



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

2021年8月 第13卷 第8期 总第84期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 13 Number 8 August 2021

位置	男方		男方		女方		女方		女方		男方	
	F1	F0	F0	F0	M0	M1	M0	M1	F1	F0	F1	F0
54576882	G	A	G	A	G	G	A	G	G	A	G	G
54628774	T	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
54666737	C	A	C	A	C	A	C	C	C	C	C	C
54801743	A	A	C	A	A	C	A	A	A	A	A	A
55167132	A	A	A	A	A	T	C	A	A	A	A	A
55167206	T	T	T	T	T	C	T	T	T	T	T	T
55217723	T	C	T	C	T	C	C	T	C	T	T	T
55297176	A	G	A	A	A	G	G	G	A	G	A	A
55396206	G	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
55560285	A	A	A	A	A	G	G	G	A	G	A	A
55568209	C	T	C	C	C	G	T	T	C	T	C	C
55568116	C	G	C	C	C	C	G	C	C	C	C	C
55567631	C	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
55626489	A	A	A	A	A	A	G	G	A	G	A	A
55629439	A	A	A	G	A	A	G	G	A	G	A	A
55642860	A	C	C	G	C	C	G	G	C	C	A	C
55682593	A	T	A	A	A	A	T	A	A	T	A	A
55684231	A	G	G	A	G	A	G	A	G	G	A	G
55708812	A	C	A	C	A	C	C	C	A	C	A	C
55783831	T	T	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
57393568	A	C	A	A	A	C	C	C	A	C	A	C
57445100	C	T	T	T	T	C	C	T	T	C	T	T
57497457	T	T	T	T	T	C	T	T	T	T	T	T
57553354	A	G	A	A	A	G	G	G	A	G	A	A
57638017	C	T	A	C	C	T	T	T	A	C	C	T
57974913	T	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	A
58024271	G	A	A	G	A	A	A	A	A	A	A	A
58024324	G	A	A	G	A	A	A	A	A	A	A	A
58125948	G	A	A	G	A	A	A	G	A	A	A	A
58149745	G	A	A	G	A	A	A	G	A	A	A	A
58186280	G	A	A	G	A	A	A	G	A	A	A	A
59238693	C	T	C	C	C	T	T	C	C	T	C	C

注: 男方致病; 男方正常; 女方致病; 女方正常; 男方有效位点; 女方有效位点; F0表示男方风险染色体, F1表示男方正常染色体; M0表示女方致病染色体, M1表示女方正常染色体。

图(1220) 家系成员 SNP 单倍型(选取部分 SNP 位点)

Figure(1220) SNP haplotypes of family members (partial SNP loci selected)

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



## 尹卫国



尹卫国,《分子诊断与治疗杂志》第五届编辑委员会委员。

1968年8月出生,1990年毕业于南华大学,医学博士学位,曾赴美国克利夫兰医学中心免疫系做访问学者。

主任技师,教授,硕士生导师,现任广州医科大学附属第六医院分子诊断中心主任。担任广东省基层医药学会细胞病理与分子诊断分会副主任委员、广东省检验医学分会分子诊断学组副组长,广东省精准医学和分子诊断学会、广东省精准医学应用学会精准检测分会、广东省免疫学会检验免疫学分会、广东省胸部疾病学会肺癌多学科治疗委员会等学会常委,清远市医学会分子诊断

学分会主任委员,中南医学科学杂志编委,北京市自然科学基金委员会函评。

尹卫国教授长期从事天然免疫信号传导与炎症反应的调控机理、感染性疾病及肿瘤的早期分子诊断。主持省自然科学基金重点和面上4项和多项市级、院级研究项目,获省科技进步三等奖、省医药卫生科技二等奖各一项、申请国家发明专利一项。发表相关论文100余篇,其中SCI收录30篇,副主编及参编专著3部。熟悉本专业国内外现状及发展趋势,不断将新技术应用于实践;积极开展本专业各项诊疗技术项目,拓展平台的区域功能,目前已与十几家本地域医院进行合作,为周边医疗机构提供基因检测服务。

在抗击新冠肺炎疫情的工作中,从2020年大年初一开始投入工作,快速反应,带领分子诊断中心团队克服人员紧张、场地不足、配套不完善、设备数量严重不足等困难,召集在清远附近的员工,紧急进行人员培训、场地和设备调整、各种试剂耗材和配套用品的采购和准备,率先开展新冠核酸检测。克服各种困难,创造条件尽可能满足检测需要;严把检测质量关,以满分通过国家卫生健康委、广东省临检中心新型冠状病毒核酸检测室间质评,过硬的技术保证了检测结果的准确可靠。作为本地区核酸检测中心和培训基地,承担了本地区核酸检测全方位的培训任务;为外防输入提供高质量的检测依据,加强入境感染者早筛查早隔离,确保当地平安。个人被评委清远市2020年度敬业奉献道德模范,所在科室被评为清远市2021年先进集体。

# 分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2021年8月 第13卷 第8期 总第84期 Monthly Volume 13 Number 8 August 2021

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	蒋析文
编辑部副主任	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	2021年8月18日
定价	RMB 15.00元
<b>Responsible Institution</b>	<i>Sun Yat-sen University</i>
<b>Sponsor</b>	<i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i>
<b>Organizer</b>	<i>Daan Gene Co., Ltd.</i>
<b>Editor in Chief</b>	<i>ZHANG Yipeng</i>
<b>Consultant</b>	<i>SHEN Ziyu</i>
<b>Editor in Chief</b>	<i>LI Ming</i>
<b>Managing Director</b>	<i>JIANG Xiwen</i>
<b>Associate Editor</b>	<i>LIU Yue</i>
<b>Editorial Office</b>	<i>&lt;JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY&gt; Editorial Office</i>
<b>Editors</b>	<i>LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao</i>
<b>Editing</b>	<i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i>
<b>Add</b>	<i>11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620</i>
<b>Tel</b>	<i>(020) 32290789-206, 32290789-201</i>
<b>E-mail</b>	<i>jmdt@vip.163.com</i>
<b>CSSN</b>	<i>ISSN 1674-6929 CN 44-1656/R</i>
<b>Printing</b>	<i>TianYi Yofus Technology Co., Ltd.</i>
<b>Publish Date</b>	<i>2021.8.18</i>
<b>Price</b>	<i>RMB 15.00</i>



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》

版权归《分子诊断与治疗杂志》所有,本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点,除非特别声明。



# 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

2020年12月

证书编号: 2019-G556-0386  
有效期至: 2021年12月



# 分子诊断与治疗杂志

月刊 2021年8月 第13卷 第8期

## 目次

### 述评

miR-29 基因簇与心脑血管疾病的研究进展 ..... 谷嬉嬉 韦叶生(1201)

### 论著

杜氏肌营养不良基因突变检测国家参考品的研制 ..... 于婷 孙楠 孙晶 等(1205)

肺癌术后肺部感染患者血浆 sTREM-1、sCD163 与 PCT 水平与疗效的关系  
..... 吴小伟 严加高 李陶 等(1209)

SCC-Ag、CEA、EB 病毒 VCA-Ig A 诊断鼻窦癌价值及与化疗反应性关系 ..... 胡浩 聂丽 吴俊(1214)

二代测序在 Meckel 综合征植入前遗传学检测的应用 ..... 何天文 区惠红 卢建 等(1218)

乳腺癌手术切除患者放疗前后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 变化及与预后的关系  
..... 冯瑞刚 张帆 王鹏 等(1223)

SETDB1 在炎症性肠病患者肠黏膜组织中的表达及临床意义 ..... 王慧玲 赵静 李刚(1227)

血清 PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉 S/D 值预测 FGR 的临床价值 ..... 谢宁 李红岩 李丽(1231)

日照市部分地区 2 139 例女性 HPV 感染情况及分型分析 ..... 梁家花 门庆娟 王晓平等(1235)

尿液 DACH2、OPN、MUC7 对膀胱尿路上皮癌的诊断价值 ..... 陈开训 孙鹏摇 侯昌霞(1239)

*ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 在晚期 NSCLC 铂类化疗敏感性、预后评估中的应用  
..... 刘祺 周政涛 冯正富 等(12243)

动态监测钙磷代谢指标在腹膜透析高磷血症患者治疗中的变化及意义 ..... 胡天晓 马欣(1247)

木脂素-1 通过抑制 DNA 拓扑异构酶 I 诱导胃癌细胞凋亡的机制研究  
..... 娄红刚 张琛涵 康富贵 等(1251)

Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在胰腺导管腺癌中的表达及临床意义 ..... 刘燕 张曼 李成龙(1255)

CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS 在糖尿病酮症酸中毒诊断和病情评估中价值  
..... 潘艳丽 汪四虎 黄大祥(1260)

血清 PCT、 $\alpha$ 1-AT、HMGB1 水平对新生儿细菌性肺炎的鉴别诊断 ..... 祝体红 赵勇 许玉峰(1264)

PDW、BNP 及 LDH 在 COPD 合并 PH 患者中的变化及其临床意义 ..... 韩静 刘晓宇 翁军 等(1268)

miR-34、VEGF-C 及 sIL-2R 检测在乳腺癌淋巴结转移中的预测 ..... 何姗姗 骆建美 刘贤 等(1272)

LAPTM4B 在胰腺癌中的表达与其侵袭、转移及预后的关系  
..... 张春风 乌云高娃 赵丽娟 等(1276)

血清 Lp-PLA2 和 LDL-C/HDL-C 比值与 ACI 患者颈动脉粥样斑块稳定性关系  
..... 金纪伟 葛冰磊 杨凤 等(1281)

*ERCC1*、*PAK*、*HDAC1* 蛋白在 NSCLC 的表达及临床意义 ..... 孔佑虔 宋爱英 王小玉 等(1285)

*XO/XOR*、*GSH-Px*、miR-133b 在急性肾小球肾炎肾功能损害中诊断价值及意义  
..... 李莎 胡明亮 王丽(1289)

CD64、CHE 及 sCD14 在股骨转子间骨折术后感染中的表达及意义  
..... 许梅辛 孙兴霞 刘洋 等(1293)

MMP-13、BMP-2及P16在退变腰椎间盘髓核中的表达及临床意义	张培根 张文 解迪 等(1297)
PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6水平变化与RA病情活动性和病理评分的相关性	庄建阳 刘雪梅 代思明 等(1301)
腹腔镜子宫肌瘤剔除术治疗对患者IFN- $\gamma$ 、ALD、COS的影响	杜晓丽 张丹 李华 等(1305)
AMI患者PCI术前后血清MMP-8、sST2、Myo水平变化及临床意义	程勇 王娜 贾国力 等(1309)
PON1、CD39/ATP轴对急性百草枯中毒预后的预测价值	张晓波 吕晓丹 周琴 等(1313)
CD47、8-OHdG、Adropin蛋白对急性脑出血90d临床预后的预测价值	苟志勇 谭华 朱黎 等(1317)
TG/HDL-C、TM与老年股骨颈骨折术后DVT易感性关系及诊断价值	焦义 杨治涛 罗伦 等(1321)
IL-33、MIF及PLTP水平与新生儿支气管肺发育不良的关系	杨婕 曹霞 李翠霞 等(1325)
PBMC中CARD9、MDC、IL-32在溃疡性结肠炎诊断和病情评估中价值	谢玥 张绍衡 熊瑶 等(1329)
IGF-1、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65亚基预测胫骨平台骨折术后愈合延迟的价值	徐向阳 孙军平 李云朋 等(1333)
NPY、TSB/ALB、LDH对新生儿高胆红素血症脑病预测效能	薛怀建 王丹 盛玮(1337)
IL-33/ST2信号通路相关因子对颅脑外伤合并SIRS的诊断价值	杨永刚 欧阳阳钢 伍小军 等(1341)
动态监测HE4、Smad4、HGF预测卵巢癌外科术后早期复发的价值	左尔比亚·买买提 古再力努尔·艾白 阿斯木古丽·克力木(1345)
HMGB-1、cTnI及Ang2与急诊多发伤血管损伤、院内死亡风险的关系	刘发生 李帅 郭立峰 等(1349)
宫颈癌患者HMGA1、HMGB1表达水平与高危型HPV感染的关系及临床意义	陈慧 陈光辉 王万党 等(1353)
胸腔积液DPP-IV、D二聚体及CRKL预测恶性胸腔积液的价值分析	徐彪 林泽邦 沙纪名(1357)
慢性乙型病毒性肝炎患者维生素D及其受体表达与炎症损伤程度及肝细胞癌发生的相关性分析	李玉苓 邹东花 谭艳 等(1361)
CTRP3、Lp(a)对冠心病合并糖尿病PCI术后支架内再狭窄的预测价值	魏冬 高鹏芝 范吉利 等(1365)
多囊卵巢综合征患者HOMA-IR与T及SHBG水平的相关性研究	薄晓莉 潘静 朱爱丽 等(1369)

## 综 述

长链非编码RNA对动脉粥样硬化炎症反应的研究进展	郭宁 秦合伟(1372)
--------------------------	--------------

## 专家风采

尹卫国	(封二)
-----	------

## 实验室巡礼

清远市人民医院分子诊断中心	(封三)
---------------	------

# JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 13 Number 8 August 2021

## CONTENTS

### COMMENTS

- Recent advances on the role of miR-29 gene cluster in cardiovascular and cerebrovascular diseases  
*GU Xixi, WEI Yesheng* ..... (1201)

### ORIGINAL ARTICLES

- Development of national reference material for Duchenne muscular dystrophy gene mutation detection  
*YU Ting, SUN Nan, SUN Jing, HUANG Jie, QU Shoufang* ..... (1205)
- Relationship between plasma levels of sTREM-1, sCD163 and PCT in patients with lung infection after lung cancer surgery and curative effect  
*WU Xiaowei, YAN Jiagao, LI Tao, LU Shengshan* ..... (1209)
- The diagnostic value of SCC-Ag, CEA, Epstein-Barr VCA-Ig A in the diagnosis of sinus cancer and its relationship with chemotherapy response  
*HU Hao, NIE Li, WU Jun* ..... (1214)
- Application of next-generation sequencing in preimplantation genetic testing of Meckel syndrome  
*HE Tianwen, OU Huihong, LU Jian, CHEN Chuangqi, LIU Dun, DING Hongke, LIU Ling, DU Li, YIN Aihua* ..... (1218)
- Changes of PBMC and *BIRC5* and *RunX2* mRNA in patients with breast cancer before and after radiotherapy and their relationship with prognosis  
*FENG Ruigang, ZHANG Fan, WANG Peng, WANG Yi, LI Kaimin* ..... (1223)
- Expression and clinical significance of SETDB1 in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease  
*WANG Huiling, ZHAO Jing, LI Gang* ..... (1227)
- The clinical value of serum PAPP-A, MMP-9 and umbilical artery S/D value in the third trimester of pregnancy in predicting FGR  
*XIE Ning, LI Hongyan, LI Li* ..... (1231)
- Analysis of HPV infection and classification in 2 139 women in Rizhao and Juxian County  
*LIANG Jiahua, MEN Qingjuan, WANG Xiaoping, MOU Zongling* ..... (1235)
- The diagnostic value of urine DACH2, OPN, MUC7 for bladder urothelial carcinoma  
*CHEN Kaixun, SUN Pengyao, HOU Changxia* ..... (1239)
- Application of *ERCC1*, *BRCA1* and *BAG-1* detection in the evaluation of the sensitivity and prognosis of platinum-based chemotherapy in advanced NSCLC  
*LIU Qi, ZHOU Zhengtao, FENG Zhengfu, NIE Wanyu* ..... (1243)
- Changes and significance of dynamic monitoring of calcium and phosphorus metabolism indicators in the treatment of patients with peritoneal dialysis and hyperphosphatemia  
*HU Tianxiao, MA Xin* ..... (1247)
- Study on the mechanism of lignan-1 inducing apoptosis of gastric cancer cells by inhibiting DNA topoisomerase I  
*LOU Honggang, ZHANG Chenhan, KANG Fugui, NIE Jingyun, CHAI Chen* ..... (1251)
- Expression and clinical significance of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein in pancreatic ductal adenocarcinoma  
*LIU Yan, ZHANG Man, LI Chenglong* ..... (1255)
- The value of CRP/Lac,  $\beta$ -HBA and AMS in diagnosis and evaluation of diabetic ketoacidosis  
*PAN Yanli, WANG Sihui, HUANG Daxiang* ..... (1260)
- Value of serum PCT,  $\alpha$ 1-AT and HMGB1 levels in the differential diagnosis of neonatal bacterial pneumonia  
*ZHU Tihong, ZHAO Yong, XU Yufeng* ..... (1264)
- Changes of PDW, BNP and LDH in patients with COPD combined with PH and their clinical significance  
*HAN Jing, LIU Xiaoyu, WENG Jun, LIU Yunqiu* ..... (1268)
- Prediction of detection of mir-34, VEGF-C and sIL-2R in lymph node metastasis of breast cancer  
*HE Shanshan, LUO Jianmei, LIU Xian, SONG Xutong* ..... (1272)
- Relationship between the expression of LAPTM4B and its invasion, metastasis and prognosis in patients with pancreatic cancer  
*ZHANG Chunfeng, WU Yungaowa, ZHAO Lijuan, ZHANG Hui* ..... (1276)

Relationship between serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio and stability of carotid atherosclerotic plaque in ACI patients <i>JIN Jiwei, GE Binglei, YANG Feng, CHEN Yonghong</i> .....	(1281)
Expression and clinical significance of ERCC1, PAK and HDAC1 protein in patients with NSCLC <i>KONG Youqian, SONG Aiyang, WANG Xiaoyu, TANG Yin</i> .....	(1285)
Diagnostic value and significance of XO/XOR, GSH-Px, miR-133b in renal impairment of acute glomerulonephritis <i>Li Sha, HU Mingliang, WANG Li</i> .....	(1289)
The expression and significance of CD64, CHE and sCD14 in the postoperative infection of patients with intertrochanteric fracture <i>XU Meixin, SUN Xingxia, LIU Yang, CHANG Liang, CAO Xuedan</i> .....	(1293)
The expression and clinical significance of MMP-13, BMP-2 and P16 in nucleus pulposus of degenerative lumbar intervertebral disc <i>ZHANG Peigen, ZHANG Wen, XIE Di, WANG Jin</i> .....	(1297)
Correlation of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 level changes with RA disease activity and pathological score <i>ZHUANG Jianyang, LIU Xuemei, DAI Siming, WANG Yanli, LI Heng</i> .....	(1301)
The effect of laparoscopic myomectomy on the levels of IFN- $\gamma$ , ALD and COS in patients with Uterine fibroids <i>DU Xiaoli, ZHANG Dan, LI Hua, GUO Xuejiao, ZHANG Dongming, JIA Xibei, GAO Jianhong</i> .....	(1305)
Changes of serum MMP-8, sST2 and Myo levels in AMI patients before and after PCI and their clinical significance <i>CHENG Yong, WANG Na, JIA Guoli, YANG Junzhen, LEI Na, YANG Yang</i> .....	(1309)
The predictive value of PON1, CD39/ATP axis on the prognosis of acute paraquat poisoning <i>ZHANG Xiaobo, LV Xiaodan, ZHOU Qin, LIN Yuanzhen, LI Zhe, LIU Da, LV Liwen</i> .....	(1313)
Predictive value of CD47, 8-OHdG and adropin protein on the clinical prognosis of acute cerebral hemorrhage at 90 days <i>GOU Zhiyong, TAN Hua, ZHU Li, JIANG Zhengfang</i> .....	(1317)
The relationship between TG/HDL-C, TM and the susceptibility of postoperative DVT of elderly patients with femoral neck fractures and their diagnostic value <i>JIAO Yi, YANG Zhitao, LUO Lun, CHENG Huanyu</i> .....	(1321)
The relationship between IL-33, MIF and PLTP levels and neonatal bronchopulmonary dysplasia <i>YANG Jie, CAO Xia, LI Cuixia, ZHENG Lijia, CHEN Guohuan</i> .....	(1325)
The value of CARD9, MDC and IL-32 in PBMC in diagnosis and evaluation of ulcerative colitis <i>XIE Yue, ZHANG Shaoheng, XIONG Yao, YU Changhui</i> .....	(1329)
Value of serum IGF-1, TNF- $\alpha$ and NF- $\kappa$ B p65 subunit levels in predicting delayed healing of tibial plateau fracture surgery <i>XU Xiangyang, SUN Junping, LI Yunpeng, WANG Peng, ZHU Lin, LIU Ruyin</i> .....	(1333)
Predictive efficacy of NPY, TSB/ALB and LDH on neonatal hyperbilirubinemia encephalopathy <i>XUE Huaijian, WANG Dan, SHENG Wei</i> .....	(1337)
The diagnostic value of IL-33/ST2 signal pathway related factors in craniocerebral trauma with SIRS <i>YANG Yonggang, OUYANG Yanggang, WU Xiaojun, CHEN Pingping</i> .....	(1341)
The value of dynamic monitoring of HE4, Smad4 and HGF in predicting the early recurrence of ovarian cancer after surgery <i>Zuoerbiya, MAIMAITI, Guzailinver, AIBAI, Aermuguli, KELIMU</i> .....	(1345)
The relationship between the levels of HMGB-1, cTnl and Ang2, vascular endothelial injury and the risk of hospital death in patients with multiple injuries in the emergency department <i>LIU Fasheng, LI Shuai, GUO Lifeng, LIU Gaoqiang, ZHAO Junquan, LI Xuejun</i> .....	(1349)
The relationship between the expression levels of HMGA1 and HMGB1 in patients with cervical cancer and high-risk HPV infection and its clinical significance <i>CHEN Hui, CHEN Guanghui, WANG Wandang, DENG Yutao</i> .....	(1353)
Value analysis of DPP-IV, D dimer and CRKL in predicting malignant pleural effusion <i>XU Biao, LIN Zebang, SHA Jiming</i> .....	(1357)
Correlation analysis of the expression of vitamin D and its receptor with the degree of inflammatory damage and the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B <i>LI Yuling, ZOU Donghua, TAN Yan, ZHANG Weimin, SUN Tao</i> .....	(1361)
Predictive value of CTRP3 and Lp(a) for in-stent restenosis after PCI of coronary heart disease complicated with diabetes <i>WEI Dong, GAO Pengzhi, FAN Jili, XU Weizhong</i> .....	(1365)
Correlations of HOMA-IR, T and SHBG levels in patients with polycystic ovary syndrome <i>BO Xiaoli, PAN Jing, ZHU Aili, HE Baiyu, HALIYA Halimubieke</i> .....	(1369)

## REVIEWS

Research progress of long non-coding RNA on the inflammatory response of atherosclerosis <i>GUO Ning, QIN Hewei</i> .....	(1372)
--	--------

## miR-29 基因簇与心脑血管疾病的研究进展

谷嬉嬉 韦叶生\*

**[摘要]** 微小RNA(miRNA)是一类单链非编码、长度为20-24个核苷酸的小分子RNA,在动植物中参与转录后基因表达调控。miR-29基因簇是一种近年来不断被关注的功能丰富的miRNA,可通过调控不同的信号通路参与心脑血管疾病的发生。了解miR-29基因簇与心脑血管疾病发病机制的关系有助于发现包括动脉粥样硬化、心肌梗死、脑卒中在内的心脑血管疾病的治疗靶点。本文围绕miR-29基因簇在心脑血管疾病中的分子调控机制及潜在靶点作用展开综述,为认知心脑血管疾病发生、发展的过程及防治提供理论支撑。

**[关键词]** miR-29; 基因簇; 心脑血管疾病

### Recent advances on the role of miR-29 gene cluster in cardiovascular and cerebrovascular diseases

GU Xixi, WEI Yesheng\*

(Department of Medical Laboratory, the Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, China, 541001)

**[ABSTRACT]** MicroRNA (miRNA) is a type of single-stranded non-coding small RNA with a length of 20-24 nucleotides, which participates in the regulation of post-transcriptional gene expression in animals and plants. The miR-29 gene cluster is a kind of miRNA with rich functions that has been paid more attention in recent years. It can participate in the occurrence of cardiovascular and cerebrovascular diseases by regulating different signal pathways. Understanding the relationship between the miR-29 gene cluster and the pathogenesis of cardio-cerebrovascular diseases will help to discover therapeutic targets for cardio-cerebrovascular diseases including atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke. This article focuses on the molecular regulation mechanism and potential targets of miR-29 gene cluster in cardio-cerebrovascular diseases and provides theoretical support for cognition of the occurrence and development process and prevention of cardiovascular and cerebrovascular diseases.

**[KEY WORDS]** miR-29; Gene cluster; Cardio-cerebrovascular diseases

近年来,心脑血管病的发病率和死亡率逐年上升,每年约造成1 700万人的死亡<sup>[1]</sup>,严重影响人类生命健康和生活质量。早期预防和早期诊断能有效降低心脑血管疾病的发生,随着人类基因组计划的深入开展,越来越多的研究集中于非编码RNA在心脑血管疾病的分子机制研究<sup>[2-3]</sup>。miR-29基因簇的功能不断被丰富,研究发现其与心脑血管疾病发病相关,本文通过对miR-29与心

脑血管疾病的关系进行系统综述,有助于更好地了解miR-29基因簇在心脑血管疾病发病机制中作用。

### 1 miR-29 基因簇

#### 1.1 miR-29 基因簇的起源

1993年,首个miRNA由Lee等学者在秀丽隐形线虫体内发现<sup>[4]</sup>。长度20-24个核苷酸的miR-

基金项目:国家自然科学基金项目(81560552);广西重点研发课题(2018AB58018);广西自然科学基金(2018GXNSFAA138120)

作者单位:桂林医学院附属医院检验科,广西,桂林 541001

\*通信作者:韦叶生, E-mail: yeshengwei56@163.com

NA 基因多数位于蛋白质编码基因的内含子区,经 RNA 聚合酶 II 或 RNA 聚合酶 III 转录,形成含有发夹结构的原代转录本<sup>[4-5]</sup>,再经核糖核酸酶 Drosha 和 RNA 结合蛋白 DGCR8(Digeorge syndrome critical region gene 8, DGCR8)处理<sup>[6-7]</sup>,只保留发夹结构,进一步形成前体 miRNA(precursor miRNA, pre-miRNA)。转运蛋白 Exp-5 将 pre-miRNA 转运出核,由 RNA 酶 Dicer 将 pre-miRNA 转化为成熟的双链 miRNA<sup>[8-9]</sup>。随后双链 miRNA 解旋,一条链与 Argonaute 蛋白结合形成基因沉默复合物,最终在转录后水平对靶基因发挥调控作用。

### 1.2 miR-29 基因簇的组成及调控作用

miR-29 基因簇,即 miR-(29a、29b、29c)是一种新近发现的功能多样的小分子 RNA。miR-29a 和 miR-29b-1 编码于人类 7 号染色体 q32 上,miR-29b2 和 miR-29c 编码在 1 号染色体 q23 上<sup>[10]</sup>。miR-29 家族成员都有一个长为 7nt 的种子序列,这使它们很大程度上能稳定的调控一些相似的靶转录物,但其家族成员都有各自独特的序列,又能表现出不同的功能<sup>[11]</sup>。

miR-29 家族参与调控细胞增殖、分化、程序性死亡、纤维化、血管生成和免疫调节等过程,从而在细胞从新生到凋亡中发挥重要作用。在免疫系统中,miR-29b 通过抑制 T bet 和 Eomes 两个基因产生干扰素来调控固有免疫应答和适应性免疫应答<sup>[12]</sup>。另外,miR-29a/b 发挥调节辅助性 T 细胞分化的作用,miR-29a 表达降低会减少 B 细胞的增殖和抗体的产生,使 T 淋巴细胞的活化减少<sup>[13]</sup>;在细胞凋亡中,增加 miR-29b 在 KMCH 胆管细胞型肝癌细胞中的表达,可下调抗凋亡蛋白 Mcl-1 的表达,促使癌细胞凋亡<sup>[14]</sup>。miR-29c 通过抑制下游 c-jun 基因的表达影响子宫内膜细胞的增殖、凋亡和侵袭,最终诱导细胞凋亡<sup>[15]</sup>。Kole 等<sup>[16]</sup>发现,在神经元中,miR-29 能抑制凋亡相关基因 BH3 的表达,发挥抗凋亡的作用;在细胞分化中,miR-29a 通过增加靶基因 COL1A1、COL5A3、COL4A2 表达活性在成骨细胞分化中发挥重要作用,并在 miR-29 达到峰值时使胶原蛋白积累<sup>[17]</sup>。另外,miR-29 在特定疾病中的调控作用也逐渐被人们发现,如发挥调控肾纤维化<sup>[18]</sup>、淋巴细胞白血病<sup>[19]</sup>、肺癌<sup>[20]</sup>等疾病的作用。除了上述疾病外,miR-29 基因簇在心脑血管疾病方面的调控作用也逐渐被揭示。

## 2 miR-29 在心脑血管疾病发生发展中的作用

### 2.1 miR-29 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是缺血性心脑血管疾病最常见的病因。其发展是由血浆低密度脂蛋白胆固醇的升高引起,表现为内皮细胞功能障碍、巨噬细胞极化、炎症、免疫反应和脂质斑块<sup>[21]</sup>。

血管平滑肌细胞和内皮细胞的异常是诱发 AS 的始动因素。Lee 等<sup>[22]</sup>利用 MMT 法证实 IL-3 具有促进血管平滑肌细胞增殖的作用,通过体内和体外实验验证了 miR-29 通过靶向 Mcl-1 和 MMP2 相关信号通路,减弱白介素-3 诱导的细胞增殖。为了研究 miR-29 在新生内膜中的潜在作用,他们又建立大鼠颈动脉球囊损伤模型,通过局部寡核苷酸传递模型将 miR-29b 转染到血管组织,miR-29b 表现出抑制新生内膜形成的作用,以上结果体现了 miR-29b 对 AS 的起始阶段有保护作用。然而, Peng 等<sup>[23]</sup>纳入 83 例 2 型糖尿病患者作为研究对象,采用 TaqMan qRT-PCR 法测定尿液上清中的 miR-29a、miR-29b 和 miR-29c 水平,并分析与颈动脉内-中膜厚度的关系,发现 miR-29b 与颈动脉内-中膜厚度显著相关,这表明 miR-29b 可能是糖尿病和 AS 的潜在分子标志物。氧化应激引起内皮细胞损伤和致炎效应加速了 AS 的发展。在一项探讨 miR-29 是否影响动脉粥样硬化的炎症和氧化应激的试验中,李贞贞等<sup>[24]</sup>构建小鼠的 AS 模型,与正常组的小鼠相比,AS 组的 miR-29c 有更高的表达水平,进一步研究 miR-29c 与可减轻炎症反应的沉默信息调节因子 2 相关酶类 1(silent mating type information regulation 2 homolog-1, SIRT1)的作用,转染 miR-29c 并以氧化性低密度脂蛋白刺激 AS 模型细胞,荧光定量 PCR(Real Time-PCR, RT-PCR)检测 SIRT1 的 mRNA 水平变化不大,但免疫印迹结果却显示其蛋白表达水平显著降低,这预示 miR-29 能在翻译后水平调控基因表达,增强 AS 发展过程的氧化应激和炎症反应。为了研究体内 miR-29 是否会影响动脉粥样硬化斑块形成,Ulrich 等<sup>[25]</sup>每隔两周给 AS 的 3 组小鼠模型分别皮下注射一次生理盐水、LNA 对照和 LNA-miR-29(miR-29 抑制物),持续 14 周后发现,LNA-miR-29 中和了颈动脉中的 miR-29 亚型,并减少了主动脉根部和头臂动脉的病变面积。与 LNA 对照组相比,LNA-miR-29 组的坏死面积明显较小,这也提示,在动脉粥样硬

化患者进展中,抑制 miR-29 基因的表达,能使细胞外基质中 miR-29 靶基因表达上调,促进纤维斑块重塑来缓解 AS 的进程。

除此之外,Pereira 等<sup>[26]</sup>对不同部位出现的 AS 进行 Meta 分析,发现在不同部位存在常见 miRNA 谱(miR-21、miR-30、miR-126 和 miR-221-3p)和特异性表达的 miRNA(miR-27b、miR-29 和 miR-130)。最新研究发现,继发于 AS 的胸主动脉瘤与弹性蛋白(Elastin, ELN)和转录因子 SMAD3 的变异有关,并出现主动脉弹性纤维缺失和断裂的典型特征<sup>[27]</sup>。ELN mRNA 的稳定性受 SMAD3 介导的 miR-29b 调控。进一步研究发现,抑制 miR-29b 的水平可增加 ELN 的表达,这也表明 miR-29 可能通过抑制 ELN 的表达,加快胸主动脉瘤的发病过程<sup>[27]</sup>。以上可知,由于 miR-29 靶基因的多样性,miR-29 家族成员在不同的部位通过调控不同的靶点,发挥不同的作用。

## 2.2 miR-29 与心肌梗死

从 1990-2013 年,中国因心血管疾病死亡的人数较之前增加了 46%,分别是美国和西欧的 3 倍和 4 倍<sup>[28]</sup>。随着人口老龄化的加剧(60 岁以上人口 > 16%),心肌梗死在世界范围内发病率和死亡率不断增加。骨髓基质干细胞移植治疗心肌梗死、缺血再灌注损伤能改善心肌功能,减少心肌细胞死亡和梗死面积。有研究表明,骨髓基质干细胞外泌体的 miRNA 对心脏有保护作用,分离其外泌体发现有高水平的 miR-29 和 miR-24<sup>[21]</sup>。Wang 及团队成员<sup>[29]</sup>发现在肾纤维化模型中,miR-29 参与 TGF- $\beta$  信号通路干扰该通路促纤维化的作用。与 Wang 团队有一致观点的是,Zhang 等<sup>[30]</sup>发现 miR-29b 的过表达能抑制血管紧张素诱导的心肌纤维化,在高血压患者中,恢复其心脏的 miR-29b 水平能阻断进行性心脏纤维化,并改善心功能障碍,这也体现了 miR-29 在心脏疾病中的治疗潜力。然而 Chen 等<sup>[31]</sup>对比 20 例脓毒性心肌病和 10 例对照组的基因微阵列数据集,并利用 R 语言分析发现了 119 种上调的基因和 80 种下调的基因,miR-29 是其中一种下调的差异表达基因。同时,在小鼠心肌梗死模型中,RT-PCR 证实心肌梗死周围区域 miR-29 表达减少,其预测靶基因 COL1A1、COL1A2、COL3A1 和 FBNI 上调,并进一步用双荧光素酶分析验证了 miR-29 调控的靶 mRNA 上调,有利于心肌基质重塑<sup>[32]</sup>。最新一项研究报道也支

持下调 miR-29 的水平具有保护作用,Chen 等<sup>[33]</sup>发现在心肌梗死后,LncRNA HULC 通过与 miR-29b 相互作用,抑制其表达,促进血管生成,保护 HUVEC 细胞免受缺氧诱导的炎症损伤。以上这些结果提示,miR-29 具有双重作用,miR-29b 作为心肌梗死的治疗靶点作用需要进一步的实验和更多的临床试验来验证。

## 2.3 miR-29 与脑卒中

脑卒中是临床最常见的脑血管疾病之一,治疗选择有限。尽管脑卒中的诊疗技术不断改进,但大部分患者脑损伤以及后续影响是无法治愈的。研究表明,miR-29 在多种脑血管疾病和神经退行性疾病中被发现,如阿尔茨海默氏症<sup>[34]</sup>,恶性胶质瘤<sup>[35]</sup>和脑卒中,这表明 miR-29 在脑内稳态中具有广泛而关键的作用。

星形胶质细胞在脑内稳态中发挥着中心作用,它们与神经元共同提供能量代谢产物、介导神经递质作用以及调节水和离子的浓度。Kobayashi 等<sup>[36]</sup>发现星形胶质细胞的 miR-29 靶点参与谷氨酸信号传导,缓冲高谷氨酸水平导致的脑细胞损伤。miR-29 能保护神经元在神经细胞成熟过程中免受凋亡和前脑缺血,降低缺血再灌注损伤的风险。Ouyang 等<sup>[37]</sup>通过双荧光素酶分析发现,miR-29a 的增加下调 BH3 蛋白的表达,减少氧化应激缓解脑缺氧损伤。在体内,大脑中动脉阻塞引起脑卒中,为了了解 miR-29 在急性缺血性脑卒中的作用,Khanna<sup>[38]</sup>用荧光捕获中风后梗死部位的脑组织,检测到 miR-29b 的特异性丢失,将 miR-29b 转入细胞使其表达上调,细胞的生存能力增强,表明了 miR-29b 作为神经细胞存活因子的重要性,其在梗死部位的丢失是中风引起脑损伤的一个关键原因。

## 3 miR-29 其他治疗靶点的作用

miR-29 是新近发现的 miRNA,其潜在的作用很丰富。miR-29 除参与上述疾病外,研究发现,在冠心病患者中,miR-29-3p 靶向 NOTCH2 来抑制心肌细胞增殖,降低冠心病患者的 miR-29-3p 水平,能促进心肌细胞增殖,为冠心病的病因和潜在治疗提供新视角<sup>[39]</sup>。Sun 等<sup>[40]</sup>发现自发性高血压大鼠中 miR-29b 显著上调,荧光素酶活性检测显示 miR-29b 直接靶向 CTRP6 mRNA,且抑制 miR-29b 可增加 CTRP6 的表达,从而提高细胞增殖和迁移能力;抑制血管紧张素-2 的表达,减轻高血压细胞

内皮功能障碍。参与调控心肌梗死后左心室功能不全和心力衰竭的基本过程,其表达失调导致心脏多个病理过程的改变,这些变化与心肌梗死后心肌肥厚向心力衰竭的转变有关,miR-29可能在心脏疾病进展中作为潜在的治疗靶点。以上提示,miR-29是心脑血管疾病的潜在治疗靶点,值得深入研究具体调控机制。

#### 4 展望

综上所述,miR-29基因簇参与动脉粥样硬化、心肌梗死和脑卒中等心脑血管疾病的发病机制,通过调控不同的靶基因发挥保护或损伤的作用。由于miR-29基因簇参与众多且复杂的信号通路,限制了miR-29基因簇应用于临床领域。深入了解miR-29基因簇与心脑血管疾病发生的分子机制是开展临床应用的前提。因此,需要进一步研究miR-29基因簇与心脑血管疾病各种调控途径的相关性,为心脑血管疾病的预测和诊治提供新的思路与方向。

#### 参考文献

- [1] Jiang S, Li T, Ji T, et al. AMPK: Potential Therapeutic Target for Ischemic Stroke [J]. *Theranostics*, 2018, 8(16): 4535-4551.
- [2] Chen YM, He XZ, Wang SM, et al.  $\delta$ -Opioid Receptors, microRNAs, and Neuroinflammation in Cerebral Ischemia/Hypoxia [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:421.
- [3] Vijayan M, Reddy PH. Non-Coding RNAs Based Molecular Links in Type 2 Diabetes, Ischemic Stroke, and Vascular Dementia [J]. *J Alzheimer's Dis*, 2020, 75(2):353-383.
- [4] Yoontae L, Minju K, Jinju H, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II [J]. *EMBO J*, 2004, 23(20):4051-4060.
- [5] Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs [J]. *RNA (New York, NY)*, 2004, 10(12):1957-1966.
- [6] Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing [J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 415-419.
- [7] Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, et al. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex [J]. *Nature*, 2004, 432(7014):231-235.
- [8] Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference [J]. *Nature*, 2001, 409(6818):363-366.
- [9] Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, et al. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA [J]. *Science (New York, NY)*, 2001, 293(5531):834-838.
- [10] Le Beau MM, Espinosa R, Davis EM, et al. Cytogenetic and molecular delineation of a region of chromosome 7 commonly deleted in malignant myeloid diseases [J]. *Blood*, 1996, 88(6):1930-1935.
- [11] Kwon JJ, Factor TD, Dey S, et al. A Systematic Review of miR-29 in Cancer [J]. *Mol therapy oncolytics*, 2019, 12:173-194.
- [12] Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers [J]. *Mutat Res*, 2011, 717(1-2):1-8.
- [13] Smith KM, Guerau-de-Arellano M, Costinean S, et al. MiR-29ab1 deficiency identifies a negative feedback loop controlling Th1 bias that is dysregulated in multiple sclerosis [J]. *J Immunol (Baltimore, Md: 1950)*, 2012, 189(4):1567-1576.
- [14] Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, et al. Mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis [J]. *Oncogene*, 2007, 26(42):6133-6140.
- [15] Long M, Wan X, La X, et al. MiR-29c is downregulated in the ectopic endometrium and exerts its effects on endometrial cell proliferation, apoptosis and invasion by targeting c-Jun [J]. *Internat J Mol Med*, 2015, 35(4):1119-1125.
- [16] Kole AJ, Swahari V, Hammond SM, et al. MiR-29b is activated during neuronal maturation and targets BH3-only genes to restrict apoptosis [J]. *Gen devel*, 2011, 25(2):125-130.
- [17] Li Z, Hassan MQ, Jafferji M, et al. Biological functions of miR-29b contribute to positive regulation of osteoblast differentiation [J]. *J biolog chem*, 2009, 284(23):15676-15684.
- [18] Hu H, Wan Q, Li T, et al. Circulating MiR-29a, Possible Use as a Biomarker for Monitoring IgA Nephropathy [J]. *Iranian J kidney Dis*, 2020, 14(2):107-118.
- [19] Filip D, Mraz M. The role of MYC in the transformation and aggressiveness of 'indolent' B-cell malignancies [J]. *Leukem lymph*, 2020, 61(3):510-524.
- [20] Bersimbaev R, Pulliero A, Bulgakova O. Radon Biomonitoring and microRNA in Lung Cancer [J]. *Intern J Molecular ences*, 2020, 21(6):2154.
- [21] Moghaddam AS, Afshari JT, Esmaili SA, et al. Cardioprotective microRNAs: Lessons from stem cell-derived exosomal microRNAs to treat cardiovascular disease [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 285:1-9.
- [22] Lee J, Lim S, Song BW, et al. MicroRNA-29b inhibits migration and proliferation of vascular smooth muscle cells in neointimal formation [J]. *J cellul biochem*, 2015, 116(4):598-608.
- [23] Peng H, Zhong M, Zhao W, et al. Urinary miR-29 correlates with albuminuria and carotid intima-media thickness in type 2 diabetes patients [J]. *Plos one*, 2013, 8(12):e82607.
- [24] 李贞贞, 唐海涛, 王怡, 等. MiR-29c通过调控SIRT1表达介导动脉粥样硬化氧化应激与炎症反应 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(2):172-176.

· 论 著 ·

## 杜氏肌营养不良基因突变检测国家参考品的研制

于婷 孙楠 孙晶 黄杰\* 曲守方\*

**[摘要]** **目的** 建立杜氏肌营养不良基因(*DMD*)突变检测国家参考品。**方法** 收集*DMD*突变患儿及其家系血清,对建系成功的46份细胞系扩增繁殖至所需量后,进行基因组DNA提取并分装,制备成国家参考品。8家实验室采用8种二代测序(NGS)试剂和2种多重连接依赖性探针扩增试剂(MLPA)对候选参考品进行了验证。通过NGS和MLPA试剂检测候选参考品评价参考品的均匀性。通过NGS试剂对反复冻融3次后的候选参考品进行检测以评价稳定性。**结果** 4家实验室采用MLPA试剂的检测结果一致,8家实验室采用NGS试剂的检测结果基本一致,对于突变位点信息有争议的参考品,采用一代测序进行了测序验证。NGS和MLPA各自均匀性检测结果均一致,反复冻融3次后的检测结果与常规保存的检测结果一致。**结论** 通过协作验证以及均匀性、稳定性分析,成功建立了*DMD*突变检测国家参考品,该参考品可用于*DMD*基因突变检测试剂盒的性能评价。

**[关键词]** 杜氏肌营养不良基因;国家参考品;二代测序法;多重连接依赖性探针扩增

### Development of national reference material for Duchenne muscular dystrophy gene mutation detection

YU Ting, SUN Nan, SUN Jing, HUANG Jie\*, QU Shoufang\*

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

**[ABSTRACT]** **Objective** To establish a national reference for the detection of Duchenne muscular dystrophy (*DMD*) gene mutation. **Methods** Serum samples from children with *DMD* gene mutation and their families were collected, and 46 successfully established cell lines were expanded and multiplied to the required amount. Genomic DNA was extracted and aliquoted to prepare national reference materials. The candidate reference was validated with 8 next-generation sequencing (NGS) kits and 2 multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) kits from 8 manufacturers. The candidate reference was detected by the NGS kit and MLPA kit to evaluate the homogeneity. The stability of the candidate reference was evaluated by the NGS kit after repeated freezing and thawing three times. **Results** The results of four laboratories using MLPA kits were consistent, and the results of eight laboratories using NGS kits were basically the same. For the candidate reference with controversial mutation site information, the first-generation sequencing was used for sequencing verification. The homogeneity test results of NGS and MLPA were consistent, and the stability results were consistent with the results of conventional preservation. **Conclusion** Through collaborative verification, homogeneity and stability analysis, the national reference for *DMD* gene mutation detection was successfully established, which can be used for performance evaluation of *DMD* gene mutation detection kits.

**[KEY WORDS]** Duchenne muscular dystrophy gene mutation; *DMD*; National reference material; Next generation sequencing; Multiplex ligation dependent probe amplification

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1002400)

作者单位:中国食品药品检定研究院,北京100050

\*通信作者:黄杰, E-mail: jhuang5522@126.com; 曲守方, E-mail: qushoufang@126.com

注:于婷和孙楠共为第一作者

杜氏肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy, DMD)是由肌营养不良蛋白(dystrophin)基因突变所致的X-连锁隐性遗传病,是一种严重的、致死性神经肌肉疾病<sup>[1-3]</sup>。DMD患者多在20多岁死于呼吸衰竭或心力衰竭<sup>[4]</sup>,迄今为止尚无治愈的方法。因此,对DMD患者及携带者行基因诊断,以及高风险胎儿行产前诊断<sup>[5]</sup>,显得尤为重要。目前DMD基因突变检测试剂盒均未取得医疗器械注册证,多在第三方检测机构使用或者仅用于科研。多家公司正在开展DMD检测试剂盒医疗器械注册证的申报,以便合法合规进入医院。建立DMD基因突变检测国家参考品可为这类试剂盒性能评价提供客观有效的评价手段。2019起中国食品药品检定研究院(下称本院)开展了DMD基因突变检测国家参考品的研制工作。现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本

外周血样来自中山大学附属第一医院、武汉康圣达医学检验所、广州市妇女儿童医疗中心。本研究的临床基本信息收集和临床血样的采集均获得了医院伦理委员会批准,以及患儿或家属的知情同意,签署了知情同意书。

### 1.2 试剂

多重连接依赖性探针扩增技术(MLPA)检测试剂盒(苏州贝康),SALSA MLPA检测试剂(MRC-Holland);二代测序法(next generation sequencing, NGS)检测试剂盒:①半导体测序法:苏州贝康、东莞博奥木华;②可逆末端终止测序法:北京贝瑞和康、迈基诺、亚能(深圳)、欧蒙未一;③靶向测序法:成都纳海;④联合探针锚定聚合测序法:天津华大。

### 1.3 检测仪器

ABI 3730XL、ABI SeqStudio及ABI 3730X基因分析仪(赛默飞);DA8600 Ion Proton高通量测序仪(达安基因),NovaSeq 6000基因测序仪及Miseq基因测序仪(美国,Illumina公司),BioelectronSeq 4000基因测序仪(博奥生物),MGISEQ-2000 PE100基因测序仪(华大智造)。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 样本筛选及采集

根据国内外文献报道的常见DMD突变,作为参考品备选范围,采集DMD患儿及其家系外周血(不少于10 mL),-70℃以下保存。

#### 1.4.2 国家参考品制备

采用外周血建立DMD基因突变的永生化细胞系后,进行扩增及DNA提取,最终每份样本每管稀释至25 ng/μL左右。

#### 1.4.3 国家参考品验证及均匀性、稳定性检验

8个厂家采用了10种检测试剂对参考品进行DMD基因突变位点的验证。本次验证仅给出家系信息,不给出DMD基因突变的具体信息。各参加单位根据试剂说明书或者实验室SOP进行检测。要求:①NGS试剂按照各自声称的检测限对样本测定1次即可;MLPA试剂按照原浓度和检测限浓度各测定1次;②均匀性:NGS试剂和MLPA试剂各测定3次;③稳定性:MLPA试剂测定反复冻融3次后的样本。

## 2 结果

### 2.1 参考品组成

共建系成功46份样本,包含16个家系及3份独立的患儿样本。样本DMD基因突变信息包括:外显子缺失及重复,以及点突变或微小缺失,具体见2.2验证结果。

### 2.2 验证结果

验证结果见表1,MLPA法试剂检测结果一致,NGS法试剂检测的结果,大部分一致,部分结果存在差异。

### 2.3 参考品均匀性及稳定性结果

均匀性实验中,NGS试剂和MLPA试剂各自测定结果一致;稳定性实验中,MLPA试剂测定反复冻融3次后的样本,结果与正常保存样本的结果一致。

## 3 讨论

目前对DMD的分子诊断方法,主要可分为两种类型,即对外显子缺失和重复突变的检测,以及微小突变的检测。对于缺失和重复突变的检测主要有多重PCR<sup>[6]</sup>、比较基因组杂交芯片<sup>[7]</sup>及MLPA<sup>[8-9]</sup>等。多重PCR法多用于明确先证者的突变类型后,对家系其他成员进行已知突变位点的检测;MLPA作为一种高通量、针对待测核酸中靶序列进行定性和定量分析的技术,可检测出DMD基因全部外显子的缺失和重复突变,并能检出携带者,应用最为广泛,商品化的MLPA正逐步取代多重定量PCR等方法;NGS技术除可检测到缺失和重复外,可快速有效检测点突变和微小突

表1 DMD 基因突变检测候选参考品验证结果汇总表

Table 1 The summary of validation results for the candidate reference of detection of DMD

样本编号	4家MLPA结果汇总	8家NGS检测结果汇总	备注
1	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_000109:c.7669C>T;6家检出NM_004006:c.7693C>T	一致
2	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
3	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_004006.2:c.412_413delAA;6家未检出致病突变	不一致
4	均检出54号外显子纯合缺失	7家检出外显子54缺失;1家还检出NM_004006.2:c.7095+1A>C	不一致
5	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_000109:c.7315C>T;6家检出NM_004006:c.7339C>T	一致
6	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
7	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
8	均检出45-47号外显子纯合缺失	7家检出外显子45-47缺失	一致
9	均检出45-47号外显子纯合缺失	7家检出外显子45-47缺失	一致
10	均检出2号外显子重复	1家未检出致病突变;6家检出外显子2重复	不一致
11	均检出46-52号外显子纯合缺失	7家检出外显子46-52缺失	一致
12	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
13	均检出49-52号外显子纯合缺失	7家检出外显子49-52缺失;1家还检出NM_004006:c.4020C>G;另1家还检出NM_004006.2:c.2473T>G;NM_004006.2:c.4020C>G	不一致
14	均检出49-52号外显子杂合缺失	7家检出外显子49-52缺失;1家还检出NM_004006:c.4020C>G;另1家还检出NM_004006.2:c.2473T>G、NM_004006.2:c.4020C>G	不一致
15	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
16	均未检出拷贝数变异	3家检出NM_000109:c.1307+1G>T;5家检出NM_004006:c.1331+1G>T	一致
17	均未检出拷贝数变异	3家检出NM_000109:c.1307+1G>T;5家检出NM_004006:c.1331+1G>T;1家还检出GRCh37 Xp11.22-22.33(chrX:2707605-54026549)x1.5 GRCh37 Xq13.1-28(chrX:69645204-154285289)x1.5	不一致
18	均检出45-50号外显子纯合缺失	7家检出外显子45-50缺失	一致
19	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
20	均检出46-52号外显子纯合缺失	7家检出外显子46-52缺失	一致
21	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
22	均检出46-52号外显子杂合缺失	1家未检出致病突变;6家检出外显子46-52缺失	不一致
23	均检出46-52号外显子纯合缺失	7家检出外显子46-52缺失	一致
24	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
25	均未检出拷贝数变异	3家检出NM_000109:c.1126-1G>A;5家检出NM_004006:c.1150-1G>A	一致
26	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
27	均检出45-57号外显子纯合缺失	7家检出外显子45-57缺失	一致
28	均检出8-43号外显子纯合缺失	7家检出外显子8-43缺失	一致
29	均检出8-43号外显子纯合缺失	7家检出外显子8-43缺失	一致
30	均检出8-43号外显子杂合缺失	7家检出外显子8-43缺失	一致
31	均未检出拷贝数变异	3家检出NM_000109:c.507-2A>C;5家检出NM_004006:c.531-2A>C	一致
32	均未检出拷贝数变异	3家检出NM_000109:c.507-2A>C;5家检出NM_004006:c.531-2A>C;1家还检出NM_004006.2:c.7095+1A>C	不一致
33	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
34	均检出3-28号外显子纯合缺失	7家检出外显子3-28缺失	一致
35	均检出3-28号外显子杂合缺失	7家检出外显子3-28缺失	一致
36	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
37	均检出5-7号外显子重复	2家未检出;5家检出外显子5-7重复;其中2家提示XO嵌合	不一致
38	均检出5-7号外显子重复	1家未检出;6家检出外显子5-7重复	不一致
39	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
40	均检出14-41号外显子纯合缺失	7家检出外显子14-41缺失	一致
41	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
42	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_004006.2:c.2381-3T>C;6家均未检出致病突变	不一致
43	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_004006.2:c.2381-3T>C;6家均未检出致病突变	不一致
44	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_000109:9180_9183del;6家检出NM_004006:c.9204_9207del	一致
45	均未检出拷贝数变异	均未检出致病突变	一致
46	均未检出拷贝数变异	2家检出NM_000109:c.9180_9183del;6家检出NM_004006:c.9204_9207del	一致

变<sup>[10-11]</sup>。当前对DMD的基因检测策略普遍是先对患者进行MLPA检测,然后对未发现突变的患者进行基因组DNA分析<sup>[12-15]</sup>。本次验证过程中,即

采用了上述的MLPA法和NGS法。

为评估DMD基因突变检测试剂盒的分析性能,DMD国家参考品的原料选用临床外周血,以

保持与临床样本的一致性,并尽可能涵盖多种突变类型。MLPA 试剂检测结果一致,表明该方法成熟可靠。而 NGS 结果不一致,主要原因如下:①选择了不同的转录本:NM\_000109 和 NM\_004006,所以突变位点信息表述不同,但结果一致;②某实验室只检 SNV/Indel 变异,所以未报 DMD 外显子缺失或突变。在此基础上,再对有争议样本的突变信息分析:①3号样本,仅2家检出 NM\_004006.2:c.412\_413delAA。对该位点设计引物进行 Sanger 测序验证,确认该致病突变存在;②4、13、14、32、42、43号样本,多家亦有检出其他突变位点,根据 ACMG2015 指南判为 VUS,无明确临床意义,不报告该突变;③37号样本同时存在 XO 情况,XX 部分为外显子 5-7 杂合重复,XO 部分为外显子 5-7 半合重复,并且 XO 体细胞占比偏高导致了检测信号为纯合。因本参考品主要考察 DMD 基因突变情况,此处嵌合,不做评价,检出外显子 5-7 重复即可;④当仅1家与其他家结果不一致时,不采信该实验室结果(如 10、22、38号样本)。以上结果表明,检测结果出现差异时,应重点考虑两方面,一是当样本存在嵌合时,由于测序深度及嵌合程度的影响,可能出现 DMD 基因突变无法检出的情况;第二,对于突变是否具有致病意义的认识程度不同,未按照 ACMG2015 指南进行突变的判断,以致给出过多无临床意义的突变信息。厂家对于检测到的突变信息应进行预先识别确认,不应测到即报,否则不仅给临床造成不便,而且对于患者及其家庭会造成一定的心理压力。通过协作验证,最终给出采用该参考品进行试剂盒质量评价的标准为:检测范围内的缺失、重复及突变位点均应检出;试剂盒检测范围外的突变应为野生型或未检出。因样本为临床样本,给出的突变信息仅限于根据当前指南判为致病的突变信息。如在应用过程中有检出的突变上升到致病等级,将在验证之后,及时更新相关信息。通过均匀性和稳定性研究,该参考品均满足要求,且应用性良好,可以作为国家参考品应用。今后还将对该候选参考品进行期间核查及长期稳定性研究。

目前已发现 DMD 致病突变位点类型达上百种,然而多数突变所致的发病率并不高,因此要想制备包括 DMD 全部突变的大 panel 并不现实。这套国家参考品突变位点包含了主要的缺失突变、重复突变和微缺失突变三种类型,基本可以

满足评价 DMD 检测试剂盒性能的要求,并且将在今后根据需要逐步扩充新的 DMD 突变基因突变位点。

## 参考文献

- [1] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组. 杜氏进行性肌营养不良的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3): 258-262.
- [2] 杨一娴,李昌盛,王蓓蕾,等. 杜氏肌营养不良症治疗研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, 16(31): 56-59.
- [3] Ke Q, Zhao Z Y, Mendell J R, et al. Progress in treatment and newborn screening for Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy [J]. World J Pediatrics, 2019, 15(3): 219-225.
- [4] Falzarano M S, Scotton C, Passarelli C, et al. Duchenne Muscular Dystrophy: From Diagnosis to Therapy [J]. Molecules, 2015, 20(10): 18168-84.
- [5] 中华医学会神经病学分会. 中国假肥大型肌营养不良症诊治指南[J]. 中华神经科杂志, 2016, 49(1): 17-20.
- [6] 窦瑞艳,赵胜科,陈靖,等. Duchenne 型肌营养不良症家系的多重 PCR 和 STR-PCR 基因诊断[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(2): 10-12, 91.
- [7] Hegde MR, Chin EL, Mülle JG, et al. Microarray-based mutation detection in the dystrophin gene [J]. Hum Mutat, 2003, 29(9): 1091-1099.
- [8] 曾玉坤,刘玲,罗晓辉,等. MLPA 技术在 DMD 基因外显子拷贝数变异家庭基因诊断及产前诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(12): 1524-1526.
- [9] 钟青燕,严提珍,曾婷,等. MLPA 技术在假肥大型肌营养不良症基因检测和产前诊断中的应用[J]. 中国儿童保健杂志, 2017, 25(4): 342-345.
- [10] 何展文,陈启慧,李平甘,等. 多重连接探针扩增和二代测序技术检测 Duchenne 型肌营养不良基因分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2020, 23(14): 1209-1212.
- [11] 康娟,邓艳春. 应用不同基因检测方法分析假肥大型肌营养不良基因的变异特点[J]. 中风与神经疾病杂志, 2019, 36(11): 991-993.
- [12] YANG YM, YAN K, LIU B, et al. Comprehensive genetic diagnosis of patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy (DMD/BMD) and pathogenicity analysis of splice site variants in the DMD gene [J]. J Zhejiang University Science B, 2019, 20(9): 753-765.
- [13] 郭鹏波,葛丽丽. 7 例杜氏肌营养不良检测分析[J]. 中国医疗器械信息, 2019, 25(2): 19-20.
- [14] 孙毅明,杨娟,朱瑜龄,等. 45 例 Duchenne 型肌营养不良症患者 DMD 基因微小突变分析[J]. 中华神经医学杂志, 2018, 17(1): 43-47.
- [15] 靳春雷,钱碧霞,陈鹏龙,等. 一例假肥大型肌营养不良家系 DMD 基因分析及产前诊断[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(11): 30-32, 35.

· 论 著 ·

## 肺癌术后肺部感染患者血浆 sTREM-1、sCD163 与 PCT 水平与疗效的关系

吴小伟 严加高 李陶 鲁圣山\*

**[摘要]** **目的** 探讨肺癌术后肺部感染患者血浆可溶性髓样细胞触发受体-1(sTREM-1)、可溶性血红蛋白清道夫受体(sCD163)、降钙素原(PCT)水平变化及与治疗疗效的关系。**方法** 选择2016年10月至2020年10月本院收治的85例肺癌术后发生肺部感染患者作为研究对象,纳入感染组。另择100例同期本院行肺癌手术未发生肺部感染患者作为对照,纳入非感染组。测定两组患者血浆sTREM-1、sCD163与PCT水平,评价感染组患者抗感染治疗效果。**结果** 感染组患者共检出病原菌96例,其中革兰阳性菌72株(75.00%),革兰阴性菌22株(22.92%),真菌2株(2.08%)。感染组患者血清sTREM-1、sCD163、PCT水平显著高于非感染组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清sTREM-1、sCD163、PCT水平诊断肺部感染的曲线下面积分别为0.775、0.697、0.869,当截点值为34.80 pg/mL、121.06 pg/mL、1.30 ng/mL时约登指数最大。好转组患者血清sTREM-1、sCD163、PCT水平显著低于非好转组患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清sTREM-1、sCD163、PCT水平预测肺部感染治疗效果的曲线下面积为0.681、0.734、0.735;当截点值为50.75 pg/mL、112.43 pg/mL、2.37 ng/mL时约登指数最大。**结论** 肺癌术后肺部感染患者伴有血清sTREM-1、sCD163、PCT水平的明显升高,且其水平与患者治疗效果相关,临床可将其作为肺部感染诊断、疗效预测的指标。

**[关键词]** 肺癌;肺部感染;可溶性髓样细胞触发受体-1;可溶性血红蛋白清道夫受体;降钙素原

### Relationship between plasma levels of sTREM-1, sCD163 and PCT in patients with lung infection after lung cancer surgery and curative effect

WU Xiaowei, YAN Jiagao, LI Tao, LU Shengshan\*

(Department of General Thoracic Surgery, Wannan Rehabilitation Hospital, Wuhu Fifth People's Hospital, Wuhu, Anhui, China, 241000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the changes in levels of plasma soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1), soluble hemoglobin scavenger receptor (sCD163) and procalcitonin (PCT) in lung infection patients after lung cancer surgery and their relationship with the curative effect. **Methods** A total of 85 patients with lung infection after lung cancer surgery (infection group) admitted to our hospital from October 2016 to October 2020 were selected. Another 100 patients without lung infection were included in the non-infection group. The plasma levels of sTREM-1, sCD163 and PCT in both groups were measured. The effects of anti-infection treatment in infection group were evaluated. **Results** A total of 96 pathogenic bacteria were detected in patients in the infection group, including 72 gram-positive bacteria (75.00%), 22 gram-negative bacteria (22.92%), and 2 fungi (2.08%). The serum levels of sTREM-1, sCD163 and PCT in the infected group were significantly higher than those in the non-infected group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The area under the curve (AUC) of serum sTREM-1, sCD163 and PCT for the diagnosis of lung infection were 0.775, 0.697 and 0.869, respectively. When their cut-off values were 34.80

基金项目:安徽省自然科学基金(1608085QA25)

作者单位:皖南康复医院芜湖市第五人民医院普胸外科,安徽,芜湖 241000

\*通信作者:鲁圣山, E-mail: luss123@sina.com

pg/mL, 121.06 pg/mL and 1.30 ng/mL, the Youden index was the greatest. The levels of serum sTREM-1, sCD163 and PCT in the improved group were significantly lower than those in the non-improved group ( $P < 0.05$ ). The AUC values of serum sTREM-1, sCD163 and PCT for predicting curative effect on lung infection were 0.681, 0.734 and 0.735, respectively. When their cut-off values were 50.75 pg/mL, 112.43 pg/mL and 2.37 ng/mL, the Youden index was the largest. **Conclusion** The levels of serum sTREM-1, sCD163 and PCT are significantly increased in patients with lung infection after lung cancer surgery, and their levels are related to the curative effect. Clinically, they can be used as indicators for the diagnosis of lung infection and the prediction of curative effect.

[KEY WORDS] Lung cancer; Lung infection; Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1; Soluble hemoglobin scavenger receptor; Procalcitonin

肺癌是我国常见类型肿瘤,数据显示2015年发病人数及死亡人数分别为78.7万、63.1万,均位居全部恶性肿瘤首位<sup>[1]</sup>。目前对于早期肺癌,外科手术治疗仍为最佳治疗方案,但术后病原菌极易定植引起肺部感染,影响治疗后预后<sup>[2]</sup>。髓样细胞触发受体-1(triggering receptor expressed on myeloid cells-1, TREM-1)是一种免疫球蛋白,在血液中以可溶性形式存在,目前认为其可促进炎症因子如白细胞介素-8、肿瘤坏死因子等的升高,放大炎症反应<sup>[3-4]</sup>。可溶性血红蛋白清道夫受体(soluble hemoglobin scavenger receptor, sCD163)是血红蛋白清道夫受体在体液中的存在形式,主要由单核巨噬细胞表达,研究表明其在炎症刺激下可出现过度表达现象<sup>[5]</sup>。降钙素原(procalcitonin, PCT)是感染性疾病特异性标志物,在正常状况下表达较低,在感染原的刺激下可出现特异性的升高<sup>[6]</sup>。本研究分析患者血清sTREM-1、sCD163与PCT差异,并探讨其对肺部感染的诊断价值及对治疗效果的预测价值,以期为临床提供一定参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2016年10月至2020年10月本院收治的85例肺癌术后发生肺部感染患者作为研究对象,纳入感染组。纳入标准:①符合《中国原发性肺癌诊疗规范》<sup>[7]</sup>,有外科手术治疗适应症;②参考美国

胸科协会制定的相关标准<sup>[8]</sup>:术前不存在感染,术后7d出现以下几项中的3项及3项以上:体温 $>38^{\circ}\text{C}$ ;白细胞计数 $\geq 10 \times 10^9/\text{L}$ ;痰培养阳性;X线检查发现浸润灶。排除标准:①入组前进行放化疗治疗;②术前存在感染性疾病;③合并其他恶性肿瘤;④入组前使用抗菌药物治疗者。另择100例同期本院行肺癌手术未发生肺部感染患者作为对照,纳入非感染组。感染组及非感染组患者性别组成、年龄、病理类型、病变位置、术后采样时间等资料比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。本研究经医院伦理委员会批准,受试者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 血清学检测

取2 mL外周静脉血,感染组于疑似感染当日采集,非感染组于同一时间截点进行采集,1 000 r/min离心10 min分离血清,采用酶联免疫吸附法测定血清sTREM-1、sCD163、PCT水平,sTREM-1试剂盒购自美国R&D公司,sCD163、PCT试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,实验操作严格按照试剂盒说明书进行操作。

#### 1.2.2 治疗及预后

进行对症抗感染、抗炎治疗,根据治疗效果分为好转组及非好转组,疗效根据抗菌药物临床指导原则<sup>[9]</sup>进行评定,临床症状大部分消失,白细胞计数正常,痰培养转阴,肺部炎症症状吸收2/3以上视为好转。

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

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

组别	n	男/女	年龄(岁)	病理类型		病变位置		解剖占位		术后采样时间(d)
				非小细胞癌	小细胞癌	左	右	中央型	周围型	
感染组	85	52/33	59.63±9.63	77(90.59)	8(9.41)	45(52.94)	40(47.06)	3(3.53)	82(96.47)	2.94±0.66
非感染组	100	66/34	59.74±10.27	89(89.00)	11(11.00)	52(52.00)	48(48.00)	5(5.00)	95(95.00)	3.01±0.86
$\chi^2$ 值		0.463	0.074		0.126		0.016		0.240	0.613
P值		0.495	0.941		0.723		0.898		0.624	0.541

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 进行数据处理,计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验,计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,行独立样本  $t$  检验,绘制 ROC 曲线评价诊断价值,以  $P < 0.05$  表示差异具统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 感染组患者术后病原菌分布情况

感染组患者共检出病原菌 96 例,其中革兰阳性菌 72 株 (75.00%),革兰阴性菌 22 株 (22.92%),另有真菌 2 株 (2.08%)。见表 2。

表 2 感染组患者病原菌分布情况

Table 2 distribution of pathogens in infection group

菌种	菌株数 (株)	构成 (%)
革兰氏阴性菌	肺炎克雷伯菌	22 22.92
	铜绿假单胞菌	20 20.83
	大肠埃希菌	18 18.75
	鲍氏不动杆菌	7 7.29
	其他(阴沟肠杆菌 3 株、变形杆菌 2 株)	5 5.21
革兰氏阳性菌	肺炎链球菌	8 8.33
	金黄色葡萄球菌	7 7.29
	表皮葡萄球菌	5 5.22
	其他(溶血性链球菌 1 株、凝固酶阴性葡萄球菌 1 株)	2 2.08
真菌	白色假丝酵母	2 2.08
合计	96	100.00

### 2.2 感染组与非感染组血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平比较

感染组患者血清 sTREM-1、sCD163、PCT 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 sTREM-1、sCD163、PCT 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of serum sTREM-1, sCD163 and PCT

levels between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	sTREM-1 (pg/mL)	sCD163 (pg/mL)	PCT (ng/mL)
感染组	85	47.76 $\pm$ 12.01	114.39 $\pm$ 22.85	2.04 $\pm$ 0.85
非感染组	100	33.55 $\pm$ 6.28	98.52 $\pm$ 21.12	0.77 $\pm$ 0.33
$t$ 值		10.294	4.905	13.775
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平诊断肺部感染的价值分析

血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平诊断肺部感染的曲线下面积分别为 0.775、0.697、0.869,当截点值为 34.80 pg/mL、121.06 pg/mL、1.30 ng/mL 时约登指数最大。见表 4、图 1。

表 4 血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平诊断肺部感染的价值分析

Table 4 value analysis of serum sTREM-1, sCD163 and PCT levels in diagnosis of pulmonary infection

指标	AUC	截点值	约登指数	灵敏度	特异度	95%CI	P 值
sTREM-1 (pg/mL)	0.775	34.8	0.479	0.820	0.659	0.705~0.845	<0.001
sCD163 (pg/mL)	0.697	121.06	0.359	0.830	0.529	0.620~0.774	<0.001
PCT (ng/mL)	0.869	1.30	0.723	0.970	0.753	0.810~0.927	<0.001

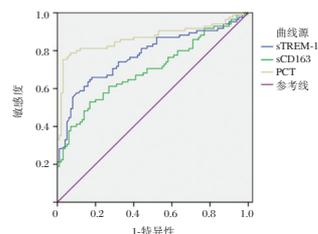


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

### 2.4 好转组及未好转组血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平比较

于治疗 1 周后进行疗效评价,其中好转组 57 例,未好转组 28 例。好转组患者血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平显著低于非好转组患者,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 两组血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Comparison of serum sTREM-1, sCD163 and PCT

levels between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	sTREM-1 (pg/mL)	sCD163 (pg/mL)	PCT (ng/mL)
好转组	57	44.15 $\pm$ 8.52	103.52 $\pm$ 27.41	1.52 $\pm$ 0.34
未好转组	28	55.12 $\pm$ 10.28	129.52 $\pm$ 33.82	2.77 $\pm$ 0.65
$t$ 值		5.207	3.800	11.669
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.5 血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平对肺部感染治疗效果的预测效果分析

血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平预测肺部感染治疗效果的曲线下面积为 0.681、0.734、0.735;当截点值为 50.75 pg/mL、112.43 pg/mL、2.37 ng/mL 时约登指数最大。见表 6、图 2。

## 3 讨论

本研究结果显示,与肺癌患者非感染组比较,患者血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平均显著升高,提示肺部感染的发生可伴有这些指标的变化。sTREM-1 可通过转导分子死亡相关蛋白刺激

表6 血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平对肺部感染治疗效果的预测效果分析

Table 6 the predictive effect of serum sTREM-1, sCD163 and PCT levels on the treatment effect of pulmonary infection

指标	AUC	约登指数	截点值	灵敏度	特异度	95%CI	P 值
sTREM-1 (pg/mL)	0.681	0.344	50.75	0.607	0.737	0.564~0.799	0.007
sCD163 (pg/mL)	0.734	0.508	112.43	0.923	0.579	0.626~0.841	<0.001
PCT (ng/mL)	0.735	0.539	2.37	0.714	0.825	0.604~0.866	<0.001

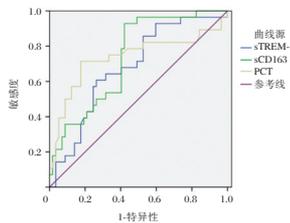


图2 ROC 曲线

Figure 2 ROC curve

效应器激活,从而触发多种促炎因子的合成及释放,近年来的研究表明,在细菌性感染、病毒性感染及真菌性感染疾病中均可检测到 sTREM-1 表达的明显升高<sup>[10-11]</sup>。sCD163 是单核巨噬细胞上的效应分子,发挥清除细菌、病毒的效应,当感染发生后,免疫效应细胞活性增强,sCD163 的分泌也出现升高,导致血液中水平的升高<sup>[12]</sup>。近期国内开展的一项老年烧伤并发脓毒症的研究显示,与非脓毒症患者比较,脓毒症患者伴有血清 sTREM-1、sCD163 的明显升高<sup>[13]</sup>;本研究与其研究结果类似。PCT 是感染性疾病特异性指标,在正常人体内含量较少,在细菌感染发生后可出现快速升高,其水平可一定程度反映感染程度。王家富等<sup>[14]</sup>人开展的一项研究证实,与肺癌术后无并发细菌性肺部感染患者相比,并发肺部感染患者血清 PCT 水平显著升高,本研究进一步证实了这一点。本研究结果提示三者诊断的曲线下面积均大于 0.65,其中 sCD163 及 PCT 曲线下面积>0.7,提示均有一定诊断价值。值得注意的是,三个指标中 PCT 诊断效能最高,而 sCD163 略低,分析其原因可能为 PCT 为感染性特异性指标,受手术创伤、基础疾病的影响不大,而 sTREM-1、sCD163 作为免疫相关性指标,其可受肺癌手术、患者自身合并症等因素影响<sup>[15]</sup>,既往 Qian 等<sup>[16]</sup>人开展的一项研究证实,sCD163 可作为癌症的特异性标志物,且其水平与癌症病情密切相关,肺癌的存在及病情程度不同也可为该指标对感染的诊断造成一定干扰,导致其诊断价值较低。

本研究探讨了血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平与肺癌术后感染患者治疗效果的关系,结果显

示,治疗效果不佳的患者血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平较高,提示其水平可能可一定程度评估抗感染治疗效果。目前较少有研究探讨血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平对肺癌患者术后感染治疗效果的应用价值,刘建斌等<sup>[17]</sup>人研究证实肺癌术后并发肺部感染治疗后血清 PCT、sTREM-1 水平明显降低,治疗未好转组术后 24 h、48h 及感染后 24 h 时各指标均显著高于治疗好转组,本研究进一步证实了这一结论并初步探讨了各指标预测疗效的截点值,对于临床早期预测治疗效果并及时调整治疗措施提供一定指导。

综上,肺癌术后肺部感染患者伴有血清 sTREM-1、sCD163、PCT 水平的明显升高,且其水平与患者治疗效果相关,临床可能将其作为肺部感染诊断、疗效预测的指标。本研究局限性在于样本量较小,且指标观测时间点较少,未来仍有待进一步扩大样本量,增加观察时间点进一步分析。

## 参考文献

- [1] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [2] Yoo JE, Han K, Shin DW, et al. Conditional relative survival and competing mortality in patients who underwent surgery for lung cancer: A nationwide cohort study[J]. Int J Cancer, 2021, 7(10): 224.
- [3] Edel Y, Kliminski V, Pokroy-Shapira E, et al. Elevated plasma level of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 is associated with inflammation activity and is a potential biomarker of thrombosis in primary antiphospholipid syndrome[J]. Arthr Res Ther, 2019, 21(1): 526.
- [4] Lemarié J, Sébastien G. Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1[J]. Crit Care Clin, 2019, 36(1): 624-625.
- [5] Guo F, Feng YC, Zhao G, et al. The Leukocyte VCS Parameters Compared with Procalcitonin, Interleukin-6, and Soluble Hemoglobin Scavenger Receptor sCD163 for Prediction of Sepsis in Patients with Cirrhosis[J]. Dis Mark, 2019, 5(11): 798.
- [6] 杨铁男,毕小朵,杨光路. 血清 IL-6 联合 PCT 检验对儿童脓毒症病情的评估[J]. 中国妇幼健康研究, 2020, 7(10): 332-335.
- [7] 支修益,石远凯,于金明. 中国原发性肺癌诊疗规范(2015年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 37(1): 67-78.

- [8] Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma: executive summary[J]. *Proceed Am Thor Soc*, 2011, 8(5):381-385.
- [9] 中华医学会. 抗菌药物临床应用指导原则[J]. *中华医学杂志*, 2004, 7(11):552.
- [10] 李东霞, 黄淑俊, 邓颖辉, 等. sTREM-1, PCT, CD4+/CD8+与老年食管癌术后肺部感染相关性及其预测价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(16):2482-2485.
- [11] Dantas PHDS, Matos ADO, Filho EDS, et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) as a therapeutic target in infectious and noninfectious disease: a critical review[J]. *Int Rev Immunol*, 2020, 10(5):1-15.
- [12] Gui XH. Prognostic value of IFN- $\gamma$ , sCD163, CCL2 and CXCL10 involved in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 8(10):5524-5526.
- [13] 周建红, 韩振宁, 蔡兰芳, 等. 血清新分子标记物对老年烧伤患者感染脓毒血症的早期诊断意义[J]. *中华老年医学杂志*, 2019, 38(9):1014-1017.
- [14] 王家富, 李放, 安术祥, 等. 血清 PCT 及 sTREM-1 在肺癌术后并发细菌性肺部感染的诊断价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(9):1374-1378.
- [15] 张韬, 张丽娟, 王红霞. 脓毒症患者病原学特征, 肝功能及 sTREM-1 水平分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2019, 10(6):552-555.
- [16] Qian S, Zhang H, Dai H, et al. Is sCD163 a Clinical Significant Prognostic Value in Cancers? A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Front Oncol*, 2020, 10(8):415-417.
- [17] 刘建斌, 贾涛, 展晖, 等. 血清 PCT, sTREM-1 对肺癌术后并发肺部细菌感染诊断及疗效评估的价值[J]. *实用癌症杂志*, 2017, 8(17):87-90.

(上接第 1204 页)

- [25] Ulrich V, Rotllan N, Araldi E, et al. Chronic miR-29 antagonism promotes favorable plaque remodeling in atherosclerotic mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(6):643-653.
- [26] Pereira-da-Silva T, Coutinho CM, Carrusca C, et al. Circulating microRNA profiles in different arterial territories of stable atherosclerotic disease: a systematic review [J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2018, 8(1):1-13.
- [27] Gong J, Zhou D, Jiang L, et al. In Vitro Lineage-Specific Differentiation of Vascular Smooth Muscle Cells in Response to SMAD3 Deficiency: Implications for SMAD3-Related Thoracic Aortic Aneurysm [J]. *Arter, thromb, and vascul biol*, 2020, 40(7):1651-1663.
- [28] Du X, Patel A, Anderson CS, et al. Epidemiology of Cardiovascular Disease in China and Opportunities for Improvement: JACC International [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(24):3135-3147.
- [29] Wang B, Komers R, Carew R, et al. Suppression of microRNA-29 expression by TGF- $\beta$ 1 promotes collagen expression and renal fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(2):252-265.
- [30] Zhang Y, Huang XR, Wei LH, et al. MiR-29b as a therapeutic agent for angiotensin II-induced cardiac fibrosis by targeting TGF- $\beta$ /Smad3 signaling [J]. *Mol therap J Am Societ Gene Therap*, 2014, 22(5):974-985.
- [31] Chen M, Kong C, Zheng Z, et al. Identification of Biomarkers Associated with Septic Cardiomyopathy Based on Bioinformatics Analyses [J]. *J computat biol*, 2020, 27(1):69-80.
- [32] van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008, 105(35):13027-13032.
- [33] Chen ZL, Chen YX, Zhou J, et al. LncRNA HULC alleviates HUVEC inflammation and improves angiogenesis after myocardial infarction through down-regulating miR-29b [J]. *Eur Rev Med pharmacol sci*, 2020, 24(11):6288-6298.
- [34] van den Berg MMJ, Krauskopf J, Ramaekers JG, et al. Circulating microRNAs as potential biomarkers for psychiatric and neurodegenerative disorders [J]. *Progr neurobiol*, 2020, 185:101732.
- [35] Zhao Y, Huang W, Kim TM, et al. MicroRNA-29a activates a multi-component growth and invasion program in glioblastoma [J]. *J Exp clin cancer research*, 2019, 38(1):36.
- [36] Kobayashi M, Benakis C, Anderson C, et al. AGO CLIP Reveals an Activated Network for Acute Regulation of Brain Glutamate Homeostasis in Ischemic Stroke [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(4):979-991.
- [37] Ouyang YB, Xu L, Lu Y, et al. Astrocyte-enriched miR-29a targets PUMA and reduces neuronal vulnerability to forebrain ischemia [J]. *Glia*, 2013, 61(11):1784-1794.
- [38] Khanna S, Rink C, Ghoorkhanian R, et al. Loss of miR-29b following acute ischemic stroke contributes to neural cell death and infarct size [J]. *J cerebr blood flow metabol*, 2013, 33(8):1197-1206.
- [39] Yang Q, Wu F, Mi Y, et al. Aberrant expression of miR-29b-3p influences heart development and cardiomyocyte proliferation by targeting NOTCH2 [J]. *Cell Proliferat*, 2020, 53(3):e12764.
- [40] Sun L, Zhang J, Li Y. Chronic central miR-29b antagonism alleviates angiotensin II-induced hypertension and vascular endothelial dysfunction [J]. *Life Sci*, 2019, 235:116862.

## SCC-Ag、CEA、EB病毒VCA-IgA诊断鼻窦癌价值及与化疗反应性关系

胡浩<sup>1\*</sup> 聂丽<sup>2</sup> 吴俊<sup>3</sup>

**[摘要]** 目的 探讨鳞状上皮细胞癌抗原(SCC-Ag)、癌胚抗原(CEA)、EB病毒壳抗原免疫球蛋白A抗体(EBVCA-IgA)诊断鼻窦癌价值及与化疗反应性关系。方法 选取本院120例鼻窦癌患者(鼻窦癌组)及同期45例鼻窦炎患者(鼻窦炎组)、45例健康人群(对照组),比较3组一般资料、SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA水平,分析鼻窦癌影响因素,评价SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA对鼻窦癌的诊断价值及与化疗反应性关系。结果 3组SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA比较:鼻窦癌组>鼻窦炎组>对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA是鼻窦癌发生的重要因素( $P<0.05$ )。SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA联合诊断鼻窦癌的AUC大于上述指标单一诊断( $P<0.05$ )。SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA与鼻窦癌患者化疗反应性呈负相关( $P<0.05$ )。结论 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA共同检测上述指标可作为鼻窦癌诊断与化疗反应性观察的重要手段。

**[关键词]** 鳞状上皮细胞癌抗原;癌胚抗原;EB病毒壳抗原免疫球蛋白A抗体;鼻窦癌;化疗反应性

### The diagnostic value of SCC-Ag, CEA, Epstein-Barr VCA-IgA in the diagnosis of sinus cancer and its relationship with chemotherapy response

HU Hao<sup>1\*</sup>, NIE Li<sup>2</sup>, WU Jun<sup>3</sup>

(1. Otorhinolaryngology, Sixian People's Hospital, Suzhou, Anhui, China, 234300; 2. Oncology Department, Sixian People's Hospital, Suzhou, Anhui, China, 234300; 3. The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, ENT & HN Surgery Department, Bengbu, Anhui, China, 233004)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the diagnostic value of squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag), carcinoembryonic antigen (CEA), and Epstein-Barr viral capsid antigen immunoglobulin A (EBVCA-IgA) in the diagnosis of sinus cancer and the relationship with chemotherapy response. **Methods** A total of 120 patients with sinus cancer (sinus cancer group), 45 patients with sinusitis (sinusitis group) and 45 healthy people (control group) during the same period were selected. The general information, SCC-Ag, CEA, and EBVCA-IgA levels of the 3 groups were compared. The influencing factors of sinus cancer were analyzed, and the diagnostic value of SCC-Ag, CEA, EBVCA-IgA for sinus cancer and the relationship with chemotherapy response were evaluated. **Results** Comparison of SCC-Ag, CEA, EBVCA-IgA among the three groups: the sinus cancer group>the sinusitis group>the control group ( $P<0.05$ ). SCC-Ag, CEA, EBVCA-IgA are important factors in the occurrence of sinus cancer ( $P<0.05$ ). SCC-Ag, CEA, EBVCA-IgA combined diagnosis of sinus cancer AUC is greater than that of the single diagnosis of the above indicators. SCC-Ag, CEA, EBVCA-IgA were negatively correlated with the chemotherapy response of patients with sinus cancer ( $P<0.05$ ). **Conclusion** SCC-Ag, CEA, EBVCA-IgA combined detection can be used as an important means for the diagnosis of sinus cancer and the observation of chemotherapy response.

**[KEY WORDS]** Squamous cell carcinoma antigen; Carcinoembryonic antigen; Epstein-Barr virus shell antigen immunoglobulin A antibody; Sinus cancer; Chemotherapy reactivity

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81903142)

作者单位:1.泗县人民医院耳鼻喉科,安徽,宿州 234300

2.泗县人民医院肿瘤科,安徽,宿州 234300

3.蚌埠医学院第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科,安徽,蚌埠 233004

\*通信作者:胡浩, E-mail: huhao\_1\_2\_3@163.com

鼻窦癌发病率约占头颈部恶性肿瘤总人数的11.9%,但其早期临床表现不具有典型性,大多数患者确诊时已处于中晚期,丧失最佳手术治疗时间<sup>[1-2]</sup>。因此,寻找一种有效诊断指标是开展个性化精准治疗、促进鼻窦癌患者预后改善的重要环节。国内外均有研究证实<sup>[3-5]</sup>,鳞状上皮细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCC-Ag)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、EB病毒壳抗原免疫球蛋白A抗体(Epstein-Barr virus viral capsid antigen immunoglobulin A, EBVCA-IgA)与鼻咽癌发生、发展密切相关,但上述指标对鼻窦癌的诊断效能及与化疗反应性的关系鲜少报道。本研究尝试分析SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA诊断鼻窦癌价值及与化疗反应性的相关性,旨在为临床诊治提供科学指导。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取2018年1月至2020年12月泗县人民医院收治的120例鼻窦癌患者(鼻窦癌组),另选取同期45例鼻窦炎患者(鼻窦炎组)、45例健康人群(对照组)作为研究对象。设计调查问卷收集所有研究对象年龄、性别、体质量指数、饮酒史、吸烟史、既往史等内容。本院伦理委员会经审核评议同意本研究。

### 1.2 选取标准

①纳入标准:鼻窦癌组均经组织病理学检查证实为鼻窦癌,临床分期为Ⅱb~Ⅳ期;鼻窦炎组均符合鼻窦炎相关标准<sup>[6]</sup>;对照组经鼻内镜检查和(或)鼻窦CT扫描检查无任何异常;受试者均知情同意;②排除标准:合并遗传性出血性疾病者;合并肝肾等重要脏器器质性病变者;先天性凝血因子缺乏症者;精神疾病者。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA检测

治疗前清晨空腹取4 mL静脉血,常规离心处理[4 000 r/min 离心10 min(离心半径8 cm)],分离血清,按照瑞士Roche公司仪器说明书采用Roche Cobas E601型全自动电化学发光免疫分析仪测定CEA;按照上海抚生实业有限公司试剂盒说明书采用酶联免疫吸附法检测SCC-Ag、EBVCA-IgA,其中通过血清样本及标准品吸光度值比值对EBVCA-IgA结果进行判读,标本A值与校准品A值比值 $\geq 1.1$ 判读为EBVCA-IgA阳性,标

本A值与校准品A值比值 $< 0.8$ 判读为阴性, $0.8 \leq$ 标本A值与校准品A值比值 $< 1.1$ 判读为可疑。

### 1.3.2 治疗方法

鼻窦癌组均于d1、8、15、22,静脉滴注45 mg/m<sup>2</sup>紫杉醇;d2、9、16、23,静脉滴注20 mg/m<sup>2</sup>顺铂,4周为1个周期,持续治疗3个周期。

### 1.4 疗效判定标准<sup>[7]</sup>

疾病进展:靶病灶最长径之和增加 $\geq 20\%$ ,或有新病灶出现;疾病稳定:靶病灶最长径之和增加 $< 20\%$ 或减少 $< 30\%$ ,无新病灶出现;部分缓解:靶病灶最长径之和减少 $\geq 30\%$ ;完全缓解:靶病灶基本消失,维持4周以上。将完全缓解、部分缓解纳入鼻窦癌缓解患者,将疾病稳定、疾病进展纳入未缓解患者。

### 1.5 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用SNK-q检验,两组间比较采用独立样本t检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, $\chi^2$ 检验;采用Logistic回归方程分析鼻窦癌影响因素;采用Spearman相关系数模型分析SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA与鼻窦癌化疗反应性关系;绘制(ROC)曲线得到曲线下面积(AUC),检验SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA对鼻窦癌的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 单因素分析

鼻窦癌组癌症家族史、SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA高于鼻窦炎组、对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.2 不同病理特征患者各指标比较

有淋巴转移和远处转移患者SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA高于无淋巴结转移和无远处转移者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.3 多因素分析

将单因素分析筛查出的有意义指标纳入Logistic回归模型,以SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA作为自变量,结果显示,将癌症家族史控制后,SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA仍与鼻窦癌发生相关( $P < 0.05$ )。见表3。

2.4 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA诊断鼻窦癌价值以鼻窦癌组为阳性样本,以鼻窦炎组和对照

表1 3组临床资料对比  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

Table 1 Comparison of clinical data of 3 groups  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

资料	鼻窦癌组 (n=120)	鼻窦炎组 (n=45)	对照组 (n=45)	F/ $\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	47.58±13.29	44.96±12.87	43.88±14.05	1.510	0.223
性别				0.814	0.666
男	68(56.67)	22(48.89)	25(55.56)		
女	52(43.33)	23(51.11)	20(44.44)		
体质量指数 (kg/m <sup>2</sup> )				0.592	0.898
偏瘦	8(6.67)	3(6.67)	2(4.44)		
正常	71(59.17)	23(51.11)	27(60.00)		
超重	22(18.33)	10(22.22)	8(17.78)		
肥胖	19(15.83)	9(20.00)	8(17.78)		
饮酒史	115(95.83)	40(88.89)	43(95.56)	3.101	0.212
吸烟史	65(54.17)	18(40.00)	20(44.44)	3.114	0.211
既往史					
血脂异常	24(20.00)	7(15.56)	4(8.89)	2.960	0.228
糖尿病	8(6.67)	3(6.67)	0(0)	3.166	0.205
冠心病	6(5.00)	2(4.44)	0(0)	2.296	0.317
高血压	9(7.50)	4(8.89)	0(0)	3.888	0.143
癌症 家族史	18(15.00)	2(4.44) <sup>a</sup>	1(2.22) <sup>a</sup>	7.901	0.019
SCC-Ag ( $\mu\text{g/L}$ )	1.98±0.42	0.80±0.25 <sup>a</sup>	0.74±0.23 <sup>a</sup>	299.264	<0.001
CEA ( $\mu\text{g/L}$ )	6.97±2.25	3.68±1.19 <sup>a</sup>	3.25±1.03 <sup>a</sup>	92.521	<0.001
EBVCA-IgA	1.58±0.42	0.74±0.23 <sup>a</sup>	0.14±0.04 <sup>a</sup>	331.598	<0.001

注:与鼻窦癌组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

表2 不同病理特征患者各指标比较  $(\bar{x} \pm s)$

Table 2 Comparison of various indexes in patients with different pathological characteristics  $(\bar{x} \pm s)$

组别	例数	SCC-Ag( $\mu\text{g/L}$ )	CEA( $\mu\text{g/L}$ )	EBVCA-IgA
临床分期				
IIb期	36	1.06±0.32	3.42±1.02	1.01±0.30
III期	55	1.59±0.35 <sup>a</sup>	7.01±1.89 <sup>a</sup>	1.47±0.38 <sup>a</sup>
IV期	29	3.86±0.41 <sup>ab</sup>	11.30±2.55 <sup>ab</sup>	2.50±0.45 <sup>ab</sup>
F值		554.684	141.849	129.928
P值		<0.001	<0.001	<0.001
淋巴结转移				
无	87	1.26±0.34	5.69±1.42	1.17±0.34
有	33	3.88±0.41	10.34±2.69	2.66±0.41
t值		35.565	12.278	20.226
P值		<0.001	<0.001	<0.001
远处转移				
无	105	1.49±0.37	6.11±1.87	1.05±0.30
有	15	5.41±0.86	12.99±2.58	5.29±1.34
t值		31.109	12.667	28.409
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与IIb期相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与III期相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

组为阴性样本,绘制各指标诊断鼻窦癌的ROC,应用 Logistic 二元回归拟合,结果显示,SCC-Ag+CEA+EBVCA-IgA 诊断鼻窦癌的 AUC 为 0.947 (95%CI: 0.908~0.973), 敏感度为 85.83%, 特异度为 95.56% ( $P<0.05$ )。见图 1。

表3 鼻窦癌影响因素的 Logistic 回归方程分析

Table 3 logistic regression equation analysis of influencing factors of sinus carcinoma

影响因素	$\beta$ 值	SE值	Wald/ $\chi^2$	OR值	95%CI	P值
SCC-Ag	0.931	0.244	14.549	2.536	2.458~2.617	<0.001
CEA	0.343	0.104	10.853	1.409	1.056~1.879	<0.001
EBVCA-IgA	1.026	0.203	25.562	2.791	2.515~3.097	<0.001

注:SCC-Ag、CEA 正常赋值为 1, 异常赋值为 2, EBVCA-IgA 阴性赋值为 1, 阳性赋值为 2; 以鼻窦癌发生与否为因变量, 无赋值为 0, 有赋值为 1。

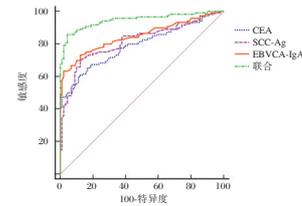


图1 SCC-Ag、CEA、EB病毒 EBVCA-IgA 诊断鼻窦癌价值  
Figure 1 the diagnostic value of SCC Ag, CEA, EB virus VCA IgA in nasal sinus carcinoma

2.5 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA 在化疗疗程中变化  
化疗后两组 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA 均较化疗前降低, 且缓解患者低于未缓解患者, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 4。

2.5 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA 与化疗反应性关系  
将两组化疗后各指标作为源数据, 采用 Spearman 进行相关性分析, 结果显示, SCC-Ag ( $r=-0.784, P<0.001$ )、CEA ( $r=-0.673, P<0.001$ )、EBVCA-IgA ( $r=-0.656, P<0.001$ ) 与化疗反应性呈负相关。见图 2。

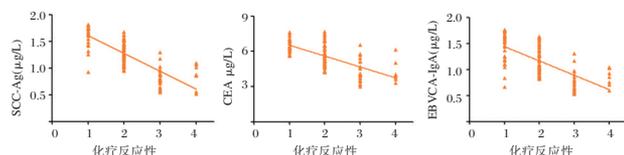
### 3 讨论

血清肿瘤标志物是目前临床早期筛查肿瘤、评估肿瘤恶性程度的主要指标, 具有采样简单、检测时间短、可重复性高等特点。SCC-Ag、CEA 均为临床常用肿瘤标志物, 其中 CEA 作为胚胎抗原, 肿瘤细胞基因调控机制受损可能上调有关胎儿蛋白合成含量, 导致恶性肿瘤患者 CEA 水平增加<sup>[8]</sup>; SCC-Ag 属丝氨酸蛋白酶抑制家族成员之一, 研究已证实<sup>[9-10]</sup>, 其在宫颈癌、非小细胞肺癌等多种鳞状上皮来源恶性肿瘤中呈异常高表达状态。本研究通过比较可知, 鼻窦癌患者 SCC-Ag、CEA 水平高于鼻窦炎患者、健康体检者, 并与淋巴结转移和远处转移存在一定相关性, 这可能是由于鼻窦癌发生可能会异常激活部分基因, 从而上调 CEA、SCCAg 含量, 而 CEA、SCCAg 过度表达可能增强

表4 SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA在化疗疗程中变化( $\bar{x} \pm s$ )Table 4 Changes of SCC Ag, CEA and VCA IgA in chemotherapy course ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SCC-Ag( $\mu\text{g/L}$ )		CEA( $\mu\text{g/L}$ )		EBVCA-IgA	
		化疗前	化疗后	化疗前	化疗后	化疗前	化疗后
缓解	31	1.85 $\pm$ 0.58	0.94 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	6.86 $\pm$ 2.19	4.32 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>	1.46 $\pm$ 0.52	0.87 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
未缓解	89	2.05 $\pm$ 0.67	1.36 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>	7.01 $\pm$ 2.24	6.11 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>	1.62 $\pm$ 0.40	1.27 $\pm$ 0.39 <sup>b</sup>
t值		1.479	5.369	0.323	7.594	1.769	5.336
P值		0.142	<0.001	0.747	<0.001	0.080	<0.001

注:与本组化疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。



注:化疗反应性赋值:1=进展,2=稳定,3=部分缓解,4=完全缓解。

图2 SCC-Ag、CEA及EBVCA-IgA与化疗反应性关系

Figure 2 Relationship between SCC-Ag, CEA, VCA IgA and chemotherapeutic response

肿瘤细胞黏附能力,减弱蛋白水解酶降解肿瘤作用,导致肿瘤细胞异常增殖,进而参与鼻窦癌发生、发展,最终形成恶性循环。由此推测,SCC-Ag、CEA可作为鼻窦癌诊断及临床病理特征评估的一项重要检测指标。同时,相关研究还发现<sup>[11-12]</sup>,EB病毒作为诱发人类淋巴细胞感染的疱疹病毒,可能参与鼻咽癌的发生、发展。EBVCA-IgA作为EB病毒中较为常见的结构性蛋白,亦是裂解期晚期合成的EB病毒结构抗原。本研究经ELISA法检测发现,EBVCA-IgA水平在鼻窦癌患者中过度表达,并随淋巴转移、远处转移呈增长趋势,结合何流等<sup>[13]</sup>观点究其机制可能为EB病毒长期潜伏于鼻窦上皮细胞内,可促使鼻窦上皮永生代,降低机体免疫功能,引起感染,诱导机体作出应对反应,从而上调EBVCA-IgA表达,引起鼻窦癌。故推测抑制EBVCA-IgA表达可能是降低鼻窦癌发生、发展的重要机制,但具体原因有待扩大样本量深入分析。为进一步明确SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA对鼻窦癌的诊断价值,本研究通过绘制ROC曲线发现,EBVCA-IgA诊断鼻窦癌的AUC值最大,相对于SCC-Ag、CEA敏感度高。而以上三种指标联合诊断鼻窦癌的AUC显著大于单一诊断,提示SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA联合可为鼻窦癌诊断、精准化治疗方案制定提供新途径。

另外,董格等<sup>[14]</sup>研究表明,CEA、SCC-Ag水平下降幅度越大,局部晚期宫颈癌患者化疗敏感性越高,肿瘤直径减少越多,化疗反应可能性则越

高。李中华<sup>[15]</sup>通过60例鼻咽癌患者也发现,EBVCA-IgA与患者调强放疗的治疗效果密切相关。在此基础上,本研究通过Spearman相关性发现,EBVCA-IgA、SCC-Ag、CEA与鼻窦癌患者化疗反应性存在负相关性。这可能归因于EBVCA-IgA、SCC-Ag、CEA表达升高一定程度会提高肿瘤细胞增殖活力,加重肿瘤细胞侵袭与转移程度,干扰化疗药物敏感性,从而对化疗效果产生一定影响。说明EBVCA-IgA、SCC-Ag、CEA对鼻窦癌化疗反应性具有一定评估作用。

综上所述,SCC-Ag、CEA、EBVCA-IgA在鼻窦癌患者中呈高表达,并在化疗后降低,共同检测上述指标可作为鼻窦癌诊断与化疗反应性观察的重要手段。然而,本研究样本选择范围局限,纳入样本量少,且因担心早期指标变化不明显,故选取中晚期鼻窦癌患者进行研究,今后将纳入早期患者,扩大样本量进一步论证研究结果。

## 参考文献

- [1] 罗山泉,石梅,王建华,等. 鼻腔鼻窦癌调强放疗后放射性鼻窦炎与鼻窦黏膜照射剂量-体积关系分析[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(20):3521-3524.
- [2] Thompson LDR, Franchi A. New tumor entities in the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumors: Nasal cavity, paranasal sinuses and skull base[J]. Virchows Arch, 2018, 472(3):315-330.
- [3] 刘园源,张斌,李靖. 比较TP方案与GP方案诱导化疗对局部晚期鼻咽癌患者的疗效及生存质量[J]. 热带医学杂志, 2020, 20(2):225-228.
- [4] 王林,纪东,许全一. N-Orsteoc、 $\beta$ -Crosslaps、TPINP在鼻咽癌放疗后骨转移中诊断及预后中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11):1505-1509.
- [5] Xue N, Lin JH, Xing S, et al. Plasma Macrophage Migration Inhibitory Factor and CCL3 as Potential Biomarkers for Distinguishing Patients with Nasopharyngeal Carcinoma from High-Risk Individuals Who Have Positive Epstein-Barr Virus Capsid Antigen-Specific IgA[J]. Cancer Res Treat, 2019, 51(1):378-390.

(下转第1222页)

## 二代测序在Meckel综合征植入前遗传学检测的应用

何天文<sup>1,2</sup> 区惠红<sup>3</sup> 卢建<sup>1,2</sup> 陈创奇<sup>4</sup> 刘顿<sup>4</sup> 丁红珂<sup>1,2</sup> 刘玲<sup>1,2</sup> 杜丽<sup>1,2</sup> 尹爱华<sup>1,2\*</sup>

**[摘要]** 目的 探讨二代测序(NGS)在Meckel综合征植入前遗传学检测(PGT)的应用价值和优势。方法 选取1例Meckel综合征家系,通过Sanger测序调查家系成员*MKSI*基因突变情况。以*MKSI*基因编码区为目标区域,在该基因上下游2M区域内选择200个单核苷酸多态位点(SNP)作为遗传连锁标记,多重PCR和NGS后选择有效SNP位点构建家系成员SNP单倍型,确定携带*MKSI*基因突变的风险染色体。采用NGS对胚胎*MKSI*基因突变位点直接测序和构建胚胎SNP单倍型进行PGT。对未检测到突变和杂合携带的胚胎进行了低深度的染色体非整倍性筛查。结果 采用NGS对胚胎基因突变位点直接测序和构建SNP单倍型结果显示活检的6个胚胎中3个未检测到突变,2个杂合携带,1个致病。5个未检测到突变和杂合携带胚胎染色体非整倍体筛查结果显示其中4个为平衡的整倍体胚胎。结论 应用NGS对Meckel综合征家系进行PGT,可以阻断此单基因病在该家系中的再发风险,还可以避免选择非整倍体胚胎而导致的流产问题。

**[关键词]** 二代测序; Meckel综合征; *MKSI*基因; 植入前遗传学检测

### Application of next-generation sequencing in preimplantation genetic testing of Meckel syndrome

HE Tianwen<sup>1,2</sup>, OU Huihong<sup>3</sup>, LU Jian<sup>1,2</sup>, CHEN Chuangqi<sup>4</sup>, LIU Dun<sup>4</sup>, DING Hongke<sup>1,2</sup>, LIU Ling<sup>1,2</sup>, DU Li<sup>1,2</sup>, YIN Aihua<sup>1,2\*</sup>

(1. Medical Genetics Center of Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 511442; 2. Maternal and Children Metabolic-Genetic Key Laboratory of Guangdong, Guangzhou, Guangdong, China, 511442; 3. The Medical Record Department of Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 511442; 4. Reproductive Center of Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 511442)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the application value and advantage of next generation sequencing (NGS) in preimplantation genetic testing (PGT) of Meckel syndrome. **Methods** A family with Meckel syndrome was selected, and the mutation of *MKSI* gene in family members was investigated by Sanger sequencing. The coding region of *MKSI* gene was selected as the target region, and 200 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were selected as the genetic linkage markers in the upstream and downstream 2M regions of the gene. After multiple PCR and NGS, the effective SNPs were selected to construct SNP haplotypes of family members and risk chromosomes carrying mutations in *MKSI* gene were identified. Direct sequencing of *MKSI* gene mutations in embryos and construction of SNP haplotypes of embryo by NGS were used for PGT. Low - depth chromosome aneuploidy screening was carried out in the embryos without mutation and heterozygosity. **Results** Using NGS to directly sequence the genetic mutation sites of embryos and construct

作者单位:1. 广东省妇幼保健院医学遗传中心, 广东, 广州 511442

2. 广东省妇幼代谢与遗传病重点实验室, 广东, 广州 511442

3. 广东省妇幼保健院病案科, 广东, 广州 511442

4. 广东省妇幼保健院生殖中心, 广东, 广州 511442

注:何天文和区惠红并列第一作者

\*通信作者:尹爱华, E-mail: yinaiwa@126.com

SNP haplotypes, the results showed that 3 of the 6 embryos biopsied had no mutations, 2 were heterozygous carriers, and 1 was pathogenic. The screening results of chromosomal aneuploidy of 5 undetected mutant and heterozygous embryos showed that 4 of them were balanced euploid embryos. **Conclusion** Applying NGS to PGT in a family with Meckel syndrome can block the risk of recurrence of this monogenic disease in the family, and can also avoid the problem of miscarriage caused by the selection of aneuploid embryos.

**[KEY WORDS]** Next generation sequencing; Meckel syndrome; *MKSI* gene; Preimplantation genetic testing

Meckel 综合征 (meckel syndrome, MS) 是由德国解剖学家 Meckel 等在 1822 年首次报道的一种罕见的致死性常染色体隐性遗传病, 临床上以枕部脑膨出、严重的多囊肾和轴后多指 (趾) 畸形等为主要特征<sup>[1-2]</sup>。Meckel 综合征预后差, 胎儿常发生宫内死亡, 出生的胎儿大多仅能存活数天至数周, 且目前尚无根治的方法, 植入前遗传学检测和产前诊断是预防 Meckel 综合征患儿出生的有效方法。近年来, 二代测序 (next generation sequencing, NGS) 技术飞速发展, 已经成为胚胎植入前遗传学检测 (preimplantation genetic testing, PGT) 的主要检测手段之一<sup>[3]</sup>。NGS 能检测染色体非整倍性、染色体结构异常和单基因遗传病, 准确性好且精度高<sup>[4-5]</sup>。本研究运用 NGS 对胚胎 *MKSI* 基因突变直接测序和构建胚胎单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 单倍型进行 PGT, 以期避免妊娠 Meckel 综合征和非整倍体胎儿。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

男方 (II:1), 35 岁, 表型正常, 既往体健。男方父母 (I:1 和 I:2) 表型正常, 既往体健。女方 (II:2), 34 岁, 表型正常, 既往体健, 怀孕 2 次, 生产 0 次, 流产 2 次, 2014 年孕 25 周时超声发现羊水过少行引产术, 未进一步进行相关基因检测; 2016 年孕 19 周时超声提示胎儿 (III:1) 枕骨缺如、脑膨出、心包积液、三尖瓣反流、肝回声增粗、双侧多囊肾、左侧胫骨骨折、双足轴前多趾等多种畸形, 在外院行引产术, 外院芯片捕获高通量测序结果显示胎儿 *MKSI* 基因 c.472C>T 纯合突变, 该突变在数据库中有疾病相关性报道<sup>[6]</sup>。女方父母 (I:3 和 I:4) 表型正常, 既往体健 (图 1)。为了再次避免妊娠患儿, 该夫妇于 2017 年 5 月在广东省妇幼保健院就诊咨询要求行 PGT。该夫妇充分了解 PGT 过程及相关风险后, 签署知情同意书接受 PGT。本研究经广东省妇幼保健院生殖医学伦理委员会批准。

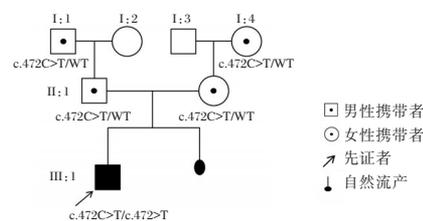


图 1 Meckel 综合征家系图

Figure 1 Pedigree of Meckel syndrome

### 1.2 主要试剂与仪器

磁珠法血液基因组提取试剂盒 (天根生化科技有限公司), 微量样本全基因组扩增 (MDA 法) 试剂盒 (北京中仪康卫医疗器械有限公司), 胚胎植入前单基因病检测建库试剂盒 (北京中仪康卫医疗器械有限公司), 测序反应通用试剂盒、胚胎植入前单基因病检测标签接头试剂盒 (北京中仪康卫医疗器械有限公司), 胚胎植入前染色体非整倍体检测试剂盒 (北京中仪康卫医疗器械有限公司), QUBIT 1X 双链 DNA 高灵敏度分析试剂盒 (北京中仪康卫医疗器械有限公司), 核酸定量计 Qubit Fluorometer (Invitrogen 公司, 美国), verity 梯度 PCR 仪、ABI3730 测序仪 (ABI 公司, 美国), MiSeq 高通量测序仪 (Illumina 公司, 美国)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 标本采集及基因组 DNA 提取

分别抽取夫妇 (II:1 和 II:2) 及双方父母 (I:1、I:2、I:3 和 I:4) 外周血各 2 mL, EDTA 抗凝。II:2 孕 18~24 周时在超声引导下羊膜腔穿刺术抽取胎儿羊水 5~10 mL。磁珠法血液基因组提取试剂盒提取外周血基因组 DNA, Qiamp DNA Blood Mini Kit 提取试剂盒提取羊水基因组 DNA, 均按试剂盒说明书进行操作。

#### 1.3.2 Sanger 测序调查家系成员 *MKSI* 基因突变情况

用 Oligo6 设计针对 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变位点的特异性 PCR 扩增引物 (F: 5'-TCTAC-CAAGCACACTAACCC-3', R: 5'-TCCCTCTCTCT-

GAGGCAC-3', 扩增片段位于 chr17: 56291905-56292495, 扩增片段长度为 591 bp), PCR 扩增产物用 ABI3730 遗传分析仪进行序列测定。用 SeqMan 软件对 ABI3730 遗传分析仪生成的 ab1 测序结果文件进行分析, 调查家系成员携带 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变情况。

### 1.3.3 家系成员单倍型的构建

以 *MKSI* 基因(NM\_017777.3 chr17: 56282797-56296966)反向转录编码区为目标, 在该基因上下游 2 M 区域内(chr17: 54576882-58218653)选择 200 个 SNP 位点作为遗传连锁标记, 利用 ION AMPLISEQ™ DESIGNER 网站设计多重 PCR 引物, 对提取的家系成员的基因组 DNA 进行多重 PCR, 多重 PCR 产物经纯化和建库后行 NGS, 选择有效 SNP 位点进行构建家系成员的 SNP 单倍型进行连锁分析, 确定携带 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变的风险染色体。

### 1.3.4 胚胎活检

根据常规体外培养方法<sup>[6]</sup>, 首先采用卵细胞浆内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 方式进行授精, 待胚胎培养至第 5/6 天, 活检囊胚滋养层细胞 2~9 个进行遗传学检测。

### 1.3.5 植入前遗传学检测

对活检获得的滋养层细胞进行基于等温多重置换扩增 (multiple displacement amplification, MDA) 技术的全基因组扩增 (Whole genome amplification, WGA)。利用 WGA 产物通过多重 PCR 扩增胚胎 *MKSI* 基因编码区和高密度紧密连锁的 SNP 位点, 多重 PCR 产物经纯化和建库后进行 NGS。通过 NGS 对胚胎 *MKSI* 基因突变位点直接测序和构建胚胎 SNP 位点单倍型连锁分析。通过 Sanger 测序检测 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变验证二代测序结果。针对正常和杂合携带致病突变的胚胎进行了低深度的染色体非整倍性筛查, 以排除有携带染色体拷贝数异常的胚胎。

### 1.3.6 产前诊断

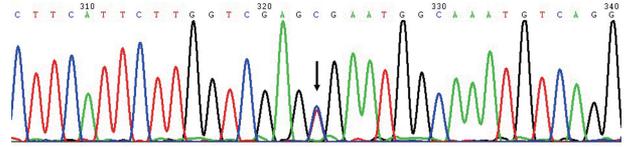
于孕 18~24 周时行羊膜腔穿刺进行胎儿染色体核型 G 显带分析和 Sanger 测序检测胎儿 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变, 验证 PGT 结果。

## 2 结果

### 2.1 家系成员携带 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变情况

通过 Sanger 测序分析, 发现该家系成员中男方 (II : 1)、女方 (II : 2)、男方父亲 (I : 1) 和女方母亲

(I : 4) 携带 *MKSI* 基因 c.472C>T 的致病性突变 (图 2)。引产胎儿 (III : 1) 外院结果显示 *MKSI* 基因 c.472C>T 纯合突变, 分别遗传自父亲和母亲 (图 1)。



注: 箭头所指为突变碱基。

图 2 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变 Sanger 测序图

Figure 2 Sanger sequencing of c.472C > T mutation in *MKSI* gene

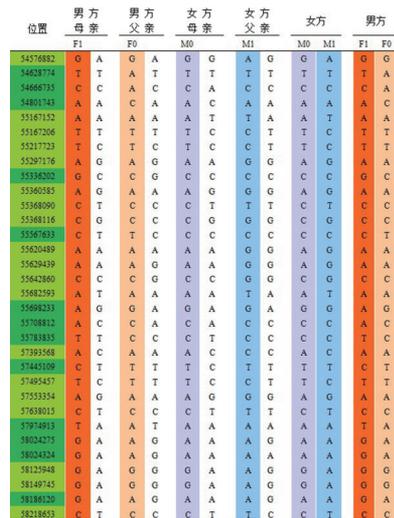
### 2.2 家系成员 SNP 单倍型构建

经过多重 PCR 和 NGS 后, 选择了 74 个有效 SNP 位点成功构建家系成员 SNP 单倍型, 成功确定夫妇的携带 *MKSI* 基因 c.472C>T 突变的风险染色体。见表 1、图 3。

表 1 夫妇有效 SNP 位点数和分布

Table 1 Number and distribution of effective SNPs in couples

样本	基因下游		基因上游	
	1M~2M	0M~1M	0M~1M	1M~2M
男方 (II : 1)	7	34	0	4
女方 (II : 2)	3	14	0	12



注: 男方致病; 男方正常; 女方致病; 女方正常; 男方有效位点; 女方有效位点; F0 表示男方风险染色体, F1 表示男方正常染色体; M0 表示女方致病染色体、M1 表示女方正常染色体。

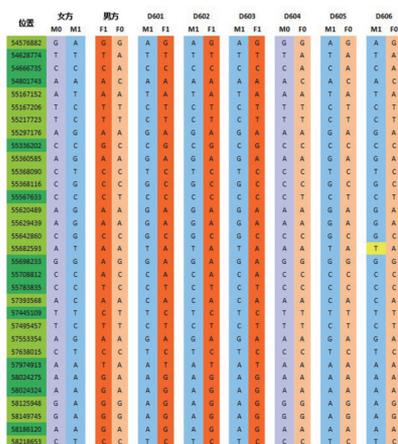
图 3 家系成员 SNP 单倍型 (选取部分 SNP 位点)

Figure 3 SNP haplotypes of family members (partial SNP loci selected)

### 2.3 植入前遗传学检测

第 6 天活检 6 个囊胚滋养层细胞分别标记为 D601、D602、D603、D604、D605 和 D606。胚

胎的 *MKS1* 基因 c.472C>T 突变的 NGS 结果、SNP 单倍型连锁分析结果和 Sanger 测序结果提示 6 个胚胎中 D601、D602 和 D603 为未检测到突变胚胎, D605 和 D606 为杂合携带胚胎, D604 为致病胚胎。D601、D602、D603、D605 和 D606 低深度的染色体非整倍体筛查结果显示 D601 为非平衡的整倍体胚胎, 其它为平衡的整倍体。见图 4、表 2。



注: 女致病; 女正常; 男致病; 男正常; 黄色底色表示等位基因脱扣; 男有效位点; 女有效位点。M0 表示女方风险染色体, M1 表示女方正常染色体; F0 表示男方风险染色体, F1 表示男方正常染色体

图 4 胚胎 SNP 单倍型分析结果

Figure 4 SNP haplotype analysis results of embryos

表 2 胚胎 *MKS1* 基因 c.472C>T 突变植入前遗传学检测结果

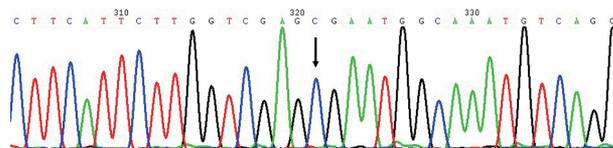
Table 2 PGT results of c.472C>T mutation in *MKS1* gene

样品	单倍型分析结果	chr17:56292145 c.472C>T		非整倍体筛查	解析
		二代测序	Sanger 测序		
D601	M1F1	C	C	45, XN, -22	不可移植胚胎
D602	M1F1	C	C	46, XN	可移植胚胎
D603	M1F1	C	C	46, XN	可移植胚胎
D604	M0F0	T	T	-	不可移植胚胎
D605	M1F0	C/T	C/T	46, XN	可移植胚胎
D606	M1F0	C/T	C/T	46, XN	可移植胚胎

注: M0 表示女方风险染色体, M1 表示女方正常染色体; F0 表示男方风险染色体, F1 表示男方正常染色体。

### 2.4 产前诊断

选择正常且发育良好的整倍体胚胎(D602)进行移植, 孕 19 周经羊膜腔穿刺产前诊断结果显示胎儿染色体核型 G 显带分析未发现异常, Sanger 测序未检测到胎儿 *MKS1* 基因 c.472C>T 突变, 与 PGT 结果一致, 见图 5。孕 38 周顺产分娩一正常婴儿, 体重 2 690 g, 健康状况良好。



注: 箭头所指为 *MKS1* 基因 c.472C 位置。

图 5 胎儿 *MKS1* 基因 c.472C>T 突变的 Sanger 测序图

Figure 5 Sanger sequencing map of c.472C>T mutation in fetal *MKS1* gene

### 3 讨论

Meckel 综合征是一种致死性常染色体隐性遗传病<sup>[7]</sup>, 发病率各国报道不一, 以芬兰最高, 约 1/9 000 活产婴<sup>[8]</sup>, 我国仅见散发病例报道<sup>[9-10]</sup>。Meckel 综合征的临床表现比较一致, 但是具有遗传异质性<sup>[11]</sup>。与 Meckel 综合征相关的基因有多个, 按基因定位发现的时间顺序分别称之为 Meckel 综合征 1~6 基因。2006 年 Kyttälä 等<sup>[12]</sup>利用基因克隆技术确定了 *MKS1* 基因定位于 17q23, 基因长 13 869 bp, 包含 18 个外显子。本研究家系中引产胎儿为 *MKS1* 基因 c.472C>T 纯合突变导致的 Meckel 综合征, 通过 PGT 治疗后该夫妇分娩一正常婴儿, 也再次验证了 *MKS1* 基因 c.472C>T 突变的致病性。

日前, Meckel 综合征尚无有效的根治方法, 植入前遗传学检测和产前诊断是预防 Meckel 综合征患儿出生的主要手段。绒毛活检、羊水穿刺、脐带血穿刺传统的介入性产前诊断术具有创性, 还具有一定流产风险<sup>[13]</sup>。Meckel 综合征携带者夫妇经产前诊断后确诊胎儿为 Meckel 综合征后, 需要选择终止妊娠, 给孕妇带来一定的身体伤害和心理负担。对 Meckel 综合征携带者夫妇进行胚胎植入前遗传学检测, 在胚胎植入前进行遗传学分析后选择正常胚胎进行移植, 可以避免异常胚胎妊娠的发生, 阻断 Meckel 综合征在家系中的再发风险。胚胎植入前遗传学检测将遗传病的预防提前到胚胎阶段, 与传统的产前诊断相比具有明显的优势, 可以避免可能的治疗性引产给母体带来身体和心理的创伤<sup>[6]</sup>。

随着基于 MDA 技术的 WGA 技术的发明, 该技术克服了单细胞水平基因检测 DNA 模板量少的问题, 极大地提高了检测结果的准确性和可靠性, 但是 WGA 有扩增不均匀和等位基因脱扣 (allele drop-out, ADO) 的风险<sup>[14]</sup>。NGS 技术的发明, 实现了一次性对上百万条 DNA 进行测序, 不

仅缩短了耗费时间,也将单碱基测序成本降到了最低,遗传性疾病的诊断率和分辨率迈入新的高度,给 PGT 技术带来了革命性的改变<sup>[6]</sup>。NGS 具有高通量、高并行性和高分辨率等特性,二代测序技术可以提供高深度的多位点多基因分析,结合 SNP 单倍型连锁分析,可以避免由 ADO 带来的检测错误<sup>[15]</sup>。NGS 已经成为 PGT 的主要的检测手段,其不但能检测染色体非整倍性、染色体结构异常和单基因遗传病,而且准确性好和精度高,与如荧光原位杂交和比较基因组杂交等传统的 PGT 技术相比具有明显的优势。

本研究成功应用二代测序技术对遗传性 Meckel 综合征家系进行植入前遗传学检测,可以阻断该单基因病在该家系中的再发风险,还可以避免选择非整倍体胚胎而导致的流产问题,是 Meckel 综合征出生缺陷的有效预防手段。

#### 参考文献

- [1] Radhakrishnan P, Nayak SS, Shukla A, et al. Meckel syndrome: Clinical and mutation profile in six fetuses [J]. *Clin Genet*, 2019, 96(6):560-565.
- [2] Verity H, Katarzyna S, Malik SS, et al. Meckel-Gruber Syndrome: An Update on Diagnosis, Clinical Management, and Research Advances [J]. *Front Pediatr*, 2017, 5:244.
- [3] 黄荷凤,徐晨明,王璐璐.我国通过植入前胚胎遗传学检测技术阻断罕见遗传病的发展现状[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2020, 36(1):10-15.
- [4] 朱洁茹,欧建平,朱伟杰.基因测序在胚胎植入前遗传学诊断应用的研究进展[J]. *生殖与避孕*, 2016, 36(8):666-671.
- [5] 任一昕,乔杰,闫丽盈.单基因遗传病的胚胎植入前遗传学诊断方法研究进展[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(3):443-447.
- [6] 何天文,卢建,陈创奇,等.采用二代测序对 Marfan 综合征家系进行植入前遗传学诊断[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(8):995-1000.
- [7] Aydin OP, Asena M, Katar S, et al. Meckel-Gruber Syndrome: A Case Who Lived for 5 Months [J]. *Pediatr Neurosurg*, 2019, 54(4):277-280.
- [8] Salonen R, Norio R. The Meckel syndrome in Finland: epidemiologic and genetic aspects [J]. *Am J Med Genet*, 1984, 18(4):691-698.
- [9] 张蔓丽,汪龙霞,李芮冰,等. Meckel-Gruber 综合征 1 例 [J]. *发育医学电子杂志*, 2014, 2(2):116, 121.
- [10] 张靓璐,严恺,王英,等.多种遗传学技术联合运用对疑似 Meckel 综合征家系进行遗传学分析[J]. *温州医科大学学报*, 2019, 49(10):748-752.
- [11] Paavola P, Salonen R, Baumer A, et al. Clinical and genetic heterogeneity in Meckel syndrome [J]. *Hum Genet*, 1997, 101(1):88-92.
- [12] Kytälä M, Tallila J, Salonen R, et al. MKS1, encoding a component of the flagellar apparatus basal body proteome, is mutated in Meckel syndrome [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(2):155-157.
- [13] 黄林环,王子莲.介入性产前诊断并发症的发生及处理 [J/CD]. *中华产科急救电子杂志*, 2018, 7(1):30-34.
- [14] 徐艳文.植入前遗传学诊断技术风险环节[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(6):23-26.
- [15] 李丽莉,孙楠,张文新,等.应用二代测序技术进行胚胎植入前遗传学筛查及诊断的基本原理[J]. *中国医学装备*, 2019, 16(7):7-14.

(上接第 1217 页)

- [6] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组.慢性鼻-鼻窦炎诊断和治疗指南(2012年,昆明)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2013, 48(2):92-94.
- [7] 张萍,艾斌.实体瘤免疫治疗疗效评价标准[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2016, 43(11):848-851.
- [8] van Manen L, Groen JV, Putter H, et al. Elevated CEA and CA19-9 serum levels independently predict advanced pancreatic cancer at diagnosis [J]. *Biomarkers*, 2020, 25(2):186-193.
- [9] 凌云志,沈益青. CEA、SCC-Ag、CYFRA21-1 联合检测对非小细胞肺癌的临床诊断价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(2):231-234.
- [10] Fu J, Wang W, Wang Y, et al. The role of squamous cell carcinoma antigen (SCC Ag) in outcome prediction after concurrent chemoradiotherapy and treatment decisions for patients with cervical cancer [J]. *Radiat Oncol*, 2019, 14(1):146.
- [11] 林涛,陈翊,赵明奇,等. EB 病毒系列抗体及 EB 核酸联合检测在儿科中的应用 [J]. *中华生物医学工程杂志*, 2020, 26(3):247-251.
- [12] 陈遂虹,杜进林,谢尚杭,等.应用 EB 病毒 VCA/IgA、EB-NAl/IgA 抗体筛查鼻咽癌的 3 年随访结果分析 [J]. *华南预防医学*, 2016, 42(3):268-271.
- [13] 何流,张雷.鼻咽癌患者血清 EB 病毒 Rta-IgG、VCA-IgA、EA-IgA 抗体与其临床表现的关系 [J]. *解放军医药杂志*, 2020, 32(2):44-47.
- [14] 董格,张文先,罗琼,等.局部晚期宫颈癌患者化疗前后血清 VEGF、CEA 和 SCC-Ag 水平变化及其与化疗敏感性的相关性分析 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(3):407-411.
- [15] 李中华.血清 miR-93 联合 EB 病毒相关免疫球蛋白对鼻咽癌患者调强放疗预后评估价值 [J]. *临床军医杂志*, 2019, 47(3):308-310.

· 论 著 ·

## 乳腺癌手术切除患者放疗前后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 变化及与预后的关系

冯瑞刚\* 张帆 王鹏 王毅 李凯敏

**[摘要]** **目的** 探究乳腺癌手术切除患者放疗前后外周血单个核细胞(PBMC)中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 变化及与预后的关系。**方法** 选取河北省保定市第二中心医院普外科2017年3月至2018年3月84例乳腺癌患者作为观察组,均于乳腺癌改良根治术后行放疗治疗,另选择同期健康体检者42例作为对照组。观察组于放疗前、放疗2个疗程后取肝素抗凝血5 mL,对照组直接采集肝素抗凝血5 mL,制备PMBC,检测PMBC中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量,分析其与病理特征的关系,并进行生存分析。**结果** 观察组放疗后PBMC中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量均降低,且放疗前、放疗后均高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );放疗前、放疗后PBMC中 *BIRC5*、*RunX2* 表达量均呈正相关( $P<0.05$ );放疗前后PBMC中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量与临床分期、分化程度、淋巴结转移显著相关( $P<0.05$ );随访3年,失访3例,81例乳腺癌患者3年生存率为79.01%(64/81);放疗前、放疗后PBMC中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 高表达患者3年生存率低于低表达患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 乳腺癌改良根治术后放疗患者放疗后外周血PBMC中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 表达降低,与患者预后相关,有望成为预测乳腺癌预后生物标志物。

**[关键词]** 乳腺癌;放疗;凋亡抑制因子5;核心结合因子;动态变化

### Changes of PBMC and *BIRC5* and *RunX2* mRNA in patients with breast cancer before and after radiotherapy and their relationship with prognosis

FENG Ruigang\*, ZHANG Fan, WANG Peng, WANG Yi, LI Kaimin

(Department of General Surgery, Baoding Second Central Hospital of Hebei, Baoding, Hebei, China, 072750)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the changes of *BIRC5* and *RunX2* mRNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) before and after radiotherapy for patients with breast cancer and their relationship with prognosis. **Methods** 84 cases of breast cancer from March 2017 to March 2018 in our hospital were selected as the observation group. All patients were treated with radiotherapy after modified radical mastectomy. Another 42 healthy persons were selected as control group. The observation group took 5 ml heparin anticoagulant before and after 2 courses of radiotherapy, and the control group directly collected 5 ml heparin anticoagulant to prepare PMBC. The relative expression levels of *BIRC5* and *Runx2* mRNA in PMBC were detected, and the relationship between them and pathological characteristics was analyzed. **Results** the relative expression levels of *BIRC5* and *Runx2* mRNA in PBMC of the observation group were decreased after radiotherapy, and were higher than those of the control group before and after radiotherapy ( $P<0.05$ ); The expression levels of *BIRC5* and *Runx2* in PBMC were positively correlated before and after radiotherapy ( $P<0.05$ ); The relative expression of *BIRC5* and *Runx2* mRNA in PBMC before and after radiotherapy was significantly correlated with clinical stage, differentiation degree and lymph node metastasis ( $P<0.05$ ); Follow up for 3 years, missing 3 cases, 81 cases of breast cancer patients 3 year survival rate was 79.01% (64/81); The 3-year survival rate of patients with high expression of *BIRC5* and *Runx2* mRNA in PBMC before and after radiotherapy was

基金项目:保定市科技局项目(1951ZF033)

作者单位:河北省保定市第二中心医院普外科,河北,保定072750

\*通信作者:冯瑞刚, E-mail: fengruigang2021@163.com

lower than that of patients with low expression of *BIRC5* and *Runx2* mRNA ( $P<0.05$ ).

**[KEY WORDS]** Breast cancer; Radiotherapy; Baculoviral IAP repeatcontaining 5; Core binding factor- $\alpha$ ; Dynamic changes

乳腺癌是女性最常见恶性肿瘤之一,居癌症发生率和死亡率首位<sup>[1]</sup>。目前,乳腺癌改良根治术在我国仍乳腺癌主要手术方式,术后放疗可降低局部复发率,提高总生存率<sup>[2]</sup>。而研究放疗疗效及预后的预测因子,对乳腺癌个体化治疗开展具有重要临床意义。细胞凋亡抑制因子5(Baculoviral IAP repeatcontaining 5, *BIRC5*)被认为是迄今发现最强凋亡抑制因子<sup>[3]</sup>。越来越多研究证实,*BIRC5*在多种肿瘤组织中高表达,且与肿瘤转移、复发、预后密切相关<sup>[4-5]</sup>。核心结合因子(Core binding factor- $\alpha$ , *RunX2*)是参与骨髓间质干细胞成骨分化和骨发育的重要转录因子,与多种肿瘤生物行为有关<sup>[6]</sup>。乳腺是*RunX2*表达量最高的组织之一,研究报道,乳腺癌组织中*RunX2*表达上调,且与临床预后相关<sup>[7]</sup>。基于此,本研究尝试分析乳腺癌手术切除患者放疗前后外周血单个核细胞(Peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中*BIRC5*、*RunX2* mRNA变化及与预后的关系。报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取河北省保定市第二中心医院普外科2017年3月至2018年3月84例乳腺癌患者作为观察组,另选择同期健康体检者42例作为对照组。纳入标准:观察组均经组织病理<sup>[8]</sup>,术前未行放疗和化疗;术前检查未见远处转移;研究对象均知情同意。排除标准:合并其他部位肿瘤;严重感染及免疫系统、血液系统疾病;肝、肾等器官严重病变;妊娠或哺乳期患者。观察组年龄平均(55.26 $\pm$ 7.65)岁,体质指数(BMI)平均(22.53 $\pm$ 1.85)kg/m<sup>2</sup>,临床分期:II期33例,III期51例,分化程度:中高分化46例,低分化、未分化38例;对照组年龄平均(56.41 $\pm$ 8.26)岁,BMI平均(22.71 $\pm$ 2.04)kg/m<sup>2</sup>。两组年龄、BMI均衡可比( $P>0.05$ ),本研究经医院伦理委员会审批通过。

### 1.2 方法

观察组均于乳腺癌改良根治术后进行放疗,方法:于胸壁和锁骨上区分别采用6 MV、9 MV电子线照射,经16次照射后,于胸壁处加以0.5组织等效膜,2 Gy/次,5次/周,总量直至50 Gy。以21 d

为1个疗程,共放疗2个疗程。观察组于放疗前、放疗2个疗程后取肝素抗凝血5 mL,对照组直接采集肝素抗凝血5 mL,淋巴细胞分离液分离PMBC,使用Trizol试剂提取细胞内总RNA,以RNA为模板行逆转录,然后进行荧光定量PCR扩增,采用2<sup>- $\Delta\Delta$ ct</sup>法计算*BIRC5*、*RunX2* mRNA相对表达量。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 描述,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )描述,两组间比较用 $t$ 检验,多组间用 $F$ 检验;影响因素采用Logistic回归分析;采用Pearson分析相关性;Kaplan-Meier生存曲线分析生存率,采用Log-Rank检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 观察组病理图

女,57岁,经组织病理检查证实为乳腺癌,临床分期为III期,组织病理表现见图1。

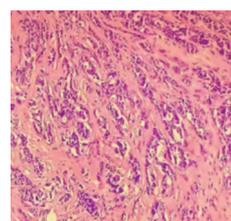


图1 组织病理学特征(HE,  $\times 200$ )

Figure 1 Histopathological characteristics (HE,  $\times 200$ )

### 2.2 观察组放疗前后与对照组PBMC中*BIRC5*、*RunX2*相对表达量比较

观察组放疗前、后PBMC中*BIRC5*、*RunX2* mRNA相对表达量高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组放疗后PBMC中*BIRC5*、*RunX2* mRNA相对表达量低于放疗前,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

### 2.3 放疗前后PBMC中*BIRC5*、*RunX2*表达量相关性

放疗前、放疗后PBMC中*BIRC5*、*RunX2*表达量均呈正相关( $r=0.647, 0.558, P<0.05$ )。

### 2.4 放疗前后PBMC中*BIRC5*、*RunX2*表达量与临床病理特征的关系

放疗前后PBMC中*BIRC5*、*RunX2* mRNA相对

表1 观察组放疗前后与对照组 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 1 Comparison of the relative expression of *BIRC5* and *RunX2* mRNA in the PBMC of the observation group before and after radiotherapy and the control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	<i>BIRC5</i> mRNA	<i>RunX2</i> mRNA	
观察组	放疗前	84	4.06±0.67 <sup>b</sup>	0.84±0.10 <sup>b</sup>
	放疗后	84	2.13±0.49 <sup>a</sup>	0.63±0.07 <sup>a</sup>
对照组	42	1.70±0.22 <sup>ab</sup>	0.40±0.03 <sup>ab</sup>	
<i>F</i> 值		388.019	456.954	
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	

注:与观察组放疗前比较,<sup>a</sup>*P*<0.05;与观察组放疗后比较,<sup>b</sup>*P*<0.05。

表达量与年龄、原发肿瘤直径无明显相关性 (*P*>0.05);放疗前后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量与临床分期、分化程度、淋巴结转移显著相关 (*P*<0.05)。见表 2、3。

表2 不同临床病理特征患者放疗前后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Comparison of the relative expression of *BIRC5* and *RunX2* mRNA in PBMC of patients with different clinicopathological characteristics before and after radiotherapy ( $\bar{x} \pm s$ )

临床病理特征	<i>n</i>	<i>BIRC5</i> mRNA		<i>RunX2</i> mRNA	
		放疗前	放疗后	放疗前	放疗后
年龄					
<60 岁	35	4.10±0.73	2.11±0.39	0.82±0.09	0.61±0.07
≥60 岁	49	4.03±0.68	2.14±0.36	0.85±0.11	0.63±0.09
<i>t</i> 值		0.451	0.364	1.327	1.072
<i>P</i> 值		0.653	0.717	0.188	0.287
原发肿瘤直径					
<5 cm	24	4.04±0.69	2.10±0.28	0.83±0.08	0.61±0.09
≥5 cm	60	4.07±0.65	2.14±0.35	0.84±0.10	0.64±0.12
<i>t</i> 值		0.188	0.499	0.437	1.105
<i>P</i> 值		0.852	0.619	0.664	0.272
临床分期					
II 期	33	3.52±0.40	1.66±0.28	0.78±0.08	0.56±0.07
III 期	51	4.41±0.82	2.43±0.62	0.88±0.10	0.68±0.09
<i>t</i> 值		5.796	6.696	4.828	6.489
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
分化程度					
中高分化	46	3.63±0.44	1.74±0.35	0.77±0.06	0.52±0.05
低分化、未分化	38	4.58±0.73	2.60±0.60	0.92±0.09	0.76±0.06
<i>t</i> 值		7.360	8.186	9.119	20.001
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
淋巴结转移					
无	26	3.65±0.39	1.80±0.22	0.80±0.05	0.57±0.04
有	58	4.24±0.57	2.28±0.43	0.86±0.06	0.66±0.07
<i>t</i> 值		4.791	5.373	4.449	6.111
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

## 2.5 3 年生存率

随访 3 年,失访 3 例,81 例乳腺癌患者 3 年生存率为 79.01%(64/81)。

表3 放疗前后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量与临床病理特征的关系Table 3 The relationship between the relative expression of *BIRC5* and *RunX2* mRNA in PBMC before and after radiotherapy and clinicopathological characteristics

项目		<i>BIRC5</i> mRNA		<i>RunX2</i> mRNA	
		放疗前	放疗后	放疗前	放疗后
临床分期	<i>r</i> 值	0.759	0.761	0.713	0.774
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
分化程度	<i>r</i> 值	-0.683	-0.705	-0.625	-0.661
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
淋巴结转移	<i>r</i> 值	0.722	0.699	0.820	0.769
	<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

## 2.6 放疗前后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量患者 3 年生存率

不同生存分析根据观察组所有患者放疗前、放疗后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 相对表达量平均值为界,分为低表达与高表达。KM 曲线分析,放疗前、放疗后 PBMC 中 *BIRC5*、*RunX2* mRNA 高表达患者 3 年生存率低于低表达患者,差异有统计学意义 (*P*<0.05)。见图 2。

## 3 讨论

如何早期预测疗效及预后,进行个体化治疗是目前临床进行肿瘤治疗的热点。乳腺癌术后放疗的地位在不断提高,而对于放疗疗效及预后的监测,形态影像学无法进行早期预测评估。因此,探索可预测、监测及评估乳腺癌术后放疗疗效及预后的生物学指标具有重要临床价值。

*RunX2* 属 runt 域基因家族,是特异性成骨分化转录因子,参与骨髓间质干细胞成骨分化,已被证明与成骨、骨肉瘤发生发展密切相关,通过溶骨、肿瘤血管新生等途径促进癌细胞转移<sup>[9]</sup>。乳腺是 *RunX2* 表达量最高的组织之一,近年研究显示,*RunX2* 在乳腺癌发生、发展中也发挥重要作用<sup>[10]</sup>。曾勇等<sup>[11]</sup>通过免疫组化检测乳腺癌和癌旁组织中 *RunX2* 表达情况,发现,乳腺癌组织中 *RunX2* 高度表达率 62.50% 明显高于癌旁组织 25.00%。雌激素受体(ER)是乳腺细胞生长、分化的重要调节因子,其表达量是乳腺癌疗效和预后判断的重要指标。胡滨等<sup>[12]</sup>研究发现,乳腺癌组织 *RunX* 表达与 ER 表达相关,进一步显示了 *RunX2* 对乳腺癌发生发展的重要作用。*BIRC5* 是凋亡抑制蛋白(IAP)家族中结构最简单、抗凋亡作用最强的蛋白分子。*BIRC5* 基因仅含一个杆状病毒 IAP 重复序列,其生物学功能

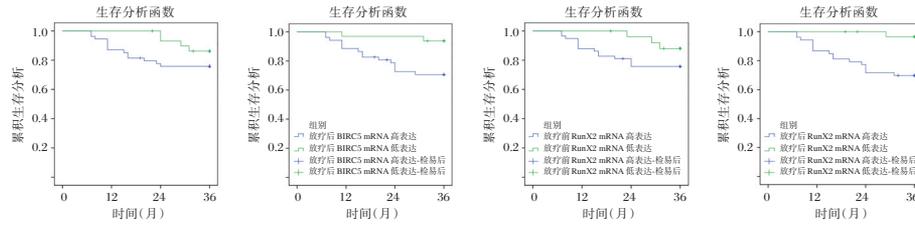


图2 放疗前后PBMC中BIRC5、RunX2 mRNA相对表达量患者3年生存率

Figure 2 3-year survival rate of patients with relative expression of BIRC5 and RunX2 mRNA in PBMC before and after radiotherapy

复杂,如促进细胞转化、抑制细胞凋亡、参与细胞有丝分裂、诱导耐药性产生等。BIRC5抑制细胞凋亡的机制可能为,①直接抑制凋亡终末效应酶Caspase-3和Caspase-7活性,阻断细胞凋亡过程;②与周期蛋白激酶CDK4、CDK2相互作用,使凋亡信号转导通路被阻断<sup>[13]</sup>。同时,BIRC5通过细胞周期依赖性表达,可抑制G<sub>2</sub>/M期细胞凋亡<sup>[14]</sup>。研究证实,肝癌、前列腺癌、乳腺等组织中BIRC5表达上调,且与临床分期、转移、复发、病理分级及多药耐药呈明显相关<sup>[15-16]</sup>。Ghaffari等<sup>[17]</sup>研究显示,乳腺癌患者BIRC5基因拷贝数显著增加,可能参与肿瘤发生。张建武等<sup>[18]</sup>通过分析癌症基因组图谱数据库发现,多种乳腺癌存在BIRC5基因高表达,且BIRC5基因表达与患者预后密切相关,BIRC5敲低后,乳腺癌细胞生长受抑。本研究数据提示提示BIRC5、RunX2异常表达可能与乳腺癌发生发展密切相关。进一步分析表明BIRC5、RunX2可作为乳腺癌诊治及预后评价的分子标记物,在乳腺癌患者采用针对BIRC5、RunX2靶点的干预可能是治疗乳腺癌的策略之一。

本研究初次分析PBMC中BIRC5、RunX2在乳腺癌放疗期间的动态变化发现BIRC5、RunX2与乳腺癌患者预后密切相关,有望成为临床上预测乳腺癌预后的有效生物标志物。另外,放疗前、放疗后PBMC中BIRC5、RunX2表达量均呈正相关,推测乳腺癌患者BIRC5、RunX2表达可能存在反馈调节关系,共同影响临床病理特征及预后,但具体通路有待进一步论证。本研究局限性在于作为单中心、小样本分析,可能造成数据偏移,需进一步采取多中心、大规模探究,以获取更可靠的数据支持。

综上所述,乳腺癌改良根治术后放疗患者放疗后外周血PBMC中BIRC5、RunX2 mRNA表达降低,与患者预后密切相关,可作为乳腺癌放疗后预后重要指标,对乳腺癌个体化治疗开展具有重要临床意义。

### 参考文献

- [1] 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.
- [2] 孙少甫,潘亚军,栾春. 乳腺癌中lncRNA ITGA9-AS1表达与病理特征及新辅助化疗疗效的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9):1264-1267.
- [3] Dai JB, Zhu B, Lin WJ, et al. Identification of Prognostic Significance of BIRC5 in Breast Cancer Using Integrative Bioinformatics Analysis[J]. Biosci Rep, 2020,40(2):BSR20193678.
- [4] 李新喜,张磊,依地热斯·艾山,等. TLR10和BIRC5基因多态性对甲状腺乳头状癌发病风险的影响[J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(5):878-886.
- [5] Panayotopoulou EG, Müller AK, Börries M, et al. Targeting of apoptotic pathways by SMAC or BH3 mimetics distinctly sensitizes paclitaxel-resistant triple negative breast cancer cells [J]. Oncotarget, 2017, 8(28):45088-45104.
- [6] 张萍,何晓刚,徐晓丹,等. 转录因子Runx2对人乳腺癌MDA-MB-231细胞上皮-间充质转化能力的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(4):577-583.
- [7] 刘壮凯,张瑞山,张鑫丰,等. 小干扰RNA抑制RUNX2对人乳腺癌MCF-7细胞增殖、凋亡与侵袭的影响[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(1):51-53.
- [8] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2019年版)[J]. 中国癌症杂志, 2019, 29(8):609-679.
- [9] Bolf EL, Gillis NE, Barnum MS, et al. The Thyroid Hormone Receptor-RUNX2 Axis: A Novel Tumor Suppressive Pathway in Breast Cancer[J]. Horm Cancer, 2019, 11(6):34-41.
- [10] 陈晨,张丽娜,顾林. Runt相关转录因子2和骨桥蛋白在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 肿瘤, 2019, 39(2):107-115.
- [11] 曾勇,吴元肇,郑克思,等. 乳腺癌组织中核心结合因子基因的表达及其与临床病理特征和预后的关系[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(12):2848-2850.
- [12] 胡滨,范楚苓,徐晓军,等. 乳腺癌组织中RunX2基因的表达水平及临床意义分析[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(9):1356-1359.
- [13] 周晓君,邱海波,庄玮,等. 胃肠间质瘤患者BIRC5基因多态性与伊马替尼疗效及骨髓抑制的相关性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(23):2988-2991.

(下转第1230页)

· 论 著 ·

## SETDB1在炎症性肠病患者肠黏膜组织中的表达及临床意义

王慧玲\* 赵静 李刚

**【摘要】目的** 探讨炎症性肠病(IBD)患者肠黏膜组织中组蛋白甲基化酶1(SETDB1)的表达及其临床意义。**方法** 采用Q-PCR, Western Blotting及免疫组化的方法检测2016年9月至2020年9月河南省人民医院收治的100例IBD患者,其中50例克罗恩病(CD),50例溃疡性结肠炎(UC)及50例正常对照组肠黏膜组织中SETDB1的表达,并分析其与患者疾病活动度的相关性。**结果** SETDB1的mRNA在CD及UC患者肠黏膜组织标本中的相对表达量低于正常对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ); Western Blotting检测显示,SETDB1的蛋白在CD及UC患者肠黏膜组织标本中的相对表达量低于正常对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ); SETDB1在CD及UC患者肠黏膜组织标本中的相对表达量的IOD评分明显低于正常对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。SETDB1 mRNA表达水平与CD及UC患者疾病活动度CDAI评分及Mayo评分呈负相关关系( $r=-0.573, r=-0.656, P<0.001$ )。**结论** SETDB1可能参与IBD的发生发展。

**【关键词】** 炎症性肠病; 组蛋白甲基转移酶; SETDB1

### Expression and clinical significance of SETDB1 in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease

WANG Huiling\*, ZHAO Jing, LI Gang

(Department of Clinical Laboratory of Henan Provincial People's Hospital, Clinical Laboratory of People's Hospital of Zhengzhou University, and Clinical Laboratory of People's Hospital of Henan University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

**【ABSTRACT】 Objective** To investigate the expression and clinical significance of histone methylase SETDB1 in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease. **Methods** Q-PCR, Western Blot and immunohistochemistry methods were used to detect the expression of SETDB1 in the intestinal mucosal tissues of 100 patients with IBD [50 cases of Crohn's disease (CD), 50 cases of ulcerative colitis (UC)] and 50 normal controls in Henan Provincial People's Hospital from September 2016 to September 2020. The correlation between the expression of SETDB1 and disease activity of the patients was analyzed. **Results** The mRNA expression of SETDB1 in the intestinal mucosal tissue samples of patients with CD and UC were lower than that in the normal control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The western blotting results showed that the protein expression of SETDB1 in the intestinal mucosal tissues of patients with CD and UC were lower than that of the normal control group, with statistical significance ( $P<0.05$ ). The IOD score of SETDB1 in the intestinal mucosal tissues of patients with CD and UC was significantly lower than that of the normal control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The mRNA expression of SETDB1 was negatively correlated with CDAI score and Mayo score of disease activity in patients with CD and UC ( $r=-0.573, r=-0.656, P<0.001$ ). **Conclusion** SETDB1 could be involved in the pathogenesis of IBD.

**【KEY WORDS】** Inflammatory bowel disease; Histone methyltransferase; SETDB1

基金项目:河南省科技攻关计划(182102310597)

作者单位:河南省人民医院检验科/郑州大学人民医院检验科/河南大学人民医院检验科,河南,郑州 450000

\*通信作者:王慧玲, E-mail:58781502@qq.com

炎症性肠病 (Inflammatory bowel disease, IBD), 主要包括克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 及溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC), 是一种消化道的非特异性炎性病变, 该病好发于 15~30 岁的青壮年, 病情迁延反复、难以治愈, 致残率高<sup>[1-2]</sup>, 严重影响了患者的生活质量, 给患者家庭乃至社会带来极大的经济负担, 已成为当今国际消化学界的研究热点和难点之一<sup>[3]</sup>。本研究前期研究显示: 肠黏膜屏障功能障碍可能是 IBD 发病机制中的重要因素之一<sup>[4-5]</sup>。最近有研究发现组蛋白甲基化转移酶 1 (SET domain bifurcated 1, SETDB1) 的缺失与肠道上皮细胞分化, 屏障破坏, 炎症和死亡有关, SETDB1 的缺失会导致内源性逆转录病毒沉默, DNA 损伤和肠上皮细胞死亡<sup>[6]</sup>。另有动物实验证明, 肠道干细胞中 SETDB1 的丢失解除了对内源性逆转录病毒的抑制作用, 不可逆转地破坏了上皮屏障的稳态, SETDB1 降低的小鼠可引起自发性终末回肠炎和结肠炎<sup>[7]</sup>。上述研究共同表明: SETDB1 可能在肠道上皮稳态中起着至关重要的作用。但 SETDB1 在 IBD 患者中的具体表达及其与 IBD 患者疾病活动度的关系, 目前尚未见报道。本研究通过检测 SETDB1 的 mRNA 及蛋白在 IBD 患者肠黏膜组织中的表达情况, 分析其与 IBD 患者疾病活动度的相关性, 为 IBD 的诊疗及 IBD 发病机制的研究提供新的思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 IBD 患者标本的收集

收集河南省人民医院 2016 年 9 月至 2020 年 9 月期间收治的门诊及住院病例, 分 UC 组、CD 组和对照组 (各 50 例), 并收集患者的相关炎症指标。从 IBD 病变活动部位取材, 以健康体检者的肠镜活检组织或单纯结肠腺瘤患者肉眼和组织学表现均正常的结肠区域标本为对照, 非炎症部位肠黏膜 (对照和 IBD 患者) 和炎症部位肠黏膜 (IBD 患者) 各取 4 块组织; 分别用于 RNA, 蛋白质提取及石蜡包块。本研究参与的患者均知情同意并签署知情同意书, 本实验已通过院伦理委员会的审批。CD 和 UC 的诊断参考之前的标准。CD 和 UC 疾病活动度分别以 CD 活动指数 CDAI 评分及 UC 活动指数 Mayo 评分作为参考<sup>[8]</sup>。纳入标准: ①炎症性肠病的诊断标准参考《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2012 年广州)》中的标准<sup>[9]</sup>; ②经肠道镜

检查、病理学活检证实; 排除标准: ①恶性肿瘤; ②肠道梗阻、穿孔; ③严重出血、凝血功能障碍; ④自身免疫性疾病; ⑤其他肠道疾病。

### 1.2 主要试剂及仪器

RNA 提取试剂盒 (DP440, 天根生化, 北京); SETDB1 抗体 (CST, 美国), qRT-PCR 仪 (ABI7500, 美国)。SETDB1 及内参引物均由上海生工生物公司合成; SETDB1 上游引物: 5'-TCCTGT-GAAGCCTGAAGGAC-3', 下游引物: 5'-TTAGTT-GATGGCAGGCACAC-3'; 内参 GAPDH 上游引物: 5'-AAAATCAAGTGGGGCGATGC-3', 下游引物: 5'-GATGACCCTTTTGGCTCCCC-3'。

### 1.3 Q-PCR 检测

按照试剂盒说明书提取总的 RNA, 并检测其浓度和纯度, RNA 纯度  $A_{260}/A_{280}$  在 1.8~2.1 之间视为合格。逆转录条件: 50℃, 30 min; 94℃, 2 min; 循环次数 1; RT-PCR 反应: 94℃, 15 s; 60℃, 30 s; 68℃, 3 min; 循环次数 40。每个样本重复 3 个副孔。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 SETDB1 的相对表达量。DAB 显色; 苏木素复染, 梯度酒精脱水; 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察。Image-Pro Plus 6 软件分析每张照片中肠上皮细胞 SETDB1 的平均光密度值, 取 5 张照片的平均值作为该病例肠上皮细胞中 SETDB1 的平均光密度值。

### 1.4 Western Blotting

提取组织总蛋白和蛋白浓度的测定。按照 BCA 蛋白测定试剂盒说明进行浓度检测, 分装后保存于 -80℃ 冰箱备用。按照所测蛋白浓度, 计算含 20  $\mu\text{g}$  蛋白的体积即为上样量, 100℃ 加热 3~5 min 后, 煮完后即可上样; 80 V 等压电泳 30 min 后转为 120 V 继续电泳 1~2 h 至溴酚兰到达分离胶的底部; 电泳结束后, 小心取出胶放入电转缓冲液中平衡 20 min; TBST 洗 3 次  $\times$  5 min; 加入二抗 (1: 1 000 缓冲封闭液稀释), 摇床上室温振荡孵育 1.5 h; TBST 洗 3 次  $\times$  5 min; 化学发光、显影。结果分析: 胶片用 EPSON 扫描仪扫描, FluorchemTM 8900 图像分析软件定量分析靶蛋白及内参照 GAPDH 条带的含量, 求其比值进行统计分析。

### 1.6 统计学分析

SPSS 16.0 软件进行统计学分析; 计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 组间比较采用独立样本  $t$  检验; 用非参数相关的 Spearman 秩相关系数 ( $r$ ) 评估两个变量之间的相关性;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SETDB1 的 mRNA 及蛋白的表达结果

SETDB1 的 mRNA 在 CD 及 UC 患者肠黏膜组织标本中的相对表达量分别为： $(2.54 \pm 1.33)$ 、 $(2.88 \pm 1.25)$ ，均低于正常对照组  $(3.74 \pm 1.88)$ ，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；SETDB1 的蛋白在 CD 及 UC 患者肠黏膜组织标本中的相对表达量分别为： $(0.37 \pm 0.03)$ 、 $(0.37 \pm 0.05)$ ，均低于正常对照组  $(0.69 \pm 0.08)$ ，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 1。

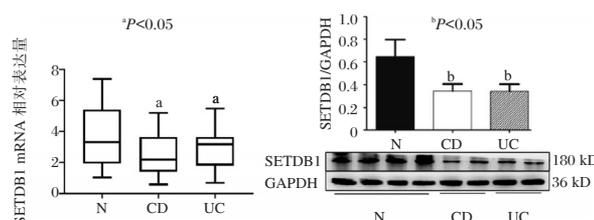
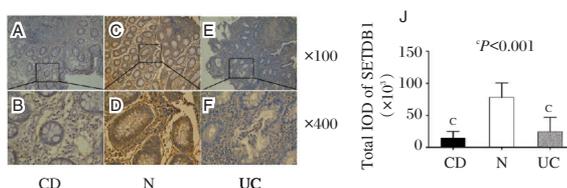


图 1 SETDB1 mRNA 及蛋白在 IBD 患者及正常对照组表达  
Figure 1 mRNA and protein Expression of SETDB1 in patients with IBD and the normal controls

### 2.2 SETDB1 的免疫组化表达结果

SETDB1 在 CD 及 UC 患者肠黏膜组织标本中的相对表达量的 IOD 评分分别为： $(18 \pm 5.1) \times 10^3$ 、 $(37.7 \pm 12.5) \times 10^3$ ，均明显低于正常对照组  $(85.8 \pm 11.2) \times 10^3$ ，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 2。



注：免疫组化显色 CD 组：A ( $\times 100$ )/B ( $\times 400$ )；对照组：C ( $\times 100$ )/D ( $\times 400$ )；UC 组：E ( $\times 100$ )/F ( $\times 400$ )；J，平均光密度/IOD 分析。

图 2 SETDB1 在 IBD 患者及正常对照组的表达比较  
Figure 2 Comparison of the expression of SETDB1 in IBD patients and the normal controls

### 2.3 SETDB1 的表达与 IBD 患者疾病活动度的相关性分析

CD 及 UC 患者肠黏膜组织中 SETDB1 的表达与其疾病活动度评估指标 CDAI 及 Mayo 评分具有一定的相关性。见图 3。

## 3 讨论

IBD 是一种肠道慢性炎症性疾病，其发病机制尚不清楚。多数研究认为，其发病原因与肠道自身

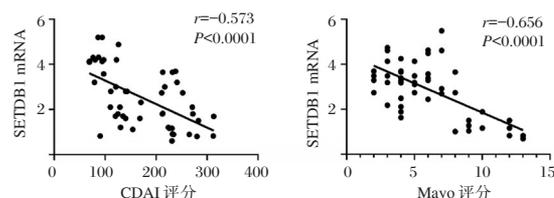


图 3 SETDB1 的表达与 IBD 患者疾病活动度的相关性分析  
Figure 3 Correlation analysis between the expression of SETDB1 and disease activity in patients with IBD

免疫系统、感染因素、环境因素、遗传因素等均有一定的相关性<sup>[10-11]</sup>。其中，免疫失衡及肠道黏膜屏障功能障碍是 IBD 发病的核心环节。因此，维持机体的免疫平衡<sup>[12]</sup>及肠道黏膜的屏障功能完整<sup>[13]</sup>是 IBD 治疗的关键所在。流行病学研究显示：IBD 的发病率在西方国家逐渐趋于稳定，但是在发展中国家仍呈逐年增高的趋势<sup>[14]</sup>，已成为消化专业研究的热点和难点之一<sup>[15]</sup>。因此，进一步阐明研究 IBD 发病相关机制，是一项十分重要且亟待解决的任务，具有重要的临床价值及意义。

SETDB1，也称为 ESET 或 KMT1E，是一种含有 SET 结构域的组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (HMT)，属于 Suvar3-9 家族，可以通过三甲基化 H3K9 调控基因的转录过程。SETDB1 蛋白早期发现是 Huntington 病治疗的靶点<sup>[16]</sup>。近年来的研究发现，SETDB1 蛋白的异常表达与多种肿瘤的发生发展存在着十分密切的关系。胰腺导管腺癌中，SETDB1 通过调节 p53 的表达来抑制细胞凋亡<sup>[17]</sup>；SETDB1 可通过驱动结直肠癌细胞从 G0/G1 期进入 S 期从而促进癌细胞的增殖<sup>[18]</sup>；在非小细胞癌中，超氧化物歧化酶 1 (SOD1) 通过 miR-409-3p/SOD1/SETDB1 表观遗传调控前馈环促进癌细胞的增殖和转移<sup>[19]</sup>。SETDB1 在 IBD 发病中的作用目前研究较少，仅有个别研究显示：小鼠肠道上皮细胞 SETDB1 的缺失与肠道上皮细胞分化，屏障破坏，炎症和死亡有关，SETDB1 在维持肠上皮屏障稳态中可能发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。

本研究提示 SETDB1 可能在 IBD 的发病中扮演着重要角色，为 IBD 发病机制的相关研究提供了新的方向和靶点。但 SETDB1 在 IBD 发病中的具体作用机制尚需进一步的研究。中山大学附属郭建平教授团队研究发现 SETDB1 介导的 AKT 的甲基化与 PI3K 介导的 AKT 的磷酸化相互作用，SETDB1 与 PI3K 协同调控 AKT 的活化<sup>[20]</sup>。mTORC1 是 PI3K/AKT 信号通路下游的主要靶基

因,且mTOR抑制剂他克莫司在UC诱导缓解和维持治疗方面均具有显著的治疗效果<sup>[21]</sup>。上述研究提示,SETDB1可能通过PI3K/AKT-mTOR通路在IBD的发生发展中发挥着重要作用,但具体作用机制仍需进一步探究。

### 参考文献

- [1] Zhao SS, Robertson S, Reich T, et al. Prevalence and impact of comorbidities in axial spondyloarthritis: systematic review and meta-analysis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59(Supplement\_4): iv47-47iv57.
- [2] 王慧玲,赵静,李刚. 炎症性肠病患者脊柱关节炎的表现特点[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(1): 103-106.
- [3] Pizarro TT, Stappenbeck TS, Rieder F, et al. Challenges in IBD Research: Preclinical Human IBD Mechanisms [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25(Suppl 2): S5-S12.
- [4] Wang H, Chao K, Ng SC, et al. Pro-inflammatory miR-223 mediates the cross-talk between the IL23 pathway and the intestinal barrier in inflammatory bowel disease [J]. *Genome Biol*, 2016, 17: 58.
- [5] Li L, Huang S, Wang H, et al. Cytokine IL9 Triggers the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease Through the miR21-CLDN8 Pathway [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2018, 24(10): 2211-2223.
- [6] Južnić L, Peucker K, Strigli A, et al. SETDB1 is required for intestinal epithelial differentiation and the prevention of intestinal inflammation [J]. *Gut*, 2021, 70(3): 485-498.
- [7] Wang R, Li H, Wu J, et al. Gut stem cell necroptosis by genome instability triggers bowel inflammation [J]. *Nature*, 2020, 580(7803): 386-390.
- [8] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州) [J]. *胃肠病学*, 2012, 51(12): 763-781. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2012.10.024
- [9] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年,广州) [J]. *中华消化杂志*, 2012, 32(12): 796-813.
- [10] Mentella MC, Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, et al. Nutrition, IBD and Gut Microbiota: A Review [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 944.
- [11] Ananthakrishnan AN, Bernstein CN, Iliopoulos D, et al. Environmental triggers in IBD: a review of progress and evidence [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(1): 39-49.
- [12] Parackova Z, Milota T, Vrabcova P, et al. Novel XIAP mutation causing enhanced spontaneous apoptosis and disturbed NOD2 signalling in a patient with atypical adult-onset Crohn's disease [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(6): 430.
- [13] Mortensen JH, Lindholm M, Langholm LL, et al. The intestinal tissue homeostasis - the role of extracellular matrix remodeling in inflammatory bowel disease [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 13(10): 977-993.
- [14] 杨志,王玲,孙子发,等. 婴儿型炎症性肠病1例并文献分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(8): 1112-1114+1128.
- [15] Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. *Lancet*, 2018, 390(10114): 2769-2778.
- [16] Ryu H, Lee J, Hagerty SW, et al. ESET/SETDB1 gene expression and histone H3 (K9) trimethylation in Huntington's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(50): 19176-19181.
- [17] Ogawa S, Fukuda A, Matsumoto Y, et al. SETDB1 Inhibits p53-Mediated Apoptosis and Is Required for Formation of Pancreatic Ductal Adenocarcinomas in Mice [J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(2): 682-696.e13.
- [18] Yu L, Ye F, Li YY, et al. Histone methyltransferase SETDB1 promotes colorectal cancer proliferation through the STAT1-CCND1/CDK6 axis [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(5): 678-688.
- [19] Liu S, Li B, Xu J, et al. SOD1 Promotes Cell Proliferation and Metastasis in Non-small Cell Lung Cancer via an miR-409-3p/SOD1/SETDB1 Epigenetic Regulatory Feedforward Loop [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 213.
- [20] Guo J, Dai X, Laurent B, et al. AKT methylation by SETDB1 promotes AKT kinase activity and oncogenic functions [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(2): 226-237.
- [21] Wu B, Tong J, Ran Z. Tacrolimus Therapy in Steroid-Refractory Ulcerative Colitis: A Review [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2020, 26(1): 24-32.

(上接第1226页)

- [14] 殷卫兵,杨芳,郭建军,等. 长链非编码RNA MEF2C-AS1通过下调miR-3646的表达抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭的功能机制研究 [J]. *中华生物医学工程杂志*, 2019, 25(6): 678-684.
- [15] 孟令峰,田子健,刘晓东,等. 基于生物信息学分析法探讨BIRC5(Survivin)在肾透明细胞癌中的表达及其与预后的关系 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2020, 25(11): 1019-1024.
- [16] 任林,郭美,魏昆,等. BIRC5基因rs9904341多态性与乳腺癌易感性的关联研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(14): 1306-1310.
- [17] Ghaffari K, Hashemi M, Ebrahimi E, et al. BIRC5 Genomic Copy Number Variation in Early-Onset Breast Cancer [J]. *IranBiomed J*, 2016, 20(4): 241-245.
- [18] 张建树,郭爽,唐鹏,等. 凋亡抑制因子5的表达在乳腺癌预后中的意义 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2019, 40(4): 633-639.

## 血清 PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉 S/D 值预测 FGR 的临床价值

谢宁<sup>1</sup> 李红岩<sup>2</sup> 李丽<sup>1\*</sup>

**[摘要]** 目的 分析血清妊娠相关蛋白 A(PAPP-A)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、妊娠晚期脐动脉收缩期峰值流速/舒张末期流速(S/D)值预测胎儿宫内生长受限(FGR)的临床价值。方法 选取2019年10月至2020年10月本院收治的132例妊娠晚期孕妇,根据检查情况,将37例检查出FGR的孕妇作为生长受限组,将95例正常孕妇作为对照组。比较两组血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值差异,采用Logistic回归分析影响FGR的相关因素,并予以ROC分析血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值对FGR的预测价值。结果 生长受限组血清PAPP-A、MMP-9水平明显低于对照组,S/D值高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。Logistic分析结果显示,有低蛋白血症、存在羊水过少、存在胎盘异常、有孕期感染、血清PAPP-A、MMP-9、S/D值表达异常为影响FGR的独立危险因素( $P<0.05$ )。ROC曲线结果显示,血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值的ROC曲线下面积分别为0.780、0.688、0.784,各指标联合的ROC曲线下面积为0.938,以联合检测的预测价值最佳( $P<0.05$ )。结论 血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值在FGR中呈异常表达状态,监测上述水平可提升对FGR的预测价值,以提高新生儿质量,降低死亡率。

**[关键词]** FGR; PAPP-A; MMP-9; 妊娠晚期脐动脉S/D值

### The clinical value of serum PAPP-A, MMP-9 and umbilical artery S/D value in the third trimester of pregnancy in predicting FGR

XIE Ning<sup>1</sup>, LI Hongyan<sup>2</sup>, LI Li<sup>1\*</sup>

(1. Department of Obstetrics, The Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining, Shandong, China, 272100; 2. Department of Obstetrics, The People's Hospital of Zoucheng City, Zoucheng, Shandong, China, 273500)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the clinical value of serum pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A), matrix metalloproteinases-9 (MMP-9), the peak systolic velocity/end diastolic velocity (S/D) value of the umbilical artery in the third trimester of pregnancy in predicting fetal growth restriction (FGR). **Methods** The 132 pregnant women in the third trimester of pregnancy admitted to this hospital from October 2019 to October 2020 were selected. According to the examination, 37 pregnant women with FGR were selected as the growth restriction group, and 95 normal pregnant women were selected as the control group. The differences in serum PAPP-A, MMP-9, and S/D values of umbilical artery in the third trimester of pregnancy were compared between the two groups. Logistic regression was used to analyze the factors affecting FGR. The ROC was used to analyze the predictive value of serum PAPP-A, MMP-9, and S/D values of umbilical artery in the third trimester of pregnancy for FGR. **Results** The levels of serum PAPP-A and MMP-9 in the growth restriction group were significantly lower than those in the control group, and the S/D value was higher than that in the control group. The differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The logistic analysis showed

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2019WS0153)

作者单位:1. 济宁医学院附属医院产科,山东,济宁 272100

2. 山东省邹城市人民医院产科,山东,邹城 273500

\*通信作者:李丽, E-mail: 191121591@qq.com

that hypoproteinemia, oligohydramnios, placental abnormalities, pregnancy infections, and abnormal expression of serum PAPP-A, MMP-9, and S/D values were independent risk factors affecting FGR ( $P<0.05$ ). The ROC curve results showed that the areas under the ROC curve of serum PAPP-A, MMP-9, and S/D of umbilical artery in the third trimester of pregnancy were 0.780, 0.688, and 0.784, respectively. The area under the ROC curve of the combined indicators was 0.938, and the combined detection had the best predictive value ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Serum PAPP-A, MMP-9, and S/D of umbilical artery in the third trimester of pregnancy are abnormally expressed in patients with FGR. Monitoring the levels of those indicators can improve the predictive value for FGR and the quality of newborns and reduce mortality.

[KEY WORDS] FGR; PAPP-A; MMP-9; S/D value of umbilical artery in late pregnancy

胎儿宫内生长受限 (fetal growth restriction, FGR) 作为产科常见的并发症, FGR 是导致围生儿死亡的重要原因<sup>[1]</sup>。因此, 早期进行诊治干预对改善胎儿预后具有重要意义<sup>[2]</sup>。妊娠相关蛋白 A (pregnancy-associated plasma protein A, PAPP-A) 通过与合体滋养层细胞和蜕膜细胞合成, 对调节胎盘体积和功能及维持胎盘生长发育具有重要作用<sup>[3]</sup>。基质金属蛋白酶-9 (Matrix metalloproteinases-9, MMP-9) 系滋养细胞中唯一有效水解酶, 可酶解母体子宫内膜, 有助于滋养细胞植入, 保证胎儿生长对血流增加的需要<sup>[4]</sup>。此外, 大量研究显示, 妊娠晚期脐动脉收缩期峰值流速/舒张末期流速 (peak systolic velocity/end diastolic velocity, S/D) 值对反映胎盘血流灌注情况具有较高的敏感性, 可通过检测该水平评估胎儿宫内情况<sup>[5]</sup>。本研究就血清 PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉 S/D 值对预测 FGR 的临床价值进行分析。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2019 年 10 月至 2020 年 10 月本院收治的 132 例妊娠晚期孕妇。纳入标准: ①孕妇孕周均 > 37 周, 均为单胎妊娠; ②无家族遗传史及妊娠并发症; ③符合第九版妇产科学标准<sup>[6]</sup>; ④临床资料完整无缺失。排除标准: ①既往曾服用激素药物; ②予以胎儿健康评估发现存在先天畸形、死亡等情况者; ③合并痴呆、精神疾或依从性差者。根据检查情况, 将 37 例检查出 FGR 的孕妇作为生长受限组, 将 95 例正常孕妇作为对照组。胎儿生长受限组平均年龄 ( $30.26\pm 3.81$ ) 岁, 平均孕周 ( $36.15\pm 3.41$ ) 周, 体质量 ( $65.33\pm 13.84$ ) kg; 对照组平均年龄 ( $30.31\pm 3.81$ ) 岁, 平均孕周 ( $36.22\pm 3.36$ ) 周, 体质量 ( $65.07\pm 13.91$ ) kg。两组一般资料比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会批准通过, 所有受试孕妇均签署知情同意书。

### 1.2 检测方法

血清 PAPP-A、MMP-9 检测: 抽取所有对象空腹静脉血 5 mL, 经低速离心 (2 000 r/min, 20 min) 后取上清置于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存待测。按照厂家提供的实验流程用双抗体夹心酶联免疫吸附实验法检测血清中 PAPP-A、MMP-9 水平。离心机购于美国贝克曼库尔特 (型号: Microfuge 20R), ELISA 试剂盒购自上海蓝基生物有限公司。操作均严格按照说明书进行。

妊娠晚期脐动脉 S/D 值<sup>[7]</sup>: 以 VOLUSON E8 型彩色多普勒超声仪, 3.0 MHz 探头频率。孕妇取平卧位, 常规超声检测后行脐血流频谱检测。找到胎盘确定脐带位置, 在出现脐动脉血流音后观察显示屏中血流波形, 记录 5 个以上收缩期、舒张期末峰值均值, 并输入数据, 通过内置软件测得该指标的平均值, 算出 S/D, 图像及数据储存后脱机分析。

PAPP-A 判定标准<sup>[3]</sup>: PAPP-A  $>1.00$  ng/mL 为正常, PAPP-A  $\leq 1.00$  ng/mL 时为异常。MMP-9 判定标准<sup>[4]</sup>: MMP-9 水平  $>35$  ng/mL 为正常, MMP-9  $\leq 35$  ng/mL 时为异常。S/D 值判定标准<sup>[5]</sup>: S/D 值  $<2$  为正常, S/D 值  $\geq 2$  时为异常。

### 1.3 统计学方法

以 SPSS 22.0 进行分析, 计数资料以  $n(\%)$  表示, 采用  $\chi^2$  检验, 计量资料以  $(\bar{x}\pm s)$  表示, 采用  $t$  检验; 采用 Logistic 回归分析影响胎儿宫内生长受限的危险因素, 采用 ROC 曲线分析血清 PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉 S/D 值对胎儿宫内生长受限的预测价值, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 2 组血清 PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉 S/D 值比较

生长受限组血清 PAPP-A、MMP-9 水平明显低于对照组, S/D 值高于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 1。

表1 2组血清PAPP-A、MMP-9、S/D值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of serum PAPP-A, MMP-9 and S/D value between groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	PAPP-A(ng/mL)	MMP-9(ng/mL)	S/D值
生长受限组	37	0.74±0.12	15.42±2.37	2.99±1.02
对照组	95	1.20±0.02	54.06±17.25	1.67±0.32
t值	-	36.296	13.544	11.318
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001

## 2.2 影响胎儿宫内生长受限的单因素分析

2组产妇身高、年龄、BMI、产次、流产史、产前检查比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),2组低蛋白血症、羊水过少、胎盘异常、孕期感染、血清PAPP-A、MMP-9、S/D值表达情况比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

## 2.3 影响胎儿宫内生长受限的多因素分析

非条件多因素 Logistic 回归模型分析结果显示,有低蛋白血症、存在羊水过少、存在胎盘异常、有孕期感染、血清PAPP-A、MMP-9、S/D值表达异常为影响胎儿宫内生长受限的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表3。

## 2.4 血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值对胎儿宫内生长受限效果评价

血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D三者联合(串联)的ROC曲线下面积为0.938,各指标曲线下面积以联合检测最大( $P<0.05$ )。见表4、图1。

## 3 讨论

FGR会严重危害胎儿宫内生长发育,造成胎儿窘迫、窒息等不良围产儿结局发生,使围产儿患病和死亡的风险增加;同时还会影响成年期多种慢性非传染性疾病发生,对围产儿和远期健康均构成严重威胁<sup>[8-9]</sup>。如何早期预测FGR越来越受临床重视。

PAPP-A是一种类胰岛素样生长因子结合蛋白,由胎盘滋养细胞产生,可于孕28天时被检测到。PAPP-A对配子的发育、孕卵的着床以及维持胎儿的生长、发育等具有显著作用。目前研究发

表2 影响胎儿宫内生长受限的单因素分析 [ $n(\%)$ ]

Table 2 single factor analysis of intrauterine growth restriction [ $n(\%)$ ]

因素	例数 (n=132)	生长受限组 (n=37)	对照组 (n=95)	$\chi^2$ 值	P值
产妇身高(cm)				0.740	0.390
<150	67	21(56.76)	46(48.42)		
≥150	65	16(43.24)	49(51.58)		
年龄(岁)				0.325	0.569
<30	73	19(51.35)	54(56.84)		
≥30	59	18(48.65)	41(43.16)		
BMI(kg/m <sup>2</sup> )				0.065	0.798
>24	69	20(54.05)	49(51.58)		
≤24	63	17(45.95)	46(48.42)		
产次(次)				1.044	0.307
>1	52	12(32.43)	40(42.11)		
≤1	80	25(67.57)	55(57.89)		
流产史				0.734	0.392
有	46	15(40.54)	31(32.63)		
无	86	22(59.46)	64(67.37)		
产前检查				1.203	0.273
有	72	23(62.16)	49(51.58)		
无	60	14(37.84)	46(48.42)		
低蛋白血症				53.756	<0.001
有	41	29(78.38)	12(12.63)		
无	91	8(21.62)	83(87.37)		
羊水过少				4.388	0.036
有	93	31(83.78)	62(65.26)		
无	39	6(16.22)	33(34.74)		
胎盘异常				39.567	<0.001
是	45	28(75.68)	17(17.89)		
否	87	9(24.32)	78(82.11)		
孕期感染				45.470	<0.001
有	37	26(70.27)	11(11.58)		
无	95	11(70.27)	84(88.42)		
PAPP-A				10.900	<0.001
正常	51	6(16.22)	45(47.37)		
异常	81	31(83.78)	50(52.63)		
MMP-9				13.262	<0.001
正常	62	8(21.62)	54(56.84)		
异常	70	29(78.38)	41(43.16)		
S/D值				47.769	<0.001
正常	77	4(10.81)	73(76.84)		
异常	55	33(89.19)	22(23.16)		

现,PAPP-A与唐氏综合征筛查及不良妊娠密切相关<sup>[10]</sup>。MMP-9属于明胶酶类,可在妊娠初期酶解母体子宫内膜,促进滋养细胞植入,保障胎儿营养

表3 影响胎儿宫内生长受限的多因素分析

Table 3 Analysis of multiple factors affecting intrauterine growth restriction

影响因素	回归系数	标准误	Wald $\chi^2$ 值	OR值	95%CI	P值
有低蛋白血症(参照组:无)	0.761	0.111	9.531	2.14	1.72~2.66	0.013
存在羊水过少(参照组:无)	0.756	0.194	9.239	2.13	1.46~3.12	0.011
存在胎盘异常(参照组:无)	0.836	0.133	9.135	2.31	1.78~2.99	0.016
有孕期感染(参照组:无)	0.915	0.205	10.375	2.49	1.67~3.73	0.005
PAPP-A表达异常(参照组:正常)	0.923	0.191	12.453	2.52	1.73~3.66	<0.001
MMP-9表达异常(参照组:正常)	0.761	0.156	12.416	2.14	1.58~2.91	<0.001
S/D值表达异常(参照组:正常)	0.832	0.136	12.139	2.30	1.76~3.00	0.004

表4 血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值对胎儿宫内生长受限的预测价值

预测因子	敏感度	特异度	约登指数	AUC	95%CI	P值
PAPP-A	0.882	0.833	0.715	0.780	0.614~0.945	<0.001
MMP-9	0.855	0.878	0.733	0.688	0.487~0.889	<0.001
S/D值	0.838	0.841	0.679	0.784	0.616~0.952	<0.001
三者联合	0.998	0.889	0.887	0.938	0.842~1.000	<0.001

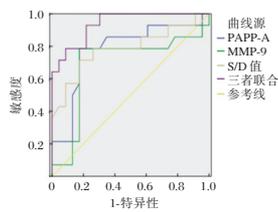


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

所需;MMP-9分泌减少会导致子宫肌层浸润及血管重塑,从而对胎盘生长发育造成不良影响,最终影响胎儿生长发育<sup>[11]</sup>。Shen等<sup>[12]</sup>在动物实验中研究发现,摘除MMP-9的小鼠仍可孕育,但胎鼠体积较小,存在生长受限情况。类似的,相关人员对FGR母血及脐带血中MMP-9水平进行研究,发现MMP-9水平在母血及脐带血中明显降低,考虑MMP-9减少可直接影响螺旋动脉生理,限制胎盘血供,减少绒毛含氧量,导致FGR<sup>[13]</sup>。脐带是连接母体与胎儿的营养、氧气运输的有效通道,监测脐动脉S/D值已成为临床上围生儿最常用的无创检测手段。监测脐动脉S/D值水平变化可直接反映胎儿胎盘血液循环阻力的大小及血流指数<sup>[14]</sup>。本研究对FGR患者进行研究发现,生长受限组患者PAPP-A、MMP-9水平明显低于对照组,S/D值高于对照组。说明PAPP-A、MMP-9水平与S/D值参与FGR病情进展,对FGR发病早期具有重要辅助价值。

为明确影响FGR的危险因素,Logistic回归分析:有低蛋白血症、存在羊水过少、存在胎盘异常、有孕期感染、血清PAPP-A、MMP-9、S/D值表达异常为影响胎儿宫内生长受限的独立危险因素。相关学者指出,低水平PAPP-A会使胰岛素样生长因子降低,而胰岛素样生长因子与胎盘发育关系密切,测定PAPP-A水平对判断胎盘功能及胎儿发育具有重要作用<sup>[15]</sup>。研究显示,当FGR胎盘滋养细胞分泌MMP-9水平减少,滋养细胞对子宫内细胞侵袭能力降低,影响胎盘血供,可引发胎儿发育迟

缓<sup>[16]</sup>。此外,FGR患儿外围循环改变较头围、腹围等改变早,予以常规B超检测往往无法有效发现患儿外围循环变化,而检测S/D值可弥补B超不足之处,较早发现FGR变化情况,并提高FGR的确诊率<sup>[17]</sup>。鉴于此,本研究进一步对上述水平与FGR的预测价值的关系进行研究,发现PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值联合检测预测价值最佳,证实联合三指标检测可作为预测FGR的有效手段。

综上所述,血清PAPP-A、MMP-9、妊娠晚期脐动脉S/D值在FGR中呈异常表达状态,监测上述水平可提升对FGR的预测价值,以提高新生儿质量,降低死亡率。

### 参考文献

- [1] 万雪华,马爱娟.血清胎盘生长因子水平与子痫前期胎儿生长受限的关联性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(9):68-70,75.
- [2] 马艳飞,王武亮,张庆,等.孕妇血清PAPP-A水平与妊娠期糖尿病,子痫前期及胎儿宫内生长受限的相关性[J].中国实用医刊,2019,46(9):39-42.
- [3] Wang Q, Lin X, Sun X. Value of Multi Vessel and Multi Parameter Comprehensive Evaluation in Fetal Growth Restriction [J]. J Med Res, 2020, 15(3):185-187.
- [4] Stampalija T, Thornton J, Marlow N, et al. Fetal cerebral Doppler changes and outcome in late preterm fetal growth restriction: prospective cohort study [J]. Ultras Obstetr Gynecol, 2020, 56(2):412-414.
- [5] Kucukbas GN, Kara O, Yüce D, et al. Maternal plasma endocan levels in intrauterine growth restriction [J]. J Maternal-Fetal Neonatal Med, 2020, 10(4):1-6.
- [6] 谢幸,孔北华,段涛.妇产科学[M].9版.北京:人民卫生出版社,2018.
- [7] Crookart IC, Brink LT, Plessis CD, et al. Classification of intrauterine growth restriction at 34-38 weeks gestation with machine learning models [J]. Inform Med Unlock, 2021, 23(2):533.
- [8] Sukhwani M, E Antolín, Herrero B, et al. Management and perinatal outcome of selective intrauterine growth restriction in monochorionic pregnancies [J]. J Maternal-Fetal Neonatal Med, 2019, 14(2):141.
- [9] Vasudeva A, Mundkur A, Paladugu S, et al. Performance of Fetal Renal Artery Doppler Compared with Umbilical Artery Doppler in Mild and Moderate Fetal Growth Restriction: An Observational Study in a Tertiary Care Hospital [J]. Internat J Infertil Fetal Med, 2021, 11(1):1-4.
- [10] Aklis A, Mgt B, Agcm A, et al. Perinatal outcomes after intrauterine growth restriction and intermittently elevated umbilical artery Doppler [J]. Am J Obstetr Gynecol MFM, 2019, 1(1):64-73.

(下转第1238页)

· 论 著 ·

## 日照市部分地区 2 139 例女性 HPV 感染情况及分型分析

梁家花<sup>1</sup> 门庆娟<sup>1</sup> 王晓平<sup>2</sup> 牟宗玲<sup>3\*</sup>

**[摘要]** **目的** 分析山东省日照市人民医院及莒县人民医院女性人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及亚型分布特点。**方法** 统计2018年12月至2019年12月到日照市人民医院和莒县人民医院妇科、生殖医学科、妇科治疗室、产科、皮肤科进行人乳头瘤病毒(HPV)基因分型检测的女性患者,采用PCR-反向点杂交法对采集的标本进行人乳头瘤病毒(HPV)核酸28种基因分型检测,分析日照城区及莒县的HPV感染及各个亚型分布情况。**结果** 日照城区及莒县所有检查者中HPV感染率为23.00%(492/2139),其中≤25岁、26~35岁、36~45岁、46~55岁和≥56岁女性HPV感染的阳性率分别为32.60%(45/138)、23.47%(153/652)、22.16%(127/573)、19.43%(103/530)、26.02%(64/246),不同年龄段感染比较,差异有统计学意义( $\chi^2=12.574, P=0.014$ );共检出703株HPV病毒,其中HPV高危亚型检出527株(74.96%),16亚型96株(13.66%),52亚型74株(10.53%),58亚型51株(7.25%)位居前三。HPV低危亚型共检出176株(25.04%),11亚型33株(4.69%),61亚型28株(3.98%),42亚型22株(3.13%)位居前三;所有年龄段中患者均为单一感染人数较多,其次为双重感染,四重及以上感染人数最少,感染高危亚型患者最多,其次为混合感染,感染低危亚型患者最少。**结论** 日照城区及莒县HPV感染主要以单纯高危亚型的16亚型感染为主,低危主要以11亚型感染为主。≤25岁和≥56岁为易感人群。

**[关键词]** 人乳头瘤病毒;高危型HPV;HPV亚型;PCR-反向点杂交

### Analysis of HPV infection and classification in 2 139 women in Rizhao and Juxian County

LIANG Jiahua<sup>1</sup>, MEN Qingjuan<sup>1</sup>, WANG Xiaoping<sup>2</sup>, MOU Zongling<sup>3\*</sup>

(1. Laboratory of Juxian People's Hospital, Rizhao, Shandong, China, 276599; 2. Laboratory of Rizhao People's Hospital, Rizhao, Shandong, China, 276800; 3. Department of Public Health, Rizhao People's Hospital, Rizhao, Shandong, China, 276800)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the human papillomavirus (HPV) infection of women in Rizhao People's Hospital and Juxian People's Hospital of Shandong Province. **Methods** Statistics of female patients who went to the Department of Gynecology, Reproductive Medicine, Gynecology Treatment Room, Obstetrics, and Dermatology Department of Juxian People's Hospital from December 2018 to December 2019 for human papillomavirus (HPV) genotyping testing was performed. PCR-reverse dot-blotting method was used to detect the 28 types of human papillomavirus (HPV) nucleic acid genotyping on the specimens collected by doctors, and then the HPV infection and the distribution of each subtype in Juxian area were analyzed. **Results** The HPV infection rate among all patient in Juxian County was 23.00% (492/2139), among which the positive rates of HPV infection in women ≤ 25 years old, 26-35 years old, 36-45 years old, 46-55 years old, and ≥56 years old were 32.60% (45/138), 23.47% (153/652), 22.16% (127/573), 19.43% (103/530), 26.02% (64/246), respectively. There were differences in infection in different age groups ( $P=0.014$ ). A total

作者单位:1. 莒县人民医院检验科, 山东, 日照 276599

2. 日照市人民医院检验科, 山东, 日照 276800

3. 日照市人民医院公共卫生科, 山东, 日照 276800

\*通信作者:牟宗玲, E-mail: rzsmzl@126.com

of 703 strains of HPV were detected, of which 527 strains (74.96%) were detected for HPV high-risk subtypes, 96 strains (13.66%) for 16-subtype, 74 strains for 52-subtype (10.53%), and 51 strains for 58-subtype (7.25%), ranked in the top three. A total of 176 HPV low-risk subtypes were detected (25.04%), 11-subtype 33 (4.69%), 61-subtype 28 (3.98%), 42-subtype 22 (3.13%), ranked the top three. In all age group, the number of patients with single infection is higher, followed by double infections, with the least number of infections with quadruple or more infections. Patients with high-risk subtypes are the most, followed by mixed infections, and those with low-risk subtypes are the least. **Conclusion** In Juxian area, HPV infection is mainly caused by 16-subtype of simple high-risk subtype, and 11-subtype of low-risk HPV infections are the main one. People  $\leq 25$  years old and  $\geq 56$  years old are susceptible.

[**KEY WORDS**] Human papilloma virus; High-risk type HPV; Subtype HPV; PCR-reverse dot hybridization

宫颈癌是继乳腺癌威胁女性健康的第二大疾病,人乳头瘤病毒(Human papillomavirus HPV)与宫颈癌的发生、发展息息相关<sup>[1]</sup>。随着近年来PCR方法的迅速发展和宫颈癌疫苗的出现,使人们对人HPV的认识越来越深入,已婚妇女更多的去医院行宫颈癌筛查。由于各个地区经济和生活水平的不同,每个地区感染的也有所差异,据有关文献报道,HPV感染具有明显的地域性<sup>[2]</sup>。日照城区及莒县位于日照市,靠近沿海,但对于HPV感染的流行病学调查却很少,了解本地区HPV感染情况对疾病的防治及疫苗的接种策略有一定指导意义,故本文主要采用PCR-反向点杂交法检测本地区的女性进行人乳头瘤病毒基因分型,旨在为临床宫颈癌预防和治疗提供科学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2018年12月至2019年12月31日来日照市人民医院、莒县人民医院进行人乳头瘤病毒基因分型检测女性患者2 139例(不包括二次复查)为研究对象。平均年龄(45.22±11.28)。其中 $\leq 25$ 岁138例,26~35岁652例,36~45岁573例,46~55岁530例, $\geq 56$ 岁246例。由专业医师采取人宫颈脱落细胞和生殖泌尿道分泌物,不能当天检测的放入4℃冰箱保存。月经正常妇女,在月经来潮后10~18天为最佳检查时间,检查前3天内不使用阴道内药物或阴道冲洗,24小时内无性行为。

### 1.2 HPV基因分型检测

采用人乳头瘤病毒检测及基因分型试剂盒(PCR-反向点杂交法,广州和实生物技术有限公司)检测28种HPV亚型,包括18种高危HPV亚型

和10种低危HPV亚型。15种常见高风险HPV型别:16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、82。3种少见高风险HPV型别:26、53和73。10种低风险HPV型别:6、11、40、42、43、44、54、61、81和83。按照试剂说明书所述步骤进行HPV病毒核酸提取,PCR-反向点杂交等步骤判读结果。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0统计软件进行数据分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验进行组间比较,多组间比较采用Bonferroni法校正检验水准; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各个年龄段HPV感染率情况比较

所有检查者中HPV感染率为23.00%(492/2139), $\leq 25$ 岁感染阳性的构成比最高,其次为 $\geq 56$ 岁,不同年龄段感染情况比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 各个年龄段HPV感染率情况比较 [ $n(\%)$ ]  
Table 1 Comparison of HPV infection rates in various age groups [ $n(\%)$ ]

年龄段	$n$	HPV 阳性	HPV 阴性
$\leq 25$ 岁	138	45(32.60)	93(67.40)
26~35岁	652	153(23.47)	499(76.53)
36~45岁	573	127(22.16)	446(77.84)
46~55岁	530	103(19.43)	427(80.57)
$\geq 56$ 岁	246	64(26.02)	182(73.98)
$\chi^2$ 值			12.574
$P$ 值			0.014

### 2.2 HPV阳性患者亚型分布及构成比

在492例HPV阳性患者标本中共检出703株HPV病毒,其中HPV高危亚型阳性占总阳性构成比的74.96%(527/703),前三位的分别是16亚型96株(13.66%),52亚型74株(10.53%),58亚型51

株(7.25%)。HPV低危亚型感染的共176株,占25.04%,其中前三位的分别是11亚型33株(4.69%),61亚型28株(3.98%),42亚型22株(3.13%)。绝大多数HPV感染患者以高危型中的16亚型、52亚型、58亚型为主。见表2。

表2 阳性患者亚型分布及构成比[n(%)]

基因亚型	例数
高危亚型	527(74.96)
HPV16	96(13.66)
HPV52	74(10.53)
HPV58	51(7.25)
HPV51	45(6.40)
HPV53	38(5.41)
HPV35	36(5.12)
HPV66	28(3.98)
HPV56	27(3.84)
HPV31	27(3.84)
HPV39	23(3.27)
HPV59	22(3.13)
HPV18	18(2.56)
HPV33	17(2.42)
HPV68	13(1.85)
HPV45	4(0.57)
HPV82	4(0.57)
HPV73	3(0.43)
HPV26	1(0.14)
低危亚型	176(25.04)
HPV11	33(4.69)
HPV61	28(3.98)
HPV42	22(3.13)
HPV54	21(2.99)
HPV6	20(2.84)
HPV40	15(2.13)
HPV44	13(1.85)
HPV43	12(1.71)
HPV81	7(0.99)
HPV83	5(0.71)
合计	703(100.00)

### 2.3 HPV感染在各个年龄段的分布情况

所有年龄段中患者均为单一感染人数较多,其次为双重感染,四重及以上感染人数最少;感染高危亚型患者最多,其次为混合感染,感染低危亚型患者最少。高危型在26~35岁年龄段感染率最高,35岁后随着年龄的增大感染率降低,且各年龄段的高危型感染率均高于低危型,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3、4。

## 3 讨论

HPV是一种嗜上皮性病毒,具有高度的特异性,多年以来HPV被公认为是人类良性病变疣和

表3 不同年龄段患者单一感染及多重感染分析[n(%)]  
Table 3 Analysis of single infection and multiple infections in patients of different ages [n(%)]

感染模式	≤25岁 (n=45)	26~35岁 (n=153)	36~45岁 (n=127)	46~55岁 (n=103)	≥56岁 (n=64)
单一感染	21(46.67)	93(60.78)	79(62.20)	66(64.08)	39(60.94)
双重感染	13(28.89)	37(24.18)	31(24.41)	23(22.33)	15(23.44)
三重感染	8(17.17)	15(9.81)	12(9.45)	10(9.71)	7(10.94)
四重及以上感染	3(6.67)	8(5.23)	5(3.94)	4(3.88)	3(4.68)

表4 不同年龄段患者感染危险程度分析[n(%)]

感染方式	≤25岁 (n=45)	26~35岁 (n=153)	36~45岁 (n=127)	46~55岁 (n=103)	≥56岁 (n=64)
低危感染	7(15.56)	29(18.95)	17(13.39)	13(12.62)	12(18.75)
混合感染	11(24.44)	41(26.79)	30(26.62)	25(24.27)	14(21.88)
高危感染	27(67.50)	83(54.26)	80(62.99)	65(63.11)	38(59.37)
$\chi^2$ 值	2.73	5.79	8.39	2.51	3.88
P值	0.0271	0.0190	0.0253	0.0146	0.0421

恶性病变宫颈癌的主要致病因素<sup>[3]</sup>。HPV以人类为终宿主,能够引起皮肤黏膜鳞状上皮增生,尖锐湿疣、宫颈癌等均由HPV感染导致的疾病<sup>[4]</sup>,HPV根据其致病能力和致癌能力被分为高危型HPV、低危型HPV及中间型HPV,其中高危型HPV是宫颈癌、鼻咽癌等肿瘤的重要发病危险因素<sup>[5]</sup>。目前已知的高危型HPV如HPV16、HPV18等均被证明具有潜在的致癌性<sup>[6]</sup>。高危型HPV检测是宫颈癌筛查的重要证据,因此掌握本地区女性HPV感染情况及分型对此类疾病的预防和治疗具有指导意义。

国内学者曾选等人<sup>[7]</sup>对江西省一万多名女性的HPV研究报告显示高危型HPV病毒以16、52和58型居多,且60岁以上老年女性合并HPV感染的概率最高,20岁以下的青年女性合并HPV感染概率位居第二,本研究结果与此相符合,提示25岁以下的青年女性和60岁以上的老年女性是HPV的易感人群,且主要以16、52和58型高危型HPV为主。

HPV感染的亚型分布具有地域性和民族特异性,不同种族、不同国家、不同地区的HPV感染的亚型不尽相同。山东省日照市历史悠久,其中农业人口占总人口的82.7%,农业人口基数大。本次研究发现日照城区及莒县HPV感染情况低于沿海和内陆发达地区,如青岛(32.2%)<sup>[8]</sup>、淮安(37.73%)<sup>[9]</sup>,但感染几率明显高于广东(7.3%)<sup>[10]</sup>。这部分差异也有可能试剂选择,实验室人员资质不同有关。相关研究表明<sup>[11]</sup>HPV的发生与地域相关,分布在香

港、上海、福建、河南的地区的女性 HPV 感染率差别较大。而本地区 HPV 感染主要以高危亚型的 16, 52 为主, 与綦江及周边地区<sup>[12]</sup>、陕西<sup>[13]</sup>等中国大多数地区一致。我国对不同地区或同一地区不同年份的 HPV 感染亚型分布并没有统一定论, 希望随着宫颈癌疫苗的普及, 减少宫颈癌的发生。

本研究还发现各年龄段 HPV 感染女性中以单一亚型 HPV 感染较多, 高危型 HPV 感染率明显高于其他类型。高危型 HPV 是导致肿瘤和皮肤性病发生的重要因素, 提示本地区需要对此加以防范, 扩大筛查范围, 提高疫苗接种率, 以降低本地宫颈癌等 HPV 相关疾病的发病风险。

综上所述, 山东日照市城区及莒县女性 25 岁之前和 56 岁之后为 HPV 易感高发人群, 且各年龄段 HPV 感染主要以 16、52 和 58 型高危型 HPV 为主, 应重视 HPV 定期筛查以及 HPV 疫苗接种以做到对宫颈癌病变早发现、早预防、早治疗。

### 参考文献

- [1] Wieland U, Kreuter A. Prävention HPV - induzierter Erkrankungen durch prophylaktische Impfung Prevention of HPV-induced diseases by prophylactic vaccination [J]. *Hautarzt*, 2021, 72(2): 106-113.
- [2] 乌恩奇, 赵焕虎, 刘微, 等. 中国不同地区宫颈癌中 HPV 型别分布数据横向比较分析 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(23): 1845-1851.
- [3] Szymonowicz KA, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers [J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(4): 864-878.
- [4] Augustin JG, Lepine C, Morini A, et al. HPV Detection in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas: What Is the Issue? [J]. *Front Oncol*, 2020, 15; 10: 1751.
- [5] Clifford GM, Tully S, Franceschi S. Carcinogenicity of Human Papillomavirus (HPV) Types in HIV-Positive Women: A Meta-Analysis From HPV Infection to Cervical Cancer [J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 64(9): 1228-1235.
- [6] St Laurent J, Luckett R, Feldman S. HPV vaccination and the effects on rates of HPV-related cancers [J]. *Curr Probl Cancer*, 2018, 42(5): 493-506.
- [7] 曾选, 宇翔, 陆瑶. 江西 10269 例女性 HPV 感染情况及分型检测分析 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017, 9(03): 168-172.
- [8] BI Q, ZHANG L ZHAO Z, et al. Human papillomavirus prevalence and genotypes distribution among female outpatients in Qingdao. East China [J]. *J Med Virol*, 2015, 87(12): 2114-2121.
- [9] 李红林, 刘小宁, 郭爱霞, 等. 淮安地区 6228 例女性感染人乳头瘤病毒的基因型分布 [J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(23): 128-131.
- [10] Petca A, Borisilavski A, Zvanca ME, et al. Non-sexual HPV transmission and role of vaccination for a better future [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 186.
- [11] 邵智慧, 张科, 李淑英, 等. 人乳头瘤病毒感染与不同地域食管癌发生相关性 Meta 分析 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(18): 4451-4453.
- [12] 李冬梅, 周臣敏, 胡明林, 等. 綦江及周边地区 HPV 感染现状与年龄的分布分层研究 [J]. *临床检验杂志*, 2019, 8(1): 117-118.
- [13] 李军, 王一羽, 南星, 等. 陕西省咸阳地区人乳头瘤病毒的基因分型及亚型分布特征 [J]. *检验医学*, 2017, 32(3): 194-198.
- [11] Lumbanraja SN, Yasnil MR, Siahaan A. Examination of Systole/Diastole Ratio of Umbilical Artery in the third Trimester Gestational Pregnancy and its Correlation with Lactate Acid Level in Fetal Cord [J]. *Open Access Macedon J Med Sci*, 2020, 8(1): 253-257.
- [12] Shen J, Xue S. Diagnostic value of ultrasonic umbilical artery blood flow measurement in diagnosis of intrauterine distress [J]. *Acta Med Sinica*, 2019, 31(8): 506-508.
- [13] Lumbanraja SN, Yasnil MR, Siahaan A. Examination of Systole/Diastole Ratio of Umbilical Artery in the third Trimester Gestational Pregnancy and its Correlation with Lactate Acid Level in Fetal Cord [J]. *Open Access Macedon J Med Sci*, 2020, 8(1): 253-257.
- [14] Thompson LP, Turan S, Aberdeen GW. Sex differences and the effects of intrauterine hypoxia on growth and in vivo heart function of fetal guinea pigs [J]. *AJP Regulat Integrat Comparat Physiol*, 2020, 319(4): 627.
- [15] Wang X, Li L, Yuan P, et al. Comparison of placental characteristics of twin-twin transfusion syndrome with and without selective intrauterine growth restriction [J]. *J Matern-Fetal and Neonatal Med*, 2020, 13(6): 1-7.
- [16] Taghavi S, Lar T, Abasalizadeh F, et al. Changes in Umbilical Artery Doppler Velocimetry After Betamethasone Administration in Pregnancies With Fetal Growth Retardation [J]. *Internat, J Women's Health Reprod Sci*, 2020, 8(3): 311-318.
- [17] Gen EZ, Karaku S, Etin A, et al. Serum Bcl-2, caspase-9 and soluble FasL levels as perinatal markers in late preterm pregnancies with intrauterine growth restriction [J]. *Turkish Jpediatr*, 2019, 61(5): 686.

(上接第 1234 页)

## 尿液 DACH2、OPN、MUC7 对膀胱尿路上皮癌的诊断价值

陈开训 孙鹏摇 侯昌霞\*

**[摘要]** **目的** 探索尿液 Dachshund 同源基因 2(DACH2)、骨桥蛋白(OPN)、粘蛋白 7(MUC7)对膀胱尿路上皮癌的诊断价值。**方法** 2018年8月至2021年3月期间本院的48例健康体检者(对照组)、96例膀胱尿路上皮癌患者(观察组)临床资料,进行 OPN、MUC7、DACH2 检测,比较两组上述指标差异,经 ROC 曲线分析 OPN、MUC7、DACH2 预测膀胱尿路上皮癌、疾病严重程度的效能。**结果** 观察组 OPN、MUC7、DACH2 高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),经 ROC 曲线分析,OPN、MUC7、DACH2 及三项联合早期预测膀胱尿路上皮癌的 AUC 分别为 0.931、0.911、0.911、0.985。高级别癌患者 OPN、MUC7、DACH2 高于低级别癌患者( $P<0.05$ ),经 Spearman 法分析,病理分级与 OPN、MUC7、DACH2 呈正相关性( $P<0.05$ )。经 ROC 曲线分析,OPN、MUC7、DACH2 及三项联合早期预测膀胱尿路上皮癌的 AUC 分别为 0.933、0.88、0.917、0.980。**结论** 尿液 DACH2、OPN、MUC7 参与了膀胱尿路上皮癌发生、发展全过程,可作为判定病理分级的参考指标。

**[关键词]** 尿液 DACH2; OPN; MUC7; 膀胱尿路上皮癌; 诊断

### The diagnostic value of urine DACH2, OPN, MUC7 for bladder urothelial carcinoma

CHEN Kaixun, SUN Pengyao, HOU Changxia\*

(The First Department of Oncology, 901st Hospital of the Joint Logistic Support Force of the People's Liberation Army, Hefei, Anhui, China, 230031)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the diagnostic value of urine DACH2, OPN, MUC7 for bladder urothelial carcinoma. **Methods** A retrospective analysis of the clinical data of 48 healthy subjects (control group) and 96 patients with bladder urothelial carcinoma (observation group) selected from August 2018 to March 2021 were tested for OPN, MUC7, and DACH2. Comparing the differences of the above indicators between the two groups, analyzing the effectiveness of OPN, MUC7 and DACH2 in predicting the severity of bladder urothelial cancer and disease severity by ROC curve. **Results** OPN, MUC7, and DACH2 in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). After ROC curve analysis, the AUC of OPN, MUC7, DACH2 and the three combined early prediction of bladder urothelial carcinoma were 0.931, respectively. 0.911, 0.911, 0.985. OPN, MUC7, and DACH2 in patients with high-grade cancer were higher than those in patients with low-grade cancer ( $P<0.05$ ). According to the analysis of Spearman method, the pathological grade was positively correlated with OPN, MUC7, and DACH2. According to ROC curve analysis, OPN, MUC7, DACH2 and three The AUC of the combination of items for early prediction of bladder urothelial carcinoma was 0.933, 0.88, 0.917, 0.980, respectively. **Conclusion** Urine DACH2, OPN, MUC7 are involved in the whole process of the occurrence and development of bladder urothelial carcinoma, and can be used as reference indicators to determine the pathological grade.

**[KEY WORDS]** Urine DACH2; OPN; MUC7; Bladder urothelial carcinoma; Diagnosis

基金项目:安徽省医学会急诊临床研究项目(Ky2018033)

作者单位:中国人民解放军联勤保障部队第九〇一医院肿瘤一科,安徽,合肥 230031

\*通信作者:侯昌霞, E-mail:619354553@qq.com

膀胱尿路上皮癌属于泌尿系统常见恶性病变,经流行病学调查<sup>[1]</sup>,全球每年约有40万新发膀胱癌,且随着人口老龄化加剧和环境污染日益严重,膀胱癌患病率逐年上升,由于该病死亡率较高,故需尽早诊疗<sup>[2]</sup>。目前膀胱癌主要诊断手段为膀胱镜活检和尿脱落细胞检查,其中膀胱镜活检虽具有较高准确率,但属于有创操作,容易引起出血、尿路感染等并发症,故不可首推;尿脱落细胞检查虽是无创操作,但诊断敏感性低,缺乏统一标准,容易受其他病变影响,因此也不可作为首推。而当下合理选择灵敏性高、操作简便的筛查方式是临床研究重点。通过调查以往研究,学者发现<sup>[3]</sup>膀胱癌组织高表达蛋白质在膀胱癌中具有表达性,其中尿液 Dachshund 同源基因 2(DACH2)、骨桥蛋白(Osteopontin; OPN)、粘蛋白 7(Mucoprotein; MUC7)与膀胱尿路上皮癌的恶性生物学行为呈正相关,但相关研究报道较少。而本文旨在探索尿液 OPN、DACH2、MUC7 在膀胱尿路上皮癌发生、发展中表达情况。报道如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 资料

分析本院的96例膀胱尿路上皮癌患者基本资料,符合《赫尔辛基宣言》的伦理审查,并将其作为观察组。男性58例,女性38例,年龄平均(54.46±10.12)岁;病程平均(12.35±3.21)个月;病理分级<sup>[4]</sup>:低级别癌55例,高级别癌41例。再选取同期48例健康体检者为对照组,男性28例,女性20例,年龄平均(54.32±10.22)岁,两组性别、年龄比较无统计差异( $P>0.05$ )。此次试验在2018年8月至2021年3月期间开展。纳入标准:①观察组经病理学检查,确诊为膀胱尿路上皮癌<sup>[4]</sup>,且存在尿痛、尿急、尿频等膀胱刺激症状,临床资料齐全;②回顾性分析临床资料齐全的健康体检者。两组排除标准:①合并肝肾功能异常、血液疾病、免疫系统疾病者;②合并感染、其他肿瘤者;③临床资料不齐或因中途转院导致病案缺失者。

病理分级标准<sup>[4]</sup>:高级别癌:乳头结构纤细、分枝、融合,细胞层次厚度不一,排列紊乱,常缺乏黏附性,细胞核增大,大小不一,形态多样化,可见多个突出的核仁,病理性核分裂象。低级别癌:乳头纤细、融合,细胞层次有极向,轻度细胞拥挤和极向消失,细胞核大小不一,形态呈卵圆形、圆形,大

小轻度不一,核仁通常不明显,偶见有丝分裂象。

### 1.2 方法

OPN、MUC7检测方式:抽取受检者10 mL晨起首次洁净尿,离心处理,离心15 min,1 000 r/min,  $r=75$  mm,取上清检测,使用美国 THERMO 公司提供 Flash3001 型号全自动多功能酶标仪检测 OPN、MUC7,予以酶联免疫法。

DACH2检测方式:留取1 mL清洁中段尿,按照1:100比例加入牛血清白蛋白溶液60 g/L,15 min内对上清进行分离,放于冰箱(-20℃)保存。首先选取0.1 mL尿样分别加入0.1 mL标记抗原和0.1 mL抗体,混匀,温育3 h(37℃),形成结合复合物,加入0.5 mL分离剂15 min后,离心20 min,丢弃未结合物质,加入化学发光底物,使用西安仪器厂提供 XH-6010  $\gamma$  射线计数仪检测 DACH2。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件处理,符合正态分布的计量资料用( $\bar{x}\pm s$ )表示,行  $t$  检验,计数资料用  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验;病理分级与 OPN、MUC7、DACH2 相关性采用 Spearman 模型分析;预测价值用 ROC 曲线分析,当  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组实验室指标比较

观察组 OPN、MUC7、DACH2 高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组实验室指标对比( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	OPN(ng/mL)	MUC7(ng/mL)	DACH2(ng/mL)
观察组	96	70.46±4.15	15.16±3.68	7.46±1.16
对照组	48	34.15±3.62	10.22±1.19	2.13±0.25
$t$ 值		51.577	9.053	31.419
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 ROC 曲线分析

经 ROC 曲线分析,OPN、MUC7、DACH2 早期预测膀胱尿路上皮癌的 AUC 分别为 0.931、0.911、0.911,将 OPN、MUC7、DACH2 纳入 Logistic 回归分析,根据回归结果中的回归系数值拟合三项联合诊断的数值计算公式:三项联合=OPN + (-1.026) / (-0.134)\*MUC7+ (-0.103) / (-0.134)\*DACH2,经 SPSS22.0 统计得出联合数据;进一步分析显示,三项联合早期预测膀胱尿路上皮癌的 AUC 为 0.985。见表2。

表2 分析三项指标预测膀胱尿路上皮癌的AUC值

Table 2 Analysis of three indicators to predict the AUC value of bladder urothelial carcinoma

项目	AUC	标准错误	95%CI	约登指数	敏感性	特异性	Cut-off	P值
OPN	0.931	0.032	0.869~0.993	0.927	0.969	0.958	51.240	0.000
MUC7	0.911	0.025	0.862~0.960	0.813	0.896	0.917	11.335	0.000
DACH2	0.911	0.037	0.839~0.983	0.906	0.969	0.937	3.780	0.000
三项联合	0.985	0.007	0.971~1.000	0.865	0.990	0.875	135.006	0.000

依据AUC及标准误,采用Z检验AUC差异。如三项联合与OPN的AUC比较: $Z=(0.985-0.931)/(0.007*0.007+0.032*0.032)^{0.5}=1.648$ ,  $P$ 值= $[1-NORMSDIST(1.016)]*2=0.098$ ;三项联合与MUC7的AUC比较: $Z=2.850$ ,  $P=0.004$ ;三项联合与DACH2的AUC比较: $Z=2.850$ ,  $P=0.004$ 。见图1。

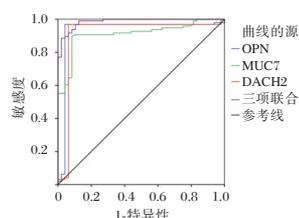


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

### 2.3 不同病理分级的实验室指标比较

高级别癌患者OPN、MUC7、DACH2高于低级别癌者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 观察组不同病理分级的OPN、MUC7、DACH2指标比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of OPN, MUC7 and DACH2 indexes of different pathological grades in observation group ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	OPN(ng/mL)	MUC7(ng/mL)	DACH2(ng/mL)
高级别癌	41	75.65±3.26	16.98±2.87	8.95±1.11
低级别癌	55	64.13±3.18	13.63±1.22	6.65±1.13
t值	-	17.370	7.776	9.939
P值	-	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.4 分析相关性

经Spearman法分析,病理分级与OPN、MUC7、DACH2呈正相关性( $r=0.853$ ;  $P<0.001$ )、( $r=0.652$ ;  $P<0.001$ )、( $r=0.714$ ;  $P<0.001$ )。

### 2.5 ROC曲线分析

经ROC曲线分析,OPN、MUC7、DACH2早期

预测膀胱尿路上皮癌病理分级严重程度的AUC分别为0.933、0.88、0.917,将OPN、MUC7、DACH2纳入Logistic回归分析,根据回归结果中的回归系数值拟合三项联合诊断的数值计算公式:三项联合=OPN+(-0.471)/2.287\*MUC7+0.081/2.287\*DACH2,经SPSS22.0统计得出联合数据;进一步分析显示,三项联合早期预测疾病严重程度的AUC为0.980。见表4。

依据AUC及标准误,采用Z检验AUC差异。如三项联合与OPN的AUC比较: $Z=(0.980-0.933)/(0.0018*0.0018+0.036*0.036)^{0.5}=1.304$ ,  $P$ 值= $[1-NORMSDIST(1.016)]*2=0.192$ ;三项联合与MUC7的AUC比较: $Z=2.379$ ,  $P=0.016$ ;三项联合与DACH2的AUC比较: $Z=2.096$ ,  $P=0.036$ 。见图2。

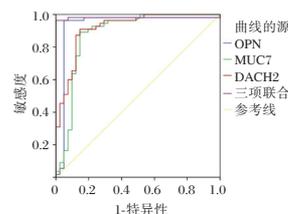


图2 ROC曲线

Figure 2 ROC curve

## 3 讨论

膀胱癌发病率位居全世界第四位,是泌尿系统常见恶性肿瘤,膀胱尿路上皮癌占据膀胱癌发病率的90%,具有预后差、病情进展快、恶性程度高特点,存在多种变异性,死亡率较高,故需尽早开展诊疗<sup>[5]</sup>。近年来,肿瘤标记物逐渐步入临床,虽具有性价比高、操作简便等优势,但诊断结果容易受到多种因素影响,且敏感性未达到预期效果,

表4 分析三项指标预测严重程度的AUC值

Table 4 Analysis of the AUC value of the three indicators to predict the severity

项目	AUC	标准错误	95%CI	约登指数	敏感性	特异性	Cut-off	P值
OPN	0.933	0.036	0.863~1.000	0.915	0.964	0.951	70.375	0.000
MUC7	0.880	0.042	0.799~0.962	0.745	0.891	0.854	14.790	0.000
DACH2	0.917	0.030	0.859~0.975	0.763	0.909	0.854	8.025	0.000
三项联合	0.980	0.018	0.945~1.000	0.964	0.964	1.000	67.763	0.000

故需另选择简便、可靠的检测方式,以便为疾病判定早日提供依据<sup>[6]</sup>。

MUC是一类高分子量糖蛋白,由泌尿生殖道、呼吸道、消化道等腺上皮合成的蛋白,具有多种生物学功能,可在不同基因和蛋白表型中发挥作用。MUC7是粘蛋白家族中一员,在人染色体中位于4q132q21,分子量370000,编码基因表达核心由357个氨基酸组成,常存在于结膜和唾液腺中<sup>[7]</sup>。在本次结果中,观察组MUC7高于对照组,说明MUC7在膀胱癌患者中具有较高表达性。推测原因是,粘蛋白可改变细胞间相互黏附特性,发挥润滑作用,有助于癌细胞浸润生长,虽然适量的粘蛋白在膀胱组织中,能够发挥一种物理性保护屏障,减少酶、毒素、微生物对黏膜损害,抑制结晶微粒和细菌黏附,保护膀胱上皮细胞,但当上皮组织发生癌变时,MUC7含量可明显上升,形成一种空间,阻碍封闭细胞表面抗原,一旦癌细胞进入淋巴系统和血液,容易存活,并形成转移灶<sup>[8]</sup>。而本次高级别癌患者MUC7高于低级别,从而论证此项说法,MUC7表达过量可能与肿瘤病变分级、浸润有关,在膀胱尿路上皮癌患者疾病发生、发展中具有一定影响性。

OPN最早是在1979年发现的转化相关蛋白,由恶性上皮细胞分泌,属于多功能磷酸化糖蛋白<sup>[9]</sup>。苗德芳<sup>[10]</sup>学者在文中提到OPN在直肠腺癌发生、发展、预后中均具有一定影响性。本次结果提示OPN对膀胱癌诊断具有潜在价值。而异常表达可能与促进细胞因子黏附、癌细胞趋化性转移、肿瘤血管生成有关<sup>[11]</sup>。同时高级别癌患者OPN高于低级别癌患者,说明OPN含量变化可受到病理分级影响。推测原因是,OPN能够通过激活EGFR,使得下游信号通路改变,活化丝裂原活化蛋白激酶、磷脂酰肌醇3激酶,促进肿瘤血管生成,加速癌细胞增殖<sup>[12]</sup>。因此有学者认为<sup>[13]</sup>,可通过研究OPN导致肿瘤发生发展机制,为治疗肿瘤提供新的靶点。

DACH基因主要是编码与生殖盘发育相关蛋白,DACH2在苗勒管内有表达<sup>[14]</sup>。本次结果说明DACH2在膀胱尿路上皮癌患者中存在不同表达含量,且DACH2表达含量与病理分级有关,随着病理分级越严重,DACH2含量升高越明显。推测原因是DACH2能够借助患者自身的内源性Smad4和Ncor相互作用,导致下游信号靶分子表达下调,抑制TGF- $\beta$ 信号通路传递,促使癌变细胞增殖、分裂<sup>[15]</sup>。经Spearman法分析,病理分级与

OPN、MUC7、DACH2呈正相关性,说明上述指标均参与了膀胱尿路上皮癌患者整个致病过程。

综上所述,OPN、MUC7、DACH2参与了膀胱尿路上皮癌患者发生、发展全过程,作为新型预测指标具有良好应用前景,目前已逐渐被更多学者重视,但本研究尚未探讨指标之间相互影响、作用性,故关于OPN、MUC7、DACH2指标之间相关性还有待深入研究。

## 参考文献

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):E359-86.
- [2] 杨婧,索杰,高海锋.尿液核基质蛋白22联合膀胱肿瘤抗原检测对膀胱癌的诊断价值[J].*肿瘤研究与临床*, 2020, 32(11):772-775.
- [3] 黄传玺,马洁,徐开琨,等.尿液蛋白质组在膀胱癌临床诊治中的应用[J].*生物化学与生物物理进展*, 2018, 45(7):772-778.
- [4] 郑闪,田军,吕宁.世界卫生组织膀胱尿路上皮癌病理分级标准变化要点解读[J].*肿瘤研究与临床*, 2013, 25(8):555-558.
- [5] Hussain SA, Palmer DH, Syn WK, et al. Gene expression profiling in bladder cancer identifies potential therapeutic targets [J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(4):1147-1159.
- [6] 徐长阳,刘敏,刘鹏,等.角蛋白7在膀胱癌中的表达及与临床预后的关系[J].*疑难病杂志*, 2020, 19(12):46-49+54.
- [7] Chaudhury NM, Proctor GB, Karlsson NG, et al. Reduced Mucin-7 (Muc7) Sialylation and Altered Saliva Rheology in Sjogren's Syndrome Associated Oral Dryness [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2016, 15(3):1048-59.
- [8] 杨磊,王秋苹,王也,等.黏蛋白在肺腺癌中的表达与鉴别诊断意义[J].*中日友好医院学报*, 2018, 32(1):7-10.
- [9] 王改平,赵聪聪,徐存拴.骨桥蛋白对细胞生存的多重作用[J].*中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(8):886-891.
- [10] 苗德芳.直肠腺癌组织中骨桥蛋白与基质金属蛋白酶-3的表达及其临床意义[J].*临床与病理杂志*, 2020, 40(2):316-321.
- [11] 冯丽华,王敏,夏海斌,等.骨桥蛋白对巨噬细胞极化影响的体外实验研究[J].*口腔医学研究*, 2019, 35(5):497-501.
- [12] 周逢海,李海元,吕海迪,等.血清及尿液OPN对膀胱尿路上皮癌的诊断及临床意义的研究[J].*临床泌尿外科杂志*, 2016, 31(11):982-985.
- [13] 闫小晨,张连栋.血清血管内皮生长因子和骨桥蛋白水平对膀胱癌淋巴转移的影响[J].*解放军预防医学杂志*, 2016, 34(5):715-717.
- [14] 杨伟娇,夏桃林,陶文,等.尿液DACH2测定对膀胱尿路上皮癌的诊断价值[J].*新医学*, 2020, 51(4):46-49.
- [15] 魏正茂,范龙龙,李维清,等.核转运蛋白基因2在265例上尿路上皮癌中的表达及其与预后的关系[J].*现代泌尿外科杂志*, 2019, 24(5):29-32+37.

· 论 著 ·

## ERCC1、BRCA1及BAG-1在晚期NSCLC铂类化疗敏感性、预后评估中的应用

刘祺\* 周政涛 冯正富 聂琬吁

**[摘要]** **目的** 探讨切除修复交叉互补基因-1(*ERCC1*)、乳腺癌基因-1(*BRCA1*)及Bcl-2结合抗凋亡基因1(*BAG-1*)检测在晚期非小细胞肺癌(NSCLC)患者铂类化疗敏感性、预后评估中的应用价值。**方法** 选取2018年3月至2019年5月本院收治的80例晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)NSCLC患者作为观察组。观察组经过铂类药物化疗后,分析化疗结果,分析三项指标基因多态性与铂类药物过敏性的关联性。随访2年,记录患者预后情况。绘制ROC分析联合三项指标检测对患者预后的预测价值。**结果** 80例NSCLC患者治疗4周后,完全缓解(CR)1例(1.25%),部分缓解(PR)27例(33.75%),稳定(SD)33例(41.25%),进展(PD)19例(23.75%),总有效率为35.00%(28/80)。*ERCC1*、*BRCA1*及*BAG-1*位点CC、CT、TT基因型化疗疗效比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。80例晚期NSCLC患者2年生存率为22.50%(18/80)。*ERCC1*及*BAG-1*异常升高、*BRCA1*异常降低的晚期NSCLC患者死亡率更高( $P<0.05$ )。ROC结果显示三者联合预测预后灵敏度、特异度、AUC分别为90.70%、92.50%、0.994,显著高于各指标单一检测( $P<0.05$ )。**结论** *ERCC1*、*BRCA1*及*BAG-1*与晚期NSCLC化疗敏感性、预后相关,联合三者检测有助于临床为患者制定个体化治疗方案,以改善患者预后。

**[关键词]** *ERCC1*; *BRCA1*; *BAG-1*; 晚期NSCLC; 铂类化疗敏感性

### Application of *ERCC1*, *BRCA1* and *BAG-1* detection in the evaluation of the sensitivity and prognosis of platinum-based chemotherapy in advanced NSCLC

LIU Qi\*, ZHOU Zhengtao, FENG Zhengfu, NIE Wanyu

(Qingyuan People's Hospital, The Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan, Guangdong, China, 511518)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the application value of excision repair cross complementation group 1 (*ERCC1*), breast cancer susceptibility gene 1 (*BRCA1*), and Bcl-2 associated athanogene 1 (*BAG-1*) detection in the evaluation of platinum-based chemotherapy sensitivity and prognosis of patients with advanced nonsmall-cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 80 patients with advanced NSCLC (stage III and IV) admitted to this hospital from March 2018 to May 2019 were selected as the observation group. After platinum-based chemotherapy in patients with advanced NSCLC, the results of chemotherapy were analyzed, and the correlation between the gene polymorphisms of the three indicators and platinum-based drug allergy was analyzed. The patients were followed up for 2 years and the prognosis of the patients was recorded. The ROC was drawn to analyze the predictive value of the combined detection of three indicators for the prognosis of patients. **Results** After 4 weeks of treatment in 80 patients with NSCLC, 1 case had a complete remission (CR) (1.25%), a partial remission (PR) 27 cases (33.75%), a stable (SD) 33 cases (41.25%), and a progressive (PD) 19 cases (23.75%), the total effective rate is 35.00% (28/80). There was a statistically significant difference in the efficacy of *ERCC1*, *BRCA1* and *BAG-1* sites CC, CT, TT genotype chemotherapy ( $P<0.05$ ). The 2-year survival rate of 80 patients with advanced NSCLC was 22.50% (18/80). The mortality of ad-

基金项目:清远市科技计划项目(180524111900159)

作者单位:广州医科大学附属第六医院清远市人民医院,广东,清远 511518

\*通信作者:刘祺, E-mail:ericlau198658@163.com

vanced NSCLC patients with abnormally elevated *ERCC1* and *BAG-1* and abnormally decreased *BRCA1* was higher, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). ROC results showed that the sensitivity and specificity of the combined examination in predicting prognosis were 90.70 and 92.50, respectively, which were significantly higher than those of *ERCC1*, *BRCA1* and *BAG-1* single examination ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *ERCC1*, *BRCA1*, and *BAG-1* are related to the sensitivity and prognosis of advanced NSCLC chemotherapy. The combined detection of the three can help clinically develop individualized treatment plans for patients to improve patient prognosis.

**[KEY WORDS]** *ERCC1*; *BRCA1*; *BAG-1*; Advanced NSCLC; Platinum-based chemotherapy sensitivity

晚期非小细胞肺癌(Nonsmall-cell lung cancer, NSCLC)约占所有肺癌的80%,约75%的患者发现时已处于中晚期,5年生存率很低<sup>[1]</sup>。既往研究报道,以顺铂为基础辅助化疗的NSCLC患者5年生存率仅为5.4%<sup>[2]</sup>。切除修复交叉互补基因-1(excision repair cross complementation group 1, *ERCC1*)参与铂类药物引起的DNA损伤修复过程,对DNA碱基切除修复和单链断裂修复发挥关键作用<sup>[3]</sup>。乳腺癌基因-1(Breast cancer susceptibility gene 1, *BRCA1*)为抑癌基因,相关研究发现*BRCA1*可参与基因转录活化及抑制等,具有多种生物功能<sup>[4]</sup>。Bcl-2结合抗凋亡基因1(Bcl-2 associated athanogene 1, *BAG-1*)是近年来新发现的抗凋亡基因,可通过与多种靶蛋白作用,抑制细胞凋亡。国外研究认为,*ERCC1*、*BRCA1*及*BAG-1*表达可能对肿瘤细胞对铂类药物的耐药性造成一定影响,造成个体肿瘤易感性和生物学行为<sup>[5]</sup>。本研究分析三者晚期NSCLC肺癌患者铂类化疗敏感性、预后评估中的预测价值。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年3月至2019年5月本院收治的80例晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)NSCLC患者作为观察组。纳入标准:①年龄>18岁,经纤维支气管镜或经皮肺穿刺组织活检病理或细针穿刺或痰细胞学确诊为NSCLC患者<sup>[6]</sup>;②既往未接受过化疗或其他抗肿瘤药物治疗;③主要血液学指标无化疗禁忌证;④除肿瘤原发疾病外,无其他明显威胁生存的并存疾病,如严重肺功能不全、心功能不全、肝功能或肾功能不全、严重贫血等。排除标准:①一线化疗周期在4周以下;②因严重不良反应未能完成化疗;③无可测量病灶或病灶不能评估;④合并妊娠或哺乳期妇女,未能控制的大量恶性胸腔积液,合

并第二原发恶性肿瘤患者,预期生存期较短的患者。其中男62例,女18例,平均年龄(64.77±5.54)岁。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,受试者或其家属已签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 化疗方案

观察组采用多西他赛+顺铂方案化疗,其中多西他赛75 mg/m<sup>2</sup>、第1天,顺铂75 mg/m<sup>2</sup>、第1天,静脉滴注,每21 d重复。除非出现疾病进展、不能耐受的不良反应及患者或研究者决定停止的情况外,化疗需至少进行4个周期。

#### 1.2.2 *ERCC1*、*BRCA1*及*BAG-1*检测方法

采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(Polymerase Chain reaction - restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)法检测各基因位点的多态性。采用QIAGEN试剂盒提取患者外周静脉血中基因组DNA。根据*ERCC1*、*BRCA1*及*BAG-1*基因SNP位点在NCBI查找引物序列。*ERCC1*:上游引物5'-GCAGAG-CTCACCTGAG-GAAC-3',下游引物5'-GAGG-TGCAAGAAGAG-GTGA-3',*BRCA1*:上游引物5'-CCCATTTCCTCCCGCA-3',下游引物5'-GGACCTTGGT-GGTTTCT TCCA-3'。*BAG-1*:上游引物5'-CAGG-TAGTG TAGGA -GCGTG GTG-3',下游引物5'-CACCCAGAGG-TCCAAACAGC-3'。PCR反应条件:94℃ 2 min;92℃ 60 S,56℃ 30 S,72℃ 30 s,35个循环;最后72℃延伸10 min,退火温度为55℃。分别对*ERCC1*、*BRCA1*及*BAG-1*进行CC型、CT型、TT型检测。*ERCC1*表达量在28.6以上,视为异常升高<sup>[3]</sup>;*BRCA1*表达量在80.6以下,视为异常降低<sup>[4]</sup>;*BAG-1*表达量在22.3以上,视为异常升高<sup>[5]</sup>。

#### 1.3 随访

化疗结束后,即对观察组患者开始随访,随访

时间为2年,随访截止时间2021年5月。第1年每2个月随访1次,第2年每4~6个月随访1次。随访方法为:门诊随访、电话随访或登门随访。

#### 1.4 观察指标

##### 1.4.1 毒性反应评价标准

按NCI-CTC3.0(National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria)标准评价毒副反应<sup>[7]</sup>。毒副反应包括白细胞、血小板、血红蛋白、骨髓抑制。

##### 1.4.2 近期疗效

近期疗效:根据实体肿瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)<sup>[8]</sup>将近期疗效分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD)。有效=(CR+PR)/总例数×100%。无效=(SD+PD)/总例数×100%。

#### 1.5 统计学结果

采用SPSS 22.0软件进行统计分析。计数资料以n(%)表示,采用 $\chi^2$ 检验;计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用t检验;采用多元Logistic回归分析影响晚期NSCLC患者SNP位点多态性与铂类药物敏感性的关联性;采用ROC曲线分析联合ERCC1、BRCA1及BAG-1检测对晚期NSCLC患者2年预后的预测价值;以P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 化疗结果

80例NSCLC患者治疗4周后,CR 1例(1.25%),PR 27例(33.75%),SD 33例(41.25%),PD 19例(23.75%),总有效率为35.00%(28/80)。

### 2.2 ERCC1、BRCA1及BAG-1基因多态性与铂类药物过敏性的关联性

ERCC1、BRCA1及BAG-1位点CC、CT、TT基因型化疗疗效比较差异有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 ERCC1、BRCA1及BAG-1基因多态性与铂类药物过敏性的关联性[n(%)]

Table 1 Association of ERCC1, BRCA1 and BAG-1 gene polymorphisms with platinum allergy [n(%)]

指标	SNP位点	CR+PR (n=28)	SD+PD (n=52)	$\chi^2$ 值	P值
ERCC1	CC	17(60.71)	32(61.54)	8.954	0.003
	CT	9(32.14)	16(30.77)		
	TT	2(7.14)	4(7.69)		
BRCA1	CC	19(67.86)	33(63.46)	10.549	<0.001
	CT	8(28.57)	16(30.77)		
	TT	1(3.56)	3(5.77)		
BAG-1	CC	20(71.43)	36(69.23)	8.045	0.005
	CT	7(25.00)	15(28.85)		
	TT	1(3.56)	1(1.92)		

### 2.3 预后

对80例晚期NSCLC患者随访2年,回访率100%,平均随访时间(1.32±0.17)年。随访结果显示:80例晚期NSCLC患者2年生存率为22.50%(18/80),ERCC1及BAG-1异常升高、BRCA1异常降低的晚期NSCLC患者死亡率更高(P<0.05)。见表2。

### 2.4 联合ERCC1、BRCA1及BAG-1检测对晚期NSCLC患者预后预测价值

联合(ERCC1、BRCA1及BAG-1)检测灵敏度、特异度、AUC分别为90.70%、92.50%、0.994,显著高于各指标单一检测(P<0.05)。见表3及图1。

## 3 讨论

NSCLC的发生、转移具有遗传学基础,是癌基因激活、抑癌基因失活及微卫星不稳定性等多因素、多步骤参与的过程<sup>[9]</sup>。分子靶向药物在NSCLC的治疗中凸显了极大的应用前景。NSCLC基础及临床转化研究发现,ERCC1、BRCA1、BAG-1均与铂类及紫杉类药物敏感度相关<sup>[10]</sup>。基于以上研究结果,本文对ERCC1、BRCA1、BAG-1表达量进行研究,为指导NSCLC患者个体化治疗提供参考。

本研究中,80例NSCLC患者治疗4周后,总有效率为35.00%(28/80)。通过采用PCR-RFLP检

表2 晚期NSCLC患者不同ERCC1、BRCA1及BAG-1表达的预后情况[n(%)]

Table 2 prognosis of different ERCC1, BRCA1 and BAG-1 expression in NSCLC patients [n(%)]

预后状态	n	ERCC1		BRCA1		BAG-1	
		异常升高	正常表达	异常降低	正常表达	异常升高	正常表达
生存	18	8(44.44)	10(55.56)	2(11.11)	16(88.89)	4(22.22)	14(77.78)
死亡	62	60(96.77)	2(3.23)	54(87.10)	8(12.90)	55(88.71)	7(11.29)
$\chi^2$ 值		29.961		38.355		31.854	
P值		<0.001		<0.001		<0.001	

表3 联合 *ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 检测对晚期 NSCLC 患者预后预测价值

预测指标	Cut-off 值	灵敏度	特异度	AUC	95%CI	约登指数 (%)	P 值
<i>ERCC1</i>	25.12	0.885	0.897	0.950	0.898~1.000	1.772	<0.001
<i>BRCA1</i>	24.65	0.841	0.865	0.908	0.822~0.994	1.700	<0.001
<i>BAG-1</i>	23.14	0.796	0.825	0.813	0.690~0.936	1.610	<0.001
三者联合检测	24.89	0.907	0.925	0.994	0.000~1.000	1.821	<0.001

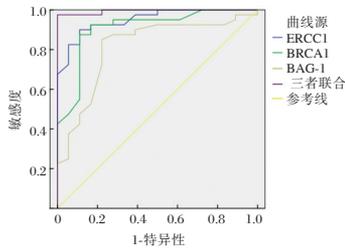


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

测 *ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 检测各基因位点的多态性,发现三者 CC、CT、TT 基因型之间差异有统计学意义,携带 CC 型基因治疗疗效最佳。可见 *ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 可能为影响铂类药物敏感性差异的原因,也可以推测 *ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 位点的多态性可作为预测晚期 NSCLC 患者铂类化疗疗效及生存期的一项重要指标,与 Hurtado 等学者<sup>[11]</sup>研究结果一致。

本研究发现, *ERCC1* 及 *BAG-1* 异常升高、*BRCA1* 异常降低的晚期 NSCLC 患者死亡率更高,可见 *ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 表达量与晚期 NSCLC 患者预后密切相关。*ERCC1* 定位于 1 号染色体, *ERCC1* 编码的蛋白质在 DNA 碱基切除修复和单链断裂修复过程中都发挥重要作用,有文献指出 *ERCC1* 表达量升高会加剧铂类剂耐药<sup>[12-13]</sup>。*BRCA1* 是抑癌基因,在基因修复方面同样扮演重要角色, *BRCA1* 参与了核苷酸剪切修复和同源重组的修复,研究发现 *BRCA1* 表达量上调会增高铂类药物、微管干扰剂的药性<sup>[14-15]</sup>。*BAG-1* 可与抗凋亡蛋白糖皮质激素受体相互作用,于 1995 年被首次发现并命名<sup>[16]</sup>。Wiggins 等人<sup>[17]</sup>研究发现, *BAG-1* 可与 *bcl-2* 形成复合物,并促进抗细胞凋亡的能力,在肺癌、乳腺癌、大肠癌等恶性肿瘤中均阳性表达率较高,且与患者预后相关。*ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 表达异常,均会影响 NSCLC 患者化疗药物耐药,提高 NSCLC 对铂类药物化疗敏感性,导致化疗失败,影响预后。

绘制 ROC 曲线进一步分析发现 *ERCC1* +

*BRCA1*+*BAG-1* 检测灵敏度、特异度均在 90% 以上,显著高于各指标单一检测。由此可见,三项指标联合检测能提高临床对晚期 NSCLC 患者预后评估的效能。

综上所述, *ERCC1*、*BRCA1* 及 *BAG-1* 与晚期 NSCLC 患者化疗敏感性、预后具有相关性,联合三者检测,有助于临床为患者制定个体化治疗方案,改善患者预后。

### 参考文献

- [1] 李晓锋, 张冠军, 汪园园, 等. 非小细胞肺癌 EGFR、ALK 和 ROS1 基因联合检测及突变共存分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(6):378-384.
- [2] Rachel J, Carrier JC, Nathalie R, et al. G-quadruplex located in the 5'UTR of the BAG-1 mRNA affects both its cap-dependent and cap-independent translation through global secondary structure maintenance [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 33(19):19-22.
- [3] 吴颺, 张纯, 陆子鹏, 等. ERCC1 基因多态性与胰腺导管腺癌易感性的 Meta 分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版, 2019, 39(6):941-945.
- [4] 李杨, 张季, 李析胤, 等. BRCA1, ERCC1,  $\beta$ -tubulin III 和 RRM1 的表达对 II~IV 期非小细胞肺癌术后化疗药物确定及生存趋势的影响[J]. 河北医药, 2019, 41(1):6-10.
- [5] Kilbas PO, Akcay IM, Doganay GD, et al. BAG-1 silencing enhanced chemotherapeutic drug-induced apoptosis in MCF-7 breast cancer cells affecting PI3K/Akt/mTOR and MAPK signaling pathways[J]. Molecul Biol Rep, 2019, 26(6):58-59.
- [6] Chen Y, Wang K, Di J, et al. Mutation of the BAG-1 domain decreases its protective effect against hypoxia/reoxygenation by regulating HSP70 and the PI3K/AKT signalling pathway in SY-SH5Y cells[J]. Brain Res, 2020, 17(10):147-150.
- [7] Yang JW, Lee JH, Lee JS, et al. Characteristics of Gastric Carcinomas With High ERCC1 Expression and the Prognostic Value of ERCC1 Expression [J]. Antic Res, 2020, 40(6):3203-3208.
- [8] Jones M, Beuron F, Borg A, et al. Cryo-EM structures of the XPF-ERCC1 endonuclease reveal how DNA-junction engagement disrupts an auto-inhibited conformation [J]. Nature Communicat, 2020, 11(1):112-116.
- [9] Elmenoufy AH, Gentile F, Jay D, et al. Targeting DNA Repair in Tumor Cells via Inhibition of ERCC1-XPF [J]. J Med Chem, 2019, 62(17):68-71.

(下转第 1250 页)

· 论 著 ·

## 动态监测钙磷代谢指标在腹膜透析高磷血症患者治疗中的变化及意义

胡天晓<sup>1\*</sup> 马欣<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 观察钙磷代谢指标在腹膜透析高磷血症患者治疗中的变化。方法 选取2018年7月至2019年12月在本院行维持性腹膜透析并发高磷血症的患者共计60例,用随机数字表法分为2组,对照组30例给予醋酸钙治疗;研究组30例给予碳酸司维拉姆治疗。比较2组血钙、血磷、钙磷乘积、全段甲状旁腺激素(iPTH)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平和碳酸氢盐浓度。结果 两组组内不同时间点的血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗前,两组血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),治疗4、8周后,研究组血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平均低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。对照组组内不同时间点LDL-C、碳酸氢盐浓度水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),研究组组内不同时间点LDL-C、碳酸氢盐浓度水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗前、治疗4周后,两组LDL-C、碳酸氢盐浓度水平组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),治疗8周后,研究组LDL-C低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),碳酸氢盐浓度高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 司维拉姆适用于治疗腹膜透析高磷血症,能纠正钙磷代谢紊乱,调节LDL-C与碳酸氢盐浓度。

**[关键词]** 司维拉姆;腹膜透析;高磷血症;血磷;甲状旁腺激素

### Changes and significance of dynamic monitoring of calcium and phosphorus metabolism indicators in the treatment of patients with peritoneal dialysis and hyperphosphatemia

HU Tianxiao<sup>1\*</sup>, MA Xin<sup>2</sup>

(1. The First Department of Nephrology, Handan Central Hospital, Handan, Hebei, China, 056001;  
2. Department of Pharmacy, Handan Central Hospital, Handan, Hebei, China, 056001)

**[ABSTRACT]** **Objective** To observe the changes of calcium and phosphorus metabolism indexes in the treatment of patients with peritoneal dialysis hyperphosphatemia. **Methods** From July 2018 to December 2019, a total of 60 patients with hyperphosphatemia undergoing maintenance peritoneal dialysis in our hospital were selected and divided into two groups by random number table. 30 cases in the control group were treated with calcium acetate; 30 patients in the study group were treated with sevelamer carbonate. The blood calcium, blood phosphorus, calcium-phosphorus product, intact parathyroid hormone (iPTH) expression level, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and bicarbonate concentration were compared between the two groups. **Results** There was a statistically significant difference in blood calcium, blood phosphorus, calcium-phosphorus product, and iPTH levels at different time points between the two groups ( $P < 0.05$ ). Before treatment, there was no significant between the two groups of blood calcium, blood phosphorus, calcium-phosphorus product, and iPTH levels ( $P > 0.05$ ). After 4 weeks of treatment and 8 weeks of treatment, the study group's blood calci-

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20191839)

作者单位:1. 邯郸市中心医院肾内一科,河北,邯郸 056001

2. 邯郸市中心医院药学部,河北,邯郸 056001

\*通信作者:胡天晓, E-mail:htx89860@163.com

um, blood phosphorus, calcium-phosphorus product, and iPTH levels were lower than those of the control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in LDL-C and bicarbonate concentration levels at different time points in the control group ( $P > 0.05$ ). There was statistically significant difference in LDL-C and bicarbonate concentration levels at different time points in the study group ( $P < 0.05$ ). Before treatment and after 4 weeks of treatment, there was no significant difference in LDL-C and bicarbonate levels between the two groups ( $P > 0.05$ ). After 8 weeks of treatment, the LDL-C of the study group was lower than that of the control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ), the bicarbonate concentration was higher than that of the control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Sevelamer is suitable for the treatment of peritoneal dialysis hyperphosphatemia, can correct calcium and phosphorus metabolism disorders, and regulate the concentration of LDL-C and bicarbonate.

**[KEY WORDS]** Sevelamer; Peritoneal dialysis; Hyperphosphatemia; Blood phosphorus; Parathyroid hormone

高磷血症是终末期肾脏病患者普遍伴有的并发症<sup>[1-2]</sup>。高磷血症长期得不到有效控制,将加剧患者肾功能损害程度,诱发血管钙化等,对腹膜透析治疗产生负面影响。因此,需高度重视血磷水平的有效控制,而合理选用磷结合剂是常用的降磷策略。传统磷结合剂(比如氢氧化铝、醋酸钙)含钙,或含镁、铝等,前者易导致心血管钙化,而后者安全性欠佳,有相关副作用或毒性。司维拉姆是新型磷结合剂,与其它磷结合剂相较,其成分构成不含钙等金属,仍具备强大的磷结合能力,通过作用于磷吸收过程,进而调节血磷水平<sup>[3-4]</sup>。查阅国内外关于司维拉姆治疗高磷血症的相关文献,观察人群多集中在慢性肾衰竭非透析患者、血液透析患者<sup>[5-6]</sup>,而较少研究司维拉姆治疗腹膜透析高磷血症的应用情况。因此,本研究就司维拉姆治疗对腹膜透析高磷血症患者钙磷代谢指标的影响展开探讨,报告如下。

## 1 临床资料与方法

### 1.1 临床资料

选取2018年7月至2019年12月在本院行维持性腹膜透析并发高磷血症的患者60例,使用随机数字表法分成2组,每组均30例。纳入标准:①患有高磷血症;②均成年;③维持性腹膜透析至少3个月;④认知功能正常,沟通能力正常;⑤患者知情本次研究且已签署同意书。排除标准:①有胃肠道手术史,或存在肠功能障碍;②存在碳酸司维拉姆、醋酸钙用药禁忌;③近期患有恶性肿瘤;④患有精神疾病;⑤重要脏器功能异常。全部病例均知悉本次研究,已自愿签署《知情同意书》。

### 1.2 方法

对照组:给予醋酸钙(0.667 g,国药准字

H20103013,海南康倍医药有限公司)治疗。口服,0.667 g/次,3次/d。视血磷、血钙水平确定口服剂量,醋酸钙口服上限1.334 g/次,3次/d。

研究组:给予碳酸司维拉姆(0.8 g,国药准字J20130160,赛诺菲(杭州)制药有限公司)治疗。餐中口服,初始剂量0.8 g/次,3次/d。①血磷 $< 1.13$  mmol/L时,口服碳酸司维拉姆 $\geq 1.6$  g/次的患者需要在2周内减少0.8 g/次;口服碳酸司维拉姆0.8 g/次的患者不再服药。②血磷范围1.13~1.78 mmol/L,维持碳酸司维拉姆口服剂量。③血磷 $> 1.78$  mmol/L时,患者需要在2周内增服0.8 g/次。注意事项:严格遵医用药,不可擅自调整服药方案。疗程:8周。

### 1.3 统计学处理

数据分析使用SPSS 23.0;计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较行 $t$ 检验,多组间比较采用方差分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料比较

两组临床资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

### 2.2 血钙、血磷、钙磷乘积、全段甲状旁腺激素(intact parathyroid hormone, iPTH)水平比较

两组组内不同时间点的血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗前,两组血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),治疗4、8周后,研究组血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平均低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

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

Table 1 Comparison of clinical data between the two groups

资料		对照组 ( $n=30$ )	研究组 ( $n=30$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
性别	男	18(60)	21(70)	0.659	0.417
	女	12(40)	9(30)		
年龄(岁)		58.57±8.15	57.14±8.29	0.674	0.503
体质指数( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ )		22.75±2.43	23.42±2.18	1.124	0.266
腹膜透析时间(月)		33.27±20.18	35.42±18.34	0.432	0.667
原发疾病	肾小球肾炎	15(50)	13(43)	1.460	0.692
	高血压肾损害	9(30)	11(37)		
	糖尿病肾病	4(13)	5(17)		
	多囊肾	2(7)	1(3)		

表2 血钙、血磷、钙磷乘积、iPTH水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Comparison of blood calcium, blood phosphorus, calcium and phosphorus product, and iPTH levels ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	时间	血钙( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	血磷( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	钙磷乘积	iPTH( $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
对照组	30	治疗前	1.76±0.14	2.39±0.13	4.21±0.36	570.74±158.45
		治疗4周后	2.04±0.19	2.25±0.16	4.59±0.21	482.12±144.24
		治疗8周后	2.25±0.23	2.09±0.27	4.70±0.19	412.78±102.63
		$F$ 值	50.083	17.574	28.356	9.996
		$P$ 值	0.000	0.000	0.000	0.000
研究组	30	治疗前	1.82±0.11	2.41±0.15	4.39±0.42	595.67±150.69
		治疗4周后	1.85±0.15 <sup>a</sup>	2.11±0.19 <sup>a</sup>	3.96±0.31 <sup>a</sup>	390.75±121.13 <sup>a</sup>
		治疗8周后	1.91±0.13 <sup>a</sup>	1.88±0.24 <sup>a</sup>	3.59±0.11 <sup>a</sup>	331.13±106.98 <sup>a</sup>
		$F$ 值	3.670	54.707	50.692	35.493
		$P$ 值	0.030	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。表3 LDL-C、碳酸氢盐浓度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 3 Comparison of LDL-C and bicarbonate concentration ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	时间	LDL-C ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	碳酸氢盐 ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
对照组	30	治疗前	2.34±0.55	16.63±1.74
		治疗4周后	2.28±0.47	17.05±1.97
		治疗8周后	2.14±0.42	17.43±2.08
		$F$ 值	1.355	1.283
		$P$ 值	0.263	0.282
研究组	30	治疗前	2.36±0.51	16.48±1.67
		治疗4周后	2.09±0.43	17.78±2.06
		治疗8周后	1.72±0.32 <sup>a</sup>	19.65±2.82 <sup>a</sup>
		$F$ 值	16.973	15.251
		$P$ 值	0.000	0.000

注:与对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

iPTH由甲状腺分泌,参与体内调节钙、磷代谢与骨转换。磷是人体不可或缺的元素,经胃肠道吸收后进入血液,不被吸收的磷则需要经肾排出<sup>[7]</sup>。对腹膜透析高磷血症患者来说,肾功能异常致使排磷能力改变,不足以维持血磷平衡。重建

### 2.3 低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-C, LDL-C)、碳酸氢盐浓度比较

对照组组内不同时间点 LDL-C、碳酸氢盐浓度水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),研究组组内不同时间点 LDL-C、碳酸氢盐浓度水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗前、治疗4周后,两组 LDL-C、碳酸氢盐浓度水平组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),治疗8周后,研究组 LDL-C 低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),碳酸氢盐浓度高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

钙、磷代谢平衡是高磷血症的主要治疗方向。目前常用的血磷水平控制策略包括限制高磷摄入、服用降磷药物等<sup>[8]</sup>。已有大量研究报道<sup>[9-10]</sup>,磷结合剂有助于控制高磷血症患者血磷达标。碳酸司维拉姆属于新型磷结合剂<sup>[11]</sup>,亲水性良好,具有磷结合能力,适用于治疗高磷血症,降血磷水平机制可能是由于其携带有胺基,在肠道中质子化,再与磷结合,进而阻碍磷吸收过程,促使血磷达标。本研究结果表明司维拉姆适用于治疗腹膜透析高磷血症,能纠正钙磷代谢紊乱,升高血钙,降低血磷、钙磷乘积、iPTH水平。李存枚等<sup>[12]</sup>支持本研究观点。本研究中,对照组不同时间血钙水平均高于研究组可能是由于对照组给予醋酸钙治疗,其属于含钙磷制剂,而研究组给予司维拉姆治疗,成分构成中没有钙等金属,与磷的结合效率较少受其它因素干扰,因此,降磷效果更显著,对血钙水平影响则相对轻微。贺丹等<sup>[13]</sup>同样认为,碳酸司维拉姆用于治疗慢性肾衰竭合并高磷血症患者能收获肯定疗效,能降低 iPTH 水平。与本研究结论一致。具体作用机制尚不明确,猜测可能是由于司维拉姆降磷效果显著,且能

预防出现高钙血症,进而间接影响甲状旁腺功能,作用于甲状旁腺激素合成、分泌过程。

血清胆固醇含量直接影响终末期肾脏病患者预后,显著提高心源性死亡风险。而腹膜透析高磷血症患者常伴有脂代谢异常,如过高的 LDL-C 水平。适当补充碳酸氢盐,一定程度上能防治代谢性酸中毒,为腹膜透析高磷血症患者带来临床获益。本研究结果表明司维拉姆用于治疗腹膜透析高磷血症,能有效调节 LDL-C 与碳酸氢盐浓度。司维拉姆除了具有确切的降磷作用外,还能够调节血脂、缓解炎症等多重药理作用<sup>[14]</sup>。司维拉姆能直接结合胆汁,作用于脂肪吸收过程,LDL-C 相应发生改变,故研究组 LDL-C 低于对照组。研究组碳酸氢盐浓度高于对照组的原因可能是,与司维拉姆的主要成分—多聚盐酸丙烯胺密切相关,机体碳酸氢盐得到充分补充并能有效维持在合理范围内。

综上所述,司维拉姆适用于治疗腹膜透析高磷血症,能纠正钙磷代谢紊乱,调节 LDL-C 与碳酸氢盐浓度。

## 参考文献

- [1] 董云萍,李玉凤,蒋红樱,等.慢性肾脏病人高磷血症与动脉粥样硬化相关性的研究进展[J].安徽医药,2021,25(1):1-3.
- [2] 胡洁茹,张霞燕,沈宵,等.3~5期慢性肾脏病患者高磷血症发病情况及危险因素分析[J].浙江中西医结合杂志,2020,30(9):765-767.
- [3] 路琪,李菲菲.司维拉姆片治疗慢性肾衰竭伴高磷血症患者的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2021,37(3):231-233+237.
- [4] 田洁,陈友明,曾艳.醋酸钙片联合司维拉姆治疗维持性血液透析高磷血症的临床疗效及其安全性[J].临床合理用药杂志,2021,14(3):72-74.
- [5] Ketteler M, Sprague SM, Covic AC, et al. Effects of sucroferric oxyhydroxide and sevelamer carbonate on chronic kidney disease-mineral bone disorder parameters in dialysis patients[J]. Nephrol Dial Transplant, 2019,34(7):1163-1170.
- [6] 邵碾红,杨芮.碳酸司维拉姆片在接受高通量血液透析治疗的尿毒症患者中的应用效果[J].河南医学研究,2020,29(11):2011-2013.
- [7] 俞华.碳酸司维拉姆调节维持性血液透析高磷血症患者血成纤维细胞生长因子-23 $\alpha$ -klotho 蛋白作用研究[J].山西医药杂志,2020,49(24):3410-3412.
- [8] 车伟伟.维持性血液透析患者高磷血症的治疗进展[J].中国医药,2019,14(3):467-470.
- [9] 杨成,任星峰,肖瑞峰.司维拉姆治疗维持性血液透析患者微炎症及高磷血症疗效观察[J].微循环学杂志,2019,29(1):77-80.
- [10] 霍延红,张鑫,张文博,等.碳酸司维拉姆治疗维持性透析患者高磷血症的有效性和安全性[J].武警医学,2019,30(1):58-61.
- [11] 金铁俊,林琳,方明艳,等.碳酸司维拉姆分散片制备处方工艺研究[J].中国现代应用药学,2020,37(24):2992-2995.
- [12] 李存枚,张进,白友为,等.司维拉姆治疗维持性血液透析高磷血症的疗效观察[J].现代药物与临床,2020,35(6):1200-1203.
- [13] 贺丹,陆志峰,陆静娟.碳酸司维拉姆对慢性肾衰竭合并高磷血症患者微炎症状况及预后的影响[J].河北医学,2019,25(11):1850-1854.
- [14] 高俊杰,王卫松,苏志国.碳酸司维拉姆对慢性肾功能衰竭合并高磷血症患者炎症因子及钙、磷代谢影响[J].临床军医杂志,2019,47(4):427-428+431.

(上接第1246页)

- [10] Elmenoufy AH, Gentile F, Jay D, et al. Design, synthesis and in vitro cell-free/cell-based biological evaluations of novel ERCC1-XPF inhibitors targeting DNA repair pathway[J]. Europ J Med Chem, 2020, 20(4):112-116.
- [11] Hurtado AM, Luengo-Gil G, Chen-Liang TH, et al. Transcriptomic rationale for synthetic lethality -targeting ERCC1 and CDKN1A in chronic myelomonocytic leukaemia[J]. British J Haematol, 2018, 182(3):63-64.
- [12] Chabanon RM, Muirhead G, Krastev DB, et al. PARP inhibition enhances tumor cell-intrinsic immunity in ERCC1-deficient non-small cell lung cancer[J]. J Clin Invest, 2019, 129(3):58-61.
- [13] 粟治胜,王晓江,程静.叉头框 A1 蛋白在晚期非小细胞肺癌中表达及与铂类化疗药物敏感性的关系[J].热带医学杂志,2020,20(2):57-61.
- [14] 谢晓燕,李超,敬梅,等. ERCC2 Asp312Asn/Lys751Gln 基因多态性与晚期非小细胞肺癌铂类药物化疗敏感性相关性的临床观察[J].临床和实验医学杂志,2019, 18(20):66-69.
- [15] Billing D, Horiguchi M, Wu-Baer F, et al. The BRCT Domains of the BRCA1 and BARD1 Tumor Suppressors Differentially Regulate Homology-Directed Repair and Stalled Fork Protection[J]. Molecul Cell, 2018, 72(1):127-139.
- [16] 董洁,王旭,崔久崑. DNA 损伤修复通路基因多态性与铂类药物化疗非小细胞肺癌敏感性及其预后关系的研究进展[J].吉林大学学报(医学版),2018, 44(4):869-874.
- [17] Wiggins J, Mcloughlin A, George A, et al. Germline BRCA1 and BRCA2 testing for breast cancer survivors [J]. J Med Genet, 2019, 57(8):64-66.

· 论 著 ·

## 木脂素-1 通过抑制 DNA 拓扑异构酶 I 诱导胃癌细胞凋亡的机制研究

娄红刚<sup>1</sup> 张琛涵<sup>1</sup> 康富贵<sup>1</sup> 聂静云<sup>1</sup> 柴琛<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探究牛蒡子衍生物木脂素-1(Mzs-1)体外抗肿瘤活性,初步分析其诱导胃癌细胞凋亡相关机制,为临床提供参考依据。**方法** 采用CCK-8法测定Mzs-1对人胃癌细胞株SGC-7901增殖抑制情况,计算其半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>),并观察Mzs-1对SGC-7901细胞凋亡及细胞周期的影响,分析Mzs-1对DNA拓扑异构酶I(TopoI)活性、SGC-7901细胞TopoI蛋白表达的影响。**结果** Mzs-1能抑制人胃癌细胞株SGC-7901增殖活性,且存在时间-浓度依赖性( $P<0.05$ );不同浓度Mzs-1处理SGC-7901细胞48 h后,各组早期凋亡细胞比率差异有统计学意义( $P<0.05$ );不同浓度Mzs-1作用于SGC-7901细胞48 h后,各组处于G2/M期细胞比例差异有统计学意义( $P<0.05$ );Mzs-1处理SGC-7901细胞48 h后,各组TopoI蛋白相对表达量差异有统计学意义( $P<0.05$ );Mzs-1能抑制SGC-7901细胞中TopoI活性、下调TopoI蛋白表达,且存在浓度依赖性。**结论** Mzs-1具有抗人胃癌细胞株SGC-7901增殖作用,并通过阻滞SGC-7901细胞周期于G2/M期而诱导其细胞株凋亡,作用机制可能与Mzs-1抑制SGC-7901细胞内TopoI活性、下调TopoI蛋白表达有关。

**[关键词]** 木脂素-1; 人胃癌细胞株SGC-7901; DNA拓扑异构酶I

### Study on the mechanism of lignan-1 inducing apoptosis of gastric cancer cells by inhibiting DNA topoisomerase I

LOU Honggang<sup>1</sup>, ZHANG Chenhan<sup>1</sup>, KANG Fugui<sup>1</sup>, NIE Jingyun<sup>1</sup>, CHAI Chen<sup>2\*</sup>

(1. The First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, China, 730000; 2. The First Clinical Medical College of Lanzhou University, People's Hospital of Suzhou High-tech Zone, Suzhou, Jiangsu, China, 215129)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the anti-tumor activity of burdock seed derivative lignan-1 (Mzs-1) in vitro, and analyze its mechanism of inducing apoptosis of gastric cancer cells to provide clinical reference. **Methods** The inhibition of Mzs-1 on the proliferation of human gastric cancer cell line SGC-7901 was determined by CCK-8 method. The 50% concentration of inhibition (IC<sub>50</sub>) of MZS-1 was calculated, and the effect of MZS-1 on apoptosis and cell cycle of SGC-7901 cells was observed. The effect of Mzs-1 on DNA topoisomerase I (Topo I) activity and Topo I protein expression in SGC-7901 cells was analyzed. **Results** MZS-1 can inhibit the proliferation of human gastric cancer cell line SGC-7901 in a time-concentration dependent manner. The IC<sub>50</sub> value of MZS-1 against SGC-7901 was 38.56 μg/mL. After treatment with MZS-1 for 48 h, the ratio of apoptotic cells and G2/M phase cells increased with the increase of drug concentration. MZS-1 inhibits the activity of TOPO I and down-regulates the expression of TOPO I protein in SGC-7901 cells in a concentration-dependent manner. **Conclusion** Mzs-1 has the anti-proliferation effect of human gastric cancer cell line SGC-7901, and induces cell apoptosis by blocking SGC-7901 cell cycle in G2/M phase. The mechanism of action may be related to Mzs-1's inhibition of Topo I activity in SGC-7901 cells and down-regulation of Topo I protein expression.

**[KEY WORDS]** Lignan-1; Human gastric cancer cell line SGC-7901; DNA topoisomerase I

基金项目:甘肃省中医药管理局科研项目(GZK-2011-62)

作者单位:1. 兰州大学第一临床医学院,甘肃,兰州730000

2. 兰州大学第一临床医学院,苏州高新区人民医院,江苏,苏州215129

\*通信作者:柴琛, E-mail:chasechai@126.com

据统计,我国新发胃癌病例占全球范围内所有胃癌的44.10%左右<sup>[1]</sup>。DNA拓扑异构酶I(Topoisomerase I, TopoI)在胃癌肿瘤细胞DNA复制、转录中具有关键作用,抑制其活性是选择性抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡的重要靶点<sup>[2]</sup>。目前,羟基喜树碱(Hydroxycamptothecin, HCPT)是唯一上市的以TopoI为靶点的抗肿瘤药物,在多种肿瘤治疗中取得一定疗效,但临床实践发现此类化合物存在药物代谢效力低下、稳定性差异等局限性<sup>[3]</sup>。故亟需开发以TopoI为靶点的非喜树碱类药物。木脂素属于天然化合物,结构类型丰富,具有包含抗炎、抗病毒、抗肿瘤在内的广泛生物活性<sup>[4]</sup>。本研究通过体外实验探讨Mzs-1诱导SGC-7901细胞凋亡、靶向抑制TopoI的机制,为临床开发、应用Mzs-1作为治疗胃癌候选药物提供实验依据。报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

Mzs-1有青岛科技大学夏亚穆教授合成提供,人胃癌细胞株SGC-7901购于上海生命科学研究院,由兰州大学第一临床医学院中心实验室冻存,DEME培养基(高糖)购于Gibco公司,PBS购于Hyclone公司,胎牛血清(FBS)购于浙江天杭生物科技股份有限公司,0.25%胰蛋白酶(含0.02% EDTA)购于北京索莱宝科技有限公司,双抗(青/链霉素100×)、50×TAE缓冲液、Meilunred核酸电泳染料、羟基喜树碱(HCPT)购于大连美仑生物技术有限公司,DMSO购于Sigma公司,CCK-8购于上海翊圣生物科技有限公司,PBR322质粒、DNA Topo I、DNA marker、6× Loading buffer购于TaKaRa公司,琼脂糖购于HydraGene公司,Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、PMSF蛋白酶抑制剂购于上海碧云天生物技术有限公司,SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、5×电泳缓冲液、10×转膜缓冲液、10×TBST、RIPA裂解液、5×蛋白上样缓冲液购于北京索莱宝科技有限公司,甲醇购于天津市光复科技发展有限公司,脱脂奶粉购于Biofrox公司,蛋白标记物(marker)购于Thermo Scientific公司,兔抗人Topo I单克隆抗体购于Proteintech公司,兔抗人 $\beta$ -actin单克隆抗体购于爱必信生物科技有限公司,辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG购于北京中杉金桥生物技术有限公司,ECL化学发光液、聚偏二氟乙烯膜(PVDF膜)购于Biosharp公司。

### 1.2 方法

Mzs-1使用二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解,经滤膜孔径0.45  $\mu\text{m}$ ,滤器抽滤除菌后,置于4℃冰箱中保存,各组DMSO浓度均低于0.1%。将人胃癌细胞株SGC-7901分装于含有2 mL原始培养基的25  $\text{cm}^2$ 细胞培养瓶中,再加入完全培养基2 mL,放置在37℃、二氧化碳饱和湿度35%的细胞培养箱中进行培养,当细胞长满培养瓶底面积80%~90%后,依次进行细胞传代、细胞冻存、细胞复苏及细胞计数处理。采用CCK-8法检测Mzs-1对人胃癌细胞株SGC-7901增殖抑制的影响,以酶标仪检测450 nm处吸光度(OD)值,OD值重复测量3次,取平均值。细胞存活率(%)=(加药组OD值-空白组OD值)/(阴性对照组OD值-空白组OD值) $\times 100\%$ ,采用GraphPad Prism5计算药物半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。采用流式细胞术检测Mzs-1对SGC-7901细胞凋亡及细胞周期的影响,采用琼脂糖凝胶电泳Mzs-1对TopoI活性的影响,采用蛋白印迹法检测TopoI蛋白表达量。

### 1.3 统计学方法

采用统计软件SPSS 22.0进行统计学分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )描述,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用LSD-t检验,两组间比较采用独立样本t检验;实验数据使用GraphPad Prism5软件进行作图及计算药物IC<sub>50</sub>,以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Mzs-1对SGC-7901细胞的增殖抑制作用

Mzs-1能明显抑制SGC-7901细胞增殖,且存在时间-浓度依赖性( $P < 0.05$ )。见图1。

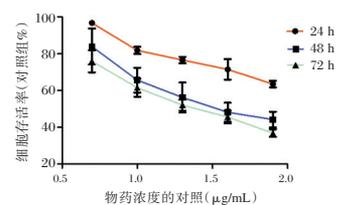


图1 Mzs-1对SGC-7901细胞的增殖抑制作用

Figure 1 The inhibitory effect of Mzs-1 on the proliferation of SGC-7901 cells

### 2.2 Mzs-1对SGC-7901细胞的诱导凋亡作用

不同浓度Mzs-1处理SGC-7901细胞48 h后,各组早期凋亡细胞比率差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与空白对照组相比,不同浓度Mzs-1处理

SGC-7901 细胞 48 h 后,随着 Mzs-1 浓度增加,早期凋亡细胞比率不断升高,且呈现浓度依赖性 ( $P<0.05$ )。与 HCPT 阳性对照组比较,Mzs-1 浓度为 80  $\mu\text{g/mL}$  时早期凋亡率略高 ( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 Mzs-1 对 SGC-7901 细胞早期凋亡率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The effect of Mzs-1 on the early apoptosis rate of SGC-7901 cells ( $\bar{x} \pm s$ )

药物	n	药物浓度( $\mu\text{g/mL}$ )	早期凋亡率(%)
空白对照组	3	0	1.10 $\pm$ 0.18
Mzs-1	3	10	2.23 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
		20	10.60 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
		40	11.90 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
		80	18.37 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>
HCPT 阳性对照组	3	10	18.19 $\pm$ 0.63
F 值			1198.004
P 值			<0.001

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 Mzs-1 对 SGC-7901 细胞周期的影响

不同浓度 Mzs-1 作用于 SGC-7901 细胞 48 h 后,各组处于 G2/M 期细胞比例差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );与空白对照组相比,相同时间内,随着 Mzs-1 药物浓度增加,处于 G2/M 期细胞比例明显增加 ( $P<0.05$ );与 HCPT 阳性对照组相比,Mzs-1 浓度为 80  $\mu\text{g/mL}$  时 G2/M 期细胞比例略高 ( $P>0.05$ )。见图 2、表 2。

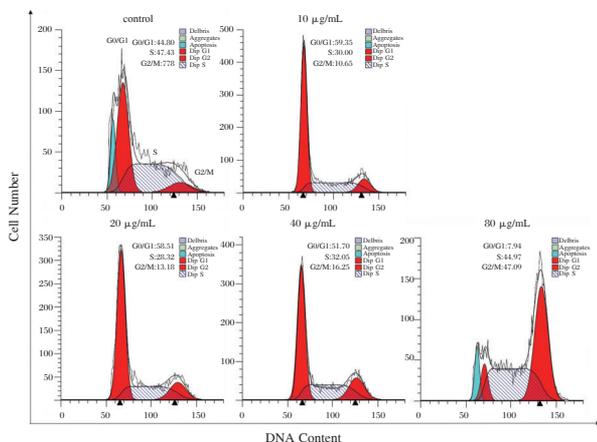


图 2 Mzs-1 对 SGC-7901 细胞周期变化的影响

Figure 2 The effect of Mzs-1 on SGC-7901 cell cycle changes

### 2.4 Mzs-1 对 DNA TopoI 活性的影响

与只加入 pBR322 DNA 泳道相比,加入 TopoI 的超螺旋 pBR322 DNA 被解旋为松弛型 DNA; HCPT 阳性对照组在浓度为 10  $\mu\text{g/mL}$  时完全抑制

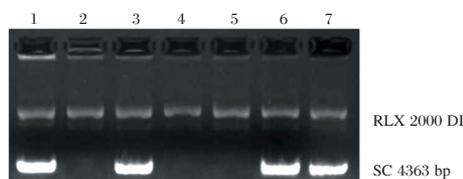
表 2 Mzs-1 对 SGC-7901G<sub>2</sub>/M 期细胞比例的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 The effect of mzs-1 on the proportion of SGC-7901 cells in G<sub>2</sub>/M phase ( $\bar{x} \pm s$ )

药物	n	药物浓度( $\mu\text{g/mL}$ )	G <sub>2</sub> /M 期(%)
空白对照组	3	0	8.30 $\pm$ 2.19
Mzs-1	3	10	11.58 $\pm$ 0.93 <sup>a</sup>
		20	13.67 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>
		40	15.56 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>
		80	46.74 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
HCPT 阳性对照组	3	10	46.60 $\pm$ 0.65
F 值			1508.620
P 值			<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

TopoI 对 pBR322 DNA 的解旋作用;加入 Mzs-1 的泳道随着药物浓度增加,超螺旋 DNA(SC)增多,Mzs-1 浓度为 40  $\mu\text{g/mL}$  时,完全抑制 TopoI 活性,与 HCPT 对照组趋势一致。见图 3。



注:1~3 pBR322 DNA;2U TopoI+0.5  $\mu\text{g}$  pBR322 DNA;2U TopoI+0.5  $\mu\text{g}$  pBR322 DNA+10  $\mu\text{g/mL}$  HCPT;4~7:2U TopoI+0.5  $\mu\text{g}$  pBR322 DNA+10,20,40,80  $\mu\text{g/mL}$  Mzs-1。

图 3 Mzs-1 对 DNA TopoI 活性的影响

Figure 3 The effect of Mzs-1 on DNA TopoI activity

### 2.5 Mzs-1 对 SGC-7901 细胞 TopoI 蛋白表达的影响

Mzs-1 处理 SGC-7901 细胞 48 h 后,各组 TopoI 蛋白相对表达量差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );与空白对照组相比,随 Mzs-1 药物浓度增加,TopoI 蛋白表达量逐渐下降 ( $P<0.05$ ),且 Mzs-1 浓度为 80  $\mu\text{g/mL}$  时抑制率略低于 HCPT 阳性对照组。见表 3。

表 3 Mzs-1 对 SGC-7901 细胞中 TopoI 蛋白相对表达量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 The effect of Mzs-1 on the relative expression of TopoI protein in SGC-7901 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

药物	药物浓度( $\mu\text{g/mL}$ )	灰度值比 (TopoI/ $\beta$ -actin)
空白对照组	0	1.10 $\pm$ 0.07
Mzs-1	10	0.88 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
	20	0.71 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
	40	0.48 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	80	0.37 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
HCPT 阳性对照组	10	0.24 $\pm$ 0.06
F 值		51.762
P 值		<0.001

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 3 讨论

胃癌是国内最常见消化道恶性肿瘤之一,发病率、死亡率仅次于肺癌,总体预后仍处于较低水平<sup>[5]</sup>。胃癌早期无明显症状,多数患者就诊时已处于进展期甚至晚期,丧失手术根治时机,放化疗成为主要治疗手段,可杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤细胞扩散,延长生存时间,但毒副反应较多,严重降低患者生存质量<sup>[6]</sup>。

中医药疗法在减轻临床症状、抑制转移、减少复发等抗肿瘤治疗中卓有成就。牛蒡属于菊科牛蒡属植物,其果实可入药,称为牛蒡子,木脂素类化合物是其主要活性成分,具有调节免疫、保肝、抗病毒、抗炎等作用<sup>[7]</sup>。同时,大量国内外报道证实,木脂素具有良好抗肿瘤作用,此类化合物可经由众多途径抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[8-9]</sup>。而细胞增殖与凋亡失衡是胃癌的基本病理机制<sup>[10]</sup>。Mzs-1是以牛蒡子活性成分衍生物为基础合成的一种新型木脂素类化合物,属于木脂素类的合成前体。本研究结果提示Mzs-1可能通过阻滞SGC-7901细胞,使其停滞于G2/M期,从而诱导细胞凋亡,最终抑制人胃癌细胞株SGC-7901增殖。因此,探究Mzs-1在胃癌中的抗肿瘤作用机制、开发高效的药用Mzs-1具有重要意义。

Topo可直接影响或参与细胞DNA复制、转录等过程,其中TopoI对单链DNA作用,每次仅作用于一条链,能够催化DNA链断裂和重新连接,无需能量辅助因子,可直接发挥相关作用<sup>[11]</sup>。TopoI具有增殖依赖性,在非循环增殖细胞与循环增殖细胞中无差异,研究显示,TopoI虽无肿瘤特殊性,但与正常组织相比,在肿瘤细胞中的表达量显著升高<sup>[12]</sup>。故抑制TopoI活性成为临床公认抗肿瘤药物的作用靶点。目前,HCPT是临床应用较为广泛的化疗药物,其主要作用机制便是经由抑制TopoI活性诱导肿瘤细胞凋亡,已投入到胃癌的治疗中。但临床证实,HCPT因其自身耐药性、稳定性、患者个体差异性等因素导致疗效受限<sup>[13]</sup>。本研究采用琼脂糖凝胶电泳法测定Mzs-1对TopoI活性的影响,发现随着Mzs-1浓度增加,TopoI活性逐渐下降直至失活。由此可知,Mzs-1能够抑制TopoI活性,其作用机制可能在于以下两个方面:一方面Mzs-1可能通过直接抑制TopoI催化活性导致其失活,另一方面Mzs-1可能是经由干扰TopoI与DNA结合,促

使TopoI、DNA、药物形成三元复合物,从而阻滞DNA复制,诱导肿瘤细胞死亡。

为进一步探究Mzs-1抗肿瘤活性及相关机制,本研究结果发现TopoI蛋白表达量随Mzs-1浓度增加呈不断降低趋势。说明Mzs-1能靶向抑制TopoI蛋白表达。此外,体内、体外实验均表明,TopoI抑制剂的抗肿瘤作用主要与诱导肿瘤细胞凋亡有关,多数涉及线粒体依赖途径,即经由Caspase家族介导的凋亡途径发挥相关药物作用,作用机制与激活、上调Caspase-3相关<sup>[14-15]</sup>。有文献指出,采用Mzs-1处理SGC-7901细胞株后,Caspase-3表达呈上调趋势<sup>[16]</sup>。提示Mzs-1靶向抑制TopoI表达的作用可能是依赖于Caspase-3的酶联反应而启动细胞凋亡程序。且与HCPT相比,Mzs-1具有可人工合成、成本较低等优势,为临床治疗胃癌提供新思路。

综上可知,Mzs-1能抑制人胃癌细胞株SGC-7901增殖,诱导SGC-7901细胞凋亡,机制可能与Mzs-1抑制SGC-7901细胞内TopoI活性及蛋白表达有关。但Mzs-1对其他恶性肿瘤细胞的抑制增殖、诱导凋亡作用仍需进一步探索。

### 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.
- [2] Thomas A, Pommier Y. Targeting Topoisomerase I in the Era of Precision Medicine [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(22): 6581-6589.
- [3] Wang W, Tse-Dinh YC. Recent Advances in Use of Topoisomerase Inhibitors in Combination Cancer Therapy [J]. Curr Top Med Chem, 2019, 19(9): 730-740.
- [4] 马英华, 张晓娟. 牛蒡子药物应用的研究进展 [J]. 中医药信息, 2017, 34(2): 116-119.
- [5] 李立新, 蔡翠芳, 李文祥, 等. 胃癌根治术预后相关因素的研究 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(8): 1001-1004.
- [6] 胡亚男, 李朝辉. 腹腔镜手术与传统开腹手术治疗胃癌后复发情况和炎症反应水平的研究 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2019, 25(4): 499-503.
- [7] Gao Q, Yang M, Zuo Z. Overview of the anti-inflammatory effects, pharmacokinetic properties and clinical efficacies of arctigenin and arctiin from *Arctium lappa* L [J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(5): 787-801.
- [8] 马天宇, 陈燕平, 程素盼, 等. 牛蒡子研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(9): 113-116.

(下转第1259页)

· 论 著 ·

## Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在胰腺导管腺癌中的表达及临床意义

刘燕\* 张曼 李成龙

**【摘要】** **目的** 分析细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1)、PSTAT3 和骨桥蛋白 (OPN) 蛋白在胰腺导管腺癌 (PDAC) 中的临床意义。**方法** 选取 2015 年 3 月至 2017 年 3 月本院收治的 75 例 PDAC 患者为 PDAC 组, 另外取 30 例来自切取供肝时附带的正常胰腺组织作为对照组。比较 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在不同组织中的表达及与 PDAC 病理参数、预后的关系。**结果** PDAC 组 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白阳性率高于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。临床分期 III+IV、有淋巴转移及神经浸润的患者 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白阳性率表达显著更高 ( $P < 0.05$ )。神经浸润、淋巴转移、Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白阳性是影响 PDAC 患者预后生存的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。Cyclin D1 阴性、PSTAT3 阴性及 OPN 蛋白阴性组平均生存时间均长于各蛋白阳性组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白的高表达与 PDAC 病情进展及预后有着密切关系, 可作为预测患者预后生存的分子标志物和肿瘤治疗的潜在的靶点。

**【关键词】** 免疫组化; Cyclin D1; PSTAT3; OPN 蛋白; 胰腺癌

### Expression and clinical significance of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein in pancreatic ductal adenocarcinoma

LIU Yan\*, ZHANG Man, LI Chenglong

[The Affiliated Hospital of Sichuan Nursing Vocational College (The Third People's Hospital of Sichuan Province), Chengdu, Sichuan, China, 610000]

**【ABSTRACT】** **Objective** To analyze the clinical significance of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. **Methods** 76 patients with pancreatic ductal adenocarcinoma admitted to this hospital from March 2015 to March 2017 were selected as the PDAC group. In addition, 30 incidental normal pancreatic tissues taken from the liver were taken as the control group. The expressions of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein in different tissues were compared. The relationships between its expressions, the pathological parameters of PDAC and prognosis were analyzed. **Results** The positive rates of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein in the PDAC group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The positive rates of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein in patients with clinical stage III + IV, lymphatic metastasis and nerve infiltration were significantly higher than those in patients with clinical stage I + II ( $P < 0.05$ ). Nerve infiltration, lymphatic metastasis, Cyclin D1, positive PSTAT3 and OPN protein are independent risk factors that affect the prognostic survival of PDAC patients ( $P < 0.05$ ). The average survival time of Cyclin D1 negative, PSTAT3 negative and OPN protein negative group was longer than that of each protein positive group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The high expression of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein is

基金项目:四川省医学会科研课题(Q15040123)

作者单位:四川护理职业学院附属医院(四川省第三人民医院),四川,成都 610000

\*通信作者:刘燕, E-mail:taoyo91913@163.com

closely related to the progression and prognosis of PDAC, and can be used as molecular markers for predicting patient survival and potential targets for tumor therapy.

[KEY WORDS] Immunohistochemistry; Cyclin D1; PSTAT3; OPN protein; Pancreatic cancer

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种主要来源于胰腺导管上皮的恶性肿瘤,恶性程度极高<sup>[1]</sup>。信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)是信号转导和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)家族的重要成员,其在 Tyr705 位点被激活后可形成 PSTAT3(phosphorylated STAT3)<sup>[2]</sup>。研究发现,活化的 STAT3 能促使细胞发生恶性转化,在裸鼠中形成肿瘤,因而 STAT3 被认为是一种癌基因<sup>[3]</sup>。细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)是 STAT3 信号转导途径下游的一个靶基因,其异常表达可对细胞周期循环产生影响。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)作为一种转移相关蛋白,在肿瘤发生及转移中发挥重要作用。本研究检测 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在 PDAC 患者中的表达情况,探讨其在 PDAC 中的临床意义,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2015 年 3 月至 2017 年 3 月本院收治的 75 例 PDAC 患者作为研究对象(PDAC 组)。其中男 45 例,女 30 例,平均年龄(49.19±2.14)岁,临床分期:Ⅰ期 23 例,Ⅱ期 20 例,Ⅲ期 19 例,Ⅳ期 13 例。组织病理学分级:高分化腺癌(G1 级)23 例,中分化腺癌(G2 级)30 例,低分化腺癌(G3 级)22 例。纳入标准:①所有患者有明确的病理学诊断依据,均确诊为 PDAC<sup>[4]</sup>;②入组前未接受放疗及化疗;③肿瘤直径≤5 cm;④临床资料完整无缺失;排除标准:①合并血液疾病者;②严重精神疾患或痴呆等无法配合本研究者;③存在除胰腺癌以外其他原发性恶性肿瘤者;④合并风湿免疫及结缔组织病变者。另外取 30 例来自切取供肝时附带的正常胰腺组织及相应临床资料作为对照组,男 19 例,女 11 例;平均年龄(48.26±2.01)岁;两组性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

### 1.2 研究方法

收集所有患者临床资料,比较 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在 PDAC 组织及正常胰腺组织中的表达;分析 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在 PDAC 患者各病理参数的相关性,记录所有患者在随访时间内存活及死亡情况。

### 1.3 检测方法

#### 1.3.1 主要试剂

兔抗人多克隆抗体 phospho-STAT3(Tyr705)为美国 Upstate 公司产品,鼠抗人单抗 Cyclin D1(DCS-6)购自丹麦的 DAKO 公司,鼠抗人单抗 OPN 为美国 Santa Cruz 公司产品。操作严格按照试剂盒说明书进行。

#### 1.3.2 结果判定<sup>[5]</sup>

判断 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白阳性范围的标准:每张切片在镜下分别以低倍镜及高倍镜进行观察,对每张切片上中下及里外中 9 个位置观察,根据 Wachters 等的标准分析免疫组化。PSTAT3 阳性染色定位于细胞核上,Cyclin D1、OPN 阳性染色定位于胞浆和胞膜上。采用 Volm 双评分法进行判定,在染色均匀的肿瘤区,选取 5 个高倍镜视野(×400):按阳性细胞百分率(A 值)评分:<25%为 1 分,25%~50%为 2 分,>50%为 3 分;按染色强度(B 值)评分:不着色为 0 分,浅棕黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。综合染色阳性细胞数与染色强度判断结果:阴性(-):0 分,弱阳性(+):1~2 分,中度阳性(++):3~4 分,强阳性(+++):5~6 分;两种计分的乘积为每例的加权分数,加权分数为 0 为阴性,其余均为阳性。

### 1.4 随访方法

随访从患者术后开始,直至患者死亡或本研究的随访结束,为期 3 年,截止于 2020 年 3 月 31 日。患者的随访时间分布在 10 至 36 个月,平均随访时间为(29.67±3.11)个月。对患者随访的方式主要采用患者来院复查为主。总生存时间(Overall Survival, OS)表示患者从手术至死亡的时长。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,计数资料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料采用  $(\bar{x} \pm s)$  表

示;采用多元 Logistic 回归分析影响 PDAC 患者预生存的危 险因素,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线研究 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白对患者预后生存的影响;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在 PDAC 组织及正常胰腺组织中的表达

PDAC 组 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白阳性率高于对照组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1、图 1。

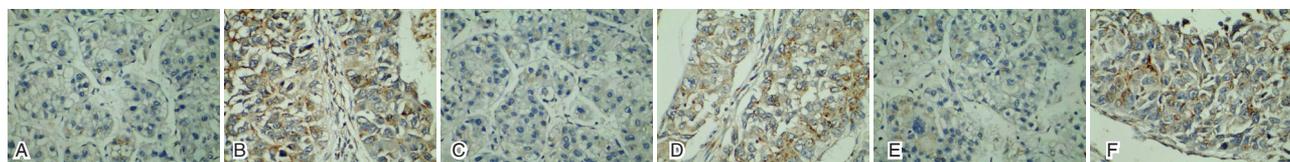
### 2.2 不同临床病理特征患者 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白的表达比较

临床分期 III+IV、有淋巴转移及神经浸润的患者 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白阳性率表达显著更高 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白在 PDAC 组织及正常胰腺组织中的表达比较 [n(%)]

Table 1 Expression comparison of cyclin D1, PSTAT3 and OPN proteins in PDAC tissues and normal pancreatic tissues [n(%)]

组别	n	Cyclin D1		PSTAT3		OPN	
		阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性
PDAC 组	75	15(20.00)	60(80.00)	12(16.00)	63(84.00)	14(18.67)	61(81.33)
对照组	30	25(83.33)	5(16.67)	28(93.33)	2(6.67)	26(86.67)	4(13.33)
$\chi^2$ 值		36.447		54.342		42.016	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	



注:A、B 为 Cyclin D1 阴、阳性表达; C、D 为 PSTAT3 阴性、阳表达; E、F 为 OPN 阴、阳性表达。

图 1 Cyclin D1、PSTAT3 及 OPN 蛋白免疫组化染色图 (SP, × 500)

Figure 1 Immunohistochemical staining of Cyclin D1, PSTAT3 and OPN protein (SP, × 500)

表 2 不同临床病理特征患者 Cyclin D1、PSTAT3 和 OPN 蛋白的表达比较 [n(%)]

Table 2 Expression of cyclin D1, PSTAT3 and OPN in patients with different clinicopathological features [n(%)]

病理参数	例数 (n=75)	Cyclin D1		$\chi^2$ 值	P 值	PSTAT3		$\chi^2$ 值	P 值	OPN		$\chi^2$ 值	P 值
		阴性 (n=15)	阳性 (n=60)			阴性 (n=12)	阳性 (n=63)			阴性 (n=14)	阳性 (n=61)		
年龄(岁)													
<60	39	7(17.95)	32(82.05)	0.214	0.644	6(15.38)	33(84.62)	0.023	0.880	7(17.95)	32(82.05)	0.028	0.868
≥60	36	8(22.22)	28(77.78)			6(16.67)	30(83.33)			7(19.44)	29(90.56)		
性别													
男	45	8(17.78)	37(82.22)	0.347	0.556	7(15.56)	38(84.44)	0.017	0.898	8(17.78)	37(82.22)	0.509	0.809
女	30	7(23.33)	23(76.67)			5(16.67)	25(83.33)			6(20.00)	24(80.00)		
肿瘤最大内径(cm)													
<3	38	9(23.68)	29(76.32)	0.753	0.386	7(18.42)	31(81.58)	0.336	0.562	6(2.63)	32(97.37)	0.420	0.517
≥3	37	6(16.22)	31(83.78)			5(2.70)	32(97.30)			8(21.62)	29(78.38)		
临床分期													
I+II	53	14(26.42)	39(73.58)	4.647	0.031	11(20.75)	42(79.25)	3.039	0.081	13(24.53)	40(75.47)	4.089	0.043
III+IV	22	1(4.55)	21(95.45)			1(4.55)	21(95.45)			1(4.55)	21(95.45)		
组织病理学分级													
G1 期	23	4(17.39)	19(82.61)	0.200	0.905	4(17.39)	19(82.61)	0.020	0.990	5(21.74)	18(78.26)	0.944	0.624
G2 期	30	6(20.00)	24(80.00)			5(16.67)	25(83.33)			4(13.33)	26(86.67)		
G3 期	22	5(22.73)	17(77.27)			4(18.18)	18(81.82)			5(22.73)	17(77.27)		
淋巴转移													
无	20	12(60.00)	8(40.00)	27.273	<0.001	11(55.00)	9(45.00)	30.864	<0.001	12(60.00)	8(40.00)	30.690	<0.001
有	55	3(5.45)	52(94.55)			1(1.82)	54(98.18)			2(3.64)	53(96.36)		
神经浸润													
无	36	13(36.11)	23(63.89)	11.231	0.001	11(30.56)	25(69.44)	10.913	0.001	13(36.11)	23(63.89)	13.876	<0.001
有	39	2(5.13)	37(94.87)			1(2.56)	38(97.44)			1(2.56)	38(97.44)		

### 2.3 影响PDAC患者预后生存的危险因素

随访结果显示,75例患者3年生存率为13.33%(10/75)。神经浸润、淋巴转移、Cyclin D1、PSTAT3和OPN蛋白阳性是影响PDAC患者预后生存的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表3。

### 2.4 Cyclin D1、PSTAT3和OPN蛋白对PDAC患者预后生存的影响

Cyclin D1、PSTAT3及OPN蛋白阴性组平均生存时间均长于Cyclin D1、PSTAT3及OPN蛋白阳性组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见图2。

表3 影响PDA患者预后生存的单因素和多因素分析

Table 3 Univariate and multivariate analysis of prognostic factors in patients with PDA

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
年龄(>60岁 vs ≤60岁)	0.945	0.896	0.211	-	-	-
临床分期(I+II期 vs III+IV期)	0.987	0.131	0.016	0.966	0.861	0.135
病理分化程度(中低分化 vs 高分化)	0.934	0.194	0.021	0.982	0.811	0.148
淋巴转移(有 vs 无)	0.933	0.176	0.030	1.125	0.984	0.025
神经浸润(有 vs 无)	0.876	0.135	0.036	1.106	0.135	0.013
Cyclin D1(阴性 vs 阳性)	1.322	0.322	0.005	1.159	0.174	<0.001
PSTAT3(阴性 vs 阳性)	0.942	0.154	0.019	1.347	0.196	<0.001
OPN(阴性 vs 阳性)	0.936	0.193	0.020	1.290	0.119	<0.001

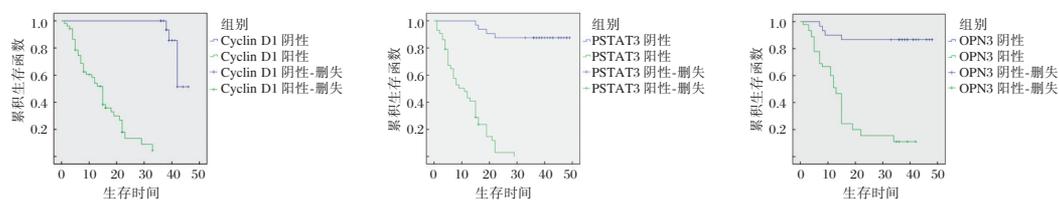


图2 不同Cyclin D1、PSTAT3和OPN蛋白表达患者预后生存情况

Figure 2 Prognosis and survival of patients with different expression of cyclin D1, PSTAT3 and OPN

### 3 讨论

既往研究显示,STAT3在多种人类恶性肿瘤组织及细胞系中存在高表达,而在正常组织中表达比较微弱,提示STAT3信号传导途径的激活在肿瘤的发生过程中起到重要的作用<sup>[6]</sup>。本研究结果显示,PDAC患者中PSTAT3蛋白呈显著阳性表达,且在临床分期越高、出现淋巴结转移及神经浸润患者中阳性表达率更高,表明PSTAT3蛋白可参与PDAC的发生发展,这与黄陈等<sup>[7]</sup>研究中免疫组化发现PSTAT3在胰腺癌组织中存在高表达,与临床分期及淋巴结转移有关相符合。

目前,CyclinD1已被证实是STAT3信号转导途径下游的一个靶基因<sup>[8]</sup>。诸多研究证实,CyclinD1参与多种实体瘤形成的分子病理过程<sup>[9-10]</sup>。Kanayama等<sup>[11]</sup>应用免疫组织化学的方法检测显示CyclinD1蛋白在胰腺癌细胞核中呈阳性表达,而其在正常组织中均为阴性表达,并且其表达情况与患者生存率有关。何劲松<sup>[12]</sup>等研究证实CyclinD1在胰腺癌组织标本中呈过度表达。孟沙

等<sup>[13]</sup>研究提出:当cyclin D1过表达时,会使细胞失去对生长因子的依赖,产生大量的激酶复合体,诱导Rb磷酸化,最终释放转录因子E2F,导致细胞增殖加速,在此过程中则易引发细胞癌变。本研究中,CyclinD1阳性染色定位于细胞的细胞核内,在癌组织中的阳性表达率显著升高,与何劲松等研究数据趋势一致,且本结果中CyclinD1在病情严重患者中阳性表达率更高,其发展趋势符合孟沙的研究理论。

OPN广泛分布于人体内多种组织和细胞中,是一种具有组织细胞特异性的分泌型磷酸化糖蛋白。国外学者认为,OPN在多种恶性肿瘤组织中高表达,其参与多种恶性肿瘤的发生发展、侵袭和转移过程,并在一定程度上反映肿瘤细胞的恶性程度<sup>[14-15]</sup>。关于OPN参与PDAC侵袭转移的具体机制目前尚未明确。本组关于OPN蛋白在PDAC及不同病理特征患者间的表达符合国外学者提出的研究理论,且与唐雨等<sup>[16]</sup>研究中OPN在胰腺癌组织中过表达的结果一致。本文经进一步Logistic回归分析及Kaplan-meier生存曲线分析,结果显示:

CylinD1、pTAT3及OPN蛋白阳性表达是影响患者预后生存的独立危险因素,阳性表达患者生存时间均显著缩短,提示三者可作为评估患者预后的指标。

综上所述,Cyclin D1、PSTAT3和OPN蛋白的高表达与PDAC病情进展及预后有着密切关系,可作为预测患者预后生存的分子标志物和肿瘤治疗的潜在的靶点。

## 参考文献

- [1] Pan L, Zhou X. P2.03-24 CD90 Enhances Metastasis by Epithelial-Mesenchymal Transdifferentiation in Lung Adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2018, 13(10):724-725.
- [2] 于洋,薛莹,仓顺东.热休克蛋白A2,IGFBP2在胰腺癌患者的表达及与临床病理特征相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(3):371-375.
- [3] Ling M, Xiaodong T, Huahu G, et al. Long noncoding RNA H19 derived miR-675 regulates cell proliferation by down-regulating E2F-1 in human pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. J Cancer, 2018, 9(2):389-399.
- [4] 崔自强,窦剑,高庆军,等.胰腺导管腺癌组织中表皮生长因子受体2的表达及临床意义[J].中华胰腺病杂志,2021,21(2):117-121.
- [5] El Saeed GK, Aboraia GY, Noreldin RI, et al. Serum Osteopontin and Cytokeratin-18 in Chronic Hepatitis C Patients[J]. Advanc Techniq Biol Med, 2017, 5(1):1344-1349.
- [6] Guo C, Zhuge X, Wang Q, et al. The differentiation of pancreatic neuroendocrine carcinoma from pancreatic ductal adenocarcinoma: the values of CT imaging features and texture analysis[J]. Canc Imaging, 2018, 18(1):1477-1485.
- [7] 黄陈,裘正军,胡宏惠,等. p-STAT3与E-cadherin在胰腺癌中的表达及其临床意义[J].世界华人消化杂志,2007,15(4):381-386.
- [8] Ryan JF, Groot VP, Rosati LM, et al. Stereotactic Body Radiation Therapy for Isolated Local Recurrence After Surgical Resection of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Appears to be Safe and Effective[J]. Ann Surg Oncol, 2017, 25(1):1-10.
- [9] Schorn S, Demir IE, Reyes CM, et al. The impact of neoadjuvant therapy on the histopathological features of pancreatic ductal adenocarcinoma-A systematic review and meta-analysis [J]. Canc Treatm Rev, 2017, 55(19):96-106.
- [10] Tai WT, Cheng AL, Shiau CW, et al. Corrigendum to "Signal transducer and activator of transcription 3 is a major kinase-independent target of sorafenib in hepatocellular carcinoma"[J]. J Hepatol, 2017, 66(6):1334.
- [11] Kanayama M, Xu S, Danzaki K, et al. Skewing of the population balance of lymphoid and myeloid cells by secreted and intracellular osteopontin[J]. Nature Immunol, 2017, 56(11):1557-1560.
- [12] 何劲松,赖焕辉,姜立华,等. p16, CyclinD1, Cdk4, Rb基因在胰腺癌中的表达及其意义[J]. 癌症, 1999, 18(4):418-421.
- [13] 孟沙,秦恩杰,熊敏涵,等. eIF4E和cyclin D1在肿瘤中的调控机制及临床治疗进展[J]. 中国医药生物技术, 2020, 14(2):216-219.
- [14] 李建,马维东,高松,等.胰腺导管腺癌中酪氨酸蛋白激酶-7的表达及临床意义[J].中国肿瘤临床,2018,45(20):1038-1043.
- [15] Gent S, Skyschally A, Kleinbongard P, et al. Ischemic preconditioning in pigs: a causal role for signal transducer and activator of transcription 3[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017, 312(3):473-478.
- [16] 唐雨,江月萍,任琳琳.骨桥蛋白对胰腺癌患者诊断及预后价值的荟萃分析[J].中华肝胆外科杂志,2019,25(8):596-601.
- [9] 杨桢楠,黄小英,王尉,等.牛蒡子中一个新木脂素类化合物[J].药学报,2017,52(5):779-784.
- [10] Ao R, Guan L, Wang Y, et al. Silencing of COL1A2, COL6A3, and THBS2 inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion while promoting apoptosis through the PI3k-Akt signaling pathway [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(6):4420-4434.
- [11] Delgado JL, Hsieh CM, Chan NL, et al. Topoisomerases as anticancer targets[J]. Biochem J, 2018, 475(2):373-398.
- [12] Heestand GM, Schwaederle M, Gatalica Z, et al. Topoisomerase expression and amplification in solid tumours: Analysis of 24,262 patients[J]. Eur J Cancer, 2017, 52(83):80-87.
- [13] 孙亦鹏,倪振华,张孟哲,等.羟基喜树碱对肺癌A549细胞增殖、凋亡的影响及机制[J].山东医药,2020,60(5):6-9.
- [14] 马萍,李琦,金武龙.羟基喜树碱纳米胶束对舌癌RSCC-1细胞体外抑制实验[J].口腔医学,2018,38(2):120-123.
- [15] You F, Gao C. Topoisomerase Inhibitors and Targeted Delivery in Cancer Therapy[J]. Curr Top Med Chem, 2019, 19(9):713-729.
- [16] 祁英文,彭超,夏亚穆,等.木脂素1对人胃癌细胞株SGC-7901体外抗肿瘤作用[J].中国普外基础与临床杂志,2016,23(10):1204-1208.

(上接第1254页)

## CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS 在糖尿病酮症酸中毒诊断和病情评估中价值

潘艳丽 汪四虎\* 黄大祥

**[摘要]** 目的 探讨C反应蛋白(CRP)/血乳酸(Lac)、 $\beta$ -羟丁酸( $\beta$ -HBA)、血淀粉酶(AMS)在糖尿病酮症酸中毒(DKA)诊断和病情评估中价值。方法 选取2018年1月至2020年12月本院收治的260例无DKA的糖尿病患者(无DKA组)、100例DKA患者(DKA组),并选取同期40例健康体检者作为对照组,比较3组及不同DKA病情程度患者CRP、Lac、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS水平,应用Spearman、多因素Logistic回归方程、受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)对数据进行处理分析。结果 DKA组FPG、HbA1c、CRP、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS高于无DKA组、对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),无DKA组FPG、HbA1c、CRP、Lac、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );CRP、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS:重度>中度>轻度,差异有统计学意义( $P<0.05$ );不同病情程度患者Lac比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );CRP、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS与病情程度呈正相关( $P<0.05$ );将FPG、HbA1c控制后,CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS仍与DKA发生相关( $P<0.05$ );CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS诊断DKA的AUC依次为0.827、0.833、0.737,CRP/Lac+ $\beta$ -HBA+AMS诊断DKA的AUC为0.928。结论 DKA患者CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS升高,有助于DKA的诊断和病情程度的评估。

**[关键词]** CRP/Lac;  $\beta$ -HBA; AMS; 糖尿病酮症酸中毒; 病情程度

### The value of CRP/Lac, $\beta$ -HBA and AMS in diagnosis and evaluation of diabetic ketoacidosis

PAN Yanli, WANG Sihua\*, HUANG Daxiang

(Department of Endocrinology, Anqing Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Anqing, Anhui, China, 246003)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the value of C-reactive protein (CRP)/lactic acid (Lac),  $\beta$ -hydroxybutyric acid ( $\beta$ -HBA) and amylase (AMS) in the diagnosis and condition assessment of diabetic ketoacidosis (DKA). **Methods** 260 diabetic patients without DKA (non-DKA group) and 100 patients with DKA (DKA group) who were admitted to our hospital from January 2018 to December 2020 were selected, and 40 healthy physical examination subjects during the same period were selected as the control group. The levels of CRP, Lac, CRP/Lac,  $\beta$ -HBA, and AMS in 3 groups and patients with different degrees of DKA were compared. Spearman, multivariate logistic regression equation, receiver operating characteristic curve (ROC) and area under ROC (AUC) were used to process and analyze the data. **Results** FPG, HbA1c, CRP, CRP/Lac,  $\beta$ -HBA, AMS in the DKA group were higher than those in non-DKA and the control group ( $P<0.05$ ). FPG, HbA1c, CRP, Lac, CRP/Lac,  $\beta$ -HBA in the non-DKA group were higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). CRP, CRP/Lac,  $\beta$ -HBA, AMS: severe > moderate > mild ( $P<0.05$ ). There was no statistically significant difference in Lac between patients with different disease levels ( $P>0.05$ ), CRP, CRP/Lac,  $\beta$ -HBA, AMS were positively correlated with the severity of the disease ( $P<0.05$ ). After controlling FPG and HbA1c, CRP/Lac,  $\beta$ -HBA and AMS were still related to DKA ( $P<0.05$ ). The AUC of CRP/Lac,

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目(重点项目)(KJ2017A174)

作者单位:安徽医科大学附属安庆医院内分泌科,安徽,安庆 246003

\*通信作者:汪四虎, E-mail: sihuwang@sina.com

$\beta$ -HBA, and AMS in the diagnosis of DKA were 0.827, 0.833, 0.737, and the AUC of CRP/Lac+ $\beta$ -HBA+AMS in the diagnosis of DKA was 0.928. **Conclusion** CRP/Lac,  $\beta$ -HBA, and AMS in DKA patients are elevated, which is helpful for the diagnosis of DKA and the evaluation of the severity of the disease.

[**KEY WORDS**] CRP/Lac;  $\beta$ -HBA; AMS; Diabetic ketoacidosis; Severity of illness

糖尿病酮症酸中毒(Diabetic ketoacidosis, DKA)是糖尿病一种急性并发症,可增加脑水肿、神经损害、死亡等风险,因此早期诊断并评估患者病情程度意义重大<sup>[1]</sup>。目前常依据临床表现、血糖、动脉血 pH 值、血浆有效渗透压等对 DKA 进行诊断和病情评估,检测项目繁琐,因此研究更简便的方法具有积极意义。C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是一种急性时相蛋白,在 DKA 中水平升高<sup>[2]</sup>。血乳酸(Lactic acid, Lac)可反映机体循环功能,与炎症指标降钙素原比值在 DKA 患者中表现为升高,而关于炎症指标 CRP/Lac 在 DKA 中研究较少<sup>[3]</sup>。 $\beta$ -羟丁酸( $\beta$ -hydroxybutyric acid,  $\beta$ -HBA)是酮体的主要成分,发生 DKA 时  $\beta$ -HBA 可升高<sup>[4]</sup>。血淀粉酶(Amylase, AMS)是一种消化酶,可将淀粉分解形成葡萄糖,为人体提供能量,但是否与 DKA 有关尚不明确<sup>[5]</sup>。本研究探讨 CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS 在糖尿病酮症酸中毒诊断和病情评估中价值,旨在为临床诊治 DKA 提供客观参考,报告如下。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

选取 2018 年 1 月至 2020 年 12 月本院收治的 260 例无 DKA 的糖尿病患者(无 DKA 组)、100 例 DKA 患者(DKA 组),并选取同期 40 例健康体检者作为对照组。纳入标准:①2 型糖尿病患者,诊断参考《中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)》<sup>[6]</sup>;②DKA 诊断参考《中国高血糖危象诊断与治疗指南》<sup>[7]</sup>。③所有患者均知情同意。排除标准:①巨淀粉酶血症者;②伴有癌症者;③心肾功能严重不全者;④近期有手术史者;⑤慢性胰腺炎患者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 资料收集

收集患者年龄、性别、体质量指数、病程、饮酒史、吸烟史、合并疾病资料。

#### 1.2.2 各指标检测

对照组于入院时,病例于确诊时,采集外周静脉血,应用葡萄糖氧化酶法检测空腹血糖(Fasting Blood Glucose, FBG),应用高效液相色谱法测定糖

化血红蛋白(Glycated Hemoglobin A1c, HbA1c),试剂盒购于北京九强生物技术股份有限公司;应用化学发光免疫分析法检测 CRP 水平,试剂盒购于武汉明德生物科技有限公司;应用酶显色法检测 Lac,试剂盒购于北京利德曼生化股份有限公司;应用循环酶法检测  $\beta$ -HBA 水平,试剂盒购于四川新健康成生物股份有限公司;采用酶联免疫吸附法检测 AMS 水平,试剂盒购于上海信帆生物科技有限公司。

### 1.2.3 DKA 病情评估<sup>[7]</sup>

轻度:血糖>13.9 mmol/L,动脉血 pH 值 7.25~7.30,血清  $\text{HCO}_3^-$  15~18 mmol/L,尿酮阳性,血酮阳性,血浆有效渗透压可变,阴离子间隙>10,精神状态清醒;中度:血糖>13.9 mmol/L,动脉血 pH 值 7.00~<7.25,血清  $\text{HCO}_3^-$  10~<15 mmol/L,尿酮阳性,血酮阳性,血浆有效渗透压可变,阴离子间隙>12,精神状态清醒/嗜睡;重度:血糖>13.9 mmol/L,动脉血 pH 值>7.00,血清  $\text{HCO}_3^-$  >10 mmol/L,尿酮阳性,血酮阳性,血浆有效渗透压可变,阴离子间隙>12,精神状态木僵/昏迷。

### 1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 22.0 处理,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较以单因素方差分析,两两比较以 LSD-t 检验,计数资料用  $n(\%)$  表示,用  $\chi^2$  检验,应用 Spearman 分析各指标与病情程度关系,采用多因素 Logistic 回归方程分析 DKA 相关影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及 ROC 下面积(AUC)分析各指标诊断 DKA 价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3 组基线资料、各指标比较

组间年龄、性别、体质量指数、病程、饮酒史、吸烟史、合并疾病比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );DKA 组 FBG、HbA1c、CRP、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS 高于无 DKA 组、对照组( $P < 0.05$ ),无 DKA 组 FBG、HbA1c、CRP、Lac、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA 高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表1 3组基线资料、各指标比较  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$ Table 1 Comparison of baseline data and indicators of 3 groups  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$ 

资料	DKA组(n=100)	无DKA组(n=260)	对照组(n=40)	t/F/ $\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	57.16±10.33	54.82±11.08	55.89±12.27	1.654	0.193
性别(男/女)	48/52	136/124	21/19	0.564	0.754
体质量指数(kg/m <sup>2</sup> )	23.46±1.72	23.89±1.90	24.13±1.88	2.617	0.074
病程(年)	7.89±2.34	7.56±2.20	-	1.252	0.211
饮酒史	95(95.00)	255(98.08)	39(97.50)	2.567	0.277
吸烟史	45(45.00)	132(50.77)	18(45.00)	1.212	0.545
FBG(mmol/L)	19.89±5.22	12.58±3.60 <sup>a</sup>	5.12±0.47 <sup>ab</sup>	232.516	<0.001
HbA1c(%)	11.26±2.67	8.26±1.54 <sup>a</sup>	5.04±0.41 <sup>ab</sup>	185.766	<0.001
合并疾病					
高脂血症	18(18.00)	41(15.77)	-	0.125	0.724
心脏病	3(3.00)	9(3.46)	-	0.012	0.913
高血压	6(6.00)	20(7.69)	-	0.108	0.743
感染	19(19.00)	39(15.00)	-	0.585	0.445
CRP(mg/L)	18.23±5.11	10.02±3.15 <sup>a</sup>	3.22±1.18 <sup>ab</sup>	298.608	<0.001
Lac(mmol/L)	1.32±0.40	1.25±0.39	0.52±0.19 <sup>ab</sup>	72.101	<0.001
CRP/Lac	13.81±2.59	8.02±1.40 <sup>a</sup>	6.19±1.24 <sup>ab</sup>	458.783	<0.001
$\beta$ -HBA(mmol/L)	0.70±0.20	0.36±0.11 <sup>a</sup>	0.18±0.05 <sup>ab</sup>	305.294	<0.001
AMS(U/L)	118.48±35.67	75.03±24.28 <sup>a</sup>	70.51±20.33 <sup>a</sup>	98.491	<0.001

注：“-”表示无此项资料；与DKA组比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与无DKA组比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

## 2.2 不同病情程度患者各指标水平比较

不同病情程度患者CRP、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS水平比较：重度>中度>轻度，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )；不同病情程度患者Lac比较，差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

## 2.3 各指标与病情程度关系

Spearman相关性显示，CRP( $r=0.833, P<0.001$ )、CRP/Lac( $r=0.839, P<0.001$ )、 $\beta$ -HBA( $r=0.661, P<0.001$ )、AMS( $r=0.628, P<0.001$ )与病情程度呈正相关；Lac与病情程度无相关性( $r=0.158, P=0.117$ )。

表2 不同病情程度患者各指标水平比较  $(\bar{x} \pm s)$ Table 2 Comparison of the levels of various indicators in patients with different disease levels  $(\bar{x} \pm s)$ 

组别	n	CRP(mg/L)	Lac(mmol/L)	CRP/Lac	$\beta$ -HBA(mmol/L)	AMS(U/L)
轻度	43	11.64±5.41 <sup>ab</sup>	1.35±0.35	9.70±2.16 <sup>ab</sup>	0.50±0.15 <sup>ab</sup>	96.48±26.59 <sup>ab</sup>
中度	39	19.18±5.84 <sup>a</sup>	1.38±0.40	13.90±4.09 <sup>a</sup>	0.79±0.22 <sup>a</sup>	120.04±37.18 <sup>a</sup>
重度	18	31.91±6.55	1.48±0.43	21.56±6.82	0.98±0.30	167.66±41.17
F值		78.551	0.729	53.705	38.752	28.148
F值		<0.001	0.485	<0.001	<0.001	<0.001

注：与重度比较，<sup>a</sup> $P<0.05$ ；与中度比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

## 2.4 多因素分析

以DKA发生与否为因变量，赋值：0=未发生，1=发生；以CRP、Lac、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS作为因变量，并依据均值进行分层，DKA组和无DKA组CRP、Lac、CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS依次为12.30 mg/L、1.27 mmol/L、9.63、0.45 mmol/L、87.10 U/L，赋值：1=低于均值，1=高于均值；应用多因素Logistic回归方程分析，结果显示，将FBG、HbA1c控制后，CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS仍与DKA发生相关( $P<0.05$ )。见表3。

## 2.5 各指标诊断DKA价值

根据多因素Logistic回归方程分析结果，选取CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS对DKA进行诊断；以DKA

表3 DKA多因素Logistic回归方程分析

Table 3 Multi-factor Logistic regression equation analysis of DKA

影响因素	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$	OR值	95%CI	P值
CRP	0.182	0.311	0.343	1.200	0.564-2.552	0.614
Lac	0.174	0.365	0.228	1.191	0.718-1.974	0.805
CRP/Lac	0.422	0.126	11.193	1.524	1.258-1.847	<0.001
$\beta$ -HBA	1.218	0.349	12.172	3.379	3.156-3.618	<0.001
AMS	0.646	0.169	14.612	1.908	1.035-3.517	<0.001

组为阳性样本，以无DKA组为阴性样本，绘制各指标诊断DKA的ROC曲线，结果显示，CRP/Lac+ $\beta$ -HBA+AMS诊断DKA的AUC为0.928( $P<0.05$ )。见表4、图2。

表4 ROC分析结果

Table 4 ROC analysis results

指标	AUC	95%CI	cut-off值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
CRP/Lac	0.827	0.784~0.865	>11.93	61.00	89.23	<0.001
$\beta$ -HBA	0.833	0.791~0.870	>0.54 mmol/L	72.00	83.08	<0.001
AMS	0.737	0.688~0.781	>102.97 U/L	56.00	83.46	<0.001
联合	0.928	0.896~0.952		80.00	93.85	<0.001

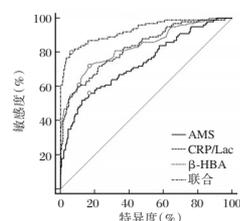


图2 各指标诊断DKA价值

Figure 2 Diagnostic value of DKA by indicators

### 3 讨论

CRP可反映机体炎症反应状态,与无DKA患者相比,发生DKA患者CRP水平较高,经胰岛素等治疗后,病情缓解,CRP水平表现为降低<sup>[8-9]</sup>。Lac来源于红细胞、骨骼肌等,是糖酵解无氧代谢产物,可反映机体代谢状态、组织氧供<sup>[10]</sup>。CRP/Lac可全面反映机体酸中毒状态下炎症反应程度,本研究显示,DKA患者CRP/Lac高于无DKA患者,将FBG、HbA1c控制后,CRP/Lac仍与DKA发生相关。一方面DKA患者普遍血糖控制不佳,发病前即处于较高水平,这种长期慢性高血糖刺激可引起炎症反应,导致CRP升高且CRP/Lac与DKA病情程度呈正相关,说明CRP/Lac越高,提示患者病情越严重,故临床上应加强对CRP/Lac高水平患者的综合治疗和管理,以促进病情转归。

血酮是诊断DKA重要参考之一,现阶段临床多采用尿酮体检测,灵敏度高、检测简便,但假阳性率高,特异性差,可增加后续不必要的检查。 $\beta$ -HBA是酮体的主要成分,采集外周血检测标本获取容易,兼具敏感性和特异性。本研究结果与既往报道<sup>[11]</sup>一致,证实 $\beta$ -HBA可用于DKA的诊断和评估。DKA时,升糖激素作用增强,胰岛素作用减弱,使脂肪组织分解为游离脂肪酸进入血液,在肝脏氧化分解后,产生包括 $\beta$ -HBA在内的多种代谢产物,导致 $\beta$ -HBA升高,引起酮血症、代谢性酸中毒<sup>[12]</sup>。由于DKA病情进展较快,条件允许时,推荐应用便捷式血酮仪检测 $\beta$ -HBA,以实现快速对DKA的快速诊断,若无血酮检测设备可用时,尿酮

检测可作为备用,但应注意尿酮可能存在的假阳性情况,避免低估病情。

AMS主要存在于人体胰腺之内,生理状态下外周血含量微少,发生急性胰腺炎时AMS从胰腺细胞中释放出来,血AMS明显升高<sup>[13]</sup>。高艳霞等<sup>[14]</sup>报道,AMS升高的DKA患者,常伴有肾功能损害和酸中毒,需要收入ICU监护病房的可能性增加,病情更严重,本研究观点与之相似,因此临床工作中不能简单地认为,AMS升高即发生胰腺炎。笔者长期临床经验也发现,存在较大比例DKA患者在起病24h内AMS高于正常值上限,并持续3~5d。陈政等<sup>[15]</sup>研究发现,DKA患者AMS升高发生率为28.5%,亦证实AMS升高在DKA中广泛发生。可见对以恶心、呕吐、腹痛等为首发症状,伴有AMS升高患者,应仔细鉴别是否为急性胰腺炎,避免误诊误治,使患者错过最佳诊疗时机而导致不良预后。同时AMS与DKA病情程度呈正相关,不仅能为DKA的诊断提供依据,还有助于DKA患者病情的评估。

综上,DKA患者CRP/Lac、 $\beta$ -HBA、AMS升高,并与病情程度有关,有望成为诊断DKA的外周血标志物,为临床诊治DKA提供重要参考信息。

### 参考文献

- Cashen K, Petersen T. Diabetic Ketoacidosis [J]. *Pediatr Rev*, 2019, 40(8):412-420.
- Kruljac I, Čačić M, Čačić P, et al. The Impact of Hyperosmolarity on Long-Term Outcome in Patients Presenting with Severe Hyperglycemic Crisis: A Population Based Study [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2018, 126(9):564-569.
- 王文一,王小飞,李志刚,等. 血降钙素原乳酸比对糖尿病酮症酸中毒患者感染的诊断研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(9):1347-1350.
- Thapa SS, Lal A, Omer A, et al. Elevated  $\beta$ -hydroxybutyric acid with no ketoacidosis in type 2 diabetic patients using sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors [J]. *J Formos Med Assoc*, 2019, 118(10):1473-1474.
- Sarkar R, Paul R, Roy D, et al. Serum Amylase and Lipase Levels in Diabetic Ketoacidosis: A Common Misdirection [J]. *J Assoc Physicians India*, 2017, 65(6):111.
- 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2013年版)[J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 30(8):893-942.
- 中华医学会糖尿病学分会. 中国高血糖危象诊断与治疗指南[J]. *中华糖尿病杂志*, 2013, 5(8):449-461.
- 胡美娅,郑乐群,卢翔. 自拟固肾治水汤联合胰岛素治疗糖尿病酮症酸中毒的临床观察[J]. *中国中医急症*, 2018, 27(12):2209-2211.

(下转第1267页)

## 血清 PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1 水平对新生儿细菌性肺炎的鉴别诊断

祝体红 赵勇 许玉峰\*

**[摘要]** **目的** 探讨血清降钙素原(PCT)、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶( $\alpha 1$ -AT)、高迁移率族蛋白 B(HMGB1)水平对新生儿细菌性肺炎的鉴别诊断价值。**方法** 选取本院2019年7月至2020年8月120例感染性肺炎新生儿纳入感染性肺炎组,根据血、痰培养和病毒学指标检测结果分为细菌性肺炎组( $n=52$ 例)与非细菌性肺炎组( $n=68$ 例),非细菌性肺炎组包括病毒性肺炎组( $n=29$ 例)和支原体肺炎组( $n=39$ 例),另选取50例作先天性疾病筛查的健康新生儿作为健康对照组,检测各组血清PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1水平,采用受试者工作曲线(ROC)评价三项指标单独或联合检测对新生儿细菌性肺炎的鉴别诊断价值。**结果** 血清PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1水平:细菌肺炎组>非细菌肺炎组>健康对照组,差异均有统计意义( $P<0.05$ )。PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1联合诊断细菌性肺炎ROC曲线下面积为0.945,高于单独检测诊断值( $P<0.05$ )。PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1联合检测鉴别细菌与非细菌性肺炎ROC曲线下面积为0.908,高于单独检测诊断值( $P<0.05$ )。**结论** 感染性肺炎新生儿血清PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1水平升高,且相较于非细菌感染性肺炎,细菌感染性肺炎升高趋势更为显著,三者联合应用对于细菌感染性与非细菌感染性的鉴别具有较高的评估价值。

**[关键词]** 新生儿;细菌性肺炎;降钙素原; $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶;高迁移率族蛋白 B

### Value of serum PCT, $\alpha 1$ -AT and HMGB1 levels in the differential diagnosis of neonatal bacterial pneumonia

ZHU Tihong, ZHAO Yong, XU Yufeng\*

(Department of Pediatrics, Huaibei People's Hospital, Huaibei, Anhui, China, 235000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the value of serum procalcitonin (PCT),  $\alpha 1$ -antitrypsin ( $\alpha 1$ -AT) and high mobility group box protein (HMGB1) levels in the differential diagnosis of neonatal bacterial pneumonia. **Methods** A total of 120 neonates with infectious pneumonia in the hospital were included in the infectious pneumonia group between July 2019 and August 2020. According to detection results of blood culture, sputum culture and virological indicators, they were divided into the bacterial pneumonia group ( $n=52$ ) and the non-bacterial pneumonia group ( $n=68$ ). The patients in the non-bacterial pneumonia group were divided into the viral pneumonia group ( $n=29$ ) and the Mycoplasma pneumonia group ( $n=39$ ). Another 50 healthy neonates undergoing congenital disease screening were enrolled as the healthy control group. The levels of serum PCT,  $\alpha 1$ -AT and HMGB1 in each group were detected. The value of the three indicators alone or combination in the differential diagnosis of neonatal bacterial pneumonia was evaluated by the receiver operator characteristic (ROC) curves. **Results** Serum PCT,  $\alpha 1$ -AT, HMGB1 levels: the bacterial pneumonia group > the non-bacterial pneumonia group > the healthy control group, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The area under the ROC curve for the combined diagnosis of bacterial pneumonia by PCT,  $\alpha 1$ -AT, and HMGB1 was 0.945, which was higher than the diagnostic value of single detection ( $P<0.05$ ). The area under the ROC curve of PCT,  $\alpha 1$ -AT, and HMGB1 combined detection to distinguish bacterial and non-bacterial

基金项目:国家级自然科学基金(WA2020HK60)

作者单位:淮北市人民医院儿科,安徽,淮北 235000

\*通信作者:许玉峰, E-mail: 626424123@qq.com

pneumonia was 0.908, which was higher than the diagnostic value of single detection ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Serum PCT,  $\alpha 1$ -AT, and HMGB1 levels of newborns with infectious pneumonia are elevated, and compared with non-bacterial infectious pneumonia, bacterial infectious pneumonia has a more significant increase trend. The combined application of the three has a high evaluation value for the identification of bacterial infectivity and non-bacterial infectivity.

**[KEY WORDS]** Neonate; Bacterial pneumonia; Procalcitonin;  $\alpha 1$ -antitrypsin; High mobility group box protein

依照病原体的不同,新生儿肺炎可分为细菌性肺炎、病毒性肺炎以及支原体肺炎等,不同感染类型治疗方法及预后状态均存在较大差异,因此加强病原微生物的鉴别对治疗药物的合理选择具有重要参考价值<sup>[1]</sup>。细菌性肺炎发病率与死亡率均居于新生儿感染性疾病首位,炎症细胞和因子可造成全身炎症反应综合征,加重患儿病情<sup>[2]</sup>。细菌性肺炎临床表现不典型,因此其临床早期鉴别诊断也较为困难。当机体出现全身性的细菌感染、系统性炎症反应综合征等时,机体血液中的降钙素原(Procalcitonin, PCT)浓度可出现异常升高<sup>[3]</sup>。 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶( $\alpha 1$ -antitrypsin,  $\alpha 1$ -AT)是血浆中最重要的蛋白酶抑制剂,其浓度变化和肝实质损害以及肺组织酶解损伤关系密切<sup>[4]</sup>。高迁移率族蛋白B(High Mobility Group Box protein, HMGB1)参与多种疾病病理过程,可介导机体炎症反应<sup>[5]</sup>。本研究将比较细菌性肺炎与非细菌性肺炎新生儿血清PCT、 $\alpha 1$ -AT、HMGB1水平,分析三项指标在新生儿细菌性肺炎的鉴别价值,旨在为疾病早期诊断提供参考,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院2019年7月至2020年8月120例感染性肺炎新生儿,根据血、痰培养和病毒学指标检测结果,分为细菌性肺炎组( $n=52$ 例)与非细菌性肺炎组( $n=68$ 例),非细菌性肺炎组又分为病毒性肺炎组( $n=29$ 例)和支原体肺炎组( $n=39$ 例)。纳

入标准:①符合《诸福棠实用儿科学》感染性肺炎诊断标准<sup>[6]</sup>;②病原检测证实;③日龄 $\leq 28$  d。排除标准:①入组前接受过抗生素等治疗;②合并有其他感染性疾病,如血液系统、消化系统、泌尿系统感染;③合并严重免疫低下或心脑血管疾病;④合并遗传代谢性疾病、先天性畸形、先天性心脏病等;⑤合并其他肺部疾病,如肺结核、支气管哮喘等;⑥近期使用免疫抑制剂、抗凝药或激素等治疗。另选取50例作先天性疾病筛查的健康新生儿纳入健康对照组。各组一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,受试者监护人均签署知情同意书。

### 1.2 方法

抽取所有研究对象4 mL外周静脉血,3 000 rpm离心10 min,分离血清,于低温下保存。血清PCT检测采用免疫荧光定量法,通过法国生物梅里埃公司Minividas全自动免疫荧光分析仪检测。 $\alpha 1$ -AT含量检测采用免疫扩散法,试剂由上海生物制品研究所提供。HMGB1含量检测采用酶联免疫吸附法,通过德国ependordf公司酶标仪极其配套试剂盒检测。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验,多组间比较采用F检验;通过受试者工作特征曲线(ROC曲线)进行诊断鉴别评估效能分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

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

Table 1 General data [ $n(\%)$ ,  $(\bar{x} \pm s)$ ]

组别	$n$	性别		胎龄(周)	出生体质量(g)	日龄(d)
		男	女			
细菌性肺炎组	52	30(57.69)	22(42.31)	37.41 $\pm$ 1.23	3214.99 $\pm$ 410.15	15.75 $\pm$ 2.97
病毒性肺炎组	29	18(62.07)	11(37.93)	37.34 $\pm$ 1.17	3309.75 $\pm$ 387.45	15.81 $\pm$ 2.46
支原体肺炎组	39	24(61.54)	15(38.46)	37.80 $\pm$ 1.19	3198.83 $\pm$ 409.81	15.49 $\pm$ 2.18
健康对照组	50	29(58.00)	21(42.00)	37.92 $\pm$ 1.29	3277.59 $\pm$ 310.95	15.80 $\pm$ 2.99
$\chi^2/F$ 值		0.263		0.108	0.314	0.177
$P$ 值		0.967		0.914	0.754	0.838

## 2 结果

2.1 不同组别患儿PCT、α1-AT、HMGB1水平比较  
血清PCT、α1-AT、HMGB1水平:细菌肺炎组>非细菌肺炎组>健康对照组,差异均有统计意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 不同组别患儿PCT、α1-AT、HMGB1水平比较( $\bar{x}\pm s$ )  
Table 2 Comparison of PCT, α1-AT and HMGB1 levels among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	PCT (ng/mL)	α1-AT (g/L)	HMGB1 (ng/mL)
细菌性肺炎组	52	9.81±1.68 <sup>ab</sup>	4.52±0.43 <sup>ab</sup>	18.59±1.83 <sup>ab</sup>
非细菌性肺炎组				
病毒性肺炎组	29	1.15±0.11 <sup>a</sup>	3.54±0.34 <sup>a</sup>	15.03±1.94 <sup>a</sup>
支原体肺炎组	39	1.09±0.13 <sup>a</sup>	3.37±0.38 <sup>a</sup>	14.29±1.22 <sup>a</sup>
健康对照组	50	0.22±0.02	1.95±0.17	10.36±1.07
F值		989.514	613.881	294.803
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与非细菌性肺炎组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

2.2 血清PCT、α1-AT、HMGB1诊断细菌性肺炎效能分析

PCT、α1-AT、HMGB1联合诊断细菌性肺炎ROC曲线下面积为0.945,高于单独检测诊断值( $P<0.05$ )。见表3、图1。

表3 ROC曲线诊断  
Table 3 ROC curve

指标	临界值	AUC	敏感度	特异度	95%CI	P值
PCT	3.91ng/mL	0.841	0.827	0.720	0.764~0.918	<0.001
α1-AT	2.89 g/L	0.833	0.962	0.620	0.755~0.911	<0.001
HMGB1	14.02 ng/mL	0.832	0.808	0.780	0.750~0.915	<0.001
联合检测		0.945	0.962	0.720	0.902~0.982	<0.001

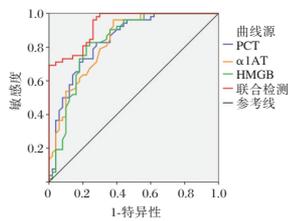


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

2.3 血清PCT、α1-AT、HMGB1鉴别细菌性与非细菌性肺炎效能分析

PCT、α1-AT、HMGB1联合检测鉴别细菌与非细菌性肺炎ROC曲线下面积为0.908,高于单独检测诊断值( $P<0.05$ )。见表4、图2。

## 3 讨论

早期诊断并合理使用抗生素对新生儿细菌性肺

表4 ROC曲线诊断

Table 4 ROC curve

指标	临界值	AUC	敏感度	特异度	95%CI	P值
PCT	4.09 ng/mL	0.815	0.731	0.750	0.732~0.886	<0.001
α1-AT	3.92 g/L	0.708	0.481	0.868	0.615~0.801	<0.001
HMGB1	17.02 ng/mL	0.721	0.769	0.676	0.640~0.822	<0.001
联合检测	-	0.908	0.769	0.941	0.842~0.958	<0.001

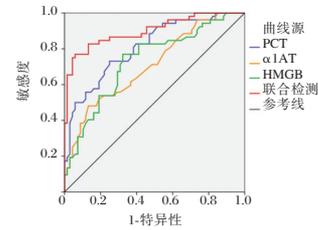


图2 ROC曲线

Figure 2 ROC curve

炎诊治具有重要意义,然而临床上新生儿细菌性肺炎表现不典型,易和病毒性感染二者相互混淆,同时病原体检测又耗时较长,患儿病情进展变化迅速,迫切需借助一些生化指标来进行早期的鉴别诊断<sup>[7-9]</sup>。

PCT为降钙素前体,不具有激素活性,可在感染早期2~3 h后出现升高,6~12 h后显著高于正常值,24 h到达高峰;PCT值升高状态主要和感染相关,不受性别、体重、免疫妥协状态、类固醇、母体PCT等的影响,在新生儿感染性疾病的诊断中具有较高的准确性<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,细菌性肺炎组、支原体肺炎组、病毒性肺炎组患儿血清PCT水平均较健康新生儿高,且相较于支原体肺炎组、病毒性肺炎组,新生儿细菌性肺炎组PCT增高更为显著,这与国内外相关研究成果一致<sup>[11]</sup>。Wang等<sup>[12]</sup>研究显示,PCT测定虽不能区分病毒和支原体感染,但对于细菌性肺炎和非细菌性肺炎具有较高的鉴别价值。ROC曲线是敏感度和特异度结合起来对诊断试验正确程度进行综合评价的一种方法,依照曲线形状以及曲线下面积进行分析,其结果不受患病率影响。

α1-AT作为一种急性时相蛋白,可与靶细胞二者结合抑制血清中其他蛋白酶,其中对白细胞弹性蛋白酶的抑制效果最强。Gao等<sup>[13]</sup>研究中显示感染性肺炎新生儿血清α1-AT表达水平明显升高,其结果支持本研究结论。当机体内出现肺部急性炎症,患儿肺内白细胞数量即可出现增加,造成肺泡中巨噬细胞以及中性粒细胞衰老或死亡,释放出更多蛋白酶<sup>[14]</sup>。本研究中血清α1-AT对于细菌性肺炎的诊断效能ROC曲线分析,说明血清α1-AT能够在一定程度上反映机体内细菌性感染的发生。

HMGB1是一种高度保守型的蛋白分子,研究显示, HMGB1作为重要的炎症介质与致炎因子,在启动和维持炎症瀑式反应中具有关键性作用<sup>[15]</sup>。本研究联合上述三项指标共同检测诊断新生儿细菌感染性,并鉴别新生儿细菌感染性与非细菌感染性肺炎,结果显示 PCT、 $\alpha$ 1-AT、HMGB1联合诊断和鉴别下 ROC 曲线下面积分别达到 0.945、0.908,提高了诊断效能,在细菌感染性肺炎与病毒性肺炎、细菌感染性肺炎与支原体感染性肺炎的鉴别评估中有较高的评估价值。

综上所述,感染性肺炎新生儿血清 PCT、 $\alpha$ 1-AT、HMGB1 水平高于健康者,且细菌感染性肺炎高于非细菌感染性肺炎,三者联合应用对于细菌感染性与非细菌感染性的鉴别具有较高的评估价值。

#### 参考文献

- [1] Ghaith DM, Zafer MM, Said HM, et al. Genetic diversity of carbapenem-resistant Klebsiella Pneumoniae causing neonatal sepsis in intensive care unit, Cairo, Egypt[J]. Eur J Clin Microb Infect Dis, 2020, 39(1):104-107.
- [2] 杨德彬,冯日昇,王玲玲,等.血清 hs-CRP, TGF- $\beta$  和 TLR4 水平对儿童急性细菌性肺炎的临床诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(2):212-216.
- [3] Nadia AL, Mahboobe G, David P, et al. Performance of the Procalcitonin Test in Diagnosing Pneumonia in Real-World Practice[J]. Am J Clin Pathol, 2019, 152(11):36-37.
- [4] Teckman J, Rosenthal P, Hawthorne K, et al. Longitudinal Outcomes in Young Patients with Alpha-1-Antitrypsin Deficiency with Native Liver Reveal that Neonatal Cholestasis is a Poor Predictor of Future Portal Hypertension [J]. J Pediatr, 2020, 14(2):23-25.
- [5] Shi ML, Li GX, Shi WX, et al. HMGB1 signaling blocking protects against carbapenem-resistant klebsiella pneumoniae in a murine model of infection [J]. Exp Lung Res, 2018, 44(6):263-271.
- [6] 江载芳,沈昆玲. 诸福棠实用儿科学(第八版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2014: 209-220.
- [7] Corbella M, Caltagirone M, Gaiarsa S, et al. Characterization of an Outbreak of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Klebsiella pneumoniae in a Neonatal Intensive Care Unit in Italy [J]. Microb Drug Res, 2018, 24(8):1128-1136.
- [8] 徐永兰,吴红玲,唐瑞芳.急性卒中患者细菌性肺炎危险因素及早期血清 PCT 对细菌性肺炎及脓毒症分级的预测价值分析[J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(2):74-77.
- [9] Liu J, Zhao HR, Wei HL, et al. Efficacy of Bronchoalveolar Lavage as Adjunct Therapy in the Treatment of Neonatal Severe Pneumonia: A Prospective Case-Control Study [J]. J Trop Pediatr, 2020, 66(5):225-227.
- [10] Song YY, Zhang B, Gu JW, et al. The predictive value of procalcitonin in ventilator-associated pneumonia after cardiac valve replacement[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2020, 80(6):1-4.
- [11] Wisgrill L, Lepuschitz S, Blaschitz M, et al. Outbreak of Yersiniabactin-producing Klebsiella pneumoniae in a Neonatal Intensive Care Unit [J]. Pediatr Infect Dis J, 2019, 34(7):105-107.
- [12] Wang W, Zhu Y, Yin L, et al. Inhibition of miR-497-3p Downregulates the Expression of Procalcitonin and Ameliorates Bacterial Pneumonia in Mice [J]. Inflammation, 2020, 43(6):2119-2127.
- [13] Gao M, Liu D. Controlling Obesity and Metabolic Diseases by Hydrodynamic Delivery of a Fusion Gene of Exendin-4 and  $\alpha$ 1 Antitrypsin [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):47-49.
- [14] Rollo CS, Florkowski CM. How a monoclonal band saved the day, in an apparent sample mix up for alpha-1-antitrypsin phenotyping [J]. Pathology, 2020, 52(1):99-101.
- [15] Jiang Y, Chen R, Shao X, et al. HMGB1 silencing in macrophages prevented their functional skewing and ameliorated EAM development: Nuclear HMGB1 may be a checkpoint molecule of macrophage reprogramming [J]. Intern Immunopharmacol, 2018, 56(11):277-284.

(上接第 1263 页)

- [9] 严开斌,石巍. 肥胖糖尿病酮症酸中毒患者血清 IL-6、CRP 和 Hcy 变化及意义[J]. 中国临床研究, 2020, 33(11):1533-1536.
- [10] 邓智钊,曾滨,戴美华,等. 自主呼吸胸科手术围麻醉期患者氧供氧耗的观察[J]. 中华生物医学工程杂志, 2019, 25(3):367-371.
- [11] Gao L, Li Y, Fei D, et al. Prevalence of and risk factors for diabetic ketosis in Chinese diabetic patients with random blood glucose levels >13.9 mmol/L: Results from the CHina study in prEvalence of diabetiC Ketosis (CHECK) study [J]. J Diabetes, 2018, 10(3):249-255.
- [12] Pulungan AB, Juwita E, Pudjiadi AH, et al. Diabetic Ketoacidosis in Adolescents and Children: A Prospective Study of Blood versus Urine Ketones in Monitoring Therapeutic Response [J]. Acta Med Indones, 2018, 50(1):46-52.
- [13] 王长起,李凯,索胜利. 血尿酸、CRP、Card9 蛋白在 AP 患者中的变化及其意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1):99-102.
- [14] 高艳霞,王亚男,袁丁,等. 血淀粉酶升高在糖尿病酮症酸中毒病情评估中的作用[J]. 中华急诊医学杂志, 2020, 29(5):707-710.
- [15] 陈政,陈娟. 糖尿病酮症酸中毒血淀粉酶升高的相关危险因素分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(9):812-816.

## PDW、BNP及LDH在COPD合并PH患者中的变化及其临床意义

韩静\* 刘晓宇 翁军 刘运秋

**[摘要]** 目的 分析血小板分布宽度(PDW)、B型脑钠肽(BNP)及乳酸脱氢酶(LDH)在慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并肺动脉高压(PH)患者中的变化及其临床意义。方法 选取2019年1月至2020年12月在本院治疗的COPD患者79例设为观察组,根据有无合并PH分为COPD合并PH组41例,单纯COPD组38例,另选取79例同期健康体检者设为对照组。比较不同人群PDW、BNP及LDH水平, Pearson分析PDW、BNP及LDH与肺动脉压相关性,绘制ROC曲线研究PDW、BNP及LDH对COPD合并PH患者的诊断价值。结果 观察组PDW、BNP及LDH均明显高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。COPD合并PH组PDW、BNP及LDH水平明显高于单纯COPD组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。经超声心动图检测,41例COPD合并PH患者中轻度肺动脉高压18例、中度14例、重度9例,随着患者肺动脉高压加重,患者PDW、BNP及LDH水平均呈明显上升趋势( $P<0.05$ )。Pearson分析结果显示,PDW、BNP及LDH与肺动脉压呈正相关( $P<0.05$ )。ROC结果显示,单独诊断COPD合并PH的AUC分别为0.801、0.772、0.766,联合诊断为0.823,联合诊断明显高于单独诊断( $P<0.05$ )。结论 PDW、BNP及LDH水平在COPD合并PH患者中均明显上升,其水平变化与患者病情严重程度密切相关。

**[关键词]** PDW; BNP; LDH; 慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压

### Changes of PDW, BNP and LDH in patients with COPD combined with PH and their clinical significance

HAN Jing\*, LIU Xiaoyu, WENG Jun, LIU Yunqiu

(Department of Respiratory Medicine, Kailuan General Hospital, Tangshan, Hebei, China, 063000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the change in platelet distribution width (PDW), B-type brain natriuretic peptide (BNP) and lactate dehydrogenase (LDH) in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) combined with pulmonary hypertension (PH) and its clinical significance. **Methods** The 79 patients with COPD treated in this hospital from January 2019 to December 2020 were selected as the observation group [41 COPD cases with PH (group A), 38 cases with simple COPD (group B)]. In addition, 79 cases who had healthy physical examination during the same period were selected as the control group. The levels of PDW, BNP and LDH in different groups were compared. Pearson was used to analyze the correlation between the levels of PDW, BNP and LDH and pulmonary artery pressure. The ROC curve was drawn to study the diagnostic value of PDW, BNP and LDH for COPD patients with PH. **Results** PDW, BNP, and LDH in the observation group were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The levels of PDW, BNP and LDH in the COPD combined with PH group were significantly higher than those in the COPD group alone ( $P<0.05$ ). According to echocardiography, among 41 COPD patients with PH, 18 had mild pulmonary hypertension, 14 had moderate pulmonary hypertension, and 9 had severe pulmonary hypertension. With the aggravation of pulmonary hypertension, the levels of PDW, BNP, and LDH showed a significant upward

基金项目:河北省医学科学研究重点课题(20181430)

作者单位:开滦总医院呼吸内科,河北,唐山 063000

\*通信作者:韩静, E-mail: fanfei71597@163.com

trend ( $P<0.05$ ). Pearson analysis showed that PDW, BNP, and LDH were positively correlated with pulmonary artery pressure ( $P<0.05$ ). The ROC results showed that the AUCs of PDW, BNP and LDH alone were 0.801, 0.772, 0.766, respectively, and the AUC of combined diagnosis was 0.823. The combined diagnosis was significantly higher than the single diagnosis ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The levels of PDW, BNP, and LDH are significantly increased in COPD patients with PH, and their level changes are closely related to the disease severity and prognosis of the patients.

[KEY WORDS] PDW; BNP; LDH; Chronic obstructive pulmonary disease with pulmonary hypertension

慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是以持续性不完全可逆性气流受限为特征的疾病,随着病情进展可进一步发展成为慢性肺源性心脏病,预后不佳且死亡率高,目前无有效的治疗手段<sup>[1]</sup>。COPD合并肺动脉高压(Pulmonary hypertension, PH)的血流学定义为:患者右心导管证实的肺动脉平均压力在静息状态下 $\geq 25$  mmHg,肺楔压 $\leq 15$  mmHg,患者心输出量可低于正常值或无变化<sup>[2]</sup>。临床研究发现,PH和肺心病是导致COPD患者预后不良的重要因素,因此,在临床中尽早对COPD合并PH患者做出诊断并积极治疗,可改善患者预后<sup>[3]</sup>。血小板分布宽度(Platelet distribution width, PDW)可反映机体血小板容积大小离散度,增高则代表血小板均一性降低<sup>[4]</sup>。血浆B型脑钠肽(B-type brain natriuretic peptide, BNP)在心、肺、脑组织中广泛存在,在临床中常作为心肺功评价指标<sup>[5]</sup>。COPD合并PH患者心负荷量增加可引起心肌细胞功能受损,导致心肌酶谱出现不同程度变化,乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)则为心肌酶变化中较敏感指标,在心功能评估中有较高使用价值<sup>[6]</sup>。本研究分析PDW、BNP及LDH水平在COPD合并PH患者中的变化及临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年1月到2020年12月在本院治疗的79例COPD患者设为观察者。纳入标准:①符合中华医学会呼吸学会制定《慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018年)》中相关诊断标准<sup>[7]</sup>,合并PH者,经超声心动图检查,在COPD基础上合并静息时肺动脉平均压 $>25$  mmHg或运动时肺动脉平均压 $>30$  mmHg<sup>[8]</sup>;②患者均知晓并同意本次研究,签署相关知情同意书。排除标准:①经肺部CT检查提示存在肺炎者,或合并呼吸道以外感染性疾病;②合并心肺功能不全者、慢性血栓者、栓塞

性肺高压者、肺间质纤维化者等;③近期有手术治疗者或存在恶性肿瘤者。根据有无合并PH分为:COPD合并PH组41例,单纯COPD组38例。另选取本院同期健康体检者79例为对照组。各组研究对象一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过。

表1 3组患者一般资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of general information of 3 groups of patients ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	性别(男/女)	年龄	病程
观察组	COPD合并PH组	31/10	55.22 $\pm$ 5.19
	单纯COPD组	30/8	55.36 $\pm$ 5.11
对照组		52/27	54.25 $\pm$ 5.17
$\chi^2/F$ 值		3.615	0.66
$P$ 值		0.306	0.578

### 1.2 方法

#### 1.2.1 PDW、BNP及LDH水平检测

观察组患者在入院后次日清晨行空腹抽血检查,对照组于体检当日清晨空腹抽血检查,各抽取血液5 mL。使用全自动血细胞分析仪(SysmexXN-3000)检测PDW;使用化学发光法测定血清BNP,仪器:VITROS EciQ型全自动免疫分析仪,仪器与试剂均为奥森多医疗器械公司提供;使用HITA-CHI-LABOSPECT008AS诊断仪检测LDH,检测试剂由柏定生物工程公司提供。操作过程严格按照试剂所配套说明书进行。

#### 1.2.2 肺动脉压检测

应用超声心动图诊断肺动脉高压,以肺动脉收缩压30~50 mmHg作为轻度肺动脉高压, $>50$ ~70 mmHg为中度肺动脉高压, $>70$  mmHg为重度肺动脉高压<sup>[9]</sup>。

### 1.3 观察指标

①比较观察组与对照组PDW、BNP及LDH水平;②比较COPD合并PH组与单纯COPD组PDW、BNP及LDH水平;③比较COPD合并PH组不同肺动脉高压者PDW、BNP及LDH水平比较;④分析

PDW、BNP及LDH与肺动脉压相关性;⑤分析PDW、BNP及LDH对COPD合并PH患者诊断价值。

#### 1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验,多组间比较使用方差检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;相关性分析使用Pearson等级相关进行分析,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析PDW、BNP、LDH单独及联合检测对COPD合并PH患者诊断价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 观察组与对照组PDW、BNP及LDH水平比较  
观察组PDW、BNP及LDH均明显高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 观察组与对照组PDW、BNP及LDH水平比较( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Comparison of PDW, BNP and LDH levels between observation group and control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	PDW(fL)	BNP(ng/mL)	LDH(IU/L)
对照组	79	10.33±1.94	21.25±5.30	189.52±22.65
观察组	79	16.58±2.84	40.26±5.62	379.58±28.53
$t$ 值		16.151	21.872	46.373
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 COPD合并PH组与单纯COPD组PDW、BNP及LDH水平比较

COPD合并PH组PDW、BNP及LDH水平明显高于单纯COPD组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 COPD合并PH组与单纯COPD组PDW、BNP及LDH水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of PDW, BNP and LDH levels between group A and group B ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	PDW(fL)	BNP(ng/mL)	LDH(IU/L)
COPD合并PH组	41	19.68±3.54	58.46±6.61	388.58±40.25
单纯COPD组	38	15.48±2.22	26.25±5.30	196.35±24.61
$t$ 值		6.259	23.775	25.365
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同肺动脉压COPD合并PH患者PDW、BNP及LDH水平比较

经超声心动图检测,41例COPD合并PH患者中轻度肺动脉高压18例,中度14例,重度9例。随着患者肺动脉高压加重,患者PDW、BNP及LDH水平均呈明显上升趋势,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表4。

表4 不同肺动脉压患者PDW、BNP及LDH水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of PDW, BNP and LDH levels in patients with different pulmonary arterial pressure ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	PDW(fL)	BNP(ng/mL)	LDH(IU/L)
轻度	18	16.25±2.14	53.26±5.26	379.63±44.30
中度	14	20.33±2.46 <sup>a</sup>	61.25±5.18 <sup>a</sup>	422.63±43.26 <sup>a</sup>
重度	9	24.56±3.11 <sup>ab</sup>	77.59±5.11 <sup>ab</sup>	482.62±44.16 <sup>ab</sup>
$F$ 值		34.94	65.77	16.68
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与轻度组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与中度组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

2.4 PDW、BNP及LDH与肺动脉压相关性分析

Pearson分析结果显示,PDW( $r=0.587$ )、BNP( $r=0.448$ )及LDH( $r=0.471$ )与肺动脉压呈正相关( $P < 0.05$ )。

2.5 PDW、BNP及LDH对COPD合并PH患者诊断价值分析

ROC结果显示,PDW、BNP及LDH联合诊断AUC明显高于单独诊断( $P < 0.05$ )。见表5及图1。

表5 PDW、BNP及LDH对COPD合并PH患者诊断价值分析

Table 5 diagnostic value of PDW, BNP and LDH in COPD patients with pH

预测因子	cutoff值	AUC	95%CI	敏感度	特异度
PDW	16.22	0.801	0.669~0.933	0.711	0.704
BNP	23.58	0.772	0.645~0.900	0.762	0.744
LDH	26.22	0.766	0.632~0.900	0.714	0.723
三者联合	28.30	0.823	0.712~0.945	0.891	0.869

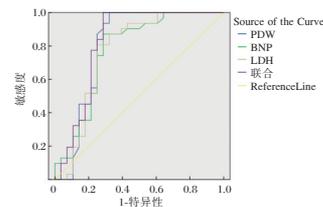


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve Results

## 3 讨论

研究显示,血小板活化是导致心血管疾病发生、发展的基础,在血小板活化后其形态发生改变,血小板被激活、消耗导致骨髓增生,可出现大型血小板入血,导致血小板异质性加大<sup>[10]</sup>。PDW为血小板体积异质性相关指标,与血小板平均体积(Mean platelet volume, MPV)为正相关,其水平增高提示外周血血小板大小存在差异,血小板体积增加,黏附力也会随之增加,增加形成血栓机率。文献研究显示,COPD加重期由于患者长期卧床,机体血流动力学异常、组织细胞呈缺血缺氧状态,导致患者体

内出现高凝状态,了解患者血小板指标变化情况,可评估 COPD 合并 PH 病情严重程度<sup>[11]</sup>。本研究结果提示 COPD 合并 PH 患者血小板聚集性明显增加,可能与患者存在微血管病理性改变和缺氧有关,影响血小板膜骨架蛋白结构,使其出现变形、聚集、血液黏度增加,进一步影响肺泡气体交换,加重肺部和心脏负担<sup>[12]</sup>。

在 COPD 急性期合并心功能不全患者中,其 BNP 水平会明显增加,且是患者预后不良以及死亡的预测因素,说明 BNP 升高可反映 COPD 患者临床病情严重情况,也是患者全身炎症反应的重要指标<sup>[13-14]</sup>。本研究结果提示全身炎症反应促进患者病情进展,BNP 水平明显增加,与以往文献报道结果相符<sup>[15]</sup>。分析原因与机体缺氧,二氧化碳在体内潴留引起肺动脉高压增加有关,肺动脉高压对右心室造成刺激,机体释放出 BNP。

LDH 在心肌、肝脏、肺等组织器官中存在,在 COPD 患者急性发作时,机体处于缺氧状态会导致机体器官组织受损情况加重,血清酶被释放入血液中<sup>[16]</sup>。有文献研究发现,急性期 COPD 患者本身肺部炎症也可引发低氧血症,导致心肌受损,心脏功能受到影响,血清酶指标也有不同程度增加<sup>[17]</sup>。本研究中 COPD 患者 LDH 水平高于正常者,且 COPD 合并 PH 患者 LDH 水平较单纯 COPD 患者明显增加,提示 LDH 在 COPD 合并 PH 患者中水平明显增加。进一步研究发现随着患者肺动脉压程度增加,PDW、BNP 及 LDH 水平也呈明显上升趋势。经相关性分析可知,PDW、BNP 及 LDH 与肺动脉压呈正相关,说明随着病情进展患者 PDW、BNP 及 LDH 水平升高,可为患者疾病严重程度评估提供参考。ROC 曲线分析结果显示,联合诊断 COPD 合并 PH AUC 面积为 0.734,明显高于单独诊断,灵敏度、特异度也高于三者单独检测,提示联合检测可为临床诊断 COPD 合并 PH 提供参考,且对患者病情严重程度评估有重要应用价值。

综上所述,PDW、BNP 及 LDH 水平在 COPD 合并 PH 患者中呈明显上升趋势,其水平变化与患者病情严重程度密切相关,临床工作者可通过加强监测这三项指标,分析 COPD 合并 PH 患者疾病进展情况,以评估患者预后。

#### 参考文献

[1] 梁彩妮,廖永城,邱宇,等. RDW 在 COPD 患者并发不同程度肺动脉高压的表达及相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11):81-89.

- [2] 张靖宇,曾利,王翠,等. 血清 BNP, VEGF, TGF- $\beta$ 1 水平变化在新生儿持续性肺动脉高压病情评估中的临床意义[J]. 中华全科医学, 2020, 18(1):13-50.
- [3] Sathianandan S, McCabe C, Dimopoulos K, et al. P113 Sildenafil in the treatment of group 3 pulmonary hypertension[J]. Thorax, 2019, 74(2):152.
- [4] 赵松林,聂秀红. NT-pro BNP、CRP 和 D-Dimer 与慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并肺动脉高压的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(4):21-25.
- [5] Bruaene A, Toh N, Hickey EJ, et al. Pulmonary hypertension in patients with a subaortic right ventricle: prevalence, impact and management[J]. Heart (British Cardiac Society), 2019, 105(19):56.
- [6] Zhou Z, Zheng W, Liang T, et al. Efficacy and safety of Chuankezhi injection in patients with chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review and meta-analysis protocol[J]. Medicine, 2020, 9(9):11-13.
- [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. 慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(2018年)[J]. 中华全科医师杂志, 2018, 17(11):856-870.
- [8] Hattori Y, Takeichi T, Akiyama M, et al. Brooke-Spiegler syndrome with chronic obstructive pulmonary disease and chronic sinusitis[J]. J Dermatol, 2019, 1(2):44-46.
- [9] Mackenzie H, Madeline F, Camille P, et al. Handgrip Strength in People With Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Physic Therap, 2021, 23(4):55-57.
- [10] 张毅,李娟,张弢,等. 芪蛭皱肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠 TGF- $\beta$ 1, PDGF 表达的调控作用[J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(1):15-20.
- [11] Chen CY, Wu WT, Wang YL, et al. Statins for the Treatment of Pulmonary Hypertension in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. Front Pharmacol, 2021, 11(2):611.
- [12] 饶显群,孙凯. 慢性阻塞性肺疾病肺动脉高压的生物标志物及其意义[J]. 临床急诊杂志, 2019, 20(6):81-85.
- [13] Sehgal S, Chowdhury A, Rabih F, et al. Counting Steps: A New Way to Monitor Patients with Pulmonary Arterial Hypertension[J]. Lung, 2019, 197(4):13-14.
- [14] Park HY, Kang D, Sun H S, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer incidence in never smokers: a cohort study[J]. Thorax, 2020, 75(6):10-14.
- [15] Hozumi T, Morimoto J, Takemoto K, et al. P2453 Value of pre-operative left atrial minimum volume as a surrogate for post-operative symptoms in patients with aortic stenosis who underwent aortic valve replacement[J]. Eur Heart J, 2019, 1(1):28.
- [16] Chazova IE, Lazareva NV, Oshchepkova EV. Arterial hypertension and chronic obstructive pulmonary disease: Clinical characteristics and treatment efficacy (according to the national register of arterial hypertension) [J]. Terapevticheskiy arkhiv, 2019, 91(3):4-10.
- [17] 孙芸,陆士奇,屠苏,等. 血液标志物和心脏彩超检查在慢性阻塞性肺疾病急性加重期相关性肺动脉高压的评估价值[J]. 中国急救医学, 2019, 39(11):1058-1064.

## miR-34、VEGF-C及sIL-2R检测在乳腺癌淋巴结转移中的预测

何姗姗\* 骆建美 刘贤 宋旭彤

**[摘要]** 目的 探讨血清微小RNA(miR34)、血管内皮生长因子(VEGF-C)及可溶性白细胞介素-2受体(sIL-2R)水平与乳腺癌淋巴结转移的关系。方法 选取2015年3月至2019年3月在本院就诊的97例乳腺癌患者,根据是否有淋巴结转移分为淋巴结转移组40例、无淋巴结转移组57例,选取同期在本院进行体检的97例健康者作为对照组。比较各组miR-34、VEGF-C、sIL-2R水平,绘制ROC曲线,分析三者单一检测及联合预测乳腺癌淋巴结转移的AUC、灵敏度、特异度。结果 三组之间miR-34水平比较:对照组>无淋巴结转移组>淋巴结转移组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。三组之间VEGF-C、sIL-2R水平比较:淋巴结转移组>无淋巴结转移组>对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。病理学分级为低、中分化的患者miR-34低于高分化的患者,VEGF-C、sIL-2R高于高分化的患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。TNM分期为I~II期的患者miR-34高于III~VI期的患者,VEGF-C、sIL-2R低于III~VI期的患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。有淋巴血管间隙浸润的患者miR-34低于无淋巴血管间隙浸润的患者,VEGF-C、sIL-2R高于无淋巴血管间隙浸润的患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。miR-34、VEGF-C、sIL-2R及三者联合检测灵敏度、特异度分别为93.65%、94.23%,显著高于单一检测( $P<0.05$ )。结论 miR-34、VEGF-C、sIL-2R与乳腺癌淋巴结转移情况有关,联合三者检测对评估乳腺癌病情、预测淋巴结转移情况作用重大。

**[关键词]** miR-34; VEGF-C; sIL-2R; 乳腺癌; 淋巴结转移

### Prediction of detection of mir - 34、VEGF - C and sIL - 2R in lymph node metastasis of breast cancer

HE Shanshan\*, LUO Jianmei, LIU Xian, SONG Xutong

(Department of General Surgery, Qionglai Medical Center Hospital, Chengdu, Sichuan, China, 611530)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the relationship between the levels of serum microRNA (miRNA, miR34), vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) and lymph node metastasis of breast cancer. **Methods** The 97 patients with breast cancer who were treated in this hospital from March 2015 to March 2019 were selected. According to the presence or absence of lymph node metastasis, they were divided into 40 cases in the lymph node metastasis group and 57 cases in the non-lymph node metastasis group. 97 healthy patients who underwent physical examination in this hospital during the same period were selected as the control group. The levels of miR-34, VEGF-C, and sIL-2R in different groups were compared, the ROC curves were drawn, and the AUC, sensitivity, and specificity of the three single detection and combined detection in predicting lymph node metastasis of breast cancer were analyzed. **Results** The levels of miR-34 among the three groups were as follows: the control group > the non-lymphatic metastasis group > the lymph node metastasis group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of VEGF-C and sIL-2R among the three groups were as follows: the lymph node metastasis

基金项目:四川省卫生和计划生育委员会普及应用项目(16FJ4715)

作者单位:邛崃市医疗中心医院普外一病区(肝胆、乳腺外科),四川,成都611530

\*通信作者:何姗姗, E-mail:602849807@qq.com

group > the non-lymph node metastasis group > the control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The pathological grade of patients with low and moderately differentiated miR-34 was lower than that of well-differentiated patients, and VEGF-C and sIL-2R were higher than those of well-differentiated patients. The differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The miR-34 of patients at stage I ~ II in TNM stage was higher than that at stage III ~ VI, and the VEGF-C and sIL-2R were lower than those of stage III ~ VI. The differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The miR-34 of patients with lymphatic vascular space infiltration was lower than that of patients without lymphatic vascular space infiltration, and VEGF-C and sIL-2R were higher than those without lymphatic vascular space infiltration. The differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The sensitivity and specificity of the combined detection of miR-34, VEGF-C, and sIL-2R were 93.65% and 94.23%, respectively, which were significantly higher than those of the single miR-34, VEGF-C, and sIL-2R detection. **Conclusion** miR-34, VEGF-C, and sIL-2R are related to the lymph node metastasis of breast cancer, and the combined detection of the three has a significant effect on the assessment of breast cancer and the prediction of lymph node metastasis.

[KEY WORDS] miR-34; VEGF-C; sIL-2R; Breast cancer; Lymph node metastasis

乳腺癌为女性恶性肿瘤的发病之首,死亡率极高<sup>[1]</sup>。据相关资料显示,我国乳腺癌的发病率逐年升高,且以每年3%~4%的增长速度不断增加,因乳腺癌早期诊断率较低,大多数患者预后不理想<sup>[2]</sup>。既往文献报道,乳腺癌的发生、发展过程中由多种蛋白共同参与,对乳腺癌发生的机制、诊断及治疗进行深入研究,对改善患者预后,延长生存期有重要意义<sup>[3]</sup>。miRNA可阻遏靶基因的翻译,血清微小RNA34(microRNA34, miR34)是miRNA中一类高度保守的抑癌基因,能抑制靶基因表达<sup>[4]</sup>。血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor C, VEGF-C)是肿瘤生成过程中特异性最高的促血管生长因子,可促进肿瘤细胞生长、增殖<sup>[5]</sup>。可溶性白细胞介素-2受体(Solubleinterleukin-2receptor, sIL-2R)是肿瘤坏死因子细胞网络中的重要组成部分,在抗病毒和抗肿瘤免疫方面发挥着重要的作用<sup>[6]</sup>。国内外文献关于miRNA、VEGF-C及sIL-2R与乳腺癌淋巴结转移的关系研究较少。本研究通过检测乳腺癌患者血清miRNA、VEGF-C及sIL-2R水平,分析联合三者检测对乳腺癌淋巴结转移的预测价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年3月至2019年3月在本院就诊的97例乳腺癌患者,根据有无淋巴结转移分为:淋巴结转移组40例、无淋巴结转移组57例。纳入标准:①所有患者均经病理组织活检并确诊为乳腺癌<sup>[7]</sup>;②纳入研究前未服用过影响激素水平的药

物;③无其他恶性肿瘤病史;④均签署知情同意书。排除标准:①合并严重免疫力缺陷者;②合并严重精神类疾病,无法正常沟通者;③子宫内膜炎、盆腔子宫内膜异位症及其他生殖系统疾病者;④一般资料不齐全者。选取同期在本院进体检的97例健康者作为对照组。3组患者一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过。

表1 3组患者一般资料比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of general data of 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	年龄(岁)	平均体重(kg)	病程(年)	乳腺癌家族史(有/无)
淋巴结转移组	40	53.37±4.35	54.30±3.89	4.43±0.55	5/35
无淋巴结转移组	57	53.45±4.39	54.39±3.92	4.32±0.50	7/50
对照组	97	53.22±4.11	53.12±3.75		8/89
F/ $\chi^2$ 值		0.060	1.440	1.810	0.893
P值		0.946	0.240	0.168	0.640

### 1.2 方法

#### 1.2.1 miR-34检测方法

采用实时荧光定量PCR检测各组中miR-34相对表达量。RNA提取试剂Trizol购自宝生物工程(大连)有限公司。RT-PCR引物序列如下:miR-34正向引物为5'-CAA TCG GGT ACT TGC TGG GCT TTC3',反向引物为5'-GAG GGC CAT ACC TTA ACG CGT TAA TG3'。PCR反应体系共20  $\mu$ L。其中,荧光混合物10  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol/L。正向引物和反向引物各1  $\mu$ L, 50 $\times$ ROX染料II 0.5  $\mu$ L、cDNA模板1  $\mu$ L, 双蒸水6.5  $\mu$ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 2 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 15 s, 共40个

循环。miR-34以U6为内参基因。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。

### 1.2.2 VEGF-C、sIL-2R 检测方法

对照组于体检当日,乳腺癌患者于入院后次日清晨8:00空腹抽取肘静脉血4 mL,其中2 mL用含0.109 mol/L枸橼酸1:9抗凝,3 500 r/min离心10 min分离血浆。采用酶联免疫吸附实验检测VEGF-C、sIL-2R,试剂盒由美国贝克曼库尔特提供,检测仪器为DXI800美国贝克曼库尔特全自动免疫分析仪。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验、多组间比较采用 $F$ 检验;计数资料通过 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;绘制ROC曲线,并计算ROC曲线下面积(AUC),以分析miR-34、VEGF-C及sIL-2R检测及三者联合检测对乳腺癌患者淋巴结转移的预测价值;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组之间miR-34、VEGF-C、sIL-2R水平比较

3组之间miR-34水平比较:对照组>无淋巴结转移组>淋巴结转移组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );3组之间VEGF-C、sIL-2R水平比较:淋巴结转移组>无淋巴结转移组>对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

### 2.2 不同病理特征组中miR-34、VEGF-C、sIL-2R水平比较

病理学分级为低、中分化的患者miR-34低于高分化者,VEGF-C、sIL-2R高于高分化者,差异均

表2 各组之间miR-34、VEGF-C、sIL-2R水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of miR-34, VEGF-C and sIL-2R levels among groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	miR-34	VEGF-C(ng/L)	sIL-2R(U/mL)
淋巴结转移组	40	1.92±0.17	534.45±49.87	765.32±59.65
无淋巴结转移组	57	2.64±0.29	421.12±45.47	512.14±47.14
对照组	97	3.59±0.35	226.65±37.52	325.48±40.69
F值		475.370	857.390	1270.350
P值		<0.001	<0.001	<0.001

有统计学意义( $P < 0.05$ )。TNM分期为I~II期的患者miR-34高于III~VI期者,VEGF-C、sIL-2R低于III~VI患者,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。有淋巴血管间隙浸润的患者miR-34低于无淋巴血管间隙浸润者,VEGF-C、sIL-2R高于无淋巴血管间隙浸润者,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

### 2.3 联合miR-34、VEGF-C、sIL-2R检测对乳腺癌淋巴结转移的预测价值

miR-34、VEGF-C、sIL-2R三者联合检测灵敏度、特异度分别为93.65%、94.23%,显著高于单一检测( $P < 0.05$ )。见表4、图1。

表4 联合miR-34、VEGF-C、sIL-2R检测对乳腺癌淋巴结转移的预测价值

Table 4 predictive value of combined detection of miR-34, VEGF-C and sIL-2R in lymph node metastasis of breast cancer

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95%CI	约登指数(%)	P值
miR-34	0.882	0.892	0.840	0.727-0.953	77.38	<0.001
VEGF-C	0.894	0.899	0.858	0.765-0.952	79.29	<0.001
sIL-2R	0.902	0.906	0.909	0.834-0.984	80.68	<0.001
三者联合检测	0.937	0.942	0.991	0.945-0.994	87.88	<0.001

表3 不同病理特征组中miR-34、VEGF-C、sIL-2R水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of miR-34, VEGF-C and sIL-2R levels in different pathological characteristics groups ( $\bar{x} \pm s$ )

临床特征	n	miR-34	t值	P值	VEGF-C	t值	P值	sIL-2R	t值	P值
年龄	<50	51	3.10±0.35	1.588	407.25±30.14	0.467	0.641	554.65±69.46	0.236	0.814
	≥50	46	2.99±0.33		410.12±30.25			551.32±69.10		
肿瘤最大直径(cm)	<5	42	3.11±0.31	1.017	388.35±39.65	0.852	0.396	534.69±70.33	0.368	0.714
	≥5	55	3.05±0.27		395.32±40.12			530.14±51.36		
肿瘤数目	单发	39	3.12±0.37	1.919	396.32±41.13	0.572	0.568	514.65±53.45	0.219	0.827
	多发	58	2.98±0.34		401.21±41.33			517.37±63.89		
病理学分级	低、中分化	47	2.89±0.31	9.381	551.32±50.36	14.845	<0.001	752.12±71.23	18.700	<0.001
	高分化	50	3.55±0.38		412.12±41.55			503.36±59.12		
TNM分期	I~II期	58	3.48±0.37	7.587	421.36±40.46	12.357	<0.001	516.78±62.35	15.770	<0.001
	III~VI期	39	2.94±0.33		537.65±48.63			733.64±68.98		
淋巴血管间隙浸润	有	43	2.68±0.35	9.032	539.27±42.15	13.434	<0.001	741.23±71.14	16.192	<0.001
	无	54	3.39±0.41		433.12±35.65			523.45±61.25		

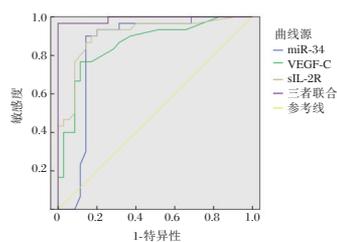


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC Curve

### 3 讨论

乳腺癌发生淋巴结转移这一过程是由多基因及多种生化标志物共同参与的,由于肿瘤抑制基因、生化指标功能丧失,进而表现出细胞不受调控的增殖、分化和凋亡抑制等<sup>[8]</sup>。因此,临床上致力于寻找更多高特异度的乳腺癌相关基因,以期通过多个指标联合检测为乳腺癌的诊断、病情评估、靶向治疗及预后风险评估提供依据。

本研究中,三组之间 miR-34 水平比较:对照组>无淋巴结转移组>淋巴结转移组;三组之间 VEGF-C、sIL-2R 水平比较:淋巴结转移组>无淋巴结转移组>对照组,与国外研究报道结果一致<sup>[9]</sup>。因此可以推测 miR-34、VEGF-C 及 sIL-2R 表达对乳腺癌淋巴结转移等生物学行为有显著的影响作用。miRNA 是一类高度保守的非编码内源性 RNA 分子,可通过结合于其下游靶基因 3'端非编码区,从而调控靶基因的转录,进而影响细胞的生物学行为<sup>[10]</sup>。VEGF-C 是肿瘤细胞生长过程中重要的血管内皮因子,特异性高,而乳腺癌淋巴结转移依赖于血管生成<sup>[11]</sup>。sIL-2R 是机体重要的免疫调节物质,对于巨噬细胞的吞噬作用有明显的刺激作用,一定程度上促进患者癌细胞转移<sup>[12]</sup>。低表达的 miR-34 会影响肿瘤细胞的增殖,并促进细胞凋亡,而高水平的 VEGF-C 及 sIL-2R 对乳腺癌淋巴结转移有一定促进作用,对促进乳腺癌病情进展有显著影响。

本研究还发现,病理学分级(低、中分化)、TNM(Ⅲ~Ⅵ期)、有淋巴血管间隙浸润的患者 miR-34 表达量较低,VEGF-C、sIL-2R 水平较高,认为低表达量的 miR-34、高水平的 VEGF-C、sIL-2R 会推动病情进展,促进癌细胞淋巴结转移,与 Shah 等学者<sup>[13]</sup>研究结论一致。miR-34 是 miRNA 家族中有抑癌作用的一类基因,在结直肠癌、食

管鳞状细胞癌、乳腺癌、膀胱癌等恶性肿瘤中均呈异常低表达状态,研究认为 miR-34 异常低表达可作为恶性肿瘤诊断、病情评估、预后的标志<sup>[14]</sup>。VEGF-C 是一种由多种细胞分泌的糖蛋白,有较高的血管渗透性,为肿瘤细胞生长、增殖提供了有利条件<sup>[15]</sup>。sIL-2R 由多淋巴细胞合成,对肿瘤的发生、发展,与机体炎症因关系密切。既往研究发现,sIL-2R 可作为免疫抑制剂,改善机体内分泌,通过抑制已活化的 T 细胞克隆抑制机体免疫力,促进恶性肿瘤分化、增殖<sup>[16]</sup>。相关研究指出,结直肠癌患者中 sIL-2R 表达水平较高,认为 sIL-2R 对癌细胞的发生、发展、转移均有一定预测作用<sup>[17]</sup>。

绘制 ROC 曲线结果表明联合 miR-34、VEGF-C、sIL-2R 检测可用于预测乳腺癌患者淋巴结转移情况。

综上所述,miR-34、VEGF-C、sIL-2R 与乳腺癌淋巴结转移情况有关,联合三者检测对评估乳腺癌病情、预测淋巴结转移情况作用重大。

### 参考文献

- [1] Fares F, Fares B, Larsen S, et al. Breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2019, 31(15):39-42.
- [2] 郭琪,姚昶,郭宇飞.血清 IL1 $\beta$ ,IL10,IFN $\gamma$  在乳腺肿瘤定性诊断中价值及与预后相关性研究[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(3):336-339,348.
- [3] Greer S, Morris T, Pettingale KW. Psychological response to breast cancer: effect on outcome [J]. Lancet (London, England), 2019, 49(8146):785-787.
- [4] 李贺,郑荣寿,张思维,等.2014年中国女性乳腺癌发病与死亡分析[J].中华肿瘤杂志,2018,40(3):166-171.
- [5] Marmot MG, Altman DG, Cameron DA, et al. The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review [J]. Lancet (London, England), 2018, 5(9):803-804.
- [6] 荣守华,张玉超,贾莉婷,等. miR-200c 对三阴性乳腺癌上皮间质转化的抑制作用及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2018,44(1):131-134.
- [7] 魏兵,杨文涛,步宏.乳腺癌新辅助治疗的病理诊断专家共识(2020版)[J].中华病理学杂志,2020,65(4):296-298.
- [8] 王晓稼.2016年美国 ASCO 年会乳腺癌内分泌治疗进展[J].中国肿瘤临床,2018,25(8):612-616.
- [9] Sultan M, Vidovic D, Paine AS, et al. Epigenetic Silencing Of TAP1 In Aldefluor+ Breast Cancer Stem Cells Contributes To Their Enhanced Immune Evasion [J]. Stem Cells, 2018, 36.
- [10] 张月朋,陈复辉. miR-34 在非小细胞肺癌中研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2020,34(6):109-111.

(下转第 1280 页)

# LAPTM4B 在胰腺癌中的表达与其侵袭、转移及预后的关系

张春风<sup>1</sup> 乌云高娃<sup>2</sup> 赵丽娟<sup>1</sup> 张慧<sup>1\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨溶酶体相关4次跨膜蛋白B(LAPTM4B)在胰腺癌组织中的表达水平,并分析LAPTM4B表达水平对癌细胞侵袭及转移的影响。**方法** 选取2015年1月至2019年1月本院收治的96例胰腺癌患者,采用免疫组化染色法检测LAPTM4B在胰腺癌组织及癌旁正常组织中的表达情况,分期与病理特征的关系。Kaplan-Meier生存分析LAPTM4B表达对胰腺癌患者预后生存的影响,使用tarone法进行检验,Logistic回归分析影响患者预后的相关因素。**结果** 观察组LAPTM4B阳性表达率为76.04%,显著高于对照组54.17%,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。LAPTM4B表达与TNM分期、淋巴结转移、分化程度有关,TNM分期为Ⅲ~Ⅵ期、有淋巴结转移、分化程度为中-低分化的胰腺癌患者LAPTM4B阳性表达率更高( $P<0.05$ )。96例胰腺癌患者1年生存率为20.83%(20/96),LAPTM4B阳性表达的胰腺癌患者死亡率更高( $P<0.05$ )。LAPTM4B表达阴性及表达阳性半数生存时间分别为(8.30±0.73)个月、(6.82±0.51)个月。生存分析显示LAPTM4B表达阳性的患者生存期明显短于LAPTM4B表达阴性的患者,Keplan-meier生存曲线比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。TNM分期为Ⅲ~Ⅵ期、有淋巴结转移、分化程度为中-低分化、LAPTM4B表达阳性为影响胰腺癌患者预后生存的独立危险因素( $P<0.05$ )。**结论** LAPTM4B在胰腺癌的侵袭及转移中发挥重要作用,与胰腺癌患者预后密切相关,可作为评估胰腺癌患者预后的重要检测标志物。

**[关键词]** LAPTM4B; 胰腺癌; 细胞侵袭; 细胞转移

## Relationship between the expression of LAPTM4B and its invasion, metastasis and prognosis in patients with pancreatic cancer

ZHANG Chunfeng<sup>1</sup>, WU Yungaowa<sup>2</sup>, ZHAO Lijuan<sup>1</sup>, ZHANG Hui<sup>1\*</sup>

(1. Department of Gastroenterology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017; 2. Department of Medical Oncology, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, China, 010017)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the expression of lysosome-associated transmembrane protein 4B (LAPTM4B) in pancreatic cancer tissues, and analyze the effect of LAPTM4B expression on the invasion and metastasis of cancer cells. **Methods** The 96 patients with pancreatic cancer admitted to this hospital from January 2015 to January 2019 were selected. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of LAPTM4B in pancreatic cancer tissues and adjacent normal tissues and to detect the relationship between staging and pathological features. Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the effect of LAPTM4B expression on the prognosis survival of patients with pancreatic cancer. The tarone method was used for testing, and the logistic regression analysis was used to analyze the relevant factors affecting the prognosis of patients. **Results** The positive expression rate of LAPTM4B in the observation group was 76.04%, which was significantly higher than 54.17% in the control group. The difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The ex-

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2015MS08125)

作者单位:1.内蒙古自治区人民医院消化内科,内蒙古,呼和浩特 010017

2.内蒙古自治区人民医院肿瘤内科,内蒙古,呼和浩特 010017

\*通信作者:张慧, E-mail:jiaow557157@163.com

pression of LAPTM4B was related to TNM staging, lymph node metastasis, and degree of differentiation. The positive expression rate of LAPTM4B in pancreatic cancer patients with TNM stages III-VI, lymph node metastasis, and moderate-to-low differentiation was higher ( $P < 0.05$ ). The 1-year survival rate of 96 patients with pancreatic cancer was 20.83% (47/96), and the mortality of pancreatic cancer patients with positive expression of LAPTM4B was higher ( $P < 0.05$ ). The half survival time of LAPTM4B negative and positive expression was (8.30±0.73) months and (6.82±0.51) months, respectively. Survival analysis showed that the survival time of patients with positive LAPTM4B expression was significantly shorter than that of patients with negative LAPTM4B expression, and the difference in Kaplan-meier survival curve was statistically significant ( $P < 0.05$ ). TNM staging of III to VI, lymph node metastasis, moderate to low differentiation, and positive LAPTM4B expression were independent risk factors affecting the prognosis survival of patients with pancreatic cancer ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** LAPTM4B plays an important role in the invasion and metastasis of pancreatic cancer, is closely related to the prognosis of pancreatic cancer patients, and can be used as an important detection marker for evaluating the prognosis of pancreatic cancer patients.

[KEY WORDS] LAPTM4B; Pancreatic cancer; Cell invasion; Cell metastasis

胰腺癌是一种恶性程度很高的肿瘤,居我国肿瘤死亡率前10位<sup>[1]</sup>。尽管手术、放射、化学等治疗方法可在一定程度上延长胰腺癌患者生存期,但患者预后仍不乐观<sup>[2]</sup>。既往学者研究报道,胰腺癌患者5年生存率仅在5%左右<sup>[3]</sup>。目前临床尚无敏感性高的检查指标,因此积极寻找胰腺癌新的标志物对其早期诊断及治疗具有重要的临床价值。溶酶体相关4次跨膜蛋白B(lysosome-associated transmembrane protein 4B, LAPTM4B)于2000年首次由荧光差异显示技术筛选出<sup>[4]</sup>。近年来有较多学者发现,LAPTM4B在肝癌、乳腺癌、子宫内膜癌等恶性肿瘤中表达率较高,证实其为一个与癌症患者预后相关的危险指标,可作为评估患者预后的重要指标<sup>[5]</sup>。但LAPTM4B在胰腺癌的表达及与胰腺癌细胞侵袭、转移的机制研究较少。本研究旨在探讨LAPTM4B在胰腺癌组织中的表达水平,并分析LAPTM4B表达水平对癌细胞侵袭及转移的影响。现研究报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年1月至2019年1月本院收治的96例胰腺癌患者,其中男58例,女38例;平均年龄(54.23±4.52)岁;肿瘤直径最大为8.3 cm,最小1.7 cm;肿瘤位于胰腺头颈部58例,位于体尾部38例。共取得96份胰腺癌组织标本,设为观察组。并选取上述患者远离胰腺肿瘤3 cm的癌旁正常组织设为对照组。

纳入标准:①均经影像学(MRI或CT)检查、术后病理检查确诊为胰腺癌<sup>[6]</sup>;②均在入院后2周

内完成根治性手术治疗;③纳入研究前未接受过放、化疗等辅助治疗;④获得本院伦理委员会批准,且受试者均签署知情同意书。排除标准:①临床资料、影像资料、病理资料有缺失者,随访过程中失访者;②合并恶性肿瘤、阿尔兹海默症者、因精神障碍无法配合治疗者;③病理检查结果为胰腺囊性肿瘤者;④因非胰腺癌死亡者及随访期间失访者;⑤纳入研究前2个月内服用过影响LAPTM4B水平的药物者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试剂及仪器

纯化兔抗人LAPTM4B-N1-99多克隆抗体由北京大学医学部基础医学院细胞生物学系周柔丽教授实验室制备、纯化并提供。DAB显色剂及PV-9000二步法免疫组化试剂盒采购自北京中杉金桥生物技术有限公司。光学显微镜、显微摄影显微镜均为日本olympus公司生产。L3回旋式切片机由北京手术器械厂提供。

#### 1.2.2 LAPTM4B检测方法

蜡块通过切片机连续切片,组织厚度4 μm,通过免疫组化染色检测LAPTM4B表达情况。均经甲醛溶液固定,石蜡包埋、载玻片泡酸、高温灭菌PBS缓冲液洗涤、及多聚赖氨酸涂片等处理,DAB显色。室温下染色时间为3~5 min,自来水冲洗,终止显色。后将经DAB显色剂显色的LAPTM4B组织标本使用苏木精复染10 s,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封固。最后在显微镜下观察LAPTM4B表达情况,并拍片。实验步骤按照试剂盒说明书进行。

### 1.2.3 判定标准

LAPTM4B 阳性表达的细胞为细胞浆和细胞膜着色,评分由两位病理医师独立打分,评分标准由染色强度和染色细胞百分比综合评定。阳性细胞比例评分<sup>[7]</sup>: 0、1、2、3、4分;染色强度评分:未染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。染色指数=阳性细胞比例评分+染色强度评分。染色指数>3分为阳性表达;染色指数≤3分为阴性表达。

### 1.3 随访

以电话随访或门诊复查的随访方式对本研究纳入的96例胰腺癌患者进行为期1年的随访,随访截止时间2020年1月。将患者治疗后无进展生存期(Progression-Free-Survival, PFS)即患者开始接受治疗,到观察疾病发展或因肿瘤增大、转移死亡时间,总生存时间(Overall Survival, OS)即患者开始治疗到最后一次随访或患者死亡的时间详细记录在病历报告本中,分析不同LAPTM4B表达的患者生存情况。

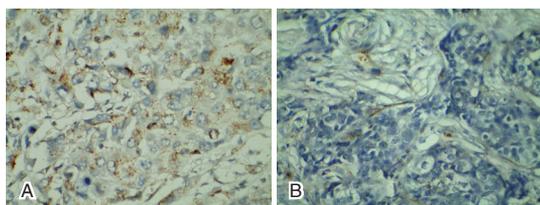
### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计数资料以n(%)表示,采用χ<sup>2</sup>检验;Kaplan-Meier生存分析LAPTM4B表达对胰腺癌患者预后生存的影响,使用tarone法进行检验;影响患者预后的相关因素采用非条件单因素和多因素Logistic回归分析;以P<0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LAPTM4B在不同组织中的表达情况

观察组LAPTM4B阳性表达率为73(76.04%),显著高于对照组的52(54.17%),差异具有统计学意义(χ<sup>2</sup>=9.803, P<0.05)。见图1。



注:A为LAPTM4B阳性表达;B为LAPTM4B阴性表达。

图1 LAPTM4B在胰腺癌组织中表达(SP, ×500)

Figure 1 LAPTM4B in pancreatic cancer (SP, ×500)

### 2.2 LAPTM4B与胰腺癌病理特征的关系

NM分期为Ⅲ~Ⅵ期、有淋巴结转移、分化程度为中-低分化的胰腺癌患者LAPTM4B阳性表达率更高(P<0.05)。见表1。

表1 LAPTM4B与胰腺癌病理特征的关系[n(%)]

Table 1 Relationship between LAPTM4B and pathological features of pancreatic cancer [n(%)]

病理参数	例数 (n=96)	LAPTM4B		χ <sup>2</sup> 值	P值
		阳性 (n=73)	阴性 (n=23)		
年龄(岁)				0.262	0.609
≥65	42	33(45.21)	9(39.13)		
<65	54	40(54.79)	14(60.87)		
性别(例)				1.130	0.288
男	51	41(56.16)	10(43.48)		
女	45	32(43.84)	13(56.52)		
TNM分期				6.769	0.009
I~II期	57	38(52.05)	19(82.61)		
III~VI期	39	35(47.95)	4(17.39)		
淋巴结转移				12.329	<0.001
是	43	40(54.79)	3(13.04)		
无	53	33(45.21)	20(86.96)		
分化程度				11.293	0.001
高分化	50	31(42.47)	19(82.61)		
中-低分化	46	42(57.53)	4(17.39)		
肿瘤大小(cm)				0.777	0.378
≥5	55	40(54.79)	15(65.22)		
<5	41	33(45.21)	8(34.78)		
肿瘤部位				0.003	0.959
头颈部	58	44(60.27)	14(60.87)		
尾体部	38	29(39.73)	9(39.13)		
神经侵犯				11.182	0.001
有	42	25(34.25)	17(73.91)		
无	54	48(65.75)	6(26.09)		

### 2.3 随访结果

96例胰腺癌患者1年生存率为20.83%(20/96),LAPTM4B阳性表达的胰腺癌患者死亡率更高(P<0.05)。见表2。

表2 LAPTM4B不同表达的胰腺癌患者1年预后情况[n(%)]

Table 2 1-year prognosis of pancreatic cancer patients with different LAPTM4B expression [n(%)]

指标	预后	n	阳性(n=73)	阴性(n=23)	χ <sup>2</sup> 值	P值
LAPTM4B	生存	20	2(10.00)	20(90.00)	71.834	<0.001
	死亡	76	73(96.05)	3(3.95)		

### 2.4 LAPTM4B表达与胰腺癌患者预后的关系

LAPTM4B表达阴性及表达阳性半数生存时间分别为(8.30±0.73)个月、(6.82±0.51)个月。生存分析显示LAPTM4B表达阳性的患者生存期明显短于LAPTM4B表达阴性的患者,Keplan-meier生存曲线比较差异有统计学意义(P<0.05),见图2。

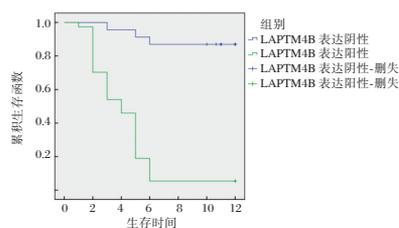


图2 ROC曲线  
Figure 2 ROC curve

### 2.5 影响胰腺癌患者预后生存的单因素和多因素分析

TNM分期为Ⅲ~Ⅵ期、有淋巴结转移、分化程度为中-低分化、LAPT M4B表达阳性为影响胰腺癌患者预后生存的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表4。

### 3 讨论

由于胰腺位置隐蔽,在患者表现出临床症状时,肿瘤多已发展至中晚期,手术根治难度大,患者仍面临术后肿瘤复发、转移的风险,且预后情况不理想。癌细胞浸润、侵袭及转移是胰腺癌患者死亡的主要原因<sup>[8]</sup>。

LAPT M4B是一种新型癌基因,广泛表达于心脏、骨骼肌等组织中<sup>[9]</sup>。该基因定位于8q22.1染色体上,有典型的溶酶体定位信号集,因此被命名为溶酶体相关4次跨膜蛋白B<sup>[10]</sup>。研究发现,LAPT M4B过表达后,会抑制细胞凋亡,促进细胞增殖、迁移、侵袭,其与肝癌、肺癌、乳腺癌等疾病发病风险具有显著相关性<sup>[11-12]</sup>。本研究采用免疫组化染色法,比较胰腺癌组织及癌旁正常组织中的LAPT M4B水平,发现胰腺癌组织中的LAPT M4B阳性表达率明显高于癌旁组织,这与既往学者报道结果一致<sup>[13]</sup>。

Roth等学者<sup>[14]</sup>通过蛋白印迹实验发现,LAPT M4B的表达强度与肝癌细胞的病理学分级有关,高分化肝癌组织中LAPT M4B表达较低,中-低分化肝癌组织中LAPT M4B表达量较高。Sun Y等学者<sup>[15]</sup>报道,乳腺癌细胞的细胞浆及细胞膜上存在LAPT M4B过表达,且LAPT M4B表达与乳腺癌患者淋巴结转移、TNM分期密切相关,因此认为LAPT M4B参与乳腺癌细胞体外增殖、迁移及侵袭的生物学行为,并具有抗凋亡作用。国外学者经细胞周期分析、细胞增殖相关蛋白表达的检测,发现LAPT M4B的过表达明显促进了人胆囊癌细胞的体外增殖能力<sup>[16]</sup>。本研究纳入的96例胰腺癌患者1年生存率为20.83%(20/96),LAPT M4B阳性表达的胰腺癌患者死亡率更高,提示LAPT M4B阳性表达的患者预后更差。在肿瘤侵袭及转移的过程中,LAPT M4B过表达会刺激肿瘤细胞分泌蛋白酶降解基底膜和基质,部分肿瘤细胞穿越受损的基底膜后侵入淋巴或血液,继而随着淋巴或血液循环,以同样的方式侵入淋巴管或血血管,加速病灶转移<sup>[17]</sup>。

本研究还发现,LAPT M4B阳性表达患者生存期要显著短于阴性表达的患者,这与Petti等学者<sup>[18]</sup>研究结果相一致。本研究经非条件多因素Logistic回归模型进一步分析,得出:TNM分期为Ⅲ~Ⅵ期、有淋巴结转移、分化程度为中-低分化、LAPT M4B表达阳性为影响胰腺癌患者预后生存的独立危险因素,可见LAPT M4B表达升高均与与肿瘤发生相关,可作为预测胰腺癌患者预后的指标。

综上所述,胰腺癌组织中LAPT M4B阳性表达率高,与TNM分期、淋巴结转移、分化程度密切相关。LAPT M4B可能参与了胰腺癌细胞侵袭、转移

表4 影响胰腺癌患者预后生存的单因素和多因素分析

Table 4 univariate and multivariate analysis of prognostic factors in patients with pancreatic cancer

变量	单因素分析			多因素分析		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
年龄(≥65岁 vs <65)	1.256	0.365~1.342	0.458			
性别(男 vs 女)	1.335	0.314~1.336	0.487			
TNM(Ⅲ~Ⅵ期 vs Ⅰ~Ⅱ期)	1.369	1.112~1.658	0.023	1.425	1.187~1.669	0.030
淋巴结转移(是 vs 否)	1.452	1.264~1.889	0.011	1.325	1.127~1.754	0.015
分化程度(中-低分化 vs 高分化)	1.365	1.125~1.724	0.017	1.425	1.251~1.785	0.022
肿瘤大小(≥5 cm vs <5 cm)	1.458	0.247~1.854	0.425			
肿瘤部位(头颈部 vs 尾部)	1.336	0.654~1.724	0.689			
神经侵犯(有 vs 无)	1.452	1.251~1.665	0.754	1.333	0.254~1.458	0.435
LAPT M4B(阳性表达 vs 阴性表达)	1.589	1.354~1.885	0.014	1.348	1.147~1.781	0.027

的过程, LAPT4B 能否作为治疗胰腺癌的新靶点, 有待深入研究。

### 参考文献

- [1] 杨军, 李贺, 郑荣寿, 等. 2014 年中国胰腺癌发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(6):420-425.
- [2] Gupta R, Amanam I, Chung V. Current and future therapies for advanced pancreatic cancer[J]. J Surg Oncol, 2017, 43(28):59-62.
- [3] Tempero MA. NCCN Guidelines Updates: Pancreatic Cancer[J]. J Nation Compreh Cancer Network, 2019, 17(5):603-605.
- [4] Vitiello GA, Cohen DJ, Miller G. Harnessing the Microbiome for Pancreatic Cancer Immunotherapy[J]. 2019, 13(20):33-37.
- [5] Gu S, Tan J, Li Q, et al. Downregulation of LAPT4B Contributes to the Impairment of the Autophagic Flux via Unopposed Activation of mTORC1 Signaling During Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury[J]. Circulat Res, 2020, 18(2):3-8.
- [6] Siri F H, Salehiniya H. Pancreatic Cancer in Iran: an Epidemiological Review[J]. J Gastroint Cancer, 2020, 51(5):1-7.
- [7] Grasso C, Jansen G, Giovannetti E. Drug resistance in pancreatic cancer: Impact of altered energy metabolism[J]. Critic Rev Oncol/hematol, 2017, 114(12):139-155.
- [8] 苗毅. 局部进展期胰腺癌综合治疗难点及对策[J]. 中国实用外科杂志, 2017, 37(7):721-723.
- [9] Previdi MC, Carotenuto P, Zito D, et al. Noncoding RNAs as novel biomarkers in pancreatic cancer: what do we know? [J]. Futur Oncol, 2017, 13(5):443-453.
- [10] Wang YZ, An Y, Li BQ, et al. Research progress on circularRNAs in pancreatic cancer: emerging but promising [J]. Cancer Biol, Therapy, 2019, 20(9):79-86.
- [11] 李辉, 潘武, 黄有成. 乳腺癌癌组织中 LAPT4B, dCTP 焦磷酸酶的表达水平及临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志 2020, 12(9):1234-1237.
- [12] Furuse J. Treatments for Pancreatic Cancer with Oligometastasis[J]. Gan kagaku ryoho, 2017, 44(10):827-830.
- [13] Honta S, Katanuma A. Diagnosis of resectable pancreatic cancer[J]. Nippon Shokakibyo Gakkai zasshi Japan J gastro-enterol, 2020, 117(4):290-296.
- [14] Roth S, Hackert T. Adenosine in pancreatic cancer: Emerging combination therapies[J]. EBioMedicine, 2019, 48(12):36-39.
- [15] Sun Y, Chen L, Rong Z. Abstract 1319: Edge-based integration of multi-omics data gives more accurate prognostic prediction in pancreatic cancer[J]. Cancer Res, 2018, 78(13):1319-1319.
- [16] Ueo A, Kubota M, Shirogane Y, et al. Lysosome-Associated Membrane Proteins Support the Furin-Mediated Processing of the Mumps Virus Fusion Protein [J]. J Virol, 2020, 94(12):43-49.
- [17] McMichael TM, Zhang L, Chemudupati M, et al. The palmitoyltransferase ZDHHC20 enhances interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3) palmitoylation and antiviral activity[J]. J Biol Chem, 2017, 16(17):80-88.
- [18] Petti LM, Marlatt SA, Luo Y, et al. Regulation of C-C chemokine receptor 5 (CCR5) stability by Lys197 and by transmembrane protein aptamers that target it for lysosomal degradation[J]. J Biol Chem, 2018, 17(11):89-93.

(上接第 1275 页)

- [11] Peng F, Li Q, Sun JY, et al. PFKFB3 is involved in breast cancer proliferation, migration, invasion and angiogenesis [J]. Internat J Oncol, 2018, 52(3):33-36.
- [12] Gianluca S, Pasquale S, Sara M, et al. TNFalpha up-regulates SLUG via the NF-kappaB/HIF1alpha axis, which imparts breast cancer cells with a stem cell-like phenotype[J]. J cellul physiol, 2018, 18(3):682-691.
- [13] Shah N, Mohammad AS, Saralkar P, et al. Investigational chemotherapy and novel pharmacokinetic mechanisms for the treatment of breast cancer brain metastases [J]. Pharmacol Res, 2018, 25(21):104-110.
- [14] 范昭, 刘森, 胡慧, 等. miR-34 和 miR-19 与其靶基因在甲状腺乳头状癌中的表达[J]. 广东医学, 2017, 38(20):3120-3122.
- [15] Sovak MA, Bellas RE, Kim DW, et al. Aberrant nuclear factor-kappaB/Rel expression and the pathogenesis of breast cancer[J]. J clin Invest, 2018, 11(12):2952-2960.
- [16] Martin LJ, Boyd NF. Mammographic density. Potential mechanisms of breast cancer risk associated with mammographic density: hypotheses based on epidemiological evidence [J]. Breast cancer Res; BCR, 2018, 10(1):201-205.
- [17] Fumoleau P, Roché H, Kerbrat P, et al. Long-term cardiac toxicity after adjuvant epirubicin-based chemotherapy in early breast cancer: French Adjuvant Study Group results [J]. Ann Oncol, 2020, 14(1):85-92.

· 论 著 ·

## 血清 Lp-PLA2 和 LDL-C/HDL-C 比值与 ACI 患者颈动脉粥样斑块稳定性关系

金纪伟\* 葛冰磊 杨凤 陈永红

**[摘要]** 目的 分析血清脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)/高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)比值与急性脑梗死(ACI)患者颈动脉粥样斑块稳定性的关系。方法 收集2018年3月至2020年1月本院124例ACI患者临床资料,根据有无斑块及斑块特点分为无斑块组( $n=29$ )、稳定斑块组( $n=42$ )及不稳定斑块组( $n=53$ )。比较3组基线资料及入院后血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值,评估血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值与ACI患者斑块稳定性的关系。结果 3组性别、年龄、既往史及肌酐等生化指标比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。3组梗死灶体积、IMT及血清Lp-PLA2、LDL-C/HDL-C比值比较:不稳定斑块组>稳定斑块组>无斑块组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。Pearson相关性分析显示ACI患者血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值与梗死灶体积、IMT均呈显著正相关( $P<0.05$ )。ROC曲线分析显示血清Lp-PLA2、LDL-C/HDL-C比值均对ACI颈动脉不稳定斑块具有较高诊断价值( $P<0.05$ ),其截断值分别为116.48 ng/mL、3.67,且2项联合检测诊断价值高于单一项,AUC值高达0.931。结论 血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值与ACI患者颈动脉粥样硬化斑块的形成及稳定性均相关,对指导临床诊疗有积极作用。

**[关键词]** 急性脑梗死;颈动脉粥样斑块;稳定性;Lp-PLA2;LDL-C/HDL-C

### Relationship between serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio and stability of carotid atherosclerotic plaque in ACI patients

JIN Jiwei\*, GE Binglei, YANG Feng, CHEN Yonghong

(Department of Laboratory Medicine, The People's Hospital of Xuancheng, Xuancheng, Anhui, China, 242000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the relationship between serum lipoprotein-related phospholipase A2 (Lp-PLA2) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)/high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) ratio and the stability of carotid atherosclerotic plaques in patients with acute cerebral infarction (ACI). **Methods** The clinical data of 124 patients with ACI in the hospital from March 2018 to January 2020 were collected. According to the ultrasound examination, the patients were divided into the non-plaque group, the stable plaque group and the unstable plaque group. The differences in baseline data and serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio after admission were compared among the three groups. The relationship between serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio after admission and plaque stability of patients with ACI was evaluated. **Results** There were no statistically significant differences among the three groups in terms of gender, age, past history, creatinine and other biochemical indicators ( $P>0.05$ ). The infarct volume, IMT, serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio in the three groups were shown as: the unstable plaque group >the stable plaque group >the non-plaque group ( $P<0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio of patients with ACI were significantly positively correlated with infarct volume and IMT

基金项目:安徽省科技攻关项目(1801042215)

作者单位:宣城市人民医院检验科,安徽,宣城242000

\*通信作者:金纪伟, E-mail: hnhjjw@163.com

( $P < 0.05$ ). ROC curve analysis showed that the serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio had high diagnostic value for carotid artery unstable plaques in ACI ( $P < 0.05$ ), and their cut-off values were 116.48 ng/mL and 3.67 respectively, and the diagnostic value of the two combined detection was higher than that of single detection, and the AUC value was up to 0.931. **Conclusion** Serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio are related to the formation and stability of carotid atherosclerotic plaques in patients with ACI, and they play a positive role in guiding clinical diagnosis and treatment.

**[KEY WORDS]** Acute cerebral infarction; Carotid atherosclerotic plaques; Stability; Lp-PLA2; LDL-C/HDL-C

研究发现,颈动脉粥样硬化为急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)发生机制之一,有30%以上的ACI患者是因不稳定颈动脉斑块破裂、形成血栓而发病<sup>[1-2]</sup>。动脉粥样斑块主要来源于炎症细胞、免疫细胞、内皮细胞等成分,炎症在动脉粥样硬化中发挥触发及促进作用<sup>[3]</sup>。脂蛋白相关磷脂酶A2(lipoprotein-related phospholipase A2, Lp-PLA2)是新发现的炎症标志物,可水解氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)中氧化卵磷脂,分解生成氧化型游离脂肪酸及溶血卵磷脂,参与炎症因子调节、白细胞聚集、氧化修饰等过程,促进动脉粥样硬化发生发展<sup>[4]</sup>。高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)可促进胆固醇代谢,抗动脉粥样硬化<sup>[5]</sup>;胆固醇主要以低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)形式运输,LDL-C在血管内较长时间停留时可被氧化修饰为ox-LDL,被巨噬细胞吞噬形成泡沫细胞,加速动脉粥样硬化发生<sup>[6]</sup>。近年研究指出,LDL-C/HDL-C比值可作为评估动脉粥样硬化病程的指数<sup>[7]</sup>。本研究就血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值评估ACI患者颈动脉粥样硬化进程的应用价值展开分析,为ACI诊疗提供临床依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年3月至2020年1月本院124例ACI患者,纳入标准:①符合美国心脏协会及美国卒中协会2018制定<sup>[8]</sup>的诊断标准;②年龄>18岁;③发病48h内入院;④临床资料完整。排除标准:①合并急、慢性感染;②伴自身免疫性疾病、风湿性疾病、恶性肿瘤;③凝血功能异常;④严重肝肾功能不全。其中男性74例,女性50例;年龄平均(59.61±9.33)岁。患者及其家属均签署知情同意

书,本研究经医院医学伦理委员会审批。

### 1.2 方法

患者均在入院48h内行颈动脉超声扫描(西门子,ACUSON Juniper),探头频率4~12 MHz,患者取仰卧位,偏头暴露颈部,探头由颈根部向头侧移动,扫描颈总动脉、分叉部及颈内动脉、颈外动脉,测量3次,取其平均值为颈动脉中膜厚度(intima-media thickness, IMT), $IMT \geq 1.2$  mm为斑块形成<sup>[9]</sup>。观察斑块形态、回声特点,将管壁偏心性增厚、内膜光滑、斑块回声较均匀的扁平斑及斑块纤维化或钙化、部分回声增强、后方回声衰减或伴声影的硬斑判断为稳定斑块;将混合型回声、内膜表面连续光滑纤维帽回声的软斑及斑块超声形态不规则、表面不光滑的溃疡斑、混合斑判断为不稳定斑块<sup>[10]</sup>。根据有无斑块及斑块特点分为无斑块组( $n=29$ )、稳定斑块组( $n=42$ )及不稳定斑块组( $n=53$ )。患者入院后行头颅CT检查,以Pullicino公式<sup>[11]</sup>计算梗死灶体积,梗死灶体积( $cm^3$ )=长径×短径×梗死层面数/2。患者均在入院次日清晨采集空腹外周静脉血5 mL,经1 500 r/min离心10 min,取上层清液,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(试剂由美国Biosite Incorporated公司生产)检测血清Lp-PLA2水平;采用全自动生化分析仪(仪器由美国贝克曼库尔特生产)检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、LDL-C、HDL-C及尿素、肌酐等生化指标,并计算LDL-C/HDL-C。

### 1.3 统计学方法

应用SPSS 21.0软件进行统计学分析;计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间采用单因素方差分析,两两比较采用LSD- $t$ 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;相关性采用Pearson相关性分析;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估诊断价值,计算曲线下面积以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组基线资料

比较3组性别、年龄、冠心病、糖尿病、高血压、吸烟史、饮酒史及TC、TG、尿素、肌酐水平比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。3组梗死灶体积及IMT比较:不稳定斑块组>稳定斑块组>无斑块组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 3组基线资料比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

Table 1 Comparison of baseline data among the 3 groups [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

基线资料	不稳定斑块组( $n=53$ )	稳定斑块组( $n=42$ )	无斑块组( $n=29$ )	$\chi^2/F$ 值	$P$ 值
男/女	32/21	25/17	17/12	0.025	0.988
年龄(岁)	60.36±9.48	59.46±9.17	58.44±10.02	0.390	0.678
冠心病	27(50.94)	20(47.62)	13(30.95)	0.296	0.863
糖尿病	16(30.19)	9(21.43)	5(11.90)	1.978	0.372
高血压	32(60.38)	22(52.38)	12(28.57)	2.736	0.255
吸烟史	16(30.19)	13(30.95)	11(26.19)	0.564	0.754
饮酒史	14(26.42)	9(21.43)	5(11.90)	0.951	0.622
TC(mmol/L)	5.12±1.02	5.01±0.95	4.85±0.91	0.726	0.486
TG(mmol/L)	1.78±0.39	1.72±0.33	1.66±0.35	1.066	0.348
尿素(mmol/L)	5.41±0.96	5.29±0.95	5.15±0.89	0.728	0.485
肌酐(mmol/L)	66.95±12.49	64.22±11.97	65.05±12.07	0.621	0.539
梗死灶体积( $\text{cm}^3$ )	10.25±1.95	7.36±1.75 <sup>a</sup>	5.15±1.33 <sup>ab</sup>	84.430	<0.001
IMT(mm)	1.48±0.25	1.36±0.19 <sup>a</sup>	0.91±0.11 <sup>ab</sup>	74.891	<0.001

注:与不稳定斑块组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与稳定斑块组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.2 3组入院后血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值比较

3组血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值比较:不稳定斑块组>稳定斑块组>无斑块组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 3组入院后血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of serum Lp-PLA2 and LDL-C/HDL-C ratio among the three groups after admission ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	Lp-PLA2(ng/mL)	LDL-C/HDL-C
不稳定斑块组	53	153.02±37.89	4.87±0.93
稳定斑块组	42	112.79±24.13 <sup>a</sup>	3.65±0.73 <sup>a</sup>
无斑块组	29	94.49±22.06 <sup>ab</sup>	2.67±0.61 <sup>ab</sup>
$F$ 值		40.346	47.945
$P$ 值		<0.001	<0.001

注:与不稳定斑块组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与稳定斑块组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 ACI患者血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值与梗死灶体积、IMT的相关性分析

Pearson相关性分析显示,ACI患者血清Lp-PLA2及LDL-C/HDL-C比值与梗死灶体积( $r=0.458$ ,  $P<$

$0.05$ )、IMT均呈显著正相关( $r=0.471$ ,  $P<0.05$ )。

### 2.4 血清Lp-PLA2、LDL-C/HDL-C比值及其联合检测对ACI颈动脉不稳定斑块的诊断价值分析

ROC曲线分析显示,血清Lp-PLA2、LDL-C/HDL-C比值均对ACI颈动脉不稳定斑块具有较高诊断价值( $P<0.05$ ),其截断值分别为116.48 ng/mL、3.67,且2项联合检测诊断价值高于单一项,AUC值高达0.931。见表3、图1。

表3 血清Lp-PLA2、LDL-C/HDL-C比值及其联合检测对ACI颈动脉不稳定斑块的诊断价值

Table 3 Diagnostic value of serum Lp-PLA2, LDL-C/HDL-C ratio and their combined detection on carotid artery unstable plaques in ACI

指标	截断值	敏感度	特异度	AUC	95%CI
Lp-PLA2	116.48 ng/mL	0.868	0.732	0.854	0.785~0.924
LDL-C/HDL-C	3.67	0.923	0.761	0.904	0.852~0.956
两项联合		0.793	0.930	0.931	0.885~0.977

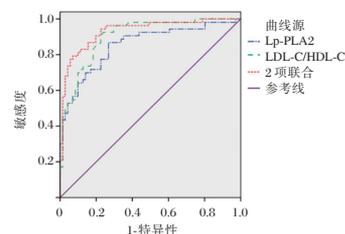


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curves

## 3 讨论

本研究发现,不稳定斑块组梗死灶体积显著高于稳定斑块组及无斑块组,稳定斑块组则高于无斑块组,提示颈动脉粥样斑块形成者梗死更严重,且斑块不稳定者更为严重。考虑该结果与颈动脉粥样斑块负荷越重者脑缺血风险更高,导致梗死范围更广有关<sup>[12]</sup>。且不稳定斑块组IMT高于稳定斑块组及无斑块组,稳定斑块组IMT高于无斑块组,说明斑块稳定性越差IMT增厚越严重。

据文献报道,Lp-PLA2可增强单核巨噬细胞介导的炎症反应,加速动脉粥样硬化进程,并水解ox-LDL,使氧化应激水平升高、血管内皮损伤加剧,引起粥样斑块破裂<sup>[13]</sup>。本研究结果提示Lp-PLA2可能参与颈动脉粥样斑块的形成及破裂过程,其血清含量与ACI病情进展具有一定联系。相关性分析表明血清Lp-PLA2水平能辅助判断ACI患者颈动脉粥样硬化程度及梗死严重程度。

Kuczia 等<sup>[14]</sup>研究指出, Lp-PLA2 可介导细胞因子表达, 促进粥样斑块表达基质金属蛋白, 使纤维帽胶原基质降解, 增加斑块易损性。本研究结果说明, Lp-PLA2 的堆积可能导致粥样斑块破裂风险升高, 检测血清 Lp-PLA2 含量对判断颈动脉粥样斑块性质有重要意义。

LDL-C 可促进动脉血管壁胆固醇的内流及沉积, 并增加血管内膜的氧化敏感性而致动脉粥样硬化<sup>[15]</sup>。HDL-C 则参与胆固醇的逆向转运, 发挥抗动脉粥样硬化作用。LDL-C/HDL-C 平衡是评估动脉粥样硬化进程的重要指标<sup>[16]</sup>。本研究结果提示 LDL-C/HDL-C 比值对评估颈动脉粥样斑块形成及稳定性均有重要意义。李赫宁等<sup>[17]</sup>研究提出, 斑块组织结构是影响其稳定性的关键因素, 富含脂质成分的软斑块极易破溃, 形成血栓而导致 ACI, 故脂代谢异常能降低斑块的稳定性, 影响 ACI 的发生发展, 与本文结果相近。上述 2 项指标联合检测对 ACI 颈动脉不稳定斑块诊断价值最高, 也说明联合监测血清 Lp-PLA2、LDL-C/HDL-C 比值有其必要性, 可预测患者病情进程。

综上所述, Lp-PLA2 及 LDL-C、HDL-C 可能均参与 ACI 颈动脉粥样硬化斑块的形成及破裂过程, 积极监测血清 Lp-PLA2 及 LDL-C/HDL-C 比值对指导临床诊疗有积极作用。

## 参考文献

- [1] Mokin M, Ansari SA, Mctaggart RA, et al. Indications for thrombectomy in acute ischemic stroke from emergent large vessel occlusion (ELVO): Report of the SNIS Standards and Guidelines Committee[J]. *J Neurointerv Surg*, 2019, 11(3): 1464-1469.
- [2] Liu M, Li L, Li G. The different clinical value of susceptibility vessel sign in acute ischemic stroke patients under different interventional therapy: A systematic review and meta-analysis[J]. *J Clin Neurosci*, 2019, 62(4): 72-79.
- [3] Lutz Y, Loewe A, Meckel S, et al. Combined local hypothermia and recanalization therapy for acute ischemic stroke: Estimation of brain and systemic temperature using an energetic numerical model[J]. *J Thermal Biol*, 2019, 84(8): 316-322.
- [4] Guibbal F, Meneyrol V, Ait-Arsa I, et al. Synthesis and Automated Labeling of [18F] Darapladib, a Lp-PLA2 ligand, as potential PET Imaging tool of Atherosclerosis [J]. *Acc Med Chem Lett*, 2019, 10(5): 743-748.
- [5] Sirtori CR, Ruscica M, Calabresi L, et al. HDL therapy today: from atherosclerosis, to stent compatibility to heart failure[J]. *Ann Med*, 2019, 51(7-8): 345-359.
- [6] Burke AC, Telford DE, Huff MW. Bempedoic acid: effects on lipoprotein metabolism and atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2019, 30(1): 1-9.
- [7] Ozbacivan O, Akarsu S, Semiz F, et al. Comparison of serum lipid parameters between patients with classic cutaneous lichen planus and oral lichen planus [J]. *Clin Oral Invest*, 2020, 24(2): 719-725.
- [8] cCoy CE, Langdorf MI, Lotfipour S. American Heart Association/American Stroke Association Deletes Sections from 2018 Stroke Guidelines [J]. *West J Emerg Med*, 2018, 19(6): 947-951.
- [9] 谭红, 朱红霞, 张可帅. 颈动脉粥样硬化患者中血清 Lp-PLA2、CD147 的表达及意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(8): 1030-1033.
- [10] Bell S, Gibson JT, Harshfield EL, et al. Is periodontitis a risk factor for ischaemic stroke, coronary artery disease and subclinical atherosclerosis? A Mendelian randomization study - ScienceDirect[J]. *Atherosclerosis*, 2020, 313(12): 111-117.
- [11] 贺兴友, 黄朝阳, 王玉平. 颈内动脉系统脑梗死患者早期代偿途径形成的影响因素[J]. *中国脑血管病杂志*, 2019, 16(4): 187-191.
- [12] Dai W, Li D, Cai Y, et al. Association between homocysteine and multivascular atherosclerosis in stroke-related vascular beds determined by three-dimensional magnetic resonance vessel wall imaging[J]. *J Clin Neurosci*, 2019, 70(12): 72-78.
- [13] Xu Y, Wang Q, Hou G, et al. A dual-label time-resolved fluorescence immunoassay for screening of osteoporosis based on simultaneous detection of C-terminal telopeptide ( $\beta$ -CTX) and aminoterminal propeptide (PINP) of type I procollagen [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2019, 79(1-2): 80-85.
- [14] Kuczia P, Mastalerz L, Potaczek DP, et al. Increased activity of lipoprotein-associated phospholipase A2 in non-severe asthma - ScienceDirect[J]. *Allergol Int*, 2019, 68(4): 450-455.
- [15] Ballantyne C, Laufs U, Ray KK, et al. Efficacy and Safety of Bempedoic Acid + Ezetimibe Fixed-Dose Combination in Patients at High CVD Risk and with Elevated LDL-C Receiving Maximally Tolerated Statin Therapy [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 287(7): 7-8.
- [16] Ossoli A, Pavanello C, Giorgio E, et al. Dysfunctional HDL as a Therapeutic Target for Atherosclerosis Prevention [J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(9): 1610-1630.
- [17] 李赫宁, 陈临溪. Apelin/APJ 系统: 动脉粥样硬化治疗新靶点[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(7): 10-18.

## ERCC1、PAK、HDAC1蛋白在NSCLC的表达及临床意义

孔佑虔<sup>1</sup> 宋爱英<sup>2</sup> 王小玉<sup>1</sup> 唐寅<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨免疫组化检测核苷酸切除修复交叉互补组1(ERCC1)、P21活化激酶(PAK)及组蛋白去乙酰化酶1(HDAC1)蛋白在非小细胞肺癌(NSCLC)患者中的表达及临床意义。**方法** 纳入2015年1月至2017年6月于本院接受手术治疗的62例NSCLC患者,将术中切取的癌组织作为癌组织组,将癌旁正常组织作为癌旁正常组织组,检测ERCC1、PAK及HDAC1蛋白的表达水平。对所有患者的临床病理特征、ERCC1、PAK及HDAC1蛋白表达情况及预后情况进行记录。采用ROC曲线研究ERCC1、PAK及HDAC1蛋白对NSCLC患者预后生存的影响。**结果** 癌组织组ERCC1、PAK及HDAC1蛋白阳性率表达显著高于癌旁正常组织组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ERCC1、PAK及HDAC1蛋白高表达者临床分期、组织分化程度及淋巴结转移明显高于低表达者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。62例NSCLC患者3年生存率为19.35%(12/62),ERCC1、PAK及HDAC1高表达者死亡率高于低表达者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ERCC1、PAK及HDAC1蛋白及三者联合曲线下面积分别为0.786、0.770、0.748、0.973,以联合检测最大( $P<0.05$ )。**结论** ERCC1、PAK及HDAC1蛋白在NSCLC癌组织中呈异常表达状态,临床工作者可通过监测上述指标判断NSCLC患者疾病进展情况,为评估患者预后发展提供参考。

**[关键词]** ERCC1; PAK; HDAC1; 非小细胞肺癌

### Expression and clinical significance of ERCC1, PAK and HDAC1 protein in patients with NSCLC

KONG Youqian<sup>1</sup>, SONG Aiyang<sup>2</sup>, WANG Xiaoyu<sup>1</sup>, TANG Yin<sup>2\*</sup>

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, China, 150040; 2. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, China, 150040)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the expression and clinical significance of immunohistochemical detection of nucleotide excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1), P21 activated kinase (PAK) and histone deacetylase 1 (HDAC1) protein in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 62 patients with NSCLC who underwent surgical treatment in this hospital from January 2015 to June 2017 were included. The cancer tissue removed during the operation was used as the cancer tissue group, and the adjacent normal tissues were used as the adjacent normal tissue group. The expression levels of ERCC1, PAK and HDAC1 protein were detected. The clinicopathological characteristics, ERCC1, PAK and HDAC1 protein expression and prognosis of all patients were recorded. The ROC curve was used to study the effect of ERCC1, PAK and HDAC1 protein on the prognostic survival of patients with NSCLC. **Results** The positive rates of ERCC1, PAK and HDAC1 protein expression in the cancer tissue group were significantly higher than those in the adjacent normal tissue group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The clinical stage, degree of tissue differentiation and lymph node metastasis of patients with high expression of ERCC1, PAK and HDAC1 protein were significantly higher than those of patients with low expression, and

基金项目:黑龙江省中医药管理局科技计划项目(ZHY2020-105)

作者单位:1. 黑龙江中医药大学,黑龙江,哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学附属第一医院肿瘤科,黑龙江,哈尔滨 150040

\*通信作者:唐寅, E-mail: heartrate@163.com

the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The 3-year survival rate of 62 NSCLC patients was 19.35% (12/62), and those with high expression of ERCC1, PAK and HDAC1 had higher mortality, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The areas under the curves of ERCC1, PAK and HDAC1 protein and their combined detection were 0.786, 0.770, 0.748, 0.973, respectively, and the combined detection was the largest ( $P<0.05$ ). **Conclusion** ERCC1, PAK, and HDAC1 proteins are abnormally expressed in NSCLC cancer tissues. Clinicians can monitor these three indicators to judge the disease progression of NSCLC patients, and provide references for assessing the prognosis and development of patients.

**[KEY WORDS]** ERCC1; PAK; HDAC1; Non-small cell lung cancer

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)为我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤, 尽管近年来影像技术、外科手术、放疗、化疗等医学手段快速发展, 但大部分患者就诊时仍处于肺癌晚期, 故早期诊断 NSCLC 病情进展、及时采取治疗措施是提高该病诊疗率的关键<sup>[1]</sup>。核苷酸切除修复交叉互补组 1 (excision repair cross-complementation group 1, ERCC 1) 基因在多种肿瘤细胞均呈高表达状态, 对肿瘤 DNA 的合成、再生起到重要作用<sup>[2]</sup>。报道发现 P21 活化激酶 (p21-activated kinase, PAK) 与肿瘤的发生、发展、转移等有关<sup>[3]</sup>。组蛋白去乙酰化酶 1 (histone deacetylase 1, HDAC1) 可抑制肿瘤细胞的增殖, 诱导肿瘤细胞凋亡、产生细胞毒性<sup>[4]</sup>。本研究将分析免疫组化检测 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白的表达及临床意义。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院 2015 年 1 月至 2017 年 6 月收治的 62 例 NSCLC 患者。分型: 鳞癌 27 例, 腺癌 21 例, 腺鳞癌 14 例。男 36 例, 女 26 例, 平均年龄 ( $51.31 \pm 6.65$ ) 岁。纳入标准: ①所有患者符合 NSCLC 规范化的诊断<sup>[5]</sup>; ②术前未接受辅助治疗; ③无其它恶性疾病; 排除标准: ①合并肝、肾、心脏脏器严重疾病者; ②合并严重神经功能、认知功能障碍者; ③依从性差者。本研究经医院医学伦理委员会批准通过, 受试者均签署知情同意书。

### 1.2 样本采集及 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达水平检测

将术中切取的癌组织作为癌组织组, 将癌旁正常组织 (距离肿瘤 5 cm) 作为癌旁正常组织组。检测 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白<sup>[6]</sup>: SP 法, 石蜡切片标本厚 2  $\mu\text{m}$ , 烘烤 60 $^{\circ}\text{C}$ , 二甲苯脱蜡, 浸泡 3 次。3 次离子水中浸泡抗原修复切片, 磷酸盐缓冲液 (PBST) 洗 3 次。内源性过氧化物酶阻断剂滴

加, 室温孵育 15 min, 冲洗。一抗 (GPCR124 多克隆抗体浓度 1:100) 滴加, 室温孵育 1 h, 冲洗。辣根酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物滴加, 室温孵育 30 min。对照组采用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 代替一抗; 滴加山羊抗兔二抗 (eBioscience) 室温孵育 30 min。二氨基联苯胺显色, 苏木精复染, 梯度酒精脱水, 树胶封片。

### 1.3 临床病理特征及随访

对所有患者性别、年龄、临床分期、组织分化程度、ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达情况及其预后情况进行记录。采用双盲法<sup>[7]</sup>评定 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白: 随机选择每张切片 5 个视野, 根据染色深浅和视野中阳性细胞比例评分: 0 分为无着色; 1 分为浅黄色,  $<25\%$ ; 2 分为棕黄色,  $25\% \sim 50\%$ ; 3 分为棕褐色,  $>50\%$ 。免疫反应评分: 阴性 (-), 弱阳性 (+), 中等阳性 (++) , 强阳性 (+++)。低表达状态为阴性和弱阳性 (-, +), 高表达状态为中等阳性和强阳性 (++, +++)。所有患者均随访 3 年, 随访截止日期为 2020 年 6 月 30 日。

### 1.4 统计学方法

以统计软件 SPSS 22.0 分析, 计数资料以  $n(\%)$  表示, 采用  $\chi^2$  检验, 采用 ROC 曲线研究 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白对患者预后生存的影响, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达情况比较

癌组织组 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白阳性率表达显著高于癌旁正常组织组, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 1、图 1。

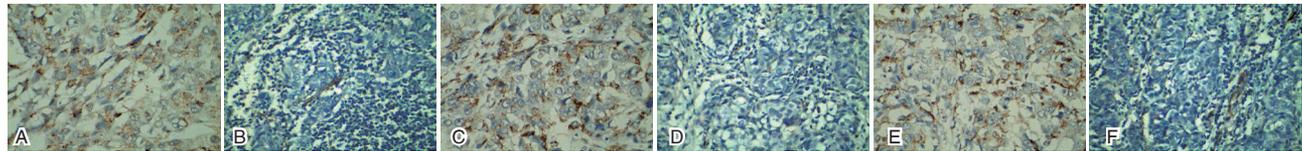
### 2.2 不同临床病理特征 NSCLC 患者其 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达情况比较

ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白高表达者临床分期、组织分化程度及淋巴结转移明显高于低表达者, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 2。

表1 两组 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达情况比较 [n(%)]

Table 1 Comparison of ERCC1, Pak and HDAC1 protein expression between 2 groups [n(%)]

分组	n	ERCC1 蛋白					PAK 蛋白					HDAC1 蛋白				
		-	+	++	+++	高表达率	-	+	++	+++	高表达率	-	+	++	+++	高表达率
癌旁正常组织组	62	37	13	7	5	12(19.35)	29	23	6	4	10(16.12)	27	20	7	8	15(24.19)
癌组织组	62	7	6	20	29	49(79.03)	10	7	23	22	45(72.58)	7	8	21	26	47(75.80)
$\chi^2$ 值		44.173					40.026					33.032				
P 值		<0.001					<0.001					<0.001				



注:A为ERCC1阳性表达;B为ERCC1阴性表达;C为HDAC1蛋白阳性表达;D为HDAC1蛋白阴性表达;E为PAK蛋白阳性表达;F为PAK蛋白阴性表达。

图1 NSCLC 癌组织免疫组化染色图 (SP, × 500)

Figure 1 immunohistochemical staining of cancer tissue of NSCLC (SP, × 500)

表2 不同临床病理特征 NSCLC 患者其 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达情况比较 [n(%)]

Table 2 Comparison of ERCC1, Pak and HDAC1 protein expression in NSCLC patients with different clinicopathological characteristics [n(%)]

临床特征	例数 (n=62)	ERCC1 蛋白				PAK 蛋白				HDAC1 蛋白				
		高表达 (n=49)	低表达 (n=13)	$\chi^2$ 值	P 值	高表达 (n=45)	低表达 (n=17)	$\chi^2$ 值	P 值	高表达 (n=47)	低表达 (n=15)	$\chi^2$ 值	P 值	
年龄 (岁)	≥60	35	29(59.18)	6(46.15)	0.710	0.400	25(55.56)	9(52.94)	0.034	0.854	25(53.19)	10(66.67)	0.840	0.359
	<60	27	20(40.82)	7(53.85)			20(44.44)	8(47.06)			22(46.81)	5(33.33)		
性别 (例)	男	36	30(61.22)	6(46.15)	0.958	0.328	25(55.56)	11(64.71)	0.424	0.515	29(61.70)	7(46.67)	1.056	0.304
	女	26	19(38.78)	7(53.85)			20(44.44)	6(35.29)			18(38.30)	8(53.33)		
临床分期	I-II 期	21	9(18.37)	12(92.31)	25.078	<0.001	5(11.11)	16(94.12)	37.955	<0.001	7(14.89)	14(93.33)	31.236	<0.001
	III-IV 期	41	40(81.63)	1(7.69)			40(88.89)	1(5.88)			40(85.11)	1(6.67)		
组织分化程度	低分化	43	40(81.63)	3(23.08)	16.575	<0.001	39(86.67)	4(23.53)	23.142	<0.001	42(89.36)	1(6.67)	36.586	<0.001
	高中分化	19	9(18.37)	10(76.92)			6(13.33)	13(76.47)			5(10.64)	14(93.33)		
淋巴结转移	是	29	27(55.10)	2(15.38)	6.510	0.011	28(62.22)	1(5.88)	15.732	<0.001	27(57.45)	2(13.33)	8.888	<0.001
	否	33	22(44.90)	11(84.62)			17(37.78)	16(94.12)			20(42.55)	13(86.67)		
组织病理分型	鳞癌	27	21(42.86)	6(46.15)	0.505	0.777	18(40.00)	9(52.94)	1.702	0.427	22(46.81)	5(33.33)	0.840	0.657
	腺癌	21	16(32.65)	5(38.46)			15(33.33)	6(35.29)			15(31.91)	6(40.00)		
	腺鳞癌	14	12(24.49)	2(15.38)			12(26.67)	2(11.76)			10(21.28)	4(26.67)		

### 2.3 NSCLC 患者 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达的预后情况

62 例 NSCLC 患者 3 年生存率为 19.35% (12/62), ERCC1、PAK 及 HDAC1 高表达者死亡率高于低表达者, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表3 NSCLC 患者 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白表达的预后情况 [n(%)]

Table 3 prognosis of ERCC1, Pak and HDAC1 protein expression in NSCLC patients [n(%)]

指标	ERCC1		PAK		HDAC1	
	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达
生存	2(16.67)	10(83.33)	3(25.00)	9(75.00)	4(33.33)	8(66.67)
死亡	47(94.00)	3(6.00)	42(84.00)	8(16.00)	43(86.00)	7(14.00)
$\chi^2$ 值	34.925		16.927		14.635	
P 值	<0.001		<0.001		<0.001	

### 2.4 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白对 NSCLC 患者预后死亡的预测价值

ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白及三者联合曲线下面积分别为 0.786、0.770、0.748、0.973, 各指标曲线下面积以联合检测最大 ( $P < 0.05$ )。见表 4、图 1。

表4 ERCC1、PAK 及 HDAC1 蛋白对 NSCLC 患者预后死亡的预测价值

Table 4 the predictive value of ERCC1, Pak and HDAC1 protein in the prognosis of NSCLC patients

预测指标	灵敏度	特异度	AUC	95%CI	P 值
ERCC1	0.621	0.624	0.786	0.603-0.969	<0.001
PAK	0.713	0.721	0.770	0.579-0.962	<0.001
HDAC1	0.746	0.752	0.748	0.546-0.950	<0.001
三者联合检测	0.894	0.898	0.973	0.000-1.000	<0.001

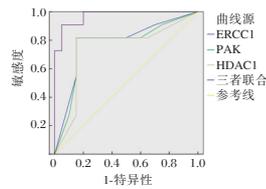


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

NSCLC具有极高的恶性程度,早期即可发生淋巴结转移,虽手术治疗疗效显著,但预后较差,肿瘤复发和转移使患者的5年生存率仅为30%左右<sup>[8]</sup>。

ERCC1是核苷酸切除修复中最为关键的酶,通过对染色体19q13.2-13.3定位,使基因突变引起单核苷酸多态性遗传物质DNA突变,而单核苷酸多态性通过转录mRNA及由其翻译成的蛋白或酶发挥功能作用<sup>[9]</sup>。研究发现,ERCC1参与多种肿瘤的进展<sup>[9]</sup>。Lu等<sup>[10]</sup>研究发现ERCC1蛋白阳性对肺癌患者的用药选择具有指导意义。HDAC1蛋白是临床新发现的生物学蛋白,相关学者研究发现,HDAC1蛋白在恶性肿瘤中呈过度表达状态<sup>[11]</sup>。相关国外研究发现,HDAC1抑制剂可抑制肺腺癌细胞株A549的增殖并促进其凋亡,预示HDAC1抑制剂在肺癌治疗中具有重要作用<sup>[12]</sup>。PAK作为小G蛋白Rho家族的下游靶蛋白,被生长因子及其他胞外信号活化,参与调节细胞骨架、细胞生存、有丝分裂和血管生成等生物学功能,在肿瘤的发生、侵袭和转移过程中起着重要作用<sup>[13]</sup>。既往文献发现PAK在不同肿瘤中可通过不同的信号通路影响肿瘤增殖及转移,促进癌细胞生长,从而导致癌细胞转移,促进癌症进展<sup>[14]</sup>。目前,有关PAK在肿瘤方面的报道主要集中在乳腺癌、肝癌、胃癌等恶性肿瘤疾病中,而在NSCLC方面的研究报道甚少<sup>[15]</sup>。由此可知NSCLC患者疾病的发生和进展与ERCC1、PAK、HDAC1蛋白有着密切联系,三者可作为评估其预后的有效指标。

此外,为深入了解ERCC1、PAK、HDAC1蛋白对NSCLC患者预后死亡的预测价值,本研究采用ROC曲线分析,发现联合检测三指标可作为预测患者预后死亡的有效手段。

综上所述,ERCC1、PAK及HDAC1蛋白在NSCLC癌组织中呈异常表达状态,临床工作者可通过监测上述指标判断NSCLC患者疾病进展情况,为评估患者预后发展提供参考。

### 参考文献

- [1] Moon Y, Si YC, Park JK, et al. Risk Factors for Occult Lymph Node Metastasis in Peripheral Non-Small Cell Lung Cancer with Invasive Component Size 3cm or Less [J]. World J Surg, 2020, 44(5):1658-1665.
- [2] Cheng Y, Wang T, Lv X, et al. Detection of PD-L1 Expression and Its Clinical Significance in Circulating Tumor Cells from Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. Cancer Managem Res, 2020, 12(2):337-339.
- [3] 李基伟, 张全, 徐磊, 等. 长链非编码RNA MIF-AS1调控非小细胞肺癌增殖, 侵袭和转移的机制研究 [J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(1):75-80.
- [4] Yang L, Yang J. Expression and clinical significance of microRNA21, PTEN and p27 in cancer tissues of patients with nonsmall cell lung cancer [J]. Oncol Lett, 2020, 17(3):228-229.
- [5] 黄诚. 非小细胞肺癌规范化的诊断和分期治疗 [J]. 中华老年医学杂志, 2008, 27(1):20-20.
- [6] He Y, Chen D, Yi Y, et al. Histone Deacetylase Inhibitor Sensitizes ERCC1-High Non-small-Cell Lung Cancer Cells to Cisplatin via Regulating miR-149 [J]. Molec Therap - Oncolytics, 2020, 17(3):294-295.
- [7] Yan WW, Yu JM. The clinical characteristic and prognostic factors of leptomeningeal metastasis in patients with non-small-cell lung cancer-a retrospective study from one single cancer institute [J]. Cancer Med, 2019, 16(5):372-373.
- [8] Yonesaka K, Iwama E, Hayashi H, et al. Heregulin expression and its clinical implication for patients with EGFR-mutant non-small cell lung cancer treated with EGFR-tyrosine kinase inhibitors [J]. Entific Rep, 2019, 9(1):254-256.
- [9] 郭小琦, 刘宏涛, 梁英平. 小细胞肺癌组织中MIP-3 $\alpha$ 和CCR6表达与术后复发转移及预后的关系 [J]. 医学分子生物学杂志, 2019, 16(6):575-581.
- [10] Lu C, Dong XR, Zhao J, et al. Association of genetic and immuno-characteristics with clinical outcomes in patients with RET-rearranged non-small cell lung cancer: a retrospective multicenter study [J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1):37.
- [11] Tabbò F, Guerrera F, Berg A, et al. Kinomic profiling of tumour xenografts derived from patients with non-small cell lung cancer confirms their fidelity and reveals potentially actionable pathways [J]. Eur J Cancer, 2021, 144(7):17-30.
- [12] 刘小云, 吴小延, 邵琼, 等. 基于分子标签二代测序技术的非小细胞肺癌驱动基因变异分析 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(6):468-473.
- [13] Gao C, Cai S, He Y. Metformin Plus Tyrosine Kinase Inhibitors in Epidermal Growth Factor Receptor-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer [J]. JAMA Oncol, 2020, 6(5):285-287.
- [14] Liang XM, Liang KC, Qin YL, et al. CK19 and TTF-1 expression in lymphoid tissues of patients with non-small cell lung cancer and its clinical significance [J]. Internal Med, 2019, 24(6):227-229.
- [15] Dai C, Zhu L, Wang Y, et al. Celestrol acts synergistically with afatinib to suppress non-small cell lung cancer cell proliferation by inducing paraptosis [J]. J Cellul Physiol, 2020, 19(3):482-485.

· 论 著 ·

## XO/XOR、GSH-Px、miR-133b在急性肾小球肾炎肾功能损害中诊断价值及意义

李莎 胡明亮\* 王丽

**[摘要]** **目的** 探讨黄嘌呤氧化酶与黄嘌呤氧化还原酶比值(XO/XOR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、微小RNA-133b(miR-133b)在急性肾小球肾炎(AGN)肾功能损害中诊断价值及意义。**方法** 选取2018年12月至2020年12月本院收治的120例AGN患者(AGN组)及35例健康人群(对照组),比较两组XO/XOR、GSH-Px、miR-133b水平,采用Pearson、Logistic回归方程、受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)对数据进行处理分析。**结果** AGN组XO/XOR、miR-133b高于对照组,GSH-Px低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );有损害组血肌酐、eGFR、XO/XOR、miR-133b高于无损害组,GSH-Px低于无损害组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );XO/XOR、miR-133b与血肌酐呈正相关,与eGFR呈负相关( $P<0.05$ );GSH-Px与血肌酐呈负相关,与eGFR呈正相关( $P<0.05$ );XO/XOR、GSH-Px、miR-133b均与肾功能损害相关( $P<0.05$ );XO/XOR、GSH-Px、miR-133b诊断AGN肾功能损害的AUC依次为0.774、0.836、0.833,XO/XOR+GSH-Px+miR-133b诊断AGN肾功能损害的AUC为0.972( $P<0.05$ )。**结论** AGN及肾功能损害患者XO/XOR、miR-133b升高,GSH-Px降低,不仅可作为诊断AGN肾功能损害的生物标志物,还为AGN及肾功能损害的机制和防治提供了新的思路。

**[关键词]** XO/XOR; GSH-Px; miR-133b; 急性肾小球肾炎; 肾功能损害

### Diagnostic value and significance of XO/XOR, GSH-Px, miR-133b in renal impairment of acute glomerulonephritis

LI Sha, HU Mingliang\*, WANG Li

(Department of Nephrology, Longhua District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518110)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the diagnostic value and significance of the ratio of xanthine oxidase to xanthine oxidoreductase (XO/XOR), glutathione peroxidase (GSH-Px), micro RNA-133b (miR-133b) in renal impairment of acute glomerulonephritis (AGN). **Methods** From December 2018 to December 2020, 120 AGN patients (AGN group) and 35 healthy people (control group) admitted to our hospital were selected. The levels of XO/XOR, GSH-Px, and miR-133b in the two groups and in patients with or without renal impairment were compared. Pearson, Logistic regression equation, receiver operating characteristic curve (ROC) and area under ROC (AUC) were used to process and analyze the data. **Results** XO/XOR and miR-133b in the AGN group were higher than those in the control group, and GSH-Px was lower than that in the control group ( $P<0.05$ ). The blood creatinine, eGFR, XO/XOR and miR-133b in the impaired group were higher than those in the non-impaired group, and GSH-Px was lower than that of the non-damaged group ( $P<0.05$ ). XO/XOR and miR-133b were positively correlated with serum creatinine and negatively correlated with eGFR ( $P<0.05$ ). GSH-Px was negatively correlated with serum creatinine and positively correlated with eGFR ( $P<0.05$ ). XO/XOR, GSH-Px, miR-133b were all related to renal impairment ( $P<0.05$ ). The AUC of renal impairment diagnosed by XO/XOR, GSH-Px and miR-133b was 0.774, 0.836 and 0.833 respectively, and the

基金项目:深圳市知识创新基础研究项目(201612833)

作者单位:深圳市龙华区人民医院肾内科,广东,深圳 518110

\*通信作者:胡明亮, E-mail:179343805@qq.com

AUC of renal impairment diagnosed by XO/XOR + GSH-Px + miR-133b was 0.972 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion**

The XO/XOR, miR-133b increase and GSH-Px decrease in patients with AGN and renal dysfunction can not only be used as a biomarker for the diagnosis of AGN renal dysfunction, but also provide new ideas for the mechanism and prevention of AGN and renal dysfunction.

[KEY WORDS] XO/XOR; GSH-Px; miR-133b; Acute glomerulonephritis; Renal impairment

急性肾小球肾炎(Acute glomerulonephritis, AGN)是以毛细血管内增生性肾小球肾炎为主要病理表现的肾内科疾病,多见于细菌、A组 $\beta$ 溶血性链球菌感染后等,大多具有自限性,但部分患者可出现急性肾衰竭,威胁患者生命健康,因此对AGN肾功能损害进行明确诊断意义重大<sup>[1]</sup>。黄嘌呤氧化还原酶(Xanthine oxidoreductase, XOR)主要催化嘌呤降解的末端反应,以黄嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase, XO)、黄嘌呤氧化脱氢酶(Xanthine dehydrogenase, XDH)两种形式存在,其中XDH可将电子转移、转变为还原态, XO利用氧气生成活性氧,因此XO/XOR可反映活性氧的生成情况<sup>[2]</sup>。研究发现,慢性肾脏病肾损害患者XO/XOR水平升高,与肾损害有关<sup>[3]</sup>。谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)是含硒清除自由基和抑制自由基生成的抗氧化酶之一,与原发肾小球疾病患者肾间质纤维化有关<sup>[4]</sup>。微小RNA-133b(microRNA-133b, miR-133b)在糖尿病肾病患者表达高于健康人群,与肾小球滤过率有关<sup>[5]</sup>。目前关于XO/XOR、GSH-Px、miR-133b在AGN领域的研究较少,本研究对此进行探讨,旨在为临床诊治AGN肾功能损害,最大程度改善患者预后提供参考,报告如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取2018年12月至2020年12月本院收治的120例AGN患者(AGN组)及35例健康人群(对照组)作为研究对象进行前瞻性研究,本研究经医院伦理委员会审核通过,纳入患者均充分知晓本研究,自愿签署知情同意书。其中观察组女49例,男71例,年龄平均(47.50 $\pm$ 9.16)岁;对照组女10例,男25例,年龄平均(45.96 $\pm$ 7.89)岁。两组基线资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

纳入标准:①观察组符合AGN诊断标准<sup>[6]</sup>;②发病前无慢性肾脏病史;③入组者均自愿签署知情同意书。排除标准:①急性心脑血管疾病者;②遗传性肾病者;③凝血功能异常者;④有药物滥

用史者;⑤自身免疫疾病者;⑥入组前接受过相关治疗者;⑦合并恶性肿瘤患者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 肾功能损害的诊断<sup>[6]</sup>

伴有不同程度的血尿、患侧腰痛、腹部疼痛、少尿等临床症状体征,肾小球滤过率降低,血肌酐、血尿素氮、尿蛋白升高。

#### 1.2.2 资料收集

收集两组人员的年龄、性别、体质量指数、病程、饮酒史、吸烟史、高脂血症、糖尿病、冠心病、高血压分布情况。

#### 1.2.3 各指标检测及实验方法

观察组于确诊时,对照组于入院清晨,采集空腹静脉血5 mL,采用高灵敏度荧光法检验XO活性,采用黄嘌呤氧化还原酶法检测XOR活性,试剂盒购于上海仁捷生物科技有限公司,计算XO/XOR;采用比色法检测GSH-Px,试剂盒购于上海信帆生物科技有限公司;采用实时荧光定量聚合酶链反应法及TaqMan探针法检测miR-133b,试剂盒购于杭州博日科技有限公司,miR-133b上游引物为5'-TTTGGTCCCCTTCAACCAGCTA-3',下游引物为5'-GTGCAGGTCCGAGGT-3',内参U6上游引物为5'-CGCAAGGATGACACGCAAATTC-3',下游引物为5'-GTGCAGGGTCCGA-3',检测基因相对表达量= $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ;采用酶法检测血肌酐水平,试剂盒购于浙江伊利康生物技术有限公司,计算公式:男性肾小球滤过率(eGFR)= $186 \times \text{血肌酐}^{-1.154} \times \text{年龄}^{-0.203}$ ,女性肾小球滤过率(eGFR)= $186 \times \text{血肌酐}^{-1.154} \times \text{年龄}^{-0.203} \times 0.742$ 。

### 1.3 统计学方法

数据处理采用统计软件SPSS 22.0,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较行独立样本 $t$ 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, $\chi^2$ 检验,采用Pearson分析各指标与肾功能指标相关性,采用Logistic回归方程分析肾功能损害的相关影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析各指标的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组各指标比较

AGN组 XO/XOR、miR-133b 高于对照组, GSH-Px 低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组各指标比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of indicators between 2 groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	XO/XOR	GSH-Px (U/L)	miR-133b
AGN组	120	0.85±0.30	89.65±25.80	5.35±1.65
对照组	35	0.57±0.18	125.66±20.64	1.24±0.39
t值		5.246	7.575	14.567
P值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 有无肾功能损害患者基线资料、各指标比较

有损害组与无损害组患者年龄、性别、体质指数、病程、饮酒史、吸烟史、高脂血症、糖尿病、冠心病、高血压分布比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 有损害组血肌酐、eGFR、XO/XOR、miR-133b 高于无损害组, GSH-Px 低于无损害组( $P<0.05$ )。见表2。

表2 有无肾功能损害患者基线资料、各指标比较

[( $\bar{x}\pm s$ ), n(%)]

Table 2 Comparison of baseline data and indicators of patients with or without renal impairment

[( $\bar{x}\pm s$ ), n(%)]

资料	有损害组 (n=72)	无损害组 (n=48)	t/ $\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	48.52±12.54	45.97±10.65	1.157	0.249
性别(男/女)	41/31	30/18	0.368	0.544
体质指数(kg/m <sup>2</sup> )				
偏瘦	6(8.33)	4(8.33)	0.579	0.901
正常	49(68.06)	30(62.50)		
超重	10(13.89)	9(18.75)		
肥胖	7(9.72)	5(10.42)		
病程(d)	8.52±2.63	9.21±2.84	1.364	0.175
饮酒史	68(94.44)	42(87.50)	1.023	0.312
吸烟史	35(48.61)	22(45.83)	0.089	0.765
合并疾病				
高脂血症	6(8.33)	7(14.58)	0.608	0.436
糖尿病	11(15.28)	4(8.33)	1.270	0.260
冠心病	3(4.17)	1(2.08)	0.011	0.917
高血压	7(9.72)	2(4.17)	0.606	0.436
血肌酐( $\mu\text{mol/L}$ )	286.88±92.57	102.26±20.26	13.584	<0.001
eGFR(mL/min)	64.88±12.05	92.25±18.97	9.670	<0.001
XO/XOR	0.96±0.29	0.69±0.22	5.481	<0.001
GSH-Px (U/L)	71.14±21.95	117.42±32.26	9.358	<0.001
miR-133b	6.39±2.11	3.79±1.05	7.902	<0.001

### 2.3 各指标与肾功能指标相关性

采用 Pearson 进行相关性分析结果显示, XO/XOR、miR-133b 与血肌酐呈正相关, 与 eGFR 呈负相关( $P<0.05$ ); GSH-Px 与血肌酐呈负相关, 与 eGFR 呈正相关( $P<0.05$ )。见表3。

表3 各指标与肾功能指标相关性

Table 3 Correlation between each index and renal function

指标	血肌酐		eGFR	
	r值	P值	r值	P值
XO/XOR	0.633	<0.001	-0.485	<0.001
GSH-Px	-0.567	<0.001	0.489	<0.001
miR-133b	0.702	<0.001	-0.527	<0.001

### 2.4 肾功能损害影响因素的 Logistic 回归方程分析

以 AGN 肾功能损害情况为因变量(0=无, 1=有), 纳入 XO/XOR、GSH-Px、miR-133b 作为自变量(低于均值赋值为1, 高于均值赋值为2), 结果显示, XO/XOR、GSH-Px、miR-133b 均与肾功能损害相关( $P<0.05$ )。见表4。

表4 肾功能损害影响因素的 Logistic 回归方程分析

Table 4 Logistic regression equation analysis of factors affecting renal function damage

影响因素	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$	OR值	95%CI	P值
XO/XOR	0.347	0.112	9.592	1.415	1.269~1.577	<0.001
GSH-Px	-0.604	0.179	11.377	0.547	0.365~0.819	<0.001
miR-133b	0.577	0.149	14.978	1.780	1.189~2.665	<0.001

注: 有无肾功能损害患者 XO/XOR、GSH-Px、miR-133b 均值分别为 0.85、89.65 U/L、5.35。

### 2.5 各指标的诊断价值

ROC 分析结果显示, XO/XOR+GSH-Px+miR-133b 诊断 AGN 肾功能损害的 AUC 为 0.972 ( $P<0.05$ )。见表5、图1。

表5 ROC 分析结果

Table 5 ROC analysis results

指标	AUC	95%CI	cut-off 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
XO/XOR	0.774	0.689~0.846	>0.95	56.94	89.58	<0.001
GSH-Px	0.836	0.758~0.898	$\leq 101.68$ U/L	91.67	66.67	<0.001
miR-133b	0.833	0.754~0.895	>5.79	63.89	93.75	<0.001
联合	0.972	0.925~0.994		87.50	95.83	<0.001

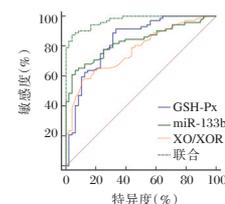


图1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

XOR 是一种含铜蛋白质聚合物, 参与机体的嘌呤代谢, 终产物包括氧自由基、羟基自由基

等<sup>[7]</sup>。XO形式是XOR产生活性氧的主要来源,可增加活性氧的生成速率,故XO/XOR越高,表明机体活性氧产生越多<sup>[8]</sup>。以往关于XO/XOR在AGN领域的报道鲜见,本研究结果提示XO/XOR与AGN及其肾功能损害有关。本研究进行了相关性分析,结果显示,XO/XOR与血肌酐呈正相关,与eGFR呈负相关,对肾功能损害起到促进作用。

GSH-Px是机体抗氧化应激系统的重要成员之一,其水平增高可清除氧自由基、羟基自由基等过氧化反应产物,抑制氧化应激反应,保护肾脏<sup>[9-10]</sup>。肾损伤时,GSH-Px显著降低,采用相关措施增加GSH-Px,则可通过抑制氧化应激,减轻肾损伤程度<sup>[11]</sup>。与正常人群比较,AGN患者GSH-Px较低,且有肾功能损害患者GSH-Px进一步降低,佐证了GSH-Px对肾功能具有保护作用。AGN肾功能损害时,介导了机体氧化应激反应,氧自由基、羟基自由基大量产生,GSH-Px被大量消耗而表现出较低水平,且GSH-Px与血肌酐呈负相关,与eGFR呈正相关,故检测AGN患者GSH-Px,不仅能直接反映患者肾功能状况,并能为AGN肾功能损害的诊断提供依据。同时从本研究结果推测,GSH-Px降低与AGN及肾功能损害密切相关,给予抗氧化应激药物,提高GSH-Px,可能为AGN及肾功能损害的防治提供了一个新的靶点。

miR-133b系非编码RNA分子,能通过转录活动调控靶基因表达,参与感染、免疫、细胞凋亡等重要的生物学过程<sup>[12-13]</sup>。Zhang XL等<sup>[14]</sup>报道,应用LncRNA 癌易感性候选基因2靶向miR-133b,能抑制肾小球系膜细胞氧化应激损伤,保护肾小球系膜,提示miR-133b与肾小球损伤有关。本研究结果提示miR-133b是AGN及肾功能损害的一个分子标志物。关于miR-133b在AGN中机制尚不明确,结合文献推测,miR-133b通过转录,参与系膜细胞肥大、肾小管间质的纤维化、细胞外基质沉积等,介导肾小球硬化,从而影响肾功能<sup>[15-16]</sup>。miR-133b与血肌酐呈正相关,与eGFR呈负相关,检测miR-133b水平,可为AGN肾功能损害的诊断提供参考。

综上所述,AGN及肾功能损害患者XO/XOR、miR-133b升高,GSH-Px降低,不仅可作为诊断AGN肾功能损害的生物标志物,还为AGN及肾功能损害的机制和防治提供了新的思路。但受研究经费、研究时间等限制,本研究对照组人群较小,可能造成数据的偏倚,后续仍需增加样本量,进一步进行深入的观察分析。

## 参考文献

- [1] 邵坤秒. 血尿素氮半胱氨酸蛋白酶抑制剂C及肌酐的检测对急性肾小球肾炎早期肾损伤的评估价值[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(23): 4130-4132.
- [2] Sun Q, Zhang Z, Lu Y, et al. Loss of Xanthine Oxidoreductase Potentiates Propagation of Hepatocellular Carcinoma Stem Cells[J]. *Hepatology*, 2020, 71(6): 2033-2049.
- [3] 张译元, 赵明月, 韦娟余, 等. 黄嘌呤氧化还原酶与慢性肾脏病患者肾损害的关系研究[J]. 临床肾脏病杂志, 2020, 20(8): 625-630.
- [4] 丁丽娜, 吴丽华, 周晓玲, 等. IgA肾病患者血清氧化应激相关指标水平与肾间质纤维化的相关性[J]. 中华肾脏病杂志, 2019, 35(5): 336-341.
- [5] 田霖林, 李敏, 李华峰, 等. 血清miR-133b、miR-135b水平对糖尿病肾病患者预后预测价值研究[J]. 临床军医杂志, 2019, 47(7): 739-741.
- [6] 中华中医药学会. 急性肾小球肾炎诊疗指南[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(9): 128-129.
- [7] Battelli MG, Bortolotti M, Polito L, et al. The role of xanthine oxidoreductase and uric acid in metabolic syndrome[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(8): 2557-2565.
- [8] Furuhashi M. New insights into purine metabolism in metabolic diseases: role of xanthine oxidoreductase activity[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, 319(5): E827-E834.
- [9] 胡灿, 唐其柱, 张宁, 等. 苦参碱对脂多糖诱导的人脐静脉内皮细胞炎症反应及氧化应激的影响[J]. 中华生物医学工程杂志, 2018, 24(5): 305-310.
- [10] 郭丽, 邱卫强. NTD患者铁过载对肝脏功能、炎症及氧化应激反应的影响[J]. 热带医学杂志, 2020, 20(4): 508-511.
- [11] 周东月, 王春璐, 任艳平, 等. 黄连多糖通过抑制氧化应激和炎症反应减轻糖尿病大鼠肾损伤的实验研究[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(3): 37-42.
- [12] Xu Y, Ma Y, Liu XL, et al. miR-133b affects cell proliferation, invasion and chemosensitivity in renal cell carcinoma by inhibiting the ERK signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(1): 67-76.
- [13] 韩俊, 赵静, 张立群. 丙泊酚调控miR-133a/SOX4表达对结肠癌HCT116细胞增殖凋亡的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(3): 238-244.
- [14] Zhang XL, Zhu HQ, Zhang Y, et al. LncRNA CASC2 regulates high glucose-induced proliferation, extracellular matrix accumulation and oxidative stress of human mesangial cells via miR-133b/FOXp1 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(2): 802-812.
- [15] 韩辉, 林书典, 陈道军, 等. 血清微小核糖核酸-133b水平与老年糖尿病肾病患者肾脏损伤及预后的相关性[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(6): 420-424.
- [16] 仲海峰, 周永华, 韩晓骏, 等. miR-126、Transferrin、miR-133b、miR-342和Cystatin C对2型糖尿病肾病的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(11): 1674-1678.

· 论 著 ·

## CD64、CHE 及 sCD14 在股骨转子间骨折术后感染中的表达及意义

许梅辛<sup>1</sup> 孙兴霞<sup>2</sup> 刘洋<sup>1</sup> 常亮<sup>1</sup> 曹雪丹<sup>1\*</sup>

**【摘要】**目的 探究CD64、胆碱酯酶(CHE)及可溶性白细胞分化抗原-14(sCD14)在股骨转子间骨折术后感染中的表达及意义。**方法** 选取本院2019年6月至2020年6月收治的105例股骨转子间骨折患者,根据术后是否发生感染分为感染组( $n=22$ )与未感染组( $n=83$ )。比较两组CD64指数、CHE及sCD14水平,分析影响股骨转子间骨折术后感染的危险因素,并绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析上述因子水平诊断老年股骨转子间骨折患者术后感染的价值。**结果** 105例患者中,22例术后发生感染(20.95%),83例术后未发生感染(79.05%)。感染组CD64指数、CHE及sCD14水平均显著高于未感染组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。多元Logistic回归分析示CD64指数(升高)、CHE(升高)及sCD14(升高)为影响股骨转子间骨折术后感染的独立危险因素( $P<0.05$ )。ROC曲线分析结果显示,CD64指数、CHE及sCD14单纯检测的曲线下面积(AUC)分别为0.631、0.618、0.734,均低于三者联合检测0.761( $P<0.05$ )。**结论** CD64指数、CHE及sCD14在老年股骨转子间骨折术后感染中呈异常表达,联合检测可有效预测术后感染情况。

**【关键词】** CD64指数;胆碱酯酶;可溶性白细胞分化抗原-14;股骨转子间骨折;术后感染

### The expression and significance of CD64, CHE and sCD14 in the postoperative infection of patients with intertrochanteric fracture

XU Meixin<sup>1</sup>, SUN Xingxia<sup>2</sup>, LIU Yang<sup>1</sup>, CHANG Liang<sup>1</sup>, CAO Xuedan<sup>1\*</sup>

(1. Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, China, 150040; 2. Department of Community Medicine, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, China, 150040)

**【ABSTRACT】** **Objective** To explore the expression and significance of CD64, cholinesterase (CHE) and soluble cluster of differentiation antigen-14 (sCD14) in the postoperative infection of patients with intertrochanteric fracture. **Methods** The 105 patients with intertrochanteric fractures admitted in this hospital from June 2019 to June 2020 were selected. The patients were divided into the infected group and the non-infected group according to whether infection occurred after operation. The CD64 index, CHE and sCD14 levels between the two groups were compared. The risk factors affecting postoperative infection of patients with intertrochanteric fracture were analyzed. The receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the value of the above factors in the diagnosis of postoperative infection in elderly patients with intertrochanteric fractures. **Results** of the 105 patients, 22 cases developed infections after surgery (20.95%), 83 cases did not develop infections after surgery (79.05%). The CD64 index, CHE and sCD14 levels of the infected group were significantly higher than those of the non-infected group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that CD64 index (increased), CHE (increased) and sCD14 (increased) were independent risk factors affecting postoperative infection of patients with intertro-

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(H2018013)

作者单位:1. 黑龙江中医药大学附属第一医院骨科,黑龙江,哈尔滨 150040

2. 哈尔滨医科大学附属第四医院社区医学科,黑龙江,哈尔滨 150040

\*通信作者:曹雪丹, E-mail: xkun850618@126.com

chanteric fractures ( $P<0.05$ ). The results of ROC curve analysis showed that the areas under the curve (AUC) of the CD64 index, CHE, and sCD14 detection alone were 0.631, 0.618, and 0.734, respectively, which were all lower than the combined detection of the three at 0.761 ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The CD64 index, CHE, and sCD14 are abnormally expressed in elderly patients with postoperative infection of intertrochanteric fractures. The combined detection can effectively predict postoperative infection.

**[KEY WORDS]** CD64 index; Cholinesterase; Soluble leukocyte differentiation antigen-14; Femoral intertrochanteric fracture; Postoperative infection

感染是老年股骨转子间骨折患者经闭合复位股骨近端髓内钉固定术后常见的并发症,同时也是导致患者死亡的原因之一<sup>[1]</sup>。最近动物研究发现,股骨转子间骨折及髓内钉固定术会导致老年大鼠细菌易感性增加<sup>[2-3]</sup>。但其具体机制尚未明确。相关报道发现,CD64指数、胆碱酯酶(Cholinesterase, CHE)及可溶性白细胞分化抗原-14(soluble cluster of differentiation antigen-14, sCD14)作为细菌感染的特异性指标,在感染性疾病的诊断中具有较高的价值<sup>[4-5]</sup>,但目前骨折术后感染诊断中应用较少,缺乏可靠的参考价值。基于此,本研究就CD64指数、CHE及sCD14在老年股骨转子间骨折经闭合复位股骨近端髓内钉固定术后感染中的表达及预测价值进行探讨,旨在为临床诊治术后感染提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院2019年6月至2020年6月收治的105例股骨转子间骨折患者。纳入标准:①所有患者均符合股骨转子间骨折的诊断标准<sup>[5]</sup>,且均行闭合复位股骨近端髓内钉固定术治疗;②生命体征平稳;③临床资料完整,无缺损或丢失;④无其它感染性疾病。排除标准:①合并其他恶性肿瘤、器官衰竭等严重者;②闭合性骨折;③二次手术者;④先天性心脏病、肺心病、心肌病。105例患者中,22例术后发生感染(感染组),占20.95%;83例术后未发生感染(未感染组),占79.05%。两组性别、年龄、体重指数及骨折部位等一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。本研究经医院伦理委员会批准通过,受试者或家属均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 CD64指数检测

空腹抽取患者术后24 h的外周静脉血,抽取剂量为1 mL,取全血50  $\mu$ L加入CD64-异硫氰酸荧光素(FITC)抗体20  $\mu$ L中,混匀,以免疫球蛋白

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

Table 1 Comparison of clinical data between 2 groups [ $n(\%)$ , ( $\bar{x}\pm s$ )]

组别	n	年龄(岁)	性别(女/男)	体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	骨折部位	
					左侧	右侧
感染组	22	80.74 $\pm$ 5.44	13/9	22.44 $\pm$ 3.82	12(54.55)	10(45.45)
未感染组	83	79.36 $\pm$ 4.89	51/32	22.89 $\pm$ 3.74	33(39.76)	50(60.24)
t/ $\chi^2$ 值		1.149	0.041	0.500	1.553	
P值		0.253	0.840	0.618	0.213	

(Ig)-FITC作为对照,静置30 min,再加入2 mL流式细胞分析仪溶血剂,放置15 min,采用美国BD公司流式细胞仪进行检测。CD64<2.75为降低, $\geq$ 2.75为升高<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.2 CHE及sCD14检测

入院后次日清晨空腹抽取所有受检者5 mL外周静脉血,以4 000 r/min离心10 min,分离血清,置于-70 $^{\circ}$ C低温保存。采用美国麦隆公司胆碱酯酶测定仪,应用Biocheck法检测CHE。采用酶联免疫吸附法检测sCD14水平,检测仪器为瑞典雷度公司CDE68型全自动分析仪及其配套试剂盒。具体操作方法严格按照说明书进行。CHE<5 250 U/L为降低, $\geq$ 5 250 U/L为升高;sCD14<2.16  $\mu$ g/mL为降低, $\geq$ 2.16  $\mu$ g/mL<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行分析,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,行t检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;采用ROC曲线分析CD64指数、CHE及sCD14水平诊断老年股骨转子间骨折患者术后感染的价值;采用多元Logistic回归分析影响老年股骨转子间骨折患者术后感染的相关危险因素;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组CD64指数、CHE及sCD14水平比较

感染组CD64指数、CHE及sCD14水平均显著高于未感染组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 两组CD64指数、CHE及sCD14水平比较( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Comparison of CD64 index, Che and sCD14 levels between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CD64指数 (%)	CHE (U/L)	sCD14 ( $\mu\text{g/mL}$ )
感染组	22	3.76±0.65	4849.09±1834.54	4.08±0.21
未感染组	83	1.12±0.07	3554.28±1012.51	1.66±0.28
t值		36.689	4.405	37.766
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 影响股骨转子间骨折术后感染的单因素分析  
术前长期卧床、术前存在合并症、术后无功能锻炼计CD64指数、CHE、sCD14水平升高者术后感染率高于术前未长期卧床、无合并症、术后有功能锻炼及CD64指数、CHE、sCD14水平降低者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 影响股骨转子间骨折术后感染的单因素分析 [ $n(\%)$ ]  
Table 3 Analysis of single factor affecting postoperative infection of femoral intertrochanteric fractures [ $n(\%)$ ]

因素		感染组 (n=22)	未感染组 (n=83)	$\chi^2$ 值	P值
年龄	≥60岁	14(63.64)	52(62.65)	0.373	0.541
	<60岁	8(36.36)	31(37.36)		
性别	男	13(59.09)	51(61.45)	0.041	0.840
	女	9(40.91)	32(38.55)		
骨折部位	左侧	12(54.55)	33(39.76)	1.553	0.213
	右侧	10(45.45)	50(60.24)		
术前长期卧床	是	19(86.36)	24(28.92)	23.735	<0.001
	否	3(13.64)	59(71.08)		
术前合并症	是	18(81.82)	28(33.73)	16.333	<0.001
	否	4(18.18)	55(66.27)		
术后功能锻炼	有	6(27.27)	61(73.49)	16.089	<0.001
	无	16(72.73)	22(26.51)		
CD64指数	升高	20(90.91)	30(36.14)	20.910	<0.001
	降低	2(9.09)	53(63.86)		
CHE	升高	19(86.36)	26(31.33)		<0.001
	降低	3(13.64)	57(68.67)		
sCD14	升高	17(77.27)	24(28.92)	17.086	<0.001
	降低	5(22.73)	59(71.08)		

2.3 影响股骨转子间骨折术后感染的多因素分析  
术前长期卧床(是)、术前合并症(是)、术后功能锻炼(无)、CD64指数(升高)、CHE(升高)及

sCD14(升高)为影响股骨转子间骨折术后感染的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表4。

2.4 CD64指数、CHE及sCD14水平诊断老年股骨转子间骨折患者术后感染的价值

ROC曲线分析结果显示,CD64指数、CHE及sCD14单纯检测的曲线下面积(AUC)均低于三者联合检测( $P<0.05$ )。见表5、图1。

表5 CD64指数、CHE及sCD14水平诊断老年股骨转子间骨折患者术后感染的价值

Table 4 the value of CD64 index, Che and sCD14 levels in the diagnosis of postoperative infection in elderly patients with intertrochanteric fracture

预测因子	敏感度	特异度	AUC	95%CI	P值
CD64指数	0.621	0.717	0.631	0.482~0.779	<0.001
CHE	0.608	0.665	0.618	0.468~0.769	<0.001
sCD14	0.721	0.736	0.734	0.606~0.862	<0.001
三者联合	0.823	0.852	0.761	0.640~0.883	<0.001

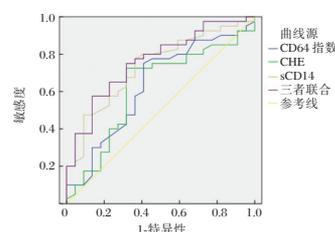


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

股骨转子间骨折是老年骨质疏松性骨折之一,经闭合复位股骨近端髓内钉固定术是目前临床治疗该类骨折的主要方法,具有一定疗效,但术后仍存在一定并发症。肺部感染是老年股骨转子间骨折患者术后最常见的并发症,而因感染所致的多器官衰竭、脓毒血症是导致患者死亡的主要原因。既往研究认为,骨折患者术后发生感染主要是由于长期卧床所致<sup>[8]</sup>。近年来,随着骨科微创技术及护理学的进步与发展,使得患者术后卧床

表4 影响股骨转子间骨折术后感染的多因素分析

Table 4 Analysis of multiple factors affecting postoperative infection of femoral intertrochanteric fractures

变量	回归系数	标准误	OR值	95%CI	Wald $\chi^2$ 值	P值
术前长期卧床(是 vs 否)	0.578	0.214	1.782	1.172~2.711	8.325	<0.001
术前合并症(是 vs 否)	0.572	0.239	1.772	1.109~2.820	10.025	<0.001
术后功能锻炼(有 vs 无)	0.606	0.212	1.833	1.210~2.777	12.112	<0.001
CD64指数(升高 vs 降低)	0.524	0.225	1.689	1.087~2.625	7.487	<0.001
CHE(升高 vs 降低)	0.512	0.212	1.669	1.101~2.528	9.115	<0.001
sCD14(升高 vs 降低)	0.563	0.254	1.756	1.067~2.889	8.563	<0.001

时间大大缩短,但肺部感染及死亡率仍较高<sup>[9]</sup>。因此,早期诊断、及时发现可能发生的感染,及时采取干预措施,是降低老年股骨转子间骨折患者术后感染风险的关键。

CD64 指数是高亲和性受体结合免疫球蛋白 G 抗体的 Fc 部位,在正常生理状态下呈低水平,当发生细菌感染会持续上升,具有较高的特异性与敏感性<sup>[10]</sup>。Pincus 等人<sup>[11]</sup>研究发现,中性粒细胞表面的 CD64 表达与患者感染程度呈正相关。本研究中,与未感染组相比,感染组 CD64 指数更高,可见股骨转子间骨折患者术后感染 CD64 指数显著上升。因此,CD64 指数可作为股骨转子间骨折术后早期感染的诊断及鉴别标志物。

CHE 属于一种糖蛋白,主要以同工酶形式存在。目前尚无有关 CHE 与老年股骨转子间骨折术后感染关系的报道。但近年来,临床发现 CHE 在脓毒症、脑部肿瘤术后细菌性脑膜炎、经皮肾镜术后并发感染性休克等多种感染中可发挥辅助诊断、预后预测、病情评估等作用<sup>[12]</sup>。本研究亦发现,感染组 CHE 水平显著高于未感染组,说明 CHE 可作为评估骨折患者术后感染的有效指标之一。

CD14 是一种糖蛋白,主要存在于单核、巨噬细胞中。sCD14 是游离于血清于尿液中的可溶性 CD14。Mascia 等<sup>[13]</sup>报道发现,老年骨折术后感染患者中血清 sCD14 水平含量非常高。Maldeghem 等<sup>[14]</sup>则发现,在术后严重感染患者中,sCD14 水平显著高于正常人。本研究结果表明术后感染患者 sCD14 急剧上升,可能作为预测是否感染的有效指标。此外,本研究发现,CD64 指数、CHE 及 sCD14 水平升高均是影响老年股骨转子间骨折术后感染的独立危险因素。ROC 曲线分析显示,CD64 指数、CHE 及 sCD14 单纯检测的 AUC 分别为 0.631、0.618、0.734,在诊断患者术后感染方面有较高的价值,与 Pranzatelli 等<sup>[15]</sup>报道结果相似。同时本组研究发现,联合检测上述因子可相互补充,进一步提高对股骨转子间骨折患者术后感染的准确性。

综上所述,CD64 指数、CHE 及 sCD14 在老年股骨转子间骨折术后感染中呈异常表达,可有效预测患者术后是否发生感染,联合检测效果更显著。

## 参考文献

- [1] 林强,魏天龙,罗练,等. PCI术后肺部感染患者血清 miR-146a, Galectin-3 表达及与抗感染疗效的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11): 1582-1586.
- [2] Soylemez MS, Uygur E, Poyanli O. Effectiveness of distally slotted proximal femoral nails on prevention of femur fractures during and after intertrochanteric femur fracture surgery [J]. *Injury*, 2019, 50(11):2022-2029.
- [3] Kristoffersen MH, Dybvik E, Steihaug OM, et al. Cognitive impairment influences the risk of reoperation after hip fracture surgery: results of 87, 573 operations reported to the Norwegian Hip Fracture Register [J]. *Acta Orthopaedica*, 2020, 91(21):1-6.
- [4] 张浩,陈楚鹰,何久盛,等. 老年股骨转子间骨折患者围手术期程序性死亡受体-1 表达水平在判断术后感染中的作用[J]. 中华创伤骨科杂志, 2019, 21(9):752-757.
- [5] Zdemir E, Okkaoglu MC, Evren AT, et al. The Cost and Consequences of Failed Osteosynthesis of Intertrochanteric Femur Fractures: A Matched Cohort Study [J]. *Indian J Orthopaed*, 2021, 28(5):40-47.
- [6] 范亮全,徐天波,候振海. 中性粒细胞指数、降钙素原和 C-反应蛋白在四肢闭合性骨折术后早期感染中的诊断价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(9):70-72.
- [7] Metsemakers W, Kuehl R, Moriarty T, et al. Infection after fracture fixation: Current surgical and microbiological concepts [J]. *Injury*, 2018, 49(3):511-522.
- [8] Ueki S, Rikimaru H, Rikimaru-Nishi Y, et al. Late-Onset Infection of Resorbable Plates After Multiple Facial Fractures [J]. *J Craniofac Surg*, 2020, 10(1):489-490.
- [9] 宋倩. 血清可溶性髓系细胞触发受体-1 在骨折术后感染中的诊断价值[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(1):77-81.
- [10] 郑天雷,毕龙,袁志. 骨折内固定术后感染诊治研究进展 [J]. 中华创伤杂志, 2019, 35(2):178-183.
- [11] Pincus D, Veljkovic A, Zochowski T, et al. Rate of and risk factors for intermediate-term reoperation after ankle fracture fixation: a population based, cohort study [J]. *J Orthopaedic Trauma*, 2017, 31(10):1451-1453.
- [12] 王飞,周崇斌,梁伟,等. 切开复位内固定治疗踝关节骨折术后感染的相关因素分析及检测[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2019, 27(7):45-48.
- [13] Mascia C, Pozzetto I, Kertusha B, et al. Persistent high plasma levels of sCD163 and sCD14 in adult patients with measles virus infection [J]. *Plos One*, 2018, 13(5):147-149.
- [14] Maldeghem IV, Nusman CM, Visser DH. Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) as biomarker in neonatal early-onset sepsis and late-onset sepsis: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Immunol*, 2019, 20(1):1047-1049.
- [15] Pranzatelli MR, Tate ED, Mcgee NR. Microglial/macrophage markers CHI3L1, sCD14, and sCD163 in CSF and serum of pediatric inflammatory and non-inflammatory neurological disorders: A case-control study and reference ranges [J]. *J Neurolog Sci*, 2017, 381(45):285-290.

## MMP-13、BMP-2 及 P16 在退变腰椎间盘髓核中的表达及临床意义

张培根\* 张文 解迪 王进

**[摘要]** **目的** 分析基质金属蛋白酶-13(MMP-13)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)及P16在退变腰椎间盘髓核中的表达及临床意义。**方法** 选取2017年8月至2020年8月于本院进行手术治疗的90例腰椎间盘突出症患者的髓核组织作为研究组,同时纳入同期于本院进行前路或后路腰椎骨折手术治疗的50例患者经病理及MRI证实为正常椎间盘组织作为对照组。比较两组MMP-13、BMP-2及P16表达水平差异及其平均灰度值。采用Pearson相关分析退变腰椎间盘髓核MMP-13、BMP-2及P16与椎间盘退变等级的相关性。**结果** 研究组患者MMP-13、BMP-2及P16阳性表达率显著高于对照组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组患者MMP-13、BMP-2及P16平均灰度值水平明显低于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。Pearson相关系数分析显示:退变腰椎间盘髓核MMP-13、BMP-2及P16表达与椎间盘退变等级呈正相关关系( $P<0.05$ )。**结论** MMP-13、BMP-2及P16水平在退变腰椎间盘髓核中呈异常表达状态,且与椎间盘退变等级显著相关,其表达情况可作为评估椎间盘退变程度的可靠依据。

**[关键词]** 基质金属蛋白酶-13;骨形态发生蛋白-2;P16;退变腰椎间盘髓核

### The expression and clinical significance of MMP-13, BMP-2 and P16 in nucleus pulposus of degenerative lumbar intervertebral disc

ZHANG Peigen\*, ZHANG Wen, XIE Di, WANG Jin

(Department of Spine Surgery, Mianyang 404 Hospital, Mianyang, Sichuan, China, 621000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-13 (MMP-13), bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and P16 in nucleus pulposus of degenerative lumbar intervertebral disc. **Methods** The nucleus pulposus tissues of 90 patients with lumbar disc herniation treated with surgery in this hospital from August 2017 to August 2020 were selected as the research object. At the same time, 50 patients treated with anterior or posterior lumbar interbody fusion in this hospital were included as the control group, whose normal intervertebral disc tissues were confirmed by pathology and MRI. The differences in the expression levels of MMP-13, BMP-2 and P16 and the corresponding average gray values between the two groups were compared. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the levels of MMP-13, BMP-2 and P16 in the nucleus pulposus of degenerative lumbar intervertebral disc and the grade of degeneration of the intervertebral disc. **Results** The positive expression rates of MMP-13, BMP-2 and P16 in the study group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The average gray value levels of MMP-13, BMP-2 and P16 in the study group were significantly lower than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Pearson correlation coefficient analysis showed that the expression levels of MMP-13, BMP-2 and P16 in the nucleus pulposus of degenerative lumbar discs were positively correlated with the grade of de-

基金项目:四川省科技计划项目(2017JY0012)

作者单位:四川绵阳四〇四医院脊柱外科,四川,绵阳 621000

\*通信作者:张培根, E-mail: xieanl77173@163.com

generation ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The levels of MMP-13, BMP-2 and P16 are abnormally expressed in nucleus pulposus of degenerative lumbar intervertebral disc, and are significantly related to the grade of degeneration. Their expression can be used as a reliable basis for evaluating the degree of intervertebral disc degeneration.

**[KEY WORDS]** Matrix metalloproteinase-13; Bone morphogenetic protein-2; P16; Nucleus pulposus of degenerative lumbar intervertebral disc

腰椎间盘突出是临床上引发腰椎管狭窄、腰椎间盘突出及慢性下腰痛等疾病的病理基础。近年来,腰椎间盘突出症的发病率呈现不断上升趋势<sup>[1]</sup>。目前本症的发病机制尚未明确,相关研究显示其与细胞及细胞外基质变化有关,因此,探索腰椎间盘突出症的细胞学机制,早期采取生物学干预对疾病转归具有重要意义<sup>[2]</sup>。基质金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)为重要基质降解酶家族成员之一,相关研究显示,应力负荷对腰椎间盘突出症具有诱导作用,且与退变椎间盘中MMP-13水平变化密切相关<sup>[3]</sup>。骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)是调节椎间盘细胞外基质合成代谢的重要因子,对调节细胞生长、分化、凋亡具有重要作用<sup>[4]</sup>。P16为细胞周期G1-S中的分子信息传导途径,可调控多种肿瘤细胞周期和细胞分化<sup>[5]</sup>。本研究就MMP-13、BMP-2及P16在退变椎间盘髓核中的表达及临床意义进行研究,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年8月至2020年8月于本院进行手术治疗的90例腰椎间盘突出症患者的髓核组织为研究组,其中男68例,女22例,平均年龄( $50.51 \pm 7.74$ )岁,平均病程( $8.15 \pm 3.51$ )年,髓核摘除位置为:L4/5、L5/S1。纳入标准:①符合腰椎间盘突出症的疗效评定标准与康复标准<sup>[6]</sup>;患者均有明显腰痛、坐骨神经痛等症状,下肢受累神经支配区域皮肤感觉减退,直腿抬高试验(+),影像学检查可见椎间盘突出所致椎管狭窄。②本研究已获得本院医学伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书,且临床资料完整。排除标准:①合并肝、肾、心、肺等重要器官功能不全者;②合并血液系统、免疫功能疾病者。③存在精神疾患无法配合本研究。根据pfirrmann<sup>[6]</sup>分级,在T2WI序列上将椎间盘退变分I~V级,其中研究组患者处于Ⅲ级:16例,Ⅳ级:35例,Ⅴ级:39例。纳入同期于本院进行前路或后路腰椎骨折手术治疗的50例患者经

病理及MRI证实为正常椎间盘组织为对照组。男37例,女13例,平均年龄( $50.57 \pm 7.75$ )岁,取材部位为:T12/L1、L1/2, pfirrmann 分级 I~II 为级。两组基线资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 1.2 标本采集和制备

所有患者在手术中,予以髓核标本切除,标本切除后立即用无菌生理盐水清洗,将标本分为两份,其中一份标本密封放置于液氮中冻存。另一份标本5 min内放入中性福尔马林溶液中固定24 h,之后进行石蜡包埋切片,切片厚度为5  $\mu\text{m}$ 。每个标本切10张切片。

### 1.3 MMP-13、BMP-2及P16表达水平检测

MMP-13、P16检测试剂盒由美国abcam公司提供;BMP-2检测试剂盒由汉博士德生物工程有限公司提供。采用免疫组织化学方法进行:链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法<sup>[7]</sup>,将石蜡标本进行切片、烘烤、脱蜡、浸泡。二氨基联苯胺显色,苏木精复染,梯度酒精脱水,树胶封片。

判断MMP-13、BMP-2及P16是否表达的方法和标准<sup>[7]</sup>:每张切片在镜下分别以低倍镜及高倍镜进行观察,对每张切片上中下及里外中9个位置进行观察,用Medja Cvberne's图像分析软件计算出每张切片的平均灰度值,最后对2位专家判断结果进行比对(差异较大时,需重新同时共同读片确定)。

采用Volm双评分法<sup>[8]</sup>进行判定,在染色均匀的髓核区,选取5个高倍镜视野( $\times 400$ ):按阳性细胞百分率(A值)评分:<25%为1分,25%~50%为2分,>50%为3分;按染色强度(B值)评分:不着色为0分,浅棕黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。综合染色阳性细胞数与染色强度判断结果<sup>[8]</sup>:阴性(-):0分,弱阳性(+):1~2分,中度阳性(++):3~4分,强阳性(+++):5~6分;两种计分的乘积为每例的加权分数,加权分数为0为阴性,其余均为阳性。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,行 $t$ 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验,椎间盘退变等级与MMP-13、BMP-2及P16水平的相关性使用Pearson相关系数分析,以

$P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 MMP-13、BMP-2 及 P16 水平比较

研究组 MMP-13、BMP-2 及 P16 阳性表达率高于对照组, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见

表 1、图 1。

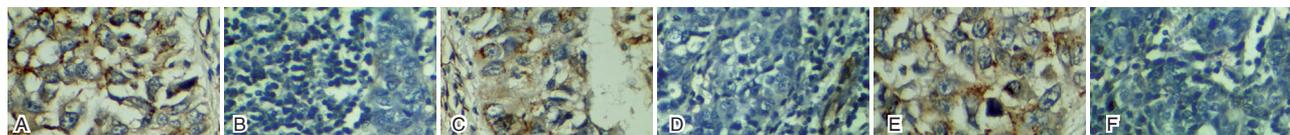
### 2.2 两组 MMP-13、BMP-2 及 P16 平均灰度值水平比较

研究组患者 MMP-13、BMP-2 及 P16 平均灰度值水平低于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 两组 MMP-13、BMP-2 及 P16 水平比较 [ $n(\%)$ ]

Table 1 Comparison of MMP-13, BMP-2 and p16 levels between 2 groups [ $n(\%)$ ]

组别	n	MMP-13		BMP-2		P16	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
研究组	90	79(87.78)	11(13.92)	77(85.86)	13(14.44)	75(83.00)	15(16.67)
对照组	50	9(18.00)	41(82.00)	11(22.00)	39(78.00)	6(12.00)	44(88.00)
$\chi^2$ 值		67.033		55.611		67.079	
P 值		<0.001		<0.001		<0.001	



注: A 为 MMP-13 阳性; B 为 MMP-13 阴性; C 为 BMP-2 阳性; D 为 BMP-2 阴性; E 为 P16 阳性; F 为 P16 阴性。

图 1 免疫组化染色图 (SP, ×500)

Figure 1 Degenerated lumbar intervertebral disc nucleus pulposus (SP, ×500)

表 2 两组 MMP-13、BMP-2 及 P16 平均灰度值水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of average gray level of MMP-13, BMP-2 and p16 between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MMP-13	BMP-2	P16
研究组	90	71.26±10.41	76.21±9.57	70.03±10.41
对照组	50	184.52±26.74	191.06±21.33	186.74±24.06
t 值		35.685	43.838	39.869
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 退变腰椎间盘髓核 MMP-13、BMP-2 及 P16 表达与椎间盘退变等级的关系

Pearson 相关系数分析显示, 退变腰椎间盘髓核 MMP-13 ( $r=0.983$ )、BMP-2 ( $r=0.852$ ) 及 P16 ( $r=0.974$ ) 表达与椎间盘退变等级呈正相关关系, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

腰椎间盘退变主要以椎间盘细胞稀少, 基质丰富, 蛋白多糖聚合体解聚, 硫酸角质素和硫酸软骨素的比例增高, 水分丧失和胶原类型改变引起的临床变化<sup>[9]</sup>。

椎间盘结构对维持椎间盘内环境稳定性具有重要作用。既往学者认为, 维持椎间盘完整性主

要依靠维持椎间盘基质合成及降解平衡, 一旦失衡可对椎间盘功能特性造成损害<sup>[10]</sup>。BMP 为椎间盘细胞外基质关系密切的细胞因子, 相关椎间盘细胞研究发现, 对椎间盘细胞分裂培养并用 BMP-2 进行干预可促进椎间盘细胞 II 型胶原表达及蛋白多糖分泌, 考虑 BMP-2 对人腰椎间盘退变发挥一定作用<sup>[11]</sup>。BMP-2 作为生长因子, 主要通过内分泌、旁分泌及自分泌机制发挥生物学功能, 国内外学者曾提出椎间盘退变的病理基础与细胞外基质减少有关, 而 BMP-2 表达增强对细胞外基质 II 型胶原和蛋白多糖具有保护性<sup>[12]</sup>。本研究显示, BMP-2 水平在腰椎间盘髓核中呈高表达状态, 且平均灰度值水平低于正常椎间盘组织者。椎间盘退变的病理基础是细胞外基质中的 II 型胶原和蛋白多糖减少, BMP-2 异常表达有力提示 BMP-2 参与椎间盘的新陈代谢并可能作为椎间盘重建修复中的合成代谢过程重要组份, 对抗椎间盘内的分解代谢过程<sup>[13]</sup>。

MMP-13 又称胶原酶 3, 对胶原分子具有较强的特异性, 可分裂三维螺旋结构, 是现临床对软骨研究中较多的胶原酶。研究发现, 退变椎间盘损伤的原因与胶原抗体对软骨细胞、硫酸多糖、胶原

等合成具有阻碍作用有关<sup>[14]</sup>。而 MMP-13 作用底物主要表达于滑液及软骨中,可使 II 型胶原变性裂解,故相关学者认为 MMP-13 表达增高是椎间盘退变损伤并形成恶性循环的原因之一<sup>[15]</sup>。

P16 作为 CDK4 和 CDK6 的抑制剂,可抑制细胞周期蛋白复合物活性,导致细胞老化。本研究结果显示,MMP-13、P16 在退变腰椎间盘患者中处于高水平状态。P16 对软骨细胞的 II 型胶原有重要的降解作用,可参与椎间盘退变过程,加重损伤。Yong 等<sup>[16]</sup>的实验表明,随年龄增加及椎间盘退变程度加重,椎间盘细胞中 SA- $\beta$ -gal 阳性细胞增加,MTL 羧酸降低细胞分裂能力,引起 P16 免疫阳性细胞数增加,且退变椎间盘髓核细胞 P16 水平随 MMP-13 表达增加而增加,进一步佐证 MMP-13、P16 与退变腰椎间盘病情发展关系密切。

此外,pfirrmann 分级是临床上反映退变腰椎间盘病程的重要诊断依据,对病情的不同阶段提供了参考依据,能更确切地反映疾病所处的具体阶段和病变严重程度。本研究结果显示,退变腰椎间盘髓核 MMP-13、BMP-2 及 P16 表达与椎间盘退变等级呈正相关,考虑与 MMP-13、BMP-2 及 P16 参与椎间盘退变活化调控发挥了重要作用有关。但关于三者具体作用机制尚未明确,未来将扩大样本量,进一步论证 MMP-13、BMP-2 及 P16 表达与椎间盘退变等级的关系。

综上所述,MMP-13、BMP-2 及 P16 水平在退变腰椎间盘髓核中呈异常表达状态,且与椎间盘退变等级显著相关,其表达情况可作为评估椎间盘退变程度的可靠依据。

## 参考文献

- [1] 方兵,程翰林,虞红林,等.血清 E2、P1NP 水平对绝经后骨质疏松性腰椎骨折风险的预测价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(7):956-959,963.
- [2] 刘川,王杰,张旭,等.成人退变腰椎间盘髓核组织中端粒酶表达及意义[J].中华实用诊断与治疗杂志,2020,33(1):37-39.
- [3] 林景春,李晓兰,穆桂瑶,等.白细胞介素 18 在椎间盘真空征患者体内的表达及作用[J].x 西部医学,2019,28(9):502-506.
- [4] Gopal VV. Degenerative Lumbar Disc Disease: A Questionnaire Survey of Management Practice in India and Review of Literature[J]. J Neuro Sci Rural Pract, 2021, 12(1):159-164.
- [5] Zhang C, Gullbrand SE, Schaer TP, et al. Inflammatory Cytokine and Catabolic Enzyme Expression in a Goat Model of Intervertebral Disc Degeneration[J]. J Orthopaedic Res, 2020, 12(6):428-431.
- [6] 李剑,祝天经.腰椎间盘突出症的疗效评定标准与康复标准[J].中国组织工程研究,2001,5(14):15-16.
- [7] Guan Y, Wang S, Wang J, et al. Gene polymorphisms and expression levels of interleukin-6 and interleukin-10 in lumbar disc disease: a meta-analysis and immunohistochemical study [J]. J Orthopaed Surg Res, 2020, 15(1):264-265.
- [8] 邓剑锋,李广章,刘然,等. NALP3 炎性体,骨形态发生蛋白在退变腰椎间盘髓核组织中的表达及意义[J].中国实验诊断学,2020,24(5):747-751.
- [9] Huang M, Sun YJ, Zhang TZ, et al. The influence of low-intensity laser on the expression of VEGF in degenerative disc of the miniature bama pig [J]. Progr Anatom Sci, 2019, 12(3):295-297.
- [10] 刘磊,武建运,黄伟敏,等.腰椎退行性疾病手术患者椎间盘退变及责任间隙分布情况研究[J].中国全科医学,2021,24(5):82-88.
- [11] 陈铁柱,王宁科,李晓声.腰痹舒干预腰椎间盘退变模型兔髓核组织水通道蛋白 1,水通道蛋白 3 的表达[J].中国组织工程研究,2020,24(8):1168-1173.
- [12] William DC, Matta A, Dvm M, et al. 158. The effects of a single injection of NTG-101 upon neurotrophin expression in a canine model of degenerative disc disease[J]. Spine J, 2020, 20(9):362-364.
- [13] Goldberg OA, Zhivotenko AP, Sorokovikov VA, et al. Modeling of Degenerative-Dystrophic Changes in the Lumbar Spine Intervertebral Disc in Experiment[J]. ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA, 2019,31(17):362-365.
- [14] Nie T, Chen DJ, Tang B, et al. In vivo dynamic motion characteristics of the lower lumbar spine: L4-5 lumbar degenerative disc diseases undergoing unilateral or bilateral pedicle screw fixation combined with TLIF [J]. J Orthopaed Surg Res, 2019, 14(3):502-504.
- [15] Wang Q, Sun CT. Characteristics and correlation analysis of spino-pelvic sagittal parameters in elderly patients with lumbar degenerative disease[J]. J Orthopaed Surg Res, 2019, 14(1):268-269.
- [16] Liu Y, Wang HC, Xiang HF, et al. Expression of HSPA8 in Nucleus Pulposus of Lumbar Intervertebral Disc and Its Effect on Degree of Degeneration [J]. Advanc Therap, 2020, 37(1):390-401.

## PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 及 Bcl6 水平变化与 RA 病情活动性和病理评分的相关性

庄建阳<sup>1</sup> 刘雪梅<sup>1</sup> 代思明<sup>1</sup> 王艳丽<sup>1</sup> 李恒<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨类风湿性关节炎(RA)患者过氧化物酶体增殖活化受体- $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )、基质金属蛋白酶3(MMP-3)及B细胞淋巴瘤因子6(Bcl6)的表达水平,分析上述指标对诊断RA及评估病情活动性的价值。**方法** 选取2019年8月至2020年8月本院收治的102例RA患者为研究组,根据RA患者的病情评分(Disease activity score 28, DAS28)分为低活动度组( $n=29$ )、中活动度组( $n=45$ )、高活动度组( $n=28$ ),选取同期于本院体检的102例健康志愿者为对照组。比较各组PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平,分析PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分的相关性。**结果** 研究组PPAR- $\gamma$ 、MMP-3水平及Bcl6阳性表达率均高于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。PPAR- $\gamma$ 、MMP-3水平及Bcl6阳性表达:重活动度组>中活动度组>低活动度组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。Spearman相关分析显示,PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分均呈正相关( $P<0.05$ )。**结论** PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6水平可用于RA病情活动性及滑膜炎病理情况判断,可作为临床诊断RA和评估病情的辅助检查。

**[关键词]** PPAR- $\gamma$ ; MMP-3; Bcl6; 类风湿性关节炎; 滑膜炎病理评分

### Correlation of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 level changes with RA disease activity and pathological score

ZHUANG Jianyang<sup>1</sup>, LIU Xuemei<sup>1</sup>, DAI Siming<sup>1</sup>, WANG Yanli<sup>1</sup>, LI Heng<sup>2\*</sup>

(1. Department of Rheumatology and Immunology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, HeilongJiang, China, 150001; 2. Department of Orthopedics, 958 Hospital of Chinese People's Liberation Army, Chongqing, China, 400020)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the expression of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ), matrix metalloprotein-3 (MMP-3) and B cell lymphoma (Bcl) 6 in patients with rheumatoid arthritis (RA) and to analyze the value of the above indicators in the diagnosis of RA and in the evaluation of disease activity. **Methods** The clinical data of 102 RA patients admitted to this hospital from August 2019 to August 2020 were selected as the study group. According to the disease activity score 28 (DAS28) of RA patients, the group was further divided into the low activity group, the medium activity group, and the high activity group. 102 healthy people who had examined in this hospital during the same period were selected as the control group. The expression levels of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 in different groups were compared. The correlations between the expression levels of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6, the degree of disease activity in RA patients and the pathological score of synovitis were analyzed. **Results** The levels of PPAR- $\gamma$  and MMP-3 and the positive expression rate of Bcl6 in the study group were significantly higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and the

基金项目:黑龙江省卫生计生委科研课题(2018152)

作者单位:1. 哈尔滨医科大学附属第一医院风湿免疫科,黑龙江,哈尔滨 150001

2. 中国人民解放军第958医院骨科,重庆 400020

\*通信作者:李恒, E-mail: 182367197@qq.com

positive expression rate of Bcl6 were as follows: the high activity group > the medium activity group > the low activity group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 were positively correlated with the activity level of RA patients and the pathological score of synovitis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The levels of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 can be used to judge the disease activity of RA and the pathological state of the synovium, and can be used as an auxiliary examination for clinical diagnosis of RA and assessment of the disease.

**[KEY WORDS]** PPAR- $\gamma$ ; MMP-3; Bcl6; Rheumatoid arthritis; Pathology score of synovitis

类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)是一种致使周围关节受累的多系统性炎症性疾病<sup>[1]</sup>。RA病情持续时间长,易反复发作,严重影响患者的相关活动功能<sup>[2]</sup>。近年来随着人口老龄化,RA发病率呈不断上升趋势发展。临床实践显示RA早期及时规范的治疗后预后较好,但该疾病早期病情隐匿,诊断较困难。故寻求能为RA诊断、病情监测提供可靠依据的分子标记物成为国内外学者关注的焦点<sup>[3]</sup>。过氧化物酶体增殖活化受体- $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR- $\gamma$ )是一类配体依赖序列特异的核转录因子,在炎症反应中的作用引起了人们的关注<sup>[4]</sup>。研究发现,PPAR- $\gamma$ 在自身免疫反应及炎症过程中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。基质金属蛋白酶3(Matrix metalloprotein-3, MMP-3)是滑膜分泌的细胞因子, Han等学者<sup>[6]</sup>报道, MMP-3对金属蛋白酶和其它蛋白水解酶的合成起着重要调节作用。Tsai等<sup>[7]</sup>研究发现,转录抑制因子B细胞淋巴瘤因子6(B cell lymphoma, Bcl6)与免疫系统的炎症反应相关。本研究就PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6在类风湿性关节炎中的表达及其与病情活动性及滑膜炎病理评分的相关性进行分析,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年8月至2020年8月本院收治的102例RA患者作为研究组。纳入标准:①符合类风湿性关节炎的相关诊断标准<sup>[7]</sup>,并结合实验室检查以及影像学检查明确诊断。②临床资料完整,均自愿参加本次研究,并签署相关协议书。排除标准:①存在其他系统疾病或恶性肿瘤等疾病患者;②伴随严重心、肝、肾功能不全患者;③合并有免疫系统的其他疾病患者;④存在精神疾病无法配合本研究或依从性差者。根据《RA患者的病情评分(Disease activity score 28, DAS28)》进行活动度划分<sup>[8]</sup>: $2.6 < \text{DAS28} \leq 3.2$ 为低活动度组:29例;

$3.2 < \text{DAS28} \leq 5.1$ 为中活动度组:45例; $\text{DAS28} > 5.1$ 为高活动度组:28例。

选取同期进行健康体检的102例健康志愿者作为对照组。两组性别、年龄、体质指数等一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过。

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

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

组别	n	性别(n)		年龄(岁)	体质指数(kg/m <sup>2</sup> )
		男	女		
研究组	102	29(28.43)	73(71.57)	48.42 $\pm$ 11.32	23.53 $\pm$ 3.14
对照组	102	31(30.39)	71(69.61)	46.03 $\pm$ 13.17	24.26 $\pm$ 2.33
$\chi^2/t$ 值		0.094		1.390	1.886
P值		0.759		0.166	0.061

### 1.2 检测方法

取所有受试者清晨空腹静脉全血5 mL,采用未加抗凝剂的标准采样管进行采集,离心(3 000 r/min, 10 min)取血清后分别存放在聚丙烯EP管中,在-80℃冰柜中待检。采用荧光定量PCR检测PPAR- $\gamma$ 的表达;采用双抗体夹心法检测MMP-3的表达。通过细针滑膜活检术获取滑膜组织,采用免疫组织化学染色检测Bcl6的表达,检测严格按照使用说明书进行。Bcl6阳性判定标准<sup>[9]</sup>:由2名以上病理学专家复核判断,取两者平均分为最后得分用,Bcl6呈细胞核着色,根据阳性细胞百分比、染色强度判定。0分无阳性细胞,1分阳性细胞5%~10%,2分10%~50%,3分>50%。染色强度判定:0分无色,1分淡黄色,棕黄色2分,棕褐色3分。总积分:上述2项评分的乘积。阳性:总积分 $\geq 3$ 分。

### 1.3 观察指标

①比较两组不同人群的PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平;②比较不同病情活动程度RA患者PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平;③分析PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分的相关性。滑膜炎病理Krenn's评分<sup>[10]</sup>,

即为滑膜衬里层增生评分、衬里下层炎症程度评分以及血管生成情况评分累计总和,0分表示无滑膜炎;1分表示轻度滑膜炎、炎性细胞轻度浸润;2分表示中度滑膜炎、炎性细胞中度浸润;3分表示重度滑膜炎、炎性细胞重度浸润。由2位风湿科医生进行双人双盲评分,取两者平均分为最后得分。

#### 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用 $t$ 检验,多组间比较采用 $F$ 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 $\chi^2$ 检验;采用Spearman分析PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分的相关性,以 $P < 0.05$ 为差异具统计学意义。

## 2 结果

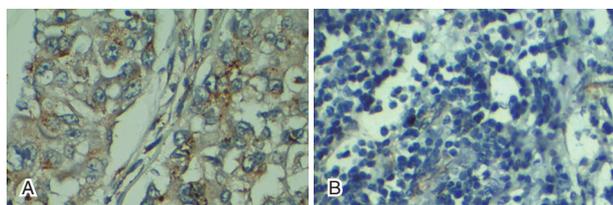
### 2.1 2组PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平比较

研究组PPAR- $\gamma$ 、MMP-3水平及Bcl6阳性表达率高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2、图1。

表2 2组PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平比较  
[ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 2 Comparison of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 expression levels of the 2 groups [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

组别	$n$	PPAR- $\gamma$ (pg/mL)	MMP-3 (pg/mL)	Bcl6	
				阳性	阴性
研究组	102	38.52±21.43	72.54±21.42	85 (83.33)	17 (16.67)
对照组	102	10.01±3.04	30.26±8.72	0 (0.00)	102 (100.00)
$t/\chi^2$ 值		13.303	18.464	145.714	
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001	



注:A为Bcl6在RA患者滑膜组织中表达;B为Bcl6在健康者滑膜组织中表达。

图1 Bcl6免疫组化染色(SP,×400)

Figure 1 BCL6 immunohistochemical staining (SP,×400)

### 2.2 不同病情活动程度RA患者PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平比较

PPAR- $\gamma$ 、MMP-3水平及Bcl6阳性表达:重活动度组>中活动度组>低活动度组,各组间比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 不同病情活动程度RA患者PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6表达水平比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 3 Comparison of expression levels of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 in RA patients with different disease activity [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

组别	$n$	PPAR- $\gamma$ (pg/mL)	MMP-3 (pg/mL)	Bcl6 阳性
低活动度组	29	18.39±11.60	51.63±16.75	19 (65.52)
中活动度组	45	32.15±17.62 <sup>a</sup>	67.49±18.39 <sup>a</sup>	39 (86.67)
重活动度组	28	41.34±24.55 <sup>ab</sup>	83.58±25.27 <sup>ab</sup>	27 (96.43)
$F$ 值		11.25	18.01	10.445
$P$ 值		<0.001	<0.001	0.005

注:a与低活动度组相比, $P < 0.05$ ; b与中活动度组相比, $P < 0.05$ 。

### 2.3 PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分的相关性

Spearman相关分析显示,PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分呈正相关( $P < 0.05$ )。见表4。

表4 PPAR- $\gamma$ 、MMP-3及Bcl6与RA患者病情活动程度及滑膜炎病理评分的相关性

Table 4 Correlation of PPAR- $\gamma$ , MMP-3 and Bcl6 with disease activity and synovitis pathological score in RA patients

自变量	PPAR- $\gamma$		MMP-3		Bcl6	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
病情活动程度	0.613	0.001	0.496	0.019	0.585	0.005
滑膜炎病理评分	0.598	0.004	0.574	0.015	0.836	0.002

## 3 讨论

RA是一类在多种因素作用下发生的自身免疫性疾病,具有较高的致残率。我国是RA的高发地区,目前大约有400~500万人患有该疾病,发病率约占0.32%~0.36%<sup>[11]</sup>。RA早期易出现关节功能受限、疼痛、肿胀症状,晚期则表现为关节畸形、关节僵硬及关节不同程度的畸形,严重者甚至会出现骨骼肌萎缩和骨头损伤,且病程时间长,若病情控制不佳则可能危及全身脏器系统<sup>[12]</sup>。现阶段,临床常采用血清学分子指标、临床症状、关节功能以及影像学资料等评估RA病情活动度,其中血清学指标以简单快捷、准确性高等优势成为指导临床诊治的重要手段。

PPARs是一类配体依赖的转录调节因子,具有N端区、居中高度保守的DNA结合区和C端的激素结合区<sup>[13]</sup>。PPARs配体通常为脂溶性分子,当其与各自的配体结合后可引起机体的变化,促进或抑制靶基因的表达<sup>[14]</sup>。PPAR- $\gamma$ 作为PPARs主要的亚型之一,与多种炎性细胞的活性和表达

关系密切。PPAR- $\gamma$  在原位支气管气道上皮细胞中有表达,可抑制此类细胞的活性,并激活内源性 PPAR- $\gamma$ ,拮抗炎性反应。Zhu 等<sup>[15]</sup>认为 PPAR- $\gamma$  具有改变巨噬细胞的转运、增加巨噬细胞吞噬功能等作用,可促进实用性免疫反应的发生。Ahn 等<sup>[16]</sup>研究显示,MMP-3 是一种锌离子依赖酶,负责细胞外基质成分降解为其主要功能,作用于多种基质蛋白底物,MMP-3 过高的表达会导致软骨框架结构崩解,从而破坏患者关节功能。Lei 等<sup>[17]</sup>研究表明,RA 患者关节液中 MMP-3 含量显著升高,检测 MMP-3 可为评估 RA 病情严重程度提供参考。Yang 等<sup>[18]</sup>研究发现,Bcl6 基因位于 3q27 染色体,是一种具有锌指结构的转录抑制因子,是 B 细胞生发中心的起源。本研究结果与相关研究结果相符<sup>[19]</sup>。提示 RA 患者存在 PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 过表达及 Bcl6 阳性表达的情况。Bcl6 是生发中心的抗原和调控因子,参与细胞增殖、分化、凋亡、DNA 损伤修复以及炎症过程等。PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 表达异常会促进新生血管的生成、免疫逃逸等一些列病理过程,发挥促炎作用。本研究显示,PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 及 Bcl6 的变化与患者病情活动程度及滑膜炎病理评分呈正相关关系,PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 及 Bcl6 表达水平的上升提示患者病情处于活动、滑膜炎加重状态,表明 PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 及 Bcl6 三者 in 评估 RA 发生、发展中具有良好的辅助作用。

综上所述,RA 患者 PPAR- $\gamma$ 、MMP-3 及 Bcl6 水平较健康者显著升高,且与患者病情活动性及滑膜炎病理评分具有一定的相关性,可作为临床诊断 RA 和评估病情的辅助检查。

### 参考文献

- [1] 李琼,陈宇婷,接力刚,等.单细胞转录组测序技术在类风湿性关节炎的研究进展[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(6):835-838.
- [2] 陈亮,聂紫雯,张凤.风湿性多肌痛患者红细胞沉降率和炎性因子表达情况与其病情严重程度的相关性分析[J].解放军医药杂志,2020,32(2):77-80.
- [3] Chen YL, Wu Y, Li J, et al. Three Tiaobu Feishen therapies protect human alveolar epithelial cells against cigarette smoking and tumor necrosis factor-induced inflammation by nuclear factor-kappa B pathway[J]. *Chung i tsa chih ying wen pan*, 2019, 39(1):45-49.
- [4] 韦秀宁,张学培,杨莉娟,等.过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\beta$  在类风湿关节炎滑膜中的表达及临床意义[J].中华医学杂志,2021,101(5):327-332.
- [5] Zhou XM, Hou G, Gu DX, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor -  $\gamma$  in induced sputum is correlated with MMP-9/TIMP-1 imbalance and formation of emphysema in COPD patients[J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(10):3703-3710.
- [6] Han M, Gao H, Ju P, et al. Hispidulin inhibits hepatocellular carcinoma growth and metastasis through AMPK and ERK signaling mediated activation of PPAR $\gamma$ [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 4(14):272-283.
- [7] Tsai KL, Chang YL, Huang PH, et al. Ginkgo biloba extract inhibits oxidized low-density lipoprotein (oxLDL)-induced matrix metalloproteinase activation by the modulation of the lectin-like oxLDL receptor 1-regulated signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells [J]. *J vascul surg*, 2018, 63(1):204-251.
- [8] Malhotra KK, Parashar MK, Sharma RK, et al. Tuberculosis in maintenance haemodialysis patients. Study from an endemic area[J]. *Postgrad Med J*, 2019, 38(670):492-498.
- [9] Yang QS, Wu SJ, Mao XZ, et al. Inhibition effect of curcumin on advanced glycation end products-induced expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  and matrix metalloproteinase-13 in rabbit chondrocytes by elevating peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  [J]. *Centr South Pharm*, 2017, 38(1):2117-2119.
- [10] Kim JS, Lee YH, Chang YU, et al. PPAR $\gamma$  regulates inflammatory reaction by inhibiting the MAPK/NF- $\kappa$ B pathway in C2C12 skeletal muscle cells[J]. *J Physiol Biochem*, 2017, 21(12):3154-3163.
- [11] 李先耀,邹瑶,丁敬韬,等.血清 MMP-3 水平与类风湿关节炎骨侵蚀的相关性研究[J].中国医师杂志,2021,23(2):227-235.
- [12] 刘小莉,张红梅,唐敏,等.不同疾病分期强直性脊柱炎患者外周血 DKK-1, MMP-3, TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达及治疗前后水平变化[J].现代免疫学,2020,40(4):300-305.
- [13] Imran M, Butt MS, Arshad MS, et al. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders[J]. *Lip Health Dis*, 2017, 16(84):84-116.
- [14] Das LM, Binko AM, Traylor ZP, et al. Vitamin D improves sunburns by increasing autophagy in M2 macrophages [J]. *Autophagy*, 2019, 18(1):813-826.
- [15] Zhu J, Tang H, Zhang Z, et al. Kaempferol slows intervertebral disc degeneration by modifying LPS-induced osteogenesis/adipogenesis imbalance and inflammation response in BMSCs[J]. *Intern Immunopharmacol*, 2017, 43(1):236-399.
- [16] Ahn JH, Lee KT, Choi YS, et al. Iloprost, a prostacyclin analog, inhibits the invasion of ovarian cancer cells by down-regulating matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) through the IP-dependent pathway [J]. *Prostagl Other Lipid Med*, 2018, 22:(134):47-56.
- [17] Lei Y, Yang G, Hu L, et al. Increased dipeptidyl peptidase-4 accelerates diet-related vascular aging and atherosclerosis in ApoE-deficient mice under chronic stress[J]. *Internat J Cardiol*, 2017, 37(5):413-414.
- [18] Yang G, Lei Y, Inoue A, et al. Exenatide mitigated diet-induced vascular aging and atherosclerotic plaque growth in ApoE-deficient mice under chronic stress[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 4(3):77-86.
- [19] Ismael S, Nasoohi S, Yoo A, et al. Tissue Plasminogen Activator Promotes TXNIP-NLRP3 Inflammasome Activation after Hyperglycemic Stroke in Mice [J]. *Molecul Neurobiol*, 2020, 57(9):1321-1446.

· 论 著 ·

## 腹腔镜子宫肌瘤剔除术治疗对患者 IFN- $\gamma$ 、ALD、COS 的影响

杜晓丽<sup>1\*</sup> 张丹<sup>2</sup> 李华<sup>2</sup> 郭雪娇<sup>3</sup> 张东明<sup>4</sup> 贾西贝<sup>5</sup> 高建宏<sup>2</sup>

**【摘要】** 目的 分析腹腔镜子宫肌瘤剔除术治疗对患者血清 $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )、多巴胺(ALD)、皮质醇(COS)水平的影响。方法 选取2019年11月至2020年11月本院收治的78例子宫肌瘤患者,根据患者意愿自行选择手术方式,分为研究组( $n=40$ ,腹腔镜下子宫肌瘤剔除术)、对照组( $n=38$ ,传统开腹肌瘤剔除术),比较两组临床疗效、手术指标(术中出血量、手术时间、术后首次排气时间、总治疗时间)、应激水平(IFN- $\gamma$ 、ALD、COS)、卵巢功能[雌二醇(E2)、促卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)]、并发症。结果 研究组临床总有效率明显高于对照组(87.50% vs 63.16%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组手术时间、术后首次排气时间及总治疗时间上明显低于对照组,且术中出血量少于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后,研究组IFN- $\gamma$ 、ALD、COS水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。治疗后,两组E2较前降低,FSH、LH较前升高,以研究组为甚,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组并发症发生率明显低于对照组(7.50% vs 23.68%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 对子宫肌瘤患者采用腹腔镜下子宫肌瘤剔除术治疗临床疗效佳,可有效降低IFN- $\gamma$ 、ALD及COS水平,保护卵巢功能,并减少术中出血量,缩短手术及住院时间,安全性高。

**【关键词】** 子宫肌瘤;腹腔镜下子宫肌瘤剔除术;传统开腹肌瘤剔除术

### The effect of laparoscopic myomectomy on the levels of IFN- $\gamma$ , ALD and COS in patients with Uterine fibroids

DU Xiaoli<sup>1\*</sup>, ZHANG Dan<sup>2</sup>, LI Hua<sup>2</sup>, GUO Xuejiao<sup>3</sup>, ZHANG Dongming<sup>4</sup>, JIA Xibei<sup>5</sup>, GAO Jianhong<sup>2</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Langfang People's Hospital, Langfang, Hebei, China, 065000; 2. Department of Gynecology, Langfang People's Hospital, Langfang, Hebei, China, 065000; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Gu'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Langfang, Hebei, China, 065500; 4. 61267 Army Health Team, Beijing, China, 101149; 5. Department of Clinical Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, Japan, 920-0000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To analyze the effect of laparoscopic myomectomy treatment on the levels of serum interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), dopamine (ALD) and cortisol (COS). **Methods** 78 patients with uterine fibroids admitted to this hospital from November 2019 to November 2020 were selected. According to the patient's wishes, the operation method was selected by himself. The patients were divided into a study group ( $n=40$ , laparoscopic myomectomy) and a control group ( $n=38$ , traditional myomectomy). The clinical efficacy, surgical indicators (intraoperative blood loss, operation time, first exhaust time after surgery, total treatment time), stress levels (IFN- $\gamma$ , ALD, COS), ovarian function [estradiol (E2), follicle-stimulating hormone (FSH), luteotropic hormone (LH)], complications between the two groups were compared. **Results** The total clinical effective rate of the study group was significantly higher than that of the control group (87.50% vs

基金项目:廊坊市科技支撑计划项目(2019013020)

作者单位:1. 廊坊市人民医院妇产科,河北,廊坊 065000

2. 廊坊市人民医院妇科,河北,廊坊 065000

3. 固安中医院妇产科,河北,廊坊 065500

4. 61267部队卫生队,北京,通州 101149

5. 日本金泽大学临床系,日本,金泽 920-0000

\*通信作者:杜晓丽, E-mail:duxiaoli112233@163.com

63.16%), and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The operation time, first postoperative exhausting time and total treatment time of the study group were shorter than those of the control group. The first exhaust time after operation was earlier than that of the control group, and intraoperative blood loss was less than that of the control group. The differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, the levels of IFN- $\gamma$ , ALD, and COS in the study group were significantly lower than those in the control group. The differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). After treatment, E2 level of the two groups was lower than before, and FSH and LH were higher than before, especially in the study group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The incidence of complications in the study group was significantly lower than that in the control group (7.50% vs 23.68%), and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ).

**Conclusion** Laparoscopic myomectomy has a good clinical effect in the treatment of patients with uterine fibroids. It can effectively reduce IFN- $\gamma$ , ALD and COS levels, protect ovarian function, reduce intraoperative blood loss, shorten operation and hospitalization time, and have high safety.

**[KEY WORDS]** Uterine fibroids; Laparoscopic myomectomy; Traditional myomectomy

子宫肌瘤(uterinemyoma, UM)是女性常见的良性生殖系统肿瘤,由于子宫内平滑肌及纤维结缔细胞异常生长,引起体内激素水平失衡,使雌激素处于异常状态<sup>[1-2]</sup>。临床主要以药物对症及手术治疗该疾病,子宫及瘤体切除术是常用术式。传统开腹肌瘤剔除术造成的创伤大,会延缓术后恢复时间,并增加并发症发生的可能性<sup>[3]</sup>。故如何在降低手术创伤的情况下保障机体快速恢复具有重要临床价值。随着医学技术的不断创新,临床上推出借助腹腔镜进行子宫肌瘤剔除治疗,为UM患者的诊治提供了更多选择机会<sup>[4]</sup>。本研究对分别以不同手术干预方式治疗UM患者的临床治疗资料进行分析,比较各项临床指标评价对患者的影响,报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年11月至2020年11月本院收治的78例UM患者,根据患者意愿自行选择手术方式,分为研究组( $n=40$ )和对照组( $n=38$ )。纳入标准:①本次研究患者均知情并签署知情同意书,且经医院医学伦理委员会批准;②患者均符合《妇科学》第八版<sup>[5]</sup>诊断标准;③均符合手术指征。排除标准:①存在凝血功能障碍者;②存在子宫内膜癌变、宫颈病变及盆腔恶性肿瘤者;③存在精神疾病无法

配合本次研究者;④中途退出实验的患者。两组基本资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

### 1.2 方法

对照组:麻醉方式选择硬膜外干预,取仰卧位;手术切口在髂骨联合上方,行横向切口,将皮肤进行逐层分离以暴露腹腔处。并依次分离直肠、膀胱、宫颈等部位,于子宫处对肌瘤情况(如肌瘤数量、大小、部位等)及附件检查,并将垂体后叶素(10 U)注射至肌瘤处,将肌瘤结节剔除干净。一次缝合手术切口。

研究组:患者全麻取截石位,将CO<sub>2</sub>压力维持在12 mmHg。于脐部上缘处做一10 mm切口,由此置入腹腔镜,分别在两侧麦氏点做一10 mm切口以置放操作器械,再在左侧腹直肌外缘与耻骨连接处做一20 mm切口置入手术器械。同上组一样注射垂体后叶素(10 U)于肌瘤部位,以电凝钩将子宫拉开,对子宫内部情况进行查看并分离肌瘤。瘤体剥离后,对创口处进行清洁,以电凝止血出血部位,逐层缝合关闭手术创面。

### 1.3 观察指标

#### 1.3.1 临床疗效

根据B超检查结果和月经情况判断<sup>[6]</sup>。治愈:B超下显示子宫肌瘤消失,月经恢复至正常;显效:B超下显示子宫肌瘤明显缩小,月经恢复正常;无效:治疗后症状加重或仍残留子宫肌瘤。临床总

表1 两组基本资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of general data between 2 groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$n$	年龄(岁)	生育史 (已生育/未生育)	病程(月)	肌瘤直径 (cm)	肌瘤数目 (单发/多发)	肌瘤部位 (浆膜下/肌壁间)
研究组	40	35.53 $\pm$ 4.71	25/15	17.95 $\pm$ 3.81	3.94 $\pm$ 1.62	17/23	21/19
对照组	38	35.47 $\pm$ 4.13	22/16	17.87 $\pm$ 3.65	3.97 $\pm$ 1.66	19/19	20/18
$\chi^2/t$ 值		0.139	0.173	0.094	0.080	0.441	0.000
$P$ 值		0.889	0.678	0.924	0.935	0.507	0.991

有效率=治愈+显效之和。

### 1.3.2 其它指标

包括:①手术时间、术中出血量、术后首次排气时间、总治疗时间等。②应激水平:采用强生 Vitros350 全自动干式化学分析仪,采用酶联免疫吸附法检测血清  $\gamma$  干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、多巴胺(dopamine, ALD)、皮质醇(cortisol, COS),试剂盒由上海江莱生物科技有限公司提供。③卵巢功能:仪器为美国 2000IMMULITE 全自动化学发光法仪,以化学发光法测定雌二醇(Estradiol, E<sub>2</sub>)、促卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteotropic hormone, LH),由北京美康生物技术研究有限责任公司提供检测所用的试剂。④并发症:包括创口感染、局部血肿、盆腔粘连、肠梗阻等。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,行  $t$  检验;计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床疗效比较

研究组临床总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.2 两组手术指标比较

研究组各项手术指征明显优于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.3 两组应激水平比较

治疗后,研究组 IFN- $\gamma$ 、ALD、COS 水平明显低

表 2 两组临床疗效比较 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Comparison of clinical efficacy between 2 groups

组别	n	[ $n(\%)$ ]				总有效率
		治愈	显效	有效	无效	
研究组	40	20(50.00)	15(37.50)	4(10.00)	1(2.50)	35(87.50)
对照组	38	14(36.84)	10(26.32)	9(23.68)	5(13.16)	24(63.16)
$\chi^2$ 值						6.267
P 值						0.012

表 3 两组手术指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of operation indexes between 2 groups

组别	n	( $\bar{x} \pm s$ )			
		手术时间 (min)	术中出血量 (mL)	术后首次排气时间 (h)	总治疗时间 (d)
研究组	40	75.42±11.01	207.71±18.14	15.73±4.25	4.81±1.33
对照组	38	98.63±12.83	351.23±21.05	26.31±6.19	7.45±2.27
t 值		8.587	32.306	8.838	6.305
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

### 2.4 两组卵巢功能比较

治疗后,两组 E<sub>2</sub> 较前降低,FSH、LH 较前升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 5。

### 2.5 两组并发症比较

研究组并发症发生率明显低于对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 6。

## 3 讨论

UM 的发病机制尚未明确,研究显示与激素、局部因子、肌层细胞等共同影响有关<sup>[7]</sup>。另外,卵巢及激素功能均受高级神经所支配,神经中枢异常也可作为该病的发病因素。该疾病好发于中年女性,长期性生活失调而引起的盆腔慢性炎症也是

表 4 两组应激水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of stress levels between two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IFN- $\gamma$ ( $\mu\text{g/L}$ )		ALD(ng/L)		COS(ng/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
研究组	40	41.06±2.83	15.26±5.31 <sup>a</sup>	274.51±20.06	231.52±15.84 <sup>a</sup>	19.84±2.61	10.67±1.52 <sup>a</sup>
对照组	38	41.26±2.37	28.16±6.08 <sup>a</sup>	275.33±19.84	254.02±15.37 <sup>a</sup>	19.34±2.71	15.41±1.38 <sup>a</sup>
t 值		0.337	9.994	0.181	6.361	0.830	14.395
P 值		0.736	<0.001	0.856	<0.001	0.409	<0.001

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

表 5 两组卵巢功能比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Comparison of ovarian function between two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	E <sub>2</sub> (pmol/L)		FSH(U/L)		LH(U/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
研究组	40	291.52±11.06	265.34±11.82 <sup>a</sup>	17.56±1.38	19.52±1.71 <sup>a</sup>	18.62±1.42	21.03±1.71 <sup>a</sup>
对照组	38	290.33±12.11	232.06±12.55 <sup>a</sup>	17.42±1.41	23.06±1.08 <sup>a</sup>	18.54±1.61	26.05±1.45 <sup>a</sup>
t 值		0.453	12.060	0.443	10.865	0.233	13.948
P 值		0.651	<0.001	0.658	<0.001	0.816	<0.001

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

表6 两组并发症比较 [n(%)]

Table 6 Comparison of complications between 2 groups [n(%)]

组别	n	创口感染	局部血肿	盆腔粘连	肠梗阻	并发症总发生率
研究组	40	1(2.50)	2(5.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(7.50)
对照组	38	3(7.89)	4(10.53)	1(2.63)	1(2.63)	9(23.68)
$\chi^2$ 值						3.921
P值						0.048

诱发UM的原因之一。该疾病往往被人们所忽视而错过最佳治疗时间,严重影响患者身体健康。

既往开腹手术虽可切除瘤体大、位置浅、数量多等肌瘤;但由于开腹手术创口过大,导致术后疼痛明显,不仅恢复延迟,影响排气时间,还会影响术后活动<sup>[8]</sup>。腹腔镜子宫肌瘤剔除术可直观显示手术视野,对肌瘤小、位置隐匿等特殊患者可精准进行手术治疗。且予以腔镜技术干预可将手术创口明显缩小,避免腹腔因外在因素所致感染,尽可能保护皮肤创面组织,减少术中出血,降低术后并发症发生,减轻疼痛<sup>[9]</sup>。本研究结果表明腹腔镜下治疗可以减少UM术中出血量,缩短患者诊治时间,促进胃肠道恢复,对病灶的清除及术后并发症的减少具有积极作用。

研究显示,手术也是一种应激源,患者在进行手术时会使得体内分解的激素合成,血糖升高,心率加快,进而产生严重的应激反应<sup>[10]</sup>。COS是临床上应激水平变化的临床指征,一旦该水平上升会促使体内基础机能水平升高,加剧机体负担<sup>[11]</sup>。相关研究发现,血浆ALD浓度增加可造成心力衰竭,引发应激反应,导致病情恶化<sup>[12]</sup>。IFN- $\gamma$ 是由Th1细胞分泌的细胞因子,具有调节免疫及抑制肿瘤细胞增殖作用,可通过强化机体适应性免疫及固有免疫,实现其抗肿瘤及抗病毒效应;但其亦具有细胞毒性效应,过高表达可对女性蜕膜蛋白及人类绒毛膜促性腺激素合成产生抑制作用,促使滋养层细胞凋亡,损害患者正常机体功能<sup>[13]</sup>。既往学者表示,子宫肌瘤手术不仅会对患者产生创伤性损伤,还会导致卵巢功能受损出现妊娠障碍<sup>[14]</sup>。本研究比较两组患者激素水平及卵巢功能发现,研究组治疗后IFN- $\gamma$ 、ALD、COS、E<sub>2</sub>水平降低,FSH、LH较前升高,考虑其原因为:一方面,腹腔镜下子宫肌瘤微创剔除术对患者的创伤较小,进而使患者体内的白细胞数量的增加减缓,对患者的刺激性相对较少,可以有效缓解患者的交感神经兴奋程度,进而有效地降低应激反应相关指标的上升幅度。另一方面,腹腔镜下治疗可直接

作用于患者下丘脑-垂体-卵巢轴,并产生抗雌孕激素的作用,最终达到去势作用。

综上所述,对UM患者采用腹腔镜下子宫肌瘤剔除术治疗临床疗效佳,可有效降低IFN- $\gamma$ 、ALD及COS水平,保护卵巢功能,并减少减少术中出血量,缩短手术及住院时间,安全性高。

## 参考文献

- [1] 梅琳琳,王雅莉,田晓娜,等. 宫颈病变与Treg转录因子表达及细胞因子水平的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11):64-67, 72.
- [2] 刘雁林,陈海燕,王沛靛,等. 腹腔镜下子宫肌瘤剔除术对患者卵巢功能及血清创伤反应指标的影响[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2019, 26(2):15-18.
- [3] 凌爱华,赵维英. 腹腔镜下子宫血管阻断术联合子宫肌瘤剔除术对患者生活质量和生育功能的影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2019, 27(12):1620-1623.
- [4] 王娟,王婷. 探讨腹腔镜下子宫肌瘤剔除术治疗子宫肌瘤的效果及对患者免疫功能变化的影响效果[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7(19):62-63.
- [5] 谢幸,苟文丽. 妇产科学. 第8版[M]. 人民卫生出版社, 2013.
- [6] Li W, Hong B, Li Q, et al. An integrated serum and urinary metabolomic research of Rhizoma Curcumae-Rhizoma Sparganii drug pair in hysteromyoma rats based on UPLC-Q-TOF-MS analysis[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 22(9):441-443.
- [7] 吴帆,周艳鹏,姬静. 腹腔镜下子宫肌瘤剔除术对子宫肌瘤患者术后卵巢功能及自然妊娠结局的影响[J]. 中国实用医刊, 2021, 48(5):62-65.
- [8] Han YZ, Bai M, Miao MS. Analysis of the Rule of Traditional Chinese Medicine in the Treatment of Hysteromyoma Based on Data Mining [J]. Dest Transact Social Sci Educat Human Sci, 2020, 16(4):512-515.
- [9] 邢翠,陈雅衡. 腹腔镜子宫肌瘤剔除术对子宫肌瘤患者术后生活质量和盆底功能的影响[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(4):946-948.
- [10] 金永兴. 腹腔镜下子宫肌瘤剔除术对患者卵巢功能及血清创伤反应指标的影响[J]. 中国医药指南, 2020, 18(5):98-99.
- [11] 杨成斌,张潇文. 腹腔镜下子宫肌瘤剔除术治疗子宫肌瘤的效果及对患者免疫功能的影响分析[J]. 中国保健营养, 2019, 29(26):21.
- [12] Li W, Hong B, Li Q, et al. An integrated serum and urinary metabolomic research of Rhizoma Curcumae-Rhizoma Sparganii drug pair in hysteromyoma rats based on UPLC-Q-TOF-MS analysis[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 10(5):174-176.
- [13] Yang Y, Hao X. Clinical effect of hysteroscopy in the treatment of submucous hysteromyoma; a report of 53 cases [J]. Clin Laborat J, 2019, 9(1):103-105.
- [14] Popov AA, Fedorov AA, Sopova YI, et al. The effect of hysteromyoma and myomectomy on the peristaltic activity of the myometrium and reproductive outcomes [J]. Ross vestn akushera-ginekologa, 2020, 20(3):71.

· 论 著 ·

## AMI患者PCI术前后血清MMP-8、sST2、Myo水平变化及临床意义

程勇<sup>1\*</sup> 王娜<sup>2</sup> 贾国力<sup>2</sup> 杨军振<sup>1</sup> 雷娜<sup>1</sup> 杨洋<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 分析急性心肌梗死(AMI)患者经皮冠状动脉介入(PCI)术前后血清基质金属蛋白酶8(MMP-8)、可溶性人基质裂解素2(sST2)、肌红蛋白(MyO)的水平变化及临床意义。方法 选取本院2018年2月至2020年8月收治的105例AMI患者作为观察组,入院后均进行PCI治疗,另选取同期于本院体检的50例健康志愿者作为对照组,对对照组和观察组(PCI术前和术后3d)进行血清MMP-8、sST2、Myo水平检测,比较两组及观察组PCI术前后血清MMP-8、sST2、Myo水平。根据AMI患者住院期间是否发生主要不良心血管事件(MACE)将其分为发生组与未发生组,比较两组血清MMP-8、sST2、Myo水平,采用受试者工作曲线(ROC)分析血清MMP-8、sST2、Myo水平对PCI术后MACE发生的预测价值。结果 观察组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平均高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组PCI术后血清MMP-8、sST2、Myo水平均低于术前,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。MACE组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平均高于无MACE组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo联合检测对PCI术后预测MACE的敏感度为92.59%,显著优于单独诊断( $P < 0.05$ )。结论 PCI术后,AMI患者血清MMP-8、sST2、Myo水平发生明显降低,临床上同时检测三种血清水平变化,可提高对MACE发生的预测价值。

**[关键词]** 急性心肌梗死;经皮冠状动脉介入治疗;基质金属蛋白酶8;可溶性基质裂解素2;肌红蛋白;主要不良心血管事件

### Changes of serum MMP-8, sST2 and Myo levels in AMI patients before and after PCI and their clinical significance

CHENG Yong<sup>1\*</sup>, WANG Na<sup>2</sup>, JIA Guoli<sup>2</sup>, YANG Junzhen<sup>1</sup>, LEI Na<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>1</sup>

(1. Department of Internal Medicine, Zhoukou Second People's Hospital, Zhoukou, Henan, China, 466000;

2. Department of Cardiology, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou, Henan, China, 466000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the changes and clinical significance of serum matrix metalloproteinase-8 (MMP-8), soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2) and myoglobin (Myo) in patients with acute myocardial infarction (AMI) before and after percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** A total of 105 patients with AMI treated by PCI (the observation group) and 50 healthy volunteers (the control group) were enrolled in this study from February 2018 to August 2020. The levels of serum MMP-8, sST2 and Myo in the control group and the observation group before PCI and at 3-day after PCI were detected. The levels of serum MMP-8, sST2 and Myo were compared between the two groups, and the levels in the observation group were compared before and after PCI. According to presence or absence of major adverse cardiovascular events (MACE) during hospitalization, patients with AMI were divided into the MACE group and the non-MACE group. The levels of serum MMP-8, sST2 and Myo were compared between the two groups.

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(SBGJ2018013)

作者单位:1.周口市第二人民医院内科,河南,周口 466000

2.周口市中心医院心内科,河南,周口 466000

\*通信作者:程勇, E-mail: fylw2@163.com

The predictive value of serum MMP-8, sST2 and Myo for MACE after PCI was analyzed by the receiver operator characteristic (ROC) curves. **Results** The levels of serum MMP-8, sST2 and Myo in the observation group before PCI were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). After PCI, the levels of serum MMP-8, sST2 and Myo in the observation group were significantly lower than those before PCI, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). Before PCI, the levels of serum MMP-8, sST2 and Myo in the MACE group were significantly higher than those in the non-MACE group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The sensitivity of combined detection of serum MMP-8, sST2, and Myo before PCI to predict MACE after PCI was 92.59%, which was significantly better than the diagnosis alone ( $P<0.05$ ). **Conclusion** After PCI, the serum levels of MMP-8, sST2 and Myo in AMI patients are significantly reduced. The clinical detection of the three serum levels at the same time can improve the predictive value of the occurrence of MACE.

**[KEY WORDS]** Acute myocardial infarction; Percutaneous coronary intervention; Matrix metalloproteinase-8; Soluble suppression of tumorigenicity 2; Myoglobin; Major adverse cardiovascular event

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 为心血管科常见疾病, 主要由冠状动脉粥样硬化所致, 患者死亡率高, 已成为全球心血管疾病防治重点<sup>[1]</sup>。目前临床治疗 AMI 包括药物治疗 (如阿替普酶、低分子肝素等)、经皮冠状动脉介入 (percutaneous coronary intervention, PCI) 或外科手术, 其中 PCI 为微创手术, 其是通过向冠状动脉插入导管并对病变部位进行扩张, 疏通受堵塞的冠状动脉, 使心脏恢复血流<sup>[2-3]</sup>。PCI 在 AMI 患者救治中应用较多, 但是治疗后患者易发生主要不良心血管事件 (Major Adverse Cardiovascular Events, MACE), 增加患者治疗后死亡风险<sup>[4]</sup>。基质金属蛋白酶 8 (matrix metalloproteinase 8, MMP-8) 为间质胶原酶, 主要位于中性粒细胞中, 在机体炎症反应刺激下会释放进入血液<sup>[5]</sup>。可溶性人基质裂解素 2 (Soluble suppression of tumorigenicity-2, sST2) 在心肌机械牵张时可大量放出竞争性结合跨膜型 ST2 (Soluble suppression of tumorigenicity-2, ST2L), 继而影响 ST2L/白介素-33 (interleukin 33, IL-33) 的心脏保护作用<sup>[6]</sup>。肌红蛋白 (Myoglobin, Myo) 主要存在于心肌细胞中, 是一种小分子蛋白, 其在我心肌细胞损伤时被释放入血液中的速率快于肌钙蛋白等常规心肌指标<sup>[7]</sup>。本次研究以探讨患者 PCI 术前后血清 MMP-8、sST2、Myo 水平变化及临床意义, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院 2018 年 2 月至 2020 年 8 月收治的 105 例 AMI 患者作为观察组, 其中男 73 例, 女 32 例; 平均 (62.81±7.03) 岁。另选取同期于本院

体检的 50 例健康志愿者作为对照组, 男 35 例, 女 15 例; 平均 (63.49±6.85) 岁。两组性别、年龄构成比比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会批准通过, 受试者均签署知情同意书。

纳入标准: ①符合 AMI 相关诊断标准<sup>[8]</sup>; ②符合 PCI 手术要求, 于发病 24 h 内完成 PCI 手术; ③近 1 个月内无 AMI 病史; ④资料齐全。排除标准: ①合并肺、肝、肾功能不全; ②存在急慢性感染性疾病; ③脑血管病急性期; ④妊娠及哺乳女性; ⑤合并恶性肿瘤; ⑥有心肌炎、主动脉夹层或其他类型心脏病; ⑦有恶性血液病; ⑧存在自身免疫性疾病。

### 1.2 方法

分别采集对照组以及观察组 (术前、术后 3 d) 清晨空腹外周静脉血 5 mL 送检, 经 3 000 r/min 转速离心 15 min 后, 分离取上清液, 置于 -80℃ 冰箱中备检。采用酶联免疫吸附法测定血清 MMP-8、sST2、Myo 水平, 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 检测仪器为美国 THERMO FISHER MultiskanFC 酶标仪。

根据住院期间患者是否并发 MACE 将观察组分为发生组与未发生组, 其中 MACE 主要包括<sup>[9]</sup>: ①严重心率失常, 室性心动过速、室颤室扑以及房室传导阻滞; ②心源性死亡, 心脏泵功能衰竭导致血压下降、血流动力学改变。③泵功能二级及以上的心力衰竭, 有左心衰竭, 肺部啰音 <50% 或更多肺野。

### 1.3 统计学分析

以统计软件 SPSS19.0 软件进行数据处理, 计数资料以  $n(\%)$  表示, 采用  $\chi^2$  检验; 计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 采用  $t$  检验; 采用受试者工作曲线

(ROC)分析PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平对PCI术后MACE发生的预测价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 观察组PCI术前与对照组血清MMP-8、sST2、Myo水平比较

观察组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 观察组PCI术前与对照组血清MMP-8、sST2、Myo水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of serum MMP-8, sST2 and Myo levels between the observation group before PCI and the control group ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MMP-8 (ng/mL)	sST2 ( $\mu\text{g/L}$ )	Myo ( $\mu\text{g/L}$ )
观察组PCI术前	105	61.92 $\pm$ 9.35	28.43 $\pm$ 6.49	177.92 $\pm$ 38.25
对照组	50	27.23 $\pm$ 5.49	9.17 $\pm$ 2.73	54.23 $\pm$ 11.16
t值		24.291	20.126	22.382
P值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 观察组PCI术前与术后血清MMP-8、sST2、Myo水平比较

观察组PCI术后血清MMP-8、sST2、Myo水平均低于术前,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

表2 观察组PCI术前与术后血清MMP-8、sST2、Myo水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of serum MMP-8, sST2 and Myo levels in the observation group before and after PCI ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MMP-8 (ng/mL)	sST2 ( $\mu\text{g/L}$ )	Myo ( $\mu\text{g/L}$ )
观察组PCI术前	105	61.92 $\pm$ 9.35	28.43 $\pm$ 6.49	177.92 $\pm$ 38.25
观察组PCI术后	105	45.33 $\pm$ 7.08	19.52 $\pm$ 4.81	116.23 $\pm$ 25.44
t值		14.495	11.302	13.760
P值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 MACE组与无MACE组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平比较

根据是否并发MACE对观察组进行分组,分为MACE组27例和无MACE组78例。MACE组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平均高于无MACE组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

### 2.4 观察组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平对MACE的预测价值分析

PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo联合检测对PCI术后预测MACE的敏感度为92.59%,显著优于单独诊断( $P<0.05$ )。见表4、图1。

表3 MACE组与无MACE组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of serum MMP-8, sST2 and Myo levels between MACE group and non-MACE group before PCI ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MMP-8 (ng/mL)	sST2 ( $\mu\text{g/L}$ )	Myo ( $\mu\text{g/L}$ )
MACE组	27	72.57 $\pm$ 6.92	33.70 $\pm$ 4.81	204.51 $\pm$ 29.42
无MACE组	78	58.23 $\pm$ 8.41	26.61 $\pm$ 5.13	168.72 $\pm$ 32.18
t值		7.968	6.286	5.087
P值		<0.001	<0.001	<0.001

表4 观察组PCI术前血清MMP-8、sST2、Myo水平对MACE的预测价值

Table 4 The predictive value of serum MMP-8, sST2 and Myo levels for MACE in the observation group before PCI

指标	AUC	Cut-off	95%CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
MMP-8	0.769	68.14	0.665~0.873	81.48	58.97	<0.001
sST2	0.740	31.55	0.633~0.847	66.67	71.79	<0.001
Myo	0.729	187.29	0.610~0.847	77.78	62.82	0.001
三项联合	0.898		0.835~0.961	92.59	78.21	<0.001

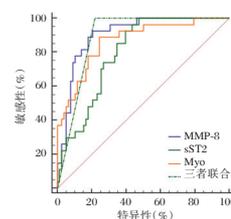


图1 ROC曲线图

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

调查显示,我国AMI发病率升高,且呈现出年轻化发展趋势<sup>[10-11]</sup>。AMI作为临床急症,对患者生命安全威胁极大,若无法及早诊治,将直接影响患者预后。PCI术能够有效治疗AMI患者,降低其死亡率。然而,AMI患者PCI术后MACE发生也会造成患者死亡,因此需早期预测MACE发生风险,而寻找能够准确评估MACE发生的生物标志物,则是心内科医学工作者探究要点。

MMPs家族是一类蛋白水解酶,MMP-8为该家族重要成员之一。2001年,MMP-8被发现在动脉粥样硬化斑块的內皮细胞和巨噬细胞中表达,因內皮细胞和巨噬细胞内的早期斑块长时间受到多种炎症因子刺激,继而合成和分泌MMP-8,使其释放、激活、参与到动脉粥样硬化进程中<sup>[12]</sup>。ST2为IL-1受体家族成员,可表达ST2L和sST2两种异构体蛋白产物。ST2L与IL-33结合后能够经

IL-33/ST2 信号通路抑制心肌肥厚,起到改善心肌重塑效果;但 sST2 会竞争性结合 IL-33,继而抑制心肌保护作用,使得心肌重构加速,影响心脏功能<sup>[13]</sup>。Myo 为氧结合血红蛋白,主要存在于哺乳动物肌细胞(包括心肌细胞和骨骼肌细胞等)中,具有存储及分配氧的作用<sup>[14]</sup>。Myo 分子量小,在心肌细胞发生损伤时会快速被释放出来,短时间(6 h~9 h)内即可达到峰值。

本研究结果显示观察组 PCI 术前血清 MMP-8、sST2、Myo 水平均显著高于对照组,观察组 PCI 术后血清 MMP-8、sST2、Myo 水平均显著低于术前。马丽书等<sup>[15]</sup>研究发现脑梗死颈动脉易损斑块者血清 MMP-8 水平明显高于非易损斑块者。马红利等<sup>[16]</sup>对 sST2 与 AMI 后心肌纤维化的关系进行研究,结果显示 sST2 水平对 AMI 后心力衰竭有一定诊断价值。雷蕾等<sup>[17]</sup>对 AMI 患者 Myo 水平进行研究,结果显示 AMI 患者血清 Myo 水平明显高于健康人。本研究显示 AMI 患者血清 MMP-8、sST2、Myo 水平明显升高,这些指标均参与了 AMI 的发生及发展,经 PCI 术治疗后,心脏功能改善,血清 MMP-8、sST2、Myo 水平也降低。

本研究结果提示血清 MMP-8、sST2、Myo 水平与 PCI 术后 MACE 发生有关。此外, MMP-8 和 AMI 后心肌重塑也存在关联性,其为左室重构独立预测因子,且发病时基线 MMP-8 水平和心血管死亡、心衰再住院几率呈正相关<sup>[18]</sup>。陈泽江等<sup>[19]</sup>研究分析血浆 sST2 水平对 AMI 患者 MACE 的评估价值,结果显示血浆 sST2 水平对 MACE 发生具有一定评估价值。Myo 虽然可以反映心肌受损,但是当骨骼肌损伤或者肾脏功能出现障碍时,血液中 Myo 水平也会明显升高。故而 Myo 对心肌损伤评估的特异度不高,一般需联合其他指标检测。本研究结果表明三者联合检测可提高对 PCI 术后 MACE 的预测效能。

综上所述,AMI 患者 PCI 术后血清 MMP-8、sST2、Myo 水平较术前下降,术前血清 MMP-8、sST2、Myo 水平可作为 AMI 患者 PCI 术后 MACE 发生的预测指标,且三者联合检测能够提高预测效能。

## 参考文献

[1] 胡圣大,陈光奇,曹明强,等.中性粒细胞/淋巴细胞比值与 AMI 患者 PPCI 术前后梗死相关冠状动脉血流状态的相关性[J].中国动脉硬化杂志,2018,26(12):90-94.  
[2] 李刚,朱春凯,郑培明. miR-499, miR-16, 肌红蛋白与常规心肌损伤标志物的关系及在急性心肌梗死早期诊断中的

价值[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(6):728-732.  
[3] 郭文飞,胡允兆,卢剑华,等.早期家庭运动心脏康复对急性心肌梗死经皮冠状动脉介入治疗术后患者心室功能的影响[J].广东医学,2018,39(13):2010-2014.  
[4] Choi DH, Kobayashi Y, Nishi T, et al. Combination of Mean Platelet Volume and Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predicts Long-Term Major Adverse Cardiovascular Events After Percutaneous Coronary Intervention[J]. Angiology, 2019, 70(4):345-351.  
[5] 苏佳,牛小斌,李永伟.血清 MMP-8/TIMP-1 水平与 ACS 患者心功能及预后的相关性分析[J].中国现代医学杂志,2019,29(2):76-81.  
[6] Raffaele A, Rana G, Ziad M, et al. Conflicting Vascular and Metabolic Impact of the IL-33/ST2 Axis[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(12):1578-1594.  
[7] Fan J, Ma J, Xia N, et al. Clinical value of combined detection of CK-MB, MYO, cTnI and plasma NT-proBNP in Diagnosis of acute myocardial infarction [J]. Clin laborat, 2017, 63(3):427-433.  
[8] 王雪莉,秦元山.心肌坏死标志物联合检测在急性心肌梗死早期诊断中的应用价值[J].现代医学,2017,45(10):1501-1503.  
[9] 林春.急性心肌梗死患者 PCI 术后在院期间发生心血管不良事件的相关因素分析[D].广东医学院,2017.  
[10] 陈凤英.急性 ST 段抬高心肌梗死的救治及中国经皮冠状动脉介入治疗指南(2016)要点解读[J].中华急诊医学杂志,2016,25(7):857-861.  
[11] 林春,陈关海,吴柱国.急性心肌梗死预后的影响因素[J].海南医学,2020,31(2):227-230.  
[12] 路铁晴.基质金属蛋白酶 8 和基质金属蛋白酶 9 基因多态性与冠状动脉粥样硬化性心脏病患病风险的相关性[J].新乡医学院学报,2018,35(8):685-689.  
[13] 贝雪艳,李军,曲忠慧,等.血浆 sST2 水平对老年心力衰竭患者死亡风险的评估价值[J].山东医药,2018,58(1):51-53.  
[14] 胡乐,曾红.床旁快速检测对早期急性心肌梗死诊断及预后的影响[J].中华急诊医学杂志,2019,28(6):791-794.  
[15] 马丽书,魏文贵,石小晶,等.脑梗死患者血清 MMP-8 和 MMP-9 水平与颈动脉易损斑块的关系研究[J].卒中与神经疾病,2017,24(6):537-539.  
[16] 马红利,彭瑜,李超,等. sST2 参与急性心肌梗死后心肌纤维化[J].中国动脉硬化杂志,2017,25(7):715-718.  
[17] 雷蕾,张娜.急性心肌梗死病人 c MyBP-C、cTnI、CK-MB 与 Myo 水平及其相关性分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(3):426-428.  
[18] Marie F, Gilles L, Annie T, et al. Serum MMP-8: A Novel Indicator of Left Ventricular Remodeling and Cardiac Outcome in Patients after Acute Myocardial Infarction [J]. Plos One, 2013, 8(8):e71280.  
[19] 陈泽江,黄修献,曾敏,等.血浆 sST2, cTn I, hs-CRP, NT-proBNP 水平对急性心肌梗死患者不良心血管事件的评估价值[J].东南大学学报(医学版),2019,38(5):843-847.

· 论 著 ·

## PON1、CD39/ATP轴对急性百草枯中毒预后的预测价值

张晓波<sup>1</sup> 吕晓丹<sup>2</sup> 周琴<sup>3</sup> 林媛珍<sup>4</sup> 李喆<sup>1</sup> 刘达<sup>5</sup> 吕立文<sup>1\*</sup>

**[摘要]** **目的** 探究对氧磷脂酶1(PON1)、CD39/三磷酸腺苷(ATP)轴在急性百草枯中毒(APP)患者中的水平变化,并分析其预测预后价值。**方法** 选取本院APP患者82例,根据90 d预后分为生存组(64例)与死亡组(18例),检测两组血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平,并分析其临床意义。**结果** 死亡组血浆PON1活性、血清ATP水平低于生存组,CD39细胞比例高于生存组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血浆PON1活性、血清ATP水平与中毒剂量( $r=-0.698$ 、 $-0.741$ )、中毒程度( $r=-0.749$ 、 $-0.725$ )呈负相关,CD39细胞比例与中毒剂量、中毒程度呈正相关( $r=0.665$ 、 $0.708$ ,  $P<0.05$ );血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平是APP预后的重要因素( $P<0.05$ );血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平预测APP预后的AUC均 $>0.7$ ,各指标联合预测的AUC最大,为0.920,具有较高预测效能。**结论** 血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP可作为预测APP患者预后的标志物。

**[关键词]** 急性百草枯中毒;对氧磷脂酶1;CD39/三磷酸腺苷轴

### The predictive value of PON1, CD39/ATP axis on the prognosis of acute paraquat poisoning

ZHANG Xiaobo<sup>1</sup>, LV Xiaodan<sup>2</sup>, ZHOU Qin, LIN Yuanzhen, LI Zhe, LIU Da, LV Liwen<sup>\*</sup>

(1. Department of Emergency, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, China, 530021; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, China, 530000; 3. Medical Record Room, Guangxi Zhuang Autonomous Region People's Hospital, Nanning, Guangxi, China, 530021; 4. Department of Respiratory Medicine, Guangxi People's Hospital, Nanning, Guangxi, China, 530021; 5. Department of Emergency, The Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, China, 530021)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the level changes of paraoxyphospholipase 1 (PON1) and CD39/adenosine triphosphate (ATP) axis in patients with acute paraquat poisoning (APP), and analyze their prognostic value. **Methods** Eighty-two APP patients in our hospital were selected and divided into the survival group (64 cases) and the death group (18 cases) according to the 90-day prognosis. The plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, and serum ATP level were detected in the two groups, and their clinical significance was analyzed. **Results** The plasma PON1 activity and serum ATP level of the death group were lower than those of the survival group, and the proportion of CD39 cells was higher than that of the survival group. The difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Plasma PON1 activity, serum ATP level and poisoning dose ( $r=-0.698$ ,  $-0.741$ ), the degree of poisoning ( $r=-0.749$ ,  $-0.725$ ) were negatively correlated, the proportion of CD39 cells was positively correlated with the dose of poisoning and the degree of poisoning ( $r=0.665$ ,  $0.708$ ,

项目名称:广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹经费科研课题(Z20170354)

作者单位:1. 广西壮族自治区人民医院急诊科,广西,南宁 530021

2. 广西医科大学第一附属医院检验科,广西,南宁 530000

3. 广西壮族自治区人民医院病案室,广西,南宁 530021

4. 广西壮族自治区人民医院呼吸科,广西,南宁 530021

5. 广西医科大学第二附属医院急诊科,广西,南宁 530021

\*通信作者:吕立文, E-mail: luekiil1886@163.com

$P < 0.05$ ). Plasma PON1 activity, the proportion of CD39 cells, and serum ATP level are important factors in the prognosis of APP ( $P < 0.05$ ). The AUC of plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, and serum ATP level predicts APP prognosis  $> 0.7$ , and the combination of each indicator is the largest, which is 0.920. **Conclusion** Plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, and serum ATP can be used as markers to predict the prognosis of APP patients.

**[KEY WORDS]** Acute paraquat poisoning; Paraoxonase-1; CD39/ATP axis

百草枯可经消化道、呼吸道、皮肤等吸收引起急性百草枯中毒 (Acute paraquat poisoning, APP)<sup>[1]</sup>。APP 通过在生物体内产生超氧阴离子导致机体氧化还原状态失衡,最终引起细胞发生氧化损伤而死亡,严重威胁患者生命健康,需及时给予有效救治<sup>[2]</sup>。新近报道<sup>[3]</sup>显示,早期评估患者病情、预测预后,可为临床决策和治疗提供指导。对氧磷脂酶 1 (Paraoxonase-1, PON1) 是一种能水解有机磷农药对氧磷的 A-酯酶,相关研究证实通过检测其活性有助于判断有机磷中毒患者的疾病严重程度和预后<sup>[4]</sup>。此外,CD39/三磷酸腺苷 (Adenosine triphosphate, ATP) 轴被证实与有机磷中毒病情及预后密切相关<sup>[5]</sup>。但上述指标是否与 APP 患者预后有关,目前少有研究报道。基于此,本研究尝试探究 PON1、CD39/ATP 轴在 APP 患者中的水平变化,并采用 ROC 曲线分析其预测预后价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院 2016 年 6 月至 2020 年 6 月 APP 患者 82 例,入院时均积极采取洗胃、导泄、中和毒素、保护脏器功能、利尿、杂合式血液净化等急救措施,根据中毒 90 d 预后分为生存组 (64 例) 与死亡组 (18 例)。两组性别、年龄、体质量指数 (Body mass index, BMI) 比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),死亡组中毒至就诊时间长于生存组,中毒剂量、中毒程度均高于生存组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

纳入标准:①均为口服百草枯中毒,服用剂量  $< 20$  mL;②尿液百草枯点滴实验检查为阳性;③首次中毒服用剂量  $< 20$  mL;④年龄 18~60 岁;⑤患者家

属知晓本研究,已签署同意书。排除标准:①入院时已无生命体征者;②精神疾病患者;③恶性肿瘤患者;④自身免疫性疾病、感染性疾病患者;⑤中毒前有严重心脑血管疾病、肝肾功能障碍者;⑥血液系统疾病患者;⑦妊娠或哺乳期女性。

### 1.2 方法

实验室指标检测:所有患者均于入院后立即采集外周静脉血 6 mL,取 2 mL 血液标本,离心处理取血浆,采用速率法测定血浆 PON1 活性,试剂盒购自武汉博欧特生物科技有限公司,仪器为日立 7170S 自动生化分析仪。取 2 mL 血液标本,采用艾森生物 (杭州) 有限公司生产的 NovoCyte D2061R 型流式细胞仪检测 CD39 细胞比例。取 2 mL 血液标本,离心处理取血清,采用酶联免疫吸附法测定血清 ATP 水平,试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司。中毒程度评估<sup>[6]</sup>:轻度、中度、重度。

### 1.3 统计学方法

数据处理采用 SPSS 22.0 软件;计数资料以  $n$  (%) 描述,采用  $\chi^2$  检验;计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  描述,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;相关性分析采用 Spearman 相关系数模型,预后的影响因素采用 COX 回归分析,预测效能分析采用受试者工作特征 (ROC) 曲线,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血浆 PON1 活性、CD39 细胞比例、血清 ATP 水平比较

死亡组血浆 PON1 活性、血清 ATP 水平较生存组低,CD39 细胞比例较生存组高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

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

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

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 (岁)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	中毒至就诊时间 (h)	中毒剂量 (mL)	中毒程度		
							轻度	中度	重度
生存组	64	29/35	43.65±8.17	23.71±2.49	8.85±2.90	8.52±3.57	23(35.94)	25(29.06)	16(25.00)
死亡组	18	7/11	46.17±6.91	24.26±2.37	11.34±2.71	12.37±4.25	2(11.11)	6(33.33)	10(55.56)
$\chi^2$ 值		0.235	1.193	0.836	3.263	3.874		2.480	
$P$ 值		0.628	0.237	0.406	0.002	<0.001		0.013	

表2 两组血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, and serum ATP level between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	血浆PON1活性 (U/mL)	CD39细胞比例 (%)	血清ATP (ng/L)
死亡组	18	54.39±18.06	36.13±12.02	10.37±3.41
生存组	64	82.52±27.31	23.67±7.85	17.55±5.82
t值		4.115	5.247	4.985
P值		<0.001	<0.001	<0.001

## 2.2 不同病情患者血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平

中毒剂量>50 mL患者血浆PON1活性、血清ATP水平低于中毒剂量≤50 mL患者,CD39细胞比例高于中毒剂量≤50 mL患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血浆PON1活性、血清ATP水平随中毒程度增加呈降低趋势,CD39细胞比例呈升高趋势,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 不同病情患者血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, and serum ATP level in patients with different conditions ( $\bar{x} \pm s$ )

病情	组别	n	血浆PON1活性 (U/mL)	CD39细胞比例 (%)	血清ATP (ng/L)
中毒剂量	≤10	50	86.47±20.51	23.14±6.26	18.77±5.18
	>10	32	60.54±26.09	31.52±10.20	11.60±3.63
	t值		5.016	4.616	6.824
	P值		<0.001	<0.001	<0.001
中毒程度	轻度	25	92.16±15.06	20.06±4.17	23.93±8.72
	中度	31	78.13±12.79	24.78±6.08	15.04±5.38
	重度	26	59.03±20.13	34.46±8.29	9.43±4.29
	F值		27.283	33.788	34.108
	P值		<0.001	<0.001	<0.001

## 2.3 血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平与中毒剂量、中毒程度的关系

相关性分析,血浆PON1活性、血清ATP水平与中毒剂量、中毒程度呈负相关,CD39细胞比例与中毒剂量、中毒程度呈正相关( $P<0.05$ )。见表4。

## 2.4 APP预后的影响因素

以APP预后作为因变量(生存=0,死亡=1),在控制中毒至就诊时间、中毒剂量、中毒程度等其他因素后,以入院时血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平作为因变量(以所有患者平均值为界:≤平均值=1,>平均值=2),COX回归分析,入院时血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平是APP预后的重要影响因素( $P<0.05$ )。见表5。

表4 血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平与中毒剂量、中毒程度的关系

Table 4 The relationship between plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, serum ATP level and poisoning dose and degree of poisoning

项目	中毒剂量		中毒程度	
	r值	P值	r值	P值
血浆PON1活性	-0.698	<0.001	-0.749	<0.001
CD39细胞比例	0.665	<0.001	0.708	<0.001
血清ATP	-0.741	<0.001	-0.725	<0.001

表5 APP预后的影响因素

Table 5 Factors affecting the prognosis of APP

变量	β值	S.E.值	Wald χ <sup>2</sup> 值	HR	95%CI	P值
血浆PON1活性	-1.181	0.313	14.243	0.307	0.117~0.805	<0.001
CD39细胞比例	1.651	0.467	12.499	5.212	3.296~8.243	<0.001
血清ATP	-1.257	0.309	16.557	0.284	0.108~0.749	<0.001

## 2.5 血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP水平对预后预测价值

以生存组为阴性样本,死亡组为阳性样本,绘制ROC曲线,结果显示,血浆PON1活性、CD39细胞比例、血清ATP三者联合预测预后的AUC为0.920,最佳预测敏感度为94.44%,特异度为78.12%。见图1、表6。

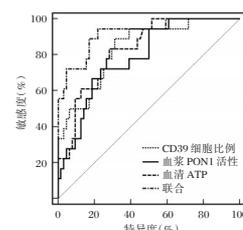


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

## 3 讨论

APP具有进展快、死亡率高的特点,临床多采取抗氧化剂、免疫抑制剂、血液灌注等缓解病情,虽取得了一定的成效,但患者预后并不理想<sup>[7]</sup>。越来越多的研究<sup>[8-9]</sup>显示,APP预后的相关因素较多,早期评价患者预后对辅助指导临床治疗具有重要意义。

APP发生后可引起机体产生炎症、氧化应激、免疫平衡破坏等一系列变化。PON1是一种抗氧化和抗炎物质,动物学研究<sup>[10]</sup>发现,PON1具有抗氧化及解救有机磷中毒性质,对有机磷中毒大鼠大脑皮层和海马区均具有保护作用。国外相关报道<sup>[11]</sup>表明PON1具有增强ChE的活性和乙酰胆碱

表6 血浆 PON1 活性、CD39 细胞比例、血清 ATP 水平对预后预测价值

Table 6 The prognostic value of plasma PON1 activity, CD39 cell ratio, and serum ATP level

指标	AUC	95%CI	Z值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
血浆 PON1 活性	0.786	0.682~0.869	5.079	≤63.78 U/mL	72.22	76.56	<0.001
CD39 细胞比例	0.835	0.737~0.908	6.442	> 26.67%	88.89	68.75	<0.001
血清 ATP	0.830	0.731~0.904	6.773	≤14.22 ng/L	83.33	71.87	<0.001
联合	0.920	0.839~0.969	11.104		94.44	78.12	<0.001

的水解的作用,可缓解有机磷中毒症状,或许能为临床救治有机磷中毒提供新途径。本研究发现,预后为死亡 APP 患者入院时的血浆 PON1 活性明显低于预后为生存患者,提示 PON1 可能参与 APP 的病情进展。APP 患者入院时血浆 PON1 活性越低,其增强 ChE 的活性和乙酰胆碱的水解的作用随之减弱,抗氧化和抗炎作用也降低,致使毒性物质、炎性因子等对机体组织器官的损害加重,从而增加患者病死率。CD39/ATP 轴被证实与炎症反应的发生发展密切相关<sup>[12]</sup>。本研究还发现,预后为死亡 APP 患者入院时的血清 ATP 水平明显低于预后为生存患者,而 CD39 细胞比例高于预后为生存患者,提示 CD39/ATP 轴变化可能参与 APP 预后转归。ATP 是一种内源性危险信号,可激活相关炎性小体,并大量释放白细胞介素 1 $\beta$ 、白细胞介素 18 等促炎因子,加重炎症反应<sup>[13]</sup>。CD39 是表达于树突状细胞等细胞膜表面的胞外核苷酸水解酶,具有水解 ATP 的作用,从而抑制危险信号 ATP 的促炎效应<sup>[14]</sup>。APP 发生后,机体内炎症反应明显增加,为抑制炎症反应,机体大量释放 CD39 细胞,中毒症状越严重,CD39 细胞释放量越大,其对 ATP 的水解作用越强。本研究通过相关性分析,发现血浆 PON1 活性、血清 ATP 水平与中毒剂量、中毒程度呈负相关,CD39 细胞比例与中毒剂量、中毒程度呈正相关,与上述分析相符,证实了 PON1、CD39/ATP 轴与 APP 病情程度密切相关。

此外,本研究发现入院时血浆 PON1 活性、CD39 细胞比例、血清 ATP 水平仍是 APP 预后的重要影响因素。因本实验中对口服患者采用积极的抢救措施,并服用的量均<20 mL,故本实验中死亡率较低。

综上所述,血浆 PON1 活性、CD39 细胞比例、血清 ATP 水平与 APP 患者病情及预后密切相关,早期检测各指标可为临床预测 APP 患者预后提供一定参考。但本研究存在样本量较少的不足,仍需通过多中心研究进一步验证。

## 参考文献

- [1] Kumar TS, Ranjan MR, Smita D. Paraquat Poisoning[J]. J Assoc Physicians India, 2019, 67(11): 70-71.
- [2] 王鹏桦. 血必净注射液联合杂合式血液净化疗法对急性百草枯中毒患者的临床研究[J]. 首都食品与医药, 2020, 27(16): 75.
- [3] 康莹, 刘玉环, 王华丽. PA-aO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> 和 Lac 水平与急性百草枯中毒患者的预后的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1): 51-54.
- [4] 胡大碧, 黄彪, 何婕, 等. 硫普罗宁辅助治疗急性有机磷中毒的疗效及其对肝功能和外周血对氧磷酶 1 表达的影响[J]. 中国药师, 2019, 22(7): 1268-1271.
- [5] 陆伟荣, 吴先正. 有机磷中毒患者 CD39/ATP 轴表达与预后相关性研究[J]. 中国预防医学杂志, 2018, 19(8): 618-620.
- [6] 兰蓉. 急性有机磷农药中毒患者血清 AST, cTnI, ChE 水平变化及其与病情严重程度相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(4): 580-584.
- [7] Somu B, Halkur Shankar S, Baitha U, et al. Paraquat poisoning[J]. QJM, 2020, 113(10): 752.
- [8] 刘景艳. 急性百草枯中毒预后相关因素[J]. 中国工业医学杂志, 2021, 34(1): 48-50, 54.
- [9] 兰超, 许能媛, 孟醒, 等. 基于肌酸激酶同工酶等肺外多因素预测 641 例急性百草枯中毒预后价值研究[J]. 中华急诊医学杂志, 2020, 29(1): 112-120.
- [10] 郭镇豪, 吴泽扬, 李琦, 等. 兔血清对氧磷酶 1 对敌敌畏中毒大鼠大脑组织的保护作用[J]. 中国医科大学学报, 2018, 47(9): 778-782.
- [11] Iyengar ARS, Pande AH. Is Human Paraoxonase 1 the Saviour Against the Persistent Threat of Organophosphorus Nerve Agents[J]. Protein Pept Lett, 2019, 26(7): 471-478.
- [12] 陈毅斐. 白介素-27 作用于树突状细胞 CD39/ATP 轴参与调控哮喘小鼠气道炎症和气道高反应性的机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2017.
- [13] da Silva JLG, Passos DF, Bernardes VM, et al. ATP and adenosine: Role in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Immunol Lett, 2019, 101(214): 55-64.
- [14] Li XY, Moesta AK, Xiao C, et al. Targeting CD39 in Cancer Reveals an Extracellular ATP- and Inflammasome-Driven Tumor Immunity[J]. Cancer Discov, 2019, 9(12): 1754-1773.

· 论 著 ·

## CD47、8-OHDG、Adropin 蛋白对急性脑出血 90 d 临床预后的预测价值

苟志勇\* 谭华 朱黎 蒋正方

**[摘要]** 目的 探究 CD47、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHDG)、Adropin 蛋白对急性脑出血 90 d 临床预后的预测价值。方法 选取本院 90 例急性脑出血患者,根据 90 d 临床预后分为预后良好组(21 例)与预后不良组(69 例),分析 CD47、8-OHDG、Adropin 蛋白预测 90 d 临床预后的价值。结果 预后不良组血肿液 CD47、血清 8-OHDG 水平高于预后良好组,Adropin 蛋白水平低于预后良好组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );血肿液 CD47、血清 8-OHDG 与出血量、神经功能损伤程度、破入脑室呈正相关,Adropin 蛋白与出血量、神经功能损伤程度、破入脑室呈负相关( $P < 0.05$ );将其他因素控制后,血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白仍与 90 d 临床预后显著相关( $P < 0.05$ );三者联合预测 90 d 临床预后的 AUC 为 0.950,95%CI: 0.883~0.985,敏感度为 95.24%,特异度为 85.51%,优于单独预测( $P < 0.05$ )。结论 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白能有效反映急性脑出血病情状况,联合检测可作为预测短期预后的重要途径。

**[关键词]** 急性脑出血; CD47; 8-羟基脱氧鸟苷; Adropin 蛋白; 临床预后

### Predictive value of CD47, 8-OHDG and adropin protein on the clinical prognosis of acute cerebral hemorrhage at 90 days

GOU Zhiyong\*, TAN Hua, ZHU Li, JIANG Zhengfang

(Department of Neurosurgery, Sichuan Mianyang 404 Hospital, Mianyang, Sichuan, China, 621000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the predictive value of CD47, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHDG) and adropin protein on the clinical prognosis of acute cerebral hemorrhage at 90 days. **Methods** Ninety patients with acute cerebral hemorrhage in our hospital were selected and divided into a good prognosis group (21 cases) and a poor prognosis group (69 cases) according to the 90-day clinical prognosis. The value of CD47, 8-OHDG and adropin protein in predicting the clinical prognosis of 90 days was analyzed. **Results** The levels of hematoma fluid CD47 and serum 8-OHDG in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group, and the adropin protein level was lower than that in the good prognosis group ( $P < 0.05$ ). Hematoma fluid CD47 and serum 8-OHDG were positively correlated with bleeding volume, nerve function damage, and penetration into the ventricle, and adropin protein was negatively correlated with bleeding volume, nerve function damage, and penetration into the ventricle ( $P < 0.05$ ). After controlling for other factors, CD47 in hematoma fluid, serum 8-OHDG, and adropin protein were still significantly related to the 90-day clinical prognosis ( $P < 0.05$ ). The AUC of the three combined predictions of the 90-day clinical prognosis was 0.950, 95% CI was 0.883-0.985, the sensitivity was 95.24%, and the specificity was 85.51%, which was better than the individual prediction ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Hematoma fluid CD47, serum 8-OHDG, and adropin protein can effectively reflect the condition of acute cerebral hemorrhage, and combined detection is an important way to predict short-term prognosis.

**[KEY WORDS]** Acute cerebral hemorrhage; CD47; 8-hydroxydeoxyguanosine; Adropin protein; Clinical prognosis

基金项目:四川省科技计划项目(2017JY0035)

作者单位:四川绵阳四〇四医院神经外科,四川,绵阳 621000

\*通信作者:苟志勇, E-mail:gztygx101@163.com

急性脑出血属于临床常见脑卒中类型之一,约占所有脑卒中的20%~30%,具有高发病率、高致残率、高病死率,预后比缺血性脑卒中差<sup>[1]</sup>。CD47是整合素相关蛋白,既往有研究证实参与局灶性脑缺血生理病理过程<sup>[2]</sup>。8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHDG)属于DNA氧化应激损伤因子,可直接参与神经缺损过程,在神经疾病、脑损伤发生发展中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。Adropin蛋白是一种分泌性蛋白,能调节能量平衡基因,与冠心病、心力衰竭、脑卒中等多种心脑血管疾病密切相关<sup>[4]</sup>。但目前关于三者与急性脑出血的关系仍有待验证。为此,本研究尝试探究CD47、8-OHDG、Adropin蛋白在急性脑出血患者中的水平变化,并明确其对预后的预测价值,旨在为临床及早制定防治措施提供相关依据。报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院2017年7月至2020年1月90例急性脑出血患者,根据90 d临床预后分为预后良好组(21例)与预后不良组(69例)。预后良好组男12例,女9例,年龄平均(62.57±4.18)岁,出血量:小量出血2例,中量出血7例,大量出血12例,神经功能缺损程度:轻度3例,中度4例,重度14例,其中破入脑室14例。预后不良组男39例,女30例,年龄平均(61.95±3.78)岁,出血量:小量出血31例,中量出血33例,大量出血5例,神经功能缺损程度:轻度28例,中度32例,重度9例,其中破入脑室16例。

纳入标准:①头颅MRI或CT检查可见脑出血病灶,并结合临床症状体征确诊为脑出血;②均为基底节区出血;③为首次发病;均具备血肿清除术指征;④患者及家属均知情,签订知情承诺书。排除标准:①既往有脑出血病史者;②存在恶性肿瘤、免疫疾病、急慢性感染疾病者;③合并慢性传染病者。

### 1.2 方法

两组入院后均给予控制血压、血糖,降低颅内压、营养神经等基础治疗,并根据出血量、是否破入脑室等病情选择合理血肿清除术治疗。

#### 1.2.1 检测方法

术前采集外周血5 mL,手术时采集血肿液5 mL,均于常温静置2 h后行离心处理,3 000 r/min,5 min,取上清液,保存于-80℃恒温冰箱内,待检。采用酶联免疫吸附法检测血肿液CD47、血清

Adropin蛋白水平,化学发光免疫法检测血清8-OHDG水平,试剂盒购自华美生物工程有限公司,均按照试剂盒说明书操作。

#### 1.2.2 临床特征判断方法

出血量采用多田式计算公式<sup>[5]</sup>进行计算,<30 mL为小量出血,30~50 mL为中量出血,>50 mL为大量出血;神经功能缺损程度采用美国国立卫生研究院卒中量表(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)<sup>[6]</sup>评分评估,1~4分为轻度损伤,5~20分为中度损伤,>20分为重度损伤。

#### 1.2.3 预后判定方法

采用格拉斯哥预后(Glasgow Outcome Score, GOS)评分<sup>[7]</sup>判定90 d临床预后,1~3分为预后不良,4~5分为预后良好。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )描述,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, $\chi^2$ 检验;各指标与90 d临床预后的关系采用多元线性回归分析;相关性采用Spearman/Pearson相关系数模型分析;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血肿液CD47、血清8-OHDG、Adropin蛋白水平比较

预后不良组血肿液CD47、血清8-OHDG水平高于预后良好组,Adropin蛋白水平低于预后良好组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组血肿液CD47、血清8-OHDG、Adropin蛋白水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of CD47 in hematoma fluid, 8-OHDG and adropin in serum between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	CD47 (pg/mL)	8-OHDG (pg/mL)	Adropin蛋白 (μg/mL)
预后不良组	21	172.34±41.85	57.43±16.06	1.30±0.32
预后良好组	69	126.19±30.37	42.61±13.24	2.44±0.80
<i>t</i> 值		5.556	4.269	6.357
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 不同临床特征患者血肿液CD47、血清8-OHDG、Adropin蛋白水平

不同年龄、性别患者血肿液CD47、血清8-OHDG、Adropin蛋白水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );血肿液CD47、血清8-OHDG水平随

出血量、神经功能损伤程度增加呈逐渐升高趋势, Adropin 蛋白水平呈逐渐下降趋势( $P<0.05$ ), 破入脑室患者血肿液 CD47、血清 8-OHDG 水平高于未破入脑室患者, Adropin 蛋白水平低于未破入脑室患者( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 不同临床特征患者血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Comparison of CD47, 8-OHDG and adropin protein levels in hematoma fluid of patients with different clinical characteristics ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	CD47 (pg/mL)	8-OHDG (pg/mL)	Adropin 蛋白 ( $\mu\text{g/mL}$ )
年龄				
<60 岁	36(40.00)	134.22±31.10	45.48±5.51	2.13±0.52
≥60 岁	54(60.00)	138.79±36.52	46.46±6.22	2.20±0.48
<i>t</i> 值		0.616	0.766	0.656
<i>P</i> 值		0.539	0.446	0.514
性别				
男	51(56.67)	135.73±28.94	46.65±5.18	2.19±0.50
女	39(43.33)	138.57±30.64	45.31±6.35	2.14±0.43
<i>t</i> 值		0.450	1.102	0.499
<i>P</i> 值		0.654	0.273	0.619
出血量				
小量出血	33(36.67)	120.14±22.15	40.87±5.53	2.42±0.34
中量出血	40(44.44)	138.20±26.08	47.10±6.02	2.18±0.26
大量出血	17(18.89)	166.69±33.79	53.74±7.48	1.66±0.22
<i>F</i> 值		17.562	25.604	39.696
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001
神经功能损伤程度				
轻度	31(34.44)	117.52±23.84	41.23±5.03	2.47±0.30
中度	36(40.00)	137.85±27.11	46.18±5.78	2.26±0.23
重度	23(25.56)	161.77±35.16	52.42±7.24	1.62±0.18
<i>F</i> 值		16.103	23.349	82.954
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001
是否破入脑室				
未破入脑室	60(66.67)	122.48±38.14	41.39±7.28	2.36±0.55
破入脑室	30(33.33)	165.92±43.29	55.43±10.66	1.79±0.37
<i>t</i> 值		4.868	7.350	5.120
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白与临床特征相关性

相关性分析, 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白与急性脑出血患者年龄、性别无明显相关性( $P>0.05$ ); 血肿液 CD47、血清 8-OHDG 与出血量、神经功能损伤程度、破入脑室呈正相关, Adropin 蛋白与出血量、神经功能损伤程度、破入脑室呈负相关( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.4 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白与 90 d 临床预后的关系

多元线性回归分析, 将出血量、神经功能损伤程度、破入脑室等其他因素控制后, 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白仍与 90 d 临床预后(GOS 评分)显著相关( $P<0.05$ )。见表 4。

表 3 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白与临床特征相关性

Table 3 Correlation between CD47 in hematoma fluid, 8-OHDG and adropin in serum and clinical features

项目	血肿液 CD47		血清 8-OHDG		Adropin 蛋白	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
年龄	0.142	0.867	0.165	0.821	0.139	0.880
性别	0.138	0.878	0.158	0.839	0.144	0.871
出血量	0.712	<0.001	0.730	<0.001	-0.711	<0.001
神经功能损伤程度	0.803	<0.001	0.795	<0.001	-0.805	<0.001
破入脑室	0.694	<0.001	0.738	<0.001	-0.704	<0.001

表 4 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白与 90 d 临床预后的关系

Table 4 the relationship between hematoma fluid CD47, serum 8-OHDG, adropin protein and 90 day clinical prognosis

自变量	偏回归系数	标准误差	偏回归系数 (标准化)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
常量	-5.417				
CD47	0.802	0.064	0.813	12.531	<0.001
8-OHDG	0.683	0.048	0.701	14.229	<0.001
Adropin 蛋白	-0.624	0.055	-0.657	-11.345	<0.001

### 2.5 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白对 90 d 临床预后的预测价值

ROC 曲线显示, 血肿液 CD47、血清 8-OHDG、Adropin 蛋白预测 90 d 临床预后的 AUC 分别为 0.835、0.752、0.810, 三者联合预测 90 d 临床预后的 AUC 为 0.950, 95%CI 为 0.883~0.985, 敏感度为 95.24%, 特异度为 85.51%, 优于单独预测( $P<0.05$ )。见图 1。

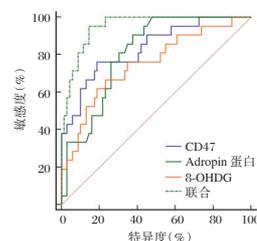


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

据统计, 急性脑出血患者 3 个月内遗留神经功能障碍的发生率高达 30%, 严重影响患者生存质量及日常生活能力<sup>[8-9]</sup>。因此, 探索可靠指标及早评估病情、预测预后成为临床亟需解决的重要课题。

CD47 属于免疫球蛋白超家族, 参与神经生理病理发生发展过程。本研究结果显示, CD47 在急性脑出血患者血肿液中的表达量与出血量、神经功能缺损程度、破入脑室等临床特征显著相关。

结合王玉双等<sup>[10]</sup>报道考虑原因在于:CD47在急性脑出血发生后会上调基质金属蛋白酶-9表达,损伤血脑脊液屏障,促使颅内神经炎症浸润、扩散;CD47表达升高会促使神经元细胞凋亡,促使神经功能缺损不断加重;且脑出血后形成血肿是造成脑损伤、神经功能障碍的始动因素,而CD47能调节巨噬细胞、红细胞,表达降低可减轻脑水肿,在血肿清除中发挥重要作用。

8-OHDG作为内外源DNA氧化损伤的标志物,可阻滞细胞增殖,还可激活氧自由基或羟基自由基,诱导神经系统发生氧化应激反应,促使神经细胞线粒体受损,造成神经细胞凋亡。闫海光等<sup>[11]</sup>研究显示,血清8-OHDG在脑出血患者中异常升高。在此基础上,本研究结果提示其参与急性脑出血病情进展过程。推测是因急性脑出血继发氧化性损伤,产生氧化应激反应,造成大量ROS合成,导致机体抗氧化防御机制被破坏,从而加重脑组织损伤,8-OHDG在ROS氧化作用下大量合成、分泌、释放,进一步扩大氧化应激反应,上调凋亡诱导因子表达,加快神经细胞凋亡,破坏神经细胞及轴突功能,造成神经功能进行性缺损<sup>[12]</sup>。在控制其他因素后,血清8-OHDG与预后显著相关,可见临床能通过检测血清8-OHDG水平为预测预后提供有效信息。

Adropin蛋白是由76个氨基酸构成的分泌蛋白,涉及代谢适应、能量稳态、血管内皮增殖、迁移、微血管样结构形成等方面,具有血管保护作用<sup>[13]</sup>。既往有研究证实,Adropin蛋白参与高血压脑出血过程,其血清水平在高血压脑出血中呈异常降低状态<sup>[14]</sup>。本研究表明,血清Adropin蛋白不仅与出血量、神经功能缺损程度、破入脑室显著相关,还对预后具有重要影响。究其原因,Adropin蛋白可通过抑制ROCK-MLC2通路传导途径,避免或减轻血管内皮屏障功能损伤,还可经由介导Notch1/Hes1通路保护血脑屏障,从而达到保护神经功能的目的<sup>[15]</sup>。且本研究将出血量、神经功能缺损程度、破入脑室控制后发现,血清Adropin蛋白仍与预后显著相关,提示其可能具有预测预后作用。

此外,本研究初次尝试探究三者联合预测预后价值,结果表明,三者联合预测价值显著优于单独预测,且与既往临床采用量表、评分等工具预测预后相比,上述指标具有采集方便、客观准确等优势,可作为临床预测预后的优选方式。但本研究未详细分析血肿液CD47、血清8-OHDG、Adropin蛋白对急性脑

出血远期预后的影响,需做进一步分析与探究。

综上可知,血肿液CD47、血清8-OHDG、Adropin蛋白与急性脑出血患者出血量、神经功能缺损程度、破入脑室等病情状况密切相关,联合检测可作为预测短期预后的重要途径。

## 参考文献

- [1] 李子艳,冯兴丽,毕阳,等. TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 与脑出血患者神经细胞凋亡关系研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2018, 26(11):690-695.
- [2] Chen S, Mei S, Hu X. Letter by Chen et al. Regarding Article, "Enhancement of Hematoma Clearance With CD47 Blocking Antibody in Experimental Intracerebral Hemorrhage" [J]. Stroke, 2019, 50(9):e265.
- [3] 张旭铭,刘静,潘志尧,等. 缺氧缺血性脑病患儿血清8-OHDG、VILIP-1和NSE水平变化及其与NBNA评分的相关性分析[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(11):1779-1782.
- [4] Yang C, DeMars KM, Candelario-Jalil E. Age-Dependent Decrease in Adropin is Associated with Reduced Levels of Endothelial Nitric Oxide Synthase and Increased Oxidative Stress in the Rat Brain [J]. Aging Dis, 2018, 9(2):322-330.
- [5] 徐兴华,陈晓雷,张军,等. 多田公式计算脑内血肿体积的准确性和可靠性[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2015, (2):87-91.
- [6] Runde D. Calculated Decisions: National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) [J]. Emerg Med Pract, 2019, 21(Suppl 6):CD1-CD3.
- [7] Yeatts SD, Martin RH, Meurer W, et al. Sliding Scoring of the Glasgow Outcome Scale-Extended as Primary Outcome in Traumatic Brain Injury Trials [J]. J Neurotrauma, 2020, 37(24):2674-2679.
- [8] 王丹,王新志,陈婧,等. 早期免疫营养干预对高血压脑出血患者免疫功能影响[J]. 华南预防医学, 2019, 45(6):540-543.
- [9] 吴鲲鹏,韦程,何同. D-二聚体联合血栓弹力图对急性脑出血患者出血量及死亡风险的评估[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11):1461-1465.
- [10] 王玉双,刘振川,贺峰,等. CD47与高血压性脑出血临床表现的相关性研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2019, 27(7):425-429.
- [11] 闫海光,唐广海,初照成. 脑出血患者血清8-OHDG、VILIP-1水平变化及临床意义[J]. 山东医药, 2020, 60(25):18-21.
- [12] 王晓凤, Tulantched Mingina Steve.D, 杜国强, 等. 血清8-OHDG水平和T-SOD活力在脑梗塞和脑出血诊断中的价值[J]. 解剖科学进展, 2019, 25(6):618-621, 625.
- [13] 张泽骅,任明. Adropin蛋白在心血管疾病中的临床研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2018, 20(2):205-207.
- [14] 乔卫东,江振忠,云望,等. 血清Adropin蛋白与高血压脑出血患者病情严重程度及预后的相关性分析[J]. 中风与神经疾病杂志, 2020, 37(2):104-107.
- [15] Yu L, Lu Z, Burchell S, et al. Adropin preserves the blood-brain barrier through a Notch1/Hes1 pathway after intracerebral hemorrhage in mice [J]. J Neurochem, 2017, 143(6):750-760.

## TG/HDL-C、TM与老年股骨颈骨折术后DVT易感性关系及诊断价值

焦义 杨治涛\* 罗伦 程环宇

**[摘要]** **目的** 探讨三酰甘油与高密度脂蛋白胆固醇比值(TG/HDL-C)、血栓调节蛋白(TM)在老年股骨颈骨折术后深静脉血栓形成(DVT)患者的诊断价值。**方法** 选取2015年1月至2020年1月本院收治的102例行股骨颈骨折手术老年患者,根据术后是否发生DVT分为DVT组( $n=24$ )、无DVT组( $n=78$ ),比较两组基线资料、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、TG/HDL-C、TM水平,分析上述指标与Caprini血栓风险因素量表关系以及各指标与DVT易感性关系,评价各指标诊断DVT价值,并比较不同TG/HDL-C、TM水平患者DVT发生率。**结果** DVT组TG、TG/HDL-C、TM高于无DVT组,HDL-C低于无DVT组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。TG、TG/HDL-C、TM与Caprini血栓风险因素量表评分呈正相关,HDL-C与Caprini血栓风险因素量表评分呈负相关( $P<0.05$ )。将糖尿病、术中输血控制后,TG/HDL-C、TM仍与Caprini血栓风险因素量表评分相关( $P<0.05$ )。TG/HDL-C联合TM诊断DVT的AUC最大,为0.883( $P<0.05$ )。TG/HDL-C、TM高危患者DVT发生率高于低危患者( $P<0.05$ )。**结论** TG/HDL-C、TM升高可能提高老年股骨颈骨折术后DVT易感性,联合检测上述指标有助于提高老年股骨颈骨折术后DVT诊断效能。

**[关键词]** 三酰甘油;高密度脂蛋白胆固醇;血栓调节蛋白;老年;股骨颈骨折术;深静脉血栓形成

### The relationship between TG/HDL-C, TM and the susceptibility of postoperative DVT of elderly patients with femoral neck fractures and their diagnostic value

JIAO Yi, YANG Zhitao\*, LUO Lun, CHENG Huanyu

[Department of Orthopedics, Fuyang Women and Children's Hospital (Fuyang Sixth People's Hospital), Fuyang, Anhui, China, 236000]

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression of triacylglycerol to high-density lipoprotein cholesterol ratio (TG/HDL-C) and thrombomodulin (TM) in elderly patients with deep vein thrombosis (DVT) after femoral neck fracture surgery, and to analyze the diagnostic value of the combination of the two for postoperative DVT, and provide scientific guidance for clinical prevention and treatment. **Methods** A total of 102 elderly patients undergoing femoral neck fracture surgery admitted to our hospital from January 2015 to January 2020 were selected. According to whether DVT occurred after operation, they were divided into the DVT group ( $n=24$ ) and the no DVT group ( $n=78$ ). The baseline data, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), TG/HDL-C, and TM levels were compared between the two groups. The relationship between the above indicators and the Caprini Thrombosis Risk Factor Scale and the relationship between each indicator and DVT susceptibility were analyzed. The value of each indicator in diagnosing DVT was evaluated, and the incidence of DVT in patients with different TG/HDL-C and TM levels was compared. **Results** The TG, TG/HDL-C and TM in the DVT group were higher than those in the no DVT group, and HDL-C was lower than the no DVT group ( $P<0.05$ ). TG, TG/HDL-C, TM were positively correlated with the Caprini Thrombosis Risk Factor Scale score,

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021b063)

作者单位:阜阳市妇女儿童医院(阜阳市第六人民医院)骨科,安徽,阜阳 236000

\*通信作者:杨治涛, E-mail: fuyangyzt@sina.com

and HDL-C was negatively correlated with the Caprini Thrombosis Risk Factor Scale score ( $P<0.05$ ). After diabetes and intraoperative blood transfusion were controlled, TG/HDL-C and TM were still correlated with the Caprini Thrombosis Risk Factor Scale score ( $P<0.05$ ). The AUC of TG/HDL-C combined with TM in the diagnosis of DVT was the largest, which was 0.883 ( $P<0.05$ ). The incidence of DVT in high-risk patients with TG/HDL-C and TM was higher than that in low-risk patients ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Elevated TG/HDL-C and TM may increase the susceptibility of elderly patients with femoral neck fracture surgery to DVT. Combined detection of the above indicators will help improve the diagnostic efficiency of elderly patients with femoral neck fracture surgery.

**[KEY WORDS]** Triacylglycerol; High-density lipoprotein cholesterol; Thrombomodulin; Elderly; Femoral neck fracture surgery; Deep vein thrombosis

手术是治疗股骨颈骨折主要手段,但部分患者术后易并发深静脉血栓形成(deep vein thrombosis, DVT),相关研究认为,大于60岁老年股骨颈骨折患者是DVT发生的高危人群,45%~85%老年患者术后存在DVT临床症状<sup>[1-3]</sup>。目前有研究表明<sup>[4]</sup>,导致动脉粥样硬化发生危险因素可能在DVT形成过程中起着重要作用。三酰甘油(triacylglycerides, TG)与高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)比值已被证实参与动脉粥样硬化性疾病发生、发展<sup>[5]</sup>,但关于其在老年股骨颈骨折术后DVT患者中的表达临床尚未完全明确。另有研究指出<sup>[6]</sup>,血液高凝状态亦是术后DVT形成的重要因素之一。血栓调节蛋白(Thrombomodulin, TM)可反映内皮细胞活化情况,辅助凝血酶激活蛋白C系统,产生抗凝作用。本研究尝试探讨TG/HDL-C、TM与老年股骨颈骨折术后DVT易感性关系及诊断价值,旨在为临床防治DVT提供循证支持。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取2015年1月至2020年1月本院收治的102例行股骨颈骨折手术老年患者,其中女55例,男47例,年龄平均(71.34±2.04)岁;根据术后是否发生DVT分为DVT组( $n=24$ )、无DVT组( $n=78$ )。本院伦理委员会经审核评议同意本研究。

纳入标准:①DVT组均经上、下肢静脉彩色多普勒超声诊断仪和(或)静脉造影确诊;②两组均符合股骨颈骨折手术指征;年龄>60岁;闭合性骨折;均签署知情同意书。排除标准:①开放性或病理性或陈旧性骨折者;②术前超声检查提示DVT者;③合并严重血管、神经损伤或其他部位骨折者;④合并重度抑郁症、精神分裂症或其他精神疾病者。

### 1.2 方法

基线资料收集:设计调查问卷,收集所有研究对象年龄、性别、体质量指数、饮酒史、吸烟史、Garden分型<sup>[7]</sup>、既往病史、受伤原因、麻醉方式、骨折侧别、手术方式、手术时间、术中输血、Caprini血栓风险因素量表<sup>[8]</sup>评分等内容。DVT发生风险分为低危(0~1分)、中危(2分)、高危(3~4分)、极高危( $\geq 5$ 分)4个等级。

生化指标检测:术后3d空腹取外周静脉血8 mL,静置32 min后3 000 rpm离心12 min,取血清,-70℃低温保存。采用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司BS-600型全自动生化分析仪测定低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、HDL-C、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、TG,计算TG/HDL-C;采用德国西门子公司HISCL-5000化学发光仪测定血清TM水平。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )描述,两组间比较用 $t$ 检验;计数资料用 $n$ (%)表示, $\chi^2$ 检验;采用多元线性回归分析TG/HDL-C、TM与Caprini血栓风险因素量表的关系;采用Pearson相关系数模型分析TG、HDL-C、TG/HDL-C、TM与Caprini血栓风险因素量表评分的相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线得到曲线下面积(AUC),检验TG/HDL-C、TM对老年股骨颈骨折术后DVT的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组基线资料比较

两组年龄、性别、体质量指数、饮酒史、吸烟史、Garden分型、受伤原因、冠心病、高血压、麻醉方式、骨折侧别、手术方式、手术时间比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );DVT组糖尿病、术中输血、

Caprini 血栓风险因素量表评分与无 DVT 组比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

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

Table 1 Comparison of baseline data between 2 groups  $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

资料	DVT 组 ( $n=24$ )	无 DVT 组 ( $n=78$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄(岁)	72.46±5.06	70.99±5.23	1.213	0.228
性别(男/女)	13/11	34/44	0.826	0.363
体质量指数(kg/m <sup>2</sup> )	24.07±1.83	23.89±2.15	0.371	0.712
饮酒史	22(91.67)	72(92.31)	0.110	0.740
吸烟史	11(45.83)	30(38.46)	0.415	0.520
Garden 分型				
II	5(20.83)	12(15.38)	0.420	0.674
III	11(45.83)	38(48.72)		
IV	8(33.33)	28(35.90)		
受伤原因				
交通事故	13(54.17)	46(58.97)	0.240	0.887
跌倒伤	7(29.17)	19(24.36)		
高处坠落	4(16.67)	13(16.67)		
既往病史				
糖尿病	8(33.33)	7(8.97)	6.849	0.009
冠心病	2(8.33)	9(11.54)	0.004	0.947
高血压	3(12.50)	6(7.69)	0.099	0.753
麻醉方式				
全麻	15(62.50)	42(53.85)	0.558	0.455
腰硬联合麻醉	9(37.50)	36(46.15)		
骨折侧别				
左侧	14(58.33)	40(51.28)	0.366	0.545
右侧	10(41.67)	38(48.72)		
手术方式				
闭合复位动力髋螺钉	6(20.00)	15(18.07)	5.272	0.153
全髋关节置换	11(36.67)	37(44.58)		
人工股骨头置换	7(23.33)	26(31.33)		
术中输血	6(20.00)	5(6.02)		
手术时间(min)	98.68±24.68	91.57±22.06	1.343	0.183
Caprini 血栓风险因素量表评分(分)	8.34±2.29	6.11±1.05	6.664	<0.001

## 2.2 两组生化指标比较

两组 LDL-C、TC 比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); DVT 组 TG、TG/HDL-C、TM 高于无 DVT

组, HDL-C 低于无 DVT 组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

## 2.3 各指标与 Caprini 血栓风险因素量表关系

采用 Pearson 进行相关性分析, 结果显示, TG ( $r=0.586, P<0.001$ )、TG/HDL-C ( $r=0.720, P<0.001$ )、TM ( $r=0.578, P<0.001$ ) 与 Caprini 血栓风险因素量表评分呈正相关, HDL-C 与 Caprini 血栓风险因素量表评分呈负相关( $r=-0.619, P<0.001$ )。

## 2.4 偏相关性分析

将糖尿病、术中输血控制后, TG/HDL-C、TM 仍与 Caprini 血栓风险因素量表相关( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 偏相关性分析

Table 3 partial correlation analysis

影响因素	偏回归系数	标准误差	偏回归系数(标准化)	$t$ 值	$P$ 值
常量	6.852				
TG	1.036	0.876	1.007	1.183	0.614
HDL-C	-1.259	0.914	-1.139	1.377	0.509
TG/HDL-C	5.647	0.277	5.352	20.386	<0.001
TM	7.008	0.358	6.876	19.575	<0.001

## 2.5 各指标诊断 DVT 的 ROC

应用偏相关性分析筛选出的 TG/HDL-C、TM 作为源数据, 以 DVT 组为阳性样本, 以无 DVT 组为阴性样本, 构建 TG/HDL-C、TM 诊断 DVT 的 ROC 模型, 结果显示 TG/HDL-C 联合 TM 诊断 DVT 的 AUC 为 0.883, 优于单一检测( $P<0.05$ )。见表 4、图 2。

## 2.6 不同 TG/HDL-C、TM 水平患者 DVT 发生率

根据 ROC 分析 cut-off 值, 将患者分为 TG/HDL-C 高危( $>1.15$ )和低危( $\leq 1.15$ )、TM 高危( $>8.66$  IU/mL)和低危( $\leq 8.66$  IU/mL), 结果显示, TG/HDL-C、TM 高危患者 DVT 发生率高于低危患者( $P<0.05$ )。见表 5。

表 2 两组生化指标比较  $(\bar{x}\pm s)$

Table 2 Comparison of biochemical indexes between 2 groups  $(\bar{x}\pm s)$

组别	$n$	LDL-C(mmol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	TG/HDL-C	TM(IU/mL)
DVT 组	24	2.23±0.29	3.65±0.33	1.26±0.27	0.92±0.25	1.37±0.31	9.11±1.94
无 DVT 组	78	2.15±0.26	3.72±0.40	1.05±0.24	1.27±0.28	0.83±0.22	7.39±1.86
$t$ 值		1.283	0.779	3.639	5.485	9.494	3.922
$P$ 值		0.203	0.438	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 ROC 分析结果

Table 4 ROC analysis results

指标	AUC	95%CI	cut-off 值	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)	$P$ 值
TG/HDL-C	0.804	0.714-0.876	>1.15	66.67	84.62	80.39	<0.001
TM	0.752	0.657-0.832	>8.66 IU/mL	70.83	70.51	70.59	<0.001
联合	0.883	0.804-0.938		72.65	89.74	86.27	<0.001

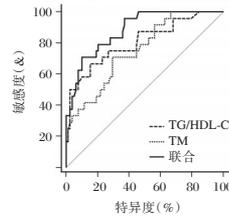


图2 各指标诊断DVT的ROC

Figure 2 roc of DVT diagnosed by each index

表5 不同TG/HDL-C、TM水平患者DVT发生率 [n(%)]

Table 5 The incidence of DVT in patients with different TG/HDL-C and TM levels [n(%)]

指标	例数	DVT	无DVT	$\chi^2$ 值	P值
TG/HDL-C	高危	16(38.10)	26(61.90)	8.419	0.004
	低危	8(13.33)	52(76.67)		
TM	高危	17(36.17)	30(63.83)	7.741	0.005
	低危	7(12.73)	48(87.27)		

### 3 讨论

研究已证实<sup>[9-10]</sup>,TG、HDL-C是反映机体血脂情况的主要指标,均与DVT形成密切相关。但由于DVT通常伴有多个血脂组分异常,故TG、HDL-C数值变异度较大。而TG/HDL-C综合TG、HDL-C联合变化,更能全面反映机体血脂紊乱特点,但其与下肢骨折术后DVT的相关研究较少。本研究通过对比发现,老年股骨颈骨折术后DVT患者TG/HDL-C显著高于无DVT患者,结合刘雨朦等<sup>[11]</sup>研究考虑机制可能在于TG/HDL-C升高可降低前列环素、一氧化氮表达,调控血小板信号传导通路,诱导血小板与红细胞聚集,加重血液黏滞度,提高组织因子与纤溶酶原激活物抑制剂-1活性,降低血管内皮依赖性舒张功能,减弱血管内皮抗氧化能力,从而引起老年股骨颈骨折术后DVT。表明TG/HDL-C可能参与老年股骨颈骨折术后DVT发生、发展过程中。Caprini血栓风险因素量表可有效评价外科手术患者静脉血栓栓塞症发生风险及风险分级<sup>[12]</sup>。本研究结果提示TG/HDL-C有助于评估老年股骨颈骨折术后DVT危险分层。最后,通过ROC曲线可知,TG/HDL-C=1.15可作为单一诊断老年股骨颈骨折术后DVT的最佳阈值,提示当TG/HDL-C>1.15时,医护人员应提高警惕,予以针对性防治措施,从而降低老年股骨颈骨折术后DVT发生危险性。

TM是血管内皮细胞损伤的特异分子标志物,亦是血栓性疾病的凝血因子,其表达升高,可能破坏凝血因子与抗凝血因子平衡<sup>[13]</sup>。建立大鼠DVT

模型发现, TM表达变化可能参与DVT发生、发展<sup>[14]</sup>。本研究中老年股骨颈骨折术后DVT患者TM水平异常升高,并随Caprini血栓风险因素量表评分升高呈增长趋势。这可能归因于老年股骨颈骨折术可刺激血管内皮细胞活化,增强血管内皮细胞促凝作用,进而上调TM表达,形成大量微血栓,从而增加术后DVT发生风险。说明TM可作为诊断老年股骨颈骨折术后DVT及评估DVT危险程度的重要检测指标。同时,王秀袖<sup>[15]</sup>经二元logistics回归分析发现, TM升高是下肢骨折术后DVT形成的危险因素,支持本研究观点,再次佐证了TM对老年股骨颈骨折术后DVT易感性具有一定评估作用。但TM单一诊断老年股骨颈骨折术后DVT存在一定局限性,特异度较低,为提高诊断效能,本研究绘制联合ROC曲线,结果显示, TG/HDL-C联合TM诊断DVT的AUC优于上述指标单一诊断,且敏感度、特异度均有所升高。由此可见,联合检测TG/HDL-C、TM有望成为老年股骨颈骨折术后DVT的辅助诊断手段。

综上可知, TG/HDL-C、TM升高可能提高老年股骨颈骨折术后DVT易感性,联合检测上述指标有助于提高老年股骨颈骨折术后DVT诊断效能。但本研究样本量小,未对TG/HDL-C、TM进行动态观察,难以准确反映上述指标随时间变化趋势,有待后续扩大样本量,做进一步动态监测研究。

### 参考文献

- [1] Yoo JI, Cha Y, Kwak J, et al. Review on Basicervical Femoral Neck Fracture: Definition, Treatments, and Failures [J]. Hip Pelvis, 2020, 32(4):170-181.
- [2] 王晨,王鹏飞,宋哲,等. 股骨颈骨折术后发生下肢深静脉血栓的相关研究[J]. 国际外科学杂志, 2018, 45(7):452-455.
- [3] 毛欢,关秀红,蔡燕君,等. 下肢深静脉血栓精准诊断的影像学研究进展[J]. 中华生物医学工程杂志, 2020, 26(5):469-474.
- [4] 许彬彬,苟泽辉,周莉,等. 创伤性骨折患者高密度脂蛋白水平与深静脉血栓相关性的研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2019, 50(2):248-251.
- [5] 高秀鑫,丁振江,王文丰,等. 三酰甘油/高密度脂蛋白胆固醇比值与冠心病的患病风险[J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(12):1085-1088.
- [6] 田丰,杨家赵,徐玮,等. 创伤性四肢骨折患者血清FIB、FDP、D-D和TAT水平与血栓形成的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11):1535-1538+1543.
- [7] 张明贵,李蔚君,吴寒松,等. 多层螺旋CT灌注评估股骨颈骨折后股骨头血流动力学[J]. 实用放射学杂志, 2020, 36(5):780-783.

· 论 著 ·

## IL-33、MIF及PLTP水平与新生儿支气管肺发育不良的关系

杨婕<sup>1</sup> 曹霞<sup>1</sup> 李翠霞<sup>1</sup> 郑莉佳<sup>1</sup> 陈国欢<sup>2\*</sup>

**[摘要]** 目的 分析血清白介素-33(IL-33)、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)及磷脂转运蛋白(PLTP)水平变化与新生儿支气管肺发育不良(BPD)的关系。方法 选取2017年5月至2020年5月本院新生儿科收治的141例早产儿(胎龄<32周),根据有是否患有BPD分为非BPD组( $n=63$ )和BPD组( $n=78$ )。比较非BPD组和BPD组以及不同病情BPD患儿血清中IL-33、MIF、PLTP水平变化,分析IL-33、MIF及PLTP对BPD诊断价值。结果 BPD组血清中IL-33、MIF水平明显高于非BPD组,PLTP水平明显低于BPD组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。78例患儿中轻度22例,中度37例,重度19例,不同病情程度BPD患儿血清中IL-33、MIF表达水平:轻度组<中度组<重度组,PLTP表达水平:轻度组>中度组>重度组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。ROC曲线结果显示,IL-33、MIF及PLTP单独检测诊断BPD时ACU分别为0.726、0.661、0.725,联合诊断为0.783,明显高于单独诊断( $P<0.05$ )。结论 血清IL-33、MIF及PLTP水平变化与新生儿BPD发生、发展之间存在密切联系,其水平变化可为患者病情严重程度评估提供参考。

**[关键词]** IL-33; MIF; PLTP; 新生儿支气管肺发育不良

### The relationship between IL-33, MIF and PLTP levels and neonatal bronchopulmonary dysplasia

YANG Jie<sup>1</sup>, CAO Xia<sup>1</sup>, LI Cuixia<sup>1</sup>, ZHENG Lijia<sup>1</sup>, CHEN Guohuan<sup>2\*</sup>

(1. Department of Neonatology, Meishan Hospital, West China Hospital of Sichuan University, Meishan, Sichuan, China, 620010; 2. Department of Neonatology, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China, 610000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the relationship between changes in serum interleukin-33 (IL-33), MIF and PLTP levels and neonatal bronchopulmonary dysplasia (BPD). **Methods** The 141 premature infants (gestational age <32 weeks) admitted to the neonatology department of this hospital from May 2017 to May 2020 were selected and divided into the non-BPD group (63 cases) and the BPD group (78 cases) according to whether they had BPD. The changes in levels of serum IL-33, MIF, and PLTP between the non-BPD group and the BPD group and in children with different severity of BPD were compared, and the value of IL-33, MIF and PLTP in the diagnosis of BPD was analyzed. **Results** The levels of serum IL-33 and MIF in the BPD group were significantly higher than those in the non-BPD group, and the PLTP level was significantly lower than that in the BPD group and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). In 78 children, 22 cases were mild BPD, 37 were moderate BPD, and 19 were severe BPD. The expression levels of serum IL-33 and MIF in BPD children with different disease severity were as follows: mild group < moderate group < severe group, and PLTP level was as follows: mild group > moderate group > severe group, and the differences were

基金项目:四川省卫生厅科研基金资助项目(180713)

作者单位:1. 四川大学华西医院眉山医院新生儿科,四川,眉山 620010

2. 四川大学华西第二医院新生儿科,四川,成都 610000

\*通信作者:陈国欢, E-mail:1097804638@qq.com

statistically significant ( $P < 0.05$ ). The ROC results showed that the ACUs of IL-33, MIF, and PLTP alone in the diagnosis of BPD were 0.726, 0.661, and 0.725, respectively, and the ACU of the combined diagnosis was 0.783, which was significantly higher than the single diagnosis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The changes in serum IL-33, MIF and PLTP levels are closely related to the occurrence and development of neonatal BPD, and the changes in the levels can provide a reference for the evaluation of the severity of the patient's condition.

[KEY WORDS] IL-33; MIF; PLTP; Neonatal bronchopulmonary dysplasia

支气管肺发育不良(Bronchopulmonary dysplasia, BPD)是新生儿科常见的慢性肺病,多见于早产儿。BPD发病机制尚未明确,在遗传易感性的基础上,氧中毒、气压伤、炎症等各种因素导致发育不成熟的肺出现损伤,在损伤之后肺部组织异常修复是导致BPD的关键环节<sup>[1]</sup>。白介素-33(Interleukin-33, IL-33)属于白介素家族中的一员,与哮喘、自身免疫性疾病、炎性疾病等相关<sup>[2]</sup>。巨噬细胞移动抑制因子(Macrophage migration inhibitory factor, MIF)在临床中认为具有细胞因子活性的多功能炎症传递物质,参与机体炎症反应、免疫应答、血管形成等,与多种肺部疾病发生有关<sup>[3]</sup>。磷脂转运蛋白(phospholipid transprotein, PLTP)参与磷脂蛋白之间磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC)的转运,PC缺乏或合成不足和肺气肿、肺水肿、BPD发生存在一定的联系<sup>[4]</sup>。基于此,本文将分析血清IL-33、MIF及PLTP水平变化与新生儿BPD的关系,以期为临床诊疗BPD提供参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2017年5月至2020年5月新生儿科收治的141例早产儿(胎龄 $\leq 30$ 周),根据是否患有BPD分为非BPD组( $n=63$ )和BPD组( $n=78$ )。BPD诊断标准:参考美国国立儿童健康与人类发育研究中有关BPD诊断标准:任何氧依赖( $FiO_2 > 0.21$ )超过28 d新生儿即判定为BPD<sup>[5]</sup>。纳入标准:①临床资料完整;②研究对象监护人均知晓本次研究并签署知情同意书。排除标准:①合并先天性心

脏病、脑颅急性、肺大泡、染色体异常等疾病者;②临床资料不完整;③入院日龄 $> 1$  d者。两组一般资料上比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 病情评价

根据患儿校正胎龄为36周(出生胎龄 $< 32$ 周)、出院时需要吸入氧浓度 $FiO_2$ 进行评价<sup>[6]</sup>:未用氧为轻度, $FiO_2 < 0.30$ 为中度, $FiO_2 > 0.30$ 或需要持续气道正压力通气、机械通气为重度。

#### 1.2.2 IL-33、MIF及PLTP水平检测

纳入对象均在入院后的第7 d静脉采血3 mL,使用离心半径为10 cm,转速为3 000 r/min,的离心机离心10 min后,分离上清液后置入 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱保存,在标本收集完成后进行统一检验。IL-33、MIF及PLTP均使用酶联免疫吸附法进行检测,检测试剂由北京百奥莱博科技有限公司,操作步骤严格按照试剂所配套说明书进行,酶标仪为美国伯乐Bio-rad 550。

### 1.3 观察指标

比较非BPD组和BPD组以及不同病情BPD患儿血清中IL-33、MIF、PLTP水平变化,并分析IL-33、MIF及PLTP对BPD诊断价值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较行 $t$ 检验,多组间比较行 $F$ 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;绘制ROC分析IL-33、MIF及PLTP对BPD诊断价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

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

Table 1 General information comparison [ $n(\%)$ ,  $(\bar{x} \pm s)$ ]

组别	$n$	性别(男/女)	胎龄(周)	出生体重(g)	分娩方式	
					顺产	剖宫产
非BPD组	63	35/28	28.16 $\pm$ 0.31	1425.26 $\pm$ 188.26	31(49.21)	32(50.79)
BPD组	78	44/34	28.11 $\pm$ 0.50	1431.17 $\pm$ 187.49	33(42.31)	45(57.69)
$t/\chi^2$ 值		0.010	0.693	0.185	0.669	
$P$ 值		0.919	0.489	0.852	0.413	

## 2 结果

### 2.1 非 BPD 组和 BPD 组血清中 IL-33、MIF、PLTP 水平比较

BPD 组血清中 IL-33、MIF 水平明显高于非 BPD 组, PLTP 水平明显低于 BPD 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 非 BPD 组和 BPD 组血清中 IL-33、MIF、PLTP 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum IL-33, MIF and PLTP levels between non BPD group and BPD group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-33 (pg/mL)	MIF (ng/mL)	PLTP (ng/mL)
非 BPD 组	63	30.54±4.52	5.35±0.66	25.16±3.49
BPD 组	78	68.26±7.16	8.11±1.74	11.58±2.77
t 值		36.357	11.910	25.762
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 不同病情程度 BPD 患儿血清中 IL-33、MIF、PLTP 水平比较

3 组血清中 IL-33、MIF 表达水平: 轻度组 < 中度组 < 重度组, PLTP 表达水平: 轻度组 > 中度组 > 重度组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 不同病情程度 BPD 患儿血清中 IL-33、MIF、PLTP 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of serum IL-33, MIF and PLTP levels in children with BPD of different severity ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IL-33 (pg/mL)	MIF (ng/mL)	PLTP (ng/mL)
轻度	22	38.16±5.11	6.40±0.74	10.56±2.19
中度	37	55.29±5.57	8.57±0.88	8.55±1.49
重度	19	79.58±6.58	9.54±1.47	7.16±0.97
F 值		269.58	52.92	23.07
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.3 IL-33、MIF 及 PLTP 对 BPD 诊断价值

ROC 曲线结果显示, IL-33、MIF 及 PLTP 单独检测诊断 BPD 时 ACU 分别为 0.726、0.661、0.725, 联合诊断为 0.783, 明显高于单独诊断 ( $P < 0.05$ )。见表 4 及图 1。

表 4 IL-33、MIF 及 PLTP 对 BPD 诊断价值

Table 4 Idiagnostic value of IL-33, MIF and PLTP in BPD

预测因子	AUC	95%CI	敏感度	特异度
IL-33	0.726	0.530~0.783	0.714	0.788
MIF	0.661	0.762~0.907	0.795	0.711
PLTP	0.725	0.587~0.844	0.807	0.764
IL-33+MIF+PLTP	0.783	0.684~0.953	0.948	0.879

## 3 讨论

BPD 常出现在低于 34 周的早产儿中。以往动

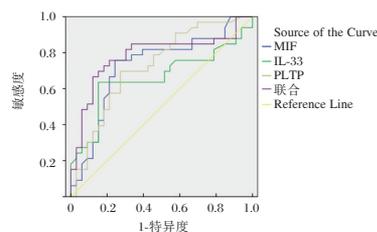


图 1 IL-33、MIF、PLTP 及联合诊断 BPD 曲线图

Figure 1 the curve of IL-33, MIF, PLTP and their combination in the diagnosis of BPD

物实验研究发现, 在高氧新生鼠中其肺泡间隔发育存在明显异常, 高氧会抑制肺泡间隔化, 阻止肺泡形成, 降低肺泡 II 型上皮细胞修复能力, 最终导致肺停止发育<sup>[7]</sup>。BPD 的发生是逐步进展的病理过程, 目前在临床中对 BPD 诊断主要依据氧依赖超过 28 d 作为诊断标准, 确诊时间长可导致错过最佳治疗时机。

IL-33 作为 IL-1 的新家族成员, 可与受体 ST2 结合从而激活肥大细胞, 刺激淋巴细胞核嗜酸性粒细胞产生 Th2 因子, 在机体自身免疫性疾病、感染、炎症中有着重要的作用。气道上皮细胞、血管上皮细胞、树突状细胞等均可分泌出 IL-33, 其参与黏膜组织的炎症及免疫反应, 可调节黏膜内环境平衡<sup>[8]</sup>。许惠娟等人<sup>[9]</sup>研究显示, 在肺部炎症疾病患者中, 气道和全身的炎症反应会导致 IL-33 升高, 且和疾病严重程度存在一定联系。以往有研究证明炎症反应在 BPD 中发病中发挥着重要作用<sup>[10]</sup>。在动物实验中通过建立 BPD 大鼠模型发现炎症因子可使 IL-33 表达水平上调, 在使用抗体将 IL-33 中和后, 炎症因子的释放和细胞凋亡被抑制, 从而阻止 BPD 进展<sup>[11]</sup>。

文献研究显示, 早产儿肺部组织中 MIF 呈高表达, 在新生儿呼吸窘迫综合征患者中表达更为明显<sup>[12]</sup>。MIF 可在肺组织、肺泡内皮细胞、肺泡巨噬细胞中表达, 且活化的炎症因子可破坏毛细血管通透性, 导致肺泡损伤, 进一步引起肺部炎症反应失调, 妨碍肺部发育。高惠等<sup>[13]</sup>建立缺氧肺动脉压小鼠模型, 研究结果显示 MIF 及炎症因子释放与持续性肺动脉收缩及肺血管重塑有关, MIF 可增加 RAS 系统对肺部血管重塑和收缩作用。

BPD 发病是多种因素共同导致肺部炎症反应增加, 导致肺血管异常发育, 最终阻碍肺泡发育<sup>[14]</sup>。PLTP 参与肺表面活性物质中 PC 的合成, 相关研究表明, 肺表面活性物质不足可导致新生儿呼

吸窘迫综合征、肺气漏、BPD等肺部疾病<sup>[15]</sup>。PLTP通过介导三酰甘油转变成为PC,从而促进PC合成;此外BPD还可调节机体内维生素E代谢,从而清除机体内氧自由基减少高氧带来的肺部损伤<sup>[16]</sup>。

本研究结果提示IL-33、MIF、PLTP可能在BPD发生中发挥着重要作用,且三者变化与BPD患儿病情严重程度存在一定的联系。参考ROC曲线分析,IL-33、MIF、PLTP对BPD均存在一定的预测及诊断价值,且三者联合诊断AUC面积、灵敏度、特异度高于三者单独诊断。

综上所述,血清IL-33、MIF及PLTP水平变化与新生儿BPD发生、发展之间存在密切联系,其水平变化可为患儿病情严重程度评估提供参考。IL-33、MIF及PLTP可作为BPD早期诊断的有潜力的生物标记,也有潜能成为BPD药物治疗的新靶点。

#### 参考文献

- [1] 魏红玲,邢燕,武慧,等. 支气管肺发育不良早产儿婴儿期预后研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(7):624-628.
- [2] 蒋燕,曾雯,胡旭红,等. 血清白介素-33表达在支气管肺发育不良中的临床价值研究[J]. 成都医学院学报, 2020, 15(3):70-73.
- [3] 鲁元元,方欣,赵小林,等. 新生儿支气管肺发育不良高危因素的研究进展[J]. 中国妇幼健康研究, 2020, 31(12):161-165.
- [4] Liu N, Cummings OW, Lagstein A, et al. Lung Transplantation for Bronchopulmonary Dysplasia in Adults: A Clinical and Pathologic Study of 3 Cases [J]. Am J Surg Pathol, 2020, 44(4):1.
- [5] 李悦,缪晓林,郭丽敏,等. 胎龄32周以下早产儿支气管肺发育不良高危因素分析[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(9):52-57.
- [6] Kotsiou OS, Jagirdar RM, Papazoglou ED, et al. Pleural Effusion IL-33/sST2 Levels and Effects of Low and High IL-33/sST2 Levels on Human Mesothelial Cell Adhesion and Migration [J]. Inflammation, 2019, 42(6):2072-2085.
- [7] Chen X, Qiu X, Sun P, et al. Neonatal ibuprofen exposure and bronchopulmonary dysplasia in extremely premature infants [J]. J Perinatol, 2020, 40(1):124-129.
- [8] Varghese NP, Tillman RH, Keller RL. Pulmonary hypertension is an important co-morbidity in developmental lung diseases of infancy: Bronchopulmonary dysplasia and congenital diaphragmatic hernia [J]. Pediatr Pulmonol, 2021, 56(3):23-25.
- [9] 许惠娟,宋梅,林钊钊. 支气管哮喘患者血清中IL-33, S1P的水平及其临床意义[J]. 中国医药导报, 2019, 16(16):93-96.
- [10] 王智灵,刘敏,张莉,等. 猪肺磷脂注射液配合常规疗法对呼吸窘迫新生儿支气管肺发育不良及PLTP, MIF的影响 [J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(12):2188-2191.
- [11] 晋焕,许平. 不同制剂肺表面活性物质对早产儿呼吸窘迫综合征的疗效分析[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(2):174-179.
- [12] 杨锋,林垦,谢玲. 新生儿群体中支气管肺发育不良危险因素分析[J]. 中国病案, 2020, 21(12):63-66.
- [13] 高惠,吴晓虹. 活动性肺结核患者血清巨噬细胞移动抑制因子水平变化及预后关系研究[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(3):527-531.
- [14] Chen X, Zhang X, Pan J. Effect of Montelukast on Bronchopulmonary Dysplasia (BPD) and Related Mechanisms [J]. Med Sci Monit, 2019, 25:1886-1893.
- [15] 林晴晴,谭卉晗,吴永芳,等. 脐血TGF- $\beta$ 1, Treg细胞数量水平对早产儿支气管肺发育不良的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(8):74-77.
- [16] Friedlander Y, Zanette B, Lindenmaier A, et al. Chemical shift of <sup>129</sup>Xe dissolved in red blood cells: Application to a rat model of bronchopulmonary dysplasia [J]. Magnet Res Med, 2019, 84(1):12-14.

(上接第1324页)

- [8] Zhu X, Zhang T, Zhou L, et al. Stratification of venous thromboembolism risk in stroke patients by Caprini score [J]. Ann Palliat Med, 2020, 9(3):631-636.
- [9] 林少森,瞿运和,廖玲. 粤北铁路男性职工血脂组分异常与常见慢性病关系[J]. 华南预防医学, 2020, 46(1):43-45+49.
- [10] 何梅,曾艾,潘建春,等. 不同健康状况人工关节置换术患者的血液指标及术后下肢深静脉血栓形成情况比较[J]. 中国医药, 2019, 14(10):1558-1561.
- [11] 刘雨朦,金晶,张栋,等. 三酰甘油/高密度脂蛋白胆固醇比值与青年缺血性卒中的相关性[J]. 国际脑血管病杂志, 2020, 28(12):899-903.
- [12] 党晓燕,潘龙飞,牛泽群,等. Caprini血栓风险评估量表对脓毒症伴静脉血栓栓塞症高危患者预防性抗凝的指导价值研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(10):19-24.
- [13] Rehill AM, Preston RJS. A new thrombomodulin-related coagulopathy [J]. J Thromb Haemost, 2020, 18(9):2123-2125.
- [14] 成曦,孙宝兰,苏张瑶,等. 血栓调节蛋白在大鼠深静脉血栓模型中的表达及其意义[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(2):193-199.
- [15] 王秀袖. 多指标联合检测诊断下肢骨折患者术后深静脉血栓形成的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6):698-702.

· 论 著 ·

## PBMC 中 CARD9、MDC、IL-32 在溃疡性结肠炎诊断和病情评估中价值

谢玥 张绍衡 熊瑶 于长辉\*

**[摘要]** **目的** 探讨外周血单个核细胞(PBMC)中胱天蛋白酶募集域蛋白9(CARD9)、髓样树突状细胞(MDC)、白介素-32(IL-32)在溃疡性结肠炎(UC)诊断和病情评估中价值。**方法** 选取2019年1月至2021年1月南方医科大学珠江医院消化内科收治的82例UC患者(UC组)及体检中心40例健康体检人群(对照组),比较两组 CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9 蛋白、IL-32 蛋白,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析各指标诊断 UC 价值,比较 UC 患者不同病情程度者各检测指标水平,采用 Spearman 及多分类 Logistic 回归方程分析各指标与 UC 活动期患者病情程度关系。**结果** UC 组 CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9 蛋白、IL-32 蛋白高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ); CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA 诊断 UC 的 AUC 依次为 0.712、0.901、0.739,各指标联合的 AUC 为 0.920;活动期患者 CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA 高于缓解期( $P<0.05$ ),随着活动期患者病情程度加重, CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA 依次增高,两两比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ );Spearman 相关性分析显示, CARD9 mRNA ( $r=0.808, P<0.001$ )、MDC ( $r=0.815, P<0.001$ )、IL-32 mRNA ( $r=0.874, P<0.001$ )、CARD9 蛋白 ( $r=0.735, P<0.001$ )、IL-32 蛋白 ( $r=0.803, P<0.001$ ) 均与病情程度呈正相关;多分类 Logistic 回归方程分析显示, CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9 蛋白、IL-32 蛋白是 UC 患者病情程度的相关独立影响因素( $P<0.05$ )。**结论** UC 患者 PBMC 中 CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9 蛋白、IL-32 蛋白显著升高,并与病情程度有关,联合检测 CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA 能为临床诊断 UC 及评估 UC 病情提供参考。

**[关键词]** PBMC; CARD9; MDC; IL-32; 溃疡性结肠炎; 病情评估

### The value of CARD9, MDC and IL-32 in PBMC in diagnosis and evaluation of ulcerative colitis

XIE Yue, ZHANG Shaoheng, XIONG Yao, YU Changhui\*

(Department of Gastroenterology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 528200)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the effect of caspase recruitment domain protein 9 (CARD9), myeloid dendritic cells (MDC) and interleukin-32 (IL-32) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) on ulcerative colitis (UC) and the value of diagnosis and disease assessment. **Methods** From January 2019 to January 2021, 82 UC patients (UC group) and 40 healthy people in the physical examination center (control group) were selected to compare CARD9 mRNA, MDC, IL-32 mRNA, CARD9 Protein, IL-32 protein between the two groups. The receiver operating characteristic curve (ROC) used to analyze the diagnostic value of each indicator, and the level of each detection indicator in UC patients with different levels of disease was compared. Spearman and multi-class logistic regression equation were used to analyze the relationship between each indicator and the patient's condition in the active UC phase. **Results** CARD9 mRNA, MDC, IL-32 mRNA, CARD9 protein, and IL-32 protein in the UC group were higher than those in the control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The AUC of CARD9 mRNA, MDC, IL-32 mRNA for diag-

基金项目:广东省自然科学基金项目(2018A030313817)

作者单位:南方医科大学珠江医院消化内科,广东,广州 528200

\*通信作者:于长辉, E-mail: yuchanghui@yeah.net

nosis of UC was 0.712, 0.901, 0.739, and the AUC of the combination of each indicator was 0.920. *CARD9* mRNA, MDC, and *IL-32* mRNA in active patients were higher than those in remission ( $P<0.05$ ). With the severity of disease in active patients, *CARD9* mRNA and MDC, *IL-32* mRNA increased, and the difference between pairwise comparisons was statistically significant ( $P<0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that *CARD9* mRNA ( $r=0.808$ ,  $P<0.001$ ), MDC ( $r=0.815$ ,  $P<0.001$ ), *IL-32* mRNA ( $r=0.874$ ,  $P<0.001$ ), *CARD9* protein ( $r=0.735$ ,  $P<0.001$ ), *IL-32* protein ( $r=0.803$ ,  $P<0.001$ ) are positively correlated with the severity of the disease. Multi-class logistic regression analysis showed that *CARD9* mRNA, MDC, *IL-32* mRNA, *CARD9* protein, and *IL-32* protein were independent factors affecting the severity of UC patients ( $P<0.05$ ).

**Conclusion** *CARD9* mRNA, MDC, *IL-32* mRNA, *CARD9* protein, and *IL-32* protein in PBMC of UC patients are significantly increased and are related to the severity of the disease. Combined detection of *CARD9* mRNA, MDC, and *IL-32* mRNA can be used for clinical diagnosis and evaluation of UC.

**[KEY WORDS]** PBMC; *CARD9*; MDC; *IL-32*; ulcerative colitis; disease assessment

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是消化内科常见疾病类型,以腹泻、腹痛、黏液脓血便为主要特征,具有反复发作、迁延难愈特点,因此准确地对UC做出诊断及评估病情意义重大<sup>[1]</sup>。目前结肠镜检查 and 造影是诊断UC有效方法,但为侵入性,部分患者接受度较差,且不能用于肛管直肠狭窄、肠穿孔、急性期感染、肛周脓肿及严重心脑血管病变者等,具有一定局限性。胱天蛋白酶募集域蛋白9(Caspase recruitment domain-containing protein 9, *CARD9*)基因多态性可增加炎症性肠病易感性,敲除*CARD9*基因后,肠道炎性反应损伤明显改善<sup>[2]</sup>。髓样树突状细胞(Myeloid dendritic cell, MDC)在免疫反应和免疫耐受中起到重要作用,可影响肠道黏膜免疫功能及肠道通透性,而UC患者肠壁内存在过度免疫激活及肠黏膜屏障功能的改变,故推测MDC与UC有关<sup>[3-4]</sup>。白介素-32(Interleukin-32, *IL-32*)主要由淋巴细胞、自然杀伤细胞等产生,是一种炎症细胞因子,与病毒感染、乙肝等多种炎症类疾病的发生有关<sup>[5-6]</sup>。本研究探讨PBMC中*CARD9*、MDC、*IL-32*在溃疡性结肠炎诊断和病情评估中价值,旨在为临床诊疗提供参考,报告如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取2019年1月至2021年1月南方医科大学珠江医院消化内科收治的82例溃疡性结肠炎患者(UC组)及体检中心40例健康体检人群(对照组)进行前瞻性研究,其中UC组女46例,男36例,年龄平均(35.49±4.68)岁,体质指数平均(22.37±1.21)kg/m<sup>2</sup>;对照组女18例,男22例,年龄平均

(36.22±4.07)岁,体质指数平均(22.48±1.05)kg/m<sup>2</sup>。两组性别、年龄等资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经本院伦理委员会审核通过,患者及家属均知情同意。

纳入标准:①符合UC诊断标准<sup>[7]</sup>;②首次确诊,既往无相关治疗史;③年龄>18岁;④自愿签署知情同意书。排除标准:①血液系统疾病者;②自身免疫性疾病者;③合并恶性肿瘤者;④妊娠期患者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 UC病情程度评估<sup>[7]</sup>

参考改良Mayo评分评估病情,缓解期:<3分,活动期:≥3分;轻度:3~5分;中度:6~10分;重度:11~12分。

#### 1.2.2 检测方法

采集清晨空腹肘部静脉血5 mL,应用Ficoll密度梯度离心法分离纯化外周血单个核细胞(Peripheral blood mononuclear cell, PBMC),应用实时荧光定量聚合酶链反应法检测PBMC中*CARD9* mRNA、*IL-32* mRNA,其中*CARD9* mRNA上游引物5'-CCGCGTCTTCTCCATGAT-3',下游引物5'-CCGCAGCTCCTTGATGAA-3',*IL-32* mRNA上游引物5'-CGACTTCAAAGAGGGCTACC-3',下游引物5'-GAGTGAGCTCTGGGTGCTG-3',内参β-actin上游引物5'-CGTGGACATCCGCAAAGAC-3',下游引物5'-CTACGGAGCAATGATCTTGA-3',收集每个反应管内荧光信号达到设定的阈值四所经历的循环数(Cycle threshold, Ct)值后应用ΔΔCt法检测基因的相对表达量,ΔCt实验组基因=实验组基因的Ct值-实验组的β-actin Ct值,ΔCt对照组基因=对照基因的Ct值-对照组β-actin的Ct值,ΔΔCt=ΔCt实验组基因-ΔCt对照组基因,检测基因

相对表达量=2<sup>-ΔΔCt</sup>;应用流式细胞仪(深圳迈瑞公司BricyteE6)检测MDC水平。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0处理数据,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较以单因素方差分析,两两比较以LSD-*t*检验,组间比较采用独立样本*t*检验,计数资料用*n*(%)表示,行 $\chi^2$ 检验,采用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析各指标诊断UC价值,采用Spearman及多分类Logistic回归方程分析各指标与UC活动期患者病情程度关系。*P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组各检测指标比较

UC组CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA及CARD9蛋白、IL-32蛋白高于对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表1。

表1 两组各检测指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of test indicators between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CARD9 mRNA	MDC (%)	IL-32 mRNA	CARD9 蛋白	IL-32 蛋白
UC组	82	0.85±0.27	0.48±0.16	2.16±0.71	0.46±0.13	0.24±0.06
对照组	40	0.46±0.15	0.28±0.09	1.06±0.33	0.35±0.11	0.17±0.05
<i>t</i> 值		8.506	7.349	9.306	4.605	6.374
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 各检测指标诊断UC的ROC

ROC曲线显示,单一MDC的AUC 0.901(95%CI:0.833~0.947)最大;各指标联合的AUC 0.920(95%CI:0.857~0.962)大于任一单一指标。见表2、图1。

表2 ROC分析结果

Table 2 ROC analysis results

指标	AUC	95%CI	cut-off值	敏感度 (%)	特异度 (%)	<i>P</i> 值
CARD9 mRNA	0.712	0.623~0.790	>0.77	43.90	97.50	<0.001
MDC	0.901	0.833~0.947	>0.39%	87.80	82.50	<0.001
IL-32 mRNA	0.739	0.652~0.815	>1.72	63.41	82.50	<0.001
联合	0.920	0.857~0.962		84.15	90.00	<0.001

### 2.3 UC患者不同病情程度者各检测指标比较

活动期患者CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9蛋白、IL-32蛋白高于缓解期(*P*<0.05),随着活动期患者病情程度加重,CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9蛋白、IL-32蛋白依次增高,两两比较差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表3。

### 2.4 各检测指标与病情程度相关性

以UC活动期患者各指标为源数据,采用

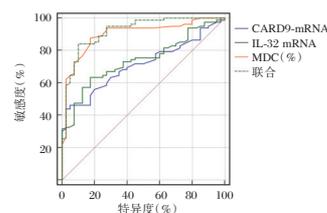


图1 各检测指标诊断UC的ROC

Figure 1 ROC of each test index to diagnose UC

表3 UC患者不同病情程度者各检测指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of various detection indexes of UC patients with different disease severity ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CARD9 mRNA	MDC (%)	IL-32 mRNA	CARD9 蛋白	IL-32 蛋白
活动期	56	0.97±0.25 <sup>a</sup>	0.59±0.12 <sup>a</sup>	2.67±0.54 <sup>a</sup>	0.52±0.11	0.29±0.08
轻度	19	0.70±0.18	0.34±0.11	1.49±0.44	0.31±0.12	0.14±0.04
中度	21	0.98±0.24 <sup>b</sup>	0.60±0.13 <sup>b</sup>	2.06±0.51 <sup>b</sup>	0.57±0.14	0.28±0.06
重度	16	1.28±0.27 <sup>bc</sup>	0.87±0.15 <sup>bc</sup>	4.87±0.60 <sup>bc</sup>	0.70±0.13	0.48±0.09
缓解期	26	0.59±0.16	0.24±0.10	1.06±0.32	0.33±0.10	0.13±0.04
<i>F</i> 值		28.779	86.265	169.266	39.571	83.6900
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与缓解期比较,<sup>a</sup>*P*<0.05;与轻度比较,<sup>b</sup>*P*<0.05;与中度比较,<sup>c</sup>*P*<0.05。

Spearman进行相关性分析,结果显示,CARD9 mRNA(*r*=0.808,*P*<0.001)、MDC(*r*=0.815,*P*<0.001)、IL-32 mRNA(*r*=0.874,*P*<0.001)、CARD9蛋白(*r*=0.735,*P*<0.001)、IL-32蛋白(*r*=0.803,*P*<0.001)均与病情程度呈正相关。

### 2.5 多分类Logistic回归方程分析

以病情程度为因变量(1=轻度,2=中度,3=重度),纳入CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA指标作为自变量(各指标赋值:1=低于UC组均值,2=高于UC组均值),应用多分类Logistic回归方程分析,结果显示,CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA是UC患者病情程度的相关独立影响因素(*P*<0.05)。见表4。

表4 Logistic回归方程分析

Table 4 Multi-class Logistic Regression Equation

影响因素	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$ 值	OR值	95%CI	<i>P</i> 值
CARD9 mRNA	0.387	0.102	14.405	1.473	1.365~1.589	<0.001
MDC	0.243	0.086	8.002	1.275	1.006~1.617	<0.001
IL-32 mRNA	0.434	0.102	18.127	1.544	1.319~1.807	<0.001
CARD9蛋白	0.739	0.233	10.064	2.094	1.879~2.334	<0.001
IL-32蛋白	0.862	0.219	15.490	2.368	2.152~2.605	<0.001

## 3 讨论

CARD9 mRNA在人体脾、肝、外周淋巴细胞等免疫组织中广泛表达,包含行使蛋白募集功能的胱天蛋白募集域和行使蛋白质寡聚化功能的卷曲螺旋

域,能与B细胞淋巴瘤因子-10、丝裂原活化蛋白激酶等作用,有效整合多种固有免疫受体识别信号,正常情况下,在小肠和结肠中处于低表达状态<sup>[8]</sup>。杜晓博等<sup>[9]</sup>报道,CARD9蛋白在炎症性肠病患者肠组织中表达高于正常肠组织,与患者病情程度呈正相关,本研究观点与之相似,但本研究检测的是PBMC中CARD9 mRNA和CARD9蛋白表达,无需有创性获取肠组织标本,更具临床实际应用价值。UC是慢性、反复发作性肠道炎症反应,而CARD9 mRNA是肠道固有免疫反应中重要衔接物质,能与肽聚糖反应增加肿瘤坏死因子、白介素-6等炎症介质产生,对肠黏膜造成炎性损伤,破坏肠黏膜屏障作用,影响肠道免疫系统对微生物抗原耐受情况,从而引起错误的免疫反应和炎性反应,参与UC发生与进展<sup>[10]</sup>。同时UC患者粪便和黏膜中总真菌负荷增加,CARD9 mRNA和CARD9蛋白升高有利于马拉色菌定植,从而加剧肠道炎症<sup>[11]</sup>。

骨髓细胞,尤其单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞,在先天免疫以及适应性免疫的启动和维持中起着至关重要作用<sup>[12]</sup>。重度UC患者治疗前PBMC中MDC处于高水平状态,治疗后有效患者则明显降低,若持续升高,提示预后不良,佐证了MDC在UC病情和预后评估中的作用<sup>[13]</sup>。MDC是髓样树突状细胞,具有抗原提呈作用,可经淋巴管将抗原提呈给未致敏的T淋巴细胞,使T淋巴细胞异常激活及肠道黏膜中髓系细胞浸润,介导肠黏膜的免疫炎症损伤,破坏肠黏膜的固有免疫反应,因此与UC发生和病情进展有关。当PBMC中MDC>0.39%时,诊断UC的AUC为0.901,敏感度为87.80%,特异度为82.50%,能为临床无创性、简便性诊断UC提供参考。

IL-32 mRNA参与自然杀伤细胞正常功能、单核细胞分化、角质细胞凋亡、树突细胞成熟的调节<sup>[14]</sup>。本研究显示,UC患者IL-32 mRNA高于健康人群,与罗莉芸等<sup>[15]</sup>报道一致,提示IL-32 mRNA与UC发病有关。IL-32 mRNA能通过激活核转录因子-kB和P38丝裂原活化蛋白激酶途径诱导单核细胞产生白介素-8、肿瘤坏死因子,并能诱导PBMC产生白介素-6、白介素-1 $\beta$ ,而生白介素-8、肿瘤坏死因子、白介素-6、白介素-1 $\beta$ 均是UC中重要的炎性细胞因子,能使炎症区域聚集大量的异常致敏的T细胞,导致肠黏膜溃疡,加重肠黏膜炎症损伤,所以与UC发病及病情进展有关。另联合应用的ROC分析显示,联合检测CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA诊断UC的AUC

高于单一指标,故建议条件允许时,联合检测三者,从而为临床诊断提供更可靠的参考。

综上所述,UC患者PBMC中CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA、CARD9蛋白、IL-32蛋白显著升高,并与病情程度有关,联合检测CARD9 mRNA、MDC、IL-32 mRNA能为临床诊断UC及评估UC病情提供参考。

## 参考文献

- [1] Larabi A, Barnich N, Nguyen HTT. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD[J]. *Autophagy*, 2020, 16(1):38-51.
- [2] Limon JJ, Tang J, Li D, et al. Malassezia Is Associated with Crohn's Disease and Exacerbates Colitis in Mouse Models[J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 25(3):377-388.e6.
- [3] 宋亚芳,裴丽霞,赵婷婷. 溃疡性结肠炎免疫因素发病机制的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2019, 32(4):432-436.
- [4] 陈保林,何慕兰,雷雨溪,等. 脂多糖诱导孤独症样大鼠的肠道通透性及肠道黏膜免疫系统的变化[J]. *免疫学杂志*, 2019, 35(1):12-20,28.
- [5] 王少渊,任旭,李世红,等. HBV相关ACLF患者免疫功能及IL-10和IL-32与预后的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(6):733-736.
- [6] 任其奎,孙其玉,田兆菊,等. 白细胞介素-32在病毒感染性疾病中的作用研究进展[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(4):636-640.
- [7] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(9):796-813.
- [8] Luo P, Yang Z, Chen B, et al. The multifaceted role of CARD9 in inflammatory bowel disease[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1):34-39.
- [9] 杜晓博,赵美华,马娜,等. CLEC4D、CARD9在炎症性肠病中的表达及其作用[J]. *胃肠病学*, 2019, 24(3):144-147.
- [10] 唐琴,王玉芳. CARD9基因多态性在克罗恩病发病机制中的研究进展[J]. *中华炎症肠病杂志*, 2020, 04(4):337-340.
- [11] Lam S, Zuo T, Ho M, et al. Review article: fungal alterations in inflammatory bowel diseases[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 50(11-12):1159-1171.
- [12] Liu H, Dasgupta S, Fu Y, et al. Subsets of mononuclear phagocytes are enriched in the inflamed colons of patients with IBD[J]. *BMC Immunol*, 2019, 20(1):42.
- [13] 陈怡,贾杰,郑娟红. 重症溃疡性结肠炎患者外周血中髓样树突状细胞和IL-17A表达及预后研究[J]. *中华全科医学*, 2020, 18(5):734-738.
- [14] 杜三军,张娅娟,孙晓冉,等. 幽门螺旋杆菌感染与胃癌患者血清IL-32、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的关系研究[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(24):4740-4743.
- [15] 罗莉芸,陈梅,骆恒芳,等. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群、外周血中IL-32、miR-223、miR-505水平与预后相关性[J]. *热带医学杂志*, 2020, 20(5):692-695,710.

· 论 著 ·

## IGF-1、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65 亚基预测胫骨平台骨折术后愈合延迟的价值

徐向阳<sup>1</sup> 孙军平<sup>2</sup> 李云朋<sup>1</sup> 王鹏<sup>3</sup> 朱琳<sup>4</sup> 刘汝银<sup>1\*</sup>

**[摘要]** 目的 探究血清胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和核转录因子 $\kappa$ B亚基p65(NF- $\kappa$ B p65)在胫骨平台骨折术后愈合延迟患者中的表达水平,分析其对骨折愈合延迟的预测价值。方法 选取2019年8月至2020年8月本院骨科收治的178例胫骨平台骨折患者,根据患者术后骨折愈合情况分为延迟愈合组( $n=34$ )和正常愈合组( $n=144$ ),比较两组患者不同时间点血清IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65亚基的表达水平,采用受试者工作特征曲线(ROC)评估以上指标预测患者愈合延迟的价值。结果 术后4、8和12周,延迟愈合组患者的血清IGF-1水平明显低于正常愈合组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。术后1、4、8和12周,延迟愈合组患者的TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65亚基表达水平明显高于正常愈合组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。ROC曲线分析结果显示,IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65三者联合检测胫骨平台骨折术后愈合延迟的敏感度和特异度分别为92.30%、76.90%,AUC值为0.863,明显高于单个指标检测( $P<0.05$ )。结论 血清IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65亚基的表达水平与胫骨平台骨折术后愈合延迟密切相关,可作为预测胫骨平台骨折术后愈合延迟的良好指标,联合检测可提高预测准确性。

**[关键词]** 胫骨平台骨折;愈合延迟;胰岛素样生长因子-1;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;核转录因子 $\kappa$ B亚基p65

### Value of serum IGF-1, TNF- $\alpha$ and NF- $\kappa$ B p65 subunit levels in predicting delayed healing of tibial plateau fracture surgery

XU Xiangyang<sup>1</sup>, SUN Junping<sup>2</sup>, LI Yunpeng<sup>1</sup>, WANG Peng<sup>3</sup>, ZHU Lin<sup>4</sup>, LIU Ruyin<sup>1\*</sup>

[1. Department of Orthopaedics, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (The Second Affiliated Hospital Of Henan University of TCM), Zhengzhou, Henan, China, 450000; 2. Department of Orthopaedics, Qingyang Second People's Hospital, Qingyang, Gansu, China, 745000; 3. Department of Orthopaedics, Zhengzhou Renji Orthopedic Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000; 4. Department of Orthopaedics, The Third Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450000]

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the expression levels of serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and nuclear transcription factor  $\kappa$ B subunit p65 (NF- $\kappa$ B p65) in patients with delayed healing of tibial plateau fracture surgery, and analyze their predictive value for delayed fracture healing. **Methods** A total of 178 patients with tibial plateau fractures admitted to orthopedics department of the hospital were enrolled in this study from August 2019 to August 2020. They were divided into the delayed healing group ( $n=34$ ) and the normal healing group ( $n=144$ ) according to postoperative fracture healing situation. The expression levels of serum IGF-1, TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p65 subunit at different time points were compared between the two groups. The value of the above indicators in predicting delayed healing was evaluated by the receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** At 1, 4, 8 and 12 weeks after surgery, the ex-

基金项目:河南省科技攻关项目(201902311125)

作者单位:1.河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)骨科,河南,郑州450000

2.庆阳市第二人民医院骨科,甘肃,庆阳745000

3.郑州市仁济骨科医院骨科,河南,郑州450000

4.河南中医药大学第三附属医院骨科,河南,郑州450000

\*通信作者:刘汝银, E-mail: Rainliu001@163.com

pression levels of TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p65 subunit in the delayed healing group were significantly higher than those in the normal healing group, with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). At 4, 8 and 12 weeks after surgery, level of serum IGF-1 in the delayed healing group was significantly lower than that in the normal healing group, with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). The results of ROC curves analysis showed that the sensitivity and specificity of IGF-1 combined with TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p65 subunit for predicting delayed healing of tibial plateau fracture surgery were 92.30% and 76.90%, respectively. Their AUC was 0.863, significantly higher than that of single indicator ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression levels of serum IGF-1, TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p65 subunit are closely related to the postoperative healing delay of tibial plateau fractures. They can be used as good indicators to predict the postoperative healing delay of tibial plateau fractures. Combined detection can improve the accuracy of prediction.

**[KEY WORDS]** Tibial plateau fracture; Delayed healing; Insulin-like growth factor-1; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Nuclear transcription factor  $\kappa$ B subunit p65

骨折愈合延迟是骨科常见的并发症,不仅会影响手术效果,还会降低患者的生活质量<sup>[1]</sup>。因此,对骨折术后愈合延迟的情况进行评估及干预,是改善患者预后的关键。既往研究认为,骨折后愈合依赖于骨细胞的正常分化与增殖,而各种细胞因子、炎症因子和调节因子在这一过程中发挥重要作用<sup>[2-3]</sup>。胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 是胰岛素同源多肽,具有促进成骨细胞增殖分化的作用;肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 水平变化可在一定程度上影响骨折愈合;核转录因子  $\kappa$ B (nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 可在 TNF- $\alpha$  的刺激下活化,影响关节软组织的正常生长<sup>[4-5]</sup>。当前,有关胫骨平台骨折术后愈合延迟的研究多集中在影响因素评估方面,有关 IGF-1、TNF- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B 水平是否可预测骨折愈合延迟的发生尚不清楚。本研究将探究血清 IGF-1、TNF- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B p65 亚基在胫骨平台骨折术后延迟愈合患者中的表达水平,并分析其对骨折愈合延迟的预测价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2019年8月至2020年8月本院骨科收治的178例胫骨平台骨折患者,纳入标准:①患者均诊断为胫骨平台骨折,且均为首次骨折;②骨折后3d内于本院接受骨折固定术治疗;③患者性别不限,年龄 $\geq 18$ 岁;④患者知情研究内容,均签署知情同意书。排除标准:①多发性骨折、病理性骨折患者;②合并颅脑损伤、股代谢疾病或骨肿瘤患者;③近期存在内分泌治疗史患者;④存在重要脏器功能障碍患者。根据术后骨折愈合情况将患者

分为延迟愈合组( $n=34$ )和正常愈合组( $n=144$ ),骨折延迟愈合标准为:骨折损伤后9个月内,至少3个月没有任何愈合进展;临床存在骨折断端疼痛、活动异常、肢体功能障碍等症状;影像学检查显示骨痂极少生长或完全不生长,断端骨质硬化,出现分离或假关节形成<sup>[6]</sup>。本研究经医院伦理委员会批准,两组患者的一般临床资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

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

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

指标		延迟愈合组 ( $n=34$ )	正常愈合组 ( $n=144$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
性别	男	25(73.53)	109(75.69)	0.069	0.792
	女	9(26.47)	35(24.31)		
年龄(岁)		46.87 $\pm$ 9.43	44.28 $\pm$ 10.64	1.303	0.194
Schatzker分型	I型	12(35.29)	42(29.17)	1.590	0.811
	II型	9(26.47)	40(27.78)		
	III型	7(20.59)	37(25.69)		
	IV型	4(11.76)	21(14.58)		
	V型	2(5.88)	4(2.78)		
骨折原因	交通事故伤	17(50.00)	63(43.75)	0.682	0.711
	高空坠落伤	7(20.59)	28(19.44)		
	跌倒伤	10(29.41)	53(36.81)		

### 1.2 研究方法

所有患者均接受膝关节镜辅助下切开复位内固定术治疗,术后行常规护理康复训练。分别于术前、术后1、4、8和12周取患者空腹肘静脉血5mL,3500 r/min离心10 min后分离血清,低温下冷藏待测。①IGF-1、TNF- $\alpha$ 检测:采用酶联免疫吸附法检测 IGF-1、TNF- $\alpha$  水平,试剂盒由上海澜瑞科技有限公司提供,严格按照操作步骤进行。②NF- $\kappa$ B p65亚基检测:采用蛋白质免疫印迹法检测全血中 NF- $\kappa$ B p65 亚基水平,采用 GDS-8000 凝胶成像系

统(美国 UVP 公司)观察 NF- $\kappa$ B p65 亚基表达情况,记录灰度值,内参为  $\beta$  肌动蛋白。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析。计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,组间比较行独立样本  $t$  检验,组内不同时间点比较行重复测量资料的方差分析;计数资料以  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验,受试者工作特征曲线(ROC)分析 IGF-1、TNF- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B p65 亚基预测胫骨平台骨折术后愈合延迟的诊断价值;以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者不同时间点血清 IGF-1 水平比较

两组患者的血清 IGF-1 水平随着时间的延长,呈先升高后下降的趋势( $P < 0.05$ )。术后 4、8 和 12 周,延迟愈合组患者的血清 IGF-1 水平明显低于正

常愈合组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.2 两组患者不同时间点血清 TNF- $\alpha$ 水平比较

随着时间的延长,延迟愈合组患者的血清 TNF- $\alpha$  水平呈先升高后下降的趋势,正常愈合组患者血清 TNF- $\alpha$  水平逐渐下降( $P < 0.05$ )。术后 1、4、8 和 12 周,延迟愈合组患者的血清 TNF- $\alpha$  水平明显高于正常愈合组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 2.3 两组患者不同时间点 NF- $\kappa$ B p65 亚基表达水平比较

随着时间的延长,延迟愈合组患者的 NF- $\kappa$ B p65 亚基表达水平呈先升高后下降的趋势,正常愈合组患者 NF- $\kappa$ B p65 亚基表达水平逐渐下降( $P < 0.05$ );术后 1、4、8 和 12 周,延迟愈合组患者的 NF- $\kappa$ B p65 亚基表达水平明显高于正常愈合组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 2 两组患者不同时间点血清 IGF-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

Table 2 Comparison of serum IGF-1 levels at different time points between 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

组别	<i>n</i>	术前	术后 1 周	术后 4 周	术后 8 周	术后 12 周	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
延迟愈合组	34	117.45 $\pm$ 13.71	222.78 $\pm$ 14.51	321.84 $\pm$ 20.63	361.57 $\pm$ 21.77	342.57 $\pm$ 22.76	898.473	<0.001
正常愈合组	144	121.84 $\pm$ 15.63	229.31 $\pm$ 20.18	329.76 $\pm$ 19.65	419.73 $\pm$ 25.19	403.62 $\pm$ 19.84	453.567	<0.001
<i>t</i> 值		1.506	1.780	2.094	12.407	15.680		
<i>P</i> 值		0.134	0.077	0.038	<0.001	<0.001		

表 3 两组患者不同时间点血清 TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

Table 3 Comparison of serum TNF- $\alpha$  levels at different time points between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	<i>n</i>	术前	术后 1 周	术后 4 周	术后 8 周	术后 12 周	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
延迟愈合组	34	87.64 $\pm$ 19.28	94.06 $\pm$ 20.65	128.65 $\pm$ 20.31	98.97 $\pm$ 19.62	77.91 $\pm$ 17.25	32.895	<0.001
正常愈合组	144	91.56 $\pm$ 17.33	84.71 $\pm$ 19.28	81.63 $\pm$ 18.22	74.61 $\pm$ 16.57	65.28 $\pm$ 13.51	49.676	<0.001
<i>t</i> 值		1.161	2.509	13.237	7.435	4.637		
<i>P</i> 值		0.247	0.013	<0.001	<0.001	<0.001		

表 4 两组患者不同时间点 NF- $\kappa$ B p65 亚基表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

Table 4 Comparison of the expression levels of NF- $\kappa$ B p65 subunit at different time points between the two groups ( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	<i>n</i>	术前	术后 1 周	术后 4 周	术后 8 周	术后 12 周	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
延迟愈合组	34	1.49 $\pm$ 0.31	1.53 $\pm$ 0.29	1.59 $\pm$ 0.34	1.51 $\pm$ 0.33	1.42 $\pm$ 0.36	2.764	0.038
正常愈合组	144	1.46 $\pm$ 0.28	1.39 $\pm$ 0.34	1.24 $\pm$ 0.37	1.16 $\pm$ 0.36	0.93 $\pm$ 0.28	46.891	<0.001
<i>t</i> 值		0.550	2.217	5.035	5.177	8.663		
<i>P</i> 值		0.583	0.028	<0.001	<0.001	<0.001		

### 2.4 IGF-1、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65 亚基及其联合检测对胫骨平台骨折术后愈合延迟的预测价值分析

ROC 曲线分析结果显示,术后 8 周血清 IGF-1、TNF- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B p65 亚基联合检测预测术后愈合延迟的敏感度和特异度分别为 92.30%、76.90%, AUC 值为 0.863,明显高于 IGF-1、TNF- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B p65 亚基单个指标检测( $Z=2.251$ 、 $2.378$ 、 $4.157$ ,  $P=0.036$ 、 $0.021$ 、 $0.008$ )、见表 5、图 1。

表 4 ROC 曲线分析价值

Table 4 ROC Curve

指标	AUC	最佳 阈值	Youden's 指数	敏感度	特异度	<i>P</i> 值
IGF-1	0.837	298.76	0.568	0.875	0.692	<0.001
TNF- $\alpha$	0.779	103.27	0.519	0.846	0.673	<0.001
NF- $\kappa$ B p65	0.677	1.50	0.394	0.817	0.577	0.012
联合检测	0.863		0.695	0.923	0.769	<0.001

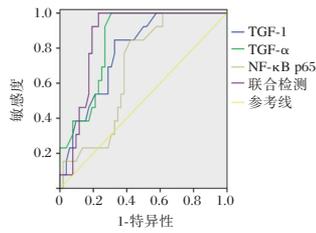


图1 ROC曲线分析

Figure 1 ROC curve

### 3 讨论

骨折愈合是一个复杂的创伤修复过程,主要包括血肿形成期、炎症反应期、骨痂形成期和骨痂改建期,多种生物因子参与了这一过程。IGF-1和TNF- $\alpha$ 主要在炎症反应期被大量释放,这两种因子可调节骨髓间充质干细胞的活性,调控其向成骨细胞转化<sup>[7-8]</sup>。NF- $\kappa$ B可介导炎症和免疫反应,其家族成员p65参与NF- $\kappa$ B通路的激活<sup>[9]</sup>。探究骨折愈合延迟过程中各种生物因子的水平变化,有助于了解其发生发展机制,可为临床骨折术后愈合延迟的防治提供参考依据<sup>[10]</sup>。

本研究结果显示,术后4、8和12周,延迟愈合组的血清IGF-1水平低于正常愈合组,提示IGF-1水平过低可能影响骨折的愈合。IGF-1是成骨细胞增殖分化的关键细胞因子,一方面可通过调控生长激素水平,增强成骨细胞活性;另一方面可抑制胶原酶表达水平,促使线性骨生长,使骨矿物质密度增加,从而加速骨折愈合<sup>[11]</sup>。有研究发现,IGF-1在严重骨缺损大鼠血清中水平较低,在骨折部位注射IGF-1可降低骨吸收水平,增强对骨折愈合的刺激<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$ 是临床常见的炎症因子,其水平变化与骨折区炎性损伤关系密切<sup>[13]</sup>。本研究发现,术后1、4、8和12周,延迟愈合组的血清TNF- $\alpha$ 水平高于正常愈合组,提示骨折延迟愈合患者的骨折区存在一定的炎性损伤,从而影响术后骨折的愈合。这可能与TNF- $\alpha$ 抑制骨髓间充质干细胞向成骨细胞转化、诱导成骨细胞凋亡、促进破骨细胞增殖分化等因素有关。徐向勇等<sup>[14]</sup>发现,TNF- $\alpha$ 在延迟愈合骨折患者中随时间波动明显,是导致骨折愈合时间延长的重要因素之一。本研究发现,术后1、4、8和12周,延迟愈合组的NF- $\kappa$ B p65亚基表达水平高于正常愈合组,提示NF- $\kappa$ B p65可能参与了骨折愈合延迟的过程。分析其原因可能是:NF- $\kappa$ B可高效诱导TNF- $\alpha$

等炎症因子编码基因的表达,趋化大量炎性细胞浸润并聚集在炎症部位,加重炎症反应,最终影响骨折愈合<sup>[15]</sup>。本研究还发现,IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65联合检测的AUC值最大,提示三者可作为预测胫骨平台骨折术后愈合延迟的良好指标。因此,临床可通过监测患者血清IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65表达水平,预测骨折延迟的发生,同时采取积极的干预措施以促进患者康复。

综上所述,血清IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65亚基的表达水平与胫骨平台骨折术后愈合延迟密切相关,随着时间延长,呈先升高后下降的趋势,IGF-1、TNF- $\alpha$ 和NF- $\kappa$ B p65亚基水平检测在胫骨平台骨折术后愈合延迟的预测方面具有较高诊断价值,联合检测可提高诊断准确性。

### 参考文献

- [1] 高长虹,石学峰,白志娟,等.开放性胫骨骨折创面感染病原学特点与愈合影响因素分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(10):1535-1538.
- [2] Markus H, Daniela K, Thomas G, et al. Different Kinetics of Bone Markers in Normal and Delayed Fracture Healing of Long Bones[J]. Clin Chem, 48(12):2263-2266.
- [3] Meeson R, Sanghani A, Coathup MJ, et al. CXCR4 Antagonism to Treat Delayed Fracture Healing[J]. Tissue Eng Part A, 2019, 15(6):1242-1250.
- [4] Mollahosseini M, Ahmadirad H, Goujani R, et al. The Association Between Traumatic Brain Injury and Accelerated Fracture Healing: A Study on the Effects of Growth Factors and Cytokines[J]. J Mol Neurosci, 2020, 71(8):162-168.
- [5] Fisher DAC, Malkova O, Engle EK, et al. Mass cytometry analysis reveals hyperactive NF Kappa B signaling in myelofibrosis and secondary acute myeloid leukemia [J]. Leukemia, 2017, 31(9):1962-1974.
- [6] Lenza M, Faloppa F. Surgical interventions for treating acute fractures or non-union of the middle third of the clavicle [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 7(5):1218-1223.
- [7] 张文莉,孙萍,杜彦懿,等.骨折延迟愈合患者血液流变学、血清黏附分子及骨代谢指标的检测及临床意义[J].中国卫生检验杂志,2018,28(16):2001-2003.
- [8] 田丰,杨家赵,徐玮,等.创伤性四肢骨折患者血清FIB, FDP, D-D和TAT水平与血栓形成的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(11):115-118+123.
- [9] Lu QL, Ma ZJ, Ding Y, et al. Circulating miR-103a-3p contributes to angiotensin II-induced renal inflammation and fibrosis via a SNRK/NF- $\kappa$ B/p65 regulatory axis [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):2145-2149.

(下转第1340页)

## NPY、TSB/ALB、LDH对新生儿高胆红素血症脑病预测效能

薛怀建<sup>1\*</sup> 王丹<sup>2</sup> 盛玮<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的** 探讨神经肽Y(NPY)、总胆红素与白蛋白比值(TSB/ALB)、乳酸脱氢酶(LDH)对新生儿高胆红素血症脑病的预测效能。**方法** 选取2018年3月至2021年1月本院收治的98例新生儿高胆红素血症患儿,根据是否并发胆红素脑病分为脑病组( $n=12$ )、无脑病组( $n=86$ ),比较两组基线资料、NPY、TSB、ALB、TSB/ALB、LDH,采用Spearman、多因素Logistic回归方程、受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析处理数据。**结果** 脑病组NPY、TSB/ALB、LDH高于无脑病组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );NPY、TSB/ALB、LDH与病情程度呈正相关( $P<0.05$ );将病情程度控制后,NPY、TSB/ALB、LDH仍与胆红素脑病发病相关( $P<0.05$ );NPY、TSB/ALB、LDH预测胆红素脑病的AUC分别为0.838、0.820、0.761,TSB/ALB+NPY预测胆红素脑病的AUC为0.903( $P<0.05$ )。**结论** NPY、TSB/ALB、LDH在新生儿高胆红素血症脑病中水平升高,有助于评估患儿病情程度,预测胆红素脑病的发生风险,从而为临床提供客观、实质性参考。

**[关键词]** NPY; TSB/ALB; LDH; 新生儿; 高胆红素血症; 胆红素脑病

### Predictive efficacy of NPY, TSB/ALB and LDH on neonatal hyperbilirubinemia encephalopathy

XUE Huaijian<sup>1\*</sup>, WANG Dan<sup>2</sup>, SHENG Wei<sup>1</sup>

(1. Department of Pediatrics, Huangshan People's Hospital, Huangshan, Anhui, China, 245000, China;

2. School of International Nursing, Huangshan Polytechnic, Huangshan, Anhui, China, 245000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the predictive efficacy of neuropeptide Y (NPY), total serum bilirubin/albumin (TSB/ALB), and lactate dehydrogenase (LDH) on neonatal hyperbilirubinemia encephalopathy. **Methods** 98 cases of neonatal hyperbilirubinemia in our hospital from March 2018 to January 2021 were selected. According to whether they were complicated by bilirubin encephalopathy, they were divided into the encephalopathy group ( $n=12$ ) and the anencephalopathy group ( $n=86$ ). The baseline data, NPY, TSB, ALB, TSB/ALB, LDH were compared between the two groups. Spearman, multivariate logistic regression equation, receiver operating characteristic curve (ROC) and area under ROC (AUC) were used to analyze and process the data. **Results** The NPY, TSB/ALB and LDH in the encephalopathy group were higher than those in the anencephalopathy group ( $P<0.05$ ). NPY, TSB/ALB and LDH were positively correlated with the severity of the disease ( $P<0.05$ ). After the severity of the disease, was controlled, NPY, TSB/ALB and LDH were still related to the onset of bilirubin encephalopathy ( $P<0.05$ ). The AUCs of NPY, TSB/ALB and LDH in predicting bilirubin encephalopathy were 0.838, 0.820, and 0.761, respectively. The AUC of TSB/ALB+NPY in predicting bilirubin encephalopathy was 0.903. **Conclusion** The elevated levels of NPY, TSB/ALB and LDH in neonatal hyperbilirubinemia encephalopathy are helpful to assess the severity of the disease in children, predict the risk of bilirubin encephalopathy, and provide an objective and substantive reference for the clinic.

**[KEY WORDS]** NPY; TSB/ALB; LDH; Neonates; Hyperbilirubinemia; Bilirubin encephalopathy

基金项目:安徽省高校自然科学研究项目(重点项目)(KJ2020A1030)

作者单位:1. 黄山市人民医院儿科,安徽,黄山 245000;

2. 黄山职业技术学院国际护理学院,安徽,黄山 245000

\*通信作者:薛怀建, E-mail: xhj810913@126.com

高胆红素血症是新生儿期常见一种疾病,大多预后良好,但受机体状态、内环境等多种因素影响,部分患儿可能发生重度高胆红素血症和胆红素脑病,损害神经系统,给患儿和家庭带来严重伤害,因此早期预测新生儿高胆红素血症患儿胆红素脑病的风险,对指导临床综合管理疾病、决策等意义重大<sup>[1]</sup>。神经肽 Y(Neuropeptide Y, NPY)是含量最丰富的神经肽之一,在急性脑损伤中表达水平升高,病情改善后降低<sup>[2]</sup>。总胆红素(Total serum bilirubin, TSB)可反映新生儿高胆红素血症病情程度<sup>[3]</sup>;血浆白蛋白(Albumin, ALB)不成熟与新生儿高胆红素血症发病有关,既往资料<sup>[4]</sup>显示,间接胆红素与 ALB 比值增大,并发胆红素脑病风险升高。乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)几乎存在于机体所有组织中,其水平越高,高胆红素血症病情程度越严重,有助于患儿病情的评估<sup>[5]</sup>。但目前关于 NPY、TSB/ALB、LDH 对新生儿高胆红素血症脑病预测效能尚未阐明,本研究对此进行探讨,旨在为临床预测胆红素脑病的发生风险提供参考,报告如下。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 3 月至 2021 年 1 月本院收治的 98 例新生儿高胆红素血症患儿,根据是否并发胆红素脑病分为脑病组( $n=12$ )、无脑病组( $n=86$ )。

纳入标准:①新生儿高胆红素血症和胆红素脑病的诊断参考《新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识》<sup>[6]</sup>;②胎龄>35 周;③患儿监护人自愿签署知情同意书。排除标准:①因感染、药物因素引起的黄疸者;②脑发育异常者;有窒息、宫内窘迫史者;③伴有感染性脑损伤者;④合并血液系统疾病者。本研究获本院伦理委员会审核通过。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 资料收集

收集患儿母亲年龄、母亲体质量指数、妊娠合并症、新生儿性别、早产、新生儿日龄、出生体重、高胆红素血症严重程度,其中高胆红素血症严重程度根据总胆红素水平评估,轻度:总胆红素 221.00~256.50  $\mu\text{mol/L}$ ;中度:总胆红素 256.51~342.00  $\mu\text{mol/L}$ ;重度:总胆红素>342.00  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[6]</sup>。

#### 1.2.2 各指标检测

于治疗前采集外周血标本 5 mL,采用酶联免疫吸附法检测血清 NPY、TSB 水平,并进行血常规

检测,记录 ALB、TSB/ALB,采用酶速率法检测血清 LDH。

### 1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 22.0 处理,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,计数资料用  $n(\%)$  表示,行  $\chi^2$  检验,采用 Spearman 分析各指标与病情程度的关系,采用多因素 Logistic 回归方程分析胆红素脑病的相关影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及 ROC 下面积(AUC)分析各指标预测胆红素脑病的价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组基线资料比较

两组母亲年龄、母亲体质量指数、妊娠合并症、新生儿性别、早产、新生儿日龄、出生体重比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );脑病组疾病严重程度与无脑病组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

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

Table 1 Comparison of baseline data between 2 groups

[ $(\bar{x} \pm s)$ ,  $n(\%)$ ]

资料	脑病组 ( $n=12$ )	无脑病组 ( $n=86$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
母亲年龄(岁)	30.65±2.72	29.86±2.94	0.879	0.382
母亲体质量指数( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	23.61±1.37	23.49±1.45	0.270	0.788
妊娠合并症				
无	10(83.33)	76(88.37)		
妊娠期糖尿病	1(8.33)	6(6.98)	0.337	0.845
妊娠期高血压	1(8.33)	4(4.65)		
新生儿性别(男/女)	7/5	58/28	0.090	0.765
早产				
否	10(83.33)	77(89.53)		
是	2(16.67)	9(10.47)	0.022	0.881
新生儿日龄(d)	8.16±2.04	8.42±1.87	0.446	0.656
出生体重(kg)	5.89±1.35	5.34±1.67	1.091	0.278
疾病严重程度				
轻度	0(0)	25(29.07)		
中度	5(41.67)	40(46.51)	7.782	0.020
重度	7(58.33)	21(24.42)		

### 2.2 两组各指标比较

脑病组 NPY、TSB/ALB、LDH 高于无脑病组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组 TSB、ALB 比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 各指标与病情程度关系

以两组各指标作为源数据,采用 Spearman 进行相关性分析,结果显示,NPY( $r=0.615$ ,  $P < 0.001$ )、TSB/ALB( $r=0.715$ ,  $P < 0.001$ )、LDH( $r=0.649$ ,  $P < 0.001$ )与病情程度呈正相关。

表2 两组各指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	脑病组(n=12)	无脑病组(n=86)	t值	P值
NPY (ng/L)	7.12±2.29	3.50±0.92	10.109	<0.001
TSB ( $\mu\text{mol/L}$ )	308.78±56.79	290.15±50.33	1.183	0.240
ALB (g/L)	33.89±3.85	35.26±4.05	1.104	0.272
TSB/ALB	9.11±0.51	8.23±0.44	6.366	<0.001
LDH (U/L)	476.84±108.26	385.68±112.86	2.633	0.010

## 2.4 多因素分析

以是否发生胆红素脑病为因变量(未发生赋值为0,发生赋值1),纳入NPY、TSB/ALB、LDH作为自变量(低于均值赋值为1,高于均值赋值为2,三者均值依次为3.94 ng/L、8.34、396.84 U/L),应用多因素 Logistic 回归方程分析,结果显示,将病情程度控制后,NPY 仍与胆红素脑病发病相关( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 胆红素脑病的多因素 Logistic 回归方程分析

影响因素	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$	OR值	95%CI	P值
NPY	1.024	0.316	10.493	2.783	2.117~3.659	<0.001
TSB/ALB	1.029	0.279	13.594	2.797	1.897~4.125	<0.001
LDH	0.936	0.301	9.674	2.550	1.035~6.284	<0.001

## 2.5 各指标的预测价值

以脑病组为阳性样本,以无脑病组为阴性样本,绘制各指标预测胆红素脑病的ROC曲线,结果显示,NPY、TSB/ALB、LDH 预测胆红素脑病的AUC分别为0.838、0.820、0.761 ( $P < 0.05$ );由于TSB/ALB的敏感度最高,NPY的特异度最高,故应用 Logistic 二元拟合回归构建两者联合预测胆红素脑病的模型,结果显示,TSB/ALB+NPY 预测胆红素脑病的AUC为0.903 ( $P < 0.05$ )。见表4、图1。

表4 ROC分析结果

Table4 ROC analysis results

指标	AUC	95%CI	cut-off值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
NPY	0.838	0.750~0.905	>5.35ng/L	83.33	73.26	<0.001
TSB/ALB	0.820	0.730~0.891	>8.70	91.67	72.09	<0.001
LDH	0.761	0.664~0.841	>449.88U/L	83.33	69.77	<0.001
TSB/ALB+NPY	0.903	0.827~0.954		91.67	84.88	<0.001

## 3 讨论

NPY 在外周和中枢神经系统分布广泛,具有增强血管收缩、刺激单核细胞激活等功能,在新生儿缺血缺氧性脑病中含量升高,可反映脑损伤情

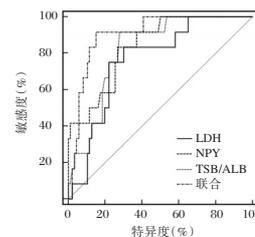


图1 各指标的预测价值

Figure 1 The predicted value of each indicator

况<sup>[7]</sup>。陈清等<sup>[8]</sup>研究显示,高胆红素血症脑损伤患儿 NPY 高于健康对照新生儿,且病情越严重,NPY 越高,本研究观点与之一致。新生儿高胆红素血症脑病发生后,随着 TSB 水平升高,经血脑屏障进入脑组织 TSB 逐渐增多,能通过破坏钙离子平衡功能,降低线粒体功能,引起神经元氧化应激损伤,并能对小脑、基底节区、前庭神经等造成神经毒性,从而引起 NPY 升高,且 NPY 越高,提示患儿病情越严重,因此检测 NPY 有助于评估病情程度。将病情程度控制后,NPY 仍与胆红素脑病发病相关,佐证了 NPY 具有预测胆红素脑病风险的潜质。当 NPY>5.35 ng/L 时,预测胆红素脑病的敏感度为 83.33%,特异度为 73.26%,能为临床提供客观的数据参考。

TSB 升高是新生儿高胆红素血症的一个重要特征,与新生儿脑电图表现具有相关性,一般认为,对胎龄大于 35 周新生儿,TSB $\geq$ 342  $\mu\text{mol/L}$  时有发生胆红素脑病风险,可用于脑损伤的评估<sup>[9]</sup>。但笔者长期临床工作经验发现,TSB 未达以上水平时,亦可存在胆红素脑损伤,尤其是合并溶血、感染、早产等因素时,结合资料<sup>[10-11]</sup>分析,新生儿红细胞被破坏后,产生未结合的胆红素,入血后大多与 ALB 结合形成复合物,超出 ALB 结合能力的部分即为游离的未结合胆红素(具有神经毒性),目前普遍认同,胆红素脑病的发生主要是游离胆红素通过血管屏障对神经细胞产生损伤,故从理论上,游离胆红素是反映胆红素毒性的敏感证据,而外周血中游离胆红素检测不易实现,在胆红素代谢中,游离胆红素结合 ALB 后不易透过血脑屏障,因此单纯依赖 TSB 可能会低估胆红素对神经系统的损害。本研究素脑病患儿 TSB/ALB 高于单纯高胆红素血症者,与病情程度呈正相关,与代红等<sup>[12]</sup>报道相似,佐证了 TSB/ALB 可作为预测胆红素脑病的一个指标。当 TSB/ALB>8.70 时,预测胆红素脑病的敏感度为 91.67%,特异度为 72.09%,呈现出较高的预测价值。

LDH属于氢转移酶,能转移氢。与健康新生儿相比,高胆红素血症者LDH水平更高<sup>[13]</sup>。本研究显示,胆红素脑病患儿LDH高于单纯高胆红素血症者,与病情程度有关,且将病情程度控制后,LDH仍与胆红素脑病发生相关。陈秀霞等<sup>[14]</sup>报道,新生儿胆红素脑病患儿LDH高于非胆红素脑病者,佐证了LDH在评估胆红素脑病中的价值。LDH广泛分布于多种细胞中,生理状态下在胞质内含量丰富,不能通过细胞膜,高胆红素血症并发胆红素脑病时,神经细胞受到损伤或凋亡,导致胞质内LDH通过细胞膜,释放至胞外,并通过受损的血脑屏障进入外周循环,从而引起外周血LDH升高<sup>[15]</sup>。LDH越高,新生儿高胆红素血症者病情越严重,发生胆红素脑病的风险越高,临床上宜加强对此类患儿病情监测和管理,以预防不良预后的发生。

综上,NPY、TSB/ALB、LDH在新生儿高胆红素血症脑病中水平升高,有助于评估患儿病情程度,预测胆红素脑病的发生风险,从而为临床提供客观、实质性参考。

## 参考文献

- [1] 陶莉,卢伟能.脑功能监测在重度高胆红素血症的应用[J].中华生物医学工程杂志,2018,24(3):178-181.
- [2] 张小军,段海真,华维,等.复方脑肽节苷脂治疗急性颅脑损伤的临床研究和对血清神经元再生因子的影响[J].中国临床药理学杂志,2020,36(5):493-495+502.
- [3] Boo NY, Sin S, Chee SC, et al. Genetic Factors and Delayed TSB Monitoring and Treatment as Risk Factors Associated with Severe Hyperbilirubinemia in Term Neonates Admitted for Phototherapy[J]. J Trop Pediatr, 2020,66(6):569-582.
- [4] 杨勇,任雪军,朱樱梅.新生儿溶血性高胆红素血症与胆红素脑病的关系研究[J].中国妇幼保健,2019,34(8):1773-1774.
- [5] 李洁,戴丽凤.血清AST、CKMB、LDH、BUN及TBiL水平表达及对高胆红素血症新生儿的临床意义[J].中国妇幼保健,2019,34(19):4481-4484.
- [6] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,《中华儿科杂志》编辑委员会.新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识[J].中华儿科杂志,2014,52(10):745-748.
- [7] 肖婉翡,冉丽红,赵黎丽,等.促红细胞生成素联合纳洛酮治疗恢复期新生儿缺氧缺血性脑病的疗效及对血清炎症因子的影响[J].广西医科大学学报,2019,36(11):1797-1801.
- [8] 陈清,钱霜霜,林锋.NSE联合NPY对新生儿高胆红素血症脑损伤早期诊断的临床意义[J].重庆医学,2019,48(10):1784-1786.
- [9] Johnson SM, Vasu V, Marseille C, et al. Validation of transcutaneous bilirubinometry during phototherapy for detection and monitoring of neonatal jaundice in a low-income setting [J]. Paediatr Int Child Health, 2020,40(1):25-29.
- [10] 李建瑜.游离胆红素预测新生儿胆红素脑病的研究进展[J].国际儿科学杂志,2019,46(8):575-579.
- [11] 刘洋,刘晓鹰,贾俊岭,等.蓝光光疗配合中药药浴治疗新生儿黄疸的疗效观察[J].中西医结合肝病杂志,2019,29(4):374-375.
- [12] 代红,范小康.高胆红素血症新生儿血清NPY、S100B蛋白、B/A比值与胆红素脑损伤的关系[J].海南医学,2020,31(23):3050-3053.
- [13] 汪灵芝,贾文婷,张苗苗.前白蛋白和降钙素原在新生儿高胆红素血症中的表达及与心肌酶谱的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(8):1039-1043.
- [14] 陈秀霞,庄超,王彩霞,等.肌酸激酶乳酸脱氢酶在新生儿胆红素脑病患儿血清中的表达及临床意义[J].河北医学,2020,26(8):1376-1380.
- [15] 杜丽君,王丽娟,罗菲菲.高胆红素血症足月新生儿血清AST、LDH、CysC及 $\beta$ 2-MG水平及其与病情严重程度的相关性分析[J].标记免疫分析与临床,2019,26(7):1196-1199.

(上接第1336页)

- [10] 周伟,黄松,魏优秀.四肢骨折延迟愈合患者血清miR-206、IGF-1,sICAM-1水平变化及诊断效能[J].山东医药,2020,60(30):26-30.
- [11] Liu H, Su H, Wang X, et al. MiR-148a regulates bone marrow mesenchymal stem cells-mediated fracture healing by targeting insulin-like growth factor 1[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(2):271-284.
- [12] Poudel SB, Bhattarai G, Kook SH, et al. Recombinant human IGF-1 produced by transgenic plant cell suspension culture enhances new bone formation in calvarial defects [J]. Growth Horm IGF Res, 2017,36(18):1-10.
- [13] Kuma M, Killinger Z, Jackuliak P, et al. Pathophysiology of growth hormone secretion disorders and their impact on bone microstructure as measured by trabecular bone score [J]. Physiol Res, 2019,68(2):121-129.
- [14] 徐向勇,余永斌.血流变学指标血清炎症因子水平变化在骨折延迟愈合患者中的临床研究[J].河北医学,2020,26(5):810-815.
- [15] Rosero S, Machet F, Kowarz M, et al. P6308Use of cell-embedded fully implantable biosensor system for real-time, in-vivo monitoring of NF-Kappa B inflammatory pathway[J]. Eur Heart J, 2019,40(12):126-134.

· 论 著 ·

## IL-33/ST2 信号通路相关因子对颅脑外伤合并 SIRS 的诊断价值

杨永刚\* 欧阳阳钢 伍小军 陈平平

**[摘要]** **目的** 探究白细胞介素-33(IL-33)/特异性受体肿瘤发生抑制蛋白2(ST2)信号通路相关因子对颅脑外伤合并全身炎症反应综合征(SIRS)的诊断价值。**方法** 选取本院2019年7月至2020年12月颅脑外伤合并疑似SIRS患者80例,根据临床确诊结果将SIRS患者46例作为观察组,非SIRS患者34例作为对照组。比较两组临床资料、炎症指标[C反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)]水平、血清IL-33、可溶性ST2(sST2)水平,分析血清IL-33、sST2与CRP、PCT、APACHE II评分相关性及其对颅脑外伤合并SIRS的影响因素,评价血清IL-33、sST2单独及联合诊断颅脑外伤合并SIRS的价值。**结果** 两组年龄、颅脑外伤程度、APACHE II评分、CRP、PCT水平比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );观察组血清IL-33、sST2水平高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清IL-33、sST2与CRP、PCT、APACHE II评分呈正相关( $P<0.05$ );Logistic回归分析,年龄、颅脑外伤程度、血清IL-33、sST2是颅脑外伤合并SIRS的重要影响因素( $P<0.05$ );ROC曲线分析,血清IL-33、sST2联合诊断颅脑外伤合并SIRS的AUC为0.908,95%CI:0.823~0.861,敏感度为78.26%,特异度为91.18%,诊断价值明显优于两者单独诊断( $P<0.05$ )。**结论** IL-33/ST2信号通路相关因子与颅脑外伤病情、炎症反应联系紧密,过度升高表达可作为诊断并发SIRS的潜在思路。

**[关键词]** 颅脑外伤;全身炎症反应综合征;白细胞介素-33;特异性受体肿瘤发生抑制蛋白2;信号通路

### The diagnostic value of IL-33/ST2 signal pathway related factors in craniocerebral trauma with SIRS

YANG Yonggang\*, OUYANG Yanggang, WU Xiaojun, CHEN Pingping

(Department of Emergency Medicine, Longhua District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong, China, 518109)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the diagnostic value of interleukin-33 (IL-33)/suppression of tumorigenicity 2 (ST2) signaling pathway related factors for traumatic brain injury with systemic inflammatory response syndrome (SIRS). **Methods** 80 patients with craniocerebral trauma combined with suspected SIRS in our hospital from July 2019 to December 2020 were selected. Based on the clinical diagnosis results, 46 SIRS patients were selected as the observation group, and 34 non-SIRS patients were used as the control group. The clinical data, inflammatory indicators [C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT)] levels, serum IL-33, and soluble ST2 (sST2) levels were compared between the two groups. The correlation between serum IL-33, sST2 and CRP, PCT, APACHE II scores and the influencing factors of SIRS in craniocerebral trauma were analyzed, and the value of serum IL-33 and sST2 in diagnosing craniocerebral trauma and SIRS alone or in combination was evaluated. **Results** There were statistically significant differences in age, degree of traumatic brain injury, APACHE II score, CRP and PCT levels between the two groups ( $P<0.05$ ). Serum IL-33 and sST2 levels in the observation group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The serum IL-33 and sST2 were positively correlated with CRP, PCT

基金项目:深圳市宝安区社会公益基金项目(2016CX050)

作者单位:深圳市龙华区人民医院急诊医学科,广东,深圳 518109

\*通信作者:杨永刚, E-mail: yangyangyonggang@163.com

and APACHE II scores ( $P<0.05$ ). Logistic regression analysis showed that age, degree of traumatic brain injury, serum IL-33 and sST2 were important influencing factors of SIRS with traumatic brain injury ( $P<0.05$ ). The ROC curve analysis showed that the AUC of the combined diagnosis of serum IL-33 and sST2 with SIRS was 0.908, 95% CI was 0.823-0.861, the sensitivity was 78.26%, and the specificity was 91.18%. The diagnostic value was significantly better than that of the two alone ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The IL-33/ST2 signaling pathway related factors are closely related to the condition of craniocerebral injury and inflammatory response. Over-expression can be used as a potential idea for the diagnosis of SIRS.

**[KEY WORDS]** Craniocerebral trauma; Systemic inflammatory response syndrome; Interleukin-33; Suppression of tumorigenicity 2; Signaling pathway

颅脑外伤是临床神经外科常见疾病类型,可因应激性炎症反应、免疫反应引发全身炎症反应综合征(Systemic inflammatory response syndrome, SIRS),显著提高预后不良及死亡风险<sup>[1]</sup>。目前,临床公认 SIRS 发生过程涉及众多免疫、炎症因子,明确可靠指标为临床及早确诊提供依据具有重要意义。白细胞介素-33(Interleukin-33, IL-33)属于 IL 家族重要成员,参与免疫调节、心血管稳态、自身特异性变态反应等病理过程<sup>[2]</sup>。同时,既往临床研究证实,IL-33 能结合特异性受体肿瘤发生抑制蛋白 2 (Suppression of tumorigenicity 2, ST2)发挥相关生物学效应,被称为 IL-33/ST2 信号通路,在众多疾病中具有多效性作用,与免疫微环境、病原体类型、感染阶段、累及器官等有关<sup>[3-4]</sup>。但关于该信号通路在颅脑外伤合并 SIRS 中的作用及价值仍缺乏循证依据。本研究尝试探究 IL-33/ST2 信号通路相关因子对颅脑外伤合并 SIRS 的诊断价值。报告如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取本院 2019 年 7 月至 2020 年 12 月颅脑外伤合并疑似 SIRS 患者 80 例作为研究对象,其中男 50 例,女 30 例,年龄平均(55.06±5.78)岁,体质指数(Body mass index, BMI)平均(21.21±2.10)kg/m<sup>2</sup>,颅脑外伤原因:交通事故 50 例,高空跌落 21 例,击打伤 9 例,急性生理与慢性健康状况评价系统 II (Acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分<sup>[5]</sup>,平均(20.93±2.11)分。根据临床确诊结果将 SIRS 患者 46 例作为观察组,非 SIRS 患者 34 例作为对照组。两组一般资料比较,差异无统计学意义( $P<0.05$ )。受试者均知情同意。

纳入标准:均因颅脑外伤入院;均伴有疑似 SIRS 临床症状、体征;结合相关诊断标准确诊是否合并 SIRS<sup>[6]</sup>:心率>90 次/min;体温<36℃或>38℃;

白细胞计数>12×10<sup>9</sup>/L 或<4×10<sup>9</sup>/L 或出现>10%的不成熟细胞;呼吸频率>20 次/min 或动脉血二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>)<4.25 KPa。排除标准:伴有失血性休克者;合并多发伤者;入院前存在感染者;伴有自身免疫性疾病者。实验经本院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

采集所有患者清晨空腹静脉血 3 mL,置于离心管,离心处理,离心速率 2 500 r/min,离心半径为 13.5 cm,离心时间为 10 min,取上清液,保存于-70℃条件下,待检。采用酶联免疫吸附法检测血清 IL-33、可溶性 ST2 (Soluble ST2, sST2)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、降钙素原 (Procalcitonin, PCT)水平,全自动酶标仪及配套试剂盒购自法国梅里埃公司,所有操作步骤严格遵循试剂盒说明书。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 22.0 处理数据,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )描述,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料用  $n(\%)$  表示、 $\chi^2$  检验;影响因素采用 Logistic 多因素回归分析;相关性采用 Pearson 相关系数模型分析;诊断效能采用受试者工作特征(ROC)曲线分析,联合诊断实施 Logistic 二元回归拟合,返回预测概率  $\text{logit}(p)$ ,将其作为独立检验变量。 $P<0.05$  表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料及炎症指标水平

两组性别、BMI、颅脑外伤原因比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );两组年龄、颅脑外伤程度、APACHE II 评分、CRP、PCT 水平比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

### 2.2 两组血清 IL-33、sST2 水平

观察组血清 IL-33、sST2 水平高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表1 两组临床资料及炎症指标水平比较  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$ 

资料	观察组 (n=46)	对照组 (n=34)	$t/\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	57.23±6.11	52.13±5.29	3.903	<0.001
性别				
男	28(60.87)	22(64.71)	0.123	0.726
女	18(39.13)	12(35.29)		
颅脑外伤原因				
交通事故	30(65.22)	20(58.82)		
高空跌落	12(26.09)	9(26.47)	0.698	0.486
击打伤	4(8.70)	5(14.71)		
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.38±2.03	20.97±2.14	0.873	0.386
颅脑外伤程度				
轻型颅脑外伤	11(23.91)	23(67.65)	15.301	<0.001
重型颅脑外伤	35(76.09)	11(32.35)		
APACHE II 评分(分)	22.76±2.28	18.45±2.09	8.656	<0.001
炎症指标				
CRP(mg/L)	30.49±10.15	15.53±5.12	7.876	<0.001
PCT(μg/L)	32.61±10.44	18.47±6.10	7.051	<0.001

表2 两组血清 IL-33、sST2 水平比较  $(\bar{x} \pm s)$ 

组别	n	IL-33 (ng/L)	sST2 (ng/L)
观察组	46	15.17±5.04	3208.41±521.77
对照组	34	10.36±3.18	2813.67±312.56
t 值		4.888	3.919
P 值		<0.001	<0.001

### 2.3 血清 IL-33、sST2 与 CRP、PCT 相关性

Pearson 相关性分析, 血清 IL-33 ( $r=0.727$ 、 $0.745$ )、sST2 ( $r=0.746$ 、 $0.681$ ) 与 CRP、PCT 呈正相关 ( $P<0.05$ )。

### 2.4 血清 IL-33、sST2 水平与 APACHE II 评分相关性

Pearson 相关性分析, 血清 IL-33、sST2 水平与 APACHE II 评分呈正相关 ( $r=0.729$ 、 $0.656$ ,  $P<0.05$ )。

### 2.5 颅脑外伤合并 SIRS 的影响因素

以颅脑外伤是否合并 SIRS 作为因变量(否=0, 是=1), 年龄、颅脑外伤程度、APACHE II 评分、血清 IL-33、sST2 作为自变量(颅脑外伤程度: 轻型=1, 重型=2; 年龄、血清 IL-33、sST2 以所有患者平均值为界:  $<$ 平均值=1,  $\geq$ 平均值=2), Logistic 回归分析, 年龄、颅脑外伤程度、血清 IL-33、sST2 是颅脑外伤合并 SIRS 的重要影响因素 ( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.6 血清 IL-33、sST2 对颅脑外伤合并 SIRS 的诊断价值

ROC 曲线分析, 血清 IL-33、sST2 联合诊断颅

表3 颅脑外伤合并 SIRS 的影响因素

Table 3 Influencing factors of craniocerebral trauma combined with SIRS

变量	$\beta$ 值	S.E. 值	Wald $\chi^2$	OR 值	95%CI	P 值
年龄	1.011	0.320	9.980	2.748	1.796~4.205	<0.001
病情程度	1.645	0.453	13.187	5.181	3.258~8.239	<0.001
IL-33	1.441	0.421	11.715	4.225	2.635~6.774	<0.001
sST2	1.615	0.507	10.148	5.028	2.041~12.388	<0.001

脑外伤合并 SIRS 的 AUC 为 0.908, 95%CI 为 0.823 ~ 0.861, 诊断价值明显优于两者单独诊断 ( $P<0.05$ )。见表 4、图 1。

表4 血清 IL-33、sST2 对颅脑外伤合并 SIRS 的诊断价值

Table 4 diagnostic value of serum IL-33 and sst2 in patients with traumatic brain injury complicated with SIRS

指标	AUC	95%CI	Z 值	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
IL-33	0.830	0.729~0.904	7.361	>14.25 ng/L	63.04	94.12	<0.001
sST2	0.776	0.669~0.861	5.203	>2824.46 ng/L	84.78	61.76	<0.001
联合	0.908	0.823~0.861	12.783		78.26	91.18	<0.001

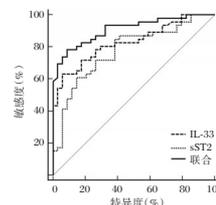


图1 血清 IL-33、sST2 对颅脑外伤合并 SIRS 的诊断价值

Figure 1 diagnostic value of serum IL-33 and sst2 in patients with traumatic brain injury complicated with SIRS

## 3 讨论

临床证实, 颅脑外伤尤其是重型颅脑外伤发生后, 颅内促炎因子分泌量显著增加, 启动机体炎症级联反应, 从而引发 SIRS, 可能导致脑细胞死亡、脑代谢改变、继发性脑损害, 甚至造成多脏器功能衰竭<sup>[7]</sup>。因此, 探索可靠指标在 SIRS 中的作用机制及变化情况对及早诊断颅脑外伤合并 SIRS、避免多器官功能衰竭综合征意义重大。

IL-33/ST2 信号通路参与各种感染疾病发生过程, 位于 Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR) 下游, 在特异性识别细菌病原体中具有重要作用。sST2 作为诱骗受体, 可抢夺 IL-33 并妨碍信号通路传导, 从而促使该信号通路涉及 Th1、Th2 免疫应答, 影响机体 T 细胞亚群平衡, 参与免疫炎症反应<sup>[8]</sup>。郭蕾等<sup>[9]</sup>报道表明, 脓毒症患者血清 IL-33、sST2 水平呈显著升高趋势。基于上述研究, 本研究结果显示, 除年龄、颅脑外伤程度之外, 血清 IL-33、

sST2是颅脑外伤合并SIRS的重要影响因素,且血清IL-33、sST2与CRP、PCT等炎症标志物表现出明显正相关关系。分析原因,IL-33可作为早期炎症反应的“警报素”,在颅脑外伤炎症级联反应中发挥双重作用:一方面,经由IL-33/ST2信号通路参与Th2免疫应答,促进ILC2增殖,极化M2细胞,活化Treg细胞,引发免疫抑制效应;另一方面能促进自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞生成干扰素 $\gamma$ ,参与Th1免疫反应,在促炎反应中发挥加速作用,从而导致SIRS发生风险增加。同时,IL-33可经由受损内皮细胞释放至细胞外,通过炎症信号通路促使下游一系列细胞因子释放,诱导并参与免疫炎症反应<sup>[10-11]</sup>。此外,sST2能够抑制TLR2、TLR4信号通路及其下游因子,加快中性粒细胞募集,增强机体杀菌能力<sup>[12]</sup>。因此,在颅脑外伤导致机体产生应激性免疫炎症反应中,血清IL-33、sST2呈现代偿性升高。本研究还发现,血清IL-33、sST2与APACHE II评分呈正相关,结合相关研究推测:随着病情不断进展,机体内炎症反应逐渐被过度放大,促使继发的代偿性抑炎性反应呈亢进状态,具体表现为IL-33、sST2显著升高,Th1/Th2之间的平衡向Th2倾斜,导致抑炎症因子为拮抗机体内促炎性因子引发的过度炎症反应呈现持续升高表达<sup>[13-14]</sup>。此外,抑炎症因子升高后虽对炎症放大有一定抑制作用,但同时也会引起免疫损伤及免疫抑制,促使大量淋巴免疫细胞凋亡或功能减弱,故IL-33、sST2等抑炎症因子随病情加重不下降反而升高<sup>[15]</sup>。提示临床可通过检测血清IL-33/ST2信号通路水平变化情况为评估颅脑外伤病情提供更多参考依据,有利于制定针对性、合理性治疗方案。

本研究初次尝试分析两者联合诊断价值,结果发现,与单独诊断相比,血清IL-33、sST2联合诊断价值较高,可作为临床及早诊断颅脑外伤合并SIRS的新途径,为临床实施针对性、个体化治疗提供新思路。另有研究表明,与痊愈脓毒症患者相比,死于脓毒症患者血清sST2较高,提示sST2可能对预后具有重要影响<sup>[16]</sup>。但本研究未详细探讨IL-33/ST2信号通路对颅脑外伤合并SIRS患者预后的影响,需做进一步分析与探究,以获取更为全面的数据支持。

综上所述,IL-33/ST2信号通路相关因子与颅脑外伤病情、炎症反应联系紧密,两者过度升高表达可作为并发SIRS的有效依据,联合检测有望成为诊断并发SIRS的优选方式,能为临床提供可靠信息。

## 参考文献

- [1] 李殿发. 血必净治疗重度颅脑损伤致全身炎症反应疗效观察[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30(1): 142-144.
- [2] Bao Q, Lv R, Lei M. IL-33 attenuates mortality by promoting IFN- $\gamma$  production in sepsis [J]. *Inflamm Res*, 2018, 67(6): 531-538.
- [3] 尹晶, 陈文涛, 郁毅刚. 重症COPD患者IL-33/ST2比值与血气指标、氧化应激反应程度的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3): 305-308.
- [4] Chen WY, Tsai TH, Yang JL, et al. Therapeutic Strategies for Targeting IL-33/ST2 Signalling for the Treatment of Inflammatory Diseases [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(1): 349-358.
- [5] Lee JT, Mikkelsen ME. Risk Stratification Tools in Sepsis: From Acute Physiology and Chronic Health Evaluation to Quick Sequential Organ Failure Assessment [J]. *Crit Care Med*, 2019, 47(8): 1159-1161.
- [6] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014) [J]. *中华内科杂志*, 2015, 54(6): 557-581.
- [7] 周晗, 潘轲, 王国偃, 等. 肺部感染评分及全身炎症反应综合征修正评分对重型颅脑损伤继发感染临床诊疗价值分析 [J]. *山西医药杂志*, 2017, 46(13): 1534-1536.
- [8] Ding X, Jin S, Shao Z, et al. The IL-33-ST2 Pathway Contributes to Ventilator-Induced Lung Injury in Septic Mice in a Tidal Volume-Dependent Manner [J]. *Shock*, 2019, 52(3): e1-e11.
- [9] 郭蕾, 薛荣亮. miR-487b/IL-33/ST2在脓毒症中的表达及意义 [J]. *西部医学*, 2019, 31(6): 953-957.
- [10] 梁静, 林子钰, 郑丽花, 等. 血浆IL-33、HSP60、HSP70及Histone4水平与HBV所致肝脏疾病严重性的相关性 [J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(5): 549-553, 后插3.
- [11] 康杰. 创伤患者血清IL-33与sST2的变化及其与C-反应蛋白和损伤程度评分的动态变化 [J]. *临床急诊杂志*, 2019, 20(9): 741-743, 747.
- [12] Artru F, Bou Saleh M, Maggiotto F, et al. IL-33/ST2 pathway regulates neutrophil migration and predicts outcome in patients with severe alcoholic hepatitis [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(6): 1052-1061.
- [13] 姜纯杰, 关飞, 雷家慧. IL-33/ST2信号通路在感染性疾病中的研究进展 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2018, 36(3): 308-314.
- [14] Huang S, Yang Z, Guo D, et al. Research progress of interleukin-33 and its receptor ST2 in sepsis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2020, 32(11): 1399-1402.
- [15] You J, Lin J, Zhou YF, et al. Role of the IL-33/ST2/p38 signaling pathway in the immune response of corneal epithelial cells to *Aspergillus fumigatus* infection [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(4): 549-556.
- [16] 孔夏, 张新超. 血清可溶性ST2对脓毒症预后的判断价值研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27(4): 394-398.

## 动态监测 HE4、Smad4、HGF 预测卵巢癌外科术后早期复发的价值

左尔比亚·买买提 古再力努尔·艾白\* 阿斯木古丽·克力木

**【摘要】** 目的 探讨动态监测人附睾蛋白4(HE4)、Smad4、肝细胞生长因子(HGF)预测卵巢癌外科术后早期复发的价值。方法 选取2017年5月至2020年6月本院收治的72例行外科手术治疗的卵巢癌患者,根据术后6个月是否复发分为复发组( $n=15$ )、未复发组( $n=57$ ),比较两组基线资料及术前、术后2、4周HE4、Smad4、HGF水平,采用多因素Logistic回归方程分析复发的相关影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析各指标预测复发的价值。结果 复发组FIGO 2014年修订分期系统、腹水、手术方式与未复发组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );复发组术后2、4周HE4、Smad4、HGF高于未复发组( $P<0.05$ );多因素Logistic回归方程分析,结果显示,将FIGO 2014年修订分期系统、腹水、手术方式控制后,术后2、4周HE4、Smad4、HGF仍与复发相关( $P<0.05$ );术后4周HE4(0.878)、Smad4(0.846)、HGF(0.834)及联合(0.949)预测复发的AUC大于术后2周(0.680、0.785、0.731、0.894)。结论 卵巢癌外科术后早期复发患者HE4、Smad4、HGF水平较未复发患者升高,联合监测三者水平可预测患者复发的风险,为临床干预提供重要参考信息。

**【关键词】** HE4; Smad4; HGF; 卵巢癌; 外科术后复发

### The value of dynamic monitoring of HE4, Smad4 and HGF in predicting the early recurrence of ovarian cancer after surgery

Zuoerbiya. MAIMAITI, Guzailinver. AIBAI\*, Aermuguli. KELIMU

(The First Department of Gynecology, the First People's Hospital of Kashgar, Kashgar, Xinjiang, China, 844000)

**【ABSTRACT】** **Objective** To investigate the value of dynamic monitoring of human epididymal protein 4 (HE4), Smad4, and hepatocyte growth factor (HGF) in predicting the early recurrence of ovarian cancer after surgery. **Methods** A total of 72 patients with ovarian cancer treated in our hospital from May 2017 to June 2020 who underwent surgical treatment were selected. They were divided into the recurrence group ( $n=15$ ) and the non-recurrence group ( $n=57$ ) according to whether they recurred 6 months after surgery. The baseline data of the two groups and the levels of HE4, Smad4, and HGF before surgery, 2 and 4 weeks after surgery were compared. The multivariate logistic regression equation was used to analyze the related factors of recurrence, and the receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the value of each indicator in predicting recurrence. **Results** The recurrence group FIGO 2014 revised staging system, ascites, and surgical methods were compared with the non-recurrence group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The recurrence group had higher HE4, Smad4, and HGF at 2 and 4 weeks after surgery than the non-recurrence group ( $P<0.05$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that after the FIGO 2014 revised staging system, ascites, and surgical methods were controlled, HE4, Smad4, and HGF were still associated with recurrence at 2 and 4 weeks after surgery ( $P<0.05$ ). The AUC of HE4 (0.878), Smad4 (0.846),

基金项目:新疆少数民族科技人才特殊培养计划(2018D03022)

作者单位:喀什地区第一人民医院妇一科,新疆,喀什 844000

\*通信作者:古再力努尔·艾白, E-mail: 3515451908@qq.com

HGF (0.834) and combination (0.949) predicting recurrence at 4 weeks after surgery was greater than that at 2 weeks after surgery (0.680, 0.785, 0.731, 0.894). **Conclusion** The levels of HE4, Smad4, and HGF in patients with early recurrence after ovarian cancer surgery are higher than those in patients without recurrence. Combined monitoring of the levels of the three can predict the risk of recurrence in patients and provide important reference information for clinical intervention.

**[KEY WORD]** HE4; Smad4; HGF; Ovarian cancer; Recurrence after surgery

卵巢癌年发病率居子宫颈癌和子宫体恶性肿瘤之后第3位,死亡率位于女性生殖道恶性肿瘤之首,严重威胁女性生命安全<sup>[1]</sup>。外科手术是治疗卵巢癌重要手段,但受临床分期、手术方式等因素影响,术后仍存在复发风险,并成为影响患者预后的主要因素,因此早期预测患者复发概率具有积极意义<sup>[2]</sup>。人附睾蛋白4(Human epididymis protein-4, HE4)在卵巢癌中表达升高,术后大幅降低提示手术治疗有效,但对外科术后复发的预测尚不明确<sup>[3]</sup>。Smad4是转化生长因子 $\beta$ 信号传导的中心介质,在肝癌中水平高于健康体检者,且肝癌死亡者Smad4高于生存者,是预后的相关影响因素<sup>[4]</sup>。体外实验<sup>[5]</sup>表明,肝细胞生长因子(Hepatocyte growth factor, HGF)可促进卵巢癌细胞的增殖,但是否有助于卵巢癌外科术后复发的预测仍有待探讨。基于此本研究探讨动态监测HE4、Smad4、HGF预测卵巢癌外科术后早期复发的价值,为临床预测复发、早期干预等提供参考,报告如下。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

经本院伦理委员会批准,选取2017年5月至2020年6月本院收治的72例行外科手术治疗卵巢癌患者,根据术后6个月是否复发分为复发组( $n=15$ )、未复发组( $n=57$ )。纳入标准:①术后病理学结果证实为卵巢癌<sup>[6]</sup>;②行外科手术治疗者,术后无肿瘤残留;③年龄 $\geq 18$ 岁。排除标准:①有外科手术禁忌症者;②肝肾心功能严重不全者;③妊娠期患者;④伴有血液系统疾病者;⑤失访患者。本研究入组者充分知晓本研究,自愿签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 资料收集

收集患者年龄、体质量指数、国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology And Obstetrics, FIGO)2014年修订分期系统<sup>[6]</sup>、组织学类型、分化程度、腹水、手术方式、术后化疗资料。

#### 1.2.2 检测方法

于术前、术后2、4周分别采集外周静脉血5 mL,采用美国贝克曼库尔特公司新型化学发光仪DXI800和化学发光法检测血清HE4水平,试剂盒购于北京同生时代生物技术有限公司;采用美国伯乐公司生产的680型酶标仪和酶联免疫吸附法检测血清Smad4、HGF水平(波长450 nm),Smad4试剂盒购于上海江莱生物科技有限公司,HGF试剂盒购于上海臻科生物科技有限公司,实验操作:分别设标准孔、空白孔、待测样品孔,加入100  $\mu$ L待测样品、标准品、标准品&样品稀释液,覆膜,37 $^{\circ}$ C孵育1.5 h,弃去孔内液体,每孔中加入100  $\mu$ L生物素化抗体工作液,37 $^{\circ}$ C温育60 min,弃去液体,洗板3次,每孔加100  $\mu$ L酶结合物工作液,重复温育、洗板,加90  $\mu$ L显色剂(TMB)、终止液,即刻用酶标仪测量各孔的光密度(OD值,450 nm),所有操作均按照试剂盒说明书操作。

### 1.3 统计学方法

数据采用SPSS 22.0处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本 $t$ 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;采用多因素Logistic回归方程分析复发的相关影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)及ROC下面积(AUC)分析各指标预测复发的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组基线资料比较

两组年龄、体质量指数、组织学类型、分化程度、术后化疗资料分布情况比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );复发组FIGO 2014年修订分期系统、腹水、手术方式与未复发组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.2 两组HE4、Smad4、HGF动态变化

复发组术后2周HE4、Smad4、HGF低于术前,术后4周HE4、Smad4、HGF高于术后2周,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );未复发组术后2周HE4、

表1 两组基线资料对比  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$ Table 1 Comparison of relative baseline data between 2 groups  $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$ 

资料	复发组 (n=15)	未复发组 (n=57)	t/ $\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	50.64±7.93	47.96±9.18	1.033	0.305
体质量指数(kg/m <sup>2</sup> )	23.25±1.48	23.40±1.53	0.340	0.735
FIGO 2014年修订分期系统				
I	1(6.67)	34(59.65)		
II	7(46.67)	22(38.60)	4.189	<0.001
III	7(46.67)	1(1.75)		
组织学类型				
浆液性	8(53.33)	24(42.11)		
非浆液性	7(46.67)	33(57.89)	0.606	0.436
分化程度				
低分化	4(26.67)	10(17.54)		
中分化	5(33.33)	19(33.33)	0.726	0.468
高分化	6(40.00)	28(49.12)		
腹水				
无	10(66.67)	52(91.23)	4.112	0.043
有	5(33.33)	5(8.77)		
手术方式				
全面分期手术	9(60.00)	50(87.72)		
肿瘤细胞减灭术	6(40.00)	7(12.28)	4.436	0.035
术后化疗				
否	1(6.67)	8(14.04)		
是	14(93.33)	49(85.96)	0.108	0.742

Smad4、HGF 低于术前, 术后4周 HE4、Smad4、HGF 低于术后2周, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 复发组术后2、4周 HE4、Smad4、HGF 高于未复发组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

### 2.3 复发的多因素 Logistic 回归方程分析

以是否复发为因变量, 否赋值0, 是赋值1, 纳入两组比较差异有统计学意义指标作为自变量, 其中 HE4、Smad4、HGF $\leq$ 两组均值赋值1,  $>$ 两组均值赋值2, 术后2周两组 HE4、Smad4、HGF 均值依次为 204.31 pmmol/L、9.12 ng/mL、1.13 ng/mL, 术后4周两组 HE4、Smad4、HGF 均值依次为 178.01 pmmol/L、7.12 ng/mL、1.03 ng/mL, 应用多因素 Logistic 回归方程分析, 结果显示, 将 FIGO 2014年修

表2 两组 HE4、Smad4、HGF 比较  $(\bar{x} \pm s)$ Table 2 Comparison of HE4, Smad4 and HGF between 2 groups  $(\bar{x} \pm s)$ 

指标	组别	n	术前	术后2周	术后4周
HE4 (pmmol/L)	复发组	15	248.69±50.92	221.52±33.17 <sup>a</sup>	238.02±31.37 <sup>b</sup>
	未复发组	57	240.57±56.93	199.78±36.25 <sup>a</sup>	162.22±30.19 <sup>ab</sup>
	t值		0.502	2.101	8.584
	P值		0.618	0.039	<0.001
Smad4 (ng/mL)	复发组	15	11.24±3.59	10.09±2.26 <sup>a</sup>	11.26±2.43 <sup>b</sup>
	未复发组	57	11.08±3.74	8.87±2.05 <sup>a</sup>	6.03±1.22 <sup>ab</sup>
	t值		0.149	2.008	11.703
	P值		0.882	0.049	<0.001
HGF (ng/mL)	复发组	15	1.60±0.35	1.40±0.29 <sup>a</sup>	1.63±0.44 <sup>b</sup>
	未复发组	57	1.54±0.44	1.06±0.32 <sup>a</sup>	0.87±0.28 <sup>ab</sup>
	t值		0.488	3.729	8.223
	P值		0.627	<0.001	<0.001

注: 与本组术前比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与本组术后2周比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ 。

表3 复发的多因素 Logistic 回归方程分析

Table 3 Multivariate logistic regression equation analysis of recurrence

影响因素	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$	OR值	95%CI	P值	
术后2周	HE4	0.904	0.264	11.718	2.469	1.064~5.728	<0.001
	Smad4	0.925	0.281	10.831	2.521	2.345~2.711	<0.001
	HGF	0.543	0.176	9.523	1.721	1.529~1.938	<0.001
术后4周	HE4	1.078	0.284	14.400	2.938	1.457~5.924	<0.001
	Smad4	1.005	0.257	15.291	2.732	2.569~2.905	<0.001
	HGF	0.598	0.176	11.548	1.819	1.673~1.977	<0.001

订分期系统、腹水、手术方式控制后, 术后2周、术后4周 HE4、Smad4、HGF 仍与复发相关( $P<0.05$ )。见表3。

### 2.4 HE4、Smad4、HGF 预测复发的价值

以术后2周、术后4周复发组各指标为阳性样本, 以对应时间点未复发组各指标为阴性样本, 绘制各指标预测复发的 ROC, 结果显示: 术后2周单一指标中, Smad4 预测复发的 AUC 最大, 各指标联合的 AUC 大于任一单一指标( $P<0.05$ ); 术后4周单一指标中, HE4 预测复发的 AUC 最大, 各指标联合的 AUC 大于任一单一指标( $P<0.05$ )。见表4、图1。

表4 ROC 分析结果

Table 4 ROC curve results

	指标	AUC	95%CI	cut-off 值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
术后2周	HE4	0.680	0.559~0.785	>218.81 pmmol/L	53.33	80.70	<0.001
	Smad4	0.785	0.673~0.873	>9.72 ng/mL	73.33	70.18	<0.001
	HGF	0.731	0.613~0.829	>1.25 ng/mL	86.67	56.14	<0.001
	联合	0.894	0.798~0.954		86.67	89.47	<0.001
术后4周	HE4	0.878	0.780~0.944	>191.53 pmmol/L	80.00	77.19	<0.001
	Smad4	0.846	0.741~0.920	>8.12 ng/mL	66.67	98.25	<0.001
	HGF	0.834	0.728~0.911	>1.06 ng/mL	80.00	77.19	<0.001
	联合	0.949	0.869~0.987		86.67	89.47	<0.001

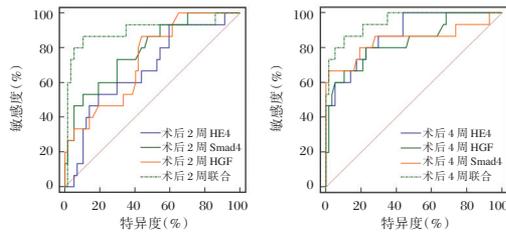


图1 各指标预测复发的ROC

Figure 1 The ROC of each index for predicting recurrence

### 3 讨论

卵巢癌外科术后复发的有效预测是临床医师关注的重点和研究的热点。HE4是一种肿瘤标志物,卵巢癌患者HE4阳性率高于良性肿瘤者,且晚期患者HE4高于早期患者<sup>[7]</sup>。本研究显示,与未复发患者相比,复发患者术后2周、术后4周HE4较高,是复发的相关影响因素,可预测复发。HE4高表达与卵巢癌分期、分级有关,有转移患者HE4高于无转移者,在手术治疗成功患者中,HE4水平普遍下降显著,因此可用于卵巢癌随访的复发监测,其作用机制主要通过调节肿瘤细胞黏附、迁移、增殖、肿瘤生长,参与卵巢癌的发生与进展<sup>[8]</sup>。尽管HE4在卵巢癌中研究较为成熟,敏感度较高,但单纯依赖HE4存在特异性低的不足,因此需联合其他指标综合评估。

Smad4是转化生长因子 $\beta$ /Smad4轴的关键物质,可通过调控上皮间质转化途径影响肿瘤的发生与进展<sup>[9]</sup>。目前关于Smad4在癌症领域中扮演的角色尚存在较大争议。本研究结果提示Smad4水平较高患者,术后复发风险较高。王晓庚等<sup>[10]</sup>研究显示,口腔癌病情进展患者Smad4阳性率高于缓解患者,是口腔癌转移或复发的独立危险因素,本研究观点与之相似,佐证了Smad4在癌症复发中作用及预测复发的潜质。但Ogawa R等<sup>[11]</sup>报道,Smad4降低对大肠癌具有促进作用,即Smad4在大肠癌中起抑癌作用,造成结果差异的原因可能是研究方向不同,其研究的是Smad4在大肠癌发病中作用,而本研究探讨的是Smad4与卵巢癌术后复发关系,卵巢癌外科术后复发患者Smad4水平升高可能是机体的一种应激性或适应性改变,以抑制卵巢癌的复发。另外有资料<sup>[12]</sup>显示,在Smad4阳性的癌细胞中,转化生长因子 $\beta$ 通过减少Smad4的核易位促进增殖,而在Smad4阴性的癌细胞中,转化生长因子 $\beta$ 通过调节丝裂原活化蛋白激酶途径激活来抑制Smad4阴性细胞的增殖并促进其迁移,可见Smad4在癌症进展中

机制较为复杂,是否还通过其他途径影响卵巢癌外科术后的复发仍有待后续的深入研究。

HGF是一种多功能物质,可调节血管内皮细胞、上皮细胞等生长、运动<sup>[13]</sup>。万波等<sup>[14]</sup>报道,肝细胞癌术后患者血清HGF较术前降低,术后血清HGF持续高水平患者,复发风险升高,预后较差。但现阶段HGF对卵巢癌术后复发预测的报道较少,本研究结果发现HGF是复发的相关影响因素,可作为预测术后早期复发的生物标志物。HGF能通过自分泌或旁分泌机制,作用于上皮间质转化过程,并能促进细胞分裂、血管生成,从而促进肿瘤细胞侵袭和转移<sup>[15]</sup>。可见临床上应重视手术前后HGF的监测,若患者HGF无明显降低,或降低后再次升高,应警惕复发的可能,及时给予干预,以改善患者预后。另本研究结果提示检测术后4周HE4、Smad4、HGF水平预测价值较术后2周高,且条件允许时,建议联合检测HE4、Smad4、HGF,以进一步提高预测复发的可靠性,从而为临床提供更准确的参考信息。

综上,卵巢癌外科术后早期复发患者HE4、Smad4、HGF水平较未复发患者升高,联合监测三者水平可预测患者复发的风险,为临床干预提供重要参考信息。

### 参考文献

- [1] 王学博,符攀峰,任红娟,等. 卵巢癌致恶性腹腔积液患者应用腹腔热灌注化疗后血清CEA、CA125水平变化[J]. 热带医学杂志, 2021, 21(3): 339-343.
- [2] 张维维,张正伟,何朗. 342例卵巢癌手术患者预后影响因素分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 26(17): 1288-1295.
- [3] Thompson C, Kamran W, Dockrell L, et al. The Clearance of Serum Human Epididymis Protein 4 Following Primary Cytoreductive Surgery for Ovarian Carcinoma [J]. Int J Gynecol Cancer, 2018, 28(6): 1066-1072.
- [4] 金向宇,李晖. 老年肝癌患者血清TGF- $\beta$ 1、Smad4水平及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(11): 2655-2657.
- [5] 赵宗霞,苏玉强,曾娟,等. 肿瘤相关成纤维细胞对卵巢癌细胞增殖作用影响的研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(5): 383-388.
- [6] 林仲秋,吴妙芳,李晶,等. 《FIGO 2015 妇癌报告》解读连载三——卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌诊治指南解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2015, 31(12): 1074-1081.
- [7] Plotti F, Scaletta G, Terranova C, et al. The role of human epididymis protein 4 as a biomarker in gynecologic malignancies [J]. Minerva Ginecol, 2019, 71(1): 36-43.
- [8] 吕俊杰,胡春秀,陈京亭,等. 妇科恶性肿瘤术后复发及其影响因素分析[J]. 华南预防医学, 2020, 46(4): 441-443, 453.

(下转第1352页)

· 论 著 ·

## HMGB-1、cTnI及Ang2与急诊多发伤血管损伤、院内死亡风险的关系

刘发生<sup>1</sup> 李帅<sup>1</sup> 郭立峰<sup>1</sup> 刘高强<sup>1</sup> 赵俊泉<sup>1</sup> 李学军<sup>2\*</sup>

**【摘要】**目的 探讨高迁移率蛋白-1(HMGB-1)、肌钙蛋白 I (cTnI)及血管生成素 2(Ang2)水平变化与急诊多发伤患者血管内皮损伤及院内死亡风险的关系。**方法** 选取 2017 年 1 月-2020 年 12 月本院收治的 95 例急诊多发伤患者设为观察组(重伤组 44 例、轻伤组 51 例),选取同期在本院进行健康体检的 98 例健康者设为对照组。比较各组之间 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平,采用 Pearson 直线相关分析 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与血浆血栓调节蛋白(TM)、冯维尔布兰德因子(vwF)之间的相关性,并观察患者预后情况。**结果** 观察组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。重伤组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平均显著高于轻伤组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。Pearson 直线相关分析显示:HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与 TM、vwF 呈正相关( $P<0.05$ )。95 例患者死亡 19 例(20.00%),生存 76 例(80.00%)。生存组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平明显低于死亡组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** HMGB-1、cTnI 及 Ang2 表达水平与急诊多发伤患者血管内皮损伤程度、院内死亡风险相关,三者可作为评估急诊多发伤患者病情进展、预后的重要指标。

**【关键词】** HMGB-1; cTnI; Ang2; 血管内皮损伤; 院内死亡风险

### The relationship between the levels of HMGB-1, cTnI and Ang2, vascular endothelial injury and the risk of hospital death in patients with multiple injuries in the emergency department

LIU Fasheng<sup>1</sup>, LI Shuai<sup>1</sup>, GUO Lifeng<sup>1</sup>, LIU Gaoqiang<sup>1</sup>, ZHAO Junquan<sup>1</sup>, LI Xuejun<sup>2\*</sup>

(1. Department of Emergency, Jinan People's Hospital, Jinan, Shandong, China, 271100; 2. Department of Intensive Care, Jinan People's Hospital, Jinan, Shandong, China, 271100)

**【ABSTRACT】 Objective** To explore the relationship between levels of high-mobility group box-1 (HMGB-1), troponin I (Cardiac Troponin, cTnI) and angiopoietin-2 (Ang2), vascular endothelial injury and the risk of hospital death in patients with multiple injuries in the emergency department. **Methods** 95 patients with multiple injuries in the emergency department admitted to this hospital from January 2017 to December 2020 were selected as the observation group (44 cases in the severe injury group, 51 cases in the minor injury group), and 98 healthy people who had physical examination in the hospital during the same period were selected as the control group. The levels of HMGB-1, cTnI, and Ang2 between the groups were compared, and Pearson linear correlation was used to analyze the correlation between the levels of HMGB-1, cTnI, and Ang2 and the levels of plasma thrombomodulin (TM) and von Willebrand factor (vwF). The patient's prognosis was observed. **Results** The levels of HMGB-1, cTnI and Ang2 in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were both statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of HMGB-1, cTnI and Ang2 in the severe injury group were significantly higher than those in the minor

基金项目:山东省科技发展计划项目(2017GGH218025)

作者单位:1. 济南市人民医院急诊科,山东,济南 271100

2. 济南市人民医院重症科,山东,济南 271100

\*通信作者:李学军, E-mail: songge369369@163.com

injury group, and the differences were both statistically significant ( $P < 0.05$ ). Pearson linear correlation analysis showed that the levels of HMGB-1, cTnI, and Ang2 were positively correlated with TM and vwF ( $P < 0.05$ ). Among 95 patients, 19 died (20.00%) and 76 survived (80.00%). The levels of HMGB-1, cTnI and Ang2 in the survival group were significantly lower than those in the death group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression levels of HMGB-1, cTnI and Ang2 are correlated with the degree of vascular endothelial damage and the risk of hospital death in patients with multiple injuries in emergency department. The three can be used as important indicators to assess the progress and prognosis of patients with multiple injuries in the emergency department.

[KEY WORDS] HMGB-1; cTnI; Ang2; Vascular endothelial injury; Risk of hospital death

近年来建筑业、工业飞速发展,交通工具逐渐进步,但民众缺乏现代交通理念和安全意识,引起急诊外科创伤发病率逐年增加<sup>[1]</sup>。如何提高创伤救治率,降低死亡率和伤残率,是急诊医生所关注的重点,也是急诊医学研究的热点<sup>[2]</sup>。高迁移率蛋白-1(High-mobility group box-1, HMGB-1)是单核巨噬细胞中的核蛋白,参与创伤性疾病、感染性疾病发生、发展的过程<sup>[3]</sup>。肌钙蛋白 I (Cardiac Troponin, cTnI)是临床常用于检测心肌损伤的标志物,研究发现在急诊多发伤患者中,无论是否存在心脏创伤,均存在 cTnI 异常升高<sup>[4]</sup>。血管生成素 2(Angiopoietin-2, Ang2)在血管内皮细胞中分泌,与血管内皮细胞病理、生理过程密切相关<sup>[5]</sup>。已有较多文献报道 HMGB-1、cTnI 及 Ang2 水平在多发伤患者血清中表达水平异常<sup>[6]</sup>,但三者与患者内皮损伤的关系研究较少,其与患者院内死亡风险的关系如何尚未明确。本研究旨在探讨 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平变化与急诊多发伤患者血管内皮损伤及院内死亡风险的关系,现将研究结果整理如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 1 月至 2020 年 12 月本院收治的 95 例急诊多发伤患者作为观察组。纳入标准:①创伤至入院时间 $< 1$  h;②年龄 $> 18$  岁;③创伤前半月内未用过抗凝、溶栓类药物。④患者或家属知情研究并签署知情同意书。排除标准:①合并严重免疫系统疾病,心、脑、肝、肾等器质性疾病;②合并糖尿病、高血压等基础疾病者;③急慢性感染性疾病患者;④排除有严重颅脑损伤患者,即:格拉斯哥(Glasgow comascale, GOS)评分<sup>[7]</sup> $\leq 8$  分者。其中男 44 例,女 51 例;平均年龄(56.21 $\pm$ 5.66)岁;受伤原因:交通事故 30 例、意外摔伤 26 例、高

处坠落 25 例、锐器伤 14 例;根据入院时的创伤严重程度评分(Injury severity score, ISS)<sup>[8]</sup>将患者分为重伤组 44 例(ISS $\geq 16$  分)、轻伤组 51 例(ISS $< 16$  分)。选取同期在本院进行健康体检的 98 例健康者设为对照组,其中男 50 例,女 48 例;平均年龄(56.55 $\pm$ 5.73)岁。2 组一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会批准通过。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平检测方法

对照组于体检当日、观察组于入院 48 h 内采取空腹静脉血 3 mL,以 4 000 r/min 离心 10 min,分离血清,以枸橼酸盐抗凝血标本,存储于 $-70^{\circ}\text{C}$ 的冰箱冷冻待测。采用酶联免疫吸附法测定血清 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平,试剂盒购自贝克曼库尔特商务(中国)有限公司,具体操作步骤参见试剂盒说明书。

#### 1.2.2 血管内皮损伤指标检测方法

血浆血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)采用酶联免疫吸附法测定,试剂盒购自贝克曼库尔特商务(中国)有限公司。冯维尔布兰德因子(von Willebrand factor, vwF)采用免疫比浊法测定,STA 型全自动血凝仪及原装配套试剂盒购自法国 STAGO 公司。严格按照仪器使用说明操作。

### 1.3 观察指标比较

比较不同组别研究对象 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平;观察组随访 3 个月,随访截止时间为 2021 年 3 月,比较不同 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平的患者预后情况。采用 Pearson 直线相关分析 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与 TM、vwF 之间的相关性。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用  $F$  检验;计数资料采用  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检

验;采用 Pearson 直线相关分析 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与 TM、vwF 之间的相关性,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平比较

观察组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平均显著高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of HMGB-1, cTnI and Ang2 levels in 2 groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HMGB-1(mg/L)	cTnI(ng/mL)	Ang2(pg/mL)
观察组	95	7.83±1.20	4.39±1.21	35.65±15.33
对照组	98	1.35±0.59	0.05±0.07	8.12±2.15
t 值		47.828	35.449	17.501
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 不同病情严重程度的患者 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平比较

重伤组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平均显著高于轻伤组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 不同病情患者 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of HMGB-1, cTnI and Ang2 levels in patients with different disease severity ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HMGB-1(mg/L)	cTnI(ng/mL)	Ang2(pg/mL)
重伤组	44	10.36±2.58	4.94±1.38	43.26±16.25
轻伤组	51	6.96±1.11	4.06±1.08	34.69±15.14
t 值		8.544	3.483	2.659
P 值		<0.001	0.001	0.009

### 2.3 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与 TM、vwF 的相关性分析

Pearson 相关分析结果显示:HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与 TM、vwF 呈正相关( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平与 TM、vwF 的相关性分析

Table 3 Correlation Analysis of HMGB-1, cTnI and Ang2 levels with TM and vWF

指标	HMGB-1		cTnI		Ang2	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
TM	0.658	0.034	0.721	0.023	0.725	0.020
vwF	0.853	0.008	0.653	0.039	0.662	0.031

### 2.4 不同预后的急诊多发伤患者 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平比较

95 例患者回访率 100%。结果显示:95 例患者死亡 19 例(20.00%),生存 76 例(80.00%)。生存组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平明显低于死亡组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 不同预后患者 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of HMGB-1, cTnI and Ang2 levels in patients with with different prognosis ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HMGB-1(mg/L)	cTnI(ng/mL)	Ang2(pg/L)
生存组	76	5.56±1.33	3.89±1.10	35.46±15.22
死亡组	19	9.53±2.46	4.63±1.38	44.65±14.26
t 值		9.603	2.488	2.382
P 值		<0.001	0.015	0.019

## 3 讨论

研究发现,交通事故、工伤、高处坠落伤日渐增多,急诊多发伤已成为最常见、最广泛存在的社会灾害,严重威胁患者的生命安全<sup>[9]</sup>。据流行病学资料显示,急诊多发伤是 45 岁以下人群死亡的主要原因,因此,急诊多发伤成为急危重症医学科的主要研究领域<sup>[10]</sup>。急诊外科迫切需要寻求高效的、理想的监测指标,预警多发伤患者器官功能障碍,以快速评估患者病情及预后。

HMBG-1 作为一种 DNA 结合蛋白,广泛存在于高等动物的真核细胞内,调控基因复制、重组、转录等多种生理活动<sup>[11]</sup>。Border 等学者<sup>[12]</sup>发现,HMBG-1 可与相应受体结合,进行细胞内外信号传递,引起某些基因表达失调。韩延辉等人<sup>[13]</sup>通过大鼠实验发现,在类风湿性关节炎大鼠中,HMBG-1 广泛分布,且表达量较高,认为 HMBG-1 对炎症性疾病可能具有重要调控作用。cTnI 是心肌特有的调节蛋白,仅存于心肌收缩蛋白的细肌丝上,对诊断心肌损伤具有高敏感性、高特异性。近年来,有较多文献报道,cTnI 在非心脏疾病的危重患者中亦呈高水平状态,显著增加患者病情严重程度,加大了非心脏疾病患者发生心血管事件的风险,影响患者预后<sup>[14]</sup>。国外文献中指出,Ang2 作为内源性拮抗剂,可与多种受体结合,参与调节内皮细胞,可维持血管完整性,若 Ang2 表达水平异常,会促使血管渗流,促进血管增生,破坏血管内皮屏障<sup>[15]</sup>。

本研究中,HMGB-1、cTnI、Ang2 水平均显著高于对照组,重伤组 HMGB-1、cTnI、Ang2 水平均显著高于轻伤组,与相关研究结果相符<sup>[16]</sup>。可见,HMBG-1、cTnI、Ang2 过表达会加重病情进展,影响患者预后。分析导致患者病情加重、预后不良的原因:HMBG-1、cTnI、Ang2 过表达会诱发血管生成、免疫逃逸等一些列病理过程,发挥较强的促炎作用,参与激活炎症反应、氧化应激反应,进而使患者病情发展,加重内皮细胞损伤,影响预后<sup>[17]</sup>。

本研究结果显示, HMGB-1、cTnI、Ang2水平与TM、vwF呈正相关, 与Jakob等<sup>[18]</sup>人研究结果相符。随着HMGB-1、cTnI、Ang2水平的增高, TM、vwF水平也逐渐增高, 原因可能为HMGB-1、cTnI、Ang2水平增高, 会刺激血管内皮, 导致TM、vwF大量释放。可见HMGB-1、cTnI及Ang2在急诊多发伤患者发生创伤的病理过程及病程进展中发挥重要作用。

综上所述, HMGB-1、cTnI及Ang2表达水平升高会增加急诊多发伤患者血管内皮损伤程度, 增加院内死亡风险, 三者可评估急诊多发伤患者病情进展、预后的重要指标。本研究后续将进一步分析三者与急诊多发伤患者病情进展的关系, 明确三者与急诊多发伤病情进展中的确切机制, 以制定合理治疗方案, 提高患者生存质量。

### 参考文献

- [1] 梁建军, 徐飞, 廖阳, 等. ISS与APACHE II评分对急诊多发伤患者伤情评估的价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(6):148-151
- [2] 肖丹丹, 张勇, 陈秀红, 等. AMI患者发病后血浆UCA1、CK-MB、cTnI变化及其诊断价值分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(1):111-115.
- [3] 周梅, 岳娜, 白靖平, 等. 软组织及椎体血管异常Tie2、Ang1、Ang2蛋白及mRNA的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 3(15):52-59.
- [4] 梁云亮, 盖婉丽, 李森杰, 等. Ang1、Ang2与急性心肌梗死病人预后的关系探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(9):1343-1346.
- [5] 陈艳青, 黄潇, 孔桂青, 等. HMGB1和vWF等细胞因子对脓毒症患者病情严重程度及预后评估的意义[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(8):933-937.
- [6] 宋超, 蔡华忠, 周峰, 等. 血清HMGB-1、Mb、CK、IL-6水平预测急性腹部多发伤病情严重程度的意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2020, 23(1):33-36.
- [7] Mokhtari M, Hossein NA, Kouckek M, et al. Effect of Me-
- [8] Jafari A, Nabeel M, Ryu JH. The Input-to-State Stable (ISS) Approach for Stabilizing Haptic Interaction With Virtual Environments[J]. IEEE Transact Robot, 2017, 16(22):948-963.
- [9] He M, Bianchi ME, Coleman TR, et al. Exploring the biological functional mechanism of the HMGB1/TLR4/MD-2 complex by surface plasmon resonance [J]. Mol Med, 2018, 24(1):45-49.
- [10] 许开云, 李丽. 急诊科实施多发伤急救能力规范化培训的作用[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(1):72-74.
- [11] 王子昂, 孟玉兰, 栾正刚. 普通肝素对高迁移率族蛋白B1介导血管内皮钙黏蛋白表达的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(7):842-846.
- [12] Border JR, Hassett J, Laduca J, et al. The gut origin septic states in blunt multiple trauma (ISS = 40) in the ICU. [J]. Ann surg, 2019, 32(4):427-428.
- [13] 韩延辉, 王燕, 王红雷, 等. 脓毒症小鼠血清HMGB1与心肌损伤程度、炎症相关因子、BNP及cTnI水平的关系[J]. 实用预防医学, 2019, 23(4):33-34.
- [14] 孟庆玲, 范琳琳, 张子斌, 等. 高血压脑出血患者高迁移率族蛋白-1、铁蛋白、血管内皮素的表达及其临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(22):190-193.
- [15] Sengoelge M, Johnson-Singh CM, Mittenhorfer-Rutz E, et al. Identifying subgroups of refugees from Syria resettled in Sweden based on multiple trauma exposures: A latent class analysis of trauma history and mental health outcomes [J]. J Psychosom Rese, 2019, 125(15):109-112.
- [16] 刘洁, 李慧英, 巩忠, 等. 不同预后脑出血患者血清HMGB-1、MBP、NSE水平及其意义[J]. 医学临床研究, 2019, 36(6):1170-1171.
- [17] 柏淑禹, 杨立, 苏爱梅, 等. 老年血流感染患者血清HMGB1、PCT表达变化及预后意义[J]. 临床急诊杂志, 2019, 20(6):428-432.
- [18] Jakob DA, Facs M, Erb F, et al. Nonoperative Management of Severe Blunt Hepatic Trauma: Use of Angiointervention and Outcomes in Level I and II Trauma Centers [J]. J Am Coll Surg, 2020, 231(4):63-66.

(上接第1348页)

- [9] Mohd Faheem M, Rasool RU, Ahmad SM, et al. Par-4 mediated Smad4 induction in PDAC cells restores canonical TGF- $\beta$ /Smad4 axis driving the cells towards lethal EMT [J]. Eur J Cell Biol, 2020, 99(4):151076.
- [10] 王晓庚, 刘林, 左健, 等. 血清中IL-8、Smad4水平与口腔癌患者预后转归的关系[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(12):1941-1943.
- [11] Ogawa R, Yamamoto T, Hirai H, et al. Loss of SMAD4 Promotes Colorectal Cancer Progression by Recruiting Tumor-Associated Neutrophils via the CXCL1/8-CXCR2 Axis [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(9):2887-2899.
- [12] Liang C, Xu J, Meng Q, et al. TGF $\beta$ 1-induced autophagy affects the pattern of pancreatic cancer progression in distinct ways depending on SMAD4 status [J]. Autophagy, 2020, 16(3):486-500.
- [13] 李凯泽, 刘广雁, 陈建英. 生长因子在肺动脉高压发病中的作用研究进展[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7):978-981.
- [14] 万波, 母齐鸣, 贺伟. 肝细胞癌术后血清AFP、CA19-9、HGF水平对预后状况的影响[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(1):114-117.
- [15] Yang R, Yang F, Hu Y, et al. Hepatocyte Growth Factor Attenuates the Development of TGF- $\beta$ 1-Induced EndMT through Down-regulating the Notch Signaling [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20(5):781-787.

· 论 著 ·

## 宫颈癌患者 HMGA1、HMGB1 表达水平与高危型 HPV 感染的关系及临床意义

陈慧 陈光辉\* 王万党 邓宇涛

**[摘要]** **目的** 探究宫颈癌患者高迁移率族蛋白 A1(HMGA1)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)表达水平与高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染的关系及临床意义。**方法** 选取2017年8月至2020年8月南方医科大学附属小榄医院收治的200例宫颈癌患者作为研究组,另选取同期在本院体检健康女性就诊者50名作为对照组,研究组患者根据HPV感染情况分为高危组和非高危组。采用免疫组织化学法检测宫颈组织中HMGA1、HMGB1表达情况,采用PCR+膜杂交法检测HPV感染情况,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中HMGA1、HMGB1水平。**结果** 研究组宫颈组织中HMGA1、HMGB1高表达者明显多于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );高危组患者组织中HMGA1、HMGB1高表达患者均明显多于低表达患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ );高危组患者血清中HMGA1、HMGB1高表达患者均明显多于低表达患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清HMGA1、HMGB1联合诊断AUC为0.956(95%CI: 0.878~0.999),高于单项( $P<0.05$ )。宫颈癌患者组织中HMGA1、HMGB1水平与患者年龄、产次和肿瘤病理类型无关( $P>0.05$ ),与患者肿瘤分化程度、淋巴结转移及肿瘤FIGO分期相关( $P<0.05$ )。**结论** 宫颈癌患者组织中HMGA1、HMGB1水平明显升高,与患者肿瘤分化程度、淋巴结转移及肿瘤FIGO分期相关,且能够对宫颈癌合并高危型HPV感染做出早期诊断。

**[关键词]** 宫颈癌;高迁移率族蛋白A1;高迁移率族蛋白B1;高危型人乳头瘤病毒感染

### The relationship between the expression levels of HMGA1 and HMGB1 in patients with cervical cancer and high-risk HPV infection and its clinical significance

CHEN Hui, CHEN Guanghui\*, WANG Wandang, DENG Yutao

(Department of Clinical Laboratory, Xiaolan Hospital Affiliated to Southern Medical University, Zhongshan, Guangdong, China, 528415)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the relationship between high mobility group protein A1 (HMGA1), high mobility group protein B1 (HMGB1) and high-risk human papillomavirus (HPV) infection in patients with cervical cancer and its clinical significance. **Methods** 200 cases of cervical cancer patients admitted to Xiaolan Hospital affiliated to Southern Medical University from August 2017 to August 2020 were selected as the study group, and 50 healthy female patients who received physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The patients in the study group were divided into high-risk group and non-high-risk group according to HPV infection. Immunohistochemistry was used to detect the expression of HMGA1 and HMGB1 in cervical tissues, PCR+ membrane hybridization was used to detect HPV infection, and ELISA was used to detect the levels of HMGA1 and HMGB1 in serum. **Results** The high expression of HMGA1 and HMGB1 in cervical tissues of study group was significantly higher than that of control group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The high expression of HMGA1 and HMGB1 in the high-risk group was significantly higher than that in the low expression group ( $P<0.05$ ); The high expression of HMGA1 and HMGB1 in the high-risk group was significantly higher than that in the low ex-

作者单位:南方医科大学附属小榄医院检验科,广东,中山528415

\*通信作者:陈光辉, E-mail: tinarun@sina.com

pression group, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); The AUC of HMGA1 and HMGB1 combined diagnosis was 0.956 (95%CI: 0.788-0.999), which was higher than that of single diagnosis ( $P<0.05$ ). The levels of HMGA1 and HMGB1 in cervical cancer patients had no correlation with age, stage and pathological type of tumor ( $P>0.05$ ), but were correlated with tumor differentiation, lymph node metastasis and tumor FIGO stage ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The levels of HMGA1 and HMGB1 in cervical tissues were significantly increased, which were correlated with the degree of tumor differentiation, lymph node metastasis and tumor FIGO stage, and could be used for early diagnosis of cervical cancer complicated with high-risk HPV infection.

**[KEY WORDS]** Cervical cancer; High mobility group protein A1; High mobility group protein box B1; High-risk human papillomavirus infection

宫颈癌是常见的女性生殖系统恶性肿瘤,流行病学调查表明其发病率和死亡率均位居女性恶性肿瘤第四位,严重危害我国女性生命健康<sup>[1]</sup>。宫颈癌早期无特征性临床表现,易被患者忽视导致病情进展,晚期宫颈癌患者治疗效果不佳,常导致患者预后不良的发生<sup>[2]</sup>。人乳头瘤病毒(Human papillomavirus, HPV)根据其致癌能力分为高危型、潜在高危型和低危型三种,高危型 HPV 感染的临床表现包括尖锐湿疣、宫颈鳞状上皮内病变等,是导致宫颈癌发生的重要因素<sup>[3]</sup>。高迁移率族蛋白(High mobility group protein, HMG)是一种晚期炎症介质,在脓毒症、感染性休克和病毒感染中表达水平升高<sup>[4]</sup>。高迁移率族蛋白 A1(High mobility group protein A1, HMGA1)和高迁移率族蛋白 B1(High mobility group protein B1, HMGB1)不仅能够通过参与细胞内 DNA 的复制转录过程调控细胞自噬水平,促进肿瘤免疫逃逸的发生,还能够促进肿瘤微血管生成,促进肿瘤生长转移<sup>[5-6]</sup>。本研究通过检测宫颈癌组织中 HMGA1、HMGB1 水平探究其与高危型 HPV 感染的关系,旨在为宫颈癌的筛查提供新的指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 8 月至 2020 年 8 月南方医科大学附属小榄医院收治的 200 例宫颈癌患者作为研究组,另选取同期在本院体检的女性健康就诊者 50 名作为对照组。研究组患者根据 HPV 感染情况分为高危组和非高危组,其中感染 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV61 等高危型 HPV 者为高危组,其余患者为非高危组。

纳入标准:①所有宫颈癌患者诊断依据《2021 NCCN 子宫颈癌临床实践指南(第 1 版)》<sup>[7]</sup>,且经阴道镜活检确诊为宫颈癌;②所有患者均为初诊,

未接受过相关治疗;③患者不合并重要脏器功能损伤、自身免疫性疾病及精神神经疾病;④患者临床资料完整;⑤患者及家属均签署对研究知情同意书,研究经本院医学伦理委员会研究批准。排除标准:①合并其他感染性疾病者;②合并心、肝、肾等重要脏器损伤的患者;③合并其他恶性肿瘤的患者;④孕妇及哺乳期妇女。两组患者年龄、BMI 指数等一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 主要试剂

HE 免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物公司,HPV 鉴定试剂盒购自潮州凯普生物化学有限公司, HMGA1、HMGB1 一抗均购自美国 Abcam 公司,含辣根过氧化物酶的山羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物公司,酶联免疫吸附法试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司。

#### 1.2.2 实验方法

收集患者子宫颈组织标本石蜡包埋后切片烘烤,使用二甲苯脱蜡,再使用梯度乙醇洗脱二甲苯,滴加 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温孵育阻断过氧化物酶活性,采用 HE 免疫组织化学法试剂盒染色, DAB 显色于镜下观察,控制染色时间。使用梯度乙醇脱水后中性树脂封片进行观察,按阳性细胞占比计分, <5% 记 0 分、5%~25% 记 1 分、26%~50% 记 2 分、51%~75% 记 3 分、>75% 记 4 分。按着色程度计分,无染色记 0 分、浅黄色记 1 分、棕黄色记 2 分、深棕色记 3 分。以二者得分相乘为最终结果, >6 分为高表达, ≤6 分为低表达<sup>[8]</sup>。

采用宫颈刷收集研究组患者阴道分泌物,采用 PCR+膜杂交法检测患者高危型 HPV 感染情况,高危型 HPV 包括 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 等<sup>[9]</sup>。患者入组后收集患者血清 3 mL,采用酶联免疫吸附法检测血清中 HMGA1、HMGB1 水平。

### 1.3 统计分析

使用 SPSS 22.0 软件进行分析;符合正态分布的计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,采用  $t$  检验进行组间比较;计数资料以  $n(\%)$  表示,采用  $\chi^2$  检验进行组间比较;采用受试者工作特征曲线(ROC)对诊断效能进行评价;等级资料采用秩转换的非参数检验(Kruskal-Wallis 法);以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 组织中 HMGA1、HMGB1 表达情况

研究组宫颈组织中 HMGA1、HMGB1 高表达者高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 组织中 HMGA1、HMGB1 表达情况 [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	HMGA1 高表达	HMGB1 高表达
对照组	50	3(3.00)	5(5.00)
研究组	200	135(67.50)	126(63.00)
$\chi^2$ 值		61.178	45.048
$P$ 值		<0.001	<0.001

### 2.2 HPV 感染患者组织中 HMGA1、HMGB1 表达水平

200 例宫颈癌患者中检测出 174 例患者合并 HPV 感染,其中 119 例患者合并高危 HPV 感染,55 例患者合并非高危 HPV 感染。结果表明高危组患者组织中 HMGA1、HMGB1 高表达患者均高于低表达患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 HPV 感染患者组织中 HMGA1、HMGB1 表达水平 [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	低表达	高表达	$\chi^2$ 值	$P$ 值
HMGA1 高危组	119	13(10.92)	106(89.08)	12.788	<0.05
非高危组	55	29(52.73)	26(47.27)		
HMGB1 高危组	119	20(16.81)	99(83.19)	30.541	<0.05
非高危组	55	31(56.36)	24(43.64)		

### 2.3 HPV 感染患者血清中 HMGA1、HMGB1 表达水平

高危组患者血清中 HMGA1、HMGB1 高表达患者均明显多于低表达患者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.4 血清 HMGA1、HMGB1 蛋白对宫颈癌合并高危型 HPV 感染的诊断价值

血清 HMGA1、HMGB1 二者联合诊断 AUC 为 0.956(95%CI:0.878~0.999),诊断效能明显高于单项( $P<0.05$ )。见表 4、图 1。

表 3 HPV 感染患者血清中 HMGA1、HMGB1 表达水平 [ $n(\%)$ ]

Table 3 The expression of HMGA1 and HMGB1 in serum of patients with HPV infection [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	低表达	高表达	$\chi^2$ 值	$P$ 值
HMGA1 高危组	119	11(9.25)	108(90.75)	15.471	<0.05
非高危组	55	38(69.09)	17(30.91)		
HMGB1 高危组	119	34(28.57)	85(71.43)	23.151	<0.05
非高危组	55	37(67.27)	18(32.73)		

表 4 血清 HMGA1、HMGB1 蛋白对宫颈癌合并高危型 HPV 感染的诊断价值

Table 4 The diagnostic value of HMGA1 and HMGB1 proteins in the diagnosis of cervical cancer with high-risk HPV infection

指标	曲线下面积 (AUC)	截断值 ( $\mu\text{g/L}$ )	灵敏度 (%)	特异度 (%)	95%CI	$P$ 值
HMGA1	0.753	6.88	73.21	70.66	0.619~0.845	0.007
HMGB1	0.785	10.62	75.94	72.87	0.651~0.863	0.003
联合诊断	0.956	-	90.21	86.44	0.878~0.999	<0.001

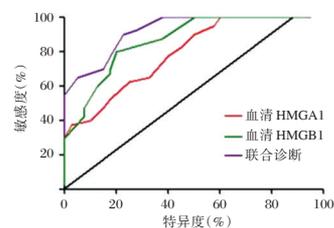


图 1 ROC 分析

Figure 1 ROC curve

### 2.5 组织中 HMGA1、HMGB1 水平与宫颈癌患者临床资料的关系

宫颈癌患者组织中 HMGA1、HMGB1 水平与患者年龄、产次和肿瘤病理类型无关( $P>0.05$ ),而与患者肿瘤分化程度、有无淋巴结转移及肿瘤 FIGO 分期相关( $P<0.05$ )。见表 5。

## 3 讨论

人类是 HPV 的唯一自然宿主,而宫颈部上皮移行区是 HPV 的易感部位,持续的 HPV 感染,尤其是高危型 HPV 感染是宫颈癌发生的根本原因<sup>[10]</sup>,目前宫颈癌组织细胞中的 HPV 检出率达 96%以上<sup>[11]</sup>。近年来研究表明宫颈癌病变并非仅仅由病毒感染导致,而是多因素共同发挥作用的结果<sup>[12]</sup>。目前宫颈癌的治疗主要以手术治疗以及放化疗为主,随着医学技术的发展靶向药物及生物免疫制剂已逐步运用于晚期宫颈癌的治疗,但治疗效果个体差异较大,导致晚期宫颈癌患者生存率仍较低。

表5 组织中 HMGA1、HMGB1 水平与宫颈癌患者临床资料的关系

Table 5 The relationship between the levels of HMGA1 and HMGB1 in tissues and the clinical data of patients

临床资料	例数 (n=200)	HMGA1		$\chi^2$ 值	P值	HMGB1		$\chi^2$ 值	P值	
		低表达	高表达			低表达	高表达			
年龄(岁)	≥60	147	49	98	0.176	0.675	55	92	0.041	0.840
	<60	53	16	37			19	34		
产次	≥4	66	21	45	0.021	0.885	27	39	0.646	0.422
	<4	134	44	90			47	87		
病理类型	鳞癌	151	47	104	0.531	0.467	55	96	0.088	0.767
	腺癌	49	18	31			19	30		
分化程度	低分化	74	9	65	28.527	<0.05	9	65	32.647	<0.05
	中分化	53	17	36			24	29		
	高分化	73	39	34			41	32		
淋巴结转移	有	59	8	51	41.778	<0.05	13	46	8.042	<0.05
	无	141	57	84			61	80		
FIGO 分期	I	70	37	33	28.054	<0.05	37	33	13.714	<0.05
	II	59	20	39			19	40		
	III	46	6	40			14	32		
	IV	25	2	23			4	21		

本研究结果发现宫颈癌患者组织中 HMGA1、HMGB1 水平明显高于正常人, HMGA1、HMGB1 水平与宫颈癌患者临床病理特征如患者肿瘤分化程度、有无淋巴结转移及肿瘤 FIGO 分期相关, HMGA1、HMGB1 表达升高通常与宫颈病变成正相关, 且易合并淋巴结转移的发生。国内学者洪宇<sup>[13]</sup>的研究发现宫颈癌患者血清中的 miR-130a、HMGA1 及 SCC-Ag 表达水平较高, 且表达量与宫颈癌的临床病理类型、FIGO 分期有关; 学者付方<sup>[14]</sup>认为过表达 HMGA1 可以加快细胞周期过程中 G1 期向 S 期转化, 促进该过程中关键蛋白的表达, 增强宫颈癌细胞的增殖和克隆形成能力, 从而促进宫颈癌细胞肿瘤的生长; 学者 Cheng H 等<sup>[15]</sup>研究发现组织中 hepsin 和 HMGB1 的表达水平越高, 宫颈癌的侵袭程度越高, 患者预后效果越差。上述研究表明 HMGA1、HMGB1 具有促进宫颈癌细胞生长作用。

本研究还发现 HMGA1、HMGB1 与 HPV 感染也有一定的相关性, 研究发现 HMGA1 表达水平与宫颈癌病变程度呈正相关, 而高危型 HPV 如 HPV E6/E7 均能够促进 HMGA1 的表达, 对 RNA 片段中的 HPV E6/E7 进行敲除可发现 HMGA1 表达明显下调<sup>[16]</sup>。在口腔癌中患者组织中能检测到高危型 HPV E6 的过表达, 已被证实其通过过表达 HMGB1 增加口腔癌细胞的侵袭性<sup>[17]</sup>, 而在喉癌患者中也发现相同的作用。上述研究提示高危型 HPV 感染能够促进 HMGA1、HMGB1 的表达, 以促进肿瘤的发生发展。

综上所述, HMGA1、HMGB1 在宫颈癌患者, 尤其是合并高危 HPV 感染的宫颈癌患者组织中表达明显增高, 且与患者临床病理资料相关, 还可作为宫颈癌合并高危 HPV 感染的早期诊断指标发挥作用。本研究的不足之处在于研究对象数量较少, 且并未对 HMGA1、HMGB1 在宫颈癌合并高危型 HPV 感染中的作用和机制做出阐述, 需要在后续研究中加以补足。

#### 参考文献

- [1] 李晓茵, 吴雪薇, 卢智健, 等. 宫颈癌患者血清 E-cad、IFN- $\gamma$ 、TGF- $\beta$  表达意义及对预后的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7): 882-886.
- [2] Olusola P, Banerjee HN, Philley JV, et al. Human Papilloma Virus-Associated Cervical Cancer and Health Disparities [J]. Cells, 2019, 21, 8(6): 622.
- [3] 吴玉萍, 陈裕隆, 李隆玉, 等. 宫颈癌患者人乳头瘤病毒 (HPV) 主要型别及其感染研究[J]. 病毒学报, 2005, 21(4): 269-273.
- [4] 杜春艳, 卢强, 李玉品, 等. 大叶性肺炎患儿血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素-6、白细胞介素-8、白细胞介素-10 和高迁移率族蛋白 B1 表达意义[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2014, 29(16): 1224-1226.
- [5] 蒋娟莉, 喻良, 刘爱东, 等. RNA 干扰 HMGA1 基因表达对神经胶质瘤细胞增殖凋亡的影响及机制[J]. 实用预防医学, 2018, 25(4): 458-462.
- [6] Wu L, Yang L. The function and mechanism of HMGB1 in lung cancer and its potential therapeutic implications [J]. Oncol Lett, 2018, 15(5): 6799-6805.

(下转第 1360 页)

· 论 著 ·

## 胸腔积液 DPP-IV、D 二聚体及 CRKL 预测恶性胸腔积液的价值分析

徐彪 林泽邦 沙纪名\*

**[摘要]** 目的 评价测定胸腔积液中二肽蛋白酶(DPP-IV)、D-二聚体、以及信号接头蛋白(CRKL)对恶性胸腔积液预测价值。方法 从2017年6月至2020年5月于安徽医科大学第二附属医院心胸外科接诊的胸腔积液患者中筛选出92例作为研究对象。将其分为良性胸腔积液(BPE)组32例,与恶性胸腔积液(MPE)组60例。检测并比较两组患者胸腔积液中DPP-IV、D-二聚体、以及CRKL水平;评价上述单个指标以及多个指标联合检测对恶性胸腔积液预测价值。结果 两组患者胸腔积液中DPP-IV、D-二聚体、以及CRKL水平比较,MPE组均高于BPE组,且差异具有统计学意义( $P<0.05$ );胸腔积液中单项以及多项指标联合测定对恶性胸腔积液预测价值,将DPP-IV、D-二聚体、CRKL,纳入二元Logistic回归模型,得到三项指标回归的预测概率(即三项联合指标),建立各自受试工作特征(ROC)曲线,分析结果显示DPP-IV、D-二聚体、CRKL以及三项联合指标预测恶性胸腔积液的曲线下面积AUC分别为0.708、0.859、0.786、0.946,三项联合指标比单项指标预测价值更高,取最佳cut-off值时,其敏感度与特异度分别为98.3%、78.1%。结论 胸腔积液中DPP-IV、D-二聚体、以及CRKL对MPE具有一定预测价值,且三者联合测定能提高对MPE预测价值。

**[关键词]** 二肽蛋白酶; D-二聚体; 信号接头蛋白; 恶性胸腔积液

### Value analysis of DPP-IV, D dimer and CRKL in predicting malignant pleural effusion

XU Biao, LIN Zebang, SHA Jiming\*

(Department of Cardiothoracic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To evaluate the predictive value of (DPP-IV), D-dimer and (CRKL) in malignant pleural effusion. **Methods** 92 patients with pleural effusion were selected from our hospital from June 2017 to may 2020. They were divided into (BPE) group of 32 cases and (MPE) group of 60 cases. The levels of DPP-IV, D-dimer and CRKL in pleural effusion were detected and compared between the two groups; Objective to evaluate the predictive value of single index and combined detection of multiple indexes for malignant pleural effusion. **Results** the levels of DPP-IV, D-dimer and CRKL in pleural effusion in MPE group were higher than those in BPE group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ); DPP-IV, D-dimer and CRKL were included in the binary logistic regression model to obtain the prediction probability of the regression of the three indicators (namely the three joint indicators) and establish the receiver operating characteristic (ROC) curve The AUC of CRKL and three combined indexes in predicting malignant pleural effusion were 0.708, 0.859, 0.786 and 0.946, respectively. The three combined indexes had higher predictive value than single index. When the best cut-off value was taken, the sensitivity and specificity were 98.3% and 78.1% respectively. **Conclusion** DPP-IV, D-dimer and CRKL in pleural effusion have certain predictive value for MPE, and their combined determination can improve the predictive value for MPE.

**[KEY WORDS]** Dipeptidyl protease; D-dimer; Signal junction protein; Malignant pleural effusion

基金项目:安徽省公益性技术应用研究联动计划项目(1704f0804011)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院心胸外科,安徽,合肥 230000

\*通信作者:沙纪名, E-mail:384791501@qq.com

胸腔积液是一种常见临床综合征<sup>[1]</sup>。患者一旦确诊为恶性胸腔积液(Malignant pleural effusion MPE)多数预示着肿瘤晚期转移,预后较差<sup>[2-3]</sup>。因此对恶性胸腔积液早期诊断,可以为原发疾病治疗赢得宝贵时间。目前鉴别诊断MPE与良性胸腔积液(Benign pleural effusion BPE)常用胸腔镜检查、胸水脱落细胞检测、以及各项常规生化检查<sup>[4]</sup>,但是工作较为繁琐,且胸水脱落细胞检查在肿瘤细胞较少或者不典型情况下,检出假阴性率较高,容易误诊。胸腔镜检查对身体伤害较大,且费用高,风险高。因此采用高灵敏度以及高特异度诊断方法,提高恶性胸腔积液诊断率是广大临床医务工作者需要面对的问题。胸腔积液肿瘤标志物检测作为一种辅助诊断手段,以其易操作、费用低、以及创伤小等优势成为近年来研究热点<sup>[5]</sup>。基于此本研究探讨测定胸腔积液中WN二肽蛋白酶IV(Dipeptide proteaseIV DPP-IV)、D-二聚体(D-dimer)、信号接头蛋白CRKL(CRK-Like CRKL)二聚体、以及CRKL对恶性胸腔积液预测价值。旨在为恶性胸腔积液辅助诊断提供理论依据。现将研究结果报告如下。

## 1 一般资料与方法

### 1.1 一般资料

从2017年6月至2020年5月于安徽医科大学第二附属医院心胸外科接诊的胸腔积液患者中筛选出92例作为研究对象。将其分为良性胸腔积液(BPE)组(男15例,女17例),年龄平均(62.1±5.6)岁,其中结核性胸膜炎24例,肾功能不全伴有低蛋白血症3例,心功能不全3例,外伤胸腔积液1例,肺炎旁积液1例。恶性胸腔积液(MPE)组(男32例,女28例),年龄平均(63.5±3.8)岁,其中腺癌49例,鳞癌8例,非小细胞肺癌3例。两组一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者及家属知情且签订同意书。

纳入标准:MPE入组标准,①经过胸腔镜、支气管镜、以及肺部穿刺检出肿瘤组织。②经胸腔积液脱落细胞检测出肿瘤细胞。③活检或肿瘤细胞检测阴性患者,需通过2至3名专科医生依据患者临床症状以及各项资料讨论而定。BPE入组标准,结核性胸腔积液入组标准①经细胞学与组织学明确排除恶性肿瘤患者。②痰液、胸液检测出结核抗酸杆菌,或者病理显示结核性肉芽肿,或胸

膜组织活检出结核抗酸杆菌。③患者结核菌素试验阳性,影像学显示结核活动病灶。炎性胸腔积液入组标准:符合中华医学会呼吸病学分会制定的《中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016年版)》<sup>[6]</sup>中的肺炎诊断标准。排除标准:①不能按试验要求配合各项检查与治疗,依从性差。②患者及家属不同意参与此次研究。

### 1.2 方法

样本采集:在患者同意情况下,在入院第二天清晨,采集空腹静脉血3管,每管3 mL,并送至检验科检验。在首次超声定位以后行胸腔穿刺,采集70 mL胸腔积液标本,以备病理学、细胞学、以及生化检测,同时用于DPP-IV、D-二聚体、CRKL检测。

指标检测:采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定胸腔积液中DPP-IV、以及CRKL水平。试剂盒由上海机纯实业有限公司提供。操作过程需严格依照说明书进行。对胸腔中D-二聚体采用乳胶凝集法测定。考虑胸腔积液中D-二聚体表达水平较高,因此检测前需将胸腔积液稀释10倍。试剂盒由美德太平洋(天津)生物科技有限公司提供。操作过程需要严格按照说明书进行。

### 1.3 统计学方法

使用SPSS 22.0软件行数据分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验,计量用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,行 $t$ 检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析检测DPP-IV、D-二聚体、CRKL及三者联合检测预测恶性胸腔积液的价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者胸腔积液中DPP-IV、D-二聚体、以及CRKL水平比较

两组患者DPP-IV、D-二聚体、以及CRKL水平比较,MPE组胸腔积液中DPP-IV、D-二聚体、CRKL水平均高于BPE组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 DPP-IV、D-二聚体、CRKL水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of DPP-IV, D-dimer and CRKL levels ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	DPP-IV(U/L)	D-二聚体(ug/mL)	CRKL(ng/mL)
BPE组	32	37.9±18.1	0.48±0.27	3.21±1.02
MPE组	60	52.8±21.9	0.92±0.24	5.58±1.78
<i>t</i> 值		3.293	8.017	6.938
<i>P</i> 值		0.001	0.001	0.001

## 2.2 两组患者胸腔积液中单项指标与多项指标联合检测阳性率比较

MPE组DPP-IV、D-二聚体、CRKL、以及三者联合在胸腔积液中检出率均高于BPE组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

## 2.3 胸腔积液中单项以及多项指标联合测定对恶性胸积液预测价值

ROC曲线分析结果显示,DPP-IV、D-二聚体、CRKL的AUC三项联合指标的AUC明显高于单

表2 单项指标与多项指标检出阳性率比较 [ $n(\%)$ ]

Table 2 Comparison of positive rate of single indicator and multiple indicators [ $n(\%)$ ]

组别	$n$	DPP-IV 阳性	D-二聚体 阳性	CRKL 阳性	三者联合 测定阳性
BPE组	32	12(38.65)	15(47.84)	13(40.21)	25(78.43)
MPE组	60	35(58.36)	41(68.12)	38(63.42)	58(96.52)
$\chi^2$ 值		5.09	4.71	6.08	8.44
$P$ 值		0.02	0.03	0.01	0.01

一诊断( $P < 0.05$ )。见表3、图1。

表3 DPP-IV、D-二聚体、CRKL、以及三者联合预测MPE价值分析

Table 3 Value analysis of DPP-IV, D-dimer, CRKL and their combined MPE prediction

项目	AUC	95%CI	标准错误	Cut-off	约登指数	敏感度	特异度	$P$ 值
DPP-IV	0.708	0.601~0.814	0.054	57.850	0.389	0.483	0.906	0.001
D-二聚体	0.859	0.780~0.939	0.040	0.655	0.587	0.900	0.687	0.001
CRKL	0.786	0.689~0.883	0.049	0.465	0.500	1.000	0.500	0.001
三项联合	0.946	0.930~0.990	0.022	0.401	0.764	0.983	0.781	0.001

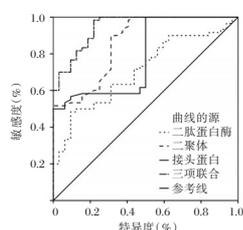


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curves

## 3 讨论

恶性胸腔积液是很多癌症包括肺癌、乳腺癌、卵巢癌等并发症<sup>[7]</sup>,尤其是肺癌,有时甚至可能成为首发症状。一旦被确诊为恶性胸腔积液,意味着癌症晚期恶化,预后极差<sup>[8]</sup>。因此提高恶性胸腔积液诊断率对及时治疗,以及预后起关键作用。目前,恶性胸腔积液发病机制尚未清楚。据研究可能是因为宿主细胞、肿瘤细胞、以及机体反应等多种因素互相联系与互相作用而产生<sup>[9]</sup>。其主要过程涉及,肿瘤细胞迁移扩散、癌症病灶周围血管新生、机体免疫系统反应、以及血管内皮渗透性增高等多种途径。然而当机体肿瘤细胞数量较少,或者类型不典型时,临床鉴别诊断恶性胸腔积液存在一定困难<sup>[10]</sup>,需要一些生化指标辅助诊断<sup>[11]</sup>。

二肽蛋白酶(DPP-IV)是丝氨酸家族中成员<sup>[12]</sup>,是一种可分解Gly-Pro-pNA的酶,在1964年首次于大鼠肝脏与肾脏上发现,以后又陆续在其他组织和细胞中发现。DPP-IV与N端第二位脯氨酸多肽相结

合,将脯氨酸从C端切下,进而演变成一段两肽物质。DPP-IV通过分解生物活性分子如趋化因子、神经肽、细胞因子、以及胃肠激素等酶底物,从而改变其生物活性,进而起到调节人体功能作用。学者朱洪斌采用免疫比浊法研究发现,DPP-IV在卵巢癌胸水脱落细胞中水平显著升高<sup>[13]</sup>。同时Cocinski采用免疫组化法研究发现,DPP-IV在食管癌上皮组织中也存在异常表达。国内外多位学者均研究均表明,DPP-IV可能在肿瘤转移浸润中发挥重要作用。

D-二聚体是一种降解纤维蛋白,与活化因子XIⅢ相互作用以后,再经过纤溶水解而产生<sup>[14]</sup>。研究显示当肿瘤进展中机体凝血功能异常,纤溶系统被激活,很多纤维蛋白原变为纤维蛋白,纤维蛋白进一步沉着,逐渐形成纤维硬结,从而使患者胸膜增厚,甚至粘连<sup>[15]</sup>。此时机会启动溶栓过程,因而大量纤维蛋白被降解,降解物D-二聚体也会相应增多<sup>[16]</sup>。本研究显示恶性胸腔积液患者胸液中D-二聚水平明显高于良性胸腔积液患者,与上述研究结果具有一致性。

CRKL是位于染色体22q11.21扩增域之间的一种癌基因,是很多肿瘤常被扩增域之一,在包括肺癌、肝癌、胰腺癌等癌细胞增殖、侵袭、迁移中发挥十分重要作用。肺癌作为全球死亡率极高的癌症,很多学者都在研究CRKL与肺癌关系。其一致认为,在肺癌进程中CRKL基因也存在扩张,进而导致癌细胞迁移与增殖。为了验证此结果,科学家进行体外实验,将CRKL基因剔除,结果发现

肺癌转移与增殖降低。

本研究数据表明, DPP-IV、D-二聚体、CRKL对恶性胸腔积液诊断具有一定价值,且三者联合指标诊断价值更高。本研究通过检测胸腔积液肿瘤标志物的方式对恶性肿瘤进行诊断,取得较好诊断效果。该方法与肿瘤诊断金标准——胸腔镜检查及胸水脱落细胞检查比较,具有操作简便、创伤小、价格便宜、风险小及灵敏度与特异度高等优势。但是由于本研究样本数量较少,研究结果还有待进一步证实。

### 参考文献

- [1] 斯明园,徐大林,江海兵,等. 探讨渗出性胸腔积液 ADA、CEA 对良恶性胸腔积液的诊断价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(1):59-62.
- [2] 李振雪,刘大敏,刘宁,等. 联合检测 CEA、CA15-3、CA19-9、 $\beta$ -HCG、TPA 5 种肿瘤标志物对鉴别良恶性胸腔积液的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(6):947-950.
- [3] 李鹰飞,曾世彬,周婷,等. 初诊晚期肺腺癌患者 EGFR 基因突变与临床特征的关系[J]. 江西医药, 2019, 54(4):367-368.
- [4] 吴冬,尤青海,纪琳琳. 胸水比血清癌胚抗原比值对恶性胸腔积液的诊断价值[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(11):12-13.
- [5] 孙理想,赵后彤,伏晶. 腺苷脱氨酶、乳酸脱氢酶、癌胚抗原及糖类抗原 125 联合检测对良恶性胸腔积液的鉴别诊断价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(21):2299-2303.
- [6] 郑清月,闫春良,赵秋红. 盐酸埃克替尼治疗肺腺癌进展后加量治疗的疗效及安全性分析[J]. 实用肿瘤杂志, 2020, 35(3):231-235.
- [7] 万琦琪,甘华林,林海英. 社区获得性肺炎左氧氟沙星序贯治疗临床观察[J]. 社区医学杂志, 2019, 17(18):1127-1129, 1134.
- [8] 张兵,吴晶涛,叶靖,等. 常规 T2WI 纹理特征与乳腺癌 Ki-67 表达水平的相关性研究[J]. 临床放射学杂志, 2020(4):680-684.
- [9] 徐文文,刘春英. 沙参麦冬汤联合顺铂对肺癌细胞 A549 增殖及对 Smad7、TGF- $\beta$ 1 蛋白表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2020(5):144-147.
- [10] 曾丽梅,张少红,李冰冰,等. 恶性胸腔积液行胸腔引流术的综合护理分析[J]. 中国卫生标准管理, 2018, 9(7):145-147.
- [11] 谭国梁,王赞,李国雷,等. 王利民. 肺癌循环肿瘤细胞 EGFR 基因突变磁分选技术检测方法及应用研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 26(20):1515-1524.
- [12] 陈新月,孙圣荣. 肿瘤细胞中丝氨酸代谢重塑与肿瘤生长关系的研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(11):1124-1127.
- [13] 朱洪斌. D-二聚体在恶性胸腔积液的表达及临床意义[J]. 安徽医药, 2019, 23(6):1179-1182.
- [14] 黄远玲,李纯团,王少雄,等. 胃癌患者凝血功能、D 二聚体、血小板计数的变化与肿瘤临床特征的关系[J]. 血栓与止血学, 2019, 25(6):906-908, 912.
- [15] 王玉华,董莎,孙丰卉,等. 针刺对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠脊髓钙离子接头蛋白-1、环氧合酶-2 及血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  水平的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(5):49-53.
- [16] 李锐成,郜赵伟,张惠中,等. 胸腔积液中 B7-H4 蛋白联合 ADA 和 CEA 水平检测在胸腔积液鉴别诊断中的应用价值[J]. 吉林:吉林大学学报:医学版, 2020, 46(3):614-619.

(上接第 1356 页)

- [7] 周晖,刘昀昀,罗铭,等. 2021NCCN 子宫颈癌临床实践指南(第 1 版)解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(2):131-138.
- [8] 王新军,杨如意,单峤,等. 胶质瘤相关性癫痫瘤组织中高迁移率族蛋白 B1 表达与痫性发作[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2015, 41(3):155-159.
- [9] 王景妹,韩凤贤,徐世亮,等. 宫颈病变患者阴道微生态及高危型人乳头瘤病毒感染分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(7):1061-1066[2021-03-26].
- [10] Xing B, Guo J, Sheng Y, et al. Human Papillomavirus-Negative Cervical Cancer: A Comprehensive Review [J]. Front Oncol, 2021, 10:606335.
- [11] Wright AA, Howitt BE, Myers AP, et al. Oncogenic Mutations in Cervical Cancer Genomic Differences Between Adenocarcinomas and Squamous Cell Carcinomas of the Cervix [J]. Cancer, 2013, 119(21):3776-3783.
- [12] 常佳豪,黄夏曼,陈威,等. 宫颈癌的研究进展[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2017, 13(4):486-489.
- [13] 洪宇. 血清 miR-130a, HMGA1 及 SCC-Ag 在宫颈癌患者中的表达及其临床意义[J]. 医学临床研究, 2018(3):453-455.
- [14] 付方方. HMGA1 对宫颈癌增殖和淋巴结转移的作用及相关机制研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2018.
- [15] Cheng H, Wang W, Zhang Y, et al. Expression levels and clinical significance of hepsin and HMGB1 proteins in cervical carcinoma [J]. Oncol Lett, 2017, 14(1):159-164.
- [16] Sun B, Zhang Y, Zhou L, et al. The proliferation of cervical cancer is promoted by miRNA-125b through the regulation of the HMGA1 [J]. Onco Targets Ther, 2019, 11, 12:2767-2776.
- [17] Jin Y, Guan Z, Wang X, et al. ALA-PDT promotes HPV-positive cervical cancer cells apoptosis and DCs maturation via miR-34a regulated HMGB1 exosomes secretion [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2018, 24:27-35.

· 论 著 ·

## 慢性乙型病毒性肝炎患者维生素D及其受体表达与炎症损伤程度及肝细胞癌发生的相关性分析

李玉苓<sup>1\*</sup> 邹东花<sup>2</sup> 谭艳<sup>1</sup> 张卫民<sup>1</sup> 孙韬<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 探讨慢性乙型病毒性肝炎(CHB)患者维生素D(VitD)及其受体(VDR)表达与炎症损伤程度及肝细胞癌(HCC)发生的相关性。方法 选取2018年6月至2020年6月沧州市传染病医院中西医结合肝病科102例CHB患者作为研究对象,根据其是否发生HCC分为HCC组20例、非HCC组82例。对比两组临床资料、VitD、VDR表达,分析CHB患者HCC发生影响因素及VitD、VDR表达与炎症损伤程度的关系,评价VitD、VDR表达对CHB患者HCC发生的预测价值。结果 VDR在HCC患者癌组织及CHB患者肝脏组织中均表达,主要在细胞质表达,细胞核中基本无表达;两组年龄、吸烟、饮酒、HBV DNA、IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、VitD、VDR mRNA及蛋白表达相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ ); Logistic回归分析显示,年龄、吸烟、饮酒、HBV DNA、IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、VitD、VDR mRNA及蛋白表达均为CHB患者HCC发生影响因素( $P<0.05$ ); Pearson相关性可知,CHB患者VitD表达与炎症损伤程度指标IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 均呈负相关关系,VDR mRNA及蛋白表达与炎症损伤程度指标IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 呈正相关关系( $P<0.05$ ); ROC曲线显示,VitD、VDR mRNA及蛋白表达联合预测HCC发生的AUC高于各指标单独预测,且 $>0.9$ ,具有较高预测效能。结论 CHB患者VitD与VDR表达与炎症损伤程度有关,且可能参与HCC发生发展过程,对HCC发生具有较高预测价值,为HCC防治提供一定理论依据。

**[关键词]** 慢性乙型病毒性肝炎; 维生素D; 维生素D受体; 炎症损伤

### Correlation analysis of the expression of vitamin D and its receptor with the degree of inflammatory damage and the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B

LI Yuling<sup>1\*</sup>, ZOU Donghua<sup>2</sup>, TAN Yan<sup>1</sup>, ZHANG Weimin<sup>1</sup>, SUN Tao<sup>1</sup>

(1. Department of Liver Disease, Cangzhou Infectious Disease Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061000; 2. Laboratory of Cangzhou Infectious Disease Hospital, Cangzhou, Hebei, China, 061000)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the correlation between the expression of vitamin D (VitD) and its receptor (VDR) in patients with chronic viral hepatitis (CHB) and the degree of inflammatory damage and the occurrence of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 102 CHB patients in our hospital from June 2018 to June 2020 were selected as the research objects. According to whether they had HCC, they were divided into 20 cases in the HCC group and 82 cases in the non-HCC group. The clinical data, the expression of VitD and VDR between the two groups were compared, and the factors affecting the occurrence of HCC in CHB patients and the relationship between the expression of VitD and VDR and the degree of inflammation were analyzed. The predictive value of the expression of VitD and VDR on the occurrence of HCC in CHB patients was evaluated. **Results** VDR is expressed in both cancer tissues of HCC patients and liver tissues of CHB patients, mainly expressed in the cytoplasm, and no expression in the nucleus. The two groups of age, smoking, drinking, HBV DNA, IL-6, Hs-CRP, TNF- $\alpha$ , VitD, VDR mRNA and protein expression were significantly different ( $P<0.05$ ). Logistic regression analysis showed that age, smoking, drinking, HBV

基金项目:沧州市重点研发计划指导项目(172302049)

作者单位:1.沧州市传染病医院中西医结合肝病科,河北,沧州061000

2.沧州市传染病医院检验科,河北,沧州061000

\*通信作者:李玉苓, E-mail: Lyl\_2010@163.com

DNA, IL-6, Hs-CRP, TNF- $\alpha$ , VitD, VDR mRNA and protein expression were all influential factors in the occurrence of HCC in CHB patients ( $P<0.05$ ). Pearson correlation shows that the expression of VitD in CHB patients is negatively correlated with IL-6, Hs-CRP, and TNF- $\alpha$ , and the expression of VDR mRNA and protein is positively correlated with IL-6, Hs-CRP, and TNF- $\alpha$ , which are indicators of the degree of inflammation damage ( $P<0.05$ ). The ROC curve shows that the combination of VitD and VDR mRNA and protein expression predicts the occurrence of HCC in AUC higher than that of each indicator alone, and is  $>0.9$ , which has a higher predictive power. **Conclusion** The expression of VitD and VDR in CHB patients is related to the degree of inflammatory damage, and may participate in the occurrence and development of HCC. It has a high predictive value for the occurrence of HCC and provides a theoretical basis for HCC prevention and treatment.

**[KEY WORDS]** Chronic hepatitis B; Vitamin D; Vitamin D receptor; Inflammation damage

我国是乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染高发国家,HBV感染造成肝脏反复损伤和修复可导致慢性乙型肝炎(Chronic hepatitis B, CHB)、肝硬化、肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)发生<sup>[1-2]</sup>。近年研究证实,维生素D(Vitamin D, VitD)具有抑制细胞增殖、调节机体免疫、抑制肿瘤浸润和转移等作用<sup>[3-4]</sup>。VitD生物学效应主要由细胞内特异性VitD受体(Vitamin D receptor, VDR)介导,肝癌细胞可能是VitD和VDR作用的靶细胞<sup>[5]</sup>。HBV导致CHB、HCC的发病机制尚未完全阐明,目前认为,HBV通过诱导机体免疫反应,分泌多种炎性细胞因子,导致肝脏炎症表现<sup>[6-7]</sup>。基于此,本研究尝试分析CHB患者VitD及其受体表达与炎症损伤程度及HCC发生的相关性,为HCC防治提供理论依据。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月沧州市传染病医院中西医结合肝病科102例CHB患者作为研究对象,根据其是否发生HCC分为HCC组20例、非HCC组82例。纳入标准:均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015年更新版)》<sup>[8]</sup>中CHB诊断标准;HCC组均符合《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》<sup>[9]</sup>中HCC诊断标准;临床治疗需要进行肝穿刺活检;患者及家属知情同意。排除标准:伴酒精性肝病、药物性肝损伤、心血管疾病、自身免疫性疾病;合并甲型、丙型、丁型、戊型肝炎病毒及EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus, CMV)、人类免疫缺陷病毒(Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS, HIV)感染;恶性肿瘤。本研究经我院伦理委员会审批通过。

### 1.2 方法

①肝组织VDR、VDR mRNA、VDR蛋白检测:

进行超声引导下肝活检,采用Power Vision TM 二步免疫组化法检测VDR表达,显微镜下观察结果,细胞呈棕黄色为阳性。采用实时荧光定量PCR法测定VDR mRNA:提取肝组织总RNA(美国Invitrogen公司Trizol试剂),逆转录合成cDNA, Taq DNA聚合酶作用下合成PCR产物,PCR反应参数:95℃预变性2 min, 95℃变性15 s, 57℃退火30 s, 72℃延伸30 s,共40个循环,根据待测基因与管家基因的Ct值, VDR mRNA相对水平用RQ值( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )表示。采用Western blot法检测VDR蛋白,艾菲生物技术有限公司兔抗人VDR多克隆抗体,美国Bioworld公司抗GAPDH抗体,提取肝组织蛋白,电泳、转膜、封闭,加一抗、二抗,行化学发光反应、曝光、显影,扫描图片,计算VDR蛋白与GAPDH灰度比值。②血清VitD、IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 检测:采集静脉血5 mL,离心(15 min,半径8 cm,转速3 500 r/min),取血清, VitD采用瑞士罗氏全自动电化学发光分析仪Cobas e602检测;IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 以酶联免疫法检测,武汉新启迪生物科技有限公司试剂盒。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计数资料以 $n(\%)$ 描述,行 $\chi^2$ 检验。计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 描述,两组间用 $t$ 检验;影响因素采用Logistic回归分析;双变量正态分布采用Pearson分析相关性;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线,联合预测实施Logistic二元回归拟合,返回预测概率logit( $p$ ),将其作为独立检验变量。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料、VitD、VDR表达等比较

两组年龄、吸烟、饮酒、HBV DNA、IL-6、Hs-CRP、

TNF- $\alpha$ 、VitD、VDR mRNA 及蛋白表达相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组临床资料、VitD、VDR 表达比较 [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 1 Comparison of clinical data, VitD and VDR expression between 2 groups [ $n(\%)$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

指标	HCC组 ( $n=20$ )	非HCC组 ( $n=82$ )	$\chi^2/t$ 值	$P$ 值
性别				
男	15(75.00)	62(75.61)	0.054	0.816
女	5(25.00)	20(24.39)		
年龄				
<45岁	6(30.00)	47(57.32)	4.807	0.028
$\geq 45$ 岁	14(70.00)	35(42.68)		
体质量指数				
<23 kg/m <sup>2</sup>	9(45.00)	37(45.12)	0.000	0.992
$\geq 23$ kg/m <sup>2</sup>	11(55.00)	45(54.88)		
吸烟				
是	9(45.00)	15(18.29)	6.374	0.012
否	11(55.00)	67(81.71)		
饮酒				
是	8(40.00)	11(13.41)	5.846	0.016
否	12(60.00)	71(86.59)		
HBV DNA (log <sub>10</sub> IU/mL)	5.87 $\pm$ 1.22	4.85 $\pm$ 0.97	4.001	<0.001
ALT(IU/L)	60.14 $\pm$ 10.23	57.25 $\pm$ 9.84	1.169	0.245
AST(IU/L)	39.63 $\pm$ 5.69	37.14 $\pm$ 5.12	1.908	0.059
GGT(IU/L)	35.41 $\pm$ 5.14	33.94 $\pm$ 4.83	1.205	0.231
TBIL( $\mu$ mmol/L)	14.78 $\pm$ 3.25	14.21 $\pm$ 2.98	0.754	0.453
IL-6(ng/l)	104.35 $\pm$ 30.26	68.41 $\pm$ 23.59	5.766	<0.001
Hs-CRP(mg/L)	15.47 $\pm$ 5.06	10.23 $\pm$ 4.15	4.844	<0.001
TNF- $\alpha$ ( $\mu$ g/L)	1.56 $\pm$ 0.31	1.12 $\pm$ 0.25	6.722	<0.001
VitD(ng/ml)	40.58 $\pm$ 9.32	65.41 $\pm$ 12.48	8.336	<0.001
VDR mRNA	2.74 $\pm$ 0.32	1.69 $\pm$ 0.22	17.384	<0.001
VDR 蛋白	1.16 $\pm$ 0.39	0.78 $\pm$ 0.42	3.676	<0.001

## 2.2 CHB 患者 HCC 发生影响因素

Logistic 回归分析年龄、吸烟、饮酒、HBV DNA、IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、VitD、VDR mRNA 及蛋白表达均为 CHB 患者 HCC 发生影响因素( $P < 0.05$ )。见表2。

## 2.3 VitD、VDR 表达与炎症损伤程度的关系

Pearson 相关性可知, CHB 患者 VitD 表达与炎症损伤程度指标 IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$  均呈负相关关系, VDR mRNA 及蛋白表达与炎症损伤程度指标 IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$  呈正相关关系( $P < 0.05$ )。见表3。

表2 CHB 患者 HCC 发生影响因素

Table 2 Influencing factors of HCC in CHB patients

因素	$\beta$ 值	S.E.值	Wald $\chi^2$	OR值	95%CI	$P$ 值
年龄	1.375	0.322	18.233	3.955	2.745~5.698	<0.05
吸烟	1.391	0.314	19.612	4.017	2.698~5.981	<0.05
饮酒	1.398	0.341	16.797	4.045	2.716~6.025	<0.05
HBV DNA	1.480	0.311	22.633	4.391	3.025~6.374	<0.05
IL-6	1.602	0.327	24.011	4.965	3.941~6.254	<0.05
Hs-CRP	1.594	0.333	22.924	4.925	3.452~7.027	<0.05
TNF- $\alpha$	1.534	0.312	24.168	4.636	3.078~6.982	<0.05
VitD	1.729	0.331	27.284	5.635	4.025~7.888	<0.05
VDR mRNA	1.730	0.302	32.826	5.642	4.137~7.695	<0.05
VDR 蛋白	1.730	0.309	31.328	5.638	4.288~7.413	<0.05

注:赋值:年龄:<45岁=1,  $\geq 45$ 岁=2;吸烟:否=0, 是=1;饮酒:否=0, 是=1; HBV DNA、IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、VitD、VDR mRNA 及蛋白表达:以平均数为界, <平均数=1,  $\geq$ 平均数=2。

表3 VitD、VDR 表达与炎症损伤程度的关系

Table 3 The relationship between the expression of VitD and VDR and the degree of inflammatory injury

组别	IL-6		Hs-CRP		TNF- $\alpha$	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
VitD	-0.594	<0.001	-0.621	<0.001	-0.614	<0.001
VDR mRNA	0.611	<0.001	0.604	<0.001	0.599	<0.001
VDR 蛋白	0.607	<0.001	0.609	<0.001	0.613	<0.001

## 2.4 VitD、VDR 表达对 CHB 患者 HCC 发生的预测价值

绘制 ROC 曲线, 评价 VitD、VDR 表达对 CHB 患者 HCC 发生的预测价值, 发现 VitD、VDR mRNA 及蛋白表达联合预测 AUC 最大, 且  $> 0.9$ , 具有较高预测效能。见表4, 图1。

## 3 讨论

HCC 是目前世界第五大常见肿瘤, 位列癌症死亡原因第二位, 其中 70% 与 CHB 有关<sup>[10]</sup>。肿瘤形成是复杂的多因素作用过程, 近年来, VitD 抗肿瘤作用日益受到重视。汪玲妹等<sup>[11]</sup>研究显示, VitD 可上调 VDR 表达, 增强 IFN-JAK-STAT 信号途径, 与 IFN- $\alpha$  协同发挥抗 HBV 效应, 而 CHB 患者存在 VitD/VDR 信号通路功能降低。由此可知, VitD 及 VDR 表达可能在 HCC 发生、发展中发挥重要作用, 探讨其相关机制具有重要临床价值。

表4 VitD、VDR 表达对 CHB 患者 HCC 发生的预测价值

Table 4 The predictive value of VitD and VDR expression in the occurrence of HCC in CHB patients

指标	AUC	95%CI	Z值	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	$P$ 值
VitD	0.830	0.743~0.897	8.054	$\leq 52.97$ ng/mL	90.00	70.73	<0.001
VDR mRNA	0.833	0.746~0.900	5.792	$> 2.13$	75.00	86.59	<0.001
VDR 蛋白	0.817	0.728~0.886	5.755	$> 1$	74.58	79.27	<0.001
联合预测	0.958	0.899~0.988	21.363	/	95.00	87.80	<0.001

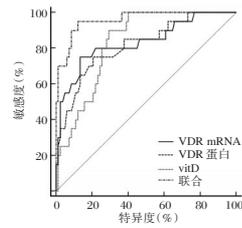


图1 ROC曲线

Figure 1 ROC curve

VitD生物学效应主要由VDR介导,VDR分为膜受体(mVDR)和核受体(nVDR)。mVDR主要维持钙磷平衡,而nVDR本质是配体依赖的核转录因子,调节组织细胞增殖分化及其相应生物学功能。VitD抗肿瘤作用主要通过VDR结合实现。既往研究证实,VitD可上调多种组织细胞VDR蛋白表达,但对VDR mRNA水平的调节存在明显组织细胞特异性<sup>[12]</sup>。VDR广泛分布于机体各组织细胞中,VDR在结肠癌<sup>[13]</sup>、乳腺癌<sup>[14]</sup>等癌组织中表达的研究发现,癌组织VDR表达明显低于正常粘膜组织,且VDR均表达于细胞核内。目前,已有研究在多种肝癌细胞系中发现VDR表达<sup>[15-16]</sup>。提示VDR基因可能是肝癌易感基因,肝癌细胞可能是VitD和VDR靶细胞。李玉苓等<sup>[17]</sup>研究显示,HCC组织VDR mRNA及VDR蛋白表达量显著高于癌旁肝硬化组织、正常肝脏组织。通过实时荧光定量PCR检测显示VitD、VDR mRNA及蛋白表达均为CHB患者HCC发生影响因素。HCC患者体内存在VitD/VDR信号通路功能降低,与HCC发生密切相关,这可能不利于药物发挥抗病毒作用,甚至加速HCC进展。本研究还提示,HCC及CHB患者VitD水平越低,VDR mRNA及蛋白表达越高,可能存在反馈调节关系。另外,肿瘤发生导致VDR升高,还是VDR升高诱导肿瘤发生,尚需进一步研究。

CHB患者肝功能损害并非由CHV直接损害肝细胞所致,其发生、发展与患者细胞免疫功能关系紧密<sup>[18]</sup>。本研究发现,CHB患者VitD表达与炎症损伤程度指标IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 均呈负相关关系,VDR mRNA及蛋白表达与炎症损伤程度指标IL-6、Hs-CRP、TNF- $\alpha$ 呈正相关关系。推测VitD/VDR信号通路功能降低可能通过促进肝脏炎症性表现,加速CHB向肝硬化及HCC进展。本研究首次评价VitD、VDR表达对CHB患者HCC发生的预测价值,ROC曲线显示,VitD $\leq$ 52.97 ng/mL、VDR mRNA $>$ 2.13、VDR蛋白 $>$ 1时,均高度怀疑

HCC发生,各指标联合预测AUC达0.958,高于单独预测。因此,临床可同时检测VitD、VDR mRNA、VDR蛋白,为CHB患者HCC发生预测提供更全面、有效的参考信息。

综上所述,CHB患者VitD与VDR表达与炎症损伤程度有关,且可能参与HCC发生发展过程,对HCC发生具有较高预测价值。

## 参考文献

- [1] Li YW, Yang FC, Lu HQ, et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B surface protein [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(6): 1943-52.
- [2] 吴湃, 吴坤河, 刘海燕, 等. 不同HBV基因型慢性乙型肝炎患者的血清HBV DNA、PreS1、HBsAg检测结果分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(6): 495-498, 507.
- [3] 周志伟, 尹志辉, 刘继勇, 等. 乳腺癌患者维生素D水平及其与传统肿瘤标志物的相关性研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2020, 42(7): 715-717.
- [4] 殷隽逸, 王雅灵, 胡海燕. VitD/VDR与乳腺癌患者免疫状态、临床特征及预后的相关性研究[J]. 中国癌症杂志, 2019, 29(5): 372-378.
- [5] 孔令泉, 伍娟, 田申, 等. 关注乳腺癌患者维生素D缺乏/不足及相关甲状旁腺功能亢进症的防治[J]. 中华内分泌外科杂志, 2020, 14(5): 353-357.
- [6] Jiang D, Deng J, Dong C, et al. Knowledge-based analyses reveal new candidate genes associated with risk of hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 403.
- [7] Zhang X, Wang L, Yan Y. Identification of potential key genes and pathways in hepatitis B virus associated hepatocellular carcinoma by bioinformatics analyses [J]. Oncol Lett, 2020, 19(5): 3477-3486.
- [8] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(12): 1941-1960.
- [9] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)[J]. 中华消化外科杂志, 2017, 16(7): 635-647.
- [10] Teng CF, Li TC, Wang T, et al. Increased infiltration of regulatory T cells in hepatocellular carcinoma of patients with hepatitis B virus pre-S2 mutant [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 1136.
- [11] 汪玲妹, 管世鹤, 张浩, 等. 维生素D及维生素D受体在慢性乙型肝炎患者体内表达水平及抗病毒相关机制的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(6): 882-887.
- [12] 朱晨曦, 李文洲, 郭永连, 等. 维生素D受体异常表达对大鼠肾小管上皮细胞增殖凋亡的影响[J]. 现代预防医学, 2019, 46(10): 1866-1870.
- [13] 陈秀明, 魏清, 张程, 等. 维生素D受体和核转录因子- $\kappa$ B p65在人结肠癌组织中的表达[J]. 中华疾病控制杂志, 2016, 20(3): 249-252.

(下转第1368页)

· 论 著 ·

## CTRP3、Lp(a)对冠心病合并糖尿病PCI术后支架内再狭窄的预测价值

魏冬\* 高鹏芝 范吉利 许维忠

**[摘要]** 目的 探究补体C1q肿瘤坏死因子相关蛋白3(CTRP3)、脂蛋白a(Lp(a))对冠心病合并糖尿病经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后支架内再狭窄(ISR)的预测价值。方法 选取本院86例冠心病合并糖尿病患者,均行PCI术治疗,根据随访6个月是否发生ISR分为ISR组(15例)与无ISR组(71例)。检测血清CTRP3、Lp(a)水平,分析两者对PCI术后ISR的预测价值。结果 ISR组血清CTRP3、Lp(a)高于无ISR组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );血清CTRP3与HbA1c、SYNTAX积分呈负相关,Lp(a)与HbA1c、SYNTAX积分呈正相关,均是PCI术后ISR的重要影响因素( $P<0.05$ );血清CTRP3、Lp(a)联合预测PCI术后ISR的AUC为0.882,95%CI为0.794~0.941,敏感度为93.33%,特异度为81.69%,优于两者单独预测( $P<0.05$ )。结论 血清CTRP3、Lp(a)与冠心病合并糖尿病患者病情联系紧密,联合检测可作为预测PCI术后ISR的潜在途径。

**[关键词]** 冠心病合并糖尿病;经皮冠状动脉介入治疗;补体C1q肿瘤坏死因子相关蛋白3;脂蛋白a;支架内再狭窄

### Predictive value of CTRP3 and Lp (a) for in-stent restenosis after PCI of coronary heart disease complicated with diabetes

WEI Dong\*, GAO Pengzhi, FAN Jili, XU Weizhong

(Department of Cardiology, Taihe County People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236600)

**[ABSTRACT]** **Objective** To explore the predictive value of complement C1q/tumor necrosis factor related protein 3 (CTRP3) and lipoprotein a (Lp (a)) for in-stent restenosis (ISR) after percutaneous coronary intervention (PCI) for coronary heart disease complicated with diabetes. **Methods** A total of 86 patients with coronary heart disease and diabetes mellitus in our hospital were selected for PCI treatment. According to whether ISR occurred during the 6-month follow-up, they were divided into the ISR group (15 cases) and the no ISR group (71 cases). The serum CTRP3 and Lp (a) levels were detected, and their predictive value for ISR after PCI was analyzed. **Results** Serum CTRP3 and Lp (a) in the ISR group were higher than those in the no ISR group ( $P<0.05$ ). Serum CTRP3 was negatively correlated with HbA1c and SYNTAX scores, and Lp (a) was positively correlated with HbA1c and SYNTAX scores, both are important influencing factors of ISR after PCI ( $P<0.05$ ). The AUC of ISR after PCI predicted by the combination of serum CTRP3 and Lp (a) was 0.882. The 95% CI ranged from 0.794 to 0.941, the sensitivity was 93.33%, and the specificity was 81.69%, which was better than the two predictions alone ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Serum CTRP3 and Lp (a) are closely related to the condition of patients with coronary heart disease complicated with diabetes. Combined detection can be used as a potential way to predict ISR after PCI.

**[KEY WORDS]** Coronary heart disease complicated with diabetes; Percutaneous coronary intervention; Complement C1q/tumor necrosis factor related protein 3; Lipoprotein a; In-stent restenosis

基金项目:阜阳市自筹基金科技计划项目(FK202081092)

作者单位:太和县人民医院心内科,安徽,阜阳236600

\*通信作者:魏冬, E-mail:sichuanxinu@163.com

经皮冠状动脉介入治疗(Percutaneous coronary intervention, PCI)是治疗冠心病最有效手段之一,但临床实践证实,由于适应证把控、病变程度、个体化差异等因素导致PCI术后约20%患者发生支架内再狭窄(Instent restenosis, ISR),其中冠心病合并糖尿病PCI术后ISR风险更高,严重影响预后改善<sup>[1-2]</sup>。因此,及早预测冠心病合并糖尿病患者PCI术后ISR风险,及时制定对应处理方案对改善预后意义重大。补体C1q肿瘤坏死因子相关蛋白3(C1q/Tumor necrosis factor related protein 3, CTRP3)、脂蛋白a[Lipoprotein a, Lp(a)]均在心脏疾病发生过程中具有重要作用,能为病情评估提供参考依据<sup>[3-4]</sup>。本研究尝试探究CTRP3、Lp(a)对冠心病合并糖尿病PCI术后ISR的预测价值。报告如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取本院2019年1月至2020年9月86例冠心病合并糖尿病患者,纳入标准:均经心电图、冠脉造影检查证实为冠心病,均为2型糖尿病,均符合《稳定性冠心病诊断与治疗指南》中冠心病相关诊断标准<sup>[5]</sup>、《中国糖尿病防控专家共识》中2型糖尿病相关诊断标准<sup>[6]</sup>;均具备PCI术适应证;患者及家属均知情,签订知情承诺书。排除标准:存在免疫系统疾病、急慢性感染性疾病、传染性疾病者;伴有心肌病、瓣膜病者;合并肿瘤性疾病、肝肾疾病者;存在脑血管疾病、凝血功能障碍者。均行PCI术治疗,随访6个月,经冠脉造影检查显示支架植入段、支架近远端各5 mm节段内管腔直径狭窄 $\geq 50\%$ 判定为ISR。根据是否发生ISR分为ISR组(15例)与无ISR组(71例)。本研究经本院伦理委员会审批通过。

### 1.2 方法

两组均行PCI术治疗。①血清CTRP3、Lp(a)检测方法:于PCI术前采集空腹静脉血3 mL,离心处理(3 000 r/min, 10 min),取上清液,保存于 $-70^{\circ}\text{C}$ 条件下,待检。血清CTRP3水平采用酶联免疫吸附法检测,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,日立7600全自动生化分析仪及配套试剂盒检测血清Lp(a)水平,所有操作均遵循试剂盒说明书。②病情程度判定方法:冠脉狭窄程度<sup>[7]</sup>:分为轻度、中度、重度、闭塞。冠脉病变程度以SYNTAX积分判定<sup>[8]</sup>:轻度:0~22分;中度:23~32分;

重度: $>32$ 分。糖尿病病情程度以糖化血红蛋白(Hemoglobin A1c, HbA1c)水平判定<sup>[9]</sup>:HbA1c $\leq 8\%$ 为轻度, $>8\%$ 为重度。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 22.0处理数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示, $\chi^2$ 检验;影响因素采用Logistic多因素回归分析;相关性采用Pearson相关系数模型分析;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料及血清CTRP3、Lp(a)水平

两组年龄、性别、冠心病病程、糖尿病病程、PCI术支架个数、支架直径差异无统计学意义( $P > 0.05$ );ISR组冠脉狭窄程度、冠脉病变严重程度、糖尿病病情程度、血清CTRP3、Lp(a)高于无ISR组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组临床资料及血清CTRP3、Lp(a)水平比较  
[( $\bar{x} \pm s$ ),  $n(\%)$ ]

Table 1 Comparison of clinical data and serum levels of ctrp3 and LP(a) between 2 groups [( $\bar{x} \pm s$ ),  $n(\%)$ ]

资料	ISR组 ( $n=15$ )	无ISR组 ( $n=71$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄	60.22 $\pm$ 6.19	59.34 $\pm$ 6.67	0.470	0.640
性别				
男	9(60.00)	44(61.97)		
女	6(40.00)	27(38.03)	0.020	0.887
冠心病病程(年)	8.20 $\pm$ 2.05	7.83 $\pm$ 2.41	0.553	0.582
糖尿病病程(年)	10.59 $\pm$ 2.53	10.04 $\pm$ 2.27	0.836	0.406
冠脉狭窄程度				
轻度	6(40.00)	53(74.65)		
中度	6(40.00)	16(22.54)	2.318	0.021
重度	3(20.00)	2(2.82)		
冠脉病变严重程度				
轻度	5(33.33)	54(76.06)		
中度	6(40.00)	11(15.49)	2.650	0.008
重度	4(26.67)	6(8.45)		
糖尿病严重程度				
轻度	5(33.33)	44(61.97)		
重度	10(66.67)	27(38.03)	4.143	0.042
PCI术支架个数(个)	2.01 $\pm$ 0.33	1.96 $\pm$ 0.35	0.507	0.613
PCI术支架直径(mm)	3.02 $\pm$ 0.71	2.91 $\pm$ 0.68	0.565	0.574
血清指标				
CTRP3(ng/mL)	340.69 $\pm$ 38.16	390.24 $\pm$ 45.07	3.964	$<0.001$
Lp(a)(mg/L)	284.53 $\pm$ 60.24	226.67 $\pm$ 37.95	4.793	$<0.001$

## 2.2 不同情况患者血清 CTRP3、Lp(a)水平

糖尿病重度患者血清 CTRP3 低于轻度患者, Lp(a)水平高于轻度患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );不同冠脉病变严重程度患者血清 CTRP3、Lp(a)水平:血清 CTRP3 水平重度患者<中度患者<轻度患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );血清 Lp(a)水平重度患者>中度患者>轻度患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 不同情况患者血清 CTRP3、Lp(a)水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of serum ctrp3 and LP(a) levels in patients with different conditions ( $\bar{x} \pm s$ )

病情	组别	n	CTRP3 (ng/mL)	Lp(a) (mg/L)
糖尿病病情程度	轻度	49	402.77±48.29	205.75±52.47
	重度	37	353.56±42.36	277.83±46.03
	t 值		4.929	6.644
	P 值		<0.001	<0.001
冠脉病变严重程度	轻度	59	408.56±44.18	217.38±55.20
	中度	17	332.45±35.30	264.85±45.39
	重度	10	306.09±30.11	303.35±39.81
	F 值		41.401	14.809
	P 值		<0.001	<0.001

## 2.3 血清 CTRP3、Lp(a)与HbA1c、SYNTAX积分相关性

Pearson 相关性分析,血清 CTRP3( $r = -0.710, -0.696$ )与HbA1c、SYNTAX积分呈负相关,Lp(a)( $r = 0.819, 0.663$ )与HbA1c、SYNTAX积分呈正相关( $P < 0.05$ )。

## 2.4 PCI术后ISR的影响因素

以PCI术后是否发生ISR作为因变量(否=0,是=1),以冠脉狭窄程度、血清CTRP3、Lp(a)作为自变量(冠脉病变狭窄程度:轻度=1,中度=2,重度=3;血清CTRP3、Lp(a)以所有患者平均值为界:≤平均值=1,>平均值=2),Logistic回归分析显示,冠脉狭窄程度、血清CTRP3、Lp(a)是PCI术后ISR的重要影响因素( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 PCI术后ISR的影响因素

Table 3 influencing factors of ISR after PCI

变量	$\beta$ 值	S.E.	Wald $\chi^2$	OR值	95%CI	P值
冠脉狭窄程度	1.716	0.469	13.384	5.561	3.341~9.257	<0.001
CTRP3	-0.971	0.305	10.133	0.379	0.188~0.763	<0.001
Lp(a)	1.433	0.443	10.468	4.192	2.137~8.225	<0.001

## 2.5 血清CTRP3、Lp(a)对PCI术后ISR的预测价值

ROC曲线显示,两者联合预测价值优于单独预测( $P < 0.05$ )。见表4、图1。

表4 血清CTRP3、Lp(a)对PCI术后ISR的预测价值

Table 4 The predictive value of serum CTRP3 and Lp(a) on ISR after PCI

指标	AUC	95%CI	截断值	敏感性 (%)	特异性 (%)	P值
CTRP3	0.808	0.708~0.885	≤367.02 ng/mL	80.00	74.65	<0.001
Lp(a)	0.828	0.732~0.901	>250.67 mg/L	86.67	76.06	<0.001
联合	0.882	0.794~0.941	-	93.33	81.69	<0.001

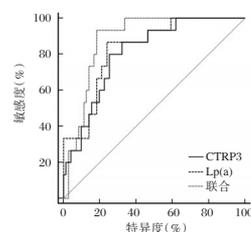


图1 ROC曲线

Figure 2 ROC curve

## 3 讨论

PCI术因创伤小、血管再通率高、恢复快等特点成为临床治疗冠心病优先选择的方案,据资料显示,冠心病是糖尿病最常见死亡原因之一,糖尿病是冠心病主要危险因素之一,两者并存死亡风险明显增加<sup>[10]</sup>。而PCI术后ISR是预后的重要因素。故探索可靠指标积极、有效预测冠心病合并糖尿病患者PCI术后ISR成为临床重要研究方向。

CTRP3是蛋白超家族成员,属于新型脂肪因子,主要表达于脂肪组织,其代谢水平与血管疾病、糖尿病密切相关。雷肖鑫等<sup>[11]</sup>研究证实,血清CTRP3在冠心病患者中水平降低。程杨阳等<sup>[12]</sup>报道指出,血清CTRP3水平与糖尿病患者胰岛素抵抗呈负相关,且与脂质代谢、葡萄糖代谢联系紧密。本研究结果说明CTRP3参与冠心病合并糖尿病病情进展过程,下降表达会增加PCI术后ISR发生风险。考虑原因在于:CTRP3具有促进缺血区域心肌细胞再生、减少远端区域间质纤维化、降低炎症因子水平、抑制肝脏糖原、三酰甘油合成酶生成、调节葡萄糖、脂肪代谢等作用,其水平下降预示胰岛素对葡萄糖敏感性降低,还会引发或加重血管内皮、心肌组织损伤,PCI术后更易在应激反应、炎症反应等作用下加快粥样硬化发展,从而在冠心病合并糖尿病病情进展中发挥重要作用,并加快PCI术后ISR发生<sup>[13]</sup>。为此,本研究结果发现,其预测价值尚可,说明临床可通过检测血清CTRP3水平为预测PCI术后ISR发生提供有效信息。

Lp(a)属于特殊独立的浆脂蛋白,因其主要组成成分ApoA与纤溶酶原序列同源性相似,被认为是动脉粥样硬化与血栓之间的重要桥梁。研究指出,血清Lp(a)水平升高通常提示有动脉粥样硬化病变存在,心血管意外风险更高<sup>[14]</sup>。同时,相关文献表明,Lp(a)与胰岛素抵抗有一定关系,能促进糖尿病发病及病情发展<sup>[15]</sup>。本研究结果说明Lp(a)在冠心病合并糖尿病疾病发展、PCI术后ISR发生中的重要性。原因主要在于以下方面:①Lp(a)能在血管壁上附着沉积,加快粥样硬化斑块形成;②Lp(a)可通过竞争性结合纤维蛋白位点抑制纤维蛋白原的水解作用,增加血管病变危险性;③Lp(a)携带着与血管炎症、动脉粥样硬化联系紧密的氧化磷脂,能进一步促进病情进展<sup>[16]</sup>。本研究还发现,血清Lp(a)是PCI术后ISR的重要影响因素,且具有一定预测价值。提示临床可将血清Lp(a)作为预测因子应用于冠心病合并糖尿病患者PCI术后ISR的预测中。

此外,本研究发现,血清CTRP3、Lp(a)虽对PCI术后ISR的发生均有预测作用,但单独预测价值并不显著。为此,本研究初次尝试分析两者联合预测PCI术后ISR的价值,结果证实,联合预测价值显著优于两者单独预测,为临床提供新思路、新途径,有助于及早预测、及时处理、改善预后。

综上所述,血清CTRP3、Lp(a)与冠心病合并糖尿病患者病情联系紧密,联合检测可作为预测PCI术后ISR的潜在途径。但本研究样本量少,可能造成数据偏移,需扩大样本量进行进一步探究。

### 参考文献

- [1] 邱晓静,温晓丽,李俊玲,等. 高血压合并冠心病患者晨峰血压及冠脉病变程度关系[J]. 华南预防医学, 2020, 46(3):312-314.
- [2] Ibrahim AW. In-Stent Restenosis, the Achilles' Heel of Percutaneous Coronary Intervention: The Predictive Role of High-Sensitivity C-Reactive Protein[J]. *Cardiovasc Med*, 2019, 20(7):542-543.
- [3] 杨铠榕,周静,宋延彬. CTRP3在冠心病相关疾病中的研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2018, 39(1):109-112.
- [4] Gencer B, Mach F. Potential of Lipoprotein (a) - Lowering Strategies in Treating Coronary Artery Disease [J]. *Drugs*, 2020, 80(3):229-239.
- [5] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组,中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组,中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会,等. 稳定性冠心病诊断与治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(9):680-694.
- [6] 《中国糖尿病防控专家共识》专家组. 中国糖尿病防控专家共识[J]. *中华预防医学杂志*, 2017, 51(1):12-12.
- [7] 王国良,马光,滕伟,等. 冠脉CTA在评估糖尿病患者冠脉临界病变管腔狭窄程度中的应用[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2018, 16(6):6-8.
- [8] 王用,刘秀玲,史云桃,等. SYNTAX积分评价急性冠脉综合征患者危险分层及短期预后的效能[J]. *医学临床研究*, 2018, 35(9):1706-1708.
- [9] 陈积雄,黄晓燕,徐文星,等. 糖化血红蛋白水平在老年2型糖尿病合并冠心病患者病情评估中的应用[J]. *中国临床保健杂志*, 2019, 22(5):707-709.
- [10] 王娟,许浩博,张海鹏,等. 合并2型糖尿病对冠心病患者冠状动脉非靶病变进展和血运重建的影响[J]. *中华心血管病杂志*, 2020, 48(5):393-400.
- [11] 雷肖鑫,倪宁,李鑫,等. 冠心病患者血清HN、CTRP3与血脂及病情严重程度的关系研究[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(21):4134-4138.
- [12] 程杨阳,张军霞. C1q-肿瘤坏死因子相关蛋白3与胰岛素抵抗相关性疾病的研究进展[J]. *中国糖尿病杂志*, 2018, 24(2):170-172.
- [13] 曾玉玲,占德进,刘婷,等. 肿瘤坏死因子相关蛋白3、成纤维细胞生长因子21与冠心病合并糖尿病经皮冠状动脉介入术后支架内再狭窄的相关性[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(11):1494-1498.
- [14] 王俊华,崔勤涛,韩培立,等. 退行性心脏瓣膜病患者血清LP(a)、OPN、IRF-4表达及其临床意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(4):483-486, 506.
- [15] 梁钻容,王娟. 血脂、肝功能及肾功能等生化指标与2型糖尿病患病风险相关性研究[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2019, 25(4):408-410.
- [16] Jin JL, Cao YX, Zhang HW, et al. Lipoprotein(a) and Cardiovascular Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease and Prediabetes or Diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42(7):1312-1318.
- [14] 范青. 维生素D通过调节Ras表达干预乳腺癌细胞迁移、侵袭的实验研究[D]. 湖南:南华大学, 2018.
- [15] 程佳,王晨颖,庞田田,等. 小鼠CYP2R1的异源表达及其对癌细胞增殖的差异化作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2019, 35(10):1119-1127.
- [16] 崔剑巍,张菁,成伟忠,等. 慢性HBV感染者血清维生素D水平的临床观察[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2017, 27(5):269-271, 275.
- [17] 李玉琴,郭文征,张卫民,等. 乙型肝炎病毒相关性肝癌组织维生素D受体表达情况分析[J]. *实用肝脏病杂志*, 2018, 21(2):249-252.
- [18] 赵棉,赵亚妮,张力. 慢性乙型肝炎患者肝功能指标与肝组织免疫组织化学的相关性[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(2):174-176, 179.

(上接第1364页)

## 多囊卵巢综合征患者HOMA-IR与T及SHBG水平的相关性研究

薄晓莉 潘静 朱爱丽 何白玉 哈丽亚·哈力木别克\*

**[摘要]** 目的 分析多囊卵巢综合征患者胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)与睾酮(T)及性激素结合球蛋白(SHBG)水平的相关性。方法 选取2018年1月至2019年12月本院诊治的106例多囊卵巢综合征患者作为研究组,根据HOMA-IR分为A组( $1.66 \leq \text{HOMA-IR} < 2.69$ )、B组( $\text{HOMA-IR} \geq 2.69$ ),另选取96例同期于本院接受健康体检且结果正常的女性作为对照组。比较各组临床特征及T、SHBG水平,采用Pearson直线分析HOMA-IR值分组中多囊卵巢综合征患者T与SHBG水平的相关性。结果 研究组HOMA-IR、T水平均高于对照组,SHBG水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。B组体重指数(BMI)、腰臀比和多毛、痤疮发生率均高于A组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。B组T水平高于A组,SHBG水平低于A组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson直线分析结果显示:HOMA-IR与T呈正相关( $P < 0.05$ ),与SHBG呈负相关( $P < 0.05$ )。结论 HOMA-IR、T及SHBG水平是多囊卵巢综合征患者需要密切关注的重要指标,在多囊卵巢综合征及其代谢异常的诊断和治疗中具有临床使用价值。

**[关键词]** 多囊卵巢综合征; HOMA-IR; T; SHBG

### Correlations of HOMA-IR, T and SHBG levels in patients with polycystic ovary syndrome

BO Xiaoli, PAN Jing, ZHU Aili, HE Baiyu, HALIYA Halimubieke\*

(Department of Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, China, 830063)

**[ABSTRACT]** **Objective** To analyze the correlations of HOMA-IR, the T and SHBG levels of patients with polycystic ovary syndrome. **Methods** The 106 patients with polycystic ovary syndrome admitted to this hospital from January 2018 to December 2019 were selected as the study group, and they were divided into group A ( $1.66 \leq \text{HOMA-IR} < 2.69$ ) and group B ( $\text{HOMA-IR} \geq 2.69$ ) according to HOMA-IR. In addition, 96 women who had health checkups and normal results in this hospital during the same period were selected as the control group. The clinical characteristics and T and SHBG levels between different groups were compared, and the Pearson line was used to analyze the correlation between the T and SHBG levels of patients grouped by the HOMA-IR value. **Results** The HOMA-IR and T levels of the study group were higher than those of the control group, and the SHBG level was lower than that of the control group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The incidence of body mass index (BMI), waist-to-hip ratio, hirsutism and acne in group B were higher than those in group A, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The level of T in group B was higher than that in group A, and the level of SHBG was lower than that in group A, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Pearson linear analysis showed that HOMA-IR was positively correlated with T ( $P < 0.05$ ), and negatively correlated with SHBG ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** HOMA-IR, T and SHBG levels are important biomarkers that need to pay close attention to the treatment of patients with polycystic ovary syndrome. The combined detection of the three has clinical value in the diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome and its metabolic abnormalities.

**[KEY WORDS]** Polycystic ovary syndrome; HOMA-IR; T; SHBG

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2020D01C187)

作者单位:新疆医科大学第二附属医院妇科,新疆,乌鲁木齐 830063

\*通信作者:哈丽亚·哈力木别克, E-mail: haliya2007@163.com

多囊卵巢综合征是生育年龄妇女常见的内分泌及代谢异常所致的疾病,以排卵功能丧失、胰岛素抵抗和高雄激素血症为特征<sup>[1-2]</sup>。目前对多囊卵巢综合征的病因尚不明确,但研究显示,不同年龄段的女性表现的多囊卵巢综合征症状具有一定差异,就围绝经期的女性来说,患者主要表现为代谢紊乱以及由于长期胰岛素抵抗引起的并发症,所以多数学者认为多囊卵巢综合征的中心环节是胰岛素抵抗<sup>[3-4]</sup>。多囊卵巢综合征患者的胰岛素抵抗与性激素结合球蛋白(Sex hormone-binding globulin, SHBG)低表达水平具有密切的关系,其中SHBG在有多囊卵巢综合征中是一项极为重要的胰岛素抵抗指标<sup>[5]</sup>。本文主要分析多囊卵巢综合征患者胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment-resistance index, HOMA-IR)与睾酮(Testosterone, T)及SHBG水平的相关性,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2018年1月至2019年12月本院诊治的106例多囊卵巢综合征患者作为研究组。纳入标准:①均符合2003年欧洲生殖和胚胎医学会与美国生殖医学会提出的鹿特丹诊断标准<sup>[6]</sup>。②临床资料完整无缺漏。排除标准:①生殖器畸形;②其他原因导致的不孕;③合并精神疾病,沟通障碍者;④近3个月内服用过避孕药、降糖降压药等激素类药物;⑤合并子宫内膜异位症、卵巢肿瘤以及其余对受孕有影响的器质性疾病;⑥合并严重肝肾功能异常、心脑血管疾病等;⑦合并恶性肿瘤、全身感染性疾病者。另选取96例同期于本院接受健康体检且结果正常的女性作为对照组。两组基础资料对比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。本研究经医院医学伦理委员会批准通过,研究对象均签署知情同意书。

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

组别	$n$	年龄(岁)	BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	受教育程度		
				小学及以上	初中	高中及以上
研究组	106	41.03±7.85	28.51±3.11	23(21.70)	39(36.80)	44(41.50)
对照组	96	41.25±7.86	27.99±3.08	20(20.83)	35(36.46)	41(42.71)
$t/\chi^2$ 值		0.199	1.192		0.036	
$P$ 值		0.843	0.235		0.982	

## 1.2 研究方法

### 1.2.1 临床特征

收集多囊卵巢综合征患者的临床特征,包括年龄、初潮年龄、体重指数(Body Mass Index, BMI)、腰臀比(腰围/臀围)、多毛、痤疮等。

### 1.2.2 HOMA-IR计算

$\text{HOMA-IR} = \text{空腹血糖} \times \text{空腹胰岛素} / 22.5$ <sup>[7]</sup>,其中空腹血糖的单位是mmol/L,空腹胰岛素是 $\mu\text{U}/\text{mL}$ ,22.5为校正因子,计算公式表示在正常理想个体中5 $\mu\text{U}/\text{mL}$ 血浆胰岛素,对应4.5 mmol/L的血糖水平。

### 1.2.3 T及SHBG检测方法

在所有研究对象自然月经周期或孕激素撤退出血的第3~7天予以空腹采集肘静脉10 mL,分离血清,-80℃保存。采用化学发光法检测性激素T水平及胰岛素水平,检验试剂购自美国Sigma公司。采用Immulite 2000全自动化学发光分析仪和配套试剂测定血清SHBG水平,试剂盒购自美国西门子医学诊断产品上海有限公司,并严格按说明操作。

## 1.3 观察指标

①比较研究组与对照组的HOMA-IR、T及SHBG水平。②计算研究对象的HOMA-IR值,正常值一般不超过2.69 mmol/L ( $1.66 \leq \text{HOMA-IR} < 2.69$ 表示无抵抗,  $\text{HOMA-IR} \geq 2.69$ 表示有抵抗)<sup>[8]</sup>,将无胰岛素抵抗的患者作为A组,有胰岛素抵抗的患者作为B组,比较两组多囊卵巢综合征患者的临床特征及T、SHBG水平。

## 1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料采用( $\bar{x}\pm s$ )表示,行 $t$ 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,行 $\chi^2$ 检验;采用Pearson直线分析相关性;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 研究组与对照组HOMA-IR、T及SHBG水平比较

研究组HOMA-IR、T水平均高于对照组,SHBG水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表2。

### 2.2 A组与B组多囊卵巢综合征患者的临床特征比较

根据HOMA-IR值结果,A组患者为38例,B组患者为68例。B组BMI、腰臀比和多毛、痤疮发生率高于A组,差异有统计学意义。见表3。

表2 研究组与对照组 HOMA-IR、T 及 SHBG 水平比较  
( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HOMA-IR	T(ng/dl)	SHBG(nmol/L)
研究组	106	4.26±1.29	57.26±26.23	27.19±14.29
对照组	96	2.66±0.89	19.59±10.49	39.15±15.26
t 值		10.158	13.149	5.752
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

表3 A组与B组多囊卵巢综合征患者的临床特征比较 [n(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]Table 3 Comparison of clinical characteristics of patients with polycystic ovary syndrome in different HOMA-IR value groups [n(%), ( $\bar{x} \pm s$ )]

组别	n	年龄(岁)	初潮年龄(岁)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	腰臀比	多毛	痤疮
A组	38	41.59±3.69	13.85±1.02	25.94±3.15	0.85±0.07	9(23.68)	6(15.79)
B组	68	40.29±3.78	13.94±1.26	28.59±3.78	0.99±0.08	59(86.76)	54(79.41)
t 值		1.712	0.377	3.666	9.025	42.179	40.171
P 值		0.090	0.707	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表4 A组与B组患者 T 及 SHBG 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )Table 4 Comparison of T and SHBG levels in patients with different HOMA-IR value groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	T(ng/dl)	SHBG(nmol/L)
A组	38	41.26±21.69	28.49±13.64
B组	68	59.37±25.29	21.09±13.19
t 值		3.715	2.736
P 值		<0.001	0.007

### 3 讨论

多囊卵巢综合征发病机制复杂,目前临床对多囊卵巢综合征的发病原因尚不明确。相关研究显示,多囊卵巢综合征的发生可能与体内雄激素过多、内分泌系统失调、代谢性紊乱和遗传、环境等因素有关,患者表现出月经不规律或者延长、不孕、脱发和肥胖等症状<sup>[9]</sup>。SHBG在性激素上是一个非常重要的运输载体,通过与雌二醇、T等性激素相结合进入细胞内产生作用,发挥生物学效应。既往研究发现,人体的SHBG水平随胰岛素抵抗指数的增高而呈现持续性递减趋势<sup>[10]</sup>。由于多囊卵巢综合征患者存在胰岛素抵抗,机体代谢功能紊乱,使得胰岛素受到影响,导致肝细胞在胰岛素的作用下,与游离雄激素一起抑制SHBG的表达,相较非胰岛素抵抗或胰岛素抵抗弱患者,其血清SHBG的检测结果显示更低。

国内外相关文献显示,多囊卵巢综合征患者的发病与HOMA-IR、T及SHBG水平有着紧密关系<sup>[11-12]</sup>。本文研究结果说明多囊卵巢综合征患者的HOMA-IR、T及SHBG水平在机体中呈异常表达,与

### 2.3 A组与B组患者T及SHBG水平比较

B组T水平高于A组,SHBG水平低于A组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

### 2.4 患者HOMA-IR值与T及SHBG水平的相关性分析

相关性分析显示,HOMA-IR与T呈正相关( $r=0.645, P<0.05$ ),与SHBG呈负相关( $r=-0.569, P<0.05$ )。

上述文献结果相符合。HOMA-IR值过高与患者的遗传、肥胖、氧化应激、细胞因子、长期服用某些药物等有关,是导致代谢综合征和2型糖尿病的主要病因之一。T水平增高是高雄激素症的首发症状,而SHBG水平受到外周血中雄激素活性的影响下降。

有研究报道,多囊卵巢综合征患者的SHBG与HOMA-IR值、T的浓度存在负相关关系<sup>[13]</sup>。HOMA-IR是指各种原因使胰岛素促进葡萄糖摄取和利用的效率下降,机体代偿性的分泌过多胰岛素产生高胰岛素血症,以维持血糖的稳定。据研究表明,应用胰岛素增敏剂后,多囊卵巢综合征患者的T水平能够得到改善,解除对SHBG的影响,缓解患者的临床症状<sup>[14]</sup>。本文将HOMA-IR值正常患者及HOMA-IR值偏高患者的T及SHBG水平进行比较,结果显示HOMA-IR高水平患者T激素水平高于HOMA-IR正常水平患者,多毛、痤疮发生率明显高于HOMA-IR正常水平患者。究其原因T激素水平升高,SHBG降低,循环中的高雄激素状态容易导致患者多毛、痤疮、肥胖等症状出现。相关性分析结果显示,HOMA-IR与T呈正相关,与SHBG呈负相关,与文献报道相一致<sup>[15]</sup>。

综上所述,HOMA-IR、T及SHBG水平是多囊卵巢综合征患者需要密切关注的重要指标,在多囊卵巢综合征及其代谢异常的诊断和治疗中具有临床使用价值。

(下转第1376页)

## 长链非编码RNA对动脉粥样硬化炎症性反应的研究进展

郭宁<sup>1</sup> 秦合伟<sup>2\*</sup>

**[摘要]** 动脉粥样硬化是一种由多种危险因素引起、以高度特异性的细胞因子反应为特征的慢性炎症疾病,可引起心肌梗死、中风和外周动脉疾病等多种血管不良事件。炎症反应在动脉粥样硬化的各个阶段均有显著影响,其中内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞参与炎症反应的全过程。近年来,研究发现具有组织特异性的长链非编码RNA在动脉粥样硬化的发生发展中发挥着重要作用,并可参与动脉粥样硬化炎症微环境的调节,但对其具体作用机制仍处于初始阶段。笔者就近几年长链非编码RNA在动脉粥样硬化炎症性反应中的作用作一综述,以期对动脉粥样硬化性疾病的防治提供新的干预靶点。

**[关键词]** 长链非编码RNA; 动脉粥样硬化; 炎症; 细胞; 微环境

### Research progress of long non-coding RNA on the inflammatory response of atherosclerosis

GUO Ning<sup>1</sup>, QIN Hewei<sup>2\*</sup>

(1. College of Rehabilitation Medicine, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450046; 2. Department of Rehabilitation Medicine, Henan Province Chinese Medicine (the Second Affiliated Hospital of Henan, College of Henan University of Traditional Chinese Medicine), Zhengzhou, Henan, China, 450002)

**[ABSTRACT]** Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease that is caused by multiple risk factors and characterized by a highly specific cytokine response. Atherosclerosis can cause various vascular adverse events such as myocardial infarction, stroke, and peripheral arterial disease. Inflammatory response has a significant impact on all stages of atherosclerosis, in which endothelial cells, smooth muscle cells and macrophages are involved in the whole process of inflammatory response. In recent years, studies have found that tissue-specific long non-coding RNA plays an important role in the development of atherosclerosis and can participate in the regulation of atherosclerotic inflammatory microenvironment, but its specific mechanism of action is still in the initial stage. This paper reviews the role of long non-coding RNA in atherosclerotic inflammatory response in recent years, hoping to provide novel targets for the prevention and treatment of atherosclerotic diseases.

**[KEY WORDS]** Long non-coding RNA; Atherosclerosis; Inflammation; Cell; Microenvironment

继微RNAs(microRNAs, miRNAs)之后,曾被视为是不具备生物活性的基因转录“噪音”——长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA),一跃成为科研领域的热点话题,吸引着众多研究者的目光。随着高通量测序技术、质谱及生物信息学技术的出现,越来越多研究表明lncRNA在表观

遗传修饰、转录及转录后的调控等多个层次上发挥着重要作用,广泛参与体内生理和病理调节下的生物学过程,如细胞增殖、凋亡、分化、自噬、发育及衰老等<sup>[1-3]</sup>。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心血管疾病中最常见的慢性血管性疾病,特征在于内皮细胞(vascular endothelial cells, VECs)

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81704030);河南省中医药科学研究专项重点课题(2019ZY1015);河南省中医药文化与管理研究项目(TCM2019016, TCM2020016)

作者单位:1. 河南中医药大学康复医学院, 河南, 郑州 450046

2. 河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)康复科, 河南, 郑州 450002

\*通信作者:秦合伟, E-mail: qinhewei2012@126.com

受损、血管炎症、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)过度增殖以及细胞外脂质和纤维组织的积累,其发病机制非常复杂,受各种内外因素共同作用引起,迄今仍未完全阐明。近年来,关于 lncRNA 在 AS 炎性反应中的作用越来越受关注<sup>[4-6]</sup>。因此,本文就近几年 lncRNA 在 AS 炎性反应中的作用作一综述,以期对动脉粥样硬化性疾病和其他慢性心血管疾病的防治提供新的干预靶点,为临床治疗提供理论依据。

## 1 LncRNA 概述

人类基因组中 75% 的 DNA 被转录为 RNA,但只有 3% (甚至不到 2%) RNA 被翻译成蛋白质,称为编码 RNA,其他未被翻译为蛋白质的称为非编码 RNA。LncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的具有高度保守序列的非编码 RNA,广泛存在于细胞核或胞浆内,不具有编码蛋白质功能的开放阅读框。根据 lncRNA 与邻近蛋白编码基因的转录方向及位置,lncRNA 可分为正义、反义、基因间、基因内、双向 RNA 五类<sup>[7]</sup>。

从各种筛选和表达分析来看,lncRNA 具有多种调控作用,包括染色质重塑、转录、转录后调控以及通过细胞质或细胞核中的 RNA-DNA、RNA-RNA 或 RNA-蛋白质相互作用来调节其靶分子的表达,具有基因印迹、信号转导、分子诱饵、支架和引导核糖核酸复合物等功能,但大多数 lncRNA 有待进一步验证<sup>[8]</sup>。现阶段对 lncRNA 作用分子机制的认识还颇为受限,深入了解 lncRNA 作用机制有助于更好地研究其潜在功能。越来越多证据表明 lncRNA 调节与人类疾病(肿瘤、心血管疾病等)密切相关,并在 AS 炎性反应中发挥了重要作用<sup>[9-11]</sup>。

## 2 LncRNA 在 AS 疾病中的研究现状

AS 是许多心血管疾病的病理基础,尤其与脑梗死的发病率密切相关,不稳定斑块脱落后栓塞远端血管可导致动脉内血栓形成,严重威胁人类的生命健康<sup>[12]</sup>。研究发现,lncRNA DIGIT 沉默致 VECs 活力、迁移、管状结构形成能力降低并诱导 VECs 凋亡<sup>[13]</sup>,lncRNA SNHG16 促进 HASMCs 增殖和迁移<sup>[14]</sup>,lncRNA MIAT 通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进小鼠血脂上调、动脉粥样硬化斑块形成<sup>[15]</sup>。因此,lncRNA 在 AS 的进展中具有极其重要的影响。

## 3 LncRNA 与 AS 炎性反应

AS 相关的炎症微环境是由炎性细胞因子(白细胞介素、肿瘤坏死因子- $\alpha$  等)、黏附分子(细胞间黏附分子-1、血管黏附分子-1 等)、细胞趋化因子(单核细胞趋化蛋白-1 等)、生长因子(转化生长因子- $\beta$ 、血小板衍生生长因子-BB 等)及炎症信号通路(核因子- $\kappa$ B 信号通路、Toll 样受体信号转导等)等途径所介导的,这些途径一旦被激活,便直接激活并诱导一组有限的转录因子的表达,进而促进炎性基因的转录。LncRNA 不仅可以作为炎性基因转录的增强或抑制因子,而且可作为支架分子与染色质重塑复合物中 RNA 结合蛋白相互作用,或者以基因特异性和时间依赖性调节炎性基因的表现遗传调控。

### 3.1 LncRNA 与内皮细胞

在 AS 形成的早期(脂质条纹期),高脂血症、高血压或促炎性介质等代谢危险因素激活 VECs,吸引单核细胞及其他白细胞进入,同时,活化的内皮分泌细胞黏附因子和促白细胞募集的趋化因子,诱导炎性细胞浸润,造成 VECs 局部炎症反应。因此,在炎症形成的早期阶段,VEC 中真核细胞募集和促炎细胞因子的参与起关键作用。

在转录调控中,转录因子识别和结合基因启动子区的顺式作用元件是核心内容。ANRIL 是一段位于细胞周期激酶抑制因子 4 位点且由 19 个外显子组成的反义非编码 RNA,可作为炎性通路的一个重要组成部分参与调节 AS 炎性反应。Zhou 等<sup>[17]</sup>体外实验发现肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 可诱导 ANRIL 与转录因子 YY1 结合至白介素 6 (interleukin 6, IL-6)、白介素 8 (interleukin 8, IL-8) 的启动子,进而促进 IL-6 和 IL-8 表达,并证实 TNF- $\alpha$ -ANRIL-YY1-IL-6/IL-8 通路对 VECs 炎性反应的调控作用,表明 lncRNA 可通过与转录因子相互作用来启动和调控基因的表达。此外,lncRNA 还可通过充当竞争内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 发挥生物学功能<sup>[14]</sup> (Lin, Tian et al. 2019)。lncRNA TGFB2-OT1 是一种新发现的调节 VECs 的自噬和炎性的 lncRNA,来源于 TGFB2 的 3' 非翻译区,可作为 miR-3960, miR-4488 和 miR-4459 的 ceRNA,抑制下游靶点 CERS1 和 NAT8L,促进线粒体自噬,干扰 LARP1 表达,促进 IL-6、IL-8 和 IL-1 $\beta$  的产生,

提高 VECs 炎症水平<sup>[18]</sup>。

在干预治疗方面, lncRNA 在 VECs 中可通过降低炎症因子分泌、增强抗炎因子以及抑制炎症通路而发挥抗炎保护作用。贾雪凌等<sup>[19]</sup>发现白藜芦醇组明显逆转 MALAT1 表达, 并剂量依赖性减少 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等炎症因子的产生, 或许就是通过调控 MALAT1 进而调节炎症因子的表达, 改善炎症环境, 发挥抗 AS 作用, 但具体调控机制仍不清楚。有研究报道 lncRNA HOXA-AS2 和 lncRNA NKILA 是内皮炎症反应的关键抑制因子, 前者作用机制或许与 NF- $\kappa$ B 协同作用在内皮炎症调节中形成负反馈环<sup>[20]</sup>, 后者作用机制是 NKILA 通过 NF- $\kappa$ B 介导的 DNA 甲基化机制正向介导 VECs 中抗炎调节因子 Krüppel 样因子 4 (krüppel-like factor4, KLF4) 的表达, KLF4 通过建立 NF- $\kappa$ B/KLF4 正反馈环反向抑制 NF- $\kappa$ B 转录活性<sup>[21]</sup>。因此, 在炎症过程中诱导或抑制上述 lncRNA 似乎对 VECs 炎症反应提供负性反馈调节。

### 3.2 LncRNA 与平滑肌细胞

在 AS 进展期(纤维性斑块期、粥样斑块期), 激活的白细胞和 VECs 可释放多种生长因子, 这些物质又刺激 VSMCs 和成纤维细胞增殖和迁移。动脉壁压力的增加也会使 VSMCs 产生更多蛋白多糖, 黏附并氧化脂蛋白颗粒, 诱发机体局部病变的炎症反应。早期研究主要集中在 VSMCs 通过调节细胞因子分泌和膜受体在 AS 发病过程中积极介导炎症的作用。近来发现, lncRNA 在 VSMCs 炎症反应中也发挥了一定作用<sup>[22]</sup>。

血管紧张素 II(angiotensin II, AngII)通过诱导 VSMCs 中促纤维化和促炎基因的表达, 如纤溶酶原激活物抑制剂 1、IL-6 和 IL-18、趋化因子 CCL2、胶原蛋白及纤维连接蛋白等, 可促进 VSMCs 局部的炎症反应、纤维化和增殖。已有研究表明 lncRNA 重叠增强子与相关蛋白编码基因的表达有很强的相关性<sup>[23]</sup>。在此基础上, Das 等<sup>[24]</sup>发现 AngII 诱导的 Ramp3 及 lnc-Ang383 的表达在增强子缺失后显著减弱, 同时该增强子的缺失也显著减弱了大鼠 VSMCs 中 CCL2、SERPINE1 和 IL6 的表达, 表明 lnc-Ang383 通过其重叠增强子在 AngII 诱导的 VSMCs 炎症纤维化基因网络中发挥重要作用。最近该团队又验证了生长因子和促炎性细胞因子诱导的血管细胞表达的 lnc-Ang164, 其能够增强与 VSMCs 炎症(IL6、CCL2 和 TNF)和氧化应

激(Nox1)密切相关的远端靶基因的表达, 加强炎症反应和氧化应激损伤<sup>[25]</sup>。

然而, Ye 等<sup>[26]</sup>发现 lncRNA KCNQ1OT1 在内膜增生小鼠和血小板源生长因子处理的 VSMCs 中下调, 而上调 KCNQ1OT1 表达通过与核转录因子 kappa-Ba(IkBa)蛋白结合和 miR-221 相互作用上调 IkBa 表达, 从而抑制 VSMCs 的炎症和增殖以减轻内膜增生。An 等<sup>[27]</sup>观察到利拉鲁肽可通过调节 lncRNA RMRP/miR-128-1-5P / Gadd45g 信号通路抑制冠状动脉粥样硬化 VSMCs 中炎症细胞因子(IL-6、IL-8)和凋亡相关蛋白(Gadd45g 蛋白)的表达, 为冠状动脉粥样硬化的治疗提供了新的潜在策略。因此, 调节 lncRNA 在 VSMCs 炎症反应中的表达也是抗炎治疗的一个新方向。

### 3.3 LncRNA 与巨噬细胞

在 AS 后期(血栓形成、不稳定斑块期), 巨噬细胞的作用可增强局部炎症反应, 如产生降解细胞外基质大分子的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs), 影响细胞外基质重构, 这可能造成纤维帽破裂, 进一步诱导 AP 破裂、出血及继发性血栓形成。巨噬细胞在促进胰岛素抵抗、血管壁脂质积聚和相关血管并发症的炎症中也起着关键作用。由此可见, 巨噬细胞是 AS 抗炎治疗中的焦点。在 RNA 序列研究中, lincRNA-Cox2 是经 Toll 样受体 2 或 Pam3CSK4 处理巨噬细胞后高度表达的 lncRNA, 通过调节 CCL5 和 IL-6 等多种免疫应答基因的表达, 以及与异种核糖蛋白 A/B 和 A2/B1 相互作用, 在炎症反应中起着关键的调节作用<sup>[28]</sup>。另有研究报道 lincRNA-Cox2 与 SWI/SNF 复合物结合可促进组蛋白 H3 甲基化, 并以一种 ATP 依赖的方式增加血清淀粉样蛋白 A3 启动子活性, 最终调节 NF- $\kappa$ B 并影响染色质重塑和初级早期炎症反应<sup>[29]</sup>, 此外, lincRNA-Cox2 低表达可抑制 IL-6 和前干扰素基因的表达<sup>[30]</sup>。LncRNA GAS5 是近年来颇为关注的一种 lncRNA, 其过表达可加剧氧化低密度脂蛋白诱导的促炎细胞因子和趋化因子在巨噬细胞中的分泌, 同时通过充当 miR-221 的 ceRNA 触发炎症反应和 MMP 表达, 加剧动脉粥样硬化斑块发展及不稳定性, 进一步促进斑块破裂和血栓形成<sup>[31]</sup>。

LncRNA 调节炎症反应的另一种方法是调节巨噬细胞的极化状态。静止巨噬细胞被激活后发生表型极化, 转变为两种不同功能状态之一: 经典

激活的巨噬细胞 M1 (促炎) 或交替激活的巨噬细胞 M2 (抗炎)。病灶处的巨噬细胞功能反映 AS 部位的微环境状态, 即促炎性巨噬细胞参与维持炎症微环境的调节, 促进复杂及不稳定斑块的形成。相反, 抗炎巨噬细胞利于组织修复、重塑稳定斑块。黄自坤等<sup>[32]</sup>发现 MALAT1 能够参与调控巨噬细胞极化, 干扰 MALAT1 表达能有效抑制 M2 型巨噬细胞极化, 促进 M1 型巨噬细胞极化, 表明 M1 和 M2 极化的巨噬细胞可呈现出不同的 lncRNA 分布, 这就意味着 lncRNA 的失调可能在调节巨噬细胞极化中发挥重要作用。可见, lncRNA 在调控巨噬细胞炎症反应中以多种方式发挥核心作用, 靶向巨噬细胞通路治疗 AS 可能是有利的。

#### 4 总结

综上所述, 具有高度特异性的 lncRNA 是 AS 炎症反应中的关键调节因子, 不同的 lncRNA 调节不同细胞类型中炎症相关基因的表达。在 AS 发生发展过程中, lncRNA 通过在细胞核中顺式或反式调控基因转录以及在细胞质中作为 ceRNA 参与 miRNA 调控、与转录因子或蛋白质相互结合等多种调控方式参与 AS 炎症反应, 维持或改善炎症微环境。

#### 参考文献

- [1] Puthanveetil P, Chen S, Feng B, et al. Long non-coding RNA MALAT1 regulates hyperglycaemia induced inflammatory process in the endothelial cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(6):1418-1425.
- [2] Wu G, Cai J, Han Y, et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity [J]. *Circulation*, 2014, 130(17):1452-1465.
- [3] Chen L, Yang W, Guo Y, et al. Exosomal lncRNA GAS5 regulates the apoptosis of macrophages and vascular endothelial cells in atherosclerosis [J]. *Plos One*, 2017, 12(9): e0185406.
- [4] Zhang DD, Wang WT, Xiong J, et al. Long noncoding RNA LINC00305 promotes inflammation by activating the AHRR-NF- $\kappa$ B pathway in human monocytes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):46204.
- [5] Miao Y, Ajami NE, Huang TS, et al. Enhancer-associated long non-coding RNA LEENE regulates endothelial nitric oxide synthase and endothelial function [J]. *Natur communicat*, 2018, 9(1):292.
- [6] Liu J, Huang GQ, Ke ZP. Silence of long intergenic noncoding RNA HOTAIR ameliorates oxidative stress and inflammation response in ox-LDL-treated human macrophages by up-regulating miR-330-5p [J]. *J cellul physiol*, 2019, 234(4): 5134-5142.
- [7] Derrien T, Johnson R, Bussotti G, et al. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression [J]. *Genom Res*, 2012, 22(9):1775-1789.
- [8] Li H, Zhu H, Ge J. Long Noncoding RNA: Recent Updates in Atherosclerosis [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(7):898-910.
- [9] 王秋, 黄伟剑. 长链非编码 RNA ZFAS1/miR-150/ROCK1 调控血管平滑肌细胞增殖和迁移 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(11):1929-1935.
- [10] 郭宗华, 孔东波, 江波涛, 等. LncRNA ASB16-AS1 调控前列腺癌细胞增殖转移的分子机制 [J]. *山东医药*, 2020, 60(13):29-33.
- [11] 黄淑娜, 林佳冰, 黄清, 等. 长链非编码 RNAs (NR\_027032、NR\_047116 及 NR\_104181) 在冠心病发病中作用 [J]. *中国公共卫生*, 2020, 36(06):909-912.
- [12] 马小秀, 鲁建华. 颈动脉粥样硬化与老年脑梗死患者的相关性研究 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2019, 22(20): 2210-2216.
- [13] Miao C, Cao H, Zhang Y, et al. LncRNA DIGIT Accelerates Tube Formation of Vascular Endothelial Cells by Sponging miR-134 [J]. *Intern heart J*, 2018, 59(5):1086-1095.
- [14] Lin Y, Tian G, Zhang H, et al. Long non-coding RNA SNHG16 regulates human aortic smooth muscle cell proliferation and migration via sponging miR-205 and modulating Smad2 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(10):6919-6929.
- [15] Sun G, Li Y, Ji Z. Up-regulation of MIAT aggravates the atherosclerotic damage in atherosclerosis mice through the activation of PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Drug delivery*, 2019, 26(1):641-649.
- [16] Krackowska W, Jagodzinski PP. The Long Non-Coding RNA Landscape of Atherosclerotic Plaques [J]. *Mol Diagn Ther*, 2019, 23(6):735-749.
- [17] Zhou X, Han X, Wittfeldt A, et al. Long non-coding RNA ANRIL regulates inflammatory responses as a novel component of NF-kappaB pathway [J]. *RNA Biol*, 2016, 13(1): 98-108.
- [18] Huang S, Lu W, Ge D, et al. A new microRNA signal pathway regulated by long noncoding RNA TGFB2-OT1 in autophagy and inflammation of vascular endothelial cells [J]. *Autophagy*, 2015, 11(12):2172-2183.
- [19] 贾雪凌, 范玉华, 潘昱, 等. 白藜芦醇调控长链非编码 RNA MALAT1 抗动脉粥样硬化 [J]. *中国药理学通报*, 2019, 35(1):35-40.
- [20] Zhu X, Liu Y, Yu J, et al. LncRNA HOXA-AS2 represses endothelium inflammation by regulating the activity of NF-kappaB signaling [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 281(12):38-46.
- [21] Zhu X, Du J, Yu J, et al. LncRNA NKILA regulates endothelium inflammation by controlling a NF-kappaB/KLF4 positive feedback loop [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 126(11):60-69.

- [22] Liu M, Song Y, Han Z. Study on the effect of LncRNA AK094457 on OX-LDL induced vascular smooth muscle cells [J]. *Am J transl Res*, 2019, 11(9):5623-5633.
- [23] Vučićević D, Corradin O, Ntini E, et al. Long ncRNA expression associates with tissue-specific enhancers [J]. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 2015, 14(2):253-260.
- [24] Das S, Senapati P, Chen Z, et al. Regulation of angiotensin II actions by enhancers and super-enhancers in vascular smooth muscle cells [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):1467-1486.
- [25] Das S, Zhang E, Senapati P, et al. A Novel Angiotensin II-Induced Long Noncoding RNA Governs Regulates Oxidative Stress, Inflammation, and Proliferation in Vascular Smooth Muscle Cells [J]. *Circ Res*, 2018, 123(12):1298-1312.
- [26] Ye B, Wu ZH, Tsui TY, et al. lncRNA KCNQ1OT1 Suppresses the Inflammation and Proliferation of Vascular Smooth Muscle Cells through IkappaBa in Intimal Hyperplasia [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20(6):62-72.
- [27] An JH, Chen ZY, Ma QL, et al. Liraglutide improves atherosclerosis by regulating long non-coding RNA RMRP/miR-128-1-5P/Gadd45g axis [J]. *Europ Rev medic pharmacol Sci*, 2020, 24(5):2725-2737.
- [28] Carpenter S, Aiello D, Atianand MK, et al. A long noncoding RNA mediates both activation and repression of immune response genes [J]. *Science (New York, N.Y.)*, 2013, 341(6147):789-792.
- [29] Covarrubias S, Robinson EK, Shapleigh B, et al. CRISPR/Cas-based screening of long non-coding RNAs (lncRNAs) in macrophages with an NF- $\kappa$ B reporter [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(51):20911-20920.
- [30] Hu G, Gong AY, Wang Y, et al. LincRNA-Cox2 Promotes Late Inflammatory Gene Transcription in Macrophages through Modulating SWI/SNF-Mediated Chromatin Remodeling [J]. *J Immunol*, 2016, 196(6):2799-2808.
- [31] Ye J, Wang C, Wang D, et al. LncRNA GSA5, up-regulated by ox-LDL, aggravates inflammatory response and MMP expression in THP-1 macrophages by acting like a sponge for miR-221 [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 369(2):348-355.
- [32] 黄自坤, 姚芳苒, 赖松青, 等. 长链非编码 RNA 肺腺癌转移相关转录本 1 对巨噬细胞极化影响的研究 [J]. *免疫学杂志*, 2017, 33(12):1021-1027.

(上接第 1371 页)

## 参考文献

- [1] 李小兰, 黄睿, 方丛, 等. 多囊卵巢综合征患者体外受精/卵胞质内单精子注射-胚胎移植后自然流产相关高危因素的多元回归分析 [J]. *生殖与避孕*, 2017, 39(12):963-968.
- [2] 马龙飞, 李娟, 冯赓. 胰岛素样生长因子 1 基因多态性与多囊卵巢综合征相关性研究 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(6):52-56.
- [3] Pierce GF. In vivo incisional wound healing augmented by platelet-derived growth factor and recombinant c-sis gene homodimeric proteins [J]. *J Exp Med*, 2018, 30(3):974-987.
- [4] 孙丽, 赵洪刚, 焦妍, 等. 高雄激素血症和代谢综合征对多囊卵巢综合征患者早期妊娠结局的影响 [J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(17):4078-4081.
- [5] Harris HR, Babic A, Webb PM, et al. Polycystic ovary syndrome, oligomenorrhea, and risk of ovarian cancer histotypes: Evidence from the Ovarian Cancer Association Consortium [J]. *Cancer Epidemiol, biomark prevent*, 2017, 32(50):174-182.
- [6] 阎梦, 华芮, 周瑶, 等. 长方案控制性超促排卵过程中黄体生成素水平对多囊卵巢综合征患者 IVF-ET 结局的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2016, 36(3):381-385.
- [7] Wong RCB, Pera MF, Alice P. Maintenance of Human Embryonic Stem Cells by Sphingosine-1-Phosphate and Platelet-Derived Growth Factor [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 37(41):167-175.
- [8] 李彦黎, 李晋, 王姚, 等. 稳态模型胰岛素抵抗指数, 性激素, 糖代谢指标对诊断多囊卵巢综合征的效能分析 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(6):78-80.
- [9] 冷少华, 王延洲, 赵小兰. 利拉鲁肽联合枸橼酸氯米芬对多囊卵巢综合征伴胰岛素抵抗患者外周血 T 细胞亚群及氧化应激水平的影响 [J]. *西部医学*, 2018, 30(5):680-683.
- [10] Ratajczak MZ, Bartke A, Darzynkiewicz Z. Prolonged Growth Hormone/Insulin/Insulin-like Growth Factor Nutrient Response Signaling Pathway as a Silent Killer of Stem Cells and a Culprit in Aging [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2017, 13(4):443-453.
- [11] Al-Jefout M, Alnawaiseh N, Al-Qtaitat A. Insulin resistance and obesity among infertile women with different polycystic ovary syndrome phenotypes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):5339.
- [12] Pau CT, Mosbrugger T, Saxena R, et al. Phenotype and Tissue Expression as a Function of Genetic Risk in Polycystic Ovary Syndrome [J]. *Plos One*, 2017, 12(1):8870-8876.
- [13] Westermarck B, Siegbahn A, Heldin CH, et al. B-type receptor for platelet-derived growth factor mediates a chemotactic response by means of ligand-induced activation of the receptor protein-tyrosine kinase [J]. *Proceed NationAcadem Scienc United States Am*, 2019, 29(1):128-132.
- [14] 冯艳, 于泉, 宋新娜, 等. 多囊卵巢综合征合并妊娠期糖尿病患者铁代谢与胰岛素抵抗的关系 [J]. *中华内分泌外科杂志*, 2020, 14(2):161-165.
- [15] Reesjones RW, Goldfarb M, Goff SP. Abelson murine leukemia virus induces platelet-derived growth factor-independent fibroblast growth: correlation with kinase activity and dissociation from full morphologic transformation [J]. *Mol cellul biol*, 2019, 30(1):278-287.

## 清远市人民医院分子诊断中心

清远市人民医院位于广东省清远市银泉路,是清远地区唯一一家大型三甲医院,现为广州医科大学附属第六医院。2002年,清远市人民医院开启了分子诊断技术的大门,一路风雨兼程,分子诊断已发展成为医院服务于教学、科研和临床的重要学科。2016年,医院全新筹建了更先进的分子诊断中心,2019年11月第3次通过省临检中心的PCR复评,第3次通过广东省产前诊断中心分子遗传学复评,同年11月获得国家病理质控中心PQCC示范实验室荣誉;2018年启动CNAS-CL02:2012《医学实验室质量和能力认可准则》工作,有望今年9月顺利通过评审;旨在建成粤北地区第一家高水平大型区域性分子诊断中心,并力争打造成为广东省分子诊断重点专科。现有技术人员31名,其中高级职称6名、中级职称6名,博士5名、硕士11人,26人具有广东省临床检验中心或清远市临床检验中心颁发的临床基因扩增实验室上岗证,形成以博士和硕士为主、职称学历结构合理、技术精湛、团结拼搏的学术梯队。有完备的教学管理培训体系,是清远市分子诊断技术人员和新冠核酸检测技术人员培训基地、广州医科大学和贵州医科大学硕士研究生培养点。有新冠核酸检测专用实验室、PCR扩增实验室、高通量测序实验室、分子病理实验室、质谱分析实验室,总面积1600多方;以基因扩增、生物芯片、基因测序等实验技术平台为基础,拥有全自动高通量核酸提取仪、定量基因扩增仪、一代测序仪、高通量测序仪、串联质谱分析仪等设备,总值1500余万元。

分子诊断中心于2017年6月建成并运营,4年多以来,开展感染、肿瘤、遗传和药物基因检测及遗传代谢、维生素等质谱分析50多个检测项目,配合100多个外送项目,累计完成近100万例临床基因检测,为精准防治感染、应对突发传染病疫情、降低出生缺陷、肿瘤早筛早诊和药物个性化治疗,以及心脑血管疾病防控提供快速、准确的分子检测服务。怀“服务临床,造福人民”初心、循“整合资源,共享平台”模式、按“多样服务,集中管理”运营。在多年的工作中形成了乳腺癌等肿瘤分子机制及新型分子标志物研究、病原微生物的快速分子诊断及新技术、肿瘤和感染性疾病早期筛查诊断、便携式POCT检验设备及配套试剂的研发等研究方向。

分子诊断中心以先进的技术平台和完善的服务咨询为核心纽带,牵头清远市分子诊断分会和分子诊断专科联盟开展工作,促进多学科融合发展和临床综合诊疗及科研水平的提高。宗旨是:既要引领学术前沿、推动技术进步;又要降低基因检测的应用门槛,为清远市人民医院和区域内群众提供更精准、便捷、高性价比的诊疗和保健服务。



### 杂志简介：

《分子诊断与治疗杂志》于2009年5月创刊，是由中山大学主管，《中国家庭医生》杂志社有限公司主办，广州达安基因股份有限公司承办的面向国内外公开发行的分子医学权威性刊物，也是我国第一份以分子诊断与治疗学科为主要内容的分子医学专业学术期刊。本刊以传播分子医学理念、报道分子医学前沿、倡导分子医学创新、促进分子医学进步为办刊宗旨。主要刊登我国医学分子诊断和分子治疗相关领域中的基础理论研究、临床实践和技术方法的最新研究成果以及国内分子医学新技术、新理论和新进展等方面的文章。目前有编委及审稿专家80余人。在编委会和审稿专家及编辑部的共同努力下，于2016年被收录为“中国科技核心期刊”（中国科技论文统计源期刊）。

目前有“述评”、“论著”、“综述”、“前沿进展”、“专家笔谈”、“讲座”、“动态”和“专栏”等栏目。涵盖基因诊断、免疫诊断、核酸分子诊断、蛋白分子诊断、信号分子诊断、分子影像诊断、诊断仪器应用、基因治疗、核酸分子治疗、蛋白分子治疗等内容。

