培公司所提供。所有血清检测具体步骤严格按照说明书要求操作完成。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0软件进行统计分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)描述,两两间使用 t 检验;计数数据采用 $n(\%)$ 表示,并采用 χ^2 检验;采用多元Logistic回归对影响因素进行分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析PAPP-A、MMP-9联合 β -HCG对稽留流产预测价值,计算其检测曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕周段者PAPP-A、MMP-9、 β -HCG值比较

观察组不同孕周段者中MMP-9、 β -HCG水平均高于对照组,PAPP-A水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组不同孕周段者 PAPP-A、MMP-9、β-HCG 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of PAPP-A, MMP-9 and β-HCG values in different gestational stages ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PAPP-A(mIU/L)		MMP-9(μg/L)		β-HCG(IU/L)	
		孕8周	孕10周	孕8周	孕10周	孕8周	孕10周
对照组	59	1.32±0.54	1.62±0.74 ^a	433.42±83.31	483.62±123.11 ^a	1293.50±170.44	1553.74±190.84 ^a
观察组	53	0.38±0.26	0.68±0.46 ^a	543.30±96.64	574.65±116.64 ^a	2313.15±171.55	2813.43±198.35 ^a
t 值		11.526	7.966	6.461	4.005	31.513	22.246
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与孕8周相比较,^aP<0.05。

2.2 影响稽留流产的单多因素多元 Logistic 回归分析
多元 Logistic 回归分析结果显示:年龄(>26岁)、有吸烟史、PAPP-A(<0.42 mIU/L,>2.5 mIU/L)、

MMP-9(>537.675 μg/L)、β-HCG(<2 500 IU/L,>6 500 IU/L)均为影响稽留流产的相关因素(P<0.05)。见表3。

表3 影响稽留流产患者的单多因素多元 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate logistic regression analysis of influencing missed abortion patients

因素	赋值	单因素分析			多因素分析		
		OR	95% CI	P 值	OR	95% CI	P 值
年龄	>26岁=1,<26岁=0	2.016	1.152~3.487	<0.001	1.849	1.211~2.824	0.002
吸烟	有=1,无=0	2.341	1.107~4.911	0.019	1.554	1.081~2.233	<0.001
PAPP-A(mIU/L)	<0.42 mIU/L,>2.5 mIU/L=1,0.42~2.5mIU/L=0	2.104	1.169~3.495	0.021	1.823	1.139~2.919	0.012
MMP-9(μg/L)	>537.675 μg/L=1,<537.675 μg/L=0	1.596	1.223~2.084	0.015	1.736	1.137~2.652	0.001
β-HCG(IU/L)	<2 500 IU/L,>6 500 IU/L=1,2 500~6 500 IU/L=0	4.414	1.192~14.376	0.009	1.606	1.185~2.176	<0.001

2.3 PAPP-A、MMP-9 联合 β-HCG 对稽留流产的预测价值

ROC 结果显示,三者联合预测稽留流产的敏感度和特异度分别为 0.812、0.755,AUC=0.827(95% CI:0.731~0.923),明显高于 PAPP-A、MMP-9、β-HCG 单独预测(P<0.05)。见表4及图1。

表4 PAPP-A、MMP-9 联合 β-HCG 对稽留流产的预测价值
Table 4 Predictive value of PAPP-A, MMP-9 combined with β-HCG in missed abortion

预测因子	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P 值
PAPP-A	0.396	0.301~0.491	0.659	0.611	0.013
MMP-9	0.430	0.324~0.536	0.741	0.688	0.026
β-HCG	0.471	0.374~0.567	0.760	0.694	0.029
三者联合	0.827	0.731~0.923	0.812	0.755	<0.001

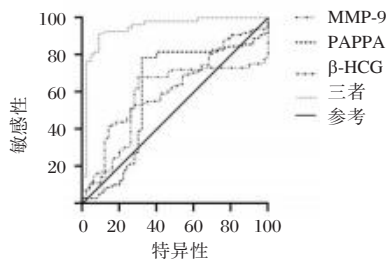


图1 PAPP-A、MMP-9、β-HCG 对稽留流产的预测 ROC 图
Figure 1 ROC diagram of PAPP-A, MMP-9 and β-HCG Prediction of missed abortion

3 讨论

稽留流产是临床妇产科较为常见的不良妊娠结局。相关研究报道,稽留流产发生率呈上升趋势,给产妇身心健康及其家庭均带来巨大痛苦^[5]。随着临床医学技术的不断进步,孕妇血清产前筛查技术被逐步推广。对孕妇某些血清标志物进行检测,同时将其与孕母年龄、体质量等基本指标情况进行综合分析,进而对先天性异常胚胎的风险度进行综合评价,有助于指导孕妇进一步产前诊断^[6]。现临床关于孕早期筛查先天性异常胚胎的相关指标较多,其中 PAPP-A 和 β-HCG、MMP-9 是三项应用较高的血清标志物^[7-8]。

临床已证实 PAPP-A 可作为筛查高危妊娠前及胎儿染色体异常的标志物之一^[9]。相关研究报道显示,PAPP-A 在早期妊娠中对受精卵的着床、配子的发育、胎盘形成等均有着重要作用,PAPP-A 水平变化程度在高危妊娠诊断中及稽留流产中均具有一定预测价值^[10]。本次研究与鲍利改^[11]学者观点一致,说明 PAPP-A 对预测稽留流产具有一定预测价值。分析其原因在于:当胎盘绒毛发育出现异常时,滋养细胞功能下降,PAPP-A 水平也随之下落,导致孕妇流产。

MMP-9是以酶原的形式从胞内分泌到胞外,在体外MMP-9通过有机汞制剂反应才有活性,在体内则可经一系列蛋白酶级联而激活。国外研究报告,MMP-9水平表达越低孕妇的流产率越高,MMP-9通过分解胶原参与了流产发生发展^[12]。本次研究结果显示,观察组MMP-9水平高于对照组。分析其原因可能是:MMP-9可降解蜕膜细胞外基质,其对于蜕膜组织从宫腔剥离是必需的,其活性增高使得这一过程提前进行,进而促使孕妇流产。

β -HCG是临床常用的评估妊娠反应的有效指标之一,HCG是一种糖蛋白,主要是在受精卵着床后由胎盘合体滋养细胞分泌,通常情况下受精卵在着床后便会有HCG产生,其血清浓度在孕8~10周后达到高峰,且最高浓度持续10d左右迅速降低^[13]。在临床中也发现,血清中 β -HCG在妊娠早期诊断价值较高,检测其水平变化可为降低及预防不良妊娠结局的发生提供帮助^[14]。本研究结果与上述研究观点相似,表明 β -HCG可作为预测稽留流产的指标之一。

相关研究报道显示,单个临床指标对预测稽留流产存在不同程度的局限性,联合多个指标检测可提高临床预测价值^[15]。本研究也发现,相比PAPP-A、MMP-9、 β -HCG单独检测,三者联合对稽留流产预测价值更高,ROC中诊断曲线下面积更高,表明三者联合预测稽留流产发生具有更好的效能,可为临床早期诊断稽留流产提供更全面的参考依据,有利于及时对患者做出干预。

综上所述,血清PAPP-A、MMP-9、 β -HCG检测对预测稽留流产有一定指导价值,三者联合预测效能更佳,可为临床早期诊断稽留流产提供依据。

参考文献

- [1] 谢素娟,肖迪,罗欣,等. sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A在稽留流产中的表达及意义[J]. 局解手术学杂志, 2020,29(1):17-21.
- [2] 王笑犁,白剑,胡丹,等. 早期妊娠患者血清IL-17、AS、Ang检测在稽留流产诊断中的价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2021,20(18):1980-1983.
- [3] 安丽英. 阴道超声联合 β -人绒毛膜促性腺激素对葡萄胎和稽留流产的鉴别价值及与临床诊断的一致性分析[J]. 中国妇幼保健, 2021,36(22):5248-5251.
- [4] 米思蓉,张宁梅,罗苗苗,等. IL-17、IL-23及IL-35在稽留流产患者血清中的表达及意义[J]. 西南国防医药, 2020,30(5):414-417.
- [5] 曹蕾,范荣,薛美. 经阴道超声测量宫颈长度联合实验室指标fFN、PAPP-A、IGFBP-1、hCG、MMP-8预测先兆早产的价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2021,29(1):64-68.
- [6] 侍繁,高原,吴晓燕,等. 血清MMP-9、TIMP-1水平对早期稽留流产后宫腔粘连的预测价值[J]. 中国医药导报, 2022,19(18):82-85.
- [7] 刘蓉,蒙林. 孕早期血清 β -HCG、PAPP-A、ADP联合检测对妊娠期糖尿病的诊断价值[J]. 保健医学研究与实践, 2022,19(7):50-54.
- [8] Zhang H, Zhao W. Resveratrol Alleviates Ischemic Brain Injury by Inhibiting the Activation of Pro-Inflammatory Microglia Via the CD147/MMP-9 Pathway [J]. J Stroke Cerebrov Dis, 2022, 31(4):106307
- [9] 韩燕媚,符免艾,王文芳,等. sFlt-1、PLGF及其比值在早期稽留流产孕妇外周血中的变化规律及早诊价值[J]. 疑难病杂志, 2023,22(2):161-165.
- [10] 王艳,吕宝如,郑智. 乳腺癌患者超声弹性成像AR值与硬度评分与MMP-9、BRCA1、P53表达的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023,15(3):459-462+467.
- [11] 鲍利改,董谦. 慢性心力衰竭合并肺部感染患者MIP-2、MMP-9、D-D、miR-21表达及与病原菌类型、心肌功能的关联性研究[J]. 临床误诊误治, 2022,35(3):78-83.
- [12] 哈斯也提·艾力,妮拉·马哈德,帕力达·帕拉哈提,等. miR-138-5p通过调控Survivin表达对食管鳞癌细胞活性的影响[J]. 转化医学杂志, 2021,10(4):217-222.
- [13] Kutsal C, Barhoom H, Halil Baloglu İ, et al. Histopathological effects of β -hCG and vitamin C on the detorsioned testicle in rats with unilateral testicular torsion [J]. J Pediatr Urol, 2022,18(2):115.e1-115.e8.
- [14] 郑娟,谈勇. 定坤丹联合戊酸雌二醇对肾虚薄型子宫内膜大鼠Wnt/ β -catenin信号通路的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2021,52(2):235-240.
- [15] 张小敏,李冰,王申. 孕早期稽留流产发生影响因素及血清Netrin-1、PLGF的预测价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2022,30(12):2812-2815+2820.
- [13] Feng L, Jian R, Wang Y, et al. A close relationship between Helicobacter pylori infection and the serum level of CD47 in adults[J]. Scand J Gastroenterol, 2020, 55(6): 640-645.
- [14] 胡俊强,程佳,李兴瑜,等. 胃安除幽汤对Hp阳性慢性胃炎的影响及机制研究[J]. 山东中医杂志, 2022,41(7):738-743.
- [15] Ge Y, Ma G, Liu H, et al. MUC1 is associated with TFF2 methylation in gastric cancer[J]. Clin Epigenetics, 2020, 12(1): 37.

(上接第2201页)

胚胎移植不同结局人群的游离DNA核小体印迹差异表达分析

梅凤琦¹ 蔡晶² 何珮清² 刘彦慧^{3*}

[摘要] **目的** 分析体外受精-胚胎移植(IVF-ET)治疗后不同结局患者的血浆游离DNA(cfDNA)核小体印迹和差异基因表达谱,探讨影响妊娠结局及胚胎植入的差异基因的生物进程及细胞组分。**方法** 收集2021年5月至2021年10月在广东医科大学顺德妇女儿童医院生殖中心的IVF-ET病例,根据胚胎植入后的结局分为失败组($n=5$)和成功组($n=9$),按胚胎植入前1天、植入后14天和植入后28天三个时间点分别检测患者血浆游离DNA,通过高通量测序对胚胎植入后不同结局和不同时间点的cfDNA核小体印迹和差异基因表达谱进行分析。**结果** 血浆cfDNA核小体印迹中高表达基因的覆盖深度低于低表达基因,同一结局不同时间和同一时间不同结局的cfDNA核小体印迹的基因表达差异有统计学意义($P<0.05$)。基于基因本体(GO)进行功能富集和信号通路分析发现,失败组在不同时间点的差异基因主要与免疫系统变化、发育调节和有机化合物的代谢相关,而成功组的与细胞发育和有机化合物的代谢相关。失败组差异表达基因在植入后14天的有机化合物代谢过程中表达下调,在植入后28天的免疫相关的生物过程表达上调。**结论** 基于血浆游离DNA核小体印迹的差异基因表达分析可有效筛选和富集到胚胎植入后不同结局在不同时间点之间的差异表达基因和相关生物信号通路,为改善IVF-ET结局提供理论依据,利于研究和临床参考。

[关键词] 胚胎移植; 血浆游离DNA; 核小体印迹; 差异基因表达

Differential expression analysis of cell-free DNA nucleosome footprints in populations with different embryo transfer outcomes

MEI Fengqi¹, CAI Jing², HE Peiqing², LIU Yanhui^{3*}

(1. Reproductive Medicine Center of Shunde Women and Children's Hospital of Guangdong Medical University, Foshan, Guangdong, China, 528300; 2. Medical Genetics Laboratory of Dongguan Maternal and Child Health Care Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 523057; 3. Reproductive Medicine Center of Shenzhen Luohu People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 51800)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the plasma cell-free DNA (cfDNA) nucleosome footprints and differential gene expression profiles of patients with different outcomes after In Vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) treatment, and explore the biological processes and cellular components of differential genes that affect pregnancy outcomes and embryo implantation. **Methods** IVF-ET cases were collected in the Reproductive Center of Shunde Women and Children's Hospital of Guangdong Medical University from May 2021 to October 2021. They were divided into the failed group ($n=5$) and the pregnancy group ($n=9$) based on the outcome of embryo implantation. Plasma cfDNA was measured at three time: 1 day before embryo implantation, 14 days after embryo implantation, and 28 days after embryo implantation, analyzing cfDNA nucleosome footprints and differential gene expression profiles at different outcomes and different time points after embryo im-

作者单位:1. 广东医科大学顺德妇女儿童医院生殖中心, 广东, 佛山 528300

2. 东莞市妇幼保健院医学遗传实验室, 广东, 东莞 523057

3. 深圳市罗湖区人民医院生殖中心, 广东, 深圳 518000

*通信作者:刘彦慧, E-mail:liuliang71215@163.com

plantation by high-throughput sequencing. **Results** The coverage depth of high expression genes in plasma cfDNA nucleosome footprint was lower than that of low expression genes. The gene expression differences in cfDNA nucleosome footprint at different times of the same outcome and at different outcomes of the same time were statistically significant ($P<0.05$). Functional enrichment and signal pathway analysis based on Gene Ontology (GO) revealed that the differential genes in the failed group at different time points were mainly related to immune system changes, developmental regulation, and organic compound metabolism, while those in the pregnancy group were related to cell development and organic compound metabolism. The expression of genes in the failed group was down-regulated during the organic compound metabolism process in the 14 days after transfer, while the immune related biological processes expression was up-regulated at the 28 days after transfer. **Conclusions** Differential gene expression analysis based on plasma cell-free DNA nucleosome footprints can effectively screen and enrich differentially expressed genes and related biological signaling pathways at different time points after embryo implantation, providing theoretical basis for improving IVF/ET outcomes and facilitating research and clinical reference.

[KEY WORDS] Embryo transfer; Cell free DNA; Nucleosome footprint; Gene expression profile

近年来,随着体外受精-胚胎移植(In Vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)技术的发展,国内 IVF-ET 临床妊娠率达到 50%~60%,但早期流产率为 10%~20%^[1]。目前认为女性年龄、胚胎质量、子宫内膜和母体免疫反应是影响 IVF-ET 结局的主要因素^[2-3]。妊娠作为成功的半同种移植,是胚胎与母体之间的免疫反应再平衡,其中胚胎种植是关键步骤之一。研究表明,子宫内膜免疫功能紊乱可降低子宫内膜容受性,从而影响胚胎生存和种植能力^[4-5]。目前已知胚胎种植失败与子宫内膜免疫功能紊乱或胚胎与子宫内膜发育不同步有关^[4, 6]。有研究表明,血浆游离 DNA (cell free DNA, cfDNA) 转录起始区域核小体是由原始组织中表达或沉默的基因引起,含有转录因子的印迹,且可用于预测基因表达^[7-9]。有研究通过母体 cfDNA 启动子区域 (Transcription Start Site, TSS) 的全基因组测序推测母体和胎儿的基因表达谱,以观察母体免疫系统对胎儿的应答变化^[10]。本研究将通过 IVF-ET 胚胎移植后不同结局人群的血浆 cfDNA 核小体印迹探讨影响妊娠结局及胚胎植入的差异基因表达及细胞组分和生物进程。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取 2021 年 5 月至 2021 年 10 月在本院生殖中心进行 IVF-ET 治疗的 14 名患者作为研究对象。纳入标准:此前无反复自然流产(≥ 3 次或 2 次自然流产且至少其中一次流产组织基因检测异常)、反复种植失败(移植优质胚胎次数 ≥ 3 ,或移植

≥ 10 个可移植胚胎)。排除标准:年龄 >40 岁,夫妻双方或一方发现染色体异常。所有植入的胚胎根据专家共识标准^[11]评定为优质分裂胚和囊胚。研究经院伦理委员会的批准,且经患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 样本收集

在胚胎植入前 1 天(时间点 1)、植入后 14 天(时间点 2)、植入后 28 天(时间点 3)三个时间分别抽取患者 10 mL 外周血用作血浆 cfDNA 分析。根据妊娠结局分为失败组(下称“Fail”1, $n=5$)、成功组(下称“Pregnancy”, $n=9$)。

1.2.2 cfDNA 测序和数据处理

使用“两步法”分离血浆,根据达瑞生物公司的血浆核酸提取试剂盒说明书进行处理并提取 cfDNA。根据诺维赞通用 DNA 文库试剂盒说明书按照末端修复、接头连接和 PCR 扩增的步骤进行文库构建,使用 Illumina NovaSeq 6000 平台测序,原始数据经软件转换后,将样本片段比对到人类参考基因组 hg19。

1.2.3 cfDNA 测序的 TSS 谱分布特征分析

原始文件使用 deepTools (3.5.1) computeGCbias 处理与校正后,经切换程序参数,使用 BEDTools 覆盖率计算区域的读取计数和 TSS 周围的单碱基深度范围从 -1000 bp 到 +1000 bp。使用每千碱基每百万映射读取方法对读取计数进行标准化。所有基因信息和 TSS 位置均来自 RefSeq。比较总体样本中前 500 个最高表达基因和最低表达基因在 TSS 序列的覆盖深度,并对所有样本的 TSS 谱进行主成分分析(Principal Component Anal-

ysis, PCA)。

1.2.4 差异 TSS 分析

计算组间 (Fail1 vs Fail2、Fail2 vs Fail3、Pregnancy1 vs Pregnancy2、Pregnancy2 vs Pregnancy3、Pregnancy2 vs Fail2 及 Pregnancy3 vs Fail3, Fail1 指失败组的时间点 1,下同) 每个 TSS 的倍数变化,进行 Wilcoxon 秩和检验 (双边),将 P 值 < 0.05 且 \log_2 (FoldChange) $|\geq \log_2 1.2$ 的 TSS 确定为差异 TSS。使用 ggplot2 包绘制火山图,使用 pheatmap 绘制热图。

1.2.5 基因功能注释分析

使用 R 包 clusterProfiler 对差异基因进行基因本体分析 (Gene Ontology, GO 分析),GO 术语描述来自 QuickGo,并通过检索文献进行基因注释。

1.3 统计学方法

所有统计分析使用 R 语言进行分析。组间比较使用秩和检验进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的血浆 cfDNA 核小体 TSS 分布具有独特覆盖模式

总体样本中,前 500 个最高表达基因的 TSS 序列覆盖深度低于 500 个最低表达基因,见图 1。不同结局不同时间点的 TSS 谱分别占据不同的位置。见图 2。

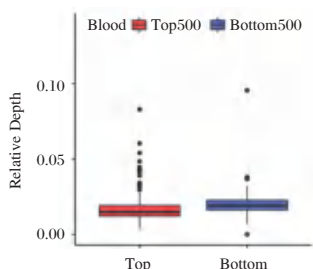


图 1 血浆 cfDNA TSS 序列中 500 个最高 (红色) 和最低 (蓝色) 表达基因的覆盖深度

Figure 1 Coverage depth of the 500 most and least-expressed genes in plasma cfDNA TSS sequence

在 26 654 个 TSS 分析中,同一结局的不同时间点以及同一时间点的不同结局之间的 cfDNA 核小体 TSS 谱基因表达差异有统计学意义。见表 1,图 3A、C、E、G、I、K。

不同组别间的 cfDNA 核小体 TSS 区的差异基因覆盖深度经过层次聚类分析,差异基因的覆盖深度明显分离。见图 3B、D、F、H、J、L。

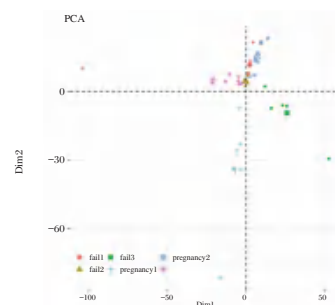
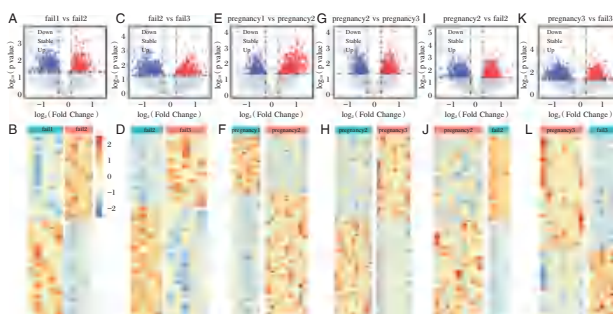


图 2 不同结局不同时间点所有样本 cfDNA TSS 的 PCA 分析

Figure 2 Principal component analysis (PCA) derived from TSS coverage profiles imputed by different outcomes and time points

表 1 不同结局不同时间点样本之间差异 TSS 覆盖的统计
Table 1 Statistics for TSS coverage of differences between samples at different time points for different outcomes

不同组别(时间点)比较	显著差异表达的 TSS		差异表达 TSS 总数
	表达上调	表达下调	
Fail 1 vs Fail 2	452	505	957
Fail 2 vs Fail 3	379	596	975
Pregnancy 1 vs Pregnancy 2	806	364	1 170
Pregnancy 2 vs Pregnancy 3	506	581	1 087
Pregnancy 2 vs Fail 2	547	617	1 164
Pregnancy 3 vs Fail 3	456	776	1 232



注:A 表示 Fail1 和 Fail2 的 TSS 差异分析的火山图,图中蓝、红和灰点分别表示 TSS 基因表达显著下调、显著上调和无差异;B 表示 Fail1 和 Fail2 的 TSS 差异基因在不同样本中的覆盖深度分布的热图;其它图注释类似。

图 3 不同组间 cfDNA TSS 的差异分析及覆盖深度分析
Figure 3 Differential analysis and coverage depth analysis of cfDNA TSS between different groups

2.2 同一结局不同时间点之间的差异表达基因的相关生物过程

对失败组的不同时间的差异基因进行 GO 分析,不同时间点之间富集到参与胎儿发育和母体促炎状态形成和维持的信号通路,见图 4A~B。植入后 14 天与植入前 1 天相比,富集到与淋巴细胞、白细胞等免疫细胞稳态调节的生物过程;植入后

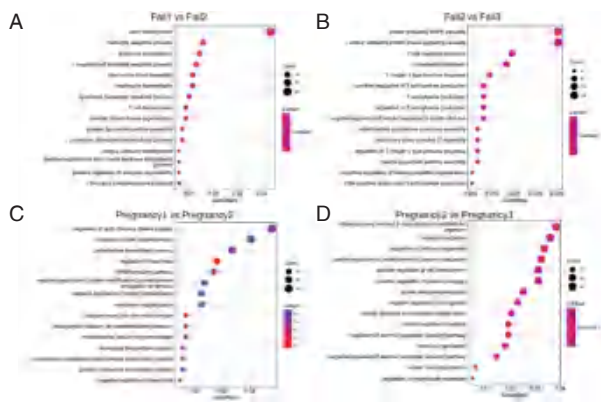
28天与植入后14天相比,富集到与T细胞介导免疫应答相关的生物过程。见表2。

表2 失败组不同时间点样本之间免疫反应相关生物学过程的统计

Table 2 Statistics of immune response related biological processes between samples at different time points of failure group

描述	GO 条目	富集基因数
Fail 1 vs Fail 2		
白细胞凋亡过程	GO:0071887	11
白细胞凋亡过程的调控	GO:2000106	9
白细胞稳态	GO:0001776	10
淋巴细胞稳态	GO:0002260	8
T细胞稳态	GO:0043029	6
Fail 2 vs Fail 3		
T细胞介导的免疫过程	GO:0002456	11
T细胞因子的产生	GO:0002369	6
T细胞因子产生的调控	GO:0002724	6
T细胞因子产生的正调控	GO:0002726	6
辅助T细胞1型免疫反应	GO:0042088	7
辅助T细胞1型免疫反应的调节	GO:0002825	5
CD4阳性, α - β T细胞产生细胞因子	GO:0035743	4

对成功组的不同时间的差异基因进行GO分析,不同时间点之间富集结果主要与细胞发育和有机化合物的代谢相关。在胚胎植入前1天到植入后14天,差异基因富集在有机化合物的合成相关生物过程,见图4C。植入后14天到植入后28天,差异基因富集在与细胞形态发育调节和多细胞生物生殖功能有关的生物过程,见图4D。



注:A为失败1和失败2的GO富集分析结果,其余图注释类似。

图4 同一结局不同时间点差异基因的GO分析结果
Figure 4 GO enrichment analysis of differentially expressed genes with different time in the same group

2.3 同一时间点不同结局之间的差异表达基因的相关生物过程

在同一时间点不同结局的差异表达基因的

GO分析表明,植入后14天时,两组差异基因所富集的生物过程主要为两类:有机化合物代谢和胎儿细胞生长及器官发育。见图5A。对两组间TSS区覆盖率上调和下调的差异基因进行GO分析,在胚胎植入后14天,失败组的有机化合物代谢过程表达明显下调,与器官发育和细胞分化有关的生物过程表达上调。见图6A~B。

在植入后28天,两组差异基因所富集的生物过程为有机化合物代谢和免疫分子、细胞等相关生物过程。见图5B。对两组间TSS区覆盖率上调和下调的差异基因分别进行了GO分析。见图6C~D。失败组富集到表达明显上调的与免疫相关的生物过程。见表3。

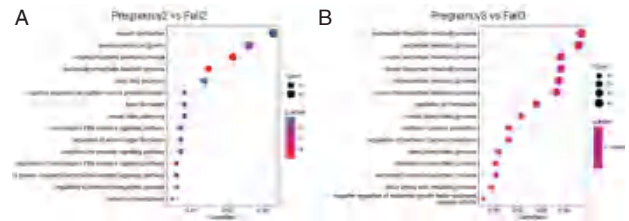


图5 同一时间点两组差异基因的GO分析结果
Figure 5 GO enrichment analysis of differentially expressed genes with different outcomes at the same time

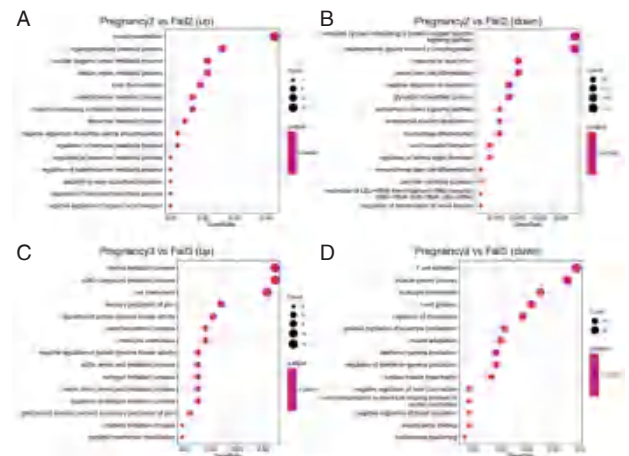


图6 同一时间点不同结局表达上调/下调的差异基因GO分析
Figure 6 GO enrichment analysis of genes upregulated/down-regulated in TSS with different outcomes at the same time

3 结论

IVF-ET结局直接取决于胚胎是否成功植入。胚胎植入的过程涉及母体免疫反应及多种细胞和免疫因子相互调控的结果,不同免疫细胞在胚胎着床过程中发挥有着不同的功能,其中免疫耐受在维持妊娠过程中起到关键的作用^[12-13]。

表3 植入28天后不同结局在免疫反应相关生物学过程中表明明显变化的统计

Table 3 Statistical analysis of significant changes in expression of immune response related biological processes in different outcomes after 28 days of implantation

描述	GO 条目	富集基因数
Pregnancy 3 vs Fail 3 TSS 覆盖深度下降的基因组		
T 细胞活化	GO:0042110	29
白细胞增殖	GO:0070661	21
白细胞增殖的正向调节	GO:0070665	13
干扰素 γ 产生	GO:0032609	11
干扰素 γ 产生的调节	GO:0032649	11

胎儿来源的滋养细胞与母体免疫细胞之间存在精细而复杂的交互对话。母胎界面的免疫细胞以蜕膜NK细胞数量最多,其次为巨噬细胞、T细胞、树突状细胞等。这些免疫细胞在调节子宫内膜容受性以及滋养细胞功能时其数量和功能需要维持在适度范围内,异常的免疫反应包括低反应性和免疫过度活化都会导致种植失败^[14-15]。本研究中,失败组的差异基因主要在于其免疫调节及免疫细胞的生物过程发生显著差异表达,例如白细胞、T细胞增殖调控和细胞因子、干扰素产生,提示胚胎植入失败可能在于由免疫细胞介导的母胎平衡出现异常。这与妊娠失败中母胎界面存在异常的免疫调节一致,并证实了cfDNA的分析可为评估胚胎植入过程提供有用的信息。

目前较多研究^[16-17]表明母体血浆cfDNA蕴含丰富信息,对胚胎发育潜能及临床妊娠有积极预测作用。本研究分析结果中发现多个与胚胎植入相关的信号通路,可以进一步发掘妊娠的建立和维持、胚胎和子宫内膜发育同步性的相互调节以及胚胎植入后所分泌的各种调节因子,从而发掘更多的影响胚胎植入的分子证据。

本文通过DNA测序技术,分析不同植入结局不同时间点的血浆cfDNA核小体印迹差异基因表达谱,探索与胚胎植入相关的差异基因表达和各种生物信号通路,为改善胚胎植入结局提供理论依据,将有利于临床参考。

参考文献

[1] 钟树怀,伍玉燕,梁泳娜. 多囊卵巢综合症患者抗苗勒管激素水平与辅助生殖优胚率之间的关联分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(4):629-633.

[2] 赵琴,杨桂艳,蔡桂丰. 影响体外受精胚胎移植妊娠结局的多因素分析[J]. 广东医学, 2017, 38(9): 1398-1401.

[3] 夏秋平,李艳萍,张叶青,等. 体外受精-胚胎移植中受精失败的相关因素[J]. 中南大学学报(医学版), 2020, 45(8): 960-965.

[4] Evans J, Salamonsen LA, Winship A, et al. Fertile ground: human endometrial programming and lessons in health and disease[J]. Nat Rev Endocrinol, 2016, 12(11): 654-67.

[5] Niu Z, Wang L, Pang RTK, et al. A meta-analysis of the impact of human leukocyte antigen-G on the outcomes of IVF/ICSI[J]. Reprod Biomed Online, 2017, 34(6): 611-8.

[6] Lédée N, Petitbarat M, Chevrier L, et al. The Uterine Immune Profile May Help Women With Repeated Unexplained Embryo Implantation Failure After In Vitro Fertilization [J]. Am J Reprod Immunol, 2016, 75(3): 388-401.

[7] Snyder MW, Kircher M, Hill AJ, et al. Cell-free DNA Comprises an In Vivo Nucleosome Footprint that Informs Its Tissues-Of-Origin[J]. Cell, 2016, 164(1-2): 57-68.

[8] Ulz P, Thallinger GG, Auer M, et al. Inferring expressed genes by whole-genome sequencing of plasma DNA [J]. Nat Genet, 2016, 48(10): 1273-1278.

[9] Lai WKM, Pugh BF. Understanding nucleosome dynamics and their links to gene expression and DNA replication [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18(9): 548-562.

[10] Zhang M, Li K, Qu S, et al. Integrative analyses of maternal plasma cell-free DNA nucleosome footprint differences reveal chromosomal aneuploidy fetuses gene expression profile [J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 536.

[11] 中国医师协会生殖医学专业委员会, 人类卵裂期胚胎及囊胚形态学评价中国专家共识[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2022, 42(12): 1218-1225.

[12] Li Y, Zhang J, Zhang D, et al. Tim-3 signaling in peripheral nk cells promotes maternal-fetal immune tolerance and alleviates pregnancy loss[J]. Sci Signal, 2017, 10: eaah4323.

[13] Motedayyen H, Rezaei A, Zarnani AH, et al. Human amniotic epithelial cells inhibit activation and pro-inflammatory cytokines production of naive CD4+T cells from women with unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. Reprod Biol, 2018, 18:182-188.

[14] 马丽娜,张多加,吴效科. 子宫巨噬细胞在正常妊娠及病理性妊娠中的作用[J]. 国际妇产科学杂志, 2023, 50(1): 65-69.

[15] 郭玲,代彩凤,刘金,等. Th1/Th2 细胞平衡及NK细胞对胚胎种植的影响[J]. 现代妇产科进展, 2021, 30(3): 177-180.

[16] Guo Z, Yang F, Zhang J, et al. Whole-Genome Promoter Profiling of Plasma DNA Exhibits Diagnostic Value for Placenta-Origin Pregnancy Complications[J]. Adv Sci (Weinh), 2020, 7(7):1901819.

[17] Xu C, Guo Z, Zhang J, et al. Non-invasive prediction of fetal growth restriction by whole-genome promoter profiling of maternal plasma DNA: a nested case - control study [J]. BJOG, 2021, (2):458-466.

肺结核病人工智能辅助诊断系统微信小程序的开发和应用

李耿聪¹ 林健雄^{1*} 彭东东² 纪丽微¹ 蓝邦阳¹

[摘要] **目的** 探索构建基于智能手机微信小程序的肺结核病在线智能辅助诊断系统,提高肺结核病诊断的准确率和效率。**方法** 采用C5.0决策树算法,从汕头市结核病防治所2018年1月至2020年12月3174份结核门诊病案资料中,挖掘高价值的肺结核病诊断决策规则,建立诊断预测模型,进而开发肺结核病人工智能辅助诊断系统,并对其在肺结核病诊断中的准确性进行评估。**结果** 2559例训练样本中通过数据挖掘出对肺结核病诊断具有显著价值的决策规则8条,置信度在77.49%~99.81%之间;对3174个研究对象中随机抽取的20%验证样本(肺结核确诊病例403例和非结核其他病例212例)进行验证,以原诊断为金标准,系统诊断的敏感度为94.79%(382/403)、特异性为96.23%(204/212)、准确性为95.28%(586/615)。**结论** 基于智能手机微信小程序的肺结核病智能辅助诊断系统可作为肺结核病的在线辅助诊断工具,提高了肺结核病诊断的质量和效率。

[关键词] 肺结核;人工智能;辅助诊断系统;预测模型;决策规则

Development and application of an artificial intelligence-assisted diagnosis system for tuberculosis embedded in a WeChat applet

LI Gengcong¹, LIN Jianxiong^{1*}, PENG Dongdong², JI Liwei¹, LAN Bangyang¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Institute for Tuberculosis Control, Shantou, Guangdong, China, 515041; 2. Department of Tuberculosis, Institute for Tuberculosis Control, Shantou, Guangdong, China, 515041)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the construction of an online intelligent auxiliary diagnosis system for pulmonary tuberculosis (PTB) based on the WeChat applet installed in smartphones, so as to improve the accuracy and efficiency of PTB diagnosis. **Methods** Using the data of 3174 PTB outpatient medical records in Shantou Tuberculosis Prevention and Control Institute from January 2018 to December 2020, the decision tree model based on C5.0 algorithm was adopted to establish a diagnostic prediction model, and the optimal decision rules in the diagnosis and decision-making of PTB were found out through data mining. Then an artificial intelligence-assisted diagnosis system for PTB was developed and its accuracy in PTB diagnosis was evaluated. **Results** Among 2559 training samples, 8 decision rules with significant value for the diagnosis of tuberculosis were found through data mining, with confidence between 77.49% and 99.81%. 20% of the validation samples randomly selected from 3174 research subjects (403 confirmed cases of pulmonary tuberculosis and 212 non tuberculosis cases) were validated. Using the original diagnosis as the gold standard, the sensitivity of the system diagnosis was 94.79% (382/403), specificity was 96.23% (204/212), and accuracy was 95.28% (586/615). **Conclusion** The intelligent auxiliary diagnosis system for PTB based on the WeChat applet on smartphones can be used as an online auxiliary diagnosis tool for PTB, which improves the quality and efficiency of the disease diagnosis.

[KEY WORDS] Pulmonary tuberculosis; Artificial intelligence; Auxiliary diagnosis system; Prediction model; Decision rule

基金项目:广东省汕头市医疗卫生科技计划项目(2017007)

作者单位:1. 广东省汕头市结核病防治所检验科,广东,汕头 515041

2. 广东省汕头市结核病防治所结核科,广东,汕头 515041

*通信作者:林健雄, E-mail: 823727864@qq.com

肺结核病(tuberculosis, TB)是严重危害人类健康的慢性呼吸道传染病,结核病的控制很大程度上有赖于及时准确的诊断,而我国结核病诊断方法基于涂片、培养、分子生物学检测等不同技术层次,且综合医院70%的患者为临床诊断(经验性诊断、排他性诊断或诊断性治疗后确诊),这容易造成误诊、过诊、延迟诊断和引起药物不良反应。较低的结核病诊断能力不仅容易引起医疗纠纷,还会影响到我国结核病控制的进程^[1-2]。专科医院在长期的诊疗过程中积累了海量的病历数据信息(包括病史、检验、诊断、治疗等临床信息),患者的诊断与医疗过程的病历数据必然存在隐藏关系,可通过高效、智能的计算机算法来对海量结核性疾疾病诊疗数据进行数据挖掘。基于此,本文依据《结核病诊断标准》^[3-4],通过数据挖掘算法,建立患者多模态临床诊断规则和数据模型,并开发出智能诊断应用微信小程序,以为医务人员提供肺结核病诊断工具和为患者检查诊断提供在线帮助。

1 资料和方法

1.1 资料来源

资料来源于汕头市结核病防治所2018年1月至2020年12月结核病门诊病案资料,共计3 174名研究对象,其中肺结核确诊病例2 114例,非结核其他病例1 060例(均为疑似肺结核病例后排除),来自汕头市下辖的6区1县。其中男性1 788例,女性1 386例;年龄最小11岁,最大88岁,平均年龄(39.6±15.1)岁。肺结核确诊病例和非结核其他病例两组中随机按8:2的比例分为训练样本2 559例和验证样本615例。

1.2 结核病诊断数据预处理与决策数据挖掘

1.2.1 数据预处理(训练样本的生成)

对3 174份原始病案资料,应用Microsoft SQL2010整合为电子病历,然后对原始病历数据进行数据预处理。数据预处理主要包括病例数据采集,属性选择,连续属性离散化,数据中的噪声及丢失值处理,实例选择等。为进一步进行数据挖掘,需要对信息数据表中的值和字段进行编码。肺结核疾病的编码见表1。预处理后的数据见表2。数据导入的工作是将数据录入到编码系统中。开发相应的编码系统将使用到一些原始的资料表格,通过分析,要用到的原始数据表为患者的姓名、性别、年龄、密接史、症状、影像学、涂片、培养、分子、病理、结核菌素

皮肤试验(purified protein derivative, PPD)、 γ -干扰素试验(interferon-gamma release assay, IGRA)、诊断性治疗的数据。编码系统开发完成后,在选中任何一个初始表后点击“导入数据”按钮,在数据表内容框中就会显示出该表的全部内容。

表1 肺结核疾病属性编码表

属性	数据离散化及编码
性别	男、女
分组	病原学阳性肺结核、病原学阴性肺结核
密接史	0无、1有
肺结核可疑症状	0无、1有
肺结核影像学表现	0无、1有
抗酸杆菌涂片	1阳性、2阴性
结核分枝杆菌培养	0无、1阳性、2阴性
结核分枝杆菌核酸检测	0无、1阳性、2阴性
气管镜结核病变/结核病理	0无、1阳性、2阴性
PPD	0无、1中等强度(++及以上阳性、2一般强度(+))阳性及阴性
IGRA	0无、1阳性、2阴性
诊断性治疗	0无、1抗炎无效/诊断性抗结核有效、2抗炎有效/诊断性抗结核无效

表2 部分原始数据

性别	年龄	密接史	症状	影像学	涂片	培养	分子	病理	PPD	IGRA	抗炎无效
女	16	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0
女	20	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
男	39	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0
女	50	0	1	1	2	0	0	1	1	1	0
女	22	0	1	1	2	0	1	0	1	0	0
女	48	0	0	1	2	0	1	1	0	0	0
男	34	0	1	1	2	0	0	1	1	1	0
女	15	0	1	1	2	0	1	0	1	1	0
女	63	0	0	1	2	0	2	1	1	0	0
女	20	0	1	1	2	0	0	1	1	0	0
男	23	0	1	1	2	0	1	0	0	1	0
男	65	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
男	41	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
男	27	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0
男	75	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
男	71	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
男	35	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
女	34	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
女	52	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0
男	64	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
男	57	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0
男	28	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
女	14	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
男	67	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0

1.2.2 决策规则的挖掘和智能诊断系统的建立

1.2.2.1 决策规则的挖掘 对2 559例训练样本原

始数据进行预处理后的训练集,采用C5.0算法的决策树模型建立诊断预测模型,归纳成决策树。然后通过数据挖掘的方法提取挖掘出规则集,找出在肺结核疾病智能决策中有价值的规则,根据实例数和置信度高低排序,经过对冗余的规则适当约减后挖掘出的决策规则,按照支持度和置信度降序排序^[5-6]。

1.2.2.2 智能诊断模型的建立方法 本文构建的肺结核智能诊断系统的流程是,以挖掘出来的决策规则为核心原则,依据《结核病诊断标准》的流程,建立结核病多模态临床诊断规则和数据模型,设计开发智能诊断应用微信小程序。具体的流程如下:分别以密切接触者、结核可疑症状者、胸部影像学异常者作为入口端,决策模型内含接触史、结核可疑症状、胸部影像学检查、结核感染检测、结核病原学检查、抗炎治疗,共六个组成模块,在临床应用中,针对不同对象选择相应的入口端,输入患者上述问诊模块信息,通过该决策模型进行智能决策,获得肺结核疾病诊断结果。流程整理绘制见图1。对得到结核诊断的结果根据《结核病诊断标准》进行质控复核,勾选符合的诊断路径并提供注意事项提醒。

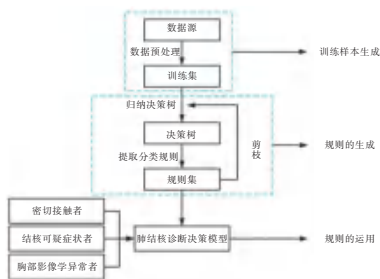


图1 利用决策树生成模型及对不同对象进行细分的步骤
Figure 1 The model generated using decision trees and the steps taken to segment the different objects

1.2.2.3 智能诊断系统的建立和操作方法 结核病人工智能辅助诊断系统(以下简称“系统”)通过建立服务器数据中心,利用网络服务器-微信企业

号结构,采用域名解释,通过互联网访问服务器,形成结核病智能诊断系统。系统软件设计采用SQL Server建立结核诊断数据库,用ASP.net设计程序(PC浏览器端、微信企业号端、微信服务号),采用IIS作为WEB服务程序。系统运行环境选用Windows Server 2008操作系统,在阿里云搭建WEB和数据库服务器WEB服务器配备全球域名和独立IP,通过防火墙连入因特网,提供结核病人工智能辅助诊断系统PC端浏览服务,同时对接微信企业号和微信服务号。

医生或患者访问结核病防治所公众号,点击结核智能诊断菜单,然后根据系统引导,分别从密切接触者、结核可疑症状者、胸部影像学异常者3个界面进入不同的诊断流程。选择系统提供的选项之后,点击“开始智能诊断”按钮,系统将自动进行诊断。如果显示的诊断结果是“病原学阳性肺结核”或者是“病原学阴性肺结核”将填写《诊断质量控制复核》表单。诊断结果最终给出后,填写个人联系信息,方便结核病防治所进行后续追踪。

2 结果

2.1 数据挖掘决策规则结果

根据实例数和置信度高低排序,2 559例训练样本中通过数据挖掘出决策规则8条。见表3。上述规则置信度在77.49%~99.81%之间,并且在真实的临床确诊病例数量和可信性较高的情况下,该区间所含的规律性的资料对于肺结核病的诊断具有显著价值。

2.2 智能诊断系统建立和验证

系统建立后,对3 174个研究对象中随机抽取的20%验证样本(肺结核确诊病例403例和非结核其他病例212例)进行验证,以原诊断为金标准,系统诊断的敏感度为94.79%(382/403)、特异性为96.23%(204/212)、准确性为95.28%(586/615)。见表4。

表3 数据挖掘出结核病诊断决策规则及支持的实例数和置信度

Table 3 Data mining decision rules for tuberculosis diagnosis and supported true case numbers as well as confidence levels

排序	规则	实例数/总数	置信度(%)
1	肺结核影像学表现=0则不是肺结核	847/848	99.81
2	结核分枝杆菌核酸检测=2并且IGRA和/PPD=2则不是肺结核	846/848	99.72
3	结核分枝杆菌培养=2并且IGRA和/PPD=2则不是肺结核	845/848	99.62
4	肺结核影像学表现=1且IGRA和/PPD=1则病原学阴性肺结核	700/718	97.49
5	结核分枝杆菌核酸检测=1并且肺结核影像学表现=1则病原学阳性肺结核	870/893	97.42
6	结核分枝杆菌培养=1并且肺结核影像学表现=1则病原学阳性肺结核	855/893	95.74
7	结核可疑症状=1且肺结核影像学表现=1且IGRA和/PPD=1则病原学阴性肺结核	598/718	83.29
8	抗酸杆菌涂片=1且IGRA=1则病原学阳性肺结核	692/893	77.49

表4 615例验证样本结核病人工智能辅助诊断系统诊断结果分析

Table 4 Analysis of the diagnosis results of the artificial intelligence-assisted diagnosis system using 615 tuberculosis verification samples

智能诊断结果	临床诊断		合计	敏感度 (%)	特异性 (%)	准确性 (%)
	肺结核确诊病例	非结核病例				
肺结核	382	8	390	94.79	96.23	95.28
非结核病例	21	204	225			
合计	403	212	615			

3 讨论

数据关联规则挖掘是为了帮助发现数据库中项集之间的关系。数据挖掘的目标常常是储存在资料库中大量的资料,其具有不完整、不连贯、杂乱无章的特点,难以直接发掘。要从海量的数据里,寻找和被挖掘的对象相关的数据子集,需要进行数据的预处理(一般包含数据转换、选择和净化),以提高数据的完整性和精确度^[7-8]。基于多元统计的数据挖掘技术需要大量的运算,通常采用SPSS进行数据的处理^[9]。

肺结核智能诊断决策系统在实际的应用中,可以将多个数据表以视图的形式,将各种患者的数据放在一起,通过关联规则再进行挖掘,可发现很多具有意义的规则,对这些肺结核疾病智能决策有价值的规则加以利用,可以有效地控制和降低临床诊断的误诊率,达成患者和医院良性的关系循环^[10-11]。

临床医生在对结核性疾病进行诊断时,主要是基于国家发布的标准《WS288-2017肺结核诊断》,需要事先对复杂的标准进行深入学习并且不断积累临床经验,低年资或非结核病专科医生往往过于严格执行标准而显得僵化死板,高年资的医生往往过于依赖经验而对标准的执行不够规范,专科医院在长期的诊疗过程中积累了海量的病历数据信息(包括病史、检验、诊断、治疗等临床信息),而且患者的医疗结局是明确的,本研究通过高效、智能的计算机算法来对本单位结核性疾病诊疗数据进行数据挖掘^[9-11],提取的8条规则集有6条置信度高于90%。综合决策树模型产生的规则集,可以发现如下规律:因症就诊患者通常通过症状→影像学→病原学/免疫学检查获得诊断;无症状者通常在各种常规体检查出影像学发现异常,后经临床病原学/免疫学检查定诊;密切接触者的筛查由于规模成本控制要求,通常先行进行症状筛查、简单的免疫学

(如PPD)和DR X线检查后对其中发现异常者进一步检查,因此软件的设计采用了以上三个入口。

本研究利用本所病案室诊断结果明确的3174名结核病确诊和排除患者,利用与诊断相关的多个变量及构成的规则建立结核病诊断的预测模型,通过数据挖掘算法,开发出智能诊断应用,为临床医生及时方便规范作出诊断提供新的手段,目前该小程序已经上线本所公众号,为有需要的医生和患者提供服务,特别是对最终确诊的病原学阳性肺结核和病原学阴性肺结核,根据国家诊断标准设计了诊断复核表,这种研究思路和方法也适用于其他的慢性疾病诊断方法的选择和研究,例如结节病、炎症性肠炎。本研究也有不足一些不足之处,比如纳入研究的变量数较多,而样本量仅有3174例,可能会存在样本不足导致诊断功效降低的问题。随着研究深入,样本量不断增多,不断优化的决策树模型将对结核病患者诊断做出更加准确的判断和指导,以避免诊断延迟,从而更好地治疗,改变预后结局^[12]。

参考文献

- [1] 王陇德,刘剑君,姜世闻. 结核病防治[M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2004.
- [2] 中国防痨协会. 结核病实验室检验规程[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [3] WS196-2017, 结核病分类[S]. 北京:国家卫生和计划生育委员会, 2017.
- [4] WS288-2017, 肺结核诊断[S]. 北京:国家卫生和计划生育委员会, 2017.
- [5] 熊平. 数据挖掘算法与Clementine实践[M]. 北京:清华大学出版社, 2011: 4.
- [6] 廖淑华,郭惠丽. 基于健康档案数据仓库的数据挖掘技术[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版), 2011, 8(3): 111-115.
- [7] Robert N, John E, Gary M. Handbook of statistical analysis and data mining applications[M]. USA: Elsevier, 2009.
- [8] 任仲晟. 基于数据仓库的数据挖掘技术[J]. 数字技术与应用, 2021, 39(9): 59-61.
- [9] Quinlan JR. Introduction of decision trees[J]. Machine Learning, 1986, 1(1): 81-106.
- [10] 张琪,周琳,陈亮,等. 决策树模型用于结核病治疗方案的分类和预判[J]. 中华疾病控制杂志, 2015, 19(5): 510-513.
- [11] 宋焯,杨本付,李芳,等. 应用人工智能神经网络技术诊断涂阴肺结核的研究[J]. 热带医学杂志, 2007, 7(3): 235-238.
- [12] Frieden T. Toman's tuberculosis: case detection, treatment, an monitoring - questions and answers [R]. Geneva: World Health Organization, 2006: 52-53.

miR-21、TGF-β1、CD26在瘢痕疙瘩组织中的表达及相关性分析

韩晓梅* 胡彩霞 江绍乾 赵璐

[摘要] 目的 探究血清微小RNA 21(miR-21)、转化生长因子β1(TGF-β1)、二肽基肽酶-4(DPP4,又称CD26)在瘢痕疙瘩组织中的表达情况和相关性。方法 选取2020年3月至2023年3月河北医科大学第四医院收治的82例行瘢痕疙瘩组织切除术患者的术后组织作为研究组,另选取同期年龄、性别、BMI相匹配的56例受试者的正常皮肤组织作为对照组。比较两组的一般资料;比较两组组织中的miR-21、TGF-β1、CD26水平。采用多因素logistic回归分析瘢痕疙瘩组织生成的影响因素;采用Pearson相关性分析miR-21、TGF-β1、CD26与瘢痕疙瘩组织发生的相关性;并通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析miR-21、TGF-β1、CD26对瘢痕疙瘩组织的诊断价值。结果 两组的工作类型、民族、miR-21、TGF-β1、CD26水平进行比较,差异有统计学意义($t=5.971$ 、 6.012 、 4.151 、 3.564 、 5.735 , $P<0.05$)。多因素logistic回归分析结果显示,工作类型、miR-21、TGF-β1、CD26水平均是瘢痕疙瘩组织发生的影响因素($P<0.05$)。Pearson相关性分析结果显示,miR-21、TGF-β1、CD26与瘢痕疙瘩组织发生具有正相关性($r=0.64$ 、 0.58 、 0.71 , $P<0.05$)。ROC曲线结果显示,miR-21、TGF-β1、CD26及三者联合的AUC面积分别为0.714、0.682、0.768、0.825,这表明三者对瘢痕疙瘩组织发生均具有一定的诊断价值,且三者联合效果最佳($P<0.05$)。结论 miR-21、TGF-β1、CD26在瘢痕疙瘩组织中呈高表达状态,三者与瘢痕疙瘩组织的发生呈正相关性,且三者对于瘢痕疙瘩组织的发生均具有一定的诊断价值。

[关键词] miR-21; 转化生长因子β1; 二肽基肽酶-4; 瘢痕疙瘩

Expression and correlation analysis of miR-21, TGF-β1 and CD26 in keloid tissues

HAN Xiaomei*, HU Caixia, JIANG Shaoqian, ZHAO Lu

(Department of Dermatology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China, 050000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression and correlation of serum micRNAs 21 (miR-21), transforming growth factor β1 (TGF-β1) and dipeptidyl peptidase-4 (DPP4, also known as CD26) in keloid tissues. **Methods** The postoperative tissues of 82 patients undergoing keloidectomy admitted to the Fourth Hospital of Hebei Medical University from March 2020 to March 2023 were retrospectively selected as the study group, and the normal skin tissues of 56 subjects matching age, gender and BMI during the same period were selected as the control group. The general data of the two groups were compared. The levels of miR-21, TGF-β1 and CD26 between the two groups were compared. Multivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of keloid formation. Pearson correlation was used to analyze the correlation between miR-21, TGF-β1, CD26 and keloid tissue development. The diagnostic value of miR-21, TGF-β1 and CD26 in keloid tissue was analyzed by drawing the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The work type, miR-21, TGF-β1 and CD26 levels of the two groups were compared, and the differences were statistically significant ($t=5.971$ 、 6.012 、 4.151 、 3.564 、 5.735 , $P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that job type, ethnicity, miR-21, TGF-β1 and CD26 levels were all influential factors in the development of keloid tis-

基金项目:河北省重点研发计划项目(203777103D);河北省医学科学研究课题计划(20211271)

作者单位:河北医科大学第四医院皮肤科,河北,石家庄 050000

*通信作者:韩晓梅, E-mail: balabala28@126.com

sue ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that *miR-21*, TGF- β 1 and CD26 were positively correlated with keloid histogenesis ($r=0.64, 0.58, 0.71, P<0.05$). The ROC curve results showed that the AUC area of *miR-21*, TGF- β 1, CD26 and their combination were 0.714, 0.682, 0.768 and 0.825, respectively, indicating that the three had certain diagnostic value for keloid histogenesis, and the combined effect of the three was the best ($P<0.05$). **Conclusion** *miR-21*, TGF- β 1 and CD26 are highly expressed in keloid tissue, and the three are positively correlated with the occurrence of keloid tissue, and all of them have certain diagnostic value for the occurrence of keloid tissue.

[KEY WORDS] *miR-21*; Transforming growth factor β 1; Dipeptidyl peptidase-4; Keloid

伤口创面的愈合是一个复杂的过程,其主要包括局部炎症、细胞增殖和细胞重塑三个过程,其中任何一个环节的异常,均会引起创伤愈合的不良结局,从而出现病理性瘢痕,包括瘢痕疙瘩和增生性瘢痕两类^[1-2]。瘢痕疙瘩是由于皮肤在愈合过程中成纤维细胞的异常增殖以及胶原沉积而导致的纤维组织过度增生现象,但目前相关的分子生物学机制尚不明确^[3]。微小RNA 21(Microrna 21, *miR-21*)是体内经 Dicer 酶加工生成的一类单链小分子RNA,其大小约为70-90个碱基,参与了人体中的炎性病变、皮肤纤维化等多种皮肤疾病的发生和恶化^[4]。转化生长因子 β 1(Transforming growth factor β 1, TGF- β 1)是一种具有促进成纤维细胞增殖、分泌功能的细胞因子,在成骨细胞中表达较高^[5]。二肽基肽酶-4(Dipeptidyl peptidase-4, DPP4, 又称CD26)广泛分布于人类细胞的表面,参与皮肤细胞黏附、迁移和程序性凋亡等生理过程^[6]。瘢痕疙瘩组织的形成涉及多个生物学变化过程,本研究通过*miR-21*、TGF- β 1、CD26在瘢痕疙瘩组织中的表达及相关性,探究瘢痕疙瘩的发生过程中的相关因子水平及可能机制,为后续瘢痕疙瘩组织的发生机制研究提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

选取2020年3月至2023年3月河北医科大学第四医院收治的82例行瘢痕疙瘩组织切除术患者的术后组织作为研究组。纳入标准:①疙瘩肿块组织隆起在皮肤的表面,质地硬且表明光滑、发亮,其界限欠规则,且在1年内没有自然消退的迹象;②疙瘩部位病变程度超出原始的损伤边缘,周围组织发生浸润现象,呈蟹足状生长;③疙瘩肿块处存在持续性生长、发红、瘙痒、疼痛等现象,不能自行消退;④受试者的临床资料完整;⑤经病理学检查证实瘢痕疙瘩组织内存在胶原、基质大量沉积的现象,且可观察

到较多成纤维细胞,并存在分裂象;⑥患者对本研究知情且同意;⑦近3月未曾使用激素药物治疗皮肤病或涂抹取样处。排除标准:①属于增生性瘢痕;②瘢痕疙瘩处曾接受过治疗;③合并皮肤功能障碍者。另选取同期年龄、性别、BMI相匹配的56例受试者的正常皮肤组织作为对照组,皮肤组织来源于体表皮下良性肿物切除术时切除的正常皮肤组织。

1.2 方法

1.2.1 一般资料的收集

通过病例资料调取收集与样本材料相关的受试者的临床资料,包括年龄、BMI、性别、糖尿病史、高血压史、居住地、及工作类型。

1.2.2 *miR-21* 的检测

取100 mg 瘢痕疙瘩组织,采用逆转录聚合酶链反应PCR(Reverse transcription polymerase chain reaction PCR, RT-PCR,日本TAKARA公司)法对瘢痕疙瘩组织中的*miR-21*进行检测,*miR-21*引物上游:5'-ACTCTCCAGCTGGGTAGCTTATCAGA-3',下游:5'-TGGTGTCGTGGAGTCG-3';采用U6作为内参,上游:5'-CTCGCTTCGGCAGCACACA-3',下游:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.2.3 TGF- β 1 的检测

取100 mg 瘢痕疙瘩组织,采用RT-PCR(日本TAKARA公司)法对疙瘩组织中的TGF- β 1进行检测,TGF- β 1引物上游:5'-CCCACAACGAAATCTATGACAAG-3',下游:5'-GCCATGAGAAGCAGGAAAGG-3';采用 β -actin作为内参,上游:5'-AGCGAGCATCCCCAAAGTT-3',下游:5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3'。操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.2.4 CD26 的检测

取100 mg 瘢痕疙瘩组织,采用RT-PCR(日本TAKARA公司)法对疙瘩组织中的CD26进行检查,CD26引物上游:5'-AGTGGCACGGCAACA-

CATT-3', 下游: 5'-AGAGCTTCTATCCCGATGACTT-3'; 采用β-actin作为内参, 上游: 5'-AGCGAGCATCCCCAAAGTT-3', 下游: 5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3'。操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0进行数据处理分析, 计数单位采用n(%)表示, 行χ²检验; 计量单位采用(̄x±s)表示, 行t检验; 采用多因素logistic回归分析瘢痕疙瘩组织生成的影响因素; 采用Pearson相关性分析miR-21、TGF-β1、CD26与瘢痕疙瘩组织发生的相关性; 并通过绘制受试者工作特征(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲线分析miR-21、TGF-β1、CD26对瘢痕疙瘩组织的诊断价值。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响瘢痕疙瘩组织发生的单因素分析

两组的年龄、BMI、性别、糖尿病史、高血压史、居住地进行比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组的工作类型、民族、miR-21、TGF-β1、CD26水平进行比较, 差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 影响瘢痕疙瘩组织发生的单因素分析 [(̄x±s), n(%)]

Table 1 Analysis of single factors influencing the development of keloid tissue [(̄x±s), n(%)]

项目	研究组(n=82)	对照组(n=56)	t/χ ² 值	P值
年龄(岁)	36.51±2.84	36.19±2.50	0.682	0.497
BMI(kg/m ²)	22.09±1.17	22.05±1.21	0.195	0.846
性别			0.163	0.686
男	54(65.85)	35(62.50)		
女	28(34.15)	21(37.50)		
糖尿病	38(46.34)	27(48.21)	0.047	0.829
高血压	29(35.37)	17(47.22)	0.030	0.862
居住地			0.007	0.931
城镇	36(43.90)	25(44.64)		
乡村	46(56.10)	31(55.36)		
工作类型			5.971	0.015
室外工作	51(62.20)	23(41.07)		
室内工作	31(37.80)	33(58.93)		
民族			6.012	0.014
汉族	63(76.83)	32(57.14)		
其他	19(23.17)	24(42.86)		
miR-21	6.52±2.08	5.13±1.69	4.151	<0.001
TGF-β1	62.72±17.34	52.38±15.81	3.564	<0.001
CD26(%)	38.97±10.55	29.02±8.99	5.735	<0.001

2.2 影响瘢痕疙瘩组织发生的多因素分析

以瘢痕疙瘩组织的发生为因变量(0=无, 1=有), 以工作类型(0=室内工作, 1=室外工作)、民族

(0=其他, 1=汉族)、miR-21、TGF-β1、CD26水平进行多因素logistic回归分析, 分析结果显示, 工作类型、民族、miR-21、TGF-β1、CD26水平均是瘢痕疙瘩组织发生的影响因素(P<0.05)。见表2。

表2 影响瘢痕疙瘩组织发生的多因素分析

Table 2 Analysis of multiple factors affecting the development of keloid tissue

指标	β值	SE值	WALD	OR值	95% CI	P值
工作类型	0.103	0.042	6.014	1.108	1.021~1.204	0.014
民族	0.166	0.070	5.624	1.181	1.029~1.354	0.018
miR-21	0.181	0.069	6.881	1.198	1.047~1.372	0.009
TGF-β1	0.097	0.044	4.860	1.102	1.011~1.201	0.027
CD26	0.322	0.103	9.773	1.380	1.128~1.689	0.002

2.3 miR-21、TGF-β1、CD26与瘢痕疙瘩组织发生的相关性分析

Pearson相关性分析结果显示, miR-21、TGF-β1、CD26与瘢痕疙瘩组织发生具有正相关性(r=0.641、0.528、0.781, P<0.05)。

2.4 miR-21、TGF-β1、CD26对瘢痕疙瘩组织发生的诊断价值

ROC曲线结果显示, miR-21、TGF-β1、CD26及三者联合的AUC面积分别为0.714、0.682、0.768、0.825, 这表明三者对瘢痕疙瘩组织发生均具有一定的诊断价值, 且三者联合效果最佳(P<0.05)。见表3、图1。

表3 miR-21、TGF-β1、CD26对瘢痕疙瘩组织发生的诊断价值

Table 3 Diagnostic value of miR-21, TGF-β1 and CD26 on keloid histogenesis

指标	AUC	95% CI	截断值	特异度(%)	敏感度(%)	P值
miR-21	0.714	0.617~0.812	6.38	80.6	63.4	<0.001
TGF-β1	0.682	0.577~0.786	57.52	80.6	62.2	0.002
CD26	0.768	0.677~0.858	36.175	88.9	63.4	<0.001
联合	0.825	0.751~0.898		91.7	65.9	<0.001

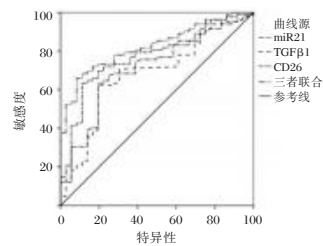


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

3 讨论

瘢痕疙瘩是由于皮肤受到创伤或刺激后出现

成纤维细胞异常增殖且胶原过度沉积而引起的皮肤肿块,目前仍无较为理想的治疗方法^[7]。瘢痕疙瘩不仅影响美观,且还会引发瘙痒、疼痛等症状,给患者带来生理及心理的双重影响^[8]。目前常用的治疗方案主要包括局部用药、激光、手术、压迫治疗等,但均不能成为单一满意疗法,通常以综合治疗为临床的首选方案。瘢痕疙瘩组织的形成还与人种、基因和肤色有关,说明其可能存在一定的遗传基因影响因素,阐述其发生机制,对于其基因治疗有着至关重要的意义^[9]。

以往的一项基因芯片技术研究指出,微小RNA在病理性瘢痕中的表达与正常皮肤组织的表达存在差异,其中瘢痕组织中的miR-21的表达显著高于正常皮肤^[10]。其中的可能机制主要为miR-21可抑制PTEN基因的表达;而PTEN基因是一种抑癌基因,且与mTOR信号通路的负反馈调控有关,PTEN基因的表达与细胞异常增殖以及肿瘤的发生有着密切的关系^[11-12]。而瘢痕疙瘩属于良性的实体瘤之一,其病理特点与肿瘤的发展极为相似,故miR-21的过量表达可能是瘢痕疙瘩组织发生的影响因素^[13]。本研究结果显示,瘢痕疙瘩组织中的miR-21水平要高于正常皮肤组织,与以上研究结果一致。

除此之外,本研究中瘢痕疙瘩组织中的TGF- β 1、CD26水平也均高于正常皮肤组织,且miR-21、TGF- β 1、CD26均与瘢痕疙瘩组织的发生存在正相关性。TGF- β 1是一种肿瘤促进因子,其可促进伤口的纤维化及瘢痕的形成,与伤口的愈合密切相关,被认为是瘢痕疙瘩组织发生的关键因子^[14]。其机理可能是由于巨噬细胞移动抑制因子(Macrophage migration inhibition factor, MIF)的过表达加速了炎症反应环节,致使肿瘤坏死因子 α 的生成来诱导TGF- β 1的过量表达,从而刺激成纤维细胞异常增殖以及胶原的合成和分泌^[15]。

而CD26具有广泛的免疫调节特性,在人体的许多生理和病理过程中起到重要作用。在瘢痕疙瘩组织的发生过程中,CD26可能通过诱导上皮间质转化(epithelium-to-mesenchymal transition, EMT)的活跃程度,以及影响细胞外基质的生成来参与该过程。龚琬茹^[16]等人的研究结果显示,CD26在瘢痕疙瘩组织中均存在高水平表达现象,且表达程度与EMT的表达程度呈正比关系。已有许多研究指出CD26具有活化T细胞的作用,是EMT的间接

诱导物,其对EMT的影响可导致胶原异常沉积,从而促进瘢痕疙瘩组织的发生^[17]。此外,一项外国研究结果显示,CD26还可通过糖原合成酶激酶3 β (Glycogen synthase kinase 3 β , Gsk3 β)来调节TGF- β 1信号,从而参与瘢痕的形成,但目前该方面的相关研究内容较少,还需要在未来进行深入的探索^[18]。

本研究结果还显示,miR-21、TGF- β 1、CD26及三者联合的AUC面积分别为0.714、0.682、0.768、0.825,这说明三者对于瘢痕疙瘩组织的发生均具有诊断价值,且三者联合诊断的价值更高,具有一定的临床应用价值。

综上所述,miR-21、TGF- β 1、CD26在瘢痕疙瘩组织中均存在着过量表达现象,且三者均与瘢痕疙瘩组织的发生存在正相关性,其发生机制较为复杂,临床上可采用miR-21、TGF- β 1、CD26联合诊断瘢痕疙瘩的发生。由于本研究样本容量有限,研究结果存在一定的局限性,后续还需扩大样本量,进一步的深入研究。

参考文献

- [1] 史君鹤,曲华,何山,等. 中医药干预糖尿病皮肤伤口愈合的研究进展[J]. 中医杂志, 2023, 64(10): 1076-1080.
- [2] 葛海辉,陈志鹏,李强,等. 虾青素对人源增生性瘢痕成纤维细胞的作用及机制研究[J]. 中国美容医学, 2019, 28(1): 97-99.
- [3] Jian X, Qu L, Wang Y, et al. Trichostatin A induced miR30a5p regulates apoptosis and proliferation of keloid fibroblasts via targeting BCL2[J]. Mol Med Rep, 2019, 19(6): 5251.
- [4] 胡兆勇,谭劲,陈明,等. miR-21-5p在口腔黏膜下纤维化癌变细胞中的表达及生物信息学分析[J]. 中国医药导报, 2021, 18(31): 34-36+41+198.
- [5] 秦华,李中锋,李霁,等. 创伤性骨折患者骨折愈合延迟及影响因素研究[J]. 华南预防医学, 2023, 49(1): 86-89.
- [6] 张莹,李思琪,甘露,等. 外周血流式细胞仪分析在淋巴瘤性红皮病诊断中的作用研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2021, 54(9): 808-813.
- [7] 苏滢泓,夏文政,黄昕,等. 糖皮质激素治疗瘢痕疙瘩的研究进展[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2023, 39(9): 886-890.
- [8] Shi CK, Zhao YP, Ge P, et al. Therapeutic effect of interleukin-10 in keloid fibroblasts by suppression of TGF- β /Smad pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(20): 9085.
- [9] 李鹏程,向雪宝,何楠,等. MIF通过调控ERK/MAPK及TGF- β 1/Smads通路影响瘢痕成纤维细胞活力和凋亡[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(6): 1067-1075.
- [10] 唐志铭,丁继存,翟晓翔,等. 五倍子瘢痕膏提取液通过miR-21靶向调控mTOR通路对瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖、凋亡的影响[J]. 实用皮肤病学杂志, 2021, 14(3): 129-135.

(下转第2223页)

BDNF 基因多态性与脑卒中认知障碍遗传易感性的相关性

胡国艳¹ 谭锻玲^{2,3} 李雨晴^{2,3} 江惠珍² 杨欣^{2,3*}

[摘要] **目的** 探讨 *BDNF* 基因启动子序列单核苷酸多态性(SNP)与脑卒中后认知障碍(PSCI)的相关性。**方法** 采用病例-对照研究方法,选取2020年5月至2021年5月广州医科大学附属第五医院的124例PSCI患者和80例急性缺血性脑卒中患者的*BDNF*基因启动子采用聚合酶链反应扩增片段并测序,结合DNA测序后的序列及SNP位点比对后进行统计和分析。Hardy-Weinberg遗传平衡检验后,采用 χ^2 检验和*t*检验进行相关分析。Logistic回归对多种危险因素以及2个SNP位点与PSCI遗传易感性进行关联性分析。**结果** PSCI组中吸烟史、HDL-C、CRP均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);PSCI组中ALP明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组LDL-C、TG水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。多因素Logistic回归分析结果显示吸烟史、HDL-C、CRP是PSCI的独立危险因素,而糖尿病、ALP是PSCI的保护因素。Hardy-Weinberg(HWE)平衡检验结果表明rs6265、rs7103411位点均符合HWE平衡($P > 0.05$),所选取样本具有良好的代表性。rs6265中3种基因型在两组中的差异无统计学意义($P > 0.05$),A和G等位基因频率在两组中比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);rs7103411的3种基因型在两组中的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),C和T等位基因频率在两组中比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。Logistic回归分析显示,仅有rs6265的AG基因型与PSCI间存在关联,是PSCI的独立危险因素,可明显增加PSCI的患病风险。**结论** *BDNF*基因启动子SNP可能与PSCI遗传易感性相关,rs6265的AG基因型可能是PSCI的遗传危险因素。

[关键词] 脑卒中后认知障碍; *BDNF* 基因启动子; 基因多态性; 遗传易感性

Correlation between gene polymorphism of *BDNF* and genetic susceptibility of post-stroke cognitive impairment

HU Guoyan¹, TAN Duanling^{2,3}, LI Yuqing^{2,3}, JIANG Huizhen², YANG Xin^{2,3*}

(1. Department of Laboratory Medicine, the Fifth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510070; 2. Department of Pharmacy, the Fifth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510070; 3. College of Pharmacy, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 511436)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between single nucleotide polymorphism (SNP) of *BDNF* gene promoter sequence and post-stroke cognitive impairment (PSCI). **Methods** During the period from May 2020 to May 2021 in the Fifth Hospital of Guangzhou Medical University, the *BDNF* gene promoter was amplified and sequenced by polymerase chain reaction in 124 PSCI patients and 80 acute ischemic stroke patients using case-control method. The statistics and analysis were carried out by comparing DNA sequencing sequence and SNPs database. After using hardy-Weinberg genetic balance test, the χ^2 test and T test

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金(2021A1515011338);广东省中医药局科研项目基金(20201201);广州市卫健委中医药与中西医结合项目(20212A011027)

作者单位:1. 广州医科大学附属第五医院医学检验科, 广东, 广州 510070

2. 广州医科大学附属第五医院药学部, 广东, 广州 510070

3. 广州医科大学药学院, 广东, 广州 511436

*通信作者:杨欣, E-mail:37739362@qq.com

注:胡国艳与谭锻玲为共同第一作者

were used for correlation analysis. Logistic regression was used to analyze the correlation of multiple risk factors and two SNP loci with susceptibility to PSCI. **Results** The smoking history, HDLC and CRP in PSCI group were significantly higher than those in control group ($P<0.05$); The ALP of PSCI group was significantly lower than that of control group (P); There was no significant difference in LDL-C and TG levels between the two groups ($P>0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that smoking history, HDL-C, CRP were independent risk factors for PSCI, while diabetes, ALP were protective factors for PSCI. The results of Hardy Weinberg (HWE) balance test showed that rs6265 and rs7103411 loci were consistent with HWE balance ($P>0.05$), and the selected samples were well representative. There was no significant difference between the three genotypes of rs6265 in the two groups ($P>0.05$), and there was no significant difference between the frequencies of A and G alleles in the two groups ($P>0.05$); The three genotypes of rs7103411 had no significant difference between the two groups ($P>0.05$), and the frequency of C and T alleles had no significant difference between the two groups ($P>0.05$). Logistic regression analysis showed that only the AG genotype of rs6265 was associated with PSCI, which was an independent risk factor for PSCI and could significantly increase the risk of PSCI. **Conclusion** The SNPs of BDNF gene promoter may be associated with genetic susceptibility to PSCI, and the AG genotype of rs6265 may be a genetic risk factor for PSCI.

[KEY WORDS] PSCI; BDNF gene promoter; Gene polymorphism; Genetic susceptibility

卒中后认知障碍(post-stroke cognitive impairment, PSCI)指在卒中发生后6个月内出现达到认知障碍诊断标准的一系列综合征,包括神经退行性病变如阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)等在卒中后6个月内进展引起认知障碍^[1]。PSCI发病率、漏诊率及致死率高,严重影响患者生活质量,这对护理人员、家庭和社会产生了深远的影响^[2]。有研究显示,65岁以上患者PSCI的发生率显著增加^[3],卒中不仅易发生认知功能障碍,进展为痴呆的概率将增加4~12倍^[4]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是一种广泛表达在中枢神经系统中的神经肽,在调节突触发育和可塑性中发挥重要作用^[5]。已有研究表明,BDNF基因启动子序列单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可导致第66位密码子由缬氨酸(valine, Val)转变为甲硫氨酸(methionine, Met)(rs6265),与多种精神系统疾病的易感性、发病率和临床特征有关^[6]。然而,临床既往对PSCI与BDNF的基因研究较少,尚不清楚BDNF基因是否与PSCI发生发展有关。因此,本文选择BDNF基因中研究较多的rs6265、rs7103411两个SNP位点进行研究,探讨其与PSCI发病的关联性,以期临床风险评估、早期诊断及预防提供遗传学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

随机选取2020年5月至2021年5月收治于广州医科大学附属第五医院并经临床明确诊断的

124例PSCI患者作为PSCI组,男96例,女28例,年龄(67.19 ± 12.78)岁;另选取住院期间诊断为缺血性脑卒中患者80例为对照组,男52例,女28例,年龄(67.90 ± 12.11)岁。PSCI组纳入标准^[1]:①曾有脑卒中病史3个月以上;②病程呈波动性或阶梯性进展;③头颅MRI或CT显示有缺血性梗塞;④MoCA量表完成认知障碍的评估入选($10<MoCA$ 评分 ≤ 26);⑤可同时伴有糖尿病、高血脂、高血压、冠心病。PSCI排除标准:①不能配合MoCA量表评价者;②有可能影响认知功能的病史(如肿瘤、脑积水等);③有引起认知障碍改变的非血管性病史;④器官衰竭患者;⑤其它疾病所致的痴呆(如阿尔茨海默性痴呆AD)。

对照组纳入标准^[7]:①年龄在55岁以上;②发病时间距入院时间 <2 周;③入院时NIHSS评分 <20 分;④头颅MRI或CT显示脑缺血性病灶。排除标准:①失语、偏瘫、听力障碍不能配合完成神经心理学评估的患者;②排除大面积脑梗死、出血性梗死;③入组前存在肾功能受损者、器官功能衰竭者;④有引起认知障碍改变的病史。本研究方案经院医学伦理委员会批准。

1.2 实验主要仪器及试剂

凝胶成像系统(上海金鹏分析仪器有限公司Tanon-3500);PCR仪(罗氏cobas z480)。血液基因组DNA提取试剂盒(离心柱型)(凯普生物粤潮械备20150017号);PCR Master Mix(美国Promega M7502)。

1.3 实验方法

1.3.1 标本收集

EDTA 抗凝管采集 PSCI 组和对照组治疗前清晨空腹静脉血 2 mL, 24 小时内提取 DNA, -20℃ 保存备用。

1.3.2 基因组提取

按照试剂说明书操作, 提取全血基因组 DNA, 并检测各吸光度比值 A260/A280 在 1.8~2.0 之间, 浓度 >100 mg/L, -20℃ 保存备用。

1.3.3 引物设计及合成

采用 Primer Premier 5.0 软件设计 BDNF 基因引物序列, 并由广州艾基生物技术有限公司制备合成。见表 1。

表 1 BDNF 基因启动子引物序列

Table 1 Primer sequence of the BDNF gene promoter

引物名称	引物序列	产物大小	退火温度
BDNF-F1	5'-TTTGTTGCATGAAGGCTGC-3'	444 bp	56℃
BDNF-R1	5'-CGACATGTCCACTGCAGTCT-3'		
BDNF-F2	5'-CACAGCATCACACCAGGGAT-3'	491 bp	56℃
BDNF-R2	5'-AGAGGTGAGTTGGAGGCCTA-3'		

1.3.4 PCR 扩增

按照 PCR MasterMix (Promerger M7502) 使用说明书进行操作。PCR 反应体系为: 1.0 μL DNA, 上游引物(10 μmol/L) 1.0 μL, 下游引物(10 μmol/L) 1.0 μL, PCR 高保真酶 MIX 10 μL, 无核酸酶水 7 μL, 总体积 20 μL。反应条件: 94℃ 5 min 预变性反应; 94℃ 30 s, 56℃ 40 s, 72℃ 40 s, 反应 35 个循环; 72℃ 延伸 5 min, 2~8℃ 暂时保存。

1.3.5 测序

PCR 扩增产物由广州艾基生物技术有限公司进行 Sanger 法测序, 通过 Sequencher4.1.4 软件将所测序列与野生型进行序列 SNP 位点对比。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 25.0 进行数据分析。计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间两两比较采用 *t* 检验。计数资料以 *n*(%) 表示, 组间等位基因频率差异采用 χ^2 检验。SNP 与 PSCI 的相关性以优势比(odds ratio, OR) 95% CI 表示。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床特征分析

PSCI 组中吸烟史、高密度脂蛋白胆固醇

(High density lipotein cholesterol, HDL-C) 及 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP) 均明显高于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05); PSCI 组中的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP) 明显低于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05); 两组低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、甘油三酯(triglyceride, TG) 水平比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

表 2 PSCI 组与对照组临床特征比较 [$(\bar{x} \pm s)$, *n*(%)]

Table 2 Comparison of clinical characteristics between PSCI group and control group [$(\bar{x} \pm s)$, *n*(%)]

一般资料	PSCI 组 (<i>n</i> =124)	对照组 (<i>n</i> =80)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	67.19±12.78	67.90±12.11	-1.265	0.694
男/女(例)	96(28.0)	52(28.0)	-	0.075
BMI/(kg/m ²)	22.86±1.91	22.73±1.20	-0.430	0.568
吸烟史(%)	20(16.1)	4(5.0)	-	0.029
既往史 高血压	96(77.4)	64(80.0)	-	0.792
糖尿病	52(51.9)	44(55.0)	-	0.093
高血脂	44(35.5)	32(40.0)	-	0.615
生化指标 HbA1c(%)	6.64±0.88	6.68±1.23	-1.081	0.739
HDL-C/(mmol/L)	1.06±0.28	0.92±0.15	3.032	<0.001
LDL-C/(mmol/L)	2.16±0.65	2.13±0.66	-0.538	0.674
TG/(mmol/L)	1.60±1.06	1.35±0.56	0.912	0.054
HCY(μmol/L)	12.84±5.27	12.36±4.00	-0.243	0.485
ALP(U/L)	74.21±11.44	99.09±15.77	-13.807	<0.001
CRP(mg/L)	21.64±31.62	4.22±3.86	3.707	<0.001

注: -表示数据未获得。

2.2 PSCI 组与对照组相关危险因素分析

以 PSCI 为因变量, 以年龄、性别、吸烟史、高血压、糖尿病、高血脂、身体质量指数(Body Mass Index, BMI)、糖化血红蛋白(HbA1c)、HDL-C、LDL-C、TG、ALP、CRP 为自变量, 行多因素 Logistic 回归分析。结果表明吸烟史、HDL-C、CRP 是 PSCI 的独立危险因素(*P*<0.05), 吸烟史、HDL-C、CRP 可明显增加 PSCI 的患病风险; 糖尿病、ALP 是 PSCI 的保护因素(*P*<0.05), 可明显降低 PSCI 的患病风险。见表 3。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验与分析

对 rs6265、rs7103411 位点进行 Hardy-Weinberg (HWE) 平衡检验, 结果表明 rs6265、rs7103411 位点均符合 HWE 平衡 (*P*>0.05), 所选取样本具有良好的代表性。基因分型结果表明 rs6265 中 3 种基因型在两组中的差异无统计学意义(*P*>0.05), A 和 G 等位基因频率在两组中比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); rs7103411 的 3 种基因型在两组中的比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05), C 和 T 等位基因频率在两组中比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 4。

表3 相关危险因素的多因素 Logistic 回归分析

Table 3 Multivariate Logistic regression analysis of related risk factors

变量	OR	95% CI	P 值
年龄/岁	0.93	0.85~1.02	0.130
性别	1.31	0.86~1.99	0.213
吸烟史	2.16	1.33~3.50	0.002
高血压	0.93	0.61~1.42	0.751
糖尿病	0.15	0.02~0.81	0.038
高血脂	1.03	0.71~1.49	0.866
BMI/(kg/m ²)	1.02	0.90~1.16	0.716
HbA1c(%)	0.89	0.68~1.18	0.425
HDL-C/(mmol/L)	3.26	1.82~5.84	<0.001
LDL-C/(mmol/L)	0.98	0.83~1.16	0.804
TG/(mmol/L)	4.85	0.74~36.1	0.100
ALP(U/L)	0.81	0.72~0.87	<0.001
CRP(mg/L)	1.58	1.29~2.07	<0.001

表4 PSCI 组和对照组 SNP 位点的 Hardy-Weinberg 平衡检验

Table 4 Hardy-Weinberg equilibrium test in PSCI group and control group

SNP(A/B)		rs6265(A/G)	rs7103411(C/T)
对照组	AA(例)	22	16
	AB(例)	37	52
	BB(例)	21	12
	HWE	0.614	0.109
	A 基因频数	81	84
	B 基因频数	79	76
PSCI 组	AA(例)	29	20
	AB(例)	65	68
	BB(例)	30	36
	HWE	0.684	0.339
	A 基因频数	123	120
	B 基因频数	125	128
χ^2 值		0.041	0.658
P 值		0.840	0.417

2.4 相关性分析

采用 Logistic 回归分析 SNP 不同基因型与 PSCI 的相关性,结果显示 rs6265 的 AG 基因型与 PSCI 之间存在关联($P < 0.05$),可能是 PSCI 的危险因素。对性别、年龄、BMI、吸烟史、高血压、糖尿病、HDL-C、LDL-C、TG 等混杂因素校正后再次用 Logistic 回归分析,结果显示仅有 rs6265 的 AG 基因型与 PSCI 间存在关联,是 PSCI 的独立危险因素,可明显增加 PSCI 的患病风险。见表 5。

3 讨论

PSCI 是脑卒中后的主要并发症之一,是指脑卒中引起的从轻度认知障碍到痴呆的一系列综合征。PSCI 的发生率很高,其主要致病机制为脑血管性损害、炎症、遗传等机制,但尚未完全阐明^[8]。

表5 SNP 不同基因型与 PSCI 的 Logistic 回归分析

Table 5 Logistic regression analysis of different genotypes of SNP and PSCI

SNP	基因型	粗略分析			校正分析		
		OR	95% CI	P 值	OR	95% CI	P 值
rs6265	AA	1.000	-	0.008	1.000	-	-
	AG	2.250	1.351~4.398	0.007	2.356	1.126~5.344	0.035
	GG	1.985	0.783~4.365	0.138	1.996	0.687~5.935	0.475
rs7103411	CC	1.000	-	0.009	1.000	-	-
	CT	0.508	0.480~0.985	0.034	0.587	0.460~1.758	0.183
	TT	0.824	0.356~1.987	0.756	0.796	0.302~2.441	0.674

注:-标示数据未获得。

PSCI 的危险因素年龄、性别、种族、遗传因素、教育、高血压、糖尿病、卒中病史、肥胖、吸烟、饮酒等是其发病主要危险因素^[9]。而本研究发现,吸烟史、高密度脂蛋白、CRP 均是 PSCI 的危险因素,但并未发现高血压、糖尿病人群在认知损害组中比例增高,可能与高血压、糖尿病本身就是脑卒中的高危因素有关。研究还发现 CRP 生物标志物表达的变化与 PSCI 有关,这与 Grigolashvili MA 等人^[10]研究结论一致。ALP 作为 PSCI 的保护因素,可明显降低 PSCI 的患病风险,这与 He 等^[11]回顾性研究探讨 ALP 与认知障碍的关系结论相反,可能是样本量、纳入标准、排除标准等的不同造成结果的差异。

遗传标志物的鉴定可能是一种识别认知障碍风险个体的有用方法,目前 *BDNF* 基因被认为是认知障碍的潜在基因,其作用仍不清楚^[12]。本研究主要目的探索 *BDNF* 基因中的研究较多的二个 SNP(rs6265、rs7103411)与 PSCI 之间的相关性。*BDNF*-rs6265 位于 11 号染色体的内含子区,其多态性可使 pro-*BDNF* 基因 5'端第 196 位的 G 转变为 A,从而引起第 66 位的缬氨酸转换成蛋氨酸,这种转换影响 pro-*BDNF* 的正常转录,进一步影响细胞内加工、生成和释放及 mBDNF 的分泌^[13]。本研究发现 *BDNF*-rs6265 多态性与 PSCI 患者有关联,患者 AG 基因型出现 PSCI 的风险增大。*BDNF*-rs6265 基因多态性与认知障碍的关系比较复杂,研究结果并不完全一致,有研究发现 *BDNF*-rs6265 基因多态性是男性正常认知老化中的认知功能的潜在基因^[12],认为该位点的突变会导致 *BDNF* 表达下降,而 *BDNF* 可以通过刺激生长激素抑制素的表达增加 β -淀粉样蛋白的降解,从而导致认知障碍的发生^[14]。但也有研究^[15]未发现 *BDNF* 与认知障碍之间具有关联性,可能与性别、地域、环境、样本量等因素有关。*BDNF*-rs7103411 也是位于 11

号染色体的内含子区,为跨基因的 NCBI SNP 的 T/C 基因多态性,虽未发现其多态性与 PSCI 有关联,但仍值得关注。在对照组、PSCI 组之间比较中,发现基因型频度在二组间无差异,而 TT 基因型均高于对照组,尚不能推断 rs7103411 的易感基因型,考虑可能与样本量偏小有关。

本研究发现 rs6265 的 AG 基因型与 PSCI 间存在关联,是 PSCI 的危险因素,致 PSCI 的患病风险是正常人的 2.356 倍。然而,BDNF-rs6265 风险基因携带者对 PSCI 发病风险的影响还需要进一步前瞻性研究来证实。尚未发现 rs7103411 的基因型与 PSCI 之间具有相关性,可能与本研究中样本量少或存在选择性偏倚及研究对象地域、种族和环境等多方面因素有关。

此外,本研究的局限性还在于认知功能损害重要的风险基因 *APOE* 未纳入分析,故今后有必要开展 2 种风险基因 *BDNF* 和 *APOE*,大样本、多地域、多种族、广泛人群的实验研究,以及 PSCI 遗传生物学的功能研究,为 PSCI 的发生发展机制提供更多的遗传学证据。

参考文献

- [1] 汪凯,董强,郁金泰,等.卒中后认知障碍管理专家共识 2021[J].中国卒中杂志,2021,16(4):376-389.
- [2] Huang YY, Chen SD, Leng XY, et al. Post-Stroke Cognitive Impairment: Epidemiology, Risk Factors, and Management [J]. J Alzheimers Dis, 2022, 86(3):983-999.
- [3] 王俊.中国卒中后认知障碍防治研究专家共识[J].中国卒中杂志,2020,15(2):158-166.
- [4] D'Souza CE, Greenway MRF, Graff-Radford J, et al. Cognitive Impairment in Patients with Stroke [J]. Semin Neurol, 2021, 41(1):75-84.
- [5] Wang CS, Kavalali ET, Monteggia LM. BDNF signaling in context: From synaptic regulation to psychiatric disorders [J]. Cell, 2022, 185(1):62-76.
- [6] Shen T, You Y, Joseph C, et al. BDNF Polymorphism: A Review of Its Diagnostic and Clinical Relevance in Neurodegenerative Disorders [J]. Aging Dis, 2018, 9(3):523-536.
- [7] 彭斌,吴波.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018 [J]. 中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [8] 许志祥,吴云成.卒中后认知功能障碍发病机制的研究进展 [J]. 上海医药,2018,39(17):5-8+17.
- [9] Al-Qazzaz NK, Ali SH, Ahmad SA, et al. Cognitive impairment and memory dysfunction after a stroke diagnosis: a post-stroke memory assessment [J]. Neuropsychiatric Dis Treat, 2014, 10:1677-1691.
- [10] Grigolashvili MA, Mustafina RM. The role of the inflammatory process in the development of post-stroke cognitive impairment [J]. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2021, 121(2):16-21.
- [11] He J, Li HM, Liu YR, et al. Elevated serum alkaline phosphatase as a predictor of cognitive impairment in patients with acute ischaemic stroke: A retrospective cohort study [J]. Arch Gerontol Geriatr, 2020, 89:104.
- [12] Laing KR, Mitchell D, Wersching H, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene: a gender-specific role in cognitive function during normal cognitive aging of the MEMO-Study? [J]. Age, 2012, 34(4):1011-1022.
- [13] Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, et al. Brain-derived neurotrophic factor: A key molecule for memory in the healthy and the pathological brain [J]. Front Cell Neurosci, 2019, 7(13):363.
- [14] Franzmeier N, Ren J, Damm A, et al. The BDNF Val66Met SNP modulated the association between beta-amyloid and hippocampal disconnection in Alzheimer's disease [J]. Mol Psychiatry, 2021, 26(2):614-628.
- [15] Huang LK, Chao SP, Hu CJ, et al. Plasma Phosphorylated-tau181 Is a Predictor of Post-stroke Cognitive Impairment: A Longitudinal Study [J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14:889101.
- [11] 李娟,师若迪,陈雨婷,等.枸杞多糖通过 miRNA-21-5p 靶向 PTEN 调控 PI3K/Akt/mTOR 通路抗视网膜色素上皮细胞光损伤机制 [J]. 中华中医药杂志,2023,38(8):3588-3593.
- [12] Piyanki D, Sonali P, Nilanjana D, et al. Endogenous PTEN acts as the key determinant for mTOR inhibitor sensitivity by inducing the stress-sensitized PTEN-mediated death axis in KSHV-associated malignant cells [J]. Front Mol Biosci, 2023, 10:1062462.
- [13] 班晨,王钟华,安峰. SOD、TGF- β 1、Vasohibin-1 在口腔鳞状细胞癌诊断及预后评估中的价值 [J]. 分子诊断与治疗杂志,2021,13(4):555-558+563.
- [14] 梁大宁,柯昌能.巨噬细胞移动抑制因子及其拮抗剂 ISO-1 在病理性瘢痕发病机制中的作用 [J]. 实用医学杂志,2017,33(3):412-416.
- [15] 李鹏程,向雪宝,何楠,等. MIF 通过调控 ERK/MAPK 及 TGF- β 1/Smads 通路影响瘢痕成纤维细胞活力和凋亡 [J]. 中国病理生理杂志,2021,37(6):1067-1075.
- [16] 龚婉茹,刘梦嫦,刘星可,等.增生性瘢痕与瘢痕疙瘩上皮间质转化及 CD26 表达的异质性研究 [J]. 陆军军医大学学报,2022,44(21):2174-2182.
- [17] 郝明炫,梁有洋,郭蕊,等.神经胶质瘤生物标志物研究进展 [J]. 生物工程学报,2023,39(4):1445-1461.
- [18] Yang F, Xiong H, Li Q, et al. MiR-1246 promotes metastasis and invasion of A549 cells by targeting GSK-3 β -mediated Wnt/ β -catenin pathway [J]. Cancer Res Treat, 2019, 51(4):1420-1429.

(上接第 2218 页)

ACR、Cys C、ApoA1 水平与慢性心力衰竭患者病情严重程度及预后的相关性分析

史蓓蓓* 王妍 崔晓婷

[摘要] 目的 分析尿微量白蛋白/尿肌酐比值(ACR)、半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(Cys C)、载脂蛋白A1(ApoA1)水平和慢性心力衰竭(CHF)患者病情严重程度及预后的相关性。方法 选取2022年1月至2023年1月北京和平里医院收治的CHF患者98例为研究对象,根据美国纽约心脏病学会(NYHA)心功能分级分为Ⅱ级组41例、Ⅲ级组34例、Ⅳ级组23例,收集患者一般资料及心脏超声检查指标,并检测ACR、Cys C及ApoA1水平,比较NYHA不同分级患者的ACR、Cys C及ApoA1水平,分析CHF患者NYHA分级和左心室射血分数(LVEF)与ACR、Cys C、ApoA1的相关性。对CHF患者随访3个月,以是否发生不良心血管事件(MACE)分为预后不良组(29例)和预后良好组(69例),单、多因素分析影响MACE发生的因素,ROC曲线分析ACR、Cys C、ApoA1预测CHF患者发生MACE的应用价值。结果 ACR与Cys C水平在NYHA不同分级患者的比较,均为Ⅱ级<Ⅲ级<Ⅳ级($F=47.229$ 、 151.515 , $P<0.05$), ApoA1水平比较,为Ⅱ级>Ⅲ级>Ⅳ级($F=36.637$, $P<0.05$), Pearson显示, ACR及Cys C与NYHA分级呈正相关($r=0.413$ 、 0.627 , $P<0.05$), 与LVEF呈负相关($r=-0.312$ 、 -0.531 , $P<0.05$), ApoA1与NYHA分级呈负相关($r=-0.253$, $P<0.05$), 与LVEF呈正相关($r=0.417$, $P<0.05$), 多因素Logistic分析显示, 年龄及ACR、Cys C、ApoA1水平是CHF患者发生MACE的独立影响因素($P<0.05$), ROC曲线显示, ACR、Cys C、ApoA1及联合预测CHF患者发生MACE的曲线下面积分别为0.874、0.853、0.862、0.962。结论 ACR、Cys C、ApoA1水平会随CHF患者病情变化而改变, 联合检测其水平对于预测CHF患者是否发生MACE具有较好的应用价值。

[关键词] 尿微量白蛋白/尿肌酐比值; 半胱氨酸蛋白酶抑制剂; 载脂蛋白A1; 慢性心力衰竭

Correlation analysis of ACR, Cys C and ApoA1 levels with the severity and prognosis of patients with chronic heart failure

SHI Beibei*, WANG Yan, CUI Xiaoting

(Department of Cardiovascular Medicine, Beijing Hepingli Hospital, Beijing, China, 100013)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the correlation between urinary microalbumin/urinary creatinine ratio (ACR), cystatin C (Cys C), and apolipoprotein A 1 (ApoA1) levels and the severity and prognosis of patients with chronic heart failure (CHF). **Methods** A total of 98 patients with CHF admitted to Beijing Hepingli Hospital from January 2022 to January 2023 were selected as the research objects. According to the New York Heart Association (NYHA) cardiac function classification, they were divided into grade II group ($n=41$), grade III group ($n=34$) and grade IV group ($n=23$). The general data and cardiac ultrasound examination indexes of the patients were collected, and the levels of ACR, Cys C and ApoA1 were detected. The levels of ACR, Cys C and ApoA1 in patients with different NYHA grades were compared. The correlation of NYHA classification and left ventricular ejection fraction (LVEF) with ACR, Cys C and ApoA1 in CHF patients was analyzed. CHF patients were followed up for 3 months. According to the occurrence of adverse cardiovascular events

基金项目:北京市中医药科技项目(JJ2014-31)

作者单位:北京市和平里医院心血管内科,北京 100013

*通信作者:史蓓蓓, E-mail: m18600269232@163.com

(MACE), they were divided into the poor prognosis group (29 cases) and the good prognosis group (69 cases). Univariate and multivariate analysis were used to analyze the factors affecting the occurrence of MACE. The ROC curve was used to analyze the application value of ACR, Cys C and ApoA1 in predicting MACE in CHF patients. **Results** The levels of ACR and Cys C in patients with different NYHA grades were grade II < grade III < grade IV ($F=47.229, 151.515; P<0.05$), and the level of ApoA1 was grade II > grade III > grade IV ($F=36.637; P<0.05$). Pearson showed that ACR and Cys C were positively correlated with NYHA classification ($r=0.413, 0.627, P<0.05$), and negatively correlated with LVEF ($r=-0.312, -0.531, P<0.05$). ApoA1 was negatively correlated with NYHA classification ($r=-0.253, P<0.05$), and positively correlated with LVEF ($r=0.417, P<0.05$). Multivariate logistic analysis showed that age and levels of ACR, Cys C and ApoA1 were independent influencing factors of MACE in CHF patients ($P<0.05$). The ROC curve showed that the areas under the curve of ACR, Cys C, ApoA1 and combined prediction of MACE in CHF patients were 0.874, 0.853, 0.862 and 0.962, respectively. **Conclusion** The levels of ACR, Cys C and ApoA1 will change with the condition of CHF patients. Combined detection of their levels has a good application value in predicting whether MACE occurs in CHF patients.

[KEY WORDS] ACR; Cys C; ApoA1; CHF

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是指心脏无法有效泵血,致使全身血液循环及氧供给不足的一种临床综合征,是各种心血管疾病的终末阶段^[1]。其具有高住院率及高死亡率的特点,严重威胁患者生命质量,给患者家庭及社会带来沉重负担^[2]。准确评估CHF的严重程度及预后情况对于疾病的诊治及改善预后具有重要意义。CHF患者除自身心脏因素会影响预后外,还受到肾功能等因素的影响^[3],尿微量白蛋白/尿肌酐比值(urinary microalbumin/creatinine ratio, ACR)是评估早期肾脏损伤的灵敏可靠的指标,有文献指出^[4],CHF患者的心脏功能及预后受ACR水平的影响。半胱氨酸蛋白酶抑制剂C(cystatin C, Cys C),是预测心血管疾病发生的生物学指标,相关研究表明^[5],Cys C能够作为评价CHF患者的敏感指标。载脂蛋白A1(apolipoprotein A1, apoA1)具有清除脂质及防止动脉粥样硬化的作用,其对于心血管疾病的发生和控制具有重要作用^[6]。目前,临床上尚未有将ACR、Cys C、ApoA1联合检测研究与CHF发生发展的研究报道,因此,本研究探讨ACR、Cys C及ApoA1与CHF患者病情变化及预后的相关性,以期为临床干预CHF提供有价值的参考指标。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选取2022年1月至2023年1月北京和平里医院收治的CHF患者98例为研究对象。纳入标

准:①诊断符合《慢性心力衰竭基层诊疗指南(2019年)》^[7]中有关CHF的诊断标准,且心脏彩超检测显示左心室的射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) $<50\%$;②年龄 >18 岁;③CHF病程 ≥ 1 年;④患者或家属签署知情同意书。排除标准:①既往患有肾脏原发疾病;②合并传染性疾病或恶性肿瘤者;③合并精神障碍无法配合者;④近期行心脏手术者;⑤其他情况导致的ACR、Cys C、ApoA1异常者。根据美国纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)心功能分级^[8]分为II级组41例、III级组34例、IV级组23例。本研究经北京和平里医院医学委员伦理会批准通过后开展。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

入院后对所有入选患者进行体格检查及病史记录,收集患者年龄、性别、体质指数(BMI)、血压、饮酒史、吸烟史等资料。

1.2.2 检测方法

ACR检测方法:采集入选患者晨起中段尿10 mL,离心处理(2 000 r/min,离心半径:5 cm,15 min)后取上清液,采用放射免疫分析法检测尿微量白蛋白水平,试剂盒购自罗氏诊断产品(上海)有限公司;采用染料金属络合物比色法检测尿肌酐水平,试剂盒购自爱科莱日本京都公司,并计算ACR水平。

Cys C及ApoA1检测方法:采集入选患者清晨空腹静脉血4 mL,离心后(3 000 r/min,离心半径:

10 cm, 15 min)后取上血清,采用免疫透射比浊法检测 Cys C 及 ApoA1 水平,试剂盒购自北京康美天鸿生物科技有限公司。所有检测过程均由专业人员严格按照相应试剂盒说明书进行操作。

心功能指标检测:采用由徐州凯尔生物科技有限公司提供的 KR-E80 型号彩色多普勒超声检测 LVEF、左心室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)及左心室收缩末期内径(left ventricular end systolic dimension, LVESD)。

1.3 随访

所入选的 CHF 患者出院后,对其进行3个月的随访,随访方式包括患者门诊复查、电话或线上随访。根据患者3个月内不良心血管事件(major adverse cardiovascular events, MACE)发生情况,分为预后不良组(29例)和预后良好组(69例)。MACE 包括室性心律失常、心绞痛、心源性休克、卒中等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件统计分析数据。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较采用 *t* 检验,多组间的比较采用 *F* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关性模型分析 ACR、Cys C 及 ApoA1 与 NYHA 分级的相关性;采用多因素 Logistic 回归模型分析 MACE 发生的影响因素;采用 ROC 曲线分析 ACR、Cys C 及 ApoA1 预测 CHF 患者发生 MACE 的应用价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NYHA 不同分级患者的 ACR、Cys C、ApoA1 水平比较

ACR 与 Cys C 水平在 NYHA 不同分级患者的比较,均为 II 级 < III 级 < IV 级,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); ApoA1 水平在 NYHA 不同分级患者的比较,为 II 级 > III 级 > IV 级,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 ACR、Cys C 及 ApoA1 与 NYHA 分级的相关性分析

Pearson 模型分析显示, ACR 及 Cys C 与 NYHA 分级呈正相关($r=0.413, 0.627, P < 0.05$), 与 LVEF 呈负相关($r=-0.312, -0.531, P < 0.05$), ApoA1 与 NYHA 分级呈负相关($r=-0.253, P < 0.05$), 与 LVEF 呈正相关($r=0.417, P < 0.05$)。

表1 NYHA 不同分级患者的 ACR、Cys C、ApoA1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of ACR, Cys C and ApoA1 levels in patients with different NYHA grades ($\bar{x} \pm s$)

NYHA 分级	<i>n</i>	ACR(mg/g)	Cys C(mg/L)	ApoA1(g/L)
II 级	41	4.17±1.49	2.16±0.61	1.68±0.37
III 级	34	7.21±1.83 ^a	4.88±0.93 ^a	1.29±0.24 ^a
IV 级	23	8.93±2.34 ^{ab}	5.96±1.28 ^{ab}	1.07±0.19 ^{ab}
<i>F</i> 值		47.229	151.515	36.637
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:与 II 级组相比,^a $P < 0.05$;与 IV 级组相比,^b $P < 0.05$ 。

2.3 影响 CHF 患者发生 MACE 的单因素分析

预后良好组及预后不良组的年龄、吸烟史、饮酒史、LVEF、LVEDD、LVESD、ACR、Cys C 及 ApoA1 水平在组间比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 影响 CHF 患者发生 MACE 的多因素分析

多因素 Logistic 回归模型分析显示,年龄、ACR、Cys C、ApoA1 是 CHF 患者发生 MACE 的独立影响因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 ACR、Cys C 及 ApoA1 对 CHF 患者发生 MACE 的预测价值

ROC 曲线分析显示, ACR、Cys C、ApoA1 三者联合检测的敏感度、特异度及曲线下面积(AUC)均高于单一检测 ($P < 0.05$)。见表 4 及图 1。

3 讨论

近年来,随着我国逐步进入老龄化社会及国民生活方式的改变,心血管患病率不断上升,据报道,我国心血管患病人群已达 3.3 亿^[9],而 CHF 作为各种心血管疾病的终末阶段,病情迁延且预后较差,是引起心血管患者死亡的主要原因^[10]。为延缓 CHF 疾病的进展,需要对 CHF 患者进行长期治疗,而疾病严重程度变化对于改进治疗方案至关重要。目前,临床上常采用 NYHA 分级评价患者病情,但该方法仅仅依靠于患者主观描述,而有时患者自述症状可能会与客观的检查结果颇具差异,且不同患者之间亦存在差异。因此,寻找有效准确的指标来辅助评估患者疾病严重程度,对于选择合适治疗方案及改善预后意义重大。

研究表明^[11-12], CHF 患者的心脏及肾脏之间存在紧密关联性,机体在心力衰竭状态下会引起肾脏血流紊乱及灌注减少、肾小球毛细血管静脉压上升而导致肾功能恶化,另一方面,当肾功能受损

表2 影响CHF患者发生MACE的单因素分析 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$
Table 2 Univariate analysis of MACE in CHF patients $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

因素	预后良好组(n=69)	预后不良组(n=29)	χ^2/t 值	P值	
性别	年龄	71.43±5.87	78.32±6.14	5.233	<0.001
	男	41(59.42)	16(55.17)	0.151	0.697
	女	28(40.58)	13(44.83)		
合并高血压	病程	4.93±1.16	5.14±1.38	0.773	0.442
	BMI(kg/m ²)	24.15±2.83	24.97±2.95	1.293	0.199
	收缩压(mmHg)	145.28±25.17	149.73±27.36	0.779	0.438
	舒张压(mmHg)	93.52±11.39	96.74±13.64	1.204	0.232
合并糖尿病	是	37(53.62)	15(51.72)	0.030	0.863
	否	32(46.38)	14(48.28)		
吸烟史	是	25(36.23)	11(37.93)	0.025	0.873
	否	44(63.77)	18(62.07)		
饮酒史	有	23(33.33)	17(58.62)	5.405	0.020
	无	46(66.67)	12(41.38)		
LVEF(%), LVEDD(mm), LVESD(mm), ACR(mg/g), Cys C(mg/L), ApoA1(g/L)	有	31(44.93)	23(79.31)	9.757	0.001
	无	38(55.07)	6(20.69)		
	LVEF(%)	43.45±7.82	36.78±7.13	3.953	<0.001
	LVEDD(mm)	51.74±8.95	57.21±8.49	2.803	0.006
	LVESD(mm)	47.19±6.82	52.94±7.01	3.779	<0.001
	ACR(mg/g)	5.63±1.35	8.04±2.17	6.672	<0.001
	Cys C(mg/L)	3.45±1.07	5.29±1.36	7.155	<0.001
	ApoA1(g/L)	1.53±0.37	1.09±0.23	5.930	<0.001

表3 影响CHF患者发生MACE的多因素分析
Table 3 Multivariate analysis of MACE in CHF patients

因素	赋值	β 值	S.E值	Wald值	OR(95% CI)	P值
年龄	实际值	0.312	0.124	6.331	1.366(1.071~1.742)	0.012
吸烟史	有=1,无=0	0.263	0.194	1.838	1.301(0.889~1.903)	0.175
饮酒史	有=1,无=0	0.547	0.287	3.392	1.728(0.965~3.093)	0.066
LVEF	实际值	-0.231	0.125	3.415	0.794(0.621~1.014)	0.065
LVEDD	实际值	0.516	0.309	2.789	1.675(0.914~3.070)	0.095
LVESD	实际值	0.684	0.391	3.060	1.982(0.921~4.265)	0.080
ACR	实际值	1.429	0.554	6.653	4.175(1.409~12.364)	0.010
Cys C	实际值	1.624	0.635	6.541	5.073(1.461~17.612)	0.011
ApoA1	实际值	-1.413	0.573	6.081	0.243(0.079~0.748)	0.014

表4 ACR、Cys C及ApoA1对CHF患者发生MACE的预测价值

指标	临界值	AUC	约登指数	敏感度(%)	特异度(%)	95% CI	P值
ACR	8.015	0.874	0.672	75.9	91.3	0.774~0.974	<0.05
Cys C	4.067	0.853	0.616	86.2	75.4	0.768~0.939	<0.05
ApoA1	1.365	0.862	0.656	93.1	72.5	0.791~0.932	<0.05
三者联合检测		0.962	0.854	89.7	95.7	0.915~0.983	<0.05

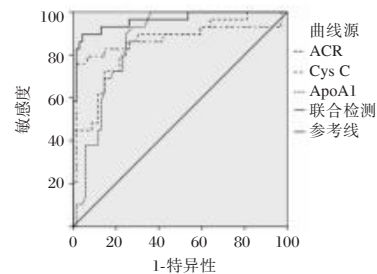


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

时会使动脉粥样硬化,而导致动脉结构重塑,进而引起心脏结构改变及心肌间质纤维化,从而造成心脏功能损伤。ACR在临床上常用于评估蛋白尿,是反应肾功能损害程度的有效指标,同时,

ACR的升高预示CHF患者的预后不良^[13]。梁佳莉等^[14]研究发现,CHF患者肾功能的损伤与病情严重程度具有密切相关性,本研究结果提示ACR对于CHF患者病情严重程度可以起到一定的评估

作用。Cys C是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,主要分布于肌肉及肾脏等组织中,戴书连等^[15]通过对心力衰竭患者Cys C水平的研究发现,Cys C水平升高表示患者心功能受损且病程进一步加重,其可以作为CHF病程发展的预测因子。本研究结果显示,Cys C水平随NYHA分级的升高而上升,且与NYHA分级呈正相关,并与LVEF呈负相关,这可能是由于,Cys C水平的上升,抑制胶原蛋白降解作用,使心肌细胞外基质聚集导致心室重构,而心室重构促使了CHF发生发展^[16]。ApoA1是一种载脂蛋白颗粒,是高密度脂蛋白的重要组成部分,约占高密度脂蛋白总含量的70%,可以参与机体内胆固醇逆转运,具有抗氧化及抗炎等功能,在心力衰竭患者中发挥保护作用^[17]。王丽君等^[18]学者通过对冠心病患者ApoA1水平的研究发现,高水平的ApoA1水平会使炎症因子水平降低,证实了其的抗炎作用。而CHF被认为是一种持续性的炎症状态^[19],相对于健康人群,CHF患者炎症因子水平会升高。本研究表明ApoA1水平有助于反应CHF患者左心室状况,可以预示CHF患者病情的发展。

多因素logistic分析结果显示,ACR、Cys C及ApoA1是CHF患者发生MACE的独立影响因素,提示上述指标的异常变化是反映CHF患者MACE发生的可靠指标。另外,多因素logistic分析发现,年龄亦是影响CHF预后的独立因素,可能是因为,随着年龄的增大,患者心功能衰退程度越明显,且合并症亦会增加,而导致发生MACE风险增大。进一步通过ROC曲线分析结果得出,联合检测ACR、Cys C及ApoA1三者水平的敏感度、特异度及AUC为89.7%、95.7%、0.962,均高于单一检测,表明通过联合检测多项指标的水平可以有效提高对MACE发生的预测价值。

综上所述,ACR、Cys C及ApoA1会随CHF患者病情变化而改变,且与患者NYHA心功能分级密切相关,联合检测三者水平对于预测CHF患者MACE的发生具有较好的应用价值。

参考文献

- [1] 贲倩莹,朱凌燕,黄晓莉,等.慢性心力衰竭患者自我管理现状及影响因素[J].华南预防医学,2021,47(1):109-112.
- [2] 中国康复医学会心血管病预防与康复专业委员会.慢性心力衰竭心脏康复中国专家共识[J].中华内科杂志,2020,59(12):942-952.
- [3] Costanzo MR. The cardiorenal syndrome in heart failure [J]. *Heart Fail Clin*, 2020,16(1):81-97.
- [4] 钱鹏,曹选超,徐先静,等.尿微量白蛋白/尿肌酐比值在老年充血性心力衰竭中的变化及临床价值探讨[J].中国卫生检验杂志,2020,30(18):2177-2179.
- [5] 刘倩,唐惠星,崔雅璇,等.Cys-c、SAA及CRP水平与慢性心力衰竭并发肺部感染的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(9):1507-1510.
- [6] Ceci FM, Ceccanti M, Petrella C, et al. Alcohol drinking, apolipoprotein polymorphisms and the risk of cardiovascular diseases [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2021,18(1):150-61.
- [7] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等.慢性心力衰竭基层诊疗指南(2019年).中华全科医师杂志,2019,18(10):936-947.
- [8] 许顶立,马壮.2018英国国家卫生与临床优化研究所成年人慢性心力衰竭诊断与管理指南更新解读[J].中国全科医学,2019,22(17):2015-2019.
- [9] 张玮畅,田晶,杨弘,等.冠心病合并慢性心力衰竭患者5年全因死亡生存分析与可解释性研究[J].中华疾病控制杂志,2023,27(4):373-378+391.
- [10] 张子豪,王昌生,尹纪来,等.血清尿酸、胱抑素C、NT-pro-BNP及PCT表达水平与CHF并发医院感染患者预后的关系[J].热带医学杂志,2021,21(8):1006-1010+1092.
- [11] 包丽雯,李勇.管理慢性心力衰竭进展的关键:保护肾脏[J].中华高血压杂志,2023,31(1):2-5.
- [12] 徐静,王燕青,周楠,等.不同NYHA分级老年CHF患者血清cTnI、Cys C及UA水平变化及临床意义[J].系统医学,2022,7(23):36-39+44.
- [13] Bailey LN, Levitan EB, Judd SE, et al. Association of Urine Albumin Excretion With Incident Heart Failure Hospitalization in Community-Dwelling Adults [J]. *JACC Heart Fail*. 2019,7(5):394-401.
- [14] 梁佳莉,乐宇,高兴.尿微量白蛋白/尿肌酐比值在慢性心力衰竭患者中的变化分析[J].中国循证心血管医学杂志,2022,14(10):1248-1251.
- [15] 戴书连,诸波,高发林,等.心力衰竭患者血清D-D、Cys-C、NT-proBNP、hs-cTnI和CRP水平及其对预后评估的价值[J].临床和实验医学杂志,2021,20(11):1152-1155.
- [16] 倪凤扬,项羽.慢性心力衰竭患者血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂C与血脂水平的相关性[J].中南大学学报(医学版),2023,48(1):34-39.
- [17] Emmens JE, Jia C, Ng LL, et al. Impaired High-Density Lipoprotein Function in Patients With Heart Failure [J]. *J Am Heart Assoc*, 2021,10(9):e019123.
- [18] 王丽君,邵珊珊.血清apoA1水平与冠心病患者左室收缩功能的关系[J].临床心血管病杂志,2021,37(11):988-991.
- [19] Adamo L, Rocha-Resende C, Prabhu SD, et al. Reappraising the role of inflammation in heart failure [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020,17(5):269-285.

肺结核患者抗结核治疗前后呼吸道菌群生态的变化

林媛 谭守勇* 蔡杏珊 骆阳 吴碧彤 冯永忠 蔡智群 何司琪 陈志宏

[摘要] **目的** 探讨初治敏感肺结核患者经强化期抗结核治疗后呼吸道菌群的变化。**方法** 纳入住院确诊的初治敏感肺结核患者共18例,在抗结核治疗前、治疗8周采集痰液进行16S rRNA测序,对检测出的菌群进行多样性分析及关键物种差异比较,分析菌群变化与临床治疗效果的关系。**结果** 临床疗效评价:显效55.56%(10/18),有效44.44%(8/18),临床治疗总有效率100%。梭杆菌门、螺旋体门、梭杆菌属的相对丰度高于治疗前,放线菌门、链球菌属的相对丰度低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 初治敏感肺结核患者经强化期抗结核治疗后好转,呼吸道菌群结构改变,梭杆菌门、螺旋体门、梭杆菌属的相对丰度升高,放线菌门、链球菌属的相对丰度降低,可成为评估抗结核疗效的潜在生物标志物。

[关键词] 肺结核; 抗结核; 呼吸道; 菌群生态

Ecological changes of respiratory tract microbial flora in patients with pulmonary tuberculosis before and after anti-tuberculosis treatment

LIN Yuan, TAN Shouyong*, CAI Xinshan, LUO Yang, WU Bitong, FENG Yongzhong, CAI Zhiqun, HE Siqi, CHEN Zhihong

(Tuberculosis Department, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510095)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the alteration of pulmonary microecology in newly treated patients with sensitive pulmonary tuberculosis after intensive anti-tuberculosis therapy. **Methods** 18 newly diagnosed sensitive pulmonary tuberculosis patients were included. Sputum samples were collected for 16S rRNA sequencing before and 8 weeks after the anti-tuberculosis treatment. The diversity of the detected pulmonary microecology was analyzed and the differences of key species were compared to analyze the relationship between microecology alteration and clinical treatment effects. **Results** Clinical efficacy evaluation: markedly effective 55.56% (10/18), effective 44.44% (8/18), and the total effective rate of clinical treatment was 100%. After the intensive anti-tuberculosis treatment, the relative abundances of Fusobacterium, Treponema, and Fusobacterium were higher than those before treatment, and the relative abundances of Actinobacteria and Streptococcus were lower than those before treatment, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** When sensitive pulmonary tuberculosis patients improved after the intensive anti-tuberculosis treatment, the change of microbial flora may provide the potential biomarkers for the evaluation of anti-tuberculosis efficacy.

[KEY WORDS] Tuberculosis; Anti-tuberculosis; Respiratory tract; Microecology

人体呼吸道存在一定数量和种类的微生物,呼吸道菌群发挥着维持气道正常的生理功能、抵御外来菌群和调节免疫等作用^[1]。近年研究表明,结核菌感染会导致机体呼吸道菌群发生改变,而呼吸道菌群失调亦会加剧结核病的发展^[2-3]。呼吸道菌群

与结核病两者相互作用、相互影响^[4]。有研究显示肺结核患者经一线抗结核治疗后 β 多样性受到显著影响^[5]。另有研究表明抗结核治疗失败的肺结核病例痰液中的假单胞菌属明显高于治疗有效者^[6]。呼吸道菌群变化能否作为结核病发展及疗效监测

基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(A2019342);2020年广州市卫生健康科技重大专项(2020A031003);市校(院)企联合资助项目(SL2023A03J00826)

作者单位:广州市胸科医院结核科,广东,广州510095

*通信作者:谭守勇, E-mail: tanshouyong@163.com

的生物标志物,有待进一步的研究。16S核糖体RNA(16S ribosomal RNA, 16S rRNA)基因测序为当前研究微生物群落组成及其分布的重要手段。本研究通过使用16S rRNA测序,观察初治敏感肺结核患者抗结核治疗前后微生物菌群的变化,并分析菌属改变与临床基线指标之间的关系,期待能找到预示疗效的生物标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1至3月在广州市胸科医院结核内科住院确诊的初治敏感肺结核的患者18例。入选患者男10例,女8例,平均年龄(37.3±19.3)岁。纳入标准:①年龄≥18岁;②痰涂片找抗酸杆菌阳性;③入组时未使用抗结核治疗。排除标准:①合并严重系统性疾病(恶性高血压、心肌梗死等)、糖尿病、恶性肿瘤患者;②入选前2周内曾口服/静脉使用抗生素者;③需要长期吸氧者(>12 h/天);④治疗前或治疗过程中合并肺部感染患者;⑤痰培养为非结核分枝杆菌者;⑥痰培养为结核分枝杆菌且药敏显示对异烟肼、利福平耐药者。诊断标准:根据《中华人民共和国卫生行业标准肺结核诊断WS 288-2017》^[7]。所有受试对象均签署知情同意书。本研究经院伦理委员会审查批准同意。

1.2 治疗方法

所有患者强化期采用8周的异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、乙胺丁醇抗结核治疗^[8]。

1.3 观察指标及检测方法

在抗结核治疗前、治疗后采集痰液标本,通过16S rRNA方法进行基因组检测,同时记录患者治疗前后痰菌阴转情况、肺部病灶吸收情况、空洞闭合情况等指标。

疗效判定:根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)标准评估治疗效果^[9]。显效:症状体征基本消失,连续2次痰菌试验培养呈阴性,复查胸片/CT示肺部病灶吸收≥50%、空洞闭合。有效:症状体征减轻,肺病灶吸收小于<50%、空洞缩小。无效:病情无改善,痰菌仍阳性,影像学肺部病灶无变化或恶化。总有效率=(显效例数+有效例数)/总例数×100%。

痰液留取标准^[10]:嘱患者每次留取痰液前需事先清除口腔中的内容物。若患者不能自行排痰或

痰量较少,则留取诱导痰。使用3%高渗盐水雾化,并作深咳嗽数次以将痰液排出。用无菌镊子挑取脓性评分最高的样本进行细菌培养。若在每视野(放大倍数×100)下白细胞计数>25个,而且鳞状上皮细胞计数<10个,则视痰液标本及格。

检测方法:采用16S rRNA测序方法,经过样本制备、DNA提取、扩增、建库、测序、数据过滤、将reads拼接成Tags、将Tags聚类成操作分类单元(operational taxonomic units, OUT)并与数据库比对、物种注释等进行统计分析。

样本制备与DNA提取:采用4%的NaOH液化痰液,PH6.8磷酸缓冲液缓冲,离心力为:3 000 g,离心时间为:15分钟,弃去上清液,取沉淀物,进行DNA的提取。使用NEB next微生物组DNA富集试剂盒(New England Biolabs, Ipswich, MA, US)提取微生物群落DNA。

PCR扩增与建库测序:细菌16S rRNA基因的可变区V1-V3用简并PCR引物8F(5'-AGAGTTTTGATYMTGGCTCAG-3')和518R(5'-ATTACCGCGGCTGCTCG-3')扩增。PCR循环条件为:94℃ 3分钟初始变性,然后进行30个循环(94℃ 30秒变性,56℃ 45秒退火,72℃ 45秒延伸),最后在72℃延伸10分钟。文库经Agilent 2100生物分析仪(美国安捷伦)鉴定,在Illumina MiSeq平台上进行高通量测序。

数据过滤、聚类与统计分析:使用微生物生态学软件(QIIME2)对细菌16S rRNA扩增子数据进行生物信息学分析。使用RDP Classifier进行物种注释。Alpha和Beta多样性分别由MOTHUR和QIIME在OTU级别估计。GraPhlan物种组成图是使用GraPhlan创建的。主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)由QIIME执行。显著物种或功能由基于Wilcoxon检验或Kruskal检验的R确定。Beta多样性主要衡量个体间微生物组成相似性的,反映菌群结构差异程度^[11]。

1.4 统计学方法

采用Graph Pad Prism7软件进行制图,采用SPSS 23.0进行统计学分析。两组数据比较物种的差异分析采用wilcoxon秩和检验,两组以上比较采用kruskal秩和检验。采用FDR(false Discovery rate)评估差异的显著性。以P<0.05为差异有统计学意义。

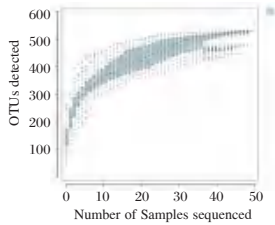
2 结果

2.1 临床疗效评价

经过8周强化期抗结核治疗后,18例患者临床症状全部好转,复查痰菌全部阴转;复查胸部CT/胸片示肺部病灶显著吸收10例,病灶缩小8例;18例患者中肺部存在空洞7例,治疗8周后空洞闭合4例,缩小3例;显效55.56%(10/18),有效44.44%(8/18)。临床治疗总有效率100%。

2.2 测序数据

通过对36个样品测序,共获得3 873 041对序列,经双端序列拼接、过滤后共产生3 162 578条优化序列。所有样品文库的覆盖率达99%以上,说明每个样品的测序量均已达到饱和。见图1。



注:横坐标代表样品数目,纵坐标代表检测到的物种数。

图1 物种累计曲线图

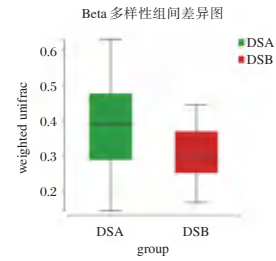
Figure 1 species accumulation curves

2.3 初治敏感肺结核患者抗结核治疗前后呼吸道菌群物种差异比较

Beta多样性分析显示经8周抗结核治疗后患者呼吸道菌群结构出现变化,差异有统计学意义($P<0.05$),见图2。门水平上主要物种见图3。经强化期四联抗结核治疗后,梭杆菌门(*Fusobacteria*)、螺旋体门(*Spirochaetes*)的相对丰度高于治疗前,放线菌门(*Actinobacteria*)的相对丰度低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。属水平上主要物种见图4。经强化期抗结核治疗后,梭杆菌属(*Fusobacterium*)的相对丰度高于治疗前,链球菌属(*Streptococcus*)的相对丰度低于治疗前,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

3 讨论

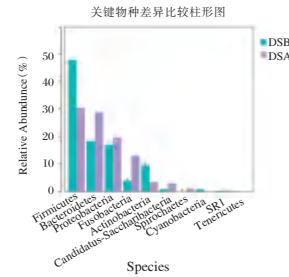
本研究采用16S rRNA测序探讨初治敏感肺结核患者经强化期抗结核治疗后呼吸道菌群生态的变化。结果显示:经强化期抗结核治疗后,呼吸道菌群结构出现改变。梭杆菌门、螺旋体门、梭杆菌属的相对丰度高于治疗前,放线菌门、链球菌属



注:盒形图显示5个统计量,由下到上的5条线分别代表最小值,第一个四分位数,中位数,第三个四分位数和最大值。(DSB为治疗前,DSA为抗结核治疗后)。

图2 Beta多样性组间差异图

Figure 2 Plot of differences in Beta diversity between groups



注:DSB为治疗前,DSA为抗结核治疗后。横坐标为物种,纵坐标为平均相对丰度。选取丰度为前10的物种,展示每组的平均相对丰度以及差异检验的显著性(DSB与DSA比较, $P<0.05$)。

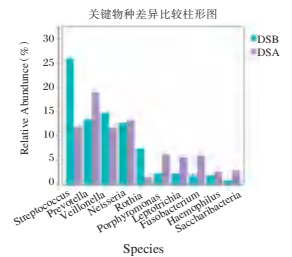
图3 抗结核治疗前后在门水平物种组成图

Figure 3 Species composition at phylum level before and after anti-tuberculous treatment

表1 抗结核治疗前后在门水平物种相对丰度对照

Table 1 Relative abundance of species at phylum level before and after anti-tuberculous treatment

物种	治疗前相对丰度 (%)	治疗后相对丰度 (%)	FDR	P 值
梭杆菌门	4.01	12.87	0.148	0.013
放线菌门	9.51	3.46	0.148	0.034
螺旋体门	0.05	1.13	0.148	0.034



注:DSB为治疗前,DSA为抗结核治疗后,横坐标为物种,纵坐标为平均相对丰度。选取丰度为前10的物种,展示每组的平均相对丰度以及差异检验的显著性(DSB与DSA比较, $P<0.05$)。

图4 抗结核治疗前后在属水平物种组成图

Figure 4 Species composition at genus level before and after anti-tuberculous treatment

的相对丰度低于治疗前。有研究证明^[12]宏基因检测在痰样本和肺泡灌洗液样本中对病原体检测的

表2 抗结核治疗前后在属水平物种相对丰度对照
Table 2 Relative abundance of species at genus level before and after anti-tuberculous treatment

物种	治疗前相对丰度(%)	治疗后相对丰度(%)	FDR	P值
链球菌属	25.83	11.87	0.708	0.013
梭杆菌属	1.75	5.93	0.708	0.034

敏感性和特异性没有统计学差异。痰液相对肺组织和支气管肺泡灌洗液有着无创伤性且易获取的优点,常作为研究肺微生物菌群的指标之一,有利于日后开展大样本研究。

呼吸道菌群与人体呼吸道黏膜免疫系统相互作用、协同共生,维持呼吸系统免疫稳定与平衡。肺结核患者呼吸道菌群发生改变,结核病是复杂的微生物群落相互作用的结果^[13]。呼吸道菌群具有高度可变性,随着呼吸运动、气体交换、免疫反应而变化^[14]。有研究显示^[15],鲍特菌属可用作识别耐多药结核患者的潜在诊断标志物。一项实验对结核菌感染小鼠使用HRZ抗结核治疗,结果显示抗结核治疗2周后呼吸道菌落多样性降低,梭状芽孢杆菌减少,并持续到治疗结束后3个月^[16]。本研究在Beta多样性分析上显示物种组成出现差异、菌群结构变化,经强化期四联抗结核治疗后,呼吸道菌群中梭杆菌门、螺旋体门、梭杆菌属的相对丰度高于治疗前,放线菌门、链球菌属的相对丰度低于治疗前。结合临床指标,经强化期抗结核治疗后患者病情好转,考虑呼吸道菌群结构差异与患者病情控制、机体免疫功能恢复有关。宿主天然免疫激活,促进了肺泡巨噬细胞的极化和Th17细胞、IL-17的产生,从而改变呼吸道菌落的组成^[17]。抗结核治疗引起呼吸道菌群改变可能影响机体的免疫系统,从而影响疗效。研究显示,肠道菌群失调会减少巨噬细胞诱导的C型凝集素受体的表达引起结核菌载量的增加和播散,重建肠道稳态可增强肺结核患者抗感染能力,降低MTB的易感性^[18]。本研究结果提示,经有效抗结核治疗后一些菌种被消耗或者富集,如链球菌属和梭杆菌属在治疗前后出现显著性差异,菌群改变或可成为评估抗结核疗效的标志物,值得探讨。在相关研究中,链球菌的聚集与气道阻塞相关^[19],在菌阴肺结核患者肺微生物组成中起主导作用^[16]。而肺结核患者气道微生物组由链球菌和两种厌氧菌(其一为梭杆菌属)成反比关系形成^[20]。

综上所述,初治敏感肺结核患者经抗结核后肺菌落结构出现变化,梭杆菌门、螺旋体门、梭杆菌属

的相对丰度高于治疗前,放线菌门、链球菌属的相对丰度低于治疗前。结合临床疗效分析,研究试提出以某些呼吸道菌群如链球菌属和梭杆菌属的水平作为评价疗效的潜在生物标志物。本研究纳入研究的例数较少,有一定的局限性,还需进一步扩大样本量,开展多中心、大规模的队列研究以验证。

参考文献

- [1] Eshette S, van Soolingen D. The respiratory microbiota: new insights into pulmonary tuberculosis [J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1):92.
- [2] Namasivayam S, Sher A, Glickman MS, et al. The Microbiome and Tuberculosis: Early Evidence for Cross Talk [J]. mBio, 2018, 9(5):e01420-18.
- [3] Osei Sekyere J, Maningi NE, Fourie PB. Mycobacterium tuberculosis, antimicrobials, immunity, and lung-gut microbiota crosstalk: current updates and emerging advances [J]. Ann N Y Acad Sci, 2020, 1467(1):21-47.
- [4] Naidoo CC, Nyawo GR, Wu BG, et al. The microbiome and tuberculosis: state of the art, potential applications, and defining the clinical research agenda [J]. Lancet Respir Med, 2019, 7(10):892-906.
- [5] Xiao G, Cai Z, Guo Q, et al. Insights into the Unique Lung Microbiota Profile of Pulmonary Tuberculosis Patients Using Metagenomic Next-Generation Sequencing [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(1):e0190121.
- [6] Wu J, Liu W, He L, et al. Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis [J]. PLoS One, 2013, 8(12):e83445.
- [7] 王黎霞,成涛明,周林,等. 肺结核诊断WS288-2017 [J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(7): 642-652.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅. 中国结核病预防控制工作技术规范(2020版) [S]. 2020-04-02.
- [9] Linh NN, Viney K, Gegia M, et al. World Health Organization treatment outcome definitions for tuberculosis: 2021 update [J]. Eur Respir J, 2021, 58(2):2100804.
- [10] Khan MA, Rajendram R, Al-Harbi A, et al. The diagnostic yield and safety of sputum induction in suspected pulmonary tuberculosis: The experience of a single tertiary care center in Saudi Arabia [J]. Int J Mycobacteriol, 2021, 10(4):388-392.
- [11] 孙玉霞,赵善良,刘加洪,等. 强化四周抗结核药物治疗对结核病患者肠道微生态影响分析 [J]. 实用预防医学, 2019, 26(10):1177-1182.
- [12] Shi W, Zhu S. The Application of Metagenomic Next-Generation Sequencing in Detection of Pathogen in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Sputum Samples of Patients with Pulmonary Infection [J]. Comput Math Methods Med, 2021, 2021: 7238495.

脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8、IL-18 变化及其与神经功能缺损程度的关系

邓希兰^{1*} 董瑞² 王志琪¹

[摘要] 目的 分析脑卒中患者血清氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)、人血管生成素样蛋白8(ANGPTL8)和白介素18(IL-18)的变化及其与患者神经功能缺损程度的关系。方法 选取于2020年1月-2022年12月运城市中心医院接收的106例脑卒中患者作为实验组,使用中国脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分量表(CSS)评估患者的神经功能缺损程度,并分为轻度组和中重度组;使用改良Rankin量表(mRS)评估患者预后状况,并分为预后良好组和预后不良组;另随机选取40名健康成年人作为对照组,对实验组和对照组、轻度组和中重度组、预后良好组和预后不良组的血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平进行组间比较,使用Pearson直线相关分析血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18与CSS评分的关系,采用受试者工作曲线(ROC)分析血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平对脑卒中预后的评估价值。结果 实验组血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),中重度组血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平均高于轻度组,差异有统计学意义($P<0.05$),预后不良组血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平均高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$);脑卒中患者血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平与神经功能缺损程度呈正相关($P<0.05$);三者联合评估患者预后预测的曲线下面积(AUC)为0.944,ox-LDL、ANGPTL8和IL-18单独评估的AUC为0.849、0.838和0.897,三者联合优于单独评估($P<0.05$)。结论 脑卒中患者伴血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平升高,三指标与神经功能缺损程度呈正相关,三者联合对患者预后预测效能最高,未来有可能成为检测及判断患者预后状况的血清学指标。

[关键词] 脑卒中;氧化型低密度脂蛋白;人血管生成素样蛋白8;白介素18;神经功能缺损程度

Changes of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 in patients with stroke and their relationship with degree of neurological impairment

DENG Xilan^{1*}, DONG Rui², WANG Zhiqi¹

(1. Department of Neurology, Yuncheng Central Hospital, Yuncheng, Shanxi, China, 044000; 2. Medical Department, Yuncheng Central Hospital, Yuncheng, Shanxi, China, 044000)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the changes of serum oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL), human angiopoietin like-8 (ANGPTL8) and interleukin-18 (IL-18) in patients with stroke and their association with the degree of neurological impairment. **Methods** 106 patients with stroke admitted to Yuncheng Central Hospital from January 2020 to December 2022 were selected as the experimental group. Chinese scale of clinical neurological deficit of stroke patients (CSS) was used to evaluate the degree of neurological impairment, and the patients were divided into the mild group and the moderate-to-severe group. Modified Rankin Scale (mRS) was applied to evaluate the prognosis status of patients, and the patients were classified into the good prognosis group and the poor prognosis group. In addition, 40 healthy adults were randomly selected as the control group, and the levels of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 were compared between the experimental group and the control group. *Pearson* linear correlation analysis was adopted to analyze the relationship

基金项目:山西省科技攻关项目(20220113014-8)

作者单位:1.运城市中心医院神经内科,山西,运城 044000

2.运城市中心医院医务科,山西,运城 044000

*通信作者:邓希兰, E-mail: 15603591616@163.com

between serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 and CSS score. The predicted value of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 for stroke prognosis was analyzed by the receiver operating curve (ROC). **Results** The levels of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 in the experimental group were higher than those in the control group ($P<0.05$), and the above levels in the moderate-to-severe group were higher than those in the mild group ($P<0.05$). Serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 levels in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group ($P<0.05$). Serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 levels were positively correlated with degree of neurological impairment in patients with stroke. When the cut-off of serum ox-LDL in stroke patients was higher than 68.45 $\mu\text{g/dL}$, the sensitivity and specificity of predicting prognosis were 0.795 and 0.881 respectively. When the cut-off of serum ANGPTL8 was higher than 1247.83 pg/mL , the predictive sensitivity and specificity were 0.821 and 0.731 respectively. The sensitivity and specificity of serum IL-18 were 0.897 and 0.910 when its cut-off was higher than 272.87 pg/mL . **Conclusion** The levels of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 are risen in patients with stroke, and the above three indicators are positively correlated with the degree of neurological impairment, and IL-18 has the highest predictive efficiency on the prognosis of patients, which may be used as a serological indicator to detect and assess the prognosis of patients in the future.

[KEY WORDS] Stroke; ox-LDL; ANGPTL8; IL-18; Degree of neurological impairment

脑卒中是脑部血管突然破裂或血管阻塞所致大脑供血不足导致脑组织受损的疾病^[1]。早期对脑卒中患者神经功能缺损程度进行评估可以帮助医生制定合理的治疗计划,改善患者预后状况。中国脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分量表(China Stroke Scale, CSS)能对脑卒中患者的病情严重程度进行评估,具有操作简便、可靠性和真实性高的特点。近年来研究发现,多种血清标志物可能与脑卒中发病及神经功能受损密切相关^[2-3]。有研究指出,氧化型低密度脂蛋白(Oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)与动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)的发生有关;人血管生成素样蛋白8(Angiopoietin-like protein 8, ANGPTL8)与颅内动脉粥样硬化性狭窄(Intracranial atherosclerosis, ICAS)的发生有关;白介素18(Interleukin-18, IL-18)与AS的发生有关;AS和ICAS是脑卒中的诱发因素之一,因此ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平可能与脑卒中有关^[4-5]。本研究探究血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18的变化及其与患者神经功能缺损程度的关系,以期寻找新的血清学指标评估患者神经功能缺损及预后提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2020年1月至2022年12月运城市中心医院接收的106例脑卒中患者作为实验组,另外随机选取同期40名健康的成年人作为对照组,其中,实验组男性59例,女性47例,年龄平均为(66.44 \pm 7.58)岁;对照组男性26例,女性14例,平均为

(64.92 \pm 7.98)岁,两组一般资料比差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过院伦理委员会审核批准。

纳入标准:实验组患者符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018》^[6]的诊断标准,经颅脑CT等手段确诊为脑卒中;无精神类疾病,精神状态正常;患者家属知情且同意本研究。**排除标准:**肝肾功能不全;合并内分泌疾病或严重营养不良;合并恶性肿瘤。

1.2 方法

1.2.1 血清学指标检测

两组均取空腹肘静脉抽血3 mL于真空采血管中,静置半小时以上,以3 000 r/min的条件离心15 min,离心半径200px,取血清,使用酶联免疫吸附法(ELISA)对两组样品的ox-LDL、ANGPTL8和IL-18进行检测,ELISA试剂盒购置于武汉华美生物工程公司。

1.2.2 神经功缺损程度评价^[7]

入院时使用CSS量表对脑卒中患者的神经功缺损程度进行评估,CSS从语言、步行能力、意识、凝视等8个方面对实验组进行评估,共计45分,分数越高代表该人员神经功能缺损程度越高,按评分分为轻度(0~15分)、中重度(16~45分)2个等级。

1.2.3 预后评价

所有患者进行3个月随访,并采用改良Rankin量表(Modified Rankin Scale, mRS)^[8]对患者的生活自理程度进行评分,共计6分,得分越高表明残疾程度越高。依据mRS得分分别为预后良好组(mRS分数 \leq 2分)和预后不良组(mRS分数 $>$ 2分)。

1.3 统计学方法

使用SPSS 24.0统计学软件对数据进行处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行*t*检验;运用Pearson直线相关分析各指标的相关性,采用受试者工作曲线(ROC)分析 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 预测脑卒中预后的效能,以 $P < 0.05$ 表示有差异统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平对比

实验组组的血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平均高于对照组组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of serum ox-LDL, ANGPTL8 and IL-18 levels between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ox-LDL ($\mu\text{g/dL}$)	ANGPTL8 (pg/mL)	IL-18 (pg/mL)
对照组	40	34.18 \pm 3.86	931.24 \pm 217.29	171.64 \pm 7.94
实验组	106	69.43 \pm 5.24	1 347.51 \pm 342.18	326.73 \pm 8.57
<i>t</i> 值		38.730	7.160	99.449
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同神经功能缺损程度脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平对比

106 例脑卒中患者中,CSS 分数 ≤ 15 分有 41 例,为轻度组;CSS 分数 > 15 分有 65 例,为中重度组;轻度组患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平均低于中重度组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同神经功能缺损程度脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum ox-LDL, ANGPTL8, and IL-18 levels in stroke patients with different degrees of neurological impairment ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ox-LDL ($\mu\text{g/dL}$)	ANGPTL8 (pg/mL)	IL-18 (pg/mL)
轻度组	41	41.39 \pm 3.86	1171.09 \pm 276.43	253.27 \pm 8.14
中重度组	65	87.12 \pm 6.11	1458.79 \pm 383.78	373.07 \pm 8.84
<i>t</i> 值		42.798	4.164	70.031
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同预后脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平对比

106 例脑卒中患者中,mRS 分数 ≤ 2 分有 67 例,为预后良好组;mRS 分数 > 2 分有 39 例,为预后不良组;预后良好组患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平均低于预后不良组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 预后良好组与预后不良组血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum ox-LDL, ANGPTL8, and IL-18 levels between good prognosis group and poor prognosis group ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ox-LDL ($\mu\text{g/dL}$)	ANGPTL8 (pg/mL)	IL-18 (pg/mL)
预后良好组	67	38.64 \pm 3.78	1 127.86 \pm 286.31	249.53 \pm 8.16
预后不良组	39	122.33 \pm 7.75	1 724.86 \pm 438.16	459.36 \pm 9.27
<i>t</i> 值		74.613	8.480	121.390
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平与 CSS 得分的相关性

脑卒中患者 ox-LDL ($r=0.478$)、ANGPTL8 ($r=0.426$) 和 IL-18 ($r=0.406$) 水平与 CSS 得分呈现正相关 ($P < 0.05$)。

2.5 脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平预测预后的 ROC 分析

血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 三者联合评估脑卒中患者预后的 AUC,显著优于单独评估 ($P < 0.05$)。见表 4 和图 1。

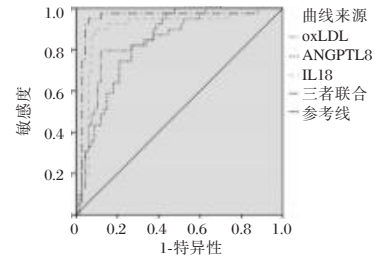


图 1 ROC 分析

Figure 1 ROC analysis

表 4 脑卒中患者血清 ox-LDL、ANGPTL8 和 IL-18 水平预测预后的 ROC 分析

Table 4 ROC analysis of serum ox-LDL, ANGPTL8, and IL-18 levels in predicting prognosis in stroke patients

指标	cut-off	AUC	95% CI	约登指数	敏感度	特异性	<i>P</i> 值
ox-LDL	>68.45 $\mu\text{g/dL}$	0.849	0.767~0.911	0.676	0.795	0.881	<0.001
ANGPTL8	>1247.83 pg/mL	0.838	0.754~0.902	0.552	0.821	0.731	<0.001
IL-18	>272.87 pg/mL	0.897	0.823~0.948	0.808	0.897	0.910	<0.001
三者联合		0.944	0.882~0.979	0.889	0.949	0.940	<0.001

3 讨论

在发病前期对脑卒中的精确诊断是减轻其神经功能受损及改善预后的基础。常见的判断卒中患者神经功能缺损程度的方法有评估量表、影像学检查(CT、MRI等)、血液学检查等,其中部分评估量表对昏迷的患者不适用;影像学检查中CT软组织分辨率低;MRI价格昂贵、耗时长。近年来在血清学检测中,许多生物标志物被发现和引入至脑卒中的诊疗、病情及预后评估中,具有重大意义^[9-10]。

ox-LDL是LDL在自由基的作用下发生过氧化反应生成的产物^[11]。ox-LDL可使单核细胞变为巨噬细胞,减少游离态单核细胞的数量,使巨噬细胞大量堆积,形成粥样硬化斑块,并通过刺激上皮细胞释放促炎细胞因子,使血管斑块发生裂解形成血栓,诱发脑卒中,导致神经功能受损。本研究结果说明血清ox-LDL水平升高与脑卒中发病及病情进展密切相关。赵连江等^[12]发现,血清ox-LDL水平在急性缺血性卒中中升高且与神经功能缺损程度呈正相关,可作为评判病情程度的指标,这与本文的结果相对应。

申晓平等^[13]发现,ICAS是脑梗死的危险因素,ANGPTL8与ICAS程度呈正相关,有可能成为ICAS的血清学指标。ANGPTL8属于血管生成素样蛋白家族,其与心血管等疾病密切相关。本研究结果表明血清ANGPTL8水平升高与脑卒中发病及病情进展密切相关。分析原因为:ANGPTL8表达的蛋白能使动脉血管炎症加剧,增加动脉中脂质聚集,使动脉中斑块破裂,促进ICAS发生,诱发脑卒中,导致神经功能受损。安然等^[14]发现ANGPTL8在脑卒中患者中均高表达,这与本文的结果相对应。

AS是脑卒中发病的主要因素之一,IL-18属于白细胞介素超家族簇,IL-18与AS发生关系密切。本研究结果表明,实验组的血清IL-18水平高于对照组,中重度组的血清IL-18水平高于轻度组,预后不良组的血清IL-18水平高于预后良好组,说明血清IL-18水平升高与脑卒中发病及病情进展密切相关。分析原因为:IL-18通过诱导干扰素- α 大量生成,聚集巨噬细胞和T细胞,加剧炎症反应,形成斑块;促进干扰素- γ 和金属蛋白酶-1、9和13大量产生,使纤维帽状态和斑块脂质改变,从而脆化斑块,诱发脑卒中,导致神经功

能受损。张军等^[15]发现,炎症反应能促进AS生成从而诱发脑卒中发生,这与本文的结果相对应。

本研究还发现血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平与脑卒中患者的神经缺损程度成正比,进一步ROC曲线分析发现,当血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平大于68.45 $\mu\text{g/dL}$ 、1247.83 pg/mL 和272.87 pg/mL 时,提示脑卒中患者预后不良可能性较大,三者联合的评估效能显著大于三者各自单独检测,推测监测以上参数可作为脑卒中患者预后评估的有效依据。

综上所述,脑卒中患者血清ox-LDL、ANGPTL8和IL-18水平升高,其水平与脑卒中患者的神经缺损程度呈正相关,三者联合检测对脑卒中患者预后评估有一定参考价值,未来有可能成为检测及判断脑卒中患者预后状况的血清学指标。

参考文献

- [1] 宁庆,尹浩军,孙广锋,等.血清Lp-P LA2、MMP-9表达水平与缺血性卒中患者血管性痴呆的相关性[J].中南医学科学杂志,2020,48(6):572-575.
- [2] 袁治玲,苏洲,袁燕,等.外周血ET-1、MMP-9、RDW-CV与急性脑梗死病情的关系及对预后的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(1):124-128.
- [3] 袁大华,杜朴,王玉凯.血清PTX-3、CTRP9、MIF水平与缺血性卒中患者神经功能及短期预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(7):935-939.
- [4] 房凌云.复元醒脑汤对风痰瘀阻型脑梗死患者血清ox-LDL、IL-18、Lp-PLA2水平及颈动脉硬化斑块的影响[J].现代中西医结合杂志,2019,28(17):1904-1907.
- [5] 李芬林,孙晓晓,矫朝波.急性分水岭脑梗死患者血清LOX-1、ANGPTL8水平与神经功能缺损程度、预后的关系研究[J].中风与神经疾病杂志,2022,39(12):1111-1114.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J].中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [7] 牛园园,吴红举,孙新香.莱温守恒模式护理干预对急性脑梗死患者神经功能及负面情绪的影响[J].保健医学研究与实践,2022,19(2):93-96.
- [8] 吴慧君,王立敏,李倩,等.rt-PA静脉溶栓和双联抗血小板聚集治疗不同发病时间轻型急性缺血性脑卒中的效果观察[J].临床误诊误治,2019,32(1):28-35.
- [9] 彭祥,陈春梅,王任华.血清Hcy、S100 β 、BDNF、NSE水平与皮质下脑梗死后血管性认知功能障碍的关系[J].临床误诊误治,2022,35(2):97-101.
- [10] 张丽雅,郭富强.急性脑梗死患者血清NT-proBNP水平变化的相关因素及其临床预测价值分析[J].四川大学学报(医学版),2019,50(6):910-914.

PCR-金磁微粒层析法检测 *MTHFR* C677T 基因多态性方法的建立及评价

陈锦亮^{1*} 蓝槐敏² 黄慧莹³ 陈伟忠¹

[摘要] **目的** 建立一种用于检测亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)C667T基因型的方法,并对该方法进行评价。**方法** 以*MTHFR*基因C667T位点为靶靶设计引物,采用PCR-金磁微粒层析法结合扩增受阻突变体系PCR技术(ARMS-PCR)进行基因分型,将所建立的方法应用于临床样本检测。**结果** ARMS-PCR与金磁微粒层析法联合检测*MTHFR*C677T基因分型,全程耗时约60 min。检测最低限度为 10^3 copies/ μ L。PCR-金磁微粒层析法能特异性检测*MTHFR*基因分型,应用于50份人全血样本*MTHFR*基因分型检测,其结果与测序结果完全符合,符合率为100%(50/50)。**结论** PCR-金磁微粒层析法检测*MTHFR*C677T基因多态性方法具有特异性强、敏感性高、准确率高的特点,无需特殊大型设备,具有快速、便捷、准确、经济等优势,适合在各级医疗机构开展。

[关键词] 亚甲基四氢叶酸还原酶; PCR-金磁微粒层析法; 单核苷酸多态

Establishment and evaluation of PCR-gold magnetic particle chromatography for detection of *MTHFR* C677T gene polymorphism

CHEN Jinliang^{1*}, LAN Huaimin², HUANG Huiying³, CHEN Weizhong¹

(1. Department of Medical Laboratory, Chaozhou People's Hospital Affiliated to Shantou University Medical College, Chaozhou, Guangdong, China, 521011; 2. Department of Medicament, Chaozhou People's Hospital Affiliated to Shantou University Medical College, Chaozhou, Guangdong, China, 521011; 3. Department of Medical Laboratory, Shenzhen Luohu Hospital Group, Shenzhen, Guangdong, China, 518001)

[ABSTRACT] **Objective** To establish and evaluate a method for genotyping Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*). **Methods** The *MTHFR* gene C667T site was used as the target to design primers. PCR gold magnetic particle chromatography combined with amplification refractory mutation system-PCR (ARMS-PCR) was used to detect the genotype. The established method was applied to clinical samples. **Results** The whole process of ARMS-PCR combined with PCR-gold magnetic particle chromatography could genotype *MTHFR* C667T in 60 minutes. The detection limit was 10^3 copies/ μ L. PCR-gold magnetic particle chromatography can specifically detect *MTHFR* genotyping, and it was applied to detect *MTHFR* genotype using 50 human whole blood samples. The results were completely consistent with their sequencing results, with a coincidence rate of 100% (50/50). **Conclusion** The PCR-gold magnetic particle chromatography method for detecting *MTHFR* C677T gene polymorphism has the characteristics of strong specificity, high sensitivity, and high accuracy. It does not need special large equipment, and has the advantages of fast, convenient, accurate and economical, which is suitable for medical institutions at all levels.

[KEY WORDS] *MTHFR*; PCR-gold magnetic particles chromatography; SNP

基金项目:潮州市科技局项目(2020GY10);潮州市卫生健康局项目(潮卫科研2020009)

作者单位:1.汕头大学医学院附属潮州市人民医院检验科,广东,潮州 521011

2.汕头大学医学院附属潮州市人民医院药剂科,广东,潮州 521011

3.深圳市罗湖医院集团医学检验实验室,广东,深圳 518001

*通信作者:陈锦亮, E-mail:253954292@qq.com

亚甲基四氢叶酸还原酶(Methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*)是叶酸代谢通路中的关键酶^[1]。研究显示,*MTHFR*可维持体内正常的同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)水平,*MTHFR*基因多态性与心脑血管疾病有一定的相关性,*C677T*突变是冠心病、高血压的高危因素^[2]。*MTHFR*基因突变可造成叶酸水平下降,与孕妇不良妊娠有一定的相关性^[3-4]。目前,已经建立的*MTHFR*基因多态性的检测方法有多种^[5]。随着金磁微粒层析技术在可视化快速诊断方面的应用,该方法可用于*MTHFR*基因多态性检测^[6],具有快速、操作简便、不需要昂贵的仪器设备等特点。本研究将以标准质粒为实验对象,采用磷酸封闭法设计引物,建立PCR-金磁微粒层析法结合扩增受阻突变体系PCR技术(amplification refractory mutation system-PCR, ARMS-PCR)的*MTHFR*基因分型检测方法,并对该检测方法进行临床样本验证以及方法的特异性试验和敏感性评估。报道如下。

1 资料与方法

1.1 材料

随机抽取2020年7月至2020年12月,潮州市

人民医院检验科50份(男性28份,女性22份,平均年龄男性35.80岁、女性35.20岁,健康状况良好)已发过临床报告的检后临床样本(2 mL EDTA-2K抗凝全血)。本研究已获得本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 标准质粒构建

采用人工合成的办法,由华大基因公司合成*MTHFR C677T*基因,野生型质粒C和突变型质粒T。

1.2.2 引物设计

根据ARMS-PCR原理,用primer5软件设计一对引物,上游为特异性引物,下游为共用引物。特异性引物3'端倒数第二位错配基础上增加3'倒数第三位设置错配,采用磷酸化封闭方法,倒数1和2、倒数2和3碱基之间添加磷酸化封闭。同时将突变特异性引物5'端标记生物素(Biotin),将野生特异性引物5'端标记地高辛(Digoxigenin)。共用引物5'端标记异硫氰基荧光素(FITC)。并确保两种标记物可同时整合到双链扩增产物上。所有引物委托金唯智生物科技公司合成及标记。引物的设计引标记见表1。

表1 *MTHFR*基因引物标记与序列

Table 1 Primer markers and sequences of *MTHFR*

引物名称	引物序列
上游野生型引物 W	Digoxigenin-5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGC*G*C-3'
上游突变型引物 M	Biotin-5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGT*G*T-3'
下游共用引物 R	FITC-5'-CTCCTGGGCCCCCTCACCTGGATGGGAAAGAT-3'

注:单核苷酸多态(single nucleotide polymorphism, SNP)位点字体加粗,引入错配位置下划线标注。*表示磷酸化封闭。

1.2.3 PCR 扩增体系

PCR的反应体系为20 μL,试剂配制及用量如下:采用Takara公司扩增试剂,配制2 μL全血DNA(Chelex-100法提取)或质粒稀释液,1 μL上游引物,1 μL下游引物,4 μL 5×buffer,1.6 μL dNTP,0.2 μL HS,最后加无菌蒸馏水至20.0 μL。在Life Touch基因扩增仪TC-96(博日科技,杭州)进行反应,反应条件为:95℃预变性3 min;98℃变性10 s,62℃退火15 s,35个循环。

1.2.4 PCR 扩增产物在双标核酸检测试纸条的检测及结果分析

1.2.4.1 双标试纸条工作原理 本实验采用已标记特异性抗体的试纸条Milenia Genline HybriDetect 2(默瑞上海生物科技有限公司),其原理基于

金磁微粒层析法在基因检测方向的应用,针对目的片段,设计引物标记地高辛和生物素,则特异性引物获得目的扩增产物后,与层析体系中的抗地高辛抗体和抗生物素抗体结合,通过这种方式捕获核酸目的片段,最终在试纸条上形条带^[6]。双标试纸条检测原理见图1。

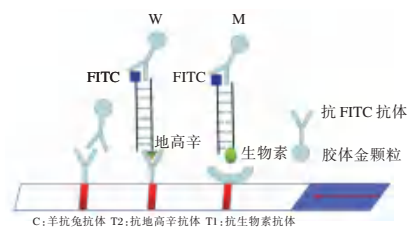


图1 双标试纸条检测原理

Figure 1 Detection principle of double makers test strip

1.2.4.2 双标试纸条测试结果分析 将 PCR 扩增产物稀释后,加入试纸条加样垫,根据双标横向流动试纸条原理,特异性引物获得目的扩增产物后,与试纸条上金磁微粒标记的特异性抗体结合,形成红色条带。本实验设计预期判读结果如下^[6]:①试纸条质控线(C线)和检测线(T线)均未出现条带,提示所用的试纸条或扩增试剂可能已经损坏、失效或操作有误,为无效结果。②试纸条质控线(C线)出现一条红色条带,检测线(T线)没有条带。结果表明样本中不含目的核酸片段,或其数量低于试纸条的最低检出量,为阴性结果。③在C线显色的情况下,T1显色为纯合突变型,*MTHFR*基因型为TT。④在C线显色的情况下,T2显色为野生型,*MTHFR*基因型为CC。⑤在C线显色的情况下,T1,T2显色为杂合突变型,*MTHFR*基因型为CT。本实验建立的血样标本检测流程图见图2。

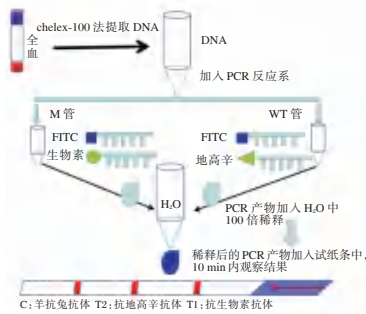


图2 全血标本检测流程

Figure 2 Step of blood sample detection

1.3 特异性实验、敏感性实验与准确性评估

1.3.1 特异性试验

以突变型质粒T和野生型质粒C作为交叉反应质控品,分别对M管和WT管进行基因型交叉验证。M管的引物为一对突变引物;WT管的引物为一对野生引物(表1),其余反应条件不变。将扩增结果进行电泳及用双标试纸条进行检测。

判定标准^[7]:基于ARMS-PCR原理,根据已知等位基因设计特异性引物和共用引物,特异性引物3'端碱基分别与突变和野生的等位基因碱基互补,若此碱基对配对,则链延伸,有扩增产物;若此碱基对错配,则链延伸反应则受阻,反应终止。结合本试验,M管对T质粒有扩增产物,对C质粒无扩增,而WT管对C质粒有扩增,对T质粒无扩增。若以上结果均符合,判定为扩增体系特异性良好。特异性试验流程图和判定标准见图3。

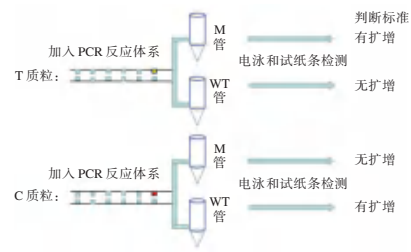


图3 *MTHFR* 特异性实验

Figure 3 Specificity experiment of *MTHFR*

1.3.2 敏感性实验

分别将C质粒和T质粒由 10^9 copies/ μ L 依次稀释到 10^1 copies/ μ L。C质粒参与WT管反应,T质粒参与M管反应,并将扩增结果进行电泳及用双标试纸条进行检测。

1.3.3 准确性评价

经PCR-金磁微粒层析法检测的50例临床样本,使用Chelex-100方法提取DNA,扩增产物送金唯智生物科技公司进行PCR-Sanger测序验证,比较二者的一致性。

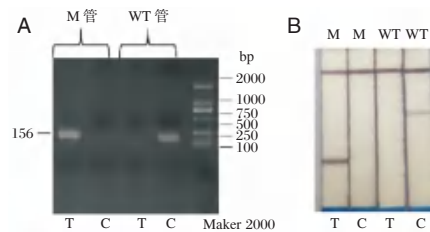
1.4 统计学分析

采用SPSS 2.0软件进行统计学分析,对所建立的检测方法学可靠性评估和Sanger测序一致性分析,即 χ^2 分析,Kappa=1为完全一致,Kappa=0.75,为极好的一致性。Kappa \leq 0.40时表明一致性差。

2 结果

2.1 特异性试验结果

M管对T质粒有扩增,对C质粒无扩增;WT管对C质粒有扩增,对T质粒无扩增,扩增产物长度为156 bp。特异性试验见图4。



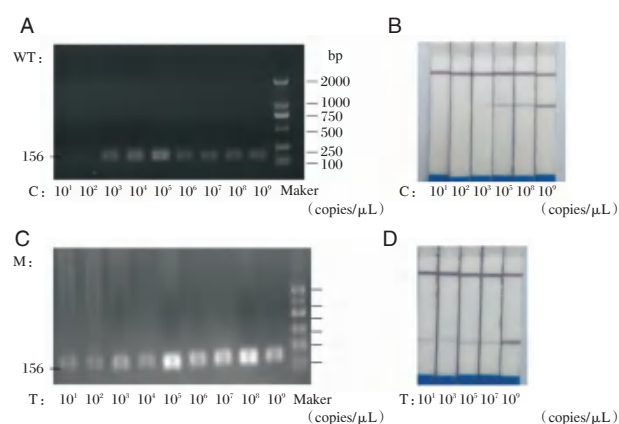
注:A为特异性试验电泳结果;B为特异性试验试纸条结果。

图4 特异性试验结果

Figure 4 Results of specificity experiment

2.2 敏感性实验结果

电泳结果与试纸条结果相符,结果显示:C质粒的最低检出浓度为 10^3 copies/ μ L;T质粒的最低检出浓度为 10^1 copies/ μ L。敏感性实验结果见图5。



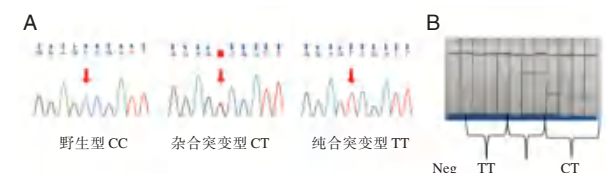
注:图A为WT对C敏感性电泳结果;图B为WT对C敏感性试纸条结果;图C为M对T敏感性电泳结果;图D为M对T敏感性试纸条结果。

图5 敏感性试验结果

Figure 5 Results of sensibility experiment

2.3 准确性结果

采用本方法检测结果:野生型(CC)20例,杂合突变型(CT)18例,纯合突变型(TT)12例。以上50例标本DNA进行Sanger测序,测序的结果与PCR-金磁微粒层析法检测结果完全一致。实验准确性结果见图6。



注:图A为MTHFR三种基因型测序结果;图B为部分样本本试纸条测试结果。

图6 准确性实验结果

Figure 6 Results of accuracy experiment

3 讨论

MTHFR C677T 基因多态性有三种,分别为野生型(CC)、杂合突变型(CT)和纯合突变型(TT)。*MTHFR* 基因突变是高同型半胱氨酸血症、动脉粥样硬化、冠心病、心肌梗死、脑卒中等心脑血管疾病的独立危险因素^[8]。研究表明,纯合突变(TT型)与不良妊娠结局有相关性^[9]。*MTHFR* 基因多态性检测在预防疾病、优生优育等方面显得非常重要。

目前基因多态性的检测方法有直接测序法、限制性片段长度多态性、Taqman 探针法、分子量阵列技术等^[7],这些技术需要繁琐的实验程序和昂贵且复杂的仪器,对实验条件要求较高^[10]。随着金磁微粒技术的发展和在生物医学的广泛应用^[11],PCR-金

磁微粒层析法作为一种新型金标免疫层析技术被广泛应用于多种基因多态性的检测^[12]。将*MTHFR* 基因多态性检测试剂盒用于临床检测,其快速、方便、稳定可靠的优势已经得到证实^[13]。

本实验设计基于已建立检测方法^[7]做出两方面调整。首先,本实验采用双基因标记法,参照新冠病毒双基因检测试纸条^[14]原理,将抗生物素抗体和抗地高辛抗体标记在同一试纸条上,使之能分别特异性结合突变型扩增产物和野生型扩增产物,实现通过试纸条对野生型基因和突变型基因进行联合检测,以便获得更加快捷、可靠的检测结果。其次,本实验在 ARMS-PCR 引物设计的基础上,特异性引物3'端倒数第三位增加错配,倒数1和2、倒数2和3碱基之间添加磷酸化封闭,提高了引物的特异性和扩增效率。

本实验采用质粒验证特异性,结果野生引物只对野生质粒扩增,突变引物只对突变质粒扩增。特异性试验电泳及试纸条测试结果相符。结果符合特异性实验判定标准,说明本实验特异性较高,结果与相关报导一致^[13]。在敏感性实验方面,当野生质粒C浓度达到 10^3 copies/ μ L时,开始出现电泳带,试纸条在T2处开始出现红色条带。当突变质粒T浓度达到 10^1 copies/ μ L时,出现电泳带,试纸条在T1处开始出现红色条带。说明本实验检测最低限度为 10^3 copies/ μ L,该方法检测敏感度较高,与相关报导相近^[14]。在准确性实验验证方面,PCR-金磁微粒层析法检测50份血样标本,检测结果和测序金标准方法检测结果完全一致,准确性高达100%。诊断实验一致性分析 Kappa=1,基因分型结果两组比较分析,两种检测方法学比较差异无统计学意义,与相关报导的一致性相符^[15]。

通过验证,本实验方法的特异性、敏感性较高,临床样本的检测也能达到准确分型,准确性高。PCR-金磁微粒层析法适合用于*MTHFR* 基因多态性可视化检测,具有方便、快捷等优点。此方法的建立可为其它基因,如乙醛脱氢酶2(aldehyde dehydrogenase-2, *ALDH2*)^[16],血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, *ACE*)^[17]等基因多态性检测提供依据和理论基础。

参考文献

[1] Petrone I, Bernardo PS, Dos SEC, et al. *MTHFR C677T* and *A1298C* Polymorphisms in Breast Cancer, Gliomas and Gastric Cancer: A Review [J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(4):587.

- [2] 王红,张向阳. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性对心血管疾病的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2010,19(4):450-452.
- [3] 贺宪民,张群,杨琦,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶和甲硫氨酸合成酶还原酶基因多态性研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2010(1):13-18.
- [4] 焦海燕,薛雅丽,张贵寅. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因(C677T)多态性研究进展[J]. 国外医学遗传学分册, 2002,25(4):207-210.
- [5] 何学虎,郭雅琪,梁小燕,等. PCR-金磁微粒层析法检测MTHFR基因C677T多态性评价[J]. 中国妇幼保健, 2019,34(1):130-134.
- [6] Hui W, Zhang S, Zhang C, et al. A Novel Lateral Flow Assay Based on GoldMag Nanoparticles and Its Clinical Applications for Genotyping of MTHFR C677T Polymorphisms [J]. *Nanoscale*, 2016,8(6):3579-3587.
- [7] 魏华. 金磁微粒层析法结合直扩 ARMS-PCR 对 MTHFR C677T 基因多态性检测方法的建立及其临床应用[D]. 西安:西北大学, 2016.
- [8] 钟震宇. 南北方汉族人群同型半胱氨酸及 MTHFR 基因多态性与冠心病关系[D]. 北京:中国人民解放军医学院, 2012.
- [9] 冯杏琳,申华,罗素霞,等. MTHFR C677T 基因多态性分布与不良妊娠结局的关系[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018,26(11):12-13.
- [10] 金速速,余坚,陈向南,等. PCR-金磁微粒层析法检测 MTHFR C677T 基因多态性及初步临床应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2017,27(22):3196-3199.
- [11] Cui Y, Wang Y, Hui W, et al. The synthesis of GoldMag nano-particles and their application for antibody immobilization [J]. *Biomed Microd*, 2005,7(2):153-156.
- [12] 张思浓. ARMS-PCR-金磁微粒层析方法的建立及其在基因多态性检测中的应用[D]. 西安:西北大学, 2020.
- [13] 毛华芬,杨舒婷,刘双,等. PCR-金磁微粒层析法在叶酸代谢相关基因检测中的应用研究[J]. 东南大学学报(医学版), 2019,38(5):890-895.
- [14] 沈海聪,朱志. 基于 CRISPR/Cas9 的新冠病毒双基因检测试纸条[J]. 化学传感器, 2021,41(2):2.
- [15] Zhang S, Cai Y, Zhang J, et al. Tetra-primer ARMS-PCR combined with GoldMag lateral flow assay for genotyping: simultaneous visual detection of both alleles [J]. *Nanoscale*, 2020,12(18):10098-10105.
- [16] 张朝. 适用于多样本类型 PCR-金磁微粒层析法直扩技术平台的建立及其在基因分型中的应用[D]. 西安:西北大学, 2018.
- [17] 杨雪敏. 基于 PCR-金磁微粒层析的 ACE 基因分型方法的建立及其在临床样本检测中的应用[D]. 西安:西北大学, 2018.

(上接第 2232 页)

- [13] 邱倩,刘东鑫,刘春法,等. 采用宏基因组学分析肺结核患者与健康人群呼吸道微生物菌群的特征[J]. 中国防痨杂志, 2020,42(10):1100-1108.
- [14] Maschirow L, Suttrop N, Opitz B. Microbiota-Dependent Regulation of Antimicrobial Immunity in the Lung [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019,61(3):284-289.
- [15] Lin D, Wang X, Li Y, et al. Sputum microbiota as a potential diagnostic marker for multidrug-resistant tuberculosis [J]. *Int J Med Sci*, 2021,18(9):1935-1945.
- [16] Namasivayam S, Maiga M, Yuan W, et al. Longitudinal profiling reveals a persistent intestinal dysbiosis triggered by conventional anti-tuberculosis therapy[J]. *Microbiome*, 2017,5(1):71.
- [17] McAleer JP, Kolls JK. Contributions of the intestinal microbiome in lung immunity[J]. *Eur J Immunol*, 2018,48(1):39-49.
- [18] Negi S, Pahari S, Bashir H, et al. Gut Microbiota Regulates Mincle Mediated Activation of Lung Dendritic Cells to Protect Against Mycobacterium tuberculosis [J]. *Front Immunol*, 2019,10:1142.
- [19] Buendía E, Zakzuk J, San-Juan-Vergara H, et al. Gut microbiota components are associated with fixed airway obstruction in asthmatic patients living in the tropics[J]. *Sci Rep*, 2018,8(1):9582.
- [20] Ticlla MR, Hella J, Hiza H, et al. The Sputum Microbiome in Pulmonary Tuberculosis and Its Association With Disease Manifestations: A Cross-Sectional Study [J]. *Front Microbiol*, 2021,12:633396.

(上接第 2236 页)

- [11] Huo X, Su B, Qin G, et al. HMGB1 promotes Ox-LDL-induced endothelial cell damage by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2022 Dec 21; 22(1):555.
- [12] 赵连江,亓法英,任萍. 血清 CAM, GDF-15, ox-LDL 在急性缺血性卒中患者中的变化及其与神经功能的关系[J]. 中国老年学杂志, 2018,38(9):2049-2052.
- [13] 申晓平,魏依兰,白磊鹏,等. 脑梗死患者血清血管生成素样蛋白 8 水平与颅内动脉粥样硬化狭窄程度的相关性研究[J]. 心脑血管病杂志, 2020,39(7):812-816.
- [14] 安然,杨璐,艾志兵. 血清血管生成素样蛋白 8、白细胞介素-23 水平与缺血性卒中患者颈动脉斑块易损风险的关系[J]. 中国医药导报, 2022,19(26):58-61+74.
- [15] 张军,卢祖能. 脑梗死患者血清 ox-LDL IL-18 Lp-PLA2 水平与颈动脉硬化斑块的相关性分析[J]. 河北医学, 2020,26(1):1-4.

分子诊断及疾病治疗的新工具: CRISPR/cas13 系统

赵亚楠 曹启新 赵建平 崔秀格 丁海涛*

[摘要] 规律间隔成簇短回文重复序列 (CRISPR)-CRISPR 相关蛋白 (CAS) 系统已在基因编辑邻域掀起一波热潮, 相比已研究成熟 CRISPR/cas9 系统, CRISPR/cas13 系统作为一种新型的 RNA 编辑工具, 开启了 RNA 水平研究及诊疗的新时代。CRISPR/cas13 系统在 CRISPR RNA (crRNA) 的引导下可以特异性切割靶序列, 同时能对周边 RNA 进行非特异性的“附带切割”, 基于该 CRISPR/cas13 系统的特性, 通过优化与改造, CRISPR/cas13 系统已成为分子诊断及疾病治疗的新工具。本文对 CRISPR/cas13 系统的特点及分子机制进行总结, 并对其在分子诊断、疾病治疗等方面的研究进展进行综合论述。

[关键词] CRISPR/cas13 系统; 附带切割; 分子机制; 分子诊断; 疾病治疗

New Tools for molecular diagnosis and disease treatment: CRISPR/CAS13 System

ZHAO Yanan, CAO Qixin, ZHAO Jianping, CUI Xiuge, DING Haitao*

(Department of Clinical Laboratory, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010010)

[ABSTRACT] The Clustered regularly interspaced short Palindromic repeats (CRISPR)-CRISPR-related protein (CAS) systems have made waves in the gene-editing neighborhood. Compared with the mature CRISPR/CAS9 system, CRISPR/CAS13 system, as a novel RNA editing tool, opens a new era of RNA level research and treatment. Under the guidance of CRISPR RNA (crRNA), the CRISPR/CAS13 system can specifically cut target sequences, and at the same time can perform non-specific “incidental cutting” of peripheral RNA. Based on the characteristics of the CRISPR/CAS13 system, through optimization and modification, The CRISPR/CAS13 system has become a new tool for molecular diagnosis and disease treatment. This article summarizes the characteristics and molecular mechanisms of the CRISPR/cas13 system, and comprehensively discusses its research progress in molecular diagnosis and disease treatment.

[KEY WORDS] CRISPR/CAS13 system; Attached cutting; Molecular mechanism; Molecular diagnosis; Disease treatment

规律间隔成簇短回文重复序列 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)/CRISPR 相关蛋白 (CRISPR associated protein, CAS) 是原核生物中的适应性免疫系统, 当病毒入侵时, CAS 蛋白将病毒的特定片段捕捉并整合在 CRISPR 系统的间隔序列中, 产生永久记忆, 当病毒再次入侵时, 在 CRISPR RNA (clustered regularly interspaced short palindromic repeat - derived

RNA, crRNA) 的指引下, cas 蛋白与靶序列结合并对其切割^[1]。近年来, CRISPR/cas 系统在基因调控、疾病治疗等领域迅速发展, 尤以 CRISPR/cas9 为著^[2-3]。但 CRISPR/cas9 仅能对 DNA 进行调控, 对 RNA 的特异性较低, 会出现一定的脱靶效应, 甚至会对细胞基因组造成一定的损伤, 因此在应用方面存在一定的安全隐患。2016 年 Abudayyeh 等首次发现纤毛菌 (*Leptotrichia shahii*, Lsh) 中的

基金项目: 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目 (202202008)

作者单位: 内蒙古自治区人民医院检验科, 内蒙古, 呼和浩特 010010

*通信作者: 丁海涛, E-mail: htting2013@163.com

VI型 - ACas13a (LshCas13a) 蛋白可以切割 RNA^[4]。自此, CRISPR/cas13 系统正式问世, CRISPR/cas13 系统具有特异靶向并剪切单链 RNA (Single-stranded RNA, ssRNA), 同时对其他 RNA 进行“附带切割”的特性, 其精准的靶向性与酶切割能力在核酸检测、疾病治疗方面具有广阔的应用前景。本文对 CRISPR/cas13 系统的特点及分子机制进行总结, 并对其在分子诊断、疾病治疗中的研究进展进行综合论述。

1 CRISPR/cas13 系统概况

1.1 CRISPR/cas13 系统在 CRISPR 系统中类别归属及其亚型

目前, CRISPR 系统根据 cas 酶的不同分为两大类 6 个型 32 个亚型^[5]。1 类系统(包括 I 型、III 型和 IV 型)需要多个 cas 蛋白与 crRNA 形成复合物后才能发挥活性, 2 类系统(包括 II 型、V 型和 VI 型)只需单个 cas 蛋白即可发挥效应^[6-7]。其中 VI 型 (cas13) 含有 2 个高等真核生物和原核生物核苷酸结合域(higher eukaryotes and prokaryotes nucleotide-binding, HEPN), 是一种只靶向 RNA 的 CRISPR 系统酶, 该酶能够加工 crRNA 并且在 crRNA 的引导下对特定 RNA 序列进行精确剪切, 同时还具备非特异性 RNA 核糖核苷酸酶(RNA ribonuclease, RNase) 活性, 对附近的 RNA 片段进行无差别的“附带剪切”, 参与基因调控、维持细胞稳态。

Cas13 家族有 4 个亚型, 分别为 A、B、C、D 亚型, 其中 VI-A 型即 Cas13a (旧称 C2c2), 具有 cas1 和 cas2, 对 RNA 进行顺式切割和反式切割^[8], VI-B 即 Cas13b 不含有 cas1 和 cas2, 具有 RNase 活性, 酶活性受附属蛋白 Csx27 和 Csx28 影响, Csx27 抑制酶活性, Csx28 表现为增强^[9]。VI-D 型即 Cas13d 分子量较小, 其附属蛋白 WYL1 正向调节 Cas13d 靶标和侧支 RNase 活性, 其对靶向的顺序和二级结构要求较低, 因此 Cas13d 进一步扩展了用于 RNA 操作和检测的 CRISPR 工具包^[10]。目前关于 Cas13c 的研究较少。

1.2 CRISPR/cas13 系统的作用机制

CRISPR/cas13 系统的分子作用机制主要包括以下四个反应阶段: ①外源性核酸序列的获取: 当外源性物质入侵时, Cas1 和 Cas2 蛋白复合物靶向将其切割成短片段, 并整合在 CRISPR “间隔”序列中进行重组^[11]。②crRNA 的表达与加工:

pre-crRNA (前体 crRNA) 与 cas13 蛋白结合形成复合物, 诱发 cas13 蛋白构象发生变化, 形成酸碱催化中心, 催化酶切 pre-crRNA 形成成熟的 crRNA^[12]。③酶切活性的激活: 靶 ssRNA 与 Cas13-crRNA 复合物结合, 与 crRNA 发生碱基配对, 引起 cas13 蛋白协同构象变化, 从而激活酶切活性^[13]。④酶切反应: 激活的 cas13 蛋白特异性切割靶 ssRNA, 同时对周边 RNA 进行“附带切割”。见图 1。

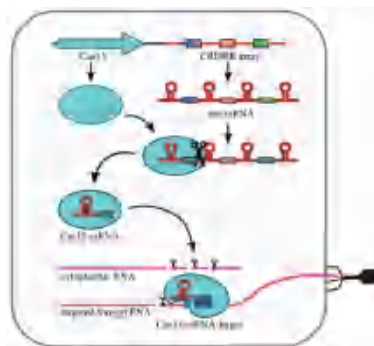


图1 CRISPR/cas13 系统的分子作用机制^[14]

Figure 1 Molecular mechanism of CRISPR/Cas13 system^[14]

2 CRISPR/cas13 系统在分子诊断中的应用与发展

2.1 病毒单分子核酸检测

基于 CRISPR/cas13 系统附属酶切活性, CRISPR/cas13 被开发为体外核酸检测的诊断工具。在最初研究中^[8], 将连有荧光基团和淬灭基团的 RNA 荧光报告分子加入系统, 当 Cas13a 被靶序列激活时, “附带切割”RNA 荧光报告分子, 荧光基团被激活释放荧光信号, 通过收集荧光信号进行特定核酸检测, 但不足的是, 检测的灵敏度较低, 只达到 pmol/L 级别, 尚不能满足临床检测需求, 需进一步开发来提高检测的灵敏度。

2017 年, 一项被命名为“神探夏洛克”的 (Specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking, SHERLOCK) 检测技术问世^[15], 该项技术在原有的基础上, 进一步增设了重组聚合酶 (Recombinase polymerase amplification, RPA) 扩增技术, 对靶序列进行 RPA 扩增, 针对靶 DNA 利用 T7 核糖核苷酸聚合酶转录为 RNA, 产生大量的 RNA 产物, 将产物加入 CRISPR/cas13 系统, 在 crRNA 的引导下激活 Cas13a, 切割 RNA 荧光报告分子, 释放大量荧光信号。该项检测技术检测浓度可达到 amol/L

级,同时还实现了对病毒核酸(DNA、RNA)单分子灵敏度和单碱基特异性检测,在研究中,SHERLOCK技术已成功检测出了寨卡病毒和登革热病毒的特定菌株。SHERLOCK技术原理见图2。



注: T7 transcription: T7 转录; Cas13a detection: Cas13a 激活; cleavage reporter: 荧光报告分子; target sequence: 靶序列。

图2 SHERLOCK 技术原理图^[15]

Figure 2 SHERLOCK technology schematic diagram^[15]

然而,该项技术依然存在着一定的短板,如检测单一,检测通量低且无法定量,不能便携等问题,针对这些问题,张锋团队进一步优化,开发了SHERLOCK version 2系统(SHERLOCK V2)简称2代SHERLOCK技术^[16],相比1代SHERLOCK技术,2代SHERLOCK技术首先在检测数量上增加了优势,针对不同cas蛋白酶具有不同的靶向性,可同时检测4种不同的荧光信号,除此之外,还使用了额外的CRISPR相关酶(Csm6)来放大信号,大幅度的提高检测灵敏度,解决了通量低无法定量的问题。同时为了使检测更加便捷,还使用了侧向层析试纸条技术,将结果短时间呈现在试纸条上,可实现快速床旁检测(Point of Care Testing, POCT)。SHERLOCK V2检测原理图见图3。



注: cas13 detection: cas13 检测; ZIKV ssRNA: 寨卡病毒 ssRNA; reporter cleavage: 报告分子的切割; lateral flow readout: 横向流读出。

图3 SHERLOCK V2 检测原理图^[16]

Figure 3 SHERLOCK V2 detection schematic diagram^[16]

目前,SHERLOCK技术已经成功用于埃博拉病毒、禽流感病毒、猪瘟疫病毒等病原体的检测^[17-19],自2019年,新型冠状病毒(severe acute respiratory

syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)席卷全球,常规PCR技术的局限性阻碍了大规模的核酸筛查,已有学者将SHERLOCK技术应用于SARS-CoV-2检测^[20-21],结果显示,可在1h之内可以完成新冠病毒毒株及其变异株的检测,最低检测限可达10~100拷贝/ μL ,与临床阳性样本一致率可达97%^[22]。Jiang等^[23]利用CRISPR/cas13系统检测B族链球菌,与基于培养和PCR的检测相比,其灵敏度与特异性大幅提高。相信在未来的不断优化下,CRISPR/cas13系统会成为一种新型的核酸诊断工具。

2.2 癌症体外诊断

癌症是全球死亡的主要原因之一,而肿瘤的异质性是影响治疗的重要因素,因此动态准确的评估肿瘤异质性是保证治疗成功的关键^[24]。液体活检技术在癌症的早期诊断和监测肿瘤异质性等方面有着很大的前景。液体活检是以循环肿瘤细胞(Circulating Tumor Cells, CTCs)、循环肿瘤核酸(Circulating tumor DNA/RNA, ctDNA/ctRNA)和外泌体为对象,通过无创性抽样方法获取肿瘤细胞信息。目前对ctDNA、ctRNA、循环miRNA(MicroRN, miRNA)等体液源核酸的分析主要采用定量聚合酶链反应(quantitative PCR, qPCR)、液滴数字PCR(Droplet Digital PCR, ddPCR)等方法。这些方法检测费用昂贵,需要精密的设备和专业人员,同时实验步骤也复杂繁琐,限制了临床实验室的广泛应用。因此,急需一种快速、灵敏、特异且成本低的方法使液体活检技术得到推广。CRISPR/cas13系统联合小型生物传感器就可以满足需求,2017年张峰团队验证了SHERLOCK技术可以在模拟ctDNA样本中检测到两种不同的癌症突变EGFR L858R和BRAF V600E,等位基因数低至0.1^[15]。Xing等^[25]构建了一种以CRISPR/Cas13为动力的便携式电化学发光芯片(PECL-CRISPR)用于miRNA检测,大大提高了检测的灵敏度,在优化条件下,miR-17的检出限为 $1 \times 10^{-15} \text{M}$,通过对crRNA的合理设计,该平台可以显著区分miRNA靶点及其高度同源的家族成员。Bruch等^[26]开发了一种基于cas13a的电化学微流控生物传感器对肿瘤标志物miR-19b和miR-20的检测,检测下限达到了10 pm。目前,基于cas13的SARS-CoV-2诊断试剂盒已获得美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)的紧急使用授权,相信在不久的将来基于cas13的方法可被用作新的癌症诊断工具。

3 CRISPR/cas13 系统在疾病治疗中的应用

3.1 在遗传疾病治疗中的作用

目前,CRISPR/cas9 系统在 DNA 编辑水平上治疗遗传病已取得了一定的成就,由于 CRISPR/cas13 系统对 RNA 表现出极高的特异性,有望用于治疗有关遗传病。研究显示^[27],来自 wadei 纤毛菌属中的 LwaCas13a 在大肠埃希菌可以引发细胞程序性凋亡或休眠。LwaCas13a 在哺乳动物中可以异源性表达,并具有高度特异性,可以有效敲低报道基因或内源性转录本,从而使致病的功能性蛋白活性丧失,其敲低的特异性与 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 水平相当。与 DNA 编辑相比, RNA 具有不稳定性和可逆性,可以防止基因产生永久性突变,故 RNA 编辑更为安全,为了进一步开发 cas13 的功效,研究者将 cas13 的 HEPN 结构域中的催化残基通过点突变失活,形成一个无核酸内切酶活性只能特异性结合的突变体 dCas13 (catalytically inactive Cas13), Cox 等^[28]通过 dCas13 作用于 2 型 RNA 的腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase acting on RNA type 2, ADAR2), 催化腺苷水解为肌苷,从而逆转哺乳动物中 RNA 水平突变导致的疾病。

3.2 在肿瘤靶向治疗中的作用

在过去的几十年里,肿瘤靶向治疗已被开发并用于临床。与化疗相比,分子靶向治疗大大提高了患者的生存期,且不良反应较少^[29]。目前, Cas9、RNAi 等方法广泛用于肿瘤的靶向治疗,但是脱靶效应的存在以及靶向细胞毒性给疾病治疗带来一定的阻力。Cas13 在 RNA 水平上对基因进行有效编辑与敲除,由于 Cas13 酶不是细胞原有的酶,而是通过载体转染进入细胞的,所以并不会影响到其他基因的正常表达。Cas13 的双重识别特性使得其脱靶效率较低,有关研究显示与多种 RNAi 方法相比,其产生的脱靶反应较少^[27]。除此之外, Cas13 与 RNAi 相比有着更高的敲除水平, Jiang 等^[30]证实了 Cas13 有效敲低了胰腺癌 (PDAC) 中 90% 的 *KrasG12D* 突变。Cas13 可以通过高效、特异的降解和操纵癌症相关转录本,用于靶向癌症治疗。Chen^[31]等证实了 CRISPR/Cas13a 系统可用于人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 中癌基因 *E6/E7* mRNA 的靶向治疗。Saifulah^[32]等显示 Cas13a 可以靶向 H3122 肺癌细胞中

的 *EML4-ALK v1* 转录本。Wang 等^[33]研究发现, CRISPR-Cas13a 系统能够有效抑制表皮生长因子受体变异体 III (*epidermal growth factor receptor variant III, EGFRv III*) 人神经胶质瘤 U87 细胞在小鼠颅内的原位进展,具有强大的肿瘤抑制作用。由此可见, CRISPR-Cas13 系统在肿瘤靶向治疗方面有着巨大的潜力和可观的前景。

4 小结与展望

基于 CRISPR-Cas13 系统的附属酶切活性,使其在核酸检测方面更加便捷、灵敏、特异,能够实现快速床旁即时检测 (Point of Care Testing, POCT); 基于 CRISPR-Cas13 系统的 RNA 编辑技术,开发了基因编辑和疾病治疗的新领域。但是 CRISPR-Cas13 系统目前依然存在一定的局限性: ①RNA 降解: 体外诊断一般需要 RNA 荧光报告探针, RNA 有着易降解的特性,容易导致检测结果的假阳性。②脱靶效应: cas13 系统有脱靶的可能性,需通过改变 cas13 突变体或者 crRNA 的结构来增强其特异性。③Cas13 在真核细胞中的生物学特性还需进一步研究,从而实现 RNA 的精准靶向与调控。但是,相信在未来通过对 CRISPR-Cas13 系统的不断优化和深入研究中, CRISPR-Cas13 系将会成为分子诊断和疾病治疗不可或缺的新工具,在生命科学和医学邻域的发展中发挥举足轻重的作用。

参考文献

- [1] Tang Y, FU Y. Class 2 CRISPR/Cas: an expanding biotechnology toolbox for and beyond genome editing [J]. Cell Biosci, 2018, 8(1): 59.
- [2] Ghaemi A, Bagheri E, Abnous K, et al. CRISPR-cas9 genome editing delivery systems for targeted cancer therapy [J]. Life Sci, 2021, 15(267): 118969.
- [3] Dalvie NC, Lorgeree T, Biedermann AM, et al. Simplified Gene Knockout by CRISPR-Cas9-Induced Homologous Recombination [J]. ACS Synth Biol, 2022, 11(1): 497-501.
- [4] Abudayyeh OO, Gootenberg JS, Konermann S, et al. C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector [J]. Science, 2016, 353 (6299): aaf5573.
- [5] Koonin EV, Makarova KS, Zhang F. Diversity, classification and evolution of CRISPR - Cas systems [J]. Curr Opin Microbiol, 2017, 37: 67-78.
- [6] Makarova KS, Zhang F, Koonin EV. SnapShot: Class 1 CRISPR-Cas systems [J]. Cell, 2017, 168(5): 946-946.

- [7] Makarova KS, Zhang F, Koonin EV. SnapShot: Class 2 CRISPR-Cas systems[J]. *Cell*, 2017, 168(1/2): 328-328.
- [8] East-Seletsky A, O'Connell MR, Knight SC, et al. Two distinct RNase activities of CRISPR-C2c2 enable guide-RNA processing and RNA detection[J]. *Nature*, 2016, 538(7624): 270-273.
- [9] Smargon AA, Cox DB, Pyzocha NK, et al. Cas13b Is a Type VI-B CRISPR-Associated RNA-Guided RNase Differentially Regulated by Accessory Proteins Csx27 and Csx28 [J]. *Mol Cell*, 2017, 65(4): 618-630.
- [10] Yan WX, Chong S, Zhang H, et al. Cas13d Is a Compact RNA-Targeting Type VI CRISPR Effector Positively Modulated by a WYL-Domain-Containing Accessory Protein [J]. *Mol Cell*, 2018, 70(2): 327-339.
- [11] Nussenzweig M, Marraffini LA. Molecular Mechanisms of CRISPR-Cas Immunity in Bacteria Philip [J]. *Annu Rev Genet*, 2020, 23(54): 93-120.
- [12] O'Connell MR. Molecular Mechanisms of RNA Targeting by Cas13-containing Type VI CRISPR-Cas Systems [J]. *J Mol Biol*, 2019, 431(1): 66-87.
- [13] Knott GJ, East-Seletsky A, Cofsky JC, et al. Guide-bound structures of an RNA-targeting A-cleaving CRISPR-Cas13a enzyme [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24(10): 825-833.
- [14] Burmistrz M, Krakowski K, Krawczyk-Balska A, et al. RNA-Targeting CRISPR-Cas Systems and Their Applications [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 1122.
- [15] Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Lee JW, et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2 [J]. *Science*, 2017, 356(6336): 438-442.
- [16] Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Kellner MJ, et al. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6 [J]. *Science*, 2018, 360(6387): 439-444.
- [17] Barnes KG, Lachenauer AE, Nitido A, et al. Deployable CRISPR-Cas13a diagnostic tools to detect and report Ebola and Lassa virus cases in real-time [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4131.
- [18] Liu Y, Xu H, Liu C, et al. CRISPR-Cas13a Nanomachine Based Simple Technology for Avian Influenza A (H7N9) Virus On-Site Detection [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15(4): 790-798.
- [19] Kostyusheva A, Brezgin S, Babin Y, et al. CRISPR-Cas systems for diagnosing infectious diseases [J]. *Methods*, 2021, S1046-2023(21): 00099-2.
- [20] Fozouni P, Son S, Derby M, et al. Amplification-free detection of SARS-CoV-2 with CRISPR-Cas13a and mobile phone microscopy [J]. *Cell*, 2021, 184(2): 323-333.
- [21] Wang Y, Zhang Y, Chen J, et al. Detection of SARS-CoV-2 and Its Mutated Variants via CRISPR-Cas13-Based Transcription Amplification [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(7): 3393-3402.
- [22] Azmi I, Faizan MI, Kumar R, et al. A Saliva-Based RNA Extraction-Free Workflow Integrated With Cas13a for SARS-CoV-2 Detection [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 16(11): 632646.
- [23] Jiang L, Zeng W, Wu W, et al. Development and Clinical Evaluation of a CRISPR-Based Diagnostic for Rapid Group B Streptococcus Screening [J]. *Emerg Infect Dis*, 2021, 27(9): 2379-2388.
- [24] Dagogo-Jack I, Shaw AT. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies Affiliations expand [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2): 81-94.
- [25] Zhou T, Shan Y, Xin D, et al. CRISPR/Cas13a Powered Portable Electrochemiluminescence Chip for Ultrasensitive and Specific miRNA Detection [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7(13): 1903661.
- [26] Bruch R, Baaske J, Chatelle C, CRISPR/Cas13a-Powered Electrochemical Microfluidic Biosensor for Nucleic Acid Amplification-Free miRNA Diagnostics [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(51): e1905311.
- [27] Abudayyeh OO, Gootenberg JS, Essletzbichler P, et al. RNA targeting with CRISPR-Cas13 [J]. *Nature*, 2017, 550(7675): 280-284.
- [28] Cox DBT, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, et al. RNA editing with CRISPR-Cas13 [J]. *Science*, 2017, 358(6366): 1019-1027.
- [29] Yuan M, Huang LL, Chen JH, et al. The emerging treatment landscape of targeted therapy in non-small-cell lung cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 17(4): 61.
- [30] Jiang W, Li H, Liu X, et al. Precise and efficient silencing of mutant Kras G12D by CRISPR-CasRx controls pancreatic cancer progression [J]. *Theranostics*, 2020, 10(25): 11507-11519.
- [31] Chen Y, Jiang H, Wang T, et al. In vitro and in vivo growth inhibition of human cervical cancer cells via human papillomavirus E6/E7 mRNAs' cleavage by CRISPR/Cas13a system [J]. *Antiviral Res*, 2020, 178: 104794.
- [32] Saifullah, Sakari M, Suzuki T, et al. Effective RNA Knockdown Using CRISPR-Cas13a and Molecular Targeting of the EML4-ALK Transcript in H3122 Lung Cancer Cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 8904.
- [33] Wang Q, Liu X, Zhou J, et al. The CRISPR-Cas13a gene-editing system induces collateral cleavage of RNA in glioma cells [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6(20): 1901299.

西南医科大学附属医院感染与免疫实验室

西南医科大学附属医院感染与免疫实验室位于四川省泸州市江阳区太平街25号,是四川省教育厅立项建设的高等学校重点建设实验室,四川省狂犬病防治研究中心,中医药科研实验室(二级),含P2+生物安全实验室、分子实验室、细胞培养室和细菌室等4个操作单元。现有技术人员7名,其中高级职称3名、中级职称2名、初级职称2名,获博士以上学历者3名(其中外籍博士后1名)。实验室依附于西南医科大学附属医院感染性疾病科,是集科学研究及教学为一体的综合实验室。西南医科大学附属医院下设临床研究中心作为公共研究平台,仪器设备总值共计2900余万元,主要有:BD流式细胞分析和分选仪、激光共聚焦显微成像系统、GE Typhoon 多功能激光扫描仪、ABI Q7 实时荧光定量PCR仪、Waters液相色谱仪、Fusionsolo4 化学发光仪、Berthold TriStar LB 942 微孔板式多功能分析仪、DIAGENODE Bioruptor Pico 非接触式超声波破碎仪、BIO-RAD 凝胶成像仪、LEICA 荧光正置显微成像系统、Olympus 荧光倒置显微成像系统、LabCHIP GX 核酸检测系统等。当前研究方向主要包括(1)病毒性肝炎的基础与临床;(2)耐药结核病的诊断与治疗;(3)脓毒血症新型诊断靶标筛选;(4)临床病原菌致病及耐药机制研究;(5)新型抗菌药物开发等,以病毒性肝炎、耐药结核病、艾滋病发病机制、早期诊断、精准医疗和转化医学研究为特色。

实验室近5年在国际知名SCI期刊发表论文30多篇,中科院1区论文11篇,获得国家自然科学基金(外国学者研究基金项目),国家科技部国家重点研发计划等国家级项目2项,省部级项目2项,厅局级项目10余项,总经费100多万元。

学科带头人邓存良教授长期从事病毒性肝炎、药物性肝炎、自身免疫性肝病、酒精性肝病等肝脏疾病的诊治,肿瘤早期诊断新技术与新方法方面的基础与临床转化研究,任中华医学会感染病学分会第十二届委员会委员;中国医师协会感染科医师分会第四届委员会委员;四川省医学会第十届感染病学专业委员会主任委员;第四届四川省专家评议(审)委员会成员;《中华传染病杂志》第九届编委会编委;《中华肝脏病杂志》第六届编辑部委员会编委;《临床肝胆病杂志》第十五届编委会编委,《西部医学》第五届委员会学术期刊编委会常务编委;《寄生虫病与感染性疾病》编委会编委;《西南医科大学学报》编委,是第九批四川省卫生厅学术技术带头人;四川省卫生先进个人;四川省突出贡献优秀专家。



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。

