疑难病杂志

Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases

月刊　2002 年 6 月创刊　每月 18 日出版　第 19 卷第 1 期　2020 年 1 月 18 日

主　管
中华人民共和国国家卫生健康委员会
主　办
中国医师协会
协　办
河北以岭医药研究院
编　辑
疑难病杂志编辑委员会
顾　问
吴咸中　陈可冀　王正国　王永炎
张　运　李春岩　张伯礼　邱蔚六
郭应禄　葛均波　李　恩　于金明
总编辑
吴以岭
社长　主编
马　智
出　版
疑难病杂志社
050035 石家庄市天山大街 238 号
电话(传真):(0311)85901735
E-mail:ynbzz@163.com
网址:http://www.ynbzz.com
印　刷
石家庄市汇昌印刷有限公司
发行范围
国内外公开发行
国内:中国邮政集团公司河北省分公司
国外:中国国际图书贸易集团有限公司
(北京 399 信箱,100044)
代号:DK 13017
订　购
全国各地邮电局
邮发代号:18-187
网址:http://bk.11185.cn
零　售
疑难病杂志编辑部
广告发布登记号
石高新 13010120190001 号
定　价
每期 12.00 元　全年 144.00 元
中国标准连续出版物号
ISSN　1671-6450
CN　13-1316/R

2020 年版权归疑难病杂志社所有

本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点,除非特别声明;未经本刊编辑部许可,不得任意转载和摘编;本刊如有印刷问题,请向本社调换

目　次

述　评

2019 年国际脑卒中临床诊治几项重要成果解读 …… 吕佩源　1

论著·临床

冠心病患者 PCSK9 基因 V312F 位点多态性与斑块性质、脂代谢及细胞因子的相关性 …… 刘春燕　刘小燕　李平　陈国才　耿召华　4

慢性心力衰竭患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 的表达及临床意义 …… 徐娟娟　沈正军　倪斌　徐成胜　8

血清 BDNF 和 CA125 水平对急性心肌梗死患者病情及预后的评估价值 …… 张海宁　杨会萍　任骞　王宁勃　12

静脉溶栓桥接动脉取栓治疗急性脑梗死临床疗效分析 …… 张立军　赵洁　郝新斌　17

系统性硬化症合并肺间质病变患者外周血中 IL-8、CXCR1、CXCR2 的表达及意义 …… 张帆　韩卫全　庞艳　龚子龙　肖婷　夏露　21

特布他林联合孟鲁司特钠治疗支气管哮喘患者效果及对炎性因子和呼吸力学的影响 …… 陈垣　陈华妹　肖一佳　赵素娥　王菊芬　26

血清 miR-27 与老年 2 型糖尿病下肢血管病变及 25(OH)D_3 水平的关系 …… 陈云霞　苏俊平　刘海勇　陈雪　马莹　30

维生素 D_3 治疗糖尿病肾病患者的疗效及肾组织足细胞损伤与 ROS、AOPP、SOD 的相关性分析 …… 赵晔　于磊　王秀颖　董丽娜　36

丙硫氧嘧啶联合比索洛尔治疗甲状腺功能亢进患者的效果及其对肝功能、心功能的影响 …… 袁小燕　杨朝霞　李为　许梦君　朱现丽　41

血清巨噬细胞集落刺激因子在乙肝肝硬化患者中的表达及早期诊断价值 …… 李萍　胡蓉　杨启　陈治莉　贺秋凤　邓杨　45

托伐普坦联合尿毒清颗粒治疗肾病综合征的临床效果 …… 张瑶琳　葛琪容　罗海波　乔建芬　林建美　49
弯角椎体成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折疗效分析
…… 曹强　段明明　周煜虎　王剑飞　王飞　李长红　53
小剂量阿司匹林对轻度妊娠期高血压患者凝血功能、血管内皮功能及妊娠结局的影响
…… 常丽花　闫飞艳　刘芳　张美　张亚萍　57
重组干扰素联合抗生素对宫颈上皮内瘤变 LEEP 术后 HPV-DNA 负荷量及 Caspase-3、survivin 表达的影响
…… 崔开颖　朱根海　杨舒盈　陈春英　洪澜　吴梦琼　61
丙种球蛋白联合雷公藤多苷治疗儿童过敏性紫癜性肾炎的效果及对尿蛋白、尿红细胞的影响
…… 钟娇霞　颜海峰　霍开明　古裕鸟　黄学晓　庄秀娟　陈海波　66
病毒唑联合炎琥宁治疗手足口病患儿的效果及其对 T 淋巴细胞亚群水平的影响
…… 肖耿吉　廖亦男　刘芙蓉　姚婷新　于四景　71

论著·基础

维生素 K_2 通过降低 D-双功能蛋白活性抑制肝癌的实验研究 …… 孔令玉　路欣　姜玲玲　75
大黄素介导 IRS-2/PI3K/Akt 通路干预大鼠非酒精性脂肪性肝炎的实验研究
…… 寇小妮　解新科　郝明霞　宋春荣　吴维　80

罕少见病例

特发性节段性网膜梗死 1 例 …… 何涛　王安康　蒋禹　李秋　付文广　85
Castleman 病引起上腔静脉综合征 1 例 …… 郭聚龙　郭连瑞　谷涌泉　86

综　述

磁共振黑血序列与超声成像对动脉粥样硬化斑块稳定性评估的比较 …… 李抒洋　付旷　88
深度学习在心脏磁共振左心室分割中的应用研究进展 …… 田洁　马晓海　赵蕾　92
中医内治法治疗糖尿病周围神经病变临床研究进展 …… 冯帅东　高怀林　96
去势抵抗性前列腺癌药物治疗的研究进展 …… 张烨　刘修恒　100
卵巢恶性肿瘤的影像学诊断进展 …… 姜涵文　郭林　金刚　105
作者·编者·读者 …… 79,84

期刊基本参数：CN13－1316/R＊2002＊m＊A4＊112＊zh＊P＊￥12.00＊4 500＊26＊2020－01
本期责任编辑：赵建逸　　英文编辑：马晓海

CHINESE JOURNAL OF DIFFICULT AND COMPLICATED CASES

Monthly Established in June 2002 Volume 19, Number 1 18 January, 2020

Responsible Institution
National Health Commission of the People's Republic of China

Sponsor
Chinese Medical Doctor Association

Co-organizer
Hebei Yiling Medical Academy

Editing
Editorial Board of Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases

Adviser
WU Xianzhong CHEN Keji WANG Zhengguo WANG Yongyan ZHANG Yun LI Chunyan ZHANG Boli QIU Weiliu GUO Yinglu GE Junbo LI En YU Jinming

Editor-in-Chief
WU Yiling

Managing Director
MA Zhi

Publishing
Publishing House of Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases
238 Tianshan Street, Shijiazhuang
050035, China
Tel(Fax): (0311) 85901735
E-mail: ynbzz@163.com
http://www.ynbzz.com

Printing
Shijiazhuang Huichang Printing House

Overseas Distributor
China International Book Trading Corporation
P. O. Box 399, Beijing 100044, China
Code No. DK 13017

Overseas Price
$ 12.00 per issue; $ 144.00 a year

CSSN
ISSN 1671-6450 CN 13-1316/R

Copyright 2020 **by Publishing House of** ***Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases***

All articles published represent the opinions of the authors, do not reflect the official policy of the editorial board, unless clearly specified.

CONTENTS

Editorial

Interpretation of several important achievements of international stroke clinical diagnosis and treatment in 2019 ····· *Lyu Peiyuan* 1

Original Article: Clinical Research

The relationship between the polymorphism of PCSK9 gene V312F and plaque properties, lipid metabolism and cytokines in patients with coronary heart disease ····· *Liu Chunyan, Liu Xiaoyan, Li Ping, et al* 4

The expression and clinical significance of serum Lp-PLA 2 and sSema4D in patients with chronic heart failure ····· *Xu Juanjuan, Shen Zhengjun, Ni Bin, et al* 8

Evaluation of serum BDNF and CA125 levels in patients with acute myocardial infarction ····· *Zhang Haining, Yang Huiping, Ren Qian, et al* 12

Analysis of the clinical effect of thrombolysis and arterial thrombectomy in the treatment of acute cerebral infarction ····· *Zhang Lijun, Zhao Jie, Hao Xinbin* 17

Expression and significance of IL-8, CXCR1 and CXCR2 in peripheral blood of patients with systemic sclerosis and pulmonary interstitial disease ····· *Zhang Fan, Han Weiquan, Pang Yan, et al* 21

The effect of terbutaline combined with montelukast sodium in the treatment of bronchial asthma and its effect on inflammatory factors and respiratory mechanics ····· *Chen Yuan, Chen Huamei, Xiao Yijia, et al* 26

Relationship between serum miR-27 and lower extremity vascular disease and 25(OH) D_3 level in elderly patients with type 2 diabetes mellitus ····· *Chen Yunxia, Su Junping, Liu Haiyong, et al* 30

The effect of vitamin D_3 on diabetic nephropathy and the relationship between podocyte injury and ROS, AOPP, SOD ····· *Zhao Ye, Yu Lei, Wang Xiuying, et al* 36

Effect of propylthiouracil combined with bisoprolol on hyperthyroidism and its influence on liver and heart function ····· *Yuan Xiaoyan, Yang Zhaoxia, Li Wei, et al* 41

Expression of serum macrophage colony-stimulating factor in patients with hepatitis B cirrhosis and its early diagnostic value ····· *Li Ping, Hu Rong, Yang Qi, et al* 45

Clinical effect of tovaptan combined with *Niaoduqing* granules in the treatment of nephrotic syndrome ····· *Zhang Yaolin, Ge Qirong, Luo Haibo, et al* 49

Analysis of the curative effect of the treatment of osteoporotic vertebral compression fracture with angle vertebroplasty ····· *Cao Qiang, Duan Mingming, Zhou Yuhu, et al* 53

Effects of low-dose aspirin on coagulation function, vascular endothelial function and pregnancy outcome in patients with mild pregnancy-induced hypertension ····· *Chang Lihua, Yan Feiyan, Liu Fang, et al* 57

The effect of recombinant interferon combined with antibiotics on the levels of DNA load of HPV and the expression of Caspase-3 and survivin after LEEP for cervical intraepithelial neoplasia ····· *Cui Kaiying, Zhu Genhai, Yang Shuying, et al* 61

The effect of gamma globulin combined with tripterygium wilfordii glycoside on children with Henoch-Schonlein purpura nephritis ····· *Zhong Jiaoxia, Yan Haifeng, Huo Kaiming, et al* 66

Effect of ribavirin combined with *Yanhuning* on children with HFMD and its effect on T lymphocyte subsets ····· *Xiao Gengji, Liao Yinan, Liu Furong, et al* 71

Original Article: Basic Research

Experimental study on the inhibition of liver cancer by vitamin K_2 by reducing the activity of D-bifunctional protein ····· *Kong Lingyu, Lu Xin, Jiang Lingling* 75

The experimental study of emodin mediated IRS-2/PI3K/Akt pathway on nonalcoholic steatohepatitis in rats ····· *Kou Xiaoni, Xie Xinke, Hao Mingxia, et al* 80

Rare Case Report

Idiopathic segmental infarct of omentum: a case report ····· *He Tao, Wang Ankang, Jiang Yu, et al* 85

Superior vena cava syndrome caused by Castleman disease: a case report ····· *Guo Julong, Guo Lianrui, Gu Yongquan* 86

Review

Comparison of MR black blood sequence and ultrasonography in the evaluation of atherosclerotic plaque stability ····· *Li Shuyang, Fu Kuang* 88

Progress of deep learning of image segmentation in cardiac magnetic resonance of left ventricle ····· *Jie TIAN, Xiaohai MA, Lei ZHAO* 92

Clinical research progress of diabetic peripheral neuropathy treated by internal treatment of traditional Chinese Medicine ····· *Feng Shuaidong, Gao Huailin* 96

Advances in drug treatment of castration-resistant prostate cancer ····· *Zhang Ye, Liu Xiuheng* 100

Progress in imaging diagnosis of ovarian cancer ····· *Jiang Hanwen, Guo Lin, Jin Gang* 105

述　评

2019 年国际脑卒中临床诊治几项重要成果解读

吕佩源

基金项目：2014 河北省政府资助临床医学优秀人才培养研究项目(361003)；2015 河北省政府资助临床医学优秀人才培养研究项目(81241037)

作者单位：050051　石家庄，河北省人民医院神经内科

【关键词】　脑卒中；诊断；治疗；成果

【DOI】　10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.001

2019 年，国际上有关脑卒中许多新的研究成果相继出台，本文就该病诊治新进展、新成果予以述评。

1　微出血患者或仍应抗栓预防缺血性卒中

多年来，对于近期发生缺血性脑卒中或短暂性脑缺血发作(TIA)的脑微出血(CMBs)患者而言，是否行抗栓治疗同样困扰着临床医生。

2019 年，一项来自英国伦敦大学的研究汇总分析了 1996 年 1 月—2018 年 12 月 13 年的相关结果[1]。最终纳入了 38 项研究，每项研究均包括至少 50 例参与者，共涉及 20 322 例缺血性卒中或 TIA 患者，累积了超过 35 225 人・年的资料，随访时间至少为 3 个月。中位随访时间为 1.34 年，共记录到 189 次脑出血以及 1 113 次脑缺血。研究比较了脑出血和脑缺血两种事件的数量发现：不论微出血的负担或分布如何，脑缺血的发生率总是高于脑出血，在微出血灶超过 10 个(64，48 ~ 84 vs. 27，17 ~ 41/1 000 人・年)，甚至超过 20 个(73，46 ~ 108 vs. 39，21 ~ 67/1 000 人・年)时也是如此。因此可见，权衡利弊之后，微出血或许不应成为抗栓预防缺血性卒中的阻碍。

2　脑出血后重启抗血小板仍可降低近半数出血复发风险

尽管人们普遍担心在颅内出血(intracranial hemorrhage，ICH)相关的卒中之后再次开始服用阿司匹林或氯吡格雷等抗血小板药物可能会增加脑出血复发的风险，但 2019 年英国学者报告的一项前瞻性随机开放标签 RESTART 研究却发现结果恰恰相反——其后 2 年内 ICH 复发风险降低 49%　与患者 ICH 后重启抗血小板治疗有关[2]。

该研究在 2013 年 5 月—2018 年 5 月间，从英国的 122 家医院招募了 537 例参与者，525 例经脑部 CT/MR 确诊为出血性卒中，其中 97% 经过脑部 CT 确诊，48% 经过脑部 MR 确诊。结果发现，抗血小板治疗组中共出现脑出血复发 12 例(4.5%)，未接受抗血小板治疗组中脑出血复发却达到了 23 例(8.6%)，这与人们预想的结果大相径庭——重启抗血小板治疗反而降低 49% 的脑出血复发风险。

3　磺脲类药物能缩小脑出血周围水肿

磺脲类药物是一个成员众多的大家族，是口服降糖药之一，最早应用糖尿病患者，其主要通过促进胰岛素分泌而发挥作用。近年来，越来越多的证据显示，磺脲类药物既能够减轻血肿周围水肿(perihematomal edema，PHE)，也可以降低缺血性卒中出血转换的几率。

2019 年 4 月，一项来自美国的研究结果发布，其目的在于探讨糖尿病患者既往服用磺脲类药物是否影响原发性脑出血患者的 ICH 体积、PHE 体积和出院后结局(如回家、养老院以及死亡)[3]。

研究者回顾性分析 2 家三级医学中心的所有表现为原发性 ICH 的糖尿病患者。纳入标准包括：(1)正在服用磺脲类药物的糖尿病患者，且入院时行 CT 扫描发现原发性脑出血者；(2)针对每例患者，皆匹配(入院时间、性别、年龄、血肿部位、使用抗血小板或抗凝药物)2 例糖尿病和原发性 ICH 的对照患者。

本项研究共筛查了 317 例患者，21 例服用磺脲类药物患者和 42 例匹配对照患者符合研究纳入标准。与对照相比，服用磺脲类药物患者的入院 ICH 体积(4 ml vs. 25 ml，$P = 0.011$)、PHE 体积(4 ml vs. 17 ml，$P = 0.009\ 5$)和 PHE/ICH 表面积比(0.28 vs. 0.43，$P = 0.013$)更低，且使用磺脲类药物与更佳的出院后结局有关。

笔者认为，对于合并糖尿病的原发性脑出血患者，服用磺脲类药物预示着更低的 ICH 和 PHE 体积。

4　impACT-24B 试验:物理学方法改善预后,具有明显量效关系

曾有研究表明,在临床前急性脑梗死动物模型研究中证实,蝶腭神经节刺激(sphenopalatine ganglion stimulatuion,SPGS)可增加侧支循环、稳定血脑屏障、减少梗死体积。

2019 年报道的 impACT-24B 是一项在 18 个国家 73 家中心开展的随机、对照研究,同时满足急性前循环梗死、发病 8 ~ 24 h、NIHSS 评分为 7 ~ 18 分等条件的患者入组研究,将其随机分为翼腭窝神经刺激器放置手术组和假手术组,给予真实刺激或假性刺激 5 d,每天 4 h。其中真实刺激组按其刺激的强度不同,分为轻度、中度、重度 3 组。244 例受试者给予 SPGS,276 例受试者给予假性刺激[4]。

90 天后改良 Rankin 量表(mRS)显示,手术组(49.6%)明显优于假手术组(39.9%)($P = 0.025\ 6$);且刺激强度与刺激效果之间存在明显的量效关系($P = 0.006$),呈 U 型曲线分布。并且在最理想的中等强度刺激组(占 25%)疗效更为明显。

总而言之,SPGS 能够减少急性脑梗死患者皮质梗死体积,改善急性皮质梗死患者的预后,并具有明显的量效关系。

5　STROKE-CARD CARE 疾病管理项目:减少新发心血管事件、改善生活质量

来自奥地利专家报道了 STROKE-CARD CARE 研究新成果,是一项实用性、前瞻性、随机分组、多界面干预研究。

2019 年发布的这项研究将急性脑梗死或 TIA(ABCD2≥3)的患者按照 2∶1 的比例随机给予多界面干预项目(STROKE-CARD)或标准治疗[5]。干预组通过"My Stroke Card"电子工具或打印卡片(Battery):以时间为轴记录患者的危险因素防控,应用表格形式通过不同颜色(红、黄和绿色)把是否已经实现目标值展示出来,一方面提供指南推荐内容和自我教育的材料;另一方面可以了解卒中后并发症等信息,实现卒中后管理。该研究的主要联合终点包括:12 个月内的新发心血管事件和血管源性死亡、12 个月时的生活质量(EQ-5D-3L)。

共有 2 149 例患者纳入该项研究:STROKE-CARD 组主要终点新发心血管事件和血管源性死亡事件(5.4%)明显低于常规治疗组(8.3%)($HR = 0.63$, 95% CI 0.45 ~ 0.88, $P = 0.007$)。STROKE-CARD 组 12 个月时 EQ-5D-3L 评分为 78.3(IQR 68.7 ~ 100),常规治疗组为 77.9(IQR 57.3 ~ 100),平均差值 +0.4($P < 0.001$)。研究表明,STROKE-CARD 项目(Battery)能够减少急性缺血性卒中和 TIA 患者的新发心血管事件风险,同时改善生活质量。

6　急性缺血性卒中发病 9 h 后溶栓或仍可获益

目前溶栓指南推荐在卒中发生后 4.5 h 之内使用阿替普酶溶栓,2019 年有学者检索了 2006 年 1 月 1 日—2019 年 3 月 1 日期间发表的关于缺血性卒中发生 4.5 h 后予以阿替普酶或安慰剂治疗或晨起卒中予以阿替普酶或安慰剂治疗,主要是利用 CT 灌注成像或许能识别出在发病 4.5 h 后进行溶栓治疗仍能获益的患者,甚至溶栓的时间窗能延长至 9 h。

该项研究纳入了 3 项符合要求的试验:EXTEND 研究、ECASS4-EXTEND 研究、EPITHET 研究的系统回顾和 Meta 分析[6]。在卒中发病后 4.5 h 之后通过 CT 灌注成像评估患者并采用阿替普酶或安慰剂治疗。纳入条件为:(1)可能存在可挽救脑组织的(良性低灌注区、半暗带);(2)发病 4.5 h 后的患者。最终共纳入 414 例患者,其中 213 例患者接受了阿替普酶溶栓,另外 201 例患者接受了安慰剂治疗。结果发现:在阿替普酶组中 36%(76/211)的患者在 3 个月时的 mRS 功能预后评估结果为良好,而在安慰剂组中仅为 29%(58/199)。

超时间窗阿替普酶溶栓治疗能够改善经过选择的患者的卒中预后(OR 1.86, 95% CI 1.15 ~ 2.99, $P = 0.011$)。其他结局指标,如 mRS 评分的改善、死亡风险等也提示超时间窗溶栓的获益,亚组分析显示各种患者大多能从中获益。

需要强调的是,该研究关键环节是使用了自动化的 RAPID 软件,其可以分析患者的灌注不匹配状态,以确定患者是否存在可挽救的脑组织。低灌—核心梗死不匹配定义为:(1)低灌/核心梗死体积大于 1.2;(2)低灌与核心梗死体积差值 > 10 ml;(3)核心梗死体积 < 70 ml。

7　ASPECTS 评估脑组织的密度衰减可替代 CTP 评估核心梗死

近年来被临床广泛应用的阿尔伯塔卒中项目早期 CT 评分(Alberta stroke project early CT scale, ASPECTS)是所有卒中中心最为普及的评价方法之一[7]。虽然 ASPECTS 评分存在着评分者间差异明显的问题,有时导致临床医生和神经放射学家评价结果的不一致,但自动化和标准化算法(自动重叠分割 ASPECTS 区域)的 ASPECTS 评分可以避免这种主观性的差异,而且操作便捷、同质化,无需考虑体积变数。

2019 年,来自德国慕尼黑大学一项研究报告了急

性缺血性卒中(AIS)利用自动非增强 CT 的 X 射线衰减密度与 CT 灌注成像诊断的核心梗死的对照研究结果,用于决定取栓治疗选择时间窗[8]。该研究共观察了治疗组(经 CT 灌注确诊的急性脑卒中患者、且经动脉内取栓治疗)121 例和对照组(仅经 CT 灌注诊断为可疑的急性脑卒中患者)79 例患者。在所有检查区域中,rHU 值为尾状核、豆状核和岛叶和内囊,脑叶等区域。结果发现,平扫 CT 测得的 X 射线衰减区域可以替代在 CT 灌注中被诊为核心梗死的脑组织,因此认为,该方法可作为急性前循环梗死患者取栓治疗的影像学选择标准之一。

8　利用多模 MR/CT 灌注影像评估皮质脊髓束损伤程度预测轻型卒中静脉溶栓的获益

轻型卒中一般定义为 NIHSS 评分≤3 分。曾有报道分析加拿大 1 092 家医院发病 2 h 到院的 29 200 例卒中患者发现:许多患者因为病情较轻、或病情快速好转而没有予以静脉溶栓治疗;但其中有 28.3% 短期预后不良。因此,需要寻找更精准的方法筛选出能从静脉溶栓中获益的轻型卒中患者。

2019 年,有学者总结回顾了国际多中心缺血性卒中数据库 INSPIRE 以及该中心缺血性卒中数据库 CIPPIS 的 2 654 例患者数据[9],最终纳入 407 例起病 4.5 h 内行多模 MR/CT 灌注影像,利用多模 MR/CT 灌注影像评估皮质脊髓束(CST)的损伤程度,发现其可预测轻型卒中静脉溶栓的获益,该研究采用基线低灌体积 <15 ml 作为轻型卒中的入组标准。由 3 位神经影像学专家判断基线低灌和梗死累及 CST 的情况,并将患者分成 3 个亚组:(1)基线低灌注累及 CST,梗死灶未累及 CST;(2)基线低灌注和梗死灶均累及 CST;(3)基线低灌注和梗死灶均未累及 CST 组。定义 3 个月 mRS 评分 0 ~ 1 分为预后良好,比较总体和 3 个亚组接受静脉溶栓治疗与未接受溶栓治疗患者的 3 个月预后。结果显示:所纳入的 407 例患者中,243 例(59.7%)接受静脉溶栓治疗,164 例(40.3%)未接受溶栓治疗。基线 NIHSS 中位数 5.0 分,其中 312 例(76.7%)3 个月预后良好,未接受静脉溶栓组 3 个月预后良好比例低于接受溶栓组(72.0% vs. 83.5%)。

进一步亚组分析发现:(1)基线低灌注累及 CST,而梗死灶未累及 CST 组,接受静脉溶栓组 3 个月预后良好比例高于未接受溶栓组(75.6% vs. 47.1%, $OR = 4.096$, $P = 0.045$);(2)基线低灌注和梗死灶均累及 CST 组,接受静脉溶栓组 3 个月预后良好比例低于未接受溶栓组(30.6% vs. 88.9%, $OR = 0.002$, $P = 0.003$);(3)基线低灌注和梗死灶均未累及 CST 组,接受静脉溶栓组 3 月预后良好比例与未接受溶栓组比较,差异无统计学意义(80.1% vs. 87.7%, $P = 0.258$)。认为基线低灌体积 <15 ml 的 AIS 患者,仅基线低灌累及 CST 且梗死未累及 CST 者最适合溶栓,可以从静脉溶栓治疗中获益。

参考文献

[1] Wilson D, Ambler G, Lee KJ, et al. Cerebral microbleeds and stroke risk after ischaemic stroke or transient ischaemic attack: a pooled analysis of individual patient data from cohort studies[J]. Lancet Neurol, 2019, 18(7): 653-665. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30197-8.

[2] Al-Shahi Salman R, Murray GD, Dennis MS, et al. The restart or stop antithrombotics randomised trial (RESTART) after strokedue to intracerebral haemorrhage statistical analysis plan for a randomized controlled trial[J]. Trials, 2019, 20(1): 183. DOI: 10.1186/s13063-019-3270-2.

[3] Irvine H, Male S, Robertson J, et al. Reduced intracerebral hemorrhage and perihematomal edema volumes in diabetics on sulfonylureas a case-control study[J]. Stroke, 2019, 50(4): 995-998. DOI: 10.1161/STROKEAHA.118.022301.

[4] Bornstein NM, Saver JL, Diener HC, et al. An injectable implant to stimulate the sphenopalatine ganglion for treatment of acute ischaemic stroke up to 24 h from onset (ImpACT-24B): an international, randomised, double-blind, sham-controlled, pivotal trial[J]. Lancet, 2019, 394(10194): 219-229. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31192-4.

[5] Toell T, Boehme C, Mayer L, et al. Pragmatic trial of multifaceted intervention (STROKE-CARD care) to reduce cardiovascular risk and improve quality-of-life after ischaemic stroke and transient ischaemic attack -study protocol[J]. BMC Neurol, 2018, 18(1): 187. DOI: 10.1186/s12883-018-1185-2.

[6] Campbell BCV, Ma H, Ringleb PA, et al. Extending thrombolysis to 4.5-9 h and wake-up stroke using perfusion imaging: a systematic review and meta-analysis of individual patient data[J]. Lancet, 2019, 394(10193): 139-147. DOI: 10.1016/ S0140-6736(19)31053-0.

[7] Barber PA, Demchuk AM, Zhang JJ, et al. Validity and reliability of a quantitative computed tomography score in predicting outcome of hyperacute stroke before thrombolytic therapy[J]. Lancet, 2000, 355(9216): 1670-1674. DOI: DOI: 10.1016/s0140-6736(00)02237-6.

[8] Reidler P, Thierfelder KM, Rotkopf LT, et al. Attenuation changes in ASPECTS regions: A surrogate for CT perfusion-basedI ischemic core in acute ischemic stroke[J]. Radiology, 2019, 291(2): 451-458. DOI: 10.1148/radiol.2019182041.

[9] Zhou Y, Zhang RT, Yan SQ, et al. Identifcation of corticospinal tract lesion for predicting outcome in small perfusion stroke[J]. Stroke, 2018, 49(11): 2683-2691. DOI: 10.1161/STROKEAHA.118.021426.

(收稿日期:2020 - 01 - 02)

论著·临床

冠心病患者 PCSK9 基因 V312F 位点多态性与斑块性质、脂代谢及细胞因子的相关性

刘春燕，刘小燕，李平，陈国才，耿召华

基金项目：重庆市医学科研计划项目（2011-1-138）

作者单位：400037　重庆，陆军军医大学附属新桥医院心内科（刘春燕、刘小燕、李平、陈国才）；400025　重庆康华众联心血管病医院心内科（耿召华）

通信作者：耿召华，E-mail：1050179540@qq.com

【摘　要】 **目的**　分析冠心病患者人枯草溶菌素转化酶 9（PCSK9）基因 V312F 位点多态性与斑块性质、脂代谢及细胞因子的相关性。**方法**　选择 2014 年 1 月—2018 年 6 月陆军军医大学附属新桥医院心内科诊断冠心病患者 120 例作为冠心病组，另取同期于医院体检的健康者 100 例作为健康对照组，检测 PCSK9 基因 V312F 位点的多态性及血清脂代谢指标、细胞因子的含量，判断冠状动脉粥样斑块的性质。**结果**　冠心病组患者 PCSK9 基因 V312F 位点 TT + TG 基因型的比例、T 等位基因的比例明显高于健康对照组，GG 基因型的比例、G 等位基因的比例明显低于健康对照组（χ^2/P = 27.828/0.000、33.131/0.000）；不同斑块性质患者 PCSK9 基因 V312F 位点 TT + TG 基因型、GG 基因型的比例及 T 等位基因、G 等位基因的比例差异有统计学意义（χ^2/P = 6.379/0.041、11.707/0.003）；冠心病组中TT + TG 基因型患者的血清 LDL-C、sdLDL-C、chemerin、M-CSF、IL-6、TNF-α、SDF-1α 含量明显高于 GG 基因型患者（t/P = 5.624/0.000、9.880/0.000、7.933/0.000、5.659/0.000、13.723/0.000、12.612/0.000、14.354/0.000），HDL-C、vaspin 含量明显低于 GG 基因型患者（t/P = 11.208/0.000、17.264/0.000）。**结论**　冠心病患者 PCSK9 基因 V312F 位点等位基因 G 向 T 的突变能够降低斑块稳定性、影响脂代谢及细胞因子分泌。

【关键词】　冠心病；基因多态性；斑块性质；脂代谢；细胞因子

【DOI】　10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.002

The relationship between the polymorphism of PCSK9 gene V312F and plaque properties, lipid metabolism and cytokines in patients with coronary heart disease

*Liu Chunyan**, *Liu Xiaoyan*, *Li Ping*, *Chen Guocai*, *Geng Zhaohua*.

**Department of Cardiology*, *Xinqiao Hospital*, *Military Medical University*, *Chongqing* 400037, *China*

Corresponding author: *Geng Zhaohua*, *E-mail*: 1050179540@*qq.com*

Funding program: *Chongqing Health and Medicine Research Project* (2011-1-138)

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the relationship between V312F polymorphism of PCSK9 gene and plaque properties, lipid metabolism and cytokines in patients with CHD. **Methods**　From January 2014 to June 2018, 120 patients with CHD diagnosed by the Department of Cardiology of Xinqiao Hospital Affiliated to the Army Medical University were selected as the CHD group, and 100 healthy people who had physical examination in the hospital at the same time were selected as the healthy control group. The polymorphism of PCSK9 gene V312F site, serum lipid metabolism index and cytokine content were detected to determine the nature of coronary atherosclerotic plaque. **Results**　The proportion of PCSK9 gene V312F locus of TT + TG genotype and T allele in CHD group were higher than those of healthy control group, and the proportion of GG genotype and G allele were lower than those of healthy control group (χ^2/P = 27.828/0.000, 33.131/0.000). There were significant differences in the proportions of TT + TG genotypes and T alleles and G alleles of PCSK9 gene V312F loci in patients with different plaque properties (χ^2/P = 6.379/0.041, 11.707/0.003). The levels of serum LDL-C, sdLDL-C, chemerin, MCSF, IL-6, TNF-α, and SDF-1α in patients with TT + TG genotype in the CHD group were higher than those in patients with GG genotype (t = 5.624, 9.880, 7.933, 5.659, 13.723, 12.612, 14.354, P = 0.000), HDL-C and vaspin content were significantly lower than those of GG genotype (t/P = 11.208/0.000, 17.264/0.000). **Conclusion**　The G-to-T mutation at V312F locus of PCSK9 gene in patients with CHD can reduce plaque stability, affect lipid metabolism and cytokine secretion.

【**Key words**】　Coronary heart disease; Gene polymorphism; Plaque character; Lipid metabolism; Cytokines

冠心病是临床上最常见的心血管疾病之一，近年来随着高脂血症、高血压、糖尿病、肥胖症等代谢性疾病的增多，冠心病的发生率也呈逐年升高的趋势，并对患者的生活质量、生命安全均造成威胁[1]。在冠心病的病情发展变化过程中，冠状动脉斑块的形成及性质的改变与脂代谢紊乱、炎性反应异常激活等环节密切相关，但具体的调控机制仍未十分明确。人枯草溶菌素转化酶 9（proprotein convertase subtilisin/kexin type 9，PCSK9）是由肝细胞表达并分泌的一类前蛋白转化酶，能够降解低密度脂蛋白胆固醇受体（LDLR），影响 LDLR 所介导的 LDL-C 代谢并使 LDL-C 在体内蓄积，蓄积的 LDL-C 在冠状动脉内膜沉积、逐步形成粥样斑块[2-3]。PCSK9 基因在多位点存在多态性，多态性的产生会使编码产物降解 LDLR 的活性发生改变，进而影响 LDL-C 的代谢并参与动脉粥样硬化的进程。笔者分析了冠心病患者 PCSK9 基因 V312F 位点多态性与斑块性质、脂代谢及细胞因子的相关性，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2014 年 1 月—2018 年 6 月陆军军医大学附属新桥医院心内科诊断冠心病患者 120 例作为冠心病组，男 69 例，女 51 例，年龄 42 ~ 62（51.39 ± 7.65）岁；合并高血压 46 例，糖尿病 37 例，高脂血症 61 例；有冠心病家族史 23 例。另纳入同期于医院体检的健康者 100 例作为健康对照组，男 58 例，女 41 例，年龄 39 ~ 60（49.93 ± 7.12）岁。2 组性别、年龄比较差异无统计学意义（$P > 0.05$），具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准，受试者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　（1）入组标准：①均有发作性胸痛症状、经冠状动脉 CTA 确诊为冠心病；②首次诊断为冠心病。（2）排除标准：①合并先天性心脏病、冠状动脉血管畸形；②既往有脑梗死、心肌梗死病史的患者；③合并自身免疫性疾病的患者；④正在服用他汀类药物的患者。

1.3　检测指标与方法

1.3.1　基因多态性检测：2 组受试者均于晨起空腹时采集肘静脉血 2 ml 并以 EDTA 抗凝，按照北京天根公司的血液基因组 DNA 提取试剂盒进行操作，设计 PCSK9 基因 V312F 位点的引物（上游 5'-AAAGGGGAGCAGGTCTCCC-3'、下游 5'-GCCCGCCCTCCCTCCGCCCTCCG-3'），配置 PCR 反应体系 50 μl 后，按照 95℃ 30 s，59℃ 30 s，72℃ 30 s 的程序反应 35 个循环，收集 PCR 产物后用 ABI（型号：3100Avant）全自动 DNA 测序仪测定基因序列，根据测序结果判断 V312F 位点的多态性。

1.3.2　冠状动脉斑块测定：采用 64 排双源 CT 仪进行冠脉 CTA 检查，扫描范围为主动脉弓肺动脉节段起始至膈肌下 1 cm 为止；将感兴趣区设置在升主动脉，当 CT 值达到 100 HU 时触发扫描，扫描参数为电压 120 kV、电流 280 mA、层厚 0.75 mm、机架旋转时间 0.28 s、球管旋转时间 0.33 s/r。将图像信息录入影像工作站后测定粥样斑块的 CT 值（CT 值 < 60 HU 为软斑块，60 ~ 129 HU 为纤维斑块，≥ 130 HU 为钙化斑块）。

1.3.3　血脂检测：2 组患者均取空腹静脉血，离心取血清，采用全自动生化分析仪检测低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、小而密低密度脂蛋白胆固醇（sdLDL-C）的含量。

1.3.4　细胞因子检测：2 组患者均取空腹静脉血，离心取血清，采用酶联免疫吸附法测定趋化素（chemerin）、脂肪特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂（vaspin）、巨噬细胞集落刺激因子（M-CSF）、白介素-6（IL-6）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、基质细胞衍生因子 1α（SDF-1α）的含量。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用两独立样本 t 检验；计数资料以频数或率（%）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　2 组 PCSK9 基因 V312F 位点多态性比较　冠心病组患者 PCSK9 基因 V312F 位点 TT + TG 基因型的比例明显高于健康对照组，GG 基因型的比例明显低于健康对照组（$P < 0.01$）；T 等位基因的比例明显高于健康对照组，G 等位基因的比例明显低于健康对照组（$P < 0.01$），见表 1。

2.2　不同斑块性质患者 PCSK9 基因 V312F 位点多态性比较　不同斑块性质患者 PCSK9 基因 V312F 位点 TT + TG 基因型、GG 基因型及 PCSK9 基因 V312F 位点 T 等位基因、G 等位基因比例比较，差异均有统计学意义（$P < 0.05$），见表 2。

2.3　不同 PCSK9 基因 V312F 位点多态性患者血脂比较　冠心病组中 TT + TG 基因型患者的血清 LDL-C、sdLDL-C、chemerin 含量明显高于 GG 基因型患者，HDL-C、vaspin 含量明显低于 GG 基因型患者，差异均有统计学意义（$P < 0.01$），见表 3。

2.4　不同 PCSK9 基因 V312F 位点多态性患者细胞因子比较　冠心病组中 TT + TG 基因型患者血清

M-CSF、IL-6、TNF-α、SDF-1α 含量均高于 GG 基因型患者，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 4。

3　讨　论

LDL-C 是冠状动脉粥样斑块的重要成分，体内脂代谢紊乱及炎性反应过度激活均会促进 LDL-C 在动脉内膜沉积并形成粥样斑块。PCSK9 是体内调节 LDL-C 代谢过程的蛋白酶，该蛋白酶通过水解 LDLR 来阻碍 LDL-C 代谢，造成 LDL-C 蓄积，冠心病患者的血清 PCSK9 含量明显升高，但引起 PCSK9 含量升高的机制尚未完全明确。基因多态性是近年来受到越来越多关注的分子表达调控机制，PCSK9 基因被证实在 V312F、D320N、E670G 等多个位点存在多态性，多态性位点等位基因的突变会造成基因表达发生改变及 PCSK9 分泌的变化[4-6]。V312F 位点的突变类型为等位基因 G 向 T 的突变，突变后形成杂合基因型 TG 及纯合基因型 TT。为了明确 PCSK9 基因 V312F 位点多态性与冠心病发病的关系，本研究首先分析了冠心病患者 PCSK9 基因 V312F 位点的基因型及等位基因，结果显示，冠心病组患者 PCSK9 基因 V312F 位点 TT + TG 基因型的比例、T 等位基因的比例明显高于健康对照组，GG 基因型的比例、G 等位基因的比例明显低于健康对照组，提示冠心病患者存在 PCSK9 基因 V312F 位点 G 向 T 的突变，该多态性与冠心病的发生密切相关。

在动脉粥样斑块形成的过程中，LDL-C 在动脉内膜沉积，随着炎性反应的激活，巨噬细胞在动脉内膜大量浸润、吞噬 LDL-C 并形成泡沫细胞。LDL-C 及泡沫细胞不断聚集、逐步成为粥样斑块[7-8]。冠心病患者体内冠状动脉粥样斑块的性质呈动态变化，在斑块形成的初期阶段、斑块性质稳定，患者的病情也相对稳定；随着斑块体积增大、斑块内 LDL-C 增多及斑块纤维帽在蛋白酶的作用下发生水解，斑块的稳定性逐步下降，若发生斑块破裂则会诱发血栓形成、出现心肌梗死。PCSK9 直接影响 LDL-C 的代谢，在明确 PCSK9 基因 V312F 位点多态性与冠心病发病的关系后，本研究进一步分析了 PCSK9 基因 V312F 位点多态性与冠心病患者斑块性质的关系，结果发现，不同斑块性质患者 PCSK9 基因 V312F 位点 TT + TG 基因型、GG 基因型的比例及 T 等位基因、G 等位基因的比例有显著差异，斑块性质越不稳定，TT + TG基因型的比例及T等位

表 1　2 组 PCSK9 基因 V312F 位点多态性的比较

组　别	例数	V312F 位点基因型[例(%)]		χ^2/P 值	V312F 位点等位基因[个(%)]		χ^2/P 值
		TT + TG	GG		T	G	
健康对照组	100	38(38.00)	62(62.00)	27.828/0.000	48(24.00)	152(76.00)	33.131/0.000
冠心病组	120	88(73.33)	32(26.67)		122(50.83)	118(49.17)	

表 2　冠心病组中不同斑块性质患者 PCSK9 基因 V312F 位点多态性的比较

斑块性质	例数	V312F 位点基因型[例(%)]		χ^2/P 值	V312F 位点等位基因[个(%)]		χ^2/P 值
		TT + TG	GG		T	G	
钙化斑块	38	19(50.00)	19(50.00)	6.379/0.041	36(47.37)	40(52.63)	11.707/0.003
纤维斑块	50	34(68.00)	16(32.00)		42(42.00)	58(58.00)	
软斑块	32	25(78.13)	7(21.87)		44(68.75)	20(31.25)	

表 3　冠心病组中不同 PCSK9 基因 V312F 位点多态性患者血脂指标的比较　($\bar{x} \pm s$)

基因型	例数	LDL-C(mmol/L)	sdLDL-C(%)	HDL-C(mmol/L)	chemerin(ng/ml)	vaspin(ng/ml)
TT + TG	88	4.63 ± 0.74	6.51 ± 0.89	0.83 ± 0.12	57.52 ± 7.75	3.52 ± 0.62
GG	32	3.83 ± 0.52	4.77 ± 0.74	1.15 ± 0.18	45.34 ± 6.48	5.96 ± 0.84
t 值		5.624	9.880	11.208	7.933	17.264
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4　冠心病组中不同 PCSK9 基因 V312F 位点多态性患者血清细胞因子的比较　($\bar{x} \pm$)

基因型	例数	M-CSF(ng/ml)	IL-6(pg/ml)	TNF-α(pg/ml)	SDF-1α(ng/ml)
TT + TG	88	325.51 ± 52.93	21.34 ± 2.58	18.49 ± 2.45	1.32 ± 0.22
GG	32	267.47 ± 39.17	14.35 ± 2.12	12.52 ± 1.78	0.74 ± 0.10
t 值		5.659	13.723	12.612	14.354
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

基因的比例越高。这一结果提示冠心病患者体内 PCSK9 基因 V312F 位点 G 向 T 的突变会影响斑块性质、使斑块的稳定性下降。

PCSK9 在体内主要参与 LDL-C 的代谢,LDL-C 代谢紊乱会进一步影响其他脂质成分的代谢。LDL-C 升高被认为是心脑血管疾病的独立危险因素,而 HDL-C 则被认为是心脑血管疾病的保护因素,其功能是促进胆固醇由外周组织向肝脏转运并通过肝脏代谢胆固醇[9-10]。脂代谢紊乱除了表现为 LDL-C 和 HDL-C 的变化外,多种脂肪因子的分泌也发生变化。vaspin 和 chemerin 是 2 种功能不同的脂肪细胞因子,前者能够增加胰岛素敏感性,具有心血管保护作用,后者能够拮抗胰岛素的生物学活性、具有促炎作用[11-12]。冠心病患者血清中 LDL-C 及 chemerin 的含量明显升高,而 HDL-C 及 vaspin 的含量明显下降。本研究进一步分析了不同 PCSK9 基因 V312F 位点多态性冠心病患者脂代谢指标的变化,结果发现,TT + TG 基因型患者的血清 LDL-C、sdLDL-C、chemerin 含量明显高于 GG 基因型患者,HDL-C、vaspin 含量明显低于 GG 基因型患者。这一结果提示冠心病患者体内 PCSK9 基因 V312F 位点 G 向 T 的突变会影响脂代谢过程。

动脉粥样斑块的形成涉及脂代谢紊乱及炎性反应的过度激活,炎性反应激活过程中巨噬细胞在动脉内膜大量浸润,吞噬 LDL-C 后成为泡沫细胞并形成粥样斑块。炎性细胞因子的瀑布式分泌是炎性反应激活的重要特征,M-CSF、IL-6、TNF-α、SDF-1α 是已知的炎性细胞因子,在冠心病患者血清中的含量明显升高[13]。M-CSF 和 TNF-α 具有促炎作用,能够使多种炎性细胞发生活化[14];IL-6、SDF-1 具有趋化活性,能够促进多种炎性细胞的迁移并向粥样斑块浸润[15-16]。本研究通过分析不同 PCSK9 基因 V312F 位点多态性冠心病患者细胞因子的变化发现,TT + TG 基因型患者的血清 M-CSF、IL-6、TNF-α、SDF-1α 含量明显高于 GG 基因型患者。这一结果提示冠心病患者体内 PCSK9 基因 V312F 位点 G 向 T 的突变会促进炎性细胞因子的分泌,增强患者体内的炎性反应。

综上所述,冠心病患者 PCSK9 基因 V312F 位点存在明显多态性,具体表现为等位基因 G 向 T 的突变;该多态性能够降低斑块稳定性,影响冠心病患者体内的脂代谢及细胞因子分泌。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘春燕:负责研究设计、开展和论文撰写;刘小燕、李平:负责临床信息收集;陈国才:负责数据统计分析;耿召华:论文撰写、修改

参考文献

[1] Kapadia S. Trends in cardiovascular risk profiles[J]. Cleve Clin J Med, 2017, 84(12 Suppl 4): 6-9. DOI: 10.3949/ccjm.84.s4.02.

[2] Nozue T. Lipid lowering therapy and circulating PCSK9 concentration[J]. J Atheroscler Thromb, 2017, 24(9): 895-907. DOI: 10.5551/jat.RV17012.

[3] Boyer M, Lévesque V, Poirier P, et al. Impact of a 1-year lifestyle modification program on plasma lipoprotein and PCSK9 concentrations in patients with coronary artery disease[J]. J Clin Lipidol, 2016, 10(6):1353-1361. DOI: 10.1016/j.jacl.2016.08.014.

[4] 周剑丽, 于祥远, 江婷, 等. PCSK9 基因 E670 G 位点多态性与中国人群冠心病发病和血脂水平相关性的系统评价[J]. 山东医药, 2018, 57(7): 57-59. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.07.016.

[5] 张明明, 赵培, 于悦卿, 等. 冠心病患者 PCSK9 基因 D320N 位点多态性及其临床意义[J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(3): 291-296. DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.03.0291.

[6] 张明明, 刘欣, 高伟, 等. 冠心病患者外周血人枯草溶菌素转化酶 9 基因 V312F 位点的多态性及其临床意义[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2017, 38(4): 549-553. DOI: 10.7652/jdyxb201704016.

[7] Roustaei M, Nikmaneshi MR, Firoozabadi B. Simulation of low density lipoprotein (LDL) permeation into multilayer coronary arterial wall: Interactive effects of wall shear stress and fluid-structure interaction in hypertension[J]. J Biomech, 2018, 23(67): 114-122. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2017.11.029.

[8] Patel KM, Strong A, Tohyama J, et al. Macrophage sortilin promotes LDL uptake, foam cell formation, and atherosclerosis[J]. Circ Res, 2015, 116(5):789-796. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.116.305811.

[9] Yang Q, Wang JH, Huang DD, et al. Clinical significance of analysis of the level of blood fat, CRP and hemorheological indicators in the diagnosis of elder coronary heart disease[J]. Saudi J Biol Sci, 2018, 25(8):1812-1816. DOI:10.1016/j.sjbs.2018.09.002.

[10] Lee EY, Yang Y, Kim HS, et al. Effect of visit-to-visit LDL-, HDL-, and non-HDL-cholesterol variability on mortality and cardiovascular outcomes after percutaneous coronary intervention[J]. Atherosclerosis, 2018, 279:1-9. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2018.10.012.

[11] Yang F, Xue L, Han Z, et al. Vaspin alleviates myocardial ischaemia/reperfusion injury via activating autophagic flux and restoring lysosomal function[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(2):501-507. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.05.004.

[12] Motawi TMK, Mahdy SG, El-Sawalhi MM, et al. Serum levels of chemerin, apelin, vaspin, and omentin-1 in obese type 2 diabetic Egyptian patients with coronary artery stenosis[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2018, 96(1):38-44. DOI:10.1139/cjpp-2017-0272.

[13] Osadnik T, Bujak K, Osadnik K, et al. Novel inflammatory biomarkers may reflect subclinical inflammation in young healthy adults with obesity[J]. Endokrynol Pol, 2019, 70(2):135-142. DOI: 10.5603/EP.a2019.0002.

(下转 20 页)

论著 · 临床

慢性心力衰竭患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 的表达及临床意义

徐娟娟, 沈正军, 倪斌, 徐成胜

基金项目: 湖北省卫计委 2017—2018 年度科研立项项目(WJ2017MB356)
作者单位: 438000　湖北省黄冈市中心医院心血管内科
通信作者: 沈正军, E-mail: 2362030421@qq.com

【摘　要】 **目的**　分析慢性心力衰竭(CHF)患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)、可溶性重组蛋白质类信号 4D(sSema4D)的表达及临床意义。**方法**　选取 2018 年 4 月—2019 年 4 月黄冈市中心医院收治的 CHF 患者 112 例作为研究组, 另选取体检健康者 60 例作为健康对照组。比较 2 组研究对象及不同 NYHA 分级 CHF 患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平及超声心动图指标水平, 分析 CHF 患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平与超声心动图指标的相关性。**结果**　研究组血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平高于健康对照组(t = 43.670、21.005, P 均 = 0.000), 左心房内径(LAD)、右心室内径(RVD)、左心舒张末期内径(LVEDD)大于健康对照组(t = 16.903、11.183、13.885, P 均 = 0.000); 左心室射血分数(LVEF)及左心室短轴缩短率(LVFS)低于健康对照组(t = 27.147、30.592, P 均 = 0.000)。随着 NYHA 分级的升高, CHF 患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平及 LAD、RVD、LVEDD 明显增加(F = 49.842、38.674、35.821、26.382、41.377, P 均 = 0.000), 而 LVEF、LVFS 明显下降(F = 61.760、52.374, P 均 = 0.000)。Pearson 相关分析显示, CHF 患者血清 Lp-PLA2、s Sema4D水平与 LAD、RVD、LVEDD 均呈正相关(Lp-PLA2: r = 0.562、0.514、0.613, P 均 = 0.000; sSema4D: r = 0.642、0.576、0.625, P 均 = 0.000), 而与 LVEF、LVFS 呈负相关(Lp-PLA2: r = −0.511、−0.472, P 均 = 0.000; sSema4D: r = −0.507、−0.458, P 均 = 0.000)。**结论**　随着 CHF 患者心功能的恶化血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平升高, 并与超声心动图指标存在一定的相关性, 提示 Lp-PLA2 和 sSema4D 可能通过影响心室重构参与到 CHF 的发生、发展。

【关键词】 心力衰竭, 慢性; 脂蛋白相关磷脂酶 A2; 可溶性重组蛋白质类信号 4D; 相关性
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.003

The expression and clinical significance of serum Lp-PLA 2 and sSema4D in patients with chronic heart failure

Xu Juanjuan, Shen Zhengjun, Ni Bin, Xu Chengsheng. Department of Cardiovascular Medicine, Huanggang Central Hospital, Hubei Province, Huanggang 438000, *China*
Corresponding author: Shen Zhengjun, E-mail: 2362030421@*qq.com*
Fund Program: 2017-2018 *Scientific Research Project of Hubei Health and Family Planning Commission* (*WJ*2017*MB*356)

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the expression and clinical significance of serum lipoprotein associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) and soluble recombinant protein signal 4D (sSema4D) in patients with chronic heart failure (CHF). **Methods**　One hundred and twelve CHF patients admitted to Huanggang Central Hospital from April 2018 to April 2019 were selected as the study group. Another 60 healthy people were selected as the control group. The level of Lp-PLA2 and sSema4D in serum and the level of echocardiographic indexes in CHF patients with different NYHA grades were compared. **Results**　The levels of serum Lp-PLA2 and sSema4D in the study group were higher than those in the healthy control group (t = 43.670, 21.005, P = 0.000). The left atrial diameter (LAD), right ventricle diameter (RVD), and left end diastolic diameter (LVEDD) were greater than Healthy control group (t = 16.903, 11.183, 13.885, P = 0.000). The left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular short-axis shortening rate (LVFS) were lower than those in the healthy control group (t = 27.147, 30.592, P = 0.000). With the increase of NYHA classification, serum levels of Lp-PLA2, sSema4D, and LAD, RVD, and LVEDD in CHF patients increased significantly (F = 49.842, 38.674, 35.821, 26.382, 41.377, P = 0.000), while LVEF and LVFS decreased significantly (F = 61.760, 52.374, P = 0.000). Pearson correlation analysis showed that serum levels of Lp-PLA2 and sSema4D in patients with CHF were positively correlated with LAD, RVD, and LVEDD

(Lp-PLA2: $r=0.562$, 0.514, 0.613, $P=0.000$; sSema4D: $r=0.642$, 0.576, 0.625, $P=0.000$), but negatively correlated with LVEF and LVFS (Lp-PLA2: $r=-0.511$, -0.472, $P=0.000$; sSema4D: $r=-0.507$, -0.458, $P=0.000$). **Conclusion** With the deterioration of heart function in patients with CHF, the level of serum Lp-PLA2 and sSema4D increased, and there was a certain correlation with echocardiographic indexes, suggesting that Lp-PLA2 and sSema4D may participate in the occurrence and development of CHF by affecting ventricular remodeling.

【Key words】 Heart failure, chronic; Lipoprotein associated phospholipase A2; Soluble semaphorin 4D; Relationship

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是心肌病、冠心病、心瓣膜病等心血管疾病的严重和终末阶段,由于 CHF 患者心肌受损,造成心肌结构和功能的变化,最后导致心室泵血或充盈功能低下[1]。随着社会的发展和人们生活方式的改变,近年来 CHF 的发病率呈现出升高和年轻化趋势[2]。心室重构是 CHF 发生、发展主要的病理基础,近年来研究证实,心肌内炎性反应对于心室重构和慢性心力衰竭进程有促进作用[3]。脂蛋白相关磷脂酶 A2(lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2)可通过激活炎性细胞因子参与到机体炎性反应过程中,是心血管特异性炎性标志物,也可作为心血管事件的独立预测因子[4]。重组蛋白质类信号 4D(semaphorin 4D, Sema4D)在血小板和 T 细胞表面高表达,患者机体炎性细胞、血小板等大量活化,Sema4D 从细胞表面脱落入血为可溶性 Sema4D(sSema4D)[5]。sSema4D 可参与到细胞迁移、血栓形成、新血管生成、组织胶原纤维化形成等过程中,其水平可在一定程度上反映 CHF 患者的病情[6]。现观察 CHF 患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平变化,并分析其与心室重构的关系,以期为临床 CHF 的诊断和治疗提供参考,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 4 月—2019 年 4 月黄冈市中心医院治疗的 CHF 患者 112 例作为研究组,男 61 例,女 51 例,年龄 46 ~ 78(62.72 ± 5.84)岁;病程 0.7 ~ 9.0(4.89 ± 1.64)年;原发病:冠心病 45 例,心房颤动 34 例,扩张型心肌病 33 例;诱因:心肌缺血 24 例,心律失常 21 例,劳累及情绪激动 31 例,呼吸道感染 26 例,电解质紊乱 10 例;NYHA 分级:Ⅱ级 31 例,Ⅲ级 52 例,Ⅳ级 29 例。另选取同期在医院进行健康检查的健康者 60 例作为健康对照组,男 33 例,女 27 例,年龄 45 ~ 75(62.43 ± 5.72)岁。2 组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准通过,全部研究对象及家属均知情同意并签署同意书。

1.2　病例选择标准　(1)纳入标准:①患者均符合"中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014"中关于 CHF 的诊断标准[7];②NYHA 心功能分级Ⅱ ~ Ⅳ级[8];③年龄≥45 岁。(2)排除标准:①合并恶性肿瘤者;②合并急性感染或自身免疫性疾病者;③有心脏病家族史;④缩窄性心肌炎、心包炎;⑤肥厚或限制性心肌病;⑥重度瓣膜狭窄或关闭不全;⑦严重肝、肾功能不全或需要机械通气者。

1.3　检测指标与方法

1.3.1　血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平检测:研究组于确诊后次日(治疗前)、健康对照组于体检当日,清晨空腹抽取 2 组人员肘静脉血 5 ml,离心取上清液置于 EP 管,放置于 −80℃冰箱中保存待测。采用酶联免疫吸附法检测血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平,操作严格按照试剂盒(上海鑫乐生物科技有限公司)说明书进行。设立 8 个标准孔,按要求加入标本稀释液与标准品混匀,建立标准曲线。待测样品用样品稀释液稀释 5 倍,然后加样于酶标板孔底部,晃动混匀,封板膜封板后 37℃条件下温育 30 min。充分洗涤后加入酶标试剂后相同条件下再次温育。再次洗涤后加显色剂混匀后避光显色 15 min。加终止液后依序测定各孔吸光度(OD)值,根据标准曲线和 OD 值计算样品中的血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平。

1.3.2　超声心动图检测:2 组均于血液采集当日行超声心动图检查。采用 Philips IE33 型彩色多普勒超声诊断仪(购自北京东方迈润医疗器械有限公司),探头频率 4 ~ 5 Hz,取横位四腔心切面,M 型彩色多普勒于左心室腱索水平为标准测量区,分别检测左心房内径(left atrial diameter, LAD)、右心室内径(right ventricular diameter, RVD)、左心舒张末期内径(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 fractional shortening, LVFS)。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验;血清 Lp-PLA2、sSema4D 与超声心动图指标的相关性分析采用 Pearson 相关分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平比较　研究组血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平高于健康对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 1。

表 1　2 组血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	例数	Lp-PLA2（mg/L）	sSema4D（pg/ml）
健康对照组	60	38.62 ± 14.21	465.47 ± 102.65
研究组	112	206.32 ± 27.84	901.67 ± 142.14
t 值		43.670	21.005
P 值		0.000	0.000

2.2　2 组超声心动图指标比较　研究组 LAD、RVD、LVEDD 大于健康对照组，而 LVEF、LVFS 小于健康对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 2。

2.3　不同 NYHA 心功能分级患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平比较　随着 NYHA 分级的升高，研究组患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平明显上升，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 3。

2.4　不同 NYHA 心功能分级 CHF 患者超声心动图指标比较　随着 NYHA 分级的升高，研究组患者 LAD、RVD、LVEDD 明显增大，而 LVEF、LVFS 明显下降，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 4。

2.5　血清 Lp-PLA2、sSema4D 与超声心动图指标的相关性　Pearson 相关分析显示，研究组患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平与 LAD、RVD、LVEDD 均呈正相关（$P<0.01$），而与 LVEF、LVFS 呈负相关（$P<0.01$），见表 5。

表 3　不同 NYHA 心功能分级患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	例数	Lp-PLA2（mg/L）	sSema4D（pg/ml）
NYHA Ⅱ级	31	146.72 ± 20.72	749.81 ± 70.48
NYHA Ⅲ级	52	203.67 ± 22.56	931.41 ± 76.34
NYHA Ⅳ级	29	274.78 ± 24.17	1 010.68 ± 81.52
F 值		49.842	38.674
P 值		0.000	0.000

3　讨　论

心室重构是 CHF 发生的重要病理生理机制，其主要表现包括心肌纤维化和心肌细胞代偿性肥大[9]。心室重构的主要表现为呼吸困难、水肿等，临床对其诊断主要依靠超声心动图，但诊断结果缺乏特异性。研究表明[10]，炎性反应贯穿于心室重构的过程中，心肌内炎性反应可通过促凋亡基因蛋白 Bax 激活凋亡相关通路，进一步促进 CHF 患者的心室重构进程。Lp-PLA2 是一种血小板活化因子乙酰水解酶，由成熟的巨噬细胞和淋巴细胞合成[11]。作为一种新发现的心血管特异性炎性反应标志物，近年来有较多关于 Lp-PLA2 的研究。Yang 等[12] 观察531例冠心病患者发

表 2　2 组超声心动图指标比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	例数	LAD（mm）	RVD（mm）	LVEDD（mm）	LVEF（%）	LVFS（%）
健康对照组	60	28.24 ± 3.86	15.76 ± 2.35	45.26 ± 2.74	64.29 ± 4.86	31.32 ± 2.52
研究组	112	42.17 ± 5.72	20.31 ± 2.64	57.50 ± 6.52	38.58 ± 6.42	19.74 ± 2.28
t 值		16.903	11.183	13.885	27.147	30.592
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4　不同 NYHA 心功能分级患者超声心动图指标比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	例数	LAD（mm）	RVD（mm）	LVEDD（mm）	LVEF（%）	LVFS（%）
NYHA Ⅱ级	31	36.83 ± 4.35	18.31 ± 2.04	52.34 ± 4.88	48.15 ± 5.38	23.31 ± 1.84
NYHA Ⅲ级	52	42.74 ± 4.62	20.53 ± 2.15	58.62 ± 5.14	37.42 ± 5.20	19.72 ± 1.75
NYHA Ⅳ级	29	46.86 ± 4.87	22.05 ± 2.24	61.01 ± 4.57	30.43 ± 5.44	15.96 ± 1.96
F 值		35.821	26.382	41.377	61.760	52.374
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 5　研究组患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 与超声心动图指标的相关性

指　标	LAD		RVD		LVEDD		LVEF		LVFS	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
Lp-PLA2	0.562	0.000	0.514	0.000	0.613	0.000	−0.511	0.000	−0.472	0.000
sSema4D	0.642	0.000	0.576	0.000	0.625	0.000	−0.507	0.000	−0.458	0.000

现,血浆 Lp-PLA2 浓度与冠心病的发生密切相关。李智慧等[13]发现 LP-PLA2 与心力衰竭发生密切相关,且其水平随着患者病情加重逐渐升高。Sema4D 是一种Ⅰ型跨膜蛋白分子,Xiang 等[14]研究发现 sSema4D 与房颤患者 LAD 相关,并认为其可能参与左心房重构。

本研究中,与健康对照组比较,CHF 患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平明显较高,提示 Lp-PLA2、sSema4D 在 CHF 发生、发展中起到重要作用。Lp-PLA2 主要通过炎性反应参与到 CHF 的病情进展中,Lp-PLA2 在人体中主要以与脂蛋白颗粒结合的形式存在,一方面,Lp-PLA2 可使氧化型低密度脂蛋白分解为氧化脂肪酸和溶血卵磷蛋白,进一步刺激细胞因子和黏附因子释放,促使单核细胞在血管内膜下集聚并向巨噬细胞转变,而这些巨噬细胞吞噬氧化型低密度脂蛋白后可转变为泡沫细胞,参与到动脉粥样硬化斑块形成的过程中[15];另一方面,在动脉粥样硬化斑块部位的 Lp-PLA2 通过水解氧化型低密度脂蛋白产生的氧化脂肪酸和溶血卵磷蛋白还将损伤血管内皮细胞,并促使内皮细胞合成和分泌血小板源性生长因子、细胞黏附因子、表皮生长因子等,从而加剧患者机体的炎性反应,进一步推动 CHF 病情进展,造成患者心功能恶化[16]。CHF 患者机体炎性反应加剧的同时,血小板、炎性因子等大量活化,促使 Sema4D 从细胞表面脱落入血,从而导致血清 Sema4D 水平升高。匡龙等[17]的研究认为,sSema4D 与血栓形成及动脉粥样硬化性疾病密切相关,是不良心血管事件发生的危险因素,提示 sSema4D 水平的升高可能与 CHF 的发生发展有关。

本研究还发现患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平随着 NYHA 分级的升高而上升,提示 Lp-PLA2、sSema4D 的表达水平可以反映 CHF 患者的心功能变化情况。而超声心动图检查结果也发现,随着 NYHA 分级的升高,CHF 患者 LAD、RVD、LVEDD 明显增大,而 LVEF、LVFS 明显下降,说明随着 CHF 病情进展,患者的心室重构越明显。贾二娟[18]对 116 例冠心病患者进行研究发现,随着心功能恶化,患者 Lp-PLA2 水平明显升高。唐俊燕等[19]选取 86 例扩张型心肌病患者进行研究,发现 sSema4D 与基质金属蛋白酶-14(MMP-14)的表达呈正相关,认为血清 sSema4D 可能通过 MMP-14 参与到心室重构的过程中,其结果与本研究相符。Pearson 相关分析结果也进一步证实,CHF 患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 表达水平与心室重构存在相关性。临床研究表明[20-21],部分心血管疾病患者治疗后心功能可以得到一定的恢复,同时患者血清 Lp-PLA2、sSema4D 表达水平也有一定的降低,提示 Lp-PLA2、sSema4D 或可成为 CHF 治疗的新靶点,但关于 sSema4D 对心室重构的影响机制仍然有待进一步的研究。

综上所述,随着 CHF 患者心功能的恶化血清 Lp-PLA2、sSema4D 水平升高,并与 LAD、RVD、LVEDD、LVEF、LVFS 有较强的相关性,其可能通过影响心室重构参与到 CHF 的发生、发展中。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

徐娟娟:提出研究思路,实施研究过程,论文撰写;沈正军:设计研究方案,分析试验数据,论文审核;倪斌:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;徐成胜:进行统计学分析

参考文献

[1] 应少香, 黄大岗, 罗传毅, 等. 贝前列素钠治疗慢性心力衰竭合并肺动脉高压的疗效及安全性[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(1): 27-30. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.01.007.

[2] 许中恒, 杨盼, 彭亚, 等. 慢性心力衰竭患者疲乏现状调查及其影响因素分析[J]. 西部医学, 2017, 29(3): 403-406. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2017.03.026.

[3] 何巧, 黄勇. 左心力衰竭患者血清 MR-ProANP、NT-ProBNP 含量与泵血功能、心室重构的相关性研究[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(2): 201-204, 208. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20161115.037.

[4] He S, Chousterman BG, Fenn A, et al. Lp-PLA2 antagonizes left ventricular healing after myocardial infarction by impairing the appearance of reparative macrophages[J]. Circ Heart Fail, 2015, 8(5): 980-987. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002334.

[5] Zhou H, Kann MG, Mallory EK, et al. Recruitment of Tiam1 to semaphorin 4D activates Rac and enhances proliferation, invasion, and metastasis in oral squamous cell carcinoma[J]. Neoplasia, 2017, 19(2): 65-74. DOI: 10.1016/j.neo.2016.12.004.

[6] 孙慧, 田峰, 杨林风, 等. 慢性心力衰竭患者血清 sSema4D、MMP-14 水平变化及其与心室重构的关系[J]. 山东医药, 2019, 59(5): 59-61. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.05.017.

[7] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(2): 98-122. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2014.02.004.

[8] 张长东, 肖书娜, 尚小珂, 等. 肺动脉高压患者压力—容积关系分析与纽约心脏病协会心功能分级的相关性[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2017, 25(9): 512-519. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8812.2017.09.008.

[9] Saitoh M, Dos Santos MR, Emami A, et al. Anorexia, functional capacity, and clinical outcome in patients with chronic heart failure: results from the Studies Investigating Co-morbidities Aggravating Heart Failure (SICA-HF)[J]. ESC Heart Fail, 2017, 4(4): 448-457. DOI: 10.1002/ehf2.12209.

(下转 16 页)

论著 · 临床

血清 BDNF 和 CA125 水平对急性心肌梗死患者病情及预后的评估价值

张海宁, 杨会萍, 任骞, 王宁勃

作者单位: 727000　陕西省铜川, 北京中医药大学孙思邈医院心血管内科
通信作者: 杨会萍, E-mail: yhp8956@163.com

【摘　要】 **目的**　分析血清脑源性神经营养因子(BDNF)和糖类蛋白 125(CA125)水平对急性心肌梗死(AMI)患者病情及预后的评估价值。**方法**　选取 2016 年 12 月—2018 年 6 月北京中医药大学孙思邈医院心血管内科收治的 AMI 患者 136 例作为研究组, 选取同期门诊健康体检正常者 50 例作为健康对照组。采用酶联免疫吸附法检测血清 BDNF 水平, 电化学发光免疫分析法检测 CA125 水平。随访 1 年记录不良心血管事件发生情况, 比较不良心脏事件亚组和无不良心脏事件亚组患者血清 BDNF 和 CA125 水平。采用 Logistic 回归分析急性心肌梗死患者预后影响因素。**结果**　研究组心率及血清 BDNF、CA125、c-TnI、BNP 水平均高于健康对照组(t = 10.196、22.142、12.302、7.301、49.705, P 均 < 0.001)。随访 1 年发生心脏不良事件 38 例(27.94%), 不良心脏事件亚组患者血清 BDNF、CA125 水平均高于无不良心脏事件亚组患者(t = 3.258、4.496, P 均 < 0.001)。BDNF 预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件发生率的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.871, 当 BNDF 截点值为 3.87 ng/ml 时预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件敏感度为 84.1%, 特异度为 82.9%, 约登指数为 0.670。CA125 的 AUC 为 0.746, 当 CA125 截点值为 42.54 U/ml 时预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件的敏感度为 83.2%, 特异度为 81.5%, 约登指数为 0.647。Logistic 回归分析结果显示, 高龄(OR = 1.89, 95% CI 1.02 ~ 3.51)、心率快(OR = 1.77, 95% CI 1.06 ~ 2.95)、高水平 BDNF(OR = 4.76, 95% CI 2.38 ~ 9.56)、高水平 CA125(OR = 3.49, 95% CI 1.71 ~ 7.12)、高水平 cTnI(OR = 3.80, 95% CI 1.654 ~ 8.750)、高水平 BNP(OR = 4.90, 95% CI 2.23 ~ 10.77)为 AMI 后不良心血管事件的危险因素。**结论**　AMI 患者血清 BDNF、CA125 水平明显增高, 且高水平 BDNF、CA125 是 AMI 患者发生不良预后的风险因素, 提示二者可作为评估 AMI 患者病情及预后的预测因子。

【关键词】 脑源性神经营养因子; 糖类蛋白 125; 心肌梗死, 急性; 预测价值
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.004

Evaluation of serum BDNF and CA125 levels in patients with acute myocardial infarction

Zhang Haining, Yang Huiping, Ren Qian, Wang Ningbo. Department of Cardiovascular Medicine, Sun Simiao Hospital, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Province, Tongchuan 727000, China
Corresponding author: Yang Huiping, E-mail: yhp8956@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the value of serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and carbohydrate protein 125 (CA125) levels in the evaluation of the condition and prognosis of patients with acute myocardial infarction (AMI). **Methods**　From December 2016 to June 2018, 136 AMI patients admitted to the cardiovascular department of Sun Simiao Hospital of Beijing University of traditional Chinese Medicine were selected as the study group, and 50 healthy outpatients with normal physical examination were selected as the control group. Serum BDNF and CA125 were detected by ELISA and ECLIA respectively. The incidence of adverse cardiovascular events was recorded and the serum BDNF and CA125 levels were compared between the two groups. Logistic regression was used to analyze the prognostic factors of patients with acute myocardial infarction. **Results**　The heart rate and serum BDNF, CA125, cTnI, and BNP levels in the study group were higher than those in the healthy control group (t = 10.196, 22.142, 12.302, 7.301, 49.705, P < 0.001). There were 38 cardiac adverse events (27.94%) in the 1-year follow-up. The serum levels of BDNF and CA125 in the patients with adverse cardiac events were higher than those in the patients without adverse cardiac events (t = 3.258, 4.496, P < 0.001). The area under the ROC curve (AUC) predicted by BDNF to predict the incidence of 1-year adverse cardiovascular events in AMI patients was 0.871. When the BNDF cut-off value was 3.87 ng/ml, the one-year adverse cardiovascular event sensitivity was 84.1%,

the specificity was 82.9%, and the Jordan index was 0.670. The AUC of CA125 was 0.746. When the CA125 cut-off value was 42.54 U/ml, the sensitivity for predicting one-year adverse cardiovascular events in AMI patients was 83.2%, the specificity was 81.5%, and the Jordan index was 0.647. Logistic regression analysis results show that advanced age (*OR* = 1.89, 95% *CI* 1.02 ~ 3.51), fast heart rate (*OR* = 1.77, 95% *CI* 1.06 ~ 2.95), high level BDNF (*OR* = 4.76, 95% *CI* 2.38 ~ 9.56) High level CA125 (*OR* = 3.49, 95% *CI* 1.71 ~ 7.12), high level cTnI (*OR* = 3.80, 95% *CI* 1.654 ~ 8.750), high level BNP (*OR* = 4.90, 95% *CI* 2.23 ~ 10.77) are AMI Risk factors for adverse cardiovascular events. **Conclusion** The levels of serum BDNF and CA125 were significantly increased in patients with AMI, and the high levels of BDNF and CA125 were risk factors for adverse prognosis in patients with AMI, suggesting that they could be used as predictors for evaluating the condition and prognosis of patients with AMI.

【Key words】 Brain-derived neurotrophic factor; CA125; Myocardial infarction, acute; Severity; Predictive value

急性心肌梗死(AMI)是指冠状动脉发生急性持续性缺血、缺氧而导致的心肌坏死,该病发病原因多样,临床表现主要为胸骨后疼痛,且起病急、病情凶险、病死率较高[1]。随着生活节奏的改变及社会老龄化现象逐渐加重,心肌梗死的发病率呈逐年上升趋势,且心肌梗死治疗后患者发生心源性休克、充血性心力衰竭、再发心肌梗死、室性心动过速、心室纤颤、猝死的几率也不断上升,对患者的预后和生命健康造成严重影响[2]。因此,进行早期危险评估和预测对 AMI 患者的病情恢复及预后判断都具有重要意义[3-4]。血清脑源性神经营养因子(BDNF)是一种在脑内合成的蛋白质,属于神经营养家族,对神经元的生长、分化、存活和突触可塑性具有重要调节作用,还能发挥重要的心血管保护作用[5]。糖类蛋白 125(CA125)是一种肿瘤相关标志物,近年来有研究发现其水平在 AMI 患者中会显著上升,且与病情具有明显相关性[6]。因此,本研究分析 AMI 患者血清 BDNF、CA125 水平变化对 AMI 病情及预后的评估价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2016 年 12 月—2018 年 6 月北京中医药大学孙思邈医院心血管内科收治的 AMI 患者 136 例作为研究组,其中男 85 例,女 51 例,年龄 34 ~ 75(61.5 ± 11.2)岁;发病至入院时间 3 h ~ 5 d (7.18 ± 1.53)h;有典型胸痛表现者 103 例;Killip 分级,Ⅰ级 72 例,Ⅱ级 30 例,Ⅲ级 24 例,Ⅳ级 10 例。同期于医院门诊健康体检者 50 例作为健康对照组,男 29 例,女 21 例,年龄 33 ~ 74(60.8 ± 11.5)岁,其各项临床检查、指标正常,排除心脑血管疾病史、肝肾功能异常、传染病史、免疫性疾病、肿瘤等,2 组临床资料见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准,受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①符合"急性心肌梗死中西医结合诊疗专家共识"中 AMI 诊断标准[7];②接受经皮冠状动脉介入治疗。(2)排除标准:①合并有肺、肝、肾等其他重要脏器功能损害或其他重大疾病者;②近期手术史;③既往心力衰竭。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　实验室指标检测:留取 2 组受试者清晨空腹肘静脉血 2 ml,离心得血清,放置于 −20℃ 保存待检,采用酶联免疫吸附法检测血清 BDNF、cTnI 水平,试剂盒购自 Bioswamp 武汉贝茵莱生物科技有限公司。采用电化学发光免疫分析法检测血清 CA125、BNP 水平,仪器为罗氏 602 全自动电化学发光免疫分析仪。所有检测操作均有专人负责,且严格按照产品说明书进行。

1.3.2　记录随访情况:通过定期门诊复查和电话等形式进行随访。对 2 组对象的基本信息、临床资料、既往病史进行详细登记,根据患者病情变化给予对应支持治疗。观察住院期间、出院后 1 年内 AMI 患者发生的主要不良心血管事件,包括心源性休克、充血性心力衰竭、猝死、再发心肌梗死、室性心动过速、心室纤颤等。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Logistic 回归分析 AMI 患者不良心血管事件影响因素。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组临床资料比较　研究组与健康对照组比较,性别、体质量指数、既往病史、吸烟史、血压等差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组心率及血清 BDNF、CA125、cTnI、BNP 水平均高于健康对照组($P < 0.01$),见表 1。

2.2　心脏不良事件发生率　住院和出院随访期间,AMI 患者 136 例中,未发生不良心脏事件 98 例(无不良心脏事件亚组),发生心脏不良事件 38 例(不良心脏事件亚组),其中发生猝死 3 例(2.21%),见表 2。

表 1　2 组患者临床资料比较　($\bar{x} \pm s$)

项　目	健康对照组($n=50$)	研究组($n=136$)	χ^2/t 值	P 值
男[例(%)]	29(58.00)	85(62.50)	0.312	0.576
年龄(岁)	60.8 ± 11.5	61.5 ± 11.2	0.536	0.592
体质指数(kg/m^2)	23.81 ± 1.82	24.42 ± 2.13	1.797	0.074
高血压病[例(%)]	26(52.00)	71(52.21)	0.001	0.980
糖尿病[例(%)]	13(26.00)	41(30.15)	0.305	0.581
吸烟史[例(%)]	26(52.00)	78(57.35)	0.425	0.514
心率(次/min)	66.61 ± 8.25	84.52 ± 11.36	10.196	<0.001
收缩压(mmHg)	119.71 ± 23.54	126.82 ± 26.47	1.671	0.096
舒张压(mmHg)	74.11 ± 10.63	78.60 ± 15.54	1.886	0.061
BDNF(ng/ml)	2.16 ± 0.29	4.03 ± 0.57	22.142	<0.001
CA125(U/ml)	15.21 ± 3.49	45.46 ± 17.23	12.302	<0.001
cTnI(ng/ml)	0.04 ± 0.03	10.61 ± 10.22	7.301	<0.001
BNP(pg/ml)	150.24 ± 22.78	2 467.48 ± 328.80	49.705	<0.001

表 2　136 例 AMI 患者发生心脏主要不良事件　[例(%)]

不良事件	住院期间(例)	随访期间(例)	总发生率
心源性休克	2	5	7(5.15)
充血性心力衰竭	4	9	13(9.56)
猝死	0	3	3(2.21)
再发心肌梗死	1	8	9(6.62)
室速、室颤	2	4	6(4.41)
合计	9	29	38(27.94)

2.3　2 亚组患者血清 BDNF、CA125 水平比较　不良心脏事件亚组患者血清 BDNF、CA125 水平均高于无不良心脏事件亚组($P<0.01$),见表 3。

表 3　2 亚组患者血清 BDNF、CA125 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	例数	BDNF(ng/ml)	CA125(U/ml)
不良心脏事件亚组	38	4.26 ± 0.66	48.37 ± 16.29
无不良心脏事件亚组	98	3.54 ± 0.52	35.56 ± 14.35
t 值		3.258	4.496
P 值		0.001	<0.001

2.4　预测不良心血管事件 ROC 曲线分析　预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件发生率的 ROC 曲线,BDNF 的 AUC 为 0.871,诊断准确性较高,当 BDNF 截断值为 3.87 ng/ml 时预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件的敏感度为 84.1%,特异度为 82.9%,约登指数为 0.670。而 CA125 的 AUC(0.746)与 cTnI、BNP 比较差异无统计学意义($P>0.05$);当 CA125 截断值为42.54 U/ml 时预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件敏感度为 83.2%,特异度为 81.5%,约登指数为 0.647,见图 1。

2.5　不良心血管事件危险因素 Logistic 回归分析　以 AMI 后是否发生不良心血管事件为因变量(无 = 0、有 = 1),以其他变量为自变量进行二分类 Logistic 逐步回归分析,结果显示高龄、心率快、高水平BDNF、高水平 CA125、高水平 cTnI、高水平 BNP 为 AMI 后不良心血管事件的危险因素($P<0.01$),见表 4。

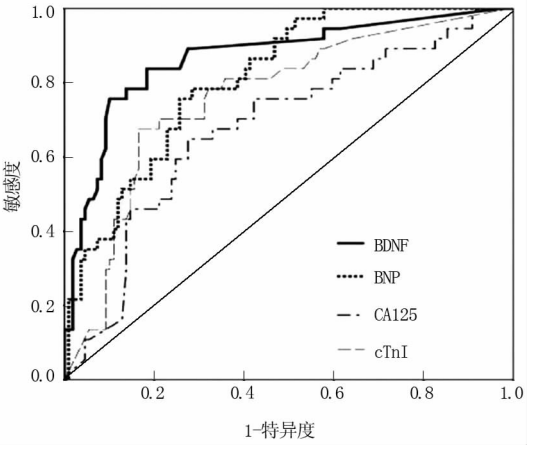


图 1　血清 BDNF、CA125、BNP、cTnI 评估 AMI 患者不良心血管事件 ROC 曲线分析

表 4　AMI 患者不良心血管事件危险因素 Logistic 回归分析

自变量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR(95%CI)
年龄(≥60 岁)	0.638	0.315	14.592	<0.001	1.89(1.02 ~ 3.51)
心率(≥100 次/min)	0.571	0.260	13.701	<0.001	1.77(1.06 ~ 2.95)
BDNF(≥3.87 ng/ml)	1.561	0.696	17.521	<0.001	4.76(2.38 ~ 9.56)
CA125(≥42.54 U/ml)	1.249	0.364	16.232	<0.001	3.49(1.71 ~ 7.12)
cTnI(≥5.0 ng/ml)	1.336	0.425	16.510	<0.001	3.80(1.65 ~ 8.75)
BNP(≥1 821.65 pg/ml)	1.589	0.788	18.339	<0.001	4.90(2.23 ~ 10.77)

3　讨　论

随着生活节奏的改变及社会老龄化现象逐渐加重,心肌梗死的发病率和病死率呈逐年上升趋势,寻求有效的治疗手段已经成为当前研究的重点。急性心肌梗死的治疗原则是尽快挽救濒死的心肌、缩小心肌缺血范围及梗死范围、保护心脏功能、处理并发症,近年来临床上对 AMI 的治疗取得一系列重大进展,显著提

高了患者的生存率,改善预后情况,取得了较为满意的临床效果[8]。有研究指出[9],尽管溶栓治疗和经皮冠状动脉介入治疗显著提高了 AMI 的生存率,但仍存在较高的致残率和预后不良,因此探寻新的治疗方法和药物尤为重要。张晓鑫等[10]研究显示,BDNF 广泛分布于心血管系统,且参与了急性心肌梗死后心肌重塑的基因多态性、新血管形成、挽救心肌细胞、改善心脏功能等过程。研究指出[11],CA125 的表达与心功能损害呈正相关,该指标对于 AMI 患者的病情进展和预后评估价值甚至可能优于 BNP。由于目前国内对于以上 2 种指标与急性心肌梗死的相关性研究较少,且观点不尽相同。为此本研究通过检测、分析 AMI 患者血清 BDNF 与 CA125 的水平,探讨这 2 种指标与 AMI 的相关性。

本研究结果显示,研究组心率及血清 BDNF、CA125 水平均高于健康对照组,提示 AMI 可引起血清 BDNF、CA125 水平上升。不良心脏事件亚组的血清 BDNF、CA125 水平均高于无不良心脏事件亚组,证实了 AMI 患者血清 BDNF、CA125 水平与 AMI 后发生不良心血管事件相关。BDNF 属于神经营养因子家族,在中枢神经系统和外周神经系统起着极为重要的作用,研究发现 BDNF 及其受体在动脉粥样硬化血管、内皮细胞及血管平滑肌中均有表达,在 AMI 后也有表达,且在心肌梗死边缘区域存在高表达[12]。BDNF 可参与 AMI 后心肌重塑,诱导缺血组织新血管形成,缓解心肌缺血的状况,还可以通过细胞内信号转导途径产生相应的下游分子从而保护神经元,抑制细胞凋亡,改善心脏功能[13-14]。CA125 是一种肿瘤标志物,但近年来有研究指出其在心力衰竭等非肿瘤疾病中表达亦升高,随着心功能分级升高和 BNP 增高而上升[15],当心肌损伤发生时,多种内源性神经内分泌和细胞因子被异常激活,机体炎性反应被触发,从而导致 CA125 分泌升高[16]。BNP 与 cTnI 是临床上判断 AMI 病情进展和预后较为准确的 2 种指标,而本研究中预测 AMI 患者 1 年不良心血管事件发生率的结果显示,BDNF 的预测价值与 BNP 相当,且 CA125 的预测价值与 cTnI 相当;Logistic 回归分析结果也显示,高水平 BDNF、CA125 的 AMI 患者发生不良心血管事件的风险更高。结果证实血清 BDNF、CA125 对于 AMI 预后的预测具有较高的敏感度和特异度,与 AMI 患者的病情进展及预后密切相关,该结果与其他研究结果相符[17-19]。

发生心脏损伤后 BDNF 水平迅速上升,在心肌梗死的过程中发挥了修复心肌细胞、营养神经的作用,而心肌梗死时 CA125 水平上升的作用机制则多考虑为心室重构及神经内分泌系统异常激活,触发患者机体炎性反应,宋秀萍等[20]研究也指出,CA125 升高机制主要受神经、体液、细胞因子相互作用。

综上所述,AMI 患者血清 BDNF、CA125 水平明显增高,且高水平 BDNF、CA125 的 AMI 患者发生不良预后的风险更高,提示二者可作为评估 AMI 患者病情及预后的预测因子。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张海宁:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写及修改;杨会萍:提出研究思路,分析试验数据,进行统计学分析,论文审核;任骞、王宁勃:参与研究过程,资料搜集整理

参考文献

[1] 孔雪,高方明. 急性心肌梗死患者急诊行经皮冠状动脉介入术后早期康复治疗对心脏射血分数的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2015, 30(8):843-844. DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.08.025.

[2] 罗东. 中药结合急诊溶栓对急性心肌梗死患者血管再通率和并发症发生情况的影响[J]. 世界中医药, 2014, 9(9):1162-1164. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.09.014.

[3] 陈运枝. 多种心肌标志物检测对心肌梗死及心力衰竭的临床诊断及应用价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2014, 17(12):1935-1938. DOI:10.11723/mtgyyx 1007-9564 201412014.

[4] Reddy K, Khaliq A, Henning RJ. Recent advances in the diagnosis and treatment of acute myocardial infarction[J]. World Journal of Cardiology, 2015, 7(5):243-276. DOI: 10.4330/wjc.v7.i5.243.

[5] 吕明义, 邓淑玲, 龙晓凤. 脑源性神经营养因子预处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国循环杂志, 2016, 31(2): 175-179. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2016.02.017.

[6] Deng J, Pan J, Wang Q. GW25-e2312 A preliminary study of serum CA125 levels, mechanism and clinical significance in patients with acute myocardial infarction[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2014, 64(16):C131. DOI:10.1016/j.jacc.2014.06.607.

[7] 陈可冀, 张敏州, 霍勇. 急性心肌梗死中西医结合诊疗专家共识[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(6):641-645. DOI: 10.3969/j.issn.16721349.2014.06.001.

[8] Ungerleider JL, Christman KL. Concise review: injectable biomaterials for the treatment of myocardial infarction and peripheral artery disease: translational challenges and progress[J]. STEM CELLS Translational Medicine, 2014, 3(9):1090-1099. DOI:10.5966/sctm.2014-0049.

[9] 王晓红. 参附注射液对高龄心肌梗死患者心室重构过程的影响[J]. 中国药物与临床, 2015, 15(4):557-559 DOI:10.11655/zgywylc2015.04.052.

[10] 张晓鑫, 王艳, 杨清成. 急性心肌梗死模型大鼠探索行为及海马神经元中脑源性神经营养因子表达的变化[J]. 新乡医学院学报, 2019, 36(3): 218-223. DOI:10.7683/xxyxyxb.2019.03.004.

[11] Zhao ZG, Tang ZZ, Zhang WK, et al. Protective effects of embelin on

myocardial ischemia-reperfusion injury following cardiac arrest in a rabbit model[J]. Inflammation, 2015, 38(2):527-533. DOI: 10.1007/s10753-014-9959-1.

[12] 宋勇林,王小华. 血清 CA125 在女性急性心肌梗死患者中的应用价值[J]. 标记免疫分析与临床,2019,26(1):86-88. DOI:10.11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2019. 01. 022.

[13] Hong JH, Park HM, Byun KH, et al. BDNF expression of macrophages and angiogenesis after myocardial infarction[J]. International Journal of Cardiology, 2014, 176(3):1405-1408. DOI:10.1016/j. ijcard. 2014. 08. 019.

[14] Costa HS, Lima MM, Silva MG, et al. Effect of acute aerobic exercise on serum BDNF levels in patients with Chagas heart disease [J]. International Journal of Cardiology, 2014, 174(3):828-830. DOI:10.1016/j. ijcard. 2014. 04. 136.

[15] 韩琳, 赵祥海, 吴宜鸣. 心功能Ⅲ、Ⅳ级慢性心衰患者血清 CA125 与 NT Pro-BNP 浓度相关性研究[J]. 川北医学院学报, 2014,29(5):489-491. DOI:10.3969/j. issn. 1005-3697. 2014. 05. 20.

[16] Kouris NT, Zacharos ID, Kontogianni DD, et al. The significance of CA125 levels in patients with chronic congestive heart failure. Correlation with clinical and echocardiographic parameters[J]. European Journal of Heart Failure, 2014, 7(2):199-203. DOI:10.1016/j. ejheart. 2004. 07. 015.

[17] He CX, Yang JJ, Yuan MJ, et al. The changes of serum BDNF, blood lipid and PCI in the elderly patients with coronary heart disease complicated with diabetes mellitus[J]. Journal of Hainan Medical University, 2016, 22(16):1921-1924. DOI:10.13210/j. cnki. jhmu. 20160806. 001.

[18] 张胜豪,刘恒亮,毛磊, 等. 血清糖类抗原 125 及脑钠肽水平对心肌梗死后心力衰竭发生及严重程度的预测价值[J]. 中国动脉硬化杂志,2019,27(1):55-60. DOI:10.3969/j. issn. 1007-3949. 2019. 01. 011.

[19] Fu K, Liu HD, Mamuti KB, et al. Relationship between carbohydrate antigen 125 and coronary artery calcification in patients without known coronary artery disease[J]. Med Sci Monit, 2018, 24:2873-2877. DOI:10.12659/MSM. 907418.

[20] 宋秀萍,刘明,沙勇,等. 血清 CA125 及心率水平对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者预后的预测价值[J]. 宁夏医科大学学报, 2017,39(12):1432-1435. DOI:10.16050/j. cnki. issn1674-6309. 2017. 12. 018.

(收稿日期:2019－08－16)

(上接 11 页)

[10] 张蕾, 李跃, 何立娟, 等. 慢性心力衰竭患者血清 TBA 水平与心室重构及炎性反应的相关性[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2018, 10(12): 1506-1509. DOI: 10.3969/j. issn. 1674-4055. 2018. 12. 18.

[11] 李娜, 杨蕊, 高俊淑, 等. 动脉硬化性脑梗死患者血浆 Lp-PLA2 表达的临床意义研究[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(1): 6-8. DOI: 10.3969/j. issn. 1007-4287. 2017. 01. 003.

[12] Yang L, Liu Y, Wang S, et al. Association between Lp-PLA2 and coronary heart disease in Chinese patients[J]. J Int Med Res, 2017, 45(1):159-169. DOI: 10.1177/0300060516678145.

[13] 李智慧, 井海云, 王丹, 等. 心力衰竭患者血浆 APN 和 LP-PLA2 水平变化[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(1): 39-42. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-3619. 2019. 01. 010.

[14] Xiang L, You T, Chen J, et al. Serum soluble semaphorin 4D is associated with left atrial diameter in patients with atrial fibrillation [J]. Med Sci Monit, 2015, 21(9): 2912-2917. DOI: 10.12659/MSM. 895441.

[15] 顾汉沛, 葛剑青, 王光胜. 血浆 Lp-PLA2、HCY、尿酸与血脂对稳定大动脉粥样硬化性脑梗死病人颈动脉斑块的临床意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(5): 613-616. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-1349. 2017. 05. 031.

[16] 宋颖懿. 分析血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 含量(LP-PLA2)与慢性心力衰竭(CHF)患者预后的关联性[J/OL]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(6): 85-86. DOI: 10.16282/j. cnki. cn11-9336/r. 2018. 06. 055.

[17] 匡龙,赵良平,尤涛,等. 血清可溶性信号素 4D 水平与冠状动脉粥样硬化性心脏病发生的相关性研究[J]. 中国全科医学,2015, 18(36):4412-4415. DOI:10.3969/j. issn. 1007-9572. 2015. 36. 003.

[18] 贾二娟. 冠心病病人血浆 Lp-PLA2、YKL-40、Alarin、CysC 的表达及意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(6): 776-778. DOI: 10.3969/j. issn. 1672-1349. 2018. 06. 030.

[19] 唐俊燕, 杨国杰, 李栋博, 等. 血清可溶性 Sema4D 水平与扩张型心肌病心室重构的相关性研究[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(1): 63-66. DOI: 10.3969/j. issn. 1000-3614. 2017. 01. 015.

[20] 周菲, 张敬文. 高血压合并 STEMI 患者阿托伐他汀强化方案临床效果及其对血压、血脂、心功能及 Lp-PLA2 的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(9): 1097-1100, 1104. DOI: 10.13704/j. cnki. jyyx. 2018. 09. 001.

[21] Willner N, Goldberg Y, Schiff E, et al. Semaphorin 4D levels in heart failure patients: a potential novel biomarker of acute heart failure [J]. ESC Heart Fail, 2018, 5(4):603-609. DOI: 10.1002/ehf2. 12275.

(收稿日期:2019－08－15)

论著 · 临床

静脉溶栓桥接动脉取栓治疗急性脑梗死临床疗效分析

张立军，赵洁，郝新斌

基金项目：辽宁省博士科研启动基金指导计划项目（20170520003）

作者单位：111000　辽宁省辽阳市中心医院神经内科（张立军、郝新斌）；116000　大连大学附属中山医院神经内科（赵洁）
通信作者：赵洁，E-mail：zhugexingfu@163.com

【摘　要】 **目的**　观察静脉溶栓桥接动脉取栓治疗急性脑梗死的临床疗效。**方法**　纳入 2017 年 3 月—2019 年 3 月辽宁省辽阳市中心医院神经内科收治的急性脑梗死患者 80 例，依照治疗方式的不同，分为对照组 34 例和观察组 46 例。对照组给予静脉溶栓治疗，观察组给予静脉溶栓桥接动脉取栓治疗。于治疗 24 h 后评价临床疗效；比较 2 组患者入院时及治疗后 24 h、3 d 的 NHISS 评分，阻塞血管再通率、残余狭窄率≤30% 例数、住院期间颅内出血发生例数及治疗后 3 个月病死率。**结果**　治疗后，观察组总有效率、阻塞血管再通率分别为 84.78%、86.96%，高于对照组的 61.76%、67.65%，组间比较差异有统计学意义（χ^2/P = 5.524/0.019、4.356/0.037）。与入院时比较，2 组治疗后24 h、3 d 的 NIHSS 评分均依次降低（F = 16.913、5.538，P 均 < 0.05）；观察组治疗后 3 d 的 NIHSS 评分显著低于对照组（t/P = 3.321/0.001）。观察组残余狭窄率≤30% 患者占比为 52.17%，显著高于对照组的 14.71%（χ^2/P = 11.876/0.001）；2 组在颅内出血率及治疗后 3 个月病死率方面差异无统计学意义（P 均 > 0.05）。**结论**　静脉溶栓桥接动脉取栓治疗急性脑梗死患者可提高临床疗效，且安全性较高。

【关键词】 脑梗死，急性；静脉溶栓；动脉取栓；疗效
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.005

Analysis of the clinical effect of thrombolysis and arterial thrombectomy in the treatment of acute cerebral infarction

*Zhang Lijun**, *Zhao Jie*, *Hao Xinbin*. **Department of Neurology*, *Liaoyang City Center Hospital*, *Liaoning Province*, *Liaoyang* 111000, *China*
Corresponding author: *Zhao Jie*, *E-mail*: *zhugexingfu@163.com*

Fund program: *Liaoning Province Doctor Research Start Funding Guiding Project* (20170520003)

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the clinical effect of intravenous thrombolysis and arterial thrombectomy in the treatment of acute cerebral infarction. **Methods**　From March 2017 to March 2019, 80 patients with acute cerebral infarction were included in the Department of Neurology, Liaoyang Central Hospital, Liaoning Province. According to the different treatment, it was divided into control group (34 cases) and observation group (46 cases). The control group was given intravenous thrombolysis, and the observation group was given intravenous thrombolysis bridging artery thrombectomy. After 24 hours of treatment, the clinical effect was evaluated; the NHISS scores of the two groups were compared at the time of admission and 24 hours and 3 days after treatment, the number of cases with obstructed blood vessels recanalization rate, residual stenosis rate ≤ 30%, the number of cases with intracranial hemorrhage during hospitalization and the mortality rate of 3 months after treatment. **Results**　After treatment, the total effective rate and the recanalization rate of the obstructed vessels in the observation group were 84.78% and 86.96%, which were higher than the control group's 61.76% and 67.65%, (χ^2/P = 5.524/0.019, 4.356/0.037). Compared with the time of admission, the NIHSS scores of the two groups decreased sequentially at 24 h and 3 d after treatment (F = 16.913, 5.538, P < 0.05); the NIHSS scores of the observation group at 3 d after treatment were significantly lower than those of the control group (t/P = 3.321/0.001). The proportion of patients with residual stenosis ≤30% in the observation group accounted for 52.17%, which was significantly higher than 14.71% in the control group (χ^2/P = 11.876/0.001). There was no significant difference in intracranial hemorrhage rate and mortality at 3 months after treatment between the two groups (both P > 0.05). **Conclusion**　Intravenous thrombolysis and arterial thrombectomy can improve the clinical efficacy and safety of patients with acute cerebral infarction.

【**Key words**】 Cerebral infarction, acute; Intravenous thrombolysis; Arterial thrombectomy; Therapeutic effect

急性脑梗死是指脑血供突然中断后导致的脑组织坏死,在临床较为常见[1]。该病通常起病突然,发病率、致死率、致残率均较高,多数患者会留下后遗症,不仅对患者的生命安全造成极大威胁,也给患者家属及社会带来巨大的负担[2]。急性脑梗死的发病机制较为复杂,主要是由于患者供应脑部血液的动脉出现粥样硬化和血栓形成,造成管腔狭窄、闭塞,继而引发急性局灶性脑供血不足,最终导致急性脑梗死的发生[3-4]。临床上对于急性脑梗死患者所采取的措施主要是溶栓治疗,包括静脉溶栓、动脉溶栓、动静脉联合溶栓等,其中以静脉溶栓的方式应用最为普遍。然而溶栓治疗血管再通率较低,难以达到预期治疗效果[5]。近年来,有学者指出,动脉内取栓可明显提高闭塞血管再通率,改善患者预后[6-7]。因此,现比较静脉溶栓与静脉溶栓桥接动脉取栓 2 种不同的治疗方法,对于急性脑梗死患者的美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、血管再通率等指标的影响,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　收集 2017 年 3 月—2019 年 3 月辽宁省辽阳市中心医院神经内科收治的急性脑梗死患者 80 例,依照治疗方式不同,分为对照组和观察组。对照组 34 例,男 20 例,女 14 例,年龄 42 ~ 78(61.28 ± 5.08)岁;合并高血压 18 例,糖尿病 4 例;临床表现为口角歪斜、偏身感觉障碍、行走不稳 24 例,饮水呛咳、吞咽困难 3 例,意识障碍 7 例;家族遗传史,高血压 10 例,高血脂 7 例,糖尿病 1 例。观察组 46 例,男 26 例,女 20 例,年龄 42 ~ 79(60.53 ± 5.13)岁;合并高血压 24 例,糖尿病 6 例;临床表现为口角歪斜、偏身感觉障碍、行走不稳 32 例,饮水呛咳、吞咽困难 4 例,意识障碍 10 例;家族遗传史,高血压 12 例,高血脂 9 例,糖尿病 3 例。2 组患者的性别、年龄、合并疾病等比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准[7]　(1)纳入标准:①所有患者均符合急性脑梗死的诊断标准,均为初次发病,静脉溶栓开始时间距离发病时间≤4.5 h,患者存在局灶性神经损害症状及体征;②脑功能损害体征出现超过 1 h,伴肢体瘫痪;③经 CT 检查,排除颅内出血且无早期大面积脑梗死影像学改变;④血压 < 180/100 mmHg;⑤NIHSS 评分≥6 分;⑥无出血倾向、近期无重大手术史;⑥年龄≤80 岁。(2)排除标准:①严重心、肝、肾功能不全者;②既往有颅内出血,近 3 个月内有头颅外伤史及心肌梗死史;③存在活动性出血、严重创伤者;④血小板计数 $< 100 \times 10^9$/L;⑤临床资料不完整者。

1.3　治疗方法　对照组给予注射用阿替普酶(rt-PA,德国 Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG 生产)0.9 mg/kg(最大剂量为 90 mg)静脉溶栓治疗,先静脉推注总剂量的 10%,余量静脉滴注(时间 60 min)。观察组给予静脉溶栓桥接动脉取栓治疗,首先行静脉溶栓,操作步骤同对照组静脉溶栓方法。动脉内取栓采用支架取栓方式,利多卡因局部麻醉,经右侧股动脉置入动脉鞘,引导仪器头端至病变部位。使用导丝将导管置入,延伸导管头部放入支架,将导管撤回,置入支架,取出血栓,造影后回撤支架,同时回抽血液 30 ml 防止脱出的血栓再次回流入动脉。造影显示取栓成功后拔除动脉鞘,处理切口,包扎穿刺点。溶栓 24 h 后,若患者未出现明显并发症行头颅 CT 检查,证实无脑出血患者,给予阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司生产),口服,100 mg/d。影像学提示出血者,禁用阿司匹林等抗血小板及其他抗栓治疗,可根据患者情况酌情给予脱水降颅压和神经保护剂治疗。

1.4　观察指标　(1)NIHSS 评分:患者入院时及治疗后 24 h、3 d 进行 NIHSS 评分;(2)治疗后情况:阻塞血管再通率(完全灌注 + 部分灌注)、残余狭窄率≤30% 例数、住院期间颅内出血发生例数;(3)预后情况:通过电话、门诊等方式随访治疗后 3 个月病死率。

1.5　疗效评价标准[8]　于治疗 24 h 后评价临床疗效。(1)显效:患者 NIHSS 评分减少 > 6 分,神经功能障碍明显好转,血管有效再通;(2)有效:患者 NIHSS 评分减少 3 ~ 6 分,神经功能障碍基本恢复,工作及生活可独立完成但较为迟缓,血管达到有效再通;(3)无效:患者 NIHSS 评分减少 < 3 分,仍存在明显神经功能障碍,血管再度出现狭窄。总有效率 = (显效 + 有效)/总例数 × 100%。

1.6　统计学方法　采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,组内多时间点比较采用方差分析;计数资料以频数或率(%)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　2 组患者临床疗效比较　治疗后,观察组总有效率为 84.78%,高于对照组的 61.76%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2　2 组治疗前后 NIHSS 评分比较　与入院时比较,2 组治疗后 24 h、3 d NIHSS 评分依次降低(F = 16.913、5.538,P 均 < 0.05);治疗后 24 h,2 组 NIHSS

评分比较差异无统计学意义($P>0.05$),但治疗后 3 d 观察组 NIHSS 评分低于对照组($P<0.01$),见表 2。

表 1　2 组患者临床疗效比较　[例(%)]

组　别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
对照组	34	9(26.47)	12(35.29)	13(38.24)	61.76
观察组	46	24(52.17)	15(32.61)	7(15.22)	84.78
U/χ^2 值			$U=7.115$		$\chi^2=5.524$
P 值			0.008		0.019

表 2　2 组患者治疗前后 NIHSS 评分比较　($\bar{x}\pm s$,分)

组　别	例数	入院时	治疗后 24 h	治疗后 3 d
对照组	34	14.31 ± 3.75	8.42 ± 3.01	7.38 ± 1.82
观察组	46	15.86 ± 3.83	8.53 ± 2.98	6.13 ± 1.54
t 值		1.805	0.163	3.321
P 值		0.075	0.871	0.001

2.3　2 组阻塞血管再通率比较　治疗后,观察组的阻塞血管再通率为 86.96%,高于对照组的 67.65%,差异有统计学意义($\chi^2=4.356$,$P=0.037$),见表 3。

表 3　2 组阻塞血管再通率比较　[例(%)]

组　别	例数	完全再通	部分再通	闭塞	再通率(%)
对照组	34	9(26.47)	14(41.18)	11(32.35)	67.65
观察组	46	24(52.17)	16(34.78)	6(13.04)	86.96

2.4　2 组残余狭窄率、颅内出血率、治疗后 3 个月病死率比较　观察组残余狭窄率≤30% 患者为52.17%,高于对照组的 14.71%($P<0.01$);2 组患者颅内出血率及治疗后 3 个月病死率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4　2 组残余狭窄率、颅内出血率、治疗后 3 个月病死率比较　[例(%)]

组　别	例数	残余狭窄率≤30%	颅内出血率	疗后 3 个月病死率
对照组	34	5(14.71)	5(14.71)	1(2.94)
观察组	46	24(52.17)	5(10.87)	2(4.35)
χ^2 值		11.876	0.263	0.107
P 值		0.001	0.608	0.743

3　讨　论

急性脑梗死是较为常见的脑卒中类型,患者脑内动脉突然发生闭塞后,使得区域性脑组织出现缺血甚 至区域梗死。由于局灶性的血运减少,周围的神经细胞、神经胶质细胞均会受到损伤,从而导致患者神经功能损害。脑梗死发生后会迅速诱发患者出现一侧肢体的感觉及运动异常,甚至是意识障碍,危及患者生命。因此对患者采取及时、有效的治疗,恢复血管正常流通,对于降低致死率、致残率及改善预后具有重要的意义[9]。

临床研究显示[10-11],在发病早期,对患者进行溶栓治疗可有效缩小患者的梗死面积,提高治愈率。溶栓治疗的主要目的是让已闭塞的动脉在发病早期实现再通,使此区域血供恢复正常,从而达到恢复神经组织功能的目的,帮助患者恢复正常生活。目前,rt-PA 是我国使用的主要溶栓药之一,其具有促进体内纤维蛋白溶解系统活性的作用。与链激酶和尿激酶不同,rt-PA能特异性地使血栓内的纤溶酶原转变成纤溶酶,因而用药后可选择性激活血栓中的纤溶酶原,避免了应用链激酶时产生的常见出血并发症,发挥其溶解血栓的作用[12]。临床研究显示,在发病 4.5 h 内采用 rt-PA进行溶栓治疗,能够获得较为满意的溶栓效果,有助于缩小患者的梗死面积,大大降低脑梗死的致死率、致残率。静脉溶栓是患者发病早期首选的治疗方法,其具有操作简单、费用较低等优势[13]。但单独使用时血管开通率低,溶栓后血管再闭塞的风险较高,且易引起出血[14-15]。因此,为尽早恢复闭塞血管的再通,动脉取栓的治疗方式逐渐引发医学界的关注[16]。动脉取栓是以介入手段直接接触血管内血栓,并将其完全取出,因此其具有药物溶栓不具备的优势,其能够在更早的时间内达到清除血栓,且血栓清除得更彻底,从而大大提升早期血管再通率,患者预后更佳、复发少,大大提高了患者的生存质量[17]。

本研究中,观察组采取桥接治疗的模式,在静脉溶栓的基础上结合了动脉取栓的优势,理论上能够达到尽早恢复闭塞动脉的有效血流灌注,提高治疗有效率的目的。结果显示,静脉溶栓桥接动脉取栓治疗的阻塞血管再通率(86.96%)明显优于静脉溶栓(67.65%);经治疗,2 组 NIHSS 评分均降低,且观察组在治疗后 3 d 的 NIHSS 评分显著低于对照组;2 组颅内出血率及治疗后 3 个月病死率差异无统计学意义,但观察组残余狭窄率≤30% 比例(52.17%)明显高于对照组(14.71%)。在经过有效的溶栓及取栓治疗后,患者的急性脑梗死症状均得到明显改善,阻塞血管再通率良好,但经由动脉取栓治疗的患者,其神经功能恢复效果更好,这与既往研究类似,表明静脉溶栓桥接动脉取栓治疗的方式能够更为准确地将血栓清除完全,对于帮助患者在早期恢复正常生理功能方面具有重要作用。本研究显示,溶栓或取栓治疗后均有一定比例的患者发生颅内出血。尽管动脉取栓作为一种介入手段具有一定的创伤性,但相较于单纯静脉溶栓而言,桥接动脉取栓后患者发生术后并发症的比例并未

明显升高,提示静脉溶栓桥接动脉取栓治疗的方式安全性较好。但任何溶栓方法对于缺血性脑血管病的急性期溶栓治疗都有一定的局限性,血管再开通后患者能否受益,还取决于半暗带的大小及梗死核心区的大小。因此,在选用具体治疗方式时,还应重视对患者影像学的评估和筛选,全面评估患者接受每种治疗方式所带来的效益和风险,结合患者的个体情况来选择治疗方法[18]。

综上所述,对于急性脑梗死患者,静脉溶栓桥接动脉取栓治疗相较于静脉溶栓能够显著提高患者栓塞血管的再通率,有效改善神经功能缺损情况,治疗效果更优,且安全性较好。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张立军:提出研究思路,设计研究方案,实施研究过程,分析临床数据,论文撰写,论文修改;赵洁:分析临床数据,论文审核;郝新斌:资料搜集整理,论文审核

参考文献

[1] Li WJ, Jin C, Vaidya A, et al. Blood pressure trajectories and the risk of intracerebral hemorrhage and cerebral infarction[J]. Hypertension, 2017, 70(3):508-514. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09479.

[2] 中华医学会急诊医学分会卒中学组. 急性脑梗死溶栓治疗急诊绿色通道构建专家共识[J]. 中国急救医学,2017,37(8):681-684. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.08.001.

[3] 董亚茹,薛秀云,韩彩萍,等. 阿替普酶对急性脑梗死疗效及其对神经功能损伤程度、实验室指标影响[J]. 疑难病杂志,2018,17(8):771-775. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.08.004.

[4] Katsanos AH, Tsivgoulis G. Is intravenous thrombolysis still necessary in patients who undergo mechanical thrombectomy [J]. Current Opinion in Neurology, 2019, 32(1):3-12. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000633.

[5] 田方起. 介入溶栓治疗脑梗死临床疗效研究[J]. 中国全科医学,2017,20(S2):166-167. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2017.z2.064.

[6] 张峰,李鹏,井山泉,等. 急性脑梗死机械取栓治疗的研究进展[J]. 中国全科医学,2017,20(27):3332-3337. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2017.04.y05.

[7] 李桂林,杜世伟,李静伟,等. 静脉溶栓桥接动脉内取栓治疗颅内大血管急性闭塞的效果分析[J]. 中国脑血管病杂志,2017,14(3):122-126. DOI:10.3969/j.issn.1672-5921.2017.03.003.

[8] 肖文,蒲晓龙,柏杖勇,等. 动静脉联合溶栓与机械取栓治疗急性脑梗死的临床疗效及对患者预后的影响[J]. 河北医学,2017,23(9):1498-1502. DOI:10.3969/j.issn.1006-6233.2017.09.027.

[9] 马蓉, 徐弘扬, 杨锡彤, 等. 急性脑卒中治疗的研究进展[J]. 重庆医学, 2019,48(6):1010-1013. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.06.029.

[10] 王允,代大伟,范宇威,等. 急性脑梗死溶栓治疗的临床进展[J]. 现代生物医学进展,2017,17(26):5194-5196. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.045.

[11] 周经霞,陈擘璨,黄少珠,等. 阿替普酶与尿酸激酶在急性脑梗死治疗中的疗效及安全性比较[J]. 临床和实验医学杂志,2017,16(7):656-659. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2017.07.011.

[12] Yaghi S, Willey JZ, Cucchiara B, 等. 急性缺血性卒中静脉阿替普酶溶栓后出血转化的治疗和结局:美国心脏协会/美国卒中协会科学声明[J]. 中国脑血管病杂志, 2018, 15(7):386-392. DOI:10.3969/j.issn.1672-5921.2018.07.012.

[13] Gunka I, Krajickova D, Lesko M, et al. Safety of early carotid endarterectomy after intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke [J]. Annals of Vascular Surgery, 2017, 44:353-360. DOI: 10.1016/j.avsg.2017.03.195.

[14] 张杰,买买提力·艾沙,卡合尔曼·卡德尔,等. Solitaire 支架机械取栓治疗急性缺血性卒中疗效分析[J]. 中国神经精神疾病杂志,2017,43(9):549-553. DOI:10.3969/j.issn.1002-0152.2017.09.009.

[15] 王志,朱海东,张毅,等. 急性缺血性卒中机械取栓的临床热点问题探讨[J]. 中华放射学杂志,2017,51(11):880-883. DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2017.11.018.

[16] Dargazanli C, Arquizan C, Gory B, et al. Mechanical thrombectomy for minor and mild stroke patients harboring large vessel occlusion in the anterior circulation[J]. Stroke, 2017, 48(12):3274-3281. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.018113.

[17] 傅懋林,戴为正,张永刚,等. Solitaire 支架动脉取栓术联合多模式血管再通术治疗急性脑梗死疗效观察[J]. 天津医药,2017,45(10):1053-1057. DOI:10.11958/20170293.

[18] Merkler AE, Salehi Omran S, Gialdini G, et al. Safety Outcomes After Thrombolysis for Acute Ischemic Stroke in Patients With Recent Stroke[J]. Stroke, 2017, 48(8):2282-2284. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.018119.

(收稿日期:2019-09-24)

(上接 7 页)

[14] Schiopu A, Bengtsson E, Goncalves I, et al. Associations between macrophage colony-stimulating factor and monocyte chemotactic protein 1 in plasma and first-time coronary events: A nested case-control study[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(9): e002851. DOI:10.1161/JAHA.115.002851.

[15] Wainstein MV, Mossmann M, Araujo GN, et al. Elevated serum interleukin-6 is predictive of coronary artery disease in intermediate risk overweight patients referred for coronary angiography[J]. Diabetol Metab Syndr, 2017, 6(9): 67. DOI:10.1186/s13098-017-0266-5.

[16] Farca AD, Rusu A, Stoia MA, et al. Plasma leptin, but not resistin, TNF-α and adiponectin, is associated with echocardiographic parameters of cardiac remodeling in patients with coronary artery disease [J]. Cytokine, 2018, 103:46-49. DOI:10.1016/j.cyto.2018.01.002.

(收稿日期:2019-04-16)

论著 · 临床

系统性硬化症合并肺间质病变患者外周血中 IL-8、CXCR1、CXCR2 的表达及意义

张帆，韩卫全，庞艳，龚子龙，肖婷，夏露

基金项目：湖北省卫生和计划生育委员会科研项目（WJ2018MB027）
作者单位：430050　武汉市第五医院检验科
通信作者：韩卫全，E-mail：18971113195@189.cn

【摘　要】 **目的**　分析系统性硬化症（SSc）合并肺间质病变（ILD）患者外周血中白介素 8（IL-8）、趋化因子受体 1（CXCR1）、CXCR2 表达的临床意义。**方法**　选取 2018 年 1 月—2019 年 5 月武汉市第五医院风湿免疫科治疗的系统性硬化症患者 42 例作为研究对象，其中合并 ILD 患者 25 例为 SSc-ILD 组，非 ILD 患者 17 例为 SSc-非 ILD 组。另选取同期来院体检的健康者 30 例为健康对照组。检测 3 组受试者肺功能，外周血单个核细胞（PBMC）中 CXCR1、CXCR2 mRNA，血清 IL-8、ESR、CRP、IgA、IgG、IgM、补体 C3 水平。采用 Spearman 进行检测指标的相关性分析。**结果**　SSc-ILD 组 FEV_1%、FEV_1/FVC 显著低于 SSc-非 ILD 组和健康对照组（F/P = 76.626/0.000，29.097/0.000），且 SSc-非 ILD 组显著低于健康对照组（P < 0.05）；SSc-ILD 组 CXCR1、CXCR2 mRNA 表达水平及血清 IL-8、ESR、CRP、IgA、IgG、IgM 水平显著高于 SSc-非 ILD 组和健康对照组（F/P = 581.600/0.000、401.103/0.000、149.551/0.000、34.990/0.000、37.207/0.000、189.508/0.000、117.657/0.000、12.708/0.000），且 SSc-非 ILD 组各指标显著高于健康对照组（P < 0.05）；SSc 患者外周血中 CXCR1、CXCR2 及血清 IL-8 水平与 FEV_1% 呈显著负相关（r/P = −0.608/0.005、−0.538/0.048、−0.613/0.003），CXCR1、IL-8 与 FEV_1/FVC 呈显著负相关（r/P = −0.616/0.002、−0.581/0.015），CXCR2 与 FEV_1/FVC 无显著相关性（P > 0.05）；SSc 合并 ILD 患者 CXCR1、CXCR2、IL-8 与 CRP、ESR、IgA、IgG、IgM 均呈正相关（P < 0.05），与 C3 无显著相关性（P > 0.05）。**结论**　IL-8 与其受体 CXCR1、CXCR2 在系统性硬化症合并肺间质病变患者血清中均高表达，IL-8 可能在 SSc-ILD 的发病机制中具有重要作用。

【关键词】 系统性硬化症；肺间质病变；白介素-8；趋化因子受体 1；趋化因子受体 2
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.006

Expression and significance of IL-8, CXCR1 and CXCR2 in peripheral blood of patients with systemic sclerosis and pulmonary interstitial disease

Zhang Fan, Han Weiquan, Pang Yan, Gong Zilong, Xiao Ting, Xia Lu. Department of Clinical Laboratory, Wuhan Fifth Hospital, Hubei Province, Wuhan 430050, *China*
Corresponding author: Han Weiquan, E-mail: 18971113195@189.*cn*
Fund program: Hubei Province Health and Family Planning Commission Research Project (WJ2018MB027)

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the clinical significance of the expression of interleukin-8 (IL-8), chemokine receptor-1 (CXCR1) and CXCR2 in peripheral blood of patients with systemic sclerosis (SSc) and pulmonary interstitial disease (ILD). **Methods**　From January 2018 to may 2019, 42 patients with systemic sclerosis were selected as the study object. Among them, 25 patients with ILD were SSc-ILD group and 17 patients without ILD were SSc-non ILD group. Another 30 healthy people who came to the hospital for physical examination in the same period were selected as the control group. The lung function, CXCR1 and CXCR2 mRNA, serum IL-8, ESR, CRP, IgA, IgG, IgM and C3 levels in PBMC were measured. Spearman was used to analyze the correlation of detection indexes. **Results**　The FEV_1%, FEV_1/FVC of the SSc-ILD group were significantly lower than those of the SSc non-ILD group and healthy control group (F/P = 76.626/0.000, 29.097/0.000), and the SSc non-ILD group was significantly lower than the healthy control group (P < 0.05). The CXCR1, CXCR2 mRNA expression levels and IL-8, ESR, CRP, IgA, IgG, and IgM levels in the SSc-ILD group were significantly higher than those in the SSc non-ILD group and healthy controls (F/P = 581.600/0.000, 401.103/0.000, 149.551/0.000, 34.990/0.000, 37.207/0.000, 189.508/0.000, 117.657/0.000, 12.708/0.000), and the indexes of SSc non-ILD group were significantly higher than those of healthy control group (P < 0.05). The levels of CXCR1, CXCR2 and serum IL-8 in patients

with SSc were significantly negatively correlated with FEV_1% (r/P = −0.608/0.005, −0.538/0.048, −0.613/0.003). CXCR1, IL-8 and FEV_1/FVC were significantly negatively correlated (r/P = −0.616/0.002, −0.581/0.015). There was no significant correlation between CXCR2 and FEV_1/FVC (P > 0.05). CXCR1, CXCR2, and IL-8 were positively correlated with CRP, ESR, IgA, IgG, and IgM in patients with SSc combined with ILD (P < 0.05), and there was no significant correlation with C3 (P > 0.05). **Conclusion** IL-8, CXCR1 and CXCR2 are highly expressed in the serum of patients with systemic sclerosis and pulmonary interstitial disease. IL-8 may play an important role in the pathogenesis of SSc-ILD.

【**Key words**】 Systemic sclerosis; Interstitial lung disease; IL-8; CXCR1; CXCR2

系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)是以皮肤和内脏组织呈弥漫性或局限性纤维化进行性硬化的自身免疫性疾病[1]。临床上以弥漫性或局限性皮肤增厚、内脏(心脏、肺等)器官结构异常、器官缺血为特征性病变[2]。但 SSc 早期病症较轻,常被人们忽视而延误治疗时机,导致病情加重。据统计 65% 以上的 SSc 患者肺部受到牵连,50% 以上患者肺部呈现弥漫性肺间质病变(interstitial lung disease, ILD),即为 SSc-ILD,且 ILD 成为 SSc 致死的主要原因[3]。近年来多项研究表明趋化因子与免疫性疾病的发病机制相关[4]。IL-8 是由单核细胞、巨噬细胞分泌的单核因子,在炎性反应和免疫反应中具有重要作用。研究表明,IL-8 作为趋化因子受体 1(CXCR1)、CXCR2 的配体,与 CXCR1、CXCR2 结合后能够特异性地趋化单核细胞、淋巴细胞聚集到病变部位,引起组织的损伤[5]。多项研究表明,IL-8 与受体 CXCR2 结合,趋化免疫细胞,激活多种炎性因子的表达[6]。但关于 IL-8、CXCR1、CXCR2 在 SSc-ILD 中的作用及其与肺功能关系的研究报道较少。本研究通过检测 SSc-ILD 患者 IL-8、CXCR1、CXCR2 水平及免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 水平,分析 IL-8、CXCR1、CXCR2 与 SSc-ILD 发病机制的相关性,为及时有效地诊治 SSc-ILD 提供理论依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 1 月—2019 年 5 月武汉市第五医院风湿免疫科治疗的系统性硬化症患者 42 例作为研究对象,均符合中华医学会风湿病学分会制定的 SSc 诊断标准[7],其中合并 ILD 患者 25 例作为 SSc-ILD 组,非 ILD 患者 17 例作为 SSc-非 ILD 组。另选取同期来院体检的健康者 30 例为健康对照组。SSc-ILD 组男 2 例,女 23 例,年龄 22 ~ 60(43.75 ± 11.06)岁;病程 6 个月 ~ 11 年,平均(47.18 ± 22.19)个月。SSc-非 ILD 组男 3 例,女 14 例,年龄 23 ~ 60(44.31 ± 10.12)岁;病程 6 个月 ~ 9 年,平均(40.55 ± 23.06)个月。健康对照组男 5 例,女 25 例,年龄 25 ~ 65(48.34 ± 10.56)岁。3 组研究对象性别、年龄等临床资料比较,差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,且受试者及家属知情同意并自愿签署同意书。

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①SSc-ILD 诊断符合 Fleischne 学会命名委员会关于 SSc-ILD 的定义;②无其他慢性病史。(2)排除标准:①其他病因引起的肺部病变;②入选前 1 周服用过激素类药物。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　肺功能检测:3 组研究对象早晨禁食,采用德国耶格公司生产的 SpiroUSB 型肺功能仪检测肺功能,用力肺活量(forced vital capacity, FVC),第一秒用力呼气容积(forced expiratory volume in the first second, FEV_1)占预计值百分比(FEV_1%),取测定 3 次的平均值。

1.3.2　外周血 CXCR1、CXCR2 mRNA 表达检测:(1)样本采集,早晨空腹采集所有受试者静脉血 5 ml,分别置于 2 个 EP 管中,一管于含肝素的无菌 EP 管中用 Ficoll Hypaque 分离外周血单个核细胞(PBMCs),一管室温静置 30 min,离心收集血清,−20℃冰箱保存备用;

表 1　3 组研究对象临床资料比较

组　别	例数	性别(男/女)	年龄(岁)	吸烟史[例(%)]	病程(月)	雷诺现象[例(%)]	Medsger 严重度评分(分)	激素和/或免疫抑制剂治疗史[例(%)]
健康对照组	30	5/25	48.34 ± 10.56	3(10.00)	−	−	−	−
SSc-非 ILD 组	17	3/14	44.31 ± 10.12	2(11.76)	40.55 ± 23.06	15(88.24)	7.85 ± 1.99	6(35.29)
SSc-ILD 组	25	2/23	43.75 ± 11.06	4(16.00)	47.18 ± 22.19	23(92.00)	8.13 ± 2.07	11(44.00)
$\chi^2/F/t$ 值		0.159	1.486	0.425	0.936	0.166	0.437	0.318
P 值		0.701	0.233	0.460	0.355	0.683	0.664	0.573

(2)PBMC 制备,取肝素抗凝全血 2 ml 于 10 ml 离心管中,加入等体积 PBS 溶液稀释,再转入预先准备的 Ficoll Hypaque 4 ml,离心后上层白色即为 PBMC;加入 RPMI1640 完全培养液 5 ~ 10 ml,2 000 r/min 离心 10 min,洗涤细胞 2 次,收集沉淀细胞,并以 RPMI1640 完全培养液调整细胞为 1×10^6/ml;(3)取调整为 1×10^6/ml 的 PBMC,依照 Trizol 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)使用步骤提取总 RNA,紫外分光光度计检测其吸光度(OD)值,制作标准曲线,计算 RNA 浓度;将纯度良好的 RNA 按照反转录试剂盒(TaKaRa 公司)使用说明反转录为 cDNA。qRT-PCR 反应体系为 25 μl,SYBR Green Ⅰ qPCR Master Mix 12 μl,上下游引物各 1 μl,cDNA 模板 1 μl,ddH_2O 10 μl。荧光定量 PCR 仪反应程序为 95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,48 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,共 40 个循环。以 β-actin 为内参基因,使用 Primer Premier 5.0 设计引物序列,引物序列如表 2(委托上海生工公司合成)。反应结束后收集数据,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法进行 Ct 值分析[8],计算 CXCR1 和 CXCR2 的 mRNA 相对表达量。

1.3.3　血清 CRP、ESR、IL-8、IgA、IgG、IgM、补体 C3 水平检测:上述血清采用 ELISA 方法检测白介素-8(IL-8),试剂盒购自武汉默沙克生物科技有限公司;采用意大利 Vital Microsed-System 全自动血沉仪检测红细胞沉降率(ESR),免疫比浊法检测 C 反应蛋白(CRP)、IgA、IgG、IgM、补体 C3 水平。

1.4　统计学方法　使用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 t 检验;指标间关系采用Spearman进行相关性分析。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　3 组肺功能比较　SSc-ILD 组 FEV_1%、FEV_1/FVC 低于 SSc-非 ILD 组低于健康对照组(P 均 < 0.01),见表 3。

表 3　3 组受试者肺功能比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	例数	FEV_1%	FEV_1/FVC
健康对照组	30	90.15 ± 12.26	74.71 ± 12.19
SSc-非 ILD 组	17	74.16 ± 12.23	65.25 ± 12.33
SSc-ILD 组	25	60.37 ± 10.27	54.06 ± 11.22
F 值		76.626	29.097
P 值		0.000	0.000

2.2　3 组 CXCR1、CXCR2 mRNA 表达水平比较　SSc-ILD 组 CXCR1、CXCR2 mRNA 表达水平高于 SSc-非 ILD 组高于健康对照组(P 均 < 0.01),见表 4。

表 4　3 组受试者 CXCR1、CXCR2 mRNA 表达水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	例数	CXCR1	CXCR2
健康对照组	30	1.02 ± 0.11	1.01 ± 0.12
SSc-非 ILD 组	17	3.72 ± 0.41	3.26 ± 0.43
SSc-ILD 组	25	4.46 ± 0.56	3.83 ± 0.54
F 值		581.600	401.103
P 值		0.000	0.000

2.3　3 组血清 IL-8、ESR、CRP、IgA、IgG、IgM、C3 水平比较　SSc-ILD 组 IL-8、ESR、CRP、IgA、IgG、IgM 水平显著高于 SSc-非 ILD 组高于健康对照组(P 均 < 0.05),各组 C3 水平比较差异无统计学意义(P > 0.05),见表 5。

表 2　RT-qPCR 引物序列

基因	正向引物	反向引物
β-actin	5'-TGGCACCACACCTTCTACAAT-3'	5'-AGAGGCGTACAGGGATAGCAC-3'
CXCR1	5'-CCACTATGAGCCTCGCCTCCTGT-3'	5'-TTTTGGGATGAACTCCTTGC-3'
CXCR2	5'-GACCCAGTCAGGATTTAAGTTTA-3'	5'-CCAGCATCACGAGGGAGTTT-3'

表 5　3 组受试者血清中 IL-8、ESR、CRP、IgA、IgG、IgM、C3 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	例数	IL-8(ng/L)	ESR(mm/h)	CRP(mg/L)	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)	C3(g/L)
健康对照组	30	16.88 ± 3.48	17.06 ± 8.95	7.19 ± 2.54	2.18 ± 0.12	12.03 ± 1.77	1.19 ± 0.32	1.10 ± 0.37
SSc-非 ILD 组	17	27.06 ± 4.15	32.55 ± 9.79	13.06 ± 4.11	2.76 ± 0.18	18.26 ± 2.39	1.41 ± 0.34	1.04 ± 0.33
SSc-ILD 组	25	35.11 ± 4.23	40.16 ± 12.31	16.89 ± 5.62	3.11 ± 0.23	22.08 ± 3.11	1.69 ± 0.43	1.01 ± 0.31
F 值		149.551	34.990	37.207	189.508	117.657	12.708	0.496
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.611

2.4　外周血 CXCR1、CXCR2、IL-8 水平与肺功能的关系　SSc-ILD 患者外周血中 CXCR1、CXCR2 及血清 IL-8 水平与 FEV_1% 呈负相关($P<0.05$);CXCR1、IL-8 与 FEV_1/FVC 呈负相关($P<0.05$),CXCR2 与 FEV_1/FVC 无显著相关性($P>0.05$),见表 6。

表 6　SSc-ILD 患者 CXCR1、CXCR2、IL-8 与肺功能的相关性

因子	FEV_1%		FEV_1/FVC	
	r 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值
CXCR1	−0.608	0.005	−0.616	0.002
CXCR2	−0.538	0.048	−0.445	0.061
IL-8	−0.613	0.003	−0.581	0.015

2.5　外周血 CXCR1、CXCR2、IL-8 水平与相关因子的相关性　SSc-ILD 患者 CXCR1、CXCR2、IL-8 与 CRP、ESR、IgA、IgG、IgM 均呈正相关($P<0.05$),与 C3 无显著相关性($P>0.05$),见表 7。

表 7　SSc-ILD 患者 CXCR1、CXCR2、IL-8 与 CRP、ESR、免疫球蛋白和补体的相关性

因子	CXCR1		CXCR2		IL-8	
	r 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值
CRP	0.625	0.023	0.558	0.033	0.514	0.023
ESR	0.512	0.008	0.422	0.042	0.518	0.033
IgA	0.518	0.013	0.651	0.005	0.634	0.000
IgG	0.545	0.017	0.669	0.000	0.428	0.046
IgM	0.362	0.034	0.618	0.000	0.343	0.046
C3	−0.303	0.052	−0.248	0.086	−0.359	0.053

3　讨　论

SSc 是以皮肤炎性反应、纤维化、增厚进而硬化、萎缩为主要特征的风湿性疾病,SSc 往往引起肺脏结构异常、肺间质病变[9]。研究发现,ILD 是 SSc 预后不良的主要因素,SSc 的发病机制目前尚不清楚,但 SSc-ILD 的发病与多种免疫细胞、细胞因子、趋化因子等多种因素密切相关[10]。研究发现,中性粒细胞可在机体内释放细胞因子并作用于 $CD8^+$T 细胞,并与释放的相关细胞因子共同参与自身免疫性疾病过程[11]。趋化因子及其受体在炎性反应中具有重要作用,特别与炎性细胞的募集密切相关[12]。目前对于 SSc-ILD 的早期诊断和治疗还缺乏有效的手段。为了明确 SSc-ILD 发病与机体免疫反应及其趋化作用的关系,本研究主要针对外周血中 CXCR1、CXCR2 及血清中 IL-8 在 SSc-ILD 中的表达水平及与免疫蛋白的关系进行分析。

趋化因子可分为 4 型,即 CXC 型、CC 型、C 型、CX3C 型,趋化因子与其特异性的受体结合发挥生物学作用。CXCR1 和 CXCR2 是一条肽链的糖蛋白,属于 G 蛋白耦联受体超家族成员,为趋化细胞因子的受体,其与细胞因子的活化、增殖、募集及血管形成前体物质等有关[13]。CXCR1 和 CXCR2 主要表达于单核细胞、中性粒细胞、$CD8^+$T 细胞、肥大细胞等细胞表面;IL-8 是 CXCR1 和 CXCR2 的共同配体,可促进 CXC 趋化因子的表达,促进中性粒细胞的表达,参与多种疾病的发生发展[14]。本研究结果显示,SSc-ILD 患者外周血单核细胞上的 CXCR1、CXCR2 mRNA 及血清 IL-8 表达水平显著升高,表明 IL-8 可能通过与其受体结合发挥炎性反应作用。CXCR1 和 CXCR2 与 IL-8 结合后能够激活 G 蛋白耦联受体通路,介导炎性反应。研究报道,无抗原活性的突变体 G31P 与 IL-8 受体 CXCR1、CXCR2 结合后可抑制中性粒细胞的趋化作用,减轻炎性反应[15]。鳞状细胞癌患者的皮肤损伤部位中 IL-8 及其配体 CXCR1、CXCR2 异常表达[16]。临床上常结合肺功能检测评估 ILD 对肺脏的损伤程度,FVC 对于肺间质纤维化病变反应敏感。本研究对患者肺功能指标检测结果显示,SSc-ILD 组患者 FEV_1%、FEV_1/FVC 明显降低,表明 SSc-ILD 可能严重影响患者的肺功能。进一步进行 Spearman 相关性分析,结果显示 IL-8、CXCR1、CXCR2 与 FEV_1%、FEV_1/FVC 密切相关,表明随着 IL-8 介导的炎性反应的增强,肺功能受损严重。研究表明,IL-8 可引起外周血中性粒细胞增加,产生呼吸爆发、溶酶体酶促进肺部炎性反应。

IgA 是分泌型蛋白中的主要蛋白,是机体防御中的第一道防线,可介导细胞毒性作用(ADCC),在免疫性疾病中常升高[17]。研究发现在过敏性紫癜患者中 IgA 合成增加,促进炎性细胞因子 IL-8、TNF-α、IL-6 等过度表达,造成肾损伤。IgG 约占免疫球蛋白的 75%,是血清免疫球蛋白的主要成分[18]。IgM 是抗原刺激后机体内最先出现的抗体。研究报道,在系统性红斑狼疮、风湿病等免疫性疾病中 IgG 表达升高,可提高免疫反应[19]。IL-8 是重要的促炎细胞因子和中性粒细胞趋化因子,研究报道,在儿童肺炎支原体感染中 IL-8 促进炎性反应,刺激机体产生自身免疫反应,引起 IgG、IgM 水平升高[20]。本研究结果显示,SSc-ILD 组患者 IgA、IgG、IgM 水平显著升高,C3 水平减少,且 IL-8、CXCR1、CXCR2 均与 IgA、IgG、IgM 有关,表明 SSc-ILD 中 IL-8 引起的炎性反应刺激机体启动自身免疫应答,引起自身免疫紊乱。CRP 在正常机体表达较少,在机体感染和炎性反应时浓度显著升高,其与 ESR 是临床常用的非特异性炎性指标。本研究结果显示,与 SSc-非 ILD 组和健康对照组比较,SSc-ILD 组 ESR、

CRP 水平明显升高，相关性分析显示，IL-8、CXCR1、CXCR2 与 ESR、CRP 相关，表明 IL-8、CXCR1、CXCR2 可能参与机体非特异性炎性反应，引起组织损伤。

综上所述，SSc-ILD 患者血清中趋化因子 IL-8、CXCR1、CXCR2 表达显著升高，炎性因子 IL-8 表达也显著升高，表明 IL-8 可能通过其受体 CXCR1、CXCR2 在 SSc-ILD 疾病中发挥作用，但其与炎性因子的作用机制，以及与肺功能指标的作用机制有待进一步研究。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张帆：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；韩卫全：提出研究思路，分析试验数据，论文审核；庞艳：实施研究过程，资料搜集整理，论文修改；龚子龙、肖婷：进行统计学分析；夏露：课题设计，论文撰写

参考文献

[1] 杨书琦，张慧芳，宋书林，等. 系统性硬化症发病机制的研究进展[J]. 医学综述，2018，24(1)：17-21. DOI：10.3969/j.issn.1006-2084.2018.01.004.

[2] 梁朝珺，罗静. T 细胞和系统性硬化症关系的研究进展[J]. 中国药物与临床，2018，18(5)：737-739. DOI：10.11655/zgywylc2018.05.030.

[3] Bossini-Castillo L, Campillo-Davó D, López-Isac E, et al. An MIF promoter polymorphism is associated with susceptibility to pulmonary arterial hypertension in diffuse cutaneous systemic sclerosis[J]. J Rheumatol, 2017, 44(10)：1453-1457. DOI：10.3899/jrheum.161369.

[4] 张蓓蓓，蔡辉. 系统性硬化症的细胞治疗进展[J]. 安徽医药，2017，21(5)：793-798. DOI：10.3969/j.issn.1009-6469.2017.05.004.

[5] 金环，王友莲. 系统性硬化症并发肺间质病变发病机制与诊断研究进展[J]. 南昌大学学报：医学版，2017，57(6)：88-93. DOI：10.13764/j.cnki.ncdm.2017.06.022.

[6] 李臻，王少杰，刘国立，等. 息肉状脉络膜血管病变患者房水中 IL-8 及其受体的表达[J]. 国际眼科杂志，2019，19(2)：221-224. DOI：10.3980/j.issn.1672-5123.2019.2.08.

[7] 中华医学会风湿病学分会. 系统性硬化病诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志，2011，15(4)：256-259. DOI：10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2011.04.011.

[8] 毕惠娟，陈建民，陈静静，等. 原发性肝癌患者 CXCR1、CXCR2 及 CXCL8 的表达及其临床意义[J]. 中华微生物学和免疫学杂志，2017，37(7)：545-551. DOI：10.3760/cma.j.issn.0254-5101.2017.07.012.

[9] Schmidt KG, Herrero SJM, Trautmann S, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor 5 modulates early-stage processes during fibrogenesis in a mouse model of systemic sclerosis：a pilot study[J]. Front Immunol, 2017, 29(8)：1242-1254. DOI：10.3389/fimmu.2017.01242.

[10] 鲁芙爱，刘媛，王永福. 系统性硬化病的临床及实验室检查特点分析[J]. 临床内科杂志，2018，35(5)：337-340. DOI：10.3969/j.issn.1001-9057.2018.05.013.

[11] 黄自坤，李雪，邓桢，等. 类风湿关节炎患者外周血 $CD4^+$ T 和 $CD8^+$ T 细胞 TIGIT 的表达和意义[J]. 中华微生物学和免疫学杂志，2017，37(5)：325-332. DOI：10.3760/cma.j.issn.0254-5101.2017.05.001.

[12] Cisbani G, Le AB, Plante MM, et al. Role of the chemokine receptors CCR2 and CX3CR1 in an experimental model of thrombotic stroke[J]. Brain Behav Immun, 2018, 70：280-292. DOI：10.1016/j.bbi.2018.03.008.

[13] Tanaka K, Yoshitomi T, Hirahara K. Elucidation of distinct roles of guinea pig CXCR1 and CXCR2 in neutrophil migration toward IL-8 and GROα by specific antibodies[J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(5)：729-732. DOI：10.1248/bpb.b16-00918.

[14] Zhang J, Yi R, Qian Y, et al. Lactobacillus plantarum CQPC06 activity prevents dextran sulfate sodium - induced colitis by regulating the IL-8 pathway[J]. J Food Sci, 2018, 83(10)：2653-2661. DOI：10.1111/1750-3841.14346.

[15] 姚伟，崔昱，任一鑫，等. IL-8 受体拮抗剂 G31P 拮抗小鼠旋毛虫感染的实验研究[J]. 中国微生态学杂志，2017，29(5)：536-538. DOI：10.13381/j.cnki.cjm.201705009.

[16] Chan LP, Wang LF, Chiang FY, et al. IL-8 promotes HNSCC progression on CXCR1/2-meidated NOD1/RIP2 signaling pathway[J]. Oncotarget, 2016, 7(38)：61820-61831. DOI：10.18632/oncotarget.11445.

[17] Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H. Functional and structural characteristics of secretory IgA antibodies elicited by mucosal vaccines against influenza virus[J]. Vaccine, 2017, 35(39)：5297-5302. DOI：10.1016/j.vaccine.2017.07.093.

[18] Gao SG, Yang JQ, Ma ZK, et al. Preoperative serum immunoglobulin G and A antibodies to Porphyromonas gingivalis are potential serum biomarkers for the diagnosis and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1)：17-33. DOI：10.1186/s12885-017-3905-1.

[19] Gottenberg J, Dörner T, Bootsma H, et al. Efficacy of epratuzumab, an anti-CD22 monoclonal IgG antibody, in systemic lupus erythematosus patients with associated Sj gren's syndrome：post-hoc analyses from the EMBODY trials[J]. Arthritis Rheumatol, 2018, 70(5)：763-773. DOI：10.1002/art.40425.

[20] 郭飞波，韩利蓉，余卉，等. 血清补体、免疫球蛋白及炎性细胞因子动态检测在儿童肺炎支原体感染中的应用价值[J]. 中国免疫学杂志，2017，33(6)：910-913. DOI：10.3969/j.issn.1000-484X.2017.06.021.

（收稿日期：2019－09－04）

论著 · 临床

特布他林联合孟鲁司特钠治疗支气管哮喘患者效果及对炎性因子和呼吸力学的影响

陈垣, 陈华妹, 肖一佳, 赵素娥, 王菊芬

作者单位: 410004　湖南省长沙市中心医院呼吸内科
通信作者: 陈垣, E-mail: chenyuan6401@163.com

【摘　要】 **目的**　观察特布他林联合白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠治疗支气管哮喘患者效果及对呼吸力学的影响。**方法**　选取 2018 年 1 月—2019 年 3 月长沙市中心医院呼吸内科治疗的支气管哮喘患者 98 例作为研究对象, 随机数字表法分为单药组、联合组各 49 例, 单药组患者以孟鲁司特钠治疗, 联合组患者以特布他林联合孟鲁司特钠治疗。治疗 3 个月后, 比较 2 组治疗前后血清超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α), 血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA), 血清免疫球蛋白水平, 检测呼吸力学指标水平, 评价治疗效果、不良反应发生情况。**结果**　治疗后联合组患者血清 hs-CRP、IL-17、TNF-α 水平均低于单药组(t/P = 5.685/0.001、8.447/0.001、6.124/0.001), 血清 GSH-Px、SOD 水平高于单药组、MDA 水平低于单药组(t/P = 4.575/0.001、4.904/0.001、5.049/0.001), IgA、IgM、IgG、IgE 水平均低于单药组(t/P = 3.546/0.001、2.688/0.008、6.687/0.001、6.393/0.001), 呼吸做功(WOB)、气道峰压(PIP)、气道阻力(Raw)水平低于单药组、动态顺应性(Cdyn)水平高于单药组(t/P = 5.936/0.001、11.940/0.001、3.936/0.001、9.779/0.001)。联合组患者治疗总有效率高于单药组(95.92% vs. 81.63%, χ^2/P = 5.018/0.025), 不良反应发生率略高于单药组, 但差异无统计学意义(P > 0.05)。**结论**　特布他林联合孟鲁司特钠治疗支气管哮喘患者, 能够抑制炎性反应, 提升患者抗氧化能力及免疫功能, 改善患者呼吸功能, 治疗效果显著。

【关键词】 特布他林; 孟鲁司特钠; 支气管哮喘; 呼吸力学; 炎性因子; 免疫功能

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.007

The effect of terbutaline combined with montelukast sodium in the treatment of bronchial asthma and its effect on inflammatory factors and respiratory mechanics

Chen Yuan, Chen Huamei, Xiao Yijia, Zhao Sue, Wang Jufen. Department of Respiratory Medicine, Changsha Central Hospital, Changsha 410004, *China*
*Corresponding author: Chen Yuan, E-mail: chenyuan*6401@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effect of terbutaline combined with leukotriene receptor antagonist montelukast sodium in the treatment of bronchial asthma and its effect on respiratory mechanics. **Methods**　From January 2018 to March 2019, 98 patients with bronchial asthma who were treated in respiratory department of Changsha Central Hospital were selected as the study objects, and randomly divided into single drug group and combined group with 49 cases each. Patients in the single drug group were treated with montelukast sodium, while patients in the combined group were treated with terbutaline and montelukast sodium. After 3 months of treatment, the serum levels of hs CRP, IL-17, TNF-α, GSH-Px, SOD, MDA and immunoglobulin were compared before and after treatment. The level of respiratory mechanics index was detected, and the therapeutic effect and adverse reactions were evaluated. **Results**　Serum hs CRP, IL-17, and TNF-α levels were lower in the combination group than in the single-agent group (t/P = 5.685/0.001, 8.447/0.001, 6.124/0.001), and serum GSH-Px and SOD levels were higher than in the single-agent group after treatment The MDA level was lower than that of the single drug group (t/P = 4.575/0.001, 4.904/0.001, 5.049/0.001). The levels of IgA, IgM, IgG, and IgE were lower than those of the single drug group (t/P = 3.546/0.001, 2.688/0.008, 6.687/0.001, 6.393/0.001), respiratory work (WOB), peak airway pressure (PIP), The airway resistance (Raw) level was lower than the single drug group, and the dynamic compliance (Cdyn) level was higher than the single drug group (t/P = 5.936/0.001, 11.940/0.001, 3.936/0.001, 9.779/0.001). The total effective rate of the combined group was higher than that of the single-agent group (95.92% vs. 81.63%, χ^2/P = 5.018/0.025), and the incidence of adverse reactions was slightly higher than that of the single-agent group, but the

difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Terbutaline combined with montelukast sodium in the treatment of bronchial asthma can inhibit the inflammatory response, improve the antioxidant capacity and immune function of patients, improve the respiratory function of patients, the treatment effect is significant.

【**Key words**】 Terbutaline; Bronchial asthma; Respiratory mechanics; Inflammatory factors; Immunological functioning

支气管哮喘是一种临床较为常见的,以气道慢性炎性反应为主要特征的呼吸系统疾病[1]。能够诱发支气管哮喘的因素很多,包括遗传因素、吸烟、空气污染、呼吸道感染、气候变化、剧烈运动等[2-3]。据相关流行病学调查数据显示,近年来我国支气管哮喘发病率一直居高不下,主要临床表现为胸闷、咳嗽、喘息、气促等,并且随着病情的进展,临床症状的严重程度会不断上升,甚至会出现气道不可逆性缩窄、气道重构,对患者的身体健康造成严重威胁,因此寻找一种安全有效的治疗方法具有重要意义[4]。特布他林及白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠是 2 种临床治疗支气管哮喘较为常用的药物。现观察特布他林联合孟鲁司特钠治疗支气管哮喘患者效果及对呼吸力学的影响,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 1 月—2019 年 3 月长沙市中心医院呼吸内科治疗的支气管哮喘患者 98 例作为研究对象。纳入标准:均经医院确诊为支气管哮喘,病历资料齐全。排除标准:(1)病历资料不全者;(2)呼吸系统恶性肿瘤者;(3)近 3 个月内接受过相关治疗者;(4)对本研究用药过敏者;(5)具有家族遗传史者。98 例按照随机数字表法分为 2 组各 49 例。单药组男 27 例,女 22 例,年龄 35 ~ 68(52.2 ± 10.5)岁;病程 1 ~ 8(4.6 ± 2.1)年;病情程度,轻度 20 例,中度 22 例,重度 7 例;合并症,心力衰竭 3 例,呼吸衰竭 3 例,肺炎 9 例,肺气肿 6 例;诱因,呼吸道感染 21 例,过敏原 15 例,其他因素 13 例。联合组男 30 例,女 19 例,年龄 36 ~ 68(51.9 ± 10.7)岁,病程 1 ~ 8(4.5 ± 2.2)年;病情程度,轻度 19 例,中度 24 例,重度 6 例;合并症,心力衰竭 2 例,呼吸衰竭 3 例,肺炎 11 例,肺气肿 5 例;诱因,呼吸道感染 19 例,过敏原 18 例,其他因素 12 例。2 组患者性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　治疗方法　2 组患者均进行常规抗感染、抗哮喘治疗。单药组患者使用白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠 10 mg/次,每日晚睡前温水口服,1 次/d;联合组在单药组治疗基础上加用特布他林 5 mg/次,于 3 餐后温水口服,3 次/d。2 组均治疗 3 个月。

1.3　观测指标与方法　治疗前后清晨空腹抽取患者肘静脉血 5 ml,离心分离取上层血清,在 −70℃ 环境中保存待检。

1.3.1　炎性因子检测:使用酶联免疫吸附实验法(ELISA)检测血清高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素-17(IL-17)、肿瘤坏死因子(TNF-α)水平,检测过程严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.3.2　氧化应激指标检测:化学发光法检测血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平。

1.3.3　免疫指标检测:免疫透射比浊法检测血清免疫球蛋白(IgA、IgM、IgG、IgE)水平。

1.3.4　呼吸力学指标检测:使用 CPL00 多功能呼吸力学检测仪(Bicore 公司,美国)对患者呼吸力学指标水平进行测定,分别于治疗前 1 d 及治疗后 4 周进行测定、读数,检测指标包括呼吸做功(WOB)、气道峰压(PIP)、气道阻力(Raw)、动态顺应性(Cdyn),并进行组间比较。

1.3.5　记录不良反应:观察治疗过程中出现的心悸、手部颤动、消化不良等。

1.4　疗效评价标准[5]　显效,临床症状完全缓解,双肺哮鸣音消失,肺功能恢复正常;有效,临床症状明显缓解,肺功能明显改善;无效,临床症状无明显改善甚至加重。总有效率 = (显效 + 有效)/总例数 × 100%。

1.5　统计学方法　使用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较进行独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较进行 χ^2 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组总有效率比较　联合组患者治疗总有效率为 95.92%,高于单药组的 81.63%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1　2 组患者治疗总有效率比较　[例(%)]

组　别	例数	显效	有效	无效	总有效率(%)
单药组	49	23(46.94)	17(34.69)	9(18.37)	81.63
联合组	49	31(63.27)	16(32.65)	2(4.08)	95.92
U/χ^2 值			$U = 0.046$		$\chi^2 = 5.018$
P 值			0.831		0.025

2.2　2 组治疗前后炎性因子水平比较　治疗前 2 组患者血清 hs-CRP、IL-17、TNF-α 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后 2 组上述指标均低于治疗前，且联合组均低于单药组（$P<0.01$），见表 2。

表 2　2 组患者治疗前后血清 hs-CRP、IL-17、TNF-α 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	时间	hs-CRP（mg/L）	IL-17（ng/L）	TNF-α（ng/L）
单药组	治疗前	12.89 ± 3.05	39.58 ± 5.22	9.46 ± 2.16
（n = 49）	治疗后	8.72 ± 2.35	23.46 ± 3.58	6.52 ± 1.85
联合组	治疗前	12.93 ± 2.98	39.63 ± 5.17	9.51 ± 2.21
（n = 49）	治疗后	6.35 ± 1.73	17.69 ± 3.17	4.31 ± 1.72
t/P 单药组内值		7.581/ <0.001	17.830/ <0.001	7.236/ <0.001
t/P 联合组内值		13.370/ <0.001	25.320/ <0.001	13.000/ <0.001
t/P 治疗后组间值		5.685/ <0.001	8.447/ <0.001	6.124/ <0.001

2.3　2 组治疗前后氧化应激指标比较　治疗前 2 组患者血清 GSH-Px、SOD、MDA 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后 2 组 GSH-Px、SOD 水平高于治疗前，MDA 水平低于治疗前，且联合组患者血清 GSH-Px、SOD 水平高于单药组，MDA 水平低于单药组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 3。

2.4　2 组治疗前后免疫球蛋白水平比较　治疗前 2 组患者 IgA、IgM、IgG、IgE 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后 2 组上述指标均低于治疗前，且联合组均低于单药组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 4。

表 3　2 组患者治疗前后 GSH-Px、SOD、MDA 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	时间	GSH-Px（U/L）	SOD（nU/ml）	MDA（μmol/L）
单药组	治疗前	67.52 ± 6.35	68.32 ± 5.96	32.59 ± 4.02
（n = 49）	治疗后	73.85 ± 6.51	74.25 ± 6.13	28.51 ± 3.67
联合组	治疗前	67.46 ± 6.42	68.27 ± 5.91	32.63 ± 3.98
（n = 49）	治疗后	79.97 ± 6.73	80.53 ± 6.54	24.96 ± 3.28
t/P 单药组内值		4.872/ <0.001	4.855/ <0.001	5.247/ <0.001
t/P 联合组内值		9.415/ <0.001	9.736/ <0.001	10.410/ <0.001
t/P 治疗后组间值		4.575/ <0.001	4.904/ <0.001	5.049/ <0.001

2.5　2 组治疗前后呼吸力学指标比较　治疗前 2 组患者 WOB、PIP、Raw、Cdyn 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后 2 组患者 WOB、PIP、Raw 水平下降，Cdyn 水平上升，且联合组患者下降/上升幅度优于单药组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 5。

2.6　2 组不良反应比较　联合组患者出现心悸 2 例，手部颤动 3 例，消化不良 1 例，不良反应总发生率为 12.24%；单药组出现心悸 2 例，手部颤动 1 例，消化不良 1 例，不良反应总发生率为 8.16%，2 组比较差异无统计学意义（$\chi^2=0.445$，$P=0.505$）。

3　讨　论

目前临床尚无一种特效治疗支气管哮喘的手段，治疗支气管哮喘常用的方法为药物治疗[6-7]。孟鲁司特钠作为一种白三烯受体拮抗剂，常用于过敏性鼻炎、哮喘等疾病的治疗，具有抗炎、舒张支气管平滑肌及抑制机体支气管收缩等药理作用[8-11]。特布他林是一种 β_2 受体兴奋剂，具有扩张支气管、平喘等药理作用，临

表 4　2 组患者治疗前后免疫球蛋白水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	时间	IgA（g/L）	IgM（g/L）	IgG（g/L）	IgE（IU/ml）
单药组	治疗前	3.87 ± 0.63	2.46 ± 0.62	13.87 ± 1.52	216.57 ± 26.54
（n = 49）	治疗后	3.19 ± 0.55	1.87 ± 0.54	11.36 ± 1.24	159.73 ± 19.52
联合组	治疗前	3.85 ± 0.65	2.43 ± 0.63	13.91 ± 1.49	221.37 ± 25.90
（n = 49）	治疗后	2.81 ± 0.51	1.59 ± 0.49	9.82 ± 1.03	137.68 ± 14.21
t/P 单药组内值		5.692/ <0.001	5.023/ <0.001	8.957/ <0.001	12.080/ <0.001
t/P 联合组内值		8.811/ <0.001	7.367/ <0.001	15.810/ <0.001	19.790/ <0.001
t/P 治疗后组间值		3.546/ <0.001	2.688/0.008	6.687/ <0.001	6.393/ <0.001

表 5　2 组患者治疗前后 WOB、PIP、Raw、Cdyn 水平比较　（$\bar{x}\pm s$）

组　别	时间	WOB（J/L）	PIP（cmH_2O）	Raw［cmH_2O/（L × S）］	Cdyn（cmH_2O）
单药组	治疗前	0.79 ± 0.11	31.26 ± 3.59	15.87 ± 3.24	22.35 ± 2.86
（n = 49）	治疗后	0.57 ± 0.08	24.56 ± 3.32	10.25 ± 2.56	29.03 ± 3.16
联合组	治疗前	0.82 ± 0.13	31.31 ± 3.62	15.95 ± 3.27	22.41 ± 2.92
（n = 49）	治疗后	0.49 ± 0.05	16.95 ± 2.97	8.33 ± 2.26	35.67 ± 3.55
t/P 单药组内值		11.320/ <0.001	9.591/ <0.001	9.527/ <0.001	10.970/ <0.001
t/P 联合组内值		16.580/ <0.001	21.470/ <0.001	13.420/ <0.001	2.594/0.011
t/P 治疗后组间值		5.936/ <0.001	11.940/ <0.001	3.936/ <0.001	9.779/ <0.001

床常用于肺气肿、支气管哮喘等疾病的治疗[12-13]。本结果显示,特布他林联合白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠对支气管哮喘患者进行治疗,治疗总有效率相对较高,体现出二者联合的临床应用价值。

支气管哮喘的发生发展通常伴随着炎性反应[14-15]。hs-CRP、IL-17、TNF-α 是临床较为常用的评价机体炎性反应的指标。hs-CRP 是一种主要由肝脏组织合成的 C 反应蛋白,是一种常用的机体炎性反应的标志物[16];IL-17 是一种致炎因子,由活化的 T 细胞产生,能够促进 IL-6、IL-8 等炎性因子的生成,进而诱发炎性反应[17];TNF-α 是一种多功能炎性细胞因子,能够刺激 IL-6、IL-8 等因子的生成,从而使机体产生持续存在的炎性反应[18-20]。本研究结果显示,使用特布他林联合白三烯受体拮抗剂对支气管哮喘患者进行治疗,血清 hs-CRP、IL-17、TNF-α 水平明显下降,出现这一结果的原因可能是使用特布他林进行治疗,能够减轻白三烯导致的机体支气管痉挛,扩张支气管,抑制患者气道炎性反应,从而发挥治疗效果,与鱼建飞等[21]研究结果一致。

支气管哮喘患者抗氧化能力相对较差,氧化应激反应在支气管哮喘的发生发展过程中发挥重要作用[22-23]。GSH-Px、SOD、MDA 是临床较为常用的评价机体氧化应激反应的指标,对 GSH-Px、SOD、MDA 水平进行检测,能够较为准确地评价机体氧化应激反应状况。本结果显示,使用特布他林联合白三烯受体拮抗剂对支气管哮喘患者进行治疗,血清 GSH-Px、SOD、MDA 水平受到明显调控,其原因可能是使用该治疗方案进行治疗能够改善患者气道炎性反应,减轻患者氧化应激损伤,提升患者抗氧化能力。

支气管哮喘的发生发展与患者免疫功能变化密切相关[24]。免疫球蛋白是临床较为常用的评价机体体液免疫功能的指标,对免疫球蛋白水平进行检测,能够较为准确地对机体体液免疫功能变化情况进行评价[25-26]。本结果显示,使用特布他林联合白三烯受体拮抗剂对支气管哮喘患者进行治疗,IgA、IgM、IgG、IgE 水平出现下降,说明二者联合能够改善患者免疫功能,达到治疗目的。

支气管哮喘的发生发展会对患者呼吸功能造成严重的影响[27]。WOB、PIP、Raw、Cdyn 是常用的呼吸力学指标,用于呼吸系统疾病的诊断和临床疗效评价。本结果显示,使用特布他林联合白三烯受体拮抗剂对支气管哮喘患者进行治疗,患者呼吸力学指标水平明显改善,说明二者联合能够提升患者呼吸功能,治疗效果显著。袁小锋等[28]研究发现,支气管哮喘症状的发生发展会对机体呼吸功能造成严重的影响,进行有效的治疗能够改善机体呼吸力学水平,与本研究结果一致。

综上所述,使用特布他林联合白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠对支气管哮喘患者进行治疗,能够抑制炎性反应,提升患者抗氧化能力及免疫功能,改善患者呼吸功能,治疗效果显著,具有一定的临床应用价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈垣、陈华妹:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;肖一佳:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;赵素娥:进行统计学分析;王菊芬:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改

参考文献

[1] Rajaram M, Selvarajan S, Neelamegan R, et al. Effects of genetic polymorphisms in Vitamin D metabolic pathway on Vitamin D level and asthma control in South Indian patients with bronchial asthma [J]. Lung India, 2019, 36(6): 483-491. DOI: 10.4103/lungindia.lungindia_23_19.

[2] Shimoda T, Obase Y, Nagasaka Y, et al. Lung sound analysis can be an index of the control of bronchial asthma[J]. Allergol Int, 2017, 66(1): 64-69. DOI: 10.1016/j.alit.2016.05.002.

[3] 李文开,钟礼立,李云,等. 支气管哮喘急性发作期患儿外周血去整合素金属蛋白酶 8、干扰素调控因子 1 水平观察[J]. 山东医药,2018,58(35):84-86. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.35.023.

[4] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,中华儿科杂志编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)[J]. 中华儿科杂志,2016,54(3):167-181. DOI:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2016.03.003.

[5] 邓俊,梁宇佳,刘春凤,等. 热毒宁注射液联合沙美特罗替卡松粉吸入剂对支气管哮喘患者临床疗效、肺功能及细胞免疫因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(23):180-183. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2015230180.

[6] 陈墩顺,陈飞,宋国强,等. 噻托溴铵联合舒利迭治疗支气管哮喘的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(9):1022-1024,1028. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2018.09.004.

[7] Bergmann KC. Bronchial asthma - many types, different therapies [J]. Dtsch Med Wochenschr, 2016, 141(10): 687-692. DOI: 10.1055/s-0042-104795.

[8] Zhu XH, Tu JW, Dai JH. Clinical effect of fluticasone propionate, montelukast sodium and ketotifen in treatment of cough variant asthma in children[J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2019, 21(4): 393-398. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.04.017.

[9] 施弦,郁峰. 布地奈德联合孟鲁司特对支气管哮喘患儿炎性因子及免疫功能的影响[J]. 中国医药,2018,13(1):55 - 58. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673 - 4777.2018.01.015.

[10] 陈彦君. 孟鲁司特治疗小儿咳嗽变异型哮喘的效果观察[J]. 中国当代医药,2019,26(17):105 - 107,111. DOI:10.3969/j.issn.1674 - 4721.2019.17.032.

(下转 35 页)

论著 · 临床

血清 miR-27 与老年 2 型糖尿病下肢血管病变及 25(OH)D_3 水平的关系

陈云霞, 苏俊平, 刘海勇, 陈雪, 马莹

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划项目(20160283)

作者单位: 061000　河北省沧州市人民医院内分泌科(陈云霞、苏俊平、陈雪、马莹), 血管外科(刘海勇)

通信作者: 陈云霞, E-mail: chenyunxia6991@163.com

【摘　要】 **目的**　分析血清 miR-27 与老年 2 型糖尿病下肢血管病变及 25(OH)D_3 水平的关系。**方法**　选取 2017 年 10 月—2019 年 5 月河北省沧州市人民医院内分泌科确诊老年 2 型糖尿病患者 86 例为 T2DM 组, 并以有无下肢血管病变分为下肢血管病变 (LLPAD) 亚组 44 例和非下肢血管病变(Non-LLPAD) 亚组 42 例; 选择同期医院门诊健康体检者 76 例为对照组, 测定比较各组血清 miR-27 mRNA 表达及 TC、TG、HDL-C、LDL-C、HbA_{1c}、FPG、25(OH)D_3、hs-CRP、Fib 水平。**结果**　T2DM 组 miR-27 mRNA、TC、TG、LDL-C、Fib、HbA_{1c}、hs-CRP、FPG 水平高于对照组, 25(OH)D_3、HDL-C 水平低于对照组(t = 13.371、13.036、25.364、19.698、29.326、38.489、95.524、66.547, 66.241、8.698, P 均 = 0.000); LLPAD 亚组 miR-27 mRNA、TC、TG、LDL-C、Fib、HbA_{1c}、hs-CRP、FPG 水平高于 Non-LLPAD 亚组, 25(OH)D_3、HDL-C 水平低于 Non-LLPAD 亚组(t = 5.275、13.541、26.541、8.965、20.146、14.548、14.369、23.654、7.711、9.491, P 均 = 0.000); miR-27 mRNA 与 25(OH)D_3、HDL-C 呈负相关(r = −0.486、−0.483, P = 0.039、0.039), 与 TC、TG、LDL-C、Fib、HbA_{1c}、hs-CRP、FPG 呈正相关(r = 0.651、0.572、0.494、0.747、0.438、0.523、0.591, P 均 < 0.05); 高水平的 miR-27 mRNA、TC 及低水平的 25(OH)D_3 均为老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变发生的危险因素(OR = 2.437、4.268、13.625, P < 0.05); miR-27 mRNA、25(OH)D_3 两者的 AUC 相近, 均小于 TC; miR-27 mRNA、25(OH)D_3 诊断老年 2 型糖尿病下肢血管病变的敏感度、特异度相近(P > 0.05), 均小于 TC(P < 0.05)。**结论**　老年 2 型糖尿病下肢血管病变患者血清 miR-27 mRNA 水平升高, 与 25(OH)D_3 呈负相关; miR-27、25(OH)D_3 诊断 2 型糖尿病下肢血管病变具有较高的敏感度、特异度, 可作为判定 2 型糖尿病下肢血管病变的生物学标志物。

【关键词】 微小 RNA-27; 糖尿病, 2 型; 下肢血管病变; 25-羟维生素 D_3

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.008

Relationship between serum miR-27 and lower extremity vascular disease and 25(OH) D_3 level in elderly patients with type 2 diabetes mellitus

*Chen Yunxia**, *Su Junping*, *Liu Haiyong*, *Chen Xue*, *Ma Ying*. **Department of Endocrinology*, *Cangzhou People's Hospital*, *Hebei Province*, *Cangzhou* 061000, *China*

Corresponding author: *Chen Yunxia*, *E-mail*: *chenyunxia*6991@163.*com*

Fund program: *Key Research Projects of Medical Science in Hebei Province*(20160283)

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the relationship between serum miR 27 and lower extremity vascular disease and 25 (OH) D_3 level in elderly patients with type 2 diabetes mellitus(T2DM). **Methods**　From October 2017 to May 2019, 86 elderly patients with type 2 diabetes diagnosed by the Department of endocrinology of Cangzhou people's Hospital of Hebei Province were selected as T2DM group. The patients with or without lower extremity vascular disease were divided into lower extremity vascular disease (LLPAD) sub group (44 cases) and non-lower extremity vascular disease (Non-LLPAD) sub group (42 cases). 76 cases of healthy elderly physical examination were selected as the control group. The expression of miR-27 mRNA and the levels of TC, TG, HDL-C, LDL-C, HbA_{1c}, FPG, 25 (OH) D_3, hs-CRP and Fib were measured and compared. **Results**　The levels of miR-27 mRNA, TC, TG, LDL-C, Fib, HbA_{1c}, hs-CRP, and FPG were higher in the T2DM group than in the control group, and 25 (OH) D_3 and HDL-C were lower than those in the control group (t = 13.371, 13.036, 25.364, 19.698, 29.326, 38.489, 95.524, 66.547, 66.241, 8.698, P = 0.000). The levels of miR-27 mRNA, TC, TG, LDL-C, Fib, HbA_{1c}, hs-CRP, and FPG in the LLPAD subgroup were higher than those in the Non-LLPAD subgroup,

and the levels of 25 (OH) D_3 and HDL-C were lower than those in the Non-LLPAD subgroup (t = 5.275, 13.541, 26.541, 8.965, 20.146, 14.548, 14.369, 23.654, 7.711, 9.491, all P = 0.000). miR-27 mRNA was negatively correlated with 25 (OH) D_3 and HDL-C (r = −0.486, −0.483, P = 0.039, 0.039), and positively correlated with TC, TG, LDL-C, Fib, HbA_{1c}, hs-CRP, FPG (r = 0.651, 0.572, 0.494, 0.747, 0.438, 0.523, 0.591, P < 0.05). High levels of miR-27 mRNA, TC and low levels of 25 (OH) D_3 were all risk factors for senile type 2 diabetes with lower extremity vascular disease (OR = 2.437, 4.268, 13.625, P < 0.05). The AUCs of miR-27 mRNA and 25 (OH) D_3 were similar, and were smaller than TC. The sensitivity and specificity of miR-27 mRNA and 25 (OH) D_3 in the diagnosis of lower extremity vascular disease in elderly patients with type 2 diabetes mellitus were similar (P > 0.05). **Conclusion**　The level of serum miR-27 mRNA in elderly patients with type 2 diabetic lower extremity angiopathy was increased, which was negatively correlated with 25 (OH) D_3. miR-27 and 25 (OH) D_3 had high sensitivity and specificity in the diagnosis of type 2 diabetic lower extremity angiopathy, which could be used as biomarkers for the determination of type 2 diabetic lower extremity angiopathy.

【Key words】　miR-27; Type 2 diabetes mellitus; Lower extremity vascular disease; 25(OH) D_3

下肢血管病变(lower limb peripheral arterial disease, LLPAD)是外周动脉疾病的主要表现,2 型糖尿病是 LLPAD 的既定危险因素,2 型糖尿病患者 LLPAD 预后差,进展快,血管系统病变范围更广,更易形成狭窄和闭塞[1]。2 型糖尿病的末梢神经病变导致患者疼痛感丧失和间歇性跛行的频率降低,即使并发 LLPAD,也难被发现,直到病情加重进展,表现为溃疡或坏疽等 LLPAD 末期症状,最终被迫截肢[2]。微小 RNA(miRNA)是一组微小的非编码单链 RNA,通过翻译后 mRNA 切割或降解来调节基因表达[3]。miR-27 在矿物质代谢的调节(磷酸钙稳态)中起重要作用,促进血清 Ca^{2+} 水平升高。研究表明,miR-27 通过其对血管钙化和内皮功能障碍的影响诱导动脉粥样硬化的发生和发展。最近,临床研究提供了支持循环 miR-27 水平升高与动脉粥样硬化性心血管疾病之间关系的证据[4-5]。多项研究表明,血清 miR-27 水平不仅与亚临床动脉粥样硬化有关,而且与冠状动脉疾病有关,表明 miR-27 参与动脉粥样硬化的发生和发展[6]。而关于 miR-27 与老年 2 型糖尿病下肢血管病变的研究较少。25-羟维生素 D_3[25(OH) D_3]与骨代谢密切相关。现分析血清 miR-27 与老年 2 型糖尿病下肢血管病变及 25(OH) D_3 水平的关系,为老年 2 型糖尿病下肢血管病变的治疗提供依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2017 年 10 月—2019 年 5 月河北省沧州市人民医院内分泌科确诊老年 2 型糖尿病患者 86 例为 T2DM 组,符合中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)的诊断标准[7],男 45 例,女 41 例,年龄 60 ~ 87(74.85 ± 13.85)岁;病程 4 ~ 14(9.65 ± 5.41)年;吸烟 40 例,饮酒 35 例 。根据是否发生下肢血管病变,分为下肢血管病变(LLPAD)亚组 44 例和非下肢血管病变(Non-LLPAD) 亚组 42 例。选择同期医院门诊健康体检者 76 例为对照组,对照组无糖尿病或高血压家族史,血压、血脂正常。2 组性别、年龄、基础病、合并症、BMI、吸烟、饮酒情况比较,差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会审批通过,所有受试者均知情同意并签署知情同意书。

表 1　对照组、T2DM 组临床资料比较

项　目		对照组(n = 76)	T2DM 组(n = 86)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]	男	40(52.63)	45(52.32)	0.002	0.969
	女	36(47.37)	41(47.67)		
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)		67.35 ± 11.87	66.37 ± 11.44	0.843	0.615
病程($\bar{x} \pm s$,年)		–	9.93 ± 5.64	–	–
基础病[例(%)]		15(19.73)	16(18.60)	0.995	0.512
合并症[例(%)]		–	11(12.79)	–	–
家族遗传史[例(%)]		–	6(6.97)	–	–
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)		23.54 ± 2.86	22.96 ± 2.69	1.354	0.585
吸烟[例(%)]		34(44.73)	40(46.51)	0.051	0.821
饮酒[例(%)]		30(39.47)	35(40.70)	0.025	0.874
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)		123.96 ± 20.69	145.96 ± 18.54	43.524	0.000
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)		68.54 ± 13.54	88.63 ± 13.65	16.524	0.000

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①年龄≥60 岁,病程均>6 个月;②稳定的血糖降低方案至少 3 个月;③过去 6 个月内无创伤或手术;④无严重的心脑肝肾疾病;⑤代谢稳定至少 6 个月;⑥在过去 1 个月内使用血管超声,下肢血管造影或磁共振成像诊断下肢外周血管疾病,踝臂指数(ankle/brachial index, ABI)<0.9。(2)排除标准:①1 型糖尿病,妊娠糖尿病或其他特定类型的糖尿病;②肝肾功能不全;③甲状腺功能减退症,急性感染,恶性肿瘤或精神疾病。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　miR-27 表达水平检测:抽取研究对象清晨空腹肘静脉血 5 ml 置于普通采血管中,5 000 r/min 离心 5 min,分离血清。采用 Trizol Reagent 试剂(美国 Invitrogen公司)从血清中提取总 RNA;BioPhotometer Plus 核酸蛋白定量检测仪(美国赛默飞世尔公司)分析总 RNA 浓度;SYBR Premix Ex Taq Ⅱ试剂盒(宝日医生物技术北京有限公司)进行实时定量 PCR。PCR 引物的序列如下,miR-27 正向引物 5′-CTTGATCGCAAGGGTTGAGTCT-3′,反向引物 5′-TTGTGTACGTGAGGTGCAGACTGATGC-3′。U6 正向引物 5′-CCTGTGTGACTGGCTTGTGTGATGC-3′;反向引物 5′-TGAGTGCTGACACGAACCTGTGAGT -3′。反应条件为预变性 95℃ 30 s、变性 95℃ 5 s、60℃ 44 s,40 个循环,61℃时采集荧光,用 FX-96 实时荧光定量 PCR 仪(美国伯乐公司)检测其表达量进行结果分析,以 U6 作为内参,采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算 miR-27 相对表达水平。

1.3.2　血清 25(OH)D_3 测定:抽取研究对象清晨空腹肘静脉血 5 ml 置于普通采血管中,5 000 r/min 离心 5 min,分离血清。采用 25(OH)D_3 试剂盒(德国罗氏诊断有限公司)于美国贝克曼 AU-580 全自动生化分析仪测定血清 25(OH)D_3。

1.3.3　血生化指标检测:抽取研究对象清晨空腹肘静脉血 5 ml 置于普通采血管中,5 000 r/min 离心 5 min,分离血清,以美国贝克曼 AU-580 全自动生化分析仪测定空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C);美国伯乐 680 酶标仪测定高敏 C 反应蛋白(hs-CRP);Coatron1800 全自动凝血分析仪(德国美创公司)测定纤维蛋白原(Fib)。

1.3.4　LLPAD 判定:以德国西门子 Acuson SequoiaC512 型彩色多普勒超声诊断仪检测患者足背动脉、胫后动脉、胫前动脉、腘动脉、股动脉内径、斑块大小及狭窄度;动脉内膜增厚(≥1 mm),单发、多发、弥漫性斑块及狭窄(>30%)均为 LLPAD。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;多组间比较采用方差分析;相关性采用 Pearson 分析,采用多因素 Logistic 逐步回归模型分析老年 2 型糖尿病合并下肢血管疾病的影响因素。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　各组相关指标比较　与对照组比较,T2DM 组 miR-27 mRNA、TC、TG、LDL-C、Fib、HbA_{1c}、hs-CRP、FPG 水平升高($P<0.01$),25(OH)D_3、HDL-C 水平降低($P<0.01$);与 Non-LLPAD 亚组比较,LLPAD 亚组 miR-27 mRNA、TC、TG、LDL-C、Fib、HbA_{1c}、hs-CRP、FPG 水平升高($P<0.01$),25(OH)D_3、HDL-C 水平降低($P<0.01$),见表 2。

2.2　miR-27 mRNA 与各指标的相关性分析　miR-27 mRNA 与 25(OH)D_3、HDL-C 呈负相关($P<0.05$),与 TC、TG、LDL-C、Fib、HbA_{1c}、hs-CRP、FPG 呈正相关($P<0.05$),见表 3。

表 2　各组相关指标比较　($\bar{x}\pm s$)

项　目	对照组(n=76)	T2DM 组(n=86)		F/P 组间值	t/P 亚组间值
		Non- LLPAD 亚组(n=42)	LLPAD 亚组(n=44)		
miR-27 mRNA	0.92±0.62	2.33±0.72	2.80±0.31	13.371/0.000	5.275/0.000
25(OH)D_3(nmol/L)	65.32±10.12	41.32±7.52	29.54±11.69	66.241/0.000	7.711/0.000
TC(mmol/L)	4.35±0.46	5.23±0.34	5.96±0.73	13.036/0.000	13.541/0.000
TG(mmol/L)	1.57±0.36	2.29±0.72	2.75±0.28	25.364/0.000	26.541/0.000
HDL-C(mmol/L)	1.69±0.15	1.36±0.43	0.86±0.35	8.698/0.000	9.491/0.000
LDL-C(mmol/L)	2.09±0.42	3.04±0.74	3.73±0.43	19.698/0.000	8.965/0.000
Fib(g/L)	2.45±2.34	5.36±4.17	8.36±4.35	29.326/0.000	20.146/0.000
HbA_{1c}(%)	4.37±0.26	6.26±2.29	8.06±2.57	38.489/0.000	14.548/0.000
FPG(mmol/L)	5.56±0.84	7.01±2.01	9.96±5.50	66.547/0.000	23.654/0.000
hs-CRP(μmol/L)	329.65±11.52	365.23±24.30	380.21±13.10	95.524/0.000	14.369/0.000

表 3　miR-27 mRNA 与各指标的相关性分析

变量	*r* 值	*P* 值
25(OH)D_3	−0.486	0.039
TC	0.651	0.018
TG	0.572	0.028
HDL-C	−0.483	0.039
LDL-C	0.494	0.039
Fib	0.747	0.012
HbA_{1c}	0.438	0.044
FPG	0.591	0.023
hs-CRP	0.523	0.031

2.3　老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变发生的多因素 Logistic 回归分析　高水平的 miR-27 mRNA、TC 及低水平的 25(OH)D_3 均为老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变发生的危险因素（OR = 2.437、4.268、13.625，P < 0.05），见表 4。

2.4　老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变影响因素 ROC 曲线分析　AUC 比较，TC > miR-27 mRNA > 25(OH)D_3，miR-27 mRNA、25(OH)D_3 诊断老年 2 型糖尿病下肢血管病变的敏感度、特异度相近（P > 0.05），均小于 TC（P < 0.05）；TC、miR-27 mRNA、25(OH)D_3 的 cut-off 值为 5.432、2.936、24.413 mmol/L；约登指数为 0.498、0.364、0.369，见表 5、图 1。

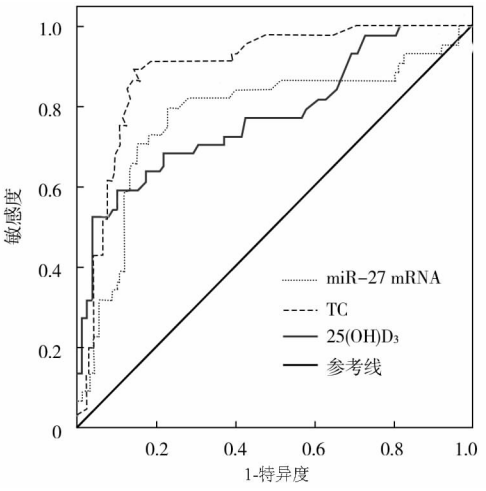


图 1　老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变影响因素 ROC 曲线分析

3　讨　论

糖尿病是严重威胁人类健康的疾病之一。下肢血管疾病是常见的糖尿病严重并发症之一，且发病率逐年上升。糖尿病合并下肢血管疾病的主要病理变化是动脉粥样硬化。据报道，增加的活性氧产物和减少的抗氧化剂在动脉粥样硬化形成中起重要作用。例如，血清超氧化物歧化酶（SOD）和高敏 C 反应蛋白（hs-CRP）水平是 2 型糖尿病伴下肢血管疾病发病的关键。作为抗氧化剂，SOD 主要存在于细胞代谢中，通过有毒自由基歧化为无活性的过氧化氢和氧分子在细胞中发挥保护作用[8]。血糖升高可以提高糖基化蛋白的水平。血糖和糖基化蛋白的自身氧化会增加糖尿病患者的自由基水平，抑制抗氧化能力。糖尿病诱导的氧化应激导致内皮细胞损伤。SOD 在全身血管疾病中起重要作用。研究表明，miR-27 高表达能促进 hs-CRP 表达，抑制 SOD 水平。本研究中，T2DM 组 miR-27 mRNA 水平高于对照组；LLPAD 亚组 miR-27 mRNA 水平高于 Non-LLPAD 亚组，证实了上述结论。

许多证据表明，25(OH)D_3 在高血糖、胰岛素抵抗（IR）和 T2DM 的发展中也有作用，并且有越来越多的研究已经发现其可以降低全身性炎性反应、免疫反应和脂肪酶的代谢，从而降低患心血管疾病的风险。第三次全国健康和营养检查调查（NHANES-Ⅲ）发现，与正常浓度 25(OH)D_3 的居民相比，低浓度 25(OH)D_3 的居民外周动脉疾病的发生率更高。本研究中，与对照组比较，T2DM 组 25(OH)D_3 平降低；与 Non-LLPAD 亚组比较，LLPAD 亚组 25(OH)D_3 水平降低，这与上

表 4　老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变发生的多因素 Logistic 回归分析

自变量	*β* 值	*SE* 值	*Wald* 值	*P* 值	*OR*(95% *CI*)
miR-27 mRNA	0.891	0.398	7.453	0.012	2.437 (1.135 ~ 5.238)
25(OH)D_3	1.454	0.426	11.465	0.011	4.268(1.878 ~ 9.718)
TC	3.435	0.497	13.093	0.009	13.625(9.035 ~ 26.675)

表 5　老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变影响因素 ROC 曲线分析

指标	AUC(95% *CI*)	cut-off 值	约登指数	敏感度	特异度
TC	0.799(0.659 ~ 0.829)	5.432	0.498	0.759	0.739
miR-27 mRNA	0.713(0.675 ~ 0.793)	2.936	0.364	0.663	0.701
25(OH)D_3	0.709(0.663 ~ 0.783)	24.413	0.369	0.670	0.699

述讨论一致。25(OH)D_3 是保护糖尿病患者免于下肢血管疾病发病的一个因素。25(OH)D_3 可能通过以下机制参与糖尿病下肢血管病变:维生素 D 可以通过调节胰腺组织中的维生素 D 受体(VDR)和维生素 D 依赖性钙结合蛋白(DBP)来促进胰腺细胞分泌胰岛素。它也可通过调节炎性细胞因子和抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 γ(PPAR-γ)的表达来降低周围组织的 IR。此外,它还可以通过刺激 PPARδ 和胰岛素受体的基因表达来影响胰岛素敏感性。骨化三醇可以调节肾素—血管紧张素—醛固酮系统(RAAS),抑制肾素的表达,调节合成和分泌。维生素 D 可以上调延迟血管钙化相关蛋白的表达,包括血管内皮生长因子和基质金属蛋白酶 9。

miRNA 是长度约为 23 nt 的内源性小非编码 RNA。血管疾病患者在疾病早期具有某些循环miRNA 水平恒定模式。最近的一项研究表明,血管生物学中的不同 miRNA 可直接或间接地参与血管重塑中基础基因的转录后调控,因此,特定的 miRNA 可以作为潜在的生物标志物。研究表明,基于 miRNA 的方法可以抑制增殖性血管平滑肌细胞,可以预防再狭窄,同时选择性地促进再内皮化和保留内皮细胞功能[9-10]。抑制 miR-27 表达有助于抑制再狭窄和血栓形成,从而保留内皮功能。miR-27 位于 17 号染色体上,是 miRNA 家族的一个亚型,具有自己的启动子区。miR-27 的过度表达被证明涉及多种病理状态,包括癌症和心血管疾病,并且它可以通过调节特定细胞来影响动脉粥样硬化的发展[11-12]。miR-27 的反义敲低,可以防止颈内动脉球囊损伤后新内膜损伤的形成。miR-27 可以通过促进血管生成来加剧动脉钙化和动脉粥样硬化的发生,平滑肌细胞增殖,并通过免疫细胞的 VDR 介导在免疫调节中发挥作用。miR-27 过表达会导致血清甲状旁腺激素(PTH)水平升高。过高的 PTH 水平可能至少通过增加心脏收缩力和心肌钙化而部分促进心血管疾病。miR-27 可通过促进炎性细胞因子(如 IL-6、TNF-α 和 CRP)的分泌来加剧动脉壁的慢性炎性反应。

研究表明[13-15],在外周血管疾病的发病过程中 IL-1、PDGF、TNF-α 等炎性因子的分泌及细胞外基质(ECM)的沉淀均与 25(OH)D_3 表达呈负相关,同时低度表达的 25(OH)D_3 可通过增加细胞周期蛋白依赖性激酶活性,促进细胞增殖,进而使血管内壁增粗狭窄[16-17]。本结果显示,miR-27 mRNA 与 25(OH)D_3 呈负相关,这与上述结论符合。

本结果发现,高水平 miR-27 mRNA 为老年 2 型糖尿病合并下肢血管病变发生的危险因素;miR-27 mRNA、25(OH)D_3 两者的 AUC 相近,均小于 TC;miR-27 mRNA、25(OH)D_3 诊断老年 2 型糖尿病下肢血管病变的敏感度、特异度相近,均小于 TC,说明 miR-27、25(OH)D_3 诊断老年 2 型糖尿病下肢血管病变具有较高的敏感度、特异度,可作为判定老年 2 型糖尿病下肢血管病变的生物学标志物。

综上所述,老年 2 型糖尿病下肢血管病变患者血清 miR-27 水平升高,其与 25(OH)D_3 呈显著负相关;miR-27 诊断 2 型糖尿病下肢血管病变具有较高的敏感度、特异度,可作为判定 2 型糖尿病下肢血管病变的生物学标志物,值得临床推广。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

陈云霞:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;苏俊平:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;刘海勇:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;陈雪:进行统计学分析;马莹:课题设计,论文撰写

参考文献

[1] Menêses AL, Ritti-Dias RM, Parmenter B, et al. Combined Lower Limb Revascularisation and Supervised Exercise Training for Patients with Peripheral Arterial Disease: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials[J]. Sports Med, 2017, 47(5): 987-1002. DOI: 10.1007/s40279-016-0635-5.

[2] Makris GC, Chrysafi P, Little M, et al. The role of intravascular ultrasound in lower limb revascularization in patients with peripheral arterial disease[J]. Int Angiol, 2017, 36(6): 505-516. DOI: 10.23736/S0392-9590.17.03866-4.

[3] Ji J, Xu X, Wang X, et al. Expression of dysregulated miRNA in vivo in DF-1 cells during the course of subgroup J avian leukosis virus infection[J]. Microb Pathog, 2019, 126: 40-44. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.10.027.

[4] Cruz LO, Hashemifar SS, Wu CJ, et al. Excessive expression of miR-27 impairs Treg-mediated immunological tolerance[J]. J Clin Invest, 2017, 127(2): 530-542. DOI: 10.1172/JCI88415.

[5] Zhou B, Li H, Shi J, et al. miR 27 inhibits the NF-κB signaling pathway by targeting leptin in osteoarthritic chondrocytes[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(2): 523-530. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3021.

[6] Machitani M, Sakurai F, Wakabayashi K, et al. MicroRNA miR-27 Inhibits Adenovirus Infection by Suppressing the Expression of SNAP25 and TXN2[J]. J Virol, 2017, 91(12): e00159. DOI: 10.1128/JVI.00159-17.

[7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(7): 447-498. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2014.07.004.

[8] 陈皓, 郑甜, 周琦. 糖脉康颗粒联合鲑鱼降钙素对糖尿病周围神经病变伴骨质疏松患者骨密度、血清 25-羟维生素 D_3 和超氧化物歧化酶的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(17):

1893-1896. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2018.17.021.

[9] Yang F, Chen Q, He S, et al. miR-22 Is a Novel Mediator of Vascular Smooth Muscle Cell Phenotypic Modulation and Neointima Formation[J]. Circulation, 2018, 137(17): 1824-1841. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027799.

[10] Rogler CE, Matarlo JS, Kosmyna B, et al. Knockdown of miR-23, miR-27 and miR-24 Alters Fetal Liver Development and Blocks Fibrosis in Mice[J]. Gene Expr, 2017, 17(2): 99-114. DOI: 10.3727/105221616X693891.

[11] Li YF, Li SH, Liu Y, et al. Long Noncoding RNA CIR Promotes Chondrocyte Extracellular Matrix Degradation in Osteoarthritis by Acting as a Sponge For Mir-27b[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(2): 602-610. DOI: 10.1159/000480532.

[12] 吕燕妮, 付龙生, 钱贻崧. 循环微囊泡 miR-27 a 参与脑缺血小鼠血脑屏障紧密连接损伤的机制研究[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6): 809-813. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2018.06.015.

[13] Ye P, Ke X, Zang X, et al. Up-regulated MiR-27-3p promotes the G1-S phase transition by targeting inhibitor of growth family member 5 in osteosarcoma[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 101(1): 219-227. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.02.066.

[14] 李明,门敏,李楠,王丽萍. α-硫辛酸联合达格列净对 2 型糖尿病患者糖脂代谢和氧化应激的影响[J]. 疑难病杂志,2019,18(9):872-876. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.09.003.

[15] 吴玉文,邓浩华,孙家忠,等. 达格列净联合双歧杆菌三联活菌胶囊治疗 2 型糖尿病患者对糖脂代谢和肠道菌群的影响[J]. 疑难病杂志,2019,18(9):882-886. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.09.005.

[16] Zhang H, Zhang Y, Zhao X, et al. Association of two microRNA polymorphisms miR-27 rs895819 and miR-423 rs6505162 with the risk of cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(29): 46969-46980. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.02.066.

[17] Kara N, Wei C, Commanday AC, et al. miR-27 regulates chondrogenesis by suppressing focal adhesion kinase during pharyngeal arch development[J]. Dev Biol, 2017, 429(1): 321-334. DOI: 10.1016/j.ydbio.2017.06.013.

(收稿日期:2019-09-09)

(上接 29 页)

[11] 黄爱霞,姚国相,金崇武,等. 支气管哮喘合并慢性阻塞性肺疾病患者 HRCT 肺气肿容积测定及其与肺功能的相关性[J]. 中国医药导报,2019,16(2):113-116.

[12] 李红霞. 布地奈德与特布他林联合雾化吸入治疗儿童支气管哮喘急性发作的疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析,2016,16(4):451-453. DOI:10.14009/j.issn.1672-2124.2016.04.008.

[13] 周晓,谢永伟. 特布他林与丙酸倍氯米松联合雾化吸入治疗哮喘急性发作期患者的临床效果[J]. 中国医药,2018,13(3):376-379. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2018.03.014.

[14] Zheng RH, Wang L, Liu XL. Effect of terbutaline combined with budesonide in treatment of bronchial asthma and rehabilitation nursing[J]. Pak J Pharm Sci, 2018, 31(5): 2249-2255.

[15] 高兵,李松,马虹,等. 过敏性哮喘患儿外周血 Th17/Treg 比值变化及其与呼吸功能、免疫球蛋白的相关性[J]. 疑难病杂志,2019,18(6):594-596,601. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.06.013.

[16] 董辉. 黄芪注射液联合糖皮质激素治疗支气管哮喘急性发作期患者疗效及对炎性因子的影响[J]. 河北医药,2017,39(5):683-685,690. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2017.05.011.

[17] 赵彦超,闫洁. 乌司他丁对支气管哮喘患者呼出气一氧化氮及血清 IL-8、IL-17 水平的影响[J]. 山东医药,2016,56(35):96-97,98. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2016.35.033.

[18] 黄小龙. 血清及痰液 MMP、TIMP 及 TNF-α 与支气管哮喘患者气道重塑的关系[J]. 实用临床医药杂志,2016,20(1):52-55. DOI:10.7619/jcmp.201601016.

[19] 张祥乐,何美燕,邓玲,等. 布地奈德福莫特罗吸入辅治哮喘伴慢性阻塞性肺疾病对肺功能及炎性因子的影响[J]. 疑难病杂志,2018,17(1):5-9. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.01.002.

[20] 杨敏,李林瑞,孟燕妮,等. 布地奈德辅助治疗小儿支气管哮喘对 T 淋巴细胞亚群及相关细胞因子的影响[J]. 疑难病杂志,2018,17(3):255-258,263. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2018.03.010.

[21] 鱼建飞,梅玲华,贺兆平,等. 特布他林辅助阿奇霉素序贯治疗小儿肺炎的疗效及其对患儿气道炎症因子的影响[J]. 海南医学,2017,28(1):73-75,76. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2017.01.022.

[22] Kleniewska P, Pawliczak R. The participation of oxidative stress in the pathogenesis of bronchial asthma[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 94: 100-108. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.066.

[23] 舒姣洁,刘思伯,刘国梁,等. 支气管哮喘患者外周血 Th17/Treg 及相关细胞因子的表达及临床意义[J]. 中国当代医药,2019,26(8):18-21. DOI:10.3969/j.issn.1674-4721.2019.08.007.

[24] 王洪源,钱俊峰. 老年支气管哮喘患者免疫功能、炎症因子和 25 羟维生素 D_3 的水平[J]. 中国老年学杂志,2018,38(2):367-369. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2018.02.047.

[25] Youroukova VM, Dimitrova DG, Valerieva AD, et al. Phenotypes determined by cluster analysis in moderate to severe bronchial asthma[J]. Folia Med (Plovdiv), 2017, 59(2): 165-173. DOI: 10.1515/folmed-2017-0031.

[26] 周雪梅,陆立东,黄建萍,等. 匹多莫德治疗支气管哮喘合并反复呼吸道感染患儿的临床研究[J]. 中国药房,2017,28(20):2790-2792. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2017.20.15.

[27] 杨鑫明. 噻托溴铵联合布地奈德雾化吸入治疗急性期支气管哮喘临床评价[J]. 中国药业,2018,27(8):45-48. DOI:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.08.015.

[28] 袁小锋,田霞,李红军,等. 益生菌对支气管哮喘患儿呼吸力学参数、诱导痰黏附因子及白介素的影响[J]. 临床药物治疗杂志,2018,16(7):65-69. DOI:10.3969/j.issn.1672-3384.2018.07.015.

(收稿日期:2019-09-10)

论著 · 临床

维生素 D_3 治疗糖尿病肾病患者的疗效及肾组织足细胞损伤与 ROS、AOPP、SOD 的相关性分析

赵晔，于磊，王秀颖，董丽娜

基金项目：内蒙古自治区自然科学基金项目(2018MS08008)
作者单位：010000　呼和浩特，内蒙古自治区人民医院肾内科
通信作者：于磊，E-mail：lanlife@163.com

【摘　要】 **目的**　分析维生素 D_3 治疗糖尿病肾病(DN)患者肾组织足细胞损伤与活性氧(ROS)、晚期蛋白氧化产物(AOPP)及超氧化物歧化酶(SOD)的相关性。**方法**　选择 2017 年 3 月—2019 年 1 月内蒙古自治区人民医院肾内科诊治 DN 患者 86 例作为研究对象，根据患者尿清蛋白排泄率(UAER)水平分为大量组(UAER≥200 μg/min，n = 46)和微量组(20 μg/min≤UAER < 200 μg/min，n = 40)。所有患者经 6 周的洗脱期后，予骨化三醇 0.25 μg/d 治疗 3 个月。比较 2 组患者治疗前后血清 ROS、AOPP、SOD 及尿足细胞标志蛋白(PCX)、足细胞裂孔膜蛋白(Nephrin)、肾脏组织内 synaptopodin 和 WT-1 表达水平的变化，并分析肾组织足细胞损伤与血清 ROS、AOPP、SOD 的相关性。**结果**　与治疗前比较，2 组患者治疗后血清 ROS、AOPP 水平，尿 PCX、Nephrin 水平及肾脏组织内 synaptopodin、WT-1 表达水平均明显降低，血清 SOD 明显升高；与大量组治疗后比较，微量组上述指标变化更为显著(t = 9.631、6.544、18.729、7.386、25.410、8.602、4.703，P 均 < 0.01)。经 Pearson 相关性分析，患者尿 PCX、Nephrin 及肾脏组织内 synaptopodin、WT-1 表达水平与血清 ROS、AOPP 均呈正相关，与血清 SOD 呈负相关(r/P = 0.781/0.005、0.537/0.014，0.575/ < 0.001、0.684/0.015，0.654/0.035、0.537/0.014，0.374/0.023、0.456/ < 0.001，−0.368/ < 0.001，−0.543/ < 0.001，−0.741/ < 0.001，−0.344/ < 0.001)。**结论**　维生素 D_3 可以一定程度改善 DN 患者足细胞损伤及氧化应激状态，且 DN 患者足细胞损伤与血清 ROS、AOPP 水平呈正相关，与血清 SOD 水平呈负相关。

【关键词】 维生素 D_3；糖尿病肾病；肾组织足细胞损伤；氧化应激；相关性
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.009

The effect of vitamin D_3 on diabetic nephropathy and the relationship between podocyte injury and ROS, AOPP, SOD

Zhao Ye, Yu Lei, Wang Xiuying, Dong Lina. Department of Renal Medicine, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010000, *China*
Corresponding author: Yu Lei, E-mail: lanlife@163.com
Fund program: Inner Mongolia Natural Science Fund Project (2018*MS*0808)

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the relationship between podocyte injury and ROS, AOPP and SOD in DN treated with vitamin D_3. **Methods**　From March 2017 to January 2019, 86 patients with DN diagnosed and treated in the Department of Nephrology of Inner Mongolia People's Hospital were selected as the study objects. According to the level of UAER, the patients were divided into a large number of groups (UAER ≥ 200 μ g/min, n = 46) and a small number of groups (20 μg/min ≤ UAER < 200 μg/min, n = 40). All patients were treated with 0.25 μg/D calcitriol for 3 months after 6 weeks of washout. The changes of serum ROS, AOPP, SOD, PCX, nephrin, synaptopodin and WT-1 in renal tissue were compared before and after treatment, and the correlation between podocyte injury and serum ROS, AOPP, SOD was analyzed. **Results**　Compared with before treatment, the levels of ROS, AOPP, PCX, nephrin in urine, synaptopodin and WT-1 in kidney tissue of the two groups were significantly decreased, and the level of SOD in serum was significantly increased. Compared with a large number of groups, the changes of the above indexes in the micro group were more significant (r = 0.781, 0.537, 0.575, 0.684, 0.654, 0.537, 0.374, 0.456, −0.368, −0.543, −0.741, −0.344, P < 0.05). **Conclusion**　Vitamin D_3 can improve podocyte damage and oxidative stress in DN patients to some extent, and podocyte damage in DN patients is positively correlated with serum ROS, AOPP level, and negatively correlated with serum SOD level.

【**Key words**】 Vitamin D_3; Diabetic nephropathy; Renal tissue podocyte injury; Oxidative stress; Correlation

糖尿病肾病(DN)是临床较为常见的糖尿病微血管并发症,主要以弥漫性肾小球硬化、大量蛋白尿及尿清蛋白排泄率(UAER)水平升高为临床表现[1]。而随着 DN 病情的不断发展,尿蛋白排泄及肾小球破坏逐渐加重,最终造成肾间质、肾小管及肾小球纤维化,是导致终末期肾病的重要影响因素[2]。范廷廷等[3]研究显示,在 DN 发病时,机体足细胞显著减少,且程度与蛋白尿量呈正相关,足细胞数量降低,加速了终末期肾衰竭患者的衰竭速度。研究显示,威廉姆斯肿瘤蛋白-1(WT-1)是一种主要在细胞核上表达的足细胞核蛋白;synaptopodin 是主要在足细胞细胞膜上表达的特异性骨架蛋白,其表达情况可以间接反映肾组织足细胞损伤的程度[4]。另外足细胞裂孔膜蛋白(Nephrin)是一种跨膜蛋白,存在于足细胞裂孔隔膜上,在肾小球滤过功能中起着重要的作用;而足细胞标志蛋白(PCX)是足细胞损伤的标志性物质,正常情况下 2 种物质不在尿液中出现[5]。多项研究显示,肾脏对机体氧化应激反应较为敏感,在 DN 的发生发展过程中作用显著[6]。并发 DN 时,机体会生成更多的血清活性氧(ROS),从而对足细胞的凋亡起到介导作用,造成 PCX 的脱落。Hu 等[7]认为氧化应激状态对 Nephrin 的表达产生一定程度的影响,造成尿蛋白排泄、足细胞脱落及肾损伤的加重。故本研究分析维生素 D_3 治疗的 DN 患者肾组织足细胞损伤与 ROS、晚期蛋白氧化产物(AOPP)及超氧化物歧化酶(SOD)的相关性,为其临床诊治提供参考,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2017 年 3 月—2019 年 1 月内蒙古自治区人民医院肾内科诊治 DN 患者 86 例作为研究对象,根据患者 UAER 分为大量组(UAER ≥ 200 μg/min, n = 46)和微量组(20 μg/min ≤ UAER < 200 μg/min, n = 40)2 组。2 组患者在性别、年龄、糖尿病病史、BMI、血压、血糖及合并症等比较差异无统计学意义(P > 0.05),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　(1)诊断标准:①患者空腹血糖(8 h 内未进任何食物,饮水除外) > 7.0 mmol/L;②伴有典型的高血糖及高血糖危象症状者,随机血糖 > 11.0 mmol/L;③2 h 糖耐量试验血糖 > 11.0 mmol/L;④糖化血红蛋白含量 > 6.5% 者;⑤可伴有不同程度的肾功能不全;⑥排除其他相关原因引起的持续性及间歇性临床蛋白尿;⑦伴有视网膜病变者;⑧肾活检确诊[8]。(2)纳入标准:①符合上述 DN 诊断标准者;②临床资料完整者。(3)排除标准:①合并急性、慢性炎性反应者;②妊娠、哺乳期患者;③合并其他继发性或原发性肾病者;④合并严重精神疾病、心脑血管疾病及肝脏疾病者;⑤对维生素 D_3 过敏者;⑥6 个月内应用抗氧化剂、血管紧张素受体拮抗剂等药物者;⑦依从性差,中途退出者。

1.3　治疗方法　所有患者均给予高血压和糖尿病饮食教育,治疗期间使用胰岛素维持血糖在正常水平。对于高血压患者给予适量的 ARB 或 ACEI 类药物控制血压。患者于 6 周洗脱期后,以骨化三醇(青岛正大海尔制药有限公司生产)0.25 μg/d 口服,治疗 3 个月。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　血清 ROS、AOPP 及 SOD 水平测定:于治疗前后清晨空腹抽取患者肘静脉血 2 ml,离心取上清,采用比色法测定血清 ROS、AOPP 及 SOD 水平。

1.4.2　尿 PCX、Nephrin 水平测定:收集患者治疗前、治疗 3 个月后晨尿 10 ml,采用酶联免疫吸附法测定 PCX、Nephrin,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,操作方法严格按照说明书执行。

表 1　2 组患者基线资料比较

项　目	大量组(n = 46)	微量组(n = 40)	t/χ^2 值	P 值
男/女[例(%)]	25(54.35)/21(45.65)	23(57.50)/17(42.50)	0.086	0.769
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	51.13 ± 4.62	51.21 ± 4.59	0.468	0.663
糖尿病病史($\bar{x} \pm s$,年)	9.12 ± 2.15	9.06 ± 2.08	0.131	0.448
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)	23.51 ± 1.26	23.62 ± 1.22	0.410	0.341
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	87.63 ± 3.57	87.73 ± 3.55	0.130	0.448
收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	134.69 ± 5.37	135.02 ± 5.21	0.288	0.387
空腹血糖($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	7.81 ± 0.89	7.76 ± 0.99	0.247	0.806
合并症[例(%)]				
血脂异常	15(32.61)	16(40.00)	0.507	0.476
结节硬化型 DN	16(34.78)	15(37.50)	0.090	0.793
肾小球弥漫硬化型 DN	13(28.26)	14(35.00)	0.451	0.502

1.4.3　肾脏组织内 synaptopodin 和 WT-1 表达测定：采用 10% 甲醛对肾脏穿刺活检肾组织进行固定，石蜡切片，抗原采用 95℃ 微波修复 10 min。以小牛血清在室温下封闭 20 min；再向其中加入小鼠抗人 synaptopodin 单克隆抗体（上海酶联生物科技有限公司），在 4℃ 条件下孵育 12 h；采用磷酸盐缓冲液洗片 5 min/次，共 3 次。兔抗小鼠 IgG 经异硫氰酸荧光素［赛默飞世尔科技（中国）有限公司］进行标记，在室温条件下孵育 20 min；采用磷酸盐缓冲液洗片 5 min/次，共 3 次；再向其中加入兔抗人 WT-1 多克隆抗体（北京义翘神州生物技术有限公司），在 4℃ 条件下孵育 12 h；采用磷酸盐缓冲液洗片 5 min/次，共 3 次。羊抗兔 IgG 采用罗丹明［赛默飞世尔科技（中国）有限公司］标记，在室温条件下孵育 20 min。采用磷酸盐缓冲液洗片 5 min/次，共 3 次，封片。采用激光共聚焦荧光显微镜（EVOS 型，赛默飞世尔公司）双荧光集成图像对 synaptopodin 和 WT-1 染色分布情况进行观察，并采用 Imagerpro5.0 图像分析软件对 synaptopodin 和 WT-1 阳性百分比进行计算。

1.5　统计学方法　采用 SPSS 20.00 软件对数据进行统计学分析。正态分布的计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用 t 检验；计数资料以频数或率（%）表示，行 χ^2 检验；对 DN 患者肾组织足细胞损伤与 ROS、AOPP 及 SOD 的相关性采用 Pearson 法进行分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组血清 ROS、AOPP 及 SOD 水平变化　与治疗前比较，治疗 3 个月后 2 组患者血清 ROS、AOPP 水平均明显降低，血清 SOD 明显升高；与大量组比较，治疗后微量组上述指标变化更为显著（$P<0.01$），见表 2。

2.2　2 组尿 PCX 及 Nephrin 水平变化　与治疗前比较，治疗 3 个月后 2 组患者尿 PCX 及 Nephrin 水平均明显降低；与大量组比较，治疗后微量组患者上述指标降低更为显著（$P<0.01$），见表 3。

2.3　2 组肾脏组织内 synaptopodin 和 WT-1 表达水平比较　与治疗前比较，治疗 3 个月后 2 组患者肾脏组织内 synaptopodin 和 WT-1 表达水平均明显降低；与大量组比较，治疗后微量组患者上述指标降低更为显著（$P<0.01$），见表 4。

2.4　尿 PCX、Nephrin 与血清 ROS、AOPP、SOD 水平相关性分析　经 Pearson 相关性分析，患者尿 PCX、Nephrin 水平与血清 ROS、AOPP 呈正相关，与血清 SOD 呈负相关（$P<0.05$），见表 5。

表 3　2 组患者治疗前后尿 PCX 及 Nephrin 水平变化　（$\bar{x} \pm s$）

组　别	时间	PCX（μg/L）	Nephrin（μg/mg）
微量组	治疗前	21.32 ± 3.26	31.89 ± 4.68
（n = 40）	治疗后	8.27 ± 1.08	16.78 ± 2.51
大量组	治疗前	25.51 ± 3.19	38.82 ± 4.89
（n = 46）	治疗后	14.53 ± 1.95	24.36 ± 2.74
t/P 微量组内值		25.602/ <0.001	18.991/ <0.001
t/P 大量组内值		18.905/ <0.001	16.483/ <0.001
t/P 治疗后组间值		18.729/ <0.001	7.386/ <0.001

表 4　2 组患者治疗前后肾脏组织内 synaptopodin 和 WT-1 表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$，%）

组　别	时间	synaptopodin	WT-1
微量组	治疗前	27.16 ± 2.17	25.29 ± 3.47
（n = 40）	治疗后	11.05 ± 1.06	12.35 ± 2.01
大量组	治疗前	29.02 ± 2.09	26.94 ± 3.55
（n = 46）	治疗后	18.34 ± 1.58	16.22 ± 2.16
t/P 微量组内值		44.627/ <0.001	21.494/ <0.001
t/P 大量组内值		26.409/ <0.001	16.605/ <0.001
t/P 治疗后组间值		25.410/ <0.001	8.602/ <0.001

表 5　尿 PCX、Nephrin 水平与血清 ROS、AOPP 及 SOD 水平的相关性分析

变　量	ROS		AOPP		SOD	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
PCX	0.781	0.005	0.537	0.014	−0.368	<0.001
Nephrin	0.575	<0.001	0.684	0.015	−0.543	<0.001

表 2　2 组患者治疗前后血清 ROS、AOPP、SOD 水平变化　（$\bar{x} \pm s$）

组　别	时间	ROS（U/ml）	AOPP（μmol/L）	SOD（U/ml）
微量组	治疗前	487.23 ± 46.29	37.53 ± 3.69	41.02 ± 6.87
（n = 40）	治疗后	325.82 ± 34.62	28.35 ± 2.91	59.67 ± 7.39
大量组	治疗前	495.31 ± 46.53	39.82 ± 3.74	37.89 ± 6.92
（n = 46）	治疗后	397.65 ± 34.36	32.69 ± 3.02	52.31 ± 7.06
t/P 微量组内值		18.453/ <0.001	12.676/ <0.001	12.060/ <0.001
t/P 大量组内值		10.962/ <0.001	9.630/ <0.001	9.549/ <0.001
t/P 治疗后组间值		9.631/ <0.001	6.544/ <0.001	4.703/ <0.001

2.5　肾脏组织内 synaptopodin 和 WT-1 与血清 ROS、AOPP、SOD 水平相关性分析　经 Pearson 相关性分析，患者 synaptopodin 和 WT-1 表达水平与血清 ROS、AOPP 呈正相关，与血清 SOD 呈负相关（$P<0.05$），见表 6。

表 6　synaptopodin 和 WT-1 表达水平与血清 ROS、AOPP 及 SOD 水平的相关性分析

变　量	ROS		AOPP		SOD	
	r 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值
synaptopodin	0.654	0.035	0.537	0.014	−0.741	<0.001
WT-1	0.374	0.023	0.456	<0.001	−0.344	<0.001

3　讨　论

足细胞是一种终末分化的，位于肾小球脏层的上皮细胞，呈现多突状，是肾小球滤膜的重要组成部分，经分化成熟后，一般不可再生[9]。DN 患者在早期发生足细胞损伤时，主要以足突融合、细胞变性肥大、足细胞密度和数量的减少为主要临床表现[10]。另外，足细胞损伤还会造成机体产生大量的蛋白尿，Nephrin 是一种在足细胞裂孔膜上特异性表达的蛋白质，在肾小球机械和电荷屏障功能中发挥重要的作用，其异常表达可以一定程度反映肾脏足细胞损伤情况[11]。Zhang 等[12]研究显示，早期 DN 患者出现 Nephrin 表达量代偿性增加，从而引起其膜上的骨架蛋白发生重新分布，进而引起骨架上的 Nephrin 蛋白逐渐脱离出来，随尿液逐渐向体外排出；另外，此时患者的肾小球屏障也遭到一定程度的破坏，形成蛋白尿。PCX 是一种表达于足细胞的唾液酸黏蛋白分子，并存在于细胞顶膜位置，带负电，参与肾小球分子屏障和电荷屏障的形成[13]。Fan 等[14]认为对于足细胞损伤，PCX 蛋白表达情况可作为一种标志物。骨化三醇除具有钙磷代谢调节作用外，还可对 RAS 系统、活化免疫细胞增殖和细胞外基质沉淀起到抑制作用，改善机体应激状态，从而起到保护肾脏的作用[15]。本研究显示，对于大量和微量蛋白尿患者，骨化三醇均可减少尿 PCX、Nephrin 及 synaptopodin、WT-1 的生成，改善机体应激反应。Zhu 等[16]研究认为，高糖环境下对肾小球足细胞进行培养，可增加 Col-Ⅳ蛋白、纤维连接蛋白的分泌，加入维生素 D_3 后会缓解上述症状，改善足细胞损伤。Yang 等[17]研究认为维生素 D_3 可以抑制肾素形成、下调 RAS，从而对系膜细胞增殖情况产生抑制效果，进而改善足细胞损伤。

WT-1 和 synaptopodin 蛋白是肾小球足细胞分化成熟的标志物，其中 synaptopodin 蛋白在足突活动中起着重要作用，故其表达水平变化会造成足突功能和结构的异常[18-19]。本研究结果显示，WT-1 和 synaptopodin 蛋白表达与血清 ROS、AOPP 水平呈正相关，与血清 SOD 水平呈负相关。这主要是由于氧化应激反应在 DN 的发生发展过程中起着重要的作用，DN 患者抗氧化功能发生缺陷时，容易发生肾小球硬化及足细胞损伤[20-22]。SOD 是机体内对抗氧化损伤的一种重要酶，可特异性地对生物活性氧进行有效清除，通过酶促反应将 O_2^- 转化为 H_2O_2，再经过谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶将 H_2O_2 分解为水和氧气，对脂质过氧化进行阻止，避免细胞膜损伤[23-25]。当 WT-1 和 synaptopodin 蛋白表达水平升高时，表明足细胞损伤程度较高，而具有抗氧化损伤的 SOD 消耗较多，血清水平降低，呈负相关。对于氧化应激指标与尿 PCX、Nephrin 的相关性，Bose 等[26]研究认为，ROS 可以对足细胞产生直接性的攻击效果，并对足细胞尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶进行有效激活，可促进更多的 ROS 分泌合成。另外，ROS 还可对 α3β1 整合素的表达起到抑制效果，最终造成机体脂质过氧化的发生，损伤足细胞。由于 DN 患者血糖较高，还可通过氨基己糖途径、PKC 途径、多元醇途径等增加 ROS 的生成，进而对 p38MAPK 途径有效激活，并通过 ERK1/2 磷酸化改变足突的形态，最终造成足细胞凋亡及 PCX 的脱落。故 ROS 水平与尿 PCX 呈正相关。Trohatou 等[27]通过体外及体内试验研究显示，应激状态下，AOPP 的不断积累造成体内超氧化物不断增加，可上调 Bax、p56 表达，增加 Caspase-3 活性，引发肾小球基质、白蛋白排泄增多，最终造成足细胞凋亡的发生。因此血清 AOPP 水平与足细胞损伤呈正相关。

综上所述，维生素 D_3 可以一定程度改善 DN 患者足细胞损伤及氧化应激状态，且 DN 患者足细胞损伤与血清 ROS、AOPP 水平呈正相关，与血清 SOD 水平呈负相关，具有一定的临床应用价值。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

赵晔：整理资料，分析资料，撰写论文；于磊：修改总指导；王秀颖：收集整理资料，分析数据，图表设计；董丽娜：查找参考书籍，收集资料

参考文献

[1]　Sharma D, Bhattacharya P, Kalia K, et al. Diabetic nephropathy: New insights into established therapeutic paradigms and novel molecular targets[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2017, 128(6): 91-108. DOI:10.1016/j.diabres.2017.04.010.

[2]　Mestry SN, Dhodi JB, Kumbhar SB, et al. Attenuation of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats by Punica grana-

tum Linn. leaves extract[J]. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 2017, 7(3): 273-280. DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.06.008.

[3] 范廷廷,董丹,张鲁,等. 糖尿病肾病足细胞损伤早期诊断的研究进展[J]. 中国实验诊断学,2017,21(7):1285-1287. DOI: 10.11656/j.issn.1672-1519.2017.11.19.

[4] Wang XX, Levi J, Luo Y, et al. SGLT2 protein expression is increased in human diabetic nephropathy SGLT2 protein inhibition decreases renal lipid accumulation, inflammation, and the development of nephropathy in diabetic mice[J]. Journal of Biological Chemistry, 2017, 292(13): 5335-5348. DOI: 10.1074/jbc.m117.779520.

[5] Li X, Gao Z, Gao H, et al. Nephrin loss is reduced by grape seed proanthocyanidins in the experimental diabetic nephropathy rat model[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 16(6): 9393-9400. DOI:10.3892/mmr.2017.7837.

[6] 朱晓娜,王玉环,吴娟娟,等. VEGF 及 TRPC6 的表达与糖尿病肾病大鼠足细胞损伤的相关机制[J]. 南方医科大学学报,2018,38(3):296-304. DOI:10.3969/j.issn.1673-4254.2018.03.09.

[7] Hu M, Wang R, Li X, et al. Lnc RNA MALAT 1 is dysregulated in diabetic nephropathy and involved in high glucose-induced podocyte injury via its interplay with β-catenin[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2017, 21(11): 2732-2747. DOI: 10.1111/jcmm.13189.

[8] Tong M, Wang Y, Ni J, et al. Clinical features of patients treated by peritoneal dialysis for over a decade[J]. Am J Clin Exp Urol, 2017, 5(3):49-54. DOI:10.1186/s12944-017-0522-6.

[9] Al-Rasheed NM, Bassiouni YA, Hasan IH, et al. Simvastatin ameliorates diabetic nephropathy by attenuating oxidative stress and apoptosis in a rat model of streptozotocin-induced type 1 diabetes[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 105(6): 290-298. DOI:10.1016/j.biopha.2018.05.130.

[10] Barutta F, Grimaldi S, Gambino R, et al. Dual therapy targeting the endocannabinoid system prevents experimental diabetic nephropathy[J]. Nephrology Dialysis Transplantation, 2017, 32(10): 1655-1665. DOI:10.1093/ndt/gfx010.

[11] Wang Q, Li R, Li W, et al. Protective Effect of Valsartan on Podocyte Injury in Rats with Diabetic Nephropathy[J]. American Journal of Life Sciences, 2018, 6(3): 47-51. DOI: 10.3892/etm.2017.5621.

[12] Zhang L, Zhang Q, Liu S, et al. DNA methyltransferase 1 may be a therapy target for attenuating diabetic nephropathy and podocyte injury[J]. Kidney International, 2017, 92(1): 140-153. DOI: 10.1016/j.kint.2017.01.010.

[13] 刘倩, 杨伏猛, 赵绍林, 等. 血清游离脂肪酸和尿足细胞标志蛋白检测在 2 型糖尿病肾病中的诊断价值[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(3): 189-192. DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2017.03.09.

[14] Fan Y, Zhang J, Xiao W, et al. Rtn1a-mediated endoplasmic reticulum stress in podocyte injury and diabetic nephropathy[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 323-329. DOI:10.1038/s41598-017-00305-6.

[15] 何立芳,李青科,张秀香,等. 骨化三醇对糖尿病肾病患者尿白蛋白排泄率影响的研究[J]. 河北医科大学学报,2017,38(2):142-145. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2017.02.005.

[16] Zhu XN, Wang YH, Wu JJ, et al. Correlation between expressions of VEGF and TRPC6 and their roles in podocyte injury in rats with diabetic nephropathy[J]. Journal of Southern Medical University, 2018, 38(3): 296-304. DOI:10.1039/C8RA07935H.

[17] Yang H, Wu S. Ligustrazine attenuates renal damage by inhibiting endoplasmic reticulum stress in diabetic nephropathy by inactivating MAPK pathways[J]. RSC Advances, 2018, 8(39): 21816-21822. DOI:10.1039/c8ra01674g.

[18] Xu XH, Ding DF, Yong HJ, et al. Resveratrol transcriptionally regulates miRNA-18a-5p expression ameliorating diabetic nephropathy via increasing autophagy[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(21): 4952-4965. DOI:10.1111/jre.12418.

[19] Pan Y, Jiang S, Hou Q, et al. Dissection of glomerular transcriptional profile in patients with diabetic nephropathy: SRGAP2a protects podocyte structure and function[J]. Diabetes, 2018, 67(4): 717-730. DOI:10.2337/db17-0755.

[20] Sha J, Sui B, Su X, et al. Alteration of oxidative stress and inflammatory cytokines induces apoptosis in diabetic nephropathy[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 16(5): 7715-7723. DOI: 10.3892/mmr.2017.7522.

[21] 蒙军平,张涵,赵洁,等. 尿液 RBP 和 ALB 在早期糖尿病肾病中的诊断价值及其与外周血 MCP-1 表达的关系[J]. 疑难病杂志, 2019,18(1):48-51,56. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.01.012.

[22] 管青聪,柯沙沙,徐芳,等. 瑞舒伐他汀联合羟苯磺酸钙治疗Ⅲ期和Ⅳ期糖尿病肾病的临床效果[J]. 中国医药,2019,14(8): 1181-1184. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.08.015.

[23] Hong YA, Lim JH, Kim MY, et al. Extracellular superoxide dismutase attenuates renal oxidative stress through the activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase in diabetic nephropathy[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2018, 28(17): 1543-1561. DOI:10.1089/ars.2017.7207.

[24] 刘晶晶,卢丽,胡凤琪,等. 红花黄色素对早期 2 型糖尿病肾病患者胰岛素抵抗和血液高凝状态的影响[J]. 疑难病杂志,2019,18(8):805-808. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.08.012.

[25] 高俊杰,王卫松,汪芳丽,等. 舒洛地特治疗糖尿病肾病的效果[J]. 中国医药导报,2019,16(4):153-156.

[26] Bose M, Almas S, Prabhakar S. Wnt signaling and podocyte dysfunction in diabetic nephropathy[J]. Journal of Investigative Medicine, 2017, 65(8): 1093-1101. DOI:10.1136/jim-2017-000456.

[27] Trohatou O, Tsilibary EF, Charonis A, et al. Vitamin D_3 ameliorates podocyte injury through the nephrin signalling pathway[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2017, 21(10): 2599-2609. DOI:10.1111/jcmm.13180.

(收稿日期:2019－08－20)

论著 · 临床

丙硫氧嘧啶联合比索洛尔治疗甲状腺功能亢进患者的效果及其对肝功能、心功能的影响

袁小燕, 杨朝霞, 李为, 许梦君, 朱现丽

作者单位: 412000　株洲, 湖南中医药高等专科学校附属第一医院/湖南省直中医医院内分泌科
通信作者: 袁小燕, E-mail: yib0303@163.com

【摘　要】 **目的**　观察丙硫氧嘧啶联合比索洛尔治疗甲状腺功能亢进患者的效果及其对肝、心功能的影响。**方法**　选取 2017 年 1 月—2019 年 1 月湖南中医药高等专科学校附属第一医院内分泌科治疗甲状腺功能亢进患者 90 例, 随机数字表法分为对照组、联合组, 各 45 例。对照组患者口服丙硫氧嘧啶, 联合组口服丙硫氧嘧啶、比索洛尔, 疗程均为 3 个月。比较 2 组患者治疗效果, 甲状腺功能、肝功能及心功能指标, 不良反应发生率。**结果**　联合组总有效率为 97.78%, 高于对照组的 84.44% (χ^2/P = 4.939/0.026)。治疗后联合组 T_3、T_4、FT_3、FT_4 指标水平均低于对照组, TSH 高于对照组 (t/P = 6.114/0.000、4.426/0.000、10.630/0.000、5.204/0.000、9.493/0.000)。治疗后联合组 AST、ALT、ALP、TBil 水平低于对照组 (t/P = 8.810/0.000、9.980/0.000、13.980/0.000、4.026/0.000)。治疗后联合组 LVEF、左室高峰射血率 (PER) 和左室高峰充盈率 (PFR) 指标水平高于对照组 (t/P = 5.506/0.000、7.075/0.000、3.258/0.000)。联合组患者不良反应总发生率为 13.33%, 高于对照组 11.11%, 2 组比较差异无统计学意义 (P > 0.05)。**结论**　丙硫氧嘧啶联合比索洛尔治疗甲状腺功能亢进患者的效果显著, 并能有效改善甲状腺功能及肝、心功能, 且安全性好。

【关键词】 丙硫氧嘧啶; 比索洛尔; 甲状腺功能亢进; 肝功能

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.010

Effect of propylthiouracil combined with bisoprolol on hyperthyroidism and its influence on liver and heart function

Yuan Xiaoyan, Yang Zhaoxia, Li Wei, Xu Mengjun, Zhu Xianli. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Hunan Traditional Chinese Medical College, Hunan Province, Zhuzhou 412000, *China*
*Corresponding author: Yuan Xiaoyan, E-mail: yib*0303@163.*com*

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effect of propylthiouracil combined with bisoprolol in the treatment of hyperthyroidism and its effect on liver and heart function. **Methods**　Ninety patients with hyperthyroidism were selected from the Department of Endocrinology of the First Affiliated Hospital of Hunan College of Traditional Chinese Medicine from January 2017 to January 2019. Random number table method was divided into control group and combined group, 45 cases each. The patients in the control group were given propylthiouracil orally, and the patients in the combined group were given propylthiouracil and bisoprolol orally. After 3 months the therapeutic effect, thyroid function, liver function and cardiac function indexes, and the incidence of adverse reactions were compared between the two groups. **Results**　The total effective rate of the combined group was higher than the control group (97.78% vs. 84.44%, χ^2/P = 4.939/0.026). After treatment, the levels of T3, T4, FT3 and FT4 in the combined group were lower than those in the control group, and TSH was higher than the control group (t/P = 6.114/0.000, t/P = 4.426/0.000, t/P = 10.630/0.000, t/P = 5.204/0.000, t/P = 9.493/0.000). The levels of AST, ALT, ALP and TBil in the combined group were lower than those in the control group (t/P = 8.810/0.000, t/P = 9.980/0.000, t/P = 13.980/0.000, t/P = 4.026/0.000). After treatment, the LVEF, left ventricular peak ejection rate (PER) and left ventricular peak filling rate (PFR) levels were higher in the combined group than in the control group (t/P = 5.506/0.000, t/P = 7.075/0.000, t/P = 3.258/0.000). The total incidence of adverse reactions was 13.33% in the combined group, which was 11.11% higher than that in the control group. There was no significant difference between the two groups (P > 0.05). **Conclusion**　Propylthiouracil combined with bisoprolol in the treatment of patients with hyperthyroidism has a significant effect, and can effectively improve the thyroid function and liver, heart function, with good safety.

【**Key words**】 Propylthiouracil; Bisoprolol; Hyperthyroidism; Liver function

甲状腺功能亢进症简称甲亢，一般临床表现为甲状腺肿大，肢体乏力、多汗、心动过速、体质量相对减轻及食欲亢进等，且多发于女性。甲亢可分为原发性、继发性和功能性腺瘤 3 种[1]，其中原发性甲亢是由自身免疫功能下降引起，为常见性免疫系统疾病，其表现不仅包括甲状腺病变，同时还会累及全身各个器官组织。例如，在甲亢病情发展进程中，患者的心脏出现收缩、舒张功能增强的情况，对心脏功能造成损害，或出现皮损、眼病及肝功能异常、受损等。因此，在甲亢的治疗过程中，同时还要注意降低对心功能、肝功能的损害[2]。在临床上主要以抗甲状腺一类药物来抑制甲状腺激素的合成及释放，促使血清 TRAb 转阴，从而达到治疗目的。现观察丙硫氧嘧啶联合比索洛尔治疗甲亢患者的临床效果及安全性，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　2017 年 1 月—2019 年 1 月湖南中医药高等专科学校附属第一医院/湖南省直中医医院内分泌科治疗甲状腺功能亢进患者 90 例，男 50 例，女 40 例；采用完全随机数字表法将患者分为对照组、联合组，各 45 例。对照组男 32 例，女 13 例，年龄 24 ~ 75（43.28 ± 12.52）岁；病程 3 ~ 15（5.96 ± 2.42）个月；联合组男 33 例，女 12 例，年龄 23 ~ 73（42.25 ± 12.21）岁；病程 4 ~ 16（5.87 ± 2.52）个月。2 组患者的性别、年龄及病程等一般资料比较差异无统计学意义（$P > 0.05$），具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准，患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　（1）纳入标准：①患者均符合甲亢诊断标准[3]；②合并多汗、乏力、心悸、食欲减退等临床症状；③对本次研究用药无过敏史。（2）排除标准：①并发感染或心肌梗死等其他急性疾病；②严重胃肠道疾病、营养不良；③严重心功能、肝功能受损；④对研究药物过敏者。

1.3　治疗方法　对照组患者口服丙硫氧嘧啶（上海朝晖药业有限公司生产）100 mg/次，3 次/d，联合组患者在对照组治疗基础上加服比索洛尔（北京华素制药股份有限公司生产）6 mg/次，1 次/d，根据患者的病情增减用药剂量。2 组患者均连续用药治疗 3 个月进行指标检测和疗效评价。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　甲状腺功能检测：于治疗前、后抽取患者空腹肘静脉血 5 ml，离心取上清液放置于冷冻箱内储存备用，通过直接化学发光法检测 T_3、T_4、FT_3、FT_4 及 TSH 水平。

1.4.2　肝功能指标检测：治疗前、后采用西门子全自动生化分析仪检测 AST、ALT、碱性磷酸酶（ALP）及总胆红素（TBil）水平。

1.4.3　心功能指标检测：患者采取平卧位或者左侧卧位，采用飞利浦 EPIQ7 彩色心脏多普勒超声检测仪、安装 M3S 探头，频率 2.0 ~ 4.0 MHz，通过多平面扫查，观察患者左室射血分数（LVEF）、左室高峰射血率（PER）、左室高峰充盈率（PFR）。

1.4.4　不良反应观察：观察患者治疗后出现的不良反应症状，如腹胀、乏力、心悸及体质量减轻的情况，并计算其发生率。

1.5　疗效判定标准[4]　显效：临床症状消失或得到显著改善，甲状腺功能恢复趋于正常，心电图检查结果趋于正常；有效：临床症状有所好转，甲状腺功能得到缓解，有改善，心功能指标有所缓解；无效：临床症状、甲状腺功能指标无变化甚至加重。总有效率 =（显效 + 有效）/总例数 × 100%。

1.6　统计学方法　采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析。计数资料采用频数或率（%）描述，组间比较采用 χ^2 检验；正态分布的计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用独立样本 t 检验，治疗前后比较采用配对 t 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组治疗效果比较　治疗 3 个月后，联合组总有效率为 97.78%，高于对照组的 84.44%（$P < 0.05$），见表 1。

表 1　2 组患者治疗效果比较　［例（%）］

组　别	例数	显效	有效	无效	总有效率（%）
对照组	45	18（40.00）	20（44.44）	7（15.56）	84.44
联合组	45	24（48.89）	20（44.44）	1（2.22）	97.78
U/χ^2 值			$U = 2.753$		$\chi^2 = 4.939$
P 值			0.019		0.026

2.2　2 组甲状腺功能指标比较　治疗前，2 组 T_3、T_4、FT_3、FT_4 和 TSH 水平比较差异无统计学意义（$P > 0.05$）；治疗 3 个月后，2 组 T_3、T_4、FT_3、FT_4 均下降，TSH 均升高（$P < 0.01$），且联合组各指标改善幅度大于对照组（P 均 < 0.01），见表 2。

2.3　2 组肝功能指标比较　治疗前，2 组 AST、ALT、ALP 和 TBil 指标比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）；治疗 3 个月后，2 组 AST、ALT、ALP 均降低，TBil 均升高，且联合组 AST、ALT、ALP、TBil 均低于对照组（P 均 < 0.01）。见表 3。

表 2　2 组患者治疗前后甲状腺功能指标比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	T_3(ng/ml)	T_4(ng/ml)	FT_3(pmol/L)	FT_4(pmol/L)	TSH(mIU/L)
对照组	治疗前	4.03 ±1.87	16.03 ±3.61	19.81 ±5.23	14.56 ±3.23	0.53 ±0.15
(n =45)	治疗后	2.67 ±0.74	11.62 ±2.13	14.12 ±3.21	11.13 ±2.52	3.21 ±0.62
联合组	治疗前	3.95 ±1.91	15.85 ±3.73	19.13 ±5.32	13.94 ±3.73	0.51 ±0.14
(n =45)	治疗后	1.92 ±0.36	9.75 ±1.87	7.35 ±2.82	8.53 ±2.21	4.96 ±1.07
t/P 对照组内值		4.536/0.000	7.058/0.000	6.220/0.000	5.616/0.000	28.180/0.000
t/P 联合组内值		7.006/0.000	15.470/0.000	13.120/0.000	8.371/0.000	27.660/0.000
t/P 治疗后组间值		6.114/0.000	4.426/0.000	10.630/0.000	5.204/0.000	9.493/0.000

表 3　2 组患者治疗前后肝功能指标比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	TBil(μmol/L)
对照组	治疗前	63.08 ±11.12	65.83 ±14.82	173.12 ±14.32	13.21 ±1.53
(n =45)	治疗后	37.65 ±3.91	38.93 ±3.42	132.56 ±11.23	15.65 ±2.50
联合组	治疗前	65.23 ±12.10	66.12 ±15.91	170.45 ±15.12	13.25 ±1.56
(n =45)	治疗后	30.19 ±4.12	31.51 ±3.63	102.11 ±9.35	14.12 ±0.50
t/P 对照组内值		14.470/0.000	11.860/0.000	14.950/0.000	5.584/0.000
t/P 联合组内值		18.390/0.000	14.230/0.000	26.170/0.000	3.563/0.000
t/P 治疗后组间值		8.810/0.000	9.980/0.000	13.980/0.000	4.026/0.000

2.4　2 组心功能指标比较　治疗前,2 组患者 LVEF、PER 和 PFR 指标比较,差异无统计学意义(P > 0.05);治疗后,2 组各指标均高于治疗前,且联合组高于对照组(P 均 <0.01),见表 4。

表 4　2 组患者治疗前后心功能指标比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	LVEF(%)	PER(EDV/s)	PFR(EDV/s)
对照组	治疗前	63.25 ±1.23	1.69 ±0.12	2.00 ±0.10
(n =45)	治疗后	65.28 ±1.98	2.45 ±0.05	2.20 ±0.09
联合组	治疗前	63.29 ±1.26	1.70 ±0.13	2.02 ±0.13
(n =45)	治疗后	67.59 ±2.00	2.75 ±0.28	2.25 ±0.05
t/P 对照组内值		5.842/0.000	39.220/0.000	9.972/0.000
t/P 联合组内值		12.200/0.000	20.820/0.000	11.080/0.000
t/P 治疗后组间值		5.506/0.000	7.075/0.000	3.258/0.000

2.5　2 组不良反应比较　联合组患者不良反应总发生率为 13.33%,高于对照组的 11.11%,2 组比较差异无统计学意义(χ^2 =0.104,P =0.748),见表 5。

表 5　2 组患者治疗期间不良反应比较[例(%)]

组　别	例数	腹胀	乏力	心悸	体质量减轻	总发生率(%)
对照组	45	3(6.67)	1(2.22)	1(2.22)	0	11.11
联合组	45	3(6.67)	2(4.44)	0	1(2.22)	13.33

3　讨　论

甲状腺功能亢进是由于患者体内甲状腺激素水平突然异常升高而引起的内分泌性疾病,甲状腺激素的水平可直接影响到全身组织及器官,当甲状腺激素呈现高表达水平时会直接导致患者消化系统、神经系统和循环系统出现异常兴奋及代谢亢进的情况。此病以甲状腺局部肿大、结节为主要临床特征表现,当甲亢病变严重时可导致患者出现不同程度的并发症,如肝功能异常、白细胞数量减少、心律失常、心功能不全及甲亢性心脏病等,严重威胁生命[5]。

目前,在临床上对于甲亢的治疗主要有药物和手术 2 种治疗方式。手术治疗虽然会在一定程度上起到治疗效果,但仍存在部分问题,一个方面手术会在患者体表遗留较大的瘢痕,影响患者体表美观;另一方面若患者手术切口恢复不良则会引起喉返神经损伤或者甲状腺功能减退等[6]。而药物治疗相对于手术治疗具有并发症少、患者耐受好、效果显著等优点,因此临床上对于甲亢的治疗一般推荐药物治疗[7]。本研究观察丙硫氧嘧啶和比索洛尔治疗甲亢的效果,为临床上甲亢的治疗提供新方向。

丙硫氧嘧啶的药理机制主要是通过抑制甲状腺过氧化酶系统活性阻止甲状腺内酪氨酸的碘化,并对碘化的酪氨酸的缩合作用进行干预,使甲状腺激素的合成受到抑制;促使甲状腺上离子碘的氧化,阻断其氧化成活性碘[8-9]。当患者体内甲状腺激素和三碘甲状腺原氨酸的合成受到抑制时,其周围组织中 T_4 向 T_3 的转化会逐渐减少,因此起到了良好的抗甲状腺激素升高的作用[10]。Fung 等[11]的研究认为,^{131}I + 丙硫氧嘧啶治疗甲亢,可有效改善患者甲状腺相关激素指标,提高甲状腺功能与血脂水平。Xiao 等[12]研究认为,丙硫氧嘧啶更有利改善妊娠期甲亢患者的甲状腺功能、妊娠结局及糖脂代谢水平。比索洛尔是一种肾上腺激素

受体阻断药物,其主要作用机制是有效改善患者的心律失常症状[13-14]。林源等[15]的研究认为,甲状腺功能亢进患者利用比索洛尔治疗可在一定程度上改善患者甲状腺功能,且用药较为安全。另外徐菱蔓[16]研究认为联合应用比索洛尔可有效改善甲状腺功能亢进性心动过速患者心功能,且对患者脂代谢的影响较小。但临床尚无研究将丙硫氧嘧啶与比索洛尔联合应用于甲状腺功能亢进的治疗中,本研究结果显示,运用两药联合治疗的患者甲状腺激素水平得到改善,此结果与陈勇等[17]、李惊东等[18]研究一致。有研究认为甲状腺功能亢进患者不仅会出现甲状腺功能异常,还伴随着肝功能、心功能异常[19-20]。本研究结果显示,运用两药联合的患者肝功能、心功能均得到显著改善,此结果说明,两药联合不仅改善患者甲状腺功能,还可改善患者肝功能、心功能,改善全身症状。另外,本研究显示,运用两药联合治疗可显著改善患者甲状腺功能、肝功能及心功能,并且患者临床表征逐渐好转至消失,且在治疗过程中,患者机体各方面指标也逐渐改善,不良反应及治疗效果较单独用药更佳显著。但临床上并无两药联合治疗甲亢的研究,因此本研究结果还需后续研究试验进一步证实。

综上所述,丙硫氧嘧啶和比索洛尔联合治疗对甲亢具有显著的临床治疗效果,能改善患者的甲状腺功能及心、肝功能,同时对患者的心功能有较强的稳定作用,且具有较高的安全性。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

袁小燕、杨朝霞:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李为:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;许梦君:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;朱现丽:进行统计学分析

参考文献

[1] 何婉霞,魏海瑛. 中药联合甲巯咪唑片治疗甲状腺功能亢进临床疗效观察及对甲状腺激素水平的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2019,28(3):293-296. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2019.03.

[2] 余艳,戴芳芳. 银甲散联合甲巯咪唑对甲状腺功能亢进性肝损伤的疗效[J]. 西北药学杂志,2018,33(6):822-825. DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2018.06.030.

[3] 中华医学会内分泌学分会中国甲状腺疾病诊治指南编写组. 中国甲状腺疾病诊治指南——甲状腺功能亢进症[J]. 中华内科杂志,2007,46(10):876-882. DOI:10.3760/j.issn:0578-1426.2007.10.035.

[4] 孙传兴. 临床疾病诊断依据治愈好转标准[M]. 2 版. 北京:人民军医出版社,1998:62-73.

[5] 赵立峰,李雪松,刘冠英,等. 甲巯咪唑联合比索洛尔治疗甲状腺功能亢进症的疗效及对甲状腺激素和糖脂代谢的影响[J]. 广西医学,2019,41(5):557-560. DOI:10.11675/j.issn.0253-4304.2019.05.06.

[6] 包海东,巩鹏. 甲状腺全切除术后甲状旁腺功能减退的危险因素及诊治措施[J]. 国际外科学杂志,2017,44(2):81-84. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2017.02.003.

[7] 赵明. 甲状腺功能亢进治疗的艰难选择[J]. 医学研究生学报,2014,27(7):673-675.

[8] 胡鸣. 低剂量丙硫氧嘧啶对妊娠合并甲亢患者妊娠结局和肝功能的影响[J]. 中国计划生育学杂志,2017,25(11):751-754. DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2017.11.006.

[9] 刘海蔚,陈道雄,陈开宁,等. 甲硫咪唑和丙硫氧嘧啶治疗对甲状腺功能亢进患者体质量、脂联素及血糖水平的影响[J]. 疑难病杂志,2019,18(5):469-472,476. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.05.009.

[10] 朱永宁,尹国才,谢宁,等. 丙硫氧嘧啶治疗妊娠伴甲状腺功能亢进症对其甲状腺功能及新生儿的影响[J]. 疑难病杂志,2016,15(8):838-840,844. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2016.08.016.

[11] Fung SC, Wyssusek KH. Hyperthyroidism and propylthiouracil-induced liver failure in pregnancy[J]. Anaesth Intensive Care,2015,43(6):793-794.

[12] Xiao XW, An J, Hu CP, et al. Propylthiouracil-induced organizing pneumonia: A case report[J]. Medicine (Baltimore),2019,98(27):e16284. DOI: 10.1097/MD.0000000000016284.

[13] 赵立峰,李雪松,刘冠英,等. 甲巯咪唑联合比索洛尔治疗甲状腺功能亢进症的疗效及对甲状腺激素和糖脂代谢的影响[J]. 广西医学,2019,41(5):557-560. DOI:10.11675/j.issn.0253-4304.2019.05.06.

[14] 李小巧. 比索洛尔联合甲巯咪唑治疗甲状腺功能亢进症的临床疗效分析[J]. 现代诊断与治疗,2016,27(16):3009-3010.

[15] 林源,于军,高海燕,等. 比索洛尔联合甲巯咪唑对甲状腺功能亢进症患者糖脂代谢及血清 CysC、β2-MG 的影响[J]. 中国临床研究,2017,30(9):1195-1197,1200. DOI:10.13429/j.cnki.cjcr.2017.09.012.

[16] 徐菱蔓. 比索洛尔联合甲巯咪唑在甲状腺功能亢进心动过速患者的应用及对糖脂代谢的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2014,13(19):1628-1630. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2014.19.024.

[17] 陈勇,李燕,李晓琴,等. 丙硫氧嘧啶对老年甲状腺功能亢进病人临床症状的改善作用[J]. 实用老年医学,2018,32(6):553-555. DOI:10.3969/j.issn.1003-9198.2018.06.015.

[18] 李惊东,雒否乐,梁崇上,等. 甲硫咪唑联合比索洛尔对甲亢患者的治疗效果及对血清 OCNβ-CTx 的影响分析[J]. 河北医学,2019,25(4):586-590. DOI:10.3969/j.issn.1006-6233.2019.04.016.

[19] Reddy V, Taha W, Kundumadam S, et al. Atrial fibrillation and hyperthyroidism: A literature review[J]. Indian Heart J,2017,69(4):545-550. DOI: 10.1016/j.ihj.2017.07.004.

[20] Poutasse CM, Herbstman JB, Peterson ME, et al. Silicone Pet Tags Associate Tris(1,3-dichloro-2-isopropyl) Phosphate Exposures with Feline Hyperthyroidism[J]. Environ Sci Technol,2019,53(15):9203-9213. DOI: 10.1021/acs.est.9b02226.

(收稿日期:2019-06-12)

论著 · 临床

血清巨噬细胞集落刺激因子在乙肝肝硬化患者中的表达及早期诊断价值

李萍, 胡蓉, 杨启, 陈治莉, 贺秋凤, 邓杨

基金项目: 四川省科技基础平台项目(2017TJPT0013)
作者单位: 610000　成都市公共卫生临床医疗中心肝炎科
通信作者: 胡蓉, E-mail:809875753@qq.com

【摘　要】 **目的**　分析血清巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)在乙肝肝硬化患者中的表达及早期诊断价值。**方法**　选取 2017 年 2 月—2018 年 2 月成都市公共卫生临床医疗中心肝炎科收治的慢性乙型肝炎患者 127 例作为研究对象,分为乙肝组 73 例(其中肝纤维化亚组 36 例)和肝硬化组 54 例。收集 2 组患者临床资料,采用放射免疫法检测血清 M-CSF,分析血清 M-CSF 水平与乙肝肝硬化临床资料的关系;利用受试者工作曲线(ROC)评价血清 M-CSF 对乙肝肝硬化的诊断价值。**结果**　2 组患者在性别、年龄、体质量指数、吸烟史、饮酒史等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而肝硬化组 M-CSF、AST、ALT、ALP、PLT 明显高于乙肝组(t/P = 6.489/0.000、3.397/0.001、2.687/0.008、1.921/0.028、3.160/0.002);肝硬化组 M-CSF、AST、ALT、ALP、PLT 指标明显高于肝纤维化亚组(t/P = 3.067/0.001、1.778/0.039、1.735/0.043、1.715/0.044、1.727/0.043)。相关性分析显示,乙肝肝硬化患者 M-CSF 与 AST、ALT、ALP、PLT 呈正相关(r/P = 0.345/0.037、0.927/0.008、0.382/0.025、0.693/0.026);Logistic 多因素回归分析显示,M-CSF 是乙肝肝硬化独立危险因素(OR = 1.017, 95% CI 1.009 ~ 1.026, P = 0.000)。血清 M-CSF 诊断乙肝肝硬化最佳界值、AUC、约登指数、敏感度、特异度分别为 323.04 pg/ml、0.820、0.614、74.38%、87.04%。**结论**　乙肝肝硬化患者血清 M-CSF 水平升高,可作为乙肝肝硬化早期诊断指标。

【关键词】 乙肝肝硬化;巨噬细胞集落刺激因子;诊断价值
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.011

Expression of serum macrophage colony-stimulating factor in patients with hepatitis B cirrhosis and its early diagnostic value

Li Ping, Hu Rong, Yang Qi, Chen Zhili, He Qiufeng, Deng Yang. Department of Hepatitis, Chengdu Public Health Clinical Medical Cente, Sichuan Province, Chengdu 610000, *China*
Corresponding author: Hu Rong, E-mail: 809875753@*qq.com*
Fund program: Sichuan Province Science and Technology Basic Platform project(2017*TJPT*0013)

【**Abstract**】 **Objective**　To analyze the expression of serum macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) in patients with hepatitis B cirrhosis and its early diagnosis value. **Methods**　A total of 127 chronic hepatitis B patients admitted to the Department of Hepatology of Chengdu Public Health Clinical Medical Center from February 2017 to February 2018 were selected as the research objects. They were divided into 73 cases of hepatitis B group (including 36 cases of liver fibrosis subgroup) and 54 cases of liver cirrhosis group. The clinical data of two groups of patients were collected, and the serum M-CSF was measured by radioimmunoassay. The relationship between serum M-CSF level and clinical data of hepatitis B cirrhosis was analyzed. The receiver operating curve (ROC) was used to evaluate the diagnostic value of serum M-CSF for HBV cirrhosis. **Results**　There was no significant difference between the two groups in terms of gender, age, body mass index, smoking history, and drinking history ($P>0.05$). M-CSF, AST, ALT, ALP, and PLT in the liver cirrhosis group were significantly higher than those in the hepatitis B group (t/P = 6.489/0.000, t/P = 3.397/0.001, t/P = 2.687/0.008, t/P = 1.921/0.028, t/P = 3.160/0.002). The M-CSF, AST, ALT, ALP, and PLT indicators in the liver cirrhosis group were significantly higher than those in the liver fibrosis subgroup (t/P = 3.067/0.001, t/P = 1.778/0.039, t/P = 1.735/0.043, t/P = 1.715/0.044, t/P = 1.727/0.043). Correlation analysis showed that M-CSF was positively correlated with AST, ALT, ALP, and PLT (r/P = 0.345/0.037, r/P = 0.927/0.008, r/P = 0.382/0.025, r/P = 0.693/0.026). Logistic multivariate regression analysis showed that M-CSF was an independent risk factor for HBV cirrhosis (OR = 1.017, 95% CI 1.009 ~ 1.026, P = 0.000). Serum M-CSF diagnosis of HBV optimal cutoff, AUC, Youdan index, sensitivity, and specificity were

323.04 pg/ml, 0.820, 0.614, 74.38%, and 87.04%, respectively. **Conclusion** Increased serum M-CSF levels in patients with hepatitis B cirrhosis can be used as an early diagnostic indicator of hepatitis B cirrhosis.

【**Key words**】 Hepatitis B cirrhosis; Macrophage colony stimulating factor; Diagnostic value

乙肝肝硬化是临床常见的慢性肝病,在 HBV 感染基础上发展而来,调查显示[1]有 21% ~30% HBV 携带者长期存在并使乙肝进行性加重,严重损伤肝功能,逐渐进展为乙肝肝硬化。临床上乙肝肝硬化发病隐匿、病程进展缓慢,在发病初期无明显临床症状,若出现肝功能衰竭和门脉高压症等临床症状,提示乙肝肝硬化进入中晚期,而患者通常合并感染、消化道出血、肝性脑病等严重并发症,甚至死亡[2]。因此,对乙肝肝硬化早期诊断和病情监测,对患者早期治疗、改善预后等具有重要的临床意义。研究证实乙肝肝硬化早期病理改变的基础由肝脏纤维化进展而来,通过各类致病因子造成肝脏细胞损伤,在不良因素持续刺激下肝脏内纤维结缔组织出现异常增生与沉积[3]。肝组织活检是乙肝肝硬化诊断金标准,作为一种创伤性检查手段,可重复性差,在病情监测和治疗效果方面受到一定限制[4]。而传统影像学 MR、CT、B 型超声等检查,对乙肝肝硬化早期诊断价值不高,通常在乙肝肝硬化晚期出现门静脉高压并发症时才有较高敏感度和特异度,往往贻误了最佳治疗时机。血清学指标具有便捷、经济的特点,一直是临床研究热点。巨噬细胞是肝脏炎性反应的主效应细胞,在炎性反应中起到调节、聚集、激活肝星状细胞作用。研究发现巨噬细胞集落刺激因子(macrohpage colony stimulating factor, M-CSF)能够介导炎性反应、免疫反应,参与了肝硬化病理进程[5]。现检测慢性乙肝患者血清 M-CSF 表达水平,进一步分析其对乙肝肝硬化早期预测价值,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2017 年 2 月—2018 年 2 月成都市公共卫生临床医疗中心肝炎科收治的慢性乙型肝炎患者 127 例作为研究对象,经病理组织学或影像学检查确诊,分为乙肝组 73 例和肝硬化组 54 例,其中乙肝组中肝纤维化 36 例(肝纤维化亚组),2 组临床资料见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　(1) 纳入标准:①慢性乙型肝炎均符合“慢性乙型肝炎防治指南”(2015 年版)[6]的诊断标准;②年龄≥18 周岁;③未合并心、肾、肺等重要器官病变。(2)排除标准:①合并人类疱疹病毒、巨细胞病毒、获得性免疫缺陷病毒感染;②具有自身免疫性肝炎、酒精性肝病、脂肪肝、其他嗜肝性病毒感染;③合并其他类型肝炎病毒交叉重叠感染;④合并风湿性免疫系统疾病、心血管疾病、代谢性疾病。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　收集临床资料:收集 2 组患者临床资料,包括性别、年龄、体质量指数、饮酒史和吸烟史等。

1.3.2　血清学指标检测:采集 2 组患者空腹肘静脉血 5 ml,静置 30 min,采用湘仪离心机仪器有限公司生产台式 L400 离心机离心提取上层血清,分装于无菌、无 RNA 酶 EP 管中,置于 -80℃冰箱内保存备用。(1)采用 MAGLUMI 4000 全自动化学发光免疫分析仪,以放射免疫法检测 M-CSF,试剂盒购自宁波美康生物科技有限公司;(2)采用美国贝克曼库尔特 DXC80 全自动生化分析仪检测天冬氨酸氨基转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP),试剂盒购自安徽大千生物工程有限公司,所有操作按照试剂盒说明书执行;采用美国贝克曼库尔特公司 DxH800 血细胞分析仪检测血小板(PLT)水平。

1.4　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计处理。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验或 Fishers 确切概率法;单因素分析筛选具有统计学意义的自变量,再进行多因素 Logistic 回归分析影响乙肝肝硬化的危险因素;利用受试者工作曲线(ROC)绘制 M-CSF 诊断乙肝肝硬化的曲线,同时利用曲线下面积(AUC)评价 M-CSF 的诊断价值。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组临床资料比较　2 组患者在性别、年龄、体质量指数、吸烟史、饮酒史、乙肝遗传史、合并胆囊结石等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而肝硬化组 M-CSF、AST、ALT、ALP、PLT 明显高于乙肝组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2　肝纤维化亚组与肝硬化组血清学指标比较　肝硬化组血清 M-CSF、AST、ALT、ALP、PLT 等指标水平明显高于肝纤维化亚组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3　乙肝肝硬化患者 M-CSF 与 AST、ALT、ALP、PLT 相关性分析　乙肝肝硬化患者 M-CSF 与 AST、ALT、ALP、PLT 呈正相关(r/P = 0.345/0.037、0.927/0.008、0.382/0.025、0.693/0.026)。

表 1　2 组患者临床资料和血清学指标比较　($\bar{x} \pm s$)

项　目	乙肝组(n = 73)	肝硬化组(n = 54)	χ^2/t 值	P 值
男/女[例(%)]	48(65.8)/25(34.2)	36(66.7)/18(33.3)	0.012	0.914
年龄(岁)	55.3 ± 6.5	56.4 ± 5.2	1.092	0.277
体质量指数(kg/m^2)	22.4 ± 2.2	21.9 ± 2.6	1.096	0.275
饮酒史[例(%)]	32(43.8)	24(44.4)	0.005	0.946
吸烟史[例(%)]	26(35.6)	21(38.9)	0.143	0.706
乙肝遗传史[例(%)]	7(9.5)	5(9.2)	0.005	0.942
合并胆囊结石[例(%)]	9(12.3)	6(11.1)	0.069	0.792
M-CSF(pg/ml)	310.83 ± 59.94	379.99 ± 58.61	6.489	0.000
AST(U/L)	58.29 ± 13.45	65.98 ± 11.36	3.397	0.001
ALT(U/L)	81.30 ± 17.28	89.63 ± 17.26	2.687	0.008
ALP(U/L)	184.79 ± 71.34	209.10 ± 69.36	1.921	0.028
PLT($\times 10^9$/L)	312.67 ± 81.02	361.21 ± 91.46	3.160	0.002

表 2　肝纤维化亚组与肝硬化组血清学指标比较　($\bar{x} \pm s$)

项　目	例数	M-CSF(pg/ml)	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	PLT($\times 10^9$/L)
肝纤维化亚组	36	342.43 ± 54.26	61.18 ± 14.15	83.32 ± 16.33	185.07 ± 58.14	328.09 ± 85.42
肝硬化组	54	379.99 ± 58.61	65.98 ± 11.36	89.63 ± 17.26	209.10 ± 69.36	361.21 ± 91.46
t 值		3.067	1.778	1.735	1.715	1.727
P 值		0.001	0.039	0.043	0.044	0.043

2.4　乙肝肝硬化危险因素分析　Logistic 回归分析结果表明，M-CSF 是乙肝肝硬化独立危险因素(P < 0.05)，见表 3。

表 3　Logistic 回归分析慢性乙型肝炎的危险因素

自变量	β 值	SE 值	$Wald$ 值	P 值	OR 值(95% CI)
M-CSF	0.17	0.004	18.236	0.000	1.017(1.009 ~ 1.026)
AST	0.037	0.019	3.811	0.051	1.038(1.000 ~ 1.077)
ALT	0.016	0.013	1.519	0.218	1.017(0.990 ~ 1.043)
ALP	0.005	0.003	2.322	0.128	1.005(0.999 ~ 1.011)
PLT	0.005	0.003	3.810	0.051	1.005(1.000 ~ 1.010)

2.5　ROC 分析血清 M-CSF 对乙肝肝硬化的诊断价值　ROC 曲线分析显示，血清 M-CSF 诊断乙肝肝硬化的 AUC 为 0.820，根据最大约登指数(0.614)确定最佳界值为 323.04 pg/ml，敏感度为 74.38%，特异度为 87.04%，见图 1。

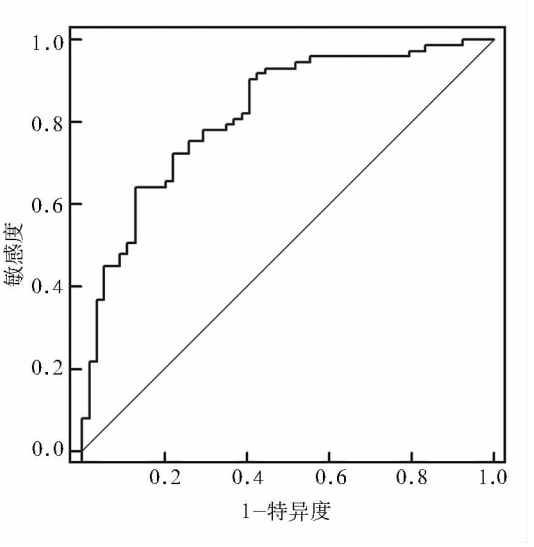


图 1　血清 M-CSF 诊断乙肝肝硬化的 ROC 曲线

3　讨　论

慢性乙型肝炎是 HBV 长期或反复作用而造成的弥漫性肝损伤，由于炎性单核细胞在肝脏内大量聚集，进展分化成促纤维化巨噬细胞；并诱发肝星状细胞、枯否细胞及细胞外基质产生，破坏产生与降解的平衡，导致在肝脏内大量沉积[7]。最终累及多系统，使肝脏变形、变硬，进展为肝硬化。乙肝肝硬化早期病理变化是肝脏纤维化，其肝脏纤维化是对肝脏损伤的应激愈合反应，而肝脏结缔组织增生与沉积是常见的临床表现。在长期临床实践中人们发现[8]，乙肝肝硬化患者不同病情程度临床表现差异较大，早期患者仅有纳差、乏力、肝功能异常等非特异性症状，直到晚期出现腹水、门脉高压综合征、肝肾综合征、肝性脑病等才被确诊。因此对乙肝肝硬化患者早期诊断尤为重要，临床迫切需要全面、准确区分乙肝肝硬化病情严重程度，为患者早期预测及改善预后给予针对性干预治疗。

研究证实[9]，乙肝肝硬化是持续性炎性反应过程，其中巨噬细胞在肝脏炎性病变及组织修复中发挥调节炎性细胞、细胞吞噬、肝星状细胞聚集的作用，参与了肝脏纤维化发生发展。M-CSF 是由单核巨噬细

胞、纤维母细胞、维生素 D 激活成骨细胞、血管内皮细胞分泌的细胞因子,能够与其受体调节单核巨噬细胞系细胞分化与增殖,作为促炎细胞因子参与炎性和免疫反应[10-12]。本结果发现,乙肝肝硬化患者血清 M-CSF 水平明显高于乙肝患者,提示血清 M-CSF 参与肝脏疾病发生发展。有学者研究发现[13],血清 M-CSF 水平与急慢性肝炎、肝硬化关系密切,可反映急慢性肝炎中的肝脏组织损伤程度与肝细胞坏死,这与本结果一致。邓木等[14]通过对不同纤维化分期慢性乙肝患者血清 M-CSF 分析结果发现,血清 M-CSF 水平越高,炎性反应分级越高,进一步证实血清 M-CSF 水平与肝脏组织损伤程度相关。有报道称血清 M-CSF 在高度纤维化乙肝患者表达持续增强[15-16],并通过多种路径促进肝硬化进程。M-CSF 表达增强可激活基质金属蛋白酶的大量生成,促进胶原纤维沉积,增强炎性细胞因子在肝脏浸润;M-CSF 能够抑制 NK 细胞合成分泌抗纤维因子 γ 干扰素,减少肝星状细胞凋亡,促进肝硬化进展[17]。

本研究利用 ROC 曲线分析血清 M-CSF 对乙肝肝硬化的早期诊断价值,结果发现血清 M-CSF 诊断乙肝肝硬化 AUC 为 0.820,根据最大约登指数 0.514 确定最佳界值为 323.04 pg/ml,敏感度为 74.38%,特异度为 87.04%,说明血清 M-CSF 有望作为乙肝肝硬化早期预测和病情监测的指标之一。

综上所述,M-CSF 参与肝硬化发生发展,可作为乙肝肝硬化早期预测和病情评估的指标之一。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李萍:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;胡蓉、杨启:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;陈冶莉:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;贺秋凤:进行统计学分析;邓杨:课题设计,论文撰写

参考文献

[1] 王志鹏,高凤国,刘秀颀,等. 乙肝肝硬化背景下 T_2WI 结合 DWI 对 LI-RADS 分类诊断效能的研究[J]. 中国医学影像学杂志,2017,25(11):811-816. DOI:10.3969/j.issn.1005-5185.2017.11.003.

[2] 刘祖明,邹灿. 乙肝肝硬化患者 FibroScan 参数与血清炎症指标、胶原代谢指标及纤维化指标的相关性[J]. 海南医学院学报,2018,24(5):597-600. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20180227.006.

[3] 李玉贤,张汾燕,崔振,等. 熊去氧胆酸联合扶正化瘀胶囊治疗 HBeAg 阳性高病毒载量乙肝肝硬化患者的疗效及对肝纤维化和炎性因子的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2018,27(18):2016-2019. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2018.18.025.

[4] Park YH, Kim BK, Kim JK, et al. Long-term outcomes of chronic hepatitis B virus infection in the era of antiviral therapy in Korea[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2014, 29(5): 1005-1011. DOI:10.1111/jgh.12478.

[5] Foucher ED, Blanchard S, Preisser L, et al. IL-34-and M-CSF-induced macrophages switch memory T cells into Th17 cells via membrane IL-1 alpha[J]. European Journal of Immunology, 2015, 45(4):1092-1102. DOI:10.1002/eji.201444606.

[6] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J]. 实用肝脏病杂志,2016,19(3):389-400. DOI:10.3969/cma.j.issn.1672-5069.2016.03.034.

[7] Buti M, Fung S, Gane E, et al. Long-term clinical outcomes in cirrhotic chronic hepatitis B patients treated with tenofovir disoproxil fumarate for up to 5 years[J]. Hepatology International, 2015, 9(2): 243-250. DOI:10.1007/s12072-015-9614-4.

[8] Coffin CS, Osiowy C, Gao S, et al. Hepatitis B virus (HBV) variants fluctuate in paired plasma and peripheral blood mononuclear cells among patient cohorts during different chronic hepatitis B (CHB) disease phases[J]. Journal of Viral Hepatitis, 2015, 22(4):416-426. DOI:10.1111/jvh.12308.

[9] 张国顺,孟冬梅,方正亚,等. HBeAg 阳性与阴性乙型肝炎肝硬化患者乙肝病毒载量及肝功能指标的研究[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(16):48-51. DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2018.16.010.

[10] 刘钦成,刘宁,韩晓玉,等. 乙肝肝硬化患者肝脏体积萎缩率及 LSM、CTP 值与 Laennec 组织病理学分级的关系[J]. 重庆医学,2018,47(14):1870-1873,1877. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.14.008.

[11] 李晓永,张国顺. 扶正化瘀胶囊联合异甘草酸镁治疗失代偿期肝硬化患者的临床效果[J]. 中国医药导报,2019,(11):138-141.

[12] 王慧莲,王俊平. 瞬时弹性成像及血清肝纤维化检测对肝硬化患者食管静脉曲张的临床诊断价值分析[J]. 中国医药,2019,14(5):726-729. DOI:10.3760/j.issn.1673-4777.2019.05.021.

[13] 王春玲,武金才,麦蕊,等. 减轻应激训练在肝癌患者中的应用对巨噬细胞集落刺激因子-1 表达的影响[J]. 广东医学,2017,38(5):733-735. DOI:10.3969/j.issn.1001-9448.2017.05.021.

[14] 邓木,吕云福. 肝硬化大鼠巨脾中巨噬细胞集落刺激因子、肿瘤坏死因子-β、干扰素-γ 和白细胞介素-10 的表达及意义[J]. 中华实验外科杂志,2016,33(7):1774-1776. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.07.022.

[15] 王忠琼,刘翼,夏国栋,等. 前列地尔对乙肝肝硬化患者血清炎性因子及肝功能的影响[J]. 医学研究生学报,2017,30(6):611-614. DOI:10.16571/j.cnki.1008-8199.2017.06.011.

[16] 侯慧,刘慧敏,周丽莉,等. 核苷类抗病毒药物联合微生态制剂治疗 HBV 感染失代偿期肝硬化患者的临床效果[J]. 疑难病杂志,2019,18(4):369-373. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2019.04.010.

[17] 郭银燕,文剑,张永臣,等. GM-CSF 分泌型肝癌疫苗对荷瘤鼠脾血细胞毒性 T 淋巴细胞杀伤活性的影响[J]. 实用肝脏病杂志,2013,16(4):335-337. DOI:10.3969/j.issn.1672-5069.2013.04.016.

(收稿日期:2019-08-12)

论著 · 临床

托伐普坦联合尿毒清颗粒治疗肾病综合征的临床效果

张瑶琳，葛琪容，罗海波，乔建芬，林建美

基金项目：四川省医学科学研究青年创新课题（Q18036）
作者单位：641300　四川省资阳市第一人民医院肾病内科
通信作者：张瑶琳，E-mail：2506706326@qq.com

【摘　要】 **目的**　观察托伐普坦联合尿毒清颗粒治疗肾病综合征患者的临床效果。**方法**　选择 2017 年 8 月—2018 年 12 月四川省资阳市第一人民医院肾病内科诊治肾病综合征患者 90 例作为研究对象，依据随机数字表法将患者分为对照组（$n=45$）和观察组（$n=45$），入院后根据诊疗规范进行治疗，对照组给予托伐普坦，观察组在对照组基础上给予尿毒清颗粒，治疗 1 个月后，比较 2 组治疗前后的血肌酐、尿素氮、尿量、血红蛋白、血清白蛋白、钾离子和钙离子水平，记录不良反应发生情况。**结果**　治疗 1 个月后，2 组血肌酐与尿素氮水平均降低，且观察组降低幅度大于对照组（t/P =3.999/0.000、2.316/0.023）；2 组的尿量、血红蛋白和血清白蛋白均上升，且观察组上升幅度大于对照组（t/P = −11.320/0.000、−4.606/0.000、−3.068/0.003），2 组治疗前后的钾、钙离子浓度均未发生明显变化（$P>0.05$）；不良反应发生率比较差异亦无统计学意义（$P>0.05$）。**结论**　使用托伐普坦联合尿毒清颗粒治疗肾病综合征患者，可以改善患者的肾功能，改善尿量和营养状态，稳定体内电解质水平，安全性良好。

【关键词】 托伐普坦；尿毒清颗粒；肾病综合征；蛋白尿
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.012

Clinical effect of tovaptan combined with *Niaoduqing* granules in the treatment of nephrotic syndrome

Zhang Yaolin, Ge Qirong, Luo Haibo, Qiao Jianfen, Lin Jianmei. Departement of Nephrology, Ziyang First People's Hospital, Sichuan Province, Ziyang 641300, *China*
Corresponding author: Zhang Yaolin, E-mail: 2506706326@*qq.com*
Fund program: Sichuan Medical Science Research Youth Innovation Project (*Q*18036)

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the clinical effect of tovaptan combined with *Niaoduqing* granules in the treatment of nephrotic syndrome. **Methods**　From August 2017 to December 2018, 90 patients with nephrotic syndrome were selected as the study object. Patients were divided into control group ($n=45$) and observation group ($n=45$). After admission, the patients were treated according to the standard of diagnosis and treatment. The control group was given tovaptan, and the observation group was given *Niaoduqing* granules based on the control group. After one month of treatment, the levels of serum creatinine, urea nitrogen, urine volume, hemoglobin, serum albumin, potassium ion and calcium ion were compared before and after treatment, and the adverse reactions were recorded. **Results**　After treatment, the levels of serum creatinine and urea nitrogen decreased in both groups, and the reduction in the observation group was greater than that in the control group (t/P = 3.999/0.000, 2.316/0.023). Urine volume, hemoglobin, and serum albumin increased in both groups, and the increase in the observation group was greater than that in the control group (t/P = −11.320/0.000, −4.660/0.000, −3.068/0.003). There were no significant changes in potassium and calcium concentrations before and after treatment in the two groups ($P>0.05$), and there was no significant difference in the incidence of adverse reactions ($P>0.05$). **Conclusion**　In the treatment of nephrotic syndrome patients, the combination of tovaptan and *Niaoduqing* granules can improve the renal function, improve the urine volume and nutritional status, stabilize the body electrolyte level, and have good safety.

【**Key words**】 Tolvaptan; *Niaoduqing* granules; Nephrotic syndrome; Proteinuria

肾病综合征在肾内科患者中占据相当的比例[1-2]，虽然对于该种疾病的研究时间较长，但其病因研究尚缺乏实质性的突破[1]。目前认为是由于多种原因所导致的肾小球基底膜通透性上升，出现蛋白尿、低蛋白血症、水肿和高脂血症等症候群[2]。因无法对病因治疗，所以多以药物控制临床症状为主。使用袢利尿剂、

噻嗪类利尿剂或者保钾利尿剂等,其主要机制是提升钠离子的排泄缓解水肿,但是易出现电解质紊乱,部分患者甚至出现利尿剂抵抗[3],所以对新型治疗药物的探索从未停止。本研究以托伐普坦联合尿毒清颗粒对肾病综合征患者的治疗效果进行探讨,现报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2017 年 8 月—2018 年 12 月四川省资阳市第一人民医院肾病内科诊治肾病综合征患者 90 例作为研究对象,依据随机数字表法分为对照组($n=45$)和观察组($n=45$)。2 组患者一般临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究已经过医院医学伦理委员会审批通过,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①确诊为肾病综合征(包括原发性与继发性)[4],合并水肿,年龄 18 ~ 65 岁;②从未使用过糖皮质激素或免疫抑制剂治疗,且符合本研究中所使用药物的用药指征;③血钠浓度处于正常范围之内;④接受本研究提供的治疗方案,治疗依从性良好且数据完整,可以完成分析。(2)排除标准:①合并出现尿路梗阻、血压不稳定或血栓栓塞等可能对研究结果构成影响的疾病;②对本研究中所使用的药物或器材等具有疑似或确定的过敏现象;③肝功能异常。

1.3　治疗方法　患者入院后根据诊疗规范进行治疗,他克莫司(杭州中美华东制药有限公司)0.1 mg · kg^{-1} · d^{-1},每日早中晚餐前 1 h 服用,使其浓度控制在 10 ng/ml 为佳,以此标准调整用量;甲泼尼龙(天津天药药业股份有限公司)0.4 mg/kg 第 1 周每日晨起服用 1 次,然后逐渐减少至 5 mg/d。治疗期间注意患者的饮食营养等。

对照组在此基础上给予托伐普坦(浙江大冢制药有限公司)15 mg,第 1 天早晚服用 7.5 mg,之后根据患者的尿量和体质量变化进行调整,以患者每日体质量下降 0.5 kg 左右为宜,如果 1 d 内患者的体质量下降超过 1 kg,则第 2 天将托伐普坦用量减半;如果 1 d 内血钠浓度上升 >8 mmol/L 或者血钠 >145 mmol/L,则第 2 天停止使用托伐普坦;1 d 后若血钠恢复正常则恢复使用。用药 7 d 后改为每日 7.5 mg 晨起服用,连续服用 1 个月。观察组在对照组基础上给予尿毒清颗粒[康臣药业(内蒙古)有限责任公司]5 g 于 6:00、12:00、18:00 服用, 22:00 服用 10 g,连续使用 1 个月。

在治疗期间严格限制患者的钠离子摄入量,保证每日氯化钠量低于 3 g,但不限制饮水,不使用利尿剂,也不用血浆、白蛋白等进行扩容;若治疗过程中出现低血钾则及时补充,血清白蛋白低于 20 g/L 则皮下注射低分子肝素,防止血栓栓塞。

1.4　观察指标与方法　(1)肾功能指标:治疗前后晨起采集患者空腹肘静脉血 5 ml,离心取上层血清利用美国贝克曼库尔特公司的 AU7800 型全自动生化仪及配套试剂盒,以酶联免疫吸附法测定血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN);(2)尿量及血蛋白:治疗前后晨起采集患者中段尿,利用美国贝克曼库尔特公司的 CytoFLEX S 流式细胞仪测定血浆血红蛋白和血清白蛋白;(3)电解质检测:利用美国麦迪卡 MEDICA 公司的 EasyLyte PLUS 型电解质分析仪测定血清钾离子(K^+)、钙离子(Ca^{2+})浓度;(4)记录不良反应。

1.5　统计学方法　采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学处理。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)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　2 组 SCr 及 BUN 比较　治疗后,2 组 SCr 与 BUN 均降低,观察组降低幅度大于对照组($P<0.05$),见表 2。

2.2　2 组尿量及血红蛋白、血清白蛋白比较　治疗后,2 组患者尿量、血红蛋白和血清白蛋白均上升,观察组上升幅度大于对照组($P<0.01$),见表 3。

2.3　2 组电解质比较　2 组治疗前后血清钾、钙离子浓度均未发生明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 1　2 组患者一般临床资料比较

组　别	例数	性别[例(%)]		年龄	BMI	病程	合并症	以往住院	收缩压	舒张压	家族史[例(%)]	
		男	女	($\bar{x} \pm s$,岁)	($\bar{x} \pm s$,kg/m^2)	($\bar{x} \pm s$,年)	($\bar{x} \pm s$,种)	次数($\bar{x} \pm s$,次)	($\bar{x} \pm s$,mmHg)	($\bar{x} \pm s$,mmHg)	阳性	阴性
对照组	45	31(68.9)	14(31.1)	58.87 ± 5.08	23.05 ± 2.14	2.03 ± 0.74	2.05 ± 0.41	1.78 ± 0.86	145.35 ± 8.26	92.25 ± 7.78	17(37.8)	28(62.2)
观察组	45	35(77.8)	10(22.2)	60.07 ± 5.13	23.13 ± 3.05	2.05 ± 0.81	2.03 ± 0.32	1.92 ± 0.85	147.05 ± 9.02	93.57 ± 6.06	20(44.4)	25(55.6)
t/χ^2 值		0.909		−1.115	−0.144	−0.122	0.258	−0.777	−0.932	−0.898	0.413	
P 值		0.340		0.268	0.886	0.903	0.797	0.439	0.354	0.372	0.520	

表 2　2 组治疗前后肾功能指标比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	SCr(μmol/L)	BUN(mmol/L)
对照组	治疗前	805.52 ± 123.58	18.91 ± 4.89
(n = 45)	治疗后	554.36 ± 112.08	13.07 ± 4.37
观察组	治疗前	811.35 ± 137.25	18.77 ± 5.03
(n = 45)	治疗后	465.26 ± 98.87	11.23 ± 3.05
t/P 对照组内值		10.099/0.000	5.974/0.000
t/P 观察组内值		13.725/0.000	8.598/0.000
t/P 治疗后组间值		3.999/0.000	2.316/0.023

表 3　2 组患者治疗前后尿量、血红蛋白和血清白蛋白比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	尿量(ml/24h)	血红蛋白(g/L)	血清白蛋白(g/L)
对照组	治疗前	1 205.36 ± 125.36	78.81 ± 11.25	31.03 ± 4.57
(n = 45)	治疗后	2 038.95 ± 207.59	87.35 ± 8.67	33.05 ± 4.15
观察组	治疗前	1 189.91 ± 130.28	82.05 ± 9.91	30.87 ± 4.46
(n = 45)	治疗后	2 538.64 ± 211.18	95.34 ± 7.76	35.68 ± 3.98
t/P 对照组内值		−23.059/0.000	−4.033/0.000	−2.295/0.031
t/P 观察组内值		−36.463/0.000	−7.083/0.000	−5.398/0.000
t/P 治疗后组间值		−11.320/0.000	−4.606/0.000	−3.068 /0.003

表 4　2 组治疗前后电解质浓度比较　($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组　别	时间	K^+	Ca^{2+}
对照组	治疗前	4.43 ± 0.64	2.08 ± 0.32
(n = 45)	治疗后	4.27 ± 0.54	2.11 ± 0.28
观察组	治疗前	4.37 ± 0.55	2.11 ± 0.45
(n = 45)	治疗后	4.28 ± 0.45	2.15 ± 0.26
t/P 对照组内值		1.282/0.203	−0.473/0.637
t/P 观察组内值		0.850/0.398	−0.516/0.607
t/P 治疗后组间值		−0.095/0.924	−0.702/0.484

2.4　2 组不良反应发生情况比较　2 组各类不良反应发生率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 5。

3　讨　论

肾病综合征因病因复杂、治疗困难和复发率较高及迁延不愈的特性,使众多医生束手无策。目前研究结果显示,罹患该种疾病患者所出现的症状均与肾小球滤过膜的通透性增高有关[5-6]。由于通透性增加,大量的蛋白质从尿液中流失,血清白蛋白浓度下降。临床工作中以大量蛋白尿、低蛋白血症、高度水肿和高脂血症的“三高一低”对该种疾病的症状进行概括。本研究中所采用的治疗方式为给予标准剂量的激素,其中他克莫司可以促进细胞内皮素的分泌,收缩肾血管,提升血管阻力,降低肾的血流量,从而使肾小球滤过率下降,抑制尿蛋白的流失。甲泼尼龙为肾上腺皮质激素,其抗炎性反应的能力较强,可以直接作用于 T 淋巴细胞,阻碍有害抗体的生成,抑制肾小球的纤维化,从而改善肾小球滤过膜的通透性[7-9]。

罹患肾病综合征后,人体的蛋白丢失量增加,血浆胶体渗透压下降,导致水分从血管腔内进入组织间隙,形成水肿。有研究结果显示,约有 1/2 的患者血容量上升,血浆肾素水平下降[10]。而针对水肿治疗方法的选择,也是肾病综合征治疗的关键点之一。本研究中所使用的托伐普坦是选择性血管加压素 V2 受体拮抗剂,可以通过增加人体内自由水的方法达到消肿、利尿的治疗效果。但是该种药物对肾病综合征患者的利尿作用相关报道文献并不多。其原因可能如下:如果患者的肾功能较为正常,则出现低钠血症的几率不高,而如果患者的血液钠离子数值较为正常,则并不属于各类指南所推荐的血管加压素 V2 受体治疗适应证,相当比例的肾病综合征患者存在低血容量的表现,这对于该类药物的使用也存在一定的障碍,如果利尿过度,则存在诱发血栓栓塞、低血压或急性肾功能损伤的后果。但是在国内也出现了利用托伐普坦对肾病综合征患者短期内消除水肿成功的报道[11],所以本研究将该种药物纳入使用范围,并且将药物的使用剂量控制在较为谨慎的范围内。

中医对于肾病综合征的研究时间也较为久远,中医理论中并不存在肾病综合征的诊断,中医认为该种疾病属于“水肿、关格”等范畴,主要以肾脾虚损,湿浊瘀血不祛而潴留体内久长所导致。而在治疗方法的选择上,中医也主张以清热解毒、利水消肿、益肾健脾、活血化瘀、通下泄浊为主[12]。尿毒清颗粒主要组成为大黄、茯苓、黄芪、白术、丹参、何首乌、菊花、车前草、姜半夏、甘草。其中大黄苦、寒,归脾、胃、大肠、肝、心包经,泻下攻积,清热泻火,凉血解毒,逐瘀通经,利湿退黄。茯苓味甘、淡,性平,归心、肺、脾、肾经,利水渗湿,健脾,宁心。黄芪味甘,性微温,归脾、肺经,补气固表,托毒排脓,利尿,生肌。白术味苦、甘,性温,归脾、胃经,

表 5　2 组治疗过程中的不良反应发生情况比较　[例(%)]

组　别	例数	皮疹	发热	气短	胸闷	头痛	恶心
对照组	45	4(8.89)	8(17.78)	2(4.44)	3(6.67)	2(4.44)	5(11.11)
观察组	45	3(6.67)	7(15.56)	1(2.22)	4(8.89)	3(6.67)	7(15.56)
χ^2 值		0.000	0.080	0.000	0.000	0.000	0.385
P 值		1.000	0.777	1.000	1.000	1.000	0.535

健脾益气,燥湿利水,止汗。丹参味苦,微寒,归心、肝经,活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痈。何首乌味苦、甘、涩,性微温,归肝、肾经,补益精血,解毒,截疟,润肠通便。菊花味苦、甘,性微寒,归肺、肝经,散风清热,平肝明目,清热解毒。车前草味甘,性寒,具有利尿、清热、明目、祛痰的功效。姜半夏具燥湿化痰、降逆止呕之功。甘草补气益脾、和中缓急、调和诸药。在整体上,尿毒清颗粒可以起到活血化瘀、通下泄浊、益肾健脾的功效。有研究结果显示,黄芪可以对人体的免疫系统功能进行良好调节,降低纤维的生成量,改善尿蛋白含量,对肾脏具有明显的保护作用。大黄中所含有的大黄酸可以对肾脏系膜细胞具有明显的抑制作用,以此达到减缓肾小球硬化的过程。丹参可以改善肾脏的血流,调节局部组织的血流循环,利尿抗炎,保护肾脏[13-15]。综上,尿毒清颗粒可以作用在肾小球间质纤维化的诸多环节,保护肾单位,延缓肾功能的恶化,对于肾病综合征的治疗具有针对性。

本研究结果显示,经过治疗后,2 组患者的肾功能指标、尿量、血红蛋白和血清白蛋白均明显改善,观察组的改善幅度大于对照组($P<0.05$),这肯定了在传统的以激素为主的治疗策略中,适当加入托伐普坦进行利尿,对于患者的症状和相关指标的改善具有积极作用,另外也显示在西医治疗方法的基础上,辅助以中药的联合,可以更为明显地提升效果。2 组治疗前后电解质指标均未出现明显的变化,说明了 2 种方法在稳定电解质的水平方面,具有较为接近的疗效,一方面提示托伐普坦对于肾病综合征患者的利尿作用引发电解质紊乱的风险不高,另外一方面也说明中药的使用也不会对电解质的变化产生危险。

在不良反应方面,2 组差异均无统计学意义,2 种治疗方法虽然使用药物的种类较多,但在安全性方面基本等效,且患者可以耐受。这也可能因为中药大多是天然的,对于人体的损伤程度不高,而且还可能是中药的调节,使人体对于西药的耐受力增加,不过这还有待于进一步的探讨。

综上所述,使用托伐普坦联合尿毒清颗粒治疗肾病综合征患者,可以改善患者的肾功能、尿量和营养状态,稳定体内电解质水平,安全性良好。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张瑶琳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;葛琪容:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;罗海波:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;乔建芬:进行统计学分析;林建美:课题设计,论文撰写

参考文献

[1] 高大维,杨鹏. 血管内皮生长因子基因修饰羊膜间充质干细胞移植治疗肾病综合征[J]. 中国组织工程研究,2018,22(1):83-88. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0415.

[2] 路童,朱旭,徐善森,等. 合用五酯片对肾病综合征患者体内他克莫司血药浓度的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(7):796-799. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2018.07.018.

[3] 李瑞莲,陈文倩,张丹,等. 154 例肾病综合征患者环孢素 A 血药浓度监测及其对疗效、安全性的影响分析[J]. 中国药房,2018,29(20):2827-2831. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.20.20.

[4] Tanaka A, Nakamura T, Sato E, et al. Different effects of tolvaptan in patients with idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome[J]. Intern Med, 2017, 56(2):191-196. DOI: 10.2169/internalmedicine.56.7539.

[5] 陈乐波,董建华,许书添,等. 肾病综合征合并重症感染的临床特征与危险因素[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2018,27(1):18-23. DOI: 10.3969/cndt.j.issn.1006-298X.2018.01.004.

[6] 郭华,李志航,王淑君,等. 肾病综合征新型生物标志物研究进展[J]. 海南医学,2018,29(10):1430-1433. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2018.10.030.

[7] 张晓丹,解染,崔一民,等. 肾病综合征患者个体化应用他克莫司的病例分析[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(19):2345-2347. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2018.19.029.

[8] 徐平,何雨荻,于泽铭,等. 环孢素 A 和他克莫司治疗特发性膜性肾病的有效性及安全性比较:网状 Meta 分析[J]. 中国医学科学院学报,2018,40(1):41-51. DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2018.01.007.

[9] 李争,贾英辉,杨立豹,等. 针刺穴位配合甲泼尼龙、环磷酰胺治疗重度膜性肾病 35 例疗效观察[J]. 安徽医药,2018,22(6):1174-1178. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2018.06.046.

[10] 王丽霞,徐惠. 序贯透析联合羟乙基淀粉治疗肾病综合征顽固性水肿的疗效分析[J]. 中国基层医药,2018,25(7):906-910. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2018.07.024.

[11] 叶楠,程虹,王国勤,等. 托伐普坦治疗肾病综合征患者水肿的疗效与安全性[J]. 中华肾脏病杂志,2018,34(4):274-280. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2018.04.008.

[12] 蔡亚宏,李旭华,何泽云,等. 中医药膳结合西医常规治疗对肾病综合征患者水肿的影响[J]. 湖北中医药大学学报,2018,20(2):70-72. DOI: 10.3969/j.issn.1008-987x.2018.02.18.

[13] Van Buren PN. Evaluation and treatment of hypertension in end-stage renal diseae patients on hemodialysis[J]. Curr Cardiol Rep, 2016, 18(12):125. DOI: 10.1007/s11886-016-0805-y.

[14] Dzgoeva FU, Sopoev MY, Bestaeva TL. Role of fibroblast growth factor 23 in the development of cardiovacular diseases in patients with end-stage renal failure programmed hemodialysis[J]. Ter Arkh, 2016, 88(12):51-56. DOI: 10.17116/terarkh2016881251-56.

[15] Htinkeder Z, Kken T, Koca B, et al. Role of uremic' toxins on apoptosis with varying periods of hemodialysis[J]. Ther Apher Dial, 2017, 21(1):38-42. DOI: 10.1111/1744-9987.12504.

(收稿日期:2019-04-11)

论著 · 临床

弯角椎体成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折疗效分析

曹强，段明明，周煜虎，王剑飞，王飞，李长红

基金项目：陕西省社会发展科技攻关项目（2015SF115）；延安市科技惠民计划项目（2016HM-10-03）；延安市科技攻关计划项目（2017KS-06）

作者单位：716000　延安大学附属医院骨科

通信作者：段明明，E-mail：dmmming5@163.com

【摘　要】 **目的**　观察弯角椎体成形术（PCVP）治疗骨质疏松性椎体压缩骨折（OVCF）的临床疗效。**方法**　收集 2018 年 12 月—2019 年 6 月延安大学附属医院骨科收治老年新鲜单节段脊柱胸腰段 OVCF 患者 76 例临床资料，依据术中是否采用 PCVP 分为弯角组 36 例和常规组 40 例。弯角组采用 PCVP 完成手术；常规组采用常规单侧经皮椎体成形术（PVP）完成手术。观察 2 组手术时间、术中透视次数、骨水泥注入量、骨水泥渗漏率、骨水泥双侧分布率，术前术后疼痛视觉模拟（VAS）评分、Oswestry 功能障碍指数（ODI）评分及手术预后情况。**结果**　2 组手术时间、术中透视次数比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。弯角组骨水泥注入量、骨水泥双侧分布率大于常规组，而骨水泥渗漏率小于常规组，差异均有统计学意义（$t/P=2.308/0.023$，$Z/P=3.638/0.000$，$\chi^2/P=4.395/0.036$）。2 组术后 VAS 评分、ODI 评分较术前均降低，差异有统计学意义（$t/P=28.134/0.000$、$29.840/0.000$，$11.979/0.000$、$11.887/0.000$）；2 组间比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。76 例手术均顺利完成，术中未出现血管神经损伤等并发症。**结论**　与常规 PVP 比较，采用 PCVP 治疗新鲜单节段 OVCF，在降低骨水泥渗漏风险的同时，有效地增加骨水泥注入量、改善骨水泥双侧分布情况；但在术后疼痛缓解和功能改善方面无明显优势。

【关键词】　骨质疏松性椎体压缩骨折；弯角椎体成形术；经皮椎体成形术；临床疗效

【DOI】　10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.013

Analysis of the curative effect of the treatment of osteoporotic vertebral compression fracture with angle vertebroplasty

Cao Qiang, Duan Mingming, Zhou Yuhu, Wang Jianfei, Wang Fei, Li Changhong. Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Yanán University, Shaanxi Province, Yanán 716000, *China*

Corresponding author: Duan Mingming, E-mail: dmmming5@163.com

Fund program: Shaanxi Social Development Science and Technology Project (2015*SF*115); *Yan'an Science and Technology Benefiting People Project* (2016*HM* 10-03); *Yan'an Science and Technology Project* (2017*KS*-06)

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the clinical effect of PCVP in the treatment of osteoporotic vertebral compression fracture (OVCF). **Methods**　From December 2018 to June 2019, 76 cases of elderly fresh single segment spine, thoracolumbar OVCF were collected from Orthopedic Department of Affiliated Hospital of Yanán University. According to whether PCVP was used during the operation, they were divided into 36 cases of bending angle group and 40 cases of conventional group. PCVP was used in the angle group and PVP was used in the conventional group. The time of operation, the times of intraoperative fluoroscopy, the amount of bone cement injection, the leakage rate of bone cement, the bilateral distribution rate of bone cement, the preoperative and postoperative pain visual analogue (VAS) scores, Oswestry dysfunction index (ODI) scores and the prognosis of the two groups were observed. **Results**　There was no significant difference in the operation time and intraoperative fluoroscopy between the two groups ($P>0.05$). The amount of bone cement injected and the bilateral distribution rate of bone cement in the curved group were greater than those in the conventional group, while the leakage rate of bone cement was less than that in the conventional group. The differences were statistically significant ($t/P=2.308/0.023$, $Z/P=3.638/0.023$, $\chi^2/P=4.395/0.036$). The VAS score and ODI score of the two groups were lower than before surgery, and the differences were statistically significant ($t/P=28.134/0.000$, $29.840/0.000$, $11.979/0.000$, $11.887/0.000$). There was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). 76 cases of surgery were successfully completed without complications such as vascular and nerve injury. **Conclusion**　Compared with conventional PVP, PCVP can effectively

increase the amount of bone cement injected and improve the bilateral distribution of bone cement while reducing the risk of leakage of bone cement. However, PCVP has no obvious advantage in postoperative pain relief and functional improvement.

【Key words】 Osteoporotic vertebral compression fracture; Percutaneous curved vertebroplasty; Percutaneous vertebroplasty; Clinical efficacy

骨质疏松性椎体压缩骨折(OVCF)是老年骨质疏松患者常见的骨折损伤,其中又以脊柱胸腰段发病率最高。经皮椎体成形术(PVP)是治疗脊柱胸腰段 OVCF 最常用的治疗方式。单侧 PVP 具有手术时间短、创伤小、即刻缓解疼痛等优点,但仍存在骨水泥分布情况欠佳和较高的骨水泥渗漏风险[1]。弯角椎体成形术(PCVP)采用弯角穿刺装置,经单侧入路即可达到双侧入路骨水泥弥散效果,在增加骨水泥注入量的同时并不增加骨水泥渗漏风险[2-3]。现分析采用 PCVP 治疗脊柱胸腰段 OVCF 患者的临床治疗效果,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　收集 2018 年 12 月—2019 年 6 月延安大学附属医院骨科收治老年新鲜单节段脊柱胸腰段 OVCF 患者 76 例,采用 PCVP 方法 36 例为弯角组,采用单侧 PVP 方法 40 例为常规组。弯角组男 15 例,女 21 例,年龄 58 ~ 81(69.7 ± 9.6)岁;体质量指数 20 ~ 25(22.4 ± 2.1) kg/m^2;骨折椎体节段,T_{11} 8 例,T_{12} 9 例,L_1 10 例,L_2 9 例;受伤原因,无明确诱因 16 例,摔倒 13 例,弯腰拾物 7 例;骨折至手术时间 1 ~ 6(3.5 ± 1.8)d;合并内科疾病 30 例。常规组男 17 例,女 23 例,年龄 59 ~ 83(70.3 ± 9.4)岁;体质量指数 19 ~ 25(22.1 ± 2.3) kg/m^2;骨折椎体节段,T_{11} 7 例,T_{12} 10 例,L_1 13 例,L_2 10 例;受伤原因,无明确诱因 15 例,摔倒 16 例,弯腰拾物 9 例;骨折至手术时间 1 ~ 7(3.6 ± 1.4)d;合并内科疾病 35 例。2 组临床资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,患者及家属知情同意并签署同意书。

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①符合 OVCF 的诊断标准[4];②新鲜单节段胸腰段 OVCF;③术前影像学检查证实伤椎后壁完整性;④低能量损伤因素导致的骨折损伤;⑤经单侧椎弓根入路行 PVP。(2)排除标准:①伴严重内科疾病,无法耐受俯卧位局麻手术;②术前检查证实凝血功能异常;③结核或肿瘤导致的骨折;④存在脊髓压迫症状。

1.3　手术方法　患者均取俯卧位,在 C 型臂 X 线机透视、定位及监测下分别完成弯角 PVP 与单侧 PVP。弯角组选取进针点,用直向穿刺针经单侧椎弓根穿刺,使针尖达伤椎后缘前约 5 mm 区域,取出穿刺针芯,置入弯角输送装置,正位透视见弯角输送装置尖端越过椎体中线达对侧区域,侧位透视见达椎体前中 1/3 区域;将骨水泥调适至牙膏状,以“退针法”注射骨水泥,依次完成伤椎对侧、中部、同侧骨水泥注射弥散,待骨水泥凝固,取出穿刺工作通道。常规组选取进针点,用直向穿刺针经单侧椎弓根穿刺,使针尖在正位透视达近椎体中线或越过中线、侧位透视达椎体前 1/3 区域;将骨水泥调适至牙膏状进行骨水泥注射弥散,待骨水泥凝固,取出穿刺工作通道。

1.4　观察指标与方法　(1)手术情况:记录 2 组手术时间、术中透视次数、骨水泥注入量;(2)VAS、ODI 评分:比较术前术后疼痛视觉模拟(VAS)评分、Oswestry 功能障碍指数(ODI)评分,其由 10 个问题组成,包括疼痛程度、生活自理、提物、步行、坐位、站立、干扰睡眠、性生活、社会生活、旅游。每个问题 6 个选项,每个问题的最高得分为 5 分,满分 50 分,得分越高表示病情越严重;(3)骨水泥渗漏情况:采用术后 X 线或 CT 扫描评估骨水泥渗漏率、骨水泥双侧分布率,依据 Chu 等[5]介绍的 4 度分法来评估伤椎内骨水泥分布情况,Ⅰ度表示骨水泥分布于对侧椎体 ≥ 75%,Ⅱ度即 75% > 骨水泥分布于对侧椎体 ≥ 50%,Ⅲ度即 50% > 骨水泥分布于对侧椎体 ≥ 25%,Ⅳ度即骨水泥分布于对侧椎体 < 25%;(4)记录手术预后情况。

1.5　统计学方法　采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,组内术前与术后比较采用配对 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;等级资料比较采用秩和(Z)检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组手术情况比较　2 组患者手术时间、术中透视次数比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);弯角组骨水泥注入量大于常规组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2　2 组 VAS、ODI 评分比较　术前 2 组 VAS、ODI 评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);手术后,2 组 VAS、ODI 评分均较术前降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),但组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1　弯角组与常规组手术情况比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	例数	手术时间(min)	术中透视次数(次)	骨水泥注入量(ml)
常规组	40	36.7 ±8.5	16.5 ±7.2	3.8 ±0.8
弯角组	36	39.5 ±7.3	14.1 ±6.0	4.2 ±0.7
t 值		1.532	1.568	2.308
P 值		0.129	0.120	0.023

表 2　2 组手术前后 VAS 评分与 ODI 评分比较　($\bar{x} \pm s$,分)

组　别	时间	VAS 评分	ODI 评分
常规组	手术前	7.8 ±1.1	42.3 ±7.2
(n =40)	手术后	2.0 ±0.7	21.2 ±8.5
弯角组	手术前	7.9 ±1.0	42.5 ±7.3
(n =36)	手术后	2.1 ±0.6	20.6 ±8.3
t/P 常规组内值		28.134/0.000	11.979/0.000
t/P 弯角组内值		29.840/0.000	11.887/0.000
t/P 治疗后组间值		0.664/0.508	0.310/0.756

2.3　2 组骨水泥应用情况比较　弯角组骨水泥渗漏率小于常规组,骨水泥双侧分布率大于常规组,差异均有统计学意义(P <0.05),见表 3。

2.4　2 组手术并发症比较　76 例患者手术均顺利完成,术中未出现血管神经损伤等并发症。

3　讨　论

全球目前患有骨质疏松症者约 2 亿人,而我国患病人群则约有 8 800 万人,全球每 3 s 就有 1 例骨质疏松症患者发生骨折[6],脊柱胸腰段作为胸椎向腰椎的过渡性区域,是 OVCF 最常见的发病区域,严重影响老年人的生活质量[7-8]。PVP 可即刻缓解疼痛、增加伤椎刚度和强度、恢复伤椎稳定性、改善患者的生活质量,是治疗脊柱胸腰段 OVCF 的最常用方法。

双侧椎弓根入路 PVP 为其标准术式,可使伤椎双侧均衡地获得满意的骨水泥弥散效果,有效地减少了因伤椎内骨水泥分布不均引起的椎体刚度恢复不均衡及术后再骨折风险;但此法存在手术时间长、穿刺风险大、术中透视次数多等缺点,对于伴有内科疾病的高龄患者,手术耐受性亦是一大问题[9]。单侧 PVP 通过调整穿刺外展角度可获得双侧 PVP 的骨水泥弥散效果,且明显地减少了手术时间与术中透视次数;但单侧 PVP 穿刺外展角度较大,使得穿破椎弓根内壁及损伤脊髓神经的风险大大增加;而且一旦发生骨水泥弥散不均匀可引发椎体承重失衡,加大远期椎体再次骨折风险[10]。因此,利用 PVP 治疗 OVCF 的同时,有效地降低手术风险,使患者最大化地从微创手术治疗中受益,一直是临床中的一个难题。

PCVP 采用弯角穿刺装置,利用镍钛合金的超高弹性和 PEEK 的可靠机械强度特点,运用直向穿刺套管远端的弯角形变支点,可使弯角通道抵达常规穿刺针所不能及的区域,即可确保骨水泥注射点越过椎体矢状中线以实现椎体双侧均匀强化效果[11]。骨水泥单点开口位于弯角穿刺装置的背侧,调适好的骨水泥经由椎体前柱再向中柱弥散,注射点可随位移控制,即在骨水泥注射满意后可边注射边后退,这种“退针法”靶向多点注射技术,可确保骨水泥在注射过程中始终处于低压弥散状态,可有效地降低骨水泥发生渗漏的风险和增加骨水泥在椎体内双侧分布的几率[12];同时,PCVP 利用常规椎弓根穿刺技术,不强求穿刺的内倾角,可在最大程度上降低穿刺风险[13],经单侧入路即可达到双侧入路骨水泥弥散效果,在增加骨水泥注入量的同时并不增加骨水泥渗漏风险[14]。

目前,关于 PCVP 在 OVCF 治疗中的应用报道较少,急需临床病例来验证其安全性、可行性。本研究结果显示,所有患者手术均顺利完成,术中未出现血管神经损伤等并发症;2 组在手术时间、术中透视次数方面比较差异无统计学意义,说明采用 PCVP 治疗 OVCF 是安全的和可行的。寇红伟等[13]报道认为,PCVP 治疗 OVCF 可在确保伤椎双侧骨水泥分布的情况下,使术中穿破椎弓根内壁及损伤神经血管的风险得到有效地降低。理论上,PCVP 的操作要求更高,操作时间及术中透视次数更多,但实际上其操作步骤仅比常规单侧 PVP 多一步弯角注入器的置入过程,故手术时间及术中透视次数并未显著增加[15]。骨水泥在椎体内弥散不佳和骨水泥渗漏现象是 PVP 操作过程中不可回避的难题。如何改善椎体内骨水泥双侧弥散率和降低骨水泥渗漏一直是临床医生探讨的难点与热点。本研究结果显示,弯角组骨水泥注入量、骨水泥双侧分布率

表 3　弯角组与常规组骨水泥应用情况比较　[例(%)]

组　别	例数	骨水泥渗漏率	骨水泥双侧分布率			
			Ⅰ度	Ⅱ度	Ⅲ度	Ⅳ度
常规组	40	9(22.5)	2(5.0)	6(15.0)	12(30.0)	20(50.0)
弯角组	36	2(5.6)	5(13.9)	13(36.1)	14(38.9)	4(11.1)
χ^2/Z 值		χ^2 =4.395			Z =3.638	
P 值		0.036			0.000	

均显著大于常规组,而骨水泥渗漏率显著小于常规组。这与 PCVP 的特点有关,PCVP 中采用的是“退针法”多点注射方式,不仅注射压力较小,发生骨水泥渗漏的可能性偏小;而且即使出现骨水泥渗漏,只需将弯角工作装置进行退格换档便可继续进行骨水泥注入,开口于腹侧的注射点可使骨水泥分布弥散更均匀。而常规单侧 PVP 则是单点注射,注射压力较大,骨水泥在伤椎内的弥散依靠强大注射压力,一旦发生骨水泥渗漏,往往需要停止骨水泥注射,极易导致骨水泥在伤椎内分布不佳[16]。本研究关注 PCVP 在 OVCF 治疗中安全性、可行性的同时,更关注其临床疗效。本研究结果显示,2 组术后 VAS、ODI 评分均较术前显著改善,而组间比较无显著性差异。既说明了 PCVP 治疗 OVCF 可以显著地缓解患者疼痛,改善患者功能,可达到与常规单侧 PVP 治疗 OVCF 相似的疗效;同时也说明了其在术后疼痛缓解和功能改善方面较常规单侧 PVP 治疗无明显优势。

尽管采用 PCVP 治疗 OVCF 具有明显的优势,但临床应用过程中仍有一些注意事项:(1)术前应熟悉伤椎骨折区域情况,术中自骨折较重侧进针,无需过度内倾,可使弯角穿刺针抵达对侧,尽量使注射通道位于骨折区的下方,可使骨水泥自松质骨区弥散至骨折区[17];(2)术中出现骨水泥渗漏时,将弯角穿刺装置退格换档后,可继续注射骨水泥;(3)骨水泥注射完毕后应退出工作套管再行拔出,以防拔出过程伴随骨水泥溢出发生,避免针道渗漏。

综上,采用 PCVP 治疗新鲜脊柱胸腰段单节段 OVCF,可较常规单侧 PVP 有效地增加骨水泥注入量、改善骨水泥双侧分布情况,并可降低骨水泥渗漏率;但在术后疼痛缓解和功能改善方面无明显优势。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

曹强、段明明:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写及修改;周煜虎、王剑飞:提出研究思路,论文审核;王飞、李长红:资料搜集整理,分析试验数据,进行统计学分析

参考文献

[1] Liang D, Ye LQ, Jiang XB, et al. Biomechanical effects of cement distribution in the fractured area on osteoporotic vertebral compression fractures: a three-dimensional finite element analysis [J]. J Surg Res, 2015, 195(1): 246-256. DOI:10.1016/j.jss.2014.12.053.

[2] 周权发, 刘宏建, 寇红伟, 等. 弯角椎体成形装置的早期疗效评估及对骨水泥分布的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2017, 25(10): 892-897. DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2017.10.07.

[3] 马力, 刘艺明, 王善松, 等. 弯角椎体成形技术治疗老年骨质疏松性椎体压缩骨折的近期疗效 [J]. 临床骨科杂志, 2017, 20(3): 286-288, 292. DOI:10.3969/j.issn.1008-0287.2017.03.008.

[4] 印平, 马远征, 马迅, 等. 骨质疏松性椎体压缩性骨折的治疗指南 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(6): 643-648. DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2015.06.001.

[5] Chu W, Tsuei YC, Liao PH, et al. Decompressed percutaneous vertebroplasty: a secured bone cement delivery procedure for vertebral augmentation in osteoporotic compression fractures [J]. Injury, 2013, 44(6): 813-818. DOI:10.1016/j.injury.2012.10.017.

[6] Akesson K, Marsh D, Mitchell PJ, et al. Capture the Fracture: a Best Practice Framework and global campaign to break the fragility fracture cycle [J]. Osteoporos Int, 2013, 24(8): 2135-2152. DOI:10.1007/s00198-013-2348-z.

[7] Puisto V, Rissanen H, Heliovaara M, et al. Vertebral fracture and cause-specific mortality: a prospective population study of 3 210 men and 3 730 women with 30 years of follow-up [J]. Eur Spine J, 2011, 20(12): 2181-2186. DOI:10.1007/s00586-011-1852-0.

[8] 秦大平, 张晓刚, 宋敏, 等. 老年骨质疏松性胸腰椎压缩骨折治疗研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 679-684.

[9] Zhang L, Liu Z, Wang J, et al. Unipedicular versus bipedicular percutaneous vertebroplasty for osteoporotic vertebral compression fractures: a prospective randomized study [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2015, 16:145. DOI:10.1186/s12891-015-0590-6.

[10] Liebschner MA, Rosenberg WS, Keaveny TM. Effects of bone cement volume and distribution on vertebral stiffness after vertebroplasty [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2001, 26(14): 1547-1554. DOI:10.1097/00007632-200107150-00009.

[11] 李鹏. 弯角椎体成形穿刺装置的研制及应用研究 [D]. 北京:解放军总医院, 2012.

[12] 熊森, 毛克亚, 韩振川, 等. 应用弯角椎体成形装置修复胸腰段骨质疏松性椎体压缩骨折 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(17): 24456-24462. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2016.17.009.

[13] 寇红伟, 周权发, 刘宏建, 等. 弯角椎体成形装置对单侧椎弓根穿刺角度及骨水泥分布的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(2): 338-341. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2017.02.051.

[14] Cheng Y, Liu Y. Percutaneous curved vertebroplasty in the treatment of thoracolumbar osteoporotic vertebral compression fractures [J]. J Int Med Res, 2019, 47(6): 2424-2433. DOI:10.1177/0300060519836917.

[15] 林玉江, 林茜, 杨利民, 等. 弯角椎体成形术治疗胸腰椎骨质疏松性椎体压缩骨折的疗效分析 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 27(5): 423-428. DOI:10.3969/j.issn.1004-406X.2017.05.07.

[16] 钟睿, 姜威, 熊森, 等. 单侧弯角与直行入路椎体成形治疗骨质疏松性椎体压缩骨折疗效的对照研究 [J]. 中华创伤杂志, 2018, 34(2): 102-108. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2018.02.003.

[17] 张大鹏, 强晓军, 杨光. 应用弯角装置单侧穿刺行 PVP 治疗骨质疏松性胸腰椎压缩骨折的疗效分析 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 27(7): 599-604. DOI:10.3969/j.issn.1004-406X.2017.07.04.

(收稿日期:2019-08-31)

论著 · 临床

小剂量阿司匹林对轻度妊娠期高血压患者凝血功能、血管内皮功能及妊娠结局的影响

常丽花, 闫飞艳, 刘芳, 张美, 张亚萍

作者单位: 710038　西安医学院第二附属医院产一科(常丽花、张美、张亚萍), 妇科(闫飞艳), 检验科(刘芳)
通信作者: 闫飞艳, E-mail: 570944789@qq.com

【摘　要】 **目的**　观察小剂量阿司匹林对轻度妊娠期高血压患者凝血功能、血管内皮功能和妊娠结局的影响。**方法**　收集 2016 年 1 月—2018 年 1 月西安医学院第二附属医院产一科诊治轻度妊娠期高血压患者 160 例, 以随机数字表法分为 2 组, 每组 80 例。2 组均按常规方案治疗, 对照组另予安慰剂口服, 观察组予小剂量阿司匹林(100 mg/d)口服, 至孕 37 周停止。比较治疗前后 2 组血压、凝血功能、血管内皮功能指标变化及妊娠结局。**结果**　治疗后, 观察组收缩压和舒张压均低于对照组(t/P = 2.029/0.041、2.108/0.037); PT 值高于对照组, 纤维蛋白原(Fib)、D-二聚体(D-D)、血小板聚集率均低于对照组(t/P = 2.522/0.030、3.663/0.000、3.459/0.000、2.850/0.023); 血清内皮素 1(ET-1)、ET-1/NO 低于对照组的 NO 高于对照组(t/P = 2.531/0.022、2.610/0.014、2.325/0.034); 观察组不良妊娠结局发生率为 38.8%, 低于对照组 48.8%(χ^2/P = 1.625/0.202)。**结论**　小剂量阿司匹林可改善轻度妊娠期高血压患者凝血功能、血管内皮功能, 从而改善患者妊娠结局, 值得临床推广。

【关键词】 阿司匹林; 妊娠期高血压; 凝血功能; 妊娠结局

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.014

Effects of low-dose aspirin on coagulation function, vascular endothelial function and pregnancy outcome in patients with mild pregnancy-induced hypertension

*Chang Lihua**, *Yan Feiyan*, *Liu Fang*, *Zhang Mei*, *Zhang Yaping*. **Department of Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Shaanxi Province, Xi'an* 710038, *China*
Corresponding author: *Yan Feiyan*, *E-mail*: 570944789@*qq.com*

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effects of low-dose aspirin on coagulation function, vascular endothelial function and pregnancy outcome in patients with mild pregnancy-induced hypertension. **Methods**　From January 2016 to January 2018, 160 patients with mild pregnancy-induced hypertension were diagnosed and treated in the First Department of Obstetrics, Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College. Random number table method was used to divide into 2 groups, 80 cases in each group. Both groups were treated according to the conventional protocol. The control group received another placebo. The observation group was given a small dose of aspirin (100 mg/d) orally and stopped at 37 weeks of pregnancy. Changes in blood pressure, blood coagulation function, vascular endothelial function index and pregnancy outcome were compared between the two groups before and after treatment. **Results**　After treatment, the systolic and diastolic blood pressures in the observation group were lower than those in the control group (t/P = 2.029/0.041, t/P = 2.108/0.037); the PT value was higher than the control group, and fibrinogen (Fib) and D dimer (D-D) and platelet aggregation rate were lower than those in the control group (t/P = 2.522/0.030, t/P = 3.663/0.000, t/P = 3.459/0.000, t/P = 2.850/0.023); serum endothelin 1 (ET-1), ET-1/NO is lower than the control group, and NO is higher than the control group (t/P = 2.531/0.022, t/P = 2.610/0.014, t/P = 2.325/0.034); The incidence of pregnancy outcome was 38.8%, which was lower than the control group 48.8% (χ^2/P = 1.625/0.202). **Conclusion**　Low-dose aspirin can improve coagulation function and vascular endothelial function in patients with mild pregnancy-induced hypertension, thereby improving patient pregnancy outcomes.

【**Key words**】 Aspirin; Pregnancy induced hypertension; Coagulation function; Pregnancy outcome

妊娠期高血压为妊娠期常见并发症, 以蛋白尿、高血压、水肿为主要临床表现。妊娠期高血压与胎盘早剥、胎儿发育缓慢、死胎、早产、羊水过少等不良妊娠结局有关[1]。妊娠期高血压的发病机制复杂, 相关研究认为, 其与血管内皮细胞受损、凝血功能异常及免疫系统等诸多因素密切相关[2]。阿司匹林已被证实在抑

制血小板环氧合酶、减少血栓素 A2 合成方面效果显著,从而发挥扩张血管、降低血压的作用。现观察小剂量阿司匹林对轻度妊娠期高血压患者凝血功能、血管内皮功能和妊娠结局的影响,以进一步明确阿司匹林治疗妊娠期高血压的疗效及作用机制,为临床诊治提供参考,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　收集 2016 年 1 月—2018 年 1 月西安医学院第二附属医院产一科首次诊断为轻度妊娠期高血压患者 160 例, 以随机数字表法分为 2 组,各 80 例。临床表现: 观察组水肿 30 例,蛋白尿 32 例,持续性头晕、头痛、呕吐 14 例,抽搐 9 例;对照组水肿 28 例,蛋白尿 29 例,持续性头晕、头痛、呕吐 15 例,抽搐 11 例。观察组孕前至孕早期口服叶酸 68 例,孕期服用过其他药物 18 例;对照组孕前至孕早期口服叶酸 71 例,孕期服用过其他药物 16 例。2 组患者及其家族均无畸形儿生育史。2 组孕妇年龄、BMI、孕次等临床资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

表 1　2 组孕妇一般资料比较　($\bar{x}\pm s$)

组　别	例数	年龄(岁)	BMI(kg/m^2)	孕次[例(%)]	
				初产	经产
对照组	80	26.8±5.1	26.5±3.5	59(73.8)	21(26.3)
观察组	80	27.2±4.9	26.2±3.4	56(70.0)	24(30.0)
χ^2/t 值		0.966	0.559	1.395	
P 值		0.258	0.501	0.146	

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①均经超声、血尿人绒毛膜促性腺激素检查确诊为妊娠;②静坐 15 min 测量收缩压≥140 mmHg、舒张压≥90 mmHg;③无高血压疾病史。(2)排除标准:①既往有慢性病史者;②合并有胎位异常、妊娠期糖尿病等其他妊娠并发症者;③合并自身免疫系统疾病者;④近 3 个月应用影响凝血功能的药物,如肝素、碳酸钙、硫酸镁等;⑤病历资料不完整、依从性差及失访者。

1.3　治疗方法　2 组均按妊高征常规方案治疗。观察组另予小剂量阿司匹林口服,孕 13~16 周开始以阿司匹林(德国拜耳集团)100 mg/d 于餐后服用,1 次/d,至孕 37 周停止。对照组另予安慰剂口服,使用方法、剂量及疗程均与观察组相同。疗程开始后 15 d 复查血常规,之后每月复查 1 次血常规,服药期间严密监测患者是否存在恶心、呕吐、胃部烧灼感等消化道症状,是否存在泌尿生殖器出血、瘀斑、皮肤出血点等出血倾向。

1.4　观测指标与方法　(1)于治疗前后测量 2 组收缩压及舒张压;(2)治疗前及疗程结束后清晨采集孕妇空腹肘静脉血 5 ml,离心取上层液于 -70℃ 冰箱待检测。采用 ACL TOP700 凝血分析仪(美国实验仪器公司)检测凝血酶原时间(PT)、纤维蛋白原(Fib)、D-二聚体(D-D);(3)上述血清采用放射免疫法测定血清内皮素 1(ET-1)、一氧化氮(NO)并计算 ET-1/NO 比值;(4)观察和记录 2 组患者妊娠结局。

1.5　统计学方法　采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)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　2 组治疗前后血压比较　治疗前 2 组收缩压和舒张压比较差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后 2 组收缩压和舒张压均降低,且观察组低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2　2 组治疗前后血压比较　($\bar{x}\pm s$,mmHg)

组　别	时间	收缩压	舒张压
对照组	治疗前	166.5±10.4	103.6±11.5
(n=80)	治疗后	147.2±9.8	91.4±9.9
观察组	治疗前	163.1±12.8	105.0±8.9
(n=80)	治疗后	136.1±11.5	82.7±9.5
t/P 对照组内值		3.831/0.008	2.383/0.031
t/P 观察组内值		4.128/0.000	2.986/0.014
t/P 治疗后组间值		2.029/0.041	2.108/0.037

2.2　2 组治疗前后凝血功能比较　治疗前 2 组各凝血功能指标比较差异均无统计学意义($P>0.05$);观察组各凝血功能指标治疗前后比较差异均有统计学意义($P<0.05$),对照组治疗前后除 PT、血小板聚集率外,其他指标比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后观察组 PT 值高于对照组,Fib、D-D、血小板聚集率均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但组间血小板计数比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.3　2 组治疗前后血管内皮功能比较　治疗前 2 组各项血管内皮功能指标比较差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗后,2 组 ET-1、ET-1/NO 均降低、NO 均升高,且观察组降低/升高幅度大于对照组(P 均 <0.05),见表 4。

2.4　2 组妊娠结局比较　观察组不良妊娠结局发生率为 38.8%,低于对照组的 48.8%,但差异无统计学

意义($P>0.05$),见表 5。

表 4　2 组治疗前后血管内皮功能指标水平比较　($\bar{x}\pm s$)

组　别	时间	ET-1(ng/L)	NO(mol/L)	ET-1/NO
对照组	治疗前	69.47 ±22.14	40.25 ±15.74	1.73 ±0.25
(n =80)	治疗后	57.12 ±15.23	48.39 ±11.72	1.18 ±0.22
观察组	治疗前	68.58 ±21.17	40.38 ±15.02	1.70 ±0.26
(n =80)	治疗后	39.27 ±11.16	70.98 ±12.77	0.55 ±0.19
t/P 对照组内值		5.201/0.000	1.415/0.081	2.160/0.039
t/P 观察组内值		6.408/0.000	3.483/0.000	4.698/0.000
t/P 治疗后组间值		2.531/0.022	2.325/0.034	2.610/0.000

3　讨　论

妊娠期高血压为妊娠期常见疾病之一,好发于妊娠后 5 个月,患者出现管腔变窄、小动脉痉挛及血管内皮损伤等变化,进而在凝血因子的作用下机体凝血功能异常增强、抗凝系统减弱,临床表现为高血压、水肿及蛋白尿等。妊娠期高血压的治疗以解痉降压为主,硫酸镁为常用药物,但研究显示其有效浓度接近中毒剂量,因此机体镁中毒风险较大,且硫酸镁的解痉作用可能增大胎儿宫内窘迫的风险[3]。阿司匹林为治疗心血管疾病的常用药,研究证实,阿司匹林可以抑制血小板环氧化酶活性和血栓素 A2 的生成,从而发挥抗凝、扩张血管和降压的作用[4]。

研究显示,小剂量阿司匹林对预防子痫前期、改善不良妊娠结局具有显著效果[5],与本结果相符,观察组不良妊娠结局发生率为 38.8%,对照组为 48.8%。但对于阿司匹林的应用剂量(40 ~ 160 mg/d)方面相关研究差异较大。根据姚硕等[6]的 Meta 分析显示,妊娠期前 16 周应用阿司匹林效果更为显著,可能与滋养细胞转化为子宫螺旋小动脉的过程紊乱主要发生在妊娠16 ~20 周有关。但妊娠期前 12 周为致畸的高风险时期[7],因此本研究在 13 ~ 16 周开始服药,剂量为 100 mg/d。结果显示,观察组治疗后收缩压和舒张压水平均较对照组更低,说明该时间段口服此剂量的阿司匹林在降低血压方面效果显著。

妊娠期高血压患者血液常处于高凝状态,PT 是检查机体外源性凝血系统功能有无障碍的过筛试验,也是临床抗凝治疗的重要监测指标[8],其值越低说明机体凝血功能越强,Fib 可以促进血小板聚集、增加血液黏滞性;D-D 为机体交联纤维蛋白的特异性降解产物[9],因此 Fib 和 D-D 水平的增高可在一定程度上反映机体凝血功能和纤溶系统功能,从 2 组患者凝血功能指标来看,治疗后观察组 PT 高于对照组,Fib、D-D 均低于对照组,说明小剂量阿司匹林可改善妊娠期高血压患者的机体高凝状态,其作用原理为阿司匹林通过与环氧化酶中的 COX-1 活性部位多肽链 530 位丝氨酸残基的羟基发生不可逆的乙酰化,使 COX 失活,继而阻断了血栓素 A2 生成的途径,从而抑制血小板聚集。治疗后观察组血小板聚集率均数为 73.4%,对照组均数为 84.2%,组间比较差异具有统计学意义,且对照组患者血小板聚集率超过正常参考范围。在子痫前期的相关研究中,有学者提出“阿司匹林抵抗”的概念。Truong 等[10]研究发现,患者服用不同剂量的阿司匹林均可能出现抵抗,约 30% 妊娠患者服用81 mg/d阿司匹林时出现抵抗,约 20% 妊娠患者服用 121 mg/d 阿司匹林时出现抵抗,提示口服阿司匹林患者应定期行血小板功能检测,以评估服药效果,及时调整剂量。

表 3　2 组治疗前后凝血功能指标水平比较　($\bar{x}\pm s$)

组　别	时间	PT(s)	Fib(g/L)	D-D(mg/L)	血小板计数($\times10^9$/L)	血小板聚集率(%)
对照组	治疗前	9.98 ±1.56	6.17 ±1.12	2.26 ±0.27	246.5 ±37.7	81.4 ±10.9
(n =80)	治疗后	10.43 ±1.19	5.28 ±1.27	1.41 ±0.42	190.8 ±30.2	84.2 ±12.0
观察组	治疗前	10.05 ±1.41	6.11 ±1.35	2.29 ±0.25	255.2 ±42.0	80.8 ±11.3
(n =80)	治疗后	12.82 ±1.18	4.20 ±1.26	0.79 ±0.35	195.2 ±33.8	73.4 ±11.6
t/P 对照组内值		0.591/0.427	2.134/0.048	2.857/0.000	2.955/0.000	0.669/0.538
t/P 观察组内值		2.164/0.035	3.098/0.011	4.918/0.000	2.964/0.012	2.145/0.040
t/P 治疗后组间值		2.522/0.030	3.663/0.000	3.459/0.000	1.285/0.157	2.850/0.000

表 5　2 组妊娠结局比较　[例(%)]

组　别	例数	羊水过少	胎死宫内	胎盘早剥	早产	子痫前期	不良妊娠结局(%)
对照组	80	8(10.0)	1(1.3)	2(2.5)	11(13.8)	17(21.3)	48.8
观察组	80	6(7.5)	2(2.5)	2(2.5)	10(12.5)	11(13.8)	38.8
χ^2 值		0.535	0.532	0.000	0.416	1.558	1.625
P 值		0.582	0.597	1.000	0.681	0.212	0.202

ET-1 和 NO 均由内皮细胞产生，ET-1 是机体于病理状态下产生的内源性损伤因子，具有强烈的血管收缩作用[11-13]，常与血管损伤相关疾病有密切关系，可以通过产生代谢产物 A2、促进钙离子库释放钙离子导致钙超载[14-16]、增加自由基产生引起细胞坏死和水肿等多种机制引起血管收缩。NO 为一种内皮依赖性舒张因子，具有保持血管内皮功能和调节血压等功能，其生物利用度的降低是导致内皮功能障碍的重要原因[17-18]。本结果显示，治疗后观察组 NO 水平较对照组更高，而 ET-1 较对照组低，提示小剂量阿司匹林可以发挥较好的血管内皮保护作用。可能的机制是：(1)阿司匹林可以呈浓度依赖性的下调内皮素表达，从而改善内皮功能障碍、减少局部缺血的发生；(2)阿司匹林能够抑制血管内皮细胞增殖。与部分学者研究一致，胡春华等[19]研究显示，阿司匹林能显著对抗内皮功能不全，Van Oostwaard 等[20]研究发现，阿司匹林可以通过上调 p53 蛋白发挥抑制其过度增殖的作用；(3)阿司匹林具有抗过氧化物损伤和减少氧自由基等作用。综合本次研究结果和现有文献，阿司匹林作用于内皮血管功能的机制尚未完全明确，但推测阿司匹林作用于内皮细胞产生的细胞因子及其他炎性因子的方式是其发挥作用的关键。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

常丽花：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；闫飞艳：提出研究思路，分析试验数据，论文审核；刘芳：实施研究过程，资料搜集整理，论文修改；张美：进行统计学分析；张亚萍：课题设计，论文撰写

参考文献

[1] 王改华，孙红艳. 小剂量阿司匹林肠溶片对改善妊高症高危患者 127 例凝血功能临床价值研究[J]. 陕西医学杂志，2019，48(3)：389-392. DOI：10.3969/j.issn.1000-7377.2019.03.29.

[2] Navaratnam K, Alfirevic A, Alfirevic Z. Low dose aspirin and pregnancy: how important is aspirin resistance [J]. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 2016, 123(9): 1481-1487. DOI：10.1111/1471-0528.13914.

[3] 周朝阳，张文缓. 钙剂配伍阿司匹林对妊娠期高血压高危孕妇的临床干预研究[J]. 现代中西医结合杂志，2014，23(33)：3667-3669，3674. DOI：10.3969/j.issn.1008-8849.2014.33.007.

[4] 赵倩. 硝苯地平联合小剂量阿司匹林肠溶片治疗妊娠期高血压疾病的临床疗效及对患者凝血功能、妊娠结局的影响[J]. 中国妇幼保健，2019，34(2)：304-306. DOI：10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.02.22.

[5] Bose P, Black S, Kadyrov M, et al. Heparin and aspirin attenuate placental apoptosis in vitro: implications for early pregnancy failure [J]. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2005, 192(1): 23-30. DOI：10.1016/j.ajog.2004.09.029.

[6] 姚硕，吴焕，余艳红. 妊娠早中期服用阿司匹林对子痫前期高危人群预防作用的系统性评价[J]. 南方医科大学学报，2015，35(6)：868-873. DOI：10.3969/j.issn.1673-4254.2015.06.018.

[7] 姬建秀，陈燕，白惠，等. 阿司匹林对妊娠合并慢性高血压患者血小板聚集率及妊娠结局的影响[J]. 中国医药，2018，13(8)：1223-1226. DOI：10.3760/j.issn.1673-4777.2018.08.027.

[8] 张津明. 小剂量阿司匹林预防妊娠期高血压疾病研究进展[J]. 糖尿病天地，2018，15(8)：49. DOI：10.3969/j.issn.1672-7851.2018.08.049.

[9] 王晓静，赵晶. 妊娠高血压疾病与妊娠结局相关性的研究进展[J]. 延安大学学报：医学科学版，2015，13(4)：60-61，74. DOI：10.3969/j.issn.1672-2639.2015.04.021.

[10] Truong A, Sayago MM, Kutteh WH, et al. Subchorionic hematomas are increased in early pregnancy in women taking low-dose aspirin [J]. Fertility and Sterility, 2016, 105(5): 1241-1246. DOI：10.1016/j.fertnstert.2016.01.009.

[11] 汤海琴，胡世俊，朱晓素，等. 运动性护理联合阿司匹林对妊高征患者凝血因子的影响及预防下肢深静脉血栓形成的效果[J]. 血栓与止血学，2018，24(5)：877-878. DOI：10.3969/j.issn.1009-6213.2018.05.055.

[12] 万晓英，何翠芬，刘丽芬. 米索前列醇治疗妊娠高血压综合征产妇产后出血的临床效果[J]. 中国当代医药，2019，26(20)：73－75. DOI：10.3969/j.issn.1674－4721.2019.20.023.

[13] 姬建秀，陈燕，白惠，等. 阿司匹林对妊娠合并慢性高血压患者血小板聚集率及妊娠结局的影响[J]. 中国医药，2018，13(8)：1223－1226. DOI：10.3760/j.issn.1673－4777.2018.08.027.

[14] 王蕊，白惠，姬建秀. 钙离子拮抗剂加小剂量阿司匹林或单用阿司匹林治疗慢性高血压合并妊娠的效果研究[J]. 河北医药，2019，41(3)：439-441. DOI：10.3969/j.issn.1002-7386.2019.03.029.

[15] 黄华，张慧，范万里. 复方血栓通胶囊对 COPD 伴高凝状态患者血管内皮功能、肺动脉高压及气道功能的影响[J]. 疑难病杂志，2018，17(10)：1127-1131. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2018.10.011.

[16] 吴相君，赵保礼，韩硕龙，等. 芪芳强心胶囊对扩张型心肌病患者心功能及血管内皮功能影响的临床研究[J]. 疑难病杂志，2018，17(4)：329-333. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2018.04.002.

[17] 王禹，马维红. 小剂量阿司匹林预防妊娠期高血压疾病的研究进展[J]. 广西医学，2019，41(12)：1549-1551，1564. DOI：10.11675/j.issn.0253-4304.2019.12.19.

[18] 权青云，张愉，张贵云，等. 通心络胶囊对血管性认知功能障碍患者血管内皮功能和氧化应激的影响[J]. 疑难病杂志，2018，17(2)：129-132. DOI：10.3969/j.issn.1671-6450.2018.02.006.

[19] 胡春华，尹维. 小剂量阿司匹林治疗对妊娠期高血压疾病患者血压和心血管功能的影响[J]. 中国妇幼保健，2018，33(24)：5802-5804. DOI：10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2018.24.45.

[20] Van Oostwaard MF, Langenveld J, Schuit E, et al. Recurrence of hypertensive disorders of pregnancy: an individual patient data meta-analysis[J]. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2015, 212(5): 624. DOI：10.1016/j.ajog.2015.01.009.

（收稿日期：2019－07－19）

论著 · 临床

重组干扰素联合抗生素对宫颈上皮内瘤变 LEEP 术后 HPV-DNA 负荷量及 Caspase-3、survivin 表达的影响

崔开颖，朱根海，杨舒盈，陈春英，洪澜，吴梦琼

基金项目：海南省医药卫生科研项目（1801320311A2001）
作者单位：570311　海口，海南省人民医院妇科
通信作者：朱根海，E-mail：genhaizhu@163.com

【摘　要】 **目的**　观察重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊联合头孢拉定胶囊对宫颈上皮内瘤变（CIN）患者宫颈电环切除术（LEEP）后人乳头状瘤病毒（HPV）DNA 负荷量及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3（Caspase-3）、生存素（survivin）蛋白表达的影响。**方法**　选取 2016 年 10 月—2018 年 10 月海南省人民医院妇科收治的 CIN 患者 180 例作为研究对象，CIN Ⅰ级、CIN Ⅱ级患者各 90 例，按照随机数字表法将 CIN Ⅰ级患者分为 CIN ⅠA 组、CIN ⅠB 组、CIN ⅠC 组，CIN Ⅱ级患者分为 CIN ⅡA 组、CIN ⅡB 组、CIN ⅡC 组，各 30 例。CIN 患者均接受 LEEP 治疗，CIN ⅠA 组及 CIN ⅡA 组术后均口服抗生素头孢拉定胶囊，CIN ⅠB 组及 CIN ⅡB 组术后均给予重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊阴道给药，CIN ⅠC 组及 CIN ⅡC 组给予口服头孢拉定胶囊联合重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊阴道给药。观察各组患者临床疗效，术后 6 个月 HPV 转阴率，术前、术后 6 个月 HPV-DNA 负荷量及宫颈组织中 Caspase-3 蛋白、survivin 蛋白阳性率。**结果**　CIN ⅠC 组治愈率显著高于 CIN ⅠA 组、ⅠB 组（$\chi^2=4.216$，$P=0.040$）；CIN ⅡC 组治愈率明显高于 CIN ⅡA 组、ⅡB 组（$\chi^2=6.585$，$P=0.037$）。术后 6 个月各组患者 HPV-DNA 负荷量均明显少于术前（P 均 <0.001），且 C 组明显少于 A 组、B 组（$F_{CIN\ I}=84.294$，$P<0.001$；$F_{CIN\ II}=82.601$，$P<0.001$）。术后 6 个月 CIN ⅠC 组患者 HPV 转阴率为 93.3%，明显高于 CIN ⅠA 组的 73.3% 和 CIN ⅠB 组的 70.0%（$\chi^2=6.634$，$P=0.036$），CIN ⅡC 组为 83.3%，显著高于 CIN ⅡA 组的 60.0% 和 CIN ⅡB 组的 56.7%（$\chi^2=6.104$，$P=0.047$）。术后 6 个月各组患者 Caspase-3、survivin 蛋白阳性率均显著低于术前，且 C 组显著低于 A 组、B 组（Caspase-3 蛋白阳性率：$\chi^2_{CIN\ I}=5.079$，$P=0.024$；$\chi^2_{CIN\ II}=4.286$，$P=0.038$。survivin 蛋白阳性率：$\chi^2_{CIN\ I}=5.963$，$P<0.001$；$\chi^2_{CIN\ II}=4.295$，$P=0.040$）。**结论**　CIN 患者 LEEP 术后联合使用重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊和头孢拉定胶囊效果明显优于单独应用，不仅可有效减少 HPV-DNA 负荷量，促进 HPV 转阴，还能明显降低 Caspase-3、survivin 蛋白阳性率。

【关键词】　宫颈上皮内瘤变；重组干扰素；宫颈电环切除术；人乳头状瘤病毒；天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3；生存素

【DOI】　10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.015

The effect of recombinant interferon combined with antibiotics on the levels of DNA load of HPV and the expression of Caspase-3 and survivin after LEEP for cervical intraepithelial neoplasia

Cui Kaiying, Zhu Genhai, Yang Shuying, Chen Chunying, Hong Lan, Wu Mengqiong. Department of Gynecology, Hainan People's Hospital, Hainan Province, Haikou 570311, China
Corresponding author: Zhu Genhai, E-mail: genhaizhu@163.com
Fund program: Hainang Province Health and Medicine Research Project (1801320311A2001)

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effect of recombinant human interferon α-2b vaginal effervescent capsule combined with Cefradine Capsule on the DNA load of human papillomavirus (HPV) and the expression of Caspase-3 and survivin protein in patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) after LEEP. **Methods**　From October 2016 to October 2018, 180 cases of CIN patients admitted to the Department of Gynecology of Hainan People's Hospital were selected as the research objects, 90 cases of CIN class I and 90 cases of CIN class II respectively. According to the method of random number table, patients with CIN Ⅰ were divided into CIN Ⅰ a group, CIN Ⅰ B group and CIN Ⅰ C group. Patients with CIN Ⅱ were divided into CIN Ⅱ a group, CIN Ⅱ B group and CIN Ⅱ C group with 30 cases each. All patients with CIN were treated with LEEP, Cefradine capsule was taken orally after operation in CIN Ⅰ a group and CIN Ⅱ a group, recombinant human interferon α-2b

vaginal effervescence capsule was given vaginally in CIN Ⅰ B group and CIN Ⅱ B group, Cefradine capsule combined with recombinant human interferon α-2b vaginal effervescence capsule was given vaginally in CIN Ⅰ C group and CIN Ⅱ C group. To observe the clinical effect of each group, the negative rate of HPV, the DNA load of HPV and the positive rate of caspase 3 protein and survivin protein in cervical tissue before and 6 months after operation. **Results** The cure rate of CIN ⅠC group was significantly higher than that of CIN ⅠA and IB groups ($\chi^2 = 4.216, P = 0.040$); the cure rate of CIN ⅡC group was significantly higher than that of CIN ⅡA and ⅡB groups ($\chi^2 = 6.585, P = 0.037$). At 6 months after surgery, the HPV DNA load in each group was significantly less than before surgery ($P < 0.001$), and group C was significantly less than those in groups A and B ($F_{\text{CIN Ⅰ}} = 84.294$, $P < 0.001$; $F_{\text{CIN Ⅱ}} = 82.601$, $P < 0.001$). At 6 months after surgery, the HPV negative rate of patients in the CIN ⅠC group was 93.3%, which was significantly higher than 73.3% in the CIN ⅠA group and 70.0% in the CIN ⅠB group ($\chi^2 = 6.634, P = 0.036$), and 83.3% in the CIN ⅡC group. It was significantly higher than 60.0% in CIN ⅡA group and 56.7% in CIN ⅡB group ($\chi^2 = 6.104, P = 0.047$). The positive rates of Caspase-3 and survivin protein in all groups were significantly lower than those before surgery at 6 months after operation, and the C group was significantly lower than those in Group A and B (Caspase-3 protein positive rate: χ^2 CIN Ⅰ $= 5.079, P = 0.024$; χ^2 CIN Ⅱ $= 4.286, P = 0.038$. Survivin protein positive rate: $\chi^2_{\text{CIN Ⅰ}} = 5.963$, $P < 0.001$; $\chi^2_{\text{CIN Ⅱ}} = 4.295, P = 0.040$). **Conclusion** The combined use of recombinant human interferon α-2b vaginal effervescent capsule and Cefradine capsule after LEEP for CIN patients is better than that of single application, which can not only effectively reduce the load of HPV-DNA, promote the conversion of HPV to negative, but also significantly reduce the positive rate of Caspase-3 and survivin protein.

【Key words】 Cervical intraepithelial neoplasia; Recombinant interferon; Loop electrosurgical excision procedure; Human papillomavirus; Aspartate specific cysteine protease 3; Survivin

宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)是宫颈癌的癌前病变,可反映宫颈癌发生、发展的连续过程。CIN 发生与人乳头状瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染密切相关,研究发现 HPV 高负荷可作为 CIN 进展的短期指标[1]。目前,宫颈电环切除术(loop electrosurgical excision procedure, LEEP)已成为治疗 CIN 的重要手段,虽能有效清除 HPV 病毒感染,但仍有部分患者存在病灶残留问题,严重影响远期疗效[2]。因此,CIN 患者 LEEP 术后应联合使用其他药物治疗,以提高临床疗效。LEEP 术后及时口服抗生素头孢拉定胶囊,可有效维持阴道微生态平衡,发挥抗感染作用[3];而术后重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊阴道给药,可使病变部位组织、细胞产生抗病毒蛋白,发挥抗病毒、免疫调节等作用[4]。此外,天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(cysteine-containing aspartate-specific proteases 3, Caspase-3)、生存素(survivin)与宫颈病变发生、发展密切相关。鉴于此,现观察 CIN 患者 LEEP 术后联合使用重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊和头孢拉定胶囊对 HPV-DNA 负荷量及 Caspase-3、survivin 表达的影响,并与 LEEP 术后单独使用头孢拉定胶囊及单独应用重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊的效果进行对比分析,结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2016 年 10 月—2018 年 10 月海南省人民医院妇科收治的 CIN 患者 180 例作为研究对象,CIN Ⅰ、CIN Ⅱ级患者各 90 例。按照随机数字表法将 CIN Ⅰ级患者分为 CIN ⅠA 组、CIN ⅠB 组、CIN ⅠC 组,CIN Ⅱ级患者分为 CIN ⅡA 组、CIN Ⅱ B 组、CIN Ⅱ C 组,各 30 例。各组间临床资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①经宫颈活检确诊为 CIN,且符合 CIN Ⅰ和 CIN Ⅱ相关诊断标准[5]的患者;②高危型 HPV-DNA 检测显示阳性者;③临床资料齐全者;④自愿接受 LEEP 手术治疗,且入院前未接受其他相关治疗。(2)排除标准:①近期月经失调者;②妊娠期或哺乳期女性;③合并滴虫、支原体等其他生殖系统感染者;④对头孢拉定胶囊或重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊过敏者;⑤存在凝血障碍者。

1.3　治疗方法　CIN 患者于月经干净后 3 ~ 7 d 接受 LEEP 治疗,均由同一组医师使用韩国 UM-150A 高频电刀进行操作。患者取膀胱截石位,常规消毒、麻醉,以碘试验确定切除范围,切除深度为 1.5 ~ 2.5 cm,电凝止血,并使用明胶海绵填塞宫颈创面,术后 24 h 取出。CIN ⅠA 组及 CIN ⅡA 组术后均口服头孢拉定胶囊(山东鲁抗医药股份有限公司生产)0.5 g/次,3 次/d,连续治疗 7 d。CIN ⅠB 组及 CIN ⅡB 组术后均给予重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊(上海华新生物高技术有限公司生产,规格:每粒含 α-2b 干扰素 80 万

U)1 粒每晚睡前给药(于 LEEP 术后 15 d 开始),置于阴道穹窿处,避开月经期连续用药 3 个月,疗程结束后再随访 3 个月。CIN Ⅰ C 组及 CIN Ⅱ C 组给予口服头孢拉定胶囊联合重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊阴道给药,各药物用药方法同上。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　临床疗效评价[6]:术后 6 个月阴道镜检查宫颈光滑,未发现 CIN 病变存在,即为治愈;阴道镜检查仍有 CIN 病变存在,即为病变持续或残存。

1.4.2　HPV-DNA 负荷量检测:CIN 患者均于术前及术后 6 个月使用宫颈管刷采集宫颈脱落细胞,并用第二代杂交捕获(HC Ⅱ)法检测 HPV-DNA 含量。根据相对光单位长度(RLU)判断有无 HPV-DNA 存在,并设立阳性对照(CO),以 RLU/CO 表示 HPV-DNA 负荷量,RLU/CO≥1 为阳性。

1.4.3　HPV 转阴率计算:以 RLU/CO < 1 作为转阴标准,记录转阴例数,计算转阴率。

1.4.4　宫颈组织中 Caspase-3 蛋白、survivin 蛋白阳性率测定:取宫颈活检组织,采用免疫组织化学 SP 法检测宫颈组织中 Caspase-3 蛋白、survivin 蛋白表达,兔抗人 Caspase-3 多克隆抗体、兔抗人 survivin 蛋白多克隆抗体均购自上海通蔚生物科技有限公司。染色结果判断,每例标本在高倍镜(×400)下随机选取 5 个视野,计算每个视野内阳性细胞构成比,取平均值。无阳性细胞,即为阴性(－);阳性细胞构成比 < 25%,即为弱阳性(＋);25% ≤阳性细胞≤50%,即为中阳性(＋＋);阳性细胞 > 50%,即为强阳性(＋＋＋)。

1.5　统计学方法　应用 SPSS 21.0 软件对数据进行处理。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或率(%)描述,组间比较行 χ^2 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　各组临床疗效比较　CIN Ⅰ C 组患者治愈率明显高于 CIN Ⅰ A 组与 CIN Ⅰ B 组($P < 0.05$),病变持续或残存率显著低于 CIN Ⅰ A 组与 CIN Ⅰ B 组($P < 0.05$),CIN Ⅰ A 组与 CIN Ⅰ B 组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);CIN Ⅱ C 组患者治愈率显著高于 CIN Ⅱ A 组与 CIN Ⅱ B 组($P < 0.05$),病变持续或残存率明显低于 CIN Ⅱ A 组与 CIN Ⅱ B 组($P < 0.05$),CIN Ⅱ A 组与 CIN Ⅱ B 组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2　各组 CIN 患者临床疗效比较　[例(%)]

	组　别	例数	治愈	病变持续或残存
CIN Ⅰ级	A 组	30	24(80.0)	6(20.0)
	B 组	30	23(76.7)	7(23.3)
	C 组	30	29(96.7)	1(3.3)
CIN Ⅱ级	A 组	30	19(63.3)	11(36.7)
	B 组	30	18(60.0)	12(40.0)
	C 组	30	26(86.7)	4(13.3)
χ^2/P CIN Ⅰ级组间值			4.216/0.040	
χ^2/P CIN Ⅱ级组间值			6.585/0.037	

2.2　各组 HPV-DNA 负荷量比较　术前,CIN Ⅱ级各组患者 HPV-DNA 负荷量高于 CIN Ⅰ级各组患者,差异均有统计学意义($P < 0.01$);术后 6 个月各组患者 HPV-DNA 负荷量均显著少于术前,且 C 组明显少于 A 组与 B 组($P < 0.05$),A 组与 B 组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

2.3　各组 HPV 转阴率比较　术后 6 个月 CIN Ⅰ C 组患者 HPV 转阴率 93.3%(28/30)显著高于 CIN Ⅰ A 组73.3%(22/30)与 CIN Ⅰ B 组 70.0%(21/30)($\chi^2 = 6.634$, $P = 0.036$);CIN Ⅱ C 组患者 HPV 转阴率 83.3%(25/30)明显高于 CIN Ⅱ A 组 60.0%(18/30)与 CIN Ⅱ B 组 56.7%(17/30)($\chi^2 = 6.104$, $P = 0.047$);CIN Ⅰ、Ⅱ级 A 组与 B 组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4　各组宫颈组织中 Caspase-3 蛋白及 survivin 蛋白阳性率比较　术前各组患者 Caspase-3 蛋白及 survivin

表 1　各组 CIN 患者临床资料比较　($\bar{x} \pm s$)

	组　别	例数	年龄(岁)	病程(年)	妊娠次数(次)	吸烟[例(%)]	家族遗传史[例(%)]
CIN Ⅰ级	A 组	30	41.02 ± 13.57	3.98 ± 1.20	2.10 ± 0.57	6(20.00)	4(13.33)
	B 组	30	40.35 ± 13.48	4.03 ± 1.31	2.18 ± 0.60	8(26.67)	7(23.33)
	C 组	30	40.75 ± 13.29	4.35 ± 1.26	2.29 ± 0.55	9(30.00)	5(16.67)
CIN Ⅱ级	A 组	30	41.53 ± 13.81	4.29 ± 1.33	2.23 ± 0.59	7(23.33)	8(26.67)
	B 组	30	42.04 ± 14.02	4.31 ± 1.28	2.31 ± 0.64	10(33.33)	10(33.33)
	C 组	30	40.99 ± 13.72	4.38 ± 1.30	2.40 ± 0.62	12(40.00)	13(43.33)
$F/\chi^2/P$ CIN Ⅰ级组间值			0.019/0.981	0.765/0.469	0.829/0.440	0.818/0.664	1.064/0.587
$F/\chi^2/P$ CIN Ⅱ级组间值			0.043/0.958	0.039/0.961	0.570/0.568	1.933/0.380	1.870/0.393

蛋白阳性率比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；术后 6 个月 CIN Ⅰ、Ⅱ级各组患者 Caspase-3 蛋白及 survivin 蛋白阳性率均明显低于术前，且 C 组显著低于 A 组与 B 组（$P<0.05$）；A 组与 B 组比较差异均无统计学意义（$P>0.05$），见表 4。

3　讨　论

CIN 到宫颈癌是一个连续发展的过程，在此癌变过程中 HPV 持续感染起决定性作用。HPV 是一种双链 DNA 病毒，研究发现 HPV-DNA 负荷量与宫颈病变严重程度相关，HPV-DNA 负荷量越高，进展为宫颈癌的风险越高，因此采取措施降低 HPV-DNA 负荷具有重要意义[7]。LEEP 是目前 CIN 常用的治疗手段，具有创伤小、操作简便等优势，虽可有效降低 HPV-DNA 负荷量，但不能彻底清除 HPV 病毒，宫颈中残留病变是导致复发的重要原因，甚至可能进一步发展为宫颈癌。因此，CIN 患者 LEEP 术后辅以其他治疗显得特别重要。

因 LEEP 术后创面有大量的细胞液渗出，可为细菌、真菌的生长提供条件，所以术后进行抗生素治疗非常关键[8]。LEEP 术后使用抗生素可显著减少创面感染，头孢拉定胶囊是临床较为常用的抗生素，其主要应用于敏感菌所导致的肺炎、支气管炎等呼吸道感染和泌尿生殖道感染及皮肤软组织感染。重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊具有广谱抗病毒作用，可通过与干扰素受体特异性结合，阻止病毒蛋白质的合成和复制，起到抑制 HPV 病毒感染的作用[9]。重组人干扰素 α-2b 还具有多重免疫调节作用，通过增强自然杀伤细胞对病毒的杀伤活性，促进机体免疫自稳功能，阻止病毒、真菌等微生物侵害[10]。此外，重组人干扰素 α-2b 还能调节性激素分泌，加快促进创面愈合[11]。本研究中，CIN Ⅰ C 组患者治愈率远高于 CIN Ⅰ A 组、Ⅰ B 组，病变持续或残存率远低于 CIN Ⅰ A 组、Ⅰ B 组，CIN Ⅱ C 组治愈率远高于 CIN Ⅱ A 组、Ⅱ B 组，病变持续或残存率远低于 CIN Ⅱ A 组、Ⅱ B 组，提示 CIN 患者 LEEP 术后联合使用重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊和头孢拉定胶囊临床效果好。孙桂霞等[12]报道，CIN 患者 LEEP 术后联合使用化湿解毒汤和重组人干扰素 α-2b 凝胶治疗高危型 HPV 患者病毒载量明显少于单独使用重组人干扰素 α-2b 凝胶患者，且术后 6 个月高危型 HPV 转阴率显著高于单独使用重组人干扰素 α-2b 凝胶。本研究发现 LEEP 术后 6 个月各组患者 HPV-DNA 负荷量均远少于术前，且 C 组远少于 A 组、B 组。CIN Ⅰ C 组 HPV 转阴率远高于 CIN Ⅰ A、Ⅰ B 组，CIN Ⅱ C 组 HPV 转阴率远高于 CIN Ⅱ A、Ⅱ B 组，与孙桂霞等[12]报道相似，提示重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊联合头孢拉定胶囊可有效减少 CIN 患者 LEEP 术后 HPV-DNA 负荷量，促进 HPV 转阴。

Caspase-3 是凋亡相关因子，可诱导肿瘤细胞凋

表 3　各组 CIN 患者术前及术后 6 个月 HPV-DNA 负荷量比较　（$\bar{x}\pm s$，RLU/CO）

	组　别	例数	术前	术后 6 个月	t 值	P 值
CIN Ⅰ级	A 组	30	90.67 ± 25.92	21.35 ± 6.70	14.182	<0.001
	B 组	30	90.87 ± 27.49	20.65 ± 5.32	13.736	<0.001
	C 组	30	91.03 ± 28.34	6.25 ± 2.09	16.341	<0.001
CIN Ⅱ级	A 组	30	146.35 ± 42.90	32.74 ± 9.83	14.139	<0.001
	B 组	30	147.26 ± 44.55	30.23 ± 8.26	14.147	<0.001
	C 组	30	148.57 ± 46.22	9.66 ± 3.14	16.423	<0.001
F/P CIN Ⅰ级组间值			0.001/0.999	84.294/<0.001		
F/P CIN Ⅱ级组间值			0.019/0.981	82.601/<0.001		

表 4　各组 CIN 患者宫颈组织中 Caspase-3 蛋白及 survivin 蛋白阳性率比较　［例（%）］

	组　别	例数	Caspase-3 蛋白				survivin 蛋白			
			术前	术后 6 个月	χ^2 值	P 值	术前	术后 6 个月	χ^2 值	P 值
CIN Ⅰ级	A 组	30	23(76.67)	13(43.33)	6.944	0.008	23(76.67)	11(36.67)	9.774	0.002
	B 组	30	23(76.67)	12(40.00)	8.297	0.004	24(80.00)	10(33.33)	13.303	<0.001
	C 组	30	24(80.00)	5(16.67)	24.093	<0.001	22(73.33)	3(10.00)	24.754	<0.001
CIN Ⅱ级	A 组	30	27(90.00)	20(66.67)	4.812	0.028	26(86.67)	18(60.00)	5.455	0.020
	B 组	30	26(86.67)	19(63.33)	4.356	0.037	25(83.33)	17(56.67)	5.079	0.024
	C 组	30	26(86.67)	12(40.00)	14.067	<0.001	25(83.33)	10(33.33)	15.429	<0.001
χ^2/P CIN Ⅰ级组间值			0.098/0.754	5.079/0.024			0.089/0.766	5.963/<0.001		
χ^2/P CIN Ⅱ级组间值			0.162/0.688	4.286/0.038			0.131/0.718	4.295/0.040		

亡,参与宫颈病变发生、发展过程[13]。而 survivin 是一种凋亡抑制蛋白,可通过与 Caspase-3 结合而导致肿瘤细胞增殖,也可通过调节细胞周期蛋白依赖性激酶 4(CDK4)水平,影响 Fas 介导的细胞凋亡[14]。董晗等[15]研究发现,survivin 蛋白在宫颈组织中阳性率显著升高,survivin 蛋白阳性率升高可能会增加宫颈鳞癌发生风险。本研究结果发现,LEEP 术后 6 个月各组患者宫颈组织中 Caspase-3、survivin 蛋白阳性率均远低于术前,且 C 组远低于 A 组、B 组,与董晗等[15]研究结果类似,提示重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊的使用能明显降低 CIN 患者 LEEP 术后 Caspase-3、survivin 蛋白阳性率。

综上所述,采用重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊联合头孢拉定胶囊干预 CIN 行 LEEP 术后患者,可明显减少 HPV-DNA 负荷量,有增加 HPV 转阴率,降低 Caspase-3、survivin 蛋白阳性率,从而预防 CIN 患者发展为宫颈癌。本研究所选样本量较少,且未观察重组人干扰素 α-2b 阴道泡腾胶囊联合头孢拉定胶囊对 CIN 患者 LEEP 术后的远期效果,下一步应增加样本量继续观察远期疗效。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

崔开颖:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;朱根海:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;杨舒盈,陈春英:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;洪澜:进行统计学分析;吴梦琼:课题设计,论文撰写

参考文献

[1] Wang Y, Xue J, Dai X, et al. Distribution and role of high-risk human papillomavirus genotypes in women with cervical intraepithelial neoplasia: A retrospective analysis from Wenzhou, southeast China [J]. Cancer Med, 2018, 7(7):3492-3500. DOI: 10.1002/cam4.1559.

[2] El-Nashar SA, Shazly SA, Hopkins MR, et al. Loop electrosurgical excision procedure instead of cold-knife conization for cervical intraepithelial neoplasia in women with unsatisfactory colposcopic examinations: A systematic review and Meta-analysis[J]. J Low Genit Tract Dis, 2017, 21(2): 129-136. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000287.

[3] 黄珊珊, 徐凤娟. 高级别宫颈上皮内瘤变 LEEP 术后 24 个月内复发与术后 6 个月 HPV 感染的关系[J]. 山东医药, 2017, 57(11):97-98. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2017.11.031.

[4] 郑海雪, 胡丽文, 方松龄. 派特灵联合重组人干扰素 α2b 栓治疗老年低度宫颈上皮内瘤变的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(12):1110-1112. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2017.12.011.

[5] 张为远, 吴玉梅. 宫颈病变与宫颈癌[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012:79-87.

[6] 苏晓玲, 沈吉子, 夏蕾蕾, 等. 全子宫切除术在宫颈上皮内瘤变治疗中的应用[J]. 第二军医大学学报, 2017, 38(12):1497-1502. DOI: 10.16781/j.0258-879x.2017.12.1497.

[7] Ren C, Zhu Y, Yang L, et al. Diagnostic performance of HPV E6/E7 mRNA assay for detection of cervical high-grade intraepithelial neoplasia and cancer among women with ASCUS Papanicolaou smears[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 297(2):425-432. DOI: 10.1007/s00404-017-4588-1.

[8] 魏宝丽, 王海平. 宫颈 LEEP 锥切术在宫颈上皮内瘤变诊治中的临床分析[J]. 中国妇产科临床杂志, 2018, 19(3):261-262. DOI: 10.13390/j.issn.1672-1861.2018.03.027.

[9] 董丽花, 徐永萍, 范明华. 膦甲酸钠联合重组人干扰素 α2b 治疗宫颈 HPV 持续感染的疗效观察[J]. 中国药房, 2017, 28(2):233-236. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.02.25.

[10] 朱丽娟, 周树林, 江希萍. 重组人干扰素 α2b 联合洁悠神对宫颈持续 HPV 感染患者端粒酶与 HPV16/18E6 蛋白表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(25):23-27. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.25.005.

[11] 蒋晓蓉, 孟以秀, 彭玲. 重组人干扰素 α-2b 治疗宫颈糜烂合并人乳头瘤病毒感染的临床观察[J]. 中国药房, 2017, 28(3):331-334. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.13.

[12] 孙桂霞, 李艳云, 杨少琴. 化湿解毒汤对高级别 CIN 高危型 HPV 感染者 LEEP 术后湿热下注证患者转归的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16):182-187. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2017160182.

[13] He SH, Liu HG, Zhou YF, et al. Liquiritin (LT) exhibits suppressive effects against the growth of human cervical cancer cells through activating Caspase-3 in vitro and xenograft mice in vivo[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 92(1):215-228. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.05.026.

[14] Sam MR, Pourpak RS. Regulation of p53 and survivin by prodigiosin compound derived from Serratia marcescens contribute to caspase-3-dependent apoptosis in acute lymphoblastic leukemia cells [J]. Hum Exp Toxicol, 2018, 37(6):608-617. DOI: 10.1177/0960327117718052.

[15] 董晗, 金凤斌, 刘文, 等. 老年宫颈鳞癌组织中亮氨酸拉链肿瘤抑制基因 1 和 Survivin 的表达及意义[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(18):4582-4584. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.18.070.

(收稿日期:2019-08-23)

论著 · 临床

丙种球蛋白联合雷公藤多苷治疗儿童过敏性紫癜性肾炎的效果及对尿蛋白、尿红细胞的影响

钟娇霞，颜海峰，霍开明，古裕鸟，黄学晓，庄秀娟，陈海波

基金项目：海南省卫生计生委资助项目（1801320114A2008）
作者单位：570311　海口，海南医学院第二附属医院儿科
通信作者：霍开明，E-mail：18789909188@139.com

【摘　要】 **目的**　观察丙种球蛋白联合雷公藤多苷治疗儿童过敏性紫癜性肾炎的效果及对尿蛋白、尿红细胞的影响。**方法**　选取 2017 年 2 月—2019 年 1 月海南医学院第二附属医院儿科诊治过敏性紫癜性肾炎患儿 64 例作为研究对象，按照随机数字表法分为 2 组，每组 32 例。2 组均予常规处理，对照组另予丙种球蛋白静脉注射，观察组在丙种球蛋白静脉注射基础上联合雷公藤多苷口服。治疗 14 d 后比较 2 组患儿的临床疗效、凝血功能、尿蛋白、尿红细胞、免疫水平及不良反应发生情况。**结果**　治疗后，观察组总有效率为 96.88%，高于对照组的 68.75%（χ^2/P = 8.892/0.003）；观察组血浆 D-二聚体（D-D）、纤维蛋白原（Fib）水平低于对照组，而活化部分凝血活酶时间（APTT）、凝血酶原时间（PT）长于对照组（t/P = 5.712/ < 0.001、14.223/ < 0.001、－28.284/ < 0.001、－4.380/ < 0.001）；观察组 IgA、IgA1 水平均低于对照组（t/P = 6.893/ < 0.001、6.690/ < 0.001）；观察组尿红细胞计数、24 h 尿蛋白、尿微量白蛋白、尿 β_2 微球蛋白水平均低于对照组（t/P = 110.061/ < 0.001、12.008/ < 0.001、16.880/ < 0.001、4.444/ < 0.001）；2 组患儿均未出现严重药物不良反应。**结论**　采用丙种球蛋白联合雷公藤多苷治疗儿童过敏性紫癜性肾炎，能够有效改善肾功能凝血功能、免疫功能，降低尿蛋白、尿红细胞水平，临床治疗效果较好，且安全性较高。

【关键词】　过敏性紫癜性肾炎，儿童；丙种球蛋白；雷公藤多苷；尿蛋白；尿红细胞
【DOI】　10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.016

The effect of gamma globulin combined with tripterygium wilfordii glycoside on children with Henoch-Schonlein purpura nephritis

Zhong Jiaoxia, Yan Haifeng, Huo Kaiming, Gu Yuniao, Huang Xuexiao, Zhuang Xiujuan, Chen Haibo.
Department of Peadiatrics, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570311, *China*
Corresponding author: Huo Kaiming, E-mail: 18789909188@139.*com*
Fund program: Hainan Health and Family Planning Commission Sponsored Program（1801320114A2008）

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effect of gamma globulin combined with tripterygium wilfordii glycoside in the treatment of Henoch Schonlein purpura nephritis in children and its effect on urinary protein and RBC. **Methods**　From February 2017 to January 2019, 64 children with Henoch-Schonlein purpura nephritis were selected as the study object. According to the method of random number table, they were divided into two groups, 32 cases in each group. The two groups were given routine treatment, the control group was given another intravenous injection of gamma globulin, the observation group was combined with tripterygium glycoside based on intravenous injection of gamma globulin. After 14 days of treatment, the clinical effect, coagulation function, urinary protein, urinary RBC, immune level and adverse reactions of the two groups were compared. **Results**　After treatment, the total effective rate in the observation group was 96.88%, which was higher than the control group's 68.75%（χ^2/P = 8.892/0.003）. The levels of plasma D-dimer（D-D）and fibrinogen（Fib）in the observation group were lower than those in the control group, while the activated partial thromboplastin time（APTT）and prothrombin time（PT）were longer than those in the control group（t/P = 5.712/ < 0.001, 14.223/ < 0.001, －28.284/ < 0.001, －4.380/ < 0.001）. The levels of IgA and IgA1 in the observation group were lower than those in the control group（t/P = 6.893/ < 0.001, 6.690/ < 0.001）. The levels of urinary red blood cell count, 24-hour urinary protein, urinary microalbumin, and urinary β_2 microglobulin in the observation group were lower than those in the control group（t/P = 110.061/ < 0.001, 12.008/ < 0.001, 16.880/ < 0.001, 4.444/ < 0.001）. There were no serious adverse drug reactions in the two groups. **Conclusion**　The treatment of children's Henoch-Schonlein purpura nephritis with immunoglobulin and tripterygium

wilfordii glycoside can effectively improve the coagulation function and immune function of renal function, reduce the level of urine protein and urine red blood cell. The clinical treatment effect is good and the safety is high.

【Key words】 Henoch-Schonlein purpura nephritis; Children; Gamma globulin; Tripterygium wilfordii polyglycosides; Urinary protein; Urinary red blood cells

过敏性紫癜性肾炎(nephritis of Schonlein-Henoch purpura, HSPN)是临床上常见的儿科疾病,主要以肉眼或镜下血尿、反复皮肤紫癜、水肿、血压升高等为临床表现[1]。其主要对患儿的毛细血管产生损害,进一步损害肾脏、胃肠道、关节及皮肤等其他器官,若不能及时得到治疗,可造成患儿继发慢性肾功能不全,对患儿的生命健康及生活质量均造成严重的影响[2-3]。临床上对儿童过敏性紫癜性肾炎的治疗以免疫抑制剂、抗感染及抗组胺药等药物治疗为主,但至今尚无明确有效的治疗方案[4]。丙种球蛋白可对多种病毒及细菌产生作用,并补充患儿体内免疫球蛋白,近年来被广泛用于小儿 HSPN 的临床治疗中,并取得了较好的临床治疗效果[5]。随着我国传统医学的快速发展,对小儿 HSPN 采用中药联合西药进行治疗,能够取得更显著的治疗效果[6]。目前临床上尚无丙种球蛋白联合雷公藤多苷治疗小儿 HSPN 的相关报道,现观察丙种球蛋白联合雷公藤多苷治疗儿童 HSPN 的效果及对尿蛋白、尿红细胞的影响,为儿童 HSPN 的临床治疗提供更多理论依据,报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2017 年 2 月—2019 年 1 月海南医学院第二附属医院儿科诊治过敏性紫癜性肾炎患儿 64 例作为研究对象,均经临床诊断确诊为过敏性紫癜性肾炎。按照随机数字表法分为对照组和观察组,各 32 例。2 组患儿临床资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经医院伦理委员会批准,患儿家属均知情同意并签署同意书。

1.2　选择标准　(1)纳入标准:①符合《中药新药临床研究指导原则》[7]及"紫癜性肾炎的诊断与治疗"[8]中小儿过敏性紫癜性肾炎诊断标准;②患儿近 6 个月内出现蛋白尿或血尿;双下肢甚至四肢均出现明显的对称性紫癜,伴或不伴消化道及关节症状;③均为首次患病;④肾脏病例检查为Ⅰ~Ⅲ级。(2)排除标准:①病程 >2 个月者;②在研究近期曾使用糖皮质激素及免疫抑制剂治疗者;③同时合并其他免疫性疾病患儿;④同时患有凝血功能障碍或具有家族性出血史患儿;⑤对本研究中的丙种球蛋白、雷公藤多苷等药物过敏的患儿。

1.3　治疗方法　患儿入院后给予抗感染、利尿、控制血压等治疗,适量予氯雷他定、维生素 C、钙制剂,按照患儿的年龄与体质量分别用药,并对治疗期间出现的腹痛、关节疼痛等酌情处理。对照组患儿在常规治疗的基础上予以丙种球蛋白注射液(上海卒瑞生物科技有限公司)400 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$静脉注射,1 次/d,连续治疗 3 d, 14 d 为 1 个疗程。观察组患儿在对照组治疗基础上再予雷公藤多苷(广东华南药业集团有限公司)1 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$口服,3 次/d。2 组治疗时间均为 14 d。治疗期间密切观察患儿的生命体征,每周行 1~2 次血常规、2~3 次尿常规复查。

1.4　观察指标与方法

1.4.1　临床疗效评价:根据患者症状改善情况及实验室指标水平对治疗后患儿的临床疗效进行评价。治愈,患儿皮肤紫癜、关节疼痛等所有症状完全消失,肾功能恢复正常,无尿红细胞,24 h 尿蛋白定量 <0.3 g,尿常规检查阴性;显效,患儿大部分临床症状消失,24 h 尿红细胞水平较治疗前降低 >85%,尿蛋白(0.3~1.0 g)/24 h;有效,患儿临床症状较治疗前有所改善,24 h 尿红细胞、24 h 尿蛋白水平较治疗前降低 >75%~95%;无效,患儿临床症状及体征未见明显改善,24 h 尿红细胞、24 h 尿蛋白水平无明显变化甚至升高。总治疗有效率 =(治愈 + 显效 + 有效)/总例数 ×100%。

表 1　2 组患儿临床资料比较

组　别	例数	性别[例(%)]		年龄	病程	肾脏病理分级[例(%)]		
		男	女	($\bar{x} \pm s$,岁)	($\bar{x} \pm s$,d)	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级
对照组	32	18(56.25)	14(43.75)	6.34 ±2.01	9.01 ±2.53	13(40.62)	12(37.50)	7(21.88)
观察组	32	20(62.50)	12(37.50)	6.56 ±1.78	9.34 ±2.25	16(50.00)	12(37.50)	4(12.50)
t/χ^2 值		0.287		−0.464	−0.551	1.129		
P 值		0.592		0.645	0.583	0.569		

1.4.2　血浆 D-D、Fib、APTT、PT 水平测定：治疗前后于清晨空腹抽取患者肘部静脉血 2 ml，离心收集上清液于 20℃温度下保存待测。采用日本希森美康医用电子有限公司生产的 CA-520 全自动血凝分析仪以免疫比浊法测定 D-D 水平，凝固法测定 Fib、APTT、PT 水平。

1.4.3　血清 IgA、IgA1 水平测定：上述血清采用美国贝克曼库尔特有限公司生产的 IMMAGE800 全自动免疫分析仪以免疫比浊法测定 IgA、IgA1 水平。

1.4.4　尿常规测定：治疗前后采集患儿尿液 10 ml，采用美国贝克曼库尔特有限公司生产的尿常规分析仪测定尿红细胞计数、24 h 尿蛋白、尿微量白蛋白、尿 β_2 微球蛋白水平。

1.5　统计学方法　采用 SPSS 18.0 软件对资料进行统计学分析。计数资料以频数或率（%）表示，比较采用 χ^2 检验；正态分布的计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组临床疗效比较　观察组总有效率为 96.88%，高于对照组的 68.75%，2 组比较差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 2。

2.2　2 组血浆 D-D、Fib、APTT、PT 水平比较　治疗前，2 组患儿血浆 D-D、Fib、APTT、PT 水平比较差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后，2 组患儿血 D-D、Fib 水平均降低，而血浆 APTT、PT 均升高，且观察组降低或升高幅度大于对照组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 3。

2.3　2 组血清 IgA、IgA1 水平比较　治疗前，2 组患儿 IgA、IgA1 水平比较差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后 2 组 IgA、IgA1 水平均降低，且观察组低于对照组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 4。

表 4　2 组治疗前后血清 IgA、IgA1 水平比较　（$\bar{x} \pm s$，mg/L）

组　别		IgA	IgA1
对照组	治疗前	2 269.36 ± 581.65	937.56 ± 201.36
（n = 32）	治疗后	1 853.69 ± 402.24	638.91 ± 177.82
观察组	治疗前	2 279.97 ± 600.05	948.68 ± 198.68
（n = 32）	治疗后	1 215.36 ± 335.57	394.36 ± 105.56
t/P 对照组内值		3.325/0.001	6.289/ <0.001
t/P 观察组内值		8.760/ <0.001	13.938/ <0.001
t/P 治疗后组间值		6.893/ <0.001	6.690/ <0.001

2.4　2 组尿红细胞计数、24 h 尿蛋白、尿微量白蛋白、尿 β_2 微球蛋白水平比较　治疗前，2 组患儿尿红细胞计数、24 h 尿蛋白、尿微量白蛋白、尿 β_2 微球蛋白水平比较差异无统计学意义（$P>0.05$）；治疗后 2 组各指标均降低，且观察组均低于对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$），见表 5。

2.5　2 组不良反应比较　治疗期间观察组不良反应发生率为 12.50%，对照组为 15.63%，对症治疗后逐渐消失。2 组不良反应发生率比较差异无统计学意义（$\chi^2=2.115$，$P=0.549$），见表 6。

表 6　2 组患儿不良反应发生率比较　［例（%）］

组　别	例数	肾损伤	恶心呕吐	口干	乏力	总发生率（%）
对照组	32	2(6.25)	1(3.13)	1(3.13)	1(3.13)	15.63
观察组	32	3(9.38)	1(3.13)	0	0	12.50

3　讨　论

儿童过敏性紫癜性肾炎是临床上常见的继发性肾功能损害性疾病，多发于男性儿童，主要以血尿、蛋白

表 2　2 组患儿临床疗效比较　［例（%）］

组　别	例数	治愈	显效	有效	无效	总有效率（%）
对照组	32	7(21.87)	6(18.75)	9(28.13)	10(31.25)	68.75
观察组	32	16(50.00)	11(34.38)	4(12.50)	1(3.12)	96.88
Z/χ^2 值			$Z=3.476$			$\chi^2=8.892$
P 值			<0.001			0.003

表 3　2 组患儿治疗前后血浆 D-D、Fib、APTT、PT 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组　别	时间	D-D（μg/L）	Fib（g/L）	APTT（s）	PT（s）
对照组	治疗前	656.36 ± 54.22	3.65 ± 0.19	11.03 ± 0.62	23.45 ± 2.31
（n = 32）	治疗后	414.65 ± 60.36	2.87 ± 0.28	13.21 ± 0.31	25.79 ± 2.87
观察组	治疗前	642.23 ± 56.87	3.59 ± 0.23	11.28 ± 0.71	22.95 ± 2.51
（n = 32）	治疗后	327.75 ± 61.34	1.99 ± 0.21	15.78 ± 0.41	29.01 ± 3.01
t/P 对照组内值		16.852/ <0.001	13.040/ <0.001	−17.790/ <0.001	−3.593/ <0.001
t/P 观察组内值		21.268/ <0.001	29.061/ <0.001	−31.048/ <0.001	−8.747/ <0.001
t/P 治疗后组间值		5.712/ <0.001	14.223/ <0.001	−28.284/ <0.001	−4.380/ <0.001

表 5　2 组患儿治疗前后尿红细胞计数、24 h 尿蛋白、尿微量白蛋白、尿 β_2 微球蛋白水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	尿红细胞计数(个/μl)	24 h 尿蛋白(mg)	尿微量白蛋白(mg/L)	尿 β_2 微球蛋白(mg/L)
对照组	治疗前	211.76 ± 35.72	965.63 ± 103.98	54.37 ± 6.31	0.51 ± 0.14
(n = 32)	治疗后	98.37 ± 2.38	136.76 ± 33.29	25.87 ± 3.28	0.29 ± 0.09
观察组	治疗前	209.45 ± 33.87	955.69 ± 98.37	53.98 ± 5.98	0.54 ± 0.15
(n = 32)	治疗后	37.76 ± 2.01	60.23 ± 13.84	13.76 ± 2.39	0.19 ± 0.09
t/P 对照组内值		17.917/ < 0.001	42.946/ < 0.001	22.670/ < 0.001	7.478/ < 0.001
t/P 观察组内值		28.625/ < 0.001	50.992/ < 0.001	35.329/ < 0.001	11.318/ < 0.001
t/P 治疗后组间值		110.061/ < 0.001	12.008/ < 0.001	16.880/ < 0.001	4.444/ < 0.001

尿、出血性肠炎及皮肤紫癜为临床表现,多数患儿可同时合并高黏血症,继发免疫介导反应加剧、组织缺血、缺氧等症状[9-11]。据相关流行调查数据显示[12],儿童过敏性紫癜性肾炎的发病率可高达 50%,若不能及时得到有效治疗,病情进一步发展威胁患儿生命健康。有研究认为[13],儿童过敏性紫癜性肾炎的发生发展与 IgA 免疫复合物的清除反应及糖基化异常密切相关,IgA 免疫复合物可于患儿血管壁沉积,不仅可形成血栓阻塞血管,还可增加血管的通透性,促进血液成分渗出,导致血管、黏膜、内脏器官及皮肤等部位继发一系列病变,但具体的发病机制至今尚未明确。研究同时也指出[14-15],儿童过敏性紫癜性肾炎的发病与患儿机体内的免疫功能紊乱相关,过敏性紫癜性肾炎患儿机体内 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞活性显著增强,可促进机体内 IgA 免疫复合物水平的分泌,大量分泌的 IgA 免疫复合物与同样分泌过多的抗体形成大量免疫复合物,于全身小血管壁沉积,激活体内补体系统并进一步形成膜攻击复合物,损伤患儿组织细胞而致病。

临床上对儿童过敏性紫癜性肾炎的治疗采取药物治疗为主,丙种球蛋白是一种特异性免疫球蛋白,可作用于多种病毒和细菌而发挥广泛的作用[16]。研究发现,采用丙种球蛋白应用于儿童过敏性紫癜性肾炎的治疗,能够取得较好的临床效果[17-18]。丙种球蛋白可改变患儿机体内的抗原和抗体比例,进而改变免疫复合物的体积,使机体内的 IgA 水平下降,从而缓解由 Ⅰ 型变态反应导致的机体损伤,并修复患者血管内皮。此外,有研究指出[19],丙种球蛋白可对机体免疫功能发挥免疫反馈调节的作用,减轻变态反应对肾脏等器官的损伤,提高患儿的机体免疫力。研究同时指出[20-21],丙种球蛋白对可能存在的感染源进行有效清除,减少了患儿再次感染发病的可能性。

中医学认为,儿童过敏性紫癜性肾炎属于“水肿”“尿血”“紫癜风”等范畴,为本虚标实之症,主要病机为络脉瘀阻、血热妄行、湿热互结、内伤及外感之邪热对腑脏功能造成影响,继而气机失常、水湿内生、阻遏气机、伤营动血、外灼皮肤则表现为四肢皮肤紫癜,灼伤肾络、热扰膀胱即表现为血尿、蛋白尿,灼伤脉络即表现为关节疼痛[22-24]。因此治疗应以扶正为主,祛湿浊之邪为兼。雷公藤多苷是由雷公藤所提取的活性成分特制而成的一种中药制剂,具有显著的消肿解毒、通络止痛及祛风除湿的功效[25-26]。现代药理学研究指出,雷公藤多苷能够抑制体液免疫,发挥显著的抗炎、抗肿瘤作用,对肾小球细胞尿蛋白的渗出作用予以抑制,促进 T 淋巴细胞凋亡的同时抑制其活性,并抑制肾小管间质的纤维化功能,从而有效缓解患者的肾损伤程度[27]。近年来,许多研究指出采用中西药结合的模式对儿童过敏性紫癜性肾炎患儿进行治疗,可取得显著的治疗效果[28-29]。研究指出,在对儿童过敏性紫癜性肾炎予以西药治疗的基础上,同时予以雷公藤多苷治疗,可与西药发挥协同作用,改善患儿体内的血液流变学与微循环状态,进一步强化患儿机体的抗凝功能,改善患儿的肾功能,具有显著的临床疗效及安全性[30]。

本研究发现,观察组患儿治疗后的临床疗效、凝血功能、尿蛋白、尿红细胞水平及免疫功能水平均显著优于对照组患儿,且 2 组患儿的药物不良反应比较差异无统计学意义。进一步说明了雷公藤多苷联合丙种球蛋白对儿童过敏性紫癜性肾炎进行治疗,能够取得显著的临床治疗效果,且安全性较高。

综上所述,采用丙种球蛋白联合雷公藤多苷对儿童过敏性紫癜性肾炎进行治疗,能够有效改善患儿肾功能、凝血功能、免疫功能,降低患儿的尿蛋白、尿红细胞水平,临床效果较好,且安全性较高,值得临床推广。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

钟娇霞、颜海峰:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;霍开明、古裕鸟:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;黄学晓:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;庄秀娟:进行统计学分析;陈海波:课题设计,论文撰写

参考文献

[1] Zhang Q, Yan L, Chen MY, et al. IgA1 isolated from Henoch-Schnlein purpura children promotes proliferation of human mesangial cells in vitro[J]. Cell Biology International, 2019, 43(7): 760-769.

DOI:10.1002/cbin.11142.

[2] Moschese V, Cavaliere FM, Graziani S, et al. Decreased IgM, IgA, and IgG response to pneumococcal vaccine in children with transient hypogammaglobulinemia of infancy[J]. Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2016, 137(2):617-619. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.06.014.

[3] Jun Z, Jing L, Shuang P, et al. Chinese herbal medicine for the treatment of Henoch-Schonlein purpura nephritis in children[J]. Medicine, 2018, 97(24):403-408. DOI:10.1097/MD.0000000000011064.

[4] Barmettler S, Otani IM, Minhas J, et al. Gastrointestinal manifestations in X-linked agammaglobulinemia[J]. Journal of Clinical Immunology, 2017, 37(3):287-294. DOI: 10.1007/s10875-017-0374-x.

[5] Takafumi Y, Izumi Y, Yo K, et al. Successful treatment of recurrent Henoch-Schonlein purpura nephritis in a renal allograft with tonsillectomy and steroid pulse therapy[J]. Nephrology, 2016, 21(18): 53-56. DOI:10.1111/nep.12770.

[6] 夏利平, 陈旭, 姜毅. 丙种球蛋白冲击治疗儿童腹型过敏性紫癜疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(10):988-990. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.10.014.

[7] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002.

[8] 王新良, 戎赞华. 紫癜性肾炎的诊断与治疗[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2011, 26(17):1381-1384. DOI: 10.3969/j.issn.1003-515X.2011.17.027.

[9] Masahiro K, Yohei I, Takeshi Y, et al. Local leukocyte proliferation as a target for cyclophosphamide in the treatment of Henoch-Schonlein purpura nephritis grade Ⅵ[J]. Nephrology, 2016, 21(1):68-71.

[10] Mehdi A, Maryam M, Peyman S, et al. Direct immunofluorescence results of the skin biopsy and frequency of systemic involvement in children with Henoch-Schonlein purpura[J]. Fetal and Pediatric Pathology, 2019, 38(2):121-126. DOI:10.1080/15513815.2018.1552733.

[11] Asim S, Moorani K, Lateef F, et al. Clinicopathological profile of pediatric renal biopsies at a tertiary care hospital, Pakistan[J]. Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, 2018, 29(6):1403-1409. DOI:10.4103/1319-2442.248290.

[12] Lakshmi B, Padmavathi S, Devi NS, et al. IgA nephropathy in a patient with IgG myeloma[J]. Indian Journal of Nephrology, 2018, 28(5):404-406. DOI:10.4103/ijn.IJN_377_17.

[13] 孟曦. 小柴胡汤加减治疗过敏性紫癜性肾炎疗效观察[J]. 山西中医, 2016, 32(3):33-35. DOI: 10.3969/j.issn.1000-7156.2016.03.016.

[14] 赵红, 李练, 李梦, 等. 肺肾同治方治疗儿童过敏性紫癜性肾炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(35):20-23. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2018.35.004.

[15] 何平, 赵彩霞, 刘婧平, 等. 儿童过敏性紫癜中医证候特点与紫癜性肾损害的相关性研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(4): 873-875. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.04.030.

[16] Cumpelik A, Gerossier E, Jin J, et al. Mechanism of platelet activation and hypercoagulability by antithymocyte globulins (ATG)[J]. American Journal of Transplantation, 2015, 15(10):2588-2601. DOI: 10.1111/ajt.13316.

[17] 梁群娣, 张翠平. 地塞米松联合丙种球蛋白治疗小儿过敏性紫癜性肾炎的疗效及对尿蛋白、尿红细胞的影响[J]. 中国中西医结合儿科学, 2017, 9(5):29-32. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3865.2017.05.010.

[18] 李耀荣. 丙种球蛋白联用激素治疗小儿过敏性紫癜性肾炎的疗效观察[J]. 天津药学, 2017, 11(5):37-39. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5687.2017.05.018.

[19] Oshinsky D. Selling science: polio and the promise of gamma globulin [J]. Bulletin of the History of Medicine, 2017, 91(4):821-822. DOI: 10.1353/bhm.2017.0097.

[20] Yang L, Wu EY, Tarrant TK. Immune gamma globulin therapeutic indications in immune deficiency and autoimmunity[J]. Current Allergy and Asthma Reports, 2016, 16(7/8):332-335. DOI: 10.1007/s11882-016-0632-7.

[21] 吕方方. 甲基强的松龙联合丙种球蛋白冲击治疗过敏性紫癜重症患儿疗效观察[J]. 河南医学研究, 2016, 24(4):98-99.

[22] 龚青, 李强. 丙种球蛋白治疗重症腹型过敏性紫癜患儿的临床研究[J]. 现代消化及介入诊疗, 2016, 21(5):738-740. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2016.05.024.

[23] 孙琳. 甲基强的松龙联合丙种球蛋白治疗腹型过敏性紫癜的疗效[J]. 现代诊断与治疗, 2017, 28(5):93-94. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8174.2017.05.052.

[24] 张学军. 雷公藤多苷和甲氰咪胍对过敏性紫癜患儿 T 淋巴细胞亚群和血清 sICAM-1、ESR 水平的影响[J]. 实用中西医结合临床, 2017, 3(8):93-94. DOI: 10.13638/j.issn.1671-4040.2017.08.025.

[25] Su J, Cheng J, Sun HX, et al. Tripterygium glycosides impairs the proliferation of granulosa cells and decreases the reproductive outcomes in female rats[J]. Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology, 2014, 101(3):283-291. DOI: 10.1002/bdrb.21111.

[26] Su MX, Zhou WD, Lan J, et al. Rapid and sensitive analysis of multiple bioactive constituents in tripterygium glycosides tablets using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(5):804-812. DOI: 10.1002/jssc.201400946.

[27] Yuan Y, Ling MX, Hong ZX. Successful pregnancy with tripterygium glycoside-induced premature ovarian insufficiency: a case report [J]. Journal of International Medical Research, 2019, 47(5):2274-2279. DOI:10.1177/0300060519837834.

[28] 王洪刚. 雷公藤多苷联合肝素钠治疗儿童过敏性紫癜性肾炎临床疗效分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(3):128-129. DOI:10.3969/j.issn.1671-3141.2016.3.091.

[29] 朱廷富, 褚祝飞, 李精华. 雷公藤多苷联合丹参注射液对过敏性紫癜性肾炎患儿凝血机制的影响[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11):2162-2167. DOI: 10.4268/cjcmm20161129.

[30] 孙政敏, 王华, 魏巍, 等. 雷公藤多苷联合贝那普利及肝素对小儿过敏性紫癜性肾炎 24 h 尿蛋白及尿红细胞水平的影响[J]. 中国现代医生, 2015, 53(28):69-71.

(收稿日期:2019－08－14)

论著 · 临床

病毒唑联合炎琥宁治疗手足口病患儿的效果及其对 T 淋巴细胞亚群水平的影响

肖耿吉, 廖亦男, 刘芙蓉, 姚婷新, 于四景

作者单位: 410007　长沙, 湖南省儿童医院感染科
通信作者: 于四景, E-mail: xuf3844@163.com

【摘　要】 **目的**　观察病毒唑联合炎琥宁治疗手足口病患儿效果及其对 T 淋巴细胞亚群水平的影响。**方法**　选取 2018 年 3 月—2019 年 3 月湖南省儿童医院感染科治疗手足口病患儿 110 例作为研究对象, 随机数字表法分为 2 组各 55 例, 炎琥宁组使用炎琥宁进行治疗, 联合组使用病毒唑联合炎琥宁进行治疗, 治疗 5 d 后, 比较 2 组患儿临床症状消退时间, 酶法速率法检测肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平, 酶联免疫吸附试验法检测血清白细胞介素-4(IL-4)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平, 使用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群水平, 比较 2 组治疗效果及不良反应发生情况。**结果**　联合组患儿治疗总有效率显著高于炎琥宁组(94.55% vs. 81.82%, χ^2/P = 4.274/0.039); 治疗后, 联合组患儿发热、手足疱疹、口腔溃疡消退时间均短于炎琥宁组(t = 9.424、7.806、6.523, P 均 = 0.001); 血清 CK、LDH、CK-MB、IL-4、hs-CRP、TNF-α、$CD8^+$ 水平均低于炎琥宁组(t = 3.698、2.894、5.445、4.233、6.882、5.672、5.161, P < 0.01), $CD4^+$、$CD3^+$ 水平高于炎琥宁组(t/P = 5.444/0.001、4.079/0.001); 不良反应发生率略高于炎琥宁组, 但差异无统计学意义(P > 0.05)。**结论**　病毒唑联合炎琥宁治疗手足口病, 可加快患儿临床症状消退速度, 改善心肌酶水平, 抑制炎性反应, 提升免疫功能, 治疗效果显著。

【关键词】 病毒唑; 炎琥宁; 手足口病; 免疫功能; T 淋巴细胞

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.017

Effect of ribavirin combined with *Yanhuning* on children with HFMD and its effect on T lymphocyte subsets

Xiao Gengji, Liao Yinan, Liu Furong, Yao Tingxin, Yu Sijing. Department of Infectious Disease, Hunan Children's Hospital, Hunan Province, Changsha 410007, *China*

Corresponding author: Yu Sijing, E-mail: xuf3844@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To observe the effect of ribavirin combined with *Yanhuning* in the treatment of HFMD and its effect on T lymphocyte subsets. **Methods**　From March 2018 to March 2019, 110 children with HFMD were selected as the subjects of study. Randomly divided into two groups of 55 cases each. *Yanhuning* group was treated with *Yanhuning*, and the combination group was treated with Virazole and *Yanhuning*. After 5 days of treatment, the clinical symptoms of the two groups were compared. The levels of creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase isoenzyme (CK-MB) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The levels of serum interleukin-4 (IL-4), high-sensitivity C-reactive egg white (hs-CRP) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were measured by flow cytometry Cell subpopulation level. The therapeutic effect and adverse reactions were compared between the two groups. **Results**　The total effective rate of children in the combination group was significantly higher than that in the *Yanhuning* group (94.55% vs. 81.82%, χ^2/P = 4.274/0.039). After treatment, the duration of fever, herpes, and oral ulcer subsided in the combined group was shorter than that in the *Yanhuning* group (t = 9.424, 7.806, 6.523, P = 0.001). Serum CK, LDH, CK-MB, IL-4, hs-CRP, TNF-α, $CD8^+$ levels were lower than those in the *Yanhuning* group (t/P = 3.698/0.001, 2.894/0.001, 5.445/0.001, 4.233/0.001, 6.882/0.001, 5.672/0.001, 5.161/0.001), $CD4^+$ and $CD3^+$ levels were higher than those in the *Yanhuning* group (t/P = 5.444/0.001, 4.079/0.001). The incidence of adverse reactions was slightly higher than that in the *Yanhuning* group, but the difference was not statistically significant (P > 0.05). **Conclusion**　Virazole combined with *Yanhuning* in the treatment of HFMD can accelerate the regression of clinical symptoms, improve the level of myocardial enzymes, inhibit inflammatory response, improve immune function, and have a significant therapeutic effect.

【**Key words**】 Virazole; *Yanhuning*; Hand foot and mouth disease; Immunological functioning; T lymphocyte

手足口病是一种临床较为常见的、由肠道病毒感染导致的小儿传染性疾病，常见发病部位为手、足、口而得名。主要临床表现为发热，手、足、口腔部位疱疹、溃疡等，对患儿的健康成长造成严重的威胁[1-2]。据相关流行病学调查数据显示，我国手足口病症状发病率一直居高不下。近年来，随着我国计划生育政策的放宽，新生儿数量逐年上升，导致手足口病患儿数量逐渐上升，已经引起大多数专家学者的关注。手足口病症状的发生发展可能会引起心肌炎、脑膜炎等并发症，病情严重的甚至会威胁患儿的生命安全，因此寻找一种安全有效的治疗方法具有重要意义[3-4]。目前临床尚无特效治疗手足口病的药物，临床治疗以抗病毒药物为主。现观察病毒唑联合炎琥宁治疗手足口病患儿效果及对 T 淋巴细胞亚群水平的影响，报道如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选取 2018 年 3 月—2019 年 3 月湖南省儿童医院感染科治疗手足口病患儿 110 例作为研究对象，按照随机数字表法分为 2 组各 55 例。纳入标准：均确诊为手足口病，病历资料齐全，且未并发急性感染情况。排除标准：排除病历资料不全患儿，对病毒唑、炎琥宁过敏患儿，先天性心脏病、脑血管疾病、癫痫患儿。炎琥宁组男 32 例，女 23 例，年龄 4 ~ 9 (6.4 ± 2.1) 岁；病程 1 ~ 3 (1.9 ± 0.5) d；Ⅱ期 41 例，Ⅲ期 14 例；并发心肌损伤 2 例，肝功能损伤 1 例，均未接受过相关治疗。联合组男 30 例，女 25 例，年龄 4 ~ 8 (6.2 ± 1.7) 岁；病程 1 ~ 3 (1.8 ± 0.6) d；Ⅱ期 39 例，Ⅲ期 16 例；并发心肌损伤 3 例，肝功能损伤 1 例，均未接受过相关治疗。2 组患儿一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准，所有患儿家属均知情同意，并签署知情同意书。

1.2　治疗方法　2 组患儿均进行退热、止咳、疱疹部位消毒等治疗手段。炎琥宁组将注射用炎琥宁（哈尔滨珍宝制药有限公司）按 10 mg/kg 加入 5% 葡萄糖注射液 100 ml 中静脉滴注，1 次/d；联合组在炎琥宁组治疗基础上，以病毒唑（郑州卓峰制药有限公司）10 $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 分 2 次肌内注射。2 组患儿均连续治疗 5 d，观察效果。

1.3　观测指标与方法

1.3.1　观察临床症状：对 2 组患儿发热、手足疱疹、口腔溃疡等临床症状进行观察，记录消退时间 。

1.3.2　血清指标检测：2 组患儿于治疗前后清晨空腹抽取肘静脉血 5 ml，离心获得血清，保存待检。使用酶法速率法检测 CK、LDH、CK-MB 水平，酶联免疫吸附法检测血清 IL-4、hs-CRP、TNF-α 水平，流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群水平。检测过程严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3.3　记录不良反应：记录治疗过程中出现的腹泻、恶心呕吐、白细胞减少等。

1.4　疗效评价标准[5]　显效：临床症状消失，口腔黏膜恢复正常，疼痛消失，食欲恢复正常；有效：临床症状明显改善，口腔疼痛明显减轻，食欲明显改善；无效：临床症状未得到改善甚至加重。总有效率 =（显效 + 有效）/ 总例数 × 100%。

1.5　统计学方法　使用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较进行独立样本 t 检验；计数资料以频数或率 (%) 表示，组间比较进行 χ^2 检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2 组治疗效果比较　联合组治疗总有效率为 94.55%，高于炎琥宁组的 81.82%，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 1。

表 1　2 组患儿治疗效果比较　[例 (%)]

组　别	例数	显效	有效	无效	总有效率 (%)
炎琥宁组	55	25 (45.46)	20 (36.36)	10 (18.18)	81.82
联合组	55	31 (56.37)	21 (38.18)	3 (5.45)	94.55
U/χ^2 值			$U = 1.309$		$\chi^2 = 4.274$
P 值			0.252		0.039

2.2　2 组临床症状消退时间比较　联合组患儿发热、手足疱疹、口腔溃疡等临床症状消退时间均短于炎琥宁组，差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)，见表 2。

表 2　2 组患儿临床症状消退时间比较　($\bar{x} \pm s$, d)

组　别	例数	发热	手足疱疹	口腔溃疡
炎琥宁组	55	1.86 ± 0.39	3.86 ± 0.65	2.13 ± 0.51
联合组	55	1.25 ± 0.28	2.95 ± 0.57	1.52 ± 0.47
t 值		9.423	7.806	6.523
P 值		0.001	0.001	0.001

2.3　2 组治疗前后血清 CK、LDH、CK-MB 水平比较　2 组治疗前 CK、LDH、CK-MB 水平比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；治疗后 2 组血清 CK、LDH、CK-MB 水平均低于治疗前，且联合组均低于炎琥宁组，差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)，见表 3。

2.4　2 组治疗前后血清 IL-4、hs-CRP、TNF-α 水平比较　2 组治疗前血清 IL-4、hs-CRP、TNF-α 水平比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；治疗后 2 组均降低，且联合组均低于炎琥宁组 ($P < 0.01$)，见表 4。

表 3　2 组患儿治疗前后血清 CK、LDH、CK-MB 水平比较　($\bar{x} \pm s$, U/L)

组　别	时间	CK	LDH	CK-MB
炎琥宁组	治疗前	128.67 ± 16.32	180.56 ± 19.75	19.02 ± 3.11
(n = 55)	治疗后	101.22 ± 11.75	167.44 ± 15.43	15.98 ± 2.51
联合组	治疗前	128.72 ± 16.27	181.03 ± 19.93	19.06 ± 3.15
(n = 55)	治疗后	93.61 ± 9.74	159.42 ± 13.58	13.66 ± 1.92
t/P 炎琥宁组内值		10.121/0.001	3.882/0.001	5.641/0.001
t/P 联合组内值		13.729/0.001	6.645/0.001	10.861/0.001
t/P 治疗后组间值		3.698/0.001	2.894/0.001	5.445/0.001

表 4　2 组患儿治疗前后血清 IL-4、hs-CRP、TNF-α 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	时间	IL-4(pg/ml)	hs-CRP(ng/ml)	TNF-α(ng/L)
炎琥宁组	治疗前	27.38 ± 4.56	13.27 ± 2.65	9.25 ± 2.35
(n = 55)	治疗后	24.11 ± 3.86	10.12 ± 2.46	7.03 ± 2.16
联合组	治疗前	27.42 ± 4.61	13.31 ± 2.62	9.23 ± 2.32
(n = 55)	治疗后	21.23 ± 3.25	6.95 ± 2.37	4.85 ± 1.86
t/P 炎琥宁组内值		4.059/0.001	6.461/0.001	5.158/0.001
t/P 联合组内值		8.139/0.001	13.349/0.001	10.921/0.001
t/P 治疗后组间值		4.233/0.001	6.882/0.001	5.672/0.001

2.5　2 组治疗前后 T 淋巴细胞亚群水平比较　治疗前,2 组 T 淋巴细胞亚群水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后 2 组 $CD8^+$ 水平低于治疗前,$CD4^+$、$CD3^+$ 水平高于治疗前,且联合组改善幅度优于炎琥宁组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表 5。

表 5　2 组患儿治疗前后 $CD8^+$、$CD4^+$、$CD3^+$ 水平比较　($\bar{x} \pm s$, %)

组　别	时间	$CD8^+$	$CD4^+$	$CD3^+$
炎琥宁组	治疗前	36.77 ± 3.98	25.07 ± 3.16	40.35 ± 4.11
(n = 55)	治疗后	31.59 ± 3.52	28.32 ± 3.35	45.77 ± 4.35
联合组	治疗前	36.73 ± 3.95	25.11 ± 3.21	40.31 ± 4.09
(n = 55)	治疗后	28.15 ± 3.47	32.05 ± 3.82	49.26 ± 4.62
t/P 炎琥宁组内值		7.230/0.001	5.234/0.001	6.717/0.001
t/P 联合组内值		12.101/0.001	10.319/0.001	10.761/0.001
t/P 治疗后组间值		5.161/0.001	5.444/0.001	4.079/0.001

2.6　2 组不良反应发生情况比较　联合组患儿不良反应发生率(14.55%)略高于炎琥宁组(9.09%),但 2 组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.785$, $P = 0.376$),见表 6。

表 6　2 组患儿治疗过程中不良反应发生率比较　[例(%)]

组　别	例数	腹泻	恶心呕吐	白细胞减少	总发生率(%)
炎琥宁组	55	2(3.64)	2(3.64)	1(1.82)	9.09
联合组	55	3(5.45)	3(5.45)	2(3.64)	14.55

3　讨　论

目前临床治疗手足口病的方法主要为药物治疗[6]。病毒唑是一种广谱的核苷类药物,具有较强抗病毒作用,临床常应用于病毒感染性疾病的治疗[7],唐玉珍等[8]在研究中使用病毒唑对手足口病患儿进行治疗,取得了较好的治疗效果。炎琥宁是一种临床常用的抗病毒药物,对呼吸道病毒、流感病毒等多种病毒均具有较好的杀灭作用,常用于病毒性呼吸道感染、病毒性肺炎等疾病的治疗[9-10]。目前关于病毒唑联合炎琥宁治疗手足口病的临床研究还相对较少。本结果显示,使用病毒唑联合炎琥宁对手足口病患儿进行治疗,患儿发热、手足疱疹、口腔溃疡等临床症状消退时间较短,说明二者联合能够加快患儿临床症状的消退,帮助患儿病情快速恢复。

有研究显示,手足口病的发生发展会使患儿出现一定程度的心肌损伤,对患儿心功能造成严重的影响[11]。CK、LDH、CK-MB 等心肌酶指标是临床常用的评价机体心肌损伤严重程度的指标,对 CK、LDH、CK-MB 水平进行检测,能够较为准确地对患儿心肌损伤严重程度进行评价。朱磊等[12]研究显示,手足口病患儿 CK、CK-MB 水平呈现异常高表达,对手足口病患儿进行适当的治疗,能够降低心肌酶 CK、CK-MB 水平,减轻患儿心肌损伤严重程度。卢燕等[13]研究显示,使用艾司洛尔对手足口病患儿进行治疗,心肌酶 CK、LDH、CK-MB 水平明显下降,表明有效的治疗能够调控 CK、LDH、CK-MB 水平、缓解患儿心肌损伤的结论。本结果显示,使用病毒唑联合炎琥宁对手足口病患儿进行治疗,患儿心肌损伤严重程度明显缓解,说明二者联合应用治疗效果显著,原因可能是二者联合应用起到了较为理想的抗病毒作用,使患儿心肌损伤程度明显减轻,从而发挥治疗效果。

手足口病症状的发生发展通常伴随着机体炎性反应[14-15]。IL-4、hs-CRP、TNF-α 是临床较为常用的评价机体炎性反应状态的指标。IL-4 能够刺激肥大细胞释放炎性介质,与机体炎性反应密切相关[16];hs-CRP 是一种主要由肝脏组织合成的 C 反应蛋白,是一种广谱的机体炎性反应的标志物[17];TNF-α 是一种多功能炎性细胞因子,能够刺激 IL-6、IL-8 等因子的生成,从而使机体产生持续存在的炎性反应[18-19]。本结果显示,使用病毒唑联合炎琥宁对手足口病患儿进行治疗,患儿炎性反应得到明显的抑制,说明二者联合应用能够通过抑制机体炎性反应使患儿病情得到改善,从而发挥治疗效果。

有研究认为,手足口病症状的发生发展与患儿免

疫功能变化具有一定相关性[20-22]。T 淋巴细胞亚群是评价机体细胞免疫状况的常用指标，对 T 淋巴细胞亚群水平进行检测，能够较为直观、准确地对机体细胞免疫功能状况进行评价。本结果显示，使用病毒唑联合炎琥宁对手足口病患儿进行治疗，患儿 T 淋巴细胞亚群水平受到调控，免疫功能得到明显提升，原因可能是二者联合应用抑制患儿炎性反应，提升患儿细胞免疫功能，与高淑林等[23]研究结论一致。

综上所述，使用病毒唑联合炎琥宁对手足口病患儿进行治疗，能够加快患儿临床症状消退速度，改善心肌酶水平，抑制炎性反应，提升免疫功能，治疗效果显著，具有一定临床应用价值。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

肖耿吉：设计研究方案，实施研究过程，论文撰写；廖亦男：课题设计，论文撰写；刘芙蓉：实施研究过程，资料收集整理、论文修改；姚婷新：进行统计学分析；于四景：提出研究思路，分析实验数据，论文审核

参考文献

[1] Qiu J, Yan H, Cheng N, et al. The Clinical and epidemiological study of children with hand, foot, and mouth disease in Hunan, China from 2013 to 2017[J]. Sci Rep, 2019 ,9(1):11662. DOI: 10.1038/s41598-019-48259-1.

[2] Nassef C, Ziemer C, Morrell DS. Hand-foot-and-mouth disease: a new look at a classic viral rash[J]. Curr Opin Pediatr, 2015, 27(4):486-491. DOI:10.1097/MOP.0000000000000246.

[3] Aswathyraj S, Arunkumar G, Alidjinou EK, et al. Hand, foot and mouth disease (HFMD): emerging epidemiology and the need for a vaccine strategy[J]. Med Microbiol Immunol, 2016, 205(5):397-407. DOI: 10.1007/s00430-016-0465-y.

[4] Smith C, Scott J. Necrotising fasciitis complicating hand, foot and mouth disease[J]. BMJ Case Rep, 2019, 12(8):e228581. DOI: 10.1136/bcr-2018-228581.

[5] 蓝永青，梁章聪. 热毒宁注射液、利巴韦林联合用药治疗小儿手足口病的临床疗效及安全性判定[J]. 数理医药学杂志，2019，32(11):1671-1672.

[6] Lim ZQ, Ng QY, Ng JWQ, et al. Recent progress and challenges in drug development to fight hand, foot and mouth disease[J]. Expert Opin Drug Discov, 2019, 30: 1-13. DOI: 10.1080/17460441.2019.1659241.

[7] 叶林华，黄路圣，徐康，等. 胎盘多肽联合病毒唑治疗小儿手足口病疗效观察[J]. 海南医学，2014，25(1):92-93. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.01.0034.

[8] 唐玉珍，王丽，朱丽，等. 病毒唑联合丙种球蛋白治疗手足口病的效果及其对炎性因子水平的影响[J]. 疑难病杂志，2016，15(9):931-934. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2016.09.014.

[9] 王永红，曹兰芳，姚海明，等. 炎琥宁治疗儿童手足口病的临床疗效及安全性评价[J]. 中国临床药理学杂志，2016，32(2):144-146. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2016.02.016.

[10] 王春颖，吴东平，傅锡霖，等. 干扰素、炎琥宁联合心理干预联用治疗小儿手足口病疗效观察[J]. 中国生化药物杂志，2017，37(8):222-223，225. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1678.2017.08.092.

[11] 姚文娟，穆启明. 心肌酶检测在手足口病合并心肌损伤患儿诊断中的价值[J]. 中国临床医生杂志，2019，47(3):358-360. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8552.2019.03.037.

[12] 朱磊，祁伯祥，胡丹，等. 米力农联合艾司洛尔对危重型手足口病患儿心功能和心肌酶的影响研究[J]. 中国全科医学，2015，18(19):2306-2309. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2015.19.015.

[13] 卢燕，谭利平. 重症手足口病患儿艾司洛尔治疗前后心肌酶相关指标的变化及意义[J]. 重庆医学，2016，45(29):4078-4079，4082. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.29.015.

[14] 曹利静，耿文锦，徐梅先，等. 连续性血液滤过对危重型手足口病儿童炎症介质及血流动力学的影响[J]. 中国当代儿科杂志，2016，18(3):219-223. DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2016.03.006.

[15] 李东林，鄢毅. 干扰素 + 炎琥宁治疗对手足口病患儿炎症反应及免疫应答的影响[J]. 海南医学院学报，2018，24(15):1443-1446. DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20180702.003.

[16] 张志刚，蔡钢. 手足口病方辅助治疗手足口病患儿的临床疗效及对细胞因子的影响研究[J]. 中国全科医学，2016，19(24):2935-2938. DOI:10.3969/j.issn.1007-9572.2016.24.013.

[17] 高芳，刘蕾. 手足口病患儿外周血白细胞计数、空腹血糖、超敏 C 反应蛋白水平变化[J]. 山东医药，2016，56(3):66-67. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2016.03.026.

[18] 单鸣凤，周凯，胡静，等. 中西医结合治疗对重症手足口病患儿血清 TNF-α 与 IL-6 的影响[J]. 中华医院感染学杂志，2018，28(20):3132-3135. DOI:10.11816/cn.ni.2018-182830.

[19] 赵允，马俊岗，赵维彩，等. 甲泼尼龙联合丙种球蛋白冲击治疗对手足口病患儿免疫功能的影响[J]. 中国医药，2019，14(8):1230 – 1233. DOI:10.3760/j.issn.1673 – 4777.2019.08.027.

[20] Zhu L, Li W, Qi G, et al. The immune mechanism of intestinal tract Toll-like receptor in mediating EV71 virus type severe hand-foot-and-mouth disease and the MAPK pathway[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(5):2263-2266. DOI: 10.3892/etm.2017.4245.

[21] 陈灵锋. 心肌酶谱、高敏肌钙蛋白在小儿手足口并发心肌炎的诊断[J]. 中国医药科学，2019，9(7):122 – 124. DOI:10.3969/j.issn.2095 – 0616.2019.07.035.

[22] 司马贯忠，陈丙文，杨昕. 磷酸奥司他韦颗粒辅助治疗小儿手足口病的效果评价[J]. 中国医药科学，2018，8(4):51 – 53，57. DOI:10.3969/j.issn.2095 – 0616.2018.04.017.

[23] 高淑林，王浩，袁美锦，等. 重组人干扰素 α-2b 联合炎琥宁对手足口病患儿炎性反应和免疫功能的影响[J]. 河北医药，2015，37(18):2732-2735. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2015.18.003.

（收稿日期：2019 – 08 – 20）

论著 · 基础

维生素 K_2 通过降低 D-双功能蛋白活性抑制肝癌的实验研究

孔令玉，路欣，姜玲玲

基金项目：河北省 2018 年医学科学研究重点课题计划（20181317）

作者单位：050017　河北医科大学中西医结合学院（孔令玉）；063000　唐山市妇幼保健院检验科（路欣）；050017　河北医科大学生物化学与分子生物学研究室（姜玲玲）

通信作者：姜玲玲，E-mail：Jianglingling1959@163.com

【摘　要】 **目的**　探讨维生素 K_2（VK_2）抑制 D-双功能蛋白（DBP）诱导肝癌细胞增殖的机制。**方法**　将 HepG2 细胞分为过表达 DBP 组（DBP 组）和空载体质粒对照组（Empty 组）及敲低 DBP 组（siDBP 组）和对照小干扰 RNA 组（siNC 组），DBP 组和 siDBP 组分别给予 0 ~ 100 μmol/L 不同浓度的维生素 K_2 处理。用 DBP 过表达质粒和干扰 RNA 分别转染 HepG2 细胞，Western-blot 检测 DBP 表达的变化；CCK-8 分析检测细胞增殖能力；放射免疫分析测定雌二醇（E_2）的水平。**结果**　DBP 组 HepG2 细胞的增殖显著高于 Empty 组（1.76 ± 0.22 vs. 1.83 ± 0.27，$P < 0.05$），siDBP 组细胞增殖显著低于 siNC 组（1.84 ± 0.25 vs. 1.77 ± 0.21，$P < 0.05$），DBP 组 E_2 水平低于 Empty 组（20.76 ± 3.42 vs. 17.23 ± 2.65，$P < 0.05$）；DBP 组给予 VK_2 处理后，HepG2 细胞的增殖呈剂量依赖性降低（$P < 0.05$），E_2 的水平也呈剂量依赖性增加（$P < 0.05$）；但 VK_2 不影响 DBP 的表达。**结论**　VK_2 抑制由 DBP 过表达引起的肝癌细胞增殖的机制，为 VK_2 作为治疗肝癌的辅助分子提供了新的理论基础和实验依据。

【关键词】 维生素 K_2；D-双功能蛋白；肝细胞癌；雌二醇

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.018

Experimental study on the inhibition of liver cancer by vitamin K_2 by reducing the activity of D-bifunctional protein

*Kong Lingyu**, *Lu Xin*, *Jiang Lingling*. **Integrated Traditional Chinese and Western Medicine School*, *Hebei Medical University*, *Hebei Province*, *Shijiazhuang* 050017, *China*

Corresponding author: *Jiang Lingling*, *E-mail*: *Jianglingling*1959@163.*com*

Fund program: 2018 *Hebei Province Medical Science Research Key Project*(20181317)

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the mechanism of vitamin K_2 (VK_2) inhibiting the proliferation of hepatoma cells induced by D-bifunctional protein (DBP). **Methods**　HepG2 cells were divided into overexpression DBP group (DBP group), empty vector plasmid control group (empty group), knockdown DBP group (siDBP group) and control small interfering RNA group (siNC group). The DBP group and sidbp group were treated with different concentrations of vitamin K_2 from 0 to 100 μ mol / L respectively. HepG2 cells were transfected with DBP over expression plasmid and interference RNA respectively. Western blot was used to detect the expression of DBP. CCK 8 analysis was used to detect cell proliferation. The level of estradiol (E2) was determined by radioimmunoassay. **Results**　The proliferation of HepG2 cells in DBP group was significantly higher than that in Empty group (1.76 ± 0.22 vs. 1.83 ± 0.27, $P < 0.05$). The cell proliferation of siDBP group was significantly lower than that of siNC group (1.84 ± 0.25 vs. 1.77 ± 0.21, $P < 0.05$). The E2 level in the DBP group was lower than that in the Empty group (20.76 ± 3.42 vs. 17.23 ± 2.65, $P < 0.05$). After treatment with VK_2 in the DBP group, the proliferation of HepG2 cells decreased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). The level of E2 also increased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$); however, VK_2 did not affect the expression of DBP. **Conclusion**　The mechanism of VK_2 inhibiting the proliferation of hepatoma cells induced by DBP overexpression provides a new theoretical basis and experimental basis for VK_2 as an auxiliary molecule in the treatment of hepatoma.

【**Key words**】 Vitamin K_2; D-bifunctional protein; Hepatocellular carcinoma; Estradiol

维生素 K_2(vitamin K_2, VK_2)是一种脂溶性维生素。研究已经证明,VK_2 对包括肝癌在内的许多肿瘤细胞增殖具有抑制作用[1]。尽管,有关 VK_2 抑制肝癌细胞增殖分子机制研究涉及抑制核转录因子、细胞周期调节蛋白和信号通路等多种学说[2-5],但仍存在有待解决的问题。肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是发病率较高的肿瘤之一,其恶性程度高,致死率极高,并且具有术后预后差等特征,目前已经成为全球第二大致死性癌症[6-7]。近年来医学界对于其发病机制和靶向治疗的研究受到了越来越多的重视,但由于特异性基因诊断较少,而且针对于某些基因研发的靶向治疗药物效果欠佳,因此,探讨肝癌的致病机制和寻找更安全有效的治疗药物具有重要的临床意义和应用价值。

D-双功能蛋白(D-bifunctional protein, DBP)作为一种重要的氧化还原代谢酶,能够促进雌二醇(E_2)脱去氢离子而失去活性,因此,生物体内雌二醇量的改变可作为 DBP 活性增减的指标。实验研究表明,DBP 在肝癌 HepG2 细胞明显高表达,且能够降低雌二醇表达水平促进肝癌细胞增殖[8]。而且肝癌患者中 DBP 的表达与肿瘤标志物的表达具有良好的相关性,因此,DBP 很有可能成为肝癌诊断和治疗的新靶点[9]。最近一项研究报道,HepG2 细胞内 VK_2 可与 DBP 相结合而影响其活性[10],因此 VK_2 很有可能通过与 DBP 相互作用,降低其活性,上调 E_2 水平,来发挥其抑制肝癌细胞增殖的作用[11]。因此本研究探讨了 VK_2 对 DBP 过表达引起的肝癌细胞增殖的抑制机制,为 DBP 作为肝癌诊断和治疗新靶点提供了更有利的实验依据,为 VK_2 和 DBP 作为预防和治疗肝细胞肝癌的分子机制提供更好的基础证据和靶向治疗方向,报道如下。

1　材料与方法

1.1　实验材料

1.1.1　实验细胞与分组:人源的肝癌细胞 HepG2 实验细胞由中国医学科学院(北京协和医学院)肿瘤研究所提供。将细胞分为过表达 DBP 组(DBP 组)和 empty 组及敲低 DBP 组(siDBP 组)和 siNC 组,过表达 DBP 组和敲低 DBP 组分别给予 0 ~ 100 μmol/L 不同浓度的维生素 K_2 处理。

1.1.2　实验试剂:DBP 质粒(本实验室保存);小干扰 RNA(siRNA),siD-双功能蛋白(siDBP):上游 5′GUACCUUUGUAUUUGAGGAdTdT3′, 下游 5′UCCUCAAAUACAAAGGUACdTdT3′, siNC: 上游 5′UUCUCCGAACGUGUCACGUTT 3′,下游:5′ACGUGACACGUUCGGAGAATT 3′(上海生物工程技术公司);Lipofectamine 2000TM 转染试剂(美国 Invitrogen 公司);兔源-抗人 DBP 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司);兔源-抗人 β-actin 多克隆内参抗体(美国 Santa Cruz 公司);CCK-8 试剂(日本 ojindo 公司);雌二醇(E_2)(美国 Sigma 公司);^{125}碘(^{125}I)雌二醇放射免疫试剂盒(天津九鼎公司);维生素 K_2(北京百灵威科技公司)。

1.2　细胞转染　将 HepG2 细胞种在孔板中,于 37℃、5 % CO_2 条件下培养 24 h,待细胞生长至 70 % 左右融合度时进行转染。首先按照转染试剂的说明将适量的质粒[空载体质粒(Empty)和过表达质粒(DBP)]、小干扰 RNA[对照小干扰 RNA(siNC)和目的小干扰 RNA(siDBP)]分别溶于无血清无抗生素的 RPMI1640 培养液中,混匀。将与转染试剂同浓度的 Lipofectamine 2000TM 溶于无血清无抗生素 RPMI1640 培养液中,混匀,室温静置 5 min。将上述 4 种转染试剂分别与脂质体混匀,室温静置 20 min。最后将孔板中原有的培养基弃去,并用新鲜无血清无抗生素 RPMI1640 培养基洗涤细胞 2 次,将各组脂质体和质粒混合液均匀滴入每孔细胞中,置培养箱 37℃ 培养。6 h 后更换为含 10 % 胎牛血清的 RPMI1640 培养基,继续培养 48 h 用于后续实验。

1.3　Western-blot 检测 DBP 表达　处理后的细胞经过蛋白提取、蛋白定量后用裂解液稀释成 5 μg/μl 浓度的悬液,加 5 × 上样缓冲液 95℃ 煮沸 5 min。制作 SDS-PAGE,进行蛋白上样和凝胶电泳,电泳后将蛋白胶转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉进行封闭,分别加兔抗人 DBP 和 β-actin 抗体(1∶1 000) 4 ℃冰箱过夜温育,TPBS 洗膜,用荧光二抗进行室温静置孵育 1 h (1∶5 000),用 TBST 洗膜 2 次,每次约 10 min,最后 Odyssey 发光仪进行扫描。

1.4　细胞计数试剂盒(CCK-8)检测　按照说明书将 CCK-8 试剂与无血清的 RPMI1640 培养基以 1∶4的比例混合,将转染后培养 48 h 的 96 孔板中的培养基去除,每孔加入 100 μl CCK-8 的混合液,于 37℃、5 % CO_2 条件下培养 4 h。最后用酶标仪在 450 nm 处读取吸光度值。

1.5　E_2 水平检测　按照 E_2 放射免疫试剂盒的说明,取 8 个试管,分别标记为总 T、NSB、S0、标准品 S1、标准品 S2、标准品 S3、标准品 S4、标准品 S5,按照试剂盒说明,分别加入稀释缓冲液,标准品 10、50、100、250、750 pg/ml、标记物及抗体,充分混匀,置于 37℃ 1.5 h 后加入分离剂充分混匀,4℃ 3 600 r/min 离心 20 min,弃上清液,在 γ 计数仪上测定各管的放射性活度强度(cpm)。以 cpm 读数为纵坐标,标准品浓度为横坐标

绘制标准曲线。取待测培养基 200 μl,代替标准品,加入标记物及抗体,充分混匀,置于 37℃ 1.5 h 后加入分离剂充分混匀,4℃ 3 600 r/min 离心 20 min,弃上清液,在 γ 计数仪上测得 cpm 值,利用标准曲线得出待测样品 E_2 的含量。结果以每毫升样品含有 E_2 的量(ng/ml)表示。

1.6　统计学方法　采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表达,比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　DBP 高表达对肝癌 HepG2 细胞增殖的影响　Western-blot 实验结果显示,DBP 过表达质粒和干扰 RNA 转染 HepG2 细胞后,能够有效干预 DBP 的表达(图 1A、B)。CCK-8 分析实验证明,DBP 过表达和敲低能相应地增加(1.76 ± 0.22 vs. 1.83 ± 0.27, $P < 0.05$)和减少(1.84 ± 0.25 vs. 1.77 ± 0.21, $P < 0.05$)细胞的数量(图 1C、D)。

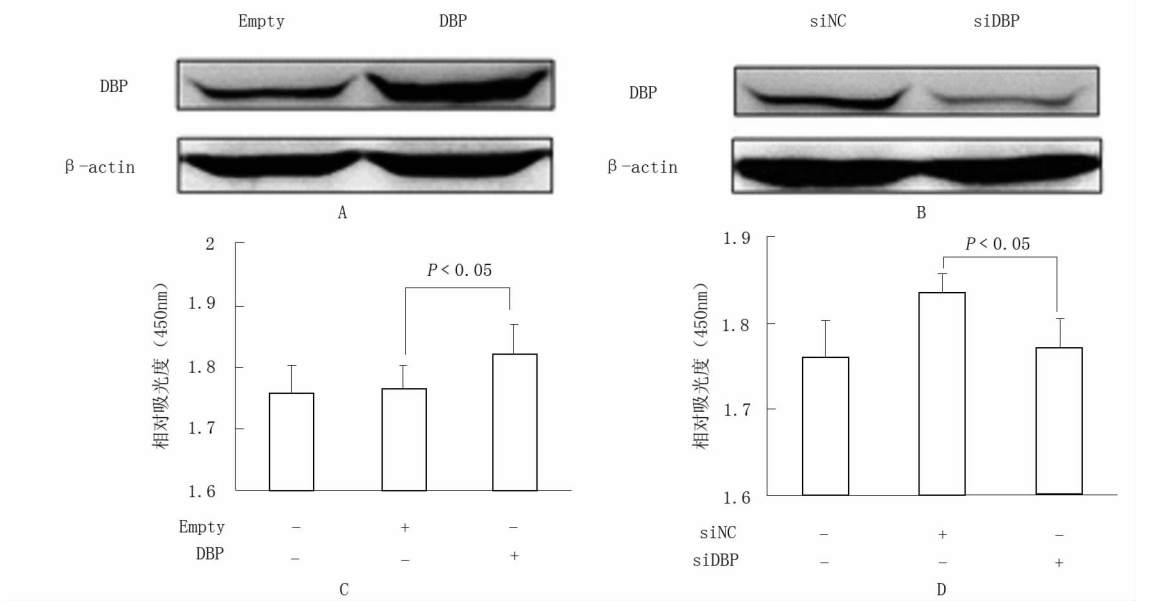
2.2　DBP 高表达对细胞 E_2 分泌的影响　结果显示,DBP 过表达降低了细胞 E_2 分泌水平[(20.76 ± 3.42) ng/ml vs. (17.23 ± 2.65) ng/ml, $P < 0.05$]。

2.3　维生素 K_2 对肝癌细胞增殖的影响　CCK-8 分析结果显示,与对照组(Empty)相比,DBP 过表达组 HepG2 细胞增殖加强($P < 0.05$),当分别给予不同浓度的 VK_2(0、1、10、30、50、100 μmol/L)处理 48 h 后,细胞的增殖呈浓度依赖性降低($P < 0.05$)(图 2 A);用 siRNA 敲低了 DBP 的表达后,细胞的增殖明显降低($P < 0.05$),但是 VK_2 的处理对细胞的增殖影响不大($P > 0.05$)(图 2 B)。

2.4　不同浓度 VK_2 对 E_2、DBP 表达的影响　用不同浓度的 VK_2(0、20、50、100 μmol/L)处理对照组(Empty)和过表达 DBP 组的 HepG2 细胞 48 h 后,检测培养基中 E_2 的水平。结果显示,随着 VK_2 剂量的增加,培养基中 E_2 水平也随之增加($P < 0.05$)(图 3 A)。但是用 100 μmol/L 浓度的 VK_2 分别处理 Empty 组和过表达 DBP 组的 HepG2 细胞后,DBP 蛋白表达无明显变化(图 3 B)。

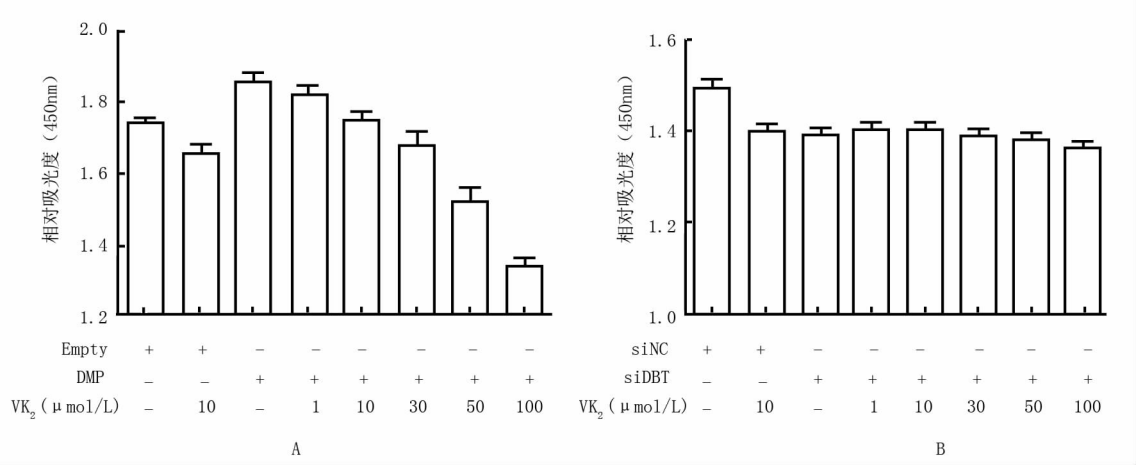
3　讨　论

肝细胞癌作为致死性较高的癌症,在全球约排在第 3 位,男性患病率高于女性,而观察发现肝细胞癌的发病也与地域性相关,因其预后较差,成为影响人民健康的重要威胁[12]。尽管近年来肝癌切除手术有一定的进展,但是患者的术后生存质量和 5 年生存率并不高[13]。最初发现 VK 是在血液凝固的过程中发挥作用,并且有研究报道其对骨骼健康及心血管疾病有积极作用[14]。此外,近年有相关研究表明,维生素 K 在肿瘤的形成和生长过程中有抑制作用,特别是 VK 家族中的VK_2在肝细胞癌的增殖中表现出抑制作用[15-16]。



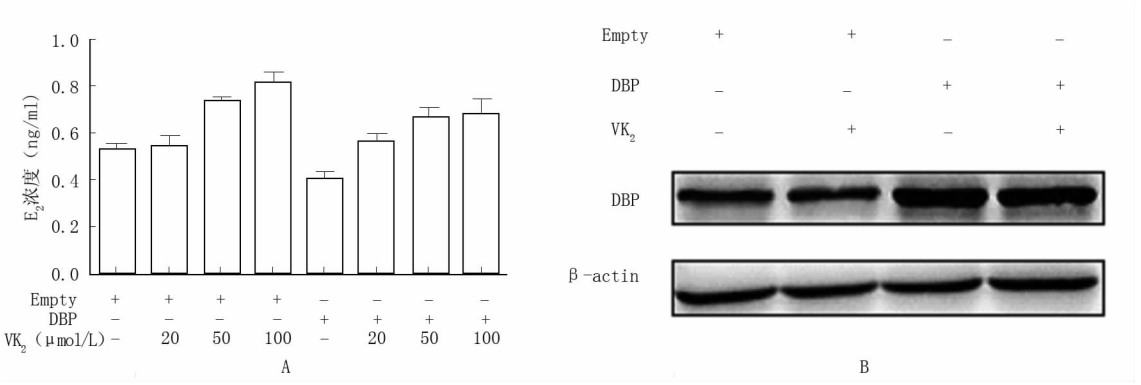
注:A. DBP 过表达质粒(DBP)转染 HepG2 细胞 Western-bolt 检测 DBP 表达;B. DBP 干扰 RNA(siDBP)转染 HepG2 细胞 Western-bolt 检测 DBP 表达;C. DBP /Empty 质粒转染 HepG2 细胞后 CCK-8 检测细胞增殖;D. siDBP/siNC 转染 HepG2 细胞后 CCK-8 检测细胞增殖

图 1　DBP 过表达对肝癌细胞增殖的影响



注：A. DBP 过表达质粒/空质粒处理 HepG2 细胞后加入不同浓度 VK_2，CCK-8 检测细胞增殖；B. siDBP/siNC 干扰 RNA 处理 HepG2 细胞后加入不同浓度 VK_2，CCK-8 检测细胞增殖

图 2　维生素 K_2 对肝癌细胞增殖的影响



注：A. DBP 过表达质粒/空质粒处理 HepG2 细胞后加入不同浓度 VK_2，放射免疫检测 E_2 水平；B. DBP 过表达质粒/空质粒处理 HepG2 细胞后加入 100 μmol/L VK_2，Western-bolt 检测 DBP 表达

图 3　维生素 K_2 对肝癌细胞中 DBP 活性的影响

有报道显示，维生素 K_2 的类似物四烯甲萘醌不仅可以抑制肝癌的进展，更重要的是能降低肝癌术后的复发率和转移率[4-5]。这些研究结果表明，VK_2 在 HCC 的治疗和术后康复中发挥了潜在的抗肿瘤特性。

D-双功能蛋白（DBP）是生物组织细胞器过氧化物酶体中极其重要的一种氧化还原酶。DBP 在哺乳动物的肝、心脏、脑、前列腺等组织中都有表达。更重要的是 DBP 可以催化雌二醇（E_2）脱氢失去活性，从而产生雌酮[11]。以往研究也发现，人肝癌病理组织中 DBP 高表达，肝癌 HepG2 细胞中 DBP 表达升高从而降低 E_2 水平表达后，使促癌细胞增殖基因 cyclin D1 及 PCNA 等的表达明显升高，而这些最终导致了肝癌细胞的增殖[8-9]。最近有研究发现，合成后的生物素 VK_2 能够与 DBP 相结合导致 DBP 活性降低[10]。本实验中，VK_2 与 DBP 相互作用降低 DBP 的活性，进而使细胞内 E_2 的水平显著增加，进而起到了抑制 HCC 细胞增殖的重要作用。

综上，维生素 K_2 对肝癌细胞增殖有较好的抑制作用。VK_2 通过与 DBP 相互作用，降低了 DBP 的催化活性，升高了 E_2 的表达水平，从而抑制肝癌细胞的增殖。本研究初步阐明 VK_2 通过 DBP 抑制肝癌细胞增殖的相关机制，为肝癌的诊断和术后联合监测提供新的思路。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

路欣：实施研究过程，论文撰写和修改；孔令玉：实施部分实验，分析实验数据，统计学分析；姜玲玲：设计研究思路，论文审核

参考文献

[1] Mizuta T, Ozaki I. Hepatocellular carcinoma and vitamin K2[J]. Clin Calcium, 2015, 25(11): 1645-1651. DOI: 10.1016/S0083-6729(07)00018-0.

[2] Ishizuka M, Kubota K, Shimoda M, et al. Effect of menatetrenone, a vitamin K_2 analog, on recurrence of hepatocellular carcinoma after surgical resection: a prospective randomized controlled trial[J]. Anticancer Res, 2012, 32(12): 5415-5420. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.09.08.

[3] Li L, Wang L, Song R, et al. Cytochrome P450 2E1 increases the sensitivity of hepatoma cells to vitamin K_2[J]. Int J Oncol, 2017, 50(5): 1832-1838. DOI: 10.3892/ijo.2017.3932.

[4] Qin XY, Fujii S, Shimizu A, et al. Carboxylic Derivatives of Vitamin K_2 Inhibit Hepatocellular Carcinoma Cell Growth through Caspase/Transglutaminase -Related Signaling Pathways[J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2015, 61(4): 285-290. DOI: 10.3177/jnsv.61.285.

[5] Liu W, Nakamura H, Yamamoto T, et al. Vitamin K_2 inhibits the proliferation of HepG2 cells by up-regulating the transcription of p21 gene[J]. Hepatol Res, 2007, 37(5): 360-365. DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00058.x.

[6] Yoshida H, Shiratori Y, Kudo M, et al. Effect of vitamin K_2 on the recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2011, 54(2): 532-540. DOI: 10.1002/hep.24430.

[7] Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008[J]. J Hepatol, 2008, 48(Supplement 1): S20-S37. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.022.

[8] Lu X, Ma PP, Shi Y, et al. NF-κB increased expression of 17β-hydroxysteroid dehydrogenase 4 promotes HepG2 proliferation via inactivating estradiol[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2015, 401: 1-11. DOI: 10.1016/j.mce.2014.11.016.

[9] 路欣,孔令玉,刘殿卿,等. D-双功能蛋白在肝癌组织中的表达及其与 AFP 和 CA19-9 的相关性[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(10): 2153-2156. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.10.018.

[10] Nagasaki S, Miki Y, Akahira J, et al. 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases in human breast cancer[J]. Ann NY Acad Sci, 2009, 1155(1): 25-32. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2008.03682.x.

[11] 马盼盼. Vitamin K_2 抑制 HSD17B4 促肝癌细胞增殖的机制研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.

[12] Kim SH, Kim MO, Kim KR. Anti-growth Effects of Imatinib and GNF5 via Regulation of Skp2 in Human Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. J Cancer Prev, 2018, 23(4): 170-175. DOI: 10.15430/JCP.2019.24.1.63.

[13] Bai H, Gao P, Gao H, et al. Improvement of Survival Rate for Patients with Hepatocellular Carcinoma Using Transarterial Chemoembolization in Combination with Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy: A Meta-Analysis[J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 1773-1781. DOI: 10.12659/msm.895548.

[14] Motoyuki OT, Naoya K, Tohru I, et al. Vitamin K_2 binds 17β-hydroxysteroid dehydrogenase 4 and modulates estrogen metabolism[J]. Life Sciences, 2005, 76(21): 2473-2482. DOI: 10.1016/j.lfs.2004.12.020.

[15] Shearer MJ, Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K[J]. Thromb Haemost, 2008, 100(4): 530-547. DOI: 10.1160/TH08-03-0147.

[16] Iwamoto J. Vitamin K_2 therapy for postmenopausal osteoporosis[J]. Nutrients, 2014, 6(5): 1971-1980. DOI: 10.3390/nu6051971.

(收稿日期:2019-04-30)

作者·编者·读者

关于参考文献标注和著录的要求

本刊参考文献著录实施 GB/T7714-2015《信息与文献　参考文献著录规则》按照参考文献在正文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。正文指明原始文献作者姓名时,序号标注于作者姓名右上角;正文未指明作者或非原始文献作者时,序号标注于句末右上角;正文直接述及文献序号将之作为语句的组成部分时,不用角码标注,例如:手术方法按参考文献[8]。图中引用参考文献,按其在全文中出现的顺序编号,在图的说明或注释中予以标注,图中不应出现引文标注。表中引用参考文献,按其在全文中出现的顺序编号依次标注;或在表中单列一栏说明文献来源,该栏应列出文献第一作者姓名,在姓名右上角标注文献角码。

参考文献表应按正文引用先后顺序用阿拉伯数字加方括号排列于文后,参考文献著录项目要齐全。同一文献作者不超过 3 位者全部著录;超过 3 位者只列前 3 位,后依文种加“,等”的文字。文后参考文献表中,中文期刊用全称;外文期刊采用缩写形式,以《Index Medicus》中的缩写式为准。

引用参考文献应是作者亲自审读过的、近 5 年内的国内外有影响力的期刊文献,尽量少引图书著作;每条参考文献应标注数据对象唯一标识符(DOI);在引用参考文献要避免只引国内文献或只引国外文献的倾向。

论著 · 基础

大黄素介导 IRS-2/PI3K/Akt 通路干预大鼠非酒精性脂肪性肝炎的实验研究

寇小妮, 解新科, 郝明霞, 宋春荣, 吴维

基金项目: 陕西省科技厅社会发展领域项目(2018SF295)
作者单位: 712000　咸阳, 陕西中医药大学附属医院肝病科
通信作者: 寇小妮, E-mail: 1531526851@qq.com

【摘　要】 **目的**　探讨大黄素通过介导 IRS-2/PI3K/Akt 通路对非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的影响。**方法**　随机选取 25 只雄性大鼠给予高脂饲料喂养 12 周制备 NASH 模型, 12 周后取 5 只大鼠进行检测, 确定 NASH 模型制备成功, 剩余 20 只大鼠数字表法随机分为模型组(10 只)和大黄素组(10 只), 另取同龄 10 只雄性未造模大鼠作为正常对照组。大黄素组大鼠给予 20 mg/kg 的大黄素灌胃, 正常对照组和模型组给予等量生理盐水, 连续给予 8 周。对大鼠肝脏进行称重, 计算肝指数; 检测空腹血糖和空腹胰岛素, 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR), 检测血生化指标。对肝组织进行 HE 染色, 检测肝组织中 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量。**结果**　模型组大鼠肝指数、空腹血糖、空腹胰岛素、HOMA-IR、ALT、AST、TG、TC 和 LDL-C 水平较正常对照组增高, HDL-C 水平较正常对照组降低($P<0.01$); 大黄素组大鼠肝指数、空腹血糖、空腹胰岛素、HOMA-IR、ALT、AST、TG、TC 和 LDL-C 水平较模型组降低, HDL-C 水平较模型组增高($P<0.05$)。病理检测发现, 模型组出现大量脂肪变性, 存在炎性细胞浸润和细胞气球样变性, 大黄素组病灶明显较模型组减轻。模型组大鼠 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量较正常对照组降低($P<0.05$), 大黄素组大鼠 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量较模型组增高($P<0.05$)。**结论**　大黄素可以提高 IRS-2/PI3K/Akt 通路的活性, 改善高脂诱导的 NASH 大鼠肝脏脂肪沉积及胰岛素抵抗。

【关键词】 大黄素; IRS-2/PI3K/Akt 通路; 非酒精性脂肪性肝炎; 大鼠
【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.019

The experimental study of emodin mediated IRS-2/PI3K/Akt pathway on nonalcoholic steatohepatitis in rats

Kou Xiaoni, Xie Xinke, Hao Mingxia, Song Chunrong, Wu Wei. Department of Hepatology, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Province, Xianyang 712000, *China*
Corresponding author: KOU Xiaoni, E-mail: sshhxx0@163.com
Fund program: Shaanxi Province Bureau of Science and Technology Social Development Field Project (2018*SF*295)

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the effect of emodin on nonalcoholic steatohepatitis (NASH) through IRS-2/PI3K/Akt pathway. **Methods**　Twenty-five male rats were randomly fed with high fat diet for 12 weeks. After 12 weeks, 5 rats were taken for detection. The remaining 20 rats were randomly divided into model group (10 rats) and emodin group (10 rats). Another 10 male non model rats of the same age were taken as the normal control group. Rats in emodin group were given 20 mg/kg emodin by gavage. Normal control group and model group were given the same amount of normal saline for 8 weeks. The rat liver was weighed and the liver index was calculated. Fasting blood glucose and fasting insulin were measured, insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated, and biochemical indexes were measured. He staining was used to detect the relative expression of IRS-2, p-IRS-2, PI3K, p-PI3k, Akt and p-Akt in liver tissue. **Results**　The liver index, fasting blood glucose, fasting insulin, HOMA-IR, ALT, AST, TG, TC and LDL-C levels in the model group were higher than those in the normal control group, and the HDL C level was lower than that in the normal control group ($P<0.01$). The liver index, fasting blood glucose, fasting insulin, HOMA-IR, ALT, AST, TG, TC and LDL-C levels in the emodin group were lower than those in the model group, and the HDL-C level was higher than the model group ($P<0.05$). Pathological examination revealed that there was a large amount of steatosis in the model group, inflammatory cell infiltration and balloon-like degeneration, and the lesions in the emodin group were significantly less than those in the model group. The relative expression levels of IRS-2, p-IRS-2, PI3K, p-PI3K, Akt and p-Akt in the model group were lower than those in the normal control group ($P<$

0.05), and in the emodin group IRS 2, p IRS 2, PI3K, p PI3K The relative expression of Akt and p Akt protein was higher than that of the model group ($P<0.05$). **Conclusion** Emodin can enhance the activity of IRS-2/PI3K/Akt pathway, improve the fatty deposition and insulin resistance of Nash rats induced by high fat.

【**Key words**】 Emodin; IRS-2/PI3K/Akt pathway; Nonalcoholic steatohepatitis; Rats

非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的特点是肝脂肪堆积、炎性反应和不同程度的纤维化[1]。NASH 患者主要病理生理特点是胰岛素抵抗,所以改善胰岛素抵抗在预防 NASH 进展方面具有治疗潜力[2]。肝脏是胰岛素的主要靶器官之一,在葡萄糖稳态中起着重要作用。在肝脏中,胰岛素受体底物 2 (IRS-2) /磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)信号转导通路在调节胰岛素的糖代谢作用中起着关键作用[3]。胰岛素受体(IR)具有 2 个 α 亚基和 2 个跨膜 β 亚基的细胞内酪氨酸激酶域,α 亚基增加内在酪氨酸激酶活性,触发一系列磷酸化反应,激活下游的关键靶点,包括 IRS-2、PI3K 和丝苏氨酸蛋白激酶(Akt)[4]。大黄素是中药大黄的主要有效成分,具有抗炎、抗氧化和抗纤维化等功能[5]。大黄素可以抑制线粒体呼吸链活性、激活 AMP 活化蛋白激酶(AMPK),降低肝脏能量状态[6]。然而,大黄素作用的确切分子靶点仍不明确。既往有研究在高脂喂养的胰岛素抵抗大鼠模型中检测到了大黄素对肝糖原含量的影响[7]。然而,目前尚无大黄素对 IRS-2/PI3K/Akt 信号通路影响的研究。因此,本研究建立胰岛素抵抗相关的大鼠 NASH 模型,并用大黄素进行治疗,检测 IRS-2/PI3K/Akt 信号通路中关键功能分子的表达,探讨大黄素防治 NASH 的可能作用机制,报道如下。

1　材料与方法

1.1　实验动物　选取雄性 8 周龄 SD 大鼠 35 只[由甘肃中医药大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(甘) 2015-0005],体质量 200 ~ 240 g,动物饲养在 SPF 环境中自由进食和饮水,动物相关处置均符合《中华人民共和国实验动物管理条例》要求,适应性喂养 1 周后进行实验。

1.2　试剂与仪器　大黄素(陕西森弗生物技术有限公司);普通饲料、高脂饲料(普通饲料: 猪油: 蔗糖: 胆固醇: 胆盐 = 83: 10: 5: 1.5: 0.5,上海斯莱克实验动物有限公司);血清胰岛素测定试剂盒(中国原子能同位素研究所);兔抗人 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt(美国 Santa Cruz 公司);兔抗体辣根过氧化物酶 HRP 标记亲和纯化山羊抗兔 IgG 二抗和兔抗 β-actin 单克隆抗体(武汉艾美捷科技有限公司);蛋白抽提试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);ECL 超敏发光液、PVDF 膜(美国 Millpore 公司);HE 染色试剂盒(中国国药集团);组织脱水机、包埋机、全自动轮转切片机等病理配套设备(德国 Leica 公司);光学显微镜(日本 Nikon 公司);Au2700 型全自动生化分析仪(日本 Olympus 公司);凝胶成像仪(美国 UVP 公司);BIO-RAD 垂直电泳仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.3　分组及造模　根据随机数字表法选取 25 只大鼠给予高脂饲料喂养 12 周制备 NASH 模型[8]。12 周后取 5 只大鼠进行称重、检测血糖血脂等生化学指标及行肝组织病理检测,以肝指数明显增加,胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、血脂指标及肝功能指标明显升高,肝脏病理组织学示肝小叶结构模糊,出现脂肪空泡,确定建立 NASH 模型制备成功。剩余 20 只大鼠随机分为模型组(10 只)和大黄素组(10 只),另取同龄 10 只未造模大鼠作为正常对照组。大黄素组大鼠给予 20 mg/kg 的大黄素灌胃,正常对照组和模型组给予等量生理盐水,连续给予 8 周。禁食 12 h 后麻醉大鼠,心脏采血,分离血清,分离肝组织并称重,计算肝指数 = 肝脏湿重/体质量。 -80℃保存备用。

1.4　检测指标与方法

1.4.1　空腹血糖、空腹胰岛素检测:用酶联免疫吸附法测定空腹胰岛素,操作方法按说明书进行,并计算 HOMA-IR,HOMA-IR = 空腹血糖 × 空腹胰岛素/22.5。

1.4.2　肝功能及血脂指标检测:AU2700 型全自动生化分析仪测定血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量。

1.4.3　肝脏病理学检查:取相同部位大鼠肝脏组织进行固定,经脱水、包埋,切成厚度为 1 μm 切片,用苏木精和伊红(HE)染色,在显微镜下观察病理变化,选出一个具有代表性的图像。

1.4.4　蛋白表达检测: Western-blot 法检测 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量,取一块肝组织,用生理盐水洗涤 2 次,进行研碎,根据肝组织重量加入相应蛋白抽提试剂,进行蛋白提取,最后进行蛋白浓度的测定,调整蛋白浓度至相同,加入 1/5 体积的 5 × Buffer 进行变性,进行电泳,每孔上样量为 30 μg,将印迹转移到 PVDF 膜上,然后用 5% 脱脂牛奶在室温下封膜 1 h,加入兔抗 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-

PI3K、Akt、p-Akt(1∶1 000)和 β-actin(1∶10 000)抗体，4℃过夜，冲洗后，将膜与辣根过氧化物酶 HRP 标记山羊抗鼠 IgG 二抗(1∶10 000)在室温下孵育 30 min。用 ECL 法进行显色，采集图像，以 β-actin 作为内参并进行分析。

1.5　统计学方法　应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，采用单因素方差分析进行判断，组间两两比较用 SNK-q 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　各组大鼠肝指数、空腹血糖、空腹胰岛素和 HOMA-IR 水平比较　模型组大鼠肝指数、空腹血糖、空腹胰岛素和 HOMA-IR 水平较正常对照组增高，差异有统计学意义($P<0.05$)；大黄素组大鼠肝指数、空腹血糖、空腹胰岛素和 HOMA-IR 水平较模型组降低，差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 1。

2.2　各组大鼠肝功能及血脂水平比较　模型组大鼠 ALT、AST、TG、TC 和 LDL-C 水平较正常对照组增高，HDL-C 水平较正常对照组降低，差异有统计学意义($P<0.05$)；大黄素组大鼠 ALT、AST、TG、TC 和 LDL-C 水平较模型组降低，HDL-C 水平较模型组增高，差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 2。

2.3　各组大鼠肝组织病理学改变　正常对照组大鼠肝脏结构正常，肝索、肝窦排列整齐，无明显病变；模型组出现弥漫性肝细胞脂肪变，存在炎性细胞浸润和细胞气球样变性，肝细胞索排列紊乱，小叶内见大量炎细胞浸润及少量点状肝细胞坏死，部分坏死灶融合成片，未见明显纤维化；大黄素组治疗后组织脂肪变程度明显减轻，炎细胞浸润明显减少，见图 1。

2.4　各组大鼠肝组织中 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量比较　模型组大鼠 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量较正常对照组降低，差异有统计学意义($P<0.05$)；大黄素组大鼠 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达量较模型组增高，差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 3、图 2。

3　讨　论

目前，NASH 已被公认为一种重要的健康问题，其发病率在世界范围内呈上升趋势[9]。然而，NASH 的发病机制尚不完全清楚，动物模型是研究肝胰岛素抵

表 1　各组大鼠肝指数、空腹血糖、空腹胰岛素和 HOMA-IR 水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	肝指数(%)	空腹血糖(mmol/L)	空腹胰岛素(μIU/ml)	HOMA-IR
正常对照组	2.25 ± 0.35	5.49 ± 0.67	23.54 ± 1.97	5.73 ± 0.69
模型组	4.61 ± 0.62[a]	7.43 ± 0.52[a]	31.90 ± 2.16[a]	7.81 ± 0.90[a]
大黄素组	3.67 ± 0.48[b]	5.92 ± 0.37[b]	27.15 ± 3.59[b]	6.85 ± 0.71[b]
F 值	57.441	36.370	14.209	18.163
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与正常对照组比较，[a]$P<0.05$；与模型组比较，[b]$P<0.05$

表 2　各组大鼠肝功能和血脂水平比较　($\bar{x} \pm s$)

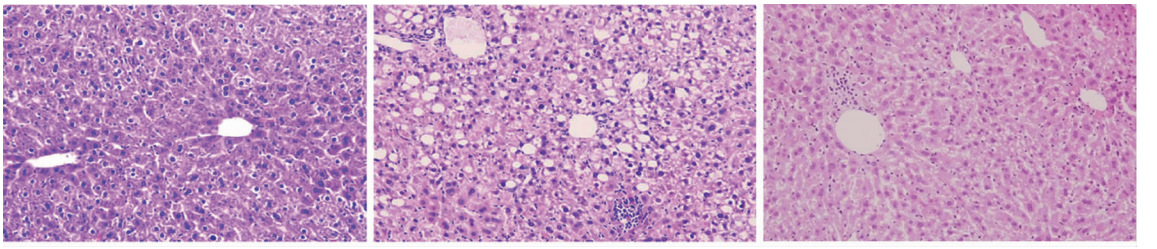
组　别	ALT(U/L)	AST(U/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
正常对照组	38.42 ± 4.25	46.52 ± 5.37	1.23 ± 0.24	1.68 ± 0.26	1.28 ± 0.21	0.36 ± 0.04
模型组	50.64 ± 4.09[a]	70.38 ± 6.01[a]	2.30 ± 0.16[a]	3.32 ± 0.51[a]	0.81 ± 0.09[a]	0.84 ± 0.07[a]
大黄素组	39.51 ± 4.06[b]	47.32 ± 5.29[b]	1.69 ± 0.05[b]	2.51 ± 0.35[b]	0.92 ± 0.10[b]	0.61 ± 0.10[b]
F 值	24.522	59.241	100.854	41.321	12.640	19.453
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与正常对照组比较，[a]$P<0.05$，与模型组比较，[b]$P<0.05$

表 3　各组大鼠肝组织中 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达水平比较　($\bar{x} \pm s$)

组　别	IRS-2	p-IRS-2	PI3K	p-PI3K	Akt	p-Akt
正常对照组	0.80 ± 0.09	0.57 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.42 ± 0.08	0.90 ± 0.07	0.67 ± 0.05
模型组	0.64 ± 0.05[a]	0.23 ± 0.02[a]	0.52 ± 0.01[a]	0.12 ± 0.03[a]	0.22 ± 0.03[a]	0.44 ± 0.02[a]
大黄素组	0.72 ± 0.06[b]	0.36 ± 0.04[b]	0.59 ± 0.02[b]	0.19 ± 0.05[b]	0.49 ± 0.02[b]	0.50 ± 0.05[b]
F 值	13.521	304.480	77.862	74.413	576.264	79.071
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与正常对照组比较，[a]$P<0.05$；与模型组比较，[b]$P<0.05$



正常对照组　　模型组　　大黄素组

图 1　各组大鼠肝组织病理学改变(HE 染色, ×200)

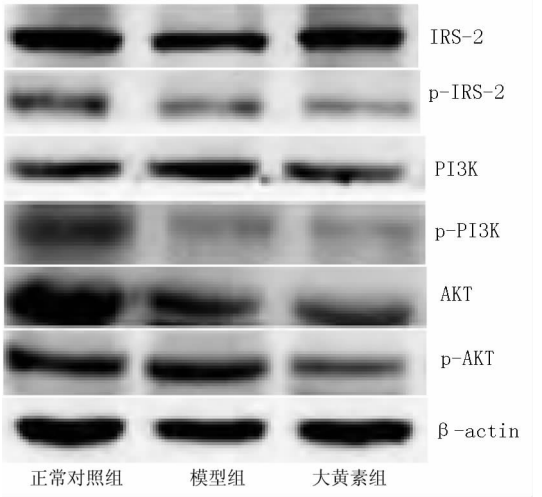


图 2　各组大鼠肝组织中 IRS-2、p-IRS-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达水平比较

抗病理生理学的重要工具,因此提出了许多啮齿动物模型对其进行研究。高脂饮食模型可以重现人类 NASH 的组织病理学特征,被广泛用于 NASH 的研究[10],本研究通过高脂喂养大鼠 12 周,不仅表现为脂肪肝化,而且表现为胰岛素抵抗,给予大黄素治疗后,可见肝指数下降,脂肪变性明显改善,肝组织损伤明显减轻,同时血清 ALT、AST 和 TG、TC、LDL-C 水平降低,葡萄糖耐受不良和胰岛素抵抗得到了有效改善。同时,动物实验数据显示,大黄素可改善肝脏脂肪变性和肝脏炎性反应,并在一定程度上改善肝纤维化[11]。这些结果与本研究的数据一致。但大黄素治疗 NASH 的作用机制尚不清楚。

大黄素改善胰岛素抵抗的作用可能是由于 IR 表达和磷酸化增加及下游 IRS-2/PI3K/Akt 信号转导通路增强导致的。本研究首次揭示了大黄素对 IRS-2/PI3K/Akt 通路的影响。在本研究的 NASH 和胰岛素抵抗大鼠模型中,检测到了肝脏中被抑制的 IRS-2/PI3K/Akt 信号通路。IRS-2、Akt 和 PI3K 显著降低,而大黄素处理显著逆转了这些分子事件。本研究中最重要的新发现是大黄素抑制了脂肪变性肝脏的胰岛素表达。动物实验数据显示,大黄素可改善肝脏脂肪变性和肝脏炎性反应,并在一定程度上改善肝纤维化[12-13]。这些结果与本研究的数据一致,胰岛素抵抗引起 NASH 的主要原因是高胰岛素血症和脂代谢紊乱,促进胰岛素与 IR 的 α 亚基结合,诱导 β 亚基酪氨酸激酶活化,导致 IRS-2 磷酸化,从而诱发一系列生化改变[14]。IRS-2/PI3K/Akt 通路在维持胰岛素与其相应 IR 结合的信号传导中发挥重要作用[15]。IRS-2 在肝脏和胰腺组织中大量表达,当其表达降低时,会影响胰岛素信号的有效传递,导致 IR 的发生[16]。PI3K 过度表达抑制 IR 与 IRS-2 的结合,从而抑制 PI3K 的活性[15]。大黄素可以诱导 Neuro2a 细胞中 GSK-3β/PI3K/Akt 信号通路的激活[17]。在对糖尿病肾病(DN)大鼠的研究中发现,PI3K/Akt 信号通路在 DN 早期病变的发展中起着重要作用,大黄素能显著促进 DN 大鼠 p-Akt 蛋白表达[18-19]。GSK-3β 在胰岛素受体相关信号通路中的作用受到越来越多的重视,细胞实验涉及 GSK-3β 过表达阻止酪氨酸残基进行胰岛素受体磷酸化,并减少 IRS-2 水平,从而削弱胰岛素信号通路[20-21]。

综上,大黄素可以改善 NASH 大鼠肝脏脂肪沉积及胰岛素抵抗,其机制与 IRS-2/PI3K/Akt 信号通路激活有关,但具体机制尚需进一步的研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

寇小妮:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写,论文修改;解新科:实施研究过程,资料搜集整理;郝明霞:进行统计学分析;宋春荣:设计研究思路,分析试验数据,论文审核;吴维:数据收集,分析整理

参考文献

[1] 曲颖, 陆伦根. 非酒精性脂肪性肝病诊断方面新进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2016, 24(2):85-88. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2016.02.002.

[2] 李静, 唐洁婷, 茅益民. 非酒精性脂肪性肝病和非酒精性脂肪性肝炎治疗的现状与未来[J]. 肝脏, 2018, 23(9):6-9. DOI:10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2018.09.002.

[3] 周琦,朱向东,仝小林,等. 葛根芩连汤对 2 型糖尿病模型大鼠胰

岛细胞 IRS-2/PI3K-Akt 通路的影响[J]. 中医杂志, 2018, 59(11): 973-977. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.11.018.

[4] 胡敏敏, 王伟, 毕洪钟, 等. 威灵仙多糖对实验性非酒精性脂肪性肝炎大鼠血清 RBP4 水平和胰岛素抵抗指数的干预作用[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2016, 25(4): 386-390. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2016.04.007.

[5] Dong X, Fu J, Yin X, et al. Emodin: A Review of its Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics: Emodin: Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics[J]. Phytotherapy Research, 2016, 30(8): 1207-1218. DOI: 10.1002/ptr.5631.

[6] Wang S, Li X, Guo H, et al. Emodin alleviates hepatic steatosis by inhibiting SREBP1 activity via the CaMKK-AMPK-mTOR-p70S6K signaling pathway[J]. Hepatology Research, 2016, 47(7): 185-192. DOI: 10.1111/hepr.12788.

[7] 范建高, 钟岚, 王国良, 等. 胰岛素抵抗在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪性肝炎发病中的作用[J]. 胃肠病学, 2000, 5(3): 169-170, 198. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2000.03.012.

[8] 陈一平, 肖百全, 张景鸿, 等. 新型非酒精性脂肪肝模型建立及免疫细胞机制探讨[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6): 147-151. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2018.06.028.

[9] 张慧芹, 刘泽洲, 续畅, 等. 小檗碱与罗格列酮干预高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的比较观察[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(20): 3806-3809. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.002.

[10] 刘复娜, 王素格, 沈毅慧, 等. 替米沙坦抑制 SOCS-3/SREBP-1c 通路改善非酒精性脂肪性肝炎模型大鼠的胰岛素抵抗[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(3): 281-288. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2017.03.009.

[11] 王少杰, 李晓洁, 徐志猛, 等. 大黄素对小鼠急性脂肪肝的改善作用[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(1): 89-95. DOI: 10.11665/j.issn.1000-5048.20170114.

[12] 刘江奎, 沈毅慧, 刘翔川, 等. 替米沙坦对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝纤维化基质金属蛋白酶-13 及其抑制因子-1 的表达和胰岛素抵抗的影响[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2011, 10(4): 357-361. DOI: 10.37241SP.J.1264.2011.00018.

[13] 范建高, 钱燕, 郑晓英, 等. 已酮可可碱对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏核因子-κB 信号通路及胰岛素抵抗的干预作用[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(10): 762-766. DOI: 10.3760/j.issn: 1007-3418.2006.10.011.

[14] Stahel P, Kim JJ, Cieslar SRL, et al. Supranutritional selenium intake from enriched milk casein impairs hepatic insulin sensitivity via attenuated IRS/PI3K/AKT signaling and decreased PGC-1α expression in male Sprague-Dawley rats[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2017, 41(5): 142-150. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.12.012.

[15] 程井军, 任婕, 吴其恺, 等. 电针对非酒精性脂肪性肝炎大鼠胰岛素抵抗指数水平的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2014, 16(1): 27-29. DOI: 10.3969/j.issn.1008-987x.2014.01.09.

[16] 陈冻伢, 熊静芳, 徐燕芳, 等. 肝糖异方通过上调肝脏 IRS2/PI3K 信号通路改善肝硬化大鼠的胰岛素抵抗[J]. 中华中医药学刊, 2018, 15(2): 157-160. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2018.04.031.

[17] Park SJ, Jin ML, An HK, et al. Emodin induces neurite outgrowth through PI3K/Akt/GSK-3β-mediated signaling pathways in Neuro2a cells[J]. Neuroscience Letters, 2015, 588(15): 101-107. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.01.001.

[18] Huang G, Lv J, Li T, et al. Notoginsenoside R1 ameliorates podocyte injury in rats with diabetic nephropathy by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2016, 38(4): 1179-1189. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2713.

[19] 刘莉, 李金丽, 邓小艳, 等. 高脂饮食诱导的肥胖对 SD 大鼠卵泡发育及 IGF-1/PI3K/Akt 通路的影响[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(10): 1046-1050, 1055. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.10.018.

[20] Zhang H, Ge Z, Tang S, et al. Erythropoietin ameliorates PA-induced insulin resistance through the IRS/AKT/FOXO1 and GSK-3βsignaling pathway, and inhibits the inflammatory response in HepG2 cells[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 16(2): 2295-2301. DOI: 10.3892/mmr.2017.6810.

[21] 孟晓嵘, 代礼润, 余庆华, 等. 冠状动脉粥样硬化病变与非酒精性脂肪性肝病相关性分析[J]. 中国医药, 2018, 13(12): 1766-1770. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2018.12.002.

(收稿日期: 2019-06-26)

作者 · 编者 · 读者

《疑难病杂志》可直接使用的英文缩略语

T(体温)	R(呼吸)	HR(心率)	BP(血压)
SBP(收缩压)	DBP(舒张压)	ECG(心电图)	EEG(脑电图)
Hb(血红蛋白)	RBC(红细胞)	WBC(白细胞)	N(中性粒细胞)
L(淋巴细胞)	M(单核细胞)	E(嗜酸粒细胞)	PLT(血小板)
ESR(红细胞沉降率)	HCT(红细胞压积)	TG(三酰甘油)	TC(总胆固醇)
CH(胆固醇)	LDL-C(低密度脂蛋白胆固醇)	HDL-C(高密度脂蛋白胆固醇)	SCr(血肌酐)
UA(尿酸)	NO(一氧化氮)	BUN(血尿素氮)	T_3(三碘甲状腺原氨酸)
T_4(甲状腺素)	ALT(丙氨酸氨基转移酶)	AST(天冬氨酸氨基转移酶)	APTT(活化部分凝血活酶时间)
PaO_2(动脉血氧分压)	$PaCO_2$(动脉血二氧化碳分压)	SaO_2 动脉血氧饱和度	IU 或 U(酶活力的国际单位)

罕少见病例

特发性节段性网膜梗死 1 例

何涛，王安康，蒋禹，李秋，付文广

基金项目：国家自然科学基金资助项目（81400657）；四川省科技计划项目基金（2018JY0283、2017SZYZF0015）
作者单位：646000　泸州，西南医科大学附属医院肝胆外科
通信作者：付文广，E-mail：411936526@qq.com

【关键词】　特发性；节段性；网膜梗死；急腹症；诊断；治疗
【DOI】　10.3969／j.issn.1671-6450.2020.01.020

患者，男，37 岁，因“腹痛 4 d”于 2019 年 3 月 19 日急诊入院。患者 4 d 前进食后出现脐周剧烈疼痛，无腰背部放射痛，无发热、恶心、呕吐等不适，家属诉患者既往有下肢血栓病史（具体不详）。查体：生命体征平稳，腹型肥胖（腹围 98 cm），腹稍膨隆，脐周及右下腹有压痛、反跳痛，肠鸣音 3 次/min。辅助检查：血 WBC 11.17 × 10^9/L，N 0.836，血生化及凝血结果未见明显异常。腹部立卧位 X 线检查未见异常，腹部彩色超声提示：右下腹肠管间积液，胆囊未见异常，双下肢血管彩色超声未见血栓；全腹 CT 平扫提示：回盲部增厚，局限性腹膜炎，腹盆腔积液。入院诊断：（1）腹痛待诊：急性阑尾炎？（2）局限性腹膜炎。入院予以禁食水、抗感染、补液后腹痛症状无明显缓解，遂急诊行剖腹探查。术中见右下腹大约 15 cm × 8 cm 灰褐色大网膜节段性坏死病灶，距回盲部 20 cm 处可见大约 3 cm 炎性水肿回肠，阑尾未见异常。盆腔见血性腹水 100 ml。确诊为特发性节段性网膜梗死。手术中在距坏死大网膜 2 cm 处切除大网膜，同时行阑尾切除。术后病理提示：网膜组织明显出血坏死和急性单纯性阑尾炎。患者于 2019 年 3 月 27 日痊愈出院。

讨　论　网膜梗死是一种罕见的急腹症，占急腹症的 0.1%[1]。网膜梗死可以分为原发性和继发性，特发性节段性网膜梗死（idiopathic segmental infarct of the greater omentum，ISIGO）属于前者。ISIGO 在儿童中更为多见，男女比例为 2∶1[2]，病因及发病机制尚不明确，丁政等[3]认为患者肥厚的大网膜牵拉网膜静脉，造成大网膜静脉内膜上皮损伤，使得血流发生障碍。同时，腹内压增高的因素（肥胖、便秘、长期咳嗽）、高凝（血栓病史、血管病变）均有可能引起网膜梗死。李北道等[4]报道由腹部外伤所致网膜梗死 1 例。此外，ISIGO 大约有 88% 发生于大网膜的右侧部分，原因是右侧部分的大网膜较左侧更长、活动度更大，易发生扭转[5]。

ISIGO 的临床表现多为急性或亚急性右侧腹痛，无放射痛，无恶心、呕吐，可有低热表现，查体多表现为右侧局限性腹膜炎征象[2]。即患者局部症状和体征较明显，而全身性症状和体征并不严重。实验室检测多以白细胞数和 C-反应蛋白升高为主。在影像学检查方面，腹部彩色超声可表现为高回声卵圆形肿块[6]，腹部 CT 可发现类椭圆型、致密脂肪密度团块，在其内部伴有不均匀低密度影或者出现典型的“漩涡征”（网膜内血管与脂肪发生扭转）[7-8]，本例患者术前超声及 CT 平扫均未见上述表现，这也是导致误诊的原因之一。ISIGO 的临床表现不具有典型特征，术前与急性阑尾炎、急性胆囊炎等常见急腹症难以鉴别，多数患者需手术探查确诊[7]。

在病理形态学表现上，网膜最初可见出血和脂肪坏死，随后可见淋巴细胞、组织细胞浸润，最后可见成纤维细胞，导致纤维化和瘢痕形成[9]。

ISIGO 的治疗方式目前尚未达成一致意见。过去多以手术切除梗死的网膜组织为主要治疗方式，有研究认为早期手术可迅速改善症状，避免腹腔粘连、腹腔脓肿等并发症，以及缩短整体住院时间[2]，但近年来随着临床医师对疾病的认识加深，Gupta 等[10]认为患者如果能通过影像学确诊，可以提供保守治疗。McMillen 等[11]报道 1 例 49 岁的女性患者，采用止痛、补液等对症治疗后好转。此外，有学者认为无论哪种治疗方式均需要尿激酶溶栓治疗[12]，但有待进一步研究证实。ISIGO 预后多良好，多数患者于 2 周左右可治愈。

总结本例患者，不难发现该患者术前表现与 ISIGO 颇为相似。术前诊断急性阑尾炎多由经验性所为，但该患者缺乏典型的转移性右下腹疼痛和消化道症状，同时患者无发热，白细胞未见明显升高。在临床工作中，对于急腹症患者，临床医生需要仔细询问病史（腹痛的时间、诱因、部位、性质、有无放射痛，有无伴发恶心、呕吐等消化道症状）、仔细查体（关注生命体征，腹部压痛、反跳痛的部位），此外，急腹症患者需要完善腹部 X 线片、彩色超声、CT 等检查以全面筛查疾病。对于肥胖患者，既往有血栓病史的男性患者以腹痛就诊时，需要考虑 ISIGO 的可能。对于术前考虑 ISIGO 的患者，可先采取禁食水、抗感染、补液等对症处理，同时密切关注患者腹部体征。在腹部体征无明显缓解时采取手术治疗，因为手术探查既可以明确病因同时还可以切除病灶。

参考文献

[1]　Barcia PJ, Nelson TG. Primary segmental infarction of the omentum with and without torsion[J]. Am J Surg, 1973, 126(3): 328-331. DOI: 10.1016/S0002-9610(73)80119-9.
[2]　Buell KG, Burke-Smith A, Patel V, et al. Omental infarction: the great impersonator[J]. Cureus, 2017, 9(12): e1940. DOI: 10.

7759/cureus. 1940.

[3] 丁政,朱宇,钟金瑞. 网膜原发性节段性梗死 1 例报告[J]. 中国实用外科杂志,2010,30(10):870. DOI:1005-2208(2010)10-0870-01.

[4] 李北道,朱钧,孙长福,等. 特发性节段性大网膜梗死 1 例[J]. 疑难病杂志,2003,2(6):368-369. DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2003.06.034.

[5] MPark TU, Oh JH, Chang IT, et al. Omental infarction:case series and review of the literature[J]. Journal of Emergency Medicine, 2012,42(2):149-154. DOI:10.1016/j.jemermed.2008.07.023.

[6] Barai KP, Knight BC. Diagnosis and management of idiopathic omental infarction:a case report[J]. International Journal of Surgery Case Reports,2011,2(6):138-140. DOI:10.1016/j.ijscr.2011.02.014.

[7] 周皎琳, 邱辉忠, 肖毅, 等. 原发性节段性大网膜梗死 1 例报告并文献复习[J]. 中国实用外科杂志, 2008,9(9):783-784 DOI:10.3321/j.issn:1005-2208.2008.09.036.

[8] Itenberg E, Mariadason J, Khersonsky J, et al. Modern management of omentaltorsion and omental infarction :a surgeon's perspective. Journal of Surgical Education,2010,67(1):44-47. DOI:10.1016/j.jsurg.2010.01.003.

[9] Battaglia L, Belli F, Vannelli A, et al. Simultaneous idiopathic segmental infarction of the great omentum and acute appendicitis:A rare association[J]. World Journal of Emergency Surgery,2008,3(1):30. DOI:10.1186/1749-7922-3-30.

[10] Gupta R, Farhat W, Ammar H, et al. Idiopathic segmental infarction of the omentum mimicking acute appendicitis:A case report[J]. International Journal of Surgery Case Reports,2019,60(1):66-68. DOI:10.1016/j.ijscr.2019.03.050.

[11] McMillen B, Hekman DP, Nguyen MTT, et al. Idiopathic omental infarction:managed conservatively[J]. BMJ Case Reports CP,2019,12(3):e226978. DOI:10.1136/bcr-2018-226978.

[12] 陈建伯,王云玲,王志永. 特发性大网膜节段性梗死诊断与治疗[J]. 河南医学高等专科学校学报,2016,28(3):176-178. DOI:1008-9726(2016)03-0176-03.

(收稿日期:2019-07-09)

罕少见病例

Castleman 病引起上腔静脉综合征 1 例

郭聚龙,郭连瑞,谷涌泉

作者单位:100053　北京,首都医科大学宣武医院血管外科/首都医科大学血管外科研究所
通信作者:郭连瑞,E-mail:lianruiguo@sina.com

【关键词】 Castleman 病;上腔静脉综合征;诊断;治疗
【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.021

患者,女,52 岁。因确诊 Castleman 病 23 年,双上肢、面部水肿伴憋气 1 个月于 2018 年 11 月 16 日以"上腔静脉综合征"收入我科,患者 23 年前(1995 年)因憋气、胸闷、盗汗就诊于外院,胸部 CT 提示上纵隔巨大占位,于该院行右侧开胸纵隔肿物切除术,术后病理诊断为"Castleman 病",术后未进一步治疗;并于 1999 年、2004 年及 2010 年先后 3 次因复查发现纵隔肿物行右侧开胸纵隔肿物切除术,术后病理均为 Castleman 病,其中后 2 次明确为浆细胞型;16 个月前于我院复查发现右侧纵隔新发肿块并累及肝脏,予胸腔肿瘤射频消融术,术后连续 2 个月于外院行亚氮治疗;2 个月前开始于外院行胸腔肿瘤动脉栓塞 2 次,1 个月前开始出现双上肢及面部水肿,伴憋气,症状进行性加重,遂于我院血管外科治疗。

患者既往胃胰腺神经内分泌肿瘤病史 1 年,甲状腺功能减退病史 1 个月;且入院检查、检验提示患者同时存在中度限制型通气障碍、贫血、低蛋白血症、心包积液等合并症。CT 检查:右肺上叶纵隔旁软组织肿块影,压迫气管食管,右下纵隔巨大占位病变,累及肝周、肝实质;颈部血管超声:双侧颈部多发淋巴结肿大,右侧锁骨下包块压迫右侧无名静脉,致右侧无名静脉重度狭窄,左侧无名静脉血栓(部分型、亚急性期);心脏超声:左室舒张功能减低,少量心包积液,左室射血分数 53%;肺功能检查:中度限制型通气功能障碍,通气储备 71%。

患者当前主要症状为双上肢、面部水肿伴憋气,结合病史及影像学资料考虑系 Castleman 病致上腔静脉综合征(SVCS),可通过全麻下"颈静脉—股静脉或下腔静脉搭桥术"缓解当前症状。但考虑患者病史复杂,气管受压插管难度大且存在多种合并症,故暂不适合通过外科方法解决当前问题。同时考虑本病多对激素治疗或化疗敏感,可先行激素治疗或化疗观察病灶及病情变化后决定是否手术,同时继续抗凝治疗预防左无名静脉血栓进一步发展。患者遂转血液科行 R-COP(利妥珠单抗、环磷酰胺、长春新碱和泼尼松)方案化疗,疗效及预后仍在随访当中。

讨　论　上腔静脉综合征(SVCS)是由于外在压迫、肿瘤侵润血管壁或内梗阻引起上腔静脉机械性梗阻,小细胞肺癌和非霍奇金淋巴瘤等恶性肿瘤是最常见的病因[1]。本例患者 SVCS 是由 Castleman 病(CD)纵隔肿大淋巴结压迫上腔静脉引起。

Castleman 病于 1954 年由 Benjamin Castleman 首次提出,其

本质属于淋巴细胞增生性疾病[2]，有文献报道其年发病率仅为 21/100 万 ~ 25/100 万[3]。其发病机制和病因尚未完全明确，目前被广泛接受的是白介素-6（IL-6）过度表达在 CD 发病中发挥关键作用[4]，人类疱疹病毒-8（HHV-8）和人类免疫缺陷病毒（HIV）被认为与 Castleman 病密切相关[5-6]。

临床上分为单中心 Castleman 病（unicentric Castleman diease，UCD）和多中心 Castleman 病（multicentric Castleman diease，MCD）。UCD 为单个或局限性的淋巴结肿大，UCD 多无明显临床症状或仅有局部压迫症状[7]。MCD 是具有强侵袭性的全身性疾病，可累及全身多部位淋巴结，平均 5 年生存率 65%[8]。患者可有盗汗、发热、厌食、体质量减轻、低蛋白血症及对周围器官压迫引起相应的症状，影像学检查可发现全身多部位淋巴结受累。

Castleman 病的影像学检查同临床表现一样缺乏特异性，只能作为辅助诊断，加之 Castleman 病并不常见，临床上常被误诊为其他疾病，如淋巴瘤、结节病、转移性淋巴结肿大。组织病理学在 Castleman 病确诊中起重要作用。Castleman 病的病理分型可分为透明血管型、浆细胞型和混合型，其中透明血管型占 90%；有文献统计约 90% UCD 为透明血管型，与之相反的是 80% ~ 90% 的 MCD 为浆细胞型[9]，提示不同病理类型与不同临床表现可能有密切关系。本例患者既往术后病理结果提示切除肿物的淋巴组织以浆细胞为主。

UCD 主要通过手术切除治疗，长期预后良好，生存期接近正常，但已有复发的病例报道[10]。无法切除或完全切除的肿大淋巴结可以采用体外放射治疗或全身治疗。目前尚无 UCD 转变成 MCD 的报道[7]。MCD 需要综合的系统治疗，可手术切除联合化疗、放疗，或只进行化疗、放疗，其治疗方案目前尚无统一标准。本例患者可通过手术缓解上腔静脉阻塞症状，但综合多方面因素考虑患者当前不适合手术治疗，建议先给予激素治疗、化疗，观察病灶变化情况。环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松（CHOP）或环磷酰胺、长春新碱和泼尼松（COP）化疗是临床常用于治疗 MCD 的化疗方案；糖皮质激素常用于控制症状，多不单独用药[11]；利妥珠单抗可单独或与化疗药物（如依托泊苷）和抗病毒药物（如更昔洛韦）联合使用治疗 HHV-8 相关的 MCD，也可与 CHOP、COP 方案联合使用（R-CHOP、R-COP 方案）治疗不伴 HHV-8 感染的 MCD；IL-6 抗体西妥昔单抗和 IL-6 受体抗体妥西珠单抗治疗 MCD 也是有效的[12]。近几年，随着对 Castleman 病发病机制研究的不断深入，以发病机制各环节为作用靶点的单克隆抗体生物制剂治疗 Castleman 病表现出巨大的潜力。

Castleman 病临床上并不常见，Castleman 病引起上腔静脉综合征的病例更是少之又少。笔者认为对于 Castleman 病伴上腔静脉综合征的治疗在常规治疗的基础上可分为以下情况：（1）UCD 引起的上腔静脉综合征，可通过手术切除肿大淋巴结以解除症状；（2）MCD 引起的上腔静脉综合征，无颅内高压等急症或患者身体状况不适宜手术情况下，可先行激素治疗、化疗，根据治疗效果决定是否外科治疗；（3）MCD 引起上腔静脉综合征，出现颅内高压等急症，先行转流术、支架植入术或者上腔静脉成形术解除 SVCS，再行激素治疗、化疗治疗 Castleman 病。对于此类患者，临床医生要根据实际情况，选择合适治疗方案解决当前最重要问题，不能盲目坚持外科手段亦或药物治疗。

参考文献

[1] Zimmerman S, Davis M. Rapid fire: superior vena cava syndrome[J]. Emergency Medicine Clinics of North America, 2018, 36(3): 577-584. DOI: 10.1016/j.emc.2018.04.011.

[2] Chen J, Yang C, Liang C. Detection of a unicentric type of Castleman-like mass at the site of adrenal grand: A case report and review of literature[J]. World Journal of Clinical Cases, 2018, 6(13): 683-687. DOI: 10.12998/wjcc.v6.i13.683.

[3] Munshi N, Mehra M, van de Velde H, et al. Use of a claims database to characterize and estimate the incidence rate for Castleman disease[J]. Leuk Lymphoma, 2015, 56(5): 1252-1260. DOI: 10.3109/10428194.2014.953145.

[4] Koga T, Sumiyoshi R, Kawakami A, et al. A benefit and the prospects of IL-6 inhibitors in idiopathic multicentric Castleman's disease[J]. Modern Rheumatology, 2019, 29(2): 302-305. DOI: 10.1080/14397595.2018.1532383.

[5] Dupin N, Diss TL, Kellam P, et al. HHV-8 is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8-positive plasmablastic lymphoma[J]. Blood, 2000, 95(4): 1406-1412. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2000.40030389X.

[6] Krause JR, Robinson SD, Vance EA. Multicentric Castleman's disease and HIV[J]. Proceedings (Baylor University Medical Center), 2014, 27(1): 28-30. DOI: 10.1080/08998280.2014.11929044.

[7] Fajgenbaum DC, Shilling D. Castleman disease pathogenesis[J]. Hematology/Oncology Clinics of North America, 2018, 32(1): 11-21. DOI: 10.1016/j.hoc.2017.09.002.

[8] Dispenzieri A, Armitage JO, Loe MJ, et al. The clinical spectrum of Castleman's disease[J]. American Journal of Hematology, 2012, 87(11): 997-1002. DOI: 10.1002/ajh.23291.

[9] Waterston A, Bower M. Fifty years of multicentric Castleman's disease[J]. Acta Oncol, 2004, 43(8): 698-704. DOI: 10.1080/02841860410002752.

[10] Talat N, Schulte KM. Castleman's disease: systematic analysis of 416 patients from the literature[J]. The Oncologist, 2011, 16(9): 1316-1324. DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0075.

[11] 张路，李剑. 多中心型 Castleman 病的治疗进展[J]. 国际药学研究杂志，2017，44(2)：162-166. DOI：10.13220/j.cnki.jipr.2017.02.014.

[12] Kapriniotis K, Lampridis S, Mitsos S, et al. Biologic agents in the treatment of multicentric Castleman disease[J]. Turkish Thoracic Journal, 2018, 19(4): 220-225. DOI: 10.5152/TurkThoracJ.2018.18066.

（收稿日期：2019 - 06 - 19）

综　述

磁共振黑血序列与超声成像对动脉粥样硬化斑块稳定性评估的比较

李抒洋综述　付旷审校

作者单位：150000　哈尔滨医科大学附属第二医院磁共振科
通信作者：付旷，E-mail：1105111565@qq.com

【摘　要】 脑梗死是一种常见预后不良疾病，动脉粥样硬化是其发病首要因素，颈动脉尤其显著。评估斑块的成分及状态比评估血管的狭窄程度更有意义，同时也可以更早发现和预防病变的发生。早期在颈动脉斑块中发现高危因素并及时预防可以阻断病变的再发，有利于早期治疗改善预后。磁共振黑血序列是显示血管病理特征的新兴成像技术，文章对其在动脉粥样硬化斑块稳定性评估中的应用进展予以综述。

【关键词】 磁共振黑血序列，高分辨率；多普勒超声；动脉粥样硬化；脑梗死；脑卒中
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.022

Comparison of MR black blood sequence and ultrasonography in the evaluation of atherosclerotic plaque stability

Li Shuyang, Fu Kuang. Department of Radiology, the Aecond Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Helongjiang Province, Harbin 150000, *China*
Corresponding author: Fu Kuang, E-mail: 1105111565@*qq.com*

【Abstract】 Cerebral infarction is a common disease with poor prognosis. Atherosclerosis is the primary factor, especially carotid artery. It is more significant to evaluate the composition and status of plaque than to evaluate the degree of stenosis of blood vessels, and to detect and prevent lesions earlier. Early detection of high-risk factors in carotid plaque and timely prevention can block the recurrence of lesions, which is conducive to early treatment and improve prognosis. MR black blood sequence is a new imaging technique to show the pathological characteristics of blood vessels. This paper reviews its application in the assessment of atherosclerotic plaque stability.

【Key words】 High resolution magnetic resonance; Ultrasonic; Atherosclerosis; Cerebral infarction; Stroke

数字减影血管造影（DSA）、CT 血管成像（CTA）、磁共振血管成像（MRA）等一些常规检查血管技术只能识别血管的狭窄程度，而无法估量血管壁的成分，也不能判断识别斑块的稳定性，无法提供血管壁的特征信息[1]。而高分辨率磁共振（HRMR）的黑血序列及超声多普勒可以对动脉硬化斑块的稳定性进行评估，二者都能评估斑块的特征，例如斑块的形态和成分，同时也实现了无创检查，为是否进行动脉斑块剥脱术提供有价值的信息。

1　HRMR 鉴别动脉斑块稳定性

HRMR 黑血序列是显示血管病理特征的新兴成像技术，此序列空间分辨率较高，血流信号可以被抑制直接成像血管壁，可以明确斑块的形态和强化模式，采用多种技术和序列来制作颅内血管壁的图像，其空间分辨率和对比度均优于血管腔的常规检查，包括 T1、T2、PDW 3 个参数，为脑卒中的病因和复发风险提供重要的信息。血管狭窄是脑卒中风险的标志特征，但它并不能解释颈动脉粥样硬化中脑卒中复发风险的升高[2]。现代外科精力大部分集中于治疗严重的颈动脉粥样硬化，因此研究人员将注意力从血管狭窄扩展到动脉粥样硬化斑块形态学特征，以便对颈内动脉卒中的预测分子达到更好的靶向定位。斑块的分布对患者的治疗决策起着至关重要的作用，斑块组成的详细评估对评价管腔狭窄更为重要，因为动脉斑块的形成在预兆缺血事件发生前会引起血管壁的不定向血流动力学改变。血管壁磁共振成像已经成为一种强有力的工具，可以揭开颈内动脉粥样硬化的特点，HRMR 还具有高信噪比，可在最短的扫描时间完成血管壁的细微结构检查，尤其是 3 T 场强比 1.5 T 场强下提供更高的信噪比和更好的图像。HRMR 在血管壁检查中血液信号被抑制后的 T1、T2 及 PDW 序列被称为黑血血管壁成像，能揭示斑块的细致结构，并能察觉在其他

检查里难以发现的非狭窄血管卒中，T1 和 T2 一般显示血管壁的基本特征，如形态和信号强度，PDW 在信噪比方面要优于 T1 和 T2 序列。血管壁的受累主要表现在血管壁的形态和分布，这些特征可以在注射钆之前在 HRMR 上识别。增强 T1 可以很好显示对比度和壁增强，这可能是疾病活动的一个指标。为了更好地显示动脉内腔和血管壁，可采用血流灌注技术，包括饱和带[3]、双翻转恢复[4]、运动敏感恢复[5]，这些都是可以抑制血流信号并增强血管对比度的技术。高分辨率磁共振还可以预测脑梗死后运动障碍的进展，研究斑块的强化，获得动脉斑块的特征和生长模式。

1.1　HRMR 对斑块成分的定性评估　HRMR 可以观察斑块的细致结构，其中成分不同影像特征各异。斑块的纤维帽呈等 T1 等 T2 信号，增强后会在 T2 上出现明显偏心性强化，而在 PDW 不明显强化；钙化在 T1 和 T2 上呈双低信号；脂肪比重占主要的斑块呈等 T1 信号，在脂肪抑制实验序列上信号是低的，T2 低信号；因新生血管形成而导致出血的斑块，斑块 T1 信号比其他组织信号高。纤维帽并不厚重，斑块钙化的成分接近为零，脂肪占的比重过大，新生血管脆弱导致斑块出血，溃疡就是不稳定斑块的特征[6-7]。

稳定斑块有一个完整和光滑的表面及厚的纤维帽，没有溃疡和血栓，不稳定斑块与之相反[8]。动脉粥样硬化在颈动脉斑块出血中是一个主导因素，以内膜中膜厚度或斑块的体积来衡量，斑块的负担增加出血的几率也随之升高。高分辨率磁共振黑血序列已被证明有测量斑块位置及成分特征的能力，通过测定钙碱性磷酸酶阳离子、脂肪比重大的坏死斑块、斑块内出血[9]及纤维帽冠层破裂的面积评估斑块组成。测量颈总动脉分叉处血管壁面积、厚度和管腔面积以分析斑块形态。此外，MR 有鉴别颈动脉斑块出血的能力，有研究发现斑块在颈动脉分叉处以上更容易发生斑块出血，也是脑卒中的高危因素，所以可以通过黑血序列发现斑块位置，从而提前预防[10]。

斑块的局部强化被认为与不稳定斑块有关，严重狭窄的血管明显强化是因为斑块在形成过程中炎性反应引起的。血管炎性反应水平是可以被斑块的增强程度所反映。所以，显像增强与斑块内新生血管、巨噬细胞浸润和疏松纤维化密切相关，而这又与脑卒中紧密相关。斑块在有症状的血管狭窄中强化更常见，两者关系紧密相关，说明其具有不稳定易损性。与无强化的斑块相比，强化斑块更常见于多个动脉的栓塞梗死，表明其结构的薄弱。可见，斑块增强是不稳定斑块的显著特点，并且斑块增强可以反映近期缺血事件。曾有研究表明，在同一血管区急性脑卒中患者，斑块增强的存在及强度会随着脑卒中发生时间的增加而减弱[11]。T1 加权高强度是指比周围肌肉高 1.5 倍以上的信号强度。T1 加权相斑块增强是重要的核磁生物标记，因为在导致脑卒中事件中，它可以快速发现致病斑块，会在增强后几个月长时间持续强化而不减弱。因此，HRMR 增强检查可以排查脑卒中的致病斑块在其他检查中容易被忽视的信息，而与 HRMR 常规平扫不用药灌注的检查相比较，HRMR 的增强并不需要图像后处理分析，方便影像医生诊断。

1.2　HRMR 对斑块负荷参数与血管重构的评估　高分辨率磁共振检查定量形态计量学包括：总血管面积（TVA）、管腔面积（LA）、最小管腔面积（MinLA）、血管壁面积（WA）［总血管面积 - 管腔面积（TVA - LA）］、最大血管壁面积（MaxWA）、归一化指数（NWI）［血管壁面积/总血管面积（WA/TVA）］、平均血管壁厚度（WT）、斑块部位最大血管壁厚度（Max WT）等。斑块负荷为斑块面积与最窄层面的血管面积之比[12]。TVA 为血管外壁及周围软组织包围的总面积，LA 指被血管内壁封闭的总面积，WA 计算为 TVA 减去 LA，NWI 为 WA 与 TVA 的比值。斑块面积为 MaxWT 减去 WT。由血管面积减去管腔面积，得出管壁面积，去评价基底斑块互扫的变异性。这些参数的平均值是由所含有斑块的图像平面上计算得到。最后计算出的斑块负荷也是评判不稳定斑块的标准之一，斑块负荷与破损率呈正比。

有研究表明，在潜在的高危易损斑块中，存在较低程度的狭窄及较高的管腔保护倾向，因此表明存在正性动脉重构。重构率为最窄层面血管面积与参考层面血管面积的比值，此比值≥1.05 时可以判断为正性重构。在正性重构时，3D TOF 上并不能观察出血管的狭窄，血管可能反而增粗；而 HRMR 则可以在看似正常粗细或反而增粗的血管中发现易损斑块。正性重构虽然不会产生血流动力学障碍，但其斑块却非常不稳定，会导致多处病灶，而且较负性重构的患者症状会更加严重。临床上很多有症状的患者血管并没有狭窄，HRMR 可以预防脑梗死的进一步恶化，及时发现血管的正性重构。

2　超声影像辨别斑块的形态

彩色多普勒超声对于斑块结构形态的检查有较高的诊断价值，超声最大的优点是能够识别斑块，并能识别栓塞风险较高的斑块，通过高分辨率超声，可以检查斑块内是否出血，用来判断是否属于脑卒中高危范围，斑块内出血被认为是斑块溃疡的前兆。在斑块是否稳

定的因素方面上,例如斑块是否有纤维帽结构,斑块有无溃疡,以及内部的血流情况,利用超声显像测量颈动脉内膜中层厚度及斑块,可以反复进行检查。

2.1　多普勒超声对斑块细微结构的定性　颈动脉斑块超声诊断标准:颈动脉内膜中层厚度≥1.0 mm。血管中斑块所在位置处的血管内膜中层厚度≥1.5 mm。斑块由 3 部分组成:顶层的纤维帽、中层的核心部分、最底层的基底部分。斑块的均质性和回声类型可以评估斑块的稳定性。不同斑块的特性可以分辨不稳定斑块和稳定斑块,硬斑块具有可靠、牢固、高稳定性,而软斑和不稳定斑块很容易破损,由高、低、等回声病变混合成的异质斑块更容易产生症状[13]。斑块特征与症状的相关性要高于血管狭窄与病情的相关性。斑块内出血及溃疡是加快病情发展的主要原因,溃疡的存在与同侧中风密切相关[14]。

测量颈动脉内膜中层厚度是最权威方法,内膜和中膜层的厚度变化,随着年龄的增长和动脉硬化病程的发展,不同类型的动脉出现独立的变化。由动脉粥样硬化引起的血管早期病变表现在内膜层上,所以这项检查技术成为发现早期病变的指标之一。

然而,在最新标准中,传统的颈动脉超声技术不能表征斑块组织的含量和提示斑块不稳定的特征,所以,还需要研制一种分子成像技术,这种方法可以辨别颈动脉及斑块的回声。一些研究尝试用不同的成像方式以超声技术分析斑块的组织特性。用正电子发射断层扫描—计算机体层摄影,可显示有更好 F-18FDG 吸收的回声斑块、区别钙化的斑块或者没有斑块成分的管壁。出现回声的斑块和软斑均富含脂质成分。而回声斑块含有更高的致密组织和钙化成分。在治疗过程中,回声斑块或软斑块可以提供有价值的证据。新鲜血栓没有回声,陈旧性血栓具有明显的回声。栓塞或快速进展的风险取决于斑块成分的组成,特别是异质的、弥散的或局灶的斑块。结合颈动脉内膜中层厚度和特殊斑块特有的斑块回声,包括斑块组织和成分,动脉粥样硬化疾病可以得到很好的评估。

颈动脉血流动力学参数对于病情诊断也有帮助价值,颈动脉超声也广泛应用于血流动力学的测量。血流的流速在心脏收缩或舒张时的参数也作为检查参考。

2.2　超声造影对评估斑块特征的价值　有创超声造影检查比多普勒超声检查血管斑块的敏感度和特异度要高,准确性方面优于超声多普勒,在诊断斑块表面不规则性方面优于超声多普勒。超声造影是选用一种微泡形式的对比剂注入静脉内的检查方法,对研究颈动脉斑块特征有一定价值[15-16]。

颈动脉粥样硬化斑块易损性的一个重要特征是浅表性溃疡,可以很好地预测短暂性脑缺血发作或脑卒中[17]。颈动脉斑块溃疡是指斑块管腔边界至少有 1 mm × 1 mm 大小的损坏面积。在研究中发现,很大一部分病例在超声造影检查中溃疡的斑块可见旋转的微泡,其具有良好的静态组织微泡成像能力[18];颈动脉持续强化现象叫作晚期增强,晚期增强可能是斑块易损的标志[19],并且邻近斑块内可见新生血管。超声多普勒对浅表性斑块敏感度有限,超声造影提高了敏感度,辅助诊断斑块溃疡的超声检查包括超声多普勒的血流倒置、超声造影的微气泡旋转[20-21]。

3　HRMR 和超声造影对动脉斑块评估比较

超声多普勒只适用于评估解剖位置浅的血管壁,例如颅脑外的颈动脉,而对一些解剖位置较深的血管壁无法检查。而高分辨率磁共振黑血序列则可以对较深的血管,如大脑中动脉进行评估,但是该检查费用较超声多普勒高,所以临床医生可以根据患者情况制定合适的检查方案。

新生血管容易破溃且脆弱,诱发斑块内出血十分常见,可见新生血管是鉴别早期不稳定斑块的一个重要特征。所以对于新生儿,超声是优选检查方法,具有较少侵袭性;超声还允许简单的跟踪评估,斑块内出血在未发生前,可预测中风风险与新生血管有关而与斑块出血无关,这表明超声的优势在早期[22]。

在血管壁纵向侧壁平面上出现的斑块超声很难检测到,有时甚至不能检测到,但是 MR 可以做到,MR 的自旋回波序列是一种基本的二维序列,广泛应用于所有的扫描仪,有良好的平面分辨率,当观察与动脉纵轴垂直的角度时,视觉效果会得到优化。最为重要的是,对于动脉粥样硬化的纵向研究,重复的高分辨率磁共振扫描可用于监测血管壁的变化,并可反映治疗效果。有研究表明,超声可以比 MR 发现更小的斑块,特别是发生在一些超声波到达有限的区域。

超声二维成像的限制是,具有复杂几何形状的斑块有时会在同一平面图像上被黏着 2 次,并误认为是 2 个斑块,而这些病例在 MR 上检测只有 1 个斑块;很明显,超声平面图像切割相同斑块 2 次,超声上多个斑块的出现往往是对解剖学的误解和二维成像的局限。

HRMR 黑血增强成像已经被应用于研究斑块细微的病变,不仅能准确地检测斑块的负荷,而且还能提供动脉瘤的有关信息,如坏死核、腔内出血、炎性反应和新生血管等信息,是识别斑块的有效方法,在低度狭窄的动脉也是如此,斑块特征可以帮助临床医生去评

估根源病变的易损性,并有可能预测未来血管病变预后的趋势。而目前超声不能评估斑块大小及负荷,在斑块的特异性诊断上有一定局限,还需进一步研究及探索。

综上所述,超声优点在于方法简便,易于操作,适合用在新生儿的检查,可以早期发现病情;缺点是只适用于浅表血管,并且在二维成像方面有局限性,不能很好检测纵向血管壁,并且会出现相同斑块被切割 2 次现象,误导诊断,在鉴别斑块特异性上也有局限。HRMR 则可以测量较深位置的血管,在二维成像上有很好地分辨平面能力,观察纵向血管壁及检测血管壁的变化,检测斑块的负荷和提供斑块的特异性信息。由此可以看出 HRMR 检测血管更全面,较超声分析斑块的稳定性更有优势。

参考文献

[1] Zhao DL, Li C, Chen XH, et al. Reproducibility of 3.0T High-Resolution Magnetic Resonance Imaging for the Identification and Quantification of Middle Cerebral Arterial Atherosclerotic Plaques[J]. J Strokecerebrovasc Dis, 2019, 28(7): 1824-1831. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.04.020.

[2] Hori S, Hori E, Shibata T, et al. Correlation Between Cerebral Microbleeds and Vulnerable Plaque in Patients with Severe Carotid Artery Stenosis; Comparative Magnetic Resonance Imaging Study[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2019, 28(10): 104300. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.07.016.

[3] 余建明. 积极探索医学影像新技术[J]. 中华放射学杂志, 2019, 53(6): 441-446. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2019.06.001.

[4] 李莎, 张艺宝, 吴昊, 等. 核磁共振超短回波时间序列技术研究进展[J]. 中国医学物理学杂志, 2019, 36(1): 55-59. DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2019.01.011.

[5] 樊红霞, 尹刚, 杨新令, 等. 运动相位纠正技术与节段法相位技术在磁共振心肌延迟增强中的对比研究[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(9): 908-912. DOI: 10.3969./j.issn.1000-3614.2017.09.018.

[6] 任婷. 高分辨率磁共振颅内血管壁成像在脑梗死中的应用进展[J]. 现代医药卫生, 2018, 34(23): 3659-3662. DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2018.23.025.

[7] Motoyama R, Saito K, Tonomura S, et al. Utility of Complementary Magnetic Resonance Plaque Imaging and Contrast-Enhanced Ultrasound to Detect Carotid Vulnerable Plaques[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(8): e011302. DOI: 10.1161/JAHA.118.011302.

[8] Xia Z, Yang H, Yuan X, et al. High-rsolution magnetic resonence imaging of carotid atherosclerotic plaues -a correlation study with histopathology[J]. Vasa, 2017, 46(4): 283-290. DOI: 10.1024/0301-1526/a000626.

[9] Alkhalil M, Choudhury RP. Intraplaque Hemorrhage as a Marker of Stroke Risk[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2019, S1936-878X(19)30436-X. DOI: 10.1016/j.jcmg.2019.05.004.

[10] Bonannon L, Marino S, Morabito R, et al. Evalution of US and MRI techniques for carotid stenosis: a novel phantom approach[J]. Radiol Med, 2019, 124(5): 368-374. DOI: 10.1007/s11547-018-0971-7.

[11] Skarpathiotakis M, Mandell DM, Swartz RH, et al. Intracranial atherosclerotic plaque enhancement in patients with ischemic stroke[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2013, 34(2): 299-304. DOI: 10.3174/ajnr.A3209.

[12] Xia Z, Yang H, Yuan X, et al. High-rsolution magnetic resonence imaging of carotid atherosclerotic plaues -a correlation study with histopathology[J]. Vasa, 2017, 46(4): 283-290. DOI: 10.1024/0301-1526/a000626.

[13] 陈宏平, 周见春. 彩色多普勒超声检查评价颈动脉硬化斑块稳定性的作究[J]. 中外医疗, 2017, 36(26): 174-176. DOI: 10.16662/j.cnki.1674-0742.2017.26.174.

[14] Murray CSG, Nahar T, Kalashyan H, et al. Ultrasound assessment of carotid arteries: Current concepts, methodologies, diagnostic criteria, and technological advancements[J]. Echocardiography, 2018, 35(12): 2079-2091. DOI: 10.1111/echo.14197.

[15] Rafailidis V, Chryssogonidis I, Xerras C, et al. A comparative study of color Doppler imaging and contrast-enhanced ultrasound for the detection of ulceration in patients with carotid atherosclerotic disease[J]. Eur Radiol, 2019, 29(4): 2137-2145. DOI: 10.1007/s00330-018-5773-8.

[16] 陈显荣, 张晓. 超微血管成像与超声造影对颈动脉粥样硬化斑块稳定性的诊断价值[J]. 中国临床神经外科杂志, 2019, 24(5): 289-291. DOI: 10.13798/j.issn.1009-153X.2019.05.010.

[17] Li Z, Xu X, Ren L, et al. Prospective Study About the Relationship Between CEUS of Carotid Intraplaque Neovascularization and Ischemic Stroke in TIA Patients[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 672. DOI: 10.3389/fphar.2019.00672.

[18] Rafailidis V, Chryssogonidis I, Grisan E, et al. Does Quantification of Carotid Plaque Surface Irregularities Better Detect Symptomatic Plaques Compared to the subjective classification[J]. J Ultrasound Med, 201, 38(12): 3163-3171. DOI: 10.1002/jum.15017.

[19] Cires Drouet RS, Mozafarian M, Ali A, et al. Imaging of high-risk carotid plaques: ultrasound[J]. Semin Vasc Surg, 2017, 30(1): 44-53. DOI: 10.1053/j.semvascsurg.2017.04.010.

[20] Rafailidis V, Chryssogonidis I, Xerras C, et al. A comparative study of color Dopple imaging and contrast-enhanced ultrasound for the detection of ulceration in patients with carotid atherosclerotic disease[J]. Eur Radiol, 2019, 29(4): 2137-2145. DOI: 10.1007/s00330-018-5773-8.

[21] 王琦, 闫国珍. 颈动脉粥样硬化斑块 CEUS 研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2019, 35(4): 622-624. DOI: 10.13929/j.1003-3289.201812086.

[22] Motoyama R, Saito K, Tonomura S, et al. Utility of Complementary Magnetic Resonance Plaque Imaging and Contrast-Enhanced Ultrasound to Detect Carotid Vulnerable Plaques[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(8): e011302. DOI: 10.1161/JAHA.118.011302.

(收稿日期:2019-08-16)

综　述

深度学习在心脏磁共振左心室分割中的应用研究进展

田洁综述　马晓海,赵蕾审校

基金项目: 国家自然科学基金(81671647、81771787);北京市自然科学基金(7172069)
作者单位: 100029　首都医科大学附属北京安贞医院医学影像科
通信作者: 马晓海,E-mail:maxi8238@yahoo.com

【摘　要】 心血管疾病是我国居民的首位死因,发病率呈上升趋势,随着心脏磁共振(CMR)扫描技术的迅速发展,将产生大量的影像数据,深度学习作为人工智能的一个分支发展迅猛,将深度学习的图像分割技术与心脏磁共振影像结合,将帮助提高影像科医生的诊断效率。文章对深度学习及其在磁共振左心室分割中的应用研究进行综述。

【关键词】 深度学习;人工智能;心脏磁共振;图像分割
【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.01.023

Progress of deep learning of image segmentation in cardiac magnetic resonance of left ventricle

Tian Jie, Ma Xiaohai, Zhao Lei. Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, *China*
Corresponding author: Ma Xiaohai, E-mail: maxi8238@yahoo.com
Fund program: National Natural Science Fundation of China (81671647, 81771787); *Natural Science Fundation of Beijing* (7172069)

【Abstract】 Incidence of cardiovascular disease (CVD) is the first cause of death of residents in our country, is on the rise, with the rapid development of cardiac magnetic resonance (CMR) CMR scanning technology, will produce large amounts of image data, the deep learning as a branch of artificial intelligence and rapid development, if the deep learning of image segmentation technology combined with cardiac magnetic resonance imaging, can assist clinicians in improving image analysis and interpretation. In this paper, deep learning are introduced and deep learning techniques in MRI left ventricular segmentation are reviewed.

【Key words】 Deep learning; Artificial inteligence; Cardiac magnetic resonance; Image segmentation

心血管疾病死亡率在西方国家疾病谱中居于首位[1-2]。在我国,心血管疾病死亡病例占居民疾病死亡构成比的40%以上,高于肿瘤及其他疾病[3]。及时诊断心血管疾病对患者预后至关重要。用于诊断和随访心血管疾病的影像学方法很多,其中心脏磁共振(CMR)是评价心血管系统结构和功能的常用方法之一。CMR 能提供精确的心脏结构和功能、心肌运动和组织学特征等信息。心功能评价指标包括射血分数(EF)、心室舒张末期容积(VEDV)、心室收缩末期容积(VESV)和心室心肌质量(VMW)等。心功能分析需要人工分割左心室的短轴电影序列图像,主要是轮廓的分割,包括心内膜和心外膜的分割。这是一项耗时的工作,左心室的分割平均需要 30 min 以上[1,4]。目前虽然一些商用软件可以自动分割,但也需要人工辅助校正勾画轮廓,因此疲劳误差难以避免。

随着计算机算法的进步、计算能力的提高和可用数据的大量增多,近几年深度学习(deep learning, DL)作为机器学习(machine learning, ML)的一个分支迅速发展,尤其在计算机视觉领域。在医学中,基于放射信息系统(radiology information system, RIS)、医学图像存档和传输系统(picture archiving and communication system, PACS)中大量病例,DL 可从图像中提取信息,本文将对 DL 在 CMR 左心室图像分割中的应用进展作一综述。

1　深度学习及其在医学影像学中的价值

1.1　深度学习的意义　深度学习(DL)是机器学习(ML)的一种特殊算法,机器学习是人工智能(AI)的一个子集。人工智能(AI)概念在 20 世纪 60 年代提出,是指研发用于模拟、延伸和拓展人类智能的理论、方法、技术及应用系统的学科,是融合了计算机科学、

统计学、脑神经科学等前沿学科的综合性学科[5]。在医学应用中,机器学习的方式包括监督式学习和非监督式学习,监督式学习主要用于有明确标签的数据,例如疾病分类、预后判断等有明确诊断和结局的一类数据。无监督学习即由无明确标签组成的数据,例如图像的纹理、灰度等。在医学应用中,机器学习通常输入从图像中提取的重要特征集,使用统计的、数据驱动的规则设计成特定算法程序,转化为特定的输出。例如,心脏轮廓的特征包括组织信号的对比差异、噪声特征、纹理和运动等,当特征数据收集完整,可使用训练集对机器学习算法进行训练,之后可以对训练中未见过的数据进行预测,但预测结果受训练数据的影响较大。

而在自动提取数据特征方面,DL 具有良好的优势。DL 不是一组预先设计好的程序指令,是一种表示学习的形式,能够从数据集中直接学习识别与区分不同的数据特征,避免了人工区分。这种数据驱动的方法能够定义更抽象的特征,更具信息性和可泛化性[6]。例如心脏磁共振左心室内外膜的定位,DL 算法可以学习到能够预测出心脏内外膜最有用的图像特征[7]。DL 的迅速发展由 3 种因素组成,分别是大量的数据、高效的处理器(CPU)和更迭的学习算法[8]。在深度学习网络中,最常用于研究分析图像的算法是卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)[9]。

CNN 由多层具有特定意义的算法构成,包括一系列层,每进行一层更高级的学习时,将每层的图像输入映射到下一层的起始点,进行端对端的传输 。在“隐藏”层面包括一系列的卷积和池化分别进行特征提取和聚合,在最后输出结果之前,完全链接层进行高级推理。CNNs 通常是监督学习方式,进行端—端训练[7]、学习标注好的数据。以往的算法,如人工神经网络(ANNs)计算层面通常被限制在 3 层,并只对有明确标签的数据进行特定的训练[10]。CNN 由多层具有特定意义的算法构成, 与以往的算法相比具有 2 个特点:(1)CNNs 计算层面更“深”,有 10 ~ 30 层,计算量大时甚至超过 1 000 层;(2)算法更复杂,由多个神经元复杂连接,多重非线性变换无限逼近复杂函数,最后给出原始数据特征[11]。

1.2　DL 在医学影像学中的价值　DL 具有对特征集进行端—端学习、处理复杂多模态数据、计算性能优越等优势[10]。DL 已应用于医学影像学中多个临床领域,包括乳腺癌的影像学检测,肝转移的 CT 分割,脑肿瘤 MR 分割,利用高分辨率胸部 CT 进行间质性肺病的分类,癌症组织病理学阅读等[12-17]。在心血管影像中,DL 应用包括减少心脏影像图像重建时间、准确快速进行心血管图像分割、计算与识别、心脏疾病诊断、预后评估及危险分层[18-21]。

2　DL 在心脏磁共振左心室分割中的应用现状

目前一些商用软件可以自动分割,但仍存在人工校正的情况。DL 的引入可以显著提升心内、外膜的分割精度。大体上,90% 以上的 DL 算法 Dice 相关系数(Dice metric)即表面重叠(surface overlap)达 0.95 以上[22]。

2.1　基于像素分割方法　DL 算法通常对于一般磁共振心脏短轴的电影图像使用基于像素分割左心室心内外膜的方法,即利用标记像素的灰度级[1],设定灰度阈值将心肌与心室腔、周围组织分开[23]。大多基于像素分割的 DL 算法是基于 U-Net 结构[24], Bai 等[25]用全卷积神经网络自动分析心脏磁共振,数据库选自英国生物库,数据集达 4 875 例,能够在几秒内应用像素的方法分割心脏磁共振短轴图像,结果表明自动分析结果与人工分析相当。Vigneault 等[26]为了提高分割的准确性,使用 Ω-Net 神经网络在分割之前规范心脏磁共振图像的方向,选用 2017MICCAI ACDC 数据集,实现全自动、多层面对心脏磁共振图像进行定位、校正方向和分割,提高分割效率和精确度,结果表明,这个算法可用于双心室的分割。Poudel 等[27]研究用回归全卷积神经网络对多层左心室心脏磁共振图像分割,利用空间依赖性还原心脏立体结构,数据来源于 2009MICCAI 的不同病理图像,分组进行训练、调整和测试,该训练提高了在心尖部分割的准确性。Zheng 等[28]应用空间传播的方式结合 CNN 算法,提高了分割的性能,尤其是在比较难分割的心尖层面图像。Tao 等[29]用 CNN 对多厂商、多中心 CMR 数据自动识别、分割左心室轮廓,当 CNN 使用可变性增加的训练数据集时,数据集之外的测试性能也得到了改善。还有一些研究将 CNN 算法与其他机器学习算法相结合,Oktay 等[30]应用 T-L 结构,在分析图像中纳入心脏结构等先验知识,约束神经网络训练过程,并引导神经网络得出更有结构学意义的结果,避免了输入图像信息的不足与不一致的情况。Avendi 等[4]使用卷积神经网络与可变形模型结合,使得在有限的训练数据中提高分割的精确度,尤其是在基底层和心尖层的图像分割。该模型与数据库中的左心室分割结果对比,Dice 相关系数高达 0.94。

2.2　基于回归方法　DL 算法分割图像的另一种方法是基于回归分类方法,不同于传统的像素分类方法,是使用算法模拟主要分割图像领域固有的物理特性[31-32],能提高当心肌组织与周围组织对比度较差时

的分割精确度[33]。

Tan 等[34]于 2016 年利用回归分类方法对接近于圆形的左心室进行心室轮廓的分割，利用左心室物理结构的特点，即心内膜和心外膜有一个共同的圆心和极坐标原理，用 2 种回归神经网络 CNN 分别自动定位和计算心内膜到左心室圆心的半径，分割舒张末期和收缩末期左心室的心内膜。该试验分别进行了训练和测试，训练集选自医学图像计算和 2011MICCAI 挑的 100 例数据，测试集选自 2009MICCAI 挑战的 45 个数据。结果平均 Dice 相关系数达 0.88，平均垂直指数 2.3 mm，每层精确度达 97.9%，单张精确度达 100%，结果表明，CNN 利用回归方法可以用于在舒张末期和收缩末期自动分割左心室内膜，并且可以用于不同高度的训练集和测试集。局限性在于收缩末期和心尖层面精确度会降低。2017 年，Tan 等[32]利用回归分类方法进行心室轮廓的分割并计算心功能评价指标，依次进行了训练和测试各 100 例，结果与临床数据对照发现，射血分数（EF）无明显差异，其他评价指标 EDV、ESV 和 VMN 存在一定的高估。Du 等[33]采用回归方法分割 CMR 短轴电影图像双心室的心内外膜，纳入 145 例患者图像，结果为左心室心脏内外膜轮廓 Dice 相关系数达 90% 以上，右心室 Dice 指数为 0.88，稍差于左心室。总之，结果表明采用回归方法分割双心室与人工分割表现一致。

DL 还通过全自动分割 2D 和 3D 电影图像的心内、外膜，实现心脏影像的自动测量，同时进行射血分数计算[1]和区域运动的评估。医生通常选取 2 个时期即舒张末期（end diastole，ED）和收缩末期（end systole，ES），计算心功能参数，包括心室容积、心肌质量（VMN）和射血分数（EF）。心室容积只需将各层左心室心内膜面积进行整合，而 VMN 是计算左心室各层心肌质量之和。射血分数是 VEDV 与 VESV 的差值与 VEDV 的比值，这些心功能评价指标可以对心脏疾病作一个初步筛选。Ruijsink 等[35]基于深度学习模型自动测量左、右心室容积、心肌应变（myocardial strain）等心功能评价指标，结果表明与手动测量无明显差异。

3　DL 在心脏磁共振图像分割中不足与完善方法

3.1　高质量数据的获取不易　深度学习需要大量的数据进行训练保证模型的稳定性及准确性。与其他系统相比，心血管系统影像数据的获取成本高，时间长，可用于分析的数据量较少。尤其是心脏磁共振，扫描层面多，序列复杂，由于心脏运动特点，不可避免地存在一些低质量的图像，且受医疗水平、患者地区分布差异的影响及不同机器扫描参数不同，心血管图像高质量数据获取不易。转移学习能把之前机器学习模型知识转移到新的模型上，有望显著地降低深度学习所需的大量数据资源[36-37]。

3.2　数据标注工作量大　深度学习目前以监督式学习为主，需要手工标注图像。建立模型需要标注大量的数据，尽可能包括所有的心脏结构形状，提高模型分割图像的准确性与稳定性。手工标注不仅工作量大，准确性也高度依赖标注者的水平。为了提高标签的可信度，往往会采取多个不同水平层次的标注者同时标注，工作量会进一步加大。因此，可采用半监督式学习，对一部分带标签的数据进行监督式学习，对剩下的未带标签的数据进行分类。此外，标注者大多是在第三方软件上标注，不利于标注者之间数据的流通，开发基于内网的数据标注工具，不仅方便管理，还可兼顾患者隐私保护[36]。

3.3　深度学习的可解释性未知　深度学习存在可解释性不足的问题。因为深度学习模型学习的是大量神经网络结构的参数，预测过程是相应参数下的计算过程，这个学习和预测的过程是不透明的，和用户也缺乏交互性[36]。例如，模型经过大量图像数据的训练诊断心肌疾病，但不能解释它是通过什么图像特征得出的结论。这需要进一步研究深度学习的可解释性。

3.4　模型预测结果有待验证　模型训练大部分是通过学习有限的心脏疾病种类图像数据，且缺乏与疾病病理相联系，无法预测出临床上多样的疾病类型。Tao 等[29]虽然增加不同病理的训练集，但所选测试的数据都是回顾性的，若应用前瞻性临床应用，必须对其性能进行评估，尤其是在心血管异常和成像伪影范围更广的数据集上。现在已发起了一个合作框架[17]，通过结合临床专业知识和自动分割方法的客观性，建立共同的心脏磁共振图像识别共识，相信未来进入临床能提高医生工作效率。

3.5　模型的泛化能力有待提高　大部分研究机构都是基于自己的数据库进行模型的训练和验证。数据集小会导致分割准确性差，在学习集之外的心脏形状（如先天性心脏病、术后重建等）分割效率不高。Tao 等[29]用 CNN 对多厂商、多中心 CMR 数据自动识别、分割左心室轮廓，提高了模型的泛化性。

4　小结与展望

总之，随着社会老龄化和城市化进程加快，居民不健康生活方式流行，心血管疾病患者将快速增长，心脏磁共振检查数量必将增多，医师工作负荷进一步加重。尽管深度学习技术仍有很多方面需要完善，但在深度学习技术的辅助下，准确分割心脏磁共振影像可以减

轻医师负担,将精力更多专注在临床问题上,最终使广大医生和患者受益。

参考文献

[1] Petitjean C, Dacher JN. A review of segmentation methods in short axis cardiac MR images[J]. Medical Image Analysis, 2011, 15(2):169-184. DOI: 10.1016/j.media.2010.12.004.

[2] Peng P, Lekadir K, Gooya A, et al. A review of heart chamber segmentation for structural and functional analysis using cardiac magnetic resonance imaging[J]. Magma, 2016, 29(2):155-195. DOI: 10.1007/s10334-015-0521-4.

[3] 马丽媛, 吴亚哲, 王文, 等.《中国心血管病报告 2017》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2018, 23(1):3-6. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2018.01.002.

[4] Avendi MR, Kheradvar A, Jafarkhani H. A combined deep-learning and deformable-model approach to fully automatic segmentation of the left ventricle in cardiac MRI[J]. Medical Image Analysis, 2016, 30(2):108-119. DOI:10.1016/j.media.2016.01.005.

[5] 赵世华, 田捷. 人工智能:心血管医学影像突破性发展的必由之路[J]. 中华放射学杂志, 2019, 53(4):243-245. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2019.04.002.

[6] Hosny A, Parmar C, Quackenbush J, et al. Artificial intelligence in radiology[J]. Nature Reviews Cancer, 2018, 18(8):500-510. DOI:10.1038/s41568-018-0016-5.

[7] Leiner T, Rueckert D, Suinesiaputra A, et al. Machine learning in cardiovascular magnetic resonance: basic concepts and applications[J]. J Cardiovasc Magn Reson, 2019, 21(1): 61. DOI: 10.1186/s12968-019-0575-y.

[8] Shen D, Wu G, Suk HI. Deep learning in medical image analysis[J]. Annual Review of Biomedical Engineering, 2017, 19(1):221-248. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071516-044442.

[9] Yasaka K, Abe O. Deep learning and artificial intelligence in radiology: Current applications and future directions[J]. PLoS Medicine, 2018, 15(11):e1002707. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002707.

[10] Miotto R, Wang F, Wang S, et al. Deep learning for healthcare: review, opportunities and challenges[J]. Briefings in Bioinformatics, 2018, 19(6):1236-1246. DOI: 10.1093/bib/bbx044.

[11] Mazurowski MA, Buda M, Saha A, et al. Deep learning in radiology: an overview of the concepts and a survey of the state of the art with focus on MRI [J]. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 2019, 49(4):939-954. DOI: 10.1002/jmri.26534.

[12] Becker AS, Marcon M, Ghafoor S, et al. Deep learning in mammography: diagnostic accuracy of a multipurpose image analysis software in the detection of breast cancer[J]. Investigative Radiology, 2017, 52(7):434-440. DOI: 10.1097/RLI.0000000000000358.

[13] Kooi T, Litjens G, Van GB, et al. Large scale deep learning for computer aided detection of mammographic lesions[J]. Medical Image Analysis, 2017, 35(6):303-312. DOI: 10.1016/j.media.2016.07.007.

[14] Drozdzal M, Chartrand G, Vorontsov E, et al. Learning normalized inputs for iterative estimation in medical image segmentation[J]. Medical Image Analysis, 2017, 44(1):1-13. DOI: 10.1016/j.media.2017.11.005.

[15] Havaei M, Guizard N, Larochelle H, et al. Deep learning trends for focal brain pathology segmentation in MRI[C]. Machine Learning for Health Informatics, 2016:125-148. DOI:10.1007/978-3-319-50478-0_6.

[16] Anthimopoulos M, Christodoulidis S, Ebner L, et al. Lung pattern classification for interstitial lung diseases using a deep convolutional neural network[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2016, 35(5):1207-1216. DOI: 10.1109/TMI.2016.2535865.

[17] Esteva A, Robicquet A, Ramsundar B, et al. A guide to deep learning in healthcare[J]. Nature medicine, 2019, 25(1):24-29. DOI: 10.1038/s41591-018-0316-z.

[18] Qin C, Schlemper J, Caballero J, et al. Convolutional recurrent neural networks for dynamic MR image reconstruction[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2019, 38(1):280-290. DOI: 10.1109/TMI.2018.2863670.

[19] Zreik M, Lessmann N, Van Hamersvelt RW, et al. Deep learning analysisof the myocardium in coronary CT angiography for identification of patients with functionally significant coronary artery stenosis[J]. Medical Image Analysis, 2018, 44(1):72-85. DOI: 10.1016/j.media.2017.11.008.

[20] Zhang N, Yang G, Gao Z, et al. Deep learning for diagnosis of chronic myocardial infarction on nonenhanced cardiac cine MRI[J]. Radiology, 2019, 291(3): 606-617. DOI: 10.1148/radiol.2019182304.

[21] Chen R, Lu A, Wang J, et al. Using machine learning to predict one-year cardiovascular events in patients with severe dilated cardiomyopathy[J]. European Journal of Radiology, 2019, 117(2): 178-183. DOI: 10.1016/j.ejrad.2019.06.004.

[22] Bernard O, Lalande A, Zotti C, et al. Deep learning techniques for automatic MRI cardiac multi-structures segmentation and diagnosis: Is the problem solved[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2018, 37(11):2514-2525. DOI:10.1109/TMI.2018.2837502.

[23] Goshtasby A, Turner DA. Segmentation of Cardiac Cine MR Images for Extraction of Right and Left Ventricular Chambers[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 1995, 14(1):56-64. DOI: 10.1109/42.370402.

[24] Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-Net: Convolutional networks for biomedical image segmentation[C]. Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention-MICCA, I2015. 2015:234-241. DOI: 10.1007/978-3-319-24574-4_28.

[25] Bai, Matthew S, Giacomo T, et al. Automated cardiovascular magnetic resonance image analysis with fully convolutional networks[J]. Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance, 2018, 20(1):65. DOI: 10.1186/s12968-018-0471-x.

[26] Vigneault DM, Xie W, Ho CY, et al. Ω-Net (Omega-Net): Fully automatic, multi-view cardiac MR detection, orientation, and segmentation with deep neural networks[J]. Medical Image Analysis, 2018, 48:95-106. DOI:10.1016/j.media.2018.05.008.

[27] Poudel RPK, Lamata P, Montana G. Recurrent fully convolutional neural networks for multi-slice MRI cardiac segmentation[J]. Lecture Notes in Computer Science, 2016, 3824(1):164-173. DOI: 10.1007/978-3-319-52280-7_8.

(下转 104 页)

综　述

中医内治法治疗糖尿病周围神经病变临床研究进展

冯帅东综述　高怀林审校

基金项目：河北省重点研发计划（18277763D）；河北省中医药管理局科研计划课题（2018200）；北京市科技计划课题（Z181100001918015）

作者单位：450008　河南中医药大学（冯帅东）；050091　河北以岭医院内分泌科/国家中医药管理局中医络病学重点学科（高怀林）

通信作者：高怀林，E-mail：gaohuailin@126.com

【摘　要】 糖尿病周围神经病变（DPN）是糖尿病常见的慢性并发症之一，其患病率及致残率较高，属于难以根治的慢性疾病。近些年随着临床对 DPN 的不断深入研究，治疗 DPN 的方法也呈现出多种多样的趋势，文章从病因病机、内治方法综述中医内科治疗糖尿病周围神经病变的研究进展，以期为中医内治法治疗糖尿病周围神经病变提供临床指导。

【关键词】 糖尿病周围神经病变；病因病机；中医内治法；进展

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.024

Clinical research progress of diabetic peripheral neuropathy treated by internal treatment of traditional Chinese Medicine

Feng Shuaidong, Gao Huailin. *Graduate School, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Henan Province, Zhengzhou* 450008, *China*

Corresponding author: Gao Huailin, E-mail: gaohuailin@126.com

Fund program: Hebei Key Research & Development Plan (18277763*D*); *Hebei Administration of Traditional Chinese Medicine Scientific Research Plan* (2018200); *Beijing Science and Technology Plan* (*Z*181100001918015)

【Abstract】 Diabetic peripheral neuropathy (DPN) is one of the common chronic complications of diabetes mellitus, which has a high morbidity and disability rate and is a chronic disease that is difficult to cure. In recent years, with the continuous in-depth clinical study of DPN, the treatment methods of DPN also show a variety of trends. This paper summarizes the research progress of internal treatment of diabetic peripheral neuropathy from the etiology, pathogenesis and internal treatment methods, in order to provide clinical guidance for internal treatment of diabetic peripheral neuropathy.

【Key words】 Diabetes peripheral neuropathy; Causes and pathogenesis; Traditional Chinese medicine; Progress

糖尿病周围神经病变（DPN）是糖尿病最为常见的慢性并发症之一，其临床症状复杂多样，主要表现为肢体远端的疼痛、麻木等感觉神经异常和肌肉无力、腱反射减弱消失等运动神经障碍[1]，随着近年来糖尿病发病人数的不断增加，糖尿病周围神经病变的发病率也呈逐渐升高趋势，有研究预计至 2040 年，全球糖尿病患者将会超过 6.4 亿，其中患有糖尿病周围神经病变的患者可达 30% ~50%[2]，而我国目前 2 型糖尿病发病率已达到 10.4%，所以防治糖尿病周围神经病变已刻不容缓[3]。目前，临床上，西医尚未研究出根治该病的方法，临床疗效也并不太理想，而中医药在治疗该病具有较大优势，笔者通过查阅近 5 年关于糖尿病周围神经病变中医内科治疗的文献，从中医内治法切入，将关于中医内科治疗糖尿病周围神经病变的中医认识、病因病机及治疗方法综述如下。

1　古代医家的认识

糖尿病在中医内科学归属“消渴”范畴，而糖尿病周围神经病变则又属于消渴并发症范畴。糖尿病周围神经病变这一病名在中医古籍中从未出现过，但关于此病症状特点的描述，历代医家早有记载，并将此病多归属为“血痹”“脉痹”“痿证”等范畴[4]。《黄帝内经》曰：病久入深，营卫之行涩，经络时疏，故不通，皮肤不营，故为不仁”，《素问 · 痹论》载：“痹在于骨则重，在于脉则血凝而不流，在于筋则屈不伸，在于肉则不仁，在于皮则寒……”，《素问 · 痿论》曰：“脾气热则胃干而渴，肌肉不仁，发为肉痿”，《临证指南医案》则记有：“凡气血既久阻，血亦应病，循行之脉自痹”，《类症治裁》指出：“诸气血凝滞，久而成痹”，这些记载都准确

指出了糖尿病周围神经病变发生主要的病机。戴元礼《秘传证治要诀》记载:“三消久之,精血既亏或目无所见,或手足偏废如风疾,非风也”,《王旭高医案》载有“消渴日久,但见手足麻木,肢冷如冰”,《灵兰密藏》中“消渴病人四肢痿软”和《普济方》中“肾消口干,手足烦疼”的描述,都形象地指出消渴是引起糖尿病周围神经病变的主要原因。

2　病因病机

糖尿病周围神经病变的发生是消渴病久治不愈、病情迁延而发展来的,其病因病机也主要是以消渴病的病机为基础,但随着现代医学发展和对糖尿病周围神经病变研究的不断深入,众多医家对关于本病病机有不同的认识。彭万年认为其病机主要为阳虚,消渴日久,阴损及阳,阳气亏虚,温化失司,无法推动气血运行,致痰阻血瘀、脉络不通而发为此病[5]。张永文等[6]认为该病病机主要缘于患者素体阴虚,加上病久不愈,导致瘀阻脉络引发此病。丑明一[7]则认为是瘀血阻络贯穿于糖尿病并发症的始终。刘德山等[8]从血浊理论来认识该病病机,消渴日久脏腑功能失调产生血浊、水饮、痰、瘀病理产物相互胶结,产生浊毒,损伤脉络,导致糖尿病周围神经病变。王旭指出 DPN 的病理因素主要为瘀热[9]。赵天奇等[10]根据历代医家对 DPN 的认识,把该病病机概括为“寒、湿、虚、瘀”。而刘鹏等[11]把该病病机归为营卫不和,痰瘀互结。张熙芮等[12]认为该病病机为脾虚不运,瘀浊内阻,四肢失养出现麻木、萎软无力症状;脾虚不运,水液潴留,产生痰湿瘀等病理产物,阻于脉络则四肢疼痛,肢体麻木。周爱珠[13]认为该病病机主要为“虚、瘀”,并指出“痰湿”亦是重要的致病因素。王晓燕等[14]认为该病为本虚标实,虚实夹杂,以脾肾两虚为本,以痰、湿、瘀互结阻滞经脉为标。张兰把该病的病机概括为脏腑虚损,瘀血从生[15]。陈海燕等[16]认为该病主要病机为气虚血瘀,肝、脾、肾三脏亏虚,痰瘀交阻。而江鹏等[17]认为该病病机主要为气血阴阳亏虚,瘀血阻滞,脉络壅滞。

3　临床治疗

中医内治法治疗该病主要是药物治疗,从用药取材方面可将临床治疗分为中药汤剂治疗、中药注射液和中成药治疗法等。

3.1　中药汤剂治疗

3.1.1　分期论治:根据疾病发病、发展和病机特点,部分医家根据经验分期来治疗糖尿病周围神经病变,陈霞[18]总结张玉琴教授治疗 DPN 的经验,把该病分为早期和晚期,早期病机为气虚血瘀、痹阻脉络,晚期则主要是痰瘀、湿瘀、阳虚寒凝、痹阻脉络。早期治以益气活血通络,选药黄芪、太子参、肉桂、白芍、鸡血藤、红藤、忍冬藤、络石藤、钩藤、元胡、丹皮、丹参、川芎、赤芍、地龙、红花、瓜蒌、炙甘草等,晚期治以祛湿、化痰、温阳通络,选药主要为活血药及藤类药加茵陈、茯苓化湿,桂枝、细辛温阳通脉等。崔云竹把该病分为早期(气阴两虚证)、中期(肝肾阴虚、痰瘀阻络证)、晚期(脾肾两虚、寒凝血瘀证)3 期,早期选用补阳还五汤加减治疗;中期肝肾阴虚证选用独活寄生汤合二至丸加减,痰瘀互结证可选用程益春所拟的降糖通络方治疗,晚期脾肾两虚者选用济生肾气丸加减,寒凝血瘀者可选用黄芪桂枝五物汤加减[19]。彭万年认为该病发展规律为先阴虚夹瘀,然后气阴两虚夹瘀,最后阴阳两虚夹瘀,同样把该病分为早、中、晚 3 期,早期治疗以养阴清热活血,选用丹皮、生地、赤芍、丹参、郁金等药;中期治疗以益气活血,用药以当归、黄芪、鸡血藤等为主;后期治疗以温通活血,选用川芎、红花、姜黄、延胡索、没药、乳香等药[5]。而高彦彬亦是把该病分为 3 期,但具体治法却不同,初期(气阴两伤,瘀血阻络)采用益气养阴,活血通络治法,方选生脉散合人参白虎汤加减;迁延期(肝肾阴虚,瘀血阻络)采用滋补肝肾,化瘀通络治法,方选六味地黄丸加减;晚期(阴损及阳,阴阳两虚,痰瘀阻络)采用温肾健脾,祛痰通络治法,方选济生肾气丸加减[20]。

3.1.2　分型论治:不同的医家辨证思路不同,因此关于糖尿病周围神经病变的临床分型种类较多,并未统一。贾斌认为 DPN 的病机主要为络虚、络瘀,将本病分为气阴两虚型和瘀血阻络型两型论治,气阴两虚型治疗以益气养阴荣络,佐活血通络,选方为自拟荣络通络汤;瘀血阻络型治疗以活血化瘀通络,佐补血荣络,选方身痛逐瘀汤加减[21]。杨华等[22]把该病分成 3 种证型论治:(1)痰湿瘀阻,血行不畅,采用燥湿化痰、散瘀通络的治则,选方化湿通络汤加减;(2)气阴两虚,血行无力,采用益气养阴,通络止痛治则,方选自拟糖痛方;(3)阴阳两虚,瘀阻脉络,采用阴阳双补,活血化瘀治则,方选独活寄生汤合黄芪桂枝五物汤加减。张兰把该病分为 4 种证型进行辨证论治[15]:(1)脾肾气虚兼血瘀型,采用健脾益肾、活血化瘀的治则,方选六君子汤合芍药甘草汤加减;(2)肝肾阴虚兼血瘀型,采用宜滋补肝肾、活血化瘀的治则,方选一贯煎合二至丸加减;(3)脾肾阳虚兼血瘀型,采用补肾壮阳、祛瘀通络的治则,方选济生肾气丸加减;(4)肝脾肾亏兼血瘀型,采用补肾填精、通经活络的治则,方用无比山药丸加减。而方家选根据其他医家经验把本病总结为 5

型[23]：(1)气阴双虚证，采用益气养阴的治法，方用生脉散加减；(2)肝肾阴虚证，采用滋肝补肾的的治法，方用六味地黄汤加减；(3) 瘀血阻络证，Ⅰ度采用益气和营、化瘀通络的治法，方用黄芪桂枝五物汤加四物汤加减，Ⅱ度采用益气和营、通络化瘀的治法，方选黄芪桂枝五物汤加四物汤三藤一地龙，Ⅲ度采用补气活血通络的治法，方用补阳还五汤合三藤加减，Ⅳ度采用益气养营、活血行瘀的治法，方用圣愈汤合补阳还五汤加减；(4)痰湿内阻证，采用燥湿化痰、理气和中的治法，方用二陈汤加减；(5)阴阳两虚证，采用滋补阴阳、补肾固涩的治法，方用金匮肾气丸加减。糖尿病周围神经病变中医临床诊疗指南(2016 年版)[1]则把该病分为 6 种类型：(1)气虚血瘀证者以补气活血，化瘀通痹为治法，给予补阳还五汤 (《医林改错》)加减或黄芪桂枝五物汤(《金匮要略》)加减；(2)阴虚血瘀证以滋阴活血，柔筋缓急为治法，用方芍药甘草汤(《伤寒论》)加减或桃红四物汤(《医宗金鉴》)加减；(3)痰瘀阻络证以化痰活血，宣痹通络为治法，方用双合汤(《杂病源流犀烛》)加减或白芥子散(《妇人良方》)加减；(4)肝肾亏虚证以滋补肝肾，益精填髓为治法，方用六味地黄丸(《小儿药证直诀》)加减或虎潜丸(《丹溪心法》)加减；(5)阳虚寒凝证以温经散寒，通络止痛为治法，方用当归四逆汤(《伤寒论》)加减或阳和汤(《外科全生集》)加减；(6)湿热阻络证以清热利湿，活血通络为治法，选方四妙散(《成方便读》)加减或当归拈痛汤(《医学启源》)加减。

王晓燕等[14]认为 DPN 发病根源为脾肾两虚，主导因素是瘀血阻络，而阳虚寒凝是关键病因，故祛邪通络治标，益气温阳治本，采用温阳通络治法，灵活运用黄芪桂枝五物汤及补阳还五汤加减治疗。韩磊等[24]总结前人用药经验，认为治疗该病以补气法为主，指出赵莉娟的自拟“糖痛方”治疗消渴合并痹证有较好临床疗效。梁宏等[25]总结杨景铎治疗本病经验，指出本病基本病机为气阴两虚、瘀血阻络，采用益气养阴、化瘀通络的治法，临床上自拟加味抵当芪桂汤加减治疗本病，疗效确切。周强等[26]在总结仝小林多年临床经验的基础上，治疗从“络病”辨治入手，法以益气养血、行气活血通络，方选黄芪桂枝五物汤加减。程茂维[27]指出消渴病引起肝肾精亏、肝血不足，肝脏则气血不畅，瘀血阻滞。肝血不足，筋失滋养，则出现屈伸不利、肢体麻木，并通过临床观察运用补肝肾通络汤治疗 DPN 取得良好的疗效。

3.2　中成药治疗　近年来随着医学发展，中成药制剂不断涌现，中成药治疗 DPN 的相关研究亦不断深入。戚纪周等[28]观察比较木丹颗粒联合甲钴胺治疗 DPN 的临床疗效，将 112 例 PDN 患者随机分为对照组和治疗组各 56 例，对照组口服甲钴胺，治疗组加服木丹颗粒，疗程 12 周，结果显示治疗组在血脂、血糖、神经传导速度方面的改善明显优于对照组。王国强等[29]将 123 例气虚血瘀型 DPN 患者分为治疗组和对照组，治疗组给予消渴痹通胶囊治疗，对照组给予甲钴胺片治疗，疗程 12 周，结果显示消渴痹通胶囊能有效改善气虚血瘀证糖尿病周围神经病变患者的四肢疼痛、麻木、乏力等症状，能显著提高 DPN 患者的神经传导速度。刘敏等[30]通过研究证明，心脉通胶囊治疗 DPN 患者，可有效缓解患者的疼痛症状，有效改善神经传导功能，且无明显不良反应。关于临床研究可以治疗 DPN 的中成药有很多，如芪明颗粒、脑心通胶囊、银杏叶片、芪归糖痛宁颗粒等，其研究结果也基本与前述类似。

3.3　中药注射液治疗　王凌霄等[31]将 96 例 DPN 患者随机分成 2 组，每组各 48 例，对照组给予 α- 硫辛酸治疗，并控制饮食、口服降糖药物等，观察组在对照组基础上结合葛根素注射液治疗，疗程 2 个月。结果显示，葛根素可有效缓解 DPN 患者的临床症状，并能改善其血液流变学及肌电图，临床疗效优于单纯西药治疗。郝朝艳[32]将 94 例 DPN 患者随机分成 2 组，每组 47 例，对照组采用前列地尔治疗，研究组在此基础上加用丹红注射液，疗程 14 d，得出结论，丹红注射液联合前列地尔治疗 DPN 患者疗效显著，可有效改善患者神经传导速度。丁爱仙[33]将 80 例 DPN 患者随机分成 2 组，每组 40 例，研究组采用疏血通联合甲钴胺治疗，对照组单纯甲钴胺治疗，治疗 2 疗程，每疗程 14 d，得出结论，疏血通联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变疗效较好，临床值得推广使用。除此之外，很多治疗 DPN 的中药注射液在临床上疗效都较为显著，如临床常用红花注射液、灯盏花注射液、脉络宁注射液、血塞通注射液、天麻素注射液等。

4　小结与展望

DPN 的发病机制复杂多样，尚不明确，中医治疗该病是从整体出发辨证施治，中医内治法治疗糖尿病周围神经病变可划分的汤药、成药和注射液等不同剂型，已广泛应用在临床，发挥了多靶点、多环节、多层次的治疗作用，显示出极大的优越性。但中医内治法对该病治疗也有相对不足之处，例如主观性太强，辨证治法无法统一，治疗方式的选择和用药剂量均无统一标准，诸多操作不易标准化推广，况且中药市场较为混杂，中药材的质量也无法达到统一标准，都在一定程度上影响了临床疗效，有待进一步规范。

参考文献

[1] 方朝晖,吴以岭,赵进东. 糖尿病周围神经病变中医临床诊疗指南(2016 年版)[J]. 中医杂志,2017,58(7):625-630. DOI:10.13288/j.11-2166/r.2017.07.025.

[2] Jose Marin-Penalver J, Martin-Timon I, Sevillano-Collantes C, et al. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. World Journal of Diabetes, 2016, 7(17): 354-395. DOI:10.4239/wjd.v7.i17.354.

[3] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中国实用内科杂志,2018,38(4):292-344. DOI:10.19538/j.nk2018040108.

[4] 邸维莹,方朝晖. 中医药对糖尿病周围神经病变防治新进展[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30(12): 2312-2315. DOI:10.16448/j.cjtcm.2018.0707.

[5] 杨宇琦,秦伟,王评,等. 彭万年教授经方治疗糖尿病[J]. 长春中医药大学学报,2017,33(4):551-553. DOI:10.13463/j.cnki.cczyy.2017.04.012.

[6] 张永文,韩康生,程燕. 糖尿病周围神经病变的中医病因病机及证治[J]. 吉林中医药, 2014,34(6):561-564. DOI:10.13463/j.cnki.jlzyy.2014.06.009.

[7] 丑明一. 益气化瘀通痹方治疗气阴两虚夹瘀证糖尿病周围神经病变的临床效果观察[J]. 中医临床研究,2017,9(6):47-48. DOI:10.3969/j.issn.1674-7860.2017.06.022.

[8] 刘德山,李茹,安春耀,等. 从血浊理论探讨 2 型糖尿病的发生发展[J]. 河北中医,2017,39(8):1253-1257. DOI:10.3969/j.issn.1002-2619.2017.08.034.

[9] 李苏珊,王旭. 王旭教授从瘀热辨治糖尿病周围神经病变[J]. 吉林中医药,2017,37(6):551-553. DOI:10.13463/j.cnki.jlzyy.2017.06.004.

[10] 赵天奇,张兰. 糖尿病周围神经病变中西医诊治研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2018, 20(11): 216-219. DOI:10.13194/j.issn.1673-842x.2018.11.061.

[11] 刘鹏,李小娟. 李小娟调营卫化痰瘀论治糖尿病周围神经病变经验撷菁[J]. 陕西中医,2014,35(1):70-71. DOI:10.3969/j.issn.1000-7369.2014.01.041.

[12] 张熙芮,柴可夫. 运脾和络法在糖尿病周围神经病变中的应用[J]. 河南中医,2010,30(8):734-736. DOI:10.16367/j.issn.1003-5028.2010.08.028.

[13] 周爱珠. 温脾祛湿化痰通络法治疗脾肾阳虚型糖尿病周围神经病变疗效观察[J]. 湖北中医药大学学报,2014,16(5):72-74. DOI:10.3969/j.issn.1008-987x.2014.05.26.

[14] 王晓燕,李淑女,曹清慧,等. 温阳通络法治疗糖尿病周围神经病变体会[J]. 河南中医, 2015,35(12):3063-3065. DOI:10.16367/j.issn.1003-5028.2015.12.1315.

[15] 张栏译,张兰. 张兰运用脏腑辨证诊治糖尿病周围神经病变经验[J]. 中医药临床杂志,2017,29 (10):1625-1626. DOI:10.16448/j.cjtcm.2017.0543.

[16] 陈海燕,刘怀珍. 糖尿病周围神经病变的中医研究 [J]. 西部中医药,2014,27(3):138-140. DOI:10.3969/j.issn.1004-6852.2014.03.050.

[17] 江鹏,杨思鹏,齐保险,等. 益气活血通络法治疗糖尿病周围神经病变 52 例[J]. 安徽中医药大学学报,2014,33(5):33-35. DOI:10.3969/j.issn.2095-7246.2014.05.012.

[18] 陈霞. 张玉琴教授从络病论治糖尿病周围神经病变(消渴痹病)[J]. 实用中医内科杂志,2015,29(4):18-19. DOI:10.13729/j.issn.1671-7813.2015.04.07.

[19] 付露,崔云竹. 崔云竹治疗糖尿病周围神经病变经验[J]. 山东中医杂志,2017,36(11):967-969. DOI:10.16295/j.cnki.0257-358x.2017.11.017.

[20] 李勤,李敏州,邹大威,等. 高彦彬教授治疗糖尿病周围神经病变经验[J]. 中医药学报,2011,39(6):89-90. DOI:10.19664/j.cnki.1002-2392.2011.06.034.

[21] 梁永林,李娟,贾育新,等. 贾斌主任医师治疗糖尿病周围神经病变经验[J]. 时珍国医国药,2015,26(2):471-472. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2015.02.088.

[22] 杨华,曾娟花,毕小娟,等. 糖尿病周围神经病变中医证候分布研究[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(6):1192-1194. DOI:10.13192/j.issn.1000-1719.2014.06.053.

[23] 刘国岭. 方家选教授治疗糖尿病周围神经病变临床经验总结[J]. 中医临床研究,2016,8(6):7-9. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2016.06.004.

[24] 韩磊,赵莉娟. 从补气论治消渴合并痹证[J]. 世界中西医结合杂志,2014,9(11):1239-1240. DOI:10.13935/j.cnki.sjzx.141132.

[25] 梁宏,屈云,秦刚新,等. 杨景锋治疗糖尿病周围神经病变经验[J]. 湖南中医,2016,32(1):22-23. DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2016.01.011.

[26] 周强,彭智平,赵锡艳,等. 仝小林基于“络病”理论运用黄芪桂枝五物汤治疗糖尿病周围神经病变经验[J]. 安徽中医学院学报, 2013,32(2):44-46. DOI:10.3969/j.issn.1000-2219.2013.02.014.

[27] 程茂维. 补肝肾通络汤治疗 2 型糖尿病周围神经病变疗效观察[J]. 中国民间疗法,2017, 25(9): 44-45. DOI:10.19621/j.cnki.11-3555/r.2017.09.046.

[28] 戚纪周,李璐,王晓曼,等. 木丹颗粒联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变临床疗效观察[J]. 医学理论与实践,2019,32(11):1678-1679. DOI:10.19381/j.issn.1001-7585.2019.11.024.

[29] 王国强,郭治波,米佳,等. 消渴痹通胶囊联合常规疗法治疗糖尿病周围神经病变临床观察[J]. 新中医,2018,50(9):85-87. DOI:10.13457/j.cnki.jncm.2018.09.024.

[30] 刘敏,张美娟. 心脉通胶囊治疗糖尿病周围神经病变 46 例临床观察[J]. 中国医药导刊,2015,17(8):807-809.

[31] 王凌霄,温宏峰,才丽娜,等. 葛根素注射液治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对肌电图、血液流变学的影响[J]. 世界中医药杂志,2018,13(18):1929-1932. DOI:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.08.027.

[32] 郝朝艳. 丹红注射液联合前列地尔治疗糖尿病周围神经病变的临床观察[J]. 中国民间疗法,2019,27(6):63-65. DOI:10.19621/j.cnki.11-3555/r.2019.0637.

[33] 丁爱仙. 疏血通联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变 45 例疗效观察[J]. 海峡药学,2017,29(1):88-90. DOI:10.3969/j.issn.1006-3765.2017.01.036.

(收稿日期:2019-08-27)

综　述

去势抵抗性前列腺癌药物治疗的研究进展

张烨综述　刘修恒审校

基金项目：武汉大学自主科研项目(2042019kf0091)
作者单位：430060　武汉大学人民医院泌尿外科
通信作者：刘修恒，E-mail：drliuxh@126.com

【摘　要】 我国前列腺癌发病率逐年增加，多数患者一旦查出已属晚期，失去手术时机。雄激素剥夺疗法(ADT)是此类患者最有效的初始治疗，然而取得最初良好效果后，几乎所有患者最终都会进展为去势抵抗性前列腺癌(CRPC)。CRPC 的发生和发展机制极其复杂，治疗药物的选择更是让临床医生棘手的问题。随着对其发生机制的深入研究，许多新型药物层出不穷，文章对 CRPC 的治疗药物的研究进展进行综述，为临床 CRPC 用药提供参考。
【关键词】 前列腺癌；去势抵抗性前列腺癌；药物治疗；研究进展
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.025

Advances in drug treatment of castration-resistant prostate cancer
Zhang Ye, Liu Xiuheng. Department of Urology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, *China*
*Corresponding author: Liu Xiuheng, E-mail: drliuxh@*126.*com*
Fund program: Wuhan University Independent Scientific Research Project(2042019*kf*0091)

【Abstract】 The incidence of prostate cancer in China has increased year by year. Once a large proportion of patients are found to be advanced, they lose the opportunity for surgery. Androgen deprivation therapy (ADT) is the most effective initial treatment for such patients. However, after achieving the initial good results, almost all patients will eventually progress to castration-resistant prostate cancer (CRPC). The mechanism of the occurrence and development of CRPC is extremely complicated, and the choice of therapeutic drugs is even more difficult for clinicians. With the in-depth study of its mechanism of development, many new drugs emerge in endlessly. This article will review the research progress of CRPC therapeutic drugs in recent years, and provide references for clinical CRPC drugs.
【Key words】 Prostate cancer; Castration resistant prostate cancer; Drug treatment; Recent developments

前列腺癌(prostate cancer, PCa)在欧美地区等发达国家中是最常见的恶性肿瘤之一[1]。随着我国人口老龄化和人均寿命的延长，前列腺癌的发病率、病死率呈明显升高趋势，令人更为担忧的是，与欧美国家相比，我国前列腺癌发病率的增长速度更为迅速[2]。由于前列腺癌早期可无明显不适或有与良性前列腺疾病相似的症状，一般不会引起重视，当出现明显临床症状时，可能已伴有肿瘤的局部浸润或远处转移，因此，总体治疗效果不能令人满意。

目前我国大部分的前列腺癌患者在初诊时已经处于中晚期，手术效果不理想或失去了手术根治的机会，内分泌治疗是其主要治疗方法[3]，虽然内分泌治疗可以延缓前列腺癌的进展，但是经过中位时间 14 ~ 30 个月后，几乎所有初始对内分泌治疗敏感的患者最终都将发展为去势抵抗性前列腺癌(CRPC)[4]。对于去势抵抗性前列腺癌，目前尚无有效的治疗手段，是临床上棘手的难题。因此，迫切需要对去势抵抗性前列腺癌的诊断以及治疗药物进行深入研究，文章对近年来 CRPC 药物治疗的进展进行综述。

1　CRPC 的概念及其发生机制

目前我国初始阶段雄激素剥夺疗法(ADT)治疗使用的药物包括黄体生成素释放激素激动剂(如亮丙瑞林或戈舍瑞林)和雄激素受体(androgen receptor, AR)拮抗剂(如比卡鲁胺)，这是临床上最常使用的药物。然而在一段时间的良好收益后，患者逐渐对传统 ADT 治疗药物失去敏感，表现为前列腺特异抗原(PSA)失去控制及肿瘤发生局部进展或转移。根据 EAU 指南定义[5]，当血清睾酮达到去势水平时，出现 PSA 进展或影像学进展即可诊断为 CRPC。CRPC 根据是否发生远处转移分为转移性 CRPC(metastatic castration-resistant prostate cancer, mCRPC)和非转移性 CRPC (non-metastatic castration-resistant prostate

cancer, nmCRPC)。CRPC 对传统内分泌治疗失敏感的机制主要有 3 种:AR 驱动机制、AR 旁路机制、AR 独立机制。

在一些接受内分泌治疗的 CRPC 患者中,AR 信号传导在支持 PCa 细胞存活方面仍然发挥积极作用,其可通过以下 3 种方式上调:增加雄激素生物合成、AR 扩增及过表达、AR 突变[6]。虽然内分泌治疗能够有效抑制血液中雄激素水平,但不能完全阻断所有血清雄激素前体物质,因此肿瘤细胞可以相适应地增强合成下游类固醇前体关键酶的能力,同时一系列编码和参与雄激素生物合成酶的基因被上调[7]。大约 80% 的 CRPC 患者表现出高水平的 AR 表达,这是由于 AR 基因扩增引起的,AR 的上调可以增加 AR 对低雄激素水平的反应。接受内分泌治疗会导致 AR 突变,在接受内分泌的 CRPC 患者中 12% ~48% 存在 AR 突变[8]。

糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)已被确定为 CRPC 患者绕过 AR 阻滞的关键机制。由于 GR 在多个基因靶标中具有 AR 的共同响应元件,其能够在 AR 受阻的条件下驱动相关基因的表达。Arora 等[9]发现,在使用 8 周的内分泌治疗后,30% 的患者肿瘤中 GR 表达上调,而治疗前仅为 10%,而且更高水平的 GR 蛋白与更差的预后相关。

神经内分泌 PCa(neuroendocrine prostate cancer, NEPC)被越来越多的人认为是 CRPC 的一个解释途径,PCa 细胞通过减少对 AR 途径的依赖性并获得神经内分泌分化的方式来对抗 ADT 造成的低雄激素环境。相关研究中表明[10],在新诊断的 PCa 中,NEPC 的百分比达到 2%。

2　CRPC 药物治疗

2.1　新内分泌治疗药物　尽管 CRPC 对内分泌治疗表现抵抗,但是继续采用内分泌治疗确保雄激素处于去势水平仍是其治疗原则。因此去势效果更强的药物逐渐研究出来并投入临床使用,目前使用最多的 2 类分为雄激素合成抑制剂和 AR 受体拮抗剂。醋酸阿比特龙是一种不可逆的 17,20-裂解酶(cytochrome P450, family 17, CYP17)抑制剂,由于 CYP17 是雄激素合成的关键酶,因此该药可直接抑制睾丸、肾上腺和肿瘤内的雄激素生物合成。相关试验的结果显示,与使用传统 ADT 药物相比,在传统药物中加入阿比特龙和泼尼松龙可使 3 年总生存期(overall survival, OS)显著改善 37%,并显著提高 CRPC 的 3 年生存率[11]。醋酸阿比特龙已经在我国得到初步的临床应用,效果得到初步认可,还需进一步的临床研究认证。另一种有效的雄激素合成抑制剂 TAK-700,是一种非甾体可逆的选择性 CYP17 抑制剂,具有更强的抑制效果。该药目前处于临床试验阶段,在 CRPC 患者中表现出抗肿瘤活性,但未达到改善 OS 的主要目的[12]。在接下来的试验中,可联合其他类型的药物一起评价其治疗效果。

AR 受体拮抗剂是内分泌治疗的基础。恩杂鲁胺是第二代非甾体抗雄激素药物, 2012 年被批准用于 mCRPC 的第二代 AR 拮抗剂。相关的研究中,在 mCRPC 且 PSA 水平迅速升高的患者中使用恩杂鲁胺治疗后,与安慰剂相比,该药显示出良好的治疗效果[13]。它能显著降低转移及死亡风险,且不良事件与恩杂鲁胺的既定安全性一致。在我国针对 CRPC 患者,该药已经推广应用,效果可观。阿帕鲁胺是一种合成的联芳基硫代乙内酰脲化合物[14],2018 年美国食品和药物管理局(FDA)批准用于 PCa。阿帕鲁胺与恩杂鲁胺具有相同的配体结合位点,但其与 AR 的亲和力却是恩杂鲁胺 7 ~ 10 倍乃至更高[15]。目前在小鼠模型中显示具有比恩杂鲁胺更大的抗肿瘤活性,可选择性结合 AR 的配体结合结构域并阻断 AR 核转位及与雄激素反应元件结合,并可拮抗 AR 过表达的 CRPC 细胞系中 AR 介导的信号传导[14]。在 378 例事件发生后的回顾性研究分析中[16],阿帕鲁胺组中位无转移生存期为 40.5 个月,而安慰剂组为 16.2 个月,使用阿帕鲁胺的无转移生存期和症状进展时间明显长于安慰剂。但是该药尚未在中国上市,在中国的应用仍需要一段时间。Darolutamide 是一种新型非甾体抗雄药物,目前处于Ⅲ期试验阶段,用于治疗 nmCRPC 和转移性激素敏感性 PCa, 该药物用于 nmCRPC 的上市申请已获得快速通道审评资格。Fizazi 等[17]将 1 509 例患者随机分组,在 437 个主要终点事件(死亡)发生后进行的初步分析中,使用 Darolutamide 的中位无转移生存率为 40.4 个月,而安慰剂组为 18.4 个月($P < 0.01$),该药物在延缓患者生存期方面的效果显著。同时 Darolutamide 及其主要代谢物保留其对抗 AR 突变的活性,该突变目前已知对第一代和第二代 AR 拮抗剂产生抗性的关键,是下一步研究的重点[18]。

2.2　细胞毒性化疗药物　细胞毒性化疗药物主要适用于 mCRPC,常用的化疗药物是多西他赛。多西他赛是第一个延长 mCRPC 患者寿命的药物,它是一种稳定纺锤丝微管的紫杉烷,通过结合 β-微管蛋白二聚体,多西他赛可防止染色体分离,引发有丝分裂停滞和随后的细胞凋亡,紫杉醇还通过抑制微管在稳定下游核积累的作用来抑制 AR 的信号传导[19]。卡巴多赛也是一种紫杉烷类药物,具有抗多西他赛耐药性的作用[20],2010 年被批准用于 PCa,用于 mCRPC 的新型二

线治疗药物[21]。对于未接受化疗的 mCRPC 患者,使用卡巴多赛总生存期与多西他赛的标准疗法相比没有表现出优势,但是肿瘤反应率在数值上更高,疼痛及无进展生存期在数值上有所改善;同时在不良反应方面,卡巴多赛总体表现更少[22]。卡巴他赛可作为临床上多西他赛耐药及不能忍受多西他赛不良反应的替代药物。此外环磷酰胺、米托蒽醌及顺铂等非常规用药在患者对紫杉烷类药物抵抗后具有一定的意义。

2.3　免疫治疗药物　目前由于肿瘤免疫取得突破性进展,肿瘤的免疫治疗同样成为了热点。免疫制剂 Sipuleucel-T 是第一个通过 FDA 批准用于治疗 CRPC 的免疫药物[23]。使用 Sipuleucel-T 治疗显著改善 CRPC 患者的总体生存率,并且不增加 3 级以上的不良事件的风险。然而,Sipuleucel-T 治疗并未改善进展时间,并且与安慰剂相比,PSA 水平进展没有明显的降低。但联合新型内分泌治疗后能够显著改善 CRPC 患者的总体存活率,并且改善了进展时间和降低了 PSA 水平[24]。虽然该药物价格昂贵,但为临床上多种药物耐药后提供新的选择。IgG4-抗体 Pembrolizumab 最近被 FDA 批准用于所有错配修复(mismatch repair, MMR)缺陷肿瘤。MMR 虽然在胃肠道和子宫内膜癌中更为常见,但文献表明转移性 PCa 中 MMR 缺乏的发生率为 2% ~12%[25-26]。MMR 缺陷肿瘤可以激活程序性细胞死亡蛋白 1(programmed cell death protein 1, PD-1)受体,PD-1 受体起自身免疫抑制剂的作用,从而使免疫系统耐受肿瘤[27]。Pembrolizumab 抑制 T 淋巴细胞 PD-1,达到消除肿瘤细胞免疫耐受的效果,依靠自身免疫系统杀伤肿瘤细胞,对于 PCa,相关 Ⅰb 期研究的结果报告总体反应率为 13%[28]。另一项 Ⅱ 期试验的初步数据也显示,20% 的 mCRPC 患者在进展后加用单抗治疗后,PSA 水平降低[27],这也是接下来研究的重点。

2.4　靶向治疗药物

2.4.1　PARP(poly ADP-ribose polymerase)抑制剂:PARP 抑制剂是目前 CRPC 新药开发中最活跃的研究领域之一。PARP1 和 PARP2 均通过碱基切除修复介导单链 DNA 断裂的修复。PARP 抑制剂有效阻断靶癌细胞中的 DNA 修复,导致细胞死亡[29]。在临床前研究中,PARP 的抑制剂显示出抑制肿瘤生长的作用,可用于激素不敏感的前列腺癌及发生远处转移的前列腺癌患者。目前临床研究最多的 3 种 PARP 抑制剂如下:奥拉帕尼、Rucaparib、Talazoparib。奥拉帕尼可抑制 PARP1 和 PARP2 的活性,被批准用于治疗转移性 HER-2 基因阴性乳腺癌和卵巢癌[30]。在 Clarke 的研究中[31],接受奥拉帕尼和阿比特龙联合治疗的无进展生存期 13.8 个月,而安慰剂和阿比特龙联用无进展生存期 8.2 个月,晚期不良事件的发生率下降。Rucaparib,被批准用于治疗 BRC 基因 A 突变的卵巢癌、输卵管癌,在前列腺癌中的应用还在进一步的研究中。Talazoparib 同样可以抑制 PARP1 和 PARP2,其疗效还需要进一步的实验研究证实。

2.4.2　EZH2(enhancer of zeste homologue 2)抑制剂:EZH2 是组蛋白甲基转移酶,通过甲基化诱导靶基因的转录。EZH2 的异常与癌症的发生和进展有关,EZH2 过度表达与几种实体瘤(包括前列腺癌)的疾病进展和较差的预后相关。许多新型 EZH2 抑制剂在 PCa 的使用正在研究,包括 CPI-1205, PF-06821497, Tazemetostat 和 DS-3201b。CPI-1205 是一种选择性和辅因子竞争性 EZH2 抑制剂,可能通过增加抗肿瘤活性来改善早期和晚期 mCRPC 患者的 ADT 疗效[32]。其他药物也在进一步的实验中,目前 EZH2 抑制剂已经显示出良好耐受的安全特性,有望在未来 CPRC 患者中得以应用。

2.4.3　Hh(Hedgehog)抑制剂:在前列腺癌中,异常 Hh 途径信号传导可以增加上皮间质细胞转化来加速肿瘤传播。同时由于 Hh 和 AR 途径之间的相互影响,促使肿瘤细胞向 CPRC 细胞的转化[33]。现阶段已经有 2 种药物被批准应用于晚期的 mCRPC, TAK-441 和 Vismodegib。在小鼠实验中,TAK-441 可能通过破坏肿瘤微环境中 Hh 通路介导的旁分泌信号传导来延迟 CRPC 中的肿瘤进展[34]。在服用 Vismodegib 的 mCRPC 患者中,绝大部分患者组织中 Hh 信号传导被抑制,但是 PSA 指标并未表现出有差异的降低,因而不适合作为单一治疗药物[35]。

2.5　放射性药物　镭-223 二氯化物(镭-223)是一种 α 发射体,它作为钙替代物被内置到羟基磷灰石中,可选择性地向骨转移部位发射 α 粒子,发射的高能粒子达到杀伤前列腺癌细胞的效果。在相关研究中镭-223 组的中位总生存期为 14.0 个月,安慰剂组为 11.2 个月,与安慰剂相比,镭-223 能够一定程度上降低死亡的风险[36]。其适用于发生骨转移的 CRPC 患者,以达到减轻骨瘤负荷来减轻患者疼痛的效果。

2.6　中医药　目前中医药在 CRPC 的治疗中占据了一定的地位。因为中医药结合西医的治疗在提高临床疗效的同时,还能减轻药物的不良反应,提高患者的生活质量[37]。现阶段临床常用的中药复方及制剂很多,扶阳化瘀方、补益肺肾方、化瘀解毒方等以补肾益气,消肿止痛达到缓解患者不适症状及对抗肿瘤生长

的功效[38]。更加高效紧密地利用中西医结合治疗 CRPC，能够延长患者的生存时间、提高患者的生活质量。

3　总结和展望

目前，CRPC 是 PCa 治疗的重点和难点。虽然 PCa 对传统 ADT 治疗药物失敏感是无法避免的，但随着对其发生机制的不断深入，许多新的药物和策略正在研究中。现阶段多西他赛、阿比特龙、恩扎鲁胺等成为了 CRPC 的一线治疗用药，免疫治疗、靶向治疗、镭-223 及中西医结合治疗也是 CRPC 患者治疗的热点和突破点。除了努力开发新的药物外，探索现有药剂的组合和顺序使用也是一个重要的发展方向。许多的临床试验正在进行中，其目的是探索出最有益于 CRPC 的用药组合和顺序。同时如何针对不同的患者采取个体化治疗也是下一步努力的方向。

参考文献

[1] Saad F, Fizazi K, Jinga V, et al. Orteronel plus prednisone in patients with chemotherapy-naive metastatic castration-resistant prostate cancer (ELM-PC 4): a double-blind, multicentre, phase 3, randomised, placebo-controlled trial[J]. Lancet Oncol, 2015, 16(3): 338-348. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70027-6.

[2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.

[3] 中国抗癌协会泌尿肿瘤专业委员会. 中国去势抵抗性前列腺癌诊治专家共识[J]. 中华外科杂志, 2016, 54(7): 481-484. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2016.07.001.

[4] El-Amm J, Aragon-Ching JB. The current landscape of treatment in non-metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. Clin Med Insights Oncol, 2019, 13: 1179554919833927. DOI: 10.1177/1179554919833927.

[5] Cornford P, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on prostate cancer. part II: Treatment of relapsing, metastatic, and castration-resistant prostate cancer[J]. Eur Urol, 2017, 71(4): 630-642. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.08.002.

[6] Karantanos T, Evans CP, Tombal B, et al. Understanding the mechanisms of androgen deprivation resistance in prostate cancer at the molecular level[J]. Eur Urol, 2015, 67(3): 470-479. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.09.049.

[7] Buttigliero C, Tucci M, Bertaglia V, et al. Understanding and overcoming the mechanisms of primary and acquired resistance to abiraterone and enzalutamide in castration resistant prostate cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2015, 41(10): 884-892. DOI: 10.1016/j.ctrv.2015.08.002.

[8] Waltering KK, Urbanucci A, Visakorpi T. Androgen receptor (AR) aberrations in castration-resistant prostate cancer[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 360(1-2): 38-43. DOI: 10.1016/j.mce.2011.12.019.

[9] Arora VK, Schenkein E, Murali R, et al. Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade[J]. Cell, 2013, 155(6): 1309-1322. DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.012.

[10] Tritschler S, Erdelkamp R, Stief C, et al. Neuroendocrine prostate cancer[J]. Urologe A, 2017, 56(11): 1475-1484. DOI: 10.1007/s00120-017-0523-0.

[11] Fizazi K, Tran N, Fein L, et al. Abiraterone plus prednisone in metastatic, castration-sensitive prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 377(4): 352-360. DOI: 10.1056/NEJMoa1704174.

[12] Fizazi K, Jones R, Oudard S, et al. Phase Ⅲ, randomized, double-blind, multicenter trial comparing orteronel (TAK-700) plus prednisone with placebo plus prednisone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that has progressed during or after docetaxel-based therapy: ELM-PC 5[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(7): 723-731. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.5119.

[13] Hussain M, Fizazi K, Saad F, et al. Enzalutamide in men with nonmetastatic, castration-resistant prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2018, 378(26): 2465-2474. DOI: 10.1056/NEJMoa1800536.

[14] Jung ME, Ouk S, Yoo D, et al. Structure-activity relationship for thiohydantoin androgen receptor antagonists for castration-resistant prostate cancer (CRPC)[J]. J Med Chem, 2010, 53(7): 2779-2796. DOI: 10.1021/jm901488g.

[15] Clegg NJ, Wongvipat J, Joseph JD, et al. ARN-509: a novel antiandrogen for prostate cancer treatment[J]. Cancer Res, 2012, 72(6): 1494-1503. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3948.

[16] Smith MR, Saad F, Chowdhury S, et al. Apalutamide treatment and metastasis-free survival in prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2018, 378(15): 1408-1418. DOI: 10.1056/NEJMoa1715546.

[17] Fizazi K, Shore N, Tammela TL, et al. Darolutamide in nonmetastatic, castration-resistant prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2019, 380(13): 1235-1246. DOI: 10.1056/NEJMoa1815671.

[18] Fizazi K, Smith MR, Tombal B. Clinical development of darolutamide: A novel androgen receptor antagonist for the treatment of prostate cancer[J]. Clin Genitourin Cancer, 2018, 16(5): 332-340. DOI: 10.1016/j.clgc.2018.07.017.

[19] Thadani Mulero M, Nanus DM, Giannakakou P. Androgen receptor on the move: boarding the microtubule expressway to the nucleus[J]. Cancer Res, 2012, 72(18): 4611-4615. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0783.

[20] Shiota M, Nakamura M, Yokomizo A, et al. Efficacy and safety of cabazitaxel for castration-resistant prostate cancer in patients with > 10 cycles of docetaxel chemotherapy: a multi-institutional study[J]. Med Oncol, 2019, 36(4): 32. DOI: 10.1007/s12032-019-1257-1.

[21] Paller CJ, Antonarakis ES. Cabazitaxel: a novel second-line treatment for metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. Drug Des Devel Ther, 2011. 2011, 117-124. DOI: 10.2147/DDDT.S13029.

[22] Oudard S, Fizazi K, Sengelov L, et al. Cabazitaxel Versus Docetaxel As First-Line Therapy for Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: A Randomized Phase Ⅲ Trial-FIRSTANA[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(28): 3189-3197. DOI: 10.1200/JCO.2016.72.1068.

[23] Lu H, Bowler N, Harshyne LA, et al. Exosomal alphavbeta6 integrin is required for monocyte M2 polarization in prostate cancer[J].

Matrix Biol, 2018, 70: 20-35. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.03.009.

[24] Yi R, Chen B, Duan P, et al. Sipuleucel-T and androgen receptor-directed therapy for castration-resistant prostate cancer: A meta-analysis[J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 4543861. DOI: 10.1155/2016/4543861.

[25] Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, et al. Inherited DNA-repair gene mutations in men with metastatic prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2016, 375(5): 443-453. DOI: 10.1056/NEJMoa1603144.

[26] Guedes LB, Antonarakis ES, Schweizer MT, et al. MSH2 loss in primary prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(22): 6863-6874. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0955.

[27] Graff JN, Alumkal JJ, Drake CG, et al. Early evidence of anti-PD-1 activity in enzalutamide-resistant prostate cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(33): 52810-52817. DOI: 10.18632/oncotarget.10547.

[28] Maia MC, Hansen AR. A comprehensive review of immunotherapies in prostate cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2017, 113: 292-303. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.02.026.

[29] Kamel D, Gray C, Walia JS, et al. PARP Inhibitor drugs in the treatment of breast, ovarian, prostate and pancreatic cancers: An update of clinical trials[J]. Curr Drug Targets, 2018, 19(1): 21-37. DOI: 10.2174/1389450118666170711151518.

[30] Feiersinger GE, Trattnig K, Leitner PD, et al. Olaparib is effective in combination with, and as maintenance therapy after, first-line endocrine therapy in prostate cancer cells[J]. Mol Oncol, 2018, 12(4): 561-576. DOI: 10.1002/1878-0261.12185.

[31] Clarke N, Wiechno P, Alekseev B, et al. Olaparib combined with abiraterone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial[J]. Lancet Oncol, 2018, 19(7): 975-986. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30365-6.

[32] Fioravanti R, Stazi G, Zwergel C, et al. Six years (2012-2018) of researches on catalytic EZH2 Inhibitors: The boom of the 2-Pyridone compounds[J]. Chem Rec, 2018, 18(12): 1818-1832. DOI: 10.1002/tcr.201800091.

[33] Suzman DL, Antonarakis ES. Clinical Implications of Hedgehog Pathway Signaling in Prostate Cancer[J]. Cancers (Basel), 2015, 7(4): 1983-1993. DOI: 10.3390/cancers7040871.

[34] Ibuki N, Ghaffari M, Pandey M, et al. TAK-441, a novel investigational smoothened antagonist, delays castration-resistant progression in prostate cancer by disrupting paracrine hedgehog signaling[J]. Int J Cancer, 2013, 133(8): 1955-1966. DOI: 10.1002/ijc.28193.

[35] Maughan BL, Suzman DL, Luber B, et al. Pharmacodynamic study of the oral hedgehog pathway inhibitor, vismodegib, in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2016, 78(6): 1297-1304. DOI: 10.1007/s00280-016-3191-7.

[36] Parker C, Nilsson S, Heinrich D, et al. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2013, 369(3): 213-223. DOI: 10.1056/NEJMoa1213755.

[37] 贾玉森, 陈小均, 张志杰. 中医药治疗前列腺癌的临床研究概况[J]. 中医杂志, 2012, 53(24): 2142-2146. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2012.24.019.

[38] 李小江, 牟睿宇, 邬明歆, 等. 中医药治疗去势抵抗性前列腺癌的研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(4): 1007-1011. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.04.032.

(收稿日期: 2019－07－22)

(上接 95 页)

[28] Zheng Q, Delingette H, Duchateau N, et al. 3-D consistent and robust segmentation of cardiac images by deep learning with spatial propagation[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2018, 37(9): 2137-2148. DOI: 10.1109/TMI.2018.2820742.

[29] Tao Q, Yan W, Wang Y, et al. Deep Learning-based method for fully automatic quantification of left ventricle function from cine MR images: A multivendor, multicenter study[J]. Radiology, 2019, 290(1): 81-88. DOI: 10.1148/radiol.2018180513.

[30] Oktay O, Ferrante E, Kamnitsas K, et al. Anatomically constrained neural networks (ACNNs): Application to cardiac image enhancement and segmentation[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2018, 37(2): 384-395. DOI: 10.1109/TMI.2017.2743464.

[31] Yeqin S, Yaozong G, Qian W, et al. Locally-constrained boundary regression for segmentation of prostate and rectum in the planning CT images[J]. Medical Image Analysis, 2015, 26(1): 345-356. DOI: 10.1016/j.media.2015.06.007.

[32] Tan LK, Liew YM, Lim E, et al. Convolutional neural network regression for short-axis left ventricle segmentation in cardiac cine MR sequences[J]. Medical Image Analysis, 2017, 39(1): 78. DOI: 10.1016/j.media.2017.04.002.

[33] Du X, Zhang W, Zhang H, et al. Deep regression segmentation for cardiac Bi-Ventricle MR Images[J]. IEEE Access, 2018, 6: 3828-3838. DOI: 10.1109/ACCESS.2017.2789179.

[34] Tan LK, Liew YM, Lim E, et al. Cardiac left ventricle segmentation using convolutional neural network regression[C] IEEE, 2016 IEEE EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES), 2016: 490-493. DOI: 10.1109/IECBES.2016.7843499.

[35] Ruijsink B, Puyol-Antón E, Oksuz I, et al. Fully automated, quality-controlled cardiac analysis from CMR: Validation and large-scale application to characterize cardiac function[J]. JACC: Cardiovascular Imaging, 2019: S1936-878X(19)30585-6. DOI: 10.1016/j.jcmg.2019.05.030.

[36] 李睿, 赵世华. 心血管影像人工智能的研究进展[J]. 磁共振成像, 2019, 10(7): 551-555. DOI: 10.12015/issn.1674-8034.2019.07.014.

[37] Shin HC, Roth HR, Gao M, et al. Deep convolutional neural networks for computer-aided detection: CNN architectures, dataset characteristics and transfer learning[J]. IEEE Transactions on Medical Imaging, 2016, 35(5): 1285-1298. DOI: 10.1109/TMI.2016.2528162.

(收稿日期: 2019－10－02)

综　述

卵巢恶性肿瘤的影像学诊断进展

姜涵文, 郭林 综述　金刚 审校

基金项目: 哈尔滨市科技创新人才项目(2015RAXYJ066)
作者单位: 150086　哈尔滨医科大学附属第二医院核医学科
通信作者: 金刚, E-mail: jingang196292@126.com

【摘　要】 近年来, 随着影像学新技术的快速发展, 影像学检查已逐渐成为诊断卵巢恶性肿瘤的重要手段。综合运用多种影像学检查技术, 不但可以提高卵巢恶性肿瘤诊断的准确性, 同时对于临床治疗计划的进一步制定及预后评估也有帮助。文章对各种影像学检查技术在卵巢恶性肿瘤中的应用及相关研究进展予以综述。

【关键词】 卵巢肿瘤, 恶性; 影像学; 诊断; 进展
【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2020.01.026

Progress in imaging diagnosis of ovarian cancer

Jiang Hanwen, Guo Lin, Jin Gang. Department of Nuclear Medicine, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Province, Harbin 150086, *China*
*Corresponding author: Jin Gang, E-mail: jingang*196292@126.*com*
Fund program: Harbin Science and Technology Innovation Talent Project (2015*RAXYJ*066)

【Abstract】 In recent years, with the rapid development of new imaging technology, imaging examination has gradually become an important means of diagnosing ovarian cancer. Comprehensive use of a variety of imaging examination technology can not only improve the accuracy of diagnosis of ovarian cancer, but also help to further develop the clinical treatment plan and prognosis evaluation. This article reviews the application of various imaging techniques in ovarian cancer and the related research progress.

【Key words】 Ovarian neoplasm; Malignant; Medical imaging; Advancement

卵巢恶性肿瘤是发病率仅次于宫颈癌和子宫体癌高居第 3 位的女性生殖器官常见恶性肿瘤, 约占妇科肿瘤的 10%, 且仍存在上升的趋势。根据美国癌症协会(2018 年)的调查结果显示, 卵巢癌所导致的病死率占女性生殖器官恶性肿瘤的首位[1]。卵巢恶性肿瘤的早期(ⅠA ~ ⅡA 期)患者 5 年生存率大于 90%, 但因卵巢位于盆腔的深部, 体积小, 且缺乏典型症状, 仅有 20% ~30% 的患者能在此期被诊断, 约 75% 的患者被诊断时已达到晚期(Ⅲ ~ Ⅴ期), 并且出现骨盆转移的症状, 其 5 年生存率为 17% ~39%[2]。由此可见, 卵巢恶性肿瘤的早期诊断及治疗对于改善患者的预后尤为重要。临床上广泛认可血清肿瘤标志物 CA125 对卵巢肿瘤良、恶性的鉴别诊断, 且其还可用于监测卵巢癌的复发。然而, CA125 指标在子宫内膜异位症、子宫肌瘤、盆腔炎、腹膜炎、胸膜炎、骨骼肌病变及复发的非霍奇金淋巴瘤等非卵巢病变中亦可升高[3]。随着医学影像学技术的快速发展, 影像学检查在卵巢恶性肿瘤的诊断中发挥着越来越重要的作用。本文将对超声、CT、MR、SPECT/CT 及 PET/CT 等检查方法在卵巢恶性肿瘤诊断中的应用与新技术的发展进行综述。

1　超声学检查

超声学检查常作为妇科疾病普查与诊断的首选方法, 其具有无创性及重复性等优点, 且操作相对简单、价格相对较低。超声检查既可以展现肿瘤的形状、大小、位置、动静脉血流变化及血管的分布, 又可以观察肿瘤的内部结构、与周围组织的关系及来源器官, 同时还可以鉴别肿瘤的相关物理性质等。尽管在恶性肿瘤的诊断中, 超声学检查具有较高的敏感度(88% ~ 100%), 但其特异度相对较低, 仅为 39% ~87%[4]。

卵巢恶性肿瘤的超声图像具有实性或囊实性、多房、外形不规则且分隔较厚、多乳头, 常伴有腹腔积液等特征性表现。彩色多普勒超声学检查可以用于卵巢恶性肿瘤的鉴别诊断, 除可见于肿瘤周边包绕的血管外, 还可见于更具特异度诊断价值的肿块内高速低阻的动脉血; 亦可显示卵巢恶性肿瘤实质内的中央区、分隔及囊内乳头上条状、树枝状甚至团状的血管走行。

超声弹性成像检查是一种以彩色编码显示的判别病变组织弹性大小的检查方法。因周围正常组织与肿瘤及其他病变区域的弹性系数不同,故产生的应变大小不同,所以展现出的彩色编码不同,从而来推断某些病变的可能性。Xie 等[5]研究发现,诊断卵巢低度恶性肿瘤时,超声弹性成像检查的特异度为 100%,阳性预测值为 100%,准确度为 82.8%,阴性预测值为 78.0%,超声弹性成像有助于鉴别低度和高度卵巢恶性肿瘤,且低级病变比高级病变硬度高、弹性差。

三维超声造影技术可较准确地显示肿块占据的空间位置,选择性增强肿瘤组织内血流回声信号,Xiang 等[6]研究认为,三维超声造影检查具有高敏感度(100%)和高特异度(98%),可用来鉴别早期卵巢肿瘤的良、恶性。卵巢恶性肿瘤三维超声造影强化的时间—强度曲线表现为上升支陡直、下降支慢降,且相较于卵巢良性肿瘤,其造影剂的廓清时间及持续时间较长,ROC 曲线下面积较大,但到达峰值的时间则相对较短。因此,卵巢肿瘤的三维超声造影检查可以用来较准确地进行术前定位定性诊断。

此外,超声也可用于引导细针穿刺细胞学检查,其对卵巢占位的诊断具有很高的特异度和敏感度,以及较低的并发症风险。Pal 等[7]学者对 70 例具有卵巢肿块的患者进行为期 2 年的研究表明,超声引导下的细针穿刺细胞学检查的特异度为 95.83%,敏感度为 95.23%,诊断正确率为 93.94%。证明该检查方法是一种快速、经济、安全的诊断卵巢肿块的方法,具有极高的准确性。由于细针穿刺细胞学检查存在一定的假阴性,且细针穿刺的吸取物较小,因此目前还无法取代相应的组织病理学检查。

2　CT 检查

CT 检查虽然不是早期诊断卵巢恶性肿瘤的首选方法,但它有较高的准确率。多排螺旋 CT(MDCT)检查因其扫描速度较快、覆盖范围较大且图像清晰,目前已广泛应用于临床中。MDCT 检查通过多平面的图像重建及容积扫描,可直接显示卵巢肿瘤的部位、形态、大小、内部的细微结构及血液供应状况、边界情况、密度、肿瘤与周围组织之间的关系等,也可清晰地显示肿瘤的浸润情况及有无盆腔或腹腔的转移。Mukhtar 等[8]研究报道,MDCT 检查对于卵巢肿瘤良、恶性的鉴别诊断,灵敏度为 95.6%,准确率为 96.8%,特异度为 97.3%,可为卵巢恶性肿瘤的术前诊断及手术方法的选择等提供相对可靠的依据。

卵巢恶性肿瘤的 CT 表现特点:病灶呈囊实性或实性肿块,常呈分叶状,内部结构密度不均匀,多为囊实性混杂密度,且边界不清晰,常侵犯周围的器官,多数可见到结节样腹膜增厚的表现,并伴有中至大量的腹水;肿瘤内可见不规则厚壁及间隔,常伴有壁结节出现。增强 CT 检查可显示卵巢恶性肿瘤有明显的不均匀强化,实性部分显著增强,且部分浆性病灶内有时可见不定型的钙化点。增强 CT 检查进一步提高了 CT 检查的敏感度与特异度,对与周围组织等密度的肿瘤诊断更加有利,更利于诊断卵巢恶性肿瘤。

CT 灌注成像(CTPI)检查是一种用血容量(BV)及血流量(BF)等参数来评价组织器官微循环灌注情况的功能性影像学技术,同时 CTPI 还能提供精细的解剖学图像。早期的 CTPI 检查可为新确诊的卵巢恶性肿瘤患者提供无进展生存期(PFS)的预后信息。Ng 等[9]对 76 例卵巢癌新发病例在化疗开始前(T0)、化疗开始后 3 周(T1)和化疗开始后 4 周(T2)进行 CTPI 研究,精确测试评估了从 T0 到 T2 的 CTPI 与 PFS 的相关性,结果显示,BV 增加与 PFS 降低几率显著相关($P=0.028$),此外,BF 值的增加与 PFS 值的降低也相关($P=0.008$),并且在肿瘤体积、手术状态甚至年龄变化后仍显著相关($P=0.007$)。另外 CTPI 检查在卵巢肿瘤良、恶性的鉴别上同样发挥着重要作用。Shi 等[10]研究发现,卵巢良性肿瘤的时间—密度曲线缓慢增加,且在 40 s 时达到峰值;恶性肿瘤的时间—密度曲线快速持续上升,并在 25 s 时达到峰值,证实 CTPI 可以提供卵巢肿瘤的准确增强数据,并且通过对肿瘤血流动力学变化特征的显示,进一诊断和鉴别诊断卵巢肿瘤的良、恶性。

双能量 CT 检查是指用 2 种不同能量的 X 线进行同时扫描,得到不同能量数据信息的一种新型 CT 检查方法。因衰减系数的不同,不同物质在不同的能量条件下所展现的 CT 值不同,利用这一特性对病变部位及正常组织结构加以分辨,可得到更多的组织信息。Liu 等[11]回顾性分析了 61 例卵巢病变患者的双能量 CT 扫描结果。分析得出脂肪(水)浓度用来诊断卵巢良性肿瘤的最佳临界值为 -146.40 g/ L,且特异度为 77.4%,灵敏度为 71.4%,以此可以对卵巢肿瘤的良、恶性进行鉴别,但由于特异度、敏感度不高,故有待于进一步的临床研究。

3　磁共振成像

磁共振成像(MR)检查是一种具有高软组织对比分辨率的可多方位、多层面成像的影像学检查技术,它不仅能够准确地反映出卵巢病变的内部特性,还能清晰地显示出卵巢正常解剖结构与异常组织间的关系。Medeiros 等[12]对 1 267 例卵巢病变患者进行分析研

究,得出 1.5 T MR 对诊断交界性或恶性卵巢肿瘤的特异度及灵敏度分别为 85% 和 92%,且 ROC 曲线下相对面积达 0.953,因而,MR 检查可为卵巢恶性肿瘤的术前诊断及鉴别诊断提供重要的依据。

卵巢恶性肿瘤的 MR 特点:多表现为囊实性或实性的肿块,且易出现邻近组织的侵犯及转移,显示为受侵犯组织与原发肿块间的界限不清晰,但受侵犯组织的 MR 信号与肿块组织的 MR 信号却大致相同;肿块实性成分的信号不均匀且形态不规则;如若 MR 检查呈现出盆腔内不规则的实性肿块且伴有广泛的血管扩张迂曲,伴或不伴腹水的信号图像,则可以诊断为卵巢恶性肿瘤术后复发或转移瘤。在增强 MR 检查下,可以见到肿块的实性成分明显强化,动态对比增强磁共振成像(DCE-MR)检查使用造影剂能进一步鉴别肿瘤的性质。Li 等[13]研究发现,利用不同肿瘤的增强形式不同及 DCE-MR 参数不同可以鉴别卵巢肿瘤的良、恶性,研究表明,kep 是区分良性肿瘤与交界性肿瘤和恶性肿瘤的较好参数,灵敏度为 89.3% 和 95.5%,特异度为 86.7% 和 100%,准确度为 88.4% 和 96.3%,而 Ktrans 则更加适合于交界性肿瘤和恶性肿瘤的区分,特异度为 78.8%,敏感度为 60.7%,准确度为 73.4%。

磁共振弥散加权成像(MR-DWI),通常主要用于脑梗死的诊断,表观弥散系数(ADC)为 DWI 常用的定量参数。但 Takeuchi 等[14]发现,卵巢不同类型肿瘤的 ADC 值也存在差异,良性卵巢肿瘤在 DWI 上均未显示高信号,而卵巢恶性肿瘤在 DWI 上均显示高信号,因此,结合 ADC 的 MR-DWI 测量有助于鉴别卵巢肿瘤的良、恶性。Wang 等[15]证实 MR-DWI 在评估卵巢恶性肿瘤的输卵管卵巢脓肿(TOA)方面也有一定帮助,并且优于 MR 检查。研究发现 TOA 的囊性成分 ADC 平均值明显低于恶性肿瘤,而实体成分 ADC 的平均值则明显高于恶性肿瘤,因而可知 ADC 值还有助于卵巢恶性肿瘤 TOA 实体部分和假肿瘤区域的区分。

磁共振波谱成像(MRS)检查能在分子水平上对活体组织代谢物进行检查,以便于卵巢肿瘤与正常组织的区分。Ma 等[16]在 64 例卵巢肿瘤患者 MRS 中发现胆碱/肌酸(Cho/Cr)、N-乙酰基天冬氨酸/肌酸(NAA/Cr)比值 ROC 曲线下面积分别为 0.901 和 0.907,且良性卵巢肿瘤的 Cho/ Cr 和 NAA/ Cr 比值低于交界性卵巢肿瘤的相应比值,表明 MRS 检查有利于卵巢良性及交界性肿瘤的鉴别。

4　SPECT 及 SPECT/CT

单光子发射型计算机断层显像(SPECT)检查是一种功能成像型影像学检查技术,通过计算机勾画出感兴趣区域(ROI 技术),分别在病变部位和相应正常组织处获得靶器官组织与本底的摄取比值(T/B),从而进行半定量分析并加以诊断。SPECT/CT 同机融合显像技术则将同机获得的 SPECT 图像和 CT 图像进行空间位置匹配后加以叠加,通过 CT 对 SPECT 图像放射性浓聚的病灶部位进行准确定位,并对体外污染及生理性摄取做出排除性诊断,将 SPECT 提供的细胞生物代谢信息与 CT 提供的影像学解剖信息相结合,有效地解决了 SPECT 功能显像定位不精准的问题,在卵巢恶性肿瘤的术后诊断中发挥了重要作用[17]。高平等[18]利用 SPECT 显像技术对 62 例卵巢恶性肿瘤术后患者进行 18 氟-脱氧葡萄糖(18F-FDG)符合线路显像,分析得出 SPECT 18F-FDG 符合线路显像的敏感度、准确度、特异度分别为 92.31%、85.00%、71.43%。Speth 等[19]在对 8 例卵巢癌患者进行手术期间前哨淋巴结(SNs)的检测和术后 24 h 内 SPECT/CT 的检测对比后,发现利用 SPECT/CT 融合显像技术可以检测到卵巢癌患者的 SNs。

5　PET 及 PET /CT

正电子发射型计算机断层显像(PET)检查是功能型尖端影像学技术,18F-FDG 是其最常用的显像剂之一,通过探测肿瘤摄取显像剂的多少,来反映不同细胞功能代谢等生物学特征,其最常用的参数是标准摄取值(SUV)。PET/ CT 则有机地融合了 CT 检查和 PET 检查,具有高分辨率的 CT 可以对有高敏感度的 PET 及其图像进行准确定位和校正。PET/CT 检查可用于疾病的早期发现及复发、转移的诊断,能更全面地、准确地评估肿瘤的恶性程度,提高肿瘤分期的准确性[20]。Abdelhafez 等[21]报道,在对 54 例卵巢肿瘤患者的诊断中,18F-FDG PET/CT 与单独 CT 相比,敏感度分别为 92% 和 73%,准确度分别为 91% 和 63%,特异度分别为 90% 和 55%。Han 等[22]对 268 例卵巢恶性肿瘤患者进行术后随访,研究显示卵巢恶性肿瘤术后复发检出的准确度为 98.3%,敏感度为 98.8%,特异度为 98.2%,因此,术后 PET/CT 检查是监测复发的一种重要方式,可以提高适当治疗的可能性,并有助于改善卵巢恶性肿瘤患者的预后。

近几年来,影像学融合多模态成像技术不断地发展,逐渐成为了影像学研究的新方向。PET/MR 检查就是将有分子成像功能的 PET 检查与有高软组织对比率的 MR 成像结合起来的一种新型的检查方法。与 PET/CT 相比,PET/MR 可以对在软组织中扩散的疾病进行成像,具有更高的软组织对比度,且无电离辐射[23]。

6　小结与展望

在卵巢肿瘤的诊断中,影像学检查有着越来越重要的作用。将现有的影像学检查优势集中为一体,综合运用、合理选择,以达到对卵巢恶性肿瘤的早期发现,最大程度提高患者生存率及生活质量,为临床治疗方案的制定及疗效评估提供更可靠的信息。

参考文献

[1] Torre LA, Trabert B, Desantis CE, et al. Ovarian cancer statistics, 2018[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(4):295-297. DOI: 10.3322/caac.21456.

[2] Lu KH. Screening for Ovarian Cancer in Asymptomatic Women [J]. Jama, 2018, 319(6):557-560. DOI: 10.1001/jama.2017.21894.

[3] Lutz AM, Willmann JK, Drescher CW, et al. Early diagnosis of ovarian carcinoma: Is a solution in sight [J]. Radiology, 2011, 259(2):329-345. DOI: 10.1148/radiol.11090563.

[4] Henderson JT, Webber EM, Sawaya GF. Screening for ovarian cancer: updated evidence report and systematic review for the US preventive services task force [J]. JAMA, 2018, 319(6):595-599. DOI: 10.1001/jama.2017.21421.

[5] Xie M, Zhang X, Zhan J, et al. Application of real-time ultrasound elastography for discrimination of low- and high-grade serous ovarian carcinoma[J]. Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine, 2013, 32(2): 257-262. DOI: 10.7863/jum.2013.32.2.257.

[6] Xiang H, Huang R, Cheng J, et al. Value of three-dimensional contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of small adnexal masses [J]. Ultrasound in Medicine Biology, 2013, 39(5): 761-768. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.11.008.

[7] Pal S, Chakrabarti S, Deuoghuria D, et al. Evaluation of ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology of ovarian masses with histopathological correlation [J]. Acta Cytologica, 2015, 59(2): 149-155. DOI: 10.1159/000380937.

[8] Mukhtar S, Khan SA, Hussain M, et al. Role of multidetector computed tomography in evaluation of ovarian lesions in women clinically suspected of malignancy[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention Apjcp, 2017, 18(8):2059-2062. DOI: 10.22034/APJCP.2017.18.8.2059.

[9] Ng C, Zhang Z, Lee SI, et al. CT perfusion as an early biomarker of treatment efficacy in advanced ovarian cancer: an ACRIN and GOG study[J]. Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2017, 23(14): 1859-1862. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1859.

[10] Shi X, Zhou X, Wu SJ, et al. Application of CT perfusion imaging in detection of tumor angiogenesis in osteosarcoma[J]. The Chinese-German Journal of Clinical Oncology, 2011, 10(3):174-177. DOI: 10.1007/s10330-011-0749-z.

[11] Liu JH, Tian SF, Ju Y, et al. Apparent diffusion coefficient measurement by diffusion weighted magnetic resonance imaging is a useful tool in differentiating renal tumors[J]. Bmc Cancer, 2015, 15(1): 292-295. DOI: 10.1186/s12885-015-1221-1.

[12] Medeiros LR, Freitas LB, Rosa DD, et al. Accuracy of magnetic resonance imaging in ovarian tumor: a systematic quantitative review [J]. American Journal of Obstetrics Gynecology, 2011, 204(1): 67-71. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.08.031.

[13] Li HM, Feng F, Qiang JW, et al. Quantitative dynamic contrast-enhanced MR imaging for differentiating benign, borderline, and malignant ovarian tumors[J]. Abdominal Radiology, 2018, 43(11): 3132-3141. DOI: 10.1007/s00261-018-1569-1.

[14] Takeuchi M, Matsuzaki K, Harada M. Ovarian adenofibromas and cystadenofibromas: magnetic resonance imaging findings including diffusion-weighted imaging [J]. Acta Radiologica, 2013, 54(2): 231-236. DOI: 10.1258/ar.2012.120516.

[15] Wang T, Li W, Wu X, et al. Tubo-Ovarian bscess (with/without pseudotumor area) mimicking ovarian malignancy: Role of diffusion-weighted MR imaging with apparent diffusion coefficient Values [J]. PLos One, 2016, 11(2):1493-1497. DOI: 10.1371/journal.pone.0149318.

[16] Ma FH, Li YA, Liu J, et al. Role of proton MR spectroscopy in the differentiation of borderline from malignant epithelial ovarian tumors: A preliminary study[J]. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 2019, 49(6):1684-1693. DOI: 10.1002/jmri.26541.

[17] 张若, 刘玉婷, 金刚. $^{99}Tc^{m}$-MIBI SPECT/CT 同机融合显像在肿瘤诊断中的临床价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(10):1193-1196. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2017.10.029.

[18] 高平, 王茜, 岳明纲,等. 18F-FDG 符合线路显像与肿瘤标志物检测用于卵巢癌治疗后的临床监测[J]. 中国医学影像学杂志, 2010, 18(5):410-414. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2010.05.004.

[19] Speth SC, Kruitwagen RF, Kleppe M, et al. Comparison of intraoperative γ-Probe Imaging and postoperative SPECT/CT in Detection of sentinel nodes related to the ovary[J]. Journal of Nuclear Medicine, 2017, 58(2):243-245. DOI: 10.2967/jnumed.116.183426.

[20] Dragosavac S, Derchain S, Caserta NMG, et al. Staging recurrent ovarian cancer with 18FDG PET/CT[J]. Oncology Letters, 2013, 5(2):593-597. DOI: 10.3892/ol.2012.1075.

[21] Abdelhafez Y, Tawakol A, Osama A, et al. Role of 18 F-FDG PET/CT in the detection of ovarian cancer recurrence in the setting of normal tumor markers[J]. Egyptian Journal of Radiology Nuclear Medicine, 2016, 47(4): 1787-1794. DOI: 10.1016/j.ejrnm.2016.08.013.

[22] Han EJ, Park HL, Yong SL, et al. Clinical usefulness of post-treatment FDG PET/CT in patients with ovarian malignancy[J]. Annals of Nuclear Medicine, 2016, 30(9): 600-607. DOI: 10.1007/s12149-016-1100-0.

[23] Khiewvan B, Torigian DA, Emamzadehfard S, et al. An update on the role of PET/CT and PET/MRI in ovarian cancer[J]. European Journal of Nuclear Medicine Molecular Imaging, 2017, 44(6): 1079-1091. DOI: 10.1007/s00259-017-3638-z.

(收稿日期:2019－08－27)