



ISSN 1674-6929

CN 44-1656/R

邮发代号: 46-283

分子诊断与治疗杂志

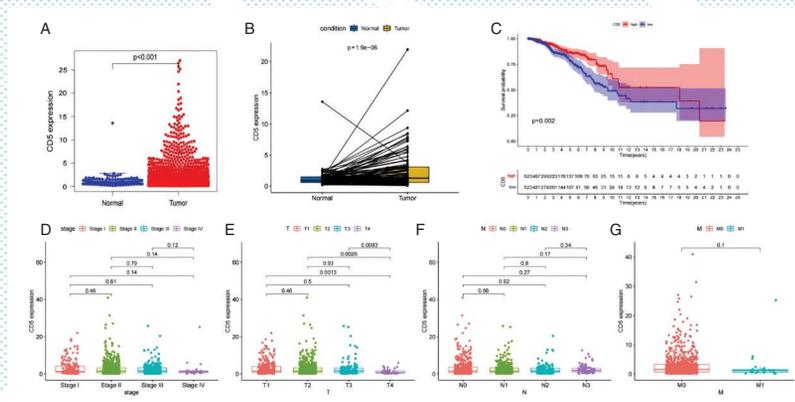
FENZI ZHENDUAN YU ZHILIAO ZAZHI

2025年4月 第17卷 第4期 总第128期

JOURNAL OF

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Volume 17 Number 4 April 2025



注:A为CD5在肿瘤和正常组织中的表达差异图;B为CD5在配对组织中的表达差异图;C为CD5表达的生存分析图;D、E、F、G为CD5表达与stage、TNM分期的散点图。

图(612) CD5表达、生存以及临床病理特征分析

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



04 >

9 771674 692259



分子诊断与治疗杂志

二〇二五年四月

第十七卷 第四期

中山大学



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。

中国科学院技术信息研究所

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 4 月 第 17 卷 第 4 期 总第 128 期 Monthly Volume 17 Number 4 April 2025

主管	中山大学
主办	《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 4 月 18 日
定价	RMB 15.00 元
Responsible Institution	<i>Sun Yat-sen University</i>
Sponsor	<i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i>
Editor in Chief	<i>ZHANG Yipeng</i>
Consultant	<i>SHEN Ziyu</i>
Editor in Chief	<i>LI Ming</i>
Managing Director	<i>LIU Yue</i>
Editorial Office	<i><JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY> Editorial Office</i>
Editors	<i>LI Xiaolan LI Caizhen MO Yuanhao LING Qianwen MAI Wei</i>
Editing	<i>China Family Doctors Magazine Publisher Co., Ltd.</i>
Add	<i>11 Fl., Xianglong Building, 179# Tian he bei Lu, Guangzhou, China 510620</i>
Tel	<i>(020) 32290789-206, 32290789-201</i>
E-mail	<i>jmdt@vip.163.com</i>
CSSN	<i>ISSN 1674-6929 CN 44-1656/R</i>
Printing	<i>TianYi Yofus Technology Co., Ltd.</i>
Publish Date	<i>2025.4.18</i>
Price	<i>RMB 15.00</i>



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4月 第17卷 第4期

目次

述评

FOXM1在乳腺癌发生发展中的研究进展 陈旭穹 张平 冯同保(589)

述评

MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后静脉血栓栓塞症的预测价值 孙潇 王春梅 陈婷等(593)

NLR、PLR、CA724对结直肠癌术后化疗疗效的预测价值 肖露 程庆荣 张振华等(596)

儿童社区获得性肺炎伴血流感染常规实验室指标评价 段友红 郭普 常滋毓等(601)

新生儿黄疸血清CRP、AFP、IL-6水平变化及对急性胆红素脑病的预测价值
..... 邱潇 董玉斌 曹亚芹(606)

CD5在乳腺癌中的表达及其与肿瘤微环境的关系 张晓洋 朱翠雯 马甜甜等(610)

血清GLP-1、PINP、SOST水平与甲状腺癌术后骨质疏松症的关系
..... 胡子玉 孙歆 崔超雄等(614)

MHR对晚期胃癌患者化疗疗效、预后的预测价值 王亚楠 林志强 寇卫政(618)

重症患者多重耐药菌感染病原菌、危险因素及与CRP、PCHE、HBDH的相关性
..... 靳晓云 许红飞 李会(622)

血清D-D水平联合CAPRINI评估对髋关节置换术后下肢深静脉血栓形成的预测效能
..... 刘璇 张斌斌 刘晓杰等(626)

血浆MIR-124、MIR-132表达水平与癫痫患者病情及认知功能的关系
..... 郭学廷 王守美 樊福强(630)

血清TLR9、IL-17、TIR联合检测对糖尿病足溃疡患者预后的预测价值
..... 宋秋艳 宋淑敏 翟红娟等(634)

丙型肝炎病毒现症感染者自身抗体特征分析 韩金育 孟欢 李昀晖等(638)

MIR-146B-5P和IL-17在三阴性乳腺癌中的表达及其临床意义 谷兆琪 高庆 李雨等(642)

2019-2022年泰安市食源性疾病流行特征及病原学分析 曹身云 李晓蕾 李琳等(646)

羊水过少合并胎儿窘迫孕妇超声血流特征及血清HIF-1 α 、ACTA水平分析
..... 王燕 柏萍 胡红云(650)

血清EGR-1、BACE1对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能
..... 程颖 郝伟红 柳敏等(654)

辐射产生的外泌体对HUH-7肿瘤细胞免疫微环境的影响 李毅 徐飞 陆瑶等(658)

肺栓塞继发CTEPH患者MHR、NT-PROBNP、RDW与病情严重程度及预后的关系
..... 顾铭诚 刘爱军 王诚(662)

脑梗死患者脑白质病变程度与血清HCY、CYS C的关系 吴玲巧 夏春华 陈兵等(667)

NPAR比值与首发抑郁症患者认知功能的相关性 谢清芳 申贵玉 王晶等(671)

血清TIMP-1、ELAFIN水平对初产妇产后盆底功能障碍的预测价值
..... 吴璇 张春艳 孙咏梅等(675)

弹性髓内针对前臂骨干骨折OPG、RANKL的影响	张玉海 房玉利 苗青 等(679)
基于MALDI-TOF MS技术检测CYP2D6、CYP2C19和HTR1A基因多态性方法的建立	吴文慧 蒋析文(683)
SIRI、CLAUDIN-5对急性一氧化碳中毒迟发性脑病的预测价值	徐浩 赵龙宇 薛海龙 等(688)
血清TBARS、NGF、BDNF对双相情感障碍的诊断价值及其与不同临床相的关系	杜颖 李旭丹 付棣玮(692)
经颅磁刺激联合药物治疗阿尔茨海默病的疗效及对认知功能、精神行为症状、AD7C-NTP、5-HT、ACH水平的影响	李冬梅 敖琦 任胜达(696)
肺癌患者外周血单个核细胞中MIR-125B、MIR-145、MIR-146A表达与术后肺部感染的关系	翟建霞 赵俊歌 韩鹏黎(700)
寻常型银屑病患者血清TFH细胞、IL-21水平对HACAT细胞增殖周期的影响	李锋 徐钰 岳敏(705)
血清TLR4、FAI水平对特发性中枢性早熟诊断价值	陈欢欢 王昕 李娟 等(709)
老年胆囊结石患者血清CYS-C、CA125水平与胆道炎症的关系	司伟 胡育松 孙张生 等(713)
TEAD4、BTG2在头颈部鳞癌中的表达及与临床病理特征、预后的关系	王慧敏 李靖 崔梁 等(717)
GPX1、PI3KCB蛋白表达与结直肠癌组织淋巴结转移及预后的关系	雒红涛 岳中屹 熊万成 等(721)
妊娠合并乙肝病毒感染者外周血NLR对围产儿预后的预测价值	李晓燕 郑娟 李明巧 等(725)
压力负荷激活SRC/FAK通路调控心房肌细胞重构	张周华 何雪波 张学煌 等(729)
TLR4、TLR9及IL-35在慢性牙周炎患者牙龈组织中的表达及其临床意义	曹慧 吴芳芳 杜文芳 等(733)
三黄熟艾汤通过PIK3CA抑制PI3K-AKT-MTOR信号轴激活细胞自噬保护肠上皮屏障的机制研究	刘阿梅 曹明月 张景萍(738)
慢性牙周炎合并2型糖尿病牙龈组织中KLF4表达与炎症反应、成骨分化的关系分析	高巍朕 王先锋 张晓鹏(743)
SDEEG联合血清ZAG、NPY、MIR-124对药物难治性癫痫的临床诊断价值	严胜利 尹延肖 王新平等(747)
2022~2023年吉林省流感病原学监测分析	孙杨 李静 柳鸿敏 等(752)
MPV在血流感染早期诊断中的应用价值	黎海生 鲁福运 任宝军 等(755)
精准持续循环腹腔热灌注化疗联合静脉化疗在卵巢癌术后患者中的应用效果	姚秀玲 王立霞 梁焕 等(759)
NPAR对妊娠期高血压疾病患者不良妊娠结局的预测价值	赵玉芝 张玉苓 范蕊 等(763)
新生抗原疫苗联合EGFR抑制剂对非小细胞肺癌脑转移的作用机制研究	林嘉萍 欧旻 林宁宁 等(767)
PG I、PG II、G17、PGR联合幽门螺旋杆菌抗体对胃癌的诊断价值	王杰民 凌成军 仇元亭 等(771)
武汉市妇幼保健院41例早孕期绒毛活检染色体核型分析	张池 胡晞江(775)
黄石地区呼吸道感染患儿13种呼吸道病原体检出情况分析	詹传华 朱中梁 李宝 等(778)

综 述

MIR-208A在心血管疾病中的研究进展	华洲 万周紫婧 石东浩 等(782)
----------------------------	--------------------

JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS AND THERAPY

Monthly Volume 17 Number 4 April 2025

CONTENTS

COMMENTS

Research on the role of FOXM1 in breast cancer progression

CHEN Xuqiong, ZHANG Ping, FENG Tongbao (589)

ORIGINAL ARTICLES

The value of mean MPVLR in predicting venous thromboembolism after thoracoscopic lobectomy

SUN Xiao, WANG Chunmei, CHEN Ting, LI Na, DONG Jiayi, WANG Nan, WANGN Meiping (593)

The predictive value of NLR, PLR and CA724 on the efficacy of postoperative chemotherapy for colorectal cancer

XIAO Lu, CHENG Qingrong, ZHANG Zhenhua, LIU Chenlu, WANG Li, TAN Chongbin (596)

Evaluation of clinical features and diagnostic efficacy of routine laboratory indicators in community-acquired pneumonia with bloodstream infection in children

DUAN Youhong, GUO Pu, CHANG Ziyu, CHEN Yao (601)

Changes of serum CRP, AFP and IL-6 levels in neonatal jaundice and their predictive value for acute bilirubin encephalopathy

QIU Xiao, DONG Yubin, CAO Yaqin (606)

Expression of *CD5* in breast cancer and its relationship with tumor microenvironment

ZHANG Xiaoyang, ZHU Cuiwen, MA Tiantian, LI Dongxu, DENG Han, XUAN Rui, YU Mingxia (610)

The relationship between serum GLP-1, PINP, SOST levels and osteoporosis after thyroid cancer surgery

HU Ziyu, SUN Xin, CUI Chaoyang, CUI Linjiang (614)

The predictive value of MHR for chemotherapy efficacy and prognosis in patients with advanced gastric cancer

WANG Yanan, LIN Zhiqiang, KOU Weizheng (618)

Pathogenic bacteria and risk factors of multidrug-resistant organism infection in critically ill patients and their correlation with CRP, PChE and HBDH

JIN Xiaoyun, XU Hongfei, LI Hui (622)

Predictive efficacy of serum D-D level combined with caprini evaluation for lower extremity deep vein thrombosis after hip replacement surgery

LIU Xuan, ZHANG Binbin, LIU Xiaojie, ZHANG Jintang (626)

Relationship between plasma *miR-124*, *miR-132* and disease severity, cognitive function in patients with epilepsy

GUO Xueting, WANG Shoumei, FAN Fuqiang (630)

Prognostic value of serum TLR9, IL-17 and TIR combined detection in patients with diabetic foot ulcer

SONG Qiuyan, SONG Shumin, ZHAI Hongjuan, DONG RuiHong (634)

Characteristics of autoantibodies in patients with hepatitis C virus infection

HAN Jinyu, MENG Huan, LI Yunhui, LIANG Jing, WANG Yajie (638)

Expression and clinical significance of *miR-146b-5p* and IL-17 in triple-negative breast cancer

GU Zhaoqi, GAO Qing, LI Yu, ZHOU Qi (642)

Epidemiological characteristics and etiology analysis of foodborne diseases in Tai'an City from 2019 to 2022 <i>CAO Shenyun, LI Xiaolei, LI Lin, ZHANG Zhijun, ZHAO Shuping, WEI Guangming</i>	(646)
Ultrasonographic blood flow analysis and serum levels of HIF-1 α and ACTA in pregnant women with oligohydramnios complicated by fetal distress <i>WANG Yan, BAI Ping, HU Hongyun</i>	(650)
Efficacy of serum Egr-1 and BACE1 in predicting relapses after drug withdrawal in children with preadolescent epilepsy <i>CHENG Ying, HAO Weihong, LIU Min, JING Sujing, LANG Yuanfa</i>	(654)
Effects of radiation-produced exosomes on the immune microenvironment of Huh-7 tumor cells <i>LI Yi, XU Fei, LU Yao, XU Mingzhu, XU Qiuying, SUO Lihua, CHEN Yu, YE Lu</i>	(658)
Relationship between MHR, NT-proBNP, RDW, severity and prognosis in patients with pulmonary embolism secondary CTEPH <i>GU Mingcheng, LIU Aijun, WANG Cheng</i>	(662)
Relationship between leukoencephalopathy severity and serum Hcy, CysC in patients with cerebral infarction <i>WU Lingqiao, XIA Chunhua, CHEN Bing, ZHANG Chunyan, DONG Bin</i>	(667)
Association between NPAR ratio and cognitive function in patients with first-episode depression <i>XIE Qingfang, SHEN Guiyu, WANG Jing, HUANG Yan</i>	(671)
The diagnostic value of serum TIMP-1 and elafin levels for postpartum pelvic floor dysfunction in primipara <i>WU Xuan, ZHANG Chunyan, SUN Yongmei, LI Xiufu, LI Ge, LI Miao</i>	(675)
The influence of OPG and RANKL on forearm shaft fracture and prognosis model construction of elastic intramedullary <i>ZHANG Yuhai, FANG Yuli, MIAO Qing, ZHANG Baoqi, ZOU Jilin, LIU Weigang</i>	(679)
Establishment of a MALDI-TOF MS method for the detection of CYP2D6, CYP2C19 and <i>HTR1A</i> gene polymorphisms <i>WU Wenhui, JIANG Xiwen</i>	(683)
The predictive value of SIRI and claudin-5 for delayed encephalopathy in acute carbon monoxide poisoning <i>XU Hao, ZHAO Longyu, XUE Hailong, LAN Yan, PAN Kaiting</i>	(688)
The diagnostic value of serum TBARS, NGF, BDNF in bipolar disorder and their relationship with different clinical phases <i>DU Ying, LI Xudan, FU Diwei</i>	(692)
Curative effect of transcranial magnetic stimulation combined with drugs and its influences on cognitive function, mental behavior symptoms, levels of AD7c-NTP, 5-HT and ACh in Alzheimer's disease <i>LI Dongmei, AO Qi, REN Shengda</i>	(696)
Relationship between the expression of miR-125b, miR-145, miR-146a in peripheral blood mononuclear cells in patients with lung cancer and postoperative pulmonary infection <i>ZHAI Jianxia, ZHAO Junge, HAN Pengli</i>	(700)
Effects of serum Tfh cells and IL-21 levels in patients with psoriasis vulgaris on the proliferation cycle of HaCaT cells <i>LI Feng, XU Yu, YUE Min</i>	(705)
Diagnostic value of serum TLR4 and FAI levels in idiopathic central precocious puberty <i>CHEN Huanhuan, WANG Xin, LI Juan, ZHAO Yangyang, ZHU Jiangwei</i>	(709)
Relationship between serum levels of Cys-C, CA125 and biliary tract inflammation in elderly patients with gallstones <i>SI Wei, HU Yusong, SUN Zhangsheng, JIANG Bin, LI Yadi</i>	(713)
The expression of TEAD4 and BTG2 in head and neck squamous cell carcinoma and their correlation with clinicopathological features and prognosis <i>WANG Huimin, LI Jing, CUI Can, YUAN Dongjie, WANG Yinxin, LU Zhenmin</i>	(717)
Relationship between GPX1, PI3KCB protein expression and lymph node metastasis and prognosis of colorectal cancer <i>LUO Hongtao, YUE Zhongyi, XIONG Wancheng, FENG Hailong, XU Zhaojun, XING Linshuai, HE Peng</i>	(721)

Predictive value of peripheral blood NLR in pregnant women with hepatitis B virus infection for perinatal prognosis <i>LI Xiaoyan, ZHENG Juan, LI Mingqiao, LI Xiao, MA Yuerong</i>	(725)
Mechanism of stress regulation of atrial myocyte remodeling through activation of Src/FAK pathway <i>ZHANG Zhouhua, HE Xuebo, ZHANG Xuehuang, HUANG Changjing, XU Chongfei, ZHANG Wenju, ZHANG Qifeng</i>	(729)
Expression and clinical significance of LR4, TLR9 and IL-35 in gingival tissue of patients with chronic periodontitis <i>CAO Hui, WU Fangfang, DU Wenfang, ZHU Xiaodong</i>	(733)
Study on the mechanism of Sanhuang Shuai Decoction inhibiting PI3K-AKT-MTOR signaling axis through PIK3CA to activate cell autophagy and protect intestinal epithelial barrier <i>LIU Amei, CAO Mingyue, ZHANG Jingping</i>	(738)
Analysis of the relationship between the expression of KLF4 in gingival tissue of chronic periodontitis with type 2 diabetes and inflammatory reaction, osteogenic differentiation <i>GAO Weizhen, WANG Xianfeng, ZHANG Xiaopeng</i>	(743)
The clinical diagnostic value of sdEEG combined with ZAG, NPY and miR-124 in drug-resistant epilepsy <i>YAN Shengli, YIN Yanxiao, WANG Xinping, KONG Jing, ZHANG Chenhua, SONG Xiaohua</i>	(747)
Etiological surveillance analysis of influenza in Jilin Province from 2022 to 2023 <i>SUN Yang, LI Jing, LIU Hongmin, HOU Chengcheng, WU Donglin, YANG Xianda</i>	(752)
Application value of MPV in the early diagnosis of bloodstream infection <i>LI Haisheng, LU Fuyun, REN Baojun, ZHAO Xiaoli</i>	(755)
Effect of precise continuous circulation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy combined with intravenous chemotherapy in postoperative patients with ovarian cancer <i>YAO Xiuling, WANG Lixia, LIANG Huan, LIU Shuyu, DAI Yanli</i>	(759)
The predictive value of NPAR for adverse pregnancy outcomes in patients with hypertensive disorders during pregnancy <i>ZHAO Yuzhi, ZHANG Yuling, FAN Rui, WANG Fang, QIAO Xiaogai</i>	(763)
Study on the mechanism of action of neoantigen vaccine combined with EGFR inhibitor on brain metastasis of non-small cell lung cancer <i>LIN Jiaping, OU Yang, LIN Ningning</i>	(767)
Diagnostic value of PG I, PG II, G17, PGR combined with Helicobacter pylori antibody in gastric cancer <i>WANG Jiemin, LING Chengjun, ZHANG Yuanting, CHEN Yulan, ZHUANG Jianbo</i>	(771)
Chromosome karyotype analysis of 41 cases of first trimester chorionic villus sampling in Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital <i>ZHANG Chi, HU Xijiang</i>	(775)
Analysis of 13 respiratory pathogens detected in hospitalized children with respiratory tract infection in Huangshi area <i>ZHAN Chuanhua, ZHU Zhongliang, LI Bao, WANG Dujing</i>	(778)

REVIEWS

Research progress of miR-208a in cardiovascular disease <i>HUA Zhou, WAN Zhouzijing, SHI Donghao, TIAN Shuyun, PENG Wei</i>	(782)
--	-------

FOXM1 在乳腺癌发生发展中的研究进展

陈旭穹 张平 冯同保*

[摘要] FOXM1 是 forkhead box 家族中重要的转录因子之一。近年来,研究表明 FOXM1 在多种实体瘤中表达显著升高,参与肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭、DNA 损伤修复、维持癌症干细胞特性、细胞代谢、耐药等多个过程。乳腺癌是导致女性死亡重要恶性肿瘤之一,越来越多证据证明 FOXM1 在乳腺癌中过表达并导致预后不良,在肿瘤的发生发展中起着重要作用。因此,通过深入探讨 FOXM1 在乳腺癌发生发展中的作用机制,为乳腺癌的临床精准诊疗提供了新的方案。

[关键词] FOXM1; 转录因子; 乳腺癌

Research on the role of FOXM1 in breast cancer progression

CHEN Xuqiong, ZHANG Ping, FENG Tongbao*

(Department of Clinical Laboratory, the affiliated Changzhou No.2 People's Hospital of Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu, China, 213000)

[ABSTRACT] FOXM1 (forkhead box protein M1), a pivotal transcription factor within the Fox (forkhead box) family, is aberrantly overexpressed in multiple solid tumors and regulates diverse oncogenic processes, including tumor cell proliferation, migration, invasion, DNA damage repair, cancer stem cell maintenance, cellular metabolism, and drug resistance. Breast cancer remains one of the leading causes of cancer-related mortality among women. Accumulating evidence has demonstrated that FOXM1 overexpression in breast cancer correlates strongly with poor clinical prognosis and plays crucial roles in tumorigenesis and progression. Elucidating the mechanisms underlying FOXM1 in breast cancer provides novel insights for advancing precision therapeutic strategies in clinical management.

[KEY WORDS] FOXM1; Transcription factor; Breast cancer

叉头框蛋白 M1 (forkhead box protein M1, FOXM1) 是叉头框 (forkhead box, FOX) 转录因子家族重要成员,在多种癌症中高表达,尤其在乳腺癌中扮演重要角色,促进肿瘤增殖、转移及耐药等。FOXM1 参与细胞周期进程、细胞增殖、血管生成、DNA 损伤修复、代谢等多种生物过程,其功能失调与乳腺癌患者的耐药和不良预后密切相关,因此被视为乳腺癌治疗的关键靶点。通过抑制 FOXM1 活性,有望提升治疗效果并改善患者预后。本文就 FOXM1 在乳腺癌中的研究进展进行综述。

1 FOXM1 介绍

FOX 家族是进化上保守的转录因子,起源于单细胞真核生物,最初在真核生物叉头同源基因中被发现,以黑腹果蝇基因 *fork head (fkh)* 命名^[1]。该家族包括 FOXA 至 FOXS 在内 19 个亚家族,共同特征在于含有翼状螺旋的 DNA 结合结构域,具有转录激活和抑制作用,致使 FOX 在肿瘤进展中起着促进和抑制双重作用^[1],其中 FOXM1 在人类多种实体瘤中表达变化异常显著,对肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭和耐药具有关键调控作用。

基金项目:常州市科技支撑社会发展项目(CE20235061);国家自然科学基金青年科学基金项目(31601156);江苏省自然科学基金面上项目(BK20191156)

作者单位:南京医科大学附属常州第二人民医院医学检验科,江苏,常州 213000

*通信作者:冯同保, E-mail: fengtongbao@njmu.edu.cn

FOXM1 结构中包含三个功能结构域:负调节结构域、DNA 结合结构域和反式激活结构域。人 *FOXM1* 基因位于染色体 12p13.33,由 10 个外显子组成,根据外显子 V a 与 VII a 的选择性剪接主要分为 4 种亚型: FOXM1A、FOXM1B、FOXM1C 与 FOXM1D,其中 FOXM1A 无转录活性,FOXM1B 与 FOXM1C 为癌症研究的核心,FOXM1D 则为新近报道的亚型^[2]。

FOXM1 作为细胞周期关键调控因子,在 S 期表达升高,G2-M 期达峰值,M 期后被降解。它通过促进细胞周期抑制因子 p27^{Kip1} 与 p21^{Cip1} 降解,驱动 G1/S 时相转换^[3]。而在 G2/M 时相转换过程中,FOXM1 调节细胞周期蛋白 B1 (cyclinB)、细胞分裂周期因子 25B (cell division cycle protein 25B, CDC25B)、Polo 样激酶 1 (polo-like kinase 1, Plk1) 等细胞周期相关分子表达,促进有丝分裂纺锤体的组装、染色体准确分离^[4]。此外,FOXM1 与靶基因启动子 DIV0 和 DIV2 位点的高结合率及协同性,显示其在转录调控中的特异性^[5]。

乳腺癌在分子特征上呈现高度复杂性,而 FOXM1 在所有乳腺癌分子分型中均过表达,尤其是在三阴性乳腺癌中更为显著^[6],提示其致癌机制存在分子分型异质性。进一步探究不同分子分型乳腺癌中 FOXM1 特性及其与耐药之间的关系,并据此开展 FOXM1 抑制剂与靶向治疗、化疗相结合的前瞻性实验,有望为乳腺癌患者提供精准诊疗方案。

2 FOXM1 的调节机制

FOXM1 的活性调控机制复杂多样,包括转录、转录后和翻译后水平的调控。研究表明,CREB 结合蛋白 (CREB binding protein, CBP) 作为共激活因子,促进 FOXM1 转录^[4],而 p53 和视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, Rb) 蛋白则抑制 FOXM1 转录^[7]。

非编码 RNA 如微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 与长链非编码核糖核酸 (long non-coding RNA, lncRNA) 参与对 FOXM1 的转录后调控。近期研究发现,miR-34a 靶向 FOXM1/真核延伸因子 2 激酶 (eukaryotic elongation factor 2 kinase, eEF2K) 信号轴,抑制三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭^[8];而 miR-4521 下调 FOXM1 表达,削弱 DNA 修复能力^[9]。lncRNA FBXL19-AS1 作为分子海绵,通过直接吸收 miR-876-5p 调节 FOXM1 表

达^[10]。此外,N6-甲基腺嘌呤 (m⁶A) 是 RNA 水平上最常见的转录后修饰。YTH N6-甲基腺苷 RNA 结合蛋白 1 (YTH N6-Methyladenosine RNA Binding Protein 1, YTHDF1) 识别并结合 m⁶A 修饰的 FOXM1 mRNA,加速 FOXM1 翻译过程,促进乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[11]。

翻译后修饰同样对 FOXM1 活性产生影响,包括磷酸化、泛素化、SUMO 化修饰 (small ubiquitin-related modifier, SUMO)。酪氨酸激酶 c-Src 通过磷酸化激活 FOXM1,推动细胞周期进程^[12]。研究表明,细胞周期蛋白依赖性激酶 4 和 6 (cyclin-dependent kinase 4/6, CDK4/6) 对 FOXM1 的过度磷酸化可导致 HR+/HER2- 转移性乳腺癌患者对内分泌治疗和 CDK4/6 抑制剂缺乏反应^[13]。通过抑制去泛素化酶 USP7 下调 FOXM1 表达水平,能以非 p53 依赖的方式抑制三阴性乳腺癌细胞生长^[14]。此外,SUMO 化抑制 FOXM1 的负调节结构域,增强 FOXM1 转录活性和对抗多倍体的效能^[15]。FOXM1 表达水平受多种因素调控,研究其调控机制为开发针对 FOXM1 或其调控途径的抗肿瘤药物、增强药物敏感性提供新的策略。

3 FOXM1 在乳腺癌中的致癌功能

3.1 FOXM1 促进细胞增殖、迁移和侵袭

FOXM1 是调节细胞增殖所必需的转录因子之一。FOXM1 上调 eEF2K、微管解聚蛋白 Stathmin1 (STMN1) 表达,促进乳腺癌细胞增殖^[8,16]。此外,FOXM1 增强 YAP1 途径转录活性,促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭^[17]。因此,沉默 FOXM1 可阻断其下游信号通路,抑制肿瘤细胞增殖,延缓乳腺癌进展。

3.2 FOXM1 参与血管生成

血管生成因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 促进血管生成,为肿瘤增殖和转移提供氧气与营养。FOXM1 直接结合 VEGF 启动子区域反应原件,诱导 VEGF 表达^[18],同时诱导丙酮酸激酶 M2 (Pyruvate kinase M2, PKM2) 与核因子 κ B 核易位,进一步增强 VEGF 表达,促进新生血管形成^[19]。这也为抗血管生成药物治疗提供了新思路。

3.3 FOXM1 参与 DNA 损伤修复

DNA 损伤修复机制对维护细胞基因组稳定性至关重要,肿瘤细胞通过增强此机制应对 DNA 损伤,削弱放化疗效果。其中,DNA 损伤诱导的检查

点激酶 2 通过磷酸化激活 FOXM1, 诱导包括 X 射线交叉互补修复基因 1 (X-ray cross-complementing group 1, XRCC1) 和乳腺癌相关基因 2 (breast cancer-associated gene 2, BRCA2) 在内的 DNA 修复基因转录^[20]。FOXM1 还通过上调奈梅亨断裂综合征蛋白 1 (Nijmegen breakage syndrome protein 1, NBS1) 表达, 促进共济失调毛细血管扩张突变 (ataxia-telangiectasia mutated, ATM) 磷酸化, 加强 DNA 损伤修复信号传导并促进基因毒性药物耐药^[21]。这些研究提示 FOXM1 作为 DNA 损伤修复基因的上游调控因子, 影响肿瘤细胞对基因毒性药物的敏感性。

3.4 FOXM1 促进上皮-间充质转化

FOXM1 上调包括 Snail-1 (Snail)、Snail-2 (Slug) 在内的上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 标记分子表达, 促使乳腺癌细胞获得间质特性, 增强肿瘤转移与侵袭能力^[6]。Usman 等^[22]发现波形蛋白通过调节层粘连蛋白表达影响基因转录, 下调细胞间连接基因, 促进乳腺癌细胞迁移而 FOXM1 作为波形蛋白的应答基因之一, 可能参与此过程。此外, FOXM1 促进驱动蛋白家族成员 23 (kinesin family 23, KIF23) 表达, 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 推动三阴性乳腺癌 EMT 进展^[23]。综上, FOXM1 通过调控与肿瘤转移相关信号通路和靶基因促进 EMT, 为开发抗肿瘤转移药物提供了潜在靶点。

3.5 FOXM1 维持癌细胞干性

癌症干细胞是一种具有自我更新能力和分化潜能的癌细胞亚群, 对肿瘤发生、复发和化疗耐药至关重要^[17]。Sun 等^[17]发现抑制 FOXM1 导致乳腺癌细胞中癌症干细胞亚群比例下降。此外, DNMT1/FOXO3a/FOXM1/SOX2 信号轴以及 CBP/ β -catenin/FOXM1 转录活性复合物均促进乳腺癌干细胞特性^[24-25]。

3.6 FOXM1 与细胞代谢改变有关

Warburg 效应是指肿瘤细胞在有氧条件下也倾向于通过糖酵解途径将葡萄糖转化为乳酸。FOXM1 诱导着丝粒蛋白 A 表达, 促进三阴性乳腺癌细胞糖酵解^[26]。此外, FOXM1D 与四聚体 PKM2 组装成异八聚体, 抑制 PKM2 约一半代谢活性, 促进有氧糖酵解^[19]。而 FOXM1D 的新型降解剂 FOXMIP-ROTAC 通过下调葡萄糖转运蛋白 1 (glucose transporter type 1, GLUT1) 和程序性细胞

死亡配体 1 (programmed cell death ligand 1, PDL1) 表达, 抑制肿瘤细胞葡萄糖代谢^[27]。综上, FOXM1 参与调节细胞代谢, 支持肿瘤细胞生长与增殖。

3.7 FOXM1 促进耐药

FOXM1 通过增强 DNA 修复能力、维系肿瘤干细胞特性以及调控耐药相关基因表达等多种机制促进耐药。研究发现紫杉醇、顺铂等耐药乳腺癌细胞系的 FOXM1 表达水平较亲本细胞升高^[28-29]。去泛素化酶 OTUB1 (Otubain 1) 限制 FOXM1 泛素化, 导致乳腺癌表柔比星耐药^[30]。此外, 在 HER2+/HR+ 乳腺癌细胞系中, CDK4/6 抑制剂 SHR6390 与吡咯替尼联用下调 FOXM1 表达, 抑制细胞增殖、迁移和侵袭^[31]。

4 FOXM1 在乳腺癌治疗中的作用

FOXM1 抑制剂开发已取得显著进展, 依据其作用机制, 可归为两类。一类抑制剂直接抑制 FOXM1 表达或者破坏 FOXM1 与 DNA 相互作用, 例如 FDI-6, 直接结合 FOXM1 的 DNA 结合结构域, 下调 FOXM1 及其下游分子表达, 有效遏制三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭, 并诱导细胞凋亡^[32]。研究同时发现 FDI-6 与阿霉素联用增强后者细胞毒性与凋亡特性, 提示 FDI-6 提高化疗效果。此外, 诸如硫链丝菌素、和厚朴酚等天然化合物虽同样显示出抑制 FOXM1 与 DNA 结合的作用, 但易引发脱靶效应, 削弱治疗效果并带来副作用^[33]。Jang 等^[33]发现一种抑制 FOXM1 与 DNA 相互作用的小分子 CDI 在乳腺癌细胞中展现出抗肿瘤作用。还有研究发现重构降糖药中噻唑烷二酮支架的化学结构, 可获得直接结合 FOXM1 而不影响上游 SP1 的 FOXM1 抑制剂^[34]。另一类 FOXM1 抑制剂则聚焦于破坏 FOXM1 蛋白与其他蛋白质的相互作用。Cheng 等^[35]研发的干扰肽 M1-21, 靶向抑制 FOXM1 及 FOXM1 相互作用蛋白活性, 在体内与体外均能抑制癌细胞增殖和迁移。

三阴性乳腺癌因其高度侵袭性及缺乏特定分子靶点, 治疗选择受限, 预后不佳。多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (poly ADP-Ribose polymerase, PARP) 抑制剂虽对 BRCA1/2 突变的病例有效, 但此类突变仅占约 20%, 且易产生耐药性。研究表明 FOXM1 上调 BRCA2 及 BRCA1 相互作用蛋白 BRIPI 表达, 在 DNA 修复中起重要作用^[20, 36]。PARP 抑制剂奥拉帕利诱导 FOXM1 表达, 调控同

源重组修复通路。通过 RNAi 或 FOXM1 抑制剂抑制 FOXM1 活性,可降低 BRCA1/2 表达水平,减弱适应性细胞反应,增强对三阴性乳腺癌细胞对 PARP 抑制剂的敏感性^[37]。这些研究提示 FOXM1 抑制剂与 PARP 抑制剂联用逆转 PARP 抑制剂产生的适应性耐药。

5 总结与展望

FOXM1 作为乳腺癌发生、发展及转移过程的核心驱动因子,是治疗乳腺癌的关键靶点,其表达受到多种调控机制的影响。FOXM1 通过参与细胞增殖、转移、DNA 损伤修复、维持癌细胞干性等过程促进乳腺癌进展。尽管 FOXM1 在不同分子亚型乳腺癌中展现异质性作用,但除三阴性乳腺癌其他亚型的系统研究尚显不足。未来将聚焦于 FOXM1 与乳腺癌分子分型在肿瘤进展及耐药机制中的关联,旨在开发针对 FOXM1 的高效小分子靶向药物,并与现有靶向治疗、化疗方案联用,以增强疗效,为乳腺癌的临床治疗提供创新策略。

参考文献

- [1] Hannehalli S, Kaestner KH. The evolution of Fox genes and their role in development and disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(4): 233-240.
- [2] Zhang X, Zhang L, Du Y, et al. A novel FOXM1 isoform, FOXM1D, promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis through ROCKs activation in colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2017, 36(6): 807-819.
- [3] Wang IC, Chen YJ, Hughes D, et al. Forkhead box M1 regulates the transcriptional network of genes essential for mitotic progression and genes encoding the SCF (Skp2-Cks1) ubiquitin ligase [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(24): 10875-10894.
- [4] Costa R H. FoxM1 dances with mitosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(2): 108-110.
- [5] Zhang H, Dai S, Liang X, et al. Mechanistic Insights into the Preference for Tandem Binding Sites in DNA Recognition by FOXM1 [J]. *J Mol Biol*, 2022, 434(5): 167426.
- [6] Dey P, Wang A, Ziegler Y, et al. Suppression of Tumor Growth, Metastasis, and Signaling Pathways by Reducing FOXM1 Activity in Triple Negative Breast Cancer [J]. *Cancers*, 2020, 12(9).
- [7] Kopanja D, Chand V, O'Brien E, et al. Transcriptional Repression by FoxM1 Suppresses Tumor Differentiation and Promotes Metastasis of Breast Cancer [J]. *Cancer Res*, 2022, 82(13): 2458-2471.
- [8] Bayraktar R, Ivan C, Bayraktar E, et al. Dual Suppressive Effect of miR-34a on the FOXM1/eEF2-Kinase Axis Regulates Triple-Negative Breast Cancer Growth and Invasion [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(17): 4225-4241.
- [9] Kuthethur R, Adiga D, Kandettu A, et al. MiR-4521 perturbs FOXM1-mediated DNA damage response in breast cancer [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1131433.
- [10] Dong G, Pan T, Zhou D, et al. FBXL19-AS1 promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis via miR-876-5p/FOXM1 axis in breast cancer [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(11): 1106-1113.
- [11] Chen H, Yu Y, Yang M, et al. YTHDF1 promotes breast cancer progression by facilitating FOXM1 translation in an m6A-dependent manner [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12(1): 19.
- [12] Nandi I, Smith HW, Sanguin-Gendreau V, et al. Coordinated activation of c-Src and FOXM1 drives tumor cell proliferation and breast cancer progression [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(7).
- [13] Abu-Khalaf MM, Alex Hodge K, Hatzis C, et al. AKT/mTOR signaling modulates resistance to endocrine therapy and CDK4/6 inhibition in metastatic breast cancers [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2023, 7(1): 18.
- [14] Yi J, Li H, Chu B, et al. Inhibition of USP7 induces p53-independent tumor growth suppression in triple-negative breast cancers by destabilizing FOXM1 [J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30(7): 1799-1810.
- [15] Schimmel J, Eifler K, Sigurethsson JO, et al. Uncovering SUMOylation dynamics during cell-cycle progression reveals FoxM1 as a key mitotic SUMO target protein [J]. *Mol Cell*, 2014, 53(6): 1053-1066.
- [16] Liu J, Li J, Wang K, et al. Aberrantly high activation of a FoxM1-STMN1 axis contributes to progression and tumorigenesis in FoxM1-driven cancers [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 42.
- [17] Sun HL, Men JR, Liu HY, et al. FOXM1 facilitates breast cancer cell stemness and migration in YAP1-dependent manner [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 685: 108349.
- [18] Karadedou CT, Gomes AR, Chen J, et al. FOXO3a represses VEGF expression through FOXM1-dependent and -independent mechanisms in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2012, 31(14): 1845-1858.
- [19] Zhang W, Zhang X, Huang S, et al. FOXM1D potentiates PKM2-mediated tumor glycolysis and angiogenesis [J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(5): 1466-1485.
- [20] Tan Y, Raychaudhuri P, Costa R H. Chk2 Mediates Stabilization of the FoxM1 Transcription Factor To Stimulate Expression of DNA Repair Genes [J]. *Mol Cell Biol*, 2023, 27(3): 1007-1016.
- [21] Khongkow P, Karunarathna U, Khongkow M, et al. FOXM1 targets NBS1 to regulate DNA damage-induced senescence and epirubicin resistance [J]. *Oncogene*, 2013, 33(32): 4144-4155.
- [22] Usman S, Jamal A, Bushaala A, et al. Transcriptome Analysis Reveals Vimentin-Induced Disruption of Cell-Cell Associations Augments Breast Cancer Cell Migration [J]. *Cells*, 2022, 11(24).
- [23] Li Z, Yang HY, Zhang XL, et al. Kinesin family member 23, regulated by FOXM1, promotes triple negative breast cancer progression via activating Wnt/ β -catenin pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1).

MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后静脉血栓栓塞症的预测价值

孙潇 王春梅 陈婷 李娜 董佳亿 王楠 王美平*

[摘要] **目的** 探讨血小板平均体积(MPV)/淋巴细胞(LYM)比值(MPVLR)对胸腔镜下肺叶切除术后静脉血栓栓塞症(VTE)的预测价值。**方法** 选取2021年5月至2024年3月于首都医科大学宣武医院行胸腔镜下肺叶切除术的肺癌患者110例,根据围手术期是否发生VTE分为VTE组17例和非VTE组93例。比较两组临床资料及入院时MPVLR。采用受试者工作特性(ROC)曲线评价患者MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE的预测价值。采用二分类Logistic逐步回归分析探讨患者胸腔镜下肺叶切除术后VTE的影响因素。**结果** VTE组MPV、MPVLR高于非VTE组,LYM低于非VTE组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC结果显示,MPV、LYM及MPVLR预测胸腔镜下肺叶切除术后VTE的AUC分别为0.721、0.754、0.909,MPVLR最佳截点值为6.04。VTE组D-D、吸烟史、糖尿病比例高于非VTE组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素回归分析显示:高D-D、MPVLR ≥ 6.04 是胸腔镜下肺叶切除术后VTE的影响因素($P<0.05$)。**结论** MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE有一定预测价值,可为临床诊断及治疗提供可靠的参考依据。

[关键词] 肺叶切除术;胸腔镜;静脉血栓栓塞症;血小板平均体积/淋巴细胞比值

The value of mean MPVLR in predicting venous thromboembolism after thoracoscopic lobectomy

SUN Xiao, WANG Chunmei, CHEN Ting, LI Na, DONG Jiayi, WANG Nan, WANG Meiping*

(Department of Critical Care Medicine, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100053)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of mean platelet volume (MPV)/lymphocyte (LYM) ratio (MPVLR) in predicting venous thromboembolism (VTE) after thoracoscopic lobectomy. **Methods** A total of 110 patients with lung cancer who underwent thoracoscopic lobectomy from May 2021 to March 2024 were selected and divided into the VTE group (17 cases) and the non-VTE group (93 cases) based on whether they developed VTE during the perioperative period. The clinical data and MPVLR at admission of all participants were recorded. The predictive value of MPVLR for VTE after thoracoscopic lobectomy was evaluated using ROC analysis. The influencing factors of VTE after thoracoscopic lobectomy were investigated through binary logistic stepwise regression. **Results** The MPV and MPVLR in the VTE group were higher than those in the non-VTE group, and the LYM was lower than that in non-VTE group ($P<0.05$). Results from the ROC analysis indicated that the AUC of MPV, LYM, and MPVLR in predicting VTE after thoracoscopic lobectomy were 0.721, 0.754 and 0.909, respectively. The optimal MPVLR cut-off value was determined to be 6.04. Additionally, the VTE group had higher proportions of D-D levels, smoking history, and diabetes compared to the non-VTE group ($P<0.05$). High D-D levels, MPVLR ≥ 6.04 were identified as influential risk factors for VTE after thoracoscopic lobectomy ($P<0.05$). **Conclusion** MPVLR has a certain predictive value for VTE after thoracoscopic lobectomy and can provide a reliable reference for clinical diagnosis and treatment.

[KEY WORDS] Pulmonary lobectomy; Thoracoscope; Venous thromboembolism; Average platelet volume/lymphocyte ratio

基金项目:首都卫生发展科研专项(首发2022-2-2016)

作者单位:首都医科大学宣武医院重症医学科,北京 100053

*通信作者:王美平, E-mail: xiaomeicmu@163.com

静脉血栓栓塞症(venous thrombo embolism, VTE)是一种由静脉血液异常凝结引起的严重疾病,主要包括深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)和肺栓塞(pulmonary embolism, PE)^[1]。随着微创技术的发展,胸腔镜下肺叶切除术已成为治疗早期肺癌等胸部疾病的重要方法。尽管这种手术创伤较小,但术后患者仍面临VTE的风险。因此,针对胸腔镜肺叶切除术后患者的VTE风险评估和预防策略的研究尤为重要。血小板平均体积(mean platelet volume, MPV)和淋巴细胞(lymphocyte, LYM)比值(MPVLR)作为反映炎症状态和血栓形成倾向的指标,逐渐引起了研究者的关注^[2]。MPV是反映血小板大小和活化状态的重要参数,其升高与血小板功能亢进和血栓形成风险增加相关^[3]。淋巴细胞则反映了机体的免疫状态,与炎症反应密切相关^[4]。已有研究表明MPV和LYM的变化在多种疾病中与VTE的发生密切相关^[5]。本研究主要探讨MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE的预测价值,现将研究结果报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2021年5月至2024年3月于首都医科大学宣武医院行胸腔镜下肺叶切除术加纵隔淋巴结清扫的肺癌患者临床资料110例。纳入标准:①根据国际抗癌联盟和美国癌症联合委员会的TNM分期系统,病理学检查结果明确,且通过胸部CT、PET-CT等影像学检查确诊为非小细胞肺癌^[6];②术前无VTE;③临床资料及术后随访记录完整无缺;④年龄>18岁。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②术前存在凝血功能异常;③术中或术后围手术期因其他原因死亡;④存在其他严重合并症如心功能Ⅲ级及以上心功能不全、慢性肾功能不全三期及以上等;⑤酗酒史。所有患者及家属自愿签署知情同意书,本研究经医院伦理委员会已审核通过。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集所有入试者的年龄、性别、体质量指数(BMI)、手术时间、术前活化部分凝血活酶时间(APTT)、术前凝血酶原时间(PT)、术前D-二聚体(D-D)、血浆黏度、吸烟史、饮酒史、基础疾病(高血压、糖尿病、冠心病)。

1.2.2 血液生化指标收集

术前1d采集所有入试者的空腹外周静脉血样本2mL,通过全自动血液分析仪(南京贝登医疗股份有限公司)检测MPV和LYM水平。MPVLR的计算公式为:MPV(fL)/LYM($\times 10^9/L$)。所有检测均在同一实验室完成,且检测人员对患者分组及研究目的均不知情。

1.2.3 VTE的诊断及分组标准^[7]

VTE的确诊包括DVT和/或PE。DVT:超声检查显示患者下肢或上肢深静脉存在血栓形成,表现为静脉回声增强、静脉腔内血流中断或显著减弱、静脉壁不完全压缩等。此外,患者若出现下肢肿胀、疼痛、局部发热或压痛等临床症状,结合影像学表现可确诊为DVT。PE:CT肺动脉造影可显示肺动脉内血栓的存在,表现为肺动脉内充盈缺损,或发现肺组织的低灌注区域。对于有PE疑似症状(如突发呼吸困难、胸痛、低氧血症、咳血等)的患者,若影像学检查结果支持肺动脉内血栓形成,即可诊断为PE。根据患者围手术期是否发生VTE将患者分为VTE组和非VTE组。

1.3 统计学分析

采用SPSS 24.0统计软件分析数据。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。采用受试者工作曲线(ROC)评估MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE的价值,采用二分类Logistic逐步回归分析($\alpha_{\lambda}=0.05, \alpha_{\text{III}}=0.10$)探讨术后VTE的影响因素, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组MPV、LYM、MPVLR比较

VTE组MPV、MPVLR高于非VTE组,LYM低于非VTE组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组MPV、LYM、MPVLR比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MPV	LYM	MPVLR
非VTE组	93	8.37 \pm 1.24	2.47 \pm 0.29	3.39 \pm 0.41
VTE组	17	11.24 \pm 1.68	1.15 \pm 0.16	9.67 \pm 1.39
t 值		8.277	18.221	36.331
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 MPV、LYM、MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE的预测价值

ROC结果显示,MPV、LYM及MPVLR预测胸腔镜下肺叶切除术后VTE的AUC分别为0.721、0.754、0.909,MPVLR最佳截点值为6.04。见表2、图1。

表2 MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE的预测价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	灵敏度	特异度
MPV	0.721	0.676~0.771	9.59	0.927	0.583
LYM	0.754	0.704~0.799	1.75	0.927	0.658
MPVLR	0.909	0.864~0.959	6.04	0.880	0.854

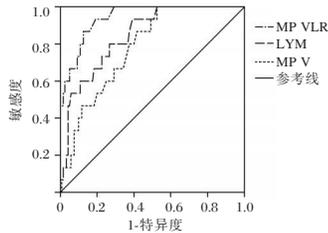


图1 MPVLR对胸腔镜下肺叶切除术后VTE的预测ROC曲线

2.3 胸腔镜下肺叶切除术后VTE的单因素分析

两组年龄、性别、BMI、手术时间、APTT、PT、饮酒史、高血压、冠心病比例差异无统计学意义($P>0.05$)。VTE组患者D-D、吸烟史、糖尿病比例高于非VTE组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 胸腔镜下肺叶切除术后VTE的单因素分析

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

指标	非VTE组($n=93$)	VTE组($n=17$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	59.63±4.86	58.72±4.69	0.714	0.477
性别 男性	54(58.06)	9(52.94)	0.154	0.695
女性	39(41.94)	8(47.06)		
BMI(kg/m^2)	24.19±3.43	24.29±3.65	0.109	0.913
手术时间	125.06±22.18	128.64±23.43	0.607	0.545
APTT(s)	28.21±6.32	27.43±3.51	0.494	0.622
PT(s)	11.47±1.36	11.62±1.14	0.428	0.670
D-D($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1.49±0.43	7.14±2.13	23.517	<0.001
吸烟史	20(21.51)	9(52.94)	5.787	0.016
饮酒史	43(46.24)	8(47.06)	0.004	0.950
基础疾病 高血压	37(39.78)	10(58.82)	2.129	0.145
糖尿病	35(37.63)	11(64.71)	4.329	0.037
冠心病	46(49.46)	8(47.06)	0.033	0.855

2.4 胸腔镜下肺叶切除术后VTE的多因素Logistic回归分析

将胸腔镜下肺叶切除术患者术后30d是否发生VTE作为因变量(未发生=0、发生=1),将单因素分析有意义的指标及MPVLR作为自变量采用二分类Logistic逐步回归分析,结果显示:高D-D($OR=2.286$, $95\%CI: 1.360\sim 3.844$)、 $MPVLR \geq 6.04$ ($OR=4.655$, $95\%CI: 2.072\sim 12.465$)是胸腔镜下肺叶切除术后VTE的影响因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

早期肺癌的治疗以手术为主,特别是对于局限性非小细胞肺癌,肺叶切除术被认为是标准治疗方

表4 胸腔镜下肺叶切除术后VTE的多因素Logistic回归分析

变量	赋值	β 值	SE	Wald χ^2	OR(95%CI)	P 值
D-D	低=0、高=1	0.827	0.265	9.739	2.286(1.360~3.844)	0.002
吸烟史	是=1,否=0	0.769	0.396	3.771	2.158(0.993~4.689)	0.052
糖尿病	是=1,否=0	0.943	0.557	2.866	2.568(0.862~7.650)	0.090
MPVLR	<6.04=0、 $\geq 6.04=1$	1.538	0.413	13.868	4.655(2.072~12.465)	<0.001

式^[8]。随着微创技术的进步,胸腔镜下肺叶切除术逐渐成为一种广泛应用的术式。相较于传统开胸手术,胸腔镜手术具有创伤小、术后恢复快等优点^[9]。然而,术后患者仍然面临VTE的风险。因此,VTE的早期筛查和预防在术后管理中至关重要。

血栓的形成主要涉及凝血系统、血管内皮以及血流动力学的改变。VTE的发生机制通常与血流淤滞、血管内皮损伤和凝血功能过度激活三大因素有关^[10]。这一机制与患者术后的体内状态息息相关,而血小板在这一过程中扮演了关键角色。MPV作为衡量血小板大小的指标,可反映血小板活化的程度。研究表明,MPV升高提示血小板活性增强,可能加速血栓形成^[11]。LYM作为机体免疫反应的重要组成部分,也参与了血栓发生的调节。术后应激状态下,淋巴细胞数量的减少可能与体内炎症反应及凝血功能异常有关^[12]。在此基础上,MPVLR综合了血小板活性和免疫状态两方面的信息,能够更全面地反映患者体内的凝血及炎症状况。近年来,MPVLR在多种血栓相关疾病的研究中得到了广泛应用。李斌等^[13]学者的研究显示,在老年非瓣膜性心房颤动患者中,MPVLR升高与左心房血栓形成密切相关,可作为预测左心房血栓形成的指标。国外学者Cao J等^[14]的研究显示,MPVLR是一种可靠的血栓预测因子。

本研究结果显示,VTE组患者MPV、MPVLR高于非VTE组,LYM低于非VTE组。VTE组患者的MPV、LYM和MPVLR的变化可能反映了患者体内一系列复杂的病理机制。首先,MPV升高提示血小板高度活化,术后机体处于高凝状态时,活化的血小板会释放促凝因子,加速血栓的形成^[15]。肺癌患者由于肿瘤的存在,本身就处于一种促凝状态,而手术应激会加剧这种状态^[16]。术中操作引发的血管内皮损伤,加之术后活动减少,容易导致血流淤滞,促使血栓形成。此外,LYM的减少可能与手术后的炎症反应密切相关。研究

NLR、PLR、CA724对结直肠癌术后化疗疗效的预测价值

肖露¹ 程庆荣² 张振华^{3*} 刘晨露¹ 汪丽¹ 檀崇斌¹

[摘要] **目的** 探讨糖类抗原724(CA724)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、血小板与淋巴细胞比值(PLR)对结直肠癌(CRC)术后化疗疗效的预测价值。**方法** 回顾性选取2017年1月至2023年8月期间在宁国市人民医院肿瘤科收治的104例CRC患者作为研究对象,根据术后化疗疗效结果将其分为有效组和无效组。比较两组患者术前NLR、PLR、CA724水平的差异,采用多因素Logistic回归分析CRC患者化疗无效的影响因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线进一步比较术前CA724、NLR、PLR对CRC患者化疗疗效的预测价值。**结果** 104例CRC患者经术后化疗后,有效患者76例,占比73.08%。无效组患者NLR、PLR、CA724水平高于有效组,肿瘤直径>5cm、低分化程度及淋巴转移患者所占比例高于有效组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素Logistic分析显示,NLR、PLR、CA724水平、淋巴结转移、肿瘤直径、分化程度是影响CRC患者术后化疗临床疗效的独立危险因素($P<0.05$)。ROC曲线结果显示,NLR、PLR、CA724水平联合检测预测CRC患者疗效的曲线下面积(AUC)为0.970,高于各指标单独检测,此时的敏感度和特异度分别为92.9%、94.7%,具有较好的预测价值($P<0.05$)。**结论** NLR、PLR、CA724在CRC患者中水平较高,联合检测可提高CRC患者术后化疗疗效的预测价值。

[关键词] 中性粒细胞与淋巴细胞比值;血小板与淋巴细胞比值;糖类抗原724

The predictive value of NLR, PLR and CA724 on the efficacy of postoperative chemotherapy for colorectal cancer

XIAO Lu¹, CHENG Qingrong², ZHANG Zhenhua^{3*}, LIU Chenlu¹, WANG Li¹, TAN Chongbin¹

(1. Department of Pharmacy; 2. Emergency Department of Ningguo; 3. Department of Oncology, Ningguo People's Hospital; Xuancheng, Anhui, China, 242300)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the prognostic significance of carbohydrate antigen 724 (CA724), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) on the effectiveness of postoperative chemotherapy for colon cancer (CRC). **Methods** Retrospectively, 104 CRC cases that were admitted to the Oncology Department of Ningguo People's Hospital between January 2017 and August 2023 were chosen as the subjects of the study. They were divided into an effective group and an ineffective group based on the outcomes of postoperative chemotherapy. The differences in preoperative NLR, PLR, and CA724 levels between the two groups of patients were compared. The determinants of chemotherapy failure in patients with colorectal cancer were examined using multivariate logistic regression. The predictive value of preoperative NLR, PLR, and CA724 on the efficacy of chemotherapy in CRC patients was determined using the receiver operating characteristic curve. **Results** Out of the 104 patients with CRC, 76 showed effectiveness after receiving surgical adjuvant chemotherapy, accounting for 73.08% of the total. The proportion of patients with a tumor diameter >5 cm, low differentiation level, and lymphatic metastasis was higher than in the ineffective group compared to the effective group. Additionally, the ineffective group had higher levels of NLR, PLR, and CA724 than the effective group,

基金项目:安徽省医学会急诊临床研究项目(Ky2021009)

作者单:1. 宁国市人民医院药剂科,安徽,宣城242300

2. 宁国市人民医院急诊科,安徽,宣城242300

3. 宁国市人民医院肿瘤内科,安徽,宣城242300

*通信作者:张振华, E-mail: zzh303108aa@aliyun.com

and the difference was statistically significant ($P<0.05$). NLR, PLR, CA724 levels, tumor diameter, lymph node metastases, and differentiation degree were identified as independent risk factors influencing the clinical effectiveness of postoperative adjuvant chemotherapy in patients with colorectal cancer (CRC), based on multivariate logistic analysis ($P<0.05$). The combined detection of NLR, PLR, and CA724 levels had an area under the curve (AUC) of 0.970 in predicting the effectiveness of CRC patients, which was higher than when each index was considered alone. The sensitivity and specificity were 92.9% and 94.7%, respectively, indicating good predictive value ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of NLR, PLR and CA724 are higher in CRC patients. Combined detection can enhance the predictive value of postoperative chemotherapy in CRC patients.

[KEY WORDS] NLR; PLR; CA724; Colorectal cancer

结直肠癌 (Colorectal Cancer, CRC) 是全球第三大常见恶性肿瘤之一, 占所有癌症病例的 10%, 居恶性肿瘤死因第 2 位, 且发病率逐步趋向年轻化, 严重危害人类健康^[1]。手术切除是临床上治疗的主要手段, 使得 CRC 患者的生存率得到大幅度的提升^[2]。但针对无法手术根治的中晚期 CRC 患者, 则需在术后给予化疗并根据疗效评价结果相应调整后续治疗方案。因此, 寻找可靠的、有预测性的肿瘤标志物来预测 CRC 患者术后化疗疗效是有必要的。既往研究显示^[3], 相关炎症指标与 CRC 的发生发展密切相关, 能直接或间接与肿瘤相互作用, 改变肿瘤组织内稳态, 参与构建肿瘤微环境, 促进肿瘤细胞转移等。中性粒细胞与淋巴细胞比值 (Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, NLR) 及血小板与淋巴细胞比值 (Platelet-to-Lymphocyte Ratio, PLR) 均能更好的反映机体不同的炎症状态, 是评估炎症反应强度及检测疾病进程的重要参数, 在慢性炎症疾病的诊疗评估及预后判断中起到关键作用^[4]。糖类抗原 724 (Carbohydrate Antigen 724, CA724) 是目前研究较多的与 CRC 相关的非特异性肿瘤标志物之一, 其在消化道恶性肿瘤患者的水平显著高于健康人群^[5]。但临床上关于上述三者指标预测 CRC 患者术后化疗疗效的相关研究较少。本研究探讨 NLR、PLR、CA724 与 CRC 患者术后化疗疗效预测的价值, 为 CRC 的治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性选取 2017 年 1 月至 2023 年 8 月期间在宁国市人民医院肿瘤科收治的 CRC 作为研究对象。纳入标准: ①所有患者均符合 CRC 的相关诊断标准^[6]; ②年龄 ≥ 18 岁; ③临床分期为 I 期~IV 期^[6]; ④符合手术指征, 无化疗禁忌症; ⑤未服用过非甾体抗炎药物; ⑥患者及家属知情同意。排除

标准: ①免疫系统缺陷、凝血功能障碍者; ②合并其他重大脏器障碍; ③既往腹部手术史及其他部位肿瘤史; ④急慢性炎症或急性损伤; ⑤精神障碍, 依从性差者; ⑥生存期 < 6 个月。本研究共纳入 CRC 患者共 150 例, 根据纳排标准剔除 46 例, 最终纳入 104 例患者。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

所有患者均接受手术治疗, 并于术后给予 XELOX 化疗方案, d1 静脉滴注奥沙利铂 130 mg/m^2 , d1~14 口服卡培他滨, 每次 1000 mg/m^2 , 每日两次, 21 d 为 1 周期, 共化疗 3 周期。

1.2.2 检测方法

所有患者于术前抽取两管空腹静脉血 4 mL, 其中一管应用全自动五分类血液分析仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 型号: BC5380) 检测淋巴细胞计数、中性粒细胞计数、血小板计数并计算 NLR、PLR 指标。剩余一管进行离心处理 (时间 10 min, 离心半径 10 cm, 速率 3000 r/min), 采用免疫化学发光仪 [罗氏诊断产品 (上海) 有限公司, 型号: COBAS8000E801] 检测 CA724 水平。

1.3 治疗效果评估

于术后 1 年随访患者, 评估患者 1 年内肿瘤复发和转移情况。肿瘤复发、转移定义为原发部位肿瘤经手术治疗消退后, 又在原发病灶所在组织器官出现新的肿瘤, 或经淋巴道、血管、体腔等途径到达其他部位继续生长的肿瘤^[6]。将发生肿瘤复发或转移的患者判断为化疗无效, 纳入无效组; 未发生转移和复发判断为化疗有效, 纳入有效组。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 描述, 采用 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验。采用多因素 Logistic 回归分析影响 CRC 患者化疗无效的危险因素, 采用受试者

工作特征(ROC)曲线分析 NLR、PLR、CA724 对 CRC 患者化疗效果的预测价值。均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较

104 例 CRC 患者经术后化疗后,其中有效组共 76 例,无效组共 28 例,治疗有效率为 73.08%。与有效组相比,无效组 PLR、CA724、NLR 的水平明显高于有效组,肿瘤直径 > 5 cm、低分化程度及淋巴转移患者所占比例高于有效组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),其他指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 影响 CRC 患者治疗无效的多因素 Logistic 回归分析

以 CRC 患者化疗效果为因变量(有效=0,无效=1),将表 1 中有统计学意义的参数为自变量,进行多因素 Logistic 分析。结果显示,PLR、CA724、NLR 水平、淋巴转移、肿瘤直径、分化程度是影响 CRC 患者术后化疗效果的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 NLR、PLR、CA724 对 CRC 患者治疗效果预测价值

ROC 曲线显示,NLR、PLR、CA724 预测 CRC 患者化疗无效的曲线下面积(AUC)联合为 0.828,高于单独检测 ($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

3 讨论

CRC 的具体病因尚未完全清楚,可能是由于遗传、环境、生活方式等多种因素共同作用的结果。通过切除肿瘤组织,使用化学合成药物治疗,有效缓解患者的临床症状,减缓肿瘤细胞的增殖速度,使 CRC 患者的预后得到了一定提高,然而并没有让所有的目标患者受益^[7]。化疗药物对肿瘤细胞杀伤作用缺乏足够特异性,在杀伤肿瘤细胞的同时,对正常的组织细胞也会有不同程度的损

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

临床资料	有效组 (n=76)	无效组 (n=28)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)	60.51±9.41	59.46±9.30	0.506	0.614
性别(例)				
男	50(65.79)	14(50.00)	2.155	0.142
女	26(34.21)	14(50.00)		
BMI(kg/m ²)	21.98±3.33	23.33±3.19	1.854	0.067
吸烟史(例)				
有	2(2.63)	0(0.00)	0.751	0.386
无	74(97.37)	28(100.00)		
饮酒史(例)				
有	1(1.32)	0(0.00)	0.372	0.542
无	75(98.68)	28(100.00)		
合并基础疾病(例)				
是	30(39.47)	15(53.57)	1.657	0.198
否	46(60.53)	13(46.43)		
肿瘤部位(例)				
结肠	48(63.16)	17(60.71)	0.052	0.819
直肠	28(36.84)	11(39.29)		
临床分期(例)				
I 期	3(3.95)	0(0.00)	4.942	0.176
II 期	33(43.52)	7(25.00)		
III 期	36(47.37)	18(64.29)		
IV 期	4(5.26)	3(10.71)		
肿瘤直径(cm)				
≤5	59(77.63)	15(53.57)	5.771	0.016
>5	17(22.37)	13(46.43)		
淋巴转移(例)				
有	38(50.00)	22(78.57)	6.843	0.009
无	38(50.00)	6(21.43)		
肿瘤分化程度(例)				
低分化	7(9.21)	9(32.14)	6.598	0.010
中高分化	69(90.79)	19(67.86)		
NLR	4.02±1.06	5.87±1.93	6.216	0.000
PLR	132.46±40.15	197.85±48.20	6.971	0.000
CA724(U/mL)	27.31±7.06	38.04±8.29	6.554	0.000

表 3 NLR、PLR、CA724 对 CRC 化疗疗效的预测价值

指标	AUC	截断值	约登指数	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	P 值
NLR	0.846	5.290	0.668	0.738~0.954	78.6	88.2	0.000
PLR	0.861	168.755	0.641	0.772~0.950	78.6	85.5	0.000
CA724	0.828	33.090	0.566	0.736~0.920	75.0	81.6	0.000
联合检测	0.970		0.876	0.938~1.000	92.9	94.7	0.000

伤,导致患者生活质量下降^[8-9]。能够寻找有效预测术后化疗疗效的生物标志物,并采取相关措施以改善患者预后显得至关重要,利用实验室指标

表 2 影响 CRC 患者化疗效果的多因素 Logistic 回归分析

指标	赋值	β 值	S.E 值	Wald χ^2 值	OR 值	95% CI	P 值
NLR	连续变量	0.862	0.361	5.691	2.367	1.166~4.804	0.017
PLR	连续变量	0.052	0.016	10.986	1.053	1.021~1.086	<0.001
CA724	连续变量	0.324	0.094	11.879	1.382	1.150~1.661	<0.001
肿瘤直径	$> 5=1, \leq 5=0$	0.715	0.309	5.354	2.044	1.116~3.746	0.021
分化程度	1=低分化,0=中高分化	0.381	0.172	4.907	1.464	1.045~2.051	0.027
淋巴转移	1=有,0=无	0.769	0.255	9.094	2.158	1.309~3.557	0.003

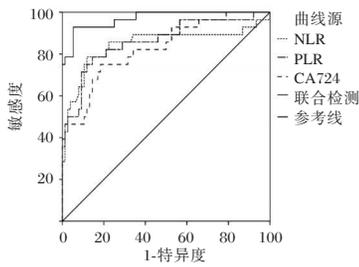


图1 NLR、PLR、CA724 预测CRC化疗疗效的ROC曲线

检测CRC患者术后化疗疗效进行评估是目前研究的热点。故本研究探讨NLR、PLR、CA724在CRC术后化疗患者的疗效预测的价值对提高CRC预后具有积极意义。

多项研究显示^[10-11],CRC患者机体存在持续性感染及慢性炎症,而炎症细胞能直接或间接作用于肿瘤,改变肿瘤微环境,促进肿瘤血管的生成。本研究结果提示CRC患者NLR、PLR、CA724水平、肿瘤直径、分化程度与淋巴结转移与术后化疗疗效相关。分析原因在于,恶性肿瘤的生物学行为和侵袭转移能力取决于其特定的组织学类型及分化程度,肿瘤分化程度越低,则细胞形态与正常细胞相差越大,其恶性程度越高。肿瘤细胞淋巴结转移能逃避免疫监视,癌细胞侵入淋巴系统会迅速传播到淋巴结和其他器官,从而增加临床治疗难度,降低化疗效果^[12]。

CRC发生发展过程中,由肿瘤细胞合成分泌或机体对肿瘤细胞反应而产生的肿瘤标志物进入到血液循环中,导致血清肿瘤标志物水平升高。CA724是一种高分子量黏蛋白,也应用于胃癌、卵巢癌、非小细胞肺癌等的筛查,灵敏度较高。既往研究也表明^[13],CA724水平随胃癌分期的不断增加而上升,提示高水平CA724代表较低生存率,患者存在预后不良。中性粒细胞作为肿瘤微环境的重要成员,反映了肿瘤引起的相关炎症反应,其可通过各种因子和受体与其他免疫细胞参与肿瘤微环境的重塑和维持;而淋巴细胞作为免疫系统的一部分,其水平下降,可致使肿瘤细胞逃避局部T细胞的免疫监视,进而降低机体对肿瘤细胞的抵抗与杀灭能力。NLR水平升高,提示机体中性粒细胞水平增高,淋巴细胞水平下降,CRC患者的免疫功能较差,从而影响患者化疗效果^[14-15]。血小板可以分泌P选择素黏附因子,释放脂质代谢产物和氧自由基,并分泌血管内皮生长因子,加剧肿瘤细胞的增殖与分化。因此高水平PLR可以增加组织血管通透性,加剧肿瘤细胞的侵入,促进肿瘤恶

化,而增加肿瘤转移和复发的可能性^[16]。

本研究多因素Logistic回归分析结果说明由血小板、中性粒细胞、淋巴细胞参与的炎症反应是推动肿瘤发生、发展的重要因素,且肿瘤直径、淋巴转移、分化程度对CRC化疗疗效具有一定的预测作用。进一步ROC分析显示,NLR、PLR、CA724单独及联合检测预测CRC患者术后化疗的AUC均超过0.8,且联合检测的AUC最高,表明NLR、PLR、CA724联合检测对CRC患者术后化疗疗效具有较高的预测价值。

综上所述,NLR、PLR、CA724水平有所升高,是影响CRC患者术后化疗疗效的危险因素。临床上通过检测三指标变化,有助于评估患者化疗效果。临床上应密切关注CRC术后化疗患者的NLR、PLR、CA724水平,及时给予个体化治疗,以改善患者预后。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R, 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] 陈丽霞,罗云婷,徐晶晶,等.参芪补肺汤联合穴位按摩对气虚证结直肠癌术后化疗老年患者的临床疗效[J].中成药, 2024, 46(1):334-337.
- [3] Sun Y, Zhang Y, Huang Z, et al. Combination of Preoperative Plasma Fibrinogen and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (the F-NLR Score) as a Prognostic Marker of Locally Advanced Rectal Cancer Following Preoperative Chemoradiotherapy[J]. World J Surg, 2020, 44(6):1975-1984.
- [4] 钱程程,袁海花,姜斌.中性粒细胞/淋巴细胞比值和循环肿瘤细胞计数联合预测结直肠癌患者预后[J].现代肿瘤医学, 2023, 31(3):476-480.
- [5] 王奇龙,陈南征,吕铁升.血清CEA、CA19-9、CA242对结直肠癌转移及预后的评估价值[J].解放军医药杂志, 2020, 32(6):29-33.
- [6] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会.中国临床肿瘤学会(CSCO)结直肠癌诊疗指南[M].人民卫生出版社:2019:4.75.
- [7] Osterman E, Hammarström K, Imam I, et al. Recurrence Risk after Radical Colorectal Cancer Surgery - Less Than before, But How High Is It? [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(11):3308.
- [8] 赵瑞艳,郝世瑞.老年结直肠癌手术患者血清hs-CRP、IL-10水平与临床预后的关系[J].中国老年学杂志, 2023, 43(19):4671-4674.
- [9] 迪米拉·阿里根,帕尔哈提·阿布都热衣木,张丽博.双歧杆菌三联活菌辅助XELOX方案对结直肠癌术后抗肿瘤免疫应答和肿瘤标志物的影响[J].中国临床研究, 2019, 32(4):516-519.
- [10] Arnet B. Tumor Microenvironment[J]. Medicina (Kaunas), 2019, 56(1):15.

- [11] Fukuda N, Wang X, Ohmoto A, et al. Sequential Analysis of Neutrophil - to - lymphocyte Ratio for Differentiated Thyroid Cancer Patients Treated With Lenvatinib[J]. *In Vivo*, 2020, 34(2):709-714.
- [12] 中国医师协会结直肠癌专业委员会腹膜肿瘤专委会. 结直肠癌腹膜转移诊治中国专家共识(2022版)[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2022, 11(4):265-271.
- [13] 陆兴俊, 赵太云, 王胤, 等. 血清 CA724、CA19-9 水平联合内镜在胃癌诊断及预后中的价值[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(15):3666-3668.
- [14] 赵贺, 王冲, 张文静, 等. 术前 LSR、NLR 及 PLR 检测评估结直肠癌预后的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(2):228-231+236.
- [15] 彭维忠, 杨浩洁, 张克兰, 等. 术前外周血 NLR 和 PLR 在结直肠癌预后评估中的价值[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(4):471-475.
- [16] 陈万臣, 辛莘, 郭雅丽, 等. 术前外周血 NLR、PLR、RDW 水平检测对结直肠癌早期诊断的应用价值[J]. 解放军医药杂志, 2022, 34(5):15-17.

(上接第 595 页)

表明,与肿瘤相关的慢性炎症环境会抑制淋巴细胞的生成和存活,进而导致免疫系统减弱^[17]。这种免疫失衡可能会间接推动凝血系统的异常激活,增加 VTE 的风险。MPVLR 的升高是 MPV 和 LYM 相互作用的结果,不仅反映了血小板的活化水平,还综合体现了患者术后免疫抑制的状况。肺癌患者由于肿瘤引发的系统性炎症反应,本身的凝血系统与免疫系统密切相关^[18]。手术后的应激反应使得这种平衡被打破,MPVLR 的变化可能与这一病理机制直接相关。进一步 ROC 结果显示,MPVLR 预测的 AUC 为 0.909,预测效能高于单一指标,最佳截断值为 6.04。本研究结果还显示,高 D-D 也是胸腔镜下肺叶切除术后 VTE 的独立危险因素。D-D 反映了体内凝血和纤溶系统的活跃程度,提示潜在的血栓形成。

综上所述,MPVLR 在预测胸腔镜下肺叶切除术后 VTE 中展现出良好的潜在应用价值,术前 MPVLR 升高是其发生 VTE 的独立危险因素。

参考文献

- [1] Yamashita Y, Morimoto T, Kimura T. Venous thromboembolism: Recent advancement and future perspective [J]. *J Cardiol*, 2022, 79(1):79-89.
- [2] 黎敏,苏也,乌齐阳. 外周血 LMR、MPVLR 对晚期恶性肿瘤患者 TFA-IRAEs 的预测效能[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(7):1363-1367.
- [3] 李钢,郑鉴峰,张家淳,孙晓川. 两种抗血栓方案在颅内破裂动脉瘤支架辅助栓塞术后的疗效对比[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(5):39-44.
- [4] 梁会,王惠梅,杨玮蔚,等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值、血小板计数与淋巴细胞比值及脂蛋白在急性胰腺炎患者中的检测价值[J]. 感染、炎症、修复, 2024, 25(3):226-229.
- [5] 肖春艳. 中性粒细胞-淋巴细胞比与平均血小板体积对急性静脉血栓栓塞症的诊断效能评价[J]. 吉林医学, 2021, 42(9):2126-2129.
- [6] 黄岩,张力. 2020 CSCO 非小细胞肺癌诊疗指南更新要点解读[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(8):603-605.
- [7] Key NS, Khorana AA, Kuderer NM, et al. Venous Thromboembolism Prophylaxis and Treatment in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(5):496-520.
- [8] 付毅,廉政君,拜都如拉·艾尼吐,等. 单孔胸腔镜下肺段及肺叶切除术治疗早期肺癌的临床效果[J]. 保健医学研究与实践, 2024, 21(1):60-64.
- [9] 戴天阳,闫群伦. 单孔胸腔镜在非小细胞肺癌手术中的应用进展与思考[J]. 西南医科大学学报, 2022, 45(2):93-97.
- [10] Pastori D, Cormaci VM, Marucci S, et al. A Comprehensive Review of Risk Factors for Venous Thromboembolism: From Epidemiology to Pathophysiology[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4):3169.
- [11] Liu W, Pircher J, Schuermans A, et al. Jak2 V617F clonal hematopoiesis promotes arterial thrombosis via platelet activation and cross talk[J]. *Blood*, 2024, 143(15):1539-1550.
- [12] Kryvoruchko IA, Staikov P, Boyko VV, et al. Physiological stress level and screening for malnutrition as preoperative predictors of postoperative complications in pancreatic surgery: a retrospective study[J]. *BMC Surg*, 2023, 23(1):156.
- [13] 李斌,王锦春,王志斌,等. 平均血小板体积/淋巴细胞比值与老年非瓣膜性心房颤动患者左心房血栓形成的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2024, 45(6):681-685.
- [14] Cao J, Li R, He T, et al. Role of combined use of mean platelet volume-to-lymphocyte ratio and monocyte to high-density lipoprotein cholesterol ratio in predicting patients with acute myocardial infarction[J]. *J Cardiothorac Surg*, 2023, 18(1):172.
- [15] Adelborg K, Larsen JB, Hvas AM. Disseminated intravascular coagulation: epidemiology, biomarkers, and management [J]. *Br J Haematol*, 2021, 192(5):803-818.
- [16] Li B, Hu Y, Li QY, et al. Procoagulant genes may affect angiogenesis, epithelial-mesenchymal transition, survival prognosis and tumor immune microenvironment in patients with urothelial carcinoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(13):6429-6444.
- [17] Lasry A, Nadorp B, Fornerod M, et al. An inflammatory state remodels the immune microenvironment and improves risk stratification in acute myeloid leukemia[J]. *Nat Cancer*, 2023, 4(1):27-42.
- [18] Luo Y, Lin K, Zhang M, et al. Combination of the platelet-to-lymphocyte ratio and fibrinogen may predict 5-year overall survival of patient in non-small cell lung cancer treated with surgery[J]. *J Thorac Dis*, 2023, 15(12):6967-6975.

儿童社区获得性肺炎伴血流感染常规实验室指标评价

段友红¹ 郭普² 常滋毓^{1*} 陈尧¹

[摘要] **目的** 探讨儿童社区获得性肺炎(CAP)伴血流感染的临床特征和常规实验室指标的诊断效能。**方法** 选取2019年1月至2023年8月蚌埠市第一人民医院入住的357例CAP患儿为研究对象,依据血培养结果不同将其中120例伴有血流感染患儿分为研究组,另外237例不伴有血流感染患儿分为对照组,分析血流感染的菌株分布。比较两组患者的临床特征,应用Kaplan-Meier生存曲线比较7天累计出院率。比较两组患儿的白细胞计数(WBC)、中性粒细胞计数(NEU)、红细胞沉降率(ESR)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)的水平,将有统计学意义的参数纳入受试者工作曲线(ROC)分析敏感度、特异度、阳性似然比、阴性似然比和诊断比值比。**结果** 研究组检出120株血流感染病原菌,凝固酶阴性的葡萄球菌51株,占比达到42.50%,其次是大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,占比分别为25.84%和13.33%;研究组患儿胸腔积液、入住ICU比率更高(P 均 <0.05),住院时间更长($P<0.05$),Kaplan-Meier生存曲线显示与对照组相比,研究组患儿7天累计出院率更高($P<0.05$);实验室常规检测结果两组对比CRP和PCT差异有统计学意义(P 均 <0.05),WBC、NEU、ESR、NLR差异无统计学意义(P 均 >0.05);ROC分析结果显示,随着阈值的升高,当CRP阈值为100 mg/L,诊断比值比最高,为4.14;当PCT阈值为2 ng/L,诊断比值比最高,为7.55。当CRP(100 mg/L)+PCT(2 ng/L)联合检测,诊断比值比提高到10.53。**结论** 有胸腔积液、入住ICU的CAP患儿其血流感染发生率更高,住院时间也 longer,血流感染病原菌分布以凝固酶阴性葡萄球菌为主。CRP和PCT是预测CAP患儿菌血症良好的实验室指标。

[关键词] 社区获得性肺炎;血流感染;临床特征;诊断效能

Evaluation of clinical features and diagnostic efficacy of routine laboratory indicators in community-acquired pneumonia with bloodstream infection in children

DUAN Youhong¹, GUO Pu², CHANG Ziyu^{1*}, CHEN Yao¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Bengbu Children's Hospital, Bengbu, Anhui, China, 23000; 2. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui, China, 233000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical features and diagnostic efficacy of routine laboratory indicators of community-acquired pneumonia (CAP) with bloodstream infection in children. **Methods** 357 children with CAP admitted to the First People's Hospital of Bengbu City from January 2019 to August 2023 were selected for the study. 120 children with bloodstream infections were placed in the study group based on the different results of blood culture, while 237 children without bloodstream infection were chosen as the control group. The distribution of strains causing bloodstream infections was analyzed. The clinical characteristics of the two groups were compared, and the cumulative discharge rate at 7 days was assessed using the Kaplan-Meier survival curve. Levels of white blood cell count (WBC), neutrophil count (NEU), erythrocyte sedimentation rate (ESR), and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) were compared between the two groups of children. Statistically significant parameters were included in the subjects' working curves (ROCs) to analyze the sensitivity, specificity, positive likelihood ratio, negative likelihood ratio, and diagnostic ratio. **Results** 120 strains of bloodstream infection pathogens were detected in the study group. Coagulase-negative staphylococci accounted for 51 strains (42.50%), followed by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, accounting for 25.84% and 13.33%, respectively. Children in the study group had higher rates of pleural effusions, ICU admis-

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2021A0761)

作者单位:1.蚌埠市第一人民医院检验科,安徽,蚌埠233000

2.蚌埠医学院第一附属医院检验科,安徽,蚌埠233000

*通信作者:常滋毓, E-mail: 15255292701@163.com

sions ($P < 0.05$), and longer hospitalizations ($P < 0.05$). The Kaplan-Meier survival curve showed a higher cumulative 7-day discharge rate for children in the study group compared with the control group ($P < 0.05$). The difference in CRP and PCT between the two groups was statistically significant when comparing the results of routine laboratory tests ($P < 0.05$), while the difference in WBC, NEU, ESR, and NLR was not statistically significant ($P > 0.05$). The results of ROC analysis showed that the diagnostic ratio was highest when the CRP threshold was 100 mg/L, at 4.14. The diagnostic ratio was highest when the PCT threshold was 2 ng/L, at 7.55. When CRP (100 mg/L) + PCT (2 ng/L) were combined, the diagnostic ratio increased to 10.53. **Conclusion** Children with CAP who had pleural effusion and were admitted to the ICU experienced a higher incidence of bloodstream infections and longer hospital stays. The distribution of pathogens causing bloodstream infections was predominantly coagulase-negative staphylococci. CRP and PCT are reliable laboratory indicators for predicting bacteremia in children with CAP.

[KEY WORDS] CAP; Bloodstream infection; Clinical features; Diagnostic efficacy

儿童社区获得性肺炎 (Community Acquired Pneumonia, CAP) 是一个重大的公共卫生问题, 全球每年有 1.2 亿至 1.5 亿例新发病例, 其中包括约 1 400 万例严重病例^[1-2]。菌血症表明血液系统受到细菌感染, 是侵入性疾病的标志。2011 年美国 CAP 国家管理指南建议对所有因中度至重度 CAP 住院的儿童进行血培养^[3]。但是, 血培养由于方法学的限制, 耗时较长, 而常规实验室感染指标, 如白细胞 (White blood cell, WBC)、中性粒细胞计数 (Neutrophil, NEU)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 和降钙素原 (Procalcitonin, PCT) 等检测方便快捷, 因此本研究利用这些常用感染指标分析其对 CAP 伴血流感染的诊断效能以期为临床早期诊断和治疗提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2019 年 1 月至 2023 年 8 月蚌埠市第一人民医院入住的 357 例社区获得性肺炎患儿为研究对象, 依据血培养结果的不同将其中 120 例伴有血流感染患儿分为研究组, 另外 237 名不伴有血流感染患儿为对照组。两组患儿性别、年龄等基线资料相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。纳入标准: ①肺炎儿童符合儿童 CAP 诊疗规范 (2019 版) 的诊断标准^[4]; ②年龄 1 个月~17 岁; ③患者临床资料齐全。排除标准: ①肺及气管、支气管发育不良或畸形; ②有恶性肿瘤、先天性心脏病、先天遗传代谢病、免疫缺陷病; ③非感染性肺部疾病; ④过去一周内有住院记录。本研究为回顾性研究, 通过了医院伦理委员会的审批同意, 研究对象家长免签知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血培养

无菌操作采集血培养, 阳性瓶采用美国 BD

PHOENIX 100 全自动微生物鉴定和药敏仪进行菌株鉴定。所有菌株在报危急值时结合患者的临床体征和实验室检查结果经过临床医生分析确认, 排除污染菌的可能。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853, 金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.2.2 实验室指标检测

采集患儿静脉抗凝血, 使用希思美康公司血细胞分析仪 XE-2100 检测 WBC、NEU、红细胞沉降率 (Erythrocyte Sedimentation rate, ESR)、中性粒细胞与淋巴细胞比值 (Neutrophils and lymphocytes ratio, NLR); 采用免疫散射比浊法检测患者的 CRP, 试剂盒和设备来自安徽九强公司; 免疫化学发光法检测降钙素原 PCT, 设备为深圳新产业公司 Maglumi 4000 全自动化学发光仪, 试剂为仪器配套试剂。以上检测均严格遵照设备和实际说明书进行。

1.2.3 病毒检测和痰培养

采集患儿鼻拭子 (免疫荧光法, 海德公司) 或咽拭子 (实时荧光 PCR 法, 江苏和创公司) 检测呼吸道多种病毒。

1.2.4 细菌培养

留取患儿痰标本进行痰培养, 阳性标本进行菌株鉴定。

1.2.5 支原体检测

采集抗凝血, 应用酶联免疫吸附法检测肺炎支原体抗体 IgM, 试剂来自珠海丽珠公司; 或者采集咽拭子 (实时荧光 PCR 法, 江苏默乐公司) 检测支原体核酸。

1.2.6 肺炎患儿 7 天累计出院率分析

以患者入院时间为观测起点, 出院时间为观测终点做研究组和对照组 Kaplan-Meier 生存曲线。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 进行数据分析和处理。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,样本率的组间比较采用卡方检验或 Fisher 精确概率检验。定量资料采用 Shapiro-Wilk 法进行正态性检验,不符合正态分布数据用 $M(P25, P75)$ 表示,组间比较用 Mann-Whitney U 非参数检验。应用 log-rank 检验绘制 Kaplan-Meier 生存曲线对两组患者的 7 天累积在院率进行分析。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 CRP 和 PCT 诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组血流感染检出菌分布

研究组 120 例患者血流感染检出 120 株病原菌,凝固酶阴性的葡萄球菌、大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌占据总数的前三位。见表 1。

2.2 研究组和对照组临床资料比较

两组住院时间、胸腔积液、入住 ICU 例数差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 研究组和对照组累积 7 天出院率分析

随着住院时间的延长,研究组累积 7 天在院率

表 1 研究组血流感染病原菌分布 [$n(\%)$]

菌株	例数($n=120$)	构成比($\%$)
革兰阳性菌	69	57.50
凝固酶阴性的葡萄球菌	51	42.50
金黄色葡萄球菌	13	10.83
屎肠球菌	5	4.17
革兰阴性菌	51	42.50
大肠埃希菌	31	25.83
肺炎克雷伯菌	16	13.33
鲍曼不动杆菌	4	3.33

显著高于对照组,即累积 7 天出院率显著低于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=4.126, P<0.05$)。

2.4 研究组和对照组实验室指标比较

研究组 CRP、PCT 显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而 WBC、NEU、ESR 和 NLR 两组结果差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

2.5 ROC 曲线分析 CRP 和 PCT 不同阈值对儿童 CAP 伴发血流感染的诊断效能

当 CRP 阈值为 100 mg/L,诊断比值比最高,为 4.14;当 PCT 阈值为 2 ng/L,诊断比值比最高,为 7.55。当 CRP(100 mg/L)+PCT(2 ng/L)联合检测,诊断比值比提高到 10.53。见表 4。

表 2 研究组和对照组临床资料比较 [$n(\%), M(P25, P75)$]

因素	研究组($n=120$)	对照组($n=237$)	χ^2/Z 值	P 值
男孩	73(60.83)	126(53.16)	1.234	0.421
年龄(月)	17.51(11.24, 58.62)	20(10, 63)	0.631	0.713
住院时间(d)	8.42(5.83, 11.21)	6.53(2.01, 7.80)	5.621	<0.001
合并症数量				
0	64(53.33)	125(52.74)	0.395	0.941
1	38(31.67)	72(30.38)		
2	15(12.50)	35(14.77)		
≥ 3	3(2.50)	5(2.11)		
临床体征				
体温($^{\circ}\text{C}$)	38.1(37.0, 39.2)	37.7(37.1, 38.9)	0.763	0.678
喘息	37(30.83)	87(36.71)	1.213	0.271
咳嗽	101(84.17)	202(85.23)	0.070	0.791
流鼻涕	57(47.50)	103(43.45)	0.526	0.468
不对称呼吸音	75(62.50)	170(71.73)	3.152	0.076
胸腔积液	4(3.33)	1(0.42)		0.045
呼吸道病原体检测				
病毒	15(12.50)	37(15.61)	0.620	0.431
细菌	17(14.17)	39(16.46)	0.316	0.574
支原体	14(11.67)	20(8.44)	0.963	0.326
混合	22(18.33)	43(18.14)	0.002	0.965
影像学改变				
单叶实变	29(24.17)	49(20.68)	3.203	0.361
多叶实变	38(31.67)	76(32.07)		
浸润	43(35.83)	101(42.62)		
混合	10(8.33)	11(4.64)		
治疗措施				
氧疗	83(69.17)	142(59.92)	2.926	0.087
入住 ICU	26(21.67)	23(9.70)	9.626	0.002
疾病结局				
治愈	115(95.83)	222(93.67)	0.704	0.401
转出或放弃治疗	5(4.17)	15(6.33)		

注:“-”为 Fisher 精确检验,统计量缺失。

表3 研究组和对照组实验室指标比较 [M(P25, P75)]

指标	WBC($10^9/L$)	NEU($10^9/L$)	CRP(mg/L)	PCT(ng/L)	ESR(mm)	NLR
研究组	16.3(6.9, 19.7)	12.3(6.7, 15, 8)	110.3(60.2, 168.9)	1.9(0.9, 5.8)	57(43, 58)	2.1(1.4, 2.9)
对照组	12.3(8.7, 16.5)	10.4(7.2, 11, 3)	14.2(5.1, 28.7)	0.3(0.1, 1.3)	49(32, 76)	1.9(1.5, 2.7)
Z值	1.235	0.423	5.613	4.035	0.807	0.893
P值	0.103	0.095	0.009	0.013	0.720	0.139

表4 CRP和PCT不同阈值对儿童CAP伴发血流感染的诊断效能

指标	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性似然比	阴性似然比	诊断比值比
CRP 阈值(mg/L)					
5	96.65	3.84	1.01	0.87	1.16
10	96.52	7.90	1.05	0.44	2.39
20	92.83	16.61	1.11	0.43	2.58
50	85.62	37.11	1.36	0.39	3.49
100	76.21	56.32	1.74	0.42	4.14
PCT 阈值(ng/L)					
0.5	88.31	30.22	1.27	0.39	3.26
1	84.52	42.63	1.47	0.36	4.08
2	81.79	62.71	2.19	0.29	7.55
5	65.20	72.61	2.38	0.48	4.96
CRP与PCT联合					
CRP(100 mg/L)+ PCT(2 ng/L)	94.27	86.43	6.95	0.66	10.53

3 讨论

血流感染在CAP患儿中并不常见,虽然本研究发生社区获得性血流感染患儿占比33.61%,但本研究为病例对照研究,非队列研究,实际菌血症发生率远低于此。国外有报道,CAP患儿菌血症发病率在1.10%~7.10%之间^[5-6],Iroh Tam等^[7]的荟萃分析中报告了CAP患儿伴血流感染的综合患病率为5.10%,国内尚未见到类似报道。

本研究中,120例血流感染病例,凝固酶阴性的葡萄球菌占42.50%,位居首位。国内儿童血流感染病原菌分布中,凝固酶阴性的葡萄球菌一直占据相当大的比重^[8],而国外报道CAP患儿血流感染的病原菌主要为肺炎链球菌^[9]。

本研究发现喘息和胸腔积液的CAP患儿中更易伴发菌血症。胸腔积液是与细菌性肺炎以及重症肺炎相关的一个因素,以往的研究也支持在有胸腔积液的儿童中血培养阳性率更高^[10]。Kwon等^[11]发现2705名CAP儿童和青少年中仅有3例(0.11%)出现菌血症,均为肺炎合并胸腔积液。Fritz CQ^[12]的另一项研究发现喘息患儿在CAP伴发菌血症中比例更高。研究组患儿住院时间更长,入住ICU比率更高,说明研究组患儿治疗成本更高,风险更大。国外一项血培养在儿童CAP作

用的研究中也发现,4/5有血流感染的CAP患儿要送往ICU,而本研究入住ICU比率只有21.67%^[13]。

WBC、NEU、CRP、PCT、ESR和NLR这些非特异指标在评价儿童肺炎的研究中经常被使用。Agnello等^[14]发现,儿童中CRP水平升高与细菌病原学和严重CAP相关。国外一项在评价疫苗对于儿童肺炎的有效性的研究中CRP和PCT也被用作感染的替代标记物^[15]。研究报道,CRP和PCT水平在伴有CAP并发症的儿童中均高于无CAP并发症的儿童^[16]。Anam Bashir^[17]的研究中亦提及CRP和PCT水平在具有严重CAP特定指标的患儿中显著升高,包括需要胸腔引流的脓胸和血流感染。本文结论与上述研究相符。需要注意的是,也有研究表明了相反的结果,比如Long等^[18]报道PCT和CRP在肺炎的诊断中几乎无益处。

本研究中,随着阈值的升高,CRP在100 mg/L, PCT为2 ng/L时诊断效能最高,而两者在这一阈值联合后,敏感性、特异性、诊断比值比显著上升,具有良好的诊断效能。

有报道CRP对严重CAP的预测能力随着中性粒细胞比例、温度、痰量、年龄、等因素的加入而大大增强^[19]。因此CRP、PCT与临床信息(如免疫状况、症状持续时间、全身和呼吸系统症状以及年龄)和其他生物标记物结合,可能与临床决策可能更有相关性。

综上,有胸腔积液、入住ICU的CAP患儿其血流感染发生率更高,住院时间也更长,血流感染病原菌分布以凝固酶阴性葡萄球菌为主。CRP和PCT可以作为预测CAP患儿菌血症的实验室指标。

参考文献

- [1] 尹冰如,董晓艳.不同病原感染所致的重症社区获得性肺炎的临床表现[J].中国实用儿科杂志,2022,37(2):104-110.
- [2] Smith DK, Kuckel DP, Recidoro AM. Community-Acquired Pneumonia in Children: Rapid Evidence Review[J].Am Fam Physician, 2021,104(6):618-625.
- [3] Lokida D, Farida H, Triasih R, et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia among hospitalised children in Indonesia: a multicentre, prospective study [J]. BMJ Open, 2022,12(6):e057957.

- [4] 刘金荣,赵成松,赵顺英.《儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019年版)》解读[J].中国实用儿科杂志,2020,35(3):185-187.
- [5] de Benedictis FM, Kerem E, Chang AB, et al. Complicated pneumonia in children[J]. Lancet, 2020,396(10253):786-798.
- [6] Akahoshi S, Morikawa Y, Sakakibara H, et al. Risk factors of bacteremia in children hospitalized with community-acquired pneumonia: A nested case-control study [J]. J Infect Chemother, 2021,27(8):1198-1204.
- [7] Iroh Tam PY, Bernstein E, Ma X, et al. Blood Culture in Evaluation of Pediatric Community-Acquired Pneumonia: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. Hosp Pediatr, 2015, 5(6):324-336.
- [8] 刘敏雪,黄丽英,梁嘉慧,等.2017-2018年南宁地区儿童血流感染病原菌分布及耐药性分析[J].实用医学杂志,2020,36(4):527-531.
- [9] 方盼盼,杨俊文,高凯杰,等.2014-2019年郑州某儿童医院血流感染病原菌分布及耐药性分析[J].中国药房,2020,31(1):98-103.
- [10] Blanco-Iglesias E, Oñoro G, Almodovar-Martín JL, et al. Retrospective Study in Children With Necrotizing Pneumonia: Nine Years of Intensive Care Experience[J]. Pediatr Infect Dis J, 2020,39(7):571-575.
- [11] Kwon JH, Kim JH, Lee JY, et al. Low utility of blood culture in pediatric community-acquired pneumonia: An observational study on 2705 patients admitted to the emergency department[J]. Medicine (Baltimore), 2017,96(22):e7028.
- [12] Fritz CQ, Edwards KM, Self WH, et al. Prevalence, Risk Factors, and Outcomes of Bacteremic Pneumonia in Children [J]. Pediatrics, 2019,144(1):e20183090.
- [13] Youssef AS, Fanous M, Siddiqui FJ, et al. Value of Blood Cultures in the Management of Children Hospitalized with Community-Acquired Pneumonia [J]. Cureus, 2020, 12(5): e8222.
- [14] Agnello L, Bellia C, Di Gangi M, et al. Utility of serum procalcitonin and C-reactive protein in severity assessment of community-acquired pneumonia in children[J]. Clin Biochem, 2016,49(1-2):47-50.
- [15] Levy C, Biscardi S, Dommergues MA, et al. Impact of PCV13 on community-acquired pneumonia by C-reactive protein and procalcitonin levels in children[J]. Vaccine, 2017,35(37):5058-5064.
- [16] Florin TA, Ambroggio L, Brokamp C, et al. Biomarkers and Disease Severity in Children With Community-Acquired Pneumonia[J]. Pediatrics, 2020,145(6):e20193728.
- [17] Bashir A, Khan R, Thompson S, et al. A retrospective observational study of biomarker levels and severity assessment in pediatric community-acquired pneumonia[J]. Medicine (Baltimore), 2022,101(32):e30010.
- [18] Long B, Long D, Koefman A. Emergency medicine evaluation of community-acquired pneumonia: history, examination, imaging and laboratory assessment, and risk scores[J]. J Emerg Med, 2017,53(5):642-652.
- [19] Bhuiyan MU, Blyth CC, West R, et al. Combination of clinical symptoms and blood biomarkers can improve discrimination between bacterial or viral community-acquired pneumonia in children[J]. BMC Pulm Med, 2019,19(1):71.

(上接第592页)

- [24] Liu H, Song Y, Qiu H, et al. Downregulation of FOXO3a by DNMT1 promotes breast cancer stem cell properties and tumorigenesis [J]. Cell Death Differ, 2020, 27(3): 966-983.
- [25] Ring A, Nguyen C, Smbatyan G, et al. CBP/beta-Catenin/FOXMI Is a Novel Therapeutic Target in Triple Negative Breast Cancer [J]. Cancers (Basel), 2018, 10(12).
- [26] Shen X, Zhong J, Yu P, et al. YTHDC1-dependent m6A modification modulated FOXMI promotes glycolysis and tumor progression through CENPA in triple-negative breast cancer [J]. Cancer Sci, 2024, 115(6): 1881-1895.
- [27] Wang K, Dai X, Yu A, et al. Peptide-based PROTAC degrader of FOXMI suppresses cancer and decreases GLUT1 and PD-L1 expression [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 289.
- [28] Zhang X, Huang C, Yuan Y, et al. FOXMI-mediated activation of phospholipase D1 promotes lipid droplet accumulation and reduces ROS to support paclitaxel resistance in metastatic cancer cells [J]. Free Radic Biol Med, 2022, 179: 213-228.
- [29] Kwok JM, Peck B, Monteiro LJ, et al. FOXMI confers acquired cisplatin resistance in breast cancer cells [J]. Mol Cancer Res, 2010, 8(1): 24-34.
- [30] Karunaratna U, Kongsema M, Zona S, et al. OTUB1 inhibits the ubiquitination and degradation of FOXMI in breast cancer and epirubicin resistance [J]. Oncogene, 2016, 35(11): 1433-1444.
- [31] Wang Y, Yuan X, Li J, et al. The Synergistic Effects of SHR6390 Combined With Pyrotinib on HER2+/HR+ Breast Cancer [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 785796.
- [32] Ulhaka K, Kanokwiroon K, Khongkow M, et al. The Anti-cancer Effects of FDI-6, a FOXMI Inhibitor, on Triple Negative Breast Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(13):6685.
- [33] Jang WD, Lee MY, Mun J, et al. CDI Exerts Anti-Tumor Effects by Blocking the FoxM1-DNA Interaction [J]. Biomedicines, 2022, 10(7):1671.
- [34] Tabatabaei Dakhili SA, Pérez DJ, Gopal K, et al. SP1-independent inhibition of FOXMI by modified thiazolidinediones [J]. Eur J Med Chem, 2021, 209.
- [35] Cheng H, Yuan J, Pei C, et al. The development of an anti-cancer peptide M1-21 targeting transcription factor FOXMI [J]. Cell Biosci, 2023, 13(1):114.
- [36] Fang P, Madden JA, Neums L, et al. Olaparib-induced Adaptive Response Is Disrupted by FOXMI Targeting that Enhances Sensitivity to PARP Inhibition [J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(6): 961-973.

新生儿黄疸血清CRP、AFP、IL-6水平变化及对急性胆红素脑病的预测价值

邱潇* 董玉斌 曹亚芹

[摘要] **目的** 探讨新生儿黄疸血清C反应蛋白(CRP)、甲胎蛋白(AFP)、白细胞介素6(IL-6)水平变化及对急性胆红素脑病(ABE)的预测价值。**方法** 选取2022年5月至2023年10月周口市中心医院94例新生儿黄疸作为观察组,另选取94例健康新生儿作为对照组。比较两组及不同胆红素水平患儿血清CRP、AFP、IL-6水平,分析血清CRP、AFP、IL-6水平与胆红素相关性,并分析血清CRP、AFP、IL-6水平对新生儿黄疸并发ABE的预测价值。**结果** 病理性黄疸患儿血清CRP、AFP、IL-6水平>生理性黄疸患儿>对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清CRP、AFP、IL-6水平均为新生儿黄疸的相关影响因素($P<0.05$)。不同胆红素水平患儿血清CRP、AFP、IL-6水平:高胆红素患儿>中胆红素患儿>低胆红素患儿,差异有统计学意义($P<0.05$)。新生儿黄疸血清CRP、AFP、IL-6水平与胆红素均呈正相关关系($P<0.05$)。观察组发生ABE患儿血清CRP、AFP、IL-6水平高于观察组未发生ABE患儿,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清CRP、AFP、IL-6水平单一及联合预测新生儿黄疸并发ABE的曲线下面积(AUC)分别为0.827、0.809、0.778、0.878。**结论** 血清CRP、AFP、IL-6水平或可作为鉴别新生儿黄疸类型、评估病情程度的血清标志物,三指标联合检测对预测新生儿黄疸并发ABE具有一定参考价值。

[关键词] 新生儿黄疸;急性胆红素脑病;C反应蛋白;甲胎蛋白;白细胞介素6

Changes of serum CRP, AFP and IL-6 levels in neonatal jaundice and their predictive value for acute bilirubin encephalopathy

QIU Xiao*, DONG Yubin, CAO Yaqin

(NICU, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou, Henan, China, 466000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the changes of serum C-reactive protein (CRP), alpha-fetoprotein (AFP) and interleukin 6 (IL-6) levels in neonatal jaundice and their predictive value for acute bilirubin encephalopathy (ABE). **Methods** A total of 94 cases of neonatal jaundice at Zhoukou Central Hospital from May 2022 to October 2023 were selected as the observation group, while another 94 cases of healthy newborns were chosen as the control group. The levels of serum CRP, AFP, and IL-6 were compared between the two groups, and among children with different levels of bilirubin. The correlation between serum CRP, AFP, and IL-6 levels and bilirubin was analyzed, and the predictive value of serum CRP, AFP, and IL-6 levels for neonatal jaundice complicated with ABE was analyzed. **Results** The levels of serum CRP, AFP, and IL-6 in children with pathological jaundice were higher than those in children with physiological jaundice and the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum CRP, AFP, and IL-6 were all associated with neonatal jaundice ($P<0.05$). Additionally, the levels of serum CRP, AFP, and IL-6 in children with different levels of bilirubin were: high bilirubin children > moderate bilirubin children > low bilirubin children, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum CRP, AFP, and IL-6 in neonatal jaundice were also positively correlated with bilirubin levels ($P<0.05$). The levels of serum CRP, AFP, and IL-6 in children with ABE in the observation group were higher than those in

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(2021062326)

作者单位:周口市中心医院NICU,河南,周口466000

*通信作者:邱潇, E-mail: qiuxiao9@126.com

children without ABE, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The areas under the curve (AUC) of serum CRP, AFP, and IL-6 levels alone and in combination for predicting neonatal jaundice complicated with ABE were 0.827, 0.809, 0.778, and 0.878, respectively. **Conclusion** The levels of serum CRP, AFP, and IL-6 may serve as serum markers for distinguishing the types of neonatal jaundice and assessing the severity of the condition. The combined detection of these three indicators has a certain reference value for predicting the occurrence of neonatal jaundice complicated with ABE.

[KEY WORDS] Neonatal jaundice; Acute bilirubin encephalopathy; CRP; AFP; IL-6

新生儿黄疸是新生儿疾病中最常见的症状与体征之一,流行病学调查显示,其在足月儿、早产儿中的发病率分别为50.0%、80.0%^[1]。其中,生理性黄疸可自行消退,但病理性黄疸则会引发感染、溶血等严重情况,可累及大脑及多个脏器,威胁患儿生命安全^[2]。随病情持续进展,严重者可并发急性胆红素脑病(Acute Bilirubin Encephalopathy, ABE)^[3-4]。相关研究显示,新生儿黄疸可引起机体微炎症状态^[5],其中C反应蛋白(C-Reactive Protein, CRP)、白细胞介素6(Interleukin-6, IL-6)均在机体炎症反应中发挥重要作用。甲胎蛋白(Alpha-Fetoprotein, AFP)属 $\alpha 1$ 球蛋白,具有促进细胞增殖作用,在胚胎及肿瘤中呈高表达。本研究将综合分析新生儿黄疸血清CRP、AFP、IL-6水平变化及对ABE的预测价值。报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2022年5月至2023年10月周口市中心医院94例新生儿黄疸作为观察组,其中生理性42例,病理性52例,另选取94例健康新生儿作为对照组。两组基本资料均衡可比($P > 0.05$)。见表1。本研究经本院医学伦理委员会审批同意。

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

一般资料	观察组($n=94$)	对照组($n=94$)	t/χ^2 值	P 值
性别				
男	53(56.38)	58(61.70)	0.550	0.458
女	41(43.62)	36(38.30)		
日龄(d)	7.27 \pm 2.26	6.97 \pm 1.84	0.998	0.320
胎龄(周)	38.64 \pm 0.60	38.72 \pm 0.68	0.855	0.394
体质量(g)	3 000.83 \pm 151.44	3 012.49 \pm 173.50	0.491	0.624
母亲年龄(岁)	29.75 \pm 2.03	30.11 \pm 2.40	1.110	0.268
新生儿类型				
早产儿	75(79.79)	73(77.66)	0.127	0.722
足月儿	19(20.21)	21(22.34)		
分娩类型				
阴道分娩	55(58.51)	57(60.64)	0.088	0.766
剖宫产	39(41.49)	37(39.36)		

纳入标准(1)观察组若符合以下标准1条即可确诊为病理性黄疸,若不符合任何1条即可确诊为生理性黄疸^[6]:①新生儿出生后1d内出现黄疸症状;②黄疸症状反复出现;③足月新生儿血清总胆红素水平 $>205 \mu\text{mol/L}$,早产新生儿血清总胆红素水平 $>255 \mu\text{mol/L}$,或新生儿血清总胆红素水平升高 $>85 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{d})$;④足月新生儿黄疸持续时间 $>14 \text{d}$,早产新生儿黄疸持续时间 $>28 \text{d}$; (2)两组胎龄均为35~42周; (3)监护人均签署知情同意书。排除标准:(1)肝功能损害、胆道先天性疾病等所致黄疸者;(2)合并先天性心脏病、心房间隔缺损、先天性主动脉弓畸形等其他严重先天性疾病者;(3)严重呕吐、溶血性贫血需行换血治疗者;(4)严重代谢性疾病者;(5)监护人精神行为异常。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

观察组生理性黄疸患儿未行治疗自行消退;病理性黄疸患儿采用蓝光照射治疗,枯草杆菌二联活菌及苯巴比妥等常规退黄治疗。

1.2.2 检测方法

空腹取2 mL静脉血,2 500 rpm离心15 min,离心半径为8 cm,分离取血清,置于 -20°C 低温保存。采用免疫比浊法检测血清CRP水平,试剂盒购自日本IATRON株式会社。采用酶联免疫吸附试验(ELISA法)检测血清AFP、IL-6水平,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

1.2.3 相关标准

ABE诊断标准^[6]:血清胆红素水平明显上升,经头颅磁共振成像(Magnetic resonance imaging, MRI)检查发现基底神经节、丘脑及内囊影像学异常,且自动听性脑干反应(Automatic auditory brain-stem response, AABR)检查结果为不通过。黄疸分级标准^[6]:正常范围:总胆红素 $3.4\sim 17.1 \mu\text{mol/L}$;隐性黄疸:总胆红素 $17.1\sim 34.2 \mu\text{mol/L}$;轻度黄疸:总胆红素 $34.2\sim 171 \mu\text{mol/L}$;中度黄疸:总胆红素 $171\sim$

342 μmol/L;重度黄疸:总胆红素大于342 μmol/L。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验,计数资料以 *n*(%)表示,用 χ^2 检验;采用 Logistic 进行多因素回归分析,采用 Spearman 相关性分析,采用受试者工作特征曲线(ROC)分析预测价值,联合预测实施 Logistic 二元回归拟合,返回预测概率 logit(*p*),将其作为独立检验变量。均采用双侧检验, *P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 CRP、AFP、IL-6 水平比较

血清 CRP、AFP、IL-6 水平:病理性黄疸患儿>生理性黄疸患儿>对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 两组血清 CRP、AFP、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CRP(mg/L)	AFP(mg/L)	IL-6(ng/L)
生理性	42	7.25±1.26 ^a	13.68±1.87 ^a	11.37±1.65 ^a
病理性	52	62.74±9.12 ^{ab}	26.11±1.88 ^{ab}	18.84±3.02 ^{ab}
对照组	94	5.82±1.47	9.89±0.84	8.41±1.25
<i>F</i> 值		2463.351	2123.728	468.939
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与生理性比较,^b*P*<0.05。

2.2 血清 CRP、AFP、IL-6 水平与新生儿黄疸的 Logistic 回归分析

Logistic 多因素回归分析,血清 CRP、AFP、IL-6 水平均为新生儿黄疸的相关影响因素(*P*<0.05)。见表 3。

2.3 不同胆红素水平患儿血清 CRP、AFP、IL-6 水平比较

观察组依据黄疸分级标准^[6]分为高胆红素患儿(>342 μmol/L)、中胆红素患儿(171~342 μmol/L)、低胆红素患儿(<171 μmol/L)。不同胆红素水平患儿血清 CRP、AFP、IL-6 水平:高胆红素患儿>中胆红素患儿>低胆红素患儿,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

表 3 血清 CRP、AFP、IL-6 水平与新生儿黄疸的关系

因素	赋值	β 值	<i>S.E.</i> 值	Wald χ^2 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
CRP	≤均数 21.88="1", >均数 21.88="2"	1.618	0.415	15.194	5.041	2.780~9.142	<0.05
AFP	≤均数 15.22="1", >均数 15.22="2"	1.683	0.426	15.604	5.381	3.109~9.312	<0.05
IL-6	≤均数 9.26="1", >均数 9.26="2"	1.632	0.421	15.021	5.112	2.759~9.473	<0.05

表 4 不同胆红素水平患儿血清 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CRP(mg/L)	AFP(mg/L)	IL-6(ng/L)
高胆红素患儿	38	53.04±9.87	23.17±1.823	18.44±2.10
中胆红素患儿	35	36.85±5.24 ^a	19.87±1.63 ^a	14.50±1.95 ^a
低胆红素患儿	21	12.47±3.21 ^{ab}	14.85±1.5 ^{ab}	11.94±1.26 ^{ab}
<i>F</i> 值		214.157	165.369	88.354
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与高胆红素患儿比较,^a*P*<0.05;与中胆红素患儿比较,^b*P*<0.05。

2.4 血清 CRP、AFP、IL-6 水平与胆红素的相关性

Spearman 相关性分析,新生儿黄疸血清 CRP、AFP、IL-6 水平与胆红素均呈正相关关系(*r*=0.350, *r*=0.449, *r*=0.425, *P*<0.05)。

2.5 发生与未发生 ABE 患儿血清 CRP、AFP、IL-6 水平比较

观察组发生 ABE 患儿血清 CRP、AFP、IL-6 水平高于观察组未发生 ABE 患儿,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 5。

表 5 发生与未发生 ABE 患儿血清 CRP、AFP、IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CRP(mg/L)	AFP(mg/L)	IL-6(ng/L)
发生 ABE 患儿	27	65.74±5.69	26.18±1.83	18.92±2.14
未发生 ABE 患儿	67	26.75±4.27	18.29±1.69	14.15±1.58
<i>t</i> 值		36.278	19.999	11.913
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.6 血清 CRP、AFP、IL-6 水平对新生儿黄疸并发 ABE 的预测价值

ROC 曲线显示,联合血清 CRP、AFP、IL-6 水平将预测新生儿黄疸并发 ABE 曲线下面积(AUC)为 0.878,高于血清 CRP、AFP、IL-6 水平单独预测。见图 1、表 6。

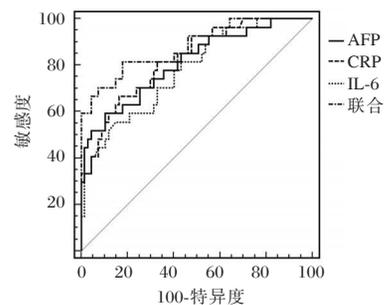


图 1 血清 CRP、AFP、IL-6 水平单一及联合预测价值

表6 血清CRP、AFP、IL-6水平对新生儿黄疸并发ABE的预测价值

指标	AUC	95% CI	Z统计	截断值	敏感度(%)	特异度(%)	P值
CRP	0.827	0.735-0.897	7.148	>47.19 mg/L	66.67	83.58	<0.001
AFP	0.809	0.715-0.883	5.988	>22.57 mg/L	59.26	89.55	<0.001
IL-6	0.778	0.681-0.857	5.313	>16.23 ng/L	55.56	85.07	<0.001
联合诊断	0.878	0.795-0.937	8.932		81.48	82.09	<0.001

3 讨论

AFP作为结合、运输配体的工具,不仅与脂肪酸、胆红素均具有较高亲和力,还能与其衍生肽抑制与胎儿发育、肝脏再生等生长状态相关增殖^[7-9]。本研究结果显示,血清AFP水平高表达是新生儿黄疸发生的独立危险因素之一,与盛思等^[10]研究相符。肝细胞受体蛋白质缺乏、肝酶活力低下、胆红素肝肠循环增加可能是导致新生儿黄疸血清AFP不断增加的因素之一,推测检测血清AFP水平有望成为鉴别黄疸类型、评估病情程度的重要手段。

CRP是机体在应激状态下由肝脏产生的急性时相蛋白,在氧化应激、刺激炎症因子释放中发挥重要作用^[11-12]。本研究经Spearman相关性分析,新生儿黄疸患儿血清CRP水平与胆红素存在正相关关系,说明血清CRP水平上调对新生儿黄疸病情程度具有一定评估价值。张雷等^[13]研究指出,血清总胆红素或非胆红素水平升高会诱发肝脏细胞代谢功能障碍,影响胆红素代谢循环进而加快新生儿黄疸病程进展。进一步研究发现,血清CRP水平可能随新生儿黄疸并发ABE发生、发展呈高表达状态,分析机制可能与血清CRP水平升高可上调胆红素水平,加剧脑组织神经元组织损伤,从而增加ABE发生率有关。

IL-6主要由巨噬细胞、Th2细胞等多种免疫细胞分泌,不仅能分化或降低肿瘤坏死因子所致炎症反应,加快中性粒细胞凋亡,还可促进巨噬细胞分泌转化生长因子,抑制免疫功能^[14]。本研究结果显示,血清IL-6在新生儿病理性黄疸中呈异常高表达,同时血清IL-6水平升高可能提高新生儿黄疸胆红素水平,增加新生儿黄疸并发ABE发生率,与吴凡等^[15]研究观点相似。分析机制可能在于,血清IL-6水平升高可加重新生儿黄疸炎症反应,进而导致胆红素无法全部排出,聚集于血液内,从而引发新生儿黄疸并发ABE,影响患儿智力发育。

综上所述,血清CRP、AFP、IL-6水平有望成为鉴别新生儿黄疸类型、评估病情程度的血清标

志物,三指标联合对预测新生儿黄疸并发ABE具有一定参考价值。

参考文献

- [1] Sanjiv H, Sridevi D, Finegold MJ. An Infant with Persistent Jaundice and a Normal Newborn Direct Bilirubin Measurement [J]. Clin Chem, 2015, 1(2): 330-333.
- [2] Amos RC, Jacob H, Leith W. Jaundice in newborn babies under 28? days: NICE guideline 2016 (CG98) [J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2017, 102(4): 207-209.
- [3] Ketsuwan S, Baiya N, Maelhacharoenporn K, et al. The Association of Breastfeeding Practices with Neonatal Jaundice [J]. J Med Assoc Thai, 2017, 100(3): 255-261.
- [4] 曾丽娟, 鲁昌辉, 姚友东. 蓝光照射结合逐瘀祛黄汤对新生儿黄疸血清转铁蛋白与C反应蛋白的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(10): 2511-2514.
- [5] 王碧强. 基于某医院健康体检资料的血清胆红素与炎症细胞关联性研究[D]. 山东大学, 2018: 1-91.
- [6] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(10): 745-748.
- [7] 汤丽, 许欣. 新生儿病理性黄疸患儿血清胆红素、TBA及HS-CRP检测水平分析[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(9): 34-37.
- [8] Pak VN. The use of alpha-fetoprotein for the treatment of autoimmune diseases and cancer[J]. Ther Deliv, 2018, 9(1): 37-46.
- [9] 郭飞波. 肝硬化伴肝癌患者血氨、甲胎蛋白、胆碱酯酶、肝纤维化指标与Child-Pugh分级的相关性[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(8): 1209-1212, 1217.
- [10] 盛思, 赵勤英, 金银, 等. 血清CRP与新生儿黄疸TBIL和IBIL水平的相关性分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2019, 30(12): 1592-1595.
- [11] Silva ES, Silva HM, Lijnzaat LA, et al. Clinical practices among healthcare professionals concerning neonatal jaundice and pale stools[J]. Eur J Pediatr, 2017, 176(3): 361-369.
- [12] Schimmack S, Yang Y, Felix K, et al. C-reactive protein (CRP) promotes malignant properties in pancreatic neuroendocrine neoplasms[J]. Endocr Connect, 2019, 8(7): 1007-1019.
- [13] 张雷, 董巧丽. 胆红素的变化与新生儿黄疸发生程度的相关性[J]. 中国妇幼健康研究, 2018, 29(6): 738-741.
- [14] Shen YZ, Peng XH, Bai Y, et al. Clinical Observation of the Efficacy of Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography on Elder Choledocholithiasis and Its Effects on the Levels of TNF- α , IL-1, and IL-6[J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2018, 64(11): 1012-1016.
- [15] 吴凡, 张新华, 李海, 等. 心肌酶谱D-二聚体白细胞介素-6在新生儿黄疸中的变化及意义[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(22): 3854-3857.

CD5在乳腺癌中的表达及其与肿瘤微环境的关系

张晓洋¹ 朱翠雯¹ 马甜甜¹ 李东旭¹ 邓涵² 宣睿² 喻明霞^{1*}

[摘要] **目的** 基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库分析 CD5 在乳腺癌中的表达,研究其与临床特征、生存预后、肿瘤微环境和免疫浸润之间的关系。**方法** 从 TCGA 数据库下载相关数据,对 1 177 个样本(1 065 个肿瘤样本和 112 个正常样本)的转录组数据和临床数据进行多重算法分析。利用 ESTIMATE 算法计算免疫评分和基质评分,分别用于差异表达基因(DEGs)的鉴定。建立蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络和单因素 Cox 回归分析鉴定 DEGs 中的关键基因。最后共获得了 17 个关键基因,并选择 CD5 进行进一步的研究和分析,包括基因表达、生存分析和临床病理特征相关性分析。**结果** CD5 高表达的患者生存期较长,CD5 的表达与 T 分期相关,但与其他临床特征无关。此外,GSEA 和 CIBERSORT 分析表明,CD5 的表达与 TME 中的免疫活性相关。**结论** CD5 可能是改善乳腺癌患者预后的一种新的分子标志物,有潜力作为一种新的治疗策略。

[关键词] CD5; 乳腺癌; 肿瘤微环境; DEGs; GSEA

Expression of CD5 in breast cancer and its relationship with tumor microenvironment

ZHANG Xiaoyang¹, ZHU Cuiwen¹, MA Tiantian¹, LI Dongxu¹, DENG Han², XUAN Rui², YU Mingxia^{1*}

(1. Department of Clinical Laboratory, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071; 2. The Second Clinical College of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China, 430071)

[ABSTRACT] **Objective** Analysis of CD5 expression in breast cancer based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) database and study of its association with clinical features, survival prognosis, tumor microenvironment and immune infiltration. **Methods** Data were downloaded from the TCGA database, and transcriptomic data and clinical data from 1 177 samples (1 065 tumor samples and 112 normal samples) were analyzed by multiple algorithms. The ESTIMATE algorithm was used to calculate the ImmuneScore and StromalScore for the identification of differentially expressed genes (DEGs), respectively. Protein-protein interaction (PPI) networks and one-way Cox regression analysis were established to identify key genes in DEGs. Finally, a total of 17 key genes were obtained, and CD5 was selected for further study and analysis, including gene expression, survival analysis, and clinicopathological feature correlation analysis. **Results** Patients with high CD5 expression had longer survival, and CD5 expression correlated with T stage but not with other clinical features. In addition, GSEA and CIBERSORT analyses showed that CD5 expression correlated with immunoreactivity in TME. **Conclusion** CD5 may be a novel molecular marker for improving the prognosis of breast cancer patients and CD5 has potential to be a novel therapeutic strategy.

[KEY WORDS] CD5; Breast cancer; Tumor microenvironment; DEGs; GSEA

乳腺癌(breast cancer, BC)是女性最常见的恶性肿瘤之一,其治疗方法包括手术、放化疗、激素治疗以及靶向治疗^[1]。肿瘤微环境(tumor micro-

environment, TME)由肿瘤细胞、基质细胞、免疫细胞和其他非细胞成分组成,在肿瘤的发生和发展中起重要作用^[2]。肿瘤浸润性免疫细胞(Tumor-

基金项目:国家自然科学基金(81472033);湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(WJ2018H0028);湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019M203);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:1. 武汉大学中南医院检验科,湖北,武汉 430071

2. 武汉大学第二临床学院,湖北,武汉 430071

*通信作者:喻明霞, E-mail: dewrosy520@163.com

infiltrating immune cells, TICs)参与TME的形成,调节肿瘤生长,影响患者的生存和抗肿瘤疗效^[3]。本研究通过下载癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中的数据,进行生物信息学分析,研究CD5表达量与乳腺癌临床特征生存预后以及TME和免疫浸润之间的关系。

1 资料与方法

1.1 数据准备和免疫评分(ImmuneScore),基质评分(StromalScore),综合评分(ESTIMATEScore)生成

从TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载BC患者的转录组RNA-seq和临床数据,其中肿瘤组织1065例,正常组织112例。“ESTIMATE”R包用于估计TME, ImmuneScore、StromalScore分别表示免疫成分和基质成分, ESTIMATEScore为综合评分。

1.2 评分与生存和临床病理特征的关系

根据ImmuneScore、StromalScore和ESTIMATEScore各中位数值将数据分为高评分组和低评分组,利用“Survival”和“Survminer”R包绘制Kaplan-Meier生存曲线,采用“limma”和“ggpubr”R包评估其临床病理特征与评分之间的相关性。

1.3 TME相关的DEGs

使用“Limma”R包识别DEGs,DEG鉴定的标准为 $P < 0.05$ 和 $|\log_2(\text{fold change})| > 1$,结果采用“pheatmap”R包在热图中创建。

1.4 GO和KEGG富集分析

“clusterProfiler”, “enrichplot”, 和“ggplot2”R包($P < 0.05$ 和 $q < 0.05$)用于GO和KEGG富集分析,结果用圈图表示。

1.5 PPI网络构建

利用STRING database(<http://string-db.org>)构建PPI网络,交互关系置信度大于0.70,使用Cytoscape3.7.2进行重建。

1.6 单因素Cox回归分析

使用“survival”R包确定与BRCA的预后相关的DEGs, Cox法和KM法的 P 值均小于0.05,结果以森林图显示。

1.7 CD5差异表达及生存分析

采用“beeswarm”和“ggpubr”R包进行Wilcoxon秩和检验比较BC组织和正常组织之间CD5的表达差异,“Survival”R包用于生存分析。使用Kruskal-Wallis秩和检验,“ggpubr”R包评估

CD5表达与临床病理特征之间的关系。

1.8 免疫细胞浸润评估

使用CIBERSORT算法计算22种免疫细胞的比例,并用柱状图表示,采用Wilcoxon秩和检验进行差异分析,并评估免疫细胞比例与CD5表达之间的Spearman相关性。应用“vioplot”, “ggplot2”和“ggpubr”R包,结果以小提琴图和散点图表示。

1.9 统计学方法

采用Wilcoxon秩和检验比较CD5的表达差异, Kaplan-Meier法进行生存分析,单因素Cox回归分析基因与乳腺癌的预后,使用Kruskal-Wallis秩和检验评估CD5表达与临床病理特征之间的关系, Spearman相关性检验对免疫细胞含量和CD5表达量进行相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

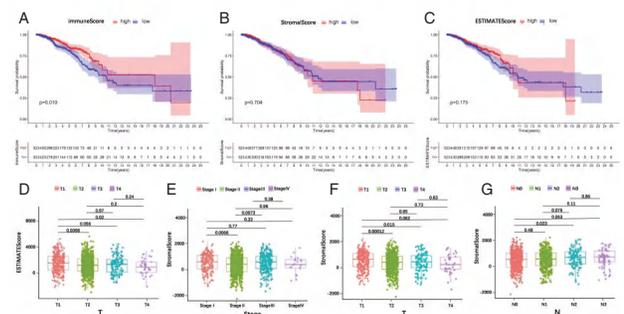
2 结果

2.1 生存与ImmuneScore之间的关系

根据生存分析结果, ImmuneScore与BC患者的总生存率相关, ImmuneScore高得分组与低得分组相比有较高的总生存率,差异有统计学意义($P = 0.010$),见图1A。StromalScore高得分组和低得分组之间的总生存率差异无统计学意义($P > 0.05$), ESTIMATEScore高得分组和低得分组之间的总生存率差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1B~1C。

2.2 评分与临床特征之间的关系

ESTIMATEScore与T分期相关, T1评分高于T2和T4,差异有统计学意义($P = 0.010, 0.020$),见图1D。StromalScore与总体分期相关, stage I评分高于stage II, stage II评分高于stage III,差异有统计学意义($P = 0.007, 0.007$)、StromalScore与T分期(T1 vs. T2, $P < 0.001$)、StromalScore与N分期相关(N0 vs. N2, $P = 0.023$),见图1E~1G。

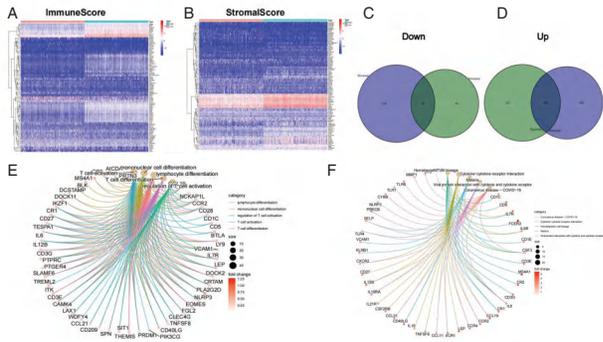


注:A、B、C分别为ImmuneScore、StromalScore、ESTIMATEScore高低得分组间生存曲线;D为ESTIMATEScore与T分期之间的散点图;E、F、G分别为StromalScore与stage、T分期、N分期之间的散点图。

图1 生存分析和各项评分与TNM分期的关系

2.3 DEGs 主要富集于免疫相关功能

热图显示每个样本的 DEGs 的 ImmuneScore 和 StromalScore 得分结果,见图 2A~2B,免疫细胞和基质细胞分别有 650 和 729 个上调基因,其中 194 个基因在两种细胞中均上调。同样,共有 24 个下调基因,见图 2C~2D。GO 和 KEGG 分析预测这些共表达 DEGs 的功能主要富集于免疫相关通路,见图 2E~2F。

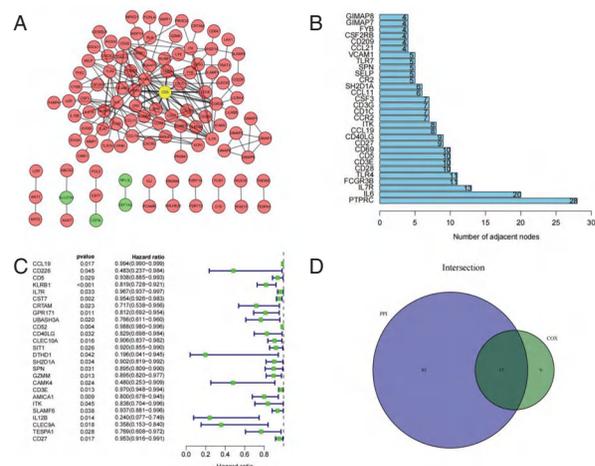


注:A 为 ImmuneScore 热图;B 为 StromalScore 热图;C 为下调 DEGs 的韦恩图;D 为上调 DEGs 的韦恩图;E 为 GO 富集分析图;F 为 KEGG 富集分析图。

图 2 对 DEGs 的 GO 和 KEGG 的热图、韦恩图和富集分析

2.4 PPI 网络和单因素 Cox 回归分析

以 218 个共有的 DEGs 在 STRING 平台构建 PPI 网络,在 Cytoscape 中进行编辑后结果见图 3A,图 3B 为 PPI 网络节点数排序前 30 的基因绘制的条形图。图 3C 所示森林图为单因素回归分析结果,风险比(hazard ratio, HR)均小于 1。经 PPI 网络与单因素 cox 回归分析进行交叉分析后,共获得 17 个 DEGs,见图 3D。

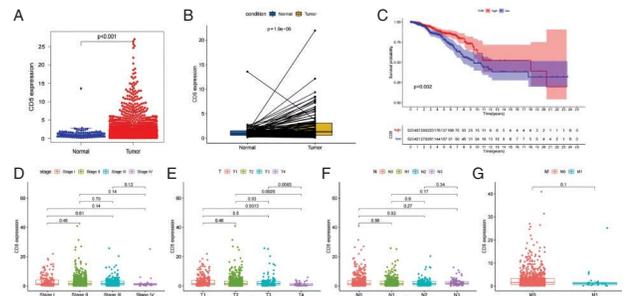


注:A 为共表达 DEGs 构建的 PPI 网络;B 为 PPI 网络中节点数排序前 30 的基因;C 为单因素回归分析的森林图;D 为 PPI 和单因素回归分析韦恩图。

图 3 PPI 网络和单因素 cox 回归分析

2.5 CD5 表达与生存率及临床特征的关系

在 17 个差异表达基因中选取 CD5 进行下一步研究。乳腺癌肿瘤样本 CD5 表达量高于正常样本,同一患者的肿瘤组织 CD5 表达量高于正常组织,差异有统计学意义($P < 0.001$),见 4A~4B。生存曲线显示,高表达组在 20 年内的生存率显著高于低表达组,差异有统计学意义($P = 0.002$),见图 4C。CD5 的表达与肿瘤大小相关,肿瘤较大的患者(T4)表达较低的 CD5 (T1 vs. T4, T2 vs. T4, T3 vs. T4, $P = 0.0013, 0.0026, 0.0083$),见图 4E,但 CD5 的表达与总体分期、淋巴结转移及远处转移无关,见图 4D、图 4F、图 4G($P > 0.05$)。



注:A 为 CD5 在肿瘤和正常组织中的表达差异图;B 为 CD5 在配对组织中的表达差异图;C 为 CD5 表达的生存分析图;D、E、F、G 为 CD5 表达与 stage、TNM 分期的散点图。

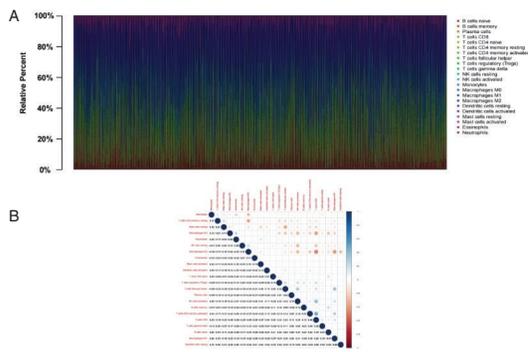
图 4 CD5 表达、生存以及临床病理特征分析

2.6 CD5 表达与 TICs 的相关性

采用 CIBERSORT 算法获得肿瘤浸润性免疫亚群得到 22 种 TICs,图 5A 所示为不同样本的 TICs 比例。免疫细胞之间的相关性以热图显示,同种细胞之间的相关性最强。激活 CD4⁺记忆 T 细胞与 CD8⁺T 细胞的正相关性最强,巨噬细胞 M0 和 M2 的负相关性最强,见图 5B。差异分析中有 17 种 TICs 与 CD5 表达量相关,见图 6A。Spearman 相关性分析获得 16 种 TICs 与 CD5 相关,前 12 种如图 6B 所示,9 种 TICs 与 CD5 表达呈正相关,3 种 TICs 与 CD5 表达呈负相关。图 6C 所示为两种不同方法共获得 16 种 TICs 与 CD5 表达相关。

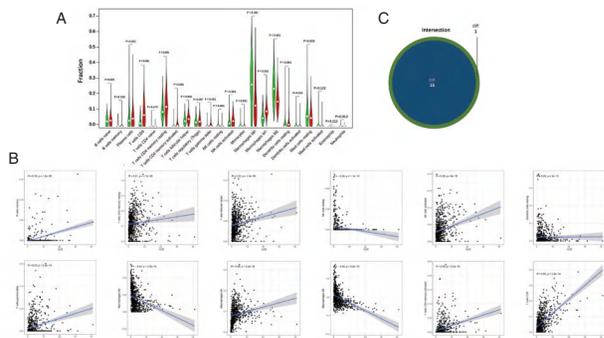
3 讨论

CD5 是一种 I 型跨膜糖蛋白,可作为受体调节 T 细胞增殖,存在于胸腺细胞、T 淋巴细胞和部分 B 淋巴细胞的表面^[4-5]。研究证明,增加局部可溶性 CD5 的水平可能会增强对癌细胞的免疫反应^[5]。CD5 有助于调节抗肿瘤免疫反应,调控特异性细胞毒性 T 淋巴细胞对肿瘤触发的活化诱导的



注:A 为不同样本 TICs 的比例;B 为免疫细胞相关性热图。

图5 肿瘤样本中的 TIC 图谱及相关性分析



注:A 为 CD5 表达与各种免疫细胞含量的小提琴图;B 为 Spearman 法分析 CD5 表达与各种免疫细胞相关性的散点图;C 为两种方法交集的 TICs 韦恩图。

图6 TICs 比例与 CD5 表达的相关性

细胞死亡的易感性,通过调节 FasL 表达和 caspase-8 激活保护 T 淋巴细胞免受 TCR 介导的细胞死亡作用,从而促进 T 细胞存活^[6-7]。CD5 已被证明与非小细胞肺癌的良性预后相关,肿瘤内较高的 CD5 水平反映了浸润 T 细胞对肿瘤抗原的更高亲和力^[8]。

本研究采用 ESTIMATE 算法和 CIBERSORT 算法进行分析,证明 CD5 是调节 TME 的乳腺癌的免疫相关预后生物标志物,其表达与乳腺癌免疫浸润相关。ImmuneScore 高得分与总生存率呈正相关,与已有的研究结果一致^[9-10]。StromalScore 得分与总体分期、T 分期和 N 分期相关,ESTIMATEScore 与 T 分期相关,该结果与已发表研究一致^[10]。GO 和 KEGG 富集分析提示 DEGs 主要参与免疫相关通路,PPI 网络提示 CD5 为核心基因。进一步对 CD5 进行分析发现,乳腺癌组织中的 CD5 呈高表达状态,并与乳腺癌总生存率呈正相关。CIBERSORT 算法为常用的免疫浸润评估方法,采用差异分析和 Spearman 相关性分析,共获得 16 种 TICs 与 CD5 表达相关,且 CD5 高表达组主要富集于免疫相关信号通路。其中,与 CD5 表达正

相关最强的是活化的 CD4⁺记忆 T 细胞和 CD8⁺T 细胞,负相关最强的是巨噬细胞 M0 和巨噬细胞 M2。研究表明,活化的 CD4⁺记忆 T 细胞和 CD8⁺T 细胞与肿瘤良好预后相关,巨噬细胞 M2 和巨噬细胞 M0 均与肿瘤的不良预后相关^[11-12]。

综上,乳腺癌肿瘤微环境中的免疫成分和基质成分与肿瘤进展相关,免疫分子 CD5 在乳腺癌中高表达,与乳腺癌的积极预后相关,其参与免疫浸润,可能作为乳腺癌治疗的保护性生物标志物,本研究有望为未来乳腺癌的诊疗提供新的思路和治疗策略。

参考文献

- [1] Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021 [J]. Ann Oncol, 2021, 32(10): 1216-1235.
- [2] Xiao Y, Yu D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer [J]. Pharmacol Ther, 2021, 221: 107753.
- [3] Zhang Y, Zhang Z. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications [J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17(8): 807-821.
- [4] Zhao P, Li L, Zhou S, et al. CD5 expression correlates with inferior survival and enhances the negative effect of p53 over-expression in diffuse large B-cell lymphoma [J]. Hematol Oncol, 2019, 37(4): 360-367.
- [5] Simões I T, Aranda F, Carreras E, et al. Immunomodulatory effects of soluble CD5 on experimental tumor models [J]. Oncotarget, 2017, 8(64): 108156-108169.
- [6] Friedlein G, El Hage F, Vergnon I, et al. Human CD5 protects circulating tumor antigen-specific CTL from tumor-mediated activation-induced cell death [J]. J Immunol, 2007, 178(11): 6821-6827.
- [7] Tabbekh M, Franciszkiewicz K, Haouas H, et al. Rescue of tumor-infiltrating lymphocytes from activation-induced cell death enhances the antitumor CTL response in CD5-deficient mice [J]. J Immunol, 2011, 187(1): 102-109.
- [8] Moreno-manuel A, Jantus-lewintre E, Simões I, et al. CD5 and CD6 as immunoregulatory biomarkers in non-small cell lung cancer [J]. Transl Lung Cancer Res, 2020, 9(4): 1074-1083.
- [9] Bi KW, Wei XG, Qin XX, et al. BTK Has Potential to Be a Prognostic Factor for Lung Adenocarcinoma and an Indicator for Tumor Microenvironment Remodeling: A Study Based on TCGA Data Mining [J]. Front Oncol, 2020, 10: 424.
- [10] Chen Y, Meng Z, Zhang L, et al. CD2 Is a Novel Immune-Related Prognostic Biomarker of Invasive Breast Carcinoma That Modulates the Tumor Microenvironment [J]. Front Immunol, 2021, 12: 664845.
- [11] 万小英,周崧雯. M2 型肿瘤相关巨噬细胞在肺癌中的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(7): 733-737.
- [12] 李炜,曾静媛,罗波,等. 膀胱癌患者高表达活化的 CD4⁺记忆性 T 细胞和 CD8⁺T 细胞和低表达 M0 巨噬细胞与临床预后佳有关[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(2): 97-103.

血清 GLP-1、PINP、SOST 水平与甲状腺癌术后骨质疏松症的关系

胡子玉¹ 孙歆¹ 崔超雄² 崔林江^{3*}

[摘要] **目的** 探讨血清胰高血糖素样肽 1 (GLP-1)、I 型前胶原氨基端前肽 (PINP)、骨硬化蛋白 (SOST) 水平与甲状腺癌术后骨质疏松症 (OP) 的关系。**方法** 选择 2021 年 2 月至 2024 年 8 月在青岛中心医院行甲状腺癌手术治疗的患者 108 例,根据术后是否发生骨质疏松分为 OP 组 ($n=47$) 及非 OP 组 ($n=61$)。对比两组间 GLP-1、PINP、SOST 及不同部位骨骼的骨密度水平, Spearman 法分析 OP 患者血清 GLP-1、PINP、SOST 水平与不同部位骨骼骨密度的相关性,受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 GLP-1、PINP、SOST 对甲状腺癌术后发生 OP 的预测效能。**结果** 相比于非 OP 组, OP 组患者的 GLP-1 水平降低,而 PINP 及 SOST 水平均升高,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);相比于非 OP 组, OP 组患者腰椎、股骨颈、Ward's 三角及全髌部的骨密度均降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);经 Spearman 法分析显示,甲状腺癌术后 OP 患者腰椎、股骨颈、Ward's 三角及全髌部的骨密度与血清 GLP-1 水平均呈正相关 ($P<0.05$),与 PINP 及 SOST 水平均呈负相关 ($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 GLP-1、PINP、SOST 单独及联合检测预测甲状腺癌术后发生 OP 的曲线下面积分别为 0.814、0.826、0.792、0.916。**结论** 在甲状腺癌术后发生 OP 的患者血清 GLP-1 水平异常降低,而 PINP 及 SOST 升高,且与患者骨密度相关,联合检测三者水平对于甲状腺癌术后发生 OP 具有一定预测价值。

[关键词] 甲状腺癌;骨质疏松症;胰高血糖素样肽 1; I 型前胶原氨基端前肽;骨硬化蛋白

The relationship between serum GLP-1, PINP, SOST levels and osteoporosis after thyroid cancer surgery

HU Ziyu¹, SUN Xin¹, CUI Chaoxiong², CUI Linjiang^{3*}

(1. Department of Thyroid Surgery; 2. Department of Ophthalmology; 3. Department of Orthopedic and Bone Oncology, Qingdao, Shandong, China, 266042)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum glucagon-like peptide-1 (GLP-1), type I procollagen N-terminal pro-peptide (PINP), and sclerostin (SOST) levels and the development of osteoporosis (OP) after thyroid cancer surgery. **Methods** A total of 108 patients who underwent thyroid cancer surgery at Qingdao Central Hospital from February 2021 to August 2024 were selected. These patients were divided into two groups based on whether they developed osteoporosis postoperatively: the OP group ($n=47$) and the non-OP group ($n=61$). The levels of GLP-1, PINP, SOST, and bone density in different skeletal regions were compared between the two groups. Spearman correlation analysis was used to assess the relationship between serum GLP-1, PINP, and SOST levels and bone density in different regions in OP patients. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was conducted to determine the predictive value of serum GLP-1, PINP, and SOST levels for the onset of OP following thyroid cancer surgery. **Results** Compared to the non-OP group, patients in the OP group had significantly lower GLP-1 levels and significantly higher PINP and SOST levels ($P<0.05$). The bone density in the lumbar spine, femoral neck, Ward's triangle,

基金项目:山东省自然科学基金(SR2021QH131)

作者单位:1. 康复大学青岛中心医院甲状腺外科, 山东, 青岛 266042

2. 康复大学青岛中心医院眼科, 山东, 青岛 266042

3. 康复大学青岛中心医院骨科骨肿瘤科, 山东, 青岛 266042

*通信作者:崔林江, E-mail: clj569296@126.com

and total hip was significantly lower in the OP group compared to the non-OP group ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that in patients with OP after thyroid cancer surgery, the bone density in the lumbar spine, femoral neck, Ward's triangle, and total hip was positively correlated with serum GLP-1 levels ($P < 0.05$) and negatively correlated with PINP and SOST levels ($P < 0.05$). The ROC curve analysis showed that the area under the curve of serum GLP-1, PINP, SOST alone, and combined detection in predicting OP after thyroid cancer surgery was 0.814, 0.826, 0.792 and 0.916, respectively. **Conclusion** Patients who develop osteoporosis after thyroid cancer surgery exhibit abnormally low serum GLP-1 levels and elevated PINP and SOST levels, which are correlated with bone density. The combined detection of these three biomarkers has a certain predictive value for the development of osteoporosis after thyroid cancer surgery.

[KEY WORDS] Thyroid cancer; OP; GLP-1; PINP; SOST

甲状腺癌是全球范围内发病率增长最快的癌症之一,年均增长约为12.4%,其发病尤其是在女性中更为常见^[1]。手术切除为治疗甲状腺癌的主要手段,患者术后通常会使用促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)抑制疗法治疗,但该疗法会降低骨密度,导致患者出现骨质疏松症(osteoporosis, OP)^[2]。OP是甲状腺癌术后常见的代谢性骨病之一,其主要表现为腰膝酸软、周身疼痛及骨折风险增加,显著降低患者预后及生存质量^[3]。因此,探索能够有效预测甲状腺癌患者术后骨质疏松发生的生物标志物成为临床研究重点。胰高血糖素样肽1(glucagon-like peptide 1, GLP-1)是一种主要由肠道L细胞分泌的肠促胰岛素,其在调节血糖及能量代谢中发挥重要作用。另外,GLP-1可通过作用骨组织,调节骨代谢,有研究^[4]表明,GLP-1可通过增加骨形成和减少骨吸收,从而改善骨密度。I型前胶原氨基端前肽(procollagen type I N-terminal propeptide, PINP)是骨形成的重要标志物,常用于评估骨代谢状态。已有研究^[5]证实,PINP可作为甲状腺旁切除术患者术后骨密度变化的预测因素。骨硬化蛋白(sclerostin, SOST)是由骨细胞分泌的负向调节因子,可通过抑制Wnt信号通路以抑制骨形成,SOST的高水平表达与骨质疏松症的发生密切相关^[6-7]。本研究分析甲状腺癌术后患者血清中GLP-1、PINP和SOST的水平,探讨上述指标与OP发生的相关性,以期对甲状腺癌术后患者预防骨质疏松提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将2021年2月至2024年8月在青岛中心医院行甲状腺癌手术治疗的108例患者为研究对象,根据术后是否发生骨质疏松将其分为OP组($n=47$)及非OP组($n=61$)。

纳入标准:①与甲状腺癌诊断^[7]相符,且均有

甲状腺癌手术治疗指征;②骨质疏松症与《骨质疏松症基层合理用药指南》^[8]中相关诊断相符;③确诊甲状腺癌前无骨质疏松症;④均已在签署知情同意书。排除标准:①合并血液系统、免疫系统疾病,或合并其他恶性肿瘤;②合并严重心肝肾功能障碍;③合并糖尿病、高钙血症、低钙血症等代谢性疾病;④妊娠期或哺乳期。OP组患者中年龄平均(51.26 ± 9.45)岁;男性19例,女性28例;体质指数平均(23.82 ± 2.19) kg/m^2 。非OP组患者中年龄平均(52.31 ± 10.17)岁;男性27例,女性34例;体质指数平均(23.57 ± 2.48) kg/m^2 。两组基线资料相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血清学检测

所有患者均在术后次日清晨抽取空腹静脉外周血约4 mL,在3 400 r/min条件下离心12 min(离心半径为12.5 cm)后,收集上清液进行指标检测。血清PINP水平通过化学发光法测定,试剂盒厂家为英国艾狄斯公司,血清GLP-1、SOST水平均通过酶联免疫吸附实验测定,试剂盒购自罗氏公司。

1.2.2 骨密度检测

术后3个月后,在患者进行门诊复查时,采用美国GE公司生产的双能X射线骨密度仪Lunar Prodigy对所有患者进行骨密度检测,检测部位包括腰椎($L_1 \sim L_4$)、股骨颈、Ward's三角及全髌部。

1.3 统计学分析

使用SPSS 26.0软件进行描述性统计分析。计数资料以 $n(\%)$ 描述;计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,两组间用 t 检验;Spearman法分析OP患者血清GLP-1、PINP、SOST水平与不同部位骨骼骨密度的相关性,受试者工作特征(ROC)曲线分析血清GLP-1、PINP、SOST对甲状腺癌术后发生OP的预测效能,并得出曲线下面积(AUC)、敏感性及特异性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的血清 GLP-1、PINP、SOST 水平比较
 相比于非 OP 组, OP 组患者的 GLP-1 水平降低, 而 PINP 及 SOST 水平均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者的血清 GLP-1、PINP、SOST 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GLP-1 (pg/mL)	PINP (ng/mL)	SOST (pg/mL)
OP 组	47	1.59±0.21	58.19±6.34	187.63±38.90
非 OP 组	61	1.87±0.24	50.72±5.29	144.06±35.42
t 值		6.342	6.671	6.072
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组患者不同部位骨骼的骨密度水平比较
 相比于非 OP 组, OP 组患者腰椎、股骨颈、Ward's 三角及全髌部的骨密度均降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者不同部位骨骼的骨密度水平比较 ($\bar{x} \pm s, g/cm^2$)

组别	n	腰椎	股骨颈	Ward's 三角	全髌部
OP 组	47	1.05±0.21	0.70±0.15	0.81±0.20	0.78±0.19
非 OP 组	61	1.19±0.26	0.84±0.17	0.94±0.18	0.91±0.23
t 值		3.011	4.463	3.545	3.316
P 值		0.003	<0.001	<0.001	0.002

2.3 分析 OP 患者血清 GLP-1、PINP、SOST 水平与不同部位骨骼骨密度的相关性

经 Spearman 法分析显示, 甲状腺癌术后 OP 患者腰椎、股骨颈、Ward's 三角及全髌部的骨密度与血清 GLP-1 水平均呈正相关 ($P < 0.05$), 与 PINP 及 SOST 水平均呈负相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 分析 OP 患者血清 GLP-1、PINP、SOST 水平与不同部位骨骼骨密度的相关性

指标	腰椎		股骨颈		Ward's 三角		全髌部	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
GLP-1	0.671	0.023	0.703	0.014	0.754	0.009	0.781	0.005
PINP	-0.594	0.039	-0.644	0.029	-0.746	0.007	-0.594	0.039
SOST	-0.689	0.031	-0.778	0.004	-0.635	0.024	-0.801	0.001

2.4 分析血清 GLP-1、PINP、SOST 单独及联合检测对甲状腺癌术后发生 OP 的预测效能

ROC 曲线分析显示, 血清 GLP-1、PINP、SOST 联合检测预测甲状腺癌术后发生 OP 的曲线下面积分别为 0.814、0.826、0.792、0.916。见表 4 及图 1。

3 讨论

甲状腺癌是临床常见的头颈部恶性肿瘤, 患

表 4 分析血清 GLP-1、PINP、SOST 单独及联合检测对甲状腺癌术后发生 OP 的预测效能

指标	临界值	AUC	约登指数	敏感度 (%)	特异度 (%)	95% CI	P 值
GLP-1	1.73 pg/mL	0.814	0.484	74.59	73.84	0.735~0.892	<0.001
PINP	54.19 ng/mL	0.826	0.581	72.53	85.61	0.746~0.907	<0.001
SOST	166.8 pg/mL	0.792	0.439	76.64	67.29	0.705~0.880	<0.001
联合检测		0.916	0.749	83.07	91.86	0.860~0.972	<0.001

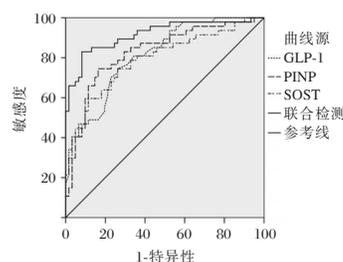


图 1 血清 GLP-1、PINP、SOST 单独及联合检测预测甲状腺癌术后发生 OP 的 ROC 曲线

者术后通常预后良好, 生存期长, 但终身需要甲状腺素替代及抑制治疗, 而甲状腺素对骨骼生长、发育和重建至关重要, 甲状腺功能异常可干扰骨代谢, 增加骨质疏松和骨折风险^[9]。因此, 对于甲状腺癌术后患者, 除关注肿瘤的复发和转移, 还应重视术后可能导致的骨量丢失及骨质疏松。然而, 骨量减少往往悄然发生, 通常无明显临床症状, 直至骨折发生。在临床上, 双能 X 线吸收测定法被认为是诊断骨质疏松的金标准, 但在疾病早期阶段的敏感度较低, 可能导致最佳治疗时机的延误^[10]。因此, 相较于影像学检查在反映疾病进程方面的延迟, 选择有效的血清学指标以早期预测甲状腺癌术后发生 OP 具有重要的临床意义。

GLP-1 主要通过结合胰岛 β 细胞上的 GLP-1 受体促进胰岛素分泌, 调节血糖和能量代谢。近年来, 研究发现 GLP-1 还具有调节骨代谢的作用, 通过激活成骨细胞中的 GLP-1 受体, 从而产生降血糖作用, 促进骨形成和抑制骨吸收, 进而提高骨密度, 而 GLP-1 水平降低可能会导致骨代谢异常及骨质疏松^[11]。本研究结果显示, 相比于非 OP 组, OP 组患者的血清 GLP-1 水平显著降低, 提示甲状腺癌术后患者血清 GLP-1 水平的降低可能是导致骨质疏松的重要因素之一。Kong MW 等亦研究^[12]表明, 糖尿病 OP 患者中 GLP-1 水平明显较健康人群降低, 并与患者骨密度密切相关, GLP-1 是糖尿病患者发生 OP 的独立危险因素。

PINP 是一种由成骨细胞分泌的 I 型前胶原的 N-端前肽, 能够黏附于纤维表面, 保持结构的完整

性,调控I型胶原纤维的聚合过程,是反映骨形成的关键生物标志物^[13]。骨形成过程中,I型前胶原被分泌至细胞外,裂解为PINP、I型前胶原C端肽及I型胶原三个片段,I型胶原则在类骨质中组装,随后无机矿物质在此沉积,形成羟基磷灰石,实现类骨质的矿化,而PINP作为代谢产物则进入血液循环,因而检测PINP水平可有效反映成骨细胞的活性及其骨形成状态^[14]。本研究结果中,相比于非OP组,OP组患者的血清PINP水平显著升高,与黄河等学者^[15]的研究不尽相同。其原因可能在于,骨质疏松形成早期,机体成骨细胞已经大量产生,使PINP水平上升,而骨吸收速度要远快于骨形成速率,最终导致OP的发生。

SOST是Wnt/ β -catenin信号通路中的一种负向调节因子,Wnt信号通路在成骨细胞的增殖和分化中起重要作用,SOST通过使磷脂酰肌醇-3激酶介导的 β -catenin磷酸化作用增强,促进 β -catenin蛋白的降解,从而影响骨细胞转录,降低骨转换能力;SOST还能促进破骨细胞的形成与功能激活,增强其骨吸收作用;此外,SOST可通过对前成骨细胞的作用,促进其增殖与分化,并负向调控骨形成过程^[16]。钟义等^[17]研究发现,SOST在老年慢性心力衰竭并发OP的患者中明显升高,其可作为患者发生OP的独立风险因子,并且在预测患者OP发生风险方面具有一定价值,可作为早期评估老年慢性心力衰竭患者OP风险的有效参考指标。本研究中,OP组患者的血清SOST水平显著较非OP组上升,与上述研究结果相似。其原因可能为高SOST水平减少骨细胞的活性和骨形成速率,从而促进患者骨质疏松的发生发展。本研究Spearman相关性分析显示,甲状腺癌术后OP患者腰椎、股骨颈、Ward's三角及全髌部的骨密度与血清GLP-1水平均呈正相关,与PINP及SOST水平均呈负相关,进一步证实血清GLP-1水平的降低、PINP及SOST水平的升高与甲状腺癌术后骨密度的减少显著相关。经ROC曲线分析提示其具有较好的预测价值。表明联合测定上述指标水平有助于临床在甲状腺癌术后对患者发生OP风险进行监测,并及时采取干预措施控制病情,改善患者预后。

综上所述,在甲状腺癌术后发生OP的患者血清GLP-1水平异常降低,而PINP及SOST升高,且与患者骨密度相关,联合检测三者水平对于甲状腺癌术后发生OP具有一定预测价值。

参考文献

- [1] 孙婷,庞锐,吕雨梅,等.甲状腺癌术后患者焦虑抑郁水平现状及心理弹性的中介作用[J].中国临床研究,2023,36(3):475-480.
- [2] Mutlu V, Kaya Z, Bilen A, et al. The effect of high-dose Levothyroxine on hearing in patients operated for thyroid cancer [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2024, 281(12): 6579-6584.
- [3] 林崱鏊,许鹏超,叶云金,等.甲状腺疾病对绝经后女性骨量丢失的影响[J].中国骨质疏松杂志,2023,29(10):1453-1457.
- [4] 张青龙,张克勤,李然.绝经后女性血清GLP-1水平与骨密度、骨转换标志物及骨质疏松性骨折的关系[J].江苏大学学报(医学版),2023,33(3):239-244.
- [5] Lee S, Hong N, Kim Y, et al. Circulating miR-122-5p and miR-375 as Potential Biomarkers for Bone Mass Recovery after Parathyroidectomy in Patients with Primary Hyperparathyroidism: A Proof-of-Concept Study [J]. Diagnostics (Basel), 2021, 11(9): 1704.
- [6] Basir H, Altunoren O, Erken E, et al. Relationship Between Osteoporosis and Serum Sclerostin Levels in Kidney Transplant Recipients [J]. Exp Clin Transplant, 2024, 22(7): 514-521.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.甲状腺癌诊疗规范(2018年版)[J].中华普通外科学文献(电子版),2019,13(1):1-15.
- [8] 中华医学会,中华医学会临床药学会,中华医学会杂志社,等.骨质疏松症基层合理用药指南[J].中华全科医师杂志,2021,20(5):523-529.
- [9] 吴倩,王亚楠,鹿峰,等.FRAX联合骨密度和骨代谢标志物评估甲状腺癌术后患者骨折风险的临床研究[J].标记免疫分析与临床,2022,29(8):1359-1362+1401.
- [10] 许富贵,乙红艳,欧洲,等.骨转换标志物PINP和 β -CTX在帕金森病患者发生骨质疏松中的预测价值[J].南京医科大学学报(自然科学版),2023,43(8):1128-1132.
- [11] Kong MW, Yu Y, Wan Y, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists: Exploring the mechanisms from glycemic control to treatment of multisystemic diseases [J]. World J Gastroenterol, 2024, 30(36):4036-4043.
- [12] Xie FF, Zhang YF, Hu YF, et al. Significance of serum glucagon-like peptide-1 and matrix Gla protein levels in patients with diabetes and osteoporosis [J]. World J Clin Cases, 2022, 10(5): 1527-1535.
- [13] 王少容,梁声强,林淳峥.基于血清 β -CTX、PINP及OC的列线图模型对绝经后骨质疏松预测价值的研究[J].中国妇幼健康研究,2023,34(5):53-59.
- [14] 程经纬,柳杨青,汪艳芳,等.Mstn基因敲除通过上调Wnt/ β -catenin信号通路影响骨代谢并减轻2型糖尿病小鼠骨质疏松[J].中国病理生理杂志,2022,38(7):1246-1252.
- [15] 黄河,李大胜,李欢,等.多排螺旋CT检测联合血清GLP-1、PINP对乳腺癌术后骨质疏松症的诊断价值[J].中国CT和MRI杂志,2024,22(10):88-90.
- [16] 殷雪娇,徐阳星,徐秀容,等.血清骨膜蛋白和骨硬化蛋白对老年2型糖尿病患者骨质疏松的诊断价值[J].中国现代医学杂志,2023,33(1):7-12.
- [17] 钟义,王军,黄小零.血清IL-32 γ 、SOST及H2S与老年慢性心力衰竭患者骨质疏松的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2023,15(6):981-984+989.

MHR对晚期胃癌患者化疗疗效、预后的预测价值

王亚楠¹ 林志强² 寇卫政^{1*}

[摘要] **目的** 探讨单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值(MHR)对晚期胃癌患者化疗疗效、预后的预测价值。**方法** 选取2020年11月至2022年1月新乡医学院第一附属医院收治的190例晚期胃癌患者作为研究对象。采用受试者工作特性(ROC)曲线评估MHR对晚期胃癌患者预后的预测价值,并根据截断值分为低MHR组(MHR<0.75, n=106)和高MHR组(MHR≥0.75, n=84);采用多因素Logistic回归分析探讨晚期胃癌患者预后的影响因素。**结果** MHR预测晚期胃癌患者预后的曲线下面积(AUC)(95%CI)为0.871(0.818~0.924),截断值为0.75,特异度为0.675,灵敏度为0.865。高MHR组临床分期IV期、低分化、远处转移所占比例均大于低MHR组,差异有统计学意义(P<0.05)。低MHR组疾病控制率(DCR)为83.96%,高于高MHR组的60.71%,差异有统计学意义(P<0.05)。肿瘤直径<5 cm、临床分期III B期、中/高分化、无远处转移、化疗敏感、MHR<0.75的晚期胃癌患者2年总生存率高于肿瘤直径≥5 cm、临床分期IV期、低分化、有远处转移、MHR≥0.75患者,差异有统计学意义(P<0.05)。有远处转移、化疗不敏感、MHR≥0.75是晚期胃癌患者预后的独立危险因素(HR>1)(P<0.05)。**结论** 高MHR与晚期胃癌患者化疗疗效差、预后差有关,MHR可作为预测患者预后的重要标记物。

[关键词] 单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值;晚期胃癌;化疗疗效;预后

The predictive value of MHR for chemotherapy efficacy and prognosis in patients with advanced gastric cancer

WANG Yanan¹, LIN Zhiqiang², KOU Weizheng^{1*}

(1. Department of Medical Oncology, 2. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453100)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between monocyte/high density lipoprotein cholesterol ratio (MHR) and chemotherapy efficacy and prognosis in cases with advanced gastric cancer. **Methods** 190 patients with advanced gastric cancer were admitted to the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College from November 2020 to January 2022. They were selected as research subjects. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to assess the predictive value of MHR for the prognosis of cases of advanced gastric cancer. Based on the cut-off value, the cases were divided into the low MHR group (MHR<0.75, n=106) and the high MHR group (MHR ≥0.75, n=84). The prognostic factors of cases with advanced gastric cancer were evaluated through multivariate logistic regression analysis. **Results** The area under the curve (AUC) (95%CI) of MHR in predicting the prognosis of advanced gastric cancer cases was 0.871 (0.818-0.924). The cut-off value was 0.75, with a specificity of 0.675, and a sensitivity of 0.865. The proportion of clinical stage IV, low differentiation, and distant metastasis in the high MHR group was higher than that in the low MHR group, and the difference was statistically significant (P<0.05). The disease control rate (DCR) for the low MHR group was 83.96%, significantly higher than the 60.71% in the high MHR group, and the difference was statistically significant (P<0.05). The 2-year overall survival rate for advanced gastric cancer patients with a tumor diameter <5 cm, clinical stage III B, moderate/high differentiation, no distant metastasis, chemotherapy sensitivity, and MHR <0.75 is higher than that of patients with a tumor diameter ≥5 cm, clinical

基金项目:河南省科技攻关计划项目联合共建项目(LHGJ20200523)

作者单位:1. 新乡医学院第一附属医院肿瘤内科,河南,新乡 453100

2. 新乡医学院第一附属医院检验科,河南,新乡 453100

*通信作者:寇卫政, E-mail: kvt306@163.com

stage IV, low differentiation, distant metastasis, and $MHR \geq 0.75$, and the difference is statistically significant ($P < 0.05$). Distant metastasis, insensitivity to chemotherapy, and $MHR \geq 0.75$ are independent risk factors for the prognosis of advanced gastric cancer patients ($HR > 1$) ($P < 0.05$). **Conclusion** A high MHR is associated with poor chemotherapy efficacy and prognosis in patients with advanced gastric cancer. MHR can serve as an important biomarker for predicting patient prognosis.

[KEY WORDS] MHR; Advanced gastric cancer; The efficacy of chemotherapy; Prognosis

晚期胃癌患者的病情较重,已经无法从外科手术中获益,通常选择化疗来控制病情发展,以延长患者的生存期^[1-2]。但由于个体差异性的存在,部分患者对化疗药物不敏感,有可能会导化疗失败,从而影响患者预后。对晚期胃癌患者的化疗疗效进行准确评估至关重要,可指导化疗方案的制定,对改善患者预后积极的作用。单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值(monocyte/high-density lipoprotein cholesterol ratio, MHR)是一种将单核细胞(monocyte, MN)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)整合为一体的新型标记物,可反映机体的炎症水平、脂质代谢情况^[3]。研究发现,MHR对原发性非病毒性肝细胞癌患者预后具有一定的预测价值,且高MHR的患者其死亡的风险更高^[4]。本研究主要探讨MHR对晚期胃癌患者化疗疗效、预后的预测价值,旨在为临床治疗方案的制定提供依据,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年11月至2022年1月新乡医学院第一附属医院收治的190例晚期胃癌患者作为研究对象。纳入标准:①临床诊断为晚期胃癌^[5],并结合病理检查确诊;②入组患者为成年人,均接受SOX方案(奥沙利铂+替吉奥)化疗(化疗周期 ≥ 2 个);③本人及家属同意参与本次研究;④能够提供完整的病例资料。排除标准:①胃癌复发患者;②合并其他部位的良恶性肿瘤者;③预计生存期不足半年者;④其他影响“MHR”浓度测定的因素,比如合并严重感染、肝功能障碍、免疫系统疾病等;⑤合并精神系统疾病,无法配合随访者;⑥随访中途脱落者。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 实验室指标检测

抽取患者化疗前空腹状态下的静脉血标本3 mL,采用TEK8510全自动血液细胞分析仪(江西特康科技有限公司)检测MN水平,采用CG-300

全自动生化分析仪(徐州美康电子设备有限公司)检测HDL-C水平,并计算MHR,计算公式为: $MHR = MN / HDL-C$ 。

1.2.2 化疗疗效评估

参考实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)^[6]:病灶消失且维持时间不小于4周为完全缓解(complete remission, CR);治疗后病灶最大直径缩小不小于30%为部分缓解(partial remission, PR);介于PR与PD之间为疾病稳定(stable disease, SD);治疗后有新发病灶或病灶最大直径增加不小于20%为疾病进展(progression disease, PD)。计算疾病控制率(disease control rate, DCR),计算公式为: $DCR = (CR \text{例数} + PR \text{例数} + SD \text{例数}) / \text{总例数} \times 100\%$ 。以CR和PR为化疗敏感,以SD和PD为化疗不敏感。

1.2.3 随访

晚期胃癌患者化疗后连续随访2年,随访方式包括电话沟通、门诊复查等,随访截止时间为2024-1-31,记录患者生存情况。

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(ROC)曲线评估MHR对晚期胃癌患者预后的预测价值;采用多因素Cox回归分析探晚期胃癌患者预后的影响因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MHR对晚期胃癌患者预后的预测价值

MHR预测晚期胃癌患者预后的曲线下面积(area under curve, AUC)(95%CI)为0.871(0.818~0.924),截断值为0.75,特异度为0.675,灵敏度为0.865。见图1。根据MHR截断值分为低MHR组($MHR < 0.75$, $n = 106$)和高MHR组($MHR \geq 0.75$, $n = 84$)。

2.2 低MHR组与高MHR组患者的临床资料比较
高MHR组临床分期IV期、低分化、远处转移

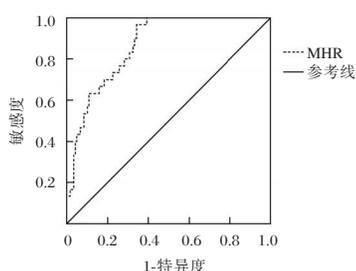


图1 MHR对晚期胃癌患者预后的预测ROC曲线

所占比例均大于低MHR组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 低MHR组与高MHR组患者的临床资料比较 [n(%)]

项目	低MHR组 (n=106)	高MHR组 (n=84)	χ^2 值	P值
性别				
男	59(55.66)	45(53.57)	0.083	0.774
女	47(44.34)	39(46.43)		
年龄				
<60岁	41(38.68)	26(30.95)	1.226	0.268
≥60岁	65(61.32)	58(69.05)		
饮酒				
是	56(52.83)	37(44.05)	1.447	0.229
否	50(47.17)	47(55.95)		
肿瘤部位				
贲门	30(28.30)	26(30.95)	1.175	0.556
胃体	51(48.11)	34(40.48)		
远端	25(23.59)	24(28.57)		
组织学分型				
腺癌	78(73.59)	68(80.95)	1.552	0.460
印戒细胞癌	19(17.92)	10(11.91)		
其他	9(8.49)	6(7.14)		
Lauren分型				
弥漫型	38(35.85)	33(39.29)	0.236	0.627
肠型	68(64.15)	51(60.71)		
肿瘤直径				
<5cm	35(33.02)	23(27.38)	0.702	0.402
≥5cm	71(66.98)	61(72.62)		
临床分期				
ⅢB期	44(41.51)	20(23.81)	6.572	0.010
Ⅳ期	62(58.49)	64(76.19)		
分化程度				
低分化	86(81.13)	77(91.67)	4.266	0.039
中/高分化	20(18.87)	7(8.33)		
远处转移				
有	51(48.11)	62(73.81)	12.838	<0.001
无	55(51.89)	22(26.19)		

2.3 低MHR组与高MHR组患者的化疗疗效比较

低MHR组DCR为83.96%,高于高MHR组的60.71%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 低MHR组与高MHR组患者的化疗疗效比较 [n(%)]

组别	n	CR	PR	SD	PD	DCR
低MHR组	106	0(0.00)	51(48.11)	38(35.85)	17(16.04)	89(83.96)
高MHR组	84	0(0.00)	14(16.67)	37(44.04)	33(39.29)	51(60.71)
χ^2 值						13.062
P值						<0.001

2.4 晚期胃癌患者预后情况及单因素分析

连续随访2年后,190例晚期胃癌患者有45例存活,总生存率为23.68%(45/190)。肿瘤直径<5cm、临床分期ⅢB期、中/高分化、无远处转移、化疗敏感、MHR<0.75的晚期胃癌患者2年总生存率高于

肿瘤直径≥5cm、临床分期Ⅳ期、低分化、有远处转移、MHR≥0.75患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 晚期胃癌患者预后的单因素分析 [n(%)]

维度	n	2年总生存率	χ^2 值	P值
性别				
男	104	23(22.12)	0.313	0.576
女	86	22(25.58)		
年龄				
<60岁	67	17(26.56)	0.163	0.686
≥60岁	123	28(22.76)		
饮酒				
是	93	19(20.43)	1.067	0.302
否	97	26(26.80)		
肿瘤部位				
贲门	56	14(25.00)	0.394	0.821
胃体	85	21(24.71)		
远端	49	10(20.41)		
组织学分型				
腺癌	146	32(21.92)	1.610	0.447
印戒细胞癌	29	8(27.59)		
其他	15	5(33.33)		
Lauren分型				
弥漫型	71	21(29.58)	2.178	0.140
肠型	119	24(20.17)		
肿瘤直径				
<5cm	58	25(43.10)	17.418	<0.001
≥5cm	132	20(15.15)		
临床分期				
ⅢB期	64	23(35.94)	8.017	0.005
Ⅳ期	126	22(17.46)		
分化程度				
低分化	163	31(19.02)	13.815	<0.001
中/高分化	27	14(51.85)		
远处转移				
有	113	19(16.81)	7.281	0.007
无	77	26(33.77)		
化疗疗效				
化疗敏感	65	26(40.00)	14.551	<0.001
化疗不敏感	125	19(15.20)		
MHR				
<0.75	106	34(32.08)	9.340	0.002
≥0.75	84	11(13.10)		

2.5 晚期胃癌患者预后的多因素Cox回归分析

以晚期胃癌患者预后为因变量,以单因素分析中比较差异有统计学意义的指标为自变量进行多因素Cox回归分析,结果显示,有远处转移、化疗不敏感、MHR≥0.75是晚期胃癌患者预后的独立危险因素($P < 0.05$)。见表4。

3 讨论

晚期胃癌患者的癌细胞已经侵犯至黏膜下层或更深部组织,治疗以化疗为主,旨在减轻瘤体负荷、延缓肿瘤发展速度、提高患者生存质量^[7]。然而部分患者对化疗药物不敏感,这可能会导致治疗效果不明显,从而对患者的预后产生负面影响^[8]。因此,积极探索与晚期胃癌患者化疗疗效、预后相关的标记物有着重要的临床意义。

MHR是一种用MN除以HDL-C表示的新型标记物,具有数据易获取、特异度高、可动态监测等诸多优点。本文ROC曲线结果表明MHR可作为预测晚期胃癌患者预后的重要标记物,监测其

表4 晚期胃癌患者预后的多因素Cox回归分析

变量	赋值	β 值	SE值	Wald χ^2	HR(95% CI)	P值
肿瘤直径	<5 cm=0; ≥5 cm=1	0.268	0.154	3.029	1.307(0.967~1.768)	0.082
临床分期	ⅢB期=0; Ⅳ期=1	0.326	0.186	3.072	1.385(0.962~1.995)	0.080
分化程度	中/高分化=0; 低分化=1	0.371	0.197	3.547	1.449(0.985~2.132)	0.060
远处转移	无=0; 有=1	0.824	0.193	18.228	2.280(1.562~3.328)	<0.001
化疗疗效	化疗敏感=0; 化疗不敏感=1	1.035	0.219	22.335	2.815(1.833~4.324)	<0.001
MHR	<0.75=0; ≥0.75=1	0.911	0.207	19.369	2.487(1.657~3.731)	<0.001

变化趋势可为临床治疗方案的制定提供一些帮助和指导。进一步结果显示,高MHR组临床分期Ⅳ期、低分化、远处转移所占比例均大于低MHR组;低MHR组DCR高于高MHR组;MHR<0.75的晚期胃癌患者2年总生存率高于MHR≥0.75患者。结果表明高MHR可能与晚期胃癌进展、患者化疗疗效差及预后差有关。高MHR意味着MN水平升高,HDL-C水平降低。MN是血液中体积最大的一种白细胞,可参与机体的炎症反应、免疫反应等过程^[9]。在肿瘤微环境中,MN可分泌多种促炎细胞因子和生长因子,从而促进肿瘤的生长、侵袭及转移^[10]。HDL-C是脂蛋白的一种,其水平异常时可刺激癌细胞产生较多的促癌氧化胆固醇,从而促进胃癌的发生、发展^[11]。Pih等^[12]人的报道显示,胃癌组HDL-C水平低于对照组,低HDL-C是胃癌发病的重要影响因素。李仲等^[13]人的报道显示,术前血清HDL-C水平异常与胃癌患者淋巴结转移有关,HDL-C是胃癌患者预后不良的独立危险因素。MHR结合了MN、HDL-C这两项指标的特性,可以更全面地评估炎症水平、脂质代谢情况。高MHR意味着晚期胃癌患者肿瘤微环境中炎症水平升高,可能会导致肿瘤组织周围的血管通透性降低,阻止化疗药物从血液充分渗透到肿瘤组织中,从而影响化疗疗效^[14]。同时高MHR与晚期胃癌患者体内脂质代谢异常显著相关,这种代谢异常会影响化疗药物的吸收、分布及排泄,并且可导致癌细胞生长速度加快,进一步加重病情,从而影响化疗疗效,增加患者预后不良的风险^[15]。

进一步经多因素Cox回归分析显示,有远处转移、化疗不敏感、MHR≥0.75是晚期胃癌患者预后的独立危险因素。结果表明在晚期胃癌患者的管理中,需要重视上述高危群体的化疗效果监测,一旦发现化疗耐药或病情进展的迹象,应及时调整化疗方案,从而改善患者的预后。

综上所述,高MHR与晚期胃癌患者化疗疗效差、预后差有关,可作为预测患者预后的重要标记物。

参考文献

- [1] 孙锴. 胃癌组织上皮钙黏素和骨膜蛋白表达水平与临床病理特征及其对术后生存情况的影响[J]. 感染、炎症、修复, 2022, 23(2): 89-93.
- [2] 徐丽君, 韩毛毛, 郑畅. 晚期胃癌患者参一胶囊联合化疗治疗前后血清Bcl-2、Bax、Fas与预后的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(11): 2046-2049.
- [3] 周利飞, 冯鹏超, 靳文艳, 等. 单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值联合铁蛋白对急性缺血性脑卒中患者预后不良的预测价值[J]. 实用心脑血管病杂志, 2024, 32(11): 74-77+82.
- [4] 姜贤哲, 苗同国, 张仕雅, 等. 单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值对原发性非病毒性肝细胞癌患者预后的影响: 一项回顾性队列研究[J]. 中国全科医学, 2024, 28(9): 1092-1099.
- [5] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021版)[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(16): 1169-1189.
- [6] Schwartz LH, Litière S, de Vries E, et al. RECIST 1.1 Update and clarification: From the RECIST committee[J]. Eur J Cancer, 2016, 62: 132-137.
- [7] 杜张敏, 刘盼, 杨建, 等. 血清SGK1、TRAP1、FOXQ1与晚期胃癌患者化疗疗效和预后的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2024, 45(12): 1458-1462+1468.
- [8] 苏慎勇, 洪丹, 安琳, 等. 血清TAP、TFF3与晚期胃癌患者含奥沙利铂化疗方案敏感性和预后的关系[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(14): 2766-2769.
- [9] Liu HL, Feng X, Tang MM, et al. Prognostic significance of preoperative lymphocyte to monocyte ratio in patients with signet ring gastric cancer[J]. World J Gastrointest Surg, 2023, 15(8): 1673-1683.
- [10] 何晓芳, 罗会芹, 闫滢, 等. 胃癌术后外周血单核细胞、淋巴细胞水平变化对胃癌肝转移患者预后的影响[J]. 医学信息, 2020, 33(6): 66-71.
- [11] 李彦庆, 王亮, 符谨诚, 等. 胃癌与血脂及脂蛋白的相关性研究进展[J]. 疑难病杂志, 2024, 23(7): 879-882.
- [12] Pih GY, Gong EJ, Choi JY, et al. Associations of Serum Lipid Level with Gastric Cancer Risk, Pathology, and Prognosis[J]. Cancer Res Treat, 2021, 53(2): 445-456.
- [13] 李仲, 朱正秋. 术前脂蛋白水平与胃癌淋巴结转移的相关性及其对胃癌预后的预测价值[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(9): 1502-1507.
- [14] Jiang M, Yang J, Zou H, et al. Monocyte-to-high-density lipoprotein-cholesterol ratio (MHR) and the risk of all-cause and cardiovascular mortality: a nationwide cohort study in the United States[J]. Lipids Health Dis, 2022, 21(1): 30.
- [15] Nam SY, Jeon SW, Jo J, et al. Favorable Effect of High-Density Lipoprotein Cholesterol on Gastric Cancer Mortality by Sex and Treatment Modality[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(9): 2463.

重症患者多重耐药菌感染病原菌、危险因素及与CRP、PChE、HBDH的相关性

靳晓云^{1*} 许红飞² 李会²

[摘要] 目的 分析重症患者多重耐药菌(MDRO)感染病原菌、危险因素及与C反应蛋白(CRP)、胆碱酯酶(PChE)、 α -羟基丁酸脱氢酶(HBDH)的相关性。方法 分析2021年1月至2023年12月收治的接受肠内营养且入住重症监护室(ICU)的患者临床资料,患者均显示呼吸道分泌物细菌培养阳性,将发生MDRO感染的患者纳入感染组($n=53$),未发生MDRO感染的106例患者纳入对照组($n=106$)。分析感染组患者MDRO感染病原菌分布情况,行多元Logistic回归分析探究MDRO感染的危险因素。比较两组患者CRP、PChE、HBDH水平差异,使用受试者特征(ROC)曲线,分析CRP、PChE、HBDH水平对MDRO感染的诊断价值。结果 感染组患者MDRO感染病原菌分布中,最高为超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)+菌株,有21株(39.62%),最低为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA),有6株(11.32%);感染组与对照组合并基础疾病、ICU入住时间、侵入性操作、住院时间比较,差异有统计学意义($P<0.05$),年龄、性别比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);logistic回归分析发现,合并基础疾病($OR=1.714$)、ICU入住时间 ≥ 7 d($OR=1.976$)、进行侵入性操作($OR=1.557$)、住院时间 ≥ 14 d($OR=1.581$)是导致MDRO感染的独立危险因素;感染组患者CRP、HBDH水平均高于对照组,PChE水平低于对照组,差异有统计学意义(P 均 <0.05);ROC曲线结果显示,CRP、PChE、HBDH对MDRO感染的诊断效能均较高($AUC=0.671$ 、 0.691 、 0.769 , P 均 <0.05)。结论 接受肠内营养的ICU患者呼吸道MDRO感染病原菌以ESBLs+菌株为主,CRP、PChE、HBDH可辅助诊断MDRO感染。

[关键词] 多重耐药菌;病原菌;C反应蛋白;胆碱酯酶; α -羟基丁酸脱氢酶

Pathogenic bacteria and risk factors of multidrug-resistant organism infection in critically ill patients and their correlation with CRP, PChE and HBDH

JIN Xiaoyun^{1*}, XU Hongfei², LI Hui²

(1. Disease Prevention and Infection Management Office, Beijing Pinggu Hospital, Beijing 101200, China

2. Department of Critical Care Medicine, Beijing Pinggu Hospital, Beijing 101200, China)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the pathogenic bacteria and risk factors of multidrug-resistant organism (MDRO) infection in critically ill patients and their correlation with C-reactive protein (CRP), pseudo-cholinesterase (PChE) and α -hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH). **Methods** The clinical data of patients who received enteral nutrition and were admitted to the intensive care unit (ICU) were retrospectively analyzed from January 2021 to December 2023. All patients showed positive bacterial cultures in their respiratory secretions. Patients with MDRO infections were included in the infection group ($n=53$), and 106 patients without MDRO infections were selected as the control group ($n=106$). The distribution of pathogenic bacteria causing MDRO infections in the infection group was analyzed. Risk factors for MDRO infections were explored using multivariate logistic regression analysis. Differences in CRP, PChE, and HBDH levels were compared between the groups. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to analyze the diagnostic value of CRP, PChE, and HBDH levels in detecting MDRO infections. **Results** Among the distribution of MDRO infection

基金项目:平谷区医院科研项目(pgyy2024-01)

作者单位:1.北京市平谷区医院疾病预防与感染管理处,北京101200

2.北京市平谷区医院重症医学科,北京101200

*通信作者:靳晓云, E-mail: 18513621328@163.com

pathogenic bacteria in the infection group, the highest was extended-spectrum β -lactamase (ESBLs) + strains, with 21 strains (39.62%), and the lowest was methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), with 6 strains (11.32%). Statistical differences were observed between the infection group and the control group in concurrent underlying disease, ICU stay, invasive operation and hospitalization time (all $P < 0.05$), but there were no statistically significant differences in age and gender (all $P > 0.05$). According to logistic regression analysis, it was found that concurrent underlying disease ($OR = 1.714$), ICU stay ≥ 7 days ($OR = 1.976$), invasive operation ($OR = 1.557$), and hospitalization time ≥ 14 days ($OR = 1.581$) were independent risk factors for MDRO infection. CRP and HBDH levels in infected patients were higher than those in the control group, while PChE levels were lower than that in the control group (all $P < 0.05$). ROC curve results showed that CRP, PChE, and HBDH had high diagnostic efficiency for MDRO infection (AUC=0.671, 0.691, 0.769, all $P < 0.05$). **Conclusion** ESBLs producing strains are the primary pathogenic bacteria causing respiratory tract MDRO infections in ICU patients who are receiving enteral nutrition. CRP, PChE, and HBDH can aid in the diagnosis of MDRO infections.

[KEY WORDS] MDRO; Pathogenic bacteria; Risk factors; CRP; PChE; HBDH

重症监护室(intensive care unit, ICU)旨在救治危重症患者,患者通常病情严重且免疫功能低下,可能因侵入性操作、滥用抗生素或不当隔离措施而感染细菌^[1,2]。多重耐药菌(multidrug-resistant organism, MDRO)特指对常用的3类或以上抗生素同时呈现耐药结果的细菌,MDRO种类繁多,涵盖超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamase, ESBLs)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)等,而ICU是MDRO感染的重灾区^[3-4]。临床研究证实,主动对患者进行MDRO筛查有利于MDRO的防控进行^[5]。因此,为有效阻断MDRO传播,对MDRO患者进行早期识别,本研究旨在分析重症患者MDRO感染病原菌、危险因素及与C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、胆碱酯酶(pseudocholinesterase, PChE)、 α -羟基丁酸脱氢酶(α -hydroxybutyrate dehydrogenase, HBDH)的相关性,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 一般资料

分析2021年1月至2023年12月收治的接受肠内营养且入住重症监护室(ICU)的患者临床资料,患者均显示呼吸道分泌物细菌培养阳性,分析ICU患者感染病原菌情况,将发生MDRO感染的患者纳入感染组($n=53$),未发生MDRO感染的106例患者纳入对照组($n=106$)。本研究资料收集均获得患者知情同意,且经北京市平谷区医院医学伦理委员会批准。

纳入标准 ①参考《全国临床检验操作规范

(第3版)》^[6]行呼吸道分泌物细菌培养且结果明确者;②入住ICU时间 ≥ 48 h者;③接受肠内营养者;④临床资料完整者。排除标准 ①入院前已发生感染或转出ICU后发生感染者;②在入院前48小时内预期生存时间少于48小时者;③存在严重消化道功能障碍或营养吸收不良者;④合并免疫系统障碍或使用免疫功能抑制剂者;⑤预计生存期 < 48 h者。

1.2 方法

1.2.1 资料收集方法

从医院信息系统中收集符合纳入标准的ICU患者数据,包括患者一般资料、入院疾病类型、合并基础疾病、ICU入住时间、侵入性检查、住院时间等资料。按照《全国临床检验操作规范(第3版)》^[6]进行呼吸道分泌物细菌培养及药敏试验,依据《多重耐药医院感染预防与控制技术指南(试行版)》^[7]对多重耐药菌进行判断。

1.2.2 指标检测方法

采集患者入ICU后静脉血5 mL,经离心半径8 cm,转速1 500 r/min离心10 min,获得血清标本,使用乳胶增强免疫比浊法检测患者血清CRP,使用丁酰硫代胆碱底物法检测血清PChE,使用 α -酮丁酸底物法检测HBDH水平。

1.3 质量控制措施

培训团队成员,确保数据来源一致。指定1名质控员,核对研究对象的纳排标准,数据采集的准确性,确保研究质量。

1.4 统计学方法

采用统计学软件SPSS 25.0对数据进行分析处理。计数资料均以 $n(\%)$ 表示,使用卡方检验,将存在显著差异的因素进行多元Logistic回归分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较进行 t 检验,使用

ROC 曲线分析 CRP、PChE、HBDH 水平对 MDRO 感染的诊断价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ICU 患者 MDRO 感染情况

1 502 例接受肠内营养的 ICU 患者中, 发现呼吸道 MDRO 感染 65 例, 占总数 4.33%。经过筛选, 最终纳入感染组患者 53 例, 对照组患者 106 例。

2.2 感染组患者 MDRO 感染病原菌分布情况

感染组患者 MDRO 感染病原菌分布中, 最高为 ESBLs+菌株, 占比为 39.62%, 其次为 CRKP(26.42%)、CRAB(22.64%), 最低为 MRSA, 占比为 11.32%。

2.3 感染组与对照组患者 MDRO 感染的单因素分析

感染组与对照组患者之间的合并基础疾病、ICU 入住时间、侵入性操作、住院时间比较, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05), 年龄、性别比较, 差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表 1。

表 1 感染组与对照组患者 MDRO 感染的单因素分析
[n (%)]

指标	感染组 ($n=53$)	对照组 ($n=106$)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)			3.460	0.063
<60	3(5.66)	17(16.04)		
≥ 60	50(94.34)	89(83.96)		
性别			0.365	0.546
男	38(71.70)	71(66.98)		
女	15(28.30)	35(33.02)		
入院疾病类型			5.740	0.332
神经系统	18(33.96)	54(50.94)		
外伤性	14(26.42)	18(16.98)		
呼吸系统	8(15.09)	12(11.32)		
心血管系统	6(11.32)	9(8.49)		
消化系统	2(3.77)	7(6.60)		
其他	5(9.43)	6(5.66)		
合并基础疾病			4.789	0.029
有	47(88.68)	78(73.58)		
无	6(11.32)	28(26.42)		
ICU 入住时间(d)			9.583	0.002
<7	12(15.58)	51(48.11)		
≥ 7	65(84.42)	55(51.89)		
侵入性操作			7.824	0.005
有	50(94.34)	81(76.42)		
无	3(5.66)	25(23.58)		
住院时间(d)			6.659	0.010
<14	28(36.36)	59(55.66)		
≥ 14	49(63.64)	47(44.34)		

2.4 MDRO 感染的 logistic 回归分析

MDRO 感染的单因素代入多因素 logistic 回归分析方程中发现, 合并基础疾病、ICU 入住时间 ≥ 7 d、进行侵入性操作、住院时间 ≥ 14 d 是导致 MDRO 感染的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 MDRO 感染的 logistic 回归分析

因素	β 值	SE	Wald χ^2 值	95%CI	OR 值	P 值
合并基础疾病	0.539	0.142	14.408	1.298~2.264	1.714	<0.001
ICU 入住时间 ≥ 7 d	0.681	0.184	13.698	1.378~2.834	1.976	<0.001
进行侵入性操作	0.443	0.117	14.336	1.238~1.959	1.557	<0.001
住院时间 ≥ 14 d	0.458	0.209	4.802	1.050~2.381	1.581	0.029

2.5 两组患者 CRP、PChE、HBDH 水平比较

感染组患者 CRP、HBDH 水平均高于对照组, PChE 水平低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者 CRP、PChE、HBDH 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRP(mg/L)	PChE(kU/L)	HBDH(U/L)
感染组	53	66.36 \pm 17.73	2.92 \pm 0.51	243.35 \pm 54.08
对照组	106	55.53 \pm 15.71	3.26 \pm 0.33	199.43 \pm 39.72
t 值		3.924	5.069	5.803
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.6 CRP、PChE、HBDH 水平与 MDRO 感染的诊断价值分析

ROC 曲线结果显示, CRP、PChE、HBDH 对 MDRO 感染的诊断效能均较高 ($AUC=0.671$ 、 0.691 、 0.769 , P 均 < 0.05)。见表 4、图 1。

表 4 CRP、PChE、HBDH 水平与 MDRO 感染的诊断价值

指标	截断值	AUC	95% CI	敏感性 (%)	特异性 (%)	P 值
CRP	55.18 mg/L	0.671	0.592~0.743	73.58	51.89	<0.05
PChE	2.94 kU/L	0.691	0.612~0.761	58.49	83.02	<0.05
HBDH	227.30 U/L	0.769	0.695~0.832	67.92	76.42	<0.05

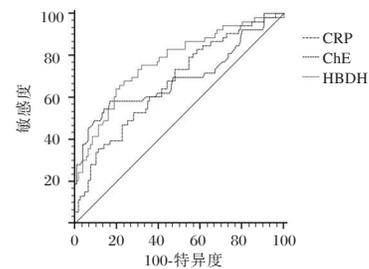


图 1 CRP、PChE、HBDH 水平与 MDRO 感染的诊断效能 ROC 曲线

3 讨论

现代医疗中, 广谱抗生素的滥用已成为一个重要问题。不同区域和科室的病原菌分布及药敏情况可能存在差异。ICU 作为危重症患者的救治场所, 也是 MDRO 感染的高发区。MDRO 感染治疗后可能引发二次感染, 甚至导致患者死亡^[8]。因此, 研究本院 ICU 中 MDRO 感染病原菌的分布特

点,对指导临床药物使用和分析感染危险因素,以有效预防高危患者感染具有重要意义。

有学者调查发现,MDRO医院内感染高发科室为ICU,且以多重耐药革兰阴性菌为主^[9]。李孝雪等^[10]研究结果显示,综合ICU的3年MDRO平均感染率为7.8%,其中CRAB位于ICU MDRO菌株的首位,此外MRSA等检出率也较高,值得临床重视。本研究显示,感染组患者MDRO感染病原菌分布中,最高为ESBLs+菌株,占比为39.62%,最低为MRSA,占比为11.32%,推测原因可能在于:三代头孢及广谱 β -内酰胺类抗菌药物的广泛使用甚至滥用,导致了ESBLs+菌株的大量出现;随着碳青霉烯类药物在ICU的使用,导致了CRKP、CRAB的泛滥。王锦等^[11]研究证实,耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌(CRPA)和CRKP在ICU中的检出率呈现逐年增加的趋势。说明目前ICU的感染控制面临严峻挑战,需加强对MDRO感染的检测,并及时进行有效预防。

本研究对于MDRO感染的单因素分析结果显示,合并基础疾病、ICU入住时间、侵入性操作、住院时间可能引发MDRO感染,且经logistic回归分析证实,合并基础疾病、ICU入住时间 ≥ 7 d、进行侵入性操作、住院时间 ≥ 14 d是影响MDRO感染的独立危险因素。本研究推测其原因可能在于:合并基础疾病的患者普遍存在免疫能力低下的情况,可能导致自身机体屏障功能下降,进而更易受到细菌定植,提升MDRO感染风险。另一方面,侵入性操作会破坏患者机体屏障,加上ICU内存在的病原菌种类繁多,故导致侵入性MDRO感染风险上升。此外,MDRO感染的难治性会导致ICU入住时间与住院时间的增加,而ICU入住时间与住院时间的增加又会增加MDRO感染的风险,二者之间互为因果,形成恶性循环。另有报道指出^[12],MDRO感染的独立危险因素涵盖合并疾病、机械通气时间、使用抗菌药物种类等方面,与本研究结果部分一致。

在临床实践中,对MDRO感染的诊断以细菌培养为主,但此方法耗时较长,可能导致患者治疗时机延误,因此临床需要其他指标对MDRO感染进行早期诊断。CRP属于急性期反应蛋白,能直接参与炎症反应^[13];感染者体内存在的血脂代谢紊乱会导致血液运载PChE的能力下降,进而导致其在人体中含量降低^[14];HBDH属于心肌酶谱,主要存在于心肌及肾脏中,其数值可反应心肌损害

及红细胞损害的程度^[15]。本研究结果显示,感染组患者CRP、HBDH水平均高于对照组,PChE水平低于对照组。此外,本研究中CRP、PChE、HBDH对MDRO感染的诊断的AUC分别为0.671、0.691、0.769,提示血清CRP、PChE、HBDH可用于MDRO感染的早期辅助诊断。

综上所述,接受肠内营养的ICU患者中的MDRO感染率为4.33%,病原菌分布以ESBLs+菌株为主,影响MDRO感染的独立危险因素包括非神经系统疾病、合并基础疾病、ICU入住时间 ≥ 7 d、进行侵入性操作、住院时间 ≥ 14 d,且CRP、PChE、HBDH与MDRO感染相关,可辅助诊断MDRO感染。

参考文献

- [1] 宋红升,王忠礼,王宇萍.国内ICU多重耐药菌感染患者的疾病负担Meta分析[J].中国抗生素杂志,2024,49(4):427-437.
- [2] 任陇滨.重症急性胰腺炎合并感染患者CT影像学特征分析[J].中国CT和MRI杂志,2020,18(10):166-169.
- [3] 彭虎,王志伟,杨延洁,等.ICU患者多重耐药菌感染危险因素及列线图模型构建[J].新疆医科大学学报,2024,47(8):1186-1192.
- [4] 王海艳,洪丽娟,陈绵聪,等.PCT、SAA及Treg因子检测在多重耐药菌感染抗菌治疗中的价值[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(8):1511-1514,1519.
- [5] 余跃天,马朋林.重症监护病房多重耐药菌防控:指南与实践[J].中华医学杂志,2019,99(25):1945-1948.
- [6] 杜雨轩,王薇,何法霖,等.我国儿童常规化学项目参考区间现状调查及结果分析[J].检验医学,2020,35(7):676-681.
- [7] 柴蕴珠,王艳红,徐宏蕊.消化内科住院患者幽门螺旋杆菌感染情况[J].华南预防医学,2021,47(1):77-79+83.
- [8] 中华人民共和国卫生部.多重耐药菌医院感染预防与控制技术指南(试行)[J].中华危重病急救医学,2011,13(2):108-109.
- [9] 王雪玉,田芳英.基于DRGs的多重耐药菌感染防控现状分析[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2023,44(1):95-105.
- [10] 李孝雪,耿苗苗,祝延红.综合重症监护室住院患者多重耐药菌的临床分布特点及感染危险因素分析[J].中国消毒学杂志,2024,41(2):128-132.
- [11] 王锦,邵明鑫,王虹,等.不同专业重症监护病房多重耐药菌医院感染特征[J].中国感染控制杂志,2021,20(12):1126-1132.
- [12] 熊自超,郭庚秀,罗锋,等.某三甲综合性医院多重耐药菌感染风险评估模型的构建与效果评价[J].感染、炎症、修复,2021,22(3):131-139.
- [13] 武道荣,闫雪波,方磊,等.qSOFA评分联合IL-6 PCT CRP对ICU感染性休克患者病情及预后的评估价值[J].安徽医学,2021,42(8):850-854.
- [14] 郭战萍,任静静,王珊珊,等.血清ChE和Ang-1与IL-6水平对感染性休克患者临床结局的预测价值[J].中华医院感染学杂志,2022,32(5):689-692.
- [15] 冯海娟,陈慧,丁益宏.血清HBDH、GIP和sIL-2R对急性胰腺炎严重程度的早期评估价值[J].现代消化及介入诊疗,2022,27(8):1026-1029.

血清 D-D 水平联合 caprini 评估对髋关节置换术后下肢深静脉血栓形成的预测效能

刘璇 张斌斌* 刘晓杰 张敬堂

【摘要】 目的 探究血清 D-二聚体(D-D)水平联合 caprini 评估对髋关节置换术后下肢深静脉血栓形成(DVT)的预测效能。方法 选择2022年4月至2023年4月于安徽省太和县人民医院行髋关节置换术的215例患者,根据术后7天是否发生DVT将患者分为非DVT组($n=152$)和DVT组($n=63$),术后对患者进行caprini评估,检测凝血酶原时间(PT)、抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(Fib)、凝血酶时间(TT)、D-D水平。采用多因素 Logistic 回归分析下肢DVT的影响因素;采用 Spearman 和 Pearson 相关性分析 caprini 评分和 D-D 水平与各影响因素之间相关性;采用 ROC 曲线分析 caprini 评分和 D-D 水平对下肢DVT的诊断价值。结果 DVT组凝血指标PT、APTT、Fib以及caprini评分、D-D水平高于非DVT组,而ATⅢ水平低于非DVT组($P<0.05$);caprini评分以及PT、Fib、D-D水平升高为髋关节置换术后下肢DVT的独立危险因素,而ATⅢ升高是独立保护因素($P<0.05$);DVT组caprini评分和D-D水平与PT、Fib呈正相关,与ATⅢ呈负相关($P<0.05$);caprini评分和D-D水平联合诊断术后发生下肢DVT的AUC为0.930,优于单独诊断(0.786、0.815)($P<0.05$)。结论 髋关节置换术后发生DVT患者caprini评分和D-D水平较高,两者水平越高,患者术后发生DVT的风险越高,联合诊断术后发生DVT价值更高,为临床诊断和治疗提高参考。

【关键词】 髋关节置换术; 下肢深静脉血栓形成; caprini 评估; D-二聚体

Predictive efficacy of serum D-D level combined with caprini evaluation for lower extremity deep vein thrombosis after hip replacement surgery

LIU Xuan, ZHANG Binbin*, LIU Xiaojie, ZHANG Jintang

[Department of Joint Surgery, Taihe County People's Hospital, Anhui Province (Taihe Hospital affiliated to Southern Anhui Medical College), Fuyang, Anhui, China, 236600]

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the predictive performance of serum D-dimer (D-D) level combined with caprini for lower extremity deep vein thrombosis (DVT) after hip arthroplasty. **Methods** From April 2022 to April 2023, 215 patients who underwent hip replacement at Taihe People's Hospital of Anhui Province were divided into the non-DVT group ($n=152$) and the DVT group ($n=63$) based on whether DVT occurred 7 days after operation. The patients were evaluated with caprini after operation, and the levels of prothrombin time (PT), antithrombin III (AT III), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen (Fib), thrombin time (TT) and D-D were measured. Multivariate logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of lower extremity DVT. Spearman and Pearson correlation analyses were used to analyze the correlation between caprini score and D-D level with various influencing factors. ROC curve was used to analyze the diagnostic value of caprini score and D-D level for lower extremity DVT. Z-test was used to compare the differences in AUC. **Results** The coagulation indexes PT, APTT, Fib, caprini score and D-D levels in the DVT group were higher than those in the non-DVT group, while the level of AT III was lower than that in the non-DVT group. ($P<0.05$). Elevated caprini score, PT, Fib, and D-D levels were independent risk factors for lower extremity DVT after hip arthroplasty, while elevated AT III was an independent protective factor ($P<0.05$). In the DVT group, the caprini score and D-D level were positively correlated with PT and Fib and negatively correlated with AT III ($P<$

基金项目:阜阳市卫生健康委科研立项课题(FY2021-072)

作者单位:安徽省太和县人民医院(皖南医学院附属太和医院)关节外科,安徽,阜阳 236600

*通信作者:张斌斌, E-mail:2005-zyb@163.com

0.05)。The AUC of the combination of caprini score and D-D level in the diagnosis of postoperative DVT of lower limbs was 0.930, which was better than that of a single diagnosis (0.786 and 0.815) ($P<0.05$)。 **Conclusion** Patients with DVT after hip replacement surgery have higher caprini scores and D-D levels. The higher these levels are, the greater the risk of developing DVT post-operation. Additionally, a higher value in the joint diagnosis of DVT after surgery can improve references for clinical diagnosis and treatment.

[KEY WORDS] Hip arthroplasty; Caprini assessment; D-D

髋关节置换术是一种比较成熟、可靠的骨科手术,能够重建患者髋关节的正常功能,提高活动能力和生活质量,并缓解疼痛^[1]。深静脉血栓形成(deep vein thrombosis, DVT)是髋关节置换术后常见并发症,发生率在20%左右,下肢DVT的形成会增加患者的痛苦、延长住院时间、增加医疗费用,一旦脱落易引起肺栓塞,严重者可导致死亡^[2]。因此,评估髋关节置换术后患者是否发生DVT有助于采取个性化治疗,提高患者生活质量,降低死亡率。Caprini评估是一种经过充分验证的实用的静脉血栓风险评估工具,已被证实与术后静脉血栓发生风险相关^[3]。在骨科手术中,如终末期膝关节骨关节炎患者中,caprini评分较高的患者,DVT发生风险也较高^[4]。D-二聚体(D-Dimer, D-D)是一种可溶性纤维蛋白降解产物,源自纤溶酶诱导的交联纤维蛋白降解,是凝血激活和继发性纤维蛋白溶解的重要生物标志物^[5]。D-D在多种疾病中升高,并且与术后DVT的发生存在一定的关联性^[6]。本研究通过术前caprini评估以及检测D-D水平,探究两者对髋关节置换术后下肢DVT的诊断价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

随机选择2022年4月至2023年4月于安徽省太和县人民医院行髋关节置换术的215例患者,根据术后7天是否发生DVT将患者分为非DVT组($n=152$)和DVT组($n=63$)。其中,非DVT组男78例,女74例,年龄(62.45 ± 5.63)岁,外伤史27例,原发疾病:股骨颈骨折83例,类风湿性关节炎47例,股骨头坏死22例,手术时间(121.47 ± 22.12)min; DVT组男36例,女27例,年龄(63.52 ± 6.17)岁,外伤史12例,原发疾病:创伤性关节炎38例,类风湿性关节炎15例,股骨头坏死10例,手术时间(125.83 ± 24.36)min。纳入标准:①符合行髋关节置换术治疗指征;②病程 <15 d;③依从性良好,能配合完成所有指标检测;④患者本人及家属知晓本次研究并同意参与。排除标准:①凝血功能障碍;②围

术期发生感染;③术前存在DVT;④合并肿瘤者。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 治疗方法和分组

受试者进行髋关节置换术,术中操作均按照标准进行^[7]。术后3天行下肢血管彩超检查,依据是否发生DVT将患者分为非DVT组($n=152$)和DVT组($n=63$),DVT符合相关诊断标准^[8]。

1.2.2 caprini评估

由两名经验丰富的专职护士采用双盲法根据血栓形成的危险因素进行caprini评估,其中,0~1分为低危,2分为中危,3~4分为高危,5分及以上为极高危^[9]。

1.2.3 血清指标检测

取患者术后第一天空腹静脉血5 mL,低温离心(艾本德,5810R)后取上清,采用全自动凝血分析仪(Rayto, RAC-050)及其配套设备检测凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、抗凝血酶Ⅲ(antithrombin Ⅲ, AT Ⅲ)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、D-D水平。

1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0软件对数据进行分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示用 χ^2 检验;采用多因素Logistic回归分析髋关节置换术后下肢DVT的影响因素;采用Spearman和Pearson相关性分析相关性;采用ROC曲线分析caprini评分和D-D水平对髋关节置换术后下肢DVT的诊断价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

非DVT组和DVT组在合并基础病、原发疾病、手术时间等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),DVT组凝血指标PT、APTT、Fib以及caprini评分、D-D水平高于非DVT组,AT Ⅲ低于DVT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 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

项目	非DVT组 (n=152)	DVT组 (n=63)	t/χ^2 值	P值
性别			0.607	0.436
男	78(51.32)	36(57.14)		
女	74(48.68)	27(42.86)		
年龄(岁)	62.45±5.63	63.52±6.17	1.233	0.219
BMI(kg/m ²)	22.47±2.28	22.83±2.35	1.044	0.298
抽烟(是)	87(57.24)	40(63.49)	0.721	0.396
饮酒(是)	54(35.53)	27(42.86)	1.019	0.313
合并基础病				
高血压(是)	63(41.45)	31(49.21)	1.090	0.297
高血脂(是)	42(27.63)	23(36.51)	1.664	0.197
高血糖(是)	48(34.58)	26(41.27)	1.853	0.173
外伤史(是)	27(17.76)	12(19.05)	0.049	0.824
营养供给不足(是)	21(13.82)	14(22.22)	2.309	0.129
居住环境潮湿(是)	32(21.05)	17(26.98)	0.891	0.345
原发疾病			1.098	0.578
股骨颈骨折	83(54.61)	38(60.32)		
类风湿性关节炎	47(30.92)	15(23.81)		
股骨头坏死	22(14.47)	10(15.87)		
手术时间(min)	121.47± 22.12	125.83±24.36	1.277	0.203
术中失血量(mL)	226.23± 32.46	235.72±36.54	1.879	0.062
止血带应用时间(min)	62.48±9.63	64.17±11.34	1.110	0.268
术中输血(是)	24(15.79)	11(17.46)	0.091	0.763
凝血指标				
PT(s)	11.28±2.64	12.54±3.27	2.963	0.003
APTT(s)	38.65±10.58	43.32±13.47	2.711	0.007
ATⅢ(g/L)	283.54± 26.85	265.37±21.46	4.774	<0.001
TT(s)	18.25±5.13	17.43±4.24	1.120	0.264
Fib(g/L)	6.34±1.96	7.38±2.24	3.393	0.001
caprini评分(分)	4.12±1.26	5.83±1.87	7.795	<0.001
D-D(mg/L)	3.42±1.02	4.76±1.44	7.722	<0.001

2.2 多因素 Logistic 回归分析髋关节置换术后下肢 DVT 的影响因素

以髋关节置换术后是否发生下肢 DVT(0=不发生, 1=发生)为因变量, 表1中具有统计学意义的凝血指标 PT、APTT、ATⅢ、Fib 以及 caprini 评分、D-D 水平为自变量(实测值)行多因素 Logistic 回归分析, 结果显示, PT、Fib 以及 caprini 评分、D-D 水平升高为下肢 DVT 的独立危险因素, 而 ATⅢ升高是独立保护因素($P<0.05$)。见表2。

2.3 caprini 评分和 D-D 水平与各影响因素之间相关性分析

DVT 组 caprini 评分和 D-D 水平与 PT、Fib 呈正相关, 与 ATⅢ呈负相关($P<0.05$)。见表3。

2.4 caprini 评分和 D-D 水平对下肢 DVT 诊断价值

caprini 评分和 D-D 水平联合诊断(并联, 联合概率=常数+0.519*caprini 评分+0.539*D-D)术后发生下肢 DVT 的 AUC 为 0.930, 优于单独诊断

表2 多因素 Logistic 回归分析髋关节置换术后下肢 DVT 的影响因素

自变量	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% CI
PT(s)	0.491	0.226	4.721	0.030	1.634	1.049~2.545
APTT(s)	0.419	0.237	3.131	0.077	1.521	0.956~2.420
ATⅢ(g/L)	-0.488	0.217	5.052	0.025	0.614	0.401~0.939
Fib(g/L)	0.515	0.228	5.094	0.024	1.673	1.070~2.616
caprini 评分(分)	0.519	0.214	5.891	0.015	1.681	1.105~2.557
D-D(mg/L)	0.539	0.234	5.302	0.021	1.714	1.083~2.711

表3 caprini 评分和 D-D 水平与各影响因素之间相关性分析

因子	caprini 评分		D-Dime	
	r 值	P 值	r 值	P 值
PT	0.414	<0.001	0.423	<0.001
ATⅢ	-0.403	<0.001	-0.416	<0.001
Fib	0.427	<0.001	0.421	<0.001

(0.786、0.815)。(Z_{两者联合-caprini 评分}=4.557、Z_{两者联合-D-D}=4.033, $P<0.001$)。见表4、图1。

表4 caprini 评分和 D-D 水平对患者术后发生下肢 DVT 的诊断价值

指标	AUC	95% CI	截断值	敏感度	特异度	约登指数	P 值
caprini 评分	0.786	0.726~0.839	5.173 分	0.571	0.921	0.492	<0.001
D-D	0.815	0.757~0.865	3.947 mg/L	0.556	0.941	0.496	<0.001
联合诊断	0.930	0.888~0.961		0.857	0.882	0.739	<0.001

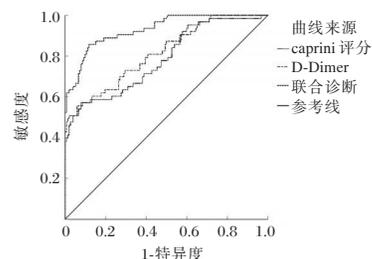


图1 caprini 评分和 D-D 诊断患者术后发生下肢 DVT 的 ROC 曲线图

3 讨论

髋关节置换术是终末期髋关节疾病和股骨颈骨折的有效治疗方法之一, 能够缓解髋关节疾病引起关节疼痛等, 并满足日常生活^[10-11]。DVT 最常发生在下肢, 可能进展为肺栓塞, 即静脉血栓从起源部位脱落并滞留在肺血管中, 造成较高的死亡风险^[12]。DVT 是髋关节置换患者再入院的常见原因, 不仅延长了治疗时间, 增加了治疗成本。同时, 药物预防和治疗还可能会增加局部瘀斑、伤口出血的风险, 进一步影响了患者生活质量^[13]。因此, 预测髋关节置换术后 DVT 发生至关重要。

Caprini 评分对 DVT 具有较高的预测和辅助治疗价值, DVT 风险分层有助于临床个性化治疗, 使用 caprini 能够对髌髌关节置换术后 DVT 发生做出全面评估, 随后指导血栓预防药物的选择^[14]。本研究中, DVT 组 caprini 评分高于非 DVT 组, 评分升高是患者术后发生 DVT 的独立危险因素。提示, caprini 评分越高, 髌髌关节置换术后发生 DVT 的风险也越高。研究发现, DVT 患者血液呈高凝状态, 血流缓慢, 凝血指标异常对确诊 DVT 以及后期防治具有重要意义^[15]。本研究中, DVT 组凝血指标 PT、APTT、Fib 水平高于非 DVT 组, 而 AT III 低于 DVT 组, PT、Fib 水平升高为下肢 DVT 的独立危险因素, 而 AT III 升高是独立保护因素。同时, caprini 评分与凝血指标具有相关性。提示, caprini 评分越高, 患者出现凝血障碍, 发生 DVT 风险也越高。唐晓慧等^[16]研究发现, caprini 评分对诊断 DVT 发生具有一定的价值, 但 caprini 评分对医护人员要求较高, 常与其他因子联合诊断。本研究中, caprini 评分诊断髌髌关节置换术后 DVT 发生的特异度较高, 但敏感度较低。提示, caprini 评分可作为 DVT 发生的潜在标记物。

血液中正常水平的 D-D 代表凝血和纤维蛋白的平衡, 常被用于评估患者抗凝治疗效果、诊断和监测患者出血或血栓风险等情况^[5]。据报道, 髌髌关节置换术患者 D-D 水平较高, 是术后发生 DVT 的独立影响因素。本研究结果与之一致, 同时, 本研究中 D-D 与凝血指标 (PT、Fib、AT III) 具有相关性。提示, D-D 水平较高表明患者凝血状态异常, 术后发生 DVT 风险也越高。D-D 水平较高虽然能够反映出患者术后 DVT 发生风险, 但其随着年龄增加有升高的趋势, 诊断准确度相对较低, 因此, 常与其他指标联合诊断 DVT 发生, 如将 D-D 与白蛋白联合, 明显增加了老年人术后发生 DVT 的诊断准确度^[17]。本研究中, D-D 与 caprini 评分联合诊断髌髌关节置换术后发生 DVT 优于单独诊断。提示, 两者联合诊断价值较高, 可用于临床检测。

综上所述, DVT 组 caprini 评分、D-D 水平较高, 是术后发生 DVT 的独立影响因素, 两者联合诊断价值较高, 可为临床诊断以及指导医护人员用药提供理论基础。

参考文献

[1] 褚俊链, 郭容弟. 基于“三因制宜”理念的中医辨证护理在全髌髌关节置换术患者中的应用效果分析[J]. 西部中医药, 2024, 37(3): 126-130.

- [2] Yu X, Wu Y, Ning R. The deep vein thrombosis of lower limb after total hip arthroplasty: what should we care [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2021, 22(1): 547-552.
- [3] Wilson S, Chen X, Cronin M, et al. Thrombosis prophylaxis in surgical patients using the Caprini Risk Score [J]. Curr Probl Surg, 2022, 59(11): 101221-101223.
- [4] Sun W, Ai D, Yao Y, et al. The application of Caprini Risk Assessment Model in evaluation of deep vein thrombosis for patients with end-stage osteoarthritis before arthroplasty [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2022, 23(1): 767-774.
- [5] Franchini M, Focosi D, Pezzo MP, et al. How we manage a high D-D [J]. Haematologica, 2024, 109(4): 1035-1045.
- [6] Okamoto E, Ishikawa E, Kino H, et al. Perioperative Deep Vein Thrombosis and D-D Measurement in Patients with Brain Tumor [J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2022, 62(4): 186-194.
- [7] 李智多, 张伟军. 全髌髌关节置换术治疗老年股骨颈骨折患者术后发生假体脱位的相关影响因素分析[J]. 医学理论与实践, 2024, 37(10): 1684-1686.
- [8] 中华医学会外科学分会血管外科学组. 深静脉血栓形成的诊断和治疗指南(第三版)[J]. 中华普通外科杂志, 2017, 32(9): 807-812.
- [9] 中华医学会外科学分会. 中国普通外科围手术期血栓预防与管理指南[J]. 中国实用外科杂志, 2016, 36(5): 469-474.
- [10] Shapira J, Chen SL, Rosinsky PJ, et al. Outcomes of outpatient total hip arthroplasty: a systematic review [J]. Hip Int, 2021, 31(1): 4-11.
- [11] Li J, Zhu H, Liao R. Enhanced recovery after surgery (ERAS) pathway for primary hip and knee arthroplasty: study protocol for a randomized controlled trial [J]. Trials, 2019, 20(1): 599-604.
- [12] Matharu GS, Kunutsor SK, Judge A, et al. Clinical Effectiveness and Safety of Aspirin for Venous Thromboembolism Prophylaxis After Total Hip and Knee Replacement: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials [J]. JAMA Intern Med, 2020, 180(3): 376-384.
- [13] Wang X, Xi H, Geng X, et al. Artificial Intelligence-Based Prediction of Lower Extremity Deep Vein Thrombosis Risk After Knee/Hip Arthroplasty [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2023, 29(12): 1076-1083.
- [14] Krauss ES, Cronin M, Dengler N, et al. Lessons Learned: Using the Caprini Risk Assessment Model to Provide Safe and Efficacious Thromboprophylaxis Following Hip and Knee Arthroplasty [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2020, 26(10): 76029-76041.
- [15] 邱燕, 田芹, 马超. 产前超声检查联合凝血标志物检测预测产后下肢深静脉血栓发生价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2023, 31(1): 144-147.
- [16] 唐晓慧, 王金凤, 彭艳, 等. 超声剪切波弹性成像、Caprini 评分及血栓分子标志物联合预测老年术后下肢深静脉血栓的价值[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(23): 5743-5747.
- [17] Stawiarski K, Loutoo A, Velardi L, et al. D-dimer driven deep vein thrombosis prophylaxis strategy for hospitalized patients with COVID-19 [J]. Thromb Res, 2021, 20(5): 151-153.

血浆 *miR-124*、*miR-132* 表达水平与癫痫患者病情及认知功能的关系

郭学廷 王守美* 樊福强

【摘要】目的 探讨血浆微小RNA-124(*miR-124*)、微小RNA-132(*miR-132*)表达水平与癫痫患者病情及认知功能的关系。**方法** 选取2020年7月至2023年6月滨州市第二人民医院收治的78例癫痫患者纳入癫痫组,另选取同期健康体检科征募志愿者39名纳入对照组。比较癫痫组与对照组血浆*miR-124*、*miR-132*水平及MoCA评分;比较不同病情严重程度癫痫患者血浆*miR-124*、*miR-132*水平;采用Spearman相关性分析癫痫患者血浆*miR-124*、*miR-132*水平与病情严重程度的关系;比较认知功能障碍和非认知功能障碍癫痫患者血浆*miR-124*、*miR-132*水平;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血浆*miR-124*、*miR-132*水平对癫痫患者认知功能障碍的预测价值。**结果** 癫痫组血浆*miR-124*、*miR-132*水平高于对照组,MoCA评分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);重度癫痫患者血浆*miR-124*、*miR-132*水平明显高于轻度癫痫和中度癫痫患者,差异有统计学意义($P<0.05$);Spearman相关性分析结果显示,血浆*miR-124*、*miR-132*与癫痫患者病情严重程度呈正相关($P<0.05$);认知功能障碍癫痫患者血浆*miR-124*、*miR-132*水平均显著高于非认知障碍癫痫患者,差异有统计学意义($P<0.05$);ROC曲线显示,血浆*miR-124*、*miR-132*联合评估癫痫患者认知功能障碍的AUC为0.917,敏感度为83.33%,特异度为85.42%($P<0.05$)。**结论** 癫痫患者血浆*miR-124*、*miR-132*水平与其病情严重程度密切相关,临床可将二项指标联合检测作为预测患者认知功能障碍的可靠依据。

【关键词】 癫痫;微小RNA-124;微小RNA-132;认知功能障碍

Relationship between plasma *miR-124*, *miR-132* and disease severity, cognitive function in patients with epilepsy

GUO Xueting, WANG Shoumei*, FAN Fuqiang

(Department of Neurology, Binzhou Second People's Hospital, Binzhou, Shandong, China, 256800)

【ABSTRACT】 Objective To explore the relationship between plasma microRNA-124 (*miR-124*), microRNA-132 (*miR-132*) and disease severity, cognitive function in patients with epilepsy. **Methods** A total of 78 patients with epilepsy and 39 healthy controls were enrolled at Binzhou Second People's Hospital between July 2020 and June 2023. They were divided into an epilepsy group and a control group, respectively. The levels of plasma *miR-124* and *miR-132*, and the Montreal cognitive assessment (MoCA) scores were compared between the two groups. The levels of plasma *miR-124* and *miR-132* in patients with different severity of epilepsy were compared. The relationship between *miR-124*, *miR-132* levels and disease severity were analyzed using Spearman correlation analysis. The levels of plasma *miR-124* and *miR-132* were compared between the cognitive dysfunction group and the non-dysfunction group. The predictive value of plasma *miR-124* and *miR-132* for cognitive dysfunction in epilepsy patients was analyzed using receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** The levels of plasma *miR-124* and *miR-132* in the epilepsy group were higher than those in the control group, and the MoCA score was lower than that in the control group ($P<0.05$). The levels of plasma *miR-124* and *miR-132* in patients with severe epilepsy were significantly higher than those with mild and moderate epilepsy ($P<0.05$). The results of Spearman correlation analysis showed that the levels of *miR-124* and *miR-132* were positively correlated with the severity of epilepsy ($P<0.05$). The levels of plasma *miR-124* and *miR-132* in the cognitive dysfunction group were significantly higher than those in the non-dysfunction group ($P<0.05$).

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(202009021246)

作者单位:滨州市第二人民医院神经内科,山东,滨州 256800

*通信作者:王守美, E-mail: 787134546@qq.com

ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC), sensitivity and specificity of plasma *miR-124* combined with *miR-132* for evaluating cognitive dysfunction in epilepsy patients were 0.917, 83.33% and 85.42%, respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of plasma *miR-124* and *miR-132* are closely related to disease severity in patients with epilepsy. Clinically, the combined detection of these two indicators can be used as a reliable basis to predict cognitive dysfunction.

[KEY WORDS] Epilepsy; MicroRNA-124; MicroRNA-132; Cognitive dysfunction

癫痫是大脑神经元异常放电引起的脑部疾病,认知功能障碍是其常见伴随症状,多由脑局部组织病变或损伤引起,可引发系列精神心理问题,给家庭和社会带来沉重的经济负担^[1]。因此,探究癫痫患者病情进展及认知功能障碍的机制及共同危险因素,有利于临床早期识别治疗癫痫及其合并症。研究发现,遗传因素与癫痫发病及进展密切相关^[2]。微小RNA(microRNA, miRNA)作为重要的转录后调节因子,参与了中枢神经系统疾病中细胞增殖、分化和凋亡过程,在癫痫的发病机制中发挥重要作用^[3]。微小RNA-124(microRNA-124, *miR-124*)是脑中含量最丰富的参与神经元发育与分化的小RNA,在多种认知障碍疾病中均呈现典型的异常表达现象^[4],微小RNA132(microRNA-132, *miR-132*)可通过调节神经元突触可塑性及活性参与癫痫发病及进展^[5]。目前关于血浆 *miR-124*、*miR-132* 水平变化在癫痫患者病情进展及认知功能障碍过程中的具体机制尚未明确,本研究主要探讨血浆 *miR-124*、*miR-132* 表达水平与癫痫患者病情及认知功能的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年7月至2023年6月滨州市第二人民医院收治的78例癫痫患者纳入癫痫组。纳入标准:年龄>18岁;符合癫痫诊断标准^[6],经临床病史、既往史、家族史、实验室检查和影像学检查证实;发作类型符合全面性癫痫临床诊治实践指南(international league against epilepsy, ILAE)分类标准^[7]。排除标准:合并其他神经系统疾病;合并双相情感障碍或精神分裂症;近3个月内服用影响认知功能或抑郁焦虑药物;合并恶性肿瘤或心理疾

病。另选取同期本院健康体检科征募志愿者39名纳入对照组。两组基线资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经滨州市第二人民医院伦理委员会批准(伦理批号:2020006),所有受试者与家属均知情并签署同意书。见表1。

1.2 方法

1.2.1 血浆 *miR-124*、*miR-132* 水平检测

癫痫组于入院次日清晨,对照组于体检当天清晨,采集空腹静脉血2 mL,注入真空抗凝管。以3 000 rpm 转速离心5 min后分离血浆,离心半径10 cm,加入Trizol震荡混匀后以1 200 rpm 转速离心10 min,离心半径为10 cm。取上清液置于离心管,加入200 μ L 氯仿,混匀静置后以1 200 rpm 转速离心10 min,离心半径为10 cm。取上清液置于离心管,加入300 μ L 异丙醇混匀后震荡混匀静置,1 200 rpm 转速离心10 min,离心半径10 cm,保留管底RNA沉淀。加入1 mL 75%乙醇,12 000 rpm 转速离心5 min,离心半径10 cm,洗脱RNA。取1 μ L RNA样品,加入DEPC稀释至200倍,紫外分光光度计检测吸光度值评估RNA纯度。通过microRNA数据库(<http://www.mirbase.org/>)获取*miR-124*、*miR-132*序列,U6、*miR-124*、*miR-132*引物由上海生工公司合成。引物序列如下,U6:正向5'-CGCTTCGGCAGCACATATAC-3',反向5'-AAATATGGAACGCTTCACGA-3';*miR-124*:正向GCGGCCGTGTTACAGCGGACC,反向GTGCAGGGTCCGAGGT;*miR-132*:正向5'-TGCGCTAACAGTCTACAGCCA-3',反向5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT-3'。荧光定量PCR管按二步法逆转录合成miRNA cDNA(逆转录试剂盒由广州东盛生物科技有限公司提供),miRNA cDNA 10倍稀释后进行荧光定量PCR扩增。qPCR-PCR反应

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

组别	n	性别		年龄(岁)	BMI (kg/m ²)	合并基础病	
		男	女			高血压	糖尿病
癫痫组	78	43(55.13)	35(44.87)	54.91 \pm 8.36	22.30 \pm 1.79	12(15.38)	10(12.82)
对照组	39	20(51.28)	19(48.72)	55.86 \pm 6.47	21.80 \pm 1.94	5(12.82)	7(17.95)
<i>t</i> / χ^2 值			0.155	0.622	1.385	0.138	0.551
<i>P</i> 值			0.694	0.535	0.169	0.711	0.458

条件:95℃ 1 min,95℃ 15 s,60℃ 20 s,循环40次,采集荧光,20 μL反应体系中取U6作为内参照,使用2^{-ΔΔCt}法计算血浆miR-124、miR-132相对表达。

1.2.2 疾病严重程度评估^[8]

癫痫患者癫痫发作12 h后,采用视频录像脑电图检测24 h癫痫发作情况。根据检测结果将病情分为轻度、中度及重度,其中轻度癫痫为不规则枕区α或β节律,中度癫痫为节律不对称枕区α或β或出现δ波,重度癫痫为出现广泛弥漫性慢波。

1.2.3 认知功能障碍评估^[9]

采用蒙特利尔认知评估量表(montreal cognitive assessment, MoCA)评分评估认知功能,包含语言、记忆、注意、方向感和执行力等内容,以MoCA评分<26分判断为存在认知功能障碍。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析数据,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验,多组间两两比较采用SNK-q检验;计数资料用n(%)表示,采用χ²检验;采用Spearman相关性分析癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平与病情严重程度的关系;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析血浆miR-124、miR-132水平对癫痫患者认知功能障碍的预测价值;以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癫痫组与对照组血浆miR-124、miR-132水平及认知功能评分比较

癫痫组血浆miR-124、miR-132水平高于对照组,MoCA评分低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 癫痫组与对照组血浆miR-124、miR-132水平及认知功能评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-124	miR-132	MoCA评分(分)
癫痫组	78	1.92±0.54	0.49±0.11	24.31±2.47
对照组	39	0.87±0.28	0.35±0.07	27.48±1.06
t值		11.385	7.240	7.657
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同病情严重程度癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平比较

重度癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平明显高于轻度癫痫和中度癫痫患者,差异有统计学意义(P<0.05),但中度癫痫和轻度癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平比较,差异无统计学意义(P>0.05)。见表3。

表3 不同病情严重程度癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平比较($\bar{x} \pm s$)

病情严重程度	n	miR-124	miR-132
轻度	21	1.54±0.26 ^a	0.41±0.07 ^a
中度	33	1.87±0.41 ^a	0.49±0.10 ^a
重度	24	2.32±0.68	0.56±0.14
F值		15.018	10.877
P值		<0.001	<0.001

注:与重度癫痫患者比较,^aP<0.05。

2.3 血浆miR-124、miR-132水平与癫痫患者病情严重程度的相关性

血浆miR-124、miR-132与癫痫患者病情严重程度呈正相关(r=0.545,0.459,P<0.05)。

2.4 认知功能障碍和非认知功能障碍癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平比较

认知功能障碍癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平均显著高于非认知障碍癫痫患者,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

表4 认知功能障碍和非认知功能障碍癫痫患者血浆miR-124、miR-132水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	miR-124	miR-132
认知功能障碍	30	2.05±0.47	0.57±0.13
非认知功能障碍	48	1.83±0.29	0.44±0.06
t值		2.560	5.997
P值		0.012	<0.001

2.5 血浆miR-124、miR-132水平对癫痫患者认知功能障碍的预测价值

ROC分析结果显示,血浆miR-124联合miR-132预测癫痫患者认知功能障碍的AUC为0.917,敏感度为83.33%,特异度为85.42%,其中AUC和敏感度均高于指标单独检测,具有最佳预测效能(P<0.05)。见表5、图1。

表5 血浆miR-124、miR-132水平预测癫痫患者认知功能障碍的ROC曲线分析

指标	AUC	标准误	敏感度(%)	特异度(%)	截断值	95% CI	P值
miR-124	0.872	0.039	63.33	93.75	1.97	0.777-0.937	<0.001
miR-132	0.836	0.054	66.67	91.67	0.52	0.735-0.910	<0.001
联合	0.917	0.030	83.33	85.42		0.832-0.967	<0.001

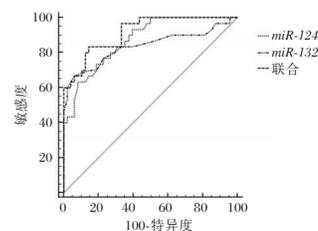


图12 血浆miR-124、miR-132水平预测癫痫患者认知功能障碍的ROC曲线

3 讨论

癫痫是脑部神经元高度同步异常放电导致的以意识、感觉、运动、行为和自主神经功能障碍为特征的慢性神经系统疾病,部分患者可随病情发展出现认知功能障碍,对其生活质量和身心健康造成严重威胁。随着遗传因素在癫痫发病机制研究中的不断深入,部分特定 miRNA 在癫痫发病中的作用机制已被证实^[10]。*miR-124*、*miR-132* 可通过调控神经胶质增生、神经突触重建和促凋亡基因表达等途径参与癫痫发病及进展,但其与癫痫患者病情及认知功能变化的关系尚不明确^[11]。

本研究结果说明癫痫患者上述指标水平均呈现明显变化。董晗等^[12]研究认为,*miR-124* 在发育成熟的神经系统中呈现高表达,其可通过调节再生异常神经网络及轴突生长等机制增强神经元兴奋性和调节突触可塑性,参与癫痫发作进程。Korotkov 等^[13]研究提出,*miR-132* 是脑组织椎体神经元内与突触可塑性密切关联的 miRNA,外界刺激引起的脑部神经元高度同步异常放电刺激神经元可使 *miR-132* 水平明显上调。上述国内外研究结论与本研究结果类似,提示浆 *miR-124*、*miR-132* 与癫痫发作有关。本研究结果显示,重度癫痫患者血浆 *miR-124*、*miR-132* 水平明显高于轻度和中度患者,且血浆 *miR-124*、*miR-132* 与癫痫患者病情严重程度呈显著的正相关。分析原因,miRNA 可通过改变大脑兴奋性刺激癫痫持续状态发生,癫痫患者脑组织随病情进展出现不同的病理变化,其神经元树突异常兴奋性和突触可塑性呈现异常变化,促使与癫痫病理机制相关的 *miR-124*、*miR-132* 等 miRNA 水平异常升高。

本研究结果显示,与非认知功能障碍患者比较,认知功能障碍患者血浆 *miR-124*、*miR-132* 水平明显升高。杨若霖等^[14]研究指出,认知功能障碍是大脑智能加工异常引起病理改变,是癫痫患者最常见的合并症之一。刘环环等^[15]研究证实,突触可塑性是学习、高级记忆等认知功能的分子机制,*miR-124*、*miR-132* 可通过调控突触可塑性达到动态调节学习、记忆等高级认知功能的目的,神经突触稳定性下降时,其表达量出现明显下调。以上研究均与本研究结果相似,提示 *miR-124*、*miR-132* 水平与癫痫患者认知功能障碍相关。进一步 ROC 曲线分析,血浆 *miR-124* 联合 *miR-132* 预测癫痫患

者认知功能障碍的 AUC 为 0.917,敏感度为 83.33%,特异度为 85.42%,均高于指标单独检测,提示临床可将二者联合检测作为预测癫痫患者认知功能障碍发生的可靠指标。

综上所述,癫痫患者血浆 *miR-124*、*miR-132* 水平与其病情严重程度密切相关,两指标联合检测对癫痫患者认知功能障碍的预测价值最高,可作为预测癫痫患者认知功能障碍发生的可靠指标。

参考文献

- [1] Falco - Walter J. Epilepsy - definition, classification, pathophysiology, and epidemiology [J]. Semin Neurol, 2020, 40(6):617-623.
- [2] 赵利,李海燕. miR-142-5p 对癫痫发作后神经元损伤的作用机制[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(7):968-973.
- [3] 杨亚红,常小敬,徐文宁,等. 癫痫及抗癫痫药对癫痫患者认知功能的影响[J]. 山西医药杂志, 2021, 50(22):3157-3159.
- [4] Morris G, O'Brien D, Henshall DC. Opportunities and challenges for microRNA - targeting therapeutics for epilepsy [J]. Trends Pharmacol Sci, 2021, 42(7):605-616.
- [5] Moghbeli M, Zangouei AS, Nasrpour Navaii Z, et al. Molecular mechanisms of the microRNA - 132 during tumor progressions [J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1):439-440.
- [6] 中国抗癫痫协会. 临床诊疗指南:癫痫病分册(2015 修订版) [M]. 北京:人民卫生出版社, 2015:5.
- [7] 中国医师协会神经内科医师分会癫痫疾病专业委员会. 中国基因性全面性癫痫临床诊治实践指南 [J]. 中华神经医学杂志, 2020, 19(10):973-976.
- [8] 李芳,贾晶晶,蒋建华. 癫痫患者血清 HMGB1, TLR4 及 IL-1 β 水平的变化及其对病情严重程度的评估价值 [J]. 海南医学, 2023, 34(12):1749-1752.
- [9] 吴盈盈,曹立,钟平. 癫痫相关认知功能障碍的机制与评估 [J]. 安徽医药, 2023, 27(4):637-640.
- [10] 黄五乐,张华,吴文,等. 高压氧配合单唾液酸四己糖神经节苷脂钠治疗病毒性脑炎继发癫痫的临床研究 [J]. 药物生物技术, 2022, 29(5):498-502.
- [11] 郑宇霞,李亚玲,沈璟,等. 难治性癫痫患儿血清 lncRNA NKILA, miR-124 表达及临床意义 [J]. 中南医学科学杂志, 2023, 51(2):214-217.
- [12] 董晗,王智昊,王哲,等. 微小 RNA-124 调控 APLN 表达在癫痫神经元损伤中的作用及机制研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2021, 38(3):237-241.
- [13] Korotkov A, Broekaart DWM, Banachaewa L, et al. microRNA-132 is overexpressed in glia in temporal lobe epilepsy and reduces the expression of pro-epileptogenic factors in human cultured astrocytes [J]. Glia, 2020, 68(1):60-75.
- [14] 杨若霖,王兴朝,房焯虹,等. 术前应用抗癫痫药物对脑胶质瘤患者认知功能的影响分析 [J]. 中华神经外科杂志, 2021, 37(4):375-380.
- [15] 刘环环,袁洁,苏凯奇. 突触可塑性与认知障碍关系的研究进展 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2021, 38(8):753-755.

血清 TLR9、IL-17、TIR 联合检测对糖尿病足溃疡患者预后的预测价值

宋秋艳* 宋淑敏 翟红娟 董瑞鸿

[摘要] 目的 探讨血清 Toll 样受体(TLR)9、白细胞介素(IL)-17、葡萄糖目标范围内时间(TIR)联合检测对糖尿病足溃疡(DFU)患者预后的预测价值。方法 纳入2022年2月至2024年2月郑州大学第五附属医院内分泌科收治的116例DFU患者进行分析,并根据患者随访6个月的预后情况分为预后良好组($n=83$)与预后不良组($n=33$)。比较两组临床相关资料,TIR以及血清TLR9、IL-17表达。采用多因素 Logistic 分析 TIR 以及血清 TLR9、IL-17 表达与 DFU 预后不良的关系,并绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析上述指标对 DFU 患者预后不良的预测价值。结果 预后良好组与预后不良组在吸烟史,TIR,血清 TLR9 及 IL-17 表达上的比较,差异均具有统计学意义($P<0.05$);多因素分析结果显示,有吸烟史,TIR 减少,血清 TLR9、IL-17 表达上调均为 DFU 预后不良的独立危险因素($P<0.05$);ROC 曲线显示,TIR、TLR9、IL-17 以及三者联合检测 DFU 预后不良的曲线下面积(AUC)分别为 0.796、0.744、0.786 及 0.887,且联合检测预测价值最佳($P<0.05$)。结论 血清 TLR9、IL-17 以及 TIR 联合检测对 DFU 患者预后具备良好预测价值。

[关键词] Toll 样受体-9; 糖尿病足溃疡; 白细胞介素-17; 葡萄糖目标范围内时间

Prognostic value of serum TLR9, IL-17 and TIR combined detection in patients with diabetic foot ulcer

SONG Qiuyan*, SONG Shumin, ZHAI Hongjuan, DONG RuiHong

(Endocrine Department, the Fifth Hospital Affiliated of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the prognostic value of serum toll-like receptor (TLR) 9, interleukin-17 and time in range (TIR) detection in patients with diabetic foot ulcer (DFU). **Methods** A total of 116 DFU patients were admitted to the Department of Endocrinology at the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University from February 2022 to February 2024 and were included for analysis. They were divided into a good prognosis group ($n=83$) and a poor prognosis group ($n=33$) based on their prognosis after 6 months of follow-up. The clinical data and the levels of TIR, serum TLR9, and IL-17 were compared between the two groups. Multivariate logistic analysis was used to analyze the relationship between TIR and serum TLR9 and IL-17 expression and poor prognosis of DFU patients, and a receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the predictive value of the above indicators for the poor prognosis of patients with DFU. **Results** There were significant differences in smoking history, TIR, serum TLR9, and IL-17 expression between the good prognosis group and the poor prognosis group ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that smoking history, decreased TIR, and up-regulated serum TLR9 and IL-17 expression were independent risk factors for a poor prognosis of DFU ($P<0.05$). The ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of TIR, TLR9, IL-17, and the combined detection of DFU with poor prognosis were 0.796, 0.744, 0.786 and 0.887, respectively. The combined detection had the best predictive value ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of serum TLR9, IL-17, and TIR has good prognostic value for patients with DFU.

[KEY WORDS] Toll-like receptor-9; Diabetic foot ulcer; Interleukin-17; Time in Range

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目和软科学项目(LHGJ20210493)

作者单位:郑州大学第五附属医院内分泌科,河南,郑州 450000

*通信作者:宋秋艳, E-mail: sqydwfy@163.com

糖尿病足溃疡(Diabetic Foot Ulcer, DFU)是晚期糖尿病常见并发症。DFU发病通常与感染、神经以及血管病变等因素有关^[1]。持续的慢性炎症以及伤口愈合障碍是导致DFU患者病情反复、康复慢的重要原因,严重时还可导致截肢甚至死亡^[2]。因此,早期评估DFU预后有利于临床治疗方案的选择以及患者预后质量改善。血清学细胞因子操作简便、耗时短且安全可靠,近年来在临床DFU辅助诊断以及疗效和预后判断中均取得较好应用效果。其中,Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)9是诱导炎症反应的关键先天免疫受体。研究显示,TLR9表达、信号传导和激活的增加均可能导致糖尿病患者伤口炎症状态加剧^[3]。而白细胞介素(Interleukin, IL)-17被认为是多种炎性介质的起始因子,可促进和调节炎症发生及进展。有研究显示,IL-17与DFU的发生及进展密切相关;且IL-17还对DFU感染严重程度具备一定评估价值^[4]。葡萄糖目标范围内时间(Time in Range, TIR)则是指研究期间患者血糖在目标范围内的时间占比,是近临床用于评估糖尿病患者血糖管理情况的新型指标。TIR可全面、准确反应患者的血糖波动状况,并作为糖化血红蛋白的重要补充;同时,TIR还被认为与DFU截肢风险密切相关^[5]。目前研究多分析DFU患者的TIR水平或血清TLR9、IL-17表达情况,而有关三者联合检测评估DFU预后的研究报道较少。本文特基于此进行观察分析,以期对DFU临床防治及患者预后改善提供参考。

1 对象和方法

1.1 研究对象

纳入2022年2月至2024年2月郑州大学第五附属医院内分泌科收治的116例DFU患者进行分析。纳入标准:①年龄18岁及以上;②符合《中国2型糖尿病防治指南》^[6]中2型糖尿病相关诊断标准;③符合《糖尿病足介入综合诊治临床指南》^[7]中DFU相关诊断标准,且为首次确诊;④依从性良好;⑤病历资料完整,诊疗数据详实;⑥自愿参与本研究。排除标准:①此前参与类似临床研究;②1型糖尿病或妊娠糖尿病等其他特殊类型糖尿病;③妊娠期、哺乳期患者;④存在精神异常或认知功能障碍者;⑤重要脏器功能障碍;⑥合并恶性肿瘤疾病;⑦溃疡部位存在创伤或外伤史;⑧合并糖尿病酮症酸中毒等其他急性糖尿病并发症。本研究已通过郑州大学第五附属医院伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 TIR检测

患者入院后,采用回顾式动态葡萄糖监测系统(采用持续性葡萄糖监测系统(厂家:深圳硅基仿生科技股份有限公司)及其配套软件,连续监测组织间液葡萄糖水平14 d,并获取动态血糖监测参数[葡萄糖目标范围内时间(Time in Range, TIR)]。

1.2.2 血清TLR9、IL-17表达

收集参试患者空腹外周静脉血5 mL,4℃下以3 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm),分离并收集血清,对应标记后转移至-80℃冰箱储存备检。①IL-17表达:采用酶联免疫吸附试验(试剂盒:广州奥瑞达生物科技有限公司)检测患者的血清IL-17表达水平,检测操作严格按照试剂盒说明书进行。②TLR9 mRNA表达:采用实时荧光定量聚合酶链反应(Real-Time Fluorescent Quantitative PCR, RT-qPCR)技术检测血清TLR9 mRNA表达。以Trizol法提取总RNA,测定RNA浓度和纯度,并逆转录生成cDNA(日本TaKaRa公司);收集cDNA用于RT-qPCR检测,反应条件:95℃预变性5 min,95℃变性10 s,60℃退火30 s,总计循环次数40次。每个样品设置3个重复孔,并且实验进行3次。以GAPDH用作内参,每份样本取3次检测中间值,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。TLR9引物序列(5'-3'),F端:CCTGGCATGGC-TACCTTT;R端:CTCTGCGCCTTATCGAAC。GAPDH引物序列(5'-3'),F端:TCAACAG-CAACTCCCCTCTTCCA;R端:ACCCTGTTGCT-GTAGCCGTATTCA。

1.2.3 预后分组以及资料收集

①预后分组以电话、定期来院复诊等形式对DFU治疗出院患者进行随访,截止日期为2024年11月。将未愈合(随访期内持续存在足部溃疡)、全因死亡或截肢者纳入预后不良,并以此分为预后良好组($n=83$)与预后不良组($n=33$)。②资料收集收集两组患者相关临床资料,主要包括年龄、性别、糖尿病病程、吸烟史、饮酒史、华格纳(Wagner)分级^[8]、糖尿病家族史、TIR以及血清TLR9、IL-17表达。

1.3 统计学方法

研究数据应用SPSS 22.0进行分析。符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,行 t 检验;计数资料均以 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验;采用多因素Logistic分析TIR以及血清TLR9、IL-17表达与DFU预后

不良的关系,并以受试者工作特征(ROC)曲线分析上述指标对DFU患者预后不良的预测价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DFU患者预后影响因素的单因素分析

预后良好组与预后不良组在吸烟史,TIR,血清TLR9及IL-17表达上的比较,差异均具有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表1。

表1 DFU患者预后影响因素的单因素分析 [n(%), ($\bar{x}\pm s$)]

因素	n	预后良好组 (n=83)	预后不良组 (n=33)	χ^2/t 值	P值
年龄(岁)				0.042	0.838
>60	72	52(62.65)	20(60.61)		
≤60	44	31(37.35)	13(39.39)		
性别				0.007	0.932
男	64	46(55.42)	18(54.55)		
女	52	37(44.58)	15(45.45)		
吸烟史				21.048	<0.001
有	43	20(24.10)	23(69.70)		
无	73	63(75.90)	10(30.30)		
饮酒史				0.467	0.495
有	47	32(38.55)	15(45.45)		
无	69	51(61.45)	18(54.55)		
Wanger分级				1.602	0.206
I~II	77	58(69.88)	19(57.58)		
III~IV	39	25(30.12)	14(42.42)		
糖尿病家族史				0.250	0.617
有	18	12(14.46)	6(18.18)		
无	98	71(85.54)	27(81.82)		
糖尿病病程(年)		10.76±3.35	10.84±3.27	0.117	0.907
TIR(%)		56.41±5.76	50.35±5.42	5.197	<0.001
TLR9 mRNA		2.17±0.35	2.43±0.38	3.522	0.001
IL-17(ng/mL)		19.22±3.02	22.51±2.87	5.367	<0.001

2.2 DFU患者预后影响因素的多因素分析

以DFU患者预后不良为因变量,行多因素回归分析。结果显示,有吸烟史,TIR减少,血清TLR9 mRNA、IL-17表达上调均为DFU预后不良的独立危险因素(均 $P<0.05$)。见表2。

表2 DFU患者预后影响因素的多因素分析

因素	赋值	β 值	S.E值	Wald值	OR值	95% CI	P值
吸烟史	有=1,无=0	0.592	0.189	9.811	1.808	1.248~2.618	0.002
TIR(%)	连续变量	0.657	0.223	8.680	1.929	1.246~2.986	0.003
TLR9 mRNA	连续变量	0.585	0.185	11.175	1.795	1.274~2.529	0.001
IL-17(ng/mL)	连续变量	0.702	0.286	6.025	2.018	1.152~3.534	0.014

2.3 TIR,血清TLR9、IL-17表达对DFU患者预后不良的预测效能

ROC曲线显示,TIR、TLR9、IL-17以及三者联合检测DFU预后不良的曲线下面积(AUC)分别

为0.796、0.744、0.786及0.887,且联合检测预测价值最佳($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 TIR,血清TLR9、IL-17表达对DFU患者预后不良的预测效能

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	P值
TIR(%)	52.910	0.796	0.710~0.882	0.711	0.697	<0.001
TLR9	2.315	0.744	0.636~0.852	0.723	0.757	<0.001
IL-17(ng/mL)	20.755	0.786	0.700~0.873	0.699	0.727	<0.001
联合检测		0.887	0.823~0.952	0.831	0.818	<0.001

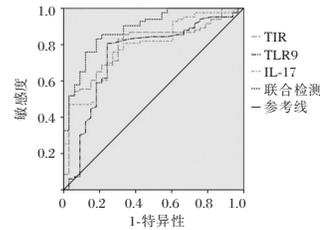


图1 DFU患者预后不良的ROC曲线分析

3 讨论

有数据显示,糖尿病患者的终生患足部溃疡发病率约高达25%。且在全球范围内,有相当一部分截肢患者的截肢原因均与DFU有关^[9]。据世界卫生组织及国际糖尿病联合会的估计,未来数年糖尿病患者以及溃疡和截肢的高危患者数量仍将继续增加^[10]。这无疑为患者生活质量及医疗保健系统均带来沉重的疾病和经济负担。因此,早期的预后不良高危DFU患者筛查,并及时提供个性化的预防或治疗计划十分必要。

本研究多因素分析结果显示,有吸烟史,TIR减少,血清TLR9、IL-17表达上调均为DFU预后不良的独立危险因素。提示上述指标异常均与DFU患者预后质量不佳密切相关。分析原因可能为:长期吸烟被认为与DFU患者更差的预后相关;且有研究表明,吸烟患者出现DFU不愈合及截肢(趾)等不良后果的风险是从未吸烟患者的2.6倍^[11]。吸烟可导致血管内皮细胞损伤、下肢动脉粥样硬化,增大机体氧化应激及微循环障碍,并进而引起足部血供减少,创面扩大而创面愈合延迟,这无疑增大了血运重建、大截肢及死亡风险,不利于患者预后^[12]。TLR是先天免疫和病原体识别的关键受体,在包含糖尿病及其并发症在内的多种炎症性疾病中均出现异常激活和表达。其中,TLR9主要由人体B细胞和骨髓细胞的亚群分泌,可介导和调节全身及局部炎症反应。研究表明,TLR9是伤口愈合的负调节因子;TLR9过表达可通过促进机体炎症级联反应,进

而诱导和加剧溃疡伤口坏死^[13]。此外,TLR9过表达刺激带来的广泛性神经炎还会引发神经元损伤,并进而影响邻近神经元向伤口环境分泌神经生长因子,而神经生长因子对于促进伤口愈合非常重要^[14]。可见,TLR9的表达水平直接调节和反映DFU伤口大小及严重程度,并一定程度上影响患者预后。

IL-17被认为是多种炎性介质的起始因子,主要由活化的T细胞产生。IL-17可诱导多种促炎细胞分泌趋化因子或细胞因子,促进和调节炎症发生及进展。而在DFU患者中,炎症状态的长期维持会抑制成纤维细胞增殖和胶原蛋白产生,降低早期组织的抗拉伸强度以及再上皮化,并最终导致伤口愈合受阻^[15]。此外,IL-17还被认为与DFU感染程度密切相关。研究显示,足部感染可加剧DFU患者足部坏疽,并进一步促进病情恶化进展,不利于预后^[16]。TIR是一种新的血糖评估指标,通常定义为研究期间患者血糖在目标范围内的时间占比。较于其他常规血糖监测指标而言,更具精确性、丰富性以及个体化等特点。TIR可全面、有效反应患者监测期内的日常血糖波动信息,并可根据特定人群针对性定义不同目标范围,以实现个性化血糖控制目标。研究表明,低TIR是DFU患者再次截肢手术的危险因素;且DFU患者截肢率和全因病死亡率均与TIR呈现负相关性^[17-18]。血糖管理是DFU临床综合治疗重要环节,TIR减少往往提示DFU患者血糖控制不佳,这可能进一步促进病情进展,并严重影响DFU临床结局。此外,本研究也应用ROC曲线进一步分析TIR,血清TLR9、IL-17表达对DFU患者预后不良的预测价值,结果显示,联合检测特异性、敏感度均更优。提示,上述指标均可纳入高危患者早期监测指标范围,以协助临床医师准确评估DFU病情并及时、针对性调整治疗方案和策略,改善预后。

综上所述,血清TLR9、IL-17以及TIR联合检测对DFU患者预后具备良好预测价值。

但本研究观察样本选取较少且来源局限,这些均可能导致试验数据出现偏倚后续仍需扩大试验规模,并进一步开展多中心研究,以获取更多、更精准的数据来支撑和验证血清TLR9、IL-17以及TIR联合检测对DFU患者预后的良好预测价值。

参考文献

[1] 白立炜,王艾蒙,杨平,等. 2型糖尿病患者糖尿病足发病风险筛查结果研究[J]. 华南预防医学, 2024, 50(3):267-269+273.

- [2] 马庆,鹿亮. APO-A1、Hcy及RBP在糖尿病足诊断及评估中的应用价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(12):2053-2056.
- [3] Yang S, Wang S, Chen L, et al. Neutrophil Extracellular Traps Delay Diabetic Wound Healing by Inducing Endothelial-to-Mesenchymal Transition via the Hippo pathway[J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(1):347-361.
- [4] Wang X, Jiang G, Zong J, et al. Revealing the novel ferroptosis-related therapeutic targets for diabetic foot ulcer based on the machine learning[J]. Front Genet, 2022, 13:944425.
- [5] Yin X, Zhu W, Liu C, et al. Association of continuous glucose monitoring-derived time in range with major amputation risk in diabetic foot osteomyelitis patients undergoing amputation[J]. Adv End Met. 2022, 13:20420188 221099337.
- [6] 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(上)[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(8):668-695.
- [7] 糖尿病足介入综合诊治临床指南(第九版)[J]. 介入放射学杂志, 2024, 33(4):341-354.
- [8] Oley MH, Oley MC, Kepel BJ, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy for Diabetic Foot Ulcers Based on Wagner Grading: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. Plast Reconstr Surg Glob Open, 2024, 12(3):e5692.
- [9] van Netten JJ, Schaper NC, Apelqvist J, et al. Re "Methodological Assessment of Diabetic Foot Syndrome Clinical Practice Guidelines"[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2021, 61(1):162.
- [10] Kress S, Anderten H, Borck A, et al. Preulcerous Risk Situation in Diabetic Foot Syndrome: Proposal for a Simple Ulcer Prevention Score[J]. J Diabet Sci Technol, 2021, 15(4):816-826.
- [11] Tong T, Yang C, Tian W, et al. Phenotypes and outcomes in middle-aged patients with diabetic foot ulcers: a retrospective cohort study[J]. J Foot Ankle Res, 2020, 13(1):24.
- [12] 武云凤,骆燕洪,蒋平南,等. 血清25羟维生素D3水平与糖尿病足创面愈合相关性的巢式病例对照研究[J]. 中国全科医学, 2024, 27(15):1811-1816.
- [13] 罗丽娅,张旋,陈先丹,等. 2型糖尿病足溃疡患者血清Toll样受体9与25羟维生素D的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27(6):413-416.
- [14] Lai RH, Chow YH, Chung NH, et al. Neurotropic EV71 causes encephalitis by engaging intracellular TLR9 to elicit neurotoxic IL12-p40-iNOS signaling[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(4):328.
- [15] Cheng Y, Ren L, Niyazi A, et al. Identification of potential immunologic resilience in the healing process of diabetic foot ulcers[J]. Int Wound J, 2024, 21(3):e14465.
- [16] 郝青,秦世杰,曲艺,等. 糖尿病足感染患者病原菌及血清APN、IL-17表达与感染程度的相关性[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(1):19-23.
- [17] Mohr DC, Zhang LB, Prentice JC, et al. Association of hemoglobin A1c time in range with risk for diabetes complications[J]. BMJ Open Diabetes Res Care, 2022, 10(4):e002738.
- [18] Xie P, Deng B, Zhang X, et al. Time in range in relation to amputation and all-cause mortality in hospitalised patients with diabetic foot ulcers[J]. Diab Metab Res Rev, 2022, 38(2):e3498.

丙型肝炎病毒现症感染患者自身抗体特征分析

韩金育¹ 孟欢² 李昀晖² 梁静² 王雅杰^{1,2*}

[摘要] **目的** 探索丙型肝炎病毒(HCV)现症感染患者自身抗体(AAb)流行率及分布特点。**方法** 通过回顾性分析,选取2019年1月至2021年12月就诊于首都医科大学附属北京地坛医院的221例进行AAb检测的HCV现症感染患者作为病例组,收集患者的临床及实验室数据,另选同期健康体检者113名作为对照组,探讨AAb与HCV基因型、病毒载量、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)、白蛋白(ALB)、血小板(PLT)及凝血酶原时间(PT)的关系。**结果** HCV现症感染组ANA阳性率为44.34%,对照组ANA阳性率为7.96%,两组间ANA阳性率差异具有统计学意义($P<0.05$)。其中病例组的核颗粒型、核仁型以及胞浆颗粒型阳性率显著高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),而核均质型、胞浆纤维型及核膜型三种核型在两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。HCV现症感染患者中ANAs阳性共10例(4.52%),对照组ANAs阳性共1例(0.88%),病例组ANAs阳性率显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),其中抗Ro-52抗体在两组间差异有统计学意义($P<0.05$)。不同基因型HCV现症感染患者AAb阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。AAb阳性组HCV RNA含量与AAb阴性组HCV RNA含量差异无统计学意义($P>0.05$)。AAb阳性的HCV现症感染患者ALT、AST、TBIL、DBIL水平显著高于AAb阴性的HCV现症感染患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组ALP、GGT、ALB、PLT、PT水平差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** HCV感染可诱发自身免疫产生自身抗体,且AAb检出率与肝功能损伤有关。

[关键词] 丙型肝炎病毒;自身抗体检测;自身免疫

Characteristics of autoantibodies in patients with hepatitis C virus infection

HAN Jinyu¹, MENG Huan², LI Yunhui², LIANG Jing², WANG Yajie^{2*}

(1. Clinical Laboratory, Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing, China, 100015; 2. Clinical Laboratory, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China, 100015)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the prevalence and distribution characteristics of autoantibodies (AAb) in patients with hepatitis C virus (HCV) infection. **Methods** A total of 221 patients with HCV infection who underwent autoantibody detection from January 2019 to December 2021 at Beijing Ditan Hospital Capital Medical University were selected as the case group. Clinical and laboratory data of the patients were collected, and 113 healthy subjects during the same period were selected as the control group. The relationship between AAb and HCV genotype, viral load, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyltransferase (GGT), albumin (ALB), platelet (PLT) count, and prothrombin time (PT) were evaluated. **Results** The positive rate of AAb in the case group (48.86%) was higher than that in the control group (8.84%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the positive rate of AAb among HCV genotypes ($P>0.05$). There was no significant difference between the AAb positive group and the AAb negative group in the virus load ($P>0.05$). However, the levels of ALT, AST, TBIL, and DBIL in AAb positive HCV patients were significantly higher than those in AAb negative HCV patients ($P<0.05$). **Conclusion** HCV infection can trigger autoimmunity, which leads to the production of AAb. The production of AAb has been associated with liver function injury.

[KEY WORDS] Hepatitis C virus; Autoantibody detection; Autoimmune

作者单位:1. 北京大学地坛医院教学医院检验科,北京100015

2. 首都医科大学附属北京地坛医院检验科,北京100015

*通信作者:王雅杰, E-mail: wangyajie@ccmu.edu.cn

丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV)感染是全世界最受关注的重大健康问题之一,是慢性肝病和肝硬化的主要诱因^[1]。HCV感染后仅仅20%~30%的患者表现为急性肝炎,70%~80%的感染者会进展为慢性肝炎甚至进一步发展为肝纤维化和肝硬化,每年超过40万HCV感染者因慢性感染引发并发症而死亡^[2-3]。HCV感染后会影响肝外组织并引发肝外疾病,比如系统性自身免疫性疾病。一些研究认为HCV感染者出现这些肝外表现主要是由自身免疫机制触发,通过打破对自身抗原的耐受性和产生自身抗体(Autoantibody, AAb)进而触发自身免疫反应^[4-5]。事实上,很多研究在超过40%的HCV感染者体内已经检测到抗核抗体(Antinuclear antibody, ANA)的存在。然而有关AAb在HCV感染患者体内的分布以及AAb与患者临床-实验室特征相关性方面的数据比较有限。研究还发现应用一些直接抗病毒药物(direct-acting antiviral agents, DAAs)治疗的HCV感染患者在DAAs治疗期间或治疗后会发生自身免疫性肝炎或原发性硬化性胆管炎,但终究是患者本身还是DAA药效引起的自身免疫尚不清楚,因此了解患者的自身免疫状态十分重要^[6]。本研究选取于2019年1月至2021年12月于首都医科大学附属北京地坛医院就诊并进行AAb检测的HCV现症感染患者作为研究对象,掌握其AAb流行率及分布特点,并分析AAb与患者生化、分子、血液学指标之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究选取2019年1月至2021年12月就诊于首都医科大学附属北京地坛医院的221例HCV现症感染患者为病例组,收集患者临床及实验室资料。其中男性131例,女性90例,平均年龄为(53.04±12.34)岁。选取同时期的113例健康体检者为对照组,其中男性70例,女性43例,平均年龄为(50.73±10.20)岁。两组受试者在性别、年龄方面差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:①本研究所纳入的所有研究对象年龄均超过18周岁;②临床及实验室资料完整;③病例组符合《丙型肝炎防治指南(2022年版)》^[7]。④HCV抗体及RNA检测结果均为阳性;排除标准:①年龄≤18周岁;②合并其它肝脏疾病及HIV感染;③有精神疾病或认知障碍。④患有恶性肿瘤。

1.2 方法

1.2.1 ANA检测

采用购于德国EUROIMMUN公司的试剂盒以HEp-2为实验基质,应用间接免疫荧光法(IIF)进行ANA检测,血清经1:100稀释后与基质进行温育,经洗涤,再与异硫氰酸荧光素标记的羊抗人IgG温育、洗涤,最后在荧光显微镜下观察结果。若无特异性荧光则为阴性,产生明显特异性荧光为阳性。采用购于德国EUROIMMUN公司的试剂盒(免疫印迹法)检测抗核抗体谱,检测项目包括抗AMA-M2抗体、抗dsDNA抗体、抗Ro-52抗体、抗SSA抗体、抗SSB抗体、抗PCNA抗体。

1.2.2 HCV基因型检测

①HCV基因分型荧光探针法:应用ABI-7500实时荧光PCR仪检测各亚型特异性探针荧光信号,对HCV现症感染患者进行基因分型。②HCV基因分型测序法:对基因型未明确的样本采用中山大学达安基因股份有限公司的磁珠法进行RNA提取及PCR扩增纯化,并应用ABI3730XL测序仪对产物进行测序并与GenBank上的HCV序列进行参比进而确定基因型。

1.2.3 HCV RNA检测

采用购于罗氏生物公司的Cobas AmpliPrep仪器进行核酸提取并采用罗氏生物公司的Cobas TaqMan分析仪进行扩增并检测。

1.2.4 HCV肝功能生化指标检测

采用购于日立公司的7180全自动生化分析仪进行(alanine aminotransferase, ALT)、(aspartate aminotransferase, AST)、(total bilirubin, TBIL)、(direct bilirubin, DBIL)、(alkaline phosphatase, ALP)、(alkaline phosphatase, GGT)、(albumin, ALB)测定。

1.2.5 血小板及凝血酶原时间检测

采用购自日本希森美康公司的Sysmex XE-5100全自动全血细胞分析仪进行血小板检测,凝血酶原时间采用西班牙Werfen公司ACLTOP750CTS全自动凝血分析仪及配套试剂检测。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。首先采用Kolmogorov-Smirnov检验数据的正态性,ALT、AST、TBIL、DBIL、ALP、GGT、ALB、PLT、PT为正态分布,以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;HCV RNA为偏态分布,则以M(Q1, Q3)表示,组间比较采用Mann-Whitney检验;计数资料以比例(%)表示,组间

比较采用卡方检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组与对照组 AAb 阳性率比较

ANA 阳性的 HCV 现症感染患者共 98 例,阳性率达到 44.34%, 对照组 ANA 阳性率为 7.96%, 两组间 ANA 阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。其中病例组的核颗粒型、核仁型以及胞浆颗粒型阳性率显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而核均质型、胞浆纤维型及核膜型三种核型在两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。HCV 现症感染患者中 ANAs 阳性共 10 例 (4.52%), 对照组 ANAs 阳性共 1 例 (0.88%), 病例组 ANAs 阳性率显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),其中抗 Ro-52 抗体在两组间差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 病例组与对照组 AAb 阳性率比较 [n(%)]

AAb	对照组(n=113)	病例组(n=221)	χ^2 值	P 值
ANA	9(7.96)	98(44.34)	45.448	0.000 ^b
核颗粒型	5(4.42)	26(11.76)	4.784	0.029 ^a
核均质型	2(1.77)	7(3.17)	0.151	0.697
核仁型	0(0.00)	14(6.33)	5.977	0.014 ^a
胞浆颗粒型	2(1.77)	48(21.72)	23.377	0.000 ^b
胞浆纤维型	0(0.00)	3(1.36)	0.398	0.528
核膜型	0(0.00)	0(0.00)	0.000	1.000
ANAs	1(0.88)	10(4.52)	114.643	0.000 ^b
抗 AMA-M2	0(0.00)	2(0.90)	-	0.551
抗 PCNA 抗体	1(0.88)	0(0.00)	-	0.338
抗 Ro-52 抗体	0(0.00)	8(3.62)	4.191	0.041 ^a
抗 SSA 抗体	0(0.00)	0(0.00)	0.000	1.000
抗 SSB 抗体	0(0.00)	0(0.00)	0.000	1.000
抗 dsDNA 抗体	0(0.00)	0(0.00)	0.000	1.000

注:^a表示 $P<0.05$,^b表示 $P<0.001$ 。

2.2 HCV 不同基因型间 AAb 阳性率比较分析

本研究纳入的 221 例 HCV 现症感染患者检测到 1b、2a、3a、3b 及 6a 共五种基因亚型,其中 1b 型 116 例 (52.49%), AAb 阳性率为 50.00%; 2a 型 57 例 (25.80%), 其中 AAb 阳性率为 40.36%; 3a 型 10 例 (4.52%), AAb 阳性率为 70.00%; 3b 型 28 例 (12.67%), AAb 阳性率为 60.71%; 6a 型 10 例 (4.52%), AAb 阳性率为 30.00%, 不同基因型 HCV 现症感染患者 AAb 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 AAb 阳性与 AAb 阴性 HCV RNA 对比分析

AAb 阳性组 HCV RNA 含量的中位数为 1.26×10^6 IU/mL, AAb 阴性组 HCV RNA 含量的中

表 2 HCV 不同基因型 AAb 阳性率比较 [n(%)]

HCV 基因型	AAb 阳性率
1b	58 (50.00)
2a	23 (40.36)
3a	7 (70.00)
3b	17 (60.71)
6a	3 (30.00)
χ^2 值	6.499
P 值	0.165

位数为 1.91×10^6 IU/mL, 差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 AAb 阳性与 AAb 阴性 HCV RNA 对比分析

组别	HCV RNA 含量 (IU/mL)	U 值	P 值
AAb 阴性组	1.91×10^6 ($3.37 \times 10^5, 4.62 \times 10^6$)	16.532	0.322
AAb 阳性组	1.26×10^6 ($1.50 \times 10^5, 4.31 \times 10^6$)		

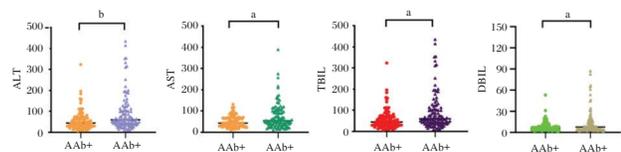
2.4 AAb 阳性与 AAb 阴性 HCV 现症感染患者实验室指标对比分析

本研究从生化、血液等几个方面来探讨 AAb 与实验室指标之间的关系,纳入了反映肝功能的生化指标丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆红素 (TBIL)、直接胆红素 (DBIL)、碱性磷酸酶 (ALP)、 γ -谷氨酰转移酶 (GGT)、白蛋白 (ALB),血液学指标血小板计数 (PLT) 及凝血酶原时间 (PT) 指标。结果表明 AAb 阳性的 HCV 现症感染患者 ALT、AST、TBIL、DBIL 水平显著高于 AAb 阴性的 HCV 现症感染患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组 ALP、GGT、ALB、PLT、PT 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4、图 1。

表 4 AAb 阳性与 AAb 阴性 HCV 现症感染者实验室指标差异性分析 ($\bar{x} \pm s$)

实验室特征	AAb+	AAb-	t 值	P 值
ALT(U/L)	101.78±111.56	70.22±22.90	4.08	0.000 ^b
AST(U/L)	86.81±98.71	49.94±26.30	3.83	0.002 ^a
TBIL(umol/l)	27.70±45.97	17.59±9.23	2.29	0.023 ^a
DBIL(umol/l)	17.08±40.05	7.71±6.60	2.45	0.009 ^a
ALP(U/L)	90.31±44.95	81.47±32.19	1.39	0.260
GGT(U/L)	105.19±160.82	90.36±74.07	0.68	0.889
ALB(g/l)	41.50±8.83	41.40±6.41	0.93	0.350
PLT($\times 10^9$)	165.93±69.86	165.54±82.88	0.38	0.905
PT(s)	13.06±2.27	12.58±2.27	1.58	0.065

注:^a表示 $P<0.05$,^b表示 $P<0.001$ 。



注:^a表示 $P<0.05$,^b表示 $P<0.001$ 。

图 1 AAb-与 AAb+HCV 现症感染患者实验室指标分析

3 讨论

AAb自发现以来就被广泛应用于各种疾病的诊断、预测、分类和监测^[8],尤其对于自身免疫性肝病,AAb已成为疾病诊断不可或缺的一部分。近些年,研究发现在非自身免疫性肝病患者体内也可检测到AAb的存在。人体感染HCV后便可通过激活人体免疫系统进而使人体免疫细胞产生抗体,有文献报道HCV感染引起肝损伤与自身免疫及AAb的产生紧密相关^[9-10]。

因此,本研究回顾性分析了221例HCV现症感染患者AAb检测结果,证实了HCV现症感染患者体内存在多种AAbs,阳性率可达到48.86%,显著高于健康对照组,与AMICO等^[11]学者的研究报道相一致。在本研究中,HCV现症感染患者ANA阳性率达到44.34%,其中核颗粒型、核仁型及胞浆颗粒型阳性率显著高于对照组。在检出的ANAs中,抗Ro-52抗体阳性率最高,Ro-52是一种很重要的调节蛋白,在机体抗病原微生物感染中发挥重要的调节作用。当免疫调节系统紊乱时,Ro-52蛋白周围的生存环境会遭到破坏,导致免疫应答能力过强^[12]。而抗Ro-52抗体阳性的HCV现症感染患者肝损伤是否会更严重需要扩大样本量进一步深入探讨。

有关AAb与HCV现症感染患者肝功能、病毒载量、基因型等实验室指标相关性的数据有限且观点不一致^[13-14]。在本研究中,HCV现症感染患者共检测到5种基因型,以1b型和2a型为主,而不同基因型HCV现症感染患者之间AAb阳性率差异无统计学意义;自身抗体阳性组与阴性组间HCV RNA水平差异无统计学意义。

研究结果证明AAb阳性组HCV现症感染患者ALT、AST、TBIL、DBIL水平显著高于AAb阴性HCV现症感染患者,而ALP、GGT、PLT和PT水平在两组间差异无统计学意义。ALT、AST、TBIL、DBIL能够反映肝细胞损伤程度,分析其原因可能是HCV感染后触发了自身免疫反应,自身免疫加重了肝脏的损伤程度,同时AAb与肝细胞相互作用促使转氨酶释放,进而导致肝功能指标ALT、AST、TBIL、DBIL水平异常升高^[15]。综上所述,HCV现症感染患者AAb阳性率高于健康体检者,结果证实HCV感染后确实具有诱发自身免疫

反应进而产生AAb的可能性,提示肝脏和免疫系统同时受累,对于今后进一步阐明AAb与HCV之间的关系具有一定启示与帮助。

参考文献

- [1] 王鹏飞,刘树红,钱相君,等.血清高尔基体蛋白73对丙型肝炎肝硬化的诊断价值研究[J].中华肝脏病杂志,2022,30(8):879-884.
- [2] Ringehan M, Mckeating JA, Protzer U. Viral hepatitis and liver cancer[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2017, 372(1732):20160274.
- [3] World Health Organization. Global hepatitis report 2017. World Health Organization. 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/global-hepatitis-report-2017>. Accessed 15 Jul 2021.
- [4] Calvaruso V, Craxi A. Immunological alterations in hepatitis C virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19:8916-23.
- [5] Flores-Chávez A, Carrion JA, Forns X, Ramos-Casals M. Extrahepatic manifestations associated with Chronic Hepatitis C Virus Infection[J]. Rev Esp Sanid Penit, 2017, 19(3):87-97.
- [6] Choi C, Botros Y, Shah J, et al. A case report of alloimmune hepatitis after direct-acting antiviral treatment in a liver transplant patient. Journal of Clinical and Translational Hepatology, 2020, 8(4):459-462.
- [7] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.丙型肝炎防治指南(2022年版)[J].2023,41(1):29-46.
- [8] Ayoglu B, Schwenk JM, Nilsson P. Antigen arrays for profiling autoantibody repertoires[J]. Bioanalysis, 2016, 8(10):1105-26.
- [9] 杜玲,张晓红,余焱霞,等.丙型肝炎病毒感染者自身抗体检测分析及临床意义[J].中国病毒病杂志,2019(2):106-110.
- [10] Obermayer-Straub P, Manns MP. Hepatitis C and D, retroviruses and autoimmune manifestations[J]. J Autoimmun, 2001, 16(3):275-85.
- [11] Batchoun RG, Al-Najdawi MA, Al-Taamary S. Anti-ENA antibody profile in hepatitis C patients undergoing hemodialysis[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2011, 22(4):682-8. PMID: 21743211.
- [12] Patrice C, Cloe C, David S, et al. Hepatitis C virus infection and rheumatic diseases: the impact of Direct-Acting antiviral agents[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2017, 43(1):123-132.
- [13] Acay A, Demir K, Asik G, et al. Assessment of the frequency of autoantibodies in chronic viral hepatitis[J]. Pak J Med Sci, 2015, 31(1):150-154.
- [14] Aristotelis T, Theoharis V, Alex Andros P, et al. Circulating autoantibodies to endogenous erythropoietin are associated with chronic hepatitis C virus infection-related anemia[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2017, 6(3):289-295.
- [15] 李晓青.慢性丙型肝炎病毒感染者血清自身抗体的检测分析[J].中国民康医学,2022,34(12):136-138.

miR-146b-5p 和 IL-17 在三阴性乳腺癌中的表达及其临床意义

谷兆琪¹ 高庆² 李雨³ 周奇^{1*}

[摘要] 目的 探究微小核糖核酸(miR)-146b-5p、白细胞介素(IL)-17在三阴性乳腺癌(TNBC)中的表达及其临床意义。方法 选取2019年1月至2023年6月临沂市妇幼保健院收治的128例TNBC患者为研究组,另选同期40名体检健康女性为对照组。比较两组血清miR-146b-5p及IL-17表达水平。另根据研究组患者1年随访资料,分为预后良好组($n=94$)与预后不良组($n=34$),采用单、多因素Logistic分析血清miR-146b-5p及IL-17表达与TNBC不良预后的关系,并以受试者工作特性曲线(ROC)分析血清miR-146b-5p及IL-17表达对TNBC不良预后的预测效能。结果 研究组血清miR-146b-5p表达情况较对照组更低,而IL-17表达则更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素分析结果显示,肿瘤直径 >5 cm、血清miR-146b-5p表达下调以及IL-17表达上调均为TNBC患者不良预后的独立危险因素($P<0.05$);ROC曲线分析表明,血清miR-146b-5p、IL-17以及二者联合检测TNBC不良预后的曲线下面积(AUC)分别为0.786、0.775以及0.867,且联合检测预测价值最佳($P<0.05$)。结论 miR-146b-5p在TNBC患者血清中表达异常下调,而IL-17表达异常上调,二者联合检测对TNBC预后具备良好预测价值。

[关键词] 微小核糖核酸-146b-5p; 白细胞介素-17; 三阴性乳腺癌

Expression and clinical significance of miR-146b-5p and IL-17 in triple-negative breast cancer

GU Zhaoqi¹, GAO Qing², LI Yu³, ZHOU Qi^{1*}

(1. Clinical Laboratory, 2. Breast and Nail Surgery Department, 3. Quality Management Department, Linyi Maternal and Child Health Hospital, Linyi, Shandong, China, 276022)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression of microRNA (miR)-146b-5p and interleukin (IL)-17 in triple-negative breast cancer (TNBC) and their clinical significance. **Methods** A total of 128 TNBC patients admitted to Linyi Maternal and Child Health Hospital from January 2019 to June 2023 were selected as the research group, while 40 healthy women undergoing physical examinations during the same period were chosen as the control group. The serum levels of miR-146b-5p and IL-17 were compared between the two groups. Based on the one-year follow-up data of TNBC patients, they were divided into a good prognosis group ($n=94$) and a poor prognosis group ($n=34$). Univariate and multivariate logistic regression analyses were used to explore the relationship between serum miR-146b-5p and IL-17 expression and poor prognosis in TNBC. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to assess the predictive efficacy of serum miR-146b-5p and IL-17 expression for poor prognosis in TNBC. **Results** The serum expression of miR-146b-5p in the research group was significantly lower than that in the control group, while the expression of IL-17 was significantly higher ($P<0.05$). Multivariate analysis revealed that tumor diameter >5 cm, downregulation of serum miR-146b-5p and upregulation of IL-17 expression were independent risk factors for poor prognosis in TNBC patients ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum miR-146b-5p, IL-17, and their

基金项目:山东省卫生健康委员会山东省医养健康产业重点调研课题(64)

作者单位:1. 临沂市妇幼保健院检验科,山东,临沂 276022

2. 临沂市妇幼保健院乳甲外科,山东,临沂 276022

3. 临沂市妇幼保健院质量管理科,山东,临沂 276022

*通信作者:周奇, E-mail:Lyzzq8208@126.com

combined detection for predicting poor prognosis in TNBC were 0.786, 0.775 and 0.867, respectively. The combined detection demonstrated the best predictive value ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of miR-146b-5p was abnormally down-regulated in the serum of TNBC patients, while the expression of IL-17 was abnormally up-regulated. The combined detection showed good predictive value for the prognosis of TNBC.

[KEY WORDS] MicroRNA-146b-5p; Interleukin-17; Triple negative breast cancer

三阴性乳腺癌 (Triple Negative Breast Cancer, TNBC) 是乳腺癌 (Breast cancer, BC) 最特殊的病理亚型之一^[1], 其特征为雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体 2 均呈阴性表达。TNBC 进展迅速, 侵袭性极强; 且患者因缺乏雌激素受体、孕激素受体以及人表皮生长因子受体 2 表达, 而对常见的激素治疗和靶向治疗均不敏感。故较其他病理类型而言, TNBC 患者通常预后更差, 死亡率也更高^[2]。

微小核糖核酸 (micro ribonucleic acid, miRNA) 是一类在进化中高度保守内源性单链非编码 RNA, 长度约在 19~25 个核苷酸。miRNA 可特异性结合靶 mRNA 的非翻译区, 而在转录后水平上对基因的表达进行负调控, 以阻碍或抑制翻译过程的正常进行。鉴于 miRNA 在基因表达调控过程中的关键作用, 越来越多在癌症中普遍失调或仅在特定类型的癌症中失调的 miRNA 被进一步发现和研究^[3]。其中, miR-146b-5p 作为一种重要的肿瘤抑制因子, 被发现在 BC、膀胱癌等多种恶性肿瘤的癌组织和细胞中均呈低表达; 且其表达紊乱被认为可能与肿瘤的恶性生物学行为密切相关^[4]。IL-17 是包含 IL-17A~IL-17F 六种主要类型在内的多成员细胞因子家族。研究发现, IL-17 家族成员可响应并调节肿瘤病灶区存在的特定细胞因子, 进而促进或抑制肿瘤发生^[5]。目前研究多分析 IL-17 以及 miR-146b-5p 等细胞因子在 TNBC 患者血清中的表达情况, 且将二者联用于预测分析 TNBC 预后的相关研究较少。本研究旨在分析 miR-146b-5p、IL-17 在三阴性乳腺癌中的表达及其临床意义, 以期为临床 TNBC 诊治及患者预后的改善提供依据和参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2023 年 6 月临沂市妇幼保健院收治的 128 例 TNBC 患者为研究组。纳入标准: ①经组织病理学检测证实为 TNBC^[6]; ②此前未接受放化疗及免疫治疗等相关抗肿瘤治疗; ③首次发病, 年龄 ≥ 18 岁; ④临床及随访资料完整, 数据详实、可靠; ⑤自愿参与本研究。排除标准:

①随访期间受其他因素影响而死亡者; ②依从性差; ③中途退出研究或同时参与其他临床研究者; ④认知功能障碍或既往有严重精神类疾病史; ⑤合并其他恶性肿瘤。另选同期 40 名体检健康女性为对照组。本研究已通过临沂市妇幼保健院伦理委员会审核, (伦理编号: QTL-YXLL-2024099)

1.2 血清 miR-146b-5p 和 IL-17 表达检测方法

研究对象均于入院 24 h 内收集空腹外周静脉血 5 mL, 离心处理 (转速: 3 000 r/min, 时间: 10 min, 离心半径: 10 cm), 分离并收集血清, 对应标记后转移至 -80°C 冰箱储存备检。

1.2.1 IL-17 检测

采用 ELISA 法检测, 检测严格按照试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司) 操作说明书进行。

1.2.2 miR-146b-5p

采用实时荧光定量聚合酶链反应 (Real-Time Fluorescent Quantitative PCR, RT-qPCR) 技术检测。以 Trizol 法提取总 RNA, 随后分离 RNA (试剂盒: mirPremier micro RNA Isolation Kit; 生产商: 美国 Bio-Rad 公司), 并逆转录生成 cDNA (试剂盒: SuperScript RT Kit; 生产商: 上海远慕生物科技有限公司); 收集 cDNA 用于 PCR 扩增, 反应条件: 扩增条件: 95°C 预变性 5 min, 95°C 变性 15 s, 60°C 退火 1 min, 72°C 延伸 30 s, 总计循环次数 40 次。每个样品设置 3 个重复孔, 并且实验进行 3 次。以 U6 用作内参, 每份样本取 3 次检测中间值, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量。miR-146b-5p 引物序列 (5'-3'), F 端: GATGAGAAGGTATTTCTGC; R 端: GAGAAATTGAAGGTCATAAA。U6 引物序列 (5'-3'), F 端: GCGCGTCGTGAAGCGTTC; R 端: GTGCAGGGTCCGAGGT。

1.3 预后和资料收集

采用电话、短信、门诊复查等形式对研究组患者进行随访, 截止日期至 2024 年 1 月或随访期间出现癌因死亡, 并依据患者生产情况分为预后良好组 ($n=94$, 患者直至随访日期结束均未出现病灶体积增大, 肿瘤扩散、转移等情况) 与预后不良组 ($n=34$, 患者随访期间出现病灶体积增大, 肿瘤扩

散、转移等情况)。收集可能影响患者预后的相关资料,包括年龄、肿瘤直径、淋巴结转移、脉管癌栓、肿瘤 TMN 分期^[7](Tumor Node Metastasis, TMN)、血清 miR-146b-5p 及 IL-17 表达水平等。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 22.0 软件进行数据分析统计。计数资料均以 $n(\%)$ 的描述,行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料,采用独立样本 t 检验;采用单、多因素 Logistic 分析血清 miR-146b-5p 及 IL-17 表达与 TNBC 不良预后的关系,并以受试者工作特性曲线(ROC)分析血清 miR-146b-5p 及 IL-17 表达对 TNBC 不良预后的预测效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组与对照组血清 miR-146b-5p 和 IL-17 表达情况比较

研究组血清 miR-146b-5p 表达情况较对照组更低,而 IL-17 表达则更高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组血清 miR-146b-5p 和 IL-17 表达情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-146b-5p	IL-17(pg/mL)
研究组	128	0.42±0.06	197.46±11.58
对照组	40	0.98±0.08	169.38±8.52
<i>t</i> 值		47.378	14.172
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 单因素分析 TNBC 患者不良预后的影响因素

预后良好组与预后不良组在肿瘤直径、血清 miR-146b-5p 以及 IL-17 表达上的比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 多因素分析 TNBC 患者不良预后的影响因素

以 TNBC 患者不良预后为因变量,行多因素回归分析。结果显示,肿瘤直径>5 cm、血清 miR-146b-5p 表达下调以及 IL-17 表达上调均为 TNBC 患者不良预后的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 血清 miR-146b-5p 及 IL-17 表达对 TNBC 不良预后的预测效能

ROC 曲线分析表明,血清 miR-146b-5p、IL-17 二者联合检测 TNBC 不良预后的曲线下面积(AUC)为 0.867 优于单一检测($P < 0.05$)。见表 4 和图 1。

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

因素	<i>n</i>	预后良好组 (<i>n</i> =94)	预后不良组 (<i>n</i> =34)	χ^2 <i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)				0.206	0.650
>60	72	54(57.45)	18(52.94)		
≤60	56	40(42.55)	16(47.06)		
脉管癌栓				0.113	0.737
有	29	22(23.40)	7(20.59)		
无	99	72(76.60)	27(79.41)		
TMN 分期				0.320	0.572
I~II 期	70	50(53.19)	20(58.82)		
III 期	58	44(46.81)	14(41.18)		
肿瘤直径(cm)				13.551	<0.001
>5	56	32(34.04)	24(70.59)		
≤5	72	62(65.96)	10(29.41)		
淋巴结转移				2.684	0.101
有	42	27(28.72)	15(44.12)		
无	86	67(71.28)	19(55.88)		
miR-146b-5p		0.43±0.03	0.39±0.04	6.073	<0.001
IL-17(pg/mL)		193.77±11.38	207.66±13.85	5.748	<0.001

表 4 血清 miR-146b-5p 及 IL-17 表达对 TNBC 不良预后的预测效能

检测指标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	<i>P</i> 值
miR-146b-5p	0.415	0.786	0.688~0.884	0.755	0.706	<0.001
IL-17(pg/mL)	199.115	0.775	0.686~0.865	0.702	0.618	<0.001
联合检测		0.867	0.793~0.941	0.883	0.735	<0.001

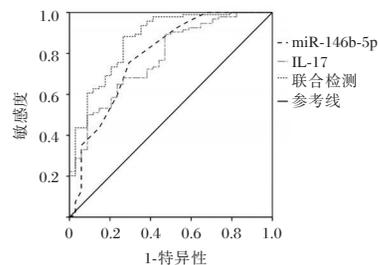


图 1 TNBC 不良预后的 ROC 曲线分析

3 讨论

TNBC 是最具侵袭性的 BC 类型,具有高度增殖、易转移等特征。同时,由于治疗选择有限、缺乏有效靶点等以及耐药性等因素影响,TNBC 患者所能获得的治疗效果通常有限,且生存获益方面大多改善不佳^[8-9]。因此,亟需深入研究 TNBC 相关分子机制,并对预后因素进行全面分析,以制定更加精准的诊治策略,从而改善患者预后及生存质量。

表 3 多因素分析 TNBC 患者不良预后的影响因素

因素	赋值	β 值	<i>S.E</i> 值	<i>Wald</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
肿瘤直径(cm)	>5=1, ≤5=0	0.686	0.213	10.373	1.986	1.308~3.015	0.001
miR-146b-5p	连续变量	0.711	0.236	9.076	2.036	1.282~3.233	0.003
IL-17(pg/mL)	连续变量	0.654	0.186	12.363	1.923	1.336~2.769	<0.001

本研究结果显示, 研究组血清 miR-146b-5p 表达水平较对照组更低, 而 IL-17 表达水平则更高, 提示血清 miR-146b-5p、IL-17 异常表达可能影响并调控 TNBC 的发生及进展。miRNA 是长度约在 19~25 个核苷酸的内源性单链非编码 RNA, 其作为基因表达的重要转录后调节因子, 可通过负向调控多种生化途径的相关基因, 进而导致靶基因 mRNA 的降解或翻译抑制^[10-11]。近年来研究表明, miRNA 几乎参与机体所有生物反应的调控过程, 且其异常表达与包括癌症在内的多种疾病密切相关^[12]。其中, miR-146-5p 作为 miR-16 家族的重要成员之一, 通常被认为是多种癌症的抑制因子。在 BC 中, miR-146-5p 被证明可抑制表皮生长因子受体 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) 表达, 并可在体外减少胶质瘤和 BC 细胞的迁移和侵袭^[13]。此外, miR-146b-5p 还被发现可能参与调控 BC 细胞的上皮-间充质转化 (Epithelial Mesenchymal Transition, EMT); 而 EMT 作为肿瘤转移的关键诱导因素, 可进一步触发肿瘤微环境的原始改变, 从而增加肿瘤细胞的数量及其迁移、侵袭能力和化疗耐药性^[14]。研究显示, miR-146b-5p 主要通过靶向沉默长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) NEAT1 并阻碍其所调控的 EMT 过程, 进而抑制 TNBC 细胞的增殖、迁移和转移; 同时, lncRNA NEAT1 在 TNBC 细胞中的过表达也被证实可促进 BC 细胞化疗耐药性及细胞干性的增加^[15]。IL-17 是包含 IL-17A~IL-17F 六种主要类型在内的多成员细胞因子家族, 主要由辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17) 产生。近来研究发现, IL-17 家族成员在 TNBC 肿瘤微环境的调控中均发挥关键作用。研究显示, 白细胞介素 17A 可通过刺激内皮脂肪酸- β 氧化, 进而促进肿瘤血管生成, 而血管生成被认为与肿瘤细胞的生长和转移独立相关, 是 TNBC 病情进展的重要危险因素^[16]。研究还发现, TNBC 肿瘤微环境中 IL-17E 过表达所介导的 EGFR 核转位还伴有 pSTAT3 易位现象, 这可进一步促进 EGFR 维持磷酸化状态, 并赋予肿瘤细胞对抗 EGFR 治疗剂的耐药性^[17]。可见, miR-146-5p 与 IL-17 均与 TNBC 的发生、进展密切相关, 有望成 TNBC 病情评估的有效生物学指标。

此外, 本研究多因素分析结果提示上述指标的表达紊乱也可能与 TNBC 患者的不良结局相关。分析原因可能为, IL-17 高表达、miR-146b-5p

低表达增强了 TNBC 细胞的增殖、侵袭能力以及耐药性, 并进一步创造了适合 TNBC 肿瘤转移的微环境, 这可能加剧 TNBC 病情进展恶化, 导致患者疗效降低而复发、死亡风险升高^[18]。本研究也应用 ROC 曲线进一步分析血清 miR-146b-5p 及 IL-17 表达对 TNBC 不良预后的预测效能, 结果显示, miR-146b-5p、IL-17 联合检测预测价值最佳。另外, 多因素分析结果还表明, 肿瘤大小 >5 cm 也与 TNBC 患者不良预后相关, 其原因可能与大肿瘤体积的 TNBC 患者手术完全切除率更低, 并且更易累及癌旁组织和其他器官^[19]。故临床高危病患筛查时, 也可将该类患者纳入重点观察。

综上所述, miR-146b-5p 在 TNBC 患者血清中表达异常下调, 而 IL-17 表达异常上调, 二者联合检测对 TNBC 预后具备良好预测价值。但本研究病例样本量相对较小, 且对患者预后随访时间较短, 这可能导致试验结果存在一定偏倚。因此后续需扩大试验规模, 延长随访观察时间, 并进一步深入开展相关类型研究, 以获取更多、更精准数据, 进一步验证 miR-146b-5p 和 IL-17 在 TNBC 患者血清中的异常表达情况, 以及二者联合检测对 TNBC 不良预后的良好预测价值。

参考文献

- [1] 刘勇, 刘振华, 徐小兰, 等. 儋州地区 ≥ 40 岁女性乳腺癌筛查结果及影响因素分析 [J]. 华南预防医学, 2022, 48(9): 1122-1125.
- [2] 王浩, 吕浩, 蔡兆根. p53 在三阴性乳腺癌中表达水平及其与生存率的关系 [J]. 热带医学杂志, 2023, 23(8): 1134-1138.
- [3] Nakata A, Gotoh N, Fujita A, et al. Large miRNA survival analysis reveals a prognostic four-biomarker signature for triple negative breast cancer [J]. Genet Mol Biol, 2020, 43(1): e20180269.
- [4] 王娜, 龚莉莉, 叶春梅. miR-146b-5p 靶向 ZNRF2 影响 IL-17a 诱导乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(14): 1738-1743.
- [5] Feng K, Shao Y, Li J, et al. A lactate-responsive gene signature predicts the prognosis and immunotherapeutic response of patients with triple-negative breast cancer [J]. Cancer Innov. 2024, 3(4): e124.
- [6] 国家卫生健康委员会医政医管局. 乳腺癌诊疗指南 (2022 年版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2023, 45(10): 803-833.
- [7] Telli ML, Timms KM, Reid J, et al. Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-Negative Breast Cancer [J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(15): 3764-73.

(下转第 649 页)

2019–2022年泰安市食源性疾病流行特征及病原学分析

曹身云¹ 李晓蕾² 李琳³ 张志军¹ 赵书平¹ 魏光明^{4*}

[摘要] **目的** 了解泰安市食源性疾病的发生规律、流行特征和病原学分布,为食源性疾病的防控提供参考依据。**方法** 收集2019至2022年泰安市食源性疾病的病例信息和病原学检测结果,从人群、时间、可疑食品来源、食品加工包装方式和病原学特征等方面进行统计分析。**结果** 食源性病例共1209例,男女性别比例1.29:1,≤6岁组发病人数最多(41.27%)。四个季度均有食源性病例的发生,第三季度病例数最多(38.21%),其次是第二季度(34.33%)。可疑食品来源前三位为:水果类及其制品、蔬菜类及其制品和肉类及其制品。加工包装方式中占比最高的是散装。共检出病原体275例,检出率22.75%,2019~2022年各年度检出率依次为18.87%、29.35%、20.78%、22.41%。诺如病毒检出率最高,以Ⅱ型为主;其次是沙门菌,以鼠伤寒血清型和肠炎血清型为主;致泻性大肠埃希菌检出率低;未检出志贺菌和副溶血弧菌。病原体检出率之间差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 泰安市食源性疾病夏秋季节高发,6岁以下儿童是高发人群,以诺如病毒和沙门菌感染为主,应进一步加强本市食源性疾病的主动监测,提高食源性疾病防控能力。

[关键词] 食源性疾病; 流行特征; 病原学分布

Epidemiological characteristics and etiology analysis of foodborne diseases in Tai'an City from 2019 to 2022

CAO Shenyun¹, LI Xiaolei², LI Lin³, ZHANG Zhijun¹, ZHAO Shuping¹, WEI Guangming^{4*}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Party Building Office; 3. Department of Public Health; 4. Office of Tai'an Central Hospital Affiliated to Qingdao University, Tai'an, Shandong, China, 271000)

[ABSTRACT] **Objective** To understand the occurrence regularity, epidemic characteristics and etiological distribution of foodborne diseases in Tai'an City, and to provide reference for the prevention and control of foodborne diseases. **Methods** The case information and etiological detection results of foodborne diseases in Tai'an City from 2019 to 2022 were collected and analyzed statistically from the aspects of population, time, suspicious food sources, food processing and packaging methods, and etiological characteristics. **Results** A total of 1209 food-borne cases were reported, with a male to female ratio of 1.29:1. The highest number of patients aged less than 6 years (41.27%). Foodborne cases occurred in all four quarters, with the highest number in the third quarter (38.21%), followed by the second quarter (34.33%). The top three suspected food sources were fruits and their products, vegetables and their products, and meat and their products. The highest proportion of processing and packaging methods was bulk. A total of 275 pathogens were detected, with a detection rate of 22.75%. The detection rates for each year from 2019 to 2022 were 18.87%, 29.35%, 20.78%, 22.41% respectively. The detection rate for norovirus was the highest, mainly type Ⅱ. The second highest was salmonella, mainly typhoid and enteritis serotypes. The detection rate for diarrheic *Escherichia coli* was low. *Shigella* and *Vibrio parahaemolyticus* were not detected. There was a significant difference in the detection rate of each patho-

基金项目:泰安市科技创新发展项目(2022NS332);青岛大学附属泰安市中心医院苗圃培育项目(2022MPM01);
泰安市科技创新发展项目(2023NS406)

作者单位:1. 青岛大学附属泰安市中心医院检验科, 山东, 泰安 271000
2. 青岛大学附属泰安市中心医院党建办公室, 山东, 泰安 271000
3. 青岛大学附属泰安市中心医院公共卫生科, 山东, 泰安 271000
4. 青岛大学附属泰安市中心医院医院办公室, 山东, 泰安 271000

*通信作者:魏光明, E-mail: wgmjzp@126.com

gen ($P<0.05$). **Conclusion** The incidence of foodborne diseases in Tai'an City is high during the summer and autumn months, with children under 6 years old being the most incidence group. The main infections are norovirus and salmonella. It is important to enhance active monitoring of foodborne diseases in the city to improve prevention and control measures.

[KEY WORDS] Foodborne diseases; Epidemiological characteristics; Etiological distribution

食源性疾病是由受污染的食物引起的感染性或中毒性疾病,包括食物中毒^[1],全球每年近6亿人的感染是由食源性疾病引起,现已成为全球突出的公共卫生学问题^[2]。我国作为人口大国,食源性疾病现状更不容乐观,每6.5人中就有1人发生食源性疾病的感染^[3]。2021年食源性疾病监测资料显示,山东省是我国食源性疾病暴发数量最多的省份^[4]。通过开展食源性疾病主动监测,能及时发现食品安全隐患,减少和预防食源性疾病带来的危害。不同地区饮食文化不同,使食源性疾病的流行情况和病原学特征存在地区间差异。目前泰安市食源性疾病相关研究和报道较少,且缺少最新的研究。本文对泰安市近四年食源性疾病的监测数据进行分析,总结该地区食源性疾病的发生规律、流行情况和病原学特征,为该地区食源性疾病的防控提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

国家食源性疾病监测报告系统中泰安市中心医院和泰安市儿童医院两家哨点医院2019年1月至2022年12月上报并审核通过的有效数据,共1209例。

1.2 方法

1.2.1 资料收集方法

食源性病例定义为由食品或怀疑由食品引起的,以腹泻、呕吐症状为主诉的感染或中毒性病例^[5]。临床医生对符合病例定义的患者,收集其基本信息,并填写《食源性疾病病例信息采集表》。

1.2.2 病原体检测方法

对符合病例定义的患者采集新鲜粪便或呕吐物,进行细菌和病毒检测。监测的细菌主要包括沙门菌、志贺菌、副溶血弧菌和致泻性大肠埃希菌,监测的病毒主要是诺如病毒。细菌检测由哨点医院进行初筛,泰安市疾病预防控制中心复核。病毒检测由泰安市疾病预防控制中心进行。标本的采集、运送和检测严格按照《国家食源性疾病监测工作手册》^[6]的标准和要求进行。

1.3 统计学方法

通过Excel 2019对病例数据进行整理分析,采用SPSS 23.0软件进行统计学分析。计数资料以 n 或%表示,检出率的比较采用卡方检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人群分布

1209例食源性病例中,男性681例,女性528例,性别比例1.29:1。病例中年龄范围23天~93岁,按 ≤ 6 岁、7~18岁、19~40岁、41~65岁、 >65 岁进行分组,各年龄组均有发病,其中 ≤ 6 岁组发病人数最多(499例,41.27%);其次是19~40岁组(305例,25.23%)。

2.2 时间分布

各年度相比,2019年病例数略高。四个季度均有食源性病例的发生,第三季度病例数最多(38.21%),其次是第二季度(34.33%)。见表1。

表1 食源性病例时间分布

时间	2019年 (例)	2020年 (例)	2021年 (例)	2022年 (例)	合计 (例)	构成比 (%)
第一季度	45	7	30	18	100	8.27
第二季度	94	43	144	134	415	34.33
第三季度	119	97	122	124	462	38.21
第四季度	60	146	12	14	232	19.19
合计	318	293	308	290	1209	100.00

2.3 可疑食品来源及加工包装方式分布

可疑食品来源前三位为:水果类及其制品、蔬菜类及其制品和肉类及其制品。加工包装方式中占比最高的是散装。见表2、见表3。

2.4 食源性病原体检出情况

共检出病原体275例,总检出率22.75%。2019~2022年各年度检出率依次为18.87%(60/318)、29.35%(86/293)、20.78%(64/308)、22.41%(65/290),检出率之间差异有统计学意义($\chi^2=10.693, P<0.05$)。诺如病毒检出率最高,其次是沙门菌,致泻性大肠埃希菌的检出率低,未检出志贺菌和副溶血弧菌。少数病例存在多种病原体同时

表2 食源性病例可疑食品来源分布

食品分类	2019年 (例)	2020年 (例)	2021年 (例)	2022年 (例)	合计 (例)	构成比 (%)
水果类及其制品	69	126	115	90	400	33.09
蔬菜类及其制品	14	59	42	55	170	14.06
肉类及其制品	55	26	47	35	163	13.48
粮食类及其制品	42	22	42	33	139	11.50
混合食品	42	7	5	10	64	5.29
蛋与蛋制品	6	14	22	16	58	4.80
水产动物及其制品	17	9	11	10	47	3.89
多种食品	40	0	0	3	43	3.56
饮料与冷冻饮品类	11	5	5	14	35	2.89
乳与乳制品	5	12	8	4	29	2.40
婴幼儿食品	6	4	1	2	13	1.08
其他食品	11	9	10	18	48	3.97
合计	318	293	308	290	1 209	100.00

表3 可疑食品加工包装方式分布

加工及包装方式	2019年 (例)	2020年 (例)	2021年 (例)	2022年 (例)	合计 (例)	构成比 (%)
散装(包括简易包装)	100	148	200	181	629	52.03
家庭自制	71	100	50	51	272	22.50
餐饮服务	117	15	35	34	201	16.63
预包装	26	21	14	20	81	6.70
其他	4	9	9	4	26	2.15
合计	318	293	308	290	1 209	100.00

感染的情况。病原体检出率之间差异有统计学意义($\chi^2=167.93, P<0.05$)。诺如病毒以Ⅱ型为主,占85.03%(125/147)。沙门菌以鼠伤寒血清型和肠炎血清型为主。见表4、见表5。

表4 食源性病例病原体检出情况

病原体	2019年 (例)	2020年 (例)	2021年 (例)	2022年 (例)	合计 (例)	构成比 (%)
诺如病毒	24	52	33	38	147	12.16
沙门菌	33	30	38	25	126	10.42
致泻性大肠埃希菌	13	6	2	5	26	2.15
沙门菌+诺如病毒	2	2	8	0	12	0.99
沙门菌+致泻性 大肠埃希菌	5	0	0	3	8	0.66
诺如病毒+致泻性 大肠埃希菌	3	0	0	0	3	0.25
沙门菌+致泻性 大肠埃希菌+ 诺如病毒	0	0	1	0	1	0.08

表5 沙门菌的血清学分型结果

血清学分型	2019年 (例)	2020年 (例)	2021年 (例)	2022年 (例)	合计 (例)	构成比 (%)
鼠伤寒血清型	9	1	21	17	48	38.10
肠炎血清型	2	13	7	4	26	20.63
伦敦血清型	0	0	2	1	3	2.38
恩昌加血清型	0	0	2	0	2	1.59
阿格玛血清型	0	1	0	0	1	0.79
林登堡血清型	0	0	1	0	1	0.79
黄金海岸血清型	0	0	0	1	1	0.79
其他未分型沙门菌	22	15	5	2	44	34.92
合计	33	30	38	25	126	100.00

3 讨论

本研究对食源性病例的性别分析发现男性多于女性,与赵孟源等^[7]报道的山东省济南市的结果一致,可能的原因为男性外出就餐频率高,接触各种食源性病原体的机会增加。对食源性病例的年龄分析发现,6岁以下儿童发病人数最多,与张雪佩等^[8]的研究结果一致。可能是由于该年龄段的儿童消化系统发育尚不完善,对各种细菌和病毒的免疫力较弱,进食时常伴随不良的卫生习惯等,均使感染食源性疾病的概率增加。

在时间分布方面,第三季度病例数最多,其次是第二季度,两者病例数占病例总数的70%以上,与我国多个地区报道的食源性病例季节分布一致^[9]。夏秋季节气温较高,病原微生物生长繁殖迅速,食物储存不当易滋生细菌,剩饭剩菜食用前加热不彻底使细菌有机可乘。

可疑食品来源前三位为:水果类及其制品、蔬菜类及其制品和肉类及其制品。陈江等^[10]报道的浙江省食源性疾病可疑食物首位的是水产品,主要原因是浙江等沿海城市有较丰富的水产品。泰安作为内陆城市,食用水产品较少,饮食以水果、蔬菜和肉类为主。夏秋季节天气炎热,人们喜食各种冰镇水果、凉菜和烧烤,各种食材清洗不彻底,易残存细菌。前期研究中泰安市食源性疾病首位可疑病原食品是婴幼儿食品^[11],本次分析中婴幼儿食品所占比例仅为1.08%,说明相关部门对婴幼儿奶粉及辅食的监管取得了明显的效果。

病原体总检出率22.75%,高于浙江省台州市的监测结果(16.74%)^[12],与湖南省的监测结果(21.26%)接近^[13]。病原体检出率较高可能与标本采集规范、实验室病原体检测能力较高有关。与前期的监测结果^[11]相比,食源性病例数量明显减少,可能是相关部门加强食品监督管理,有效减少了食源性疾病的发生。本研究中,诺如病毒检出率最高,与常州市的监测结果一致^[14],诺如病毒流行区域广,传播速度快,是我国多省食源性疾病的主要病原体^[15]。与青岛市的监测结果有所不同,青岛等沿海城市水产品较丰富,副溶血弧菌是其食源性疾病的首位致病菌^[16]。天津市的监测结果则显示沙门菌是当地食源性疾病的主要致病菌^[17],沙门菌主要存在于畜禽等肉制品及周围环境中,存放不合理或加热不彻底会造成沙门菌的交叉感染。可见不

同地区食源性疾病的病原体分布存在差异。

综上所述,泰安市食源性疾病夏秋季节高发,6岁以下儿童岁是高发人群,以诺如病毒和沙门菌感染为主。水果类及其制品是首位可疑致病食品,占比最高的加工包装方式是散装。本研究也验证了食源性疾病的监测结果存在地区和时间的差异,但由于本研究的部分时间段正值新冠疫情期间,结果可能会有所偏移。因此应继续加强本市食源性疾病的主动监测,提高监测时效性,减少和预防食源性疾病的发生。

参考文献

- [1] 邹惠英,刘丽红,吴洁,等. 2012-2017年深圳市龙岗区细菌性食源性疾病病原学监测结果[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(3):373-375.
- [2] Kirk M.D, Pires SM, Black RE, et al. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis [J]. PLoS medicine, 2015, 12(12): e1001921.
- [3] 李薇薇,郭云昌,刘志涛,等. 2016年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022,34(1):86-91.
- [4] 李红秋,贾华云,赵帅,等. 2021年中国大陆食源性疾病暴发监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2022,34(4):816-821.
- [5] 刘颜,何玲玲,孙雪梅. 2018-2020年绵阳市哨点医院食源性主要致病微生物流行病学特征分析[J]. 预防医学情报杂志, 2023,39(1):39-46.
- [6] 国家卫生健康委关于印发食源性疾病监测报告工作规范(试行)的通知[R]. 国家卫生健康委员会(国卫食品发[2019]59号) 2019-10-22.
- [7] 赵孟源,杨丽,孙婷,等. 2017-2021年山东省济南市食源性疾病病原菌种类及分布情况分析[J]. 预防医学论坛, 2023, 29(4):273-277.
- [8] 张雪佩,栾玮玮,马伟. 2013-2021年济南市食源性疾病监测结果分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2023,34(2):40-44.
- [9] 付萍,王连森,陈江,等. 2015年中国大陆食源性疾病暴发事件监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2019,31(1):64-70.
- [10] 陈江,齐小娟,张政,等. 2016年浙江省食源性疾病监测结果分析[J]. 中国预防医学杂志, 2019,20(1):6-10.
- [11] 董和桂,唐秀芹,吴鹏,等. 2014-2016年泰安市食源性疾病监测结果分析[J]. 实用预防医学, 2018,25(1):78-82.
- [12] 姜叶,周潇潇,沈伟伟,等. 2020-2022年浙江省台州市食源性疾病病原体流行特征分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(19):2413-2417.
- [13] 郑美惠,赖天兵,贾华云,等. 湖南省2017-2021年食源性主动监测病原学及流行特征分析[J]. 现代预防医学, 2023, 50(7):1327-1332.
- [14] 范萍,王珥梅,陈宝林,等. 2016-2020年常州市哨点医院食源性疾病监测结果分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2023,34(4):101-105.
- [15] 赵秀昌,黄泽英. 我国诺如病毒流行及疾病负担研究进展[J]. 内科, 2023, 18(3):262-265.
- [16] 张慧龙,王永先,张涛. 青岛市崂山区2019-2021年食源性疾病监测结果分析[J]. 社区医学杂志, 2023,21(8):390-393.
- [17] 慕毓,孙立艳,顾文辉. 2020-2022年天津市环城某区食源性主动监测分析[J]. 中国城乡企业卫生, 2023,38(7):226-228.
- [8] Inoue K, Saito T, Hata S, et al. TS-1 add-on therapy in Japanese patients with triple-negative breast cancer after neoadjuvant or adjuvant chemotherapy: a feasibility study[J]. Invest New Drugs, 2020, 38(1):140-147.
- [9] 李晓萌,权梦瑶,刘昱辰,等. 邻苯甲酰磺酰亚胺类HDACs抑制剂的设计、合成及抗三阴性乳腺癌活性研究[J]. 药学学报, 2024, 59(11):3017-3026.
- [10] 陈涛,董亚萍,吴晓雪. 血浆外泌体源性miR-335-5p可作为三阴性乳腺癌诊断指标并抑制免疫逃逸[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2022,38(4):347-356.
- [11] Wu H, Li L, Yu Z, et al. Differentially expressed microRNAs in exosomes of patients with breast cancer revealed by next-generation sequencing[J]. Oncol Rep, 2020, 43(1):240-250.
- [12] Pena S, Cho YR, Taube J, et al. Integrative analysis of breast cancer profiles in TCGA by TNBC subgrouping reveals novel microRNA-specific clusters, including miR-17-92a, distinguishing basal-like 1 and basal-like 2 TNBC subtypes[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):141.
- [13] Al-Ansari MM, Aboussekhra A. miR-146b-5p mediates p16-dependent repression of IL-6 and suppresses paracrine procarcinogenic effects of breast stromal fibroblasts[J]. Oncotarget, 2015, 6(30):30006-16.
- [14] Gu X, Li J, Zuo X, et al. The Long Noncoding RNA MEG3 Retains Epithelial-Mesenchymal Transition by Sponging miR-146b-5p to Regulate SLFN5 Expression in Breast Cancer Cells[J]. J Immunol Res, 2022, 2022:1824166.
- [15] Li S, Hao J, Hong Y, et al. Long Non-Coding RNA NEAT1 Promotes the Proliferation, Migration, and Metastasis of Human Breast-Cancer Cells by Inhibiting miR-146b-5p Expression[J]. Cancer Manag Res, 2020, 2:6091-6101.
- [16] Yao X, Li P, Ni C, et al. IL-17A-stimulated endothelial fatty acid β -oxidation promotes tumor angiogenesis[J]. Life Sci, 2019, 229:46-56.
- [17] Fabre J, Cure H, Garbar C, et al. IL-17E synergizes with EGF and confers in vitro resistance to EGFR-targeted therapies in TNBC cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(33):53350-53361.
- [18] Mi J, Li L, Cui Y, et al. Role and molecular mechanisms of Huang Qi Si Jun Zi decoction for treating triple-negative breast cancer as explored via network pharmacology and bioinformatics analyses[J]. BMC Cancer, 2024, 24(1):1217.
- [19] 熊伟,郑武平,陈华敏,等. 乳腺癌癌组织中miR-124-3p和EGFL7及其与HPV感染的相关性[J]. 中华医院感染学杂志, 2023,33(19):2973-2977.

(上接第645页)

羊水过少合并胎儿窘迫孕妇超声血流特征及血清HIF-1 α 、ACTA水平分析

王燕 柏萍* 胡红云

[摘要] **目的** 分析羊水过少合并胎儿窘迫孕妇超声血流特征及血清缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、激活素A(ACTA)水平。**方法** 选取2020年1月至2024年3月102例羊水过少产妇,根据是否发生胎儿窘迫分为胎儿窘迫组($n=38$)和正常组($n=64$),比较两组临床资料、血液流变学指标(血浆黏度、全血高切黏度、全血低切黏度、红细胞沉降率)、动脉血流参数(脐动脉阻力指数、脐动脉搏动指数、肾动脉阻力指数、肾动脉搏动指数、大脑中动脉阻力指数、大脑中动脉搏动指数)及血清HIF-1 α 、ACTA水平,采用多因素分析探究影响胎儿窘迫的指标,并建立预测模型,探究其预测效能。**结果** 胎儿窘迫组的血浆黏度、全血高切黏度、全血低切黏度、红细胞沉降率、脐动脉和肾动脉的阻力指数、搏动指数、HIF-1 α 、ACTA均较正常组升高,大脑中动脉阻力指数及搏动指数均较正常组降低,差异有统计学意义($P<0.05$);多因素分析可知上述指标均会影响胎儿窘迫的发生,据此建立胎儿窘迫预测模型,该模型AUC值为0.896(95% CI: 0.834~0.958)。**结论** 羊水过少合并胎儿窘迫的孕妇血液流变学和动脉血流参数显著异常,血清HIF-1 α 、ACTA水平显著升高,综合分析上述指标可有助于早期识别和预测羊水过少合并胎儿窘迫。

[关键词] 羊水过少; 胎儿窘迫; 超声血流; 缺氧诱导因子-1 α ; 激活素A

Ultrasonographic blood flow analysis and serum levels of HIF-1 α and ACTA in pregnant women with oligohydramnios complicated by fetal distress

WANG Yan, BAI Ping*, HU Hongyun

(Department of Obstetrics and Gynecology, Nanjing Pukou District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China, 211800)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the ultrasonographic blood flow characteristics and serum levels of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and activin A (ACTA) in pregnant women with oligohydramnios combined with fetal distress. **Methods** A total of 102 pregnant women with oligohydramnios from January 2020 to March 2024 were selected and divided into two groups: the fetal distress group ($n=38$) and the normal group ($n=64$), based on whether fetal distress occurred. Clinical data, blood rheological parameters (plasma viscosity, whole blood high-shear viscosity, whole blood low-shear viscosity, erythrocyte sedimentation rate), arterial blood flow parameters (resistance index and pulsatility index of the umbilical artery, renal artery, and middle cerebral artery), and serum levels of HIF-1 α and ACTA were compared between the two groups. Multivariate analysis was performed to explore the factors affecting fetal distress and to establish a predictive model for its effectiveness. **Results** The fetal distress group showed significantly higher levels of plasma viscosity, whole blood high-shear viscosity, whole blood low-shear viscosity, erythrocyte sedimentation rate, resistance index, pulsatility index of the umbilical artery and renal artery, as well as serum HIF-1 α and ACTA levels compared to the normal group ($P<0.05$). The resistance index and pulsatility index of the middle cerebral artery were significantly lower in the fetal distress group ($P<0.05$). Multivariate analysis revealed that all of these factors contribute to the occurrence of fetal distress. Based on these findings, a predictive model for fetal distress was established, with an AUC value of 0.896 (95% CI: 0.834~0.958). **Conclusion** Oligohydramnios

基金项目:江苏省医院协会关于2020年度科技计划创新项目(JSYGY-3-2020-135)

作者单位:南京市浦口区中医院妇产科,江苏,南京211800

*通信作者:柏萍, E-mail:253818664@qq.com

combined with fetal distress is associated with changes in blood flow parameters and elevated levels of serum HIF-1 α and ACTA. These factors can be used to predict fetal distress, and the established model demonstrates good predictive efficacy.

[KEY WORDS] Oligohydramnios; Fetal Distress; Ultrasonographic Blood Flow; HIF-1 α ; ACTA

羊水过少可能影响妊娠结局,其会加剧子宫对胎儿及胎盘脐带的压迫,导致血液循环受阻,诱发胎儿窘迫,威胁胎儿生命安全^[1],临床急需评估方法以改善此状况。超声技术虽能实时检测血流动力学变化,评估妊娠结局,但仍存在局限性^[2-3]。为弥补不足,缺氧诱导因子-1 α (Hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)可反映机体缺氧应激状态;激活素A(Activin A, ACTA)则与胎盘滋养细胞分化及功能调控相关,其水平异常可直接影响胎盘血流灌注,加剧胎儿窘迫风险^[4-5]。本研究将综合分析羊水过少孕妇的超声血流特征与血清HIF-1 α 、ACTA水平,探索这些指标预测胎儿窘迫的价值,并构建预测模型,深入分析各指标与胎儿窘迫的关联,为临床提供全面的风险评估策略,以指导临床决策。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2024年3月102例羊水过少产妇,根据是否发生胎儿窘迫分为胎儿窘迫组($n=38$)和正常组($n=64$)。本研究经院伦理委员会批准进行。胎儿窘迫诊断标准依照《中华妇产科学》进行诊断^[6],包括新生儿出生5 min内Apgar评分 ≤ 7 分;孕期胎动减少,低于10次/12 h;胎心率异常,低于120次/min或高于160次/min;符合上述任一即可诊断。

纳入标准:①孕周14~27周时,诊断为羊水过少,至孕37周时检测结果为羊水过少;②在本院接受全程产检;③超声检查图像质量满足研究要求^[6];④单胎,自然妊娠;⑤患者或家属均签署书面知情同意文件。标准:①严重妊娠并发症及妊娠相关疾病;②经产检胎儿存在先天疾病;③急产、早产;④染色体存在异常情况、颅内感染。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

包括年龄、胎龄,及脐带扭转、脐带打结、脐带绕颈、循环障碍等。

1.2.2 血液流变学指标检测

使用含抗凝剂的试管采集孕妇6 mL静脉血,分成两份,一份采用FASCO-3010全自动血流变测

定仪检测红细胞沉降率及全血在不同剪切率下的高切黏度和低切黏度。另一份离心(离心半径10 cm, 2 000 r/min, 15 min)分离出血浆,测量血浆黏度。

1.2.3 超声检查

选用GE公司VolusonE10三维超声诊断仪,探头频率1~5 MHz。检查前孕妇仰卧位,膀胱充盈。进行下列动脉的血流学检测:①脐动脉检查:在无胎儿活动干扰时,定位脐带游离环区域的脐动脉,用脉冲波多普勒模式捕获5个一致血流波形,测量阻力与搏动指数,再利用自动跟踪技术获取3个完整心动周期波形以增强数据可靠性。②大脑中动脉检查:孕妇卧位,待胎儿呼吸与胎动暂停时,捕捉图像,设定采样体积为2~3 mm,调整扫描平面确保入射角小于20°,测量血流速度,选取5个最佳波形计算阻力与搏动指数的平均值。③肾动脉检查:于肾门冠状切面,设定取样容积为2 mm,夹角小于20°,捕获5个稳定肾动脉血流波形后,自动获取阻力与搏动指数的平均值。以上指标的检测均由同一专业人员使用同一方法在相同的检测仪器上完成。

1.2.4 血清生化指标检测

从孕妇肘部静脉抽取4 mL血液样本,离心(离心半径10 cm,转速3 500 r/min)15 min,收集上层血清待测。采用赛默飞世尔科技(中国)有限公司生产的酶联免疫试剂盒,依据操作程序检测血清HIF-1 α 及ACTA水平。

1.3 统计学方法

使用SPSS 26.0软件进行数据分析整理,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料使用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;采用多因素logistic回归分析探究各指标与胎儿窘迫的关系,并使用ROC曲线分析各指标对胎儿窘迫发生的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床指标比较

两组年龄、胎龄及脐带扭转、脐带打结、脐带绕颈、循环障碍的发生情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 两组临床指标比较 [(x̄±s), n(%)]

组别	n	年龄(岁)	胎龄(周)	脐带扭转	脐带打结	脐带绕颈	循环障碍
胎儿窘迫组	38	28.89±2.45	23.47±1.12	9(23.68)	2(5.26)	8(21.05)	18(47.37)
正常组	64	28.66±2.02	23.10±1.09	8(12.50)	1(1.56)	6(9.38)	22(34.38)
χ ² /t值		0.513	1.641	2.147	1.144	2.746	1.689
P值		0.609	0.104	0.143	0.285	0.098	0.194

2.2 两组血液流变学指标比较

胎儿窘迫组的血浆黏度、全血高切黏度、全血低切黏度、红细胞沉降率均高于正常组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

2.3 两组动脉血流参数比较

胎儿窘迫组的脐动脉和肾动脉的阻力指数、

搏动指数均高于正常组,大脑中动脉阻力指数及搏动指数均低于正常组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

2.4 两组血清 HIF-1α、ACTA 水平比较

胎儿窘迫组的血清 HIF-1α、ACTA 水平均高于正常组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表4。

表2 两组血液流变学指标比较 (x̄±s)

组别	n	血浆黏度(mPa·s)	全血高切黏度(mPa·s)	全血低切黏度(mPa·s)	红细胞沉降率(mm/h)
胎儿窘迫组	38	1.66±0.31	8.44±0.45	6.99±1.56	58.22±2.46
正常组	64	1.44±0.23	7.78±0.51	5.56±1.23	51.02±4.15
t值		4.093	6.595	5.129	9.718
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 两组动脉血流参数比较 (x̄±s)

组别	n	脐动脉阻力指数	脐动脉搏动指数	大脑中动脉阻力指数	大脑中动脉搏动指数	肾动脉阻力指数	肾动脉搏动指数
胎儿窘迫组	38	0.77±0.11	1.16±0.15	0.73±0.09	1.08±0.15	0.98±0.08	1.88±0.23
正常组	64	0.61±0.13	0.82±0.21	0.81±0.05	1.33±0.24	0.80±0.11	1.55±0.22
t值		6.353	8.737	-5.777	-5.780	8.793	7.202
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表4 两组血清 HIF-1α、ACTA 水平比较 (x̄±s)

组别	n	HIF-1α(pg/L)	ACTA(ng/mL)
胎儿窘迫组	38	103.44±10.12	33.15±1.98
正常组	64	82.12±8.15	28.12±2.12
t值		11.658	11.869
P值		<0.001	<0.001

2.5 影响胎儿窘迫发生的多因素分析

根据上述分析结果,以是否发生胎儿窘迫为因变量(发生=1,未发生=0),对存在差异的指标进

行多因素 logistic 回归分析,各指标均为实测值。见表5。

2.6 胎儿窘迫预测模型的效能分析

根据上述多因素分析结果,将各指标纳入逻辑分析中,建立胎儿窘迫预测模型,方程如下:logit(P)=3.127×血浆黏度+3.520×全血高切黏度+0.942×全血低切黏度+0.789×红细胞沉降率+10.583×脐动脉阻力指数+12.354×脐动脉搏动指数-29.175×大脑中动脉阻力指数-8.558×大脑中动脉搏动指数

表5 影响胎儿窘迫发生的多因素分析

因素	β值	SE值	Wald值	P值	OR值	95% CI	
						下限	上限
血浆黏度	3.127	1.217	6.600	0.010	22.815	2.099	248.006
全血高切黏度	3.520	0.863	16.642	0.001	33.789	6.227	183.347
全血低切黏度	0.942	0.261	13.043	0.001	2.564	1.538	4.274
红细胞沉降率	0.789	0.249	10.045	0.002	2.202	1.351	3.587
脐动脉阻力指数	10.583	4.361	5.889	0.015	34.473	7.656	36.992
脐动脉搏动指数	12.354	3.981	9.629	0.002	22.753	4.724	77.954
大脑中动脉阻力指数	-29.175	10.506	7.712	0.005	2.154	0.158	5.498
大脑中动脉搏动指数	-8.558	3.930	4.742	0.029	3.111	1.021	4.425
肾动脉阻力指数	21.130	6.847	9.525	0.002	32.576	32.308	62.000
肾动脉搏动指数	9.771	3.326	8.627	0.003	27.633	25.812	99.527
HIF-1α	0.402	0.168	5.760	0.016	1.495	1.077	2.077
ACTA	1.592	0.589	7.312	0.007	4.915	1.550	15.585

+21.130×肾动脉阻力指数+9.771×肾动脉搏动指数+0.402×HIF-1 α +1.592×ACTA-168.418。经ROC曲线分析,可知该模型对胎儿窘迫的预测AUC值为0.896(95%CI:0.834-0.958),具有较高的预测价值。

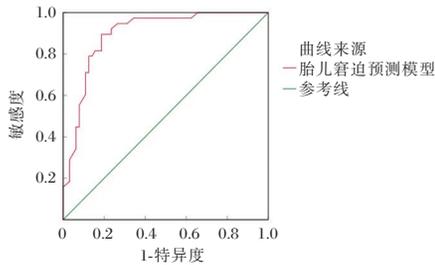


图1 胎儿窘迫预测模型的ROC曲线分析

3 讨论

羊水过少合并胎儿窘迫是引发不良妊娠结局及新生儿智力障碍的风险因素^[7]。当前,羊水检测与胎心监护虽为主要评估手段,但存在假阳性和滞后性,亟需更高效、精准的检测方法^[8]。本研究分析了羊水过少合并胎儿窘迫孕妇的超声血流特征及血清HIF-1 α 、ACTA水平,旨在为临床提供新的评估途径。

本研究发现,胎儿窘迫孕妇的血液流变学指标血浆黏度、全血高切黏度、全血低切黏度及红细胞沉降率显著升高。这些变化会加剧微循环阻力,影响胎盘血液灌注,增加胎儿窘迫风险。同时,胎儿窘迫组脐动脉阻力指数与搏动指数也显著高于正常组,表明脐动脉血流动力学异常与胎儿窘迫紧密相关。而胎儿窘迫组大脑中动脉阻力指数与搏动指数则显著降低,反映了胎儿在窘迫时脑供血优先的生理调节。此外,肾动脉阻力指数与搏动指数的上升也提示了肾功能受损,进一步加重缺氧情况^[9]。

在血清学指标方面,胎儿窘迫组HIF-1 α 与ACTA水平均显著高于正常组。HIF-1 α 的过度激活会诱发炎症反应及功能障碍,增加胎儿窘迫风险;而ACTA水平的异常升高则加剧了炎症级联反应,导致组织损伤加重。这些变化均反映了胎儿对宫内不良环境的强烈应激反应^[10-11]。

进一步经多因素分析,本研究建立了胎儿窘迫预测模型,该模型涵盖了超声血流参数、血清学标志物等多个层面,预测AUC值高达0.896,具有较高的预测价值。这表明所选指标与羊水过少合并胎儿窘迫密切相关,羊水量的减少加剧了胎儿宫内缺氧状态,导致胎儿-胎盘单位灌注不足,进而

引发血流阻力上升、血液循环障碍及血液流变学特性改变。机体为适应这些改变而代偿性生成ACTA,同时HIF-1 α 消耗增加^[12-13]。

尽管本研究为临床评估胎儿窘迫风险提供了有力依据,但仍存在样本来源单一、生化指标易受个体因素影响等不足。未来,将进一步扩大样本量、优化研究方法,以更深入地探讨羊水过少合并胎儿窘迫的发病机制及评估手段^[14-15]。

综上所述,羊水过少合并胎儿窘迫孕妇在超声血流及血清HIF-1 α 、ACTA水平方面表现出明显异常。通过综合分析这些指标,有助于早期识别和预测羊水过少合并胎儿窘迫的风险,为临床干预提供及时、准确的指导。

参考文献

- [1] Whelan AR, Rasiah SS, Lewkowitz AK, et al. Delivery Mode among Patients with Oligohydramnios with or without Fetal Growth Restriction by Induction Method[J]. Am J Perinatol, 2023,40(7):697-703.
- [2] 张社玲,熊利敏,王华. 妊娠期念珠菌性阴道炎的孕期检测在早产预测中的价值[J]. 感染、炎症、修复, 2024,25(2):114-118.
- [3] 范静,李俊俊,方素杰. 孕期群组化健康教育模式对初产妇孕期健康行为、分娩方式及母婴结局的影响[J]. 保健医学研究与实践, 2024,21(1):107-111
- [4] Labastida-García D, Díaz-Gabriel G, López-Díaz F, et al. Lactate and pH values in newborns with a history of acute fetal distress. Valores de lactato y pH en recién nacidos con antecedente de sufrimiento fetal agudo[J]. Bol Med Hosp Infant Mex, 2023,80(4):247-252.
- [5] 郭荣增,杨忠旭,崔丽华,等. 胚胎发育不良性神经上皮肿瘤的外科治疗[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2018,17(3):212-215.
- [6] 曹泽毅. 中华妇产科学. 上册[M]. 北京,人民卫生出版社, 2014:222-224.
- [7] 路炜,牛占杰,孟腾腾,等. 多普勒超声联合血清FE3、ACTA预测孕妇羊水过少并胎儿窘迫[J]. 影像科学与光化学, 2022,40(1):38-42.
- [8] Barber CV, Yo JH, Rahman RA, et al. Activin A and pathologies of pregnancy: a review[J]. Placenta, 2023,136(8):35-41.
- [9] 吕彦兴,胡兰秋,施晓萍,等. 新生儿感染发生的危险因素分析及血清PCT、IL-6和CRP与新生儿感染的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024,16(10):1918-1922.
- [10] Lees CC, Romero R, Stampalija T, et al. Clinical Opinion: The diagnosis and management of suspected fetal growth restriction: an evidence-based approach[J]. Am J Obstet Gynecol, 2022,226(3):366-378.
- [11] 钟惠,赵静,何丽娜,等. 孕中期羊水过少胎儿动脉血流参数对胎儿窘迫的预测价值[J]. 医疗卫生装备, 2024,45(5):60-66.

血清 Egr-1、BACE1 对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能

程颖¹ 郝伟红^{2*} 柳敏¹ 景素敬¹ 郎元法¹

[摘要] **目的** 探讨血清早期生长反应因子1(Egr-1)、淀粉样前体蛋白 β 位点裂解酶1(BACE1)对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能。**方法** 选择2021年1月至2023年3月邯郸市第二医院收治的120例青春前期癫痫患儿作为研究对象,并根据患儿减停药后是否出现复发情况分为复发组($n=25$)与非复发组($n=95$)。比较两组一般资料及血清Egr-1、BACE1水平,采用受试者工作特性曲线(ROC)评估血清Egr-1、BACE1对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能,采用多因素logistic回归分析影响青春前期癫痫患儿减停药后复发的危险因素。**结果** 复发组病程、发作次数、减停药前存在IEDs占比、减停药速度 <6 个月占比、减停药后IEDs指数均高于非复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。复发组血清Egr-1、BACE1水平明显高于非复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC曲线分析显示,血清Egr-1、BACE1及Egr-1联合BACE1预测青春前期癫痫患儿减停药后复发曲线下面积(AUC)(95%CI)分别为0.839、0.865。多因素分析显示,减停药前存在IEDs、减停药速度 <6 个月、减停药后IEDs指数及血清Egr-1、BACE1均为影响青春前期癫痫患儿减停药后复发的因素($P<0.05$)。**结论** 血清Egr-1、BACE1水平异常升高与青春前期癫痫患儿减停药后复发密切相关,且均对患儿减停药后复发有较高的预测效能,联合检测还能在一定程度上提升患儿减停药后复发的预测效能。

[关键词] 青春前期; 癫痫; 早期生长反应因子1; 淀粉样前体蛋白 β 位点裂解酶1; 减停药

Efficacy of serum Egr-1 and BACE1 in predicting relapses after drug withdrawal in children with preadolescent epilepsy

CHENG Ying¹, HAO Weihong^{2*}, LIU Min¹, JING Sujing¹, LANG Yuanfa¹

(1. Department of Pediatrics, Handan Second Hospital, Handan, Hebei, China, 056000; 2. The Second Ward of Pediatrics, Handan Central Hospital, Handan, Hebei, China, 056000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the predictive efficacy of serum early growth response factor 1 (Egr-1) and amyloid precursor protein β site lyase 1 (BACE1) on relapses after drug withdrawal in children with preadolescent epilepsy. **Methods** 120 children with preadolescent epilepsy were admitted to our hospital from January 2021 to March 2023 were selected as the study subjects. They were divided into two groups: the relapse group ($n=25$) and the non-relapse group ($n=95$) based on whether they experienced relapse after drug withdrawal. Serum levels of Egr-1 and BACE1 were measured in all subjects upon admission. General data and serum levels of Egr-1 and BACE1 were compared among the groups. The predictive value of serum Egr-1 and BACE1 for relapses after drug withdrawal in children with preadolescent epilepsy was evaluated using ROC analysis. Risk factors for relapsing after drug withdrawal in children with preadolescent epilepsy were analyzed using multivariate logistic regression. **Results** The duration of disease, number of attacks, proportion of IEDs before drug withdrawal, proportion of drug withdrawal speed <6 months, and IEDs index after drug withdrawal in the relapsing group were higher than those in the non-relapsing group ($P<0.05$). Serum Egr-1 and BACE1 levels in the relapsed group were higher than those in the non-relapsed group ($P<0.05$). The area under the curve

基金项目:河北中医药管理局科研计划项目(2023469)

作者单位:1. 邯郸市第二医院儿科,河北,邯郸 056000

2. 邯郸市中心医院儿科二病区,河北,邯郸 056000

*通信作者:郝伟红, E-mail:437238904@qq.com

(AUC) (95%CI) of serum Egr-1, BACE1 and Egr-1 combined with BACE1 were 0.839, 0.865 and 0.907, respectively. Multivariate analysis showed that IEDs existed before drug withdrawal, the rate of drug withdrawal was <6 months, and the IEDs index after drug withdrawal, serum Egr-1 and BACE1 were the factors that affected the relapse of children with preadolescent epilepsy after drug withdrawal ($P<0.05$). **Conclusion** The abnormal increase in serum Egr-1 and BACE1 levels is closely related to relapses after drug withdrawal in children with preadolescent epilepsy and has a high predictive efficacy for relapses after drug withdrawal in children. However, combining detection can also improve the predictive efficacy of relapses after drug withdrawal in children to a certain extent

[KEY WORDS] Early adolescence; Egr-1; BACE1; Reducing and stopping drugs

癫痫是儿童常见的神经系统疾病,发病后因脑神经元异常放电可损伤大脑神经元功能,导致患儿运动功能、智力发育受到一定影响^[1-2]。抗癫痫药物是目前常用的治疗方法,虽经过规范治疗后有效控制发作可改善预后,但减停药后存在较高的复发风险,而一旦复发将给家庭带来严重的经济负担^[3]。因此,早期预测癫痫患儿减停药后的复发并采取适当防治措施,对改善预后具有重要的意义。早期生长反应因子1(early growth response1, Egr1)作为核转录因子,具有调节细胞生长、分化等作用。既往研究报道,脑卒中后抑郁症失眠患者血清 Egr1 表达水平均显著升高,且与失眠严重程度呈正相关^[4]。淀粉样前体蛋白 β 位点裂解酶1(β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1, BACE1)是一种天冬氨酸蛋白酶,既往研究报道,BACE1在高脂饮食小鼠中表达量以及酶活升高,可能参与糖尿病合并认知障碍病理过程^[5]。本研究拟探讨血清 Egr-1、BACE1对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2021年1月至2023年3月邯郸市第二医院收治的120例青春前期癫痫患儿作为研究对象,男、女分别66例、54例;年龄9~14岁,平均(11.22±0.87)岁。纳入标准:①均符合癫痫诊断标准^[6];②受试患儿监护人均已签署同意书;③均接受正规抗癫痫药物治疗;④减停药前为初次发病;⑤年龄处于青春前期(9~14岁)^[7]。排除标准:①症状性等其他类型癫痫者;②合并遗传代谢性疾病者;③伴中枢神经系统进行性疾病或占位性病变者;④伴有内分泌疾病、急慢性感染性疾病、自身免疫性疾病及恶性肿瘤疾病者;⑤重要脏器功能障碍者;⑥需接受外科手术干预者;⑦患病前伴有认知

功能障碍;⑧既往精神病史者;⑨临床相关数据收集不完整者;⑩参与其他研究调查者。本研究已获医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集年龄、性别、病程、家族史、无发作时间、发作次数、发作类型、头颅磁共振异常、减停药前存在发作间期癫痫样放电(interictal epileptiform discharges, IEDs)、减停药速度<6个月、减停药后 IEDs 指数等。

1.2.2 血清 Egr-1、BACE1 检测

抽取所有纳入对象初次入院时空腹外周静脉血2 mL送检,室温下以3 000 r/min(离心半径10 cm)离心10min,取上清液后采用酶联免疫吸附试验检测 Egr-1、BACE1 水平。试剂盒及相关仪器均来自美国 Beckman Coulter 公司,具体步骤按照说明书操作。

1.2.3 分组

减停药阶段定期接受脑电图监测,出现异常癫痫波者,可根据异常放电范围、强度等暂停或继续减停药,直至完全停药,其中将减停药后再次出现1次临床癫痫发作者判断为复发^[8]。120例青春前期癫痫患儿减停药后进行为期1年的随访,随访时间截至2024年3月,根据随访期间是否出现复发情况分为复发组($n=25$)与非复发组($n=95$)。

1.3 统计学分析

运用 SPSS 24.0 统计学软件处理数据,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;采用受试者工作特性曲线(ROC)评估血清 Egr-1、BACE1 对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能,采用多因素 logistic 回归分析影响青春前期癫痫患儿减停药后复发的危险因素。 $P<0.05$ 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、性别、家族史占比、无发作时间、发作类型、头颅磁共振异常占比比较差异均无统计学意义($P>0.05$);复发组患儿病程、发作次数、减停药前存在 IEDs 占比、减停药速度 <6 个月占比、减停药后 IEDs 指数均高于非复发组,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	复发组 ($n=25$)	未复发组 ($n=95$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	11.16±0.85	11.23±0.90	-0.350	0.727
性别			0.319	0.575
男	15(60.00)	51(53.68)		
女	10(40.00)	44(46.32)		
病程(年)	5.61±1.35	4.68±1.20	3.358	0.001
家族史	5(20.00)	16(16.84)	0.137	0.712
无发作时间(年)	4.02±0.85	3.95±0.82	0.377	0.707
发作次数(次)	5.58±1.01	4.65±0.87	4.596	<0.001
发作类型			0.170	0.680
局灶性发作	12(48.00)	50(52.63)		
全面性发作	13(52.00)	45(47.37)		
头颅磁共振异常	16(64.00)	49(51.58)	1.230	0.267
减停药前存在 IEDs	11(44.00)	22(23.16)	4.312	0.038
减停药速度 <6 个月	12(48.00)	21(22.11)	6.656	0.010
减停药后 IEDs 指数(%)	62.54±8.65	36.63±5.11	19.206	<0.001

2.2 两组血清 Egr-1、BACE1 水平比较

复发组血清 Egr-1、BACE1 水平明显高于非复发组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组血清 Egr-1、BACE1 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Egr-1(pg/mL)	BACE1(ng/mL)
复发组	25	3.05±0.55	5.85±1.19
未复发组	95	1.14±0.16	3.25±0.66
t 值		29.688	10.486
P 值		<0.001	<0.001

2.3 血清 Egr-1、BACE1 对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能

ROC 曲线分显示,血清 Egr-1、BACE1 及 Egr-1 联合 BACE1 预测青春前期癫痫患儿减停药后复发曲线下面积(AUC)为0.907。见表3、图1。

表3 血清 Egr-1、BACE1 对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测效能

指标	AUC 值	95% CI	截断值	灵敏度	特异度
Egr-1	0.839	0.789~0.889	2.52 pg/mL	0.909	0.602
BACE1	0.865	0.815~0.915	4.66 ng/mL	0.909	0.660
Egr-1 联合 BACE1	0.907	0.587~0.957		0.880	0.851

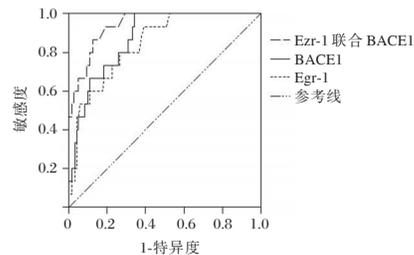


图1 血清 Egr-1、BACE1 对青春前期癫痫患儿减停药后复发的预测 ROC 曲线

2.4 青春前期癫痫患儿减停药后复发的多因素分析

以青春前期癫痫患儿减停药后是否复发作作为因变量(复发组=1,未复发组=0),以减停药前存在 IEDs、减停药速度 <6 个月、减停药后 IEDs 指数及血清 Egr-1、BACE1 作为自变量经二分类 Logistic 逐步回归分析,结果显示,减停药前存在 IEDs、减停药速度 <6 个月、减停药后 IEDs 指数及血清 Egr-1、BACE1 均为影响青春前期癫痫患儿减停药后复发的因素($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

癫痫常发于儿童和青少年群体,且发病后30%~40%伴有认知功能损害。近年来,随着新型抗癫痫药物的广泛应用,约70%癫痫患儿病情得到明显控制,但仍有10%~65%患儿减停药后会复发^[9]。因此,如何早期预测患儿减停药后复发是目前研究重点。

Egr-1 作为即刻早期基因家族成员,参与细胞生长、增殖及凋亡等多种生理过程^[10]。涂艳等^[11]研究报道,血清 Egr-1 异常升高可诱导炎症介质释放,是老年缺血性脑卒中血管性痴呆发生的危险因素。本研究结果显示,复发组血清 Egr-1 水平明显高于非复发组,提示血清 Egr-1 升高可能与患儿减停药后复发发生有关。ROC 曲线结果提示血

表4 青春前期癫痫患儿减停药后复发的多因素 logistics 回归分析

变量	赋值	β 值	$S.E$ 值	Wald χ^2 值	OR(95% CI)	P 值
减停药前存在 IEDs	否=0,是=1	0.668	0.144	21.519	1.950(1.471~2.586)	<0.001
减停药速度 <6 个月	≥ 6 个月=0, <6 个月=1	0.988	0.204	23.456	2.686(1.801~4.006)	<0.001
减停药后 IEDs 指数	均值: $\leq 44.25\%$ =0, $>44.25\%$ =1	1.058	0.233	20.619	2.881(1.825~4.548)	<0.001
Egr-1	≤ 2.52 pg/mL=0, >2.52 pg/mL=1	1.325	0.316	17.582	3.762(2.025~6.989)	<0.001
BACE1	≤ 4.66 ng/mL=0, >4.66 ng/mL=1	1.447	0.341	18.006	4.250(2.179~8.293)	<0.001

清 Egr-1 对患儿减停药后复发具有良好的预测效能。进一步分析显示,血清 Egr-1 为影响青春前期癫痫患儿减停药后复发的因素,证实血清 Egr-1 与患儿减停药后复发有关,可作为有效的诊断指标,与陈桦等^[12]研究结论一致。癫痫发病机制复杂,与神经递质失衡、离子通道、神经胶质细胞、遗传及免疫的异常有着密切的关系^[13]。Egr-1 在神经生长因子的调控下表达升高,参与神经细胞损伤修复;另外,Egr-1 上调可加重 AChE 基因表达激活和细胞凋亡,导致神经元缺失和加速 A β 沉积等现象,而 A β 聚集和沉积可影响中枢细胞微环境,出现兴奋性与抑制性神经递质及受体失衡,从而导致大脑神经元异常放电,诱发癫痫发作。

BACE1 作为重要限速酶,在 β 淀粉样前体蛋白生成中起重要作用^[14]。既往研究表明,抑制 BACE1 可阻断或降低 A β 产生,从而控制阿尔茨海默病病情进展^[15]。本研究发现,复发组血清 BACE1 水平高于非复发组,血清 BACE1 预测青春前期癫痫患儿减停药后复发 AUC 为 0.865,说明血清 BACE1 可有效预测减停药后复发发生。进一步研究分析显示,血清 BACE1 为影响青春前期癫痫患儿减停药后复发的因素,证实血清 BACE1 升高与患儿减停药后复发有关。BACE1 升高可大量生成 A β ,引起神经元兴奋性增高,引发兴奋性与抑制性神经能信号不平衡,诱发癫痫复发^[16]。另外 ROC 曲线分析显示,血清 Egr-1 联合 BACE1 预测青春前期癫痫患儿减停药后复发 AUC 为 0.907,高于单一指标,说明联合应用有利于预测减停药后的复发,可为临床及时采取积极有效的治疗干预措施提供指导。

综上所述,血清 Egr-1、BACE 水平异常升高与青春前期癫痫患儿减停药后复发密切相关,且均对患儿减停药后复发有较高的预测效能,联合检测还能在一定程度上提升患儿减停药后复发的预测效能。

参考文献

- [1] 张陆娟. 神经内科癫痫病的临床诊断及治疗效果探讨[J]. 保健医学研究与实践, 2022, 19(s2):128-129.
- [2] 柳敏,程颖,景素敬,等. 丙戊酸钠辅助治疗小儿癫痫临床疗效及血清 NSE、Hcy 与 T 细胞 17 水平变化分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(2):212-215.
- [3] 沈雁文. 钠通道与婴儿严重肌阵挛癫痫的研究进展[J]. 感染、炎症、修复, 2021, 22(4):250-254.
- [4] 马彦爱,张娜娜,孙岩. 脑卒中后抑郁症失眠患者血清 EGR1 和 PTEN 水平与失眠程度的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2024, 45(15):1897-1901.
- [5] 梁婷. BACE1 抑制剂改善 HFD 小鼠的糖尿病相关表型以及认知损伤的研究[D]. 北京:中国科学技术大学, 2023.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑电图与癫痫学组. 国际抗癫痫联盟痫性发作新分类中国专家解读[J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(11):977-980.
- [7] Tienhaara E, Falck AAK, Pokka TM, et al. The natural history of emerging diabetic retinopathy and microalbuminuria from prepuberty to early adulthood in Type 1 diabetes: A 19-year prospective clinical follow-up study [J]. Diabet Med, 2022, 39(1): e14732.
- [8] 鲁方方,崔伟伟,曹苗苗. 癫痫缓解期患儿减停药后复发的相关因素分析[J]. 中国中西医结合儿科学, 2021, 13(2): 155-157.
- [9] 程渊博,任树萍,张艳良,等. 视频脑电图对癫痫患儿减停药后复发预测价值研究[J]. 临床军医杂志, 2022, 50(2): 196-198.
- [10] Shimoyukoku Y, Nguyen PT, Ishihata K, et al. Role of early growth response-1 as a tumor suppressor in oral squamous cell carcinoma[J]. Discov Oncol, 2024, 15(1):714.
- [11] 涂艳,王丽平. 老年缺血性脑卒中患者血清 Egr-1、Neuregulin 1 表达水平对血管性痴呆的预测效能[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(19):2385-2389.
- [12] 陈桦,陈旺. 2 型糖尿病视网膜病变患者血清 ZAG、Egr-1、CMKLR1 水平与糖脂代谢和胰岛素抵抗的关系及其影响因素[J]. 海南医学, 2022, 33(2):147-150.
- [13] 范玲,吕晓东. 丙戊酸钠缓释片联合托吡酯治疗难治性癫痫临床疗效观察[J]. 感染、炎症、修复, 2020, 21(2):113-114.
- [14] Zhou J, Singh N, Galske J, et al. BACE1 regulates expression of Clusterin in astrocytes for enhancing clearance of β -amyloid peptides[J]. Mol Neurodegener, 2023, 18(1):31.
- [15] Dungan CM, Valentino T, Vechetti IJ Jr, et al. Exercise-mediated alteration of hippocampal Dicer mRNA and miRNAs is associated with lower BACE1 gene expression and A β 1-42 in female 3xTg-AD mice [J]. J Neurophysiol, 2020, 124(6): 1571-1577.
- [16] 王潇亮,熊剑. 乙醛脱氢酶 2 在高糖诱导神经元损伤中的作用[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(2): 7-12.
- [12] 张娜,颜梅珍,王元白,等. 高龄孕妇羊水染色体核型分析及拷贝数变异分析[J]. 西南医科大学学报, 2021, 44(2):144-149.
- [13] 熊俊,胡伟,李惠兰,等. 胎儿生长受限发生因素分析及其列线图预测模型的建立 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2022, 30(12): 2203-2209.
- [14] 杨俊娟,王媛媛,尹韶华,等. 早发型胎儿生长受限合并血流异常对围产结局的影响[J]. 实用妇产科杂志, 2022, 38(7):535-539.
- [15] 田刘曼,姬荣伟,王莹莹,等. 早发型胎儿生长受限合并血流异常对围产结局的影响[J]. 海南医学, 2023, 34(18):2608-2611.

(上接第 653 页)

辐射产生的外泌体对 Huh-7 肿瘤细胞免疫微环境的影响

李毅¹ 徐飞¹ 陆瑶² 许明珠¹ 徐秋颖^{1*} 索丽华³ 程渝⁴ 叶璐⁵

[摘要] **目的** 研究所制备的外泌体对肿瘤来源细胞的组织传递和抗增殖作用。**方法** 在37°C、5%二氧化碳、含10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的DMEM中培养HuH-7细胞系。首先,通过0.22 μm过滤器和超离心法分离外泌体。随后,将Cas9和sgRNA质粒转染到HuH-7细胞中,并收集基因组DNA进行T7E1检测,以评估基因编辑效率。通过齐塔电位分析仪、电子显微镜和蛋白印迹技术分析工程外泌体的表征。电穿孔法将sRNA质粒导入外泌体后,采用did标记的外泌体评估细胞摄取情况。采用细胞活力和细胞凋亡试验检测其抗肿瘤活性,采用免疫印迹法检测细胞凋亡标志物。**结果** HuH-7细胞中HN3LC9-293exo和C9HuH-7exo的荧光信号无差异,而LC9-293exo的荧光信号较低。C9HuH-7exo和HN3LC9-293exo均比LC9-293表现出更好的内化性。CCK-8检测结果显示,HN3LC9-293exo的抗增殖作用强于C9HuH-7exo($P < 0.05$)。电穿孔的HN3LC9-293exo和C9HuH-7exo进行sRNA传递评估,C9HuH-7exo的摄取效率最高($P < 0.05$)。经sRNA负载的外泌体处理后,BAX和Caspase 3显著上调,BCL2显著下调。**结论** HN3LC9-293exo可通过sRNA传递到HuH-7细胞肿瘤微环境中,诱导细胞凋亡,使CRISPR/Cas9基因治疗具有临床意义。

[关键词] 肝细胞癌; 外泌体; Huh-7细胞; 抗增殖作用

Effects of radiation-produced exosomes on the immune microenvironment of Huh-7 tumor cells

LI Yi¹, XU Fei¹, LU Yao², XU Mingzhu¹, XU Qiuying^{1*}, SUO Lihua³, CHEN Yu⁴, YE Lu⁵

(1. Sichuan Nursing Vocational College, Chengdu, Sichuan, China, 610100; 2. Emergency Department of the Fourth People's Hospital of Zigong City, Zigong, Sichuan, China, 643000; 3. Department of Nursing, Third People's Hospital of Chengdu City, Chengdu, Sichuan, China, 610000; 4. Department of Medical Affairs, Second People's Hospital of Chengdu City, Chengdu, Sichuan, China, 610000; 5. Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College (Nuclear Industry 416 Hospital), Chengdu, Sichuan, China, 610041)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the tissue delivery and anti-proliferative effects of engineered exosomes on tumor-derived cells. **Methods** HuH-7 cell lines were cultured in DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum and 1% penicillin/streptomycin at 37°C and 5% CO₂. Exosomes were initially isolated using a 0.22 μm filter and ultracentrifugation. Subsequently, Cas9 and sgRNA plasmids were transfected into HuH-7 cells, and genomic DNA was collected for T7E1 assay to evaluate gene editing efficiency. Engineered exosomes were characterized using zeta potential analyzer, electron microscopy, and Western blot. Following electroporation of sRNA plasmids into exosomes, cellular uptake was assessed using DiD-labeled exosomes. Anti-tumor activity was examined through cell viability and apoptosis assays, while apoptosis markers were detected via Western blot. **Results** No significant difference in fluorescence signals was observed between HN3LC9-293exo and

基金项目:四川护理职业学院自然科学基金资助课题(2022ZRZ09)

作者单位:1. 四川护理职业学院,四川,成都 610100

2. 自贡市第四人民医院急诊科,四川,自贡 643000

3. 成都市第三人民医院护理科,四川,成都 610000

4. 成都市第二人民医院医政科,四川,成都 610000

5. 成都医学院第二附属医院(核工业416医院)肿瘤科,四川,成都 610041

*通信作者:徐秋颖, E-mail: 929642336@qq.com

C9HuH-7exo in HuH-7 cells, while LC9-293exo showed lower fluorescence. Both C9HuH-7exo and HN3LC9-293exo demonstrated superior internalization compared to LC9-293. CCK-8 assay revealed that HN3LC9-293exo exhibited stronger anti-proliferative effects than C9HuH-7exo ($P < 0.05$). Evaluation of siRNA delivery using electroporated HN3LC9-293exo and C9HuH-7exo showed that C9HuH-7exo had the highest uptake efficiency ($P < 0.05$). Treatment with siRNA-loaded exosomes resulted in significant upregulation of BAX and Caspase 3, and downregulation of BCL2. **Conclusion** HN3LC9-293exo can deliver siRNA to the HuH-7 cell tumor microenvironment, inducing apoptosis and conferring clinical significance to CRISPR/Cas9 gene therapy.

[KEY WORDS] Hepatocellular carcinoma; Exosomes; Huh-7 cells; Antiproliferative effects

肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是全球第六大常见癌症和第三大致命疾病^[1-3]。HCC的免疫疗法受到广泛的关注,但其在临床研究中的治疗效果低于预期^[4]。这与HCC中存在的免疫抑制微环境有关,关于免疫抑制微环境的形成和调控机制仍存在诸多未知。外泌体作为细胞间通信的重要媒介,在癌症进展和治疗反应中扮演着关键角色。研究表明,癌症产生的外泌体在肿瘤微环境中发挥着多样化和关键的作用^[5]。外泌体及其组分不仅可作为治疗靶点和癌症预后指标,还可作为抗癌药物的载体。在放射治疗中,外泌体已被证明可影响肿瘤细胞的放射敏感性^[6-7]。本研究旨在探讨辐射诱导的外泌体对Huh-7肝癌细胞免疫微环境的影响,以及外泌体在HCC放射治疗耐药性中的作用。通过深入了解外泌体介导的细胞间通信在HCC进展和治疗反应中的作用,以期期为开发新的治疗策略提供理论基础。

1 方法

1.1 细胞培养

实验所用人肝癌细胞系HuH-7购自江阴贝博思生物科技有限公司(货号HB-8065)。细胞培养于含10%胎牛血清(FBS, 16000-044, Gibco)和1%青霉素/链霉素(15140-122, Gibco)的DMEM高糖培养基(12800-017, Gibco)中,置于37℃、5%CO₂、饱和湿度条件下进行培养。实验前,培养基经0.22 μm滤膜(SLGP033RB, Millipore)过滤除菌,胎牛血清通过超速离心(100,000×g, 16 h, 4℃, Optima L-100XP, Beckman Coulter)去除内源性外泌体。细胞传代过程中使用0.25%胰蛋白酶-EDTA(25200-056, Gibco)消化,每3~4天传代一次,保持细胞在对数生长期进行实验。

1.2 体外T7E1检测

使用jetPRIME多聚体将Cas9和sgRNA质粒瞬时转染到HuH-7细胞中。转染48 h后,使用多

源基因组DNA微型制备试剂盒(Axygen, USA)收集细胞的基因组DNA。T7内切酶I(T7E1, NEB, USA)是特异性引物扩增的sgRNA基因组靶区重新退火的PCR产物。采用Tanon-4200化学发光成像系统检测DNA,采用ImageJ软件定量条带强度。试验重复3次。

1.3 工程外泌体特征分析

从C9HuH-7、LC9-293和HN3LC9-293细胞中分离出外泌体并进行分析。对修饰的外泌体(C9HuH-7exo、LC9-293exo和HN3LC9-293exo)进行Zetasizer纳米ZS尺寸分布研究。使用转移电子显微镜检查外泌体的结构。采用免疫印迹法检测外泌体标记物(CD63、AcGFP融合蛋白和Cas9)。试验重复3次。

1.4 工程外泌体的标记和细胞摄取

在细胞处理前使用did标记外泌体。使用共聚焦显微镜和流式细胞术检测细胞对外泌体的摄取情况。利用流式细胞术和荧光显微镜比较HuH-7细胞对外泌体(GPC3、LO2和GPC3+)的摄取情况。利用霓虹电穿孔技术将siRNA质粒插入C9HuH-7exo和HN3LC9-293exo。

1.5 siRNA装载外泌体及摄取效率评估

利用电穿孔技术将特定的siRNA装载入C9HuH-7exo和HN3LC9-293exo中,并通过荧光显微镜和积分光密度分析比较包括LC9-293exo在内的三种外泌体被HuH-7细胞摄取的程度,以研究其作为潜在药物传递系统的效率。试验重复3次。

1.6 体外抗肿瘤活性测定

以siRNA质粒为基础,用C9HuH-7exo和HN3LC9-293exo处理HuH-7细胞。使用CCK-8试剂盒测量细胞活力。使用Annexin V-FITC/PI试剂盒检测几种外泌体制剂的细胞凋亡。试验重复3次。

1.7 Western Blot

使用不同的外泌体配方处理HuH-7细胞,提取总蛋白进行免疫印迹分析。检测凋亡标志物如BAX、

Caspase3和BCL2蛋白表达水平。试验重复3次。

1.8 统计学分析

采用SPSS 25进行统计学分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,多组间采用 F 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体比较

粒径分析显示,C9HuH-7exo、LC9-293exo和HN3LC9-293exo均呈现典型高斯分布,平均直径约200 nm。LC9-293exo在峰值处密度最高,而C9HuH-7exo与HN3LC9-293exo分布曲线高度重叠。荧光摄取实验证实,HuH-7细胞对C9HuH-7exo和HN3LC9-293exo的内化效率显著高于LC9-293exo($P < 0.05$),表明前两者具有更优的靶向性。见图1。

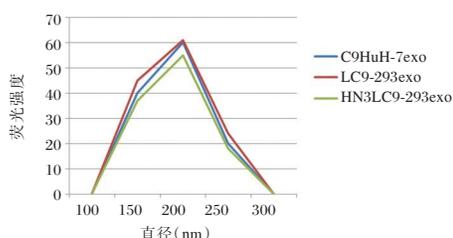


图1 外泌体粒径分布特征比较

2.2 抗增殖作用比较

CCK-8检测结果显示,C9HuH-7exo处理组的细胞活力最高($112.033 \pm 3.390\%$),与对照组比较差异有统计学意义($t = -5.818, P = 0.004$)。HN3LC9-293exo处理组细胞活力为($106.767 \pm 1.350\%$),同样与对照组比较差异有统计学意义($t = -6.584, P = 0.003$)。LC9-293exo处理组细胞活力为($102.400 \pm 0.830\%$),与对照组相比比较差异无统计学意义($t = -2.920, P = 0.062$)。见表1。

表1 各处理组24 h时细胞活力($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞活力(%)
对照组	100.000 \pm 1.160
C9HuH-7exo	112.033 \pm 3.390 ^a
LC9-293exo	102.400 \pm 0.830
HN3LC9-293exo	106.767 \pm 1.350 ^a
F 值	8.937
P 值	0.002

注:^a表示与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 Huh-7细胞摄取外泌体的效率比较

三种外泌体被HuH-7细胞摄取的程度结果显示,C9HuH-7exo表现出最高的积分光密度,约为 8×10^6 ;LC9-293exo次之,积分光密度约为 6.5×10^6 ;

HN3LC9-293exo最低,约为 2×10^6 。单因素方差分析结果表明,LC9-293exo与C9HuH-7exo相比,积分光密度显著降低($F = 8.36, P = 0.018$);HN3LC9-293exo与C9HuH-7exo和LC9-293exo相比,积分光密度均显著降低($F = 24.51, P < 0.001$)。见图2。

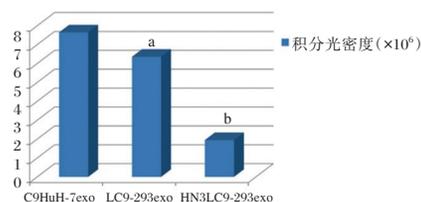


图2 三种外泌体被HuH-7细胞摄取效率的比较

注:^a表示与C9HuH-7exo相比 $P < 0.05$;^b表示与C9HuH-7exo相比 $P < 0.001$ 。数据以积分光密度($\times 10^6$)表示。

2.4 细胞凋亡比较

免疫印迹法检测显示,与C9HuH-7exo+siRNA组相比,HN3LC9-293exo+siRNA组的caspaspase3蛋白水平显著升高($t = 9.382, P < 0.001$),BCL2相关蛋白表达水平略有升高但比较差异无统计学意义($t = 1.453, P = 0.198$),而细胞周期相关蛋白2表达显著降低($t = 5.823, P = 0.004$)。见图3。

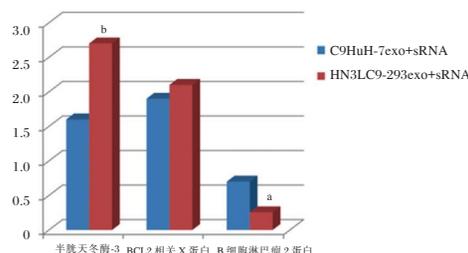


图3 细胞凋亡比较

注:^a表示与对照组相比 $P < 0.01$;^b表示与对照组相比 $P < 0.001$ 。

3 讨论

开发新型、高效、低毒的治疗策略成为当前肝癌研究的重点方向。外泌体作为细胞间通讯的重要介质,在肿瘤发生、发展和转移过程中扮演着关键角色。然而,不同来源的外泌体在功能和效果上可能存在显著差异,这也是本研究重点关注的问题。本研究探讨了不同来源外泌体在肝癌细胞中的作用,主要从外泌体比较、抗增殖作用、细胞摄取效率和细胞凋亡四个方面进行了分析。研究结果为肝细胞癌的治疗提供了新的思路和潜在靶点。

Jabbar等^[8]研究发现,肿瘤来源的外泌体更容易被同源肿瘤细胞摄取。本文研究发现,HN3LC9-293exo和C9HuH-7exo在HuH-7细胞中的荧光信号相似,且内在化程度均优于LC9-293exo,与上述

Jabbar 等^[8]研究相似。分析可能是由于肿瘤细胞分泌的外泌体表面存在特定的蛋白质和脂质,使其更易被靶细胞识别和摄取^[9]。本研究进一步证明了工程化的 HN3LC9-293exo 也具有与肿瘤来源外泌体相当的摄取效率,这为开发新型靶向递送系统提供了重要依据。这一发现具有重要意义,因为结果表明可以通过工程化手段使非肿瘤来源的外泌体获得与肿瘤来源外泌体相似的靶向能力。这不仅克服了使用肿瘤来源外泌体可能带来的安全隐患,还为大规模生产高质量、标准化的外泌体载体系统提供了可能性。

本文研究发现,HN3LC9-293exo 比 C9HuH-7exo 具有更强的抗增殖作用,与 Zhang 等^[10]研究相似。本文经过工程化修饰的外泌体可以增强其抗肿瘤效果。本研究推测,HN3LC9-293exo 可能携带了更多的抗增殖因子或 microRNAs,从而增强了其抗肿瘤活性。本研究表明,C9HuH-7exo 被 Huh-7 细胞最有效地吸收,结果与 Jin 等^[11]研究结果一致,其发现肿瘤来源的外泌体更容易被同源肿瘤细胞摄取。本研究还发现,HN3LC9-293exo 也表现出较高的摄取效率。这可能是由于 HN3LC9-293exo 表面修饰了特异性靶向分子,如叠氮酸抗体,增强了其与 GPC3+ 肝癌细胞的结合能力^[12]。这一发现为开发高效、靶向的外泌体递送系统提供了新的思路。本研究发现,负载 sRNA 的 HN3LC9-293exo 能有效诱导 Huh-7 细胞凋亡,凋亡率达 52.36%,结果高于单独使用 C9HuH-7exo 或 sRNA+HN3LC9-293exo 的处理效果,与 Hu 等^[13]的研究结果相似,其发现载有特定 miRNA 的工程化外泌体可显著增强肝癌细胞的凋亡。本研究进一步证实了这一点,并且通过 Western blot 检测到促凋亡标志物 BAX 和 caspase3 的升高以及抗凋亡蛋白 BCL2 的降低,为外泌体诱导凋亡的机制提供了分子水平的证据。这一发现不仅证实了外泌体作为基因治疗载体的潜力,还揭示了 sRNA 在肝癌治疗中的重要作用。sRNA 作为一类重要的表观遗传调控因子,可以通过调控基因表达影响细胞的多个生物学过程。在本研究中,本研究观察到 sRNA 载体化后能显著增强其诱导肝癌细胞凋亡的能力。这可能是由于外泌体提高了 sRNA 的细胞摄取效率,并保护其免受胞内酶的降解。

综上所述,本研究中使用的外泌体能够使用 sRNA 传递到癌症微环境中,并可以使基于

CRISPR/Cas9 的基因治疗对癌症有临床意义的管理。然而,仍需进一步研究来阐明 HN3LC9-293exo 的作用机制,并在动物模型中验证其治疗效果。未来,结合外泌体与其他治疗方法(如索拉非尼)的联合应用,可能会为肝癌患者带来更好的治疗效果^[14]。此外,探索外泌体在肝癌早期诊断中的应用^[15-16]也是一个值得关注的方向,这可能为肝癌的早期发现和治疗带来突破。

参考文献

- [1] Duan X, Li H, Wang M, et al. PSMC2/ITGA6 axis plays critical role in the development and progression of hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Discovery, 2021, 7(1): 217.
- [2] 潘健, 张晓锋, 李伟. ALBI 评分联合 FIB-4 指数对 HBV 相关肝细胞癌肝切除术后肝衰竭发生的预测价值[J]. 江苏医药, 2023, 49(12): 1227-1232.
- [3] 蔡晓霞, 陈翀. 超声造影在肝细胞癌手术患者中的诊断及应用价值研究[J]. 浙江创伤外科, 2023, 28(12): 2389-2392.
- [4] Osipov A, Saung M T, Zheng L, et al. Small molecule immunomodulation: the tumor microenvironment and overcoming immune escape [J]. Journal for ImmunoTherapy of Cancer, 2019, 7(1): 224.
- [5] 吕叶, 英叶霞, 杨文静, 等. DZNep 调控乳腺癌外泌体在肿瘤微环境中的作用[J]. 中国癌症杂志, 2022, 32(9): 9.
- [6] 肿瘤学. 食管鳞癌细胞外泌体 HMGB1 通过 PI3K/AKT/FOXO3A 信号通路影响放射敏感性的机制研究[D]. 2023.
- [7] He C, Ali DJ, Li Y, et al. Engineering of HN3 increases the tumor targeting specificity of exosomes and upgrade the anti-tumor effect of sorafenib on HuH-7 cells[J]. Peer J, 2020, 8: e9524.
- [8] Jabbari N, Akbariazar E, Feqhhi M, et al. Breast cancer-derived exosomes: Tumor progression and therapeutic agents [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(10): 6345-6356.
- [9] Paskeh MDA, Entezari M, Mirzaei S, et al. Emerging role of exosomes in cancer progression and tumor microenvironment remodeling[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 83.
- [10] Zhang M, Hu S, Liu L, et al. Engineered exosomes from different sources for cancer-targeted therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 124.
- [11] Qiao L, Hu S, Huang K, et al. Tumor cell-derived exosomes home to their cells of origin and can be used as Trojan horses to deliver cancer drugs[J]. Theranostics, 2020, 10(8): 3474-3487.
- [12] Raguraman R, Bhavsar D, Kim D, et al. Tumor-targeted exosomes for delivery of anticancer drugs [J]. Cancer Lett, 2023, 558: 216093.
- [13] Monjazez AM, Schalper KA, Villarroel-Espindola F, et al. Effects of Radiation on the Tumor Microenvironment [J]. Semin Radiat Oncol, 2020, 30(2): 145-157.
- [14] Hu X, Qiu Y, Zeng X, et al. Exosomes reveal the dual nature of radiotherapy in tumor immunology [J]. Cancer Sci, 2022, 113(4): 1105-1112.
- [15] Liu H, Li B. The functional role of exosome in hepatocellular carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 144(11): 2085-2095.
- [16] 李春飞, 刘艳坤, 李玉凤. 外泌体 circRNAs 在肝癌中的研究进展及临床应用价值[J]. 中华肝脏病杂志, 2022, 30(11): 1248-1252.

肺栓塞继发CTEPH患者MHR、NT-proBNP、RDW与病情严重程度及预后的关系

顾铭诚¹ 刘爱军² 王诚^{1*}

[摘要] 目的 探讨肺栓塞(PE)继发慢性血栓栓塞性肺高血压(CTEPH)患者血清单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值(MHR)、N末端B型利钠肽原(NT-proBNP)、红细胞分布宽度(RDW)水平与病情严重程度及预后的关系。方法 选取滨海县人民医院2022年3月至2024年3月纳入的92例PE继发CTEPH患者,据病情分为轻、中、重度组,分别为38、33、21例,另选取同期48名健康者为对照组。对比各组基线资料,采用Pearson相关性分析NT-proBNP、MHR、RDW水平与心功能指标和6MWD的关系;随访6个月,将92例患者分为预后不良组($n=27$)、预后良好组($n=65$),采用单因素、Logistic多因素分析患者预后的影响因素,评估NT-proBNP、MHR、RDW联合检测对预后的预测价值。结果 各组NT-proBNP、MHR、RDW、右房内径(RAD)、平均肺动脉压(mPAP)、心脏射血指数(CI)为:重度组>中度组>轻度组>对照组,右室射血分数(RVEF)、6分钟步行距离(6MWD)为:重度组<中度组<轻度组<对照组($P<0.05$)。PE继发CTEPH患者的NT-proBNP、MHR、RDW与RAD、mPAP、CI呈正相关,与RVEF、6MWD呈负相关($P<0.05$)。单因素及Logistic多因素分析显示,年龄、合并糖尿病占比、WHO心功能Ⅲ、Ⅳ级占比、MHR、RDW、RAD、NT-proBNP、mPAP、CI水平升高是PE继发CTEPH患者预后不良的危险因素,RVEF、6MWD水平升高是PE继发CTEPH患者预后不良的保护因素($P<0.05$)。NT-proBNP、MHR、RDW联合检测预测PE继发CTEPH患者预后不良的曲线下面积(AUC)为0.903,高于单一检测($P<0.05$)。结论 血清NT-proBNP、MHR及RDW水平升高与PE继发CTEPH患者的病情进展密切相关,三指标对预后具有显著的预测价值。

[关键词] 肺栓塞;慢性血栓栓塞性肺高血压;单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值;N末端B型利钠肽原;红细胞分布宽度

Relationship between MHR, NT-proBNP, RDW, severity and prognosis in patients with pulmonary embolism secondary CTEPH

GU Mingcheng¹, LIU Aijun², WANG Cheng^{1*}

(1. Department of Cardiovascular Medicine, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, China, 221000; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Binhai County People's Hospital, Yancheng, Jiangsu, China, 224599)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the expression levels of monocyte to high-density lipoprotein cholesterol ratio (MHR), N-terminal B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and red blood cell distribution width (RDW) in serum of patients with pulmonary embolism (PE) secondary chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) and their relationship with the severity of the disease and prognosis. **Methods** Ninety-two PE patients with secondary CTEPH were selected from Binhai County People's Hospital from March 2022 to March 2024. They were divided into mild, moderate and severe groups, consisting of 38, 33 and 21 cases, respectively. Additionally, 48 healthy subjects were selected as a control group during the same period. Baseline data for each group were compared, and Pearson correlation was used to analyze the relationship be-

基金项目:江苏省老年健康科研项目(KZ202200)

作者单位:1. 徐州医科大学附属医院心血管内科,江苏,徐州 221000

2. 滨海县人民医院心血管内科,江苏,盐城 224599

*通信作者:王诚, E-mail: wangcxz@163.com

tween NT-proBNP, MHR, RDW levels, and cardiac function indexes, and 6MWD. The patients were followed up for 6 months and divided into a poor prognosis group and a good prognosis group ($n=27, 65$). Univariate and multivariate logistic analyses were used to analyze the influencing factors of prognosis. The predictive value of the combined detection of NT-proBNP, MHR and RDW for prognosis was evaluated. **Results** NT-proBNP, MHR, RDW, right atrial internal diameter (RAD), mean pulmonary artery pressure (mPAP), and cardiac ejection index (CI) in each group were found to be in the following order: severe group > moderate group > mild group > control group, right ventricular ejection fraction (RVEF) and 6-minute walking distance (6MWD) were in the order of severe group < moderate group < mild group < control group ($P<0.05$). NT-proBNP, MHR, and RDW in PE secondary CTEPH were positively correlated with RAD, mPAP, and CI and negatively correlated with RVEF and 6 MWD ($P<0.05$). Univariate and logistic multivariate analysis showed that increased age, proportion of combined diabetes, proportion of WHO cardiac function III, IV, MHR, RDW, RAD, NT-proBNP, mPAP, and CI levels were risk factors for poor prognosis in PE patients with secondary CTEPH. Conversely, increased RVEF level and 6MWD were protective factors for poor prognosis in PE patients with secondary CTEPH ($P<0.05$). The area under the curve (AUC) of NT-proBNP, MHR and RDW combined detection in predicting poor prognosis for PE patients with secondary CTEPH was 0.903, which was higher than that of single detection ($P<0.05$). **Conclusion** Elevated serum levels of NT-proBNP, MHR, and RDW are closely related to the advancement of PE in patients with secondary CTEPH. These levels hold significant predictive value for both treatment outcomes and prognosis.

[KEY WORDS] PE; CTEPH; MHR; NT-proBNP; RDW

肺栓塞(pulmonary embolism, PE)是急性心血管疾病,常并发慢性血栓栓塞性肺高血压(chronic thromboembolic pulmonary hypertension, CTEPH),从而形成机化血栓,增加肺血管阻力,最终导致患者右心衰竭,因此早期评估CTEPH患者病情和预后具有重要意义^[1]。CTEPH发生及进展涵盖炎症反应、心脏功能变化及心肺压力负荷等因素。单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比值(monocyte to high-density lipoprotein cholesterol ratio, MHR)是种可体现机体炎症反应程度的标志物^[2]。N末端B型利钠肽原(n-terminal pro-b-type natriuretic peptide, NT-proBNP)是种由心肌细胞分泌的激素前体,能反映心脏功能和压力负荷^[3]。红细胞分布宽度(erythrocyte distribution width, RDW)常用于评估贫血和炎症状态^[4]。本研究探讨PE继发CTEPH患者病情及预后与血清NT-proBNP、MHR、RDW的关系,旨在为临床预测及治疗CTEPH提供新思路。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取滨海县人民医院2022年3月至2024年3月纳入的92例PE继发CTEPH患者,据NT-proBNP水平^[5]≤470 pg/mL、471~490 pg/mL、≥490 pg/mL分别分为轻、中、重度组($n=33, 33, 21$),另选取同期48名健康者为对照组。轻度组中男性、女性患者各为19例,平均年龄为(62.15±4.94)岁;中度组中

男性、女性患者分别为16例、17例,平均年龄为(61.95±5.27)岁;重度组中男性、女性患者分别为11例、10例,平均年龄为(63.41±5.30)岁;对照组中男性、女性患者分别为26例、22例,平均年龄为(60.68±4.54)岁。PE继发CTEPH患者纳入标准:①PE符合《肺血栓栓塞症诊治与预防指南》诊断标准^[6];②符合CTEPH诊断标准^[7];③临床资料完整;④无经皮肺动脉球囊成形术(balloon pulmonary angioplasty, BPA)禁忌症;⑤患者及家属知情且自愿签署知情同意书。排除标准:①合并恶性肿瘤;②合并急性心肌梗死;③因左心疾病等疾病导致的肺高压者;④合并凝血功能障碍者。本研究经滨海县人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

查阅医院电子病历,收集性别、年龄、合并糖尿病、WHO心功能分级等基线资料。

1.2.2 BPA治疗

所有患者予呼吸机,用1%利多卡因局部麻醉,通过股静脉置入7F-9F鞘管(碧迪医疗)及普通肝素(glaxo Wellcome)50 U/kg,建立轨道、抗凝,行血压、右心导管检查及造影,定位肺动脉狭窄部位。用直径0.014英寸导丝(ASAHI)至病变处,用直径1.2~5.0 mm冠状动脉球囊(acrostak)扩张狭窄处即完成BPA,球囊大小为瓣环直径1.0~1.2倍。术后监测患者血压、血氧饱和度等。

1.2.3 分组标准

随访6个月,据《经皮肺动脉球囊成形术治疗慢性血栓栓塞性肺动脉高压操作规程专家共识》^[8]行预后评估,将肺血流分级0~1级患者纳入预后不良组27例,2~3级纳入预后良好组65例。

1.3 观察指标

1.3.1 心功能指标、6分钟步行距离(6-minute walk distance, 6MWD)^[9]

患者治疗前和健康者入院时采用彩色多普勒超声心动图(edwards Lifesciences)检测右室射血分数(right ventricular ejection fraction, RVEF)、右房内径(right atrial dimension, RAD);采用右心导管检查技术检测平均肺动脉压(mean pulmonary artery pressure, mPAP)、心脏射血指数(cardiac index, CI),统计6MWD。

1.3.2 血清因子

患者治疗前和健康者入院时采集患者静脉血5 mL样本,设定转速为3 000 r/min,以12 cm离心半径进行10 min离心,获得上层清液。采用酶联免疫吸附法(四正柏生物)检测NT-proBNP,采用全自动血液分析仪(吉天仪器)检测单核细胞、RDW,采用全自动生化分析仪(吉天仪器)检测高密度脂蛋白胆固醇,据MHR=单核细胞计数($10^9/L$)/高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)公式计算MHR。

1.4 统计学方法

用SPSS 23.0统计学软件分析数据;符合正

态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 形式描述,行 χ^2 检验;用Pearson相关模型分析NT-proBNP、MHR、RDW与心功能指标和6MWD的相关性;用多因素Logistic回归分析PE继发CTEPH患者预后的影响因素;用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清NT-proBNP、MHR、RDW联合检测对PE继发CTEPH患者预后的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清因子、心功能指标、6MWD水平比较

各组NT-proBNP、MHR、RDW、RAD、mPAP、CI为:重度组>中度组>轻度组>对照组,RVEF、6MWD为:重度组<中度组<轻度组<对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 NT-proBNP、MHR、RDW与心功能指标和6MWD的相关性

NT-proBNP、MHR、RDW与RAD、mPAP、CI呈正相关,与RVEF、6MWD呈负相关($P < 0.05$)。见表2。

2.3 影响PE继发CTEPH患者预后情况单因素分析

预后不良组的年龄、NT-proBNP、合并糖尿病、WHO心功能III、IV级、MHR、RDW、RDW、RAD、mPAP、CI高于预后良好组,RVEF、6MWD低于预后良好组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表1 各组血清因子、心功能指标、6MWD水平比较($\bar{x} \pm s$)

指标	轻度组($n=38$)	中度组($n=33$)	重度组($n=21$)	对照组($n=48$)	F值	P值
MHR	0.38±0.09 ^a	0.47±0.14 ^{ab}	0.58±0.11 ^{abc}	0.28±0.08	16.472	<0.001
NT-proBNP(pg/mL)	467.25±27.58 ^a	482.24±27.22 ^{ab}	500.50±27.24 ^{abc}	424.67±27.24	17.472	<0.001
RDW(%)	15.19±2.24 ^a	17.97±2.39 ^{ab}	20.06±2.34 ^{abc}	12.21±2.21	25.201	<0.001
RVEF(%)	42.69±3.12 ^a	39.98±3.11 ^{ab}	36.67±3.06 ^{abc}	50.13±3.35	40.125	<0.001
RAD(mm)	42.46±3.15 ^a	46.33±3.24 ^{ab}	48.64±3.28 ^{abc}	35.78±3.32	37.439	<0.001
mPAP(mmHg)	22.39±3.21 ^a	26.33±3.33 ^{ab}	28.81±3.27 ^{abc}	17.32±3.42	27.066	<0.001
CI[L/(min·m ²)]	5.23±1.05 ^a	5.89±1.11 ^{ab}	6.72±1.05 ^{abc}	3.14±1.07	25.667	<0.001
6MWD(m)	289.31±10.32 ^a	283.42±10.35 ^{ab}	275.45±10.29 ^{abc}	325.43±10.23	58.435	<0.001

注:与对照组比较,^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2 NT-proBNP、MHR、RDW与心功能指标和6MWD的相关性

指标	MHR		NT-proBNP		RDW	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
RVEF	-0.314	<0.001	-0.244	0.004	-0.231	0.006
RAD	0.400	<0.001	0.188	0.026	0.187	0.027
mPAP	0.475	<0.001	0.230	0.006	0.249	0.003
CI	0.375	<0.001	0.221	0.009	0.260	0.002
6MWD	-0.541	<0.001	-0.229	0.006	-0.235	0.005

表3 影响PE继发CTEPH患者预后情况单因素分析
[n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

指标	预后不良组 (n=27)	预后良好组 (n=65)	t/ χ^2 值	P值
性别				
男	16(59.26)	37(56.92)	0.043	0.837
女	11(40.74)	28(43.08)		
年龄(岁)	66.54±3.26	60.79±3.33	7.587	<0.001
合并糖尿病				
有	11(40.74)	10(15.38)	5.257	0.022
无	16(59.26)	55(84.62)		
WHO 心功能分级				
I、II	12(44.44)	54(83.08)	14.043	<0.001
III、IV	15(55.56)	11(16.92)		
MHR	0.55±0.11	0.42±0.11	5.026	<0.001
NT-proBNP(pg/mL)	497.76±21.42	472.93±21.45	5.058	<0.001
RDW(%)	19.68±3.01	16.31±2.89	5.032	<0.001
RVEF(%)	38.64±3.68	41.05±2.68	3.505	<0.001
RAD(mm)	46.68±2.15	44.67±2.08	4.180	<0.001
mPAP(mmHg)	26.98±3.86	24.56±2.91	3.290	0.001
CI[L/(min·m ²)]	6.98±1.74	5.32±1.43	4.751	<0.001
6MWD(m)	261.58±10.11	293.36±9.06	14.805	<0.001

2.4 影响PE继发CTEPH患者预后情况多因素 Logistic 回归分析

以PE继发CTEPH为因变量,以年龄、NT-proBNP、合并糖尿病、WHO心功能III、IV级、MHR、RDW、RVEF、RAD、mPAP、CI、6MWD为自变量,多因素Logistic回归分析结果显示,年龄、合并糖尿病占比、WHO心功能III、IV级占比、MHR、RDW、RAD、NT-proBNP、mPAP、CI水平升高是PE继发CTEPH患者预后不良的危险因素,RVEF、6MWD水平升高是PE继发CTEPH患者预后不良

的保护因素($P<0.05$)。见表4。

2.3 NT-proBNP、MHR、RDW水平对PE继发CTEPH患者预后的预测效能

NT-proBNP、MHR、RDW联合检测预测PE继发CTEPH患者预后不良的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.903,高于单一检测($P<0.05$)。见表5,图1。

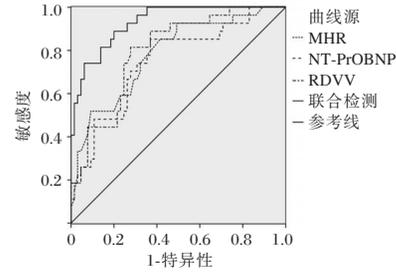


图1 ROC曲线

3 讨论

PE继发CTEPH患者常伴呼吸困难、咯血等症状,疾病进展至晚期时易导致多器官功能衰竭,增加死亡风险,通过早期预测、干预可减缓疾病进展,降低患者死亡率。随着PE继发CTEPH的分子生物学研究深化,发现炎症反应、心功能变化及心室负担标志物在其病程中起着关键作用^[10]。本研究结果显示,NT-proBNP、MHR、RDW水平上升与PE继发CTEPH患者病情加重相关,提示NT-proBNP、MHR、RDW有望成为预测PE继发CTEPH病情发展的生物标记物。

表4 影响PE继发CTEPH患者预后情况多因素 Logistic 回归分析

自变量	赋值	β 值	S.E值	Wald χ^2 值	OR值	95% CI	P值
年龄	连续变量	1.001	0.279	12.872	2.721	1.575~4.701	<0.001
合并糖尿病	0=无;1=有	0.812	0.297	7.475	2.252	1.258~4.031	<0.001
WHO心功能分级	0=I、II;1=III、IV	1.024	0.298	11.808	2.784	1.553~4.993	<0.001
MHR	连续变量	1.013	0.287	12.458	2.754	1.569~4.833	<0.001
NT-proBNP	连续变量	0.927	0.284	10.654	2.527	1.448~4.409	<0.001
RDW	连续变量	1.017	0.291	12.214	2.765	1.563~4.891	<0.001
RVEF	连续变量	-1.014	0.276	13.496	0.363	0.211~0.623	<0.001
RAD	连续变量	0.812	0.299	7.375	2.252	1.254~4.047	<0.001
mPAP	连续变量	0.794	0.278	8.157	2.212	1.283~3.815	<0.001
CI	连续变量	1.073	0.327	10.767	2.924	1.540~5.551	<0.001
6MWD	连续变量	-0.937	0.314	8.905	0.290	0.212~0.725	<0.001

表5 NT-proBNP、MHR、RDW水平对PE继发CTEPH患者预后的预测效能

检测变量	AUC	截断值	约登指数	敏感度	特异度	95% CI	P值
MHR	0.782	0.455	0.418	0.741	0.677	0.679~0.885	<0.001
NT-proBNP	0.750	480.56(pg/mL)	0.483	0.852	0.631	0.640~0.861	<0.001
RDW	0.796	17.475(%)	0.538	0.815	0.723	0.701~0.890	<0.001
联合检测	0.930		0.689	0.889	0.800	0.880~0.980	<0.001

因单核细胞参与炎症反应, MHR 在心血管疾病预测中具有重要作用; RDW 常用于预测缺血性卒中中等缺血性心血管疾病; NT-proBNP 水平升高则反映心脏功能受损^[11]。当 PE 继发 CTEPH 患者 MHR 水平升高时, 单核细胞会促进白细胞介素等炎症介质释放, 损伤血管内皮功能和红细胞膜, 导致红细胞异质性, 从而激活凝血系统, 形成血栓, 增加 RDW 水平, 进而导致患者微循环障碍, 影响心肺血流灌注, 引起组织缺氧, 加剧肺血管收缩反应, 影响心肌细胞能量代谢和功能, 最终导致肺动脉高压、右心室功能不全^[12]。当患者出现右心室功能不全时, 右心室心肌细胞为应对心脏负荷和血液回流受阻, 会发生肥大和重塑, 并发生氧化应激, 从而升高患者 NT-proBNP 水平, 使线粒体膜电位下降、内质网应激、钙离子稳态失调, 进而激活半胱天冬酶 9、3, 降解细胞骨架蛋白和细胞膜成分, 最终引起患者心肌细胞凋亡、坏死^[13]。进一步相关性分析发现, NT-proBNP、MHR、RDW 与 RAD、mPAP、CI 呈正相关, 与 RVEF、6MWD 呈负相关, 提示 NT-proBNP、MHR、RDW 水平上升与病情加重有关, 其分子机制可能是通过患者 MHR 水平升高以触发炎症反应, 级联升高 RDW、NT-proBNP 水平, 导致肺动脉高压, 心室功能障碍, 加速氧化应激、心肌细胞凋亡, 最终推进 PE 继发 CTEPH 的病情发展^[14]。

本研究结果表明, 预后不良组 NT-proBNP、MHR、RDW 高于预后良好组; ROC 曲线分析发现, NT-proBNP、MHR、RDW 联合检测对 PE 继发 CTEPH 预后的预测作用高于单一预测。结果表明 MHR、NT-proBNP 和 RDW 水平升高与 PE 继发 CTEPH 患者预后不良密切相关, 且三指标联合检测能作为临床实践中评估 PE 继发 CTEPH 患者预后的有效工具。

综上所述, 血清 NT-proBNP、MHR 及 RDW 水平升高与 PE 继发 CTEPH 患者的病情进展密切相关, 三指标对预后具有显著的预测价值。

参考文献

- [1] 邢芳远, 郭小霞, 郭瑞霞. MLPR、NLR、RDW 对老年 AECOPD 患者合并肺栓塞的评估价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(4): 599-603.
- [2] Ghani H, Pepke-Zaba J. Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension: A Review of the Multifaceted Pathobiology[J]. Biomedicines, 2023, 12(1): 46.
- [3] Bayes-Genis A, Docherty KF, Petrie MC, et al. Practical algorithms for early diagnosis of heart failure and heart stress using NT-proBNP: A clinical consensus statement from the Heart Failure Association of the ESC [J]. Eur J Heart Fail, 2023, 25(11): 1891-1898.
- [4] Carlisi M, Presti RL, Plano F, et al. Changes in RDW according to prognostic predictors in newly diagnosed multiple myeloma[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 2832.
- [5] 王明丹, 周延军, 孙艳娜, 等. 正常范围的 N 末端 B 型利钠肽原对心功能不全患者预后的影响[J]. 中国循环杂志, 2023, 38(3): 306-311.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组, 中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会, 全国肺栓塞与肺血管病防治协作组. 肺血栓栓塞症诊治与预防指南 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(14): 1060-1087.
- [7] Delcroix M, Torbicki A, Gopalan D, et al. ERS statement on chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. Eur Respir J, 2021, 57(6): 2002828.
- [8] 中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作组, 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组, 全国肺动脉高压标准化体系建设项目专家组, 等. 经皮肺动脉球囊成形术治疗慢性血栓栓塞性肺动脉高压操作规程专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2024, 47(5): 404-418.
- [9] Minatsuki S, Hatano M, Hirose K, et al. Differential effects of balloon pulmonary angioplasty on chronic thromboembolic pulmonary disease [J]. Heart, 2024, 110(18): 1133-1138.
- [10] Karoor V, Strassheim D, Sullivan T, et al. The Short-Chain Fatty Acid Butyrate Attenuates Pulmonary Vascular Remodeling and Inflammation in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18): 9916.
- [11] 王兴萍, 岳学静, 程度, 等. 单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值评估高血压患者并发急性脑梗死预后价值 [J]. 华南预防医学, 2020, 46(1): 66-68.
- [12] Lowery MM, Hill NS, Wang L, et al. Sleep-Related Hypoxia, Right Ventricular Dysfunction, and Survival in Patients With Group 1 Pulmonary Arterial Hypertension [J]. J Am Coll Cardiol, 2023, 82(21): 1989-2005.
- [13] Yang ZQ, Han YY, Gao F, et al. Shengxian decoction protects against chronic heart failure in a rat model via energy regulation mechanisms [J]. BMC Complement Med Ther, 2023, 23(1): 200.
- [14] Dulf PL, Mocan M, Coadă CA, et al. Doxorubicin-induced acute cardiotoxicity is associated with increased oxidative stress, autophagy, and inflammation in a murine model [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2023, 396(6): 1105-1115.

脑梗死患者脑白质病变程度与血清Hcy、Cys C的关系

吴玲巧* 夏春华 陈兵 张春燕 董斌

[摘要] **目的** 探讨分析脑梗死患者脑白质病变(WML)程度与血清同型半胱氨酸(Hcy)、胱抑素C(Cys C)的关系。**方法** 选取2023年1月至2024年5月安徽医科大学第三附属医院收治的155例脑梗死患者的临床资料,根据患者WML的发生情况将其分为WML组(62例)和非WML组(93例),并根据Fazekas分级将WML组患者分为1级组(29例)、2级组(17例)和3级组(16例)。比较WML组和非WML组及WML组不同Fazekas分级患者神经功能损伤评分(NIHSS)、蒙特利尔认知评估量表评分(MoCA)、血脂[低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)]和血清指标(Hcy、Cys C)的变化;采用受试者工作曲线(ROC)分析血清Hcy、Cys C对脑梗死患者WML的预测价值;采用Spearman相关性分别分析脑梗死患者Hcy、Cys C与MoCA评分、WML程度的相关性。**结果** WML组NIHSS评分、血清Hcy和Cys C水平高于非WML组,MoCA评分低于非WML组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC结果显示,血清Hcy和Cys C水平及其联合检测预测脑梗死患者WML的曲线下面积(AUC)分别为0.806、0.829、0.882(P 均 <0.05)。NIHSS评分、血清Hcy和Cys C水平比较,3级组 >2 级组 >1 级组,差异有统计学意义($P<0.05$),MoCA评分比较,3级组 <2 级组 <1 级组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman相关性分析结果显示,脑梗死患者血清Hcy和Cys C水平与WML严重程度呈正相关,与MoCA评分呈负相关($P<0.05$)。**结论** 脑梗死患者WML严重程度与血清Hcy、Cys C水平关系密切,血清Hcy和Cys C水平越高,患者WML越严重。

[关键词] 核磁共振; 脑梗死; 脑白质病变; 同型半胱氨酸; 胱抑素C

Relationship between leukoencephalopathy severity and serum Hcy, CysC in patients with cerebral infarction

WU Lingqiao*, XIA Chunhua, CHEN Bing, ZHANG Chunyan, DONG Bin

Imaging Center, the Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University (The First People's Hospital of Hefei), Hefei, Anhui, China, 230001

[ABSTRACT] **Objective** To explore and analyze the relationship between leukoencephalopathy (WML) severity and serum homocysteine (Hcy), cystatin C (Cys C) in patients with cerebral infarction. **Methods** The clinical data were collected from 155 patients with cerebral infarction at The Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University between January 2023 and May 2024. Based on presence or absence of WML, patients were divided into the WML group (62 cases) and the non-WML group (93 cases). WML patients were further divided into three subgroups on Fazekas grading: grade 1 (29 cases), grade 2 (17 cases) and grade 3 (16 cases). The scores of the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) and the Montreal Cognitive Assessment (MoCA), as well as blood lipid indexes [low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC)], and serum indexes (Hcy, Cys C) were compared between the WML and the non-WML groups, and among patients with different Fazekas grading. The predictive value of serum Hcy and CysC for WML in patients with cerebral infarction was analyzed using receiver operating characteristic (ROC) curves. The correlation between Hcy, CysC, and MoCA score, WML severity was analyzed using Spearman correlation analysis. **Results** The NIHSS score, levels of serum Hcy and Cys C in the WML group were higher than those in the non-WML group, while the MoCA score was lower than that in the non-WML group ($P<0.05$). The results of ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC)

基金项目:安徽医科大学校科研基金项目(2020xkj237)

作者单位:安徽医科大学第三附属医院(合肥市第一人民医院)影像中心,安徽,合肥 230001

*通信作者:吴玲巧, E-mail: 15055136053@163.com

values for serum Hcy, Cys C, and combined detection for predicting WML in patients with cerebral infarction were 0.806, 0.829 and 0.882, respectively ($P<0.05$). Within the grade 3, grade 2 and grade 1 groups, the NIHSS score, levels of serum Hcy and Cys C gradually decreased ($P<0.05$), while the MoCA score gradually increased ($P<0.05$). The results of Spearman correlation analysis indicated that levels of serum Hcy and Cys C were positively correlated with WML severity, and negatively correlated with MoCA score ($P<0.05$).

Conclusion The severity of WML is closely related to levels of serum Hcy and Cys C in patients with cerebral infarction. The higher the levels of serum Hcy and Cys C, the more severe the WML.

[KEY WORDS] Magnetic resonance imaging; Cerebral infarction; Leukoencephalopathy; Hcy; Cys C

脑白质对血运障碍的敏感性较高,局部缺血会损伤脑白质髓鞘及少突胶质细胞,进而引起脑白质病变(leukoencephalopathy, WML)。该处病变在核磁共振技术(magnetic resonance imaging, MRI)检查下可发现脑室周围或皮质下呈现弥漫性高信号,是一种中枢神经系统神经功能病变,易诱发因素包括脑梗死、中毒代谢、遗传、感染和脑部肿瘤等。目前,WML的发病机制尚不明确,临床上缺乏疾病相关的血清标志物^[1-3]。脑梗死是一种严重的脑血管疾病,它是由于患者脑血流供应中断引起脑组织缺血和坏死造成的^[4]。MRI作为一种无创的影像学检查方式,已逐渐广泛用于研究脑白质纤维微管结构的变化。尤其是磁共振弥散张量成像技术,它能从微观上准确反映神经纤维束排列的紧密程度和轴突髓鞘化的程度,帮助诊断脑梗死和WML^[5]。本研究将探究脑梗死患者WML与血清同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)及胱抑素C(cystatin C, Cys C)的关系,以期为临床提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2023年1月至2024年5月安徽医科大学第三附属医院收治的155例脑梗死患者的临床资料,所有患者均于入院后接受MRI检查,根据患者WML的发生情况^[6]将其分为WML组(62例)和非WML组(93例),并根据Fazekas分级^[7]将WML患者分为1级组(29例,无白质高信号为0级,侧脑室额角或枕角帽状高信号)、2级组(17例,侧脑室周围“晕状”高信号)和3级组(16例,延伸至脑深部白质甚至皮层下不规则形信号)。本研究符合《赫尔辛基宣言》基本准则,且已获取安徽医科大学第三附属医院伦理委员会审批同意。

纳入标准:①所有患者符合脑梗死的诊断标准^[8],且经MRI和颈动脉超声确诊;②WML组符合WML的诊断标准^[6],且经头颅MRI检查提示存

在脑白质高信号;③所有患者发病后72 h内均完成实验室指标检查;④临床资料完整;⑤患者家属均对此次研究知情同意。排除标准:①存在大面积脑梗死、脑出血或既往脑出血史;②合并存在肝、肾等脏器严重功能障碍;③妊娠或哺乳期妇女;④正在使用维生素B12、叶酸等影响Hcy代谢的药物。

1.2 方法

1.2.1 一般资料

收集患者性别、年龄、Fazekas分级等一般资料。

1.2.2 血清学指标检测

所有患者均于入院后采集3 mL晨起空腹外周静脉血,静置凝血后以3 000 r/min转速、10 cm半径离心10 min,取上清液置于-70℃环境保存,采用全自动生化分析仪(徐州美康电子设备有限公司)测定总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)和低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平;采用酶联免疫吸附法(购自上海伊酶生物科技有限公司)检测血清Hcy、Cys C水平。

1.2.3 头颅MRI检查

采用3.0T磁共振扫描仪对患者头颅进行扫描。所有患者均接受自旋回波序列T1WI、T2WI、FLAIR和DWI,扫描参数为轴位T1WI(TR 1750 ms, TE 32 ms, 视野240 mm, 层厚5 mm); T2WI(TR 4086ms, TE 120 ms, 视野240 mm, 层厚5 mm); T2 FLAIR(TR 8 200 ms, TE 100 ms, 视野240 mm, 层厚5 mm); DWI($b=1\ 000\ \text{s/mm}^2$, TR 3 500 ms, TE 87 ms, 层厚5 mm, 层间距0 mm)。

1.2.4 WML判定标准^[9]

T2WI或T2 FLAIR显示颅脑磁共振双侧脑室周围、半卵圆中心区白质、基底节区存在2~10 mm点状、斑片状高信号,T1WI显示等信号或低信号,而DWI显示无信号或低信号。

1.2.5 神经功能评估

采用美国国立卫生院脑卒中量表(NIHSS)评分^[10]评估,该量表共15个小项,满分42分,分数越高神经功能损伤越严重。

1.2.6 认知功能评估

采用蒙特利尔认知功能评估量表(Montreal cognitive assessment, MoCA)评分^[11]评估,该量表包括抽象(2分)、定向(6分)、注意和计算(6分)、延迟回忆(5分)、视空间和执行能力(5分)、命名(3分)及语言(3分)七个维度,总分30分,如患者受教育年限≤12年则在结果上加1分,分数越低认知功能越差。

1.3 统计学分析

采用SPSS 24.0统计学软件处理数据,非正态分布的计量资料用 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,采用Mann-Whitney U检验或Kruskal-Wallis H检验;计数资料

用 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验;血清Hcy、Cys C对脑梗死患者WML的预测价值采用ROC分析,采用Spearman相关性分析WML分级与血清指标的相关性, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑梗死患者临床资料比较

WML组NIHSS评分、血清Hcy和Cys C水平高于非WML组,MoCA评分低于非WML组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 血清Hcy和Cys C水平对脑梗死患者WML的预测价值

ROC结果显示,血清Hcy和Cys C水平及其联合检测预测脑梗死患者WML的曲线下面积(AUC)分别为0.806、0.829、0.882(P 均 <0.05)。见表2、图1。

表1 脑梗死患者临床资料比较 $[M(P_{25}, P_{75}), n(\%)]$

临床特征	WML组($n=62$)	非WML组($n=93$)	U/χ^2 值	P 值	
年龄(岁)	68.00(58.00, 68.00)	67.50(58.75, 70.25)	-0.029	0.977	
性别	男	29(46.77)	51(54.84)	0.969	0.325
	女	33(53.23)	42(45.16)		
NIHSS评分(分)	13.98(9.82, 16.01)	9.54(7.83, 11.96)	-2.795	0.009	
MoCA评分(分)	20.14(17.63, 23.01)	28.06(25.94, 30.02)	-3.087	0.006	
血脂指标	LDL-C(mmol/L)	2.89(2.67, 3.01)	2.92(2.71, 3.09)	-0.053	0.825
	TG(mmol/L)	1.58(1.25, 1.73)	1.61(1.23, 1.76)	-0.064	0.793
	TC(mmol/L)	4.81(3.97, 5.08)	4.85(3.89, 5.12)	-0.081	0.652
血清指标	Hcy(mg/L)	17.75(15.58, 20.18)	13.30(10.10, 15.00)	-2.172	0.030
	Cys C(U/L)	1.15(0.94, 1.48)	0.94(0.86, 1.23)	-4.364	<0.001

表2 血清Hcy和Cys C水平预测脑梗死患者WML的ROC特征

检验指标	敏感度(%)	特异度(%)	截断值	AUC	95% CI	P 值
Hcy	72.04	85.48	≤15.70 mg/L	0.806	0.734~0.865	<0.001
Cys C	78.49	74.19	≤1.11 U/L	0.829	0.761~0.885	<0.001
联合检测	90.32	72.58		0.882	0.821~0.928	<0.001

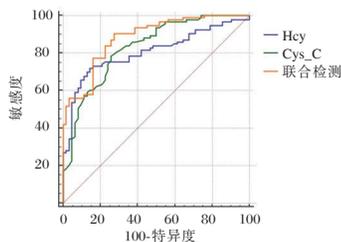


图1 血清Hcy和Cys C水平预测脑梗死患者WML的ROC曲线

2.3 WML患者临床资料比较

NIHSS评分、血清Hcy和Cys C水平比较,3级组>2级组>1级组,差异有统计学意义($P<0.05$),

MoCA评分比较,3级组<2级组<1级组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 血清Hcy、Cys C与患者WML严重程度及认知功能的关系

Spearman相关性分析结果显示,脑梗死患者血清Hcy和Cys C水平与WML严重程度呈正相关($r=0.565, 0.537, P<0.05$),与MoCA评分呈负相关($r=-0.585, -0.576, P<0.05$)。

3 讨论

WML是一类在中老年人群中广泛存在的脑小血管病变,其病理特征表现为髓鞘脱失、少突胶质细胞凋亡和空泡化^[12]。本研究中,WML组NIHSS评分、血清Hcy和Cys C水平高于非WML组,MoCA评分低于非WML组,提示WML可能与认知功能障碍、神经系统功能缺损以及血清Hcy和Cys C水平有关。考虑为,MoCA量表是用于评

表3 WML患者临床资料比较 [$M(P_{25}, P_{75}), n(\%)$]

临床特征	1级组(n=29)	2级组(n=17)	3级组(n=16)	H/ χ^2 值	P值	
年龄(岁)	67.56(57.93, 68.02)	67.92(58.01, 70.19)	68.01(57.64, 69.32)	4.539	0.568	
性别	男	13(44.83)	7(41.18)	5(31.25)	0.797	0.671
	女	16(55.17)	10(58.82)	11(68.75)		
脑白质病变部位	脑实质	4(13.79)	3(17.65)	3(18.75)	0.227	0.893
	脑室旁	25(86.21)	14(82.35)	13(81.25)		
NIHSS评分(分)	12.13(9.65, 14.82)	13.95(9.79, 15.96) ^a	14.32(10.01, 16.37) ^{ab}	10.059	0.015	
MoCA评分(分)	21.97(17.73, 22.99)	20.16(17.61, 23.03) ^a	19.02(17.31, 22.15) ^{ab}	10.003	0.022	
血脂指标	LDL-C(mmol/L)	2.85(2.66, 3.04)	2.91(2.69, 3.11)	2.87(2.63, 3.07)	5.973	0.281
	TG(mmol/L)	1.56(1.23, 1.75)	1.59(1.21, 1.78)	1.62(1.25, 1.79)	6.675	0.224
	TC(mmol/L)	4.83(3.91, 5.09)	4.82(3.87, 5.16)	4.79(3.89, 5.12)	5.536	0.326
血清指标	Hcy(mg/L)	13.75(10.48, 16.60)	18.30(16.38, 19.48) ^a	20.70(16.15, 28.65) ^{ab}	11.432	0.003
	Cys C(U/L)	0.89(0.79, 1.08)	1.25(0.97, 1.50) ^a	1.38(1.16, 1.83) ^{ab}	14.188	0.001

注:与1级组比较,^a $P<0.05$;与2级组比较,^b $P<0.05$ 。

估多种认知领域的工具,当出现WML时,干扰了大脑不同区域之间信息的传递,从而导致认知功能障碍。NIHSS评分主要用于评估神经系统功能缺损程度,WML会影响神经传导通路,使得神经信号传递受阻或者异常,导致神经功能异常。高水平的Hcy可能通过氧化应激、血管内皮损伤、促进炎症反应等多种机制,对脑白质的微血管造成损害,进而引起WML;Cys C是一种反映肾小球滤过率变化的内源性标志物,同时也参与了动脉粥样硬化等血管病变的过程^[13],高水平的Cys C可破坏血-脑屏障、影响血管内皮细胞功能及激活炎症反应等途径诱发WML。本研究ROC结果也显示,血清Hcy和Cys C水平及其联合检测预测脑梗死患者WML的AUC分别为0.806、0.829、0.882,表明血清Hcy和Cys C或可成为临床早期诊断脑梗死患者WML的敏感指标。

本研究中,NIHSS评分、血清Hcy和Cys C水平比较,3级组>2级组>1级组,MoCA评分比较,3级组<2级组<1级组,且Spearman相关性分析也显示,血清Hcy和Cys C水平与WML程度呈正相关,与MoCA评分呈负相关。提示血清Hcy和Cys C水平与认知功能及WML病情密切相关。分析原因:Hcy可以诱导血管内皮细胞损伤,促进血小板聚集,增加血栓形成的风险,而脑白质的血液供应主要依赖于小血管和微血管,血管病变会导致脑白质缺血缺氧,从而使病变范围扩大、程度加深;高水平的Cys C可能会破坏血-脑屏障,引起炎症反应,进而损伤脑白质,促使病情加重。认知功能障碍是WML患者常见的临床表现之一。高水平的Hcy可能通过影响神经递质代谢、氧化应激损伤神经细胞等方式干扰大脑的认知功能^[14]。而Cys C水平的升

高可能导致脑白质损伤从而间接影响认知功能。

综上所述,脑梗死患者WML严重程度与血清Hcy、Cys C水平关系密切,血清Hcy和Cys C水平越高,患者脑白质病变越严重。

参考文献

- [1] Yu M, Zhu D, Luo Z, et al. Moderate-Severe White Matter Lesion Predicts Delayed Intraventricular Hemorrhage in Intracerebral Hemorrhage[J]. Neurocrit Care, 2022,37(3):714-723.
- [2] Hu W, Guo X, Du Y. Lacunar infarction aggravates the cognitive deficit in the elderly with white matter lesion[J]. Open Life Sci, 2022,17(1):272-278.
- [3] 曹栋,张文召,梁斐.脑梗死患者认知障碍与脑白质病变相关性分析[J].河南医学研究,2024,33(2):272-277.
- [4] Zhao Y, Zhang X, Chen X, et al. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review) [J]. Int J Mol Med, 2022,49(2):15.
- [5] Landes-Chateau C, Levraut M, Cohen M, et al. Identification of demyelinating lesions and application of McDonald criteria when confronted with white matter lesions on brain MRI, Rev Neurol (Paris), 2023,179(10):1103-1110.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国脑淀粉样血管病诊治共识(2023版)[J].中华神经科杂志,2024,57(10):1051-1074.
- [7] 谭玉婷,聂芳,郭方舟,等.颈动脉斑块CEUS分级联合脑白质病变Fazekas分级预测脑卒中的临床价值[J].中国超声医学杂志,2020,36(12):1067-1070.
- [8] 中国卒中学会,中国卒中学会神经介入分会,中华预防医学会卒中预防与控制专业委员会介入学组,等.急性缺血性卒中血管内治疗中国指南2023[J].中国卒中杂志,2023,18(6):684-711.
- [9] 马新伟,许建铭,张明杰,等.老年高血压患者脑白质病变在磁共振序列中的半定量评估[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,21(12):1305-1308.
- [10] 侯东哲,张颖,巫嘉陵,等.中文版美国国立卫生院脑卒中量表的信度与效度研究[J].中华物理医学与康复杂志,2012,34(5):372-374.

(下转第674页)

NPAR 比值与首发抑郁症患者认知功能的相关性

谢清芳¹ 申贵玉¹ 王晶² 黄焱^{1*}

[摘要] **目的** 分析中性粒细胞百分比/白蛋白比值(NPAR)与首发抑郁症患者认知功能的相关性。**方法** 选取2021年8月至2023年6月宝山区精神卫生中心收治的150例首发抑郁症患者作为研究组,并根据简易智力状态检查量表(MMSE)评分分为认知功能正常组($n=85$)与认知功能损伤组($n=65$),另选162名体检健康者为对照组。所有纳入者均检测外周血中性粒细胞百分比(NEU%)、白蛋白(ALB),并计算NPAR比值。比较各组一般资料、生化指标及NPAR比值,采用Pearson相关分析探讨NPAR比值与首发抑郁症患者认知功能的关系,采用受试者工作特性曲线(ROC)评估NPAR比值对首发抑郁症患者认知功能损伤的诊断价值。**结果** 研究组血清IFN- γ 、外周血NEU%、NPAR比值均高于对照组,MMSE评分及IL-4、ALB水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。认知功能损伤组首发抑郁症患者NEU%、NPAR比值均高于认知功能正常组,ALB水平均低于认知功能正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Pearson相关分析显示,NPAR比值与首发抑郁症患者MMSE评分呈负相关($r=-0.532, P<0.05$)。ROC曲线分析显示,NEU%、ALB及NPAR比值诊断首发抑郁症患者认知功能损伤的AUC(95%CI)分别为0.750(0.700~0.800)、0.759(0.809~0.809)、0.880(0.830~0.930)。**结论** NPAR比值在首发抑郁症患者外周血中异常升高,其变化与认知功能密切相关,可作为诊断首发抑郁症患者认知功能损伤发生的有效指标。

[关键词] 中性粒细胞百分比/白蛋白比值;首发抑郁症;认知功能

Association between NPAR ratio and cognitive function in patients with first-episode depression

XIE Qingfang¹, SHEN Guiyu¹, WANG Jing², HUANG Yan^{1*}

(1. Department of Psychiatry, 2. Department of Geriatrics, Baoshan Mental Health Center, Shanghai, China, 201900)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the correlation between neutrophil percentage/albumin ratio (NPAR) and cognitive function in patients with first episode depression. **Methods** 150 patients with first episode depression from August 2021 to June 2023 were selected for the study. They were divided into the normal cognitive function group ($n=85$) and the impaired cognitive function group ($n=65$) based on their MMSE scores. In addition, 162 healthy subjects were selected as the control group. Neutrophil percentage (NEU%) and albumin (ALB) levels in peripheral blood were measured for all participants, and the NPAR ratio was calculated. The general data, biochemical indexes and NPAR ratios of all groups were compared. The correlation between the NPAR ratio and cognitive function in cases of first-episode depression was assessed using Pearson correlation. The diagnostic value of the NPAR ratio in predicting cognitive impairment in patients with first-episode depression was evaluated using ROC analysis. **Results** The serum levels of IFN- γ and NEU%, as well as the NPAR ratio in peripheral blood in study group were higher compared to the control group. Conversely, the MMSE score, IL-4, and ALB levels were lower in the study group compared to the control group ($P<0.05$). The NEU% and NPAR ratio of first depressive patients in the cognitive impairment group were higher compared to the normal cognitive function group, and the ALB levels were lower compared to the normal cognitive function group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that the NPAR ratio was

基金项目:上海市卫生健康系统科技创新项目(202120)

作者单位:1.宝山区精神卫生中心精神科,上海201900

2.宝山区精神卫生中心老年科,上海201900

*通信作者:黄焱, E-mail: EASTHUANGY@163.com

negatively correlated with the MMSE score in cases of first-episode depression ($r=-0.532$, $P<0.05$). ROC curve analysis indicated that the AUC (95%CI) of NEU%, ALB, and NPAR ratios for diagnosing cognitive impairment in patients with first-episode depression were 0.750 (0.700~0.800), 0.759 (0.809~0.809) and 0.880 (0.830~0.930), respectively. **Conclusion** The NPAR ratio is abnormally elevated in the peripheral blood of patients with first-episode depression, and its level is closely related to cognitive function, making it an effective indicator for the diagnosis of cognitive function impairment in these patients.

[KEY WORDS] Neutrophil percentage/albumin ratio; First episode depression; Cognitive function

抑郁症是我国常见的以单次或反复发作为表现的精神疾病,具有患病率、危害性、复发性等特点^[1]。相关数据显示,全球约有3.5亿抑郁症患者。我国抑郁症患病率为3%~5%,终生患病率为3.4%,已严重威胁健康我国居民的身体健康^[2-3]。认知功能障碍是抑郁症常见的临床症状,不仅会影响患者社会功能恢复,同时可增加复发风险^[4]。因此,如何有效诊断首发抑郁症患者认知功能状况,对控制病情进展以及改善预后至关重要。中性粒细胞百分比/白蛋白比值(Neutrophil percentage/albumin ratio, NPAR)是一种新型复合指标,可有效反映机体炎症反应与免疫状况。既往研究报道, NPAR异常升高可有效预测急性缺血性脑卒中患者复发^[5]。本研究主要分析NPAR比值与首发抑郁症患者认知功能的相关性,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将2021年8月至2023年6月宝山区精神卫生中心收治的150例首发抑郁症患者纳入研究组,男69例,女81例;年龄平均(40.71±2.53)岁。纳入标准:①均符合抑郁症的诊断标准^[6];②抑郁症均为首次发作者;③年龄病程≤2年;④未接受任何治疗;⑤患者家属签署知情同意书。排除标准:①伴有精神分裂症等其他精神障碍疾病者;②存在明显智力低下或有攻击行为、自杀倾向者;③伴有肝肾等重要脏器功能障碍者;④合并中枢神经系统疾病、自身免疫系统疾病、心脑血管疾病、恶性肿瘤疾病者;⑤入院前接受抗抑郁治疗者;⑥妊娠和哺乳期女性;⑦同时参与其他研究调查者。另选162名体检健康者作为对照组,男87例,女75例;年龄平均(40.34±2.32)岁。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集各组一般资料以及实验室生化指标,包括性别、年龄、体质指数、受教育水平、吸烟史、饮

酒史、简易智力状态检查量表(Mini-Mental State Examination, MMSE)评分及白细胞计数(white blood cell, WBC)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、三酰甘油(Triglyceride, TG)、干扰素 γ (Interferon Gamma, IFN- γ)、白介素4(Interleukin-4, IL-4)等。

1.2.2 NPAR比值检测

收集首发抑郁症患者入院后24 h、对照组健康体检当日的空腹外周静脉血2 mL,采用Beckman-Coulter公司生产的LH750型全自动血细胞分析仪检测中性粒细胞百分比(Percentage of neutrophils, NEU%),采用日立7600全自动生化仪检测白蛋白(Albumin, ALB),并计算NPAR比值, NPAR比值=NEU%(%)/ALB(g/L),具体步骤严格按照说明书操作。

1.2.3 认知功能评估

研究组入院次日、对照组体检日均采用简易智力状态检查量表(MMSE)^[7]进行认知功能评估,评估内容包括定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆力、语言能力,最高得分为30分。根据MMSE评分将总得分≥26分者分为认知功能正常组($n=85$),总得分<26分者分为认知功能损伤组($n=65$)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 24.0统计学软件分析数据。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;计数资料用 $n(\%)$ 描述,采用 χ^2 检验;采用Pearson相关分析探讨NPAR比值与首发抑郁症患者认知功能的关系;采用受试者工作特性曲线(ROC)评估NPAR比值对认知功能损伤的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

研究组MMSE评分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),两组性别、年龄、体质指数、受教育水平、吸烟史占比、饮酒史占比比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组一般资料比较 [n(%), ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	性别		年龄(岁)	体质指数(kg/m ²)	受教育水平(年)	吸烟史	饮酒史	MMSE评分(分)
		男	女						
研究组	150	69(46.00)	81(54.00)	40.71±2.53	23.13±2.13	8.22±0.63	28(18.67)	26(17.33)	24.25±1.11
对照组	162	75(46.30)	87(53.70)	40.34±2.32	23.42±2.25	8.30±0.84	29(17.91)	25(15.43)	27.13±1.66
t/χ ² 值		0.003		1.348	-1.167	-0.946	0.031	0.206	17.868
P值		0.958		0.179	0.244	0.345	0.861	0.650	<0.001

2.2 两组 NPAR 比值及相关生化指标比

两组血清 WBC、TC、TG 水平比较差异均无统计学意义(P>0.05);研究组血清 IFN-γ、外周血 NEU%、NPAR 比值均高于对照组,IL-4、ALB 水平均低于对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表2。

2.3 认知功能损伤组与认知功能正常组 NPAR 比值比较

认知功能损伤组首发抑郁症患者 NEU%、NPAR 比值均高于认知功能正常组,ALB 水平均低于认知功能正常组,差异有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表2 两组 NPAR 比值及相关生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	WBC(×10 ⁹ /L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	IL-4(pg/mL)	IFN-γ(pg/mL)	NEU%(%)	ALB(g/L)	NPAR 比值
研究组	150	6.12±0.86	3.02±0.43	1.78±0.25	198.77±30.54	88.52±10.76	78.69±10.85	29.03±3.63	2.69±0.45
对照组	162	5.98±0.75	2.98±0.33	1.82±0.33	311.27±36.74	26.66±5.66	55.66±5.41	37.16±4.19	1.50±0.14
t值		1.535	0.694	-1.200	-29.286	64.211	23.989	-18.253	32.029
P值		0.126	0.488	0.231	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 认知功能损伤组与认知功能正常组 NPAR 比值比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	n	NEU%(%)	ALB(g/L)	NPAR 比值
认知功能损伤组	65	90.02±12.88	23.42±3.52	3.84±1.26
认知功能正常组	85	70.03±7.63	33.32±4.65	1.81±0.33
t值		11.852	-14.310	14.242
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 NPAR 比值与首发抑郁症患者 MMSE 评分的相关性

Pearson 相关分析显示,NPAR 比值与首发抑郁症患者 MMSE 评分呈负相关(r=-0.532,P<0.05)。

2.5 NPAR 比值对首发抑郁症患者认知功能损伤的诊断价值

经 ROC 曲线分析显示,NEU%、ALB 及 NPAR 比值诊断首发抑郁症患者认知功能损伤的 AUC (95%CI)分别为 0.750、0.759、0.880。见表4、图1。

表4 NPAR 比值对首发抑郁症患者认知功能损伤的诊断价值

指标	AUC	95% CI	截断值	灵敏度	特异度
NEU%	0.750	0.700~0.800	46.74%	0.900	0.607
ALB	0.759	0.809~0.809	26.73 g/L	0.900	0.669
NPAR 比值	0.880	0.830~0.930	2.37	0.885	0.872

3 讨论

近年来,随着我国现代生活的快速发展和生活压力的增大,抑郁症发病率呈逐年增多趋势,同时呈低龄化发展趋势。抑郁症作为常见的精神

疾病,患者发病后不仅易出现长期持续反复情绪低落,同时常伴有焦虑、睡眠障碍、对生活缺乏信心、认知功能损伤等症状,严重时可出现自杀念头。既往研究报道,抑郁障碍终生患病率为 6.1%~9.5%,目前已被列为严重的公共问题^[8]。认知功能损害是抑郁障碍的核心症状之一,而寻找与抑郁症认知功能相关的生物学指标对了解疾病有积极意义。

NEU%是一种炎症标记物,既往研究报道,NEU%升高可加重肺组织的炎症反应和氧化应激^[9]。同时有研究报道,急性心肌梗死患者 NEU% 数量增加,可释放多种蛋白溶解酶及氧化产物,导致心肌直接受损^[10]。ALB 在维持机体酸碱平衡、保护器官组织功能方面发挥重要作用。既往研究报道,脓毒症外周血中 ALB 水平降低与大量炎症因子释放破坏毛细血管中内皮细胞、增加毛细

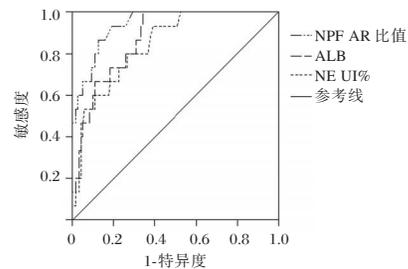


图1 NPAR 比值对首发抑郁症患者认知功能损伤的诊断 ROC 曲线

管通透性有关^[11]。孟林等^[12]研究报道,低ALB是急性缺血性脑卒中患者认知功能障碍的独立危险因素。NPAR作为一种由中性粒细胞、白蛋白组成的新型生物标志物,已有研究发现其与重症急性胰腺炎患者并发急性肾损伤^[13]、肺炎新生儿并发败血症^[14]密切相关。

本研究发现,研究组NPAR比值高于对照组,说明NPAR比值与首发抑郁症的发生密切相关。抑郁症发病过程中可导致神经胶质细胞损伤,受损的神经胶质细胞可释放炎症因子,进而导致外周血中NPAR比值异常升高。本研究发现,认知功能损伤组首发抑郁症患者NPAR比值高于认知功能正常组,且NPAR比值与首发抑郁症患者MMSE评分呈负相关,提示NPAR比值可影响抑郁症患者认知功能。ROC分析结果显示,NEU%、ALB及NPAR比值诊断首发抑郁症患者认知功能损伤的AUC分别为0.750、0.759、0.880,说明NEU%、ALB均可有效诊断首发抑郁症患者认知功能损伤,且NPAR比值对患者认知功能损伤发生的诊断价值更高。作为一种神经免疫紊乱性疾病,抑郁症发病与免疫功能紊乱有关,发病过程中,外周免疫异常激活可引起促炎因子增加,而炎症细胞因子水平升高可影响患者脑内单胺类神经递质的代谢,进而影响患者精神意识活动,增加认知功能损伤发生风险。NPAR中的NEU%、ALB作为炎症生物标志物,与机体感染和炎症反应密切相关。因此,抑郁症发病可引起促炎因子的增加,导致NEU%水平升高,ALB水平降低,而NPAR比值异常升高可进一步导致抑郁症患者脑内单胺类神经递质的代谢,最终增加认知功能损伤发生风险。因此,早期通过监测NPAR比值可有效诊断抑郁症病情进展以及认知功能损伤发生,从而为临床干预提供依据。

综上所述,NPAR比值在首发抑郁症患者外周血中异常升高,其变化与认知功能密切相关,可作为诊断首发抑郁症患者认知功能损伤的有效指标。

参考文献

- [1] 童韦玮,张秀翠,汪金,等.基于MOHO理论的康复训练联合正念认知疗法对抑郁症的干预效果[J].中南医学科学杂志,2024,52(6):1025-1028.
- [2] 中国中西医结合学会神经科专业委员会.抑郁症中西医结合诊疗专家共识[J].中国中西医结合杂志,2020,40(2):141-148.
- [3] 赵媛媛,吴倩,刘波,等.氟西汀联合舒肝解郁胶囊治疗抑郁症的效果及对患者心率变异性的影响[J].四川精神卫生,2023,36(5):433-439.
- [4] 章薇.神经胶质细胞瘤围手术期的神经认知功能[J].中华神经外科疾病研究杂志,2024,18(2):87.
- [5] 杨德波.NPAR作为预测首次缺血性脑卒中复发生物标志物的研究[D].太原:山西医科大学,2023.
- [6] 中华医学会,中华医学杂志社,中华医学会全科医学分会,等.抑郁症基层诊疗指南(2021年)[J].中华全科医师杂志,2021,20(12):1249-1260.
- [7] Jia X, Wang Z, Huang F, et al. A comparison of the Mini-Mental State Examination (MMSE) with the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) for mild cognitive impairment screening in Chinese middle-aged and older population: a cross-sectional study[J]. BMC Psychiatry, 2021, 21(1): 485.
- [8] Mpinga K, Rukundo T, Mwale O, et al. Depressive disorder at the household level: prevalence and correlates of depressive symptoms among household members [J]. Glob Health Action, 2023, 16(1):2241808.
- [9] 蔡静静,朱信欣,李楠.血常规、CRP与新生儿呼吸窘迫综合征病情严重程度及预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(2):356-360.
- [10] Song BY, Chen C, Xu WH, et al. Gender Differences in the Correlations Between Immune Cells and Organ Damage Indexes of Acute Myocardial Infarction Patients [J]. Vasc Health Risk Manag, 2022, 18: 839-850.
- [11] 雷佳佳,邓利艳,王洪锦,等. ALBI、PALBI评分对脓毒症患者预后的预测价值分析[J].保健医学研究与实践,2024,21(8):78-83.
- [12] 孟林,刘蔚玲,孙咏园.血浆白蛋白、球蛋白和C反应蛋白水平与急性缺血性脑卒中后认知功能障碍的关系[J].山西医药杂志,2021,50(9):1474-1477.
- [13] 张辉,甄洁,边伟帅,等.入院MPV/PLT、NPAR对重症急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的预测价值[J].现代生物医学进展,2023,23(15):2837-2841.
- [14] 李晓娟,岳保红,李铁威.NPAR对肺炎新生儿并发败血症的预测价值[J].国际呼吸杂志,2024,44(3):336-342.
- [11] Zhuang L, Yang Y, Gao J. Cognitive assessment tools for mild cognitive impairment screening [J]. J Neurol, 2021, 268(5):1615-1622.
- [12] 刘玥,唐鹏,种莉,等.血 β_2 微球蛋白水平与脑白质病变相关性的研究[J].脑与神经疾病杂志,2022,30(5):270-273.
- [13] 许春江,王琪,李霞.血尿素、尿酸、肌酐及胱抑素C在妊娠高血压疾病患者肾损伤过程中的变化趋势及其诊断价值[J].感染、炎症、修复,2024,25(3):214-217.
- [14] Chen Y, Du Y, Sun Z, et al. Interactions Between Handgrip Strength and Serum Folate and Homocysteine Levels on Cognitive Function in the Elderly Chinese Population [J]. J Alzheimers Dis, 2021, 80(4):1503-1513.

(上接第670页)

血清TIMP-1、elafin水平对初产妇产后盆底功能障碍的预测价值

吴璇¹ 张春艳² 孙咏梅¹ 李秀福¹ 李戈³ 李苗^{1*}

【摘要】目的 探讨血清组织金属蛋白酶抑制因子(TIMP-1)、弹性蛋白酶抑制剂(elafin)水平对初产妇产后盆底功能障碍的预测价值。方法 将2022年1月至2023年12月秦皇岛市第一医院收治的98例产后盆底功能障碍(PFD)的初产妇设为PFD组,另选择同期100名产后复查无PFD的初产妇设为对照组。检测两组血清TIMP-1、elafin水平,评价血清TIMP-1、elafin对初产妇产后PFD的预测价值,并分析影响初产妇产后PFD的危险因素。结果 PFD组血清TIMP-1、elafin水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清TIMP-1、elafin以及两指标联合诊断初产妇产后PFD的AUC(95%CI)分别为0.734(0.684~0.779)、0.809(0.764~0.854)、0.921(0.871~0.966)。PFD组孕期BMI增加、阴道分娩、第二产程时间延长、新生儿体重 ≥ 3.5 kg占比高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素分析显示,分娩方式为阴道分娩,第二产程时间延长,血清TIMP-1 <109.31 pg/mL,血清elafin <10.72 pg/mL是影响初产妇产后PFD的危险因素($P<0.05$)。结论 血清TIMP-1、elafin低水平与初产妇产后发生PFD相关,二者对初产妇产后PFD具有一定的预测价值,临床可早期监测两指标表达水平,以识别高风险人群并采取相应的预防措施。

【关键词】 盆底功能障碍; 初产妇; 组织金属蛋白酶抑制因子; 弹性蛋白酶抑制剂

The diagnostic value of serum TIMP-1 and elafin levels for postpartum pelvic floor dysfunction in primipara

WU Xuan¹, ZHANG Chunyan², SUN Yongmei¹, LI Xiufu¹, LI Ge³, LI Miao^{1*}

(1. Department of Gynecology, 2. Department of Education, 3. Department of Orthopedics, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

【ABSTRACT】 **Objective** To investigate the diagnostic value of serum tissue metalloproteinase inhibitor (TIMP-1) and elastase inhibitor (elafin) levels for postpartum pelvic floor dysfunction in primipara. **Methods** 98 cases of puerperal pelvic floor dysfunction (PFD) were admitted to the First Hospital of Qinhuangdao from January 2022 to December 2023, forming the PFD group. Additionally, 100 cases of puerperal parturients without PFD were included in the control group. The levels of serum TIMP-1 and elafin in all subjects were measured. The diagnostic value of serum TIMP-1, elafin for postpartum PFD in primiparous women was explored, and the risk factors affecting postpartum PFD in primiparous women were analyzed. **Results** The serum levels of TIMP-1 and elafin in the PFD group were lower than those in the control group ($P<0.05$). The AUC (95%CI) of serum TIMP-1, elafin, and their combination in the diagnosis of postpartum PFD were 0.734 (0.684~0.779), 0.809 (0.764~0.854) and 0.921 (0.871~0.966), respectively. The PFD group showed an increase in BMI during pregnancy, vaginal delivery, prolonged second stage of labor, and a higher proportion of newborns with a body weight of ≥ 3.5 kg compared to the control group, with statistically significant differences ($P<0.05$). Multivariate analysis revealed that vaginal delivery, prolonged second stage of

基金项目:河北省科学技术研究与发展计划项目(202101A078)

作者单位:1. 秦皇岛市第一医院妇科, 河北, 秦皇岛 066000

2. 秦皇岛市第一医院教育处, 河北, 秦皇岛 066000

3. 秦皇岛市第一医院骨科, 河北, 秦皇岛 066000

*通信作者:李苗, E-mail: Shiangbb95@163.com

labor, serum TIMP-1 <109.31 pg/mL, and serum elafin <10.72 pg/mL were the risk factors for postpartum PFD in primipara ($P<0.05$). **Conclusion** Low levels of serum TIMP-1 and elafin are associated with the occurrence of PFD in primiparas. Both markers have diagnostic value for postpartum PFD in primiparas. Monitoring the expression levels of both early in clinic can help identify high-risk groups and take corresponding preventive measures.

[KEY WORDS] Pelvic floor dysfunction; Primipara; TIMP-1; Elafin

产后盆底功能障碍(pelvic floor dysfunction, PFD)是一种常见的妇产科并发症,包括盆底器官脱垂、压力性尿失禁、粪便失禁等症状,严重影响患者的日常生活和健康^[1]。PFD的发病机制复杂,主要与分娩过程中盆底肌肉、筋膜和神经的损伤有关^[2]。近年来研究发现,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的重塑在骨盆底脱垂中扮演着关键角色,而ECM重塑过程则涉及多种蛋白酶和抑制剂的平衡^[3]。组织金属蛋白酶抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases-1, TIMP-1)是一种广谱金属蛋白酶抑制剂,在ECM重塑、细胞增殖和凋亡等生理过程中发挥重要作用^[4]。弹性蛋白酶抑制剂(Elafin)则是一种强效的丝氨酸蛋白酶抑制剂,在维持组织弹性和完整性方面发挥重要作用^[5]。TIMP-1和elafin在ECM重塑和组织修复中的协同作用,可能共同影响PFD的发生发展。因此,本研究主要探讨血清TIMP-1和elafin水平对初产妇产后PFD的预测价值,以期对PFD的早期诊断、预防和治疗提供新的思路和理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年1月至2023年12月秦皇岛市第一医院收治的98例PFD初产妇设为PFD组,另选择同期100名产后复查无PFD的初产妇设为对照组。PFD组:年龄范围为22~35岁,平均(28.63±3.45)岁;产前体质量指数(body mass index, BMI)范围为18.5~29.8 kg/m²,平均(23.76±2.89) kg/m²;孕次范围为1~3次,平均为(1.42±0.63)次;分娩孕周范围为37~41周,平均(39.24±1.18)周。对照组:年龄范围为23~36岁,平均(29.05±3.62)岁;产前BMI范围为18.2~30.1 kg/m²,平均(23.92±3.01) kg/m²;孕次范围为1~3次,平均(1.38±0.59)次;分娩孕周范围为37~42周,平均(39.41±1.25)周。两组一般基线资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。全部入试者及家属知情并自愿签署同意书,本院医学伦理委员会已审核批准本研究。

PFD纳入标准:①符合相关PFD诊断标准^[6],经盆底功能检查和问卷调查,出现以下一项或多项症状:压力性尿失禁、盆腔器官脱垂、排便功能障碍或性功能障碍;②年龄20~40岁;③单胎、足月、初次分娩。排除标准:①既往有盆底功能障碍病史;②妊娠期合并严重并发症如妊娠期高血压、妊娠期糖尿病等;③合并其他系统严重疾病如心脏病、肝肾功能不全等;④有盆腔手术史;⑤精神疾病患者或无法配合者。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集所有入试者的临床资料,包括:年龄、产前BMI、孕期BMI增加、孕次、分娩孕周、分娩方式、第二产程时间延长、新生儿体质量、学历、职业、饮酒史、吸烟史以及血清TIMP-1、elafin水平。

1.2.2 血清TIMP-1、elafin水平检测

在研究对象妊娠37~40周时,采集空腹外周静脉血2 mL,置于无抗凝剂试管中,室温静置30 min后,以3 000 r/min离心15 min(离心半径10 cm),分离血清。采用酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清TIMP-1和elafin水平,严格按照试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)说明书操作。

1.3 统计学分析

采用软件SPSS 24.0处理数据,计量资料均使用($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用受试者工作特性(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价血清TIMP-1、elafin与初产妇产后PFD的预测价值,采用二分类Logistic逐步回归分析探讨初产妇产后PFD的影响因素, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清TIMP-1、elafin水平比较

PFD组血清TIMP-1、elafin水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

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

组别	n	TIMP-1 (pg/mL)	elafin (pg/mL)
对照组	100	152.74±22.83	16.95±2.03
PFD组	98	79.21±9.50	5.87±0.64
t值		29.480	51.577
P值		<0.001	<0.001

2.2 血清TIMP-1、elafin对初产妇产后PFD的预测价值

血清TIMP-1、elafin以及两者联合诊断初产妇产后PFD的AUC分别为0.734、0.809、0.921。见表2、图1。

表2 血清TIMP-1、elafin对初产妇产后PFD的预测价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	特异度	灵敏度
TIMP-1	0.734	0.684~0.779	109.31 pg/mL	0.547	0.901
elafin	0.809	0.764~0.854	10.72 pg/mL	0.638	0.901
TIMP-1+elafin	0.921	0.871~0.966		0.852	0.830

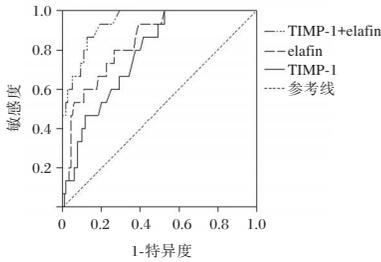


图1 血清TIMP-1、elafin评价初产妇产后PFD的ROC曲线

2.3 初产妇产后PFD的单因素分析

两组初产妇年龄、产前BMI、孕次、分娩孕周、

学历、职业、吸烟史、饮酒史比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。PFD组孕期BMI增加、分娩方式为阴道分娩、第二产程时间延长、新生儿体重 ≥ 3.5 kg占比高于对照组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表3。

2.4 初产妇产后PFD的多因素Logistic回归分析

以初产妇是否发生产后PFD作为因变量(是=1、否=0),将单因素分析有意义的指标以及血清TIMP-1、elafin作为自变量进行多因素Logistic回归分析,结果显示,分娩方式为阴道分娩,第二产程时间延长,血清TIMP-1 <109.31 pg/mL,血清elafin <10.72 pg/mL是影响初产妇产后PFD的危险因素 ($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

PFD是初产妇常见的一种产后并发症,可能与首次分娩对盆底结构造成的损伤有关。在分娩过程中,盆底肌肉、筋膜和神经可能被过度拉伸或压迫,从而导致功能障碍。早期识别和干预对于改善患者预后至关重要。

盆底支持结构主要由结缔组织构成,其中胶原蛋白是最重要的成分,而盆底功能障碍性疾病与盆底组织胶原代谢异常密切相关。在胶原代谢过程中,MMPs起着关键作用^[7]。MMPs能够降解ECM中的各种蛋白成分,其重塑对组织维持正常功能至关重要^[8]。在盆底组织中,ECM重塑的失

表3 初产妇产后PFD的单因素分析 [$(\bar{x} \pm s)$, n(%)]

项目	对照组(n=100)	PFD组(n=98)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	29.05±3.62	28.63±3.45	0.835	0.404
产前BMI(kg/m ²)	24.29±1.82	24.12±1.73	0.673	0.501
孕期BMI增加 ≥ 15 kg/m ²	37(37.00)	54(55.10)	6.530	0.011
孕次(次)	1.38±0.59	1.42±0.63	0.461	0.645
分娩孕周(周)	39.41±1.25	39.24±1.18	0.984	0.326
分娩方式为阴道分娩	42(42.00)	61(62.24)	5.847	0.016
第二产程时间延长	30(30.00)	51(52.04)	9.947	0.002
新生儿体重 ≥ 3.5 kg	25(25.00)	48(48.98)	12.228	<0.001
学历初中及以下	20(20.00)	25(25.51)	0.856	0.355
职业为体力劳动	26(26.00)	29(29.59)	0.318	0.573
饮酒史	25(25.00)	27(27.55)	0.166	0.683
吸烟史	13(13.00)	10(10.20)	0.377	0.539

表4 初产妇产后PFD的多因素logistic回归分析

变量	赋值	β 值	SE值	Wald χ^2	OR(95% CI)	P值
孕期BMI增加 ≥ 15 kg	否=0;是=1	0.449	0.245	3.359	1.567(0.969~2.532)	0.067
分娩方式为阴道分娩	否=0;是=1	0.826	0.249	11.004	2.284(1.402~3.721)	0.001
第二产程时间延长	否=0;是=1	0.783	0.252	9.654	2.188(1.335~3.586)	0.002
新生儿体质量 ≥ 3.5 kg	否=0;是=1	0.592	0.356	2.765	1.808(0.900~3.632)	0.096
TIMP-1	≥ 109.31 pg/mL=0; <109.31 pg/mL=1	1.186	0.302	15.423	3.274(1.811~5.918)	<0.001
elafin	≥ 10.72 pg/mL=0; <10.72 pg/mL=1	1.507	0.373	16.323	4.513(2.173~9.375)	<0.001

衡可能导致支持结构的改变,引发盆底功能障碍^[9]。MMPs活性的增加可能导致ECM过度降解,而其活性的抑制则可能影响组织的正常更新和修复^[10]。TIMPs是MMPs的天然抑制剂,TIMP-1能够抑制多种MMPs的活性^[11]。TIMP-1通过与MMPs形成1:1复合物来调节其活性,从而参与ECM重塑的调控。既往研究显示,TIMP-1低表达与产后压力性尿失禁病情程度密切相关,是预测其疾病严重程度的有效标志物^[12]。elafin是一种重要的丝氨酸蛋白酶抑制剂,在维持组织弹性和完整性方面发挥重要作用^[13]。在盆底组织中,elafin可能通过抑制中性粒细胞弹性蛋白酶和蛋白酶3的活性,保护组织免受过度炎症反应和蛋白水解的损害。在林婕等人的研究中,自然分娩的压力性尿失禁患者的血清TIMP-1和elafin表达均较低,是初产妇发生压力性尿失禁的危险因素^[14]。

本研究发现,PFDD组患者血清TIMP-1、elafin水平低于对照组。分析其原因,对初产妇而言,妊娠37~40周是一个关键时期,盆底组织正经历着显著的生理变化和适应过程,初产妇的盆底组织面临着前所未有的压力和挑战。随着胎儿的生长和子宫的扩大,盆底肌肉和结缔组织被持续拉伸,导致组织微观结构的改变,引发一系列代偿性反应,包括ECM的重塑过程^[15]。机体可能优先调动资源用于支持胎儿生长和准备分娩,而对盆底组织的保护性反应相对减弱,导致TIMP-1的合成和分泌受到抑制。TIMP-1作为MMPs的重要抑制剂,其水平的降低反映了盆底组织保护机制的相对不足。同样,elafin作为一种重要的弹性蛋白酶抑制剂,较低的水平可能意味着盆底组织对炎症和机械损伤的防御能力下降。综合而言,初产妇在妊娠晚期可能由于盆底组织的持续机械应激、机体资源分配的优先顺序、缺乏分娩经验导致的准备不足、激素水平变化以及其他个体因素,导致TIMP-1和elafin的水平异常。进一步研究结果显示,血清TIMP-1、elafin两者联合诊断初产妇产后PFDD的AUC高于单独指标,效能较好。多因素分析结果发现,分娩方式为阴道分娩、第二产程时间延长也是影响初产妇产后PFDD的危险因素。对于这类患者临床需重点检测,以改善预后。

综上所述,血清TIMP-1、elafin低水平与初产妇产后发生PFDD相关,二者对初产妇产后PFDD具有一定的预测价值,临床可早期监测两者表达水平,以识别高风险人群并采取相应的预防措施。

参考文献

- [1] 李颖萍,秦二梅,崔平平.产后盆底康复护理在产后盆底功能障碍患者中的应用[J].保健医学研究与实践,2023,20(7):135-139.
- [2] Schütze S, Heinloth M, Uhde M, et al. The effect of pelvic floor muscle training on pelvic floor function and sexuality postpartum. A randomized study including 300 primiparous [J]. Arch Gynecol Obstet, 2022, 306(3):785-793.
- [3] Gardella B, Scatigno AL, Belli G, et al. Aging of Pelvic Floor in Animal Models: A Systematic Review of Literature on the Role of the Extracellular Matrix in the Development of Pelvic Floor Prolapse [J]. Front Med (Lausanne), 2022, 9: 863945.
- [4] Tuharov Y, Krenytska D, Halenova T, et al. Plasma Levels of MMPs and TIMP-1 in Patients with Osteoarthritis After Recovery from COVID-19[J]. Rev Recent Clin Trials, 2023, 18(2):123-128.
- [5] Aimond G, Nicolle S, Debret R, et al. Dill Extract Preserves Dermal Elastic Fiber Network and Functionality: Implication of Elafin[J]. Skin Pharmacol Physiol, 2023, 36(5):249-258.
- [6] Frawley H, Shelly B, Morin M, et al. An International Continence Society (ICS) report on the terminology for pelvic floor muscle assessment[J]. Neurourol Urodyn, 2021, 40(5):1217-1260.
- [7] 朱正阳,林嘉元,裴子旭,方超友,楼美清.转录因子ZBTB20对垂体瘤侵袭发展的影响[J].中华神经外科疾病研究杂志,2024,18(3):26-29
- [8] Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9739.
- [9] Feng J, Li Y, Jin X, et al. ATF3 regulates oxidative stress and extracellular matrix degradation via p38/Nrf2 signaling pathway in pelvic organ prolapse [J]. Tissue Cell, 2021, 73: 101660.
- [10] 汪新宇,程永玲,刘晓宁,等.阴道壁组织中TGF- β 1、MMP-9、Nrf 2表达在盆底功能障碍患者中的临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(10):1736-1740.
- [11] 杨礼菊,李鹏云.血管壁干细胞迁移及分化机制的研究进展[J].西南医科大学学报,2022,45(2):176-180.
- [12] 王薇,谢雪玲,孔国爱,等.血清TIMP-1、VEGF水平对自然分娩初产妇产后压力性尿失禁严重程度的预测价值[J].临床误诊误治,2024,37(11):70-75.
- [13] Wang C, Liao Y, He W, et al. Elafin promotes tumour metastasis and attenuates the anti-metastatic effects of erlotinib via binding to EGFR in hepatocellular carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1):113.
- [14] 林婕,白丽娟,沈秋妮,等.血清TIMP-1联合elafin水平对自然分娩初产妇产后压力性尿失禁的预测价值[J].临床和实验医学杂志,2023,22(15):1628-1632.
- [15] 王伟庆.肥胖状态下炎症参与白色脂肪组织纤维化的研究进展[J].感染、炎症、修复,2022,23(4):245-249+256.

弹性髓内针对前臂骨干骨折 OPG、RANKL 的影响

张玉海^{1*} 房玉利² 苗青² 张宝旗³ 邹继林¹ 刘伟刚¹

[摘要] 目的 探究弹性髓内针(ESIN)治疗儿童前臂骨干骨折的疗效及对骨保护素(OPG)/核因子- κ B受体活化因子配体(RANKL)通路的影响。方法 随机选取2023年1月至2023年10月期间大庆创伤医院骨外科收治的104例前臂骨干骨折患儿,按治疗方案分为克氏针组(26例)、钢板螺钉组(26例)及ESIN组(52例)。比较患儿前臂功能情况、围术期指标、疼痛评分及并发症发生情况。结果 ESIN组在术后3月及术后8月的上肢功能评分(DASH)低于其他2组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ESIN组的手术时间、出血量、愈合时间均低于其他2组,差异有统计学意义($P<0.05$)。术后3 d、7 d、30 d时,ESIN组的视觉模拟疼痛评分(VAS)低于其他2组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ESIN组并发症总发生率显著低于其他2组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后ESIN组患儿OPG表达水平较其他2组更高、RANKL水平更低、OPG/RANKL比值更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ESIN治疗儿童前臂骨折安全有效,可通过影响OPG/RANKL通路改善患儿预后。

[关键词] 骨保护素/核因子- κ B受体活化因子配体通路;弹性髓内针;儿童;前臂骨折

The influence of OPG and RANKL on forearm shaft fracture and prognosis model construction of elastic intramedullary

ZHANG Yuhai^{1*}, FANG Yuli², MIAO Qing², ZHANG Baoqi³, ZOU Jilin¹, LIU Weigang¹

(1. Sixth Ward of Hand Surgery, Department of Bone Surgery, Daqing Trauma Hospital; Daqing, Heilongjiang, China, 163000; 2. Department 6 of Orthopedics, Harbin Fifth Hospital; Harbin, Heilongjiang Province; 150040; 3. Daqing Trauma Hospital; Daqing, Heilongjiang, China, 163000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the efficacy of elastic intramedullary acupuncture (ESIN) in the treatment of forearm shaft fractures in children and its effect on the osteopontin (OPG)/nuclear factor- κ B receptor activator ligand (RANKL) pathway. **Methods** A total of 104 children with forearm shaft fracture admitted to the Sixth ward of the Department of Orthopedics in Daqing Trauma Hospital from January 2023 to October 2023 were randomly selected and divided into the Kirsch needle group (26 cases), the plate screw group (26 cases) and the ESIN group (52 cases) according to the treatment plan. Forearm function, perioperative indexes, pain score and complications were compared. **Results** The upper limb function scores (DASH) of the ESIN group were lower than those of the other 2 groups at 3 months postoperatively and at 8 months postoperatively, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The operative time, bleeding volume, and healing time of the ESIN group were lower than those of the other 2 groups, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). At 3 d, 7 d and 30d postoperatively, the visual analogue pain scores (VAS) of the ESIN group were lower than those of the other 2 groups, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The total complication rate of the ESIN group was significantly lower than those of the other 2 groups, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). After treatment, children in the ESIN group had higher OPG expression levels, lower RANKL levels, and higher OPG/RANKL ratios than

基金项目:黑龙江省卫生健康委科研课题(20220404070957);大庆市指导性科技计划项目(ZDY-2024-85)

作者单位:1.大庆创伤医院骨外科手外科六病区,黑龙江,大庆 163000

2.哈尔滨市第五医院骨六科,黑龙江,哈尔滨 150040

3.大庆创伤医院机关,黑龙江,大庆 163000

*通信作者:张玉海, E-mail: 13836733603@163.com

those in the other 2 groups, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** ESIN is safe and effective in the treatment of forearm fractures in children, and may improve the prognosis of children by affecting the OPG/RANKL pathway.

[KEY WORDS] Osteoprotegerin/Receptor activator of NF-kappa B ligand pathway; Elastic stable intramedullary nailing; Children; Forearm fracture

儿童前臂骨干骨折是临床常见的骨科损伤类型之一,主要发生在活动量较大的学龄儿童中^[1,2]。由于儿童骨骼发育尚未完全,骨折后的修复与成年人的生理特点存在较大差异,因此选择合适的治疗方案至关重要。传统的治疗方法包括克氏针内固定以及钢板螺钉内固定,但这些方法在患儿骨骼愈合过程中可能导致较长的恢复期和较高的并发症发生率^[3]。近年来,弹性髓内针(elastic stable intramedullary nailing, ESIN)作为一种微创内固定技术,因其操作简单、对骨骼生长的影响较小,逐渐成为治疗儿童长骨骨折的理想选择之一^[4]。然而,尽管ESIN在儿童骨折治疗中的应用逐渐增多,但其具体的骨修复机制尚不完全明确。现有研究表明,骨代谢调节中的骨保护素(osteoprotegerin, OPG)/核因子- κ B受体活化因子配体(receptor activator of NF-kappa B ligand, RANKL)通路在骨折修复过程中起着关键作用^[5]。因此,本研究旨在探讨ESIN治疗儿童前臂骨折的疗效,及OPG/RANKL通路在骨折愈合中的作用机制,为优化治疗方案和改善临床预后提供理论依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

随机选取大庆创伤医院骨外科在2023年1月至2023年10月内治疗的前臂骨干骨折患儿104例,根据治疗方法分为克氏针组、钢板螺钉组和ESIN组,各组例数分别为26、26、52例,每组纳入患儿达到目标例数后即停止纳入。各组一般资料情况的差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。本研究已通过大庆创伤医院伦理委员会审核(伦理编号:20220001)

诊断标准^[6]:①有巨大暴力外伤史;②X线或CT影像学显示前臂骨干连续性中断或发现骨折线;③患侧肢体受伤处疼痛明显,主动活动受限,被动活动肢体时可触及骨擦感或闻及骨擦音。

纳入标准:①经X线或CT线检查显示前臂骨干骨折;②新鲜闭合性骨折,且伤后未做处理;③可配合术后功能康复锻炼并进行定期复查;④10~

表1 3组患儿一般资料情况比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

指标	克氏针组 ($n=26$)	钢板螺钉组 ($n=26$)	ESIN组 ($n=52$)	F/χ^2 值	P 值
平均年龄(岁)	12.86 \pm 1.97	13.78 \pm 1.88	12.69 \pm 1.37	1.5014	0.231
性别					
男	15(57.59)	14(53.85)	32(61.54)	0.038	0.986
女	11(42.31)	12(46.15)	20(38.46)		
平均体质量指数(kg/m ²)	19.61 \pm 1.68	19.67 \pm 2.16	19.51 \pm 1.87	0.033	0.992
患肢侧					
左	12(46.15)	11(42.31)	24(45.15)	0.153	0.944
右	14(53.85)	15(57.59)	28(53.85)		
尺骨桡骨					
单纯尺骨	8(30.77)	8(30.77)	13(25.00)	0.532	0.971
单纯桡骨	6(23.08)	6(23.08)	15(28.85)		
双骨骨折	12(46.15)	12(46.15)	24(46.15)		
损伤至手术时间(d)	0.59 \pm 0.87	0.62 \pm 0.45	0.63 \pm 0.34	0.278	0.782

16岁,骨骺尚未闭合;⑤精神状态良好,肢体无先天畸形。⑥家属对本研究均知情并同意。排除标准:①伴有严重外伤或脏器损伤;②无法耐受研究中任一治疗方案;③合并其他慢性疾病;④体重 >50 kg。

1.2 方法

1.2.1 手术方法

①克氏针:对骨折部位进行闭合复位。选择合适的克氏针,从骨折的远端或近端插入,穿越骨折线直至对侧皮质,克氏针固定后视情况辅助使用石膏固定。②钢板螺钉:对骨折进行开放复位。选择合适大小的钢板和螺钉,通过钻孔和攻丝,将钢板固定在骨折的上下两端。然后使用螺钉将钢板固定在骨头上,术后辅助使用石膏固定。③ESIN:弹性髓内针预弯成与骨髓腔相匹配的弧度。对于尺骨骨折,从近端插入髓内针,而对于桡骨骨折,则从远端插入。在干骺端外侧皮质进行小切口,将髓内针沿斜行45°置入,直至干骺端松质骨。调整髓内针以匹配尺桡骨的自然弧度。

1.2.2 实验室指标

手术前及术后一周时分别采集所有患儿静脉血3 mL,离心5 min(转速3 000 r/min、离心半径10 cm),酶联免疫吸附测定法检测患儿血清OPG、RANKL水平(酶标仪产自深圳雷杜公司,RT6000;试剂盒产自Abcam公司)。计算OPG/RANKL比值。

1.2.3 资料收集

(1)记录围术期资料,包括手术时间、手术出血量及住院时间。(2)分别记录3组患儿在术后3月、8月的前臂功能情况。采用上肢功能评定表(disabilities of the arm, shoulder and hand, DASH)^[7]评价,总得分0~100分,0分代表上肢功能正常,分数越高表示前臂功能越不良。(3)记录患儿术前、术后7 d、术后30 d、术后3月的疼痛情况。采用视觉模拟评分法(Visual Analogue Scale, VAS)^[8]来评价,评分范围0~10分,分值越大疼痛程度越剧烈。(4)术后随访8个月,收集随访期间并发症发生情况,包括伤口感染、延迟愈合、再骨折、愈合畸形、皮肤激惹等。

1.3 统计学方法

采用SPSS 21.0统计学软件对所有数据进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较用*t*检验,多组间比较用*F*检验;计数资料以*n*(%)表示,采用 χ^2 检验。以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患儿不同时间点DASH评分比较

克氏针组、钢板螺钉组及ESIN组术后3月和术后8月DASH评分分别为【(35.78±3.48)、(33.47±3.64)、(30.86±3.56)分】和【(20.24±3.04)、(18.48±2.78)、(16.23±3.55)分】,术后3月和术后8月均为克氏针组>钢板螺钉组>ESIN组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

2.2 3组患儿手术时间、术中出血量、住院时长比较

3组患儿手术时间、住院时间为克氏针组>钢板螺钉组>ESIN组,术中出血量为钢板螺钉组>克氏针组>ESIN组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

表2 3组患儿的手术时间、术中出血量、住院时长情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	手术时间/min	术中出血量/mL	住院时间/d
克氏针组	26	77.62±10.12	55.73±3.86	10.54±3.62
钢板螺钉组	26	68.64±8.26 ^a	60.64±6.48 ^a	12.68±3.75 ^a
ESIN组	52	35.26±9.45 ^{ab}	8.25±5.02 ^{ab}	3.86±1.37 ^{ab}
<i>F</i> 值		155.042	989.838	100.546
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与克氏针组比较,^a*P*<0.05;与钢板螺钉组比较,^b*P*<0.05。

2.3 3组患儿疼痛评分VAS评分比较

3组术后3 d、术后7 d、术后30 d的VAS评分为克氏针组、钢板螺钉组>ESIN组,异有统计学意义(*P*<0.05)。见表3。

表3 3组患儿VAS评分情况 ($\bar{x} \pm s$,分)

组别	<i>n</i>	术前	术后3 d	术后7 d	术后30 d
克氏针组	26	7.63±0.58	4.51±0.49 ^c	2.40±0.33 ^c	1.34±0.22 ^c
钢板螺钉组	26	7.58±0.60	4.53±0.52 ^c	2.38±0.29 ^c	1.53±0.16 ^c
ESIN组	52	7.56±0.54	4.26±0.48 ^{abc}	2.23±0.27 ^{abc}	0.25±0.18 ^{abc}
<i>F</i> 值		0.115	2.749	4.306	264.133
<i>P</i> 值		0.943	0.042	0.006	<0.001

注:与克氏针组比较,^a*P*<0.05;与钢板螺钉组比较,^b*P*<0.05。与同组前一时间点比较,^c*P*<0.05。

2.4 3组患儿不良反应情况比较

3组不良反应发生率为克氏针组、钢板螺钉组>ESIN组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表4。

表4 3组患儿不良反应情况比较 [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	延迟愈合	伤口感染	再移位	再骨折	皮肤激惹	总发生率
克氏针组	26	0(0.00)	4(15.38)	3(11.54)	0(0.00)	0(0.00)	7(26.92)
钢板螺钉组	26	2(7.69)	4(15.38)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	6(23.08)
ESIN组	52	0(0.00)	0(0.00)	1(1.92)	1(1.92)	3(5.77)	5(9.62) ^{ab}
χ^2 值							4.645
<i>P</i> 值							0.043

注:与克氏针组比较,^a*P*<0.05;与钢板螺钉组比较,^b*P*<0.05。

2.5 3组患儿血清OPG、RANKL水平与比值比较

3组患儿手术后OPG、OPG/RANKL为ESIN组>克氏针组、钢板螺钉组,RANKL为克氏针组、钢板螺钉组>ESIN组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表5。

3 讨论

与成年人相比,儿童骨骼的愈合能力更强,且其骨膜厚度较大、再生能力更强,这使得儿童骨折的修复过程通常较为迅速,因此临床上多选择保守治疗如石膏固定,手术治疗则有钢板、克氏针等^[9]。ESIN的优点在于其微创特性,能够有效维持骨折端的稳定,同时允许一定的骨折微动,有助于促进骨痂形成和加快愈合^[10]。

本研究结果显示,ESIN组患儿在术后各时间点的DASH评分显著低于其他治疗组,术后3 d、7 d和30 d的VAS评分均低于其他治疗组,术后并发症总发生率显著低于其他2组。这与ESIN的微创特性和稳定的骨折固定效果密切相关。ESIN技术通过髓内固定来维持骨折断端的对位与稳定,同时保留了骨周围的软组织和血供,减少了手术对骨骼和软组织的干扰^[11]。本研究结果中围术期指标也佐证此观点,ESIN组的手术时间、出血量以及住院时间均显著低于其他2组。ESIN的微创特性

表5 3组患儿血清OPG、RANKL水平与比值情况($\bar{x} \pm s$)

组别	n	OPG (pg/mL)		RANKL (pg/mL)		OPG/RANKL	
		手术前	手术后	手术前	手术后	手术前	手术后
克氏针组	26	255.45±21.34	292.76±25.13 ^c	18.95±3.65	14.89±2.33 ^c	13.48±4.87	19.66±3.86 ^c
钢板螺钉组	26	254.86±22.07	290.95±20.36 ^c	19.26±2.68	14.76±2.58 ^c	13.23±4.91	19.71±3.77 ^c
ESIN组	52	256.12±24.65	341.95±21.95 ^{abc}	19.17±2.84	10.15±1.36 ^{abc}	13.36±5.24	33.68±4.49 ^{abc}
F值		0.025	57.422	0.071	66.259	0.021	132.231
P值		0.975	<0.001	0.923	<0.001	0.979	<0.001

注:与克氏针组比较,^aP<0.05;与钢板螺钉组比较,^bP<0.05。与同组手术前比较,^cP<0.05。

能最大限度地减少手术对骨膜和血管的损伤,减轻术后炎症反应和疼痛,帮助患儿能够更早地开始早期功能恢复训练,进而促进术后早期康复。这种方法不仅缩短了愈合时间,还减少了功能障碍的发生率,促进了儿童骨折的快速恢复^[12]。此外,ESIN的髓内固定方式有关,还可以减少骨折部位的应力集中,降低感染、畸形愈合等常见并发症的风险。其围术期指标也提示,ESIN减少了术中出血量、缩短了手术时间,也能帮助降低手术并发症的发生率,最后减少患儿住院时间、节省费用,家属及患儿术后护理的依从性好,并发症发生率较低^[13]。

3组患儿术后OPG/RANKL均升高,骨折修复过程中,RANKL通过与破骨细胞表面的核因子 κ B受体活化因子配体(Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand, RANK)受体结合,促进破骨细胞的分化和活性,从而增加骨吸收。相反,OPG作为RANKL的假受体,通过与RANKL结合阻止其与RANK结合,进而抑制破骨细胞的形成和活性,减少骨吸收,从而保护骨质^[14]。因此保持较高的OPG/RANKL比值有助于避免骨过度吸收,从而确保骨的长期稳定性和功能恢复,降低感染风险和再次手术的需要,进一步改善患者的预后。周贵龙等^[15]研究指出,使用掌侧钢板或克氏针辅助外固定治疗桡骨远端粉碎骨折患者术后3个月RANKL显著低于术前,OPG显著高于术前。邓雄伟等^[16]研究显示,使用股骨近端防旋髓内钉治疗骨质疏松性股骨粗隆间骨折后,患者血清OPG水平显著升高。提示OPG/RANKL与骨折的愈合密切相关。本研究结果表明ESIN可能通过减少手术创伤,保护骨折端的微环境,减少骨折部位的过度炎症反应,调节了免疫表达从而促进OPG的表达和RANKL的减少,有利于骨折的愈合,OPG/RANKL通路可以作为骨折修复过程临床预测预后的潜在标志物,为儿童前臂骨折治疗及预后评估提供参考^[17]。

综上所述,ESIN在治疗儿童前臂骨折中具有

显著的临床优势;OPG/RANKL通路作为骨折愈合的关键调节机制,为未来的骨折治疗提供了新的研究方向和临床应用的潜力。本研究尚有一定的局限性,研究为单中心研究且纳入样本量较少,研究结果可能存在一定偏差,未来仍需扩大样本量,进一步验证本研究结果的准确性,并深入探索不同治疗策略如何影响OPG/RANKL表达,特别是在个体化治疗中,是否可以通过药物或生物制剂进一步调节这一通路以改善儿童骨折的预后。

参考文献

- [1] Dávid ÁL, Mucsina F, Antal E, et al. Comparison of Titanium versus Resorbable Intramedullary Nailing in Pediatric Forearm Fractures[J]. Children, 2024, 11(8):942.
- [2] 李长虹,金薇,王楠.四肢骨折儿童术后愈合不良情况及影响因素分析[J].华南预防医学, 2023, 49(8):1035-1037.
- [3] T Hansen R, Borghegn NW, Gundtoft PH, et al. Change in treatment preferences in pediatric diaphyseal forearm fractures: a Danish nationwide register study of 36,244 fractures between 1997 and 2016[J]. Acta orthopaedica, 2023, (94):32-37.
- [4] Poutoglidou F, Metaxiotis D, Kazas C, et al. Flexible intramedullary nailing in the treatment of forearm fractures in children and adolescents, a systematic review [J]. J Orthopa, 2020, 14(20):125-130.
- [5] 吴伟鹏,许钿,蔡锐涛,等.基于OPG/RANKL通路探讨血府逐瘀汤治疗肋骨骨折的疗效观察[J].中国中西医结合杂志, 2024, 44(1):107-110.
- [6] 陈安民,李锋.骨科疾病诊疗指南(第3版)[M].北京:科学出版社, 2013:39-40.
- [7] Braitmayer K, Dereskewitz C, Oberhauser C, et al. Examination of the applicability of the disabilities of the arm, shoulder and hand (DASH) questionnaire to patients with hand injuries and diseases using rasch analysis[J]. Patient, 2017; 10(3): 367-376.
- [8] 刘大山,孙一田,段晓堃,等.儿童Jacob III型肱骨外髁骨折经皮与开放克氏针固定比较[J].中国矫形外科杂志, 2024, 32(18):1663-1668.
- [9] Caruso G, Caldari E, Sturla FD, et al. Management of pediatric forearm fractures: what is the best therapeutic choice? A narrative review of the literature[J]. Musculoskeletal surgery, 2020, 105(3):225-234.

(下转第687页)

基于MALDI-TOF MS技术检测 *CYP2D6*、*CYP2C19* 和 *HTR1A* 基因多态性方法的建立

吴文慧¹ 蒋析文^{1,2*}

[摘要] 目的 基于基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)技术开发一种 *CYP2D6*、*CYP2C19* 和 *HTR1A* 基因多态性检测的新方法。方法 针对本次选取的 *CYP2D6*10*、*CYP2C19*2*、*HTR1A* rs6295 序列设计特异性质谱引物和测序引物,利用结合MALDI-TOF MS技术建立检测方法并对准确性、检测限、特异性和重复性做性能分析与验证。采用一代测序作为对比方法,对81例未知型别的临床外周血样本,对三个基因多态性检测结果一致性进行分析。结果 该方法可准确区分出 *CYP2D6*10*、*CYP2C19*2* 和 *HTR1A* rs6295 位点所有型别。检测上下限分别为 90 ng/ μ L 和 5 ng/ μ L,该方法具有良好的准确性、特异性和重复性。质谱结果与测序结果突变型别一致率达到100%。结论 本研究开发的方法能够准确地检测 *CYP2D6*10*、*CYP2C19*2* 和 *HTR1A* rs6295 的基因型,适用于临床推广。

[关键词] MALDI-TOF MS; *CYP2D6*10*; *CYP2C19*2*; *HTR1A*; 基因多态性

Establishment of a MALDI-TOF MS method for the detection of *CYP2D6*, *CYP2C19* and *HTR1A* gene polymorphisms

WU Wenhui¹, JIANG Xiwen^{1,2*}

(School of Basic Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong, China, 510006; Guangzhou Da'an gene Co., Ltd. Guangzhou, Guangdong, China, 510665)

[ABSTRACT] **Objective** To establish a novel method for detecting polymorphisms in *CYP2D6*, *CYP2C19* and *HTR1A* genes using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). **Methods** Specific mass spectrometry primers and sequencing primers were designed for the selected sequences of *CYP2D6*10*, *CYP2C19*2*, and *HTR1A* rs6295. A detection method was developed using MALDI-TOF MS technology with nucleic acid samples extracted from clinical peripheral blood with known genotypes. The method's performance was validated for accuracy, detection limit, specificity, and repeatability. The Sanger sequencing was used as a comparison method to detect 81 cases of clinical peripheral whole blood samples of unknown types, and the consistency of the detection results of the three gene polymorphisms was analyzed. **Results** This method accurately identifies all genotypes of *CYP2D6*10*, *CYP2C19*2*, and *HTR1A* rs6295, with a dynamic range of 5 ng/ μ L to 90 ng/ μ L. Validation confirmed high accuracy, specificity, and reproducibility, with 100% concordance between mass spectrometry and sequencing results. **Conclusion** The developed MALDI-TOF MS-based detection method for *CYP2D6*10*, *CYP2C19*2* and *HTR1A* rs6295 will provide an accurate way to clinically genotype these three sequences in clinical practice.

[KEY WORDS] MALDI-TOF MS; *CYP2D6*10*; *CYP2C19*2*; *HTR1A*; Gene polymorphism

项目基金:广东省疾病防控科技协同创新中心(2018B020207006)

作者单位:1. 广东药科大学基础医学院, 广东, 广州 510006

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

基因多态性指特定生物群体中频繁存在两种及以上相互独立的变异型、基因型或等位基因的现象^[1]。其中,单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)尤为常见,源于基因组单个核苷酸变异,影响基因表达、蛋白结构功能,与疾病发生及个体药物反应差异紧密相关^[2-3]。目前基因多态性检测以 PCR(Polymerase Chain Reaction)技术为主,如 ARMS-PCR(Amplification Refractory Mutation System-PCR)、数字 PCR(Digital PCR, dPCR)、实时荧光定量 PCR(Real-time fluorescence quantitative PCR)等。该类技术在引物探针设计方面较为复杂,难度较高,需针对不同目标设计筛选高特异性引物,对反应体系与扩增程序等进行优化以实现 SNP 的特异性检测,且探针的合成成本较高^[4-5]。此外,尽管经过复杂的设计和体系的优化,在准确性方面,PCR 技术在扩增复杂样本或多基因同步扩增时依然易产生非特异性扩增,导致型别误判^[6]。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS)技术具有较高的准确性,在基因多态性检测领域具备优势。该技术引物设计简易、成本可控,通过精确测定分子质量判定基因多态性,不易受非特异性扩增的干扰,准确性高。此外,该技术在检测通量方面具有优势,单次实验能分析多个样本或基因位点,检测效率高,结果直观,数据分析便捷^[7]。*CYP2D6*10*、*CYP2C19*2* 和 *HTR1A* rs6295 位点与抗抑郁药物治疗效果相关。*CYP2D6*10*、*CYP2C19*2* 基因多态性影响抗抑郁药代谢,*HTR1A* rs6295 位点关联 5-羟色胺能神经系统,影响药物与靶点结合及信号传导^[8-9]。

本研究基于 MALDI-TOF MS 技术成功构建了在单一反应体系内,同时检测 *CYP2D6*10*、*CYP2C19*2* 和 *HTR1A* rs6295 位点基因多态性的方法。

1 材料与方法

1.1 研究材料

261 例经过乙二胺四乙酸二钾(ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium, EDTA-K₂)抗凝的外周全血样本均由广州达安临床检验中心提供。

1.2 主要试剂与仪器

核酸提取仪 Smart 32(广州达安基因股份有限公司);超微量紫外分光光度计 NanoDrop one(美国 Thermo Fisher 公司);PCR 扩增仪(美国 Thermo Fisher 公司);飞行时间质谱检测仪(广州达瑞生物技术股份有限公司);核酸提取试剂盒(广州达安基因股份有限公司);iPLEX Pro, PCR Reagents & Spectro CHIP Kit-CPM 组合试剂(美国 Agena Bioscience 公司)。

1.3 全血样本 DNA 提取

采用核酸提取或纯化试剂提取外周血样本 DNA,其中 81 例用于体系建立性能验证,180 例用于临床检测性能验证。利用 Nanodrop 2000 超微量分光光度计对 DNA 的浓度和纯度进行测量。完成提取的核酸存放于 -20℃ 冰箱中备用。

1.4 引物、质粒设计与合成

根据美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库提供的 *CYP2D6*10*、*CYP2C19*2* 和 *HTR1A* rs6295 等位基因序列,采用 AssayDesign 软件设计 PCR 特异性扩增和单碱基延伸引物,同时采用 Primer premier 5.0 设计 Sanger 测序扩增引物,具体序列

表 1 PCR、单碱基延伸和测序引物序列表

名称	序列	扩增子长度(bp)
<i>CYP2D6*10</i> PCR 引物	上游	ACGTTGGATGACATGCAGCAGGTTGCC
	下游	ACGTTGGATGCTTCCTGCTCCTGGTGGGA
<i>CYP2C19*2</i> PCR 引物	上游	ACGTTGGATGTCCACTATCATTGATTATTTCCC
	下游	ACGTTGGATGGTGTGTTGATGTCCATCGATTCT
<i>HTR1A</i> rs6295 PCR 引物	上游	ACGTTGGATGGTGAATGGCGCGAGAA
	下游	ACGTTGGATGCCTGGGTCAGTCTCCAATTA
<i>CYP2D6*10</i> 单碱基延伸引物	AACGCTGGGCTGCACGCTAC	
<i>CYP2C19*2</i> 单碱基延伸引物	TGTAAGTAATTTGTTATGGGTTC	
<i>HTR1A</i> rs6295 单碱基延伸引物	GAACCGAGTGTGTCTTC	
<i>CYP2D6*10</i> 测序引物	上游	TCATGCCATGTATAAATGCCCTTCT
	下游	GTTCACTCACAGCAGAGGGCAA
<i>CYP2C19*2</i> 测序引物	上游	GAGCTTGGCATAATTGTATCTATAACCTTT
	下游	ACGCAAGCAGTCACATAACTAAG
<i>HTR1A</i> rs6295 测序引物	上游	GTCTTTGCATTCGAGTCTCTTT
	下游	TTCATTTTCGAGATGCAGTTGTT

见表1。分别构建 *CYP2D6* 基因的*2、*4位点, *CYP2C19* 基因*3、*17位点和 *HTR1A* 基因 rs10042486位点的质粒。所有引物和质粒均由上海生工生物股份有限公司合成。

1.5 MALDI-TOF MS 检测 *CYP2D6**10、*CYP2C19**2、*HTR1A* rs6295 多态性方法的建立

1.5.1 检测体系和程序

①PCR 扩增反应:PCR 反应总体积为 5 μL , 包括 10 \times PCR Buffer 0.5 μL 、25 mmol/L MgCl_2 0.4 μL 、25 mmol/L dNTP Mix 0.1 μL 、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 特异性扩增引物 Mix 1 μL 、5 U/ μL PCR 酶 0.2 μL 、ddH₂O 0.8 μL 、DNA 模板 2 μL 。PCR 扩增程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预热 2 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保持。②虾碱性磷酸酶处理:向 5 μL PCR 扩增产物中加入 2 μL SAP 混合液,包括 1.7 U/ μL SAP Enzyme 0.6 μL 、SAP buffer 0.17 μL 、ddH₂O 1.23 μL 。反应条件为:37 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;85 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保持。③单碱基延伸反应:继续在反应体系中加入 2 μL iPLEX 混合液。包括 iPLEX Buffer 0.2 μL 、iPLEX Termination Mix 0.2 μL 、特异性延伸引物 0.94 μL 、iPLEX 延伸酶 0.041 μL 、ddH₂O 0.619 μL 。延伸条件为:94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;94 $^{\circ}\text{C}$ 5 s;52 $^{\circ}\text{C}$ 5 s、80 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,5 个循环,30 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 3 min;4 $^{\circ}\text{C}$ 保持。④MALDI-TOFMS 检测:单碱基延伸产物脱盐,树脂纯化,使用质谱系统检测(DRMasSARRAY),通过 Typer4.0 对数据进行分析。

1.5.2 检测体系性能研究及验证

①准确度验证:选取 *CYP2D6**10、*CYP2C19**2 和 *HTR1A* rs6295 位点的野生型、杂合突变型和纯合突变型各 3 例。利用 MALDI-TOF MS 方法进行检测并统计质谱检测结果。②检测限验证和确认:选取 *CYP2D6**10、*CYP2C19**2 和 *HTR1A* rs6295 位点的野生型、杂合突变型和纯合突变型核酸样本各 3 例。

采用 1 \times TE 液梯度稀释至 120 ng/ μL 、90 ng/ μL 、60 ng/ μL 和 7 ng/ μL 、5 ng/ μL 、3 ng/ μL 度,取 2 μL 进行检测,重复检测 3 次,以此估算检测上限和检测下限。将初步确定的检测上限和下限浓度分别进行 20 次重复实验,统计检出率,以此确认本研究建立方法的检测上限和检测下限。③特异性检测:将已构建的突变型质粒包含 *CYP2D6* 基因的*2、*4 位点, *CYP2C19* 基因*3、*17 位点和 *HTR1A* 基因 rs10042486 位点的基因片段进行检测,分析观察质谱检测结果图谱是否有信号生成,以此验证该体系的特异性。④重复性实验:在不同日期,分别以浓度为 50 ng/ μL 和 5 ng/ μL 的 *CYP2D6**10、*CYP2C19**2 和 *HTR1A* rs6295 位点的野生型、杂合突变型和纯合突变型各 3 例作为待检样本,重复三次检测分析检测结果的一致率,验证该体系的重复性。

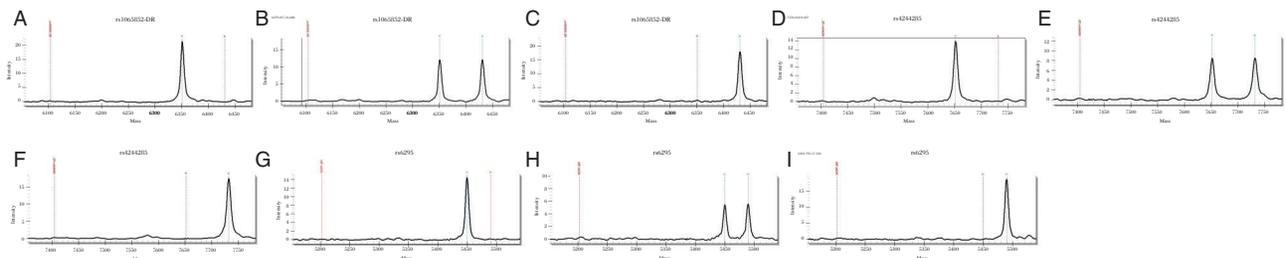
1.5.3 检测体系临床检测及验证

选取 180 例未知 *CYP2D6**10、*CYP2C19**2 和 *HTR1A* rs6295 位点型别的人外周血核酸样本,采用建立的 MALDI-TOF MS 体系和测序体系进行检测,统计检测结果的一致性并分析基因多态性的分布。

2 结果

2.1 MALDI-TOF MS 检测 *CYP2D6**10、*CYP2C19**2、*HTR1A* rs6295 多态性体系的建立

*CYP2D6**10 位点,分子质量 6351.20 Da 处单峰为野生型,6431.10 Da 处单峰为纯合突变型,6351.20 Da 和 6431.10 Da 处双峰为杂合突变,见图 1A~C。*CYP2C19**2 位点,分子质量 7652.00 Da 处单峰为野生型,7731.90 Da 处单峰为纯合突变型,7652.00 Da 和 7731.90 Da 处双峰为杂合突变,见图 1D~F。*HTR1A* rs6295 位点,分子质量 5449.60 Da 处单峰为野生型,5489.60 Da 处单峰为纯合突变型,5449.60 Da 和 5489.60 Da 处双峰为杂合突变,见图 1G~I。

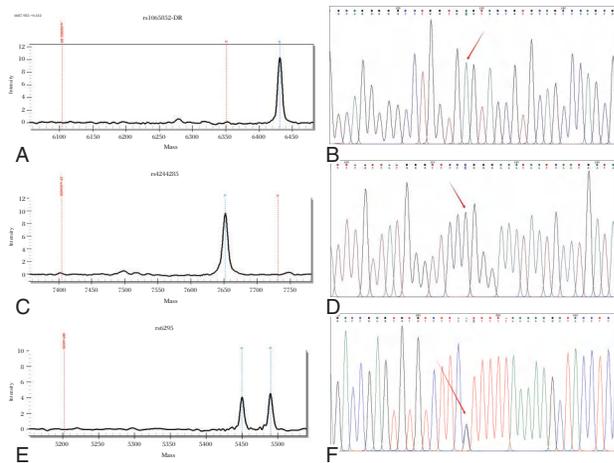


注:A、B、C 分别为 *CYP2D6**10 野生型,杂合突变和纯合突变;D、E、F 分别为 *CYP2C19**2 野生型,杂合突变和纯合突变;G、H、I 分别为 *HTR1A* rs6295 位点野生型,杂合突变和纯合突变。

图1 质谱结果图

2.2 MALDI-TOF MS 法检测 CYP2D6*10、CYP2C19*2、HTR1A rs6295 多态性的性能

准确度验证结果显示,CYP2D6*10、CYP2C19*2、HTR1A rs6295 位点的野生型、杂合突变和纯合突变型总体符合率为 100%。见图 2。检测限验证和确认结果显示,本方法能稳定检出目标基因型别 DNA 最低浓度为 5 ng/μL,最高浓度为 90 ng/μL,见表 2、表 3。特异性检测结果显示,目标产物分子质量区域均无峰值无信号产生,无交叉反应,说明该体系具有良好的特异性。见图 3。重复性验证:统计分析连续三天不同浓度样本的重复三次检测结果,CYP2D6*10、CYP2C19*2、HTR1A rs6295 位点的野生型和突变型样本检测所得结果一致率均为 100%,表明体系具备良好的重复性。



注:A、B 为 CYP2D6*10 纯合突变质谱与测序结果对比;C、D 为 CYP2C19*2 野生型质谱与测序结果对比;E、F 为 HTR1A 基因 rs6295 位点杂合突变质谱与测序结果对比。

图 2 准确性验证结果图

2.3 MALDI-TOF MS 法检测临床样本及验证结果

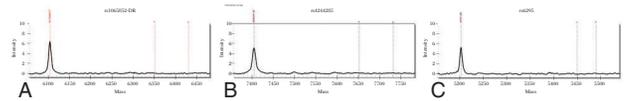
对 180 例外周血样本进行检测,同时 Sanger 测

表 2 不同浓度样本质谱检出例数统计

样本类型	CYP2D6*10			CYP2C19*2			HTR1A rs6295		
	野生型	杂合型	纯合型	野生型	杂合型	纯合型	野生型	杂合型	纯合型
120 ng/μL	3/3	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3	3/3	1/3	2/3
90 ng/μL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
60 ng/μL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
7 ng/μL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
5 ng/μL	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
3 ng/μL	2/3	1/3	1/3	1/3	2/3	1/3	2/3	1/3	1/3

表 3 检出限浓度重复 20 次检测结果

样本类型	CYP2D6*10			CYP2C19*2			HTR1A rs6295			检出率(%)
	野生型	杂合型	纯合型	野生型	杂合型	纯合型	野生型	杂合型	纯合型	
5 ng/μL	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	100
90 ng/μL	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	100



注:A 为 CYP2D6*10 交叉反应结果图;B 为 CYP2C19*2 交叉反应结果图;C 为 HTR1A rs6295 交叉反应结果图。

图 3 特异性验证结果

序方法检测验证,最终 MALDI-TOF MS 检测结果与 Sanger 测序方法一致性总体符合率为 100%。具体型别和突变频率见表 4。

表 4 180 例临床样本质谱结果及频率 [n(%)]

基因类型	CYP2D6*10	CYP2C19*2	HTR1A rs6295	一致率(%)
野生型	42(23.33)	80(44.44)	115(63.89)	100
杂合突变型	68(37.78)	81(45.00)	56(31.11)	100
纯合突变型	70(38.89)	19(10.56)	9(5.00)	100

3 讨论

本研究构建了基于 MALDI-TOF MS 技术的多重基因分型方法,在单个反应体系中实现了 CYP2D6*10、CYP2C19*2 和 HTR1A rs6295 位点的分型检测,临床验证显示其与 Sanger 测序法的基因型一致率达 100%,且具备良好的特异性和重复性。

MALDI-TOF MS 技术通过多重 PCR 扩增和单碱基延伸反应产生特定分子量的核酸产物,并基于质谱仪对质荷比的精确识别实现基因型鉴别,其物理检测原理通过直接判读分子量规避了传统荧光定量 PCR 依赖探针杂交的局限性^[10]。在通量方面,相较于传统荧光定量 PCR 技术(TaqMan 探针法,单次 96 孔板检测 96 样本),该技术采用 384 孔板结合 4 重反应/孔的设计,单次可检测 768 个样本,通量提升达 8 倍;同时,其单反应管可区分检测 20 余个靶标,突破传统荧光 PCR 单管仅能检测

1~2个位点的限制,显著提升了多靶标分析效率^[11]。在特异性方面,传统荧光PCR因依赖探针与模板的精准匹配,多重检测中易受交叉反应干扰,存在非特异性扩增,而MALDI-TOF MS技术通过分子量直接判读的检测方式,有效避免了引物二聚体和非特异性扩增的干扰,显著降低了型别错判风险^[12]。目前对于基因多态性的检测多聚焦于单个基因位点与药物疗效的关联,或采用传统检测技术,在通量与准确性上存在一定局限^[13]。本研究创新性地运用MALDI-TOF MS技术,一次性对CYP2D6*10、CYP2C19*2和HTR1A rs6295三个位点同时进行精准分型,检测效率和通量显著提高;在准确性方面,MALDI-TOF MS显示出较高的准确性,检测180例临床样本与标准测序结果完全一致,该技术基于精确测量核酸分子质量判定基因多态性,受非特异性扩增干扰小,结果更可靠。该方法为个体化治疗提供关键遗传信息,一定程度上助力临床用药个体化调整,提升疗效与安全性^[14]。

本研究虽成功完成了CYP2D6*10、CYP2C19*2和HTR1A rs6295位点体系的建立,并对体系的性能进行了评估,但仍存在一定局限性。本研究仅针对三个和抗抑郁药物相关的多态性位点建立了检测体系,还有较多的与抗抑郁治疗相关的基因和位点未包含在内如CYP3A4、SLC6A4等,因此无法完全满足抑郁症个性化诊疗的需求。未来,将增加检测的基因和位点数量,进一步探索该技术多重检测的能力,为抑郁症的个性化诊疗提供一个成本更低且更为全面的基因检测方案。

综上所述,本研究开发的方法能够准确地检测CYP2D6*10、CYP2C19*2和HTR1A rs6295的基因型,适用于临床推广。

参考文献

- [1] 陈思宇, 续慧蕾, 任季冬, 等. 药物代谢相关基因多态性对抑郁型双相情感障碍治疗的指导作用[J]. 现代医药卫生, 2021, 37(11): 1797-1799.
- [2] 赵翠翠, 张传桂. 抗体偶联药物诱导的间质性肺病的发病机制[J]. 中国肿瘤临床, 2024, 51(15): 775-779.
- [3] 彭婷婷, 朱效涛, 宋琳琳, 等. 基于单核苷酸多态性的阿片类镇痛药个体化用药研究[J]. 中国药房, 2024, 35(24): 3041-3045.
- [4] 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): 1296-1299.
- [5] 王晓彤, 解盈盈, 孙仟, 等. TaqMan探针荧光PCR定量检测白英及其伪品的研究[J/OL]. 中药材, 2025, (3): 596-600.
- [6] 张亚旭, 刘紫烟. 荧光PCR扩增相关技术[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2021, 37(07): 890-899.
- [7] 黄海燕, 孙杰, 徐炜新, 等. MALDI-TOF-MS高灵敏度分析EGFR基因多位点突变方法的建立与应用[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(3): 334-338.
- [8] 陈颖, 李琰, 刘曼华, 等. CYP1A2、CYP2D6和CYP2C19基因多态性与氯氮平及其代谢物血药浓度的相关性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(18): 1855-1859.
- [9] 郁德波, 林志雄, 林举达. 5-HTR1A基因rs6295多态性与抑郁症伴自伤行为的相关研究[J]. 医学信息, 2024, 37(9): 179-183.
- [10] Li D, Yi J, Han G, Qiao L. MALDI-TOF Mass Spectrometry in Clinical Analysis and Research [J]. ACS Meas Sci Au, 2022, 2(5): 385-404.
- [11] Zhao F, Zhang J, Wang X, et al. A multisite SNP genotyping and macrolide susceptibility gene method for Mycoplasma pneumoniae based on MALDI-TOF MS [J]. IScience, 2021, 24(5): 102447.
- [12] Chen L, Gao W, Tan X, et al. MALDI-TOF MS Is an Effective Technique To Classify Specific Microbiota [J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(3): e026412.
- [13] Chen L, Gao W, Tan X, et al. MALDI-TOF MS Is an Effective Technique To Classify Specific Microbiota [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(3): e0030723.
- [14] 李诗然, 李鹏飞, 谢婧娴, 等. 个体化用药的基础研究和临床实践研究进展[J]. 中国临床药学杂志, 2024, 33(9): 713-720.

(上接第682页)

- [10] 陈封明, 费奉龙, 唐东鸣, 等. 弹性髓内钉联合早期石膏固定治疗肥胖儿童下肢长骨干骨折的疗效[J]. 广西医学, 2019, 41(8): 989-991+1008.
- [11] 陆菁, 陈大强, 施政. 髓内钉和切开复位钢板内固定治疗尺骨骨折的疗效分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2022, 37(5): 549-551.
- [12] 高晓辉, 刘巍, 常兴伟. 弹性髓内钉对儿童前臂骨折临床疗效及并发症的影响[J]. 安徽医学, 2020, 41(12): 1420-1423.
- [13] Pogorelić Z, Vegan V, Jukić M, et al. Elastic Stable Intramedullary Nailing for Treatment of Pediatric Tibial Fractures: A 20-Year Single Center Experience of 132 Cases [J]. Children (Basel), 2022, 9(6): 845.
- [14] 王斌, 麦彩园, 谢胜德, 等. Wnt/β-catenin、BMP-2/Runx2/Osterix、OPG/RANKL、LGR4/RANKL通路的相关因子在绝经后骨质疏松性骨折中的表达[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(11): 1577-1583+1658.
- [15] 周贵龙, 袁宝明. 掌侧钢板与克氏针辅助外固定架策略在桡骨远端粉碎骨折中应用的近期与远期效果[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2021, 16(12): 1410-1414.
- [16] 邓雄伟, 乐海浪, 陈德旺, 等. 十全大补汤加减对高龄骨质疏松性股骨粗隆间骨折气血两虚型患者炎症及骨代谢指标的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(11): 123-129.
- [17] 姚琼璐, 杨雨清, 徐涛涛. 免疫微环境对绝经后骨质疏松症的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(6): 902-907+921.

SIRI、claudin-5对急性一氧化碳中毒迟发性脑病的预测价值

徐浩¹ 赵龙宇² 薛海龙¹ 兰燕¹ 潘凯婷^{3*}

[摘要] 目的 探讨全身炎症反应指数(SIRI)、紧密连结蛋白-5(claudin-5)对急性一氧化碳中毒迟发性脑病(DEACMP)的预测价值。方法 纳入2022年1月至2024年1月于中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院诊治的102例急性一氧化碳中毒(ACOP)患者作为研究对象,收集所有患者临床资料以及SIRI、claudin-5水平。根据患者是否发生DEACMP,设立非DEACMP组与DEACMP组。绘制受试者工作特性(ROC)曲线评价SIRI、claudin-5对DEACMP的预测价值,采用多因素Logistic回归分析探讨患者发生DEACMP的影响因素。结果 未发生DEACMP的患者为82例(非DEACMP组),发生DEACMP的患者为20例(DEACMP组)。DEACMP组患者SIRI水平高于非DEACMP组,claudin-5水平低于非DEACMP组,差异有统计学意义($P<0.05$)。SIRI、claudin-5及两者联合预测DEACMP的AUC(95%CI)分别为0.843(0.798~0.888)、0.725(0.680~0.775)、0.921(0.876~0.966)。DEACMP组患者持续昏迷时间、启动高压氧时机和头颅MRI异常、脑电图异常人数占比均高于非DEACMP组,GCS评分低于非DEACMP组,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素分析显示:启动高压氧时机 >4 h,GCS评分 <11 分,SIRI $\geq 1.91\times 10^9/L$,claudin-5 <42.14 ng/mL是DEACMP的危险因素($P<0.05$)。结论 ACOP患者的SIRI和claudin-5水平与DEACMP的发生显著相关。SIRI升高和claudin-5降低是DEACMP发生的独立危险因素,两指标联合检测对DEACMP的预测具有较高的临床价值。

[关键词] 一氧化碳中毒;迟发性脑病;全身炎症反应指数;紧密连结蛋白-5

The predictive value of SIRI and claudin-5 for delayed encephalopathy in acute carbon monoxide poisoning

XU Hao¹, ZHAO Longyu², XUE Hailong¹, LAN Yan¹, PAN Kaiting^{3*}

(1. Department of Neurology; 2. Department of Endocrine, 987 Hospital of the Chinese People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Baoji, Shaaxi, China, 721004; 3. Department of Neurology, Baoji Third Hospital, Baoji, Shaaxi, China, 721004)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the predictive value of systemic inflammatory response index (SIRI) and claudin-5 (CLAUDIN-5) in delayed encephalopathy (DEACMP) caused by acute carbon monoxide poisoning. **Methods** 102 patients with acute carbon monoxide poisoning (ACOP) treated at our hospital from January 2022 to January 2024 were included in this study. Clinical data, SIRI, and claudin-5 were collected for all patients. Based on whether patients had DEACMP, they were divided into the non-DEACMP group and the DEACMP group. A Receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted to assess the predictive value of SIRI and claudin-5 for DEACMP. The influencing factors of patients with DEACMP were explored using Multivariate Logistic regression analysis. **Results** 82 patients did not develop DEACMP (non DEACMP group), and 20 patients developed DEACMP (DEACMP group). The level of SIRI in the DEACMP group was higher than that in the non-DEACMP group, and the level of claudin-5 was lower than that in the non-DEACMP

基金项目:陕西省中医药管理局项目(SZY-NLTL-2024-008)

作者单位:1. 中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院神经内科,陕西,宝鸡 721004

2. 中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院内分泌科,陕西,宝鸡 721004

3. 宝鸡第三医院神经内科,陕西,宝鸡 721004

*通信作者:潘凯婷, E-mail: pkt19930916@163.com

group ($P<0.05$). The AUC (95%CI) of DEACMP predicted by SIRI, claudin-5 and their combination was 0.843 (0.798~0.888), 0.725 (0.680~0.775) and 0.921 (0.876~0.966), respectively. The duration of coma, timing of hyperbaric oxygen initiation, abnormal head MRI and abnormal EEG in the DEACMP group were higher than those in the non-DEACMP group, and the GCS score was lower than that in the non-DEACMP group, with statistical significance ($P<0.05$). Multivariate analysis showed that starting hyperbaric oxygen >4 h, GCS score <11 , SIRI $\geq 1.91 \times 10^9/L$, claudin-5 <42.14 ng/mL were the risk factors for DEACMP, with statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of SIRI and claudin-5 in ACOP patients are significantly correlated with the occurrence of DEACMP. Elevated SIRI and decreased claudin-5 are independent risk factors for the occurrence of DEACMP, and their combined detection has high clinical value for predicting DEACMP.

[KEY WORDS] Carbon monoxide poisoning; Delayed encephalopathy; SIRI; Binding protein 5

急性一氧化碳中毒 (acute carbon monoxide poisoning, ACOP) 是一种常见的急性中毒疾病, 主要由吸入含有一氧化碳的烟雾或气体引起^[1]。一氧化碳与血红蛋白的亲合力远高于氧气, 可形成碳氧血红蛋白 (carboxyhemoglobin, COHb), 导致组织缺氧, 进而引发多器官功能障碍。其中, 急性一氧化碳中毒迟发性脑病 (delayed encephalopathy after acute carbon monoxide poisoning, DEACMP) 是最严重的并发症之一, 通常发生在中毒后数天到数周, 表现为认知功能障碍、运动障碍和精神症状, 严重影响患者的生活质量^[2]。尽管 DEACMP 的具体发病机制尚未完全明确, 但炎症反应和血脑屏障损伤在其中起着关键作用。全身炎症反应指数 (systemic inflammatory response syndrome, SIRI) 是一种综合评估全身炎症状态的指标, 通常通过计算中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的比例来反映机体的炎症水平^[3]。研究表明, SIRI 水平较高的 ACOP 患者易发生 DEACMP^[4]。紧密连接蛋白-5 (Claudin-5) 是血脑屏障中重要的紧密连接蛋白, 其主要功能是维持血脑屏障的完整性和通透性^[5]。既往研究表明, ACOP 后血脑屏障的破坏是导致脑水肿和神经元损伤的关键机制之一, 而 Claudin-5 的表达水平变化可以反映血脑屏障的完整性和损伤程度^[6]。本研究主要探讨 SIRI 和 Claudin-5 对 DEACMP 发生的预测价值, 以期临床早期识别和干预提供新的视角和依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入 2022 年 1 月至 2024 年 1 月于中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院诊治的 102 例 ACOP 患者作为研究对象, 年龄范围 24~75 岁, 平均年龄 (49.85±10.17) 岁。纳入标准: ①符合《急性一氧化碳中毒诊治专家共识》^[7] 中相关 ACOP 的诊断标准;

②年龄 >18 岁; ③发病至入院时间 <12 h; ④临床资料完整。排除标准: ①合并急性心肌梗死、严重肝肾功能障碍、恶性肿瘤等严重疾病; ②合并其他中毒或创伤; ③既往有神经系统疾病; ④因低血糖、脑炎等其他原因导致的昏迷或意识障碍; ⑤孕妇或哺乳期妇女; ⑥无法完成随访或资料不全的患者。所有患者家属均签署知情同意书, 我院医学伦理委员会已审核。

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、体质指数 (BMI)、性别、中毒至入院时间、持续昏迷时间、心率、平均动脉压、启动高压氧时机、格拉斯哥昏迷 (GCS) 评分、高血压史、糖尿病史、头颅 MRI 是否异常、脑电图是否异常、吸烟史、饮酒史。

1.2.2 实验室指标检测

入院时即刻采集所有患者的 2 mL 空腹静脉血样。采用全自动血细胞分析仪 (仪器: 赛默飞世尔科技有限公司) 检测中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞计数, 并计算 SIRI, SIRI 计算公式 = 中性粒细胞计数 \times 单核细胞计数 / 淋巴细胞计数。剩余空腹静脉血室温静置 30 min 后, 使用离心半径 15 cm 的离心机以 3 000 rpm 的转速离心 10 min, 收集上层血清。使用酶联免疫吸附试验检测血清 claudin-5 水平, 试剂盒购于武汉吉立德生物科技有限公司。

1.2.3 DEACMP 判定标准^[8]及分组

DEACMP 的具体判定标准如下: ①患者有明确的 ACOP 病史, 并在中毒后初期恢复意识和神经系统功能; ②在恢复后 2 天至 6 周内再次出现神经系统功能障碍, 包括认知功能障碍、运动障碍、精神症状等; ③ COHb 水平曾达到或超过 10%; ④头颅 CT 或 MRI 检查显示脑白质损伤、脑萎缩等变化。根据有无发生 DEACMP, 将纳入研究的 102 例 ACOP 患者分别分入非 DEACMP 组与 DEACMP 组。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 25.0 统计学软件处理数据, 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。采用受试者工作特性(ROC)曲线评价 SIRI、claudin-5 对 DEACMP 的预测价值, 采用多因素逐步法 Logistic 回归分析发生 DEACMP 的影响因素筛查, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 SIRI、claudin-5 水平比较

未发生 DEACMP 的患者共计 82 例, 发生 DEACMP 的患者共计 20 例。DEACMP 组患者 SIRI 水平高于非 DEACMP 组、claudin-5 水平低于非 DEACMP 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 SIRI、claudin-5 水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	<i>n</i>	SIRI ($\times 10^9/L$)	claudin-5 (ng/mL)
非 DEACMP 组	82	1.29 \pm 0.37	56.54 \pm 10.18
DEACMP 组	20	2.87 \pm 0.72	32.97 \pm 4.94
<i>t</i> 值		13.845	10.042
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 SIRI、claudin-5 对 DEACMP 的预测价值

SIRI、claudin-5 及两者联合预测 DEACMP 的 AUC 分别为 0.843、0.725、0.921。见表 2、图 1。

表 2 SIRI、claudin-5 对 DEACMP 的预测价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	特异度	灵敏度
SIRI	0.843	0.798-0.888	1.91 $\times 10^9/L$	0.659	0.900
claudin-5	0.725	0.680-0.775	42.14 ng/mL	0.561	0.900
SIRI+claudin-5	0.921	0.876-0.966		0.890	0.850

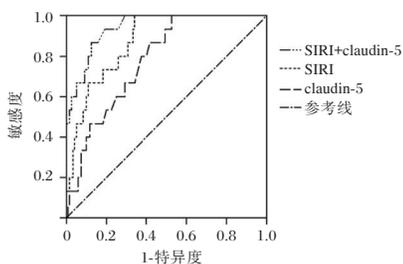


图 1 SIRI、claudin-5 预测 DEACMP 的 ROC 曲线

2.3 DEACMP 发生的单因素分析

DEACMP 组患者持续昏迷时间、启动高压氧时机和头颅 MRI 异常、脑电图异常人数占比均高于非 DEACMP 组, GCS 评分低于非 DEACMP 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 DEACMP 的多因素 Logistic 回归分析

以患者是否发生 DEACMP 作为因变量 (否=0、是=1), 将单因素分析有意义的指标以及 SIRI、

表 3 DEACMP 发生的单因素分析 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

指标	非 DEACMP 组 (<i>n</i> =82)	DEACMP 组 (<i>n</i> =20)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)	49.65 \pm 10.21	49.91 \pm 10.12	0.102	0.919
BMI(kg/m ²)	23.54 \pm 2.69	23.63 \pm 2.71	0.134	0.894
性别(男/女)	82(45/37)	20(12/8)	0.171	0.679
中毒至入院时间(h)	3.86 \pm 1.10	3.91 \pm 1.09	0.183	0.855
持续昏迷时间(h)	12.48 \pm 2.49	49.62 \pm 12.40	25.452	<0.001
心率(次/min)	104.65 \pm 15.69	105.23 \pm 15.78	0.148	0.883
平均动脉压(mmHg)	108.43 \pm 18.34	110.21 \pm 19.83	0.383	0.702
启动高压氧时机(h)	3.80 \pm 0.45	5.49 \pm 0.82	12.545	<0.001
GCS 评分(分)	12.46 \pm 1.50	10.11 \pm 2.02	5.846	<0.001
高血压史			0.185	0.667
有	49(59.76)	13(65.00)		
无	33(40.24)	7(35.00)		
糖尿病史			0.250	0.617
有	24(29.27)	7(35.00)		
无	58(70.73)	13(65.00)		
头颅 MRI 异常			14.056	<0.001
有	21(25.61)	14(70.00)		
无	61(74.39)	6(30.00)		
脑电图异常			25.806	<0.001
有	17(20.73)	16(80.00)		
无	65(79.27)	4(20.00)		
吸烟史			0.528	0.468
有	22(26.83)	7(35.00)		
无	60(73.17)	13(65.00)		
饮酒史			0.405	0.524
有	19(23.17)	6(30.00)		
无	63(76.83)	14(70.00)		

claudin-5 作为自变量进行多因素 Logistic 回归分析, 结果显示: 启动高压氧时机 > 4 h, GCS 评分 < 11 分, $SIRI \geq 1.91 \times 10^9/L$, $claudin-5 < 42.14$ ng/mL 是 DEACMP 的危险因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 讨论

DEACMP 是一种严重的神经系统并发症, 通常发生在 ACOP 后数天至数周内。大部分 ACOP 患者经过治疗能够恢复意识和基本的神经系统功能, 但有部分患者在恢复后 2 天至 6 周内会再次出现神经系统功能障碍, 表现为认知功能下降、运动功能障碍和精神症状等。DEACMP 的发生机制复杂, 严重影响患者的日常生活能力和预后。因此, 寻找可靠的生物标志物以早期识别高风险患者, 对于改善 DEACMP 的预后具有重要意义。

SIRI 是机体炎症状态的综合指标。在多种缺氧缺血性血管疾病中, SIRI 已被证明与疾病严重程度和预后密切相关^[9]。报道指出, ACOP 者在中毒后短期内 SIRI 明显升高, 并且对 DEACMP 的高风险患者有一定的预测价值^[10]。本研究结果显示, DEACMP 组患者 SIRI 水平高于非 DEACMP 组,

表4 DEACMP的多因素 logistic 回归分析

变量	赋值	β 值	SE 值	Wald χ^2	OR(95%CI)	P 值
启动高压氧时机	<4 h=0; ≥4 h=1	0.742	0.252	8.670	2.100(1.282~3.442)	0.003
GCS 评分	≥11 分=0; <11 分=1	0.819	0.273	9.000	2.268(1.328~3.873)	0.003
SIRI	<1.91×10 ⁹ /L=0; ≥1.91×10 ⁹ /L=1	1.308	0.324	16.598	3.699(1.960~6.980)	<0.001
claudin-5	≥42.14 ng/mL=0; <42.14 ng/mL=1	1.169	0.312	14.038	3.219(1.746~5.933)	<0.001

SIRI≥1.91×10⁹/L 是 ACOP 患者发生 DEACMP 的影响因素。分析其原因,一氧化碳中毒后,体内高浓度的 COHb 会导致组织缺氧,尤其是脑组织严重缺氧,缺氧状态会激活免疫系统并引发全身炎症反应。而中性粒细胞是急性炎症的首要反应细胞,在缺氧和氧化应激的刺激下会迅速活化并增多,释放出大量炎症介质和氧化自由基^[11]。这些炎症介质不仅直接损伤脑细胞,还能够进一步激活其他免疫细胞,形成炎症级联反应。单核细胞在缺氧状态下也被激活并进入脑组织。单核细胞可以分化为巨噬细胞,进一步释放炎症介质和参与炎症反应^[12]。淋巴细胞则在急性炎症初期往往计数减少,这可能是由于缺氧环境中淋巴细胞的凋亡增加所致。

缺氧和氧化应激是 ACOP 的主要病理生理过程,这些过程可导致血脑屏障的损伤,进而引起脑水肿和神经元损伤。一项动物实验研究发现,ACOP 后血脑屏障的破坏与 Claudin-5 的表达下调密切相关^[13]。本研究结果显示,DEACMP 组患者 claudin-5 水平低于非 DEACMP 组,claudin-5<42.14 ng/mL 是 ACOP 患者发生 DEACMP 的影响因素。分析其原因,血脑屏障的损伤是也是 DEACMP 的重要机制之一。Claudin-5 负责维持屏障的完整性和通透性,防止有害物质进入脑组织。缺氧和氧化应激是 ACOP 的主要病理生理过程。在缺氧情况下,脑组织中的内皮细胞和星形胶质细胞功能受损,导致 Claudin-5 表达和功能下降^[14]。内皮细胞是血脑屏障的主要构成细胞,Claudin-5 在其间的紧密连接中起关键作用。缺氧不仅直接损伤内皮细胞,而且还通过诱导氧化应激和炎症反应进一步破坏内皮细胞功能,减少 Claudin-5 表达。氧化应激是 ACOP 导致血脑屏障损伤的另一关键机制。一氧化碳中毒后,体内产生大量活性氧,这些活性氧通过蛋白氧化、脂质过氧化和 DNA 损伤等多种途径损害内皮细胞和紧密连接蛋白,导致内皮细胞凋亡和紧密连接结构破坏,从而降低 Claudin-5 表达^[15]。

本研究 ROC 曲线显示,SIRI、claudin-5 预测 DEACMP 的 AUC 分别为 0.843、0.725,且两指标联合预测的 AUC 高于单一指标预测的 AUC,提示联合检测能进一步提高对 DEACMP 的预测价值。多因素分析还显示,启动高压氧时机>4 h,GCS 评分<11 分也是 DEACMP 的影响因素,对于此类患者,临床需加强监测与评估,改善 ACOP 预后。

综上所述,ACOP 患者的 SIRI 和 claudin-5 水平与 DEACMP 的发生显著相关。SIRI 升高和 claudin-5 降低是 DEACMP 发生的独立危险因素,两指标联合检测对 DEACMP 的预测具有较高的临床价值。

参考文献

- [1] 万春艳,张宇超.院前院内无缝隙一体化急救护理模式在急性 CO 中毒患者护理中的应用效果[J].保健医学研究与实践,2022,19(7):93-97.
- [2] Liu ZL, Bian M, Pang L. LncRNA CRNDE Deteriorates Delayed Encephalopathy After Acute Carbon Monoxide Poisoning to Inactivate AKT/GSK3 β / β -catenin Pathway via miR-212-5p[J]. Neurotox Res, 2022, 40(5): 1208-1222.
- [3] 崔军利,尹华强,倪培源,等. SIRI、SII 及 HCAR 联合检测对重症急性胰腺炎患者并发感染性胰腺坏死的评估价值[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(9):1631-1634.
- [4] 米晓璐,齐洪娜,王维展,等.脂蛋白相关磷脂酶 A2 联合系统性炎症反应指数对急性一氧化碳中毒迟发性脑病的预测价值[J].中国现代神经疾病杂志,2024,24(6):483-490.
- [5] Sun ZW, Wang X, Zhao Y, et al. Blood-brain barrier dysfunction mediated by the EZH2-Claudin-5 axis drives stress-induced TNF- α infiltration and depression-like behaviors[J]. Brain Behav Immun, 2024, 115: 143-156.
- [6] Wakayama E, Kuzu T, Tachibana K, et al. Modifying the blood-brain barrier by targeting claudin-5: Safety and risks[J]. Ann N Y Acad Sci, 2022, 1514(1): 62-69.
- [7] 急性一氧化碳中毒诊治专家共识组.急性一氧化碳中毒诊治专家共识[J].中华物理医学与康复杂志,2022,44(6):481-486.
- [8] 中国医师协会神经内科医师分会脑与脊髓损害专业委员会. CO 中毒迟发性脑病诊断与治疗中国专家共识[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2021,28(3):173-179.
- [9] 张玉,刘端娇,李蕾,等.纤维蛋白原联合全身炎症反应指数对食管鳞癌术后患者预后生存的评估[J].热带医学杂志,2024,24(10):1467-1471+1498.

血清 TBARS、NGF、BDNF 对双相情感障碍的诊断价值及其与不同临床相的关系

杜颖 李旭丹* 付隽玮

[摘要] 目的 探讨血清硫代巴比妥酸反应物(TBARS)、神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)对双相情感障碍(BD)的诊断价值及其与不同临床相的关系。方法 选取2020年3月至2023年3月衡水市第七人民医院收治的196例BD患者作为A组,另选择205名同期正常体检人员作为B组。比较两组临床资料、血清TBARS、NGF、BDNF,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清TBARS、NGF、BDNF对BD的诊断价值,并比较不同临床相血清TBARS、NGF、BDNF,采用Pearson相关性分析BD患者血清TBARS、NGF、BDNF水平与汉密尔顿抑郁量表(HAMD)、躁狂量表(BRMS)的相关性。结果 A组HAMD、BRMS评分均高于B组,差异有统计学意义($P<0.05$)。A组血清TBARS水平高于B组,血清NGF、BDNF水平低于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清TBARS、NGF、BDNF及联合检测诊断BD的曲线下面积(AUC)分别为0.758、0.703、0.678、0.887,敏感度分别为70.41%、69.39%、71.94%、85.20%,特异度分别为70.24%、60.00%、60.20%、77.56%,其中联合检测的AUC最高($P<0.05$)。混合发作组血清TBARS水平高于躁狂发作组、抑郁发作组,血清NGF、BDNF水平均低于躁狂发作组、抑郁发作组,差异有统计学意义($P<0.05$)。BD患者血清TBARS与HAMD、BRMS评分呈正相关,血清NGF、BDNF水平与HAMD、BRMS评分呈负相关($P<0.05$)。结论 血清TBARS、NGF、BDNF在BD的诊断中具有较高应用价值,三指标与HAMD、BRMS评分及不同临床相密切相关。

[关键词] 双相情感障碍; 硫代巴比妥酸反应物; 神经生长因子; 脑源性神经营养因子

The diagnostic value of serum TBARS, NGF, BDNF in bipolar disorder and their relationship with different clinical phases

DU Ying, LI Xudan*, FU Diwei

(Department of Psychiatry, Hengshui Seventh People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of serum thiobarbituric acid reactive species (TBARS), nerve growth factor (NGF), and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in bipolar disorder (BD) and their relationship with different clinical phases. **Methods** 196 patients with BD admitted to Hengshui Seventh People's Hospital from March 2020 to March 2023 were selected as Group A, and 205 individuals who underwent normal physical examinations during the same period were selected as Group B. The clinical data, serum TBARS, NGF, and BDNF levels of both groups were compared. The diagnostic value of serum TBARS, NGF, and BDNF for BD was analyzed using receiver operating characteristic (ROC) curves. Serum TBARS, NGF, and BDNF levels in different clinical phases were compared, and the correlation between the levels of serum TBARS, NGF, and BDNF and the Hamilton Depression Rating Scale (HAMD) and the Mania Rating Scale (BRMS) was investigated using Pearson correlation analysis. **Results** The HAMD and BRMS scores of group A were higher than those of group B, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of serum TBARS in group A were higher than those in group B, while the levels of serum NGF and BDNF were lower than those in group A, with statistically significant differences ($P<0.05$). The areas under the curve (AUC) of serum TBARS, NGF, BDNF, and combined detection for

基金项目:河北省中医药管理局科技计划项目(2020541)

作者单位:衡水市第七人民医院精神科,河北,衡水 053000

*通信作者:李旭丹, E-mail: 18503186092@163.com

diagnosing BD were 0.758, 0.703, 0.678, and 0.887, respectively. The sensitivities were 70.41%, 69.39%, 71.94%, and 85.20%, respectively, and the specificities were 70.24%, 60.00%, 60.20%, and 77.56%, respectively. Among them, the AUC of combined detection was the highest, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The level of serum TBARS in the mixed episode group was higher than that in the manic episode group and the depressive episode group, while the levels of serum NGF and BDNF were lower than those in the manic episode group and the depressive episode group, with statistical significance ($P < 0.05$). The levels of serum TBARS in patients with BD were positively correlated with the scores of HAMD and BRMS, while the levels of serum NGF and BDNF were negatively correlated with the scores of HAMD and BRMS ($P < 0.05$). **Conclusion** Patients with BD exhibited clear symptoms of both depression and maniac. Serum levels of TBARS, NGF, and BDNF showed high diagnostic value in BD, and were closely related to HAMD and BRMS scores, as well as different clinical manifestations.

[KEY WORDS] Bipolar disorder; TBARS; NGF; BDNF

双相情感障碍(Bipolar disorder, BD)是一种临床常见的精神障碍性疾病,同时有抑郁和躁狂发作,其病因较为复杂,多与神经内分泌及遗传等因素有关,根据表现特点分为三个临床相,包括躁狂、抑郁或混合发作^[1]。临床大多借助医生主观辨别患者临床症状、体格检查、精神检查等诊断BD,但由于BD患者存在多变的临床症状表现,会导致诊断时出现误诊、漏诊等情况而影响诊断结果及临床针对性治疗。因此,为提高对BD的诊断价值,需寻求有效可靠的生物学标志物^[2]。有研究^[3]发现,在BD的发生发展中,氧化应激相关因子可能发挥着重要作用。硫代巴比妥酸反应物(Thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)是氧化应激标志物之一,与多种精神疾病的氧化损伤有关。神经生长因子(Nerve Growth Factor, NGF)可发挥较多功能,如营养神经元、促进突触生长等,且能够对中枢神经元及周围神经元的分化与生长进行调控,是一种重要的神经营养因子^[4]。脑源性神经营养因子(Brain-derived neurotrophic factor, BDNF)对突触可塑性及神经元分化、成熟均有一定影响^[5]。本研究选择196例BD患者为研究对象,分析其TBARS、NGF、BDNF水平,以期为临床有效诊治双相情感障碍提供依据及参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年3月至2023年3月衡水市第七人民医院收治的196例BD患者作为A组,另选择205名同期正常体检人员作为B组。其中A组男78例、女118例,年龄43岁(36~51)岁;体质量指数 22 kg/m^2 ($20 \sim 26$) kg/m^2 。B组男82例、女123例,年龄42岁(35~51)岁;体质量指数 23 kg/m^2 ($20 \sim 26$) kg/m^2 。

纳入标准:①A组BD的诊断符合《帕金森病抑郁、焦虑及精神病性障碍的诊断标准及治疗指南》^[6]中的相关内容;②近1个月内没有精神类药物服用史;③依从性较高,可积极配合各项检查及资料收集者;④受试者或家属对本研究知情同意者等。排除标准:①合并其他精神疾病(如创伤后应激障碍、严重认知功能障碍或精神分裂症等)者;②存在长期酗酒或滥用药物的情况者;③有全身急慢性感染、恶性肿瘤疾病或血液系统、免疫系统疾病合并者;④处于特殊时期,如妊娠期或哺乳期女性;⑤同时参与其他试验研究者等。衡水市第七人民医院医学研究伦理委员会已经对本研究试验设计进行严格审查及核实,并批准开展及实施本研究。

1.2 研究方法

①入组后,采用汉密尔顿抑郁量表(Hamilton Rating Scale for Depression, HAMD)^[7]及躁狂量表(Bech-Rafaelsen Mania Rating Scale, BRMS)^[8]评估抑郁及躁狂情况,HAMD评分分值为0~54分,BRMS评分分值为0~65分,二者分值越高,患者抑郁情绪、躁狂情绪越严重。②于A组入院及B组体检当天,抽取3 mL空腹静脉血,随后在3 500 r/min转速下离心10 min,离心半径为10 cm,采用酶联免疫吸附试验检测血清TBARS、NGF、BDNF水平,试剂盒购自美国BioTSZ公司。③将A组患者根据《帕金森病抑郁、焦虑及精神病性障碍的诊断标准及治疗指南》^[6]划分为躁狂发作组、抑郁发作组及混合发作组。

1.3 统计学方法

采用SPSS 26.0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,组内比较运用配对 t 检验,组间比较运用独立样本 t 检验,多组比较运用单因素方差分析,两两比较采用SNK- q 检验;

计数资料采用 $n(\%)$ 的形式表示,运用 χ^2 检验。采用ROC曲线分析血清TBARS、NGF、BDNF对BD的诊断价值,获取曲线下面积(AUC),诊断敏感度及特异度。采用Pearson相关性分析血清TBARS、NGF、BDNF水平与HAMD、BRMS评分的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组HAMD、BRMS评分比较

A组HAMD、BRMS评分均高于B组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组HAMD、BRMS评分比较($\bar{x}\pm s$,分)

组别	<i>n</i>	HAMD	BRMS
A组	196	17.54±3.54	21.54±3.43
B组	205	4.54±0.43	6.03±0.47
<i>t</i> 值		52.181	64.120
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.2 两组血清TBARS、NGF、BDNF比较

A组血清TBARS水平高于B组,血清NGF、BDNF水平低于A组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组血清TBARS、NGF、BDNF比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TBARS($\mu\text{mol/L}$)	NGF(pg/mL)	BDNF(ng/mL)
A组	196	11.54±2.43	44.54±2.43	34.93±2.54
B组	205	7.98±1.08	61.43±5.43	45.43±5.32
<i>t</i> 值		19.097	39.893	25.037
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 血清TBARS、NGF、BDNF对BD的诊断价值

血清TBARS、NGF、BDNF联合检测诊断BD的AUC为0.887,优于单一检测($P<0.05$)。见表3、图1。

表3 血清TBARS、NGF、BDNF对BD的诊断价值($\bar{x}\pm s$)

指标	截断值	AUC	敏感度 (%)	特异度 (%)	95% CI	<i>P</i> 值
TBARS($\mu\text{mol/L}$)	7.48	0.758 ^a	70.41	70.24	0.713~0.800	<0.001
NGF(pg/mL)	57.71	0.703 ^a	69.39	60.00	0.656~0.747	<0.001
BDNF(ng/mL)	41.94	0.678 ^a	71.94	60.20	0.629~0.724	<0.001
联合检测		0.887	85.20	77.56	0.852~0.916	<0.001

注:与联合检测比较,^a $P<0.05$ 。

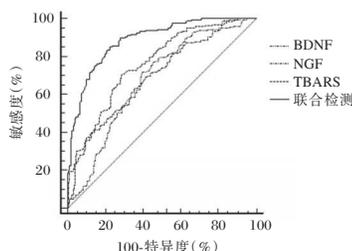


图1 血清TBARS、NGF、BDNF对BD的诊断价值

2.4 不同临床相血清TBARS、NGF、BDNF水平比较

混合发作组血清TBARS水平高于躁狂发作组、抑郁发作组,血清NGF、BDNF水平均低于躁狂发作组、抑郁发作组($P<0.05$)。见表4。

表4 不同临床相血清TBARS、NGF、BDNF水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TBARS($\mu\text{mol/L}$)	NGF(pg/mL)	BDNF(ng/mL)
躁狂发作组	88	11.23±2.37	45.48±2.38	35.53±2.49
抑郁发作组	81	11.10±2.34	45.17±2.44	35.76±2.92
混合发作组	27	13.87±2.90 ^{ab}	39.56±2.58 ^{ab}	30.48±1.54 ^{ab}
<i>t</i> 值		14.383	65.861	46.788
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与躁狂发作组比较,^a $P<0.05$;与抑郁发作组比较,^b $P<0.05$ 。

2.5 BD患者血清TBARS、NGF、BDNF水平与HAMD、BRMS评分的相关性

BD患者血清TBARS与HAMD、BRMS评分呈正相关,血清NGF、BDNF水平与HAMD、BRMS评分呈负相关($P<0.05$)。见表5。

表5 BD患者血清TBARS、NGF、BDNF水平与HAMD、BRMS评分的相关性

指标	HAMD		BRMS	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
TBARS	0.546	0.012	0.486	0.021
NGF	-0.502	0.016	-0.603	0.007
BDNF	-0.532	0.013	-0.598	0.008

3 讨论

随着人们生活及工作压力的不断增大,更多人受到心理健康问题的影响,精神疾病的发生率呈逐渐上升趋势。BD是临床常见的精神疾病类型之一,由于BD患者的临床症状表现复杂多变,根据患者临床症状进行诊断存在较高误诊、漏诊率。而常用的临床检测指标血清尿酸、胆红素、白蛋白虽有一定诊断价值,但敏感度和特异度较低。因此,寻找敏感度和特异度高的生物学标志物可为临床有效诊断BD提供指导及依据。

本研究结果显示,A组HAMD、BRMS评分及血清TBARS水平高于B组,血清NGF、BDNF水平低于B组,提示BD患者存在明显的抑郁及躁狂症状,且血清TBARS、NGF、BDNF与BD的发生密切相关。有研究^[9]指出,氧化应激及神经营养因子等可能参与BD的发生与发展过程。若机体发生氧化应激,机体抗氧化及氧化系统之间的平衡会被打破,进一步对患者蛋白质、脂质等造成损伤,从而给患者神经细胞功能修复、神经递质的传递等生理过

程带来不利影响^[10]。脂质中的不饱和脂肪酸发生氧化降解后会形成丙二醛,硫代巴比妥酸与产生的丙二醛反应进一步形成TBARS,而脂质氧化程度与TBARS表达水平成正比^[11]。NGF是神经营养因子,能够通过不同途径参与突触活动与神经递质合成,其水平异常会造成神经功能紊乱^[12]。BDNF在多个生理过程中均有参与,如脑部神经分化、神经递质传递、中枢神经系统的生长发育等,其主要分布部位有上丘脑、视觉系统、顶盖区域等^[13]。此外,在外周免疫调节过程中,BDNF发挥着一定作用,而神经可塑性调节因子可能与免疫系统存在双向联系。故而推测若机体内BDNF缺乏,可能通过对神经功能造成影响,进一步发挥对BD病情发展的促进作用^[14-15]。本研究发现,血清TBARS、NGF、BDNF及联合检测诊断BD的AUC、敏感度、特异度均较高,联合检测能够减少单一检测的误诊、漏诊等,提高诊断价值。此外,本研究结果显示,混合发作组血清TBARS水平均高于躁狂发作组、抑郁发作组,血清NGF、BDNF水平均低于躁狂发作组、抑郁发作组;BD患者血清TBARS与HAMD、BRMS评分呈正相关,血清NGF、BDNF水平与HAMD、BRMS评分呈负相关。结果进一步提示,BD患者血清TBARS、NGF、BDNF可通过参与BD的发生、发展过程而影响患者HAMD、BRMS评分及临床相。

综上,BD患者抑郁及躁狂症状明显,血清TBARS、NGF、BDNF在BD的诊断中具有较高应用价值,三指标与HAMD、BRMS评分及不同临床相密切相关。

参考文献

- [1] 刘铁榜. 双相情感障碍药物治疗的临床实践[J]. 四川精神卫生, 2023, 36(6): 481-484.
- [2] 王金成, 殷慧, 杨媛, 等. 血清UA、TGF- β 、NGF与双相情感障碍的相关性及临床表达意义[J]. 中国医师杂志, 2021, 23(9): 1352-1356.
- [3] 宋尚鸿, 胡建. 双相情感障碍氧化应激标志物水平的研究进展[J]. 神经疾病与精神卫生, 2019, 19(6): 622-625.
- [4] Zha K, Yang Y, Tian G, et al. Nerve growth factor (ngf) and ngf receptors in mesenchymal stem/stromal cells: impact on potential therapies[J]. Stem Cells Transl Med, 2021, 10(7): 1008-1020.
- [5] 屠世欢, 陈燕梅, 董翔. 血清TBARS与BDNF的联合检测对双相情感障碍患者的诊断价值分析[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16(11): 672-674.
- [6] 中华医学会神经病学分会神经心理学与行为神经病学组, 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组. 帕金森病抑郁、焦虑及精神障碍的诊断标准及治疗指南[J]. 中华神经科杂志, 2013, 46: 56-60.
- [7] 刘影, 施红梅, 张皓. 汉密尔顿抑郁量表应用于脑损伤患者的因子分析[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(7): 420-422, 425.
- [8] 马海波, 曹昱, 张仁云, 等. 双相躁狂患者童年期创伤对攻击行为及临床症状的影响[J]. 精神医学杂志, 2019, 32(2): 104-107.
- [9] Ching CRK, Hibar DP, Gurholt TP, et al. What we learn about bipolar disorder from large-scale neuroimaging: Findings and future directions from the enigma bipolar disorder working group[J]. Hum Brain Mapp, 2022, 43(1): 56-82.
- [10] 殷淑君, 潘淑娟, 王志仁, 等. 急性短暂性精神病性障碍患者血清非酶类抗氧化物水平研究[J]. 精神医学杂志, 2022, 35(2): 125-129.
- [11] Koricanac G, Hricoviniova J, Romc S, et al. Quercetin decreases fructose drinking in model of fructose-induced insulin resistance. unexpected uric acid and tbars lowering effect of methyl cellulose vehicle and fructose combination [J]. Gen Physiol Biophys, 2024, 43(3): 221-230.
- [12] 董苒, 葛红敏, 韩冬昱. UA、TbIL、NGF水平在双相情感障碍、精神分裂症及健康人群中的检测价值分析[J]. 国际精神病学杂志, 2020, 47(2): 289-292.
- [13] 任莉, 潘伟刚, 朱丹迪, 等. 血清脑源性神经营养因子水平及其基因多态性与首发老年抑郁症认知功能的关系[J]. 神经疾病与精神卫生, 2020, 20(11): 785-789.
- [14] Notaras M, van den Buuse M. Neurobiology of bdnf in fear memory, sensitivity to stress, and stress-related disorders[J]. Mol Psychiatry, 2020, 25(10): 2251-2274.
- [15] 郭军, 李英. 精神分裂症患者血清BDNF、MIF、EGF水平及其与认知功能的相关性[J]. 医学临床研究, 2021, 38(7): 1038-1041.
- [10] 潘明阳, 花嵘, 燕亮, 等. 全身炎症反应指数联合纤维蛋白原对急性一氧化碳中毒迟发性脑病的预测价值[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(23): 3442-3447.
- [11] 梁会, 王惠梅, 杨玮蔚, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值、血小板计数与淋巴细胞比值及脂蛋白在急性胰腺炎患者中的检测价值[J]. 感染、炎症、修复, 2024, 25(3): 226-229.
- [12] 刘昊旻, 何云, 李小林, 等. 血常规预测过敏性紫癜患儿消化道出血指标的价值[J]. 西南医科大学学报, 2022, 45(4): 328-331.
- [13] 王利, 丁晓瑜, 毕明俊, 等. 丁苯酞对急性一氧化碳中毒大鼠血脑屏障ZO-1和claudin-5蛋白表达的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(5): 422-427.
- [14] 王松青, 杨华, 黄仁强, 等. 颅脑损伤相关创伤后应激障碍的影响因素分析[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(1): 21-26.
- [15] 丁志强, 董强利, 梁英, 等. 抑郁症患者血清紧密连接蛋白-5和内源性配体-13水平变化及其与病情发展和睡眠障碍的关系[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(12): 1677-1682.

(上接第691页)

经颅磁刺激联合药物治疗阿尔茨海默病的疗效及对认知功能、精神行为症状、AD7c-NTP、5-HT、ACh水平的影响

李冬梅* 敖琦 任胜达

[摘要] **目的** 探究经颅磁刺激联合药物治疗阿尔茨海默(AD)患者的疗效以及对患者精神行为症状、晨尿神经丝蛋白(AD7c-NTP)、5-羟色胺(5-HT)、乙酰胆碱(ACh)水平的影响。**方法** 选取2019年10月至2022年10月河北港口集团有限公司港口医院收治的阿尔茨海默患者共90例,随机分为A、B、C共三组,每组各30例。A组:给予多奈哌齐及甘露特纳治疗;B组:采用经颅磁刺激(rTMS)治疗;C组:rTMS联合药物治疗。比较两组治疗前及治疗12周后认知功能、精神行为、神经递质水平,并分析三组治疗有效率及不良反应发生率。**结果** C组临床有效率高于A、B组;三组ADAS-Cog及BEHAVE-AD评分均有所降低,C组最低($P<0.05$);三组MMSE、MoCA、及MBI评分均升高,C组最高($P<0.05$);三组晨尿AD7c-NTP水平均降低,C组最低($P<0.05$);三组血清5-HT、ACh水平均升高,C组最高($P<0.05$);三组不良反应率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** rTMS联合药物治疗有望改善AD患者精神行为症状及认知功能,调节AD7c-NTP、5-HT、ACh水平,临床疗效高于单独应用药物或者rTMS,安全性好。

[关键词] 经颅磁刺激; 药物治疗; 阿尔茨海默; 精神行为症状; 认知功能; AD7c-NTP

Curative effect of transcranial magnetic stimulation combined with drugs and its influences on cognitive function, mental behavior symptoms, levels of AD7c-NTP, 5-HT and ACh in Alzheimer's disease

LI Dongmei*, AO Qi, REN Shengda

(Brain Disease Department 2, Hebei Port Group Co., Ltd., Qinhuangdao Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Qinhuangdao, Hebei, China, 066000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the curative effect of transcranial magnetic stimulation combined with drugs and its influences on mental behavior symptoms, Alzheimer's disease-associated neurofilament protein (AD7c-NTP) in morning urine, 5-hydroxytryptamine (5-HT), acetylcholine (ACh) in patients with Alzheimer's disease (AD). **Methods** A total of 90 patients with AD were admitted to Port Hospital of Hebei Port Group Co., Ltd., and were randomly divided into three groups: group A (received donepezil+sodium oligomannate), group B [received repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)] and group C (received rTMS+drugs) between October 2019 and October 2022, with 30 cases in each group. The cognitive function, mental behaviors, and neurotransmitters in the two groups were compared before and after 12 weeks of treatment. Response rates to treatment and the incidence of adverse reactions in the three groups were also analyzed. **Results** The clinical response rate of group C was higher than that of group A and group B. After treatment, scores of the Alzheimer's disease assessment scale - cognitive subscale (ADAS-Cog) and the behavioral pathology in Alzheimer's disease rating scale (Behavior-AD) decreased in all three groups, with the lowest scores observed in group C ($P<0.05$). After treatment, scores on the mini-mental state examination (MMSE), Montreal cognitive assessment (MoCA) and modified Barthel index (MBI) increased in all three

基金项目:秦皇岛港集团公司科研项目(202301A375)

作者单位:河北港口集团有限公司秦皇岛中西医结合医院脑病二科,河北,秦皇岛 066000

*通信作者:李冬梅, E-mail: emory13111@163.com

groups, with the highest scores seen in group C ($P<0.05$). After treatment, the levels of AD7c-NTP in morning urine decreased in all three groups, with the lowest levels in group C ($P<0.05$), while levels of serum 5-HT and ACh increased, with the highest levels in group C ($P<0.05$). There were no significant differences in the incidence of adverse reactions among the three groups ($P>0.05$). **Conclusion** rTMS combined with drug therapy is expected to improve mental and behavioral symptoms, as well as cognitive function in AD patients. It can also regulate levels of AD7c-NTP, 5-HT, and ACh. The clinical curative effect of this combined therapy is better than that of drug therapy or rTMS alone, and it is safe.

[KEY WORDS] Transcranial magnetic stimulation; Drug therapy; Alzheimer's disease; Mental behavior symptom; Cognitive function; AD7c-NTP

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病^[1],可对患者的记忆、认知功能、精神行为和日常生活能力造成严重损害^[2],现AD的治疗主要以药物缓解为主。临床常用的多奈哌齐通过选择性抑制中枢胆碱酯酶来减缓乙酰胆碱的分解,修复受损神经元,改善认知功能^[3]。甘露特钠则通过调节肠道菌群平衡,降低肠道通透性和炎症水平,减轻对中枢神经系统的不良影响,进而缓解认知障碍^[4]。通过穿透皮肤与颅骨的高频磁力,重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)能调节大脑中的特定神经元活动,进而改善神经精神症状^[5]。本研究在盐酸多奈哌齐及甘露特钠治疗的基础上联合rTMS,旨在为AD患者提供更有效的治疗方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年10月至2022年10月河北港口集团有限公司秦皇岛中西医结合医院收治的90例AD患者,采用随机数字表法分为A(盐酸多奈哌齐+甘露特钠)、B(rTMS)、C(盐酸多奈哌齐+甘露特钠+rTMS)共三组,每组30例。

纳入标准:①符合AD诊断标准^[6];②病程6个月~3年;③头颅磁共振成像显示脑萎缩,无其它脑器质性病变;④AD病理行为评定量表(behavioral pathology in Alzheimer's disease rating scale, BEHAV-AD) ≥ 8 分,蒙特利尔认知功能测量表(montreal cognitive assessment, MoCA)评分介于10~25分;⑤患者监护人对研究知情且同意。排除标准:①血管性痴呆者;②既往脑卒中病史或精神疾病史;③严重听觉及语言功能障碍;④近2周内使用过相关药物治疗者。三组一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。本研究已获得伦理委员会。(TZ202403020010)。

表1 三组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	性别		年龄(岁)	病程(月)	BMI(kg/m ²)
		男	女			
A组	30	15(50.00)	15(50.00)	67.22 \pm 5.13	16.85 \pm 4.30	22.45 \pm 3.09
B组	30	13(26.00)	17(34.00)	66.85 \pm 6.30	17.24 \pm 4.61	22.38 \pm 3.14
C组	30	14(28.00)	16(32.00)	66.42 \pm 5.59	16.71 \pm 4.39	22.70 \pm 3.22
F/ χ^2 值		0.268		0.148	0.115	0.086
P值		0.875		0.862	0.891	0.918

1.2 方法

A组:盐酸多奈哌齐片(江苏豪森药业股份有限公司,国药准字H20030472)口服治疗,每日睡前5 mg。甘露特钠胶囊(上海绿谷制药有限公司,国药准字H20190031,规格:150 mg/粒),2次/日,1粒/次。

B组:Magpro R30型(Medtronic,丹麦)rTMS治疗仪。患者仰卧,将“ ∞ ”字型线圈与皮肤紧密贴合置于颅骨表面,线圈中心正对双侧前额叶背外侧。频率10 Hz,强度设定在患者阈值80%的水平。治疗中,左右两侧脑区均接受30个刺激序列,每个序列20个脉冲,脉冲频率为启动2 s,休息28 s。每侧脑区的单次治疗持续15 min,共重复20次。治疗频率在前4周为每两天1次,每周3次;第5周起为每周1次,直至治疗结束。

C组:A组和B组方案结合。三组治疗周期均为12周(近期),并随访24周(远期)。

1.3 观察指标

1.3.1 临床有效率^[7]

显效:临床症状和体征显著改善,精神症状消失,疗效指数 $>20\%$ 。有效:临床症状和体征有所改善,部分症状得到缓解,12% \leq 疗效指数 $\leq 20\%$ 。无效:临床症状和体征无改善甚至恶化,疗效指数 $<12\%$ 。总有效率=[(显效例数+有效例数)/分组总例数] $\times 100\%$

1.3.2 认知功能

采用AD评估认知量表(Alzheimer's disease assessment scale-cognitive subscale, ADAS-Cog)^[8]、

MoCA^[9]及简易精神状态检查表(mini-mental state examination, MMSE)^[10]。ADAS-Cog得分区间为0~75分,越高说明患者认知功能障碍越严重;MoCA与MMSE得分区间为0~30分,分越高说明患者认知障碍程度越轻。

1.3.3 精神行为

采用阿尔兹海默病行为评定量表(behavioral pathology in Alzheimer's disease, BEHAVE-AD)^[11]评估精神行为,共25个条目,每个条目0~3分,得分越与异常程度成正比。

1.3.4 神经递质

采用化学发光法对患者清晨中段尿液AD相关神经丝蛋白(Alzheimer's disease-associated neurofilament protein, AD7c-NTP)水平进行检测,采用CL-2200i全自动化学发光免疫分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),蛋白检测试剂盒购于上海源叶生物技术有限公司。采用ELISA试剂盒(科艾博生物)检验患者清晨空腹静脉血血清中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)水平。

1.3.5 不良反应率

治疗期间不良反应情况,如恶心呕吐、头晕、晕厥、失眠、易怒。

1.4 统计学分析

运用SPSS 24.0统计学软件进行数据处理和分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD法;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。

$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组临床有效率比较

C组患者近期(治疗12周)及远期(治疗后第24周)治疗有效率显著高于A、B两组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.2 三组认知功能比较

三组ADAS-Cog评分均降低,C组最低;三组的MoCA及MMSE评分均升高,C组最高,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.3 三组精神行为比较

三组BEHAVE-AD评分均降低,且C组最低,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.4 三组神经递质比较

三组5-HT、ACh水平均升高,C组最高;三组AD7c-NTP水平均降低,C组最低,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

2.5 三组不良反应发生率比较

C组不良反应例数相较于A、B两组没有明显增加,三组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表6。

3 结论

AD患病率和死亡率较高,其标志性病理变化主要包括淀粉样 β 肽在大脑中的累积形成斑块^[12],其次是神经元tau蛋白的异常高度磷酸化导致神经纤维缠结,导致神经原纤维缠结的形成,并引发大脑慢性炎症。临床上使用盐酸多奈哌齐片

表2 三组临床有效率比较 [$n(\%)$]

组别	n	显效		有效		无效		总有效率	
		近期	远期	近期	远期	近期	远期	近期	远期
A组	30	8(26.67)	5(16.67)	13(43.33)	10(33.33)	9(30.00)	15(50.00)	21(70.00)	15(50.00)
B组	30	10(33.33)	7(23.33)	13(43.33)	10(33.33)	7(23.33)	13(43.33)	23(76.67)	17(56.67)
C组	30	15(50.00)	12(40.00)	14(46.67)	13(43.33)	1(3.33)	5(16.67)	29(96.67) ^a	25(83.33) ^a
χ^2 值								7.542	8.038
P值								0.023	0.018

注:与A、B组比较,^a $P < 0.05$ 。

表3 三组认知功能比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	ADAS-Cog		MoCA		MMSE	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	30	28.42±2.14	17.84±3.52 ^a	19.16±1.67	22.53±2.24 ^a	18.79±2.66	22.32±2.17 ^a
B组	30	27.67±3.01	18.27±2.52 ^a	18.99±2.01	23.19±2.53 ^a	19.14±2.43	23.42±2.09 ^a
C组	30	28.16±2.47	12.79±3.64 ^{abc}	19.04±2.06	27.40±2.12 ^{abc}	18.93±2.50	26.63±2.41 ^{abc}
F值		0.661	26.126	0.062	39.474	0.145	30.322
P值		0.519	<0.001	0.940	<0.001	0.865	<0.001

注:与治疗前比较,^a $P < 0.05$;与A组比较,^b $P < 0.05$;与B组比较,^c $P < 0.05$ 。

表4 三组精神行为比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	偏执与妄念		幻觉		行为紊乱		攻击行为	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	30	15.07±2.16	10.35±2.40 ^a	9.87±1.55	6.42±1.28 ^a	6.28±1.11	3.83±0.68 ^a	6.46±1.17	4.23±0.73 ^a
B组	30	14.96±2.14	10.94±2.31 ^a	9.89±1.63	6.04±1.19 ^a	6.31±1.20	3.81±0.59 ^a	6.52±1.16	4.10±0.64 ^a
C组	30	15.04±2.11	7.13±1.65 ^{abc}	9.82±1.41	4.63±0.47 ^{abc}	6.26±1.19	2.82±0.53 ^{abc}	6.49±1.24	2.98±0.37 ^{abc}
F值		0.021	27.390	0.017	24.439	0.014	27.496	0.019	39.380
P值		0.979	<0.001	0.984	<0.001	0.986	<0.001	0.981	<0.001

组别	n	日常节律紊乱		情感障碍		焦虑恐惧		总评分	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	30	1.83±0.24	1.13±0.19 ^a	4.21±0.33	2.22±0.34 ^a	8.21±1.23	6.35±1.07 ^a	51.93±7.79	34.53±6.69 ^a
B组	30	1.79±0.21	1.02±0.16 ^a	4.18±0.42	2.19±0.28 ^a	8.19±1.18	6.30±1.11 ^a	51.84±7.94	34.40±6.28 ^a
C组	30	1.80±0.23	0.85±0.11 ^{abc}	4.23±0.39	1.67±0.20 ^{abc}	8.31±1.21	4.27±0.89 ^{abc}	51.95±7.78	24.35±4.22 ^{abc}
F值		0.252	24.268	0.130	36.782	0.085	40.608	0.002	30.095
P值		0.778	<0.001	0.878	<0.001	0.918	<0.001	0.998	<0.001

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05;与A组比较,^b*P*<0.05;与B组比较,^c*P*<0.05。

表5 三组神经递质因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	5-HT (ng/mL)		ACh (nmol/L)		AD7c-NTP (μg/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	30	43.63±4.36	62.16±5.33 ^a	22.56±2.75	36.41±2.39 ^a	5.35±1.22	2.47±0.86 ^a
B组	30	43.50±4.68	63.52±5.47 ^a	23.63±2.42	36.87±2.53 ^a	5.28±1.19	2.58±0.97 ^a
C组	30	43.52±4.35	71.28±6.01 ^{abc}	23.60±2.55	43.56±3.42 ^{abc}	5.33±1.24	1.36±0.24 ^{abc}
F值		0.007	23.066	1.677	60.537	0.026	23.583
P值		0.993	<0.001	0.193	<0.001	0.974	<0.001

注:与治疗前比较,^a*P*<0.05;与A组比较,^b*P*<0.05;与B组比较,^c*P*<0.05。

表6 三组不良反应率比较 [n(%)]

组别	n	恶心呕吐	头晕	晕厥	失眠	易怒	总不良反应率
A组	30	3(10.00)	1(3.33)	0(0.00)	1(3.33)	1(3.33)	6(20.00)
B组	30	2(6.67)	1(3.33)	1(3.33)	1(3.33)	0(0.00)	5(16.66)
C组	30	3(10.00)	2(6.67)	1(3.33)	1(3.33)	0(0.00)	7(23.33)
χ ² 值							0.417
P值							0.812

可增强胆碱能神经传递,抑制神经毒性物质表达,可用于缓解AD患者症状。此外,甘露特钠可通过调节脑-肠轴改善肠道菌群失衡,其能抑制炎症代谢产物的释放,有助于修复受损的脑组织,但单纯药物对AD病情的缓解效果有限。rTMS能直接影响神经电活动和脑组织代谢状态,其高频电流的重复刺激能够增加脑组织的兴奋性,调节认知功能相关区域的活动信号。Roque等^[13]也报道,rTMS可通过调节脑部血循环减少神经凋亡,增加突触数量及强度,这与本研究报道内容相一致,故而将rTMS治疗用于AD患者具有一定的理论依据,但对于其临床疗效仍需进一步研究予以证实。

本研究结果显示,C组临床有效率高于A、B组,ADAS-Cog评分下降幅度最大,MoCA和MMSE评分在三组中最高,说明rTMS联合药物更有利于恢复患者认知功能。同时,C组BEHAVE-AD评

分相较A组和B组更低,说明C组精神状态恢复最好。5-HT、ACh都属于重要的神经递质,AD7c-NTP作为一种有AD密切相关的跨膜磷蛋白,在AD患者体内水平呈现出增加趋势。经过治疗,C组5-HT、ACh水平显著提高,AD7c-NTP水平显著下降,且改善程度都优于A组和B组。分析原因可能是因为:在药物修复脑组织神经的基础上,rTMS能够激发脑源性神经营养因子及其受体和相关基因的表达^[14]。rTMS通过提升这些因子的活性,有助于提高神经突触的传递效率,进而增强神经信号的传递。此外,rTMS积极改善脑血循环^[15],为脑部提供更充足的氧气和营养,减少脑细胞凋亡。进一步研究显示,三组不良反应率差异无统计学意义,说明rTMS联合药物治疗AD具备一定的安全性。

综上所述,药物治疗结合rTMS作为一种无创、无痛的治疗方案,具有良好的安全性,可用于临床推广。

参考文献

[1] 李梦云,柏峰.神经可塑性障碍在阿尔茨海默病中的研究进展[J].江苏大学学报(医学版),2023,33(2):174-179+184.

肺癌患者外周血单个核细胞中 miR-125b、miR-145、miR-146a 表达与术后肺部感染的关系

翟建霞^{1*} 赵俊歌¹ 韩鹏黎²

[摘要] 目的 探讨肺癌患者外周血单个核细胞微小 RNA-125b (miR-125b)、微小 RNA-145 (miR-145)、微小 RNA-146a (miR-146a) 表达与术后肺部感染的关系。方法 选择 2016 年 6 月至 2024 年 6 月郑州大学附属郑州中心医院手术治疗的 765 例肺癌患者为研究对象,根据术后是否并发肺部感染分为感染组与非感染组,采用实时定量 PCR 技术检测外周血单个核细胞中 miR-125b、miR-145、miR-146a 水平,并结合其他高危因素采用多因素 logistic 逐步回归分析肺癌术后肺部感染的危险因素,采用 ROC 曲线分析 miR-125b、miR-145、miR-146a 及其他危险因素对肺癌术后肺部感染的预测价值。结果 感染组患者预防性使用抗生素、合并糖尿病、合并呼吸系统疾病比例均高于非感染组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。感染组 WBC、Hb、Alb 均低于非感染组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CRP、miR-125b、miR-145、miR-146a 均高于非感染组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示:预防性使用抗生素、呼吸系统疾病、 $WBC < 4.01 \times 10^9/L$ 、 $Hb < 93.47 g/L$ 、 $Alb < 34.97 g/L$ 、 $miR-125b > 2.89$ 、 $miR-145 > 1.46$ 、 $miR-146a > 2.73$ 是肺癌术后并发肺部感染的独立危险因素 ($P < 0.05$)。miR-125b、miR-145、miR-146a 单独预测术后感染的 AUC 分别为 0.726、0.754、0.731。miR-125b、miR-145、miR-146a 联合预测的 ROC-AUC 为 0.889,灵敏度为 92.0%,特异度为 86.1%。结论 预防性使用抗生素、呼吸系统疾病及营养状况差等都会增加肺癌术后肺部感染发生风险,miR-125b、miR-145、miR-146a 表达上调不仅增加肺部感染风险,且三者联合对预测肺部感染发生有一定临床价值。

[关键词] 肺癌;微小 RNA-125b;微小 RNA-145;微小 RNA-146a;肺部感染

Relationship between the expression of miR-125b, miR-145, miR-146a in peripheral blood mononuclear cells in patients with lung cancer and postoperative pulmonary infection

ZHAI Jianxia^{1*}, ZHAO Junge¹, HAN Pengli²

(1. Respiratory and Critical Care Medicine Department Second Ward; 2. Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University Translational Medicine Center, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of microRNA-125b (miR-125b), microRNA-145 (miR-145) and microRNA-146a (miR-146a) in peripheral blood mononuclear cells in patients with lung cancer and postoperative pulmonary infection. **Methods** A total of 765 patients with lung cancer who received surgical treatment at Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University from June 2016 to June 2024 were selected as the study subjects. They were divided into the infected group and the non-infected group based on whether postoperative pulmonary infection occurred. Real-time quantitative PCR was used to detect the levels of miR-125b, miR-145 and miR-146a in peripheral blood mononuclear cells. Risk factors for pulmonary infection following lung cancer surgery were analyzed using multi-factor logistic step-by-step regression combined with other high-risk factors. An ROC curve was used to assess the predictive value of miR-125b, miR-145, miR-146a, and other risk factors in relation to pulmonary infection post lung cancer surgery. **Results** The rates of prophylactic antibiotic use, diabetes mellitus and respiratory diseases in the infected group

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20230775)

作者单位:1. 郑州大学附属郑州中心医院呼吸与危重症医学科二病区,河南,郑州 450000

2. 郑州大学附属郑州中心医院转化医学中心,河南,郑州 450000

*通信作者:翟建霞, E-mail: 13721439167@sohu.com

were higher than those in the non-infected group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). WBC, Hb, and Alb in the infected group were lower than those in the non-infected group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). CRP, miR-125b, miR-145, and miR-146a were higher than those in the non-infected group. The differences were statistically significant ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that: prophylactic antibiotic use, respiratory disease, WBC $<4.01\times 10^9/L$, Hb $<93.47\text{ g/L}$, Alb $<34.97\text{ g/L}$, miR-125b >2.89 , miR-145 >1.46 , and miR-146a >2.73 were independent risk factors for pulmonary infection after lung cancer surgery ($P<0.05$). The ROC-AUC of miR-125b, miR-145, and miR-146a independently predicted postoperative infection were 0.726, 0.754 and 0.731, respectively. The ROC-AUC predicted by miR-125b, miR-145, and miR-146a was 0.889 with a sensitivity of 92.0%, and a specificity of 86.1%. **Conclusion** Prophylactic use of antibiotics, respiratory diseases and poor nutritional status all increase the risk of pulmonary infection after lung cancer surgery. The upregulation of miR-125b, miR-145, and miR-146a not only increases the risk of lung infection, but also holds certain clinical value in predicting the occurrence of lung infection.

[KEY WORDS] Lung cancer; Micro RNA-125b; Micro RNA-145; Micro RNA-146a; Pulmonary infection

原发性肺癌是我国及全世界发病率、死亡率最高的恶性肿瘤,我国每年新诊断原发性肺癌约78.1万,死亡约62.6万,严重威胁着民众的生命健康^[1]。目前,对于肿瘤淋巴结转移(Tumor Node Metastasis, TNM)分期为I期和II期的患者,手术是其主要治疗方案。但由于肺癌本身及手术应激等因素影响,常导致机体免疫功能降低,从而增加了术后并发肺部感染的风险,并可能影响肺癌的整体治疗效果和康复进程,甚至威胁患者的生命安全。因此,了解肺癌术后肺部感染发生的相关危险因素,并采取有针对性的预防措施对降低肺部感染风险,改善预后具有重要临床意义。近年来研究发现,微小RNA(miR)在肿瘤的发生、发展过程中扮演着关键角色,可以调节肿瘤的增殖、自主生长信号、凋亡、转移、能量代谢和免疫逃逸等过程。已有研究证实,miR-125b、miR-145、miR-146a表达与肿瘤发生发展关系密切^[2-3]。另有研究发现,miR-125b、miR-146a与颅脑损伤后肺部感染密切相关^[4],而miR-145参与了下呼吸道感染的发生过程^[5]。但目前关于miR-125b、miR-145、miR-146a与肺癌术后并发肺部感染关系的研究尚少。本研究通过对肺癌术后患者外周血单个核细胞中miR-125b、miR-145、miR-146a的表达情况及其与术后并发肺部感染的关系进行分析,旨在为肺癌术后并发肺部感染的早期预测及指导防控提供参考,现报道如下。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择2016年6月至2024年6月郑州大学附属郑州中心医院手术治疗的765例肺癌患者为研究对

象,肺癌诊断参照《中华医学会肺癌临床诊疗指南(2018版)》^[6],且经术后组织病理学明确诊断,肺部感染诊断参照《2001年中华人民共和国卫生部医院感染诊断标准(试行)》^[7]。纳入标准:①年龄 ≥ 18 岁;②TNM分期^[8]为I期和II期;③临床资料完整;④患者或家属签署知情同意书,并经由院伦理委员会审核批准。排除标准:①合并血液系统疾病、免疫系统疾病及其他部位肿瘤者;②合并严重心肝肾等重要脏器功能障碍者;③入院前1个月内有感染及抗生素应用史、其他手术史、严重创伤史;④术前1个月内接受过放疗、化疗等其他抗肿瘤治疗者;⑤有精神行为异常或认知障碍者。根据术后是否并发肺部感染分为感染组与非感染组,其中感染组60例,男48例,女12例,平均年龄(58.45 \pm 13.67)岁;非感染组705例,男570例,女135例,平均年龄(58.47 \pm 13.39)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集

收集所有患者性别、年龄、体质量指数(BMI)、TNM分期、病理类型(腺癌、鳞癌等)、急性生理学和慢性健康状况II(APACHE II)评分、合并基础疾病(高血压、糖尿病、心血管系统疾病、呼吸系统疾病、神经系统疾病、消化系统疾病等)、是否预防性使用抗生素等资料。

1.2.2 实验室指标测定方法

本文取所有受试者静脉血进行检测。①使用血细胞分析仪器检测患者的白细胞(WBC)及血红蛋白(Hb)的水平;②使用全自动生化仪检测患者白蛋白(Alb)的水平;③采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测患者降钙素原(PCT)的水平;④采用免疫荧光干

式定量法检测患者C-反应蛋白(CRP)的水平。

1.2.3 miR-125b、miR-145、miR-146a 水平检测

所有患者空腹抽取肘静脉血 4 mL,采用淋巴细胞分离液,分离外周血单个核细胞,采用实时定量 PCR 试剂盒(北京康斯尔泰生物科技有限公司)检测 miR-125b、miR-145、miR-146a 水平。

1.3 统计学处理

使用 SPSS 22.0 统计学软件分析数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验;计量资料均符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验。影响因素分析采用多因素非条件 Logistic 回归分析法,并采用逐步后退法进行变量的选择与剔除,采用 ROC 曲线分析预测价值。当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影响肺癌患者术后肺部感染发生的单因素分析

感染组患者预防性使用抗生素、合并糖尿病、合并呼吸系统疾病比例均高于非感染组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组实验室指标比较

感染组 WBC、Hb、Alb 水平均低于非感染组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);CRP、miR-125b、miR-145、miR-146a 水平均高于非感染组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 影响肺癌术后肺部感染发生的多因素 Logistic 回归分析

预防性使用抗生素、呼吸系统疾病、WBC $< 4.01 \times 10^9/L$ 、Hb $< 93.47 g/L$ 、Alb $< 34.97 g/L$ 、miR-125b > 2.89 、miR-145 > 1.46 、miR-146a > 2.73 是影响肺癌术后肺部感染发生的危险因素($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 不同实验室指标单独对肺癌术后肺部感染发生的预测价值

WBC 单独预测术后感染的 AUC 为 0.804, Hb 单独预测术后感染的 ROC-AUC 为 0.761, Alb 单独预测术后感染的 AUC 为 0.773, miR-125b 单独预测术后感染的 AUC 为 0.726, miR-145 单独预测术后感染的 AUC 为 0.754, miR-146a 单独预测术后感染的 AUC 为 0.731。见表 4、图 1。

2.5 miR-125b、miR-145、miR-146a 联合预测肺癌术后肺部感染发生的价值

miR-125b、miR-145、miR-146a 联合预测的 AUC 为 0.889,灵敏度为 92.0%,特异度为 86.1%。见图 2。

表 1 两组基本资料比较 [$n(\%)$]

基本资料	感染组 ($n=60$)	非感染组 ($n=705$)	χ^2 值	P 值
年龄				
≥60 岁	28(46.67)	360(51.06)	0.428	0.513
<60 岁	32(53.33)	345(48.94)		
性别				
男	48(80.00)	570(80.85)	0.026	0.872
女	12(20.00)	135(19.15)		
BMI				
≥24 kg/m ²	10(16.67)	84(11.91)	1.158	0.282
<24 kg/m ²	50(83.33)	621(88.09)		
病理类型				
腺癌	22(36.67)	343(48.65)	3.184	0.074
鳞癌	38(63.33)	362(51.35)		
TNM 分期				
I 期	28(46.67)	345(48.94)	0.114	0.736
II 期	32(53.33)	360(51.06)		
预防性使用抗生素				
是	6(10.00)	20(2.84)	8.641	0.003
否	54(90.00)	685(97.16)		
基础疾病				
糖尿病	7(11.67)	37(5.25)	4.346	0.037
高血压	6(10.00)	79(11.21)	0.096	0.757
心血管系统疾病	8(13.33)	55(7.80)	2.253	0.133
呼吸系统疾病	10(16.67)	55(7.80)	5.770	0.016
神经系统疾病	3(5.00)	51(7.23)	0.439	0.507
消化系统疾病	6(10.00)	56(7.94)	0.286	0.593

表 2 两组实验室指标变化 ($\bar{x} \pm s$)

实验室指标	感染组($n=60$)	非感染组($n=705$)	t 值	P 值
WBC($\times 10^9/L$)	3.65±1.68	6.21±1.42	13.203	<0.001
Hb(g/L)	93.51±15.54	116.43±10.54	15.483	<0.001
Alb(g/L)	32.14±2.45	36.73±2.75	12.512	<0.001
PCT(ng/mL)	0.31±0.04	0.30±0.05	1.508	0.132
CRP(mg/L)	16.32±3.34	13.48±3.42	6.186	<0.001
miR-125b	3.08±0.66	2.04±0.33	21.113	<0.001
miR-145	1.68±0.12	0.98±0.12	43.377	<0.001
miR-146a	3.12±0.85	1.34±0.46	26.414	<0.001

表 3 影响肺癌术后肺部感染发生的多因素 Logistic 回归分析

因素	回归系数	标准误差	Wald 卡方	OR	OR 95%CI	P 值
预防性使用抗生素	0.512	0.248	4.258	1.669	1.026~2.715	0.039
呼吸系统疾病	0.981	0.116	70.920	2.666	2.122~3.349	<0.001
WBC $< 4.01 \times 10^9/L$	1.046	0.387	7.292	2.845	1.332~6.077	0.007
Hb $< 93.47 g/L$	1.014	0.472	4.615	2.757	1.093~6.953	0.031
Alb $< 34.97 g/L$	1.182	0.470	6.326	3.260	1.298~8.188	0.012
miR-125b > 2.89	1.171	0.247	22.456	3.225	1.987~5.234	<0.001
miR-145 > 1.46	1.392	0.229	37.061	4.021	2.569~6.294	<0.001
miR-146a > 2.73	1.386	0.129	114.580	3.998	3.102~5.153	<0.001
常数项	2.456	0.906	8.467			<0.001

3 讨论

众所周知,肺癌患者自身的机体能力抵抗力降低明显,手术的创伤会进一步有损患者的免疫

表4 不同实验室指标单独对肺癌术后肺部感染发生的预测价值

因素	AUC(0.95 CI)	灵敏度	特异度	约登指数	截断值	P 值
WBC	0.804 (0.718~0.898)	0.864	0.741	0.601	$4.01 \times 10^9/L$	<0.001
Hb	0.761 (0.662~0.861)	0.842	0.685	0.528	94.47g/L	<0.001
Alb	0.773 (0.700~0.854)	0.832	0.715	0.549	34.97g/L	<0.001
miR-125b	0.726 (0.656~0.793)	0.805	0.643	0.442	2.89	<0.001
miR-145	0.754 (0.687~0.822)	0.820	0.688	0.507	1.46	<0.001
miR-146a	0.731 (0.658~0.793)	0.792	0.676	0.461	2.73	<0.001

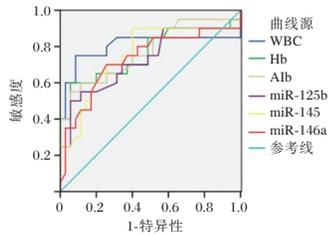


图1 单独预测肺部感染发生的ROC曲线

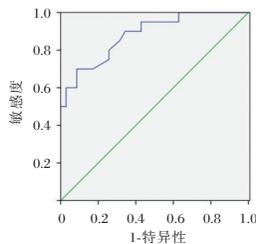


图2 miR-125b、miR-145、miR-146a联合预测肺癌术后肺部感染发生的ROC曲线

力,因此术后有并发肺部感染风险,不仅不利于术后恢复,且可能出现呼吸窘迫等危及生命,如果能够控制可干预的危险因素,那么对预防肺部感染的发生有重要的意义。本研究发现预防性使用抗生素、呼吸系统疾病、 $WBC < 4.01 \times 10^9/L$ 、 $Hb < 93.47 g/L$ 、 $Alb < 34.97 g/L$ 是影响肺癌术后患者肺部感染发生的危险因素。这与以往研究结果一致。分析认为预防性使用抗生素不仅可以引起免疫功能低下患者肠道菌群紊乱,且是导致多种耐药菌株出现的主要原因之一。合并呼吸系统疾病的患者本身呼吸道原有的呼吸道纤毛防御机制已经破坏,因此呼吸道防御功能严重下降,为病原菌的定植提供了条件^[9]。肺癌术后患者常常需要联合化疗治疗,而化疗常引起WBC水平的降低,WBC作为抵抗病原菌的主要成分,其水平降低表明机体免疫功能已经严重受损^[10],为各种病原菌的侵入提供了一定的有利条件,因此术后肺部感染风险明显增加。机体充足的营养保障是抵抗感染的基础,Alb是机体营养状况的评价指标之一,水平越低表明机体营养状况越差,抵抗外源性病原菌侵

入的功能会随之下降^[11]。

miR是一种内源性非编码RNA,已被证实可在机体免疫调节、激活凋亡等多个病理生理过程中有重要作用。既往miR的研究多集中在肿瘤方面,在机体免疫调控方面的研究较少。miR-125b、miR-145、miR-146a在炎症反应中起着重要的调节作用,可能通过靶向调控炎症反应相关基因(如NF- κ B、TNF- α 等)的表达,来影响炎症反应的强度和持续时间,其表达增强可能导致炎症反应过度,从而增加术后肺部感染的风险。外周血单个核细胞包括T细胞、B细胞等免疫细胞,它们在维持机体免疫稳态和应对感染中发挥着关键作用。miR-125b、miR-145、miR-146a可能通过参与免疫细胞的分化、增殖和功能调节,来影响机体的免疫应答能力,从而与术后肺部感染的发生密切相关。肺癌本身可能导致机体免疫系统的改变,包括免疫细胞的活性、数量和分布等,肺癌细胞可能通过改变外周血单个核细胞中miRNA的表达水平,来逃避机体的免疫监视和清除,这种免疫逃逸机制可能使肺癌细胞更容易在机体内生长和转移,同时也可能增加术后肺部感染的风险。本研究发现感染组miR-125b、miR-145、miR-146a高于非感染组,且多因素显示miR-125b>2.89、miR-145>1.46、miR-146a>2.73是影响肺癌术后患者肺部感染发生的独立危险因素。陆益民等^[12]研究发现,miR-125b、miR-146a在重症肺炎外周血中表达明显升高,且治疗后可有10倍以上的差异,因此认为miR-125b、miR-146a可能是重症肺部感染特异性的miR标记。miR-125b可通过抑制肿瘤细胞坏死因子- α (TNF- α)的转录水平,降低机体的炎症反应^[13],进而参与肺部感染过程。miR-146a被发现通过参与病原菌诱导宿主巨噬细胞激活过程而与肺损伤程度密切相关^[14],肺癌及肺癌术后的应激免疫反应会增加miR-146a表达,但合并肺部感染后其表达更显著。另有研究发现,miR-145在下呼吸道感染患儿中的表达显著上调^[15],并可通过调控辅助性

T 细胞 Th1/Th2 的平衡参与炎症反应^[15]。

本研究进一步绘制 ROC 曲线发现, miR-125b、miR-145、miR-146a 单独预测肺部感染的 ROC-AUC 均>0.7, 提示单独检测对肺部感染具有一定预测价值, 但特异度均<0.7, 而 3 个指标联合预测的 ROC-AUC 为 0.889, 灵敏度为 92.0%, 特异度为 86.1%, 能显著降低误诊及漏诊率。

综上所述, 预防性使用抗生素、呼吸系统疾病及营养状况差等均会增加肺癌术后肺部感染发生风险, miR-125b、miR-145、miR-146a 表达上调与肺癌术后肺部感染密切相关, 且 3 者联合检测对肺部感染发生具有较好的临床预测价值。

参考文献

- [1] 陈万青, 李贺, 孙可欣, 等. 2014 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(1): 5-13.
- [2] 周建国, 张钰, 王菲, 等. miR-125 与肺癌相关性研究进展[J]. 现代免疫学, 2016, 36(2): 137-140.
- [3] 王恩智, 周兴辉, 唐玉霞, 等. miR-145 和 miR-146a 在非小细胞肺癌中的表达及其意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(14): 1725-1727.
- [4] 纪迎洁, 倪洁, 邓水香, 等. 颅脑损伤继发肺部感染患者外周血单个核细胞 miRNA 表达谱及其临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(11): 1660-1664.
- [5] 麦朗君, 翟佳羽, 林烈枯, 等. 呼吸道合胞病毒下呼吸道感染患儿外周血 miR-145 表达及与 Th1/Th2 平衡的关系[J]. 河北医学, 2020, 26(8): 1277-1281.
- [6] 陈英, 钟文昭. 第 8 版肺癌 TNM 分期浅析[J]. 临床外科杂志, 2016, 24(7): 486-490.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5): 314-320.
- [8] 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]. 肿瘤研究与临床, 2018, 30(12C): 793-824.
- [9] 魏巧妙, 王博, 魏娜沙, 等. 肺癌合并肺部感染患者血清炎症因子水平与凝血功能和免疫功能的关系分析[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(16): 58-60.
- [10] 张琦, 刘淑贤, 王立国, 等. 非小细胞肺癌患者术后肺部感染与致病性气道定植菌的关系[J]. 解放军医药杂志, 2020, 32(9): 13-17.
- [11] 宋洋, 夏冰, 吴岳光. 肺癌患者肺部感染的相关临床危险因素分析[J]. 中华全科医学, 2021, 19(3): 354-357+462.
- [12] 陆益民, 奚肇庆. 白虎人参汤联合复方薤白胶囊对重症肺部感染患者血清特异性微小 RNA 表达谱差异影响的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, (5): 340-344.
- [13] 于光远, 詹学, 张祯祯, 等. 巨噬细胞过表达 miR-125b 促进其凋亡[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(7): 958-962, 967.
- [14] 林强, 魏天龙, 罗练, 等. PCI 术后肺部感染患者血清 miR-146a、Galectin-3 表达及与抗感染疗效的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(11): 1582-1586.
- [15] 何高燕, 罗晓斌, 赵勇, 等. miR-145 通过靶向抑制 SMAD3 的表达抑制非小细胞肺癌细胞侵袭能力[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(1): 26-31.

(上接第 699 页)

- [2] Valero S, G ARCÍAGUTIÉRREZ F, MARQUIÉ M, et al. Predictive value of the Alzheimer polygenic risk score on cognitive decline in patients with alzheimer's disease dementia [J]. Alzheimers Dement, 2023, 19(S15): e076500.
- [3] XIAOHONG Z, RONGHUA Y, HUILIN W, et al. Effects of rivastigmine hydrogen tartrate and donepezil hydrochloride on the cognitive function and mental behavior of patients with Alzheimer's disease [J]. Exp Ther Med, 2020, 20(2): 1789-1795.
- [4] 姚晓利, 肖卫忠, 李楠, 等. 多奈哌齐联合甘露特钠治疗轻中度阿尔茨海默病的疗效[J]. 中国新药与临床杂志, 2022, 41(7): 412-417.
- [5] Wang BJ, Hassan U, Bruss EJ, et al. Effects of transcranial magnetic stimulation on the human brain recorded with intracranial electrocorticography [J]. Mol Psychiatry, 2024, 29(5): 1228-1240.
- [6] 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): 15.
- [7] 翁映虹, 黄坚红. 阿尔茨海默病评定量表-认知部分中文版与日常生活力量表评价血管性痴呆的信度与效度[J]. 中国老年学, 2014, 34(7): 1751-1753.
- [8] 袁芳, 王刚. 阿尔茨海默病的药物治疗新进展[J]. 重庆医科大学学报, 2024, 49(5): 522-525.
- [9] 游孟哲, 周霞, 尹文文, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与阿尔茨海默病的相关性临床研究[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(6): 1081-1088.
- [10] 张梦雪, 曲彦洁, 李倩, 等. 阿尔茨海默病患者证候演变规律及 fNIRS 脑血流动力学特征研究[J]. 中医杂志, 2024, 65(6): 600-608.
- [11] 张漫, 谭小林, 蒋娟, 等. 不同频率 rTMS 治疗阿尔茨海默病对患者精神行为症状及前瞻性记忆的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(6): 1374-1377.
- [12] Maroli N. Aquaporin-4 mediated aggregation of alzheimer's amyloid β -peptide [J]. ACS Chem Neurosci, 2023, 14(15): 2683-2698.
- [13] Roque C, Pinto N, Vaz patto M, et al. Astrocytes contribute to the neuronal recovery promoted by high-frequency repetitive magnetic stimulation in in vitro models of ischemia [J]. J Neurosci Res, 2021, 99(5): 1414-1432.
- [14] 宋唯琦, 唐秀平, 邹云春, 等. 高频重复经颅磁刺激(HF-rTMS)对大鼠视皮层脑源性神经营养因子(BDNF)表达及神经细胞凋亡的影响[J]. 眼科新进展, 2023, 43(6): 449-453.
- [15] 朱光跃, 郑娅, 徐榕, 等. 基于功能近红外光谱技术的高频重复磁刺激干预外周神经对皮层血流动力学反应的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2021, 36(8): 938-942.

寻常型银屑病患者血清 Tfh 细胞、IL-21 水平对 HaCaT 细胞增殖周期的影响

李锋* 徐钰 岳敏

[摘要] **目的** 探讨寻常型银屑病患者 Tfh、IL-21 水平对 HaCaT 细胞增殖周期的影响。**方法** 收集 102 例寻常型银屑病患者(研究组)及 98 名健康体检者(对照组)的外周血。将 HaCaT 细胞分为正常培养组、IL-21+HaCaT 组、Tfh+HaCaT 基础组,并在此基础上进一步分为加 IL-21 组及加 IL-21 中和抗体组。采用 CCK-8 法检测细胞增殖活性,流式细胞术检测细胞周期。**结果** 研究组 Tfh 及 IL-21 表达高于对照组,差异有统计学意义($P<0.001$);HaCaT 细胞与 IL-21 共培养时, G_0/G_1 期缩短,细胞增殖活性及增殖指数均升高,差异有统计学意义($P<0.05$);Tfh 与 HaCaT 共培养时,研究组增殖活性更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。加入 IL-21 后研究组增殖指数升高,加入 IL-21 中和抗体则减弱,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 寻常型银屑病患者 Tfh 与 IL-21 表达上升,并促进 HaCaT 细胞增殖,IL-21 中和抗体可减弱此作用,提示 Tfh 调控 IL-21 影响角质形成细胞增殖。

[关键词] 寻常型银屑病;细胞增殖;白细胞介素-21;HaCaT 细胞;细胞周期;滤泡辅助性 T 细胞

Effects of serum Tfh cells and IL-21 levels in patients with psoriasis vulgaris on the proliferation cycle of HaCaT cells

LI Feng*, XU Yu, YUE Min

(Department of Dermatology, Fuyang Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Fuyang, Anhui, China, 236000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the impact of IL-21 and Tfh levels on the proliferation cycle of HaCaT cells in patients with psoriasis vulgaris. **Methods** Peripheral blood was collected from 102 patients with psoriasis vulgaris (study group) and 98 healthy medical examiners (control group). HaCaT cells were divided into a normal culture group, an IL-21+HaCaT group, and a Tfh+HaCaT basal group. Additionally, they were further divided into an IL-21 group and an IL-21 neutralizing antibody group. Flow cytometry was used to measure cell cycle progression, and the CCK-8 technique was used to measure the proliferation activity. **Results** The expression of serum Tfh and IL-21 in the study group was higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.001$). The G_0/G_1 phase shortened, and the proliferative activity and proliferation index of HaCaT cells increased when they were co-cultured with IL-21 in vitro, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Similarly, when HaCaT cells were co-cultured with Tfh in vitro, the proliferative activity in the study group was higher, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Furthermore, the addition of IL-21, increased the proliferation index in the study group, while the addition of IL-21 neutralizing antibody decreased significantly, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Tfh and IL-21 expression were higher in psoriasis vulgaris patients and promoted the proliferation of HaCaT cells. The use of an IL-21 neutralizing antibody can weaken this effect, suggesting that Tfh regulates IL-21 to affect the proliferation of keratinocytes.

[KEY WORDS] Psoriasis vulgaris; Cell cycle; Interleukin - 21; HaCaT cells; Cell proliferation; Follicular helper T cells

基金项目:安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021b041)

作者单位:安徽医科大学附属阜阳医院皮肤科,安徽,阜阳 236000

*通信作者:李锋, E-mail:Lf1989718@163.com

银屑病是一种慢性炎症性皮肤病,常表现为局限或广泛分布的鳞屑性红斑,角质形成细胞的异常生长,免疫细胞浸润及促炎细胞因子释放为其主要的病理特征^[1]。据统计,我国银屑病患者率为0.47%,位于亚洲前列且逐年升高,不仅影响患者的身体健康,还给患者带来沉重的心理负担和经济负担^[2]。尽管目前对银屑病的发病机制有一定的了解,但具体机制尚未完全明确。而寻常型银屑病是银屑病的基本分型之一,占总患病人数的85%~90%,这部分患者多采用局部治疗,但长期使用可出现不良反应,且患者依从性差异较大,治疗效果有限^[3]。滤泡辅助性T细胞(follicular helper T cells, Tfh)是近年来发现的CD4阳性辅助性T细胞的一个亚群,主要负责触发生化中心B细胞分化成分泌抗体的浆细胞和记忆性B细胞。既往研究发现,Tfh细胞参与了银屑病的发生,并与银屑病的严重程度呈正相关^[4]。白细胞介素-21(Inter Leukin-21, IL-21)主要由辅助性T细胞17及Tfh细胞分泌,可通过自分泌方式上调C-X-C趋化因子受体5(C-X-C motif chemokine Receptor type 5, CXCR5)及可诱导共刺激分子(Inducible Co-Stimulator, ICOS)的表达,影响Tfh细胞和B细胞的相互作用,从而促进Tfh细胞分化和功能发育^[5]。本研究旨在体外条件下采用CCK-8法及流式细胞术分析寻常型银屑病患者Tfh细胞及IL-21在HaCaT细胞中表达变化,并进一步观察其对HaCaT细胞增殖、细胞周期的影响,以期对银屑病的治疗提供新的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象

收集2021年7月至2023年7月期间在安徽医科大学附属阜阳医院皮肤性病科收治的102例寻常型银屑病患者(研究组)及98名健康体检者(对照组)的外周血。纳入标准:①研究组患者符合寻常型银屑病的诊断标准^[6];②年龄≥18岁;③无其他脏器疾病;④无过敏性疾病史;⑤患者及家属知情同意。排除标准:①合并自身免疫性疾病及其他各种严重的慢性系统性疾病;②合并恶性肿瘤;③近3个月使用激素及免疫抑制剂治疗者;④合并心、肝功能异常者;⑤临床资料不完整,依从性差者。两组在年龄、性别等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。本研究已通过安徽

医科大学附属阜阳医院伦理委员会审核,伦理编号:KY2023055。

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

项目	研究组 ($n=102$)	对照组 ($n=98$)	t/χ^2 值	P 值	
年龄(岁)	42.56±9.37	41.90±9.82	0.486	0.627	
性别	男	41(40.20)	45(45.92)	0.668	0.414
	女	61(59.80)	53(54.08)		
体质量指数(kg/m^2)	23.68±3.45	23.12±3.83	1.087	0.278	
舒张压(mm Hg)	76.56±6.31	75.80±5.29	0.921	0.358	
收缩压(mm Hg)	120.46±10.39	122.55±11.81	1.330	0.185	
吸烟史	26(25.49)	29(29.59)	0.422	0.516	
饮酒史	18(17.65)	13(13.27)	0.734	0.392	

1.1.2 细胞株来源

HaCaT细胞购于中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。

1.1.3 实验材料

细胞计数试剂盒-8(Cell Counting Kit-8, CCK-8)购自上海爱必信生物科技有限公司;细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物公司;胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司;DMEM培养基购自赛默飞世尔科技公司;碘化丙(Propidium Iodide, PI)溶液购自美国Merck公司;人IL-21酶联免疫吸附试剂盒购自杭州联科生物技术有限公司;细胞培养箱购自美国Thermo公司;流式细胞仪购自上海碧迪医疗器械有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

HaCaT细胞用含有10%胎牛血清的DMEM培养基(含1%青链霉素),置于37℃、含体积分数5% CO₂的恒温培养箱中进行培养,当细胞生长至80%~90%融合度时消化传代进行后续实验。

1.2.2 Tfh细胞及IL-21检测

采用标准Ficoll密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,使用台式离心机经2 000 r/min离心5 min后收集细胞,染色缓冲液洗涤细胞,加入抗人CD4和CXCR5抗体对细胞进行标记,室温孵育30 min,洗涤重悬细胞,采用流式细胞仪上机检测。IL-21水平检测按照酶联免疫吸附试剂盒说明书进行操作。

1.2.3 细胞分组处理

1.2.3.1 IL-21+HaCaT组 在HaCaT细胞培养孔中加入10 ng/mL的IL-21蛋白,继续培养24 h后,于室温环境下加入0.125%胰蛋白酶1 mL,使消化液流遍所有细胞表面,消化5 min,吹打收集细胞悬液。

1.2.3.2 HaCaT细胞与Tfh细胞共培养 在HaCaT细胞培养孔中加入Tfh细胞悬液,轻轻摇晃均匀后,放入细胞培养箱内进行共培养4小时。培养结束后,为了研究IL-21的作用,分别加入10 ng/mL的IL-21蛋白及1 μg/mL的Anti-IL-21中和抗体。用弯头吸管,吸取培养液,反复吹打除去未贴壁的Tfh细胞,贴壁的细胞采用胰蛋白酶消化,细胞脱离瓶壁后形成细胞悬液,以便进行后续的实验分析。

1.2.4 细胞增殖活性

将HaCaT细胞以 1×10^4 个/孔接种至96孔板,在培养箱中培养24 h后,每孔加入10 μL的CCK-8试剂,继续培养4 h后,采用CCK-8法检测细胞在450 nm波长下的吸光度值,以评估细胞的增殖活性。

1.2.5 细胞周期分布

将培养结束后HaCaT细胞用乙醇固定,然后离心处理(1 000 r/min, 5 min),去除乙醇固定液,保留细胞沉淀。用磷酸盐缓冲液洗去残留的乙醇后,与100 μg/mL的RNA酶和500 μL PI溶液避光培育15 min。最后,使用流式细胞仪检测细胞周期分布。

1.3 统计学分析

采用SPSS 27.0进行统计分析。计量资料符合正态分布以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用t检验。计数资料以 $n(\%)$ 表示,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 研究组及对照组Tfh细胞百分比、IL-21浓度比较

研究组患者血清Tfh细胞百分比及IL-21浓度表达高于对照组,差异有高度统计学意义($P < 0.001$)。见表2。

2.2 IL-21对HaCaT细胞增殖周期的影响

IL-21+HaCaT组S期比例、增殖活性及增殖指数较HaCaT正常培养组升高, G_0/G_1 期细胞比例下降,

表2 研究组及对照组Tfh细胞百分比与IL-21浓度比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Tfh细胞(%)	IL-21(pg/mL)
研究组	102	1.69±0.65	101.35±25.44
对照组	98	0.87±0.30	81.79±20.61
t值		13.201	5.961
P值		<0.001	<0.001

差异有高度统计学意义($P < 0.001$)。两组 G_2/M 期细胞比例变化差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

2.3 Tfh细胞对HaCaT细胞增殖活性及周期的影响

Tfh细胞与HaCaT细胞共培养时,研究组S期比例、增殖活性及增殖指数较对照组升高, G_0/G_1 期细胞比例下降,差异有统计学意义($P < 0.001$)两组 G_2/M 期细胞比例变化差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表4 Tfh细胞对HaCaT细胞增殖活性及周期各阶段比例及增殖指数、增殖活性的影响
($\bar{x} \pm s$)

组别	Tfh+HaCaT			细胞增殖指数	细胞增殖活性(od450)
	G_0/G_1 期	S期	G_2/M 期		
研究组	46.33±8.86	41.57±9.46	9.19±2.63	53.06±10.48	2.76±0.63
对照组	50.12±10.79	35.80±8.22	8.78±2.45	45.71±9.91	2.55±0.58
t值	2.719	4.597	1.140	5.092	2.450
P值	0.007	<0.001	0.256	<0.001	0.015

注:增殖指数=(S期+ G_2/M 期)/(S期+ G_0/G_1 期+ G_2/M 期)×100%。

2.4 加入IL-21及IL-21中和抗体对HaCaT细胞增殖及周期的影响

加入IL-21后,研究组及对照组的HaCaT细胞增殖指数及S期细胞比例均高于加入IL-21中和抗体组,差异有高度统计学意义($P < 0.001$)。见表5。

3 讨论

银屑病是一种具有多样症状的慢性炎症性皮肤病疾病,多发生在39岁以上的成年人,且其发病原因尚未完全明确,因此暂无根治性治疗方法^[7]。角质形成细胞的异常分化和逃避细胞凋亡是银屑病最具特征的生物学行为,其引起的慢性免疫反应可导致皮肤炎症反应加剧和角质形成细胞的过度

表3 IL-21对HaCaT细胞增殖周期各阶段比例及增殖指数、增殖活性的的影响
($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞周期			细胞增殖指数	细胞增殖活性(od450)
	G_0/G_1 期	S期	G_2/M 期		
HaCaT正常培养组	51.07±9.22	33.56±7.18	9.11±2.78	41.19±9.51	1.09±0.27
IL-21+HaCaT组	43.16±8.35	39.74±8.32	9.46±2.35	50.67±10.37	1.36±0.38
t值	6.422	5.680	0.971	6.805	5.850
P值	<0.001	<0.001	0.333	<0.001	<0.001

注:增殖指数=(S期+ G_2/M 期)/(S期+ G_0/G_1 期+ G_2/M 期)×100%。

表5 加入 IL-21 及 IL-21 中和抗体对 HaCaT 细胞增殖各阶段比例及增殖指数及周期的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	对照组				研究组			
	G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期	细胞增殖指数	G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期	细胞增殖指数
IL-21	47.01±8.06	41.59±7.42	10.56±3.27	52.43±9.61	49.26±8.72	39.15±8.43	10.36±3.15	50.44±8.38
IL-21 中和抗体	56.11±8.90	36.61±7.85	9.85±3.14	45.75±8.76	56.08±8.34	33.47±7.62	9.84±2.70	46.71±8.19
t值	7.503	4.564	1.550	5.086	5.708	5.048	1.266	3.215
P值	<0.001	<0.001	0.123	<0.001	<0.001	<0.001	0.207	0.002

注:增殖指数=(S期+G₂M期)/(S期+G₀/G₁期+G₂/M期)×100%。

增殖^[8]。本研究通过探讨 Tfh 及 IL-21 对 HaCaT 细胞增殖和细胞周期的影响,为寻常型银屑病的免疫治疗寻找可能的靶点。

已有研究表明^[9],银屑病患者组织中存在多种细胞因子,可共同诱导免疫反应,促进 T 细胞向辅助性 T 细胞 17 的分化。本研究结果也证实,与健康对照组相比,研究组的 Tfh 细胞及 IL-21 水平显著升高。进一步探讨发现,当 Tfh 细胞与 HaCaT 细胞共培养时,研究组的细胞增殖活性高于对照组,提示 Tfh 细胞在体外可以促进 HaCaT 细胞增殖。究其原因可能为,初始的 CD4 阳性 T 细胞分化成 Tfh 细胞的过程主要发生在淋巴组织的 T 细胞区,这一过程受树突状细胞等免疫细胞及转录因子等的共同调控,促进 Tfh 细胞的早期分化。其次高表达 CXCR5 及 ICOS 等通过促进生发中心的形成,使前 Tfh 细胞进一步分化为成熟 Tfh 细胞。在此过程中炎症细胞可产生促炎因子刺激角质形成细胞增殖^[10-11]。李思彤^[12]的研究也表明,寻常型银屑病患者的外周血中 Tfh 细胞处于活化状态,且银屑病疾病活动度越高,外周血 Tfh 细胞表达越高。

IL-21 在自身免疫性疾病、炎性疾病及肿瘤中起重要作用,且可以诱导肿瘤细胞存活率增加^[13]。本研究结果显示,加入 IL-21 后 HaCaT 细胞增殖活性升高,S 期细胞比例升高,增殖指数升高,提示 IL-21 可以促进 HaCaT 细胞增殖,可能与银屑病的发病机制有关。IL-21 主要由 Tfh 细胞、Th17 和调节性 T 细胞分泌。Tfh 细胞以依赖 IL-21 的方式促进异常生发中心反应,并增强浆细胞自身抗体的产生作用。IL-21 还可对 Tfh 细胞的初始发育进行刺激,协同促进 T 细胞分化,进而上调 Tfh 细胞中 CXCR5、ICOS 的表达^[14-15]。此外,IL-21 可促进 Th17 细胞的分化和 Treg 细胞的发育,改变 Th17/Treg 细胞的平衡状态,促进角质形成细胞增殖^[16]。加入 IL-21 后研究组增殖指数升高,加入 IL-21 中和抗体则减弱,并可能阻止细胞周期进入 G₂/M

期。以上结果说明 Tfh 细胞可以促进 HaCaT 细胞增殖,且加入 IL-21 中和抗体可以抑制 Tfh 引起的 HaCaT 细胞过度增殖,由此可推断 Tfh 细胞可能通过调控 IL-21 引起 HaCaT 细胞有丝分裂,调控细胞周期,促进细胞增殖,进而导致银屑病的发生。

然而,本研究也存在一些局限性。首先,本研究病例均为住院患者,纳入的患者例数相对较少,且不同检测方法的灵敏度和特异度存在差异,可能导致研究结果偏倚。未来需要开展大规模、多中心的前瞻性研究,进一步验证本研究结果。

综上所述,在 HaCaT 细胞体外培养中,Tfh 细胞及 IL-21 对 HaCaT 细胞具有一定的促进作用,其作用机制可能与 Tfh 细胞调控 IL-21 有关。

参考文献

- [1] Griffiths CEM, Armstrong AW, Gudjonsson JE, et al. Psoriasis[J]. Lancet, 2021,397(10281):1301-1315.
- [2] 薛凯元,杨素清,吴海源,等.蜈蚣败毒饮联合中药封包疗法治疗寻常性银屑病的疗效及对血清炎性因子的影响[J].中国皮肤性病学杂志,2023,37(1):42-46+101.
- [3] 孙士芳,詹明峰,沈晓峰,等.新疆阿魏根提取物对白细胞介素-22 诱导的角质形成细胞异常增殖的作用研究[J].中国医药导报,2023,20(14):15-19.
- [4] 王贝,屈子璐,陈柳青,等.滤泡辅助性 T 细胞在皮肤病中的研究进展[J].临床皮肤科杂志,2023,52(9):569-572.
- [5] Crotty S. T follicular helper cell biology: a decade of discovery and diseases[J]. Immunity, 2019,50(5):1132-1148.
- [6] 中华医学会皮肤性病学分会银屑病专业委员会.中国银屑病诊疗指南(2018 完整版)[J].中华皮肤科杂志,2019,52(10):667-710.
- [7] 陈怡,朱颜俊,树瑜.TPG 对 HaCaT 细胞增殖、凋亡、细胞周期及 miR-320/RASA1 表达的影响[J].分子诊断与治疗杂志,2020,12(9):1246-1250.
- [8] Thatikonda S, Pooladanda V, Sigalapalli DK, et al. Piperlongumine regulates epigenetic modulation and alleviates psoriasis-like skin inflammation via inhibition of hyperproliferation and inflammation[J]. Cell Death Dis, 2020,11(1):21.
- [9] 王泽洪,李俊琴,邹朋,等.银屑病血清与 M5 因子对角质形成细胞炎症和增殖影响的比较研究[J].安徽医科大学学报,2023,58(9):1488-1492.

(下转第 712 页)

血清TLR4、FAI水平对特发性中枢性性早熟的诊断价值

陈欢欢* 王昕 李娟 赵扬扬 朱江伟

[摘要] **目的** 探讨血清Toll样受体4(TLR4)、游离睾酮指数(FAI)水平对特发性中枢性性早熟(ICPP)的诊断价值。**方法** 选取2020年6月至2024年2月于河南科技大学附属黄河三门峡医院就诊的126例性早熟女童作为研究对象,其中54例ICPP女童纳入ICPP组、72例单纯性乳房过早发育(PT)纳入PT组。收集两组其临床资料,检测两组血清TLR4、总睾酮、性激素结合球蛋白(SHBG)水平,并计算FAI。采用多因素Logistic回归分析探讨ICPP发生的影响因素;采用受试者工作特性(ROC)曲线分析血清TLR4、FAI水平对ICPP发生的诊断价值。**结果** ICPP组骨龄、身高、经常使用成人洗护用品比例、基础LH、基础FSH及E₂均高于PT组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。ICPP组患儿血清TLR4、FAI水平均明显高于PT组,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。多因素回归分析显示:骨龄 ≥ 8 岁、身高 ≥ 126 cm、经常使用成人洗护用品、基础LH ≥ 0.53 mIU/mL、基础TLR4 ≥ 26.21 ng/mL、FAI ≥ 1.86 是ICPP发生的危险因素(P <0.05)。血清TLR4、FAI水平单一及两者联合诊断ICPP发生的AUC分别为0.801、0.832、0.914,联合诊断效能较血清TLR4、FAI水平单一指标诊断效能更高(P 均 <0.05)。**结论** 血清TLR4、FAI在ICPP儿童中呈高表达,两者有望作为辅助诊断ICPP的重要指标,且两者联合诊断的效能更佳。

[关键词] Toll样受体4; 游离睾酮指数; 特发性中枢性性早熟

Diagnostic value of serum TLR4 and FAI levels in idiopathic central precocious puberty

CHEN Huanhuan*, WANG Xin, LI Juan, ZHAO Yangyang, ZHU Jiangwei

(Department of Pediatrics, Sanmenxia Hospital of Huanghe River, Henan University of Science and Technology, Sanmenxia, Henan, China, 472000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of serum Toll-like receptor 4 (TLR4) and free androgen index (FAI) levels in idiopathic central precocious puberty (ICPP). **Methods** A total of 126 girls with precocious puberty from June 2020 to February 2024 were selected. Among them, 54 girls with ICPP were included in the ICPP group, and 72 girls with simple premature breast development (PT) were included in the PT group. The clinical data of the two groups were collected, and the levels of serum TLR4, total testosterone, and sex hormone binding globulin (SHBG) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and FAI was calculated. The influencing factors of ICPP occurrence were explored by multivariate logistic regression analysis. The diagnostic value of serum TLR4 and FAI levels for the occurrence of ICPP was analyzed using ROC. **Results** The bone age, height, proportion of regular use of adult toiletries, basal LH, basal FSH, and E₂ in the ICPP group were all higher than those in the PT group (all P <0.05). The levels of serum TLR4 and FAI in the ICPP group were significantly higher than those in the PT group (both P <0.05). Bone age ≥ 8 years, height ≥ 126 cm, regular use of adult toiletries, basal LH ≥ 0.53 mIU/mL, basal TLR4 ≥ 26.21 ng/mL, FAI ≥ 1.86 were risk factors for the occurrence of ICPP (P <0.05). The AUC values for diagnosing ICPP with serum TLR4 and FAI levels alone and in combination were 0.801, 0.832, and 0.914, respectively. The combined diagnostic efficacy was higher than that of serum TLR4 and FAI levels alone (both P <0.05). **Conclusion** Serum TLR4 and FAI are highly expressed in children with ICPP and are expected to be important indicators for the auxiliary diagnosis of ICPP. The combined diagnosis of the two is more effective.

[KEY WORDS] Toll-like receptor 4; Free testosterone index; Idiopathic central precocious puberty

基金项目:三门峡市科技攻关项目(2022002088)

作者单位:河南科技大学附属黄河三门峡医院儿科,河南,三门峡 472000

*通信作者:陈欢欢, E-mail: chenghuanhuan39021@163.com

性早熟是指儿童性征发育过早出现的医学状况,表现为女孩在8岁之前或男孩在9岁之前出现第二性征的发育,临床多见于女童^[1]。近年来,随着社会经济的快速发展和生活方式的变化,人们的饮食结构和生活环境也发生了显著变化,导致性早熟女童的数量逐年增加。特发性中枢性性早熟(idiopathic central precocious puberty, ICPP)是一种常见的性早熟类型,ICPP由下丘脑过早启动促性腺激素释放激素(Gonadotropin releasing hormone, GnRH)引起,进而提前刺激垂体分泌促性腺激素,导致性腺激素分泌增加和性征提前发育^[2-3]。ICPP最严重的危害是性腺轴提前启动,导致生长板过早融合,从而影响儿童的身高以及身心健康^[4]。另一方面,由于发育提前,患儿还会出现焦虑、抑郁等一系列不良情绪,引起儿童心理行为问题。因此,早期诊断和及时干预对于ICPP患儿的健康成长具有重要意义,可以有效防止其可能带来的不良影响。Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)作为一种重要的模式识别受体,在机体的免疫应答和炎症反应中发挥关键作用^[5]。游离睾酮指数(Free testosterone index, FAI)作为衡量体内游离睾酮水平的指标,在多囊卵巢综合征患者中显著升高^[6]。本研究旨在探讨血清TLR4、FAI水平对ICPP的诊断价值,以期为临床诊断提供新的思路和方法,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2020年6月至2024年2月于河南科技大学附属黄河三门峡医院就诊的126例性早熟女童作为研究对象。纳入标准:①年龄6~8岁的女童;②所有研究者符合《女性性早熟的诊治共识》^[7]中关于性早熟的标准;③均为初次就诊且临床资料完整;④患儿监护人同意参与本研究,并签署知情同意书。排除标准:①合并恶性肿瘤、先天性甲状腺功能减低症引起的性早熟者;②合并有可能影响激素水平的其他内分泌疾病或严重的心、肝、肾疾病;③合并有慢性疾病或全身性疾病;④近期使用影响性发育或激素水平的药物;⑤伴有精神障碍或认知障碍者。126例研究对象中,将符合《中枢性性早熟诊断与治疗专家共识(2022)》^[8]中关于ICPP诊断标准的54例女童纳入ICPP组;将无其他性征出现,仅有乳房发育的72例单纯性乳房过

早发育(precocious thelarche, PT)女童纳入PT组。本研究经院医学伦理委员会批准通过。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集

收集126例性早熟女童的一般资料以及实验室资料,包括年龄、体质量指数(BMI)、骨龄、身高、乳房Tanner分期、午睡习惯、经常使用成人洗护用品、家庭组成、基础黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)、基础卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)及雌二醇(Estradiol, E₂)等。

1.2.2 血清学指标检测

抽取126例研究对象的空腹状态静脉血4 mL,室温下3 000 r/min离心10 min,离心半径为8 cm,结束后保留上层血清待检。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清TLR4、总睾酮、性激素结合球蛋白(sex hormone binding globulin, SHBG)水平,试剂盒采购于上海仁捷生物科技有限公司。计算FAI,公式为总睾酮(nmol/L)×100/SHBG(nmol/L)。

1.3 统计学分析

采用SPSS 24.0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 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验;采用多因素Logistic回归分析探讨ICPP发生的影响因素;采用受试者工作特性(ROC)曲线分析血清TLR4、FAI水平对ICPP发生的诊断价值; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

PT组和ICPP组的年龄、BMI、乳房Tanner分期、午睡习惯、家庭组成比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。ICPP组骨龄、身高、经常使用成人洗护用品比例、基础LH、基础FSH及E₂均高于PT组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表1。

2.2 两组血清TLR4、FAI水平比较

ICPP组患儿血清TLR4、FAI水平均明显高于PT组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。见表2。

2.3 ICPP发生的多因素Logistic回归分析

将有无ICPP发生作为因变量(未发生=0、发生=1),用单因素分析中有意义的指标及血清TLR4、FAI作为自变量进行多因素分析,结果显示:骨龄 ≥ 8 岁、身高 ≥ 126 cm、经常使用成人洗护用品、基础LH ≥ 0.53 mIU/mL、基础TLR4 ≥ 26.21 ng/mL、FAI ≥ 1.86 是ICPP发生的危险因素($P < 0.05$)。见表3。

表1 组一般资料比较 $[(\bar{x} \pm s), n(\%)]$

组别	PT组(n=72)	ICPP组(n=54)	t/χ^2 值	P值
年龄(岁)	7.10±0.77	7.04±0.80	0.426	0.671
BMI(kg/m ²)	18.16±2.78	18.72±2.89	1.111	0.269
骨龄(岁)	7.42±1.06	9.13±1.52	7.100	<0.001
身高(cm)	122.16±5.12	130.78±4.48	9.859	<0.001
乳房Tanner分期				
I	31(43.06)	18(33.33)	2.143	0.343
II	23(31.94)	24(44.44)		
III	18(25.00)	12(22.22)		
午睡习惯				
有	59(81.94)	40(74.07)	1.135	0.287
无	13(18.06)	14(25.93)		
经常使用成人洗护用品				
有	4(5.56)	20(37.04)	19.833	<0.001
无	70(94.44)	34(62.96)		
家庭组成				
单亲	8(11.11)	6(11.11)	0.298	0.862
双亲	30(41.67)	25(46.30)		
三代家庭	34(47.22)	23(42.59)		
基础LH(IU/L)	0.49±0.05	0.77±0.20	9.995	<0.001
基础FSH(IU/L)	2.28±0.72	3.44±1.06	6.918	<0.001
E ₂ (pg/mL)	23.68±5.37	31.47±7.22	6.666	<0.001

表2 两组血清TLR4、FAI水平比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	n	TLR4(ng/mL)	FAI
PT组	72	24.16±2.07	1.67±0.34
ICPP组	54	27.52±3.19	2.33±0.57
t值		6.741	7.678
P值		<0.001	<0.001

2.4 血清TLR4、FAI水平对ICPP发生的诊断价值

血清TLR4、FAI水平单一及两者联合诊断ICPP发生的AUC分别为0.801、0.832、0.914,联合诊断效能较血清TLR4、FAI水平单一指标诊断效能更高(P<0.05)。见表4、图1。

3 讨论

性早熟是指儿童在正常年龄之前出现第二性征发育,主要包括ICPP和PT。PT特指女童在8岁之前出现乳房发育,但无其他性成熟迹象;相比之下,ICPP是由下丘脑-垂体-性腺轴(HPG轴)过

表4 血清TLR4、FAI水平对ICPP发生的诊断价值

检测指标	AUC	95% CI	截点值	灵敏度	特异度
TLR4	0.801	0.721~0.880	26.21 ng/mL	0.648	0.889
FAI	0.832	0.755~0.909	1.86	0.852	0.681
联合	0.914	0.860~0.968		0.870	0.847

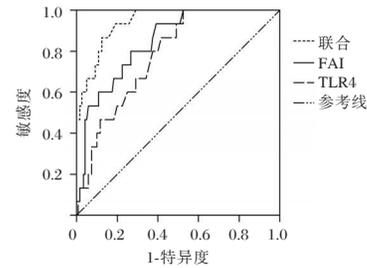


图1 血清TLR4、FAI水平对ICPP发生的诊断ROC曲线

早激活导致的,不仅会引发性征的过早出现,还会加速骨骼的成熟,最终限制身高^[9]。目前,临床上诊断ICPP的金标准是GnRH激发试验,但该试验操作复杂,且对患儿的依从性要求较高,在临床应用中受到限制^[10]。因此,寻找简单快捷的生物学标志物用于ICPP的诊断具有重要意义。

TLR4是TLRs家族中的一员,能够识别细菌脂多糖并参与机体多种炎症反应和免疫调节过程,在机体防御和病理性反应中发挥关键作用^[11]。研究表明,在肺炎支原体感染合并哮喘的儿童中,血清TLR4与其预后密切相关^[12]。本研究中,ICPP组血清TLR4高于PT组,说明TLR4可能在ICPP的病理机制中发挥重要作用。分析其原因为,ICPP是一种由HPG轴过早激活引起的性发育异常,而TLR4激活的炎症信号可影响HPG轴,导致GnRH及性激素过早分泌,从而促发性早熟,高水平的血清TLR4反映了ICPP患儿体内存在免疫激活或慢性炎症状态。同时,有研究表明,尽管TLR4最初是作为免疫调节因子被研究,但其信号通路的广谱效应与神经内分泌功能的调节有关^[13]。

睾酮是一种活性较强的雄激素,在循环系统中约60%的睾酮与SHBG结合,这部分结合态的

表3 ICPP发生的多因素Logistic回归分析

因素	赋值	β	SE	Wald χ^2	OR(95% CI)	P值
骨龄	<8岁=0; ≥8岁=1	3.003	1.298	5.351	20.148(1.582~256.600)	0.021
身高	<126 cm=0; ≥126 cm=1	3.462	1.192	8.437	31.882(3.083~329.668)	0.004
经常使用成人洗护用品	无=0; 有=1	2.821	1.261	5.002	16.797(1.418~199.030)	0.025
基础LH	<0.53 mIU/mL=0; ≥0.53 mIU/mL=1	3.042	1.430	4.528	20.951(1.271~345.263)	0.033
基础FSH	<1.68 mIU/mL=0; ≥1.68 mIU/mL=1	1.184	1.569	0.570	3.269(0.151~70.803)	0.450
E ₂	<30.06 pg/mL=0; ≥30.06 pg/mL=1	1.720	1.252	1.886	5.584(0.480~65.018)	0.170
TLR4	<26.21 ng/mL=0; ≥26.21 ng/mL=1	2.463	1.240	3.942	11.737(1.032~133.453)	0.047
FAI	<1.86=0; ≥1.86=1	2.868	1.398	4.207	17.594(1.136~272.570)	0.040

睾酮无生物活性,因此,单纯检测总睾酮不能准确反映雄激素的实际生物效应。FAI可校正SHBG对睾酮可利用性的不利影响,可以作为更敏感的雄激素活性反映指标^[14]。陈宏梅等^[15]研究发现,多囊卵巢综合征不孕患者中FAI升高,与其妊娠结局密切相关。本研究中,ICPP组FAI高于PT组,提示FAI在ICPP患儿中呈高表达。在ICPP患儿中,高FAI值表明患儿体内游离且具有活性的睾酮水平较高,其升高与HPG轴过早激活有关,可导致过量的雄激素生成和释放,加速性征发育,促使性早熟现象的发生。同时,FAI的升高与体内SHBG水平的降低有关,可进一步增强游离睾酮的生物效应,从而影响疾病的发生。

多因素分析显示,骨龄 ≥ 8 岁、身高 ≥ 126 cm、经常使用成人洗护用品、基础LH ≥ 0.53 mIU/mL、基础TLR4 ≥ 26.21 ng/mL、FAI ≥ 1.86 是ICPP发生的危险因素,提示ICPP的复杂病理机制并非由单一因素驱动,LH、FSH和E₂是HPG轴激活的关键激素,与TLR4和FAI共同作用,促进ICPP的发生。进一步研究结果显示,血清TLR4、FAI水平单一及两者联合诊断ICPP的AUC分别为0.801、0.832、0.914,表明联合检测血清TLR4、FAI显著提高了诊断效能。

综上所述,与PT相比,ICPP儿童中的血清TLR4、FAI表达水平更高,血清TLR4、FAI水平均可作为诊断ICPP发生的重要指标,且两指标联合诊断的效能更佳。

参考文献

- [1] Gonc EN, Kandemir N. Body composition in sexual precocity [J]. *Curr Opin End Diab Obes*, 2022,29(1):78-83.
- [2] 王显敏,陈云鸿,曾钰,等. 醋酸亮丙瑞林对特发性中枢性性早熟女童血清IGF-1、IGFBP-3水平的影响[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023,15(9):1613-1617.
- [3] 崔海静,王霞,张蕾,等. 单纯性乳房早发育女童的临床特征及进展为中枢性性早熟的影响因素分析[J]. *保健医学研究与实践*, 2024,21(4):15-19.
- [4] 李建英,李瑞凤,蒙骄阳. 血清SHBG、25(OH)D₃、P1NP在特发性中枢性性早熟女童中的表达水平及相关性分析[J]. *热带医学杂志*, 2024,24(9):1279-1282+1302.
- [5] 蒲发晓,任婷远,张宇. MRSA感染SP患者T细胞亚群及TLR4、TLR2、TP、ALB诊断价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2024,16(7):1246-1250.
- [6] 朱彤,曾广红,周杰,等. 丹酚酸B通过抑制Toll样受体4/核因子 κ B信号通路对小鼠BV2细胞炎症模型保护作用的研究[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2024,18(1):55-61.
- [7] 吴洁,朱丽萍,吴久玲,等. 女性性早熟的诊治共识[J]. *中国妇幼健康研究*, 2018,29(2):135-138.
- [8] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,中华儿科杂志编辑委员会. 中枢性性早熟诊断与治疗专家共识(2022)[J]. *中华儿科杂志*, 2023,61(1):16-22.
- [9] Xie LL, Yang Y, Xiong XY, et al. A Clinical Study of Girls With Idiopathic Central Precocious Puberty and Psychological Behavior Problems [J]. *Clin Pediatr (Phila)*, 2023,62(8):914-918.
- [10] Maqdasly S, Barres B, Salaun G, et al. Idiopathic central precocious puberty in a Klinefelter patient: highlights on gonadotropin levels and pathophysiology [J]. *Basic Clin Androl*, 2020,30(1):19.
- [11] Fillatreau S, Manfroi B, Dörner T. Toll-like receptor signaling in B cells during systemic lupus erythematosus [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021,17(2):98-108.
- [12] 余佳容,王西樵. 增生性瘢痕中的金黄色葡萄球菌“超载”通过TLR-2/AP-1/TGF- β 1途径介导瘢痕成纤维细胞胶原产生的机制研究[J]. *感染、炎症、修复*, 2024,25(4):255-261.
- [13] Lei Y, Xu T, Sun W, et al. Evodiamine alleviates DEHP-induced hepatocyte pyroptosis, necroptosis and immunosuppression in grass carp through ROS-regulated TLR4/MyD88/NF- κ B pathway [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2023,140(1):108995.
- [14] Jasuja R, Pencina KM, Spencer DJ, et al. Reference intervals for free testosterone in adult men measured using a standardized equilibrium dialysis procedure [J]. *Andrology*, 2023,11(1):125-133.
- [15] 陈宏梅,陈圆圆,文壹,等. 游离睾酮指数联合血清GnSAF、SHBG对多囊卵巢综合征不孕患者IVF-ET治疗妊娠结局的预测价值[J]. *现代生物医学进展*, 2023,23(10):1983-1987.
- [10] Yang Q, Zhang F, Chen H, et al. The differentiation courses of the Tfh cells: a new perspective on autoimmune disease pathogenesis and treatment [J]. *Biosci Rep*, 2024,44(1):BSR20231723.
- [11] Sun L, Su Y, Jiao A, et al. T cells in health and disease [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023,8(1):235.
- [12] 李思彤,王傲,白彦萍,等. 银屑病中滤泡性辅助性T细胞及IL-21对HaCaT细胞增殖及细胞周期的影响[J]. *实用医学杂志*, 2023,39(18):2342-2348.
- [13] Le Saos-Patrinis C, Loizon S, Zouine A, et al. Elevated levels of circulatory follicular T helper cells in chronic lymphocytic leukemia contribute to B cell expansion [J]. *J Leukoc Biol*, 2023,113(3):305-314.
- [14] 卫欣迪,钮晓音. 滤泡辅助性T细胞在自身免疫病中作用的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2022,42(2):218-224.
- [15] Biewenga M, Heidt S, Vergunst M, et al. B-cell activating factor and IL-21 levels predict treatment response in autoimmune hepatitis [J]. *JHEP Rep*, 2022,4(5):100460.
- [16] Han D, Li F, Zhao Y, et al. IL-21 promoting angiogenesis contributes to the development of psoriasis [J]. *FASEB J*, 2024,38(1):e23375.

(上接第708页)

老年胆囊结石患者血清 Cys-C、CA125 水平与胆道炎症的关系

司伟* 胡育松 孙张生 江斌 李亚弟

[摘要] **目的** 探讨老年胆囊结石患者血清胱抑素 C(Cys-C)、糖类抗原 125(CA125)水平与胆道炎症的关系。**方法** 将2022年8月至2024年6月于无为市中医医院就诊的156例老年胆囊结石患者作为研究对象(疾病组),根据其胆道炎症程度设轻度组($n=55$)、中度组($n=71$)和重度组($n=30$),另选择同期来院健康体检者50名设对照组。比较疾病组与对照组、疾病组不同胆道炎症程度患者血清 Cys-C、CA125 水平,分析老年胆囊结石患者血清 Cys-C、CA125 与胆道炎症的相关性,绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价血清 Cys-C、CA125 对老年胆囊结石的诊断效能。**结果** 疾病组患者血清 Cys-C、CA125 水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 Cys-C、CA125 水平:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,老年胆囊结石患者血清 Cys-C、CA125 与胆道炎症程度均呈正相关($P<0.05$)。血清 Cys-C、CA125 以及两者联合诊断老年胆囊结石的 AUC(95%CI)分别为 0.729(0.679~0.779)、0.813(0.768~0.863)、0.902(0.857~0.952)。**结论** 老年胆囊结石患者血清 Cys-C、CA125 水平显著升高,两指标与胆道炎症的严重程度密切相关,有望作为胆囊结石炎症程度的指标。

[关键词] 老年;胆囊结石;胆道炎症;血清胱抑素 C;糖类抗原 125

Relationship between serum levels of Cys-C, CA125 and biliary tract inflammation in elderly patients with gallstones

SI Wei*, HU Yusong, SUN Zhangsheng, JIANG Bin, LI Yadi

(Department of General Surgery, Wuwei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuwei, Anhui, China, 238300)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between serum cystatin C (Cys-C) and carbohydrate antigen 125 (CA125) levels and biliary tract inflammation in elderly patients with gallstones. **Methods** 156 elderly patients with cholecystolithiasis who were admitted to our hospital from August 2022 to June 2024 were selected as study subjects. Based on the degree of biliary tract inflammation, three groups were established: mild ($n=55$), moderate ($n=71$) and severe ($n=30$). Additionally, 50 healthy patients who visited our hospital during the same period were chosen as the control group. Serum levels of Cys-C and CA125 were measured and compared among all participants upon admission. The correlation between serum Cys-C and CA125 levels and biliary tract inflammation in elderly patients with gallstones was analyzed. The diagnostic accuracy of serum Cys-C and CA125 in elderly patients with gallstones was evaluated using ROC analysis. **Results** Serum levels of Cys-C and CA125 in the disease group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). The serum levels of Cys-C and CA125 in the severe group were higher than those in the mild and moderate groups, and the moderate group was higher than the mild group (Severe group >Moderate group >Mild group), the difference is statistically significant ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that serum Cys-C and CA125 were positively correlated with the degree of biliary tract inflammation in elderly patients with gallstones ($P<0.05$). The AUC (95%CI) of serum Cys-C, CA125 and their combination in the

基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(KJ20210369)

作者单位:无为市中医医院普外科,安徽,无为 238300

*通信作者:司伟, E-mail:13645530019@163.com

diagnosis of elderly gallstones were 0.729 (0.679~0.779), 0.813 (0.768~0.863) and 0.902 (0.857~0.952), respectively. **Conclusion** Serum levels of Cys-C and CA125 are significantly elevated in elderly patients with gallstones. These levels are closely related to the severity of biliary tract inflammation, and are expected to be indicators of the degree of gallstone inflammation.

[KEY WORDS] Old age; Gallstones; Biliary tract inflammation; Cys-C; CA125

胆囊结石是一种在老年人群中常见的胆道系统疾病,其发病率随着年龄的增加而显著上升。胆囊结石不仅会引发胃肠道症状,还可能伴随胆道炎症,导致严重的并发症^[1]。胆道炎症是由于胆管阻塞、胆汁淤积等原因引起的炎性反应,严重者可导致胆囊炎、胆管炎等疾病,危及患者生命安全^[2]。胆道炎症的程度与胆囊结石患者的预后密切相关,因此,寻找能够有效反映胆道炎症的生物标志物对早期诊断和干预具有重要意义。血清胱抑素C(cystatin c, Cys-C)是一种内源性蛋白酶抑制剂,主要由人体内核细胞分泌,其水平与肾功能密切相关^[3]。近年来,Cys-C逐渐被应用于心血管疾病、肿瘤和炎症相关疾病的研究中,成为炎症评估的潜在指标^[4]。既往研究表明,Cys-C不仅能反映肾脏功能变化,还可能与机体的全身炎症状态有关^[5]。糖类抗原125(carbohydrate antigen 125, CA125)是一种糖蛋白,最初作为卵巢癌的肿瘤标志物而被广泛应用^[6]。随着研究的深入,CA125的应用范围已超越肿瘤学,逐步扩展至包括炎症性疾病在内的多个领域。近年来,CA125被认为在多种慢性炎症状态下呈现升高趋势,提示其在反映胆道炎症程度方面可能具有潜在的应用价值^[7]。本研究主要探讨老年胆囊结石患者血清Cys-C、CA125水平与胆道炎症的关系,报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2022年8月至2024年6月于无为市中医医院就诊的156例老年胆囊结石患者作为疾病组,

另选择同期到院健康体检者50名设对照组。老年胆囊结石患者纳入标准:①符合《中国慢性胆囊炎、胆囊结石内科诊疗共识意见》^[8]中胆囊结石的诊断标准;②年龄 ≥ 60 岁,为老年患者;③在本院确诊为胆囊结石,并伴有不同程度的胆道炎症;④病例资料完整,临床和实验室检查数据详细。排除标准:①合并严重心、肝、肾等重要器官功能不全的患者;②入院前6个月内接受过胆囊或胆道手术的患者;③合并其他恶性肿瘤或其他慢性炎症性疾病;④研究期间因个人原因无法完成随访或中途退出的患者;⑤不能配合研究所需检查,或临床资料不完整的患者。本研究经医院伦理委员会批准,所有研究对象及家属自愿签署知情同意书。根据老年胆囊结石患者胆道炎症程度^[9]将疾病组分为轻度组55例、中度组71例和重度组30例。对照组、轻度组、中度组以及重度组四组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集所有入试者的临床资料,包括:性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、结石大小、胆囊壁厚度、临床症状(高热、右上腹或上腹痛、黄疸、少尿)以及血清血清Cys-C、CA125水平。

1.2.2 血清Cys-C、CA125水平检测

所有研究对象取入院或到院清晨空腹静脉血3~5 mL,离心半径15 cm,3 000 r/min离心15 min后,使用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测Cys-C水平,试剂盒购于上海优科唯生物科技有限公司,具

表1 四组一般资料比较 [$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

指标		对照组($n=50$)	轻度组($n=55$)	中度组($n=71$)	重度组($n=30$)	χ^2/F 值	P 值
性别	男	30(60.00)	28(50.91)	38(53.52)	18(60.00)	3.092	0.378
	女	20(40.00)	27(49.09)	33(46.48)	12(40.00)		
年龄(岁)		73.71 \pm 5.32	73.84 \pm 5.17	72.97 \pm 5.29	73.56 \pm 5.64	0.294	0.961
结石大小(cm)			2.52 \pm 0.38	2.89 \pm 0.43	3.02 \pm 0.46	1.585	0.453
胆囊壁厚度(mm)		1.37 \pm 0.23	3.57 \pm 0.22	3.60 \pm 0.24	3.84 \pm 0.28	2.442	0.486
高热			18(2.73)	25(35.21)	11(36.67)	0.154	0.926
右上腹或上腹痛			26(47.27)	38(53.52)	16(53.33)	0.547	0.761
黄疸			22(40.00)	30(42.25)	13(43.33)	0.107	0.948
少尿			1(1.82)	1(1.41)	3(10.00)	5.544	0.063

体操作严格按照试剂盒说明进行。采用电化学发光免疫分析法(ECLIA)测定CA12水平。

1.2.3 胆道炎症程度分组

轻度组:患者症状轻微,影像学显示胆囊壁轻度增厚,白细胞和C反应蛋白略有升高^[9]。中度组:患者表现为持续腹痛伴轻度发热,胆囊壁中度增厚,实验室检查中白细胞和C反应蛋白显著升高,肝功能轻微异常。重度组:患者有剧烈腹痛、高热、寒战等中毒症状,影像学提示胆囊壁显著增厚并有积液,实验室检查白细胞和肝功能显著异常,感染风险高。

1.3 统计学分析

使用统计学软件SPSS 25.0分析数据,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较使用独立样本 t 检验,多组间行方差分析检验,多重比较采用SNK- q 检验,计数资料用 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用Spearman法分析老年胆囊结石患者血清Cys-C、CA125水平与胆道炎症的相关性;采用受试者工作特性(ROC)曲线评价血清Cys-C、CA125对老年胆囊结石的诊断效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疾病组与对照组血清Cys-C、CA125水平比较

疾病组血清Cys-C、CA125水平均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 疾病组与对照组血清Cys-C、CA125水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清Cys-C(mg/L)	血清CA125(U/mL)
对照组	50	0.84±0.12	19.25±2.89
疾病组	156	1.79±0.25	76.48±11.23
t 值		25.899	35.605
P 值		<0.001	<0.001

2.2 疾病组不同胆道炎症程度患者血清Cys-C、CA125水平比较

血清Cys-C、CA125水平:重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 疾病组不同胆道炎症程度患者血清Cys-C、CA125水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清Cys-C(mg/L)	血清CA125(U/mL)
轻度组	55	1.57±0.18	60.32±1.86
中度组	71	1.73±0.20 ^a	75.93±2.91 ^a
重度组	30	2.33±0.28 ^{ab}	107.41±4.18 ^{ab}
F 值		8.420	25.934
P 值		0.015	<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 老年胆囊结石患者血清Cys-C、CA125与胆道炎症程度的关系

Spearman相关性分析显示,老年胆囊结石患者血清Cys-C($r=0.608$)、CA125($r=0.697$)与胆道炎症程度均呈正相关($P < 0.05$)。

2.4 血清Cys-C、CA125及两者联合对老年胆囊结石的诊断效能

血清Cys-C、CA125以及两者联合诊断老年胆囊结石的AUC(95%CI)分别为0.729(0.679~0.779)、0.813(0.768~0.863)、0.902(0.857~0.952)。见表4、图1。

表4 血清Cys-C、CA125及两者联合对老年胆囊结石的诊断效能

检测指标	AUC	95% CI	截点值	特异度	灵敏度
Cys-C	0.729	0.679~0.779	1.25 mg/L	0.686	0.897
CA125	0.813	0.768~0.863	43.70 U/mL	0.659	0.901
Cys-C+CA125	0.902	0.857~0.952		0.857	0.826

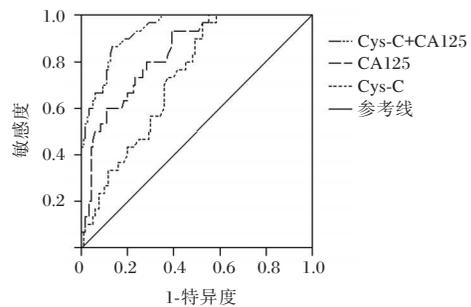


图1 血清Cys-C、CA125及两者联合对老年胆囊结石的诊断ROC曲线

3 讨论

老年胆囊结石是一种常见的消化系统疾病,其发病与年龄增长及胆汁代谢紊乱密切相关。胆囊结石患者常伴有不同程度的胆道炎症,尤其在老年患者中,由于其免疫功能下降和组织修复能力减弱,炎症反应更为显著^[10]。胆道炎症不仅影响患者的生活质量,还可能导致急性胆囊炎、胆管炎甚至胆囊穿孔等严重并发症。因此,准确判断老年胆囊结石患者的胆道炎症程度,以便及时干预、改善预后具有重要的临床意义。

Cys-C是一种广泛存在于血清中的内源性蛋白酶抑制剂,其水平不仅可反映肾功能状态,还与机体的全身炎症反应相关。CA125在肝硬化、胰腺炎、胆道疾病等多种疾病中呈现不同程度的升高,说明其在炎症反应中扮演了重要角色^[11-12]。本研究结果显示,老年胆囊结石患者血清Cys-C和

CA125水平明显高于对照组,且重度组的Cys-C、CA125水平均高于中度和轻度组。分析其原因,Cys-C的升高可能与胆道阻塞导致的炎症反应有关。胆囊结石容易引发胆管阻塞,胆汁淤积会刺激胆道上皮细胞,引发局部炎症反应^[13]。随着炎症的发生发展,会大量释放IL-6、TNF- α 等促炎因子,导致局部组织的破坏与修复失衡^[14]。Cys-C是一种由核细胞分泌的蛋白酶抑制剂,主要用于抑制炎症反应中的蛋白水解酶。炎症过程中,体内炎性细胞的活跃和损伤组织的修复需求增加,导致Cys-C的生成增多,血清中的水平随之升高^[15]。特别是重度胆道炎症时,炎症反应更为剧烈,Cys-C的分泌进一步增加,反映了机体试图通过调节炎症反应来保护受损组织的机制。另一方面,CA125的升高可能与胆囊和胆道上皮细胞的刺激和分泌增强有关。当患者胆道系统遭受结石的机械性损伤或炎症因子攻击时,胆囊和胆道上皮细胞受到刺激,导致CA125的分泌增加^[16]。此外,胆道炎症往往伴随纤维化和组织重塑,这可能进一步导致CA125的过度表达与释放^[17]。研究显示,胆囊结石导致的慢性炎症不仅涉及局部胆道系统,还可能引起全身性炎症反应,这也是CA125在疾病组患者中显著升高的原因之一^[18]。

Spearman相关性分析结果显示,老年胆囊结石患者血清Cys-C、CA125与胆道炎症程度均呈正相关。说明这两项指标与胆道炎症的严重程度有直接联系,Cys-C与CA125水平越高,患者的炎症反应越严重。进一步ROC曲线分析显示,血清Cys-C、CA125以及两者联合诊断老年胆囊结石的AUC分别为0.729、0.813、0.902,AUC值越接近1,诊断的准确性越高。两者联合使用时,AUC达到0.902,说明其诊断准确性显著提高,具有很好的临床应用潜力。

综上所述,老年胆囊结石患者血清Cys-C和CA125水平显著升高,两指标与胆道炎症的严重程度密切相关,有望作为胆囊结石炎症程度的指标。

参考文献

- [1] 潘浩宇,刘志春,张春花,等. 肠道微生物诱导胆囊结石形成机制的研究进展[J]. 西部中医药, 2024,37(12):120-124.
- [2] Ceci L, Han Y, Krutsinger K, et al. Gallstone and Gallbladder Disease: Biliary Tract and Cholangiopathies [J]. *Compr Physiol*, 2023, 13(3):4909-4943.
- [3] 都静,张晓明. 血清脂蛋白(α)及胱抑素C与早期糖尿病肾病中医证型的相关性分析[J]. 西部中医药, 2019, 32(6):1-3.
- [4] 梁善福,孙运,陈丰毅,等. 冠心病患者血清Cys-C、ICTP、MMP2、sCD40L水平变化与冠脉病变程度的关系[J]. 中国现代医药杂志, 2020, 22(2):40-43.
- [5] Padia G, Mahajan B, Kumar A, et al. Cystatin C and interleukin-6 for prognosticating patients with acute decompensation of cirrhosis[J]. *JGH Open*, 2021, 5(4):459-464.
- [6] 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.
- [7] Ge T, Song S, Li S, et al. Serum levels of carbohydrate antigen 125 in patients with heart failure and obstructive sleep apnea syndrome: a retrospective analysis [J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2023, 13(6):994-1002.
- [8] 何相宜,施健. 中国慢性胆囊炎、胆囊结石内科诊疗共识意见(2018年)[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(6):1231-1236.
- [9] 胡小丽,刘哲,邓茂林,马欢. 血清CA19-9、CA50和CEA表达水平与老年胆结石患者胆道炎症的关系[J]. 老年医学与保健, 2020, 26(5):843-846.
- [10] 朱彤,曾广红,周杰,蔡志标. 丹酚酸B通过抑制Toll样受体4/核因子 κ B信号通路对小鼠BV2细胞炎症模型保护作用的研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(1):55-61.
- [11] 张改玲,张珂,邢燕,等. 肝硬化患者血清CA125、CA199水平与Child-Pugh分级的相关性[J]. 实验与检验医学, 2021, 39(3):669-672.
- [12] 肖英琪,李波,王雨晴,等. BCAT1作为胰腺导管腺癌潜在诊断标志物的临床应用价值研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(5):904-908.
- [13] Ma Z, Zhou J, Yao L, et al. Safety and efficacy of laparoscopic common bile duct exploration for the patients with difficult biliary stones: 8 years of experiences at a single institution and literature review [J]. *Surg Endosc*, 2022, 36(1):718-727.
- [14] Ommati MM, Sabouri S, Niknahad H, et al. Pulmonary inflammation, oxidative stress, and fibrosis in a mouse model of cholestasis: the potential protective properties of the dipeptide carnosine [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2023, 396(6):1129-1142.
- [15] 王波,苏勇,刘述平,等. 血清超敏C反应蛋白、胱抑素C与脓毒性休克患者心功能、肾功能损伤的关系[J]. 保健医学研究与实践, 2024, 21(3):38-42.
- [16] Wu X, Yao C, Kong J, et al. Molecular mechanism underlying miR-130b-Sp1 transcriptional regulation in LPS-induced upregulation of MUC5AC in the bile duct epithelium [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(2):106.
- [17] 刘志杰,郑启鹏,徐晓丹,等. CD163在胆道闭锁肝纤维化中的表达及临床意义[J]. 天津医药, 2023, 51(4):400-403.
- [18] 张发平,周进明,姚莎莎,等. 大柴胡汤加减辅助腹腔镜胆囊切除术对老年胆囊结石并慢性胆囊炎患者免疫功能及炎症因子的影响[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2024, 8(4):92-94.

TEAD4、BTG2 在头颈部鳞癌中的表达及与临床病理特征、预后的关系

王慧敏 李靖 崔璨 袁东杰 王银鑫 卢振民*

[摘要] **目的** 探讨转录增强关联域转录因子 4 (TEAD4)、B 细胞异位基因 2 (BTG2) 在头颈部鳞癌 (HNSCC) 中的表达及与临床病理特征、预后的关系。**方法** 选取 2017 年 2 月至 2021 年 2 月新乡医学院第一附属医院收治的 186 例 HNSCC 患者作为研究对象, 收集手术过程中的癌组织标本与癌旁组织标本, 分别纳入 HNSCC 组 ($n=186$) 与癌旁组 ($n=186$)。检测两组 TEAD4、BTG2 表达水平; 分析 HNSCC 患者 TEAD4、BTG2 与临床病理特征的关系, 采用多因素 Cox 回归分析探讨 HNSCC 患者预后的影响因素。**结果** HNSCC 组 TEAD4、BTG2 阳性率高于癌旁组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。低/中分化、HPV 感染、TNM 分期 III~IV、淋巴结转移患者的 TEAD4 阳性率高于高分化、HPV 未感染、TNM 分期为 I~II、淋巴结未转移患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 低/中分化、HPV 感染、TNM 分期为 III~IV、淋巴结转移患者的 BTG2 阳性率高于高分化、HPV 未感染、TNM 分期为 I~II、淋巴结未转移患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。低/中分化程度、HPV 感染、TNM 分期为 III~IV、淋巴结转移、TEAD4 阳性、BTG2 阳性患者 3 年生存率低于高分化、HPV 未感染、TNM 分期为 I~II、淋巴结未转移、TEAD4 阴性、BTG2 阴性患者, 差异有统计学意义 (均 $P<0.05$)。多因素 Cox 回归分析显示, HPV 感染、淋巴结转移、TEAD4 阳性、BTG2 阳性是 HNSCC 患者预后的影响因素 ($P<0.05$)。**结论** TEAD4、BTG2 在头颈部鳞癌中呈阳性表达, 与分化程度、HPV 感染、TNM 分期、淋巴结转移等临床指标有关, 有望作为临床评估 HNSCC 患者不良预后的敏感生物标志物。

[关键词] 转录增强关联域转录因子 4; B 细胞异位基因 2; 头颈部鳞癌; 临床病理特征

The expression of TEAD4 and BTG2 in head and neck squamous cell carcinoma and their correlation with clinicopathological features and prognosis

WANG Huimin, LI Jing, CUI Can, YUAN Dongjie, WANG Yinxin, LU Zhenmin*

(Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan, China, 453100)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the expression of transcription enhanced association domain 4 (TEAD4), B cells of ectopic gene 2 (BTG2) in HNSCC and their correlation with clinicopathological characteristics and prognosis. **Methods** A total of 186 patients with HNSCC were admitted to our hospital from February 2017 to February 2021 were included as research subjects. Cancer tissue specimens and paracancer tissue specimens during surgery were collected, and the HNSCC group ($n=186$) and the paracancer group ($n=186$) were included, respectively. The levels of TEAD4 and BTG2 were measured using immunohistochemistry. The correlation between TEAD4, BTG2, and the clinicopathological characteristics of HNSCC patients was analyzed using the χ^2 test, and the prognostic factors for HNSCC patients were investigated using Cox regression analysis. **Results** The positive rates of TEAD4 and BTG2 in the HNSCC group were higher than those in the para-cancer group ($P<0.05$). The positive rates of TEAD4 in cases with low/moderate differentiation, HPV infection, TNM stages III to IV, and lymph node metastasis were higher than those of highly differentiated patients with no HPV infection, TNM stages I to II and no lymph node metastasis ($P<0.05$). The positive rate of BTG2 in cases with low/moderate differentiation, HPV infection, TNM stages III to IV and lymph node metas-

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20200508)

作者单位:新乡医学院第一附属医院耳鼻咽喉科,河南,新乡 453100

*通信作者:卢振民, E-mail: Lzhmin@126.com

tasis were higher than those with highly differentiated, non-HPV infection, TNM stages I to II, and no lymph node metastasis ($P<0.05$). Low/moderate differentiation, HPV infection, TNM stages III to IV, lymph node metastasis, TEAD4 positive, BTG2-positive patients had lower 3-year survival rate than patients with high differentiation, no HPV infection, TNM stages I to II, no lymph node metastasis, TEAD4 negative, and BTG2-negative patients (all $P<0.05$). HPV infection, lymph node metastasis, TEAD4 positive and BTG2 positive were the prognostic factors of HNSCC cases ($P<0.05$). **Conclusion** The positive expression of TEAD4 and BTG2 in HNSCC is related to the degree of differentiation, HPV infection, TNM stage, lymph node metastasis, and other clinical indicators. This suggests that they have the potential to serve as biomarkers for poor prognosis in HNSCC patients.

[KEY WORDS] TEAD4; BTG2; HNSCC; Clinicopathological characteristics

头颈部鳞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC, HNSCC)是发源于咽、喉、口腔等鳞状上皮细胞的一种恶性肿瘤,是全球范围内常见的恶性肿瘤,发病率位居头颈部癌症第1位,具有侵袭性高、难以治疗的疾病特点^[1]。目前,有关HNSCC的发病机制尚无定论,可能与人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染、不良生活方式、EB病毒(Epstein barr Virus, EBV)感染、免疫力下降等有关。由于HNSCC患者无早期特异性症状且活检不便,导致多数HNSCC患者确诊时病情已发展至中晚期^[2]。既往研究表明,临床治疗HNSCC的方法包括手术、单纯化疗或同步放化疗,但治疗后出现复发和远处转移的患者较多,3年生存率低于40%^[3]。故寻找能改善HNSCC患者远期生存率的敏感指标是临床需解决的问题。转录增强关联域转录因子4(transcription enhanced association domain 4, TEAD4)属于转录增强关联域转录因子家族,可在免疫、耐药、代谢以及肿瘤转移等方面起到影响作用,既往研究表明TEAD4在多种恶性肿瘤中呈异常表达^[4]。B细胞异位基因2(B cell translocation gene 2, BTG2)属于BTG/TOB蛋白家族中的一员,具有调节肿瘤细胞转移、凋亡以及分化的生物功能,可作为不同恶性肿瘤患者预后的临床标志物^[5]。但二者对头颈部鳞癌患者是否存在预后意义尚未见研究探讨,因此本研究拟探讨TEAD4、BTG2在头颈部鳞癌中的表达及与临床病理特征、预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年2月至2021年2月新乡医学院第一附属医院收治的186例HNSCC患者作为研究对象,收集手术过程中的癌组织标本与病灶边缘 ≥ 3 cm处癌旁组织,分别纳入HNSCC组($n=186$)

与癌旁组($n=186$)。本院医学伦理委员会已审核批准本研究。

纳入标准:①经病理诊断确诊为HNSCC,初次确诊^[6];②纳入研究前2年无手术史;③机体重要器官(心脏、肾脏、肝脏等)无异常;④消化道、代谢无异常者;⑤纳入研究前2年无化疗史;⑥患者及家属知情同意;⑦资料齐全。排除标准:①合并其他部位第二原发癌症者;②合并严重心脑血管疾病者;③合并严重传染性疾病者;④沟通障碍者;⑤中途退出研究者。

1.2 方法

1.2.1 TEAD4、BTG2表达水平检测

收集186例HNSCC患者手术过程中的癌组织标本与癌旁组织标本,切割为4 μm 的病理切片。常规石蜡包埋,脱水、包埋。加入枸橼酸盐缓冲液修复抗原,不同梯度乙醇脱水后进入过氧化氢避光孵育10 min,清水清洗后加入TEAD4、BTG2一抗(名称:兔抗人TEAD4抗体、兔抗人BTG2抗体,生产厂家:北京博沃尔斯生物科技有限公司),4 $^{\circ}\text{C}$ 保存过夜,清洗,加入IgG二抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min后加入DAB显色,复染,脱水,树脂封片。

1.2.2 结果判定^[7]

光学显微镜下选取500倍视野10个,由本院两名病理科医师采用双盲法对阳性细胞比例、阳性染色强度进行评估。阳性细胞比例 $\leq 5\%$ 、6%~25%、26%~50%、51%~75%、 $>75\%$ 分别记0、1、2、3、4分;阳性染色强度:无色记0分,黄色记1分,棕黄色记2分,褐黄色记3分。阳性细胞比例 \times 阳性染色强度 >6 分为阳性, ≤ 6 分为阴性。

1.2.3 随访^[8]

对本研究186例HNSCC患者进行随访,随访方式包括电话、门诊、微信等,记录HNSCC患者3年生存状态。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据,计数资料采用 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验,采用多因素 Cox 分析探讨头颈部鳞癌患者预后的影响因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 TEAD4、BTG2 表达水平比较

HNSCC 组 TEAD4、BTG2 阳性率均高于癌旁组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 TEAD4、BTG2 表达水平比较 [$n(\%)$]

组别	n	TEAD4		BTG2	
		阴性	阳性	阴性	阳性
HNSCC 组	186	63(33.87)	123(66.13)	60(32.26)	126(67.74)
癌旁组	186	133(71.51)	58(28.49)	131(70.43)	55(29.57)
χ^2 值		52.841		54.243	
P 值		0.000		0.000	

2.2 HNSCC 患者 TEAD4、BTG2 表达水平与临床病理特征的关系

分化程度为低/中、HPV 感染、TNM 分期为 III~IV 期、淋巴结转移患者的 TEAD4 阳性表达率高于分化程度为高、HPV 未感染、TNM 分为 I~II 期、淋巴结未转移患者 ($P < 0.05$); 分化程度为低/中、HPV 感染、TNM 分期为 III~IV 期、淋巴结转移患者的 BTG2 阳性表达率高于分化程度为高、HPV 未感染、TNM 分为 I~II 期、淋巴结未转移患者 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 HNSCC 患者预后生存情况以及单因素分析

186 例 HNSCC 患者出院后随访 3 年,生存 75

例,生存率为 41.94%。分化程度为低/中、HPV 感染、TNM 分期为 III~IV 期、淋巴结转移、TEAD4 阳性、BTG2 阳性患者的 3 年生存率低于分化程度为高、HPV 未感染、TNM 分为 I~II 期、淋巴结未转移、TEAD4 阴性、BTG2 阴性患者 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 HNSCC 患者预后生存情况以及单因素分析 [$n(\%)$]

因素	n	3 年生存率	χ^2 值	P 值	
年龄	>60 岁	98	42(42.86)	0.553	0.457
	≤60 岁	88	33(37.50)		
性别	男	95	39(41.05)	0.043	0.836
	女	91	36(39.56)		
分化程度	低/中	128	27(21.09)	63.073	<0.001
	高	58	48(82.76)		
	是	130	25(19.23)		
吸烟	否	56	50(89.29)	0.753	0.385
	是	92	40(43.48)		
饮酒	否	94	35(37.23)	0.043	0.836
	是	95	39(41.05)		
TNM 分期	III~IV 期	125	30(24.00)	42.200	<0.001
	I~II 期	61	45(73.77)		
	是	131	25(19.08)		
淋巴结转移	否	55	50(90.91)	83.045	<0.001
	是	123	17(13.82)		
TEAD4 表达	阳性	123	17(13.82)	105.988	<0.001
	阴性	63	58(92.03)		
BTG2 表达	阳性	126	23(18.25)	79.054	<0.001
	阴性	60	52(86.67)		

2.4 HNSCC 患者预后的多因素分析

将 HNSCC 患者预后作为因变量,将单因素分析有意义指标作为自变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示 HPV 感染、淋巴结转移、TEAD4 阳性、BTG2 阳性是 HNSCC 患者预后的影响因素 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 TEAD4、BTG2 表达水平与 HNSCC 患者临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

组别	n	TEAD4		χ^2 值	P 值	BTG2		χ^2 值	P 值	
		阴性	阳性			阴性	阳性			
年龄	>60 岁	98	38(38.76)	60(61.24)	2.225	0.136	36(36.73)	62(63.27)	1.900	0.168
	≤60 岁	88	25(28.41)	63(71.59)			24(27.27)	64(72.73)		
性别	男	95	32(33.68)	63(66.32)	0.003	0.956	34(35.79)	61(64.21)	1.108	0.292
	女	91	31(34.07)	60(65.93)			26(28.57)	65(71.43)		
分化程度	低/中	128	32(24.00)	96(76.00)	14.422	<0.001	30(23.44)	98(76.56)	14.615	<0.001
	高	58	31(30.59)	27(69.41)			30(51.72)	28(48.28)		
HPV 感染	是	130	30(19.44)	100(80.56)	22.460	<0.001	29(22.30)	101(77.70)	19.564	<0.001
	否	56	33(44.23)	23(55.77)			31(55.36)	25(44.61)		
吸烟	是	92	35(18.02)	57(81.98)	1.415	0.234	32(34.78)	60(65.21)	0.531	0.466
	否	94	28(48.98)	66(51.02)			28(29.79)	66(70.21)		
饮酒	是	95	34(35.79)	61(64.21)	0.319	0.572	35(36.84)	60(63.16)	1.867	0.172
	否	91	29(31.87)	62(68.13)			25(27.47)	66(72.53)		
TNM 分期	III~IV 期	125	33(21.05)	92(78.95)	9.498	0.002	34(27.20)	91(72.80)	4.462	0.035
	I~II 期	61	30(36.92)	31(63.08)			26(42.62)	35(57.38)		
淋巴结转移	是	131	28(20.00)	103(80.00)	30.889	<0.001	24(18.32)	107(81.68)	39.382	<0.001
	否	55	35(40.00)	20(60.00)			36(65.45)	19(34.55)		

表4 HNSCC 患者预后的多因素分析

因素	赋值	β 值	S.E值	Wald χ^2	OR(95% CI)	P值
HPV感染	未感染=0;感染=1	1.895	0.542	12.216	6.650(2.298~19.241)	<0.001
淋巴结转移	未转移=0;转移=1	1.464	0.611	5.735	4.324(1.305~14.330)	0.017
TEAD4	阴性=0;阳性=1	4.067	0.704	33.342	58.374(14.679~232.133)	<0.001
BTG2	阴性=0;阳性=1	-1.586	0.579	7.507	0.205(0.066~0.637)	0.006

3 讨论

相关报道显示,虽然HNSCC死亡率已得到改善,但HNSCC仍是主要的全球公共卫生问题^[9]。HNSCC的发病机制复杂,可能与多基因、多途径参与的互相调控、影响的过程有关,与内部基因与外部环境有关^[10]。早期HNSCC的治疗以手术治疗、放射治疗、抗癌药物治疗为主,由于多数HNSCC患者首次确诊时疾病已发展至Ⅲ~Ⅳ期,导致其远期生存率较低且复发率高^[11]。HNSCC属于异源性疾病,病因、疾病进展、解剖位置的不同可导致差异较大的预后结果。

BTG2属于BTG家族,定位于1q32染色体,BTG基因家族是一个在上世纪90年代被发现的促癌基因家族,在人体多个组织中可发现BTG2存在^[12]。本研究结果提示BTG2可作为HNSCC患者不良预后的敏感指标。BTG2可介导ErbB受体,调控PI3K/Akt信号通路,从而影响癌细胞的转移、增殖与迁徙^[13]。进一步研究显示,分化程度低/中、HPV感染、BTG2阳性患者的3年生存率低于BTG2阴性患者;多因素Cox回归分析显示,BTG2阳性是HNSCC患者预后的影响因素,说明BTG2可能可作为评估HNSCC患者不良预后的敏感指标。

TEAD4属于TEAD家族,既往研究表明,TEAD家族转录因子不仅在多项生物学过程中起到重要作用,还可参与癌症细胞的发生与增殖,已在多种实体恶性肿瘤中发现TEAD的存在,如乳腺癌、胃癌、胆管癌等^[14]。本研究发现,HNSCC组织中TEAD4阳性率高于癌旁组,分化程度为低/中、HPV感染、TNM分期为Ⅲ~Ⅳ、淋巴结转移患者的TEAD4阳性率高于分化程度为高、HPV未感染、TNM分期为Ⅰ~Ⅱ、淋巴结未转移患者,提示TEAD4可作为HNSCC患者不良预后的敏感指标。TEAD4是一种可通过多种不同的致癌途径激活癌基因的转录因子。在结直肠癌中,TEAD4可诱导PI3K与AKT互相作用增强结直肠细胞癌中的癌细胞转移与侵袭^[15]。进一步研究结果显示,TEAD4阳性患者的3年生存率低于TEAD4阴性

患者;多因素Cox回归分析显示,TEAD4阳性是HNSCC患者预后的影响因素,说明TEAD4可能可作为评估HNSCC患者不良预后的敏感临床指标。综上所述,TEAD4、BTG2在头颈部鳞癌中呈阳性表达,与分化程度、HPV感染、TNM分期、淋巴结转移等临床指标有关,可作为临床评估HNSCC患者不良预后的敏感生物标志物。

参考文献

- [1] 星博凡,王宇,刘超,等.磷酸化EZH2在头颈部鳞癌中的表达特征及对化疗敏感性的影响[J].中国肿瘤临床,2023,50(21):1086-1092.
- [2] 杨晶,李玲玉,王敏,等.GTPBP4在头颈部鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J].北京口腔医学,2023,31(1):18-22.
- [3] 梁登桓,刘家琦,李东慧,等.头颈部鳞状细胞癌中USP10的表达及其预后价值[J].口腔医学研究,2024,40(5):417-421.
- [4] 孟媛媛,赵亭亭,吕红娟. TEAD4、SHP-2及Ang-2表达与口腔鳞癌病理参数和预后的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(10):1727-1731.
- [5] Tang X, Li R, Wu D. Development and Validation of an ADME-Related Gene Signature for Survival, Treatment Outcome and Immune Cell Infiltration in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma[J]. Front Immunol, 2022,13:905635.
- [6] 安俊伊,陈必颖,陈循睿,等. SFXN3在头颈部鳞状细胞癌中的表达及其对细胞增殖的影响[J].上海交通大学学报(医学版),2024,44(4):427-434.
- [7] 朱蕾,陈蕾. BCL-2、Bax及Beclin-1表达与非小细胞肺癌临床病理特征的相关性分析[J].保健医学研究与实践,2023,20(4):49-54.
- [8] 武旭,达林泰,苏尼特,等. CXCL趋化因子在头颈部鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J].国际口腔医学杂志,2024,51(3):303-309.
- [9] 李正阳,叶惠平,彭聪. 细胞焦亡在头颈部鳞状细胞癌中的作用及其研究进展[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2024,30(3):56-60.
- [10] 于娟,沈世敏,王有虎. 外泌体调节头颈部鳞状细胞癌上皮间充质转化的研究进展[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2024,30(4):107-112.
- [11] He JY, Huo FY, Tang HC. Myeloid-derived suppressor cells in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2023,375:33-92.
- [12] 吴俊志,李静佳,赵锐,等. B细胞异位基因2在喉癌组织中的表达及临床意义[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2021,28(1):53-55.
- [13] 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.

GPX1、PI3KCB 蛋白表达与结直肠癌组织淋巴结转移及预后的关系

雒红涛 岳中屹 熊万成 冯海龙 许召君 邢林帅 赫鹏*

[摘要] 目的 分析谷胱甘肽过氧化物酶1(GPX1)、磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚单位 β (PI3KCB)蛋白表达与结直肠癌组织淋巴结转移及预后的关系。方法 选取2022年6月至2023年1月新乡医学院第一附属医院收治的87例结直肠癌患者,均接受手术治疗,采集结直肠癌组织。分析GPX1、PI3KCB与结直肠癌患者淋巴结转移的关系;对患者进行为期15个月的随访,随访截止至2024年4月,分析结直肠癌患者预后情况以及影响结直肠癌患者预后的单因素,并采用二元Logistic回归分析影响结直肠癌患者预后的危险因素,比较阳性、阴性GPX1、PI3KCB患者预后生存率。结果 有淋巴转移组GPX1、PI3KCB阳性率高于无淋巴转移组,差异有统计学意义($P<0.05$)。截止随访结束,87例结直肠癌患者中影像学检查24例患者发生远处转移、出现复发灶,63例患者无发生远处转移、未出现复发灶。预后不良组24例,预后良好组63例。预后不良组吸烟、肿瘤直径 >2 cm、TNM分期为Ⅲ期、具有淋巴结转移例数以及GPX1、PI3KCB阳性率均高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。COX回归模型分析显示:TNM分期为Ⅲ期、淋巴结转移以及GPX1、PI3KCB阳性是影响结直肠癌患者预后的危险因素($P<0.05$)。GPX1、PI3KCB阴性组的1年生存率高于阳性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 GPX1、PI3KCB蛋白与结直肠癌患者淋巴结转移以及预后密切相关,可辅助临床判断结直肠癌患者的转归情况。

[关键词] 结直肠癌组织; GPX1; PI3KCB; 临床病理特征

Relationship between GPX1, PI3KCB protein expression and lymph node metastasis and prognosis of colorectal cancer

LUO Hongtao, YUE Zhongyi, XIONG Wancheng, FENG Hailong, XU Zhaojun, XING Linshuai, HE Peng*
(Department of Colorectal and Anal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui, Henan, China, 453100)

[ABSTRACT] **Objective** To assess the relationship between the expression of Glutathione peroxidase 1 (GPX1), Phosphatidylinositol-3-kinase catalytic subunit β (PI3KCB) protein and lymph node metastasis and prognosis of colorectal cancer. **Methods** 87 patients with colorectal cancer were admitted to the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University from June 2022 to M January 2023 were selected. All patients underwent surgical treatment and colorectal cancer tissues were collected. The relationship between GPX1, PI3KCB, and lymph node metastasis in patients with colorectal cancer was analyzed. The patients were followed up for a period of 15 months until April 2024. The prognosis of patients with colorectal cancer and the single factors affecting the prognosis of patients with colorectal cancer were analyzed, and the risk factors affecting the prognosis of patients with colorectal cancer were assessed using binary logistic regression. The survival rate of patients with positive and negative GPX1 and PI3 KCB was compared. **Results** The positive rates of GPX1 and PI3 KCB in the lymph node metastasis group were higher than those in the non-lymph node metastasis group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). By the end of follow-up, among 87 patients with colorectal cancer, 24 patients had distant metastasis and recurrence by imaging examination, and 63 patients had no distant metastasis and no recurrence. There were 24 cases in the poor prognosis group and 63 cases in the good prog-

基金项目:新乡医学院第一附属医院青年培育基金项目(QN-2022-A09)

作者单位:新乡医学院第一附属医院结直肠肛门外科,河南,卫辉 453100

*通信作者:赫鹏, E-mail:hepeng163001@163.com

nosis group. The number of smoking, tumor diameter >2 cm, TNM stage III, lymph node metastasis, and the positive rates of GPX1 and PI3KCB in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). COX regression model analysis showed that TNM stage III, lymph node metastasis and positive GPX1 and PI3KCB were risk factors affecting the prognosis of patients with colorectal cancer ($P<0.05$). The 1-year survival rate of GPX1 and PI3KCB negative group was higher than that of positive group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** GPX1 and PI3KCB proteins are closely related to lymph node metastasis and prognosis in patients with colorectal cancer. They can help clinicians make more accurate judgments about the outcomes of patients with colorectal cancer.

[KEY WORDS] Colorectal cancer tissue; GPX1; PI3KCB; Clinicopathological features

结直肠癌是消化系统的一种常见恶性肿瘤。根据国际癌症研究机构的最新报告,结直肠癌在2020年的发病率位列所有恶性肿瘤的第三位,死亡率位列第二^[1]。当前对结直肠癌的发病机制及其预后因素尚未完全了解,深入探究其发病机制以及寻找能够预测其预后的生物标志物已成为科研领域的重点。磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚单位 β (Phosphatidylinositol-3-kinase catalytic subunit β , PI3KCB)基因突变会直接影响其编码的蛋白产物PI3Kp110 β ,使其表达量显著上升,进而增强磷脂酰肌醇-3-激酶的活性,这不仅会扰乱细胞代谢的正常秩序,还会导致细胞周期的失衡,这些综合效应最终推动细胞向癌变方向转化^[2]。谷胱甘肽过氧化物酶1(Glutathione peroxidase 1, GPX1)是机体中必需的抗氧化酶,其可维持细胞的功能和生命活动的稳定^[3]。目前已有研究揭示了GPX1的异常表达与胃癌和前列腺癌的发生之间有着密切的关联^[4]。基于此,本文旨在分析GPX1、PI3KCB蛋白与结直肠癌组织淋巴结转移及预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2022年6月至2023年1月新乡医学院第一附属医院收治的87例结直肠癌患者,均实施手术,采集结直肠癌组织,其中男54例,女33例,平均年龄(59.39 \pm 9.24)岁, TNM分期: I期18例, II期35例, III期34例。纳入标准: ①符合结直肠癌诊断标准^[5],且经病理学及影像学检查确诊者; ②近期无化疗、放疗及生物靶向治疗; ③临床、随访资料无缺乏; ④均为术后放疗。排除标准: ①凝血功能、免疫功能异常; ②合并其他器官恶性肿瘤者; ③合并认知功能障碍,无法正常交流。本研究经医院伦理委员会批准同意。患者或家属均签署知情同意书。

1.2 方法

GPX1检测^[6]:采用直接免疫荧光法。

PI3KCB检测^[7]:采用免疫组化法。

预后评估:随访15个月,随访截止至2024年4月,期间邀请患者3个月来院复查一次,经影像学检查出现复发灶、转移(远端和近端转移)并经病理学活检确诊^[5]以及死亡者为预后不良组,反之为预后良好组。

1.3 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($\bar{x}\pm s$)的形式表达,运用独立样本 t 检验;计数资料 $n(\%)$ 表示,用 χ^2 检验;采用COX回归模型分析影响结直肠癌患者预后的多因素;采用Kaplan-Meier方法做生存分析,行Log-rank检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GPX1、PI3KCB蛋白与结直肠癌患者临床病理特征的关系

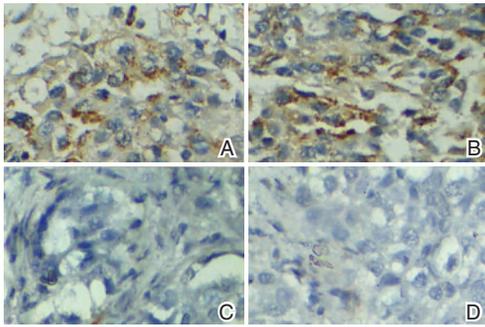
有淋巴转移组GPX1、PI3KCB阳性率高于无淋巴转移组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1、图1。

表1 GPX1、PI3KCB蛋白与结直肠癌患者临床病理特征的关系 [$n(\%)$]

临床病理特征	n	GPX1		PI3KCB	
		阳性 ($n=53$)	阴性 ($n=34$)	阳性 ($n=65$)	阴性 ($n=22$)
有淋巴转移组	23	19(82.61)	4(17.39)	21(91.31)	2(8.69)
无淋巴转移组	64	34(53.13)	30(46.87)	44(68.75)	20(31.25)
χ^2 值		6.178		4.556	
P 值		0.013		0.033	

2.2 影响结直肠癌患者预后的单因素分析

截止随访结束,87例结直肠癌患者中影像学检查24例患者发生远处转移、出现复发灶,63例患者无发生远处转移、未出现复发灶。预后不良组24例,预后良好组63例。



注:A为GPX1免疫荧光法染色阳性×100。B为GPX1免疫荧光法染色阴性×100倍。C为PI3KCB免疫荧光法染色阳性×50倍。D为PI3KCB免疫荧光法染色阴性×50倍。

图1 GPX1、PI3KCB在结直肠组织中的免疫组化图

预后不良组吸烟、肿瘤直径>2 cm、TNM分期为Ⅲ期、具有淋巴结转移例数以及GPX1、PI3KCB阳性率均高于预后良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组年龄、性别、饮酒、糖尿病、高血压、冠心病等既往史、收缩压、舒张压水平、远处转移、分化程度等比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

2.3 影响结直肠癌患者预后的多因素分析

COX回归模型分析发现:TNM分期为Ⅲ期、淋巴结转移以及GPX1、PI3KCB阳性是影响结直肠癌患者预后的危险因素($P<0.05$)。见表3。

2.4 阳性、阴性GPX1、PI3KCB患者预后生存率

GPX1阳性组的1年生存率为50.94%(27/53),阴性组为82.35%(28/34),GPX1阴性组的1年生存率高于阳性组,差异有统计学意义($P<0.05$);PI3KCB阳性组的1年生存率为77.27%(17/22),阴性组为50.77%(33/65),PI3KCB阴性组的1年生存率显著高于阳性组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

3 讨论

结直肠癌是一种常见且高发的肿瘤,其发病率仅次于食管癌、胃癌及肺癌^[8]。结直肠癌的早期症状较为隐匿,许多患者在就诊时已处于晚期。因此,如何早期发现、诊断结直肠癌,为患者提供

表2 分析影响结直肠癌患者预后的单因素分析

因素	[n(%), ($\bar{x}\pm s$)]		χ^2/t 值	P值
	预后不良组 (n=24)	预后良好组 (n=63)		
年龄(岁)	60.29±9.72	59.05±9.11	0.559	0.578
性别			2.354	0.125
男性	18(75.00)	36(57.14)		
女性	6(25.00)	27(42.86)		
吸烟	20(83.33)	28(44.44)	10.627	0.001
饮酒	13(54.17)	27(42.86)	0.895	0.344
高血压	12(50.00)	26(41.27)	0.538	0.463
糖尿病	9(37.50)	18(28.57)	0.647	0.421
冠心病	5(20.83)	10(15.87)	0.300	0.584
肿瘤直径(cm)			5.186	0.023
>2	19(79.17)	33(52.39)		
≤2	5(20.83)	30(47.61)		
TNM分期			14.036	<0.001
I~II期	7(29.17)	46(73.01)		
III期	17(70.83)	17(26.99)		
远处转移			1.136	0.287
有	8(33.33)	14(22.22)		
无	16(66.67)	49(77.78)		
淋巴结转移			4.612	0.011
有	11(45.83)	12(19.05)		
无	13(54.17)	51(80.95)		
分化程度			1.319	0.251
高分化	6(25.00)	24(38.09)		
中/低分化	18(75.00)	39(61.91)		
GPX1			9.836	0.002
阳性	21(87.50)	32(50.79)		
阴性	3(12.50)	31(49.21)		
PI3KCB			7.825	0.005
阳性	23(95.83)	42(66.67)		
阴性	1(4.17)	21(33.33)		

表4 比较阳性、阴性GPX1、PI3KCB患者预后生存率

组别	n	1年生存率	[n(%)]	
			χ^2 值	P值
GPX1	阴性组	34	28(82.35)	8.788 0.003
	阳性组	53	27(50.94)	
PI3KCB	阴性组	22	17(77.27)	6.532 0.011
	阳性组	65	33(50.77)	

更为积极有效的治疗措施,成为当前亟待解决的问题。肿瘤标志物在结直肠癌的早期诊断、预后评估和复发监测等方面扮演着重要角色,故寻找有效的肿瘤标志物至关重要^[9]。

本次研究发现,GPX1表达异常在一定程度上可影响结直肠癌的预后。谷胱甘肽过氧化物酶家

表3 影响结直肠癌患者预后的多因素分析

因素	赋值	β 值	SE值	Wald χ^2 值	df	OR(95% CI)值	P值
吸烟	无=0;有=1	1.608	0.836	3.697	1	4.992(0.969~25.713)	0.055
肿瘤直径	≤2 cm=0;>2 cm=1	1.583	0.832	3.622	1	4.872(0.954~24.880)	0.057
TNM分期	I~II期=0;III期=1	2.672	1.007	7.049	1	14.476(2.013~104.094)	0.008
淋巴结转移	无=0;有=1	-2.038	1.022	3.974	1	0.130(0.018~0.966)	0.046
GPX1	阴性=0;阳性=1	3.838	1.057	13.182	1	46.426(5.848~368.570)	0.000
PI3KCB	阴性=0;阳性=1	3.616	1.423	6.458	1	37.189(2.287~604.732)	0.011

族是机体内广泛存在的一种过氧化物分解酶, GPX1 则是该家族中的一种含硒蛋白, 可通过清除细胞内的过氧化氢和其他过氧化物, 保护细胞免受氧化应激损伤, 维持细胞氧化还原平衡^[10]。研究显示, GPX1 影响结直肠癌患者预后的作用机制可能涉及多个方面: ①GPX1 通过维持细胞氧化还原平衡, 防止氧化应激引起的 DNA 损伤和基因突变, 从而促进结直肠癌的进展; ②GPX1 可能通过调节细胞信号传导通路, 如 PI3K/Akt/mTOR 等, 来影响结直肠癌细胞的增殖和凋亡, 且这些信号通路的异常激活通常与结直肠癌的恶性转化和转移密切相关^[11]。任晓梅^[12]等学者发现, GPX1 还可与其他抗氧化酶协同作用, 共同维持癌细胞的氧化还原平衡, 进一步影响恶性肿瘤的进展和预后。

研究显示, PI3KCB 蛋白在机体的信号转导过程中占据核心地位, 其通过磷脂激酶活性作用于如蛋白激酶 B 等下游信号分子, 对细胞的增殖、凋亡以及周期变化产生深远影响^[13]。Sajini 等^[14]的研究指出, PI3KCB 的高表达能够促进肿瘤细胞的增殖和生长, 其可通过激活下游信号通路促进细胞周期的进行和 DNA 的合成。岳芙蓉^[15]等也指出, PI3KCB 可与其他信号通路如 Wnt/ β -catenin、NF- κ B 等相互作用, 对结直肠癌的进展和预后产生一定影响。本次研究结果显示, PI3KCB 蛋白的异常表达与结直肠癌的转移及预后紧密相关。分析原因在于: ①PI3KCB 的高表达导致结直肠癌细胞对化疗药物的敏感性降低, 从而产生多药耐药现象, 影响化疗效果, 进而影响患者的预后; ②PI3KCB 通过调控结直肠癌细胞的凋亡和增殖平衡, 影响肿瘤的生长速度和侵袭能力, 从而辅助判断结直肠癌的恶性程度和患者的生存期。

综上所述, GPX1、PI3KCB 蛋白与结直肠癌患者淋巴结转移以及预后密切相关, 可辅助临床判断结直肠癌患者的转归情况。

参考文献

- [1] 王大许, 谢陈, 李群兰, 等. 动态增强磁共振成像定量参数在结直肠癌临床诊断及分期中的应用[J]. 保健医学研究与实践, 2023, 20(8):47-52.
- [2] Zhang Y, Zouboulis CC, Xiao Z. Exosomes from adipose-derived stem cells activate sebocytes through the PI3K/AKT/SREBP-1 pathway to accelerate wound healing[J]. Cell Tissue Res, 2024, 396(3):329-342.
- [3] He R, Jiang H, Zhang C, et al. CXCL16 promotes proliferation of head and neck squamous cell carcinoma by regulating GPX1-mediated antioxidant levels[J]. J Zhejiang University-SCIENCE B, 2025, 26(1):92-106.
- [4] 孙崇镡, 唐远怀, 柴豆豆, 等. 环状 RNA circGPX1 通过调节 miRNA-150 表达影响甲状腺癌细胞增殖和侵袭[J]. 肿瘤研究与临床, 2024, 36(4):255-261.
- [5] 张政, 张澍田, 李鹏. 2018 年美国癌症协会结直肠癌筛查指南解读[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(9):814-816.
- [6] 瞿思宇, 陈艳莉, 张荣丽, 等. 血清 PGE1, GPX1 及子宫动脉超声参数评估凶险性前置胎盘植入导致的产后出血[J]. 中国计划生育学杂志, 2023, 31(11):2692-2697.
- [7] 梁慧婷, 东靓, 郝彦凤, 等. Nesfatin-1 通过 PI3K/Akt 信号通路促进结直肠癌进展研究[J]. 现代预防医学, 2023, 50(14):2656-2662.
- [8] 杨敏, 李雯, 朱虹. Cys-C, ALB 及 A/G 在结直肠癌预后中的评估价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(12):2071-2074.
- [9] 程璞, 郑朝旭. 淋巴结相关免疫指标对不同年龄的病理 II 期结直肠癌患者无病生存率的影响[J]. 中华普通外科杂志, 2024, 39(5):362-366.
- [10] 秦聪颖, 刘丽娟, 曹淑新, 等. 子宫动脉阻力指数联合血清 GPX1, AT-III 对凶险性前置胎盘产妇产后大出血的预测价值[J]. 山东医药, 2023, 63(16):47-50.
- [11] 全静雯, 蔡佳佳, 肖斌, 等. 基于生物信息学分析 GPX1 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 华南国防医学杂志, 2020, 34(12):839-844.
- [12] 任晓梅, 张立, 辛宝, 等. 谷胱甘肽过氧化物酶在胶质瘤患者中的表达及对生存预后的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2022, 44(2):276-285.
- [13] 温菲菲, 李扬扬, 何双, 等. 食管鳞状细胞癌癌变过程中 HPV16/18E6 蛋白与 PIK3CA、PIK3CB 突变的相关性及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38(4):397-403.
- [14] Sajini DV, Krishnamurthy PT, Chakkittukandiyil A, et al. Correction: Orientin Modulates Nrf2-ARE, PI3K/Akt, JNK-ERK1/2, and TLR4/NF- κ B Pathways to Produce Neuroprotective Benefits in Parkinson's Disease[J]. Neurochemical Research, 2024, 49(6):1588-1591.
- [15] 岳芙蓉, 彭科瑜, 张力. PI3K/AKT/mTOR 通路在结直肠癌中的表达及靶向治疗研究[J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(2):178-182.
- [14] 毛星刚. 磷酸肌酸通过稳定 BRD2 诱导表观遗传重编程进而促进胶质母细胞瘤生长[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(5):29-33.
- [15] Luo H, Zhu G, Eshelman MA. HOTTIP-dependent R-loop formation regulates CTCF boundary activity and TAD integrity in leukemia[J]. Mol Cell, 2022, 82(4):833-851.

(上接第 720 页)

妊娠合并乙肝病毒感染者外周血NLR对围产儿预后的预测价值

李晓燕* 郑娟 李明巧 李晓 马月蓉

[摘要] **目的** 探讨妊娠合并乙肝病毒(HBV)感染者外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)对围产儿预后的预测价值。**方法** 选取2021年1月至2023年12月于衡水市第二人民医院就诊的96例妊娠合并HBV感染者设为感染组,另选取同期100名到院产前检查正常的孕妇设为对照组。收集所有入试者的临床资料及入院时血液学检查,计算并比较两组NLR。记录并比较两组围产儿预后情况。采用多因素logistic回归模型分析妊娠合并HBV感染者围产儿预后的影响因素,绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价NLR对妊娠合并HBV感染者围产儿预后的评估价值。**结果** 感染组孕妇NLR值高于对照组孕妇,差异有统计学意义($P<0.05$)。感染组孕妇围产儿不良预后发生率高于对照组孕妇,差异有统计学意义($P<0.05$)。二分类Logistic逐步回归分析结果显示,妊娠合并HBV感染者分娩方式和产前的NLR值是围产儿预后不良的影响因素($P<0.05$)。ROC结果显示,NLR评估妊娠合并HBV感染者围产儿预后的AUC(95%CI)为0.929(0.884~0.979),最佳截点值为3.41。**结论** NLR对妊娠合并HBV感染者围产儿预后具有一定预测价值,较高的NLR值与不良围产儿预后密切相关。

[关键词] 妊娠合并乙肝病毒感染;围产儿预后;中性粒细胞/淋巴细胞比值

Predictive value of peripheral blood NLR in pregnant women with hepatitis B virus infection for perinatal prognosis

LI Xiaoyan*, ZHENG Juan, LI Mingqiao, LI Xiao, MA Yuerong

(The First Ward of Obstetrics Department, the Second People's Hospital of Hengshui, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the predictive value of peripheral blood neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) and perinatal prognosis in pregnant women with hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** 96 pregnant women with HBV infection at our hospital from January 2021 to December 2023 were selected as the infection group, and 100 pregnant women with normal prenatal examinations at our hospital during the same period were chosen as the control group. Clinical data from all participants and hematological examinations upon admission were collected. The NLR was calculated, and compared between the two groups. The perinatal prognosis of all participants was recorded and compared between the groups. A multivariate logistic regression model was used to analyze the influencing factors of perinatal prognosis for pregnant women with HBV infection. A receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to evaluate the value of NLR in assessing the perinatal prognosis of pregnant women with HBV infection. **Results** The NLR values of pregnant women in the infection group were higher than those in the control group ($P<0.05$). The incidence of perinatal adverse prognosis in pregnant women in the infection group was higher than that in the control group ($P<0.05$). In this study, adverse perinatal outcomes of pregnancy combined with HBV infection were used as the dependent variable, and binary logistic stepwise regression analysis was conducted. The results showed that delivery mode and prenatal NLR levels in pregnancy combined with HBV infection were influential factors for perinatal prognosis ($P<0.05$). ROC results showed that the AUC (95%CI) of NLR in evaluating the perinatal outcomes of pregnant

基金项目:河北省卫生健康委科研基金项目(20220190);衡水市科技计划项目(2018014020Z)

作者单位:衡水市第二人民医院产科,河北,衡水 053000

*通信作者:李晓燕, E-mail: lixiaoyanlx66@163.com

women with HBV infection was 0.929 (0.884~0.979), with an optimal cut-off value of 3.41. **Conclusion** NLR has predictive value for the perinatal prognosis of pregnant women with HBV infection, with higher NLR levels closely associated with a poor perinatal prognosis.

[KEY WORDS] Pregnancy complicated with HBV infection; Perinatal prognosis; NLR

妊娠合并乙型肝炎病毒(hepatitis b virus, HBV)感染是一个重大的公共卫生问题,不仅影响孕妇健康,而且可能导致母婴传播^[1]。HBV感染对围产儿预后的影响不容忽视,研究表明,HBV阳性孕妇的新生儿更易出现早产、低出生体重和先天性畸形等问题^[2]。尽管采取妊娠期抗病毒治疗、新生儿疫苗接种等预防措施,但仍有部分新生儿会发生母婴传播,对健康造成长期影响。近年来研究发现,HBV感染与机体炎症反应密切相关,在妊娠合并HBV感染者中,病毒复制和免疫应答的相互作用可能引起慢性低度炎症状态,进而影响外周血细胞比例^[3]。中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)能够反映机体的炎症状态和免疫功能,已在多种疾病中显示出良好的预测价值。在妊娠相关疾病中,NLR的变化与疾病严重程度和预后密切相关^[4-5]。此外,在慢加急性肝衰竭患者中,NLR也被证实与患者短期生存率相关^[6]。本研究主要探讨妊娠合并HBV感染者外周血NLR对围产儿预后的预测价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2021年1月至2023年12月衡水市第二人民医院接收的96例妊娠合并HBV感染者作为研究对象(感染组)。纳入标准:①符合《慢性乙型肝炎防治指南》^[7]中有关HBV感染诊断标准;②年龄20~40岁;③孕周≥28周的单胎妊娠;④产前无异常;⑤孕前和孕期末接受抗病毒治疗。排除标准:①合并其他病毒性肝炎或HIV感染;②存在自身免疫性疾病、恶性肿瘤或严重器官功能障碍;③有妊娠期并发症如妊娠期糖尿病、子痫前期等;④近期使用可能影响血细胞计数的药物;⑤存在胎儿异常或多胎妊娠;⑥精神异常或无法配合研究者;⑦吸毒史。所有入试者均已签署知情同意书,本研究已获得医院伦理委员会批准。另选取同期100名到院产前检查正常的孕妇作为对照组,对照组与感染组两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两组临床资料比较 $[(\bar{x}\pm s), n(\%)]$

指标	对照组 (n=100)	感染组 (n=96)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	28.97±2.41	29.53±2.38	1.636	0.103
BMI(kg/m ²)	28.17±3.19	27.92±3.43	0.529	0.598
孕次(次)	1.45±0.57	1.41±0.63	0.466	0.641
孕周(周)	35.47±4.68	35.29±4.72	0.268	0.789
分娩方式				
阴道分娩	44(44.00)	37(38.54)	0.602	0.438
剖腹产	56(56.00)	59(61.46)		
饮酒史	20(20.00)	24(25.00)	0.703	0.402
吸烟史	3(3.00)	2(2.08)	0.166	0.684
受教育程度				
高中及以上	71(71.00)	62(64.58)	0.925	0.336
高中以下	29(29.00)	34(35.42)		

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集所有入试者的临床资料,包括年龄、体质指数(BMI)、孕次、孕周、分娩方式、饮酒史、吸烟史、受教育程度。

1.2.2 指标检测以及计算

采集感染组孕妇确诊HBV感染时以及对照组孕妇孕检当日空腹静脉血5 mL。使用全自动血细胞分析仪(Sysmex公司,日本)检测中性粒细胞、淋巴细胞,并计算NLR, NLR=中性粒细胞/淋巴细胞。为确保结果准确性,所有血液样本均在采集后2 h内完成检测,并由本研两名经验丰富的检验技师独立进行分析。

1.2.3 围产儿预后评估^[8]

比较对照组与感染组两组预后不良发生率。围产儿预后不良指标主要包括:①早产:妊娠满28周但未满37周分娩;②低出生体重:出生体重<2 500 g;③新生儿窒息:1分钟阿普加(Apgar)评分<7分;④新生儿黄疸:出生后7天内总胆红素>12 mg/dL;⑤新生儿重症监护病房(NICU)入住。所有新生儿出生后均由本院专业新生儿科医生进行评估。

1.3 统计学分析

所有数据使用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,两两比较行t检验;计数资料例数以n(%)表示,两组间比较行 χ^2 检验。采用多因素Logistic回归模型分析妊娠合并HBV感染者围产儿预后的影响因素,绘制受试者工作特性(ROC)

曲线评价NLR对妊娠合并HBV感染者围产儿预后的评估价值。 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组NLR值比较

感染组孕妇NLR值高于对照组孕妇,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 两组NLR值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	NLR
对照组	100	2.86±0.45
感染组	96	3.74±0.67
t值		10.834
P值		<0.001

2.2 两组围产儿不良预后发生率比较

感染组孕妇围产儿不良预后发生率高于对照组孕妇,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.3 感染组围产儿不良预后影响因素分析

本研究以妊娠合并HBV感染者围产儿不良预后为因变量,纳入二分类Logistic逐步回归分析,结果显示:妊娠合并HBV感染者分娩方式和产前的NLR值是围产儿预后不良的影响因素($P<0.05$)。见表4。

2.4 NLR评估妊娠合并HBV感染者围产儿预后的价值

本研究的ROC结果显示,NLR评估妊娠合并HBV感染者围产儿预后的AUC(95%CI)为0.929(0.884~0.979),最佳截点值为3.41。见图1。

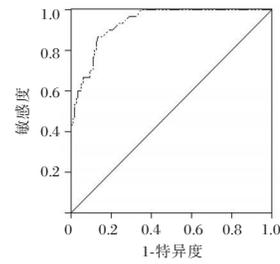


图1 NLR评估妊娠合并HBV感染者围产儿预后的ROC曲线图

3 讨论

妊娠合并HBV感染是一种严重影响孕妇和胎儿健康的疾病。在妊娠期间,HBV感染可能加重肝脏负担,导致肝功能异常,严重时可能引发妊娠期肝内胆汁淤积症,增加孕期并发症风险^[9]。对围产儿而言,该疾病的影响更为深远。尽管现代预防措施大大降低了母婴传播率,但仍有少数新生儿可能被感染,面临发展为慢性乙肝携带者的长期风险。HBV感染可能通过影响胎盘功能、诱导慢性炎症等机制影响胎儿发育,改变儿童的长期免疫功能,增加早产、低出生体重和其他围产期并发症的风险,严重影响新生儿的长期健康^[10]。

妊娠合并HBV感染涉及多个方面,包括免疫系统的改变和炎症反应的调节。因此,寻找能够反映疾病活动性和预测预后的生物标志物尤为重要^[11]。外周血细胞比例的变化可能反映了机体对病毒感染的免疫应答状态,其中中性粒细胞和淋巴细胞作为重要的免疫细胞,其比值可能与疾病的进展和预后密切相关。NLR作为一种简单、经

表3 两组围产儿不良预后比较[n(%)]

组别	n	早产	低出生体重	新生儿窒息	新生儿黄疸	入住NICU	合计
对照组	100	7(7.00)	5(5.00)	2(2.00)	11(11.00)	8(8.00)	33(33.00)
感染组	96	15(15.63)	13(13.54)	8(8.33)	20(20.83)	19(19.79)	75(78.13)
χ^2 值							40.314
P值							<0.001

表4 感染组围产儿不良预后影响因素分析

变量	赋值	单因素		多因素	
		OR(95% CI)	P值	OR(95% CI)	P值
年龄	以原值赋入	1.293(0.794~2.107)	0.302		
BMI	以原值赋入	1.713(0.790~3.714)	0.173		
孕次	以原值赋入	1.577(0.583~4.158)	0.377		
孕周	以原值赋入	1.550(0.881~2.725)	0.128		
分娩方式	剖腹产=0,阴道分娩=1	2.008(1.058~3.811)	0.033	2.094(1.116~3.928)	0.021
饮酒史	否=0,是=1	1.809(0.949~3.448)	0.071		
吸烟史	否=0,是=1	2.257(0.689~7.388)	0.178		
受教育程度	高中及以上=0,高中以下=1	2.633(1.183~5.857)	0.018		
NLR	以原值赋入	6.411(2.387~17.216)	<0.001	7.085(5.546~9.052)	<0.001

济、易获得的炎症指标,近年在多种疾病中被证实与炎症程度、疾病严重程度及预后相关。Zahorec R等学者^[12]的研究显示,NLR可应用于急诊室、外科、骨科、创伤学、心脏病学、神经病学、精神病学、甚至肿瘤学等急性医学领域。近年来,NLR在妊娠相关疾病中的应用研究正在不断深入。有研究表明,NLR可能是妊娠期高血压、妊娠期糖尿病等妊娠并发症的预测因子^[13]。Panwar M等学者的研究^[14]也显示,产妇NLR值高会导致新生儿出生体重低和Apgar评分低。

本研究结果显示,感染组孕妇NLR值高于健康对照组孕妇,提示妊娠合并HBV感染患者体内存在更强烈的炎症反应。分析其原因,HBV感染可激活机体的免疫应答,导致炎症细胞浸润和炎症因子的释放,其中中性粒细胞也会增多^[15]。加之在妊娠状态下,孕妇体内激素水平变化会影响免疫系统功能,使得对病毒感染的免疫反应更加复杂。此外,乙肝病毒的主要靶器官-肝脏的功能异常也会进一步影响造血功能和免疫细胞的分布,从而改变外周血细胞的比例^[16]。本研究还发现,感染组孕妇围产儿不良预后发生率高于对照组孕妇,可能与NLR值升高所反映的炎症状态有关。持续的炎症反应可通过多种途径影响胎儿发育和围产期结局:首先,母体炎症可能通过影响胎盘功能,改变营养物质和氧气的传输效率,进而影响胎儿生长;其次,炎症因子可能直接或间接影响胎儿器官发育,尤其是对免疫和神经系统的发育产生长期影响;再者,炎症状态会增加早产、胎膜早破等围产期并发症的风险^[17]。本研究还通过建立logistic回归模型,探讨了妊娠合并HBV感染者围产儿预后的影响因素,发现阴道分娩和高NLR值是围产儿不良预后的独立影响因素。提示临床医生应对这类孕妇进行重点监测和针对性干预,以降低围产儿不良预后发生率。进一步绘制ROC曲线评价NLR的临床价值,结果显示AUC为0.929,表明NLR在评估围产儿预后方面可能具有一定的临床价值。高NLR值反映了母体的炎症反应程度,这种炎症反应可能会对胎儿产生不利影响。未来的研究将进一步探讨NLR与母体炎症标志物之间的关系,以更全面地理解NLR在预测围产儿预后中的作用机制。

综上所述,NLR对妊娠合并HBV感染者围产儿预后具有一定预测价值,较高的NLR值与不良围产儿预后密切相关。

参考文献

- [1] Funk AL, Lu Y, Yoshida K, et al. Efficacy and safety of anti-viral prophylaxis during pregnancy to prevent mother-to-child transmission of hepatitis B virus: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(1): 70-84.
- [2] Saravanan S, Shankar EM, Vignesh R, et al. Occult hepatitis B virus infection and current perspectives on global WHO 2030 eradication[J]. *J Viral Hepat*, 2024, 31(7): 423-431.
- [3] Yuce E. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR) Can Predict Spontaneous Preterm Birth[J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 2423-2429.
- [4] 刘鹏,梁文娟,谢云,等.子痫前期孕妇D-二聚体水平与中性粒细胞与淋巴细胞比值的相关性探究[J]. *山西医药杂志*, 2024, 53(5): 357-360.
- [5] 胡孙浩,朱丹,李婕,等.妊娠期糖尿病孕妇血清淀粉样蛋白A同型半胱氨酸中性粒细胞/淋巴细胞比值游离脂肪酸水平变化及与糖脂代谢和妊娠结局的关系分析[J]. *中国妇幼保健*, 2024, 39(17): 3260-3264.
- [6] 张鑫.中性粒细胞淋巴细胞比值及红细胞分布宽度与慢加急性肝衰竭患者短期生存率的关系分析[J]. *中外医疗*, 2023, 42(6): 1-4.
- [7] 王瑞,李嘉.《慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)》更新要点解读[J]. *实用器官移植电子杂志*, 2021, 9(1): 1-5.
- [8] 葛明芹,牛洁,代燕,等.脐动脉血流动力学与孕中期妊娠期糖尿病患者围产儿预后的相关性研究[J]. *中华内分泌外科杂志(中英文)*, 2024, 18(2): 299-302.
- [9] 赵婧,岳鹏,邢国征,等.HBV病毒慢性感染者的ALDH2基因多态性研究[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(3): 368-371.
- [10] Wei H, Zhang C, Meng J, et al. The clinical features of hepatitis B virus infection and intrahepatic cholestasis in pregnancy [J]. *Ginekol Pol*, 2022, 93(5): 389-395.
- [11] Mugabiiirwe N, Kalyetsi R, Ayella R, et al. Hepatitis B virus infection and HBeAg positivity among pregnant women in South West Uganda[J]. *Afr J Lab Med*, 2022, 11(1): 1784.
- [12] Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2021, 122(7): 474-488.
- [13] Ye YX, Wang Y, Wu P, et al. Blood Cell Parameters From Early to Middle Pregnancy and Risk of Gestational Diabetes Mellitus[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2023, 108(12): e1702-e1711.
- [14] Panwar M, Mohanty A, Ahuja N, et al. Maternal β -hCG and Neutrophil Lymphocyte Ratio during Pregnancy to Predict High-Risk Neonates: an Observational Study [J]. *Maedica (Bucur)*, 2022, 17(2): 317-322.
- [15] 梁会,王惠梅,杨玮蔚,等.中性粒细胞与淋巴细胞比值、血小板计数与淋巴细胞比值及脂蛋白在急性胰腺炎患者中的检测价值[J]. *感染、炎症、修复*, 2024, 25(3): 226-229.
- [16] Wing PAC, Liu PJ, Harris JM, et al. Hypoxia inducible factors regulate hepatitis B virus replication by activating the basal core promoter[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(1): 64-73.
- [17] 于哲,张洛英,潘大欢,等.自发性早产的高危因素及血清TLR2、MCP-1、TNF- α 水平的预测价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(6): 769-772.

压力负荷激活 Src/FAK 通路调控心房肌细胞重构

张周华 何雪波 张学煌 黄常镜 徐崇斐 张文巨 张奇峰*

[摘要] 目的 探究血管紧张素 II 受体 I (AT1) 在压力负荷对心房肌细胞重构调控过程中的作用。方法 采用 ELISA 检测高血压组与正常血压组大鼠血液中 Ang II 水平, WB 分析心肌细胞 Src/FAK 通路改变。采用 AngII 重组蛋白刺激原代心房肌细胞, WB 检测不同刺激时间下 Src/FAK 通路的改变; 在 AngII 重组蛋白刺激基础上, 用 AT1 受体抑制剂氯沙坦处理原代心房肌细胞, 观察通路激活情况, 比较氯沙坦对 SHR 大鼠心脏重构和心房肌细胞通路改变的影响。同时, 比较高血压组与正常血压组大鼠以及氯沙坦治疗后收缩压、心率及心脏彩超检查结果。结果 正常血压组和高血压组间的心率、LVEDD 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 正常血压组和高血压组收缩压、LVESD、LVEF 和 LVFS 的比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。高血压组大鼠血液中 Ang II 水平显著高于正常血压组大鼠, 且心肌细胞 Src/FAK 通路显著激活, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 原代心房肌细胞中 Src/FAK 通路被显著激活, 并在 Ang II 重组蛋白刺激下呈现时间依赖性增高; 氯沙坦可以有效抑制压力负荷下的心脏重构, 并抑制心房肌细胞的 Src/FAK 通路激活, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 高血压组和氯沙坦治疗组的心率和 LVEDD 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 氯沙坦治疗组收缩压低于高血压组, LVESD 显著降低, LVEF 和 LVFS 显著改善, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 Ang II 通过结合 AT1 受体激活 Src/FAK 通路参与压力负荷对心房肌细胞电重构, AT1 受体拮抗剂氯沙坦可以有效抑制压力负荷对心房肌细胞的调控作用。

[关键词] 血管紧张素 II 受体 I; 房颤; 压力负荷; 心房肌细胞; 氯沙坦

Mechanism of stress regulation of atrial myocyte remodeling through activation of Src/FAK pathway

ZHANG Zhouhua, HE Xuebo, ZHANG Xuehuang, HUANG Changjing, XU Chongfei, ZHANG Wenju, ZHANG Qifeng*

(Department of Cardiology, Meizhou People's Hospital, Meizhou, Guangdong, China, 514000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the role of Angiotensin II type 1 receptor (AT1 receptor) in the regulation of atrial myocyte remodeling by stress load. **Methods** The levels of Ang II in the blood of the hypertensive group and the normal blood pressure group were detected using ELISA, and the changes in the Src/FAK pathway in cardiomyocytes were analyzed using WB. Ang II recombinant protein was used to stimulate primary atrial myocytes, and WB was used to detect changes in the Src/FAK pathway at different stimulation times. Based on the stimulation with Ang II recombinant protein, primary atrial myocytes were treated with the AT1 receptor inhibitor losartan to observe pathway activation, and compare the effects of losartan on cardiac remodeling and changes in the atrial myocyte pathway in SHR rats. Meanwhile, the results of systolic blood pressure, heart rate and color Doppler ultrasound were compared between the hypertensive group and the normal blood pressure group. **Results** There were no statistically significant differences in heart rate and LVEDD between the normal blood pressure group and the hypertension group ($P>0.05$). However, there were statistically significant differences in systolic blood pressure, LVESD, LVEF and LVFS between the normal blood pressure group and the hypertension group ($P<0.05$). The level of Ang II in the blood of the hypertensive group was significantly higher than that of the normal blood pressure group, and the Src/FAK pathway of cardiomyocytes was significantly activated, with statistical significance ($P<0.05$). The Src/FAK pathway was also significantly acti-

基金项目:梅州市人民医院院内培育项目(PY-C2020001)

作者单位:广东省梅州市人民医院心内科,广东,梅州 514000

*通信作者:张奇峰, E-mail: qifzhang@126.com

vated in primary atrial myocytes and increased in a time-dependent manner under the stimulation of Ang II recombinant protein. Losartan was found to effectively inhibit cardiac remodeling under stress and inhibit the activation of the Src/FAK pathway in atrial myocytes, with statistical significance ($P < 0.05$). There was no significant difference in heart rate and LVEDD between the hypertension group and the losartan treatment group ($P > 0.05$). The systolic blood pressure in the losartan treatment group was lower than that in the hypertension group, LVESD was significantly decreased, and LVEF and LVFS were significantly improved, with statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** Ang II activates the Src/FAK pathway by binding to the AT1 receptor, and the AT1 receptor antagonist Losartan can effectively inhibit the stress load regulation on atrial myocytes.

[**KEY WORDS**] Angiotensin II receptor I; Atrial fibrillation; Pressure load; Atrial myocytes; Losartan

心房颤动(Atrial fibrillation, AF)是临床常见的快速性心律失常,国内发生率达0.77%^[1]。房颤严重危害人类健康,轻者会影响生活质量,重者甚至致残、致死,并且随年龄增加其发病率显著上升。目前,大部分患者可以通过服用抗心律失常药物或采用电复律治疗,而药物治疗无效或不耐受阵发性房颤治疗策略的患者需进行射频消融治疗来改善症状。但由于心肌电重构的原因,房颤治疗后的复发率仍然很高,这是亟待解决的临床问题^[2]。有研究报道,高血压可以使房颤发生率升高,在男性中为1.5倍,女性为1.4倍^[3]。高血压群体中房颤患病率显著升高,因此高血压已成为房颤发生发展中关键危险因素。鉴于两者均与肾素血管紧张素系统活跃相关,血管紧张素受体拮抗剂的应用或许是极有潜力的治疗策略^[4]。目前血管紧张素受体拮抗剂(例如氯沙坦)已广泛应用于高血压治疗,但极少应用于心律失常治疗中。近年来已有研究证实高血压引起心房重构从而导致房颤,而血管紧张素受体抑制剂的使用可以防止心房重构,可能有预防房颤发生的作用^[5]。本文具体探讨了AT1受体在压力负荷调节下对于心肌细胞的调控作用机制,并进一步探究氯沙坦在原发性高血压合并心房颤动的应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物

自发性高血压大鼠(Spontaneously hypertensive rats, SHR)出生后血压随鼠龄不断升高,2~3个月时为高血压确立期。选择9周龄健康雄性自发性高血压大鼠,将其作为高血压组($n=8$)。选择相近体重的健康雄性魏-凯二氏大鼠(Wistar-Kyoto rats, WKY)大鼠作为正常血压组($n=8$)。两组大鼠均由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。大鼠饲养于清洁级实验动物中心,每笼2~3只大鼠。

1.2 心脏彩超检查

将两组大鼠均于22周龄时进行心脏彩超检查,采用彩色多普勒B超仪检测并记录左室收缩末内径(Left ventricular end systolic diameter, LVESD)、左室舒张末内径(Left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室射血分数(Left ventricular ejection fraction, LVEF)及左心室短轴缩短率(Left Ventricular Fraction Shortening, LVFS)。

1.3 苏木精-伊红染色检测心房组织变化

处死大鼠收集完整心脏组织,在4%多聚甲醛室温固定24小时,后进行石蜡包埋和切片制作。苏木精和伊红染色,梯度脱水,进行透明和封片。在显微镜下观察各组心房组织变化。

1.4 计算大鼠左心室质量指数

处死大鼠后,迅速用手术剪打开大鼠胸腔取出心脏,去除血管及其他多余组织后用预冷的生理盐水洗去心脏内外残留血液,滤纸吸干后分离大鼠的左心室称重。大鼠左心室质量指数=大鼠左心室质量(mg)/大鼠体重(g)。

1.5 细胞培养和处理

选择6周龄的WKY大鼠,处死,收集活体心脏,并通过Langendorff离体心脏灌注急性分离大鼠心房肌细胞。接种原代心房肌细胞以 1×10^5 /mL的浓度于六孔板中,按照每孔2 mL细胞悬液的数量接种原代心房肌细胞。通过Ang II重组蛋白刺激培养原代心房肌细胞,置于37℃培养箱中培养,分别刺激0 h、0.5 h、1 h、3 h、6 h、12 h。

1.6 Western Blot 检测

收集六孔板中不同刺激时间的原代心房肌细胞,每孔加入100 μ L加入蛋白酶抑制剂的蛋白裂解液,BCA测定蛋白浓度后,调制相同浓度,置于95℃金属浴中煮10分钟。样品制备后,进行电泳和转膜,室温孵育一抗、二抗后,洗涤3次,随后滴

加ECL显影液曝光显影。

1.7 统计学分析

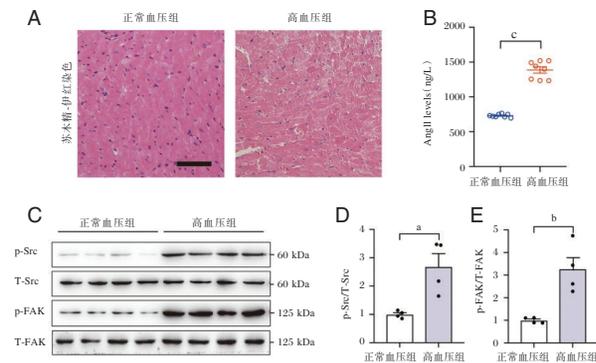
采用SPSS 23.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析。计数资料以n(%)表示,多组比较采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 正常血压组大鼠和高血压组大鼠22周龄时收缩压、心率及心脏彩超检查结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	收缩压(mmHg)	心率(次/min)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF(%)	LVFS(%)
正常血压组	8	120±10	448±42	6.2±0.4	2.8±0.2	88.8±5.3	54.3±3.8
高血压组	8	178±9	461±34	6.3±0.6	3.3±0.4	83.1±4.5	47.6±3.0
<i>t</i> 值		12.19	0.68	0.39	3.16	2.32	3.91
<i>P</i> 值		<0.001	0.507	0.701	0.007	0.036	0.002

2.2 高血压对大鼠心房肌细胞的影响

HE染色显示,正常血压组大鼠的心房肌细胞间隙适中,纤维排列整齐有序;高血压组大鼠的心肌间质细胞增生,排列不整齐,大小不规则。见图1A。高血压组大鼠血液含量显著高于正常相近体重的正常血压组大鼠,差异有统计学意义(1387.4±127.6 vs 730.6±23.1, $P < 0.05$),见图1B。自发性高血压大鼠心房肌细胞Src/FAK被显著激活(Src: 3.267倍;FAK: 2.684倍)。见图1C~1E。



注:A为各组心房组织苏木精-伊红染色情况,倍镜200X;B为大鼠血清中Ang II含量检测,C为大鼠心房肌细胞Src/FAK通路激活情况,D和E为WB灰度值分析。^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$; ^c $P < 0.001$ 。

图1 大鼠血液Ang II水平和心房肌细胞Src/FAK通路检测

2.3 AngII重组蛋白对原代心房肌细胞Src/FAK通路的作用

在AngII重组蛋白刺激下,原代心房肌细胞中Src/FAK通路激活呈现时间依赖性,差异有统计学意义(Src: 1.0±0.01 vs 3.2±0.13, FAK: 1±0.08 vs 3.3±0.2, $P < 0.05$)。见图2。

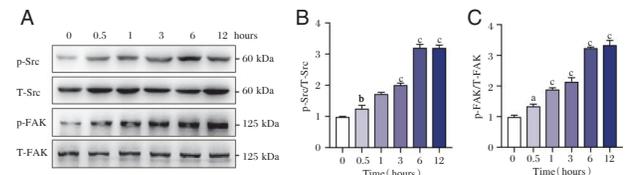
2.4 AT1受体对心房肌细胞的调控作用

AngII重组蛋白刺激可以显著促进Src/FAK通

2 结果

2.1 两组收缩压、心率和心脏彩超检查结果比较

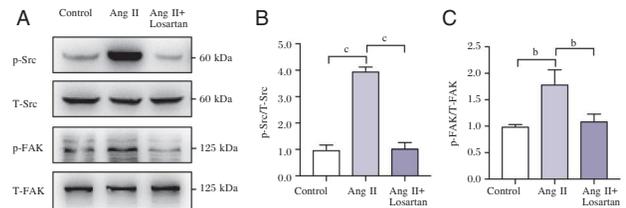
正常血压组和高血压组间的心率、LVEDD比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。正常血压组和高血压组收缩压、LVESD、LVEF和LVFS的比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。



注:A为原代心房肌细胞在Ang II重组蛋白刺激下Src/FAK通路激活情况,B和C为WB灰度值分析。^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$; ^c $P < 0.001$ 。

图2 原代心房肌细胞在Ang II重组蛋白刺激下Src/FAK通路检测

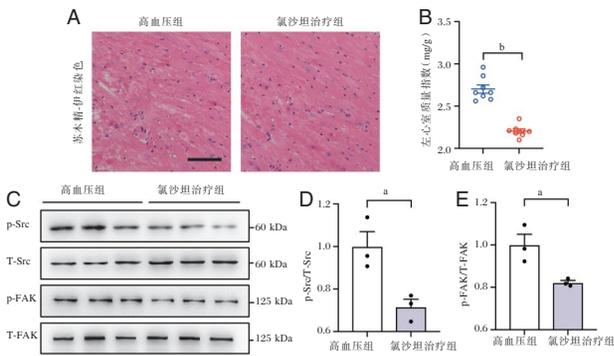
路,而压力负荷的促进作用可以被AT1受体有效抑制,见图3A。Src磷酸化下降43.8%,见图3B。而FAK磷酸化下降38.9%。见图3C。



注:A为原代心房肌细胞在AT1受体拮抗剂处理后Src/FAK通路激活情况,B和C为WB灰度值分析。^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$; ^c $P < 0.001$ 。

图3 原代心房肌细胞在AT1受体拮抗剂处理后Src/FAK通路检测

HE染色显示,氯沙坦治疗组心房肌细胞间隙,纤维排列恢复,见图4A。高血压组与氯沙坦治疗组的左心室质量指数比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图4B。氯沙坦治疗组的心房肌细胞中,Src/FAK通路被显著抑制(Src下降28.4%;FAK下降44.5%),差异有统计学意义(Src: 1.0±0.12 vs 0.7±0.06, $t = 3.609$, 609; FAK: 1.0±0.22 vs 0.6±0.04, $t = 3.461$, $P < 0.05$)。见图4C~4E。



注:A为各组心房组织苏木精-伊红染色情况,倍镜200×;B为大鼠左心室质量指数;C为大鼠心房肌细胞 Src/FAK 通路激活情况, D和E为WB灰度值分析。^a*P*<0.05; ^b*P*<0.01; ^c*P*<0.001。

图4 大鼠左心室质量指数和心房肌细胞 Src/FAK 通路检测

表2 高血压组和氯沙坦治疗组收缩压、心率及心脏彩超检查结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	收缩压(mmHg)	心率(次/min)	LVEDD(mm)	LVESD(mm)	LVEF(%)	LVFS(%)
高血压组	8	177±8.0	457±32	6.5±0.7	3.2±0.5	84.0±2.7	48.3±2.1
氯沙坦治疗组	8	135±9.2	450±36	6.3±0.5	2.9±0.3	89.5±2.6	54.8±3.4
<i>t</i> 值		9.87	0.41	0.66	1.45	4.15	4.60
<i>P</i> 值		<0.001	0.691	0.522	0.168	<0.001	0.002

会导致心房组织结构重构。心脏的病理变化则会引发房性心律失常,尤其是房颤。

房颤是临床最为常见的心律失常之一,可致残、致死,所以探索房颤发生发展机制,对指导临床治疗和预防至关重要^[6]。3个月大的自发性高血压大鼠心房肌细胞的 $I_{Ca,L}$ 显著降低,至11个月大时左房快速性心律失常的诱导性明显升高^[7]。动物模型已证实高血压可以引起心房电重塑和结构重塑,从而增加房性心律失常的易感性,但不同离子通道在电重构中的表现极其机制仍有待研究。

近年来,有关机械应力(牵张力)导致房颤的细胞机制学的研究表明,机械应力可以通过激活肾素-血管紧张素系统,导致心房肌发生电生理改变,最终导致心房肌细胞的电重构^[8]。研究发现房颤患者的心房组织血管紧张素转化酶(Angiotensin converting enzyme, ACE)增高,肾素-血管紧张素系统(Renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)抑制剂可将房颤发生危险度降低33%^[9]。Ang II可增加心肌细胞内钙超负荷,同时参与了心房肌细胞的结构重塑和电重塑。自发性高血压大鼠血压中 Ang II 显著增高,心房肌细胞的 Src/FAK 通路激活,而且 Src/FAK 通路的激活也在 Ang II 重组蛋白刺激下原代心房肌细胞中得到了验证 AT1 受体在压力负荷影响心房肌细胞过程中起到了调

2.5 氯沙坦对心房肌细胞重构的治疗效果比较

高血压组和氯沙坦治疗组的心率和LVEDD比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);氯沙坦治疗组收缩压低于高血压组,LVESD显著降低,LVEF和LVFS显著改善,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表2。

3 讨论

高血压病表现于体循环动脉压力持续升高,这会引发心肌间质增生,导致左心室肥厚,早期即可出现左室舒张功能减退。而舒张期左室血流充盈不足,又进一步导致左心房容量负荷增加,长期

控作用,并能通过氯沙坦这类 AT1 受体抑制剂,有效地降低压力负荷的影响。

目前小剂量胺碘酮因疗效好和安全性高已被广泛应用于房颤复律以及复律后窦律维持,但其仅能缓解房颤症状,并不能完全遏制疾病进展^[10]。近年来,有研究表明高血压和房颤都与 RAAS 关系密切^[11-12]。本研究显示,相比于其他降压药物,应用 AT1 受体拮抗剂氯沙坦可以显著改善原发性高血压,抑制心房重构进程,并有效缓解房颤复发。从机制上分析,高血压会激活 RAAS 系统,使血管紧张素 II 显著升高,加重心房重构,诱发房颤。同时血管紧张素 II 与 AT1 受体结合会导致心肌细胞内钙超载,进一步导致心房有效不应期、动作点位时程缩短等。而 AT1 受体拮抗剂氯沙坦可以减少心房肌钠离子内流,减少 Na^+-Ca^{2+} 交换,抑制延迟后除极。同时,其可显著抑制心房间质纤维化,降低心房结构重塑,防止房颤发生。下一步将寻找新的房颤复发标志物,并探索有效的抑制剂以达到更好的治疗效果。

综上所述,在压力负荷环境,血液中 Ang II 水平会显著上升,通过结合 AT1 受体激活心房肌细胞的 Src/FAK 通路,达到心房肌重构的效果。此外,AT1 受体抑制剂可以有效环境压力负荷对心脏的影响,从而达到一定的治疗效果。

(下转第737页)

TLR4、TLR9及IL-35在慢性牙周炎患者牙龈组织中的表达及其临床意义

曹慧 吴芳芳* 杜文芳 朱晓东

【摘要】目的 探究 Toll 样受体(TLR)4、TLR9 及白细胞介素(IL)-35 在慢性牙周炎(CP)患者牙龈组织中的表达及其临床意义。**方法** 选取 2020 年 6 月至 2023 年 6 月南京医科大学第四附属医院口腔科门诊收治的 114 例 CP 患者为 CP 组,并依据病情严重程度分为轻度组($n=44$)、中度组($n=40$)及重度组($n=30$),另选取同期 50 名牙龈组织健康者为健康对照组。比较 CP 组与健康对照组牙龈组织中的 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 表达,采用 Spearman 法分析牙龈组织 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 表达与 CP 病情严重程度的相关性。根据 CP 组患者随访 3 个月的预后情况,分为预后良好组($n=79$)与预后不良组($n=35$),采用多因素 Logistic 分析牙龈组织 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 表达与 CP 预后不良的关系,并以受试者工作特性曲线(ROC)分析牙龈组织 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 对 CP 预后不良的预测效能。**结果** 牙龈组织中 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 水平比较,均重度组>中度组>轻度组,差异有统计学意义($P<0.05$);Spearman 相关分析显示,CP 患者病情严重程度与牙龈组织 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 表达量均呈正相关($P<0.05$);多因素回归分析显示,有吸烟史,有糖尿病,牙龈组织中 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 表达上调均为 CP 预后不良的独立危险因素($P<0.05$);ROC 曲线显示,牙龈组织中 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 以及三者联合检测 CP 预后不良的曲线下面积(AUC)分别为 0.738、0.738、0.765 以及 0.870,且联合检测的预测价值最佳($P<0.05$)。**结论** TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 在 CP 患者牙龈组织中表达异常上调,且三者联合检测对 CP 预后不良具备较好预测价值。

【关键词】 牙龈组织; Toll 样受体; 白细胞介素; 慢性牙周炎

Expression and clinical significance of LR4, TLR9 and IL-35 in gingival tissue of patients with chronic periodontitis

CAO Hui, WU Fangfang*, DU Wenfang, ZHU Xiaodong

(Department of Stomatology, the Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Jiangbei New District, Nanjing, Jiangsu, China, 210000)

【ABSTRACT】 **Objective** To explore the expression of Toll-like receptors (TLR) 4, TLR9, and interleukin (IL)-35 in gingival tissues of patients with chronic periodontitis (CP) and their clinical significance. **Methods** A total of 114 patients with CP were admitted to the Stomatology Department of the Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University from June 2020 to June 2023 were selected as the CP group. They were divided into mild ($n=44$), moderate ($n=40$) and severe ($n=30$) groups based on severity. Additionally, 50 patients with healthy gingival tissue were selected as controls during the same period. The mRNA expressions of TLR4, TLR9, and IL-35 in gingival tissues of both groups were compared. The correlation between the mRNA expressions of TLR4, TLR9, and IL-35 and the severity of CP was analyzed using Spearman method. In addition, the CP group was further divided into a good prognosis group ($n=79$) and a poor prognosis group ($n=35$) based on the prognosis after a 3-month follow-up. The relationship between the mRNA expression of TLR4, TLR9, and IL-35 in gingival tissue and poor prognosis of CP was analyzed using Logistic analysis, and its predictive efficacy was analyzed using a ROC curve. **Results** The mRNA levels of TLR4, TLR9, and IL-35 in gingival tissues were

基金项目:江苏省高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才科研项目和全省人事人才管理课题(RSRC201906)

作者单位:南京医科大学第四附属医院口腔科门诊,江苏,南京 210000

*通信作者:吴芳芳, E-mail:22579406@qq.com

highest in the severe group, followed by the moderate group, and lowest in the mild group, with statistical significance ($P<0.05$). Spearman analysis showed that the degree of CP was positively correlated with the mRNA expression levels of TLR4, TLR9, and IL-35 in gingival tissue ($P<0.05$). Multivariate regression analysis showed that the history of smoking, diabetes, and the upregulation of TLR4, TLR9, and IL-35 mRNA expression in gingival tissue were independent risk factors for poor prognosis in CP ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the areas under the curve (AUC) of TLR4, TLR9, IL-35 mRNA in gingival tissue, and their combination detection of the three markers in predicting poor prognosis of CP were 0.738, 0.738, 0.765 and 0.870, respectively. The combined detection demonstrated the best predictive value ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of TLR4, TLR9, and IL-35 mRNA is aberrantly upregulated in the gingival tissue of CP patients, and the combined detection of these three markers has a strong predictive value for the poor prognosis of CP patients.

[KEY WORDS] Gingival tissue; TLR; IL; Chronic periodontitis

慢性牙周炎(Chronic Periodontitis, CP)是世界范围内最常见的口腔疾病之一,宿主免疫反应与局部致病菌间的平衡失调是CP始发的重要原因^[1]。在临床上,持续的慢性炎症引起的骨质流失以及牙周韧带、牙槽骨和牙龈的进行性变性是CP的主要特征,若患者病情未及时得到控制,最终还可能导致牙齿松动、移位甚至是脱落。因此,CP早期的发现、诊断以及预后评估十分关键。近来研究证据显示,模式识别受体,特别是Toll样受体(Toll-Like Receptor 4, TLR)4、TLR9等TLR家族成员,在识别微生物相关分子模式,启动中性粒细胞、巨噬细胞等免疫细胞中的先天免疫反应以及抵抗外来病原体感染等方面,均发挥着核心作用;且TLRs的不适当激活被认为与CP的发展及进展密切相关^[2]。而(Interleukin, IL)-35作为IL-12细胞因子家族相对较新的组分,是一种新型免疫抑制细胞因子^[3]。其被发现于侵袭性牙周炎、CP牙龈液及血清中表达量上调,且被认为与多种免疫和传染病密切相关^[4]。目前研究多分析TLRs、IL-35等细胞因子在CP患者血清中的表达情况,而有关TLR4、TLR9、以及IL-35在CP患者牙龈组织中的表达以及三者联合检测对CP预后不良预测价值的相关研究较少,本文进行分析,以期对CP临床防治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年6月至2023年6月南京医科大学第四附属医院口腔科门诊收治的114例CP患者为CP组,另选取同期50名牙龈组织健康者为健康对照组。纳入标准:①符合CP相关诊断标准^[5];②年龄18岁及以上,且均为原发、首发病例;③近6个月内未接受过口腔疾病相关治疗;④临床及随访资料完整;⑤自愿参与本研究。排除标准:①处于

经期、哺乳期或妊娠期的女性;②治疗依从性差;③合并肿瘤疾病;④不接受牙周组织取样;⑤合并根尖区病变、侵袭性牙周炎等其他口腔疾病。本研究已通过江苏省南京市江北新区南京医科大学第四附属医院伦理委员会审核,编号:SFY20200221-K134

1.2 牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达检测

采用实时荧光定量聚合酶链反应技术(Real-Time Fluorescent Quantitative PCR, RT-PCR)检测参试对象牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达情况。

1.2.1 标本采集

以无菌刀片切除CP组患者病损牙龈组织以及健康对照组患者健康牙龈组织,对应标记后以液氮速冻,并转移至 -80°C 冰箱储存备检。

1.2.2 检测步骤

取冻存的牙周组织,以Trizol法提取总RNA,随后分离RNA(试剂盒:mirPremier micro RNA Isolation Kit;生产商:美国Bio-Rad公司),并逆转录生成cDNA(试剂盒:SuperScript RT Kit;生产商:上海远慕生物科技有限公司);收集cDNA用于PCR扩增,反应体系按照说明书配制(试剂盒:SYBR Green PCR master Mix;生产商:宝生物工程(上海)有限公司)。反应条件:扩增条件: 94°C 预变性5 min, 94°C 变性30 s, 58°C 退火35 s, 72°C 延伸10 s, 72°C 终延伸5~7 min,总计循环次数40次。每个样品设置3个重复孔,并且实验进行3次。TLR4、TLR9及IL-35 mRNA均以 β -actin用作内参,每份样本取3次检测中间值,以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量。TLR4引物序列(5'-3'),F端:AGGATGACCACTCGCTAACCA;R端:CTGGATCAAGTGCTGGCACA。TLR9引物序列(5'-3'),F端:AGCGC-

CAACGCCTCAACAC; R 端: GGCCCGCACTGC-CACACTTC。IL-35 引物序列(5'-3'), F 端: AAT-GTTCCCATGCCTTCACC; R 端: CCAATGGTA-AACAGGCCTCC。β-actin 引物序列(5'-3'), F 端: AAGCAGCCATTCTAAGCTTCTT; R 端: GGCGTTCGGGAATCGCACGGATT。

1.3 分组标准和资料收集

1.3.1 CP 病情严重程度

参照《牙周病学》^[6]进行评估,并据此分为轻度组($n=44$)、中度组($n=40$)及重度组($n=30$)。

1.3.2 预后及资料收集

以电话、短信及定期来院复诊等形式对出院患者进行为期3个月的随访,截止至2023年9月。将随访期间,基础口腔检查显示牙周袋探诊深度 ≥ 4 cm,且存在附着丧失等症状的患者判定为预后不良^[7],并据此将CP组患者分为预后良好组($n=79$)与预后不良组($n=35$)。收集可能影响患者预后的相关资料,包括年龄、性别、吸烟史、糖尿病、每日刷牙次数、刷牙时间以及牙龈组织TLR4、TLR9、IL-35 mRNA表达等。

1.4 统计学方法

应用SPSS 22.0软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,多组间比较行方差检验(F 检验),进一步两两比较行 $s-nkq$ 检验;计数资料均以 $n(\%)$ 描述,行 χ^2 检验;采用Spearman法分析牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达与CP病情严重程度的相关性;采用多因素Logistic分析牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达与CP预后不良的关系,并以受试者工作特性曲线(ROC)分析牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA对CP预后不良的预测效能; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CP组与健康对照组牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达情况

牙龈组织中TLR4、TLR9及IL-35 mRNA水平比较,均重度组 $>$ 中度组 $>$ 轻度组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达与CP病情严重程度的相关性

Spearman相关分析显示,CP患者病情严重程度与牙龈组织TLR4($r=0.592$)、TLR9($r=0.613$)及IL-35 mRNA($r=0.545$)呈正相关($P < 0.05$)。

表1 CP组与健康对照组牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TLR4 mRNA	TLR9 mRNA	IL-35 mRNA
重度组	30	4.86 \pm 1.28 ^{abc}	3.92 \pm 1.33 ^{abc}	2.85 \pm 0.98 ^{abc}
中度组	40	3.99 \pm 1.53 ^{ab}	2.83 \pm 1.18 ^{ab}	2.33 \pm 0.85 ^{ab}
轻度组	44	2.94 \pm 1.30 ^a	1.84 \pm 0.79 ^a	1.42 \pm 0.44 ^a
健康对照组	50	0.99 \pm 0.02	1.01 \pm 0.01	0.99 \pm 0.03
F 值		86.945	72.936	69.025
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与轻度组比较,^b $P < 0.05$;与中度组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.3 单因素分析CP患者预后不良的影响因素

预后良好组与不良组在吸烟史、糖尿病,牙龈组织中TLR4、TLR9以及IL-35 mRNA表达上的比较,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表2。

表2 单因素分析CP患者预后不良的影响因素 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

因素	n	预后良好组 ($n=79$)	预后不良组 ($n=35$)	χ^2/t 值	P 值
年龄(岁)				0.568	0.451
>45	43	28(35.44)	15(42.86)		
≤ 45	71	51(64.56)	20(57.14)		
性别				0.012	0.912
男	61	42(53.16)	19(54.29)		
女	53	37(46.84)	16(45.71)		
吸烟史				4.860	0.028
有	54	32(40.51)	22(62.86)		
无	60	47(59.49)	13(37.14)		
糖尿病				5.721	0.017
有	59	35(44.30)	24(68.57)		
无	55	44(55.70)	11(31.43)		
每日刷牙次数(次)				0.387	0.534
≥ 2	70	50(63.29)	20(57.14)		
< 2	44	29(36.71)	15(42.86)		
刷牙时间(min)				2.231	0.135
> 3	51	39(49.37)	12(34.29)		
≤ 3	63	40(50.63)	23(65.71)		
TLR4 mRNA		3.49 \pm 1.30	4.54 \pm 1.22	4.052	<0.001
TLR9 mRNA		2.43 \pm 1.15	3.42 \pm 1.08	4.318	<0.001
IL-35 mRNA		1.90 \pm 0.65	2.60 \pm 0.72	5.130	<0.001

2.4 CP患者预后不良的多因素分析

以CP患者预后不良为因变量,行多因素回归分析。结果显示,有吸烟史,有糖尿病,牙龈组织中TLR4、TLR9以及IL-35 mRNA表达上调均为CP预后不良的独立危险因素(均 $P < 0.05$)。见表3。

2.5 牙龈组织TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达对CP患者预后不良的预测效能

ROC曲线显示,牙龈组织中TLR4、TLR9及IL-35 mRNA三者联合检测CP预后不良的曲线下面积(AUC)为0.870,优于单一检测($P < 0.05$)。见表4、图1。

表3 CP患者预后不良的多因素分析

因素	赋值	β 值	<i>S.E</i> 值	<i>Wald</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
吸烟史	有=1, 无=0	0.791	0.254	9.698	2.206	1.341~3.629	0.002
糖尿病	有=1, 无=0	0.673	0.182	13.674	1.960	1.372~2.800	<0.001
TLR4 mRNA	连续变量	0.697	0.202	11.906	2.008	1.351~2.983	<0.001
TLR9 mRNA	连续变量	0.542	0.177	9.377	1.719	1.215~2.433	0.002
IL-35 mRNA	连续变量	0.621	0.215	8.343	1.861	1.221~2.836	0.004

表4 牙龈组织 TLR4、TLR9 及 IL-35 mRNA 表达对 CP 患者预后不良的预测效能

检测指标	最佳截断值	AUC	95% <i>CI</i>	敏感度	特异度	<i>P</i> 值
TLR4 mRNA	3.945	0.738	0.638~0.838	0.696	0.714	<0.001
TLR9 mRNA	2.955	0.738	0.639~0.837	0.684	0.686	<0.001
IL-35 mRNA	2.125	0.765	0.669~0.861	0.658	0.743	<0.001
联合检测		0.870	0.799~0.941	0.823	0.829	<0.001

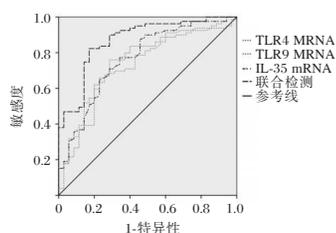


图1 CP患者预后不良的ROC曲线分析

3 讨论

在过去数年间,CP带来的全球疾病负担逐渐加重。数据显示,2019年,全球牙周炎患者人数约高达11亿^[8]。为了促进CP诊断及病情评估,改善患者预后,探索更多、更高效的生物标志物或指标组合以作为临床评估的补充信息,显得尤为重要。

本研究结果提示牙龈组织中TLR4、TLR9及IL-35 mRNA表达上调可能与CP的发生及进展紧密相关。研究发现,除牙周致病菌中多种毒力因子的直接破坏作用外,大多数牙周组织的破坏主要由宿主对感染的持续性免疫炎症反应引起^[9]。尽管宿主免疫反应可一定程度抑制牙周致病菌在健康个体中的定植和感染,但持续性的免疫亢进却可能成为CP发病的驱动机制。TLRs是一类模式识别受体,也是机体天然免疫调控的关键因素。在CP中,TLR家族中的TLR4可特异性识别牙周致病菌中的活性物质脂多糖,并进一步激活NF- κ B等信号通路以促进炎症介质的募集和聚集,从而扩大炎症反应,加剧牙周组织损伤^[10]。另一方面,TLR4信号还被发现在CP诱导的骨破坏中发挥重要作用,并主要通过打破成骨细胞与破骨细胞间的协调平衡,进而影响牙周骨稳态^[11]。此外,除了TLR4,TLR家族中的另一重要成员TLR9也被认为

与CP的进展密切相关。在牙周致病菌诱导的机体炎症中,TLR9可以特异性识别病原菌DNA中的CpG寡聚脱氧核苷酸结构以实现先天免疫;但与TLR4不同的是,TLR9的下游信号主要为丝裂原活化蛋白激酶以及干扰素受体因子等。研究发现,在CP中,TLR9可增强或影响其他TLRs的效能,并被证实可调节由TLR2和TLR4所触发的炎症级联反应^[12]。可见,在CP过程中,TLR4、TLR9等传感器之间可能存在串扰作用,二者协同促进了CP中炎症级联的发生及进展。IL-35主要由调节性T细胞产生,是IL-12细胞因子家族成员之一,其在慢性炎症、自身免疫性疾病等多种免疫相关疾病中均发挥抑制因子作用。研究显示,IL-35可阻碍Th17细胞的分化并抑制IL-17合成;而IL-17则被发现在CP患者血清、牙龈沟液和唾液中浓度异常升高,并可诱导趋化因子释放来促进骨吸收和炎症发生^[13]。故牙龈组织中IL-35表达上调,可能是机体预防牙周病的一种保护机制。可见,TLR4、TLR9及IL-35均是参与CP进展的关键作用因子,对其水平进行监测可一定程度反应CP病情,并作为临床早期筛查以及预后评估的重要生物指标。

此外,本研究多因素分析显示,牙龈组织TLR4、TLR9以及IL-35 mRNA表达上调均为CP预后不良的独立危险因素,表明这些指标在牙龈组织中的表达紊乱也可能与CP患者的不良预后情况密切相关。分析原因可能为,高TLR4、TLR9以及IL-35表达均提示患者机体炎症紊乱更为严重,而持续高炎症反应状态除了可促进病情进展外,还会进一步加剧牙骨质流失、牙槽骨吸收等特征性组织破坏现象,而这些症状加剧在影响疗效、增大治疗风险的同时,也使得CP预后复发风险显著上升。本研究也应用ROC曲线进一步分析以上指标对CP预后不良的预测效能,结果显示,联合检测特异性、敏感度均更优。另外,多因素分析还表明,吸烟史、糖尿病也均与CP预后不良相关。分析原因,烟中的尼古丁等有毒物质可能导致牙周袋内微环境发生异变,从而有利与某些牙周致病细菌的

再次寄生与生长^[14];而糖尿病患者则因机体代谢紊乱而导致免疫功能降低,对口腔内致病菌的抗侵袭能力不足,故病情也更易反复^[15]。因此,临床防治中可加强对此类患者的重点关注,并进行针对性的防护及治疗方案调整,从而改善患者疗效及预后。

综上,TLR4、TLR9及IL-35 mRNA在CP患者牙龈组织中表达异常上调,且三者联合检测对CP预后不良具备较好预测价值。但本研究样本小,可能导致试验数据偏倚,后续需扩大试验规模并深化开展相关研究,以获取更精准结论。

参考文献

- [1] 张芮,刘怡,李善红.慢性牙周炎患者牙周维护治疗依从性调查及影响因素分析[J].华南预防医学,2024,50(8):736-738+742.
- [2] Zhang L, Duan M, Pu X, et al. GroEL triggers NLRP3 inflammasome activation through the TLR/NF- κ B p-p65 axis in human periodontal ligament stem cells[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2024,56(9):1340-1351.
- [3] 刘莉,戈春城,黄婧.慢性牙周炎患者龈沟液中IL-35、IL-1 β 及IFN- γ 的表达与临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(9):1628-1631.
- [4] Hassan SS, Abdelkawy M, Shaker OG, et al. IL-39 and IL-35 gingival crevicular fluid levels in diabetic patients with generalized periodontitis[J]. Clin Oral Investig, 2024, 28(2):124.
- [5] 中华口腔医学会牙周病学专业委员会.重度牙周炎诊断标准及特殊人群牙周病治疗原则的中国专家共识[J].中华口腔医学杂志,2017,52(2):67-71.
- [6] 曹采方.牙周病学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,2003:95-126.
- [7] (英)克拉里修,(英)图奈特,(美)金柯.牙周病诊疗指南[M].潘亚萍,主译.沈阳:辽宁科学技术出版社,2015,12-15
- [8] Tian H, Chen H, Yin X, et al. CORM-3Inhibits the Inflammatory Response of Human Periodontal Ligament Fibroblasts Stimulated by LPS and High Glucose [J]. J Inflamm Res, 2024,17:4845-4863.
- [9] Xie H, Chen S, Han X, et al. Impact of periodontal therapy on oral bacterial composition in individuals diagnosed with advanced periodontal disease[J].J Med Microbiol, 2024,73(10).
- [10] Li X, Ji L, He S, et al. NLRP3-mediated periodontal ligament cell pyroptosis promotes root resorption[J]. J Clin Periodontol, 2024,51(4):474-486.
- [11] Pan L, She H, Hu Y, et al. Toll-like receptor 4 deficiency affects the balance of osteoclastogenesis and osteoblastogenesis in periodontitis[J]. Int Immunopharmacol, 2024,137:112500.
- [12] Lim Y, An SJ, Kim HH, et al. Effects of extracellular vesicles derived from oral bacteria on osteoclast differentiation and activation[J]. Sci Rep, 2022,12(1):14239.
- [13] Altaca M, Cebesoy EI, Kocak-Oztug NA, et al. Interleukin-6, -17, and -35levels in association with clinical status in stage III and stage IV periodontitis: a cross-sectional study [J].BMC Oral Health, 2024,24(1):1015.
- [14] Sinha A, Sah S, Pant M, et al. The impact of electronic cigarette use on periodontitis and periodontal outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Oral Health, 2024,24(1):1197.
- [15] Gasmi A, Noor S, Dadar M, et al. Periodontitis Continuum: Antecedents, Triggers, Mediators, and Treatment Strategies [J]. Curr Med Chem, 2024,31(41):6775-6800.

(上接第732页)

参考文献

- [1] Li J, Gao M, Zhang M, et al. Treatment of atrial fibrillation: a comprehensive review and practice guide [J]. Cardiovasc J Afr, 2020, 31(3): 153-158.
- [2] 徐建芳,张恒超.导管射频消融术治疗59例房颤性心脏病心功能改善的临床体会 [J].浙江创伤外科,2023,28(3):480-482.
- [3] Staerk L, Sherer JA, Ko D, et al. Atrial Fibrillation: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Outcomes [J]. Circ Res, 2017, 120(9): 1501-17.
- [4] Ma H, Jiang H, Feng J, et al. Angiotensin Receptor Blocker and Calcium Channel Blocker Preventing Atrial Fibrillation Recurrence in Patients with Hypertension and Atrial Fibrillation: A Meta-analysis [J]. Cardiovasc Ther, 2021, 2021.
- [5] 丁胜楷,王邦宁.血管紧张素受体拮抗剂防治心房颤动的应用进展 [J].安徽医学,2011,32(3):383-385.
- [6] Li Q, Fang Y, Peng D, et al. Sacubitril/valsartan reduces susceptibility to atrial fibrillation by improving atrial remodeling in spontaneously hypertensive rats [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 952.
- [7] Dennis HL, Nicholas JS, Darren JK, et al. Atrial arrhythmia in ageing spontaneously hypertensive rats: unraveling the substrate in hypertension and ageing[J]. PLoS One, 2017, 8(8).
- [8] Klesen A, Jakob D, Emig R, et al. Cardiac fibroblasts: Active players in (atrial) electrophysiology? [J]. Herzschriftmacherther Elektrophysiol, 2018, 29(1).
- [9] Makkar KM, Sanoski CA, Spinler SA. Role of angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers, and aldosterone antagonists in the prevention of atrial and ventricular arrhythmias[J]. Pharmacotherapy, 2009, 29(1).
- [10] Humphries KH, Kerr CR, Steinbuch M, et al. Limitations to antiarrhythmic drug use in patients with atrial fibrillation [J]. CMAJ, 2004, 171(7).
- [11] Teresa MS, Brasilina C, Maria LM, et al. Atrial fibrillation and arterial hypertension: A common duet with dangerous consequences where the renin angiotensin - aldosterone system plays an important role[J]. Int J Cardiol, 2016, 206.
- [12] 张翠平,简玉华,姚洁,等.高血压伴阵发性房颤给予胺碘酮及肾素-血管紧张素-醛固酮系统拮抗剂的疗效观察 [J].中国合理用药探索,2017,14(8):5-9.

三黄熟艾汤通过 PIK3CA 抑制 PI3K-AKT-MTOR 信号轴激活细胞自噬保护肠上皮屏障的机制研究

刘阿梅 曹明月 张景萍*

[摘要] **目的** 探究三黄熟艾汤通过磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (PIK3CA) 抑制磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (AKT)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号轴激活细胞自噬保护肠上皮屏障的机制。**方法** 将人结肠上皮 NCM-460 细胞接种于 3 块 96 孔板上, 设为空白组、模型组和用药组 3 组, 每组各分为对照 (无其他处理)、PIK3CA 过表达 (转染 PIK3A1 过表达载体)、PIK3CA 过表达且 mTORC 抑制 (增加雷帕霉素处理)、PIK3CA 过表达且自噬诱导 (增加自噬诱导剂处理)、PIK3CA 抑制 (转染 PIK3A1 抑制载体)、PIK3CA 抑制且 mTORC 激活 (增加 mTORC 激活剂 MHY1485 处理)、PIK3CA 抑制且自噬抑制 (增加自噬抑制剂 3-MA 处理) 7 个亚组, 通过实时定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR)、蛋白印迹试验 (WB) 检测 PIK3CA、PI3K-AKT-MTOR 信号轴、自噬分子的表达情况, 并观察其细胞活力, 分析三黄熟艾汤通过调控 PIK3CA 抑制 PI3K-AKT-MTOR 信号轴激活细胞自噬保护肠上皮屏障中的相关作用点。**结果** 人结肠上皮 NCM-460 细胞 PIK3CA mRNA、AKT mRNA、P-AKT mRNA、mTOR mRNA、P-mTOR mRNA 的相对表达量均呈空白组 < 用药组 < 模型组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。WB 法检测结果显示 AKT、P-AKT、mTOR、P-mTOR 蛋白、LC3-I 与 LC3-II 的比值、自噬相关蛋白 P62、自噬相关蛋白 Beclin1 的表达均呈空白组 < 用药组 < 模型组 ($P < 0.05$)。抑制 PIK3CA 后空白组的细胞存活率高于用药组和模型组, 过表达 PIK3CA 后 3 组的细胞存活率呈模型组 < 空白组 < 用药组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。过表达 PIK3CA 后人结肠上皮 NCM-460 细胞的 AKT mRNA、P-AKT mRNA、mTOR mRNA 和 P-mTOR mRNA 相对表达量呈用药组 < 空白组 < 模型组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); WB 法检测结果显示 LC3-I 与 LC3-II 的比值、自噬相关蛋白 P62、自噬相关蛋白 Beclin1 的表达均呈用药组 < 空白组 < 模型组 ($P < 0.05$)。PIK3CA 过表达且 mTORC 抑制、PIK3CA 抑制且自噬抑制时, 空白组的细胞存活率均高于用药组和模型组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 三黄熟艾汤可以有效抑制 PIK3CA 的表达从而降低 PI3K-AKT-MTOR 信号轴激活细胞自噬, 从而保护肠上皮屏障。

[关键词] 三黄熟艾汤; 磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α ; 磷脂酰肌醇-3-羟激酶; 蛋白激酶 B; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 细胞自噬; 肠上皮屏障

Study on the mechanism of Sanhuang Shuai Decoction inhibiting PI3K-AKT-MTOR signaling axis through PIK3CA to activate cell autophagy and protect intestinal epithelial barrier

LIU Amei, CAO Mingyue, ZHANG Jingping*

North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, 637000

[ABSTRACT] **Objective** To explore the mechanism by which Sanhuangshuai Decoction inhibits the activation of autophagic protection of intestinal epithelial barrier by phosphatidylinositol 4, 5-diphosphate 3-kinase catalytic subunit α (PIK3CA) on the signaling axis of phosphatidylinositol 3-hydroxykinase (PI3K) -protein kinase B (AKT) -mammalian target of rapamycin (mTOR). **Methods** Human colon epithelial CNM-460 cells were inoculated on 3 96-well plates, which were divided into the blank group, model group and drug group. Each group was divided into control (no other treatment), PIK3CA overexpression (transfected PIK3A1 overexpression vector), PIK3CA overexpression and mTORC inhibition (increased rapamycin treat-

基金项目:四川省自然科学基金(面上项目)(2022NSFSC0588)

作者单位:川北医学院,四川,南充 637000

*通信作者:张景萍, E-mail: zjp_1215@163.com

ment), PIK3CA overexpression and autophagy induction (increased autophagy inducer treatment), PIK3CA inhibition (transfected PIK3API inhibitory vector), and PIK3CA inhibition and mTORC activation (increased mTORC activator MHY1485 treatment), PIK3CA inhibition and autophagy inhibition (increased autophagy inhibitor 3-MA treatment) were 7 subgroups. Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blots were used to detect the expression of PIK3CA, PI3K-AKT-MTOR signal axis and autophagy molecules, and observe their cell viability. The relevant action points of Sanhuang Shuai Decoction in inhibiting PI3K-AKT-MTOR signaling axis by regulating PIK3CA and activating autophagy to protect intestinal epithelial barrier were analyzed. **Results** The relative expression levels of PIK3CA mRNA, AKT mRNA, P-AKT mRNA, mTOR mRNA and P-mTOR mRNA in human colon epithelial CNM-460 cells were all in the order of blank group < drug group < model group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). Western blot results showed that AKT, p-Akt, mTOR, p-mTOR protein, LC3-I/LC3-II ratio, autophagy associated protein P62 and autophagy associated protein Beclin1 expression were all in blank group < medication group < model group ($P < 0.05$). After inhibiting PIK3CA, the cell survival rate of the blank group was higher than that of the medication group and the model group. After overexpressing PIK3CA, the cell survival rate of the 3 groups was model group < blank group < medication group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The relative expression levels of AKT mRNA, p-Akt mRNA, mTOR mRNA, and P-mTOR mRNA in the colon epithelial CNM-460 cells of the descendants overexpressing PIK3CA were also statistically significant ($P < 0.05$). Western blot results showed that the ratio of LC3-I to LC3-II, the expression of autophagy associated protein P62, and the expression of autophagy associated protein Beclin1 were all in the treatment group < blank group < model group ($P < 0.05$). When PIK3CA was overexpressed and inhibited by mTORC, leading to the inhibition of autophagy, the cell survival rate of the blank group was higher than that of the medication group and model group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Sanhuang Shuai Decoction can effectively inhibit the expression of PIK3CA, reduce the activation of autophagy by the PI3K-AKT-MTOR signaling axis, and protect the intestinal epithelial barrier.

[KEY WORDS] Sanhuang cooked Aitang; PIK3CA; PI3K; AKT; mTOR; Intestinal epithelial barrier

随着饮食文化的改变,炎症性肠病的发病率在全球呈迅速上升趋势,加重了公共医疗服务的负担^[1]。目前多种药物已在临床中广泛应用,能够有效减轻患者的临床症状,然而,这些治疗手段尚无法达成根治目的^[2]。在全球范围内,针对此类疾病的根治药物依然匮乏,因此,研发新型药物的需求变得愈发紧迫。三黄熟艾汤是《类证活人书》中记载的一种治疗时行毒痢的汤药,可用于临床相关肠胃疾病的治疗,但目前对于其在炎症性肠病中的相关机制仍有待探究。目前临床的相关研究^[3]显示,炎症性肠病发病的主要诱因之一是肠上皮屏障的破坏;最近研究^[4-5]表明,自噬与炎症性肠病的发展高度相关,其中涉及到多种调控信号和调控分子的影响,其中磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α Phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha, PIK3CA) 调控的磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (Phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (Protein kinase B, AKT)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (Mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号轴是其主要的激活通道。基于此,本研究拟通过观察三黄熟艾汤对 PIK3CA 及

其调控的 PI3K-AKT-MTOR 信号轴激活细胞自噬过程中相关调控分子的表达影响,确定三黄熟艾汤保护肠上皮屏障的相关调控机制。

1 材料与方法

1.1 研究材料

人结肠上皮 NCM-460 细胞。(iCell-h373, 赛百康)

1.2 方法

1.2.1 分组及培养方案

细胞复苏后采用 RPMI1640 (10% 胎牛血清, 1% 青霉素-链霉素双抗), 于恒温培养箱 (温度 37℃、5% CO₂、湿度 70%~80%) 中进行培养。取对数生长期的人结肠上皮 NCM-460 细胞进行培养 24 h 后, 吸走完全培养基, 采用 PBS 清洗三次后分为空白组、模型组和用药组 3 组, 每组各分为对照 (无其他处理)、PIK3CA 过表达 (转染 PIK3API 过表达载体)、PIK3CA 过表达且 mTORC 抑制 (增加雷帕霉素处理)、PIK3CA 过表达且自噬诱导 (增加自噬诱导剂处理)、PIK3CA 抑制 (转染 PIK3API 抑制载体)、PIK3CA 抑制且 mTORC 激活 (增加

mTORC 激活剂 MHY1485 处理)、PIK3CA 抑制且自噬抑制(增加自噬抑制剂 3-MA 处理)7 个亚组,每个大组分别接种于 3 块 96 孔板中,每个亚组均培养 9 孔,每组共接种 63 孔。

空白组采用 1 mL 不含血清的 RPMI1640 培养基进行培养;模型组采用 1 mL 不含血清的 DMEM 培养基+100 ng/mL 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)进行培养 24 h 构建体外炎症模型;用药组采用不含血清的 DMEM 培养基+100 ng/mL LPS+三黄熟艾汤(药物剂量为 1.6 mg/mL)1 mL 进行培养。三黄熟艾汤药制作方法:黄芩、黄连、黄柏各 9 g,熟艾 3 g,采用 200 mL 蒸馏水进行回流提取 1 小时,共 3 次,并采用旋转蒸发器进行浓缩,直至含生药浓度为 80 mg/mL 后置于 4℃ 保存。

1.2.2 PIK3CA 的过表达和抑制处理

人结肠上皮 NCM-460 细胞 PIK3CA 处理操作为:通过构建 305-PIK3CA 质粒后,以 Lipofectamine 2000 转染试剂分别转染 PIK3API 过表达载体和抑制载体于 NCM-460 细胞 48 h 后,分别筛选得到稳定的 PIK3CA 的过表达和抑制细胞。

1.2.3 PIK3CA 及 PI3K-AKT-MTOR 信号通路的检测

采用 trizol 法进行总 RNA 的提取,并经逆转录合成 cDNA 后,采用定量实时定量聚合酶链式反应(Real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)进行检测。参数如下:95℃ 30 s,95℃ 10 s,60℃ 30 s,共 40 个循环。以 GAPDH 为内参,检测 3 孔并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算,取平均值得到 PIK3CA、PI3K-AKT-TOR 信号通路[AKT、磷酸化(phosphorylation, P)-AKT、mTOR、P-mTOR]的 mRNA 的表达水平。具体引物序列见表 1。

1.2.4 蛋白印迹试验(Western blot, WB)检测

取部分样品采用 RIPA 细胞裂解液后离心(12 000 r/min)25 min 后收集上清液,加入上样缓冲液并于沸水中加热变性 5 min,冷却后稀释,采用酶标仪进行浓度检测,检测步骤根据说明书进行,检测 3 孔并取得平均值,得到 PIK3CA、PI3K-AKT-MTOR 信号通路、自噬分子[人微管相关蛋白轻链 3 (Microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)-I 与 LC3-II 的比值、自噬相关蛋白 P62、自噬相关蛋白 Beclin1]的水平。另取部分样品进行 SDS-PAGE 蛋白凝胶电泳,以 GAPDH 为内参,采用 Image Lab5.0 软件进行图像分析处理。

表 1 引物序列

基因	引物序列
PIK3API	正向:5'-AT-CACCCGAAGACAGAGAGA-3' 反向:5'-GGTAACCT-CAGGGACTTCATTATC-3'
AKT	正向:5'-ATGGACTTCCGGTCAGGTTCA3' 反向:5'-GCCCTTGCCAGTAGCTTCA-3'
P-AKT	正向:5'-ATGAGCGACGTGGCTATTGTGAAG-3' 反向:5'-GAGGCCGTCAGCCACAGTCTGGAT-3'
mTOR	正向:5'-CCTGACCCTGACATTTCGCTAC-3' 反向:5'-CAATCCCCTGTGCTCCAAC-3'
P-mTOR	正向:5'-CTTATGGTGCGGTCCCTTGT-3' 反向:5'-GGTCACCTGAGGGTGAAGT-3'
GAPDH	正向:5'-GGTG-GTCTCCTCTGACTTCAACA-3' 反向:5'-GTTGCTG-TAGCCAAATTCGTTGT3'

1.2.5 细胞活力检测

采用流式细胞仪进行细胞存活率检测,检测 3 孔并取得平均值。计算公式:细胞存活率(%)=[(实验孔-对照孔)/(对照孔)]×100%;

1.3 统计学方法

所得数据均采用 SPSS 26.0 处理,组间计数单位以 $n(\%)$ 表示,行卡方检验;计量单位以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,行 t 检验; $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组的 PIK3CA、PI3K-AKT-MTOR 信号通路及自噬分子的表达情况比较

用药组、模型组、空白组的 PIK3CA mRNA、AKT mRNA、P-AKT mRNA、mTOR mRNA、P-mTOR mRNA 相对表达量均呈空白组 < 用药组 < 模型组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 3 组的 PIK3CA、PI3K-AKT-MTOR 信号通路及分子的表达情况($\bar{x} \pm s$)

项目	用药组 (n=3)	模型组 (n=3)	空白组 (n=3)	F 值	P 值
PIK3CA mRNA	1.16±0.10	1.48±0.31 ^a	0.77±0.07 ^{ab}	11.384	<0.001
AKT mRNA	0.87±0.08	1.54±0.16 ^a	0.69±0.05 ^{ab}	52.339	<0.001
P-AKT mRNA	0.84±0.09	1.24±0.21 ^a	0.60±0.08 ^{ab}	16.055	<0.001
mTOR mRNA	0.68±0.10	1.08±0.22 ^a	0.47±0.09 ^{ab}	12.997	<0.001
P-mTOR mRNA	0.58±0.06	1.04±0.17 ^a	0.42±0.08 ^{ab}	23.969	<0.001

注:与用药组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

WB 法检测结果显示 AKT、P-AKT、mTOR、P-mTOR、LC3-I 与 LC3-II 的比值、自噬相关蛋白 P62、自噬相关蛋白 Beclin1 的表达均呈用药组 < 空白组 < 模型组($P < 0.05$)。

2.2 抑制或过表达 PIK3CA 后 3 组的细胞活力、PI3K-AKT-MTOR 信号通路和自噬分子的表达情况比较

抑制 PIK3CA 后空白组的细胞存活率高于用药

组和模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$);用药组和模型组的细胞存活率、3组的AKT mRNA、P-AKT mRNA、mTOR mRNA和P-mTOR mRNA相对表达量差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

WB法检测结果显示LC3-I与LC3-II的比值、自噬相关蛋白P62、自噬相关蛋白Beclin1的表达均无明显差异($P>0.05$)。

过表达PIK3CA后3组的细胞存活率呈模型组<空白组<用药组;AKT mRNA、P-AKT mRNA、mTOR mRNA和P-mTOR mRNA相对表达量呈用药组<空白组<模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

WB法检测结果显示LC3-I与LC3-II的比值、自噬相关蛋白P62、自噬相关蛋白Beclin1的表达均呈用药组<空白组<模型组($P<0.05$)。

2.3 抑制或过表达PIK3CA并干预PI3K-AKT-mTOR信号轴后3组的细胞活力比较

PIK3CA过表达且自噬诱导、PIK3CA抑制且mTOR激活时3组的细胞存活率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);PIK3CA过表达且mTORC抑制、PIK3CA抑制且自噬抑制时,用药组及模型组的细胞存活率差异无统计学意义($P>0.05$);空白组的细胞存活率均高于用药组和模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表3 抑制或过表达PIK3CA后3组的细胞活力、PI3K-AKT-MTOR信号通路分子的表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

项目	抑制PIK3CA			F值	P值
	用药组(n=3)	模型组(n=3)	空白组(n=3)		
抑制PIK3CA					
细胞存活率(%)	89.32±4.03	87.09±3.64	106.76±4.18 ^{ab}	22.231	<0.001
AKT mRNA	0.24±0.06	0.25±0.09	0.25±0.03	0.012	0.988
P-AKT mRNA	0.23±0.07	0.29±0.09	0.24±0.07	0.311	0.744
mTOR mRNA	0.15±0.03	0.17±0.05	0.15±0.04	0.240	0.794
P-mTOR mRNA	0.12±0.02	0.15±0.04	0.11±0.03	1.345	0.329
过表达PIK3CA					
细胞存活率(%)	78.51±2.03	59.98±1.64 ^a	67.32±2.08 ^{ab}	70.368	<0.001
AKT mRNA	0.93±0.12	1.94±0.28 ^a	1.37±0.20 ^{ab}	17.379	0.003
P-AKT mRNA	0.95±0.07	1.46±0.15 ^a	1.17±0.06 ^{ab}	18.997	0.003
mTOR mRNA	0.81±0.10	1.39±0.15 ^a	1.04±0.07 ^{ab}	20.527	0.002
P-mTOR mRNA	0.76±0.09	1.29±0.16 ^a	1.02±0.12 ^{ab}	13.141	0.006

注:与用药组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$ 。

表4 抑制或过表达PIK3CA并干预PI3K-AKT-MTOR信号轴后3组的细胞活力比较($\bar{x}\pm s$)

组别	孔数	细胞存活率(%)			
		PIK3CA过表达且mTORC抑制	PIK3CA过表达且自噬诱导	PIK3CA抑制且mTORC激活	PIK3CA抑制且自噬抑制
用药组	3	93.56±1.05	72.52±3.80	75.03±3.42	92.85±0.96
模型组	3	91.52±2.58	71.38±3.86	74.01±3.35	91.08±2.09
空白组	3	97.03±1.12 ^{ab}	74.09±2.97	79.09±2.78	96.12±1.54 ^{ab}
F值		7.749	0.437	2.121	7.680
P值		0.022	0.665	0.201	0.022

3 讨论

炎症性肠病涵盖溃疡性结肠炎与克罗恩病两大类,肠道的首道防御线由单层上皮细胞构成,这些肠上皮细胞不仅肩负营养吸收的职责,还构筑起一道至关重要的粘膜屏障——即肠上皮屏障,用以抵御外来病原体的侵袭^[6]。炎症性肠病患者往往遭遇病程迁延不愈、症状反复发作的困扰,而肠上皮屏障的受损正是诱发此病的主要因素^[7]。此外,该屏障的损害还加剧了患者罹患结直肠癌的风险,对其健康构成了严重威胁^[8]。三黄熟艾汤作为治疗溃疡性结肠炎的经典方剂,其疗效显著,但其发挥

作用的内在机制至今尚未完全揭示。值得注意的是,自噬过程与肠道功能异常之间存在着复杂而微妙的联系,关于三黄熟艾汤如何具体参与肠上皮细胞的自噬更新修复过程,保护肠道粘膜免受损伤机制尚不清楚。

本研究结果显示,三黄熟艾汤可有效降低PIK3CA、PI3K-AKT-MTOR信号通路及自噬分子的表达,并提高LPS诱导的人结肠上皮NCM-460炎症细胞的细胞存活率。分别对PIK3CA、mTOR及自噬过程进行干预时,发现三黄熟艾汤对于其细胞存活率的影响较小。这表明三黄熟艾汤对于PIK3CA的调控作用较强,而对于AKT、mTOR等

信号通路靶点的调控作用较差,并非是通过 mTOR 等信号通路改善人肠上皮细胞的自噬作用。本研究团队前期研究通过运用网络药理学研究深入剖析了三黄熟艾汤中的中药成分及其关联的 246 个潜在作用靶点,初步研究结果显示,该方剂针对溃疡性结肠炎可能通过 108 个作用靶点起效;进一步对这些潜在靶点进行 KEGG 通路富集分析后,发现 PI3K-Akt 信号通路位列富集程度最高的前 10 条通路之中。此外,我们采用五种不同的算法各自筛选出了前 30 个关键基因,并在这些基因中确定了 27 个核心靶点,其中 PIK3CA 尤为突出,这暗示了三黄熟艾汤对 PIK3CA 的重要作用。

在调控肠上皮细胞自噬的过程中,多种复杂的信号通路协同作用,其中 mTOR 作为核心,扮演着抑制自噬的关键角色^[9-10]。而 PIK3CA 所调控的 PI3K/AKT/mTOR 通路,则是影响 mTOR 活性的一条重要途径^[11]。PI3K/AKT 信号通路作为近年发现的重要炎症反应相关通路,其核心组成部分为 PI3K 和 AKT 蛋白^[12]。此通路在肠道异常激活时,可引发炎症失控反应,进而导致结肠黏膜损伤^[13]。因此,此通路被认为是研究肠道性疾病的关键靶点。大量研究^[14-15]显示,阻断 PI3K/AKT 信号通路可以下调 MTOR 的表达,从而改善肠上皮细胞屏障,降低其自噬作用,进而减少炎症介质的表达水平,这种治疗策略可能在溃疡性结肠炎的防治中发挥重要作用。

此外,本研究前期课题小组对溃疡性结肠炎患者展开了深入的基因组学研究,其转录组分析的结果同样揭示在溃疡性结肠炎中,高表达的差异基因主要聚集在“PI3K-Akt 信号通路”等关键路径上。同时,代谢组学的观察结果显示,溃疡性结肠炎患者的肌醇水平显著降低。鉴于肌醇是 PI3K 的重要底物,笔者推测,这可能是由于 PIK3CA 的激活导致了肌醇的减少,而其代谢产物 PIP3 作为信号传递分子,可能进一步触发了下游效应蛋白的响应,从而可能是肠道炎症逐步加剧的一个潜在因素。

综上所述,三黄熟艾汤在治疗炎症性肠病方面的作用机制,主要是通过抑制 PIK3CA 来阻断 PI3K-AKT-MTOR 信号轴的激活,进而诱导细胞自噬的发生,促进肠上皮屏障的修复过程。这一作用不仅减少了肠上皮细胞的自噬性损伤,还增强了细胞膜的稳定性,提升了细胞的保护能力,并最终逆转了肠上皮细胞粘膜的损伤状态,从而实现了炎症性肠病的有效治疗。

参考文献

- [1] Lin D, Jin Y, Shao X, et al. Global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease, 1990-2021: Insights from the global burden of disease 2021 [J]. *Int J Color Dis*, 2024, 39(1):139-139.
- [2] Halee P, Lina K, Richard K. A Single-Center Study of Long-Term Effectiveness of Vedolizumab in Anti-TNF Refractory Pediatric Inflammatory Bowel Disease [J]. *JPGN reports*, 2023, 4(1):e276-e276.
- [3] Jiho S, Lu L, Lixia Z, et al. Porphyromonas gingivalis indirectly elicits intestinal inflammation by altering the gut microbiota and disrupting epithelial barrier function through IL9-producing CD4+T cells [J]. *Mol oral microb*, 2021, 37(2):42-52.
- [4] 侯晓婷,孟欢,薛佳辰,等.关于炎症性肠病发病机制的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(9):138-148.
- [5] He Y, Shen X, Peng H. Effects and Mechanisms of the Xianhecao-Huanglian Drug Pair on Autophagy-Mediated Intervention in Acute Inflammatory Bowel Disease via the JAK2/STAT3 Pathway [J]. *Biol Proced Online*, 2024, 26(1):27-27.
- [6] 钟玉婷,王志斌,张立超.天然小分子保护炎症性肠病中肠上皮紧密连接屏障的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(12):2205-2210.
- [7] Antonella F, Dora BP, WJK, et al. DNA methyltransferase 3A controls intestinal epithelial barrier function and regeneration in the colon [J]. *Nature Commun*, 2022, 13(1):6266-6266.
- [8] 曾铨,顾思臻,黄诗韵,等.基于信号通路探讨清热方药调控溃疡性结肠炎“炎癌转化”的研究进展[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2024, 32(2):170-175+180.
- [9] YingYa C, Yang Q, ZhongHan W, et al. The PLK1-mTOR Axis Regulates Autophagy to Prevent Intestinal Barrier Dysfunction During Sepsis [J]. *Am J pathol*, 2022, 193(3):296-312.
- [10] Li Y, Wang S, Gao X, et al. Octreotide Alleviates Autophagy by Up-Regulation of MicroRNA-101 in Intestinal Epithelial Cell Line Caco-2 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(4):1352-1363.
- [11] Prasad D, Baldelli E, Blais ME, et al. Functional activation of the AKT-mTOR signalling axis in a real-world metastatic breast cancer cohort [J]. *Brit J Canc*, 2024, (prepublish):1-12.
- [12] 李燕伟,尚利晓,樊冬生.姜黄素调节 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对 LPS 诱导的角膜基质细胞自噬的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2024, 40(10):2046-2051.
- [13] 王海强,张萌,熊丽,等.肠愈宁对溃疡性结肠炎大鼠 PI3K/AKT 信号通路作用机制的研究 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2023, 25(11):3736-3743.
- [14] 李华,王捷虹. PI3K/Akt 通路调控结直肠癌机制及中医药治疗研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(13):254-263.
- [15] 柳荣,王燕,朱向东,等.四神丸对脾肾虚型溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(4):16-23.

慢性牙周炎合并2型糖尿病牙龈组织中KLF4表达与炎症反应、成骨分化的关系分析

高巍朕^{1*} 王先锋² 张晓鹏³

[摘要] **目的** 探讨慢性牙周炎合并2型糖尿病患者牙龈组织中 Krüppel 样因子 4(KLF4)表达情况与外周血炎症反应以及成骨分化的关系。**方法** 选择2023年4月至2024年4月期间常州美呀植联口腔门诊部收治的100例慢性牙周炎合并2型糖尿病患者为病例组,将同期收治的100例牙周健康者为对照组。两组均采集牙龈组织标本并留取血清标本,采用免疫组化法检测牙龈组织中 KLF4 表达,以 ELISA 法测定血清白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)、白介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,实时荧光定量 PCR 检测牙龈组织中 Runt 相关转录因子 2(Runx2)、碱性磷酸酶(ALP)和 I 型胶原的 mRNA 表达水平。**结果** 病例组患者的牙龈组织中 KLF4 阳性表达率(32.0%)明显低于对照组(65.0%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。病例组患者牙龈组织 ALP、Runx2 和 I 型胶原 mRNA 表达水平及血清炎症因子 IL-10 明显低于对照组,而 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);病例组中的 KLF4 阳性表达患者 ALP、Runx2 和 I 型胶原 mRNA 及 IL-10 明显高于 KLF4 阴性患者,而 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 低于 KLF4 阴性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析显示,患者牙龈组织中 KLF4 阳性表达与 ALP、Runx2 和 I 型胶原 mRNA 及血清 IL-10 呈正相关($P < 0.05$),而与 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 呈明显负相关($P < 0.05$)。**结论** 慢性牙周炎合并2型糖尿病患者牙龈组织中 KLF4 呈低水平表达,且与炎症反应以及成骨分化密切相关。

[关键词] 慢性牙周炎; 2型糖尿病; 牙龈组织; Krüppel 样因子 4; 炎症反应; 成骨分化

Analysis of the relationship between the expression of KLF4 in gingival tissue of chronic periodontitis with type 2 diabetes and inflammatory reaction, osteogenic differentiation

GAO Weizhen^{1*}, WANG Xianfeng², ZHANG Xiaopeng³

(1. Department of Stomatology, Changzhou Meiya Zhilian Dental Hospital, Changzhou, Jiangsu, China, 213000; 2. Suzhou Yingbo Dental Clinic, Suzhou, Jiangsu, China, 215000; 3. Daqing Oilfield General Hospital Oral and Maxillofacial Department, 163000 Junior, Daqing, Heilongjiang, China, 163000)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the relationship between the expression of Krüppel like factor 4 (KLF4) in gingival tissue of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes and the inflammatory reaction in peripheral blood, as well as the osteogenic differentiation. **Methods** From April 2023 to April 2024, 100 patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes who were admitted to Changzhou Meiya Zhilian Oral Clinic were selected as the case group, and 100 healthy periodontal patients admitted during the same period were selected as the control group. Gingival tissue samples and serum samples were collected from both groups. The expression of KLF4 in gingival tissue was examined using immunohistochemistry, while the levels of serum interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) were measured by ELISA. The mRNA expression levels of Runt-related transcription factor 2 (Runx2), alkaline phosphatase (ALP), and type I collagen were assessed through real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** The positive expression rate of KLF4 in the gingival tissue of patients in the case group

基金项目:江苏省卫生厅预防医学科研课题(Y20220705)

作者单位:1.常州美呀植联口腔医院口腔科,江苏,常州213000

2.苏州英博口腔门诊部,江苏,苏州215000

3.大庆油田总医院口腔颌面,黑龙江,大庆163000

*通信作者:高巍朕, E-mail: 18324541371@163.com

(32.0%) was significantly lower than that in the control group (65.0%) ($P<0.05$). The expression levels of ALP, Runx2, and type I collagen mRNA in gingival tissue and serum inflammatory cytokine IL-10 in the case group were significantly lower than those in the control group, while the levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α were higher than those in the control group ($P<0.05$). Additionally, ALP, Runx2, type I collagen mRNA, and IL-10 were significantly higher in KLF4 positive patients than in KLF4 negative patients, while IL-1 β , IL-6, and TNF- α were lower in KLF4 negative patients ($P<0.05$). Furthermore, Pearson correlation analysis revealed a positive correlation between the positive expression of KLF4 in gingival tissue and ALP, Runx2, type I collagen mRNA, and serum IL-10 ($P<0.05$), while a significant negative correlation was observed with IL-1 β , IL-6, and TNF- α ($P<0.05$). **Conclusion** The expression level of KLF4 in the gingival tissue of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes is high and is closely related to inflammatory reactions and osteogenic differentiation.

[KEY WORDS] Chronic periodontitis; Type 2 diabetes; Gingival tissue; Krüppel like factor 4; Inflammatory response; Osteogenic differentiation

慢性牙周炎是一种普遍存在的口腔炎症性疾病,其主要特征为牙周组织的炎症以及牙槽骨吸收,导致牙齿松动及脱落,对患者的口腔健康和颌系统功能造成了严重损害^[1]。据统计^[2],中国超过80%的成年人不同程度的患有牙周病,其中牙周炎是造成成人牙齿脱落的主要原因。此外,糖尿病也被视为牙周病的危险因素,而牙周炎属于糖尿病的主要并发症之一^[3]。既往研究揭示了糖尿病如何影响牙周病的发展,当糖尿病患者处于慢性高血糖状态时,体内形成的糖基化终产物将刺激免疫系统释放炎症细胞因子,进而影响到破骨细胞的功能,破坏牙周支持组织和骨组织的完整性^[4]。Krüppel样因子4(Krüppel-like factor 4, KLF4)是一种具有锌指结构的转录因子,能够通过调控各种下游靶基因的转录表达,从而调节细胞的增殖、分化、侵袭和凋亡等过程^[5-6]。既往报道显示^[7],KLF4在骨细胞中异常高表达,提示其可能在成骨细胞的成骨分化过程中扮演着至关重要的角色。此外,KLF4也在巨噬细胞的极化过程以及先天免疫系统的调节中发挥了核心作用,从而直接调控如白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等诸多炎症因子^[8]。但其在慢性牙周炎合并2型糖尿病中的作用及与患者血清炎症因子和成骨分化的关系尚未见报道。因此,本研究旨在探讨慢性牙周炎合并2型糖尿病患者牙龈组织中KLF4表达水平与外周血炎症因子及成骨分化的关系,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2023年4月至2024年4月期间常州美牙

植联口腔门诊部收治的100例慢性牙周炎合并2型糖尿病患者作为研究对象(病例组)。纳入标准:①符合《牙周病学》^[9]中慢性牙周炎的诊断标准;②合并2型糖尿病;③年龄 ≥ 18 岁的成年患者;④留取牙龈组织标本;⑤知情且自愿签署研究同意书。排除标准:①合并口腔恶性肿瘤以及心肝肾等严重器官功能不全者;②合并血液或自身免疫性疾病者;③近期服用免疫抑制剂或抗炎药物等影响软组织再生、炎症反应的相关药物;④存在牙周手术禁忌症或近期接受口腔正畸手术治疗者。另选100名同期收治的牙周健康者作为对照组。病例组患者的牙龈组织取自牙周手术时切下的牙龈组织,对照组牙龈组织取自正畸拔牙的健康牙龈组织。两组研究对象的性别、年龄等基本资料无差异,具有可比性($P<0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法

1.2.1 免疫组化染色

经牙龈手术留取牙龈组织标本,福尔马林固定,利用梯度乙醇对本标本进行脱水,二甲苯透明,石蜡包埋以及制作3微米厚的切片,切片置于60摄氏度的烤箱烘烤两个小时,梯度脱水后以微波复液(Tris-EDTA缓冲液,pH为9.0)对切片进行微波修复。3%双氧水室温孵育十分钟,以激活抗原反应。加入一抗(稀释比例1:250)在4 $^{\circ}$ C下孵育过夜。之后加入非生物素二抗IgG室温孵育十五分钟。所有步骤间均用pH 7.4的PBS缓冲液冲洗3次,每次清洗持续五分钟。最后,样本进行DAB染色、苏木素复染、盐酸乙醇分化、脱水、透明化,并用中性胶封片后进行镜检。以PBS缓冲液作为阴性对照。在高倍镜视野($\times 200$)下,随机选取10个视野进行观察记录,由两名病理科医生进行双

盲法读片。染色范围:KLF4的阳性细胞率<10% (1分)、11%~50% (2分)、51%~75% (3分)、>75% (强阳性,4分)。未见染色则阳性细胞率为0 (0分,阴性)。染色强度:浅黄色(弱阳性,1分)、棕黄色(阳性,1分)、棕褐色(强阳性,3分)。阳性染色判断标准:(染色范围×染色强度)的积分 ≥ 4 分,<4分为阴性表达。

1.2.2 实时荧光定量PCR检测

严格遵循上海生工公司提供的总RNA抽提试剂盒以及M-MuLV逆转录酶试剂盒操作说明,对牙龈组织进行总mRNA提取及逆转录操作,获取所需的cDNA样本。采用ABI 7500实时荧光定量PCR仪,利用聚合酶链式反应(PCR)检测Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor, Runx2)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)和I型胶原的情况。所有引物均由上海生工生物工程有限公司提供。PCR扩增体系与步骤:总体体系为25 μ L,反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性5 min,每个循环包括95 $^{\circ}$ C变性30 s,58 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸1 min;共35个循环后72 $^{\circ}$ C延伸7 min)。然后将PCR扩增后的产品进行琼脂糖凝胶电泳分析。每个样品3个重复, β -actin作为内参基因,用灭菌的超纯水代替cDNA模板作为空白对照。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法来计算目标基因mRNA表达的相对浓度。

1.2.3 外周血炎症因子检测

外周血标本低速离心(3 000 r/min,离心半径8 cm,5 min)后分离血清,利用酶联免疫吸附(ELISA)双抗体夹心法检测患者血清IL-1 β 、IL-6、IL-10和TNF- α ,ELISA试剂盒购自江苏碧云天公司。

1.3 统计学方法

以SPSS 23.0统计分析数据。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相关性分析患者牙龈组织KLF4表达与炎症反应、成骨分化的关系。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间KLF4表达情况比较

病例组KLF4阳性表达率明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组间的血清炎症因子、成骨分化因子表达水平比较

病例组患者的牙龈组织ALP、Runx2和I型

表1 两组间KLF4表达情况比较 [$n(\%)$]

组别	n	KLF4阳性	KLF4阴性
病例组	100	32 (32.0)	68 (68.0)
对照组	100	65 (65.0)	35 (35.0)
χ^2 值		4.669	
P 值		<0.001	

胶原mRNA表达水平及血清炎症因子IL-10明显低于对照组,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平相比对照组显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组间的血清炎症因子、成骨分化因子表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	病例组 ($n=100$)	对照组 ($n=100$)	t 值	P 值
IL-1 β (pg/mL)	269.13 \pm 41.5	134.52 \pm 17.23	29.957	<0.001
IL-6 (pg/mL)	7.32 \pm 2.19	4.23 \pm 1.30	12.133	<0.001
IL-10 (pg/mL)	8.49 \pm 2.37	9.89 \pm 2.45	4.107	<0.001
TNF- α (pg/mL)	15.21 \pm 2.62	9.44 \pm 2.26	16.676	<0.001
ALP mRNA	1.95 \pm 0.46	3.12 \pm 0.73	13.560	<0.001
Runx2 mRNA	1.53 \pm 0.53	2.76 \pm 0.79	12.929	<0.001
I型胶原mRNA	1.62 \pm 0.24	3.91 \pm 0.82	26.802	<0.001

2.3 牙龈组织中KLF4阳性表达与炎症反应、成骨分化因子表达水平的关系

KLF4阳性表达的慢性牙周炎合并2型糖尿病患者牙龈组织中ALP、Runx2和I型胶原mRNA表达水平及血清炎症因子IL-10明显高于KLF4阴性组患者,而IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平相比KLF4阴性组患者显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 牙龈组织中KLF4阳性表达与炎症反应、成骨分化因子表达水平的关系

指标	KLF4阳性 ($n=32$)	KLF4阴性 ($n=68$)	t 值	P 值
IL-1 β (pg/mL)	189.46 \pm 32.45	306.62 \pm 41.9	22.107	<0.001
IL-6 (pg/mL)	4.23 \pm 1.16	8.77 \pm 1.07	28.768	<0.001
IL-10 (pg/mL)	9.17 \pm 2.06	7.04 \pm 2.21	7.050	<0.001
TNF- α (pg/mL)	12.54 \pm 2.79	16.47 \pm 2.81	9.925	<0.001
ALP mRNA	2.56 \pm 0.71	1.66 \pm 0.44	10.775	<0.001
Runx2 mRNA	1.89 \pm 0.53	1.36 \pm 0.29	8.773	<0.001
I型胶原mRNA	2.15 \pm 0.42	1.37 \pm 0.31	14.942	<0.001

2.4 牙龈组织中KLF4阳性表达与炎症反应、成骨分化因子表达水平的相关性分析

Pearson相关性分析结果显示,慢性牙周炎合并2型糖尿病患者牙龈组织中KLF4阳性表达与牙龈组织中ALP、Runx2和I型胶原mRNA表达水平及血清IL-10呈正相关($P < 0.05$),而与血清炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 呈明显负相关($P < 0.05$)。见表4。

表4 牙龈组织中 KLF4 阳性表达与炎症反应、成骨分化因子表达水平的相关性分析

指标	KLF4 阳性	
	r 值	P 值
IL-1 β (pg/mL)	-0.417	<0.001
IL-6(pg/mL)	-0.438	<0.001
IL-10(pg/mL)	0.231	0.012
TNF- α (pg/mL)	-0.397	<0.001
ALP mRNA	0.653	<0.001
Runx2 mRNA	0.482	<0.001
I 型胶原 mRNA	0.529	<0.001

3 讨论

慢性牙周炎是一种以口腔周围组织的破坏性病变为主要特征性疾病,其典型症状包括牙龈沟的形成以及牙龈沟壁的炎症反应。慢性牙周炎会导致牙槽骨的逐渐消减,进而引发牙齿的松动甚至脱落,对于成年人口腔健康的影响尤为显著。研究表明^[10],多种炎症介质如白介素和肿瘤坏死因子等都与牙周病的产生和发展密切相关。

KLF4 在人体组织和器官中的生物学角色至关重要,深度介入了炎症调控以及肾脏纤维化等诸多关键的病理进程^[11]。有研究发现^[12],KLF4 通过抑制 IL-6、IL-1 β 和 IL-10 基因启动子的转录能力,KLF4 能够降低 IL-6 和 IL-1 β 的表达水平,同时提升 IL-10 的表达量。此外,KLF4 还能调整 NF- κ B 的炎症反应途径,从而有效地缓解肠道、心脏肌肉组织以及血管内皮细胞的炎症状况^[13]。同时,KLF4 还具有调节巨噬细胞标志蛋白表达的能力,这有助于改变巨噬细胞的形态,并吸引来自骨髓的抑制性细胞(MDSCs),从而达到抗炎的效果^[14]。本研究结果发现,KLF4 阳性表达的慢性牙周炎合并 2 型糖尿病患者的血清促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达水平明显较低,而参与炎症和免疫抑制的细胞因子 IL-10 水平明显更高。且 Pearson 相关性分析显示,KLF4 阳性表达与促炎因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达水平显著负相关。提示慢性牙周炎合并 2 型糖尿病患者的牙龈组织中 KLF4 可能通过下调促炎因子的方式发挥抗炎功能。

KLF4,作为 Yamanaka 因子之一,在诱导多能干细胞以及胚胎干细胞重编程过程中扮演着关键角色,并且能够调节与干细胞相关的基因表达。此外,它还在多个细胞分化的过程中起到重要作用,例如上皮细胞、脂肪细胞和肌肉细胞等^[15]。而在骨发育中,研究发现 KLF4 与 RUNX2 共同作为

辅助因素,参与了激活潜在的增强子,并调控下游基因的活动,从而对骨骼细胞的分化以及骨骼的形成产生深刻影响^[16]。本研究结果显示,KLF4 阳性表达的慢性牙周炎合并 2 型糖尿病患者牙龈组织中 ALP、Runx2 和 I 型胶原 mRNA 表达水平明显高于 KLF4 阴性组患者,且 KLF4 阳性通过 Pearson 相关性分析被证明与成骨分化相关因子转录表达呈正相关。提示牙龈组织中呈 KLF4 阳性表达的慢性牙周炎合并 2 型糖尿病患者的成骨向分化能力进一步加强。

Runx2、ALP 以及 I 型胶原蛋白被视为骨骼发育初期的标志性基因。在成骨细胞成骨分化时,ALP 的表达会显著增强,将磷酸酯转化为磷酸根离子,从而推动细胞外基质中的矿物化进程,并进一步影响如牙齿和骨骼等钙化的生物组织的发展^[17]。此外,Runx2 作为骨骼发育过程中最早且特征最明显的标记基因,同时也起着调控其他与骨骼分化相关基因表达的作用,包括 ALP 和 I 型胶原蛋白。而 I 型胶原具有调节胶原分泌和成熟的作用,为矿物盐沉积和矿化提供空间。

综上所述,慢性牙周炎合并 2 型糖尿病患者牙龈组织中 KLF4 表达水平明显低于牙周健康者,且与患者外周血 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等促炎因子表达呈负相关,同时,KLF4 表达与成骨分化的早期标志基因 Runx2、ALP 和 I 型胶原转录表达水平密切正相关,提示 KLF4 参与牙周炎症反应以及成骨分化过程。

参考文献

- [1] Liu J, Ruan J, Weir MD, et al. Periodontal bone-ligament-cementum regeneration via scaffolds and stem cells [J]. *Cells*, 2019, 8(6): 537-560.
- [2] Chen MX, Zhong YJ, Dong QQ, et al. Global, regional, and national burden of severe periodontitis, 1990-2019: An analysis of the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *J Clin Periodontol*, 2021, 48(9): 1165-1188.
- [3] Wu CZ, Yuan YH, Liu HH, et al. Epidemiologic relationship between periodontitis and type 2 diabetes mellitus [J]. *BMC Oral Health*, 2020, 20(1): 204.
- [4] 王刚,孙澎,李娟,等.晚期糖基化终产物受体在 2 型糖尿病伴慢性牙周炎大鼠牙龈组织内皮细胞中的表达 [J]. *口腔疾病防治*, 2019, 27(7): 428-434.
- [5] Yap C, Mieremet A, de Vries CJM, et al. Six Shades of Vascular Smooth Muscle Cells Illuminated by KLF4 (Krüppel-Like Factor 4) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(11): 2693-2707.

(下转第 751 页)

sdEEG联合血清ZAG、NPY、miR-124对药物难治性癫痫的临床诊断价值

严胜利^{1*} 尹延肖² 王新平¹ 孔静¹ 张晨华³ 宋晓华⁴

[摘要] **目的** 探讨剥夺睡眠脑电图(sdEEG)联合血清锌 α 2糖蛋白(ZAG)、神经肽Y(NPY)、微小核糖核酸-124(miR-124)对药物难治性癫痫(DRE)的临床诊断价值。**方法** 选取2021年1月至2024年8月于邯郸市第一医院神经内科确诊的106例DRE患者为DRE组,另选取同期本院接诊的47名药物控制良好的癫痫患者为Control组,比较2组基线资料、sdEEG痫样放电阳性检出率、血清指标。使用多因素Logistic回归分析DRE发生的影响因素;利用受试者工作曲线(ROC)分析sdEEG联合血清ZAG、NPY、miR-124对DRE的临床诊断价值。**结果** DRE组患者癫痫病程 ≥ 10 年、发作频率 ≥ 5 次/年、全面发作、sdEEG痫样放电阳性比例高于Control组,发作缓解期 ≥ 5 年比例、血清ZAG、NPY、miR-124均低于Control组,差异有统计学意义($P < 0.05$);经多因素Logistic分析,可见癫痫病程 ≥ 10 年、发作频率 ≥ 5 次/年、癫痫发作形式为全面发作、sdEEG痫样放电阳性是DRE发生的独立危险因素,发作缓解期 ≥ 5 年、血清ZAG、NPY、miR-124升高是DRE发生的独立保护因素($P < 0.05$);sdEEG联合ZAG、NPY、miR-124诊断DRE的ROC曲线下面积(AUC)为0.978,高于单一诊断($P < 0.05$)。**结论** sdEEG及血清ZAG、NPY、miR-124与DRE的发生密切相关,四者联合检测对DRE具有一定诊断价值。

[关键词] 药物难治性癫痫;剥夺睡眠脑电图;血清锌 α 2糖蛋白;神经肽;微小核糖核酸

The clinical diagnostic value of sdEEG combined with ZAG, NPY and miR-124 in drug-resistant epilepsy

YAN Shengli^{1*}, YIN Yanxiao², WANG Xinping¹, KONG Jing¹, ZHANG Chenhua³, SONG Xiaohua⁴

(1. Shennei 4th Department; 2. The Second Department of Shennei; 3. The First Department of Shennei; 4. Department of Public Health, the First Hospital of Handan, Handan, Henan, China, 056002)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the clinical diagnostic value of sleep deprivation electroencephalogram (sdEEG) combined with serum zinc α 2 glycoprotein (ZAG), neuropeptide Y (NPY) and microRNA-124 (miR-124) in drug-resistant epilepsy (DRE). **Methods** A total of 106 patients diagnosed with DRE in the Department of Neurology at Handan First Hospital from January 2021 to August 2024 were selected as the DRE group, and 47 patients with epilepsy well controlled by drugs in the same period were selected as the control group. Baseline data, the positive detection rate of sdEEG epileptic discharges, and serum indexes were compared between the two groups. Multivariate logistic regression was used to analyze the influencing factors of DRE. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the clinical diagnostic value of sdEEG combined with ZAG, NPY and miR-124 in DRE. **Results** The proportions of patients with epilepsy duration of ≥ 10 years, seizure frequency of ≥ 5 times/year, full seizures and sdEEG epileptiform discharges in the DRE group were higher than those in the control group. Conversely, the proportions of patients with seizure remission for ≥ 5 years, serum ZAG, NPY and miR-124 were lower in the DRE group compared to the control

基金项目:邯郸市科学技术研究与发展计划项目(23422083276)

作者单位:1. 河北省邯郸市第一医院神内四科 056002

2. 河北省邯郸市第一医院神内二科 056002

3. 河北省邯郸市第一医院神内一科 056002

4. 河北省邯郸市第一医院公共卫生科 056002

*通信作者:严胜利, E-mail: 13730089257@163.com

group. These differences were statistically significant ($P<0.05$). Multivariate logistic analysis revealed that epilepsy duration of ≥ 10 years, seizure frequency of ≥ 5 times/year, generalized seizures, and sdEEG epileptiform discharges were independent risk factors for DRE. On the other hand, a remission period of ≥ 5 years, elevated serum ZAG, NPY, and miR-124 were identified as independent protective factors for DRE ($P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of sdEEG combined with ZAG, NPY, and miR-124 in the diagnosis of DRE was 0.978, which was higher than that of a single diagnosis ($P<0.05$). **Conclusion** sdEEG, ZAG, NPY, and miR-124 are closely related to the occurrence of DRE, and the combined detection of these four markers has certain diagnostic value for DRE.

[**KEY WORDS**] Drug-resistant epilepsy; sdEEG; ZAG; NPY; MicroRNA

癫痫是大脑神经元异常同步放电引发的神经系统功能失调疾病,主要临床表现为四肢抽搐、突发性晕倒,其发病过程和致病损伤比较特殊,在临床上致死率和致残率极高,癫痫的治疗首选抗癫痫发作药物^[1-3]。临床上将至少使用两种耐受性良好的抗癫痫药物后,癫痫病情仍未得到控制或发作间隔更短的患者定义为药物难治性癫痫患者(Drug Refractory Epilepsy, DRE),其病情控制难度系数远大于一般癫痫患者,需通过手术切除相关脑部区域、服用新型药物等进行治疗,对患者造成重大生理负担和经济压力^[4]。早期有效诊断并治疗可以降低癫痫发作的风险,从而减少发展为药物难治性癫痫的可能性。剥夺睡眠脑电图(Sleep Deprived Electroencephalogram, sdEEG)记录时需要剥夺睡眠,使大脑应激性提高,降低痫样放电的阈值,从而提高DRE患者的脑电图阳性率,降低漏诊率^[5]。锌 $\alpha 2$ 糖蛋白(Zinc $\alpha 2$ glycoproteins, ZAG)可促进酮体生成,具有抗氧化特性,可减轻由癫痫样放电导致的氧化应激损伤^[6]。神经肽Y(Neuropeptide Y, NPY)是调节神经元兴奋性的关键因子,具有抗惊厥作用,通过抑制钙离子内流抑制癫痫发作^[7]。微小核糖核酸-124(MicroRNA-124, miR-124)在神经系统类疾病中存在异常表达,是神经炎症反应的关键调节者之一,可抑制促癫痫发作的炎症因子表达^[8]。以上四种指标均与DRE有一定关联,本研究旨在探讨sdEEG联合ZAG、NPY、miR-124对DRE的诊断价值,以期为早期诊断DRE提供临床数据参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月至2024年8月于邯郸市第一医院神经内科确诊的106例DRE患者为DRE组,另选取同期本院接诊的47名药物控制良好的癫痫患者为Control组。病例纳入标准:①药物控制良

好的癫痫患者与DRE患者诊断均符合相关标准^[9-10];②依从性良好且接受sdEEG检查;③两组患者对本次研究内容知情,并签署知情同意书。排除标准:①合并严重器质性疾病;②由惊厥引起抽搐者;③合并颅内占位性病变、脑血管疾病等脑部重大疾病者;④合并认知功能障碍或精神健康问题者。本研究已获得邯郸市第一医院伦理委员会的审批,伦理编号:2023-K-049。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集所有研究对象的一般资料,包括:年龄、性别、发作缓解期、脑卒中史、脑出血史、癫痫病程、发作频率、发作形式、饮食。

1.2.2 sdEEG检查

所有研究对象均于检查前一天剥夺睡眠24 h,第二天用餐后1~2 h使用Masimo SedLine脑功能监护仪(采购自麦斯莫医疗公司)行sdEEG检查,按照国际10/20系统对头皮银电极进行安置,覆盖前中额区、颞区等的中线部位,描记时间为180 min,显示波屏上出现棘波-慢波等样放电标记即检出为sdEEG痫样放电阳性。

1.2.3 血清ZAG、NPY、miR-124检测

①ZAG、NPY:采集两组研究对象的外周静脉血10 mL分装于两组乙二胺四乙酸(EthyleneDiamine Tetraacetic Acid, EDTA)抗凝管中,离心机提前预冷至4℃,以转速3 000 r/min、半径10 cm,离心处理15 min,取上清液转移至新离心管中,加入1.8 mL浓度为5%的碘基水杨酸混合均匀,放入4℃冰箱静置20~25 min,再以离心转速3 000 r/min,半径10 cm,离心处理25 min,取上清液分3组待用。取2组使用酶联免疫吸附实验检测血清中的ZAG(试剂盒货号为E2245 h,采购自武汉伊艾博公司)、NPY(试剂盒货号为EZHPY,采购自Merck KGaA公司)。②miR-124:取①中1组血清

样本,使用RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(货号:R0091M,采购自上海碧云天生物科技股份有限公司)提取总RNA,使用PrimeScript™ RT reagent Kit反转录试剂盒(货号:RR037B,采购自北京宝日生物科技股份有限公司)将RNA逆转录为互补脱氧核糖核酸(Compiementary Deoxyribo-Nucleic Acid, cDNA),操作严格按照试剂盒说明书执行,通过实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(Quantitative Real-time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-qPCR)技术检测实时观察荧光信号的变化来定量扩增的cDNA浓度,得到阈值循环数(Cycle threshold, Ct值)。RT-PCR扩增反应条件为:95℃预变性5 min, 95℃变性温度恒温10 s, 55℃退火复性30 s, 70℃引物延伸45 s, 循环42次,并通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算确定RNA表达的定量信息。内参GAPDH的正向引物序列为5'-ACCTCAGTACAGCCGAACGTAACAC-3',反向引物序列为5'-TCCGCATAAGCGACGTGAACGTA-3'; miR-124正向引物序列为5'-GTGACTGGC-TAGTTAGAT-3',反向引物序列为5'-TAACGAC-TACGTACCCCA-3',引物均由安捷凯公司设计合成。

1.3 统计学方法

使用SPSS 21.00软件对数据进行统计学分析,符合正态分布数据计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 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;使用多因素Logistic分析DRE患者的影响因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析sdEEG联合血清ZAG、NPY、miR-124对DRE的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基线资料单因素分析比较

单因素分析显示,两组的性别、年龄、脑卒中史、脑出血史、饮食方式比例比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。DRE组患者癫痫病程 ≥ 10 年、发作频率 ≥ 5 次/年、

表1 药物难治性癫痫的单因素影响分 [$n(\%)$, $(\bar{x}\pm s)$]

因素	DRE组 (n=106)	Control组 (n=47)	χ^2/t 值	P值
性别			1.978	0.160
男	57(53.77)	31(65.96)		
女	49(46.23)	16(34.04)		
年龄(岁)			2.852	0.240
<18	42(39.25)	21(44.68)		
18~35	25(23.36)	11(23.40)		
>35	39(36.45)	15(31.91)		
发作缓解期			8.737	0.003
<5年	73(68.87)	21(44.68)		
≥ 5 年	33(31.13)	26(55.32)		
脑卒中史			1.706	0.192
有	36(33.96)	11(23.40)		
无	70(66.04)	36(76.60)		
脑出血史			1.517	0.218
有	61(57.55)	32(68.09)		
无	45(42.45)	15(31.91)		
癫痫病程			22.675	<0.001
<10年	27(25.47)	31(65.96)		
≥ 10 年	79(74.53)	16(34.04)		
发作频率			6.362	0.012
<5次/年	42(39.62)	29(61.70)		
≥ 5 次/年	64(60.38)	17(36.17)		
发作形式			9.798	0.008
局灶发作	43(40.57)	25(53.19)		
未知起始发作	6(5.66)	8(17.02)		
全面发作	57(53.77)	14(29.79)		
饮食方式			0.031	0.860
控制生酮饮食	49(46.23)	21(44.68)		
不控制生酮饮食	57(53.77)	26(55.32)		
sdEEG 痫样放电阳性率	96(90.57)	21(44.68)	38.102	<0.001
ZAG($\mu\text{g/mL}$)	40.92 \pm 4.68	46.78 \pm 3.92	7.494	<0.001
NPY(ng/mL)	82.53 \pm 8.14	94.68 \pm 7.26	8.796	<0.001
miR-124	1.07 \pm 0.23	1.25 \pm 0.19	4.699	<0.001

全面发作、sdEEG痫样放电阳性比例高于Control组,发作缓解期 ≥ 5 年比例、血清ZAG、NPY、miR-124均低于Control组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 DRE患者的多因素Logistic分析

经多因素Logistic分析,可见癫痫病程 ≥ 10 年、发作频率 ≥ 5 次/年、癫痫发作形式为全面发作、sdEEG痫样放电阳性是DRE发生的独立危险因素,发作缓解期 ≥ 5 年、血清ZAG、NPY、miR-124是DRE发生的独立保护因素($P<0.05$)。见表2。

表2 DRE患者的多因素Logistic分析

自变量	赋值	β 值	S.E值	Wald χ^2	95% CI	OR	P值
癫痫发作缓解期	1=缓解期 < 5 年, 0=缓解期 ≥ 5 年	-0.869	0.395	4.791	0.193~0.913	0.419	0.029
癫痫病程	1=病程 ≥ 10 年, 0=病程 < 10 年	1.371	0.685	4.006	1.029~15.083	3.939	0.004
发作频率	1=发作频率 ≥ 5 次/年, 0=发作频率 < 5 次/年	1.002	0.394	6.468	1.258~5.896	2.724	0.011
癫痫发作形式	0=未知起始发作, 1=局灶发作, 2=全面发作	1.127	0.438	6.621	1.308~7.283	3.086	0.010
sdEEG 痫样放电阳性	1=阳性, 0=阴性	0.997	0.394	6.403	1.252~5.866	2.710	0.011
ZAG	连续变量	-0.386	0.122	10.010	0.535~0.863	0.680	0.002
NPY	连续变量	-0.407	0.038	14.284	0.677~0.884	0.773	<0.001
miR-124	连续变量	-1.231	0.514	5.736	0.107~0.780	0.292	0.017

2.3 sdEEG联合血清ZAG、NPY、miR-124对DRE患者的诊断价值

sdEEG联合ZAG、NPY、miR-124诊断DRE的

表3 sdEEG联合血清ZAG、NPY、miR-124对DRE患者的诊断价值

因素	截点值	约登指数	敏感性	特异性	95% CI	AUC	P值
sdEEG		0.459	0.553	0.906	0.634~0.824	0.729	<0.001
ZAG	42.025 $\mu\text{g/mL}$	0.649	0.894	0.755	0.833~0.938	0.885	<0.001
NPY	87.885 ng/mL	0.585	0.830	0.755	0.810~0.926	0.868	<0.001
miR-124	1.205	0.351	0.596	0.765	0.644~0.809	0.727	<0.001
联合		0.849	0.915	0.934	0.959~0.996	0.978	<0.001

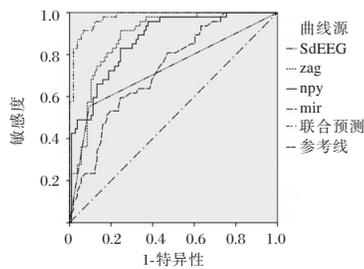


图1 sdEEG、血清ZAG、NPY、miR-124及四者联合诊断DRE的ROC曲线

3 讨论

根据流行病学数据显示,全球每年癫痫发病率为0.5%~0.7%,其中约有30%的癫痫患者无法通过规律服用一般抗癫痫药物缓解症状,导致癫痫反复发作,而频繁、不可预测性的癫痫发作明显增加患者跌倒、骨折等意外伤害风险,长期的就医治疗同时也对患者全身多系统造成了负面影响^[11-12]。DRE患者癫痫发作时患者神经元、胶质细胞的血脑对外排泵功能增强,抗癫痫药物无法穿透血脑屏障到达大脑,颅内药物浓度不足以对控制脑部异常放电,导致癫痫病程延长和频繁发作,早期识别并治疗癫痫可防止后续发展成为DRE,因此寻找快速、准确的DRE诊断方法对临床指导癫痫患者的预防和治疗至关重要^[13]。

sdEEG痫样放电是判断脑电活动的基本依据,剥夺患者睡眠后,脑部随时间变化的生物活动异常被放大并通过电流形式显示在波屏上,本研究结果显示,DRE组sdEEG痫样放电阻阳性比例明显高于Control组。反复持续的神经兴奋导致脑组织能量需求剧增,但供应不足,代谢出现紊乱,加重神经细胞损害,中枢神经细胞异常,从而引起痫样放电增加,sdEEG单次监测可完整记录患者整个睡眠周期脑电放电活动,且可随患者实际睡眠时间调整扫描时长,操作灵活,且阳性检出率高,减少误诊、漏诊问题的出现^[14]。本研究结果提示

ROC曲线下面积(AUC)为0.978,高于单一诊断($P<0.05$)。见表3、图1。

血清ZAG、NPY、miR-124与DRE密切相关。ZAG是近年来新发现的白色脂肪组织的脂质动员因子,可促进脂肪动员和葡萄糖代谢,DRE患者血清中ZAG含量过低,导致脂肪分解速率降低和脂质累积,由此产生的脂毒性会导致神经元葡萄糖摄取受损,引起神经元信号传导过程受阻、神经元离子转运障碍,进而引起患者在用药后神经系统功能兴奋与抑制功能失调而反复诱发癫痫^[15]。NPY是一种广泛分布于中枢神经系统及周围神经系统的强有力的内源性癫痫因子,在神经元兴奋性调节中发挥着重要作用,血液循环中的NPY水平降低,NPY与突触前膜的NPY2受体相结合减少,促使兴奋性神经递质谷氨酸的释放作用于神经细胞,使刺激配体门控离子通道N-甲基-D天冬氨酸受体(N-Methyl-D-Aspartate Receptor, NMDA-R)持续开放,大量钙离子内流引起神经细胞钙超负荷,从而介导神经细胞发生兴奋性损伤,导致用药后依旧无法控制癫痫的发作^[16]。miR-124参与神经元分化与发育、凋亡等过程,可通过分形趋化因子/分形趋化因子受体轴抑制小胶质细胞活化,当miR-124表达量下调,对小窝蛋白-1-磷酸酰基醇3激酶/丝氨酸蛋白激酶/糖原合成酶激酶3 β (Caveolin-1-Phosphatidylinositol 3-kinase/Protein Kinase B/Glycogen Synthase Kinase 3 β , Caveolin-1-PI3K/Akt/GSK3 β)通路的调控作用减弱,导致微管蛋白过度磷酸化,进而导致神经细胞对氧化应激的敏感性增加,诱导其凋亡;另一方面,会促使大量小胶质细胞由静息状态转换到活化状态,持续释放大量炎症因子,破坏神经元突触结构,导致认知功能障碍,而该频繁的认知功能障碍是药物难治性癫痫常见表现^[17]。进一步ROC曲线分析结果显示,sdEEG、ZAG、NPY、miR-124联合检测的曲线下面积明显大于单一检测,说明四者联合诊断可提高DRE的诊断效能。单独sdEEG检查

时,患者肌肉活动、头部移动等伪迹掩盖脑电活动,ZAG、NPY、miR-124会受到潜在疾病影响导致误诊率偏高,四者联合检测可减少偶然因素影响,提高DRE诊断的敏感性和准确性^[18]。

综上所述,sdEEG及血清ZAG、NPY、miR-124与DRE的发生密切相关,四者联合检测对DRE具有一定诊断价值。本研究仅限入院DRE患者,后续应将患者随访纳入相关研究,收集生活质量、药物副作用、治疗效果等方面的重要数据,扩大研究范围,避免选择偏倚,为临床决策和更深入的研究提供有力支持。

参考文献

- [1] 赵婷,陈雪莲,张惠兰,等.新型抗癫痫药物吡仑帕奈治疗癫痫患儿的安全性评价[J].中国新药杂志,2024,33(19):2075-2080.
- [2] 赵安容,王圣之,崔利君,等.癫痫持续状态患者血清NSE、TNF- α 及GAL水平与脑电图异常程度的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2022,14(4):556-559+564.
- [3] 陈凌云.平顶山地区6~14岁癫痫儿童共患注意缺陷多动障碍发生情况及影响因素研究[J].华南预防医学,2022,48(3):370-372.
- [4] 张晓磊,董生,郭嘉禾,等.儿童药物难治性癫痫外科治疗现状[J].中国现代神经疾病杂志,2024,24(10):802-806.
- [5] Zhang Y, Zeng GQ, Lu R, et al. The diagnostic value of sleep-deprived EEG in epilepsy: A meta-analysis [J]. Seizure, 2024, 121:211-216.
- [6] Liang Y, Zhao L, Dai C, et al. Epileptiform Discharges Reduce Neuronal ATP Production by Inhibiting F0F1-ATP Synthase Activity via A Zinc- α 2-Glycoprotein-Dependent Mechanism [J]. Mol Neurobiol, 2023, 60(11):6627-6641.
- [7] 王暖,周昊,徐彩玲,等.神经肽Y在缺血性脑卒中后癫痫中的诊断价值[J].中国老年学杂志,2023,43(24):5954-5958.
- [8] 徐圣洁,吴涛,郭子正,等.外泌体在癫痫炎症反应中的作用[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2022,29(5):414-418.
- [9] 中华医学会.临床诊疗指南:癫痫分册[M].北京:人民卫生出版社,2007:130.
- [10] Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy [J]. N Engl J Med, 2000, 342(5):314-319.
- [11] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑电图与癫痫学组.抗癫痫发作药物联合使用中国专家共识[J].中华神经科杂志,2024,57(2):108-117.
- [12] 王继芬,叶兰,冯占辉.大麻二酚治疗耐药性癫痫研究进展[J].中国新药杂志,2024,33(19):2044-2049.
- [13] 邓小琳,周东,洪桢.抗癫痫发作药物的应用进展[J].重庆医科大学学报,2024,49(5):563-569.
- [14] 陈新,童文娟.儿童药物难治性癫痫视频脑电图及影像学特征分析[J].中国现代神经疾病杂志,2024,24(9):744-750.
- [15] Pearsey HM, Henson J, Sargeant JA, et al. Zinc-alpha2-glycoprotein, dysglycaemia and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2020, 21(4):569-575.
- [16] Shapovalova K, Zorkina Y, Abramova O, et al. The Role of Neuropeptide Y in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: Diagnostic Significance and Neuroprotective Functions [J]. Neurol Int, 2024, 16(6):1318-1331.
- [17] 耿佳庆,方成志,张丙宏. microRNA-124在神经系统中的研究进展[J].武汉大学学报(医学版),2024,45(11):1403-1409.
- [18] 李磊磊,王潇磊,逯慧珍,等.基于静息态fMRI的睡眠剥夺百分比振幅动态变化研究[J].磁共振成像,2023,14(2):92-96+131.

(上接第746页)

- [6] 杨阳,孙洪英. Krüppel样因子4在神经系统疾病中的作用研究进展[J].癫痫杂志,2024,10(2):141-146.
- [7] Yu S, Guo J, Sun Z, et al. BMP2-dependent gene regulatory network analysis reveals Klf4 as a novel transcription factor of osteoblast differentiation [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2):197.
- [8] 王运帷,刘洋,曹鹏,等. Krüppel样因子4对脓毒症小鼠炎症反应与脏器损伤的作用[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(11):1047-1056.
- [9] 孟焕新.牙周病学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2012:111-114.
- [10] 王国印. Sema3A/Nrp1信号轴在慢性牙周炎牙周组织中的表达及在牙周骨质破坏中的作用[J].解放军预防医学杂志,2018,36(5):650-653+668.
- [11] Ghaleb AM, Yang VW. Krüppel-like factor 4 (KLF4): What we currently know [J]. Gene, 2017, 611:27-37.
- [12] 黄志华,袁琼婧,唐文彬,等. Krüppel样因子4抑制高糖刺激MES-13细胞炎症的机制[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2018,27(4):336-341+343.
- [13] Jiang F, Chen Q, Wang W, et al. Hepatocyte-derived extracellular vesicles promote endothelial inflammation and atherogenesis via microRNA-1 [J]. J Hepatol, 2020, 72(1):156-166.
- [14] Estrada CC, Cardona S, Guo Y, et al. Endothelial-specific loss of Krüppel-Like Factor 4 triggers complement-mediated endothelial injury [J]. Kidney Int, 2022, 102(1):58-77.
- [15] Fei Z, Sun C, Peng X, et al. Krüppel-like factor 4 promotes the proliferation and osteogenic differentiation of BMSCs through SOX2/IGF2 pathway [J]. Acta Biochim Pol, 2022, 69(2):349-355.
- [16] Yu S, Guo J, Sun Z, et al. BMP2-dependent gene regulatory network analysis reveals Klf4 as a novel transcription factor of osteoblast differentiation [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2):197-114.
- [17] Halling Linder C, Enander K, Magnusson P. Glycation Contributes to Interaction Between Human Bone Alkaline Phosphatase and Collagen Type I [J]. Calcif Tissue Int, 2016, 98(3):284-93.

2022~2023年吉林省流感病原学监测分析

孙杨 李静 柳鸿敏 侯程程 吴东林 杨显达*

【摘要】 **目的** 通过分析吉林省2022~2023年度流感监测结果,了解吉林省流感的流行特征,为流感防控提供科学依据。**方法** 通过对吉林省13家哨点医院流感样病例(ILI)监测数据进行统计学分析,了解ILI的时间、地区及年龄分布特征,对采集的呼吸道标本进行病原学检测并分析阳性检出率及分型结果。**结果** 2022年4月至2023年3月吉林省国家级流感监测哨点医院门急诊就诊病例总数为2 025 447例,其中ILI为98 386例,占比4.86%。ILI百分比在2022年第51周和2023年第9周出现两次高峰,分别为18.40%,12.58%。各市州ILI百分比差异有统计学意义($P<0.05$),延边州与吉林市相对较高。ILI主要集中在15岁以下儿童,0~4岁组占比最高为39.69%,5~14岁组占29.59%。全省共采集ILI呼吸道标本12 216份,检出流感病毒核酸阳性标本1 148份,阳性率为9.40%。其中A型H1N1pdm亚型648份,季节性H3N2亚型499份,B型流感Victoria系1份。**结论** 2022~2023年吉林省以A型流感病毒流行为主,各亚型交替流行,冬春季为流感高发季,儿童作为易感人群及重要传染源需重点防控,提议加强疫苗接种以有效预防控制流感病毒。

【关键词】 流感;流感样病例;病原学监测

Etiological surveillance analysis of influenza in Jilin Province from 2022 to 2023

SUN Yang, LI Jing, LIU Hongmin, HOU Chengcheng, WU Donglin, YANG Xianda*

(Virology laboratory of Jilin Provincial Center for Disease Control and Prevention (Jilin Provincial Institute of Public Health), Changchun, Jilin, China, 130062)

【ABSTRACT】 **Objective** To analyze the influenza surveillance results in Jilin Province in 2022~2023, understand the epidemic characteristics of influenza and provide scientific basis for influenza prevention and control. **Methods** Through statistical analysis of surveillance data on influenza-like illness (ILI) from 13 sentinel hospitals in Jilin Province, we investigated the time, region and age distribution characteristics of ILI. Respiratory specimens were tested for etiology and the positive detection rate and typing results were analyzed. **Results** From April 2022 to March 2023, the total number of outpatient and emergency cases in national influenza surveillance sentinel hospitals in Jilin Province was 2,025,447. Of these, 98,386 were cases of ILI, accounting for 4.86%. The percentage of ILI experienced two peaks in week 51 of 2022 and week 9 of 2023, 18.40% and 12.58% respectively. The difference in ILI% between cities and prefectures was statistically significant ($P<0.05$), with Yanbian Prefecture and Jilin City reporting relatively high numbers. ILI cases were primarily concentrated in children under 15 years old, with the highest proportion at 39.69% in the 0-4 years old age group and 29.59% in the 5-14 years old age group. A total of 12,216 respiratory samples were collected in the province, with 1,148 testing positive for influenza, resulting in a positive rate of 9.40%. Among the positive samples, there were 648 H1N1pdm subtypes, 499 seasonal H3N2 subtypes, and 1 case of influenza B Victoria. **Conclusion** The influenza outbreak in Jilin Province from 2022 to 2023 is mainly caused by the influenza A virus, with each subtype taking turns being prevalent. Influenza cases are most common in the winter and spring months. Children, who are a vulnerable population and a key source of infection, should be a primary focus for prevention and control measures. It is recommended to enhance vaccination efforts to effectively prevent and control the spread of the influenza virus.

【KEY WORDS】 Influenza; Influenza like illness; Etiological surveillance

基金项目:吉林省卫生与健康技术创新项目(2018J035)

作者单位:吉林省疾病预防控制中心(吉林省公共卫生研究院)病毒检验所,吉林,长春130062

*通信作者:杨显达, E-mail: flemingyang@163.com

流行性感(简称流感)是由流感病毒引起的急性呼吸道传染病,给全球带来严重的健康和经济损失^[1]。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)报告,流感病毒每年在全球范围内引发300~500万人的严重感染,导致29~65万病例死于呼吸系统疾病^[2]。流感病毒属于正粘科RNA病毒,根据病毒核蛋白和基质蛋白的不同,分为甲(A)、乙(B)、丙(C)、丁(D)四种类型,目前在人类传播和流行的主要是甲型和乙型流感病毒^[3-5]。科学开展流感监测工作能够及时掌握流感病毒的流行特征及变化规律,及早发现变异毒株,为流感疫情的精准防控提供科学依据。本研究通过对吉林省2022~2023年流感病原学监测结果进行分析,了解本省流感病毒的流行趋势,为制定流感防控策略提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

2022~2023年吉林省流感样病例(Influenza-like Illness, ILI)监测数据及网络实验室病原学检测结果均来源于“中国流感监测信息系统”。吉林省13家国家级流感监测哨点医院按照《全国流感监测方案(2017年版)》^[6]要求,根据ILI定义(体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$,伴咳嗽或咽痛之一),每天按科室登记各年龄组的流感样病例数和门急诊病例就诊总数。流感监测网络实验室对各自辖区内哨点医院采集的标本进行检测,并将结果录入监测系统。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集和运送

按照方案要求,作为北方省份,吉林省各哨点医院每年4~9月每月至少采集20份标本,10月至次年3月每周至少采集20份标本,全年共采集12 216份标本。采集发病3天内流感样病例的呼吸道标本于3~4 mL采样液中,2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存并于48小时内送至实验室,或-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存并于1周内送至实验室待检。

1.2.2 病原学检测

实验室收到标本后于3个工作日内进行检测,标本震荡混匀静置10 min后,取上清液进行核酸提取,采用Real-time PCR进行核酸检测。对标本进行甲型/乙型流感、甲型H1N1pdm、季节性H3N2、乙型Yamagata系、Victoria系流感病毒分型检测。

1.3 统计学分析

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。计数资料采用 n 或(%)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 流感样病例监测结果

2.1.1 时间分布

2022~2023年度吉林省国家级流感监测哨点医院门急诊就诊病例总数为2 025 447例,其中流感样病例(ILI)98 386例,占比4.86%。ILI百分比在夏秋季节维持较低水平,从2022年第50周开始迅速上升,第51周出现第一次高峰,达到18.40%,之后迅速回落,2023年第9周出现第二次高峰,ILI百分比为12.58%。见图1。

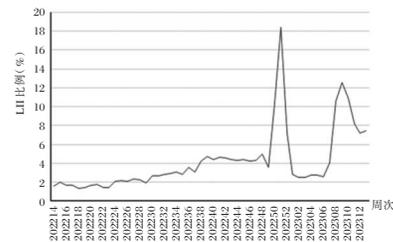


图1 2022~2023年度吉林省ILI比例趋势图

2.1.2 地区分布

各市州哨点医院ILI百分比差异有统计学意义($P < 0.05$),延边州与吉林市相对较高,分别为12.60%,11.10%。见表1。

表1 2022~2023年度吉林省ILI地区分布

地区	ILI(例)	门急诊就诊病例总数(例)	ILI百分比(%)
长春市	23 507	552 916	4.25
吉林市	18 743	168 795	11.10
四平市	4 353	94 874	4.59
辽源市	640	112 807	0.57
通化市	8 713	122 695	7.10
白山市	964	149 115	0.65
松原市	7 492	276 329	2.71
白城市	7 678	339 176	2.26
延边州	26 296	208 740	12.60
合计	98 386	2 025 447	4.86
χ^2 值		61005.980	
P 值		<0.05	

2.1.3 年龄分布

ILI主要分布在15岁以下年龄组,0~4岁组所占构成比最高,为39.69%,其次为5~14岁组,占比29.59%,60岁及以上组占比最低,为5.93%。不同市州ILI年龄构成比差异有统计学意义($\chi^2 = 13189.142, P < 0.05$)。见表2。

2.2 核酸检测结果

2022~2023年度吉林省哨点医院共采集ILI呼

吸道标本 12 216 份,流感病毒核酸检测阳性标本 1 148 份,阳性率为 9.40%。其中 A 型 H1N1pdm 亚型 648 份,季节性 H3N2 亚型 499 份,B 型流感 Victoria 系 1 份。2022 年 4 月仅检测出一份 B 型流

感 Victoria 系阳性标本,5~6 月无阳性标本检出,7~12 月检出均为季节性 H3N2 亚型,2023 年 1 月无阳性标本检出,2~3 月阳性率迅速上升,A 型 H1N1pdm 亚型成为优势毒株。见图 2。

表 2 2022~2023 年度吉林省各市州 ILI 年龄分布 [n(%)]

地区	0~4 岁	5~14 岁	15~24 岁	25~59 岁	≥60 岁
长春市	8 301(0.35)	6 022(0.26)	2 089(0.09)	5 630(0.24)	1 465(0.06)
吉林市	8 272(0.44)	4 727(0.25)	3 239(0.17)	1 529(0.08)	976(0.05)
四平市	689(0.16)	665(0.15)	676(0.16)	1 589(0.37)	734(0.17)
辽源市	73(0.11)	58(0.09)	117(0.18)	293(0.46)	99(0.15)
通化市	3 651(0.42)	4 048(0.46)	333(0.04)	471(0.05)	210(0.02)
白山市	146(0.15)	131(0.14)	113(0.12)	378(0.39)	196(0.20)
松原市	4 630(0.62)	2 021(0.27)	189(0.03)	433(0.06)	219(0.03)
白城市	2 626(0.34)	2 402(0.31)	1122(0.15)	821(0.11)	707(0.09)
延边州	10 658(0.41)	9 043(0.34)	2 257(0.09)	3 112(0.12)	1 226(0.05)
合计	39 046(39.69)	29 117(29.59)	10 135(10.30)	14 256(14.49)	5 832(5.93)
χ^2 值			13189.142		
P 值			<0.05		

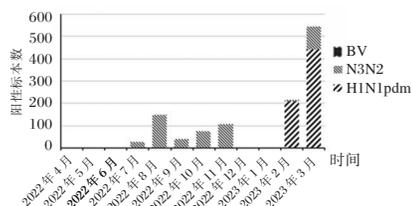


图 2 2022~2023 年度吉林省流感病毒核酸检测结果

3 讨论

流感病毒传播速度快,抗原易变异,20 世纪以来已引起多次世界范围内大流行^[7-8],每年流感病毒引发的季节性流行在全球范围内造成严重的疾病负担和经济损失。ILI 监测能够掌握流感病毒的流行情况,及早发现新型毒株,为预防控制流感及推荐疫苗组分提供科学依据^[9]。吉林省于 2001 年加入国家流感监测网络,设有 13 家流感监测哨点医院及 10 家网络实验室,能够及时了解本省流感病毒的流行特征及变化趋势。

2022~2023 年度吉林省 ILI 监测结果显示,ILI 百分比为 4.86%,高于本省既往监测结果^[10],与以往的单峰趋势不同,ILI 百分比在本监测年度出现两次高峰,2022 年第 51 周出现第一次高峰,达到 18.40%,与核酸阳性检出率不一致,同曹文萍等^[11]对于成都市某哨点医院的研究结果相似,该院 2022 年 12 月 ILI 百分比达到 15.31%,而核酸检测阳性率较低。可能与 2022 年 12 月新冠疫情防控政策调整有关,导致发热伴咽痛、咳嗽的病例激增,监测到的 ILI 可能以新冠病毒感染病例为主。各地区 ILI 百分比存在差异,可能与当地就诊条

件、人口流动或对流感样病例的判断有关。ILI 主要分布在 15 岁以下年龄组,与辽宁省、山西省等地的研究结果一致^[12-13]。儿童及青少年由于自身免疫力较低、人群密度大等原因,成为流感病毒的易感人群及重要传染源,易引发聚集性疫情。

病原学检测结果显示,2022~2023 年度 ILI 核酸检测阳性率为 9.40%,与既往监测的单峰趋势不同,2022 年 8 月核酸检测阳性率出现一次小高峰,之后维持在较低水平,2023 年 2 月开始迅速上升,3 月达到本监测年度最高峰,与浙江省^[14]、云南省^[15]等南方地区夏季和冬春季双流行的趋势相似。可能是 8 月正值暑期旅游季,人口流动范围较大,这加速了病毒的传播;也可能是由于新冠疫情以来防控政策的实施使得流感的发病率大幅下降,导致群体免疫较弱,但随着新冠疫情常态化,人群防护意识减弱,例如夏季因天气炎热戴口罩的人减少等,这可能导致流感病毒的流行。本年度吉林省以 A 型流感病毒流行为主,季节性 H3N2 亚型和 H1N1pdm 亚型呈交替流行态势。可能是由于流感病毒基因易发生突变,造成其抗原性发生漂移,从而导致不同程度和型别的流感流行^[16]。接种疫苗是预防控制流感病毒的有效手段,在流感流行季来临之前,针对儿童青少年等重点人群加强宣传教育,做好防护措施,提高疫苗接种率,能够有效控制流感病毒的传播^[17]。加强流感监测工作,实时分析监测结果,可以及时掌握流疫情变化趋势,有针对性地制定预防控制措施。

(下转第 758 页)

MPV在血流感染早期诊断中的应用价值

黎海生 鲁福运 任宝军 赵晓丽*

[摘要] **目的** 探讨平均血小板体积(MPV)在血流感染早期诊断中的应用价值。**方法** 选取昆明市第一人民医院南院区2020年1月至2021年5月血培养阳性患者200例(感染组)和健康体检者200名(对照组)。感染组按照感染细菌种类分为革兰阳性(G⁺)菌感染组($n=45$)和革兰阴性(G⁻)菌感染组($n=155$)。收集所有感染组病例血培养同期检测的血小板(PLT)、MPV、降钙素原(PCT)、C反应蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6),并计算MPV/PLT比值。采用ROC曲线评价各项指标诊断血流感染的效能。**结果** 感染组MPV/PLT比值低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),感染组与对照组MPV比较差异无统计学意义($P>0.05$);G⁺感染组和G⁻感染组MPV、MPV/PLT比较差异均无统计学意义($P>0.05$);感染组MPV/PLT与CRP无相关关系($P>0.05$),与PCT、IL-6呈弱相关($P<0.05$);MPV/PLT比值的曲线下面积为0.710,灵敏度0.505、特异度0.960、最佳诊断阈值为0.465、阳性预测值1.000、阴性预测值0.510。**结论** MPV单一指标不能作为血流感染早期诊断指标,而MPV/PLT可作为血流感染早期诊断指标,且有中等诊断效能。

[关键词] 平均血小板体积;血流感染;血小板

Application value of MPV in the early diagnosis of bloodstream infection

LI Haisheng, LU Fuyun, REN Baojun, ZHAO Xiaoli*

(Department of Laboratory Medicine, the First People's Hospital of Kunming, Kunming, Yunnan, China, 650011)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the value of mean platelet volume (MPV) in the early diagnosis of bloodstream infection. **Methods** A total of 200 patients with positive blood cultures (the infection group) and 200 healthy physical examinations (the control group) were selected from the South Hospital of Kunming First People's Hospital between January 2020 and May 2021. The infection group was further divided into a gram-positive (G⁺) infection group ($n=45$) and a gram-negative (G⁻) infection group ($n=155$) based on the type of bacteria present. Platelet (PLT), MPV, procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and interleukin-6(IL-6) levels were collected at the same period of blood cultures in all infection groups, and the MPV/PLT ratio was calculated. A ROC curve was used to evaluate the efficiency of each index in diagnosing bloodstream infection. **Results** The MPV/PLT ratio in the infection group was lower than that in the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in MPV between the infection group and the control group ($P>0.05$). There was no significant difference in MPV and MPV/PLT between the G⁺ infection group and the G⁻ infection group ($P>0.05$). The MPV/PLT ratio was not correlated with CRP in the infection group ($P>0.05$), was weakly correlated with PCT and IL-6 ($P<0.05$). The MPV/PLT ratio had a curve line area of 0.710, a sensitivity of 0.505, a specificity of 0.960, an optimal diagnostic threshold of 0.465, a positive predictive value of 1.000, and a negative predictive value of 0.510. **Conclusion** MPV cannot be used as an early diagnostic indicator of bloodstream infection. However, the MPV/PLT ratio can be used as an early diagnostic indicator of bloodstream infection with moderate diagnostic efficacy.

[KEY WORDS] Mean platelet volume; Bloodstream infection; Platelet

基金项目:昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目(2019-11-01-002)

作者单位:昆明市第一人民医院检验科,云南,昆明 650011

*通信作者:赵晓丽, E-mail: 972414487@qq.com

血流感染(Bloodstream infections, BSI)是由于各种病原微生物侵入血流所引起的一种全身感染性疾病^[1]。随着医学有创性治疗技术的普及,世界各地确诊血流感染的数量每年都在持续上升。血流感染目前依靠血培养作为诊断的“金标准”,但是血培养存在很多不可避免的缺点,比如阳性率低、培养时间长导致患者准确规范治疗延后、整个过程容易出现交叉污染而造成假阳性或假阴性等,往往达不到临床快速治疗患者的需求。因此,临床迫切需要早期更快速、准确地诊断血流感染,尽早给予抗菌治疗,提高患者的生存率。目前,血流感染常用的早期诊断手段有分子生物学技术、流式细胞术以及感染性标志物检测。其中分子诊断技术对血流感染早期诊断有较高应用价值^[2-3],但是其费用较高,技术要求高,基层医院难以实现。有研究认为,炎症患者的血小板易活化,平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)也随之发生变化^[4]。而MPV是血细胞分析中的常规指标,临床容易获得。若MPV可以成为一种新的血流感染早期诊断的辅助性指标,将有助于快速诊断血液感染,为临床医生的早期治疗方向提供参考依据。本研究旨在探讨MPV在血流感染早期诊断中的应用价值,分析其是否可以作为血流感染的一项早期辅助性诊断指标,报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取昆明市第一人民医院南院区2020年1月至2021年5月的血培养阳性患者200例(感染组)和健康体检者200名(对照组)。纳入标准:(1)感染组:①患者发热($\geq 38^{\circ}\text{C}$),临床表现怀疑血流感染。②未使用抗菌药物。(2)对照组:①年龄18~90岁男性或非妊娠期、非哺乳期的女性;②检查与年度健康体检同步,且体检未发现明显异常及需要治疗的疾病。排除标准:(1)感染组:①年龄 < 18 岁;②血培养假阳性或阴性以及病毒感染;③同一患者相同部位分离出的重复菌;④不应该统计以及无法统计的标本:如误诊或者记录缺失,临床资料不全者;(2)健康体检人群:①血小板计数小于 $100 \times 10^9/\text{L}$;②血常规异常;③存在感染情况;④肝肾功能异常、免疫功能异常以及有血液性疾病患者。感染组按感染细菌种类分为革兰阳性(G^+)菌感染组和革兰阴性(G^-)菌感染组。 G^+ 菌

45例(22.5%),主要包括金黄色葡萄球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、人葡萄球菌、头状葡萄球菌等; G^- 菌155例(77.5%),主要包括肺炎克雷伯氏菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、粘质沙雷氏菌、阴沟肠杆菌等。感染组年龄23~86岁,中位年龄62(50, 73)岁。男100例(50%),女100例(50%)。对照组年龄19~80岁,中位年龄38(28, 54)岁,男100例(50%),女100例(50%)。两组年龄、性别比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 研究方法

采用病例对照的方法,按照以上纳入标准和排除标准对患者病历和电子数据监测系统进行回顾性检查,受试者一般资料包括姓名,年龄,性别。感染组所有指标均在血培养同期检测,收集感染组血培养同期检测的血小板(Platelet, PLT)、血小板平均体积(MPV)、降钙素原(Procalcitonin, PCT)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素-6(interleukin-6, IL-6),同时收集对照组PLT、MPV的数据资料,并计算MPV/PLT比值。以血液培养阳性结果作为诊断金标准,计算MPV/PLT检测方法阳性预测值、阴性预测值。阳性预测值=真阳性/(真阳性+假阳性);阴性预测值=真阴性/(真阴性+假阴性)。

1.3 统计学分析

采用SPSS 26.0统计软件进行统计分析。非正态分布采用中位数(P_{25}, P_{75})表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。相关性分析时,对于服从正态分布的资料采用皮尔森相关性分析,非正态分布采用斯皮尔曼相关性分析。采用ROC曲线评价各指标的诊断效能。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染组与对照组MPV、MPV/PLT比较

感染组与对照组MPV比较差异无统计学意义($P > 0.05$),感染组MPV/PLT比值水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 感染组与对照组MPV、MPV/PLT比较
[$M(P_{25}, P_{75})$]

分组	<i>n</i>	MPV(\bar{x})	MPV/PLT
感染组	200	11.10(10.32, 12.08)	0.08(0.05, 0.13)
对照组	200	11.20(10.50, 11.68)	0.05(0.04, 0.06)
Z值		-0.244	-7.27
P值		0.807	<0.001

2.2 G⁺菌感染组和G⁻菌感染组MPV、MPV/PLT比较

G⁺菌感染组和G⁻菌感染组MPV比较差异无统计学意义($P>0.05$);G⁺菌感染组和G⁻菌感染组MPV/PLT比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 G⁺菌感染组和G⁻菌感染组MPV、MPV/PLT比较
[$M(P_{25}, P_{75})$]

亚组	n	MPV(f)	MPV/PLT
G ⁺ 菌感染组	45	11.20(10.80, 12.30)	0.09(0.05, 0.15)
G ⁻ 菌感染组	155	11.00(10.00, 11.90)	0.07(0.05, 0.12)
Z值		-1.73	-0.416
P值		0.084	0.157

2.3 感染组MPV/PLT与PCT、IL-6、CRP的相关性分析

感染组MPV/PLT与CRP无相关关系($P>0.05$),与PCT、IL-6呈正相关($P<0.05$)。见表3。

表3 MPV/PLT与PCT、IL-6、CRP的相关性分析

项目	r值	P值
PCT	0.279	<0.001
IL-6	0.281	<0.001
CRP	0.083	0.054

2.4 MPV/PLT诊断血流感染的效能

ROC曲线分析结果显示,MPV/PLT诊断血流感染的AUC为0.710(95%CI: 0.656~0.764, $P<0.05$),灵敏度0.505,特异度0.960,最佳诊断阈值为0.465。MPV/PLT的阳性预测值、阴性预测值分别为1.000、0.510。见图1。

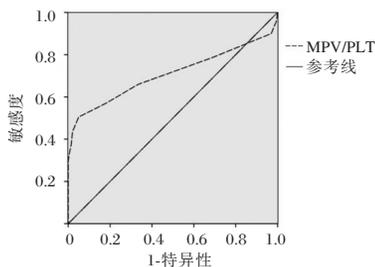


图1 ROC曲线分析

3 讨论

血流感染是一种危及生命的疾病,会损害机体组织和器官,引起机体的反应紊乱,并伴随着严重的炎症和免疫抑制。尽早诊断、尽早应用适当的抗生素是提高患者预后的重要因素。血小板主要由骨髓中的巨核细胞生成,它不仅参与止凝血过程,而且还涉及到其它的病理生理学过程^[5]。往往人们更多关注的是血小板在止凝血中所起的核

心作用,其实血小板也是有效的免疫调节剂,在炎症和感染期间起着重要作用^[6]。血小板已被证明可以直接识别、抵御和杀死病原体,趋化并募集中性粒细胞到感染灶,促进中性粒细胞释放活性氧和形成胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs),增强中性粒细胞的吞噬和杀伤病原体的能力^[7]。因此,血小板在抵御感染中起着重要作用。

MPV是反映血小板大小的具体指标,MPV增高意味着更大更年轻的血小板释放到循环中^[8]。在各种病理情况中,血小板生成明显增加或减少、过度消耗或者过度活化都有可能导导致MPV和PLT之间的比例发生变化。因此,MPV或可应用于某些疾病的诊断。本研究结果显示,MPV在血流感染组和对照组之间差别并没有统计学意义,说明MPV单一指标在血流感染早期诊断并没有价值。这与国内外一些研究存在一些出入^[9-10],可能与采血时机不同有关。有研究发现,血流感染发生后血小板参数呈双相波动。血流感染发生后第1天,PLT呈下降趋势,而MPV呈升高趋势,这种趋势持续至第3天左右^[11]。但本研究发现,感染组MPV/PLT水平较对照组升高,这与Djordjevic等^[12]的研究结果一致。发生血流感染后,血小板发挥其抗菌作用,微循环中的PLT迅速消耗,PLT的变化较MPV更为明显,导致MPV/PLT水平升高。ROC曲线结果显示,MPV/PLT曲线下面积为0.710,有中等诊断价值。虽然MPV/PLT灵敏度和阴性预测值较低,但是特异度和阳性预测值高达0.960和1.000,表明了MPV/PLT在血流感染早期的诊断价值。同时,本研究结果显示,在鉴别G⁺菌感染和G⁻菌感染类型上,MPV、MPV/PLT比较差异均无统计学意义,没有一定的临床应用价值。此研究结论与国内王亚洲^[9]等的研究相同。为了快速鉴别诊断血流感染类型,合理进行抗菌治疗,改善患者预后,还需要寻找新的诊断指标。

PCT、CRP、IL-6等感染性标志物可以提高血流感染的确诊率,发生血流感染后,这些指标均会出现不同程度的升高。本研究结果显示,MPV/PLT与CRP无相关性,但与PCT和IL-6呈弱相关($r=0.279, 0.281$),进一步表明MPV/PLT在血流感染早期的诊断价值。但是感染性标志物在早期诊断血流感染时仍存在一定的局限性,例如神经内分泌肿瘤、非感染性全身炎症、创伤等均会导致PCT的升高^[13]。有研究表明,联合检测PCT、IL-6、CRP、SAA不仅可以对不同感染的患者进行早期

诊断,而且可以提高预估感染分类的敏感性和特异性,具有重要的预后价值^[14]。因此,可以考虑MPV/PLT联合PCT、CRP、IL-6等感染性标志物,提高血流感染诊断准确性。

综上所述,MPV在血流感染早期诊断上有一定的局限性,不能作为血流感染的早期诊断新指标。而MPV/PLT对早期血流感染有中等诊断价值,可作为血流感染早期诊断的一个重要指标。临床应重视感染患者MPV与PLT的变化,以便尽早给与患者准确抗菌治疗,改良预后效果。

参考文献

- [1] 章波,伊贝拜汗·买买提,张新.血流感染病原微生物诊断技术的研究与应用[J].国际检验医学杂志,2019,40(11):1360-1365.
- [2] Mishra D, Satpathy G, Wig N, et al. Evaluation of 16S rRNA broad range PCR assay for microbial detection in serum specimens in sepsis patients [J]. J Infect Public health, 2020, 13(7):998-1002.
- [3] 刘久磊,孟宪涛,庞瑞昌.实时荧光PCR检测在临床血流感染诊断中的应用[J].中国卫生标准管理,2021,12(13):90-93.
- [4] Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, et al. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions [J]. Med Inflamm, 2019, 2019:9213074.
- [5] van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives [J]. Nature Rev Cardiol, 2019, 16(3):166-179.
- [6] Portier I, Campbell RA. Role of Platelets in Detection and Regulation of Infection [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 41(1): 70-78.
- [7] 易观群.血小板在抵御细菌感染和增强免疫中的地位[J].中国感染控制杂志,2021,20(4):374-380.
- [8] Tamelytė E, Vaičekauskienė G, Dagys A, et al. Early Blood Biomarkers to Improve Sepsis/Bacteremia Diagnostics in Pediatric Emergency Settings [J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(4):99.
- [9] 王亚洲,刘慧玲.血流感染患者血小板参数的变化[J].检验医学,2021,36(5):514-516.
- [10] Wang J, Wang Z, Zhang M, et al. Diagnostic value of mean platelet volume for neonatal sepsis: A systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(32):e21649.
- [11] 岳福仁,闫瑞振,魏志斌,等.血流感染患者血小板参数动态变化及其预后价值[J].临床检验杂志,2021,39(7):495-499.
- [12] Djordjevic D, Rondovic G, Surbatovic M, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Monocyte-to-Lymphocyte Ratio, Platelet-to-Lymphocyte Ratio, and Mean Platelet Volume-to-Platelet Count Ratio as Biomarkers in Critically Ill and Injured Patients: Which Ratio to Choose to Predict Outcome and Nature of Bacteremia? [J]. Mediators Inflamm, 2018, 2018:3758068.
- [13] 慕婉晴,顾国嵘.降钙素原(PCT)在脓毒症临床诊断治疗中作用的研究进展[J].复旦学报(医学版),2019,46(1):103-107.
- [14] Zhu SX, Zeng CX, Zou Y, et al. The Clinical Diagnostic Values of SAA, PCT, CRP, and IL-6 in Children with Bacterial, Viral, or Co-Infections [J]. Intern J gener med, 2021, 14:7107-7113.

(上接第754页)

参考文献

- [1] Wang D, Lei H, Wang D, et al. Association between Temperature and Influenza Activity across Different Regions of China during 2010-2017 [J]. Viruses, 2023, 15(3):594.
- [2] World Health Organization. Influenza. Fact Sheet No. 211. 2023. Available online; [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/influenza-(seasonal)) (accessed on 17 January 2023).
- [3] 钟沛丽.我国流感流行特征、影响因素及模型预测研究[D].广州:广州中医药大学,2020.
- [4] 曾舸,黄超洋,王小磊,等.2017-2020年湖南省哨点监测流感样病例流行特征[J].实用预防医学,2022,29(11):1342-1345.
- [5] Te Velthuis AJW, Fodor E. Influenza virus RNA polymerase: insights into the mechanisms of viral RNA synthesis [J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14(8):479.
- [6] 国家卫生计生委.全国流感监测方案(2017年版)[S].2017.
- [7] 张甜,曾玉洁,石韬,等.2016-2021年湖北省荆州市流感监测结果分析[J].上海预防医学,2023,35(4):338-342.
- [8] 陈玲霞,姬莉莉,孙卫明,等.北京市怀柔区2013-2018年流感监测结果分析[J].实用预防医学,2019,26(10):1228-1230.
- [9] He J, Hou S, Chen Y, et al. The Epidemiological Pattern and Co-infection of Influenza A and B by Surveillance Network From 2009 to 2014 in Anhui Province, China [J]. Frontiers in public health, 2022, 10:825645.
- [10] 李静,柳鸿敏,侯程程,等.2016-2020年吉林省流感病原学监测分析[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(3):4.
- [11] 曹文萍,赵海鸣,胥建君,等.2018-2022年成都市一哨点医院流行性感监测结果分析[J].预防医学情报杂志,2023,39(6):669-673.
- [12] 王璐璐,孙海波,孙佰红,等.辽宁省2017年4月~2018年3月流感监测结果分析[J].中国当代医药,2019,26(9):4.
- [13] 刘丽娟,王继伟,董阿莉.2021-2022年度山西省流感监测哨点医院流感样病例监测数据分析[J].山西医药杂志,2022,51(24):2787-2790.
- [14] 杨辉,尹志英,钟建跃,等.2016-2020年浙江省衢州市流感监测结果分析[J].实用预防医学,2023,30(1):4.
- [15] 杨溪,赵晓楠,李多,等.云南省2017-2018年流感监测结果分析[J].实用医药杂志,2020,37(2):5.
- [16] 周丽敏,王希峰,张钰雪.2016年-2021年北京市大兴区流感病原学监测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2023,33(2):236-239.
- [17] 任丽娟,庄丽,郑勤妮,等.2019年-2021年贵州省流感病原学特征分析[J].中国卫生检验杂志,2022(16):32.

精准持续循环腹腔热灌注化疗联合静脉化疗在卵巢癌术后患者中的应用效果

姚秀玲* 王立霞 梁焕 刘树雨 戴艳丽

[摘要] **目的** 观察精准持续循环腹腔热灌注化疗联合静脉化疗在卵巢癌术后患者中的应用效果。**方法** 选取2020年1月至2020年12月衡水市第二人民医院收治的100例行肿瘤细胞减灭术(CRS)治疗的晚期卵巢癌患者作为研究对象,采用随机数字表法分为观察组(50例,术后精准持续循环腹腔热灌注化疗联合6周期静脉化疗)和对照组(50例,术后6周期静脉化疗)。治疗结束时,比较两组疾病控制率、肿瘤标志物[血清人附睾蛋白(HE4)、甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA125)、免疫功能(T淋巴细胞CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺值),治疗期间,观察两组化疗毒副反应发生情况。**结果** 治疗结束时,观察组疾病控制总有效率为76.00%,高于对照组的56.00%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗结束时,两组血清HE4、AFP、CEA、CA125水平较治疗前降低,且观察组水平较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗结束时,两组T淋巴细胞CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺值较治疗前升高,CD8⁺较治疗前降低,且观察组CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺值较对照组高,CD8⁺较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组骨髓抑制、胃肠道反应、肾功能损害、神经毒性发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** CRS术后行精准持续循环腹腔热灌注化疗联合静脉化疗可提高晚期卵巢癌患者疾病控制率,减低肿瘤标志物水平,调节免疫功能,且不会增加化疗毒副反应。

[关键词] 卵巢癌; 肿瘤细胞减灭术; 静脉化疗; 精准持续循环腹腔热灌注化疗

Effect of precise continuous circulation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy combined with intravenous chemotherapy in postoperative patients with ovarian cancer

YAO Xiuling*, WANG Lixia, LIANG Huan, LIU Shuyu, DAI Yanli

(Department of Gynecology, Hengshui Second People's Hospital, Hengshui, Hebei, China, 053000)

[ABSTRACT] **Objective** To observe the effect of precise continuous circulation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy combined with intravenous chemotherapy in postoperative patients with ovarian cancer. **Methods** 100 patients with advanced ovarian cancer who underwent cytoreductive surgery (CRS) at Hengshui Second People's Hospital from January 2020 to December 2020 were selected as the study subjects. They were randomly divided into an observation group (50 cases, receiving postoperative precise continuous circulation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy combined with 6 cycles of intravenous chemotherapy) and a control group (50 cases, receiving postoperative 6 cycles of intravenous chemotherapy) using a random number table method. At the end of the treatment, the disease control rate, tumor markers [serum human epididymal protein (HE4), alpha fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen (CA) 125], and immune function (T lymphocyte CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺) were compared between the two groups. Additionally, the toxic and side effects of chemotherapy were observed during the treatment period in both groups. **Results** At the end of treatment, the total effective rate of disease control in the observation group was 76.00%, which was higher than 56.00% in the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). At the end of treatment, the levels of serum HE4, AFP, CEA, and CA125 in both groups decreased compared to before treatment. The level in the observation group was lower than that in the control group, with statistically

基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20221493)

作者单位:衡水市第二人民医院妇科,河北,衡水 053000

*通信作者:姚秀玲, E-mail: yq811025@163.com

significant differences ($P<0.05$). At the end of treatment, the values of $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$ of T lymphocytes in both groups increased compared to before treatment, while $CD8^+$ decreased. The values of $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ in the observation group were higher than those in the control group, and $CD8^+$ was lower than in the control group, with statistically significant differences ($P<0.05$). There was no statistically significant difference in the incidence of bone marrow suppression, gastrointestinal reaction, renal function damage and neurotoxicity between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** After CRS surgery, precise continuous circulation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy combined with intravenous chemotherapy can improve the disease control rate of advanced ovarian cancer patients. This treatment also reduces tumor marker levels, regulates immune function, and does not increase chemotherapy toxicity or side effects.

[KEY WORDS] Ovarian cancer; Cytoreductive surgery; Intravenous chemotherapy; Precise continuous circulation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy

晚期卵巢癌治疗原则为最大程度进行肿瘤减灭,肿瘤细胞减灭术(cytoreductive surgery, CRS)可通过改善肿瘤细胞通透性增强抗肿瘤药物作用,促进肿瘤细胞凋亡^[1]。但该术式无法清理腹腔转移病灶,术后或残存部分游离肿瘤细胞,且卵巢癌具有高复发、易转移特性,从而难以控制复发风险^[2]。因此,晚期卵巢癌术后应尽早给予化疗治疗,降低肿瘤复发风险。目前,静脉化疗常难以达到有效药物浓度,不足以完全杀灭肿瘤细胞,疾病控制率有限^[3]。精准持续循环腹腔热灌注化疗(Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, HIPEC)常用于肿瘤发生腹腔转移患者,对肿瘤原发灶、转移灶均可产生免疫刺激作用,利于增强药物抗肿瘤作用^[4]。目前,国内外研究均证实 HIPEC 用于腹部恶性肿瘤中可提高患者治疗收益^[5-6]。本研究现将 HIPEC 联合静脉化疗用于晚期卵巢癌术后患者中,以期提高患者临床获益,改善治疗预后。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2020 年 12 月衡水市第二人民医院收治的 100 例晚期卵巢癌患者作为研究对象。纳入标准:①卵巢癌符合《卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(第四版)》^[7]中相关诊断,并经病理学检查确诊;②患者均在医院接受手术治疗,术后接受化疗;③卡氏功能状态量表评分 ≥ 70 分;④化

疗结束后接受为期 4 周随访。排除标准:①合并其他部位原发性恶性肿瘤;②合并其他妇科疾病,如子宫、盆腔疾病;③合并先天性免疫功能缺血;④合并内分泌功能紊乱;⑤合并骨髓疾病,如骨髓炎、血小板减少等;⑥合并肝肾功能障碍;⑦既往有卵巢手术史;⑧术前长期服用免疫抑制剂。采用随机数字表法将 100 例患者分为观察组(50 例,术后精准持续循环腹腔热灌注化疗联合 6 周期静脉化疗)和对照组(50 例,术后 6 周期静脉化疗),两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者及家属签署知情同意书。

1.2 研究方法

两组均行 CRS 术治疗。对照组术后 1 周时采用静脉化疗:第 1 d,静脉滴注紫杉醇(Bristol-Myers Squibb S.R.L., 国药准字 HJ20171227, 规格:5 mL:30 mg)175 mg/m²,滴注时间 >30 min;静脉滴注卡铂(Bristol-Myers Squibb SA, 国药准字 HJ20171063, 规格:15 mL:150 mg)曲线下面积(AUC 5),滴注时间 >1 h,以 21 d 为 1 个化疗周期,疗程间隔 3 周,共化疗 6 个疗程。在对照组治疗方案基础上,观察组于静脉化疗前采用 HIPEC 治疗:于术后第 1、3、5 d 开始进行 HIPEC 治疗,第 1 d,灌注顺铂(齐鲁制药有限公司, 国药准字 H37021358, 规格:10 mg)90 mg;第 3 d、第 5 d 共灌注顺铂 60 mg,于第 5 d 灌注后,于腹腔内注入 60 mg 顺铂并夹闭灌注管,24 h 后放开。灌注量:

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

组别	n	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	组织学类型		FIGO 分期	
				卵巢上皮性癌	恶性生殖细胞癌	Ⅲ期	Ⅳ期
观察组	50	56.85±1.65	21.64±0.65	32(64.00)	18(36.00)	24(48.00)	26(52.00)
对照组	50	57.32±1.74	21.75±0.72	38(76.00)	12(24.00)	18(36.00)	32(48.00)
$t/\chi^2/Z$ 值		1.386	0.802		1.714		1.240
P 值		0.169	0.425		0.190		0.226

注: BMI 为体重指数。

恒温生理盐水 4 000 mL;灌注时间:1 h;灌注速率:500 mL/min;运行温度:43℃;HIPEC 治疗后 7 d 进行静脉化疗,化疗方式同对照组。

1.3 观察指标

1.3.1 疾病控制率

治疗结束时,根据实体肿瘤疗效判定标准^[8]评估两组疾病控制率:完全缓解(CR):可见病灶完全消失,且维持4周以上;部分缓解(PR):可见病灶缩小≥30%,其他病灶无增大,无新病灶出现,且维持4周以上;疾病稳定(SD):病灶缩小<50%,或增大不超过25%,无新病灶出现,且维持4周以上;疾病进展(PD):病灶增大20%以上或在出现新病灶前无CR、PR、SD。(CR例数+PR例数+SD例数)/总例数×100%=总有效率。

1.3.2 肿瘤标志物

治疗前、治疗结束时,采集患者空腹外周静脉血 8 mL,以 3 500 rpm 速率离心 10 min 获取血清(离心半径为 10 cm,离心机购自南京贝登医疗股份有限公司,型号:Micro-21)放置于血清冷藏箱中待检。采用化学发光法检测血清人附睾蛋白(Human epididymis protein, HE4)、甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)、癌胚抗原(Carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原(Carbohydrate antigen, CA)125 水平。

1.3.3 免疫功能

治疗前、治疗结束时,采集患者空腹外周静脉血 8 mL,以 3 500 rpm 速率离心 10 min 获取血清,离心半径 12 cm,采用流式细胞仪(贝克曼库尔特, CytoFLEX)检测 T 淋巴细胞 CD4⁺、CD8⁺,并计算 CD4⁺/CD8⁺值。

1.3.4 毒副作用

治疗期间,观察两组骨髓抑制(血细胞减少,如血红蛋白、白细胞、血小板等)、肾功能损害(血肌酐、尿素氮升高)、胃肠道反应(表现为恶心呕吐、腹痛腹泻等)、神经毒性(肢端麻木、迟钝)发生情况。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计学软件处理数据,采用

Shapiro-Wilk 正态分布检验计量资料的正态性情况;符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用独立样本 *t* 检验,组内数据比较采用配对样本 *t* 检验;计数资料采用 *n*(%)表示,采用 χ^2 检验,若期望值<5,采用连续校正卡方检验;等级资料采用秩和检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组疾病控制率比较

治疗结束时,观察组疾病控制总有效率为 76.00%,高于对照组 56.00%,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 两组疾病控制率比较 [*n*(%)]

组别	<i>n</i>	CR	PR	SD	PD	总有效率
观察组	50	2	11	25	12	38(76.00)
对照组	50	0	8	20	22	28(56.00)
χ^2						4.456
<i>P</i> 值						0.035

2.2 两组肿瘤标志物比较

治疗结束时,两组血清 HE4、AFP、CEA、CA125 水平较治疗前降低,且观察组水平较对照组低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3。

2.3 两组免疫功能比较

治疗结束时,两组 T 淋巴细胞 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺值较治疗前升高,CD8⁺较治疗前降低,且观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺值较对照组高,CD8⁺较对照组低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

2.4 两组化疗毒副作用比较

两组骨髓抑制、胃肠道反应、肾功能损害、神经毒性发生率比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 5。

3 讨论

HIPEC 是一种腹膜肿瘤治疗技术,主要通过高温与化学药物协同作用对肿瘤细胞进行杀伤,促使肿瘤细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤作用。HIPEC 能通

表 3 两组肿瘤标志物比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HE4 (pmol/L)		AFP (ng/mL)		CEA (μ g/L)		CA125 (U/mL)	
		治疗前	治疗结束时	治疗前	治疗结束时	治疗前	治疗结束时	治疗前	治疗结束时
观察组	50	357.88±41.10	141.70±12.35 ^a	82.66±5.97	35.64±3.35 ^a	12.28±1.21	6.45±0.59 ^a	407.95±42.49	158.89±13.97 ^a
对照组	50	362.61±36.51	167.54±21.79 ^a	83.11±6.49	41.91±3.50 ^a	12.75±1.44	7.38±0.67 ^a	410.81±45.67	183.80±19.18 ^a
<i>t</i> 值		0.608	7.296	0.362	9.156	1.788	7.405	0.325	7.424
<i>P</i> 值		0.545	<0.001	0.718	<0.001	0.077	<0.001	0.746	<0.001

注:较同组治疗前比较,^a*P*<0.05。

表4 两组免疫功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ (%)		CD8 ⁺ (%)		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
		治疗前	治疗结束时	治疗前	治疗结束时	治疗前	治疗结束时
观察组	50	26.60±2.90	32.46±4.02 ^b	35.03±3.40	25.38±2.72 ^b	0.77±0.12	1.33±0.18 ^b
对照组	50	26.44±2.51	30.75±2.87 ^b	35.22±3.06	29.17±2.93 ^b	0.75±0.11	1.07±0.15 ^b
t值		0.299	2.443	0.282	6.713	1.121	8.048
P值		0.765	0.016	0.779	<0.001	0.265	<0.001

注:较同组治疗前比较,^bP<0.05。

表5 两组化疗毒副反应比较[n(%)]

组别	n	骨髓抑制	肾功能损害	胃肠道反应	神经毒性
观察组	50	10(20.00)	7(14.00)	28(56.00)	4(8.00)
对照组	50	13(26.00)	11(22.00)	20(40.00)	6(12.00)
χ^2 值		0.508	1.084	2.564	0.111 ^a
P值		0.476	0.298	0.109	0.739 ^a

注:^a表示采用连续校正卡方检验。

过多种机制对肿瘤细胞起到杀伤作用:通过热杀伤效应,在43℃条件下灌注治疗药物促使肿瘤细胞变性、坏死;通过持续循环的热灌注方式对游离肿瘤细胞起到机械冲洗作用,能清除腹腔微小转移灶和病灶残留;另外,经腹腔注入化疗药物,腹膜-血浆屏障可调节药物在腹腔及血液中的比例,利于提高盆腔、腹腔内药物浓度,延长抗肿瘤作用时间^[9]。本研究结果显示,观察组治疗总有效高于对照组,表明HIPEC联合静脉化疗可提高疾病控制率。

HE4是一种酸性蛋白,当遭受肿瘤细胞刺激时,HE4水平显著升高并参与肿瘤病情进展;AFP是一种糖蛋白,在遭受肿瘤细胞刺激时可大量分泌进入血液,其水平呈异常升高趋势并参与肿瘤病情进展;CEA是一种具有人类胚胎抗原特性的酸性糖蛋白,属于广谱肿瘤标志物,对评估恶性肿瘤病情进展具有重要意义;CA125为卵巢癌常用标志物,可作为评估卵巢癌疗效及复发风险的敏感指标。本研究结果显示,HIPEC联合静脉化疗可进一步降低HE4、AFP、CEA、CA125水平。HIPEC产生的热效应可干扰肿瘤细胞蛋白质、DNA、RNA合成,在细胞水平上激活溶酶体,诱导肿瘤细胞凋亡,降低肿瘤标志水平^[10]。HIPEC还能通过抑制肿瘤组织内血管生成,导致肿瘤细胞缺血、缺氧坏死,利于降低肿瘤标志物水平。Klos等^[11]也证实,CRS术后行HIPEC能破坏腹膜-血浆屏障,阻断肿瘤血管生成,抑制肿瘤生长,降低肿瘤标志物水平。因此,采用HIPEC能通过抑制肿瘤血管生成的方式增强抗肿瘤能力,从而降低肿瘤标志水平。

T淋巴细胞作为人体外周免疫核心,可分泌淋巴因子,诱导体液免疫和细胞免疫应答,发挥抗肿瘤作

用。T淋巴细胞紊乱可加重免疫抑制,降低机体抗肿瘤能力,加速肿瘤细胞增殖、扩散^[12]。本研究结果显示,HIPEC联合静脉化疗可进一步改善T淋巴细胞水平,发挥免疫调节作用。HIPEC产生的热效应可刺激免疫系统产生特异性免疫反应,改善T淋巴细胞水平,提高抗肿瘤能力;且热疗对肿瘤原发灶和转移灶均可产生免疫刺激作用,利于增强免疫应答,提高机体抗肿瘤能力^[13]。王秀芸^[14]等也发现,晚期卵巢癌患者CRS术后行HIPEC可减轻免疫抑制,改善T淋巴细胞水平。本研究观察两组化疗安全性时发现,HIPEC联合静脉化疗并未增加患者毒副反应,表明HIPEC联合静脉化疗具有一定安全性。

综上所述,CRS术后可通过HIPEC联合静脉化疗提高晚期卵巢癌患者疾病控制率,降低肿瘤标志物水平,调节免疫功能,且具有一定安全性。

参考文献

- [1] 薛国剑,张国华,丁超,等.卵巢癌肿瘤细胞减灭术中腹横肌平面阻滞和局部浸润麻醉的术后镇痛效果比较[J].感染、炎症、修复,2022,23(4):226-228.
- [2] Harrison R, Zigelboim I, Cloven NG, et al. Secondary cytoreductive surgery for recurrent ovarian cancer: An SGO clinical practice statement[J]. Gynecol Oncol, 2021,163(3):448-452.
- [3] Karakashev S, Aird KM. Ovarian cancer: how can resistance to chemotherapy be tackled?[J]. Future Oncol, 2017, 13(30): 2737-2739.
- [4] Leebmann H, Piso P. [Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy][J]. Chirurg, 2019, 90(7): 593-604.
- [5] 姬忠贺,李鑫宝,刘刚,等.肿瘤细胞减灭术加腹腔热灌注化疗治疗110例胃癌腹膜癌临床分析[J].中华医学杂志,2018,98(38):3079-3083.
- [6] Quénet F, Elias D, Roca L, et al. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus cytoreductive surgery alone for colorectal peritoneal metastases (PRODIGE 7): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial[J]. 2021, 22(2): 256-266.
- [7] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会.卵巢恶性肿瘤诊断与治疗指南(第四版)[J].中国实用妇科与产科杂志,2018,34(7):739-749.

(下转第766页)

NPAR对妊娠期高血压疾病患者不良妊娠结局的预测价值

赵玉芝* 张玉苓 范蕊 王芳 乔小改

【摘要】目的 探讨中性粒细胞百分比/白蛋白比值(NPAR)对妊娠期高血压疾病(HDP)患者不良妊娠结局的预测价值。**方法** 选择2020年1月至2024年1月郑州大学第二附属医院收治的192例HDP患者作为研究组,根据妊娠结局分为结局不良组($n=79$)与结局良好组($n=113$),另外选取同期200名健康孕妇作为对照组。所有纳入对象入院后均检测外周血中性粒细胞百分比(NEU%)、白蛋白(ALB)水平,并计算NPAR。采用受试者工作特性曲线(ROC)评估NPAR对HDP患者不良妊娠结局的预测价值,采用多因素logistic回归分析HDP患者不良妊娠结局的危险因素。**结果** 研究组NEU%、NPAR均高于对照组,ALB水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结局不良组收缩压、舒张压、病情严重程度重度占比及血清hs-CRP、UA、D-D、NEU%、NPAR及24h尿蛋白定量均高于结局良好组,ALB水平低于结局良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。NPAR预测HDP患者不良妊娠结局的AUC为0.885。多因素分析显示,病情严重程度、hs-CRP($OR=2.106$, 95%CI: 1.489~2.980)、D-D、24h尿蛋白定量、NPAR均为影响HDP患者不良妊娠结局发生的因素($P<0.05$)。**结论** NPAR在HDP患者外周血中异常升高,与不良妊娠结局发生密切相关,且对HDP患者妊娠不良结局发生具有较高的预测价值。

【关键词】 妊娠期高血压疾病;中性粒细胞百分比/白蛋白比值;妊娠结局;预测价值

The predictive value of NPAR for adverse pregnancy outcomes in patients with hypertensive disorders during pregnancy

ZHAO Yuzhi*, ZHANG Yuling, FAN Rui, WANG Fang, QIAO Xiaogai

(Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, China, 450000)

【ABSTRACT】 Objective To explore the predictive value for adverse pregnancy outcomes in patients with hypertensive disorders during pregnancy (HDP). **Methods** A total of 192 HDP cases from January 2020 to January 2024 were selected as the study group and divided into a poor outcome group ($n=79$) and a good outcome group ($n=113$) based on pregnancy outcomes, and 200 healthy pregnant women were selected as the control group. The percentage of peripheral blood neutrophils (NEU%) and albumin (ALB) levels were detected in all subjects after admission, and the NPAR was calculated. The predictive value of NPAR for adverse pregnancy outcomes in HDP patients were evaluated using ROC analysis, and the risk factors for adverse pregnancy outcomes in HDP patients were analyzed using multivariate logistic regression. **Results** NEU% and NPAR levels in the study group were higher compared to the control group, while ALB levels were lower compared to the control group ($P<0.05$). Systolic blood pressure, diastolic blood pressure, disease severity ratio, serum hs-CRP, UA, D-D, NEU%, NPAR, and 24 h urinary protein quantity in the adverse group were higher than those in the good group, with the ALB levels being lower compared to the good group ($P<0.05$). The AUC of NPAR in predicting adverse pregnancy outcomes in HDP patients was 0.885 (95%CI: 0.835~0.935). Multivariate analysis showed that disease severity, hs-CRP, D-D, 24 h urinary protein quantity, and NPAR were all factors influencing adverse pregnancy outcomes in HDP patients ($P<0.05$). **Conclusion** Abnormal levels of NPAR in the

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20230334)

作者单位:郑州大学第二附属医院妇产科,河南,郑州 450000

*通信作者:赵玉芝, E-mail: 15617973783@163.com

peripheral blood of HDP patients are closely related to adverse pregnancy outcomes and have a high predictive value for adverse pregnancy outcomes in these patients.

[KEY WORDS] HDP; NPAR; Pregnancy outcome; Predictive value

妊娠期高血压疾病(hypertensive disorders in pregnancy, HDP)作为女性妊娠期常见的并发症,易增加早产等不良妊娠结局风险,是孕产妇和胎儿死亡的主要原因之一^[1]。早期预测HDP不良妊娠结局风险,对改善患者预后具有重要的意义,但目前临床仍缺乏敏感性、准确性较高的特异性生物学指标。中性粒细胞、白蛋白是临床常用的标志物,可反映机体炎症反应、营养不良状况,且在妊娠期高血压疾病发挥一定作用^[2]。中性粒细胞百分比/白蛋白比值(neutrophil percentage-to-albumin ratio, NPAR)是一种复合型指标,既往有研究报道,高NPAR与高血压患者的不良预后有关^[3]。但是目前尚未见NPAR在HDP的临床价值研究报道。因此,本研究拟探讨NPAR对HDP患者不良妊娠结局的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2020年1月至2024年1月郑州大学第二附属医院收治的192例HDP患者作为研究组,平均年龄(27.65±1.66)岁平均孕周(32.66±1.47)周;孕次平均(1.86±0.63)次;体质指数(22.14±1.32)kg/m²。纳入标准:①均为自然单胎妊娠,且符合HDP诊断标准^[4];②均已签署同意书。排除标准:①合并重要脏器功能障碍者;②合并妊娠糖尿病等其他妊娠并发症者;③伴有子宫畸形、前置性胎盘者;④伴有原发性高血压、内分泌疾病、急慢性感染性疾病、自身免疫性疾病及恶性肿瘤疾病者;⑤多胎妊娠者;⑥近期服用降压药者;⑦具有精神病史者;⑧临床相关数据收集不完整者;⑨参与其他研究调查者;⑩不配合研究及中途退出研究者。另外选取同期200名健康孕妇作为对照组,年龄平均(27.85±1.77)岁;孕周平均(32.94±1.67)周;孕次平均(1.92±0.67)次;体质指数(22.58±1.57)kg/m²。本研究已获郑州大学第二附属医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集

收集研究组年龄、孕周、体质指数、孕次、收缩压、舒张压、高血压家族史、不良孕史、病情严重程度及超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive

protein, hs-CRP)、尿酸(uric acid, UA)、D-二聚体(D-Dimer, D-D)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、24 h尿蛋白定量等。

1.2.2 NPAR检测

所有纳入对象入院后均抽取空腹外周静脉血2 mL置于EDTA抗凝试管中,采用美国BD生产的Sysmex XN-3000血球仪检测中性粒细胞,中性粒细胞百分比(neutrophile granulocyte, NEU%)表示为中性粒细胞占白细胞数量的百分比;同时抽取另一份外周静脉血2 mL(无抗凝),采用罗氏Mod-ular P800全自动生化分析仪检测血清白蛋白(albumin, ALB);计算NPAR=NEU%/ALB。

1.2.3 妊娠结局评估及分组

参照第10版《妇产科手册》^[5]将本研究192例HDCP患者分为结局不良组($n=79$)与结局良好组($n=113$),不良妊娠结局包括早产、胎儿生长受限、胎儿窘迫、产后出血、羊水过少、胎盘早剥、新生儿窒息、新生儿死亡等。

1.3 统计学分析

运用IBM公司SPSS 24.0软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;采用受试者工作特性曲线评估(ROC)NPAR对HDP患者不良妊娠结局的预测价值;采用多因素logistic分析法探讨HDP不良妊娠结局影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组、对照组NPAR比较

研究组NEU%、NPAR均高于对照组,ALB水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 研究组、对照组NPAR的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NEU%(%)	ALB(g/L)	NPAR
研究组	192	88.63±12.65	30.63±4.52	2.89±1.05
对照组	200	60.65±7.13	40.63±6.88	1.49±0.68
t 值		27.115	-16.935	15.731
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 结局不良组、结局良好组HDP患者一般资料比较

结局不良组、结局良好组HDP患者的年龄、孕周、体质指数、孕次、高血压家族史占比、不良孕史

占比比较差异均无统计学意义($P>0.05$);结局不良组收缩压、舒张压及病情严重程度重度占比均高于结局良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 结局不良组、结局良好组HDP患者一般资料的比较
[($\bar{x}\pm s$), n(%)]

临床指标	结局不良组 (n=79)	结局良好组 (n=113)	t/ χ^2 值	P值
年龄(岁)	28.01±1.96	27.94±1.60	0.272	0.786
孕周(周)	32.85±1.85	32.60±1.42	1.058	0.291
体质指数(kg/m ²)	22.02±1.28	22.32±1.42	-1.499	0.135
孕次(次)	1.90±0.70	1.80±0.60	1.061	0.290
收缩压(mmHg)	145.63±10.63	128.24±8.96	12.249	<0.001
舒张压(mmHg)	98.85±6.52	80.47±5.44	21.216	<0.001
高血压家族史	18(22.78)	21(18.58)	0.507	0.476
不良孕史	10(12.66)	12(10.62)	0.190	0.663
病情严重程度				
轻度	11(13.92)	34(30.09)		
中度	16(20.25)	48(42.48)	27.924	<0.001
重度	52(65.82)	31(27.43)		

2.3 结局不良组、结局良好组HDP患者NPAR及相关生化指标比较

结局不良组、结局良好组血清TC、TG、TBIL比较差异均无统计学意义($P>0.05$);结局不良组血清hs-CRP、UA、D-D、NEU%、NPAR及24h尿蛋白定量均高于结局良好组,ALB水平低于结局良好组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 结局不良组、结局良好组HDP患者NPAR及相关生化指标比较($\bar{x}\pm s$)

指标	结局不良组 (n=79)	结局良好组 (n=113)	t值	P值
hs-CRP(mg/L)	38.69±5.63	26.69±4.52	16.347	<0.001
UA(μ mol/L)	378.96±50.63	328.65±40.15	7.666	<0.001
TC(mmol/L)	4.90±0.85	4.85±0.80	0.415	0.678
TG(mmol/L)	1.48±0.33	1.44±0.27	0.921	0.358
D-D(mg/L)	3.98±0.69	3.10±0.58	9.563	<0.001
TBIL(μ mol/L)	9.90±1.62	10.06±1.98	-0.593	0.554
24h尿蛋白定量 (mg/24h)	415.63±60.63	110.26±10.25	52.534	<0.001
NEU%(%)	106.89±14.64	75.86±8.74	18.346	<0.001
ALB(g/L)	22.76±3.44	36.13±5.17	-20.079	<0.001
NPAR	4.12±1.85	2.03±0.88	10.445	<0.001

2.4 NPAR对HDP患者不良妊娠结局的预测价值

ROC曲线分显示,NPAR预测HDP患者不良妊娠结局的AUC为0.885,95%CI:0.835~0.935。见表4。

表4 NPAR对HDP患者不良妊娠结局的预测价值

指标	AUC值	95% CI	截断值	灵敏度	特异度
NPAR	0.885	0.835~0.935	4.25	0.908	0.806

2.5 HDP患者不良妊娠结局发生的多因素分析

以HDP患者妊娠结局作为因变量(结局不良组=1,结局良好组=0),以病情严重程度、hs-CRP、D-D、24h尿蛋白定量、NPAR作为自变量经二分类Logistic逐步回归分析,结果显示,病情严重程度、hs-CRP、D-D、24h尿蛋白定量、NPAR均为影响HDP患者不良妊娠结局发生的因素($P<0.05$)。见表5。

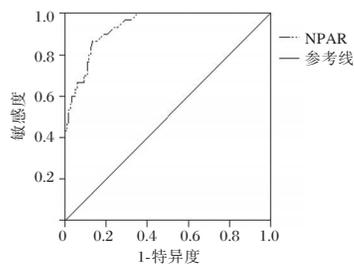


图1 NPAR对HDP患者不良妊娠结局的预测ROC曲线

3 讨论

HDP作为妊娠期特有的并发症,全球发病率为2.9%~13%,我国发病率为5%~12%,其发病后易累及多个器官,严重时可危及孕产妇和胎儿生命安全^[6]。因此,寻找相关预测生物学指标成为众多临床重点研究课题。

NEU%指中性粒细胞在白细胞中所占的数量比例,作为炎症标志物,其水平可反映机体炎症反应程度^[7-9]。郭凯等^[10]研究报道,NEU%在细菌性肠炎患儿中显著升高。ALB作为血液中的重要组成部分,具有抗炎、抗氧化、抗血栓形成等多种功能^[11],曾凡平等^[12]研究报道,ALB水平下降可引起炎症反应,ALB可有效预测脓毒症及感染性休克不良预后。NPAR是由以上经典指标组成的新型炎症指标,较其他独立的白细胞亚型相比,可更好地反映炎症状态。贾俊丽等^[13]研究报道,NPAR升高可增加重症自身免疫性脑发生风险。李秋月等^[14]研究报道,NPAR升高是非ST段抬高型心肌梗死患者危险因素。

表5 HDP患者不良妊娠结局发生的多因素分析

变量	赋值	β 值	S.E值	Wald χ^2 值	OR(95% CI)	P值
病情严重程度	轻度=0,中度=1,重度=2	1.085	0.265	16.765	2.959(1.761~4.975)	<0.001
hs-CRP	≤ 32.41 mg/L=0, >32.41 mg/L=1	0.745	0.177	17.716	2.106(1.489~2.980)	<0.001
D-D	≤ 3.66 mg/L=0, >3.66 mg/L=1	0.874	0.195	20.089	2.396(1.635~3.512)	<0.001
24h尿蛋白定量	≤ 314.54 mg/24h=0, >314.54 mg/24h=1	1.225	0.311	15.515	3.404(1.850~6.262)	<0.001
NPAR	≤ 4.25 =0, >4.25 =1	1.452	0.355	16.729	4.272(2.130~8.566)	<0.001

本研究发现,研究组外周血 NPAR 高于对照组,提示 NPAR 升高可能与 HDP 发生有关,HDP 发病过程中呈现出局部炎症反应和全身炎症反应。NPAR 升高会加重机体氧化应激,引起炎症反应,进而参与 HDP 发生。本研究发现,结局不良组 NPAR 高于结局良好组,提示 NPAR 可能与 HDP 不良妊娠结局发生有关。研究结果显示,NPAR 预测 HDP 患者不良妊娠结局的 AUC 为 0.885,提示 NPAR 对患者不良妊娠结局的发生具有良好的预测效能。进一步研究分析显示,NPAR 为影响 HDP 患者不良妊娠结局发生的因素。证实 NPAR 升高与 HDP 患者妊娠结局不良发生有关,可作为评估妊娠结局的有效指标,与陈政等^[15]研究结论一致。HDP 发病机制复杂,常与炎症反应、免疫机制、血管内皮细胞损伤等因素有关。在 HDP 发病过程中,全身小血管痉挛和内皮功能障碍可释放炎性介质,引起全身炎症反应,大量炎性细胞因子释放会破坏毛细血管内皮细胞,增加血管通透性,导致血管内 ALB 外漏,外周血中 ALB 水平下降。中性粒细胞是免疫系统第一道防线,可通过释放炎性介质起到防御作用,但若中性粒细胞异常升高可引起免疫调节亚群与促炎性中性粒细胞亚群比例失调,导致体内炎症反应加重,进而促进 HDP 病情进展。因此,HDP 患者 NPAR 升高时可导致机体病情加重,若未及时治疗可增加患者妊娠结局不良发生风险。

综上所述,NPAR 在 HDP 患者外周血中异常升高,与不良妊娠结局发生密切相关,且对 HDP 患者妊娠不良结局发生具有较高的预测价值。

参考文献

- [1] 周立娜,张蕾,孙晓娜,等. 妊娠期高血压疾病患者孕中期血小板参数、钙离子浓度、凝血指标与病情程度及母婴结局相关性研究[J]. 陕西医学杂志, 2024, 53(2): 257-261.
- [2] 王梦玲. 孕妇凝血、炎症细胞等指标与妊娠期高血压疾病相关性分析[D]. 河南: 郑州大学, 2021.
- [3] Liu Z, Dong L, Shen G, et al. Associations of neutrophil-percentage-to-albumin ratio level with all-cause mortality and cardiovascular disease-cause mortality among patients with hypertension: evidence from NHANES 1999-2010 [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2024, 11: 1397422.
- [4] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2020) [J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(4): 227-238.
- [5] 孔北华,马丁,段涛,等. 妇产科学(第10版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2024: 126-130.
- [6] 吕慧杰. 妊娠期高血压患者中凝血功能和纤溶系统相关指标变化的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2022.
- [7] 康珍. 中性粒细胞淋巴细胞比值和动静脉二氧化碳分压差在呼吸衰竭诊治中的研究进展 [J]. *保健医学研究与实践*, 2023, 20(4): 153-156.
- [8] 赵富利,康艳丽,赵迪,等. CD64 指数、NEU、NLR 比值及 PCT 对 2 型糖尿病酮症酸中毒合并细菌感染的预测价值 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(16): 2439-2443.
- [9] 高峰平,胡军霞,朱雪娟,等. WBC、NEU%、hs-CRP、PCT 水平变化在辅助血流感染早期诊断中的应用价值[J]. *浙江医学*, 2020, 42(20): 2222-2225.
- [10] 郭凯,邓超,吴晓鹏. 降钙素原、前白蛋白、中性粒细胞百分比水平表达对儿童细菌性肠炎的诊断价值[J]. *临床研究*, 2023, 31(5): 143-145.
- [11] 黄凯丽,舒沪莹,周晓莲,等. 前白蛋白、白蛋白与 D-二聚体在急性肺栓塞病情严重程度及预后中的预测价值[J]. *广西医科大学学报*, 2023, 40(7): 1206-1211.
- [12] 曾凡平,卢锦圣,张树元. 中性粒细胞(NEU)、白蛋白(ALB)比值在小儿严重脓毒症预后预测中的应用价值[J]. *医学食疗与健康*, 2022, 20(1): 60-62.
- [13] 贾俊丽. 外周血 NPAR 与自身免疫性脑炎疾病严重程度的关联性研究[D]. 山东: 山东大学, 2023.
- [14] 李秋月. FAR、NPAR 与非 ST 段抬高型心肌梗死及其冠状动脉病变严重程度的关系研究[D]. 山西: 山西医科大学, 2022.
- [15] 陈政,张碧畅,孙铁男,等. 中性粒细胞百分比与白蛋白比值对急性心力衰竭合并心包积液患者预后影响分析[J]. *心肺血管病杂志*, 2023, 42(2): 113-118.
- [8] 邵如玉,卢艳,姚德生,等. 腹腔热灌注化疗治疗妇科恶性肿瘤近期疗效与安全性的临床观察[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2022, 27(5): 425-432.
- [9] Gajarawala S, Pelkowski J, Dorian R, et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for treating ovarian cancer [J]. *JAAPA*, 2021, 34(8): 50-53.
- [10] Koole S, van Stein R, Sikorska K, et al. Primary cytoreductive surgery with or without Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) for FIGO stage III epithelial ovarian cancer: The OVHIPEC - 2 trial in progress [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(6): 888-892.
- [11] Klos D, Riško J, Hanuliak J, et al. Peritoneal Carcinomatosis from Ovarian Cancer - Current Clinical Impact of Cytoreductive Surgery and Intraperitoneal Hyperthermic Chemotherapy [J]. *Klin Onkol*, 2019, 32(5): 349-352.
- [12] 赵艳勋,刘琴,王秋英. 卵巢癌患者临床分期与 T 淋巴细胞亚群的相关性分析[J]. *解放军医药杂志*, 2018, 30(9): 9-11, 19.
- [13] Ghirardi V, Ronsini C, Trozzi R, et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in interval debulking surgery for advanced epithelial ovarian cancer: A single-center, real-life experience [J]. *Cancer*, 2020, 126(24): 5256-5262.
- [14] 王秀芸,郭亚琼,高艳艳. 细胞减灭术联合腹腔热灌注化疗治疗晚期卵巢癌的疗效分析[J]. *癌症进展*, 2021, 19(17): 1797-1800.

(上接第 762 页)

新生抗原疫苗联合 EGFR 抑制剂对非小细胞肺癌脑转移的作用机制研究

林嘉萍^{1*} 欧旻¹ 林宁宁²

[摘要] **目的** 本研究旨在探讨新生抗原多肽疫苗(NAPV)联合 EGFR 抑制剂(EGFRi)对非小细胞肺癌脑转移的作用机制。**方法** 在福建医科大学孟超肝胆医院通过左心室注射建立肺癌脑转移模型,120只成功建模小鼠分为四组:包括A组(PBS)、B组(NAPV)、C组(EGFR抑制剂EGFRi)和D组(NAPV+EGFRi),每组30只,小动物荧光成像系统测量肿瘤生长情况,流式分析评估Treg细胞比例,ELISA检测IL-2、IL-6、TNF- α 、CEA和CA153水平,免疫组化检测PCNA、VEGF、PDGF、COX-2和EGFR蛋白表达水平。**结果** A组小鼠的肿瘤体积随时间增加而不断增加,B组、C组、D组小鼠10天以后肿瘤体积先增加后减小,在第12-16天达到最大,随后肿瘤体积开始缩小。小鼠的肿瘤体积A组>C组>B组>D组,差异有统计学意义($P<0.05$)。IL-2水平D组>B组>C组>A组,差异有统计学意义($P<0.05$),IL-6、TNF- α 、CEA和CA153水平A组>C组>B组>D组,差异有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤细胞共培养的CD4+T细胞中CD4+CD25+Foxp3+细胞的比例A组(22%)>C组(12%)>D组(10%)>B组(8%),差异有统计学意义($P<0.05$)。PCNA、VEGF、PDGF、COX-2蛋白表达水平A组>C组>B组>D组,差异有统计学意义($P<0.05$);EGFR蛋白表达水平A组>B组>C组>D组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** NAPV与EGFRi联合使用显著抑制了EGFR突变非小细胞肺癌脑转移,效果优于单一治疗。

[关键词] 新生抗原疫苗;表皮生长因子受体抑制剂;非小细胞肺癌;脑转移;肿瘤生长;机制研究

Study on the mechanism of action of neoantigen vaccine combined with EGFR inhibitor on brain metastasis of non-small cell lung cancer

LIN Jiaping^{1*}, OU Yang¹, LIN Ningning²

(1. Department of Respiratory Medicine, Mengchao Hepatobiliary Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian, China, 350000; 2. Department of Geriatrics, Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen, Fujian, China, 350000)

[ABSTRACT] **Objective** The purpose of this study is to explore the mechanism of action of neoantigen peptide vaccine (NAPV) combined with EGFR inhibitor (EGFRi) on brain metastasis of non-small cell lung cancer. **Methods** A lung cancer brain metastasis model was established by left ventricular injection at Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University. 120 successfully modeled mice were divided into four groups: Group A (PBS), Group B (NAPV), Group C (EGFR inhibitor EGFRi), and Group D (NAPV+EGFRi), with 30 mice in each group. The tumor growth was measured using a small animal fluorescence imaging system, and the proportion of Treg cells was evaluated by flow cytometry. The levels of IL-2, IL-6, TNF- α , CEA, and CA153 were detected by ELISA, and the protein expression levels of PCNA, VEGF, PDGF, COX-2, and EGFR were detected by immunohistochemistry. **Results** The tumor volume of group A mice increased continuously with time, while group B, C, and D mice first increased and then decreased after 10 days, reaching the maximum on days 12-16, and then began to shrink. The tumor volume of mice in group A > group C > group B > group D showed a statistically significant difference ($P<0.05$). The levels of IL-2 in group D > group B > group C > group A showed statistically significant differences ($P<0.05$), while the levels of IL-6, TNF- α , CEA, and CA153 in group A > group C > group B > group D showed statisti-

基金项目:福建省自然科学基金(2023J011481);福州市卫生健康科技计划项目(2022-S-wq20)

作者单位:1.福建医科大学孟超肝胆医院呼吸内科,福建,福州 350000

2.厦门大学附属中山医院老年科,福建,厦门 350000

*通信作者:通信作者:林嘉萍, E-mail: 18559181610@163.com

cally significant differences ($P<0.05$). The proportion of CD4+CD25+Foxp3+cells in CD4+T cells co cultured with tumor cells was significantly higher in Group A (22%) than in Group C (12%), Group D (10%), and Group B (8%) ($P<0.05$). The expression levels of PCNA, VEGF, PDGF, and COX-2 proteins were significantly higher in group A than in group C, group B, and group D ($P<0.05$); The expression level of EGFR protein in group A > group B > group C > group D showed a statistically significant difference ($P<0.05$).

Conclusion The combination of NAPV and EGFRi significantly inhibits brain metastasis in *EGFR* mutant non-small cell lung cancer, and is more effective than monotherapy.

[KEY WORDS] newborn antigen vaccine; Epidermal growth factor receptor inhibitors; Non small cell lung cancer; Brain metastasis; Tumor growth; Mechanism research

非小细胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)脑转移是NSCLC常见的远处转移部位之一,严重影响患者的生存质量和预后^[1]。*EGFR*抑制剂(*EGFR* inhibitors, EGFRi)已被广泛应用于临床,显著提高了患者的生存率和生活质量^[2]。然而,尽管EGFRi在晚期NSCLC的治疗中表现出良好的疗效,但其在脑转移中的效果仍有限。新生抗原多肽疫苗(Neoantigen Peptide Vaccine, NAPV)是一种基于个体化肿瘤突变的免疫治疗方法,通过识别和靶向肿瘤特异性新生抗原,激发机体的特异性免疫反应。NAPV在多种实体瘤的临床前研究和初步临床试验中显示出良好的安全性和初步疗效^[3-5],NAPV与EGFRi联合使用可能通过以下几种机制增强对*EGFR*突变非小细胞肺癌脑转移的治疗效果。首先是增强抗原特异性T细胞应答,NAPV提供肿瘤特异性新生抗原,激活并扩增抗原特异性T细胞,特别是CD8+ T细胞,从而直接攻击表达这些抗原的肿瘤细胞^[6]。EGFRi可能通过改变肿瘤细胞表面标志物的表达,增加其免疫原性,使得肿瘤细胞更容易被T细胞识别和清除。其次是改善肿瘤微环境,EGFRi抑制肿瘤细胞分泌的免疫抑制分子(如IL-6、TNF- α),减少免疫抑制环境,促进免疫细胞向肿瘤部位的浸润。NAPV可能进一步减少调节性T细胞(Treg)的比例,降低其对效应T细胞的抑制作用,优化局部免疫反应。然后是抑制肿瘤细胞增殖和生存信号,EGFRi直接阻断*EGFR*介导的下游信号通路(如RAS/RAF/MEK/ERK和PI3K/AKT/mTOR),抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和存活^[7]。联合治疗可能协同抑制这些信号通路,更有效地阻止肿瘤细胞的生长,并克服单一疗法容易产生的耐药性。最后是逆转免疫抑制状态,EGFRi可能逆转由肿瘤诱导的免疫抑制状态,使得原本处于功能耗竭状态的T细胞重新获得活性,提高整体抗肿瘤免疫效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料

根据NCBI数据库,整理已存在于肺癌细胞中的*EGFR*基因18-21外显子突变,设计*EGFR*突变短肽,基于生物信息学方法预测潜在新生抗原与MHC分子亲和力,选择亲和力评分靠前的40条短肽进,体内验证潜在新生抗原的免疫原性,体外制备新生抗原多肽疫苗,然后在福建医科大学孟超肝胆医院构建生物自发光的*EGFR*突变非小细胞肺癌脑转移小鼠肿瘤模型,取120只*EGFR*突变非小细胞肺癌脑转移肿瘤模型小鼠随机分成四组,包括新生抗原多肽疫苗组(NAPV)、新生抗原多肽疫苗+*EGFR*抑制剂组(NAPV+EGFRi)、*EGFR*抑制剂组(EGFRi)和对照组(PBS),评估新生抗原多肽疫苗联合*EGFR*抑制剂的抗肿瘤疗效。

1.2 方法

取C57BL/6小鼠123只,购自维通利华生物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006。选取7周龄,体重约18g,雌雄各半,用50%基质胶重悬luciferase标记的H1978细胞,配制成 2×10^7 个/mL的细胞悬液,每只小鼠注射 1×10^6 个/50 μ L体系的细胞悬液。小鼠经腹腔注射5%水合氯醛麻醉后,固定于平板上,于胸骨左缘第二肋旁开2mm处5度角进针,进针5mm左右见血液喷射涌入说明针头进入左心室,然后缓慢将肿瘤细胞注射入左心室。随机选取3只小鼠行¹⁸F FDG SPECT/CT成像,在成像结束后,人道处死小鼠,留取脑组织行HE染色,验证脑转移情况。

取120只*EGFR*突变肺癌脑转移肿瘤模型小鼠随机分成四组,包括A组(PBS)、B组(NAPV)、C组(*EGFR*抑制剂EGFRi)和D组(NAPV+EGFRi)各30只。B组接种CoVac-1多肽疫苗治疗,C组接种CoVac-1多肽疫苗治疗,同时每3天皮

下注射一次奥希替尼, 2.5 mg/kg/d, 采用腹腔内注射给药方式, D组采用NAPV和奥希替尼进行治疗, A组采用等量磷酸盐缓冲液注射, 每2天用小动物荧光成像系统测量一次肿瘤的生长情况。

流式分析评估不同组小鼠记忆性Treg细胞比例, 成瘤4周后, 处死不同组别的小鼠。取其脾脏, 用注射器吹打出脾内的细胞, 过滤收集液体, 离心5分钟(1 200 rpm), 加入2 mL红细胞裂解液吹打混匀, 孵育2分钟, 再用PBS清洗重悬。收集T细胞进行CD4、CD25、FOXP3染色, 流式分析评估不同治疗方式对小鼠记忆性T细胞比例和Treg细胞比例的影响。

将不同治疗组的小鼠通过眼球取血, 将全血收集于抗凝管中, 血清收集于EP管或促凝管。血清在4℃静置30分钟, 离心10分钟(3 000 rpm), 收集上层血清。经一定倍数的稀释, 用ELISA实验检测血清中IL-2、IL-6、TNF-α、CEA、CA153的浓度。采用免疫组化检测小鼠肿瘤细胞的PCNA、VEGF、PDGF、COX-2和EGFR蛋白水平。

1.3 统计学分析

采用SPSS 19.0(IBM company USA)对数据进行分析和处理。呈正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较用F检验; 计数资料用n(%)描述, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 四组小鼠的肿瘤体积比较

A组小鼠的肿瘤体积随时间增加而不断增加, B组、C组、D组小鼠10天以后肿瘤体积先增加后减小, 在第12~16天达到最大, 随后肿瘤体积开始缩小。小鼠的肿瘤体积A组>C组>B组>D组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 四组小鼠的细胞因子水平比较

四组小鼠的细胞因子水平比较, IL-2水平D组>B组>C组>A组, 差异有统计学意义($P < 0.05$),

IL-6、TNF-α、CEA和CA153水平A组>C组>B组>D组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 四组小鼠的细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-2 (pg/mL)	IL-6 (ng/mL)	TNF-α (ng/mL)	CEA (ng/mL)	CA153 (U/mL)
A组	0.46±0.03	248.45±28.75	22.76±2.98	12.75±1.98	136.89±21.87
B组	0.65±0.05	203.65±27.86	15.76±3.07	8.64±1.84	67.85±17.65
C组	0.58±0.04	226.74±31.84	18.64±2.28	9.85±0.95	96.42±18.93
D组	0.77±0.05	188.64±25.86	11.65±2.07	6.33±1.22	32.76±6.85
F值	3.755	10.664	2.986	12.653	8.456
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 四组小鼠肿瘤细胞共培养的T细胞中Treg细胞比例变化

四组小鼠肿瘤细胞共培养的T细胞中Treg细胞比例变化, 可以看出, 肿瘤细胞共培养的CD4+T细胞中CD4+CD25+Foxp3+细胞的比例A组(22%)>C组(12%)>D组(10%)>B组(8%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。

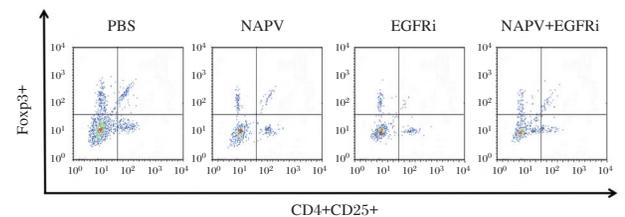


图1 四组小鼠肿瘤细胞共培养的T细胞中Treg细胞比例变化

2.3 免疫组化检测肿瘤细胞中PCNA、VEGF、PDGF、COX-2和EGFR蛋白表达水平

四组小鼠的蛋白水平比较, 可以看出, PCNA、VEGF、PDGF、COX-2蛋白表达水平A组>C组>B组>D组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); EGFR蛋白表达水平A组>B组>C组>D组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

3 讨论

本研究旨在探讨新生抗原多肽疫苗(NAPV)和EGFR抑制剂(EGFRi)单独及联合使用对EGFR突变非小细胞肺癌脑转移肿瘤模型小鼠的作用机

表1 四组小鼠的肿瘤体积比较($\bar{x} \pm s$)(mm³)

天数	A组	B组	C组	D组	F值	P值
第10天	146.54±26.75	102.45±24.76	117.75±22.54	94.67±21.65	10.678	<0.001
第12天	165.78±26.75	110.75±18.64	135.87±21.86	95.89±22.48	4.889	<0.001
第14天	238.86±27.75	144.76±21.86	201.75±23.64	98.76±16.86	12.646	<0.001
第16天	348.76±29.75	99.65±21.48	189.64±19.65	53.75±11.75	6.467	<0.001
第18天	379.86±36.76	72.86±18.56	138.76±25.45	32.76±8.57	2.499	<0.001
第20天	400.64±40.44	56.75±9.46	89.75±11.65	17.65±5.87	8.456	<0.001

表3 四组小鼠的蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	PCNA	VEGF	PDGF	COX-2	EGFR
A组	0.052±0.005	0.035±0.005	0.027±0.003	0.023±0.004	0.086±0.007
B组	0.016±0.003	0.015±0.002	0.019±0.004	0.014±0.003	0.065±0.008
C组	0.025±0.004	0.026±0.003	0.021±0.002	0.019±0.005	0.042±0.006
D组	0.009±0.001	0.008±0.001	0.012±0.003	0.007±0.001	0.023±0.005
F值	6.744	3.374	5.746	10.574	7.482
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

制。研究结果显示, PBS 治疗小鼠的肿瘤体积随时间逐渐增加, 而 NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的肿瘤体积随着治疗时间增加而逐渐缩小, 其中 NAPV+EGFRi 组小鼠肿瘤体积缩小最为明显。各组小鼠的细胞因子水平结果显示, NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 IL-2 水平明显高于 PBS 组, 而 IL-6、TNF- α 、CEA 和 CA153 的水平则显著低于 PBS 治疗。各组小鼠肿瘤细胞共培养的 T 细胞中 Treg 细胞比例的变化结果显示, 与 PBS 治疗相比, NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 CD4+CD25+Foxp3+ 细胞比例显著降低。同时, 本研究还对各组小鼠的蛋白水平进行了比较, 发现 NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 PCNA、VEGF、PDGF、COX-2 和 EGFR 水平均显著低于 PBS 治疗。

通过综合分析肿瘤体积变化、细胞因子水平、Treg 细胞比例以及蛋白表达水平的数据, 我们可以推断出以下几种可能的作用机制: 首先是协同增强抗肿瘤免疫反应。NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 IL-2 水平显著高于 PBS 治疗, 特别是 NAPV+EGFRi 组的 IL-2 水平最高。IL-2 是促进 T 细胞增殖和活化的重要细胞因子, 其升高表明这些治疗增强了机体的抗肿瘤免疫反应。其次是 Treg 细胞比例降低, 与 PBS 治疗相比, NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 CD4+CD25+Foxp3+Treg 细胞比例显著降低, 其中 NAPV+EGFRi 治疗最低。Treg 细胞在维持免疫耐受和抑制效应 T 细胞功能中起关键作用, 其比例的减少意味着免疫抑制环境的减弱, 有利于抗肿瘤免疫反应的增强^[8]。然后是抑制炎症反应和肿瘤标志物表达。NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 IL-6、TNF- α 、CEA 和 CA153 水平显著低于 PBS 治疗, 特别是 NAPV+EGFRi 治疗最低, 这表明这些治疗不仅提高了抗肿瘤免疫反应, 还有效抑制了炎症反应和肿瘤标志物的表达, 从而减少了肿瘤微环境中的促癌因素^[9]。另外是抑制肿瘤

细胞增殖和血管生成。NAPV、EGFRi 和 NAPV+EGFRi 治疗小鼠的 PCNA、VEGF、PDGF、COX-2 和 EGFR 蛋白水平显著低于 PBS 治疗, 尤其是 NAPV+EGFRi 治疗最低, 这些蛋白在肿瘤细胞增殖和血管生成中起重要作用, 其表达水平的降低表明 NAPV 和 EGFRi 能够有效抑制肿瘤的生长和血管生成, 进一步支持了联合治疗的优越性^[10]。NAPV 和 EGFRi 的联合作用可能通过多种途径改善肿瘤微环境, 包括减少免疫抑制分子的分泌、增加免疫细胞向肿瘤部位的浸润、上调共刺激分子表达等。这种优化的微环境有助于更有效地清除肿瘤细胞, 并防止疾病复发。最后是逆转免疫抑制状态, EGFRi 可能通过阻断肿瘤细胞表面的 EGFR 信号通路, 间接增强了 T 细胞的功能, 使得原本处于功能耗竭状态的 T 细胞重新获得活性^[11]。同时, NAPV 提供的新生抗原进一步激活了特异性 T 细胞应答, 两者协同作用提高了整体抗肿瘤免疫效果。综上所述, 本研究揭示了 NAPV 与 EGFRi 联合使用的多重作用机制。这种组合疗法不仅通过增强抗肿瘤免疫反应、抑制炎症反应和肿瘤标志物表达, 还通过抑制肿瘤细胞增殖和血管生成, 显著提高了对 EGFR 突变非小细胞肺癌脑转移的治疗效果。特别是联合治疗在改善肿瘤微环境和逆转免疫抑制状态方面表现出色, 为开发更为精准有效的 NSCLC 脑转移治疗策略提供了新的思路和方向。

参考文献

- [1] 刘靖, 张文婷, 苗传龙, 等. 非小细胞肺癌患者脑转移风险预测模型的构建及验证[J]. 热带医学杂志, 2023, 23(12): 1704-1710+1794.
- [2] 符诗薇, 金伟伟, 李婷婷, 等. 非小细胞肺癌脑转移全脑放疗患者联合同步或序贯推量的疗效对比[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2024, 45(17): 1627-1631.
- [3] Ding Z, Li Q, Zhang R, et al. Personalized neoantigen pulsed dendritic cell vaccine for advanced lung cancer [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 26.

·论 著·

PG I、PG II、G17、PGR联合幽门螺旋杆菌抗体对胃癌的诊断价值

王杰民 凌成军 仇元亭 陈玉兰 庄剑波*

[摘要] **目的** 探讨胃蛋白酶原 I (PGI)、胃蛋白酶原 II (PG II)、胃泌素-17 (G17)、PG I/PG II 比值 (PGR) 联合幽门螺旋杆菌 (Hp) 抗体对胃癌的诊断价值。**方法** 回顾性分析 2022 年 7 月至 2023 年 7 月 1 866 例因胃部不适于苏州高新区人民医院进行胃病筛查患者的临床资料, 其中 84 例确诊早期胃癌作为早期胃癌组, 1 782 例胃部良性病变者作为胃部良性病变组。比较早期胃癌组、胃部良性病变组患者一般资料以及血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平、Hp 抗体阳性率, 比较早期胃癌组不同 Hp 抗体分型血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平, 并绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 分析血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平联合 Hp 抗体检测对早期胃癌的诊断价值。**结果** 胃部良性病变组血清 PGI、PGR 水平高于早期胃癌, 血清 PG II、G17 水平则低于早期胃癌, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。血清 PG I、PGR 水平: Hp 抗体 I 型组 < Hp 抗体阴性组 < Hp 抗体 II 型组, 血清 PG II 水平: Hp 抗体阴性组 > Hp 抗体 I 型组 > Hp 抗体 II 型组, 血清 G17 水平: Hp 抗体阴性组 > Hp 抗体 II 型组 > Hp 抗体 I 型组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平联合 Hp 抗体检测诊断早期胃癌的曲线下面积 (AUC) 值为 0.887, 高于各指标单独检测 (0.699、0.719、0.700、0.719、0.726, $P < 0.05$)。**结论** 血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平在早期胃癌患者中均呈现异常表达, 其表达水平与患者 Hp 抗体分型有一定关系, 且五者联合检测对早期胃癌的诊断价值更高。

[关键词] 胃癌; 幽门螺旋杆菌抗体; 胃蛋白酶原 I; 胃蛋白酶原 II; 胃泌素-17; 胃蛋白酶原 I/胃蛋白酶原 II 比值

Diagnostic value of PG I, PG II, G17, PGR combined with Helicobacter pylori antibody in gastric cancer

WANG Jiemin, LING Chengjun, ZHANG Yuanting, CHEN Yulan, ZHUANG Jianbo*

(Department of Gastroenterology, the People's Hospital of SND, Suzhou, Jiangsu, China, 215000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the diagnostic value of pepsinogen I (PGI), pepsinogen II (PG II), gastrin -17 (G17), PG I/PG II ratio (PGR) combined with Helicobacter pylori (Hp) antibody in gastric cancer. **Methods** The clinical data of 1,866 patients with gastric discomfort who were screened at our hospital from July 2022 to July 2023 were retrospectively selected. Among them, 84 patients with early gastric cancer were diagnosed with early gastric cancer group, and 1,782 patients with benign gastric lesions were categorized in the benign gastric lesions group. The general data, levels of serum PG I, PG II, G17, PGR, Hp antibody positive rate and levels of serum PG I, PG II, G17, PGR for patients with early gastric cancer and benign gastric lesions were compared. A Receiver operating characteristic curve (ROC) was drawn to analyze the diagnostic value of serum PG I, PG II, G17 and PGR combined with Hp antibody detection in early gastric cancer. **Results** The levels of serum PGI and PGR in the gastric benign lesion group were higher than those in early gastric cancer, while the levels of serum PGII and G17 were lower than those in early gastric cancer, with statistical significance ($P < 0.05$). Serum PGI and PGR levels of Hp antibody group I < Hp antibody negative group < Hp antibody type II, serum PG level negative group Hp antibody type I > Hp antibody type II, serum G17 level negative group Hp antibody type II > Hp antibody type I, the differences were statistically significant ($P < 0.05$).

基金项目: 苏州高新区人民医院科技创新基金项目 (SGY2022B02)

作者单位: 苏州高新区人民医院消化内科, 江苏, 苏州 215000

*通信作者: 庄剑波, E-mail: ZjbLanzhou@126.com

The area under the curve (AUC) of serum PG I, PG II, G17 and PGR combined with Hp antibody detection in the diagnosis of early gastric cancer was 0.887, which was higher than that of serum PG I, PG II, G17 and PGR alone and Hp antibody detection alone (0.699, 0.719, 0.700, 0.719 and 0.726, $P < 0.05$). **Conclusion** The levels of serum PG I, PG II, G17, and PGR were all abnormally expressed in patients with early gastric cancer. Their expression levels were related to Hp antibody typing in patients, and the combined detection of these markers was shown to be more valuable for the diagnosis of early gastric cancer.

[KEY WORDS] Gastric cancer; HP; PG I; PG II; G17; PGR

胃癌是一种源于胃粘膜上皮细胞的恶性肿瘤,病理类型主要为腺癌,大部分患者伴有幽门螺旋杆菌(*helicobacter pylori*, Hp)感染,5年生存率只有20%左右^[1]。目前,国内对早期胃癌的诊断主要依赖于胃镜及病理,但由于其具有侵入性,患者依从性不高,且存在技术困难、费用昂贵等问题,很难用于胃癌的普遍筛查^[2]。随着临床对胃癌的深入研究,研究发现血清中胃蛋白酶原 I (Pepsinogen I, PGI)、胃蛋白酶原 II (Pepsinogen II, PG II)、胃泌素-17 (Gastrin-17, G17)、PG I/PG II 比值 (pepsinogen ratio, PGR)等在胃癌的早期筛查和术后复发转移中发挥重要作用,且与Hp感染有一定关系^[3]。相关研究^[4]显示, Hp感染、遗传和饮食等因素与胃癌发病关系密切, Hp感染与胃癌发病密切相关。但因血清 PG I、PG II 水平亦受慢性萎缩性胃炎等疾病的影响, PG I/PG II 检测胃癌的特异度较低,其对Hp阳性早期胃癌的诊断价值有待进一步研究^[5]。本研究以胃癌患者为对象进行研究,旨在进一步探索血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平联合 Hp 抗体检测诊断早期胃癌的临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性选取1866例2022年7月至2023年7月苏州高新区人民医院胃部不适进行胃病筛查患者的临床资料,其中确诊早期胃癌84例作为早期胃癌组,1782例胃部良性病变者作为胃部良性病变组。纳入标准:①早期胃癌符合《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案)(2017年,上海)》^[6]中相关诊断标准者;②胃病筛查患者年龄超过18周岁者;③胃病筛查患者临床资料齐全者等。胃病筛查患者排除标准:①合并肝脏衰竭者;②伴有全身感染性疾病及血液系统疾病者;③合并其他恶性肿瘤患者等。

1.2 研究方法及观察指标

1.2.1 早期胃癌组、胃部良性病变组一般资料

依据本院病历系统对所有研究对象的一般资

料进行统计分析:性别、年龄、体质指数(Body mass index, BMI)。

1.2.2 早期胃癌组、胃部良性病变组血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平、Hp 抗体阳性率检测

所有研究对象于检查当日采集空腹静脉血6 mL,所采集标本进行离心处理,离心条件:离心半径8 cm,时间10 min,速率3000 r/min。取3 mL血清样本,应用酶联免疫吸附法检测血清 PG I、PG II、G17 水平,并对应计算 PGR (PG I/PG II = PGR 值);剩余3 mL血清样本应用全自动免疫印迹分析仪检测 Hp 抗体分型具体情况:Hp I 型抗体阳性为区带中出现 vacA 或者 cagA 区或者两种蛋白一同出现;Hp II 型抗体阳性为区带中仅出现尿素酶 A 或者尿素酶 B 或者两种酶一同出现,区带中未观察到 VacA 以及 CagA 区;而区带中未见任何阳性区带为阴性;以《幽门螺杆菌感染诊断方法的评价与诊断标准》^[7]作为参考依据。

1.2.3 不同 Hp 抗体分型早期胃癌患者血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平比较

依据上述早期胃癌患者 Hp 抗体分型分型结果,分为 Hp 抗体 I 型组 27 例、Hp 抗体 II 型组 25 例和 Hp 抗体阴性组 32 例,并比较各组间血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平。

1.3 统计学方法

采用软件 SPSS 24.0 统计并分析数据,计量资料符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间比较予以独立样本 *t* 检验,多组间比较予以重复测量方差分析;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验进行组间比较;绘制 ROC 曲线分析血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平联合 Hp 抗体检测对早期胃癌的诊断价值,获取曲线下面积(AUC),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 早期胃癌组、胃部良性病变组一般资料比较

早期胃癌组、胃部良性病变组年龄、BMI、性别等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 早期胃癌组、胃部良性病变组一般资料比较
[$n(\%)$, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	n	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	性别	
				男	女
胃部良性病变组	1782	58.05±5.33	22.09±0.88	975(54.71)	807(45.29)
早期胃癌组	84	57.64±5.15	21.93±0.91	51(60.71)	33(39.29)
<i>t/χ²</i> 值		0.690	1.626	1.167	
<i>P</i> 值		0.490	0.104	0.280	

2.2 早期胃癌组、胃部良性病变组血清PG I、PG II、G17、PGR水平、Hp抗体阳性率比较

胃部良性病变组血清PG I、PGR水平高于早期胃癌,血清PG II、G17水平则低于早期胃癌,差异有统计学意义($P < 0.05$);早期胃癌组、胃部良性病变组患者Hp抗体阳性率进行比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 不同Hp抗体分型早期胃癌患者血清PG I、PG II、G17、PGR水平比较

血清PGI、PGR水平:Hp抗体I型组<Hp抗体阴性组<Hp抗体II型组,血清PG II水平:Hp抗体阴性组>Hp抗体I型组>Hp抗体II型组,血清G17水平:Hp抗体阴性组>Hp抗体II型组>Hp抗体I型组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同Hp抗体分型早期胃癌患者血清PG I、PG II、G17、PGR水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PG I (ng/mL)	PG II (ng/mL)	G17 (pmol/L)	PGR
Hp抗体阴性组	32	76.72±4.52	22.94±1.21	26.19±2.57	4.92±0.81
Hp抗体I型组	27	72.88±4.19 ^a	20.64±1.05 ^a	20.06±2.41 ^a	3.87±0.79 ^a
Hp抗体II型组	25	79.61±5.03 ^{ab}	18.77±0.67 ^{ab}	23.87±2.12 ^{ab}	5.84±0.85 ^{ab}
<i>F</i> 值		14.204	118.465	48.431	38.006
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与Hp抗体阴性组比较,^a $P < 0.05$;与Hp抗体I型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.4 血清PG I、PG II、G17、PGR水平联合Hp抗体检测对早期胃癌的诊断价值

血清PG I、PG II、G17、PGR水平联合Hp抗体检测诊断早期胃癌的AUC值为0.887,高于各指标单独检测(0.699、0.719、0.700、0.719、0.726, $P < 0.05$)。见表4、图1。

表2 早期胃癌组、胃部良性病变组血清PG I、PG II、G17、PGR水平、Hp抗体阳性率比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

组别	n	PGI(ng/mL)	PG II(ng/mL)	G17(pmol/L)	PGR	Hp抗体阳性率		
						Hp抗体I型	Hp抗体II型	Hp抗体阴性
胃部良性病变组	1782	77.98±5.35	17.12±1.45	16.99±2.32	6.66±1.28	520(29.18)	507(28.45)	755(42.37)
早期胃癌组	84	61.33±4.41	21.87±1.83	24.44±3.56	4.08±0.45	27(32.14)	25(29.76)	32(38.10)
<i>t/χ²</i> 值		28.075	28.960	27.931	18.416	0.636		
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.728		

表4 血清PG I、PG II、G17、PGR水平联合Hp抗体检测对早期胃癌的诊断价值

指标	AUC	95% CI	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登 指数
PG I (ng/mL)	0.699 ^a	0.677~0.720	76.19	57.63	0.338
PG II (ng/mL)	0.719 ^a	0.698~0.739	78.57	54.21	0.328
G17(pmol/L)	0.700 ^a	0.698~0.740	61.90	73.68	0.356
PGR	0.719 ^a	0.679~0.721	51.19	89.56	0.408
Hp抗体	0.726 ^a	0.705~0.746	77.38	55.84	0.332
联合	0.887	0.872~0.901	90.48	71.66	0.621

注:与联合比较,^a $P < 0.05$ 。

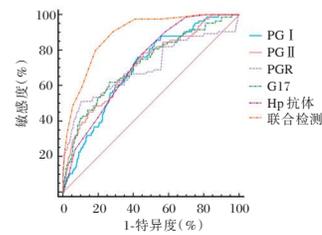


图1 血清PG I、PG II、G17、PGR水平联合Hp抗体检测诊断早期胃癌的ROC曲线

3 讨论

胃癌是国内最常见的消化道恶性肿瘤,其发病机制尚不清楚^[8]。相关研究^[9]表明,早期胃癌的侵袭多局限于粘膜和粘膜下层,没有明显的临床表现;因此很难被患者注意到,有些患者在确诊时已经是进展期或晚期了,此时的治疗方法有一定的局限性,很难达到满意的效果,患者的预后也欠佳。所以,早期诊断对于提高胃癌患者的预后十分重要。

PG I和PG II在胃腺主细胞的粘液颈部细胞中均有表达,而PG II的分泌细胞则更为广泛^[10]。G17是一种常见的“血清活检”标记,对胃癌的早期诊断和病情评估有重要意义^[11]。金鑫等^[12]研究显示,Hp感染可能导致PG I降低,而PGI水平过低则意味着患者具有癌前病变风险,PGI再降低则患者可能存在发生胃癌的风险;因此,在早期胃癌的筛查过程中,PG I对于Hp感染的检测是必要的血清学筛查指标之一。本研究结果显示,胃部良性病变组血清PGI、PGR水平高于早期胃癌,血清PG II、G17水平则低于早期胃癌;血清PGI、PGR水平:Hp抗体I型组<Hp抗体阴性组<Hp抗体II型组,血

清 PG II 水平: Hp 抗体阴性组>Hp 抗体 I 型组>Hp 抗体 II 型组,血清 G17 水平: Hp 抗体阴性组>Hp 抗体 I 型组>Hp 抗体 II 型组。说明血清 PGI、PG II、G17、PGR 水平在早期胃癌患者中均呈现异常表达,其表达水平与患者 Hp 抗体分型有一定关系。

胃是人体唯一的胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)来源,只有 1% 的 PG 能够进入血中,并且在血中的表达是非常稳定的,所以对其进行测定可以反映出胃粘膜的功能和胰腺细胞的变化^[13]。G17 是胃窦部分泌活性高的一个灵敏标记,其可以反映胃窦部的萎缩情况,对胃癌的进展具有很大的影响。根据 Hp 分泌的毒素, Hp 可以分为 I 型和 II 型,对应为产细胞毒素与非产细胞毒素,其中 I 型是一种强毒菌株,可通过分泌 vacA 及 cagA,刺激胃粘膜上皮细胞分泌白细胞介素-8 等细胞因子,引起急性炎症细胞的激活与聚集,进而引起粘膜上皮细胞的损伤,加重炎症反应,促进溃疡的形成,同时还能促进胃上皮细胞的增殖与凋亡^[14]。本研究结果显示,血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平联合 Hp 抗体检测诊断早期胃癌的 AUC 值为 0.887,高于各指标单独检测,表明血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平联合 Hp 抗体检测对早期胃癌的诊断价值更高。分析原因可能为多项指标的联合检测可以从多个角度反映胃癌患者的病理状态,四者之间存在着互补性,提高了对早期胃癌的诊断价值。

综上,血清 PG I、PG II、G17、PGR 水平在早期胃癌患者中均呈现异常表达,其表达水平与患者 Hp 抗体分型有一定关系,且五者联合检测对早期胃癌的诊断价值更高。

参考文献

[1] 马璐瑶,于傲洋,刘浩楠,等. NRP-1 及 PD-L1 在胃癌组织中

的表达及临床意义[J]. 热带医学杂志, 2025, 25(2): 179-184+195+291.

- [2] 毋慧,唐亚红,安郭娜. 慢性萎缩性胃炎、胃癌患者血清 PGI、PG II 及胃泌素 17 水平变化及意义[J]. 罕少疾病杂志, 2022, 29(12): 79-80.
- [3] 王珊珊,郭战萍,赵翔宇. 血清 PG I /PG II 联合肿瘤标志物对 Hp 阳性早期胃癌的诊断价值[J]. 四川大学学报(医学版), 2023, 54(1): 186-191.
- [4] 樊景云,姚勇,奉镭,等. 血浆 miR-27b-3p、PG 联合 G-17 在早期胃癌筛查中的应用价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(9): 1556-1559+1578.
- [5] 袁培杰. 血清 PG I、PG II、PGR、G-17 水平与 Hp-IgG 联合检测对胃癌早期诊断的临床价值分析[J]. 国际肿瘤学杂志, 2020, 47(1): 24-28.
- [6] 国家消化系统疾病临床医学研究中心,中华医学会消化内镜学分会,中华医学会健康管理学分会,等. 中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案)(2017年,上海)[J]. 胃肠病学, 2018, 23(2): 92-97.
- [7] 张万岱,徐智民. 幽门螺杆菌感染诊断方法的评价与诊断标准[J]. 中华全科医师杂志, 2004, 1(6): 11-13.
- [8] 李彬彬,肖娟,伍石华,等. 非编码 RNA 相互作用在胃癌中的研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2024, 52(1): 138-141.
- [9] Ho JS, Seok JM. Comparison of complications between laparoscopic and open gastrectomies for early gastric cancer by a nationwide propensity score - matched cohort study [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 18970-18970.
- [10] 刘林,路荣,陈莹,等. 胃镜联合血清胃蛋白酶原诊断高危 Hp 相关性胃癌的价值研究[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(2): 185-187.
- [11] 赵斌,赵欣,罗西川,等. PG- I、PG- II、PGR 联合可溶性 CD44v6 检测对早期胃癌的诊断价值[J]. 热带医学杂志, 2020, 20(4): 505-507+511.
- [12] 金鑫,李树锦,陈贞,等. 胃功能三项联合 Hp 抗体对胃癌及癌前病变的鉴别诊断价值[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(12): 2388-2391.
- [13] 索日娜,赵丽萍,李凤,等. 血清胃泌素-17、胃蛋白酶原联合放大色素内镜诊断早期胃癌的效果分析[J]. 局解手术学杂志, 2022, 31(2): 155-159.
- [14] 王霞虹,吴旭东,李祥苏,等. 幽门螺杆菌根除对早期胃癌患者内镜黏膜下剥离术后发生异时性癌的影响[J]. 中国内镜杂志, 2022, 28(10): 54-60.

(上接第 770 页)

- [4] Chen Z, Zhang S, Han N, et al. A Neoantigen-Based Peptide Vaccine for Patients With Advanced Pancreatic Cancer Refractory to Standard Treatment [J]. Front Immunol, 2021, 12: 691605.
- [5] Richard G, Princiotta MF, Bridon D, et al. Neoantigen-based personalized cancer vaccines: the emergence of precision cancer immunotherapy[J]. Expert Rev Vaccines, 2022, 21(2): 173-184.
- [6] 王亚静,段晓阳,侯冉,等. 表皮生长因子受体阳性非小细胞肺癌脑转移患者靶向联合治疗研究进展[J]. 中国全科医学, 2024, 11: 1.
- [7] 侯保超,曹险峰. 肺癌胸腔镜术后肺部感染危险因素及血清

Cit H3、TREM-1 早期预测术后肺部感染的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(7): 1212-1215.

- [8] 姬天洲. 全脑放疗+靶向治疗与同步化疗治疗非小细胞肺癌脑转移的效果评价[J]. 山西医药杂志, 2024, 53(6): 447-450.
- [9] 刘阳,高杨,王维花,等. 西安地区肺癌高危人群低剂量螺旋 CT 筛查结果分析[J]. 华南预防医学, 2023, 49(11): 1463-1466+1471.
- [10] 胡天天,邱戌旦,张熾,等. 基于肿瘤新生抗原的个性化癌症疫苗治疗的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(19): 3495-3499.
- [11] 涂辉阳,韩为东,张斌. 肿瘤新抗原疫苗的设计与优化策略[J]. 合成生物学, 2024, 5(2): 254-266.

·论 著·

武汉市妇幼保健院41例早孕期绒毛活检染色体核型分析

张池 胡晞江*

[摘要] **目的** 探讨早孕期绒毛活检(CVS)在产前诊断中的应用价值。**方法** 选取武汉市妇幼保健院41例因超声异常、单基因病家族史、高龄、不良孕产史等高危因素选择早孕期绒毛活检检测标本作为研究对象,进行早孕期绒毛染色体核型结果分析。**结果** 超声异常是最常见的产前诊断指征,占58.5%。41例绒毛细胞培养成功40例,成功率为97.6%。共检出染色体异常15例,异常检出率为37.5%,其中染色体数目异常11例(21三体4例、Turner综合征4例、18三体2例和13三体1例),染色体结构异常1例,嵌合型染色体核型3例。**结论** 早孕期绒毛活检及绒毛染色体核型分析能有效地提前孕妇产前诊断时间,对早孕期超声异常等特定指征孕妇可以更早获得产前诊断结果,但要警惕母体污染和胎盘嵌合体对诊断结果可能造成的影响。

[关键词] 早孕期;绒毛活检;产前诊断;染色体异常

Chromosome karyotype analysis of 41 cases of first trimester chorionic villus sampling in Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital

ZHANG Chi, HU Xijiang*

[Wuhan Children's Hospital (Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital), Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan, Hubei, China, 430016]

[ABSTRACT] **Objective** To explore the clinical application of the chromosome karyotype analysis in first trimester chorionic villus sampling prenatal diagnosis. **Methods** The chromosome karyotype analysis were performed in 41 chorionic villus samples due to high risk of abnormal ultrasonographic findings, Mendelian disorders history, elderly pregnancy and adverse pregnant history. **Results** Abnormal ultrasonographic findings (58.5%) were the most common indications for prenatal diagnosis. After CVS culturing, the success rate of cell culture was 97.6%(40/41). In total, abnormal karyotypes were found in 15 cases(37.5%). Of these, numerical chromosome abnormalities were detected in 11 cases (73.3%) (mainly trisomy chromosomes), followed by 1 case of structural chromosome abnormalities (6.7%). Chromosome mosaicism was detected in 3 cases. **Conclusion** The chromosome karyotype analysis in first-trimester chorionic villus sampling for prenatal diagnosis could effectively help obtain an earlier diagnosis in certain populations such as those with abnormal ultrasonographic findings. However, the potential influences of maternal cell contamination and placental mosaicism on the diagnostic results should not be ignored.

[KEY WORDS] First trimester; Chorionic villus sampling; Prenatal diagnosis; Chromosomal abnormality

由于绒毛组织位于胚囊之外且又具有和胚胎同样的遗传物质,故早孕期绒毛活检(chorionic villus sampling, CVS)被认为是产前诊断的一个重要突破。绒毛取样活检术是一种早孕期(11~13⁺周)

介入性产前诊断技术,有助于早期诊断和早期处理,是预防出生缺陷的重要手段^[1]。染色体核型分析能够有效地检测出染色体数目异常,以及较大片段染色体的缺失、重复、易位和倒位等染色体结

作者单位:华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院(武汉市妇幼保健院)优生遗传实验室,湖北,武汉 430016

*通信作者:胡晞江, E-mail: 1936861339@qq.com

构异常,是细胞遗传学产前诊断的金标准。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取武汉市妇幼保健院2019年1月至2023年2月因超声异常、单基因病家族史、高龄、不良孕产史、无创基因检测高风险等高危因素作为产前诊断指征就诊的41名孕妇,接受有创产前诊断取材,进行术前常规咨询并签署知情同意书,收集早孕期绒毛活检标本进行绒毛染色体核型分析检测。纳入标准:签署知情同意书且完成绒毛染色体核型分析的就诊孕妇。排除标准:合并精神异常者;临床资料不完整者;恶性肿瘤患者。本研究经本院医学伦理委员会批准(2023R043-E01)。

1.2 方法

绒毛染色体核型分析由本院优生遗传实验室完成,取材后绒毛样本进行培养、收获、制片和G显带,显微镜下观察并计数30个中期分裂相,分析5个核型,嵌合体加数至100个中期分裂相,根据人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2016)相关规定进行描述^[2]。

2 结果

2.1 绒毛活检术指征分析

41例绒毛活检术样本中以超声异常为指征的患者24例,占58.5%,其中胎儿颈项部透明层增厚11例、胎儿畸形等10例、胎儿水肿3例;其次为单基因病家族史7例(包括假性肥大型进行性肌营养不良、地中海贫血基因携带者等)、不良孕产史4例、无创基因检测高风险3例、高龄2例和夫妇之一染色体异常1例(丈夫为平衡易位染色体携带者)。41例绒毛活检术指征分布见表1。

表1 绒毛活检术指征分布

指征	n	构成比(%)
超声异常	24	58.5
颈项部透明层增厚	11	26.8
胎儿畸形等	10	24.4
胎儿水肿	3	7.3
单基因病家族史	7	17.1
不良孕产史	4	9.8
无创基因检测高风险	3	7.3
高龄	2	4.9
夫妇之一染色体异常	1	2.4
合计	41	100

2.2 绒毛细胞培养及绒毛染色体核型结果分析

绒毛细胞培养成功并获得诊断级别细胞数量样本共40例,检测成功率为97.6%,另有1例样本因细菌污染未能得出诊断结果。40例有诊断结果的样本中检出异常染色体核型15例,异常检出率为37.5%,其中染色体数目异常11例(21三体4例、Turner综合征4例、18三体2例和13三体1例),染色体结构异常1例,嵌合型染色体核型3例。见表2。

表2 40例绒毛染色体核型分析结果

分类	n	构成比(%)	
染色体数目异常	45,X	4	10.0
	21三体	4	10.0
	18三体	2	5.0
	13三体	1	2.5
染色体结构异常	45,X,psu dic(18;Y)(p11.2;q12)	1	2.5
	XY/XX	2	5.0
嵌合体	46,XN,-13,+mar/45,XN,-13	1	2.5
	正常染色体	25	62.5
合计	40	100.0	

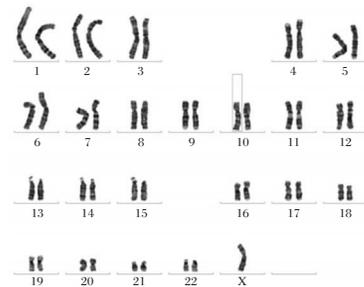


图1 Turner综合征患者的核型

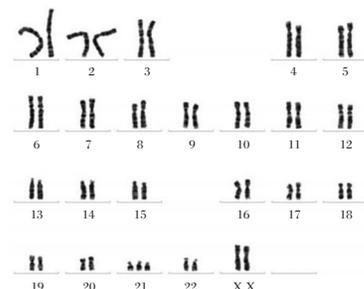


图2 21三体患者的核型

3 讨论

目前我国介入性产前诊断方式以中孕期(18~22周)羊膜穿刺为主。而早孕期绒毛活检可以在孕11~13⁺⁶周获得胎儿样本进行检测,提前了产前

诊断时间,必要时能够尽早终止妊娠,同时早期诊断能提高多胎妊娠实行减胎手术的安全性。本研究对41例孕妇早孕期绒毛活检标本检测,其中检出常染色体非整倍体7例,包括21三体4例、18三体2例和13三体1例;性染色体数目异常4例,均为Turner综合征。检出最多的是染色体三体型,这是最常见的染色体异常核型,通常表现为严重的生长发育障碍、多发畸形等,染色体三体型的发生一般是生殖细胞发生染色体不分离所导致,与孕妇年龄关系紧密^[3]。本研究中检出染色体三体异常率17.5%,比率高于郝娜等报道^[4-6],这可能是本研究中样本数量相对比较少所致。另据文献报道,颈部水囊瘤是性染色体异常的常见表现形式^[7]。本次分析中4例性染色体数目异常均为45,X,其中2例超声检查均提示颈部水囊肿。Turner患者临床表型具有异质性,大多数表现为身材发育缓慢,但智力发育从轻中度智力障碍到接近正常均有报道,部分患者具有生育能力。因此,遗传咨询时应充分结合B超及其他临床检测结果综合考虑后再决定胎儿去留问题。

本研究中有两例XY/XX嵌合体染色体核型。嵌合体核型发生主要原因是母体污染和胎盘嵌合。通常认为,绒毛活检术中母体污染风险远高于羊水穿刺术^[8]。胎盘由蜕膜、羊膜和叶状绒毛膜构成。蜕膜构成胎盘的母体部分,羊膜和叶状绒毛膜构成胎盘的胎儿部分。叶状绒毛膜是绒毛穿刺的目标物,取材时不慎抽到蜕膜是造成母体污染的主要原因。绒毛细胞所检出的某些染色体异常嵌合体有可能是局部胎盘异常而非真正的胎儿异常,应加以注意。胎盘特异性嵌合体的发生率为1%。一旦出现由于母体污染或胎盘嵌合问题导致结果不确定时,应建议孕妇进一步进行羊膜腔穿刺或脐静脉穿刺以明确诊断^[9-10]。

综上所述,早孕期绒毛活检及绒毛染色体核型分析对早孕期超声异常等特定指征孕妇非整倍体染色体异常的检测相对敏感且特异,能够有效地提前孕妇产前诊断时间,提高产前诊断的针对性。同时,取材和检测时间点提前能够帮助孕妇及早确诊及干预,减少妊娠中晚期终止妊娠的痛苦和风险。当绒毛染色体出现嵌合时,要警惕母体污染和胎盘嵌合体对诊断结果可能造成的影

响。绒毛染色体核型分析能够发现5~10 M以上的缺失或重复,而染色体的微缺失、微重复需要进行全基因组芯片检测或测序才能明确诊断^[11-12]。因此,临床工作中早孕期产前诊断进行绒毛染色体核型分析检查时,同时结合分子检测技术提高分辨率检测染色体微缺失、微重复,能进一步提高胎儿染色体异常检出率^[13-14],为临床产前诊断提供更全面的信息和依据,减少新生儿出生缺陷。

参考文献

- [1] 黄淑晖,刘淮. 侵入性产前诊断技术[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010,26:960-963.
- [2] International standing committee on human cytogenetic nomenclature, ISCN 2016: An international system for human cytogenetic nomenclature (2016)[M]. Berlin: Karger Publishers, 2016:34-36.
- [3] Emily GA, Sallie BF, Charlotte D, et al. Maternal age and risk for trisomy 21 assessed by the origin of chromosome non-disjunction: a report from the Atlanta and National Down Syndrome Projects[J]. Hum Genet, 2009,125(1):41-52.
- [4] 郝娜,田晓彤,周京,等. 1702例早孕绒毛细胞培养及细胞遗传学分析[J]. 生殖医学杂志, 2021,30(4):426-430.
- [5] 马京梅,潘虹,孙瑜,等. 326例早孕期绒毛膜活检产前诊断分析[J]. 中国医刊, 2015,50(8):28-31.
- [6] 佟玉龙,潘虹,卫凯平,等. 985例早孕期绒毛活检样本的遗传学结果分析[J]. 中华围产医学杂志, 2020,23(1):2-7.
- [7] 赵淳,邓学东. 染色体异常胎儿超声指标分析[J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2011,8:58-63.
- [8] 侯巧芳,廖世秀,李涛,等. 产前诊断标本的母体细胞污染及其影响[J]. 中华妇产科杂志, 2013,48(2):86-91.
- [9] 吴坚柱,周祎,谢英俊,等. 产前诊断中绒毛嵌合体的研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2015,32(5):748-749.
- [10] Zhang Y, Zhong M, Zheng D. Chromosomal mosaicism detected by karyotyping and chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis[J]. Cell Mol Med, 2021,25:358-366.
- [11] 向萍霞,肖涤,胡晔. 54例自然流产和胚胎停育的绒毛微阵列芯片结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018,26(9):1-3.
- [12] 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组. 染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识. 中华妇产科杂志, 2014,49(8):570-572.
- [13] 邢长英,周玲,杨燕,等. 高通量基因测序分析119例胚胎停育染色体核型[J]. 实用医学杂志, 2017,33(22):3841-3842.
- [14] Zhao X, Fu L. Efficacy of copy-number variation sequencing technology in prenatal diagnosis[J]. Perinat Med, 2019,47:651-655.

黄石地区呼吸道感染患儿 13 种呼吸道病原体检出情况分析

詹传华^{1,2} 朱中梁^{1,2} 李宝³ 王镀津^{1,2*}

[摘要] **目的** 探讨黄石地区呼吸道感染患儿 13 种呼吸道病原体的分布特点,为本地儿童呼吸道感染的防治提供依据。**方法** 分析 2021 年 9 月至 2022 年 9 月在黄石市中心医院儿科住院的 4 890 例呼吸道感染患儿的病例资料,应用多重 PCR 毛细电泳片段分析法检测 13 种呼吸道病原体。**结果** 2 862 例患儿呼吸道病原体检出阳性(58.53%, 2 862/4 890), 305 例患儿检出 2 种及以上病原体(6.23%, 305/4 890)。检出前 5 位的病原体分别为鼻病毒(HRV)16.16%(790/4 890)、腺病毒(HADV)15.73%(769/4 890)、甲型流感病毒(FluA)7.32%(358/4 890)、甲型流感病毒 H3N2(H3N2)7.06%(345/4 890)和肺炎支原体(Mp)6.71%(328/4 890)。男女患儿病原体检出率差异无统计学意义($P>0.05$);不同年龄组患儿病原体检出率差异有统计学意义($P<0.05$), 3~<6 岁组患儿病原体检出率最高;不同季节病原体检出率差异有统计学意义($P<0.05$), 春夏两季检出率较高。**结论** 黄石地区呼吸道感染住院患儿病原体检出率在不同年龄阶段、季节间存在一定差异,以单一阳性为主,但不能忽视多重阳性情况,在常见病原体流行季节加强呼吸道飞沫防护和接触防护,可有效降低易感儿童的感染风险。

[关键词] 住院患儿; 呼吸道感染; 多重 PCR; 毛细电泳片段分析法

Analysis of 13 respiratory pathogens detected in hospitalized children with respiratory tract infection in Huangshi area

ZHAN Chuanhua^{1,2}, ZHU Zhongliang^{1,2}, LI Bao³, WANG Dujing^{1,2*}

(1. Department of Clinical Laboratory, Huangshi Central Hospital, Affiliated Hospital of Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei, China, 435000; 2. Hubei Key Laboratory of Kidney Disease Pathogenesis and Intervention, Huangshi, Hubei, China, 435000; 3. Department of Pediatrics, Huangshi Central Hospital, Affiliated Hospital of Hubei Polytechnic University, Huangshi, Hubei, China, 435000)

[ABSTRACT] **Objective** To explore the distribution characteristics of 13 kinds of respiratory pathogens in children with respiratory infection in Huangshi area, and to provide evidence for the prevention and treatment of respiratory infection in local children. **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical data of 4 890 children with respiratory infection who were hospitalized in the Department of Pediatrics at Huangshi Central Hospital from September 2021 to September 2022. Thirteen respiratory pathogens were detected by multiplex PCR based on capillary electrophoresis fragment analysis. **Results** Respiratory pathogens were detected in 2, 862 children (58.53%, 2, 862 /4, 890). Two or more pathogens were detected in 305 children (6.23%, 305/4, 890). The top five pathogens detected were human rhinovirus (HRV) at 16.16% (790/4, 890), human adenovirus (HADV) at 15.73% (769/4, 890), influenza A virus (FluA) at 7.06% (345/4, 890), influenza A H3N2 virus (H3N2) at 7.06% (345/4, 890) and mycoplasma pneumoniae (Mp) at 6.71% (328/4, 890). There was no significant difference in the detection rate of pathogens between male and female children ($P>0.05$). The detection rate of pathogens in children of different age groups was statistically significant ($P<0.05$),

基金项目:湖北理工学院科研项目(23xjz06W)

作者单位:1. 黄石市中心医院(湖北理工学院附属医院)检验科,湖北,黄石 435000

2. 肾脏疾病发生与干预湖北省重点实验室,湖北,黄石 435000

3. 黄石市中心医院(湖北理工学院附属医院)儿科,湖北,黄石 435000

*通信作者:王镀津, E-mail: hsszyjyk@163.com

with the highest detection rate in children aged 3-6 years. The difference in pathogen detection rate in different seasons was statistically significant ($P<0.05$), with higher detection rates in spring and summer. **Conclusion** The detection rate of pathogens in hospitalized children with respiratory infections in the Huangshi area varies across different age groups and seasons. While single positive cases are most common, mixed positive cases should not be overlooked. Strengthening respiratory droplet and contact protection during common pathogen epidemic seasons can effectively reduce the risk of infection in vulnerable children.

[KEY WORDS] Hospitalized children; Respiratory infection; Multiplex PCR; Capillary electrophoresis

呼吸道感染(respiratory tract infection, RTI)是儿童常见的感染性疾病,严重威胁儿童健康。儿童呼吸道感染的病原复杂多样,包括病毒、细菌、非典型病原体、真菌等,快速准确的病原学诊断对于呼吸道常见感染性疾病的临床诊疗及防控具有重要意义^[1]。本研究回顾性分析2021年9月至2022年9月期间黄石市中心医院呼吸道感染住院患儿13项呼吸道病原体检出情况,包括甲型流感病毒(influenza A virus, FluA)、乙型流感病毒(influenza B virus, FluB)、副流感病毒(human parainfluenza virus, HPIV)、甲型流感病毒H1N1(influenza A H1N1 virus, H1N1)、甲型流感病毒H3N2(influenza A H3N2 virus, H3N2)、冠状病毒(human coronavirus, HCOV)、肺炎支原体(mycoplasma pneumoniae, Mp)、衣原体(chlamydia, Ch)、腺病毒(human adenovirus, HADV)、呼吸道合胞病毒(human respiratory syncytial virus, HRSV)、鼻病毒(human rhinovirus, HRV)、偏肺病毒(human metapneumovirus, HMPV)、博卡病毒(human bocavirus, Boca),旨在了解患儿呼吸道病原体的组成和相关流行病学特征,为本地区儿童呼吸道感染提供治疗和预防科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

回顾性分析2021年9月至2022年9月期间黄石市中心医院儿科收治的4890例呼吸道感染住院患儿13种呼吸道病原体核酸检测结果,收集患儿一般信息(性别、年龄),其中男性3075例,女性1815例;年龄1d~15岁,中位年龄2.5岁。所有入选患儿符合《诸福棠实用儿科学》中呼吸道感染的诊断标准^[2],排除非感染因素所致呼吸道病变者。黄石市中心医院为本地区综合性三级甲等医院,儿科开放5个病区,年门诊量近20万人次,出院患儿超过1万人次,覆盖本地区多数患者,本研究的数据量及结果可反映出黄石地区呼吸道感染患儿

流行病学情况。本研究已申请免除患者知情同意并经院伦理委员会批准(文号:伦快审2023-2)。

1.2 研究方法

1.2.1 试剂与仪器

细胞保存液(宁波海尔施基因科技股份有限公司,货号:XB05013);核酸提取试剂(广州达安基因股份有限公司,货号:DA0623);13种呼吸道病原体多重检测试剂盒(宁波海尔施基因科技股份有限公司,货号:1060071);SMART32核酸提取仪(广州达安基因股份有限公司);Mastercycler nexus PCR仪(德国Eppendorf公司);ABI 3500 Dx基因分析仪(Life Technologies Holdings Pte Ltd)。

1.2.2 呼吸道病原体检测

将采集的标本进行前处理,每份待检样品中加入试剂盒提供的RT-PCR内参共同提取纯化;取5 μ L提取上清液与15 μ L反应混合液混合,瞬时离心10s,按照13种呼吸道病原体多重检测试剂盒使用说明书要求进行RT-PCR扩增,将得到的扩增产物在3500 Dx基因分析仪进行毛细电泳分离及结果判读,每份样本1种病原体阳性判断为单一阳性,两种及以上病原体阳性判断为多重阳性。

1.2.3 统计学分析

采用Graph Pad Prism 6软件进行统计学分析。使用Excel软件对数据进行整理。计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 呼吸道病原体检出情况

4890例患儿有2862例检出呼吸道病原体(58.53%, 2862/4890)。13种病原体的检出率,HRV排在首位(16.16%, 790/4890),其余依次为HADV(15.73%, 769/4890)、FluA(7.32%, 358/4890)、H3N2(7.06%, 345/4890)、Mp(6.71%, 328/4890)、HPIV(5.48%, 268/4890)、HMPV(4.70%, 230/4890)、HRSV(3.31%, 162/4890)、InfB

(2.62%, 128/4 890)、HCOV (2.13%, 104/4 890)、Boca (0.74%, 36/4 890)、Ch (0.22%, 11/4 890)、H1N1 (0.06%, 3/4 890)。

2.2 不同性别患儿呼吸道病原体检出情况

女性患儿 Mp 检出率明显高于男性患儿, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 男性患儿 HRV 及 HADV 检出率高于女性患儿, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其他病原体检出率男性、女性患儿虽有差异, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 不同年龄患儿呼吸道病原体检出情况

13 种病原体在各年龄段患儿的检出率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 3~<6 岁组检出率最高 (70.79%), 0~<28 d 新生儿组检出率最低 (6.60%)。3~<6 岁组 HADV 检出率 (29.90%)、6~<12 岁组 Mp 检出率 (20.66%)、1~<3 岁组 HRV 检出率 (19.08%) 位于所有年龄段病原体检出率前三位。见表 2。

表 1 不同性别患儿呼吸道病原体检出情况 [$n(\%)$]

病原体	男性 ($n=3\ 075$)	女性 ($n=1\ 815$)	χ^2 值	P 值
FluA	237(7.71)	121(6.67)	1.822	0.177
InfB	82(2.67)	46(2.53)	0.078	0.779
HPIV	169(5.50)	99(5.45)	0.004	0.951
H1N1	2(0.07)	1(0.06)	0.032	0.857
H3N2	231(7.51)	114(6.28)	2.638	0.104
HCOV	62(2.02)	42(2.31)	0.486	0.485
Mp	182(5.92)	146(8.04)	8.239	0.004
Ch	8(0.26)	3(0.17)	0.458	0.498
HADV	508(16.52)	261(14.38)	3.945	0.047
HRSV	104(3.38)	58(3.20)	0.124	0.725
HRV	532(17.30)	258(14.21)	8.024	0.005
HMpV	139(4.52)	91(5.01)	0.620	0.431
Boca	23(0.75)	13(0.72)	0.015	0.900
合计	1 825(59.35)	1 037(57.13)	2.112	0.146

2.4 不同季节患儿呼吸道病原体检出情况

FluB、H1N1、HCOV 和 Boca 在不同季节检出率差异无统计学意义, 其余病原体在不同季节检出率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。HADV 检出率

表 2 不同年龄患儿呼吸道病原体检出情况 [$n(\%)$]

病原体	0~<28 d ($n=424$)	28 d~<6 个月 ($n=613$)	6~<12 个月 ($n=335$)	1~<3 岁 ($n=1\ 798$)	3~<6 岁 ($n=1\ 147$)	6~<12 岁 ($n=542$)	12~15 岁 ($n=31$)	χ^2 值	P 值
FluA	0(0.00)	28(4.57)	29(8.66)	149(8.29)	112(9.76)	38(7.01)	2(6.45)	53.901	<0.001
InfB	1(0.24)	13(2.12)	3(0.90)	41(2.28)	40(3.49)	28(5.17)	2(6.45)	33.730	<0.001
HPIV	5(1.18)	44(7.18)	26(7.76)	142(7.90)	48(4.18)	2(0.37)	1(3.23)	73.553	<0.001
H1N1	0(0.00)	0(0.00)	2(0.60)	1(0.06)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	17.380	0.008
H3N2	0(0.00)	27(4.40)	24(7.16)	147(8.18)	107(9.33)	38(7.01)	2(6.45)	51.261	<0.001
HCOV	2(0.47)	22(3.59)	9(2.69)	39(2.17)	19(1.66)	12(2.21)	1(3.23)	13.814	0.032
Mp	0(0.00)	5(0.82)	10(2.99)	91(5.06)	106(9.24)	112(20.66)	4(12.90)	262.082	<0.001
Ch	1(0.24)	8(1.31)	1(0.30)	1(0.06)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	38.121	<0.001
HADV	0(0.00)	9(1.47)	31(9.25)	319(17.74)	343(29.90)	65(11.99)	2(6.45)	370.938	<0.001
HRSV	6(1.42)	72(11.75)	23(6.87)	59(3.28)	1(0.09)	1(0.18)	0(0.00)	208.941	<0.001
HRV	12(2.83)	110(17.94)	53(15.82)	343(19.08)	188(16.39)	81(14.94)	3(9.68)	69.979	<0.001
HMpV	2(0.47)	36(5.87)	20(5.97)	127(7.06)	42(3.66)	3(0.55)	0(0.00)	67.482	<0.001
Boca	1(0.24)	2(0.33)	8(2.39)	20(1.11)	4(0.35)	1(0.18)	0(0.00)	23.696	0.001
合计	28(6.60)	316(51.55)	187(55.82)	1 190(66.18)	812(70.79)	315(58.12)	14(45.16)	601.106	<0.001

表 3 不同季节患儿呼吸道病原体检出情况 [$n(\%)$]

病原体	春季($n=1\ 613$)	夏季($n=2\ 213$)	秋季($n=513$)	冬季($n=551$)	χ^2 值	P 值
FluA	146(9.05)	174(7.86)	24(4.68)	14(2.54)	31.911	<0.001
InfB	44(2.73)	61(2.76)	16(3.12)	7(1.27)	4.673	0.197
HPIV	124(7.69)	106(4.79)	5(0.97)	33(5.99)	37.586	0.002
H1N1	2(0.12)	1(0.05)	0(0.00)	0(0.00)	1.780	0.619
H3N2	140(8.68)	167(7.55)	24(4.68)	14(2.54)	28.847	<0.001
HCOV	39(2.42)	39(1.76)	11(2.14)	15(2.72)	3.008	0.390
Mp	79(4.90)	160(7.23)	87(16.96)	2(0.36)	131.008	<0.001
Ch	1(0.06)	3(0.14)	0(0.00)	7(1.27)	30.686	<0.001
HADV	327(20.27)	355(16.04)	79(15.40)	8(1.45)	110.079	<0.001
HRSV	50(3.10)	59(2.67)	0(0.00)	53(9.62)	89.101	<0.001
HRV	318(19.71)	340(15.36)	44(8.58)	88(15.97)	37.876	<0.001
HMpV	98(6.08)	102(4.61)	1(0.19)	29(5.26)	30.469	<0.001
Boca	19(1.18)	14(0.63)	1(0.19)	2(0.36)	7.739	0.052
合计	1 085(67.27)	1 295(58.52)	245(47.76)	237(43.01)	129.897	<0.001

居于春、夏季所有病原体检出率首位, Mp 检出率居于秋季首位, HRV 检出率居于冬季首位。见表 3。

2.5 患儿多重呼吸道病原体检出情况

305 例患儿检出 2 种及以上病原体 (6.23%, 305/4 890), 以双重病原体阳性为主 (96.06%, 293/305), 多重病原体阳性组合以 HADV+HRV (14.10%, 43/305)、Mp+HADV (9.18%, 28/305)、HPIV+HRV (8.20%, 25/305) 模式为主。Ch、HCOV

和 Boca 多重阳性率占比分别占其总检出率的 45.45%、33.65% 和 31.56%。

多重病原体阳性中, 男性患儿的阳性率高于女性患儿, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 不同年龄组病原体多重阳性率差异有统计学意义 ($P<0.05$), 1~<3 岁组最高 (7.73%), 0~<28 d 组最低 (0.47%); 不同季节病原体多重阳性率差异有统计学意义 ($P<0.05$), 春季检出率最高 (9.30%), 冬季最低 (3.45%)。见表 4。

表 4 呼吸道感染患儿多重病原体检出情况 [n(%)]

	组别	n	单一阳性	多重阳性	双重阳性	三重阳性	四重阳性
性别	男	3 075	1 617(52.58)	208(6.76)	197(6.41)	10(0.33)	1(0.03)
	女	1 815	940(51.79)	97(5.34)	96(5.29)	1(0.06)	0(0.00)
χ^2 值			0.289	3.935	2.529	3.710	0.590
P值			0.591	0.047	0.112	0.054	0.442
年龄	0~<28 d	424	26(6.13)	2(0.47)	2(0.47)	0(0.00)	0(0.00)
	28 d~<6 个月	613	286(46.66)	30(4.89)	28(4.57)	1(0.16)	1(0.16)
	6~<12 个月	335	164(48.96)	23(6.87)	19(5.67)	4(1.19)	0(0.00)
	1~<3 岁	1 798	1051(58.45)	139(7.73)	137(7.62)	2(0.11)	0(0.00)
	3~<6 岁	1 147	729(63.56)	83(7.24)	79(6.89)	4(0.35)	0(0.00)
	6~<12 岁	542	288(53.14)	27(4.98)	27(4.98)	0(0.00)	0(0.00)
	12~15 岁	31	13(41.94)	1(3.23)	1(3.23)	0(0.00)	0(0.00)
χ^2 值			458.631	36.976	41.035	18.188	6.979
P值			<0.001	<0.001	<0.001	0.006	0.323
季节	春季	1 613	935(57.97)	150(9.30)	142(8.80)	8(0.50)	0(0.00)
	夏季	2 213	1181(53.37)	114(5.15)	112(5.06)	2(0.09)	0(0.00)
	秋季	513	223(43.67)	22(4.29)	22(4.29)	0(0.00)	0(0.00)
	冬季	551	218(39.56)	19(3.45)	17(3.09)	1(0.18)	1(0.18)
χ^2 值			73.626	40.985	36.948	8.267	7.876
P值			<0.001	<0.001	<0.001	0.041	0.049

3 讨论

急性呼吸道感染是儿童常见感染性疾病, 快速准确地确定病原体, 进行早期针对性治疗对预后至关重要^[3]。本研究采用多重 PCR 毛细电泳片段分析法检测 13 种呼吸道病原体, 患儿病原体检出率为 58.53%, 与宁波地区 (56.17%)^[4] 较为一致, 高于石家庄地区 (47.35%)^[5]、丽水地区 (32.24%)^[6], 低于深圳地区 (68.80%)^[7]; 本研究中 HRV、HADV、FluA、H3N2 和 Mp 为本地患儿主要流行的呼吸道病原体, 病原体分布特征与上述报道^[4-7] 存在一定差异, 可能与研究对象类型、各地气候、空气污染指数及病原体在当地的流行强度等因素相关。

本研究显示各年龄段患儿病原体检出率存在明显差异, 新生儿组检出率最低, 3~6 岁组检出率最高, 6 岁后随年龄增大病原体检出率逐步下降, 与周城波等^[5] 研究结果相符, 母源性抗体

可保护新生儿免受相应病原体的感染^[8]。本研究中 3~<6 岁患儿 HADV 检出率较高, HADV 同时也是春、夏季检出率最高的病原体, 与张莉莉等^[9] 研究结果相近, 提示临床工作中应确定重点保护人群, 严格做好防护, 以减少腺病毒医院感染的发生。我们发现 Mp 在 6~<12 岁患儿中检出率较高, 而且女性患儿检出率高于男性患儿, 秋季为高发季节, 与有关文献^[10-11] 报道一致, 提示学龄期女童对 Mp 普遍易感, 在流行季节应做好相关防护。

本研究多重病原体阳性率为 6.23%, 国内同期研究报道为 6.96%~12.40%^[4-7], COVID-19 疫情前有关报道为 9.61%~22.6%^[12-14], 疫情期间常态化防控措施有效降低了儿童呼吸道病原体混合感染率。本研究中各年龄段儿童多重病原体阳性率差异均有统计学意义, 1~3 岁儿童病原体多重阳性率最高, 与 Li ZJ 等^[15] 的研究结果大致相同, 可能与

(下转第 786 页)

miR-208a 在心血管疾病中的研究进展

华洲¹ 万周紫婧² 石东浩³ 田书云⁴ 彭巍^{5*}

[摘要] miR-208a 在心脏中特异性表达,具有作为心血管疾病生物标志物的潜在价值。因此,深入探讨 miR-208a 在心血管疾病中的作用机制及其临床应用,对于了解心血管疾病的病理生理过程,提高早期诊断、评估预后和临床疗效均具有重大意义。本文将从 miR-208a 在心血管疾病中的功能与机制、与心血管疾病相关信号通路的关系、作为心血管疾病生物标志物的临床应用等方面,综述 miR-208a 在心血管疾病中的研究现状。

[关键词] miR-208a; 心血管疾病; 研究进展

Research progress of miR-208a in cardiovascular disease

HUA Zhou¹, WAN Zhouzijing², SHI Donghao³, TIAN Shuyun⁴, PENG Wei^{5*}

(1. Xiangya Medical College, Central South University, Changsha, Hunan, China, 410000; 2. The Second Clinical College of Medicine, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, China, 221004; 3. Department of Orthopedics, Jiangsu General Hospital of Armed Police Force, Yangzhou, Jiangsu, China, 225003; 4. Department of General Surgery, Jiangdu People's Hospital, Yangzhou, Jiangsu, China, 225200; 5. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan, China, 410006)

[ABSTRACT] MiR-208a is specifically expressed in the heart and has potential value as a biomarker for cardiovascular disease. Therefore, it is significant to explore the role, mechanism, and clinical application of miR-208a in cardiovascular disease to understand the pathophysiological process, improve early diagnosis, and evaluate prognosis and clinical efficacy. This study reviews the current research status of miR-208a in cardiovascular disease focusing on the function and mechanism of miR-208a in cardiovascular disease, the relationship between miR-208a and cardiovascular disease-related signaling pathways, and the clinical application of miR-208a as a biomarker for cardiovascular disease.

[KEY WORDS] miR-208a; Cardiovascular disease; Research progress

我国心血管疾病的发病率和死亡率较高^[1]。miR-208a 属于 miR-208 家族,由肌球蛋白重链 6 基因的内含子所编码。作为一个高度保守的 miRNA, miR-208a 在心肌细胞中发挥重要的调控作用^[2]。本文将全面总结 miR-208a 在心血管疾病中的功能和作用机制,探讨其在不同信号通路中的调控作用,并分析其作为生物标志物和治疗靶

点在临床应用中的潜力及面临的挑战,为心血管疾病的早期诊断、病情监测和治疗提供参考。

1 miR-208a 在心血管疾病中的功能与机制

miR-208a 属于 miR-208 家族,在心脏中特异性表达^[3]。miR-208a 在冠心病、心肌梗死和心力衰竭等多种心血管疾病的病理过程中发挥重

基金项目:湖南省自然科学基金(2023JJ30364)

作者单位:1. 中南大学湘雅医学院,湖南,长沙 410000

2. 徐州医科大学第二临床医学院,江苏,徐州 221004

3. 武警江苏省总医院骨科,江苏,扬州 225003

4. 江都人民医院普外科,江苏,扬州 225200

5. 湖南省中医药研究院附属医院肿瘤科,湖南,长沙 410006

*通信作者:彭巍, E-mail: pengwei7113@126.com

要作用,尤其在心脏受到压力过载或损伤时,其表达会显著升高,促进心肌细胞肥大和心脏重塑。研究表明,在经溶栓治疗后,急性心肌梗死患者血清 miR-208a 显著降低^[4]。miR-208a 的短期升高在一定程度上可能对心脏具有保护作用,但长期过度表达则可能导致病理性心脏变化。

在急性冠脉综合征、心肌梗死、心律失常和心力衰竭等患者中,外周血 miR-208 水平显著升高,同时氧化应激、炎症、凋亡因子水平亦有不同程度的升高。Danaii 等^[5]研究发现,冠状动脉慢血流病患者外周血 miR-208a 水平显著高于健康对照者,同时伴随炎症因子水平的显著升高,表明 miR-208a 表达水平可能与心血管疾病患者的炎症反应和内皮功能障碍相关。

1.1 炎症反应和细胞凋亡

miR-208a 参与炎症反应和细胞凋亡。Xu 等^[6]研究表明,特异性蛋白 1 通过与 miR-208a 启动子区结合可促进其转录,采用 miR-208a-5p 抑制剂下调 X 连锁凋亡抑制蛋白的基因表达可抑制细胞凋亡并减轻炎症反应,从而在脂多糖诱导的心肌细胞损伤中发挥保护作用。此外,Tong 等^[7]研究发现,鱼油和橄榄油补充剂可以削弱臭氧暴露导致的 miR-208a-5p 上调,从而减弱心脏炎症反应、内皮功能障碍和心功能衰退。一项研究认为,缺氧心肌细胞来源的外泌体可通过高表达 miR-208 a/b 调控心脏成纤维细胞的存活、迁移以及凋亡等生物学过程^[8]。

1.2 心肌纤维化与重构

miR-208a 在心肌纤维化和重构中的作用已在多项研究中得到证实。Chua 等^[9]研究发现,机械拉伸条件下,人心脏成纤维细胞中的 miR-208a 在早期上调,并与 miR-499 和 B 细胞淋巴瘤 2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)水平的变化相关,这种变化在容量超负荷大鼠模型中也被观察到,表明 miR-208a 在应对机械应力和心脏重构中扮演重要角色。此外,徐孟骅等^[10]在快速起搏兔心房模型中上调 miR-208a 表达,通过抑制 β -catenin 途径,减轻心房组织病理改变和结构重构,从而缓解氧化应激。阻断 miR-208a 表达可增加心脏中 E 盒结合锌指蛋白 2 表达,调节钙离子超载,有效延缓病理性心脏肥大的进程^[11]。

1.3 成纤维细胞的转分化与心肌再生

miR-208a 还可以影响成纤维细胞的转分化,

促进心肌再生。一项研究显示,将 miR-208a 与 miR-1、miR-133a 和 miR-499 组合转染可上调心脏发育相关基因,诱导小鼠成纤维细胞发育为心肌样细胞,提高心脏修复能力^[12-13]。另一项研究则显示,在心肌梗死绵羊模型,梗死区域中 miR-208a 表达水平显著上调,miR-208a 可能参与了心肌细胞增殖、再生^[14]。综合上述研究,miR-208a 在心血管疾病中的作用涉及炎症反应、心肌重构及成纤维细胞重编程等多种机制,其异常上调与心血管疾病进展密切相关。

2 miR-208a 与心血管疾病相关信号通路的关系

miR-208a 在心血管疾病中的作用不仅体现在其调控基因表达的直接功能上,还通过与多种关键信号通路的相互作用参与调控心脏结构重塑和病理反应。

磷脂酰肌醇 3 激酶(Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (Protein kinase B, Akt) 信号通路是细胞生长、存活和代谢的核心通路之一,在心肌保护和修复中起关键作用^[15]。生长因子、细胞因子或机械应力等外界刺激均可激活 PI3K/Akt 信号通路。PI3K 激活后募集 Akt 到细胞膜上,激活 Akt 以及下游效应蛋白,促进血管生成,增强心脏微循环功能^[16]。PI3K/Akt 通路激活后,可抑制 B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)并促进 Bcl-2 表达,以此来抑制促凋亡因子途径,增加心肌细胞存活率^[17-18]。此外,PI3K/Akt 通路可通过核因子 E2 相关因子 2 等因子的磷酸化激活抗氧化基因表达,从而减少心血管系统中过量活性氧产生,保护心肌细胞免受氧化应激损伤^[19]。在心肌肥厚和心肌梗死的背景下,敲低 miR-208a 可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路,抑制心肌细胞凋亡和炎症反应,进而减缓心肌损伤^[20]。

转化生长因子 β (Transforming growth factor β , TGF- β)/Smad 信号通路可发挥促进纤维化、心肌细胞凋亡、血管平滑肌细胞增殖等作用来介导心脏病理性变化。在心肌损伤或压力过载时,TGF- β 上调,通过 TGF- β 受体激活 Smad 家族转录因子,上调 I 型和 III 型胶原、纤连蛋白等成分的基因表达,促进成纤维细胞分化为肌成纤维细胞,加速心肌纤维化^[21]。TGF- β /Smad 通路还可增强

细胞凋亡信号,并促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移。miR-208b-3p可靶向Mtf2和Pgrmc1基因,增加心肌成纤维细胞中纤维化相关蛋白I型和III型胶原蛋白和 α -平滑肌肌动蛋白表达,促进心肌纤维化^[22]。有研究发现,沉默miR-208a能通过TGF- β /Smad通路靶向调控急性心肌梗死大鼠Bcl-2、Caspase-3,抑制心肌细胞凋亡,减轻心肌组织氧化应激和纤维化进程^[23]。

上述研究提示,miR-208a通过与多个关键信号通路的相互作用调节心肌纤维化、心肌代谢和炎症反应等过程。提示miR-208a是心血管疾病中的一个关键分子靶点,深入研究其与信号通路的关系,不仅可以揭示心血管疾病的发生机制,还为开发新的治疗策略提供了潜在方向。

3 miR-208a作为心血管疾病生物标志物的临床应用

3.1 miR-208a在心肌梗死中的诊断应用

心肌梗死的早期诊断对改善患者预后至关重要。传统的心肌标志物如肌钙蛋白I(Troponin I, cTnI)和肌酸激酶MB(Creatine Kinase MB, CK-MB)已广泛用于临床,但其灵敏度和特异性在疾病的早期阶段受到限制。miR-208a在心脏特异性表达,且与心肌细胞损伤密切相关,与传统标志物相比,miR-208a表达水平在心肌损伤症状出现后的几个小时内就能被检测到,有望成为心肌梗死的早期诊断工具。Zhao等^[24]开发了逆转录加速链交换扩增(RT-ASEA)方法检测miR-208a,该方法可在15 min内对miR-208a进行快速扩增,扩增所得Ct值与cTnI浓度呈正相关,诊断急性心肌梗死的曲线下面积(Area Under Curve, AUC)为0.997 6。Chen等^[25]发现,急性心肌梗死患者治疗前、后外周血miR-208a水平与乳酸脱氢酶、CK、CK-MB均呈正相关,外周血miR-208a诊断AMI的曲线下面积>0.9,预测临床疗效、不良事件的AUC分别为0.784、0.713。上述研究结果提示,在心血管病治疗过程中,检测血清中miR-208a的水平变化,可能成为评估心肌损伤程度、病情进展、治疗效果和预后的重要手段,可以为医生提供疾病发展和疗效的实时反馈。

3.2 miR-208a在心力衰竭病情和预后评估中的价值

心力衰竭的病情进展和预后评估一直是临床治疗中的难题。miR-208a在心肌纤维化和重塑

过程中扮演重要角色,与心力衰竭病情的严重程度密切相关。研究发现,心力衰竭患者血液中miR-208a水平显著升高,且与左心室功能下降和心脏重塑程度相关^[26]。李岗峰等^[27]发现,慢性心衰患者血清miR-208相对表达与NT-proBNP、左心房直径呈正相关,与左室射血分数呈负相关,且其表达水平随心功能分级的升高而升高。上述研究结果表明,心力衰竭患者外周血miR-208a有望成为心力衰竭患者的预后评估工具。定期监测患者体内miR-208a的水平,可以更好地评估心衰病情的进展,调整治疗方案,并预测患者的生存率和并发症风险。

3.3 miR-208a在心脏手术和介入中的应用

心脏手术或介入治疗后心肌损伤是影响术后恢复的一个重要因素,与心脏生物标志物的变化密切相关。miR-208a作为心脏损伤的敏感标志物,能够在心脏手术和介入治疗后提供术后心肌损伤的动态信息。Salama等^[28]研究证实,血浆miR-208a表达水平直接诊断心肌梗死的AUC为0.926,诊断PCI术后无复流以及术后不良心血管事件的AUC均显著高于肌钙蛋白T(cTnT),认为miR-208a的循环水平可用作MI的诊断标志物以及无复流和院内不良心血管事件的预测因子。因此,检测心脏手术或介入前后miR-208a的水平变化,有利于准确评估手术或介入治疗对心肌的损伤程度并评估并发症发生风险,这对于减少术后并发症、促进心脏功能恢复具有重要意义。

3.4 miR-208a与其他心血管标志物的联合应用

尽管miR-208a作为心血管疾病的生物标志物显示出良好的潜力,但其在临床中的单独应用仍面临一些挑战。将miR-208a与其他心脏标志物进行联合成为目前提高诊断和预后的准确性的有效方法之一。朱磊等^[29]采用miR-208a单独预测ST段抬高型心肌梗死并发心衰的AUC仅为0.849,而采用血栓前体蛋白、miR-208a和cTnT联合预测的AUC为0.963。因此,通过构建miR-208a与其他心血管标志物的多标志物诊断模型,能够更加全面地反映心脏病理过程,提高心血管疾病的诊断敏感性和特异性。

4 miR-208a在心血管疾病中的应用局限

虽然miR-208a在心血管疾病中展现出广阔的应用前景,但仍存在一些应用局限。miR-208a在

心血管疾病中的表达水平随着病程的进展和患者个体状况的不同而出现动态变化,且检测水平可能受到检测方法、样本处理等因素的影响产生一定差异,需要开发更为灵敏且稳定的检测技术,并制定统一的标准化检测流程。miR-208a不仅在心血管疾病中发挥重要作用,还可能与其他生物学过程和信号通路存在交互作用,这种复杂性可能增加其临床应用的难度,使开发基于miR-208a治疗策略的安全性和有效性难以保证。虽然目前已有许多关于miR-208a的基础研究和小规模临床试验,但大规模、多中心的临床验证研究仍然不足,还需要更多的随机对照试验和长期随访研究,以验证miR-208a在不同类型心血管疾病中的诊断和预后价值。

5 总结与展望

未来,随着研究的深入和技术的进步,miR-208a有望成为心血管疾病的多功能标志物,帮助早期诊断、评估预后和提供个性化治疗,基于miR-208a的靶向治疗策略将为心血管疾病患者带来新的希望。

参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2022概要[J]. 中国循环杂志, 2023, 38(6): 583-612.
- [2] 刘潮, 罗艳萍, 谷婷婷, 等. miR-208 基因 rs3022522 和 rs12894524 位点多态性在广西人群的分布[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2023, 44(1): 76-81.
- [3] Foglieni C, Lombardi M, Lazzeroni D, et al. Myosins and MyomiR Network in Patients with Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy[J]. Biomedicines, 2022, 10(9): 2180.
- [4] 吕秋, 郇心乐, 甘艳. 麝香保心丸联合瑞替普酶治疗急性心肌梗死的效果及对血清 miR-208a、miR-208b 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(6): 74-77.
- [5] Danaii S, Shiri S, Dolati S, et al. The Association between Inflammatory Cytokines and miRNAs with Slow Coronary Flow Phenomenon [J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2020, 19(1): 56-64.
- [6] Xu LJ, Yang Y, Yuan LF, et al. SP1-stimulated miR-208a-5p aggravates sepsis-induced myocardial injury via targeting XIAP [J]. Exp Cell Res, 2024, 435(1): 113905.
- [7] Tong H, Snow SJ, Chen H, et al. Fish oil and olive oil-enriched diets alleviate acute ozone-induced cardiovascular effects in rats[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 409: 115296.
- [8] Guo Y, Bie ZD, Li X. Hypoxic cardiomyocyte-derived exosomes regulate cardiac fibroblast activation, apoptosis, migration and ferroptosis through miR-208a/b[J]. Gen Physiol Biophys, 2023, 42(2): 149-158.
- [9] Chua SK, Wang BW, Yu YJ, et al. Cyclic stretching boosts microRNA-499 to regulate Bcl-2 via microRNA-208a in atrial fibroblasts[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(6): 3113-3123.
- [10] 徐孟骅, 王忠华, 王静, 等. miR-208a 在兔快速心房起搏模型中抑制心房电重构和结构重构的作用研究[J]. 浙江医学, 2023, 45(16): 1686-1692.
- [11] Gladka MM, Kohela A, de Leeuw AE, et al. Hypoxia-responsive zinc finger E-box-binding homeobox 2 (ZEB2) regulates a network of calcium-handling genes in the injured heart[J]. Cardiovasc Res, 2024: 1-15. DOI: 10.1093/cvr/cvae163
- [12] Baksh SS, Hodgkinson CP. Conservation of miR combo based direct cardiac reprogramming [J]. Biochem Biophys Res, 2022, 31: 101310.
- [13] Wang X, Baksh SS, Pratt RE, et al. Modifying miRs for effective reprogramming of fibroblasts to cardiomyocytes [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2024, 35(2): 102160.
- [14] Lopez LV, Camberos V, Bailey LL, et al. MicroRNA Expression in the Infarcted Heart Following Neonatal Cardiovascular Progenitor Cell Transplantation in a Sheep Model of Stem Cell-Based Repair [J]. Cell Transplant, 2022, 31: 9636897221136787.
- [15] 张佳, 沈艳. PTEN/PI3K/Akt 信号通路在血管外膜 CD34+ 干细胞参与血管新内膜形成中的作用[J]. 感染、炎症、修复, 2023, 24(1): 7-12+2.
- [16] 李颖, 吴曼, 陈智, 等. 秋水仙碱通过激动 PI3K/AKT/eNOS 信号通路对急性心肌梗死大鼠心功能的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2024, 22(7): 1219-1224.
- [17] Kang JB, Koh PO. Retinoic acid alleviates the reduction of Akt and Bad phosphorylation and regulates Bcl-2 family protein interactions in animal models of ischemic stroke[J]. PLoS One, 2024, 19(5): e0303213.
- [18] Chen Q, Guo D, Lin G, et al. LncRNA XR_595552 inhibition alleviates intermittent hypoxia-induced cardiomyocyte damage via activating the PI3K/AKT pathway [J]. Sleep Breath, 2023, 27(1): 129-136.
- [19] Mi X, Zhang Z, Cheng J, et al. Cardioprotective effects of Schisantherin A against isoproterenol-induced acute myocardial infarction through amelioration of oxidative stress and inflammation via modulation of PI3K - AKT/Nrf2/ARE and TLR4/MAPK/NF- κ B pathways in rats[J]. BMC Complement Med Ther, 2023, 23(1): 277.
- [20] 黄晶, 雷玉华, 华晓芳, 等. 基于 PI3K/AKT/GSK3 β 信号通路下调 miR-208a 对急性心肌梗死模型大鼠的干预作用[J]. 河北医药, 2022, 44(23): 3530-3533+3537.
- [21] Feng Y, Bao Y, Ding J, et al. MicroRNA-130a attenuates cardiac fibrosis after myocardial infarction through TGF- β /Smad signaling by directly targeting TGF- β receptor 1[J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 5779-5791.
- [22] 张梦珍, 翟琳, 郭林林, 等. 肌球蛋白重链 7 基因来源的 miR-208b-3p 促进心肌成纤维细胞中纤维化相关基因表达[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2023, 44(4): 642-650.
- [23] 刘国星, 杜见霞, 刘秀红, 等. 沉默 miR-208a 对急性心肌梗死大鼠心室重构的影响及机制研究[J]. 河北医药, 2022, 44(1): 36-40.

- [24] Zhao Y, Zhuang L, Tian P, et al. Rapid diagnosis of acute myocardial infarction based on reverse transcription - accelerated strand exchange amplification of miR - 208a [J]. *Anal Methods*, 2023, 15(35):4442-4451.
- [25] Chen S, Hong X, Wu Y, et al. Diagnostic and Prognostic Significance of microRNA - 208a in Acute Myocardial Infarction [J]. *Dis Markers*, 2022, 2022:7030722.
- [26] 罗高蓉,李鸿宇,葛尤. 门冬氨酸钾镁联合重组人脑利钠肽对急性心肌梗死病人心室重塑及血清 miR-208b、miR-302b 表达的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(10): 1848-1853.
- [27] 李岗峰,刘璐,李刘文. 血清 miR-208 在慢性心力衰竭中的表达及临床意义[J]. *海南医学*, 2022, 33(4):417-420.
- [28] Salama AM, Khalil WA, Al-Zaky M, et al. MicroRNA - 208a; a Good Diagnostic Marker and a Predictor of no-Reflow in STEMI Patients Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, 13(6): 988-995.
- [29] 朱磊,宋博超,刘星,等. TpP、miR-208a 和 cTnT 在 STEMI 合并心衰患者血清中的变化及预测效能分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2023, 30(2):257-262.

(上接第 781 页)

该年龄段儿童母源抗体消失、自身免疫系统及功能未臻完善有关,病原体混合感染对临床表现的影响可能取决于所涉及的特定病原体及病毒载量^[11]。本研究还发现 Ch、HCOV 和 Boca 多重阳性占其总检出率比较高,但目前并无明确关于上述病原体合并感染机制的相关研究。

综上所述,本研究通过分析本地区住院患儿呼吸道病原体的组成和相关流行病学特征,有助于相关疾病的临床诊断和用药,从而为儿童呼吸道疾病诊疗和防控提供一定参考依据。在病原体流行季节加强儿童呼吸道飞沫防护和接触防护,可有效降低易感人群的感染风险。本次研究纳入的呼吸道病原体为常见非细菌性病原体,未能反映其他种类病原体与儿童呼吸道感染之间的关系,后期将在相关研究中加大样本量和扩大病原体范畴,服务于本地区儿童呼吸道感染的防控。

参考文献

- [1] 谢正德,邓继岩,任丽丽,等. 儿童呼吸道感染病原体核酸检测专家共识[J]. *中华实用儿科杂志*, 2022, 37(5):321-332.
- [2] 胡亚美,江载芳,申昆玲,等. *诸福棠实用儿科学(第8版)* [M]. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [3] 陈梦雪,张建华. 二代测序技术在儿童下呼吸道感染病原检测中的应用[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2021, 36(14):1115-1118.
- [4] 周城波,卢文波,张艺之,等. 2019-2021年宁波地区儿童13种呼吸道非细菌性病原体检出情况分析[J]. *中华预防医学杂志*, 2022, 56(12):1751-1758.
- [5] 郑盼盼,李楠,荣瑞娟,等. 2129例流感样住院患者呼吸道13项病原体检测结果分析[J]. *重庆医学*, 2022, 51(15):2556-2560.
- [6] 黄振强,马亚萍,曲春生,等. 丽水市十三项呼吸道病原体感染情况及特点分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2022, 38(10): 869-873.
- [7] 钟小珍,豆小文,阚丽娟,等. 新型冠状病毒感染疫情下深圳地区患儿13种呼吸道病原体流行病学分析[J]. *检验医学与临床*, 2023, 20(4):475-480.
- [8] 武巧珍,胡娅莉,周乙华. 新生儿母源性抗体的免疫保护以及对疫苗接种的影响[J]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2015, 7(1):48-52.
- [9] 张莉莉,邓柳颐,石丽娟,等. 2011-2020年儿童腺病毒医院感染的临床特征[J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(1): 1-6.
- [10] 顾秀丽,姚瑶,田晓怡,等. 2020年北京地区儿童常见呼吸道病原体流行情况分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2022, 42(2):141-147.
- [11] 侯李锋,李芳,吕芳,等. 非细菌性呼吸道病原核酸检测在呼吸道感染患儿中的应用[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2022, 37(4):251-255.
- [12] 刘宇奇,黄艳智,孙利伟,等. 基于毛细管电泳多重PCR方法对小儿呼吸道感染病原分析[J]. *中国小儿急救医学*, 2019, 26(10):764-770.
- [13] 张海邻,陈小芳,吕芳芳,等. 多重PCR技术检测儿童下呼吸道感染病毒和不典型病原体的价值[J]. *温州医科大学学报*, 2017, 47(11):791-795+800.
- [14] 刘文渊,张艺之,周城波,等. 基于多重RT-PCR检测法的儿童呼吸道病原体流行特征[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2021, 35(4):467-471.
- [15] Li ZJ, Zhang HY, Ren LL, et al. Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):5026.

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。





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。

中国科学院信息研究所

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

