



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

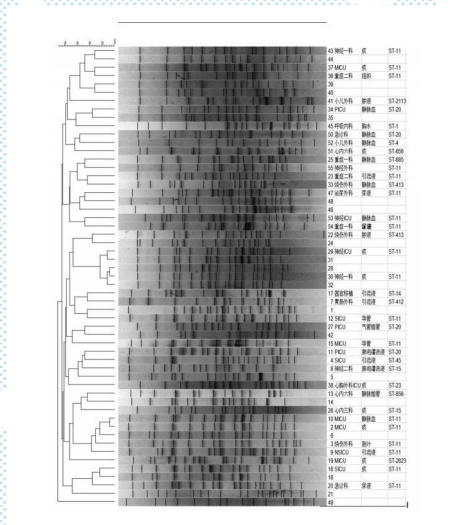
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2025 年 3 月 第 17 卷 第 3 期 总第 127 期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 17 Number 3 March 2025



图(403) PFGE、MLST 结果

中山大学 主管

中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)

中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

中国期刊全文数据库全文必录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

中文生物医学期刊文献数据库 CMCC 收录期刊

中国生物医学期刊引文数据库 CMCI 收录期刊

中国学术期刊影响因子年报统计源期刊

ISSN 1674-6929



9 771674 692259

03>





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

2024年9月

证书编号: 2023-G556-0847

有效期至: 2025年12月



分子诊断与治疗杂志

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

月刊 2025 年 3 月 第 17 卷 第 3 期 总第 127 期 Monthly Volume 17 Number 3 March 2025

主管 主办	中山大学 《中国家庭医生》杂志社有限公司
总编辑	张翼鹏
顾问	申子瑜
主编	李明
编辑部主任	刘悦
编辑部	《分子诊断与治疗杂志》编辑部
编辑	李晓兰 李彩珍 莫源浩 凌茜雯 麦蔚
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	国内外公开发行
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	2025 年 3 月 18 日
定价	RMB 15.00 元
Responsible Institution	Sun Yat-sen University
Sponsor	China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.
Editor in Chief	ZHANG Yipeng
Consultant	SHEN Ziyu
Editor in Chief	LI Ming
Managing Director	LIU Yue
Editorial Office	<JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office
Editors	LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao LING Qianwen MAI Wei
Editing	China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.
Add	11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620
Tel	(020) 32290789-206, 32290789-201
E-mail	jmdt@vip.163.com
CSSN	ISSN 1674-6929 CN 44-1656/R
Printing	TianYi Yofus Technology Co., Ltd.
Publish Date	2025.3.18
Price	RMB 15.00



扫码订阅《分子诊断与治疗杂志》

分子诊断与治疗杂志

月刊 2025年3月 第17卷 第3期

目次

述评

m6A 甲基化修饰在B细胞淋巴瘤发生发展中调控机制的研究进展 姜文敬 张希远 王玲(391)

论著

增强子 RNA A2MPI 在肺腺癌中的临床意义与分子机制 马甜甜 朱翠雯 段怡平等(395)

耐碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌的耐药基因及同源性分析 刘平娟 邓间开 郭鹏豪等(400)

慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉组织中 CTGF、Smad4 蛋白表达及与术后复发的关系
..... 苑庆尧 孙占伟 程鹤香等(404)

肛周脓肿患者病原菌分布特征及其与 MMP-2、IL-10 及 CRP 的关系
..... 许云霞 裴晓璐 范亚楠等(409)

补体 C3、C4 和 T 淋巴细胞亚群表达水平与 ARDS 患者病情及预后的相关性
..... 徐秋燕 张向东 邓医宇(413)

FoxP3 与 PTC 病理学特征及术后转移复发的关系 刘庆华 陈晓晓 任正君(417)

多因素联合检测在预测慢性乙型肝炎病情恶化方面的价值评估 李业华 何日新 马德佳等(421)

2018-2022 年青岛市某三甲医院血流感染病原菌分布及抗菌药物耐药性分析
..... 郭辉 何宏 王宗岭等(424)

术前全身免疫炎症指数对慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者术后复发的预测价值
..... 程慧 张凯标 郑洪忠等(429)

血清 GSK-3 β 、Nrf2 水平对轻度认知障碍进展为阿尔茨海默病的预测价值
..... 柏佳昆 李海玲 沙珍(433)

乳腺癌组织中 SHC1、CA153 表达水平及其与患者病理特征、淋巴结转移的关系
..... 万爽 王东和 韩林荟等(437)

中段尿样本病原菌快速检测方法的建立与评估 刘业琼 王蕾 曹励欧等(441)

骨髓中 SPINK2、KLK4 水平与骨髓增生异常综合征患者临床特征、预后的关系
..... 邢莹莹 胡斌 张爱荣等(445)

一种子宫内膜炎体外受精-胚胎移植后妊娠结局预测模型的研究 赵彦梅 辛峰 王涛(449)

稳定分泌表达猪瘟病毒保护性抗原 E2 蛋白的 HEK-293T 细胞系的构建及鉴定
..... 颜仁和 万鹏飞 刘蕾等(453)

智能运动联合心脏康复对急性心力衰竭及 Nrf2/NF- κ B mRNA 表达的影响
..... 刘淑琴 张柳 赵婉婷等(458)

25-OH-VD 水平对多囊卵巢综合征患者人工授精妊娠结局的影响
..... 陈秀改 孙云青 张玲等(462)

七叶皂苷钠改善老年下肢骨折术后肿胀疗效及对氧化应激、炎症因子的影响
..... 王孝生 秦春跃 刘杨俊(466)

血清 IGF-1、HMGB1 水平与股骨颈骨折患者术后延迟愈合的关系
..... 金星主 许龙吉 李松哲等(470)

瑞马唑仑联合艾司氯胺酮对老年肺叶切除术 POD 及对 <i>NLRP3/caspase-1</i> 的影响	贾志杰 段文姣 张晓冉(474)
全身炎症反应指数与晚期胃癌患者病理特征、一线化疗预后的关系	吴菁宙 胡星 茅伟达 等(478)
36 例新生儿高胆红素血症换血治疗的相关因素分析	屈明利 王钱 张凡 等(483)
不同剂量艾司氯胺酮预先给药对乳腺手术患者的效果及 Nrf2/HO-1 通路的影响	赵云 任学军 梁晶光(487)
dNLR 与慢性鼻窦炎伴鼻息肉严重程度的相关性	狄悦 杨一卿 齐正元 等(491)
AMH 和 FSH 对使用 PPOS 方案的 IVF/ICSI-ET 患者发生卵巢反应的预测价值	黄玉群 程红(495)
溃疡性结肠炎患者血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平的变化及临床意义	王文峰 黄亮 魏嫦(499)
血清 PCT、MMP-13 对全膝关节置换术后早期感染的诊断价值	卢海丹 俞航 徐娟 等(503)
广州市天河区育龄夫妇地中海贫血检测结果分析	侯赋园 李智文(507)
创伤性脑出血患者血清 25(OH)D、IL-4 水平与脑水肿体积、疾病转归的关系	李炎明 嵇金陵 文柯 等(512)
HbA1c、ALBU、TG 变异性在 2 型糖尿病肾病中的应用价值	周梅 汤义兵 英秀萍(516)
左氧氟沙星对泌尿系感染性结石患者血清 ET、CysC、IL-2 水平的影响	杜龙 杨振 罗浪 等(520)
外周血 MHR、NT-proBNP 及 RDW 水平对 AMI 患者早期心律失常发生的预测价值	杨亚慧 岳颖 鲍应环 等(524)
踝关节骨折后创伤性骨性关节炎患者血清 BMP-2、N-MID 水平与功能恢复的关系	刘田丰 陈光华 谭小艳 等(528)
间苯三酚联合固肾安胎丸治疗先兆流产合并绒毛膜下血肿的效果及对 TPOAb、AEMAb 的影响	周亚丹 李璿 华晴 等(532)
基础血清 LH/FSH、25-羟维生素 D 联合窦卵泡计数在高龄不孕女性体外受精-胚胎移植妊娠结局中的预测价值	查钱江 陈志云 纪妍 等(536)
血清 Netrin-1、Galectin-3 水平对良性阵发性眩晕患者复发的预测价值	姜亚辉 李明杰 程红宇 等(540)
基于数字 PCR 方法的血浆 ctDNA <i>KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET</i> 基因突变检测评价	张咪 张文新 齐雅宁 等(544)
艾司唑仑对老年高血压伴失眠症椎动脉血流和血 NE、5-HT 的影响	孙晓萌 姚瑶 刘岩 等(548)
血清 COX-2、E-cadherin 对慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值	刘建华 刘江 何峰 等(552)
STAT3、EZH2 在甲状腺乳头状癌中的表达及其预后价值	王小禹 周宁 黄芩 等(556)
PD-1 抑制剂联合化疗治疗对非小细胞肺癌患者生存期及血清 <i>miR-155</i> 、 <i>miR-191</i> 水平的影响	庞新亚 曹建光 陈磊 等(561)
血清 <i>miR-182-5p</i> 、ESM-1、AFP 水平对肝细胞癌患者射频消融术后复发的预测价值	王进 李彬 邓红东(565)
关于 563 例女性生殖道十项检测结果的分析	刘亚林 李沛 解燕川 等(569)
血清 GDF15、FGF23 联合 CCTA 定量参数对冠心病患者 PCI 术后 MACE 的预测价值	范慧娟 陈长英 李海禹 等(573)
2 型糖尿病合并骨质疏松患者血清 IGF-1、Lp-PLA2 检测及意义	王娟 李宪江 车名花(577)
血清 GRP78、sCD163、 <i>miR-29a</i> 水平对重度烧伤患者并发脓毒症的预测价值	张方 李丹 崔庆伟(581)

综 述

酶定向改造及其在基因检测中的研究进展	彭荣俞 蒋析文(585)
--------------------	--------------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 17 Number 3 March 2025

CONTENTS

COMMENTS

Research progress on the regulatory mechanism of m6A methylation modification in the occurrence and development of B cell lymphoma

JIANG Wenjing, ZHANG Xiyuan, WANG Ling (391)

ORIGINAL ARTICLES

Clinical significance and molecular mechanism of enhancer RNA *A2MP1* in lung adenocarcinoma

MA Tiantian, ZHU Cuiwen, DUAN Yiping, CHEN Liangyue, LI Dongxu, ZHANG Xiaoyang, YU Mingxia, YANG Gui (395)

Resistance and homology analysis of carbapenems-resistant *Klebsiella pneumoniae*

LIU Pingjuan, DENG Jiankai, GUO Penghao, WU Zhongwen, PENG Yaqi, LIAO Kang, CHEN Peisong, CHEN Yili (400)

Expression of CTGF and smad4 proteins in tissues of patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and their relationship with postoperative recurrence

YUAN Qingyao, SUN Zhanwei, CHENG Hexiang, YANG Hao (404)

Distribution characteristics of pathogenic bacteria in patients with perianal abscess and their relationship with MMP-2, IL-10 and CRP

XU Yunxia, PEI Xiaolu, FAN Yanan, LIU Zihao, SUN Tengyue, WU Chengdong, LI Yudong (409)

The study on the correlation between the expression levels of complement C3, C4, and T lymphocyte subsets with the severity and prognosis of ARDS patients

XU Qiuyan, ZHANG Xiangdong, DENG Yiyu (413)

The relationship between FoxP3 and pathological features of PTC and postoperative metastasis and recurrence

LIU Qinghua, CHEN Xiaoxiao, REN Zhengjun (417)

Evaluation of the value of multi-factor combined detection in predicting the deterioration of chronic hepatitis B

LI Yehua, HE Rixin, MA Dejie, LIU Fuyongren, XU Guidan (421)

Analysis of the distribution of pathogens and antimicrobial resistance of bloodstream infections in a tertiary hospital in Qingdao from 2018 to 2022

GUO Hui, HE Hong, WANG Zongling, PAN Huazheng (424)

Prognostic value of preoperative systemic immunoinflammatory index for postoperative recurrence in patients with chronic sinusitis and nasal polyps

CHENG Hui, ZHANG Kaibiao, ZHENG Hongzhong, XU Lei, LIU Zheng, ZHANG Liang (429)

Predictive value of serum GSK-3 β and Nrf2 levels for progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease

BAI Jiakun, LI Hailing, SHA Zhen (433)

Expression levels of SHC1 and CA153 in breast cancer tissues and their relationship with pathological characteristics and lymph node metastasis

WAN Shuang, WANG Donghe, HAN Linhui, MIAO Congcong, HE Youxin (437)

Establishment and evaluation of a rapid detection method for pathogens in midstream urine specimens

LIU Yeqiong, WANG Lei, CAO Liou, XU Weixin (441)

Relationship between <i>SPINK2</i> and <i>KLK4</i> levels in bone marrow and clinical features and prognosis of cases with myelodysplastic syndrome	
<i>XING Yingying, HU Bin, ZHANG Airong, HUANG Jing, SUO Meifang</i>	(445)
Study on a prediction model for pregnancy outcome after in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometritis	
<i>ZHAO Yanmei, XIN Feng, WANG Tao</i>	(449)
Construction and identification of HEK-293T cell line stably secreting and expressing E2 protein, a protective antigen of classical swine fever virus	
<i>YAN Renhe, WAN Pengfei, LIU Lie, CHU Dianfeng, MAO Yingying</i>	(453)
Effects of intelligent exercise combined with comprehensive cardiac rehabilitation on acute heart failure and mRNA expression of <i>Nrf2/NF-κB</i>	
<i>LIU Shuqin, ZHANG Liu, ZHAO Wanting, SUN Xiaotong, YANG Cheng</i>	(458)
25-OH-VD level on pregnancy outcome in patients with polycystic ovary syndrome after artificial insemination	
<i>CHEN Xiugai, SUN Yunqing, ZHANG Ling, CUI Yan, ZHU Mingyue, YU Can, ZHANG Zhige</i>	(462)
Sodium aescinate improves postoperative swelling of lower limb fractures in the elderly and its effects on oxidative stress and inflammatory factors	
<i>WANG Xiaosheng, QIN Chunyue, LIU Yangjun</i>	(466)
Relationship between serum IGF-1 and HMGB1 levels and delayed healing in patients with femoral neck fracture	
<i>JIN Xingzhu, XU Longji, LI Songzhe, WU Hongjie, QIAN Chengri, PU Longjun</i>	(470)
Effects of remimazolam combined with esketamine on POD and <i>NLRP3/caspase-1</i> in elderly patients undergoing lobectomy	
<i>JIA Zhijie, DUAN Wenjiao, ZHANG Xiaoran</i>	(474)
Relationship between systemic inflammatory response index and pathological characteristics and prognosis of first-line chemotherapy in patients with advanced gastric cancer	
<i>WU Jingzhou, HU Xing, MAO Weida, JIANG Lixin, ZHU Linna</i>	(478)
Analysis of related factors of exchange transfusion therapy in 36 neonates with hyperbilirubinemia	
<i>QU Mingli, WANG Qian, ZHANG Fan, ZHANG Xujing</i>	(483)
Effects of different doses of esketamine pre-administration on patients undergoing breast surgery and its influence on <i>Nrf2/HO-1</i> pathway	
<i>ZHAO Yun, REN Xuejun, LIANG Jingguang</i>	(487)
The correlation between dNLR and the severity of chronic sinusitis with nasal polyps	
<i>DI Yue, YANG Yiqing, QI Zhengyuan, ZHANG Lina, SONG Xiaochong</i>	(491)
Predictive value of AMH and FSH for ovarian response in IVF/ICSI-ET patients using PPOS regimen	
<i>HUANG Yuqun, CHENG Hong</i>	(495)
Changes and clinical significance of serum IL-33, ANCA-IgG and IL-6 levels in patients with ulcerative colitis	
<i>WANG Wenfeng, HUANG Liang, WEI Chang</i>	(499)
The diagnostic value of serum PCT and MMP-13 for early infection after total knee arthroplasty	
<i>LU Haidan, YU Hang, XU Juan, HUANG Zhihui, JIA Jun, CHU Hui</i>	(503)
Analysis of thalassemia test results in couples of childbearing ages in Tianhe District, Guangzhou, China	
<i>HOU Fuyuan, LI Zhiwen</i>	(507)
Relationship between serum 25(OH)D and IL-4 levels and brain edema volume and disease outcome in patients with traumatic cerebral hemorrhage	
<i>LI Yanming, JI Jinling, WEN Ke, JIN Defu, SHI Mengna, DING Lianshu</i>	(512)
The value of HbA1c, ALBU, and TG variability in type 2 diabetic nephropathy	
<i>ZHOU Mei, TANG Yibing, JIA Xiuping</i>	(516)

Effect of levofloxacin on serum ET , CysC and IL-2 levels in patients with urinary tract infection stones <i>DU Long, YANG Zhen, LUO Lang, CHEN Chi, LIU Zhiyuan, WEI Pan</i>	(520)
Predictive value of peripheral blood MHR , NT-proBNP and RDW for occurrence of early arrhythmia in patients with AMI <i>YANG Yahui, YUE Ying, BAO Yinghuan, ZHANG Mei, WANG Dongdong , ZHOU Xiaoli</i>	(524)
Relationship between serum BMP-2 and N-MID levels and functional recovery in patients with post-traumatic osteoarthritis after ankle fracture <i>LIU Tianfeng, CHEN Guanghua, TAN Xiaoyan, XIE Dong, WU Xinyou</i>	(528)
Effect of resorcinol combined with Guren-Nian Fetal Pill in the treatment of threatened miscarriage complicated with subchorionic hematoma and its effect on TPOAb and AEMAb <i>ZHOU Yadan, LI Li, HUA Qing, LI Mengzhu</i>	(532)
Predictive value of basal serum LH/FSH and 25-hydroxy vitamin D combined with antral follicle count in pregnancy outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in infertile women of advanced age <i>ZHA Qianjiang, CHEN Zhiyun, JI Yan, LIU Xin, LIU Xiaoyan, CHEN Xiaolin</i>	(536)
The predictive value of serum netrin-1 and galectin-3 levels in the recurrence of patients with benign paroxysmal vertigo <i>JIANG Yahui, LI Mingjie, CHENG Hongyu, LI Xuguang, CHEN Jingwei</i>	(540)
Evaluation for <i>KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET</i> gene mutation detection in plasma ctDNA based on digital PCR <i>ZHANG Mi, ZHANG Wenxin, QI Yaning, QU Shoufang</i>	(544)
Effects of estazolam on vertebral artery blood flow , blood NE and 5-HT in elderly patients with hypertension and insomnia <i>SUN Xiaomeng, YAO Yao, LIU Yan, XU Lifeng, YANG Xin</i>	(548)
The predictive value of serum COX-2 and E-cadherin for the olfactory function outcome after endoscopic sinus surgery in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps <i>LIU Jianhua, LIU Jiang, HE Feng, ZHAI Hongxiang, DAI Yongchuan</i>	(552)
Expression of STAT3 and EZH2 in thyroid papillary carcinoma and their prognostic value <i>WANG Xiaoyu, ZHOU Ning, HUANG Qin, GAN Lijuan, LI Li</i>	(556)
Effects of PD-1 inhibitor combined with chemotherapy on survival time and levels of serum <i>miR-155</i> and <i>miR-191</i> in patients with non-small cell lung cancer <i>PANG Xinya, CAO Jianguang, CHEN Lei, TANG Tian, REN Weihao, LIU Ran</i>	(561)
The predictive value of serum <i>miR-182-5p</i> , ESM-1 and AFP levels for recurrence after radiofrequency ablation in patients with hepatocellular carcinoma <i>WANG Jin, LI Bin, DENG Hongdong</i>	(565)
Analysis of the results of ten tests on female reproductive tract in 563 cases <i>LIU Yalin, LI Pei, XIE Yanchuan, KANG Jingyi, CHEN Hetao</i>	(569)
Predictive value of serum GDF15, FGF23 and CCTA quantitative parameters for MACE in patients with coronary heart disease after PCI <i>FAN Huijuan, CHEN Changying, LI Haiyu, LV Jiarui, HOU Xingnai, CHEN Lanlan</i>	(573)
Detection and significance of serum IGF-1 and Lp-PLA2 in type 2 diabetes mellitus patients complicated with osteoporosis <i>WANG Juan, LI Xianjiang, CHE Minghua</i>	(577)
Predictive value of serum GRP78, sCD163, and <i>miR-29a</i> levels in severe burn patients with concurrent sepsis <i>ZHANG Fang, LI Dan, CUI Qingwei</i>	(581)

REVIEWS

Research progress on enzyme-directed medication and its application in gene detection <i>PENG Rongyu, JIANG Xiwen</i>	(585)
--	--------

·述 评·

m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤发生发展中调控机制的研究进展

姜文敬 张希远 王玲*

[摘 要] B 细胞淋巴瘤是一种起源于 B 细胞的血液系统的恶性肿瘤,常见亚型为滤泡淋巴瘤 (FL)、和弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL)。m6A 甲基化修饰是在真核生物 mRNA 上的一种表观遗传修饰,可以调控多种基因表达,在多种疾病中发挥作用,其中就包括 B 细胞淋巴瘤。近年来研究表明,m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤中表达异常,在其发生、转移、化疗等过程中都发挥一定作用,进而 m6A 甲基化修饰有望成为 B 细胞淋巴瘤诊疗或预后评估的新型肿瘤标志物,成为是当前一大研究热点。因此,本文综述了将目前关于对 m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤发生发展中的调控机制的研究进展,旨在为 B 细胞淋巴瘤治疗提供新的潜在靶点和研究思路。

[关键词] B 细胞淋巴瘤; m6A 甲基化修饰; 发病机制; 治疗靶点; 研究进展

Research progress on the regulatory mechanism of m6A methylation modification in the occurrence and development of B cell lymphoma

JIANG Wenjing, ZHANG Xiyuan, WANG Ling*

(Department of Hematology, Qingdao Central Hospital, Qingdao, Shandong, China, 271100)

[ABSTRACT] B-cell lymphoma is a malignant tumor originating from B cells in the hematopoietic system. The common subtypes are follicular lymphoma (FL) and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). M6A methylation modification is an epigenetic modification on eukaryotic mRNA that regulates gene expression and plays a role in various diseases, including B-cell lymphoma. Recent studies have shown that m6A methylation is abnormally expressed in B-cell lymphoma and plays a role in its occurrence, metastasis, chemotherapy response and other processes. Consequently, m6A methylation holds promise as a novel tumor biomarker for the diagnosis, treatment, or prognosis assessment of B-cell lymphoma and has become a current research focus. Therefore, this paper reviews the latest research progress on the regulatory mechanism of m6A methylation in the development and progression of B-cell lymphoma, aiming to provide new potential targets and research avenues for its treatment.

[KEY WORD] B-cell lymphoma; Methylation modification of m6A; Pathogenesis; Therapeutic targets; Research progress

B 细胞淋巴瘤属于非霍奇金淋巴瘤 (Non-Hodgkin Lymphoma, NHL) 的一种, NHL 中最常见的亚型为弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (Diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 和滤泡淋巴瘤 (Follicular Lymphoma, FL)^[1]。DLBCL 治疗方案主要包括 CHOP 化疗 (四种药物: 环磷酰胺、长春新碱、阿霉素类和泼尼松) 和放疗等^[2], 在 CHOP 化疗中联合

利妥昔单抗后疗效显著提升^[3], DLBCL 患者 5 年总生存期 (Overall Survival, OS) 率提升至 60%^[4], 但仍存在复发、耐药性、治疗难度大、白血病转化等风险。且国际预后指数 (international prognostic index, IPI) 的预后评估价值有所降低^[5], 因此, B 细胞淋巴瘤治疗和评估迫切需要寻找更多更可靠的生物标记物和治疗靶点^[6]。

基金项目: 山东省医药卫生科技面上项目 (202303040067)

作者单位: 青岛市中心医院血液科, 山东, 青岛 271100

*通信作者: 王玲, E-mail: wldoctor@126.com

近年来基于分子生物学以及基因组学的发展,B细胞淋巴瘤已从传统化疗更迭为个性化的靶向治疗以及免疫疗法^[7],提示B细胞淋巴瘤分子机制在改善预后中的关键作用。报道指出^[8],m6A甲基化(N6-methyladenosine, m6A)修饰的工作原理是,通过影响特定基因表达来达到调控肿瘤细胞的增殖、凋亡等生物学过程目的。尤其是piRNA-30473、肾母细胞瘤1-相关蛋白(Wilm Tumor 1 Associated Protein, WTAP)和己糖激酶2(Hexokinase2, HK2)等基因在DLBCL中的异常表达与m6A甲基化修饰水平的变化密切相关,这些变化影响了DLBCL的发生和发展^[9-10]。由于m6A甲基化修饰在B细胞淋巴瘤中的重要作用,它被认为是潜在的治疗靶点。通过靶向m6A甲基化修饰相关的酶或蛋白,如piRNA-30473、WTAP和HK2,可能为B细胞淋巴瘤的治疗提供新的策略^[11]。

综上,B细胞淋巴瘤治疗领域迫切需要新的生物标志物来提高诊断、预后评估的精确性,并协助医师监测治疗反应及制定个性化治疗方案。基于此,本文旨在总结B细胞淋巴瘤中m6A甲基化修饰的最新研究进展,为后续研究提供方向和理论指导,并希望为B细胞淋巴瘤的治疗带来新的希望。

1 m6A甲基化修饰的分子机制

m6A甲基化修饰是真核细胞RNA中最常见、起关键作用的修饰类型^[12]。m6A甲基化修饰过程是可逆的,涉及甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白的动态相互作用,这些组件共同调控mRNA的稳定性、翻译效率、降解和衰变等过程^[13],同时与恶性肿瘤、中枢神经系统疾病、心脑血管疾病、自身免疫性疾病、代谢性疾病等多种疾病的发生发展存在关联^[14]。

1.1 m6A甲基转移酶

m6A甲基转移酶是一类在RNA上催化m6A修饰的酶,参与调控RNA的稳定性、转录效率。在催化进程中,甲基转移酶样3蛋白(Methyltransferase-like 3, METTL3)和METTL14形成复合体,共同催化RNA上的m6A修饰。此外,作为辅助蛋白的WTAP(Wilms Tumor 1-Associating Protein)能辅助METTL3/METTL14复合体定位到RNA上,协助形成m6A修饰^[15]。其他的甲基转移酶还包括近年来新发现的与METTL3同源的METTL16、病毒样m6A甲基转移酶相关蛋白(KIAA1429)等^[16]。

Cheng等^[17]的研究证实,METTL3敲低降低了色素上皮衍生因子(PEDF)m6A甲基化和总mRNA水平,过表达的PEDF消除了METTL3沉默对DLBCL细胞增殖的抑制作用,表明METTL3通过调控PEDF的m6A水平促进DLBCL进展。此外也有研究指出^[18],METTL3和YTH结构域蛋白(YTH-DC2)通过调节m6A甲基化,下调C1qA(Complement Component 1q Subcomponent Subunit A)表达,导致DLBCL细胞对利妥昔单抗耐药,揭示出其在DLBCL发展及治疗中的潜在重要性。

1.2 m6A去甲基化酶

m6A去甲基化酶是一类能够去除RNA上m6A修饰的酶,主要包括脂肪量和肥胖相关蛋白(Fat Mass and Obesity-Associated Protein, FTO)、烷基化修复同源蛋白5(AlkB Homolog 5, ALKBH5)。FTO被认为是与肥胖相关的基因,后续发现其也参与RNA的去甲基化修饰^[19],目前尚未发现其在B细胞淋巴瘤中产生的影响。顾季炜等^[20]的研究显示,FTO在耐药株中表达中异常升高,在耐药细胞株中加入甲氯芬酸钠(MA)能有效抑制DLBCL耐药细胞中FTO异常表达,FTO及其抑制剂可能对利妥昔单抗耐药的DLBCL患者有治疗的潜能。Zhang等^[21]的研究则表明,FTO介导的m6A去甲基化上调脂筏结构蛋白-2(Flotillin-2, FLOT2),激活下游PI3K/AKT/mTOR信号通路,导致DLBCL的侵袭性,这一发现可能为DLBCL提供诊断、治疗和预后的新的生物标志物。Hong等^[22]的结果发现了去甲基化酶ALKBH5和m6A结合蛋白IGF2BP2(Insulin-like Growth Factor 2 mRNA-Binding Protein 2)共同参与了DLBCL的恶性进展,并且强心药哇巴因可以通过抑制ALKBH5和IGF2BP2的表达来抑制DLBCL细胞的增殖,这项研究为DLBCL的靶向治疗提供了新的见解。

1.3 m6A结合蛋白

m6A结合蛋白是一类能够识别并结合到RNA上m6A修饰位点的蛋白质,在RNA的加工、输出、稳定性、翻译等过程中发挥重要作用。这些蛋白质主要分为三类:含有YTH结构域的蛋白家族(YTHDF1-3、YTHDC1-2等)、异质核核糖核蛋白hnRNP家族(hnRNPC、hnRNPA2B1等)以及其他含有RNA结合结构域的蛋白(胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白IGFBP1-3等)。Li等^[23]的研究通过检测IGFBP3在ABC-DLBCL中的阳性表达

率,分析 IGFBP3 在 ABC-DLBCL 治疗反应及预后中的作用,发现 IGFBP3 阳性表达的 ABC - DLBCL 患者 R-CHOP 治疗的完全缓解率高于 IGFBP3 阴性表达的患者(分别为 42.0 % 和 26.4 %);且 ABC-DLBCL 中 IGFBP3 阳性表达与增强的治疗反应显著相关,在 ABC- DLBCL 中高水平的 IGFBP3 与肿瘤发生发展呈负相关,预示着 IGFBP3 可作为 ABC-DLBCL 患者预后评估的生物标志物和潜在的治疗靶点。

2 m6A 甲基化修饰与 B 细胞淋巴瘤的关系

m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤的发生发展中起着重要作用。m6A 修饰通过调控基因表达,影响 B 细胞的增殖、分化和功能,从而参与 B 细胞淋巴瘤的发展。此外,m6A 修饰还可能影响 B 细胞淋巴瘤的免疫逃逸和化疗耐药,具体研究内容如下。

2.1 piRNA-30473 与 B 细胞淋巴瘤

piRNA 在不同物种中结构和序列差异较大,导致在各类物种中 piRNA 功能差异明显。有证据表明^[24],piRNA 参与了调控修饰蛋白和沉默基因等,比如,piRNA-30473 是一种小 RNA,在 DLBCL 中表达上调,与预后不良相关,它通过调节 m6A RNA 甲基化,影响 DLBCL 细胞的增殖和肿瘤形成能力(补充文献)。Han 等^[25]在 DLBCL 的研究中发现,piRNA-30473/WTAP/HK2 轴通过调节 m6A RNA 甲基化促进肿瘤发生。另外,该研究还发现,m6A 修饰通过调控基因 piRNA-30473 和 WTAP 可提高 DLBCL 患者的生存率。这一发现对于深入理解 DLBCL 的发展发病机制及其和不良预后具有至关重要的意义。未来研究将深入探讨 piRNA-30473 在 DLBCL 发展中的具体调控作用,并探索其在 DLBCL 治疗中的潜在应用价值。

2.2 WTAP 与 B 细胞淋巴瘤

WTAP 是一种核蛋白,广泛表达于成体组织和各个生长期^[26],同时也是 m6A 甲基化酶复合物的成员之一,其作用在于集合 METTL3/METTL14 异二聚体,影响 m6A 甲基化修饰过程。piRNA-30473 通过靶向 WTAP 的 3'UTR 增加其表达,进而上调 DLBCL 细胞的甲基化水平^[25]。一项研究揭示了 WTAP 和 m6A-RNA 甲基化修饰能有效抑制 CD40 的 mRNA 水平,而 CD40 mRNA 在 B 细胞发育、活化中起着其关键作用。CD40 mRNA 的低水平表达会导致免疫缺陷,而其过度表达则会诱发

自身免疫性疾病和淋巴瘤^[27]。而 Guo 等^[28]的研究则探讨了 WTAP 在 DLBCL 形成中的可能机制,结果发现 DLBCL 细胞系和组织中 m6A RNA 甲基化和 WTAP 表达水平均出现升高;DLBCL 细胞中 WTAP 表达的下调导致功能意义上的细胞生长减少;WTAP 敲低则可以降低了连环蛋白 beta 1 (Catenin Beta 1, CTNNB1)m6A 甲基化和 CTNNB1 总 mRNA 水平。此外,CTNNB1 的过表达能够消除 WTAP 诱导的 DLBCL 细胞生长减少,表明 WTAP 通过调节 CTNNB1 中的 m6A 甲基化来促进 DLBCL 的发展。甚至有研究发现^[29],WTAP 能够通过调控 m6A 甲基化来稳定双特异性磷酸酶 6 (Dual Specificity Phosphatase 6, DUSP6)的 mRNA,从而最终影响 NKT 细胞淋巴瘤对顺铂的耐药性,由此可见 WTAP 在淋巴瘤化疗耐药方面也发挥着重要作用。

2.3 HK2 与 B 细胞淋巴瘤

HK2 作为一种关键代谢酶,在糖酵解途径中起着至关重要的作用。HK2 除了能催化葡萄糖磷酸化为 6-磷酸葡萄糖,它还可以定位于细胞核中,独立于其激酶和代谢功能,调控基因表达和干细胞功能,参与多种疾病的发生发展。WTAP 的高表达能够导致其靶基因 HK2 的甲基化水平升高,而 HK2 在 DLBCL 细胞中的高表达与不良预后相关^[30]。Zhao 等^[31-32]的研究指出,HK2 和 ERK1/2 在 DLBCL 细胞株中表达明显上调。HK2 敲低和 FR180204 可以在体外显著抑制 U2932 和 S-DHL-4 细胞的增殖和克隆形成,促进细胞凋亡。该研究还发现,HK2 沉默抑制了体内肿瘤的生长。值得注意的是,HK2 敲低在体外和体内条件下均可使 ERK1/2 信号通路失活。上述数据表明,HK2 可能通过增强 ERK1/2 信号通路,促进了 DLBCL 细胞的增殖、迁移和侵袭。

3 m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤中的潜在治疗策略

由于 m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤中的重要作用,使其成为一个有吸引力的治疗靶点。通过靶向 m6A 甲基化修饰的酶或结合蛋白,可以影响肿瘤细胞的增殖、分化和存活,从而抑制肿瘤的发展。例如开发抑制剂,即针对 METTL3、METTL14 等 m6A 甲基转移酶和 YTHDF1-3、YTHDC1-2 等 m6A 结合蛋白,降低 m6A 修饰水平或阻断其与 m6A 修饰 RNA 的结合,从而影响 B 细胞淋巴瘤细

胞的基因表达和生存能力。同时也可以考虑针对 FTO、ALKBH5 等 m6A 去甲基化酶开发激活剂,上调 m6A 修饰水平,促进 B 细胞淋巴瘤抑制基因的表达,从而抑制 B 细胞淋巴瘤的发展。或者通过基因治疗手段敲除或沉默 m6A 甲基转移酶基因来发挥抗肿瘤作用。将上述 m6A 甲基化修饰相关的治疗策略与传统化疗、放疗、免疫治疗等结合将有望提高目前的治疗效果,并降低副作用。或者通过 m6A 修饰调控免疫微环境,m6A 修饰可作用于血液系统恶性肿瘤的免疫微环境,诱导免疫逃逸,从而削弱抗血液肿瘤免疫疗效;通过调控 m6A 修饰,可以增强免疫细胞如树突状细胞(dendritic cell, DC)和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)的功能,从而提高疗效。总而言之,m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤中的潜在治疗涉及多个层面,包括靶向 m6A 甲基转移酶、去甲基化酶和结合蛋白以及联合传统治疗方案等,特别是在针对 m6A 修饰酶的药物开发和通过 m6A 修饰调控免疫微环境方面。随着研究的深入,这些治疗策略有望为 B 细胞淋巴瘤的治疗提供新思路。

4 总结和展望

随着表观遗传学研究的不断开展及深入,临床学者对 B 细胞淋巴瘤发病机制的认识也逐渐清晰。m6A 甲基化修饰通过影响关键基因的表达,改变肿瘤细胞的生物学特性,从而在 B 细胞淋巴瘤的发生和发展中发挥作用。例如,piRNA-30473 通过上调 WTAP 的表达,增加 HK2 的 m6A 甲基化水平,促进 DLBCL 细胞的增殖和存活。然而,m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤中的研究仍处于初级阶段,相关调控机制是一个复杂且多方面的过程,涉及多种酶和蛋白的相互作用。未来的研究将进一步揭示 m6A 甲基化修饰在 B 细胞淋巴瘤中的具体作用机制,其成果有望为开发新的治疗策略提供科学依据,最终为 B 细胞淋巴瘤患者带来更有效的治疗。

同时,针对 m6A 甲基化分子的靶向治疗也成为当前一大研究热点,包括 METTL3、FTO 的抑制剂,例如 MA2、STM2457^[30]。但以上药物仍处于研究阶段,尚未在临床广泛应用,且主要用于治疗代谢性疾病或血液系统疾病。鉴于目前对 B 细胞淋巴瘤的靶向治疗研究仍不足,抑制剂的开发面临着巨大挑战。未来研究需应聚焦于探索新的治疗

靶点,制定基于 m6A 甲基化的精准治疗方案,并联合多个学科(如分子生物学、遗传学、临床医学等)力量,深入解析 m6A 甲基化在 B 细胞淋巴瘤发生发展中的作用机制,加速相关研究成果向临床应用转化,为 B 细胞淋巴瘤带来突破性的治疗革新。

参考文献

- [1] 何时,吴晨榆,卢舒怡,等.伴 IRF4 重排的大 B 细胞淋巴瘤的临床病理特征及预后分析[J].临床与实验病理学杂志, 2024,40(7):730-735.
- [2] 王美懿,田晨.CAR-T 细胞免疫疗法在 B 细胞非霍奇金淋巴瘤中的应用进展[J].中国实验血液学杂志, 2024,32(3):970-973.
- [3] 杨岚,曹丽霞,任慧娟,等.利妥昔单抗时代原发结外弥漫性大 B 细胞淋巴瘤:单中心回顾分析[J].中国实验血液学杂志, 2024,32(4):1121-1128.
- [4] Cai J, Tian X, Ma S, et al. A nomogram prognostic index for risk-stratification in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: a multi-institutional cohort study [J]. Br J Cancer, 2021,125(3): 402-412.
- [5] Ruppert AS, Dixon JG, Salles G, et al. International prognostic indices in diffuse large B cell lymphoma: a comparison of IPI, R-IPI, and NCCN-IPI [J]. Blood, 2020, 135(23): 2041-2048.
- [6] Wei X, Zheng J, Zhang Z, et al. Consecutive hypoalbuminemia predicts inferior outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. Front Oncol, 2021, 10: 610681.
- [7] 赵培起,张会来.嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法在 B 细胞非霍奇金淋巴瘤中的研究进展[J].天津医药, 2020, 48(1):71-75.
- [8] Qiu KY, Liao XY, Fang JP, et al. TARGET based m6A methylation-related genes predict prognosis relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. BMC Pediatr, 2024, 10; 24(1):574.
- [9] 周星利,李梦醒,王季石. m6A-RNA 甲基化在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的研究进展[J].中国细胞生物学学报, 2021,43(8):1686-1691.
- [10] Kuai Y, Gong X, Ding L, et al. Wilms' tumor 1-associating protein plays an aggressive role in diffuse large B-cell lymphoma and forms a complex with BCL6 via Hsp90 [J]. Cell Commun Signal, 2018, 24, 16(1):50.
- [11] Wu S, Wang H, Yang Q, et al. METTL3 regulates M6A methylation-modified EBV-pri-miR-BART3-3p to promote NK/T cell lymphoma growth [J]. Cancer Lett, 2024, 10, 597: 217058.
- [12] Zhang H, Shi X, Huang T, et al. Dynamic landscape and evolution of m6A methylation in human [J]. Nucleic Acids Res, 2020,48(11):6251-64.
- [13] Song W, Fei F, Qiao F, et al. ALKBH5-mediated N6-methyladenosine modification of TRERNA1 promotes DLBCL proliferation via p21 downregulation [J]. Cell Death Discov, 2022, 14, 8(1):25.

(下转第 399 页)

·论 著·

增强子RNA *A2MP1* 在肺腺癌中的临床意义与分子机制

马甜甜 朱翠雯 段怡平 陈梁玥 李东旭 张晓洋 喻明霞 杨桂*

【摘要】 目的 研究增强子RNA(eRNA)*A2MP1*在肺腺癌(LUAD)中的表达和关键靶基因预测,分析*A2MP1*在LUAD恶性进展中的分子机制及其与靶基因相关性,探讨*A2MP1*在LUAD患者中的预后作用。方法 在UCSC Xena数据库中下载33类肿瘤的表达数据、生存数据和临床数据。已报道的eRNA及其调控的基因被选择为假定的eRNA-靶基因对。采用Kaplan-Meier生存分析和相关性分析确定关键的eRNA。*A2MP1*以PZP为靶点,被鉴定为与LUAD相关的eRNA。使用 χ^2 检验分析*A2MP1*表达与患者临床病理的相关性;通过泛癌数据对结果进行验证;利用GO和KEGG富集分析探索*A2MP1*在LUAD中参与的信号途径。结果 利用PreSTIGE算法与Kaplan-Meier生存分析和相关性分析,筛选出*A2MP1*作为目的基因,并选定PZP作为靶基因。*A2MP1*的表达水平与患者的临床分期($P<0.05$)、肿瘤大小($P<0.05$)、淋巴结转移($P<0.05$)显著相关。*A2MP1*低表达组患者的总体生存率显著低于高表达组患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。GO结果表明,*A2MP1*与T细胞的活化、淋巴细胞和单个核细胞分化、抗原受体介导的信号通路、免疫反应-激活细胞表面受体信号通路等多种免疫途径密切相关。在KEGG通路分析中,PI3K/AKT和JAK-STAT信号途径被富集。泛癌验证表明头颈鳞状细胞癌、胸腺癌、肾透明细胞癌、急性髓细胞样白血病、脑低级别胶质瘤、皮肤黑色素瘤等癌症中高表达*A2MP1*组中患者的总体生存率高于低表达组,差异有统计学意义($P<0.05$),且*A2MP1*和PZP在这些癌症中均显示出显著的相关性($P<0.05$)。结论 *A2MP1*是肺腺癌中与生存相关的关键eRNA,由于*A2MP1*在免疫微环境和PI3K/AKT、JAK-STAT信号通路方面的潜在作用,可能成为肺腺癌患者新的免疫治疗靶点。

【关键词】 肺腺癌; *A2MP1*; eRNA; 预后

Clinical significance and molecular mechanism of enhancer RNA *A2MP1* in lung adenocarcinoma

MA Tiantian, ZHU Cuiwen, DUAN Yiping, CHEN Liangyue, LI Dongxu, ZHANG Xiaoyang, YU Mingxia, YANG Gui*

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

【ABSTRACT】 Objective To study the expression and key target gene prediction of eRNA *A2MP1* in lung adenocarcinoma (LUAD), analyze the molecular mechanism of *A2MP1* in the malignant progression of LUAD and its correlation with target genes, and explore the prognostic role of *A2MP1* in LUAD patients. **Methods** Expression data, survival data and clinical data of 33 tumors were downloaded from the UCSC Xena database. The reported enhancer RNA (eRNA) and the genes it regulates were selected as putative eRNA-target gene pairs. Kaplan-Meier survival analysis and correlation analysis were used to identify key eRNA. *A2MP1* targets PZP and has been identified as a LUAD-related eRNA. The χ^2 test was used to analyze the association between *A2MP1* expression and clinicopathology. The results were validated with pan-cancer data.

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

作者单位:武汉大学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

*通信作者:杨桂, E-mail:986111742@qq.com

GO and KEGG enrichment analysis were used to explore the signaling pathways involved in *A2MP1* in LUAD.

Results The target gene *A2MP1* and *PZP* were selected using the PreSTIGE algorithm, Kaplan - Meier survival analysis, and correlation analysis. *A2MP1* expression was significantly correlated with clinical stage ($P<0.05$), tumor size ($P<0.05$), and lymph node metastasis ($P<0.05$). Patients with low *A2MP1* expressions had a significantly lower overall survival rate compared to those with high *A2MP1* expressions, with a statistically significant ($P<0.05$). GO analysis revealed that *A2MP1* is closely associated with various immune pathways, including T cell activation, lymphocyte and mononuclear cell differentiation, antigen receptor-mediated signaling pathways showed enrichment of the PI3K/AKT and JAK - STAT signal pathways. Pan - cancer validation demonstrated that patients in the high-expression *A2MP1* group had a higher overall survival rate in cancers such as head and neck squamous cell carcinoma, thymic carcinoma, clear cell renal carcinoma, acute myeloid leukemia, low-grade glioma of the brain, and cutaneous melanoma compared to the low-expression group, with a statistically significant difference ($P<0.05$). A significant correlation between *A2MP1* and *PZP* was observed in these cancers ($P<0.05$). **Conclusion** *A2MP1* is a crucial survival-related eRNA in lung adenocarcinoma. It has the potential to emerge as a new immunotherapy target for patients with lung adenocarcinoma, given its role in the immune microenvironment and the PI3K/AKT and JAK-STAT signaling pathways.

[KEY WORDS] LUAD; *A2MP1*; eRNA; Prognosis

据统计^[1],肺癌是世界上最常见的癌症,也是癌症相关死亡的主要原因。其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占85%,而非小细胞肺癌中大多数为肺腺癌,占所有肺癌病例的50%^[2]。肺腺癌的5年平均生存率约为18%,15%的病例在诊断时处于早期阶段,而绝大多数(57%)已经处于晚期阶段^[3]。因此,识别有效的生物标志物对生存期较差的高危患者至关重要。

增强子RNA(enhancer RNA, eRNA)是由增强区转录的一种长链非编码RNA。在功能上,eRNA可以被认为活性增强子的组成部分,通过与转录激活子和共激活子相互作用促进基因激活或增强子-启动子循环^[4]。Cheng等^[5]发现eRNA TBX5-AS1通过调控T-box转录因子5(T-box5, TBX5)来影响肺腺癌的发生发展及预后。本研究发现eRNA *A2MP1*与肺腺癌的临床病理特征、患者的总生存期等显著相关。

1 资料与方法

1.1 数据的下载与处理

在UCSC Xena数据库(<https://xena.ucsc.edu/>)中下载33类肿瘤的表达数据、生存数据和临床数据。将表达数据和eRNA数据的Ensembl ID转换为基因名称,对基因表达数据进行归一化处理用于后续分析。

1.2 eRNA生存分析筛选及与靶基因相关性分析筛选

提取表达数据中肺腺癌相关的eRNA表达量,

并与生存数据合并获得eRNA表达矩阵与生存信息合并的表格。根据eRNA在肺腺癌中表达量的中位数将患者分为高、低表达两组,利用Kaplan-Meier法比较两组之间生存的差异,并筛选 P 值小于0.05的eRNA。同时进行相关性分析过滤,使用预测基因和增强子特异性组织相互作用的方法预测其靶基因。

1.3 eRNA临床相关性分析与共表达分析

通过生存分析与相关性分析筛选出目标基因:*A2MP1*,利用卡方检验分析*A2MP1*与985例TCGA数据库中肺腺癌患者年龄、性别、临床分期、TNM分期等临床特征的关系,同时进行共表达分析,以评估*A2MP1*与其预测靶点之间的相关性。

1.4 GO和KEGG富集分析

为了确定*A2MP1*在肺腺癌发生发展中参与的信号通路,对选定的eRNA和其靶基因进行GO和KEGG分析。

1.5 泛癌生存与相关性验证

利用TCGA数据库中其他32类癌症的泛癌数据对选定的eRNA进行生存分析验证和与靶基因的相关性验证。

1.6 统计学分析

使用R4.0.2软件和IBM SPSS Statistics25.0软件进行统计学分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;将患者的年龄、性别、TNM分期等临床指标进行量化赋值。生存分析采用KM法; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选目的 eRNA

提取表达数据中肺腺癌相关的 eRNA 表达量,通过生存分析筛选($P<0.05$)和相关性筛选(相关系数 >0.4 , $P<0.05$),共鉴定出 76 对 eRNA-靶基因。见表 1。根据与生存相关的显著性排序且去除已有研究的 eRNA 基因后选定 *A2MP1* 为目的基因进行进一步分析。

表 1 部分生存相关的 eRNAs 及其靶基因

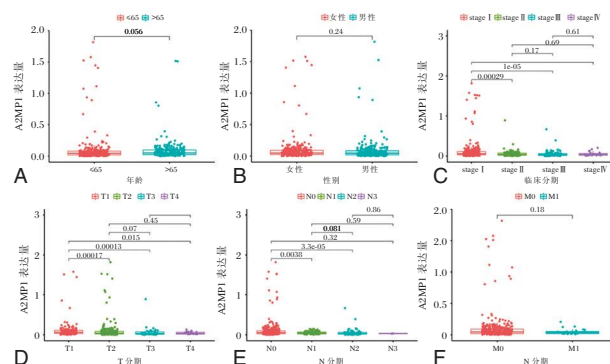
eRNA	KM	靶基因	相关系数	corPval
OGFRP1	0.000	<i>TCF20</i>	0.462	0.000
PRKG1-AS1	0.000	<i>DKK1</i>	0.724	0.000
LINC01833	0.000	<i>SIX3</i>	0.641	0.000
LINC01031	0.000	<i>B3GALT2</i>	0.434	0.000
PRDM16-DT	0.000	<i>PRDM16</i>	0.902	0.000
AC090559.1	0.001	<i>SPI1</i>	0.783	0.000
GAS1RR	0.001	<i>GAS1</i>	0.687	0.000
CRNDE	0.001	<i>IRX5</i>	0.801	0.000
A2MP1	0.002	<i>PZP</i>	0.541	0.000
A2MP1	0.002	<i>A2M</i>	0.457	0.000
LINC02390	0.003	<i>CLECL1</i>	0.458	0.000
LINC02390	0.003	<i>CD69</i>	0.403	0.000
AC007255.1	0.003	<i>PRR15</i>	0.881	0.000
AL035670.1	0.004	<i>RCAN2</i>	0.500	0.000
LINC02611	0.004	<i>MGAT4A</i>	0.470	0.000
LINC00996	0.005	<i>GIMAP4</i>	0.707	0.000
LINC00996	0.005	<i>GIMAP7</i>	0.692	0.000
LINC00996	0.005	<i>GIMAP8</i>	0.667	0.000
LINC00996	0.005	<i>GIMAP6</i>	0.665	0.000
AC124242.1	0.005	<i>ASAH1</i>	0.635	0.000
AC025871.2	0.005	<i>FBXO16</i>	0.426	0.000
AC091849.2	0.005	<i>LPCAT1</i>	0.710	0.000
AC091849.2	0.005	<i>SDHAP3</i>	0.540	0.000

2.2 *A2MP1* 表达水平与肺腺癌患者临床病理特征的联系

A2MP1 的表达水平与患者的临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移显著相关。见图 1。其中,临床 I 期患者 *A2MP1* 的表达水平与 II 期、III 期、IV 期患者比较显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 1C);T1 期患者 *A2MP1* 的表达水平与 T2 期、T3 期、T4 期患者比较显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 1D);N1 期患者 *A2MP1* 的表达水平与 N2 期、N3 期患者比较显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 1E)。

2.3 *A2MP1* 在肺腺癌中的预后价值及共表达分析

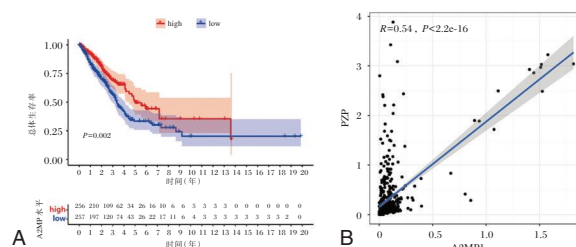
利用 Kaplan-Meier 法分析高低表达组总体生存率的差异,高表达 *A2MP1* 组中患者的总体生存率高于低表达组,差异有统计学意义($P<0.05$)。



注:A-F为年龄、性别、临床分期、原发肿瘤分期、淋巴结转移、远处转移分期与*A2MP1*表达量相关性分析。

图 1 *A2MP1* 表达量与肺腺癌患者临床病理特征相关性分析

见图 2A。*A2MP1* 与其靶基因 *PZP* 的相关系数为 0.54, ($P<0.05$)。见图 2B。

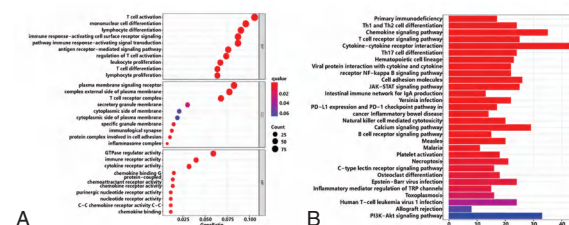


注:A:*A2MP1* 的表达与 LUAD 患者预后的关系;B:*A2MP1* 与 *PZP* 的相关性。

图 2 *A2MP1* 在肺腺癌中的预后价值及共表达分析

2.4 GO 和 KEGG 富集分析

通过 GO 和 KEGG 富集分析进一步了解 *A2MP1* 在肺腺癌发生发展过程中参与的信号通路。富集结果见图 3。

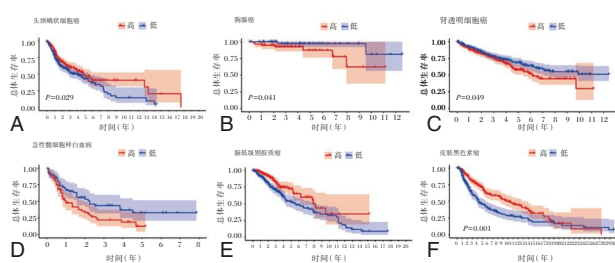


注:A气泡图显示了GO分析的结果;B条形图显示了KEGG富集的前15条途径。

图 3 功能富集分析

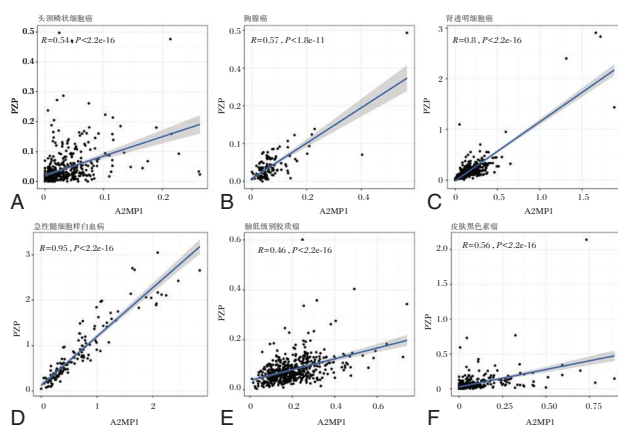
2.5 泛癌生存与相关性验证

头颈鳞状细胞癌、胸腺癌、肾透明细胞癌、急性髓细胞样白血病、脑低级别胶质瘤、皮肤黑色素瘤等癌症中高表达 *A2MP1* 组中患者的总体生存率高于低表达组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。此外 *A2MP1* 和 *PZP* 在这些癌症中均显示出显著的相关性($P<0.05$)。见图 5。



注:A-F为头颈鳞状细胞癌、胸腺癌、肾透明细胞癌、急性髓细胞样白血病、脑低级别胶质瘤、皮肤黑色素瘤的生存分析。

图4 泛癌生存验证



注:A-F为头颈鳞状细胞癌、胸腺癌、肾透明细胞癌、急性髓细胞样白血病、脑低级别胶质瘤、皮肤黑色素瘤的相关性分析。

图5 泛癌相关性验证

3 讨论

肺腺癌的发病率和死亡率都很高,遗传和环境因素对肺腺癌的发生发展有重要的影响^[6]。近年来,越来越多的证据表明^[7-8],eRNAs的失调与人类疾病密切相关,如eRNA WAKMAR2可能通过调节免疫相关基因影响乳腺癌微环境。本研究发现eRNA *A2MP1*与肺腺癌的临床病理特征、患者的总生存期等显著相关,可能作为潜在的治疗靶点。

PreSTIGE是一种基于H3K4me1标记物和组织特异性mRNA表达预测组织特异性增强子及其靶标的新算法,利用这种算法与Kaplan-Meier生存分析和相关性分析,筛选出*A2MP1*作为目的基因,并选定PZP作为靶基因。*A2MP1*(Alpha-2-Macroglobulin Pseudogene 1)是A2M的假基因,假基因是与正常基因相似但无功能的基因组DNA序列;它们在细胞中失去了基因表达或编码蛋白的能力,但有些假基因在转录时可以发挥功能,在癌症发生发展中产生重要作用^[9]。本研究发现*A2MP1*与肺腺癌患者的临床分期、肿瘤大小、淋巴

结转移显著相关。因此,*A2MP1*的表达水平可能作为区分临床I期患者、T1期患者和N1期患者的潜在标志物。Kaplan-Meier生存分析显示,*A2MP1*表达下调与总体生存率较差显著相关,*A2MP1*表达水平下降可作为预后不良的生物标志物。为了验证上述结果,使用来自TCGA数据库中其他32种类型的癌症数据作为内部验证,结果显示,*A2MP1*在多种肿瘤中表达异常,且*A2MP1*和PZP在这些癌症中均显示出显著的相关性。这表明*A2MP1*可能影响PZP的表达,进一步对肺腺癌的发生发展产生重要作用。

通过基因富集分析,探究*A2MP1*影响肺腺癌发生发展的机制。GO结果表明,*A2MP1*与T细胞的活化、免疫反应-激活细胞表面受体信号通路等多种免疫途径密切相关,这表明*A2MP1*可能影响了肺腺癌的免疫微环境。肿瘤的发展和转移与免疫系统相关,T细胞功能失衡的患者更容易发生远处转移^[10]。在KEGG通路分析中,磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/AKT通路(PI3K/AKT)和Janus激酶信号传感器和转录激活因子(JAK-STAT)信号途径被富集。PI3K/AKT信号通路参与多个生物学过程^[11],并经常在人类癌症中异常激活^[12]。JAK-STAT信号通路介导几乎所有的免疫调节过程^[13],包括那些参与肿瘤细胞识别和肿瘤驱动的免疫逃逸^[14]。因此,*A2MP1*可能通过PI3K/AKT和JAK-STAT信号通路等来调控肺腺癌的免疫微环境进而影响其发生、发展与远处转移。

综上所述,本研究证明了*A2MP1*是肺腺癌中关键的生存相关的eRNA,由于*A2MP1*在免疫微环境和PI3K/AKT、JAK-STAT信号通路方面的潜在作用,可能成为肺腺癌患者新的治疗靶点。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [2] Denisenko TV, Budkevich IN, Zhivotovsky B. Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2):117.
- [3] Ma C, Luo H, Cao J, et al. Independent prognostic implications of rrm2 in lung adenocarcinoma [J]. J Cancer, 2020, 11(23):7009-7022.
- [4] Lee JH, Xiong F, Li W. Enhancer RNAs in cancer: Regulation, mechanisms and therapeutic potential [J]. RNA Biol, 2020, 17(11):1550-1559.

- [5] Cheng L, Han T, Chen B, et al. Tbx5 - as1, an enhancer RNA, is a potential novel prognostic biomarker for lung adenocarcinoma [J]. BMC Cancer, 2021,21(1):794.
- [6] Sun H, Liu SY, Zhou JY, et al. Specific tp53 subtype as biomarker for immune checkpoint inhibitors in lung adenocarcinoma [J]. EBioMedicine, 2020,60(11):102990.
- [7] Chen H, Liang H. A high-resolution map of human enhancer RNA loci characterizes super-enhancer activities in cancer [J]. Cancer cell, 2020,38(5):701-715.e705.
- [8] Wang L, Liu J, Tai J, et al. A prospective study revealing the role of an immune-related eRNA, wakmar2, in breast cancer [J]. Sci Rep, 2021,11(1):15328.
- [9] Chan WL, Chang JG. Pseudogene-derived endogenous siRNAs and their function [J]. Methods Mol Biol, 2014,1167:227-239.
- [10] Owen KL, Brockwell NK, Parker BS. Jak-stat signaling: A double-edged sword of immune regulation and cancer progression [J]. Cancers, 2019,11(12):2002.
- [11] Cheng J, Huang Y, Zhang X, et al. Trim21 and phlda3 negatively regulate the crosstalk between the pi3k/akt pathway and ppp metabolism [J]. Nat Commun, 2020,11(1):1880.
- [12] Lei X, Lei Y, Li JK, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy [J]. Cancer Lett, 2020,470:126-133.
- [13] Pencik J, Pham HT, Schmoellerl J, et al. Jak-stat signaling in cancer: From cytokines to non-coding genome [J]. Cytokine, 2016,87:26-36.
- [14] Yang Q, Jiang W, Hou P. Emerging role of pi3k/akt in tumor-related epigenetic regulation [J]. Semin Cancer Biol, 2019,59:112-124.

(上接第394页)

- [14] Garbo S, Zwergel C, Batistelli C. m6A RNA methylation and beyond-the epigenetic machinery and potential treatment options[J]. Drug Discov Today, 2021,26(11):2559-2574.
- [15] Xu C, Liang T, Liu J, et al. RAB39B as a Chemosensitivity-Related Biomarker for Diffuse Large B-Cell Lymphoma [J]. Front Pharmacol, 2022,15,13:931501.
- [16] Zhang H, Yin M, Huang H, et al. METTL16 in human diseases: What should we do next? [J]. Open Med (Wars) , 2023,30, 18(1):20230856.
- [17] Cheng Y, Fu Y, Wang Y, et al. The m6A Methyltransferase METTL3 Is Functionally Implicated in DLBCL Development by Regulating m6A Modification in PEDF [J]. Front Genet, 2020,27,11:955.
- [18] Li J, Zhu Z, Zhu Y, et al. METTL3-mediated m6A methylation of C1qA regulates the Rituximab resistance of diffuse large B-cell lymphoma cells [J]. Cell Death Discov, 2023,1,9(1):405.
- [19] Poo Sri S, Boonyuen U, Chupeerach C, et al. Association of FTO variants rs9939609 and rs1421085 with elevated sugar and fat consumption in adult obesity [J]. Sci Rep, 2024,27,14(1):25618.
- [20] 顾季伟,施梅,宋国齐. FTO 及其抑制剂对 DLBCL 利妥昔单抗耐药的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2023,58(5):760-765.
- [21] Zhang Y, Chen Y, Guo Q, et al. Fat mass and obesity-associated protein (FTO) - induced upregulation of flotillin - 2 (FLOT2) contributes to cancer aggressiveness in diffuse large B - cell lymphoma (DLBCL) via activating the PI3K/Akt/mTOR signal pathway [J]. Arch Biochem Biophys, 2024,758:110072.
- [22] Hong Y, Ma H, Yang H, et al. Ouabain-mediated downregulation of ALKBH5 and IGF2BP2 inhibits the malignant progression of DLBCL [J]. Front Pharmacol, 2024, 30, 15:1447830.
- [23] Li HB, Wang D, Zhang Y, et al. IGFBP3 Enhances Treatment Outcome and Predicts Favorable Prognosis in ABC - DLBCL [J]. J Oncol, 2023,10, 2023:1388041.
- [24] CHENG, Y, WANG Q, JIANG W, et al. Emerging roles of piRNAs in cancer: challenges and prospects [J]. Aging, 2019, 11(21): 9932-9946.
- [25] Han H, Fan G, Song S, et al. piRNA-30473 contributes to tumorigenesis and poor prognosis by regulating m6A RNA methylation in DLBCL [J]. Blood, 2021, 25, 137(12):1603-1614.
- [26] Xie W, Wei L, Guo J, et al. Physiological functions of Wilms' tumor 1-associated protein and its role in tumorigenesis [J]. J Cell Biochem, 2019,120(7):10884-10892.
- [27] Jiang C, Trudeau SJ, Cheong TC, et al. CRISPR/Cas9 Screens Reveal Multiple Layers of B cell CD40 Regulation [J]. Cell Rep, 2019,30, 28(5):1307-1322.e8.
- [28] Guo S, Zhao C, Fang L, et al. The m6A methyltransferase WTAP plays a key role in the development of diffuse large B - cell lymphoma via regulating the m6A modification of catenin beta 1 [J]. Ann Transl Med, 2022,10(14):779.
- [29] Ma HY, Shen LY, Yang H, et al. m6A methyltransferase Wilms' tumor 1-associated protein facilitates cell proliferation and cisplatin resistance in NK/T cell lymphoma by regulating dual - specificity phosphatases 6 expression via m6A RNA methylation [J]. IUBMB Life, 2021,73(1): 108-17.
- [30] Weilun Z, Cuiping W, Jiao W. Circular RNA circ0000877 serves as a miR-671-5p sponge to regulate diffuse large B-cell lymphoma development via HK2 [J]. Molecular & Cellular Toxicology, 2022,19(3):579-590.
- [31] Zhao H, Xiang G, Shao T, et al. HK2 contributes to the proliferation, migration, and invasion of diffuse large B-cell lymphoma cells by enhancing the ERK1/2 signaling pathway [J]. Open Life Sci, 2023,14,18(1):20220726.
- [32] Gao Y, Wang P, Lu S, Ma W. [METTL3 inhibitor STM2457 improves metabolic dysfunction-associated fatty liver disease by regulating mitochondrial function in mice] [J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2023,20,43(10):1689-1696.

耐碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌的耐药基因及同源性分析

刘平娟 邓间开 郭鹏豪 伍众文 彭雅琴 廖康 陈培松 陈怡丽*

【摘要】目的 分析收集到的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(CRKP)的耐药基因及同源性,为细菌耐药监测以及临床精准合理用药提供依据,为医院感控防治等工作提供有力证据。**方法** 收集2016至2023年中山大学附属第一医院临床分离的37株CRKP,利用PCR方法对细菌耐药基因进行测定;用脉冲场凝胶电泳(PFGE)和多位点序列分型(MLST)方法对CRKP菌株进行同源性分析。**结果** 共检出 bla_{KPC} 基因阳性共20/37株(54%);检出 bla_{NDM-1} 基因阳性共21/37株(56.8%);检出 bla_{IMP} 基因阳性共5/37株(13.5%); bla_{SHV} 基因阳性29/37株(78.4%); bla_{TEM} 基因阳性24/37株(64.9%); bla_{CTX-M} 基因阳性22/37株(59.5%);检出膜孔蛋白缺失22/37株(59.5%)。37株CRKP分为22个亚型。MLST结果显示共分为14种ST分型,以ST-11为主,共18/37株(48.6%)。**结论** 产碳青霉烯酶是肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯类抗生素最主要的机制,本中心CRKP菌株同时携带多种耐药基因的现象普遍,ST分型多样且存在ST-656等较为少见的型别,临床应该严格控制抗生素的使用,避免细菌耐药问题加剧。

【关键词】 碳青霉烯酶;肺炎克雷伯菌;PFGE;MLST;同源性

Resistance and homology analysis of carbapenems-resistant *Klebsiella pneumoniae*

LIU Pingjuan, DENG Jiankai, GUO Penghao, WU Zhongwen, PENG Yaqi, LIAO Kang, CHEN Peisong, CHEN Yili*

(Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou, Guangdong, China, 510080)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the resistance genes and homology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) that have been collected, to provide a basis for bacterial resistance monitoring and clinical precise and rational drug use, and to provide strong evidence for hospital infection control and prevention. **Methods** 37 strains of CRKP clinically isolated from the First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University from 2016 to 2023 were collected. The PCR method was used to determine the bacterial resistance genes. The homology of CRKP strains was analyzed using pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and multilocus sequence typing (MLST). **Results** A total of 20 out of 37 strains (54%) tested positive for the bla_{KPC} gene. Additionally, 21 out of 37 strains (56.8%) were positive for the bla_{NDM-1} gene, 5 out of 37 strains (13.5%) were positive for the bla_{IMP} gene, 29 out of 37 strains (78.4%) were positive for the bla_{SHV} gene, 24 out of 37 strains (64.9%) were positive for the bla_{TEM} gene, and 22 out of 37 strains (59.5%) were positive for the bla_{CTX-M} gene. Furthermore, 22 out of 37 strains (59.5%) were found to have membrane pore protein deficiency. The 37 CRKP strains were divided into 22 subtypes. The MLST results showed a total of 14 ST subtypes, with ST-11 being the most common subtype, accounting for 18/37 strains (48.6%). **Conclusion** The production of carbapenemase is the main mechanism of carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*. It is common for CRKP strains to carry multiple resistance genes simultaneously. The ST typing of CRKP strains in our center is diverse, and there are relatively rare types such as ST-656. The use of antibiotics should be strictly controlled in clinical practice to avoid exacerbating bacterial resistance problems.

【KEY WORDS】 Carbapenemase; *Klebsiella pneumoniae*; MLST; PFGE; Homology

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(82302599)

作者单位:中山大学附属第一医院医学检验科,广东,广州 510080

*通信作者:陈怡丽, E-mail: chenyl3@mail.sysu.edu.cn

耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌(carbapenem resistant *Enterobacterales*, CRE)被美国疾病控制和预防中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)列为紧急和严重的威胁^[1]。近年来, CRE已成为全球公共卫生领域的一个重点关注问题,给临床治疗带来巨大的困难,特别是耐碳青霉烯类肺炎克雷伯(carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)^[1]。肺炎克雷伯菌是一种常见的机会致病菌,常导致肺炎、支气管炎、泌尿道感染和创伤感染等,是医院内感染的主要病原菌之一^[2]。碳青霉烯类抗生素被认为是目前临床控制革兰阴性细菌感染最有效的抗生素,然而随着近年来抗菌药的不合理使用,CRKP的检出率不断上升,给临床治疗和抗感染工作带来新的挑战^[3]。目前脉冲场琼脂糖凝胶电泳(Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE)被认为是对肺炎克雷伯菌分型最准确的方法^[4],而多位点序列分型(Multilocus sequence typing, MLST)可以在分子水平对菌株的微小变异进行区别,具有更明确的分型结果,有高度的可重复性,使不同实验室乃至不同地区国家的结果具有可比性,是目前肺炎克雷伯菌分型常用的一种方法^[5]。本研究通过 PFGE 和 MLST,对 CRKP 的耐药性及同源性进行分析,以期对本中心近年来临床分离的 CRKP 进行分子流行情况分析,为后续细菌耐药监测以及临床经验用药提供支撑,为院感防控等工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集 2016 年 1 月至 2023 年 7 月来自中山大学附属第一医院的 37 株 CRKP 菌株。所有菌株经 VITEK-2 全自动微生物分析仪鉴定为肺炎克雷伯菌。根据 CLSI 2022 M100 的标准^[6],以厄他培南 MIC 值 $\geq 2 \mu\text{g/mL}$,判断为 CRKP。试验质控菌株为肺炎克雷伯菌 ATCC700603。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 主要仪器和试剂

哥伦比亚血琼脂平板(郑州安图公司)、VITEK-2 全自动细菌鉴定及药敏分析系统(法国生物梅里埃公司)、PCR 仪(美国 ABI Applied 公司)、电泳仪(北京市六一仪器厂)、Vilber Fusion 核酸/蛋白凝胶图像分析管理系统、Taq DNA 聚合酶试剂盒(日本 TaKaRa)、引物(上海生工)、蛋白酶

K、XbaI 限制性内切酶。

1.3 方法

1.3.1 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因检测

①引物的设计:本次研究的 12 个耐药基因包括碳青霉烯酶基因(bla_{KPC} 、 bla_{IMP} 、 bla_{VIM} 、 bla_{NDM-1} 、 $bla_{OXA-48-like}$),ESBLs 基因(bla_{TEM} 、 bla_{SHV} 、 bla_{CTX-M})和质粒介导的 AmpC β -内酰胺酶基因(bla_{ACC} 、 bla_{DHA})以及膜孔蛋白($OmpK35$ 、 $OmpK36$),PCR 引物序列参考文献^[7],引物由上海生工公司合成。引物设计见表 1。将含 DNA 的上清液转到新 EP 管中,用于 PCR 检测。② PCR 反应体系及参数:PCR 反应体系体积为 $25 \mu\text{L}$, $10 \times \text{PCR Buffer (Mg}^{2+} \text{ plus)}$ $2.5 \mu\text{L}$, dNTP Mixture $2 \mu\text{L}$, TaKaRa Taq $0.5 \mu\text{L}$, 上下游引物各 $0.5 \mu\text{L}$,模板 $2 \mu\text{L}$,加灭菌蒸馏水补足。PCR 扩增条件为 97°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 50°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s 30 个循环, 72°C 延伸 5 min。③琼脂糖凝胶电泳看结果:对上述 PCR 扩增得到产物进行电泳,用凝胶成像仪进行紫外线显影并拍照保存。

1.3.2 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的同源性研究

①PFGE 操作方法:制备细胞裂解液和蛋白酶 K 的混合液,将凝固好的胶块移到相应的管中,水浴摇床水浴孵育 4 小时后洗胶块。酶切体系的配制: ddH_2O ($2\ 700 \mu\text{L}$)、Buffer ($300 \mu\text{L}$)、XbaI 限制性内切酶 ($12.5 \mu\text{L}$) 各分装 $200 \mu\text{L}$ 至 EP 中,将沙门菌 H9812 标准菌株及待测菌株分别加入到 EP 管,置于 37°C 水浴箱孵育 1 小时,然后加到备用胶块中进行电泳。电泳结束后用凝胶成像系统拍摄图像并保存,使用 BioNumerics 软件对 PFGE 条带进行聚类分析。②MLST 操作方法:PCR 管家基因参考网站 https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/primers_used.html,以 CRKP 菌株(gapA 、 infB 、 mdh 、 pgi 、 phoE 、 rpoB 和 tonB) 7 对管家基因(表 2)进行扩增,将扩增产物送上海生工进行测序,并对扩增产物进行测序分析将测序结果输入 MLST 数据库进行比对,得到菌株其序列型(ST 分型)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析。计数资料以例以 $n(\%)$ 表示。使用 BioNumerics 软件对 PFGE 条带进行聚类分析。

2 结果

2.1 菌株的病区分布与标本类型分类

在 37 株耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌中,19/37

表 1 引物序列及片段长度

耐药机制	基因名称	引物序列 (5'→3')	产物长度 (bp)
产碳青霉烯酶	<i>bla</i> _{KPC}	F:CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG R:CTTGTCATCCTTGTAGGCG	798
	<i>bla</i> _{IMP}	F:GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC R:GGTTTAAYAAAACAACCACC	232
	<i>bla</i> _{NDM-1}	F:CACCTCATGTTTGAATTCGCC R:CTCTGTCACATCGAAATCGC	984
	<i>bla</i> _{OXA-48-like}	F:GCGTGGTTAAGGATGAACAC R:CATCAAGTTCAACCCAACCG	438
	<i>bla</i> _{VIM}	F:GATGGTGTGTTGGTCGCATA R:CGAATGCGCAGCACCAG	309
	<i>bla</i> _{DHA}	F:AACCTTTCACAGGTGTGCTGGGT R:CCGTACGCTTACTGGCTTTGC	405
	<i>bla</i> _{ACC}	F:AACAGCCTCAGCCGGTTA R:TTCGCCGCAATCCCTAGC	346
	<i>bla</i> _{SHV}	F:AGGATTGACTGCCTTTTTG R:ATTTGCTGATTCGCTCG	392
	<i>bla</i> _{TEM}	F:ATCAGCAATAAACCCAGC R:CCCCGAAGAACGTTTC	516
	<i>bla</i> _{CTX-M}	F:AAAAATCACTGCGCCAGTTC R:AGCTTATTCATCGCCACGTT	415
AmpC	<i>OmpK35</i>	F:AGAATTGGTAAACGATACCCACG R:CAGACACCAAACCTCATCAATGG	649
	<i>OmpK36</i>	F:GCTGTTGTCGTCAGCAGGTTG R:CAGCACAATGAATATAGCCGAC	657
ESBLs			
膜孔蛋白			

表 2 肺炎克雷伯菌管家基因及序列

引物名称	引物序列 (5'→3')	长度 (bp)
<i>rpoB</i> Vic3-F	GGCGAAATGGCWGAGAACCA	501
<i>rpoB</i> Vic3-R	GAGTCTTCGAAGTTGTAACC	
<i>gapA</i> 173-F	TGAAATATGACTCCACTCACGG	450
<i>gapA</i> 181-R	CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT	
<i>mdh</i> 130-F	CCCAACTCGCTTCAGGTTTCAG	477
<i>mdh</i> 867-R	CCGTTTTTCCCCAGCAGCAG	
<i>pgi</i> 1-F	GAGAAAAACCTGCCTGTACTGCTGGC	432
<i>pgi</i> 1-R	CGCGCCACGCTTTATAGCGGTTAAT	
<i>phoE</i> 604.1-F	ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	420
<i>phoE</i> 604.2-R	TGATCAGAACTGGTAGGTGAT	
<i>inf</i> B1-F	CTCGCTGCTGGACTATATTCG	318
<i>inf</i> B1-R	CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC	
<i>ton</i> B1-F	CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT	414
<i>ton</i> B2-R	ATTCGCCGCTGRGCRGAGAG	

株 (51.4%) 来自 ICU, 9/37 株 (24.3%) 来自外科, 7/37 株 (18.9%) 来自内科, 其余来自急诊科。标本来源分布: 12/37 株 (32.4%) 分离于痰标本或肺泡灌洗液标本, 8/37 株 (18.9%) 分离于血标本, 7/37 株 (18.9%) 分离于胸水等无菌体液标本, 其余标本分别来自: 尿液、导管、脓液和组织。

2.2 PCR 方法检测碳青霉烯酶耐药基因结果

在 37 株 CRKP 菌株中, 产碳青霉烯酶基因检出结果: 检出 *bla*_{KPC} 基因阳性共 20 株、检出 *bla*_{NDM-1} 基因阳性共 21 株; 产 ESBLs 基因结果: *bla*_{SHV} 基因阳性 29 株、*bla*_{TEM} 基因阳性 24 株、*bla*_{CTX-M} 基因阳性

22 株; 检出膜孔蛋白缺失 22/37 株 (59.5%)。有 13 株菌同时产两种碳青霉烯酶, 20 株产 KPC-2 碳青霉烯酶的 CRKP 合并高产 ESBLs/AmpC, 21 株产 *bla*_{NDM-1} 碳青霉烯酶的 CRKP 合并高产 ESBLs/AmpC。耐药基因扩增片段电泳结果见图 1。耐药基因结果见表 3~4。

表 3 CRKP 耐药基因检出情况 (n, %)

耐药基因	菌株数	百分比 (%)
产碳青霉烯酶基因	<i>bla</i> _{KPC-2}	20/37 54.00
	<i>bla</i> _{IMP}	5/37 13.50
	<i>bla</i> _{NDM}	21/37 56.80
	<i>bla</i> _{OXA-48-like}	0/37 0.00
	<i>bla</i> _{VIM}	0/37 0.00
	<i>bla</i> _{SHV}	29/37 78.40
ESBLs	<i>bla</i> _{TEM}	24/37 64.90
	<i>bla</i> _{CTX-M}	22/37 59.50
	<i>ACC</i>	1/37 2.70
AmpC	<i>DHA</i>	7/37 18.90
	膜孔蛋白缺失	11/37 29.70
<i>OmpK36</i>		16/37 43.20

表 4 CRKP 同时携带两种耐药基因情况分析 [n(%)]

耐药基因	CRKP 株数
<i>bla</i> _{KPC-2} + <i>bla</i> _{NDM-1}	10(27.0)
<i>bla</i> _{IMP-4} + <i>bla</i> _{NDM-1}	3(8.1)
<i>bla</i> _{KPC-2} +高产 ESBLs/AmpC	20(54.0)
<i>bla</i> _{IMP-4} +高产 ESBLs/AmpC	5(13.5)
<i>bla</i> _{NDM-1} +高产 ESBLs/AmpC	21(56.8)

2.3 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的同源性分析

37株CRKP分为22个亚型。MLST结果显示共分为14种ST分型,以ST-11占18株(48.6%),分布在10个PFGE分型中。eBURST分析结果显示14个ST分型分为两个克隆型(ST-14, ST-15; ST-1, ST-656),其余为单个型。聚类分析结果见图1。本研究检测出两株ST-656型肺炎克雷伯菌,一株分离自痰标本,另一株分离自静脉插管。等位基因对比结果见表5。

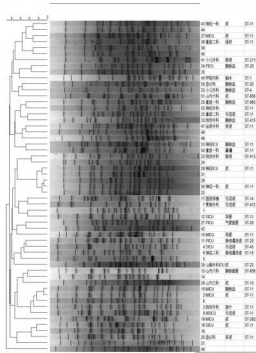


图1 PFGE、MLST结果

表5 ST-11型与ST-656型等位基因对比结果

基因型	<i>gapA</i>	<i>infB</i>	<i>mdh</i>	<i>pgi</i>	<i>phoE</i>	<i>rpoB</i>	<i>tonB</i>
ST-11	3	3	1	1	1	1	4
ST-656	4	4	1	1	7	4	4

3 讨论

根据2021年CHINET中国细菌耐药监测结果显示^[8],肺炎克雷伯菌临床分离率在革兰阴性杆菌中排名第二(16.28%),仅次于大肠埃希菌(18.96%)。我国细菌耐药监测网2014-2019年CRKP流行病学变迁数据显示^[9]:全国CRKP检出率由2014年的6.4%上升至2019年的10.9%。本中心ICU的CRKP分离率(51.4%)高于全国ICU分离的水平(23.0%)^[9],分析原因可能是本中心收治的患者多由基层医院转入,病情危重,患者免疫力低下,治疗过程复杂,住院时间长,等众多感染危险因素^[10],是本中心CRKP感染率最高的科室之一。

目前研究^[2]表明肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯类抗生素最主要的机制是产生碳青霉烯酶,编码这类酶的耐药基因包括A、B、D三类,A类酶以 bla_{KPC} 为主;B类酶主要是 bla_{NDM} ;D类酶以 bla_{OXA-48} 为主。因为编码这类酶的基因多位于可移动的基因元件如质粒、转座子、整合子等上,使得CRKP可通过水平和垂直方式传播^[11]。本中心分离的耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌 bla_{KPC-2} 、 bla_{NDM} 、 bla_{SHV} 、 bla_{TEM} 、

bla_{CTX-M} 耐药基因的携带率均超过50%,与杨程茹等^[12]的研究结果相一致。此外,本次研究的菌株大多同时携带两种不同耐药机制的基因,这提示本中心流行的CRKP属于复杂耐药的菌株,而膜孔蛋白基因缺失的CRKP菌株高达59.5%(22/37株),远高于许光辉等^[13]的研究结果。

本研究的37株CRKP中18株为ST-11型,与我国CRKP以ST-11型最为流行相符合^[14],其中有16株ST-11型携带 bla_{KPC-2} 耐药基因。欧美国家主要流行菌株为ST-258型,与ST-11型同属一个克隆体CC258,ST-11型与ST-258型只有 $tonB$ 这一个管家基因存在差别,有很强的同源关系^[15]。eBURST分析结果显示14个ST分型分为两个克隆(ST-14, ST-15; ST-1, ST-656),其余为单个分型,不同菌株间没有很强的同源性关系,这可能与收集到的标本分布时间跨度较大且分散在不同科室有关。

本研究检测出两株ST-656型肺炎克雷伯菌,它们均来自心内六科,一株分离自痰标本,另一株分离自静脉插管。两株ST-656型共同携带的耐药基因有 bla_{NDM} 和 bla_{SHV} ,且都伴有OmpK-35膜孔蛋白的缺失。ST-656型肺炎克雷伯菌在世界上鲜有报道,国内只有2017年浙江温州某医院有一次报道^[16]。ST-656型和国内常见的ST-11型肺炎克雷伯菌MLST等位基因的序列有比较大的差异,同源性较差。后续需要收集更多CRKP菌株进行检测,以观察本中心是否存在ST-656型CRKP在院内或科室内传播。

本研究结果表明产碳青霉烯酶是肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯酶的主要机制,本中心CRKP菌株同时携带多种耐药基因的现象普遍,ST分型多样,存在ST-656等较为少见的型别,临床应该严格控制抗生素的使用,避免细菌耐药问题加剧。同时,本中心CRKP合并膜孔蛋白缺失所引起的肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯类抗生素的情况较明显,需引起注意,医院仍应加强院感控制。

参考文献

- [1] Centers for Disease Control and Prevention. 2019. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA. <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>.
- [2] uppé É, Woerther PL, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. Ann Intensive Care, 2015, 5(1):61-82.

(下转第408页)

慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉组织中 CTGF、Smad4 蛋白表达及与术后复发的关系

苑庆尧^{1*} 孙占伟² 程鹤香¹ 杨浩¹

【摘要】 目的 探讨慢性鼻-鼻窦炎(CRS)伴鼻息肉组织中结缔组织生长因子(CTGF)蛋白、Smad同源物4(Smad4)蛋白的表达情况及其与鼻内镜手术后1年内复发的关系。**方法** 选取2021年4月至2023年3月在洛阳市第一人民医院行鼻内镜手术治疗的120例伴鼻息肉的慢性鼻-鼻窦炎(CRSwNP)患者为研究组,120例不伴鼻息肉的慢性鼻-鼻窦炎(CRSsNP)患者为对照组,采用免疫组化染色检测两组鼻息肉组织或上颌窦窦口黏膜组织中CTGF蛋白、Smad4蛋白表达情况,并记录CRSwNP患者复发情况,分析CTGF蛋白、Smad4蛋白表达与CRSwNP患者术后1年内复发的关系。绘制ROC曲线分析CTGF蛋白、Smad4蛋白表达及其他危险因素对术后1年内复发的临床预测价值。**结果** 研究组鼻息肉组织中CTGF蛋白及Smad4蛋白表达程度均明显高于对照组($P<0.05$)。研究组120例患者中有114例完成术后1年随访,其中有24例复发,占22.81%。变应性鼻炎、较高术前Lund-Mackay评分、EOS型鼻息肉、CTGF蛋白和Smad4蛋白高表达是CRSwNP患者鼻内镜术后1年内复发的独立危险因素($P<0.05$)。联合预测因子预测鼻内镜术后1年内复发的AUC达0.933,明显高于各单一危险因素及变应性鼻炎+术前Lund-Mackay评分+EOS型鼻息肉的常规预测($P<0.05$)。**结论** CTGF蛋白和Smad4蛋白高表达均是CRSwNP患者鼻内镜术后1年内复发的独立危险因素,基于此建立的多因素Logistic回归预测模型具有很好的临床预测价值。

【关键词】 慢性鼻-鼻窦炎; 结缔组织生长因子; Smad同源物4; 鼻息肉

Expression of CTGF and smad4 proteins in tissues of patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and their relationship with postoperative recurrence

YUAN Qingyao^{1*}, SUN Zhanwei², CHENG Hexiang¹, YANG Hao¹

(1. Otolaryngology Department of Luoyang First People's Hospital, Luoyang, Henan, China, 471002; 2. Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate expression of connective tissue growth factor (CTGF) and smad homologue 4 (smad4) proteins in tissues of patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and their relationship to recurrence after endoscopic surgery. **Methods** A total of 120 patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) who underwent endoscopic surgery at Luoyang First People's Hospital from April 2021 to March 2023 were selected as the research group. Additionally, 120 patients with chronic rhinosinusitis without nasal polyps were chosen as the control group. Immunohistochemical staining was used to detect the expression of CTGF protein and smad4 protein in nasal polyp tissue or maxillary sinus oral mucosal tissue of both groups. Furthermore, the recurrence of CRSwNP patients was recorded. The aim of the study was to analyze the relationship between the expression of CTGF protein and smad4 protein and the recurrence of CRSwNP patients within 1 year after surgery. A ROC curve was drawn to analyze the clinical predictive value of CTGF protein, smad4 protein expression and other risk factors for recurrence within 1 year post-surgery. **Results** The expression levels of CTGF protein and smad4 protein in nasal polyp tissues of the research

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2020082336)

作者单位:1. 洛阳市第一人民医院耳鼻喉科,河南,洛阳 471002

2. 河南省人民医院耳鼻喉头颈外科,河南,郑州 450000

*通信作者:苑庆尧, E-mail:lysdyrmyyyq@163.com

group were significantly higher than those of the control group ($P<0.05$). Among the 120 patients in the research group, 114 patients completed a 1-year follow-up, of which 24 patients relapsed, accounting for 22.81% of the total. Variables such as rhinitis, higher preoperative Lund-Mackay score, EOS type nasal polyp, and high expression of CTGF protein and smad4 protein were identified as independent risk factors for recurrence within 1 year after nasal endoscopy in patients with CRSwNP ($P<0.05$). The AUC for recurrence within 1 year after endoscopic sinus surgery was 0.933, significantly higher than the AUC of single risk factors and the AUC of variable rhinitis plus preoperative Lund-Mackay score plus EOS type nasal polyp ($P<0.05$).

Conclusion The high expression of CTGF protein and smad4 protein are both independent risk factors for recurrence in patients with CRSwNP within 1 year after nasal endoscopy. The multi-factor logistic regression prediction model established on this basis has good clinical prediction value.

[KEY WORDS] Chronic rhinosinusitis; Connective tissue growth factor; Smad homologue 4; Nasal polyps

临床上将慢性鼻-鼻窦炎(Chronic Rhinosinusitis, CRS)分为慢性鼻窦炎不伴鼻息肉(CRSsNP)和慢性鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)两种类型^[1]。CRSsNP主要通过药物治疗来缓解症状,若药物治疗效果不佳,可考虑进行鼻内镜手术以改善鼻腔通气和引流。而 CRSwNP 病程较长,通常至少持续 12 周,鼻内镜手术及术后抗炎治疗可显著改善 CRSwNP 患者鼻塞、流脓涕等症状,但术后复发率较高。因此,早期对 CRSwNP 术后复发进行预测并采取有针对性的防控措施具有重要临床意义^[2]。有研究报道^[3],转化生长因子- β 1/Smad(Transforming Growth Factor-Beta 1/Smad Signaling Pathway, TGF- β 1/Smad)信号在 CRSwNP 发生发展中发挥重要作用。本研究通过对 CRSwNP 组织中 CTGF 蛋白、Smad4 蛋白的表达情况及其与鼻内镜手术后 1 年内复发的关系进行分析,旨在为 CRSwNP 术后复发的早期预测及指导防控提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 4 月至 2023 年 3 月在洛阳市第一人民医院行鼻内镜手术治疗的 120 例 CRSwNP 患者为研究组,按 1:1 比例选取同期 120 例 CRSsNP 患者为对照组。纳入标准:①CRS 患者的诊断标准参考《慢性鼻-鼻窦炎诊断和治疗指南(2012 年)》中的诊断标准^[4],并经鼻内镜手术术后病理明确鼻息肉诊断^[5];②年龄 ≥ 18 岁;③均为单侧发病;④保守治疗 3 个月以上效果欠佳,符合鼻内镜手术指征^[5]并顺利完成手术;⑤患者均签订知情同意书自愿参与本次研究,符合《赫尔辛基宣言》相关伦理及保密原则;⑥相关病历资料完整。排除标准:①既往有鼻相关手术史;②合并鼻部其他病变;

③合并严重重要脏器疾病及血液系统、免疫系统等疾病;④患者术前 3 个月内使用过激素、免疫抑制剂等药物。两组一般资料无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 两组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	性别		糖尿病	高血压	病程(年)
			男	女			
研究组	120	47.82 $\pm$ 14.66	77	43	39	56	5.63 $\pm$ 2.12
对照组	120	46.75 $\pm$ 14.32	71	49	35	51	5.31 $\pm$ 1.96
χ^2/t 值		0.572	0.635	0.313	0.422	1.214	
<i>P</i> 值		0.568	0.426	0.576	0.516	0.226	

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集整理两组年龄、吸烟史、酗酒史、合并症、术前 Lund-Mackay 评分、鼻息肉组织或上颌窦窦口黏膜组织中 CTGF 蛋白、Smad4 蛋白表达情况,以及研究组患者鼻息肉数目、鼻中隔偏曲以及术后感染等情况,并采用电话、门诊复查等方式进行随访,随访频率为前 2 个月每 2 周一次,第 3~6 个月每月一次,6 个月后每 3 个月一次,记录鼻内镜手术术后 1 年内复发情况。

1.2.2 免疫组化检测组织中 CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白

术中取鼻息肉组织或上颌窦窦口黏膜组织样本,常规应用甲醛或乙醇等固定剂对组织样本进行固定,脱水,石蜡包埋。微型切片机对包埋好的组织进行切片,将切片常规置于二甲苯中脱蜡,并用梯度酒精进行水化处理,最后用自来水冲洗。使用柠檬酸高压处理 1.5 min 以修复抗原组织结构。免疫组化采用 SP 法和 EnVision 二步法,用 PBS 替代一抗作阴性对照,DAB 显色(CTGF 抗体购自湖北艾普蒂生物工程有限公司,Smad4 抗体

购自 Santa Cruz 公司,SP 试剂盒、DAB 显色盒购自北京中杉金桥生物技术开发公司),高倍显微镜(×400)下观察 CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白的表达情况。均严格按照 SP 试剂盒说明书完成操作。

1.3 评价标准

1.3.1 CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白表达评价标准^[6]

以免疫组化结果中着色强度及阳性细胞比例对鼻息肉组织或上颌窦窦口黏膜组织黏膜上皮细胞细胞质中 CTGF 蛋白和细胞核中 Smad4 蛋白表达情况进行评价,着色强度:无色(0分)、淡黄色(1分)、棕黄色(2分)、褐色或黑色(3分);阳性细胞比例:≤10%(1分)、11%~50%(2分)、51%~75%(3分)、>75%(4分)。总分<3分判定为阴性,3分或以上为阳性。表达等级为“-”:总分<3分,“+”:总分3~5分,“++”:总分6~9分,“+++”:总分>9分。

1.3.2 CRSwNP 术后1年内复发诊断标准^[7]

术后1年内再次出现鼻塞、流脓涕、嗅觉功能减退等临床症状,且持续时间超过1个月,鼻窦 CT 影像 Lund-Mackay 评分较术后明显升高,鼻内镜检查鼻腔和鼻窦可见新生鼻息肉组织、黏膜充血水肿、分泌物增多、窦口狭窄或闭锁等异常表现即可诊断为 CRSwNP 术后复发。

1.4 统计学方法

数据处理应用 SPSS 18.0 统计学软件。计量资料均符合正态分布,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验;离散变量用中位数(上下四分位数) $[M(P_{25}, x_{75})]$ 表示,组间比较采用非参数检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,采用 $\bar{x} \pm s$ 检验或连续校正 χ^2 检验;两组间等级资料比较采用非参数秩和检验;多因素 Logistic 逐步回归分析鼻内镜术后1年内复发的危险因素,绘制 ROC 曲线分析相关危险因素对鼻内镜术后1年内复发的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CTGF 蛋白表达情况比较

研究组鼻息肉组织中 CTGF 蛋白表达程度明显高于对照组($P<0.05$)。见表2。

2.2 两组 Smad4 蛋白表达情况比较

研究组鼻息肉组织中 Smad4 蛋白表达程度明显高于对照组($P<0.05$)。见表3。

表2 两组 CTGF 蛋白表达情况比较 $[n(\%)]$

组别	<i>n</i>	-	+	++	+++
研究组	120	22(18.33)	38(31.67)	50(41.67)	10(8.33)
对照组	120	32(26.67)	54(45.00)	30(25.00)	4(3.33)
Z 值				-3.192	
P 值				0.001	

表3 两组 Smad4 蛋白阳性表达情况比较 $[n(\%)]$

组别	<i>n</i>	-	+	++	+++
研究组	120	32(26.67)	48(40.00)	36(30.00)	4(3.33)
对照组	120	40(33.33)	64(53.33)	16(13.33)	0(0.00)
Z 值				-2.821	
P 值				0.005	

2.3 CRSwNP 患者鼻内镜术后1年内复发情况及单因素分析

研究组120例患者中有114例完成术后1年随访,其中有24例复发,占22.81%。单因素结果显示,术后1年内复发患者合并变异性鼻炎比例、术前 Lund-Mackay 评分、多发鼻息肉比例、EOS 型鼻息肉比例、术后感染比例、术腔黏连比例、CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白表达程度均明显高于无复发患者($P<0.05$)。见表4。

表4 CRSwNP 患者鼻内镜术后1年内复发的单因素分析
 $[(\bar{x} \pm s), M(P_{25}, P_{75})]$

因素	无复发 (<i>n</i> =88)	复发 (<i>n</i> =26)	χ^2/t Z 值	P 值
年龄(岁)	47.35±14.27	49.08±13.64	0.548	0.585
性别				
男	55	19		
女	33	7	0.986	0.321
吸烟史	37	14	1.130	0.288
酗酒史	24	10	1.200	0.273
病程(年)	5.51±2.18	6.04±1.93	1.116	0.267
高血压	41	15	0.990	0.320
糖尿病	28	11	0.981	0.322
合并变异性鼻炎	13	9	5.074	0.024
合并支气管哮喘	15	8	2.347	0.126
术前 Lund-Mackay 评分(分)	7(5, 8.75)	9(7, 10)	-2.573	0.010
鼻息肉数目				
单发	65	12		
多发	23	14	7.030	0.008
EOS 型鼻息肉				
是	26	15	6.904	0.009
否	62	11		
鼻中隔偏曲				
有	18	10	3.512	0.061
无	70	16		
术后感染				
有	4	5	4.104	0.043
无	84	21		
术腔黏连				
有	29	15	5.182	0.023
无	59	11		
CTGF 蛋白表达				
-	18	1		
+	33	4		
++	34	14	-4.022	<0.001
+++	3	7		
Smad4 蛋白表达				
-	26	2		
+	39	7		
++	23	13	-3.920	<0.001
+++	0	4		

2.4 CRSwNP患者鼻内镜术后1年内复发的危险因素

以CRSwNP患者鼻内镜术后1年内有无复发为因变量(0=无复发,1=复发),2.3单因素分析结果中($P<0.05$)的因素为协变量建立 Logistic 回归模型,结果显示,变异性鼻炎、较高术前 Lund-Mackay 评分、EOS 型鼻息肉、CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白高表达是 CRSwNP 患者鼻内镜术后1年内复

发的独立危险因素($P<0.05$)。见表5。

2.5 单一危险因素及联合预测因子 PRE_1 预测鼻内镜术后1年内复发的 ROC 曲线

各危险因素的联合预测因子 PRE_1 预测鼻内镜术后1年内复发的 AUC 达 0.933,明显高于各单一危险因素及变异性鼻炎+术前 Lund-Mackay 评分+EOS 型鼻息肉的常规预测。见表6、图1。

表5 CRSwNP患者鼻内镜术后1年内复发的危险因素的 logistic 回归分析

协变量	赋值	β 值	<i>S.E</i> 值	<i>Wals</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
变异性鼻炎	无=0,有=1	1.624	0.777	4.365	5.074	1.106~23.286	0.037
术前 Lund-Mackay 评分	离散变量	0.573	0.183	9.807	1.774	1.239~2.540	0.002
EOS 型鼻息肉	否=0,是=1	1.870	0.764	5.995	6.490	1.452~29.007	0.014
CTGF 蛋白表达	=-0,+1,++=2,+++3	1.996	0.548	13.265	7.356	2.513~21.528	<0.001
Smad4 蛋白表达	=-0,+1,++=2,+++3	2.229	0.583	14.645	9.295	2.967~29.116	<0.001
常量		-12.334	2.564	23.147	<0.001		<0.001

表6 单一危险因素及联合预测因子 PRE_1 预测鼻内镜术后1年内复发的效能参数

指标	临界值	约登指数	敏感度	特异度	AUC(95% <i>CI</i>)
变异性鼻炎		0.198	0.346	0.852	0.599(0.468~0.730)
术前鼻窦 CT 影像 Lund-Mackay 评分	9	0.249	0.692	0.557	0.665(0.548~0.782)
EOS 型鼻息肉		0.282	0.577	0.705	0.641(0.516~0.765)
CTGF 蛋白表达	++	0.388	0.808	0.580	0.745(0.638~0.852)
Smad4 蛋白表达	++	0.393	0.654	0.739	0.739(0.628~0.850)
变异性鼻炎+术前 Lund-Mackay 评分+EOS 型鼻息肉	0.370	0.556	0.692	0.864	0.793(0.685~0.901)
联合预测因子 PRE_1	0.203	0.726	0.885	0.841	0.933(0.879~0.987)

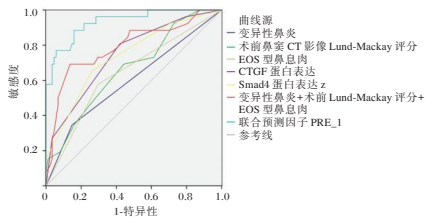


图1 ROC 曲线

3 讨论

CTGF 是一种多功能生长因子,与多种细胞活动相关^[8],可能参与鼻腔黏膜的修复和重塑过程。CRSwNP 患者 CTGF 表达水平可能升高,可能通过促进鼻腔黏膜细胞的增殖和迁移,以及诱导血管生成和炎症反应等方式,参与鼻息肉的形成和发展^[9]。另研究表明^[10],CTGF 的高表达可能与 CRSwNP 鼻内镜手术后复发风险增加有关。本研究显示,与对照组比较,CRSwNP 患者鼻息肉组织中 CTGF 蛋白表达程度明显升高,且是 CRSwNP 患者鼻内镜术后1年内复发的独立危险因素。TGF- β 1/Smad 是参与 CRS 慢性炎症的信号转导通路,Smad4 是 TGF- β 1/Smad 信号传导途径中 TGF- β 1 细胞重要的下游信号产物^[11-12],参与细胞内信号传

导过程。Smad4 参与下的信号转导途径方可刺激 Smad2/Smad3 复合物,实现信号传导从 TGF- β 1 细胞外至细胞内的过程,进而发挥中性粒细胞趋化作用,刺激中性粒细胞等炎症因子的表达和释放,维持和放大炎症反应过程,是 CRS 炎症反应发生发展的主要因素。另外,TGF- β 1 可抑制 T 淋巴细胞生成,诱导 T 细胞辅助型 1/T 细胞辅助型 2(T Helper type 1/T Helper type 2,Th1/Th2)平衡向 Th2 的漂移,促进 T 细胞黏附因子和(或)共刺激因子的表达。本研究结果显示,CRSwNP 患者鼻息肉组织中 Smad4 蛋白表达程度明显高于 CRSsNP 的对照组,且也是 CRSwNP 患者鼻内镜术后1年内复发的独立危险因素。表明 CRSwNP 鼻息肉组织中 CTGF 蛋白、Smad4 蛋白过表达可能通过影响鼻腔黏膜细胞增殖、分化、凋亡和迁移的正常生理过程,从而增加鼻息肉复发的风险。

本研究进一步绘制 ROC 曲线分析各危险因素对 CRSwNP 患者鼻内镜术后1年内复发的早期预测价值,结果显示,单一危险因素中仅鼻息肉组织中 CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白表达具有一定的预测价值,常规的危险因素变异性鼻炎、较高术前

Lund-Mackay 评分、EOS 型鼻息肉联合预测的 AUC 达 0.793,但其灵敏度仍较低(0.692),而基于鼻息肉组织中 CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白表达情况建立的联合预测模型对复发预测的 AUC 达 0.933,且灵敏度、特异度分别达到 0.885、0.841,表明本研究基于鼻息肉组织中 CTGF 蛋白和 Smad4 蛋白表达情况及其他危险因素建立的联合预测模型对 CRSwNP 鼻内镜术后 1 年内复发具有良好的早期预测价值,且更适合临床早期筛查及指导预防性随访。

综上所述,CRSwNP 患者鼻息肉组织中 CTGF 蛋白及 Smad4 蛋白呈高表达,且均会显著增加 CRSwNP 患者鼻内镜术后 1 年内复发风险,基于此建立的多因素 Logistic 回归预测模型对复发具有很好的临床预测价值,能为 CRSwNP 术后复发的早期临床预防及指导治疗提供参考。

参考文献

- [1] 胡情,苏嘉琪,楼金成,等.针刺对穴“迎香-合谷”对变应性鼻炎大鼠 Th1、Th2 细胞因子及转录因子 T-bet/GATA-3 的影响[J].海南医学院学报, 2023, 29(15):1135-1143.
- [2] 朱谦,马婕,石崧.鼻内镜手术联合糖皮质激素浸润对慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者远期疗效及鼻功能的影响[J].贵州医药, 2023, 47(2):213-214.
- [3] 申征征. GSK-3 β 与 TGF- β 1/Smad 信号通路在慢性鼻窦炎伴息肉发病机制中的初步探讨[D]. 石家庄:河北医科大学, 2017.
- [4] 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,昆明)[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2013, 48(2):92-94.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.上-下气道慢性炎症性疾病联合诊疗与管理专家共识[J].中华医学杂志, 2017, 97(26):2001-2022.
- [6] 王文勇,黄晓峰,王映梅,等.免疫组化技术标准化的探讨[J].细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(8):927-929.
- [7] 李文杰,王亮,马庆林. EOS、IL-5、IL-5R α 及鼻窦 CT 评分预测 CRSwNP 患者术后复发的可行性[J].分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(5):813-816+821.
- [8] 杨花荣,陈影影,高英,等.慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉鼻内镜术后复发调查及危险因素分析[J].陕西医学杂志, 2023, 52(2):184-187.
- [9] 王彤,臧洪瑞,李云川,等. Smad 信号通路在慢性鼻-鼻窦炎伴鼻息肉和不伴鼻息肉的黏膜上皮修复机制中的作用[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 33(1):9-13.
- [10] Lai Y, Zhang P, Wang H, et al. Serum and glucocorticoid-regulated kinase 1 regulates transforming growth factor β 1-connective tissue growth factor pathway in chronic rhinosinusitis[J]. Clin Immunol, 2022(234):108895.
- [11] 王美玲,陈达鑫,贾沛芝,等.基于 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路研究莲心碱对高血压小鼠肾间质纤维化的保护作用[J].福建中医药, 2023, 54(8):50-53.
- [12] 张慧,葛海波.三子养亲汤调控 TGF- β 1/Smad2/3 信号通路抑制哮喘模型小鼠气道上皮间质转化的作用机制研究[J].江苏中医药, 2023, 55(10):68-73.
- [3] Chen Y, Chen Y, Liu P, et al. Risk factors and mortality for elderly patients with bloodstream infection of carbapenem resistance *Klebsiella pneumoniae*: a 10-year longitudinal study[J]. BMC Geriatr, 2022, 22(1):573-581.
- [4] 叶蕊,石丽媛,王鹏,等.脉冲场凝胶电泳技术简介及其在细菌分子分型中的应用[J].中国媒介生物学及控制杂志, 2013, 24(2):182-185.
- [5] Diancourt L, Passet V, Verhoef J, et al. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(8):4178-4182.
- [6] Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 32th ed[S]. CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2022, M100-S32.
- [7] Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, et al. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(2):321-322.
- [8] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2021 年 CHINET 中国细菌耐药监测[J].中国感染与化疗杂志, 2022, 22(5):521-530.
- [9] 全国细菌耐药监测网 2014-2019 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌流行病学变迁[J].中国感染控制杂志, 2021, 20(2):175-179.
- [10] 闫力煜,黎毅敏.重症监护病房中耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌感染相关危险因素的研究[J].中国现代医学杂志, 2022, 32(7):89-94.
- [11] Mathers A. Mobilization of Carbapenemase-Mediated Resistance in Enterobacteriaceae[J]. Microbiol Spectr, 2016, 4(3):330-339.
- [12] 杨程茹,王英,李莹,等.重症监护病房耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌分子流行病学研究[J].中国感染控制杂志, 2022, 21(3):209-216.
- [13] 许光辉,俞柳敏,陈淑娟,等.膜孔蛋白基因表达与耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药性关系的研究[J].检验医学与临床, 2018, 15(16):2405-2408+2411.
- [14] Cheng L, Cao XL, Zhang ZF, et al. Clonal dissemination of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 clone with high prevalence of oqxAB and rmtB in a tertiary hospital in China: results from a 3-year period[J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2016, 15:1-8.
- [15] Tóth A, Damjanova I, Puskás E, et al. Emergence of a colistin-resistant KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST258 clone in Hungary[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010, 29:765-769.
- [16] Liu H, Wilksch J, Li B, et al. Emergence of ST39 and ST656 extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Wenzhou, China[J]. Indian J Med Microbiol, 2017, 35(1):145-146.

(上接第 403 页)

·论 著·

肛周脓肿患者病原菌分布特征及其与MMP-2、IL-10及CRP的关系

许云霞¹ 裴晓璐² 范亚楠¹ 刘子号¹ 孙腾月¹ 吴承东¹ 李宇栋^{1*}

【摘要】目的 分析肛周脓肿患者病原菌分布特征及其与血清基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、白细胞介素-10(IL-10)、C反应蛋白(CRP)水平的相关性。**方法** 回顾性分析2022年5月至2024年2月首都医科大学附属北京中医医院收治的101例肛周脓肿患者,记录病原菌检测分布特点;分析肛周脓肿患者、不同单一病原菌感染患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性检测结果;分析不同期肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况。**结果** 101份标本中有97份标本培养出细菌,阳性率为97.04%(97/101),共分离出103株细菌;97份标本中有3份标本各培养出3种细菌,混合感染率为3.09%,其余94份标本均为单一感染。肛周脓肿患者血清CRP检出阳性率76.23%(77/101)均高于MMP-282.18%(83/101)、IL-1084.15%(85/101)检出阳性率,但差异无统计学意义($\chi^2=0.343, P>0.05$)。94份单一感染样本中检出94株病原菌,其中血清MMP-2、IL-10、CRP三项指标分别在肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌及其他细菌感染患者中的检出阳性情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。血清MMP-2、IL-10、CRP三项指标分别在瘻管形成期、脓肿形成中期、急性炎症期中的检出阳性情况比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 肛周脓肿患者主要病原菌以革兰阴性菌为主,可通过监测血清MMP-2、IL-10、CRP水平变化,为临床制定肛周脓肿患者治疗方案提供参考资料。

【关键词】 肛周脓肿;病原菌分布;MMP-2;IL-10;CRP

Distribution characteristics of pathogenic bacteria in patients with perianal abscess and their relationship with MMP-2, IL-10 and CRP

XU Yunxia¹, PEI Xiaolu², FAN Yanan¹, LIU Zihao¹, SUN Tengyue¹, WU Chengdong¹, LI Yudong^{1*}

(1. Department of Coloproctology, 2. Quality Control Team, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing, China, 100010)

【ABSTRACT】Objective To analyze the distribution characteristics of pathogens in patients with perianal abscess and their correlation with serum matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), interleukin-10 (IL-10), and C-reactive protein (CRP) levels. **Methods** A retrospective analysis was performed on 101 patients with perianal abscess who were admitted to Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University from May 2022 to February 2024. The distribution characteristics of pathogenic bacteria were recorded. The positive detection results of serum MMP-2, IL-10, and CRP in patients with perianal abscess, as well as in patients with different single pathogen infection were also analyzed. The positive levels of MMP-2, IL-10, and CRP in serum of patients with perianal abscess were examined. **Results** Bacteria were cultured in 97 out of 101 samples, resulting in a positive rate of 97.04% (97/101), with 103 strains of bacteria isolated. Among the 97 samples, 3 showed growth of 3 different bacteria, indicating a mixed infection rate of 3.09%, while the remaining 94 samples had single infections. The positive rate of CRP in patients with perianal abscess was

基金项目: 中华中医药学会雏鹰计划中医临床青年人才研修项目(CYJH2024024); 中华中医药学会青年人才托举工程项目(CACM-2022-QNRC2-A03); 北京市医院管理中心创新梦工场经费(202122)

作者单位: 1. 首都医科大学附属北京中医医院肛肠科, 北京 100010

2. 首都医科大学附属北京中医医院质控小组, 北京 100010

*通信作者: 李宇栋, E-mail: bjzygcqwh@163.com

76.23% (77/101), higher than that of MMP-2 at 82.18% (83/101) and IL-10 at 84.15% (85/101), though the difference was not statistically significant ($\chi^2=0.343$, $P>0.05$). In the 94 single infection samples, 94 strains of pathogenic bacteria were detected. There was no significant difference in the positive detection of serum MMP-2, IL-10, and CRP in patients with *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and other bacterial infections ($P>0.05$). When comparing the positive rates of serum MMP-2, IL-10, and CRP in the fistula formation stage, abscess formation stage, and acute inflammation stage, the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The main pathogenic bacteria in patients with perianal abscess are gram-negative bacteria. Monitoring changes of serum MMP-2, IL-10, and CRP levels can provide valuable references for the clinical treatment of patients with perianal abscess.

[KEY WORDS] Perianal abscess; Distribution of pathogens; MMP-2; IL-10; CRP

肛周脓肿是指肛管直肠毗邻软组织或其间隙内的一种急性、局限性的化脓性炎症病变。流行病学显示^[1],肛周脓肿可发生于任何年龄阶段,且20~60岁为高发年龄。临床发现^[2],肛周脓肿病原菌由需氧菌与厌氧菌所构成,包括脆弱拟杆菌、大肠埃希菌等。基质金属蛋白酶-2(Matrix Metalloproteinase 2, MMP-2)、白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)、C反应蛋白(C-Reactive Protein, CRP)均为常见的炎症细胞因子,在炎症过程中, MMP-2 过度分泌和激活可降解细胞外基质,破坏基膜,使炎症细胞进一步浸润到更深层次的组织中,加剧炎症反应^[3]。IL-10 可促进趋化因子的产生,吸引单核细胞和中性粒细胞迅速增多;刺激炎症因子释放,诱导细胞间粘附分子表达,进一步促进炎症反应。现有研究指出^[4],病原菌感染可能引发机体炎症反应,具体表现为促使机体产生一系列炎症细胞因子,从而导致炎症反应发生和发展。本研究旨在研究肛周脓肿患者病原菌分布特征及其与血清 MMP-2、IL-10、CRP 水平的相关性,以期为临床诊断、治疗提供更为精准的依据和靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析 2022 年 5 月至 2024 年 2 月首都医科大学附属北京中医医院收治的肛周脓肿患者 123 例为研究对象,纳入标准:①符合《肛周脓肿临床诊治中国专家共识》标准^[5];②临床资料无缺乏;③可正常言语交流;④无手术禁忌症;排除标准:①存在可能干扰研究结果的合并疾病患者,包括但不限于消化道炎症疾患、肛周皮肤病损及各类肿瘤状态;②存在重度全身性疾病;③由于外部创伤所诱发的肛周区域脓肿形成者。根据纳入、

排除标准剔除 22 例病例,最终纳入 101 例病例,其中男、女:61、40 例,年龄 17~72 岁,平均年龄(42.39±15.09)岁,其中急性炎症期 56 例、脓肿形成中期 15 例、瘘管形成期 30 例。本研究经医院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与病原菌培养流程

术前对肛周脓肿组患者进行全面常规检查与筛查,入院次日手术。手术采用蛛网膜下腔阻滞麻醉,患者取截石位,对会阴部及肛门外周皮肤消毒。根据病情行切开引流结合脓腔清创术,用无菌注射器抽取约 3 mL 脓液分泌物,标本送实验室,利用 AUTOMA 全自动微生物分析鉴定系统(深圳莱奥拓科技有限公司)进行鉴定分析。

1.2.2 实验室指标检测

抽取所有患者入院当天空腹静脉血 8 mL,静置 1 h 后行离心(3 500 r/min,离心半径 10 cm,15 min),离心完成后留取上清液,采用酶联免疫吸附测定法测定血清 MMP-2、IL-10、CRP 水平,试剂盒均来自武汉菲恩生物科技有限公司。MMP-2 水平判断标准:阴性(-):<100 $\mu\text{g/L}$;弱阳性反应(+):101~121 $\mu\text{g/L}$;中度阳性(++):122~132 $\mu\text{g/L}$;强阳性(+++):>132 $\mu\text{g/L}$ ^[6]。IL-10 水平判断标准:阴性(-):<10 pg/mL;弱阳性反应(+):11~20 pg/mL;中度阳性(++):21~50 pg/mL;强阳性(+++):>50 pg/mL^[7]。CRP 水平判断标准:阴性(-):<10 mg/L;弱阳性反应(+):11~50 mg/L;中度阳性(++):51~100 mg/L;强阳性(+++):>100 mg/L^[8]。所有实验数据经双重验证,由两位经验丰富的检验专家独立检测并讨论比对,得出一致结论。总阳性率=弱阳性反应率+中度阳性率+强阳性率。

1.3 观察指标

①记录病原菌检测分布特点。②分析肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP检测结果。③分析不同单一病原菌感染患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况。④分析不同期肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况。

1.4 统计学方法

应用SPSS 21.0统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数(%)表示,比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病原菌检测分布特点

101份标本中有97份标本培养出细菌,阳性率为97.04%(97/101),共分离出103株细菌;另有4份未培养出细菌。97份标本中有3份标本各培养出3种细菌,混合感染率为3.09%,其余94份标本均为单一感染。见表1。

表1 病原菌检测分布特点 [n(%)]

病原菌	株数
革兰阴性菌	74(71.84)
肺炎克雷伯菌	18(17.48)
大肠埃希菌	44(42.72)
奇异变形杆菌	6(6.12)
鲍曼不动杆菌	2(2.04)
铜绿假单胞菌	2(2.04)
阴沟肠杆菌	2(2.04)
革兰阳性菌	25(23.47)
金黄色葡萄球菌	8(7.77)
草绿色链球菌	9(8.74)
咽峡炎链球菌	4(4.08)
表皮葡萄球菌	2(2.04)
粪肠球菌	2(2.04)
真菌	4(4.08)
白假丝酵母	4(4.08)
合计	103(100.00)

2.2 肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP检测结果

肛周脓肿患者血清MMP-2检出阳性率为82.18%(83/101),IL-10检出阳性率为76.23%(77/101),CRP检出阳性率为84.15%(85/101),血清CRP

检出阳性率均高于MMP-2、IL-10检出阳性率,但差异无统计学意义($\chi^2=0.343, P>0.05$)。见表2。

2.3 不同单一病原菌感染患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况

94份单一感染样本中检出94株病原菌,其中血清MMP-2、IL-10、CRP三项指标分别在肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌及其他细菌感染患者中的检出阳性情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 不同单一病原菌感染患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况

病原菌	MMP-2		IL-10		CRP	
	-	+	-	+	-	+
肺炎克雷伯菌	18	15	16	13	15	17
大肠埃希菌	4	5	7	6	10	7
其他细菌	6	5	8	6	6	7
χ^2 值	0.305		0.030		0.731	
P 值	0.858		0.984		0.693	

2.4 不同期肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况

血清MMP-2、IL-10、CRP三项指标分别在瘻管形成期、脓肿形成中期、急性炎症期中的检出阳性情况比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 不同期肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP阳性情况

组别	n	MMP-2		IL-10		CRP	
		-	+	-	+	-	+
急性炎症期	56	9	20	12	19	15	9
脓肿形成中期	15	6	27	7	25	10	14
瘻管形成期	30	3	36	5	33	6	18
χ^2 值		6.192		6.245		6.911	
P 值		0.045		0.044		0.031	

3 讨论

研究肛周脓肿患者的病原菌分布特征,对于提高临床诊断的准确性和指导治疗策略具有重要意义^[9]。本研究中,成功从97份标本中培养出细菌,阳性检出率高达97.04%,表明细菌培养在肛周脓肿病原诊断中的有效性。然而,仍有4份标本未能成功分离培养出细菌,这可能与标

表2 肛周脓肿患者血清MMP-2、IL-10、CRP检测结果 [n(%)]

组别	MMP-2					IL-10					CRP				
	-	+	++	+++	阳性率	-	+	++	+++	阳性率	-	+	++	+++	阳性率
肛周脓肿 ($n=101$)	18 (17.82)	17 (17.35)	27 (26.73)	39 (38.61)	83 (82.18)	24 (23.76)	16 (15.84)	26 (25.74)	35 (34.65)	77 (76.23)	16 (15.84)	17 (17.35)	28 (27.72)	40 (39.60)	85 (84.15)

本采集时细菌载量偏低或实验室培养技术的局限性有关。

肛周脓肿起源于细菌感染,细菌侵袭后触发强烈炎症反应,急性期特征性表现为局肛门疼痛、红肿,若病情未及时干预,可进展为肛瘘^[10]。研究表明^[11],细菌感染是引发肛周脓肿的根本原因,而炎症反应是机体感染重要生理反应。本研究结果显示,血清 CRP 检出阳性率均高于 MMP-2、IL-10 检出阳性率。CRP 作为急性时相反应蛋白,其升高见于各种急慢性感染、组织损伤等情况。既往研究已证实^[12],肛周脓肿作为一种急性化脓性感染,会导致血清 CRP 水平升高,进一步提示 CRP 在评估肛周脓肿感染中的重要性。然而,在肛周脓肿发病过程中,MMP-2 表达可能受到炎症反应强度等因素调控,IL-10 表达受到免疫系统复杂调控,故 MMP-2、IL-10 检出阳性率较低。

关于肛周脓肿病原菌分布与 MMP-2 水平直接相关性的研究尚不充分。基于生物学理论和过往研究,本研究推测不同病原菌致病性、侵袭力及免疫逃逸能力差异,可能诱导不同程度炎症反应,进而影响 MMP-2、CRP 及 IL-10 等炎症调节因子表达^[13]。研究结果显示,肛周脓肿主要由革兰阴性菌引发,其构成比例在不同阶段相对稳定,而革兰阳性菌和真菌的检出率较低且无显著差异,提示多菌种间的协同或竞争作用。病原菌感染肛周组织时,会触发免疫反应,导致炎症细胞浸润和介质释放,上述介质不仅参与病原菌清除,还通过复杂信号通路调控其他炎症因子。血清中 MMP-2、IL-10、CRP 的阳性率随病情发展而变化,反映了炎症反应的动态过程。其中,MMP-2 升高表明炎症反应加剧和组织损伤增加,特别是在瘘管形成期,其高表达促进基质降解和脓肿扩散,与动物模型研究结果相符^[14]。IL-10 变化体现机体对炎症的负反馈调节,急性炎症期高表达可能抑制过度反应,瘘管形成期低表达则与免疫失衡相关^[15]。CRP 持续升高表明炎症反应活跃。基于此,可初步认为 MMP-2、IL-10、CRP 水平变化与肛周脓肿病情和免疫状态密切相关,可能与病原菌特性差异、机体免疫反应复杂性和脓肿阶段病理生理变化等因素有关。

综上所述,肛周脓肿患者主要病原菌以革兰阴性菌为主,可通过监测血清 MMP-2、IL-10、CRP 水平变化,为临床制定肛周脓肿患者治疗方案提供参考资料。

参考文献

- [1] 郑娟. 个性化护理对肛周脓肿患者术后创面愈合的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2023, 20(6):85-87.
- [2] Paredes C, Reed K, Brant MJM. Perianal Injury Prevention in Patients With Leukemia[J]. Clin J Oncol Nurs, 2024, 28(2): 149-156.
- [3] 杨云洪,尹朝晖,张汝一,等. 三氧化二砷对体外人小肠癌 HIC 细胞增殖的作用和机制[J]. 贵州医科大学学报, 2021, 46(2):179-184.
- [4] 范克锋,郭娜,于涛德,等. 糖尿病肛周脓肿患者血清 TGF- β , MMP-2, IL-17A, ACTA, CRP 在 VSD 治疗前后变化及其意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(21): 2330-2334.
- [5] 中国医师协会肛肠医师分会指南工作委员会. 肛周脓肿临床诊治中国专家共识[J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(4): 456-457.
- [6] 陈俊,李军烽,郑乐. 脑胶质瘤组织中苹果酸酶 2、MMP-2 的阳性表达及其临床意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(9):1726-1728.
- [7] 胡珊博,杨婧,于超平,等. IL-6、IL-1 β 和 IL-10 在外周血的水平可作为早期鉴别革兰阳性与革兰阴性脓毒症的指标[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(6):532-537.
- [8] 黄伟东,魏继鹏,李健标. 血清 MMP-9, Lp-PLA2, CRP 水平对急性缺血性脑卒中介入治疗预后的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(4):635-638.
- [9] 王忠杰,阙蜜,袁喆,等. 呼吸重症监护室患者感染耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌和死亡危险因素分析[J]. 西南医科大学学报, 2024, 47(2):147-151.
- [10] 李英,曹科峰. 肛周脓肿和肛瘘患者的病原菌分布及其与血清 MMP-2、IL-17A 水平的相关性[J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(5):569-572+576.
- [11] 邓德凤,徐军茹. 支气管肺泡灌洗术联合谷氨酰胺治疗对难治性肺炎支原体肺炎患儿支气管黏膜和胃肠功能的影响[J]. 感染、炎症、修复, 2022, 23(3):154-157.
- [12] 罗媚,杜信眉,周学东. 基质金属蛋白酶与骨关节炎发生发展关系的研究进展[J]. 四川大学学报(医学版), 2023, 54(1):77-82.
- [13] 李鸣远,孟岩,武云. HMGB1 中和抗体抑制细胞焦亡改善系统性红斑狼疮小鼠肺损伤的机制研究[J]. 医学分子生物学杂志, 2024, 21(1):39-44.
- [14] 王萌,顾兆伟,曹志伟. 小鼠变应性鼻炎发生、发展过程中 MMP2 和 MMP9 mRNA 的表达[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(9):1982-1988.
- [15] 张天月,龚英,季敏,等. 白细胞介素 10 及其受体基因突变所致极早期炎症肠病的临床及影像表现[J]. 放射学实践, 2020, 35(4):547-551.

·论 著·

补体 C3、C4 和 T 淋巴细胞亚群表达水平与 ARDS 患者病情及预后的相关性

徐秋燕^{1,2} 张向东² 邓医宇^{1*}

【摘要】目的 探讨补体 C3、C4 和 T 淋巴细胞亚群表达水平与急性呼吸窘迫综合征(ARDS)患者病情及预后的相关性。**方法** 选取湛江中心人民医院重症医学科 2022 年 5 月 1 日至 2024 年 4 月 30 日收治的 120 例 ARDS 患者进行分析。根据氧合指数将其分为轻度组($n=43$)、中度组($n=46$)和重度组($n=31$),比较三组补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+ 和氧合指数,并采用 Pearson 相关性分析探讨补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 与氧合指数(OI)的关系。并根据入院 28d 的预后情况,分为预后良好组($n=85$)和预后不良组($n=35$),采用单因素和多因素 logistic 回归分析影响 ARDS 预后的相关影响因素,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评估补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 检测对 ARDS 预后的预测价值。**结果** 轻度组、中度组、重度组患者的补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 和氧合指数比较:轻度组>中度组>重度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson 相关性分析,氧合指数与补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 呈正相关($P<0.05$)。单因素分析结果显示氧合指数、APACHE II、SOFA 评分、补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 为 ARDS 预后的相关影响因素($P<0.05$);多因素 logistic 回归分析显示氧合指数、补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 降低,APACHE II 和 SOFA 评分升高为 ARDS 预后不良的危险因素($P<0.05$)。ROC 结果显示,补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 及四者联合检测对 ARDS 预后的 AUC 分别为 0.795、0.748、0.854、0.873 和 0.944(均 $P<0.05$)。**结论** 补体 C3、C4 和 T 淋巴细胞亚群与 ARDS 患者的病情密切相关,且对 ARDS 患者预后均具有较高的预测价值。

【关键词】 补体 C3; 补体 C4; T 淋巴细胞亚群; 急性呼吸窘迫综合征

The study on the correlation between the expression levels of complement C3, C4, and T lymphocyte subsets with the severity and prognosis of ARDS patients

XU Qiuyan^{1,2}, ZHANG Xiangdong², DENG Yiyu^{1*}

(1. Department of Critical Care Medicine, Guangdong Provincial People's Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510080; 2. Department of Critical Care Medicine, Zhanjiang Central People's Hospital, Zhanjiang, Guangdong, China, 524033)

【ABSTRACT】Objective To explore the correlation between the expression levels of complement C3, C4 and T lymphocyte subsets and the severity and prognosis of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** A total of 120 ARDS patients admitted to the Department of Intensive Care Medicine of Zhanjiang Central People's Hospital from May 1, 2022 to April 30, 2024 were selected for analysis. According to the oxygenation index (OI), the patients were divided into mild group ($n=43$), moderate group ($n=46$) and severe group ($n=31$). The expression levels of complement C3 and C4, CD3+ percentage, CD4+/CD8+ and OI of the three groups were compared. Pearson correlation analysis was performed to investigate the relationship between C3, C4, CD3+, CD4+/CD8+ and OI. Based on the prognosis at 28 days post-admission, the patients were divided into a good prognosis group ($n=85$) and a poor prognosis group ($n=35$). Univariate and multivariate logistic regression were used to analyze the relevant factors affecting the prognosis of ARDS. Receiver operating characteristic (ROC) curves were drawn to evaluate the predictive value of complement C3, C4, CD3+

基金项目:广东省医学科研基金项目(B2024214)

作者单位:1. 南方医科大学附属广东省人民医院重症医学科,广东,广州 510080

2. 湛江中心人民医院重症医学科,广东,湛江 524033

*通信作者:邓医宇, E-mail: yiyudeng666@163.com

and CD4+/CD8+ ratio measurements for the prognosis of ARDS. **Results** There were statistically significant differences in complement C3, C4, CD3+, CD4+/CD8+ ratio and oxygenation index among the mild group, moderate group and severe group, with the mild group > moderate group > severe group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that oxygenation index was positively correlated with complement C3, C4, CD3+, CD4+/CD8+ ratio ($P<0.05$). Univariate analysis showed that oxygenation index, APACHE II score, SOFA score, complement C3, C4, CD3+, and CD4+/CD8+ ratio were associated with the prognosis of ARDS ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that a decreased oxygenation index, complement C3, C4, CD3+ and CD4+/CD8+ ratio, increased APACHE II score and SOFA scores were risk factors for poor prognosis of ARDS ($P<0.05$). The results of ROC showed that the AUCs of complement C3, C4, CD3+, CD4+/CD8+ ratio and their combination for predicting ARDS prognosis were 0.795, 0.748, 0.854, 0.873 and 0.944, respectively (all $P<0.05$). **Conclusion** Complement C3, C4 and T lymphocyte subsets are closely related to the condition of ARDS patients, and have high predictive value for the prognosis of ARDS patients

[KEY WORDS] Complement C3; Complement C4; T lymphocyte subsets; Acute respiratory distress syndrome

急性呼吸窘迫综合征(Acute respiratory distress syndrome, ARDS)是一种以肺泡毛细血管通透性增高引起的低氧血症和双侧肺水肿为特征性疾病,其死亡率约为30%~40%^[1]。目前,ARDS的发病机制尚未完全明确,临床普遍认为与肺部感染、全身炎症反应等因素有关。尽管对该病的认识和治疗,已有了一定进展,但目前仍缺乏有效的手段来显著降低病死率。张冬梅等^[2]发现,CD14+CD277+单核-巨噬细胞、T细胞上PD-1水平与ARDS患儿的预后密切相关,其水平越高,预后越差。其次,也有研究表明^[3],补体系统的过度激活在新型冠状病毒感染合并ARDS的发病机制中发挥着重要作用。此外,免疫功能紊乱参与了ARDS的发生和发展,其中T淋巴细胞作为机体重要的免疫细胞,参与了机体的免疫调节^[4],然而关于补体C3、C4和T淋巴细胞亚群表达水平与ARDS患者病情及预后的之间的关系尚不明确,因此本研究旨在探讨这一问题,报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

对湛江中心人民医院重症医学科2022年5月1日至2024年4月30日收治的120例ARDS患者进行分析,根据氧合指数(Oxygenation index, OI)^[5]将其分为轻度组($n=43$)、中度组($n=46$)和重度组($n=31$)。纳入标准:①经临床诊断为ARDS,且使用呼吸机时呼气末正压 ≥ 5 cm H₂O,其中,重度:OI ≤ 100 mmHg,中度:100 mmHg<OI ≤ 200 mmHg,轻度:200 mmHg<OI ≤ 300 mmHg;②年龄范围在18~85岁;③认知功能正常者。排除标准:①妊娠期或哺乳期妇女;②合并自身免疫性疾病史患者;③存在哮喘、

肺纤维化等慢性肺部疾病患者。其中,轻度组男23例,女20例,年龄(53.30 ± 3.17)岁;中度组男25例,女21例,年龄(51.96 ± 2.95)岁;重度组男16例,女15例,年龄(53.23 ± 3.73)岁。三组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已通过院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署《知情同意书》。

1.2 资料收集

收集所有患者性别、年龄、吸烟史、伴有高血压人数、呼吸频率、呼吸机使用时间、住院时间、急性生理学与慢性健康状况评估II(Acute physiology and chronic health evaluation scoring system, APACHE II)评分^[6]、连续器官功能衰竭(Sequential organ failure assessment scale, SOFA)^[7]评分、血尿素氮、血肌酐水平、淋巴细胞比值信息。根据患者入院28 d的死亡情况,分为预后良好组($n=85$)和预后不良组($n=35$)。

1.3 补体C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+的检测方法

抽取患者空腹静脉血3 mL,离心10 min(3 500 r/min,离心半径为8.5 cm)后收集上层血清溶液,采用全自动特定蛋白仪检测补体C3、C4表达量。并采用流式细胞仪检测CD3+、CD4+、CD8+淋巴细胞比例,并计算CD4+/CD8+值。

1.4 统计学方法

使用SPSS 21.0进行数据处理,计量资料正态分布用($\bar{x}\pm s$)表示,两组比较用 t 检验,多组比较用 F 检验及SNK- q 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;进行Pearson相关性分析;用Logistic回归分析补体C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+与ARDS预后关系,绘制ROC曲线,计算AUC、敏感度、特异度, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+和OI比较

三组补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+ 和 OI 比较结果:轻度组>中度组>重度组,

差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+和OI的关系

Pearson 相关性分析结果显示,OI 与补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+ 呈正相关($r=0.502、0.751、0.426、0.503,P<0.05$)。

表 1 三组补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+ 和 OI 的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	补体 C3(g/L)	补体 C4(g/L)	CD3+(%)	CD4+/CD8+	OI(mmHg)
轻度组	43	0.69±0.14	0.22±0.05	60.15±9.55	1.47±0.34	228.34±19.03
中度组	46	0.65±0.13	0.19±0.05 ^a	58.52±8.55	1.45±0.29	172.00±24.39 ^a
重度组	31	0.55±0.11 ^{ab}	0.17±0.03 ^{ab}	50.04±6.32 ^{ab}	1.09±0.13 ^{ab}	69.38±17.44 ^{ab}
F 值		10.906	11.331	14.302	20.151	524.460
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

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

2.3 单因素分析 ARDS 患者不良预后的影响因素

两组的 SOFA 评分、APACHE II 评分、OI、补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+ 水、呼吸机使用时间比较差异具有统计学意义(P 均<0.05)。见表 2。

2.4 影响 ARDS 预后的多因素分析

多因素 logistic 回归分析显示补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+、OI 降低,APACHE II 评分升高为 ARDS 预后不良的危险因素($P<0.05$)。见表 3。

2.5 补体 C3 和 C4、CD3+、CD4+/CD8+ 单独或联合对 ARDS 预后的 ROC 曲线分析

ROC 结果显示,补体 C3 和 C4 表达量、CD3+ 占比、CD4+/CD8+ 及两者联合检测对 ARDS 不良预后的曲线下面积(AUC)分别为 0.795、0.748、0.854、0.873 和 0.944,敏感度和特异度分别为 0.765、0.659、0.847、0.871、0.918 和 0.629、0.686、0.686、0.857,且联合检测预测价值最佳(P 均<0.05)。见表 4、图 1。

3 讨论

ARDS 的病情较为严重,且发展较为迅速,具有较高的死亡率,已经成为我国重大的公共卫生难题^[8]。徐震等^[9]发现,中性粒细胞/淋巴细胞、白

表 2 单因素分析 ARDS 患者不良预后的影响因素
[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]

项目	预后良好组 (n=85)	预后不良组 (n=35)	χ^2/t 值	P 值
性别			0.007	0.933
男	42(49.41)	17(48.57)		
女	43(50.59)	18(51.43)		
吸烟史			0.596	0.440
有	20(23.53)	6(17.14)		
无	65(76.47)	29(82.86)		
合并高血压			0.168	0.682
有	35(41.18)	13(37.14)		
无	50(58.82)	22(62.86)		
住院时间(d)	10.23±1.23	10.58±1.51	1.323	0.188
呼吸机使用时间(d)	7.85±1.62	9.90±1.73	6.177	<0.001
年龄(岁)	52.16±3.05	53.02±3.75	1.311	0.193
呼吸频率(次/分)	27.01±3.98	27.65±4.56	0.767	0.445
OI(mmHg)	203.62±30.05	73.53±20.19	23.492	<0.001
APACHE II 评分(分)	21.65±5.02	26.72±6.03	4.736	<0.001
SOFA 评分(分)	10.23±0.86	12.06±1.10	9.740	<0.001
血肌酐($\mu\text{mol/L}$)	88.65±3.12	89.12±3.20	0.745	0.458
血尿素氮(mmol/L)	7.63±1.02	7.92±1.33	1.291	0.199
淋巴细胞比值	22.30±1.33	22.36±1.39	0.222	0.825
补体 C3(g/L)	0.68±0.13	0.55±0.11	5.196	<0.001
补体 C4(g/L)	0.21±0.05	0.17±0.03	4.411	0.001
CD3+(%)	60.12±8.31	49.11±6.98	6.896	<0.001
CD4+/CD8+	1.48±0.32	1.10±0.12	6.817	<0.001

细胞介素-6 和淋巴细胞亚群为病毒性肺炎合并 ARDS 预后的危险因素,且与病情严重程度密切相关。

表 3 影响 ARDS 预后的多因素分析

因素	赋值	β 值	S·E 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
OI	连续变量	-2.109	1.017	4.300	0.121	0.017~0.891	0.038
APACHE II 评分	连续变量	0.856	0.273	9.832	2.354	1.379~4.019	0.002
补体 C3	连续变量	-2.067	0.196	111.216	0.127	0.086~0.186	<0.001
补体 C4	连续变量	-2.071	0.685	9.141	0.126	0.033~0.483	0.002
CD3+	连续变量	-0.720	0.327	4.848	0.487	0.256~0.924	0.028
CD4+/CD8+	连续变量	-1.769	0.387	20.895	0.171	0.080~0.364	<0.001

表4 补体C3和C4表达量、CD3+占比、CD4+/CD8+单独或联合对ARDS预后的预测效能

项目	AUC	截断值	95% CI	敏感度	特异度	P值
补体C3表达量	0.795	0.585	0.711~0.879	0.765	0.629	0.000
补体C4表达量	0.748	0.185	0.664~0.833	0.659	0.686	0.000
CD3+占比	0.854	53.575	0.787~0.921	0.847	0.686	0.000
CD4+/CD8+(%)	0.873	1.145	0.812~0.935	0.871	0.686	0.000
四者联合	0.944		0.902~0.986	0.918	0.857	0.000

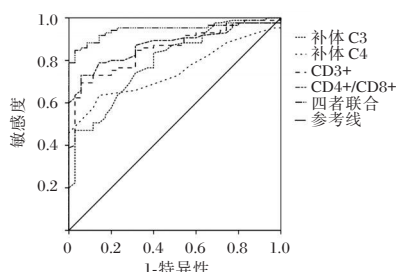


图1 ROC曲线图

本研究 Pearson 相关性分析发现, OI 与补体 C3 和 C4 表达水平、CD3+ 细胞占比、CD4+/CD8+ 呈正相关, 提示补体 C3、C4 和 T 淋巴细胞亚群与 ARDS 患者的病情密切相关。当机体发生感染时, 免疫功能有时会出现异常, 通常表现为辅助性 T 细胞下降和细胞毒性 T 细胞增多。首先, CD3+ 是 T 淋巴细胞表面的一类重要抗原, 可分为 CD4+ 和 CD8+ 等, CD4+ 代表辅助性 T 淋巴细胞, 可增强细胞和体液免疫; CD8+ 代表细胞毒性 T 淋巴细胞, 可引起免疫失衡^[10]。其次, 补体 C3、C4 是补体系统的重要组成部分, 可介导机体的免疫反应, 当其含量降低时, 可引起体液免疫功能紊乱^[11]。因此, 当上述指标出现下降时, 机体的免疫功能随之降低, 导致机体对病原体的防御能力减弱, 患者更容易受到病原体的感染, 从而加剧疾病的进展。

多因素结果分析显示, 补体 C3、C4 的表达水平和 CD3+ 的占比、CD4+/CD8+、OI 的降低, APACHE II 评分的升高, 均为 ARDS 预后不良的危险因素。ARDS 作为一种与全身炎症相关的非心源性肺水肿, 其发病机制较为复杂, 通常与先天免疫系统和适应性免疫系统的多种免疫细胞功能异常有关^[12]。通过释放 C3a 和 C5a, 补体系统促进白细胞向炎症部位移动, 从而加剧炎症反应。同时, 补体还参与介导攻击复合体的合成, 进一步引起细胞受损^[13]。相关研究也表明^[14], 补体 C3 水平与脓毒症患儿的病情进展和预后密切相关。补体 C4 是 C1 的底物, 可被裂解为 C4a 和 C4b, 当 C4b 结合蛋白水平异常降低时, 补体激活失衡, 导致肺组织

的炎症反应过度, 从而加剧肺损伤并影响肺组织的修复, 最终影响预后^[15]。当 CD3+ 水平下降时, 可导致 T 细胞对病原体的识别和清除能力发生减弱, 从而加重肺组织损伤, 不利于 ARDS 病情的恢复。CD4+/CD8+ 反映机体的免疫平衡状态, 可用于评估 ARDS 病情的进展, 当该比值下降时, 表明患者的免疫功能降低, 病情可能出现恶化。OI 能够反映 ARDS 患者肺部氧合功能的损害程度。当患者的氧合功能降低时, 可导致低氧血症和肺功能受损, 从而进一步影响呼吸功能, 最终导致不良预后。APACHE II 评分通过综合评估患者的体温、心率、呼吸频率等急性生理指标和慢性健康状态等, 能够客观反映重症监护病房患者的病情严重程度。评分越高, 意味着患者的病情越复杂, 预后越差^[16]。本次研究 ROC 结果显示, 补体 C3、C4、CD3+、CD4+/CD8+ 以及四者联合检测在预测 ARDS 预后的 AUC 分别为 0.795、0.748、0.854、0.873 和 0.944, 提示补体 C3、C4 和 T 淋巴细胞亚群对 ARDS 患者预后方面均具有较高的临床价值, 且四者联合检测的预测效果最佳。

综上所述, 补体 C3、C4 表达水平和 T 淋巴细胞亚群与 ARDS 患者的病情密切相关, 并且对 ARDS 患者预后具有较高的预测价值。

参考文献

- [1] Ardalan M, Moslemi M, Pakmehr A, et al. TTP-like syndrome and its relationship with complement activation in critically ill patients with COVID-19: A cross-sectional study[J]. Heliyon, 2023, 9(6):e17370.
- [2] 张冬梅, 王来栓, 应海燕. CD14+CD277+单核-巨噬细胞、T 细胞上 PD-1 的表达对 ARDS 患儿呼吸支持治疗临床转归的预测[J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(12):2609-2613+2622.
- [3] Wang HX, Huang XH, Ma LQ, et al. Association between lactate-to-albumin ratio and short-time mortality in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. J Clin Anesth, 2024, 99:111632.
- [4] 丁伟超, 陈娟, 叶英, 等. 血必净注射液治疗脓毒症相关急性呼吸窘迫综合征肺热血瘀证患者的临床疗效[J]. 中草药, 2024, 55(19):6645-6654.
- [5] Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the berlin definition[J]. JAMA, 2012, 307(23):2526-2533.
- [6] Zimmerman JE, Kramcr AA, Mcnair DS, et al. Acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) IV: Hospital mortality assessment for today's critically ill patients[J]. Crit Care Med, 2006, 34(5):1297-1310.

(下转第 420 页)

·论 著·

FoxP3 与 PTC 病理学特征及术后转移复发的关系

刘庆华* 陈晓晓 任正君

【摘要】目的 探讨甲状腺乳头状癌(PTC)组织中的 FoxP3 蛋白表达与肿瘤发生发展及术后转移复发的关系。**方法** 选取濮阳市人民医院病理中心收集的 96 例 PTC 术后标本、50 例符合要求的甲状腺癌旁组织作为对照组,采用免疫组化染色检测两组标本中的 FoxP3 蛋白表达,分析 FoxP3 蛋白在不同年龄、性别、TNM 分期、是否发生周围浸润转移、是否发生淋巴结转移、不同病灶直径、不同的肿瘤病灶数目患者中的表达差异,5 年随访是否复发患者中 FoxP3 蛋白的表达差异。**结果** PTC 组 FoxP3 蛋白阳性表达率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);TNM 分期、是否发生周围组织浸润、是否发生淋巴结转移、不同病灶直径的肿瘤组织比较,差异均具有统计学意义($P<0.05$);经过 5 年随访,共有 24 例患者出现术后复发、7 例患者出现转移;PTC 患者的 TNM 分期增高、术前发生周围组织浸润转移、术前发生淋巴结转移、FoxP3 蛋白阳性表达是 PTC 患者术后 5 年出现复发或转移的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** PTC 组织中的 FoxP3 蛋白表达上调与肿瘤的发生及进展有关,同时影响 PTC 患者术后的复发及转移。

【关键词】 甲状腺乳头状癌; FoxP3 蛋白; 转移; 复发

The relationship between FoxP3 and pathological features of PTC and postoperative metastasis and recurrence

LIU Qinghua*, CHEN Xiaoxiao, REN Zhengjun

(Thyroid and Breast Surgery Department of Puyang People's Hospital, Puyang, Henan, China, 457001)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the relationship between FoxP3 protein expression in thyroid papillary carcinoma (Papillary thyroid carcinoma, PTC) and tumorigenesis and postoperative metastasis. **Methods** Immunohistochemical staining was used to detect FoxP3 protein expression in 96 PTC postoperative specimens and 50 paracancerous thyroid tissues collected from the Pathological Center of Puyang People's Hospital, serving as the control group. The expression of FoxP3 protein was analyzed in patients of different ages and sexes, different TNM stages, presence of peripheral invasion and metastasis, lymph node metastasis, lesion diameter, and number of tumor lesions. Additionally, the expression of the FoxP3 protein was different or not in patients with recurrence during 5-year follow-up. **Results** The positive expression rate of FoxP3 protein in the PTC group was significantly higher than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There were also significant differences in TNM stage, peripheral tissue infiltration, lymph node metastasis, and tumor tissues with different focal diameters ($P<0.05$). After a 5-years follow-up, 24 patients experienced postoperative recurrence and 7 patients had metastasis. Factors such as increased TNM stage, peripheral tissue infiltration, and metastasis before surgery, as well as lymph node metastasis before surgery, and positive expression of FoxP3 protein in PTC patients were identified as independent risk factors for recurrence or metastasis 5 years after surgery ($P<0.05$). **Conclusion** The upregulation of FoxP3 protein expression in PTC tissue is related to the development and progression of tumors, and influencing the postoperative recurrence and metastasis in patients with PTC.

【KEY WORDS】 Thyroid papillary carcinoma; FoxP3 protein; Transfer; Recrudescence

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2021063229)

作者单位:濮阳市人民医院甲状腺乳腺外科,河南,濮阳 457001

*通信作者:刘庆华, E-mail: e9901099@163.com

甲状腺乳头状癌(Papillary Thyroid Carcinoma, PTC)的复发及转移,不仅能够影响到患者远期的临床结局,还能够影响到患者临床治疗决策和随访方式。在合并有相关高危因素的群体中,如较大的肿瘤尺寸、淋巴结转移、侵袭性病理特征、年龄较大、男性性别、放射暴露史和不完全切除等,PTC的复发转移的风险可持续上升^[1-2]。通过对PTC患者临床相关肿瘤标志物临床变化的研究分析,可以为恶性肿瘤的发生或者肿瘤远期临床预后的评估提供参考,继而为患者的复发与转移提供预测依据。叉头翼状螺旋转录因子Foxp3(Forkhead box P3, Foxp3)作为叉头转录调控因子,其对于开放阅读编码框内的基因激活作用,影响细胞周期相关蛋白如cyclins的表达,促进肿瘤细胞的增殖调控的紊乱。分子生物学领域的研究还认为,Fox蛋白对于癌细胞内MAPK或者PI6/AKT信号通路的影响,能够加剧癌细胞浸润和粘附能力的改变。有部分研究者探讨了Fox蛋白在甲状腺癌患者病灶组织中的表达情况,发现在甲状腺癌患者中,Fox蛋白的表达与患者的临床结局及中晚期病情进展有关,但目前缺乏对于FoxP3蛋白与患者复发转移的关系分析^[3]。本研究旨在探索叉头翼状螺旋转录因子的表达与PTC患者病情发展和临床预后的关系,以期为临床治疗及预后评估提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取濮阳市人民医院病理中心96例PTC术后标本作为PTC组、选取符合条件的PTC癌旁组织50例作为对照组(距病灶边缘2cm的组织),病例收集时间范围2017年5月至2019年1月。诊断及入选标准:①PTC患者的诊断标准参考中国中华医学会制定的标准^[4],且原发肿瘤局限于一侧腺叶;②标本组织来源于术后收集;③患者在手术前未接受放化疗、免疫学治疗、内分泌治疗措施;④课题开题报告经伦理学专家评审,无违背医学伦理及相关规定的情况。排除标准:①患者可能或确诊其他部位的癌症疾病;②既往手术后复发的甲状腺癌患者;③未经病理学检查确诊;④资料缺失。研究获得患者的知情同意并签订协议。

PTC组患者的基本情况:男性32例、女性64例;年龄范围38~68岁,平均年龄(52.2±9.8)岁;肿瘤淋巴转移(Tumor Node Metastasis, TNM)分期

I期肿瘤患者22例、II期肿瘤患者37例、III期肿瘤患者29例、IV期肿瘤患者8例;肿瘤病灶呈单发65例、多发31例;病灶最大径测定值≥2cm者49例、<2cm者47例;淋巴结转移阳性48例,阴性48例;肿瘤周围浸润45例,未浸润51例。癌旁组织对照组:男性18例、女32例;年龄范围30~65岁,平均53.5±8.4岁。两组年龄构成、性别构成比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 免疫组化染色方法

本实验标本经常规固定和石蜡包埋后切片,使用二甲苯和乙醇脱腊水化。使用5%双氧水常温孵育10min以消除过氧化物酶,之后用磷酸盐缓冲液孵育5min并用蒸馏水冲洗三次,每次5min。接着用5%山羊血清封闭10min,无需冲洗。加入FoxP3蛋白一抗(abcum公司,批号:20119304,浓度1:500),4℃过夜孵育,冷水冲洗三次。之后加入生物素标记的二抗(北京康泰生物,批号:20104856,浓度1:1000),在37℃条件下孵育30min,冷水冲洗三次。加入辣根酶标记的工作液体,在37℃孵育10min,冷水冲洗三次,显色后用酒精脱水,二甲苯透明化,并用树胶封片,最后进行镜下观察。

TNM分期^[5]:T:原发肿瘤的大小或直接范围;Tx:无法评估肿瘤;Tis:原位癌T0:无肿瘤证据;T1、T2、T3、T4:原发肿瘤的大小和/或范围。N:扩散至区域淋巴结的程度;Nx:无法评估淋巴结;N0:无区域淋巴结转移N1:存在区域淋巴结转移;在某些部位,肿瘤扩散到最近或少数区域淋巴结;N2:肿瘤扩散程度介于N1和N3之间(并非所有部位都使用N2);N3:肿瘤扩散到更远或更多的区域淋巴结(并非所有部位都使用N3)。M:存在远处转移;M0:无远处转移;M1:转移至远处器官(超出区域淋巴结)。

1.3 评分标准^[6]

FoxP3蛋白在PTC细胞核和细胞质中均可表达,免疫组化染色积分结果判定标准如下:①着色强度评分:癌细胞未能染色则为0分、仅仅呈淡黄色着色为1分、仅仅呈棕黄色着色为2分、褐色甚至更深的黑色着色为3分;②阳性染色细胞的占比≤10%计分1分、11%~50%则评估为2分、51%~75%则评估为3分、>75%则评估为4分。综上,采用阳性染色细胞的比例积分与染色强度积分之乘积<3分者,最终判定为阴性、≥3分者为阳性。

1.4 统计学方法

分析软件采用 SPSS 21.0 版本。计量数据采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组之间对比分析用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,用 χ^2 检验。FoxP3 蛋白表达与患者复发转移的多因素分析采用 Cox 比例风险回归模型;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

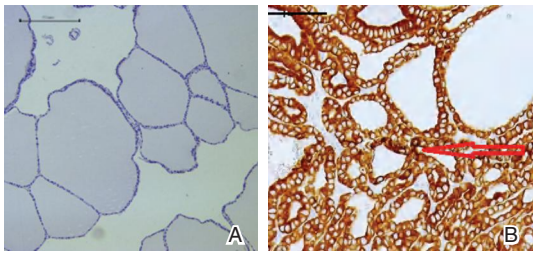
2 结果

2.1 两组中的 FoxP3 蛋白阳性表达率比较

PTC 组中 FoxP3 蛋白阳性表达率明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 PTC 组与对照组中 FoxP3 蛋白阳性表达率比较
[$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	-	+	++	+++	阳性率
甲状腺乳头状癌组	96	27	34	27	8	69(71.88)
对照组	50	35	15	0	0	15(30.00)
χ^2 值						23.596
<i>P</i> 值						0.000



注:A 为癌旁组织,FoxP3 蛋白主要主要以阴性表达,未见棕色着色。B 为甲状腺乳头状癌组织中 FoxP3 蛋白主要在细胞核及细胞质表达,表现为细胞质及细胞和内分泌黄色或棕黄色颗粒或团块,呈强阳性。

图 1 FoxP3 蛋白免疫组化染色结果(SP,×400)

2.2 FoxP3 蛋白阳性表达率与患者临床病理特征的相关关系

不同 TNM 分期、是否发生周围组织浸润、是否发生淋巴结转移、不同病灶直径的肿瘤组织,差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 FoxP3 蛋白表达与患者复发转移的关系

经过 5 年随访,共有 24 例患者出现术后复发、7 例患者出现转移,其中 FoxP3 蛋白阳性表达 28 例;经 Cox 比例风险模型分析,PTC 患者的 TNM 分期增高、术前发生周围组织浸润转移、术前发生淋巴结转移、FoxP3 蛋白阳性表达为 PTC 患者术后 5 年出现复发或转移的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

据统计^[7-8],PTC 占据了甲状腺肿瘤总体发病

表 2 甲状腺乳头状癌组织中的 FoxP3 蛋白阳性表达率与患者临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

病理学因素	FoxP3 阳性 (<i>n</i> =69)	FoxP3 阴性 (<i>n</i> =27)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)			0.392	0.531
≥55	33(47.83)	11(40.74)		
<55	36(52.17)	16(59.26)		
性别			2.087	0.149
男	20(28.99)	12(44.44)		
女	49(71.01)	15(55.56)		
TNM 分期			6.358	0.012
I 期+II 期	37(53.62)	22(81.48)		
III 期+IV 期	32(46.38)	5(18.52)		
周围浸润转移			6.62	0.01
有	38(55.07)	7(25.93)		
无	31(44.93)	20(74.07)		
淋巴结转移			8.709	0.003
是	41(59.42)	7(25.93)		
否	28(40.58)	20(74.07)		
病灶直径			6.892	0.009
≥2 cm	41(59.42)	8(29.63)		
<2 cm	28(40.58)	19(70.37)		
肿瘤数目			3.259	0.071
单发	43(62.32)	22(81.48)		
多发	26(37.68)	5(18.52)		

表 3 多因素分析结果

参数	β 值	SE 值	Walds 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
TNM 分期	0.714	0.301	5.627	2.042	1.132~3.684	0.036
周围浸润转移	0.528	0.261	4.092	1.696	1.017~2.828	0.048
淋巴结转移	0.808	0.294	7.553	2.243	1.261~3.992	0.009
病灶直径	0.443	0.256	2.995	1.557	0.943~2.572	0.184
FoxP3 表达	0.518	0.211	6.027	1.679	1.110~2.538	0.048

率的 15%~35%,部分研究报道发病比例可超过 35%。PTC 的临床预后受临床分期、术后病理分级等影响,其中术后复发转移是影响生存预后的主要因素。现阶段对 PTC 临床结局预测的可靠指标较为缺乏,仅依靠 CEA 等指标评估 PTC 临床复发转移风险的可靠性不足 30%^[9-10],因此寻找灵敏度高且特异性强的生物学新指标尤为重要。

本研究发现甲状腺癌细胞中 FoxP3 蛋白的表达明显高于癌旁组织,统计学上具有显著差异。这表明 FoxP3 蛋白的高表达与 PTC 的发生和发展密切相关。FoxP3 蛋白对于甲状腺乳头上皮细胞的持续性刺激,能够增加乳头上皮细胞对于基底膜组织的浸润粘附能力,增加了癌细胞内癌基因的异常转录的激活程度^[11-12]。赵水英等^[13]发现,PTC 患者中 FoxP3 蛋白的表达能够显著加速 PTC 患者的病情进展,增加死亡风险。该研究发现,FoxP3 蛋白在 PTC 癌细胞的细胞核和细胞质均有表达危险因素分析可见,TNM 分期增高、术前发生

周围组织浸润转移、术前发生淋巴结转移、FoxP3蛋白阳性表达,是PTC患者发生复发转移的危险因素,临床上对于FoxP3水平明显上升的患者,应采用综合性的治疗措施,进而改善PTC的临床结局。TNM分期系统是评估癌症扩散程度的重要工具,其分期较高通常指示肿瘤已发生较大范围的本地扩散或远处转移,这自然增加了复发和转移的可能性,因为更多癌细胞存在于体内,且更可能有微小转移灶未被初次治疗完全清除。周围组织浸润表示肿瘤已经突破原始生长位置,侵犯到周边非癌组织中。这种浸润性生长模式不仅说明肿瘤的侵袭性更高,也增加了残留癌细胞的风险,这些残留癌细胞可能在术后导致复发。淋巴结是癌症细胞最常见的转移场所之一^[14]。肿瘤细胞一旦进入淋巴系统,就可以通过淋巴流在身体其他部位形成新的肿瘤灶。淋巴结转移的存在通常标志着更高的疾病分期和更复杂的临床处理,同时预示着更高的复发和远程转移风险^[15]。如前所述,FoxP3是调节性T细胞中的关键转录因子,其在某些癌症中也表达,并可能参与调节肿瘤微环境,促进免疫逃逸。在PTC中,FoxP3的表达可能不仅指示免疫抑制环境的存在,还可能直接影响癌细胞的行为(如增加细胞存活或抗凋亡能力)来促进肿瘤复发和转移。

综上所述,PTC组织中的FoxP3蛋白表达上调与肿瘤的发生及进展有关,同时影响PTC患者术后的复发及转移。

参考文献

- [1] 师勇. Glactin-3、sIL-2R联合检测对于甲状腺癌的诊断价值分析[J]. 实验与检验医学, 2018,36(6):958-960.
- [2] Gong Y, Yang J, Yan S, et al. Pattern of and clinicopathologic risk factors for lateral lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma patients with lateral cervical lymphadenopathy[J]. Medicine, 2018,97(36):2263-2267.
- [3] 中华医学会. 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012,28(10):779-797.
- [4] 穆慧娟,礼彦侠,张蕊,等. 辽宁省五市2000~2011年甲状腺癌发病、死亡现状及流行趋势分析[J]. 中国肿瘤, 2015,24(11):889-895.
- [5] 成东华,刘永锋. 甲状腺癌的TNM分期[J]. 中国实用外科杂志, 2004,24(10):636.
- [6] 李言冰,王志,左宏波,等. FOXP3、CD11c蛋白表达与弥漫性大B细胞淋巴瘤患者预后的相关性[J]. 中国实验血液学杂志, 2021,29(1):104-108.
- [7] 董芬,张彪,单广良. 中国甲状腺癌的流行现状和影响因素[J]. 中国癌症杂志, 2016,26(1):47-52.
- [8] Yan X, Shou T, Yang K, et al. Papillary thyroid carcinoma risk factors in the Yunnan plateau of southwestern China[J]. Medicine, 2016,36(12):1065-1074.
- [9] 马宁,王朝杰,周云. 分化型甲状腺癌分子诊断标志物的研究[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2015,22(6):740-746.
- [10] 王喜青,梁晓燕,马晓伟,等. 血清CEA、Tg联合检测在甲状腺良、恶性肿瘤中的临床价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2015,22(9):850-852.
- [11] 王凤前,田秋实,范丽珺. 甲状腺癌代谢组学诊断研究现状及展望[J]. 中华地方病学杂志, 2018,37(8):686-688.
- [12] Xin J, Fu H, Zhang J, et al. Expression of Foxp3 and TLR4 in human papillary thyroid carcinoma and its clinical significance[J]. Histol Histopathol, 2023,38(3):339-347.
- [13] 赵水英,秦贵军,李志臻,等. 甲状腺乳头状癌组织中Foxp3的表达[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021,56(2):246-249.
- [14] 王月娥,王春玉. FOXA1对人乳头状甲状腺癌细胞增殖与细胞周期的影响及其机制探讨[J]. 山东医药, 2016,56(14):11-13.
- [15] 张燧,来茂德. 转录因子叉头框C1在肿瘤中的研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2017,46(5):362-365.
- [7] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. JAMA, 2016,315(8):801-810.
- [8] 王莹,向珊,陈俊华,等. 血清sST2和IL-10检测诊断急性呼吸窘迫综合征的临床价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023,15(7):1103-1107.
- [9] 徐震,王昭,张海生,等. 淋巴细胞亚群与病毒性肺炎合并ARDS预后的关系[J]. 中国免疫学杂志, 2024,40(10):2146-2149+2157.
- [10] 雷浩,马际,吴伟君,等. 川崎病合并肺炎支原体感染患儿NF- κ B相关信号通路及T淋巴细胞亚群水平变化[J/OL]. 中华医院感染学杂志, 2025,(2):250-254[2025-01-18].
- [11] 汪严,雷柯,周永亮,等. 消积豁痰汤加减联合玉屏风散对脾肺气虚型支气管哮喘患者疗效及免疫功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2024,42(3):233-238.
- [12] Mitsuyama Y, Matsumoto H, Togami Y, et al. T cell dysfunction in elderly ARDS patients based on miRNA and mRNA integration analysis[J]. Front Immunol, 2024, 15:1368446.
- [13] 王雪,尹力,高密密,等. 肺炎支原体感染大鼠乳鼠补体激活水平及免疫因子表达[J]. 中华医院感染学杂志, 2021,31(22):3371-3375.
- [14] Mannes M, Schmidt CQ, Nilsson B, et al. Complement as driver of systemic inflammation and organ failure in trauma, burn, and sepsis[J]. Semin Immunopathol, 2021,43(6):773-788.
- [15] 刘子铭,王轲,王文静,等. 补体系统激活在抵抗流感病毒感染及诱导肺损伤中的双重作用[J/OL]. 中国免疫学杂志, 1-16[2024-11-11].
- [16] 孔婷婷,高文婷,吕红,等. 南京市某三级医院重症监护病房多重耐药鲍曼不动杆菌感染流行特征分析[J]. 华南预防医学, 2023,49(12):1543-1546+1550.

(上接第416页)

·论 著·

多因素联合检测在预测慢性乙型肝炎病情恶化方面的价值评估

李业华¹ 何日新¹ 马德佳¹ 刘付永仁¹ 许桂丹^{2*}

【摘要】目的 应用实验室多指标的联合效应,建立一个可以预测肝炎进展到肝硬化或肝细胞癌的模式。**方法** 回顾性搜集广西玉林市红十字会医院2023年8月至12月期间行高敏感度HBV-DNA检测的767例患者实验室指标以及临床诊断信息,其中慢性乙型肝炎组(CHB组)437例,肝恶化组(包括肝硬化和肝细胞癌)330例,两组分别展开分析。**结果** CHB组和肝功能恶化组GGT、ALP比较,差异无统计学意义($P>0.05$),两组HBV-DNA、ALT、AST、HBeAg、和PLT指标比较差异有统计学意义($Z/t=2.52$ 、 -5.21 、 -12.60 、 2.23 、 2.03 , $P<0.05$)。各指标的诊断效能分析中,诊断效能从高到低依次为AST、PLT、ALT、GGT、HBeAg、高敏HBV-DNA和ALP。综合各个指标建立的二元逻辑模型的受试者工作曲线下面积(Area Under the Curve, AUC)高达92.3%。**结论** 通过分析CHB患者的基本实验室指标,建立了一个可以预测肝炎恶化为肝硬化或HCC的二元逻辑回归模型,为CHB患者的管理和预后提供了实验室依据。

【关键词】 慢性乙型肝炎; 常规实验室指标; 二元逻辑回归预测模型; 预后评估

Evaluation of the value of multi-factor combined detection in predicting the deterioration of chronic hepatitis B

LI Yehua¹, HE Rixin¹, MA Dejia¹, LIU Fuyongren¹, XU Guidan^{2*}

(1. Department of Clinical Laboratory, Red Cross Hospital of YuLin City, Yulin, Guangxi, China, 537000;

2. Department of Laboratory Center, the Affiliated Hospital of YouJiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi, China, 533000)

[ABSTRACT] Objective To apply the combined effects of multiple indicators in the application laboratory and establish a model that can predict the progression of hepatitis to cirrhosis or hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A retrospective analysis was conducted on laboratory indicators and clinical diagnosis information from 767 patients who underwent high-sensitivity HBV-DNA testing at the Red Cross Hospital in Yulin City, Guangxi, from August to December 2023. The patients were divided into two groups: 437 with chronic hepatitis B (CHB group) and 330 with liver deterioration (including cirrhosis and hepatocellular carcinoma group). The two groups were analyzed separately. **Results** There was no statistically significant difference in GGT and ALP between the CHB group and the liver function deterioration group ($P>0.05$). HBV-DNA, ALT, AST, and HBeAg, showed a statistically significant difference compared to the PLT index ($Z/t=2.52$, -5.21 , -12.60 , 2.23 , 2.03 , $P<0.05$). In the analysis of diagnostic efficacy of each indicator, the diagnostic efficacy from high to low is AST, PLT, ALT, GGT, HBeAg, High sensitivity HBV-DNA, and ALP. The area under the curve (AUC) of the binary logic model established by integrating various indicators is as high as 92.3%. **Conclusion** By analyzing the basic laboratory indicators of patients with chronic hepatitis B (CHB), we have developed a binary logistic regression model that can predict the progression of hepatitis to cirrhosis or hepatocellular carcinoma (HCC). This provides a laboratory basis for the management and prognosis of CHB patients.

[KEY WORDS] Chronic Hepatitis B; Biochemical Markers; Logistic Regression Prediction Model; Prognostic Assessment

基金项目:玉林市科学研究与技术开发计划项目(玉市科202324046);广西高校中青年教师基础能力提升项目(2020KY13036)

作者单位:1. 玉林市红十字会医院检验科, 广西, 玉林 537000

2. 右江民族医学院直属附属医院检验科, 广西, 百色 533000

*通信作者:许桂丹, E-mail:597900654@qq.com

乙型肝炎病毒(Hepatitis B Virus, HBV)感染是全球公共卫生的主要挑战之一,长期感染可进展为慢性乙型肝炎(CHB)、肝硬化及肝细胞癌(HCC)。据WHO统计^[1-3],全球约2.57亿人慢性感染HBV,每年约78万人死于相关并发症。早期识别风险因素对阻止疾病进展至关重要。目前诊断主要依赖ALT、AST、GGT、ALP等肝酶指标^[4-6],但其早期预测效能有限。近年来,高通量测序和生物信息学进展深化了对HBV致病机制的理解^[7-8]。研究显示^[9-11],高敏HBV-DNA、病毒基因型及免疫状态等指标在评估疾病进展中具有重要价值,本研究通过分析慢性HBV感染患者的高敏HBV-DNA、HBsAg、肝酶指标(ALT/AST/GGT/ALP)及血小板(PLT)水平,旨在构建多因素预测模型,探索上述指标在预测肝炎向肝硬化或肝癌进展中的联合效应,以提高风险评估精度。

1 对象与方法

1.1 研究对象

自His系统查阅2023年8月至12月期间在广西玉林市红十字会医院行高敏HBV-DNA检测人群的临床诊断信息。767例患者纳入本研究,根据不同的临床诊断分两组,其中CHB组患者437例,由肝炎发展为肝硬化或肝恶性肿瘤的肝恶化组患者330例。实验纳入标准为:①所有高敏HBV-DNA检测结果为阳性者;②明确诊断符合慢性肝炎,肝硬化或肝肿瘤者。实验的排除标准有:①高敏HBV-DNA检测结果为阴性者;②实验室数据不全者;③诊断不明确或诊断不符合慢性肝炎,肝硬化或肝肿瘤任意一个者。本研究已获得医院伦理

委员会的批准,由于只收集和测试了电子记录和检验结果,免知情同意。见表1。

1.2 常规实验室指标

采用ABI7500PCR仪(美国)检测高敏HBV DNA采用;雅培i2000化学发光仪(美国)检测肝酶学相关指标;采用XN-2000血常规分析仪(希森美康)检测血常规。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0、Excel 2016以及Python 3.11进行数据分析。符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,不满足正态分布的数据将采用非参数检验,以 $M(P25, P75)$ 表示。计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者相关实验室指标

CHB组和肝恶化组比较,高敏HBV-DNA、ALT、AST、HBsAg、PLT等实验室指标差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 患者各个实验室指标的诊断效能分析

通过绘制受试者工作曲线对各个指标单独的诊断效能进行分析,其中AST和PLT指标表现较为突出。AST的AUC值为0.768,有着较高的敏感性(0.754)和特异性(0.669),ALP的表现最弱,其AUC值仅为0.498。见表3。

2.3 二元逻辑回归模型的建立

本研究通过分析实验室指标和特征中存在的组间差异来建立模型,结果显示ALT、HBsAg、PLT、年龄和性别与肝部恶化的发展呈正相关,而AST和高敏HBV-DNA与肝恶化的发展呈负相关。见表4、图1。

表1 两组临床资料比较 [$n(\%)$, $M(P25, P75)$]

临床特征		CHB组($n=437$)	肝恶化组($n=330$)	χ^2 值	P 值
性别	女	67(20.3)	170(38.9)	28.62	8.81×10^{-6a}
	男	263(79.7)	267(61.1)		
年龄		38(34, 45)	54(43, 61)	235.37	3.64×10^{-53b}

注:^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

表2 各实验室指标及其组间差异分析 [$M(P25, P75)$, ($\bar{x} \pm s$)]

指标	参考值范围	CHB组($n=437$)	肝恶化组($n=330$)	Z/t值	P值
高敏HBV-DNA(copies/mL)	≤ 20	143.000(26.000, 1970.000)	71.700(24.600, 572.500)	2.52	0.011
ALT(U/L)	1~40	25.000(17.000, 41.000)	33.000(23.000, 51.000)	-5.21	0.000
AST(U/L)	1~40	26.000(21.000, 33.000)	42.000(30.000, 75.000)	-12.60	0.000
HBsAg(IU/mL)	0.000~0.049	0.440(0.040, 88.800)	0.235(0.050, 2.572)	2.23	0.025
GGT(U/L)	10~60	87.000(52.750, 122.500)	65.000(32.000, 144.500)	0.92	0.361
PLT($\times 10^9/L$)	100~300	233.125 $\pm$ 74.534	168.088 $\pm$ 89.528	2.03	0.044
ALP(U/L)	1~25	98.000(71.500, 138.750)	96.000(73.000, 133.000)	-0.03	0.981

表 3 各实验室指标的诊断效能

指标	AUC	最佳界值	敏感性	特异性
高敏 HBV-DNA	0.553	188.500	0.676	0.471
ALT	0.611	26.500	0.669	0.530
AST	0.768	29.500	0.754	0.669
HBeAg	0.574	19.250	0.939	0.307
GGT	0.586	83.000	0.595	0.700
PLT	0.754	212.500	0.780	0.750
ALP	0.498	97.000	0.520	0.600

表 4 二元 Logit 回归分析结果

指标	β 值	SE 值	z 值	95%CI	OR 值	P 值
ALT	0.011	0.008	1.364	0.995~1.028	1.011	0.173
AST	-0.002	0.010	-0.166	0.979~1.018	0.998	0.868
HBeAg	0.145	0.144	1.007	0.872~1.532	1.156	0.314
高敏 HBV-DNA	-0.007	0.010	-0.701	0.975~1.012	0.993	0.484
(Intercept)	-8.007	7.908	-1.012	0.000~1 795.352	0.000	0.311
PLT	0.01	0.008	1.251	0.995~1.025	1.010	0.211
年龄	0.028	0.086	0.325	0.869~1.216	1.028	0.745
性别	2.595	6.365	0.408	0.000~3 508 155.975	13.395	0.684

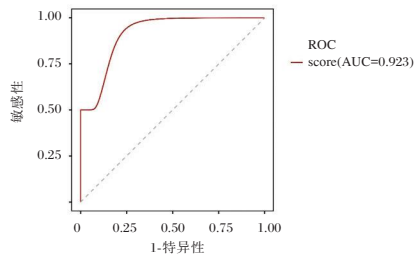


图 1 ROC 曲线图

3 讨论

在本研究中,通过比较 CHB 患者与进展为肝硬化和 HCC 的患者的生化指标,发现 ALT、AST、HBeAg、高敏 HBV-DNA 和 PLT 等指标存在差异。ALT 和 AST 水平的显著升高反映了肝细胞炎症活性的加剧,与 HBV 感染导致的肝脏炎症和坏死程度密切相关。高敏 HBV-DNA 和 HBeAg 则揭示了病毒复制与肝损伤之间的复杂相互作用,病毒复制虽与疾病进展相关,但肝损伤的加剧更多与免疫反应有关^[12-15]。PLT 水平的显著下降,尤其是血小板计数的降低,与肝硬化进展紧密相关,是预测疾病恶化的重要生物标志。

然而,单一指标在预测疾病进展方面的效能有限,强调了多因素联合分析的必要性。通过综合多个生物标志物和临床特征,如年龄和性别,本研究构建了一个二元逻辑回归模型,该模型在预测慢性乙型肝炎患者病情恶化方面表现出卓越的预测能力,AUC 值高达 92.3%,显著提高了预测模型的效能和临床实用性。这一模型的成功为临床医生提

供了一个强有力的辅助工具,能够在疾病的早期阶段有效识别出高风险患者,进而促使他们采用更精准的治疗和管理策略,改善患者的预后。

尽管模型表现出色,但其构建和应用仍需进一步优化和验证。模型的预测能力受到所选指标的限制,未来研究应考虑纳入更多生物标志物和临床特征,以增强模型对疾病进展的预测能力,使其成为一种更为全面和可靠的临床决策工具。HBeAg 的持续阳性状态可能提示患者的病情更易进展至肝硬化或肝细胞癌,这一发现对临床管理和预后具有重要指导意义本研究通过综合分析关键生化指标,本研究建立了一个高诊断效能的二元逻辑回归模型,以预测慢性乙型肝炎患者的肝炎进展。这不仅有助于深入理解疾病机制,还为临床医生提供了改善患者管理和预后的工具。未来研究将优化模型参数,探索更多影响因素,并在更广泛的患者群体中验证模型的适用性,以促进慢性乙型肝炎的防治工作。

参考文献

[1] 张祥运,马序竹,于国英.慢性乙型肝炎患者低病毒血症影响因素及管理策略研究[J]. 肝脏, 2024,29(2):247-250.
[2] Huang F, Guo J, Zhao N, et al. PTEN deficiency potentiates HBV-associated liver cancer development through augmented GP73/GOLM1[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 254.
[3] Souleiman R, Cornberg M. [Diagnosis and treatment of viral hepatitis B and D in 2024][J]. Inn Med (Heidelb), 2024, 65 (4): 296-307.

2018–2022年青岛市某三甲医院血流感染病原菌分布及抗菌药物耐药性分析

郭辉^{1,2} 何宏¹ 王宗岭³ 潘华政^{1*}

【摘要】目的 分析某三甲医院血流感染患者病原菌的分布及耐药特点,为临床合理使用抗菌药物提供参考依据。**方法** 回顾性分析2018年1月至2022年12月青岛大学附属医院就诊的血培养阳性患者资料,对患者感染的病原菌分布及抗菌药物敏感性进行统计分析。**结果** 共分离非重复病原菌2 934株,其中革兰阳性菌1 219株(41.5%),前三位分别是凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、肠球菌;革兰阴性菌1 518株(51.7%),前三位分别是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌;真菌147株(5.0%),厌氧菌50株(1.7%);分离率前三位科室为急诊科、重症医学科和血液内科。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌两者对头孢哌酮/舒巴坦和哌拉西林/他唑巴坦的敏感性达90%以上;未发现对利奈唑胺、替加环素、万古霉素耐药的葡萄球菌;肠球菌中替考拉宁和替加环素无耐药菌株;碳青霉烯类耐药的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌,甲氧西林耐药的金黄色葡萄球菌检出率均呈上升趋势;念珠菌对两性霉素B敏感性较高,热带念珠菌对氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑耐药率高于20%。**结论** 本院患者血流感染病原菌以阴性杆菌为主,碳青霉烯类耐药的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、甲氧西林耐药的金黄色葡萄球菌和真菌检出率呈逐年上升趋势,通过监测血培养病原菌的分布和耐药率变化,可为临床合理使用抗菌药物和经验用药提供科学依据。

【关键词】 血培养;血流感染;病原菌;耐药性

Analysis of the distribution of pathogens and antimicrobial resistance of bloodstream infections in a tertiary hospital in Qingdao from 2018 to 2022

GUO Hui^{1,2}, HE Hong¹, WANG Zongling³, PAN Huazheng^{1*}

(1. Department of Clinical Laboratory, 3. Dermatology department, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266000; 2. Department of laboratory medicine, Qingdao University, Qingdao, Shandong, China, 266000)

[ABSTRACT] Objective To investigate the distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in patients with bloodstream infection in a grade-A tertiary hospital in Qingdao from January 2018 to December 2022, and to provide scientific references for rational use of antibiotics in patients with bloodstream infection. **Methods** The clinical and pathogenic data of patients with positive blood culture from 2018 to 2022 in the Affiliated Hospital of Qingdao University were retrospectively analyzed, and the distribution and antimicrobial susceptibility of pathogenic bacteria were analyzed. **Results** A total of 2 934 strains of non-repetitive pathogens were isolated from blood cultures, including 1 219 Gram-positive bacteria (41.5%), 1 518 strains of Gram-negative bacteria (51.7%), 147 fungi (5.0%) and 50 anaerobic bacteria (1.7%). The top three Gram-positive bacteria were *Coagulase negative staphylococcus*, *enterococcus*, and *Staphylococcus aureus*. The main Gram-negative bacteria were *E. coli*, *K. pneumoniae*, and *P. aeruginosa*. The pathogenic bacteria were mainly from the emergency internal department, intensive care unit and hematology department. The sensitivity of *K. pneumoniae* and *E. coli* to cefoperazone-sulbactam and piperacillin-tazobactam was over 90%. No

基金项目:山东省自然科学基金面上项目(ZR2020MH318)

作者单位:1. 青岛大学附属医院检验科, 山东, 青岛 266000

2. 青岛大学医学检验学系, 山东, 青岛 266000

3. 青岛大学附属医院皮肤科, 山东, 青岛 266000

*通信作者:潘华政, E-mail: panhuazheng@126.com

staphylococcus resistant to linezolid, tigecycline and vancomycin were found. The sensitivity rate of enterococcus to teicoplanin and tigecycline was 100%. The detection rates of carbapenem-resistant *E. coli* and *K. pneumoniae*, and methicillin-resistant *S. aureus* showed an increasing trend from 2018 to 2022. *Candida* in our hospital was highly sensitive to Amphotericin B, and the resistance rate of *Candida tropicalis* to itraconazole and voriconazole was more than 20%. **Conclusion** In our hospital, Gram-negative bacteria were the main pathogens of bloodstream infections, with an increasing trend in the ratio of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* and *E. coli* and methicillin-resistant *S. aureus*. The detection rate of fungal bloodstream infections also increased year by year. Monitoring the distribution and drug resistance rates of pathogenic bacteria in blood cultures will provide scientific references for the rational and empirical use of antibiotics.

[KEY WORDS] Blood culture; Bloodstream infection; Pathogenic bacteria; Drug resistance

血流感染是病原微生物进入血液引起的全身感染性疾病,可导致菌血症、脓毒血症、多脏器衰竭甚至死亡^[1]。近年来,随着广谱抗菌药物的大量使用,外科介入性操作的增加及免疫抑制药物的应用,血流感染的发病率及死亡率都呈上升趋势,特别是血流感染中的多重耐药菌株的出现,给临床抗感染带来极大的挑战^[2]。及时明确病原菌可以避免抗生素滥用,节省医疗成本,减轻患者负担。血培养是诊断血流感染的金标准,但其培养时间长,无法进行快速目标治疗^[3],因此经验治疗十分重要,病原菌分布和耐药特征是经验治疗的重要参考依据。通过分析本院近五年血培养阳性分离菌株的构成、分布特点及耐药率变化,为本院临床医生早期经验治疗血流感染患者提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集2018年1月至2022年12月青岛大学附属医院门诊及住院患者血培养阳性数据,剔除同一患者重复分离菌株,共有2 934株病原菌纳入分析。本研究经院伦理委员会审批通过。

1.2 仪器与试剂

BACTEC FX 血培养仪及培养瓶, VITEK-2 Compact全自动细菌鉴定药敏分析仪及AST-GN13、AST-GN16药敏板卡、真菌药敏检测试剂ATB Fungus 3,抗菌药物纸片, Microflex LRF MALDI-TOF型质谱微生物鉴定仪, MH药敏培养基、哥伦比亚血平板及麦康凯分离培养基。

1.3 抗菌药物敏感试验与质控菌株

药物敏感试验采用自动化仪器法或纸片扩散法参照CLSI M100 2021年版执行^[4],真菌药敏结果判读参考CLSI M59和M60文件执行^[5-6]。质控菌株分别为:大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌

(ATCC 27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)。

1.4 统计学方法

采用细菌耐药监测软件Whonet 5.6 进行统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示。

2 结果

2.1 菌株分布

2018年1月至2022年12月血培养共分离病原菌2 934株,其中革兰阴性菌1 518株、革兰阳性菌1 219株、真菌147株、厌氧菌50株。见表1。

2.2 科室分布

病原菌分离率最高的科室为急诊科(609株, 20.8%),其次是重症医学科(568株, 19.4%)和血液内科(338株, 11.5%)。

2.3 主要阴性杆菌的耐药情况

主要阴性杆菌为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,两者对多粘菌素、替加环素的敏感性均为100%,对碳青霉烯类耐药率整体呈上升趋势。见表2。

2.4 葡萄球菌的耐药情况

金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌均未发现对利奈唑胺、万古霉素、替加环素耐药的菌株。见表3。

2.5 主要肠球菌耐药情况

粪肠球菌和屎肠球菌均未发现对替考拉宁和替加环素耐药的菌株。见表4。

2.6 多重耐药菌的检出情况

多重耐药菌MRSA分离率2022年高达30.0%。近五年MRSA为80%左右,CRECO为2%左右,CRKP从2018年的1.3%上升至2022年的8.2%。见表5。

2.7 主要真菌的耐药情况

四种念珠菌对两性霉素B均敏感性较高,热带念珠菌对唑类抗真菌药物耐药率高于其他念珠菌。见表6。

表1 2018年-2022年血流感染病原菌分布情况(%)

抗菌药物	大肠埃希菌					肺炎克雷伯菌				
	2018 (n=131)	2019 (n=126)	2020 (n=138)	2021 (n=138)	2022 (n=128)	2018 (n=77)	2019 (n=85)	2020 (n=68)	2021 (n=109)	2022 (n=73)
阿莫西林/克拉维酸	11.5	7.9	9.4	17.5	13.4	11.7	11.8	4.4	16.5	15.2
头孢哌酮/舒巴坦	1.5	0.0	2.9	4.4	7.1	1.3	9.4	4.5	7.4	9.6
哌拉西林/他唑巴坦	2.3	0.8	2.9	2.9	3.9	3.9	5.9	2.9	6.4	8.2
头孢曲松	48.9	46.8	55.8	61.6	57.0	24.7	23.5	16.2	22.0	20.5
头孢吡肟	13.7	15.1	15.2	16.7	19.7	6.5	8.2	5.9	11.0	13.7
头孢西丁	15.3	5.6	10.9	10.9	16.1	10.4	9.4	8.8	9.2	15.2
氨曲南	35.1	31.0	34.3	39.1	35.9	15.6	18.8	7.4	13.8	19.2
厄他培南	1.5	0.0	1.5	1.5	3.2	1.3	1.2	4.4	3.7	8.2
亚胺培南	1.5	0.0	2.2	2.2	2.3	1.3	2.4	1.5	5.5	8.2
美洛培南	1.5	0.0	2.2	1.5	1.6	1.3	2.4	0.0	4.6	8.2
阿米卡星	0.8	0.8	0.7	1.4	2.3	2.6	2.4	1.5	2.8	5.5
庆大霉素	33.6	34.9	39.9	34.1	33.9	10.4	11.8	11.8	11.0	12.3
妥布霉素	9.2	11.9	15.2	13.8	14.2	5.2	3.5	1.5	4.6	9.6
环丙沙星	55.0	42.1	61.6	53.6	59.4	23.4	16.5	7.4	14.7	17.8
左旋氧氟沙星	55.0	39.7	58.7	52.2	58.6	20.8	13.1	4.4	11.0	15.1
复方新诺明	56.5	50.8	48.6	57.2	54.7	31.2	23.5	17.6	23.9	17.8
替加环素	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
多粘菌素B	—	—	0.0	0.0	0.0	—	—	0.0	0.0	0.0

注:-表示未做药敏试验。

表2 2018-2022年血流感染大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的耐药率情况(%)

[illegible]

表3 2018-2022年血流感染检出金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌的耐药率情况(%)

[illegible]

表4 2018–2022年血流感染检出肠球菌的耐药率情况
(n, %)

病原菌	株数(n)	构成比
革兰氏阳性菌	1 219	41.5
凝固酶阴性葡萄球菌	592	20.2
金黄色葡萄球菌	194	6.6
屎肠球菌	126	4.3
粪肠球菌	52	1.8
其他	255	8.7
革兰氏阴性菌	1 518	51.7
大肠埃希菌	661	22.5
肺炎克雷伯菌	412	14.0
铜绿假单胞菌	90	3.1
阴沟肠杆菌	65	2.2
鲍曼不动杆菌	39	1.3
其他	251	8.6
真菌	147	5.0
近平滑念珠菌	48	1.6
热带念珠菌	35	1.2
光滑念珠菌	17	0.6
白念珠菌	37	1.3
其他	10	0.3
厌氧菌	50	1.7
总计	2 934	100.0

3 讨论

血流感染是一类具有较高发病率和病死率的全身感染性疾病,严重危害患者生命。有研究指出^[7],医院获得性血流感染与患者死亡率有显著的相关性,尤其是在早期抗菌治疗不充分的情况下。本研究发现本院革兰阴性杆菌感染略高于革兰阳性球菌的感染,金黄色葡萄球菌感染率低于全国水平,与陈云波等^[8]研究结果一致,而凝固酶阴性葡萄球菌感染率明显高于全国水平。凝固酶阴性葡萄球菌广泛存在于皮肤和周围环境中,是血培养标本最常见的污染菌。《临床微生物实验室血培养操作规范》要求血培养污染率应控制在3%以

下,2018年至2022年本院血培养污染率分别为0.92%、0.88%、0.74%、0.75%、0.63%,远低于3%,可能与本院严格执行血培养采集和运输要求有关。

本次研究血培养阳性菌株分离率最高的科室为急诊科,其次是重症医学科和血液内科,分析原因认为:三个科室患者大多病情危重且侵入性操作相对较多,同时应用免疫抑制剂,放化疗等,引起免疫功能低下,这些均是发生血流感染的危险因素^[9]。

本次研究大肠埃希菌的检出率22.5%,低于文献报道的34.7%^[8]。大肠埃希菌对碳青霉烯类、头孢哌酮/舒巴坦和阿米卡星等敏感性较高,此与王海如等^[10]研究一致。故可作为血流感染时经验治疗的首选用药,对亚胺培南、美罗培南的耐药率介于1.5%~2.3%之间,此与全国血流感染细菌耐药监测的2.2%相近^[8]。

本次研究金黄色葡萄球菌对喹诺酮类、庆大霉素和利奈唑胺等有较高的敏感性,此结果与国内文献报道一致^[11-12]。MRSA检出率2019年较2018年呈下降趋势,而2022年又上升到30%,这一结果与美国一项研究一致^[13],因此疫情后时代本院要加强MRSA感染趋势的监测。

本次研究真菌血流感染占5.0%,且总体呈上升趋势。近平滑念珠菌是真菌血流感染的首要致病菌,其次为白念珠菌和热带念珠菌。热带念珠菌对氟康唑和伏立康唑的耐药率为28.6%和25.7%,略高于CHIF-NET的数据(氟康唑21.0%、伏立康唑21.4%)^[14]。分析原因:可能与本院侵入性操作的增加、肿瘤化疗及免疫抑制剂等的广泛使用有关。

表5 2018–2022年血流感染检出多重耐药菌的检出率[n(%)]

多重耐药菌	2018	2019	2020	2021	2022
MRSA	10(23.3)	7(17.5)	11(29.7)	16(29.6)	6(30.0)
MRSN	95(82.6)	103(81.1)	92(84.4)	120(85.7)	108(78.3)
CRECO	2(1.5)	0(0.0)	3(2.2)	3(2.2)	3(2.3)
CRKP	1(1.3)	2(2.4)	2(2.9)	6(5.5)	6(8.2)

表6 血流感染检出真菌的耐药率情况[n(%)]

菌种	n	两性霉素B		氟康唑			伊曲康唑		伏立康唑	
		WT	NWT	SDD	S	R	WT	NWT	S/WT	R/WT
近平滑念珠菌	48	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	95.8	4.2
白念珠菌	37	97.3	2.7	0.0	97.3	2.7	/	/	97.3	2.7
热带念珠菌	35	100.0	0.0	0.0	71.4	28.6	71.4	28.6	74.3	25.7
光滑念珠菌	17	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	88.2	11.8

注:n为检测数;S为敏感;I为中介;SDD为剂量依赖性敏感;R为耐药;WT为野生型;NWT为非野生型;“/”为无折点范围。

综上所述,本院血流感染病原菌以大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、肠球菌、真菌为主,同时CRE、MRSA、MRSN检出率逐年增高,为临床抗感染治疗带来极大的挑战。经验性用药对血流感染的治疗极其重要,因此掌握血流感染病原菌流行分布和耐药率情况,有利于临床早期合理使用抗菌药物,及时有效的对血流感染患者进行抗感染治疗。

参考文献

- [1] Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections standard and progress in pathogen diagnostics[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(2):142-150.
- [2] Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(2):151-157.
- [3] 蒋明凤. 血流感染中感染指标诊断价值探讨及其危险因素分析[D]. 昆明:昆明医科大学, 2021.
- [4] Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, et al. Overview of Changes to the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100 31st Edition[J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(12):e0021321.
- [5] CLSI. Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing. 2 st ed. CLSI supplement M59[S]. Wayne. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- [6] CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 1st ed. CLSI supplement M60[S]. Wayne. PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- [7] Adrie C, Garrouste-Orgeas M, IbnEssaied W, et al. Attributable mortality of ICU-acquired bloodstream infections: Impact of the source, causative micro-organism, resistance profile and antimicrobial therapy[J]. J Infect, 2017, 74(2):131-141.
- [8] 陈云波, 嵇金如, 刘志盈, 等. 全国血流感染细菌耐药监测(BRICS)2021年度报告[J]. 中华临床感染病杂志, 2023, 16(1):33-47.
- [9] 黄巧娟, 董绍筠, 石林惠, 等. 重症监护病房与普通病房血流感染的革兰阴性菌分布及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 3(14):1703-1705+1709.
- [10] 王海如. 血流感染大肠埃希菌的药物敏感性、耐药基因及同源性分析[D]. 太原:山西医科大学, 2021.
- [11] 阳央, 王建敏, 张晓丽, 等. 某院2017-2021年血流感染患者血标本中革兰阴性菌的检出情况与耐药性分析[J]. 抗感染药学, 2023, 20(1):98-102.
- [12] 唐莉, 程梅. 2016-2020年江苏地区血培养分离菌的耐药性变迁[J]. 中国感染与化疗杂志, 2022, 22(6):736-745.
- [13] Baker MA, Sands KE, Huang SS, et al. The Impact of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) on Healthcare-Associated Infections[J]. Clin Infect Dis, 2022, 74(10):1748-1754.
- [14] Xiao M, Sunzy, Kang M, et al. Five-year national surveillance of invasive candidiasis: Species distribution and azole susceptibility from the China Hospital Invasive Fungal Surveillance Net (CHIF-NET) Study[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(7):e0057-18.
- [4] 王蒙蒙. 生化免疫指标水平与慢性乙型肝炎病情程度的相关性[J]. 中国民康医学, 2023, 35(21):155-157.
- [5] Zhou J, Wang FD, Li LQ, et al. Antiviral Therapy Favors a Lower Risk of Liver Cirrhosis in HBeAg-negative Chronic Hepatitis B with Normal Alanine Transaminase and HBV DNA Positivity[J]. J Clin Transl Hepatol, 2023, 11(7):1465-1475.
- [6] Ekmen MO, Uzman M. The Relationship between Mean Platelet Volume and Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Liver Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis B[J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(7):1287.
- [7] 刘明, 卞成蓉, 杨宁, 等. 慢性乙型肝炎患者乙肝病毒基因分型和病毒载量的相关性及其临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(12):2159-2162.
- [8] Xu X, Zhang L, Liu J, et al. Exosomal HBV-DNA for diagnosis and treatment monitoring of chronic hepatitis B[J]. Open Life Sci, 2023, 18(1):20220585.
- [9] And Alternative Medicine EC. Retracted: Effects of Tenofovir Combined with Recombinant Human Interferon alpha-2b on Negative Conversion Rate, Liver Function, Immune Status, and Drug Safety in Patients with Chronic Hepatitis B: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Evid Based Comple-
ment Alternat Med, 2022, 2022:9791408.
- [10] Chu YJ, Yang HI, Hu HH, et al. HBV genotype-dependent association of HLA variants with the serodecline of HBsAg in chronic hepatitis B patients[J]. Sci Rep, 2023, 13(1):359.
- [11] Chun HS, Papatheodoridis GV, Lee M, et al. PAGE-B incorporating moderate HBV DNA levels predicts risk of HCC among patients entering into HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. J Hepatol, 2024, 80(1):20-30.
- [12] Mohsen R, Gayadh E, H. Al-azzawi R, et al. Correlation of Chronic Viral hepatitis B and liver function Tests[J]. Journal of University of Anbar for Pure Science, 2022, 16(1):9-12.
- [13] 张萌珂, 张笑涵, 赵莹. 慢性乙型肝炎患者高敏HBV-DNA检测与肝组织病理损伤的相关性分析[J]. 华夏医学, 2023, 36(5):79-83.
- [14] 张海苗. HBV感染原发性肝癌患者血常规指标的检测意义[J]. 包头医学院学报, 2024, 40(2):67-71.
- [15] Pan Y, Yang K, Sun B, et al. Application of alkaline phosphatase-to-platelet ratio as a novel noninvasive index predicts liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B[J]. Exp Ther Med, 2022, 24(4):619.

(上接第423页)

·论 著·

术前全身免疫炎症指数对慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者术后复发的预测价值

程慧^{1*} 张凯标¹ 郑洪忠¹ 徐磊² 刘政¹ 张亮³

[摘要] **目的** 探讨术前全身免疫炎症指数(SII)对慢性鼻窦炎(CRS)伴鼻息肉(NP)患者术后复发的预测价值。**方法** 选取2019年1月至2023年12月阜阳市第五人民医院收治的118例CRS伴NP患者作为研究对象,根据术后是否复发分为复发组($n=33$)和未复发组($n=85$)。检测两组术前中性粒细胞(NEU)、血小板计数(PLT)、淋巴细胞(LYM)水平,并计算SII[SII=NEU $\times$ PLT/LYM];采用受试者工作特性(ROC)曲线评估术前NEU、PLT、LYM、SII对CRS伴NP患者术后复发的预测价值;采用多因素Logistic回归分析探讨CRS伴NP患者术后复发的影响因素。**结果** 复发组术前NE水平、SII高于未复发组,PLT、LYM水平低于未复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术前NEU、PLT、LYM、SII预测CRS伴NP患者术后复发的曲线下面积(AUC)(95%CI)分别为0.862(0.783~0.941)、0.776(0.688~0.865)、0.835(0.764~0.907)、0.876(0.814~0.939)。复发组哮喘史、病程 ≥ 5 年、病变程度(多发性鼻息肉)、术后感染占比均大于未复发组,术前嗜酸粒细胞(EOS)水平高于未复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素Logistic回归分析显示,病变程度(多发性鼻息肉)、术后感染、术前EOS水平升高、术前SII高是CRS伴NP患者术后复发的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 术前SII高与CRS伴NP患者术后复发有关,并且可作为CRS伴NP患者术后复发的预测指标。

[关键词] 系统性免疫炎症指数;慢性鼻窦炎;鼻息肉;复发

Prognostic value of preoperative systemic immunoinflammatory index for postoperative recurrence in patients with chronic sinusitis and nasal polyps

CHENG Hui^{1*}, ZHANG Kaibiao¹, ZHENG Hongzhong¹, XU Lei², LIU Zheng¹, ZHANG Liang³

(1. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, 2. Department of Clinical Laboratory, Fuyang Fifth People's Hospital, Fuyang, Anhui, China, 236000; 3. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China, 230000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of preoperative systemic immunoinflammatory index (SII) in predicting postoperative recurrence of chronic sinusitis (CRS) with nasal polyps (NP). **Methods** A total of 118 patients with CRS and NP were admitted to our hospital from January 2019 to December 2023 and were selected as the subjects of this study. They were divided into two groups: a relapse group ($n=33$) and a non-recurrence group ($n=85$) based on whether they experienced a relapse after surgery. Neutrophil (NEU), platelet count (PLT), and lymphocyte (LYM) levels were measured before the operation, and the SII was calculated using the formula $SII=NEU \times PLT/LYM$. The predictive value of preoperative NEU, PLT, LYM, and SII for postoperative recurrence in patients with CRS with NP were evaluated using ROC curves. The factors influencing postoperative recurrence in patients with CRS and NP were evaluated by multivariate logistic regression analysis. **Results** The preoperative levels of NE and SII in the recurrent group were higher than those in the non-recurrent group, while PLT and LYM levels were lower, with statistically significant differences ($P<0.05$). NE and SII levels in the recurrent group were higher than in the non-recurrent group, and the levels of PLT and LYM were lower than those in the non-recurrent group ($P<0.05$). Preoperative NEU, PLT, LYM, and SII predicted postoperative recurrence in patients with CRS and NP in area under the curve

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2308085QH147)

作者单位:1.阜阳市第五人民医院耳鼻喉头颈外科,安徽,阜阳 236000

2.阜阳市第五人民医院检验科,安徽,阜阳 236000

3.安徽医科大学第一附属医院耳鼻喉头颈外科,安徽,合肥 230000

*通信作者:程慧, E-mail: chenghui9136@163.com

(AUC) (95%) CI was 0.862 (0.783~0.941), 0.776 (0.688~0.865), 0.835 (0.764~0.907) and 0.876 (0.814~0.939), respectively. The proportion of asthma history, disease course ≥ 5 years, lesion degree (multiple nasal polyps), and postoperative infection in the recurrent group was higher than in the non-recurrent group. Additionally and the preoperative eosinophils (EOS) level was higher in the non-recurrent group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the degree of lesion (multiple nasal polyps), postoperative infection, elevated preoperative EOS levels, and high preoperative SII were independent risk factors for postoperative recurrence in CRS patients with NP ($P < 0.05$). **Conclusion** A high preoperative SII is associated with postoperative recurrence in patients with CRS and NP, and can serve as a predictive indicator for postoperative recurrence in these patients.

[KEY WORDS] Systemic immune inflammatory index; Chronic sinusitis; Nasal polyps; Recrudescence

慢性鼻窦炎(chronic sinusitis, CRS)是耳鼻喉科常见病,超过 1/4 患者伴有鼻息肉(nasal polyp, NP),具有病程长、治疗难度大、易复发等特点^[1]。目前临床上治疗 CRS 伴 NP 多选择外科手术,能够将病变组织彻底清除,促进鼻窦通气和引流功能的恢复,但是术后还是有复发的可能性^[2]。CRS 伴 NP 复发之后,患者除了需要承担再次手术的风险之外,还需要面临着生活质量下降、经济负担加重等诸多问题。因此,准确评估 CRS 伴 NP 患者术后复发风险至关重要。近年来研究发现^[3],中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet/lymphocyte ratio, PLR)等炎症标记物在 CRS 伴 NP 患者术后复发预测方面表现出较高的准确性和可靠性。全身免疫炎症指数(systemic immune inflammatory index, SII)是在血常规检测参数中性粒细胞(neutrophil, NEU)、血小板计数(platelet count, PLT)、淋巴细胞(lymphocyte, LYM)基础上提出的一种新型炎症标记物,可用于评价机体免疫、凝血、炎症之间的平衡状态。本研究主要探讨术前 SII 对 CRS 伴 NP 患者术后复发的预测价值,以期为临床防治提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2023 年 12 月阜阳市第五人民医院收治的 118 例 CRS 伴 NP 患者作为研究对象,男 63 例,女 55 例;年龄 37~59 岁,平均(48.14 ± 5.33)岁;体质指数 $18.5 \sim 30 \text{ kg/m}^2$,平均(22.68 ± 3.56) kg/m^2 。纳入标准:①CRS 伴 NP^[4]符合相关诊断标准;②入组患者年龄 18~82 岁,均首次接受手术治疗;③积极配合检查和随访;④病历资料齐全;⑤患者对本研究知情同意。排除标准:①合并其他鼻部疾病,比如鼻肿瘤、先天性后鼻孔

闭锁、鼻中隔脓肿等;②其他影响血中“SII”浓度测定的因素,比如血液系统疾病、长期使用免疫抑制剂等;③CRS 伴 NP 复发患者;④合并良恶性肿瘤、认知功能障碍、心肺功能不全等其他疾病者;⑤随访中途脱落。本院医学伦理委员已审核本试验。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

查询电子病历报告,收集研究对象临床资料,包括人口学资料:性别、年龄、吸烟等;疾病相关资料:病程、病变程度、白细胞计数(white blood cell count, WBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、嗜酸粒细胞(eosinophils, EOS)等。

1.2.2 实验室指标检测

经外周肘静脉采集研究对象空腹静脉血标本 3 mL,采用 URIT-2980 全自动血液细胞分析仪(厂家:桂林优利特医疗电子有限公司)检测 NEU、PLT、LYM 水平,并计算 SII,计算公式为: $SII = NEU \times PLT / LYM$ 。

1.2.3 随访及分组

患者术后连续随访 6 个月,随访方式:门诊复查、电话沟通等,截止时间:2024 年 6 月 30 日,统计复发情况。复发^[5]是指患者症状无明显改善,鼻内镜检查可见鼻息肉、黏浓涕,鼻窦腔黏膜充血水肿,鼻口再次闭锁或狭窄。根据术后是否复发氛围复发组($n=33$)和未复发组($n=85$)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 23.0 统计软件分析数据。计量资料用($\bar{x} \pm s$)描述,行 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验;采用受试者工作特性(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估术前 NEU、PLT、LYM、SII 对 CRS 伴 NP 患者术后复发的预测价值;采用多因素 Logistic 回归分析探讨 CRS 伴 NP 患者术后复发的影响因素。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组术前NEU、PLT、LYM、SII比较

复发组术前NE水平、SII高于未复发组,PLT、LYM水平低于未复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组术前NEU、PLT、LYM、SII比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	NEU ($\times 10^9/L$)	PLT ($\times 10^9/L$)	LYM ($\times 10^9/L$)	SII ($\times 10^9/L$)
非复发组	85	8.14 $\pm$ 1.53	156.84 $\pm$ 17.06	2.57 $\pm$ 0.83	563.53 $\pm$ 290.44
复发组	33	11.29 $\pm$ 2.44	139.25 $\pm$ 15.41	1.61 $\pm$ 0.51	1086.31 $\pm$ 468.67
<i>t</i> 值		6.923	5.160	7.631	5.978
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 术前NEU、PLT、LYM、SII对CRS伴NP患者术后复发的预测价值

术前NEU、PLT、LYM、SII预测CRS伴NP患者术后复发的曲线下面积(area under curve, AUC)分别为0.862、0.776、0.835、0.876。见表2、图1。

表2 术前NEU、PLT、LYM、SII对CRS伴NP患者术后复发的预测价值

指标	AUC	95% CI	截断值	特异度	灵敏度
NE	0.862	0.783~0.941	11.27 $\times 10^9/L$	0.988	0.636
PLT	0.776	0.688~0.865	152.13 $\times 10^9/L$	0.635	0.818
LYM	0.835	0.764~0.907	2.10 $\times 10^9/L$	0.729	0.848
SII	0.876	0.814~0.939	595.28 $\times 10^9/L$	0.682	0.970

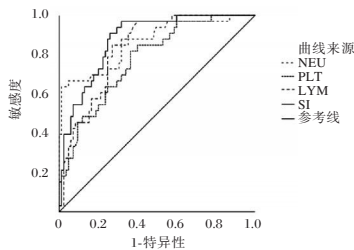


图1 ROC曲线

2.3 CRS伴NP患者术后复发的单因素分析

复发组哮喘史、病程 ≥ 5 年、病变程度(多发性鼻息肉)、术后感染占比均大于未复发组,术前EOS水平高于未复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 CRS伴NP患者术后复发的多因素 Logistic 回归分析

将CRS伴NP患者术后是否复发作为因变量(否=0;是=1),将单因素分析中比较差异有统计学意义的指标、SII为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,病变程度(多发性鼻息肉)、术后感染、术前EOS水平升高、术前SII高是CRS伴NP患者术后复发的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表3 CRS伴NP患者术后复发的单因素分析

[*n*(%), ($\bar{x}\pm s$)]

维度	未复发组 (<i>n</i> =85)	复发组 (<i>n</i> =33)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				
男	45(52.94)	18(54.55)	0.025	0.875
女	40(47.06)	15(45.45)		
年龄(岁)	48.11 $\pm$ 5.34	48.24 $\pm$ 5.37	0.124	0.901
体质指数(kg/m ²)	22.76 $\pm$ 3.59	22.45 $\pm$ 3.52	0.426	0.671
吸烟			0.031	0.861
是	32(37.65)	13(39.39)		
否	53(62.35)	20(60.61)		
高血压史	12(14.12)	5(15.15)	0.021	0.886
糖尿病史	7(8.24)	4(12.12)	0.425	0.515
哮喘史	6(7.06)	7(21.21)	4.857	0.028
病程			5.643	0.018
<5年	54(63.53)	13(39.39)		
≥ 5 年	31(36.47)	20(60.61)		
病变程度			4.719	0.030
单发性鼻息肉	70(82.35)	21(63.64)		
多发性鼻息肉	15(17.65)	12(36.36)		
术后感染			12.065	<0.001
是	3(3.53)	8(24.24)		
否	82(96.47)	25(75.76)		
WBC($\times 10^9/L$)	9.23 $\pm$ 1.81	9.65 $\pm$ 1.74	1.143	0.256
Hb(g/L)	113.01 $\pm$ 12.16	112.37 $\pm$ 12.05	0.257	0.798
EOS(%)	4.39 $\pm$ 1.07	6.57 $\pm$ 1.52	7.544	<0.001

3 讨论

CRS伴NP是一种慢性炎症性疾病,治疗以手术为主,但患者术后面临着较高的复发风险。积极探索与CRS伴NP患者术后复发相关的生物标记物具有积极的临床意义。

SII是由全血细胞计数参数衍生出的新型标记物,在预后评估中表现出较高的准确性、可靠性。李广莹等^[6]的研究结果显示,高SII组无病生存期小于低SII组,且术前SII可在一定程度上预测宫颈鳞癌患者术后复发情况。Nakamoto等^[7]的研究结果显示,高水平SII是结直肠癌患者术后复发的独立危险因素。本研究结果显示,复发组术前SII高于未复发组,结果说明术前SII高可能与CRS伴NP患者术后复发有关。NEU是白细胞的一种,可用于评估机体是否处于炎症状态或发生感染^[8]。一项研究发现^[9],NEU可通过释放大量的活性氧,破坏鼻上皮屏障功能,导致感染反复出现,从而增加CRS伴NP患者术后复发风险。另一项研究发现^[10],NEU能够分泌多种炎症细胞因子,比如白细胞介素-8、肿瘤坏死因子- α ,进一步扩大机体的炎症反应,从而导致鼻腔上皮细胞损伤加重。由此可见,术前NEU水平越高提示CRS伴NP患者病情越严

表4 CRS伴NP患者术后复发的多因素 Logistic 回归分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95%CI) 值	P 值
哮喘史	无=0;有=1	0.826	0.923	0.801	2.285(0.374~13.950)	0.371
病程	<5 年=0;≥5 年=1	0.077	0.694	0.012	1.080(0.277~4.210)	0.911
病变程度	单发性鼻息肉=0;多发性鼻息肉=1	1.675	0.795	4.432	5.336(1.122~25.371)	0.035
术后感染	否=0;是=1	2.412	1.096	4.844	11.156(1.302~98.577)	0.028
EOS	以原数值输入	1.213	0.337	12.970	3.365(1.739~6.513)	<0.001
SII	以原数值输入	0.003	0.001	7.675	1.003(1.001~1.005)	0.006

重,故术后复发的可能性也就越高。PLT是评价血液中血小板数目的一项指标,其检测值偏低意味着血小板的合成减少且消耗增加^[11]。在炎症状态下,血小板被异常激活后会释放多种活性物质,吸引EOS向炎症部位聚集^[12]。临床研究表明^[13],EOS会加速恶化鼻黏膜的炎症反应、释放免疫蛋白分子、促进鼻息肉的形成,从而引起CRS伴NP患者术后复发。因此认为,PLT水平下降可能与CRS伴NP患者炎症反应加重有关,易导致患者术后复发。LYM可反映机体的免疫状态,当其水平较低时,CRS伴NP患者可能存在免疫调节失衡的情况,导致鼻黏膜炎症加重,从而增加患者术后复发的风险^[14]。SII结合了NEU、PLT、LYM的特性,可以更全面地评估患者的免疫、凝血和全身炎症反应的状态。术前SII高意味着CRS伴NP患者体内免疫细胞的活化和炎症介质的释放持续存在,可能导致鼻窦黏膜的持续损伤,影响正常的愈合过程,从而增加术后复发的风险。

进一步ROC曲线分析显示,术前SII预测CRS伴NP患者术后复发的AUC、特异度分别为0.905、0.871,明显高于术前NEU、PLT、LYM单一预测。结果说明与单一指标预测相比,术前SII预测CRS伴NP患者术后复发的效能更好、准确性更高。多影响因素分析显示,病变程度(多发性鼻息肉)、术后感染、术前EOS水平升高、术前SII高是CRS伴NP患者术后复发的独立危险因素。说明在CRS伴NP患者术后管理中,需要密切关注上述群体的病情变化,及时实施预防性干预,从而达到降低患者术后复发率的目的。

综上所述,术前SII高与CRS伴NP患者术后复发增加有关,并且可作为潜在的预测指标。

参考文献

- [1] 刘雪梅,陈慧,吴丹,等.时效性激励护理对慢性鼻窦炎患者疾病认知及自我感受负担的影响[J].保健医学研究与实践,2024,21(6):110-115.
- [2] 谢书华,杨竹梅,刘慧茹,等. NLR、LMR、PLR 预测慢性鼻窦炎鼻内镜术后复发价值[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2020, 34(1):54-57.
- [3] 武瑜,李朋,周志强. 中性粒细胞/淋巴细胞比值在慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者中的表达及对术后复发的预测价值[J]. 医学综述, 2023,29(23):5532-5536.
- [4] 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. 中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019,54(2):81-100.
- [5] 胡焱,陈剑波. 鼻窦CT评分联合特异性免疫球蛋白E和白细胞介素6预测嗜酸粒细胞型慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者术后复发风险的价值[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2023,30(8):529-532.
- [6] 李广莹,周维,曲长红,等. 全身免疫炎症指数对宫颈癌患者术后复发的预测价值[J]. 热带医学杂志, 2023,23(11):1614-1617.
- [7] Nakamoto S, Ohtani Y, Sakamoto I, et al. Systemic Immune-Inflammation Index Predicts Tumor Recurrence after Radical Resection for Colorectal Cancer [J]. Tohoku J Exp Med, 2023, 261(3):229-238.
- [8] 姚维,汤小艳,张小娟. NLR、PLR 在不同分期慢性肾脏病患者炎症状态评估中的价值分析[J]. 现代诊断与治疗, 2024, 35(8):1202-1203.
- [9] 王保成,李海春,裴雪艳,等. 外周血嗜酸粒细胞、中性粒细胞结合鼻窦CT评分对鼻内镜术后鼻息肉复发的评估价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2023,26(6):649-653.
- [10] Ruan JW, Zhao JF, Li XL, et al. Characterizing the Neutrophilic Inflammation in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps[J]. Front Cell Dev Biol, 2021,9(2):793073.
- [11] Sivrice ME, Okur E, Yasan H, et al. Can the systemic immune inflammation index preoperatively predict nasal polyp subtypes? [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2020, 277(11):3045-3050.
- [12] Brkic FF, Liu DT, Rücklinger I, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio might predict the response to dupilumab treatment for patients with nasal polyposis[J]. J Otolaryngol Head Neck Surg, 2023, 52(1):75.
- [13] 徐蓉,刘甜甜,陈晓宇. 外周血EOS、IL-21、CCL4与慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者术后复发的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024,16(4):683-686+691.
- [14] Yang Y, Zhu J, Zhang M, et al. Systemic inflammation response index predicts the postoperative recurrence of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: a retrospective study in the Chinese population[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2024, 281(1):207-217.

·论 著·

血清 GSK-3 β 、Nrf2 水平对轻度认知障碍进展为阿尔茨海默病的预测价值

柏佳昆¹ 李海玲² 沙珍^{3*}

[摘要] **目的** 研究血清糖原合成激酶 3 β (GSK-3 β)和核因子红细胞 2 相关因子 2(Nrf2)对轻度认知障碍(MCI)进展为阿尔茨海默病(AD)的预测价值。**方法** 收集 2021 年 1 月至 2022 年 10 月在徐州市东方人民医院门诊就诊或住院并成功随访 2 年的 MCI 患者 72 例,根据是否发生 AD 分为 AD 组(18 例)和对照组(54 例)。比较两组患者入组时的临床资料及血清 GSK-3 β 、Nrf2 水平的差异,采用 logistic 回归分析 MCI 进展为 AD 的影响因素,采用受试者工作特征曲线及曲线下面积(AUC)分析血清 GSK-3 β 、Nrf2 对 MCI 进展为 AD 的预测价值。**结果** AD 组和对照组的年龄、血清 GSK-3 β 水平高于对照组,简易智力状态检查量表(MMSE)评分、蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分、日常生活活动能力评定量表(ADL)评分及血清 Nrf2 水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 GSK-3 β 水平与 MoCA 评分、MMSE 评分、ADL 评分呈负相关,Nrf2 水平与 MoCA 评分、MMSE 评分、ADL 评分呈正相关($P<0.05$);年龄、GSK-3 β 是 MCI 进展为 AD 的危险因素,Nrf2 是 MCI 进展为 AD 的保护因素($P<0.05$);血清 GSK-3 β 、Nrf2 水平单独预测及联合预测的 AUC 分别为 0.778、0.797、0.908($P<0.05$)。**结论** 血清 GSK-3 β 水平增加、Nrf2 水平降低与 MCI 进展为 AD 相关,GSK-3 β 、Nrf2 对 MCI 进展为 AD 具有预测价值。

[关键词] 轻度认知障碍;阿尔茨海默病;糖原合成激酶 3 β ;核因子红细胞 2 相关因子 2

Predictive value of serum GSK-3 β and Nrf2 levels for progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease

BAI Jiakun¹, LI Hailing², SHA Zhen^{3*}

(1. Department of Psychiatry, Lianyungang Rehabilitation Hospital, Lianyungang, Jiangsu, China, 222000;
2. Department of Substance Dependence, 3. Department of Psychiatry, Dongfang People's Hospital, Xuzhou City, Jiangsu Province, Xuzhou, Jiangsu, China, 221004)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of serum glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β) and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) for the progression of mild cognitive impairment (MCI) to Alzheimer's disease (AD). **Methods** 72 patients with MCI admitted from January 2021 to October 2022 were selected and followed up for 2 years. They were divided into AD group (18 cases) and control group (54 cases) according to whether AD occurred. The clinical data and serum GSK-3 β and Nrf2 levels at the time of enrollment of the two groups were compared. Logistic regression was used to analyze the influencing factors of MCI progression to AD, and the predictive value of serum GSK-3 β and Nrf2 on MCI progression to AD was analyzed by receiver operating characteristic curve and area under the curve (AUC). **Results** The age and serum GSK-3 β levels of AD group were higher than those of control group, and the scores of MMSE, MoCA, ADL and serum Nrf2 levels were lower than those of control group, with statistical significance ($P<0.05$). Serum GSK-3 β level was negatively correlated with MoCA score, MMSE score and ADL score, while Nrf2 level was positively correlated with MoCA score, MMSE score and ADL score ($P<0.05$). Age and GSK-

项目基金:江苏省老年健康科研项目(LKM2023034)

作者单位:1. 连云港市康复医院精神科,江苏,连云港 222000

2. 徐州市东方人民医院物质依赖科,江苏,徐州 221004

3. 徐州市东方人民医院老年精神三科,江苏,徐州 221004

*通信作者:沙珍, E-mail:284328716@qq.com

3 β were risk factors for progression of MCI to AD, and Nrf2 were protective factors for progression of MCI to AD ($P<0.05$). The AUC of serum GSK-3 β and Nrf2 levels predicted alone and in combination were 0.778, 0.797, 0.908, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** The increase of serum GSK-3 β level and the decrease of serum Nrf2 level are correlated with the progression of MCI to AD, and GSK-3 β and Nrf2 have predictive value for the progression of MCI to AD.

[KEY WORDS] Mild cognitive impairment; Alzheimer's disease; Glycogen synthesis kinase 3 β ; Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种以近事遗忘以及认知功能下降为特征的神经系统疾病。轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)是正常认知发展为AD的过度阶段,患者在该阶段虽然出现近事遗忘、但仍具有完整的日常生活能力,MCI也被视作防治AD的“黄金窗口期”^[1-2]。研究显示^[3],MCI进展为AD的年转化率约10%~15%,约80%的MCI会在6年随访中进展为AD。因此,预测MCI患者进展为AD的风险对早期防治MCI、降低AD风险具有积极意义。 β 淀粉样蛋白引起神经元凋亡、炎症、氧化应激等激活是MCI及AD发生及发展过程中重要的生物学因素,糖原合成激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)和核因子红细胞2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是两种在中枢神经系统中调控神经元存活及再生、影响炎症及氧化应激的信号分子,血清GSK-3 β 升高、Nrf2降低与2型糖尿病患者、度阻塞性睡眠呼吸暂停患者的认知功能下降有关^[4-5]。本研究旨在观察血清GSK-3 β 、Nrf2水平对MCI进展为AD的预测价值,以期发现预测MCI患者进展为AD的血清标志物。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2021年1月至2022年10月收治的72例MCI患者作为研究对象。纳入标注:①符合MCI的诊断标准^[6];②年龄 ≥ 60 岁;③首次诊断为MCI^[6];④临床资料完整;⑤留取血清样本。排除标准:①已诊断为AD;②合并精神疾病、心肝肾功能不全、恶性肿瘤;③有脑卒中、脑外伤病史;④无法配合随访的患者。医院临床伦理委员会批准本研究,受试者家属已签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 随访及分组

入组患者随访2年,每3个月复诊1次,参照《阿尔茨海默病诊疗指南》^[7]进行AD诊断,将随访

期间诊断为AD的患者作为AD组(18例)、未发生AD的患者作为对照组(54例)。

1.2.2 血清标本收集及检测

入组当天或次日抽取外周静脉血3 mL,静置凝血后按照转速3 000 r/min、温度4℃、半径10 cm离心10 min,取上清并进行酶联免疫吸附法实验,检测血清中GSK-3 β 及Nrf2水平。试剂盒购自上海恒科生物科技有限公司。

1.2.3 临床资料收集

入组时收集患者的一般资料,包括性别、年龄、体质指数、简易智力状态检查量表(Minimum Mental State Examination, MMSE)评分、蒙特利尔认知评估量表(Montreal Cognitive Assessment, MoCA)评分、日常生活活动能力评定量表(Activity of Daily Living, ADL)^[6]评分,既往高血压、高脂血症、糖尿病病史。

入组当天或次日进行实验室检验,包括白蛋白、甘油三酯、总胆固醇、同型半胱氨酸、尿素、肌酐。

1.3 统计学处理

采用SPSS 24.0软件进行统计学处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,进行独立样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,进行卡方检验;血清GSK-3 β 及Nrf2水平预测MCI进展为AD的价值采用受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)进行分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

AD组年龄高于对照组,MoCA评分、MMSE评分、ADL评分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),其他一般资料及实验室检验指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.2 两组血清GSK-3 β 及Nrf2水平比较

AD组的血清GSK-3 β 水平高于对照组,Nrf2水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表1 两组临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	AD组 (n=18)	对照组 (n=54)	χ^2/t 值	P值
年龄(岁)	72.51±7.52	68.63±6.61	2.084	0.041
性别(男/女)	15/13	26/28	0.217	0.641
体质量指数(kg/m ²)	22.59±3.58	22.17±3.25	0.463	0.645
MoCA评分	22.01±1.52	23.44±1.82	2.999	0.004
MMSE评分	19.42±1.45	21.36±1.58	4.600	<0.001
ADL评分	63.21±7.69	68.68±8.51	2.416	<0.001
高血压	10	22	1.200	0.273
糖尿病	8	23	0.019	0.891
高脂血症	9	20	0.943	0.331
白蛋白(g/L)	40.49±5.68	42.21±5.25	1.166	0.248
甘油三酯(mmol/L)	1.84±0.32	1.77±0.34	0.767	0.446
总胆固醇(mmol/L)	5.98±0.85	5.59±0.78	1.797	0.077
同型半胱氨酸(μ mol/L)	13.52±2.16	12.91±1.84	1.166	0.248
尿素(mmol/L)	7.78±1.14	7.49±0.95	1.066	0.290
肌酐(μ mol/L)	81.31±13.58	78.52±12.77	0.791	0.431

表2 两组血清GSK-3 β 及Nrf2水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GSK-3 β (IU/L)	Nrf2(ng/mL)
AD组	18	315.19±54.59	2.41±0.47
对照组	54	265.57±35.12	2.85±0.42
t值		4.477	3.736
P值		<0.001	<0.001

2.3 血清GSK-3 β 、Nrf2水平与各项评分的相关性

MCI患者的血清GSK-3 β 水平与MoCA评分、MMSE评分、ADL评分呈负相关,Nrf2水平与MoCA评分、MMSE评分、ADL评分呈正相关($P < 0.05$)。见表3。

表3 血清GSK-3 β 、Nrf2水平与各项评分的相关性

指标	MoCA评分		MMSE评分		ADL评分	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
GSK-3 β	-0.362	<0.05	-0.319	<0.05	-0.408	<0.05
Nrf2	0.401	<0.05	0.386	<0.05	0.349	<0.05

2.4 MCI进展为AD的影响因素

以MCI是否进展为AD作为因变量(赋值:进展为AD=1、未进展为AD=0),以年龄、MoCA评分、MMSE评分、ADL评分以及血清GSK-3 β 、Nrf2水平作为自变量,进行多因素logistic回归分析,结果显示:年龄、GSK-3 β 是MCI进展为AD的危险因素,Nrf2是MCI进展为AD的保护因素($P < 0.05$)。见表4。

2.5 血清GSK-3 β 、Nrf2水平对MCI进展为AD的预测价值

ROC曲线所示,血清GSK-3 β 、Nrf2水平联合预测的AUC为0.908,优于单一检测($P < 0.05$)。见表5、图1。

表4 MCI进展为AD的影响因素

自变量	赋值	β 值	Wald值	OR值	95% CI	P值
年龄	连续变量	0.295	6.595	1.343	1.093~1.681	0.008
MoCA评分	连续变量	-0.194	1.309	0.824	0.584~1.423	0.125
MMSE评分	连续变量	-0.221	1.092	0.802	0.713~1.098	0.152
ADL评分	连续变量	-0.175	1.652	0.839	0.756~1.226	0.094
GSK-3 β	连续变量	0.341	8.281	1.406	1.225~1.591	0.002
Nrf2	连续变量	-0.229	5.475	0.795	0.652~0.914	0.016

表5 血清GSK-3 β 、Nrf2水平对MCI进展为AD的预测价值

预测指标	AUC	95% CI	灵敏度	特异度	P值
GSK-3 β	0.778	0.650~0.906	75.93	72.22	<0.001
Nrf2	0.797	0.684~0.911	79.63	72.22	<0.001
GSK-3 β +Nrf2	0.908	0.805~1.000	90.74	88.89	<0.001

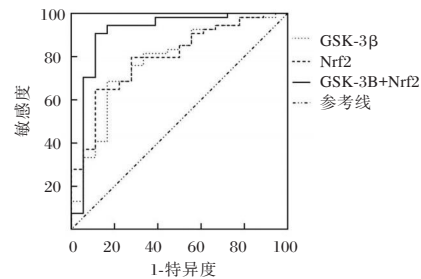


图1 ROC曲线

3 讨论

研究资料显示^[8],MCI具有较高的进展为AD的风险,MCI老年患者2~3年进展为AD的发生率约25%。本研究中,72例MCI患者随访2年期间进展为AD的发生率为25%(18/72),与既往其他研究数据相似^[8]。因此,预测MCI进展为AD的风险对指导MCI治疗、降低AD发生率以及改善老年人群的生活治疗均具有积极意义。

β 淀粉样蛋白是参与AD发生发展的关键蛋白,其沉积会导致 β 淀粉样斑块形成并影响神经元存活、损害突触功能、干扰神经信号传导,进而导致神经功能发生退行性改变并出现认知功能下降、记忆力减退等临床症状。 β 淀粉样蛋白在神经系统中的生物学作用依赖于调控细胞凋亡、炎症反应、氧化应激等生物学环节,针对上述生物学环节寻找标志物能够为诊断AD、预测MCI进展为AD提供依据^[9-10]。研究资料显示^[8, 11],血清抗凋亡分子B淋巴细胞瘤因子-2、抗炎活性分子缓激肽均对MCI进展为AD具有预测价值。

一方面,GSK-3 β 能够刺激巨噬细胞活化、促进炎症因子生成,进而促进炎症反应激活;另一方面,GSK-3 β 对Wnt通路具有负性调控作用,能够削弱Wnt通路促进神经元存活、抑制神经元凋

亡的作用,进而影响细胞存活。在中枢神经系统中,激活 GSK-3 β 对脑缺血再灌注损伤引起的炎症反应、细胞凋亡均具有促进作用^[12],抑制 GSK-3 β 显著改善 AD 动物模型、慢性应激动物模型的认知功能^[13-14]。本研究中,进展为 AD 的 MCI 患者基线血清 GSK-3 β 水平高于未进展未 AD 的 MCI 患者,且 GSK-3 β 水平与认知功能评分均呈负相关。以上结果表明 MCI 患者 GSK-3 β 水平升高与认知功能下降有关、也与病情进展至 AD 有关,相关的分子机制可能是 GSK-3 β 增多激活炎症反应、影响细胞存活,最终导致神经功能损害并发生 AD。

在多种认知功能障碍的动物模型中,增加 Nrf2 的表达水平显著改善认知功能,同时降低氧自由基水平、减轻氧化应激程度^[15]。本研究中,进展为 AD 的 MCI 患者基线血清 Nrf2 水平低于未进展未 AD 的 MCI 患者,且 Nrf2 水平与认知功能评分均呈正相关。以上结果表明 MCI 患者 Nrf2 水平降低与认知功能下降有关、也与病情进展至 AD 有关,相关的分子机制可能是 Nrf2 减少使氧自由基生成增多、引起神经功能发生氧化应激损伤,最终导致 AD。

本研究进一步通过 logistic 回归分析对 MCI 进展为 AD 的影响因素进行了分析,结果显示:年龄、GSK-3 β 是 MCI 进展为 AD 的危险因素,Nrf2 是 MCI 进展为 AD 的保护因素。可能原因是随着年龄增长、神经功能发生退行性改变,进而更加容易在 MCI 的基础上发展为 AD;GSK-3 β 、Nrf2 与 MCI 进展为 AD 的关系与两种分子的生物学功能吻合。根据 logistic 回归分析结果,将血清 GSK-3 β 、Nrf2 用于 MCI 进展为 AD 的预测,两项分子均具有预测价值且联合预测的效能理想,灵敏度和特异度分别为 90.74% 和 88.89%。

综上所述,血清 GSK-3 β 水平增加、Nrf2 水平降低与 MCI 进展为 AD 相关,联合检测血清 GSK-3 β 、Nrf2 对 MCI 进展为 AD 具有预测价值。

参考文献

- [1] Zhi Y, Huang T, Liu S, et al. Correlation between iron deposition and cognitive function in mild to moderate Alzheimer's disease based on quantitative susceptibility mapping[J]. Front Aging Neurosci, 2024, 16(16): 1485530.
- [2] Acharya M, Deo RC, Tao X, et al. Deep learning techniques for automated Alzheimer's and mild cognitive impairment disease using EEG signals: A comprehensive review of the last decade (2013 - 2024)[J]. Comput Methods Programs Biomed, 2025, 259:108506.
- [3] Ghanem A, Berry DS, Burkes A, et al. Prevalence of and Annual Conversion Rates to Mild Cognitive Impairment and Dementia: Prospective, Longitudinal Study of an Essential Tremor Cohort[J]. Ann Neurol, 2024, 95(6):1193-1204.
- [4] 何苗苗,孙娟,李小霜,等.血清糖原合成酶 3 β 、脑源性神经营养因子及血糖波动与老年 2 型糖尿病患者轻度认知功能障碍相关性的研究[J].中国糖尿病杂志,2023,31(5):350-354.
- [5] 董文平,任寿安.血清核转录因子红系 2 相关因子 2、血红素加氧酶-1 水平与阻塞性睡眠呼吸暂停患者认知障碍的相关性研究[J].中国呼吸与危重监护杂志,2022,21(7):478-483.
- [6] 倪秀石,吴方,宋娟,等.老年人认知障碍评估中国专家共识(2022)[J].中华老年医学杂志,2022,41(12):1430-1440.
- [7] 田金洲,解恒革,王鲁宁,等.中国阿尔茨海默病痴呆诊疗指南(2020 年版)[J].中华老年医学杂志,2021,40(3):269-283.
- [8] 刘田,杨荣礼,韩慧萍.血清 A β 1-42、Bcl-2 预测老年人认知功能障碍进展为阿尔茨海默病的价值[J].实用老年医学,2024,38(6):582-586.
- [9] Qu L, Tang Y, Wu J, et al. FBXL16: a new regulator of neuroinflammation and cognition in Alzheimer's disease through the ubiquitination-dependent degradation of amyloid precursor protein[J]. Biomark Res, 2024, 12(1):144.
- [10] 任树玲,李会,崔会欣,等.轻度认知障碍和阿尔茨海默病患者血清 lncRNA TUG1、NLRP1 的差异及诊断价值[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(9):1626-1630.
- [11] 林哲,宋晓鼎,曾永婷,等.血清缓激肽与同型半胱氨酸用于预测老年轻度认知功能障碍患者进展为阿尔茨海默病的临床价值[J].中国老年学杂志,2019,39(17):4278-4280.
- [12] Ni C, Huang B, Huang Y, et al. Keap1-independent GSK-3 β /Nrf2 signaling mediates electroacupuncture inhibition of oxidative stress to induce cerebral ischemia-reperfusion tolerance[J]. Brain Res Bull, 2024, 15(217):111071.
- [13] Ebeid MA, Habib MZ, Mohamed AM, et al. Cognitive effects of the GSK-3 inhibitor "lithium" in LPS/chronic mild stress rat model of depression: Hippocampal and cortical neuroinflammation and tauopathy [J]. Neurotoxicology, 2021, 83:77-88.
- [14] Lei L, Luo Y, Kang D, et al. Gypenoside IX restores Akt/GSK-3 β pathway and alleviates Alzheimer's disease-like neuropathology and cognitive deficits [J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(23):14172-14191.
- [15] Yang S, Wang L, Zeng Y, et al. Salidroside alleviates cognitive impairment by inhibiting ferroptosis via activation of the Nrf2/GPX4 axis in SAMP8 mice [J]. Phytomedicine, 2023, 114:154762.

·论 著·

乳腺癌组织中 SHC1、CA153 表达水平及其与患者病理特征、淋巴结转移的关系

万爽¹ 王东和¹ 韩林荟¹ 苗聪聪² 何友新^{1*}

【摘要】目的 探讨乳腺癌组织中含有 Src 同源 2 结构域的衔接蛋白 1 (SHC1)、糖类抗原 153 (CA153) 表达水平及其与患者病理特征、淋巴结转移的关系。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2023 年 10 月秦皇岛市第二医院收治的乳腺癌患者 186 例, 切除癌组织和癌旁组织, 分别设立乳腺癌组和癌旁组。比较两组 SHC1、CA153 表达差异, 分析 SHC1、CA153 与患者病理特征的关系, 采用多因素 logistics 回归分析探讨乳腺癌淋巴结转移的影响因素。**结果** 乳腺癌组 SHC1、CA153 阳性率均高于癌旁组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。SHC1 表达阳性乳腺癌患者肿块直径 > 2 cm、组织学分级为Ⅲ级、分化程度为低分化、脉管有内栓塞占比高于 SHC1 表达阴性患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CA153 表达阳性乳腺癌患者肿块直径 > 2 cm、组织学分级为Ⅲ级、分化程度为低分化、脉管有内栓塞的占比高于 CA153 表达阴性患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。淋巴结转移患者肿块直径 > 2 cm、组织学分型为Ⅲ级、分化程度为低分化、SHC1 阳性表达及 CA153 阳性表达占比高于淋巴结未转移组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。多因素分析显示, 肿块直径、组织学分型、分化程度及 SHC1、CA153 表达是乳腺癌患者淋巴结转移的影响因素 ($P < 0.05$)。**结论** 乳腺癌组织中 SHC1、CA153 均呈高表达, 两指标与乳腺癌患者的病理特征及淋巴结的转移有一定关联, 对评估乳腺癌患者淋巴结转移风险有一定临床价值。

【关键词】 乳腺癌; 含有 Src 同源 2 结构域的衔接蛋白 1; 糖类抗原 153; 淋巴结转移

Expression levels of SHC1 and CA153 in breast cancer tissues and their relationship with pathological characteristics and lymph node metastasis

WAN Shuang¹, WANG Donghe¹, HAN Linhui¹, MIAO Congcong², HE Youxin^{1*}

(1. Department of General Surgery, 2. Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

【ABSTRACT】Objective To investigate the expression of Src homolog 2 domain-containing protein 1 (SHC1) and carbohydrate antigen 153 (CA153) in breast cancer tissues and their relationship with pathological features and lymph node metastasis. **Methods** A total of 186 cases of breast cancer from January 2021 to October 2023 were included in the study. Cancer tissues and adjacent tissues were collected and divided into two groups: the breast cancer group and the adjacent tissues group. The study compared the expression differences of SHC1 and CA153 in the cancer tissues and adjacent tissues of breast cancer patients, and analyzed the relationship between SHC1, CA153, and the patients' pathological characteristics. Additionally, multivariate logistic regression was used to explore the influencing factors of lymph node metastasis in breast cancer. **Results** The positive rates of SHC1 and CA153 in the breast cancer group were higher than those in the paracancerous group ($P < 0.05$). The proportion of tumors with a diameter > 2 cm, histological grade Ⅲ, poorly differentiated degree, and internal vascular embolism in SHC1 positive breast cancer patients was higher than that in SHC1 negative patients ($P < 0.05$). The proportion of tumors with a diameter > 2 cm, histological grade Ⅲ, poorly differentiated degree and vascular internal embolism in patients with positive CA153 expression was

基金项目: 河北省卫健委医学科学研究项目 (20231894)

作者单位: 1. 秦皇岛市第二医院普通外科, 河北, 秦皇岛 066000

2. 秦皇岛市第二医院检验科, 河北, 秦皇岛 066000

*通信作者: 何友新, E-mail: heyouxin001@163.com

higher than that in patients with negative CA153 expression ($P<0.05$). The proportion of tumors with a diameter >2 cm, histological type III, poorly differentiated degree, SHC1 positive expression and CA153 positive expression in patients with lymph node metastasis was higher than that in patients without lymph node metastasis ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that tumor diameter, histological type, differentiation degree, SHC1, and CA153 expression were the influencing factors of lymph node metastasis in breast cancer patients ($P<0.05$). **Conclusion** SHC1 and CA153 are both highly expressed in breast cancer tissues, and they are associated with the pathological characteristics and lymph node metastasis of breast cancer cases. They have significant clinical value in assessing the risk of lymph node metastasis in breast cancer cases.

[KEY WORDS] Breast cancer; Adaptor protein 1 containing the Src homology 2 domain; Carbohydrate antigen 153; Lymph node metastasis

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,每年新发病例数呈上升趋势,对女性的健康和生命构成了重大威胁^[1]。淋巴结转移是乳腺癌进展的重要标志,也是影响患者预后的重要因素之一。淋巴结转移不仅会增加治疗难度,而且会提高乳腺癌患者的病死率和复发率。含有 Src 同源 2 结构域的衔接蛋白 1 (Src homology 2 domain-containing transforming protein 1, SHC1) 是一种在多种信号传导通路中发挥关键作用的接头蛋白^[2]。研究表明^[3], SHC1 通过激活关键信号通路在乳腺癌的侵袭和转移中发挥重要作用。糖类抗原 153 (cancer antigen 153, CA153) 是乳腺癌最为常用的血清标志物之一,在正常乳腺组织中其表达水平较低,但在乳腺癌组织中升高^[4-5]。尽管 SHC1 和 CA153 在乳腺癌中的作用已有一定研究,但两者在乳腺癌组织中的表达水平及其与患者病理特征和淋巴结转移的关系尚不完全明确。本研究主要探讨 SHC1 和 CA153 在乳腺癌组织中的表达水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2023 年 10 月秦皇岛市第二人民医院收治的乳腺癌患者 186 例,切除癌组织和距离癌组织边缘 1~2 cm 范围内的癌旁组织,设立乳腺癌组和癌旁组,平均年龄 (37.92 ± 5.36) 岁。乳腺癌患者纳入标准:①经病理学检查确诊为乳腺癌,符合美国癌症联合委员会^[6]乳腺癌分期标准,并均于本院接受手术治疗;②年龄 >18 岁;③TNM 分期 I~III 期者;④入院前未进行治疗;⑤女性。排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②有慢性肝病、肾病或自身免疫性疾病史;③严重的心血管疾病;④术前 1 个月内有活动性感染性疾病。所有患者签署知情同意书,同意参与本研究并允许使用其临床和病理资料,本研究经院医学伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 SHC1、CA153 检测

采用免疫组化法检测 SHC1 和 CA153 的表达。采集手术切除的癌组织和癌旁组织样本,样本经 10% 中性缓冲福尔马林固定,石蜡包埋,制作成 4 μm 厚的切片。滴入 5% 的 H_2O_2 进行孵育,10 min 后加入兔抗人 SHC1 单克隆抗体、兔抗人 CA153 单克隆抗体(均购自南京德泰生物工程有限公司,稀释比例为 1:150)。次日,加入二抗在室温下孵育 30 min。DAB 显色后,苏木素复染,最后用中性树胶封片。阴性对照使用 PBS 代替一抗,最后将染色后的切片在光镜下观察。

1.2.2 评估标准^[7]

采用双盲法进行阅片分析。观察细胞质或细胞核染色强度,棕黄色或棕褐色染色信号判断为阳性。对阳性染色强度及阳性细胞的百分比进行评分。染色强度按无染色(0分)、弱染色(1分)、中等染色(2分)和强染色(3分)四个等级进行评分。阳性细胞百分比按 0% (0分)、1%~25% (1分)、26%~50% (2分)、 $>50\%$ (3分)四个等级进行评分。两者相乘 >3 分为阳性,其余为阴性。

1.3 统计学分析

采用统计软件 SPSS 25.0 分析数据,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,采用多因素 Logistic 回归模型分析乳腺癌淋巴结转移影响因素, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 SHC1、CA153 表达情况比较

乳腺癌组 SHC1、CA153 阳性率均高于癌旁组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 SHC1、CA153 表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系

SHC1 表达阳性乳腺癌患者的肿块直径 >2 cm、

表1 两组 SHC1、CA153 表达情况比较 [n(%)]

组别	n	SHC1		CA153	
		阳性	阴性	阳性	阴性
乳腺癌组	186	136(73.12)	50(26.88)	131(70.43)	55(29.57)
癌旁组	186	65(34.95)	121(65.05)	74(39.78)	112(60.22)
χ^2 值		54.559		35.304	
P 值		<0.001		<0.001	

组织学分级为Ⅲ级、分化程度为低分化、脉管有内栓塞的占比高于 SHC1 表达阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$),CA153 表达阳性乳腺癌患者的肿块直径 $>2\text{ cm}$ 、组织学分级为Ⅲ级、分化程度为低分化、脉管有内栓塞的占比高于 CA153 表达阴性患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 SHC1、CA153 表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系 [n(%)]

项目	n	SHC1		χ^2 值	P 值	CA153		χ^2 值	P 值
		阳性(n=136)	阴性(n=50)			阳性(n=131)	阴性(n=55)		
年龄 <45 岁	117	88(75.21)	29(24.79)	0.705	0.401	85(72.65)	32(27.35)	0.746	0.388
≥ 45	69	48(69.57)	21(30.43)			46(66.67)	23(33.33)		
肿块直径 $>2\text{ cm}$	71	56(78.87)	15(21.13)	6.653	0.010	58(81.69)	13(18.31)	6.991	0.008
$\leq 2\text{ cm}$	115	80(69.57)	35(30.70)			73(63.48)	42(36.52)		
月经情况未绝经	75	56(74.67)	19(25.33)	0.153	0.695	51(68.00)	24(32.00)	0.356	0.551
绝经	111	80(72.07)	31(27.93)			80(72.07)	31(27.93)		
组织学分级Ⅰ级+Ⅱ级	128	87(67.97)	41(32.03)	5.538	0.019	84(65.63)	44(34.38)	4.551	0.033
Ⅲ级	58	49(84.48)	9(15.52)			47(81.03)	11(18.97)		
分化程度低分化	33	30(90.91)	3(9.09)	6.460	0.011	32(96.97)	1(3.03)	13.568	<0.001
中高分化	153	106(69.28)	47(30.72)			99(64.71)	54(35.29)		
脉管内栓塞	102	84(82.35)	18(17.65)	9.799	0.002	81(79.41)	21(20.59)	8.749	0.003
脉管内无栓塞	84	52(61.90)	32(38.10)			50(59.52)	34(40.48)		

2.3 乳腺癌患者淋巴结转移的单因素分析

186 例乳腺癌患者中共 73 例淋巴结转移。淋巴结转移患者的肿块直径 $>2\text{ cm}$ 、组织学分型为Ⅲ级、分化程度为低分化、SHC1 阳性表达以及 CA153 阳性表达的占比高于淋巴结未转移组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 乳腺癌患者淋巴结转移的多因素分析

将乳腺癌患者是否发生淋巴结转移作为因变量,将单因素分析有意义的指标作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,肿块直径、组织学分型、分化程度及 SHC1、CA153 表达是乳腺癌患者淋巴结转移的影响因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

乳腺癌早期常表现为乳房肿块、乳头溢液、腋窝淋巴结肿大等症状^[8]。炎症反应使淋巴管通透性增加,乳腺癌细胞因此进入淋巴系统并转移到淋巴结,影响患者的预后和生存率^[9]。因此,寻找

表3 乳腺癌患者淋巴结转移的单因素分析 [n(%)]

因素	分类	n	淋巴结转移		χ^2 值	P 值
			是(n=73)	否(n=113)		
年龄(岁)	<45	117	44(37.61)	73(62.39)	0.356	0.551
	≥ 45	69	29(42.03)	40(57.97)		
肿块直径	$>2\text{ cm}$	71	40(56.34)	31(43.66)	14.068	<0.001
	$\leq 2\text{ cm}$	115	33(28.70)	82(71.30)		
月经情况	未绝经	75	29(38.67)	46(61.33)	0.018	0.894
	绝经	111	44(39.64)	67(60.36)		
组织学分级	Ⅰ级+Ⅱ级	128	37(28.91)	91(71.09)	18.410	<0.001
	Ⅲ级	58	36(62.07)	22(37.93)		
分化程度	低分化	33	27(81.82)	6(18.18)	30.492	<0.001
	中高分化	153	46(30.07)	107(69.93)		
脉管内栓塞	有	102	43(42.16)	59(57.84)	0.802	0.371
	无	84	30(35.71)	54(64.29)		
SHC1	阴性	50	5(10.00)	45(90.00)	24.532	<0.001
	阳性	136	68(50.00)	68(50.00)		
CA153	阴性	55	4(7.27)	51(92.73)	33.484	<0.001
	阳性	131	69(52.67)	62(47.33)		

有效预测乳腺癌淋巴结转移的生物标志物具有重要的临床价值。

SHC1 是一种胞内接头蛋白,可通过与受体酪氨酸激酶和生长因子受体结合,激活下游信号分

表4 乳腺癌患者淋巴结转移的多因素分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95%CI)值	P 值
肿块直径	$\leq 2\text{ cm}=0$; $>2\text{ cm}=1$	0.914	0.372	6.037	2.494(1.203~5.171)	0.014
组织学分型	Ⅰ级+Ⅱ级=0; Ⅲ级=1	0.953	0.324	8.652	2.593(1.374~4.894)	0.003
分化程度	中/高分化=0; 低分化=1	1.015	0.337	9.071	2.759(1.425~5.342)	0.003
SHC1	阴性=0; 阳性=1	1.129	0.306	13.613	3.093(1.698~5.634)	<0.001
CA153	阴性=0; 阳性=1	1.401	0.348	16.208	4.059(2.052~8.029)	<0.001

子,调控细胞行为。Lewis等^[10]的研究表明,SHC1在乳腺癌中的高表达增加了乳腺癌细胞的肺转移潜能。CA153是一种与乳腺癌密切相关的糖蛋白标志物,主要由乳腺癌细胞表达并释放到血液中^[11]。相关研究显示^[12],乳腺癌患者乳头溢液及血清中CA153的水平显著高于良性病变组,并且在不同的组织学分级、淋巴结转移和肿瘤复发中水平差异具有统计学意义,提示CA153在监测乳腺癌复发和转移中可能发挥重要作用。本研究发现,乳腺癌组SHC1、CA153阳性率均高于癌旁组。进一步分析SHC1、CA153与乳腺癌患者的临床病理特征发现,SHC1、CA153表达阳性乳腺癌患者的肿块直径>2 cm、组织学分级为Ⅲ级、分化程度为低分化、脉管有内栓塞的占比均高于SHC1、CA153表达阴性的患者,说明SHC1、CA153与乳腺癌的临床病理特征密切相关。分析其原因,首先,乳腺癌的发生伴随着基因突变和表观遗传学变化,可能激活SHC1和CA153相关基因的表达。基因启动子区域的甲基化通常会导致基因表达降低,但其他表观遗传学机制,如组蛋白修饰,可能促进SHC1基因的过表达^[13]。SHC1基因的过表达可能还与基因扩增或染色体重排有关。而CA153的合成可能受转录因子的异常调控^[14]。其次,肿瘤微环境中的基质细胞、免疫细胞和血管内皮细胞与乳腺癌细胞相互作用,释放出多种细胞因子和生长因子,激活Ras-MAPK和PI3K-Akt等信号通路,从而促进SHC1的高表达^[15]。因此,SHC1和CA153的上升可能与机体内的这些生物学变化密切相关,进而影响到乳腺癌的病理特征和淋巴结转移的发生。结果还显示,淋巴结转移患者SHC1阳性表达以及CA153阳性表达的占比高于淋巴结未转移组,这一发现进一步强调了SHC1和CA153在乳腺癌淋巴结转移中的重要作用。SHC1作为一种含有Src同源2结构域的衔接蛋白,过表达可能增强肿瘤细胞的增殖和迁移能力,从而促进淋巴结转移。CA153的高表达则与乳腺癌细胞的表面糖基化改变有关,这些改变有助于癌细胞的黏附和迁移,进而增加淋巴结转移的风险。多因素分析结果结果显示,肿块直径、组织学分型、分化程度及SHC1、CA153表达是乳腺癌患者淋巴结转移的影响因素,提示临床对此类患者应加强监测,以改善预后。

综上所述,乳腺癌组织中SHC1、CA153均呈高表达,两指标与乳腺癌患者的病理特征及淋巴

结的转移有一定关联,对评估乳腺癌患者淋巴结转移风险有一定临床价值。

参考文献

- [1] 许玉春,高仁康. miR-342-3p在乳腺癌中的表达及其与临床病理特征、远期预后的相关性[J]. 医学分子生物学杂志, 2022,19(4):307-313
- [2] Peng J, Pang J, Huang L, et al. Corrigendum to "LRP1 activation attenuates white matter injury by modulating microglial polarization through Shc1/PI3K/Akt pathway after subarachnoid hemorrhage in rats"[J]. Redox Biol, 2024, 71:103098.
- [3] 赵浩获. 配体特异的EGFR复合体动态组装与乳腺癌相关性研究[D]. 天津:天津大学, 2021.
- [4] 杨莉莎,黄云娜. 三苯氧胺联合来曲唑治疗ER阳性乳腺癌近期疗效观察[J]. 保健医学研究与实践, 2023,20(4):37-41.
- [5] 牛猛,董燕兵,李孝涛,等. 曲妥珠单抗联合ECT化疗方案对晚期乳腺癌患者疗效、血清CA153、CEA及造血功能影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024,16(3):565-568+577.
- [6] Teichgraber DC, Guirguis MS, Whitman GJ. Breast Cancer Staging: Updates in the AJCC Cancer Staging Manual, 8th Edition, and Current Challenges for Radiologists, From the AJR Special Series on Cancer Staging[J]. AJR Am J Roentgenol, 2021,217(2):278-290.
- [7] 董欢欢,陈萍,宋黄瑜,等. 乳腺癌组织中PAX8、MECOM表达及其与临床病理特征、淋巴结转移的关系[J]. 实用癌症杂志, 2023,38(4):554-557.
- [8] 黄建平,袁宇霆. 早期乳腺癌乳腺肿瘤整形保乳术中柔性透明材料3D打印的应用效果观察[J]. 感染、炎症、修复, 2022,23(1):28-32.
- [9] 温鑫鑫,李南林. 抗体药物偶联类药物在乳腺癌脑转移治疗中的研究进展[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024,18(5):72-75.
- [10] Lewis K, Kiepas A, Hudson J, et al. p66ShcA functions as a contextual promoter of breast cancer metastasis[J]. Breast Cancer Res, 2020,22(1):7.
- [11] Jia L, Li G, Ma N, et al. Soluble POSTN is a novel biomarker complementing CA153 and CEA for breast cancer diagnosis and metastasis prediction[J]. BMC Cancer, 2022, 22(1):760.
- [12] 李远平,刘勋,祝琴. 乳腺癌组织中VWCE、MEKK3的表达水平与临床病理、预后的关系分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020,12(9):1260-1263+1267.
- [13] 梁爽,赵威,陈丽,等. 大黄蛰虫丸加减联合奥拉帕利治疗乳腺癌基因突变型卵巢癌[J]. 西南医科大学学报, 2024,47(4):321-324.
- [14] Chi Y, Su M, Zhou D, et al. Dynamic analysis of circulating tumor DNA to predict the prognosis and monitor the treatment response of patients with metastatic triple-negative breast cancer: A prospective study[J]. Elife, 2023,12:e90198.
- [15] Dong X, Akueteh PDP, Song J, et al. Major Vault Protein (MVP) Associated With BRAFV600E Mutation Is an Immune Microenvironment-Related Biomarker Promoting the Progression of Papillary Thyroid Cancer via MAPK/ERK and PI3K/AKT Pathways[J]. Front Cell Dev Biol, 2022,9:688370.

·论 著·

中段尿样本病原菌快速检测方法的建立与评估

刘业琼¹ 王蕾² 曹励欧² 徐炜新^{1*}

【摘要】目的 探讨建立和优化中段尿样本病原体快速检测方案,并对其临床运用的价值和检测效能进行评估。**方法** 收集2023年4月至2024年4月上海健康医学院附属嘉定区中心医院检验科中段尿样本1440例,分别采用直接梯度离心法、萃取液梯度离心法和分离胶离心法3种细菌富集方式(快检方案)以及孵育培养(标准方案)的4种方法进行前处理。采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS,简称MS)对经3种快检方案处理的中段尿样本进行不经培养的直接快速菌种鉴定并同标准方案报阳样本开展MS菌属种的鉴定,分别比较3种快检方案的总体检出率和在不同病原菌种类中检出率以及诊断特异性,并评估主要检出病原菌种的最低检出限。**结果** 1440例中段尿样本中,不同快检方案和标准方案的菌属种鉴定结果一致率均为100%。277例单一菌感染的阳性样本运用上述3种快检方案其检出率分别是85.9%(238/277)、90.6%(251/277)、83.0%(230/277)且差异无统计学意义($P>0.05$)。61例2种或以上菌混合感染的样本经上述3种快检方案鉴定出1种优势菌的检出率分别是73.8%(45/61)、77.0%(47/61)、70.5%(43/61)且差异无统计学意义($P>0.05$)。不同快检方案病原菌分类检出率比较中,革兰阳性菌分别为74.1%(63/85)、90.5%(77/85)、78.8%(67/85),萃取液梯度离心法占优势($P<0.05$);革兰阴性菌分别为92.2%(190/206)、91.1%(188/206)、89.8%(185/206)且差异无统计学意义($P>0.05$);真菌为78.7%(37/47)、87.2%(41/47)、59.6%(28/47),萃取液梯度离心法占优势($P<0.05$)。在诊断特异性评估中,3种快检方案差异无统计学意义($P<0.05$)且均有少量细菌数 $<10^5$ cfu/mL(假阳性)的样本被快检方案检出。在最低检出限的评估中,同一病原菌使用不同集菌方式不存在差异;同一集菌方式对不同病原菌存在一定差异。**结论** 在MS检测平台上,通过对中段尿样本中的细菌富集能实现较高敏感性和特异性的快速检测。

【关键词】 中段尿;基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术;细菌富集;最低检出限

Establishment and evaluation of a rapid detection method for pathogens in midstream urine specimens

LIU Yeqiong¹, WANG Lei², CAO Liou², XU Weixin^{1*}

(1. Department of Laboratory Medicine; 2. Department of Clinical Nephrology, Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai, China, 201899)

【ABSTRACT】 Objective To explore the establishment and optimization of a rapid pathogen detection program for midstream urine samples, and to evaluate its clinical value and detection efficacy. **Methods** From April 2023 to April 2024, 1 440 midstream urine samples were collected from the Department of Clinical Laboratory at Jiading District Central Hospital affiliated with Shanghai Health Medical College. These samples were preprocessed using four methods: direct gradient centrifugation, extraction fluid gradient centrifugation, separation gel centrifugation (three rapid detection schemes), and incubation culture (standard scheme). Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS, abbreviated as MS) was used for direct rapid bacterial identification on the midstream urine samples processed by the three rapid detection schemes, and compared with the positive samples from the standard scheme for MS genus and species identification. The overall detection rates, detection rates for different pathogenic bacteria, diagnostic

基金项目:上海市嘉定区自然科学基金课题(JDKW-2022-0014);上海市嘉定区中心医院“双馨培养计划”(SX202206)

作者单位:1.上海健康医学院附属嘉定区中心医院检验科,上海201899

2.上海健康医学院附属嘉定区中心医院临床肾内科,上海201899

*通信作者:徐炜新, E-mail: weixinzhxu@163.com

specificity of the three rapid detection schemes were compared, and the minimum detection limits of the main detected pathogenic bacteria species were evaluated. **Results** Among 1,440 midstream urine samples, the identification results of bacterial genera and species were consistent at 100% for all rapid testing schemes compared to the standard scheme. For 277 cases of single bacterial infection, the detection rates using the three rapid testing schemes were 85.9% (238/277), 90.6% (251/277), and 83.0% (230/277), with no statistically significant differences ($P>0.05$). In 61 cases of mixed infections with two or more bacteria, the detection rates for identifying one dominant bacterium using the three rapid testing schemes were 73.8% (45/61), 77.0% (47/61), and 70.5% (43/61), also showing no statistically significant differences ($P>0.05$). Comparing the detection rates of pathogenic bacteria by different rapid testing schemes, Gram-positive bacteria were detected at rates of 74.1% (63/85), 90.5% (77/85), and 78.8% (67/85), with the gradient centrifugation extraction method showing an advantage ($P<0.05$); Gram-negative bacteria were detected at rates of 92.2% (190/206), 91.1% (188/206), and 89.8% (185/206), with no statistically significant differences ($P>0.05$). Fungi were detected at rates of 78.7% (37/47), 87.2% (41/47), and 59.6% (28/47), again with the gradient centrifugation extraction method showing an advantage ($P<0.05$). In the evaluation of diagnostic specificity, there were no statistically significant differences among the three rapid testing schemes ($P<0.05$), and some samples with bacterial counts less than 10^5 cfu/mL (false positives) were detected by the rapid testing schemes. In the assessment of the lowest detection limit, there were no differences when the same pathogen was collected using different methods; however, there were differences when the same collection method was used for different pathogens. **Conclusion** On the MS detection platform, rapid testing with high sensitivity and specificity can be achieved by enriching bacteria in midstream urine samples.

[KEY WORDS] Midstream urine; Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry; Bacterial enrichment; Limit of detection

尿路感染是临床最常见的感染性疾病之一,可发生于各个年龄人群,同时也是发生院内感染的主要病种之一,其主要的病原体为细菌^[1-2]。对此,目前该疾病的临床诊断依赖的标准仍然是中段尿样本培养^[3],但是其报告等候时间长(平均2~5天)的缺陷使得实验室很难及时为临床该类疾病的诊断和治疗提供病原学检测报告。MALDI-TOF MS是近年来发展起来的一种新型细菌鉴定技术,不但可以直接快速鉴定单个分离纯化的菌落^[4],而且还可用于一些无菌体液如脑脊液、血液、胆汁、各类浆膜腔积液等的直接鉴定,并可以大幅缩短菌种鉴定的时间^[5-8]。此外,针对中段尿样本不经培养直接进行病原菌鉴定检测的尝试也有报道^[9]。本次研究就是在此基础上,基于MS平台针对中段尿样本病原体快速检测方案的建立和优化以及其在临床运用中的价值和检测效能进行评估。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集2023年4月至2024年4月上海健康医学院附属嘉定区中心医院疑似泌尿系统感染患者的中段尿样本(无菌管收集中段尿约10 mL)1 440例,其中男625例、女815例,年龄中位数为49(17~92)

岁。本研究经上海健康医学院附属嘉定区中心医院伦理委员会批准,本次报道遵守《世界医学协会赫尔辛基宣言》^[10]所有规则。

1.2 仪器及试剂

质谱仪、配套校准品及靶板由德国布鲁克-道尔顿公司生产,比浊仪由法国梅里埃公司生产,麦康凯琼脂培养基和血琼脂平板来自上海伊华生物科技有限公司,高速离心机由美国贝赛默飞公司生产,无水乙醇、甲酸、乙腈、乙二醇美国SIGMA公司化学试剂有限公司提供,分离胶试管来自美国碧迪公司,质控菌种和仪器校准株均由上海市临床检验中心提供。

1.3 方法

1.3.1 直接梯度离心法标本前处理(下文简称方案1)

采取差速离心法,取1 mL混匀后的清洁中段尿标本于1.5 mL EP管中,使用2 000×g进行30 s离心,取上清液16 000×g离心5 min,取离心后管内沉渣,用500 μ L 0.9%氯化钠溶液进行震荡混匀,再12 000×g离心5 min,弃去上清液用1 mL去离子水洗涤沉淀,使用相同的转速和时间离心,最终弃去上清液,留下沉淀物,将沉淀物作为MS的待测样本。

1.3.2 萃取液梯度离心法标本前处理(下文简称方案2)

吸取 300 μ L 清洁中段尿标本并加入 900 μ L 无水乙醇,震荡后在 13 000 $\times$ g 的离心机中离心 2 min。离心后弃去上清液,向其中加入 50 μ L 70% 的甲酸,裂解细胞壁。再加入 50 μ L 的乙腈萃取蛋白,混匀后在 13 000 $\times$ g 的离心机中离心 2 min,取上清液,将上清液作为 MS 的待测样本。

1.3.3 分离胶离心法标本前处理(下文简称方案3)

取 1 mL 混匀后的清洁中段尿标本置于分离胶管中室温下 3 000 $\times$ g 离心 5 min,弃去上清,取分离胶上层边缘灰白色沉淀,经 3 mL 0.45% 氯化钠溶液洗涤后转移至新的分离胶管中,再次室温条件下 3 000 $\times$ g 离心 5 min,弃去上清,加入 1 mL 0.45% 氯化钠溶液洗涤。将菌液置入 1.5 mL EP 管中,室温下 10 000 $\times$ g 离心 4 min,弃上清,留取管内白色沉淀待用,将沉淀物作为 MS 的待测样本。

1.3.4 孵育培养标本前处理

用定量接种环沾取病人的清洁中段尿标本在血琼脂平板上进行平板分区划线,随后放入 35 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱中培养 48 h 后观察平板并检测平板上生长的病原菌,以细菌数 $\geq 10^5$ cfu/mL 为阳性诊断标准^[11],挑取 0.5 个菌落作为 MS 的待测样本。

1.3.5 MS 的菌属种鉴定检测

严格按照仪器说明书的操作要求进行,并根据得分情况判定判断鉴定结果的可靠程度,可靠性从高到低可分为 2.300~3.000、2.00~2.299、1.700~1.999、0.000~1.699 四个层级,其中 1.700 以下的结果为不可靠鉴定结果。

1.3.6 各浓度梯度评估菌液的制备

将各待制备菌落通过比浊仪调配至 0.5 个麦氏单位(即 1.5×10^8 cfu/mL),再用无菌生理盐水进行连续的 10 倍倍比稀释,即分别再得到 1.5×10^7 、

1.5×10^6 、 1.5×10^5 、 1.5×10^4 、 1.5×10^3 、 1.5×10^2 cfu/mL 浓度的各菌种评估菌液。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,采用四格表 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标准方案的检测鉴定结果

经孵育培养及 MS 鉴定,1 440 例中段尿经标准方法检出了 277 例单一菌感染阳性样本和 61 例 2 种或以上菌混合感染的样本。检测结果见表 1。

表 1 孵育培养及 MS 鉴定结果				
	革兰阳性菌	革兰阴性菌	真菌	总计
单一菌阳性	70	169	38	277
混合菌阳性(优势菌)	15	37	9	61
总计	85	206	47	338

2.2 快检方案总体阳性检出率比较

快检方案之间总体阳性检出率的比较发现,不同细菌富集的前处理方式组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 快检方案分菌种类别检出率比较

快检方案对革兰阳性菌和真菌的检出率差异有统计学意义($P<0.05$)且均为方案 2 占优,对革兰阴性菌的阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

2.4 快检方案的诊断特异性比较

快检方案诊断特异性差异无统计学意义($P>0.05$),且检出的假阳性样本均为大肠埃希菌。见表 4。

表 4 快检方案的诊断特异性比较					
	方案 1	方案 2	方案 3	χ^2 值	P 值
真阴性	1 098	1 098	1 099		
假阳性	4	4	3		
诊断特异性	99.6%	99.6%	99.7%	0.112	0.951

表 2 3 种细菌富集方式快速检测法总体阳性检出率比较

	方案 1	方案 2	方案 3	χ^2 值	P 值
单一菌检出率	85.9%(238/277)	90.6%(251/277)	83.0%(230/277)	0.878	0.658
混合菌(优势菌)检出率	73.8%(45/61)	77.0%(47/61)	70.5%(43/61)	0.456	0.785
鉴定结果与标准方法比对一致率	100%	100%	100%		

表 3 快检方案分菌种类别检出率比较

	方案 1	方案 2	方案 3	χ^2 值	P 值
革兰阳性菌	74.1%(63/85)	90.5%(77/85)	78.8%(67/85)	7.386	0.027
革兰阴性菌	92.2%(190/206)	91.1%(188/206)	89.8%(185/206)	0.585	0.773
真菌	78.7%(37/47)	87.2%(41/47)	59.6%(28/47)	7.480	0.023

2.5 主要病原菌倍比稀释后的最低检出限比较

277例单一菌感染的样本菌种分布中占前五位的是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、屎肠球菌和粪肠球菌,运用上述3种快检方案对应的最低检出限一致(评分大于1.70时的最低浓度阈值)但菌种之间存在差异。见表5。

表5 主要病原菌倍比稀释后的最低检出限比较

最低检出限 (cfu/mL)	大肠 埃希菌	肺炎 克雷伯菌	铜绿 假单胞菌	粪肠 球菌	屎肠 球菌
方案1	1.5×10^4	1.5×10^5	1.5×10^5	1.5×10^6	1.5×10^6
方案2	1.5×10^4	1.5×10^5	1.5×10^5	1.5×10^6	1.5×10^6
方案3	1.5×10^4	1.5×10^5	1.5×10^5	1.5×10^6	1.5×10^6

3 讨论

MALDI-TOF MS技术在病原学检验中因其鉴定属种数据库大,无需孵育、鉴定时间短、结果的重复性稳定性好,已经成为了众多临床微生物实验室菌属种鉴定检验环节中的一项重要技术手段。然而,临床对于病原学检验长期以来的要求就是在保证检验质量的同时,持续缩短检验周转时间。为此,部分临床微生物实验室也逐步开始在一些无菌体液中缩短孵育培养时间或是跳过孵育培养进行直接的病原菌MS检测^[12-14]。要实现这个设想,其中的关键一步便是通过各种富集手段使得样本中的病原菌浓度到达其最低检测浓度阈值,为此也设计了多种的细菌富集方式。

本次研究中比较了直接梯度离心法、萃取液梯度离心法和分离胶离心法3种细菌富集方式进行标本前处理后快速检测方法相较于标准的孵育培养方法的阳性结果检出率,总体而言各种前处理的方式检测灵敏度和特异性均较高,也为该方法的临床运用提供了基础数据的参考。研究过程中也发现3种预处理方式的总体检出率没有显著性差异,但在革兰阳性菌和真菌中添加了萃取液后有一定程度的检出率提升。这可能与这两类病原体的细胞壁较厚,通过破壁和蛋白质萃取后提升了富集效果,进而能在一定程度上提高上述菌种的检出率。本次研究中使用的分离胶离心富集方式可采用商品化的试剂,而另外两种尚无商品化的标准试剂,这对其在提高临床使用率上而言存在一定的劣势。

由于本次研究中发现了儿例未达到 10^5 cfu/mL浓度的大肠埃希菌样本被快检方法检出,故而推断不同菌种间的最低检出限浓度可能存在差异。因此,本次研究也评估了尿路感染的中段尿样本

中几个检出率较高的菌种使用不同富集方式后快检的最低检出限,可以看到3种富集前处理方式对于同一菌种的最低检出限评估结果一致,但是不同菌种间的差异还是在一定程度上存在的。

当然本次研究也显示快速检测方法对于混合感染的检测效能还是有局限的,只能在部分样本中检出1种优势菌,尚不能满足临床诊治的需求。

参考文献

- [1] 裴凌燕,谢国艳,王江丽,等. 2010—2021年上海市某三甲中医医院尿液临床分离菌的分布和耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2024,24(3):318-325.
- [2] 寇琳娜,张春艳,王梦园,等. 2017—2022年山东地区不同人群中段尿分离菌的构成及药敏分析[J]. 中国抗生素杂志, 2024,49(8):954-960.
- [3] 杨琦,郭楠,栗晓斌,等. 24小时尿蛋白、尿液亚硝酸盐、尿沉渣细菌定量计数诊断肾病综合征合并尿路感染的价值[J]. 浙江医学, 2024,46(23):2521-2526.
- [4] 王燕,孙博群,谷钰峰,等. 医院感染常见病原体快速检测方法的研究进展[J]. 中华医院感染学杂志, 2022,32(6):955-960.
- [5] 王同利,吴祥兵,罗艳,等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱快速鉴定药敏法在阳性血培养标本中的应用价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2023,33(1):36-39+43.
- [6] Azrad M, Keness Y, Nitzan O, et al. Cheap and rapid in-house method for direct identification of positive blood cultures by MALDI-TOF MS technology [J]. BMC Infect Dis, 2019,19(1):72.
- [7] Curtioni A, Cipriani R, Marra ES, et al. Rapid Identification of Microorganisms from Positive Blood Culture by MALDI-TOF MS After Short-Term Incubation on Solid Medium [J]. Curr Microbiol, 2017,74(1):97-102.
- [8] Maeda H, Hayashi K, Ishige T, et al. Use of the MALDI Bio-Typer system and rapid BACpro with MALDI-TOF MS for rapid identification of microorganisms causing bacterial urinary tract infection in feline urine samples [J]. J Vet Med Sci, 2018,80(10):1490-1494.
- [9] 许荣琴,杜鸿,谢小芳,等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在尿标本微生物快速鉴定中的应用[J]. 检验医学与临床, 2018,15(24):3694-3697.
- [10] 王福玲. 世界医学会《赫尔辛基宣言》——涉及人类受试者的医学研究的伦理原则[J]. 中国医学伦理学, 2016,29(3):544-546.
- [11] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 第4版. 北京:人民卫生出版社, 2015:568-572.
- [12] 李闽真,叶玲清,洪锦春. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在空气细菌鉴定中的应用[J]. 海峡预防医学杂志, 2020,26(5):44-46.
- [13] 冯琳涵,程强,刘丁华,等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在病原菌鉴定中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2021,25(14):1-3.
- [14] 张浩然,孙冰清,徐汀,等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在病原微生物鉴定中的应用[J]. 中国兽医杂志, 2022,58(1):106-109.

·论 著·

骨髓中 *SPINK2*、*KLK4* 水平与骨髓增生异常综合征患者临床特征、预后的关系

邢莹莹^{1*} 胡斌² 张爱荣¹ 黄晶¹ 索美芳¹

【摘要】目的 探讨骨髓中丝氨酸蛋白酶抑制因子 Kazal 型 2(*SPINK2*)、激肽释放酶 4(*KLK4*) 水平与骨髓增生异常综合征(MDS)患者临床特征和预后的关系。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2023 年 6 月驻马店市中心医院收治的 92 例 MDS 患者作为研究组。选择同期因疑似血液病而进行骨髓检查,但最终排除血液病诊断的 62 例患者作为对照组。收集两组对象的一般资料,检测两组 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量,分析 MDS 患者不同临床特征与 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量的关系。对观察组患者进行为期 6 个月的随访,比较不同预后的 MDS 患者的 *SPINK2*、*KLK4* 骨髓基因表达量,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 *SPINK2*、*KLK4* 及两者联合评估 MDS 患者预后的临床效能。**结果** 研究组患者的 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。IPSS-R 分级为高危+极高危的 MDS 患者 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 明显高于 IPSS-R 分级为低危+中危的 MDS 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。预后不良组患者的 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 均高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。*SPINK2*、*KLK4* 及两者联合评估 MDS 患者预后的 AUC(95%CI)分别为 0.738(0.693~0.788)、0.819(0.769~0.864)、0.901(0.851~0.946),两者联合评估的 AUC 高于单一指标评估。**结论** 骨髓中 *SPINK2* 和 *KLK4* 与 MDS 患者的临床特征、预后密切相关,两指标高表达与病情严重程度和不良预后显著相关,可能可作为预测 MDS 预后的潜在生物标志物。

【关键词】 骨髓增生异常综合征;丝氨酸蛋白酶抑制因子 Kazal 型 2;激肽释放酶 4

Relationship between *SPINK2* and *KLK4* levels in bone marrow and clinical features and prognosis of cases with myelodysplastic syndrome

XING Yingying^{1*}, HU Bin², ZHANG Airong¹, HUANG Jing¹, SUO Meifang¹

(1. Department of Clinical Laboratory, 2. Department of Infection Prevention and Control, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian, Henan, China, 463000)

【ABSTRACT】Objective To explore the relationship between the levels of serine peptidase inhibitors Kazal type 2 (*SPINK2*) and kallikrein-4 (*KLK4*) in bone marrow and the clinical features and prognosis of cases with myelodysplastic syndrome (MDS). **Methods** 92 cases of MDS patients admitted to our hospital from January 2021 to June 2023 were selected for the study. During the same period, 62 cases with suspected blood diseases underwent bone marrow examinations were chosen as the control group. General data and the relative expression levels of *SPINK2* and *KLK4* mRNA in the bone marrow of both groups were collected. The relationship between the relative expression levels of *SPINK2* and *KLK4* mRNA and different clinical characteristics of the cases was analyzed. The patients in the observation group were followed up for 6 months. The relative mRNA expression levels of *SPINK2* and *KLK4* in the bone marrow of MDS cases with different prognoses were compared. Furthermore, the clinical efficacy of *SPINK2*, *KLK4*, and their combination in evaluating the prognosis of MDS cases was assessed using ROC analysis. **Results** The mRNA levels of *SPINK2* and *KLK4* in the study group were higher than those in the control group ($P<0.05$). The mRNA levels of *SPINK2* and

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20220658)

作者单位:1. 驻马店市中心医院医学检验科,河南,驻马店 463000

2. 驻马店市中心医院感染预防与控制科,河南,驻马店 463000

*通信作者:邢莹莹, E-mail: xingyingying0396@163.com

KLK4 in MDS cases with IPSS-R classification as high risk + very high risk were significantly higher than those in MDS cases with IPSS-R classification as low risk + medium risk ($P<0.05$). The mRNA levels of *SPINK2* and *KLK4* in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group ($P<0.05$). The AUC (95%CI) of *SPINK2*, *KLK4* and their combination for the prognosis of MDS cases were 0.738 (0.693~0.788), 0.819 (0.769~0.864) and 0.901 (0.851~0.946), respectively. The AUC of the combined evaluation was higher than that of single *SPINK2* and *KLK4*. **Conclusion** *SPINK2* and *KLK4* in bone marrow are closely related to the clinical features and prognosis of MDS cases. High expression of these genes is significantly associated with the severity of the disease and a poor prognosis. This suggests that *SPINK2* and *KLK4* could potentially be used as biomarkers to predict the prognosis of MDS.

[KEY WORDS] Myelodysplastic syndrome; Serine peptidase inhibitor Kazal type 2; Kallikrein 4

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是一种由造血干细胞异常引起的异质性血液疾病,其主要特征是骨髓造血功能紊乱,导致外周血细胞减少,进而引发贫血、感染和出血^[1]。MDS的预后差异较大,部分患者可能较快进展为急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML),而另一部分则可长期维持并不显著进展。目前,MDS的预后评估主要依赖于国际预后评分系统(international prognostic scoring system, IPSS)和其更新版本 IPSS-R,但这些评估系统对部分患者仍有局限性^[2]。丝氨酸肽酶抑制因子 Kazal 型 2 (serine peptidase inhibitor kazal type 2, *SPINK2*) 是肿瘤治疗的潜在靶点,研究显示^[3-4],*SPINK2* 在血液系统疾病中具有重要的调节功能。早期,激肽释放酶 4 (stimulating peptidase 4, *KLK4*) 主要集中于口腔医学领域研究,近年来的研究则揭示了其与恶性肿瘤密切相关,并在凝血和炎症反应中发挥作用^[5]。基于上述背景,本研究主要探讨骨髓中 *SPINK2* 和 *KLK4* 水平与 MDS 患者临床特征及预后之间的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2023 年 6 月驻马店市中心医院收治的 92 例 MDS 患者作为研究组,选择同期因疑似血液病而在本院进行骨髓检查,但最终排除血液病诊断的 62 例患者作为对照组。研究组:男性 55 例,女性 37 例,平均年龄(62.79 ± 5.43)岁。对照组:男性 36 例,女性 26 例,平均年龄(62.15 ± 5.78)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。MDS 患者纳入标准:①符合 MDS 诊断标准^[6];②均在本院首次确诊 MDS;③入院前未接受任何治疗;④年龄 >18 岁;⑤临床资料完整无缺

失。排除标准:①合并有其他恶性血液疾病及恶性肿瘤者;②入院前 6 个月内接受过骨髓移植;③合并严重的感染或炎症性疾病者;④精神障碍或认知功能障碍者;⑤处于妊娠期或哺乳期。所有纳入对象均签署知情同意书,本研究已通过院伦理委员会的审批批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集所有研究对象的临床资料,主要包括:年龄、性别、世界卫生组织造血与淋巴组织肿瘤分类标准(WHO 分型)、IPSS-R 分级。

1.2.2 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 表达检测

由医护人员局麻处理后,抽取所有研究对象 2~5 mL 骨髓液,采集部位为髂后上棘,抽取时严格遵守无菌操作规程。使用 TRIzol 试剂(Invitrogen)从骨髓细胞中提取总 RNA,使用反转录试剂盒(TaqMan Reverse Transcription Reagents, Applied Biosystems)将总 RNA 反转录为 cDNA。反转录反应条件包括 37℃ 孵育 60 min,随后 95℃ 孵育 5 min 以失活逆转录酶。使用实时荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems 7500 Fast)配合 *SPINK2*、*KLK4* 的特异性引物与探针(IDT 公司)进行 qPCR 检测。具体引物序列如下:*SPINK2* 正向引物:5'-CGC TGG CAC TGG TAT TAA GGA -3',反向引物:5'-TCT TGA TGT GGA TGG GCT GGA -3',探针:5'-FAM-AGC CAG CCA GGA TCC TGG TCA GCT-TAMRA-3';*KLK4* 正向引物:5'-GCT GAA GCT GGA GAA GCT GAA-3',反向引物:5'-GGA ATT GCA GCA GGA ATT GCA -3',探针:5'-FAM-CAG GGA GGA GGA GGA GGA GCT GAA-TAMRA-3'。反应体系包括 qPCR 反应体系包括:10 μ L 2 $\times$ qPCR 预混液,1 μ L cDNA 模板,0.5 μ L 逆转录酶,0.5 μ L 核糖核酸酶抑制剂,0.2 μ M(每种)特异

性引物, 0.1 μM 探针, 加 ddH₂O 总反应体积为 20 μL 。qPCR 反应条件为: 95℃ 预变性 2 min, 随后进行 40 个循环, 每个循环包括 95℃ 变性 15 s 和 60℃ 退火及延伸 1 min。每次实验均设置无模板对照以确保反应特异性。使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算 *SPINK2* 和 *KLK4* mRNA 的相对表达量, 将每个样本的 Ct 值与内参基因 (*ABL1*) 的 Ct 值进行比较, 计算每个基因的相对表达量。

1.2.3 随访及预后评估

研究组在结束治疗出院后, 进行为期 6 个月的随访, 采用《血液病疗效及诊断标准》^[7] 评估患者的预后情况, 设立预后良好组 (疾病未出现进展, 骨髓原始细胞比例维持在 5% 以下; 血红蛋白 $\geq 12 \text{ g/dL}$, 白细胞 $\geq 4 \times 10^9/\text{L}$, 血小板 $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$; 生活质量评分显著提高, 可在无辅助治疗的情况下正常生活工作; 无明显感染、出血或发生其他严重并发症。) 与预后不良组 (疾病进展, 骨髓原始细胞比例增加至 10% 以上; 外周血细胞计数持续下降, 贫血、白细胞减少和血小板减少等临床症状加重; 生活质量评分显著下降, 难以维持正常生活和工作, 依赖辅助治疗; 出现反复感染、严重出血或其他严重并发症)。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 25.0 统计软件处理数据。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 行独立 *t* 检验; 计数资料以 *n* (%) 表示, 行 χ^2 检验; 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 *SPINK2*、*KLK4* 及两者联合评估 MDS 患者预后的临床效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量比较

研究组患者的 *SPINK2*、*KLK4* 的 mRNA 相对表达量均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>SPINK2</i> mRNA	<i>KLK4</i> mRNA
对照组	62	6.02±0.91	3.14±0.57
研究组	92	9.35±1.31	4.87±0.96
χ^2 值		17.380	12.748
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 MDS 患者不同临床特征与 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量的关系

IPSS-R 分级为高危+极高危的 MDS 患者 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量明显高于 IPSS-R 分级为低危+中危的 MDS 患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 不同预后的 MDS 患者 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量比较

研究组患者出院后进行为期 6 个月的随访, 共计 65 例患者预后良好, 27 例患者预后不良。预后不良组患者的 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量均高于预后良好组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同预后的 MDS 患者 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>SPINK2</i> mRNA	<i>KLK4</i> mRNA
预后良好组	65	8.79±1.23	4.54±0.63
预后不良组	27	10.68±1.49	5.65±0.67
χ^2 值		6.299	7.554
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.4 骨髓中 *SPINK2*、*KLK4* 对 MDS 患者预后的评估价值

SPINK2、*KLK4* 及两者联合评估 MDS 患者预后的 AUC (95%CI) 分别为 0.738 (0.693~0.788)、0.819 (0.769~0.864)、0.901 (0.851~0.946), 两者联合评估的 AUC 高于单一指标评估。见表 4、图 1。

表 2 MDS 患者不同临床特征与 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量的关系 ($\bar{x} \pm s$)

	组别	例数 (<i>n</i> =92)	<i>SPINK2</i> mRNA	<i>F</i> / <i>t</i> 值	<i>P</i> 值	<i>KLK4</i> mRNA	<i>F</i> / <i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别	男	55	9.34±0.99	0.089	0.929	4.79±0.43	1.873	0.064
	女	37	9.36±1.15			4.98±0.54		
年龄	≥ 60 岁	50	9.27±1.39	0.652	0.516	4.86±0.75	0.131	0.896
	< 60 岁	42	9.45±1.23			4.88±0.70		
WHO 分型	病态造血	17	9.37±1.03	0.219	0.994	4.92±0.50	0.761	0.944
	多系病态造血	15	9.28±1.02			4.85±0.48		
	难治性贫血	22	9.29±1.05			4.96±0.53		
	原始细胞增多	23	9.36±1.12			4.81±0.51		
	其他	15	9.47±1.09			4.79±0.43		
IPSS-R 分级	低危+中危	50	8.66±0.79	8.325	<0.001	4.60±0.41	6.430	<0.001
	高危+极高危	42	10.17±0.95			5.19±0.47		

表4 骨髓中 *SPINK2*、*KLK4* 对 MDS 患者预后的评估价值

检测指标	AUC	95%CI	截点值	特异度	灵敏度
<i>SPINK2</i>	0.738	0.693~0.788	420.12 pg/mL	0.532	0.903
<i>KLK4</i>	0.819	0.769~0.864	230.22 pg/mL	0.655	0.903
<i>SPINK2</i> + <i>KLK4</i>	0.901	0.851~0.946		0.853	0.865

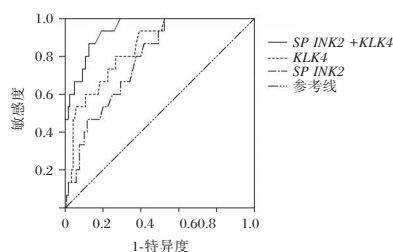


图1 ROC 曲线

3 讨论

MDS 是一种起源于造血干细胞的肿瘤性病变,其具体发病机制尚未完全阐明,但是普遍认为与遗传学异常、骨髓微环境异常以及免疫功能异常密切相关^[8]。这些复杂的病理生理过程导致 MDS 的临床表现和病程变异极大,病情严重者极易引发 AML,对患者的生命构成威胁。在此背景下,寻找能够准确反映 MDS 患者病情和预后状态的生物标志物显得尤为重要。

细胞凋亡是一种高度调控的细胞死亡程序,在维持组织稳态和防止癌症发生中起着关键作用^[9]。在 MDS 中,细胞凋亡途径往往受损,导致异常细胞的积累,正常血细胞生成受到抑制,进而引发血液系统功能障碍^[10]。*SPINK2* 是一种胰蛋白酶抑制剂,可参与细胞凋亡和细胞内信号的调节。相关研究表明^[11],*SPINK2* 在 AML 细胞中高表达,且 *SPINK2* 高表达的患者总生存率降低。*KLK4* 则是一种丝氨酸蛋白酶,在细胞凋亡和细胞外基质重塑中发挥重要作用,已被发现与多种癌症的发生和发展密切相关^[12]。本研究结果显示,研究组患者的 *SPINK2*、*KLK4* 的 mRNA 相对表达量均高于对照组,并且预后不良组患者的 *SPINK2*、*KLK4* 的 mRNA 相对表达量均高于预后良好组。分析其原因,骨髓造血微环境的异常变化是 MDS 发生和发展的关键因素之一。在 MDS 患者中,骨髓造血微环境的异常导致细胞凋亡调控机制受损,从而引起细胞凋亡不足和异常细胞的积累。*SPINK2* 的高表达可能通过抑制正常细胞的凋亡过程,促进异常细胞的存活和增殖^[13]。*KLK4* 则可能通过影响细胞外基质的重塑和炎症反应,间接加剧骨髓微环境的异常,进一步影响造血功能的稳定性^[14]。

本研究分析 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量与 MDS 患者临床资料的关系发现,IPSS-R 分级为高危+极高危的 MDS 患者 *SPINK2*、*KLK4* mRNA 相对表达量明显高于 IPSS-R 分级为低危+中危的 MDS 患者。也说明 *SPINK2* 和 *KLK4* 的表达与 MDS 的严重程度和预后密切相关。IPSS-R 分级为高危+极高危的患者通常具有更复杂的病理生理过程和更严重的造血功能障碍,这可能导致更严重的体内炎症反应和细胞凋亡异常,从而促使 *SPINK2* 和 *KLK4* 表达升高^[15]。此外,本研究还绘制 ROC 曲线评估骨髓中 *SPINK2*、*KLK4* 对 MDS 患者预后的价值,结果显示 *SPINK2*、*KLK4* 两者联合评估 MDS 患者预后的灵敏度和特异度均高于单独指标评估,说明两者具有互补性,联合评估 MDS 患者预后的价值更高。

综上所述,骨髓中 *SPINK2* 和 *KLK4* 与 MDS 患者的临床特征、预后密切相关,两指标高表达与病情严重程度和不良预后显著相关,可能可作为预测 MDS 预后的潜在生物标志物。

参考文献

- [1] Rotter LK, Shimony S, Ling K, et al. Epidemiology and Pathogenesis of Myelodysplastic Syndrome [J]. Cancer J, 2023, 29(3): 111-121.
- [2] Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management [J]. Am J Hematol, 2023, 98(8): 1307-1325.
- [3] 黎伟豪, 黄秀静, 叶燕绸. 一例 3M 综合征合并 Netherton 综合征家系的遗传学研究 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(11): 2009-2013.
- [4] Pitts HA, Cheng CK, Cheung JS, et al. SPINK2 Protein Expression Is an Independent Adverse Prognostic Marker in AML and Is Potentially Implicated in the Regulation of Ferroptosis and Immune Response [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(11): 9696.
- [5] Fan B, Niu Y, Zhang A, et al. *KLK4* Silencing Inhibits the Growth of Chromophobe Renal Cell Carcinoma through ERK/AKT Signaling Pathway [J]. Kidney Blood Press Res, 2022, 47(12): 702-710.
- [6] 王建祥. 血液系统疾病诊疗规范 [M]. 2 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2020: 96-101.
- [7] 沈悌, 赵永强. 血液病疗效及诊断标准 [M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 2018: 163-169.
- [8] Pereira MP, Herrity E, Kim DDH. TP53-mutated acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome: biology, treatment challenges, and upcoming approaches [J]. Ann Hematol, 2024, 103(4): 1049-1067.
- [9] 钟雄东, 张颖. 基于 RNA-seq 探讨二氢丹参酮 I 抑制胃癌细胞增殖的作用机制 [J]. 保健医学研究与实践, 2023, 20(11): 33-40.

(下转第 457 页)

·论 著·

一种子宫内膜炎体外受精-胚胎移植后妊娠结局预测模型的研究

赵彦梅* 辛峰 王涛

【摘要】目的 基于白细胞分化抗原(CD38)、CD138、多发性骨髓瘤癌基因1(MUMI)及临床特征构建一种子宫内膜炎(CE)体外受精-胚胎移植(IVF-ET)后妊娠结局预测模型。**方法** 选取2020年3月至2023年12月聊城市第二人民医院CE并接受IVF-ET的112例患者作为研究对象。患者接受IVF-ET前测定子宫内膜组织CD38、CD138、MUMI的表达。均随访妊娠至结束,根据妊娠结局分为妊娠结局良好组和妊娠结局不良组。Logistic回归分析CD38、CD138、MUMI及临床特征与CE IVF-ET后不良妊娠结局的关系,基于上述指标构建列线图预测模型,采用受试者工作特征(ROC)曲线评估列线图模型的预测性能,绘制校准曲线评价并验证风险预测模型的一致性,利用临床决策曲线验证模型的获益程度。**结果** 两组CD38、CD138、MUMI表达、抗生素治疗情况、宫腔镜评分(hEG)、移植胚胎数、优质囊胚数比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。CD38阳性表达、CD138阳性表达、MUMI阳性表达、未使用抗生素治疗、hEG评分 ≥ 4 分是CE IVF-ET后不良妊娠结局的危险因素($P<0.05$),移植胚胎数多和优质囊胚数多是CE IVF-ET后妊娠预后良好的保护因素($P<0.05$)。列线图预测模型曲线下面积为0.872,训练集与验证集模型的校准曲线显示,两者拟合度均良好。**结论** 基于CD38、CD138、MUMI及临床特征构建CE IVF-ET后妊娠结局预测模型有良好的临床应用价值。

【关键词】 子宫内膜炎; 体外受精-胚胎移植; 白细胞分化抗原38; 白细胞分化抗原138; 多发性骨髓瘤癌基因1

Study on a prediction model for pregnancy outcome after in vitro fertilization - embryo transfer in patients with endometritis

ZHAO Yanmei*, XIN Feng, WANG Tao

(Department of Reproductive Endocrinology, the Second People's Hospital of Liaocheng, Liaocheng, Shandong, China, 252600)

【ABSTRACT】 Objective To construct a prediction model for pregnancy outcome after in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) in patients with endometritis (CE) based on leukocyte differentiation antigen (CD38), CD138, multiple myeloma oncogene 1 (MUMI) and clinical characteristics. **Methods** A total of 112 CE patients who underwent IVF-ET at Liaocheng Second People's Hospital from March 2020 to December 2023 were selected as the study subjects. The levels of CD38, CD138, and MUMI in endometrial tissues were measured before IVF. All patients were followed up until the end of their pregnancies and categorized into groups based on their pregnancy outcomes: those with successful pregnancies and those with unsuccessful pregnancies. Logistic regression analysis was conducted to investigate the relationship between CD38, CD138, MUMI, clinical features, and adverse pregnancy outcomes after CE IVF-ET. A nomogram prediction model was developed using the aforementioned factors. The predictive performance of the nomogram model was assessed using a receiver operating characteristic (ROC) curve, and a calibration curve was plotted to evaluate and verify the accuracy of the risk prediction model. A clinical decision curve was used to determine the practical benefit of the model. **Results** There were significant differences in CD38, CD138, and MUMI expres-

基金项目:山东省科学技术计划项目[(2021)第296号]

作者单位:聊城市第二人民医院生殖内分泌科,山东,聊城252600

*通信作者:赵彦梅, E-mail: zym1978@126.com

sion, antibiotic treatment, hysteroscopic score (hEG), number of transplanted embryos and number of high-quality blastocysts between the groups with bad and good pregnancy outcomes ($P < 0.05$). Positive expression of CD38, CD138, and MUMI, no antibiotic treatment, hEG score ≥ 4 score were, were identified as risk factors for adverse pregnancy outcomes after CE IVF-ET ($P < 0.05$), while a high number of transplanted embryos and high-quality blastocysts were protective factors for a good pregnancy prognosis after CE IVF-ET ($P < 0.05$). The area under the curve of the prediction model is 0.872, and the calibration curves of the training and verification set models show good fit. **Conclusion** The prediction model for pregnancy outcomes after CE IVF-ET based on CD38, CD138, MUMI and clinical features hold significant clinical value

[KEY WORDS] Endometritis; In vitro fertilization-embryo transfer; CD38; CD138; MUMI

体外受精-胚胎移植(In Vitro Fertilization and Embryo Transfer, IVF-ET)技术成功率仍受到多种因素的影响,其中子宫内膜状况是关键因素之一^[1]。慢性子宫内膜炎(chronic endometritis, CE)是一种常见的子宫内膜病变,宫腔内微生物感染造成子宫内膜慢性炎症状态,引起异常的免疫反应或改变子宫内膜蠕动等影响子宫内膜容受性,从而造成不孕、反复着床失败或复发性流产等不良妊娠结局^[2]。准确预测CE IVF-ET后的妊娠结局对于制定个体化的治疗方案和优化辅助生殖技术成功率具有重要意义。近年来,随着免疫组化技术的发展,白细胞分化抗原(cluster of differentiation, CD)38、CD138、多发性骨髓瘤癌基因1(multiple myeloma oncogene 1, MUMI)等分子标记物在CE诊断中的应用逐渐受到重视^[3]。列线图是一种统计图表,通过将多个预测变量的效应转化为一条线上的点数,最终汇总为一个总分,从而预测某个特定事件的概率。本研究旨在结合CD38、CD138、MUMI及临床特征,构建一种CE IVF-ET后妊娠结局的预测模型,辅助临床决策。现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2020年3月至2023年12月聊城市第二人民医院CE并接受IVF-ET的112例患者作为研究对象。纳入标准:①符合《中华妇产科学》^[4]中CE的诊断,经宫腔镜检查、子宫内膜病理等检查证实;②受试者年龄23~45岁;③已确诊为不孕症,均接受IVF-ET辅助生殖;④临床资料完整,愿意配合随访观察;⑤受试者及家属均知情同意本研究,并签署知情同意书。排除标准:①存在IVF-ET治疗禁忌症;②有宫腔镜检查禁忌症;③严重心血管疾病、未控制的代谢紊乱、肝肾功能不全、恶性肿瘤、精神障碍、血液系统疾病;④无可供移植的

优质胚胎。本实验经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集患者一般资料,包括年龄、身体质量指数(body mass index, BMI)、14d血清 β -人绒毛膜促性腺激素(beta-human chorionic gonadotropin, β -hCG)、基础促卵泡激素(Follicle-Stimulating Hormone, FSH)、基础黄体生成素(Luteinizing Hormone, LH)、不孕年限、促排卵方案、抗生素治疗情况、宫腔镜评分(hysteroscopic chronic endometritis, hEG)、移植胚胎数、优质囊胚数。

1.2.2 实验室指标检测

患者接受IVF-ET前进行宫腔镜检查,采用内膜采集器采集患者子宫内膜组织样本。子宫内膜组织样本用4%中性甲醛固定,脱水、石蜡包埋后制备成4 μ m切片,放至PH为6.0的柠檬酸盐缓冲液中采用高压锅蒸煮15 min,静置30 min,冲洗。将切片浸泡在3%过氧化氢溶液中,冲洗,滴加5%胎牛血清封片。滤纸吸去血清,滴加一抗(CD38抗体、CD138抗体、MUMI抗体),孵育过夜(4℃),冲洗。滴加二抗,孵育30 min(37℃),冲洗。DAB显色,孵育3 min,显微镜下观察染色程度。苏木素复染30 s,冲洗反蓝。将切片脱水和透明处理,用中性树胶封片。由经验丰富的病理科医师共同阅片。CD38、CD138、MUMI阳性判定标准^[5-6]:均出现棕黄色。

1.2.3 随访及分组

对所有患者以电话、定期复诊的形式进行为期10个月的随访,随访截止时间为2024年9月30日,记录患者妊娠结局,将出现自然流产、胚胎停育、早产、胎儿生长受限、死胎死产、低出生体重儿、新生儿窒息、胎盘异常、羊水过少、产后出血等归纳为妊娠结局不良组;将胎儿情况良好、孕妇健康、分娩顺利和产后恢复良好归纳为妊娠结局良好组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 27.0 统计学软件分析数据。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。运用 R4.2.2 软件以 3:1 的比例将研究对象随机分为训练集($n=84$)和验证集($n=28$),二元 Logistic 回归模型分析确定 CE IVF-ET 后不良妊娠结局的独立影响因素,基于危险因素构建列线图预测模型,采用受试者工作特征(ROC)曲线评价训练集和验证集中模型对于 CE IVF-ET 后不良妊娠结局的预测性能,采用 Bootstrap 内部验证法并绘制训练集和验证集中所构建模型的校准曲线评价预测模型的一致性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CD38、CD138、MUMI 及临床特征的比较

112 例 CE 并接受 IVF-ET 的患者妊娠结局良好 63 例,不良妊娠结局 49 例。两组 CD38、CD138、MUMI 表达、抗生素治疗情况、hEG 评分、移植胚胎数、优质囊胚数比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 CD38、CD138、MUMI 及临床特征与 CE IVF-ET 后不良妊娠结局的关系分析

以训练集中 IVF-ET 后是否发生不良妊娠结局(妊娠结局良好=0,妊娠结局不良=1)作为因变量进行 Logistic 回归分析,结果显示,CD38、CD138、MUMI 阳性表达、未使用抗生素治疗、hEG 评分 ≥ 4 分是促进 CE IVF-ET 后不良妊娠结局的危险因素($P < 0.05$),移植胚胎数多和优质囊胚数多是促进 CE IVF-ET 后妊娠结局良好的保护因素。见表 2。

2.3 基于 CD38、CD138、MUMI 及临床特征的 CE IVF-ET 后妊娠结局预测模型的构建与验证

通过各个预测因素相加得到的总分对应 CE IVF-ET 后不良妊娠结局的发生风险,如某患者 CD38 阳性(76 分)、CD138 阳性(82 分)、MUMI 阳

表 1 两组 CD38、CD138、MUMI 及临床特征比较

[($\bar{x} \pm s$), $n(\%)$]				
项目	良好组 ($n=63$)	不良组 ($n=49$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	32.23 $\pm$ 5.19	31.75 $\pm$ 5.68	0.322	0.747
BMI(kg/m ²)	20.23 $\pm$ 2.15	20.46 $\pm$ 2.67	0.505	0.614
14 d 血清 β -hCG (mIU/mL)	733.71 $\pm$ 240.56	649.51 $\pm$ 230.13	1.872	0.063
基础 FSH (mIU/mL)	6.79 $\pm$ 2.32	7.45 $\pm$ 2.89	1.340	0.182
基础 LH (mIU/mL)	5.84 $\pm$ 2.16	5.92 $\pm$ 2.62	0.177	0.859
不孕年限(年)	4.73 $\pm$ 3.51	5.11 $\pm$ 3.74	0.552	0.581
促排卵方案			2.580	0.275
拮抗剂方案	28 13(20.63)	15(30.61)		
长方案	71 44(69.84)	27(55.10)		
超长方案	7 6(9.53)	7(14.29)		
抗生素治疗情况			7.691	0.005
使用	87 55(87.30)	32(65.31)		
未使用	25 8(12.70)	17(34.69)		
hEG 评分			8.803	0.003
<4 分	74 49(77.78)	25(51.02)		
≥ 4 分	38 14(22.22)	24(48.98)		
移植胚胎数(个)	4.32 $\pm$ 1.20	2.28 $\pm$ 1.53	7.910	<0.001
优质囊胚数(个)	3.58 $\pm$ 1.33	2.42 $\pm$ 1.47	4.372	<0.001
CD38 表达			5.174	0.022
阳性	43 20(31.75)	23(46.94)		
阴性	69 43(68.25)	26(53.06)		
CD138 表达			5.541	0.018
阳性	42 15(23.81)	27(55.10)		
阴性	70 48(76.19)	22(44.90)		
MUMI 表达			20.941	<0.001
阳性	38 10(15.87)	28(57.14)		
阴性	68 53(84.13)	15(42.86)		

性(66 分)、未使用抗生素治疗(72 分)、hEG 评分 ≥ 4 分(64 分),该患者的列线图预测模型总分为 360 分,CE IVF-ET 后发生不良妊娠结局的概率为 0.70。见图 1。模型验证:训练集 ROC 曲线下面积为 0.872,95%CI 值为 0.808~0.936。见图 2~3。

3 讨论

本研究结果显示,CD38、CD138、MUM-1 的阳性表达、未使用抗生素治疗、hEG 评分 ≥ 4 分是影响 CE IVF-ET 后妊娠结局的危险因素,而移植胚胎数

表 2 CD38、CD138、MUMI 及临床特征与 CE IVF-ET 后不良妊娠结局的关系分析

因素	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI 值	P 值
CD38 表达	阴性=0, 阳性=1	2.046	0.974	4.412	7.736	1.1467~52.197	0.035
CD138 表达	阴性=0, 阳性=1	1.192	0.513	5.399	3.293	1.2050~9.002	0.020
MUMI 表达	阴性=0, 阳性=1	1.149	0.562	4.179	3.155	1.0486~9.492	0.040
抗生素治疗情况	使用=0, 未使用=1	1.17	0.453	6.670	3.221	1.325~7.829	0.009
hEG 评分	<4 分=0, ≥ 4 分=1	1.218	0.471	6.687	3.380	1.3429~8.509	0.009
移植胚胎数	自变量	-2.050	0.867	5.590	0.128	0.023~0.704	0.018
优质囊胚数	自变量	-1.970	0.713	7.634	0.139	0.034~0.564	0.005

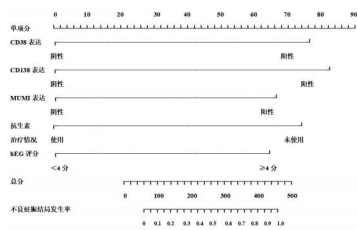


图1 CE IVF-ET 后妊娠结局预测模型

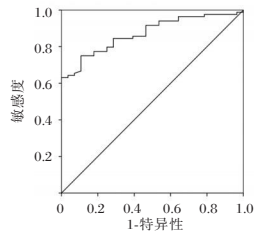


图2 预测模型在建模组的 ROC 曲线

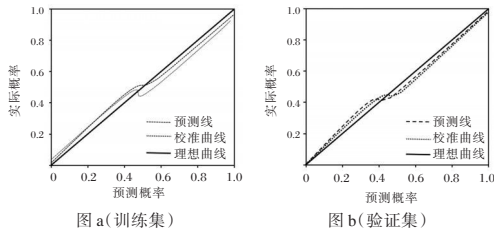


图3 训练集与验证集模型的校准曲线

和优质囊胚数多则是保护因素。CD38、CD138 和 MUM-1 是免疫细胞标志物,常用于评估慢性子宫内膜炎的炎症程度。CD38 和 CD138 主要表达于浆细胞,而 MUM-1 则表达于 B 细胞和浆细胞,其表达与子宫内膜炎的炎症程度密切相关^[6-7]。这些标志物的阳性表达表明子宫内膜存在显著的炎症反应,而炎症环境可能干扰胚胎的正常着床和发育,导致妊娠失败。故 CD38、CD138、MUM-1 的阳性表达被认为是影响妊娠结局的危险因素。抗生素治疗可以有效控制子宫内膜炎,减少炎症反应,改善子宫内膜的环境^[8-9]。研究结果显示,未使用抗生素治疗的患者妊娠结局较差。这表明抗生素治疗在改善子宫内膜炎患者的妊娠结局方面具有重要作用。抗生素治疗可能通过降低炎症标志物的表达,改善子宫内膜的免疫环境,从而提高胚胎着床率和妊娠成功率。因此,对于 CE 患者,合理的抗生素治疗可以提高 IVF-ET 成功率^[10]。高 hEG 评分往往与更严重的子宫内膜炎症、纤维化或息肉等病理改变相关,这些变化可能影响子宫内膜的容受性,即其接受和滋养胚胎的能力^[11]。研究表明^[12],hEG 评分 ≥ 4 分是影响妊娠结局的危险因素,这与之前的研究结果一致。高评分可能反映了子宫内膜的慢性炎

症和不良的胚胎着床环境,从而导致妊娠失败。移植胚胎数和优质囊胚数是影响妊娠结局的保护因素。增加移植胚胎数可以提高妊娠成功率,因为更多的胚胎提供了更高的着床机会。优质囊胚数则反映了胚胎的质量,优质的胚胎更有可能成功着床和发育^[13]。因此,增加移植胚胎数和优质囊胚数可以显著提高妊娠成功率,降低妊娠失败的风险。

在本研究构建并验证了一个基于 CD38、CD138、MUM-1 及临床特征的 CE IVF-ET 后妊娠结局列线图预测模型,结果发现,列线图预测模型不仅具有高度的预测准确性,能够较准确地识别出那些面临不良妊娠风险的患者。模型验证方面,训练集的 ROC 曲线下面积达到 0.872,95% 置信区间为 0.808~0.936,表明该模型具有较高的预测准确度。进一步通过 Bootstrap 法进行内部验证,训练集与验证集模型的校准曲线均显示出良好的拟合度,这进一步说明了模型的稳定性和可靠性。本研究结果证实该模型不仅能够准确预测不良妊娠的发生概率,而且其预测结果与实际临床情况高度吻合。列线图预测模型的优势在于其直观性和易用性,通过简单的计算和图表展示,医生可以迅速获取患者发生不良妊娠结局的风险概率,从而做出更加精准和个性化的治疗决策^[14]。此外,该模型还考虑了多个预测因素之间的相互作用,提高了预测的准确性和可靠性。与使用单个的生物标志物评估相比,列线图预测模型更加直观易懂,便于临床医生理解^[15]。

综上所述,基于 CD38、CD138、MUM-1 及临床特征构建 CE IVF-ET 后妊娠结局预测模型有良好的临床预测价值。

参考文献

- [1] Zhang H, Wu L, Liao T, et al. Clinical utility of office hysteroscopy following failed in vitro fertilization-embryo transfer: A retrospective cohort study[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2024, 166(3): 1345-1350.
- [2] Dang J, Xiao X, Li M. Correlation of hysteroscopic findings of chronic endometritis with CD138 immunohistochemistry and their correlation with pregnancy outcomes[J]. J Assist Reprod Genet, 2024, 41(9): 2477-2483.
- [3] 姜玉婵,赵静,李敏,等. MUM-1、CD138、CD38 对慢性子宫内膜炎的诊断价值及其与生殖预后的关系[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(11): 1562-1567.
- [4] 梁荣丽,罗宋. 慢性子宫内膜炎不孕症患者子宫内膜中 CD38、CD138 的表达情况分析[J]. 赣南医学院学报, 2019, 39(6): 590-592.

(下转第 457 页)

·论 著·

稳定分泌表达猪瘟病毒保护性抗原 E2 蛋白的 HEK-293T 细胞系的构建及鉴定

颜仁和¹ 万鹏飞¹ 刘蕾² 楚电峰² 毛莹莹^{3*}

[摘要] **目的** 构建一种高效、稳定表达分泌型猪瘟病毒 E2 蛋白的 HEK-293T 细胞株。方法 利用分子克隆技术将含有信号肽的猪瘟病毒 E2 基因插入到慢病毒表达质粒,获得重组慢病毒载体 pLV-CMV-E2。通过三质粒转染法包装重组慢病毒并感染 HEK-293T 细胞,采用有限稀释法获得稳定表达分泌性 E2 蛋白的重组单克隆细胞系。**结果** 重组质粒酶切及 PCR 鉴定结果可见约 1 050 条带,与 CSFV E2 基因大小相符;包装慢病毒 LV-CSFV E2 检测滴度为 1×10^6 copies/mL。慢病毒感染 HEK-293T 后,经 Dot blot 和有限稀释法筛选得到 7 个细胞形态均一、长势良好且 E2 蛋白表达水平较高的克隆(A4, A5, C1, D1, D2, E1, E2);重组细胞系经 PCR 及 Western blot 方法检测到 E2 基因及蛋白所对应特异性条带。将重组细胞系连续传至 70 代,E2 蛋白表达水平稳定不变;免疫学实验结果显示,重组 E2 蛋白能够与猪瘟阳性血清发生特异性反应。**结论** 本研究成功建立了一种稳定高效地表达分泌性重组 E2 蛋白的真核表达系统,为研究猪瘟 E2 亚单位疫苗及血清学诊断方法等奠定基础。

[关键词] 猪瘟病毒; E2 囊膜蛋白; 慢病毒载体; HEK-293T 细胞

Construction and identification of HEK-293T cell line stably secreting and expressing E2 protein, a protective antigen of classical swine fever virus

YAN Renhe¹, WAN Pengfei¹, LIU Lie², CHU Dianfeng², MAO Yingying^{3*}

(1. Guangzhou Bioneed Biotechnology Co., Ltd, Guangzhou, Guangdong, China, 510663; 2. Shandong Province Animal Vaccine Technology Innovation Centre, Qindao Yebio Bioengineering Co, Ltd, Qindao, Shandong, China, 266114; 3. South China Institute of Biomedicine, Guangzhou, Guangdong, China, 510663)

[ABSTRACT] **Objective** To construct HEK-293T-E2 cell lines with uniformly, efficient and stable expression of swine fever virus E2 protein. **Methods** The recombinant lentiviral vector pLV-CMV-E2 was constructed through molecular cloning. The recombinant lentivirus was then packaged, titrated, and transduced into HEK 293T cells. Recombinant cell lines expressing the E2 protein stably were selected through limiting dilution and identified using PCR and Western blot analysis. **Results** Recombinant plasmid was identified by enzyme digestion and PCR. Results showed specific bands of approximately 1,050 bp on gel electrophoresis, consistent with the size of the CSFV E2 gene. HEK-293T cells were infected with recombinant lentivirus LV-CSFV E2, and seven clone cells (A4, A5, C1, D1, D2, E1, E2) with uniform cell morphology, good growth conditions, and high expression levels of E2 protein were selected through Dot blot and limited dilution. The results of PCR and Western blot confirmed the presence of a specific gene and protein band of E2 in the recombinant cell lines. Moreover, the HEK-293T-E2 cell line maintained robust and stable expression of secretory E2 protein for at least 70 passages. The immunologic specificity of the recombinant E2 protein was validated using classical swine fever virus (CSFV) positive serum. **Conclusion** In this study, we have success-

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金(2022A1515110673)

作者单位:1. 广州伯尼兹生物科技有限公司,广东,广州 510663

2. 青岛易邦生物工程有限公司,山东省动物疫苗技术创新中心,山东,青岛 266114

3. 华南生物医药研究院,广东,广州 510663

*通信作者:毛莹莹, E-mail: maoyy2011@163.com

fully established a stable HEK 293T cell line with consistent and strong expression of the secretory CSFV E2 protein. This accomplishment could be a crucial stepping stone for future research aimed at developing E2 subunit vaccines and implementing serological diagnostic methods for CSFV.

[KEY WORDS] CSFV; E2 protein; Lentiviral vector; HEK-293T cell

猪瘟(Classical swine fever, CSF)俗称“烂肠瘟”,是由猪瘟病毒(Classical swine fever virus, CSFV)引起的一种急性、发热、接触性传染病,具有高度传染性和致死性,是严重威胁养猪业的主要传染病之一^[1]。猪瘟在我国依然流行,据统计,我国因疾病死亡的猪中有30%以上是猪瘟造成的,而目前尚无针对猪瘟的特效药,因此,规范接种猪瘟疫苗是有效降低猪瘟发病率和死亡率的有效方法。我国长期坚持接种猪瘟免疫弱毒疫苗,有效控制了猪瘟的急性发生和大流行^[2-3]。然而,近年来我国猪瘟的流行发生了较大变化,出现了慢性和迟发型猪瘟,为猪瘟的防控带来了新的难题^[4]。因此,新型CSF疫苗的研发具有重要的现实意义,也将成为有效控制CSF感染和规模化猪场净化CSF的重要手段。

CSFV属于黄病毒科(Flaviridae)瘟病毒属(Pestivirus),是单股正链RNA病毒。基因组长约12.3 kb,仅含单一的开放阅读框(ORF),编码4种结构蛋白(C、E0、E1、E2)和8种非结构蛋白(Npro、P7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B)^[5]。其中,囊膜糖蛋白E2是猪瘟的主要保护性抗原,在CSFV感染时能诱发机体产生中和抗体,是CSFV一个最有效的免疫原,因而成为研发CSFV新型亚单位疫苗及血清学诊断试剂的首选^[6]。本研究拟利用重组慢病毒载体介导E2基因整合进哺乳动物细胞基因组,构建稳定表达E2蛋白的重组细胞系,并利用信号肽实现重组蛋白的分泌性表达,本研究将为新型CSF亚单位疫苗的研制和血清学诊断试剂的开发奠定重要基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株、质粒和细胞

大肠杆菌DH5 α 购自天根生化科技(北京)有限公司、重组慢病毒表达质粒pLV-CMV-EGFP、人胚肾细胞HEK-293T等由广州伯尼兹生物科技有限公司保存。

1.1.2 试剂

限制性内切酶NheI、T4 DNA连接酶、

DL10000(/2000)DNA Marker购自大连Takara公司;PVDF膜和0.22 μ m针头滤器购自美国Millipore公司;Ni-NTA纯化试剂购自博格隆(上海)生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 E2基因的优化及合成

E2基因参考CSFV Shimen株(石门株)的核苷酸序列去除蛋白序列C端跨膜序列并加入his标签序列;在起始密码子前加有Kozak序列与Nhe I酶切位点与保护性碱基,在基因编码末端加有终止子与Nhe I酶切位点与保护性碱基;并设计猪瘟病毒E2基因特异性引物(上游引物:ATGGTATTA-AGAGGACAG,下游引物:TGGTCAAACCAG-TACTGA),由中美泰和生物技术有限公司合成。

1.2.2 表达猪瘟E2蛋白的重组慢病毒载体的构建及鉴定

将含猪瘟E2基因的pMD19T-E2载体以及慢病毒表达载体pLV-CMV-EGFP用Nhe I单酶切后,回收E2片段和慢病毒表达载体片段,连接并转化DH5 α 感受态菌。挑选单克隆菌落培养扩大后提取质粒进行PCR和酶切鉴定,正确的重组质粒命名为pLV-CMV-E2。

1.2.3 表达猪瘟病毒E2蛋白慢病毒的包装及滴度测定

将HEK-293T培养于DMEM完全培养液中,转染前一天均匀铺于100 mm细胞培养皿中;细胞铺板后第二天,待细胞融合度达到70%~90%时,将表达质粒pLV-CMV-E2与包装质粒gag/pol/Rev和VSVG共转染包装慢病毒。提取病毒RNA并逆转录成cDNA,利用荧光定量RT-QPCR测定慢病毒滴度。

1.2.4 HEK-293T-E2细胞株的筛选

将LV-CMV-E2慢病毒以MOI=10感染HEK-293T细胞,感染3~5日后细胞经胰蛋白酶消化,采用有限稀释法接种96孔板,培养15天后在倒置显微镜下观察细胞克隆的形成,挑选含有1个细胞集落(即1个细胞团块)的孔并标记编号。将标记编号的细胞克隆用胰蛋白酶消化后,分别传代扩增,传代过程中,随时挑选长势良好、形态均一的细胞。

1.2.5 Dot Blot 检测克隆细胞的表达

用上述细胞扩增至6孔板中长势良好、形态均一的细胞经胰蛋白酶消化后,用DMEM完全培养基悬浮细胞,以 5×10^5 个/mL的密度传代至新的6孔板中,置 37°C 、5% CO_2 培养。当长成良好单层时,弃去原培养液,加入表达培养基CD293 TGE,置 37°C 、5% CO_2 培养7日后,收集细胞液,以4 000 g离心5 min,收集上清液,用于Dot Blot检测,以对照慢病毒LV-CMV-EGFP感染的HEK-293T细胞培养上清为阴性对照。

1.2.6 克隆细胞的PCR检测

收集表达量较高的细胞沉淀,进行PCR检测。使用基因组DNA小量抽提试剂盒提取克隆细胞基因组DNA后,用于进行PCR扩增,检测E2基因。

1.2.7 E2蛋白特异性检验

收集表达量较高的细胞上清液,用猪瘟阳性血清进行Western Blot检测E2蛋白的特异性。

1.2.8 HEK-293T-E2细胞株的传代稳定性

挑取细胞状态好且表达量较高的细胞按1:3的比例传代,并分别取第5、11、30、60和70代HEK-293T-E2细胞培养上清进行特异性检测。

2 结果

2.1 表达CSFV E2蛋白的重组慢病毒载体构建及鉴定

重组慢病毒表达载体pLV-CMV-E2构建流程见图1。重组质粒经PCR鉴定和NheI酶切鉴定,均能得到与预期结果一致的E2基因片段。见图2~3。

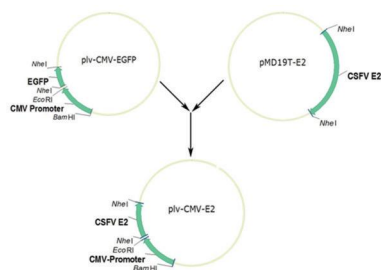


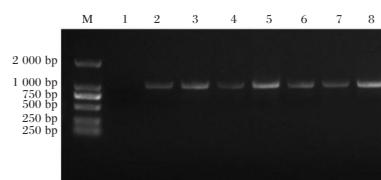
图1 慢病毒重组载体pLV-CMV-E2构建示意图

2.2 慢病毒包装及滴度测定

采用qRT-PCR方法检测病毒滴度,结果显示病毒滴度为 1×10^8 copies/mL。见图4。

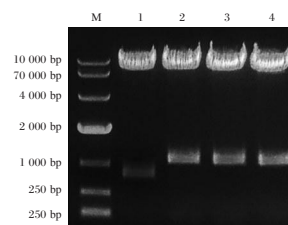
2.3 表达E2蛋白的细胞克隆筛选

通过在显微镜下观察96孔板中各孔细胞克隆的形成情况,选取只有一个细胞克隆的孔进行标记,从5个96孔板中总共筛选得到121个单细胞



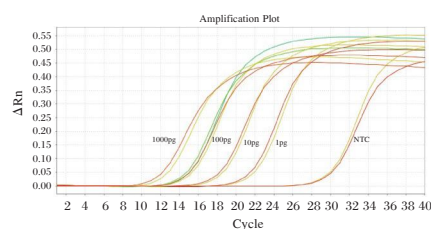
注:泳道M为DL2000 DNA Marker,泳道1为阴性对照,泳道2为阳性对照,泳道3~8分别为1~6号克隆的菌落PCR结果。

图2 慢病毒重组载体pLV-CMV-E2菌落PCR电泳图



注:泳道M为DL10000 DNA Marker,泳道1为pLV-CMV-EGFP的酶切结果,泳道2~4为慢病毒重组载体pLV-CMV-E2的酶切结果。

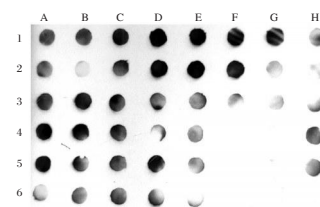
图3 慢病毒重组载体pLV-CMV-E2用NheI酶切电泳图



注:图中红黄色曲线为已知浓度质粒所做曲线,分别为1 000 pg、100 pg、10 pg、1 pg。蓝绿色曲线为病毒样品曲线。

图4 病毒滴度检测扩增曲线

克隆。将121个细胞克隆用胰蛋白酶消化后,分别传代扩增,传代过程中,发现其中一些克隆细胞破碎,亦或长势缓慢,最终挑选到长势良好、形态均一的细胞共47株,并传代至6孔板中。通过Dot Blot的方法检测上述47个细胞克隆的E2蛋白表达水平,共筛选出7个细胞形态均一、长势良好且E2蛋白表达水平较高的克隆(A4, A5, C1, D1, D2, E1, E2),重新命名为1~7号,其中H6为阴性对照(对照载体重组HEK-293T细胞培养上清)。见图5。

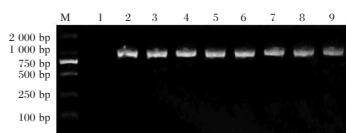


注:A~H为8个不同的6孔板,1~6为6孔板的不同孔,H6为阴性对照(对照载体重组293T细胞培养上清)。

图5 不同克隆细胞Dot Blot检测结果图

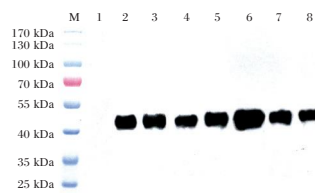
2.4 克隆细胞的PCR及Western Blot鉴定

提取克隆细胞基因组DNA后进行PCR检测,结果扩增出与预计大小1 050 bp相符的目的条带,而阴性对照(对照载体重组 HEK-293T 细胞)未扩增出条带。见图6。利用猪瘟阳性血清对重组 E2 蛋白进行特异性检测,Western Blot 结果表明筛选得到克隆细胞上清中均能检测到约 45 kDa 的条带,而阴性对照在该位置没有相应条带。克隆细胞成功表达 CSFV E2 蛋白,其中,5 号细胞克隆表达 E2 蛋白特异性最好。见图7。



注:泳道 M 为 DL2000 DNA Marker,泳道 1 为阴性对照,泳道 2 为阳性对照,泳道 3~9 为分别为 1~7 号 HEK-293T-E2 细胞克隆样品。

图6 E2 重组细胞克隆 PCR 鉴定电泳图

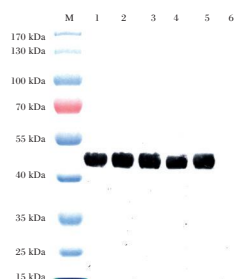


注:泳道 M 为蛋白 Marker,泳道 1 为阴性对照,泳道 2~8 为分别为 1~7 号 HEK-293T-E2 细胞克隆上清液样品。

图7 重组细胞克隆 E2 蛋白特异性表达鉴定电泳图

2.5 克隆细胞的传代稳定性

将 5 号细胞克隆进行连续传代培养,分别取第 5、11、31、60 和 70 代细胞上清液,通过 Western blot 试验对 E2 蛋白液进行特异性检验。结果显示,第 5、11、31、60 和 70 代 HEK-293T-E2 细胞均能检测到约 45 kDa 的条带,且表达量变化不大,而阴性对照未见条带见图8。



注:泳道 M 为蛋白 Marker,泳道 1 为阴性对照,泳道 1~5 为第 5、11、30、60 和 70 代 HEK-293T-E2 细胞培养上清,6 为阴性对照。

图8 不同代次细胞表达 E2 蛋白 Western blot 检测结果图

3 讨论

囊膜糖蛋白 E2 是 CSFV 诱导机体产生保护性

抗体的主要抗原,欧盟在 1999 年开始研究 E2 亚单位疫苗,并且成功诱导免疫猪产生抗 CSFV 的免疫保护^[6]。目前,用于免疫原的重组蛋白,一般可用大肠杆菌、酵母、昆虫细胞或哺乳动物细胞生产。大肠杆菌表达重组蛋白价格低廉而且相对快速有效,但原核表达系统蛋白加工机制与真核细胞明显不同,常导致蛋白变性、失活及不溶性凝集物形成;而用酵母和昆虫细胞表达重组蛋白,其转录后加工如糖基化和大蛋白前体的加工与哺乳动物细胞并不完全相同;哺乳动物细胞表达系统具有非常完善的糖基化修饰和折叠机制,表达的蛋白在结构上与天然蛋白具有高度一致性,是外源蛋白表达的理想系统^[7-8]。尽管如此,哺乳动物细胞表达系统由于存在重组蛋白产量低、生产成本高等缺点而得不到广泛应用。而重组慢病毒载体能够高效感染分裂期及非分裂期细胞,并能使外源基因稳定整合到宿主细胞基因组,从而实现外源基因在宿主细胞的高效稳定表达,使得基于哺乳动物细胞表达系统的外源蛋白生产更加高效、简便^[9]。本研究将带有信号肽的 E2 基因构建到重组慢病毒表达载体中,利用重组慢病毒将 E2 基因整合到哺乳动物细胞 HEK-293T 细胞中,筛选得到稳定高效表达 E2 蛋白的重组细胞系。收集细胞上清液进行纯化,得到了较高浓度和纯度的重组 E2 蛋白,说明 E2 蛋白能够在重组细胞系中分泌表达,并且该细胞系连续传代 70 代,细胞上清中 E2 蛋白的表达水平没有明显降低。利用该重组细胞系生产 E2 蛋白能有效克服其它系统所需的后续蛋白复性过程,并避免了繁琐的蛋白纯化工艺,使得重组 E2 蛋白生产更加简单高效,并降低了生产成本。进一步免疫学实验结果显示,重组 E2 蛋白能够与猪瘟阳性血清发生特异性反应,说明表达的重组 E2 蛋白具有很好的免疫原性。

目前 CSFV 抗体的 ELISA 检测方法主要包括检测针对 CSFV 糖蛋白、特异结构蛋白如 E2、E0 以及非结构蛋白 NS3 抗体的方法^[10-11]。而在实际应用中最为广泛的是基于 CSFV E2 的 ELISA 方法,如国内多位学者均表达了 E2 蛋白,并建立了检测 CSFV 抗体 ELISA 检测方法,其结果证明具有良好的特异性和较高的符合率^[12-14]。

综上所述,本研究建立了一种基于慢病毒载体的重组 E2 蛋白真核表达系统,获得能稳定表达 E2 蛋白的重组细胞系,能够稳定高效地表达分泌性重组 E2 蛋白,为下一步新型 CSF 亚单位疫苗的

研制和血清学诊断试剂的开发奠定了基础。

参考文献

- [1] 李淑红, 刘平黄, 孙慧敏, 等. 猪瘟病毒 E2 蛋白猪源化单克隆抗体的制备及其中和活性鉴定[J]. 中国兽医学报, 2023, 43(2):223-228.
- [2] Sun Y, Liu DF, Wang YF, et al. Generation and efficacy evaluation of a recombinant adenovirus expressing the E2 protein of classical swine fever virus[J]. Res Vet Sci, 2010, 88(1):77-82.
- [3] 李加高. 猪瘟病毒致病机制及猪瘟诊断防控[J]. 畜牧兽医学(电子版), 2022(16):145-147.
- [4] 李丽, 陈弟诗, 张毅, 等. 猪瘟病毒及猪瘟疫苗的研究进展[J]. 当代畜牧, 2014(24):48-49.
- [5] 吴许丹, 吴月, 陈艳, 等. 检测猪瘟病毒 E0 抗体 ELISA 方法的建立与应用[J]. 畜牧与兽医, 2021, 53(5):61-67.
- [6] 吕永智. 猪瘟 E2 亚单位疫苗研究进展[J]. 家畜生态学报, 2017, 38(5):86-90.
- [7] 李虎林, 颜仁和, 陈泽典, 等. 基于哺乳动物细胞表达 S1 蛋白的猪流行性腹泻病毒单克隆抗体[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(4):694-698.
- [8] 薛霜, 徐松, 郑成, 等. 稳定表达猪瘟病毒 E2 蛋白的 BHK 细胞系的构建[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(8):24-28.
- [9] Mao Y, Yan R, Li A, et al. Lentiviral Vectors Mediate Long-Term and High Efficiency Transgene Expression in HEK 293T cells[J]. Int J Med Sci, 2015, 12(5):407-415.
- [10] Aebischer A, Muller M, Hofmann MA. Two newly developed E(rns)-based ELISAs allow the differentiation of Classical Swine Fever virus-infected from marker-vaccinated animals and the discrimination of pestivirus antibodies[J]. Vet Microbiol, 2013, 161(3-4):274-285.
- [11] 苏红辽, 宗玉国. 猪瘟病毒 E2 基因主要抗原区表达及 Dot-ELISA 建立研究[J]. 中国猪业, 2022, 17(4):64-68.
- [12] 谢金文, 李娇, 董林, 等. 猪瘟病毒 E2 基因原核表达及间接 ELISA 检测方法的初步建立[J]. 中国兽医杂志, 2011, 47(3):28-30.
- [13] 李文良, 毛立, 杨蕾蕾, 等. 猪瘟病毒糖基化 E2 蛋白和 E0 蛋白的协同免疫保护作用[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(2):357-361.
- [14] 张洪亮, 郝占武, 林喜平, 等. 猪瘟病毒 Erns 和 E2 蛋白重组表达及抗体间接 ELISA 检测方法的建立[J]. 中国动物传染病学报, 2022, 30(1):76-83.

(上接第 448 页)

- [10] 陆欣怡, 方圆, 周忠志, 等. 线粒体动力学在糖尿病并发症中的作用及中医药干预研究进展[J]. 感染、炎症、修复, 2024, 25(2):165-171.
- [11] 梁家健. *SPINK2* 下调通过减少急性白血病细胞株 KG-1a 细胞自我复制来抑制肿瘤生长[D]. 广州: 暨南大学, 2022.
- [12] 张东伟, 蓝冰, 蔡双启, 等. lncRNA HOTTIP 通过 miR-637/*KLK4* 轴促进肺癌 SPC-A-1 细胞的恶性生物学行为[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(10):961-968.
- [13] 潘廷正, 王建伟, 陈凯源, 等. USP7 抑制剂促进耐替莫唑胺的原代胶质母细胞瘤细胞凋亡的研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(1):32-37.
- [14] 杨茹, 田甜, 张靖, 等. 宫颈癌组织 *KLK4*、*STAG2* 的表达及其临床意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2023, 42(4):540-546.
- [15] 张盛琪, 蒋佩珍, 高琰, 等. 较高危骨髓增生异常综合征伴原始细胞增多患者的中医证候特征及早期死亡危险因素研究[J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(3):429-439.

(上接第 452 页)

- [5] 蒋丽琳, 汤林鑫, 顾娟, 等. CD38 和 MUM-1 在自身免疫性肝炎中的表达及临床意义[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(9):2017-2020.
- [6] Gu J, Sun Q, Qi Y, et al. The effect of chronic endometritis and treatment on patients with unexplained infertility[J]. BMC Womens Health, 2023, 23(1):345.
- [7] Cicinelli E, Haimovich S, De Ziegler D, et al. MUM-1 immunohistochemistry has high accuracy and reliability in the diagnosis of chronic endometritis: a multi-centre comparative study with CD-138 immunostaining[J]. J Assist Reprod Genet, 2022, 39(1):219-226.
- [8] 王彦飞, 倪亚莉. 慢性子宫内膜炎病因及抗生素治疗临床疗效的影响因素[J]. 实用妇产科杂志, 2022, 38(8):625-628.
- [9] 张艳丽, 朱旻, 张莉华, 等. 抗菌药物联合妇科千金片治疗子宫内膜炎的临床疗效及其安全性[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(S1):39.
- [10] 魏珑珑, 张翠莲. 抗生素对首次种植失败合并慢性子宫内膜炎女性再次冻融胚胎移植结局的影响研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(21):2605-2609.
- [11] 吴小华, 牛淑芳, 赵婷婷. 不孕患者慢性子宫内膜炎宫腔镜评分系统的构建及验证[J]. 浙江大学学报(医学版), 2023, 52(1):46-53.
- [12] Wang H, Liu CH, Han Z, et al. Establishment of hysteroscopic scoring system of chronic endometritis and correlative analysis with pregnancy outcomes of in vitro fertilization-embryo transfer in infertile patients[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2023, 103(24):1842-1848.
- [13] 郭会平, 聂小华, 龚欢, 等. 郑州地区辅助生殖技术助孕夫妇不孕不育特征及移植结局影响因素研究[J]. 华南预防医学, 2023, 49(2):205-207+212.
- [14] 吴育杰, 刘春荣, 林秀荣, 等. 超声图像对乳腺导管原位癌患者 HER-2 表达的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(1):76-79+88.
- [15] 李军秀, 袁莹莹, 黄凌燕, 等. 子宫内膜 CD38 表达对胚胎移植前抗炎治疗的临床价值[J]. 山东大学学报(医学版), 2023, 61(8):54-60.

智能运动联合心脏康复对急性心力衰竭及 *Nrf2/NF-κB* mRNA 表达的影响

刘淑琴 张柳* 赵婉婷 孙晓彤 杨澄

【摘要】目的 研究智能运动锻炼联合综合心脏康复对急性心力衰竭(AHF)及核因子-E2相关因子2(*Nrf2*)/对核因子-κB(*NF-κB*)mRNA表达水平的影响。**方法** 选择2019年1月至2024年5月首都医科大学北京朝阳医院收治的AHF患者102例,随机分为观察组(51例,在常规治疗的基础上进行智能运动锻炼联合综合心脏康复)和对照组(51例,进行常规治疗)。干预前及干预4周后,采用纽约心脏病协会(NYHA)分级以及6分钟步行实验(6MWT)评价心功能,采用心超测定左心室射血分数(LVEF)和左室舒张末期内径(LVEDD),检测血清N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、肌钙蛋白I(cTnI)水平、血红素加氧酶-1(HO-1)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白介素-1β(IL-1β)水平及外周血*Nrf2*、*NF-κB*的mRNA表达水平。**结果** 干预4周后,观察组的NYHA分级、LVEDD、血清NT-proBNP、cTnI、TNF-α、IL-1β水平及外周血*NF-κB*的mRNA表达水平均低于对照组,6MWT、LVEF、血清HO-1水平及外周血*Nrf2*的mRNA表达水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 智能运动锻炼联合综合心脏康复能够显著改善AHF患者的心功能,相关的分子机制可能是通过抑制NF-κB和激活*Nrf2*的表达。

【关键词】 急性心力衰竭;智能运动锻炼;综合心脏康复;炎症反应;氧化应激

Effects of intelligent exercise combined with comprehensive cardiac rehabilitation on acute heart failure and mRNA expression of *Nrf2/NF-κB*

LIU Shuqin, ZHANG Liu*, ZHAO Wanting, SUN Xiaotong, YANG Cheng

[Cardiac Rehabilitation Center (Intensive Care Rehabilitation Department), Beijing Rehabilitation Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100144]

【ABSTRACT】 Objective To investigate the effect of intelligent exercise combined with comprehensive cardiac rehabilitation on acute heart failure (AHF) and the mRNA expression levels of nuclear factor-E2-related factor 2 (*Nrf2*)/nuclear factor-κB (*NF-κB*). **Methods** A total of 102 patients with AHF were admitted to Beijing Chaoyang Hospital of Capital Medical University from January 2019 to May 2024. They were randomly divided into an observation group (51 cases receiving intelligent exercise combined with comprehensive cardiac rehabilitation on the basis of conventional treatment) and a control group (51 cases receiving conventional treatment). Before and after 4 weeks of intervention, cardiac function was evaluated using the New York Heart Association (NYHA) grade and the 6-minute walking test (6MWT). Echocardiography was used to measure left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD). Serum levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiac troponin I (cTnI), heme oxygenase-1 (HO-1), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) and mRNA expression levels of *Nrf2* and *NF-κB* in peripheral blood were also assessed. **Results** After 4 weeks of intervention, the NYHA grade, LVEDD, serum NT-proBNP, cTnI, TNF-α, and IL-1β levels, as well as peripheral blood *NF-κB* mRNA expression levels in the observation group were lower than those in the control group. Conversely, the 6MWT distance, LVEF, serum HO-1 levels, and peripheral blood *Nrf2* mRNA expression levels were significantly higher in the observation group compared to the control group, with statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** Intelligent exercise combined with a comprehensive cardiac rehabilitation program

基金项目:北京市卫生科技发展专项基金资助项目(2023-2-226)

作者单位:首都医科大学附属北京康复医院心脏康复中心(重症康复科),北京100144

*通信作者:张柳, E-mail:18610506376@163.com

can significantly improve cardiac function in patients with AHF. The underlying molecular mechanisms may include the inhibition of *NF- κ B* and activation of *Nrf2* expression.

[KEY WORDS] Acute heart failure; Intelligent exercise; Comprehensive cardiac rehabilitation; Inflammatory response; Oxidative stress

急性心力衰竭(Acute heart failure, AHF)是突然发生或加重的心力衰竭,以心排血量急剧下降为特征,患者出现呼吸困难、咳痰胸闷等症状,严重者会伴发心律失常、肾功能损害、脑缺血并危及生命。因此,针对AHF进行有效地干预具有重要的临床意义。综合心脏康复是包括健康教育、支持治疗、营养指导、运动康复等的综合治疗手段,对改善AHF患者心功能、降低并发症发生率具有积极价值^[1-2]。智能运动锻炼仪是一种通过模拟踏车动作进行智能化康复锻炼的仪器,能够完成主动和被动的踏车运动,进而提升心脏负荷、增强肌肉功能。有报道智能运动锻炼仪改善心肌梗死后心力衰竭患者的心功能具有改善作用^[3]。运动锻炼改善心功能的作用与减轻炎症反应和氧化应激密切相关,核因子- κ B(*NF- κ B*)和核因子-E2相关因子2(*Nrf2*)是调控炎症反应和氧化应激反应的关键转录因子^[4]。因此,本研究以*Nrf2*和*NF- κ B*为靶点,探讨智能运动锻炼联合综合心脏康复在AHF中的应用价值,旨在优化和开发更有效的AHF运动康复方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2019年1月至2024年5月首都医科大学北京朝阳医院收治的AHF患者102例,采用随机数字表将其分为观察组(51例)和对照组(51例)。观察组中男性29例、女性22例,年龄(61.42 $\pm$ 7.23)岁;对照组中男性28例、女性23例,年龄(60.94 $\pm$ 8.12)岁。两组间一般资料的比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经首都医科大学北京朝阳医院伦理委员会批准,取得入组患者知情同意。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准:①符合AHF诊断标准^[5];②心功能II~IV级^[5];③能够配合进行锻炼即康复。排除标准:①合并急性冠脉综合征、心肌炎;②合并肝肾功能不全;③合并呼吸系统慢性疾病;④存在心瓣膜病或合并心包填塞;⑤合并肢体功能障碍。

1.3 干预方法

两组均按照指南进行AHF常规治疗,包括吸氧、摆放体位、维持水电解质平衡、药物治疗等。观

察组在常规治疗的基础上进行智能运动锻炼联合综合心脏康复,方法如下:入院第1~3天时绝对卧床,在床上进行踝泵运动、上肢与下肢关节肌肉训练等被动运动,分别于上午和下午各进行1次;第4~5天时,练习翻身与坐起,同时在躺卧时下进行握拳、关节屈伸等运动;第6~7天时,在床上进行上半身的低强度主动康复运动,包括手举哑铃、拉低阻力弹力带、呼吸锻炼;第8天起,患者开始进行下床的床旁行走,同时酌情评估并采用KLW-SKF4型智能运动锻炼仪(南京康龙威科技实业公司)进行锻炼,用绑带固定患者下肢、用锻炼仪的支架支撑患者小腿,选择心肺模式病设置频率50 Hz、转速20 r/min、阻力5级,锻炼过程中评估患者身体状况并逐渐提高运动锻炼仪的转速或阻力等级,每次30 min,每周进行3次。

1.4 观察指标

干预前和干预4周后,均进行指标观察,具体如下:①心功能评价:采用纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)分级以及6分钟步行实验(6-minute walking test, 6MWT)评价心功能^[5];②心脏彩超:采用FDC8000型彩色多普勒超声诊断仪(深圳市威尔德医疗电子有限公司)进行检查,测定左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室舒张末期内径(Left ventricular end-diastolic Diameter, LVEDD);③血清指标:采集空腹静脉血5 mL,分离血清后采用全自动生化分析仪检测N末端脑钠肽前体(N-terminal-pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP)、肌钙蛋白I(Cardiac troponin I, cTnI)水平,采用酶标仪检测血红素加氧酶-1(Heme oxygenase-1, HO-1)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的水平;④外周血指标:采集空腹静脉血3 mL,采用Trizol法提取外周血总RNA,采用逆转录试剂盒将RNA反转录为cDNA,采用荧光定量PCR试剂盒检测*Nrf2*、*NF- κ B*的mRNA表达水平。*Nrf2*的引物序列为,正向5'-CATGCGATGCTAGCTATTA-3'、反向5'-CGTAGCGCATGCAGCTAGT-3';*NF- κ B*的引物序列为,正向5'-TATGCGATCGATGCTAAGC-3'、反向5'-GGATGCTAGCTAGCTAGCT-3';内参基因

β -actin的引物序列为,正向 5'-CTGATAGCTAGC-TACTGAT-3'、反向 5'-ATTAGCTAGCTAGC-TAGCT-3'。按照 95℃ 1 min、单次反应,95℃ 15 s、60℃ 42 s、循环反应 40 次的程序进行 PCR 反应,根据循环阈值(cycle threshold, Ct)即公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 *Nrf2*、*NF-κB* 的 mRNA 表达水平。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,分别采用独立样本 *t* 检验和配对样本 *t* 检验进行两组间比较和组内干预前后比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组心功能 NYHA 分级、6MWT 的比较

与治疗前比较,两组干预 4 周后的 NYHA 分级降低,6MWT 增加,且观察组的心功能指标优于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组心功能 NYHA 分级、6MWT 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NYHA 分级(级)		6MWT(m)	
		干预前	干预 4 周后	干预前	干预 4 周后
观察组	51	3.29±0.70	1.76±0.76 ^a	87.69±17.97	298.24±195.92 ^a
对照组	51	3.35±0.59	2.41±0.85 ^a	88.76±19.52	202.14±175.37 ^a
<i>t</i> 值		0.457	4.036	0.290	2.610
<i>P</i> 值		0.649	<0.001	0.772	0.010

注:与组内干预前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组心功能超声参数的比较

与治疗前比较,两组干预 4 周后的 LVEF 增加,LVEDD 降低,且观察组的心功能指标优于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 两组血清心功能标志物的比较

与治疗前比较,两组干预 4 周后的血清中 NT-proBNP 和 cTnI 水平降低,且观察组的血清指标低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组外周血 Nrf2 和 NF-κB 表达水平的比较

与治疗前比较,两组干预 4 周后的外周血 *Nrf2* 和 *NF-κB* mRNA 表达水平降低,且观察组的外周血指标低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 两组心功能超声参数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LVEF(%)		LVEDD(mm)	
		干预前	干预 4 周后	干预前	干预 4 周后
观察组	51	39.56±13.58	49.84±14.02 ^a	65.18±16.13	59.59±8.336 ^a
对照组	51	38.91±13.94	42.59±12.93 ^a	66.18±10.01	63.63±6.490 ^a
<i>t</i> 值		0.237	2.717	0.367	2.730
<i>P</i> 值		0.813	0.008	0.708	0.008

注:与组内干预前比较,^a $P < 0.05$ 。

表 3 两组血清心功能标志物的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NT-proBNP (pg/L)		cTnI (ng/mL)	
		干预前	干预 4 周后	干预前	干预 4 周后
观察组	51	659.85±625.73	610.51±250.82 ^a	28.69±13.24	17.94±8.61 ^a
对照组	51	692.19±650.70	893.46±364.76 ^a	26.81±16.78	22.30±8.63 ^a
<i>t</i> 值		0.256	4.565	0.754	2.556
<i>P</i> 值		0.799	<0.001	0.452	0.012

注:与组内干预前比较,^a $P < 0.05$ 。

表 4 两组外周血 *Nrf2*、*NF-κB* 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>Nrf2</i>		<i>NF-κB</i>	
		干预前	干预 4 周后	干预前	干预 4 周后
观察组	51	0.98±0.38	1.82±0.57 ^a	1.04±0.43	0.42±0.16 ^a
对照组	51	1.05±0.32	1.42±0.49 ^a	0.92±0.39	0.61±0.23 ^a
<i>t</i> 值		0.982	3.853	1.395	4.466
<i>P</i> 值		0.329	<0.001	0.166	<0.001

注:与组内干预前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.5 两组血清 HO-1、TNF-α 和 IL-1β 水平的比较

与治疗前比较,两组干预 4 周后的血清 HO-1 水平增加,TNF-α 和 IL-1β 水平降低,且观察组的血清指标优于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

3 讨论

AHF 发病后通常需要绝对卧床并进行支持治疗,但长期卧床会影响心功能恢复。近些年的研究资料显示^[6-7],当 AHF 的病情稳定后进行合理的康复运动锻炼可改善卧床造成的负面影响,有助于增强心脏收缩和舒张功能、增加血流量。综合心脏康复包含多种治疗及康复措施,用于 AHF、冠脉介入术后均对心功能具有改善作用^[8-9]。运动锻炼是综合心脏康复的重要内容之一,除常规的有氧运

表 5 两组血清 HO-1、TNF-α 和 IL-1β 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HO-1 (ng/mL)		TNF-α (ng/mL)		IL-1β (ng/mL)	
		干预前	干预 4 周后	干预前	干预 4 周后	干预前	干预 4 周后
观察组	51	5.07±1.13	8.14±1.22 ^a	37.55±7.77	20.47±5.13 ^a	24.17±9.13	16.62±4.25 ^a
对照组	51	5.01±1.28	6.46±1.18 ^a	39.65±8.33	25.46±7.13 ^a	23.29±8.76	19.58±5.31 ^a
<i>t</i> 值		0.261	7.066	1.316	4.060	0.497	3.119
<i>P</i> 值		0.794	<0.001	0.191	<0.001	0.621	0.002

注:与组内干预前比较,^a $P < 0.05$ 。

动、抗阻运动外,智能运动锻炼仪是一种能够进行主动和被动踏车运动的运动锻炼设备^[10]。王晶晶等^[3]的研究表明,智能运动锻炼仪用于急性心肌梗死后心力衰竭患者可显著改善心功能、提高运动耐力。

本研究将智能运动锻炼仪用于AHF,对患者进行智能运动锻炼联合综合心脏康复。智能运动锻炼仪能够智能化模拟踏车运动,可显著提升心脏压力负荷、加速血液循环、改善心肌血流灌注,进而改善心功能。此外,踏车运动能够增强骨骼肌力量、增强运动耐力,有助于患者进行综合心脏康复中的其他运动项目,进而有利于心功能改善。本研究的结果显示,干预后,接受智能运动锻炼联合综合心脏康复的AHF患者NYHA分级较低、6MWT更长,提示患者的心功能改善、运动耐力提升。进一步通过心脏超声和血清标志物对心功能进行评价,其中,LVEF和LVEDD是评价心功能的重要超声指标,而NT-proBNP和cTnI则是反映心功能和心肌损伤的关键血清标志物。研究结果显示,干预后,接受智能运动锻炼联合综合心脏康复的AHF患者LVEF显著升高更高,同时LVEDD、NT-proBNP和cTnI显著降低,表明患者的心功能得到了改善、心肌损伤有所减轻。以上结果首次在AHF患者中发现智能运动锻炼联合综合心脏康复能显著改善心功能,相关结果叶与王晶晶等^[3]的研究中智能运动锻炼改善急性心肌梗死后心力衰竭患者心功能的结果一致。

目前的相关分子生物学研究认为^[11],炎症反应和氧化应激反应激活是导致AHF发生及病情恶化的重要生物学环节,已有文献证实抑制NF- κ B、激活Nrf2对AHF模型的心功能具有改善作用。NF- κ B和Nrf2分别是调控炎症反应和氧化应激反应的关键转录因子。其中,NF- κ B能够促进TNF- α 、IL-1 β 等多种炎症因子表达,进而使多种炎症细胞活化、多种炎症介质释放,最终导致炎症反应级联放大激活^[12];Nrf2能够促进抗氧化酶HO-1表达,进而清除活性氧及氧化应激产物,最终减轻氧化应激反应^[13]。运动锻炼在多种心血管疾病模型中发挥改善心功能的作用,同时对炎症反应和氧化应激反应具有抑制作用。本研究对NF- κ B介导的炎症反应、Nrf2介导的氧化应激反应进行检测,结果显示,干预后接受智能运动锻炼联合综合心脏康复的AHF患者NF- κ B表达及TNF- α 、IL-1 β 水平较低,而Nrf2表达及HO-1水平较高,提示患者的炎症反应及氧化应激反应得到了减轻,与既往

动物实验中运动锻炼改善心衰模型炎症反应及氧化应激反应的结果一致。

综上所述,智能运动锻炼联合综合心脏康复显著改善AHF患者的心功能,推测抑制NF- κ B介导的炎症反应、激活Nrf2并减轻氧化应激反应是其相关的分子机制。

参考文献

- [1] Vicent L, Guerra J, Vazquez-García R, et al. Ischemic Etiology and Prognosis in Men and Women with Acute Heart Failure[J]. J Clin Med, 2021, 10(8):1713.
- [2] Izraiq M, Jammal M, Toubasi AA, et al. The use of four-pillar regimen for heart failure management: results from the Jordanian Heart Failure Registry (JoHFR)[J]. Peer J, 2024, 19(12): e18464.
- [3] 王晶晶, 汪微微, 米亚非. 智能运动锻炼仪在急性心肌梗死后心力衰竭患者中的应用[J]. 医疗装备, 2023, 36(9): 39-40+44.
- [4] Yuan S, Kuai Z, Zhao F, et al. Improving effect of physical exercise on heart failure: Reducing oxidative stress-induced inflammation by restoring Ca (2+) homeostasis [J]. Mol Cell Biochem, 2024. doi: 10.1007/s11010-024-05124-8.
- [5] 中华医学会, 中华医学杂志社. 急性心力衰竭基层诊疗指南(2019年)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(10): 925-930.
- [6] Yokota J, Takahashi R, Matsushima K, et al. Efficacy of Inspiratory Muscle Training in Patients With Acute Decompensated Heart Failure[J]. Circ Rep, 2024, 6(10):430-440.
- [7] Chen SM, Wu MK, Chen C, et al. Benefit of cardiac rehabilitation in acute heart failure patients with cognitive impairment [J]. Heliyon, 2024, 10(9):e30493.
- [8] 陈丽梅, 龚显田, 吴蕾, 等. 心脏康复训练对冠心病PCI术后体适能、心肌酶谱及Nrf2/HO-1信号通路的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(7): 1354-1358.
- [9] 张婷, 韩跃虎, 赵荣, 等. 康复锻炼联合尼可地尔对老年慢性心力衰竭患者心功能、氧化应激及血清BNP水平的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2024, 21(2): 81-87.
- [10] You M, Chen X, Liu D, et al. ChatGPT-4 and wearable device assisted Intelligent Exercise Therapy for co-existing Sarcopenia and Osteoarthritis (GAISO): a feasibility study and design for a randomized controlled PROBE non-inferiority trial [J]. J Orthop Surg Res, 2024, 19(1):635.
- [11] Szabo TM, Frigy A, Nagy EE. Targeting Mediators of Inflammation in Heart Failure: A Short Synthesis of Experimental and Clinical Results[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(23):13053.
- [12] Zhuang L, Zong X, Yang Q, et al. Interleukin-34-NF-kappaB signaling aggravates myocardial ischemic/reperfusion injury by facilitating macrophage recruitment and polarization [J]. EBioMedicine, 2023, 95:104744.
- [13] Lu P, Qi Y, Li X, et al. PEDF and 34-mer peptide inhibit cardiac microvascular endothelial cell ferroptosis via Nrf2/HO-1 signalling in myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. J Cell Mol Med, 2024, 28(14):e18558.

25-OH-VD 水平对多囊卵巢综合征患者人工授精妊娠结局的影响

陈秀改¹ 孙云青² 张玲³ 崔妍¹ 朱明月¹ 于璨¹ 张志革^{1*}

[摘要] **目的** 探讨 25-羟基维生素 D(25-OH-VD)水平对多囊卵巢综合征(PCOS)患者人工授精(IUI)妊娠结局的影响。**方法** 选取 2022 年 6 月至 2023 年 6 月于邢台市中心医院行人工授精的 300 例 PCOS 患者作为研究对象,收集所有研究对象的临床资料,均测定 25-OH-VD 水平,根据 25-OH-VD 水平将研究对象分为维生素 D 正常组(25-OH-VD $\geq$ 50 nmol/L, $n=194$)和维生素 D 缺乏组(25-OH-VD $<$ 50 nmol/L, $n=106$);比较两组一般资料、人工授精妊娠结局,采用多因素 Logistic 回归分析探讨 PCOS 患者人工授精妊娠结局的影响因素。**结果** 维生素 D 缺乏组患者抗苗勒管激素(AMH)低于维生素 D 正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。维生素 D 缺乏组的临床妊娠率为 10.38%(11/106),低于维生素 D 正常组的 19.59%(38/194),差异有统计学意义($P<0.05$),维生素 D 缺乏组的流产率为 9.09%(1/11),高于维生素 D 正常组的 0.00%(0/38),但两组流产率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。单因素分析显示:年龄、AMH、IUI 日 $\geq$ 18 mm 平均卵泡数、25-OH-VD 水平是影响临床妊娠的因素($P<0.05$)。多因素分析显示:年龄($OR=2.489$, 95% CI : 1.388~4.464)、AMH($OR=2.305$, 95% CI : 1.246~4.2656)、25-OH-VD 水平($OR=2.798$, 95% CI : 1.645~4.760)是 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的独立影响因素($P<0.05$)。**结论** 通过维持 25-OH-VD 水平正常可以增加 PCOS 人工授精患者临床妊娠率、降低流产率,改善临床妊娠结局;且年龄、AMH、25-OH-VD 水平是 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的独立影响因素。

[关键词] 25-羟基维生素 D; 多囊卵巢综合征; 人工授精; 妊娠结局

25-OH-VD level on pregnancy outcome in patients with polycystic ovary syndrome after artificial insemination

CHEN Xiugai¹, SUN Yunqing², ZHANG Ling³, CUI Yan¹, ZHU Mingyue¹, YU Can¹, ZHANG Zhige^{1*}

(1. Department of Reproductive Medicine, 2. Department of Obstetrics, 3. Department of Gynecology, Xingtai Central Hospital, Xingtai, Hebei, China, 054000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of 25-hydroxyvitamin D (25-OH-VD) level on pregnancy outcomes in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) after artificial insemination (IUI). **Methods** 300 patients with PCOS who underwent artificial insemination at our hospital from June 2022 to June 2023 were selected as study subjects. Clinical data for all subjects were collected, and 25-OH-VD levels were measured. Based on the 25-OH-VD level, the subjects were divided into two groups; the normal vitamin D group (25-OH-VD $\geq$ 50 nmol/L, $n=194$) and the vitamin D deficiency group (25-OH-VD $<$ 50 nmol/L, $n=106$). The general data and pregnancy outcomes of artificial insemination were compared between the two groups, and the influencing factors of pregnancy outcomes in PCOS patients undergoing artificial insemination were discussed through multivariate logistic regression analysis. **Results** The anti-Müllerian hormone (AMH) levels in the vitamin D deficiency group were lower than those in the vitamin D normal group ($P<0.05$). The clinical pregnancy rate in the vitamin D deficiency group was 10.38% (11/106), which was lower than the 19.59% (38/194) in the vitamin D normal group, and this difference was statistically significant ($P<0.05$). The miscarriage rate in the vitamin D deficiency group was 9.09% (1/11), higher than the 0.00% (0/38)

基金项目:河北省重点研发计划项目(2022803D);邢台市重点研发计划自筹项目任务书(2022ZC149)

作者单位:1. 邢台市中心医院生殖医学科,河北,邢台 054000

2. 邢台市中心医院产科,河北,邢台 054000

3. 邢台市中心医院妇科,河北,邢台 054000

*通信作者:张志革, E-mail: littlegoo@163.com

in the vitamin D normal group, but there was no statistically significant difference in miscarriage rate between the two groups ($P>0.05$). Univariate analysis showed that age, AMH, IUI day ≥ 18 mm average follicle number, and 25-OH-VD level were factors affecting clinical pregnancy ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that age ($OR=2.489$, 95%CI: 1.388-4.464), AMH ($OR=2.305$, 95%CI: 1.246-4.2656), 25-OH-VD level ($OR=2.798$, 95%CI: 1.645-4.760) were independent influencing factors for clinical pregnancy outcome in PCOS patients ($P<0.05$). **Conclusion** Maintaining a normal level of 25-OH-VD can increase the clinical pregnancy rate, reduce the abortion rate, and improve the clinical pregnancy outcome in PCOS patients. Moreover, age, AMH, and 25-OH-VD levels are independent factors for clinical pregnancy outcomes in PCOS patients.

[KEY WORDS] 25-hydroxyvitamin D; Polycystic ovary syndrome; Artificial insemination; Pregnancy outcome

多囊卵巢综合征(Polycystic ovary syndrome, PCOS)是临床上常见的生殖内分泌代谢性疾病,主要发生于育龄期女性,发病率高达20%^[1]。PCOS的临床表现多样,严重情况下还可导致糖尿病、高血压等并发症^[2]。有研究指出^[3],PCOS患者体内异常的内分泌状态会抑制卵泡的发育和成熟,导致不孕。人类辅助生育技术(Assisted Reproductive Technology, ART)在不孕症的治疗中发挥关键作用。临床上对于男方精液质量尚可且女方输卵管通畅的夫妇,若经过指导同房后仍未能怀孕者,通常建议采用促排卵周期宫腔内人工授精(Intrauterine Insemination, IUI)助孕^[4]。25-羟基维生素D(25-hydroxy-vitamin D, 25-OH-VD)是体内维生素D生成的活性形式,其水平可以反映人体维生素D的储存情况^[5]。近年来有研究发现^[6],维生素D在人类生殖中扮演着重要角色。本研究旨在探讨25-OH-VD水平对PCOS患者人工授精妊娠结局的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2022年6月至2024年6月于邢台市中心医院行人工授精的300例PCOS患者作为研究对象,其中年龄23~36岁,平均(30.21 $\pm$ 4.52)岁;体质指数(body mass index, BMI)19.71~28.16 kg/m²,平均(23.92 $\pm$ 3.15)kg/m²。纳入标准:①均符合《多囊卵巢综合征中国诊疗指南》^[7]中PCOS的诊断标准;②年龄<40岁;③女方经影像学证实两侧或单侧输卵管通畅且男方精液符合授精标准^[8];④临床资料完整;⑤未避孕性生活1年以上的不孕者;⑥患者知情知情本研究,并签署同意书。排除标准:①合并肾脏、肝脏及心脏等重要器官严重功能障碍者;②合并恶性肿瘤者;③高催乳素血症、卵巢囊肿者;④合并其他内分泌疾病、血液疾病及自身免疫疾病者;⑤妊娠、哺乳期女性;⑥甲状腺功能障碍者;⑦子宫畸形、

子宫内膜异位症及子宫腺肌症等可能影响胚胎着床的子宫病变者。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集PCOS患者的临床资料,包括年龄、BMI、不孕时间、月经初潮年龄、IUI日 ≥ 18 mm平均卵泡数、注入精子数、吸烟史、饮酒史、睾酮、基础卵泡刺激素(Follicle stimulating hormone, FSH)、基础黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)及抗苗勒管激素(anti-Mullerian hormone, AMH)等。

1.2.2 血清25-OH-VD检测及分组

采集PCOS患者月经来时第3~5 d空腹状态下的外周静脉血3 mL,将血液以3 000 r/min速率进行离心,离心半径为15 cm,离心时间10 min,结束后留取上层清液保存于-80℃冰箱待检。采用美国罗氏cobase 411电化学发光全自动免疫分析系统的电化学发光免疫分析法检测25-OH-VD水平。根据美国妇产科医师学会临床指南^[9],将血清25-OH-VD水平<50 nmol/L定义为维生素D缺乏,根据25-OH-VD水平将研究对象分为维生素D正常组(25-OH-VD ≥ 50 nmol/L, $n=97$)和维生素D缺乏组(25-OH-VD <50 nmol/L, $n=53$)。

1.2.3 人工授精方法

PCOS患者在月经周期第3~5天行超声检查窦卵泡情况,无禁忌症后行促排卵。月经第3~5天口服来曲唑5 mg/d,连续5天;月经第3~5天肌肉注射人绝经期促性腺激素(Human menopausal gonadotropins, HMG)75 IU/d。月经第8~10天监测卵泡发育,当优势卵泡直径 ≥ 18 mm时,根据血LH水平和激素情况注射人绒毛膜促性腺激素(Human chorionic gonadotropin, HCG)10 000 IU,1~1.5天后进行人工授精。男方在女方优势卵泡直径达15 mm时排精一次,IUI日取精后用密度梯度离心法处理精液,将处理好的精子悬浮于0.5 mL培养

液中。患者取膀胱截石位,将精子通过注射器连接人工授精管注入宫腔,术后保持臀高头低位 30 min,并口服黄体酮胶囊。本组每例患者人工授精次数最多为 3 次。

1.2.4 人工授精妊娠结局判定

全部人工授精结束,所有患者 IUI 后第 14 d 于本院进行血 HCG 及尿 HCG 检查以确定是否生化妊娠,IUI 后第 35 d 于本院进行超声检查,以确定是否临床妊娠。临床妊娠标准^[10]为超声检查可见宫内有孕囊、胚芽及原始心管搏动。记录 PCOS 患者的妊娠结局情况,对临床妊娠患者进行持续随访,记录其妊娠后流产情况。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据,计量资料均符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表述,行独立样本 *t* 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表述,行 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验;采用多因素 Logistic 回归分析探讨 PCOS 患者人工授精妊娠结局的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组年龄、BMI、不孕时间、月经初潮年龄、IUI 日 ≥ 18 mm 平均卵泡数、注入精子数、吸烟史、饮酒史、睾酮、基础 FSH、基础 LH 比较差异无统计学意义($P > 0.05$);维生素 D 缺乏组患者 AMH 低于维生素 D 正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

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

指标	维生素 D 正常组 (<i>n</i> =194)	维生素 D 缺乏组 (<i>n</i> =106)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	29.97±4.28	30.45±4.61	0.903	0.367
BMI(kg/m ²)	23.71±3.08	24.13±3.17	1.117	0.265
不孕时间(年)	3.08±0.93	3.19±1.02	0.946	0.345
月经初潮年龄(岁)	13.79±1.61	13.94±1.85	0.731	0.465
IUI 日 ≥ 18 mm 平均 卵泡数(个)	1.51±0.50	1.45±0.42	1.049	0.295
注入精子数($\times 10^6$)	13.74±2.43	13.32±2.19	1.481	0.140
吸烟史	20(10.31)	12(11.32)	0.074	0.786
饮酒史	48(24.74)	34(32.08)	1.856	0.173
睾酮(ng/mL)	0.52±0.13	0.55±0.17	1.709	0.089
AMH(ng/mL)	10.35±2.32	8.41±2.17	7.081	<0.001
基础 FSH(U/L)	6.47±1.69	6.75±1.53	1.418	0.157
基础 LH(U/L)	8.65±1.43	8.42±1.51	1.305	0.193

2.2 两组妊娠结局比较

维生素 D 缺乏组的临床妊娠率为 10.38%(11/106),低于维生素 D 正常组的 19.59%(38/194),差

异有统计学意义($P < 0.05$),维生素 D 缺乏组的流产率为 9.09%(1/11),高于维生素 D 正常组的 0.00%(0/38),但两组流产率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 两组妊娠结局比较 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	临床妊娠	流产率 ^a
维生素 D 正常组	194	38(19.59)	0.00(0/38)
维生素 D 缺乏组	106	11(10.38)	9.09(1/11)
χ^2 值		4.255	
<i>P</i> 值		0.039	0.224

注:^a统计比较方法为 Fisher 确切概率法。

2.3 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的影响因素

将 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局作为因变量(临床妊娠=0、未临床妊娠=1),运用单因素 Logistic 分析,结果显示:年龄、AMH、IUI 日 ≥ 18 mm 平均卵泡数、25-OH-VD 水平(作为连续变量)是影响临床妊娠的因素。见表 3。用单因素分析中 $P < 0.05$ 的指标及 25-OH-VD 水平(均为连续变量)作为自变量进行多因素 Logistic 分析,结果显示:年龄($OR=2.489$, 95%*CI*: 1.388~4.464)、AMH($OR=2.305$, 95%*CI*: 1.246~4.265)、25-OH-VD($OR=2.798$, 95%*CI*: 1.645~4.760)是 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的独立影响因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 3 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的单因素 Logistic 分析

因素	β 值	<i>SE</i> 值	Wald χ^2 值	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)值	<i>P</i> 值
年龄	0.927	0.283	10.730	2.527(1.451~4.400)	0.001
BMI	0.473	0.318	2.212	1.605(0.860~2.993)	0.137
IUI 日 ≥ 18 mm 平均卵泡数	0.559	0.271	4.255	1.749(1.028~2.975)	0.039
注入精子数	0.251	0.209	1.442	1.285(0.853~1.936)	0.230
睾酮	0.362	0.206	3.088	1.436(0.959~2.151)	0.079
AMH	0.848	0.291	8.492	2.335(1.320~4.130)	0.004
基础 FSH	0.613	0.396	2.396	1.846(0.849~4.011)	0.122
基础 LH	0.739	0.577	1.640	2.094(0.676~6.488)	0.200
25-OH-VD 水平	1.048	0.252	17.295	2.852(1.740~4.674)	<0.001

3 讨论

研究表明^[11],无排卵性不孕症中约 75% 由 PCOS 引起,对女性的身心健康造成了严重影响。人工授精是不孕症的有效治疗手段,因操作简便、成本低、安全性高而被广泛应用。然而,目前 PCOS 患者进行人工授精的妊娠率仍较低,影响其妊娠结局的因素尚未明确^[12]。

维生素 D 受体存在于卵巢组织、子宫、胎盘等关键生殖部位中,可通过与受体结合在生殖系统

表4 PCOS患者人工授精临床妊娠结局的多因素分析

因素	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	P 值
年龄	原值输入	0.912	0.298	9.366	2.489(1.388~4.464)	0.002
IUI 日 $\geq$ 18 mm 平均卵泡数	原值输入	0.520	0.309	2.832	1.682(0.918~3.082)	0.092
AMH	原值输入	0.835	0.314	7.072	2.305(1.246~4.265)	0.008
25-OH-VD 水平	原值输入	1.029	0.271	14.418	2.798(1.645~4.760)	<0.001

中发挥多种生物学作用。25-OH-VD 是维生素 D 在体内的主要存在形式,其在血液中的稳定性较强,故临床多使用其判断体内维生素 D 水平。有研究表明^[13],25-OH-VD、AMH 水平在高卵巢反应的助孕女性中呈高表达,可作为监测行体外受精-胚胎移植女性妊娠结局的重要指标。本研究中,维生素 D 缺乏组的 AMH、临床妊娠率低于维生素 D 正常组,提示维生素 D 水平不足可对 PCOS 患者的生殖功能可产生负面影响,与宋瑞芳等^[14]的研究结果相似。其原因为,AMH 是卵巢颗粒细胞分泌的一种糖蛋白,对卵泡发育和排卵具有重要作用,而维生素 D 参与调节 AMH 的合成和分泌过程,进而影响卵泡的发育和排卵;同时,维生素 D 还可通过改善子宫内膜的容受性和免疫功能,增加胚胎着床的成功率。维生素 D 对卵巢微环境的调控作用解释了其对 PCOS 患者人工授精妊娠率的影响,提示在临床治疗中应综合考虑维生素 D 水平的变化。在本研究中,维生素 D 正常组的流产率低于维生素 D 缺乏组,进一步说明维生素 D 参与促进子宫内膜蜕膜化等妊娠过程的调节,影响胚胎着床率。

既往已有研究表明^[15],女方年龄、不孕年限、不孕类型是影响人工授精临床妊娠率的重要因素。本研究多因素分析显示,年龄、AMH、25-OH-VD 水平是 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的独立影响因素,其中年龄与妊娠结局的相关性与上述既往研究结果相似。年龄增加可能会导致卵巢功能的衰退,AMH 水平的下降反映了卵巢储备功能的减退,而低 25-OH-VD 水平则可能影响生殖系统的正常功能,这些因素的综合作用可导致临床妊娠率降低。因此,临床实践中应重视 PCOS 患者维生素 D 水平监测和补充。

综上所述,通过维持 25-OH-VD 水平正常可以增加 PCOS 人工授精患者的临床妊娠率、降低流产率,进而改善临床妊娠结局;且年龄、AMH、25-OH-VD 水平是 PCOS 患者人工授精临床妊娠结局的独立影响因素。

参考文献

- [1] Al Wattar BH, Fisher M, Bevington L, et al. Clinical Practice Guidelines on the Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Quality Assessment Study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2021, 106(8):2436-2446.
- [2] 邵翔,于洋,黄雪,等.多囊卵巢综合征不孕症发病机制和中西医结合治疗效果的研究进展[J].感染、炎症、修复, 2021, 22(2):124-128.
- [3] 吴琼丽,白剑,邓颂.血清整合素 $\beta 3$ 、LIF 水平对多囊卵巢综合征病情及合并不孕的评估价值[J].分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(3):369-372+378.
- [4] 刘利芳,刘皓,张小燕,等.精子 DNA 碎片指数、精液常规参数与人工授精助孕结局的相关性[J].保健医学研究与实践, 2022, 19(7):55-58.
- [5] Qin JQ, Yin H, Wu JZ, et al. 25-Hydroxy vitamin D deficiency predicts inferior prognosis in Hodgkin lymphoma[J]. Leuk Res, 2021, 105(1):106580.
- [6] Bezerra Espinola MS, Bertelli M, Bizzarri M, et al. Inositol and vitamin D may naturally protect human reproduction and women undergoing assisted reproduction from Covid-19 risk[J]. J Reprod Immunol, 2021, 144(1):103271.
- [7] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组.多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J].中华妇产科杂志, 2018, 53(1):2-6.
- [8] 邓冰冰,林津,龚秀芳,等.剖宫产史对不孕症患者人工授精助孕结局的影响[J].中国卫生标准管理, 2024, 15(19):15-19.
- [9] Alkhalaf Z, Kim K, Kuhr DL, et al. Markers of vitamin D metabolism and premenstrual symptoms in healthy women with regular cycles[J]. Hum Reprod, 2021, 36(7):1808-1820.
- [10] 田沛哲,陈春卉,王雪,等.单卵裂期胚胎移植临床妊娠率影响因素分析[J].中华生殖与避孕杂志, 2023, 43(4):364-370.
- [11] Jiang NX, Li XL. The Disorders of Endometrial Receptivity in PCOS and Its Mechanisms[J]. Reprod Sci, 2022, 29(9):2465-2476.
- [12] 陶晓刚,魏新亭.提高神经外科专培医师手术基本功的教学探讨[J].中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(2):80-82.
- [13] 吴媛媛,张瑜,李朋粉. FSH/LH、25(OH)D 及 AMH 对卵巢储备功能及体外受精-胚胎移植结局的预测[J].分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(10):1867-1870+1875.
- [14] 宋瑞芳,吴成平,邢冠琳,等.血清 25 羟基维生素 D3 水平与供精人工授精妊娠相关结局的关系[J].河南医学研究, 2024, 33(4):625-628.
- [15] Luo Y, Wu S, Yuan J, et al. Evaluation of Prognostic Factors for Clinical Pregnancy Rate Following Artificial Insemination by Husband in the Chinese Population[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8(1):638560.

七叶皂苷钠改善老年下肢骨折术后肿胀疗效及对氧化应激、炎症因子的影响

王孝生^{1*} 秦春跃² 刘杨俊¹

[摘要] 目的 探究七叶皂苷钠改善老年下肢骨折术后肿胀及对氧化应激、炎症因子的影响。方法 纳入2023年1月至2024年4月六安世立医院接受切开复位内固定术的老年下肢骨折患者共计102例,按随机法将其分为对照组(51例,常规康复干预)及观察组(51例,在对照组基础上提供七叶皂苷钠静脉滴注,1次/d,连续治疗10 d)。分析两组手术前后下肢肿胀、疼痛程度、术后恢复情况[骨折愈合时间、骨痂生长情况评分]、氧化应激指标[包括丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)]、炎症因子[包括肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6]及不良反应。结果 观察组下肢肿胀程度、VAS评分均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组骨折愈合时间短于对照组,骨痂生长情况评分高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组MDA低于对照组,CAT、SOD、GSH-Px均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、CRP、PCT、NLR低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P=0.241$)。结论 七叶皂苷钠能有效缓解老年下肢骨折术后肿胀、疼痛程度,促进骨折愈合,改善氧化应激、炎症因子水平,安全性较高。

[关键词] 七叶皂苷钠; 下肢骨折; 氧化应激; 术后肿胀; 炎症因子

Sodium aescinate improves postoperative swelling of lower limb fractures in the elderly and its effects on oxidative stress and inflammatory factors

WANG Xiaosheng^{1*}, QIN Chunyue², LIU Yangjun¹

(1. Department of Pharmacy, 2. Orthopedics, Luk On World Hospital, Lu'an, Anhui, China, 237000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the effect of sodium aescinate on postoperative swelling and oxidative stress and inflammatory factors in elderly patients with lower limb fracture. **Methods** A total of 102 elderly patients with lower limb fractures who underwent open reduction internal fixation at Lu'an Civily Hospital from January 2023 to April 2024 were included in the study. They were randomly divided into two groups: the control group (51 cases) received routine rehabilitation intervention, while the observation group (51 cases) Received sodium aescinate via intravenous drip twice a day for 20 days in addition to routine rehabilitation. The lower limb swelling, pain levels, postoperative recovery (fracture healing time, callus growth score), oxidative stress indicators (including malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), inflammatory factors (including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6) were analyzed pre-and postoperatively in both groups. **Results** The degree of lower limb swelling and VAS score in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The fracture healing time in the observation group was shorter than that in the control group, and the score of callus growth was higher than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The MDA levels in the observation group were lower than those in the control group, and the CAT, SOD, and GSH-Px were higher than those in the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-6,

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021a027)

作者单位:1.六安世立医院药剂科,安徽,六安 237000

2.六安世立医院骨科,安徽,六安 237000

*通信作者:王孝生, E-mail:luanwang111@163.com

TNF- α , IL-1 β , CRP, PCT, and NLR in the observation group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups ($P=0.241$). **Conclusion** Sodium aescinate can effectively relieve swelling and pain after lower limb fracture surgery in the elderly. It can also promote fracture healing, improve oxidative stress and inflammatory factor levels. Additionally, it has a high safety profile.

[KEY WORDS] Sodium aescinate; Lower limb fracture; Oxidative stress; Postoperative swelling; Inflammatory factors

下肢骨折是因直接或间接暴力引起的骨科疾病,骨折发生后周围组织多伴有红肿、疼痛^[1]。老年人群因自身骨质疏松等原因不仅易发生下肢骨折,且易发生骨痂生长缓慢,甚至不愈合等情况,大大降低其生活质量^[2]。目前多采用切开复位内固定术进行治疗,达到固定骨折端的作用,但术后关节肿胀疼痛等问题难以得到缓解^[3]。此外,骨折发生后周围组织受损会引起炎症反应,肢体疼痛也会使患者氧化应激处于过度激活状态^[4],因此,术后需选择有效的治疗方案来缓解患者肢体肿胀、疼痛,减轻氧化应激、炎症因子水平,促进骨折愈合。七叶皂苷钠的有效成分为七叶皂苷,临床有学者将其用于治疗老年骨折术后并发的肢体肿胀,显示其能减轻肿胀程度,促进骨折愈合^[5]。本研究旨在探讨七叶皂苷钠改善老年下肢骨折术后肿胀及对氧化应激、炎症因子的影响,为老年下肢骨折患者术后康复提供治疗方案参考。

1 对象与方法

1.1 病例收集

纳入2023年1月至2024年4月六安世立医院接受切开复位内固定术的老年下肢骨折患者共计102例,纳入标准:①均诊断为下肢骨折^[6];下肢可见肿胀、淤青、瘀斑等;可能合并下肢功能障碍;下肢外伤史;影像学检查显示下肢骨小梁不连续;②接受切开复位内固定术。排除标准:①粉碎性骨折;②对七叶皂苷钠过敏者;③未遵医嘱完成治疗或治疗期间自行接受其他治疗,影响本研究结果判定;④存在骨关节疾病史。按随机法将其分为对照组(51例)及观察组(51例)。两组临床资料比较差异无统计学意

义($P>0.05$)。见表1。本研究102例老年下肢骨折患者均知情并经六安世立医院伦理委员会审核批准。受试者或家属已签署知情同意书。

1.2 治疗方法

患者均接受切开复位内固定术。对照组在此基础上给予常规康复干预,术后3 d内按不同病情程度为患者提供下肢按摩并指导肺部呼吸训练。3 d后叮嘱患者足浴20~30 min,共1次,指导其关节跖屈等下肢康复动作。观察组进一步联合七叶皂苷钠静脉滴注,1次/d,连续治疗10 d,药物批准文号为国药准字H20057666,购自湖南一格制药有限公司,取七叶皂苷钠10 mg溶于0.9% 250 mL氯化钠注射液完成静脉滴注。

1.3 观察指标

1.3.1 下肢肿胀、疼痛程度

统计分析两组手术前后下肢肿胀、疼痛程度。对患者下肢最肿胀部位的进行测量,标记健侧同一水平位置,以患侧与健侧的周径的比值为下肢肿胀程度。以视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)^[7]评估疼痛程度,最高分10分,分数越高,患者疼痛越剧烈。

1.3.2 术后恢复情况

通过门诊复查,记录患者骨折愈合时间。手术前、手术10 d后观察两组骨痂生长情况,评价包括骨痂量、骨痂密度。分值0~4分,分值越高提示骨痂生长情况越好^[8]。

1.3.3 氧化应激指标、炎症因子

于手术前、手术10 d后抽取两组空腹静脉血,约3~5 mL,置于无菌试管后离心10 min后取血清,3 000 r/min,采用全自动化学发光免疫分析仪

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

组别	<i>n</i>	性别		年龄(岁)	骨折部位			肿胀程度		
		男	女		单胫骨	股骨	膝骨	I°	II°	III°
观察组	51	28(54.90)	23(45.10)	70.16 $\pm$ 8.15	22(43.14)	17(33.33)	12(23.53)	14(27.45)	18(35.29)	19(37.25)
对照组	51	19(37.25)	32(62.75)	68.53 $\pm$ 9.48	19(37.25)	16(31.37)	16(31.37)	12(23.53)	23(45.10)	16(31.37)
χ^2 值		3.196		0.931		0.821		0.168		
<i>P</i> 值		0.074		0.354		0.663		0.867		

检测氧化应激指标,包括丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px);另采用酶联免疫吸附法测定肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素(Interleukin, IL)-1 β 、IL-6、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)。采用全自动血细胞分析仪检测中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)。

仪器购自深圳市新产业生物医学工程股份有限公司,试剂盒则购自上海酶联生物科技有限公司。

1.3.4 不良反应

记录治疗期间药物不良反应,治疗结束后复查血常规、肝、肾功能等。

1.4 统计学分析

统计学软件为 SPSS 27.0。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验,肿胀程度采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组下肢肿胀、疼痛程度比较

观察组下肢肿胀程度、VAS 评分均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组下肢肿胀、疼痛程度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肿胀程度评分(%)		VAS 评分(分)	
		手术前	手术后	手术前	手术后
观察组	51	39.56 $\pm$ 3.54	28.59 $\pm$ 3.11 ^a	5.69 $\pm$ 0.49	3.26 $\pm$ 0.33 ^a
对照组	51	39.08 $\pm$ 3.76	34.26 $\pm$ 4.05 ^a	5.81 $\pm$ 0.52	4.32 $\pm$ 0.37 ^a
t 值		0.664	7.930	1.199	15.269
P 值		0.508	<0.001	0.233	<0.001

注:与同组手术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.2 两组术后恢复情况比较

观察组骨折愈合时间短于对照组,骨痂生长情况评分高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组术后恢复情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	骨折愈合时间(d)	骨痂密度评分(分)		骨痂量评分(分)	
			手术前	手术后	手术前	手术后
观察组	51	45.36 $\pm$ 5.69	0.29 $\pm$ 0.08	3.26 $\pm$ 0.57 ^a	0.39 $\pm$ 0.10	2.96 $\pm$ 0.38 ^a
对照组	51	51.63 $\pm$ 4.17	0.27 $\pm$ 0.07	3.01 $\pm$ 0.44 ^a	0.36 $\pm$ 0.09	2.63 $\pm$ 0.42 ^a
t 值		6.347	1.344	2.479	1.592	4.161
P 值		<0.001	0.182	0.015	0.114	<0.001

注:与同组手术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.3 两组氧化应激指标比较

观察组 MDA 低于对照组, CAT、SOD、GSH-Px 均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 两组炎症因子比较

观察组 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、CRP、PCT、NLR 低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 两组炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	观察组($n=51$)	对照组($n=51$)	t 值	P 值
IL-6(pg/mL)	手术前	56.67 $\pm$ 3.50	55.88 $\pm$ 4.01	1.060	0.292
	手术后	32.10 $\pm$ 4.59 ^a	36.02 $\pm$ 5.70 ^a	3.825	<0.001
TNF- α (pg/mL)	手术前	75.32 $\pm$ 6.59	76.24 $\pm$ 6.20	0.726	0.470
	手术后	36.48 $\pm$ 4.07 ^a	40.16 $\pm$ 4.33 ^a	4.422	<0.001
IL-1 β (ng/mL)	手术前	37.54 $\pm$ 6.51	36.88 $\pm$ 4.57	0.593	0.555
	手术后	20.03 $\pm$ 3.26 ^a	23.56 $\pm$ 4.01 ^a	4.878	<0.001
CRP(mg/L)	手术前	26.78 $\pm$ 4.32	25.97 $\pm$ 3.69	1.018	0.311
	手术后	9.15 $\pm$ 2.87 ^a	11.36 $\pm$ 3.05 ^a	3.769	<0.001
PCT(ng/mL)	手术前	1.17 $\pm$ 0.15	1.13 $\pm$ 0.21	1.107	0.271
	手术后	0.84 $\pm$ 0.13 ^a	1.01 $\pm$ 0.10 ^a	7.402	<0.001
NLR	手术前	7.73 $\pm$ 1.26	7.56 $\pm$ 1.54	0.610	0.543
	手术后	5.23 $\pm$ 1.17 ^a	6.36 $\pm$ 1.20 ^a	4.815	<0.001

注:与同组手术前比较,^a $P < 0.05$ 。

2.5 不良反应

治疗期间,观察组出现腹痛 1 例,恶心呕吐 2 例,不良反应发生率为 5.88%(3/51)。对照组未出现明显不良反应。两组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.374, P=0.241$)。

3 讨论

下肢骨折是骨科常见的骨折类型,老年患者术后愈合时间相对较长,多容易并发下肢肿胀、疼痛等,影响正常生活^[9]。老年患者在自身条件允许下临床多予以切开复位内固定术,该术式能有效

表 4 两组氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MDA(mmol/mL)		CAT(nU/mL)		SOD(nU/mL)		GSH-Px(μ g/mL)	
		手术前	手术后	手术前	手术后	手术前	手术后	手术前	手术后
观察组	51	4.32 $\pm$ 0.51	3.01 $\pm$ 0.32 ^a	33.51 $\pm$ 5.30	37.96 $\pm$ 4.50 ^a	64.68 $\pm$ 7.49	81.43 $\pm$ 10.46 ^a	157.46 $\pm$ 15.23	277.02 $\pm$ 19.81 ^a
对照组	51	4.39 $\pm$ 0.54	3.90 $\pm$ 0.49 ^a	33.69 $\pm$ 5.41	35.88 $\pm$ 4.76 ^a	64.51 $\pm$ 8.02	72.36 $\pm$ 9.10 ^a	161.20 $\pm$ 16.25	286.39 $\pm$ 20.46 ^a
t 值		0.673	10.860	0.170	2.268	0.111	4.672	1.199	2.350
P 值		0.503	<0.001	0.866	0.026	0.912	<0.001	0.233	0.021

注:与同组手术前比较,^a $P < 0.05$ 。

固定患者下肢骨折部位,恢复其骨活动功能^[10]。术后足部血液运行不畅,骨折处的血液供给不足也会导致该部位缺氧,出现氧化应激反应,同时上调炎症水平,最终使骨折愈合延期^[11]。因此需予以针对性的术后干预,缓解术后肿胀、减轻氧化应激、炎症反应,促进下肢功能恢复。

研究认为^[12],七叶皂苷钠是缓解骨折后肢体肿胀的有效药物。据药理学研究显示^[13],七叶皂苷含有酚羟基结构,能减少氧自由基生成,改善局部皮肤组织坏死症状;此外其还能促进局部淋巴回流,从而减轻肢体肿胀程度。本研究老年下肢骨折患者经七叶皂苷钠干预10d后肢体肿胀、疼痛程度缓解均优于对照组,且该药物能缩短骨折愈合时间,促进骨痂生成,无严重不良反应,提示七叶皂苷钠不仅能减轻切开复位内固定术后下肢肢体肿胀,还能减轻疼痛,疗效显著,安全性较高。

骨折后肢体疼痛也会增强氧化应激反应,引起抗氧化酶(如SOD、CAT、GSH-Px等)大量消耗,当机体活性氧浓度升高时会使炎症反应加重,不利于术后康复。叶继红等^[14]的研究显示,七叶皂苷钠能改善胫腓骨骨折患者SOD、MDA等氧化应激指标水平。本研究的老年下肢骨折患者经七叶皂苷钠干预10d后,观察组MDA低于对照组,而CAT、SOD、GSH-Px显著升高。结合上述研究成果,推测七叶皂苷钠因具有酚羟基结构,能调节MDA等氧化应激指标水平,加快氧自由基清除,减轻机体损伤。此外,骨折后肌肉组织受损会引起一系列炎症反应。TNF- α 由单核细胞产生,能激活NF- κ B信号通路,并进一步刺激分泌大量促炎因子;IL-1 β 、IL-6是血液中的多功能促炎因子,能协同TNF- α 作用于内皮细胞,增加血管通透性,进而加剧局部组织水肿,引起肢体肿胀。CRP的水平变化可反映炎症程度,已成为术后炎症反应严重程度的重要监测指标^[15]。PCT在健康人体内含量极少,当发生炎症反应时,PCT血清含量急剧升高^[16]。也有研究表明^[17],NLR能评估炎症反应的程度。刘泉春^[18]的研究显示,联合七叶皂苷钠能减轻胫骨平台骨折内固定术后TNF- α 、IL-6等炎症水平,减少并发症。根据本研究结果,可以发现七叶皂苷钠也能够减轻老年下肢骨折术后TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、CRP、PCT、NLR的表达,提示七叶皂苷钠具有明显的抑制炎症反应的作用。

综上所述,七叶皂苷钠能有效缓解老年下肢骨折术后肿胀、疼痛程度,促进骨折愈合,改善氧化应

激、炎症因子水平,无严重不良反应。因此,七叶皂苷钠在治疗老年下肢骨折术后方面有一定价值。

参考文献

- [1] 管志海,黄秋兰,王勤业,等.阿哌沙班与低分子肝素预防骨折术后血栓效果比较[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(11):1977-1980+1985.
- [2] Narayana Murthy S, Cheruvu MS, Siddiqui RS, et al. Survival analysis in nonagenarian patients with non-hip lower limb fractures[J]. World J Orthop, 2023, 18, 14(8):621-629.
- [3] Pean CA, Thomas HM, Singh UM, et al. Use of a Six-Item Modified Frailty Index to Predict 30-day Adverse Events, Re-admission, and Mortality in Older Patients Undergoing Surgical Fixation of Lower Extremity, Pelvic, and Acetabular Fractures[J]. J Am Acad Orthop Surg Glob Res Rev, 2023, 19; 7(1):e22.00286.
- [4] 贺翎,王度.胸腰椎骨折脊髓损伤炎症性与氧化应激产物的意义[J].中国矫形外科杂志,2021,29(18):1663-1667.
- [5] 谢婷,李娅,王宁,等.七叶皂苷钠联合骨肽注射液对老年跟骨骨折术后肢体肿胀的疗效及血清BALP BGP的影响[J].河北医学,2023,29(2):236-242.
- [6] 陈孝平,汪建平.外科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013,611-614.
- [7] 严广斌.视觉模拟评分法[J].中华关节外科杂志(电子版),2014,8,(2):273.
- [8] 谷忠建.筋骨疗伤膏联合补肾接骨汤对老年下肢骨折术后肿胀及Wnt/ β -catenin信号通路的影响[J].中华中医药学刊,2024,42(1):218-221.
- [9] Yu F, Kong W, Liu Y, et al. Application effect of humanized nursing in operating room nursing of elderly patients with lower limb fracture[J]. Panminerva Med, 2023, 65(4):540-541.
- [10] 左贵松,胡勇,陶岳峰,等.切开复位内固定治疗老年复杂踝关节骨折的最佳手术时机及优势[J].中国老年学杂志,2024,44(4):825-828.
- [11] Shen YW, Cheng YA, Li Y, et al. Sambucus williamsii Hance maintains bone homeostasis in hyperglycemia-induced osteopenia by reversing oxidative stress via cGMP/PKG signal transduction[J]. Phytomedicine, 2023, 110:154607.
- [12] 杨菲.七叶皂苷钠联合骨肽注射液对老年跟骨骨折术后患者肢体肿胀及骨折愈合的影响[J].临床合理用药杂志,2021,14(21):39-41+44.
- [13] 徐飞,郭东凯,季士亮,等.七叶皂苷钠的药理作用及临床药物联用[J].中国医药科学,2022,12(10):51-55.
- [14] 叶继红,屈伟.七叶皂苷钠治疗胫腓骨骨折后肢体肿胀的临床研究[J].现代医药卫生,2019,35(18):2862-2864.
- [15] 杨沙,尹小娟,温慧敏,等.清热解毒汤对下肢开放性骨折术后患者的临床疗效[J].中成药,2024,46(11):3885-3888.
- [16] 岳建彪,万坤镇,孙群,等.扶正祛邪法治疗老年骨折患者肺部感染的疗效[J/OL].辽宁中医杂志,1-10[2024-12-06].
- [17] Zhu H, LiZ, Zhou YZ, et al. Neutrophil/Hlymphocyte ratio as a risk factor for osteoporotic vertebrae fractures and femoral neck fractures[J]. Medicine, 2022, 101(48):e32125.
- [18] 刘泉春.伤科接骨片联合七叶皂苷钠在胫骨平台骨折内固定术后患者中的应用效果[J].新中医,2022,54(24):102-106.

血清 IGF-1、HMGB1 水平与股骨颈骨折患者术后延迟愈合的关系

金星主* 许龙吉 李松哲 吴宏杰 千成日 朴龙钧

[摘要] **目的** 分析血清胰岛素样生长因子1(IGF-1)、高迁移率族蛋白B1(HMGB1)水平与股骨颈骨折患者术后延迟愈合的关系。**方法** 选取2021年1月至2023年11月吉林省延吉市延边朝医院收治的股骨颈骨折患者201例为研究对象,分为未延迟组($n=166$)和延迟组($n=35$)。检测两组血清 IGF-1、HMGB1 水平,收集两组临床资料,采用多因素 Logistic 回归分析患者术后延迟愈合的影响因素,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析 IGF-1、HMGB1 对患者术后延迟愈合的预测价值,采用 Pearson 法分析 IGF-1、HMGB1 与骨密度(BMD)的相关性。**结果** 延迟组 IGF-1、HMGB1 水平、BMD、 ≤ 65 岁占比低于未延迟组,差异有统计学意义($P<0.05$);年龄升高为影响患者延迟愈合的危险因素($P<0.05$),BMD、IGF-1、HMGB1 升高为影响患者延迟愈合的保护因素($P<0.05$);IGF-1、HMGB1 联合检测显著优于 IGF-1($P=0.016$)、HMGB1($P=0.011$)单独预测,血清 IGF-1、HMGB1 与 BMD 呈正相关($P<0.05$)。**结论** 股骨颈骨折术后延迟愈合患者血清 IGF-1、HMGB1 水平降低,两指标对患者术后延迟愈合有辅助预测价值。

[关键词] 胰岛素样生长因子1;高迁移率族蛋白B1;股骨颈骨折患者;延迟愈合

Relationship between serum IGF-1 and HMGB1 levels and delayed healing in patients with femoral neck fracture

JIN Xingzhu*, XU Longji, LI Songzhe, WU Hongjie, QIAN Chengri, PU Longjun

(Department of Spine Surgery, Yanbian Chao Medical Hospital, Yanji, Jilin, China, 133000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate and analyze the relationship between serum levels of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and high mobility group protein B1 (HMGB1) and delayed healing in patients with femoral neck fracture. **Methods** A total of 201 patients with femoral neck fractures who visited our hospital from January 2021 to November 2023 were selected as subjects. They were divided into the non-delayed group ($n=166$) and the delayed group ($n=35$). Serum levels of IGF-1 and HMGB1 were measured, and general clinical data were collected and analyzed. Multivariate logistic regression was applied to analyze the influencing factors of delayed healing of postoperative fractures in patients. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysis was conducted to determine the predictive value of IGF-1 and HMGB1 for delayed postoperative fracture healing in patients. The Pearson method was applied to analyze the correlation between IGF-1, HMGB1, and bone mineral density (BMD). **Results** The levels of IGF-1 and HMGB1, BMD, and age ≤ 65 years were significantly lower in the delayed healing group compared to the non-delayed group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Elevated age was identified as a risk factor for delayed healing in patients ($P<0.05$), while elevated BMD, IGF-1, and HMGB1 were protective factors against delayed healing ($P<0.05$). The AUC for serum IGF-1, HMGB1, and their combined prediction for delayed healing in patients were 0.803, 0.787, and 0.863, respectively. The combined prediction significantly outperformed IGF-1 ($P=0.016$) and HMGB1 ($P=0.011$) alone. Serum IGF-1 and HMGB1 levels were positively correlated with BMD

基金项目:吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20230620KL)

作者单位:吉林省延吉市延边朝医院脊柱外科,吉林,延吉 133000

*通信作者:金星主, E-mail:jxz15567670378@126.com

($P<0.05$). **Conclusion** In patients who experience delayed fracture healing after femoral neck fracture surgery, there is a decrease in serum IGF-1 and HMGB1 levels. This decrease has additional predictive value for postoperative delayed healing in these patients.

[KEY WORDS] Insulin-like growth factor 1; High mobility group B1; Femoral neck fracture; Delayed healing

股骨颈骨折占有股骨近端骨折的53%,其发病率呈持续上升趋势,且并发股骨头坏死的可能性很高^[1]。临床一般选择外科手术进行治疗,包括髋关节置换、空心螺钉内固定^[2]。骨折延迟愈合是骨折手术后常见的并发症^[3]。骨折愈合延迟患者需要接受二次手术,易增加患者心理、身体负担。因此,寻找与患者愈合相关的生物标志物具有重大意义。

胰岛素样生长因子1(Insulin-like growth factor 1, IGF-1)在骨骼发育、生长中具有重要作用,可提高骨密度,血清IGF-1降低与骨折风险增加有关^[4]。高迁移率族蛋白B1(High mobility group protein B1, HMGB1)可在调节骨再生方面发挥作用,其在对抗免疫失调和骨折延迟愈合方面具有重要意义^[5]。本研究检测股骨颈骨折患者中IGF-1、HMGB1的表达水平,并进一步分析两者与患者术后骨折延迟愈合的关系,以为临床提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2021年1月至2023年11月吉林省延吉市延边朝医医院收治的股骨颈骨折患者201例为研究对象。纳入标准:①符合股骨颈骨折诊断标准^[6],且经X射线等影像学检查诊断确诊;②患者及家属知情同意;③首次发病;④均接受手术治疗;⑤临床资料完整。排除标准:①先天脊椎畸形;②合并肿瘤疾病;③肝肾功能障碍;④既往手术史;⑤合并骨肿瘤;⑥血液系统疾病;⑦免疫系统疾病或严重感染。该研究经医学伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂

X线骨密度仪:DXA-800F,江苏品源医疗有限公司;IGF-1、HMGB1 ELISA检测试剂盒:杭州联科生物技术股份有限公司;多功能酶标仪:Varioskan LUX,赛默飞世尔科技。

1.3 方法

1.3.1 一般资料收集

收集患者的年龄、性别、体质量指数(Body

mass index, BMI)、手术方式、骨折类型、骨折原因以及是否患高血压、糖尿病、心脏病、高血脂等临床资料,并采用双能X线骨密度仪检测骨密度(Bone density, BMD)。

1.3.2 IGF-1、HMGB1水平检测

于患者入组次日进行空腹肘静脉采血5 mL,以3 500 r/min,离心半径8 cm,离心10 min,收集上清液,采用ELISA检测试剂盒检测血清IGF-1、HMGB1水平。

1.3.3 随访

所有患者术后均进行3个月随访,将术后3个月X线检查提示骨折端未见骨痂或少量骨痂、或有明显间隙、骨折线明显,判定为骨折延迟愈合^[7]。根据术后3个月骨折延迟愈合情况将患者分为延迟组($n=35$)与未延迟组($n=166$)。

1.4 统计学分析

采用SPSS 25.00进行数据统计分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;经正态分布检验后,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;采用多因素Logistic回归分析患者术后骨折延迟愈合的影响因素;绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析IGF-1、HMGB1对患者术后骨折延迟愈合的预测价值;采用Pearson法分析IGF-1、HMGB1与BMD相关性。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组性别、BMI、骨质类型、手术方式、骨折原因以及是否患高血压、糖尿病、心脏病、高血脂比较,差异无统计学意义($P>0.05$),两组年龄、BMD比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 两组血清IGF-1、HMGB1水平比较

延迟组的IGF-1、HMGB1水平低于未延迟组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 多因素Logistic回归分析患者术后延迟愈合的影响因素

以患者术后是否延迟愈合(否=0,是=1)为因

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

项目	未延迟组 ($n=166$)	延迟组 ($n=35$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)				
>65	75(45.18)	24(68.57)	6.327	0.012
≤65	91(54.82)	11(31.43)		
性别				
男	79(47.59)	19(54.29)	0.519	0.471
女	87(52.41)	16(45.71)		
BMI(kg/m^2)	23.51±2.64	23.88±2.91	0.740	0.460
骨折类型				
开放性	66(39.76)	20(57.14)	3.568	0.059
闭合性	100(60.24)	15(42.86)		
手术方式				
钢板内固定	76(45.78)	19(54.29)	0.838	0.360
髓内钉固定	90(54.22)	16(45.71)		
原因				
交通事故	76(45.78)	19(54.29)	1.701	0.427
跌倒	50(30.12)	11(31.43)		
其他	40(24.10)	5(14.29)		
高血压				
是	76(45.78)	20(57.14)	1.495	0.221
否	90(54.22)	15(42.86)		
心脏病				
是	73(43.98)	19(54.29)	1.238	0.266
否	93(56.02)	16(45.71)		
糖尿病				
是	81(48.80)	21(60.00)	1.452	0.228
否	85(51.20)	14(40.00)		
高血脂				
是	80(48.19)	23(65.71)	3.552	0.059
否	86(51.81)	12(34.29)		
BMD(T值)	-2.60±0.29	-3.10±0.35	8.928	<0.001

变量,以患者年龄、BMD、IGF-1、HMGB1水平为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,年龄升高为影响患者术后延迟愈合的危险因素($P<$

表2 两组血清 IGF-1、HMGB1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	IGF-1(ng/mL)	HMGB1(ng/mL)
未延迟组	166	412.35±49.58	3.47±0.39
延迟组	35	341.58±38.55	2.89±0.35
t 值		7.947	8.132
P 值		<0.001	<0.001

0.05),BMD、IGF-1、HMGB1 水平升高为影响患者术后延迟愈合的保护因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 血清 IGF-1、HMGB1 对患者骨折延迟愈合的预测价值

以患者术后是否延迟愈合(否=0,是=1)为因变量,以 IGF-1、HMGB1 水平(均为实测值)为自变量,绘制 ROC 曲线,结果显示,血清 IGF-1、HMGB1 以及联合预测患者骨折延迟愈合的曲线下面积(Area under the curve,AUC)分别为0.803、0.787、0.863,联合预测显著优于 IGF-1($Z=2.407,P=0.016$)、HMGB1($Z=2.529,P=0.011$)单独预测。见表4、图1。

2.5 血清 IGF-1、HMGB1 水平与 BMD 的相关性分析

Pearson 法分析血清 IGF-1、HMGB1 水平与 BMD 的相关性,结果显示,IGF-1、HMGB1 水平与 BMD 均呈正相关($r=0.416、0.403,P<0.05$)。

表3 多因素 Logistic 回归分析患者术后延迟愈合的影响因素

指标	赋值	β 值	SE 值	Wald 值	OR 值	95% CI	P 值
年龄	≤65岁=0,>65岁=1	0.259	0.125	4.278	1.295	1.014~1.654	0.039
BMD	实测值	-0.268	0.128	4.380	0.765	0.595~0.983	0.036
IGF-1	实测值	-0.238	0.112	4.525	0.788	0.633~0.981	0.033
HMGB1	实测值	-0.354	0.154	5.279	0.702	0.519~0.949	0.022

表4 血清 IGF-1、HMGB1 对患者术后延迟愈合的预测价值

指标	AUC	灵敏度	特异度	截断值	约登指数	95% CI
IGF-1	0.803	0.629	0.831	353.32 ng/mL	0.460	0.741~0.856
HMGB1	0.787	0.657	0.819	3.04 ng/mL	0.477	0.724~0.842
联合	0.863	0.829	0.765		0.594	0.808~0.907

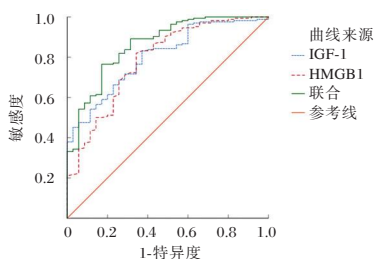


图1 ROC 曲线

3 讨论

股骨颈骨折是临床常见的下肢骨折,老年患者发病主要与跌倒、骨密度降低、活动量减少和长

期用药有关,中青年患者的伤害因素多为暴力伤害^[8]。目前,内固定手术是治疗股骨颈骨折的主要方法之一。但内固定手术也常易导致股骨头坏死、骨折不愈合、髓内翻和内固定失败等并发症,严重影响患者的功能独立和日常生活,甚至可危及生命^[8-9]。5%~10%的患者术后骨折愈合延迟或难以愈合^[10]。本研究发现,年龄大、骨密度低为骨折延迟愈合的危险因素。苏清君等^[10]研究也发现,年龄大、感染、营养缺乏、损伤加重等是骨折延迟愈合的危险因素。骨折延迟愈合对患者具有一定影响,寻找关注与患者骨折愈合的相关标志物

对后续患者观察治疗具有重大意义。

IGF-1 在发育和能量调控方面发挥着关键作用,IGF-1 缺乏会导致严重的发育异常,导致小鼠全身体积变小^[11]。IGF-1 通过与甲状腺激素等其他骨骼调节因子相互作用,对骨骼生长和新陈代谢产生影响^[12]。本研究结果显示,骨折延迟愈合患者的 IGF-1 水平降低,IGF-1 水平升高为影响患者术后延迟愈合的保护因素,与钱钧等^[13]研究具有相似性,表明 IGF-1 表达水平降低会影响患者骨折愈合的进度。血清 IGF-1 预测患者骨折延迟愈合的 AUC 为 0.803,IGF-1 与 BMD 呈正相关,表明 IGF-1 与骨密度降低及骨质流失有关,对患者骨折延迟愈合具有一定辅助预测价值。推测 IGF-1 水平降低可抑制成骨细胞分化,刺激骨骼调节因子,促进骨质流失,影响患者新陈代谢,导致骨折延迟愈合。

HMGB1 是一种高度保守的泛在核非组蛋白 DNA 结合蛋白,当免疫细胞对内毒素、白细胞介素和缺氧等内源性或外源性刺激产生反应时, HMGB1 可被主动释放,同时坏死或受损细胞可以被被动释放 HMGB1^[14]。细胞外 HMGB1 通过与细胞表面受体结合发挥作用,传播炎症和疼痛信号,细胞外 HMGB1 还可引导间充质干细胞迁移,并增强组织损伤后成骨和血管生成干细胞的分化, HMGB1 表达升高可以显著促进骨折愈合^[15]。本研究结果显示,骨折延迟愈合患者的 HMGB1 水平降低, HMGB1 水平升高为影响患者术后延迟愈合的保护因素。赵兴东等^[16]也发现,血清 HMGB1 水平降低与股骨骨折髓内钉固定术后延迟愈合密切相关,表明 HMGB1 水平降低可能与患者骨折愈合障碍有关。血清 HMGB1 预测患者骨折延迟愈合的 AUC 为 0.787, HMGB1 与 BMD 呈正相关,表明 HMGB1 与骨密度降低及骨质流失有关,对患者骨折延迟愈合具有一定辅助预测价值。推测:HMGB1 可能结合细胞表面受体,传播炎症信号,影响新陈代谢等机体正常生理活动,导致损伤部位延迟愈合。进一步研究显示, IGF-1、HMGB1 单独预测的 AUC 及灵敏度低于联合预测,表明两者联合预测效果更优,具有更高的辅助预测价值。

综上所述,在股骨颈骨折术后延迟愈合患者中, IGF-1、HMGB1 水平降低,两指标对患者术后延迟愈合具有一定辅助预测价值。

参考文献

- [1] Hu Y, Yang Q, Zhang J, et al. Methods to predict osteonecrosis of femoral head after femoral neck fracture: a systematic review of the literature[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1):377-391.
- [2] Cazzato G, Oliva MS, Masci G, et al. Femoral neck fracture: the reliability of radiologic classifications [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2022, 22(Suppl 2):1063-1068.
- [3] Zhang YB, Guo XQ, Wang GG, et al. MicroRNA 98-5p Overexpression Contributes to Delayed Fracture Healing via Targeting BMP-2[J]. Tohoku J Exp Med, 2024, 263(1):17-25.
- [4] Park J, Yan G, Kwon KC, et al. Oral delivery of novel human IGF-1 bioencapsulated in lettuce cells promotes musculoskeletal cell proliferation, differentiation and diabetic fracture healing[J]. Biomaterials, 2020, 233:119591.
- [5] Muire PJ, Avila JJ, Lofgren AL, et al. Neutralization of HMGB1 improves fracture healing and $\gamma\delta$ T lymphocyte counts at the fracture site in a polytrauma rat model[J]. J Exp Orthop, 2022, 9(1):21-32.
- [6] 中华医学会骨科学分会创伤骨科学组, 中国医师协会骨科医师分会创伤专家工作委员会. 成人股骨颈骨折诊治指南[J]. 中华创伤骨科杂志, 2018, 20(11):921-928.
- [7] 周岫, 裴方, 彭大霖, 等. 血清 miR-203a、miR-31-5p、miR-19b-1-5p 水平与股骨颈骨折患者骨折延迟愈合的关系及其预测价值分析[J]. 现代生物医学进展, 2024, 24(5):949-954.
- [8] Zhou Y, Li Z, Lao K, et al. Femoral neck system vs. cannulated screws on treating femoral neck fracture: a meta-analysis and system review [J]. Front Surg, 2023, 10(1):1224559-1224572.
- [9] Liu H, Gao E, Zhong Z, et al. Clinical application of modified hip joint lateral position in femoral neck fracture[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1):698-708.
- [10] 苏清君, 李鹏, 边朝辉, 等. 股骨颈骨折患者术后血清 miR-133a、BMP-2 水平与骨折延迟愈合的关系[J]. 山东医药, 2022, 62(2):4.
- [11] Rubio L, Vargas A, Rivera P, et al. Recombinant IGF-1 Induces Sex-Specific Changes in Bone Composition and Remodeling in Adult Mice with Pappa2 Deficiency[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8):4048-4065.
- [12] Dixit M, Poudel SB, Yakar S. Effects of GH/IGF axis on bone and cartilage [J]. Mol Cell Endocrinol, 2021, 519:111052.
- [13] 钱钧, 王浩宇, 方智敏. 微量元素、IGF-1 在骨折延迟愈合患者血清中的变化及意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(14):1735-1738+1745.
- [14] Mao D, Zheng Y, Xu F, et al. HMGB1 in nervous system diseases: A common biomarker and potential therapeutic target [J]. Front Neurol, 2022, 13:1029891.
- [15] Xue D, Zhang W, Chen E, et al. Local delivery of HMGB1 in gelatin sponge scaffolds combined with mesenchymal stem cell sheets to accelerate fracture healing[J]. Oncotarget, 2017, 8(26):42098-42115.
- [16] 赵兴东, 林牧, 张艳金, 等. 血清 HMGB1 Cav-1 水平与股骨骨折髓内钉固定术后延迟愈合的关系[J]. 河北医学, 2023, 29(6):1032-1037.

瑞马唑仑联合艾司氯胺酮对老年肺叶切除术 POD 及对 *NLRP3/caspase-1* 的影响

贾志杰^{1*} 段文姣² 张晓冉¹

[摘要] **目的** 探究瑞马唑仑联合低剂量艾司氯胺酮对老年胸腔镜肺叶切除术患者术后谵妄(POD)及对 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(*NLRP3*)/含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(*caspase*)-1 通路的影响。**方法** 选取 2022 年 8 月至 2024 年 3 月期间在新乡医学院第一附属医院行胸腔镜肺叶切除术的老年患者 428 例,随机分为低剂量艾司氯胺酮联合丙泊酚组(KP 组)和低剂量艾司氯胺酮联合瑞马唑仑组(KR 组),每组各 214 例。KP 组脱落 5 例,完成 209 例,KR 组脱落 7 例,完成 207 例。KP 组麻醉诱导给予艾司氯胺酮 0.5 mg/kg 和丙泊酚 2.0 mg/kg,KR 组给予艾司氯胺酮 0.5 mg/kg 和瑞马唑仑 0.1 mg/kg。比较两组术后 5 d 内 POD 的发生情况。比较两组术后 1 d 和 3 d 白细胞介素(IL)-18 和 IL-1 β 的表达水平以及 *NLRP3* 和 *caspase-1* 的基因相对表达量。**结果** 术后 5 d 内 KR 组 POD 发生率显著低于 KP 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。KR 组术后 1 d 和 3 d 的 IL-18 和 IL-1 β 表达水平均显著低于 KP 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组术后 1 d 及 3 d 的 *NLRP3* 和 *caspase-1* 的基因相对表达相比,KR 组的显著低于 KP 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 瑞马唑仑联合低剂量艾司氯胺酮能有效通过影响 *NLRP3/caspase-1* 通路减轻老年胸腔镜肺叶切除术患者术后的炎症反应,改善 POD 的发生情况。

[关键词] 瑞马唑仑;艾司氯胺酮;肺叶切除术;老年患者;术后谵妄

Effects of remimazolam combined with esketamine on POD and *NLRP3/caspase-1* in elderly patients undergoing lobectomy

JIA Zhijie^{1*}, DUAN Wenjiao², ZHANG Xiaoran¹

(1. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453000; 2. Department of Anesthesiology, Qi County People's Hospital, Hebi, Henan, China, 456750)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effects of remimazolam combined with low-dose esketamine on postoperative delirium (POD) and on the NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3(*NLRP3*)/cysteinyl aspartate specific proteinase (*caspase*)-1 pathway in elderly patients undergoing thoracoscopic lobectomy. **Methods** A total of 428 elderly patients who underwent thoracoscopic lobectomy at the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College between August 2022 and March 2024 were selected and randomly divided into the low-dose esketamine combined with propofol group (KP group) and the low-dose esketamine combined with remimazolam group (KR group), with 214 patients in each group. There were 5 dislodged cases and 209 completed cases in the KP group, while there were 7 dislodged cases and 207 completed cases in the KR group. For anesthesia induction in the KP group, esketamine was administered at 0.5 mg/kg and propofol at 2.0 mg/kg, and esketamine 0.5 mg/kg and remimazolam 0.1 mg/kg were given in the KR group. The occurrence of POD within 5 days after surgery was compared between the two groups. Additionally, the expression levels of interleukin (IL)-18 and IL-1 β , as well as the relative gene expressions of *NLRP3* and *caspase-1*, were compared between the two groups at 1 and 3 days postoperatively. **Results** The incidence of POD in the KR group was significantly lower than that in the KP group within 5 days postoperatively, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of IL-18 and IL-1 β in

基金项目:河南医学科技攻关计划项目(LHGJ20220594)

作者单位:1. 新乡医学院第一附属医院麻醉科,河南,新乡 453000

2. 淇县人民医院麻醉科,河南,鹤壁 456750

*通信作者:贾志杰, E-mail:15836125813@163.com

the KR group were significantly lower than those in the KP group at 1 day and 3 days postoperatively, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). When comparing the relative gene expression of *NLRP3* and *caspase-1* at 1 day and 3 days postoperatively in the two groups, those in the KR group were significantly lower than those in the KP group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Remimazolam, when combined with a low-dose of esketamine, proved to be effective in reducing the postoperative inflammatory response and decreasing the occurrence of POD in elderly thoracoscopic lobectomy. This was achieved by influencing the *NLRP3/caspase-1* pathway.

[KEY WORDS] Remimazolam; Esketamine; Lobectomy; Elderly patients; Postoperative delirium

术后谵妄(Postoperative delirium, POD)是老年人手术后最常见的严重并发症之一,表现为意识模糊、焦虑、语无伦次、幻觉和对环境认识降低等精神功能障碍,会导致住院时间延长、增加入住ICU几率以及提高死亡率^[1]。神经炎症是POD的重要致病机制,手术引起的无菌性炎症、麻醉药物的作用、血脑屏障的破坏以及表观遗传学均可能导致神经炎症的发生^[2]。艾司氯胺酮是一种N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)拮抗剂,研究表明艾司氯胺酮能抑制周围和中枢神经系统的应激反应,减少炎症因子的分泌,达到镇痛的目的^[3]。瑞马唑仑是一种新型的超短效苯二氮卓类药物, Tang等发现其能有效减少接受胸腔镜心脏手术的患者的全身炎症和氧化应激反应^[4]。NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3, *NLRP3*)/含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(CysteinyI aspartate specific proteinase-1, *caspase-1*)通路是调控炎症反应的重要通路,激活后能释放白细胞介素(Interleukin, IL)-18和IL-1 β 等炎症因子^[5]。本研究旨在研究瑞马唑仑联合低剂量艾司氯胺酮对老年胸腔镜肺叶切除术患者术后谵妄及对*NLRP3/caspase-1*通路的影响,为临床研究和应用提供一定的参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年8月至2024年3月期间在新乡医学院第一附属医院行胸腔镜肺叶切除术的428例老年患者,并随机分为低剂量艾司氯胺酮组(KP组)和低剂量艾司氯胺酮联合瑞马唑仑组(KR组),各214例。至研究结束时, KP组脱落5例,完成209例:男113例,女96例;平均年龄(72.66 ± 4.13)岁;体质指数(Body mass index, BMI)平均BMI(21.28 ± 1.52) kg/m²。KR组脱落7例,完成207例:108例,女99例;平均年龄(73.19 ± 3.95)岁;

平均BMI(21.41 ± 1.28) kg/m²。两组的一般资料对比,差异无统计学意义($P>0.05$)。

纳入标准:①年龄 ≥ 60 岁;②既往无精神病史;③已签署知情同意书。④通过3 min意识模糊评估量表(3-minute diagnostic interview for confusion assessment method defined delirium, 3D-CAM)^[6]诊断术前存在谵妄;⑤美国麻醉医师协会(American society of anesthesiologists, ASA)分级^[7] $\geq$ IV级;排除标准:①对艾司氯胺酮和瑞马唑仑过敏。脱落标准:①研究期间出现严重不良事件;②自愿退出本研究。本研究已获得新乡医学院第一附属医院伦理委员会的审批同意。

1.2 方法

患者入室后常规监测心电图、脑电双频指数、血氧饱和度和桡动脉有创动脉压等。麻醉诱导:KR组静脉注射艾司氯胺酮(江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字H20193336,规格2 mL:50 mg)0.5 mg/kg和瑞马唑仑(宜昌人福药业有限责任公司,国药准字H20200006,规格25 mg)0.1 mg/kg; KP组静脉注射艾司氯胺酮0.5 mg/kg和丙泊酚(江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字H20213605,规格50 mL:0.5 g)2.0 mg/kg。随后两组均依次静注舒芬太尼(宜昌人福药业有限责任公司,国药准字H20205068,规格2 mL:10 μ g)0.3 μ g/kg和顺式阿曲库铵(江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字H20183042,规格5 mL:10 mg)0.15 mg/kg。诱导后插管,采用麻醉机机械通气。呼吸参数:呼吸频率10~12次/min,潮气量6~10 mL/kg,纯氧流量2 L/min。麻醉维持:两组均静脉注射丙泊酚4~6 mg/(kg·h)和阿芬太尼(宜昌人福药业有限责任公司,国药准字H20203054,规格2 mL:1 mg)0.5~2 μ g/(kg·min),期间根据手术需要间断注射顺式阿曲库铵0.05 mg/kg,保持脑电双频指数在40~60之间。术中HR低于45次/min时,静脉注射阿托品(宜昌人福药业有限责任公司,国药准字H42021993,

规格 1 mL:0.5 mg)0.5 mg;HR 大于 100 次/min 时,静脉注射艾司洛尔(海南灵康制药有限公司,国药准字 H20055298,规格 2 mL:0.2 g)0.5 mg/kg;收缩压低于基础值的 80% 时,静脉注射去氧肾上腺素(深圳沃兰德药业有限公司,国药准字 H20033866)40 μ g;收缩压高于基础值的 120% 时,静脉注射乌拉地尔(河北一品制药股份有限公司,国药准字 H20123418,规格 10 mL:50 mg)20 mg。手术结束前 5 min 停止麻醉给药。术后均采用静脉镇痛泵方案:舒芬太尼 100 μ g、托烷司琼(瑞阳制药股份有限公司,国药准字 H20060460,规格 5 mg)15 mg 以及曲马多(瑞阳制药股份有限公司,国药准字 H20051997,规格 0.1 g)200 mg,用 0.9% 生理盐水稀释到 100 mL,持续输注 2 mL/h,每间隔 15 min 追加剂量 2 mL。

1.3 观察指标

1.3.1 谵妄诊断^[8]

由同一位麻醉科医师在不清楚患者分组的情况下采用 3D-CAM 评估患者术后 5 d 内每天的 POD 发生情况,评估内容包含患者的警觉性、注意力、定向力以及精神状态的急性改变。

1.3.2 炎症因子

于麻醉诱导前和术后 1 d、3 d 抽取患者空腹状态下外周静脉血 3 mL,采用酶联免疫吸附测定法按试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)的说明书检测 IL-18 和 IL-1 β 含量。

1.3.3 *NLRP3* 和 *caspase-1* 基因表达水平

抽取患者空腹状态下外周静脉血 5 mL,检测麻醉诱导前和术后 1 d、3 d 的 *NLRP3* 和 *caspase-1* 基因表达水平。采用 TRIzol 试剂盒(赛默飞世尔科技公司)从采集的静脉血中提取总 RNA,通过 All-in-One cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(上海近岸科技有限公司)将总 RNA 反转录为 cDNA,随后应用 2 $\times$ SYBR Green qPCR 预混液(北京百奥莱博科技有限公司)和搭载 StepOnePlus™ 实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)系统的 qPCR 仪(赛默

飞世尔科技公司)完成定量检测,反应条件:94℃ 下 120 s,94℃ 下 15 s,退火 30 s 后 72℃ 下 20 s,共进行循环 40 次。应用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算。引物序列见表 1。其中 *GAPDH* 为内参。

表 1 目标 RNA 引物序列

目标 RNA	引物类别	序列
<i>NLRP3</i>	Forward	5'-CACCTGTTGTGCAATCTGAAG-3'
	Reverse	5'-GCAAGATCCTGACAACATGC-3'
<i>caspase-1</i>	Forward	5'-GCAGATGCCCACCACTGAAAGAG-3'
	Reverse	5'-TCCCACACTCCCACCATAACAC-3'
<i>GAPDH</i>	Forward	5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'
	Reverse	5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'

1.4 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,组间比较行 *t* 检验;计数资料以 *n*(%)描述,组间比较行 χ^2 检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 POD 发生情况对比

KR 组术后 5 d 内 POD 发生率为 9.18%,显著低于 KP 组的 16.27%,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 两组术后 5 d 内 POD 发生情况比较 [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	出现 POD	无出现 POD
KR 组	207	19(9.18)	188(90.82)
KP 组	209	34(16.27)	175(83.73)
χ^2 值		4.701	
<i>P</i> 值		0.030	

2.2 两组炎症因子对比

两组术后 1 d 和 3 d 的 IL-18 和 IL-1 β 均高于术前,且 KP 组的两项炎症因子指标均显著高于 KR 组,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

2.3 两组 *NLRP3* 和 *caspase-1* 基因表达水平对比

两组术后 1 d 和 3 d 的均显著上升,且 KP 组的 *NLRP3* 和 *caspase-1* 基因表达水平均显著高于 KR 组,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

表 3 两组血清 IL-18 和 IL-1 β 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-18(ng/L)			IL-1 β (μ g/L)		
		术前	术后 1 d	术后 3 d	术前	术后 1 d	术后 3 d
KR 组	207	67.34 $\pm$ 6.91	85.15 $\pm$ 7.61 ^a	78.25 $\pm$ 7.48 ^{ab}	15.63 $\pm$ 2.39	23.58 $\pm$ 2.38 ^a	18.92 $\pm$ 2.41 ^{ab}
KP 组	209	67.55 $\pm$ 6.57	88.58 $\pm$ 7.52 ^a	83.94 $\pm$ 7.60 ^{ab}	15.52 $\pm$ 2.42	25.72 $\pm$ 2.45 ^a	21.82 $\pm$ 2.56 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.318	4.624	7.695	0.466	9.035	11.894
<i>P</i> 值		0.751	<0.001	<0.001	0.641	<0.001	<0.001

注:与同组术前相比,^a*P*<0.05;与同组术后 1 d 相比,^b*P*<0.05。

表4 两组 *NLRP3* 和 *caspase-1* 基因相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	<i>NLRP3</i>			<i>caspase-1</i>		
		术前	术后 1 d	术后 3 d	术前	术后 1 d	术后 3 d
KR 组	207	1.14±0.18	1.68±0.22 ^a	1.49±0.19 ^{ab}	0.98±0.15	1.57±0.23 ^a	1.27±0.19 ^{ab}
KP 组	209	1.15±0.18	2.10±0.37 ^a	1.77±0.25 ^{ab}	0.99±0.14	1.79±0.25 ^a	1.46±0.20 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.567	14.055	12.852	0.703	9.338	9.932
<i>P</i> 值		0.571	<0.001	<0.001	0.482	<0.001	<0.001

注:与同组术前相比,^a*P*<0.05;与同组术后 1 d 相比,^b*P*<0.05。

3 讨论

老年患者是发生 POD 的高危人群,发病率为 5.7% 至 71% 之间,研究发现接受大手术且麻醉持续时间长老年患者高发 POD 的关键因素^[9]。麻醉药物的长时间应用会抑制患者中枢神经系统,手术结束后患者的生理反射仍受麻醉药物影响尚不能完全恢复,神经功能容易出现异常变化^[2]。因此,寻找合适的麻醉药物以降低老年患者 POD 的发生率具有重要意义。

与无 POD 的患者相比,POD 患者的炎症生物标志物(如 IL-6、C 反应蛋白等)和神经元损伤生物标志物(如 S100 钙结合蛋白 B、神经纤维丝轻链蛋白等)均显著升高^[8]。炎症反应增强和血脑屏障通透性下降是 POD 发生和发展的重要机制。胸腔镜肺叶切除等的外科手术在切除病灶的同时亦不可避免地老年患者造成一定的创伤,刺激机体内组织巨噬细胞和血液单核细胞分泌各种炎症因子^[10]。与此同时,老年患者对麻醉药物的低耐受会进一步强化炎症因子的表达,炎症因子穿透血脑屏障后激活中枢神经系统的小胶质细胞,从而诱发神经炎症反应,损害患者的认知能力,极大提高 POD 的发生可能^[11]。艾司氯胺酮适用于诱导麻醉和全身麻醉,或作为局部麻醉的补充。有研究指出^[12],艾司氯胺酮能抑制氧自由基刺激的炎症细胞释放,减少白细胞分泌 IL、肿瘤坏死因子等细胞因子,缓解手术应激和炎症反应,促进老年手术患者术后恢复。瑞马唑仑作用于中枢 γ -氨基丁酸 A 型受体,能够增加氯离子的流入使神经膜超极化并抑制神经元活动,其能有效改善脑缺血大鼠的神经功能障碍^[4]。本研究结果提示,艾司氯胺酮和瑞马唑仑可能是通过抑制老年患者的神经炎症反应而降低 POD 的发生。炎症小体是调控炎症反应的重要分子,NLRP3 寡聚体被激活后会与凋亡相关斑点样蛋白(Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)相结合,然后募

集 *caspase-1* 形成 *NLRP3* 炎症小体,该过程伴随 *caspase-1* 的裂解和激活,活化的 *caspase-1* 能促进 IL-1 β 以及 IL-18 等炎症因子的成熟和分泌,进而介导炎症反应的级联放大效应^[13]。IL-1 β 以及 IL-18 均能发挥炎症活性促进作用,在手术切口处募集炎症细胞,放大炎症反应^[14]。此外,IL 还参与中枢神经系统对全身炎症反应的协调过程,既往研究发现老年 POD 患者脑脊液中的 IL-1 β 是导致大脑海马区神经元细胞凋亡以及神经功能障碍的关键因子^[15]。本研究结果表明,瑞马唑仑联合低剂量艾司氯胺酮进行麻醉诱导,老年胸腔镜肺叶切除术患者术后 3 d 内的 IL-1 β 和 IL-18 水平显著下降,同时,*NLRP3* 以及 *caspase-1* 的 mRNA 相对表达量亦显著减少,说明艾司氯胺酮和瑞马唑仑均通过调控 *NLRP3/caspase-1* 通路,抑制 IL-1 β 和 IL-18 的分泌,减轻炎症因子对中枢神经系统的损伤,从而降低 POD 发生的可能性。

综上所述,瑞马唑仑联合低剂量艾司氯胺酮降低老年胸腔镜肺叶切除术患者 POD 发生率的临床效果良好,并能下调 *NLRP3/caspase-1* 通路相关的基因和炎症蛋白水平,减轻患者的炎症反应。

参考文献

- [1] Sumner M, Deng C, Evered L, et al. Processed electroencephalography-guided general anaesthesia to reduce postoperative delirium: a systematic review and meta-analysis[J]. Br J Anaesth, 2023, 130(2):e243-e253.
- [2] 王玉珍,张月英,李丽,等.徐州地区全身麻醉患者术后苏醒期躁动发生情况及影响因素分析[J].华南预防医学, 2023, 49(10):1290-1293.
- [3] Dai J, Li S, Zheng R, et al. Effect of esketamine on inflammatory factors in opioid-free anesthesia based on quadratus lumborum block: A randomized trial[J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102(37):e34975.
- [4] Tang F, Yi JM, Gong HY, et al. Remimazolam benzenesulfonate anesthesia effectiveness in cardiac surgery patients under general anesthesia[J]. World J Clin Cases, 2021, 9(34): 10595-10603.

(下转第 482 页)

全身炎症反应指数与晚期胃癌患者病理特征、一线化疗预后的关系

吴菁宙¹ 胡星¹ 茅伟达¹ 蒋立新¹ 朱琳娜^{2*}

【摘要】目的 探讨全身炎症反应指数(SIRI)与晚期胃癌患者病理特征、一线化疗预后的关系。**方法** 选取2020年1月至2022年10月于江阴市中医院确诊的102例晚期胃癌患者的临床资料,设为晚期胃癌组。另选取100名同期到院体检的健康人群作为健康对照组。比较两组中性粒细胞(N)、单核细胞(M)、淋巴细胞(L)及SIRI水平。采用受试者工作特征曲线评价SIRI对晚期胃癌的诊断价值,并确定SIRI的最佳截断值,将102例患者分别分入高SIRI组与低SIRI组。分析SIRI与晚期胃癌患者病理特征、一线化疗预后的关系。**结果** 晚期胃癌组患者的N、M及SIRI水平明显高于健康对照组,L低于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。N、M、L及SIRI诊断晚期胃癌患者的AUC(95%CI)分别为0.711(0.661~0.756)、0.803(0.753~0.848)、0.829(0.784~0.879)、0.901(0.851~0.946)。根据SIRI最佳截点值将102例晚期胃癌患者分入高SIRI组($SIRI>2.08$, $n=78$),低SIRI组($SIRI\leq 2.08$, $n=24$)。高SIRI组与低SIRI组肿瘤部位、临床分期、肿瘤最大径、远处转移灶数目比较差异有统计学意义($P<0.05$)。低SIRI组晚期胃癌患者DCR高于高SIRI组(79.17% vs 52.56%),差异有统计学意义($P<0.05$)。晚期胃癌患者总生存期1~48个月,中位生存时间16个月。低SIRI组晚期胃癌患者OS高于高SIRI组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素Cox回归分析显示,远处转移灶数目 ≥ 2 ($HR=2.875$, 95%CI: 1.471~5.620), $SIRI>2.08$ ($HR=3.983$, 95%CI: 1.815~8.740)是晚期胃癌患者一线化疗预后的影响因素($P<0.05$)。**结论** 一线化疗前SIRI与晚期胃癌患者的预后密切相关,高SIRI是晚期胃癌患者化疗预后的危险因素,SIRI可作为患者预后的评估指标。

【关键词】 胃肿瘤; 全身炎症反应指数; 病理特征; 化疗; 预后

Relationship between systemic inflammatory response index and pathological characteristics and prognosis of first-line chemotherapy in patients with advanced gastric cancer

WU Jingzhou¹, HU Xing¹, MAO Weida¹, JIANG Lixin¹, ZHU Linna^{2*}

(1. Department of General Surgery, 2. Endoscopy Center, Jiangyin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangyin, Jiangsu, China, 214499)

【ABSTRACT】Objective To investigate the correlation between systemic inflammatory response index (SIRI) and pathological features and prognosis of first-line chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. **Methods** The clinical data from 102 patients diagnosed with advanced gastric cancer at our hospital from January 2020 to October 2022 were retrospectively selected (advanced gastric cancer group). Another 100 healthy individuals who underwent physical examinations were chosen as the healthy control group. The levels of N, M, L, and SIRI were measured and compared between the advanced gastric cancer group and the healthy control group. The diagnostic value of SIRI for advanced gastric cancer was assessed using ROC analysis, and the optimal cutoff value of SIRI was determined. The 102 patients were divided into a high SIRI group and a low SIRI group. The correlation between SIRI and pathological features, and prognosis of advanced gastric cancer patients undergoing first-line chemotherapy was analyzed. **Results** The levels of N, M, and SIRI

基金项目:江苏省卫生健康委员会科研项目(Z2022004)

作者单位:1. 江阴市中医院普通外科,江苏,江阴 214499

2. 江阴市中医院内镜中心,江苏,江阴 214499

*通信作者:朱琳娜, E-mail: zhulinna9229@163.com

in patients with advanced gastric cancer were significantly higher than those in the healthy control group, while L was lower than in the healthy control group ($P<0.05$). The AUC (95% CI) for diagnosing advanced gastric cancer patients using N, M, L, and SIRI were 0.711 (0.661~0.756), 0.803 (0.753~0.848), 0.829 (0.784~0.879), and 0.901 (0.851~0.946). 102 patients with advanced gastric cancer were divided into a high SIRI group (SIRI >2.08 , $n=78$) and a low SIRI group (SIRI ≤ 2.08 , $n=24$) based on the optimal cut-off value of SIRI. Significant differences were observed in tumor site, clinical stage, maximum tumor diameter, and number of distant metastases between the high SIRI group and low SIRI group ($P<0.05$). The DCR in the low SIRI group was higher than that in the high SIRI group (79.17% vs 52.56%) ($P<0.05$). The overall survival (OS) of patients with advanced gastric cancer ranged from 1 to 48 months, and the median survival time was 16 months. The OS of advanced gastric cancer patients in the low SIRI group was higher than that in the high SIRI group ($P<0.05$). The number of distant metastases ≥ 2 ($HR=2.875$, 95%CI: 1.471~5.620) and SIRI >2.08 ($HR=3.983$, 95%CI: 1.815~8.740) were prognostic factors for first-line chemotherapy in advanced gastric cancer patients ($P<0.05$). **Conclusion** SIRI is closely related to the prognosis of advanced gastric cancer patients before first-line chemotherapy. A high SIRI is an independent risk factor for the prognosis of advanced gastric cancer cases after chemotherapy and can be used as a prognostic indicator.

[KEY WORDS] Gastric tumor; Systemic inflammatory response index; Pathological features; Chemotherapy; Prognosis

晚期胃癌是指肿瘤已侵及浆膜层或邻近器官,或已发生远处转移的胃癌,其病理机制涉及多基因突变、表观遗传改变和微环境异常等复杂因素^[1]。以铂类和氟尿嘧啶为基础的联合化疗是晚期胃癌一线治疗的标准方案^[2]。然而,患者对化疗的反应和预后存在显著个体差异,因此寻找能够预测治疗效果和预后的生物标志物具有重要的临床意义。全身炎症反应指数(systemic inflammatory response syndrome, SIRI)是一种新型的炎症标志物,基于外周血中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞计数计算得出,能够综合反映机体的炎症状态和免疫功能,已在多种恶性肿瘤中显示出良好的预后预测价值^[3]。研究显示^[4], SIRI能够独立预测非小细胞肺癌患者的总生存期和无进展生存期。SIRI与结直肠癌患者的肿瘤分期和淋巴结转移有明显相关性,可用作预后预测指标^[5]。本研究主要探讨 SIRI 与晚期胃癌患者病理特征及一线化疗预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2022年10月于江阴市中医院确诊的102例晚期胃癌患者作为研究对象。男性59例、女性43例,年龄35~75岁,平均年龄(54.29 $\pm$ 12.58)岁。晚期胃癌患者纳入标准:①病理学确诊为胃腺癌,且临床分期为Ⅲ期(不可手术切除)或Ⅳ期^[6];②东部肿瘤协作组体能状态评分(eastern cooperative oncology group, ECOG) ≤ 2 分^[7];

③在本院初诊;④均在本院接受一线化疗。排除标准:①临床资料不全者;②有胃手术史;③合并自身免疫性疾病;④合并其他肿瘤。另选取100名同期到院体检的健康人群作为健康对照组,男性53名、女性47名,年龄37~74岁,平均年龄(53.86 $\pm$ 12.36)岁。本研究获院医学伦理委员会批准通过,患者及家属已自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集胃癌患者性别、年龄、体质指数(body mass index, BMI)、ECOG评分、肿瘤部位、临床分期、肿瘤最大径、肿瘤分化程度、远处转移灶数目情况等临床资料。

1.2.2 血清指标检测

所有患者在开始一线化疗前1周内采集清晨空腹静脉血样本2 mL,健康体检者于体检当日清晨抽取空腹静脉血2 mL。使用自动血细胞分析仪(Sysmex XN-9000,日本)进行血常规检测,获取中性粒细胞计数(neutrophil count, N)、单核细胞计数(monocyte, M)和淋巴细胞计数(lymphocyte, L)。SIRI计算公式为:SIRI = $N \times M / L$,其中N、M和L分别代表中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的绝对计数($\times 10^9/L$)。

1.2.3 化疗疗效评估

化疗疗效评估严格遵循实体瘤疗效评价标准^[8]。患者在开始化疗前和每2~3个周期化疗后进行影像学检查,包括增强计算机断层扫描或磁

共振成像。根据靶病灶和非靶病灶的变化,将患者的治疗反应分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD)四种情况。疾病控制率(disease control rate, DCR)=(CR+PR+SD)/总评估患者数×100%。

1.2.4 随访及预后

随访由专门的随访小组通过门诊复查、电话访问或查阅病历等方式进行,随访内容主要包括患者生存状态、生活质量等,随访每3个月1次,截止2023年12月30日。研究终点为总生存期(OS),OS定义为患者从确诊到因任何原因导致的死亡,或最后一次随访时间。基于受试者工作特征曲线分析确定SIRI值的临界点,根据SIRI最佳截点值(SIRI>2.08)将患者分为高SIRI组($n=78$)和低SIRI组($n=24$)。

1.3 统计学分析

以SPSS 25.0统计学软件分析数据。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验。采用受试者工作特征曲线分析SIRI对晚期胃癌的诊断价值。采用KaplanMeier法和Log-Rank检验分析不同SIRI值患者生存结局。采用多因素Cox回归分析探讨患者预后影响因素。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组N、M、L及SIRI水平比较

晚期胃癌组患者的N、M及SIRI水平明显高于健康对照组,L低于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组N、M、L及SIRI水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	N($\times 10^9/L$)	M($\times 10^9/L$)	L($\times 10^9/L$)	SIRI
健康对照组	100	3.68±0.56	0.43±0.06	2.60±0.23	0.68±0.12
晚期胃癌组	102	7.29±1.31	0.78±0.14	1.35±0.20	4.19±0.84
t 值		25.377	23.013	41.242	41.372
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 N、M、L及SIRI水平对晚期胃癌的诊断价值

N、M、L及SIRI诊断晚期胃癌患者的AUC(95% CI)分别为0.711(0.661~0.756)、0.803(0.753~0.848)、0.829(0.784~0.879)、0.901(0.851~0.946)。见表2、图1。根据SIRI最佳截点值将102例晚期胃癌患者分入高SIRI组(SIRI>2.08, $n=78$),低SIRI组(SIRI≤2.08, $n=24$)。

表2 N、M、L及SIRI水平对晚期胃癌的诊断价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	特异度	灵敏度
N	0.711	0.661~0.756	5.11	0.560	0.925
M	0.803	0.753~0.848	0.57	0.660	0.925
L	0.829	0.784~0.879	1.96	0.680	0.902
SIRI	0.901	0.851~0.946	2.08	0.880	0.828

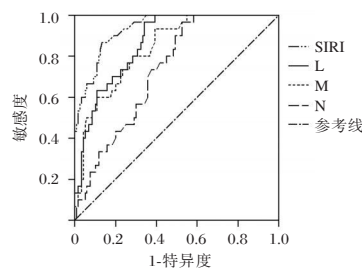


图1 N、M、L及SIRI诊断晚期胃癌的ROC曲线

2.3 高SIRI组、低SIRI组与临床病理特征的关系

高SIRI组与低SIRI组性别、年龄、BMI、ECOG评分、肿瘤分化程度比较差异无统计学意义($P>0.05$);而两组肿瘤部位、临床分期、肿瘤最大径、远处转移灶数目比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 高SIRI组、低SIRI组与临床病理特征的关系

[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]					
项目	例数 ($n=102$)	高SIRI组 ($n=78$)	低SIRI组 ($n=24$)	t/χ^2 值	P 值
性别					
男	59(57.84)	45(57.69)	14(58.33)	0.003	0.956
女	43(42.16)	33(42.31)	10(41.67)		
年龄(岁)		55.03±11.98	54.76±12.10	0.096	0.923
BMI(kg/m ²)					
>18.5	99(97.06)	75(96.15)	24(100.00)	0.951	0.329
≤18.5	3(2.94)	3(3.85)	0(0.00)		
ECOG评分					
>1分	11(10.78)	9(11.54)	2(8.33)	0.196	0.658
≤1分	91(89.22)	69(88.46)	22(91.67)		
肿瘤部位					
胃体	49(48.04)	33(42.31)	16(66.67)	18.713	<0.001
胃窦	30(29.41)	27(34.62)	3(12.50)		
贲门	23(22.55)	18(78.26)	5(20.83)		
临床分期					
Ⅲ期	34(33.33)	13(6.67)	21(87.50)	41.483	<0.001
Ⅳ期	68(66.67)	65(83.33)	3(12.50)		
分化程度					
中高分化	59(57.84)	43(55.13)	16(66.67)	1.002	0.317
低分化	43(42.16)	35(44.87)	8(33.33)		
肿瘤最大径					
>4 cm	57(55.88)	50(64.10)	7(29.17)	9.086	0.003
≤4 cm	45(44.12)	28(35.90)	17(70.83)		
远处转移灶数目					
≥2	44(43.14)	39(50.00)	5(20.83)	6.365	0.012
<2	58(56.86)	39(50.00)	19(79.17)		

2.4 高 SIRI 组、低 SIRI 组一线化疗疗效比较

低 SIRI 组晚期胃癌患者 DCR 高于高 SIRI 组 (79.17% vs 52.56%), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 4。

表 4 高 SIRI 组、低 SIRI 组一线化疗疗效比较 [n(%)]						
组别	n	CR	PR	SD	PD	DCR
高 SIRI 组	78	0	4	37	37	41 (52.56)
低 SIRI 组	24	0	5	14	5	19 (79.17)
χ^2 值						5.362
P 值						0.021

2.5 SIRI 与晚期胃癌患者生存结局相关性

生存分析表明, 晚期胃癌患者总生存期 1~48 个月, 中位生存时间 16 个月。低 SIRI 组晚期胃癌患者 OS 高于高 SIRI 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 2。

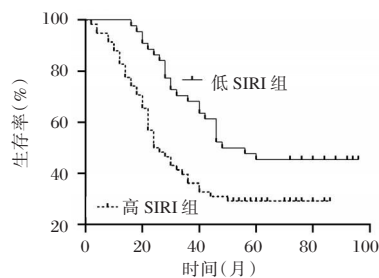


图 2 不同 SIRI 组晚期胃癌患者生存曲线比较

2.6 晚期胃癌患者一线化疗预后的单因素分析

单因素分析显示, 临床分期、分化程度、远处转移灶数目、SIRI 与晚期胃癌患者一线化疗的预后有关 ($P<0.05$)。见表 5。

表 5 晚期胃癌患者一线化疗预后的单因素分析					
自变量	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	HR(95% CI) 值	P 值
年龄	0.145	0.120	1.460	1.156(0.914~1.463)	0.227
性别	0.397	0.226	3.086	1.487(0.955~2.316)	0.079
BMI	0.762	0.737	1.069	2.143(0.505~9.084)	0.301
ECOG 评分	0.432	0.304	2.019	1.540(0.849~2.795)	0.155
临床分期	1.025	0.376	7.431	2.787(1.334~5.824)	0.006
肿瘤最大径	0.928	0.481	3.722	2.529(0.985~6.493)	0.054
分化程度	1.204	0.400	9.060	3.333(1.522~7.301)	0.003
远处转移灶数目	1.126	0.502	5.031	3.083(1.153~8.248)	0.025
SIRI	1.453	0.370	15.422	4.276(2.071~8.830)	<0.001

2.7 晚期胃癌患者一线化疗预后的多因素分析

将单因素分析 $P<0.05$ 的指标以及 SIRI 作为自变量纳入多变量 Cox 风险回归分析, 结果显示, 远处转移灶数目 ≥ 2 ($HR=2.875$, 95%CI: 1.471~5.620), $SIRI>2.08$ ($HR=3.983$, 95%CI: 1.815~8.740) 是晚期胃癌患者一线化疗预后的影响因素 ($P<0.05$)。见表 6。

3 讨论

近年来, 晚期胃癌的化疗方法不断创新, 但化疗的毒性反应和耐药性问题仍然是影响治疗效果的主要因素^[9]。目前, 炎症在肿瘤进展和化疗反应中的作用日益受到关注。

SIRI 可综合反映机体的整体炎症状态和免疫功能。中性粒细胞可促进肿瘤生长, 单核细胞可分化为肿瘤相关巨噬细胞, 而低淋巴细胞计数通常与免疫功能抑制及较差的预后相关^[10]。严征远等^[11]的研究指出, 术前 FAR 联合 SIRI 对评估切除胃癌患者预后有重要的临床价值, 高 FAR-SIRI 提示患者预后不佳。Cui 等^[12]研究也表明, 术前 SIRI 较高的肝癌患者预后较差, 是预测肝移植后肝癌患者预后的标志物。

本研究结果显示, 晚期胃癌组患者的 SIRI 水平高于对照组, SIRI 诊断晚期胃癌患者的 AUC 为 0.901, 最佳截断值为 2.08; 化疗前高 SIRI 是影响晚期胃癌患者一线化疗预后的危险因素; 进一步分析 SIRI 与晚期胃癌的临床病理特征的关系发现, 高 SIRI 组与低 SIRI 组肿瘤部位、临床分期、肿瘤最大径、远处转移灶数目有统计学差异。分析其原因, 随着晚期胃癌患者的进展, 肿瘤细胞持续释放炎症因子和生长因子, 激活全身炎症反应, 导致骨髓中性粒细胞产生增加^[13]。同时, 肿瘤微环境中的趋化因子会吸引单核细胞浸润, 促使外周血单核细胞数量增加。另一方面, 晚期胃癌患者常伴有营养不良和免疫抑制, 会造成淋巴细胞数量减少^[14]。高 SIRI 反映的这种免疫失衡状态不利于机体对肿瘤的控制, 持续的炎症反应会促进肿瘤血管生成和转移, 增加化疗耐药性。中性粒细胞和肿瘤相关巨噬细胞

表 6 晚期胃癌患者一线化疗预后的多因素分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	HR(95% CI) 值	P 值
远处转移灶数目	<2=0; $\geq 2=1$	1.056	0.342	9.534	2.875(1.471~5.620)	0.002
分化程度	Ⅲ期=0; Ⅳ期=1	0.873	0.547	2.547	2.394(0.819~6.994)	0.110
临床分期	中高分化=0; 低分化=1	1.029	0.538	3.658	2.798(0.975~8.032)	0.056
SIRI	$\leq 2.08=0$; $>2.08=1$	1.382	0.401	11.878	3.983(1.815~8.740)	0.001

胞还可能通过分泌基质金属蛋白酶促进肿瘤侵袭和转移^[15]。本研究结果还显示,低SIRI组晚期胃癌患者DCR高于高SIRI组。说明高SIRI不仅可反映晚期胃癌患者系统性炎症和免疫功能紊乱,也反映了潜在的更具侵袭性的肿瘤生物学行为,与较差的一线化疗预后相关。进一步多因素回归分析显示,远处转移灶数目 ≥ 2 是晚期胃癌患者一线化疗预后的影响因素,临床需对此类患者加强警惕。

综上所述,一线化疗前SIRI与晚期胃癌患者的预后密切相关,高SIRI是晚期胃癌患者化疗预后的危险因素,SIRI可作为患者预后的评估指标。

参考文献

- [1] 王永琦,李强,何冬雷,等.上调Numb通过调控铁死亡途径增加胃癌细胞化疗敏感性的机制研究[J].医学分子生物学杂志,2024,21(6):544-550
- [2] Kim R, An M, Lee H, et al. Early Tumor-Immune Microenvironmental Remodeling and Response to First-Line Fluoropyrimidine and Platinum Chemotherapy in Advanced Gastric Cancer[J]. Cancer Discov, 2022, 12(4):984-1001.
- [3] 施晓晓,缪愿成,张燕,等.全身炎症反应指数与初诊IV期肺癌患者营养不良风险的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(11):2152-2155+2160.
- [4] 刘祺,周政涛,冯正富,等.适形调强放射治疗同步TP化疗对局部晚期非小细胞肺癌患者免疫功能、全身炎症反应指标和血清肿瘤标志物的影响[J].现代生物医学进展,2021,21(17):3350-3354.
- [5] Cai H, Li J, Chen Y, et al. Preoperative inflammation and nutrition-based comprehensive biomarker for predicting prognosis in resectable colorectal cancer[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1279487.
- [6] Ajani JA, D'Amico TA, Bentrem DJ, et al. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20(2):167-192.
- [7] Demirelli B, Babacan NA, Ercelep Ö, et al. Modified Glasgow Prognostic Score, Prognostic Nutritional Index and ECOG Performance Score Predicts Survival Better than Sarcopenia, Cachexia and Some Inflammatory Indices in Metastatic Gastric Cancer[J]. Nutr Cancer, 2021, 73(2): 230-238.
- [8] Litière S, Bogaerts J. Imaging endpoints for clinical trial use: a RECIST perspective [J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(11):e005092.
- [9] 关旭,刘骞,王锡山.人工智能在肿瘤外科医学专科教育中的现状与应用研究[J].中华医学教育探索杂志,2024,23(10):1337-1342.
- [10] 王培培,吴亮亮,蔡磊,等.酸性核磷蛋白32A作为癌症中潜在的预后和免疫治疗生物标志物的泛癌分析研究[J].感染、炎症、修复,2024,25(3):177-191.
- [11] 严征远,张恒,尹光平.术前纤维蛋白原与白蛋白比值联合全身炎症反应指数对可切除胃癌患者预后的评估价值[J].中华普通外科学文献(电子版),2020,14(4):266-270.
- [12] Cui S, Cao S, Chen Q, et al. Preoperative systemic inflammatory response index predicts the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after liver transplantation[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1118053.
- [13] 李佩洁,李泽信,游焜,等.NLR,PLR,SII在乙肝相关性肝癌中的表达水平及影响乙肝相关性肝癌预后的因素分析[J].保健医学研究与实践,2024,21(2):88-93.
- [14] Huang W, Wang C, Wang Y, et al. Predicting malnutrition in gastric cancer patients using computed tomography (CT) deep learning features and clinical data [J]. Clin Nutr, 2024, 43(3): 881-891.
- [15] Zhou Z, Wang P, Sun R, et al. Tumor-associated neutrophils and macrophages interaction contributes to intrahepatic cholangiocarcinoma progression by activating STAT3[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(3): e001946.
- [5] 刘艳辉,范永会,王建文.重症肺炎患者外周血NLRP3炎性小体表达水平的变化及临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(6):970-974.
- [6] 中华医学会麻醉学分会老年人麻醉与围术期管理学组,国家老年疾病临床医学研究中心,国家老年麻醉联盟.中国老年患者围手术期麻醉管理指导意见(2020版)(四)[J].中华医学杂志,2020,100(35):2736-2757.
- [7] 中华医学会麻醉学分会老年人麻醉与围术期管理学组,国家老年疾病临床医学研究中心,国家老年麻醉联盟.中国老年患者围手术期麻醉管理指导意见(2020版)(一)[J].中华医学杂志,2020,100(31):2404-2415.
- [8] 康猛,韩永正,郭向阳.术后谵妄评估和预测的研究进展[J].临床麻醉学杂志,2023,39(1):93-97.
- [9] Li HX, Li BL, Wang TH, et al. Comparison of the effects of remimazolam tosylate and propofol on postoperative delirium among older adults undergoing major non-cardiac surgery: protocol for a randomised controlled trial [J]. BMJ Open, 2023, 13(5):e071912.
- [10] 钱可宝,张勇,雷青,等.三孔胸腔镜与开胸肺癌根治术对老年患者近期免疫功能的影响[J].中国老年学杂志,2020,40(18):3849-3851.
- [11] 宋辉琼,余晖,彭晓红.右美托咪定对高龄全膝关节置换患者术后谵妄及炎症反应的影响[J].中国老年学杂志,2020,40(18):3887-3890.
- [12] Tu W, Yuan H, Zhang S, et al. Influence of anesthetic induction of propofol combined with esketamine on perioperative stress and inflammatory responses and postoperative cognition of elderly surgical patients[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(3): 1701-1709.
- [13] Yan H, Luo B, Wu X, et al. Cisplatin Induces Pyroptosis via activation of MEG3/NLRP3/caspase - 1/GSDMD pathway in triple-negative breast cancer[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(10): 2606-2621.
- [14] 王军会,王坚,蒋优君,等.帕瑞昔布钠对老年髋部手术患者术后谵妄及氧化应激、炎症反应的影响[J].中国老年学杂志,2020,40(6):1243-1245.
- [15] 包萌萌,魏昌伟,吴安石.术后谵妄预测及诊断的研究进展[J].中华麻醉学杂志,2020,40(4):504-508.

(上接第477页)

·论 著·

36例新生儿高胆红素血症换血治疗的相关因素分析

屈明利* 王钱 张凡 张栩静

【摘要】目的 探讨36例新生儿高胆红素血症换血治疗患儿的出生胎龄、换血治疗日龄、母亲抗体效价及胆红素变化情况,为新生儿高胆红素血症的早发现、早诊断、早干预提供依据。**方法** 收集西北妇女儿童医院2019年1月至2022年12月实施换血治疗共36例重度高胆红素血症患儿临床资料,按照病因分为ABO-HDN组($n=13$)、Rh-HDN组($n=8$)和不明原因组($n=15$),统计分析三组出生胎龄、换血治疗日龄、母亲抗体类型及效价、换血前后TBiL和IBiL值变化情况。**结果** 三组出生胎龄差异无统计学意义($F=2.69, P>0.05$)。ABO-HDN组患儿13例,换血治疗日龄小于7天占84.6%(11/13)、大于7天占15.4%(2/13);Rh-HDN组患儿8例,换血治疗日龄均小于7天;不明原因组患儿15例,换血治疗日龄小于7天占20%(3/15)、大于7天占80%(12/15),三组换血治疗日龄比较差异有统计学意义($\chi^2=72.0, P<0.05$)。ABO-HDN组患儿溶血三项实验中放散试验均为阳性,母亲O型-患儿A型5例,母亲O型-患儿B型8例;抗体效价检测结果:效价为16有1例,效价为64有1例,效价为128有7例,效价为256有1例,效价未检测3例。Rh-HDN组患儿溶血三项实验均为阳性,抗体筛查结果均阳性,抗体鉴定结果7例为抗-D,抗体效价检测结果:效价为256有1例,效价为512有2例,效价为1024有3例,未检测1例,另外1例为抗-E,效价1024。不明原因组患儿溶血三项实验均为阴性,抗体筛查结果均阴性,均未做效价检测。ABO-HDN组母亲抗体效价与专家共识中推荐效价不一致,Rh-HDN组母亲抗体效价与专家共识中推荐效价一致。三组换血前后TBiL和IBiL值均显著降低,差异有统计学意义($t=46.63, 5.83, 87.28, 44.40, 4.84, 85.40, P<0.05$);三组间的TBiL和IBiL值差异有统计学意义($F=18.55, 4.10, 18.54, 3.73, P<0.05$)。**结论** 36例不同原因新生儿高胆红素血症换血治疗患儿发病机制不同,母亲抗体效价、患儿换血治疗日龄不同,选用适宜的血液制剂及时进行换血治疗对高胆红素血症患儿疗效显著。

【关键词】 高胆红素血症; 换血; HDN; TBiL

Analysis of related factors of exchange transfusion therapy in 36 neonates with hyperbilirubinemia

QU Mingli*, WANG Qian, ZHANG Fan, ZHANG Xujing

(Department of Blood Transfusion, Northwest Women's and Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, China, 710061)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the birth gestational age, day of age at exchange transfusion, antibody titers and bilirubin changes of 36 cases of neonatal hyperbilirubinemia treated by exchange blood, and to provide basis for early detection, diagnosis and intervention of neonatal hyperbilirubinemia. **Methods** Clinical data from 36 cases of severe hyperbilirubinemia who underwent exchange transfusion at Northwest Women's and Children's Hospital from January 2019 to December 2022 were collected. The cases were classified into the ABO-HDN group ($n=13$), Rh-HDN group ($n=8$), and idiopathic group ($n=15$) based on the etiology. The gestational age at birth, age at exchange transfusion, maternal antibody type and titer, as well as changes in total bilirubin (TBiL) and indirect bilirubin (IBiL) before and after exchange transfusion were analyzed and compared among the three groups. **Results** There was no significant difference in birth gestational age among the three groups ($F=2.69, P>0.05$). Among the 13 cases in the ABO-HDN group, 84.6% (11/13) were less than 7 days old and 15.4% (2/13) were more than 7 days old. There were 8 cases in the Rh-HDN

基金项目:陕西省卫生健康委科研基金项目(2022A023)

作者单位:西北妇女儿童医院输血科,陕西,西安710061

*通信作者:屈明利, E-mail: 1021978007@qq.com

group, all of which were less than 7 days old. There were 15 cases in the idiopathic group, 20% (3/15) were less than 7 days old and 80% (12/15) were more than 7 days old. There was significant difference in the age of exchange transfusion among the three groups ($\chi^2=72.0, P<0.05$). In the ABO-HDN group, the dispersion test was positive in the three hemolysis experiments, including 5 cases of mother O-child type A and 8 cases of mother O-child type B; Antibody titer test results showed 1 case with a titer of 16, 1 case with a titer of 64, 7 cases with a titer of 128, 1 case with a titer of 256, and 3 cases with undetected titers. In The Rh-HDN group, all three hemolysis tests were positive, and antibody screening results were positive. Antibody identification results showed anti-D in 7 cases with titers of 256, 512, 1 024 (2 cases), and an undetected titer. One case had anti-E with a titer of 1 024. The idiopathic group had negative results in all three hemolysis and antibody screening tests, with no titer tests performed. The maternal antibody titer in the ABO-HDN group was inconsistent with the recommended titer in the expert consensus, while the maternal antibody titer of the Rh-HDN group was consistent with the recommended titer in the expert consensus. The TBiL and IBiL values significantly decreased in all three groups before and after exchange transfusion, with statistically significant differences ($t=46.63, 5.83, 87.28, 44.40, 4.84, 85.40, P<0.05$). There were significant differences in TBiL and IBiL values among the three groups ($F=18.55, 4.10, 18.54, 3.73, P<0.05$). **Conclusion** The pathogenesis of hyperbilirubinemia, maternal antibody titers, and exchange transfusion appear to vary among different types of neonates with this disease. Exchange transfusion using appropriate blood products, has been shown to yield significant therapeutic effects in neonates with hyperbilirubinemia.

[KEY WORDS] hyperbilirubinemia; Exchange transfusion; HDN; TBiL

新生儿高胆红素血症是由于患儿红细胞破坏释放出大量未结合胆红素,超过肝脏的摄取、结合及排泄能力,导致新生儿黄疸的表现^[1]。原因可能有母婴 ABO 血型不合,母婴 Rh 血型不合,肝细胞性黄疸,胆汁淤积性黄疸,先天性非溶血性黄疸围生,母乳及感染因素等。当血清总胆红素(Total Bilirubin, TBiL)值超过一定阈值,患儿可发生胆红素脑病、出现神经系统后遗症、新生儿死亡等。换血治疗是针对重度高胆红素血症患儿使其血胆红素水平快速下降最有效的治疗措施。本研究探讨了西北妇女儿童医院 2019 年 1 月至 2022 年 12 月采用换血治疗的高胆红素血症患儿的相关指标,比较其治疗前后总胆红素(Total Bilirubin, TBiL)和间接胆红素(Indirect Bilirubin, IBiL)水平变化及溶血试验结果,报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究采用回顾性分析,纳入 2019 年 1 月至 2022 年 12 月于本院新生儿科实施新生儿换血治疗的全部患儿共 36 例。按新生儿溶血病筛查结果将 36 例换血治疗的高胆红素血症患儿分为三组:13 例 ABO 血型不合新生儿溶血症(ABO blood type incompatible hemolytic disease of newborn, ABO-HDN)患儿为 ABO-HDN 组,8 例 Rh 血型不合新生儿溶血症(Rh blood type incompatible hemo-

lytic disease of newborn, Rh-HDN)患儿为 Rh-HDN 组,15 例不明原因高胆红素血症患儿为不明原因组。本研究经医院医学伦理委员会批准,符合相关规定,豁免知情同意。

1.2 仪器与试剂

全自动血型分析仪(Microlab STARlet IVD,瑞士哈美顿博纳图斯),全自动生化分析仪(BECKMAN COULTER AU5800,贝克曼库尔特实验系统),医用离心机(TD-A 型,长春博研科学仪器),免疫微柱孵育器(FYQ 型,长春博研科学仪器)、56℃电热恒温水浴箱(HH-W21-600S 型,上海跃进医疗),总胆红素测定试剂、直接胆红素测定试剂(均为贝克曼库尔特生化分析),抗 A 抗 B 血型定型试剂(长春博德生物),ABO、RhD 血型定型检测卡(单克隆抗体)、新生儿 ABO、RhD 血型检测卡(微柱凝集)、抗人球蛋白检测卡、ABO 血型反定型试剂盒、不规则抗体检测试剂(均为长春博讯生物)。

1.3 换血治疗

换血指征与换血方法参照我国新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识^[2]与医疗机构临床用血管理实践指南^[3]。本院患儿血清总胆红素 $>342 \mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL)、或血清总胆红素 $>256 \mu\text{mol/L}$ (15 mg/dL)合并严重感染、或有早期胆红素脑病者经家属同意可考虑换血;ABO 血型不合新生儿溶血症换血治疗时红细胞选择 O 型、血浆选择 AB

型,Rh血型不合新生儿溶血症换血治疗时红细胞选择Rh血型同母亲、ABO血型同患儿(或使用O型)、血浆选择同患儿血型;血浆储存为低温冷冻保存,本院规定临床使用前半h通知输血科融化,即融即发即用,保证输注效果;治疗所用红细胞与血浆比例为2:1;换血量为新生儿2倍的血容量;换血过程中实现输入和输出血液均采用能够控制速度的输血泵自动完成。

1.4 实验室检测

按照本院《新生儿溶血病筛查实验操作规范》,使用柱凝集法检测母亲及患儿ABO、RhD血型与意外抗体筛查,使用试管法+柱凝集法进行患儿新生儿溶血三项实验及抗体效价检测。换血前、中、后用全自动生化分析仪检测TBiL、IBiL等生化指标的变化情况。

1.5 统计学方法

采用SPSS对数据进行分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验;计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,同组内前后均数的比较采用 t 检验,三组间均数的比较采用方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿基本情况

36例患儿,最小胎龄为32⁺1周,最大胎龄为41⁺2周,平均胎龄 (38.37 ± 2.15) 周。最早换血时间为出生后5h,患儿38⁺4周出生,出生时皮肤黄染、水肿、贫血,入院诊断为新生儿高胆红素血症、Rh-HDN;最晚换血1例为出生后19天,患儿是32⁺1周出生的早产儿,入院诊断为新生儿高胆红素血症、早产儿。1例患儿换血2次,间隔23h,患儿35⁺4周出生,入院诊断为胎儿水肿、Rh-HDN。

36例高胆红素血症患儿分组情况为:ABO-HDN组13例,占比36.1%;Rh-HDN组8例,占比22.2%;不明原因组15例,占比41.7%。

2.2 三组胎龄比较

36例患儿出生胎龄为32⁺1周~41⁺2周,三组胎龄差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 三组胎龄比较 $(\bar{x}\pm s)$

组别	n	胎龄
ABO-HDN组	13	39.42±1.55
Rh-HDN组	8	38.00±2.20
不明原因组	15	37.67±2.29
F 值		2.69
P 值		0.083

2.3 三组换血治疗日龄比较

三组换血治疗日龄比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 三组换血治疗日龄比较 $[n(\%)]$

组别	n	<7 d	≥7 d
ABO-HDN组	13	11(84.6)	2(15.4)
Rh-HDN组	8	8(100.0)	0(0.0)
不明原因组	15	3(20.0)	12(80.0)
χ^2 值		72.0	
P 值		<0.001	

2.4 患儿母亲抗体效价结果

ABO-HDN组患儿溶血三项实验中放散试验均为阳性,母亲O型-患儿A型5例,母亲O型-患儿B型8例;Rh-HDN组患儿溶血三项实验均为阳性,抗体筛查结果均阳性,抗体鉴定结果7例为抗-D,另外1例为抗-E;不明原因组患儿溶血三项实验均为阴性,抗体筛查结果均阴性,均未做效价检测。抗体效价检测结果。见表3。

表3 效价检测结果

组别	n	16	32	64	128	256	512	1024	未检测
ABO-HDN组	13	1	0	1	7	1	0	0	3
Rh-HDN组	8	0	0	0	0	1	2	4	1

2.5 三组换血前后胆红素指标比较

三组换血前后TBiL和IBiL比较,换血后三组TBiL和IBiL值均显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);三组间的TBiL和IBiL值差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4~5。

表4 三组换血前后TBiL变化比较 $[(\bar{x}\pm s),\mu\text{mol/L}]$

组别	n	换血前TBiL	换血后TBiL	t 值	P 值
ABO-HDN组	13	378.96±60.47	206.81±67.86	46.63	<0.001
Rh-HDN组	8	285.36±99.94	176.27±79.60	5.83	0.030
不明原因组	15	470.73±60.45	257.98±64.22	87.28	<0.001
F 值		18.55	4.10		
P 值		<0.001	0.026		

表5 三组换血前后IBiL变化比较 $[(\bar{x}\pm s),\mu\text{mol/L}]$

组别	n	换血前IBiL	换血后IBiL	t 值	P 值
ABO-HDN组	13	346.71±56.93	190.68±62.35	44.40	<0.001
Rh-HDN组	8	252.35±87.20	160.56±79.45	4.84	0.045
不明原因组	15	427.10±61.26	232.79±53.65	85.40	<0.001
F 值		18.54	3.73		
P 值		<0.001	0.035		

3 讨论

新生儿高胆红素血症的治疗措施包括光疗、药物辅助治疗、换血治疗和未达到换血治疗指征

时的输血治疗^[3]。临床症状轻的患儿经蓝光照射或辅助药物治疗即可治愈,重度高胆红素血症患儿使其血胆红素水平迅速下降且有效的治疗方法是换血治疗。大多数患儿需1次换血治疗即可,换血后及时结合光疗以防止胆红素反弹,少数患儿1次换血后可能出现胆红素反弹,应根据临床指标及时进行2次换血^[4]。研究发现^[5],近年来发达国家的新生儿换血治疗需求有下降趋势,我国目前尚无新生儿换血治疗变化趋势的大样本研究。

本研究中三组换血治疗的患儿间出生胎龄无统计学差异,其高胆红素血症原因未见影响到胎儿分娩时间。由于换血治疗患儿例数较少,故其相关性可能存在偏差,需要更多数量的患儿统计来证实高胆红素血症或新生儿溶血病是否会导致分娩时间不一致。

本研究发现导致新生儿早期(日龄小于7天)接受换血治疗的主要危险因素是溶血性疾病,主要是由于ABO或Rh血型不合引起,这与已发表的文献^[6]一致。新生儿接受换血治疗日龄大于7天的患儿主要是不明原因组,原因可能与其早期母乳喂养量不足而引起的未结合胆红素肠肝循环增加有关^[7],应鼓励新生儿母乳喂养,在母乳不足时需添加配方奶以保证充足的喂养。

胎儿新生儿溶血病实验室检测专家共识^[8-10]中抗体效价与妊娠风险等级划分(IgG抗A/抗B效价256、IgG抗D效价64存在重度HDFN风险)说明产妇的抗体效价与新生儿TBiL值是紧密关联的。本研究中Rh-HDN组母亲抗体效价与专家共识中风险等级划分的抗体效价一致,而ABO-HDN组母亲抗体效价与专家共识中风险等级划分的抗体效价不一致。10例检测抗体效价中9例均低于专家共识中的风险等级划分,原因分析可能与患儿合并有其它疾病有关,也可能与不同实验室检测方法不同有关,提示需要在今后的研究中寻找更为敏感的检测指标和风险等级划分,以尽早提示胎儿有高胆红素血症的风险,提前干预以获得良好的预后效果。

新生儿血清TBiL参考值范围:0~1天为24~149 $\mu\text{mol/L}$,1天~2天为58 $\mu\text{mol/L}$ ~197 $\mu\text{mol/L}$,3天~5天为26 $\mu\text{mol/L}$ ~205 $\mu\text{mol/L}$ 。血清IBiL参考值范围为20 $\mu\text{mol/L}$ ~145 $\mu\text{mol/L}$ 。本研究36例患儿换血治疗前TBiL值和IBiL值远高于上述水

平。换血治疗可以置换出患儿自身已被抗体致敏的红细胞和含有高效价抗体的血浆,有效阻止胆红素的进一步升高,从而减缓胆红素脑病的发生和发展^[11]。如换血治疗后患儿TBiL值仍持续升高,有再次换血的可能,需要尽早申请和准备相应的红细胞和血浆制剂。本研究中Rh-HDN组1例患儿在1次换血治疗后TBiL值仍持续升高,24 h内及时进行了2次换血治疗,该患儿与母亲ABO血型同型,换血所用红细胞为意外抗体阳性母亲术前备血的血液。对严重高胆红素血症患儿选用适宜的血液制剂及时进行换血治疗效果显著。

总之,不同原因新生儿高胆红素血症换血治疗患儿发病机制不同,母亲抗体效价、患儿换血治疗日龄不同,围产医疗机构应加强更为敏感的产前监测技术的临床应用,以达到对新生儿高胆红素血症的早发现、早诊断、早干预、早治疗。

参考文献

- [1] De haas M, Thurik FF, Koelewijn JM, et al. Haemolytic disease of the fetus and newborn[J]. VoxSang, 2015,109(2):99-113.
- [2] 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.
- [3] 王宝燕,姚锁良,徐华,等.医疗机构临床用血管理实践指南[M].1版.西安:西安交通大学出版社,2019:74-87.
- [4] 马峰,岳彦伟,吴继博,等. Rh新生儿溶血病抗体分布特点及换血治疗策略[J].中国输血杂志,2018,31(11):1230-1232.
- [5] 马莉.交叉换血治疗新生儿重度高胆红素血症的调查[J].中国输血杂志,2020,33(10):1003-1006.
- [6] Bujandric N, Grujic J. Exchange transfusion for severe neonatal hyperbilirubinemia: 17 years' experience from Vojvodina, Serbia[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2016,32(2):208-214.
- [7] 多中心新生儿换血研究协作组.换血技术治疗新生儿高胆红素血症相关问题的多中心回顾性调查[J].中华围产医学杂志,2021,24(10):764-769.
- [8] 李翠莹,李小薇.胎儿新生儿溶血病实验室检测专家共识[J].临床输血与检验,2021,23(1):20-23+28.
- [9] 王丽,朱阳泉,徐长根,等.母婴血型不合致新生儿溶血病231例分析[J].临床输血与检验,2010,12(4):335-337.
- [10] 王志.孕妇血型不规则抗体检测对预防新生儿溶血病的作用研究[J].临床检验杂志(电子版),2018,7(4):755.
- [11] 高瑾,赵玫,宝凌云,等.108例外周动静脉同步换血法治疗新生儿高胆红素血症临床分析[J].检验医学与临床,2013,10(20):2713-2715.

·论 著·

不同剂量艾司氯胺酮预先给药对乳腺手术患者的效果及 Nrf2/HO-1 通路的影响

赵云* 任学军 梁晶光

[摘要] **目的** 探讨不同剂量艾司氯胺酮(ESK)预先给药对乳腺手术患者的效果及其核因子E2相关因子2(Nrf2)/红素加氧酶-1(HO-1)通路的影响。**方法** 纳入2023年9月至2024年9月在河南中医药大学第一附属医院收治的全身麻醉(GA)下乳腺手术女性乳腺良性肿瘤患者共120例,随机分为高剂量组(40例,预先给予0.5 mg/kg的ESK稀释液5 mL)、低剂量组(40例,预先给予0.25 mg/kg的ESK稀释液5 mL)和对照组(40例,预先给予生理盐水5 mL)。比较各组的麻醉情况、麻醉/镇静效果(Ramsay评分)、血流动力学指标[心率(HR)、平均动脉压(MAP)]、炎症因子[白介素-6(IL-6)、C反应蛋白(CRP)]及Nrf2、HO-1水平。**结果** 术中瑞芬太尼用量为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);麻醉诱导前(T_1)时刻的Ramsay评分为高剂量组>低剂量组>对照组,拔出喉罩后5 min(T_4)时刻的Ramsay评分为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P<0.05$); T_1 时刻三组HR、MAP差异均无统计学意义($P>0.05$),舒芬太尼静脉给药1 min后(T_2)HR、MAP为高剂量组>低剂量组>对照组,喉罩拔出时(T_3)、 T_4 时刻HR、MAP为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);术后24 h、72 h的IL-6、CRP水平均为高剂量组<低剂量组<对照组,Nrf2、HO-1水平均为高剂量组>低剂量组>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** ESK预先给药可改善麻醉情况和术中血流动力学,上调Nrf2、HO-1的水平并缓解炎症反应,且应用高剂量ESK的效果更显著。

[关键词] 艾司氯胺酮; 乳腺手术; 全身麻醉; 核因子E2相关因子/红素加氧酶-1通路; 炎症

Effects of different doses of esketamine pre-administration on patients undergoing breast surgery and its influence on Nrf2/HO-1 pathway

ZHAO Yun*, REN Xuejun, LIANG Jingguang

(Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of different doses of esketamine (ESK) pretreatment on pharyngeal complications and its effect on nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/erythropoietin oxygenase-1 (HO-1) pathway in patients undergoing breast surgery. **Methods** A total of 169 female patients with benign breast tumors undergoing breast surgery under general anesthesia at the First Affiliated Hospital of Henan University from June, 2021 to June, 2024 were randomly divided into the high-dose group (40 cases, 0.5 mg/kg ESK diluent 5 mL in advance), the low-dose group (40 cases, 0.25 mg/kg ESK diluent 5 mL in advance) and the control group (40 cases, 5 mL normal saline). The anesthesia condition, anesthesia/sedation effect (Ramsay score), hemodynamic indexes [heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP)], inflammatory factors [interleukin-6 (IL-6), C-reactive protein (CRP)], Nrf2 and HO-1 levels were compared among the groups. **Results** The intraoperative consumption of remifentanyl was high dose group < low dose group < control group ($P<0.05$). The Ramsay score before anesthesia induction (T_1) was in the order of high-dose group > low-dose group > control group, and the Ramsay score at 5 min after laryngeal mask removal (T_4) was in the order of high-dose group < low-dose group < control group ($P<0.05$). There was no significant differ-

基金项目:河南省卫生健康委员会项目(20-21ZY2197)

作者单位:河南中医药大学第一附属医院麻醉科,河南,郑州 450000

*通信作者:赵云, E-mail: 18134741983@163.com

ence in HR and MAP among the three groups at T_1 ($P>0.05$). At 1 min after intravenous sufentanil administration (T_2), HR and MAP were high dose group > low dose group > control group. At T_3 and T_4 , HR and MAP were high dose group < low dose group < control group ($P<0.05$). The levels of IL-6 and CRP at 24 h and 72 h after the operation in the high-dose group were lower than those in the low-dose group and the control group. The levels of Nrf2 and HO-1 in the high-dose group were higher than those in the low-dose group and the control group ($P<0.05$). **Conclusion** ESK pretreatment can improve anesthesia and intraoperative hemodynamics, up-regulate the levels of Nrf2 and HO-1, and alleviate inflammatory response. The effect of high-dose ESK is even more significant.

[KEY WORDS] Esketamine; Breast surgery; General anesthesia; Nuclear factor E2 related factor/Heme oxygenase-1 signaling pathway; Inflammation

全身麻醉(General anesthesia, GA)下乳腺手术是乳腺疾病的主要外科治疗方法之一,此类手术中通常使用气管插管或喉罩,以确保手术期间呼吸和循环的稳定^[1]。在此过程中,患者的血流动力学和通气均受影响,而麻醉药物、缺氧或二氧化碳蓄积等刺激因素可能诱发手术应激反应,不仅影响麻醉效果,还可能影响患者的生命健康^[2]。艾司氯胺酮(Esketamine, ESK)是一种 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)受体抑制剂,兼具麻醉和镇痛作用,在预防手术应激及疼痛管理上具有潜在优势^[3]。核因子 E2 相关因子 2(Nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)/红素加氧酶-1(Heme oxygenase-1, HO-1)通路 with 细胞保护密切相关,动物研究表明 ESK 能够调控 Nrf2/HO-1 通路,缓解炎症反应,发挥镇痛作用^[4]。本研究旨在探讨不同剂量 ESK 预先给药对 GA 下乳腺手术患者的效果,并分析其对 Nrf2/HO-1 通路的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2023 年 9 月至 2024 年 9 月间河南中医药大学第一附属医院收治的 GA 下乳腺手术 30~60 岁女性乳腺良性肿瘤患者共 120 例,根据随机数表法分为高剂量组、低剂量组和对照组,每组各 40 例,高剂量组年龄 31~59 岁、平均(47.25±6.12)岁;低剂量组年龄 33~58 岁、平均(46.64±5.93)岁;对照组年龄 30~60 岁、平均(48.03±5.62)岁。三组的一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已获河南中医药大学第一附属医院医学伦理委员会批准。

纳入标准:①参考《中国女性乳腺分叶状肿瘤诊治专家共识》^[5]中良性乳腺肿瘤的相关表现,经影像学 and 病理检查,确认为乳腺良性肿瘤患者;②体重 50~90 kg,无吸烟史;③近期无咽喉不适及呼吸系统

疾病;④已对本研究知情并签署同意书。排除标准:①近期或长期服用镇静药及阿片类药物;②有神经系统病史;③合并重要器官、系统的严重疾病或功能不全;④有心力衰竭或慢性高血压史;⑤不符合 GA 手术指征;⑥术前 2 周内行口、咽部手术;⑦妊娠或哺乳期患者;⑧对研究药物过敏。

1.2 麻醉方法

麻醉诱导前,高剂量组缓慢静脉推注(以下简称静注)0.5 mg/kg 的 ESK(H20193336,江苏恒瑞医药)生理盐水稀释液 5 mL,低剂量组缓慢静注 0.25 mg/kg 的 ESK 稀释液 5 mL,对照组静注生理盐水 5 mL。入室后连接输液泵和多参数监护仪,监测心率(Heartrate, HR)、平均动脉压(Mean artery pressure, MAP)等。

静注 ESK 或/和生理盐水 1 min 后开始麻醉诱导,静注依托咪酯 0.3 mg/kg(H20020511,江苏恩华药业推注时间 1 min)和舒芬太尼 0.3 μ g/kg(H20054171,宜昌人福药业),1 min 后静注顺式阿曲库铵 0.15 mg/kg(H20183042,江苏恒瑞医药)。待眼睑反射消失后行喉罩置入并呼吸机辅助通气。

麻醉维持使用丙泊酚 3~6 mg/(kg·h)(H20133360,广东嘉博制药)和瑞芬太尼 0.1~0.3 μ g/(kg·min)(H20030197,宜昌人福药业)静脉泵注,1%七氟烷吸入,间断推注顺式阿曲库铵 0.1 mg/kg。术毕前 10 min 停用维持药物,待患者清醒后拔除喉罩送麻醉复苏室观察。

1.3 观察指标

1.3.1 麻醉情况

记录各组术中镇痛药物瑞芬太尼的用量。

1.3.2 麻醉/镇静效果

采用 Ramsay 镇静评分^[6]评估麻醉诱导前(T_1),舒芬太尼静脉给药 1 min 后(T_2),喉罩拔出时(T_3)和拔出后 5 min(T_4)的麻醉效果,评分 1~6 分,高分值表示麻醉/镇静程度高。

1.3.3 血流动力学指标

记录各组在T₁、T₂、T₃、T₄的HR₂和MAP。

1.3.4 血清炎症因子和Nrf2、HO-1水平

术前及术后24 h、72 h,采集患者的清晨空腹静脉血3 mL,采用AU5800全自动生化仪检测炎症因子白介素-6(Interleukin-6, IL-6)和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平。采用酶联免疫吸附法,根据相应试剂盒(JL18367、JL10932,上海江莱生物科技)的说明书,检测血清Nrf2和HO-1水平。

1.4 统计学方法

采用SPSS 24.0软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,两组间行 t 检验,多组间行方差检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组麻醉情况和Ramsay评分比较

术中瑞芬太尼用量为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);T₂、T₃时刻三组Ramsay评分差异无统计学意义($P > 0.05$),T₁时刻的评分为高剂量组>低剂量组>对照组,T₄时刻为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 三组血流动力学指标比较

T₁时刻三组HR、MAP差异均无统计学意义($P > 0.05$);T₂时刻HR、MAP为高剂量组>低剂量组>对照组,T₃、T₄时刻HR、MAP为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 三组麻醉情况和Ramsay评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	瑞芬太尼用量(μg)	T ₁ (分)	T ₂ (分)	T ₃ (分)	T ₄ (分)
高剂量组	40	462.15 $\pm$ 57.21 ^{ab}	2.39 $\pm$ 0.45 ^{ab}	4.35 $\pm$ 0.71	2.92 $\pm$ 0.50	2.17 $\pm$ 0.55 ^{ab}
低剂量组	40	492.65 $\pm$ 64.33 ^a	2.15 $\pm$ 0.67 ^a	4.22 $\pm$ 0.58	3.01 $\pm$ 0.65	2.40 $\pm$ 0.43 ^a
对照组	40	545.51 $\pm$ 60.16	1.91 $\pm$ 0.44	4.27 $\pm$ 0.81	3.05 $\pm$ 0.86	2.63 $\pm$ 0.50
<i>F</i> 值		19.352	8.180	0.345	0.407	8.609
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.709	0.667	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与低剂量组比较,^b $P < 0.05$ 。

表3 三组炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-6(pg/mL)			CRP(mg/L)		
		术前	术后24 h	术后72 h	术前	术后24 h	术后72 h
高剂量组	40	104.89 $\pm$ 12.46	172.33 $\pm$ 15.00 ^{ab}	148.23 $\pm$ 12.51 ^{ab}	49.66 $\pm$ 7.23	83.18 $\pm$ 9.20 ^a	70.05 $\pm$ 6.84 ^{ab}
低剂量组	40	99.89 $\pm$ 11.15	179.26 $\pm$ 14.26 ^a	154.15 $\pm$ 12.84 ^a	46.97 $\pm$ 6.87	87.46 $\pm$ 8.89	73.33 $\pm$ 7.14 ^a
对照组	40	100.65 $\pm$ 12.35	185.94 $\pm$ 15.20	160.23 $\pm$ 13.49	48.65 $\pm$ 6.72	90.15 $\pm$ 9.16	77.16 $\pm$ 7.24
<i>F</i> 值		2.016	8.428	11.682	1.532	5.989	10.109
<i>P</i> 值		0.138	<0.001	<0.001	0.220	0.003	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与低剂量组比较,^b $P < 0.05$ 。

表2 三组血流动力学指标比较($\bar{x} \pm s$)

指标	高剂量组 (<i>n</i> =40)	低剂量组 (<i>n</i> =40)	对照组 (<i>n</i> =40)	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
HR(次/min)					
T1	70.48 $\pm$ 2.44	71.09 $\pm$ 2.60	70.39 $\pm$ 2.37	0.950	0.390
T2	68.13 $\pm$ 3.46 ^{ab}	66.59 $\pm$ 3.14 ^a	65.08 $\pm$ 3.24	8.633	<0.001
T3	69.35 $\pm$ 3.06 ^{ab}	70.87 $\pm$ 3.38 ^a	73.17 $\pm$ 3.29	14.041	<0.001
T4	70.15 $\pm$ 3.37 ^{ab}	72.24 $\pm$ 3.56 ^a	74.49 $\pm$ 3.47	15.672	<0.001
MAP(mmHg)					
T1	82.13 $\pm$ 2.91	81.88 $\pm$ 2.49	82.21 $\pm$ 2.78	0.159	0.853
T2	79.97 $\pm$ 4.26 ^{ab}	77.18 $\pm$ 4.19 ^a	75.11 $\pm$ 3.84	14.148	<0.001
T3	84.34 $\pm$ 4.23 ^{ab}	86.41 $\pm$ 4.26 ^a	90.16 $\pm$ 5.09	16.860	<0.001
T4	81.22 $\pm$ 3.96 ^{ab}	83.24 $\pm$ 4.11 ^a	85.34 $\pm$ 4.32	10.485	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与低剂量组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 三组炎症因子水平比较

术前三组IL-6、CRP水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。术后24 h、72 h的IL-6、CRP水平均为高剂量组<低剂量组<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 三组Nrf2、HO-1水平比较

术前三组Nrf2、HO-1水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。术后24 h、72 h的Nrf2、HO-1水平均为高剂量组>低剂量组>对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

乳腺良性病变会引起患者不适和疼痛,影响生活质量和生理健康,同时也是乳腺癌的重要危险因素之一^[7-8]。乳腺手术是外科治疗较大乳腺的良性肿块或乳腺癌的主要方法之一,在进行乳腺手术时,麻醉效果易受到疾病类型、病灶位置及麻醉药物安全剂量的限制,故常使用GA以抑制患者

表4 三组 Nrf2、HO-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Nrf2($\mu\text{g/L}$)			HO-1($\mu\text{g/L}$)		
		术前	术后 24 h	术后 72 h	术前	术后 24 h	术后 72 h
高剂量组	40	2.63 $\pm$ 0.47	1.43 $\pm$ 0.43 ^{ab}	2.30 $\pm$ 0.40 ^{ab}	7.19 $\pm$ 1.24	3.55 $\pm$ 0.60 ^{ab}	7.04 $\pm$ 1.01 ^{ab}
低剂量组	40	2.70 $\pm$ 0.54	1.27 $\pm$ 0.28 ^a	2.11 $\pm$ 0.33 ^a	7.06 $\pm$ 1.40	3.30 $\pm$ 0.51 ^a	6.60 $\pm$ 0.84 ^a
对照组	40	2.68 $\pm$ 0.50	1.11 $\pm$ 0.31	1.93 $\pm$ 0.26	7.16 $\pm$ 1.33	3.07 $\pm$ 0.40	6.15 $\pm$ 0.76
F 值		0.205	8.548	12.208	0.106	8.866	10.317
P 值		0.815	<0.001	<0.001	0.900	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与低剂量组比较,^b $P<0.05$ 。

的知觉和痛觉等,确保手术的安全性^[9]。合理选用麻醉药物可减轻人工气道、缺氧或二氧化碳蓄积对咽喉部神经丛的刺激,有效提高手术安全性^[10]。本研究于麻醉诱导前应用不同剂量的 ESK,结果显示 ESK 预先给药可提高麻醉效果,改善术中血流动力学,且高 ESK 剂量组的效果更明显。ESK 是氯胺酮的右旋体,对 NMDA 受体的亲和性极高,通过非竞争性结合 NMDA 受体抑制谷氨酸的激活作用,减弱相应神经元活动,从而产生高效的麻醉和镇痛^[11]。此外,ESK 具有一定的拟交感作用,可以与阿片类受体结合,缓解阿片类药物的呼吸抑制作用,解除支气管痉挛^[12]。在 GA 下乳腺手术患者中,ESK 能够通过抑制 NMDA 受体,降低手术过程中的神经兴奋性,维持心率和血压,减少阿片类药物的用量,从而降低不良反应风险。

进一步分析结果显示,术前预先应用 ESK 可使术后的 Nrf2、HO-1 水平较高,IL-6、CRP 水平较低,且应用高剂量 ESK 具有更好的效果,表明高剂量 ESK 预先给药有助于激活 Nrf2/HO-1 信号通路,缓解术后炎症。

Nrf2/HO-1 是重要的细胞保护相关信号通路,Nrf2 存在于细胞质中,受到炎症、缺氧、内毒素等刺激后可通过延长半衰期以完成蓄积并进入细胞核,协助激活多种抗氧化基因或解毒基因,而 HO-1 是 Nrf2 的下游基因,可协助 Nrf2 发挥细胞保护作用,对多种炎症因子(如 IL-6、CRP)及氧化应激因子(如丙二醛等)具有抑制作用^[13-14]。

本研究中,术后 24 h 炎症因子水平升高,Nrf2 和 HO-1 表达水平下降,原因为 Nrf2 和 HO-1 大量消耗以分解血红素,产生胆红素等物质发挥抗氧化和抗炎作用,而预先应用高剂量 ESK 可减少术后 24 h 的 Nrf2 和 HO-1 水平下降,原因与 ESK 可通过抑制 NMDA 受体,维持术中的心率和血压,改善血流动力学,以缓解乳腺手术中 GA 药物和手术操作导致机体的氧化应激和炎症相关。

而在术后 72 h,预先应用高剂量 ESK 组的 Nrf2、HO-1 水平仍为更高,IL-6、CRP 水平更低,其原因为麻醉诱导前应用 ESK 可降低神经兴奋性,减少手术引起的痛觉应激,并通过其拟交感作用降低术中阿片类镇痛药物的使用量以缓解氧化应激相关,表明 ESK 可通过上调 Nrf2/HO-1 的水平,减少炎症因子释放,从而发挥其抗炎、抗氧化应激和细胞保护作用^[15]。

综上所述,ESK 预先给药可改善麻醉情况和术中血流动力学,上调 Nrf2、HO-1 的水平并缓解炎症反应,且应用高剂量 ESK 的效果更显著。

参考文献

- [1] Enlund M, Berglund A, Enlund A, et al. Volatile versus Propofol General Anesthesia and Long-term Survival after Breast Cancer Surgery: A National Registry Retrospective Cohort Study[J]. *Anesthesiology*, 2022, 137(3): 315-326.
- [2] 代恒茂,明伟,周志强,等.呼气末二氧化碳分压监测在全麻拔管后苏醒期患者中的应用[J]. *护理学杂志*, 2022, 37(12): 36-38.
- [3] Zhu T, Zhao X, Sun M, et al. Opioid-reduced anesthesia based on esketamine in gynecological day surgery: a randomized double-blind controlled study [J]. *BMC Anesthesiol*, 2022, 22(1): 354.
- [4] 景建闯,刘鹏,安波.艾司氯胺酮调节 Nrf2/HO-1 信号通路对骨关节炎大鼠镇痛作用的研究[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2023, 42(1): 9-15.
- [5] 中国研究型医院学会乳腺专业委员会,中国女性乳腺分叶状肿瘤诊治共识制定专家组,陈畅,等.中国女性乳腺分叶状肿瘤诊治专家共识[J]. *中国研究型医院*, 2023, 10(4): 1-14.
- [6] Jung SM, Lee E, Park SJ. Validity of bispectral index monitoring during deep sedation in children with spastic cerebral palsy undergoing injection of botulinum toxin [J]. *Korean J Anesthesiol*, 2019, 72(6): 592-598.
- [7] 王好,邓萌,李莹莹,等.健康体检女性乳腺疾病检出情况及其影响因素分析[J]. *华南预防医学*, 2022, 48(2): 224-226.
- [8] Kim S, Tran T, Song H, et al. Mammographic Breast Density, Benign Breast Disease, and Subsequent Breast Cancer Risk in 3.9 Million Korean Women[J]. *Radiology*, 2022, 304(3): 534-541.
- [9] 徐晓海,温馨,王国年.超声引导下胸神经阻滞在乳腺手术中的研究进展[J]. *临床麻醉学杂志*, 2020, 36(5): 513-516.

(下转第 498 页)

·论 著·

dNLR与慢性鼻窦炎伴鼻息肉严重程度的相关性

狄悦 杨一卿* 齐正元 张丽娜 宋笑冲

【摘要】目的 探讨衍生中性粒细胞/淋巴细胞比值(dNLR)与慢性鼻窦炎(CRS)伴鼻息肉(NP)患者病情严重程度的相关性。**方法** 选取2021年5月至2023年7月秦皇岛市第一医院收治的152例CRS伴NP患者作为研究对象。绘制受试者工作特性(ROC)曲线,确定dNLR截点值并分为低dNLR组($dNLR < 2.49$, $n=93$)和高dNLR组($dNLR \geq 2.49$, $n=59$);采用Pearson相关分析探讨CRS伴NP患者dNLR水平与Lund-Mackay评分、Lund-Kennedy评分的关系;采用多因素Logistic回归分析探讨CRS伴NP患者术后复发的影响因素。**结果** dNLR预测CRS伴NP患者病情严重程度的曲线下面积(AUC)(95%CI)为0.873(0.821~0.925),截点值为2.49,特异度为0.659,灵敏度为0.914。高dNLR组合并哮喘、病程 ≥ 5 年、术后感染所占比例均大于低dNLR组,嗜酸粒细胞水平、Lund-Mackay评分、Lund-Kennedy评分高于低dNLR组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CRS伴NP患者dNLR水平与Lund-Mackay评分、Lund-Kennedy评分均呈正相关($P < 0.05$)。高dNLR组复发率高于低dNLR组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。病程 ≥ 5 年、术后感染、Lund-Mackay评分高、Lund-Kennedy评分高、 $dNLR \geq 2.49$ 是CRS伴NP患者术后复发的独立危险因素($P < 0.05$)。**结论** dNLR与CRS伴NP患者病情严重程度、术后复发有关,可作为预测CRS伴NP患者病情严重程度的重要标记物。

【关键词】 衍生中性粒细胞/淋巴细胞比值;慢性鼻窦炎;鼻息肉;复发

The correlation between dNLR and the severity of chronic sinusitis with nasal polyps

DI Yue, YANG Yiqing*, QI Zhengyuan, ZHANG Lina, SONG Xiaochong

(Department of Rhinology, Qinhuangdao First Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the correlation between the derived neutrophil/lymphocyte ratio (dNLR) and the severity of chronic rhinosinusitis (CRS) with nasal polyps (NP). **Methods** A total of 152 cases with CRS and NP from May 2021 to July 2023 were selected. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to determine the cut-off value of dNLR and divide them into the low dNLR group ($dNLR < 2.49$, $n=93$) and the high dNLR group ($dNLR \geq 2.49$, $n=59$). The relationship between dNLR level and Lund-Mackay score, Lund-Kennedy score in CRS patients with NP was explored by Pearson correlation analysis. The influencing factors of postoperative recurrence in CRS patients with NP were explored using multivariate logistic regression analysis. **Results** The area under the curve (AUC) (95%CI) of dNLR in predicting the severity of CRS with NP was 0.873 (0.821~0.925), the cut-off value was 2.49, the specificity was 0.659, and the sensitivity was 0.914. In comparison to the low dNLR group, the high dNLR group exhibited significantly higher proportions of patients with asthma, disease duration of ≥ 5 years, and postoperative infections. Additionally, the high dNLR group had significantly higher eosinophil levels, Lund-Mackay scores, and Lund-Kennedy scores ($P < 0.05$). The level of dNLR in CRS with NP patients showed a positive correlation with both Lund-Mackay and Lund-Kennedy scores ($P < 0.05$). The recurrence rate in the high dNLR group was higher than that in the low dNLR group ($P < 0.05$). Factors such as a disease course of ≥ 5 years, postoperative infections, high Lund-Mackay scores, high Lund-Kennedy scores, and $dNLR \geq 2.49$ were identified as independent risk factors for postoperative recurrence in CRS patients with NP ($P < 0.05$). **Conclusion** An increased dNLR is associated with disease severity and recurrence in patients with CRS and NP, making it an important marker for predicting the disease severity in these patients.

【KEY WORDS】 Derived neutrophil/lymphocyte ratio; Chronic sinusitis; Nasal polyps; Relapse

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20230910);秦皇岛市卫生健康委员会(202101A114)

单位作者:秦皇岛市第一医院耳鼻喉科,河北,秦皇岛 066000

*通信作者:杨一卿, E-mail: yangyiqing1989@126.com

慢性鼻窦炎(chronic sinusitis, CRS)伴鼻息肉(nasal polyp, NP)是一种慢性炎症性疾病,治疗以外科手术为主,能够精准地清除病变组织,恢复鼻窦的通气 and 引流功能^[1]。但患者术后仍面临着较高的复发风险,这对患者的身心健康造成了严重的影响^[2]。因此,准确评估CRS伴NP患者的病情严重程度及术后复发风险至关重要。衍生中性粒细胞淋巴细胞比值(derived neutrophil/lymphocyte ratio, dNLR)是基于血常规参数提出一种新型炎症标志物,其数据非常容易收集且成本较低。既往文献报道显示^[3-4],dNLR对结直肠癌、乳腺癌患者的预后具有较强的预测作用。本研究主要探讨dNLR与CRS伴NP患者病情严重程度、术后复发的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年5月至2023年7月秦皇岛市第一医院收治的152例CRS伴NP患者作为研究对象。纳入标准:①入组患者为成年人,对本研究知情同意;②临床诊断为CRS伴NP^[5],均接受鼻内镜手术治疗;③能够提供完整的病例资料者;④依从性良好,积极配合调查者。排除标准:①合并支气管扩张症、肺结核等其它呼吸系统疾病者;②合并良性或恶性肿瘤者;③长期服用糖皮质激素者;④合并严重的感染、重要障碍功能障碍者;⑤怀孕或产后女性;⑥有精神障碍、耳聋等疾病,无法进行正常沟通者;⑦随访脱落。本院医学伦理委员会已审核批准本次试验。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

查询病历报告收集患者的临床资料,包括人口学资料:性别、年龄、吸烟等;疾病相关资料:病程、鼻息肉数量、术后感染、白细胞计数、嗜酸粒细胞(eosinophils, EOS)等。

1.2.2 实验室指标检测

通过外周肘静脉抽取患者入院次日空腹状态下的静脉血标本3 mL,采用全自动血液细胞分析仪(江西特康科技有限公司,型号:TEK8510)检测白细胞计数、中性粒细胞计数,并计算dNLR,计算公式为:dNLR=中性粒细胞计数/(白细胞计数-中性粒细胞计数)。

1.2.3 病情严重程度评估

采用Lund-Mackay评分和Lund-Kennedy评分^[6]评估患者病情严重程度。Lund-Mackay评分:

鼻窦区域(上颌窦、前组筛窦、后组筛窦、蝶窦、额窦)无异常、部分混浊、完全混浊分别计0、1、2分,窦口鼻道复合体无阻塞、阻塞分别计0、2分,分别在左右两侧进行评分,最高分值为24分,分值越高提示病情越严重。Lund-Kennedy评分:由息肉、黏膜水肿、鼻漏3个维度组成,采用Likert 0-2级计分法,分别在左右两侧进行评分,最高分值为12分,分值越高提示病情越严重。

1.2.4 随访

记录患者术后6个月内的复发情况,并计算复发率。复发是指患者症状无明显改善,鼻内镜检查可见鼻息肉、黏浓涕,鼻窦腔黏膜充血水肿,鼻口再次闭锁或狭窄^[7]。

1.3 统计学分析

采用SPSS 23.0统计学软件分析数据。计量资料用($\bar{x} \pm s$)描述,采用 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验;采用受试者工作特性曲线(receiver operating characteristic, ROC)评估dNLR对CRS伴NP患者病情的预测价值;采用Pearson相关分析探讨CRS伴NP患者dNLR水平与Lund-Mackay评分、Lund-Kennedy评分的相关性;采用单因素及多因素Logistic回归分析探讨CRS伴NP患者术后复发的影响因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 dNLR对CRS伴NP患者病情严重程度的预测价值

绘制ROC曲线,dNLR预测CRS伴NP患者病情严重程度的曲线下面积(area under curve, AUC)(95%CI)为0.873(0.821~0.925),截点值为2.49,特异度为0.659,灵敏度为0.914。见图1。根据dNLR截点值并分为低dNLR组($dNLR < 2.49$, $n = 93$)和高dNLR组($dNLR \geq 2.49$, $n = 59$)。

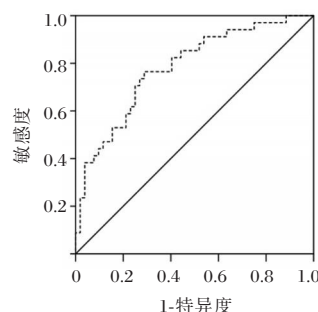


图1 ROC曲线

2.2 两组临床资料比较

高 dNLR 组合并哮喘、病程≥5 年、术后感染所占比例均大于低 dNLR 组，嗜酸粒细胞水

平、Lund-Mackay 评分、Lund-Kennedy 评分高于低 dNLR 组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

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

维度		低 dNLR 组 ($n=93$)	高 dNLR 组 ($n=59$)	t/χ^2 值	P 值
性别	男	45 (48.39)	28 (47.56)	0.012	0.911
	女	48 (51.61)	31 (52.54)		
年龄 (岁)		43.57±5.36	43.29±5.32	0.315	0.753
体质指数 (kg/m^2)		23.16±4.45	23.08±4.41	0.108	0.914
吸烟		31 (33.33)	22 (37.29)	0.249	0.618
合并高血压		9 (9.68)	6 (10.17)	0.010	0.921
合并糖尿病		2 (2.15)	4 (6.78)	1.002	0.317
合并哮喘		5 (5.38)	9 (15.25)	4.212	0.040
病程	<5 年	54 (58.06)	23 (38.98)	5.258	0.022
	≥5 年	39 (41.94)	36 (61.02)		
鼻息肉数量	单发性	60 (64.52)	36 (61.02)	0.190	0.663
	多发性	33 (35.48)	23 (38.98)		
术后感染	是	10 (10.75)	15 (25.42)	5.654	0.017
	否	83 (89.25)	44 (74.58)		
术后鼻腔粘连	是	46 (49.46)	30 (50.85)	0.028	0.868
	否	47 (50.54)	29 (49.15)		
白细胞计数 ($\times 10^9/\text{L}$)		10.41±2.02	10.96±2.05	1.627	0.106
血红蛋白 (g/L)		116.49±12.41	117.03±12.44	0.261	0.794
血小板计数 ($\times 10^9/\text{L}$)		156.82±17.43	156.49±17.41	0.114	0.910
嗜酸粒细胞 (%)		4.45±1.05	6.39±1.48	9.444	<0.001
Lund-Mackay 评分 (分)		9.44±1.37	14.28±2.41	15.778	<0.001
Lund-Kennedy 评分 (分)		3.62±0.56	5.37±1.24	11.853	<0.001

2.3 CRS 伴 NP 患者 dNLR 与 Lund-Mackay、Lund-Kennedy 评分的相关性

Pearson 相关分析显示, CRS 伴 NP 患者 dNLR 水平与 Lund-Mackay 评分、Lund-Kennedy 评分均呈正相关 ($r=0.468, 0.535$, 均 $P<0.05$)。

2.4 两组复发率比较

随访 6 个月后, 152 例 CRS 伴 NP 患者有 34 例复发, 复发率为 22.37%。高 dNLR 组复发率为 38.98% (23/59), 高于低 dNLR 组 11.83% (11/93), 差异有统计学意义 ($\chi^2=15.329, P<0.05$)。

2.5 CRS 伴 NP 患者术后复发的单因素及多因素 Logistic 回归分析

以 CRS 伴 NP 患者术后是否复发作为因变量 (否=0, 是=1), 以临床资料、dNLR 作为自变量, 将

单因素 Logistic 回归分析中有统计性意义的因素纳入多因素 Logistic 回归分析, 结果显示, 病程≥5 年、术后感染、Lund-Mackay 评分高、Lund-Kennedy 评分高、dNLR≥2.49 是 CRS 伴 NP 患者术后复发的独立危险因素 ($P<0.05$)。见表 2~3。

3 讨论

近年来 CRS 伴 NP 在全球范围内的发病率呈现出逐年上升的趋势, 这与环境污染加重、不良生活方式、过敏原增多等因素有关。目前国内 CRS 伴 NP 的手术治疗技术已经非常成熟, 治疗效果显著, 但术后仍有复发的可能性。积极探索与 CRS 伴 NP 相关的标记物有着重要的临床应用价值。

dNLR 用中性粒细胞计数除以剩余白细胞 (即

表 2 CRS 伴 NP 患者术后复发的单因素 Logistic 回归分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR (95% CI) 值	P 值
合并哮喘	否=0; 是=1	0.513	0.286	3.217	1.670 (0.954~2.926)	0.073
病程	<5 年=0; ≥5 年=1	0.826	0.186	19.271	2.284 (1.586~3.289)	<0.001
鼻息肉数量	单发性=0; 多发性=1	0.487	0.273	3.182	1.627 (0.953~2.779)	0.074
术后感染	否=0; 是=1	0.912	0.202	20.384	2.489 (1.675~3.698)	<0.001
嗜酸粒细胞	以原数值输入	0.539	0.296	3.316	1.714 (0.960~3.062)	0.069
Lund-Mackay 评分	以原数值输入	0.769	0.187	16.911	2.158 (1.496~3.113)	<0.001
Lund-Kennedy 评分	以原数值输入	0.802	0.191	17.631	2.230 (1.534~3.243)	<0.001
dNLR	<2.49=0; ≥2.49=1	1.120	0.228	24.131	3.065 (1.960~4.792)	<0.001

表3 CRS伴NP患者复发的多因素 Logistic 回归分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	P 值
性别	女=0;男=1	0.219	0.129	2.882	1.245(0.967~1.603)	0.090
年龄	以原数值输入	0.323	0.187	2.983	1.381(0.957~1.993)	0.084
吸烟	否=0;是=1	0.241	0.139	3.0006	1.273(0.69~1.671)	0.083
合并高血压	否=0;是=1	0.325	0.187	3.021	1.384(0.959~1.997)	0.082
合并糖尿病	否=0;是=1	0.276	0.161	2.939	1.318(0.961~1.807)	0.086
合并哮喘	否=0;是=1	0.638	0.165	14.951	1.893(1.370~2.615)	<0.001
病程	<5年=0;≥5年=1	0.725	0.179	16.402	2.065(1.454~2.932)	<0.001
鼻息肉数量	单发性=0;多发性=1	0.692	0.165	17.589	1.998(1.446~2.760)	<0.001
术后感染	否=0;是=1	0.774	0.181	18.286	2.168(1.521~3.092)	<0.001
术后鼻腔粘连	否=0;是=1	0.305	0.176	3.003	1.357(0.961~1.915)	0.083
白细胞计数	以原数值输入	0.311	0.185	2.826	1.365(0.950~1.961)	0.093
血红蛋白	以原数值输入	0.244	0.142	2.953	1.276(0.966~1.686)	0.086
血小板计数	以原数值输入	0.216	0.133	2.638	1.241(0.956~1.611)	0.104
嗜酸粒细胞	以原数值输入	0.691	0.179	14.902	1.996(1.405~2.834)	<0.001
Lund-Mackay 评分	以原数值输入	0.714	0.178	16.090	2.042(1.441~2.895)	<0.001
Lund-Kennedy 评分	以原数值输入	0.705	0.176	16.045	2.024(1.443~2.858)	<0.001
dNLR	<2.49=0;≥2.49=1	0.849	0.194	19.152	2.337(1.598~3.419)	<0.001

白细胞总数减去中性粒细胞数)表示。徐海波等^[8]研究显示,dNLR与乙型肝炎肝硬化患者病情严重程度有关。王绪娟等^[9]研究显示,术前dNLR升高是乳腺癌术后复发转移的独立危险因素。本研究结果提示,dNLR升高可能与CRS伴NP患者病情严重程度、术后复发有关。中性粒细胞活化之后可释放中性粒细胞弹性蛋白酶、组织蛋白酶G等,能够降解鼻黏膜中的蛋白质成分,促进炎症细胞的浸润和组织的损伤,从而增加CRS复发风险^[10]。Yan等^[11]研究发现,中性粒细胞弹性蛋白酶可通过miR-146a诱导慢性鼻窦炎中MUC5AC的过表达,导致黏液素分泌量上升,影响上皮细胞纤毛运动,从而加重CRS患者病情。中性粒细胞计数过高提示CRS伴NP患者血液循环中的炎症介质和细胞因子水平过高,可破坏鼻黏膜屏障功能,导致病情加重,同时为病原菌在鼻部的定植创造了有利条件,导致感染反复发生^[12-13]。而感染是导致CRS伴NP患者复发的重要原因之一。淋巴细胞主要负责机体的适应性免疫反应,其水平低提示患者免疫系统功能下降,无法抵御病原菌的入侵,可加重鼻黏膜上皮细胞损伤,从而促使病情进展^[14]。同时淋巴细胞在组织修复和再生过程也起到重要的作用,其水平降低会影响鼻黏膜和鼻息肉组织的修复、再生,导致病情迁延不愈,从而增加复发的可能性^[15]。

本研究ROC曲线分析提示,dNLR可作为预测CRS伴NP患者病情严重程度的标记物,监测其变化可为临床治疗提供可靠的依据。多因素分析显示,病程≥5年、术后感染、Lund-Mackay评分高、Lund-Kennedy评分高、dNLR≥2.49是CRS伴NP患者术后

复发的独立危险因素。结果说明在CRS伴NP患者术后管理中需要提高对上述高风险人群的关注度,尽早采取预防性措施以降低术后复发的风险。

综上所述,dNLR与CRS伴NP患者病情严重程度、术后复发有关,可作为预测CRS伴NP患者病情严重程度的重要标记物。

参考文献

- [1] 刘雪梅,陈慧,吴丹,等.时效性激励护理对慢性鼻窦炎患者疾病认知及自我感受负担的影响[J].保健医学研究与实践,2024,21(6):110-115.
- [2] 徐蓉,刘甜甜,陈晓宇.外周血EOS、IL-21、CCL4与慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者术后复发的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(4):683-686.
- [3] 宋志岗,连彦军,刘帅,李颖.术前血清CEA、CA199、dNLR与PLR联合检测对结直肠癌患者预后评估的价值[J].医学综述,2023,29(19):3998-4002.
- [4] Wang X, Zhao W, He L, et al. dNLR and TILS can be used as indicators for prognosis and efficacy evaluation of neo-adjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(11): 13093-13098.
- [5] 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.中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2019,54(2):81-100.
- [6] 周倩,徐鹏育,曾伟.血清IL-17A、IFN- γ 与慢性鼻窦炎伴鼻息肉严重程度的相关性[J].广东医学,2024,45(5):631-635.
- [7] 胡焱,陈剑波.鼻窦CT评分联合特异性免疫球蛋白E和白细胞介素6预测嗜酸粒细胞型慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者术后复发风险的价值[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2023,30(8):529-532.
- [8] 徐海波,苏惠婷,熊异平,等.乙型肝炎肝硬化患者外周血dNLR、MLR和SII变化及其临床意义分析[J].实用肝脏病杂志,2023,26(1):71-74.

(下转第498页)

·论 著·

AMH和FSH对使用PPOS方案的IVF/ICSI-ET患者发生卵巢反应的预测价值

黄玉群 程红*

【摘要】目的 分析抗苗勒管激素(AMH)、促卵泡素(FSH)对使用卵泡期高孕激素状态下促排卵(PPOS)方案的体外受精/卵胞浆内单精子注射-胚胎移植(IVF/ICSI-ET)患者卵巢反应的预测价值。**方法** 选取2021年10月至2022年12月于东莞广济医院生殖医学中心接受PPOS方案的278例IVF/ICSI-ET女性患者,根据患者的人绒毛膜促性腺激素(hCG)注射日血清雌二醇(E2)水平和获卵数,将278例患者分为卵巢低反应组76例、卵巢正常反应组112例及卵巢高反应组90例。比较患者AMH、FSH、血清促黄体生成素(LH)、E2、睾酮(T)、血清孕酮(P)水平,采用ROC曲线分析AMH、FSH对卵巢低反应和高反应的预测价值。**结果** AMH和FSH的水平:高反应组>正常反应组>低反应组,差异有统计学意义($P<0.05$),三组间其他指标比较差异无统计学意义($P>0.5$)。低反应组AMH、FSH曲线下面积为0.733、0.823;高反应组AMH、FSH曲线下面积为0.781、0.924。**结论** AMH、FSH对IVF/ICSI-ET中卵巢低反应及高反应的患者具有较好的预测价值,有一定的临床指导意义。

【关键词】 不孕症; 卵泡期高孕激素状态下促排卵; 体外受精/卵胞浆内单精子注射-胚胎移植技术; 血清抗苗勒管激素; 促卵泡激素

Predictive value of AMH and FSH for ovarian response in IVF/ICSI-ET patients using PPOS regimen

HUANG Yuqun, CHENG Hong*

(Reproductive Medicine Center, Guangji Hospital, Dongguan, Guangdong, China, 510033)

【ABSTRACT】 Objective To predict the correlation and value of anti-Mullerian hormone (AMH) and follicle-stimulating hormone (FSH) on ovarian response in patients with in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer (IVF/ICSI-ET) using the progestin-activated ovarian stimulation (PPOS) protocol. **Methods** A total of women who underwent 278 IVF/ICSI-ET and the PPOS protocol at the Reproductive Medicine Center of Dongguan Guangji Hospital from October 2021 to December 2022 were selected. These patients were divided into three groups based on their serum estradiol (E2) level on the day of human chorionic gonadotropin (hCG) injection and the number of oocytes retrieved: the poor ovarian response group (76 cases), the normal ovarian response group (112 cases), and the high ovarian response group (90 cases). The levels of AMH, FSH, serum luteinizing hormone (LH), E2, testosterone (T), and serum progesterone (P) were compared. Among these groups, the predictive value of AMH and FSH for poor ovarian response and high ovarian response was analyzed using ROC curves. **Results** The levels of AMH and FSH were as follows: high response group > normal response group > low response group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The areas under the curve of AMH and FSH in the low response group were 0.733 and 0.823, respectively. In the high response group, the AUC of AMH and FSH in high response group were 0.781 and 0.924. **Conclusion** AMH and FSH are valuable predictors for patients with low ovarian response and high ovarian response in IVF/ICSI-ET, providing important clinical guidance.

【KEY WORDS】 Infertility; Ovulation induction with high progesterone in follicular phase; In vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer; Serum anti-Mullerian hormone; Follicle stimulating hormone

基金项目: 东莞市社会发展科技项目(20211800901642)

作者单位: 东莞广济医院生殖医学中心, 广东, 东莞 510033

*通信作者: 程红, E-mail: 565741190@qq.com

体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)/卵胞浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)-胚胎移植(embryo transfer, ET)技术能帮助很多不孕症夫妇成功妊娠,其核心之一就是超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)^[1]。但患者在治疗期间容易出现黄体生成素(luteinizing hormone, LH)峰紊乱、卵母细胞产量下降、质量差等情况^[2]。如何解决这些问题从而提高卵细胞活产率是IVF/ICSI-ET过程中极其重要的步骤之一。抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)是一种由女性卵巢分泌的二聚体糖蛋白,其主要生理功能是在性腺分化过程中抑制苗勒氏管的发育。促卵泡素(follicle-stimulating hormone, FSH)是由垂体前叶分泌的一种糖蛋白,能促进小卵泡进入等级发育阶段。研究发现^[3-4],卵泡期高孕激素状态下促排卵(progestin-primed ovarian stimulation, PPOS)抑制LH峰的发生,助孕结果较好。同时,PPOS方案有用药简单、花费较少、卵巢刺激较小等优势,目前是国内外较为良好的助孕方案。本研究旨在探讨AMH、FSH对使用PPOS方案的IVF/ICSI-ET患者卵巢反应的价值。报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与分组

选取2021年10月至2022年12月于东莞广济医院生殖医学中心接受PPOS方案的IVF/ICSI女性患者,共278例,年龄在29至40岁之间,平均(32.46 ± 5.84)岁,收集患者的基线资料并进行比较。本研究已经得到院医学伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

纳入标准:①胚胎移植方案均为新鲜胚胎移植周期;②夫妇双方染色体正常;③早期流产组患者为妊娠12周前胚胎停育;④拥有完整的临床病历资料;⑤研究对象的临床数据可靠。

排除标准:①进行了 ≥ 3 个周期IVF/ICSI促排卵周期;②人绒毛膜促性腺激素(Human chorionic gonadotropin, hCG)日内膜厚度 < 8 mm;③hCG日用大剂量FSH冲击者;④存在未被处理的子宫腔疾病,包括中重度宫腔粘连、粘膜下肌瘤、内膜息肉、结核等;⑤合并甲状腺功能异常、血糖异常等病情未控制平稳者;⑥男女双方中有任何一方存在染色体异常者。

根据患者hCG注射日血清雌二醇(estradiol, E2)水平和获卵数,将278例患者分为卵巢低反应组76例($E2 < 5\ 000$ pmol/L,获卵数 ≤ 5 个)、卵巢正常反应组112例($E2$ 在 $5\ 000 \sim 18\ 350$ pmol/L之间,获卵数6~15个)及卵巢高反应组90例($E2 > 18\ 350$ pmol/L或获卵数 > 15 个)^[5]。

1.2 方法

PPOS方案^[6]:月经第2~4天开始予以促性腺激素Gn(生产企业:北京赛升药业股份有限公司,批准文号:国药准字H11021262,规格:500 IU)注射,初始用药剂量为150~225 IU/d,地屈孕酮片(生产单位:荷兰Abbott biologicals B.V.公司,批准文号:H20170221,规格:10 mg)口服20 mg/d。予以阴道超声监测卵泡的生长发育情况,至少有1~2个卵泡直径超过17~18 mm时停用促性腺激素Gn、地屈孕酮,并于当日予以人绒毛膜促性腺激素hCG(生产单位:丽珠集团丽珠制药厂,批准文号:国药准字H44020674,规格:5 000 IU)注射5 000~10 000 IU。

1.3 观察指标

各个分组下女方体内激素水平:采用酶联免疫吸附法检测血清中AMH、FSH、LH、E2、睾酮素(testosterone, T)和黄体酮(progesterone, P)水平,试剂盒购于广州艾尔吉生物科技公司。

1.4 统计学方法

采用统计学软件SPSS 19.0进行数据处理分析;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间为 F 检验。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组基线资料比较

各组患者在不孕年龄、BMI、年龄、移植胚胎数中的比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),三组移植优胚数、FSH和AMH的水平:高反应组 $>$ 正常反应组 $>$ 低反应组,差异存在统计学意义。($P < 0.05$)。见表1。

2.2 不同组别卵巢反应相关指标比较

AMH水平:卵巢高反应组 $>$ 卵巢正常反应组 $>$ 卵巢低反应组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FSH水平:卵巢高反应组 $>$ 卵巢正常反应组 $>$ 卵巢低反应组,差异有统计学意义($P < 0.05$),三组T、LH、E2、P水平比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表1 三组基线资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	低反应组 (n=76)	正常组 (n=112)	高反应组 (n=90)	F值	P值
不孕年限	3.92±3.36	4.37±3.19	4.06±3.32	0.476	0.508
BMI	20.39±3.23	21.65±2.94	21.94±3.05	0.194	0.362
女方年龄	35.93±5.03	35.83±6.05	35.92±5.92	0.083	0.255
移植胚胎数	1.86±0.31	1.89±0.34	1.81±0.35	0.061	0.480
移植优胚数	1.39±0.64 ^{ab}	1.46±0.47 ^b	1.55±0.60	0.038	0.032
FSH(U/L)	4.5±1.33 ^{ab}	5.3±1.64 ^b	5.6±1.72	2.567	0.043
AMH(ng/mL)	1.38±0.98 ^{ab}	1.59±1.30 ^b	1.94±1.24	-6.453	0.016

与正常组比较, ^aP<0.05, 与高反应组比较, ^bP<0.05。

表2 不同组别卵巢反应相关指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	低反应组 (n=76)	正常组 (n=112)	高反应组 (n=90)	F值	P值
AMH (ng/mL)	2.08±0.88 ^{ab}	3.96±1.09 ^b	6.49±1.98	8.247	0.010
T(nmol/L)	1.43±0.54	1.46±0.52	1.39±0.41	1.273	0.465
FSH(U/L)	7.29±2.84 ^{ab}	8.69±2.96 ^b	9.41±2.02	1.837	0.030
LH(U/L)	4.23±2.25	5.52±2.01	5.02±2.12	1.302	0.243
E2 (pmol/L)	155.26±63.92	151.42±54.26	162.12±70.60	1.903	0.165
P(pmol/L)	1.94±1.01	2.01±1.08	2.11±1.19	1.589	0.339

注:与正常组比较, ^aP<0.05;与高反应组比较, ^bP<0.05。

2.3 ROC曲线分析 AMH、FSH对IVF/ICSI-ET中卵巢低反应的预测价值

采用ROC曲线分析AMH、FSH对IVF/ICSI-ET卵巢低反应的预测价值,曲线下面积分别为0.733、0.823。见图1。

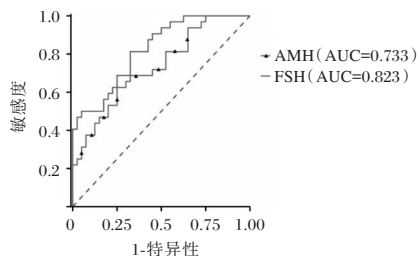


图1 ROC曲线分析AMH、FSH对IVF/ICSI-ET超促排卵中卵巢低反应的预测价值

2.4 ROC曲线分析 AMH、FSH对IVF/ICSI-ET中卵巢高反应的预测价值

采用ROC曲线分析AMH、FSH对IVF/ICSI-ET超促排卵中卵巢高反应的预测价值,曲线下面积分别为0.781、0.924。见图2。

3 讨论

随着女性生育年龄的不断推迟及国家三胎政策全面开放,有生育需求的高龄女性逐渐增加。35岁后的高龄女性卵巢储备功能低下,生育机率下降,因此,许多高育龄女性需要IVF/ICSI-ET治疗才能受孕。在应用IVF/ICSI-ET治疗不孕症的

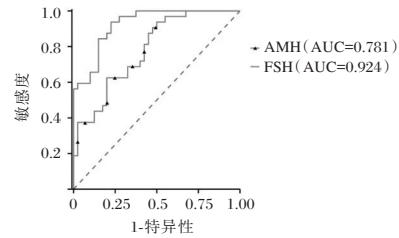


图2 ROC曲线分析AMH、FSH对IVF/ICSI-ET超促排卵中卵巢高反应的预测价值

患者中,评估患者卵巢储备功能及预测卵巢对外源性促性腺激素的反应是质量的关键,有助于提高IVF/ICSI-ET成功率。AMH是由女性体内的卵巢窦前卵泡及小窦状卵泡颗粒细胞分泌的一种糖蛋白,可间接反映卵巢的储备功能,可作为卵泡成熟的自分泌和旁分泌调节剂,对于苗勒管的生理退化至关重要^[7-8]。AMH在临床上可用作卵巢储备减少的筛查工具,血清AMH的扰动与多种病理状况有关,例如多囊卵巢综合征^[9]。在辅助生殖技术领域,血清AMH测定被广泛用于预后信息。有研究表明^[10],基础血清AMH是反映始基卵泡数目的最准确指标之一,同时也是反映卵巢功能的最可靠指标之一。有研究表明^[11],AMH不仅是评估卵巢储备功能、预测卵巢低反应的理想指标,而且还可以预测成功刺激卵巢的机会、胚胎质量及怀孕率等。本研究结果显示,AMH水平由高到低依次为卵巢高反应组>卵巢正常反应组>卵巢低反应组,差异有统计学意义;ROC曲线结果表明,AMH预测卵巢低反应组的AUC值为0.733,预测卵巢高反应组的AUC值为0.781,均大于0.5。表明血清AMH的水平随着卵巢反应功能的减弱而逐渐下降,与卵巢储备功能息息相关,对卵巢的反应性具有较好的预测价值。

FSH是一种由垂体前叶分泌的神经内分泌激素,是由共同的 α 亚基和特异性 β 亚基组成的复杂异二聚体糖蛋白。FSH的周期性变化在卵泡发育的不同阶段起着不同作用,促性腺激素释放激素和卵巢类固醇的反馈调节影响卵母细胞质量、排卵甚至女性生殖生理学的整体生殖结局,其在女性生殖中起着至关重要的作用^[11-12]。反过来,FSH作用于滤泡颗粒细胞,诱导关键类固醇激素雌激素的产生和分泌,刺激卵巢卵泡的生长和成熟,从而提高卵母细胞的质量和恢复率^[13-14]。因此,在垂体-卵巢轴水平,连续FSH治疗诱导高排卵被广泛用作大多数辅助生殖技术的金标准方案^[15-16]。在本研究中,不同卵巢反应组患者的FSH

的比较:卵巢高反应组>卵巢正常反应组>卵巢低反应组,差异有统计学意义;且ROC曲线结果表明,FSH在卵巢低反应组的AUC值为0.823,在卵巢高反应组的AUC值为0.924,均大于0.5,表明FSH作为卵巢反应预后因素具有良好的预测能力。

综上所述,AMH、FSH对IVF/ICSI-ET中卵巢低反应及高反应的患者具有较好的预测价值,有一定的临床指导意义。

参考文献

- [1] 王飞虹,谈勇,殷燕云,等.滋阴补阳方序贯治疗联合PPOS方案对预期低反应IVF-ET患者妊娠结局的影响[J].中医药导报,2022,28(3):47-50.
 - [2] 杨泽星,文娅,速存梅,等.卵泡期高孕激素状态下促排与微刺激方案在卵巢储备功能下降患者中的临床结局比较[J].昆明医科大学学报,2022,43(12):53-57.
 - [3] Kuang Y, Chen Q, Fu Y, et al. Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization [J]. Fertil Steril, 2015,104(1):62-70.
 - [4] Wang Y, Kuang Y, Chen Q, et al. Gonadotropin-releasing hormone antagonist versus progestin for the prevention of premature luteinising hormone surges in poor responders undergoing in vitro fertilisation treatment: study protocol for a randomised controlled trial[J]. Trials, 2018,19(1):455.
 - [5] 莫莉菁,付伟平,朱琴,等.联合指标对多囊卵巢综合征患者发生卵巢高反应的预测价值[J].中国妇幼保健,2021,36(6):1324-1328.
 - [6] 张睿,孙玉华,孙玉琴.拮抗剂方案和PPOS方案在波塞冬预期低预后患者中的促排卵结局分析[J].生殖医学杂志,2023,32(5):677-684.
 - [7] 林梦妍,郑晶.血清AMH水平与PCOS患者内分泌功能变化的研究进展[J].山东医药,2023,63(10):113-115.
 - [8] 王亚静,蒋珊珊,庞俏燕,等.抗苗勒氏管激素水平预测卵巢相关疾病价值的研究进展[J].广西医学,2021,43(4):492-494.
 - [9] 程夏霖.抗苗勒氏管激素对多囊卵巢综合征诊疗的研究进展[J].实用妇科内分泌杂志(电子版),2018,5(5):5-6.
 - [10] 曹冬焱,毕晓宁,沈铿.抗苗勒氏管激素在妇科肿瘤领域的应用前景[J].山东大学学报(医学版),2018,56(5):8-12.
 - [11] 闫益芬,晁晶,戴峻.卵巢储备功能常用预测指标的临床价值[J].医学综述,2018,24(21):4318-4323.
 - [12] 农建宏,何敏,刘欣,等.抗苗勒氏管激素在生殖医学领域应用研究进展[J].黑龙江医学,2020,44(5):701-704.
 - [13] 柯嘉敏,夏薇,苏宁,等.卵巢反应性指标的临床研究进展[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2018,37(1):62-65.
 - [14] 王丽丹,朱玲,程佳梨.血清抗苗勒氏管激素抑制素B 卵泡刺激素及黄体生成素水平检测对育龄期多囊卵巢综合征治疗后自然妊娠失败的预测价值[J].中国妇幼保健,2023,38(10):1858-1862.
 - [15] 丁静,应佳微.戊酸雌二醇片联合地屈孕酮片对多囊卵巢综合征患者性激素及卵巢血流动力学的影响[J].中国妇幼保健,2023,38(9):1656-1659.
 - [16] 江欢,徐槿炎.辅助生殖技术控制性促排卵中过早黄素化的预防策略[J].生殖医学杂志,2022,31(12):1768-1771.
-
- (上接第490页)
- [10] Guinot PG, Andrei S, Durand B, et al. Balanced Nonopioid General Anesthesia With Lidocaine Is Associated With Lower Postoperative Complications Compared With Balanced Opioid General Anesthesia With Sufentanil for Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass: A Propensity Matched Cohort Study[J]. Anesth Analg, 2023, 136(5):965-974.
 - [11] Sun W, Wang J, Wang J, et al. Esketamine combined with pregabalin on acute postoperative pain in patients undergoing resection of spinal neoplasms: study protocol for a randomized controlled trial[J]. Trials, 2023, 24(1):144.
 - [12] 吕婷敏,彭祝丁,唐镇宇,等.亚麻醉剂量艾司氯胺酮复合丙泊酚-瑞芬太尼在老年患者纤维支气管镜检查术中的应用[J].临床麻醉学杂志,2022,38(12):1264-1268.
 - [13] Zhu XZ, Wang JQ, Wu YH. MG53 ameliorates nerve injury induced neuropathic pain through the regulation of Nrf2/HO-1 signaling in rats [J]. Behav Brain Res, 2023, 449(5):114489.
 - [14] 陈天德,曹玉芳.类泛素蛋白FAT10通过Nrf2/HO-1通路对心肌细胞缺血缺氧修复损伤的保护作用[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(8):1329-1333.
 - [15] Zhou X, Li Q, Luo Q, et al. A single dose of ketamine relieves fentanyl-induced hyperalgesia by reducing inflammation initiated by the TLR4/NF-kappaB pathway in rat spinal cord neurons[J]. Drug Discov Ther, 2023, 17(4):279-288.
-
- (上接第494页)
- [9] 王绪娟,罗永鑫,李陈强,等.术前检查指标dNLR、SII、CRP/ALB对乳腺癌复发转移的预测价值[J].癌变·畸变·突变,2022,34(4):284-288.
 - [10] 张亚明,李智勇,王书敬,等.术前中性粒细胞与淋巴细胞比值和血小板与淋巴细胞比值与CRS术后复发的相关性分析[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2024,38(2):133-139.
 - [11] Yan D, Ye Y, Zhang J, et al. Human Neutrophil Elastase Induces MUC5AC Overexpression in Chronic Rhinosinusitis Through miR-146a[J]. Am J Rhinol Allergy, 2020,34(1):59-69.
 - [12] 刘从卫,李治安,陈金元. NLR、Eos联合鼻窦CT评分预测CRSwNP微创术后复发的价值[J].临床和实验医学杂志,2022,21(17):1877-1880.
 - [13] 张晏林,樊建刚.中性粒细胞在慢性鼻窦炎发病机制中的研究进展[J].实用医院临床杂志,2022,19(1):194-197.
 - [14] 刘堃,张杰,严进,等.外周血中性粒细胞数与淋巴细胞数比值、白细胞介素-6预测慢性鼻窦炎内镜术后复发的价值[J].蚌埠医学院学报,2022,47(4):514-516.
 - [15] 武瑜,李朋,周志强.中性粒细胞/淋巴细胞比值在慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者中的表达及对术后复发的预测价值[J].医学综述,2023,29(23):5532-5536.

· 论 著 ·

溃疡性结肠炎患者血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平的变化及临床意义

王文峰¹ 黄亮² 魏嫦^{1*}

【摘要】目的 分析溃疡性结肠炎(UC)患者血清白细胞介素-33(IL-33)、抗中性粒细胞胞质抗体-免疫球蛋白G(ANCA-IgG)、白细胞介素-6(IL-6)水平在疾病中的变化及临床意义。**方法** 选取2021年1月至2024年1月期间珠海市中西医结合医院消化内科就诊的114例老年UC患者作为UC组,根据患者的病情活动度分为缓解期组22例和活动期组92例(其中轻度组25例,中度组39例,重度组28例),选取同期其他肠道疾病患者61例为其他肠道疾病组。比较各组血清IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平变化,并进行多因素分析影响UC发生的相关因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析三者联合检测对UC患者的诊断效能。**结果** UC组的IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平高于其他肠道疾病组($P<0.05$),UC组有肠壁淋巴结肿大的比例显著高于其他肠道疾病组($P<0.05$);UC组不同病情活动度中IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平:重度组>中度组>轻度组>缓解期组($P<0.05$);多因素分析显示,IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平升高及有肠壁淋巴结肿大是影响发生UC的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,IL-33、ANCA-IgG、IL-6三者联合检测的曲线下面积(AUC)为0.944,联合预测敏感度、特异度为89.5%、91.8%,高于单独检测($P<0.05$)。**结论** 血清IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平变化与UC的发生发展相关,三者在UC患者中均升高水平,联合检测以上指标能提高UC的诊断效能,可为临床诊断UC提供有力参考。

【关键词】 溃疡性结肠炎; 白细胞介素-33; 抗中性粒细胞胞质抗体; 免疫球蛋白G; 白细胞介素-6

Changes and clinical significance of serum IL-33, ANCA-IgG and IL-6 levels in patients with ulcerative colitis

WANG Wenfeng¹, HUANG Liang², WEI Chang^{1*}

(Department of Gastroenterology, Zhuhai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Zhuhai, Guangdong, China, 519000)

【ABSTRACT】 Objective To evaluate the alterations in blood levels of interleukin-6 (IL-6), anti-neutrophil cytoplasmic antibody-immunoglobulin G (ANCA-IgG), and interleukin-33 (IL-33) in ulcerative colitis (UC) patients, as well as their clinical importance. **Methods** The UC group consisted of 114 senior patients with UC who were hospitalized at Zhuhai Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine's Department of Gastroenterology between January 2021 and January 2024. The patients were divided into two groups based on the severity of their disease: the remission group ($n=22$) and the active group ($n=92$), which included the mild group ($n=25$), the moderate group ($n=39$), and the severe group ($n=28$). The group for other intestinal disorders consisted of 61 patients who had been diagnosed within the same time. A correlation analysis was performed and the changes in each group's serum levels of IL-33, ANCA-IgG, and IL-6 were compared. Multivariate analysis was used to examine the associated factors that impact the incidence of UC. The combined detection of the three markers in UC patients was analyzed for diagnostic effectiveness using the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** IL-33, ANCA-IgG, and IL-6 levels were higher in the UC group than in the other disease groups ($P<0.05$). The proportion of intestinal wall lymph node enlargement in the UC group was significantly higher than that in the other intestinal diseases group ($P<$

基金项目:珠海市科技创新局项目(ZH22036201210139PWC)

作者单位:珠海市中西医结合医院消化内科,广东,珠海519000

*通信作者:魏嫦, E-mail:56476973@qq.com

0.05). IL-33, ANCA-IgG, and IL-6 levels in patients with different disease activity in the UC group: severe group > moderate group > mild group > remission group ($P < 0.05$). Multivariate analysis showed that elevated levels of IL-33, ANCA-IgG, IL-6, and intestinal wall lymph node enlargement were independent risk factors for UC ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of combined detection of IL-33, IL-6, and ANCA-IgG was 0.944, and the sensitivity and specificity of combined prediction were 89.5% and 91.8%, respectively, which were higher than those of single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** Changes in blood levels of IL-33, ANCA-IgG, and IL-6 are associated with the development of UC. These biomarkers are all found at higher levels in patients with UC. When all of these markers are detected simultaneously, the accuracy of the UC diagnosis can be enhanced, making them useful biological indicators for the clinical diagnosis of UC.

[KEY WORDS] Ulcerative colitis; Interleukin-33; Anti-neutrophil cytoplasmic antibody; Immunoglobulin G; Interleukin-6

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是消化内科常见的疾病类型,其发病机制尚不完全阐明,可能涉及肠道微生物、环境、免疫、遗传等多种因素,且UC具有病程迁延、反复发作的临床特点,发病率呈逐年上升趋势^[1-2]。因此准确评估UC患者的预后,并采取维持治疗措施,对改善患者预后、预防复发具有重要意义。抗中性粒细胞胞质抗体(Anti-Neutrophils Cytoplasmic Antibodies, ANCA)是单核细胞与多型核细胞质中的重要成分,为UC相关的血清标记物,可用于早期的诊断和鉴别^[3]。白细胞介素-33(Interleukin-33, IL-33)可由多种组织和细胞产生,在调节性T细胞、B细胞和先天免疫细胞的功能中发挥调节作用,并在炎症性肠病患者中水平升高,且与患者的疾病活动指数相关^[4]。白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)是与炎症相关最为典型的细胞因子,可通过IL-6信号传导或IL-6反式信号传导调节肠道免疫,且研究表明活动期炎症性肠病患者的血清IL-6水平显著升高,其浓度与患者疾病的损伤程度一致^[5]。本研究通过分析UC患者的血清IL-33、抗中性粒细胞胞质抗体-免疫球蛋白A(Anti-Neutrophils Cytoplasmic Antibodies-Immunoglobulin G, ANCA-IgG)、IL-6水平变化及诊断效能,旨在为UC诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2024年1月期间珠海市中西医结合医院消化内科就诊的114例老年UC患者作为UC组,选取同期其他肠道疾病患者61名为其他肠道疾病组。其他肠道疾病组患者均为就诊时主诉慢性腹泻、腹胀腹痛、出现水样便,并经检查排除UC的患者。本研究经珠海市中西医结

合医院伦理委员会审核批准。

纳入标准:①UC患者符合《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)》^[6]中关于UC的诊断标准,有典型结肠镜或病理活检证实;②既往未接受UC相关治疗及胃肠手术史;③存在腹痛、黏液脓血便及持续或反复发作的腹泻等临床症状;④患者及家属均知情同意。排除标准:①合并其他急性、慢性感染及血液系统疾病者;②合并恶性肿瘤及其他可引起免疫系统异常的慢性疾病;③患有严重精神疾病及严重肝肾等脏器疾病者;④其他肠道炎症疾病;⑤UC患者出现出血、穿孔、狭窄及肠梗阻等并发症;⑥临床资料不完整,孕妇和哺乳期妇女。

1.2 方法

1.2.1 基线资料收集

收集UC组及其他肠道疾病组的年龄、性别、疼痛部位、大便次数、黏膜强化、病变范围、肠壁增厚、肠壁淋巴结肿大、体重指数、病程、合并疾病等基线资料。

1.2.2 血清IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平检测

于空腹采集两组静脉血5 mL,使用离心机以3 500 r/min转速、10 cm离心半径,离心10 min,留取血清待检。采用酶联免疫吸附试验测定血清IL-33、ANCA-IgG、IL-6水平。

1.2.3 病情严重程度评估

参考改良Mayo评分评估UC组的病情^[7],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。根据得分将患者分为缓解期组22例和活动期组92例,其中轻度组25例,中度组39例,重度组28例。

1.4 统计学处理

采用SPSS 27.0处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,组内两两比较采

用 $LSD-t$ 或 q 检验,两组间独立样本比较采用 t 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多因素 Logistic 回归分析影响发生 UC 的因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标诊断 UC 价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平比较

UC 组的血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平明显高于其他肠道疾病组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	ANCA-IgG (mmol/L)	IL-33 (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
其他肠道疾病组	61	1.46±0.39	29.83±5.07	4.69±1.33
UC 组	114	1.94±0.48	39.14±9.26	7.03±2.14
<i>t</i> 值		6.712	7.284	7.769
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组临床资料比较

与其他肠道疾病组相比,UC 组有肠壁淋巴结肿大的比例更高($P<0.05$),其他指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 UC 组中不同病情程度的的血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平比较

UC 组中不同病情程度的的血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平比较:重度组>中度组>轻度组>缓解期组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 多因素 Logistic 回归分析

以是否发生为因变量(1=是,2=否),纳入有统计学意义的指标:肠壁淋巴结肿大及血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平为自变量,进行多元 Logistic 回归分析,结果显示,IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平升高及有肠壁淋巴结肿大是影响发生 UC 的独立危险因素($P<0.05$)。见表 4。

2.5 血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 诊断 UC 的 ROC 分析

ROC 曲线显示,三者联合检测的曲线下面积(AUC)为 0.944,敏感度、特异度为 89.5%、91.8%,高于任一指标单独检测,联合检测的诊断效能最高($P<0.05$)。见表 5、图 1。

3 讨论

UC 好发于大肠粘膜和黏膜下层,以异常免疫反应导致肠道组织损伤和破坏为主要特征^[8]。UC

表 2 两组临床特征比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $n(\%)$]

临床资料	UC 组 (<i>n</i> =114)	其他肠道 疾病组 (<i>n</i> =61)	χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	41.15±5.06	39.73±4.82	1.798	0.074
性别				
男	64(56.14)	39(63.93)	0.997	0.318
女	50(43.86)	22(36.07)		
病程(年)	2.28±0.65	2.34±0.79	1.437	0.152
BMI(kg/m ²)	21.69±4.57	21.83±5.03	0.186	0.852
病变范围				
直肠乙状结肠	36(31.58)	25(40.98)	1.557	0.459
左半结肠	57(50.00)	26(42.62)		
全结肠	21(18.42)	10(16.39)		
疼痛部位				
无	34(29.82)	19(31.15)	4.633	0.201
左腹	19(16.67)	8(13.11)		
中腹	57(50.00)	27(44.26)		
右腹	4(3.51)	7(11.48)		
大便次数(次/天)				
1~3	51(44.74)	36(59.02)	3.241	0.072
4~6	63(55.26)	25(40.98)		
合并疾病				
有	53(46.49)	23(37.70)	1.249	0.264
无	61(53.51)	38(62.30)		
黏膜强化				
有	48(42.11)	19(31.15)	2.019	0.155
无	66(57.89)	42(68.85)		
肠壁增厚				
有	61(53.51)	38(62.30)	1.249	0.264
无	53(46.49)	23(37.70)		
肠壁淋巴结肿大				
有	43(37.72)	12(19.67)	6.006	0.014
无	71(62.28)	49(80.33)		

表 3 UC 组中不同病情程度的的血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	ANCA-IgG (mmol/L)	IL-33 (ng/mL)	IL-6 (ng/mL)
缓解期组	22	1.50±0.29	31.27±6.18	5.09±1.03
轻度组	25	1.76±0.40 ^a	35.72±7.40 ^a	6.13±1.57 ^a
中度组	39	2.03±0.46 ^{ab}	41.14±8.35 ^{ab}	7.27±2.04 ^{ab}
重度组	28	2.32±0.68 ^{abc}	45.59±10.33 ^{abc}	9.02±2.38 ^{abc}
<i>F</i> 值		13.229	14.269	20.194
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与缓解期组比较,^a $P<0.05$;与轻度组比较,^b $P<0.05$;与中度组比较,^c $P<0.05$ 。

表 4 UC 组多因素 Logistic 回归分析

指标	β 值	<i>S.E</i> 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
肠壁淋巴结肿大	2.305	1.094	4.649	10.024	1.233~81.470	0.031
ANCA-IgG	0.074	0.023	10.352	1.077	1.029~1.126	0.001
IL-33	0.837	0.226	13.716	2.309	1.483~3.596	<0.001
IL-6	1.125	0.297	14.348	3.080	1.721~5.513	<0.001

诊断主要依赖于消化道内镜和黏膜组织病理学活检,但均为侵入性操作,部分患者接受度较差,且可能导致对不典型的内镜体征或病理特征患者诊

表5 血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平对 UC 患者的诊断效能

指标	AUC	截断值	约登指数	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
ANCA-IgG	0.785	1.755	0.469	0.715~0.854	64.9	82.0	<0.001
IL-33	0.815	35.745	0.560	0.753~0.877	67.5	88.5	<0.001
IL-6	0.813	5.935	0.536	0.751~0.874	66.7	86.9	<0.001
联合检测	0.944		0.813	0.912~0.977	89.5	91.8	<0.001

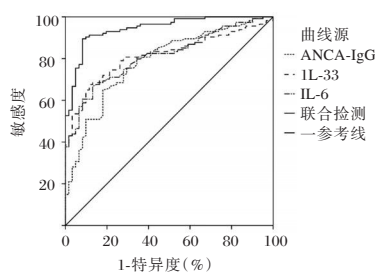


图1 ROC 曲线

断的不确定性,从而延误有效的治疗^[9]。临床上针对 UC 患者诊断及预后的评估常用的实验室指标是 C 反应蛋白,但易受细胞感染、手术创伤等影响,特异性较差^[10]。寻找与 UC 诊治相关的实验室生物指标,为诊断、鉴别诊断和疗效评估提供简单、客观、准确的血清标志物是本研究目的所在。

研究表明^[11],当机体受到外界因素的影响时,机体免疫系统被破坏,炎症细胞释放大量炎性介质,导致肠道组织的损伤和功能障碍。本研究中,与其他肠道疾病组相比,UC 组的血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平均升高,且缓解期组、轻度组、中度组及重度组依次升高,提示血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 参与 UC 的发生发展,且在 UC 患者中上升幅度较大。分析原因可能为,ANCA 可通过毛细血管释放溶酶菌,损伤血管和肠道组织,还可以通过 T 细胞对寄生于吞噬细胞吞噬体内的微生物,分泌细胞因子,激活巨噬细胞诱发炎症反应,对局部炎症造成组织损伤^[12]。IL-33、IL-6 均是 UC 中重要的炎性细胞因子,当上皮细胞受到破坏时,IL-33 与可溶性生长刺激表达基因 2 蛋白受体结合,释放大量炎症细胞因子如 IL-6,刺激损伤部位的炎症反应,破坏肠黏膜屏障功能,引起免疫细胞聚集,增强 Th2 淋巴细胞功能活性,加重疾病发展^[13]。IL-6 是重要的辅助 T 细胞型细胞因子之一,通过膜结合的 IL-6 受体进行信号传导或与 IL-6 受体的可溶形式结合,激活信号转导和转录激活因子 3 诱导抗凋亡基因的表达,增加肠上皮的通透性并引起 T 细胞蓄积,从而维持炎症反应^[14]。

本研究通过比较两组的临床资料,发现 UC 组有肠壁淋巴结肿大的比例显著高于其他肠道疾病组,通过多因素分析证实,IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平升高及有肠壁淋巴结肿大是影响发生 UC 的独立危险因素,进一步提示上述指标与 UC 的发生发展关系密切。UC 是肠道部位发生的炎症性疾病,在急性活动期时,可出现固有膜内有弥漫性、急性、慢性炎性细胞浸润,尤其是上皮细胞间有中性粒细胞浸润,黏膜自发性出血及溃疡,导致局部毛细血管通透性增加,引起肠系膜淋巴结内细胞增生和炎性细胞浸润,粘膜基底淋巴细胞和浆细胞聚集,从而引发淋巴结肿大^[15]。经 ROC 曲线分析结果显示,IL-33、ANCA-IgG、IL-6 三者联合检测的 AUC 为 0.944,联合预测敏感度、特异度为 89.5%、91.8%,高于单独检测。当条件允许时,联合检测以上指标水平,可提高 UC 疾病的临床诊断及治疗。

综上所述,血清 IL-33、ANCA-IgG、IL-6 水平变化与 UC 的发生相关,三者 in UC 患者中上升幅度较大,联合检测以上指标能提高 UC 的诊断效能,具有较大的临床诊断及病情监测价值。

参考文献

- [1] 何碧瑜,王佩茹,杨维忠,等. 溃疡性结肠炎患者炎性因子水平、肠道菌群分布及发病相关因素分析[J]. 华南预防医学, 2022,48(2):178-181.
- [2] 朱小娅,杨晓东,王源,等. 鉴别克罗恩病与溃疡性结肠炎的列线图预测模型构建[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022,38(3):308-312.
- [3] 荣雨露,高海晋,许翠萍. 定量检测血清抗中性粒细胞胞质抗体对溃疡性结肠炎的临床价值[J]. 中华消化杂志, 2020,40(10):697-700.
- [4] Jie C, Yan H, Lei T, et al. Dual immune functions of IL-33 in inflammatory bowel disease[J]. Histol Histopathol, 2020,35(2):137-146.
- [5] Mavropoulou E, Mechie NC, Knoop R, et al. Association of serum interleukin-6 and soluble interleukin-2-receptor levels with disease activity status in patients with inflammatory bowel disease: A prospective observational study [J]. PloS One, 2020,15(5):e0233811.
- [6] 吴开春,梁洁,冉志华,等. 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.
- [7] 谢玥,张绍衡,熊瑶,等. PBMC 中 CARD9、MDC、IL-32 在溃疡性结肠炎诊断和病情评估中价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(8):1329-1332.
- [8] 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.

(下转第 511 页)

·论 著·

血清PCT、MMP-13对全膝关节置换术后早期感染的诊断价值

卢海丹 俞航 徐娟 黄智慧 贾军 储辉*

[摘要] **目的** 探讨及分析血清降钙素原(PCT)、基质金属蛋白酶13(MMP-13)对全膝关节置换术(TKA)后早期感染的诊断价值。**方法** 选取2018年1月至2024年1月于联勤保障部队第904医院行TKA的240例患者作为研究对象,根据术后有无发生早期感染将其分为未感染组($n=202$)和感染组($n=38$);收集两组一般资料,检测并比较两组血清PCT和MMP-13。采用多因素Logistic回归分析TKA后早期感染的影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清PCT和MMP-13对TKA后早期感染的诊断价值。**结果** 感染组合并糖尿病占比、手术时间 ≥ 2 h占比、术中出血量 ≥ 200 mL占比高于未感染组,术前中性粒细胞计数低于对照组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。感染组患者血清PCT水平和MMP-13高于未感染组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。多因素分析显示:合并糖尿病($OR=2.063$, 95% CI : 1.242~3.427)、手术时间($OR=2.568$, 95% CI : 1.412~4.668)、血清PCT($OR=3.062$, 95% CI : 1.883~4.978)、MMP-13($OR=2.875$, 95% CI : 1.758~4.702)是TKA后早期感染的影响因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示:血清PCT、MMP-13及两者联合诊断TKA后早期感染的AUC分别为0.809(95% CI : 0.764~0.854)、0.783(95% CI : 0.738~0.833)、0.902(95% CI : 0.857~0.952),两者联合检测诊断的AUC显著高于二者单独检测($Z=8.199, 10.457, P<0.001$)。**结论** 血清PCT和MMP-13对TKA后早期感染具有一定的诊断价值,且两者联合检测的诊断价值大于单独检测,可为临床诊断TKA后早期感染提供参考。

[关键词] 降钙素原;基质金属蛋白酶13;全膝关节置换术;早期感染

The diagnostic value of serum PCT and MMP-13 for early infection after total knee arthroplasty

LU Haidan, YU Hang, XU Juan, HUANG Zhihui, JIA Jun, CHU Hui*

(Department of Orthopedics, the 904 Hospital of Joint Logistic Support Force, Wuxi, Jiangsu, China, 224222)

[ABSTRACT] **Objective** To explore and analyze the diagnostic value of serum procalcitonin (PCT) and matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) for early infection after total knee arthroplasty (TKA). **Methods** A total of 240 cases who underwent TKA at the 904 Hospital of Joint Logistic Support Force from January 2018 to January 2024 were selected. The cases were divided into a non-infection group ($n=101$) and an infection group ($n=19$) based on the presence or absence of early postoperative infection. General data for both groups were collected, and serum PCT and MMP-13 were measured. Multivariate logistic regression was used to explore factors influencing early infection after TKA. The diagnostic value of serum PCT and MMP-13 for early infection after TKA was analyzed using ROC curves. **Results** The proportions of patients with diabetes, operation time ≥ 2 h, and intraoperative blood loss ≥ 200 mL in the infection group were higher than those in the non-infection group, and the preoperative neutrophil count was lower than that in the control group, and these differences were statistically significant ($P<0.05$). The serum PCT level and MMP-13 expression in the infection group were higher than those in the non-infection group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that diabetes mellitus ($OR=2.063$, 95% CI : 1.242~3.427), op-

基金项目:江苏大学临床医学科技发展基金研究项目(JLY2021135)

作者单位:联勤保障部队第904医院骨科,江苏,无锡 224222

*通信作者:储辉, E-mail: 13815262100@126.com

eration time ≥ 2 h ($OR=2.568$, 95% CI : 1.412~4.668), serum PCT ($OR=3.062$, 95% CI : 1.883~4.978) and MMP-13 ($OR=2.875$, 95% CI : 1.758~4.702) were influencing factors of early infection after TKA ($P<0.05$). ROC curve analysis demonstrated that the AUC of serum PCT, MMP-13, and their combination in diagnosing early infection after TKA were 0.809 (95% CI : 0.764~0.854), 0.783 (95% CI : 0.738~0.833), and 0.902 (95% CI : 0.857~0.952) respectively. The AUC of combined detection was significantly higher than that of single detection ($Z=8.199$, 10.457, $P<0.001$). **Conclusions** Serum PCT and MMP-13 have specific diagnostic value for early infection after TKA. The diagnostic value of combined detection of serum PCT and MMP-13 is greater than that of single detection. This can provide a reference for clinical diagnosis of early infection after TKA.

[KEY WORDS] Procalcitonin (PCT); Matrix metalloproteinase 13 (MMP-13); Total knee arthroplasty (TKA); Early infection

近年来随着人口老龄化的加剧、交通事故的频繁发生以及各类外科损伤病例的增多,膝关节疾病发病率逐年上升^[1]。全膝关节置换术(Total Knee Arthroplasty, TKA)作为一种外科常见的膝关节疾病治疗手段,其通过切除病变的关节面并植入人工假体,旨在恢复膝关节的正常功能,缓解疼痛,并改善患者的生活质量,在临床治疗终末期膝关节疾病中得到广泛应用^[2]。临床已有研究表明^[3],TKA疗效显著,能够显著改善膝关节功能,使患者重新获得行走和活动的的能力。但TKA是一种创伤性手术,术后假体周围感染是其常见且严重的并发症之一,该并发症不仅会导致患者疼痛加剧、关节功能恢复受阻,还可能需要进行多次翻修手术,甚至导致假体的永久性失败^[4]。因此,早期诊断TKA后早期感染的发生成为临床医师面临的巨大难题,也是提高患者预后的关键。降钙素原(Procalcitonin, PCT)是一种敏感且特异的炎症标志物,已广泛应用于多种感染性疾病的早期诊断^[5]。基质金属蛋白酶13(Matrix Metalloproteinase-13, MMP-13)是一种与关节炎症密切相关的酶,在滑膜炎症和关节组织破坏中发挥重要作用^[6]。结合以上背景,本研究旨在探讨及分析血清PCT和MMP-13对TKA后早期感染的诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2024年1月于联勤保障部队第904医院行TKA的240例患者作为研究对象。根据术后有无发生早期感染将其分为未感染组($n=202$)和感染组($n=38$)。纳入标准:①均初次接受全膝关节置换术;②感染组患者符合《外科学》^[7]中TKA术后早期假体周围的感染的诊断标准;③患者年龄 >18 岁且临床资料无缺失;④所有患者

手术均由同一医护团队进行操作及护理;⑤患者或家属签署知情同意书。排除标准:①合并恶性肿瘤或其他部位骨科疾病者;②孕妇或哺乳期妇女;③患有精神疾病者;④合并肝、肾、心器官功能严重障碍者;⑤合并自身免疫性疾病、血液疾病及风湿性疾病者;⑥合并全身感染者;⑦近期有服用过糖皮质激素和免疫调节剂者。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集120例研究对象的一般资料及术前实验室检查结果相关资料,包括性别、年龄、体质量指数(Body mass index, BMI)、膝关节原发病、膝关节置换材料、合并高血压、合并糖尿病、麻醉方式、手术时间、术中出血量、术前C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、术前白细胞计数、术前中性粒细胞计数等。

1.2.2 血清PCT、MMP-13水平检测

在术后1d采集患者空腹状态下外周静脉血3 mL,以3 000 r/min速度进行离心,离心半径为8 cm,离心10 min后留取上层清液。采用酶联免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清PCT、MMP-13水平(试剂盒:厦门慧嘉生物科技有限公司)。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0统计学软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 描述,用 χ^2 检验;采用多因素Logistic回归分析TKA后早期感染的影响因素,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血清PCT和MMP-13对TKA后早期感染的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组性别、年龄、BMI、膝关节原发病、膝关节

置换材料、合并高血压、麻醉方式、术前CRP、术前白细胞计数比较差异无统计学意义($P>0.05$);感染组合并糖尿病占比、手术时间 ≥ 2 h占比、术中出血量 ≥ 200 mL占比明显高于未感染组,术前中性粒细胞计数明显低于对照组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。见表1。

表1 两组一般资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]				
指标	未感染组 ($n=202$)	感染组 ($n=38$)	t/χ^2 值	P 值
性别				
男	114(56.44)	24(63.16)	0.591	0.442
女	88(43.56)	14(36.84)		
年龄(岁)	60.86 $\pm$ 4.57	61.42 $\pm$ 5.24	0.677	0.499
BMI(kg/m ²)	23.09 $\pm$ 2.56	23.17 $\pm$ 2.61	0.176	0.860
膝关节原发病				
原发性骨关节炎	78(38.62)	16(42.11)	1.143	0.767
创伤性关节炎	54(26.73)	12(31.58)		
类风湿性关节炎	46(22.77)	6(15.79)		
其他	24(11.88)	4(10.52)		
膝关节置换材料				
骨水泥	64(31.68)	16(42.11)	1.563	0.211
生物型假体	138(68.32)	22(57.89)		
合并高血压				
有	76(37.62)	18(47.37)	1.275	0.259
无	126(62.38)	20(52.63)		
合并糖尿病				
有	82(40.59)	26(68.42)	10.006	0.002
无	120(59.41)	12(31.58)		
麻醉方式				
全身麻醉	124(61.39)	18(47.37)	2.601	0.107
联合麻醉	78(38.61)	20(52.63)		
手术时间(h)				
≥ 2	70(34.65)	26(68.42)	15.195	<0.001
<2	132(65.35)	12(31.58)		
术中出血量(mL)				
≥ 200	68(33.66)	22(57.89)	8.013	0.005
<200	134(66.34)	16(42.11)		
术前CRP(mg/L)	8.51 $\pm$ 2.43	8.83 $\pm$ 2.64	0.735	0.463
术前白细胞计数($\times 10^9/L$)	5.29 $\pm$ 1.15	5.43 $\pm$ 1.02	0.700	0.484
术前中性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	3.27 $\pm$ 1.05	2.72 $\pm$ 0.84	3.049	0.003

2.2 两组血清PCT、MMP-13比较

感染组患者血清PCT、MMP-13水平明显高于未感染组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。见表2。

表2 两组血清PCT、MMP-13比较 ($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	PCT(ng/mL)	MMP-13(ng/mL)
未感染组	202	0.38 $\pm$ 0.10	270.35 $\pm$ 15.07
感染组	38	2.62 $\pm$ 0.75	312.08 $\pm$ 18.31
t 值		40.909	15.111
P 值		<0.001	<0.001

2.3 TKA后早期感染的多因素分析

将术后有无发生早期感染作为因变量(无=0、有=1),以合并糖尿病、手术时间、术中出血量、术前中性粒细胞计数以及血清PCT、MMP-13作为自变量进行多因素Logistic回归分析,结果显示:合并糖尿病($OR=2.063$, 95% CI : 1.242~3.427)、手术时间($OR=2.568$, 95% CI : 1.412~4.668)、血清PCT($OR=3.062$, 95% CI : 1.883~4.978)、血清MMP-13($OR=2.875$, 95% CI : 1.758~4.702)是TKA后早期感染的影响因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 血清PCT和MMP-13对TKA后早期感染的诊断价值

血清PCT、MMP-13及两者联合诊断TKA后早期感染的AUC分别为0.809(95% CI : 0.764~0.854)、0.783(95% CI : 0.738~0.833)、0.902(95% CI : 0.857~0.952),两者联合检测诊断的AUC显著高于二者单独检测($Z=8.199$, 10.457, $P<0.001$)。见表4、图1。

表4 血清PCT和MMP-13对TKA后早期感染的诊断价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	灵敏度	特异度	约登指数
血清PCT	0.809	0.764~0.854	1.50 ng/mL	0.895	0.644	0.538
血清MMP-13	0.783	0.738~0.833	291.22 ng/mL	0.895	0.594	0.489
联合诊断	0.902	0.857~0.952		0.842	0.812	0.654

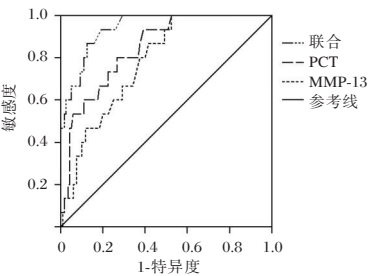


图1 ROC曲线

表3 TKA后早期感染的多因素Logistic回归分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	$OR(95\% CI)$ 值	P 值
合并糖尿病	无=0; 有=1	0.724	0.259	7.814	2.063(1.242~3.427)	0.005
手术时间	<2 h=0; ≥ 2 h=1	0.943	0.305	9.559	2.568(1.412~4.668)	0.002
术中出血量	<200 mL=0; ≥ 200 mL=1	0.681	0.387	3.097	1.976(0.925~4.219)	0.078
术前中性粒细胞计数	$>3.00\times 10^9/L$ =0; $\leq 3.00\times 10^9/L$ =1	0.813	0.542	2.250	2.255(0.779~6.523)	0.134
血清PCT	<1.50 ng/mL=0; ≥ 1.50 ng/mL=1	1.119	0.248	20.359	3.062(1.883~4.978)	<0.001
血清MMP-13	<291.22 ng/mL=0; ≥ 291.22 ng/mL=1	1.056	0.251	17.700	2.875(1.758~4.702)	<0.001

3 讨论

TKA 是一种常见的骨科手术,旨在通过替换受损膝关节结构来缓解疼痛、改善功能和提高生活质量^[8]。近年来,虽然手术技术和围术期管理均得到提升,但术后早期感染仍是严重并发症,影响手术效果和患者预后^[9]。TKA 后的早期感染通常发生在假体周围,表现为局部红肿、疼痛、发热和分泌物增多等症状,不仅增加了患者的痛苦和医疗费用,还可能导致植入物松动和慢性感染,严重时可能需截肢^[10]。因此,早期识别和及时治疗 TKA 后感染至关重要。

PCT 是由甲状腺 C 细胞产生的蛋白质,通常用于评估细菌感染和败血症的严重程度。正常情况下,机体血清 PCT 含量极低,且其不受其他因素干扰,稳定性好;在细菌感染时,PCT 显著升高^[11]。研究发现^[12],上尿路结石术后继发感染患者的血清 PCT 呈高表达,PCT 对早期诊断患者术后继发感染具有临床价值。本研究中,感染组血清 PCT 高于未感染组,与高杨等^[13]研究结果一致。分析原因,手术创面和假体植入为细菌提供了侵入途径,患者一旦感染,细菌会迅速繁殖并释放内毒素,内毒素通过与机体免疫细胞表面的受体结合,引起炎症细胞因子释放,加剧炎症反应,并影响全身免疫状态。因此,血清 PCT 升高可以作为一个敏感的指标,反映 TKA 术后早期假体周围感染的发生发展。

MMP-13 是金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)家族的一员,主要负责降解 I 型和 II 型胶原,这两种胶原是关节软骨和滑膜组织中重要的结构蛋白^[14]。研究表明^[15],MMP-13 在骨关节炎患者软骨细胞中的表达升高,其表达与炎症细胞因子上调相关,参与关节软骨破坏和病情进展。本研究中,感染组 MMP-13 高于未感染组,提示 MMP-13 与 TKA 术后早期假体周围感染有关。分析原因,感染会引起局部炎症反应,进而导致炎症细胞大量浸润于病变组织,激活 NF- κ B 信号通路,增加 MMP-13 表达;同时,感染引起的氧化应激也可促进 MMP-13 表达,氧化应激产生的活性氧可以损伤细胞内的 DNA 和蛋白质,导致细胞凋亡和炎症反应的加剧,从而上调 MMP-13。

ROC 曲线结果显示,血清 PCT、MMP-13 两者联合检测诊断的 AUC 显著高于二者单独检测,表明血清 PCT、MMP-13 联合检测能提高 TKA 后早

期感染诊断的准确性。多因素回归分析结果显示,合并糖尿病、手术时间、血清 PCT、MMP-13 是 TKA 后早期感染的影响因素。结果提示在临床实践中可以结合以上因素进行综合评估,制定针对性的预防和治疗策略,降低 TKA 术后早期感染发生率。

综上所述,TKA 后早期感染患者血清 PCT、MMP-13 明显上升,二者水平明显升高是 TKA 后早期感染的危险因素,且两者联合检测对 TKA 后早期感染具有较好的诊断价值,可以为临床诊断提供参考。

参考文献

- [1] Hulshof CTJ, Pega F, Neupane S, et al. The effect of occupational exposure to ergonomic risk factors on osteoarthritis of hip or knee and selected other musculoskeletal diseases: A systematic review and meta-analysis from the WHO/ILO Joint Estimates of the Work-related Burden of Disease and Injury[J]. *Environ Int*, 2021,150(1):106349.
- [2] 魏红红,高翠,刘婷婷,等.无线远程监控镇痛泵在老年患者全膝关节置换术后 PCA 中的应用效果[J].*保健医学研究与实践*, 2024,21(7):96-101.
- [3] Alrawashdeh W, Eschweiler J, Migliorini F, et al. Effectiveness of total knee arthroplasty rehabilitation programmes: A systematic review and meta-analysis[J]. *J Rehabil Med*, 2021, 53(6): jrm00200.
- [4] Bass AR, Zhang Y, Mehta B, et al. Periprosthetic Joint Infection Is Associated with an Increased Risk of Venous Thromboembolism Following Revision Total Knee Replacement: An Analysis of Administrative Discharge Data[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2021,103(14):1312-1318.
- [5] 贾珊珊,王晓川,张基勋,等.炎症标志物对临床深部胸骨切口感染的早期辅助诊断价值[J].*感染、炎症、修复*, 2022,23(2):79-84.
- [6] Hu Q, Ecker M. Overview of MMP-13 as a Promising Target for the Treatment of Osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021,22(4):1742.
- [7] 陈孝平,汪建平,赵继宗.外科学[M].9版.北京:人民卫生出版社,2018:126-132.
- [8] Zhang J, Ndou WS, Ng N, et al. Robotic-arm assisted total knee arthroplasty is associated with improved accuracy and patient reported outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2022,30(8):2677-2695.
- [9] Hernandez NM, Buchanan MW, Seyler TM, et al. 1.5-Stage Exchange Arthroplasty for Total Knee Arthroplasty Periprosthetic Joint Infections[J]. *J Arthroplasty*, 2021,36(3):1114-1119.
- [10] Rajae SS, Kavolus JJ, Hayden BL, et al. National Decline in Knee Fusions Performed for Salvage of Chronic Periprosthetic Total Knee Infections[J]. *J Knee Surg*, 2022,35(9):971-977.

(下转第 511 页)

·论 著·

广州市天河区育龄夫妇地中海贫血检测结果分析

侯赋园 李智文*

【摘要】目的 了解广州市天河区育龄夫妇地中海贫血(以下简称地贫)检测结果特征并总结筛查经验,为地贫防控提供参考依据。**方法** 分析2019年1月至2022年12月广州市天河区妇幼保健院32 427对参加广州市免费产前筛查和诊断项目(地贫防控项目)育龄夫妇的检测结果。地贫检测流程为:夫妇一方或双方平均红细胞容积 $<82\text{ fL}$ 或(和)平均红细胞血红蛋白量 $<27\text{ pg}$ 时,夫妇双方均行血红蛋白 A_2 、血红蛋白F相对定量及 α -地贫基因6个常规变异类型检测。Hb $A_2\geq 3.5\%$ 者加测 β 地贫基因17个常规突变位点。特殊样本做进一步基因检测。**结果** 检出红细胞指标异常夫妇7 116对,地贫携带者5 231人(8.06%), α 地贫、 β 地贫、 α 复合 β 地贫携带率分别为5.67%、2.09%、0.30%。 α 地贫中最常见为--SEA/ $\alpha\alpha$,构成比占57.07%。 β 地贫中最常见基因型为 β^{H142}/β^N ,构成比35.97%。Hb $A_2\geq 3.5$ 的 β 地贫基因携带者1 534例,其中合并 α 地贫基因携带者195例(12.71%)。检出生育生育Hb Bart's水肿胎、Hb H病、双重杂合子 β -地贫风险夫妇分别为52对、122对、29对。Hb A_2 、红细胞指标、联合检测三种检测方法检测静止型 α 地贫、轻型 α 地贫、Hb H病的灵敏度均呈上升趋势($P<0.05$),三种检测方法检测 β 地贫的灵敏度均高于 α 地贫($P<0.05$)。检出58例罕见型地贫。**结论** 广州市天河区育龄夫妇地贫优势基因型分布与其他地区类似。应用Hb A_2 筛查 β 地贫时需防范合并型 α 地贫漏检。地贫红细胞指标筛查灵敏度高于Hb A_2 定量检测, β 地贫筛查灵敏度高于 α 地贫。血液学指标与常规基因检测结果不符时,扩大基因检测范围有利于检出罕见型地贫。

【关键词】 地中海贫血筛查;育龄夫妇;罕见型地贫

Analysis of thalassemia test results in couples of childbearing ages in Tianhe District, Guangzhou, China

HOU Fuyuan, LI Zhiwen*

(Guangzhou Tianhe District Maternal and Child Health Care Hospital, Guangzhou, Guangdong, China, 510000)

【ABSTRACT】Objective To understand the characteristics of thalassemia test results of couples of childbearing ages in the district and summarize the screening experience, to provide reference for thalassemia prevention and control. **Methods** The red blood cell (RBC) index data of 32,427 couples of childbearing age who participated in the Thalassemia Prevention and Control Program at our hospital from January 2019 to December 2022 were analyzed. Hemoglobin Hb A_2 , HbF, and six routine α -thalassemia gene variants were measured in all couples who met the following criteria: Mean Corpuscular Volume $<82\text{ fL}$ or/and Mean Corpuscular Hemoglobin $<27\text{ pg}$ in one or both partners. Seventeen routine mutations of the β -thalassemia gene were detected in patients with Hb $A_2\geq 3.5\%$. Special samples were collected for further genetic testing. **Results** A total of 7,116 couples were found to have abnormal RBC indices. Among them, 5,231 (8.06%) were carriers of thalassemia. The carrier rates for α -, β -, and α -complex β -thalassemia were 5.67%, 2.09%, and 0.30%, respectively. The most common genotypes for α -thalassemia and β -thalassemia were SEA/ $\alpha\alpha$ with a constituent ratio of 57.07%, and β^{H142}/β^N with a constituent ratio of 35.97%. Out of 1,534 β -thalassemia gene carriers with Hb $A_2\geq 3.5\%$, the case of 195 (12.71%) also had α -thalassemia genes. Couples at risk of having children with Hb Bart's hydrops fetalis, Hb H disease, and double heterozygous β -thalassemia were 52, 122 and 29 respectively. The sensitivity of Hb A_2 , RBC index and combined detection was higher in carriers of mild to intermediate type α -thalassemia ($P<0.05$) or in carriers of α -thalassemia compared to β -thalassemia carriers ($P<$

作者单位:广州市天河区妇幼保健院计划生育服务中心,广东,广州510000

*通信作者:李智文, E-mail:670782754@qq.com

0.05)。Fifty-eight cases of rare thalassemia were detected. **Conclusion** The dominant genotype distribution of thalassemia among couples of childbearing ages in Tianhe District of Guangzhou City is similar to that in other regions. The sensitivity of RBC index was higher than that of HbA₂, and the sensitivity of β -thalassemia screening was higher than that of α -thalassemia. When using HbA₂ to screen for β -thalassemia, we should prevent the possibility of missing combined α -thalassemia. Additionally, if the hematological index does not align with the results of routine gene tests, we should further investigate rare thalassemia genes.

[KEY WORDS] Thalassemia screening; Couples of childbearing ages; Rare thalassemia

地中海贫血(以下简称地贫)是一种单基因隐性遗传病。地贫基因包括 α -和 β 珠蛋白基因, α 珠蛋白链、 β 珠蛋白链是血红蛋白构成成分之一,两者比例失衡将导致地中海贫血^[1]。我国地贫主要分布在南方地区,不同地域、不同民族的流行率各有差别^[2-4]。中重型地贫患儿的出生,给生育家庭和社会均带来沉重的负担,育龄夫妇地贫筛查是地贫防控的有效策略^[5]。不同检测手段的组合应用,可以提高地贫检出率^[6],但仍然存在部分漏检。本文分析本区育龄夫妇地贫筛查及地贫基因检测结果,以期了解本区育龄夫妇地贫基因型分布情况、血液学筛查和常规基因试剂盒检出灵敏度,达到减少漏检和提高地贫检出率的目的。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2022年12月广州市天河区妇幼保健院32427对参加广州市免费产前筛查和诊断项目(地贫防控项目)的育龄夫妇为研究对象,年龄为(29.49±21.92)岁,均为本地区常住人口。夫妻双方进行红细胞指标分析,一方或双方平均红细胞容积(Mean Corpuscular Volume, MCV)<82或/和平均红细胞血红蛋白量(Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH)<27时,双方均行血红蛋白HbA₂、HbF定量及 α -地贫基因6个常见突变型检测。HbA₂≥3.5%者加测 β 地贫基因17常见突变位点。疑似罕见型地贫者,做进一步基因检测。有生育地贫患儿的风险夫妇均发放产前诊断免费券,前往产前诊断机构做进一步遗传咨询或检测。本项目参加者均知情同意,研究获院医学伦理委员会批准同意。

1.2 检测方法

1.2.1 红细胞指标分析

静脉采集2 mL乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)抗凝全血,使用希森美康株式会社XN-10[B3]型全自动模块式血液液体液分析仪检测红细胞指标

MCV、MCH、血红蛋白HGB。

1.2.2 血红蛋白分析

静脉采集2 mL EDTA-K₂抗凝全血,使用伯乐公司BIO-RAD VARIANT II型糖化血红蛋白测试系统检测HbA₂、HbF含量。

1.2.3 基因检测

采用全自动磁珠法提取全血基因组DNA,聚合酶链式反应-导流杂交法检测地贫常规基因突变点,包括 α -地贫3种缺失变异:SEA、3.7、4.2,三种突变位点:CS、QS、WS。 β 地贫17个常见突变位点:41-42M、43M、654M、17M、14-15M、-28M、-29M、-30M、-32M、71-72M、 β EM、IVS-I-1M(G>T/G>A)、27-28M、CapM(Cap+40-43(-AAAC)/Cap+1(A>C))、IntM、31M、IVS-I-5M。疑似罕见型地贫全血样本外送凯普生物公司,采用裂隙聚合酶链式反应及Sanger测序法检测,检测范围包括较常见的罕见缺失型地贫、 α 基因及 β 基因序列测序。

1.2.4 统计学方法

采用SPSS 20.0统计分析数据。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较使用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 红细胞指标异常夫妇地贫携带者基因型分布

检出红细胞指标异常夫妇7116对,地贫携带者5231人(8.06%), α 地贫、 β 地贫、 α 复合 β 地贫携带率分别为5.67%、2.09%、0.30%。 α 地贫中最常见基因型为--SEA/ $\alpha\alpha$,构成比占57.07%。 β 地贫中最常见基因型为 β 41-42/ β N,构成比35.97%。HbA₂≥3.5的 β 地贫基因携带者1534人,其中合并 α 地贫基因携带者195人(12.71%)。见表1。

2.2 子代中重型地贫风险基因型分布

检出生育生育Hb Bart's水肿胎、Hb H病、双重杂合子 β -地贫风险夫妇分别为52对、122对、29对。风险子代基因型见表2。

表1 地贫携带者基因型分布 (n, %)

基因型		n	构成比	基因型	n	构成比(%)
α 地贫	--SEA/αα	2 100	57.06	--SEA/HKαα	3	0.08
	-α ^{3.7} /αα	838	22.77	-α ^{3.7} /α ^{CS} α	2	0.05
	-α ^{4.2} /αα	342	9.29	α ^{WS} α/α ^{WS} α	2	0.05
	α ^{WS} α/αα	105	2.85	Fusion gene/αα	2	0.05
	α ^{CS} α/αα	98	2.66	HBA2:c.77G>A/αα	2	0.05
	α ^{QS} α/αα	63	1.71	-α ^{4.2} /α ^{CS} α	1	0.03
	--SEA/-α ^{3.7}	25	0.67	-α ^{4.2} /α ^{QS} α	1	0.03
	-α ^{3.7} /-α ^{4.2}	18	0.49	α ^{CS} α/α ^{WS} α	1	0.03
	--SEA/α ^{WS} α	15	0.41	--SEA/α ^{CS} α	1	0.03
	--SEA/-α ^{4.2}	13	0.35	ααα ^{anti3.7} /αα	1	0.03
	-α ^{3.7} /-α ^{3.7}	12	0.33	HBA2:c.123delG/αα	1	0.03
	--THAI/αα	9	0.25	HBA2:c.91_93delGAG/αα	1	0.03
	-α ^{3.7} /α ^{WS} α	5	0.14	HBA2:c.92A>G/αα	1	0.03
	-α ^{3.7} /α ^{QS} α	4	0.11	HBA2:c.95G>A/αα	1	0.03
	-α ^{4.2} /α ^{WS} α	4	0.11	HKαα,不排除其他型	1	0.03
-α ^{4.2} /-α ^{4.2}	4	0.11	HKαα 复合 QS 杂合突变,不排除其他型	1	0.03	
ααα ^{anti4.2} /αα	3	0.08				
β 地贫	β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	487	35.97	Southeast Asian (Vietnamese) deletion/β ^N	5	0.37
	β ⁶⁵⁴ /β ^N	377	27.84	β ¹⁴⁻¹⁵ /β ^N	4	0.30
	β ⁻²⁸ /β ^N	202	14.92	-90 C>T/β ^N	3	0.22
	β ¹⁷ /β ^N	138	10.20	CD19 (AAC>AGC/β ^N	2	0.15
	β ^E /β ^N	44	3.25	β ^{IVS1-5} /β ^N	1	0.07
	β ⁷¹⁻⁷² /β ^N	29	2.14	β ^{Int} /β ^N	1	0.07
	β ²⁷⁻²⁸ /β ^N	16	1.18	-88 C>T/β ^N	1	0.07
	β ⁻²⁹ /β ^N	14	1.04	CD 106 CTG>GTVβ ^N	1	0.07
	Chinese Gγ(Aγδβ) ⁰ /β ^N	12	0.89	CAP +8 C>T/β ^N	1	0.07
β ⁴³ /β ^N	9	0.67	IVS I-130 G>C/β ^N	1	0.07	
β ^{IVS1-1} /β ^N	6	0.44				
α 复合 β 地贫	--SEA/αα; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	39	19.8	-α ^{3.7} /αα; β ^{Int} /β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ⁶⁵⁴ /β ^N	22	11.16	-α ^{4.2} /αα; β ¹⁷ /β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	18	9.13	-α ^{4.2} /αα; β ⁷¹⁻⁷² /β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ⁶⁵⁴ /β ^N	12	6.09	α ^{WS} α/αα; β ¹⁷ /β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ¹⁷ /β ^N	11	5.58	α ^{WS} α/αα; β ^E /β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ⁻²⁸ /β ^N	9	4.56	α ^{WS} α/αα; β ^{IVS1-1} /β ^N	1	0.51
	α ^{WS} α/αα; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	9	4.56	α ^{CS} α/αα; β ⁻²⁸ /β ^N	1	0.51
	α ^{WS} α/αα; β ⁻²⁸ /β ^N	9	4.56	α ^{CS} α/αα; β ¹⁷ /β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ¹⁷ /β ^N	7	3.55	α ^{CS} α/αα; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ^E /β ^N	5	2.54	α ^{CS} α/αα; β ^E /β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ⁻²⁸ /β ^N	5	2.54	α ^{QS} α/αα; β ⁻²⁸ /β ^N	1	0.51
	-α ^{4.2} /αα; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	4	2.03	α ^{QS} α/αα; β ¹⁷ /β ^N	1	0.51
	-α ^{4.2} /αα; β ⁶⁵⁴ /β ^N	4	2.03	α ^{QS} α/αα; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	1	0.51
	α ^{WS} α/αα; β ⁶⁵⁴ /β ^N	3	1.52	α ^{QS} α/αα; β ⁶⁵⁴ /β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ⁷¹⁻⁷² /β ^N	3	1.52	--SEA/-α ^{3.7} ; β ⁻²⁸ /β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ⁷¹⁻⁷² /β ^N	2	1.01	--SEA/-α ^{3.7} ; β ⁶⁵⁴ /β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ²⁷⁻²⁸ /β ^N	2	1.01	--SEA/-α ^{4.2} ; β ⁶⁵⁴ /β ^N	1	0.51
	-α ^{4.2} /αα; β ⁻²⁸ /β ^N	2	1.01	--SEA/α ^{WS} α; β ⁷¹⁻⁷² /β ^N	1	0.51
	--SEA/-α ^{3.7} ; β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	2	1.01	-α ^{3.7} /αα; CD 54-58 (-13bp)/β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ⁻²⁹ /β ^N	1	0.51	-α ^{3.7} /αα; Chinese Gγ(Aγδβ) ⁰ /β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ⁴³ /β ^N	1	0.51	--SEA/αα; CD 15 TGG>TGA/β ^N	1	0.51
	--SEA/αα; β ¹⁴⁻¹⁵ /β ^N	1	0.51	--SEA/αα; Southeast Asian (Vietnamese) deletion/β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ^E /β ^N	1	0.51	HBA1 :c.354_355insATC/αα; CD39 CAG>TAG/β ^N	1	0.51
	-α ^{3.7} /αα; β ^{IVS1-1} /β ^N	1	0.51	--SEA/HKαα; β ^{Cap} /β ^N	1	0.51

注: --THAI 指泰国缺失型 α 地贫; HK $\alpha\alpha$ 指香港型地贫基因。

2.3 红细胞指标 MCV、MCH 和血红蛋白 HbA₂ 定量检测地贫筛查灵敏度

检出静止型 α 地贫、轻型 α 地贫、HbH 病分别为 1 460 例、2 166 例、54 例, 血红蛋白 HbA₂ 定量、

红细胞指标、联合检测筛查灵敏度均成上升趋势。检出 β 地贫 1 354 例, 三种检测方法的 β 地贫筛查灵敏度均高于 α 地贫。三种方法对地贫检测的灵敏度均依次上升。见表 3。

表 2 子代地贫风险基因型分布

	风险子代基因型	n
α 地贫	--SEA/-α ^{3.7}	68
	--SEA/--SEA	49
	--SEA/-α ^{4.2}	26
	--SEA/α ^{WS} α	14
	--SEA/α ^{CS} α	7
	--SEA/α ^{QS} α	3
	--SEA/--SEA 或 --SEA/-α ^{3.7}	2
	--SEA/--SEA 或 --SEA/α ^{WS} α	1
	--THAI/-α ^{4.2}	1
	β ⁴¹⁻⁴² /β ¹⁷	6
β 地贫	β ⁴¹⁻⁴² /β ⁻²⁸	5
	β ⁴¹⁻⁴² /β ⁶⁵⁴	5
	β ⁴¹⁻⁴² /β ⁴¹⁻⁴²	3
	β ⁻²⁸ /β ⁻²⁸	2
	β ⁻²⁸ /β ⁶⁵⁴	2
	β ⁻²⁹ /β ⁴¹⁻⁴²	1
	β ⁶⁵⁴ /β ⁶⁵⁴	1
	β ⁻²⁹ /β ⁷¹⁻⁷²	1
	β ⁻²⁹ /β ⁶⁵⁴	1
	β ⁴¹⁻⁴² /β ⁷¹⁻⁷²	1
	CD19 (AAC>AGC)/β ¹⁷	1

注: HbH 指含有三个 α 基因缺陷。

2.4 罕见型地贫基因变异、异常血红蛋白变异体检测结果

检出 58 例罕见型地贫, 主要包括 Chinese ^Gγ(^Aγδβ)⁰ 地贫 13 例, Southeast Asian (Vietnamese) deletion 型 β 地中海贫血 6 例, α--THAI 缺失型 9 例, 香港型 HKαα 6 例。一例 α2 基因新位点变异 HBA2: c.92A>G (CD 30 GAG>GGG), 未见报道。见表 1。Chinese ^Gγ(^Aγδβ)⁰/β^N 和 Southeast Asian (Vietnamese) deletion/β^N 的血液学指标均异常。见表 4。

3 讨论

我国地贫分布以广西、广东、云南、海南携带率较高^[2,7]。本研究显示, 广州市天河区育龄夫妇地贫携带率高于珠三角地区的 7.09%^[4]。本研究对象为具有本地户籍或暂住证的常住人口, 广东地区属于地贫高发区。因此上述差异可能与人口构成特征不同有关。研究显示^[8], 高通量测序等新检测技术的利用提高了地贫检出率。本文采用裂

表 3 不同检测方法地贫筛查灵敏度 [n(%)]

检测方法	静止型 α 地贫 (n=1 460)	轻型 α 地贫 (n=2 166)	HbH 病 (n=54)	χ ² 值 ^a	P 值 ^a	α 地贫 (n=3 680)	地贫 β (n=1 354)	χ ² 值 ^b	P 值 ^b
Hb A ₂	188(12.88)	788(36.38)	41(75.93)	304.820	<0.001	1 017(27.64)	1 337(98.74)	2 010.401	<0.001
MCV、MCH	1 275(87.33)	2 166(100.00)	54(100.00)	296.190	<0.001	3 495(94.97)	1 354(100.00)	70.665	<0.001
联合检测	1 290(88.36)	2 166(100.00)	54(100.00)	271.010	<0.001	3 510(95.38)	1 354(100.00)	64.735	<0.001

注: 静止型 α 地贫、轻型 α 地贫、HbH 病三组之间比较, ^aP<0.05; α 地贫和 β 地贫两组之间比较, ^bP<0.05。

表 4 类 β 基因大片段缺失携带者血液学指标 ($\bar{x} \pm s$)

Case	α 基因型	β 基因型	HbF (%)	HbA ₂ (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	HGB (g/L)
case1-12	αα/αα	Chinese ^G γ(^A γδβ) ⁰ /β ^N	14.61±3.14	2.80±0.38	69.62±3.57	22.75±1.67	125.34±13.03
case13	-α ^{3.7} /αα	Chinese ^G γ(^A γδβ) ⁰ /β ^N	13.20	2.70	76.70	24.40	125.00
case14-18	αα/αα	Southeast Asian (Vietnamese) deletion/β ^N	18.94±4.22	4.44±0.68	74.71±4.70	24.26±2.44	143.80±7.56
case19	--SEA/αα	Southeast Asian (Vietnamese) deletion/β ^N	14.50	3.60	64.50	22.20	148.00

隙聚合酶链式反应及 Sanger 测序法对疑似罕见型地贫样本行进一步检测, 提高了地贫检出率并额外检出两对高风险夫妇。本研究显示, α 地贫中依次以 --SEA、3.7、4.2 基因型携带率最高, β 地贫则以 41-42M、654M 最高, 与其他报道一致^[8]。婚前孕前地贫筛查可有效防止中重型地贫患儿的出生^[9], 但需防范假缺失型 HbH 型的过度干预。由于 HKαα 型、anti-HKαα 型分别含有 -α^{3.7} 片段、-α^{4.2} 片段, 常规试剂盒无法鉴别 3.7 缺失与 HKαα、4.2 缺失与 anti-HKαα, 且有研究表明^[10-11], HKαα 和 anti-HKαα 均含有两个有效 α 基因, 其与 --SEA 合并发生时临床症状与 --SEA 杂合子类似。因此, 针对该类风险夫妇, 可进一步对基因型加以鉴别。

本研究显示血红蛋白 HbA₂ 定量检测与红细胞指标对静止型 α 地贫、轻型 α 地贫、HbH 病的筛查灵敏度依次升高, 但均低于 β 地贫。整体上, 红细胞指标对轻型 α 地贫、HbH 病的筛查是相对高效的, 红细胞指标或血红蛋白 HbA₂ 定量检测对 β 地贫的筛查是相对高效的, 该特点与相关报道一致^[12]。值得注意的是本文检出 5 例 β 地贫杂合子, 其红细胞指标异常、HbA₂<3.5%。因此当各项目之间数据不符时, 扩大基因检测范围有利于提高地贫检出率。此外, α 复合 β 型地贫血液学表型类似于 β 地贫, 因此需防范该 α 地贫复合型漏检。本研究检出的 Chinese ^Gγ(^Aγδβ)⁰ 与 Southeast Asian (Vietnamese) 缺失型 β 地贫属于较为常见的类 β

基因簇大片段缺失型地贫,血液学指标均异常。有研究表明^[13],当该类 β 基因簇大片段缺失合并 β 地贫时,可出现轻度、中度、重度不等的地贫症状。此外检出一例 $\alpha 2$ 基因变异新位点HBA2:c.92A>G(CD 30 GAG>GGG),尚未见报道。由于技术局限性,本文可能仍有部分罕见型地贫未被检出。近期报道指出^[14],地贫三代测序技术可额外检出罕见结构变异提高地贫检出率,有利于地贫精准诊断。

综上,研究说明了广州市天河区红细胞指标异常育龄夫妇的地贫基因型分布特征,总结了地贫筛查经验,有助于进一步提高地贫筛查质量并为地贫防控工作提供数据参考。

参考文献

- [1] 商璇,徐湘民.地中海贫血的分子基础与精准诊断[J].中国实用儿科杂志,2018,33(12):954-957.
- [2] Lai K, Huang G, Su L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys [J]. Sci Rep, 2017,7(1):920.
- [3] 徐咏梅,王敏,杨明华,等.云南省德宏州不同民族孕龄人群地中海贫血的基因检测结果分析[J].热带医学杂志,2019,19(9):1070-1073+1077.
- [4] 徐珊珊,李铭臻,周冰焱,等.广东省育龄夫妇地中海贫血的基因型分析[J].山西医药杂志,2020,49(23):3195-3197.
- [5] Bozkurt G. Results from the north Cyprus thalassemia prevention program[J]. Hemoglobin, 2007,31(2):257-264.
- [6] 陈锐芳,赖兆新,罗丽端.红细胞平均体积联合血红蛋白电泳检测在地中海贫血诊断中的价值[J].深圳中西医结合杂志,2017,27(16):70-71.
- [7] Lai Y, Tao F, Zou Y, et al. Molecular spectrum of thalassemia in tropical Hainan Island of southern China: high allele frequency with low health burden [J]. J Genet Genomics, 2022,49(12):1162-1164.
- [8] Peng Q, Zhang Z, Li S, et al. Molecular epidemiological and hematological profile of thalassemia in the Dongguan Region of Guangdong Province, Southern China[J]. J Clin Lab Anal, 35(2):e23596.
- [9] 林梅,区玉星,陈世新.地中海贫血基因诊断对孕前优生的影响研究[J].中国妇幼保健,2020,35(12):2284-2286.
- [10] 杜丽,王继成,秦丹卿,等.HK $\alpha\alpha$ 地中海贫血的基因诊断及临床表型分析[J].中国产前诊断杂志(电子版),2017,9(3):20-22.
- [11] Shang X, Li Q, Cai R, et al. Molecular characterization and clinical presentation of HK $\alpha\alpha$ and anti-HK $\alpha\alpha$ alleles in southern Chinese subjects[J]. Clin Genet, 2013,83(5):472-426.
- [12] 黄志卓,高云,巢薇,等.广西柳州地区地中海贫血筛查及基因分型结果研究[J].临床血液学杂志,2022,35(6):414-418.
- [13] 杜丽,王继成,秦丹卿,等.中国型 $\alpha\gamma$ ($\alpha\gamma\delta\beta$)⁰地中海贫血及东南亚型HPFH的临床表型研究及遗传咨询[J].实用妇产科杂志,2018,34(4):305-308.
- [14] Luo S, Chen X, Zeng D, et al. Detection of four rare thalassemia variants using Single-molecule realtime sequencing [J]. Front Genet, 2022,13:974999.

(上接第502页)

- [9] 肖倩,黄业保,刘春强,等.基于生物信息学与机器学习鉴定溃疡性结肠炎的诊断生物标志物[J].中国免疫学杂志,2023,39(8):1713-1718+1723.
- [10] 陈莉,李小刚,王建丰,等.老年溃疡性结肠炎患者血清IL-33及粪钙卫蛋白水平表达的临床意义及对预后的影响[J].中国老年学杂志,2023,43(9):2094-2097.
- [11] 鲁霞,罗黎.炎症性肠病患者Th22细胞亚群和IL-22水平变化及其临床意义[J].中国微生态学杂志,2019,31(10):1203-1206.
- [12] Pang Y, Ruan H, Wu D, et al. Assessment of clinical activity and severity using serum ANCA and ASCA antibodies in patients with ulcerative colitis [J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2020,16(1):37.
- [13] 周巍,王遵遵,陈冬.白细胞介素-33、白细胞介素-1RL1在结肠癌组织的高表达[J].中华实验外科杂志,2021,38(2):214.
- [14] Takač B, Mihaljević S, Glavaš-Obrovac L, et al. Interactions among interleukin-6, C-reactive protein and interleukin-6 (-174)G/C polymorphism in the pathogenesis of crohn's disease and ulcerative colitis[J]. Acta Clin Croat, 2020,59(1):67-80.
- [15] 汪稳庚,江燕,何银环,等.FOXP3表达及病理组织学特征在溃疡性结肠炎诊断和鉴别诊断中的作用[J].临床与实验病理学杂志,2023,39(7):807-810.

(上接第506页)

- [11] Liu Y, Tian L, You J, et al. The predictive value of postoperative C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) and triggering receptor expressed on myeloid cells 1 (TREM-1) for the early detection of pulmonary infection following laparoscopic general anesthesia for cervical cancer treatment [J]. Ann Palliat Med, 2021,10(4):4502-4508.
- [12] 唐中山,杨坤,王金奎.CRP、PCT检测在上尿路结石术后继发感染中的临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(5):820-823.
- [13] 高杨杨,孙程帅,张传辉,等.血清PCT、HBD-3、TNF- α 水平诊断全膝关节置换术后早期假体周围感染的效能[J].中国民康医学,2022,34(21):128-131.
- [14] Knapinska AM, Singh C, Drotleff G, et al. Matrix Metalloproteinase 13 Inhibitors for Modulation of Osteoclastogenesis: Enhancement of Solubility and Stability [J]. ChemMedChem, 2021,16(7):1133-1142.
- [15] Yao X, Sun K, Yu S, et al. Chondrocyte ferroptosis contribute to the progression of osteoarthritis [J]. J Orthop Translat, 2020,27(1):33-43.

创伤性脑出血患者血清 25(OH)D、IL-4 水平与脑水肿体积、疾病转归的关系

李炎明 嵇金陵* 文柯 靳德甫 施蒙娜

[摘要] **目的** 探讨创伤性脑出血(TICH)患者血清 25-羟维生素 D[25(OH)D]、白细胞介素-4(IL-4)水平与脑水肿体积、疾病转归的关系。**方法** 选取2020年1月至2023年10月期间淮安市第一人民医院收治的152例TICH患者作为研究对象,检测其脑出血后第1、3、7d的血清25(OH)D、IL-4水平及脑水肿体积,采用Pearson相关分析探讨血清25(OH)D、IL-4水平与脑水肿体积的关系。根据28d疾病转归将患者分为存活组($n=118$)、死亡组($n=34$),采用多因素logistic回归分析TICH患者疾病转归的影响因素。**结果** TICH患者血清25(OH)D水平:脑出血后第1d>脑出血后第3d>脑出血后第7d,IL-4水平及脑水肿体积:脑出血后第1d<脑出血后第3d<脑出血后第7d,差异有统计学意义(P 均<0.05)。TICH患者血清25(OH)D水平与脑水肿体积呈负相关,IL-4水平与脑水肿体积呈正相关($P<0.05$)。存活组TICH患者脑出血后第1、3、7d血清25(OH)D水平高于死亡组,IL-4水平低于死亡组,差异有统计学意义(P 均<0.05)。多因素分析显示,入院脑水肿体积 ≥ 9.38 mL($OR=2.241$, 95% CI : 1.310~3.835)、入院NIHSS评分 ≥ 12 分($OR=2.492$, 95% CI : 1.503~4.132)、第3d血清25(OH)D ≤ 26.77 ng/mL($OR=3.203$, 95% CI : 1.951~5.259)、第3d血清IL-4 ≥ 66.38 ng/L($OR=2.818$, 95% CI : 1.849~4.295)是TICH患者疾病转归的危险因素($P<0.05$)。**结论** TICH患者血清25(OH)D、IL-4水平与其脑水肿体积密切相关,脑出血后第3d联合检测25(OH)D、IL-4对疾病转归的预测价值较好。

[关键词] 25-羟维生素D; 白介素4; 创伤性脑出血; 脑水肿体积; 疾病转归

Relationship between serum 25(OH)D and IL-4 levels and brain edema volume and disease outcome in patients with traumatic cerebral hemorrhage

LI Yanming, JI Jinling*, WEN Ke, JIN Defu, SHI Mengna

(Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Huaian, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Huaian, Jiangsu, China, 223300)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], interleukin-4 (IL-4) levels and brain edema volume, disease outcome in patients with traumatic cerebral hemorrhage (TICH). **Methods** A total of 152 cases with TICH from January 2020 to October 2023 were selected. Serum 25(OH)D, IL-4 and brain edema volume were measured on the 1st, 3rd and 7th day after intracerebral hemorrhage. The relationship between serum 25(OH)D, IL-4 levels and brain edema volume was explored by Pearson correlation analysis. Based on the 28-day disease outcome, the patients were divided into a survival group ($n=118$) and a death group ($n=34$). The influencing factors of the disease outcome of TICH patients were analyzed by multivariate logistic regression. **Results** The serum 25(OH)D level in TICH patients was higher on the 1st day after cerebral hemorrhage than on the 3rd day after cerebral hemorrhage and then on the 7th day after cerebral hemorrhage ($P<0.05$). IL-4 levels and cerebral edema volume were lower on day 1 after cerebral hemorrhage compared to day 3 after cerebral hemorrhage and day 7 after cerebral hemorrhage ($P<0.05$). In TICH patients, serum 25(OH)D level was negatively correlated with brain edema volume, and IL-4 level was positively correlated with brain edema volume ($P<0.05$). The serum 25(OH)D level was higher and IL-4 level was lower in the survival group than in the non-survival group at 1,

基金项目:江苏省卫生健康委科研项目(ZD2021051)

作者单位:淮安市第一人民医院/南京医科大学附属淮安第一医院检验科,江苏,淮安 223300

*通信作者:嵇金陵, E-mail: haitangzi@126.com

3 and 7 days after ICH ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that admission cerebral edema volume ≥ 9.38 mL ($OR=2.241$, 95%CI: 1.310~3.835), admission NIHSS score ≥ 12 ($OR=2.492$, 95%CI: 1.503~4.132), serum 25 (OH) D ≤ 26.77 ng/mL on day 3 ($OR=3.203$, 95%CI: 1.951~5.259), serum IL-4 ≥ 66.38 ng/L on day 3 ($OR=2.818$, 95%CI: 1.849~4.295) were risk factors for the outcome of TICH patients ($P<0.05$). **Conclusion** The serum levels of 25 (OH) D and IL-4 in patients with TICH are closely related to the volume of cerebral edema, and the combined detection of 25 (OH) D and IL-4 on the third day after intracerebral hemorrhage has a better predictive value for the outcome of the disease.

[KEY WORDS] 25-hydroxyvitamin D; Interleukin-4; Traumatic cerebral hemorrhage; Brain edema volume; Outcome OF DISEASE

创伤性脑出血 (Traumatic intracerebral hemorrhage, TICH) 是一种严重的急性脑损伤,随着全球机械化、城镇化的发展,其发生率和致死率逐年上升^[1]。TICH 主要由交通事故、跌落、暴力性损伤等导致颅脑受损和血管破裂,从而使血液淤积,形成血肿^[2]。脑出血周围水肿是 TICH 后常见的继发性损伤之一,其形成会增加患者颅内压,并引起神经功能障碍,甚至脑疝的形成^[3]。近年有研究发现^[4],炎症在 TICH 后的脑水肿形成中起着关键作用。25-羟维生素 D [25-hydroxyvitamin D, 25(OH)D] 是维生素 D 在体内的主要循环形式,其在机体内具有较好的抗氧化应激以及抗感染作用^[5]。白细胞介素-4 (Interleukin-4, IL-4) 是一种重要的抗炎细胞因子,其可通过与相应的受体结合,从而抑制促炎因子的产生^[6]。本研究旨在探讨 TICH 患者血清 25(OH)D、IL-4 水平与脑水肿体积、疾病转归的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2023 年 10 月淮安市第一人民医院收治的 152 例 TICH 患者作为研究对象,其中男 94 例,女 58 例;年龄 28~74 岁,平均 (42.57 ± 8.12) 岁;体质指数 (body mass index, BMI) $19 \sim 27$ kg/m², 平均 (23.04 ± 2.94) kg/m²;出血部位:硬脑膜外出血 31 例,硬脑膜下出血 54 例,蛛网膜下腔出血 42 例,脑实质出血 25 例。纳入标准:①经颅脑 CT 检查确诊为 TICH 且均符合《中国脑出血诊治指南 (2019)》^[7] 中 TICH 的诊断标准;②创伤至入院时间 <24 h;③临床及随访资料齐全;④患者家属知情同意。排除标准:①合并心、肺、肝等器官严重功能不全者;②合并恶性肿瘤者;③非创伤性脑出血;④近期使用激素或者免疫抑制剂者;⑤合并有结核病、自身免疫系统疾病者;⑥全身严重多发伤。本院医学伦理委员已对本研究进行审核批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集 152 例 TICH 患者的一般资料,包括年龄、性别、BMI、出血部位、吸烟史、饮酒史、入院脑水肿体积、合并高血压、合并糖尿病、合并冠心病、收缩压、舒张压、入院美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分等。

1.2.2 血清 25(OH)D、IL-4 水平检测

在患者脑出血后第 1、3、7 d 抽取其空腹状态下外周静脉血 5 mL,将样本进行离心,离心条件为 3 500 r/min,离心时间为 10 min,离心半径为 8 cm,结束后留取血清于 -80°C 环境保留备用。采用酶联免疫吸附法检测患者血清 25(OH)D (试剂盒:广东固康生物科技有限公司)、IL-4 水平 (试剂盒:武汉瑾萱生物科技有限公司),所有操作具体步骤严格按照说明书进行。

1.2.3 脑水肿体积评估^[8]

分别在患者脑出血后第 1、3、7 d 进行头颅 CT 检查,通过 CT 灌注成像技术,对脑部水肿区域进行了详细分析,并测量了各层水肿面积,用多田公式计算脑水肿体积,血肿体积的计算公式为长径、宽径、层厚、层数和 $\pi/6$ 的乘积,总病灶体积包含了血肿和高密度病灶体积以及水肿区域的总体积,脑水肿体积计算方法为总病灶体积与高密度病灶体积的差值。

1.2.4 疾病转归评估及分组

所有患者均按中国脑血管病临床管理指南^[9] 进行标准化治疗,根据 28 d 疾病转归情况将 TICH 患者分为存活组 ($n=118$)、死亡组 ($n=34$)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件处理数据,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,两组间比较行独立样本 t 检验,多组比较用单因素方差分析,组内两两比较行配对样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验;

采用 Pearson 相关分析探讨血清 25(OH)D、IL-4 水平与脑水肿体积的关系;采用多因素 logistic 回归分析影响因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同时间点 TICH 患者血清 25(OH)D、IL-4 水平及脑水肿体积比较

TICH 患者血清 25(OH)D 水平:脑出血后第 1 d>脑出血后第 3 d>脑出血后第 7 d,IL-4 水平及脑水肿体积:脑出血后第 1 d<脑出血后第 3 d<脑出血后第 7 d,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 不同时间点 TICH 患者血清 25(OH)D、IL-4 水平及脑水肿体积比较 [$(\bar{x}\pm s)$, $n=152$]

组别	25(OH)D (ng/mL)	IL-4 (ng/L)	脑水肿体积 (mL)
脑出血后第 1 d	38.05±4.73	47.46±8.59	8.97±2.68
脑出血后第 3 d	30.47±5.02 ^a	62.05±9.64 ^a	16.71±3.84 ^a
脑出血后第 7 d	25.69±3.46 ^{ab}	80.74±12.96 ^{ab}	25.08±4.03 ^{ab}
<i>F</i> 值	22.148	28.140	27.118
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与脑出血后第 1 d 比较,^a $P<0.05$;与脑出血后第 3 d 比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 TICH 患者血清 25(OH)D、IL-4 水平与脑水肿体积的关系

TICH 患者血清 25(OH)D 水平与脑水肿体积呈负相关,IL-4 水平与脑水肿体积呈正相关($r=-0.543$ 、 0.601 , P 均 <0.001)。

2.3 不同疾病转归 TICH 患者不同时间点血清 25(OH)D、IL-4 水平比较

存活组 TICH 患者脑出血后第 1、3、7 d 血清 25(OH)D 水平高于死亡组,IL-4 水平低于死亡组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。见表 2。

2.4 TICH 患者疾病转归的单因素分析

两组年龄、性别、BMI、出血部位、吸烟史、饮酒史、合并高血压、合并糖尿病、合并冠心病、收缩压、舒张压比较差异无统计学意义($P>0.05$);存活组入院脑水肿体积、入院 NIHSS 评分高于死亡组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 TICH 患者疾病转归的单因素分析 [$n(\%)$, $(\bar{x}\pm s)$]

维度	存活组 ($n=118$)	死亡组 ($n=34$)	t/χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				
男	75(63.56)	19(55.88)	0.659	0.417
女	43(36.44)	15(44.12)		
年龄(岁)	42.08±8.33	43.06±7.51	0.617	0.538
BMI(kg/m ²)	22.91±2.73	23.17±3.17	0.472	0.638
入院脑水肿体积(mL)	8.63±2.29	10.12±2.73	3.198	0.002
出血部位				
硬脑膜外出血	25(21.19)	6(17.65)	1.677	0.642
硬脑膜下出血	39(33.05)	15(44.12)		
蛛网膜下腔出血	33(27.97)	9(26.47)		
脑实质出血	21(17.80)	4(11.76)		
吸烟史	35(29.66)	12(35.29)	0.392	0.531
饮酒史	41(34.75)	15(44.12)	0.996	0.318
合并症高血压	26(22.03)	10(29.41)	5.215	0.022
糖尿病	24(20.34)	8(23.53)	6.900	0.009
冠心病	15(12.71)	6(17.65)	0.540	0.462
收缩压(mmHg)	83.52±12.03	85.43±15.46	0.763	0.447
舒张压(mmHg)	114.65±20.14	115.62±23.67	0.238	0.812
入院 NIHSS 评分	6.97±1.13	17.08±4.16	23.700	<0.001

2.5 TICH 患者疾病转归的多因素分析

将 TICH 患者疾病转归情况作为因变量(存活=0、死亡=1),单因素分析有意义的指标和不同时间点血清 25(OH)D、IL-4 水平作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,入院脑水肿体积 ≥ 9.38 mL($OR=2.241$, 95% CI : 1.310~3.835)、入院 NIHSS 评分 ≥ 12 分($OR=2.492$, 95% CI : 1.503~4.132)、第 3 d 血清 25(OH)D ≤ 26.77 ng/mL($OR=3.203$, 95% CI : 1.951~5.259)、第 3 d 血清 IL-4 ≥ 66.38 ng/L($OR=2.818$, 95% CI : 1.849~4.295)是 TICH 患者疾病转归的危险因素($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

TICH 通常由外力因素引起,患者初期可出现呕吐、头痛等症状,随着病情进展,患者还可表现出意识障碍、肢体瘫痪等症状,进一步增加治疗难度,影响预后^[10]。因此,寻找能够早期预测 TICH 患者脑水肿程度及预后的生物学指标,对改善疾病转归十分关键。

表 2 不同疾病转归 TICH 患者不同时间点血清 25(OH)D、IL-4 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	25(OH)D(ng/mL)			IL-4(ng/L)		
		脑出血后第 1 d	脑出血后第 3 d	脑出血后第 7 d	脑出血后第 1 d	脑出血后第 3 d	脑出血后第 7 d
存活组	118	41.36±4.47	33.47±4.61 ^a	28.19±3.02 ^{ab}	41.25±8.02	58.55±8.17 ^a	77.51±9.74 ^{ab}
死亡组	34	26.56±3.05	20.06±2.67 ^a	17.01±2.85 ^{ab}	69.01±9.13	74.20±10.04 ^a	91.95±12.43 ^{ab}
<i>t</i> 值		18.108	16.174	19.252	17.231	9.340	7.139
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与同组脑出血后第 1 d 比较,^a $P<0.05$;与同组脑出血后第 3 d 比较,^b $P<0.05$ 。

表4 TICH患者疾病转归的多因素分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	P 值
入院脑水肿体积	<9.38 mL=0; ≥9.38 mL=1	0.807	0.274	8.675	2.241(1.310~3.835)	0.003
入院 NIHSS 评分	<12 分=0; ≥12 分=1	0.913	0.258	12.523	2.492(1.503~4.132)	<0.001
第 1 d 25(OH)D	>33.96 ng/mL=0; ≤33.96 ng/mL=1	0.536	0.294	3.324	1.709(0.961~3.041)	0.068
第 3 d 25(OH)D	>26.77 ng/mL=0; ≤26.77 ng/mL=1	1.164	0.253	21.167	3.203(1.951~5.259)	<0.001
第 7 d 25(OH)D	>22.60 ng/mL=0; ≤22.60 ng/mL=1	0.722	0.486	2.207	2.059(0.794~5.336)	0.137
第 1 d IL-4	<55.13 ng/L=0; ≥55.13 ng/L=1	0.617	0.501	1.517	1.853(0.694~4.948)	0.218
第 3 d IL-4	<66.38 ng/L=0; ≥66.38 ng/L=1	1.036	0.215	23.219	2.818(1.849~4.295)	<0.001
第 7 d IL-4	<84.73 ng/L=0; ≥84.73 ng/L=1	0.483	0.339	2.030	1.621(0.834~3.150)	0.154

近年来研究表明^[11], 25(OH)D 在脑部疾病的病理生理过程中发挥着重要作用。陈裕春等^[12]研究发现, 高血压性脑出血患者在微创血肿清除术前血清 25(OH)D 呈低表达, 其对术后脑水肿具有预测价值。本研究中, 随着脑出血时间的增加, TICH 患者血清 25(OH)D 水平逐渐降低, 其与脑水肿体积呈负相关, 且存活组脑出血后第 1、3、7 d 血清 25(OH)D 水平高于死亡组, 进一步验证了 25(OH)D 在脑出血后脑水肿及预后中的作用。分析原因如下: 创伤性脑出血后, 脑组织损伤引发炎症反应, 大量炎症细胞和炎症因子被激活和释放, 导致脑水肿的形成和加重; 在这个过程中, 维生素 D 的代谢受到抑制, 进而导致其活性形式 25(OH)D 水平下降。25(OH)D 水平的下降进一步加剧了炎症反应, 影响预后。

过高的 IL-4 水平可参与炎症反应的调控, 影响疾病进程^[13]。Eftekharian 等^[14]研究发现, 精神分裂症患者血清 IL-4 水平呈高表达, 其水平与疾病的病程有关。本研究中, 随着脑出血时间的增加, TICH 患者血清 IL-4 水平逐渐升高, 其水平与脑水肿体积呈正相关。本研究中, 存活组在脑出血后第 1、3、7 天血清 IL-4 水平低于死亡组。分析其原因, 脑出血后大量的炎症细胞被激活并浸润到损伤区域, 释放炎症因子; IL-4 的升高进一步促进了炎症介质的释放, 加剧了炎症反应, 进而导致脑水肿体积增大, 影响预后。多因素回归分析显示, 入院脑水肿体积 ≥9.38 mL、入院 NIHSS 评分 ≥12 分、第 3 d 血清 25(OH)D ≤26.77 ng/mL、第 3 d 血清 IL-4 ≥66.38 ng/L 是 TICH 患者疾病转归的危险因素, 提示临床医务工作者应关注以上人群, 加以早期干预以降低死亡风险。

综上所述, 血清 25(OH)D、IL-4 水平与 TICH 患者脑水肿体积及疾病转归有关, 脑出血后第 3 d 患者 25(OH)D 低水平、IL-4 高水平是疾病转归的独立危险因素。

参考文献

- [1] Thapa K, Khan H, Singh TG, et al. Traumatic Brain Injury: Mechanistic Insight on Pathophysiology and Potential Therapeutic Targets[J]. J Mol Neurosci, 2021, 71(9): 1725-1742.
- [2] Gluski J, Garling RJ, Kappel A, et al. Factors Impacting Hydrocephalus Incidence in Intracerebral Hemorrhage: A Retrospective Analysis[J]. World Neurosurg, 2021, 148(1): e381-e389.
- [3] 戴志强, 罗为, 谢佳芯, 等. 靶点穿刺法在幕上脑出血微创穿刺置管引流术中的应用研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(4): 21-26.
- [4] 凌成明, 于泽奇, 阮涛, 等. 内镜下血肿清除联合置管引流术对脑出血破入脑室患者血肿清除率及血清 NSE、COR 水平的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2024, 21(7): 63-68+78.
- [5] 邱玮, 李汶玲. 肩袖修复术后愈合不良影响因素的研究进展[J]. 感染、炎症、修复, 2023, 24(1): 49-53.
- [6] Liu MN, Au M, Bishara M, et al. Serum interleukin-4 is elevated in clinical drug-induced liver injury[J]. Scand J Gastroenterol, 2023, 58(12): 1499-1504.
- [7] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑出血诊治指南(2019)[J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(12): 994-1005.
- [8] 张要田, 王军宝, 马昌宝, 等. 创伤性脑出血患者脑水肿体积与血清 NSE、MMP-9、NGAL 的关系[J]. 实用心脑血管病杂志, 2023, 31(11): 31-34.
- [9] 张谦, 冀瑞俊, 赵萌, 等. 中国脑血管病临床管理指南(第 2 版)(节选)——第 5 章脑出血临床管理[J]. 中国卒中杂志, 2023, 18(9): 1014-1023.
- [10] Eastman DK, Spilman SK, Tang K, et al. Platelet Reactivity Testing for Aspirin Patients Who Sustain Traumatic Intracranial Hemorrhage[J]. J Surg Res, 2021, 263(1): 186-192.
- [11] Bivona G, Lo Sasso B, Gambino CM, et al. The Role of Vitamin D as a Biomarker in Alzheimer's Disease[J]. Brain Sci, 2021, 11(3): 334.
- [12] 陈裕春, 朱祺菁. 高血压性脑出血患者微创血肿清除术前血清 ox-LDL、25-(OH)-D 水平对脑水肿的预测价值[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(22): 3319-3323+3327.
- [13] 冯爱迪, 贾丽华, 万颖. 乳杆菌活菌胶囊协同人干扰素 α -2b 凝胶治疗 HSIL 患者 CKC 术后伴 HR-HPV 感染的效果及对 IL-4、IL-10 及 TNF- α 水平的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(1): 41-45.
- [14] Eftekharian MM, Omrani MD, Arsang-Jang S, et al. Serum cytokine profile in schizophrenic patients[J]. Hum Antibodies, 2019, 27(1): 23-29.

HbA1c、ALBU、TG 变异性在 2 型糖尿病肾病中的应用价值

周梅* 汤义兵 莫秀萍

[摘要] **目的** 探究糖化血红蛋白(HbA1c)、尿微量白蛋白(ALBU)、甘油三酯(TG)变异性在 2 型糖尿病肾病(T2DKD)中的应用价值。**方法** 选取 2022 年 8 月至 2024 年 4 月合肥市第八人民医院检验科收治的 T2DKD 患者 143 例,通过纳入、排除标准排除 38 例,最终共 105 例作为研究组。根据 T2DKD 患者的肾损伤程度不同,将患者按 ALBU 指标的高低分为轻度(≤ 45 mg/L)、中度(46~80 mg/L)和重度组(≥ 81 mg/L)分别为 37、46 和 22 例,并纳入单纯 2 型糖尿病患者 67 例作为对照组,比较对照组和不同病情程度患者 HbA1c、ALBU、TG 变异性的变化。根据预后情况将研究组分成分预后良好组 66 例及预后不良组 39 例,对比不同预后情况 T2DKD 患者的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性;采用 ROC 曲线分析 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性对 T2DKD 预后的价值。**结果** 研究组的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性均较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);不同严重程度 T2DKD 患者的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性对比:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$);预后良好组的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性均较预后不良组低,差异有统计学意义($P < 0.05$);T2DKD 患者 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性联合检测下的 AUC 值为 0.838,这一值高于 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性单独检测的 AUC 值($P < 0.05$)。**结论** HbA1c、ALBU 和 TG 变异性的表达与 2 型糖尿病肾病患者的肾损伤程度有关,且三者联合检测对 T2DKD 患者预后具有较高的预测价值。

[关键词] 糖化血红蛋白;尿微量白蛋白;甘油三酯变异性;2 型糖尿病肾病

The value of HbA1c, ALBU, and TG variability in type 2 diabetic nephropathy

ZHOU Mei*, TANG Yibing, JIA Xiuping

(Clinical Laboratory, the Eighth People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui, China, 238000)

[ABSTRACT] **Objective** To examine the prognostic utility of glycated haemoglobin (HbA1c), urinary microalbumin (ALBU) and triglyceride (TG) variability in type 2 diabetic nephropathy (T2DKD). **Methods** A sample of 105 cases comprised the research group, with 38 cases excluded based on the inclusion and exclusion criteria. The research group was drawn from 143 patients with T2DKD who were enrolled at the Department of Laboratory of the Eighth People's Hospital of Hefei from August 2022 to April 2024. The ALBU indices were stratified based on the degree of renal injury among T2DKD patients, resulting in three categories: mild (≤ 45 mg/L), moderate (46~80 mg/L), and severe (≥ 81 mg/L). There were 37, 46 and 22 cases in eachy group, respectively, while 67 cases of individuals with simple type 2 diabetes mellitus were included as the reference group. The serum HbA1c values in the reference group and individuals with varying degrees of disease severities were assessed, along with their ALBU and TG variability. Participants were divided into two groups based on favorable or unfavorable prognostic indicators, including the presence of cardiovascular disease, end-stage renal disease, and mortality at the time of observation. The HbA1c, ALBU, and TG variability between the two groups were compared. Logistic regression was employed to evaluate the impact of prognostic factors on prognosis of T2DKD and receiver operating characteristic curves were employed to ascertain the predictive value of HbA1c, ALBU, and TG variability levels in predicting T2DKD outcomes. **Results** The variability of HbA1c, ALBU, and TG in the research group was higher compared to the reference group,

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021a029)

作者单位:合肥市第八人民医院检验科,安徽,合肥 238000

*通信作者:周梅, E-mail:zm20241759@163.com

with a statistically significant difference ($P<0.05$). A comparison of HbA1c, ALBU, and TG variability in patients with different severities of T2DKD revealed that the severe group exhibited the greatest variability, followed by the intermediate group and the minimal group. These findings were statistically meaningful ($P<0.05$). The group with a favorable prognosis had lower HbA1c, ALBU, and TG variability compared to the group with an unfavorable prognosis, with statistically meaningful deviations ($P<0.05$). Multifactorial logistic regression analysis indicated that HbA1c, ALBU, and TG variability were independent risk factors for a poor prognosis in T2DKD ($P<0.05$). The combined detection of serum HbA1c, ALBU, and TG variability in patients with T2DKD had a higher AUC value than individual detection of each indicator ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of HbA1c, ALBU, and TG variants is associated with the degree of renal injury in patients with type 2 diabetic nephropathy. Furthermore, the combined detection of serum HbA1c, ALBU, and TG variability demonstrates a high predictive value for the degree of renal injury in T2DKD patients.

[KEY WORDS] Glycated haemoglobin; Urine microalbumin; Triglycerides variability; Type 2 diabetic nephropathy

2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种临床多发的慢性代谢性疾病,常伴随着多种不良预后情况^[1]。作为T2DM主要的并发症之一,2型糖尿病肾病(Type 2 diabetic kidney disease, T2DKD)可能会恶化成终末期肾病,甚至危及生命^[2]。因此,探索能预测T2DKD病理进程的生物标志物,并研究影响T2DKD患者预后的因素,显得尤为关键。尹晓明等^[3]研究指出,糖化血红蛋白(Glycated hemoglobin, HbA1c)水平越高,则老年T2DM患者诱发糖尿病肾病的风险越大。Adeva-Andany等^[4]研究指出,尿微量白蛋白(Albumin, ALBU)能反映肾脏损害情况,其水平的变化与肾脏疾病进展密切相关。Matsuoka-Uchiyama等^[5]发现,三酰甘油(Triglycerides, TG)变异性与T2DKD病情的加重有关,这可能通过阻碍血脂代谢,对糖尿病并发肾脏疾病的进展产生影响。本项研究旨在通过评估HbA1c、ALBU和TG变异性三个指标在预测T2DKD患者预后中的价值,以期为临床实践中对T2DKD患者的预后评估及病情监测提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2022年8月至2024年4月合肥市第八人民医院收治的2型糖尿病肾病患者143例,通过纳入、排除标准排除38例,最终共105例作为研究组。纳入标准:①符合《糖尿病肾病病证结合诊疗指南》^[6]中的T2DKD诊疗准则;②拥有完整临床资料者;③患者已知晓研究内容并签署知情同意书。排除标准:①合并原发性或继发性肾脏病变者;②甲状腺功能异常的患者;③合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病或严重心脑血管病变的患者;④有精

神障碍病史的患者;⑤出现血尿症状的患者。利用ALBU^[7]评估观察组患者的2型糖尿病肾病严重程度,根据患者ALBU水平不同进行分组,其中37例2型糖尿病肾病作为轻度组(≤ 45 mg/L)、46例2型糖尿病肾病作为中度组(46~80 mg/L)、22例2型糖尿病肾病作为重度组(≥ 81 mg/L)。另选取同期单纯2型糖尿病患者67例作为对照组。本研究已通过合肥市第八人民医院伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 资料采集

收集研究组、对照组患者的临床和实验室测定资料,涵盖患者性别、年龄、体质指数(Body Mass Index, BMI)、舒张压、收缩压、空腹血糖(Fasting Blood Glucose, FBG)。

1.2.2 指标检测方法

就诊次日清晨,收集所有受试者空腹静脉血液样本5 mL以及中段尿样本10 mL,以3 000 r/min进行离心,离心半径设定为10 cm,持续10 min,以获取上清液样本。采用高效液相色谱法检测患者的血清HbA1c水平,检测设备为全自动糖化血红蛋白分析仪(购自爱科来医疗科技有限公司,型号:HA-8180)。取尿上清液样本采用免疫比浊法进行ALBU水平的测定,检测设备为日立7600型全自动生化分析仪。在每月的随访评估时,收集所有参与者早晨空腹血浆样本以便检测血脂,采用氧化酶法进行TG水平的测定,检测设备为上述全自动生化分析仪。根据所有受试者连续三个月测定的TG水平计算其均值和标准差,用TG标准差来评估TG的变异性。

1.2.3 分组标准

以确诊T2DKD后的第1天计为起始时间,期间进行常规治疗,并对T2DKD患者进行为期3个

月的随访。随访期间,主要观察的预后事件包括心血管疾病、终末期肾脏病以及死亡的发生^[8]。根据患者的临床预后结果,将其分成预后良好组(66例)和预后不良组(39例)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述,两组间用 t 检验,多组比较采用多因素方差分析;计数资料用 $n(\%)$ 描述,用 χ^2 检验;采取 ROC 曲线评估 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性在 2 型糖尿病肾病患者的预后预测情况。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料比较

比较研究组与对照组的男女比例、年龄、体质指数(BMI)、舒张压、收缩压及空腹血糖(FBG),发现差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

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

组别	研究组 (105例)	对照组 (67例)	t/χ^2 值	P 值
性别				
男	59(56.19)	37(55.22)	0.016	0.901
女	46(43.81)	30(44.78)		
年龄(岁)	62.72 $\pm$ 7.35	63.04 $\pm$ 7.48	0.277	0.782
BMI(kg/m ²)	23.12 $\pm$ 1.75	22.83 $\pm$ 2.14	1.015	0.312
舒张压(mmHg)	88.21 $\pm$ 9.04	87.56 $\pm$ 8.97	0.467	0.641
收缩压(mmHg)	140.48 $\pm$ 20.31	141.03 $\pm$ 19.86	0.154	0.878
FBG(mmol/L)	8.42 $\pm$ 1.69	8.37 $\pm$ 1.75	0.192	0.848

2.2 两组 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性比较

研究组的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性均较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HbA1c (%)	ALBU (mg/L)	TG-SD
对照组	67	7.17 $\pm$ 1.03	10.23 $\pm$ 2.36	1.21 $\pm$ 0.55
研究组	105	9.08 $\pm$ 1.32	59.91 $\pm$ 6.27	2.13 $\pm$ 0.69
t 值		10.008	62.112	9.275
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 不同严重程度 T2DKD 患者的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性比较

不同严重程度 T2DKD 患者的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性比较:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 预后良好和不良组的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性

预后良好组的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性均较预后不良组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 3 不同严重程度 T2DKD 患者的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HbA1c (%)	ALBU (mg/L)	TG-SD
轻度组	37	8.61 $\pm$ 1.20 ^a	39.35 $\pm$ 4.27 ^a	1.83 $\pm$ 0.61 ^a
中度组	46	9.13 $\pm$ 1.49 ^{ab}	60.76 $\pm$ 7.58 ^{ab}	2.27 $\pm$ 0.69 ^{ab}
重度组	22	9.77 $\pm$ 1.53 ^{abc}	92.71 $\pm$ 9.32 ^{abc}	2.64 $\pm$ 0.87 ^{abc}
F 值		4.749	396.066	9.937
P 值		0.011	<0.001	0.001

注:与对照组对比,^a $P < 0.05$;与轻度组对比,^b $P < 0.05$;与中度组对比,^c $P < 0.05$ 。

表 4 预后良好和不良组的 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HbA1c (%)	ALBU (mg/L)	TG-SD
预后良好组	66	8.75 $\pm$ 1.37	58.19 $\pm$ 5.42	1.99 $\pm$ 0.71
预后不良组	39	9.64 $\pm$ 1.45	62.82 $\pm$ 6.33	2.52 $\pm$ 0.81
t 值		3.145	3.972	3.528
P 值		0.002	<0.001	0.001

2.5 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性联合检测对 T2DKD 患者预后的预测价值

T2DKD 患者 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性联合检测下的 AUC 值为 0.838,这一值高于 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性单独检测的 AUC 值(0.663、0.713、0.678, $P < 0.05$)。见表 5、图 1。

表 5 HbA1c、ALBU 和 TG 变异性联合检测对 T2DKD 患者预后的预测价值

项目	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
HbA1c	9.96	0.663 ^a	0.556~0.770	0.879	0.462	0.341
ALBU	62.00	0.713 ^a	0.610~0.817	0.773	0.615	0.388
TG-SD	2.69	0.678 ^a	0.568~0.789	0.833	0.538	0.371
三者联合		0.838	0.758~0.918	0.727	0.821	0.548

注:与三者联合相比,^a $P < 0.05$ 。

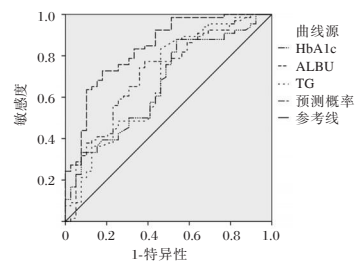


图 1 ROC 曲线

3 讨论

T2DKD 的典型病理特征包括肾小球硬化和基底膜的增厚,其疾病早期阶段患者常缺乏明显的临床症状,当患者出现蛋白尿时,往往已错过治疗的黄金时期,这将对患者的长期预后产生负面影响^[9]。因此,研究与 T2DKD 病理进展和预后结果相关的生物标志物具有重要的意义。

HbA1c 是评估糖尿病患者病理变化的一种生

物标志物,其浓度水平越高则对肾脏的损伤越严重,在诊断糖尿病患者早期肾病方面具有重要意义^[10]。ALBU是评估肾小球滤过功能的一个生物标志物,由于糖尿病肾病在早期主要表现为肾小球的损伤,肾小球的滤过率会明显降低^[11]。研究表明^[12],TG变异性与T2DKD的疾病恶化有关,且餐后高脂血症已被确认为一个重要的心血管风险因素。本研究结果表明,研究组的HbA1c、ALBU和TG变异性均较对照组高;不同严重程度T2DKD患者的HbA1c、ALBU和TG变异性对比:重度组>中度组>轻度组。分析其原因,2型糖尿病患者由于血糖水平异常升高,导致血液黏稠度增加和红细胞变形能力降低,损害了人体红细胞的携氧功能,导致肾脏缺氧和血管内皮细胞损伤并凋亡,从而导致HbA1c水平上升,从而造成肾小球基底膜增厚,膜通透性增加,肾小球受损,进而导致T2DKD患者肾功能下降^[13];在肾功能退化的情况下,T2DKD患者的肾小球滤过功能降低,导致肾小球滤过膜的负电荷丧失和基底膜孔径的变化,且高血糖状态还可能触发肾血流动力学降低,故而ALBU水平明显升高^[14];同时,2型糖尿病患者常伴有糖脂代谢的异常,这影响了TG变异性,加剧了氧化应激,触发了血管内皮细胞凋亡,激发NF-KB信号通路,加剧炎症反应,这些连锁反应导致血糖指数进一步上升,促进了2型糖尿病的进展,最终加剧了T2DKD的病情恶化^[15]。

Tamru等^[16]的研究指出,HbA1c水平的升高是T2DM患者发展为糖尿病肾病的一个重要风险因素,并且可以作为T2DKD预后情况的监测指标。此外,韩国一项研究还发现^[17],低密度脂蛋白(LDL)和TG的变异性的表达是导致T2DKD预后不良的原因之一。本研究结果显示,预后良好组血HbA1c、ALBU和TG变异性低于预后不良组;ROC曲线分析结果提示,三水平联合检测诊断T2DKD的AUC值高于HbA1c、ALBU和TG变异性各项的单独检测,这提示联合检测HbA1c、ALBU和TG变异性在预测T2DKD方面的优越性。

综上所述,HbA1c、ALBU、TG变异性及其三者联合检测对早期糖尿病患者的肾脏损伤程度进行预测,并为临床治疗和预后监测提供新的工具。

参考文献

- [1] 王玮莉,赵静,陈邢玉,等.半夏泻心汤联合西格列汀治疗老年2型糖尿病的临床效果[J].中国老年学杂志,2022,42(16):3927-3929.
- [2] 韩敬,顾津伊,聂君旭,等.2型糖尿病肾病患者血清miR-27b-3p、miR-342-3p表达特点及临床意义[J].天津医药,2022,50(10):1077-1082.
- [3] 尹晓明,李晓飞,赵蓉.云南省2型糖尿病患者糖尿病肾病发病情况与危险因素分析[J].华南预防医学,2021,47(4):440-444.
- [4] Adeva - Andany MM, Fernández - Fernández C, Funcasta - Calderón R, et al. Insulin resistance is associated with clinical manifestations of diabetic kidney disease (glomerular hyperfiltration, albuminuria, and kidney function decline) [J]. Curr Diab Rev, 2022, 18(7): 64-85.
- [5] Matsuoka - Uchiyama N, Uchida HA, Okamoto S, et al. The association of postprandial triglyceride variability with renal dysfunction and microalbuminuria in patients with type 2 diabetic mellitus; a retrospective and observational study [J]. J Diab Res, 2022, 2022(1): 3157841.
- [6] 中国医师协会中西医结合医师分会内分泌与代谢病学专业委员会.糖尿病肾病病证结合诊疗指南[J].中医杂志,2022,63(2):190-197.
- [7] 魏冉,彭丽,梁芳,等.糖尿病肾病合并上尿路感染患者PINK1/Parkin mRNA与mAlb及其诊断价值[J].中华医院感染学杂志,2023,33(20):3061-3065.
- [8] 刘金成,陈东,李佳,等.CA125、hs-CRP及Hcy检测在急性心衰诊断、近期预后中的评估[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(7):1121-1124.
- [9] Wang J, Zhao L, Zhang J, et al. Clinicopathologic features and prognosis of type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy in different age groups; more attention to younger patients[J]. Endocr Pract, 2020, 26(1): 51-57.
- [10] 易丽萍,张悦凤,李小明,等.血清HbA1c、IL-6、CysC与老年糖尿病肾病患者病变严重程度的相关性[J].中国老年学杂志,2020,40(18):3843-3845.
- [11] Phanish MK, Chapman AN, Yates S, et al. Evaluation of urinary biomarkers of proximal tubular injury, inflammation, and fibrosis in patients with albuminuric and nonalbuminuric diabetic kidney disease[J]. Kidney Int Rep, 2021, 6(5): 1355-1367.
- [12] Balikai FA, Deshpande N, Javali S, et al. The relationship between serum triglyceride level and heart rate variability in type 2 diabetes mellitus patients of North Karnataka[J]. J Diabetol, 2020, 11(3): 191-197.
- [13] Williams A, Bissinger R, Shamaa H, et al. Pathophysiology of red blood cell dysfunction in diabetes and its complications [J]. Pathophysiology, 2023, 30(3): 327-345.
- [14] 常杰.血清视黄醇结合蛋白与尿微量白蛋白在2型糖尿病早期肾病中的诊断价值探讨[J].中国全科医学,2020,23(S2): 132-133.
- [15] Li H, Zuo Y, Qian F, et al. Triglyceride-glucose index variability and incident cardiovascular disease: a prospective cohort study[J]. Cardiovasc Diabetol, 2022, 21(1): 105.
- [16] Tamru K, Aga F, Berhanie E, et al. Incidence of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus at a tertiary healthcare setting in Ethiopia[J]. Diab Metab Syndr, 2020, 14(5): 1077-1083.
- [17] Koh SM, Chung SH, Yum YJ, et al. Comparison of the effects of triglyceride variability and exposure estimate on clinical prognosis in diabetic patients[J]. Cardio Diabetol, 2022, 21(1): 245.

左氧氟沙星对泌尿系感染性结石患者血清 ET、CysC、IL-2 水平的影响

杜龙¹ 杨振^{2*} 罗浪¹ 陈驰¹ 刘志远¹ 魏攀¹

[摘要] **目的** 研究左氧氟沙星对泌尿系感染性结石患者血清内皮素(ET)、胱抑素 C(CysC)、白细胞介素-2(IL-2)水平的影响。**方法** 选取 2022 年 1 月至 2024 年 1 月于成都市新都区第二人民医院治疗的 85 例泌尿系感染性结石患者为研究对象,以随机数字表法分为观察组($n=43$)及对照组($n=42$),两组均接受钬激光碎石手术治疗,观察组联合左氧氟沙星治疗,比较两组的排石效果、炎症因子水平[可溶性血管细胞黏附分子-1(sVCAM-1)、IL-2 及 C 反应蛋白(CRP)]、肾损伤因子水平[CysC、ET、尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)]及肾绞痛疼痛程度。**结果** 治疗 3 d 后,观察组血尿持续时间、结石完全排出时间均较对照组短,结石完全排出率较对照组高,差异有统计学意义($P<0.05$);两组炎症因子水平均降低,且观察组较对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);两组肾组织损伤因子水平均降低,且观察组较对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$);两组中重度疼痛占比均降低,且观察组较对照组低,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 左氧氟沙星治疗泌尿系感染性结石患者的排石效果较好,可有效减轻其炎症反应及肾组织损伤程度,并可有效缓解肾绞痛。

[关键词] 左氧氟沙星;泌尿系感染性结石;内皮素;胱抑素 C;白细胞介素-2

Effect of levofloxacin on serum ET, CysC and IL-2 levels in patients with urinary tract infection stones

DU Long¹, YANG Zhen^{2*}, LUO Lang¹, CHEN Chi¹, LIU Zhiyuan¹, WEI Pan¹

(1. Department of Urinary Surgery, the Second People's Hospital of Xindu District, Chengdu, Sichuan, China, 610500; 2. Department of Urology, Chengdu Second People's Hospital, Chengdu, Sichuan, China, 610017)

[ABSTRACT] **Objective** To study the influence of levofloxacin on serum endothelin (ET), cystatin C (CysC) and interleukin-2 (IL-2) levels in patients with urinary tract infection stones. **Methods** The study included 85 patients with urinary tract infection stones at the Second People's Hospital of Xindu District, Chengdu City from January 2022 to January 2024. They were randomly divided into an observation group ($n=43$) and a control group ($n=42$). Both groups underwent treatment with holmium laser lithotripsy, with the observation group also receiving levofloxacin. The study compared the effectiveness of stone removal, levels of inflammatory factors [soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1), IL-2, C-reactive protein (CRP)], renal injury factors [CysC, ET, urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)], and the degree of renal colic pain between the groups. **Results** After 3 days of treatment, the duration of hematuria and complete stone removal time in the observation group were shorter compared to the control group ($P<0.05$), and the complete stone removal rate was higher than that in the control group ($P<0.05$). The levels of sVCAM-1, IL-2, CRP, CysC, ET, and urinary NGAL, and rate of moderate-to-severe pain were lower in the observation group compared to the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Levofloxacin has a good effect on removing stones in the treatment of urinary tract infections. It can effectively reduce the inflammatory response and the degree of renal tissue injury, as well as alleviate renal colic.

[KEY WORDS] Levofloxacin; Urinary tract infection stones; Endothelin; Cystatin C; Interleukin-2

基金项目:成都市医学科研课题立项项目(2022557)

作者单位:1. 成都市新都区第二人民医院泌尿外科,四川,成都 610500

2. 成都市第二人民医院泌尿外科,四川,成都 610017

*通信作者:杨振, E-mail: dl16510869998@163.com

泌尿系感染性结石是在泌尿系感染的基础上形成的结石,是由细菌在尿路中繁殖引起的感染,患者常表现为尿频、尿急、尿痛等尿路感染典型症状,严重影响患者生活质量^[1]。临床常用钬激光碎石手术治疗该疾病,但术后需配合药物排石,排出残余结石,预防复发^[2]。左氧氟沙星是一种喹诺酮类抗生素,其可通过抑制细菌DNA的合成复制,阻断或抑制细菌的生长繁殖^[3]。内皮素(endothelin, ET)是由内皮细胞分泌的强效血管收缩肽类激素,其通过结合血管内皮细胞受体促进中性粒细胞的黏附,加重炎症反应,影响肾血管功能,加剧血流动力学异常^[4]。胱抑素C(Cystatin C, CysC)是由全身细胞产生、通过肾小球滤过并部分被肾小管重吸收的小分子蛋白质,可反映肾功能的损害程度^[5]。白细胞介素-2(interleukin 2, IL-2)是由T淋巴细胞产生,主要参与免疫反应调节,机体炎症时会导致免疫细胞激活,增加IL-2释放,并参与调控T细胞增殖活化^[6]。本研究将探讨左氧氟沙星对泌尿系感染性结石患者血清ET、CysC及IL-2的影响,报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2022年1月至2024年1月于成都市新都区第二人民医院治疗的85例泌尿系感染性结石患者为研究对象。纳入标准:①符合泌尿系感染性结石的诊断标准^[7],经影像学确诊;②均已接受钬激光碎石手术治疗;③伴有肾绞痛症状的患者;④纳入时患者生命体征均平稳;⑤均同意本次研究并签知情同意书。排除标准:①对研究所用药物过敏的患者;②拒绝配合治疗者;③伴有肝肾严重疾病者;④合并精神异常、认知障碍的患者;⑤伴有手术并发症的患者;⑥恶性肿瘤者。以随机数字表法分为观察组($n=43$)及对照组($n=42$),其中观察组男、女分别为23例、20例;年龄23~72岁,平均(56.34 ± 5.59)岁;结石直径0.8~2.0 mm,平均(1.47 ± 0.33) mm;结石位置:左侧18例,右侧25例。对照组男、女分别为20例、22例;年龄24~71岁,平均(55.46 ± 5.64)岁;结石直径0.8~2.0 mm,平均(1.39 ± 0.35) mm;结石位置:左侧16例,右侧26例。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

两组均接受钬激光碎石手术治疗,取患者截石位,以输尿管硬镜留置导丝后沿其置入F12/14软镜外鞘,而后置入一次性F7.5输尿管软镜,以人工注水的方式保持清晰术野。采用无锡市大华激光设备有限公司生产的钬激光治疗机进行碎石,配合200 μm 钬激光光纤,参数为功率(0.8~1.0) J $\times$ (20~30) Hz。术后指导患者多饮水,配合适当运动,并予以患者生命体征监测、镇痛管理,嘱其每月来院复诊。观察组在此基础上联合左氧氟沙星治疗,予以患者左氧氟沙星氯化钠注射液(湖南科伦制药有限公司,国药准字H20203719,规格:100 mL:0.5g,0.9 直立式聚丙烯/袋)0.5 g 静脉滴注,每日1次。共治疗3 d。

1.3 观察指标

1.3.1 排石效果

记录并比较两组治疗后的血尿持续时间、结石完全排出时间及结石完全排出率。

1.3.2 实验室指标

分别于治疗前及治疗后3 d取两组空腹静脉血8 mL,以3 000 r/min(离心半径为15 cm)离心15 min,分离血清后冷冻备用。炎症因子水平测定:采用酶联免疫吸附法(广州奥瑞达生物科技有限公司)检测IL-2、可溶性血管细胞黏附分子-1(soluble vascular cell adhesion molecule-1, sVCAM-1)及C反应蛋白(c-reactive protein, CRP)水平。肾损伤因子水平测定:采用双抗体夹心法(东莞市酶联生物科技有限公司)检测ET水平;采用乳胶增强免疫比浊法(浙江福康生物技术有限公司)检测CysC水平。留取两组治疗前及治疗后3 d清晨中段尿液5 mL,静置15 min后以3 000 r/min(离心半径为15 cm)离心15 min,分离上清液后采用荧光免疫层析法(湖南德荣生物医学工程有限公司)检测尿中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)水平。

1.3.3 疼痛程度

根据视觉模拟量表(visual analogue scale, VAS)^[8]评估肾绞痛疼痛程度,其采用0~10分制,0分为无痛,10分为剧烈疼痛,其中1~3分为轻度疼痛,4~6分为中度疼痛,7~10分为重度疼痛,得分越高,表示越痛。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件分析数据,服从正态

分布的连续变量采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行独立样本 t 检验;计数数据采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组排石效果比较

治疗后,观察组血尿持续时间、结石完全排出时间均较对照组短,结石完全排出率较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组炎症因子水平比较

两组治疗前炎症因子水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗3 d后两组炎症因子水平均降低,且观察组较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组肾组织损伤因子水平比较

两组治疗前肾组织损伤因子水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗3 d后两组肾组织损伤

因子水平均降低,且观察组较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.4 两组肾绞痛疼痛程度比较

两组治疗前肾绞痛中重度疼痛占比比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗3 d后两组中重度疼痛占比均降低,且观察组较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

泌尿系感染性结石是指由尿路感染引起的结石形成,通常与膀胱炎、肾盂肾炎等尿路感染同时存在^[9]。左氧氟沙星是一种广谱抗菌药物,其能有效灭活白假丝酵母菌、大肠杆菌等多种引起尿路感染的致病菌,杀菌作用强,降低结石再形成风险^[10]。

本研究发现,治疗后,观察组血尿持续时间、结石完全排出时间更短,结石完全排出率更高,

表1 两组排石效果比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

组别	<i>n</i>	血尿持续时间(d)	结石完全排出时间(d)	结石完全排出率
观察组	43	2.56±0.78	4.31±0.89	41(95.35)
对照组	42	3.22±0.83	5.01±0.93	34(80.95)
<i>t</i> / χ^2 值		3.779	3.546	4.242
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.039

表2 两组炎症因子水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	IL-2 (ng/L)		sVCAM-1 (ng/mL)		CRP (mg/L)	
		治疗前	治疗3 d后	治疗前	治疗3 d后	治疗前	治疗3 d后
观察组	43	4.87±0.59	3.43±0.41 ^a	736.41±82.47	628.64±45.29 ^a	72.37±7.53	26.21±4.36 ^a
对照组	42	4.66±0.67	3.82±0.36 ^a	720.89±83.26	655.82±44.57 ^a	71.26±7.69	29.34±4.41 ^a
<i>t</i> 值		4.535	4.656	0.863	2.788	0.673	3.290
<i>P</i> 值		0.129	<0.001	0.390	0.007	0.503	0.002

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 两组肾组织损伤因子水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	CysC (mg/L)		NGAL (μg/L)		ET (mg/L)	
		治疗前	治疗3 d后	治疗前	治疗3 d后	治疗前	治疗3 d后
观察组	43	1.24±0.19	0.93±0.08 ^a	7.72±1.89	4.24±1.17 ^a	98.45±9.57	47.34±5.46 ^a
对照组	42	1.18±0.21	0.98±0.06 ^a	7.33±1.94	5.11±1.26 ^a	97.34±9.68	50.58±5.73 ^a
<i>t</i> 值		1.382	3.254	0.939	3.300	0.532	2.669
<i>P</i> 值		0.171	0.002	0.351	0.001	0.596	0.009

注:与本组治疗前比较,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组肾绞痛疼痛程度比较 $[n(\%)]$

组别	<i>n</i>	治疗前					治疗3 d后				
		无痛	轻度疼痛	中度疼痛	重度疼痛	中重度疼痛率	无痛	轻度疼痛	中度疼痛	重度疼痛	中重度疼痛率
观察组	43	0	17	22	4	26(60.47)	4	27	12	0	12(27.91)
对照组	42	0	14	21	7	28(66.67)	2	17	19	4	23(54.76)
χ^2 值						0.353					6.326
<i>P</i> 值						0.553					0.012

说明采用左氧氟沙星治疗泌尿系感染性结石患者的排石效果较好。刘祺等^[11]的研究中使用广金钱草总黄酮胶囊治疗该疾病,也得到此结论。而本研究使用的左氧氟沙星为喹诺酮类抗菌药物,其以细菌 DNA 为靶点,与细菌 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 结合,抑制细菌的 DNA 复制和转录过程,导致细菌 DNA 的超螺旋结构无法解旋,抑制细菌生长增殖,发挥杀菌作用;该药物通过抑制致病菌在结石表面形成生物膜的能力,阻止生物膜形成,减少尿路感染,改善尿路通畅性,促进结石排出。

本研究发现,治疗 3 d 后观察组 sVCAM-1、IL-2 及 CRP 更低,说明采用左氧氟沙星治疗泌尿系感染性结石患者可有效减轻其炎症反应。杨薛枫等^[12]的研究中也探究左氧氟沙星对该类患者炎症反应的影响,但本研究纳入的炎症反应指标对炎症反应的评估效果更好,考虑是左氧氟沙星通过抑制细菌 DNA 促旋酶和拓扑异构酶 IV 活性,阻断细菌 DNA 超螺旋结构的复制和细胞分裂过程,抑制细菌生长增殖,减少致炎因子释放,阻断免疫反应和炎症形成,减轻炎症反应。

本研究发现,治疗 3 d 后观察组 CysC、ET 及 NGAL 水平更低,说明采用左氧氟沙星治疗泌尿系感染性结石患者可有效减轻其肾组织损伤程度。Zusso 等^[13]的研究中仅关注左氧氟沙星对感染患者炎症反应的影响,但本研究另有发现:左氧氟沙星的抗生素活性阻断细菌 DNA 的复制和转录,不仅具备杀菌作用,还能减少细菌对周围环境释放的外毒素、白细胞趋化因子等毒素和致炎因子的产生,控制炎症反应程度;并通过减少炎症和细菌毒素对肾脏的损伤,减轻肾脏炎症损伤,维持肾小球滤过功能,减轻其肾组织损伤。

本研究发现,治疗 3 d 后观察组中重度疼痛占比更低,说明采用左氧氟沙星治疗泌尿系感染性结石患者可有效缓解其肾绞痛。段启林^[14]的研究仅使用手术治疗该疾病,且仅关注排石效果,而本研究联合左氧氟沙星治疗该疾病,其作为广谱抗生素,能够有效灭活引起泌尿系感染的细菌,通过减少感染的细菌数量和炎症反应程度,减轻患者肾脏和尿路炎症反应,减少疼痛介质的释放,减轻疼痛;且该药物抗菌、抗炎作用有助于保护肾小球和肾脏结构,减少感染对肾脏的直接损害,减轻肾绞痛。

综上所述,采用左氧氟沙星治疗泌尿系感染性结石患者的排石效果较好,可有效减轻其炎症反应及肾组织损伤程度,并可有效缓解肾绞痛,值得推广。

参考文献

- [1] Peng C, Chen Z, Xu J. Risk factors for urinary infection after retrograde upper urinary lithotripsy: Implication for nursing [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021,100(31):e26172.
- [2] Cui H. Distribution and drug resistance of pathogens causing urinary tract infection in patients with urinary calculi [J]. *Am J Transl Res*, 2021,13(9):10554-10561.
- [3] Rouphael N, Winokur P, Keefer MC, et al. Daily fosfomycin versus levofloxacin for complicated urinary tract infections [J]. *mBio*, 2023,14(5):e0167723.
- [4] Barton M, Yanagisawa M. Endothelin: 30 Years From Discovery to Therapy [J]. *Hypertension*, 2019,74(6):1232-1265.
- [5] Feng B, Lu Y, Ye L, et al. Mendelian randomization study supports the causal association between serum cystatin C and risk of diabetic nephropathy [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022,13:1043174.
- [6] Coppola C, Hopkins B, Huhn S, et al. Investigation of the Impact from IL-2, IL-7, and IL-15 on the Growth and Signaling of Activated CD4+ T Cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(21):7814.
- [7] 曹炆,陈奇,潘家骅,等.泌尿系结石诊断和治疗的演变与现状 [J]. *上海医学*, 2017,40(7):404-407.
- [8] 张嘉铨,于田强,廖泽栋,等.不同体位物理振动排石机治疗输尿管结石性肾绞痛的前瞻性、多中心、随机对照临床研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2020,41(1):46-50.
- [9] 袁秦波,王强东,董振佳,等.输尿管镜内置 4F 输尿管导管联合钬激光碎石治疗感染性输尿管结石的临床研究 [J]. *国际泌尿系统杂志*, 2019,39(3):425-428.
- [10] 张欣.通淋利湿汤联合左氧氟沙星治疗尿路感染的疗效及对血清 TNF- α 、hs-CRP、IL-6 等相关因子的影响 [J]. *药物生物技术*, 2022,29(4):397-400.
- [11] 刘祺,陈静,廖正明,等.广金钱草总黄酮胶囊治疗输尿管结石(湿热蕴结证)的随机、双盲、安慰剂平行对照临床试验报告 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2023,38(4):246-250.
- [12] 杨薛枫,聂湘黔,冯明杨,等.血尿安胶囊联合左氧氟沙星治疗女性尿路感染疗效及对患者炎症因子影响 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2024,32(1):44-47,52.
- [13] Zusso M, Lunardi V, Franceschini D, et al. Ciprofloxacin and levofloxacin attenuate microglia inflammatory response via TLR4/NF- κ B pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2019,16(1):148.
- [14] 段启林.输尿管镜钬激光碎石术对输尿管下段结石患者术后康复及结石排净率的影响 [J]. *中国药物与临床*, 2020,20(13):2217-2219.

外周血 MHR、NT-proBNP 及 RDW 水平对 AMI 患者早期心律失常发生的预测价值

杨亚慧* 岳颖 鲍应环 张美 王东东 周晓莉

【摘要】目的 探讨外周血单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值(MHR)、血浆 N-末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)及红细胞分布宽度(RDW)水平对急性心肌梗死(AMI)患者早期心律失常发生的预测价值。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2024 年 1 月于河南省第二人民医院诊治的 201 例 AMI 患者,依据 AMI 症状后 48 h 内是否发生心律失常分为发生组($n=52$)与未发生组($n=149$)。收集两组患者临床资料,以单因素及多因素 Logistic 回归分析 MHR、NT-proBNP 及 RDW 与早期心律失常发生的相关性,并评估上述指标对 AMI 患者早期心律失常发生的预测价值。**结果** 经单因素及多因素 Logistic 回归分析,外周血 MHR、NT-proBNP 及 RDW 为 AMI 患者早期心律失常发生的独立影响因素($P<0.05$)。进一步绘制 MHR、NT-proBNP、RDW 及三者联合预测 AMI 患者早期心律失常发生的受试者工作特征曲线,结果显示其曲线下面积分别为 0.629、0.871、0.618、0.907,且三者联合预测价值均高于单一指标预测($P<0.05$)。**结论** 外周血 MHR、NT-proBNP 及 RDW 水平与 AMI 患者早期心律失常发生关联密切,三指标均能有效预测心律失常的发生,且联合的预测价值更优。

【关键词】 单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值;血浆 N-末端 B 型利钠肽原;红细胞分布宽度;急性心肌梗死;心律失常

Predictive value of peripheral blood MHR, NT-proBNP and RDW for occurrence of early arrhythmia in patients with AMI

YANG Yahui*, YUE Ying, BAO Yinghuan, ZHANG Mei, WANG Dongdong, ZHOU Xiaoli

(Department of Clinical Laboratory, Henan Second People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 451100)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the predictive value of peripheral blood monocyte-to-high-density lipoprotein-cholesterol ratio (MHR), plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and red blood cell distribution width (RDW) for occurrence of early arrhythmia in patients with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** A total of 201 patients with AMI treated at Henan Second People's Hospital from January 2019 to January 2024 were selected and divided into the occurrence group ($n=52$) and the non-occurrence group ($n=149$) based on whether arrhythmia occurred within 48 h after AMI symptoms appeared. Univariate analysis and multivariate logistic regression analysis were used to assess the relationship between MHR, NT-proBNP, RDW, and the occurrence of early arrhythmia in patients with AMI. The predictive value of these indicators for the occurrence of early arrhythmia in patients with AMI was also evaluated. **Results** Univariate analysis and multivariate logistic regression analysis revealed that peripheral blood MHR, NT-proBNP, and RDW were independent influencing factors for the occurrence of early arrhythmia in patients with AMI ($P<0.05$). The areas under the curve of MHR, NT-proBNP, RDW, and their combination for predicting the occurrence of early arrhythmia in patients with AMI were 0.629, 0.871, 0.618, and 0.907, respectively. Joint prediction using the three indicators was superior to separate prediction ($P<0.05$). **Conclusion** Peripheral blood MHR, NT-proBNP, and RDW are closely related to the occurrence of early arrhythmia in patients with AMI. All three can effectively predict the occurrence of arrhythmia, and their combination can

基金项目:河南省第二批科技发展计划(232103810053)

作者单位:河南省第二人民医院检验科,河南,郑州 451100

*通信作者:杨亚慧, E-mail: 15837132878@163.com

achieve better predictive performance.

[KEY WORDS] Monocyte-to-high-density lipoprotein-cholesterol ratio; N-terminal pro-B-type natriuretic peptide; Red blood cell distribution width; Acute myocardial infarction; Arrhythmia

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是因冠状动脉血供突然急剧下降或者中断引起,起病急、进展快^[1]。心律失常是AMI的一种常见并发症,有80%的AMI患者会出现不同程度的心律失常,其中在AMI症状后48 h内发生的心律失常是导致AMI患者死亡的重要原因^[2]。因此,探寻能有效预测AMI患者早期发生心律失常的实验室指标对改善患者预后有着重要意义。单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值(monocyte-to-high-density lipoprotein-cholesterol ratio, MHR)近年来逐渐作为炎性标记物用于预测心血管疾病患者的预后;血浆N-末端B型利钠肽原(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)是常用的心肌损伤标记物,可反映AMI患者的病情;红细胞分布宽度(red blood cell distribution width, RDW)以往多用于贫血等血液系统疾病中,但近年来逐渐有学者将其作为一种心血管疾病标记物^[3]。MHR、NT-proBNP及RDW在心血管疾病中的单独应用价值已有报道,本研究将在此基础上探讨其对AMI患者早期发生心律失常的预测价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年1月至2024年1月于河南省第二人民医院诊治的201例AMI患者,依据AMI症状后48 h内是否发生心律失常分为发生组($n=52$)与未发生组($n=149$)。纳入标准:①均符合AMI要求^[4],发生组患者满足心律失常诊断标准^[5];②年龄 ≥ 18 岁;③临床资料完整;④患者家属均签署知情同意书。排除标准:①有洋地黄药物、胺碘酮等药物服用史;②既往有束支传导阻滞、心房颤动、房室传导阻滞等心律失常史;③贫血等血液系统疾病;④因其他原因或疾病导致的AMI,如休克、血管内操作等;⑤恶性肿瘤、严重感染等其他严重疾病。本研究经医院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 一般临床资料收集

包括性别、年龄、合并症、吸烟史、饮酒史、收缩压、舒张压、体质指数(BMI)、Killip分级等一

般临床资料。Killip分级^[6]: I级:心功能无明显异常,左室充盈压轻度增高; II级:轻中度心力衰竭,有肺底湿啰音、室性奔马律等表现,左室充盈压升高; III级:重度心力衰竭,有明显呼吸困难、粉红色泡沫痰表现,左室充盈压明显升高; IV级:心源性休克,左室充盈压降低。

1.2.2 生化指标检测

入院次日采集患者空腹静脉血4.0 mL,以3 000 r/min(离心半径12 cm)离心10 min后,取上层清液,以迈瑞生化仪CL 2000I全自动生化分析仪检测空腹血糖(glucose, Glu)、肌酐(Serum creatinine, Cr)、尿酸(uric acid, UA)、肌钙蛋白(cardiac troponin, cTnT)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzyme, CKMB)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、HDL-C,采用罗氏411电化学发光法检测血浆NT-proBNP。另采集患者空腹静脉血4.0 mL,采用迈瑞全自动血细胞分析仪5390检测白细胞计数(white blood cell count, WBC)、红细胞计数(red blood cell count, RBC)、血小板(platelet, PLT)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、单核细胞计数、红细胞分布宽度(Red blood cell distribution width, RDW);计算MHR=单核细胞计数/HDL-C。

1.2.3 常规心电图指标检测

收集入院后首份心电图结果,记录QRS时限、QTC间期等。

1.2.4 超声心动图指标检测

以飞利浦EPIQ5彩色多普勒超声诊断仪记录左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic internal diameter, LVEDD)、左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)等。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0统计学软件分析数据,对于服从正态分布的连续变量采用 $(\bar{x} \pm s)$ 形式表达,运用独立样本 t 检验;计数资料通过 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验,等级资料采用秩和检验;采用二元Logistic回归分析AMI患者早期发生心律失常的独立影响因素;绘制ROC特性曲线,计算曲线下面积(AUC),并采用Delong检验分析AMI患者早期发

生心律失常单独及联合的预测效果。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AMI患者早期发生心律失常的单因素分析

两组间性别、年龄、合并症、吸烟史、饮酒史收缩压、舒张压、BMI、WBC、RBC、PLT、Hb、Glu、Cr、UA、cTnT、CKMB、TC、LDL-C、HDL-C、QRS时限、QTC间期及LVEDD比较差异无统计学意义($P>0.05$),但两组Killip分级、单核细胞计数、RDW、NT-proBNP、MHR及LVEF比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 AMI患者早期发生心律失常的多因素分析

以AMI患者早期是否发生心律失常为因变量(发生=1,未发生=0),纳入表1中有差异的指标为自变量行Logistic回归分析示,Killip分级、RDW、NT-proBNP及MHR均为AMI患者早期发生心律失常的独立影响因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 RDW、NT-proBNP、MHR及三者联合对AMI患者早期发生心律失常的预测价值分析

分别绘制RDW、NT-proBNP、MHR及三者联合预测AMI患者早期发生心律失常的ROC曲线,结果显示其AUC分别为0.629、0.871、0.618、0.907,其中三者联合的预测价值最优($Z=5.506$ 、2.361、6.139, P 均 <0.001)。见表3、图1。

3 讨论

研究显示^[7],与AMI患者48 h之后发生心律失常比较,48 h内发生心律失常的危险性更大。因此,寻找AMI早期发生心律失常的预测因子是一个亟需解决的问题。

本研究通过单因素及多因素Logistic回归分析显示,Killip分级、RDW、NT-proBNP及MHR均为AMI患者早期发生心律失常的独立影响因素。Killip分级是评估AMI患者心功能分级的常用手段,Killip分级越高则心肌损害程度越严重^[8]。

表1 AMI患者早期发生心律失常的单因素分析

[$n(\%)$, ($\bar{x}\pm s$)]				
指标	发生组 ($n=52$)	未发生组 ($n=149$)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值
性别				
男性	40(76.92)	105(70.47)	0.799	0.371
女性	12(23.08)	44(29.53)		
年龄(岁)	61.14 $\pm$ 10.02	62.29 $\pm$ 11.52	0.640	0.523
合并症				
糖尿病	8(15.38)	15(84.62)	1.076	0.300
高血压	17(32.69)	65(43.62)	1.907	0.167
高血脂	10(19.23)	22(14.77)	0.574	0.449
冠心病	3(5.77)	6(4.03)		0.601 ^a
吸烟史	33(63.46)	88(59.06)	0.312	0.577
饮酒史	31(59.62)	84(56.38)	0.165	0.684
收缩压(mmHg)	118.29 $\pm$ 18.83	125.61 $\pm$ 25.63	1.888	0.061
舒张压(mmHg)	75.26 $\pm$ 14.16	80.03 $\pm$ 16.64	1.846	0.066
BMI(kg/m ²)	24.39 $\pm$ 2.21	23.71 $\pm$ 2.46	1.760	0.080
Killip 分级				
I 级	16(30.77)	107(71.81)	5.472	<0.001
II 级	13(25.00)	19(12.75)		
III 级	8(15.38)	10(9.40)		
IV 级	15(28.85)	6(6.04)		
WBC($\times 10^9/L$)	12.21 $\pm$ 3.39	11.38 $\pm$ 3.76	1.405	0.162
RBC($\times 10^9/L$)	4.35 $\pm$ 1.03	4.62 $\pm$ 1.11	1.538	0.126
PLT($\times 10^9/L$)	226.54 $\pm$ 75.56	240.19 $\pm$ 78.84	1.086	0.279
Hb(g/L)	138.52 $\pm$ 25.31	135.12 $\pm$ 20.17	0.977	0.330
单核细胞计数($\times 10^9/L$)	0.58 $\pm$ 0.12	0.54 $\pm$ 0.10	2.354	0.020
RDW(%)	13.64 $\pm$ 2.25	12.57 $\pm$ 1.67	3.618	<0.001
Glu(mmol/L)	5.05 $\pm$ 0.66	4.92 $\pm$ 0.71	1.157	0.249
Cr(mmol/L)	102.59 $\pm$ 32.29	94.13 $\pm$ 28.87	1.764	0.079
UA(μ mol/L)	385.49 $\pm$ 115.57	368.74 $\pm$ 103.39	0.975	0.331
cTnT(ng/mL)	1.64 $\pm$ 0.51	1.51 $\pm$ 0.46	1.705	0.090
CKMB(U/L)	981.16 $\pm$ 254.71	965.59 $\pm$ 221.19	0.420	0.675
TC(mmol/L)	4.64 $\pm$ 1.21	4.41 $\pm$ 1.14	1.233	0.219
LDL-C(mmol/L)	3.01 $\pm$ 0.95	3.06 $\pm$ 1.01	0.312	0.755
HDL-C(mmol/L)	1.06 $\pm$ 0.22	1.15 $\pm$ 0.31	1.929	0.055
NT-proBNP(pg/mL)	3 126.94 $\pm$ 852.31	1 873.41 $\pm$ 582.36	146.716	<0.001
MHR	0.55 $\pm$ 0.19	0.47 $\pm$ 0.15	3.081	0.002
QRS 时限(ms)	105.67 $\pm$ 35.61	98.76 $\pm$ 29.63	1.372	0.172
QTC 间期(ms)	431.18 $\pm$ 55.31	438.29 $\pm$ 50.17	0.857	0.393
LVEDD(mm)	47.82 $\pm$ 6.64	46.27 $\pm$ 7.16	1.369	0.173
LVEF(%)	51.23 $\pm$ 8.54	54.17 $\pm$ 9.26	2.010	0.046

范利斌等^[9]研究结果显示,Killip 分级为Ⅲ、Ⅳ级是AMI患者发生心律失常的影响因素,这与本研究结果相似。考虑原因可能为Killip 分级 $\geq$ Ⅲ级时,

表2 AMI患者早期发生心律失常的多因素分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI)值	P 值
Killip 分级	I 级、II 级=0, III 级、IV 级=1	0.532	0.208	6.542	1.702(1.132~2.559)	0.011
单核细胞计数	实测值	0.658	0.354	3.455	1.931(0.965~3.865)	0.064
RDW	实测值	0.205	0.067	9.362	1.228(1.076~1.400)	0.002
NT-proBNP	实测值	1.052	0.417	6.364	2.863(1.265~6.484)	0.012
MHR	实测值	0.165	0.054	9.336	1.179(1.061~1.311)	0.002
LVEF	实测值	-3.266	1.824	3.206	0.038(0.001~1.362)	0.074

表3 RDW、NT-proBNP、MHR及三者联合对AMI患者早期发生心律失常的预测价值

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数	P值
RDW	0.629	0.558~0.696	14.11	44.23	83.89	0.281	0.008
NT-proBNP	0.871	0.817~0.914	2563.48	75.00	85.23	0.602	<0.001
MHR	0.618	0.547~0.686	0.51	57.69	62.42	0.201	0.010
三者联合	0.907	0.858~0.943		75.00	92.62	0.676	<0.001

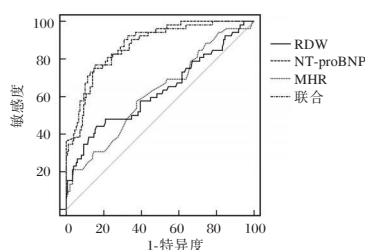


图1 ROC曲线

提示患者已经出现急性心功能不全,这会激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统,使交感神经兴奋,促进儿茶酚胺释放,导致异位起搏点自律性增加,从而诱发早期心律失常。NT-proBNP由心室肌细胞产生,当AMI患者心肌受损、心室压力或(和)容量负荷增加时会刺激利钠肽系统分泌NT-proBNP这种神经内分泌激素,其水平越高往往提示患者心肌受损程度越严重^[10]。当AMI患者发生早期心律失常,心室负荷会加大,此时心肌细胞会快速分泌释放大量的NT-proBNP进入血液,导致NT-proBNP水平升高。炎症是冠心病发病与进展的基本因素之一,活化的单核细胞能够调节炎症细胞因子与组织重塑,同时能够粘附于血管内皮细胞表面,对受损组织发挥外渗作用,诱导炎症细胞因子、巨噬细胞集落刺激因子等产生,继而激活相关的炎症通路,增加循环血量及心脏每搏出量,引起早期心律失常^[11]。MHR作为单核细胞与HDL-C的比值,较单一指标能够更加全面地反映机体炎症水平。HDL-C有着抗氧化与抗炎的作用,可抑制单核细胞活化,抑制单核细胞祖细胞增殖分化,同时还会促进血管松弛剂内皮一氧化氮合酶表达^[12]。因此,MHR代表着机体“损伤机制”与“保护机制”的单核细胞、HDL-C,可反映血管内粥样硬化斑块的稳定性与炎症水平。当MHR水平升高,提示着机体炎症反应加重,从而诱发早期心律失常发生。进一步绘制RDW、NT-proBNP、MHR预测AMI患者早期发生心律失常的ROC曲线,结果显示其AUC分别为0.629、0.871、0.618、0.907,表明RDW、NT-proBNP、MHR均可有效预测AMI患者早期发生心律失常,

但因个体差异,单一指标的预测可能存在差异性甚至矛盾,而将三者联合后,发现三者联合的AUC均高于单一指标预测的AUC,提示三者联合预测AMI患者早期发生心律失常的价值更优。

综上所述,RDW、NT-proBNP、MHR均是AMI患者早期发生心律失常的独立影响因素,均可有效预测早期发生心律失常,且联合应用的预测价值更优,临床需密切监测AMI患者RDW、NT-proBNP、MHR水平变化。

参考文献

- [1] Henry TD, Tomez MI, Tamis-Holland JE, et al. Invasive Management of Acute Myocardial Infarction CHenry TD, Tomez MI, Tamis-Holland JE, et al. Invasive Management of Acute Myocardial Infarction Complicated by Cardiogenic Shock: A Scientific Statement From the American Heart Association[J]. Circulation, 2021,143(15):e815-e829.
- [2] Frampton J, Ortengren AR, Zeitler EP. Arrhythmias After Acute Myocardial Infarction[J]. Yale J Biol Med, 2023, 96(1):83-94.
- [3] Zhang Z, Fang Q, Du T, et al. Cardiac-Specific Caveolin-3 Overexpression Prevents Post-Myocardial Infarction Ventricular Arrhythmias by Inhibiting Ryanodine Receptor-2 Hyperphosphorylation[J]. Cardiology, 2020,145(3):136-147.
- [4] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J].中华心血管病杂志, 2015,43(5):380-393.
- [5] PVelasco A, Stirrup J, Reyes E, et al. Guidelines in review: Comparison between AHA/ACC and ESC guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death[J]. J Nucl Cardiol, 2017, 24(6):1893-1901.
- [6] 王燕妮,黄霞,陈福恒,等.急性心肌梗死患者血清中BIN1水平与Killip分级之间的关系[J].南方医科大学学报, 2024,44(12):2388-2395.
- [7] Martins-Marques T. Cardioprotective role of GABA-B receptor activation on ventricular arrhythmia following myocardial infarction[J]. Rev Port Cardiol, 2023,42(2):137-138.
- [8] 潘碧云,陈仕银,温达,等.心力衰竭和贫血史是急性ST段抬高型心肌梗死患者直接再灌注后Killip≥Ⅱ级的危险因素[J].内科急危重症杂志, 2021,27(5):389-392.
- [9] 范利斌,范乾晖,范松,等.24h动态心电图参数对急性心肌梗死患者恶性室性心律失常的诊断价值[J].山东医药, 2023,63(1):65-68.
- [10] 魏俊萍,孟庆雯,林道飞,等.全反式维甲酸减轻内质网应激反应改善异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌纤维化与心肌重构[J].医学分子生物学杂志, 2024,21(3):203-210.
- [11] 吴红艳,木尼热·吾不力,高英,等.血清Adropin、H-FABP、ANGPTL3与冠心病慢性心力衰竭患者心肌重构的关系[J].保健医学研究与实践, 2023,20(12):76-81.
- [12] 黄金凯,余志敏,胡建华,等.MHR联合NLR检测与急性ST段抬高型心肌梗死患者PCI术后短期不良预后的相关性[J].武汉大学学报(医学版), 2023,44(1):87-91.

踝关节骨折后创伤性骨性关节炎患者血清 BMP-2、N-MID 水平与功能恢复的关系

刘田丰 陈光华 谭小艳 谢东 吴新诱*

[摘要] **目的** 探讨踝关节骨折后创伤性骨性关节炎(PTOA)患者血清骨形态发生蛋白2(BMP-2)、骨钙素N端中分子片段(N-MID)水平与功能恢复的关系。**方法** 选取2020年10月至2023年1月于广东医科大学附属医院行踝关节骨折手术治疗的152例患者作为研究对象,根据术后随访的X射线检查判断是否发生PTOA,设立PTOA组和未PTOA组。收集两组一般资料,比较两组血清BMP-2、N-MID水平。绘制受试者工作特性(ROC)曲线评价血清BMP-2、N-MID对踝关节骨折后PTOA的预测价值。采用Pearson相关性分析探讨血清BMP-2和N-MID水平与术后美国足踝外科医师协会(AOFAS)踝关节评分的关系。采用多因素logistic回归分析探讨踝关节骨折后PTOA的影响因素。**结果** 术后随访的X射线检查中,共计68例患者发生PTOA,其余84例患者未发生PTOA。PTOA组血清BMP-2、N-MID水平均低于未PTOA组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清BMP-2、N-MID及两者联合预测踝关节骨折后PTOA的AUC(95%CI)分别为0.739(0.694~0.789)、0.851(0.806~0.896)、0.912(0.862~0.957)。相关分析显示,PTOA患者血清BMP-2、N-MID水平与AOFAS评分均呈正相关($P<0.05$)。多因素分析显示:年龄($OR=1.893$, 95%CI: 1.162~3.083),血清BMP-2($OR=3.476$, 95%CI: 1.803~6.703),血清N-MID($OR=3.885$, 95%CI: 2.075~7.273)是踝关节骨折后PTOA的影响因素($P<0.05$)。**结论** 踝关节骨折后PTOA患者血清BMP-2和N-MID水平均降低,两指标与踝关节功能状态密切相关,有望成为预测踝关节骨折后PTOA的生物学指标。

[关键词] 踝关节骨折; 创伤性骨性关节炎; 骨形态发生蛋白2; 骨钙素N端中分子片段

Relationship between serum BMP-2 and N-MID levels and functional recovery in patients with post-traumatic osteoarthritis after ankle fracture

LIU Tianfeng, CHEN Guanghua, TAN Xiaoyan, XIE Dong, WU Xinyou*

(Department of Trauma Orthopedics, Guangdong Medical University Affiliated Hospital, Zhanjiang, Guangdong, China, 524000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) and N-MID of osteocalcin and functional recovery in patients with post-traumatic osteoarthritis (PTOA) after ankle fracture. **Methods** A total of 152 patients who underwent surgical treatment for ankle fractures at our hospital from October 2020 to January 2023 were selected for the study. Based on postoperative follow-up X-ray examinations to determine the incidence of PTOA, two groups were established: one with PTOA and one without PTOA. General data from both groups were collected, and serum BMP-2 and N-MID levels were compared between the two groups. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to assess the predictive value of serum BMP-2 and N-MID in PTOA after ankle fractures. Pearson correlation analysis was conducted to explore the relationship between serum BMP-2 and N-MID levels and postoperative ankle scores from the American Association of Foot and Ankle Surgeons (AOFAS). A multivariate logistic regression analysis was performed to investigate the factors influencing PTOA after ankle fractures. **Results** During the postoperative follow-up X-ray examination, a total of 68 patients developed PTOA, while the remaining 84 patients did not develop PTOA. Serum BMP-2 and N-MID levels in the PTOA group were lower than those

基金项目:广东省自然科学基金面上项目(2023A1515011040)

作者单位:广东医科大学附属医院创伤骨科,广东,湛江 524000

*通信作者:吴新诱, E-mail: visiony214@163.com

in the non-PTOA group ($P<0.05$). The AUC (95%CI) of serum BMP-2, N-MID, and their combination in predicting PTOA after an ankle fracture were 0.739 (0.694~0.789), 0.851 (0.806~0.896) and 0.912 (0.862~0.957), respectively. Correlation analysis showed that serum BMP-2 and N-MID levels in PTOA patients were positively correlated with the AOFAS score ($r=0.648, 0.593, P<0.05$). Multivariate analysis showed that age ($OR=1.893, 95\%CI: 1.162\sim3.083$), serum BMP-2 $<137.84 \mu\text{g/L}$ ($OR=3.476, 95\%CI: 1.803\sim6.703$), and serum N-MID $<40.48 \text{ ng/mL}$ ($OR=3.885, 95\%CI: 2.075\sim7.273$) were the influencing factors of PTOA after an ankle fracture ($P<0.05$). **Conclusion** Serum BMP-2 and N-MID levels are decreased in PTOA patients following an ankle fracture. These levels are closely associated with ankle function and may serve as biological indicators for predicting the development of PTOA after an ankle fracture.

[KEY WORDS] Ankle joint fracture; Traumatic osteoarthritis; Bone morphogenetic protein 2; N-terminal fragment of osteocalcin

踝关节骨折是临床上常见的创伤性疾病,主要由车祸、跌落等高能量外伤导致^[1]。即便是在治疗后,许多患者仍会出现踝关节的慢性疼痛和功能障碍,易进一步发展为创伤性骨性关节炎(post-traumatic osteoarthritis, PTOA)^[2]。因此,踝关节骨折后对 PTOA 的早期预测和干预尤为重要。骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)是转化生长因子- β 超家族的一员,具有促进骨细胞分化和骨组织生长的作用,在骨折愈合过程中发挥关键作用^[3]。骨钙素 N 端中分子片段(n-mID osteocalcin, N-MID)参与骨矿化过程,其水平与骨代谢状态密切相关^[4]。研究证实^[5],老年股骨粗隆间骨折术后,髋关节功能不良患者血清 BMP-2、N-MID 水平显著降低。本研究主要探讨血清 BMP-2 和 N-MID 水平在踝关节骨折后 PTOA 的预测价值,以及它们对患者踝关节功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 10 月至 2023 年 1 月于广东医科大学附属医院行踝关节骨折手术治疗的 152 例患者作为研究对象。纳入标准:①符合踝关节骨折的诊断标准^[6];②均在本院接受踝关节骨折手术治疗;③ >18 岁;④术后至少随访 12 个月;⑤所有患者知情同意,医学伦理委员会审核批准。排除标准:①合并其他严重骨折;②既往有踝关节疾病;③合并免疫系统疾病;④合并糖尿病、类风湿关节炎、骨质疏松症等其他系统性疾病;⑤术前已存在踝关节骨性关节炎的症状;⑥妊娠或哺乳期女性;⑦酗酒史。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集所有纳入对象的临床资料,包括年龄、

体质量指数(body mass index, BMI)、骨折位移、骨折关节面受累程度、美国足踝外科医师协会(american orthopaedic foot & ankle society, AOFAS)踝关节评分、骨折类型、手术方式、吸烟史、饮酒史以及血清 BMP-2、N-MID 水平。

1.2.2 血清标本采集

收集所有患者术前 48 h 内的晨起空腹静脉血 5 mL,室温静置 10 min 后在 4℃ 下使用离心机(离心半径 10 cm)以 3 000 rpm 离心 10 min,分离出的血清置于 -80℃ 冰箱中待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 BMP-2 和 N-MID 水平,试剂盒购于武汉天正源生物科技有限公司,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.3 PTOA 判定标准及分组

根据所有患者术后随访的 X 射线检查判断是否发生 PTOA,设立 PTOA 组和未 PTOA 组。X 射线检查具体标准如下^[7]:踝关节间隙减少超过 2 mm、骨赘形成、踝关节软骨下区域囊性变、踝关节软骨下骨明显硬化、踝关节面不平整。

1.2.4 踝关节功能评估

采用 AOFAS 评分系统^[8]评估患者的功能恢复情况。AOFAS 踝关节评分系统包括疼痛、功能和活动范围三个方面的评估,总分为 100 分,得分越高表示功能恢复越好。所有患者的 AOFAS 评分均在术后 12 个月的随访中完成,由经验丰富的足踝外科医生进行评分。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用 Pearson 相关法探讨血清 BMP-2 和 N-MID 水平与术后 12 个月 AOFAS 评分的关系。绘制受试者工作特性(ROC)曲线评价血清 BMP-2、N-MID 对踝关节骨折后 PTOA 的预测价值,采用二

分类 Logistic 逐步回归分析探讨踝关节骨折后 PTOA 的影响因素, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 BMP-2、N-MID 水平比较

术后随访的 X 射线检查中, 共计 68 例患者发生 PTOA, 其余 84 例患者未发生 PTOA。PTOA 组血清 BMP-2、N-MID 水平均低于未 PTOA 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 BMP-2、N-MID 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	BMP-2(μg/L)	N-MID(ng/mL)
未 PTOA 组	84	181.63±27.24	57.62±10.37
PTOA 组	68	105.47±15.82	29.31±4.39
<i>t</i> 值		20.427	21.028
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 血清 BMP-2、N-MID 对踝关节骨折后 PTOA 的预测价值

血清 BMP-2、N-MID 及两者联合预测踝关节骨折后 PTOA 的 AUC (95%CI) 分别为 0.739 (0.694~0.789)、0.851 (0.806~0.896)、0.912 (0.862~0.957)。见表 2、图 1。

表 2 血清 BMP-2、N-MID 对踝关节骨折后 PTOA 的预测价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	特异度	灵敏度
BMP-2	0.739	0.694~0.789	137.84 μg/L	0.571	0.912
N-MID	0.851	0.806~0.896	40.48 ng/mL	0.655	0.912
BMP-2+N-MID	0.912	0.862~0.957		0.881	0.882

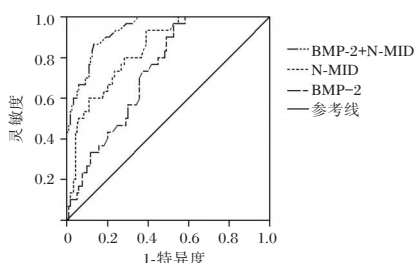


图 1 ROC 曲线

2.3 踝关节骨折后 PTOA 的单因素分析

两组年龄、骨折位移、骨折关节面受累程度、AOFAS 评分、骨折类型比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 踝关节骨折后 PTOA 的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

指标	未 PTOA 组 (<i>n</i> =84)	PTOA 组 (<i>n</i> =68)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	41.25±7.18	49.60±8.92	6.395	<0.001
BMI(kg/m ²)	23.49±2.67	23.17±2.79	0.720	0.473
性别				
男	49(58.33)	38(55.88)	0.092	0.761
女	35(41.67)	30(44.12)		
骨折位移(mm)	5.41±1.35	9.02±2.25	12.238	<0.001
骨折关节面受累程度(%)	30.22±7.54	58.79±14.70	15.482	<0.001
术后 AOFAS 评分(分)	60.17±9.02	45.32±6.79	11.238	<0.001
骨折类型				
Danis-Weber A 型	35(41.67)	10(14.71)	14.885	<0.001
Danis-Weber B 型	34(40.48)	33(48.53)		
Danis-Weber C 型	15(17.85)	25(36.76)		
手术方式				
内固定	57(67.86)	44(64.71)	0.367	0.947
外固定	13(15.48)	12(17.65)		
髓内钉固定	7(8.33)	5(7.35)		
螺钉固定	7(8.33)	7(10.29)		
吸烟史				
有	29(34.52)	21(30.88)	0.226	0.635
无	55(65.48)	47(69.12)		
饮酒史				
有	26(30.95)	20(29.41)	0.042	0.837
无	58(69.05)	48(70.59)		

2.4 PTOA 患者血清 BMP-2、N-MID 水平与 AOFAS 评分的关系

Pearson 相关分析显示, PTOA 患者血清 BMP-2、N-MID 水平与 AOFAS 评分均呈正相关 ($r=0.648$ 、 0.593 , $P<0.05$)。

2.5 踝关节骨折后 PTOA 的多因素分析

以踝关节骨折手术治疗患者术后是否发生 PTOA 作为因变量 (否=0、是=1), 将单因素分析有意义的指标以及血清 BMP-2、N-MID 作为自变量进行多因素 Logistic 逐步回归分析, 结果显示: 年龄 ($OR=1.893$, 95%CI: 1.162~3.083), 血清 BMP-2<137.84 μg/L ($OR=3.476$, 95%CI: 1.803~6.703), 血清 N-MID<40.48 ng/mL ($OR=3.885$, 95%CI: 2.075~7.273) 是踝关节骨折后 PTOA 的影响因素 ($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

踝关节骨折是一种常见的创伤性损伤, 其常见并发症之一是 PTOA, 可导致患者长期疼痛和功能障碍。因此, 寻找可靠的生物标志物以早期识别踝关节骨折后 PTOA 的发展对改善患者的预后

表 4 踝关节骨折后 PTOA 的多因素分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI) 值	<i>P</i> 值
年龄	低=0; 高=1	0.638	0.249	6.565	1.893(1.162~3.083)	0.010
BMP-2	<137.84 μg/L=0; ≥137.84 μg/L=1	1.246	0.335	13.834	3.476(1.803~6.703)	<0.001
N-MID	<40.48 ng/mL=0; ≥40.48 ng/mL=1	1.357	0.320	17.983	3.885(2.075~7.273)	<0.001

和生活质量具有重要意义。

BMP-2具有促进骨生成和软骨修复的重要功能。在骨骼发育和骨折愈合过程中,BMP-2的表达水平升高,有助于加速骨组织的再生和修复。研究显示^[9],低水平的血清BMP-2是影响骨质疏松性椎体压缩性骨折患者术后骨折延迟愈合的影响因素。袁垒等^[10]的研究也显示,采取治疗后膝关节炎患者血清BMP-2水平会上升。N-MID近年来也被应用于关节炎的研究中^[11],N-MID的升高不仅标志着骨质重塑的活跃,还可能与关节炎症的持续存在有关,可进一步影响患者的康复效果。

本研究发现,踝关节骨折后发生PTOA组血清BMP-2、N-MID水平低于未PTOA组。究其原因,骨折后患者存在局部炎症反应和损伤,严重的炎症反应不仅会直接损伤软骨细胞和成骨细胞,还可通过TNF- α 和IL-1 β 等多种细胞因子抑制这些细胞的功能^[12]。BMP-2作为成骨细胞分化和骨组织再生的关键因子,其表达和分泌受到炎症因子的抑制。炎症反应还可通过抑制胶原蛋白合成和骨重塑过程,减少前胶原I型分子的生成,从而导致N-MID水平下降。PTOA的进展与局部微环境的改变密切相关,踝关节骨折后,局部血流减少和缺氧环境进一步抑制了成骨细胞和软骨细胞的活性^[13]。成骨细胞活性的下降不仅减少了BMP-2的合成和分泌,还影响了骨组织重塑和修复。软骨细胞的活性下降则减少了胶原蛋白的合成,进一步影响N-MID的生成。这些微环境的改变导致了骨骼和软骨的代谢失衡,影响了BMP-2和N-MID的正常水平。

进一步研究显示,PTOA患者血清BMP-2和N-MID水平与AOFAS评分均呈正相关。结果说明,血清BMP-2和N-MID水平与踝关节的功能状态密切相关,提示较高的血清BMP-2和N-MID水平可能与较好的踝关节功能状态相关,反之亦然。BMP-2水平降低意味着成骨细胞的功能受损,骨骼修复和再生能力下降,这可能直接影响踝关节的稳定性和支持功能^[14]。而N-MID水平的降低则反映了骨重塑过程的受损和骨质疏松的进展,这不仅影响踝关节的结构完整性,而且可能导致关节内应力分布不均,进一步加剧软骨损伤和PTOA的形成。因此,血清BMP-2和N-MID水平的降低可能影响患者踝关节功能恢复。绘制ROC曲线发现,血清BMP-2、N-MID两者联合预测踝关节骨折后PTOA的AUC高于单一指标,临床价值较好。多因

素Logistic回归分析结果显示,年龄也是踝关节骨折后PTOA的影响因素,与牛晓辉等^[15]的研究结果相似。提示临床应对此类患者加强监测以改善预后。

综上所述,踝关节骨折后PTOA患者血清BMP-2和N-MID水平均降低,两指标与踝关节功能状态密切相关,有望成为预测踝关节骨折后PTOA的生物学指标。

参考文献

- [1] 马晓东,张鑫,张晓芳,等. 蹬踏训练联合常规康复训练对踝关节周围骨折术后功能恢复的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2024,21(8):16-21+44.
- [2] Gardashli M, Baron M, Huang C, et al. Mechanical loading and orthobiologic therapies in the treatment of post-traumatic osteoarthritis (PTOA): a comprehensive review [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2024,12:1401207.
- [3] 孟来波,董延龙,陈洪安. 骨折延迟愈合患者血清FDP、sVCAM-1和BMP-2的变化及临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022,14(4):709-712.
- [4] Guo X, Shen Y, Du T, et al. Elevations of N-Terminal Mid-Fragment of Osteocalcin and Cystatin C Levels are Associated with Disorders of Glycolipid Metabolism and Abnormal Bone Metabolism in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus Complicated with Osteoporosis [J]. J Physiol Investig, 2024,67(6):335-343.
- [5] 龚国星,苏川涛,熊铭,等. 血清BMP-2、N-MID水平与老年股骨粗隆间骨折患者术后髋关节功能不良的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2024,45(21):2642-2646.
- [6] 王健,李志军. 骨关节炎的诊断与治疗[J]. 中华全科医学, 2020,18(3):347-348.
- [7] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)[J]. 中华骨科杂志, 2018,38(12):705-715.
- [8] 李源,高虎方. 改良Kessler缝合结合带线锚钉对闭合性跟腱断裂的治疗效果及对跟腱功能的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2023,20(6):45-49.
- [9] 王金龙,冯大军,周全. 骨质疏松性椎体压缩性骨折患者血清BMP-2、Runx2水平对术后骨折延迟愈合的预测价值[J]. 新疆医科大学学报, 2024,47(6):836-842.
- [10] 袁垒,徐冬梅,丁伟明. 三联疗法对膝关节关节炎疗效及对血清BMP-2、软骨寡聚蛋白和炎症因子水平的影响[J]. 中国医学创新, 2024,21(25):135-139.
- [11] 李丰义,吕藏. 血清 β -CrossLaps、N-MID、PINP水平变化与类风湿性关节炎患者膝关节功能的关联性[J]. 中国卫生工程学, 2018,17(4):606-607.
- [12] 赖昌建,徐斐明,王育新,等. 不同疗法对老年髌部骨折术后伤口并发非典型失禁相关性皮炎的疗效观察[J]. 感染、炎症、修复, 2024,25(2):96-99.
- [13] 毛星刚. 缺氧通过YAP/TAZ通路的调控对胶质母细胞瘤进展的影响[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024,18(6):54.
- [14] 徐丹,杨静华,朱世华,等. TGF- β 、BMP-2及miR-672-5p与激素性股骨头坏死的关系分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021,13(12):2013-2016.
- [15] 牛晓辉,邹光翼,闵华. 碱性磷酸酶在踝关节骨折后创伤性骨性关节炎患者血清中的变化及对踝关节功能恢复的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2024,34(22):7-12.

间苯三酚联合固肾安胎丸治疗先兆流产合并绒毛膜下血肿的效果及对TPOAb、AEMAb的影响

周亚丹 李璣* 华晴 李梦竹

[摘要] **目的** 探讨间苯三酚联合固肾安胎丸治疗先兆流产合并绒毛膜下血肿(SCH)的效果及对甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、抗子宫内膜抗体(AEMAb)的影响。**方法** 选取郑州大学附属郑州中心医院妇产科2022年12月至2023年12月收治的164例先兆流产合并绒毛膜下血肿患者,随机分为单一组(固肾安胎丸治疗, $n=82$)和联合组(间苯三酚联合固肾安胎丸治疗, $n=82$)。比较两组治疗前后的血清生殖内分泌激素水平、子宫螺旋动脉血流动力学参数、治疗疗效和TPOAb、AEMAb水平变化。**结果** 治疗后,联合组孕酮(P)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)、血清抑制素A(SAA)水平均高于单一组,差异有统计学意义($t=4.094, 14.724, 17.052, P<0.05$);联合组甲状腺刺激激素(TSH)水平低于单一组,差异有统计学意义($t=2.596, P<0.05$);联合组搏动指数(PI)、阻力指数(RI)均低于单一组,差异有统计学意义($t=3.300, 36.500, P<0.05$);联合组总有效率高于单一组,差异有统计学意义($\chi^2=8.441, P<0.05$);联合组TPOAb、AEMAb水平低于单一组,差异有统计学意义($\chi^2=31.203, 14.010, P<0.05$)。**结论** 间苯三酚联合固肾安胎丸可有效提升先兆流产合并SCH临床疗效,能改善子宫血流动力学,调节激素水平和TPOAb、AEMAb表达量。

[关键词] 间苯三酚;固肾安胎丸;先兆流产;绒毛膜下血肿;甲状腺过氧化物酶抗体;抗子宫内膜抗体

Effect of resorcinol combined with Guren-Nian Fetal Pill in the treatment of threatened miscarriage complicated with subchorionic hematoma and its effect on TPOAb and AEMAb

ZHOU Yadan, LI Li*, HUA Qing, LI Mengzhu

(Department of Obstetrics, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the impact of phloroglucinol in conjunction with Gushenantai medication on the management of pregnancies at risk with the presence of subchorionic hematoma (SCH), and its influence on thyroid peroxidase antibodies (TPOAb) and anti-endometrial antibodies (AEMAb). **Methods** A randomized study was conducted on 164 individuals experiencing pregnancy complications with subchorionic hematoma at the Obstetrics and Gynecology Department of Zhengzhou Central Hospital affiliated to Zhengzhou University, from December 2022 to December 2023. Participants were divided into two groups: a single group (receiving Gushen Antuan pill treatment, $n=82$) and the combined therapy group (receiving treatment with a combination of phloroglucinol and Gushen Antuan pill, $n=82$). The comparison included pre- and post-treatment assessments of reproductive hormone levels, uterine artery hemodynamic parameters, treatment outcomes, and the levels of TPOAb and AEMAb. **Results** After treatment, the combined group showed significantly higher levels of progesterone (P), human chorionic gonadotropin (hCG), and serum statin A (SAA) compared to the single group ($t=4.094, 14.724, 17.052; P<0.05$). The thyroid-stimulating hormone (TSH) level was significantly lower in the combined group ($t=2.596; P<0.05$). Additionally, the pulse index

基金项目:河南省高等学校重点科研项目计划(24A320037)

作者单位:郑州大学附属郑州中心医院产科,河南,郑州 450000

*通信作者:李璣, E-mail:zydan2013@163.com

(PI) and resistance index (RI) were lower in the combined group, showing statistically significant differences ($t=3.300, 36.500; P<0.05$). The overall effectiveness rate was higher in the combined group ($\chi^2=8.441; P<0.05$). The expression levels of serum TPOAb and AEMAb were significantly lower in the combined group ($\chi^2=31.203, 14.010; P<0.05$). **Conclusion** Phloroglucinol combined with Gushen antian pill can effectively improve the clinical effects of threatened abortion complicated with SCH. It can also enhance uterine blood flow and regulate hormone levels, leading to improved TPOAb and AEMAb expression levels.

[KEY WORDS] Resorcinol; Gushen Anti-miscarriage Pill; Threatened Miscarriage with Subchorionic Hematoma; Thyroid Peroxidase Antibody; Anti-endometrial Antibody

绒毛膜下血肿(subchorionic hematoma, SCH)是由绒毛膜板与底蜕膜分离引起组织出血,血液积聚在两者之间而形成的血肿,发生率4%~22%,SCH与胎膜早破、早产等妊娠并发症之间存在相关,先兆流产合并SCH是一种常见的妊娠并发症,会导致不良妊娠结局等病症^[1]。中医指出,先兆流产合并SCH属胎动不稳的范畴,与肾脾亏虚、气血虚兼血瘀有关,其治疗重在补肾健脾化瘀以安胎,维持其妊娠正常状态^[2]。固肾安胎丸是由何首乌、地黄等中药组成的中成药,主要用于治疗早期小腹坠痛、阴道流血等先兆流产症状^[3]。间苯三酚属于宫缩抑制剂,能减少子宫平滑肌的痉挛^[4]。本研究探究间苯三酚联合固肾安胎丸治疗先兆流产合并SCH临床疗效及对甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、抗子宫内膜抗体(anti-endometrial antibody, AEMAb)的影响。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取郑州大学附属郑州中心医院2022年12月至2023年12月收治的164例先兆流产合并SCH患者,随机分为单一组($n=82$)和联合组($n=82$)。两组一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

纳入标准:①符合《妇产科学》^[5]、《妇产科超声图谱》^[6]中先兆流产、SCH的相关诊断标准;②在本院定期产检,临床资料完整,年龄 ≥ 18 岁;③对本研究所用药物不过敏;④患者及其家属知情并签署知情同意书。排除标准:①合并妊娠期高血压

者;②生殖系统畸形者;③多胎妊娠者;④合并精神疾病或认知障碍者;⑤合并甲状腺功能异常者。本研究获得本院伦理委员会批准。

1.2 方法

参考《孕激素维持早期妊娠及防治流产的中国专家共识》^[7],两组均行基础治疗:肌肉注射黄体酮注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,国药准字H33020828, 1 mL:20 mg), 20 mg/次, 1次/天。单一组行口服固肾安胎丸治疗(北京勃然制药有限公司,国药准字Z20030144, 6 g) 6 g/次, 3次/天。联合组在单一组的基础上,行静脉滴注间苯三酚注射液治疗(南京恒生制药有限公司,国药准字H20046766, 4 mL:40 mg), 80 mg/次, 每日滴注总量 <200 mg。两组均连续治疗2周。

1.3 观察指标

1.3.1 生殖内分泌激素水平检测

采集两组治疗前后外周静脉血8 mL,以3 000 r/min,离心半径为12 cm,离心10 min,分离上清,用化学发光法(试剂盒购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)测定孕酮(progesterone, P)、抑制素A (serum amyloid a, SAA)、人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)水平,用电化学发光免疫分析仪(试剂盒购自罗氏公司)测定甲状腺刺激激素(thyroid stimulating hormone, TSH)水平。

1.3.2 子宫螺旋动脉血流动力学检测

用彩色多普勒超声诊断仪器(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),以5.0~7.5 MHz的探头频率,获取三个以上形态一致、清晰的血液频谱

表1 一般资料 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

组别	n	平均年龄 (岁)	初次住院孕周 (周)	身体质量指数 (kg/m ²)	是否初产妇		初期肿块面积 (cm ²)
					初产妇	经产妇	
单一组	82	30.47 $\pm$ 2.57	13.54 $\pm$ 3.98	21.88 $\pm$ 3.15	62(75.61)	20(24.39)	4.22 $\pm$ 0.85
联合组	82	32.14 $\pm$ 2.86	13.98 $\pm$ 3.86	22.40 $\pm$ 3.01	54(65.85)	28(34.15)	4.35 $\pm$ 0.73
t/χ^2 值		0.568	0.719	1.080		1.885	1.050
P 值		0.571	0.473	0.281		0.170	0.295

图像,计算搏动指数(pulsatility index,PI)与阻力指数(resistance index,RI)^[8]。

1.3.3 临床疗效

参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[9]并结合超声检查评估疗效,显效:无宫腔积血、胚胎发育正常;有效:宫腔积血面积减少>1/2,胚胎发育正常;无效:宫腔积血面积减少<1/2或增大,或胚胎停止发育。总有效率(%)=(显效+有效)/总例数×100%。

1.3.4 血清TPOAb、AEMAb表达水平

采集两组治疗前后静脉血8 mL,以3 000 r/min,离心半径为12 cm,离心10 min分离上清,用全自动化学发光分析仪及配套试剂(美国贝克曼库尔特有限公司)检测TPOAb水平,用全波长酶标仪(molecular devices corporation公司),使用

酶联免疫吸附法(试剂盒由欣博盛生物提供)检测AEMAb水平。

1.4 统计学分析

数据分析通过统计学软件SPSS 21.0完成。计数资料以 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验;呈正态分布性计量资料,以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,进行 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组P、TSH、hCG、SAA水平比较

治疗前两组P、TSH、hCG、SAA水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后两组P、hCG、SAA水平均升高,且联合组高于单一组,TSH水平均降低,且联合组低于单一组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组P、TSH、hCG、SAA水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	P(ng/mL)		hCG(ng/mL)		TSH(mU/L)		SAA(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
单一组	82	28.54±4.25	38.54±6.24 ^a	37.15±6.35	43.45±5.25 ^a	3.15±0.27	1.54±0.45 ^a	362.25±30.51	453.69±28.47 ^a
联合组	82	28.14±4.37	42.25±5.33 ^a	37.31±6.38	49.22±5.04 ^a	3.21±0.51	1.38±0.33 ^a	364.18±34.13	533.74±31.57 ^a
<i>t</i> 值		0.586	4.094	0.161	7.180	0.942	2.596	0.382	17.052
<i>P</i> 值		0.559	<0.001	0.872	<0.001	0.348	0.010	0.703	<0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.2 两组PI、RI比较

治疗前两组PI、RI比较差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后两组PI、RI均降低,且联合组低于单一组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组PI、RI比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	RI		PI	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
单一组	82	0.67±0.27	0.56±0.38 ^a	1.57±0.37	0.37±0.18 ^a
联合组	82	0.72±0.34	0.40±0.22 ^a	1.49±0.25	1.20±0.10 ^a
<i>t</i> 值		1.043	3.300	1.622	36.500
<i>P</i> 值		0.299	0.001	0.107	<0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

2.3 两组临床疗效比较

治疗后,联合组总有效率高于单一组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表4 两组临床疗效比较 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率
单一组	82	30(36.59)	31(37.80)	21(24.39)	61(74.39)
联合组	82	49(65.33)	26(34.67)	7(9.33)	75(91.46)
χ^2 值					8.441
<i>P</i> 值					0.003

2.4 两组TPOAb、AEMAb水平比较

治疗前两组TPOAb、AEMAb水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后两组TPOAb、AEMAb水平均降低,且联合组低于单一组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表5。

表5 两组TPOAb、AEMAb水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TPOAb(IU/mL)		AEMAb(ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
单一组	82	29.48±2.97	18.51±0.38 ^a	0.67±0.25	0.49±0.11 ^a
联合组	82	29.67±2.74	22.87±1.21 ^a	0.71±0.27	0.26±0.10 ^a
<i>t</i> 值		0.426	31.203	0.984	14.010
<i>P</i> 值		0.671	<0.001	0.326	<0.001

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

当先兆流产合并SCH时,先兆流产的症状会加重,SCH与不良妊娠结局存在一定的联系,但先兆流产合并SCH对妊娠结果的具体影响及作用机制尚需进一步研究^[10]。间苯三酚是一种非阿片类纯平滑肌松弛剂,能特异治疗由消化系统功能异常所诱发的急性痉挛性疼痛和直接作用于子

宫平滑肌的痉挛性收缩,有效缓解妇科痉挛性疼痛,且不会对胎体发育造成不良影响,提升妊娠成功率^[11]。中医认为,先兆流产的根本原因是“冲任损伤,胎元不稳”,而冲任重任在肾虚,固肾安胎丸能滋阴补肾、固冲安胎,被广泛用于临床治疗早期先兆流产^[12]。

本研究结果表明,相对于单一固肾安胎丸治疗,间苯三酚联合固肾安胎丸治疗方案能更好调节孕期异常的P、hCG、SAA和TSH等血清生殖内分泌激素水平,降低PI、RI参数,提示孕期应及时控制甲状腺功能亢进,减少血管阻力对胎儿血液循环的影响,以免造成不良妊娠结果。间苯三酚可以抑制催产素(oxytocin, OT)诱导的子宫平滑肌收缩,降低OT诱导的扭动反应,达到解除子宫平滑肌的痉挛,缓解疼痛的效果。钙离子是平滑肌收缩的关键离子之一,间苯三酚能抑制钙离子进入平滑肌细胞,减少细胞内钙离子浓度,从而降低平滑肌的收缩强度,进而起到解痉作用。而固肾安胎丸的中药成分具备多种生物活性,如白芍能养血调经,调节卵巢内分泌功能,何首乌、地黄可以补肝肾,填精益血等^[13]。因此间苯三酚联合固肾安胎丸具有抑制子宫平滑肌收缩、补肾益气等功能,对促进胚胎着床及维持妊娠过程具有潜在的积极作用。

近年研究^[14]显示,先兆流产的发生过程与孕妇体内的免疫系统功能失衡密切相关。TPOAb被认为是与自身免疫性甲状腺疾病紧密相关的标志性生物标志物,而AEMAb能以子宫内膜为靶点,引发自身免疫反应,因此两者水平上升通常能反映机体内免疫系统的异常活动,扰乱子宫内膜的免疫微环境,进而对胚胎的着床及正常发育过程产生不良影响^[15]。本研究结果表明,两组在治疗后TPOAb、AEMAb的表达水平均降低,且联合组相对更低,提示TPOAb、AEMAb的阳性率与流产存在密切关系。与健康人群相比,孕妇的免疫系统调节功能会更加敏感,更易发生甲状腺自身免疫性疾病等自身免疫性疾病,妊娠期若出现甲状腺功能异常,TPOAb等的生物标记物水平升高,进而破坏甲状腺组织,抑制甲状腺激素的合成和分泌,影响胚胎的生长发育且增加其他并发症的风险。间苯三酚联合固肾安胎丸治疗方案通过补肾和抑制子宫平滑肌收缩达到安胎作用,并降低TPOAb、AEMAb的表达水平,避免妊娠期免疫失调造成不

良妊娠结果影响^[16]。

综上所述,间苯三酚联合固肾安胎丸可有效提升先兆流产合并绒毛膜下血肿临床疗效,能改善子宫血流动力学,调节激素水平和TPOAb、AEMAb表达量,值得临床推荐与应用。

参考文献

- [1] Yan X, Xu H, Li J, et al. Subchorionic hematoma and risk of preterm delivery: a systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Obstet Gynecol MFM*, 2023, 5(1): 100791.
- [2] 郭小静. 补肾健脾化痰安胎方治疗早孕期先兆流产合并绒毛膜下血肿脾肾亏虚兼血瘀证的临床疗效观察[J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(19): 3329-3331.
- [3] 宗晶晶, 李贺月, 尤明辉, 等. 固肾安胎丸辅助泼尼松及阿司匹林治疗复发性流产的效果及对辅助性T细胞17/调节性T细胞失衡的影响[J]. *中国性科学*, 2022, 31(8): 57-61.
- [4] Wu F, Chen Y, Zheng C. Efficacy of phloroglucinol for acceleration of labour: a systematic review and meta-analysis [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2021, 304(2): 421-428.
- [5] 乐杰. 妇产科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 84.
- [6] 唐红, 康晟, 孔令秋. 妇产科超声图谱[M]. 天津: 天津科技翻译出版有限公司, 2015: 218.
- [7] 陈子江, 林其德, 王谢桐, 等. 孕激素维持早期妊娠及防治流产的中国专家共识[J]. *中华妇产科杂志*, 2016, 51(7): 481-483.
- [8] 钟玲, 周波, 陈慧敏, 等. 加味寿胎丸治疗肾虚型复发性流产患者妊娠子宫血流灌注疗效观察[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(12): 2956-2958.
- [9] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 253-258.
- [10] 石燕, 尤海英, 刘银春, 等. 先兆流产合并绒毛膜下血肿对妊娠结局的影响[J]. *名医*, 2022, (2): 101-103.
- [11] Clara B, Paul V, Denis P, et al. Efficacy of phloroglucinol for the treatment of pain of gynaecologic or obstetrical origin: a systematic review of literature of randomised controlled trials [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2020, 76(1): 1-6.
- [12] 张丽, 董冰莹, 袁小丽. 固肾安胎丸联合达肝素钠治疗ACA阳性复发性流产的临床观察[J]. *中国药房*, 2023, 34(7): 863-867.
- [13] Yang W, Guo H, Niu J, et al. Phloroglucinol inhibits oxytocin-induced contraction in rat gastric circular muscle and uterine smooth muscle [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2023, 43(1): 2130208.
- [14] 张有, 闫正平, 张华旭, 等. 原因不明复发性流产与先兆流产患者外周血单核细胞上Tim-3、PD-1与Th1/Th2细胞因子的关系[J]. *中国计划生育学杂志*, 2021, 29(6): 1109-1113.
- [15] 郭婉茹, 曾彬, 崔静, 等. AEMAb、ACPA、AHCGAb在不孕患者中表达水平及与生殖激素含量的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(3): 507-511.
- [16] 韩曦, 康佳, 何小荣, 等. 不同诊断标准下妊娠早期亚临床甲状腺功能减退及甲状腺过氧化物酶抗体表达对妊娠结局的影响[J]. *陕西医学杂志*, 2022, 51(7): 843-847.

基础血清 LH/FSH、25-羟维生素 D 联合窦卵泡计数在高龄不孕女性体外受精-胚胎移植妊娠结局中的预测价值

查钱江* 陈志云 纪妍 刘新 刘晓艳 陈晓林

【摘要】目的 探究基础血清促黄体生成素/卵泡刺激素(LH/FSH)、25-羟维生素 D(25-(OH)D)联合窦卵泡计数(AFC)对高龄不孕女性体外受精-胚胎移植(IVF-ET)妊娠结局的预测价值。**方法** 纳入2021年1月至2023年12月在惠州市中心人民医院生殖医学中心接受IVF-ET助孕的高龄不孕女性356例,按妊娠结局分为妊娠组(159例)和无妊娠组(197例)。采用单因素和二元logistics回归分析影响高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的危险因素,并通过受试者工作特征曲线(ROC)分析基础血清LH/FSH、25-(OH)D联合AFC对高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的预测效果。**结果** 两组的不孕年限、体质量指数(BMI)和促性腺激素(Gn)剂量相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。妊娠组的年龄比无妊娠组的显著更低,抗苗勒管激素(AMH)、基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC则显著更高,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。logistics回归分析结果显示,高龄不孕女性的年龄增长是IVF-ET无妊娠的危险因素,AMH、基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC水平上升均为IVF-ET无妊娠的保护因素($P<0.05$)。ROC结果显示,基础血清LH/FSH、25-(OH)D联合AFC预测高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的曲线下面积为0.880,敏感度为0.874,特异度为0.731。**结论** 基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC的水平异常与高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局有关,三种指标联合对高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的预测有良好的应用价值。

【关键词】 体外受精-胚胎移植; 促黄体生成素/卵泡刺激素; 25-羟维生素 D; 窦卵泡计数; 高龄女性

Predictive value of basal serum LH/FSH and 25-hydroxy vitamin D combined with antral follicle count in pregnancy outcome of in vitro fertilization - embryo transfer in infertile women of advanced age

ZHA Qianjiang*, CHEN Zhiyun, JI Yan, LIU Xin, LIU Xiaoyan, CHEN Xiaolin

(Center of Reproductive Medicine, People's Hospital of Huizhou Center, Huizhou, Guangdong, China, 516000)

【ABSTRACT】Objective To investigate the predictive value of basal serum luteinizing hormone/follicle stimulating hormone (LH/FSH), 25-hydroxy vitamin D (25-(OH)D) combined with antral follicle count (AFC) on the pregnancy outcome of in-vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) in elderly infertile women. **Methods** A total of 356 elderly infertile women who underwent IVF-ET assisted conception at the Reproductive Medicine Center of Huizhou Central People's Hospital from January 2021 to December 2023 were included. They were divided into the pregnancy group (159 cases) and the no-pregnancy group (197 cases) based on their pregnancy outcomes. Risk factors affecting IVF-ET pregnancy outcomes in elderly infertile women were analyzed using univariate and binary logistic regression. Additionally, the predictive effect of basal serum LH/FSH and 25-(OH)D combined with AFC on IVF-ET pregnancy outcomes in elderly infertile women was analyzed using receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** The differences between the two groups were not statistically significant when comparing the years of infertility, body mass index (BMI), and gonadotropin (Gn) dose ($P>0.05$). However, age was significantly lower in the pregnant group,

基金项目: 惠州市科技计划项目(2022CZ010023)

作者单位: 惠州市中心人民医院生殖医学中心, 广东, 惠州 516000

*通信作者: 查钱江, E-mail: zhaqj2024@163.com

while anti-mullerian hormone (AMH), basal serum LH/FSH, 25-(OH)D, and AFC were significantly higher in the pregnant group compared to the non-pregnant group. These differences were all statistically significant ($P<0.05$). Logistic regression analyses showed that increasing age was a risk factor for IVF-ET nulliparity in elderly women with infertility. Conversely, increasing levels of AMH, basal serum LH/FSH, 25-(OH)D, and AFC were identified as protective factors for IVF-ET nulliparity ($P<0.05$). The ROC results demonstrated that the area under the curve of basal serum LH/FSH, 25-(OH)D combined with AFC for predicting IVF-ET pregnancy outcome in elderly infertile women was 0.880, with a sensitivity of 0.874 and specificity of 0.731. **Conclusion** Abnormal levels of basal serum LH/FSH, 25-(OH)D, and AFC are associated with IVF-ET pregnancy outcomes in elderly infertile women. The combination of these three indicators has good application value in predicting IVF-ET pregnancy outcomes in older infertile women.

[KEY WORDS] In vitro fertilization-embryo transfer; Luteinizing hormone/follicle stimulating hormone; 25-hydroxy vitamin D; Antral follicle count; Advanced age women

不孕症指夫妻双方未采取任何避孕措施且正常行性生活一年以上但无成功怀孕^[1]。当前,不孕不育的发生率正逐年升高,统计显示^[2],全世界不孕不育患者占育龄人口的10%~20%。体外受精-胚胎移植(In vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)是较为成熟的人工助孕技术,流程主要包括注射促性腺激素(Gonadotropin, Gn)刺激,抽吸提取卵母细胞,实验室进行体外受精后并在最佳条件下培养胚胎,然后在超声的引导下移植到子宫中^[3]。卵泡的形成需要垂体分泌的促黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)和卵泡刺激素(Follicle stimulating hormone, FSH)共同调控,LH和FSH之间的不同比例能够刺激机体分泌不同水平的雄激素、雌激素和孕激素,从而影响卵泡的正常发育^[4]。维生素D在人体内的主要代谢物为25-羟基维生素D[25-hydroxy vitamin D, 25-(OH)D],既往研究提示^[5],25-(OH)D的水平会影响抗苗勒管激素(Anti mullerian hormone, AMH)而对卵巢储备能力发挥重要作用。窦卵泡计数(Antral follicle count, AFC)是反映卵巢反应性的重要指标,对卵巢反应性的预测灵敏性和特异性均较好^[6]。本研究旨在分析基础血清LH/FSH、25-(OH)D以及AFC与高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的相关性,并探究三种指标联合预测高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2023年12月期间于惠州市中心人民医院生殖医学中心接受IVF-ET助孕的356例高龄不孕女性作为研究对象,平均年龄(39.04 ± 1.65)岁。纳入标准:①年龄大于34岁,小

于45岁;②符合《不孕症诊断指南》^[7]中女性不孕症的诊断标准;③均首次接受IVF-ET,且为鲜胚移植;④月经和性生活规律;⑤均已签署知情同意书。排除标准:①先天性子宫畸形或不明原因不孕症;②合并严重器官功能障碍;③临床资料不完整。本研究已获得惠州市中心人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 指标检测

进入IVF-ET周期治疗前,在研究对象月经周期的第2~5天采集空腹状态的静脉血5 mL,以8 cm的离心半径和4 500 r/min转速离心10 min后分离血清并低温保存。采用罗氏Cobas e 411电化学发光全自动免疫分析仪测定LH、FSH,并计算LH/FSH。采用Sciex高效液相色谱串联质谱仪检测25-(OH)D水平。严格按照试剂盒(上海罗氏诊断产品有限公司)说明书步骤,以电化学发光法测定研究对象的血清AMH。在月经周期的第2~5天内采用ARIETTA 60阿洛卡彩色超声诊断装置(日本株式会社日立制作所)经阴道观察并测量AFC。

1.2.2 IVF-ET

于月经周期第18~21天左右注射促性腺激素释放激素激动剂(法国博福益普生制药有限公司)(0.8~1.3)mg,12~14天达到降调节标准后将给予Gn(瑞士默克雪兰诺公司、美国默沙东公司)。出现2~3个直径在18 mm及以上的主导卵泡后,皮下注射6 000~10 000单位注射用绒促性素(青岛冠龙生物制药有限公司),36 h后经超声取卵。将优化处理后的精子与卵子置于同一培养皿培养3天后进行胚胎移植。

1.2.3 妊娠判断

研究对象接受IVF-ET助孕后,检测第14天的

血清人绒毛膜促性腺激素水平(Human chorionic gonadotropin, HCG),若 HCG $\geq$ 10 IU/L,则提示生化妊娠,并于术后第4~5周行B超检查,宫内见孕囊者即为妊娠成功,纳入妊娠组(159例),其余则纳入无妊娠组(197例)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 25.0统计分析收集的数据。计量资料以($\bar{x}\pm s$)的形式进行描述,组间比较采用 t 检验。应用二元Logistic回归分析高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的独立影响因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析基础血清LH/FSH、25-(OH)D联合AFC对高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的预测效果。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

两组的不孕年限、BMI和Gn剂量相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。相比于无妊娠组,妊娠组的年龄显著更低,AMH、基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC则显著更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组临床资料比较($\bar{x}\pm s$)

项目	妊娠组 ($n=159$)	无妊娠组 ($n=197$)	t 值	P 值
年龄(岁)	38.03 $\pm$ 1.23	40.26 $\pm$ 1.18	17.394	<0.001
不孕年限(年)	2.97 $\pm$ 0.58	3.08 $\pm$ 0.60	1.745	0.082
BMI(kg/m ²)	21.06 $\pm$ 2.58	21.31 $\pm$ 2.60	0.905	0.366
Gn剂量(IU)	1 924.85 $\pm$ 448.79	1 957.26 $\pm$ 451.83	0.675	0.500
AMH(ng/mL)	1.78 $\pm$ 0.51	1.52 $\pm$ 0.48	4.941	<0.001
LH/FSH	0.41 $\pm$ 0.06	0.34 $\pm$ 0.06	10.943	<0.001
25-(OH)D (nmol/L)	32.81 $\pm$ 2.57	29.95 $\pm$ 2.52	10.552	<0.001
AFC(个)	8.62 $\pm$ 1.36	6.97 $\pm$ 1.35	11.427	<0.001

2.2 影响高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的多因素分析

以高龄不孕女性IVF-ET是否无妊娠(否=0,是=1)为因变量,单因素分析中具有统计意义的因素(年龄、AMH、基础LH/FSH、25-(OH)D、AFC)作为自变量。多因素logistics回归分析显示,高龄不孕女性的年龄增长是IVF-ET无妊娠的危险因素($P<0.05$);AMH、基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC水平上升均为IVF-ET无妊娠的保护因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 基础血清LH/FSH、25-(OH)D联合AFC对高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的预测价值

ROC曲线结果,基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC预测高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的曲线下面积(AUC)分别为0.762、0.787和0.691,而三者联合的AUC为0.880,显著高于单一指标预测($P<0.05$)。见表3、图1。

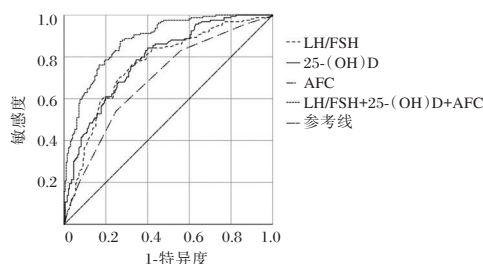


图1 ROC曲线

3 讨论

随着辅助生殖技术的进步,IVF-ET的成功率亦逐渐提高,但仍有不少患者受子宫内膜容受性下降、精子和胚胎质量异常以及其他因素的影响而经历反复的胚胎种植失败^[8-9]。因此,在采用IVF-ET助孕的过程中,监测卵巢储备能力、胚胎质量、子宫内膜状态等方面对预测妊娠结局及提高

表2 二元logistics回归分析高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的影响因素

变量	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR值	95%CI	P 值
年龄	0.895	0.327	7.491	2.447	1.289~4.646	0.006
AMH	-1.003	0.428	5.492	0.367	0.159~0.849	0.019
基础LH/FSH	-1.276	0.471	7.339	0.279	0.111~0.703	0.007
25-(OH)D	-0.884	0.316	7.826	0.413	0.222~0.767	0.005
AFC	-1.459	0.541	7.273	0.233	0.081~0.671	0.007

表3 基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC单独及联合对高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的预测价值

指标	截断值	AUC	95%CI	敏感度	特异度	约登指数	P 值
LH/FSH	0.377	0.762	0.712~0.812	0.767	0.670	0.437	<0.001
25-(OH)D	30.195(nmol/L)	0.787	0.740~0.833	0.843	0.599	0.442	<0.001
AFC	7.5(个)	0.691	0.636~0.746	0.541	0.751	0.292	<0.001
LH/FSH+25-(OH)D+AFC		0.880	0.845~0.914	0.874	0.731	0.605	<0.001

妊娠成功率具有重要意义。

LH能刺激卵泡膜细胞产生雄烯二酮,而FSH能刺激颗粒细胞中芳香化酶的合成,催化雄烯二酮转化为雌二醇,从而促进卵泡的成熟^[4]。本研究中可见,较低的基础LH/FSH水平是高龄不孕女性发生IVF-ET无妊娠的危险因素。这是因为高龄不孕女性由于卵巢储备功能减退,会出现FSH水平升高,从而刺激雌激素的过多合成,并且FSH的升高会略早于LH的升高而体现为LH/FSH水平下降^[10]。此外,高龄不孕女性LH活性的下降亦导致LH受体敏感度降低,使卵泡膜细胞与卵巢间质细胞产生的雄激素减少^[11]。维生素D已被证实在女性生殖中发挥重要作用,其受体在下丘脑、垂体、卵巢、子宫、胎盘和睾丸等高级生殖中心和生殖器官中均有广泛表达^[12]。本研究中,25-(OH)D的低水平是导致高龄不孕女性IVF-ET无妊娠的危险因素。尹佳倩等^[13]的研究亦证实,25-(OH)D不足会降低不孕女性IVF-ET的临床妊娠率。AMH是一种由窦前卵泡和小窦状卵泡的颗粒细胞分泌的糖蛋白激素,在整个月经周期中的水平波动较小,其可通过抑制原始卵泡的初始募集以及参与优势卵泡的选择过程来影响卵泡的生长发育^[14]。维生素D可抑制AMH受体-Ⅱ的表达,从而对抗AMH对卵巢颗粒细胞的抑制作用来促进卵泡的生长和成熟^[15]。高龄不孕女性体内的维生素D水平随着年龄的自然增长会显著下降,进而减弱对AMH受体-Ⅱ的抑制作用,干扰卵泡的正常发育过程。此外,既往研究还发现^[16],25-(OH)D经由1 α -羟化酶转化的代谢物1,25-二羟基维生素D3能够激活血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)的启动子活性,促进月经周期内VEGF的合成和释放,影响优势卵泡内的血流供应,为卵泡带来更充足的营养,从而提升胚胎质量。AFC是指在早卵泡期经超声测量的直径在2~10 mm之间的卵泡数总和,能良好预测卵巢反应性^[14]。本研究结果可见,AFC下降是接受IVF-ET的高龄不孕女性无妊娠的危险因素。这是因为高龄不孕女性的卵巢储备功能下降时,卵巢皮质变薄且间质部纤维化,导致形成窦卵泡的能力减弱,体现为AFC下降。ROC结果显示,基础血清LH/FSH、25-(OH)D联合AFC对预测高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的敏感度为0.874,特异度为0.731,AUC亦显著高于单一指标预测,说明三种指标联合更有利于准确预测高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局。

综上所述,高龄不孕女性的基础血清LH/FSH、25-(OH)D和AFC水平异常可能与IVF-ET无妊娠有关。基础血清LH/FSH、25-(OH)D联合AFC对高龄不孕女性IVF-ET妊娠结局的预测具有较好的应用效果,临床可采取相应的措施以提高高龄不孕女性IVF-ET的妊娠成功率。

参考文献

- [1] 张翠雯,林玉仪,吴婉如,等. ACA、ANA与不孕症患者行体外受精-胚胎移植妊娠结局的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022,14(4):573-576.
- [2] 孙秋菊,柴德春. 南京市已婚育龄夫妻不孕不育及影响因素调查[J]. 华南预防医学, 2022,48(12):1541-1543+1547.
- [3] Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and management of infertility: a review[J]. JAMA, 2021,326(1):65-76.
- [4] Su NJ, Huang CY, Liu J, et al. Association between baseline LH/FSH and live-birth rate after fresh-embryo transfer in polycystic ovary syndrome women [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 20490.
- [5] Bacanakgil BH, İlhan G, Ohanoğlu K. Effects of vitamin d supplementation on ovarian reserve markers in infertile women with diminished ovarian reserve [J]. Medicine (Baltimore), 2022,101(6):e28796.
- [6] Liu Y, Pan Z, Wu Y, et al. Comparison of anti-müllerian hormone and antral follicle count in the prediction of ovarian response: a systematic review and meta-analysis [J]. J Ovarian Res, 2023,16(1):117.
- [7] 陈子江,刘嘉茵,黄荷凤,等. 不孕症诊断指南[J]. 中华妇产科杂志, 2019,54(8):505-511.
- [8] 郭玲,杨芳,郭安良,等. 体外受精-胚胎移植后反复种植失败的相关因素分析[J]. 现代妇产科进展, 2022,31(6):435-439+442.
- [9] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 高龄女性不孕诊治指南[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017,37(2):87-100.
- [10] 王琳,王菁,胡艳秋,等. 不同时机添加重组黄体生成素对高龄不孕症患者早卵泡期长期方案促排卵妊娠结局的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2022,57(10):758-766.
- [11] 周晓燕,汤美玲,马娟,等. 多囊卵巢综合征患者体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响因素及预测[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020,21(4):370-373.
- [12] Moridi I, Chen A, Tal O, et al. The association between vitamin d and anti-müllerian hormone: a systematic review and meta-analysis [J]. Nutrients, 2020,12(6):1567.
- [13] 尹佳倩,许孝凤,张雅梦,等. 血清25-(OH)D3水平对卵巢反应性及冻融胚胎移植临床结局的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2020,55(4):644-646.
- [14] 贺玲,刘霓,王婷,等. 抗苗勒管激素和窦卵泡计数对卵巢功能正常患者卵巢反应性的预测价值[J]. 实用医学杂志, 2020,36(4):498-501+506.
- [15] 刘雅龙,迟洪滨. 维生素D与女性生殖及辅助生育研究进展[J]. 中华医学杂志, 2020,100(43):3465-3467.
- [16] 申会敏,公丕东,王超,等. 血清维生素D水平与卵巢血流动力学及卵巢储备功能相关性研究[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2023,43(8):799-805.

血清 Netrin-1、Galectin-3 水平对良性阵发性眩晕患者复发的预测价值

姜亚辉* 李明杰 程红宇 李旭光 陈敬威

[摘要] 目的 探讨血清神经导向因子(Netrin)-1、半乳糖凝集素-3(Galectin-3)水平对良性阵发性位置性眩晕(BPPV)患者复发的预测价值。方法 选取2020年3月至2023年3月期间于河南省第二人民医院行手法复治疗的160例BPPV患者作为研究对象(观察组),治疗一周后复查均明确治疗成功;根据随访1年期间是否复发分入复发组($n=34$)与未复发组($n=126$)2个亚组;另选同期100名健康体检人群作为对照组。比较观察组与对照组、复发组与未复发组的血清Netrin-1、Galectin-3水平;采用受试者工作特性(ROC)曲线分析血清Netrin-1、Galectin-3对BPPV患者复发的预测价值;采用多因素Logistic回归分析探讨BPPV患者复发的影响因素。结果 观察组血清Netrin-1水平低于对照组, Galectin-3水平高于对照组($P<0.05$)。复发组血清Netrin-1水平低于未复发组, Galectin-3水平高于未复发组($P<0.05$)。血清Netrin-1、Galectin-3及两者联合预测BPPV患者复发的AUC分别为0.855(95%CI: 0.788~0.921)、0.789(95%CI: 0.707~0.890)、0.923(95%CI: 0.853~0.968)。复发组睡眠质量较差占比、有高血压占比、有糖尿病占比、是前庭性偏头痛占比高于未复发组(P 均 <0.05)。多因素分析显示:睡眠质量较差、有高血压、有糖尿病、是前庭性偏头痛、Netrin-1低表达、Galectin-3高表达是BPPV患者复发的危险因素($P<0.05$)。结论 BPPV患者血清Netrin-1呈低表达、Galectin-3呈高表达,两指标与BPPV患者复发有关,联合检测对BPPV患者复发具有一定预测价值。

[关键词] 良性阵发性位置性眩晕;神经导向因子;半乳糖凝集素-3

The predictive value of serum netrin-1 and galectin-3 levels in the recurrence of patients with benign paroxysmal vertigo

JIANG Yahui*, LI Mingjie, CHENG Hongyu, LI Xuguang, CHEN Jingwei

(Department of Neurology, Henan Second People's Hospital, Zhengzhou, Henan, China, 451191)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of serum levels of netrin-1 and galectin-3 for follow-up recurrence in patients with benign paroxysmal positional vertigo (BPPV). **Methods** A total of 160 cases of BPPV from March 2020 to March 2023 were selected as the study subjects (observation group). After one week of treatment, all of them were successfully treated and followed up for one year. The observation group was divided into a recurrence group ($n=34$) and a non-recurrence group ($n=126$) based on whether recurrence occurred during the follow-up period. In addition, 100 healthy individuals were selected as the control group. Serum levels of netrin-1 and galectin-3 were measured between the observation group and the control group, as well as between the recurrence group and the non-recurrence group. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to analyze the predictive value of serum netrin-1 and galectin-3 for recurrence in BPPV patients. Multiple logistic regression analysis was used to explore the influencing factors of recurrence in BPPV patients. **Results** The serum netrin-1 level in the observation group was lower compared to the control group, while the serum galectin-3 level was higher compared to the control group ($P<0.05$). The serum netrin-1 level in the relapsed group was lower compared to the non-relapsed group, and the galectin-3 level was higher compared to the non-relapsed group ($P<0.05$). The AUC for serum netrin-1, galectin-3, and

基金项目:中国博士后科学基金项目(2021M702947)

作者简介:河南省第二人民医院神经内科,河南,郑州 451191

*通信作者:姜亚辉, E-mail: 1012550146@qq.com

their combined prediction for recurrence in BPPV patients were 0.855 (95%CI: 0.788~0.921), 0.789 (95% CI: 0.707~0.890), and 0.923 (95%CI: 0.853~0.968) respectively. The proportion of patients with poor sleep quality, hypertension, diabetes, and vestibular migraine in the recurrence group was higher than in the non-recurrence group ($P<0.05$). Multivariate analysis indicated that poor sleep quality, hypertension, diabetes, vestibular migraine, low expression of netrin-1, and high expression of galectin-3 were risk factors for relapses in BPPV patients ($P<0.05$). **Conclusion** The low expression of netrin-1 and high expression of galectin-3 in serum of BPPV patients are associated with the recurrence of BPPV patients. The combined detection of netrin-1 and galectin-3 holds certain value in predicting the recurrence of BPPV patients.

[KEY WORDS] Benign paroxysmal positional vertigo; Neuroguidance factor; Galectin-3

良性阵发性位置性眩晕 (benign paroxysmal positional vertigo, BPPV) 是临床上最常见的一种眩晕疾病, 其主要特征是当头部处于特定位置时突然出现短暂的旋转感觉, 可伴有眼球震颤、恶心、呕吐等症状^[1]。目前研究认为^[2], BPPV 主要是由于内耳中的耳石脱落并进入半规管引起, 当头部位置改变时, 耳石移动刺激半规管, 导致眩晕发作。BPPV 的主要治疗方法是耳道复位术, 通过特定的头部位置和动作将耳石移回椭圆囊, 治疗效果明显^[3]。尽管耳道复位术的效果显著, 但仍有部分患者在治疗后会出现复发, 影响患者生活质量及心理健康^[4]。寻找与 BPPV 相关的生物学标志物对于患者的治疗及预防复发极为重要。神经导向因子 (Netrin)-1 是一种在中枢神经系统发育和再生中起重要作用的蛋白质, 在多种神经系统疾病中发挥重要作用^[5]。半乳糖凝集素-3 (Galectin-3) 是一种糖结合蛋白, 参与炎症反应、免疫调节和细胞凋亡等多种生理和病理过程^[6]。本研究旨在探讨血清 Netrin-1 和 Galectin-3 水平对 BPPV 患者复发的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 3 月至 2023 年 3 月期间于河南省第二人民医院行手法复治疗的 160 例 BPPV 患者作为研究对象 (观察组), 其中男性 53 例, 女性 107 例; 年龄 20~86 岁, 平均 (58.37±14.53) 岁; 体质指数 18~27 kg/m², 平均 (23.26±3.45) kg/m²; 纳入标准: ①符合 BPPV 的诊断标准^[7]; ②均经过 Dix-Hallpike 试验及翻滚试验确诊; ③首次发病, 均在本院经同一医疗团队进行手法复位治疗, 1 周后复查明确治疗成功; ④临床资料齐全; ⑤患者及家属签署同意书, 知情同意本研究。排除标准: ①未完成 1 年随访者; ②由其他疾病所引起的位置性眩晕者; ③有血液疾病、自身免疫疾病及严重感染疾病者; ④肝肾器官功能严重障碍者; ⑤手法复位治疗失败者; ⑥存在

癫痫病史、认知障碍或精神疾病者; ⑦诊断时眩晕持续时间在 30d 以上。另选同期 100 名健康体检人群作为对照组, 男性 34 名, 女性 66 名; 年龄 22~89 岁, 平均 (58.12±14.95) 岁; 体质指数 18~28 kg/m², 平均 (23.43±3.66) kg/m²。两组一般资料无统计学差异 ($P>0.05$)。本研究经医院伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集 160 例 BPPV 患者的临床资料, 包括性别、年龄、睡眠质量、高血压、糖尿病、高脂血症、中耳炎、梅尼埃病、前庭性偏头痛等。

1.2.2 血清 Netrin-1、Galectin-3 水平检测

采集观察组入院次日清晨及对照组体检当日的空腹静脉血样 2 mL, 3 000 r/min 速度离心 (离心半径为 8 cm) 处理 10 min 后, 保留上层清液, 采用酶联免疫吸附法检测血清 Netrin-1、Galectin-3 (试剂盒: 上海创祥生物科技有限公司)。

1.2.3 随访及分组

观察组患者经复位治疗痊愈后, 进行为期 1 年的随访, 每 3 个月随访 1 次, 随访截止日期 2024 年 3 月 31 日, 在此期间若有再次眩晕发生来医院复诊者及时记录, 且复发患者均经诱发试验验证。根据随访期间是否复发将观察组分为复发组 ($n=34$) 与未复发组 ($n=126$)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 23.0 统计学软件分析数据, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 行 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 描述, 行 χ^2 检验; 采用受试者工作特性 (ROC) 曲线分析预测价值; 采用多因素 Logistic 回归分析探讨影响因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 Netrin-1、Galectin-3 水平比较

观察组的血清 Netrin-1 水平显著低于对照组, Galectin-3 水平显著高于对照组 ($P<0.05$)。见表 1。

表1 两组血清 Netrin-1、Galectin-3 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Netrin-1(pg/mL)	Galectin-3(ng/mL)
对照组	100	450.79±101.62	1.43±0.39
观察组	160	292.52±99.27	6.26±2.04
t 值		12.394	29.140
P 值		<0.001	<0.001

2.2 未复发组和复发组血清 Netrin-1、Galectin-3 水平比较

复发组血清 Netrin-1 低于未复发组, Galectin-3 高于未复发组($P<0.05$)。见表2。

表2 未复发组和复发组血清 Netrin-1、Galectin-3 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Netrin-1(pg/mL)	Galectin-3(ng/mL)
未复发组	126	319.47±86.29	5.75±1.64
复发组	34	192.65±78.91	8.16±2.27
t 值		7.738	5.809
P 值		<0.001	<0.001

2.3 血清 Netrin-1、Galectin-3 水平对 BPPV 患者复发的预测价值

血清 Netrin-1、Galectin-3 及两者联合预测 BPPV 患者复发的 AUC 分别为 0.855(95%CI: 0.788~0.921)、0.798(95%CI: 0.707~0.890)、0.910(95%CI: 0.853~0.968)。见表3、图1。

表3 血清 Netrin-1、Galectin-3 水平对 BPPV 患者复发的预测价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	灵敏度	特异度
Netrin-1	0.855	0.788~0.921	261.07 pg/mL	0.824	0.738
Galectin-3	0.798	0.707~0.890	6.69n g/mL	0.735	0.730
Netrin-1+ Galectin-3	0.910	0.853~0.968		0.765	0.905

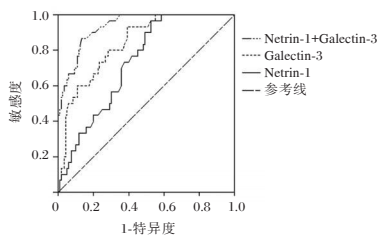


图1 血清 Netrin-1、Galectin-3 水平对 BPPV 患者复发的预测 ROC 曲线

2.4 BPPV 患者复发的单因素分析

两组性别、年龄、高脂血症、中耳炎、梅尼埃病人

数比较差异无统计学意义($P>0.05$)。复发组睡眠质量较差占比、有高血压占比、有糖尿病占比、是前庭性偏头痛占比高于未复发组(P 均 <0.05)。见表4。

表4 BPPV 患者复发的单因素分析 [$n(\%)$]

组别	未复发组 (n=126)	复发组 (n=34)	χ^2 值	P 值
性别				
男	40(31.75)	13(38.24)		
女	86(68.25)	21(61.49)	0.509	0.476
年龄(岁)				
<59	62(49.21)	18(52.94)		
≥59	64(50.79)	16(47.06)	0.149	0.699
睡眠质量				
正常	108(85.71)	22(64.71)		
较差	18(14.29)	12(35.29)	7.757	0.005
高血压				
有	43(34.13)	20(58.82)		
无	83(65.87)	14(41.18)	6.841	0.009
糖尿病				
有	25(19.84)	13(38.24)		
无	101(80.16)	21(61.76)	5.002	0.025
高脂血症				
有	37(29.37)	11(32.35)		
无	89(70.63)	23(67.65)	0.114	0.736
前庭性偏头痛				
是	12(9.52)	9(26.47)		
否	114(90.48)	25(73.53)	6.744	0.009
中耳炎				
是	11(8.73)	6(17.65)		
否	115(91.27)	28(82.35)	2.242	0.134
梅尼埃病				
是	20(15.87)	8(23.53)		
否	106(84.13)	26(76.47)	1.087	0.297

2.5 BPPV 患者复发的多因素分析

将 BPPV 患者是否复发作为因变量(否=0、是=1),将单因素分析有意义的指标及血清 Netrin-1、Galectin-3 水平作为自变量进行二分类 Logistic 逐步回归分析,结果显示:睡眠质量较差、有高血压、有糖尿病、是前庭性偏头痛、Netrin-1 低表达、Galectin-3 高表达是 BPPV 患者复发的危险因素($P<0.05$)。见表5。

3 讨论

BPPV 是一种临床常见的前庭系统疾病,老年人和有头部外伤史的人群更为常见,女性多于男性^[8]。近年来,伴随人口结构急速老龄化,BPPV 发病率呈逐年上升趋势^[9]。BPPV 的治疗多通过手法复位即可取得良好的短期疗效,但其复发率较高,反复发作严重影响患者日常生活和工作。因此,寻找相关生物学标志物,早期预测复发,对于 BPPV 的管理具有重要意义。

表5 BPPV 患者复发的多因素分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI)值	P 值
睡眠质量	正常=0;较差=1	1.964	0.942	4.343	7.128(1.124~45.203)	0.037
高血压	无=0;有=1	1.753	0.712	6.071	5.773(1.431~23.286)	0.014
糖尿病	无=0;有=1	1.912	0.793	5.817	6.764(1.431~31.980)	0.016
前庭性偏头痛	否=0;是=1	2.334	0.945	6.099	10.324(1.619~65.836)	0.014
Netrin-1	原值输入	-0.028	0.006	19.793	0.972(0.960~0.984)	<0.001
Galectin-3	原值输入	0.677	0.181	14.000	1.968(1.380~2.806)	<0.001

Netrin-1 是一种轴突导向分子,可通过与特定受体结合,维持神经网络的正常结构和功能^[10]。研究发现^[11],Netrin-1 在中枢神经系统形成和神经初级神经支配过程中具有积极作用。Meng 等^[12]发现,脊髓损伤患者的 Netrin-1 呈低表达,且 Netrin-1 可以作为预测脊髓损伤后认知障碍的血清标志物。本研究中,观察组的血清 Netrin-1 低于对照组,提示 Netrin-1 低表达和 BPPV 发生有关,与上述 Meng 等的研究结果相似。进一步随访发现,复发组血清 Netrin-1 低于未复发组,表明 Netrin-1 参与 BPPV 患者手法复位治疗后复发的发生。分析原因为,低水平 Netrin-1 可影响内耳神经元的稳定性和功能恢复,使复位治疗后更容易再次出现耳石脱落和半规管异常刺激,进而导致复发;同时,Netrin-1 低表达还与内耳血管功能障碍和自主神经功能紊乱有关,而两者均可增加 BPPV 的复发风险。

Galectin-3 是一种 β -半乳糖苷结合凝集素,在心血管疾病、肿瘤和自身免疫性疾病等多种疾病中异常表达。既往研究发现^[13],Galectin-3 是中枢神经系统疾病、神经炎症和神经退行性疾病等疾病的重要治疗靶点。另一研究表明^[14],Galectin-3 在具有亚型特异性的额颞叶痴呆患者中上调,可作为额颞叶痴呆的诊断标志物。本研究中,观察组血清 Galectin-3 高于对照组,提示 Galectin-3 高表达与 BPPV 的发生有关。BPPV 的发生与内耳的炎症反应和免疫功能障碍有关,而 Galectin-3 作为炎症反应的重要调节因子,其高表达可能反映了内耳组织的炎症状态,进而导致耳石的脱落和半规管的异常刺激,引发 BPPV。进一步随访发现,复发组的血清 Galectin-3 高于未复发组,分析原因为,高水平 Galectin-3 可通过持续的炎症反应影响内耳组织的修复和稳定,使其在复位治疗后更容易再次出现耳石脱落;同时,高水平 Galectin-3 还与内耳的免疫功能紊乱有关,可导致内耳环境的不稳定,增加复发风险。

本研究 AUC 结果显示,血清 Netrin-1、Galectin-3 及两者联合预测 BPPV 患者复发的 AUC 分别为 0.768、0.841、0.923,表明血清 Netrin-1、Galectin-3 两者联合检测的预测效能更高。多因素 Logistic 回归分析结果显示,睡眠质量较差、有高血压、有糖尿病、是前庭性偏头痛也是 BPPV 患者复发的危险因素,与吴陆敬等^[15]研究结果相似。进一步提示治疗后临床上应特别关注具有高危因素的 BPPV 患者,并同时监测血清 Netrin-1、Galectin-3 水平,减

少 BPPV 患者复发。

综上所述,BPPV 患者血清 Netrin-1 呈低表达、Galectin-3 呈高表达,两指标可用于预测 BPPV 患者复发,且联合检测的预测效能更高,临床可早期监测其表达水平以降低 BPPV 患者复发的发生。

参考文献

- [1] Elsherif M, Eldeeb D, Eldeeb M. Clinical significance of video head impulse test in benign paroxysmal positional vertigo: a meta-analysis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2021, 278(12): 4645-4651.
- [2] 张珍,任希,王醒哲. 醒脾祛瘀通脉汤联合甲磺酸倍他司汀治疗良性阵发性位置性眩晕的临床效果[J]. 保健医学研究与实践, 2021, 18(5): 119-122.
- [3] Strupp M, Mandala M, Vinck AS, et al. The Semont-Plus Maneuver or the Epley Maneuver in Posterior Canal Benign Paroxysmal Positional Vertigo: A Randomized Clinical Study[J]. JAMA Neurol, 2023, 80(8): 798-804.
- [4] Kim HJ, Kim JS, Choi KD, et al. Effect of Self-treatment of Recurrent Benign Paroxysmal Positional Vertigo: A Randomized Clinical Trial[J]. JAMA Neurol, 2023, 80(3): 244-250.
- [5] 王磊,黄廷,张真. 鼠神经生长因子联合 rTMS 治疗帕金森病的疗效观察[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(11): 1913-1916+1920.
- [6] Velickovic M, Arsenijevic A, Acovic A, et al. Galectin-3, Possible Role in Pathogenesis of Periodontal Diseases and Potential Therapeutic Target[J]. Front Pharmacol, 2021, 12(1): 638258.
- [7] 庄建华. 从前庭病理生理学角度指导良性阵发性位置性眩晕的诊断与治疗[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2019, 19(2): 75-80.
- [8] Karamy B, Zhang H, Archibald J. Systematic Review of Bilateral Benign Paroxysmal Positional Vertigo[J]. Laryngoscope, 2022, 132(3): 640-647.
- [9] 赖昌建,徐斐明,王育新,等. 不同疗法对老年髌部骨折术后伤口并发非典型失禁相关性皮炎的疗效观察[J]. 感染、炎症、修复, 2024, 25(2): 96-99.
- [10] 杨浩,龙乾发. 外泌体作为载体在中枢神经系统疾病中的研究进展[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(3): 86-92.
- [11] Hernandez-Morato I, Koss S, Honzel E, et al. Netrin-1 as A neural guidance protein in development and reinnervation of the larynx[J]. Ann Anat, 2024, 254(1): 152247.
- [12] Meng Y, Sun S, Cao S, et al. Netrin-1: A Serum Marker Predicting Cognitive Impairment after Spinal Cord Injury[J]. Dis Markers, 2022, 2022(1): 1033197.
- [13] Srejovic I, Selakovic D, Jovicic N, et al. Galectin-3: Roles in Neurodevelopment, Neuroinflammation, and Behavior[J]. Biomolecules, 2020, 10(5): 798.
- [14] Borrego-Écija S, Pérez-Millan A, Antonell A, et al. Galectin-3 is upregulated in frontotemporal dementia patients with subtype specificity[J]. Alzheimers Dement, 2024, 20(3): 1515-1526.
- [15] 吴陆敬,何利兴,卢华,等. 良性阵发性位置性眩晕患者成功复位治疗后发生残余头晕的危险因素相关性研究[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(17): 2342-2344.

基于数字PCR方法的血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测评价

张咪 张文新 齐雅宁 曲守方*

【摘要】目的 采用基于 DAAN StarrySky 10K 生物芯片阅读仪开发的数字 PCR 方法的肿瘤基因突变检测试剂盒, 针对血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测国家参考品进行检测, 评价该技术研发试剂盒准确性、特异性及最低检测限性能指标。**方法** 提取国家参考品的 ctDNA, 进行 PCR 扩增, 然后使用 DAAN StarrySky 10K 生物芯片阅读仪采集数据。**结果** 87 例国家参考品检测结果准确, 试剂盒检测范围内的国家阳性参考品均为相应突变阳性, 范围外的国家阳性参考品和国家阴性参考品均为突变阴性, 检测限不高于基因突变频率 0.2%。**结论** 基于 DAAN StarrySky 10K 生物芯片阅读仪开发的检测试剂盒, 完善了液体活检 ctDNA 的检测方法, 能够符合国家参考品的要求。

【关键词】 数字 PCR; 国家参考品; 循环肿瘤 DNA; 液体活检

Evaluation for *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* gene mutation detection in plasma ctDNA based on digital PCR

ZHANG Mi, ZHANG Wenxin, QI Yaning, QU Shoufang*

(Division of Diagnostic for Non-infectious Disease, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China, 100050)

【ABSTRACT】 Objective To evaluate the accuracy, specificity and the limit of detection of the kit, the national reference materials for *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* gene mutation in plasma ctDNA was tested by detecting kit based on digital PCR by DAAN StarrySky 10K biochip reader. **Methods** The ctDNA was extracted from national reference materials. After PCR amplification, data was collected using DAAN StarrySky 10K biochip reader. **Results** The results of all 87 samples were identified as the original types. The results of the national positive reference within the detection range of the kit showed the corresponding genotype. The results of the national negative reference and the national positive reference beyond the detection range of the kit were classified as wild type. The limit of detection was not higher than a mutation frequency of 0.2%. **Conclusion** In this study, DAAN StarrySky 10K biochip reader kit could enhance the gene detection method for liquid biopsy of ctDNA and meet the standards of national reference materials.

【KEY WORDS】 Digital PCR; National reference material; ctDNA; Liquid biopsy

液体活检(liquid biopsy)与侵入式肿瘤组织活检相比,具有检测样本容易获取,特异性好,同时能解决肿瘤异质性的问题,日益成为癌症早期辅助诊断、伴随诊断、治疗监测及预后评估的理想技术^[1-3]。液体活检主要包括循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)、循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)和外泌体等检测,其中 ctDNA 是非常受关

注的检测靶标。ctDNA 一般来源于坏死或凋亡的肿瘤细胞及肿瘤细胞分泌的外排体,携带有肿瘤特异性基因突变、缺失、插入、重排、拷贝数变异及甲基化等信息的 DNA 片段^[4-5]。因此为满足临床需求,中国食品药品检定研究院发布了血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测国家参考品,以期更好地服务于相关产品的性能评价。

作者单位:中国食品药品检定研究院非传染病诊断试剂室,北京 100050

*通信作者:曲守方, E-mail: qushoufang@126.com

注:张咪和张文新共为第一作者

数字PCR由于其高灵敏性与精准定量成为包含液体活检肿瘤领域的有力工具^[6-8],很好地解决了ctDNA在体液中含量较低的问题。DAAN StarrySky 10K生物芯片阅读仪是基于微流控数字PCR原理设计的一款荧光信号阅读仪器。试剂盒中突变型探针采用FAM荧光基团标记、野生型探针采用VIC荧光基团标记,根据每个微孔单元的荧光信号强度对每个微孔的阴阳性进行定性判断和计数,再通过泊松分布原理计算出检测样本的浓度,从而对检测样本的浓度进行定量分析。

本研究使用基于DAAN StarrySky 10K生物芯片阅读仪研发的*BRAF*基因突变检测试剂盒(数字PCR法)及*EGFR*基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法),对中国食品药品检定研究院提供的血浆ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET*基因突变检测国家参考品进行检测,用于评价该技术方法试剂盒的质量,以期更好服务于临床肿瘤的液体活检。

1 材料与方法

1.1 研究对象

中国食品药品检定研究院提供的血浆ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET*基因突变检测国家参考品的87例DNA样本,具体突变型别详见国家参考品说明书。试剂盒检测范围内的样本信息见表1。

1.2 仪器与试剂

StarrySky 10K生物芯片阅读仪购自广州达安基因股份有限公司;PCR仪器购自杭州朗基科学仪器有限公司;使用广州达安基因股份有限公司生产的*BRAF*基因突变检测试剂盒(数字PCR法)检测血浆样本ctDNA中*BRAF*基因V600E突变;*EGFR*基因T790M突变检测试剂盒(数字PCR法)检测血浆样本ctDNA中*EGFR*基因T790M突变,

获得试剂盒检测范围内位点突变的情况;核酸提取或纯化试剂购自QIAGEN公司。

1.3 方法

1.3.1 核酸提取

87例国家参考品及试剂盒阴性质控品使用QIAGEN公司生产的核酸提取或纯化试剂同时进行提取,其中*BRAF*基因突变检测试剂盒中CP_011_03和CP_011_04混合后作为理论突变频率为0.2%的样本进行提取,*EGFR*基因T790M突变检测试剂盒中CP_011_03和CP_011_04混合后作为理论突变频率为0.2%的样本进行提取检测。

1.3.2 样品准备

从试剂盒中取出PCR反应液,取10 μL分装到PCR管中。往上述分装有10 μL扩增体系的PCR反应管中分别加入处理后的阴性质控品、参考品及阳性质控品(不需提取)各5 μL。

1.3.3 PCR扩增

使用上述的15 μL PCR反应混合液加入235 μL封闭液制备微反应,按以下程序设置PCR扩增,同时热盖温度设定为:105℃,体积为100 μL。条件设置如下,阶段1,循环数为1:95℃,反应5分钟;阶段2,循环数为40:第一步,95℃,反应50秒,第二步,56℃,反应1分钟30秒;阶段3,循环数为1:70℃,反应5分钟;阶段4,循环数为1:25℃恒定;变温速率均设置为1.5℃/s。设置完成后,运行程序。

1.3.4 数据采集及结果读取

打开生物芯片阅读仪软件进行数据检测采集,检测完成后,查看结果并进行阈值调节和结果保存。

1.3.5 质量控制

①总分区数量:质控品、样本总分区数量均在8 000~12 000范围内。②阴性质控品:反应体系中FAM通道和VIC通道拷贝数均<0.27 copies/μL。

表1 试剂盒检测范围内的样本信息

序号	SampleID	突变位点	理论突变频率(%)	氨基酸突变	CosmicID	参考品分类	其他突变位点1
34	CP_011_01	<i>BRAF</i> p.V600E	3.00	p.V600E	COSM476	阳性参考品	<i>MAP2K1</i> :p.P124S
35	CP_011_02	<i>BRAF</i> p.V600E	1.00	p.V600E	COSM476	检测限参考品	<i>MAP2K1</i> :p.P124S
36	CP_011_03	<i>BRAF</i> p.V600E	0.30	p.V600E	COSM476	检测限参考品	<i>MAP2K1</i> :p.P124S
37	CP_011_04	<i>BRAF</i> p.V600E	0.10	p.V600E	COSM476	检测限参考品	<i>MAP2K1</i> :p.P124S
62	CP_018_01	<i>EGFR</i> p.T790M	3.00	p.T790M	COSM6240	阳性参考品	<i>EGFR</i> :p.L858R
63	CP_018_02	<i>EGFR</i> p.T790M	1.00	p.T790M	COSM6240	检测限参考品	<i>EGFR</i> :p.L858R
64	CP_018_03	<i>EGFR</i> p.T790M	0.30	p.T790M	COSM6240	检测限参考品	<i>EGFR</i> :p.L858R
65	CP_018_04	<i>EGFR</i> p.T790M	0.10	p.T790M	COSM6240	检测限参考品	<i>EGFR</i> :p.L858R
70	CP_020_01	<i>EGFR</i> p.L858R	3.00	p.L858R	COSM6224	阳性参考品	<i>EGFR</i> :p.T790M
71	CP_020_02	<i>EGFR</i> p.L858R	1.00	p.L858R	COSM6224	检测限参考品	<i>EGFR</i> :p.T790M
72	CP_020_03	<i>EGFR</i> p.L858R	0.30	p.L858R	COSM6224	检测限参考品	<i>EGFR</i> :p.T790M
73	CP_020_04	<i>EGFR</i> p.L858R	0.10	p.L858R	COSM6224	检测限参考品	<i>EGFR</i> :p.T790M

③阳性质控品:应为相应基因突变阳性,反应体系中 FAM 通道拷贝数 ≥ 10 copies/ μL , VIC 通道拷贝数 ≥ 100 copies/ μL 。

1.3.6 结果判断

①若 FAM 通道拷贝数 < 0.27 copies/ μL ,且 VIC 通道拷贝数 ≥ 333.5 copies/ μL ,则为相应检测基因突变阴性;若 FAM 通道拷贝数 < 0.27 copies/ μL ,且 VIC 通道拷贝数 < 333.5 copies/ μL ,则表明样本浓度低于试剂盒的检测下限,检测结果仅供参考。②若 FAM 通道拷贝数 ≥ 0.27 copies/ μL ,VIC 通道有或无阳性信号,则为相应检测基因突变阳性。

2 结果

2.1 BRAF 基因突变检测试剂盒(数字 PCR 法)检测结果

血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基

因突变检测国家参考品的检测结果准确,均与国家参考品的标示结果一致。准确性结果为试剂盒检测范围内的国家阳性参考品(CP_011_01 及 CP_011_02)均为 *BRAF* 基因 V600E 突变阳性;检测限结果为试剂盒范围内的基因突变频率 0.2% 的检测限参考品(CP_011_03 及 CP_011_04 等体积混合),结果为 *BRAF* V600E 基因突变阳性。见表 2。特异性结果为试剂盒范围外的国家阳性参考品和国家阴性参考品均为阴性,其 FAM 通道阳性突变率均为 0。阳性样本和阴性样本检测结果见图 1。

2.2 EGFR 基因 T790M 突变检测试剂盒(数字 PCR 法)检测结果

血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测国家参考品的检测结果准确,均与国家参考品的标示结果一致。准确性结果为试剂盒检测范围内的国家阳性参考品(CP_018_01、CP_018_02

表 2 *BRAF* 基因 V600E 突变检测试剂盒阳性样本检测结果

样品名称	总分区	FAM 通道阳性分区 1	FAM 通道拷贝数 (copies/ μL)	VIC 通道阳性分区 2	VIC 通道拷贝数 (copies/ μL)	结果判读
阴控	11 063	0	0.00	0	0.00	通过
阳控	11 049	501	34.73	3187	254.71	通过
CP_011_01	10 950	203	14.01	4819	434.12	阳性
CP_011_02	9 574	46	3.60	3937	396.48	阳性
CP_011_03/04	10 987	16	1.09	4801	429.96	阳性

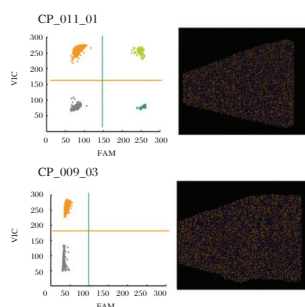


图 1 阳性样本(CP_011_01)及阴性样本(CP_009_03)的 *BRAF* 基因 V600E 检测结果

及 CP_020_01~CP_020_04)均为 *EGFR* 基因 T790M 突变阳性;检测限结果为试剂盒范围内的基因突变频率 0.2% 的检测限参考品(CP_018_03 及 CP_018_04 等体积混合),结果为 *EGFR* 基因 T790M 突变阳性。见表 3。特异性结果为试剂盒范围外的国家阳性参考品和国家阴性参考品均为阴性,其 FAM 通道阳性突变率均为 0。

3 讨论

肿瘤是严重威胁人类健康的疾病,同时也是影

响社会发展的重大公共卫生问题,根据 GLOBOCAN 的公开数据,2020 年全球新增恶性肿瘤确诊病例约 1 900 万例,死亡病例约 1 000 万例;中国新增恶性肿瘤确诊病例约 457 万例,死亡病例约 300 万例^[9]。2022 年,数据统计发现,我国恶性肿瘤发病率低于发达国家,但死亡率却远超他们,主要原因是我国的晚期癌症患者较多。因此,不难发现“早筛早诊早治疗”是目前降低我国癌症负担的一个重要解决方案。液体活检是通过非侵入方式对患者血液等体液样本中循环的肿瘤生物标志物进行检测分析的技术,因具备高灵敏度、高特异度和高安全性,在肿瘤早期筛查、指导临床靶向治疗、耐药监测及预后评估等方面发挥至关重要的作用^[10]。近年来,ctDNA 作为具有重要功能的液体活检标志物发展迅速。因其保留了肿瘤的突变和基因变异信息,可以作为具备广泛应用前景、高敏感性、高特异性的肿瘤标志物,且适用于多种肿瘤。目前,ctDNA 的检测方法主要有扩增受阻突变体系(amplification refractory mutation system, ARMS)、二代测序(next generation sequencing, NGS)、数字 PCR(digi-

表3 EGFR 基因 T790M 突变检测试剂盒阳性样本检测结果

样品名称	总分区	FAM 通道阳性分区 1	FAM 通道拷贝数 (copies/ μ L)	VIC 通道阳性分区 2	VIC 通道拷贝数 (copies/ μ L)	结果判读
阴控	11 239	0	0.00	0	0.00	通过
阳控	11 365	531	35.82	3 789	303.56	通过
CP_018_01	9 725	223	17.36	4 643	485.77	阳性
CP_018_02	10 256	74	5.42	4 766	467.77	阳性
CP_018_03/04	9 760	14	1.07	4 437	453.78	阳性
CP_020_01	9 970	184	13.94	4 558	457.31	阳性
CP_020_02	9 998	81	6.09	4 436	438.94	阳性
CP_020_03	9 863	19	1.44	4 429	446.19	阳性
CP_020_04	9 341	9	0.72	4 248	454.00	阳性

tal PCR, dPCR)和核酸质谱检测等技术^[4,11-12]。不同检测方法有其各自的优缺点,其中,数字 PCR 的优点是灵敏度高,可对痕量 ctDNA 进行精准测定,但目前只针对已知突变的核酸检测。

本研究基于数字 PCR 方法的 DAAN StarrySky 10K 生物芯片阅读仪,用广州达安基因股份有限公司生产的 *BRAF* 基因突变检测试剂盒(数字 PCR 法)及 *EGFR* 基因 T790M 突变检测试剂盒(数字 PCR 法)对血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测国家参考品进行检测。此技术为基于微流控的数字 PCR 法,是一种核酸分子绝对定量技术,不仅直接获得 DNA 分子的拷贝数,无需使用标准进行校准,同时具备更高通量、更高灵敏度和分辨率的特点,很好地解决了 ctDNA 在体液中含量较低的问题。

本研究对血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测国家参考品中 87 例样本进行检测,国家参考品的型别包括两种检测试剂盒检测范围内的不同突变频率的 *BRAF* 基因 V600E 突变、*EGFR* 基因 T790M 突变及其他肿瘤热点突变基因。经检测,试剂盒的结果符合国家参考品的预期结果,试剂盒检测范围内的国家阳性参考品均为相应基因型别突变阳性,试剂盒检测范围外的国家阳性参考品和国家阴性参考品均为突变阴性,检测限不高于基因突变频率 0.2%。

基于 DAAN StarrySky 10K 生物芯片阅读仪的 *BRAF* 基因突变检测试剂盒及 *EGFR* 基因 T790M 突变检测试剂盒(数字 PCR 法),准确性、特异性及最低检测限指标均能够满足我国血浆 ctDNA *KRAS/NRAS/EGFR/BRAF/MET* 基因突变检测国家参考品的使用要求,具有很好的检测性能,为液体活检 ctDNA 中 *BRAF* 基因 V600E 突变及 *EGFR* 基因 T790M 突变等多种基因突变检测提供了一种

可靠的检测方法。

参考文献

- [1] JCM W, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4):223-238.
- [2] Shen H, Jin Y, Zhao H, et al. Potential clinical utility of liquid biopsy in early-stage non-small cell lung cancer [J]. BMC Med, 2022, 20(1):1-12.
- [3] Antitha K, Posinasetty B, Naveen Kumari K, et al. Liquid biopsy for precision diagnostics and therapeutics[J]. Clin Chim Acta, 2024, 554:117746-117778.
- [4] 中华医学会检验医学分会,国家卫生健康委员会临床检验中心.液体活检在临床肿瘤诊疗应用和医学检验实践中的专家共识[J].中华检验医学杂志, 2018, 41(10):724-733.
- [5] Dagogo - Jack I, Shaw AT. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(2):81-94.
- [6] Wang D, O'Rourke D, Sanchez JF, et al. Development of a liquid biopsy based purely quantitative digital droplet PCR assay for detection of MLH1 promoter methylation in colorectal cancer patients[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1):797-807.
- [7] Gezer U, Bronkhorst AJ, Holdenrieder S. The clinical utility of droplet digital PCR for Profiling circulating tumor DNA in breast cancer patients[J]. Diagnostics (Basel), 2022, 12(12):3042-3069.
- [8] 曲守方,徐任,张文新,等.数字 PCR 法检测血液 EGFR 基因 T790M 突变的评价[J].分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(8):296-1299.
- [9] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [10] Catherine, Alix - Panabières. The future of liquid biopsy [J]. Nature, 2020, 579(7800):S9-S30.
- [11] Merker JD, Oxnard GR, Compton C, et al. Circulating tumor DNA analysis in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(16):631-641.
- [12] 张朋军.数字 PCR 技术在肿瘤液体活检甲基化检测中的应用及挑战[J].标记免疫分析与临床, 2024, 31(6):981-985.

艾司唑仑对老年高血压伴失眠症椎动脉血流和血NE、5-HT的影响

孙晓萌¹ 姚瑶¹ 刘岩² 许丽芬³ 杨昕^{1*}

[摘要] 目的 探究艾司唑仑对老年高血压伴失眠症患者椎动脉血流、睡眠结构和血去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)水平的影响。方法 选取2021年5月至2023年5月中国人民解放军海军青岛特勤疗养中心门诊收治的78例老年高血压伴失眠症患者,采用信封随机法将患者分成联合组($n=39$)和对照组($n=39$),联合组予以艾司唑仑联合芳香疗法,对照组予以芳香疗法。比较两组椎动脉血流、睡眠结构、血清指标(NE、5-HT)及不良反应情况。结果 干预后,联合组舒张期末流速、收缩期峰值流速均比对照组高,血管阻力指数和搏动指数均较对照组更低,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。干预后,联合组最长呼吸暂停时间短于对照组,浅睡眠期在总睡眠时间的百分比小于对照组,中间睡眠期和深睡眠期占总睡眠时间的百分比及快动眼睡眠期均高于对照组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。干预2周和4周,联合组血NE低于对照组,5-HT高于对照组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。两组不良反应差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 艾司唑仑联合芳香疗法能有效改善老年高血压伴失眠症患者椎动脉血流,优化睡眠结构,改善血NE、5-HT水平,且安全性良好。

[关键词] 老年高血压;失眠;艾司唑仑;芳香疗法;椎动脉血流;睡眠结构;去甲肾上腺素;5-羟色胺

Effects of estazolam on vertebral artery blood flow, blood NE and 5-HT in elderly patients with hypertension and insomnia

SUN Xiaomeng¹, YAO Yao¹, LIU Yan², XU Lifan³, YANG Xin^{1*}

(1. Medical Psychology Department, 2. Outpatient Department of the Second Rehabilitation Area, 3. Sensory Physiology Training Department, Qingdao Special Service Rehabilitation Center of the People's Liberation Army Navy, Qingdao, Shandong, China, 266000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the influence of estazolam on vertebral artery blood flow, sleep structure and levels of blood norepinephrine (NE) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in elderly patients with hypertension and insomnia. **Methods** 78 elderly patients with hypertension and insomnia at the Qingdao Special Service Rehabilitation Center of the People's Liberation Army Navy were selected from May 2021 to May 2023 for this study. They were divided into two groups: the combined group ($n=39$) and the control group ($n=39$) using a random envelope method. The combined group received treatment with estazolam combined with aromatherapy, while the control group received only aromatherapy. The study compared vertebral artery blood flow, sleep structure, serum indicators (NE, 5-HT), and adverse reactions between the two groups. **Results** After the intervention, the end-diastolic velocity and peak systolic velocity in the combined group were higher than those in the control group, while the vascular resistance index and pulsatility index were lower than those in the control group ($P<0.05$). The longest apnea time in the combined group after the intervention was shorter than that in the control group. Additionally, the percentage of light sleep stage in total sleep time was lower, while the percentages of intermediate sleep stage, deep sleep stage, and rapid eye movement sleep stage were higher compared to the control group ($P<0.05$). After 2 and 4 weeks of intervention,

基金项目:军队后勤科研重点项目(BHJ17J011)

作者单位:1. 中国人民解放军海军青岛特勤疗养中心医学心理科,山东,青岛 266000

2. 中国人民解放军海军青岛特勤疗养中心疗养二病区门诊部,山东,青岛 266000

3. 中国人民解放军海军青岛特勤疗养中心感官生理训练科,山东,青岛 266000

*通信作者,杨昕, E-mail: 18669715992@163.com

the blood NE level in the combined group was lower, while the 5-HT level was higher than that in the control group ($P<0.05$). The adverse reactions revealed no statistical differences between the groups ($P>0.05$).

Conclusion Estazolam combined with aromatherapy can effectively improve vertebral artery blood flow in elderly patients with hypertension and insomnia. This combination can optimize sleep structure and improve levels of blood NE and 5-HT. Additionally, it has been found to be safe for use in this population.

[KEY WORDS] Elderly hypertension; Insomnia; Estazolam; Aromatherapy; Vertebral artery blood flow; Sleep structure; Norepinephrine; 5-hydroxytryptamine

高血压患者由于颅内压的升高,易神经衰弱,出现失眠症状^[1]。尤其老年人组织功能老化,褪黑素分泌减少,较其他人群更易失眠^[2-3]。国外研究显示^[4],失眠与高血压风险呈正相关。艾司唑仑属于短效苯二氮卓类药物,能通过作用于大脑中抑制性神经递质 γ -氨基丁酸来发挥催眠作用^[5]。芳香疗法分为内服、外用和熏香三种技法,可通过气味影响机体嗅觉感受,增强中枢神经递质的分泌,进而提高睡眠质量,改善失眠症状^[6]。金迪等^[7]论证了芳香疗法能有效减少失眠患者安眠药依赖性,缓解焦虑情绪,改善睡眠质量,且具有高安全性。国外研究也表明^[8],芳香疗法可有效降低高血压患者的血压、心率,改善血清皮质醇和主观焦虑。但艾司唑仑联合芳香疗法干预高血压患者的临床效果仍处于探索阶段,需更多的数据支撑上述结论。本研究基于对高血压伴失眠症患者予以艾司唑仑和芳香疗法联合干预,分析了其治疗前后椎动脉血流、睡眠结构及神经递质的变化,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2021年5月至2023年5月中国人民解放军海军青岛特勤疗养中心门诊收治的78例老年高血压伴失眠症患者。纳入标准:①符合高血压^[9]和失眠^[10]相关诊疗指南;②病情稳定;③年龄大于60岁;④近期末采取失眠干预措施;⑤匹兹堡睡眠质量指数量表(Pittsburgh sleep quality index, PSQI)得分 ≥ 11 分;⑥入睡时间 >30 min,总睡眠时间 <6 h,且整夜觉醒次数 ≥ 2 次。排除标准:①长期夜班工

作者;②日常饮用浓茶、咖啡和高度酒精者;③嗅觉功能缺陷者;④有呼吸暂停综合征;⑤精神类药物服用者;⑥药物过敏者。采用信封随机法经患者分成联合组($n=39$,艾司唑仑联合芳香疗法)和对照组($n=39$,芳香疗法)。两组一般资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。本研究经院医学伦理委员会批准通过,受试者已签署《知情同意书》。

1.2 方法

对照组予以芳香疗法,在同一时间采购同一产地的薰衣草原材料,由同一工作人员制做薰衣草精油,具体步骤如下:将薰衣草放入宽口瓶,加入酒精至全部薰衣草被浸没,每天摇晃2~3次,浸泡3周至酒精呈淡紫色,过滤取滤液,静置3 d后进行水油分离,上油层即为薰衣草精油。患者于每日睡前将薰衣草精油(约0.25 mL)滴入香薰炉,采用加热挥发以营造放松氛围。

联合组在对照组基础上添加艾司唑仑(宁国国安邦宁药业,国药准字H34022967,每片1 mg)口服以改善失眠,每次1~2 mg,每天3次。

1.3 观察指标

1.3.1 椎动脉血流

采用经颅脑超声多普勒检查仪(型号:KJ-2V6M+,南京科进实业)检测干预前后患者椎动脉的血流动力学指标,此仪器的微凸阵探头为2MHz $\times 2$ 和4MHz $\times 1$,评估的血流动力学指标包括椎动脉V2段舒张期末流速(end of diastolic velocity, EDV)、收缩期峰值流速(peak systolic velocity, PSV)、血管阻力指数(resistance index, RI)和搏动指数(pulsation index, PI)。

表1 两组一般资料比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	性别		高血压病程(年)	BMI(kg/m ²)	PSQI评分(分)
			男	女			
联合组	39	69.93 $\pm$ 5.81	29(67.35)	10(32.65)	7.45 $\pm$ 2.23	23.02 $\pm$ 3.06	14.73 $\pm$ 2.34
对照组	39	70.37 $\pm$ 6.32	27(73.47)	12(26.53)	7.18 $\pm$ 2.01	22.86 $\pm$ 3.15	14.35 $\pm$ 2.06
<i>t</i> / χ^2 值		0.320		0.253	0.562	0.228	0.761
<i>P</i> 值		0.750		0.615	0.576	0.821	0.449

1.3.2 睡眠结构

应用 Somnea 多导睡眠监测仪(江苏德朗电子设备)检测两组最长呼吸暂停时间(longest apnea time, LAX),浅睡眠(light sleep, N1)期、中间睡眠(intermediate sleep, N2)期、深睡眠(deep sleep, N3)期和快动眼睡眠(rapid eye movement sleep, RME)期分别占总睡眠时间的百分比。

1.3.3 神经递质

收集干预前、干预2周和干预4周时患者的肘静脉全血3 mL, 3 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm),分离血浆,依据高效液相电化学法分析血浆中去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)和5-羟色胺(5-Hydroxytryptamine, 5-HT)水平。

1.3.4 药物相关副作用

艾司唑仑可能引起口干、乏力和心情低落等副作用,芳香疗法可能导致头痛、恶心等反应。记录两组干预周期内及随访干预结束1周后患者是否出现上述症状。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据。正态计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验; $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组椎动脉血流指标比较

两组干预前 EDV、PSV、RI 和 PI 比较差异无统计学意义($P > 0.05$);干预后,联合组 EDV、PSV 均高于对照组,RI 和 PI 均较对照组更低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 两组睡眠结构比较

两组干预前 LAX、N1、N2 和 N3 占总睡眠时间的百分比及 RME 均比较差异无统计学意义($P > 0.05$);干预后,联合组 LAX 短于对照组,N1 在总睡眠时间的百分比小于对照组,N2 和 N3 占总睡眠时间的百分比及 RME 均高于对照组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表3。

2.3 两组血 NE、5-HT 比较

两组干预前血 NE 和 5-HT 水平均比较差异无统计学意义($P > 0.05$);干预2周和4周,联合组血 NE 比对照组低,5-HT 水平比对照组高,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表4。

2.4 两组药物相关副作用发生率比较

两组药物相关副作用组间比较差异无统计学

表2 两组椎动脉血流指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	EDV(cm/s)		PSV(cm/s)		RI		PI	
		干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
联合组	39	16.68±4.17	22.36±4.98 ^a	36.59±6.13	43.27±5.21 ^a	0.91±0.22	0.75±0.16 ^a	1.42±0.31	1.03±0.20 ^a
对照组	39	16.73±4.21	20.05±5.09 ^a	36.72±6.05	40.62±5.45 ^a	0.90±0.21	0.83±0.17	1.39±0.32	1.19±0.26 ^a
<i>t</i> 值		0.053	2.026	0.094	2.195	0.205	2.204	0.421	3.046
<i>P</i> 值		0.958	0.046	0.925	0.031	0.838	0.031	0.675	0.003

注:与同组干预前比较, $P < 0.05$ 。

表3 两组睡眠结构比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	LAX(min)		N1(%)		N2(%)		N3(%)		RME(%)	
		干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
联合组	39	29.62±8.50	20.34±6.75 ^a	23.43±6.51	17.36±4.87 ^a	40.19±7.07	48.63±8.25 ^a	5.99±1.42	10.56±2.71 ^a	15.37±4.30	22.71±6.01 ^a
对照组	39	28.17±8.64	23.89±7.08 ^a	22.97±6.13	19.81±4.96 ^a	41.43±7.54	45.68±8.09 ^a	6.23±1.50	8.35±2.26 ^a	16.20±4.76	19.73±5.82 ^a
<i>t</i> 值		0.747	2.266	0.321	2.201	0.749	2.081	0.726	3.911	0.808	2.224
<i>P</i> 值		0.457	0.026	0.749	0.031	0.456	0.041	0.470	<0.001	0.422	0.029

注:与同组干预前比较, $P < 0.05$ 。

表4 两组血 NE、5-HT 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NE(ng/mL)			5-HT(ng/mL)		
		干预前	干预2周	干预4周	干预前	干预2周	干预4周
联合组	39	13.29±3.96	10.76±2.54 ^a	8.32±1.71 ^{ab}	89.13±9.02	102.30±9.16 ^a	115.69±10.32 ^{ab}
对照组	39	13.25±3.89	11.85±2.06 ^a	11.16±1.92 ^{ab}	90.36±9.24	97.17±9.52 ^a	109.81±9.40 ^{ab}
<i>t</i> 值		0.045	2.081	6.898	0.595	2.425	2.631
<i>P</i> 值		0.964	0.041	<0.001	0.554	0.018	0.010

注:与同组干预前比较,^a $P < 0.05$;与同组干预2周比较,^b $P < 0.05$ 。

意义($P>0.05$)。见表5。

表5 两组药物相关副作用发生情况比较 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	口干	乏力	头痛	恶心	总发生率
联合组	39	1	0	1	1	3(7.69)
对照组	39	0	2	0	0	2(5.13)
χ^2 值						0.214
<i>P</i> 值						0.644

3 讨论

椎动脉是间脑、小脑、脑干的主要供血渠道,高血压伴失眠的病理特征包括椎动脉痉挛、血管狭窄、血液粘稠、血管弹性减小、血流速度减慢等^[11]。本研究结果显示,两组干预后,联合组EDV、PSV均高于对照组,RI和PI均低于对照组。结果表明艾司唑仑联合芳香疗法能有效改善老年高血压伴失眠患者椎动脉血流状态。分析原因可能是:艾司唑仑能通过缓解血管平滑肌紧绷感以辅助EDV和PSV上调,降低血压。芳香疗法采用了薰衣草为主要药材,具有解痉镇痛、正定安神的功效。周欣等^[12]对薰衣草的机制探究结果表明,薰衣草吸入可能通过改善神经递质的分泌、调节 γ -氨基丁酸/谷氨酸的平衡来改善椎动脉血流流动,有利于降低血压和改善失眠。芳香疗法可能通过肾素-血管紧张素-醛固酮系统来发挥降压作用^[13]。失眠患者常表现为入睡时间长、熟睡时间短等睡眠结构的变化^[14]。本研究观察到,干预后联合组LAX短于对照组,N1在总睡眠时间的百分比小于对照组,N2和N3占总睡眠时间的百分比及RME均高于对照组。结果表明艾司唑仑联合芳香疗法能有效优化老年高血压伴失眠患者的睡眠结构,提升睡眠质量。艾司唑仑属于苯二氮䓬类药物,能通过苯二氮䓬受体相互作用,增强中枢神经内 γ -氨基丁酸受体的作用来松弛神经肌肉,来减轻紧张和焦虑情绪,发挥助眠作用。万亚会等^[15]的研究结果显示,虚拟现实技术联合药物治疗能通过增强注意力和记忆力来改善慢性失眠患者主观睡眠质量和睡眠结构。薰衣草经嗅觉进入人体后,可能促进脑内血清素的分泌来平衡中枢神经系统,让人放松,减缓身心疲劳,发挥催眠作用。

本研究结果发现,干预2周和4周,联合组血NE水平比对照组低,5-HT水平比对照组高。结果说明艾司唑仑联合芳香疗法能通过降低血NE水平,上调5-HT水平来改善睡眠结构,促进睡眠优化。NE可作用于 α 受体,能通过兴奋心脏和收缩

血管来升高冠状血管流量,升高血压;而艾司唑仑能增强 γ -氨基丁酸的抑制作用,阻断NE与其受体的结合,来抑制NE的作用,以镇静催眠。芳香疗法中薰衣草除了有解毒去热、冷敷除皱等功效外,还可经嗅觉影响中枢神经系统,促进脑部舒适和放松,进而增加5-HT的分泌,改善睡眠质量。

两组药物相关副作用总发生率均在8%以下,且组间比较差异无统计学意义。其中,联合组患者出现1例口干、1例头痛、1例恶心,此三例患者均于停药后2~3天内症状消失。究其原因,可能是对艾司唑仑和薰衣草芳香存在轻微不耐受。对照组患者出现2例乏力,这可能与艾司唑仑具有骨骼肌松弛作用相关,后期通过清淡饮食、调整作息后症状得以改善。芳香疗法属于一种回归自然的疗法,性质温和,且可随时停止给药,因此也具有较好的安全保证。

综上所述,艾司唑仑联合芳香疗法能有效改善老年高血压伴失眠症患者椎动脉血流,优化睡眠结构,改善血NE、5-HT水平,且安全性良好。

参考文献

- [1] Ott C, Schmieder RE. Diagnosis and treatment of arterial hypertension 2021[J]. *Kidney Int*, 2022, 101(1):36-46.
- [2] Samra T, Gomez-Gomez T, Linowiecka K, et al. Melatonin Exerts Prominent, Differential Epidermal and Dermal Anti-Aging Properties in Aged Human Eyelid Skin Ex Vivo[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21):15963.
- [3] Ostroumova TM, Parfenov VA, Ostroumova OD, et al. Hypertension and insomnia [J]. *Terapevticheskii arkhiv*, 2020, 92(1): 69-75.
- [4] Stavropoulos K, Imprialos KP, Doumas M, et al. Insomnia and hypertension: A misty landscape [J]. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2019, 21(6):835-837.
- [5] 张雷鸣,王志华,徐小美,等. rTMS联合艾司唑仑治疗老年慢性失眠的疗效及对脑电活动和血清5-HT、NPY水平的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(20):4971-4974.
- [6] 张业旂,袁勇贵. 芳香疗法在老年心身疾病中的运用[J]. *实用老年医学*, 2020, 34(11):5.
- [7] 金迪,李虹,谢琼. 芳香疗法联合引阳入阴推拿治疗失眠症的临床观察[J]. *中国基层医药*, 2022, 29(7):1035-1038.
- [8] Can Çiçek S, Demir Ş, Yılmaz D, et al. The Effect of Aromatherapy on Blood Pressure and Stress Responses by Inhalation and Foot Massage in Patients With Essential Hypertension: Randomized Clinical Trial [J]. *Holist Nurs Pract*, 2022, 36(4):209-222.
- [9] 中国老年医学学会高血压分会,国家老年疾病临床医学研究中心中国老年心血管病防治联盟. 中国老年高血压管理指南2019[J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(1):1-23.
- [10] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会睡眠障碍学组. 中国成人失眠诊断与治疗指南(2017版)[J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51(5):324-335. (下转第560页)

血清 COX-2、E-cadherin 对慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值

刘建华¹ 刘江² 何峰¹ 翟宏祥¹ 戴勇传^{1*}

[摘要] 目的 探讨血清环氧化酶-2(COX-2)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)对慢性鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值。方法 选取2019年1月至2023年6月于兴化市人民医院行鼻内镜手术治疗的180例CRSwNP伴有嗅觉功能障碍的患者作为研究对象,术前及术后6个月测试患者嗅觉功能,根据嗅觉功能改善结果将研究对象分为嗅觉功能未改善组($n=78$)和嗅觉功能改善组($n=102$);检测两组术前血清COX-2、E-cadherin。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清COX-2和E-cadherin对CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值,采用多因素Logistic回归分析CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的影响因素。结果 180例CRSwNP伴有嗅觉功能障碍的患者,其中术后嗅觉功能改善102例(56.67%),未改善78例(43.33%)。嗅觉功能未改善组嗅觉功能障碍持续时间、有过敏性鼻炎占比、术前UPSIT结果完全嗅觉缺失占比、术前VAS-OD和有嗅裂息肉占比高于嗅觉功能改善组(P 均 <0.05)。嗅觉功能未改善组血清IL-6、COX-2高于嗅觉功能改善组,E-cadherin低于嗅觉功能改善组(P 均 <0.05)。多因素分析显示:嗅觉功能障碍持续时间长、有过敏性鼻炎、术前VAS-OD、有嗅裂息肉、血清IL-6、COX-2高表达及血清E-cadherin低表达是CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,血清COX-2联合E-cadherin预测CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的AUC为0.907。结论 血清COX-2和E-cadherin与CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归密切相关,两者联合检测对患者鼻内镜术后嗅觉功能转归具有较高的预测价值。

[关键词] 环氧化酶-2; E-钙黏蛋白; 慢性鼻窦炎伴鼻息肉; 内镜鼻窦手术; 嗅觉功能

The predictive value of serum COX-2 and E-cadherin for the olfactory function outcome after endoscopic sinus surgery in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps

LIU Jianhua¹, LIU Jiang², HE Feng¹, ZHAI Hongxiang¹, DAI Yongchuan^{1*}

(1. Department of Otolaryngology, 2. Department of Oncology, Xinghua People's Hospital, Xinghua, Jiangsu, China, 225700)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the predictive value of serum cyclooxygenase-2 (COX-2) and E-cadherin for the olfactory function outcome in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) after endoscopic sinus surgery. **Methods** 180 cases with CRSwNP and olfactory dysfunction who underwent nasal endoscopic surgery from January 2019 to June 2023 were selected for the study. Olfactory function was tested before and 6 months after surgery. Based on the improvement in olfactory function, the subjects were divided into two groups: no improvement group ($n=78$) and the improvement group ($n=102$). Clinical data from both groups were collected, and serum levels of COX-2 and E-cadherin were measured before surgery. The predictive value of serum COX-2 and E-cadherin on olfactory function outcomes after nasal endoscopy in CRSwNP cases was analyzed using ROC curves. Factors influencing olfactory function outcomes after nasal endoscopy in CRSwNP cases were analyzed using multivariate logistic regression. **Results** In 180 cases of CRSwNP accompanied by olfactory dysfunction, 102 cases (56.67%) showed improvement in olfac-

基金项目:北京医学奖励基金会(YXJL-2024-0299-0067)

作者单位:1.兴化市人民医院耳鼻喉科,江苏,兴化 225700

2.兴化市人民医院肿瘤内科,江苏,兴化 225700

*通信作者:戴勇传, E-mail: daiyongchuan197607@163.com

tory function after surgery, while 78 cases (43.33%) did not. The group that did not show improvement had a longer duration of olfactory dysfunction, higher rates of allergic rhinitis, complete anosmia, olfactory fissure polyps, and higher visual analog scale for olfactory dysfunction (VAS-OD) scores compared to the group that did not show improvement ($P<0.05$). Serum levels of IL-6 and COX-2 were higher in the non-improvement group, while E-cadherin levels were lower ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that long duration of olfactory dysfunction, allergic rhinitis, high preoperative VAS-OD, olfactory cleat polyps, high serum IL-6, and COX-2 and low serum E-cadherin were risk factors for poor olfactory outcomes after after nasal endoscopy in CRSwNP cases ($P<0.05$). Furthermore, ROC curve analysis demonstrated that the AUC for serum COX-2 combined with E-cadherin in predicting olfactory function outcomes in CRSwNP cases after nasal endoscopy was 0.907. **Conclusion** There is a significant correlation between serum COX-2 and E-cadherin and the outcome of olfactory function after nasal endoscopy in cases with CRSwNP. The combined detection of the two can effectively predict the outcome of olfactory function in cases with CRSwNP after nasal endoscopy.

[KEY WORDS] Cyclooxygenase-2; E-cadherin; Chronic sinusitis with nasal polyps; Endoscopic sinus surgery; Olfactory function

慢性鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)是一种常见的慢性炎性疾病,可以分为慢性鼻窦炎伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis with nasal polyps, CRSwNP)和慢性鼻窦炎不伴鼻息肉(chronic rhinosinusitis without nasal polyps, CRSsNP)两种,其中 CRSwNP 患者嗅觉功能障碍发生率高达 96.5%^[1]。目前,内镜鼻窦手术(endoscopic sinus surgery, ESS)是患者药物治疗无效时的首选治疗,能缓解症状、提高患者生活质量^[2]。但术后嗅觉功能改善存在个体差异,对嗅觉功能转归不佳患者早期行康复训练有重要意义。因此,寻找与 CRSwNP 患者 ESS 术后嗅觉功能转归相关生物学标志物极为重要。环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是一种诱导型酶,在炎症性疾病中的作用已得到广泛研究^[3]。E-钙黏蛋白(E-cadherin)是一种重要的细胞黏附分子,参与维持细胞间连接的稳定性和上皮屏障的功能^[4]。本研究旨在探讨血清环氧化酶-2(COX-2)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)对慢性鼻窦炎伴鼻息肉(CRSwNP)患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2023 年 6 月于兴化市人民医院行鼻内镜手术治疗的 180 例 CRSwNP 伴有嗅觉功能障碍患者作为研究对象,其中男 106 例,女 74 例;年龄 29~55 岁,平均(45.21±6.83)岁;嗅觉功能障碍持续时间 0.4~7 年,平均(3.19±1.05)岁。纳入标准:①确诊为双侧 CRSwNP,且符合 CRSwNP 的诊断标准^[5];②术前简体中文版宾夕法尼亚大学

嗅觉识别测试(University of Pennsylvaniasmell identification test, UPSIT)^[6]结果为轻度及以上嗅觉缺失;③年龄>18 岁;④具有手术指征,均行内镜鼻窦手术;⑤所有患者均采用 Messerklinger 术式,手术和护理由同一医护团队完成;⑥临床资料齐全;⑦患者或家属知情同意本研究,签署同意书。排除标准:①既往有鼻部手术史;②合并恶性肿瘤、血液疾病及自身免疫性疾病者;③具有鼻腔鼻窦肿瘤、真菌性鼻窦炎或先天性失嗅者;④患有神经系统疾病、认知异常者;⑤合并肝、肾器官功能障碍者;⑥孕妇或哺乳期妇女;⑦近期上呼吸道感染病史;⑧术前 1 个月接受糖皮质激素或生物制剂治疗者。本研究经院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集患者的临床资料,包括性别、年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、合并高血压、糖尿病、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、术前 UPSIT、术前视觉模拟量表嗅觉障碍评分(VAS-OD)、嗅裂息肉、术前嗜酸性粒细胞计数、嗜酸性粒细胞百分比、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白介素(Interleukin, IL)-6、IL-8、干扰素(interferon, IFN)- α 、IFN- γ 、总淋巴细胞计数等。

1.2.2 血清 COX-2、E-cadherin 检测

采集患者术前外周静脉血 5 mL,以 3 000 r/min 速度离心 10 min,离心半径为 8 cm,取上层清液,采用酶联免疫吸附法检测血清 COX-2、E-cadherin 水平(试剂盒:上海优科唯生物科技有限公司)。

1.2.3 嗅觉功能评估及术后随访

术后随访 6 个月,采用 UPSIT 评估其嗅觉功

能。UPSIT测试包含四本小册子,总分0~40分,分数越高表示嗅觉功能越好。参考既往临床研究^[7],将术后UPSIT得分较术前提高4分或以上定义为嗅觉功能改善,反之为未改善。根据此标准,将研究对象分为嗅觉功能未改善组($n=78$)和嗅觉功能改善组($n=102$)。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行数据处理,计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清COX-2和E-cadherin对CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值,采用多因素Logistic回归分析CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的影响因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

180例CRSwNP伴有嗅觉功能障碍患者中,术后嗅觉功能改善102例(56.67%),未改善78例(43.33%)。两组性别、年龄、BMI、吸烟史、饮酒史、合并高血压、合并糖尿病、哮喘和慢性阻塞性肺疾病比较差异无统计学意义($P>0.05$);嗅觉功能未改善组嗅觉功能障碍持续时间、有过敏性鼻炎占比、术前UPSIT结果完全嗅觉缺失占比、术前VAS-OD和有嗅裂息肉占比高于嗅觉功能改善组(P 均 <0.05)。见表1。

2.2 两组术前实验室资料比较

两组嗜酸性粒细胞计数、嗜酸性粒细胞百分比、TNF- α 、IL-8、IFN- α 、IFN- γ 、总淋巴细胞计数比较差异无统计学意义($P>0.05$);嗅觉功能未改善组血清IL-6和COX-2高于嗅觉功能改善组,血清E-cadherin低于嗅觉功能改善组(P 均 <0.05)。见表2。

2.3 CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的多因素分析

将CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归情况作为因变量(嗅觉功能改善=0、嗅觉功能未改善=1),以嗅觉功能障碍持续时间、过敏性鼻炎、术前VAS-OD、嗅裂息肉以及血清IL-6、COX-2、E-cadherin作为自变量进行多因素Logistic回归分析,结果显示,嗅觉功能障碍持续时间长、有过敏性鼻炎、高术前VAS-OD、有嗅裂息肉、血清IL-6、COX-2高表达及血清E-cadherin低表达是CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

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

指标	嗅觉功能改善组 ($n=102$)	嗅觉功能未改善组 ($n=78$)	t/χ^2 值	P 值
性别				
男	65(63.73)	41(52.56)	2.274	0.132
女	37(36.27)	37(47.44)		
年龄(岁)	44.59 $\pm$ 6.37	46.02 $\pm$ 6.84	1.445	0.150
BMI(kg/m ²)	22.54 $\pm$ 3.26	22.87 $\pm$ 2.91	0.705	0.482
嗅觉功能障碍持续时间(年)	2.70 $\pm$ 0.83	3.83 $\pm$ 1.14	7.695	<0.001
吸烟史	42(41.18)	36(46.15)	0.446	0.504
饮酒史	61(59.80)	54(69.23)	1.703	0.192
合并高血压	54(52.94)	47(60.26)	0.960	0.327
合并糖尿病	48(47.06)	42(53.85)	0.814	0.367
哮喘	39(38.24)	34(43.59)	0.526	0.468
过敏性鼻炎	40(39.22)	44(56.41)	5.250	0.022
慢性阻塞性肺疾病	45(44.12)	39(50.00)	0.614	0.433
术前UPSIT结果				
轻度嗅觉缺失	21(20.59)	6(7.69)	13.276	0.004
中度嗅觉缺失	32(31.37)	18(23.08)		
重度嗅觉缺失	37(36.27)	31(39.74)		
完全嗅觉缺失	12(11.76)	23(29.49)		
术前VAS-OD(分)	7.68 $\pm$ 1.35	8.92 $\pm$ 1.04	6.727	<0.001
嗅裂息肉	36(35.29)	43(55.13)	7.061	0.008

表2 两组术前实验室资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	嗅觉功能改善组 ($n=102$)	嗅觉功能未改善组 ($n=78$)	t 值	P 值
嗜酸性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	0.21 $\pm$ 0.05	0.22 $\pm$ 0.04	1.447	0.150
嗜酸性粒细胞百分比(%)	3.54 $\pm$ 0.69	3.48 $\pm$ 0.73	0.564	0.574
TNF- α (pg/mL)	1.57 $\pm$ 0.47	1.51 $\pm$ 0.49	0.833	0.406
IL-6(pg/mL)	0.93 $\pm$ 0.25	1.39 $\pm$ 0.21	13.095	<0.001
IL-8(pg/mL)	0.49 $\pm$ 0.13	0.47 $\pm$ 0.12	1.057	0.292
IFN- α (pg/mL)	0.66 $\pm$ 0.17	0.72 $\pm$ 0.24	1.962	0.051
IFN- γ (pg/mL)	1.89 $\pm$ 0.58	2.03 $\pm$ 0.67	1.500	0.135
总淋巴细胞	28.37 $\pm$ 6.10	29.15 $\pm$ 6.07	0.852	0.395
COX-2(pg/mL)	16.62 $\pm$ 3.25	21.08 $\pm$ 4.32	7.906	<0.001
E-cadherin (ng/mL)	2 574.57 $\pm$ 273.19	2 352.42 $\pm$ 259.24	5.526	<0.001

2.4 血清COX-2、E-cadherin对CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值

血清COX-2联合E-cadherin预测CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的AUC为0.907,显著高于二者单独检测($P<0.001$)。见表4、图1。

3 讨论

CRSwNP患者常常伴有嗅觉功能障碍,随着社会的发展和人们生活质量要求的提升,鼻内镜术后患者嗅觉功能的变化成为临床关注热点。本研究180例患者中,56.67%患者术后嗅觉功能得到改善,与Wu等^[8]研究相似,表明尽管鼻内镜手术是治疗CRSwNP的有效方法,但仍有43.33%的

表3 CRSwNP患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的多因素 Logistic 逐步回归分析

变量	赋值	β 值	SE值	Wald χ^2 值	OR(95% CI)值	P值
嗅觉功能障碍持续时间	原值输入	0.624	0.239	6.817	1.866(1.168~2.982)	0.009
过敏性鼻炎	无=0;有=1	0.849	0.261	10.581	2.337(1.401~3.898)	0.001
术前 VAS-OD	原值输入	0.753	0.308	5.977	2.123(1.161~3.883)	0.014
嗅裂息肉	无=0;有=1	0.586	0.213	7.569	1.797(1.184~2.728)	0.006
IL-6	原值输入	0.968	0.257	14.187	2.633(1.591~4.357)	<0.001
COX-2	原值输入	1.097	0.241	20.719	2.995(1.868~4.804)	<0.001
E-cadherin	原值输入	1.135	0.274	17.159	3.111(1.818~5.323)	<0.001

表4 血清 COX-2、E-cadherin 对 CRSwNP 患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的预测价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	灵敏度	特异度
COX-2	0.813	0.763~0.858	18.55 pg/mL	0.923	0.657
E-cadherin	0.759	0.714~0.809	2 478.31 ng/mL	0.923	0.588
联合	0.907	0.862~0.957		0.872	0.843

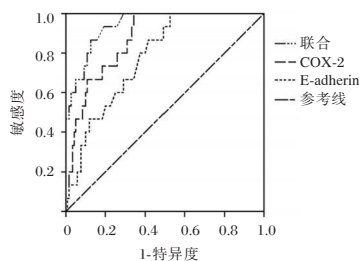


图1 ROC 曲线

患者术后嗅觉功能未能恢复。寻找与其相关的生物学标志物,尽早预测嗅觉功能转归并及时干预,对于提高手术治疗效果具有重要意义。

本研究中,嗅觉功能障碍持续时间长、有过敏性鼻炎、高术前 VAS-OD 评分、有嗅裂息肉、血清 IL-6 高表达是 CRSwNP 患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的危险因素。在嗅觉功能障碍持续时间长及过敏性鼻炎患者中,长期且剧烈的炎症刺激可导致嗅觉上皮不可逆损伤,而术前高 VAS-OD 评分表明术前炎症程度高,影响术后的愈合;此外,有嗅裂息肉患者的息肉占据嗅裂,阻碍嗅觉上皮与空气接触,影响恢复。IL-6 是重要的炎症因子,其高表达加剧了炎症反应,妨碍了嗅觉上皮修复^[9-10]。COX-2 是前列腺素的关键酶,在炎症性疾病中扮演重要角色^[11]。一项动物实验发现,致肥胖饮食诱导的 COX-2 可以触发炎症和乳腺肿瘤发生^[12]。E-cadherin 是一种钙依赖性细胞粘附分子,在维持组织完整性方面起关键作用。既往研究发现^[13],低 E-cadherin 与非小细胞肺癌患者不良预后有相关,可促进淋巴结转移。Zhang 等^[14]研究发现,幽门螺杆菌相关胃癌的不良结局与 E-cadherin 表达缺失有关。本研究中,嗅觉功能未改善组的血清

COX-2 高于嗅觉功能改善组,E-cadherin 低于嗅觉功能改善组,表明血清 COX-2 和 E-cadherin 与 CRSwNP 患者 ESS 后嗅觉功能转归相关。分析原因可能如下:CRSwNP 患者 COX-2 高表达提示患者术前炎症反应严重,可加剧嗅觉上皮的损伤,导致术后恢复困难;而 E-cadherin 低表达则削弱了嗅觉上皮的完整性结构和细胞间黏附能力,阻碍了嗅觉功能恢复。因此,监测血清 COX-2、E-cadherin 水平,有助于早期识别嗅觉功能恢复不良患者,为临床提供参考。进一步 ROC 曲线结果显示,血清 COX-2 联合 E-cadherin 预测 CRSwNP 患者鼻内镜术后嗅觉功能转归的 AUC 为 0.907,显著高于二者单独检测,提示血清 COX-2 和 E-cadherin 联合检测能提高患者鼻内镜术后嗅觉功能转归预测的准确性。

综上所述,血清 COX-2 和 E-cadherin 与 CRSwNP 患者鼻内镜术后嗅觉功能转归密切相关,两者联合检测对患者鼻内镜术后嗅觉功能转归具有较好预测价值。

参考文献

- [1] Yan X, Whitcroft KL, Hummel T. Olfaction: Sensitive indicator of inflammatory burden in chronic rhinosinusitis[J]. Laryngoscope Investig Otolaryngol, 2020, 5(6):992-1002.
- [2] Yim MT, Smith KA, Alt JA, et al. The value of endoscopic sinus surgery in chronic rhinosinusitis[J]. Laryngoscope Investig Otolaryngol, 2021, 6(1):58-63.
- [3] 王聪,张娜贤,周阳,等.血清 miR-141-3p、s E-cadherin、COX-2 水平在乳腺癌中的表达及意义[J].分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(8):1422-1425.
- [4] 于龙.卡格列净对 2 型糖尿病肾病患者尿液外泌体 miRNA、IL-1 β 和 E-cadherin 水平的影响[J].保健医学研究与实践, 2022, 19(4):13-15.
- [5] 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.中国慢性鼻窦炎诊断和治疗指南(2018)[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 54(2): 81-100.
- [6] Hopkins C, Wagenmann M, Bachert C, et al. Efficacy of dupilumab in patients with a history of prior sinus surgery for chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. Int Forum Allergy Rhinol, 2021, 11(7):1087-1101.

(下转第 560 页)

STAT3、EZH2在甲状腺乳头状癌中的表达及其预后价值

王小禹¹ 周宁^{2*} 黄琴¹ 甘利娟¹ 李丽¹

【摘要】目的 分析信号传导和转录激活因子3(STAT3)、zeste同源增强子2(EZH2)在甲状腺乳头状癌中的表达及其预后价值。**方法** 选取2020年8月至2023年8月江油市903医院收治的184例甲状腺乳头状癌患者为研究对象。所有患者接受甲状腺癌根治术治疗,收集患者手术切除的癌组织为研究组,癌旁正常组织样本为对照组。比较两组STAT3、EZH2表达。分析STAT3、EZH2表达与甲状腺乳头状癌患者临床病理特征的关系。术后给予常规促甲状腺激素抑制治疗,采用多因素Cox回归分析甲状腺乳头状癌患者预后的影响因素。绘制Kaplan-Meier曲线分析STAT3、EZH2表达与甲状腺乳头状癌患者1年生存率的关系。**结果** 研究组STAT3、EZH2阳性表达率均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同临床分期、淋巴结转移甲状腺乳头状癌患者STAT3、EZH2阳性表达率比较差异有统计学意义($P<0.05$);多因素Cox回归分析显示,临床分期为Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移、STAT3阳性表达、EZH2阳性表达均是甲状腺乳头状癌患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。Kaplan-Meier曲线结果显示,STAT3阳性表达患者术后1年生存率83.06%低于STAT3阴性表达患者98.33%($P<0.05$),EZH2阳性表达患者术后1年生存率82.79%低于EZH2阴性表达患者98.39%($P<0.05$)。**结论** 甲状腺乳头状癌组织比癌旁正常组织STAT3、EZH2阳性表达升高,升高与甲状腺乳头状癌患者临床病理特征及预后相关,对评估患者预后有一定辅助价值。

【关键词】 甲状腺乳头状癌;信号传导和转录激活因子3;zeste同源增强子2

Expression of STAT3 and EZH2 in thyroid papillary carcinoma and their prognostic value

WANG Xiaoyu¹, ZHOU Ning^{2*}, HUANG Qin¹, GAN Lijuan¹, LI Li¹

(1. Department of Pathology, Youjiang City 903 Hospital, Jiangyou, Sichuan, China, 621700; 2. Department of Pathology, Mianyang City 404 Hospital, Mianyang, Sichuan, China, 621000)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the expression and prognostic value of signal transduction and transcription activator 3 (STAT3) and enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) in papillary thyroid carcinoma. **Methods** A total of 92 patients with papillary thyroid carcinoma treated at 903 Hospital of Jiangyou City from August 2020 to August 2023 were selected for the study. All patients underwent radical thyroidectomy. The cancerous tissues removed during surgery were collected for the study group, while the samples of adjacent normal tissues were collected for the control group. The expressions of STAT3 and EZH2 were compared between the two groups to analyze their relationship with the clinicopathological features of patients with papillary thyroid carcinoma. Following surgery, patients received routine thyrotropin suppression therapy. Multivariate cox regression was used to analyze prognostic factors in patients with papillary thyroid carcinoma. Additionally, a Kaplan-Meier curve was drawn to analyze the relationship between STAT3 and EZH2 expressions and the 1-year survival rate of patients with papillary thyroid carcinoma. **Results** The study group exhibited higher positive expression rates of STAT3 and EZH2 compared to the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Positive expression rates of STAT3 and EZH2 varied significantly among patients with papillary thyroid carcinoma at different clinical stages and with lymph node metastasis ($P<0.05$). Multivariate cox regression analysis identified clinical stage III and IV, lymph node metastasis, positive expression of STAT3, and positive expression of EZH2 as independent risk factors for poor prognosis in patients

基金项目:中国消化道早癌医师共同成长计划科研项目(GTCZ-2020-SC-51-0009)

作者单位:1.江油市九〇三医院病理科,四川,江油 621700

2.绵阳四〇四医院病理科,四川,绵阳 621000

*通信作者:周宁, E-mail: qwe628400@163.com

with papillary thyroid carcinoma ($P<0.05$). The Kaplan-Meier curve results indicated that the 1-year postoperative survival rate was significantly lower for patients with positive STAT3 expression (83.06%) compared to those negative STAT3 expression (98.33%) ($P<0.05$). Similarly, the 1-year postoperative survival rate for patients with EZH2-positive expression was 82.79%, lower than that of patients with EZH2-negative expression (98.39%) ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expression of STAT3 and EZH2 in papillary thyroid carcinoma tissues was higher than that in adjacent normal tissues. This finding was found to be related to the clinicopathological characteristics and prognosis of patients with papillary thyroid cancer. Additionally, it had some auxiliary value in evaluating the prognosis of patients.

[KEY WORDS] Thyroid papillary carcinoma; Signal transduction and transcription activator 3; Enhancer of zeste homolog 2; Pathological features; Prognosis

甲状腺癌是临床常见肿瘤,其病理分型包括乳头状癌、滤泡状癌、髓样癌等,其中甲状腺乳头状癌是最常见的病理分型,近年来发病率逐年升高^[1]。目前甲状腺乳头状癌的检测方法主要包括触诊、超声、细针穿刺活检及核素显像等,但患者确诊时多处于中晚期,导致患者生存预后情况不理想。临床研究表明^[2],从分子机制干预调控,有助于提高抗肿瘤药物的效果,降低肿瘤病灶侵袭、转移等恶性病变,有助于提高患者生存质量,延长无进展生存期。信号传导和转录激活因子3(Signal transduction and transcription activator 3, STAT3)在肿瘤细胞生长、增殖、分化及侵袭等方面有重要的促进作用^[3]。zeste 同源增强子2(Enhancer of zeste homolog 2, EZH2)在多种肿瘤组织中高表达,属于肿瘤发生的重要驱动基因之一,与肿瘤的进展、侵袭与转移等恶性病变密切相关^[4]。本研究通过分析甲状腺乳头状癌患者肿瘤组织 STAT3、EZH2 表达与临床病理特征及预后的关系,为临床提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2020年8月至2023年8月江油市903医院收治的184例甲状腺乳头状癌患者为研究对象。纳入标准:①符合甲状腺乳头状癌诊断标准^[5];②年龄 ≥ 18 周岁;③有完整病理标本,临床资料完整;④患者及家属知情同意。排除标准:①既往有甲状腺癌病史;②已接受系统抗癌治疗;③合并其他恶性肿瘤;④合并感染性、免疫性疾病;⑤严重心肝肾功能不全;⑥妊娠期、哺乳期女性。本研究经医院医学伦理委员会同意。

1.2 STAT3、EZH2 检测

采集收集患者手术切除的癌组织为研究组,和癌旁正常组织样本为对照组(距离肿瘤组织 ≥ 3 cm),漂洗后以10%多聚甲醛固定。常规石蜡

切片,65℃烤片2 h,切片脱蜡至水,PT Link 修复仪修复(PH9.0, 95℃ 20 min)。修复完成后,Buffer 浸泡10 min,使用 AutostainerLink48 型全自动免疫组化染色机(美国安捷伦科技公司)进行免疫组化染色。染色结束后再次进行 Buffer 冲洗,滴加150 μ L 阻断剂常温孵育5 min,Buffer 冲洗3次。滴加150 μ L 一抗常温孵育20 min,Buffer 冲洗3次。滴加150 μ L EnvisionFLEXHRP 二抗,室温孵育20 min。Buffer 冲洗,将染色切片滴加300 μ L DAB 显色液于显微镜下,苏木素复染2 min后,进行脱水透明封片。根据染色度和阳性细胞百分比判定结果^[6]。染色强度:无染色(0分)、染色较弱(1分)、染色适中(2分)、染色较强(3分);阳性细胞百分比:每个标本取5个视野,每个视野计数100个细胞,根据阳性细胞占总细胞百分比进行评分,其中 $\leq 25\%$ (1分)、26%~50%(2分)、51%~75%(3分)、 $>75\%$ (4分)。根据染色度和阳性细胞百分比乘积对结果进行判断,其中 ≤ 3 分为阴性表达, >3 分为阳性表达。计算两组样本的 STAT3、EZH2 阳性表达率。

1.3 随访与资料收集

对经手术后的甲状腺乳头状癌患者给予常规促甲状腺激素抑制治疗,药物为左甲状腺素钠片(50 μ g/片*100片;国药准字 H20227080;默克制药(江苏)有限公司)。初始剂量为75 μ g $\cdot$ d⁻¹,4周后根据患者个体促甲状腺激素水平调整药量,维持剂量为50~150 μ g $\cdot$ d⁻¹。对患者进行1年随访,随访截止时间为2024年8月31日或患者出现肿瘤复发、转移、死亡。所有患者均未失访,以随访期间出现病情恶化、肿瘤复发、死亡等事件为预后不良,将患者分为预后良好组162例与预后不良组22例。收集影响甲状腺乳头状癌预后的资料,包括性别、年龄、临床病理特征及 STAT3、EZH2 表达等。

1.4 统计学方法

以 SPSS 26.0 统计学软件分析数据。计量资料用

($\bar{x} \pm s$)表示,进行独立样本 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 表示,进行 χ^2 检验;采用多因素 Cox 回归分析甲状腺乳头状癌患者预后的影响因素;绘制 Kaplan-Meier 曲线分析 STAT3、EZH2 表达与甲状腺乳头状癌患者 1 年生存率的关系。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 甲状腺乳头状癌组织与癌旁组织 STAT3、EZH2 阳性表达比较

研究组 STAT3、EZH2 阳性表达率均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 甲状腺乳头状癌组织与癌旁组织 STAT3、EZH2 阳性表达比较 [$n(\%)$]

组织	n	STAT3 阳性表达	EZH2 阳性表达
研究组	184	124(67.39)	122(66.30)
对照组	184	42(22.83)	44(23.91)
χ^2 值		73.793	66.769
P 值		<0.001	<0.001

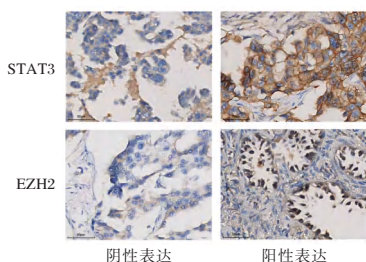


图 1 甲状腺乳头状癌组织与癌旁组织 STAT3、EZH2 表达 (免疫组化染色, $\times 200$)

2.2 STAT3、EZH2 阳性表达与甲状腺乳头状癌患者临床病理特征的关系

不同临床分期、淋巴结转移甲状腺乳头状癌患者 STAT3、EZH2 阳性表达率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 STAT3、EZH2 阳性表达与甲状腺乳头状癌患者临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

临床病理特征		n	STAT3 阳性表达($n=124$)	χ^2 值	P 值	EZH2 阳性表达($n=122$)	χ^2 值	P 值
性别	男	76	54(43.55)	0.790	0.374	48(39.34)	0.574	0.449
	女	108	70(56.45)			74(60.66)		
年龄(岁)	<60	78	52(41.94)	0.032	0.857	46(37.70)	3.256	0.071
	≥ 60	106	72(58.06)			76(62.30)		
肿瘤直径(cm)	<1	84	56(45.16)	0.037	0.848	52(42.62)	1.339	0.247
	≥ 1	100	68(54.84)			70(57.38)		
临床分期	I~II 期	112	58(46.77)	31.720	<0.001	58(47.54)	22.005	<0.001
	III~IV 期	72	66(53.23)			64(52.46)		
肿瘤数目	单发	116	76(61.29)	0.502	0.479	76(62.30)	0.087	0.768
	多发	68	48(38.71)			46(37.70)		
淋巴结转移	无	120	62(50.00)	38.819	<0.001	62(50.82)	33.086	<0.001
	有	64	62(50.00)			60(49.18)		

2.3 甲状腺乳头状癌患者预后的单因素分析

不同预后情况甲状腺乳头状癌患者的临床分期、淋巴结转移、STAT3、EZH2 阳性表达率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 甲状腺乳头状癌患者预后的单因素分析 [$n(\%)$]

因素	n	预后良好组($n=162$)	预后不良组($n=22$)	χ^2/t 值	P 值
性别				1.807	0.179
男	76	64(39.51)	12(54.55)		
女	108	98(60.49)	10(45.45)		
年龄(岁)				0.372	0.542
<60	78	70(43.21)	8(36.36)		
≥ 60	106	92(56.79)	14(63.64)		
肿瘤直径(cm)				0.227	0.634
<1	84	75(46.30)	9(40.91)		
≥ 1	100	87(53.70)	13(59.09)		
临床分期				19.117	<0.001
I~II 期	112	108(66.67)	4(18.18)		
III~IV 期	72	54(33.33)	18(81.82)		
肿瘤数目				3.318	0.069
单发	116	106(65.43)	10(45.45)		
多发	68	56(34.57)	12(55.55)		
淋巴结转移				24.370	<0.001
无	120	116(71.60)	4(18.18)		
有	64	46(28.40)	18(81.82)		
STAT3 表达				8.955	0.003
阳性	124	103(63.58)	21(95.45)		
阴性	60	59(36.42)	1(4.55)		
EZH2 表达				9.504	0.002
阳性	122	101(62.35)	21(95.45)		
阴性	62	61(37.65)	1(4.55)		

2.4 甲状腺乳头状癌患者预后影响因素的多因素 Cox 回归分析

以甲状腺乳头状癌患者预后不良为因变量,以临床分期、淋巴结转移、STAT3、EZH2 表达为自变量,进行多因素 Cox 回归分析,结果显示,临床分期为 III~IV 期、有淋巴结转移、STAT3 阳性表达、

EZH2 阳性表达均是甲状腺乳头状癌患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$)。见表4。

表4 甲状腺乳头状癌患者预后影响因素的多因素 Cox 回归分析

因素	变量赋值	β 值	$S.E$ 值	Wald χ^2 值	HR 值	95%CI	P 值
临床分期	I~II期=0, III~IV期=1	0.703	0.238	8.725	2.020	1.267~3.220	0.003
淋巴结转移	无=0, 有=1	0.717	0.221	10.526	2.048	1.328~3.159	0.001
STAT3 表达	阴性=0, 阳性=1	0.684	0.219	9.755	1.982	1.290~3.044	0.002
EZH2 表达	阴性=0, 阳性=1	0.668	0.202	10.936	1.950	1.313~2.898	0.001

2.5 STAT3、EZH2 表达与甲状腺乳头状癌患者 1 年生存率的关系

Kaplan-Meier 曲线结果显示, STAT3 阳性表达患者 1 年生存率为 83.06%, 低于 STAT3 阴性表达患者 98.33% ($\chi^2=8.955$, $P<0.05$), EZH2 阳性表达患者 1 年生存率为 82.79%, 低于 EZH2 阴性表达患者 98.39% ($\chi^2=9.504$, $P<0.05$)。见图 2~3。

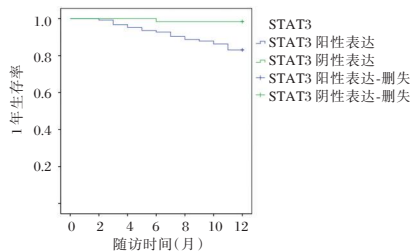


图2 STAT3 及 EZH2 阳性/阴性表达甲状腺乳头状癌患者 Kaplan-Meier 曲线分析

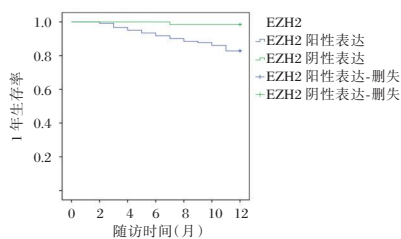


图3 EZH2 阳性/阴性表达甲状腺乳头状癌患者 Kaplan-Meier 曲线分析

3 讨论

甲状腺乳头状癌是最常见的甲状腺癌类型, 约占全部甲状腺癌的 80%^[7]。手术、新型靶向药物及促甲状腺激素抑制等治疗方式对甲状腺乳头状癌均有一定治疗效果, 但治疗后复发或转移的发生率仍较高, 早期诊断和干预是阻止甲状腺乳头状癌病情进展的关键。

有学者研究表明^[8], STAT3 在癌细胞中持续磷酸化, 同时在肿瘤微环境中的免疫细胞过度激活, 参与调节肿瘤微环境功能, 促进肿瘤血管生成、细胞增殖分化、抗凋亡、侵袭及免疫逃逸等恶性进展过程。研究指出^[9], STAT3 在甲状腺癌中的表达

量异常升高, 其表达水平与甲状腺癌恶性程度正相关, 在甲状腺癌发病机制中起到关键作用。EZH2 是多梳家族蛋白的一员, 可调控基因转录调节及抑制下游靶基因转录, 参与细胞周期、DNA 损伤修复、细胞分化、细胞凋亡、免疫调节等多种生物学行为, 与肿瘤发生发展存在密切关系^[10]。EZH2 高表达的肿瘤组织具有侵袭能力更强、恶性程度更高、病情进展更快及更容易发生转移等特点^[11]。本研究结果显示, 甲状腺乳头状癌组织 STAT3、EZH2 阳性表达率均高于癌旁组织。提示 STAT3、EZH2 可能与甲状腺乳头状癌的发生发展相关。进一步分析结果表明, 不同临床分期、淋巴结转移甲状腺乳头状癌患者 STAT3、EZH2 阳性表达率比较差异有统计学意义。提示 STAT3、EZH2 可能与甲状腺乳头状癌病情发生相关。

多因素 Cox 回归分析显示, 临床分期为 III~IV 期、有淋巴结转移、STAT3 阳性表达、EZH2 阳性表达均是甲状腺乳头状癌患者预后不良的独立危险因素。丁滕燕等^[12]研究指出, 临床分期越高的甲状腺乳头状癌患者复发率越高, 且临床分期与不良预后呈正相关。吴翠翠等^[13]研究表明, 甲状腺乳头状癌淋巴结转移与预后相关, 发生淋巴结转移患者的总生存率均低于无淋巴结转移患者。STAT3 表达水平与甲状腺癌组织的恶性程度正相关, 与 STAT3 阴性表达甲状腺癌患者相比, STAT3 阳性表达患者病情更严重, 无进展生存期和总体生存期均明显缩短^[14]。癌症患者 EZH2 的过度表达与不良预后相关, 沉默 EZH2 表达可抑制甲状腺未分化癌细胞生长及侵袭迁移, 延缓癌症患者病情进展^[15]。本研究结果与上述研究一致, 提示临床应关注甲状腺乳头状癌临床分期、淋巴结转移及 STAT3、EZH2 表达, 采取针对性干预措施以改善患者的预后。Kaplan-Meier 曲线结果显示, STAT3、EZH2 阳性表达患者的 1 年生存率低于阴性表达患者。提示 STAT3、EZH2 阳性表达与甲状腺乳头状癌患者生存预后相关, 有望成为评估甲

状腺乳头状癌患者预后生物标志物。

综上所述,与癌旁正常组织相比,甲状腺乳头状癌组织 STAT3、EZH2 阳性表达升高,且临床分期为Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移患者的 STAT3、EZH2 阳性表达更高。STAT3、EZH2 阳性表达对辅助评估患者预后有一定价值。

参考文献

- [1] Jung CK, Bychkov A, Kakudo K. Update from the 2022 World Health Organization Classification of Thyroid Tumors: A Standardized Diagnostic Approach [J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2022,37(5):703-718.
- [2] 尚铁钊,黄思夏,王佳鹤,等.甲状腺乳头状癌 BRAF V600E、TERT 和 RET 分子检测及与临床病理特征的关系[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2023,39(6):661-667
- [3] Hu Y, Dong Z, Liu K. Unraveling the complexity of STAT3 in cancer: molecular understanding and drug discovery [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024,43(1):23.
- [4] Liu Y, Yang Q. The roles of EZH2 in cancer and its inhibitors [J]. *Med Oncol*, 2023,40(6):167.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 甲状腺癌诊疗指南(2022年版)[J]. *中国实用外科杂志*, 2022,42(12):1343-1357+1363.
- [6] 张艳,曲利明,荆睿,等.食管鳞状细胞癌组织中 EZH2 和 EGFR 表达及其临床意义[J]. *中国老年学杂志*, 2024,44(16):3869-3872.
- [7] 李志勇,李国华,黄鹏飞,等.不同性别人群外周血单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比与甲状腺乳头状癌的关联性研究[J]. *中国全科医学*, 2024,27(25):3159-3163+3170.
- [8] Sadrkhanloo M, Entezari M, Orouei S, et al. STAT3-EMT axis in tumors: Modulation of cancer metastasis, stemness and therapy response[J]. *Pharmacol Res*, 2022,182:106311.
- [9] Zhao X, Ma W, Li X, et al. ANXA1 enhances tumor proliferation and migration by regulating epithelial-mesenchymal transition and IL-6/JAK2/STAT3 pathway in papillary thyroid carcinoma[J]. *J Cancer*, 2021,12(5):1295-1306.
- [10] Lee SH, Li Y, Kim H, et al. The role of EZH1 and EZH2 in development and cancer[J]. *BMB Rep*, 2022,55(12):595-601.
- [11] Huang J, Gou H, Yao J, et al. The noncanonical role of EZH2 in cancer[J]. *Cancer Sci*, 2021,112(4):1376-1382.
- [12] 丁滕燕,李予林.老年甲状腺乳头状癌患者 BRAF 基因和 TERT 基因表达及与病理特征和预后的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2024,44(3):541-544.
- [13] 吴翠翠,张雪琦,吴志坚.miR-145 在甲状腺乳头状癌组织中表达及其对淋巴结转移和预后的预测价值[J]. *中国老年学杂志*, 2024,44(4):786-789.
- [14] 蒋洪棉,梁至洁,罗丽凤,等.甲状腺癌组织中 JAK2、STAT3 的表达水平与临床病理特征及预后的关系[J]. *系统医学*, 2023,8(2):1-5+36.
- [15] Nakayama H, Saito N, Kasajima R, et al. Validation of EZH2 Inhibitor Efficiency in Anaplastic Thyroid Carcinoma Cell Lines[J]. *Anticancer Res*, 2023,43(3):1073-1077.
- [11] 杜心如,孔祥玉,郭森,等.椎动脉和第1颈神经穿经硬膜处的形态学特点及其与高血压颈枕痛的关系[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2021,39(4):5.
- [12] 周欣,宋宁,林景,等.薰衣草挥发油熏吸入给药助睡眠作用及机制探究[J]. *中南药学*, 2023,21(9):2316-2321.
- [13] Kawai E, Takeda R, Ota A, et al. Increase in diastolic blood pressure induced by fragrance inhalation of grapefruit essential oil is positively correlated with muscle sympathetic nerve activity[J]. *J Physiol Sci*, 2020,70(1):2.
- [14] 曹雅琪,朱晓岗,姚兰,等.抑郁症及失眠症患者睡眠结构与认知功能的变化[J]. *贵州医科大学学报*, 2023,48(10):1244-1248+1254.
- [15] 万亚会,高海静,周凯丽,等.虚拟现实技术治疗对慢性失眠患者睡眠质量、睡眠结构及神经心理特征的影响[J]. *中华神经医学杂志*, 2023,22(7):690-699.
- [7] Zhang Y, Yan B, Shen S, et al. Efficacy and safety of CM310 in severe eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CROWNS-1): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 clinical trial [J]. *EclinicalMedicine*, 2023,61:102076.
- [8] Wu D, Li Y, Bleier BS, et al. Superior turbinate eosinophilia predicts olfactory decline in patients with chronic rhinosinusitis [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2020,125(3):304-310.
- [9] 胡春艳,牛聪,陈文龙.终末期肾功能衰竭患者血液透析后 HO-1、IL-6、IL-18 的变化及其与透析效果的关系[J]. *感染、炎症、修复*, 2024,25(4):307-311.
- [10] 曹碧,刘子君,张毫.经血管内介入栓塞治疗对脑动脉瘤破裂患者血清肽素、IL-6、SOD、Caspase-3 水平的影响[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2024,18(2):45-48.
- [11] Nanda N, Dhawan DK. Role of Cyclooxygenase-2 in colorectal cancer patients[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2021,26(4):706-716.
- [12] Gonçalves RM, Delgobo M, Agnes JP, et al. COX-2 promotes mammary adipose tissue inflammation, local estrogen biosynthesis, and carcinogenesis in high-sugar/fat diet treated mice[J]. *Cancer Lett*, 2021,502:44-57.
- [13] Chao D, Hu G, Li Q. Clinicopathological significance and prognostic value of E-cadherin expression in non-small cell lung cancer: A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021,100(7):e24748.
- [14] Zhang Y, Li D, Dai Y, et al. The Role of E-cadherin in Helicobacter pylori-Related Gastric Diseases [J]. *Curr Drug Metab*, 2019,20(1):23-28.

·论 著·

PD-1 抑制剂联合化疗治疗对非小细胞肺癌患者生存期及血清 *miR-155*、*miR-191* 水平的影响

庞新亚¹ 曹建光¹ 陈磊¹ 唐田¹ 任伟豪¹ 刘然^{2*}

【摘要】 目的 探究 PD-1 抑制剂联合化疗治疗非小细胞肺癌(NSCLC)对患者生存期及血清 *miR-155*、*miR-191* 水平的影响。方法 纳入 2020 年 2 月至 2023 年 2 月北京大学首钢医院收治的 IIIc~IV 期 NSCLC 患者,根据治疗方案不同将其分为 PD-1+GP 组和 GP 组各 75 例,GP 组接受 GP 化疗方案(吉西他滨+顺铂)治疗,PD-1+GP 组接受 PD-1 抑制剂(信迪利单抗)联合 GP 化疗方案治疗。比较两组实体瘤疗效、生存期情况、治疗前后肿瘤标志物[糖类抗原 125(CA125)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)]水平及血清 *miR-155* 及 *miR-191* 表达水平,并统计两组毒副反应发生情况。结果 治疗 4 个周期后,PD-1+GP 组的 ORR 显著高于 GP 组,差异有统计学意义($P<0.05$),两组 DCR 比较差异无统计学意义($P>0.05$);两组均获得 1 年完整随访,PD-1+GP 组疾病进展 30 例,死亡 8 例,OS 为(11.64±1.20)个月,FPS(9.88±2.83)个月;GP 组疾病进展 45 例,死亡 17 例,OS 为(10.89±2.18)个月,FPS(7.80±3.78)个月,两组 OS、PFS 比较差异有统计学意义($P<0.05$);治疗 4 个周期后,两组 CA125、CYFRA21-1 和 NSE 表达水平均显著下降,且 PD-1+GP 组显著低于 GP 组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组 *miR-155* 及 *miR-191* 表达水平均显著下降,且 PD-1+GP 组显著低于 GP 组,差异有统计学意义($P<0.05$);两组毒副反应发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 PD-1 抑制剂(信迪利单抗)联合 GP 化疗方案能够有效治疗 IIIc~IV 期 NSCLC,显著提高患者的 OS、PFS,同时显著降低肿瘤标志物及血清中 *miR-155*、*miR-191* 的表达水平,具有一定安全性。

【关键词】 PD-1 抑制剂;非小细胞肺癌;*miR-155*; *miR-191*

Effects of PD-1 inhibitor combined with chemotherapy on survival time and levels of serum *miR-155* and *miR-191* in patients with non-small cell lung cancer

PANG Xinya¹, CAO Jianguang¹, CHEN Lei¹, TANG Tian¹, REN Weihao¹, LIU Ran^{2*}

(1. Department of Thoracic Surgery, Peking University Shougang Hospital, Beijing, China, 100144; 2. Department of Pathology, Beijing Pinggu Hospital, Beijing, China, 101200)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the influence of PD-1 inhibitor combined with chemotherapy on the survival time and serum *miR-155* and *miR-191* levels in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Patients with stage IIIc-IV NSCLC at Peking University Shougang Hospital were enrolled from February 2020 to February 2023. They were divided into two groups: the PD-1+GP group and the GP group, each consisting of 75 cases. The GP group received the GP chemotherapy regimen (gemcitabine + cisplatin), while the PD-1+GP group was treated with a combination of the PD-1 inhibitor and the GP chemotherapy regimen. The study compared solid tumor efficacy, survival time, tumor markers [carbohydrate antigen 125 (CA125), cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1), neuron-specific enolase (NSE)] and serum *miR-155* and *miR-191* expression levels before and after treatment between the two groups. Additionally, toxic and side effects were monitored and recorded in both groups. **Results** After 4 cycles of treatment, the ORR in the PD-1+GP group was significantly higher than that in the GP group, with a statistical significance ($P<0.05$).

基金项目:吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金(320.6750.2022-22-50)

作者单位:1. 北京大学首钢医院胸外科,北京 100144

2. 北京市平谷区医院病理科,北京 101200

*通信作者:刘然, E-mail:pxyliuran@163.com

However, there was no statistical significance in DCR between the groups ($P>0.05$). Both groups were followed up for one year. In the PD-1+GP group, there were 30 cases of disease progression and 8 cases of death with OS of (11.64 ± 1.20) months and a PFS of (9.88 ± 2.83) months. In the GP group, there were 45 cases of disease progression and 17 cases of death, with an OS of (10.89 ± 2.18) months and a PFS of (7.80 ± 3.78) months. OS and PFS revealed statistical differences ($P<0.05$). After 4 cycles of treatment, the expression levels of CA125, CYFRA21-1, and NSE in both groups were significantly decreased. The expression levels were significantly lower in the PD-1+GP group than in the GP group, with statistical differences ($P<0.05$). The expression levels of *miR-155* and *miR-191* were significantly decreased in both groups, with the expression levels in the PD-1+GP group showing significantly lower levels compared to the GP group, also with statistical differences ($P<0.05$). There were no statistically significant differences in the incidence rates of toxic and side effects between the groups ($P>0.05$). **Conclusion** The PD-1 inhibitor (sintilimab) combined with the GP chemotherapy regimen has been shown to effectively treat stage III c~IV NSCLC. This combination significantly improves OS and PFS. Additionally, it significantly reduces the expression levels of tumor markers, serum *miR-155*, and *miR-191*. Importantly, this treatment has demonstrated a certain level of safety.

[KEY WORDS] PD-1 inhibitor; Non-small cell lung cancer; *miR-155*; *miR-191*

肺癌是全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一,其中非小细胞肺癌(nonsmall cell lung cancer, NSCLC)约占85%,对于III c~IV期NSCLC患者,放化疗、免疫治疗等是主要治疗手段^[1]。GP化疗方案(吉西他滨+顺铂)常用于晚期NSCLC的治疗,其通过干扰DNA合成及破坏DNA结构,抑制肿瘤生长与扩散,延长患者生存期^[2]。随着免疫治疗的兴起,程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)抑制剂在NSCLC治疗中展现出显著疗效^[3]。PD-1通过抑制T细胞免疫反应保护正常组织,但癌细胞可利用PD-1/PD-L1通路逃避免疫系统监视,PD-1抑制剂则可通过阻断此通路增强对肿瘤细胞的免疫应答^[4]。信迪利单抗作为PD-1抑制剂,已被证明可提高晚期NSCLC患者生存期及生活质量^[5]。微小RNA(microRNA, miRNA)在肿瘤免疫逃逸中的作用逐渐受到关注。研究发现^[6],*miR-155*和*miR-191*在NSCLC组织和血清中表达异常,提示它们或可成为NSCLC治疗反应的潜在生物标志物。因此,本研究旨在探讨PD-1抑制剂(信迪利单抗)联合GP化疗方案治疗NSCLC对患者生存期及血清*miR-155*、*miR-191*表达的影响,内容如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020.2-2023.2北京大学首钢医院收治的150例III c~IV期NSCLC患者。纳入标准:①符合NSCLC相关诊断标准^[7],且病理分期为III c~IV期;②不适合手术治疗;③预计生存期超过3个月;④卡氏评分为60分以上或ECOG评分为2分以下;⑤已签署知情同意书。排除标准:①有严重

心、肝、肾功能障碍;②有其他恶性肿瘤病史;③有免疫系统疾病;④正在接受其他抗肿瘤治疗;⑤有精神疾病或认知障碍;⑥对本研究药物过敏。根据治疗方案不同,将其分为PD-1+GP组和GP组各75例。GP组:男45例,女30例;平均年龄为 (62.18 ± 3.29) 岁;III c期40例,IV期35例;鳞状细胞癌48例;腺癌27例;BMI为17~24 kg/m²,平均 (19.35 ± 1.02) kg/m²;PD-1+GP组:男48例,女27例;平均年龄为 (62.37 ± 3.26) 岁;III c期43例,IV期32例;鳞状细胞癌47例;腺癌28例;BMI为17~24 kg/m²,平均 (19.42 ± 1.01) kg/m²。两组基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究已获院伦理委员会批准。

1.2 治疗方法

对照组接受GP化疗方案治疗:在化疗前,给予患者止吐、护胃、水化和电解质平衡调整等基础治疗干预,以减轻化疗可能引起的不适和副作用。于每个化疗周期的第1 d、第8 d,予以盐酸吉西他滨(国药准字H20093920,江苏正大清江制药有限公司)1 250 mg/m²,用0.9%氯化钠注射液稀释后进行静脉滴注,每次滴注时间控制在30 min以内;每个化疗周期第1 d,予以顺铂(国药准字H37020523,德州德药制药有限公司)80 mg/m²,用0.9%氯化钠注射液稀释后进行静脉滴注,每次滴注时间控制在30~60 min以内。每3周为1个化疗周期。

PD-1+GP组接受GP化疗方案联合信迪利单抗治疗:每个化疗周期的第1 d,予以信迪利单抗注射液(国药准字S20180016,信达生物制药有限公司)200 mg,用0.9%氯化钠注射液稀释后进行静脉滴注,每次滴注时间控制在30~60 min以内。

两组均持续治疗4个周期。

1.3 观察指标

①实体瘤疗效^[8]:治疗4个周期后进行评估,病灶消失即完全缓解;病灶直径减少30%以上即部分缓解;病灶直径增加20%以上即疾病进展;病灶直径变化介于部分缓解及疾病进展之间即疾病稳定。疾病控制率(DCR)=[(总例数-疾病进展例数)/总例数]×100%;客观缓解率(ORR)=[(完全缓解例数+部分缓解例数)/总例数]×100%。②生存期情况:两组均获得1年完整随访,比较两组总生存期(overall survival, OS)和无疾病进展生存期(progression free survival, PFS)情况。③肿瘤标志物水平:治疗前及治疗4个周期后,采集静脉血样5 mL,经离心处理(离心半径10 cm、转速3 000 rpm、离心10 min)后分离血清,使用放射免疫分析法检测糖类抗原125(CA125)、细胞角蛋白19片段(CYFRA21-1)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)表达水平。④miRs相关指标:治疗前及治4个周期后,通过荧光定量PCR检测患者静脉血样中miR-155、miR-191表达量。⑤毒副反应:统计两组恶心呕吐、骨髓抑制、肝功能损伤、肾毒性发生情况。

1.4 统计学分析

采用SPSS 27.0统计学软件分析数据,计数资料以[n(%)]表示,行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)示,行t检验;采用Kaplan-Meier法进行生存分析并行Log-Rank χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组实体瘤疗效比较

治疗4个周期后,PD-1+GP组的ORR显著高于GP组,差异有统计学意义($P < 0.05$),两组DCR比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 两组生存期情况比较

两组均获得1年完整随访。PD-1+GP组疾病进展30例,死亡8例,OS为(11.64 ± 1.20)个月,FPS

表1 两组实体瘤疗效比较[n(%)]

	n	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病进展	DCR	ORR
PD-1+GP组	75	0	33	24	18	57(76.00)	33(44.00)
GP组	75	0	21	28	26	49(65.33)	21(28.00)
χ^2 值						2.058	4.167
P值						0.151	0.041

(9.88 ± 2.83)个月;GP组患者疾病进展45例,死亡17例,OS为(10.89 ± 2.18)个月,FPS(7.80 ± 3.78)个月。两组OS(log rank $\chi^2 = 4.280$, $P = 0.039$)、PFS(log rank $\chi^2 = 10.577$, $P < 0.001$)比较差异有统计学意义。见图1。

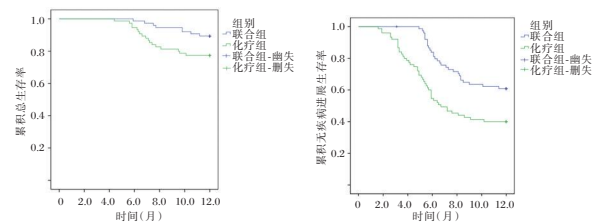


图1 两组随访一年PFS、OS比较

2.3 两组肿瘤标志物水平比较

治疗4个周期后,两组CA125、CYFRA21-1和NSE表达水平均显著下降,且PD-1+GP组显著低于GP组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.4 两组血清miR-155、miR-191水平比较

治疗4个周期后,两组miR-155及miR-191表达水平均显著下降,且PD-1+GP组显著低于GP组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组血清miR-155、miR-191水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-155		miR-191	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
PD-1+GP组	75	5.61±0.84	3.29±0.49 ^a	7.15±1.07	4.11±0.61 ^a
GP组	75	5.58±0.83	4.39±0.63 ^a	7.13±1.06	3.16±0.49 ^a
t值		0.220	11.936	0.115	10.515
P值		0.826	<0.001	0.909	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

2.5 两组毒副反应比较

两组毒副反应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表2 两组肿瘤标志物水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CA125(kU/L)		CYFRA21-1(ng/mL)		NSE(ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
PD-1+GP组	75	51.42±4.72	35.28±3.87 ^a	15.64±1.93	8.38±1.03 ^a	21.58±2.66	11.34±1.81 ^a
GP组	75	51.36±4.70	41.14±4.31 ^a	15.54±1.91	11.34±1.28 ^a	21.46±2.64	15.43±1.94 ^a
t值		0.078	8.761	0.319	15.603	0.277	13.350
P值		0.938	<0.001	0.750	<0.001	0.782	<0.001

注:与同组治疗前相比,^a $P < 0.05$ 。

表4 两组毒副反应发生率比较[n(%)]

组别	n	恶心呕吐	骨髓抑制	肝功能损伤	肾毒性
PD-1+GP组	75	73(97.33)	38(50.67)	40(53.33)	15(20.00)
GP组	75	70(93.33)	32(42.67)	32(42.67)	11(14.67)
χ^2 值		1.349	1.315	1.709	0.744
P值		0.246	0.251	0.191	0.388

3 讨论

NSCLC是肺癌中最常见的类型,IIIc~IV期患者由于肿瘤扩散,手术治疗通常不可行,放化疗、免疫治疗等成为常规治疗选择^[9]。GP化疗方案广泛应用于晚期NSCLC治疗,短期内能抑制肿瘤生长并延长患者生存期,但疗效易受到副作用等因素制约^[10]。近年来,PD-1免疫检查点抑制剂成为晚期NSCLC治疗的新兴选择。信迪利单抗是常见的PD-1抑制剂,通过解除免疫抑制增强T细胞对肿瘤细胞的识别和攻击,显著改善免疫应答并延长患者生存期^[5]。信迪利单抗联合GP化疗方案逐渐成为临床研究热点,化疗降低肿瘤负担,免疫疗法增强免疫应答,两者联合有望更有效地控制肿瘤进展。

本研究比较了信迪利单抗联合GP化疗方案与单一GP化疗在IIIc~IV期NSCLC患者中的疗效,结果发现联合治疗在改善临床反应方面具有显著优势。PD-1+GP组的ORR显著高于GP组,且OS和PFS也显著高于GP组,表明联合治疗通过免疫系统和化疗的双重作用能够有效控制肿瘤进展。GP化疗通过直接杀伤肿瘤细胞,减少肿瘤负担,同时诱导肿瘤抗原的释放暴露免疫靶点,进一步增强免疫应答;而信迪利单抗则通过阻断PD-1/PD-L1通路改善肿瘤微环境,增强T细胞对肿瘤的免疫监视^[11]。因此,联合治疗可提升临床反应并延长生存期。CA125、CYFRA21-1及NS是与肿瘤负荷、疾病进展及预后密切相关的肿瘤标志物,在NSCLC患者中通常表现为高水平表达^[12]。本研究中,PD-1+GP组肿瘤标志物水平下降幅度显著大于GP组,提示联合治疗能有效降低肿瘤负担,减少肿瘤标记物的释放。信迪利单抗通过解除肿瘤细胞对免疫系统的抑制作用,增强T细胞的免疫监视,从而促进肿瘤的缩小或稳定。

miR-155通过激活JAK/STAT和NF- κ B信号通路促进肿瘤细胞的存活和增殖,与肿瘤的侵袭性及不良预后相关^[13];miR-191则通过调节与细胞增殖和凋亡相关的基因,影响肿瘤的生长及化疗耐药性^[14]。两者在NSCLC中的异常表达与肿瘤

的发生、进展及耐药性密切相关,因其在肿瘤生物学中的关键作用,或可成为NSCLC的潜在生物标志物^[6]。本研究中,PD-1+GP组的血清miR-155和miR-191表达水平下降幅度显著大于GP组,表明联合治疗能通过免疫机制调节血清miRNA水平,改善免疫反应。GP化疗通过细胞毒性作用可有效杀伤肿瘤细胞,但其对免疫系统的刺激作用相对有限。信迪利单抗通过激活T细胞的免疫应答,改变肿瘤微环境中的免疫细胞组成和功能,间接调控miR-155和miR-191的表达,从而促进肿瘤控制。此外,两组毒副反应的发生率未见显著差异,表明信迪利单抗的引入未进一步显著增加毒副反应,这为联合治疗的安全性提供了保障。

综上所述,PD-1抑制剂(信迪利单抗)联合GP化疗方案能够有效治疗IIIc~IV期NSCLC,显著提高患者的OS、PFS,同时显著降低肿瘤标志物及血清中miR-155、miR-191的表达水平,具有一定安全性。

参考文献

- [1] 边永霞,张继朋,李桂珍,等.胸腔镜肺叶切除联合纵隔淋巴结清扫治疗ⅢA期非小细胞肺癌的疗效[J].保健医学研究与实践,2024,21(5):78-84.
- [2] 马思遥.中医辨证治疗联合GP化疗方案对非小细胞肺癌的疗效及对免疫功能的影响[J].辽宁中医杂志,2022,49(7):102-105.
- [3] 徐红利,李君霞,张佳佳,等.帕博利珠单抗联合AP对非小细胞肺癌患者疗效及血清sMICA水平的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(7):1255-1258.
- [4] 毛星刚.Fc增强的抗CTLA-4、抗PD-1、阿霉素和超声介导的BBB开放:一种新的胶质瘤组合免疫治疗方案[J].中华神经外科疾病研究杂志,2024,18(2):67.
- [5] 陈昕怡,赵程程,席庆.信迪利单抗联合化疗治疗局部晚期/转移性非小细胞肺癌的快速卫生技术评估[J].临床药物治疗杂志,2023,21(10):69-74.
- [6] Sheikhpour M, Abolfathi H, Karimipoor M, et al. The Common miRNAs between Tuberculosis and Non-Small Cell Lung Cancer: A Critical Review[J]. Tanaffos, 2021,20(3):197-208.
- [7] 中华医学会,中华医学会肿瘤学分会,中华医学会杂志社.中华医学会肺癌临床诊疗指南(2018版)[J].中华肿瘤杂志,2018,40(12):935-964.
- [8] 张百红,岳红云.实体瘤疗效评价标准简介[J].国际肿瘤学杂志,2016,43(11):845-847.
- [9] 王培培,吴亮亮,蔡磊,等.酸性核磷蛋白32A作为癌症中潜在的预后和免疫治疗生物标志物的泛癌分析研究[J].感染、炎症、修复,2024,25(3):177-191.
- [10] 李月,熊康,卢韵,等.厌氧菌介导的肿瘤微环境响应型纳米粒子增强肺癌疗效[J].西南医科大学学报,2024,47(3):200-205.

(下转第572页)

·论 著·

血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平对肝细胞癌患者射频消融术后复发的预测价值

王进* 李彬 邓红东

【摘要】目的 探究血清微小核糖核酸 182-5p(*miR-182-5p*)、内皮特异性分子-1(ESM-1)、甲胎蛋白(AFP)水平对肝细胞癌(HCC)患者射频消融术后复发的预测价值。**方法** 选取南阳市第一人民医院2020年3月至2023年5月行射频消融术治疗的HCC患者资料142例,根据术后随访1年患者复发情况将其分为复发组84例和未复发组58例。收集所有患者临床基本资料、术后血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP等实验室指标水平,比较两组基本资料及相关实验室指标水平差异,多因素 Logistic 回归模型分析 HCC 患者射频消融术后复发的危险因素;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平对术后复发的预测价值。**结果** HCC 复发组肿瘤最大径>5 cm 及侵犯包膜的患者占比均高于未复发组($P<0.05$);复发组血清 ALT、AST、*miR-182-5p*、ESM-1 以及 AFP 水平均高于未复发组($P<0.05$);多元 Logistic 回归分析显示肿瘤最大径超过 5cm、肿瘤侵犯包膜、*miR-182-5p*、ESM-1 和 AFP 均是 HCC 患者射频消融术后复发的独立危险因素(均 $P<0.05$);ROC 曲线显示血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平预测 HCC 患者射频消融术后复发的曲线下面积(AUC)分别为 0.807、0.800、0.823,三者联合检测的 AUC 为 0.943。**结论** HCC 患者射频消融治疗后血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平对其术后复发具有一定预测价值,三者联合预测效能更高。

【关键词】 肝细胞癌;射频消融术;术后复发;内皮特异性分子-1;甲胎蛋白

The predictive value of serum *miR-182-5p*, ESM-1 and AFP levels for recurrence after radiofrequency ablation in patients with hepatocellular carcinoma

WANG Jin*, LI Bin, DENG Hongdong

(Department of Comprehensive Intervention, Nanyang First People's Hospital, Nanyang, Henan, China, 473000)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the predictive value of serum micro ribonucleic acid 182-5p (*miR-182-5p*), endothelial specific molecule-1 (ESM-1) and alpha-fetoprotein (AFP) levels for recurrence after radiofrequency ablation in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The data of 142 HCC patients who underwent radiofrequency ablation at Nanyang Central Hospital from March 2020 to May 2023 were retrospectively analyzed. Based on the recurrence of patients after 1 year of follow-up, they were divided into two groups: the recurrence group (84 cases) and the non-recurrence group (58 cases) respectively. The basic clinical data, postoperative serum levels of *miR-182-5p*, ESM-1, AFP, and other laboratory indicators of all patients were collected. The differences in basic data and related laboratory indicators between the two groups were compared. A multivariate logistic regression model was used to analyze the risk factors of recurrence after radiofrequency ablation in HCC patients. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of serum *miR-182-5p*, ESM-1 and AFP levels for postoperative recurrence. **Results** The proportion of patients with a tumor maximum diameter >5 cm and the proportion of capsule invasion in the HCC recurrence group were higher than those in the non-recurrence group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum ALT, AST, *miR-182-5p*, ESM-1, and AFP in the recurrence group were higher than those in the non-recurrence group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the maximum diameter of the tumor was

基金项目:河南省卫健委重点项目(2024RF10105015)

作者单位:河南省南阳市第一人民医院综合介入科,河南,南阳 473000

*通信作者:王进, E-mail: 13633773650@163.com

more than 5 cm, tumor invasion of the capsule, serum *miR-182-5p*, ESM-1, and AFP were independent risk factors for recurrence of HCC patients after radiofrequency ablation ($P<0.05$). The ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of serum *miR-182-5p*, ESM-1, and AFP levels in predicting the recurrence of HCC patients after radiofrequency ablation was 0.807, 0.800 and 0.823, respectively, and the AUC of the combined detection of the three was 0.943. **Conclusion** The levels of serum *miR-182-5p*, ESM-1, and AFP in HCC patients after radiofrequency ablation have a certain predictive value for postoperative recurrence. The combined predictive efficiency of the three is higher.

[KEY WORDS] Hepatocellular carcinoma; Radiofrequency ablation; Postoperative recurrence; Endothelial specific molecule-1; Alpha-fetoprotein

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发于肝脏的恶性肿瘤,其发病率在世界范围内位列前五,病死率在全球各类癌症中高居第四^[1]。射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)是近年来相关指南所推荐,在临床亦有广泛应用的一种肿瘤微创治疗手段,具有手术创伤小、对正常肝细胞损伤较小、术后恢复快等优势,在HCC治疗中具有较高价值^[2]。然而,对于病灶较大、较深的患者,RFA治疗时操作难度高,易出现肿瘤组织消融灭活不彻底的情况,导致术后短期内肿瘤复发风险较高。因此,精准预测RFA术后患者的短期复发风险,对于优化HCC患者术后管理方案,提升治疗效果以及改善预后的意义重大。微小核糖核酸(micro ribonucleic acid, mi-RNA)、内皮特异性分子-1(endothelial specific molecule-1, ESM-1)等分子与细胞增殖、凋亡等生物学过程相关,有研究显示^[3], *miR-182-5p*、ESM-1在结直肠癌、非小细胞肺癌等其他恶性肿瘤诊断、预后评估等临床诊疗过程中具有良好应用价值。本研究旨在探究血清*miR-182-5p*、ESM-1、AFP单独及联合检测对HCC患者RFA术后复发的预测价值,以期为临床HCC患者RFA术后复发监测提供更为高效科学的方案,具体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2020年3月至2023年5月于南阳市第一人民医院接受射频消融术治疗的HCC患者156例,经纳排标准剔除14例,最终纳入142例作为研究对象。纳入标准:①参考《原发性肝癌诊疗规范(2019年版)》^[4]中有关HCC诊断标准,经影像学或病理学检查确诊HCC患者;②符合射频消融治疗适应证,确诊后择期完成射频消融术治疗;③定期进行复查,临床及随访资料完整;④自愿参与本研究,签署知情同意书。排除标准:①合并有心、肾等其他脏

器功能严重障碍疾病患者;②合并有其他恶性肿瘤患者;③存在肿瘤已向远处转移或侵犯大血管患者;④既往有肝移植或肝外科切除手术史患者,本研究已通过南阳市第一人民医院伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 射频消融术治疗

所有患者确诊后均由我院同一主治医生完成射频消融治疗,射频仪由绵阳立德公司生产。手术通过常规超声及超声造影明确病灶大小、位置及周围解剖结构以确定金针路径;射频消融范围超出目标肿瘤病灶外缘0.5 cm及以上。

1.2.2 临床资料收集

通过医院信息系统收集患者人口学信息如年龄、性别、体质量指数(body mass index, BMI)等、肿瘤最大径、Child-Pugh分级、病灶数量和分布情况、是否侵犯静脉、侵犯包膜以及术前实验室检查相关指标如丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、凝血酶原时间国际标准化比值(prothrombin time and international normalized ratio, PT-INR)、血小板计数(platelet count, PLT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)等临床基本资料。

1.2.3 血清*miR-182-5p*、ESM-1、AFP水平检测

于射频消融术后24 h内采集所有患者外周静脉血5 mL,经过离心处理(转速3 500 rpm,离心半径13.5 cm,离心时间10 min)后分离血清,于-80℃冰箱保存备检。血清*miR-182-5p*水平检测采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Quantitative Real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)进行,试剂盒由上海吉凯基因化学技术公司提供;以U6基因为内参基因,引物序列为上游:5'-CTCGCTTCG-GCAGCACA-3',下游:5'-AACGCTTCAC-GAATTTGCGT-3';*miR-182-5p*引物序列上游:5'-ACTACTTCGACTGAGACACG-3',下游:5'-GTCTGCATGTCCTTG-3',引物均由上海元见生物

公司设计合成。q RT-PCR 反应体系为 20 μ L, 循环条件为预变性 (95 $^{\circ}$ C, 10 min)、变性 (95 $^{\circ}$ C, 15 s)、复性 (60 $^{\circ}$ C, 1 min), 共 45 个循环, 最后采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式计算 *miR-182-5p* 相对表达量。ESM-1 水平检测采用夹心酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测, 试剂盒购自美国 Boster 生物技术公司, 严格按照试剂盒说明书进行操作。AFP 水平检测采用电化学发光法, 试剂盒购自上海 Roche 制药公司。

1.2.4 随访程序及复发评估

所有患者术后均定期完成门诊复查随访。于每次随访时通过影像学检查及血液学指标检测肿瘤复发及转移情况。术后复发判定标准为增强磁共振或腹部增强 CT 检查结果显示肝内出现活性病灶, 且经穿刺活检显示阳性者。根据随访结果, 将术后 12 个月内复发患者纳入复发组, 共 84 例; 术后 12 个月内无复发迹象患者纳入未复发组, 共 58 例。

1.3 统计学方法

研究数据分析工具为统计学软件 SPSS26.0, 计量资料经 Shapiro-Wilk 检验及 Brown-Forsythe test 法检验符合正态分布、满足方差齐性, 采用 ($\bar{x} \pm s$) 形式描述, 两组比较采用独立样本 *t* 检验; 以 *n*(%) 形式描述计数资料, 两组比较采用 χ^2 检验; 采用多因素 Logistic 回归模型分析影响 HCC 患者射频消融治疗后复发的相关因素; 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线评价单个指标及多指标联合预测对 HCC 患者射频消融术后复发的诊断效能。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基本资料比较

复发组年龄、性别构成、Child-Pugh 分级、病灶数量和分布、侵犯静脉情况及 PTINR 与未复发组间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); HCC 复发组肿瘤最大径 > 5 cm 者占比、侵犯包膜占比均高于未复发组 ($P < 0.05$); 复发组血清 ALT、AST、*miR-182-5p*、ESM-1 以及 AFP 水平均高于未复发组 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 影响 HCC 患者射频消融术后复发因素的多元 Logistic 回归分析

将表 1 中差异具有统计学意义的指标纳入作为风险因素, 以 HCC 患者射频消融术后复发情况作为自变量 (1=复发, 2=未复发) 进行多元 Logistic 回归分析。结果显示肿瘤最大径超过 5 cm、肿瘤

表 1 不同复发情况患者临床基本资料比较 [*n*(%), ($\bar{x} \pm s$)]

项目	复发组 (<i>n</i> =84)	未复发组 (<i>n</i> =58)	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
年龄 (岁)			2.224	0.136
≥60	46 (54.76)	39 (67.24)		
<60	38 (45.24)	19 (32.76)		
性别			0.075	0.785
男	65 (77.38)	46 (79.31)		
女	19 (22.62)	12 (20.69)		
肿瘤最大径			16.999	<0.001
≤5 cm	23 (27.38)	36 (62.07)		
>5 cm	61 (72.62)	22 (37.93)		
Child-Pugh 分级			0.295	0.587
5~6 分	73 (86.90)	39 (67.24)		
≥7 分	11 (13.10)	19 (32.76)		
病灶数量 (个)			3.555	0.059
≥3	28 (33.33)	11 (18.97)		
<3	56 (66.67)	47 (81.03)		
病灶分布			1.457	0.228
单叶	71 (84.52)	53 (91.38)		
双叶	13 (15.48)	5 (8.62)		
侵犯静脉			3.643	0.056
是	13 (15.48)	3 (5.17)		
否	71 (84.52)	55 (94.83)		
侵犯包膜			13.450	<0.001
是	43 (51.19)	12 (20.69)		
否	41 (48.81)	46 (79.31)		
ALT (U/L)	62.54±10.26	51.37±6.49	7.335	<0.001
PTINR	1.12±0.31	1.06±0.25	1.224	0.223
AST (U/L)	69.63±8.49	57.56±5.84	9.396	<0.001
<i>miR-182-5p</i>	0.53±0.14	0.37±0.11	7.286	<0.001
ESM-1 (ng/mL)	13.18±3.28	9.79±2.13	6.924	<0.001
AFP (ng/mL)	216.35±19.91	193.35±12.45	7.803	<0.001

侵犯包膜、血清 *miR-182-5p*、ESM-1 和 AFP 水平升高均是 HCC 患者射频消融术后复发的独立危险因素 (均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 多 Logistic 回归分析 HCC 患者射频消融术后复发的影响因素

指标	β 值	<i>S.E</i> 值	Wald 值	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
肿瘤最大径 >5 cm	0.761	0.309	6.065	2.140	1.168~3.922	0.014
侵犯包膜	1.172	0.471	6.192	3.228	1.283~8.127	0.013
ALT	1.167	1.102	1.121	3.212	0.370~27.852	0.290
AST	1.308	1.012	1.670	3.699	0.509~26.884	0.196
<i>miR-182-5p</i>	1.184	0.327	13.110	3.267	1.721~6.202	<0.001
ESM-1	1.316	0.431	9.323	3.728	1.602~8.678	0.002
AFP	1.182	0.348	11.537	3.261	1.649~6.450	0.001

2.3 血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平对术后复发的预测价值

绘制 ROC 曲线分析显示, 血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平联合预测 HCC 患者射频消融术后复发的曲线下面积 (AUC) 0.943, 高于单一检测 ($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

表3 血清 *miR-182-5p*、ESM-1、AFP 水平对术后复发的预测价值

指标	截断值	AUC	约登指数	灵敏度(%)	特异度(%)	95% CI	P 值
<i>miR-182-5p</i>	0.545	0.807	0.493	97.6	51.7	0.732~0.881	<0.001
ESM-1	11.085	0.800	0.503	74.4	75.9	0.728~0.872	<0.001
AFP	209.835	0.823	0.541	61.0	93.1	0.756~0.891	<0.001
联合检测		0.943	0.799	90.2	89.7	0.907~0.980	<0.001

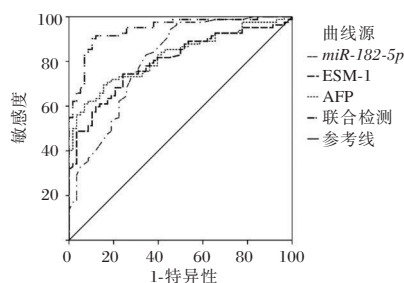


图1 ROC 曲线

3 讨论

我国肝癌发病率逐年上升,已成为继食管癌、胃癌之后致死率最高的消化系统肿瘤,对我国居民生命健康安全造成严重威胁^[5]。RFA是一种新兴的微创技术,近年来在肝癌临床治疗中广泛应用,通过射频电流产生热量以使局部肿瘤细胞凝固坏死,实现肿瘤细胞灭活目的,其疗效与手术切除相当^[6]。HCC患者接受RFA治疗效果及预后存在较大个体差异性,术后复发风险较高^[7]。RFA后HCC复发极不利于患者长期生存,HCC复发通常以2年期为界限分为早期和晚期复发,其中早期复发比例高达70%,是导致患者预后不良的重要原因^[8]。因此评估HCC患者RFA后早期复发风险,对制定合理的术后诊疗管理方案、降低术后复发率、提高患者生存期具有重要临床意义。

既往研究证实^[9],AFP水平升高是HCC诊断的重要血清学指标,在HCC肝移植治疗后肿瘤复发风险评估和预测中亦有应用。但AFP水平变化也可能由其他因素如女性附件区肿瘤病变引起,HCC患者AFP水平升高有一定假阳性、假阴性比例,用于肝癌复发预测的敏感度和特异度并不十分理想,单一AFP检测在HCC患者RFA术后复发早期诊断的应用有限^[10]。Matsui等^[11]研究显示,高表达的*miR-182-5p*与HCC患者高肿瘤/邻近比率以及较差的无复发生存率有关,提示*miR-182-5p*对HCC患者RFA术后复发预测或有一定应用价值。ESM-1是一种可溶性硫酸皮肤素蛋白多糖,其水平异常变化与血管新生、动脉粥样硬化、炎症反应、肿瘤形成等关系密切^[12]。研究显示^[13],ESM-1水平在HCC早

期复发患者中显著高于未复发患者,且早期复发患者水平也显著高于晚期复发患者,对RFA治疗后HCC早期复发具有良好预测价值。本研究结果显示,相比未复发组,复发组血清*miR-182-5p*、ESM-1、AFP水平明显更高;多因素Logistic分析结果显示,三者血清水平增加均是HCC患者RFA术后复发的独立危险因素。进一步绘制ROC曲线分析三者单独及联合检测对HCC患者RFA术后复发的预测价值,结果显示*miR-182-5p*、ESM-1、AFP预测的AUC分别为0.807、0.800、0.823,均有一定预测效能,三者联合检测的AUC为0.943,预测的灵敏度及特异度均达90%左右,较单一指标检测显著提高,表明联合检测对HCC患者RFA术后复发的预测效能更高。本研究结果中还显示HCC复发组肿瘤最大径>5 cm者占比、侵犯包膜占比以及血清ALT、AST水平均高于未复发组;且肿瘤最大径>5 cm以及肿瘤侵犯包膜亦是HCC患者RFA术后复发的危险因素。其原因可能在于:肿瘤直径增加代表着其体积成倍增加,这可能导致肝内存在难以监测到的微转移病灶;而侵犯包膜后包膜完整性被破坏,肝内微血管存在被肿瘤细胞侵袭可能,从而增加RFA术后患者早期复发风险。

综上所述,HCC患者RFA术后血清*miR-182-5p*、ESM-1、AFP水平高表达与其术后复发相关,均是其复发的危险因素,三者联合检测可进一步提高诊断效能,可作为临床HCC患者射频消融治疗后早期复发的潜在诊断指标。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021,71(3):209-249.
- [2] 张汉洋,庄志彬,林春冬,等.经皮射频消融术与腹腔镜肝切除手术治疗原发性小肝癌的疗效及预后比较[J].中国普通外科杂志,2019,28(1):24-30.
- [3] 王锐,张书信,王艳逊,等.血清miRNA-182-5p在结直肠癌患者中的表达水平和临床价值[J].中国医学前沿杂志(电子版),2021,13(4):119-122.

(下转第572页)

·论 著·

关于563例女性生殖道十项检测结果的分析

刘亚林¹ 李沛² 解燕川¹ 康婧祎¹ 陈河涛^{1*}

【摘要】目的 通过对563例生殖道十项检测结果的分析,了解女性生殖道感染的现状,并为女性生殖道性传播疾病的临床诊疗提供帮助。**方法** 从LIS系统中收集2021年12月15日至2023年11月30日河南科技大学第一附属医院生殖道十项检测的结果以及患者临床资料,剔除信息不全的病例。分析不同病原体的感染特征、复合感染情况、感染人群的年龄分布特点和不同临床诊断人群中的感染区别。**结果** 共收集563例,总体阳性率为42.81%(241/563)。其中支原体感染率为40.67%(229/563),占比最高,未发现淋病奈瑟菌感染;支原体亚型中,又以生殖支原体阳性率最低(0.53%)。感染类型以单纯支原体感染为主。年龄最小19岁,最大78岁,阳性率最高的年龄阶段为45-54岁(50.44%),最低的为>65岁(19.35%),各年龄层之间阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。不同临床诊断人群中以CINⅢ人群阳性率最高(56.34%),差异无统计学意义($P>0.05$);阴道炎和CINⅢ人群中以UP6、UP3阳性率较高,CC人群中以UU阳性率最高(62.50%)。**结论** 女性生殖道感染中支原体感染占比最高,又以45-54岁更年期女性感染情况最重,随着新兴检测技术的出现,在女性生殖道感染的临床诊疗中应更加重视对多种病原体的检测。

【关键词】 生殖道;支原体;女性;年龄;临床诊断

Analysis of the results of ten tests on female reproductive tract in 563 cases

LIU Yalin¹, LI Pei², XIE Yanchuan¹, KANG Jingyi¹, CHEN Hetao^{1*}

(1. Central Laboratory, the First Affiliated Hospital, and College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan, China, 471003; 2. Xinan County People's Hospital Laboratory Department, Luoyang, Henan, China, 471003)

【ABSTRACT】 Objective To understand the status of female reproductive tract infections through the analysis of 563 cases of 10 reproductive tract tests results and provide help for the clinical diagnosis and treatment of female reproductive tract sexually transmitted diseases. **Methods** We collected the results of ten reproductive tract tests and the clinical data of patients from the LIS system at the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology from December 15, 2021, to November 30, 2023, excluding cases with incomplete information. We then analyzed the infection characteristics of different pathogens, the occurrence of mixed infections, the age distribution of infected individuals, and the differences in infection among different clinical diagnosis groups. **Results** A total of 563 cases were collected, with an overall positive rate of 42.81% (241/563). Among them, the rate of *Mycoplasma* infection was 40.67% (229/563), ranking the highest, and no *Neisseria gonorrhoeae* infection was found. Among the *Mycoplasma* subtypes, the positive rate of *Mycoplasma genitalium* was the lowest (0.53%). The main type of infection was *Mycoplasma* alone. The youngest patient was 19 years old, and the oldest was 78 years old. The age group with the highest positive rate was 45-54 years old (50.44%), and the lowest was over 65 years old (19.35%). There was a statistically significant difference in positive rates between different age groups ($P<0.05$). Among different clinical diagnosis groups, the positive rate was the highest in the CINⅢ group (56.34%), with no significant difference ($P>0.05$). The positive rates of UP6 and UP3 were higher in patients with vaginitis and CINⅢ, while the positive rate of UU was the highest in the CC group (62.50%). **Conclusion** *Mycoplasma* infection ac-

基金项目:洛阳市医疗卫生指导性科技计划项目(2302008Y)

作者单位:1. 河南科技大学临床医学院,河南科技大学第一附属医院中心实验室,河南,洛阳471003

2. 新安县人民医院检验科,河南,洛阳471003

*通信作者:陈河涛, E-mail: chenht951753@163.com

counts for the highest proportion of female reproductive tract infections, with the most severe cases occurring in menopausal women aged 45~54. With the emergence of new detection technologies, there should be great emphasis on detecting multiple pathogens in the clinical diagnosis and treatment of female reproductive tract infections.

[KEY WORDS] Reproductive tract; Mycoplasma; Female; Age; Clinical diagnosis

女性生殖道感染是一种常见的妇科疾病,发病率高且传播途径多样,性接触是最主要的传播途径。感染后通常症状不明显,容易错过最佳治疗时机,严重者可导致盆腔炎症、不孕不育等后果^[1-3]。常见病原体有淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, NG)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)、支原体^[4-5]和单纯疱疹病毒Ⅱ型(*Herpes Simplex Virus Type 2*, HSV-Ⅱ)等,其中支原体又有80余种,引起女性生殖道感染的常见型别为生殖支原体(*Mycoplasma genitalium*, MG)、人型支原体(*Mycoplasma hominis*, MH)、解脲脲原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)及微小脲原体(*Ureaplasma parvum*, UP)等。我国CT、UU和MG发病人数在逐年上升^[6],且感染的病原体不同,治疗方案亦不同,因此,对女性生殖道感染病原体的及时诊断对维护女性健康越来越重要。本研究通过对本院563例生殖道十项检测结果的回顾性分析,了解女性生殖道感染的现状及不同年龄、不同支原体亚型间的感染差异,为女性生殖道感染的防治工作提供重要参考价值。

1 资料与方法

1.1 调查对象

从LIS系统中调取2021年12月15日至2023年11月30日河南科技大学第一附属医院生殖道十项检测的结果及患者临床资料,剔除姓名、性别、年龄信息不全及年龄<18岁的病例。共女性563例,年龄19~78岁。本研究经院伦理委员会批准通过,并豁免研究对象知情同意。

1.2 标本采集

由医生以窥阴器或阴道张开器暴露宫颈,将宫颈刷置于宫颈口,轻轻搓动宫颈刷使其顺时针旋转5圈,取出宫颈刷,放入已加有专用细胞保存液的取样管中。采集完成后立即送检。

1.3 标本检测

1.3.1 核酸提取

使用潮州凯普生物化学有限公司的核酸提取试剂盒(DNA-L型磁珠法),配合中元全自动核酸提取仪提取病原体核酸。

1.3.2 扩增与杂交检测

提取完成的核酸用雅睿MA6000荧光定量PCR仪扩增,反应体系为50 μL,扩增条件为72℃ 40秒,40个循环。扩增产物采用凯普全自动核酸分子杂交仪进行杂交检测。配套试剂为潮州凯普生物化学有限公司的生殖道感染病原体核酸检测试剂盒(PCR+导流杂交法)。10种病原体分别为NG、CT、HSV-Ⅱ、MG、MH、UU和四种UP亚型(UP1、UP3、UP6、UP14)。

1.4 统计学分析

采用IBM SPSS Statistics26统计学软件进行数据分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病原体及支原体亚型感染特征

共563例女性标本中,总体阳性率为42.81%(241/563)。以支原体感染阳性率最高,未见NG感染。支原体亚型中以MG阳性率最低,UP6、UU、UP3三种亚型阳性率较高。见表1。

表1 女性生殖道感染病原体分布 [$n(\%)$]

病原体	阳性率	支原体亚型	阳性率
支原体	229(40.67)	UP6	75(13.32)
CT	19(3.37)	UU	74(13.14)
HSV-Ⅱ	8(1.42)	UP3	73(12.97)
NG	0(0.00)	MH	52(9.24)
		UP1	44(7.82)
		UP14	40(7.10)
		MG	3(0.53)

2.2 复合感染情况

在241例阳性中,以单纯支原体感染占比最高,单纯HSV-Ⅱ感染最少。未发现CT和HSV-Ⅱ的复合感染类型。见图1。

2.3 年龄分布特征

563例样本按照年龄不同分成6组,总阳性率以45~54岁年龄层最高,>65岁年龄层最低,不同年龄层间阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。另临床上进行此项检查的人群以25-34岁占比较多,>65岁人群占比最少。见表2。

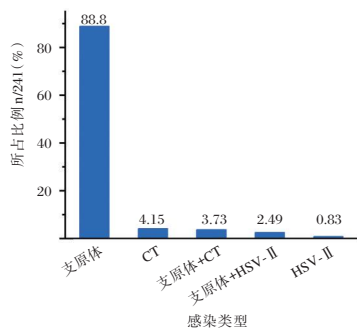


图1 复合感染分布情况

表2 生殖道病原体感染年龄分布特征 [n(%)]		
年龄分层(岁)	人群占比(n=563)	阳性率
<25	34(6.04)	16(47.06)
25~34	162(28.77)	73(45.06)
35~44	148(26.29)	66(44.59)
45~54	113(20.07)	57(50.44)
55~65	75(13.32)	23(30.67)
>65	31(5.51)	6(19.35)
χ^2 值		14.951
P值		0.011

2.4 不同临床诊断人群病原体感染区别

563例标本按临床诊断分类,排名前三的依次是阴道炎、宫颈恶性肿瘤(Cervical Cancer,CC)和子宫颈上皮内瘤变Ⅲ级(Cervical Intraepithelial Neoplasia GradeⅢ,CINⅢ),其中以CINⅢ人群阳性率最高(56.34%),差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。分析三者支原体亚型感染情况,阴道炎和CINⅢ人群中以UP6、UP3阳性率最高,CC人群中以UU阳性率最高(62.50%),MG在三种人群中阳性率均最低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表3 三种临床诊断人群阳性率对比 [n(%)]		
临床诊断	n	阳性率
阴道炎	139	71(51.08)
CC	101	40(39.60)
CINⅢ	71	40(56.34)
χ^2 值		5.316
P值		0.070

表4 三种临床诊断人群支原体亚型感染分布 [n(%)]			
支原体亚型	阴道炎(n=65)	CINⅢ(n=40)	CC(n=40)
UP6	24(36.92)	16(40.00)	11(27.50)
UP3	19(29.23)	17(42.50)	10(25.00)
UU	16(24.62)	5(12.50)	25(62.50)
MH	16(24.62)	8(20.00)	12(30.00)
UP14	12(18.46)	6(15.00)	7(17.50)
UP1	11(16.92)	6(15.00)	8(20.00)
MG	1(1.54)	2(5.00)	0(0.00)
χ^2 值	28.454	29.061	44.323
P值	0.000	0.000	0.000

3 讨论

NG、CT、HSV-Ⅱ和支原体是临床常见的女性生殖道感染病原体,均有感染症状不典型等特点,且会增加感染其它疾病的风险。其中支原体是能够独立生活的最小原核细胞微生物,包含多种型别,可分为支原体属和脲原体属,支原体属包括肺炎支原体、MH、MG;脲原体属包括UU和UP,UP又分为1、3、6、14四个血清型^[7]。传统检测方法有涂片法、培养法、免疫法等,不能区分UU和UP,随着分子诊断在临床的普及,为这些病原体的诊断和型别鉴定提供了更好的方法。

本次研究显示,支原体阳性率为40.67%,远高于CT和HSV-Ⅱ。支原体亚型中以UP6、UU、UP3三种检出率最高,亦有研究显示^[8-10],UU在正常人群中检出率高,UP则多见于无症状携带者。复合感染有支原体+CT、支原体+HSV-Ⅱ两种类型,但大多数(88.8%)还是单纯支原体感染。总体病原体阳性率上,以45~54岁年龄段人群最高,分析原因可能与女性生理周期有关,更年期女性体内激素变化导致对生殖道病原体的免疫力下降;>65岁人群阳性率最低,可能与性活动减少有关。共563例进行生殖道十项检测的人群中,以25~34岁占比最高(28.77%),此类人群是当前社会主要育龄人群,反应该检查逐渐被纳入生殖备孕检查中;>65岁人群占比最少(5.51%),有研究显示^[11-13],>65岁人群HPV感染率较高,且两种及以上生殖道病原体的合并感染会加重致病性。因此,在女性生殖道疾病的防治工作中,应加强对老年女性人群的宣传和教

育。本研究纳入病例临床诊断以阴道炎、CC、CINⅢ三种为主,且三种人群间阳性率无明显差异,阴道炎和CINⅢ人群以UP6、UP3两种支原体亚型感染为主,而CC人群中主要是UU感染。不同型别的支原体致病性并不一致,亦有共识^[14]指出,临床对感染风险的评估需结合UP和UU的鉴定结果,因此,对支原体亚型的鉴别在生殖道疾病的防治中至关重要。

此外,本次研究结果有一定的局限性,病例来源主要为来本院就诊的有症状女性,不能真实反应整体人群中的病原体阳性率。但对本地区生殖道感染的病原体分布特征,以及不同年龄人群的感染情况有重要的参考价值,期望对临床诊疗提供帮助。

综上所述,更年期女性生殖道病原体感染较重,是防治的重点人群。支原体是女性生殖道疾病的主要病原体,期待更多的研究来确定不同支原体亚型与疾病的关系,以便指导临床诊疗。同时,女性应注意个人卫生和性健康,提高对生殖道感染的认识,有异常症状体征时,及时就诊,以免延误病情^[15]。

参考文献

- [1] Ting L, ShuYu L, Wei Z, et al. Analysis of *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and *Neisseria gonorrhoeae* infections among obstetrics and gynecological outpatients in southwest China: a retrospective study. [J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1):283-283.
- [2] 王伟伟,刘东江,赵亚伟,等. 2013-2018年北京市朝阳区妇幼保健院门诊女性生殖道解脲脲原体、淋病奈瑟菌和沙眼衣原体感染情况分析[J]. *中国当代医药*, 2022, 29(18):133-136.
- [3] 祝莹,张紫娟,王丹阳,等. 自然分娩产后产褥感染病原菌分布及血清CRP、TNF- α 、IL-6、IL-10水平的研究[J]. *中华全科医学*, 2018, 16(11):1854-1856+1863.
- [4] 李婷,刘朝晖. 国内外常见女性生殖道感染流行现状及进展[J]. *现代妇产科进展*, 2023, 32(10):782-784.
- [5] 张亚勤,陈怡蓉,杨涵,等. 云南普洱地区不孕症女性生殖道感染临床分析[J]. *云南医药*, 2023, 44(5):47-49.
- [6] Unemo M, Bradshaw SC, Hocking SJ, et al. Sexually transmitted infections: challenges ahead [J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(8):e235-e279.
- [7] 李绪兰,陈静,徐晶. 育龄期女性解脲支原体感染后阴道微生态和Th17细胞及相关炎症因子的变化[J]. *中国微生态学杂志*, 2021, 33(7):821-824.
- [8] 周元元,夏晓平. 阴道微生态与生殖道性传播病原体感染相关性[J]. *实用预防医学*, 2023, 30(8):1004-1006.
- [9] 吴文钦,何寿富,李雪雪. 广州某大型医院1137例门诊患者泌尿生殖道沙眼衣原体、生殖支原体及解脲脲原体感染情况分析[J]. *岭南急诊医学杂志*, 2023, 28(4):333-335.
- [10] 陈怡颖,杨涵,陈怡蓉,等. 普洱地区男性不育症患者泌尿生殖道病原体感染现状分析[J]. *现代医药卫生*, 2023, 39(19):3312-3314+3319.
- [11] 吴晓康,张妮,尹佳锋等. 西安地区健康体检女性HPV感染状况及基因型别分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(4):139-142.
- [12] 郑慧娟,孙晓芳,郑培明. 2017-2022年河南省某三甲医院115672例男女受检者HPV感染情况及基因型分布[J]. *现代疾病预防控制*, 2023, 34(5):326-330+337.
- [13] 王小利,常永超,刘海花,等. 洛阳地区女性HPV感染及病毒亚型分布特征研究[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(14):1905-1907.
- [14] 张岱,刘朝晖. 生殖道支原体感染诊治专家共识[J]. *中国性科学*, 2016, 25(3):80-82.
- [15] 黎国铭,芦亚君. 2000例就诊者生殖道病原体感染特征分析[J]. *海峡预防医学杂志*, 2021, 27(1):17-19.

(上接第564页)

- [11] 孙浩,吴一龙, U Dafni, 等. PD-1/PD-L1抑制剂单药或联合铂类双药化疗对PD-L1高表达的一线非鳞状非小细胞肺癌有效性的真实世界研究[J]. *肿瘤防治研究*, 2023, 50(8):820-829.
- [12] 李首崇. MSCT联合血清CYFRA21-1、NSE、CA125检测对肺癌的诊断价值[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2022, 20(7):37-39.
- [13] 纳青,吐尔逊娜依·阿布都热依木,吴刚. 基于NF- κ B信号通路探讨miR-155调控的靶基因CEBP β 对颈椎病大鼠椎间盘软骨细胞凋亡和炎症反应的影响[J]. *医学分子生物学杂志*, 2024, 21(4):300-308.
- [14] Majed SO. RNA Sequencing-Based Total RNA Profiling; The Oncogenic MiR-191 Identification as a Novel Biomarker for Breast Cancer[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2022, 68(1):177-191.

(上接第568页)

- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2019年版)[J]. *中华消化病与影像杂志(电子版)*, 2020, 10(1):22-48.
- [5] 左研科,邱丽霞,李慧霞. 安阳地区12851例消化道肿瘤疾病谱分析[J]. *华南预防医学*, 2022, 48(5):620-623.
- [6] 杜炜玮,段铮,胡斌. 经皮RFA治疗原发性肝癌的效果及对血清TGF- β 1、EGR2水平的影响[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(4):635-638.
- [7] 阎赞梦,王鹏辉,叶亚菲. 基于生物信息学筛选肝细胞癌血管侵袭特征基因和预后标志物[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2022, 57(4):569-573.
- [8] Zhang J, Guo G, Li T, et al. Early versus Late Recurrence of Hepatocellular Carcinoma after Microwave Ablation: Patterns, Treatments, and Post-Recurrence Survival [J]. *Oncology*, 2024, 102(9):785-793.
- [9] Koch C, Bette T, Waidmann O, et al. AFP ratio predicts HCC recurrence after liver transplantation [J]. *PLoS One*, 2020, 15(7):e0235576.
- [10] 张刘璐,刘迎春,揭平平,等. MRI及甲胎蛋白对原发性肝细胞癌射频消融术后疗效的评估价值[J]. *国际医学放射学杂志*, 2023, 46(3):273-277.
- [11] 陈国群,周亚东,陈湘. 结直肠癌中miR-182-5p通过靶向Tiam1抑制肿瘤血管新生[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(5):749-754.
- [12] K p A, Toprak C, Bayam E, et al. Serum Endocan Levels Predict Drug-Eluting Stent Restenosis in Patients with Stable Angina Pectoris[J]. *Acta Cardiol Sin*, 2020, 36(2):111-117.
- [13] 仲伟明,吴银亚,段后张,等. 血清ESM-1水平预测肝细胞癌患者射频消融术后早期复发的临床意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2023, 28(10):907-912.

·论 著·

血清 GDF15、FGF23 联合 CCTA 定量参数对冠心病患者 PCI 术后 MACE 的预测价值

范慧娟^{1*} 陈长英² 李海禹³ 吕佳芮¹ 侯星因¹ 陈兰兰¹

【摘要】 目的 分析血清生长分化因子 15(GDF15)、成纤维细胞生长因子 23(FGF23)联合冠脉 CT 血管造影术(CCTA)定量参数对冠心病患者经皮冠状动脉介入术(PCI)后心血管不良事件(MACE)的临床价值。**方法** 选择 2020 年 12 月至 2023 年 8 月于郑州大学第一附属医院行 PCI 治疗的 200 例冠心病患者,根据患者术后 6 个月是否发生 MACE 分为 MACE 组和非 MACE 组。所有患者均行 CCTA 检查,比较两组 CCTA 相关参数和血清 GDF15、FGF23 水平,分析各指标对 MACE 发生的预测价值。**结果** 200 例患者中有 71 例发生 MACE,发生率为 35.50%,未发生 MACE 129 例(64.50%)。MACE 组患者 GDF15、FGF23 水平、斑块总体积、低密度非钙化斑块(LDNCP)体积、直径狭窄度高于非缺血组,钙化斑块(CP)体积低于非 MACE 组,差异有统计学意义($P<0.05$); logistic 回归分析显示,LDNCP 体积增加、直径狭窄度增加、GDF15 和 FGF23 水平升高和 CP 体积减少为影响患者 PCI 术后 MACE 发生的独立危险因素($P<0.05$); ROC 分析显示,CP 体积、LDNCP 体积、直径狭窄度、GDF15、FGF23 和联合检测的 ROC 曲线下面积分别为 0.697、0.721、0.732、0.674、0.898。**结论** CCTA 定量参数联合血清 GDF15、FGF23 水平检测对冠心病患者 PCI 术后 MACE 的发生具有一定预测价值。

【关键词】 冠心病; 心血管不良事件; 血清生长分化因子 15; 冠脉 CT 血管造影

Predictive value of serum GDF15, FGF23 and CCTA quantitative parameters for MACE in patients with coronary heart disease after PCI

FAN Huijuan^{1*}, CHEN Changying², LI Haiyu³, LV Jiarui¹, HOU Xingnai¹, CHEN Lanlan¹

(1. Cardiac Interventional Operation Room, 2. Department of Quality Control, 3. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450052)

【ABSTRACT】 Objective To analyze the clinical predictive value of serum growth differentiation factor 15 (GDF15), fibroblast growth factor 23 (FGF23) and coronary CT angiography (CCTA) quantitative parameters for major adverse cardiovascular events (MACE) in patients with coronary heart disease after percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** A total of 200 patients with coronary heart disease undergoing PCI at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University were enrolled between December 2020 and August 2023. They were divided into two groups based on the presence or absence of MACE at 6 months after surgery: the MACE group and the non-MACE group. All patients underwent CCTA. The levels of CCTA parameters, serum GDF15, and FGF23 were compared between the two groups, and their predictive value for MACE was analyzed. **Results** Among the 200 patients, there were 71 cases (35.50%) with MACE and 129 cases (64.50%) without MACE. The levels of GDF15 and FGF23, total volume of plaques, volume and diameter stenosis of low-density non-calcified plaque (LDNCP) in the MACE group were higher than those in the non-MACE group, while the volume of calcified plaque (CP) was smaller than that in the non-MACE group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that larger LDNCP volume, greater diameter stenosis, in-

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20220268)

作者单位:1. 郑州大学第一附属医院心内介入手术室,河南,郑州 450052

2. 郑州大学第一附属医院质量控制处,河南,郑州 450052

3. 郑州大学第一附属医院心内科,河南,郑州 450052

*通信作者:范慧娟, E-mail:15137157629@163.com

creased GDF15 and FGF23 levels, and smaller CP volume decrease were independent risk factors for MACE after PCI ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the ROC curve (AUC) values of CP volume, LDNCP volume, diameter stenosis, GDF15, FGF23, and combined detection for predicting MACE were 0.697, 0.721, 0.732, 0.674 and 0.898, respectively. **Conclusion** CCTA quantitative parameters combined with serum GDF15 and FGF23 have a certain predictive value for MACE in patients with coronary heart disease after undergoing PCI.

[KEY WORDS] Coronary heart disease; Major adverse cardiovascular event; Serum growth differentiation factor 15; Coronary CT angiography

冠心病是一种严重危害身体健康的缺血性心脏疾病,容易造成患者心肌缺血、缺氧或者坏死等,严重者可能发生猝死^[1]。经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)术能够改善患者心脏功能、提高患者生存率,但再灌注过程中可能导致患者心肌氧自由基产生过多、细胞内钙超载等现象发生,部分患者术后可能出现近期心血管不良事件(Major adverse cardiovascular events, MACE)。因此,早期对冠心病患者进行 MACE 相关指标监测并采取有效干预措施有利于改善患者预后。冠状动脉 CT 血管造影术(coronary CT angiography, CCTA)是目前临床广泛用于诊断冠心病的无创影像技术,可评估冠脉狭窄程度,具有可重复、无创等优点。但 CCTA 检测在心肌血流灌注功能学方面评价有限,仍需联合其他检测手段提高诊断效能^[2]。研究发现^[3-4],血清生长分化因子 15(recombinant growth differentiation factor 15, GDF15)及成纤维细胞生长因子 23(fibroblast growth factor 23, FGF23)均参与了动脉粥样硬化过程,可能成为新的影响心血管疾病的危险因素。本研究通过对 200 例行 PCI 患者体内的 GDF15、FGF23 水平和 CCTA 检测结果进行比较分析,探讨联合检测对 PCI 术后 MACE 发生的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 12 月至 2023 年 8 月于郑州大学第一附属医院行 PCI 治疗的 200 例冠心病患者作为观察对象。男性 112 例,女性 88 例;年龄 50~78 岁,平均年龄(63.45 ± 6.34)岁;吸烟史 52 例;高血压 84 例,糖尿病 89 例,心血管疾病家族史 27 例。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②符合冠心病诊断标准^[5];③符合 PCI 术指征;④患者及家属均签署知情同意书。排除标准:①血液或免疫系统缺陷疾病;②恶性肿瘤或接受化疗、妊娠;③临床资料不完

整。本研究经医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集患者性别、年龄和体质指数(body mass index, BMI)等一般资料。

1.2.2 GDF15 和 FGF23 水平检测

于术前抽取患者外周静脉血,离心(2 000 r/min, 离心半径 6 cm, 10 min)取上清液,采用酶联免疫吸附法测定 GDF15 和 FGF23 水平,试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司,所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.3 CCTA 检测^[6]

入组患者均进行 PCI 手术,术后 1 周采用安科 ANATOMI6 多层螺旋 CT 机对患者进行扫描。扫描参数:探测器宽度 2 cm,旋转时间 0.35 s,管电压 120 kV,管电流 350 mA,扫描范围为主动脉弓上 1 cm 至心脏膈面下 1 cm。静脉注射对比剂(70 mL 碘海醇+30 mL 0.9% 氯化钠溶液),流率 5 mL/s;同时在升主动脉根部设定感兴趣区监测 CT 衰减,当其达到 100 Hu 时嘱患者屏气进行扫描。检测结果由 AW4.7 后处理工作站进行处理,测量总斑块体积、钙化斑块(calcified plaque, CP)体积、低密度非钙化斑块(low density non calcified plaques, LDNCP)体积、直径狭窄度。

1.2.4 MACE 评估标准^[7]

患者接受 PCI 治疗后均进行电话或门诊随访 6 个月。随访起始时间为手术日,每个月随访 1 次。记录随访期间心源性死亡、心绞痛、非致死性心肌梗死等不良心血管事件发生情况,将术后 6 个月发生上述不良心血管事件的患者纳入 MACE 组,反之纳入非 MACE 组。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 28.0 统计学软件分析数据,对于满足正态分布的计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,运用独立 t 检验;采用二元 Logistic 回归分析影响冠心病患

者 PCI 术后 MACE 发生的独立危险因素;采用受试者操作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC),并计算曲线下面积(area under curve, AUC)分析 MACE 发生单独及联合的预测效果; $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 冠心病患者发生情况

200 例患者中有 71 例发生 MACE,发生率为 35.50%,129 例未发生 MACE(64.50%)。

2.2 两组血清学指标和 CCTA 参数比较

两组 GDF15、FGF23 水平、斑块总体积、LDNCP 体积、CP 体积、直径狭窄度和 FFR 比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清学指标和 CCTA 参数比较($\bar{x}\pm s$)

临床特征	MACE 组 (n=71)	非 MACE 组 (n=129)	t 值	P 值
斑块总体积(mm ³)	47.59±10.32	42.67±8.51	2.449	0.015
CP 体积(mm ³)	6.45±1.64	8.02±1.26	5.222	<0.001
LDNCP 体积(mm ³)	11.97±3.24	9.85±2.41	3.667	<0.001
直径狭窄度(%)	17.27±3.32	13.19±3.25	5.431	<0.001
FFR	0.69±0.10	0.86±0.05	12.913	<0.001
GDF15(ng/mL)	1.19±0.32	1.01±0.29	2.662	0.008
FGF23(ng/mL)	2.47±0.27	2.13±0.23	2.448	0.011

2.3 logistic 回归分析 MACE 发生的危险因素

以患者术后是否发生 MACE 事件为因变量,将发生赋值为“1”,未发生赋值为“0”。对表 1 中有统计学意义的指标进行 logistic 向前回归分析。结果如表 3 所示,LDNCP 体积增加、直径狭窄度增加、GDF15 水平的升高、FGF23 水平升高和 CP 体积减

少为患者 MACE 发生的独立危险因素($P<0.05$),OR 值分别为 1.362、1.340、16.986、2.321、0.462。见表 2。

2.4 ROC 曲线分析各指标对 MACE 事件发生的预测价值

CP 体积、LDNCP 体积、直径狭窄度、GDF15、FGF23 的 ROC 曲线下面积(Area Under Curve, AUC)分别为 0.697、0.721、0.732、0.674。联合检测的 ROC 曲线下面积为 0.898,敏感度为 0.886,特异度为 0.604,且其预测价值明显高于各指标单独检测($P<0.05$)。见表 3、图 1。

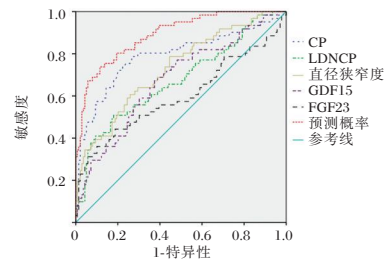


图 1 ROC 曲线

3 讨论

PCI 手术可以开通狭窄或阻塞的冠状动脉,改善心肌血供,缓解症状,但仍有部分患者术后容易发生 MACE,造成患者预后不佳。因此,寻找早期预测冠心病患者术后发生 MACE 风险的潜在关键指标对改善冠心病患者不良预后具有重要意义。

研究发现^[8],CCTA 斑块定量参数变化与冠心病患者心肌缺血性损伤有关,总斑块体积与 LDNCP 体积可作为冠心病不良预后的预测指标。

表 2 患者 MACE 发生危险因素的 logistic 回归分析

指标	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
斑块总体积(mm ³)	原值输入	0.032	0.025	1.679	1.032	0.984~1.083	0.195
CP 体积(mm ³)	原值输入	-0.773	0.167	21.514	0.462	0.333~0.640	<0.001
LDNCP 体积(mm ³)	原值输入	0.309	0.090	11.795	1.362	1.142~1.625	0.001
直径狭窄度(%)	原值输入	0.293	0.069	17.991	1.340	1.171~1.534	<0.001
GDF15(ng/mL)	原值输入	2.832	0.865	10.719	16.986	3.117~92.567	0.001
FGF23(ng/mL)	原值输入	0.842	0.258	10.651	2.321	1.400~3.848	0.001

表 3 各指标对患者 MACE 发生预测价值的 ROC 指标水平分析

指标	AUC	95% 置信区间	敏感度	特异度	截断值	P 值
CP 体积	0.697	0.595~0.799	0.762	0.609	7.257 mm ³	<0.001 ^a
LDNCP 体积	0.721	0.614~0.829	0.619	0.821	12.007 mm ³	<0.001 ^a
直径狭窄度	0.732	0.643~0.821	0.810	0.559	13.700%	<0.001 ^a
GDF15	0.674	0.575~0.772	0.667	0.616	1.087 ng/mL	0.002 ^a
FGF23	0.725	0.657~0.786	0.809	0.598	2.234 ng/mL	<0.001 ^a
联合检测	0.898	0.837~0.960	0.905	0.536		<0.001

注:与联合检测比较,^a $P<0.05$ 。

国外研究也发现^[9], 心肌缺血患者斑块体积、低密度斑块体积高于非缺血患者。既往研究显示^[10], LDNCP 斑块, 尤其是脂质成分斑块与心源性猝死等不良心血管事件密切相关, LDNCP 体积增加可能代表斑块破裂的风险越大。相关研究也证实^[11], 通过 CCTA 检查患者病变血管狭窄率及病变斑块可评估患者心肌缺血情况。本研究中, MACE 组 GDF15、FGF23 水平、斑块总体积、LDNCP 体积、CP 体积、直径狭窄度与非 MACE 组间存在显著差异, 并且 LDNCP 体积增加、直径狭窄度增加、GDF15、FGF23 水平的升高和 CP 体积减少为 MACE 发生的独立危险因素。本研究结果提示, 患者冠脉总斑块体积和 LDNCP 体积的增大预示着冠心病 PCI 术后发生 MACE 的风险升高。

GDF15 和 FGF23 均为人体内的促炎因子, GDF15 由内皮细胞、心肌细胞等在机体缺血、炎症因子刺激等情况下产生和分泌, FGF23 是心肌生长的直接刺激因子, 可以在不改变收缩性的情况下影响心肌细胞的功能, 提示其在舒张功能障碍中发挥作用。蔡宇豪等^[12]的研究发现, 冠心病 PCI 术后支架内再狭窄患者体内 GDF15 和 FGF23 水平明显升高, 且 GDF15 和 FGF23 水平的升高可作为预测支架内再狭窄的危险因素。张净等^[13]的研究发现, 急性冠脉综合征患者 PCI 术后心肌损伤组血清 GDF15 水平高于非心肌损伤组, 为心肌损伤发生的危险因素。本研究中, MACE 组 GDF15 和 FGF23 水平高于非 MACE 组, 结果说明 GDF15 和 FGF23 参与冠心病的进展过程, 对于 PCI 不良预后事件具有一定的预测价值。有研究认为^[14], GDF15 能引发细胞外基质结构异常, 影响动脉血管舒张功能, 并且可以参与血管上皮细胞外基质的破坏。还有研究则认为^[15], 心肌损伤发生时 GDF15 水平的迅速升高可抑制缺血所致细胞凋亡, 减轻心肌损伤, 加速心肌组织修复。因此, 虽然 GDF15 参与心血管疾病的具体机制尚不明确, 但其水平的升高对于心肌损伤发生的预测价值已得到证实。FGF23 水平的升高则可能是由于冠心病患者常伴随肾脏血管管腔狭窄影响肾功能, 导致 FGF23 在肾小球中的滤过和重吸收不足, 大量 FGF23 进入血液, 使得 FGF23 水平升高。

综上所述, 斑块总体积、LDNCP 体积、CP 体积、直径狭窄度以及 GDF15 和 FGF23 均可作为评估 MACE 发生的检测指标, 其中 LDNCP 体积增

加、直径狭窄度增加、GDF15 水平的升高和 CP 体积减少为 MACE 发生的危险因素, 联合检测预测 MACE 发生的敏感度高于单一指标检测。提示将血清学指标与影像学指标相结合可全面掌握患者心脏和血管的静态形态和动态状况, 有利于更准确地预测 MACE 的发生。

参考文献

- [1] 赵玉龙, 白杨, 陈立刚, 等. 血管内治疗老年未破裂动脉瘤的预后分析[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(6): 38-41.
- [2] 杨喆, 叶刚, 王高生. CCTA 与 ICA 评估冠心病患者冠状动脉斑块特征及其与心肌缺血性损伤的相关性[J]. 西部医学, 2023, 35(7): 1083-1088.
- [3] 张前进, 胡金娥, 胡一川. 血清 CERP, SF, α -Klotho, FGF-23 水平在 2 型糖尿病患者白蛋白尿进展中的预测价值[J]. 医学分子生物学杂志, 2024, 21(1): 51-56.
- [4] 祁亚楠, 赵平, 田志强, 等. 血清 Mb, GDF-15, ADAM9 与 35 岁以下急性心肌梗死发生及心源性死亡的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(7): 1315-1319.
- [5] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [6] 李小玲, 黄文荣, 李开成. CTA 检查联合血清 GRP78 检测对心肌缺血性冠心病的诊断价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2023, 21(6): 75-77.
- [7] 王晶, 王全帮, 杨艳, 等. 冠脉 CT 血管造影对冠心病患者 MACE 的预测价值[J]. 心血管康复医学杂志, 2022, 31(4): 418-423.
- [8] 罗江, 祝唯, 苗涵. 冠脉 CT 血管成像斑块定量参数预测冠心病患者心肌缺血事件的临床价值[J]. 分子影像学杂志, 2023, 46(2): 347-351.
- [9] Barbieri F, Bleckwenn S, Stoessl L, et al. Bicuspid aortic valve is associated with less coronary artery calcium and coronary artery disease burden by computed tomography[J]. Eur Heart J, 2021, 42(1): 192-195.
- [10] 徐永平, 赵新斌, 赵鹤亮. 心肌桥-壁冠状动脉与心肌缺血的相关性研究[J]. 临床心血管病杂志, 2018, 34(7): 709-712.
- [11] 马方伟, 张蕾, 陈首名, 等. 64 层 CCTA 对冠心病患者冠状动脉狭窄的诊断价值[J]. 西部医学, 2023, 35(7): 1079-1082+1088.
- [12] 蔡宇豪, 王崇丽, 江丽丽. 外周血 GDF-15 和 FGF23 表达水平与冠心病介入治疗患者术后支架内再狭窄的关系[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(21): 2278-2281.
- [13] 张净, 易蔚, 贺清, 等. 血清 GDF-15、HIF-1 α 、MMP-1 水平与 PCI 术后心肌损伤的关系探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(13): 2398-2402.
- [14] 崔婧, 贾方, 孙建辉. 生长分化因子-15 与心血管疾病[J]. 国际心血管病杂志, 2018, 45(1): 35-38.
- [15] Buljubasic N, Vroegindewey MM, Oemrawsingh RM, et al. Temporal Pattern of Growth Differentiation Factor-15 Protein After Acute Coronary Syndrome (From the BIOMArCS Study)[J]. Am J Cardiol, 2019, 124(1): 8-13.

·论 著·

2型糖尿病合并骨质疏松患者血清IGF-1、Lp-PLA2检测及意义

王娟¹ 李宪江¹ 车名花^{2*}

【摘要】目的 研究2型糖尿病(T2DM)合并骨质疏松(OP)患者血清胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、脂蛋白相关磷脂酶A2(Lp-PLA2)检测及意义。**方法** 选择2022年10月至2023年10月期间在南京市栖霞区医院就诊的T2DM患者,分为合并OP的T2DM+OP组($n=96$)、骨密度正常的T2DM组($n=125$),将骨密度正常的健康者作为对照组($n=108$)。检测血清IGF-1、Lp-PLA2、骨代谢指标及骨密度值。**结果** T2DM+OP组的血清IGF-1、P I NP、OC、OPG水平以及骨密度值低于T2DM组 and 对照组, Lp-PLA2、 β -CTX水平高于T2DM组 and 对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);T2DM合并OP患者血清IGF-1水平与血清P I NP、OC、OPG水平以及骨密度值呈正相关,与血清 β -CTX水平呈负相关;血清Lp-PLA2水平与血清P I NP、OC、OPG水平以及骨密度值呈负相关,与血清 β -CTX水平呈正相关;血清IGF-1联合Lp-PLA2对T2DM合并OP具有诊断价值。**结论** T2DM合并OP患者的血清IGF-1水平降低、Lp-PLA2水平增加与骨密度降低、骨代谢异常相关,两项血清指标对T2DM合并OP具有诊断价值。

【关键词】 2型糖尿病;骨质疏松;胰岛素样生长因子-1;脂蛋白相关磷脂酶A2;骨代谢

Detection and significance of serum IGF - 1 and Lp - PLA2 in type 2 diabetes mellitus patients complicated with osteoporosis

WANG Juan¹, LI Xianjiang¹, CHE Minghua^{2*}

(1. Endocrinology Department, Qixia District Hospital, Nanjing, Jiangsu, China, 210000; 2. Endocrinology department, Yixing Traditional Chinese Medicine Hospital, Yixing, Jiangsu, China, 214299)

【ABSTRACT】 Objective To investigate the detection and significance of serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) in type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients complicated with osteoporosis (OP). **Methods** T2DM patients admitted to Qixia District Hospital in Nanjing from October 2022 to October 2023 were selected and divided into T2DM+OP group with OP ($n=96$) and T2DM group with normal bone mineral density ($n=125$). Healthy subjects with normal bone mineral density were selected as control group ($n=108$). Serum levels of IGF-1, Lp-PLA2, bone metabolism indexes, bone mineral density were measured. **Results** The levels of serum IGF-1, P I NP, OC, OPG and bone mineral density in T2DM+OP group were lower than those in T2DM and control group, and the levels of Lp-PLA2 and β -CTX were higher than those in T2DM and control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). In T2DM patients complicated with OP, serum IGF-1 level was positively correlated with serum P I NP, OC, OPG and bone mineral density, and negatively correlated with serum β -CTX level; serum Lp-PLA2 level was negatively correlated with serum P I NP, OC, OPG and bone mineral density, and positively correlated with serum β -CTX level. Serum IGF-1 combined with Lp-PLA2 had diagnostic value for T2DM with OP. **Conclusion** The decrease of serum IGF-1 level and the increase of Lp-PLA2 level in T2DM patients with OP are correlated with the decrease of bone mineral density and abnormal bone metabolism. These two serum indexes have diagnostic value for T2DM patients with OP.

【KEY WORDS】 Type 2 diabetes mellitus; Osteoporosis; Insulin-like growth factor-1; Lipoprotein-associated phospholipase A2; Bone metabolism

基金项目:江苏省卫生健康委科研课题(Ym2023046)

作者单位:1.南京市栖霞区医院内分泌科,江苏,南京 210000

2.宜兴市中医院内分泌科,江苏,宜兴 214299

*通信作者:车名花, E-mail:cheminghua_love@126.com

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种常见的慢性代谢性疾病,患者不仅血糖升高、代谢紊乱,还常常合并多种慢性并发症。骨质疏松(osteoporosis, OP)便是其中之一,据统计^[1-2],超过20%的T2DM患者伴有OP。T2DM合并OP患者表现为骨微结构破坏、骨骼脆性增加、骨代谢紊乱以及骨折风险增高。T2DM和OP的共同病理生理特征是代谢紊乱。胰岛素样生长因子-1(insulin growth factor 1, IGF-1)和脂蛋白相关磷脂酶A2(lipoprotein associated phospholipase A2, Lp-PLA2)是与糖脂代谢紊乱相关的两种分子。已有研究表明^[3-4],血清IGF-1和Lp-PLA2水平的变化与T2DM血管并发症的发生发展紧密相关。在骨代谢方面,IGF-1具有促进骨形成的作用,而Lp-PLA2后者具有促进骨吸收的作用^[5-6]。然而,IGF-1和Lp-PLA2在T2DM合并OP中的应用价值尚不明确。因此,本研究旨在通过分析T2DM合并OP患者血清中IGF-1、Lp-PLA2与骨密度、骨代谢的关系,初步探讨检测IGF-1、Lp-PLA2在T2DM合并OP中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2022年10月至2023年10月期间在南京市栖霞区医院就诊的T2DM患者,包括96例合并OP的T2DM患者以及125例骨密度正常的T2DM患者。纳入标准:①符合《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》^[7]中T2DM的诊断标准;②参照《原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)》^[8]判断骨密度正常或OP;③均接受双能X射线骨密度仪检测;④均留取血清样本。排除标准:①正在服用影响骨代谢药物的患者;②合并恶性肿瘤、甲状腺疾病、甲状旁腺疾病以及代谢性骨病的患者;③心肝肾等重要脏器功能不全的患者。另取同期体检且经双能X射线骨密度仪检查证实骨密度正常的108例健康者作为对照组。本研究获得南京市栖霞区医院伦理委员会批准,取得入组受试者的知情同意。

T2DM合并OP患者作为T2DM+OP组,骨密

度正常的T2DM患者作为T2DM组,健康者作为对照组。三组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

1.2 观察指标

血清IGF-1、Lp-PLA2水平,骨代谢标志物I型前胶原氨基端前肽(type I procollagen N-terminal propeptide, P I NP)、骨钙素(osteocalcin, OC)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG)、I型胶原羧基端肽 β 特殊序列(collagen-carboxy-terminal β -special sequence, β -CTX)水平,股骨颈及腰椎L1-L4骨密度值。

1.3 研究方法

1.3.1 血清指标检测

T2DM+OP组、T2DM组患者于入组当天或次日采集空腹外周静脉血5 mL,对照组受试者于体检时采集空腹外周静脉血5 mL,3 500 r/min离心10 min。取血清放置于 -80°C 保存备用。采用酶联免疫吸附试验检测血清IGF-1、Lp-PLA2水平,试剂盒购自武汉赛洛菲生物科技有限公司;血清P I NP、OC、OPG、 β -CTX的水平采用美国罗氏公司的COBAS-C6000生化免疫分析仪进行检测。

1.3.2 骨密度值检测

采用GE公司的双能X射线骨密度仪Lunar iDXA进行骨密度值检测,选择标准扫描模式,测定股骨颈及腰椎L1-L4的骨密度值。

1.4 统计学分析

采用SPSS 24.0软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料($\bar{x}\pm s$)表示,多组间采用单因素方差分析、两两比较采用LSD-t法。采用Pearson检验进行相关性分析。采用受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)分析血清IGF-1、Lp-PLA2水平对T2DM患者OP的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清IGF-1、Lp-PLA2水平比较

T2DM+OP组的血清IGF-1水平低于T2DM组 and 对照组, Lp-PLA2水平高于T2DM组和对照组,

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

组别	<i>n</i>	性别(男/女)	年龄(岁)	体质量指数(kg/m^2)	吸烟史	饮酒史
T2DM+OP组	96	49/47	62.48 $\pm$ 9.39	22.94 $\pm$ 3.91	26(27.08)	16(16.67)
T2DM组	125	60/65	62.19 $\pm$ 10.14	23.51 $\pm$ 4.45	35(28.00)	19(15.20)
对照组	108	55/53	61.51 $\pm$ 10.94	22.85 $\pm$ 4.09	32(29.63)	15(13.89)
<i>F</i> 值		0.276	0.496	0.375	0.170	0.393
<i>P</i> 值		0.871	0.409	0.633	0.919	0.822

差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 三组血清 IGF-1、Lp-PLA2 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IGF-1 (ng/mL)	Lp-PLA2 (ng/mL)
T2DM+OP 组	96	18.59±3.31 ^{ab}	114.67±15.52 ^{ab}
T2DM 组	125	32.74±6.89	81.52±11.77
对照组	108	33.91±5.12	78.56±10.34
<i>F</i> 值		247.129	258.054
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

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

2.2 三组血清骨代谢标志物比较

T2DM+OP 组的血清 P I NP、OC、OPG 水平低于 T2DM 组和对照组,β-CTX 水平高于 T2DM 组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 三组血清骨代谢标志物比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	P I NP (ng/mL)	OC (ng/mL)	OPG (pmol/L)	β-CTX (pg/mL)
T2DM+OP 组	96	76.61±11.59 ^{ab}	8.59±1.25 ^{ab}	5.49±0.85 ^{ab}	3.95±0.84 ^{ab}
T2DM 组	125	134.85±18.46	11.88±1.54	7.14±0.97	5.14±0.96
对照组	108	131.99±16.61	12.04±1.78	7.82±1.09	5.48±0.89
<i>F</i> 值		425.547	160.791	150.961	79.032
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

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

2.3 三组骨密度值比较

T2DM+OP 组的股骨颈、腰椎 L1-L4 骨密度值均低于 T2DM 组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

2.4 T2DM 合并 OP 患者血清 IGF-1、Lp-PLA2 水平与骨代谢标志物、骨密度值的相关性

T2DM 合并 OP 患者血清 IGF-1 水平与血清 P I NP、OC、OPG 水平以及骨密度值呈正相关,与血清 β-CTX 水平呈负相关;血清 Lp-PLA2 水平与血清 P I NP、OC、OPG 水平以及骨密度值呈负相关,与血清 β-CTX 水平呈正相关。见表5。

2.5 血清 IGF-1、Lp-PLA2 水平对 T2DM 合并 OP 的诊断价值

血清 IGF-1、Lp-PLA2 水平两项指标单独及联合均对 T2DM 合并 OP 具有诊断价值。见表6、图1。

表5 T2DM 合并 OP 患者血清 IGF-1、Lp-PLA2 水平与骨代谢标志物、骨密度值的相关性

指标	IGF-1		Lp-PLA2	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
P I NP	0.412	<0.05	-0.397	<0.05
OC	0.339	<0.05	-0.461	<0.05
OPG	0.528	<0.05	-0.374	<0.05
β-CTX	-0.485	<0.05	0.447	<0.05
股骨颈骨密度值	0.394	<0.05	-0.426	<0.05
腰椎 L1 骨密度值	0.449	<0.05	-0.395	<0.05
腰椎 L2 骨密度值	0.512	<0.05	-0.487	<0.05
腰椎 L3 骨密度值	0.484	<0.05	-0.417	<0.05
腰椎 L4 骨密度值	0.429	<0.05	-0.457	<0.05

表6 血清 IGF-1、Lp-PLA2 水平对 T2DM 合并 OP 的诊断价值

诊断指标	AUC	95%CI	<i>P</i> 值	灵敏度 (%)	特异度 (%)
IGF-1	0.792	0.712~0.871	<0.001	75.95	77.59
Lp-PLA2	0.808	0.734~0.882	<0.001	72.50	81.13
IGF-1+Lp-PLA2	0.923	0.878~0.968	<0.001	87.50	87.50

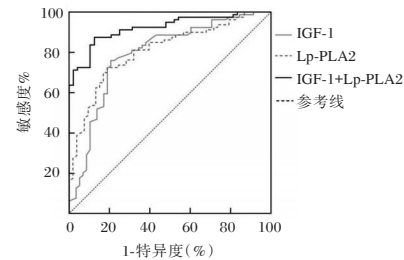


图1 ROC 曲线

3 讨论

我国 T2DM 的发病率呈逐年快速增加趋势,OP 是 T2DM 患者累积骨骼系统的并发症,高糖环境下骨代谢发生异常、骨吸收超过骨形成是 T2DM 患者发生 OP 的病理生理基础,T2DM 患者在上述病理生理基础上出现骨微结构改变、骨骼矿物质丢失、骨密度下降,最终发生 OP^[9]。T2DM 合并 OP 患者的骨折风险较高,一旦发生骨折,具有较高的致残率和致死率。因此,准确诊断 T2DM 合并 OP,对 T2DM 合并 OP 患者的骨密度和骨代谢特征进行评估具有重要临床意义。

表4 三组骨密度值比较 [$(\bar{x}\pm s)$, g/cm²]

组别	<i>n</i>	股骨颈骨密度值	腰椎骨密度值			
			腰椎 L1	腰椎 L2	腰椎 L3	腰椎 L4
T2DM+OP 组	96	0.67±0.09 ^{ab}	0.48±0.07 ^{ab}	0.46±0.06 ^{ab}	0.34±0.06 ^{ab}	0.50±0.07 ^{ab}
T2DM 组	125	0.85±0.12	0.67±0.09	0.70±0.08	0.52±0.07	0.68±0.09
对照组	108	0.88±0.13	0.69±0.10	0.72±0.09	0.50±0.07	0.71±0.10
<i>F</i> 值		97.442	174.743	345.786	221.727	167.399
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

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

IGF-1是一种类似于胰岛素原的多肽,具有促进有丝分裂及增殖、调控细胞分化等活性。成骨细胞表面具有IGF-1的高亲和力受体,IGF-1对成骨细胞增殖和分化均具有促进作用^[10]。目前普遍认为IGF-1是一种骨形成促进分子,IGF-1对糖尿病合并骨质疏松骨折大鼠模型的骨折愈合具有促进作用、骨代谢具有改善作用^[11]。在T2DM的发生发展过程中,IGF-1的生成受到糖毒性、脂毒性以及胰岛素抵抗等生物学因素的影响,IGF-1水平降低会加重代谢紊乱,也参与多种糖尿病慢性并发症的发生^[12-13]。本研究的结果显示:T2DM合并OP患者的血清IGF-1水平降低与股骨及腰椎的骨密度值呈正相关,这一结果与李凤丽等^[14]的研究结果相似,提示T2DM患者血清IGF-1水平降低与骨密度丢失、OP的发病相关。

Lp-PLA2是一种介导脂毒性的水解酶,具有催化脂质水解产生游离脂肪酸的作用,催化产物具有促炎和促氧化活性,能够引起组织损伤、参与糖尿病血管并发症的发生发展^[15-16]。在骨代谢的调控中,Lp-PLA2催化产生的游离脂肪酸显著促进破骨细胞分化,进而促进骨吸收、导致骨量丢失及骨微结构破坏^[17]。本研究的结果显示:T2DM合并OP患者的血清Lp-PLA2水平升高且与股骨及腰椎的骨密度值呈负相关,这一结果与Cui G的研究结果相似^[5],提示T2DM患者血清Lp-PLA2水平增加与骨密度丢失、OP的发病相关。

OP发生发展过程中骨代谢的异常包括成骨细胞介导的骨形成减弱、破骨细胞介导的骨吸收增强。反映骨形成的标志物有P I NP、OC、OPG,反映骨吸收的标志物有 β -CTX。IGF-1和Lp-PLA2与这些标志物的相关性分析显示:T2DM合并OP患者的血清IGF-1和Lp-PLA2的水平与骨代谢标志物具有相关性,提示IGF-1降低、Lp-PLA2增多可能通过影响骨代谢导致T2DM患者骨密度丢失,参与了T2DM合并OP的发生。

最后,本研究对血清IGF-1和Lp-PLA2诊断T2DM合并OP的价值进行分析,结果显示:两项血清指标均对T2DM合并OP具有诊断价值,且血清IGF-1和Lp-PLA2联合诊断的灵敏度和特异度均超过80%。

综上所述,T2DM合并OP患者的血清IGF-1水平降低、Lp-PLA2水平增加与骨密度降低、骨代谢异常相关,两项血清指标对T2DM合并OP具有诊断价值。

参考文献

- [1] Tan YQ, Ng DX, Gunasekaran K, et al. Clinical characteristics and risk factors of osteoporosis among older Asian men with type-2 diabetes mellitus, hypertension, or hyperlipidaemia[J]. Arch Osteoporos, 2024, 19(1):83.
- [2] Luo W, Li X, Zhou Y, et al. Correlation between bone mineral density and type 2 diabetes mellitus in elderly men and postmenopausal women[J]. Sci Rep, 2024, 14(1):15078.
- [3] Liu GW, Zeng JE, Li LF. Correlation analysis of serum IGF-1 and IL-6 and urinary albumin/creatinine ratio in patients with type 2 diabetic kidney disease [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 9(13): 1082492.
- [4] Yu B, Shi G, Yang F, et al. Correlation of LP-PLA2 and MMP-9 with the occurrence of early neurological deterioration in patients with acute ischemic stroke [J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(21): e38310.
- [5] Cui G, Xu N, Zhao S, et al. TC and LDL-C are negatively correlated with bone mineral density in patients with osteoporosis[J]. Am J Transl Res, 2024, 16(1):163-178.
- [6] Fang J, Zhang X, Chen X, et al. The role of insulin-like growth factor-1 in bone remodeling: A review [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 31(238): 124125.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(4): 311-398.
- [8] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2022)[J]. 中国全科医学, 2023, 26(14): 1671-1691.
- [9] 周永进, 徐桂娟, 魏爱淳, 等. 老年糖尿病性骨质疏松症患者BGP、 β -CTX、N-MID、OPG水平变化及与骨密度的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(11): 1961-1964.
- [10] Zeng J, Deng J, He C, et al. IGF-1 Induces Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells by Promoting SOX4 via the MAPK/ERK Pathway [J]. Int J Stem Cells, 2024, 17(4):418-426.
- [11] 常乐, 赵轶男, 宋瑶, 等. IGF-1联合BMP-2对糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠中的骨折愈合影响分析[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(24): 4627-4631.
- [12] Hong JY, Kim H, Yeo C, et al. Uwhangchungsimwon Inhibits Oxygen Glucose Deprivation/Re-Oxygenation-Induced Cell Death through Neuronal VEGF and IGF-1 Receptor Signaling and Synaptic Remodeling in Cortical Neurons [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(7): 1388.
- [13] Upreti S, Sen S, Nag TC, et al. Insulin like growth factor-1 works synergistically with dopamine to attenuate diabetic retinopathy by downregulating vascular endothelial growth factor [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 149:112868.
- [14] 李凤丽, 李茂山, 何丽, 等. 血清IGF-1、IL-1 β 水平与2型糖尿病患者骨密度的相关性及其监测的临床意义[J]. 实验与检验医学, 2020, 38(1): 89-91.
- [15] Pantazi D, Tellis C, Tselepis AD. Oxidized phospholipids and lipoprotein-associated phospholipase A (2) (Lp-PLA (2)) in atherosclerotic cardiovascular disease: An update [J]. Biofactors, 2022, 48(6):1257-1270.
- [16] Zhang S, Huang S, Hu D, et al. Biological Properties and Clinical Significance of Lipoprotein-Associated Phospholipase A (2) in Ischemic Stroke [J]. Card Ther, 2022, 14(2022): 3328574.
- [17] Hansen MS, Madsen K, Price M, et al. Transcriptional reprogramming during human osteoclast differentiation identifies regulators of osteoclast activity[J]. Bone Res, 2024, 12(1):5.

·论 著·

血清 GRP78、sCD163、*miR-29a* 水平对重度烧伤患者并发脓毒症的预测价值

张方¹ 李丹² 崔庆伟^{1*}

【摘要】目的 探讨血清葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、可溶性血红蛋白清道夫受体 (sCD163)、微小核糖核酸-29a (*miR-29a*) 水平对重度烧伤患者并发脓毒症的预测价值。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2024 年 1 月陆军第七十一集团军医院收治的 102 例重度烧伤患者, 根据是否并发脓毒症分为非脓毒症组 ($n=32$) 和脓毒症组 ($n=70$)。比较两组血清 GRP78、sCD163 水平及 *miR-29a* 表达量, Logistic 回归分析影响患者并发脓毒症的因素, 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析患者血清 GRP78、sCD163 水平和 *miR-29a* 的表达对并发脓毒症的预测效能。**结果** 脓毒症组的总烧伤面积、GRP78、sCD163 水平均高于非脓毒症组 ($P<0.05$), 脓毒症组的 *miR-29a* 表达量低于非脓毒症组 ($P<0.05$)。Logistic 回归分析结果显示, 重度烧伤患者的总烧伤面积、血清 GRP78、sCD163 水平是并发脓毒症的危险因素 ($P<0.05$), *miR-29a* 的表达是并发脓毒症的保护因素 ($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示, 患者血清中 GRP78、sCD163 水平和 *miR-29a* 的表达量预测脓毒症并发的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.902、0.821、0.889, 敏感度和特异度分别为 0.814、0.937、0.543、0.969、0.771、0.937, 联合预测的 AUC 为 0.976, 敏感度和特异度分别为 0.943、0.967。**结论** 重度烧伤并发脓症患者血清 GRP78、sCD163 水平升高, *miR-29a* 表达量降低, 均为脓毒症的危险因素, 三者联合预测对脓毒症预后具有重要的预测价值。

【关键词】 GRP78; sCD163; *miR-29a*; 重度烧伤; 脓毒症; 炎症

Predictive value of serum GRP78, sCD163, and *miR-29a* levels in severe burn patients with concurrent sepsis

ZHANG Fang¹, LI Dan², CUI Qingwei^{1*}

[1. Department of Burn Plastic Surgery; 2. Department of TCM Rehabilitation Physiotherapy, Huaihai Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University (71st Army Military Hospital), Xuzhou, Jiangsu, China, 221000]

【ABSTRACT】Objective To investigate the predictive value of serum glucose-regulated protein 78 (GRP78), soluble hemoglobin scavenger receptor (sCD163), and microRibonucleic Acid-29a (*miR-29a*) levels in patients with severe burns complicating sepsis. **Methods** 102 patients with severe burns admitted to the 71st Army Group Military Hospital from January 2021 to January 2024 were selected and divided into the non-sepsis group ($n=32$) and the sepsis group ($n=70$) according to whether or not sepsis was complicated. Serum GRP78, sCD163 levels and *miR-29a* expression were compared between the two groups, logistic regression was used to analyze the factors affecting the patients' complication of sepsis, and subject work characteristics (ROC) curves were used to analyze the predictive efficacy of the patients' serum GRP78, sCD163 levels and *miR-29a* expression on complication of sepsis. **Results** The total burn area, GRP78, and sCD163 levels in the sepsis group were higher than those in the non-sepsis group ($P<0.05$), *miR-29a* expression was lower in the sepsis group compared to the non-sepsis group ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that total burn area, serum GRP78, and sCD163 levels in patients with severe burns were risk factors for sepsis complication ($P<0.05$), whereas *miR-29a* expression was a protective factor against sepsis ($P<0.05$). ROC curve analysis

基金项目:江苏省老年健康科研项目(LKZ2022004)

作者单位:1. 徐州医科大学附属淮海医院(陆军第七十一集团军医院)烧伤整形科, 江苏, 徐州 221000

2. 徐州医科大学附属淮海医院(陆军第七十一集团军医院)中医康复理疗科, 江苏, 徐州 221000

*通信作者:崔庆伟, E-mail:82465531@qq.com

showed that the area under the curve (AUC) for predicting sepsis based on serum GRP78, sCD163 levels, and *miR-29a* expression were 0.902, 0.821, and 0.889. The sensitivity and specificity were 0.814 and 0.937 for GRP78, 0.543 and 0.969 for sCD163, and 0.771 and 0.937 for *miR-29a*. The combined prediction had an AUC of 0.976, with a sensitivity of 0.943 and a specificity 0.967. **Conclusion** Serum GRP78 and sCD163 levels are elevated and *miR-29a* expression is decreased in patients with severe burns complicating sepsis, all of which are risk factors for sepsis, and the combination of the three has an important predictive value for sepsis prognosis.

[KEY WORDS] GRP78; sCD163; *miR-29a*; severe burns; sepsis; inflammation

脓毒症是由病原体感染引起的多器官功能障碍,可引发免疫缺陷和炎症反应等临床表现^[1]。重度烧伤患者由于皮肤屏障受损、病原体入侵、免疫功能异常以及组织创伤坏死等,导致全身性感染甚至脓毒症^[2]。脓毒症病死率极高,是重度烧伤患者的主要死因,因此对脓毒症进行早期预测具有重要意义^[3]。葡萄糖调节蛋白 78(Glucose-regulating protein 78, GRP78)又称为免疫球蛋白重链结合蛋白,是一种分子伴侣,对蛋白质的组装、降解和内质网 Ca^{2+} 稳态的调节具有重要意义。当内质网发生应激时,细胞膜上的 GRP78 过表达,可介导病原体侵入细胞^[4]。可溶性血红蛋白清道夫受体(Soluble hemoglobin scavenger receptor 163, sCD163)是一种跨膜糖蛋白,可促进炎症反应的发生,在感染性疾病中发挥着重要的作用^[5]。微小核糖核酸-29a(MicroRNA-29a, *miR-29a*)是一种 microRNA,能够调控炎症反应与氧化应激,参与机体感染进程^[6]。本研究旨在探讨重度烧伤患者血清中 GRP78、sCD163 水平及 *miR-29a* 的表达情况,分析重度烧伤患者并发脓毒症的影响因素,并评估三者对脓毒症的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2024 年 1 月陆军第七十一集团军医院烧伤整形科收治的 102 例重度烧伤患者为研究对象,根据患者是否并发脓毒症分为非脓毒症组(32 例)和脓毒症组(70 例)。脓毒症诊断标准^[5]:①发热或低体温;②心率 >90 次/min;③气促,呼吸频率 >20 次/min;④白细胞增多或减少。以上具备两项即可诊断为脓毒症。纳入标准:①符合《烧伤感染的诊断标准与治疗指南(2012 版)》^[7]关于重度烧伤的诊断标准;②年龄 18~65 岁;③获得患者知情同意。排除标准:①患有自身免疫性疾病;②伴有严重器官功能障碍;③伴有恶性肿瘤;④病历资料不完整。本研究经陆军第七十一集团军医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

记录两组患者的人口学资料,包括性别、年龄、体质量指数(Body mass index, BMI)、合并糖尿病、高血压、冠心病情况和总烧伤面积。

1.2.2 实验室指标检测

GRP78、sCD163 检测:采集两组患者清晨空腹外周静脉血 6 mL,分为 2 管,每管各 3 mL。在 4℃ 下(转速 1 500 r/min,半径 10 cm)离心 10 min 后取上清液,标本均为清澈透明、无溶血污染的标本。血清 GRP78 采用酶联免疫吸附法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)检测,检测仪器全自动酶联免疫分析仪由上海基因有限公司生产,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。sCD163 采用 ELISA 检测,检测仪器为产自深圳市汇松科技发展有限公司的 PW-960 型酶标仪,试剂盒购自美国 R&D 公司。具体操作步骤严格按照说明书执行。

***miR-29a* 检测:**采集两组患者清晨空腹外周静脉血 4 mL,在 4℃ 下(转速 2 500 r/min,半径 10 cm)离心 10 min 后取上清液。取出血清样本,按照 1:3 的比例加入 Trizol 提取剂后充分摇匀,于室温下静置 15 min,提取血清 RNA。以 DEPC 水(Diethylpyrocarbonate water, DEPC-treated Water)作为对照,紫外分光光度计检测 RNA 浓度及纯度。*miR-29a* 采用 poly(A)加尾法逆转录,加入 miRNA Taqman 试剂,每逆转录 10 μL 作为 1 个反应体系,逆转录反应参数:37℃ 60 min, 95℃ 5 min,将逆转录产物 cDNA 稀释 10 倍,采用 CFX96 型实时荧光定量基因扩增仪(美国 Bio-Rad 公司)进行 PCR 扩增:以 *U6* 作为内参,预变性(95℃, 30 s),高温变性(95℃, 10 s),退火及延伸(60℃, 30 s),持续 40 个循环。利用 CFX manager 3.0 软件分析 CT 值,通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算血清 *miR-29a* 表达量。引物序列:*miR-29a*: F: 5'-GAGGTTGGGATCGGTTGC-3', R: 5'-AGTGCAGGGTCCGAGGTAT T-3'; *U6*: F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', R: 5'-AAC-

GCTT CACGAATTTGCGT-3'。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 进行数据分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验;多因素 Logistic 回归分析重度烧伤患者并发脓毒症的影响因素;ROC 曲线(ROC)分析重度烧伤患者血清中 GRP78、sCD163 水平和 *miR-29a* 表达量的预测效能。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 影响重度烧伤患者并发脓毒症的单因素分析

两组患者年龄、男女性别、BMI、合并糖尿病、合并高血压和合并冠心病占比等情况的差异无统计学意义($P > 0.05$)。与非脓毒症组相比,脓毒症组的总烧伤面积、血清 GRP78 和 sCD163 水平较高,而 *miR-29a* 表达量较低($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 影响重度烧伤患者并发脓毒症的单因素分析

[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]				
因素	脓毒症组 ($n=70$)	非脓毒症组 ($n=32$)	χ^2/t 值	P 值
年龄			0.975	0.323
≤60	38(54.29)	14(43.75)		
>60	32(45.71)	18(56.25)		
性别			0.018	0.894
男	34(48.57)	16(50.00)		
女	36(51.43)	16(50.00)		
总烧伤面积(%)	42.56±8.47	30.18±10.25	6.404	<0.001
BMI(kg/m ²)	20.48±4.17	19.87±4.53	0.667	0.506
合并糖尿病			0.377	0.539
是	33(47.14)	13(40.63)		
否	37(52.86)	19(59.37)		
合并高血压			0.060	0.807
是	39(55.71)	17(53.13)		
否	31(44.29)	15(46.87)		
合并冠心病			0.099	0.753
是	24(34.29)	12(37.50)		
否	46(65.71)	20(62.50)		
GRP78(ng/mL)	25.43±4.67	18.49±2.72	7.810	<0.001
sCD163(ng/mL)	61.39±9.95	48.51±9.94	6.068	<0.001
<i>miR-29a</i>	9.04±2.45	12.99±2.14	7.849	<0.001

2.2 影响重度烧伤患者并发脓毒症的多因素 Logistic 回归分析

以上述单因素分析中差异有统计学意义的因素为自变量,以患者是否并发脓毒症为因变量,赋值并发脓毒症=1,未并发脓毒症=0。多因素 Logistic 回归显示,重度烧伤患者的总烧伤面积、血清 GRP78 和 sCD163 水平是脓毒症并发的危险因素,*miR-29a* 表达是脓毒症并发的保护因素($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 影响重度烧伤患者并发脓毒症的多因素 Logistic 回归分析

因素	变量赋值	β 值	$S.E$ 值	Wals 值	OR 值	95% CI	P 值
常量		-9.382	4.827	3.777	0.000		0.050
总烧伤面积	连续变量	0.178	0.077	5.294	1.195	1.027~1.391	0.021
GRP78	连续变量	0.392	0.156	6.326	1.479	1.090~2.007	0.012
sCD163	连续变量	0.105	0.049	4.522	1.111	1.008~1.223	0.033
<i>miR-29a</i>	连续变量	-0.918	0.316	8.447	0.399	0.215~0.742	0.004

2.3 影响重度烧伤患者并发脓毒症的 ROC 曲线

ROC 曲线结果显示,患者外周血 GRP78、sCD163 水平和 *miR-29a* 表达量均对重度烧伤患者并发脓毒症具有良好的预测效能($P < 0.05$),但 3 项联合预测效能更好,AUC 为 0.976,联合预测的敏感度和特异性均高于单一检测($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

表 3 影响重度烧伤患者并发脓毒症的 ROC 曲线结果

变量	AUC	敏感度	特异度	95%CI	最佳截断值	P 值
GRP78	0.902	0.814	0.937	0.845~0.959	21.96 ng/mL	<0.001
sCD163	0.821	0.543	0.969	0.737~0.904	62.24 ng/mL	<0.001
<i>miR-29a</i>	0.889	0.771	0.937	0.829~0.950	10.52	<0.001
联合预测	0.976	0.943	0.969	0.948~1.000		<0.001

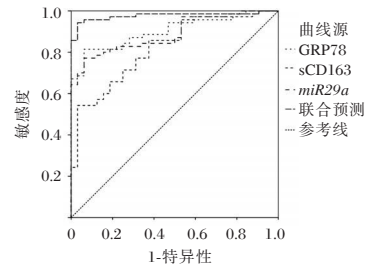


图 1 ROC 曲线分析

3 讨论

烧伤会刺激机体释放大量炎症因子,导致机体免疫功能下降,并可能发展为脓毒症^[8]。脓毒症常作为外科手术及烧伤后的并发症出现,其根源在于感染,表现为全身性的炎症反应。若治疗不及时,病情将恶化,可能导致器官功能受损及血液循环障碍,对患者的生命健康构成严重威胁^[9]。脓毒症的生物标志物包括急性期蛋白、细胞因子、miRNA 等,进行脓毒症早期诊断和预后评估,对预防重度烧伤患者并发脓毒症及预后具有重要意义^[10]。

本研究结果表明总烧伤面积加大会加重烧伤后脓毒症的发生风险。烧伤面积越大,内质网应激和炎症反应越严重,因此,烧伤面积的扩大是促使患者并发脓毒症的重要原因^[11]。此外,本研究还发现,脓毒症组和非脓毒症组外周血 GRP78、sCD163 水平和 *miR-29a* 表达量存在显著差异:脓

脓毒症组外周血 GRP78、sCD163 水平明显高于非脓毒症组,miR-29a 表达量则反之,说明以上指标与重度烧伤并发脓毒症患者的病情密切相关。因此,对重度烧伤并发脓症患者进行早期诊断,对于患者预后的改善非常重要。

GRP78 作为一种内质网结合蛋白,是内质网应激和稳态调节的重要因子^[12]。内质网应激主要由蛋白激酶 R 样内质网激酶(Protein kinase R-like ER kinase, PERK)、肌醇需求酶 1(Inositol requiring enzyme 1, IRE1)和转录因子(Activating transcription factor 6, ATF6)6 等跨膜蛋白介导。正常情况下,GRP78 与这三种跨膜蛋白结合,内质网应激时,GRP78 与跨膜蛋白解离,并进一步激活下游的内质网应激信号。脓毒症的发生会引发内质网应激,导致 GRP78 从跨膜蛋白分离,诱导 GRP78 蛋白及其他内质网分子伴侣表达,从而促进细胞凋亡,进而起到保护内质网的作用^[13]。本研究结果显示,脓毒症组患者血清 GRP78 水平更高,这可能与脓症患者因细菌感染、炎症反应、Ca²⁺代谢紊乱等因素引起内质网应激有关。sCD163 是 CD163 的可溶性形式,主要分布于血液和组织液中。血清中 sCD163 水平升高是免疫功能异常的重要标志之一^[4]。重度烧伤会导致患者体内的炎症水平升高及免疫功能异常,从而促进脓毒症的发生。本研究结果表明,重度烧伤并发脓毒症会进一步加剧机体炎症反应,单核巨噬细胞活化合成分泌大量 sCD163 蛋白。而 sCD163 蛋白水平的升高能够抑制 B 淋巴细胞分泌免疫球蛋白和 T 淋巴细胞的活化,导致机体免疫功能进一步受损,从而促进脓毒症的发生与发展^[14]。本研究中,重度烧伤并发脓症患者血清中 miR-29a 表达量显著较低。miR-29a 参与调控细胞氧化应激和炎症反应,其过表达可降低活性氧(Reactive oxygen species, ROS)水平,从而减轻细胞氧化损伤^[15]。研究发现^[16],miR-29a 通过介导 Gsk-3 β /Nrf2 信号的传导,调控细胞过氧化和炎症反应。本研究联合 ROC 曲线分析结果显示,血清 GRP78、sCD163 和 miR-29a 联合预测优于单一指标预测,提示联合预测能显著提高预测准确性,为重度烧伤患者并发脓毒症的早期诊断提供依据。

综上所述,重度烧伤患者的总烧伤面积和血清 GRP78、sCD163 水平和 miR-29a 表达量均是脓毒症并发的影响因素。其中,血清 GRP78、sCD163 水平升高和 miR-29a 表达降低均对重度烧伤并发

脓毒症具有较高的预测价值,且三者联合预测效能高于单项预测,为早期诊断烧伤患者并发脓毒症提供可靠依据。

参考文献

- [1] 张丽华,张莉,张丽萍,等.脓症患者肠内营养喂养不耐受现状及影响因素研究[J].华南预防医学,2023,49(2):174-178.
- [2] 姚咏明,张卉,童亚林.深化对烧伤脓毒症诊断体系与治疗策略的认识[J].中华烧伤杂志,2021,37(5):404-409.
- [3] 李晋,付晓蕊,沈括,等.249例烧伤患者创面感染病原菌分布及耐药性[J].中华医院感染学杂志,2022,32(24):3742-3746.
- [4] Xia S, Duan W, Liu W, et al. GRP78 in lung cancer[J]. J Transl Med, 2021, 19(1):1-14.
- [5] 中国医师协会急诊医师分会,中国研究型医院学会休克与脓毒症专业委员会.中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J].中国急救医学,2018,38(9):741-756.
- [6] Li WW, Cao AH, Sun FY. LncRNA MIAT stimulates oxidative stress in the hypoxic pulmonary hypertension model by sponging miR-29a-5p and inhibiting Nrf2 pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(17):9022-9029.
- [7] 黄承,蒲运刚,田仁富,等. ANXA1 拟肽 Ac2-26 对脓毒症大鼠急性肾损伤及中性粒细胞凋亡过程的影响[J].中国免疫学杂志,2024,40(6):1160-1165.
- [8] 中国医师协会烧伤医师分会《烧伤感染诊治指南》编辑委员会.烧伤感染的诊断标准与治疗指南(2012版)[J].中华烧伤杂志,2012,28(6):401-403.
- [9] Pérez AO, Tapia ET, Ahumada CC, et al. Enrichment of H3S28p and H3K9me2 Epigenetic Marks on Inflammatory-Associated Gene Promoters in Response to Severe Burn Injury[J]. Life, 2024, 14(12):1581.
- [10] Barichello T, Generoso JS, Singer M, et al. Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis-a narrative review[J]. Crit Care, 2022, 26(1):14.
- [11] 过云,赵朋,施静.烧伤创面感染病原学特点及影响因素分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(17):2683-2686+2695.
- [12] 高逸云,詹欣雨,周浩明.内质网应激调控巨噬细胞免疫应答在肝脏疾病中的作用[J].器官移植,2024,15(6):889-894.
- [13] 胡楠楠,赵成奥,高芹,等.内质网应激在妊娠期糖尿病中的作用及生物活性成分防治的研究进展[J].中国病理生理杂志,2024,40(7):1316-1323.
- [14] Ding AK, Wallis ZK, White KS, et al. Galectin-3, Galectin-9, and Interleukin-18 Are Associated with Monocyte/Macrophage Activation and Turnover More so than Simian Immunodeficiency Virus-Associated Cardiac Pathology or Encephalitis[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2024, 40(9):531-542.
- [15] Lin HY, Yang YL, Wang PW, et al. The emerging role of microRNAs in NAFLD: highlight of microRNA-29a in modulating oxidative stress, inflammation, and beyond[J]. Cells, 2020, 9(4):1041-1041.
- [16] Tian R, Guan X, Qian H, et al. Restoration of NRF2 attenuates myocardial ischemia reperfusion injury through mediating microRNA-29a-3p/CCNT2 axis[J]. Biofactors, 2021, 47(3):414-426.

· 综述 ·

酶定向改造及其在基因检测中的研究进展

彭荣俞¹ 蒋析文^{1,2*}

【摘要】 作为自然界的生物催化剂,酶能够催化广泛的化学转化,不仅反应条件温和,而且活性和选择性高。然而,天然酶对非天然物质的催化活性或对其底物选择性的不足均限制了它们的工业应用,通过酶的定向改造可提高酶的催化活性和稳定性,同时提高可识别的底物范围。本文综述了酶的定向改造过程,包括突变文库的构建和筛选方法,以及酶定向改造的相关研究在基因检测领域的应用,通过对酶的定向改造,提高了基因检测的灵敏度、检测范围及检测条件。

【关键词】 酶;生物催化;定向改造;高通量筛选;基因检测

Research progress on enzyme-directed medication and its application in gene detection

PENG Rongyu¹, JIANG Xiwen^{1,2*}

(1. School of Chemistry and Chemical engineering, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong, China, 528458; 2. The Research Institute of Daan Gene Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong, China, 510665)

【ABSTRACT】 As natural biocatalysts, enzymes can catalyze a wide range of chemical transformations with mild reaction conditions, high activity, and selectivity. However, the lack of catalytic activity or enantiomeric selectivity of natural enzymes for non-natural substances limits their industrial applications. Directed evolution of enzymes, can improve the catalytic activity and stability of enzymes, while expanding the range of substrates that can be recognized. This article reviews the process of directed enzyme modification, including the construction and screening methods of mutation libraries, as well as the application of related research on enzyme directed modification in the field of genetic testing. Through directed modification of enzyme, the sensitivity, detection range, and detection conditions of genetic testing have been improved.

【KEY WORDS】 Enzyme; Biocatalysis; Directed evolution; High-throughput screening; Gene detection

酶是由氨基酸构成的大型生物大分子,能有效催化多种代谢过程^[1]。随着生物化学的发展,酶在合成精细化学品和药物中的应用逐渐受到重视。然而,天然酶常表现出低活性和不稳定性,限制了其工业应用。因此,蛋白质工程方法,如定向进化和理性设计,成为优化酶性能的重要手段^[2-3]。

定向进化通过模拟自然选择,快速改造酶的特性,包括设计突变基因库、筛选改进变体和分离编码基因。近年来,该技术在医疗、生命科学和环境工程等领域取得了显著进展,诺贝尔化学奖也表彰了其在酶进化方面的贡献^[4]。

在基因检测中,酶扮演了关键角色,影响检测结果的准确性^[5]。因此,提高酶的活性和稳定性对于生命科学研究至关重要。本文综述了酶定向改造的关键步骤及其在基因检测中最新的研究进展,并强调其在未来生物催化和基因检测技术中的潜在影响。

1 酶的定向改造

1.1 突变文库的构建

从大量的酶改造工程工作中可以看到,有益突变的比例非常低,突变文库的筛选通常只能鉴

基金项目:广州市科技计划项目(2024B01J1277)

作者单位:1. 广东药科大学医药化工学院,广东,广州 528458

2. 广州达安基因股份有限公司研究院,广东,广州 510665

*通信作者:蒋析文, E-mail: yuanyecat@vip.sina.com

定到少于10到20个的活性增强的突变^[6]。并且这些突变基因会导致蛋白质折叠形态被破坏,蛋白功能失效,并且会随着突变负荷的增加而增加。为了最大限度地提高定向进化的成功率,人们逐渐开始控制突变数量、突变位置以及探究突变影响因素^[7]。使用易于操作且完善的全基因随机诱变方法,例如易错聚合酶链式反应(Error-Prone PCR, epPCR)或全质粒大引物PCR(Megaprimer PCR of Whole Plasmid, MEGAWHOP)可构建一个容量为550 000个突变体的突变体库,并对突变负荷以及基因的转换和颠换之间的平衡进行一些控制^[8]。常用的文库构建方法包括epPCR、全质粒大引物PCR(Megaprimer PCR of Whole Plasmid, MEGAWHOP)、饱和突变(Saturation Mutagenesis)、DNA改组(DNA Shuffling)、体外随机重组(Random-Priming in Vitro Recombination, RPR)、交错延伸(Staggered Extension Process, StEP)等方法^[9-11]。

1.2 突变体的筛选

随着酶工程的发展,众多学者已开发出多种突变方法来增加酶的遗传多样性。随机诱变产生的基因文库通常非常大,这使得识别所需变体的过程变得困难。平板筛选作为最简单的筛选形式,已广泛应用于鉴定所需的酶变体,其中琼脂平板筛选和微量滴定板筛选是两种主要类型^[12]。微量滴定板筛选灵活且易于实施,可用于大多数蛋白质的工程改造^[13]。

1.2.1 琼脂平板测定法

琼脂平板测定法(Agar plate screening)是一种传统筛选方法,将突变体与底物一起孵育以在琼脂上产生视觉信号,例如颜色或荧光变化,通过对视觉信号的检测以评估突变体酶活性^[14]。Jankowski N开发了一种新的基于琼脂板的检测,使用不同的芳基醇氧化酶(aryl-alcohol oxidase, AAO)底物在琼脂板中筛选毕赤酵母中产生H₂O₂的AAO突变体,可用于AAO的快速和底物特异性筛选^[15]。琼脂平板法操作简单,易于执行,但不太适合量化文库中单个酶变体的催化活性。此外,其分析通量相对较低(每轮可进行10⁴次检测),因此琼脂平板测定法更广泛地用作高通量预筛选工具。例如从易错PCR或多位点饱和诱变中获得的酶文库,将有希望的突变体与活性较低、无活性或中性的突变体分开,减少筛选工作量^[16]。

1.2.2 微量滴定板筛选

另一项微量滴定板筛选(microtiter plate screening)方法也是文库筛选最常用的形式,多基于细菌细胞培养,通过微孔板对与菌株生长、耐受相关的催化酶进行高效筛选^[17]。使用标准平板读数器可以很容易地对96孔板中的样品进行紫外-可见光吸光度检测和荧光检测。还可以使用液相色谱/质谱或气相色谱/质谱分析每个微孔的内容物^[18]。因此,MTP可以定量检测每个突变体的活性测量值,与选择测定相比,为文库评估提供了更可靠的数据集。尽管其定量检测效率较高,但每孔所能容纳的样本量较小,为后续操作带了许多困难和挑战。

1.2.3 荧光激活细胞分选

与传统的筛查方法相比,荧光激活细胞分选(Fluorescence-activated cell sorting, FACS)是一种强大的高通量筛选(high throughput screening, HTS)技术,用于细胞内酶变体的筛选^[19]。FACS可以以每秒高达400 000个细胞的速度筛选和分选细胞,理论上甚至可以在2分钟的时间内完成对一百万个变体的筛选,此外,在这种情况下,样本分析体积从实际上的几微升减少到大约单个细菌细胞的体积。FACS在使用时需要将酶编码基因和表型(功能性状,例如催化活性)之间的物理联系限制在单细胞水平,这确保了追溯和识别有益基因突变的可能性^[20]。2022年,通过对细胞膜上的乳糖通透酶LacY基因的底物精确特异性,可辅助将荧光糖基化产物与未反应的底物区分开来,FACS筛选方法每小时可获得107个的 α 1,3-糖基转移酶突变体^[20]。

2 酶的定向改造在基因检测中的应用

基因组学是一项开创性的科学事业,为生物提供了近乎完整的遗传密码图谱,由此延伸出多种新型的测序技术和计算方法,使基因组学能够应用于临床。目前社会中多种疾病大量增加,治疗效果与手段无法起到较大的效果,人们开始寄希望于通过基因检测手段提高诊断的正确率,同时探究基因突变与疾病的关系以开发新的治疗手段^[21]。如今,酶的定向改造技术近年来在蛋白质工程领域取得了显著进展,尤其在基因检测领域的应用更是引人注目。通过对酶的定向改造,可以有效提高检测准确度、扩展检测范围以及优化检测条件。

2.1 提高检测灵敏度的应用

核酸酶如 EcoRI、Hind III 等^[22],在临床 DNA 分析和基因克隆中因其精确切割特定序列的能力而被广泛应用。通过定向进化技术,如 Samuelson 等^[23]对嗜热性限制性内切酶 BstYI 的改造,提高了其对特定序列“AGATCT”的切割特异性,从而在基因检测中显著提升了酶的底物识别特异性。此外,DNA 连接酶和聚合酶的定向进化也显著提高了检测灵敏度。例如,Wilson 等^[24]通过结构域融合提高了 T4 DNA 连接酶的体外连接效率,而 Luo 等^[25]则通过定点诱变提升了嗜热菌 DNA 连接酶的保真度,增强了单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)的检测效率。同样,Tanabe 等^[26]对超热稳定性 DNA 连接酶的结构引导突变分析,不仅提高了其在低温下的连接效率,还进一步增强了连接酶活性,使其可应用于 PCR 扩增反应。在聚合酶方面,Lim 等^[27]通过定向进化策略提高了栖热菌(Taq)DNA 聚合酶的错配辨别能力,使得在基因组 DNA 中突变等位基因频率极低的情况下也能进行有效检测。这些改进都极大地提高了生物检测和医学诊断的灵敏度。

2.2 扩展检测范围的应用

逆转录酶(Reverse transcriptase, RT)作为 RNA 依赖性 DNA 聚合酶,在合成遗传学中扮演着关键角色。通过定向进化,如 Ellefson 使用逆转录-区室化自我复制(Reverse transcription-compartmentalized self-replication, RT-CSR)策略,从 DNA 聚合酶中进化出了独特的逆转录异种聚合酶(Reverse transcription xenopolymerase, RTX),提高了 RT 的保真度,从而扩展了其可应用的 RNA 模板范围^[28]。此外,RT 也日益成为新兴合成遗传学领域的关键支持工具,如 Houlihan 等^[29]通过区室化珠子标记技术定向进化得到了能高效识别非天然人工合成的异种核酸(Xeno nucleic acid, XNA)的新型 RT,包括 2'-O-甲基 RNA 和己糖醇核酸(Hexitol nucleic acids, HNA),显著扩展了 RT 的检测范围。同时,Zhou 等^[30]通过荧光定向进化平台进化了针对 N1-甲基腺苷(m1A)的 HIV-1 逆转录酶,能够检测特征明确的 m1A 位点,这有助于人们更深入地认识复杂的 RNA 修饰图谱,进一步扩展了检测范围。

2.3 优化检测条件的应用

修饰酶通过分子修饰在 RNA 或 DNA 中插入稀有碱基或对原有碱基进行分子修饰,提高了酶

的活性和空间稳定性,从而在优化检测条件方面发挥了重要作用。例如,在基因工程中,组蛋白修饰酶的定向进化提高了其热稳定性,使得在复杂样本中的检测更加稳定可靠。Leemhuis 等^[31]通过易错 PCR 随机诱变产生的突变体,经过两轮定向进化后获得了热稳定性更高的组蛋白修饰酶突变体。此外,对卤化物甲基转移酶(Halide methyltransferase, HMT)的定向进化提高了其与乙基、丙基和烯丙基碘的反应效率,从而提高了生物中碘的检测效率^[32]。在 DNA 连接酶方面,通过对大肠杆菌碱性磷酸酶的编码序列和调控序列进行易错 PCR,有效提高了细胞酶活性,进而提升了 DNA 连接酶效率^[33]。最后,对细菌 DNA 甲基转移酶(MTases)的定向进化产生了具有广泛 DNA 靶标特异性的 MTases,为序列特异性共价 DNA 标记提供了新的工具,进一步优化了 DNA 研究和诊断的检测条件^[34]。

3 结语与展望

一般来说,野生型酶在生物催化中的应用受到限制,因为在高温和有机溶剂中的稳定性较低,限制了野生酶在极端 pH 和温度条件下的应用。酶定向改造工程是一个强大的工具,它涉及到多种相关技术,如基因组学、生物信息学、晶体学和相关的新技术,以获得和生产具有更好的性能的生物催化酶。随着分子技术的发展,酶定向改造中的突变体文库设计逐渐与现在计算机模拟技术相结合,并为自动化工作流程铺平道路。在未来的发展中,除了已经在酶工程中使用的传统技术之外,还将继续发展更多新技术来满足不同工业部门的不同需求,从而促进工业酶学及其应用。

目前,基因工程逐渐参与进人们的生活,为医疗、工业等领域创造了巨大的价值。多种工具酶如核酸酶、连接酶、DNA 聚合酶、修饰酶、反转录酶,在基因检测的历史发展中扮演着关键角色,随着多种检测基因的出现,各种工具酶需要不断进行定向改造以适应多种新底物催化反应以及适应生产及研究效率。在实际操作中,除上述提及的 5 项常用工具酶之外,还有很多参与基因遗传信息的传递的工具酶未被提及,在未来还会有更多新的酶不断被发现和使用。

参考文献

- [1] Scrutton NS. Unravelling the complexity of enzyme catalysis

- [J]. FEBS J, 2023,290(9):2204-2207.
- [2] Sternke M, Tripp KW, Barrick D. The use of consensus sequence information to engineer stability and activity in proteins [J]. Methods Enzymol, 2020,643:149-179.
- [3] Tan YQ, Xue B, Yew WS. Genetically Encodable Scaffolds for Optimizing Enzyme Function[J]. Molecules, 2021,26(5):1389.
- [4] Victorino da Silva Amatto I, Gonsales da Rosa -Garzon N, Antônio de Oliveira Simões F, et al. Enzyme engineering and its industrial applications [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2022,69(2):389-409.
- [5] Li J, Li Y, Li Y, et al. An enhanced activity and thermostability of chimeric Bst DNA polymerase for isothermal amplification applications [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2023, 107(21):6527-6540.
- [6] Cadet XF, Gelly JC, van Noord A, et al. Learning Strategies in Protein Directed Evolution [J]. Methods Mol Biol, 2022, 2461:225-275.
- [7] Gargiulo S, Soumilion P. Directed evolution for enzyme development in biocatalysis [J]. Curr Opin Chem Biol, 2021, 61:107-113.
- [8] Liang Y, Luo J, Yang C, et al. Directed evolution of the PcbR allosteric transcription factor to generate a biosensor for 4-hydroxymandelic acid [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2022,38(6):104.
- [9] Voskarides K. Directed Evolution. The Legacy of a Nobel Prize[J]. J Mol Evol, 2021,89(3):189-191.
- [10] Qu G, Sun Z. In Silico Prediction Methods for Site-Saturation Mutagenesis[J]. Methods Mol Biol, 2022,2397:49-69.
- [11] Chen L, Liu R, Tan Q, et al. Improving the Herbicide Resistance of Rice 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase by DNA Shuffling Basis-Directed Evolution [J]. J Agric Food Chem, 2023,71(41):15186-15193.
- [12] Branson Y, Badenhorst CPS, Pfaff L, et al. High-Throughput Screening for Thermostable Polyester Hydrolases [J]. Methods Mol Biol, 2023,2555:153-165.
- [13] Lequeue S, Neuckermans J, Nulmans I, et al. A robust bacterial high-throughput screening system to evaluate single nucleotide polymorphisms of human homogentisate 1,2-dioxygenase in the context of alkaptonuria [J]. Sci Rep, 2022, 12(1):19452.
- [14] Schmitz F, Röder A, Hoffrogge M, et al. Agar plate-based activity assay for easy and fast screening of recombinant *Pichia pastoris* expressing unspecific peroxxygenases [J]. Biotechnol J, 2024,19(1):e2300421.
- [15] Jankowski N, Koschorreck K. Agar plate assay for rapid screening of aryl-alcohol oxidase mutant libraries in *Pichia pastoris* [J]. J Biotechnol, 2022,346:47-51.
- [16] Branson Y, Schnell B, Zurr C, et al. An Extremely Sensitive Ultra-High Throughput Growth Selection Assay for the Identification of Amidase Activity [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2024,108(1):392.
- [17] Beneyton T, Rossignol T. Droplet-Based Microfluidic High-Throughput Screening of Enzyme Mutant Libraries Secreted by *Yarrowia lipolytica* [J]. Methods Mol Biol, 2021,2307:205-219.
- [18] Regel EK, Evers M, Liss M, et al. High-Throughput Screening Using UHPLC-MS To Characterize the Subsite Specificities of Chitosanases or Chitinases [J]. Anal Chem, 2020, 92(4):3246-3252.
- [19] Vallejo D, Nikoomanzar A, Paegel BM, et al. Fluorescence-Activated Droplet Sorting for Single-Cell Directed Evolution [J]. ACS Synth Biol, 2019,8(6):1430-1440.
- [20] Tan Y, Zhang X, Feng Y, et al. Directed Evolution of Glycosyltransferases by a Single-Cell Ultrahigh-Throughput FACS-Based Screening Method [J]. Methods Mol Biol, 2022,2461:211-224.
- [21] Yépez VA, Gusic M, Kopajtich R, et al. Clinical implementation of RNA sequencing for Mendelian disease diagnostics [J]. Genome Med, 2022,14(1):38.
- [22] Pingoud A, Wilson GG, Wende W. Type II restriction endonucleases--a historical perspective and more [J]. Nucleic Acids Res, 2014,42(12):7489-7527.
- [23] Samuelson JC, Xu SY. Directed evolution of restriction endonuclease BstYI to achieve increased substrate specificity [J]. J Mol Biol, 2002,319(3):673-683.
- [24] Wilson RH, Morton SK, Deiderick H, et al. Engineered DNA ligases with improved activities in vitro [J]. Protein Eng Des Sel, 2013,26(7):471-478.
- [25] Luo J, Bergstrom DE, Barany F. Improving the fidelity of *Thermus thermophilus* DNA ligase [J]. Nucleic Acids Res, 1996,24(15):3071-3078.
- [26] Tanabe M, Ishino S, Yohda M, et al. Structure-based mutational study of an archaeal DNA ligase towards improvement of ligation activity [J]. ChemBiochem, 2012, 13(17):2575-2582.
- [27] Lim Y, Park IH, Lee HH, et al. Modified Taq DNA Polymerase for Allele-Specific Ultra-Sensitive Detection of Genetic Variants [J]. J Mol Diagn, 2022,24(11):1128-1142.
- [28] Ellefson JW, Gollihar J, Shroff R, et al. Synthetic evolutionary origin of a proofreading reverse transcriptase [J]. Science, 2016,352(6293):1590-1593.
- [29] Houlihan G, Arangundy-Franklin S, Porebski BT, et al. Discovery and evolution of RNA and XNA reverse transcriptase function and fidelity [J]. Nat Chem, 2020,12(8):683-690.
- [30] Zhou H, Rauch S, Dai Q, et al. Evolution of a reverse transcriptase to map N1-methyladenosine in human messenger RNA [J]. Nat Methods, 2019,16(12):1281-1288.
- [31] Leemhuis H, Nightingale KP, Hollfelder F. Directed evolution of a histone acetyltransferase--enhancing thermostability, whilst maintaining catalytic activity and substrate specificity [J]. FEBS J, 2008,275(22):5635-5647.
- [32] Tang Q, Grathwol CW, Aslan-Üzel AS, et al. Directed Evolution of a Halide Methyltransferase Enables Biocatalytic Synthesis of Diverse SAM Analogs [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2021,60(3):1524-1527.
- [33] Huang X, Zhang XE, Zhou YF, et al. Directed evolution of the 5'-untranslated region of the *phoA* gene in *Escherichia coli* simultaneously yields a stronger promoter and a stronger Shine-Dalgarno sequence [J]. Biotechnol J, 2006,1(11):1275-1282.
- [34] Tomkuvienė M, Kriukienė E, Klimašauskas S. DNA Labeling Using DNA Methyltransferases [J]. Adv Exp Med Biol, 2022, 1389:535-562.

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。

